

静岡県オリジナルのビール酵母の開発

— 微生物ライブラリー候補株を用いたビールの試作 —

バイオ科 鈴木雅博 勝山 聡 岩原健二
株式会社蔵屋鳴沢 稲村浩宣

Development of the craft beer yeast original of Shizuoka

— Trial production of the beer using the microbe library candidate strain —

Masahiro SUZUKI, Satoshi KATSUYAMA, Kenji IWAHARA and Hironori INAMURA

In general, the beer is brewed from wheat, hops, water and other sub-ingredients through fermentation processes of the yeast. The yeast play important roles for creating the various tastes of beer. The medium or small scaled breweries have taken every effort to develop new topical products to differentiate from products of other breweries.

Therefore, in this research, we have focused on developing new beer yeast producing new flavor. Three yeast strains, NMZ-0688, NMZ-0717, and NMZ-1096 were selected as appropriate for producing traditional ale beer that being manufactured in many breweries from the microbe stock which the Shizuoka prefectural government holds.

By using those three strains respectively, two of each prototype of beers, pale ale type and wheat ale type were made. The prototype of wheat ale beer using NMZ-0688 produced the concentration of isoamyl acetate three times higher than that of the other similar commercial products. NMZ-0688 strain could be useful for producing new taste of wheat ale beer as commercial products which have characteristic with its fruity flavor. This strain can be expected to differentiate from products of other breweries.

Keywords : beer yeast, fermentation, brewing

キーワード：ビール酵母、発酵、醸造

1 はじめに

一般的に地ビールとは、一つの製造場でのビールの年間の製造見込数量が2,000kl以下の中小規模のビール製造場が製造するビールのことである。日本では、平成6年（1994年）の酒税法改正により、ビールの製造免許を取得する際の要件である最低製造数量基準が、2,000klから60klに引き下げられ、多くの地ビール製造場が各地に誕生した¹⁾²⁾。

これまで日本国内では、主に大手メーカーが製造するピルスナータイプのビールが流通量の大半を占めていたため、小規模な地ビール製造場は大手メーカー商品との差別化を図るために、ペールエールタイプやウィートエールタイプなど様々なタイプのビールを製造してきた³⁾。

近年では、小規模地ビール製造場が製造する個性豊かで特徴的な香味を呈する地ビールを嗜好する消費

者も増えてきている。また日本各地で、ビアフェスティバルが定期的開催されるなどしており、地ビールは非常に注目を集めている。

本県は、平成30年3月現在16場の地ビール製造場が存在しており、全国でも有数の製造場数を誇っている。これまで、本県の地ビール製造場では他の製造場と差別化を図るために、地元で採れる米などを一部副原料として用い、特徴ある地ビール開発が行われてきた。しかし、発酵に用いる酵母については、一般的に市販酵母が使用されており差別化が図られていなかった。酵母は、発酵過程においてアルコールや炭酸ガスだけでなく様々な副産物を作り出しており、ビールの香味形成に非常に重要な役割を果たしている⁴⁾。

一方本県では、平成27年度より県内の豊かな地域資源から分離した微生物や食品製造や酒類製造に未利用である既存保有微生物からなる有用微生物ライブ

ラリーの構築に取り組むとともに、このライブラリー微生物を用いて、地域性を生かした特色あるビジネスの創出に取り組んでいる。そこで本研究では、県産地ビールの更なる差別化及び商品幅の拡大を図るために、この微生物ライブラリー候補株を活用し、本県独自のビール酵母を開発することとした。今回は、微生物ライブラリー候補株を用いて麦汁発酵試験及びビールの試作を行ったので報告する。

2 方法

2.1 供試菌株

現在構築中の本県独自の有用微生物ライブラリー候補株のうち、食品製造現場から分離された酵母や、MALDI分析により食品利用が可能な属種であると推定された計137株の酵母を用いた。なお、対照株には London Ale III (Wyeast社) を用いた。

