

本邦産ブドウ酒中の細菌に就て

(第2報) 好気性生酸菌とそのブドウ酒に対する作用

櫛 田 忠 衛

(昭和29年1月10日受理)

Studies on the Bacteria in Japanese Wines

Part 2. The Aerobic Acid-forming Bacteria and their Action on Wines

Tadae KUSHIDA

The author isolated aerobic acid-forming bacteria from samples collected at various wineries in Yamanashi Prefecture and selected twenty five strains which grew moderately in ordinary grape juice.

These bacteria were studied morphologically and physiologically, and divided into seven strains of the subgenus *Gluconobacter* Asai and eighteen strains of the subgenus *Acetobacter* Asai, and subclassified into each species according to Asai's classification of oxidative bacteria on fruits.

The actions of these bacteria on wines were studied and it was generally concluded that the *Acetobacter* grew vigorously in the fermenting must and caused the acetic spoilage of the wine, while the *Gluconobacter* did not much influence the quality of the wine because its activity was suppressed by wine yeasts.

緒 言

ブドウ酒中に存在する好気性生酸菌に関する研究は、Pasteur⁽¹⁾、Cruess⁽²⁾⁽³⁾、Vaughn⁽⁴⁾等により、主としてブドウ酒の醋酸々敗と関連して行なはれ、酒精分の少いブドウ酒を比較的高温且つ好气的状態に放置する時、最しばしば繁殖し、ブドウ酒中の酒精を酸化して醋酸にする外、濁濁せしめ或は不快な臭味を与え、ブドウ酒の品質を著しく悪化せしめ、終には飲用に供せられなくする。これらの細菌は普通醋酸菌或は広い意味で酸化細菌に属し、絶対的好気性で、発育適温は30°附近にあり、酸化力が強く、胞子を作らず従つて短時間の加熱によつて完全に死滅し、酒精に対しては14~15%に発育の最高限界があり、また亜硫酸に対しては極めて鋭敏でSO₂100 p. p. m.によつて繁殖が阻止されると言はれる⁽³⁾、従つてこれらの細菌の防除には以上の諸性質が利用されている。

醋酸菌の分類については Hansen⁽⁵⁾ を始めとして各国に於ける数多の学者の報告がある。この中 Rosenbach⁽⁶⁾, Hoyer⁽⁷⁾等は実用的見地よりブドウ酒に特有な有用ブドウ酒食酢醋酸菌や有害醋酸菌の分類を試みている。一方 Vaughn⁽⁸⁾はブドウ酒醋酸菌の研究に於て、*Acetobacter* 属を7菌種に分類しているが、これらの菌種はビール、リンゴ酒等にも発見されてブドウ酒に限定されるものでないと報告している。また朝井氏⁽⁹⁾は醋酸菌とグルコン酸菌の区別を提唱している。

醋酸菌の生成する物質は主として醋酸、グルコン酸等第一次酸化性物質の外、常に多少の副産物を伴い、副産物の種類並びに量は原料、菌種等により異なるが主なものはアセトアルデヒド、アセトン、アセトイン、微量の高級アルコール類、琥珀酸及び蔞酸等である。これらの物質のブドウ酒中に於ける分布を見るに、まづ醋酸であるがブドウ搾汁中には常に0.01%内外存在し、醸酵及び貯蔵によつてその量が増加し普通、新酒中には0.05%内外含まれ、かかる程度の醋酸は純粹培養酵母の酒精醸酵によつて生ずるものである。然し市販のブドウ酒中には0.1~0.2%の醋酸を含むものも多く、これ位の量になると醋酸菌や有害酵母等が作用していると考えられる。次にグルコン酸は健全なブドウ酒中に常に存在するか否かは未だ明かでないが、Chouchak⁽¹⁰⁾によればグルクロン酸は平常は痕跡程度だが、腐敗ブドウ果を原料にしたブドウ酒にはかなりの量が含有されていると言はれ、その生因に関しては明らかにしていないが醋酸菌やグルコン酸菌によつてブドウ糖より生じたものと考えられる。アセトインは Gvaladze⁽¹¹⁾によれば普通のブドウ酒には発見されず、醋酸菌の繁殖当初に於て2,3-ブチレングライコールより生成されるもので、ブドウ酒の醋酸醸酵開始を検出するに役立つと言う。ブドウ酒中にあるその他の副産物と醋酸菌との関係についての報告は殆んど見当たらない。

本研究は本邦産ブドウ酒中にしばしば繁殖する各種細菌について、その諸性質を調べ、ブドウ酒品質に及ぼす影響を試験し、有用細菌についてはその利用を、有害細菌についてはその防除法を講じ、本邦ブドウ酒の品質向上に寄与せんとするものである。前報⁽¹²⁾では通性嫌気性菌たる乳酸菌について報告したが、本報は比較的健全なブドウ酒25点より好気性生酸菌を分離し、その菌学的性質とブドウ酒の醸酵に対する作用を試験したのでこゝに報告する次第である。

実 験 の 部

A. 菌の分離と分離菌の諸性質

1. 菌分離試料

山梨県各地並びに当研究所に於ける昭和25年及び26年産の各種ブドウ酒又は滓をその年の10月より翌年6月迄の間に試験管に採集し、直接に菌分離試料とした (Table 1)

Table 1. Origin of the Strains studied

Isolations were made from Jan. 1951 to May. 1952 with the wines manufactured in Yamanashi Pref. in 1950 and 1951

