

醸造工學雜誌 第34卷 第11號 別刷

大阪醸造學會 (昭和31年11月15日發行)

国内に保存されているブドウ酒酵母の分類 (第1報)

外国産ブドウ酒酵母

後藤 昭二・横塚 勇 (山梨大学醸造研究所)

酵母を長期間に亘つて保存する時孢子形成能や醗酵力等が分離当時に比し著しく減退上面酵母も次第に下面酵母化して行く事は既に知られ、最近では塚原¹⁾、小田氏²⁾によつても報告されている

われわれがここに供試したブドウ酒酵母は先輩諸先生方によつて数十年前諸外国より集められ以来保存された

もので, 例えば Steinberg はラインブドウ酒用酵母という様に各々特性ある酵母として人名, 地名又は酒名を付して保存されて来ている. これらの酵母によるブドウ酒試験も行つた³⁾ が本報では各菌株の分類検索及び孢子形成能等について検討したので報告する.

I 供試菌株

Table 1 に示した52菌株であるが入手順や日付等の詳細は明らかでない. 対照の意味で OC-2⁴⁾, *P. mandshurica*⁵⁾ 及び *H. schneeggii*⁵⁾ を供試した.

Table 1. Strain name and origin of the cultures studied.

No.	RIFY	Name and origin	No.	RIFY	Name and origin
1	7413	Ahrweiler (FAT WH1-1)	29	7160	Rauenthaler berg (FAT WH2-9)
2	7393	Albin No. 1 (IFO 2215)	30	7161	Rudesheimer berg NI (7211)
3	7394	" No. 2 (IFO 2290)	31	7162	Sauternes portugal (FAT WH3-1)
4	7395	" No. 3 (IFO 2216)	32	7163	Scharyhof berger (FAT WH3-2)
5	7144	Albo (ACTU WH1-2)	33	7164	Schloss vallads (FAT WH3-3)
6	7396	American Champagne Yeast No. 1 (IFO 2317)	34	7165	Steegeer knipp FAT (WH3-4)
7	7397	" " " No. 2 (IFO 2318)	35	7403	" " rheinpalz (NI 7334)
8	7484	Assemans hargen rothwein (NI 7010)	36	7404	Steinberg (IFO 2227)
9	7145	Assmanshausen, red (ACTU WH1-3)	37	7166	Tokay (FAT WH3-5)
10	7399	Bordeaux (IFO 2234)	38	7476	" 7 Er (IFO 2228)
11	7400	Burgandy (NI 7421)	39	7475	" 22 Er (IFO 2229)
12	7146	Burg laudeck (FAT WH1-4)	40	7405	Tisport (NI 7364)
13	7147	Charente, ungarn (FAT WH1-5)	41	7407	Top yeast 118 (NI 7366)
14	7148	Charente fine champagne (FAT WH1-6)	42	7167	Ungarn menes, Russland (FAT WH3-6)
15	7149	Cruess 66 (FAT WH1-7)	43	7168	Wiltigen (FAT WH3-7)
16	7150	Folle blanch de Cognac (FAT WH1-8)	44	7169	" Ahr (FAT WH3-8)
17	7151	Forster (FAT WH1-9)	45	7170	" Rheinhessen (FAT WH3-9)
18	7152	Freiwine sparain II (FAT WH1-10)	46	7408	Winningen (IFO 2313)
19	7153	Heimersheimer roth (FAT WH2-1)	47	7409	Wurzbergerstein, Saaz IFO (2312)
20	7401	Ingersheimer, Rot wein hefe (IFO 2233)	48	7480	Winningen (NI 7365)
21	7154	Johannis berger II (FAT WH2-3)	49	7481	" (NI 7367)
22	7155	Laureio, Spanien (FAT WH2-4)	50	7482	" (NI 7368)
23	7402	Liebfrauen milch (IFO 2231)	51	7483	" (NI 7369)
24	7156	Niersteiner, Baden (FAT WH2-5)	52	7171	Zeltinger (FAT WH3-10)
25	7406	Ober hefe, Rio (IFO 2323)	53	7013	OC-2 (FAT WH5-2)
26	7157	Oppenheimer gold berg (FAT WH2-6)	54	7052	<i>Pichia mandshurica</i>
27	7158	" kreuz (FAT WH2-7)	55	7373	<i>Hansenula schneeggii</i>
28	7159	Piesport (FAT WH2-8)			

FAT: Fac. Agric. Univ. of Tokyo, IFO: Inst. Fermentation, Osaka, NI: Nagao Inst., Tokyo, RIFY: Res. Inst. of Ferm., Yamanashi Univ.

