

清酒醸造用乳酸菌を用いたサワービール製造条件の最適化

Optimization of "Sour Beer" production condition using Lactic acid bacteria for sake

会津若松技術支援センター 醸造・食品科 中島奈津子 松本大志

清酒の伝統的な方法である生酏酒母製造に用いられる生酏乳酸菌 (*Lactobacillus sakei*, *Leuconostoc mesenteroides*) を用いて麦汁を乳酸発酵し、サワービールを製造するための条件検討を行った。生酏乳酸菌は市販サワービール製造用乳酸菌と同様にホップ由来 α 酸への感受性を有した。また、市販サワービール製造用乳酸菌に比べ、マルトース資化性が弱いいため、麦汁を酵素分解しグルコース濃度を高めることが pH の低下に有効であることがわかった。

Key words: サワービール、乳酸菌、生酏

1. 緒言

サワービールとは、乳酸菌が生産する乳酸を含む酸味の強いビールを指し、世界的にはベルギーの伝統的なビアスタイルの一つであるランビックがよく知られている。国内で製造されるサワービールは、二酸化炭素で嫌気条件にしたマッシング後の麦汁に乳酸菌を添加し、乳酸発酵を行う。pH 低下を確認後、煮沸殺菌した麦汁に酵母を添加しアルコール発酵を行うケトルサワーリング方式で製造される。また、ホップ中に含まれる α 酸は細菌の生育を抑制する効果を持つ。市販乳酸菌の多くは α 酸への耐性が低い(感受性が高い)ため、ホップ由来の苦味を付与する工程であるマッシングの際にホップの使用を控え、苦味が抑えられたビールになる場合が多い。

現在日本国内ではクラフトビール製造場が約 1 0 0 0 場に迫る勢いで増え、各々特色のあるビアスタイルの探求に余念がない。関根木材工業(株)は、福島県南会津町にて 2 0 1 7 年より「南会津マウンテンブルーイング(MMtB)」の屋号でクラフトビール製造を開始した。2 0 2 4 年には工場を増設し、地域特産品を原料としたビール生産に精力的に取り組んでいる。

麦汁原料の一部に南会津町の清酒製造場の精米工程の副産物である米糠(酒造好適米由来)を使用できることになり、清酒と関連付けるため、伝統的な生酏酒母製造に使用される乳酸菌を利用したサワービール製造に着手した。しかし、これまで海外製のサワービール製造用乳酸菌を用いた製造経験はあるが、生酏乳酸菌は菌種が異なる。また、清酒とビールでは乳酸菌の生育環境も異なる。そのため、生酏乳酸菌を用いて麦汁 pH 低下を促すため乳酸発酵条件について検討した。

なお、条件検討にあたっては、麦汁への乳酸菌添加の際に湯戻しなどの活性化作業は行わず培養後の菌体をそのまま使用し、乳酸菌添加後 35°C、4 8 時間以内に麦汁 pH が 3.5 以下となる条件を見出すことを目的とした。

2. 実験

2. 1. ホップ由来 α 酸への耐性の確認

生酏乳酸菌は *Lactobacillus sakei* (株) 秋田今野商店より購入)、*Leuconostoc mesenteroides* LT-38(奈良先端科学技術大学院大学渡辺大輔准教授より分譲)の 2 株、対照の市販サワービール製造用乳酸菌として HELVETICS PITCH (*Lactobacillus helveticus*)、SOUR PITCH (*Lactobacillus plantarum*) (いずれも LALLEMAND) の 2 株を使用した。乳酸菌の前培養には Difco Lactobacilli MRS Broth (Becton, Dickinson and Company) を用い、35°C で行った。麦汁は関根木材工業(株)より提供されたホップ無添加麦汁、ホップ添加麦汁 (IBU60) をそれぞれ比重 1.052 (Brix12.6) に調整した。

嫌気発酵試験は資料¹⁾を一部改変して実施した。麦汁をバイアル瓶(マルエム No. 5)に 10mL 分注した後、アスピレーター内でダイヤフラム真空ポンプ DTC-41 (アルバック機構株)での脱気と窒素ガス置換を一晚行った。プチルゴムキャップで密栓し、ヘッドスペースを窒素置換した後、オートクレーブ滅菌を行った。内部を窒素置換したシリンジとニードルを用いて前培養した菌体を終濃度 1×10^6 cells/ml となるようにバイアルに注入添加し、35°C にて静置した。製造場へのスムーズな技術移転のため乳酸生成の確認は pH 測定で代替し、PAL-pH (株) アタゴ)にて測定した、濁度は分光光度計 UV-1200 (株) 島津製作所)にて測定した吸光度(測定波長 660nm)で示した。対照試験区と試料を希釈し、対照試験区を測定した値でゼロ補正して試料を測定した値に希釈倍率を乗じ、濁度 (A660) とした。

