

身近で活躍する有用微生物 II
 食品と有用微生物－西洋の食文化と微生物3

ビールと酵母

やま ぎし ひろ み
 山 岸 裕 美
 Hiromi YAMAGISHI

はじめに

ビールは「麦酒」と書かれるように、麦を原料としたお酒で、大麦麦芽をビール酵母により発酵させて造る。世界で最も広く飲まれているお酒であり、また、メソポタミア文明とエジプト文明にその記録があることから明らかなように、ワインと並んで最も古くから飲まれているお酒である。他の発酵食品と同様に、ビールと酵母は古くから密接な関係があるが、他の発酵食品には複数の微生物が関与しているのと違い、ビール造りに貢献している微生物はビール酵母のみである。このビール造りの主役である酵母について、その歴史や特徴について述べる。

I. ビールの製造方法

以下にビールの製造方法について簡単に述べる。

1. 製麦

まず大麦を浸漬して発芽させる。この工程で大麦中のでんぷんやタンパク質を分解させるためのアミラーゼやプロテアーゼなどの酵素が生成される。次に焙燥により発芽を止める。

2. 仕込み

砕いた麦芽と米やコーンスターチなどの副原料を温水と混ぜて適温におく。ここで麦芽酵素が働き、でんぷんがブドウ糖に糖化され、タンパク質がアミノ酸に分解される。これをろ過して得られた透明な

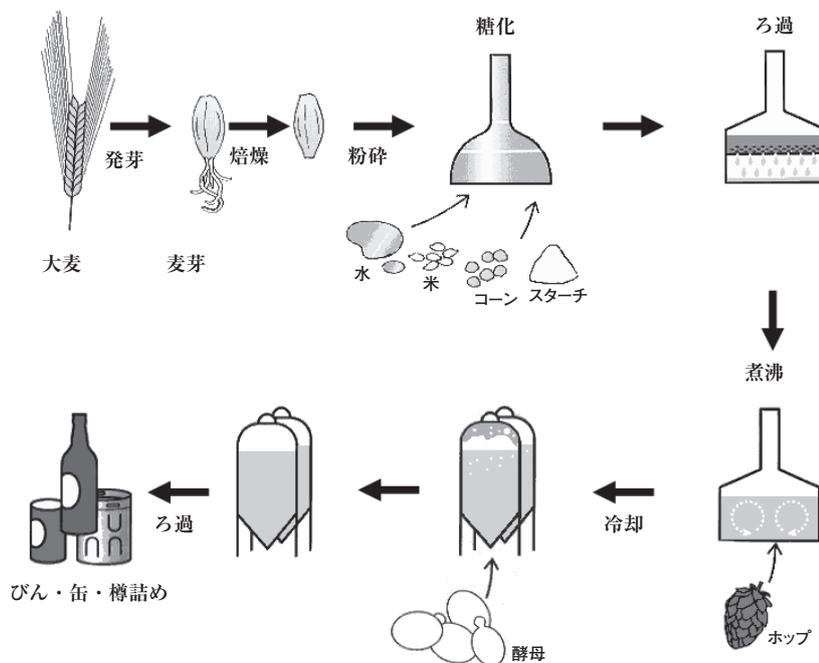


図1 ビールの製造工程¹⁾

麦汁をホップとともに煮沸し、その後冷却する。

3. 発酵・熟成・ろ過

次にビール酵母を加えて発酵タンクに入れ、約7日間発酵させる。ここで、アルコール、炭酸ガス、そしてビールの香味となる成分が生成される。できた若ビールは香味を安定させるために数十日間熟成する。ろ過工程で酵母を除去すると、透き通った琥珀色のビールが出来上がる。出来上がったビールはびん、缶、樽に詰められ製品となる(図1)。

II. ビールの歴史

現在のビール製造方法が確立するまでには長い歴史が存在する。大きく3つの偶発のイベントがビールの発展に貢献し、古代から現代まで長く、そして世界に広く飲まれるようになったと考えられる。

第一のイベントは、大麦麦芽を原料としたことである。発芽した大麦(麦芽)をこねたものを放置しておいたら膨れ(麦芽パン)、そこに水をいれたものを放置しておいたら泡が浮かび、パンとビールの歴史が始まったといわれている。この「膨れたこと」「泡が浮かんだこと」が酵母のなせる発酵である。このようにパンとビールは兄弟のような関係で、そこに関わる酵母は同一のものであったのだ。しかし、酵母の存在と酵母のなせるわざである発酵について明らかとなるのはかなり先の話である。このように自然の恵みから発祥したビールは長い時を経て地域に広がっていった。