II 孢子形成能の復活

培地

Media for sporulation test

GB	Gypsum blocks ⁶⁾	YAA	Yeast autolysate agar ²⁾
MGA	Modified GORODKOWA agar ⁶⁾	YMA	Yeast malt extract agar ²⁾
CP	Carrot plugs ⁶⁾	KE	Koji extract, Zeitz filtered (Brix. 15%) ¹⁾
V-8	Vegetable juice medium ⁶⁾	GJ	Grape juice, Brix. 18% ¹⁾

実験方法 YAA と YMA は交互に移殖反復後 MGA に培養する²⁾. GJの使用法はKE¹⁾と同様な方法をとった.

結果 供試52株の中27株は MGA で孢子形成を認めたが形成率は0.05~0.1%以下で極めて低い. Table 2 に少数の例を示したように V-8, YAA, KE及びGJで培養すると形成率も次第に高くなる. しかし孢子数及び形状には殆んど変化がない. 他の25株はいずれも退化していることが認められた. しかし YAA で反復2~3回, KE及びGJで反復8回の培養で孢子形成能は復活し約0.1%の形成率を示した. 又別⁶⁾に *Pichia* 及び *Hansenula* 属の孢子形成能復活を YAA 及びKEで認めたがGJも亦有効な事を知った.

Table 2. Sporulation tests on various media.

Media	GB	MGA	CP	V-8	YAA			KE		GJ	
Cultured for	30days	30days	30days	30days	1 time	2times	3times	5times	8 times	5times	8 times
Strain 6 (7396)	1-2 ov 0,01%	1-2 rd 0,1	1-2 rd 0,1	1-2 rd 0,5	1-2 rd 10	1-2 rd 15		1-2 rd 0,01	1-2 rd 10	1-2 rd 10	1-2 rd 10
9 (7145)	—	—	—	—	—	—	1 ov rarely	—	1 ov rarely	—	1 ov rarely
17 (6151)	—	1 rd rarely	1 rd rarely	1 rd rarely	1 rd 0,1			—	1 rd 0,1	—	1 rd 0,1
20 (7401)	—	—	—	—	—	—	1 rd rarely	—	1 rd 0,1	—	1 rd 0,1
24 (7156)	—	—	—	—	—	1-3 rd 0,01		—	1-3 rd 0,1	—	1-3 rd 0,1
27 (7156)	—	—	—	—	—	1 rd 0,05		—	1 rd 0,1	—	1 rd 0,1
32 (7163)	—	1-3 rd 0,5	1-3 rd 0,5	1-3 rd 0,7	—	1-3 rd 0,7		1-3 rd 0,1		1-3 rd 0,1	
38 (7476)	—	—	—	—	—	1-2 rd rarely		—	1-2 rd 0,1	—	1-2 rd 0,1
39 (7476)						1-3 rd rarely			1-3 rd rarely	—	1-3 rd rarely
53 (OC-2)	1-3 rd 0,5	1-3 rd 1	1-3 rd 1	1-3 rd 2	1-3 rd 1	1-3 rd 2		1-3 rd 0,5		1-3 rd 0,5	
<i>P. mandshurica</i>	—	—	—	1-2 ov rarely	1-2 hemi 1			—	1-2 hemi 0,1	—	1-2 hemi 0,1
<i>H. schneegii</i>	—	—	—	—	1-2 hat 0,1			—	1-2 hat rarely	—	1-2 hat rarely

ov: oval, rd: round, hemi: hemispherical

尚復活株は既に知られる様に保存株に比較して細胞が稍々大きくなり, 酵母環を作り易く又醗酵力が旺盛になること等も観察された. 又保存株は *Pseudomycelium* 形成が復活株よりも良く, 復活株は全然形成しないか又は *Primitive* であった.

III ブドウ果汁の醗酵

Table 3. Analyses of the wines fermented by the degenerated or regenerated strains of yeasts.

