

ビールのオフフレーバー ～その発生要因と抑制～

『食品と開発』 Vol.50, 2015, No.12

アサヒビール株式会社 酒類技術研究所

岸本 徹

ビールのオフフレーバー ～その発生要因と抑制～

アサヒビール(株) 酒類技術研究所 岸本 徹

はじめに

off-flavorは日本語で「異臭」と訳されるが、異臭騒ぎがメディアで取り上げられることも多く、「異臭」と聞くと「騒ぎになるような異常な臭気」を連想されることも多い。ここで取り上げるオフフレーバーは「騒ぎになるような異常な臭気」ではなく、「その商品の本来のおいしさを損なう不快なフレーバー」と定義したい。食品のオフフレーバーとなる化合物は、どのような種類の食品においてもおいしさを損なうオフフレーバーになり得るとは限らない。たとえば後に述べるダイアセチルは、多くのピルスナービールでは発酵不順が原因で生成するオフフレーバーとして扱われるが、バターや赤ワインでは欠かせない特徴香気成分の一つである。酪酸や吉草酸、プロピオン酸などは腐敗臭と称されることもあるが、納豆やくさや、鮎寿司などの発酵食品では欠かせない特徴香であり、商品コンセプトや食習慣が変わればオフフレーバーに対する考え方も変わる。このように食品のオフフレーバーを論じることは容易ではないが、ここでは日本のピルスナービール(淡色ビール)の爽快さやおいしさを

損なうオフフレーバーについて述べる。国産のビールの主たるタイプであるピルスナービールの製造工程は、大別すると、仕込み、発酵、熟成、貯酒、容器充填という5工程に分けることができる(図1)。これらの工程段階や用いられる原料、または出荷された後の保存中に発生するオフフレーバーについて、その発生要因と抑制という観点から述べたい。

1. ビールの製造工程中または原料に由来するオフフレーバー

(1) カビ臭

水、原料に由来するオフフレーバーである。原因物質としては2-methyl-isoborneol、geosmin、2,4,6-trichloroanisole (TCA)がよく知られている。閾値以上の濃度で存在すると文字通りカビ様、墨汁様の香りを感じ、水中での閾値は個人差が大きいものの数ppt¹⁾とされている。2-methyl-isoborneol、geosminは藻類や放線菌が産生する²⁾。TCAの生成経路についてはいくつかの報告が存在するが、微生物が関与するものとして、カビなどが

2,4,6-trichlorophenolをメチル化することによってTCAを生成するという報告がある。原料用水に含まれていた場合、用水をオゾンや活性炭などの高度処理を施すことによって取り除ける。水道法によって定められている水質基準の中で、カビ臭原因物質の濃度も管理されており、現在では上水から直接カビ臭を感じることは稀である。しかし高度処理等によって上水から塩素等が除かれると、逆にカビなどの菌類が増殖しやすくなる。そのため高度処理後の水の管理、製造設備中の残水には注意を払わねばならない。またビールの原料である麦芽、スターチや米、濾過に用いる珪藻土などを湿気の多い場所に保管した場合、そこにカビが発生し、ビール中へカビ臭が移行する恐れがある。そのため、原料や濾過助剤の管理にも細心の注意を払わねばならない。

