

# 福島県オリジナル清酒酵母を用いたビール醸造方法の最適化

Optimization of beer brewing method with SAKE yeast developed in FUKUSHIMA prefecture

会津若松技術支援センター 醸造・食品科 中島奈津子 齋藤嵩典

福島県オリジナル清酒酵母を用いたビール製造のための最適条件を求めた。高カブロン酸エチル生成酵母を用い、日本酒の吟醸香を適度に持ち、ビール酵母単独発酵と同程度の発酵期間で仕上げるための条件について、初期麦汁濃度や酵母密度、発酵温度などのパラメータから最適な発酵条件を見出した。また、清酒酵母とビール酵母の混合発酵により、ビール酵母単独では得られない複雑な香味を呈することが明らかとなった。今後、県オリジナル清酒酵母でのビール製造の拡大が期待される。

Key words: ビール、清酒酵母、カブロン酸エチル、有機酸

## 1. 緒言

福島県ではこれまで清酒用酵母の開発を進めてきた。清酒用酵母は、低温かつ低 pH 条件下でのアルコール発酵性に優れ、適度な酸と香気を生成するなど、清酒製造に適した特性を有する。

株式会社ホップジャパンは、田村市都路町の公共施設「グリーンパーク都路」内に「ホップガーデンブルワリー」を設立・運営し、ホップ栽培、ビール・発泡酒製造を行っている。県内産の農産物を活用したビール・発泡酒製造活動を精力的に行い、地域振興につながるるとともにその品質は高く評価され、コンテスト等での受賞を重ねている。

令和3年、桜の時期に合わせて発売する和のテイストを含んだビール(桜ラガー)の開発に着手した。和のテイストを日本酒の吟醸香で表現する製品コンセプトのもと、試験醸造にリンゴ様の香気を呈する「カブロン酸エチル」を高生産する福島県オリジナル清酒酵母「うつくしま煌酵母(煌酵母)」を使用した。完成した試験醸造ビールは、官能的に煌酵母の特徴であるカブロン酸エチルの香気が感じられ、既存製品とは明らかに異なる製品特性を備えていたが、一方では初期発酵の顕著な遅れがあり、発酵完了まで予定の2倍以上の発酵期間を要するなどの課題を残した。

清酒酵母を使用したビールは県産酒類の製品の多様化及び特徴づけに大きく寄与すると考えられ、県内のビール製造場での幅広い利用が期待される。安定発酵のためには、試験醸造時に確認された初期発酵不良を改善し、発酵期間の短縮を可能にする方法を明らかにする必要がある。これまで、煌酵母を使用したビール製造は前例がなく、発酵麦汁適性及び適切な発酵管理技術は確立されていない。なお、煌酵母はビール麦汁に含まれる主な糖源であるマルトースの発酵能力が温度によって異なることがこれまでの研究から示唆されている<sup>1)</sup>。

よって本研究では、これらの知見をもとに、煌酵母を用いたビール製造における初期発酵条件、またビー

ル酵母との混合発酵による香味バランスについて試験を行い、清酒酵母を用いたビール製造方法に関する新たな知見を得ることを目的とした。

## 2. 実験

### 2. 1. 試験醸造ビールの分析

#### 2. 1. 1. 試料

令和3年12月に(株)ホップジャパンにて醸造した桜ラガーを製造途中で11回に分けてサンプリングし冷凍保存したもの、そして発酵終了後から熟成させた試料を冷凍保存した計12点の試料を用いた。分析に供するまで冷凍にて保管し、分析時に水中で解凍した。なお、発酵は社内のラガー発酵製法にて温度経過させた。初日に煌酵母を添加、14日後にビール酵母を添加した。