2.2 麦汁モデル培地を用いた選抜試験

培地には、ホップ無添加の麦汁モデル培地もしくはホップを添加した麦汁を用いた。ホップ無添加の麦汁モデル培地は、SPRAY MALT medium (Muntions社製) 90gを蒸留水600mlに溶解し、オートクレーブ滅菌して作製した。ホップを添加した麦汁は、モルトにマリスオッター (Crisp社製) を使用し、ホップには英国産のChallengerを用いた。麦汁モデル培地もしくはホップ添加麦汁10mlに対して、YPD液体培地で前培養した酵母の前培養液を100 μ l添加し、20℃で14日間静置した。試験期間中、継時的に培地の重量を測定し、その重量減少量と14日目のアルコール度数を酵母の麦汁発酵能の指標とした。アルコール度数の測定は、アルコメイトAL-3 (理研機器(株)製) にて行った。また職員により香りの簡易的な評価を行い、最終アルコール度数が3.5%以上、かつオフフレーバーが少ない、もしくは感じられなかった酵母をベンチスケール試作に供する株として選抜した。

2.3 ベンチスケールによる地ビール試作

試作するビアタイプは、多くの地ビール製造場で製造されており、比較的に高温で発酵を行うことで香味が豊かな酒質となるエールタイプとした。ホップ無添加の麦汁モデル培地で培養した酵母の前培養液50mlを、ホップ添加麦汁450mlに添加し、20℃で主発酵を行った。主発酵期間は、最大で14日間とし、麦汁モデル培地による選抜試験において、最終アルコール度数が3.5%以上で、香りが良好であると思われる8株を用い

て、一般的なエールタイプビールの製造方法を参考にベンチスケールの試作品を計15点試作した。試作品15点のうち、7点は一般的なアルコール度数 (約4.5%) タイプ、8点は低アルコール度数 (約3.5%) とした。主発酵後、上清のみをデカンテーションにより330ml容ビール瓶に詰め、打栓し、後発酵として12℃で5日間、さらに熟成として5℃で14日間静置した。熟成終了後に、アルコール分の分析を国税庁所定分析法^{5) 6)}に従い行った。また、試作品のうち香味が良好であると思われる5点を選択し、県内地ビール製造場の製造担当者らを評価者として、官能評価を行った。なお、官能評価試験は「苦味」、「コク」、「キレ」等を3点法により評価するとともに、オフフレーバー等の指摘事項をチェックした。これらをふまえて総合評価を3点法で行い、その平均点により順位付けをした。

2.4 パイロットスケールによる地ビール試作

ベンチスケール試作品に対する官能評価試験で香り味のバランスが良好であると評価を受けた酵母を用いて、1仕込み容量約150l規模のパイロットスケールによるビールの試作を行った。ビアタイプはベンチスケール試作と同様の「エールタイプ」と原料の一部に小麦を使用した「ウィートエールタイプ」の2タイプとした。パイロットスケール試作品についてもベンチスケール試作品と同様に、県内地ビール製造場の製造担当者らによる官能評価試験を行った。パイロットスケール試作品についても、ベンチスケール試作の官能評価試験と同様の項目について評価をし、総合評価を3点法で行い、その平均点により順位付けを行った。対照酒には、試作したビールと同様のビアタイプの市販酒を用いた。試作ビールの成分分析として、有機酸組成及び香氣成分の分析をそれぞれ表1、表2の条件で実施した。

3 結果および考察

3.1 麦汁モデル培地を用いた酵母の選抜試験

酵母は、自然界からの分離株や既存保有株等を登録した現在構築を進めている本県独自の微生物ライブラリーの137株を用いて試験を行った。このうち、14日間の発酵期間終了後のアルコール度数が一般的なビールと同等の3.5%以上となった株は28株であった (表不掲載)。またこれら28株の発酵後モデル培地について、特に香味が良好であった8株をベンチスケール試作株として選抜した (表3)。

【報告】

3.2 ベンチスケールによる地ビール試作

麦汁モデル培地による試験で選抜した酵母 8 株を用いて、アルコール度数が約 3.5% の低アルコール度数タイプと約 4.5% の一般的なアルコール度数タイプの 2 タイプを作製した。それぞれの試作品について、アルコール度数及び発酵期間を表 4 に示す。いずれの株も対照株と比較して、やや発酵能が弱く、アルコール度数が約 4.5% に達するまでに、14 日間程度を要した。低アルコール度数タイプについては、対照株による一般的なアルコール度数タイプの発酵に要する期間とほぼ同等の日数にて製造することができた。

