



## 酵母の醸造特性・物質変換に着目したビールテイスト飲料の品質向上と商品開発

サッポロビール株式会社

### はじめに

酵母はビール製造工程において中心的な役割を果たし、ビールの香味に最も大きな影響を与えると考えられる。設計した品質のビールを造るために、醸造技術者は発酵工程における発酵管理を綿密な計算と長い経験に基づき慎重に行っている。しかし、最も重要なことは用いる酵母の選択であり、望ましい性質を持つ酵母を選抜していくこと及びそれを常に最良の状態安定に維持していくことは、醸造技術者にとって最大の関心事である。

下面ビール酵母 (*Saccharomyces pastorianus*) の凝集性は、重要な醸造特性の一つである。現在、世界的に主流のビール醸造 (下面発酵) では、この酵母の凝集形質が上手く工程に利用されている。ビール醸造は、主発酵と後発酵からなり、大半の酵母は主発酵終了後に発酵タンクの底部から効率的に回収され、次の発酵に使用するという工程が数回繰り返される。凝集性は下面ビール酵母の基本的かつ重要な性質であるにもかかわらず、実際の醸造現場において、完全に制御されていなかった。また、1990年代以降、市場の要請に応える形で台頭した発泡酒、新ジャンルでは麦芽使用率が少ないか、麦芽を使用しない等、低栄養での発酵のため予期せぬオフフレーバーが生成するなどの新たな課題もあった。

サッポロビール株式会社 (以下、サッポロ社) では、従来からある解析技術に加えて、飛躍的に発展してきた遺伝子解析や成分分析技術を駆使して、下面ビール酵母の醸造特性を解析し、ビール系飲料の品質や工程の改善に繋げただけでなく、発泡酒、新ジャンルのエポックメイキングな商品で業界構造を変革するとともに、それらの低栄養環境での香味改善にも継続的に取り組んだ。また、酵母による原料由来成分のポジティブな物質変換を新たに発見し、2020年代以降のビール回帰の流れや、コロナ禍を経て再確認されたお酒のコミュニケーション価値向上につながるような新商品開発にも展開した。

### 1. 下面ビール酵母の凝集性に関する知見の活用

#### 1-1. 下面ビール酵母の染色体DNA パターンの不安定性

実用酵母SBC0001 (P) 株とSBC0002 (Q) 株から得られた分離株のバルスフィールド電気泳動による染色体解析を行った。これらの変化した染色体DNAを同定するためにDNAプローブを用いたPFGE サザン解析を行った結果、染色体の欠失、分断、転座などのダイナミックな変化が起こっている可能性が示唆された。一般に、下面ビール酵母の醸造特性は変化することが知られているが、染色体長の変化と醸造特性との関係を上手く説明できるまでには至らなかった。それは、下面ビール酵母が *S. cerevisiae* と *S. eubayanus* の自然交雑株であることや3~4倍体の高次倍数体であることなどの複雑な遺伝的背景によると考えられた。つまり、一つの遺伝子に何らかの変異が起こっても

それを補う遺伝子が他に存在するために、染色体の長さが変化するようなダイナミックな変異が起きてもそれが形質の変化まで及ぶことは少ないと考えられた。ところが、この研究の過程において、調査項目の一つとして挙げていた下面ビール酵母の凝集形質が変化し易いことが判ってきた<sup>1,2)</sup>。

#### 1-2. *S. cerevisiae* の凝集性遺伝子の塩基配列の決定

我々は、まず遺伝子レベルでの研究が進んでいる *S. cerevisiae* の凝集性遺伝子をクローニングし、その解析に取り組んだ。凝集性遺伝子 *FLO1* は第I染色体上に存在し、ORFが4611 bpであり、その塩基配列から1537個のアミノ酸からなる蛋白質をコードしていると推測された<sup>3)</sup>。一方、下面ビール酵母は、別名Lager酵母とも呼ばれることから、下面ビール酵母の凝集性遺伝子は、Lg-*FLO1* 遺伝子と命名された。

