

海洋由来微生物を活用したサワービールの開発（第2報）

— ベンチスケール及びプラントスケール試作 —

バイオ科 横澤 賢* 勝山 聰** 鈴木雅博 高木啓詞***

Development of sour beer utilizing marine derived microorganisms (2nd report)

- Bench scale and plant scale prototyping -

YOKOZAWA Ken, KATSUYAMA Satoshi, SUZUKI Masahiro, TAKAGI Hiroshi

Based on the proposals of the Marine Bio Industry Vision, Shizuoka Prefecture is working to create new industries utilizing the power of the prefecture's location, the ocean. In addition, as of August 2022, Shizuoka Prefecture is home to 27 craft-beer breweries, making it one of the most famous craft beer-producing regions in Japan. Craft-beer breweries in the prefecture have been requesting the development of unique styles of beer. As such, the objective of this study was to create a sour beer, from bench-scale trial production to commercialization, that is unique to Shizuoka Prefecture using lactic acid bacteria and yeast derived from the prefecture's oceans. In the bench scale trial, 12 different sour beers with different pairs of yeast and lactic acid bacteria were created and subjected to sensory evaluation. The result was that the sour beer using SUG-0126 from deep-sea fish as the lactic acid bacteria and NMY-9 from whitebait as the yeast received the highest evaluation for sourness and fruity aroma, and the highest overall evaluation. These strains were prepared on a commercial scale and sensory evaluations were conducted along with commercial beer. The prototype had a lactic acid concentration 1.7 times higher than the bench scale, and was evaluated as having a strong, but sharp and pleasant acidity. On the other hand, as there were some who said that the strong acidity made it not generally well received, it was considered necessary to control the amount of lactic acid by the kettle-souring method. The prototype sour beer was sold under the name "Deep Sea Sour" and immediately sold out due to popular demand.

keywords : sour beer, marine baio, lact acid bacteria, yeast

静岡県は、マリンバイオ産業ビジョンの提言に基づき、本県の場の力である「海洋」を活用した新たな産業創出に取り組んでいる。また、令和4年8月において静岡県には27のクラフトビールメーカーが存在し、国内有数のクラフトビールの名産地となっており、県内クラフトビールメーカーからは、独自性のあるビアスタイルの開発の要望が寄せられている。そこで、本研究では、本県海洋由来の乳酸菌及び酵母を用いて静岡県独自のサワービールを作製することを目的とし、本報告では、サワービールのベンチスケール試作から商品化までを報告する。ベンチスケール試作では、酵母と乳酸菌の組み合わせが異なる12通りのサワービールを作製し、官能評価を行った。その結果、乳酸菌に深海魚由来のSUG-0126、酵母にシラス由来のNMY-9を用いたサワービールが酸味と果実香について評価が高く、総合評価が最も高くなった。これらの菌株を用いて商業規模で作製を行い、市販酒と併せて官能評価を行った。試作品は、ベンチスケールよりも1.7倍程度乳酸濃度が高くなり、「強いが、キレがあり心地よい酸味」という好評価が得られた。一方で、酸味の強さから「一般受けしない」という意見もあり、ケトルサワーリング法によって乳酸量をコントロールする必要性が考えられた。また、試作製造したサワービールは「Deep Sea Sour」という名前で販売され、好評により直ちに完売となった。

