

[J. Ferment. Technol., Vol. 48, No. 1, p. 34~40 1970]

清酒の連続醸酵

(第2報) 清酒連続醸酵の工業化

*蒲池 勳・林田 晋策・川原田 肇・本江 元吉

(九州大学農学部農芸化学科, *池亀酒造株式会社)

Continuous Sake Fermentation

(II) Industrialization of Continuous Sake Fermentation

*Tsutomu Kamachi, Shinsaku Hayashida, Hajime Kawaharada
and Motoyoshi Hongo

(Laboratory of Applied Microbiology, Department of Agricultural Chemistry, Kyushu
University, Fukuoka; *Ikekame Shuzo Co. Ltd., Mizuma-gun, Fukuoka)

A newly devised apparatus was applied successfully to a continuous sake fermentation for 32 days in a semi-continuous four-vessel system with a preliminary vessel of one-fourth capacity of the main vessel. This preliminary vessel was installed before the 1st vessel in order to promote the yeast growth and repress microbial contamination. The experimental conditions employed were as follow: total weight of rice in each vessel: 1,000 kg, mash concentration: 130%, dilution rate: 0.25/day, temperature: 15°C, type of yeast: Kyokai No. 7. Feed was supplied stepwise once a day in the preliminary vessel, mixed with lactic acid and with the yeast inoculum supplied by the feed-back of a part of the foam produced in the 1st vessel. The whole mash was transferred to the 1st vessel 47 hours after inoculating yeast:

The new apparatus consisted of four closed square-shaped vessels of stainless steel. Each vessel had a capacity of 3-5 kl; the 1st vessel was placed on top of the apparatus, and the 2nd, 3rd, and 4th vessels were arranged stepwise. Each vessel was equipped vertically with a partition plate, by which one-fourth of the mash in each vessel was separated from the rest. The separated mash was drained off into the next vessel by releasing a valve, and then by pulling up the plate, another one-fourth of the mash was let out into the divided section. Thus, by opening and shutting the plate, the mash was successively transferred without being stirred up.

Throughout the continuous fermentation period of 32 days, a high sake-yeast population was maintained in the mash without any contamination; only a little daily change in mash-analyses of Baume, alcohol and direct sugar contents, acidity, amino acidity and the ratio of solid part of mash were observed. These facts may prove this procedure is effective for producing and maintaining stability of mash, suggesting the possibility of devising an automatic apparatus for continuous sake fermentation.

緒 言

清酒の連続醸酵については既往に実験室規模で若干の試みがなされている^{1,2,3,4)}。いずれも、3~4槽式の半連続形式が採用され、特殊原料や殺菌された原料の使用、あるいは抗生物質の添加などが試みられたが、アルコール生成能が緩慢であったり、低下したり、雑菌汚染によって醪が増酸する現象も認められている。