第二のイベントは、ホップとの出会いである。香りづけのためにハーブやスパイス、薬用植物を入れるものがあった古代ビールがホップと出会い、現在飲まれているものと香味が近い近代ビールがドイツでその歴史をスタートさせた。さわやかな苦みや抗菌作用の特性からホップが評価され、1516年「ビールは大麦、ホップ、水を使って醸造すること」というビール純粹令ができた。この法律により、決められた原料を用いて一定の品質のビールが製造されるようになったのである。このビールとホップとの出会いは、それがなければ近代のビールの味は実現できなかったであろう重要なできごとである。古代ビールにはおそらく入っていた乳酸菌の生育がホップの抗菌作用により抑えられ、ビール酵母が優位に生育することによりビールの均質な香味が作り出さ

れるようになったのである。しかし近年になって、*Lactobacillus* 属菌など乳酸菌のなかにはホップ耐性を示し、ビールに生育して香味品質を損なわせる菌株が存在することが明らかになった²⁾。このホップ耐性に関して、関与する遺伝子(*horA*、*horB*、*horC*)が発見され³⁾、遺伝子が細胞間で水平伝播することにより耐性を獲得することが示唆されている⁴⁾。長いビールの歴史の中でビールの造り方が変化してきたことに対抗して、微生物もビール環境の中で生きていこうと変化してきたのだといえる。

そして第三のイベントは酵母の存在である。酵母はビールの歴史の最初から主役として登場していたがその存在は明らかとなっていなかった。19世紀前半になるまでは発酵は神秘的なものと考えられており、「上手にビールができるのは神の恵み、失敗は魔女の仕業か精神の不足」と言われていたほどである。1680年にオランダのレーヴェンフックがビール中の酵母を顕微鏡で観察し、酵母の存在が初めて明らかとなった。分類学上酵母のスタートは、パンでもワインでもなくビールからだったのだ。しかし、この時点でも発酵と酵母はまだ結びついていなかった。1876年にパストゥールが「ビールの研究」⁵⁾で「酵母によって発酵が行われビールができる」という偉大な発見をしたことから正式にビール酵母の歴史がスタートする。ビールの発展は、その時代、その場所で、好まれるビールを人間が選択してきたことにより成し遂げられてきた。そしてそれに並行して、選択されたビール醸造に適合した酵母の進化があったのである。

III. 上面発酵ビール酵母と 下面発酵ビール酵母

ビール酵母はその発酵形式により、上面発酵ビール酵母と下面発酵ビール酵母に分類される。古代から作られていたビールは気温に関係なくいつの季節でも製造され、そこで用いられた酵母は発酵中にタンク上面に浮く性質を持っていた。この酵母が1883年にビールから初めて Hansen により単離され *Saccharomyces cerevisiae* と命名された。その後、ドイツのバイエルン地方で気温の低い時期に製造されたビールが、変敗がなく香味の安定したビールであったことから各地に広まった。そこで用いられた酵母

は発酵後期に凝集してタンク下面に沈降する性質を持っていた。この酵母が下面発酵ビール酵母であり、それにより作られたビールが下面発酵ビールと呼ばれる。下面発酵ビール酵母は、1908年 Hansen によりデンマークの Carlsberg 醸造場から単離され、*Saccharomyces carlsbergensis* Hansen var. *carlsbergensis* と命名された。後述する下面発酵ビール酵母の染色体構造からも明らかなように、ビール酵母の進化の過程で上面発酵ビール酵母から枝分かれして、低温発酵環境に適応した下面発酵ビール酵母が発生したのである。

下面発酵ビール酵母は、ビール醸造においては約100年という歴史の浅い酵母であるが、この100年の間に世界に広がり、現在各地で下面発酵ビール酵母として使用されるようになった。この年月と使用された環境の違いにより性状の違う酵母が選択され、品質の違う多くのビールが作られるようになった。現在の日本のビールのほとんどはこの下面発酵ビール酵母によって生産されている。以降は下面発酵ビール酵母について述べる。

IV. 下面発酵ビール酵母の分類学的変遷

上面発酵ビール酵母は、単離されてから現在に至るまで *S. cerevisiae* に分類されている。

一方、下面発酵ビール酵母はその分類学上の位置付けは、分類学書 THE YEASTS A TAXONOMIC

STUDY の版が改訂されるたびに変わるほど混沌としていた。第1版⁶⁾では下面発酵ビール酵母は *S. carlsbergensis* に分類された。その後、第2版⁷⁾ではメルビオース資化性のある *S. uvarum* に分類され、接合能を分類の大きな要素と考えた第3版⁸⁾では *S. cerevisiae* に分類された。しかし、DNA 相同性を推定すると、第3版の *S. cerevisiae* には低い相同性を示すグループが含まれていることがわかった⁹⁾。そこで更に第4版¹⁰⁾では孢子発芽性や DNA 相同性の検討により *S. pastorianus* に分類され、現在に至っている(図2)。分類とは、その時代の科学的知見に裏付けられた分類基準により属種が定まり、その後、個々がどの属種に含まれるかを当てはめていくものである。下面発酵ビール酵母の分類も同様で、*Saccharomyces carlsbergensis* Hansen var. *carlsbergensis* がその時代の分類基準によりどの属種に含まれるかによって決まってきたのである。

