報 文

旋光度と屈折率の同時測定による清酒もろみの発酵工程管理

増田 達也^{*1}, 小田 卓治², 野 田 衛³

糖化学分野で主に用いられている屈折旋光計について、清酒醸造における発酵工程管理にも応用することができるかについて検討した。実際の市販酒に供する規模（総米2トン）の清酒醸造現場において経時的に清酒もろみのサンプリングを行い、旋光度と屈折率を同時に計測した。屈折旋光計から得られた清酒もろみの旋光度の値は国税庁所定分析法で求められたエキス分（比重エキス分）と良い直線性（ $r=0.976$ ）を示し、また既定のショ糖濃度換算ではなくグルコース濃度に換算することで、実際の清酒醸造において比重エキス分と近い値が得られた。次に屈折率から求められる清酒もろみのアルコール分を含んだ外観 Brix（apparent Brix）値からエキス分を引くことで、清酒もろみに含まれるアルコール分を推定したところ、実際の分析によるアルコール分と良い直線性（ $r=0.952$ ）が得られ、また特に四段添加前で実際のアルコール分析値に近い値が得られた。以上から、屈折旋光計は清酒醸造の発酵管理工程にも応用でき、迅速かつ簡易な分析方法として有用であることが分かった。

1 緒 言

清酒の製造場においては、発酵工程管理のため経時的に室温や清酒もろみの品温を記録すると共に、清酒もろみをサンプリングして各種の分析を行っている。清酒の発酵工程は、糖化と発酵が同時におこる並行複発酵といわれるものであり、発酵工程の管理のため、もろみの比重のほかアルコール分も経時的に測定する必要がある。

国税庁所定分析法¹⁾においては、もろみの比重は汙過後に浮ひょうまたは振動式密度計によって測定することとされており、アルコール分はもろみを蒸留後に同じく浮ひょうまたは振動式密度計によって測定することとしている。このように、清酒の並行複発酵という特性ゆえに、清酒はほかのワインやビール等の酒類に比べて複雑な分析が必要となってくる。

近年においては、世界的なスマートフォン等電子機器類の急速な発展・普及により、各種センサー類の高性能化、小型化、低価格化が進んでおり、すでに様々な分野の製造業においても実用化が図られている。旋光計についてもセンサー部分の小型化・高性能化が進み²⁾、すでに市販化されたものが実用に供されている状況である。製(精)糖業界

においては、従来から蜂蜜などについて屈折率（Brix）と同時に旋光度も測定することで、糖の組成変化に由来する旋光度の値から Brix 値を補正、あるいは蜂蜜の純糖度を求めるといった手法がとられてきた。本報で使用する屈折旋光度計も現在、主にこうした糖化学分野で用いられているものであり、少量のサンプルで旋光度と屈折率が迅速に測定できるという特徴がある。旋光度計はその原理上、糖やアミノ酸など光学活性のあるもののみを検出し、醸造工程中で生成するアルコールは検出しない。このような醸造分野においても好ましい性質を有する旋光度計の機能に加え、屈折率計も併せて用いることにより従来屈折率だけでは難しかった醸造分野における発酵工程管理が簡易かつ迅速に行えることが考えられる。

そこで本報においては、まず分析の前提条件となる清酒中に含まれる成分の性質・組成等を十分に検討したうえで、実際の清酒製造工程における実証試験を行った。

2 実 験

2・1 清酒醸造・サンプリング

サンプリングは、実際の市販酒に供するための清酒醸造工程において行った。主力製品規格として総米2070 kg、総汲水3100 L（汲水歩合150%）で仕込み、酒母は速醸タイプで製造したものを使用している。留の翌日を2日目とし、16日目に四段120 kgを添加、19日目にアルコールを添加後上槽し、製品として出荷している。サンプリングは3日目、5日目、7日目にそれぞれ1回ずつ行い、9日目からは毎日1回ずつ19日目（アルコール添加前）まで行った。

* E-mail: tatsuya.masuda@kum.nta.go.jp

¹ 熊本国税局課税部鑑定官室: 860-8603 熊本県熊本市西区春日2-10-1 熊本合同地方庁舎B棟

² 株式会社熊本県酒造研究所: 860-0073 熊本県熊本市中央区島崎1-7-20

³ 株式会社アタゴ九州支店: 814-0001 福岡県福岡市早良区百道浜2-4-27

Table 1 Density, specific rotatory power and refractive index of main compounds contained (except sucrose) in sake mashing