著者らはさきに⁵⁾、初めて工業規模での連続醸酵試験を実施するに当り、酒造では醸酵液そのものが製品となること、製品は伝統的嗜好品であり分析値のみで評価され難い一面を有すること、を考慮して原理的には、可能な限り従来の酒造法を踏襲することとし、原料には通常の蒸米、麴、水を殺菌することなく使用する方針を定めた。この方針のものに以下の考察を行なった。まず、既往文献にみられるアルコール生成の低下や醪の増酸については、醸酵開始期には第1槽での酵母増殖は著しいが、この増殖は第1槽のアルコール濃度の急増を招来して、5~10%にも達するため、feedが新たに第1槽に投入されても酵母の増殖は抑制され、酵母密度は次第に低下し、アルコール生成量も低下するに至り、醸酵経過の遅れを醪品温の上昇で処置すると、醪へ添加する乳酸の量が十分でないことと相まって雑菌汚染の機会が増加し、多酸醪が生成されると推論した。次に、既報の清酒醸造における高濃度アルコール生成機構に関する研究^{6,7,8)}の結果を連続醸酵に適用して考察した。高濃度アルコール生成要因としては、(1)低温醸酵であること、(2)糖およびアミノ酸の濃度が適度に保持されること、(3)麴が酵母の増殖を促進すること、(4)麴や米の redox 物質の作用により、醪が初期に酸化的、後期に還元的に保たれること、(5)米が副生有害物の吸着を行なうこと、の5点が挙げられる。したがって連続醸酵では、低温で従来の酒造原料、仕込方法および醸酵経過をとりさえすれば、あとは醪での酵母増殖の問題が解決されれば高濃度アルコールが生成されると考えられる。酵母増殖促進のためには、feed投入時の醪のアルコール濃度が低く、また麴密度が高い環境下に、麴の酵素を失活させず製品の酸度が過多とならぬ量の乳酸を添加して雑菌増殖をできるだけ阻止した上で、十分量の酵母を添加することが必要と考えた。以上の連続醸酵に関する既往文献と高濃度アルコール生成要因との両面の考察から導かれた諸条件を満足させる方法として、4基の主醸酵槽の前に予備槽を設置し、低温で麴の高密度状態にある水麴に十分量の乳酸を添加し、これに酵母種菌として第1槽の泡部の一部を feed-back して増殖させ、さら

に原料を段階的に添加し、このように予備槽で前処理した feed を第1槽へ投入するという方法を創案実施して、良好な結果を収め得た。

本報では、前報の結果を基礎として、大規模な連続醸酵装置の開発と、その自動化とを推進する目的で、まず基本的問題を解決するため、新型連続醸酵装置を試作した。著者らは醪攪拌の醸酵への影響を考慮して醪無攪拌を原則としてきたので、最大の問題点は醪移動の方法であった。醪は上、中、下部それぞれ酵母密度や溶解比が相違するから、醸酵や酒質への影響を無視した攪拌による均一化を行なわないかぎり、槽の上部から溢流させて次槽へ醪移動させたり、槽の中部あるいは下部の液出口から次槽へ落下させる通常の方法では、各槽間の醪成分が次第に相違してくると考え、各槽内に仕切板を設け、これを閉じることによって醪を1/4量だけ垂直方向へ分割して次槽へ落下させる方法を考案した。第1槽の醪泡部を酵母種菌として feed-back する本法はまた泡部酵母の長期滞留による酒質の劣化も防止すると考えられる。以下、本装置使用による32日間の実施例について報告する。

実 験 方 法

1. 新型連続醸酵装置の試作 本装置は Fig. 1 および Fig. 2 に示す通り、4基のステンレス鋼製、角型密閉槽から構成され、第1槽を最上部に設置し、2, 3, 4各槽を順次階段状に配列した。容量は1, 2槽ではそれぞれ 5 kl, 3, 4槽では醸酵後期の醪の落泡を考慮して 3 kl とした。醪移動のため各槽に設けた仕切板は、Fig. 1, Fig. 3 に示す通りで、常設の板には空隙があって醪が移動し、醪の次槽への落下時には空隙のない仕切板を下げて空隙を閉じることにより各槽醪の1/4量を垂直方向に分割できるように設定した。この縦割り1/4量の醪を液出口弁を開くことによ

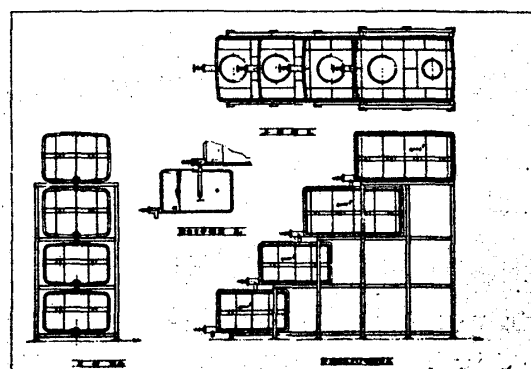


Fig. 1. New apparatus for continuous sake fermentation.