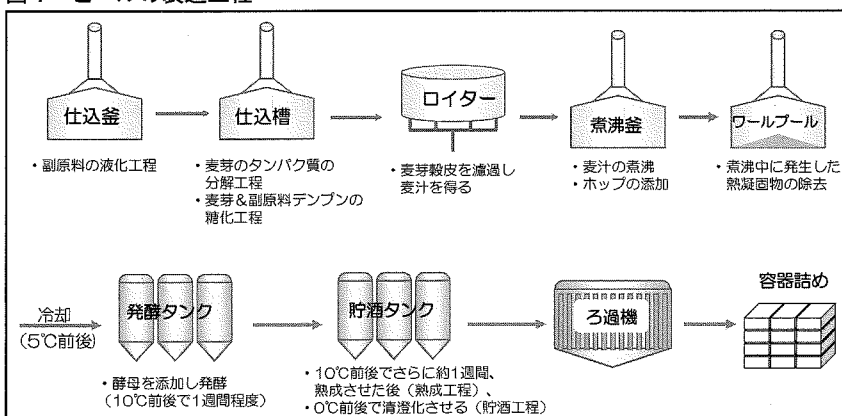
(2) ダイアセチル

(2,3-butanedione : 図2)

発酵工程にて生成されるバター様の香気である。乳製品や赤ワインには欠かせない特徴香であるが、ビール、特にピルスナービールにおいてはその爽快さと軽快さを損なうオフフレーバーとして認識される。醸造工程ではこのダイアセチルと、同様の香調を有する2,3-pentandione(図2)を併せた濃度が、vicinal diketone (VDK)として管理されている。2,3-butanedioneのビール中での閾値は0.15ppm、2,3-pentandioneの閾値は1.0ppmと報告されている³⁾。

酵母がバリン、インロイシンを細胞内で生合成する際に、中間体である α -アセト乳酸、アセトヒドロキシ酪酸を合成し、一部を細胞外に放出し、分解されダイアセチル(2,3-butanedione)、

図1 ビールの製造工程



2,3-pentanedioneとなる。これらのオフフレーバー化合物は酵母存在下では細胞内に取り込まれ、還元され無臭化されるが、酵母の活性(還元力)が不十分であれば、このジアセチルはオフフレーバーとしてそのまま製品ビールまで移行することとなる。製造工程(図1)において、約1週間の発酵工程後に熟成工程(発酵工程と同程度の温度で約1週間)を経るのは、酵母によってこのVDKを十分に還元させ、VDKを閾値以下の濃度にまで下げるためである。VDKの生成に影響を与える要因としては、酵母の活性、発酵条件、貯酒の温度などが挙げられており⁴⁾、

それらを制御することが欠かせない。

(3) 硫化水素臭

硫化水素は、発酵中に生成する良く知られたオフフレーバーであり、ビール業界ではその生成メカニズム解明に古くから取り組まれ知見が蓄えられているが、未だ不明な点も多い。硫化水素は、酵母がメチオニンやシステインといった含硫アミノ酸を合成する際に中間代謝物として生成される。また、アミノ酸を多く含む麦汁の発酵においても、発酵後期に酵母による糖の消費が停止して、酵母細胞内のグリコーゲンが減少すると同時に、硫化水素濃度が上昇する現象が確認されてい

る³⁾。図3に示すように、酵母が含硫アミノ酸を合成する過程で菌体外の硫酸イオンが酵母細胞内に取り込まれ、亜硫酸を経て硫化水素が生成される。酵母の増殖中は細胞の成熟期でその濃度が高くなり、出芽の時期に減少する、というように分裂サイクルの段階に応じて増減を繰り返す。ビールの製造で用いられる下面酵母の方がその生成量が多い。

硫化水素の生成を抑制する方法として、麦汁の組成、酵母菌株、酵母増殖条件、発酵条件の検討などが行われている。例えば、近年市場で多く販売されている発泡酒などの麦汁中の窒素含量は、ビールに比べて少ない。麦汁中の含硫アミノ酸が少ないと、酵母細胞内でそれらのアミノ酸を積極的に合成しようと働くため、中間体である硫化水素を多く生成する。また、発酵温度を上げると酵母は硫化水素を生成しやすくなる。さらに、硫化水素および亜硫酸に着目した酵母育種も報告されている。