	Density/ g cm ⁻³	Specific rotatory power	Refractive index
sucrose	1.59	+ 66.5	1.3478 ^{a)}
glucose	1.54	+ 112	1.3478 ^{a)}
isomaltose	1.54	+ 119.5	1.3473 ^{a)}
maltose	1.54	+ 140.7	1.3473 ^{a)}
water	1	—	1.333
ethanol	0.79	—	1.361

a) 10 % solution.

2.2 屈折率・旋光度計測装置

屈折率・旋光度の測定には、ポータブル屈折旋光計 (RePo-1, アタゴ製) を使用した。測定波長は 589nm (D 線近似) とした。もろみを乾燥用紙で濾過したものを 20℃ に温度調整し、約 3 mL をサンプルステージに注入して測定を行った。旋光度は比旋光度も併せて表示され、既定ではショ糖に換算された糖濃度としても表示される。屈折率については、既定では Brix としてショ糖に換算された濃度のみとして表示される。

2.3 糖濃度の単位

糖濃度は、国や分野によって慣習的に以下のような様々な単位・求め方が採用されている。

2.3.1 比重から求めるもの 清酒醸造の現場においては一般に、もろみの糖濃度はアルコールを含めた外観エキスとして比重から求められ、単位としてはボーメ (baume) が用いられている。また、アルコールを除いた真正エキスももろみの比重とアルコール分を求めることにより比重から推定することができ、15℃ で 100 cm³ の酒に含まれる不揮発成分のグラム数の単位として表わすことが多い。本文中ではこの真正エキスを比重エキス分として表記した。

2.3.2 屈折率から求めるもの 製(精)糖やジュース、ワイン醸造などにおいて糖濃度単位は一般に Brix が用いられており、屈折率計によって測定されたすべての糖 (及びそのほかの可溶性固形物) の屈折率をショ糖濃度に換算して表わしている。本文中においても、屈折率から求められた糖 (エキス) 濃度を屈折エキス分と表記することとし、測定された屈折率からショ糖濃度換算したものを屈折エキス分 (ショ糖)、グルコース濃度換算したものを屈折エキス分 (グルコース) と表記した。

2.3.3 旋光度から求めるもの 糖化学などの分野においては、旋光度によっても糖濃度の測定を行う場合がある。本文中では、旋光度から求められた糖 (エキス) 濃度を旋光エキス分と表記し、ショ糖濃度に換算されたものを

旋光エキス分 (ショ糖)、グルコース濃度に換算されたものを旋光エキス分 (グルコース) と表記した。

2.4 試薬及び比重・アルコール分の測定

ショ糖、グルコース及びエタノール (99.5 %) は和光純薬工業製を使用した。清酒もろみの比重及びアルコール分の測定については、いずれも国税庁所定分析法に基づいて行った。比重はもろみの汙液部分、アルコール分はもろみを水蒸気蒸留したものについてそれぞれ 15℃ に調整した後、振動式密度計にて測定を行った。また、両者の値から同じく国税庁所定分析法に基づいて比重エキス分を計算した。

3 結果と考察

3.1 清酒もろみの旋光度の測定

清酒もろみ中には水分のほかにアルコールや炭水化物の主要成分、及び有機酸やアミノ酸等の微量成分が含まれている³⁾。糖類をはじめとするほとんどの可溶性固形分は旋光性を有しており、また旋光性を有さない可溶性固形分については主要成分に対してほとんど含有していないと言える (グリシン: ~20 mg 100 mL⁻¹, 乳酸を除く有機酸: ~200 mg 100 mL⁻¹, 等) ものである。したがって、光学活性成分 = エキス分, 光学不活性成分 = アルコール分というように近似でき、清酒もろみにおいても旋光計を用いて光学活性物質の旋光度を測定することにより、基本的にエキス分が測定できるものと推察されるものである。