#### 1-3. 凝集性遺伝子の不安定性に関する研究

このように長年の疑問であった下面ビール酵母の凝集性について分子遺伝学的な解析が可能になり、凝集性の実体にかかなり迫ることができた。一方で、ビール醸造現場で比較的頻度高く起こる凝集性弱化現象のメカニズムはなお解決すべき課題であったことから、これについて調査したところ、この現象が、酵母細胞集団中における、凝集性株に対する非凝集性株の比率が増加することによって起こることを突き止め、遺伝子レベルでの解析結果も合わせて、下面ビール酵母の凝集性弱化モデルを提案した (図1)<sup>4)</sup>。また、この知見を活用して凝集性細胞比率を調整した株を作製しビール工場での実際の製造に供した。

これらの下面ビール酵母の遺伝的な不安定性に関する研究は、研究所での実用酵母の集中管理と酒母の供給スキームの確立につながった。

### 2. 酵母生理に着目した従来技術の改善・新技術の提案

凝集性以外にも、酵母の生理や活用法 (細胞融合や固定化酵母等も含む) に着目した様々な研究から、発酵促進効果のある亜鉛含有酵母の活用や、工場の大スケールでの発酵タンクに仕込からの麦汁を複数回に分けて導入する「掛け発酵」の条件を制御することにより、工程・香味改善を継続的に行うとともに、

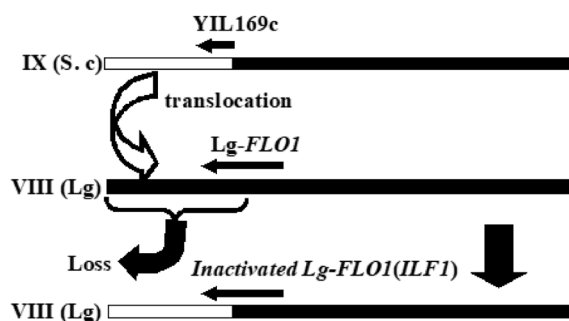


図1 Lg-*FLO1* 遺伝子の不活性化モデル

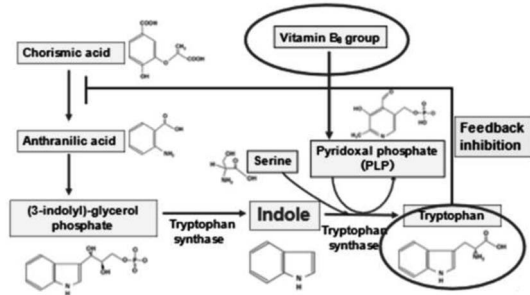


図2 低栄養麦汁発酵におけるインドール生成機構の解明

そのような知見の蓄積から、原料配合(≒栄養環境)がビールと異なる発泡酒や新ジャンルの開発、品質向上にも即応して、ビールテイスト飲料の市場構造を変革する端緒となった。

### 3. 低栄養下で生成するオフフレーバーの抑制

1990年代から現在に至るまで日本特有の市場条件(酒税法)により麦芽の使用比率が規定された発泡酒、新ジャンルが開発されてきた<sup>5)</sup>。このような酒類ではアミノ酸やビタミンのような微量成分が不足し、深刻な発酵性の低下や各種のオフフレーバー発生の懸念があった。特に下面酵母を使用した場合、硫化水素(H<sub>2</sub>S)が高くなる傾向が見られた。当時、先端技術であったDNA shot-gun genome microarrayなどを活用し、その原因が遺伝子レベルではメチオニン合成経路中の*S. cerevisiae*型、*S. eubayanus*型遺伝子のmRNAの発現の違いであること、発酵中のpHの違いでもH<sub>2</sub>Sの生成量が変化すること等を解明した。さらに研究を進める中、アミノ酸以外のビタミン、ミネラルが不足すると、インドールのような通常ビールテイストでは見られないオフフレーバーが発生することも明らかにし(図2)、製造現場での工程管理の見直しや、香味品質の高い新商品開発につながった<sup>6)</sup>。

### 4. 酵母株に依存する好ましいエステル生成能の解析

下面ビール酵母の株間差はラガービールの品質に大きく影響する。下面ビール酵母の中でも特定の株で醸造したビールはエステル香の主要成分である酸酸イソアミルを他の製品の2倍程度含んでいた。酵母株間の遺伝子発現挙動を比較したところ、酸酸イソアミルの前駆体であるロイシンの取り込みに寄与する*BAP2*遺伝子とBCAA aminotransferaseをコードする*BAT2*遺伝子の発現量が高かった。この研究から、酸酸イソアミル生成能の高さはロイシンの細胞内への取り込み能力と細胞内での前駆体変換能の高さに起因すると考察された。