Strain No.	Source (varieties of grape used)
Gc 21	White dry wine (Koshyu)
Go 22	Red " (Adirondac)
Go 27, 28, 31 ; Gn 18, 18-2	White " (Koshyu)
Ad 24-2, 24-3, 17	" " (")
Br 1	" " (Neomuscat)
Br 3	" " (Koshyu)
Br 8-3	" " (Chasslas)
Ba 4, 23, 25, 11-3	" " (Koshyu)
BB 7, 11-4	" " (")
BH 5	Blended " (—)
BH 12	White " (Koshyu)
Bv 10-2, 14	Red " (Adirondac)
Bv 15-2	White " (Koshyu)
A 20	" " (")

2. 菌の分離方法

まず麴・肉汁(等容混合物)試験管に試料の1滴を添加し, 30°で集殖培養した後, 予め綿栓試験管中で, 常法により殺菌しておいたブドウ果汁に, 前記集殖液1滴を添加し選択培養する。即ち液の濁つたものから順次1白金耳を採り, 炭酸石灰添加麴・肉汁寒天で平面培養を行い, 炭酸石灰溶解集落を釣菌し, 平面培養を繰返して菌を純粹にした。分離菌約100株中代表的なもの25株 (Table 1) を選択し試験に供した。

3. 分離菌の諸性質試験法

(1) 形態的, 培養的諸性質

形, 大きさは麴汁 (Bllg. 8°, 以下同じ) 寒天斜面に, 運動性は麴汁に30° (以下特記なき限り同じ) 2日培養したものを用いて観察した。変形態は麴汁及び酒精3%含有ブドウ酒に, 予め麴汁に培養した菌液1白金耳を接種し, 20日間培養したものを観察した。集落は麴汁寒天上7日のものを用い, 麴汁に於ける培養は10日のものを観察した。なお麴ゼラチン及び半固体寒天に於ける穿刺培養により酸素必要の有無を検すると共に前者に於てはゼラチン液化の有無を2ヶ月間観察し, 後者に於ては運動性を判断する資料とした。

(Table 2)

Table 2. Morphological and Cultural Properties

Observations were made after 2 to 20 days cultivation at 30°

Strains No.	Shape of the cells on KA ^{a)}	Arrangement ^{c)}	Motility in KE ^{b)}	Irregular Forms in KE ^{b)}	" in wine (3%alc.)	Color of the Colonies ^{d)} on KA ^{a)}	Appearance ^{e)}	Surface growth in KE ^{b)}	Clouding in KE ^{b)}
Gc 21	ol	2~3	+	+	-	b	fy fy	r	++
Gc 22	ol	2	+	+	-	b	fy fl	r	++
" 27	ol	3~	+	+	+	b	fy fy	pl	++
" 28	ol	3~	+	-	-	b	fy fy	pl	++
" 31	ol	3~	+	+	-	b	fy fy	pl	++
Gn 18	ol	3~	+	-	-	r	fl	pl	++
" 18-2	rd	2	+	-	-	o	fy	r	++
Ad 17	rd	2~3	+	-	-	r	rd	r	++
" 24-2	rd	2	+	-	-	r	rd	r	++
" 24-3	ol	2	+	-	-	r	rd	r	++
Bf 1	ol	3~	+	+	-	g	fy	pl	++
" 3	rd	1~3	+	+	-	g	fy	r	++
" 8-3	ol	1~3	+	+	-	g	fy	pl	++
Ba 23	ol	1~3	+	+	+	y	grl	pl	++
" 25	ol	3~	+	+	+	y	grl	pl	++
" 4	rd	1~2	+	+	-	g	rd	pl	++
" 11-3	rd	1~2	+	+	-	g	rd	pl	++
BB 7	rd	1~2	+	+	-	g	rd	pl	++
" 11-4	rd	2~3	+	+	+	g	fy	mb	++
BH 5	ol	2~3	+	+	-	w	grl	mb	++
" 12	rd	2~3	+	+	-	w	grl	mb	++
Bv 14	rd	2~3	+	+	-	g	fl	pl	++
" 10-2	rd	2~3	+	+	-	g	fl	pl	++
" 15-2	rd	2~3	+	+	-	g	fl	mb	++
A 20	rd	2~3	+	+	-	g	fl	mb	++

a) Koji-agar contains KE with 2 % agar.

b) Koji extract of 8° Bllg. (pH 5.0), it was sterilized for 15 minutes at 121°

c) ol: oval, rd: round; 2: in pairs, 3~: in chains.

d) b: brown, r: reddish, o: orange, g: grey, y: yellowish, w: white;

e) fy: fatty, fl: flat, cpt: compact, rsd: raised, grl: granular;

rg: ring, pl: pellicle, mb: membranous, fc: flocculent.