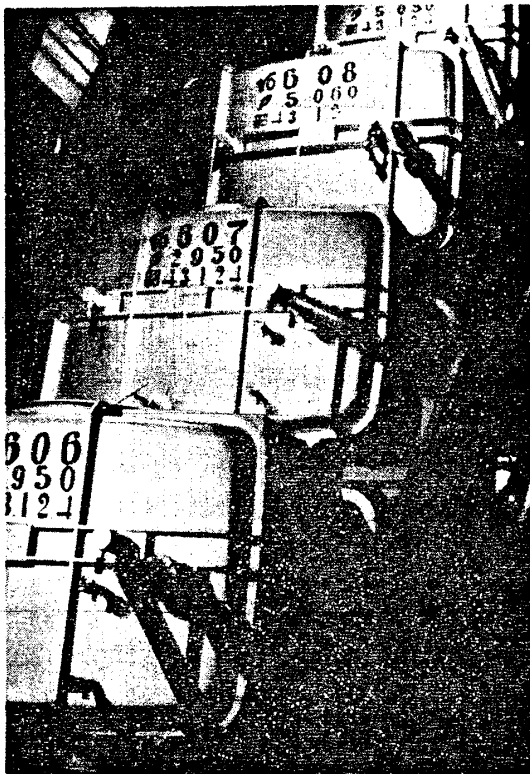


Fig. 2. Four main vessels of the new apparatus.

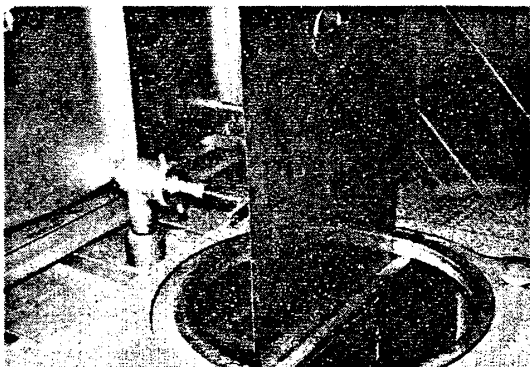


Fig. 3. A partition plate for mash-transferring, equipped with each main vessel.

り次槽の中央部へ落下させ、次にその仕切板を開いたのち前槽の縦割り1/4量の醪を受入れた。このようにして仕切板の開閉により順次各槽醪の1/4量を次槽へ落下させて無攪拌で醪移動を行なった。

2. 基礎仕込 第4槽から、4日目毎に順次第1槽まで通常の回分式に準じて仕込んだ。仕込配合は1槽当り総米1,000 kg、麴歩合24%、汲水歩合130%とした。酵母は協会7号を使用し、あらかじめ蔗糖およびグルタミン酸を主成分とする pH4.5 の合成培地を用いて jar fermentor で28°C、24時間培養を行ない、連続遠沈した菌体を総米1,000 kg 当り湿菌として1.5 kg 投入した。乳酸使用量は総米1,000 kg 当り

1,000 ml を添加した。

3. 連続仕込

a. 主醱酵槽での操作 第1槽の仕込終了後5日目に、第4槽の液出口弁を開いて1/4容の醪をとり出し、次いで第3槽から第4槽へ、第2槽から第3槽へ、第1槽から第2槽へ、それぞれ1/4容ずつ醪を移動し、第1槽へ予備槽で処理した feed の全量を添加する操作を毎日行なうことにより連続醱酵作業を開始した。Feed の仕込配合は基礎仕込と同一で、総米250 kg、麴歩合24%、汲水歩合130%、75%乳酸160 ml 添加とし、醪品温は15°Cを標準とした。

b. 予備槽の仕込 前報同様、第1槽の前に主醱酵槽の1/4容の予備槽1基を設置して作業した。まず、所要の麴全量、乳酸全量、水半量を混合し pH3.5 として雑菌を抑制した水麴に、醪移動前の第1槽醪の泡部を酵母密度 1.5×10^8 /ml になるよう(約10 kg を要した)添加し、18時間後、蒸米半量と水半量を加え1昼夜放置すると泡が高く上ってきた。次いで蒸米半量を加えてから5時間後、第1槽にその全量を投入した。