本研究では一般的なビール製造に利用可能な酵母

を選抜するために、アルコール度数約 4.5% の試作品 7 点のうち、特に香味が優れていた 5 点について、県内地ビール製造場の製造担当者を評価員とした官能評価試験を行った。その結果、NMZ-0688 及び NMZ-1096 を用いた試作品が同点で最も高い評価を得た (表 5)。特に、NMZ-0688 を用いた試作品は、評価者から「エステル香を強く感じる」や「果実様の香りがする」など香りの特徴が非常に強く出る酵母であると評価された。そこで、NMZ-0688 をパイロットスケール試作における第一候補株として選抜した。また、NMZ-0688 と同点であった NMZ-1096 及び低アルコールタイプで良好な香味を示した NMZ-0717 についても、パイロ

表 1 有機酸組成分析装置と条件

装置：液体クロマトグラフ (アジレント・テクノロジー(株)製、1100 シリーズ)
カラム：Rspack KC-811 (昭和電工(株)製、8 mm I.D.×300 mm)
ガードカラム：Rspack KC-G (昭和電工(株)製、8 mm I.D.×50 mm)
カラムオープン：55℃
溶出液：4.8 mM HClO ₄ (流速 1 ml/min)
反応液：0.1 mM B.T.B、30 mM Na ₂ HPO ₄ ・12H ₂ O
検出器：UV-VIS (440 nm)
注入量：20 µl

表 2 香気成分分析装置と条件

装置 1：ヘッドスペースサンプラー (アジレント・テクノロジー(株)製、7697A)
装置 2：ガスクロマトグラフ (アジレント・テクノロジー(株)製、7820A)
装置 3：質量分析計 (アジレント・テクノロジー(株)製、5977B)
カラム：HP-5ms Ultra Inert (アジレント・テクノロジー(株)製、30 m×250 µm×0.25 µm)
キャリアガス：ヘリウム (流速 1.1 ml/min)
カラムオープン：40℃ (5 min) → (10℃/min) → 200℃ (5 min)
注入量：1.1 µl

表 3 ベンチスケール試作株の麦汁モデル培地におけるアルコール度数

酵母名	アルコール度数
NMZ-0685	4.75%
NMZ-0687	4.85%
NMZ-0688	5.00%
NMZ-0697	4.65%
NMZ-0717	5.20%
NMZ-0721	3.65%
NMZ-1096	5.25%
NMZ-1098	5.10%

トスケール試作を行うこととした。

表4 ベンチスケール試作のアルコール度数と発酵日数

酵母名	低アルコール度数タイプ アルコール度数	一般的なアルコール度数タイプ アルコール度数
対照株*	—	4.70%
NMZ-0685	3.60%	4.35%
NMZ-0687	3.60%	4.55%
NMZ-0688	3.65%	4.80%
NMZ-0697	3.90%	4.65%
NMZ-0717	3.55%	4.80%
NMZ-0721	3.40%	—
NMZ-1096	3.80%	4.90%
NMZ-1098	3.65%	4.60%

*) 対照株にはLondon Ale IIIを用いた。

表5 ベンチスケール試作の官能評価

順位	総合評価*	酵母名
1	1.90	NMZ-0688
1	1.90	NMZ-1096
3	2.00	NMZ-1098
4	2.30	NMZ-0717
5	2.40	NMZ-0697

*) 3点法による評価の平均点

1点：良い、2点：普通、3点：悪い

3.3 パイロットスケールによる地ビール試作

ベンチスケール試作の結果をもとに、NMZ-0688及び1096、0717株を用いて、1仕込み容量150lのパイロットスケールによるビール試作を実施した。NMZ-0688を用いた試作は、ベンチスケールと同様のエールタイプの仕込みの他、官能評価時の評価員のコメントを参考に、酵母が生成するエステル様の香りを活かせるウィートエールタイプの仕込みの2仕込みを実施した。また、NMZ-1096はエールタイプの仕込み、NMZ-0717は低アルコール度数のウィートエールタイプの仕込みとした。その結果、いずれの試作もベンチスケール試作と同等のアルコール度数のビールを製造可能であることを確認した(表6)。