2. 2. 無酸素培養の必要性の確認

乳酸菌および前培養、嫌気発酵試験は 2. 1. と同様に行った。好気発酵試験は麦汁 10mL を 18×180mm の試験管に分注し、シリコ栓で蓋をしてオートクレーブ滅菌した。前培養した菌体を終濃度 1×10^6 cells/ml

となるように添加し、35℃にて静置した。測定は2. 1. と同様に行った。

2. 3. 麦汁の酵素剤処理による効果の検証

乳酸菌および前培養は2. 1. と同様に行った。なお、生醗乳酸菌は *Lactobacillus sakei* のみを供した。ホップ無添加麦汁を比重 1.060 (Brix14.2) に調製し、酵素未処理区は2. 1. および2. 2. と同様に滅菌処理を行った。酵素処理区は、比重調整後の麦汁にグルコアミラーゼ (グルコアミラーゼ「アマノ」SD (アマノエンザイム (株))) を1% (w/v) 添加して 55℃で2時間静置し、麦汁中のマルトースをグルコースに分解した。酵素処理後は麦汁を煮沸して失活させ、嫌気発酵試験は2. 1.、好気発酵試験は2. 2. と同様に行った。麦汁のグルコース濃度は、グルコースCIIテストワコー (富士フィルム和光純薬 (株)) にて測定した。

3. 結果

3. 1. ホップ由来α酸耐性の確認

培養開始後24、48、72時間経過後のpHおよび

濁度の変化を図1に示す。市販乳酸菌 HELVETICS PITCH (*Lactobacillus helveticus*) (HSP (L. h)) および SOUR PITCH (*Lactobacillus plantarum*) (SP (L. p))、生醗乳酸菌 *Lactobacillus sakei* (L. s)、*Leuconostoc mesenteroides* (L. m) いずれもホップ添加麦汁 (IBU60) ではpHの低下、濁度の上昇は見られなかった。

一方、ホップ無添加麦汁においては、市販乳酸菌のうちHSP (L. h)が24時間後にpH3.44まで低下した。また、SP (L. p)も24時間後にpH3.58、48時間後にpH3.36まで低下し、いずれも培養開始後48時間でpH3.5以下となったのに対し、生醗乳酸菌の2種類は48時間経過時点のpHは3.74 (L. m)、3.73 (L. s)で、72時間経過後もそれ以上のpH低下は見られなかった。

3. 2. 無酸素培養の必要性の確認

培養開始後24、48、72時間経過後のpHおよび濁度の変化を図2に示す。市販乳酸菌HSP (L. h)は嫌気、好気いずれも24時間後にpH3.5を下回った。また、SP (L. p)も嫌気、好気のいずれも48時間後にpH3.5を下回った。一方、生醗乳酸菌のpHはいずれも48時間時点で3.7~3.8程度で72時間経過後もそれ以上