(4) 青海苔、キャベツ様のオフフレーバー

Dimethyl sulfide (DMS) がビール中に閾値以上の濃度で残存すると、キャベツ、青海苔様のオフフレーバーが検出されることがある。DMSのビール中での閾値は30-45 μg/Lと報告されている⁵⁾。DMSは、①麦芽由来のS-methyl methionineの熱分解によって生成する経路、②発酵中にdimethyl sulfoxideが酵母によって還元され生成する経路、の2つの経路によって生成して考えると考えられている⁶⁾。①の経路で生成するDMSは仕込工程中に十分に煮沸することで揮散する。②の経路で生成するDMSは発酵中に発生する炭酸ガスによって揮散するので、そのために酵母菌株、発酵条件を制御せねばならない。

(5) コゲ様、ゴム様のオフフレーバー

ビールの仕込み～発酵の工程において低閾値の含硫化合物が通常よりも高い濃度で残存し、オフフレーバーとしてコゲ様香気やゴム様香気が付与されることがある⁷⁾。

コゲ様、ゴム様香気は濃色のビールにおいてはビールが持つ香調と類似

図2 ビールのオフフレーバーに寄与する化合物

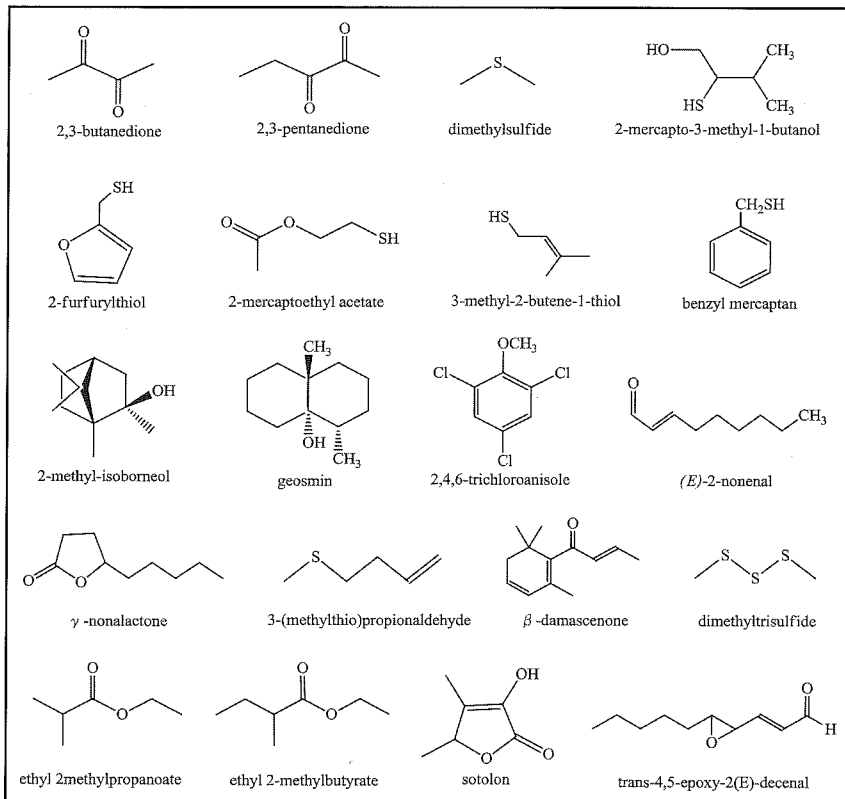
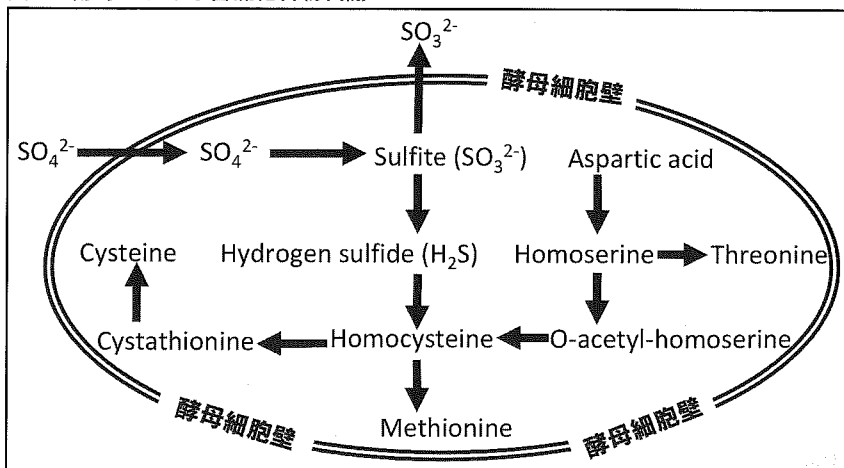