このうち、特に香味が良好であったNMZ-0688を用いたウィートエールタイプ試作品について、これと類似したタイプの市販ビール4点を対照として用いた官能評価試験を実施した。その結果、NMZ-0688による試作品は同点で2位の評価を得た(表7)。また、試作品は香りが特徴的であり、バナナやパインのようなフルーツ様の香りやバニラ様の香りがすると評価された。

この試作品について有機酸及び香氣成分分析を行ったところ、有機酸については対照市販酒と差は見られ

表6 パイロットスケール試作品のビアタイプとアルコール度数

	酵母名	ビアタイプ	初期糖度 (°P*)	最終糖度 (°P)	理論アルコール度数
試作ビール1	NMZ-0688	ペールエールタイプ	11.5	2.4	5.4%
試作ビール2	NMZ-0688	ウィートエールタイプ	14	2.7	6.0%
試作ビール3	NMZ-1096	ペールエールタイプ	12	2.3	5.2%
試作ビール4	NMZ-0717	ウィートエールタイプ	9.9	2.7	3.8%

*) plato：糖度の単位

表7 パイロットスケール試作品の官能評価結果

順位	総合評価	ビール名
1	1.82	市販酒**1
2	1.91	試作品*
2	1.91	市販酒2
4	2.27	市販酒3
5	2.45	市販酒4

*) NMZ-0866を用いたウィートエールタイプのビール

**) 試作品と類似したビアタイプの市販酒

なかったが、香気成分については市販酒と比べて約3倍以上の酢酸イソアミルが検出された（表8）。ウィートエールタイプのビールにおいて、酢酸イソアミルは品質を決定づける特徴香のひとつであり、NMZ-0688はウィートエールタイプのビール製造に適した酵母であることがわかった。今後は、NMZ-0688だけでなくNMZ-1096及びNMZ-0717株についても、最適なビアタイプやその製造方法について検討を進めていく予定である。

4 まとめ

本研究において、ビール醸造に適した性質を有する酵母、NMZ-0688及び1096、0717の計3株を取得した。酵母の選抜は、麦汁モデル培地を用いて行い、麦汁発酵能の有無を指標とした。選抜試験を通過した8株の酵母を用いて、低アルコール度数（約3.5%）タイプと一般的なアルコール度数（約4.5%）タイプ、計15点ベンチスケール試作品を製造した。これらベンチスケール試作品の官能評価試験において高評価であった3株の酵母を用いて、パイロットスケールにて計4点の地ビールを試作した。今回のパイロットスケールによる地ビールの試作は、「ペールエールタイプ」と「ウィートエールタイプ」の2タイプのみであったが、その他のタイプのビール製造にも利用できる可能性があり、今後詳細な酵母の特性について解析を行うことで、開発した酵母の使いやすさを向上させることができると考えられる。

謝辞

本研究を進めるにあたり、麦汁の提供やパイロットスケールにおけるビールの試作にご協力いただきました（株）蔵屋鳴沢 稲村秀宣様、山田隼平様に深く感謝いたします。

参考文献

- 1) 国税庁課税部酒税課：酒のしおり（平成29年3月公表）。
- 2) 黄金井康巳：地ビール業界の現況と展望．日本醸造協会誌，107（1），11-18（2012）。
- 3) 徳田宏晴 他：日本における地ビール会社の現状と意識調査．日本食品保健科学会誌，26（1），29-35（2000）。
- 4) 藤原ヒロユキ：原料，「BEER HAND BOOK」，第二刷（株）ワイン王国，東京），pp. 15-34（2016）。
- 5) （財）日本醸造協会：清酒、合成清酒，「第四回改正国税庁所定分析法注解」，第四回改正版（（財）日本醸造協会，東京），注解編集委員会 編集，pp. 14-20（1993）。
- 6) （財）日本醸造協会：ビール，「第四回改正国税庁所定分析法注解」，第四回改正版（（財）日本醸造協会，東京），注解編集委員会 編集，pp. 58（1993）。

表8 官能評価を行ったパイロットスケール試作品と市販酒の香気成分分析の結果

サンプル名	酢酸イソアミル (ppm)	カプロン酸エチル (ppm)	イソアミルアルコール (ppm)
試作ビール	13.34	0.69	49.3
市販酒 1	3.00	0.35	57.4
市販酒 2	1.65	0.44	23.3
市販酒 3	3.32	0.45	33.7
市販酒 4	3.66	0.40	34.6