

# アサヒビールにおける 微生物品質保証技術開発について



企業レポート

鈴木康司\*

Development of microbiological quality assurance systems  
in Asahi Breweries

Key Words : quality assurance, beer spoilage microorganisms,  
detection medium, hop resistance,  $\mu$  Finder

## 1. はじめに

日本においては、加熱殺菌処理を施さない生ビールが主流であるため、混入微生物が生育し混濁事故が発生する品質リスクは大きい。そのため、日本のビール産業では高い水準の衛生管理技術およびそれを支える微生物検査法が発展してきた。その中でも、アサヒビール社は業界でも先駆的な取り組みを行い、その成果を世界へ発信することによりビール産業全体の技術発展に大きな貢献をしている。本稿では、アサヒビール社がこれまで世界に先駆けて提案してきた技術ならびに知見について簡単に紹介したい。

## 2. ビール混濁乳酸菌検査法の開発

### 2.1 ビール混濁乳酸菌検査培地の開発

食品の微生物検査は、検体から漏れなく微生物を検出し、製品に対する危害度を正確に判定するのが基本である。そのため、品質上問題となる微生物を確実に検出することが、食品微生物検査の要である。ところが、60~90%のビール品質事故を引き起こすとされる乳酸菌は非常に検出が難しいとされる。これは、品質管理に用いる検査培地に生育しないビール混濁乳酸菌が多いためである。これまでビール産業では、様々な検査培地が開発されてきたが、ビ

ール混濁乳酸菌を確実に検出できる培地がないというのが悩みの種であった。お酒メーカー泣かせの乳酸菌には、人間の作った培地には生育できないものが多く、日本酒の火落菌もしくり、ビール混濁乳酸菌もしくりである。筆者らは、なぜビール混濁乳酸菌が検査培地に生育しにくいかを長年研究し、これらの微生物群がビールという環境に棲息を続けるうちに極度の環境適応がおこり、ビール以外の環境では生育できなくなったことを裏付けるデータを得た。本研究の知見をもとに新たな検査培地を検討した結果、ビールを基に希薄な栄養成分を加えた培地が、これまで培養が困難であったビール混濁乳酸菌の検出に有効であることを明らかにした。今回新たに開発したABD培地とこれまでビール産業で用いられてきた検査培地との検出力の差異をFig.1に示す。なお、ABD培地開発の経緯は、Journal of Applied Microbiology誌に掲載予定<sup>1)</sup>であるが、本研究成果をもとに、これまで謎とされてきたビール混濁乳酸菌の難培養という現象に科学のメスが入っていくことになる。

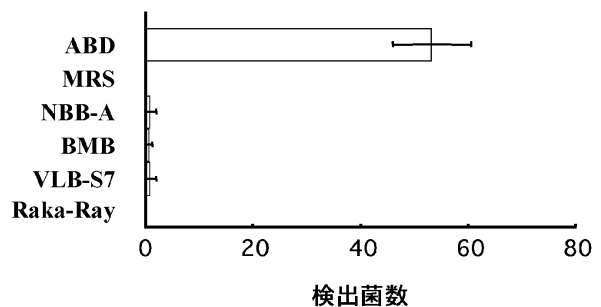


Fig.1 難培養乳酸菌 *Lactobacillus lindneri* DSM 20692<sup>VN</sup> 株に対する各検査培地の検出力

### 2.2 ビール混濁乳酸菌のホップ耐性に関する研究

ビール混濁乳酸菌は、1857年Pasteurが酸敗したビールから発見した微生物であり、現在300種以上報告される乳酸菌の中でもごく一部の菌種に属す特



\*koji SUZUKI

1967年7月生  
東京大学大学院農芸化学科修士課程修了  
(1992年)