図3 酵母における含硫化合物代謝



しているためにオフフレーバーと認識されないが、軽快なピルスナータイプのビールでは、微量の濃度で存在するだけでその軽快さを損なう。香調に寄与する原因成分として2-furfurylthiol (コーヒ様; 閾値 $2.8 \mu\text{g/L}$)、2-mercaptoethyl acetate (ゴム様; 閾値 $1.6 \mu\text{g/L}$)、3-methyl-2-butene-1-thiol (コゲ様; 閾値 $0.002 \mu\text{g/L}$)、benzyl mercaptan (ロースト様; 閾値 $0.002 \mu\text{g/L}$)を同定している⁷⁾(図2)。

2-furfurylthiolは黒麦芽にも含まれ、システインなどの含硫アミノ酸とリボース等の還元等がメイラード反応を起こすことによって生成される。そのためビールの醸造工程においては麦汁中の糖・アミノ酸の組成、加熱された温度と時間が影響を与えている⁷⁾。2-mercaptoethyl acetateはアミノ酸含量が低い発泡酒などの麦汁で、かつ緩慢ではなく短期間にラッシュな状態で発酵が進んだ場合にその濃度が上昇する傾向がある⁷⁾。3-methyl-2-butene-1-thiolは後に述べるビールへの照射により生成してくる日光臭として知られるが、照射により生成される経路以外に、発泡酒などのアミノ酸含有量が低い麦汁中でメチオニンが不足した場合、煮沸時のpHを低くした場合、煮沸工程で生成した熱凝固物(熱トループ)がワールプールで麦汁から除去されずに発酵タンクまで持ち込まれた場合に、その濃度が上昇する傾向がある⁷⁾。

(6) ネギ・汗様のオフフレーバー

原因物質は含硫化合物の2-mercapto-3-methyl-1-butanol (2M3MB; 図2)と同定されており^{8,9)}、ビール中に閾値以上の濃度で存在するとネギ様、汗様の香気が感じられる。淡色ビール中での弁別閾値は $0.15 \mu\text{g/L}$ であり、淡色・濃色いずれのビール中でも風味を損なう異質な香気として認識される。本化合物の詳細な生成メカニズムは未だ明らかにされていないが、ホップを添加した麦汁が、高温の状態で酸素を巻き込むと麦汁中に2M3MB前駆体が大量に作られ、その後の発酵工程において閾値濃度を上回る2M3MBを生成すると考えられる⁹⁾。

2. 製品ビールの保存中に生成してくる劣化臭

(1) カードボード臭

ビールの酸化劣化により生成するオフフレーバーである。酸化により生成する代表的なオフフレーバーで、(E)-2-nonenalが原因物質である。この物質に由来する香気はダンボールのにおいに類似していることからカードボード臭とも呼ばれる。濃色ビールや味が濃いビールではこの原因物質が少々存在してもカードボード臭を感じないが、軽快なピルスナービールでは(E)-2-nonenalが $0.035 \mu\text{g/L}$ の濃度で存在すればカードボード臭が感じられ、その軽快さが損なわれる¹⁰⁾。

