

2-デオキシグルコース耐性株から分離した マルトース資化性清酒酵母によるビールの試験醸造

宮岡俊輔 中村 仁 *

Small-scale Beer Brewing with High Maltose Assimilation Activity Strains Isolated from 2-Deoxyglucose Resistant Mutant of *Sake* Yeast

MIYAOKA Shunsuke and NAKAMURA Hitoshi

前報¹⁾では、清酒酵母のマルトース資化性向上を目的として、2-デオキシグルコース (2-DG) を含むマルトース培地による自然変異株の分離と分離酵母の特性を検討し、EK-7 から分離した4株、K14 から分離した6株にマルトース資化性が認められた。この10株について麦汁発酵性を調べた結果、EK-7 株から分離した1株、K14 から分離した6株は麦汁を発酵することができた。そこで、この7株についてビールの試験醸造を行ったところすべてアルコール分が4%以上生成し、ビール酵母を用いた場合と異なる香味の製品を得ることができた。分離した酵母は、酵素を用いることなくビール醸造が可能で、香味に特徴のある製品開発への利用が期待できる。

キーワード：ビール、試験醸造、清酒酵母、マルトース資化性、2-デオキシグルコース耐性、2-DG

はじめに

クラフトビールが人気を集め、小規模ブルワリーは年々増加を続けている。これらの企業では、特徴的な製品が作られており、他社との差別化ばかりではなく、地域の特徴を生み出すことも重要と考えられる。特に近年はコロナウイルス感染拡大によりイベントや料飲店での需要が減少しており、輸出を含め新規需要開拓が強く求められている。一方、独自の歴史の中ではぐくまれた「清酒酵母」は、日本固有のものでありまた、清酒の多様化の中で各地域にオリジナルな酵母が数多く存在する。これをビール醸造に利用できれば輸出等にむけた地域性の高い製品が期待できる。向井らは²⁾、様々な醸造用酵母のビールの醸造適性を検討し、清酒酵母を利用した場合エステル香（バナナ様香）が生成し、ビールの多様化に期待できるとしている。さらに水野らは^{3)~5)}、 α -グルコシダーゼを利用し清酒酵母を用いたビール醸造を行い、エステル香の高いビールを得ることに成功している。

我々は前報で、清酒酵母のマルトース資化性向上を目的として、2-デオキシグルコース (2-DG) を含むマルトース培地による自然変異株の分離と分離酵母の特性を検討し、麦汁をビール酵母と同程度に発酵する7株のマルトース資化性変異株を得た。本報では、これら変異株を用いて α -グルコシダーゼ等の糖化酵素を使用することなく、ビール醸造を行ったので、その結果について報告する。

実験方法

1. 供試酵母

前報で分離したマルトース資化性変異株7株を用いた。ビール酵母 IFO 2011 株を対照とした。

2. 麦汁の調整

1 リットルの熱水に100g のモルトエキス (MORGAN'S AUSTRALIAN LAGER) と35.3g のスクロース (富士フィルム和光純薬、特級) を加えた。

3. ビールの小仕込み試験

40 mL の YPD 液体培地で28 °C、濁度2.0になるまで振とう培養した。この培養液全量を遠心分離、20 mL の滅菌水で洗浄後、10 mL の滅菌水に懸濁した。600 mL の麦汁に懸濁液10 mL を植菌し、20 °C、13日間発酵した。13日後

※ (現) 愛媛県庁経済労働部産業創出課

この研究は、「えひめの柑橘等特産物の特徴を生かした酒類の開発」の予算で実施した。

愛媛県産業技術研究所業績第6号

の発酵液 450 mL を沈殿が入らないように 500mL のビール瓶に移し、2.9 g のスクロースを加え、打栓後 17 °C で 10 日間保持、さらに 5 °C で保存した。