現在・アサヒビール(株) 酒類技術研究所,  
酒類微生物技術部, 主任研究委員  
農学博士, 醸造微生物

TEL : 0297-46-9481

FAX : 0297-46-1829

E-mail : koji.suzuki@asahibeer.co.jp

定の乳酸菌株に限定される。これは、ビール中の天然抗菌物質であるホップ成分により、ほとんどの乳酸菌の生育が阻害されるためである。そのため、ビールの微生物検査において検査培地で微生物が検出された際、ビールを混濁させる乳酸菌か否かを正確に判定する必要がある。ところが、乳酸菌のビール混濁能は菌種に依存する形質でないため、これを実現する迅速検査法はビール産業には従来なかった。ビール混濁乳酸菌はホップ成分に強い耐性を示すという共通性質を持つが、そもそもなぜごく一部の乳酸菌株だけがホップ耐性を持つのか、長い間ビール醸造微生物学における大きな謎の一つだったわけである。筆者らは、本研究分野の進展を願い、東京大学農学系研究科微生物学研究室の門を1994年に叩くこととなった。微生物学研究室は、前述した日本酒メーカー泣かせの火落菌の研究で有名であった田村學造先生が開設した研究室で、ゆかりのある山崎真狩先生や北本勝ひこ先生の指導を仰ぐこととなったわけである。本研究は、12年の歳月の経過と共に発展し、ホップ耐性遺伝子の発見およびその機能解析にはじまり、もともと無害な乳酸菌が水平伝達と呼ばれる現象によりホップ耐性遺伝子を外部から獲得しビール混濁乳酸菌に変貌したこと(Fig.2)、それが故に菌種ではなくホップ耐性遺伝子の有無を検査することにより乳酸菌のビール混濁能の有無を正確に判定できることなど、全く新規の知見を得るに至った<sup>2)</sup>。これらの研究成果は、英国Brewers & Distillers誌で特集され、ビール混濁乳酸菌発見150年の節目となる2007年には日本醸造学会奨励賞を頂くこ

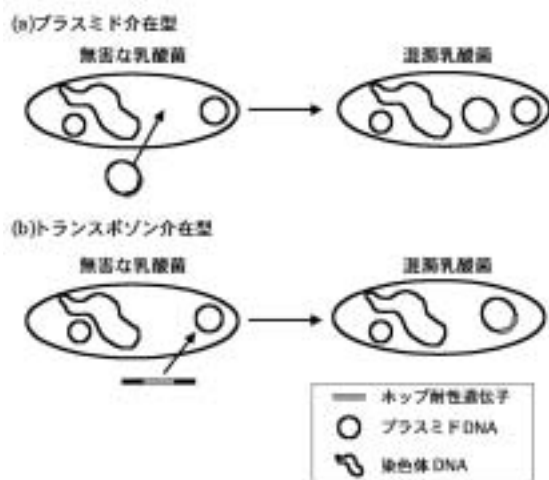


Fig.2 ホップ耐性遺伝子の水平伝播によるビール混濁乳酸菌発生仮説

とになった。

以上のような研究活動を通じて、アサヒビール社は、これまでビール産業では開発困難とされてきたビール混濁乳酸菌の網羅的検出法ならびに混濁能の迅速判定法を構築し、世界に提案してきたわけである。

### 3. 生産現場における衛生管理システムの構築

生産現場の微生物管理技術は、これまで述べてきた微生物検査技術と衛生管理技術から構成される。前者は、製品や工程に異常があるかどうか、異常が見つかった場合はどのような是正措置を行うべきかを定める診断に相当し、一方後者は工程管理により製造ラインに微生物を混入させないようにする、いわば予防にあたる技術である。工場の微生物管理において、手術が必要な大病を患う前に日々の予防に留意しておくことが極めて重要なのは、人間の場合と同じである。そして、この予防と診断からなる二つの技術が効果的に融合しあい、品質事故のリスクをゼロにしていかなければならない。

製造ラインに微生物を近づけないようにする戦略の一つに、工場の微生物マップを作成するという施策がある。すなわち、ビール工場内のどの設備あるいは環境に、どんな種類の微生物が発生しやすく、どのような洗浄殺菌を行えば適切に駆除できるかを、日々の改善努力によりノウハウを積んでいくのである。微生物マップを作成するのに有効な手段として、人の個人識別に相当する微生物のタイピング法があり、これはDNA鑑定法の一つであるFingerprinting法によって行われる。すなわち、微生物が万が一製造ラインに混入した場合を想定して、迅速な混入経路の推定ならびに再発防止に役立てるデータベースを、個々の微生物の指紋と発生箇所を登録することにより構築していくのである。微生物のタイピング技術は、様々な手法が知られているが、いずれも煩雑であったり高価であったりするため、なかなか生産現場で定着せず、研究所のシーズ技術としてお蔵入りすることが多い。アサヒビール社では、生産現場において安価で迅速にできるPCR技術に基づいたRISA(Ribosomal Intergenic Spacer Analysis)を簡易解析法として工場に展開し、リボプリンターという詳細解析システムを中央分析機関で運用している<sup>3)</sup>。