その生成機構は完全に解明されていないが、(E)-2-nonenalは発酵前の仕込工程中に既に、脂質の酸化によって生じていると考えられている。仕込み工程において、麦芽に含まれる酵素のリポキシゲナーゼ(LOX)によりリノール酸から9-ヒドロペルオキシドが生成し、(E)-2-nonenalへと分解される^{11~17)}。しかしその後(E)-2-nonenalなどの不飽和アルデヒド類はビール中の他の成分と付加体を形成し、無臭の形で製品ビールに移行する。ビールの保存中に酸化されると付加体からアルデヒドのみが遊離すると考えられている^{18,19)}。(E)-2-nonenal生成の制御に対しては様々な試みがなされている。大麦から麦芽を造る工程(製麦工程)にてパラメータを制御し麦芽中のリポキシゲナーゼ活性を低減させる方法や仕込工程にて脂質の酸化を抑制させる方法^{20,21)}、発酵条件の検討などがなされてきている。また原料育種の研究もなされてきており、リポキシ

ゲナーゼを欠損した大麦の育種、およびそれを用いたビールの製造が行われている^{22,23)}。

(2) 老化臭

製品ビールが酸化されるとカードボード臭とは異なる、もったりとした甘い香りが増加してくることがある。濃色のビールにおいてはビールが持つ香気と類似しているために目立たないが、軽快なピルスナータイプのビールでは、この香気はその軽快さを損なうためにオフフレーバーとして認識される。この甘い香気は老化臭と称されることもある。老化臭および老化臭原因物質はビールの酸化において増加して来るが、特に濾過後、容器への充填時に酸素を巻き込むと顕著に目立つ。

新鮮なビールに比べて酸化したビールでは多数の成分が増加しており、この老化臭には複数の化合物が相乗的に寄与しておりオMISSIONテストを繰り返した結果から、老化臭には(E)-2-nonenal、3-methyl-2-butene-1-thiol、 γ -nonalactone、3-(methylthio)propionaldehyde、(E)- β -damascenone、dimethyltrisulfide (DMTS)、ethyl 2-methylpropanoate、ethyl 2-methylbutyrate、sotolonの9成分が寄与していると報告している²⁴⁾(表1)。DMTSに関しては、日本酒において老香に寄与することが報告されており、その前駆体が1,2-Dihydroxy-5-(methylsulfinyl)pentan-3-oneと同定されている^{25,26)}。ビールにおいても、DMTSの推定される生成メカニズムとともに、 SO_4^{2-} の添加によってDMTS生成が抑制されること、発酵条件をコントロールすることにより生成が抑制されることを報告している²⁷⁾。

表1 老化臭への寄与成分²⁴⁾

| 化合物名 | ピルスナービール中の含有量 ($\mu\text{g/L}$) | | 閾値 ($\mu\text{g/L}$) | 香調 |
|-------------------------------|-----------------------------------|-------------|------------------------|---------|
| | 新鮮なビール | 25°C 1ヶ月保存後 | | |
| (E)-2-nonenal | 0.10 | 0.19 | 0.10 | カードボード |
| 3-methyl-2-butene-1-thiol | 0.0024 | 0.0045 | 0.002 | ケモノ、焦げ |
| γ -nonalactone | 18.1 | 28.9 | 11.2 | ココナッツ |
| 3-(methylthio)propionaldehyde | 1.97 | 3.35 | 1.8 | ポテト、醤油 |
| (E)- β -damascenone | 1.14 | 2.22 | 2.5 | ハチミツ、バラ |
| dimethyltrisulfide | 0.008 | 0.014 | 0.016 | タマネギ |
| ethyl 2-methylpropanoate | 0.19 | 0.29 | 6.3 | 柑橘 |
| ethyl 2-methylbutyrate | 0.16 | 0.27 | 1.2 | 柑橘 |
| sotolon | 0.38 | 0.95 | 1.2 | コゲ、カレー |

sotolonはR体がナッツ様(コゲ)の香気を呈するのに対し、S体はカレー様の香気も呈する²⁸⁾。ビール中生成機構についても考察されており²⁹⁾。酸素の混入を防ぐことにより増加を抑制されることが報告されている。