#### 2. 1. 2. 分析方法

比重はビール Wort 屈折計 (Timvasion 社)、香气成分はガスクロマトグラフ 7890B (Agilent 社)を用い、内部標準法にて測定した。

### 2. 2. 煌酵母を用いた麦汁発酵試験

#### 2. 2. 1. 発酵試験

酵母は、うつくしま煌酵母 701—g 31 (C10)を用い、対照として(株)ホップジャパンより提供されたビール酵母を用いた。いずれも麴汁培地にて 30℃、120[rpm]、一晚振盪培養し、遠心分離にて集菌したものを使用した。

麦汁は、市販の麦芽エキス (SPRAY MALT light、Muntons 社)を使用し、その量により各試験区の初期比重を調整した。試験には、麦芽エキスを溶解した後沸騰させ、ろ過して清澄化した麦汁を用いた。

発酵試験は、初期比重を 1.02、1.03、1.04、1.05、1.06、1.07 の6段階に調整した麦汁に煌酵母 (C10)及びビール酵母をそれぞれ終濃度  $1 \times 10^7$  [個/ml]、 $1 \times 10^4$  [個/ml]になるように添加し、発酵温度を 11℃及

び25℃とした計48試験区にて行った。発酵は空冷式恒温器内で5日間行った。

## 2. 2. 2. 分析方法

アルコール分は脱気した試料をアルコメイト AL-2(理研計器株)にて測定した。pH は HM-50G(東亜 DKK 社)、比重はビール Wort 屈折計 (Timvasion 社)、濁度は発酵麦汁を攪拌して 10 倍に希釈した試料の吸光度 660[nm] を分光光度計にて測定し、測定値に 10 を乗じて算出した。なお、吸光度測定の際には、酵母を添加していない麦汁を用いてゼロ合わせを行った。

## 2. 3. ビール酵母との混合発酵条件の検討

### 2. 3. 1. 発酵条件

麦汁は、(株)ホップジャパンより提供されたラガービール用麦汁 (IBU60、比重 1.06) を蒸留水で希釈し、比重 1.05 に調整後、ろ紙 (No. 2、ADVANTEC 社) にてろ過したものを使用した。

酵母は、2. 2. 1. のとおり前培養し、遠心分離で集菌したのち麦汁に再懸濁したものを使用した。

燐酵母を終濃度  $1 \times 10^8$  [個/ml] および  $1 \times 10^7$  [個/ml] となるように麦汁に添加し、25℃で保持した。2 日後、3 日後、6 日後にビール酵母を  $1 \times 10^8$  [個/ml] の濃度で添加し、11℃にて保持した。対照にはビール酵母を添加せず 25℃で保持した試験区と、発酵初日にビール酵母のみを終濃度  $2 \times 10^8$  [個/ml] となるように添加し 11℃で保持した試験区とした。発酵は 16 日間行った。

### 2. 3. 2. 分析方法

比重はビール Wort 屈折計 (Timvasion 社)、アルコールはアルコメイト AL-2(理研計器株)、香气成分はガスクロマトグラフ 7890B(Agilent 社)を用いた内部標準法、有機酸は高速液体クロマトグラフ EXTREMA(日本分光株)を用いてポストカラム法で測定した。

## 3. 結果及び考察

### 3. 1. 試験醸造ビールの分析

比重の減少を図 1 に示す。発酵開始後 9 日目までは比重の減少がみられなかったが、10 日目以降に漸減し、ビール酵母を添加した 14 日目から顕著な比重の減少が確認された。

また、香气成分の変化を図 2 に示す。燐酵母の特徴であるカブロン酸エチルは 9 日目から増加し、17 日目に最大となったのち減少することが確認された。また、その他の香气成分については、アセトアルデヒド以外は発酵が進むにつれて増加していくことが確認された。

ラガー発酵の発酵温度帯において、燐酵母のみの状

態では比重が減少するまでに 9 日間を要していた。これは、この環境で酵母が増殖および発酵を行うまでに順化が必要だったことを示していると考えられる。アセトアルデヒドが 12 日目までにかけて増加しているが、これは燐酵母による代謝で生成したもので、7 日目以降に酵母の代謝が活発化したことを示唆している。

