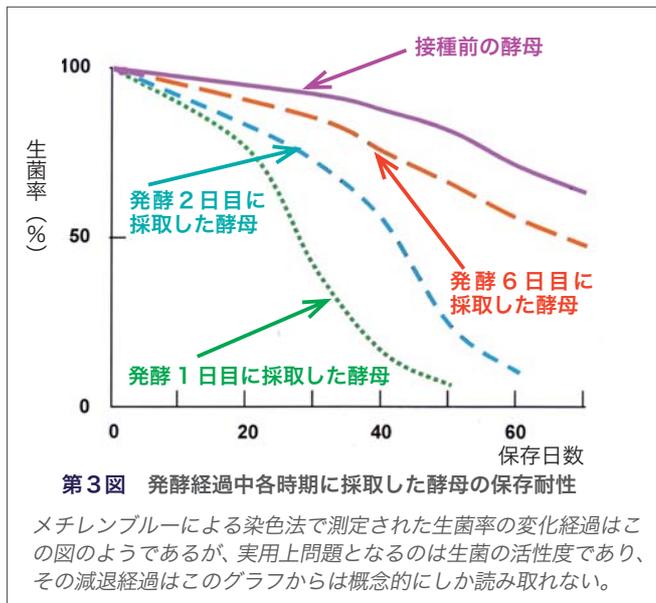


## ●▲■ 4. 回収された酵母の保存法

アルコール発酵が終了した時点での酵母の状態は、人間にたとえれば、40歳程度ではないでしょうか。若い頃ほどの活力はありませんが、条件が整えば未だ増殖は可能ですし、やや中年太りではあります(第1図、前編参照)が、その分環境変化にはより高い抵抗力を持っています。若い増殖期の酵母は細胞内のグリコーゲン含量が少なく、長期の保存などへの耐性は高くありません。酵母は増殖を終える頃からグリコーゲンを蓄積し始め、摂取できる養分が細胞外になくなると、細胞内に蓄積したグリコーゲンを消費することによって生きてゆきます。しかし、当然のことながらそれには限度があり、ある時点で酵母は死を迎えます(第3図)。



実際のビール醸造の場においては、発酵タンクから取り出された時点から酵母は急激に飢餓状態に入ります。したがって、十分に冷やされた状態でないと、早期に活性を失い死滅してゆくこととなります。発酵タンクから取り出されることによる最大の環境変化は空気に触れることです。空気中の酸素を吸収した酵母は増殖を開始できる生理状態となり、醸造者側としては生命力維持のために使用させたいグリコーゲンを使用して、急速に増殖の準備を始めます。したがって、酵母にそのような態勢を作させないように、回収の段階から次の発酵に使用する直前まで十分な低温条件下で取り扱う必要があります。下面発酵ビール酵母は3℃以上でそのような生理的变化を開始できるので、それ未満の低温で取扱えば比較的安心です。

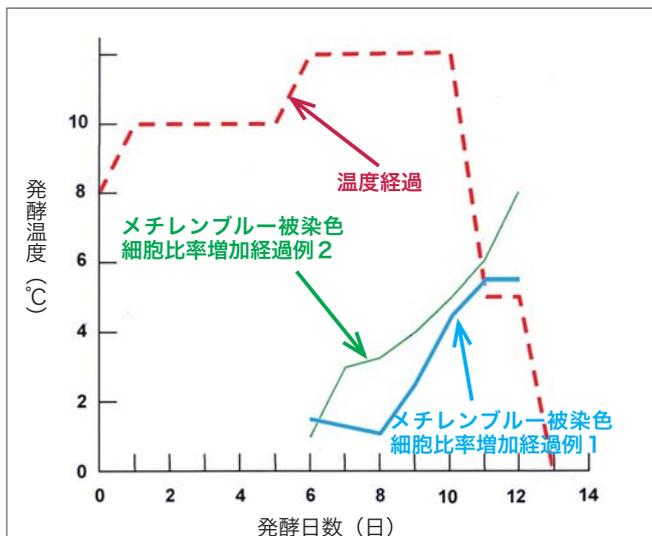
また、発酵タンクから取り出された段階では酵母は未だビールにまぶされた状態です。ビール中にはまだ(増殖態勢に入ってしまった)酵母によって摂取可能な栄養成分が含まれておりますので、これらも洗い流すことによって、増殖を抑制する必要があります。ビール成分の除去は酵母保存中の雑菌の増殖を抑制する点からも必要です。この酵母の洗浄作業により酵母の環境が大きく変化し、特に酸素と触れる程度が大きくなりますので、十分に冷却された環境下で行われる必要があります。発酵タンクから回収したままの(ビールを含んだ)状態で保存した方がよいとの意見もありますが、これはあくまで、十分な(氷結寸前までの)冷却が可能で、かつ、雑菌の汚染を防ぐことができている場合に限られます。