(3) 金属様のオフフレーバー

酸化したビールから、カードボード臭や老化臭とは別に金属様の香気を検出することがある。原因物質はtrans-4,5-epoxy-2E-decenalと同定されており³⁰⁾、そのビール中での閾値は0.059 µg/Lである³¹⁾。製品の保存試験結果では、保存前の製品ビールには本化合物は0.01 µg/Lしか含まれないが、40°Cで5日程度保存すると、濃度は0.12 µg/Lまで上昇すると報告されている³⁰⁾。

本物質はリノール酸より9-LOX、13-LOX、および自動酸化の産物の一つとして生成するとされているが、ビール中での詳細な生成メカニズムは明らかにされていない。報告³⁰⁾によると、仕込の煮沸工程前には麦汁中に3.7~4.0 µg/Lの濃度で存在するが煮沸中に揮散し、ホップを添加していない麦汁では0.1 µg/Lまで減少するが、ホップを添加した麦汁では0.5 µg/L程度含まれる。このことから本物質はホップからも由来していることがわかる。

(4) 日光臭

ビールがビンに充填された後、ビンに日光、蛍光灯、水銀灯などの紫外線が照射されると、ビール中に発生するオフフレーバーであり、原因物質は3-methyl-2-butene-1-thiol (MBT) である。閾値以上の濃度で存在するとコゲ様、ロースト様の香気を感じる。海外ではスカンク臭、狐尿臭とも呼ばれ、ビール業界では日光臭(lightstruck flavor)と称されている。濃色のビールにおいてはビールが持つ香気と重複するために目立たない

が、ピルスナータイプのビールでは、この香りはその軽快さを損なうためにオフフレーバーとして扱われる。弁別閾値が極めて低くピルスナータイプビール中での閾値は0.002 µg/Lと報告されている³²⁾。

MBTの生成機構を図4に示した。紫外線の照射により、ビール中の苦味成分であるイソフムロンのアリル側鎖が光分解を受けラジカルを生じる。生じたラジカルはビール中のSラジカルと反応しMBTを生成する。日光臭を発生させる紫外線の波長は350~550nmであり、これをできる限り遮蔽するために、国内で流通するビールは茶色のビンに充填されており、トラックの配送の際には遮光用のシートで覆うなどの取り組みも行われている。

おわりに

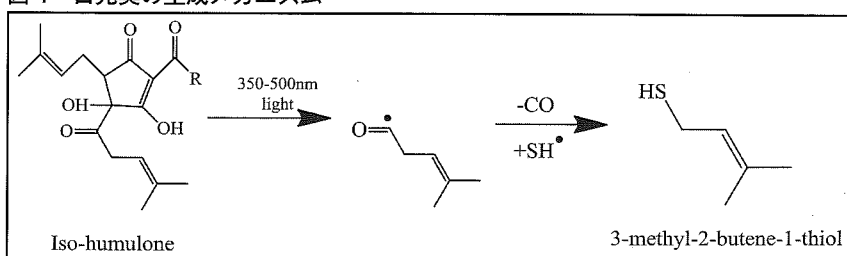
ビールの本来のおいしさを損なうオフフレーバーについて述べた。原因物質を同定できれば、その発生由来も特定しやすくなり、工程にて制御することが可能となる。また同定された化合物を用いて官能評価パネルを訓練することが可能になると、官能評価での検出感度を上げることができ、さらに製造工程を管理しやすくなる。このようにオフフレーバーの制御においては原因物質を同定し定量することが最も重要であり、今後の分析機器の発展によってさらにそれが容易になっていくと思われる。

(参考文献)

