

氏名(本籍)	しん どう しよう 進 藤 昌 (秋田県)
学位の種類	博 士 (農 学)
学位記番号	博 乙 第 1,035 号
学位授与年月日	平 成 7 年 1 月 31 日
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当
審査研究科	農 学 研 究 科
学位論文題目	CONTROL OF FLAVOR PRODUCTION IN BREWING BY IMMOBILIZED YEAST CELLS AND CONTINUOUS MAIN FERMENTATION USING A FLUIDIZED BED REACTOR (固定化酵母を用いたビール醸造における香気成分生成の制御と流動層型リアクターによる連続主発酵)
主 査	筑波大学教授 農学博士 中 原 忠 篤
副 査	筑波大学教授 工学博士 田 中 秀 夫
副 査	筑波大学教授 農学博士 祥 雲 弘 文
副 査	筑波大学教授 農学博士 上 田 堯 夫

論 文 の 要 旨

本研究は、ビール醸造に固定化酵母を用いたバイオリアクターシステムを応用することにより、生産効率の大幅な上昇を達成することを目的として行ったものである。固定化酵母を用いた場合、醸造期間が短縮され、それに伴って建設費の低減すなわち小規模の設備で大工場なみの生産が可能となる。したがって、その経済的効果は多大である。一方、固定化酵母では、香気成分の酢酸エステルの生成が抑えられ、不快臭のジアセチルが過剰に生成される。さらに、製品ビール中の残存アミノ酸濃度が高くなる。このように通常のビールと香味が大きく異なり、これらが商品化にとって致命的な欠点となっている。また、バイオリアクターシステムを用いたビール醸造に適する固定化担体や発酵槽の開発も不十分であった。そこで、本研究では、これらの問題点と克服するために検討を進めた。以下にその概要を述べる。

1. 固定化酵母を用いてビール醸造を行った場合、ビール香気成分で最も重要な酢酸エチルおよび酢酸イソアミルの生成が抑えられた。そこで、これらの生成の制御法について検討した結果、麦汁中の主な糖であるマルトースをグルコアミラーゼで分解し、グルコースの比率を高めることによりその生成を制御できた。

2. 固定化酵母は、不快臭の原因物質、ジアセチルの前駆体である α -アセト乳酸を遊離酵母に比べ多量に生成する。その制御には固定化酵母をさらに固定化担体で覆うという二重固定化が効果的で、

この効果は固定化担体内で嫌気の状態になったことによるものと推定された。

3. 固定化酵母において、 α -アセト乳酸の生産が促進される理由を酵素レベルで追究した。ピルビン酸から α -アセト乳酸に変換するアセトヒドロキシ酸シンターゼ (AHAS) の活性を調べ、菌体当たりの酵素活性は固定化酵母の方が遊離酵母に比較し高いことを見出した。さらに、固定化担体内で酵母が増殖するときに AHAS の発現量が増加し菌体当たりの活性が高くなることが判明した。さらに連続発酵中の固定化酵母では常に AHAS 活性が高く維持されていた。そこで、高濃度の酵母を固定化し、担体内でのその増殖を抑えたところ、AHAS の発現量が減少し、 α -アセト乳酸の生成を抑制できた。

4. 固定化酵母による麦汁中のアミノ酸の取り込みを調べ、イソロイシンが多く取り込まれることを明らかにした。また固定化酵母は遊離酵母に比べコハク酸を多く生成するが、これは、固定化酵母においてメチルクエン酸経路の酵素活性が上昇し、イソロイシンからコハク酸への代謝が活性化されたものと推察された。

5. 連続醸造用の固定化担体の開発を行った。ポリビニルアルコール (PVA) とアルギン酸ナトリウムを組み合わせ、得られたビーズを凍結乾燥することにより強固な PVA ゲルビーズを得ることに成功した。本担体はアルギン酸ゲルビーズよりも高い活性を保持し、長期攪拌発酵においても全く損傷を受けなかった。

6. 固定化酵母を用いたビール醸造では、炭酸ガスが多く発生されるため発酵へ悪影響を及ぼす。そこで、炭酸ガス排出能の高い流動層型リアクターを採用し、ビールの連続醸造を行った。この場合、固定化担体としてキトサンビーズが最も適していた。本担体は固定化操作が簡便で耐摩耗性に優れており、食品に対する安全性も全く問題ない。本バイオリアクターシステムにより連続主発酵試験を行った結果、900時間にわたり安定した運転ができた。また、香味成分も現行の発酵法によるビールに近い値とすることができた。さらに本システムを用いて発酵を行うと、麦汁中のアミノ酸の取り込みも促進された。

以上の結果より、固定化酵母を用いたビール醸造において、酢酸エステルとジアセチル生成の制御法を確立し、バイオリアクターシステムによる香味の優れたビールの連続醸造への道を開くことに成功した。

審 査 の 要 旨

固定化酵母の適用によるビールの連続醸造において、第一の問題点は通常のビールと香味が大きく異なることである。第二に安定した連続運転のためのバイオリアクターシステムが確立していないことである。本研究はこれらの問題点を克服するために検討を進めたものであり、所期の目的を達成している。

まず、ビール香气成分の生成の制御を目的に固定化ビール酵母の生理について解析し、香气成分である酢酸エステルと不快臭のジアセチル生成の制御法を確立した。すなわち、グルコアミラーゼを用いて麦汁中のグルコース比を高めることにより、酢酸エステル生成の制御を可能にした。ジアセチル

については、酵母を二重固定化することによりジアセチルの前駆体である α -アセト乳酸の生成を抑制することができた。次に、固定化酵母において α -アセト乳酸の生成が促進される理由を酵素レベルで追究した。その結果、 α -アセト乳酸生成のキーエンザイムであるアセトヒドロキシ酸シンターゼ (AHAS) 活性は固定化酵母の方が遊離酵母より高いことを明らかにした。さらに、酵母が固定化担体内で増殖する時に AHAS の発現量が増加することを見出した。そこで高濃度の酵母を固定化し担体内での増殖を押さえたところ、AHAS の発現が抑制され、 α -アセト乳酸の生成を抑制することができた。以上のような両酵母の代謝活性の違いがなぜ生じるかの解明は今後の検討課題であろう。

続いて固定化担体の開発を行った。ポリビニルアルコールとアルギン酸ナトリウムを組み合わせ、優れたゲルビーズを得ることに成功している。さらに、キトサンビーズに固定化した酵母を用いて流動層型リアクターによりビールの連続醸造を行い、900時間にわたり安定した運転に成功した。また、香味成分も現行の発酵法によるビールに近い値とすることができた。

本研究は香味の優れたビールの連続醸造への道を開いており、基礎・応用の面から高く評価できる。よって、著者は博士（農学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。