



財團法人
食品工業發展研究所
Food Industry Research and Development Institute

生物資源保存及研究簡訊

中華民國 109 年 6 月發行

補助單位：經濟部技術處 / 執行單位：財團法人食品工業發展研究所

本期內容

中心新聞

1

- ◎ 本所生資中心於台灣創新技術博覽會展出微生物組絕對厭氧菌研發技術平台

研發成果

2

- ◎ 建立菌醃開發平台加速精釀啤酒產業發展風味啤酒之開發
- ◎ 風味啤酒之開發
- ◎ 機能啤酒之開發
- ◎ 酵母多樣性與發酵飲料風味表現

本所生資中心於台灣創新技術博覽會展出 微生物組絕對厭氧菌研發技術平台



圖、本所生資中心在微生物組研發的關鍵技術平台，可以協助產學研發展微生物相關產品，未來更可以透過轉譯醫學研發出具有預防保健及治療的活菌產品。

從現代科學研究發現，影響腸道健康之重要益生菌存在於腸道的厭氧環境中，不容易從腸道分離，也不易發展成產品，所以「微生物組分析技術、培養體學技術及體外培養技術」成為發展微菌產品關鍵技術。以厭氧菌培養分離結合質譜技術進行腸道微生物鑑定，發展微菌體外培養及厭氧發酵系統，同時導入機器學習技術，從高通量定序資料建立腸道菌危害風險的評估模型，並結合醫學轉譯及產品化之能量，聚焦在「精準微菌治療」以發展

次世代生醫治療及預防保健產品。

2020 年台灣創新技術博覽會（原台北國際發明暨技術交易展）於 2020 年 9 月 24 日登場，想要了解 BCRC 新興研發技術，請到台北世貿中心展覽大樓（台北市信義路 5 段 5 號）創新領航館 B22 攤位。若無法前往參觀，又想了解這樣的技術可以解決甚麼問題，技術的內涵是甚麼，可以觀賞 youtube 頻道，頻道網址為：<https://youtu.be/mtXVF8bjeMI>

（文：生資中心 陳倩琪資深研究員）

建立菌醃開發平台加速精釀啤酒產業發展

生資中心 / 副研究員
徐葭蓁、林仲翼

1. 產業現況

在臺灣加入世貿組織 WTO 後，菸酒廢止專賣，開放民間釀酒，2003 年起首批民營釀酒廠陸續成立，成為國產精釀啤酒的先驅，精釀啤酒批量少風味獨特，隨著民眾對於精釀啤酒的接受度提高，許多業者紛紛跨入此新興產業，新的品牌如雨後春筍般興起。啤酒年產量達 511 萬公石，產值約為 234 億元新台幣，依據國庫署過去的啤酒市場統計中，國內啤酒的來源主要以國產為主 (73.7%)，而國外進口僅占部分 (26.3%)，其中又以台灣啤酒一家公司獨占市場大眾。然而隨著中國、荷蘭、日本等國的啤酒進入台灣市場並被消費者接受，國產啤酒占有比例下降 (64.3%)，顯示進口啤酒持續威脅國產啤酒，特色菌醃以及精釀啤酒產品極具開發需求。

菌醃 (starter culture) 是指幫助發酵開始的活體微生物，在發酵工業中極具重要意義，它們能夠主導產品的特色走向，更能夠生產高經濟價值的代謝產物，其中啤酒發酵時所使用的菌種更是扮演關鍵的角色。依據發酵時絮凝時的型態，可將傳統啤酒釀造中使用的菌種分為兩種：(1) Ale 酵母：發酵方式為頂層發酵，發酵溫度較高，適合在 15-24°C 進行發酵，啤酒酵母在發酵結束階段會凝絮至發酵液上層，愛爾 (Ale)、思陶特 (Stout) 與波特

(Porter) 等啤酒即是使用此類菌株進行發酵。(2) Lager 酵母：發酵方式為底層發酵，發酵溫度較低，適合在 6-12°C 的環境下進行發酵，如 *Saccharomyces pastorianus* 即是此類的代表菌種，用以生產拉格啤酒，常見市售的商業啤酒，如：台灣啤酒、墨西哥可樂娜、荷蘭海尼根等，都屬於拉格啤酒系列。相較於高溫發酵的 Ale 啤酒，Lager 啤酒味道略顯單調。

由於酒精飲料的需求量增加，歐洲地區率先成為菌醃市場的引領者，其次為北美洲；而亞太地區為菌醃市場成長最快的區域，菌醃市場的複合年均增長率在 2013 至 2018 年間更是達到

5.6%，世界級大廠如中國 Angel Yeast Co. Ltd.、加拿大 Lallemand Inc. 及法國 Lesaffre Group 也相繼進入啤酒菌醃市場的競爭行列，然而可供選擇的菌株仍略嫌單一，且其菌醃發酵穩定性仍待強化。

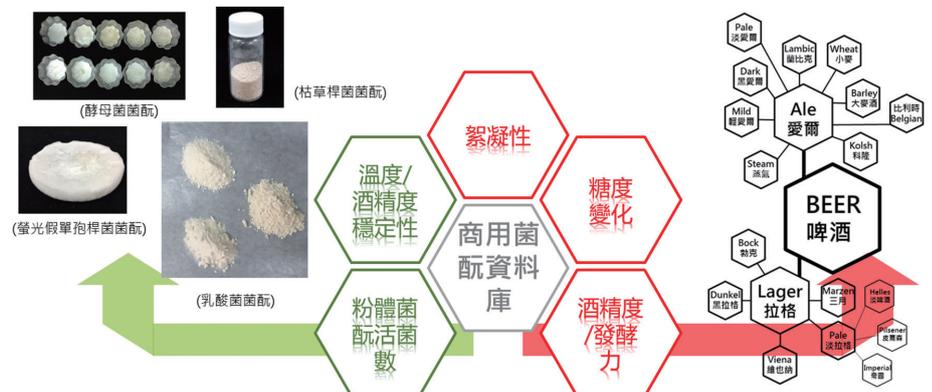
2. 菌醃技術現況

隨著精釀啤酒的興起，帶動國內酵母原料的需求量增加，市售的啤酒酵母依其形態可分為乾式與液體酵母。乾式酵母的使用十分方便，因為其活酵母細胞數目充足，且通常可以長期保存。以 20 公升的啤酒釀製為例，釀酒當天加入 14-20 克的乾酵母粉即可進行發酵，無須進行活化。然而，使用乾酵母固然方便，但乾酵母在製作過程中經過了脫水程序，許多種類的酵母無法承受此製程導致死亡，這現象於拉格型酵母更是明顯，造成乾酵母中幾乎沒有拉格型酵母，即使 DCL Yeast 推出兩種標榜為乾式拉格型的酵母 S-189 及 S-23，其表現得更像愛爾型酵母而不是拉格型酵母，顯示市場仍未能充份掌握不同特性的菌醃，乾燥酵母菌醃產品缺乏多樣性。