ビール酵母の添加後、比重が顕著に減少したことから、ここからアルコール生成が旺盛に行われたと考えられる。また、香气生成については、ビール酵母添加後に酢酸イソアミルが増加し、その他の香气についても増加していることを確認した。ビール酵母添加前に増加がみられた香气成分については、燐酵母由来であると考えられ、特に特徴香であるカブロン酸エチルは燐酵母によって旺盛に生成され、ビール酵母では生成されていないことがわかる。

以上のことから、麦汁中で燐酵母の増殖を促すには温度及び初期酵母密度の最適条件を探る必要があることがわかった。また、燐酵母の増殖により、ビール酵母では生成しないカブロン酸エチルが生成することが確認された。そこで、麦汁中で燐酵母の増殖を促すため、既報の知見<sup>1)</sup>をもとに、高温下で燐酵母のマルトースの資化を促し、増殖させたのち、ビール酵母を添加してアルコール生成とカブロン酸エチルの生成を実現する方法について検討することとした。

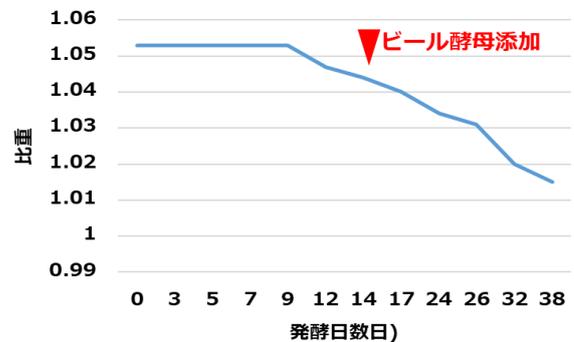


図 1 試験醸造ビールの比重変化

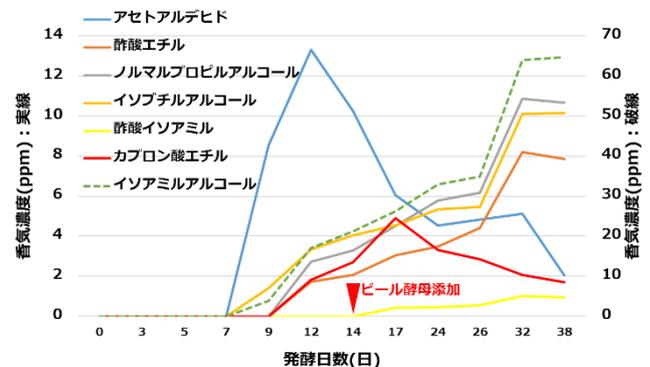


図 2 試験醸造ビールの香气成分変化

### 3. 2. 燐酵母を用いた麦汁発酵試験

初期比重が異なる麦汁で酵母密度の異なる発酵試験を行った結果は図3～図6のとおり。

まず、比重 1.03、1.05、1.07 の試験区について、発酵終了前後の pH の差 ( $\Delta$ pH) を示した (図3)。比重が高い試験区では、いずれの条件でも最も pH 減少幅が小さかった。

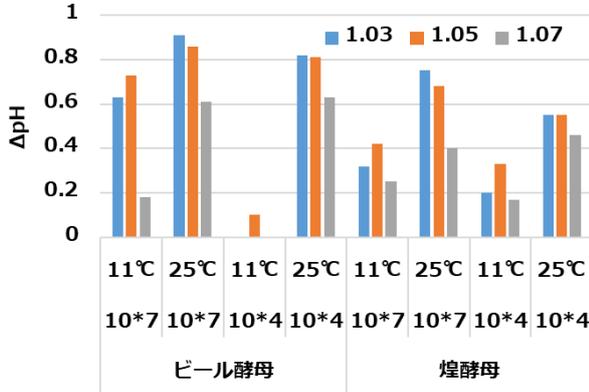


図3 酵母およびその密度と発酵による pH 減少の比較

次に、発酵に伴う比重の減少値 (図4) について、ビール酵母は、25°C 発酵では初期酵母密度に依らず比重 (糖濃度) と比重減少量が比例し、一般的なラガー発酵温度である 11°C ではその傾向がみられず横ばいとなった。また、初期密度を 1/1000 に減らした試験区では比重の減少がほぼ見られなかった。一方、燐酵母は、ビール酵母のような比重 (糖度) 依存性の傾向はみられず、いずれの条件においてもほぼ横ばいの傾向であった。

