

カカオ豆の発酵過程で働く微生物と その役割について

大西 章博

(東京農業大学 応用生物科学部 醸造科学科 醸造環境科学研究室 教授)

1 はじめに

カカオの木 (学名: *Theobroma cacao* L.) は、熱帯雨林に自生する常緑植物であり、主な生産地はアフリカ、中南米、東南アジアなど、「カカオベルト」と呼ばれる年間を通じて高温多湿な地域に集中している (図1)。現在、世界で生産される約500万トンのカカオ豆の90%以上が、わずか8カ国で生産され、チョコレートやココアの原料として世界中に輸出されている。日本は年間約4~6万トンのカカオ豆を輸入しており、その約80%はガーナ産である。

カカオの木は幹や太い枝に直接花が咲き、この花が受粉するとカカオポッドと呼ばれる果実に成長する。カカオポッドは緑、黄、赤、オレンジ、紫など多様な色を持ち、成熟すると長さ15~30cmほどの楕円形のラグビーボール状になり、その内部には20~50粒程度のカカオパルプ (Mucilageとも呼ばれる) をまとった種子が含まれている。これがいわゆるカカオ豆である。カカオ豆はそのままでは苦味が強く、食用には適さないため、発酵・乾燥・焙煎といった工程を経ることで、チョコレートに適した味と風味が形成される。発酵の役割は、微生物による汚染の防止、苦味・渋味の低減、色素形成、そしてアミノ酸、ペプチド、還元糖などの風味前駆物質の生成であり、この工程は最終製品の品質を大きく左右する重要な段階である。本稿ではカカオ豆の発酵現象とそこで働く微生物について解説する。

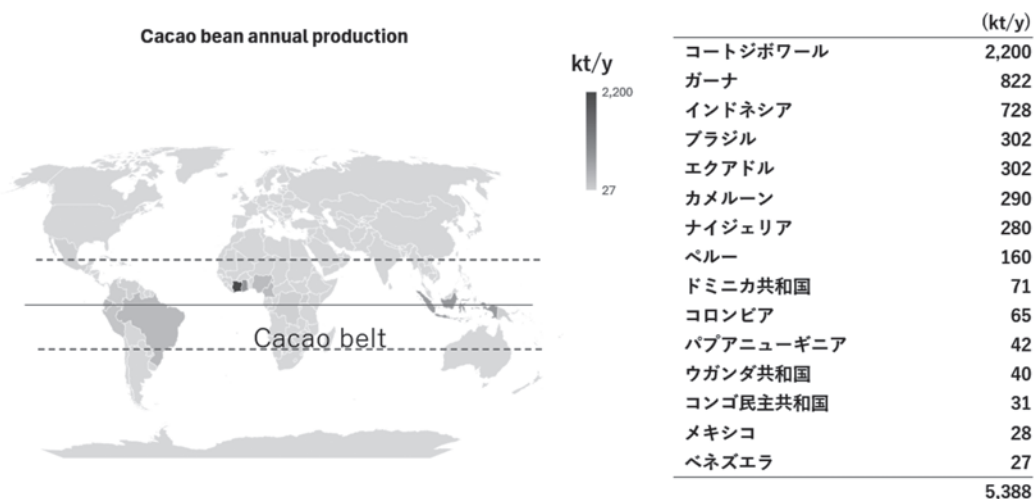


図1 世界のカカオ生産地域と生産量

2 カカオ豆の発酵方法とカカオ豆の変化

発酵は農産物に保存性や嗜好性、栄養価といった付加価値を与える技術である。米が日本酒に、牛乳がチーズやヨーグルトに、大豆が味噌や醤油に変化するように、カカオ豆も発酵を経てチョコレートの原料としての品質が形成される。日本ではカカオの栽培実績がほとんどなく、発酵工程を見る機会は稀である。発酵はカカオの原産国で実施され、一般的に木製の箱にカカオ豆を詰めるボックス法や、地面に積み上げてバナナの葉で覆うヒープ法などで行われる。一回の処理で10kgから1t程のカカオ豆を発酵させる。発酵期間は2日から10日程度で、地域や品種により発酵期間には幅がある。カカオには複数の品種が存在する。代表的なものには、風味に優れるが病害虫に弱いクリオロ種、耐病性が高く世界生産量の大部分を占めるフォラステロ種、両者を掛け合わせたバランス型のトリニタリオ種がある。それぞれの品種によって、カカオ豆に含まれるタンパク質、脂質、ポリフェノール、酵素の活性などが異なり、発酵中に生成される風味の前駆物質にも影響を与える。

