

pH センサを用いた生酏系酒母における乳酸発酵の可視化技術の検討

河原 航* 小田木 美保** 富田 洋文* 野口 友嗣** 飛田 啓輔** 平間 毅***

1. はじめに

2013年に「和食」がユネスコ無形文化遺産に登録されたことを背景に、日本酒は海外からの関心が高くなっている¹⁾。茨城県酒造組合のホームページによると(2022年3月時点)、茨城県は関東地方で最も多い36の酒蔵数を有しており、県内日本酒産業の発展のためにも、高品質の県産日本酒の安定生産と輸出促進の取り組みが期待されている。その一方で、船便による日本酒の輸送行程は、長期間にわたり温度の変化や振動による負荷がかかり品質の劣化を招くとされる。また、輸出先における流通環境の制御も難しく、温度の変化に敏感な日本酒は過酷な環境に晒されているといえる。これらの背景から、劣化しづらい日本酒の開発が強く求められている。

ところで、日本酒は、水、麴、および蒸した米を混合し、清酒酵母によって1カ月間ほど発酵させた醪(もろみ)を圧搾して得られる濾液である(図1)。酒母(しゅぼ)造りは、醪に添加する清酒酵母を高い純度で増殖させるための製造工程である²⁾。純度の高い清酒酵母を得ることは、醪を良好な発酵へと導き、安定した品質の日本酒を製造するために必要不可欠である。

近代の酒造りでは、酒母中の雑菌繁殖を抑え、速やかに清酒酵母の増殖を図るために、乳酸を事前に添加する「速酏系酒母」が大半を占めている。対して、乳酸菌を繁殖させて仕込む「生酏系酒母」は、乳酸菌の産生する有機酸によってpHの低下へと導くことで雑菌汚染を防ぐ。また、「生酏系酒母」によって得られる日本酒は、味わい豊かとなるだけでなく、抗酸化作用が高まるとされる³⁾。これらのことから、「生酏系酒母」によって、劣化しづらく輸出に適した日本酒が得られると考えられる。

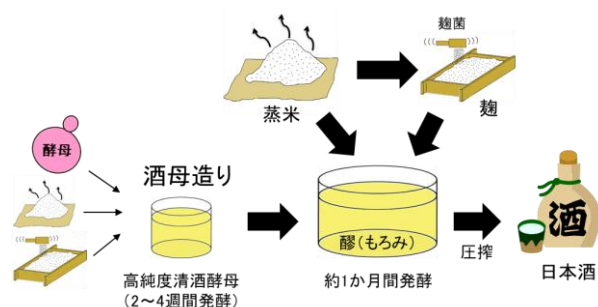


図1 日本酒製造工程と酒母造り

「生酏系酒母」では、2~4週間程度の酒母の発酵期間を通じて、毎日従業員が成分分析や温度の目視計測を行い、発酵状態の確認や適切な温度調節を行う。とりわけ、酒母製造前半における乳酸菌の増殖の確認は、先述のとおり腐敗を未然に防ぐために極めて重要な作業である。通常、酒母中の乳酸菌増殖は、国税庁所定分析法に従い⁴⁾、酒母濾液における滴定酸度値の上昇から推察している。しかし、このような分析は一定時

間掛かり切りで作業を行うため、従業員の負荷が高いうえ、結果が得られるまでに数時間を要するために温度調節等の処置が遅れるといった課題があった。そこで、IoTツールを活用して「生酏系酒母」の工程において乳酸菌や酵母の発酵状態をリアルタイムで把握・可視化するシステムを開発することを試みた。

2. 目的

「生酏系酒母」では、仕込から時間経過とともに米由来のデンプンが麴に含まれる酵素によって糖化され、多量のグルコースが生成される。同時に、乳酸菌は増殖とともに、グルコースを資化することで多量の乳酸を生成し、酒母のpH低下へと導く。したがって、迅速に酒母中の乳酸菌の増殖を確認するためには、酒母におけるpH低下を把握することが重要である。