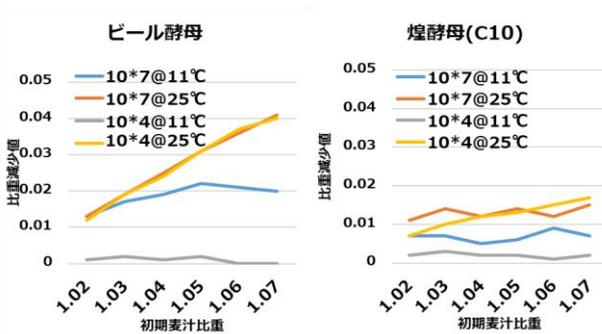


図4 初期麦汁比重の違いが比重減少に及ぼす影響

発酵に伴うアルコール生成 (図5) については、図4と似た挙動となった。ビール酵母は 11°C、 $10^7$  [個/ml] の一般的な発酵条件では、こちらも一般的な麦汁比重である 1.05 付近で最大値となり、比重が高い場合にはアルコール生成量が減少した。燐酵母は発酵温度を上げてても十分なアルコール生成は確認されなかった。しかし、11°C 発酵において、低密度の条件でのアルコー

ル生成量をビール酵母と比較すると、ビール酵母ではほぼアルコール生成がみられないのに対し、燐酵母ではアルコール生成が行われていることが分かった。

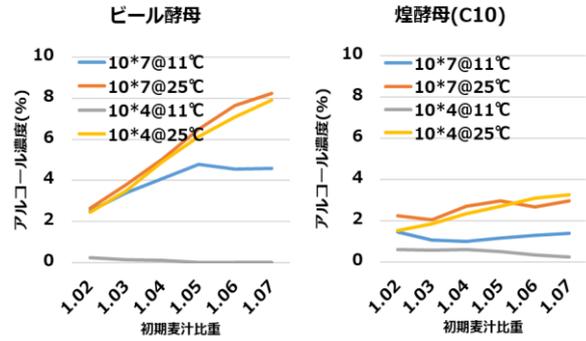


図5 初期麦汁比重の違いがアルコール生成に及ぼす影響

次に、酵母の増殖を示す濁度の測定結果を比較する (図6) と、ビール酵母の増殖は比重 (糖度) と比例せず、初期比重 1.05~1.06 付近が最大となった。

また、燐酵母を用いて 25°C で発酵させると、ラガー発酵条件 (ビール酵母、 $10^7$  [個/ml]、11°C) と同程度の酵母数を得られること、そしてそれが初期酵母密度に依らず、1/1000 の初期添加量でも可能であることが分かった。なお、燐酵母は発酵終盤に沈降し、ビール酵母と同程度の凝集性を示した。