(2) 生理的並びに生化学的性質⁽⁹⁾

- a) 発育及び生酸適温：麴汁寒天斜面及び麴汁試験管に夫々菌を接種したものを10~40°, 5日間培養し発育状況を観察した後、液の酸度を滴定した。
- b) 死滅温度：小試験管に分注した約3ccの麴汁に菌を1白金耳接種し、45~65°の温湯に浸し、所定の温度に10分間放置後取出し急冷し、20日間培養した後繁殖の有無を観察した。
- c) 繁殖最低pH：麴汁にリンゴ酸及び酒石酸を夫々添加し、pH 2.2~3.0に調節した後、予め麴汁に2日間培養した菌液1白金耳を接種し、20日後に於ける繁殖の有無を観察した。
- d) アンモニウム塩の同化：ヘンネベルヒ氏(b)液に於ける20日後の繁殖の有無を観察した。
- e) 最大ブドウ糖抵抗性及び最大グルコン酸生成量：酵母汁にブドウ糖3~50%を加え20日間培養し、繁殖の有無を観察すると共に5ccをとり0.1 N 苛性ソーダで滴定してグルコン酸生成量を求めた。
- f) 最大酒精抵抗性及び最大醋酸生成量：麴汁に酒精を3~12%加え、20日間培養した後、繁殖の有無を観察した。最大醋酸生成量は前記培養液を定期的に0.1 N 苛性ソーダで滴定して最大酸度を醋酸と見做して計算した。
- g) 糖類及びアルコール類よりの生酸：酵母汁に各種糖類、グリセリン及びアミルアルコールを夫々0.5~1.0%添加したものに、予め麴汁に培養した菌液1白金耳を接種し、20日後に於ける生酸量を酵母汁のみのもものと比較した。
- h) 醋酸の酸化：醋酸0.5%含有酵母汁に、予め麴汁に培養した菌液1滴をピペットにて接種し、10日及び20日後に於ける酸の減少を測定すると共に、醋酸石灰2%含有酵母汁50ccを500cc三角フラスコに入れ30日間培養して炭酸石灰沈澱の有無を検した。
- i) 蔗糖の転化：ハイダック氏液及び2%蔗糖添加酵母汁に、予め麴汁に培養した菌液1白金耳を接種し、5日後に於ける還元糖の有無を検した。
- j) グリセリンよりデオキシアセトンの生成：グリセリン2%含有酵母汁に、予め麴汁に培養した菌液の1白金耳を接種し、10日及び20日間培養した後、常温でフェーリング氏液の還元の有無を検した。
- k) ブドウ汁に於ける繁殖並びに酸生成量：試験管に分注した約10ccの透明殺菌果汁(pH 3.0, Bllg. 16.0, 酒石酸として0.46%)に予め麴汁に培養した細菌液1白金耳を接種し、肉眼的に明らかに濁濁が認められるようになるまでの時間を測定した。なお培養を継続して10日後に於ける増加酸量をグルコン酸として表し生酸量とした。
- l) 酒石酸及びリンゴ酸に対する分解能：0.1~0.3%, 酸を添加した酵母汁に予め麴汁に培養した菌液1滴を加えて培養し、10日及び20日後に於ける酸量を酵母汁のみのもものと比較した。

Acids from Alcohol (% as acetic)	0.5	0.9	2.0	1.5	1.0	0.7	3.0	3.8	2.7	...	4.5	1.7	3.0	2.4	...	1.6	6.0	4.0	3.6	
Acids from glucose (% as gluconic)	12.0	14.4	15.0	13.2	13.3	7.8	14.0	9.4	8.2	9.9	3.7	5.4	4.3	4.9	5.6	4.9	2.0	4.7	5.3	4.5	1.3	1.5	0.6	0
Tolerance of Alcohol	3~5	5~8	5~8	5~8	5~8	5~8	5~8	5~8	5~8	5~8	5~8	5~8	5~8	5~8	5~8	10~8	10~8	10~8	10~8	10~8	10~8	10~8	10~8	10~8
"	35	35	35	35	35	40	45	40	45	35	40	35	35	35	35	30	35	30	30	30	35	30	25	35
"	40	40	40	40	40	45	50	45	50	40	45	40	40	40	40	35	40	35	35	35	40	35	30	40
(min. pH with Tartaric)	2.2	2.2	2.2	2.2	2.2	2.2	2.2	2.2	2.2	2.2	2.7	2.7	2.4	2.2	2.4	2.7	2.7	2.4	2.9	2.4	2.8	2.8	2.8	2.8
Voges-Proskauer test	-	-	-	+	-	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
In Grape Juice ^{b)} : Clouding began after (days)	2	2~3	2	2	3	4	3	4	4	2	2	3	2	3	4	2	2	2	3	2	3	2	5	5
Acids produced after 10 days (% as gluconic)	7.0	8.1	8.1	8.1	8.5	8.3	3.5	3.5	5.0	4.1	4.5	4.4	1.5	2.1	2.3	3.9	0.2	0.8	2.7	0.2	0.1	0.2	0.1	0
Destruction of Tartaric acid	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
"	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-

a) Yeast extract was made with 10 g fresh yeast boiling in 100 cc distilled water (pH 7.0)

b) Grape Juice of 16° Bllg. (pH 3.0) and initial acidity 0.46% (as tartaric)

4. 分離菌の一般性質並びに分類

分離菌はいづれも好気性、発育の適温は30~35°, 胞子を造らず正常細胞は球形(0.5~1.0 μ)又は楕円形(0.5~1.0 \times 0.8~1.2 μ), 多くは1~3箇連結し中には連鎖をなすものもある。麴汁, 含糖肉汁又はペプトン含有培地等にはよく繁殖して皮膜又は菌環を形成するが人工培地には一般に繁殖が悪い。酒精を酸化して醋酸とし, ブドウ糖を酸化してグルコン酸を形成する(例外A 20)。死滅温度は55~60°, pH 3以下で繁殖可能にして普通のブドウ果汁に比較的よく繁殖する。いづれもゼラチンを液化しない。