保存中の酵母は、前述のように細胞内のグリコーゲンを消費して生きて行きます。グリコーゲンが代謝されることにより、アルコール(と、炭酸ガス)が生成します。酵母濃度が高い状態ですので、アルコール濃度は1%近くに達することもあります。アルコールは侵入した酢酸菌により酢酸に変化する可能性があり、酢酸は0.5%の濃度で酵母を死滅させます。したがって、保存の初期には、何回かの水替えをして、残存ビール成分とともに、高まったアルコールの濃度を低下させる必要があります。「初期には」という意味は、グリコーゲンの代謝によるアルコールの生成は初期には大きく、後期には小さいからです。

酵母の保存性は、増殖期の若いものは弱く、定常期を経た、グリコーゲ

ンを十分に蓄積したものは強いと前述しましたが、発酵の仕方によりどの時期の酵母が回収されるかが違ってきます。これに関係して、近年言われていることに、Warm cropping ということがあります。これは、現在、多くの醸造場で実行されている、シリンドロコニカル型の発酵タンクを用いたダイアセチル休止を伴う発酵方式の場合に、酵母の回収は、若ビールを冷却した後ではなく、その前に行った方がよいという主張です。すなわち、この発酵方式の場合には、アルコール発酵をほとんど終了した若ビールは、その後のダイアセチル休止期間中、高い温度のまま数日おかれますので、その間に酵母が老衰し活性を低下させる恐れがあると言うのです(第4図参照)。

それは確かに理にかなった主張ではありますが、そもそもダイアセチル休止を伴う発酵方式をとる理由は、前発酵中の酵母の増殖制御が難しかった



本温度経過例では、発酵槽を閉鎖し、温度上昇(加圧)によりダイアセチル休止を開始してからすぐにメチレンブルー被染色細胞比率が上昇をはじめ、温度を下げた酵母回収を行っていた11日目にはすでに、限度とされる5%を越えてしまっている。したがって、より早期の酵母回収が望ましいことになる。

めに、ダイアセチルの前駆体であるアセト乳酸を高濃度に作らせてしまうからです。しかし、著者の考えによれば、大工場において巨大なシリンドロコニカル型の発酵タンクを用いた場合には、(タンク中で大きな水圧が酵母にかかるので)確かに酵母の増殖制御は難しいですが、多くの地ビール醸造場で使用されているような小型のタンクの場合には、伝統的な発酵法においてと同様に、アセト乳酸の生成を抑制した発酵方式をとることはずっと容易です。それができれば、たとえダイアセチル休止期間を採ったとしてもその際の温度はより低く、また、必要な期間もずっと短くすることが可能です。そうすれば酵母の活性低下もはるかに小さくすることが可能です。それではアセト乳酸の生成を抑制した発酵方式とはどのような方法なのかについては、本稿の趣旨からやや外れますので、別の機会に詳しく述べたいと思います。

酵母の保存中には十分に冷却せよと言っても、微生物の細胞を破壊する方法のひとつに「凍結融解」という方法があるくらいですので、決して凍結させてはなりません。凍結しない程度に十分に冷却した状態での酵母の寿命は最大4週間程度です。雑菌汚染がある場合にはより短くなります。前述のように、酵母の寿命(保存性)は発酵方法に依存する酵母の生理状態に大きく左右されますので、4週間程度というのは伝統的な低温発酵法において回収された酵母の場合であって、ダイアセチル休止を採る発酵法においては、酵母の活性が低下してしまっていますので、回収後、できるだけ早期に、場合によっては回収し保存することなく、発酵の終わったタンクから次の発酵タンクへ直接送って接種する方法も推奨されています。