4. 醪の分析

a. 試料採取 各槽とも醪移動の直前に、醪の上部中部、下部の3箇所から採取し混合して試料とした。

b. 滲液成分 ポーメ、アルコール、酸度、アミノ酸度は国税庁所定分析法により、直糖は Somogyi 変法により測定した。

c. 溶解比 永山ら⁹⁾の法にしたがって、醪の3,000 rpm、10分間の遠心分離による沈殿区分の全量に対する重量%で示した。

5. 醪の菌学的検査

a. 酵母密度 Thoma の血球計数器により、メチレンブルーで染色されない生細胞数を測定した。

b. 細菌数 炭酸石灰添加カビサイジン培地(大五栄養製)、あるいは炭酸石灰添加麴汁寒天にナラマイシンを加えた培地で、30°C、3日間、平板培養して測定した。

c. 酵母の TTC 染色 古川らの方法¹⁰⁾によった。

結 果

1. 予備槽醪の経過 第1槽へ投入前の予備槽醪の分析結果を Table 1 に示す。いずれも、全期間を通じて定常値を示し、泡を feed-back した当初は 1.1×10^8 /ml であった酵母密度が $3 \sim 4 \times 10^8$ /ml 程度まで増加し、以後の順調な醱酵に十分な酵母密度となっていることが示された。これに対し細菌数は 10^2

Table 1. Mash analysis in the preliminary vessel.

Day	Alcohol %	Baume	Acidity	Direct sugar %	Viable yeasts /ml	Bacteria /ml
3	6.4	5.9	1.3	4.3	3.2×10^8	7.2×10^2
10	5.7	5.9	1.2	4.1	4.0×10^8	1.9×10^2
17	6.5	6.5	1.3	5.2	3.8×10^8	3.0×10^2
24	5.3	6.2	1.0	5.6	3.6×10^8	9.0×10^2
31	5.2	5.8	0.8	4.7	4.4×10^8	8.0×10^2

10^2 /ml 程度にとどまり雑菌汚染の懸念はなかった。アルコールは既に6%前後に達しており、回分式でこの期の醪を得るには配仕立から通算して20数日を要するのに、本法では一度連続醸酵に入れば、2日足らずで行ない得る点が特長と考えられる。

2. 主醸酵槽醪の経過

A ポーメ Fig. 4 に示す通り、当初から定常状態を保持し、各槽のポーメは第1槽からそれぞれ6.0~6.5, 4.5~5.0, 2.5~3.0, 1.0~2.0で、前報でのやや急進気味の醸酵経過を改善し得た。

B アルコール Fig. 5 に示す通り、全期間を通じ定常状態を保持した。3, 4槽では醪温度の調節により過度のアルコール生成を抑制した。

C 直糖分 Fig. 6 に示す通り、醪の糖分は7%以下で低く、汲水130%のこの醪で順調な並行複式醸酵が進行していることが示された。

D 酸度 Fig. 7 に示す通り、酸度も全期間を通じ定常状態を保持した。20日目頃からの一時的な酸度の低下は予備槽での乳酸添加量を他の試験のため一時的に減じたためである。

