

GC-MSとLC-MSを用いたビール中の香気・代謝成分の分析 および野生酵母の特徴を活かしたクラフトビール開発への応用

武守佑典¹、中筋悠斗¹、石本実里¹、飯田哲生¹、野村文字¹、小林まなみ¹、丸山裕慎²、高崎廉³、山宮拓馬³、鈴木成宗³
1 株式会社島津製作所、2 三重工業研究所、3 ISEKADO (伊勢角屋麦酒)

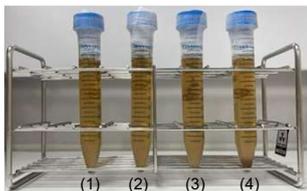
1. はじめに

クラフトビールは小規模スケールにて醸造されるビールで世界的で愛飲されています。醸造所によって麦芽やホップなどの材料、ビール酵母や醸造方法にこだわりがあり、個性溢れる香り・味を楽しむことができます。ビールの風味の評価は品質管理や製品開発などに必須であり、その方法は多岐にわたります。近年、人による官能評価の代わりに、分析機器を用いて食品中の香気成分と代謝成分を網羅的に測定し、客観的に風味・機能性を評価する手法が注目を集めています。

ここでは、ガスクロマトグラフ質量分析計 (GC-MS) と液体クロマトグラフ質量分析計 (LC-MS) によりビールを測定しました。まずGC-MSにより香気成分を分析しました。次にGC-MSとLC-MSそれぞれによるターゲットメタボロミクスにより、サンプル中の代謝成分を相補的に解析しました。GC-MSとLC-MSで検出可能な化合物が異なるため、両手法を用いることでデータを補完できます。さらに得られたデータから、クラフトビール開発へのフィードバックを試み、野生酵母を活用した新規クラフトビールの開発を行いました。

2. 分析サンプル

2種類の野生酵母およびアメリカンエール系、ロンドンエール系の商用酵母を用いてビールサンプルを試験醸造しました。各サンプルは同じ原料・条件で醸造し、使用した酵母のみが異なる4種類のサンプル (図1) を分析しました。



- (1) 野生酵母1
- (2) 野生酵母2
- (3) ロンドンエール系酵母 (商用酵母)
- (4) アメリカンエール系酵母 (商用酵母)

図1 試験醸造された4種のビールサンプル

3. GC-MSを用いた香気成分分析

香気成分分析にはシングル四重極型GC-MSのGCMS-QP2020NXとトラップモデルのヘッドスペースサンプラHS-20 NXを接続したシステムおよびSmart Aroma Database™を使用して4種のビールサンプルを分析しました。

Scan分析の結果、4種のサンプルから100成分が同定されました。続いて、各サンプル間の差および特徴的な成分を視覚化するため、これら成分の面積を用いて主成分分析を行いました。解析にはSIMCA18(インフォコム社)を使用しました。

主成分分析の結果を図2に示します。スコアプロット図2-a上では4種類のサンプルが第一および第二主成分軸によって分割され、4つのクラスターに分けられました。特に、第一主成分上では、商用酵母2種が正の方向に、野生酵母2種が負の方向にプロットされました。これは、商用酵母と野生酵母でビールに含まれる香気成分の傾向が大きく異なり、フレーバーに特徴的な違いを持つことが示唆されました。

また、各サンプルに相対的に多く含まれる成分をローディングプロットから確認しました。図2-bには、各酵母による特徴が見られる成分の例を示しました。

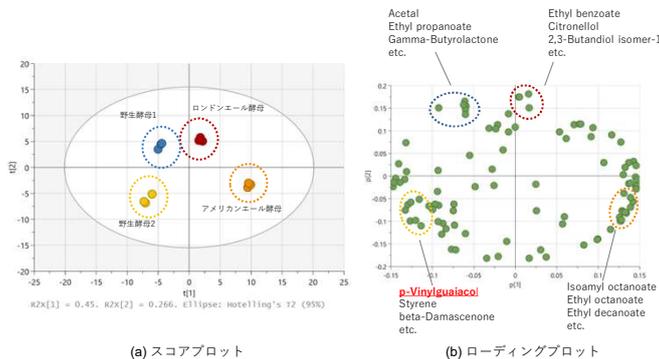


図2 香気成分の主成分分析結果

この分析では、野生酵母2において特に高濃度の4-Vinylguaiacol (4-VG) が検出されました。この結果は、各ビールにおける4-VGのマスクロマトグラムの比較を見ると明らかで、野生酵母2のピークが他のサンプルと比較して特に大きく検出されており、PCAの結果から野生酵母2に特徴的な成分を特定することができました。