液體酵母則包含眾多不同種類的酵母，選擇性比乾燥酵母更多，但由於其活酵母含量低於乾



特色啤酒酵母之菌醃產品



商用菌醃資料庫應用於精釀啤酒領域和衍生產品開發

式酵母，在釀酒數天前須要進行活化與擴培的步驟，使用上較不便利。通常每毫升的液體酵母含有之酵母菌數數量約為 10 億，一包液體酵母 (100 毫升) 的菌數總量約為 1000 億。而每克乾燥酵母含有的酵母菌數數量約為 200 億，每包乾燥酵母 (11.5 克) 的菌數總量約為 2,300 億，兩種型態的酵母數量相差近兩倍。為了彌補小包裝的液態酵母量較小的缺點，在過去兩年裡大包裝的 175 毫升的袋裝 (Wyeast) 和立即可用管裝 (White Labs) 變成最流行的液體酵母規格，提供足夠給 20 公升發酵的活酵母菌數。此外，一包乾酵母的價格往往會比液體酵母便宜一半，以釀造 20L 啤酒為例，使用一包的乾酵母即可，而液體酵母往往需要一包以上，因此乾燥酵母在釀造成本上會低於液體酵母。而液態酵母的保存期短與穩定性低也使應用上受到限制。通常液態酵母的保存期限僅 6 個月，且必須在低溫冷藏的環境貯存，隨著貯存時間的增加，第一個月時酵母活性降至原先的 80%，到第六個月僅剩下 25% 的活性，而乾燥酵母儲存穩定性高，在室溫下可以保存一年之久，保存得當下酵母活性降低約 20%，於冷藏環境下，一年內活性僅降低 5%。

綜合以上觀點，以同株酵母而言，乾燥酵母相比液體酵母有著明顯的優勢，無論是價格、穩定性、貯存條件與使用方便性都優於液態酵母，但在釀製一些特殊類型的啤酒時，如 Berliner Weisse、Weizen 與 Belgian Wit (White) Beer 這類帶有辛香料與果酸味的啤酒，液態酵母的多元性則有不可取代的價值。

我國釀酒酵母菌主要依賴進口，國內菌醃市場依舊以進口乾

燥酵母為主，菌醃產業仍有許多待解決的問題：(1) 對多數進口菌醃釀製後風味與特性了解不足，生長發酵能力選擇性少，雖然較具規模的精釀啤酒廠皆有屬於自己的一套酵母實驗室提供最新鮮之特色酵母菌醃，然其選擇相對單一，且不具流通性，亦欠缺技術維持酵母品質，仍需要更多的研究資訊才能發揮更高的價值；(2) 釀酒酵母主要來自進口，長途運輸過程導致品質不穩定，造成酵母原料大量死亡，折損比例達 10~50% 不等，而使製程成本提高；(3) 經由人為篩選之酵母菌易出現基因弱化及發酵力降低等問題；(4) 市場流通之原料酵母大多品種單一，重複度高，目前市面上所使用的酵母多為商業化的酵母菌株，其特性主要為能適應商業桶槽環境，可穩定生長及符合所需發酵力，但穩定的生產模式反而失去了酵母菌的創造力，使產品開發上受到限制。綜上所述，國內可釀造的啤酒種類風格遠遠少於歐美地區，不僅限制啤酒的多元性發展，同時也抑制國產啤酒的創新性，若能建立特色菌醃開發平台，導入更多種類的啤酒酵母，將有助於我國啤酒市場的創新發展。

3. 生資中心菌醃開發平台技術

針對菌醃產業所面臨的問題，本中心以篩選機能性及特殊風味酵母菌株，提高菌醃的穩定性為目前最重要的研究方向，整合生資中心收存之酵母菌株為基礎，搭配微生物菌相分析、菌株分離、保存、發酵、回收及劑型等關鍵技術，篩選具有生產機能性或特殊風味之酵母菌株，以建立完整多元性啤酒產品生產製造技術，以及酵母菌種發酵特性資

料之本土商用菌醃庫，資料庫包含酵母發酵力、耐酒精特性和絮凝性等指標，以期能改善啤酒產業中酵母菌粉依賴進口及菌種特殊性不足問題。此外，針對不同的酵母菌進行生產製程開發及配方設計開發菌醃生產技術，利用篩選後的機能性與特殊風味酵母菌，引入穩定性物質之外，並融入多種過去配方材料研究的經驗，增加菌醃的應用性，並導入逆境刺激製程技術於菌醃開發，於特色啤酒酵母菌體之培養過程，以熱休克 (heat shock)、冷休克 (cold shock) 與滲透壓休克 (osmotic shock) 法處理，探討各處理因子 (如：溫度、時間和處理步驟等) 對菌體活菌數之影響，並將其製備成粉體型態之菌醃，增加菌醃活菌數和安定性，此菌醃開發平台除應用於啤酒酵母菌醃，亦可延伸應用至保健食品、農業資材和飼料等領域，開發微生物劑型設計產品。

本中心提供國內精釀啤酒產業兼具方便使用、機能性及發酵特性規格化之優質酵母菌醃，結合在地特色的食材原料，生產多元且具特色的精釀啤酒，開發差異化產品，將有助於提升精釀啤酒產業創新性和產品多元性，達到本土特色商用菌醃產品開發之目的，可深化國內啤酒產業技術串接，同時利用啤酒示範工廠之建立，實際操作啤酒生產製程，達到放大量化生產測試。利用以往生資中心於配方技術累積的能量所建立之產品設計平台，建立完整之菌醃產品開發平台，協助精釀啤酒業者針對不同的產品，依據產品策略、生產流程及產品市場定位設計特色菌醃，串接國內精釀啤酒垂直產業鏈，提升國內產業競爭力。

超過 30 年歷史，所有成員歷史上總共鑑定超過 150 萬款啤酒，服務過世界各地的 9,066 次啤酒大賽，影響力為世界第一。此協會亦定期推出啤酒分類指南對啤酒加以科學分類，使其成為世界啤酒市場的風向標，目前此指南將啤酒分類為 2 種風格 (style)，34 大類，超過 120 小類。啤酒風格分類是根據顏色、風味、強度、成分、生產方式、發酵方法、配方、歷史或產地等因素進行，以下針對目前常用之啤酒分類方法及代表酒品進行說明。

一、發酵型式

此分類方式最為一般大眾所熟悉，根據酵母發酵過程中酵母於發酵桶的位置及發酵溫度來加以區分。

1. 艾爾 (Ale)

稱為上層發酵，在啤酒發酵時酵母會漂浮在啤酒頂層、時間短 (2-3 天)、溫度高 (15-24 °C)，酵母在此溫度下產生出大量酯類及其他一些特殊氣味，造就出各種不同水果風味之啤酒，例如蘋果、柑橘、鳳梨、香蕉等，整體啤酒會先喝到酵母、啤酒花的味道，之後才有麥芽香，可有效克服水質問題。此種啤酒適合飲用溫度為 10-18 °C，溫度太低可能無法嚐到其特殊風味。

