

審査の結果の要旨

氏名 野場 重都

本論文は、ビールのオフフレーバーであるタマネギ様の匂いに着目し、その原因成分の特定および、関与する成分や酵素の探索を行い、生成機構を明らかにした研究の成果をまとめたもので、6章より成り立っている。

第1章では、緒言としてビールのオフフレーバー全般と本研究の背景について述べられている。オフフレーバーとは、個々の食品本来のおいしさを損なう不快な香りや味であり、オフフレーバーの除去や低減は食品品質の向上や維持において非常に重要な要素である。ビールのタマネギ様オフフレーバーは古くからビール業界を悩ませてきた。オフフレーバー化合物の候補として複数のチオール類成分が報告されているものの、その生成機構はおろか、本体が何かさえも同定されていなかったため、その対策は容易ではなかったと述べられている。

第2章においては、官能評価と匂い嗅ぎ GC を組み合わせ、タマネギ様オフフレーバーの寄与成分の推定が行われている。さらに、推定されたチオール類の定量系を構築し、市販ビール類中の濃度を測定することで、ビール中に閾値以上含まれている成分として 2-mercapto-3-methyl-1-butanol (2M3MB) を特定している。2M3MB の生成要因として、麦汁のホットエアレーションが発酵後の 2M3MB の生成量を増加させることが明らかにされ、麦汁の酸化がビール中の 2M3MB 濃度を増加させる重要な因子であることが示唆された。また、麦汁には 2M3MB は存在しないこと、酸化によってビール発酵後の 2M3MB が増加することから、麦汁中には 2M3MB の前駆体が存在していると結論づけている。

第3章においては、麦汁中には、これまでに考えられてきた前駆体とは異なる未知の 2M3MB 前駆体の存在が示唆され、その探索と同定について述べられている。各種精製操作の後、高分解能 GC/MS を用いた構造解析の結果、前駆体が 2,3-epoxy-3-methylbutanal (EMB) であると同定された。

第4章では、ビール発酵中の成分挙動とモデル試験系とを組み合わせることで、ビールの醸造工程中における 2M3MB の生成経路の推定が試みられている。まず、ホップの苦味成分であるイソアルファ酸の側鎖が酸化して、EMB が生成

することを明らかにした。そして、EMB はビール発酵中に 2-mercapto-3-hydroxy-3-methylbutanal (2M3H3MB) および、2,3-epoxy-3-methylbutanol へと変換されること、そのうち、2M3H3MB のみが 2M3MB へと変換されることが明らかにされている。さらに、モデル反応試験から、EMB が硫化水素と反応することで 2M3H3MB が生成することも見出されている。これらの結果より、イソアルファ酸の酸化により生成した EMB が、酵母の代謝によって生成した硫化水素と反応して 2M3H3MB となった後、さらに酵母によって 2M3MB に変換されることが示された。

第 5 章では、2M3MB 生成に関わる酵母の酵素及び遺伝子の同定について述べられている。*Saccharomyces pastorianus* から、変換活性を評価するアッセイ系と各種クロマトグラフィーを組み合わせて、2M3MB の生成に必要な酵素の探索が行われた。その結果、*S. pastorianus* の 2 つの酵素 Old Yellow Enzyme 2 (Oye2p) およびアルコールデヒドロゲナーゼ 6 (Adh6p) が同定された。組換え大腸菌から得られた *S. cerevisiae* のホモログ酵素を用いて、*in vitro* で 2M3H3MB が 2M3MB へと変換されること、*S. cerevisiae* の両遺伝子破壊株において 2M3H3MB から 2M3MB の生成が劇的に減少することが見出されている。これらの結果から、Oye2p および Adh6p が 2M3H3MB から 2M3MB への変換における主たる変換酵素であると結論付け、Adh6p は 2M3H3MB のアルデヒド末端のアルコールへの還元を、Oye2p は 2M3H3MB のヒドロキシ基を水分子として脱離させ、生成した二重結合を還元する 2 段階の反応を触媒すると推測している。

第 6 章では、第 2 章から第 5 章までの結果が総括されている。

以上、本研究はビールのタマネギ様オフフレーバーについて、原因成分とその生成機構を明らかにしたものである。さらに、本知見に基づいて、麦汁製造時の酸素濃度のコントロールと、発酵中の酵素活性のコントロールの 2 つのオフフレーバー低減策が提示されている。これらの内容は食品のオフフレーバー発生とその抑制において、当該分野の研究者にとって学術上、産業上の観点で参考になる点が少なくない。よって、審査委員一同は、本論文が博士（農学）の学位論文として価値あるものと認めた。