カカオ豆の発酵現象は大きく分けて2段階で進行する。発酵初期は酸素が少ない嫌気的な発酵段階で、後半は酸素が供給される好気的な発酵段階である。発酵初期は発酵開始から2日程度である。この間はパルプ中の糖類がエタノール、乳酸などに変換される。この間に発酵熱の蓄積によって温度は35℃付近まで上昇することがある。また、微生物の作用でパルプの一部が液化して剥がれ落ちるスエッティング（Sweatings）と呼ばれる現象が起きる。パルプが分解されて除去されることにより、カカオ豆の通気性が上昇する。その後、カカオ豆堆積物の切り返しや積替え、あるいは攪拌が行われる。これにより堆積したカカオ豆に酸素が供給され、好気的な発酵段階へと切り替わる。好気的な発酵過程では、発酵初期に生成したエタノールなどが消費されて酢酸に変換される。発酵温度は最高で50℃付近に達する。

発酵終了後は、カカオ豆を板やシートの上に広げて天日乾燥等で1-2週間程度乾燥させて袋詰めして出荷される。発酵期間の長さ、温度、酸素供給などが適切に管理されないと発酵が不十分または過剰、あるいはカビなどによる雑菌汚染に至る場合がある。

3 カカオ豆の発酵に関わる微生物の種類と動態および主な役割

カカオ豆の発酵に関わる微生物の主なグループは、酵母、乳酸菌、酢酸菌、芽胞形成菌であり、多様な種類が時間的・空間的に関与する。微生物の共通性については、分類学上の属レベルではある程度見出される。しかし、種レベルでは地域や品種、発酵方法等によって様々である。一般的なカカオ豆の発酵過程で出現する微生物のグループと動態を図2に示し、以下にグループごとの動態と主な系統と役割を紹介する。

酵母は発酵初期の嫌気的な環境下で最初に優勢となる。カカオ豆の発酵過程からは45属以上が検出されて報告されている。*Candida*属、*Hanseniaspora*属、*Kluyveromyces*属、*Pichia*属、*Saccharomyces*属が最もよく検出される系統である。他にも*Kazachstania*属、*Kloeckera*属、*Millerozyma*属、*Nakazawaea*属、*Torulaspora*属、*Issatchenkia*属、*Saccharomycopsis*属、*Zygosaccharomyces*属、*Wickerhamomyces*属が検出されている。酵母は主にカカオパルプ中の糖類を消費してエタノールと二酸化炭素を生成する。他にも高級アルコール、エステル、有機酸、アルデヒド、ケトンなどの香気成分の生成に関連する。甘味に関連するグリセロールを高生産するものや、ペクチナーゼの生産によりペクチン分解に寄与し、スエッティングを促進するものも含まれる。プロテアーゼを生成し、カカオ豆の種皮の分解に関連するものもあり、これは代謝物のカカオ豆内部への浸透を促すものと考えられる。

乳酸菌は、酵母とほぼ同時か、酵母に追従するように優勢となる。乳酸菌は*Lactobacillus*属、*Leuconostoc*属、*Enterococcus*属の検出事例が最も多く、他にも*Fructobacillus*属、*Lactococcus*属、*Pediococcus*属、*Oenococcus*属、*Streptococcus*属、*Weissella*属がよく検出されている。乳酸菌は主に糖類を消費して乳酸を生成する。ヘテロ型の乳酸発酵能を持つ乳酸菌はカカオパルプの成分と環境に依存して、エタノールや酢酸の生成にも寄与する。乳酸の一部は種皮を通過してカカオ豆内部に浸透し、新鮮な酸味や、カカオ豆の酵素の活性化に寄与する。一方で、過剰な乳酸発酵は望ましい風味特性に至らないことがある。乳酸はカカオ豆内部に到達する他の代謝物に比べて揮発性が低い特徴があり、一度カカオ豆内部に浸透すると乾燥や焙炒後の工程でも残存する。このため乳酸が高濃度で残存して製品の風味に過剰に影響してしまうことがある。また、乳酸菌が生成するジアセチル、アセトイン、ブタンジオール（2,3-butanediol）などの代謝物はバターを感じる風味にも関連するが、これも同様の側面を持つ。

酢酸菌は後半の好氣的な発酵段階に移ると優勢となる。酢酸菌で最も検出頻度の高いものは、*Acetobacter*属と*Gluconobacter*属の系統である。他にも*Asaia*属、*Gluconacetobacter*属、*Granulibacter*属、*Komagataeibacter*属、*Kozakia*属、*Saccharibacter*属、*Tanticharoenia*属などが検出されている。酢酸菌は主にエタノールを好氣的な環境下で酸化して酢酸を生成する。発酵初期のエタノール生成は、後半の酢酸生成のためにも重要である。酢酸はカカオ豆の内部に浸透し、カカオ豆内部の細胞の破壊やpHの低下に寄与する。