キーワード：サワービール、マリンバイオ、乳酸菌、酵母

* 現 環境衛生科学研究所 大気水質部

** 現 経済産業部 商工振興課

*** 退職

1 はじめに

静岡県では、マリンバイオ産業ビジョンの提言に基づき、深海域の駿河湾や岩礁域の相模湾など多種多様な環境を持ち、本県の場の力となっている「海洋」を活用した新たな産業創出に取り組んでいる。また、県内には令和4年度8月末時点において27のクラフトビールメーカーが存在し、国内有数のクラフトビールの名産地となっている。このような中で、県内のクラフトビールメーカーから当センターに対し、独自性のあるビアスタイルの商品や、差別化を図ることができる商品、設備面では設備新規導入コストの低減や、醸造安全性の確保などの要望が寄せられている。そこで、本研究では、本県海洋から得られた微生物と静岡の名産品であるクラフトビールを組み合わせることで、静岡県独自のサワービールを開発することを目的とした。サワービールとは、乳酸菌による発酵や果実の添加によって酸味を付与したビールのことであり、用いる乳酸菌や酵母の組み合わせによって、多種多様なうま味を形成することが知られている。また、サワービール醸造は、乳酸菌による乳酸発酵後に煮沸し、酵母を添加することで、他製品への乳酸菌の混入を防ぐことができるケトルサワーリング法が一般的に用いられる。そのため、サワービール醸造において乳酸菌には、麦汁中の速やかな増殖能や高い酸生成能が求められ、酵母には乳酸発酵により生成された乳酸含有下での速やかなアルコール生成能が求められる。第1報では、以上に述べたような特性を有する乳酸菌及び酵母を海洋資源から分離し、選抜した。本報では、それらを用いてベンチスケールにて試作品を作製し、官能評価試験を行った。その中で高い評価を得られた乳酸菌と酵母を用いてプランツケールにてサワービールを作製及び商品化したので報告する。

2 方法

2.1 選抜乳酸菌及び酵母を用いたベンチスケール試作

ベンチスケール試作では、前報¹⁾で選抜された乳酸菌3株、酵母2株に加え、市販されている乳酸菌及び酵母をそれぞれ1株ずつ加えた4×3の12通り（表1、表2）について試作品を作製した。

麦汁の作製にはMuntons社製のSPLAY MALT mediumを用いて液量7.5Lに対しBrix値（%）が13になるように加熱しながら溶解し、1分間沸騰させ、水浴で40℃まで急冷した。その後前培養液75mLを添加し、NMB-16は20℃で3日間、それ以外の乳酸菌は40℃で2日間乳酸発酵を行った。また、乳酸発酵の際はサンプリングを行い、HPLCにて既報²⁾に基づいて乳酸濃度を測定し、十分な乳酸が生成されていることを確認した。乳酸発酵後は、培養液を加熱して、乳酸菌を殺菌し、ナゲットホップペレットを1.6g添加し、90分間沸騰及び攪拌し、20℃まで急冷した。その後Brix値が、13になるように滅菌水で調整し、加熱による凝集物を除去しながら、上清を2.25Lずつ三角フラスコに分注し、前培養した酵母を250mL添加した。アルコール発酵は、培養液上清を簡易アルコール分析計アルコメイトAL-3（理研計器（株）製）にて測定し、海洋由来株酵母については4.5%、市販酵母については5.0%に達するまで行った。所定アルコール度数になったところで瓶詰めし、12℃で5日間、および4℃で10日間熟成を行った。完成した試作品はHPLCにより有機酸を、GC-MSにより香気成分を分析した。

2.2 ベンチスケール試作の官能評価試験

官能評価試験は、県内ビールメーカー製造担当者などビールのきき酒に精通している11名を評価者として実施した。評価方法は、「苦味」「コク」「キレ」等の一般評価を3点法（1：すばらしい～3：難点あり）、総合評価を5点法（1：すばらしい～5：難点あり）で行い、それらに加え自由記述欄を設けた。順位は、評価者の総合評価平均点により決定した。

2.3 プラントスケールによるサワービール醸造

商業規模による試作は、ベンチスケール試作品の官能評価において総合評価が最も高かった乳酸菌と酵母の組み合わせとし、沼津市にあるRePuBrew 合同会社に製造を依頼した。その際、麦汁は、Rahr Pale 2 row、三島小麦、Rahr Wheat maltをそれぞれ40%、40%、20%の割合で作製し、ホップはS arima T90を300g用いた。また、商業規模によるビールについても官能評価

試験を行った。試験は、前項2.2と同様の方法で、評価酒は試作品1点と既製品7点の計8点であり、評価者は8名とした。

表1 ベンチスケール試作で用いた乳酸菌

株名	属種	由来	特徴
市販菌*	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>	海藻（ヒラミル）	乳酸高生産性
		深海魚（トンガリヒゲ）	
SUG-0126	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	深海魚（サンゴイワシ）	低温培養可能 酢酸高生産性
NMB-18			