継続は力なりという諺があるが、絶え間ない改善努力が生産現場の衛生管理システム構築のために最も重要である。そのため、日々得られた解析結果から構成される相互のデータベースを効果的に融合し、膨大な数のデータを蓄積することにより、製造ラインに微生物が混入しないシステムを構築している (Fig. 3)。

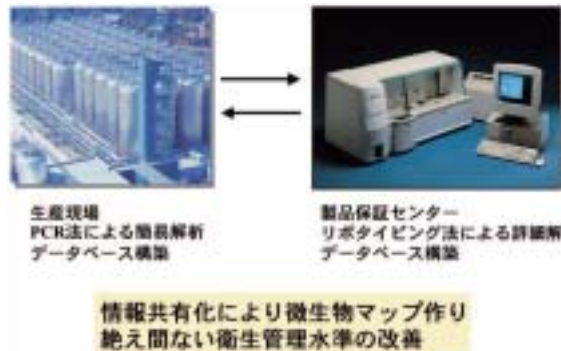


Fig.3 生産現場における衛生管理システムの構築

#### 4 . 迅速微生物検査装置の開発

微生物は肉眼で検知することはできない。そのため、食品の微生物検査では、適切な検査培地で数日間培養を行うことで微生物を可視化することにより、その後必要な判定を行うのが常である。しかしながら、微生物検査の結果がその日のうちに判明したらどんなに嬉しいことであろうか？これは、食品の品質管理に携わる者たちの偽らざる本音であり夢である。そんな夢を実現しようと、アサヒビール社では、細孔を持つメンブラン上に濾過集菌後特異的に蛍光染色された微生物を、迅速かつ高感度に検出するシステム「 $\mu$  Finder (マイクロファインダー) Inspection System」を開発した (Fig.4)。本システムは、フィルター上の蛍光染色された微生物をシングルセルレベルで検出する能力を有している。また、高度に自動化されており、専用のソフトウェアにより簡単にデータを解析することもできる。なお、 $\mu$  Finderの製造・販売は、既に事業化されており、本システムを微生物検査技術として積極的に応用したいと考える企業・研究機関に広く公開されている。微生物品質保証の夢をかなえる技術の一つとして、実用アプリケーションの拡大に今後期待していきたい。 $\mu$  Finderシステムに興味を持たれた読者の方々は、以下のURLをご参照願いたい。

URL: <http://mfinder.asahibeer.co.jp/>



Fig.4 迅速微生物検出システム  $\mu$  Finder

#### 5 . おわりに

日本では諸外国と異なり、加熱殺菌を一切行わない生ビールが主流であるため、ビールは鮮度商品と言ってよい。それが故に、日頃の微生物管理が極めて重要であり、国内大手のビール会社は厳格な衛生管理ならびに微生物検査を行っている。日本におけるビール醸造の歴史は欧米諸国に比べると短い、ビール混濁微生物に関する研究において日本が世界をリードしているのは、お客様に新鮮なビールを安心して飲んで頂きたいという強い思いがあったからであろう。今後も漏れのない微生物管理を実現するため、最新の微生物管理手法が日本の研究者から発信され、世界中のビールの品質が守られていくことを願っている。

#### 6 . 参考文献

- 1) Suzuki, K., Asano, S., Iijima, K., Kuriyama, H. and Kitagawa, Y. (2008) Development of detection medium for hard-to-culture beer spoilage lactic acid bacteria. *J. Appl. Microbiol.* in press.
- 2) Suzuki, K., Iijima, K., Sakamoto, K., Sami, M. and Yamashita, H. (2006) A review of hop resistance in beer spoilage lactic acid bacteria. *J. Inst. Brew.* **112**, 173-191.
- 3) Takeuchi, A., Iijima, K., Suzuki, K., Ozaki, K. and Yamashita, H. (2005) Application of ribotyping and rDNA internal space analysis (RISA) to assessment of microflora in brewery environments. *J. Am. Soc. Brew. Chem.* **63**, 73-75.