

## 新しい黒麹菌の産業利用に向けて

渡邊 泰祐

我が国において、麹菌を用いて製造される食品は、清酒、味噌、醤油、焼酎、泡盛など数多く、我々の食生活において、麹菌が重要であることに疑いの余地はない。しかしながら、醸造微生物として使用されている麹菌の種類は、決して多くない。沖縄県を代表する蒸留酒である泡盛を例にあげると、使用する麹菌株数を増やそうという試みはあるものの、現在県内で製造されている種麹は、醸造学的性質が異なる黒麹菌2菌株 ( $\alpha$ -アミラーゼ活性が高い株とクエン酸生産性が高い株) を混合した1種類であり、8割以上の泡盛酒造所が同一の種麹を用いている<sup>1)</sup>。したがって、麹菌を使用して製造される醸造飲料、食品において、特性が異なる麹菌を使用することにより、最終製品の多様化につながる事が期待される。

麹菌菌種の違いが最終製品の醸造特性に与える影響については、醸造過程や蒸留酒における蒸留工程などの複数の条件が複雑に混在するため、その評価は容易ではなく、職人の経験則に基づいて判断される部分が大きかったのではないかと考えられる。最近になり、菌種と製品特性への影響について以下のような報告があった<sup>2)</sup>。前述の泡盛黒麹菌2菌株を用いて別々に調製された麹の混合比率を変化させ、小仕込み試験後の泡盛に含まれる香気物質の一つ4-ピニルグアヤコール濃度について定量分析を行った。その結果、単一の麹を用いた場合に比べて2菌株の麹を混合させた場合に高濃度で検出され、混合比率の変化に伴う濃度変化も観察された。酢酸イソアミル、酢酸エチルについても異なる麹を混合させた場合に検出量が増大する傾向が見られたことから、黒麹菌菌種の違いと麹の混合が泡盛酒質に影響を与えることが明らかになった。

一方、麹菌の利用が制限されているもっとも大きな理由は、麹菌近縁種のマイコトキシン生産の問題であると言える。'麹菌近縁種' というのは、主に黄麹菌における *Aspergillus flavus* であり、黒麹菌における *Aspergillus niger* である。 *A. flavus* ではアフラトキシン、 *A. niger* の中にはオクラトキシンあるいはフモニシンといったマイコトキシンを生産する株が存在することから、新しい麹菌候補株の醸造への適用を考えた場合、種レベルで同定することとマイコトキシンを生産しない安全な株であることを確認しなければならない。

近年、黒麹菌の分類に関する研究が注目されている。 *Aspergillus awamori* は泡盛や焼酎醸造に用いられる代表的な黒麹菌であるが、 *A. awamori* と命名された株の中に泡盛とは無関係の *A. niger* 群の株が含まれていることが明らかになってきた。欧州では *A. awamori* が *A. niger* の異名同種であるとの報告もある。以上のような背景から、最近 '*A. awamori*' という種名は 'doubtable (疑問)' とされた。その後、分子生物学的手法を用いた系統分類と

マイコトキシン生産性に関する研究から、黒麹菌は *A. niger* とは別種であり、黒麹菌の学名を *Aspergillus luchuensis* (1901年に泡盛麹から初めて黒麹菌が分離されたときの学名) とすることが妥当と判断された<sup>3)</sup>。この結果を受け、2013年に酒類総合研究所保有の糸状菌リストに記載されている黒麹菌の名称が *A. luchuensis* に更新された。比較ゲノム解析によっても泡盛醸造に使用されている2種の黒麹菌株は何れも *A. niger* とは近縁でなく、 *A. luchuensis* に対して高い相同性を示すことが確認されている<sup>2)</sup>。

菌株にマイコトキシン生産性がないことを証明するには、生産量から評価する方法が有効である。 *A. niger* 群の中にはフモニシン生産株が存在することがわかっているが、Frisvadらは通常の培養条件ではフモニシンは生産されず、スクロースが高濃度で含まれている培養条件でのみ生産性が確認できると報告している<sup>4)</sup>。この報告ではクエン酸や酵素などの工業生産に利用されている *A. niger* の実に8割がフモニシン生産性を有しており、適切な培養条件で評価が行われていないために、その危険性が見逃されていることを指摘している。

上記の点を踏まえると、麹菌菌株にマイコトキシン生産性がないことを証明するには、その生合成遺伝子を持たないことを確認する方がより確実である。 *A. oryzae* では多種類の株について、アフラトキシン生合成遺伝子群をどの程度有しているかによってグルーピングされている<sup>5)</sup>。この方法は、黄麹菌がアフラトキシンを生産しない安全な株であることを評価する上で重要な指標と成り得ると考えられる。Yamadaらは *A. luchuensis* 群に含まれる黒麹菌は、オクラトキシンA生合成遺伝子を持たないことを報告している<sup>3)</sup>。また、フモニシンについては、 *A. niger* において生合成遺伝子が明らかになってきている。したがって、黒麹菌がマイコトキシンを生産しない安全な株であることを示す上で、黄麹菌で行っているようなグルーピングが有効になると考えられる。

このように、最終製品における分析手法や分子生物学的手法あるいは比較ゲノム解析を用いた菌株の安全性の評価方法は、目覚ましく発展している。これらの手法を組み合わせることによって、醸造学的特性に優れた安全な新しい黒麹菌が多数見いだされ、産業的に広く利用されることが期待される。

- 1) 渡邊泰祐ら：生物工学会誌， **90**, 311 (2012).
- 2) 塚原正俊ら：南方資源利用技術研究会誌， **29**, 7 (2014).
- 3) Yamada, O. et al.: *J. Biosci. Bioeng.*, **112**, 233 (2011).
- 4) Frisvad, J. C. et al.: *PLoS ONE*, **6**, e23496 (2011).
- 5) 北本勝ひこ：改訂版分子麹菌学，日本醸造協会 (2012).