傳統「艾爾」專指不使用酒花釀造啤酒；然 15 世紀酒花引入英國後即不再適用。「正宗艾爾」一詞源自 1973 年「爭取散裝啤酒運動」，主要為了宣揚「採用傳統成分，在發酵容器經二次發酵，不添加額外的二氧化碳，適用於瓶裝及桶裝的啤酒」。

常見艾爾啤酒主要依酒體顏色區分，可分為淡色艾爾 (Pale

Ale, 淡色至黑色)、棕色艾爾 (Brown Ale, 古銅色覆蓋至深棕色)、波特 (Porter, 覆蓋深棕色至黑色)、司陶特 (Stout, 深色艾爾) 及小麥酵母啤酒 (Hefeweizen 或 Weissbier, 具有酸味且酵母味濃)

2. 拉格 (Lager)

亦稱下層發酵或窖藏啤酒，在釀造時酵母發酵後會沈至酒桶下方、時間長、溫度低，其特色為酒精度低、口感乾淨清爽且香氣單純，佔目前世界啤酒產量 90% 以上。主要的啤酒種類可分為拉格淡啤酒及拉格黑啤酒，然隨著低溫技術及微生物技術進步，各國紛紛快速發展拉格啤酒，包括德國拉格啤酒、比利時拉格啤酒、美國拉格啤酒、國際拉格啤酒及中國拉格啤酒等，主要差異為使用的原料、輔料及其比例。

3. 自然發酵 (Wild)

此發酵方式非常小眾，需要全部利用野生酵母自然酸釀而成，其特色為明顯酸味、乾果味及木桶味，而 Lambic 為此種啤酒之代表。(參考資料 - 啤酒品飲聖經)

二、啤酒特徵

主要依原料帶來的風味為基礎，配合不同酵母、酒花使用來歸類，雖不嚴謹，但有助於快速找到自己喜歡的類別及配餐啤酒的選擇。

1. 清亮型

乾淨和清爽感覺，口感甘爽，其風味不會停留太久。啤酒特色為麥芽香、酒花香及酵母帶來的水果、辛料香氣，三者保持對應的平衡，不會出現某種味道太強烈的情况。適飲度高、氣泡

感強，在較炎熱天氣下受歡迎。市面大多數淺色啤酒屬於此種，包括皮爾森、比利時金色艾爾、科隆啤酒、美式金色艾爾、德式清亮型拉格、十月節啤酒等。

2. 麥香型

麥芽風味占主導，麥芽甜味較明顯，並常伴有堅果、太妃糖、焦糖、吐司和深色水果風味。這類啤酒具有一共同特點：烘焙般的味道。市面啤酒包括德式黑啤、英式棕艾、法式窖藏、德式博克家族等。

3. 深色烘烤型

使用不同程度烘烤麥芽，酒液深色並帶有咖啡、可可豆、巧克力般的風味，還帶有點輕柔苦味。此種啤酒之甜度及風味訴求明顯。常見的啤酒為愛爾蘭風格乾世濤、美式黑色艾爾、美式世濤、美式帝國世濤等。

4. 酒花型

麥芽為基底甜味支撐起酒花味道，如大地般香氣及苦味，偏草本植物風味。添加大量酒花，產生柑橘屬、松脂及熱帶水果風味，為目前最受歡迎類型之一，因酒花品種而風味呈現多樣化。常見的風格為英式苦啤、比利時 IPA、印度淡色拉格、美式 IPA、雙倍 IPA、渾濁 IPA 等。

5. 水果辛香型

酒花和麥芽為風味基礎，含有一種十分明顯水果或香料的味，此風味來自酵母發酵過程產生，為加強風味展現亦可添加目標風味物質於釀造中。常見的啤酒包括比利時小麥、德式小麥、比利時賽松、格魯特啤酒、比利時三料、比利時風味深色烈性艾

爾、雙料、四料。

6. 酸味型

酸啤酒風味最具變化，其酸味來自細菌，其他風味來自野生酵母，亦可添加水果或香料來提高風味豐富度，或與其他酒液混合。目前常見啤酒包括柏林小麥啤酒、古斯、法蘭德斯紅艾、Lambic、貴茲、美式野菌艾爾等(參考資料-世界啤酒品飲大全)。

三、酒精含量

(Alcohol by volumn, ABV)

酒類飲料中乙醇含量的比例，一般市面酒精度為4-6%，調味啤酒則為1-4%，無法有效作區隔，僅以德國啤酒較易用酒精含量進行分類，表1列出分類等級及其代表啤酒種類。

啤酒為利用酵母菌異養兼性厭氧特性，將糖類發酵成酒精及二氧化碳的最古老嗜好性飲料，早期以重風味艾爾為主，至19世紀為了改善艾爾缺點及口味變化出現了窖藏拉格，順路搭上工業革命、鐵路化運輸及制冷機發明，實現工業化生產啤酒，為目前市面90%以上啤酒風格。然十年河東十年河西，風味輪流轉，隨著時代變遷人們開始厭倦工業拉格啤酒單純，開啟另一波艾爾風格啤酒流行，創造全世界精釀啤酒運動(參考資料-啤酒品飲聖經)。

啤酒主要原料為澱粉(麥芽或其他穀物)、水、酵母菌及調味料(啤酒花或其他植物)，經過不同原料組成及發酵工藝造就各種風味啤酒，目前全球啤酒超過150萬款以上，為了各種交流及預測啤酒市場走向，開啟了啤酒科學分類，最為大家熟悉的為發酵型式分成艾爾、拉格及自然發酵，其中以拉格最為大宗，因發酵溫度低、品質易管控而大規模生產遍佈全球；其次為艾爾，主要在荷比盧、北歐及英倫等地區；此分類方式一般消費比較難作區分及找到喜愛風格，後來有一群依照啤酒特徵來加以區分啤酒，分成清亮型(乾淨清爽感)、麥香型(烘焙風味)、深色烘烤型(甜且訴求風味明顯)、酒花型(香甜帶苦味)、水果辛香型(淡甜香氣明顯)及酸味型(香酸風味)。隨著科學設備進步，利用各種技術分析各類啤酒，包括電子舌、近遠紅外線、GC-MS等；然這些分析數據資料龐大且人為歸納統計分析後則可了解到資料背後初步真相，後續需導入各種相關機器演算法，針對想知道的問題進行數據擷取及分析，最終進行分析結果說明及建立預測模型，以利有效分類各種風格啤酒。