Strain	Alc. (vol.%)	T.A (g/l)	V.A (mg per l)	V.E (mg per l)	Ald. (mg per l)	R.S (g/l)	pH
7158 Dg	11.8	4.999	358	238	110	8.9	3.30
Rg	11.5	4.999	291	264	140	9.0	3.30
7376 Dg	11.7	4.713	627	246	120	8.7	3.35
Rg	11.8	4.642	537	264	150	9.3	3.32
7013 Dg	11.2	5.642	425	211	140	9.1	3.36
(OC-2) RG	11.5	5.571	313	246	170	9.3	3.22

Dg: Degenerated strain, Rg: Regenerated strain, T.A: Total acids as tartaric acid, V.A: Volatile acids as acetic acid, V.E: Volatile esters as ethylacetate, Ald: Aldehyde as acetaldehyde, R.S: Reducing sugars as glucose.

実験方法 甲州種果汁(蔗糖を加え Brix. 21 とする)を600ml容ビンに300ml宛取り, 火入れ後酒母10mlを加え25°Cで醗酵を行う。酒母には保存菌株及び GJ 或は YAA で復活処理を行つた菌株を用い比較した。醗酵終了後上澄液をとり2週間放置後一般成分を分析した。

結果 復活株による醗酵は旺盛で保存株より3~4日早く醗酵終了する。ブドウ酒の分析結果は Table 3. に示したが最終醗酵度には殆んど差がない。明瞭な差を示したのは揮発酸で復活株によるブドウ酒の揮発酸生成量は減退している。またエステル及びアルデヒドの生成量は少々増加の傾向にある。香気の点では清酒の場合にも認められている^{1,2)}様に復活株によるものが優れている。又 GJ と YAA 処理によるものでは GJ 処理株の方が優れていたのでブドウ酒酵母の復活には GJ 処理が適当と思われる。

IV 供試菌の分類

実験方法 供試菌はいずれも GJ 処理を行つた後供試した。其他総て LODDER ら⁶⁾の方法に従つた。

実験結果 形態試験の結果は Table 4. に示した。生理試験の結果は Table 5. のように4群に類別される。

Table 4. Morphological chacters

No.	Cells in malt ext.		Streak cultures on malt agar	Pseudomycelium on potato agar	Ascospore in GJ medium	
	shape	size (μ)			shape	nomb.
1	rd-ov	(3~7.5) (6~15)	g, s, et, f-r	+	rd	1~2
2	lo-ov	(3.5~6) (10~18)	w-g, s, et-ud, f-r	++	rd*	1~2
3	ov-lo	(3.5~6) (4.5~18)	c, s, et, f	++	rd-ov*	1~3
4	lo	(4~6.5) (6~20)	c, s, et, f	++	ov	1~2
5	ov-lo	(4~6) (6~12)	c, s, et, f	++	rd	1
6	rd-ov	(4.5~7.5) (6~12)	g, s, st, et, f	—	rd*	1~2
7	rd-ov	(5~7) (5~10)	c, s, et, f	—	rd	1
8	ov-lo	(3~6) (4~9)	c, s, et-r, lb	+	rd	1~2
9	ov-lo	(4~6) (8~12)	c, s, et-r, ud	+	rd	1~2
10	ov	(4.5~7) (6~12)	w-g, et, f	+	rd	1
11	rd-ov	(4~7) (4.5~12)	c, s-wk, ud, f-r	—	rd*	1~3
12	rd	(4~6)	y-g, et, f-r	+	rd	1
13	ov-rd	(3.5~4) (4~8)	c, ud, f-r	+	rd	1
14	ov	(3.5~6) (5~8)	c, ud, f-r	+	rd-ov*	1~2
15	ov-rd	(4~6) (5~12)	c, ud, f-r	+	rd-ov*	1~3
16	rd-ov	(4~5) (4~7)	w-g, ud, f-r	+	rd*	1~2
17	lo	(4~7) (8~15)	y-g, ud, f-r	++	rd-ov*	1
18	rd	(3~6)	c, ud, et	—	rd*	1~2
19	rd-ov	(4~7) (4.5~9)	c, ud, f	—	rd-ov	1~2
20	ov-lo	(3.5~6) (5.5~14)	g, ud, f-r	++	rd-ov	1~2
21	rd-ov	(3.5~6) (4~8)	c, ud, r	—	rd-ov*	1~2
22	lo	(3.5~6.5) (5.5~14)	y-g, et, f-r	++	rd-ov*	1~3
23	ov	(3.5~6) (5~14)	w-g, ud, r	—	rd	1
24	ov	(4~6) (7~14)	y-g, ud, r	—	rd-ov	2~3
25	cd	(4~6) (12~24)	y-g, s-wk, ud, r	++	rd-ov	1~2
26	rd-ov	(3.5~5) (3.8~7)	y-g, s, ud, r	+	rd*	1~2
27	ov-rd	(4~6) (5~12)	c, ud, r	+	rd	1
28	ov	(5~9) (6~12)	c, ud, f-r	+	rd-ov*	1~3
29	ov	(4~6) (5~12)	y-g, ud, f-r	—	rd-ov*	1~3
30	ov	(4~6) (5~7)	y-g, ud, f-r	+	rd	1~2
31	rd-ov	(4~7) (6~11)	y-g, s-wk, ud, f-r	+	rd	1
32	ov-lo	(4~6) (5.5~12)	y-g, s, ud, f-r	++	rd-ov*	1~2