E アミノ酸度 Fig. 8 に示す通り、全期間にわたりほぼ一定で、第4槽で2.8 ml 前後を示し、前報の2.2 ml よりやや高値を示した。

F 溶解比 Fig. 9 に示す通り、各槽とも順調な物料の溶解がみられた。

G 酵母密度 前述の通り予備槽ですでに3~4×

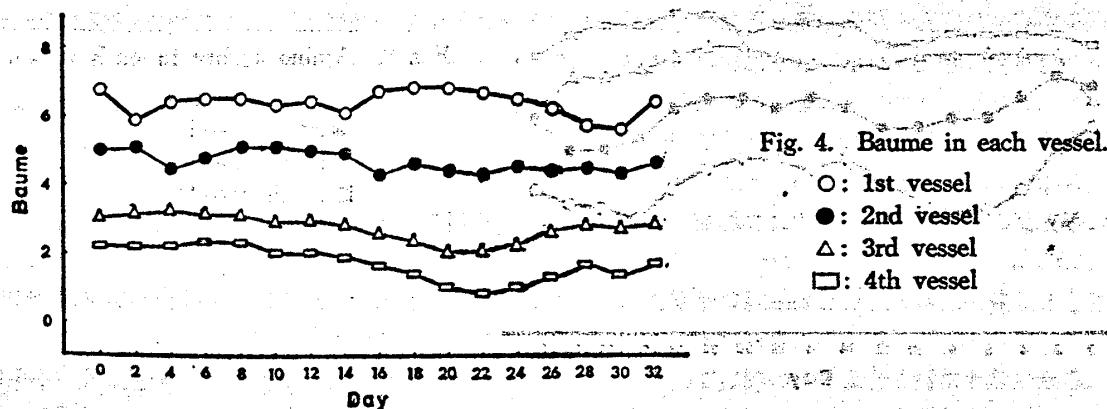


Fig. 4. Baume in each vessel.

○: 1st vessel
●: 2nd vessel
△: 3rd vessel
□: 4th vessel

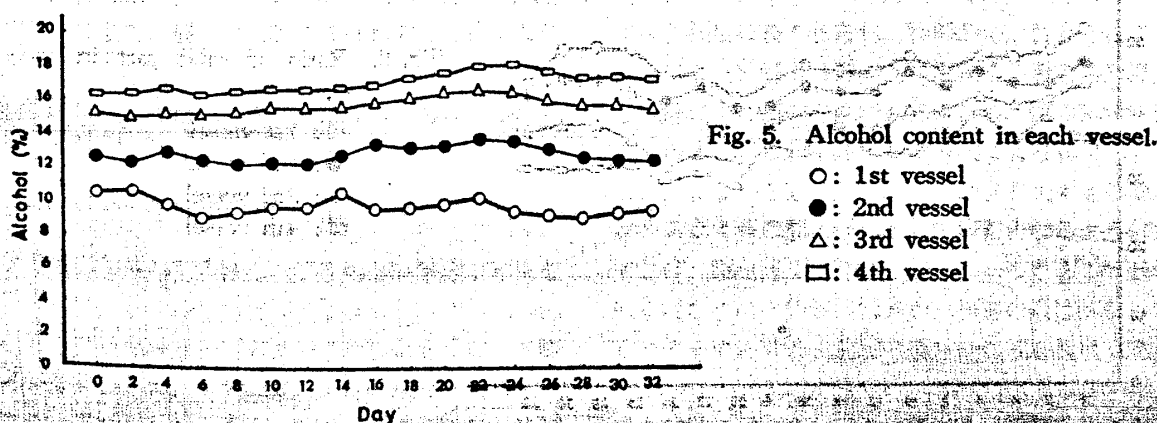


Fig. 5. Alcohol content in each vessel.