以上の諸性質から7株は *Gluconoacetobacter* Asai に, 17株は *Acetogluconobacter* Asai に, 1株は例外として *Euacetobacter* Asai に同定されるが分離菌中ブドウ糖を酸化し, 酒精を酸化しない *Gluconobacter* Asai は1株もなかつた。

GLUCONOACETOBACTER Asai*Ga. cerinus* Asai

Gc 21

本菌株はアミルアルコールより生酸しない点, 繁殖最低 pH が低く且つ最大グルコン酸生成量の高い点等, 多少文献⁹⁾の記載と異なるが同一種と見做した。

Ga. opacus Asai var. *mobilis* Asai

Go 22, 27, 28, 31

各菌株共にアミルアルコールより生酸せず, 醋酸生成量が稍多く, 繁殖最低 pH が稍低い点以外は文献⁹⁾の記載とよく一致するので同一種と認めた。

Ga. nonoxygluconicus Asai Type 1

Gn 18, 18-2

本菌株は運動性を有し, 色素の生成稍多く, 且つアミルアルコールより生酸しない等文献⁹⁾記載のものと稍異なるので区別した。

ACETOGLUCONOBACTER Asai Type 1*Ag. dioxyaceticus* Asai

Ad 24-2, 24-3

Ag. dioxyaceticus Asai Type 2

Ad 17

いづれも10°附近で発育し, 果糖より生酸せず, Ad 24-2, 24-3は40°で発育しない点以外は文献⁹⁾の記載とよく一致するので同一種と認め, Ad 17は運動性を有しない点に於て稍異なるので区別した。

Bacterium rancens Bij.

Br 1, 3, 8-3

Br 1, B3は10°附近でよく繁殖し且つ40°で繁殖不能で且つ運動性を有するが, Br 8-3と共に文献⁹⁾⁽¹³⁾記載のものに類似するので同一種と認めた。

Bacterium acetosum Hbg.

Ba 23, 25, 4, 11-3

いづれも麴汁を著しく濁濁せしめる点及びBa 23, 25は共に40°で発育不能である点異なるのみで, 他の性質は文献⁹⁾⁽¹³⁾の記載とよく一致するので同一菌種と認めた。

Bacterium aceti Brown var. *prunitriflorae* Asai

BB 7, 11-4

これらの菌株は文献⁹⁾記載のものによく一致する。

Bacterium aceti Hansen var. *anadidis* Asai

BH 5, 12

これらの菌株も文献⁹⁾記載のものによく一致する。

Bacterium vini acetati Hbg. Type 1

Bv 15-2

Bacterium vini acetati Hbg. Type 2

Bv 14, 10-2

3菌株共文献⁽⁹⁾⁽¹³⁾記載によく一致する。但しBv 14, 10-2は運動性を有する点で区別した。

EUACETOBACTER Asai

Bacterium ascendens Hbg.

A 20

本菌株はブドウ糖を酸化せず、酒精抵抗性、酒精酸化力共に強い、含酒精液体培地ではよく管壁に上昇する薄膜を形成し文献⁽⁹⁾⁽¹³⁾記載のものに類似する。

B. 分離菌のブドウ酒醸造に及ぼす影響

分離菌中代表的なものにつき次の試験を行った。

1. ブドウ果汁より酸生成状況

甲州種ブドウ果汁を常法に従ひ殺菌した後、その50cc宛を100cc容三角フラスコに分注し、これに48時間麴汁培養細菌液1滴を接種し、30°に培養した。酸の生成経過を見るため毎日試料1cc宛を取出し0.1 N 苛性ソーダで滴定した。(Fig. 1) なお14日後に於ける総酸、揮発酸、糖分等を常法に従つて分析した結果をTable 4に示す。

Table 4. Analysis of the fermented Musts
(after 14 days incubation at 30°)

Starter	Total Sugars (as Glucose)	Total Acids ^{a)}	Volatile Acids (as acetic)	Fixed Acid ^{a)}
Go 31	114.54 g/l	56.5 cc	0.93 g/l	54.9 cc
Gn 18	111.99	55.5	0.79	54.2
Gn 18-2	104.29	58.1	0.73	56.9
Ad 24-3	142.39	36.0	0.16	35.7
Br 1	148.10	35.0	0.17	34.7
Ba 11-3	157.69	28.4	0.04	27.8
BH 5	143.25	35.7	0.12	35.2
Bv 10-2	198.64	12.0	0.06	11.9
Grape Juice	200.88	10.4	0.20	10.1

a) 1.0N NaOH cc per 10cc Sample

以上の結果を見ると、ブドウ果汁に於ては *Gluconoacetobacter* に属する3株 (Gn 18, 18-2, 31) は *Acetogluconobacter* に属する5株 (Ad 24-3, Br 1, BH 5, Ba 11-3, Bv 10-2) の菌に比しいづれも繁殖旺盛にして、酸生成量も多い。揮発酸は前者に於て多少増加し、後者に於てはむしろ減少の傾向にある。一般にいづれの菌も10日位で生酸量が最高になる。

