

5 微生物生産—発酵法

5.1. 清酒醸造

酒類はその製造法によって三種類に大別される。すなわち、醸造酒、蒸留酒、それに混成酒である。醸造酒は発酵した液をそのまま濾過した酒で、清酒やビール、ワインなどがこれに属する。蒸留酒は発酵した液を蒸留して得られた酒で、ウイスキーや焼酎、泡盛などがこれに属する。混成酒は醸造酒に蒸留酒を添加したり、あるいは蒸留酒に着色料や香料、甘味料などを混合した酒で、みりんやリキュールなどがこれに属する。また、醸造酒はその発酵の形式により並行複発酵、単行発酵（単行複発酵）、単発酵の三種類に分けられる。並行複発酵はモロミ中でデンプンを糖化しながら発酵を行うもので、清酒がその代表である。単行発酵はビールがその代表に挙げられ、最初に麦芽を糖化した後、その糖化液を発酵するのである。単発酵は糖化を必要とせず発酵だけを行うもので、ワインなどがその代表として挙げられる。

清酒は米のデンプンを米麴で糖化しながら、同時に酵母でアルコール発酵を行う並行複発酵で醸造されるものである。

5.1.1. 清酒の醸造法

5.1.1. (1) 製麴

デンプン質原料に麴菌の胞子を接種して培養し、糖化酵素を生産する。麴を糖化剤として用いる（本実験では、市販の麴を用いる）。

1. 原料白米
2. 洗米・浸漬
3. 水切り
4. 蒸（む）しきょう 30～60 分
5. 放冷 30～35 °C
6. 種麴（もやし）を散布・混合 *Aspergillus oryzae* を胞子が着生するまで繁殖させる
7. 切り返し 蒸し米の堆積を広げて混合する、製麴中に発生する熱と二酸化炭素を外に出す
8. 出麴

5.1.1. (2) もと作り（酒母）

使用酵母菌株 *Saccharomyces sake*（清酒酵母、協会7号または協会9号）

酵母の培地

Glucose	1.0 % (w/v)
Peptone	0.5
Yeast extract	0.3
Malt extract	0.3
Tap water（水道水）	
pH 5 - 6	（MR 試験紙で調整）

1. 種培養用培地 5 ml／試験管および本培養用培地 100 ml／坂口フラスコを各2本ずつ調製し、オートクレーブ滅菌する。
2. 種培養用培地 5 ml／試験管2本に酵母を1白金耳ずつ植菌し、28°Cで一晩振とう培養する。
3. 各試験管の全量を本培養用培地 100 ml／坂口フラスコに移植し、28°Cで一晩振とう培養する。
4. 培養液を遠沈管に移し、5000 rpm、約15分遠心分離し、集菌する。
5. 適当量の水に懸濁して菌を洗浄後、遠心分離する。
6. 水（約5 ml）に懸濁して菌を 10^{10} cells/ml 前後の濃度に調整する（ヘマトメーターで計測、**1.6 菌数の計測参照**）。
7. 菌を 10^8 cells/ml 濃度になるように仕込みへ添加する。

5.1.1. (3) 蒸米の調製

1. 所定量の酒米（五百万石または山田錦）を洗米（フィルターを通した水道水で4～5回デカンテーションにて洗う、強く洗ってはいけない）し、浸漬（フィルターを通した水道水に入れて室温で一夜放置）する（当番）。
2. 水切り（ザルに麻布をかぶせて、その上に洗米をのせて水を切る）する。
3. 蒸しきょう（蒸し器で蒸して蒸気が抜け出してから40分位待つ）する。
4. 放冷（30°Cぐらいまで）し、仕込みに必要な量に分ける。

5.1.1. (4) モロミ仕込み

一度に大量の原料を酒母に添加すると、その酸度が極端に低下するので、3回4日間にわたって順次添加する。これを“三段仕込み”と言う。仕込みビンに次の様な割合で添加し、配合する。

仕込み配合（速醸）

	添	仲	留	計
掛米	109 g	173 g	300 g	582 g
麴米	56 g	45 g	68 g	169 g
汲み水	158 ml	263 ml	503 ml	924 ml
酵母 (10 ¹⁰ cells/ml)	1.6 ml			
乳酸 (原液を 10 倍希釈)	5.3 ml			

上記の米の添加量は白米相当の仕込量
従って実際の仕込み量は次の様になる。

蒸米の場合 掛米 ×1.3 (g)
麴米の場合 麴米 ×1.2 (g)

	添	仲	留
掛米	141.7 g	225 g	390 g
麴米	67 g	54 g	82 g

5.1.1. (5) 仕込み後の管理

1. 仕込みビンはアルミ箔でフタをする。
2. 仕込み後、4日間は“櫛入れ”を行う。すなわち、ガラス棒などを突っ込んでモロミ中のガスを抜いてやる。余り激しくかきまわさないようにすることが大切である。高泡後に仕込みビンのまわりに付着した泡をタオルできれいに拭き取る。これをこまめにやる。
3. 15℃で14～15日間で上槽する。その間、時々、ガラス棒を突っ込んでモロミ中のガスを抜いてやる。