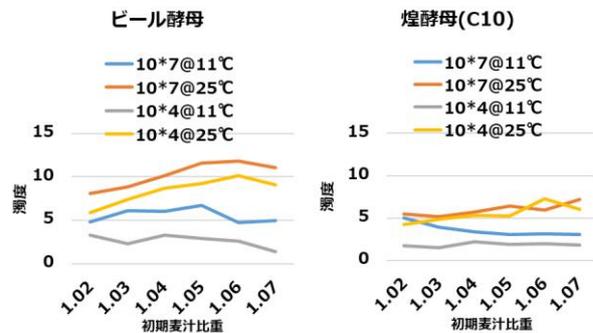


図6 初期麦汁比重の違いが濁度に及ぼす影響

これらの結果から、燐酵母とビール酵母は異なる麦汁発酵適性を有していることが推察される。また、ビール酵母において、初期麦汁比重 (糖度) が低いと十分なアルコール生成が行われないことがわかった。この理由として、低比重の麦汁では糖の量に限りがあり、酵母の増殖が緩やかとなり菌体量が少なくなっていること、そして十分なアルコール発酵が行えていないことが考えられる。また、反対に高比重の麦汁では発酵が旺盛に行われアルコール生成も十分であるが、酵母の増殖が抑制されていることが確認された。この理由は明確ではないが、ビール酵母が濃糖もしくは高濃度

アルコールストレス等により生育阻害を受けている可能性がある。本試験では追及できなかったため、これについては今後、調査を進めていく予定である。

適度なアルコール生成と酵母数の確保を両立するには、初期麦汁の比重を適切に設定することが重要であることが改めて示唆された。また、燐酵母はビール酵母に比べ低温発酵性に優れている可能性があることを認めた。そして、発酵末期にはビール酵母と同程度の凝集性を有することから、ビール製造におけるリピッチ（酵母の回収および再利用）にも適していることが示された。

本試験により、燐酵母は25℃の条件でビール酵母と同程度の増殖を示すことが確認されたことから、まずは25℃で燐酵母の増殖を促し、カプロン酸エチルの生成に必要な酵母数を得ることとした。その後、ビール酵母を添加し、アルコール生成を促すこととし、次項においてその添加時期や添加量について検討することとした。

### 3. 3. ビール酵母との混合発酵条件の検討

ビール酵母と燐酵母の混合発酵終了時の麦汁比重の変化を図7に、アルコール濃度を図8に示す。

燐酵母の初期酵母密度によらず、ビール酵母を2日後に添加した試験区において比重の減少、アルコール生成が最も大きくなった。ビール酵母単独で発酵させた試験区ではアルコール5%を達成し、これに次いでアルコールを生成したのは燐酵母の初期密度  $10^4$  [個/ml]、25℃保持2日の試験区で生成アルコールは4.2[%]、次が酵母の初期密度  $10^7$  [個/ml]、25℃保持2日の試験区で生成アルコールは3.6[%]だった。

ビール酵母を添加しない試験区およびビール酵母添加を6日後に行った試験区はいずれもアルコール生成が鈍かった。

なお、混合培養においてもビール酵母および燐酵母はいずれも沈降性を有し、発酵後期には容器底面に凝集した。

これらの結果から、ビール酵母単独発酵と同程度のアルコール生成を行うためには燐酵母を添加後、25℃にて2日間保持し、その後ビール酵母を添加し通常のラガー発酵を行う方法が適切であることがわかった。なお、燐酵母の初期添加量はビール酵母の1/1000程度で良く、通常の発酵規模であれば極端な拡大培養を行う必要もなく、簡便であるとともに酵母にかかるコスト削減が可能である。

ビール酵母添加時期が遅い試験区でアルコール生成が少なかった理由は、燐酵母の増殖のために糖が資化され、ビール酵母が増殖・アルコール発酵を行うための糖が枯渇していたことが考えられる。これについては、発行麦汁中の糖の濃度や組成分析などを行うことで明らかにすることが出来ると思われる。

酵母混合発酵による香味の変化について、発酵終了時の有機酸量と組成を図9に、香り成分について図10、図11に示す。

ビール酵母単独発酵と比較すると、燐酵母との混合により有機酸量が増加することが確認された。特に、アルコール生成が旺盛だったビール酵母2日後添加の試験区の有機酸量が最も高かった。組成については、燐酵母の添加によりコハク酸が増え、酢酸が減少する傾向を確認した。