3.1.1 エキス中の糖の組成について 清酒もろみの可溶性固形分については、有機酸やアミノ酸等も含まれているものの、ほとんど (99 % 以上) が糖類を中心とした炭水化物であることが分かっている³⁾。Table 1 に、ショ糖及び清酒もろみ中に含まれる主な糖類の密度、比旋光度及び屈折率を示す。このように、糖類の種類によって密度や屈折率はあまり変わらないが、比旋光度は大きく異なっており、前述した砂糖の純糖率や蜂蜜の果糖含有率の測定等もこの性質を利用したものである。したがって、清酒もろみの旋光度の測定においても、もろみ中に含まれる糖類の組成及びその変化を詳しく調べるのが重要になってくる。清酒もろみ中のエキス分の組成変化については増田ら⁴⁾の報告によると、エキス中の糖組成は米や麹などの原料や原料処理といった初期条件によりほぼ決まり途中で四段を添加するまでは発酵中に大きな変化はないこと、またいずれの時点においてもエキス中においてグルコースが主成分 (おおむね 4~5 割) を占めることが分かっている。以上から、清酒もろみで測定された旋光度をグルコース濃度に換算することで、実際のエキス分に近い測定値が得られることが推察される。

3.1.2 グルコースの旋光度測定におけるエタノール濃

Fig. 1 Analysis of gravity and alcohol content (alcohol by volume) of sake mashing during fermentation

Extract contained in sake mashing was also estimated from gravity and ABV. ●, gravity; ▲, Extract; ○, ABV.

度の影響 糖類の旋光度測定におけるエタノール濃度の影響について調べた。グルコース濃度 $0 \sim 15 \text{ g } 100 \text{ mL}^{-1}$ の範囲内で、エタノール溶液 0, 5, 10, 15, 20 容量% 中における、旋光度との直線性を確認した。いずれも良い直線性を示し ($r = > 0.99$)、アルコール濃度変化による有意差はみられなかった。以上から、グルコース濃度と旋光度の関係はエタノールの濃度に影響を受けないこと、すなわち清酒もろみにおいても直接エキス分の測定が可能ながった。

3.1.3 清酒醸造工程における旋光エキス分の測定 今回醸造を行った清酒もろみの比重、アルコール分及び比重エキス分の経時的な分析結果を Fig. 1 に示す。製造実務上の関係から 9 日目までは比重、屈折率・旋光度のみを分析し、10 日目からアルコール分も併せて分析を行った。10 日目からの比重エキス分は、もろみの比重及びアルコール分から計算したものである。

3.1.3.1 サンプルング条件の検討 清酒もろみの旋光度の測定には、まず蒸米等の不可溶性固形分を濾過することが必要であるが、通常の濾紙（国税庁所定分析法で規定されている「乾燥濾紙」）で濾過することのみで測定値が安定し十分であること、また清酒もろみの場合には着色も問題とならないことが分かった。また、旋光度・屈折率は共に測定温度に依存するが、今回使用した測定装置には Brix においては $15 \sim 40^\circ\text{C}$ の範囲で自動温度補正機能 (automatic temperature compensation: ATC) が備わっている。しかしながら、この機能はあくまでショ糖の屈折率を基準に補正を行うものであり清酒もろみにおいては必ず

Fig. 2 Comparison of estimated values vs. measured value during sake fermentation

(a) Extract measured by polarimeter vs. extract estimated from gravity. ○, Estimated from gravity; ×, measured by polarimeter (converted into glucose concentration); ■, measured by polarimeter (converted into sucrose concentration) (b) estimated alcohol by volume% (ABV) vs. measured ABV. ○, Measured ABV; ●, ABV estimated from refractopolarimeter.

しも精確とはいえないこと、また実際にもあらかじめサンプルを 20°C に調整した方が測定値が安定することが分かったため、今回の測定では ATC 機能を使わずにすべて 20°C に温度調整してから、サンプルステージに約 3 mL のサンプルを注入して行い、温度による誤差を極力少なくする方法をとった。以上の条件は、同時に測定を行った屈折率の測定についても同様である。