4. 成分分析

比重とアルコール分は、試料を遠心分離、上清を日本酒分析システム（全自動 SDK システム、京都電子工業株式会社）を用いて測定した。糖組成は、島津社製 HPLC を使い、カラムは YMC Polyamin II、75%アセトニトリル溶液を溶媒として RI 検出器により測定した。また香气成分は、内部標準にカプロン酸メチル、n-アミルアルコールを使用して、ヘッドスペースガスクロマトグラフ GC-2010plus（株式会社島津製作所）により測定した。

5. 分離した酵母の増殖特性

調整した麦汁を遠心分離し、上清 80mL を 200mL の三角フラスコに入れ 121°C、15 分間滅菌処理した。YPD 培地で前培養した培養液 100μL を加え、振とう培養装置 BR-180LF（TAITEC）を用い 100rpm で振とうしながら 5 分ごとに吸光度を測定した。

結果と考察

1. 麦汁の発酵試験

マルトース資化性が認められた 7 株について、麦汁の発酵試験を行い、発酵前後の糖組成を測定した。結果を表 1 に示した。前報で確認した通り、これらの菌株は、麦汁を発酵することができ、対照のビール酵母以上にアルコール生成量が多く、かつマルトースがほとんど残存していなかった。このことから、これらの清酒酵母変異株はビール酵母と同様に麦汁中のマルトースを資化することができ、ビール醸造へ利用することが可能と考えられた。

表 1 麦汁の発酵試験

	アルコール分 (v/v %)	糖組成 (g/100mL)			
		Fulctose	Glucose	Scurose	Maltose
発酵前	0.3	0.3	1.4	0.3	7.0
発酵後					
K14-1	5.5	0.0	0.0	0.1	0.1
K14-2	5.5	0.0	0.0	0.1	0.1
K14-3	5.6	0.0	0.0	0.1	0.1
K14-4	5.5	0.0	0.0	0.0	0.1
K14-5	5.3	0.0	0.0	0.1	0.3
K14-6	5.7	0.0	0.0	0.0	0.0
EK7-1	5.3	0.0	0.0	0.1	0.5
ビール酵母 IFO2011	4.2	0.0	0.0	0.1	1.8

2. ビールの小仕込み試験

前項によりビール醸造の可能性が示されたので、小仕込み試験を行った。生成したアルコール分と麦汁の比重の経時変化を表 2 に、13 日後（1 次発酵終了時）の麦汁の糖組成を表 3 に示した。表 2 に示されるように、分離した 7 株はすべてアルコール分を 4% 以上生成し、対照としたビール酵母より高いアルコール生成能を示した。さらに表 3 に麦汁の糖組成を示したが、すべての製成酒においてマルトース含有量が 0.1~0.4% となり、マルトースは残存していなかった。

製成酒の官能評価の結果を表 4 に示した。EK7-1 株はエステル様香気に、K14 株由来の 6 株は高級アルコール様香気に特徴があり、ビール酵母を使用した場合と異なる香味が感じられた。K14 株由来の 6 株は、香味は類似しており

最も良好な株として K14-3 株を選抜し、以下の検討ではそれを使用した。

次に、製成酒の香気成分を測定し結果を表 5 に示した。EK7-1 株、K14-3 株ともビール酵母と比較して、酢酸イソアミル、カプロン酸エチル、酢酸エチルといったエステル類やイソアミルアルコールなどの高級アルコールが多く生成していた。これらは清酒の特徴香でもあり清酒酵母によるものと考えられる。EK7-1 株はエステル類が多く、K14-3 株は高級アルコール類が多いという特徴があった。これらの分析結果は、官能評価の結果と一致しており、清酒酵母から分離したマルトース資化性変異株をビール醸造に利用することで、香りに特徴のある製品の製造が期待できる。