商業啤酒講求口味穩定一致、短時間釀造及產量增加，可能加入人工添加物來降低成本；

然精釀啤酒則以口味特色來傳達釀酒人的意志，採用最傳統無人工添加物之釀造法，依釀酒師創意調控各種成分組合，風味變化多且極具個性。根據Jaeger等人(2020)研究指出啤酒消費者分為喜歡複雜和大膽風味的精釀啤酒，及喜歡淡風味的傳統商業啤酒，然這些啤酒類型的感官特徵、整體類型及概念感知上沒有很大差異，二種族群最大的差異為認知、情感和使用情境。從各種啤酒分類模式主要找尋未來啤酒走向，由消費者口味偏好調查後，可知精釀啤酒某些款式與風味產品與商業啤酒風味特性相似，形成精釀啤酒中的經典款；商業啤酒吸取精釀啤酒精神，打造製程穩定、低成本之多種風味啤酒，將啤酒釀造推上另一境界。

台灣正式廢止專賣制度後，於2004年才開始發展屬於台灣在地的精釀啤酒，精釀啤酒批量少風味獨特，與台灣人長期以來的啤酒飲用習慣不同，所以需情境搭配推廣及強調產品特色。依據國庫署過去的啤酒市場統計中，國內啤酒的來源主要以國產為主(73.7%)，而國外進口僅占部分(26.3%)。而在這之中又以台灣啤酒一家公司獨占市場大眾。然而隨著中國、荷蘭、日本等國的啤酒進入台灣市場並被消費者接受，國產啤酒占有比例下降(64.3%)，顯示進口啤酒持續威脅國產啤酒，特色菌醃以及精釀啤酒產品極具開發需求。國內市場啤酒酵母菌醃依舊以乾酵母為主，可釀造的啤酒種類風格遠遠少於歐美地區，不僅限制了精釀啤酒的發展，更使得國產精釀啤酒的創新性明顯不如國外。隨著健康意識的抬頭，機能性啤酒市場也逐漸成長，低酒精、低卡路

表 1. 酒精度分類德國啤酒

等級	酒精度 (%)	啤酒種類
初級	2.5-4	柏林小麥啤酒 / 小麥酸啤酒
輕量	4.4-5.2	皮爾森啤酒 / 淡啤酒
高級	4.8-6.3	梅爾森型啤酒
高濃度	6-7	五月博克啤酒
超高度	9-14	雙料博克啤酒

里、低嘌呤和天然風味啤酒受到消費者喜愛。此外，我國釀酒酵母菌主要依賴進口，較具規模的精釀啤酒廠皆有屬於自己的一套酵母實驗室提供最新鮮之特色酵母菌配，然其相對選擇單一，且不具流通性，亦欠缺相對技術維持酵母品質。

風味啤酒酵母開發技術

由於不同的酵母菌株，往往會改變及影響最終產品風味，透過各具特色之多元風味菌種的開發，將有助於下游使用者開發具有差異性的酒類產品，可凸顯本國精釀啤酒產品之多元化發展，有利開拓國際市場，創造更高更多元的產品產值。篩選及開發啤酒釀造之菌株，建構特色啤酒釀造技術平台，開發特色啤酒產品製程及菌配配方產品，拓展我國啤酒業的多元創新性，擴大整體市場規模。本中心以 BCRC 收存之酵母菌株為基礎，並整合微生物菌相分析、菌株分離、保存、發酵、回收及劑型等關鍵技術，篩選具有生產機能性或特殊風味之酵母菌株，以建立完整多元性啤酒產品生產製造技術，建立酵母菌種安全性資料及發酵特性資料之本土商用菌配庫，以期能改善啤酒產業中酵母菌粉依賴進口及菌種特殊性不足問題，此外，針對不同的酵母菌進行生產製程開發及特定配方設計開發菌生產技術，可深化國內啤酒產業技術串接，提升國際競爭力。目前生物資源中心建立至少兩種特定風味啤酒酵母篩選平台，並分別篩選出具有生產 2- 苯乙醇潛力菌株及具有生產 4- 乙炔創癒木酚潛力菌株，此外以特定風味啤酒產品試製，單次批量達 10 L 以上之試製。

機能啤酒之開發

生資中心 / 研究員 / 副研究員
黃喬盈 / 吳安琪

市場概述

全球精釀啤酒市場預測自 2019 年至 2024 年期間將以 14.1% 的年複合成長率增長，2024 年達到約 1078 億美元的規模 (Global Information, Inc., 2020)。隨著全球精釀啤酒發展越來越蓬勃，台灣的精釀啤酒市場也由於近年來消費者對啤酒品質需求日增而越來越成熟，尤其台灣小型釀酒廠、酒莊規模與型態，十分適合開發小量、樣式多元、具有特色之精釀啤酒，其啤酒的產量可根據消費者口味的變化而著重於產品口味的創新，並以高品質與差異化提升其產品價值，為產業創造更高的利潤。

啤酒是以大麥芽、啤酒花、水為主要原料，經啤酒酵母發酵釀製而成的飲料，在酵母菌的幫助下，麥芽和啤酒花的混合物被轉化為啤酒，酒精含量一般達 5%。近年來，精釀啤酒的普及增加了消費者對更多種類啤酒樣式和原料的興趣，尤其五花八門的啤酒口味，十分受到年輕族群的青睞之外，隨著健康意識的抬頭，全球對低酒精 / 無酒精啤酒，其體積酒精度 (Alcohol By Volume, ABV) 從 0.05% 到 1.2% 的需求不斷增加 (Mangindaan *et al.*, 2018)，特別是健康啤酒的概念對於痛風高危險群和無法攝取酒精的族群亦格外具有吸引力，不論是在生活方式、適度飲用啤酒的意識以及宗教原因等，也因為其

較低的熱量，同時成為女性消費者和控制體重族群的新選項。

啤酒有許多不同的樣式，依據主要的釀造分類標準取決於發酵的類型。以釀酒酵母而言，分為頂部發酵和底部發酵。頂部發酵又稱為艾爾酵母 (ale yeast) 或釀酒酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*)，發酵溫度約在 18~24°C；底部發酵又稱為拉格酵母 (lager yeast) 或巴斯德酵母菌 (*Saccharomyces pastorianus*)，通常在 8~14°C 較低的溫度下進行發酵。依據麥芽汁濃度分類，啤酒可分為高濃度、中濃度和低濃度。中濃度的啤酒是啤酒的主要品種，麥芽汁濃度介於 10 度至 12 度之間，其中 12 度啤酒最為普遍。高濃度啤酒的麥芽汁濃度介於 14 度至 20 度間，特點是穩定性好、固形物含量較多，比較適合長時間貯存和長途運輸，但是生產週期較長。低濃度型啤酒的麥芽汁濃度介於 6 至 8 度間，可作為夏季的清涼飲料，但保存期較短；而依據啤酒中的酒精含量分類，又可分為低酒精啤酒和無酒精啤酒。