3.1.3.2 比重エキス分との比較 清酒もろみの旋光度を測定し、機器の既定の設定であるショ糖濃度に換算した旋光エキス分（ショ糖）と、設定を変更しグルコース濃度に換算した旋光エキス分（グルコース）を求めた。アルコール分析を始めた 10 日目以降で、比重エキス分と対比したものを Fig. 2 (a) に示す。清酒もろみの比重エキス分との相関を調べたところ、今回測定した範囲内において良い直線性 ($r = 0.976$) が得られた。特に四段添加前までで良い直線性 ($r = 0.986$) が得られ、添加後はやや悪くなっている。また、3.1.1 で考察したように、旋光エキス分は既定のショ糖濃度に換算するよりもグルコース濃度に換算する方が比重エキス分と近い値が得られることが確認できた。

清酒の主力規格製品においては、今回のようにもろみの後半において四段仕込みという新たな蒸米溶解成分の投下が行われる場合が多い。この場合、それまでの清酒もろみと比べ糖類組成の異なるものが新たに添加されるため、清酒もろみの糖類組成が添加前と添加後とで急激に変化して

Fig. 3 Apparent Brix (20 °C) vs. added % ABV (15 °C) under three conditions

a, In water; b, in background of 5 g glucose 100 mL⁻¹; c, in background of 10 g glucose 100 mL⁻¹.

いることが予想される。その場合、旋光度から糖濃度（今回の場合はグルコース）に換算する比率が、四段添加前と後で変わり、旋光エクス分の値がずれる結果となったことが考えられる。

3・2 外観屈折エクス分からのアルコール分の推定

Table 1 に示したように、エタノールは水の屈折率 (RI: 1.333) よりも高い屈折率 (RI: 1.361) を持つ。その結果、今回測定した清酒もろみのようにアルコールを含んだサンプルは、屈折率の値から外観屈折エクス分 (apparent Brix) として式 (1) のように実際のエクス分よりも高い値となっている。

外観屈折エクス分

$$= \text{実際のエクス分} + \text{エタノールの寄与} \quad (1)$$

ここで、実際のエクス分は 3・1 で求めたように旋光エクス分 (グルコース) とみなすことができるので、下記のようにエタノールの寄与がシヨ糖濃度換算で求めることができる。

エタノールの寄与 (シヨ糖濃度)

$$= \text{外観屈折エクス分 (シヨ糖)} \\ - \text{旋光エクス分 (グルコース)} \quad (2)$$

Table 1 に示すようにグルコースとシヨ糖は同じ値の屈折率を有するので、式 (2) において外観屈折エクス分はシヨ糖濃度換算でもグルコース濃度換算でも同じ値と見なすことができる。このように求められた値から、清酒もろみ中に含まれるエタノール濃度を推定することができると

結論した。

3・2・1 エタノール濃度が屈折エクス分上昇に寄与する上での糖濃度の影響 エタノールは 0～30 % ほどの濃度までは、水溶液中において屈折率との関係で直線性を保つことが分かっている⁵⁾。今回、糖濃度による影響を調べるため、清酒醸造において想定されるエタノール濃度 0～20 % の範囲において、屈折エクス分上昇に対する寄与率を、グルコース濃度 0, 5, 10 % において調べた (Fig. 3)。いずれも良い直線性 ($r > 0.99$) を示し、傾きもほぼ同じ (約 0.35) でありエタノールは 0～20 % の濃度までは、その屈折エクス分の上昇において糖濃度の影響を受けないことが分かった。

3・2・2 アルコール分析値との比較 式 (2) から得られたアルコール分と、Fig. 1 に示しているように実際の分析で得られたアルコール分について相関を調べたところ、3・1 で得られたエクス分についての相関 ($r = 0.976$) と比較すると若干悪い値となっているものの、おおむね良い直線性 (10～19 日目: $r = 0.952$, 10～16 日目 (四段添加前): $r = 0.965$) が得られた。アルコール分の値として比較しても Fig. 2 (b) に示すように、四段添加以降はやや乖離^{かい}が大きいものの、おおむね実際の分析値に近い値となっている。四段添加以降でやや相関が悪くなっているのは、3・1 でエクス分について考察したときと同様の理由が考えられる。