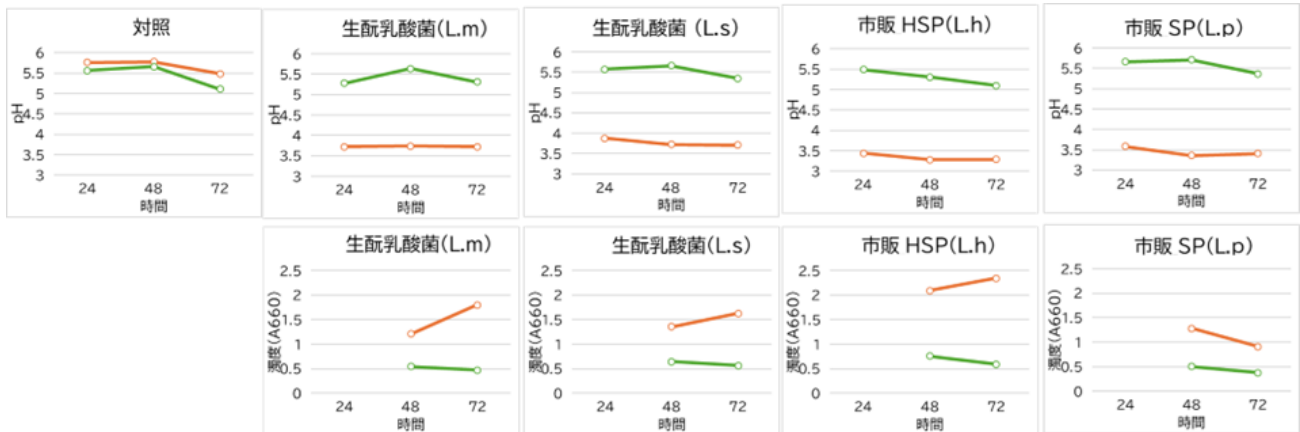


図1 ホップ由来α酸の影響 緑：ホップ添加麦汁、オレンジ：ホップ無添加麦汁

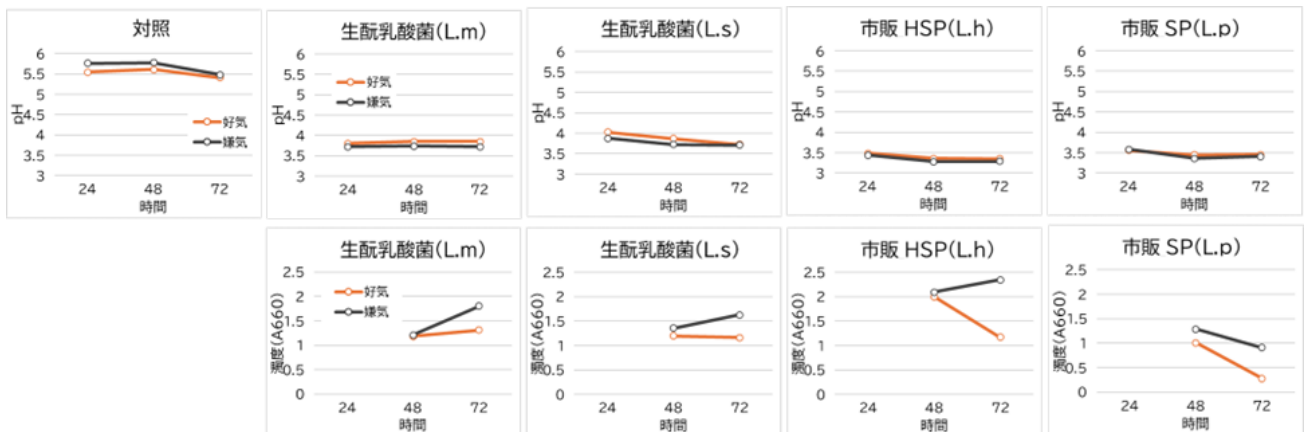


図2 無酸素培養の必要性の検証

の低下は見られなかった。

濁度については、48時間後には市販 HSP (L. h) が他の乳酸菌の約2倍となった。なお、いずれの乳酸菌も嫌気培養の方が高い濁度を示し、pH の低下と相関のある結果となった。また、好気培養においてはいずれの乳酸菌も培養時間を延ばしても顕著な増殖は見られず、むしろ市販 HSP (L. h) および SP (L. p) においては長時間培養後に濁度の減少が見られた。

3. 3. 麦汁の酵素剤処理による効果の検証

グルコアミラーゼ (GA) 処理により、麦汁中のグルコース濃度は 0.9% から 9.0% に増加した。比重は 1.060 (Brix14.2) のまま変化はなかった。

48時間後の各試験区における pH の値を図3に示す。酵素剤未処理の試験区の生醗乳酸菌 (L. s) の pH は嫌気条件で pH3.7、好気条件で pH3.9 までしか低下しなかった。一方、酵素剤処理の試験区では、好気、嫌気を問わず生醗乳酸菌 (L. s) を含むすべての乳酸菌で pH3.5 を下回った。

嫌気条件下における pH の変化を図4に示す。市販乳酸菌は HSP (L. h)、SP (L. p) のいずれも時間とともに低下し、生醗乳酸菌 (L. s) では、未処理区では24~48時間の間に変化が見られなかったが、酵素処理区では低下していた。

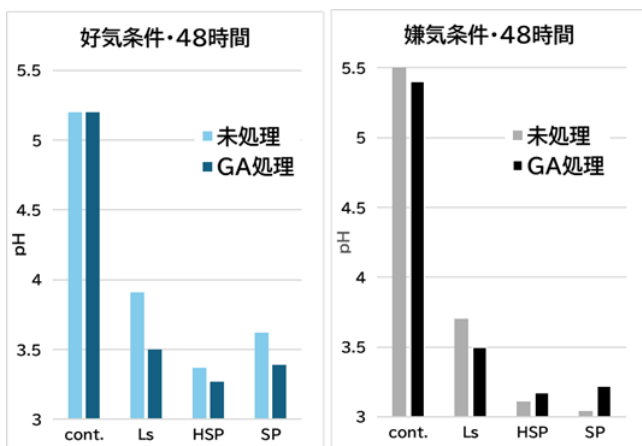


図3 麦汁の酵素処理による pH 低下の効果

4. 考察

4. 1. ホップ由来 α 酸耐性の確認

乳酸菌が α 酸耐性を有していた場合、マッシングで十分な苦味付けを行った麦汁で生育できることになる。そのため、これまでの一般的な製法で作られるサワービールとは異なるビアスタイルの製造が可能になることが期待されたが、生醗乳酸菌は市販乳酸菌と同様、ホップ添加麦汁では濁度の増加および pH の低下のいずれも確認できず、α 酸感受性であることがわかった。