無酒精 / 低酒精啤酒

依據啤酒中的酒精含量分類，各國依據法規有不同的定義，在大多數歐盟國家，酒精含量低的啤酒分為無酒精啤酒 (alcohol free beers, AFBs) 和酒精含量不超過 1.2% 的低酒精啤酒，其中無酒精啤酒的酒精含量按體積計算約

為 0.5% (ABV)，而低酒精啤酒的含量則按酒精度計不超過 1.2%；在美國，無酒精啤酒表示不存在酒精，而接近 0.5% ABV 上限的啤酒則稱為無酒精啤酒或淡啤酒 (near-beer)；在執行宗教禁令的國家 / 地區，飲料中的酒精含量不得超過 0.05% ABV (Brányik *et al.*, 2012)。在台灣則是以酒精含量 0.5% (V/V) 作為劃分，台灣的菸酒管理法規定，在酒精含量達 0.5% 以上就稱作「酒」，所以只要酒精濃度低於 0.5% 以下就可稱為「無酒精」啤酒。

目前低酒精 / 無酒精啤酒的生產方法可分為三大類 (圖 1 所示): 1. 物理法 (發酵後對酒精成分的去除或減少), 2. 生物法 (發酵階段控制酒精生成) 以及 3. 不進行任何發酵過程, 僅添加人工香味方式調製而成。第 3 種產品風味與傳統啤酒差異大, 市場接受度低, 而物理法 (發酵後去除酒精方式) 必須考量啤酒的顏色、泡沫和香氣等成分方面的保留, 除了須具備一定的專業操作技術之外, 也需要投資相對應的專用設備, 而且使用蒸發或蒸餾方式亦消耗更多的能量, 且容易造成啤酒中的香味成分降解、破壞或散失, 使得產品在風味和口味上有很大的差異, 更可能產生不好

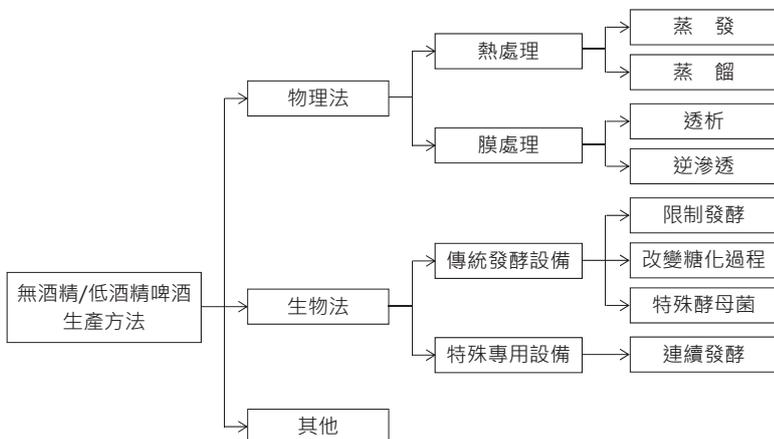


圖 1. 低酒精 / 無酒精啤酒的生產方法 (Brányik *et al.*, 2012)

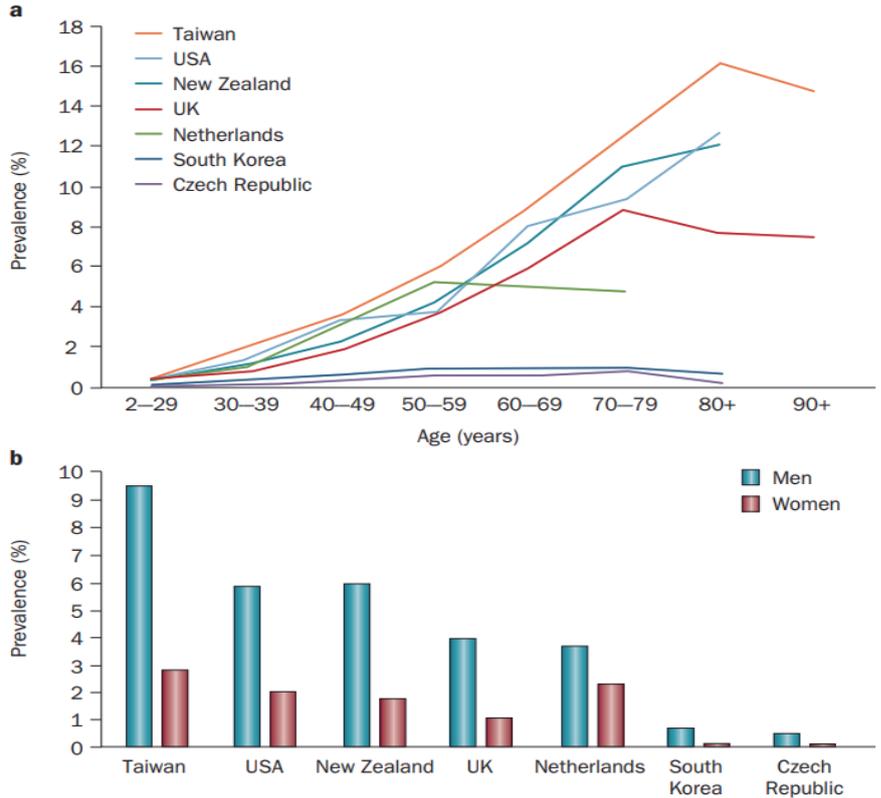


圖 2. 痛風盛行率 (a) 年齡區分 (b) 性別區分 (Kuo *et al.*, 2015)

的風味影響整體啤酒品質。綜合上述, 透過生物法調控發酵過程中發酵原料、菌株和多個發酵條件是低酒精或無酒精製程較佳的技術發展方向。

因此, 本所從篩選低酒精生產潛力的菌株開始, 針對原有的啤酒釀造製程進行條件探討來開發無酒精啤酒 / 低酒精啤酒, 選擇「精釀」兼「艾爾」啤酒路線, 使用傳統啤酒釀造方式以常溫發

酵 / 頂層發酵製成, 既能夠有效降低酒精含量又能夠保留啤酒原有的風味。

低嘌呤啤酒

啤酒中大麥是造成啤酒中含有大量嘌呤物質的主要來源, 飲用啤酒後所攝入之嘌呤在人體內最終會代謝成為尿酸, 尿酸大部分會由血液運輸至腎臟, 再透過尿液排出體外, 但飲用啤酒所攝入之酒精會降低乳酸的代謝, 累積的乳酸會抑制腎小管排泄尿酸, 導致血液中尿酸濃度過高, 若血液中尿酸濃度高於 6.8 mg/dL 為高尿酸血症, 會造成尿酸因達到飽和溶解度而以尿酸鈉鹽結晶型態沉積在關節、軟骨、滑囊液、肌腱或軟組織, 引發痛風 (陳等, 2016)。隨著經濟發展及人類飲食結構的改變, 高尿酸血症、痛風與代謝症候群的比例逐年增加, 痛風之盛行率會隨著年齡增