○: 1st vessel
●: 2nd vessel
△: 3rd vessel
□: 4th vessel

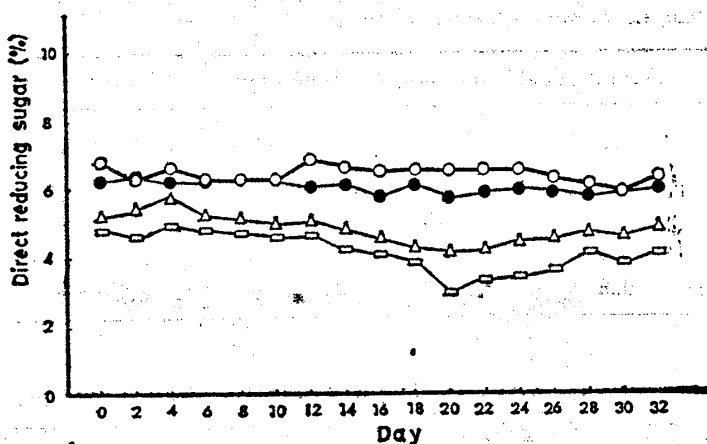


Fig. 6. Direct reducing sugar content in each vessel.

- : 1st vessel
- : 2nd vessel
- △: 3rd vessel
- : 4th vessel

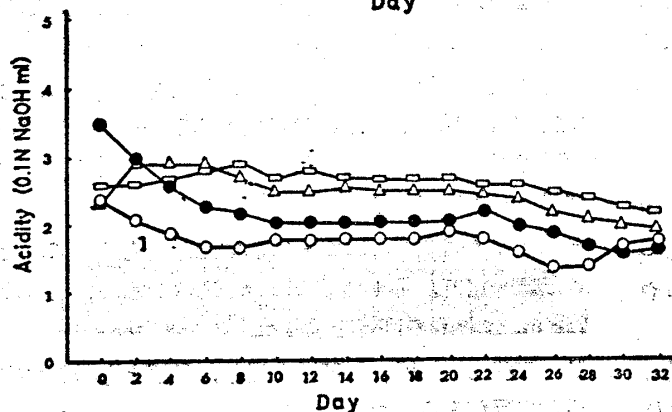


Fig. 7. Acidity in each vessel.

- : 1st vessel
- : 2nd vessel
- △: 3rd vessel
- : 4th vessel

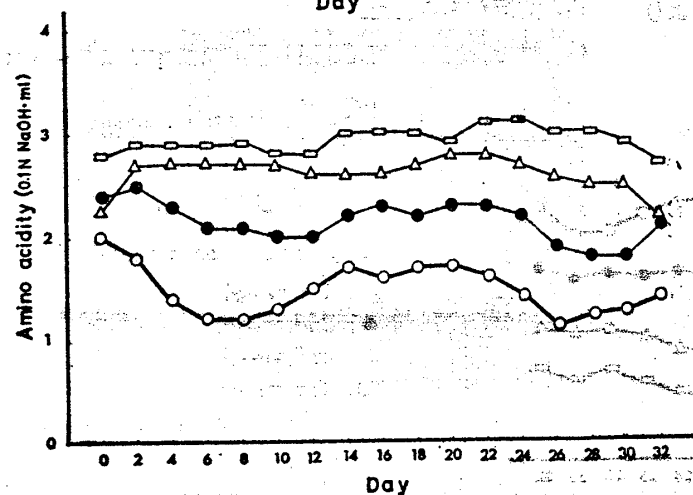


Fig. 8. Amino acidity in each vessel.

- : 1st vessel
- : 2nd vessel
- △: 3rd vessel
- : 4th vessel

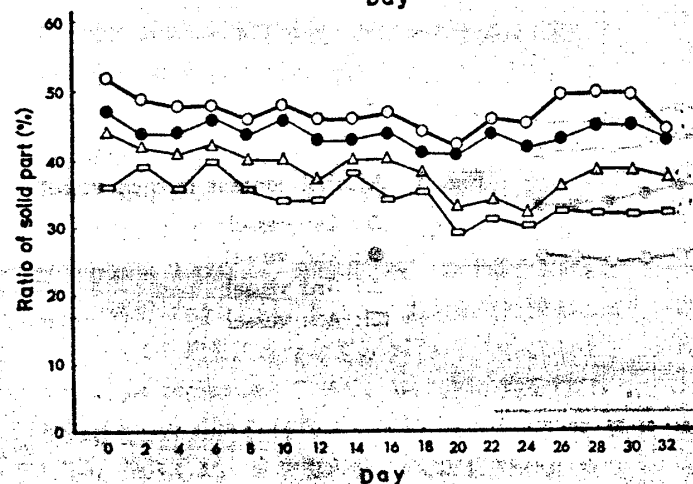


Fig. 9. Ratio of solid part in each vessel.