* LALLEMAND 社 Sour Pitch

表2 ベンチスケール試作で用いた酵母

株名	属種	由来	特徴
市販菌**	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	-	乳酸含有果汁にて 良好なアルコール生成
NMY-13		海藻（アオサ）	
NMY-9***		シラス	

*: Wyeast 社 London Ale III

**: 清酒用酵母の分離・選抜試験にて取得した株

3 結果および考察

3.1 ベンチスケール試作による官能評価

ベンチスケール試作品のアルコール分及び有機酸を表3に、香気成分及び官能評価の総合評価を表4に示す。乳酸菌にSUG-0126、酵母にNMY-9を用いた試作品が最高評価であった。評価として、サワービールらしい酸味や、洋ナシやバナナのような果実香が、高い評価を得ていたことから、SUG-0126の高い酸生成能及びNMY-9の吟醸香の一つである酢酸イソアミル高生成能と、オフフレーバーであるアセトアルデヒドを生成しなかったことが高評価の要因であったと考えられる。また、低温培養が可能で、酢酸の生成量が多いという理由で選抜した乳酸菌NMB-16については、高い評価を得ることができなかった。NMB-16の一般評価では、甘味が目立つという評価が多くみられたことから、酢酸は多く生成するものの、今回利用した乳酸菌が生成する乳酸の50%程度しか生成していないことが原因であると考えられる。また、一般評価と総合評価の相関解析において、「酸味の強度」よりも「酸味の快さ」に高い相関がみられ、その相関係数は0.92と高い正の相関がみられた。以上から、酸の総量よりも酸のバランスが重要であると考えられる。さらに、各有機酸と「酸味の快さ」の相関解析では、乳酸に負の相

関がみられただけでなく、クエン酸に正の相関がみられた。以上からサワービール醸造には、乳酸だけでなくクエン酸についても評価する必要があると考えられる。

表3 ベンチスケール試作品のアルコール分及び有機酸（一部抜粋）

No	乳酸菌	酵母	有機酸 (mg/L)		
			アルコール分	乳酸	酢酸
1	市販菌		4.75	2,832	51
2	市販菌	NMY-9	4.60	2,887	167
3		NMY-13	4.50	2,840	65
4	市販菌		4.85	3,464	72
5	NMB-28	NMY-9	4.46	3,258	200
6		NMY-13	4.25	3,540	106
7	市販菌		4.80	3,465	49
8	SUG-0126	NMY-9	4.60	3,562	212
9		NMY-13	4.45	3,434	82
10	市販菌		4.45	1,509	272
11	NMB-16	NMY-9	4.30	1,680	363
12		NMY-13	4.30	1,644	307

表4 ベンチスケール試作品の香気成分及び官能評価（一部抜粋）

No	乳酸菌	酵母	香気成分 (mg/L)				官能評価		
			酢酸	カプロン酸	アセト	イソアミル*	エチル**	アルデヒド***	評点 順位
1	市販菌		2.55	ND	187	ND	ND	3.82	12
2	市販菌	NMY-9	3.76	1.35	135	ND	ND	3.18	5
3		NMY-13	2.40	ND	226	ND	ND	3.45	10
4	市販菌		2.67	ND	237	ND	ND	3.00	3
5	NMB-28	NMY-9	2.94	1.28	129	ND	ND	3.00	3
6		NMY-13	1.90	1.29	184	ND	ND	3.18	5
7	市販菌		2.35	ND	ND	ND	ND	2.73	2
8	SUG-0126	NMY-9	3.28	1.23	ND	ND	ND	2.27	1
9		NMY-13	1.90	ND	ND	ND	ND	3.64	11
10	市販菌		2.36	ND	ND	ND	ND	3.36	9
11	NMB-16	NMY-9	3.73	ND	ND	ND	ND	3.27	7
12		NMY-13	1.91	ND	ND	ND	ND	3.27	7