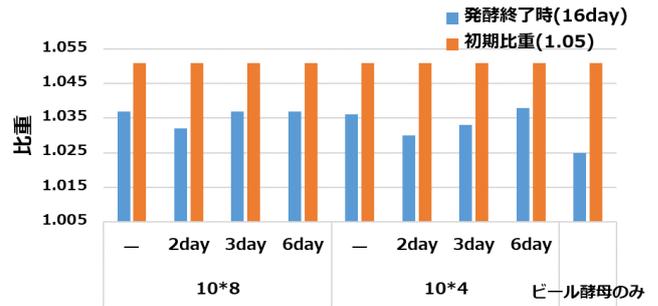


図7 酵母混合発酵終了時の麦汁比重の変化

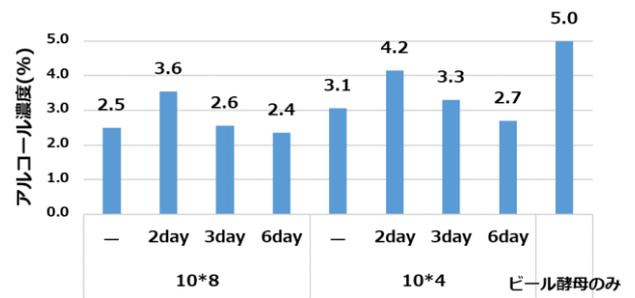


図8 酵母混合発酵終了時の生成アルコールの比較

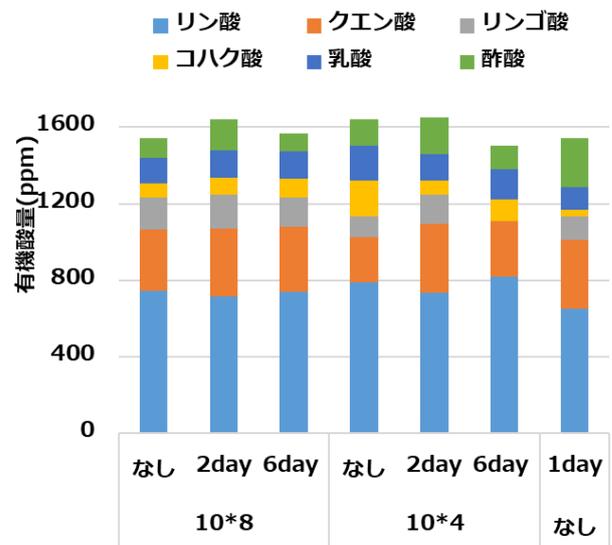


図9 酵母混合発酵終了時の有機酸の比較

煌酵母は、ごくわずかな添加量にもかかわらず単独発酵では得られない特性を持たせることができる可能性を示唆した。清酒酵母はコハク酸や乳酸を生成する特性があり、味の複雑さやうまみが付与され、既存製品との差別化に大いに役立つことが期待される。

なお、麦芽エキスを用いた試験においても、総有機酸量及び有機酸組成については同様の結果が得られた(データ未掲載)。また、興味深いことに、麦汁を用いた試験で得られた有機酸量はエキスを用いた試験よりも1~2割程度多いことがわかった。理由についての調査および試験は行っていないが、麦芽エキス中に酵母の代謝を活性化し、有機酸量の増加に働く要因があるかもしれない。