V. 下面発酵ビール酵母の染色体構造

近年、パルスフィールド電気泳動技術や *S. cerevisiae* 全ゲノム配列の公開により、下面発酵ビール酵母の進化が少しずつ明らかになってきた。下面発酵ビール酵母の研究は、*S. cerevisiae* 実験室酵母の知見を参考に行われ、徐々に *S. cerevisiae* とは違った下面発酵ビール酵母特有の遺伝子配列が明らかになった。下面発酵ビール酵母の香気生成に関わる遺

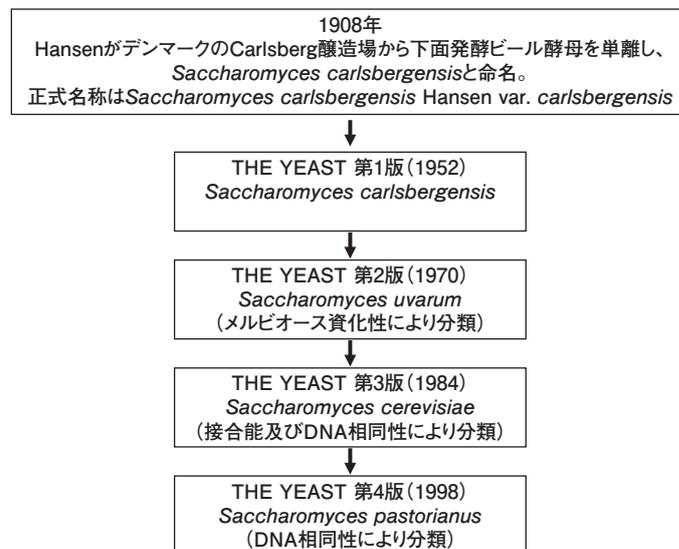


図2 下面発酵ビール酵母の分類学的変遷

伝子 *ATF1* (alcohol acetyltransferase) に関して、*S. cerevisiae* タイプの *ATF1* 遺伝子の他に下面発酵ビール酵母特有の *Lg-ATF1* 遺伝子が存在することが報告された¹¹⁾。また凝集に関わる *FLO1* 遺伝子に関しても *S. cerevisiae* タイプの *FLO1* 遺伝子¹²⁾ の他に下面発酵ビール酵母特有の *Lg-FLO1* 遺伝子が存在すると報告された¹³⁾。下面発酵ビール酵母の染色体構造の解明では、*S. pastorianus* に分類される下面発酵ビール酵母が *S. cerevisiae* と *S. bayanus* の交雑体であることが染色体構造の面から明らかになった¹⁴⁾。その後、*S. cerevisiae* 実験室酵母に遅れて下面発酵ビール酵母の全ゲノム配列が解読され、下面発酵ビール酵母に含まれる *S. cerevisiae* タイプと *S. bayanus* タイプの両遺伝子の配列が公開された¹⁵⁾。*S. cerevisiae* とは違う下面発酵ビール酵母特有の遺伝子は *S. bayanus* 由来であることが明らかとなった。更に、*S. cerevisiae* の交雑の相手は *S. bayanus* ではなく、*S. bayanus* の類縁菌である *S. eubayanus* であることが明らかとなっている¹⁶⁾。

VI. 下面発酵ビール酵母の特徴的な性質

下面発酵ビール酵母に特徴的な性質の一つとして、低温での発酵能があげられる。ビール醸造における発酵工程では、麦汁に添加された酵母は低温(10℃前後)で糖やアミノ酸などを利用して増殖し、その後、発酵により糖からエタノールを生成する。この低温での発酵能の違いは、エタノールの生成量、香気成分や残糖量による香味、発酵日数など、ビールの品質と生産効率に影響するため、ビール醸造にとっては極めて重要な性質である。このような下面発酵ビール酵母の重要な性質のわずかな違いやバリエーションが、香味の大きな違いとなってビールを差別化し、またハンドリングの違いとなって生産効率に影響を及ぼしている。下面発酵ビール酵母の高発酵性に関する最近の研究では、清酒の高発酵性¹⁷⁾と同様に、高発酵性の一因が細胞周期進行に関わる Rim15 タンパク質の機能欠損や Cln3 タンパク質の高発現によるものであることが明らかとなっている¹⁸⁾。