- : 1st vessel
- : 2nd vessel
- △: 3rd vessel
- : 4th vessel

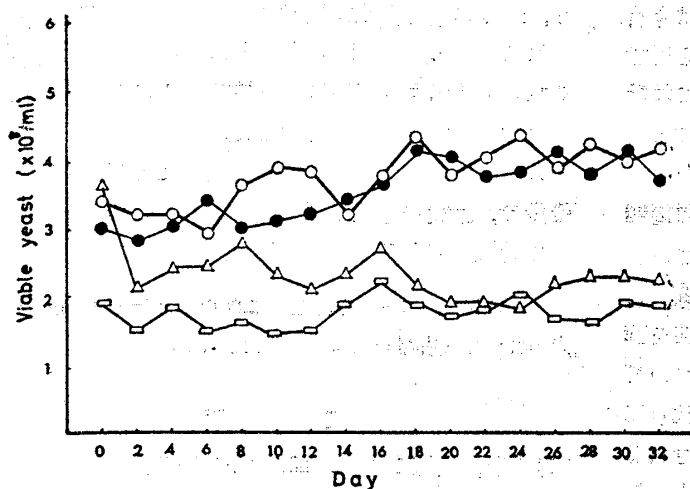


Fig. 10. Viable yeast in each vessel.

○: 1st vessel
●: 2nd vessel
△: 3rd vessel
□: 4th vessel

4

Table 2. Degree of microbial contamination in mash.

Vessel	Day	Red-stained yeast		Bacterial number (ml ⁻¹)	
		11	21	11	21
1	1	96.3 %	97.1 %	1.0 × 10 ³	5.0 × 10 ²
2	2	96.7	96.6	3.0 × 10 ³	1.5 × 10 ³
3	3	96.9	98.6	1.1 × 10 ³	2.8 × 10 ³
4	4	97.0	98.3	4.0 × 10 ³	1.5 × 10 ³

Yeasts were stained by TTC-agar overlay method.

10⁸/ml の酵母密度に達し、以後は 1, 2 槽で 2~4 × 10⁸/ml, 3, 4 槽で 1.5~2.5 × 10⁸/ml を保持しており、各槽とも強力な醸酵を営むのに十分量の酵母が生存していることが示された。

H 細菌数 連続醸酵の成否はまず雑菌汚染の防止にあり、著者らは原料無殺菌でも、強力な醸酵力の保持、十分量の添加乳酸、および低温醸酵の堅持によりこの問題を解決できると考えた。その結果、前報で示したと同様、Table 2 の通り、細菌数は非常に少なく通常の回分式をも下回る程度であった。

I 野生酵母数 Table 2 に示す通り、TTC 染色率は 96% 以上で、経日的に染色率はかえって高くなる傾向を示した。前報および原らの報告とも合わせて、連続醸酵での野生酵母汚染の懸念はないものと考えられる。

考 察

予備槽を設置して実施した既報の連続醸酵の結果を基礎として、新型連続醸酵装置を試作し、無殺菌の蒸米、麴、水为原料として無攪拌で醪移動を行なって醸酵試験を実施した。その結果、上記の通り、各槽醪のボーメ、アルコール、直糖、酸度、アミノ酸度、溶解