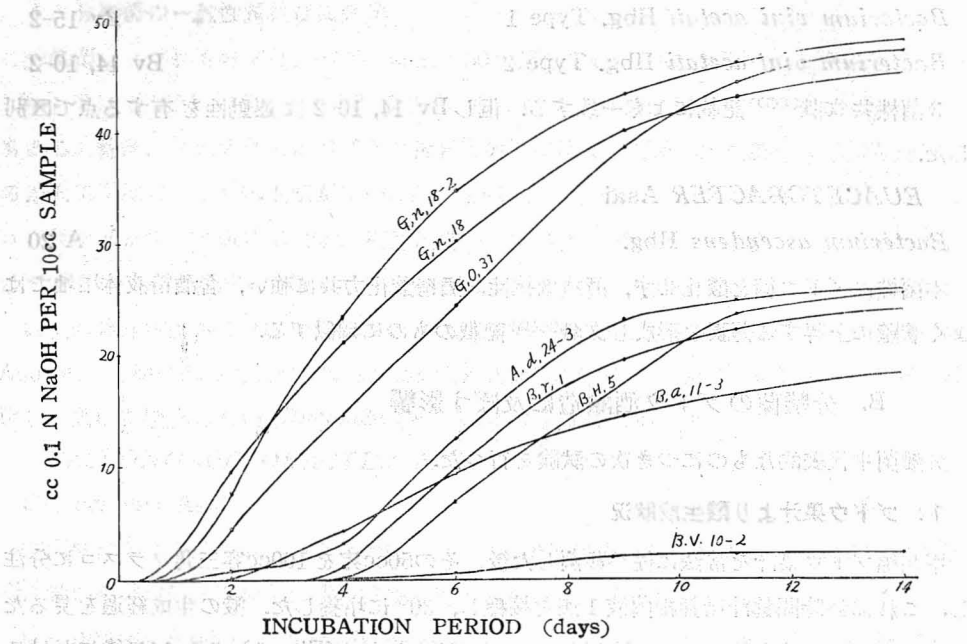


Fig. 1. Acid Formed by the Bacteria in a Grape Juice

2. 分離菌のブドウ酒醸酵中に於ける作用

甲州種ブドウ搾汁液 (Bilg. 16°) に、糖分約24%になる如く蔗糖を添加し、100°, 15分間殺菌後400cc宛を500cc容平底フラスコに分注し、これに同一果汁に2日間培養したブドウ酒酵母 (OC No. 2) 液10cc 及び 同一果汁に3日間培養した細菌液 10cc を接種し、

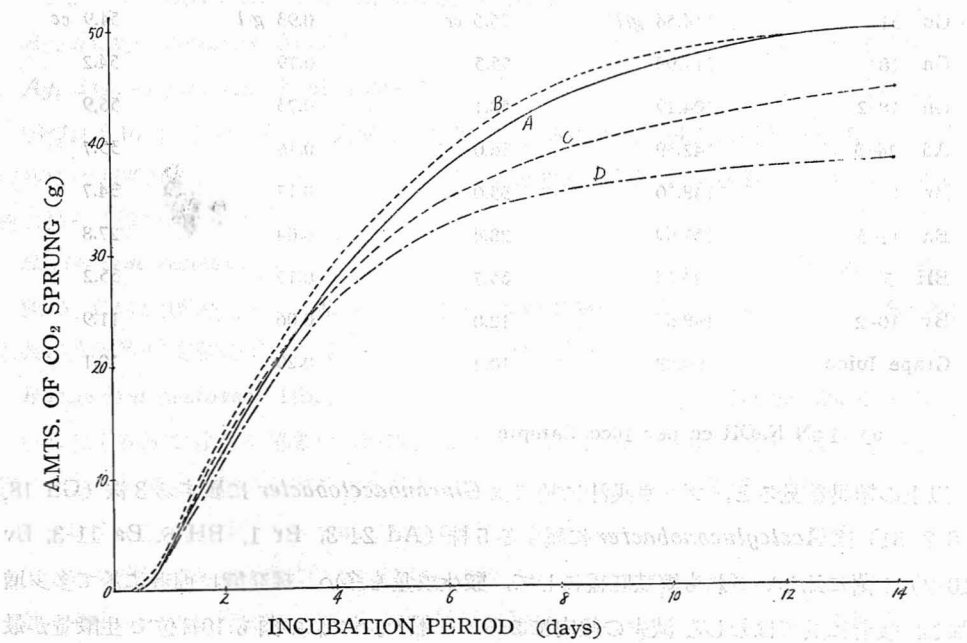


Fig. 2. Fermentation of the Musts inoculated with the Bacteria

18~29°Cに放置して醸酵せしめた。毎日醸酵状態を観察すると共に全量を10kg用台秤で計り、重量の差を炭酸ガス発生による減量と見做しその経過をFig. 2に示した。炭酸ガス減量は14日後に大体1g/day以下となつたので、直ちに醸酵液の上澄を取り分析に供した。

分析方法はすべて常法に従つたが、揮発酸は試料25ccを用い溜出液は125ccをとり、不揮発酸は計算によつて求め、フーゼル油は硫酸パ=リンの比色法により、なお感能的特徴 (Table 5) は当研究所各位の意見を総合したものである。

Table 5. Organoleptic Character of the Wines affected by the Bacteria

No.	Yeast used	Bacteria inoculated	Taste test	No.	Yeas used	Bacteria inoculated	Taste test
A ₀	Wine Yeast	—	good	B ₁	Wine Yeast	Go 22	Bacterial smell
A ₁	"	Go 28	"	B ₂	"	Go 31	"
A ₂	"	Gn 18	"	B ₃	"	Gn 18-2	good flavor
A ₃	"	Ba 4	off-flavor	C ₁	"	Br 1	acetic
A ₄	"	Ba 11-3	acetic	C ₂	"	Br 8-3	"
A ₅	"	Bv 10-2	" off-flavor	D	"	Ba 23	"