## ●▲■ 5. 活性の判定

酵母の活性とは抽象的な言葉でありますので、より具体的に解説をしましょう。酵母が麦汁の中で増殖を開始する前には、その環境に適応し、細

胞内で増殖の準備を整える誘導期があります。この期間の長さは酵母の活性をよく反映します。すなわち、この期間に、まず、酵母に利用されるエネルギー源は、細胞内に蓄えられているグリコーゲンですが、これが、使用前の長期間の保存などにより減少してしまっていると、麦汁中の成分を利用するための細胞システムの再編成が不十分となり、増殖開始が遅れることとなります。増殖開始の遅れは顕微鏡で観察していれば判定できますが、製造現場でそのようなことはできにくいので、炭酸ガスの発生開始（湧きつき）により判定するのが一般的です。湧きつきが遅れたときには、活性の高い酵母を追加添加すればよいかというと、そう簡単ではありません。すなわち、すでに麦汁中の溶存酸素は枯渇してしまっていますので改めて通気をして酸素を供給する必要があります。しかし、当初接種した、弱った酵母は雑菌汚染を受けている可能性も高く、この時期の酸素供給は雑菌の増殖を促進してしまう危険性が高いです。すなわち、このような事態とならないように使用する酵母の活性を常に高く保つことが必要です。

また、やむを得ず弱った酵母を使用しなければならない場合には、接種量（酵母の活性が高ければ、通常では泥状酵母を麦汁量の1/100接種）の増加が必要です。初期の麦汁通気量の増加（時間延長）も勧められます。活性の高い（回収）酵母は品種や培養条件にもよりますが、豆腐のようによくしまつて、液と分離しています。弱ってくると溶けたようにトロトロとした粘濁な液状となります。

活性の判定によく使われる方法としてはメチレンブルー染色法がありますが、これは元来、死んでしまった細胞の判別方法であり、元気が良いか悪いかという活性度の判定には不適な方法です。しかし、その簡便さ、迅速さのために汎用されています。被染色細胞の存在比率が5%を超えたものは使用しない方がよいとされています。

もっとも簡便な方法は（実使用までに時間がある場合に限られますが）、あらかじめ決めた一定量の酵母を麦汁に接種して、決まった条件下で発酵させてみることでしよう。その液の濁り（酵母濃度に対応）の増加具合、あるいは、総重量の減少具合、あるいは、糖度の減少具合を、活性の高い酵母使用の場合と比較してみることで、その酵母の活性度をある程度定量的に把握することができると考えます。ごく大雑把ではありますが、活性の高い酵母の場合、誘導期の長さは世代時間（細胞数が2倍となるまでに要する時間）とほぼ等しく、常温で2時間半程度です。

酵母の水懸濁液に糖を添加し、一定時間後にどれだけ酸が作られたかによって活性度を判定する方法（Acidification Power Test）も広く使われている方法です。しかし、この方法を実施するには、酵母洗浄のための遠心分離機、蒸留水（純水）、pHメーター、恒温水槽が必要です。

## ●▲■ 6. 雑菌汚染について

太古の時代から行われてきた酒類の製造においては、多かれ少なかれ、雑菌汚染の防止法が組み込まれているといっても過言ではないでしょう。逆に言えば、そのような方法が組み込まれていない酒は品質的に劣り、歴史の中で消滅していったのでしょう。例えば、ワインの場合には、果汁の強い酸性度と、ポリフェノールの存在が特に乳酸菌の汚染防止に強い効果を発揮しています。椰子酒の製造においても、樹皮などをもろみに漬け込んでポリフェノールの汚染防止効果を発揮させていることが多いとのこと。清酒醸造においては、高い乳酸濃度で乳酸菌や酵母の（醸造中の）汚染を防いでいます。北ドイツ地方の上面発酵ビールでも、まず麦汁を乳酸菌で発酵させ、その後ビール酵母で発酵させる方法がとられている場合があります。ビールに苦味を与えるホップは、昔、ビールに添加されていた多くの薬草の中からその防腐効果もあって現在にまで使われてきたと言われています。

しかし現在のビール造りの場では、ホップの添加量は防腐効果（乳酸菌増殖抑制効果）の期待できる濃度よりはるかに低く、乳酸菌汚染の防備は期待できません。また、野生酵母の汚染についても、現在では純粋培養酵母の購入とその純粋培養が可能となっていることにより、それへの警戒感は低いものとなっていることを自覚している必要があると思います。万一、酵母がこれらの雑菌に汚染されてしまうと、酵母の活性を低下させることなく、それらを選択的に除去することは不可能に近く、酵母を廃棄せざるを得ないのが現実です。新たな酵母培養のための手間と時間と経費は莫大なものがありますので、軽微の汚染は常に起こっているとの認識の下に、その程度を抑制した状態で醸造の実施が必要です。