### 5. 酵母による香気成分の物質変換と商品開発への応用

2000年代になると世界的にクラフトビールが隆盛し、それを牽引するIPAスタイルのビール類には、テルペン類やチオール類を多く含み香りに特徴をもったホップが用いられている。我々はそれらの香気成分が醸造中に酵母の作用によって変換され、ホップの品種、その組み合わせによって特徴的な香りが形作られることを示し、そのデータの活用が多様な商品群の開発・上市につながった。また、2017年の酒税法改正により、一定の条件でハーブやスパイス、果汁等がビールの原料として認められたが、特定のハーブ類をビール醸造に使用すると、酵母の作用により、テルペン化合物や分岐鎖脂肪酸類の変換やエ

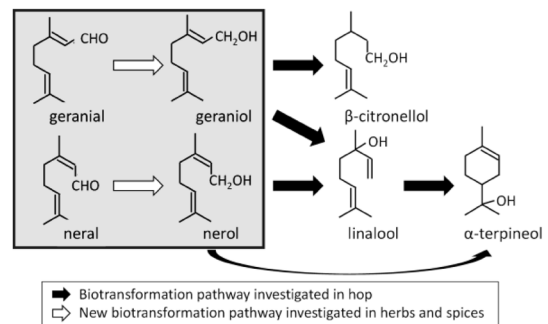


図3 レモングラス由来のシトラールの酵母による変換経路

ステル化が起こることも解明しつつある(図3)<sup>7)</sup>。また、果汁やハーブのうち、アントシアニンを含む原料を使用するとビールのオフフレーバーであるダイアセチルが増加すること、この現象が特定の遺伝子の発現に起因していることを示した。これらの研究により、2020年代の日本市場に対応した多様な商品開発でビール市場の活性化にも寄与したものと考えている。

### おわりに

サッポロ社はビール工場における酵母活用技術について、遺伝子解析や成分分析技術を駆使して、①下面ビール酵母の凝集性に関する知見の活用、②酵母生理に着目した従来技術の改善・新技術の提案、③低栄養下で生成するオフフレーバーの抑制、④酵母株に依存するエステル生成能の解析、⑤酵母による香気成分の変換と商品開発への応用などを実現してきた。消費者の嗜好の多様化、それに伴うビールテイスト飲料の香味の多様化が進んできている中、今後もよりよい品質、香味のビールを消費者に提供するために酵母活用技術を追求していきたい。

### (引用文献)

- 1) Takata Y, Watari J, Nishikawa N and Kamada K. Electrophoretic Banding Patterns of Chromosomal DNA from Yeasts. *J. Am. Soc. Brew. Chem.*, Vol. 47, p 109-113, (1989)
- 2) Sato M, Watari J, Sahara H and Koshino S. Instability in Electrophoretic Karyotype of Brewing Yeasts. *J. Am. Soc. Brew. Chem.*, Vol. 52, p 148-151, (1994)
- 3) Watari J, Takata Y, Ogawa M, Sahara H, Koshino S, Onnela M-L, Airaksinen U, Jaatinen R, Penttilä M and Keränen S. Molecular Cloning and Analysis of the Yeast Flocculation Gene *FLO1*. *Yeast*, Vol. 10, p 211-225, (1994)
- 4) Sato M, Maeba H, Watari J and Takashio M. Analysis of an Inactivated *Lg-FLO1* Gene Present in Bottom-fermenting Yeast. *J. Biosci. Bioeng.*, Vol. 93, p 395-398, (2002)
- 5) 潮井徹, 麦芽をまったく使わない新ジャンル(第3のビール)の開発. 日本生物工学会誌, Vol. 90, p 235-237, (2012)
- 6) 谷川篤史, ビール造りの研究とは? 日本生物工学会誌, Vol. 90, p 242-245, (2012)
- 7) Osawa C, Tanigawa A, Takoi K, Iimure T and Ishida F. Biotransformation of terpenoids derived from various herbs and spices during fermentation. *European Brewery Convention 38th Congress*, (2022)

謝辞 本賞にご推薦いただきました東京大学・大西康夫教授に深謝いたします。また、本研究成果はサッポロビール株式会社ならびにサッポロホールディングス株式会社の多くの関係者の尽力によるものであり、関係の皆様感謝いたします。