33	rd-ov	(4.5~8) (4.5~12)	g-y, et, f-r	+	rd-ov	1~2
34	rd-ov	(4.5~6.5) (5.5~11)	g-y, et, f-r	-	rd	1~2
35	rd-ov	(4.5~6) (4.5~8)	g-y, et, f-r	+	rd	1~2
36	rd	(4~6)	g-y, et, f-r	-	rd-ov	1
37	ov-rd	(3.5~5) (5~8)	c, et, f-r	+	rd*	1~3
38	rd-ov	(4.5~7) (5~10)	y-g, et, f-r	+	rd	1~2
39	rd-ov	(5~8)	y-g, et, f-r	-	rd-ov*	1~3
40	ov-lo	(5~7) (8~14)	c, et, f-r	++	rd-ov	1~4
41	ov-lo	(4~7) (7~12)	c, et, f-r	++	rd	1
42	rd-lo	(4~5.5) (6~12)	g, s-wk, ud, f-r	+	rd-ov	1~2
43	rd-ov	(4~7) (4.5~10)	c, s, et, f-r	+	rd*	1~3
44	ov	(3~4.5) (4~8)	y-g, s-wk, et, f-r	+	rd	1
45	rd-ov	(4~7) (5~9)	c, s, ud, f-r	+	rd*	1~2
46	rd	(3.5~6)	c, s, ud, f-r	+	rd*	1~4
47	ov	(4~7) (5~10)	c, s, ud, f-r	+	rd*	1~2
48	ov-rd	(5~8) (5.5~12)	c, s, ud, f-r	+	rd*	1~3
49	rd-ov	(4.5~5.5) (5~8)	y-g, et, f-r	+	rd-ov*	1~2
50	ov	(4~7) (6.5~12)	y-g, ud, f-r	+	rd-ov*	1~3
51	ov-lo	(4~6) (7~14)	c, ud, f-r	++	rd-ov*	1~2
52	ov-rd	(4~7) (5~12)	y-g, ud, f-r	+	rd	1~2

rd: round, ov: oval, lo: longoval, cd: cylindrical, g: grey, w: white, c: cream-color, y: yellow, s: smooth, st: sectors, wk: wrinkled, et: entire, ud: undulate, lb: lobate, f: flat, r: raised, ++: tree-like, +: formed, -: primitive, -: no, *: formed on Gypsum and Gorodkova agar.

Table 5. Physiological Properties of the cultures.

Group	Fermentation						Sugar assimilation					KNO ₃	EtOH	Splitting or arbutin
	Gl.	Ga.	Su.	Ma.	La.	Ra.	Gl.	Ga.	Su.	Ma.	La.			
A	+	+	+	+	-	1/3	+	+	+	+	-	-	+	-
B	+	-	+	+	-	1/3	+	-	+	+	-	-	-	-
C	+	-	+	+	-	1/3	+	-	+	+	-	-	+	-
D	+	-	+	-	-	1/3	+	-	+	-	-	-	+	-

Group A: No. 1-5, 8, 9, 11, 12, 14, 15, 17, 19, 23, 25, 27, 28-37, 39-52.

Group B: No. 10, 13, 16, 26, 38, Group C: No. 6, 7, 24, Group D: No. 18.