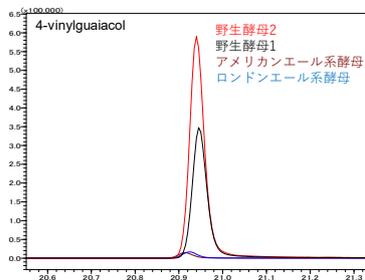


図3 4-vinylguaiacolのマスクロマトグラムの比較

4. GC-MS・LC-MSによるターゲットメタボロミクス

メタボロミクスとは生体中の代謝物 (メタボローム) を網羅的に測定する技術です。メタボロミクスは様々な分野で利用されており、食品分野では品質管理、製造・保管工程の確認、機能性成分の探索などに活用されています。

分析には、ターゲットメタボロミクスに最適なトリプル四重極型GC-MSとSmart Metabolites Database™およびトリプル四重極型LC-MSとメソッドパッケージ一次代謝物 Ver.3を使用しました。

GC-MSでは対象成分が多いことが特長ですが、TMS誘導体化が必要となり前処理が煩雑です。一方LC-MSは、検出可能な成分数がGC-MSと比較して少ないですが、LC-MSでしか測定できない成分もあり、簡便に測定を行うことが可能です。



図4 メタボロミクスに適した測定機器

5. GC-MS・LC-MSによるターゲットメタボロミクスの結果

GC-MSおよびLC-MSによる代謝成分分析の結果、GC-MSではアミノ酸や有機酸、糖などを中心に235成分、LC-MSではアミノ酸やビタミン、核酸塩基などを中心に104成分が同定され、重複した成分を除くと合計278成分の代謝物が同定されました (図5)。

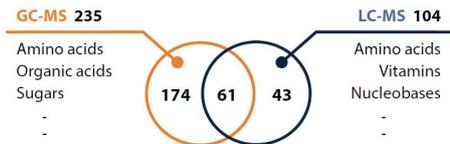


図5 GC-MSとLC-MSにより検出された代謝物数

野生酵母2を用いたビールサンプルの特徴を調べた結果、IsoleucineやValineといった特定のアミノ酸類が少ない傾向が確認されました。この結果から、発酵過程において酵母がこれらのアミノ酸類を消費するという仮説が得られました。また、このサンプルでは麦芽由来のMaltoseが高い濃度で残留していることも確認され、野生酵母2の発酵過程ではMaltoseが消費されにくいことが考えられました。

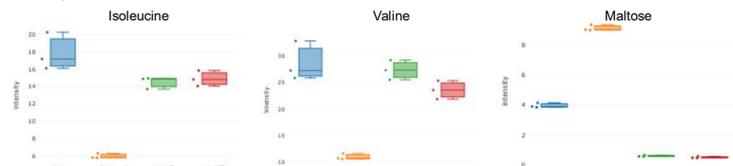


図6 野生酵母2に特徴的な成分のボックスプロット

6. 機器分析結果に基づいたクラフトビールの共同開発

分析結果から得られた知見を活用し、次の3つのアプローチによって島津製作所とISEKADOのコラボレーションビールを開発しました。

- ▶ 野生酵母2のビールサンプルではスパイシーな香気を持つ4-Vinylguaiacolが特に多く検出されました。そこで、野生酵母2を使用して、スパイシーな香りが特徴のBelgian IPAを醸造しました。
- ▶ 野生酵母2を使用したビールサンプルにおいて特定のアミノ酸濃度が特に少ないことから、野生酵母2が発酵中に多量のアミノ酸を消費するという仮説が立てられました。小麦とオーツ麦を原料に追加することで発酵を安定させることに成功しました。
- ▶ 野生酵母2のビールサンプルには麦芽由来のマルトースが多く含まれていました。この酵母は麦芽由来の糖を代謝する能力が低く、キレにけるビールとなりやすいため、スクロースを添加することによってキレを改善しました。

GC-MSとLC-MSによる分析結果から、野生酵母2の特徴的な香りを引き立てながら、ドライさとバランスを感じる味わいを生み出すことに成功しました。

6. まとめ

野生酵母と商用酵母を用いたビールサンプルを試験醸造し、その香気成分および代謝成分の分析を行いました。分析の結果、野生酵母2に特有なスパイシーな香りに寄与する4-Vinylguaiacolを同定できました。ターゲットメタボロミクスでは、野生酵母2のビール中の特定のアミノ酸濃度が低い一方で、マルトースが多く存在することが明らかになりました。これらの分析結果から野生酵母2の個性的な特徴を活かしたクラフトビール「香調」を開発しました。



図7 コラボレーションビール：香調 BREWED ON SCIENCE by ISEKADO and SHIMADZU Innovation1