加而提高，近年痛風患者的發作年齡也有下降的趨勢，根據圖2統計資料顯示臺灣的痛風盛行率是七個國家案例中最高，且男性之盛行率又高於女性 (Kuo *et al.*, 2015)。而造成體內尿酸大量累積的主要因素除了先天的遺傳外，後天的因素包括飲食習慣、使用不當藥物或體重過重等都是危險因子，飲食上的控制如：減少食用紅肉、海鮮、高含糖食品及避免飲酒等，藉由減少嘌呤及酒精之攝取量，避免尿酸堆積於體內，來降低罹患痛風的風險。

目前低嘌呤啤酒多使用下列方式製造，高比例輔料法：藉由提高輔料用量改以其他如稻米、玉米或大豆等穀物類為原料來取代嘌呤主要來源—大麥之添加量；高濃度釀造法：配製較高濃度之麥汁以耐高滲透壓或耐高酒精度之酵母進行發酵後，再稀釋至合適的濃度；吸附法：利用硅藻土、活性炭、沸石等吸附劑進行嘌呤過濾及吸附；酵素法：添加核酸酶來分解嘌呤類物質，等四種方式來降低啤酒經酵母菌發酵後的嘌呤含量。或是不進行發酵而使用少量或不添加大麥芽以其他如大豆胍肽為原料，改以其他的加工方式與加入添加物（如麥芽萃

取物、啤酒花萃取物、香料、檸檬酸、色素、甜味劑及二氧化碳等），使其具有類似普通啤酒的口感與風味、泡沫細緻且泡持性長之啤酒風味飲料，飲用時可享受啤酒的清涼爽快而少了酒精及嘌呤的負擔，且熱量又遠低於一般啤酒，使消費者能有別於傳統酒飲的另一種更健康的新選擇。

市售相關產品例

為了符合消費者多樣化的需求，近年來許多啤酒大廠接連投入開發具有健康導向之機能性啤酒，以低酒精、低卡路里（低熱量）或低嘌呤等新亮點來吸引消費者目光，相繼推出了數種低嘌呤啤酒（圖3）如：麒麟啤酒（KIRIN）「濃い味」、「のどごし ZERO」、「淡麗」、三得利（SUNTORY）「おいしい ZERO」、「ALL-FREE」、NIPPON BEER「龍馬 1965」、朝日啤酒（Asahi）「SUPER ZERO」、「Off」、「DRY ZERO FREE」、札幌啤酒（SAPPORO）「極 ZERO」、「SAPPORO +」等，皆都以不含嘌呤（プリン体ゼロ）為其宣傳口號之市售商品。

本所機能啤酒產品的研發現況



圖 3. 日本市售低嘌呤啤酒

無酒精和低嘌呤的機能啤酒是目前啤酒業者投身研究開發的新潮流，同時也期待在技術層面能夠有所突破以獲得消費者的青睞。菌株的分解能力和產酒精能力是機能啤酒產品的關鍵，而選擇合適的酵母菌將是降低整體成本的首要條件。因此，本所透過機能啤酒（低酒精、低嘌呤）酵母菌株篩選技術平台，於釀酒酵母菌中篩選合適的酵母菌，再針對機能性啤酒發酵生產條件進行調控及製程優化，探討啤酒發酵配方及製程（如麥汁糖度、pH、培養溫度及時間等參數）對於啤酒品質（風味、酒精度、嘌呤、色度）的影響，獲得不同機能性啤酒之最佳製程，以提高產品之品質，完成單一低酒精或低嘌呤產品之開發，同時開發兼具低酒精和低嘌呤的啤酒釀造條件，以發展多樣、多元、多應用性之啤酒生產技術。

參考文獻

1. 陳得源、余光輝、謝祖怡、郭美娟、李奕德、許百豐，2016。高尿酸血症的全身性影響及最新治療建議。內科學誌，29: 1-7。
2. Kuo, C. F., Grainge, M. J., Zhang, W., Doherty, M., 2015. Global epidemiology of gout: prevalence, incidence and risk factors. *Nature Reviews Rheumatology*, 11(11), 649–662.
3. Global Information, Inc. Industry Analysis. Craft Beer Market - Growth, Trends and Forecast (2020 - 2025) <https://www.giichinese.com.tw/report/moi613143-global-craft-beer-market-growth-trends-forecasts.html>
4. Brányik, T., Silva, D.P.,

Baszczyński, M., Lehnert, R., Almeida e Silva, J.B. 2012. A review of methods of low alcohol and alcohol-free beer production. *Journal of Food Engineering*, 108(4), 493-506.

5. Mangindaan, D., Khoiruddin, K., Wenten, I.G. 2018. Beverage dealcoholization processes: Past, present, and future. *Trends in Food Science & Technology*, 71, 36-45.

醇、酯及乙醛等化合物。

不同酵母菌發酵葡萄酒其最終代謝產物種類差異不大，但各種化合物的相對量不同，造就了葡萄酒的品質，研究 5 種常見葡萄酒酵母菌之代謝產物，結果顯示早期發酵菌株 *H. uvarum* 及 *C. stellate* 表現出代謝產物非常相似，其 acetoin 及乙酸乙酯產量高且高級醇產量低；而 *S. cerevisiae* 具有高產異戊醇及 2,3- 丁二醇且低產 acetoin；*Z. fermentati* 在分析的 7 種化合物只有 2,3- 丁二醇產量較高；*S. ludwigii* 一種眾所周知的葡萄酒腐敗酵母，在 acetoin、乙酸乙酯、異戊醇和異丁醇產量特高。分析酵母菌在葡萄酒中扮演的角色，天然發酵葡萄酒早期酵母 *H. uvarum* 及主發酵酵母 *S. cerevisiae*，發現 *S. cerevisiae* 菌株具有很強的多型性且產生不同含量的二級代謝產物來賦予葡萄酒風味及香味，分析 52 株 *S. cerevisiae* 結果顯示，菌株主要的變異性的指標化合物為異丁醇和異戊醇；而 *Hanseniaspora* 活性顯著影響葡萄酒的化學成分，主要是因為產生及分泌酵素（酯酶、 β - 葡萄糖苷酶、蛋白酶等）與葡萄香味化合物前趨物作用產生芳香活性化合物，菌株之間最大的變異為乙酸，而此菌株長期被認為是腐敗酵母；但有些研究指出 *H. uvarum* 與 *S. cerevisiae* 之間為正向交互作用，適用於混合發酵的菌醃。

在葡萄酒釀造過程中，酵母菌不同物種之間交互作用於各個階段發生，其對葡萄酒風味影響可分 3 部分：1. 發酵前葡萄品質：在葡萄園中常見受損葡萄，而受損葡萄增加了微生物生長的營養物質，並促進更多的酵母菌種群，酵母菌濃度從 10^4 - 10^6