本研究では、「生酏系酒母」における乳酸菌の増殖をセンシングによって可視化することを目的とした。すなわち、pH センサを組み込んだ IoT ツールを活用し、乳酸菌の増殖に伴うpHの低下を観察することで、酒母中の乳酸菌の増殖を可視化するというものである。今年度はpHセンサによる可視化システムの構築と、そのシステムを用いた実機レベルでのセンシングを行ったので、その検討結果を以下に報告する。

3. 研究内容

3.1 乳酸菌の増殖とpH値との相関性

3.1.1 異なる温度で培養した場合の乳酸菌数とpH値との相関性について

「生酏系酒母」では、乳酸菌数の増加に伴い、pH値が低下すると考えられる。乳酸菌数の増加とpH値の低下の間に相関性があるか、ジャーファーマンターを用いて、複数の培養温度条件下での乳酸菌数とpH値との間の関係性を検証した。

3.1.2 ジャーファーマンターによる乳酸菌の培養とpH値の測定

乳酸菌は、当センターにおいて保存されている *Leuconostoc mesenteroides* を試験に用いた。乳酸菌は、5 mLのDeMan-Rogosa-Sharpe (MRS) 液体培地に接種し、30℃で24時間静置培養した。次いで、図2に示した1 L容量ジャーファーマンター(BMJ 01NP4、エイブル株式会社製)を用いて培養試験を行った。まず、MRS液体培地700 mLを培養槽に注ぎ、121℃で15分間加熱滅菌した。その後、乳酸菌培養液1 mLを加え、攪拌シャフトの回転速度を300 rpm、ジャーの温度を7℃、10℃、または30℃で制御し、自然通気条件で培養した。培養液のpHは、ジャーファーマンターに付随したpHメーターで測定した。採取した培養液中の乳酸菌数は、0.5%炭酸カルシウム添加MRS寒天培地を用いて、30℃、嫌気的条件下で培養することで求めた。

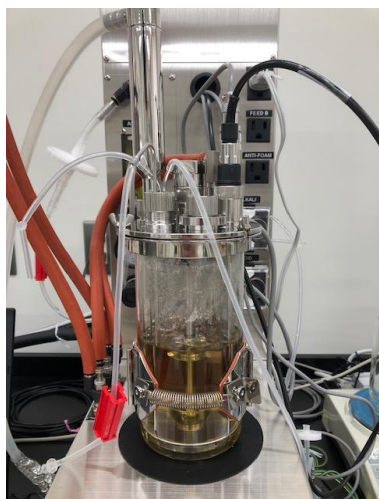


図 2 ジャーフーマンターでの培養の様子

3.2 可視化システムの構築

3.2.1 IoTを活用した酒母造りでのデータ可視化

IoT ツールを活用して酒母における各データ（温度、pH 値）を簡易的に可視化するシステムを構築した。そのシステム構成図を図 3 に示す。

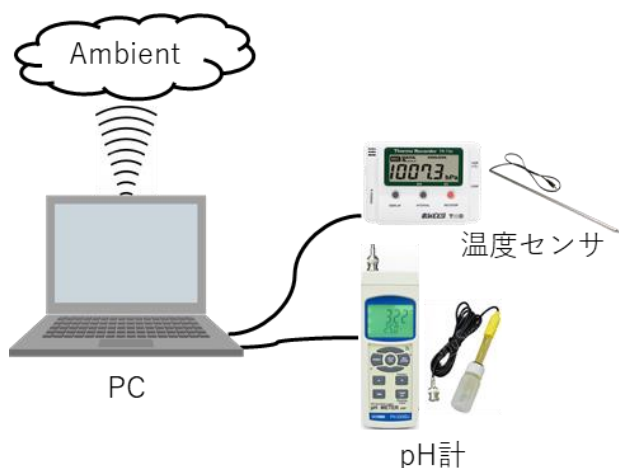


図 3 可視化システムの構成図

3.2.2 可視化システムの概要

温度センサには株式会社 T&D 社製のおんどとり TR-73、pH 計には株式会社佐藤商事製 PH-230SDJ を用いた。温度データは、シリアルケーブルを介して温度センサをパソコンに接続し、測定を行った。pH 値は、シリアルケーブルを介して pH 計をパソコンに接続し、測定を行った。パソコンに取り込んだ各データは、アンビエントデータ株式会社が提供している IoT データの可視化サービスを活用してリアルタイムに可視化した。なお、各センサの主な仕様を表 1 に示す。

