

# ビール及び発酵飲料の新規製造技術に関する研究 ～高温仕込みとプロテアーゼ添加によるノンアルコールビール醸造法の開発～

食品醸造室 樋爪 紀子, 三宅 幸一, 星野 徹也

## Research on New Processing Technology of Beer and Fermenting Beverage ～ Development of Non-Alcoholic Beer Using High Temperature Mashing and Protease Addition ～

Noriko HIZUME, Kouichi MIYAKE and Tetsuya HOSHINO

香味成分組成がビールに近く、かつアルコール含量を低減させたノンアルコールビール醸造法を検討した。仕込み時に、麦芽に含まれる $\beta$ -アミラーゼを高温で失活させ、アルコールの原料となる発酵性糖の生成を抑制した。また、プロテアーゼ添加法を併用して、香味成分の原料となるアミノ酸の増加を図った。

この方法で製造した麦汁を発酵させたところ、ビールに近い香味成分組成を持ち、かつアルコール含量を約1%に抑えた飲料を製造できた。

### 1. はじめに

近年、飲酒運転の罰則強化や健康志向の高まりにより、ノンアルコールビールの需要が拡大している。従来のノンアルコールビール製造法としては、麦汁希釈・発酵停止・減圧蒸留等の方法があった。しかし、それぞれ香味不足・発酵管理が困難・特殊な設備が必要等の問題点が指摘されていた。本研究では醸造法を用いて、香味成分組成がビールに近いノンアルコールビールを簡易に製造できる方法を検討した。醸造法でこのようなビールを製造するには、麦汁中の発酵性糖を2%以下にするとともに、発酵に十分なアミノ酸量を確保する必要がある。そこで、麦汁を高温で仕込むことにより $\beta$ -アミラーゼを失活させて発酵性糖の生成を抑えた。また、プロテアーゼを添加することでアミノ酸量の増加を図った。この麦汁を発酵させ、香味成分組成を分析して評価を行った。

### 2. 実験方法

#### 2.1 使用原料

麦芽は、あらかじめ粉砕してある粉砕麦芽を使用した。ホップはペレット状のものを用いた。プロテアーゼは中性プロテアーゼ5種(a, b, c, d, e)を用いた。仕込み水は、水道水を用いた。

#### 2.2 使用菌株

酵母は上面発酵ビール酵母(当所保存株D-8009)を使用した。

### 2.3 麦汁の製造試験

45℃の温水に麦芽とプロテアーゼを投入し、30分間この温度を保持した。これを等量の熱水に投入して70℃～90℃( $\beta$ -アミラーゼ失活温度)に急上昇させ、30分間保持した。ろ過、ホップ添加後、60分間煮沸し、さらにろ過した。

対照として、通常麦汁を次の通りに製造した。45℃の温水に麦芽を投入し、30分間保持した。毎分1℃ずつ昇温させ、65℃で60分間保持した。ろ過、ホップ添加後、60分煮沸し、さらにろ過した。

仕込み配合を表1に示す。プロテアーゼ a, b, c, d, e は予備試験としてプロテアーゼ力価を測定<sup>1)</sup>し、その力価によって添加量を決定した。

表1 仕込み配合

	麦芽 (g)	温水 (ml)	熱水 (ml)	ホップ <sup>o</sup> (g)	プロテアーゼ <sup>e</sup> (g)
a	113	675	675	1.9	0.8
b	113	675	675	1.9	0.9
c	113	675	675	1.9	1.5
d	113	675	675	1.9	1.8
e	113	675	675	1.9	0.3
対照	225	1350		1.9	

### 2.4 発酵試験

酵母添加量は麦汁1mlあたり $10^7$ 個、発酵温度は15℃とした。発酵容器は $\phi$ 25mm×1200mmのガラス

管を使用し、静置発酵とした。経時的にサンプリングを行い、浮遊酵母密度と発酵性糖を測定した。

## 2.5 分析方法

浮遊酵母密度は KLETT MANUFACTURING社製の比色計を用いて測定した。エキス分(Brix)は京都電子(株)製の密度比重計を用いて測定した。遊離アミノ態窒素(FN)は(株)ダイアインストルメンツ製の自動滴定装置を用い、ホルモール滴定法によって測定した。発酵性糖、全窒素(TN)、アルコール、低沸点香气成分はBCOJビール分析法<sup>2)</sup>によって分析した。全糖は食品分析法<sup>3)</sup>のフェノール-硫酸法により、マルトースを標準物質として測定した。

なお、発酵性糖はグルコース、マルトース、フルクトース、マルトトリオースの合計として算出し、非発酵性糖は全糖の値から発酵性糖の値を差し引いて算出した。

## 3. 結果及び考察

### 3.1 β-アミラーゼ失活温度による成分構成比

β-アミラーゼ失活温度を70℃～90℃に設定して得られた、各麦汁の成分の構成比を図1に示す。

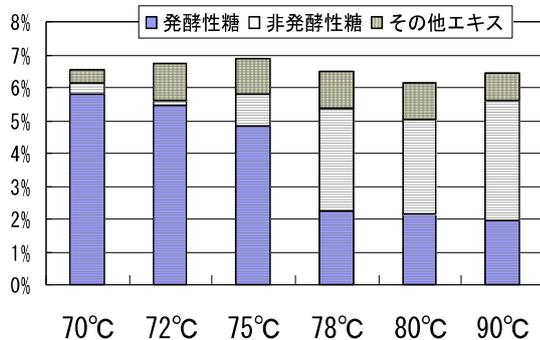


図1 β-アミラーゼ失活温度と糖の構成比

β-アミラーゼ失活温度を78℃以上に設定すると、発酵性糖が約2%に抑えられた。また、90℃では麦汁の粘度が高くなり、ろ過性が低下した。これより、β-アミラーゼ失活温度は78℃～80℃が適当であると判断した。