酵母多樣性與發酵飲料風味表現

生資中心 / 技師
郭曉萍

前言

世界上最古老的微生物食品應用技術 - 啤酒、葡萄酒及麵包生產，而所用酵母菌亦是最古老的馴化微生物，隨著時間推進，因不斷培養使用及人為的操作篩選突變造成不同食品具有各自酵母菌群，亦造就了啤酒與葡萄酒的專業釀酒師及品牌區分。然而由巴斯德發現微生物以後，酵母發酵技術更快速發展，以純菌株進行發酵飲料達到全球生產一致化，隨著人類經濟發展至今已從商品經濟階段邁向服務經濟及體驗經濟，大大改變消費者的消費能力，消費者對於啤酒、葡萄酒或奶酪的獨特偏好，說明了食品發酵風味的力量，且許多消費者已從追求限量食品轉向選擇個人喜好的特殊風味食品，並願為此付出更多代價。不同酵母菌具有不同代謝產物產生不同風味，且混合培養的複雜性及酵母菌多樣性對風味表現影響顯著，目前已有些釀酒師或啤酒釀造者著重於此，亦提供食品工業創新之新契機，而在傳統發酵飲料中，以葡萄酒、啤酒及米酒為主，而酵母對風味影響巨大，因此針對此三部分加以說明。

酵母與葡萄酒

葡萄、酵母及發酵技術彼此交互作用造就了葡萄酒的獨特性，每種葡萄酒酵母菌具有特定的代謝活性，決定了最終葡萄酒中風味化合物的濃度 (Romano *et al.*, 2003)。一般葡萄酒自然發酵初期由酒精耐受能力較弱但具有較高產香能力的非釀酒酵母完成，但隨著酒精濃度的不斷升高逐漸被酒精耐受能力較強的釀酒酵母代替 (翟明昌等人, 2011)。發酵初期主要的酵母菌群為 *Hanseniaspora* 及 *Candida* 屬，當酒精濃度至 5 ~ 6% 時則抑制其生長，隨後由耐酒精、高糖濃度的酵母進行發酵，主要是 *S. cerevisiae* 及相關酵母，包括 *Brettanomyces*, *Kluyveromyces*, *Schizosaccharomyces*, *Torulaspora*, *Zygosaccharomyces* 及 *Saccharomyces* 等屬酵母，這些酵母在葡萄酒發酵及熟成過程中，彼此競爭營養及代謝，其產生次級代謝產物對最終葡萄酒質量具有顯著影響，經多年研究指出在酒精飲料中，風味物質已鑑定出超過 1,000 種揮發性化合物，其中酵母菌產生的超過 400 種以上，且不同物種酵母產生不同化合物及濃度，這些代謝產物主要為有機酸、高級

CFU/g 增加至 $> 10^6$ CFU/g，增加的酵母菌群為 *Hanseniaspora* (*Kloeckera*)，*Candida*、*Metschnikowia*、*Saccharomyces* 和 *Zygosaccharomyces* 的種類；而主要發酵酵母 *S. cerevisiae* 含量少或不存在，可能與酵母間相互作用有關，例如葡萄上常見的 *M. pulcherrima* 對其他酵母具有抑制效果，亦包含 *S. cerevisiae*，因此受損葡萄的相對比例對葡萄酒風味具有一定的影響程度。2. 酒精發酵：此為酵母菌對葡萄酒風味的主要影響，酵母利用葡萄汁糖類生產乙醇及其他溶劑，有助於從葡萄固體中提取風味成分。再者酵母菌產生酵素將葡萄香味化合物前趨物轉化為風味活性化合物。另外酵母菌產生數百種風味活性的次級代謝產物（如酸、醇、酯、多元醇、醛、酮、揮發性硫化物），這些反應隨酵母種類及菌株不同而有所差異。酒精濃度決定了發酵過程中 non-*Saccharomyces* 種類生長，然而低溫及耐酒精的 non-*Saccharomyces* 種類逐漸被發現，且與 *S. cerevisiae* 共培養可產生不同葡萄酒風味特徵，例如 *C. stellate* 與 *S. cerevisiae* 共培養可增加甘油含量來改變葡萄酒風味。在酒精發酵過程中酵母菌種類的消長受到許多因子影響進而影響葡萄酒風味，包括短鏈至中鏈脂肪酸、營養源可用性、限制、氧氣利用率、氨基酸和維生素利用、蛋白質水解能力、多醣利用性及殺傷毒性感受性等，例如酵母菌自溶產生細胞多醣與單寧和花青素結合影響葡萄酒的澀味和顏色。3. 酵母腐敗：酵母可以在生產過程中的幾個階段破壞葡萄酒，從酒精發酵過程中不適當的酵母物種或菌株生長，則可能產生不可接受的

風味；或者包裝前因未完全填充於罐或桶而暴露於空氣，酵母迅速形成弱發酵或氧化產生氧化乙醇、甘油和酸，使葡萄酒的乙醛、酯和乙酸含量高得令人無法接受；甚至到裝瓶時因不當操作均會因酵母造成的葡萄汁腐敗，例如裝瓶後被 *Dekkera/Brettanomyces* 污染產生四氫吡啶和揮發性酚類物質而令人感受不愉快。

酵母與啤酒

酵母的活性決定啤酒品質，不僅因酵母發酵產率高，其中間代謝產物及酵母代謝的副產物大多為芳香族化合物，影響了啤酒香味及風味。啤酒的風味特徵主要是因酵母細胞將麥芽糖轉化為乙醇及揮發性化合物，例如高級醇及酯，這些揮發性化合物為麥芽及啤酒花的芳香化合物不同，對啤酒香味及口味具有重要影響。乙醇及二氧化碳為發酵過程中主要副產，其他酵母衍生風味活性化合物包括羰基（醛 / 酮）、高級 / 雜醇、酯、鄰位二酮（二乙酰和戊二酮）、脂肪酸、有機酸及硫化物等。

傳統啤酒以 *Saccharomyces* 屬的啤酒酵母為主，可產生高酒精及耐受多種環境逆境的能力，傳統上根據生長及發酵溫度區分為艾爾 (*ale* 或稱頂部發酵) 及拉格 (*lager* 或稱底部發酵) 等兩群酵母菌，艾爾酵母菌生長及發酵溫度為 14~25°C 之間，而拉格酵母菌則為 4~12°C 之間進行。利用完整基因組序列分析顯示艾爾啤酒酵母與其他工業相關用的 *S. cerevisiae* 不同類緣，且不同國家的艾爾啤酒酵母分在同一類群裡，包括德國、英國、比利時和美國。另外在葡萄酒、麵包及清酒酵母分枝中亦存在啤酒酵