表 1 各センサの主な仕様

センサ	測定範囲
温度センサ	-40～110℃
pH 計	0～14（分解能 0.01）

3.3 可視化システムによるセンシング

3.3.1 実証試験

構築した可視化システムを用いて、酒造現場に近いスケールと温度環境での「生酛系酒母」による実証試験を行った。

3.3.2 酒母の配合

酒母の配合は、蒸米 14 kg と米麴 7 kg の総米 21 kg（白米換算）、汲水 24.15 L、乳酸菌培養液 50 mL とした。仕込みは、100 L 容量の円筒状のステンレスタンクで実施した。

3.3.3 酒母中の乳酸菌数の測定

酒母中の乳酸菌数は、0.5%炭酸カルシウム添加 MRS 寒天培地を用いて、30℃、嫌氣的条件下で培養することで求めた。

3.3.4 酒母の成分分析

酒母の発酵期間を通じて、滴定酸度とボーメ度を測定し、時間経過による酒母の発酵状態を調べた。滴定酸度は AT-710B（京都電子工業株式会社製）、ボーメ度は Alcolyzer ME SAKE（株式会社アントンパール製）を用いて、国税庁所定分析法に従い測定した⁴⁾。測定用試料には、酒母全体を攪拌後、1 日 1 回、サンプリングし、濾過して得られた濾液を用いた。

3.3.5 可視化システムによる実証試験

可視化システムによる測定は、当センター 清酒製造技術研究棟で実施した。測定期間は乳酸菌の増殖が見られる約 7 日間とし、1 時間に 1 回の頻度でデータを取得した。

3.3.6 センシング条件

酒母を仕込んだタンクは、恒温室内に設置して温度調節を行った。恒温室及びデータ収集用パソコンの設置状況を図 4 に示す。また、各センサの設置状況を図 5 に示す。各センサをタンク中央に設置してデータ収集を行った。

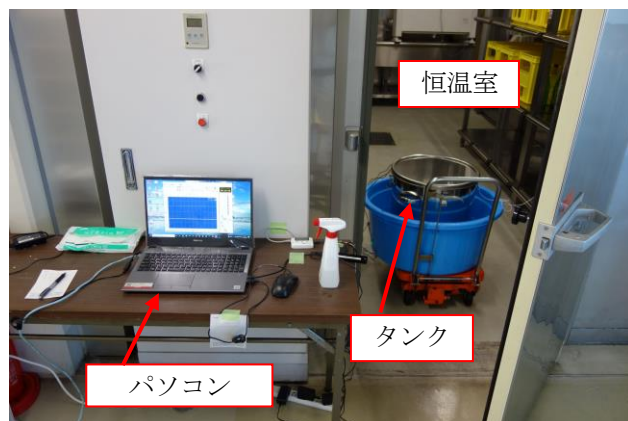


図 4 恒温器及びデータ収集用パソコン



図 5 各センサの設置状況

4. 研究結果と考察

4. 1 乳酸菌数の増加と pH 値の低下との関係性

ジャーファーマンターを用いて、7℃、10℃、または 30℃で乳酸菌を培養し、乳酸菌の生菌数と pH 値を求めた。乳酸菌数の生菌数と pH 値との関係性を図 6～図 8 に示す。検討したいずれの温度においても、乳酸菌の生菌数が増加すると pH 値が低下する傾向であることが分かる。