Table 6. Chemical Analysis of the Wines affected by the Bacteria

(All quantities except stated are expressed as g in 1000cc)

No.	Sp. Gr. D ₁₅ ¹⁵	Alcohol vol. %	Total Sugar as Glucose	Total Acids ^{a)}	V. A. b)	Fixed Acids ^{a)}	Total Tartaric	V. E. c)	Fusel Oil	V. A. after 30 days
A ₀	0.9911	105.2	1.40	9.00	0.30	8.44	1.56	0.05	0.78	0.34
A ₁	0.9911	105.2	1.43	9.17	0.43	8.45	1.65	0.06	1.13	0.44
A ₂	0.9911	105.1	1.40	9.32	0.38	8.68	1.63	0.03	0.98	0.47
A ₃	0.9929	102.3	4.09	9.50	0.73	7.78	1.37	0.19	0.61	1.19
A ₄	0.9919	104.6	2.43	10.00	1.32	7.80	1.38	0.04	0.55	1.68
A ₅	0.9916	104.7	1.63	9.70	1.20	7.70	1.58	0.06	0.50	1.50
B ₁	0.9913	105.6	1.33	9.45	0.31	8.93	1.66	0.11	0.81	0.37
B ₂	0.9911	106.6	1.26	9.15	0.31	8.63	1.55	0.07	0.98	0.34
B ₃	0.9920	102.8	1.91	9.50	0.34	8.94	1.58	0.06	0.89	0.44
C ₁	1.0010	91.4	17.86	15.90	4.73	8.04	1.68	0.58	0.80	5.03
C ₂	0.9968	91.0	10.76	13.40	3.36	7.80	1.59	0.32	0.75	4.06
D	1.0150	68.9	44.14	21.00	8.23	7.28	1.73	0.12	0.81	8.53
Grape juice	1.0968	...	240.25	5.50	0.18	5.20

a) 0.1N NaOH cc used per 10 cc Samples.

b) Volatile Acids as Acetic acid.

c) Volatile Esters as Ethylacetate.

考 察

実験に供した *Gluconoacetobacter* の中 Go 22, 31, Gn 18-2 の 3 株を夫々混入したものは炭酸ガス発生状況より見ると、酵母のみのものに比し醸酵初期に於て幾分炭酸ガス発生多く酒精醸酵を促進しているようである。然し分析結果より見ると、いづれの場合も不揮発酸が少量増加し、且つフーゼル油も多少増加の傾向にあるが、その他の成分に著しい変化を認めない。一般にこの種の細菌は酒精に対する抵抗性が弱く、酵母の酒精醸酵が進むにつれて、その活力が弱められるためであると思はれる。但し、微量の成分変化がブドウ酒の品質に如何なる影響を与えるかは、にはかに断定できない。因みに香味は Gn 18-2 稍優れ、Go 22, 31 は稍劣つている。

Acetogluconobacter 6 株中 Br 1, 8-3 は初期に於て炭酸ガス発生量稍々多く、酵母の酒精醸酵を刺戟していると思はれるが 3~4 日頃から少くなり細菌による阻害が認められる。Ba 4 も稍この傾向がある。Ba 23 は始めから炭酸ガス発生量少く細菌による阻害が認められる。一方分析結果より見ると Br 1, 8-3, Ba 23 の 3 者は揮発酸著しく多く所謂醋酸々敗を起している。その他の菌の場合は揮発酸が 0.1% 内外であるが明らかに醋酸臭を感じしめブドウ酒の品質を劣下せしめている。なお Ea 4, Bv 10-2 は特にアセトアミド様の悪臭を感ずる。一般にこの種の菌に於ては総酸の増加に対する揮発酸の増加が多く、従つて不揮発酸の減少が見られる。また揮発酸が増加すれば揮発性エステルが増加することは当然であるが、Ba 11-3, Bv 10-2, Ba 4 等余り繁殖がよくなかつた菌に於てフーゼル油の減少の傾向が見られるのは如何なる理由によるか不明である。要するに *Acetogluconobacter* は単独にブドウ果汁に於ける繁殖の場合と異り、酵母の酒精醸酵によつて著しくその活力を増しブドウ酒醸造に徹底的打撃を与えるものと考えられる。

次に貯蔵中に於ける細菌の作用を見るため、上記ブドウ酒の上澄液を 200cc 容三角フラスコに満しコルク栓をして 1 ヶ月室温に放置した後分析した。これによると揮発酸の増加は *Gluconoacetobacter* では僅少であるが、*Acetogluconobacter* では稍多く、醸酵終了後も幾分その作用が継続していることがわかる。(Table 6) 従つて早期にこれが撲滅を講ぜねばならない。

要 旨

山梨県内各地より収集した比較的健全なブドウ酒を試料にし、炭酸石灰添加麴・肉汁寒天を培地にして、好気性生酸菌約 100 株を分離し、それらの菌株中普通のブドウ果汁に比較的良く繁殖する菌株の代表的なもの 25 株につき、形態的並びに生理的諸性質を調べ、朝井氏⁹⁾の醋酸菌分類法に従つて次の如く分類した。