4 結 言

本報のように旋光度から糖濃度を求める手法は、清酒等の醸造分野においてアルコール分の干渉を受けないため清酒もろみから直接糖濃度を測定できるという利点があるが、含まれる糖の組成により比旋光度が異なるという特性も有するため、含まれている糖の種類や組成に留意する必要がある。屈折旋光計の既定の設定においては、旋光度をシヨ糖濃度換算することで糖濃度を求めることとなっているが、清酒もろみにおいて糖は基本的にすべて米のデンプンから由来するものであり、グルコースが主成分である。また、もろみの発酵中においても大きな糖組成の変化は見られないことから、設定をグルコース濃度換算に変更し旋光度を測定することで、比重エクス分に近い値が得られた。

また本報で用いた屈折旋光計においては、旋光度と同時に屈折率も測定できる。試料の屈折率と旋光度を同時に測定し二つの測定値の違いを見ることには、主に次の二つの用途が考えられる。

- ・溶けている糖類の種類によって屈折率はほとんど変わらないが、旋光度は大きく変わる。この性質を利用して、糖類の組成の変化・割合を調べることができる。

- ・水と異なる屈折率の液体が含まれている場合、外観

Brix 値からエクス分を引くことによって液体の濃度が推定できる。

今回使用した屈折旋光計の現在のところの主な用途は、前者の性質を利用して、砂糖の純糖率や蜂蜜の果糖含有率を調べるというものである。本報においては後者の性質を利用し、外観 Brix 値から上記で得られた旋光エクス分を引くことで、サンプルに含まれているエタノール濃度を推定した。実際のアルコール分析値に近い値が得られたが、エクス分と比べると特に四段添加以降で誤差が大きくなっている。四段添加の前後で清酒もろみに含まれる糖の組成が変化することが主な原因と考えられるが、この点についてはさらなる実証試験が必要である。また、この外観 Brix 値とエクス分とから求められるアルコール分はあくまで推定値として工程管理の指標となりうるものに過ぎず、厳密な意味でのアルコール分、特に商品の表示に係るアルコール分については従来どおり国税庁所定分析法に基づいて分析

すべきであることは言を俟たない。

引き続き清酒において、純米酒や吟醸酒といった今回とは異なる規格の製品についても幅広くデータ収集を行うとともに、ほかの焼酎やワイン等の酒類においても本分析装置が適用できるか実証試験を行う予定である。

文 献

- 1) 国税庁：国税庁所定分析法（訓令），（2012）。
- 2) 熊谷達也，大貫 渉，梶岡 博，山下悠斗，佐々木 恵逸：光学，**42**，314（2013）。
- 3) 財団法人日本醸造協会：“醸造物の成分”，p. 1（1999）。
- 4) 増田義美，佐々木定，山下和夫，服部圭助，伊藤芳直：醸造協会誌，**62**，1242（1967）。
- 5) J. D'Ans, E. Lax, C. Synowietz：“*Taschenbuch für Chemiker und Physiker (D'Ans-Lax), Band2: Organische Verbindungen*”，（ISBN 978-3-540-12263-0, Geb），（1983），（Springer）。

Monitoring of Fermentation Process of Sake Moromi Using Refracto-Polarimeter

Tatsuya MASUDA^{*1}, Takuji ODA² and Mamoru NODA³

^{*} E-mail : tatsuya.masuda@kum.nta.go.jp

¹ Kumamoto Regional Taxation Bureau, Kumamoto government office building “B”, 2-10-1, Kasuga, Nishi-ku, Kumamoto-shi, Kumamoto 860-8603

² Kumamoto Brewery Institute Co., Ltd., 1-7-20, Shimazaki, Chuo-ku, Kumamoto-shi, Kumamoto 860-0073

³ Kyushu branch office, Atago Co., Ltd., 2-4-27, Momochihama, Sawara-ku, Fukuoka-shi, Fukuoka 814-0001

(Received February 20, 2015; Accepted April 14, 2015)

The fermentation process of sake mashing was monitored using refracto-polarimeter. Refractive index and angle of rotation of sake mashing were simultaneously measured at an actual sake brewery. Extract content dissolved in sake mashing was directly measured with no interference of alcohol, and found to be proportional to that estimated from the conventional method with a coefficient of 0.978. Alcohol content of sake mashing was also estimated from apparent Brix measured by refractometer and extract content measured by polarimeter. It was compared with that determined by the conventional analytical method. The correlation coefficient was 0.952 through fermentation.

Keywords: sake fermentation; refracto-polarimeter; apparent Brix; refractive index; specific rotatory power.