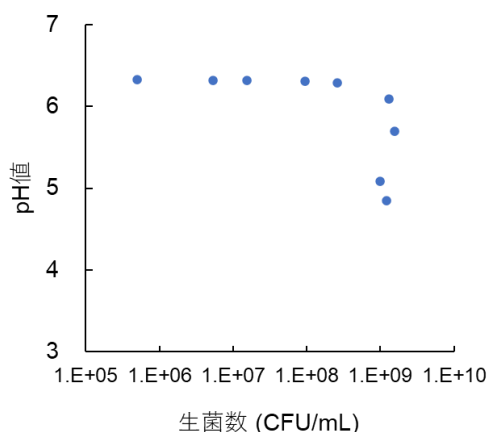


図 6 7℃で培養した時の
乳酸菌の生菌数と pH 値との関係性

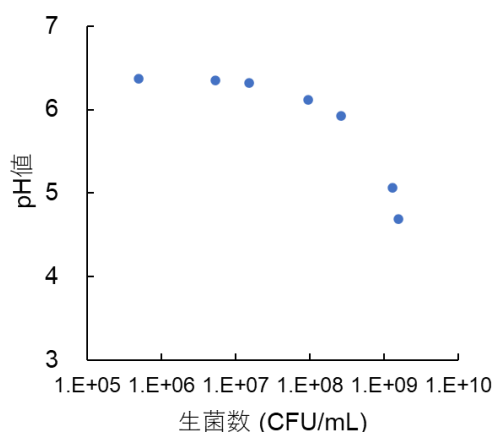


図 7 10℃で培養した時の
乳酸菌の生菌数と pH 値との関係性

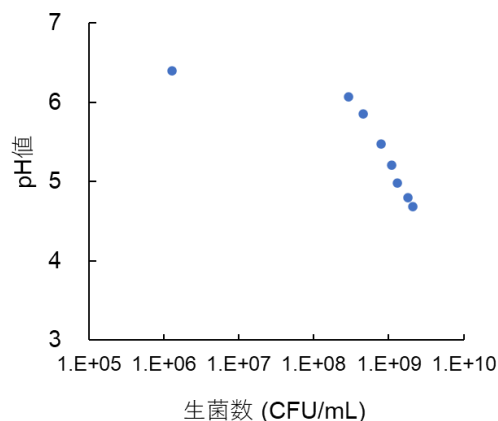


図 8 37℃で培養した時の
乳酸菌の生菌数と pH 値との関係性

これらの結果から、「生醗系酒母」において pH 値の低下を観察することで、乳酸菌の増殖を予測できることが示唆される。また、乳酸菌の培養温度が変化した場合においても関係性が認められた。これらの結果は、発酵温度が変化する酒母においても、pH 値の低下を観察することで、乳酸菌の増殖を予測できることを示唆する。

4. 2 可視化システムによる実証試験

酒母からサンプリングした試料の滴定酸度、ボーメ度、および乳酸菌数を表2に示す。滴定酸度は、乳酸菌の増殖に伴う乳酸濃度の上昇を推察できる分析方法である⁵⁾。仕込当日を1日目とした場合、1日目では0.3であったが、3日目では0.7、4日目には1.6と時間の経過とともに上昇する傾向であった。ボーメ度の上昇は蒸米の糖化促進による比重の増加を示す⁶⁾。1日目では5.8、2日目では8.0、3日目では8.3となり、時間の経過とともに上昇する傾向だった。乳酸菌数は、1日目では 9.7×10^4 CFU/gであり、3日目では 2.5×10^8 CFU/gとなり、その後の増加はあまり見られなかった。実際にサンプリングして取得した乳酸菌数と可視化システムで取得したpH値の時系列データを図9に示す。