### 3.2 プロテアーゼの効果

プロテアーゼを添加することにより、麦汁中のFNは200mg/L以上となり、発酵に十分なアミノ酸量を得られた(図2)。プロテアーゼの種類によるアミノ酸量の差は見られなかった。また、エキス分、糖など他の麦汁中成分量にも差は見られな

かった。

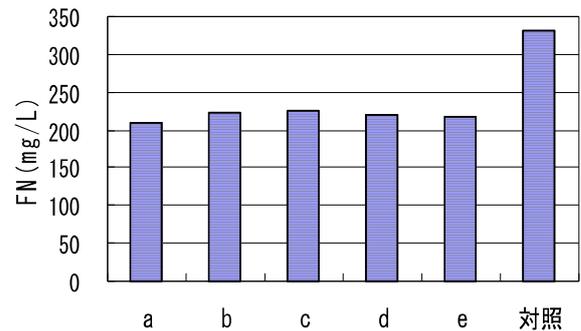


図2 麦汁中の遊離アミノ態窒素量

### 3.3 発酵の挙動

浮遊酵母密度の変化により、発酵の挙動を観察した(図3)。

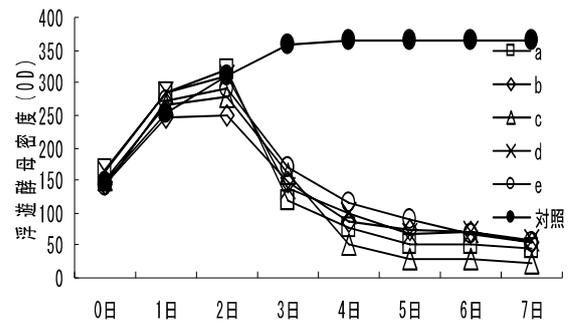


図3 浮遊酵母密度の変化

1日目から2日目は、本法麦汁・対照麦汁とも酵母密度が増加し、順調に発酵が行われたことがわかった。対照では3日目に酵母密度が最大となり、その後も維持された。一方、本法麦汁では2日目に酵母密度がピークに達し、その後急激に減少した。麦汁中の発酵性糖が少なく、早期に酵母の活動が停止したためと考えられる。

### 3.4 発酵後の成分

発酵後の成分を表2に示す。全糖、窒素分は通常麦汁と同程度に保ちながら、アルコール分は約1%に抑えられた。

発酵後の低沸点香气成分を表3に示す。本法では通常麦汁を用いたビールと比べて香气成分の量は少なかった。しかし、ビール中に含まれる香气成分の量は表4に示す範囲にあるといわれている<sup>4)</sup>。特に高級アルコールは、この範囲内に収まっている。実際、官能試験ではビールらしい発酵香が感じられた。

表2 発酵後の成分

	エキス分 (%)	全糖 (%)	TN (mg/L)	FN (mg/L)	アルコール (%)
a	3.6	3.5	460	110	1.4
b	4.3	4.4	550	140	1.2
c	4.2	4.7	570	130	1.3
d	4.2	4.4	620	130	1.2
e	4.2	4.7	520	130	1.1
対照	3.4	4.5	810	160	4.5

表3 低沸点香気成分

	酢酸 エチル	n-プロ パノール	イソブチル アルコール	酢酸 イソアミル	イソアミル アルコール
a	1.9	7.1	10.6	0.3	41.9
b	1.7	5.9	8.4	0.3	36.5
c	2.0	7.1	9.5	0.3	43.0
d	1.3	6.3	9.2	0.3	44.5
e	1.6	6.6	8.5	0.2	38.5
対照	15.8	22.7	16.3	2.5	98.1

(mg/L)

表4 ビール中の低沸点香気成分<sup>1)</sup>

酢酸 エチル	n-プロ パノール	イソブチル アルコール	酢酸 イソアミル	イソアミル アルコール
8-42	3-16	5-20	0.6-4	30-70

(mg/L)

#### 4. まとめ

麦汁の高温仕込みとプロテアーゼ添加により、ノンアルコールビールの醸造法を検討し、次の結果が得られた。

- 1) 麦汁の温度を急上昇させることで、麦汁中のβ-アミラーゼが失活し、発酵性糖の生成を抑えることができた。
  - 2) β-アミラーゼ失活温度は、78℃～80℃が適当であることがわかった。
  - 3) プロテアーゼを添加することで、麦汁中のアミノ酸量が増加した。
  - 4) プロテアーゼの種類による麦汁中成分の差は見られなかった。
  - 5) この麦汁を発酵させたところ、順調に発酵が行われた。
  - 6) 対照と比較すると、本法の麦汁の発酵は早期に終了した。
  - 7) 全糖、窒素分の組成はビールに近づけながら、アルコール含量を約1%に抑えることができた。
  - 8) エステルの生成量は少なかったが、高級アルコールの生成量は文献値の範囲内であった。
- なお、この研究は秋草学園短期大学 井上喬先生のご指導のもとで行いました。ここに感謝の意を表します。

#### 参考文献

- 1) 注解編集委員会：国税庁所定分析法注解，日本醸造協会，222-225(1974)
- 2) ビール酒造組合国際技術委員会(分析委員会)：BCOJビール分析法，日本醸造協会，8.3.5，8.9，8.14，8.14(1996)
- 3) 日本食品工業学会食品分析法編集委員会：食品分析法，(株)光琳，189-191(1992)
- 4) 日本醸造協会：醸造物の成分，208,211(1999)