また、ホップ無添加麦汁においては濁度の増加および pH の低下が見られ、乳酸を生産していることがわかるが、市販乳酸菌に比べ pH の低下が緩やかであった。微生物は糖の資化性、発酵性に特徴があり、県内で使用されている清酒酵母 *Saccharomyces cerevisiae* でも菌株によって糖の資化性および発酵性が異なることを確認している²⁾。乳酸菌においても同様である可能性が高く、本試験での生醗乳酸菌の増殖および pH 変化は生醗乳酸菌が麦汁中のマルトースを十分に資化できていないことが原因の一つと考えた。

4. 2. 無酸素培養の必要性の確認

全ての乳酸菌において、嫌気、好気いずれも pH の低下の挙動に違いは見られず、一見すると嫌気培養は必ずしも必要ないと考えられる結果であった。しかし、濁度は、どの乳酸菌試験区でも嫌気条件が高く、特に市販乳酸菌では好気条件で長時間発酵を行った場合に減少していることがわかる。自身が生産した酸が細胞へダメージを与えることで死滅する現象は生醗酒母における微生物変遷でもよく知られているが、本試験によりビール製造においても乳酸菌が自身の生産した酸により死滅している可能性が示唆された。また、生醗乳酸菌 (L. s および L. m) と市販乳酸菌 HSP (L. h) では酸度が低下しても濁度が増加し続けており、酸耐性強度についても菌株ごとに特性があることが示唆された。乳酸菌の死滅がビールの発酵や呈味に及ぼす影響については今後の検討課題としたい。

一般的なサワービール製造方法では、嫌気性細菌である乳酸菌の優占性を高める目的でタンク内を二酸化炭素で満たしてから乳酸菌を添加し、嫌気環境下で乳

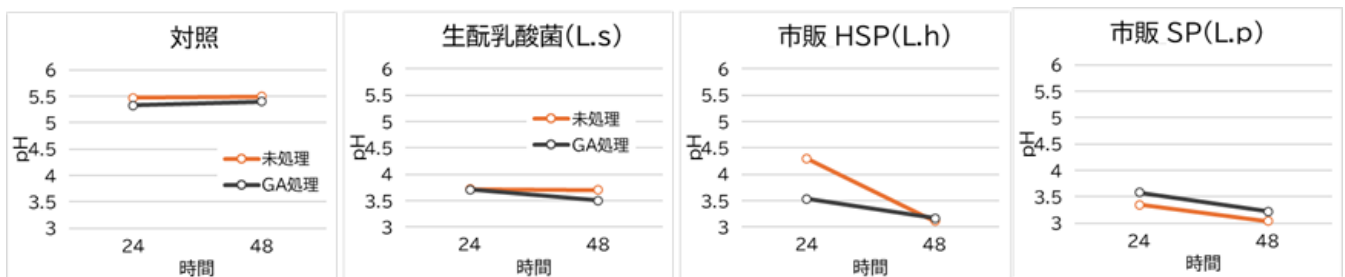


図4 麦汁の酵素処理による効果 (嫌気条件での pH の推移)

酸発酵を行う。この工程は大量の二酸化炭素を消費するだけでなく、作業が増えることになるため、省略できると望ましいとの意見がある。今回の結果からは、乳酸菌による麦汁 pH の低下には嫌気条件は必ずしも必要ではないことが示唆された。ただし、開放系で仕込み作業を行うブルワリーにおいては意図しない微生物の混入リスクを考慮し、これまで通り嫌気環境を整えることが望ましいと考える。

4. 3. 麦汁の酵素剤処理による効果の検証

4. 1. の結果から生醗乳酸菌はマルトース資化性が弱い可能性が示唆されたことから、酵素処理で麦汁中のマルトースをグルコースに分解して資化性を高め、生醗乳酸菌の増殖と pH 低下を目論んだ。なお、麦汁へのグルコアミラーゼの添加は、国内外のブルワリーにおいて高アルコールビールなどのフルボディタイプビールを製造するために採用されることがある。