5.1.1. (6) 上槽

モロミを“さらし(晒)”(臭いを抜くために予め酒で炊いておく)で絞って濾過した後、遠心分離(8,000回転、10分)して上澄み液を得る。

表6 仕込み計画表



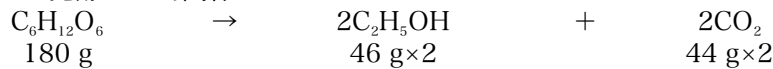
5.1.2. 発酵経過の分析

5.1.2 (1) 炭酸ガス減少量からのアルコール濃度の計算

清酒醸造中のモロミのアルコール濃度を、モロミより発生した炭酸ガス量より便宜的に計算する。先ず、仕込み後にモロミを含んだ仕込みビンの重量を“はかり”で測定する。その後、発酵経過に従って経時的に重量を測定することにより、減少した炭酸ガス量を計算し、次に示した式によってアルコール濃度を計算する。上槽する時まで計ってアルコール濃度の経時的な増加を調べる。

【計算の原理】

アルコール発酵の量的関係



従って、x (g) の CO₂ がモロミから発生し、そのモロミの液量が y (ℓ) とすると、そのアルコール濃度 z (g/ℓ) は次の式で表わすことができる。

$$z \text{ (g/ℓ)} = \frac{(46/44) \times x \text{ (g)}}{y \text{ (ℓ)}}$$

エタノールの比重は d²⁰ = 0.789 (g/ml) であるから、体積濃度に換算するとアルコール濃度 a (v/v, %) は次のようになる。

$$a \text{ (v/v, \%)} = \frac{z \text{ (g/l)}}{0.789} \times \frac{1}{10}$$

これを整理すると

$$a \text{ (v/v, \%)} = \frac{0.1325 \times x \text{ (g)}}{y \text{ (l)}}$$

ただし、 x ：炭酸ガス減量 (g)

y ：モロミろ液量 (l) = 蒸米重量 + 汲み水重量

a ：アルコール濃度 (v/v, %)

5.1.2 (2) 酵素法によるアルコール濃度の定量

上槽後の清酒については、5.3.2. 酵素法にアルコール濃度の精密測定法に従って、アルコール濃度を測定する。また、官能試験を行って評価を与える。

参考文献

- (16) 山田 正一編：清酒工業、光琳書房
- (17) 日本醸造協会：新醸造技術
- (18) 野白 喜久雄他：醸造の事典、朝倉書店

5.2. ワイン醸造

ワイン醸造の発酵形式は単発酵式で、原料であるブドウに含まれる糖類がワイン酵母によりアルコールに変換される。ワインには、黒色ブドウの色素を溶出させた赤ワインと、赤色の果皮を除去したブドウまたは緑色ブドウを使った白ワインがある。

赤ワインの標準的醸造法は、黒色ブドウを破碎し果梗を除去した後、果皮・果肉・果汁・種子を一緒にタンクに入れ発酵させる。発酵とともにアルコールが生成し、果皮から色素、種子から渋味の主体を成すタンニンが抽出される。発酵終了後圧搾し、樽に入れて後発酵を行い、貯蔵熟成させる。一方、白ワインは果皮を除去した赤ブドウまたは緑色ブドウを破碎・除梗し、直ちに圧搾・搾汁する。得られた果汁を発酵させた後、樽に貯蔵し熟成させる¹⁹⁾。

5.2.1. 白ワインの醸造法

ワイン酵母 (*Saccharomyces cerevisiae* No.95) 及び甲州種ブドウを用いて、2人1組で白ワインの醸造を行う。発酵途中の様子を観察し、醸造した白ワインのアルコール濃度の測定や官能試験を行う。

5.2.1 (1) 酒母づくり

【実験方法】

1. ブドウ果房を約 25 g 量り取り、果梗を取り除いた (除梗) 後、果粒をよく水洗いする。
2. 果粒を乳鉢で潰砕し、果汁を搾る。果汁の糖度及び pH の測定を行う。
3. 得られた果汁のうち、5 ml を 16.5×165 mm 試験管に、20 ml を 100 ml 容 三角フラスコに移す。それぞれアルミホイルで蓋をした後、10 分間オートクレーブ滅菌する。
4. 5 ml の果汁培地にワイン酵母 1 白金耳を植菌し、28℃で約 3 日間静置培養する。
5. 培養液の全量を 20 ml の果汁培地に移植し、28℃で約 3 日間静置培養する。この培養液を酒母という。

【注意事項】

pH 測定は適当な試験紙を、糖度測定は検糖計²⁰⁾を使用して行う。



果房



果梗