- 1) Young, W. F., Horth, H., Crane, R., Ogden, T. and Arnott, M.: Taste and Odor threshold concentration of potential potable water contaminants, *Water Res.*, **30**, 331-340, (1996).
- 2) 藤本尚志: 水道における障害微生物と対策, *日本醸造協会誌*, vol.110, 687-695, (2015)
- 3) Meilgaard, M. C.: Flavor chemistry of beer: part II: flavor and threshold of

- 239 aroma volatiles, *Tech. Q. Master Brew. Assoc. Am.*, **12**, 151, (1975).
- 4) Gale, P. W.: Contents of Cause and Effect Fishbone Diagrams Section in *Brewing Chemistry and Technology in the Americas*, American Society of Brewing Chemists, (2007).
- 5) Meilgaard, M. C.: Perception of flavor differences between beers from their chemical composition, *J. Agri. Food. Chem.*, **30**, 1009-1017, (1982).
- 6) Leemans, C., Dupire, S., and Maron, J.Y.: *Proc. Congr. Eur. Brew. Conv.*, **78**, (1993).
- 7) Kobayashi, M., Yako, N., Iida, A., Kono, K., Aoki, K., Identification of new volatile thiols with a strong empirical aromatic aroma in beer, *Annual meeting of ASBC*, (2007).
- 8) Kishimoto, T., Wanikawa, A., Kono, K., Shibata, K., Comparison of the odor-active compounds in unhopped beer and beers hopped with different hop varieties, *J. Agric. Food Chem.* **54**, 8855-8861, (2006).
- 9) Kobayashi, M., Iida, A., Kono, K., and Shibata, K.: Factors affecting formation of the volatile thiols 3-methyl-2-butene-1-thiol and 2-mercapto-3-methyl-1-butanol during fermentation, *Annual meeting of ASBC*, (2006).
- 10) Meilgaard, M. C.: Individual difference in sensory threshold for aroma chemicals added to beer, *Food Qual. Preference*, **4**, 153-167, (1993).
- 11) Drost, B. W., Van den Berg, R., Freijee, F. J. M., Van der Velde, E. G., Hollemans, M.: Flavor stability, *J. Am. Soc. Brew. Chem.*, **48**, 124-131, (1990).
- 12) Kobayashi, N., Kaneda, H., Kano, Y., Koshino, S.: Behavior of lipid hydroperoxides during mashing, *J. Am. Soc. Brew. Chem.*, **52**, 141-145, (1994).
- 13) Yang, G., Schwarz, P. B., Vick, B. A.: Purification and characterization of lipoxygenase isoenzymes in germinating barley, *Cereal Chem.*, **70**, 589-595, (1993).
- 14) Yang, G., Schwarz, P. B.: Activity of lipoxygenase isozymes during malting and mashing, *J. Am. Soc. Brew. Chem.*, **53**, 45-49, (1995).
- 15) Walker, M. D., Hughes, P. S., Simpson, W. J.: Use of chemiluminescence HPLC for measurement of positional isomers of hydroperoxy fatty acids in malting and the protein rest stage of mashing, *J. Sci. Food Agric.*, **70**, 341-346, (1996).
- 16) Visser, M. K., Lindsay, R. C.: Ester precursors of aldehydes associated with staling of beer, *MBAA Tech. Q.*, **8** (3), 123-128, (1971).
- 17) Tressl, R., Bahri, D.: Silwar, R. Formation of aldehydes by oxidation of lipids and their importance as "off-flavour" components in beer. *European Brewery Convention*, IRL Press, Oxford University Press:

図4 日光臭の生成メカニズム



- Oxford, U.K., pp 27-41, (1979).
- 18) Lermusieau, G., Noel, S., Liegeois, C., Collin, S.: Nonoxidative mechanism for development of trans-2-nonenal in beer, *J. Am.Soc. Brew. Chem.*, **57**, 29-33, (1999).
 - 19) Nordlöv, H. and Winell, B: *Proc. Congr. Eur. Brew. Conv.*, Helsinki, 291, (1985).
 - 20) Hugues, M., Boivin, P., Gaillard, F., Nicolas, J., Thiry, J. M., and Richard-Forget, F.: Two lipoxygenases from germinated barley. - Heat and kilning stability, *J. of Food Science*, **59**, 885-889, (1994).
 - 21) Kobayashi, N., Kaneda, H., Kano, Y. and Koshino, S.: The Production of Linoleic and Linolenic Acid Hydroperoxides during Mashing, *J. Ferment. Bioeng.*, **76**, 371, (1993)
 - 22) Hirota N., Kaneko T., Kuroda H., Kaneda H., Takashio M., Ito K., Takeda K.: Characterization of Lipoxygenase-1 Null Mutants in Barley, *Theor Appl Genet*, **111**, 1580-1584, (2005).
 - 23) Hirota N., Kuroda H., Takoi K., Kaneko T., Kaneda H., Yoshida I., Takashio M., Ito K., and Takeda K.: Brewing Performance of Malted Lipoxygenase-1 Null Barley and Effect on the Flavor Stability of Beer, *Cereal Chemistry*, **83**, 250-254, (2006).
 - 24) Wanikawa, A., Suzuki, M., Kono, K. and Aoki, K.: Evaluation of aroma compounds contributing to beer aging flavor, *Annual Meeting of ASBC*, (2007).
 - 25) 磯谷敦子：清酒の熟成に関する香氣成分およびその生成機構について (1) — 清酒の古酒の香りと老香, 醸造協会誌, **104**, 847-857, (2009).
 - 26) 磯谷敦子：清酒の熟成に関する香氣成分およびその生成機構について (2) — DMTS前駆物質の探索および同定, 醸造協会誌, **104**, 919-925, (2009).
 - 27) Doi, N., Kobayashi, M., Masuda, S., Aizawa, M.: Mechanism of dimethyl trisulfide formation in stored beer, *Annual meeting of ASBC*, (2014).
 - 28) Pons, A., Lavigne, V., Landais, Y., Darriet, P., Dubourdieu, D.: Distribution and organoleptic impact of sotolon enantiomers in dry white wines. *J. Agric. Food Chem.* 2008, **56**, 1606-1610.
 - 29) Scholtes, S., Nizet, S., Collin, S.: How Sotolon Can Impart a Madeira Off-Flavor to Aged Beers, *J. Agric. Food Chem.* **63**, 2886-2892, (2015).
 - 30) Rettberg, N., Neumann, K., and Garbe, L.: Monitoring flavor active epoxydecenals during beer storage at ppt levels, *World Brewing Congress, Oregon, U.S.A.*, (2012).
 - 31) Doi, N., Kobayashi, M., Masuda, S., Aizawa, M.: What compound is primarily responsible for the metallic flavor in beer? , *Annual meeting of ASBC*, (2015).
 - 32) Masuda, S., Kikuchi K. and Harayama K.: Determination of lightstruck character in beer by gas chromatography-mass spectroscopy, *J. Am. Soc. Brew. Chem.*, **58** (4), 152-154, (2000).
 - 33) Nakamura, H., Maruhashi, T., Hida, Y., Hideshima, S.: Behavior of hydrogen sulfide during fermentation using all malt wort, *Annual meeting of MBAA*, (2015).

〈著者略歴〉

岸本 徹 (きしもと とおる)

99年 京都大学大学院農学研究科応用生命科学専攻修士課程修了
 99年 アサヒビール(株)入社
 08年 博士号(京都大学)を取得
 12年 日本醸造学会 奨励賞を受賞
 現在 アサヒビール(株)酒類技術研究所主任研究員、日本女子大学非常勤講師、日本分析化学会ガスクロマトグラフィ研究懇談会運営委員、ビール酒造組合国際技術委員会事務局局長を務める。