更に発酵期間が長期に及ぶ場合は芽胞形成菌が優勢となる。芽胞形成菌は好気性から通性嫌気性の*Bacillus*属と*Paenibacillus*属の検出事例が多い。これらは土壌由来と考えられている。芽胞形成菌の主な役割は未だ十分に理解されていない。孢子形成能を持つことから高温環境や酸、エタノールなどに晒されても生き残る。温度、pH、通気性と酸素濃度の上昇に伴い、増殖を開始して発酵過程が長期間に及ぶ際に優勢になることがある。ペクチンやセルロースおよびタンパク質分解酵素

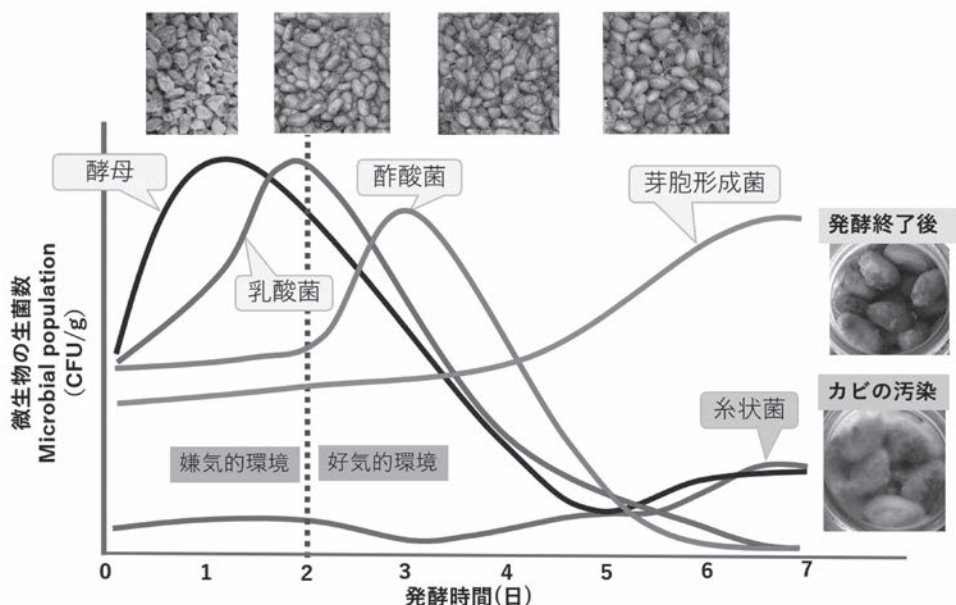


図2 カカオ豆の発酵過程の微生物動態

の生産、ピラジン類、乳酸、酢酸などの生成にも寄与すると考えられる。一方で、アンモニアや脂肪酸、アセトイン、ブタンジオール、メチルブタノール生成にも関連する。これらはカカオ豆の望ましくない風味の原因となることがあるので、長期間の発酵はリスクとのバランスを考慮する必要がある。

4 カカオ豆の発酵とチョコレートの風味の関係

カカオ豆の発酵現象がどのようにチョコレートの風味形成に影響を及ぼすかを図3に示した。これまでに述べてきたように、発酵工程ではカカオ豆の周囲にある糖質を含むパルプが、主に酵母、乳酸菌、酢酸菌といった微生物によって分解され、エタノールや有機酸類が生成されるとともに発酵熱の蓄積により温度が上昇する。この発酵過程で生じる微生物の代謝産物と温度上昇が、カカオ豆内部に直接的あるいは間接的に影響し、チョコレートの風味あるいは風味の前駆物質が形成される。

発酵のカカオ豆への直接的な影響は、カカオ豆を死滅させて発芽と発根を抑制することで苦みや渋味の増加を抑制することである。微生物の代謝物の一部は、カカオ豆内部に浸透して風味の前駆物質となる。発酵の間接的な影響は、カカオ豆の自己消化に関わる酵素の活性化である。カカオ豆の細胞を破壊して酵素（プロテアーゼ、アミラーゼ、エステラーゼなど）を活性化させる。その結果、カカオ豆のタンパク質、糖類、脂質が加水分解を受けて風味の前駆物質（主にアミノ酸や還元糖など）になる。また、カフェイン、ポリフェノールなどは酸化や重合、または流出することで減少する。これらのことでカカオ豆の風味形成の準備が整う。

そして、カカオ豆からチョコレートを生産する過程の焙炒で、メイラード反応やストレッカー分解によって、風味の前駆物質は風味物質へと変換される。この反応は、焙炒と褐変の現象（トーストの焦げ、ビールや醤油の色素生成など）として古くから知られている。例えば、チョコレート特有の風味でもある「チョコ感」に関連するメチルブタノールは、アミノ酸のロイシンと還元糖から生じ、蜜や花のような風味を持つフェニルアセトアルデヒドはフェニルアラニンと還元糖から生じる。