比および酵母生菌数の経日変化は全期間を通じていずれも僅少であったことから、醪の定常状態への導入とその保持への本法の有効性が確認され、さらに、高い酵母密度と 96% 以上の TTC 染色率が保証され、細菌数が 10³/ml 程度に抑えられたことから、本法の安全性が確認された。アル添上槽後の製成酒の日本酒度は +1.1, アルコール 19.6%, 総酸 2.3 ml, 粕量 17.1 % で酎酒の結果は回分式の清酒に優るとも劣らぬ品質であるとされた。

本法では醪の攪拌は全く行なわないから、各槽醪の均一性に問題があると考えられるが、攪拌はその方法により程度の差こそあれ、物料のつぶれとそれに伴う過溶解のため醸酵は緩慢となるから、著者らは醪攪拌を醸酵による醪の自然回転にゆだね、醪の不均一は不均一のまま、これを醪移動の方法により解決しようとした。すなわち醪移動の際、移動する 1/4 量の醪は残存する 3/4 量の醪と全体として同質となるように考慮すれば、醪全体を攪拌して均一にしてから 1/4 量の移動を行なうのと同様の結果が、物料の過溶解なしに得られるものと考え、前述の通り仕切板を設けて実施した。

本試験で示された通り、新型連続醸酵装置による定

常状態への導入とその保持とを行ない得たことは今後、装置の機構上の改良と相まって、装置の自動化を可能にすると考えられる。また、各槽で各 step 毎に並行複式醸酵への制御条件を決定すれば、連続醸酵によって製成酒の品質を自由にコントロールすることが可能となると考えられる。他方、液麴や酵素をもその範疇に含めたいわゆる無菌麴の自動的製造法が確立されれば、清酒の連続醸酵は一層信頼度の高い製造方式へと発展することが期待される。また、第1槽の泡部を酵母種菌として予備槽へ feed-back する技法についてはその自動化を検討中であるが、feed-back の代りに清酒酵母の連続培養を行ない、その酵母を予測される必要量だけ予備槽へ、あるいは予備槽を廃して直接第1槽へ投入して、醸の酵母量を十分に維持する方法も連続化の一変法として考えることができよう。

要 約

1. 新型連続醸酵装置を試作して、清酒の連続醸酵を工業規模で32日間行ない、良好な結果をえた。1槽当り総米 1,000 kg 仕込の4槽式半連続形式で、原料無殺菌、協会7号酵母使用、希釈率 0.25/day、汲水歩合130%、温度は 15°C とした。創案の予備槽を第1槽の前に設置し、仕込方法は前報に準じた。
2. 使用した試作連続醸酵装置は4基のステンレス鋼製、角型密閉槽からなり、第1槽を最上部に設置し、

2, 3, 4 各槽を順次階段状に配列した。容量は 1, 2 槽は 5 kl 3, 4 槽は 3 kl とし、各槽に仕切板を設け、これの開閉によって順次各槽醸の 1/4 量を次槽へ落下させ無攪拌で醸移動を行なった。

4. 各槽醸の各分析値の経日変化は全期間を通じて僅少で、上記の方法が醸の定常状態への導入とその保持に効果的であることを示した。

終りに臨み、本研究を行なうに当り分析その他で終始御協力賜わった森内昭夫氏に深謝を表します。

文 献

- 1) 原, 大塚: 本誌, **45**, 289 (1967).
- 2) 大塚, 原: 昭和43年度農化大会発表.
- 3) 永山, 手島, 鼓, 井出: 醸酵食品の連続製造, 中小企業庁, p115 (1967).
- 4) 本杉, 石川: 本誌, **45**, 954 (1967).
- 5) 川原田, 林田, 蒲池, 加藤, 本江: 本誌, **46**, 921 (1968).
- 6) 本江, 林田, 井上, 小泉, 川原田: 農化, **41**, 629 (1967).
- 7) 川原田, 林田, 本江: 農化, **41**, 635 (1967).
- 8) 川原田, 古賀, 林田, 本江: 農化, **41**, 640 (1967).
- 9) 古川, 秋山: 農化, **37**, 398 (1963).

(昭44. 8. 27受付)