表 2 生成したアルコール分と麦汁比重の経時変化

発酵時間 (d)	アルコール分 (v/v %)			エキス分		
	0	8	10	0	8	10
K14-1	0.1	4.0	4.3	1.0398	1.1025	1.0081
K14-2	0.1	4.0	4.3	1.0398	1.0098	1.0077
K14-3	0.1	4.3	4.5	1.0398	1.0077	1.0067
K14-4	0.1	4.0	4.4	1.0398	1.0095	1.0074
K14-5	0.1	4.2	4.4	1.0398	1.0089	1.0070
K14-6	0.1	4.1	4.4	1.0398	1.0094	1.0076
EK7-1	0.1	4.0	4.3	1.0398	1.1025	1.0081
ビール酵母 IFO2011	0.1	2.6	2.8	1.0398	1.0198	1.0187

表 3 麦汁の糖組成の変化

	糖組成 (g/100mL)			
	Fulctose	Glucose	Scurose	Maltose
発酵前	0.2	0.8	3.3	4.0
10日間発酵後				
K14-1	0.1	0.0	0.0	0.2
K14-2	0.1	0.0	0.0	0.3
K14-3	0.0	0.0	0.0	0.1
K14-4	0.1	0.0	0.0	0.2
K14-5	0.0	0.0	0.0	0.1
K14-6	0.1	0.0	0.0	0.2
EK7-1	0.1	0.0	0.0	0.4
ビール酵母 IFO2011	0.1	0.0	0.1	3.2

表4 製成したビールの官能評価

酵母名	特 徴
ビール酵母IFO2011	ビールらしい香気、ややうすい
EK7-1	味がややかるく、エステル様香気が多い
K14-1~K14-6	味に渋味があり、エステルや高級アルコール様の香気が多い

表5 製成したビールの香気成分

試料名	香気成分 (ppm)					
	酢酸エチル	n-プロピルアルコール	イソブチルアルコール	酢酸イソアミル	イソアミルアルコール	カプロン酸エチル
ビール酵母IFO2011	0.22	3.13	2.31	0.03	32.11	0.06
EK7-1	5.23	4.55	4.12	0.50	41.18	0.11
K14-3	3.92	5.71	7.24	0.39	59.60	0.12

3. 分離した酵母の増殖特性

分離した変異株をビール醸造に利用するため、その発酵条件の最適化を目的として増殖特性を検討した。図1に25℃と15℃での5株の増殖曲線を示した。どちらの温度でもビール酵母の誘導期間が最も短く、清酒酵母およびその変異株の誘導期間は長くなっていた。これらの清酒酵母をビール醸造に利用する場合、誘導期間が長いことを考慮し、醸造初期の温度を高くすることや酵母添加量を増やすなどの発酵条件設定が必要と考える。取得した変異株ではマルトース資化性が向上しているため、麦汁での増殖が良好になると期待される。そのような観点から元株と変異株の増殖を比較した。K14株では誘導期間はほぼ同じであったが、変異株では増殖が速くなっていた。マルトースの資化性の向上が増殖速度に影響していることが推定される。これに対し、EK7株では誘導期間が同じであることはK14株と同様であったが、EK7-1株の方の増殖が遅くなっていた。EK7-1株は県内企業でビールの実醸造試験(発酵温度10℃、未発表)を行ったところ、発酵が遅く完成まで長期間を要した。その原因がこの増殖の遅さに関連していると考えられる。増殖が遅くなるメカニズムについては、今後検討をする必要がある。