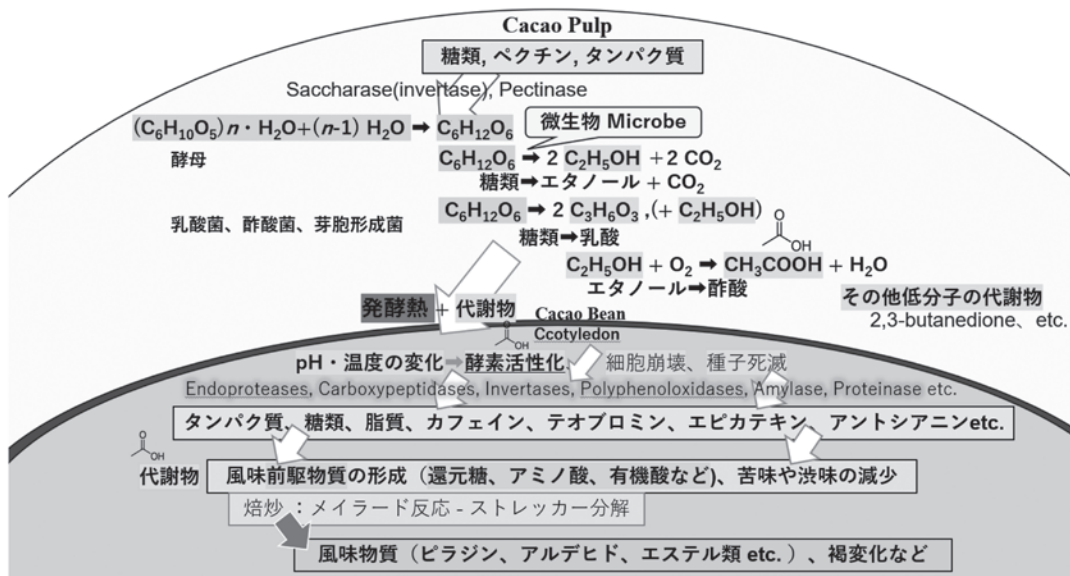


図3 カカオパルプで起きる発酵現象とカカオ豆の風味形成の関係

5 おわりに

本稿で解説したカカオ豆の発酵に関連する微生物学的な知見は、一部の地域ではスターターカルチャーの開発や、発酵制御による製品の品質向上にも応用されている。微生物の種類やその代謝産物がカカオ豆の風味に及ぼす影響の理解がさらに進めば、意図的に風味特性を操作することも可能になる。このような発酵工学の応用により、安定した品質と個性を兼ね備えたチョコレート製品の製造は今後の期待の一つである。

また筆者らは、日本国内におけるカカオの栽培から市場開発までを実現する独自のプラットフォームとして‘Farm to Market platform’を確立し公開することを目標に研究を進めている。目的は、日本の第一次産業の支援と、既存産業の活性化である。現在は、カカオの「栽培と収穫」、「発酵と新製品開発」、「評価と新市場開拓」の3つのチームごとに課題に取り組んでいる。評価と新市場開拓チームでは、毎年全く同じカカオ豆を原料として、発酵カカオ豆と、未発酵カカオ豆（乾燥のみ）を用意し、チョコレートを生産して官能評価を実施している。両者の評価結果には以下の違いがあり、毎年ほぼ同様の傾向がある。未発酵カカオ豆でつくるチョコレートは、色調が黒く、硬い食感、くちどけが遅い、スモーキーな香り、苦味と渋味が強いという評価が高くなる傾向がある。一方で、発酵カカオ豆でつくるチョコレートは、色調が茶色く、柔らかい食感、くちどけが早い、華やかな香り、甘味と酸味そして発酵感が際立ってくる。さらに総合的な評価として、おいしい、と感じる人の割合も増加する。

嗜好性やおいしさの感じ方は人それぞれであるが、このように製品としてのチョコレートの楽しみ方に大きな影響を及ぼすのが発酵のチカラであるといえる。チョコレートに微生物と発酵の魅力を感じて頂けたら幸甚である。

参考文献

- 1) Schwan, R. F. and Fleet, G. H.: Cocoa and coffee fermentations, CRC Press (2014).
- 2) Arevalo-Gardini, E. et al.: Tree Genet. Genomes, 15, 11 (2019).
- 3) Schwan, R. F. and Wheals, A. E.: Crit. Rev. Food Sci. Nutr., 44, 205 (2004).