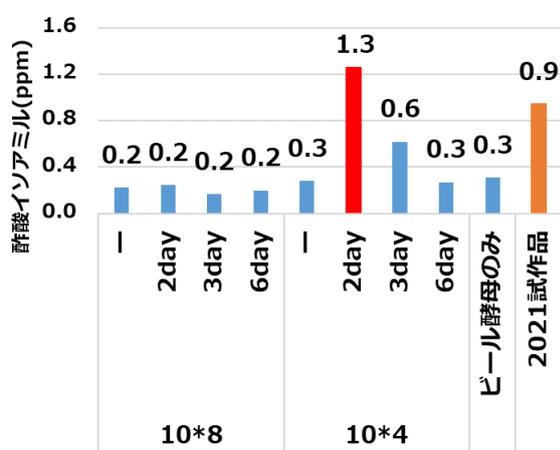


図10 酵母混合発酵終了時の生成香り成分の比較

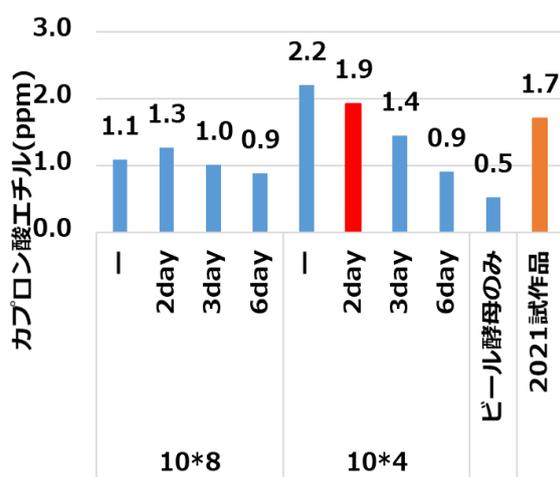


図11 酵母混合発酵終了時の生成香り成分の比較

香り成分については、ビールの主要エステルである酢酸イソアミル、そして本試験の目的であるカプロン酸エチルのいずれのエステルもビール酵母2日後添加の試験区において最も高い結果となった。

試作品の測定値をもとに、試作ビールに香り成分を

添加し、目標とする香りバランスについて事前に協議を行っていた。その際に決定した目標値は酢酸イソアミルが0.8~1.5[ppm](2.0[ppm]以下)、カプロン酸エチルが1.8~2.0[ppm](4.0[ppm]以下)であった。国内外の市販ビールの香り成分の平均値は酢酸イソアミル0.6~4.0[ppm]、カプロン酸エチル0.1~0.5[ppm]である<sup>2)</sup>。

本試験については数回再現性を確認したがいずれも同じ結果が得られた。すなわち、煌酵母の初期密度、ビール酵母の添加時期を調整することで目標とする香りバランスを達成できることがわかり、一般的なビールにはほとんど含まれない日本酒の吟醸香であるカプロン酸エチルの特性を有したビール製造が可能になることがわかった。

他県では地域特産品を利用したビール開発も行われている<sup>3)</sup>。清酒酵母のビール発酵適性について今後も知見を深め、製品開発ならびに品質向上に寄与していきたい。

#### 4. 結言

- ・福島県オリジナル清酒酵母「うつくしま煌酵母」のうち、最もカプロン酸エチル生成能力が高い701-g31を用いたビール製造の最適化を行った。
- ・701-g31は、ラガー発酵温度帯ではアルコール生成が十分に行えないことがわかった。
- ・701-g31は25℃で発酵させた場合、ビール酵母と同程度の酵母数まで増殖できることがわかった。
- ・煌酵母はビール酵母に比べ、低い酵母密度条件下での麦汁の低温発酵性に優れていることがわかった。
- ・煌酵母とビール酵母の添加時期を調整することで、吟醸香カプロン酸エチルを有し、ビール酵母単独発酵と同程度のアルコール生成が可能となることがわかった。
- ・清酒酵母を混合発酵させることで、有機酸組成などにおいてビール酵母単独とは異なる香味が付与できることがわかった。

#### 参考文献

- 1) 中島奈津子ほか, 福島県オリジナル清酒製造技術の開発(第2報)-清酒酵母の糖発酵性に関する試験-, 福島県ハイテクプラザ試験研究報告, 67-68(2017)
- 2) (財)日本醸造協会 ビール酒造組合 国際技術委員会編, ビールの基本技術(2014)
- 3) 丸山裕慎ほか, 地域特産果実を副原料として用いた新香りクラフトビールの開発, 日本食品化学工学会誌, 68(1), 21-31(2021)