酵素剤未処理の試験区に対し、酵素処理(GA 処理)試験区では全ての乳酸菌で好気、嫌気いずれも pH 低下が顕著となり、生醗乳酸菌(L. s)でも48時間後に pH3.5 となった。また、市販乳酸菌では好気条件下では GA 処理区の方が低 pH となった一方、嫌気条件下では反対に未処理区の方が低 pH となり、生醗乳酸菌と異なる挙動を示した。環境によって糖の資化性に变化がある可能性や、周辺環境に合わせて糖の資化性を調節している可能性が考えられる。こちらについても今後の検討課題としたい。

市販乳酸菌では麦汁の条件によっては24時間で pH3.5 以下に到達できる。一方で、生醗乳酸菌(L. s)で pH3.5 まで低下させるには酵素剤等で糖の分解を行ったうえで48時間の培養が必要であることがわかった。

5. 結言

- 生醗乳酸菌を用いたサワービールの製造を行うため、35℃、48時間以内に麦汁の pH を 3.5 以下に下げる乳酸発酵方法を検討した。
 - 生醗乳酸菌は多くの市販サワービール製造用乳酸菌と同様に α 酸感受性であり、ケトルサワーリング方式を採用する必要がある。
 - 生醗乳酸菌および市販サワービール製造用乳酸菌は好気条件であっても嫌気条件と同程度の pH 低下が見られるが、菌体の死滅が起きている可能性がある。
 - 乳酸菌の死滅がビール発酵に及ぼす影響については今後の検討課題としたい。
 - 生醗乳酸菌はマルトース資化性が弱い。麦汁中の糖をグルコースまで分解することにより 35℃、48時間で pH3.5 まで麦汁 pH を下げることができ
- 市販サワービール製造用乳酸菌だけでなく、生醗乳酸菌でもサワービールが製造でき、多様な製品開発が可能である。
- なお、製造場で乳酸菌を使用する際、市販乳酸菌は粉末状に濃縮されており、重量あたりの菌数が非常に多く操作性もよい。これに対し、同様の菌体量の生醗乳酸菌を得るには、菌株保存液から必要な菌数まで数十 L 規模で拡大培養する必要がある。10L 以上の嫌気培養については、製造場および飲食店で使われているビア樽(ケグ)を用いた嫌気培養法が開発されている³⁾。今後本技術を現場で活用する際には拡大培養法についても確認する必要がある。
- 生醗乳酸菌は市販のサワービール製造用乳酸菌に比べて乳酸の生産量がやや少なく、増殖させるための工夫も必要となる。しかし、その特性を知り、様々な酵母と組み合わせることによって市販乳酸菌を使用した場合は異なる多様な香味を持つビール製造が期待できる。酵母との組み合わせなどについては今後機会があれば試験を実施していきたい。また、乳酸菌の菌株によってその特性が異なることが示唆されたことから、様々な乳酸菌を用いたサワービールが製造できる可能性もある。なお、静岡県工業技術研究所⁴⁾ や鳥取県産業技術センター⁵⁾ などでは分離等で取得した県オリジナル乳酸菌をサワービール製造に活用した事例もある。本試験の結果が、クラフトビール製品の多様化の参考となれば幸いである。

謝辞

本研究を行うにあたり、生醗乳酸菌株を快く分譲いただきました国立大学法人奈良先端科学技術大学院大学微生物インタラクション研究室、渡辺大輔准教授にお礼申し上げます。

参考文献

- 1) ”微生物の利活用 基礎講座 2025”. 独立行政法人製品評価技術基盤機構バイオテクノロジーセンター. <https://www.nite.go.jp/data/000156936.pdf>, (参照 2026-2-19)
- 2) 中島奈津子ら. 福島県オリジナル清酒製造技術の開発 (第4報) - 清酒酵母の糖発酵性・資化性に関する試験 -. 平成30年度福島県ハイテクプラザ試験研究報告, 2019, p.107-110.
- 3) ”市販のビア樽(ケグ)などの耐圧力容器を用いた大量培養”. 独立行政法人製品評価技術基盤機構バイオテクノロジーセンター. <https://www.nite.go.jp/nbric/industry/support/cultivation.html>, (参照 2026-2-19)
- 4) 勝山聡ら. ”県内分離乳酸菌を活用したサワービールの開発”. 日本食品科学工学会誌, 2022, 69(5), p.225-233.

- 5) 茂一孝.”オリジナル乳酸菌を用いた酸味に特徴のあるビール「サワービール」の開発”.鳥取県産業技術センター研究報告,2022.