ND: 検出限界以下

*: バナナ様の香り

**: リンゴ様の香り

***: やや青臭い香り

3.2 プラントスケールによる官能評価

プラントスケールの試作ではベンチスケールの官能評価において最も評価が高かった深海魚由来乳酸菌 SUG-0126 とシラス由来酵母NMY-9を用いて行った。官能評価では、他商品と比べて総合評価は低かったものの、「強いがキレがあり心地よい酸味」等の評価が得られ、商業規模でも問題なく利用可能であることが確認された。各評価酒の有機酸成分を図1に示すが、ベンチスケール試

作品よりも乳酸量が1.7倍となった。これは、ベンチスケール試作では40°Cで乳酸発酵を行ったのに対して、プラントスケール試作では35°Cで行ったことから、今回用いた乳酸菌の増殖に適した温度が35°Cであると考えられる。また、ベンチスケール試作では好気的な環境で培養を行っているが、商業規模試作ではタンク内の空気を炭酸ガスに置換することで嫌気的な環境で培養を行っている。このことから、本乳酸菌が嫌気的な環境を好むことが考えられる。さらに、総有機酸量が多い評価酒については、評価が低くなる傾向がみられた。試作品のコメントにも、上述したように強い酸味に好ましい評価もみられた一方で、「ピリピリとした酸味」や「一般客には受けない」という否定的な意見もみられた。そのため、SUG-0126を用いる際には、ケトルサワーリング法によって、乳酸発酵を煮沸殺菌によって止めることで、好ましい乳酸量に留める必要があると考えられる。なお、今回試作したサワービールについては、「Deep Sea Sour」という名前で、製造会社の直営オンラインショップで販売をしたが、好評により直ぐに完売となった。

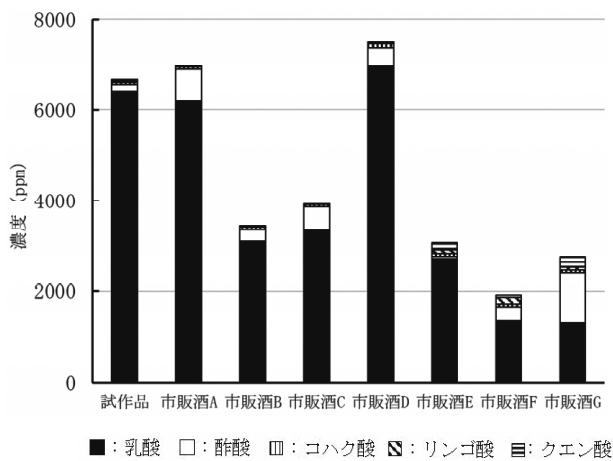


図 1 プラントスケール試作品及び市販酒の有機酸組成

4 まとめ

本研究では、静岡県海洋から得られた乳酸菌及び酵母を活用してサワービールの開発を目指した。ベンチスケール試作品として12点作製したところ、深海魚由来乳酸菌SUG-0126とシラス由来酵母NMY-9を用いたものが酸味や香りの評価が高く、総合評価が最も高くなかった。これらの結果を用いてクラフトビールメーカーに商業規模での製造を依頼し、商業規模でも問題なく利用可能であることを確認した。さらに、商業規模で製造したビールについて他の市販品とともに官能評価を行った。商業規模で製造したサワービールはベンチスケールよりも乳酸が1.7倍程度高くなっている、「強いが、キレがあり心地よい酸味」という評価の一方、「ピリピリした酸味」や「一般受けしない」という意見もあった。このことから、乳酸菌による乳酸発酵をケトルサワーリング法でコントロールする必要性が考えられた。

謝辞

本研究を行うにあたり、実験方法等について、ご指導いただきました東京農業大学応用生物科学部醸造科学科進藤齊准教授、商業規模試作を行っていただいた RePuBrew 合同会社様、官能評価試験に参加していただいた評価者の皆様に深く感謝いたします。

参考文献

- 1) 横澤 賢 他：海洋由来微生物を活用したサワービールの開発. 静岡県工業技術研究所研究報告, (15), 75-77 (2022).
- 2) 黒瀬智英子 他：海洋資源からのサワービール用乳酸菌の分離と評価. 静岡県工業技術研究所研究報告, (14), 80-81 (2021).