一般的に、生醗系酒母では乳酸菌の増殖とともに、乳酸発酵による乳酸が生成されることで、酒母中の pH 値が約 7（中性）から 4 以下（酸性）に低下することが知られている。本研究では、酒母の発酵日数の経過とともに pH 値が低下し、1日目（仕込日）から3日目では時間の経過とともに pH 値が約 4 程度まで低下する傾向を示した。また、乳酸菌数は3日目から増加が見られなくなり、横ばい状態となった。この原因は、乳酸菌が生成した乳酸による pH の低下によって、乳酸菌自体の増殖が抑制されると推察された。

乳酸菌数は、培養法を用いることで正確に知ることができるが、高い技術を要するとともに、結果が得られるまでに 48 時間かかる。そのため、酒母における乳酸菌の増殖の把握に時間がかかり、酵母の添加時期の判断にも時間がかかるといった課題があった。

表2 酒母における成分分析値と乳酸菌数

日数	1	2	3	4	5	6	7
滴定酸度 (mL)	0.3	0.2	0.7	1.6	3.2	3.7	4.3
ボーメ度	5.8	8.0	8.3	9.1	11.0	11.6	11.9
乳酸菌数 (CFU/g)	9.7×10^4	3.1×10^7	2.5×10^8	2.7×10^8	2.4×10^8	3.9×10^8	1.9×10^8
pH	6.67	6.31	4.88	4.16	4.01	3.92	3.82

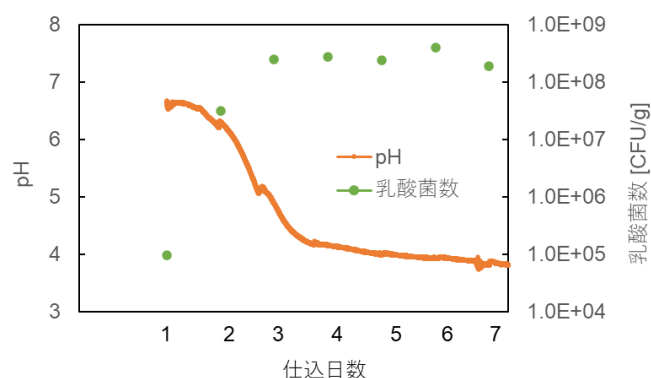


図9 乳酸菌数とpH値の時系列データ

本研究において、乳酸菌数と pH 値の間には上記のとおり相関性が認められたことから、pH 値を測定することで容易に乳酸菌の増殖を把握し、酵母の添加時期の判断を速やかに見極めることが可能となった。これらの知見に基づくことで、酒母の品質の安定化が期待できると考えられる。

5. まとめ

- 1) 生醗系酒母における発酵状態を可視化するために、品温と pH 値をセンシングする可視化システムを構築した。
- 2) 構築した可視化システムによる生醗系酒母中の pH 値のセンシングによって、pH 値と乳酸菌数との間には相関関係があることがわかった。したがって、pH 値のセンシングによって、生醗系酒母中の乳酸菌の増殖を速やかに把握することが可能である。

6. 今後の課題

本研究では培養法による乳酸菌数の測定回数を1日1回としたが、今後は1日3回程度行いpH値と乳酸菌数について詳細な相関調査を行う。

7. 参考文献等

- 1) 勝田 英紀：日本酒輸出のメリット、商経学叢、64巻、3号 (2018年)
- 2) 宮井 孝一、萱島 昭二：日本醸造協会雑誌、64巻、5号、435-439 (1969年)
- 3) 岡本 竹己、渡遺 英憲、新藤 高弘：日本醸造協会誌、1068、506-514 (2011年)
- 4) 国税庁編：国税庁所定分析法（昭和36年1月11日 国税庁訓令第1号、最終改正令2国税庁訓令第9号）
- 5) 伊藤 彰敏ら：生醗系酒母から分離した乳酸菌による清酒の酒質に及ぼす影響、愛知産業科学技術総合センター研究報告、8、42-45 (2019年)。
- 6) 清水剛：清酒もろみの管理に対する一考察、日本醸造協会雑誌、57、992-997 (1962年)。