酵母は麦汁に直接添加されるものですので、最も危険な汚染源でもあるのです。タンクや配管や環境を清潔に維持することももちろん大切なことですが、酵母が汚染されてしまうと、それらの環境をも汚染させることになってしまいます。

微生物的な清潔度は、大きな工場では汚染微生物検出用培養基を用いた培養法によって常時チェックされています。それ以外の方法では、汚染がひどくならないと検出はなかなか難しいものです。乳酸菌による汚染が起こると、酸が生成しますのでビールのpHが低下気味となります。ビールのpHは前発酵終了後には低下せず、やや上昇気味となるものですが、逆に下降気味となった場合には乳酸菌の汚染が疑われます。加熱殺菌処理したビールではダイアセチル臭が強まるのでより早期に検出可能と言われていいます。このダイアセチル臭は生ビールでは検出できませんので注意が必要です。また、ダイアセチル臭は発酵異常によっても発生の可能性があるためその点にも注意が必要です。

野生酵母による汚染の影響は、乳酸菌汚染の場合ほどにはビール品質に大きくは影響してきません。それは、ビール酵母に似た性質のものほど汚染の可能性が高いからです。香味的（ビール成分的）異常の特徴的なものは、フェノール臭です。これは、ビルスナータイプのビールでは検出可能ですが、当然のことながら、フェノール臭を特徴とするヴァイツェンビールなどでは検出不可能です。その他の異常は、それらの酵母の汚染（混在）が原因となって起こる発酵異常によって起こるものが多いです（第2図、前編参照）。したがって、発酵状況（麦汁糖度、pH、浮遊酵母濃度、等の変化経過）の注意深い観察により検出はある程度可能でしょう。しかし、発酵異常を惹起するほどの汚染の程度は数10%以上に達していますので、酵母の廃棄はもちろん、環境の十分な汚染除去が必要です。

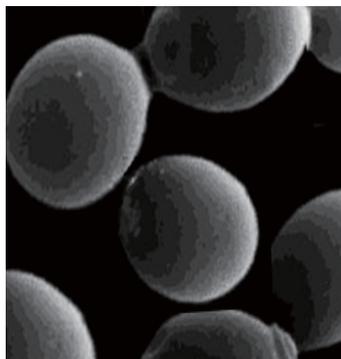
また、同じ醸造場で2種以上の酵母を使用している場合には相互汚染の可能性があり、凝集性の強いものがより優先的に回収される可能性が高いために、その存在比率を高める危険性があります。つまり、ビール酵母同士であっても他の菌株は汚染菌となりうるのです。

上面発酵の場合には、同一ロットの酵母を何十年も更新することなく使用し続けているという場合があります。これは、充分な環境の清潔度維持とともに、乳酸菌が酵母よりも増殖が遅いことと、最適なビール酵母を凝集性の違いを利用して適期に選択的に回収できることを利用して実施できているのであると思います。

## ●▲■ おわりに

以上、なるべく具体的に書いてみたつもりですが、疑問点も多々あることと思います。公共機関である、(独)酒類総合研究所(代表電話:082-420-8000)の技術開発研究室へお気軽にお問い合わせになることをお勧めいたします。

text. T.Inoue



井上 喬  
(いのうえ たかし)

(プロフィール)  
1935年、東京都に生まれる。東京大学農学部卒業。キリンビール・ビール科学研究所所長、秋草学園短期大学教授を歴任。「ビールのダイアセチルに関する研究」にて農学博士号。全北米大陸醸造者協会(MBAA)より功績賞。米国醸造化学者協会(ASBC)より栄誉賞。日本醸造協会評議員。

前 MBAA 技術委員会アジア地区代表委員。前 Institute of Brewing, Asia Pacific Section 日本代表委員。

(著作)

「ジアセチル」(幸書房)、「やさしい醸造学」(工業調査会)、「お酒のはなし」(学会出版センター、共著)、「Recent Advances in Japanese Brewing Technology」(Gordon and Breach Scientific Publishers)など。2006年に米国醸造化学者協会(ASBC)から「DIACETYL」が出版予定。

QA? 本稿に関するご質問・ご意見等は、きた産業 ([info@kitasangyo.com](mailto:info@kitasangyo.com)) にご連絡ください。筆者に転送いたします。