Gluconoacetobacter Asai

Identified strains

Ga. cerinus Asai 1935

Gc 21

<i>Ga. opacus</i> Asai var. <i>mobilis</i> Asai 1935	Go 22, 27, 28, 31
<i>Ga. nonoxygluconicus</i> Asai Type 1	Gn 18, 18-2
<i>Acetogluconobacter</i> Asai	
<i>Ag. dioxyaceticus</i> Asai Type 1	Ad 24-2, 24-3
<i>Ag. dioxyaceticus</i> Asai Type 2	Ad 17
<i>Bacterium rancens</i> Peijerinck 1898	Br 1, 3, 8-3
<i>Bact. acetosum</i> Henneberg 1923	Ba 23, 25, 4, 11-3
<i>Bact. aceti</i> Brown var. <i>prunitriflorae</i> Asai 1935	BB 7, 11-4
<i>Bact. aceti</i> Hansen var. <i>anadidis</i> Asai 1935	BH 5, 12
<i>Bact. vini acetati</i> Hbg. Type 1	Bv 15-2
<i>Bact. vini acetati</i> Hbg. Type 2	Bv 10-2, 14
<i>Euacetobacter</i> Asai	
<i>Bacterium ascendens</i> Hbg. 1898	A 20

次にこれらの菌株の一部につきブドウ酒醸造並びに品質に及ぼす影響を試験して次の結果を得た。分離した *Acetogluconobacter* は一般に細菌単独ではブドウ果汁に余りよく繁殖しないが、ブドウ酒醸酵中には極めて悪い影響を与え、中には著しく酒精醸酵を阻害し、多量の糖分を残し醋酸々敗をひき起すものあり、又醸酵終了後分析値に大した変化を与えないものも、認知し得る醋酸臭を生ぜしめ、香味を害し、貯蔵と共にその変化が明瞭になるものである。なおこの種細菌の中には異型乳酸菌の場合と同様にアセトアミドのような臭味を与え所謂“Mousey taste and odor”を生ずるものもある。従つてブドウ酒醸造に於てはこれらの細菌の徹底的防除を必要とする。

Gluconobacter に属する菌は一般に単独ではブドウ果汁によく繁殖し、生酸するがブドウ酒醸酵に於ては酵母の生成する酒精に鋭敏なために、それを与える影響は少く醸酵の初期に於てわずかに作用を及ぼすのみである。中には酒精醸酵を幾分刺戟するものもあるが、一般にまもなく酵母の活力に圧倒せられ、分析値に大きな変化を与えない。然しこの僅少な成分変化がブドウ酒の長期貯蔵中に於ける品質の変化に如何なる優劣を惹起するかは今後の研究に俟たねばならない。なお分離菌の繁殖可能温度は可成り低いのであるから、ブドウ或は果汁の保存の際や、ブドウ酒醸酵が寒冷の為に停止した際等はこれらの細菌の繁殖防止に対する考慮が必要であると思はれる。

終りに、本研究を行うにあたり種々御指導御鞭撻を賜つた朝井勇直先生並びに当研究所員各位に対し衷心より謝意を表す。而して本稿を草するについて小原巖教授より種々御教示を頂いたことを特記する。

なお本研究の一部は昭和28年4月、日本農芸化学会に於て講演した。

18 88 78 28 31

(1) Pasteur, L. : Etudes sur le Vinaigre, Paris (1873)

(2) Cruess, W. V. et al. : *Fruit Prod. Jour.*, 17, 229; 251 (1938)

(3) ————— : *Advance in Enzymolg.*, 3, 349 (1943)

(4) Vaughn, R. : *Jour. Bact.*, 36, 357 (1933)

(5) Hansen, E. Ch. et al. : *Gesammelte theoretische Abhandlungen über Gärungsorganismen*, Jena (1911)

(6) Rothenbach, F. : *Die Untersuchungs Methoden über Organismen des Gärungsesig und seiner Rohstoffe*, Berlin (1898)

(7) Hoyer, D. P. : *Deut. Essigind.*, 3, 1 (1899)

(8) Vaughn, R. : *Wallerstein Labs. Commun.*, 5, 5 (1942)

(9) 朝井勇宜 : 農化, 11, 680 (1935)

(10) Chouchak, D. : *Compt. rend.*, 186, 520 (1928)

(11) Gvaladze, V. Z. et al. : *Chem. Abst.* 41, 3255 (1947)

(12) 櫛田忠衛 : 農化, 27, 37 (1953)

○ (13) Henneberg, W. : *Handbuch der Gärungsbacteriologie*, Bd. II., Berlin : P. Parey (1926)

○ (14) 山梨大学醸酵研究所報告 (昭和二十一年)

○ (15) 山梨大学醸酵研究所報告 (昭和二十二年)

○ (16) 山梨大学醸酵研究所報告 (昭和二十三年)

○ (17) 山梨大学醸酵研究所報告 (昭和二十四年)

○ (18) 山梨大学醸酵研究所報告 (昭和二十五年)

○ (19) 山梨大学醸酵研究所報告 (昭和二十六年)

○ (20) 山梨大学醸酵研究所報告 (昭和二十七年)

○ (21) 山梨大学醸酵研究所報告 (昭和二十八年)

○ (22) 山梨大学醸酵研究所報告 (昭和二十九年)

○ (23) 山梨大学醸酵研究所報告 (昭和三十年)

○ (24) 山梨大学醸酵研究所報告 (昭和三十一年)

○ (25) 山梨大学醸酵研究所報告 (昭和三十二年)

○ (26) 山梨大学醸酵研究所報告 (昭和三十三年)

○ (27) 山梨大学醸酵研究所報告 (昭和三十四年)

○ (28) 山梨大学醸酵研究所報告 (昭和三十五年)

○ (29) 山梨大学醸酵研究所報告 (昭和三十六年)

○ (30) 山梨大学醸酵研究所報告 (昭和三十七年)