母，表示啤酒酵母較葡萄酒酵母菌株更多樣化，且發現自然界中許多艾爾酵母菌為雜交種，例如在比利時特拉普斯啤酒中有 25% 艾爾菌株為 *S. cerevisiae* 及 *S. kudriavzevii* 雜交種。拉格啤酒生產菌株為 *S. pastorianus*，其菌株雜交的情況較艾爾菌株複雜許多，研究指出拉格酵母很久以前即被分為二群：(I) Saaz 及 (II) Froberg，Saaz 為 *S. cerevisiae* (*ale*) 及 *S. eubayanus* 雜交種，而 Froberg 為 Saaz 菌株進一步與其他 *S. cerevisiae* 雜交而得，且用於發酵 stout 產品，一般來說 Saaz 菌株無法發酵麥芽三糖，其生長及發酵活性均較 Froberg 菌株慢。艾爾菌株較拉格菌株具有更高的多樣性，可能是因為艾爾菌株可於許多地點分離得到；而拉格菌株來自非常有限的地區。

非傳統酵母在酒精飲料生產中具有產生多樣風味特徵的能力，以滿足現代消費者的期望。研究以篩選出 17 種非傳統酵母菌，以連續式發酵進行啤酒發酵，第一階段先接種非傳統酵母進行風味酯類及酚類生產，後續接種傳統釀酒酵母進行酒精發酵，結果顯示接種 *Pichia kluyverii* 可增加乙酸異戊酯（水果、香蕉味）、接種 *Brettanomyces* 菌種可提高乙基酚類化合物（辛辣味）及接種 *Torulaspota delbrueckii* 可增強 4-乙炔基愈創木酚（丁香類香氣），而 *Wickerhamomyces anomalus* 為丙酸乙酯、苯乙醇、2- 苯乙酯及乙酸乙酯的良好生產菌株。

Dekkera/Brettanomyces 菌種是生產酸啤酒 (*sour beer*) 的非傳統酵母，尤其是比利時啤酒 (*Lambic beer*)，研究指出 *Dekkera/Brettanomyces* 產生酚類

異味 (phenolic off-flavors, POF), 賦予飲料獨特感官特徵; 亦發現商用 *Dekkera/Brettanomyces* 菌株產生大量的乙酯, 進而提高了整體的水果或花香特徵。例如利用 *B. bruxellensis* 進行啤酒釀造, 可產生多種酯類 (乙酸乙酯、乳酸乙酯、己酸乙酯及辛酸乙酯), 這些化合物若以中等水平存在有助於增加啤酒風味複雜度; 若高含量則對產生似溶劑般的黃油和藥用香味的不良氣味。此群菌株對啤酒風味影響有另一說法, 因此群菌株具有高 β - 葡萄糖苷酶活性, 發酵基質中的糖苷經酶水解釋放糖分子及糖苷配質, 而糖苷配基可表達出芳香活性而改變啤酒芳香性, 此說法比較不適當, 因為啤酒中的關鍵芳香物質如單萜烯的芳樟醇 (柑橘、花香和八角香精) 及水楊酸甲酯 (冬青、薄荷和香料香味) 是從啤酒花而來 (Capece *et al.*, 2018)。

Saccharomyces ludwigii 為一非 *Saccharomyces* 商用啤酒釀造酵母, 此菌種在分解麥汁中的麥芽糖及麥芽三糖能力很低, 通常發酵葡萄糖、果糖及蔗糖產生具豐富風味的低濃度酒精。另外 *P. kluyveri* 因發酵葡萄糖能力有限, 但同時可改變啤酒花化合物成為正向風味化合物。*Z. rouxii* 完全或部分不發酵麥芽糖, 研究偏向於酒精生產、風味及異味產

生等, 此種的某些菌株可產生大量的酯、二乙酰及 2,3- 戊二酮。這些菌株在生產低酒精 (0.5-1.2% v/v)/ 無酒精 (<0.5% v/v) 啤酒上具有相當潛力。*S. cerevisiae* var. *diastaticus* 具有葡萄糖澱粉酶, 可催化糊精來降低啤酒中殘糖量, 此種菌株亦會產生強烈的酚類異味。*B. bruxellensis* 可分泌 α - 葡萄糖苷酶來降解糊精, 產生高度發酵 (highly attenuated) 飲料。*Dekkera/Brettanomyces* 酵母菌分泌 β - 葡萄糖苷酶降解啤酒中複雜分子量的殘糖形成單糖, 使其易被同化而形成超級發酵啤酒 (super-attenuated beer)。

由此可知, 在啤酒生產上酵母菌對其香氣及風味影響甚大, 為賦予產品新風味可經由 (a) 單一酵母純菌培養; (b) 連續或共同接種不同酵母菌; (c) 使用轉基因生物; (d) 外添加其他微生物分泌的酶。其中以非傳統酵母選用具有最佳可行性; 然非傳統酵母酒精生產特性較低, 一般與傳統酵母 (*S. cerevisiae*) 進行共同發酵或連續發酵, 另外對這些酵母代謝特徵了解較少, 在啤酒生產上是否安全 (GRAS/QPS), 則需進一步進行檢測。

酵母多樣性篩選策略

在食品生物技術中發展酵母菌篩選方法, 其“風味表現型

flavor phenotype”為一極其重要的特性, 酵母菌與發酵培養基進行動態交互作用, 不同酵母產生風味炯異, 當從天然環境中針對特定性狀如耐酒精度、低乙酸、低溫下良好發酵速率或影響發酵食品香味化合物的產生能力等, 篩選得到特定天然酵母菌株, 後續經由培養基組成、接種量、發酵容器、溫度調控, 使每批次發酵結果相似, 建立出特定酵母之生產標準流程; 然而天然來源發酵原料組成上具有些微差異, 可能造成發酵飲品風味差異; 因此後續篩選策略從酵母菌基因下手, 針對特殊性狀, 以基因調控方式進行菌株優化, 然風味物質對細胞存活或能量產生並非至關重要, 且風味化合物受到多基因特徵表現交互影響, 因此篩選策略需由最終產物來回推較有脈絡可尋。此外, 以傳統突變方法誘變多元酵母特色菌株, 其生態系統中增加生物多樣性亦會增加其穩定性, 此觀點在微生物發酵系中亦得到證實。因此生物資源中心以篩選得到具產生良好風味酵母, 經由培養基, 早期酵母篩選以酶學特性進行評估, 針對最終之目標風味產物進行篩選, 目前具有生產 2- 苯乙醇潛力菌株及具有生產 4- 乙炔創癒木酚潛力菌株, 提供多樣化酵母風味菌株應用。

生物資源保存及研究簡訊 第122期

發行者: 財團法人 食品工業發展研究所

發行人: 廖啓成所長

主編: 陳倩琪

編輯: 王俐婷、許璦文、黃學聰、梁克明

本著作權依補助契約歸屬財團法人 食品工業發展研究所

地址: 新竹市食品路 331 號

電話: (03)5223191-6

傳真: (03)5224171-2

承印: 國大打字行

電話: (03)5264220

ISSN: 1021-7932

GPN: 2009001214

中華郵政新竹誌字第0030號

交寄登記證登記為雜誌交寄