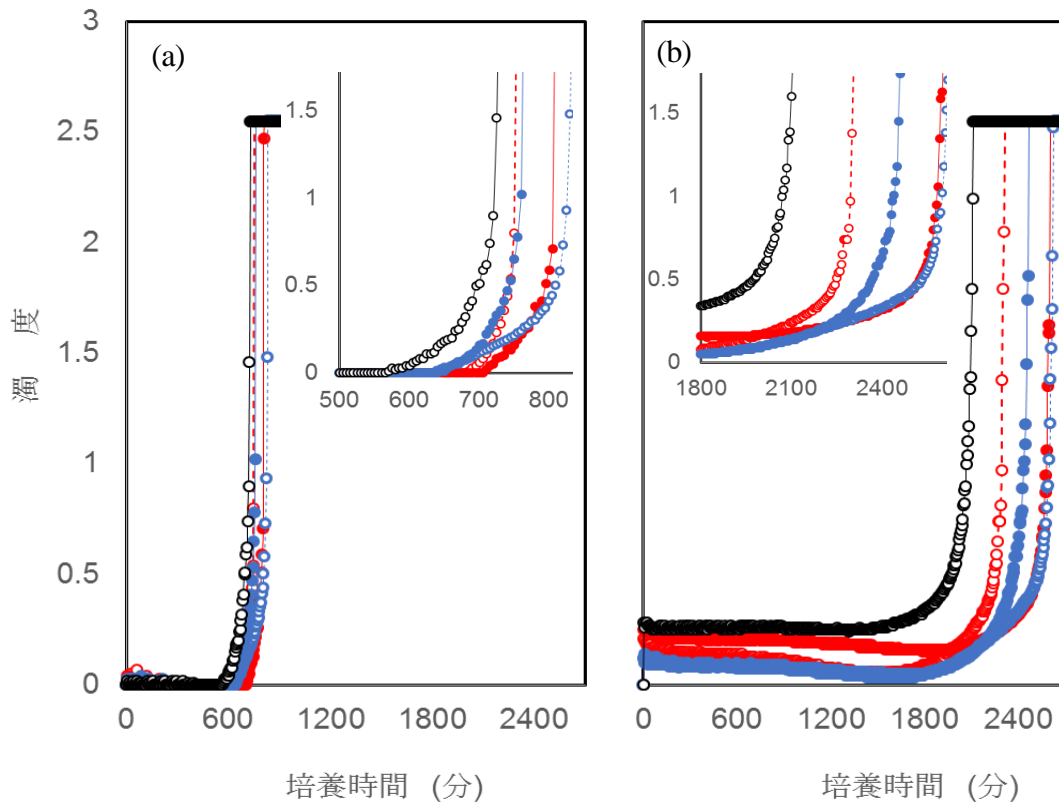


図1 麦汁中でのマルトース資化性清酒酵母の増殖曲線

(a) 増殖温度 25°C, (b) 増殖温度 15°C,

---○--- EK7, ---●--- EK7-1, ---○--- K14, ---●--- K14-3, ---○--- ビール酵母 IFO2011

ま と め

前報¹⁾で清酒酵母から分離したマルトース資化性変異株のビール醸造への利用を目的に、小仕込み試験を行い、分離酵母の特性について以下の結果を得た。

1. 分離株7株はすべてアルコール分を4%以上生成し、対照としたビール酵母より高いアルコール生成能を示した。
2. 製成したビールの香り成分を分析したところ、酢酸イソアミル、カプロン酸エチル、酢酸エチルといったエステル類やイソアミルアルコールなどの高級アルコールが多くなっていた。官能的にもビール酵母とは異なる香味が感じられた。
3. 清酒酵母から得たマルトース資化性変異株は、酵素を用いることなくビール醸造に利用することが可能で、香味に特徴のある製品開発に利用が期待される。

文 献

- 1) 宮岡俊輔, 逢坂江理, 酒井美希, 金本直晃: 2-デオキシグルコース耐性株からのマルトース資化性清酒酵母の分離, 愛媛県産業技術研究所研究報告, 60, 20-23 (2022).
- 2) 向井伸彦, 岡田明彦, 鈴木昭紀, 高橋利郎: ビール酵母とその他の醸造用酵母のビール醸造特性, 醸協, 93, 967-975 (1998).
- 3) 水野昭博, 天野 仁, 向井伸彦, 佐藤和夫, 高橋利郎: α -グルコシダーゼを利用したビールの高濃度醸造 (第2報), 醸協, 98, 639-648 (2003).
- 4) 水野昭博, 篠田典子, 野村佳司: α -グルコシダーゼを利用したビールの高濃度醸造 (第3報), 醸協, 99, 809-815 (2004).
- 5) 水野昭博, 篠田典子, 野村佳司: α -グルコシダーゼを利用したビールの高濃度醸造 (第4報), 醸協, 99, 873-877 (2004).