○ (31) 山梨大学醸酵研究所報告 (昭和三十八年)

○ (32) 山梨大学醸酵研究所報告 (昭和三十九年)

○ (33) 山梨大学醸酵研究所報告 (昭和四十年)

○ (34) 山梨大学醸酵研究所報告 (昭和四十一年)

○ (35) 山梨大学醸酵研究所報告 (昭和四十二年)

○ (36) 山梨大学醸酵研究所報告 (昭和四十三年)

○ (37) 山梨大学醸酵研究所報告 (昭和四十四年)

○ (38) 山梨大学醸酵研究所報告 (昭和四十五年)

○ (39) 山梨大学醸酵研究所報告 (昭和四十六年)

○ (40) 山梨大学醸酵研究所報告 (昭和四十七年)

○ (41) 山梨大学醸酵研究所報告 (昭和四十八年)

○ (42) 山梨大学醸酵研究所報告 (昭和四十九年)

○ (43) 山梨大学醸酵研究所報告 (昭和五十年)

○ (44) 山梨大学醸酵研究所報告 (昭和五十一年)

○ (45) 山梨大学醸酵研究所報告 (昭和五十二年)

○ (46) 山梨大学醸酵研究所報告 (昭和五十三年)

○ (47) 山梨大学醸酵研究所報告 (昭和五十四年)

○ (48) 山梨大学醸酵研究所報告 (昭和五十五年)

○ (49) 山梨大学醸酵研究所報告 (昭和五十六年)

○ (50) 山梨大学醸酵研究所報告 (昭和五十七年)

○ (51) 山梨大学醸酵研究所報告 (昭和五十八年)

○ (52) 山梨大学醸酵研究所報告 (昭和五十九年)

○ (53) 山梨大学醸酵研究所報告 (昭和六十年)

○ (54) 山梨大学醸酵研究所報告 (昭和六十一年)

○ (55) 山梨大学醸酵研究所報告 (昭和六十二年)

○ (56) 山梨大学醸酵研究所報告 (昭和六十三年)

○ (57) 山梨大学醸酵研究所報告 (昭和六十三年)

○ (58) 山梨大学醸酵研究所報告 (昭和六十三年)

○ (59) 山梨大学醸酵研究所報告 (昭和六十三年)

○ (60) 山梨大学醸酵研究所報告 (昭和六十三年)

○ (61) 山梨大学醸酵研究所報告 (昭和六十三年)

○ (62) 山梨大学醸酵研究所報告 (昭和六十三年)

○ (63) 山梨大学醸酵研究所報告 (昭和六十三年)

○ (64) 山梨大学醸酵研究所報告 (昭和六十三年)

○ (65) 山梨大学醸酵研究所報告 (昭和六十三年)

○ (66) 山梨大学醸酵研究所報告 (昭和六十三年)

○ (67) 山梨大学醸酵研究所報告 (昭和六十三年)

○ (68) 山梨大学醸酵研究所報告 (昭和六十三年)

○ (69) 山梨大学醸酵研究所報告 (昭和六十三年)

○ (70) 山梨大学醸酵研究所報告 (昭和六十三年)

○ (71) 山梨大学醸酵研究所報告 (昭和六十三年)

○ (72) 山梨大学醸酵研究所報告 (昭和六十三年)

○ (73) 山梨大学醸酵研究所報告 (昭和六十三年)

○ (74) 山梨大学醸酵研究所報告 (昭和六十三年)

○ (75) 山梨大学醸酵研究所報告 (昭和六十三年)

○ (76) 山梨大学醸酵研究所報告 (昭和六十三年)

○ (77) 山梨大学醸酵研究所報告 (昭和六十三年)

○ (78) 山梨大学醸酵研究所報告 (昭和六十三年)

○ (79) 山梨大学醸酵研究所報告 (昭和六十三年)

○ (80) 山梨大学醸酵研究所報告 (昭和六十三年)

○ (81) 山梨大学醸酵研究所報告 (昭和六十三年)

○ (82) 山梨大学醸酵研究所報告 (昭和六十三年)

○ (83) 山梨大学醸酵研究所報告 (昭和六十三年)

○ (84) 山梨大学醸酵研究所報告 (昭和六十三年)

○ (85) 山梨大学醸酵研究所報告 (昭和六十三年)

○ (86) 山梨大学醸酵研究所報告 (昭和六十三年)

○ (87) 山梨大学醸酵研究所報告 (昭和六十三年)

○ (88) 山梨大学醸酵研究所報告 (昭和六十三年)

○ (89) 山梨大学醸酵研究所報告 (昭和六十三年)

○ (90) 山梨大学醸酵研究所報告 (昭和六十三年)

○ (91) 山梨大学醸酵研究所報告 (昭和六十三年)

○ (92) 山梨大学醸酵研究所報告 (昭和六十三年)

○ (93) 山梨大学醸酵研究所報告 (昭和六十三年)

○ (94) 山梨大学醸酵研究所報告 (昭和六十三年)

○ (95) 山梨大学醸酵研究所報告 (昭和六十三年)

○ (96) 山梨大学醸酵研究所報告 (昭和六十三年)

○ (97) 山梨大学醸酵研究所報告 (昭和六十三年)

○ (98) 山梨大学醸酵研究所報告 (昭和六十三年)

○ (99) 山梨大学醸酵研究所報告 (昭和六十三年)

○ (100) 山梨大学醸酵研究所報告 (昭和六十三年)