分類検索及び考察 以上の実験結果から LODDER ら⁶⁾ の分類方式に従って供試菌52株を検索する。いずれも細胞は円, 楕円又は長楕円形で又円及び楕円形の胞子を形成し糖醗酵性を有す。硝酸塩を還元せず, アルブチンを分解しない事等から *Saccharomyces* に属するものである。唯胞子数は必ずしも一定でなくこの事は今後の研究に俟たなければならない。

Saccharomyces cerevisiae HANSEN 7413以下28株 (Table 1 及び6) は, 細胞が殆んど円又は卵形, ブドウ糖, ガラクトース, 蔗糖, マルトース及びラフィノース(1/3)を醗酵し酵母環を作る事等から *S. cerevisiae* と同定される。LODDER ら⁶⁾ は細胞の大きさにより3群に分けたが, 吾々も29株を Table 6 のように分けることが出来た。

Saccharomyces cerevisiae var. *ellipsoideus* (HANSEN) DEKKER 7393以下13株は, 細胞が楕円又は長楕円形であることから *S. cerevisiae* より区別される。又 *Pseudomycelium* の形成も良い。 *S. cerevisiae* 同様の細胞の大きさにより3群に分けられた (Table 6)。

Saccharomyces oviformis OSTERWALDER 7399, 7147, 7150, 7157及び7476の5株は細胞円形で僅か乍ら *Pseudomycelium* を形成する。ブドウ糖, 蔗糖, マルトース及びラフィノースを醗酵し, アルコール培地には生育し

ない事等から *S. oviformis* と同定された。

Saccharomyces fermentati (SAITO) LODDER et VAN-RIJ 7396, 7397及び7156の3株は糖醗酵性は *S. oviformis* と同様であるが細胞が殆んど楕円形で Pseudomycelium の形成がなく又アルコール培地に僅かなら生育する事等から *S. fermentati* と同定された。

Saccharomyces rosei (GUILL) LODDER et VAN-RIJ 7152の1株は細胞円形で Pseudomycelium の形成がなく、ブドウ糖及び蔗糖を資化醗酵し又ラフィノースを醗酵する。孢子形成時稀にはあるが接合糸の突出が認められたので *S. rosei* と同定した。

V 総 括

- 1) 長期間保存培養された外国産ブドウ酒醗母52株の孢子形成能は退化或は低下している。
- 2) 退化株は加熱しない除菌濾過ブドウ果汁 (GJ) 又は除菌濾過麹汁 (KE) 及び Yeast-autolyzate agar (YAA) で復活された。
- 3) ブドウ酒醗造に於て復活株 (特に GJ 処理によるもの) は揮発酸生成量少なく香気が優れていた。
- 4) 供試52株を LODDER らの方式により分類した結果次の様に同定された。

Table 6. Identified strains

Saccharomyces cerevisiae HANSEN;

Group I 7400, 7402, 7159, 7167, 7480, 7482, 7171

Group II 7146, 7148, 7153, 7154, 7161, 7403, 7404, 7166, 7169, 7170, 7408, 7481

Group III 7413, 7149, 7158, 7160, 7162, 7164, 7165, 7475, 7168, 7409

Saccharomyces cerevisiae var. *ellipsoideus* (HANSEN) DEKKER;

Group I 7393, 7394, 7395, 7151, 7155, 7406, 7483

Group II 7144, 7484, 7163, 7407

Group III 7145, 7401, 7405

Saccharomyces oviformis OSTERWALDER; 7399, 7147, 7150, 7157, 7476

Saccharomyces fermentati (SAITO) LODDER et VAN-RIJ; 7396, 7397, 7156

Saccharomyces rosei (GUILL) LODDER et VAN-RIJ; 7152

終りに臨み御指導賜りました六所先生に深謝致します。又菌株を分譲下さいました各位に感謝致します。

文 献

- 1) 塚原: 農化, **23**, 724 (1954).
- 2) 小田, 若林, 吉田: 本誌, **33**, 80 (1955).
- 3) 横塚, 橋田: 山梨大産研報告, **1**, 53 (1954).
- 4) 坂口, 森, 鎮目: 農化, **13**, 713 (1937).
- 5) 後藤, 横塚: 未発表.
- 6) LODDER, VAN-RIJ: The Yeasts (1952).
- (昭和31, 8, 27受理)