更に、他の酵母と違って下面発酵ビール酵母に特徴的な性質として凝集性があげられる。下面発酵ビール酵母は上述したように発酵後期にタンク内で凝集して沈降する。ビール醸造では、この沈降した

酵母をタンク底から回収して次の発酵に用い、酵母をリサイクルして使用している。遠心分離機のような機械ではなく酵母が凝集沈降するという自然の能力を生かすことによって酵母を回収し、また時間や設備の面から効率的に酵母を再利用しているのである。FLO1 タンパク質による *S. cerevisiae* の凝集がグルコースやマルトースに阻害されないのに対し、Lg-FLO1 タンパク質による下面発酵ビール酵母の凝集はそれらに阻害される⁸⁾。ビールの発酵初期には麦汁中にグルコースやマルトースが多く存在するため凝集は阻害されるが、発酵が進むにつれてグルコースやマルトースが減少し、酵母が凝集して沈降するようになる。発酵プロセスに対応した下面発酵ビール酵母の凝集性は、酵母の進化の一つなのかもしれない。

おわりに

自然の恵みとして古代文明からスタートしていたビール造りに、最初から酵母は存在していた。この長い歴史の中で酵母はビールの発展に大きな影響を与えてきた。そして、ビール造りが酵母の進化や乳酸菌のホップ耐性獲得に一役を担っているとすれば、ビール造りもまた微生物の進化に大きな影響を与えてきたといえる。微生物が技術を発展させ、技術が微生物を進化させてきたのである。今後もビール醸造技術は発展し、そして特徴的なビール酵母が出現して、ビールの歴史は続いていくのであろう。

文 献

- 1) ビール酒造組合, 「ビールの造り方」, <http://www.brewers.or.jp/tips/production.html>
- 2) Back, W. 1994. Farbatlas und Handbuch der Getränkebiologie, vol. 1; 1994.
- 3) Suzuki K, Iijima K, Ozaki K et al. Isolation of a hop-sensitive variant of *Lactobacillus lindneri* and identification of genetic markers for beer spoilage ability of lactic acid bacteria. Appl. Environ. Microbiol. 2005; 71: 5089-5097.
- 4) Suzuki K, Sami M, Iijima K et al. Characterization of *horA* and its flanking regions of *Pediococcus damnosus* ABBC 478 and development of more specific and sensitive *horA* PCR method. Lett. Appl. Microbiol. 2006; 42: 392-399.
- 5) 齊藤日向 監修, 竹田正一郎・北畠克顕 共訳, パスツール ビールの研究. 大阪大学出版協会; 1995.
- 6) Lodder and Kreger-van Rij. THE YEASTS A TAXONOMIC STUDY 第1版; 1952.

- 7) Lodder. THE YEASTS A TAXONOMIC STUDY 第2版 ; 1970.
- 8) Kreger-van Rij. THE YEASTS A TAXONOMIC STUDY 第3版 ; 1984.
- 9) Martini A. V. and Martini M. Three newly delimited species of *Saccharomyces sensu stricto*. Antonie van Leeuwenhoek. 1987 ; **53** : 77-84.
- 10) Kurtzman and Fell. THE YEASTS A TAXONOMIC STUDY 第4版 ; 1998.
- 11) Fujii T, Yoshimoto H, Nagasawa N, Bogaki T, et al. Nucleotide sequence of alcohol acetyltransferase genes from lager brewing yeast, *Saccharomyce carlsbergensis*. Yeast. 1996 ; **12** : 593-598.
- 12) Watari J, Takata Y, Ogawa M, et al. Molecular cloning and analysis of the yeast flocculation gene *FLO1*. Yeast. 1994 ; **10** : 211-225.
- 13) Kobayashi O, Hayashi N, Kuroki R. et al. (1998) Region of Flo1 proteins responsible for sugar recognition. J. Bacteriol. 1998 ; **180**(24): 6503-6510.
- 14) Yamagishi H and Ogata T. Chromosomal structure of bottom fermenting yeast. System. Appl. Microbiol. 1999 ; **22** : 341-353.
- 15) Nakao Y, Kanamori T, Itoh T, et al. Genome sequence of the lager brewing yeast, an interspecies hybrid. DNA Research 2009 ; **16** : 115-129.
- 16) Diego L, Chris T H, Elisabete V, et al. Microbe domestication and the identification of the wild genetic stock of lager-brewing yeast. Rroc. Natl. Acad. Sci. USA. 2011 ; **108** : 14539-14544.
- 17) 渡辺大輔. 清酒酵母の高発酵性に関する研究. 生物工学. 2013 ; **91** (1) : 2-9.
- 18) Oomuro M, Kato T, Yan Z. et al, defective quiescence entry promotes the fermentation performance of bottom-fermenting brewer's yeast. J.B.B. 2016 ; **122**(5) : 577-582.