

[J. Inst. Enol. Vitic. Yamanashi Univ. 31, 1~8 1996]

ワイン酵母のビタミン要求性と生育温度の影響

篠原 隆、押田明成、柳田藤寿、後藤昭二*
(山梨大学工学部発酵化学研究施設 *山梨大学名誉教授)

Vitamin Requirements of Wine Yeasts and Influence of Growth Temperature

TAKASHI SHINOHARA, AKINARI OSHIDA FUJITOSHI YANAGIDA, and SHOJI GOTO*

Institute of Enology and Viticulture, Yamanashi University, Kofu 400, Japan

Abstract

The vitamin requirements of four wine yeast strains were tested at various temperatures between 8°C and 30°C. The two mesophilic strains, W-3 and OC-2 (*Saccharomyces cerevisiae*), had absolute and/or partial requirements for biotin and pantothenic acid throughout the temperature range tested. In contrast, the two cryophilic strains, YM84 and YM126 (*S. bayanus*), had absolute and/or partial requirements for inositol, pantothenic acid and nicotinic acid within the range of 8°C to 25°C. At 30°C, the two cryophilic strains showed an increased requirement for nine vitamins. Thus, vitamin requirements appear to differ between mesophilic and cryophilic strains of wine yeasts. The addition of more than 10ppm inositol to the medium stimulated completion of alcoholic fermentation for two strains (OC-2, YM84) at 8°C, but was less effective at 30°C. Knowledge of the vitamin requirements of wine yeasts as well as the vitamin concentration in grape musts will provide a better understanding of how to control alcoholic fermentation in winemaking.

緒 言

酵母の生育におけるビタミン要求性は、その属種によって大きく相違することが知られる。*Hanseniaspora*属(不完全型*Kloeckera*属)の酵母はイノシトールとパントテン酸を必須に要求し、*Dekkera*属(不完全型*Brettanomyces*属)および*Metschnikowia*属の酵母はビオチンとチアミンを必須に要求する(1)。*Saccharomyces cerevisiae*は、通常、ビオチンとパントテン酸を要求する。ワイン酵母(*S. cerevisiae*)のビタミン要求性について、ビオチンが必須であるが、その他のビタミン要求性は低いとされる(2)。仮性産膜酵母(*S. cere-*

visiae)の場合、ビオチンを必須に、パントテン酸を部分的に要求した(3)。ビタミン要求性を明らかにすることは、酵母の生理学的性質を解明するために、また、ワイン酵母のビタミン要求性に対応して発酵条件を調整、管理するために重要である。ワイン醸造における速やかなアルコール発酵のためには、ブドウ果もろみ中に適量のビタミン類の存在することが必要である。

今回、ワイン酵母のビタミン要求性を試験したところ、*S. cerevisiae*に属する中温発酵性酵母がビオチンとパントテン酸の要求性を示したのに対して、*S. bayanus*に属する低温発酵性酵母はイノシト-

ル、その他のビタミンの要求性を示した。また、中温発酵性酵母の要求性は培養温度にあまり影響されないのに対して、低温発酵性酵母の要求性はかなり影響された。さらにアルコール発酵におけるイノシトールの効果を検討したので報告する。

実験方法

1. 供試酵母菌株

ワイン酵母4株を供試した。それは中温発酵性の *S. cerevisiae* 2株および低温発酵性の *S. bayanus* 2株である (Table 1.)。なお、本報文の低温発酵性酵母とは「7-13℃の低温において優れた発酵能を有するが、22-30℃の中温においてはアルコール発酵が途中で停止するためにエタノール低生成となること、および35℃以上の高温で生育しない」などの性質の菌群を指す (4, 5, 6)。

2. ビタミン要求性試験

本要求性試験はビタミン9種の混合液から1種類づつを除いて試験する省略法(7)で行った。

(1) ビタミン混合液の調製：ビタミン9種類の各水溶液（試験濃度の1000倍濃度）を調製した。ビオチンと葉酸は少量のエタノールで溶解し、のち定容とした。チアミン塩酸は3N-酢酸に溶解後に定容とした。次にビタミン9種類の混合液、

および1種類づつを除いた9種類のビタミン混合液を調製した。これらのビタミン混合液は所定濃度となるように培養液に添加した。各水溶液および培養液中のビタミン濃度をTable 2.に示す。

(2) 試験培地：合成培地 Bacto vitamin free yeast base (Difco laboratories) の1.67%水溶液 (pHを5.3に調整) に、上記のビタミン混合液をそれぞれ添加した。これを除菌フィルター (0.2 μ m, Gelman Science) で濾過し、その5mlづつを12ml容スクリーキャップ付試験管に入れて試験培地とした。対照として、ビタミン無添加区を置いた。

(3) 供試酵母の培養およびビタミン要求性の判定：供試酵母はYM斜面培地（酵母エキス0.3%、麦芽エキス0.3%、ポリペプトン0.5%、グルコース1%、寒天2%）で25℃、3日間培養した。この1白金耳量を殺菌水5mlに懸濁し、のち遠心分離 (3000rpm, 10min) により洗浄集菌した。これを4回繰返したのち、菌体を殺菌水5mlに懸濁した。この菌体懸濁液20 μ l を試験培地5mlに接種した（菌濃度：10⁴cells/ml）。培養は30℃で4日間、25℃で7日間、15℃で10日間、および8℃で14日間、静地で行った。培養期間中、菌体増殖を培養液の吸光度 (660nm) から調べ

Table 1. Wine yeasts investigated

Strain No.	Species	Growth property	Origin*
W-3	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	mesophilic	RIFY 1001
OC-2	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	mesophilic	IAM 4274
YM84	<i>Saccharomyces bayanus</i>	cryophilic	CCY 48-66
YM126	<i>Saccharomyces bayanus</i>	cryophilic	RIFY 1218

* RIFY: Institute of Enology and Viticulture, Yamanashi University.

IAM: Institute of Applied Microbiology, University of Tokyo.

CCY: Institute of Chemistry of the Slovak Academy of Science, Brastia, Czechoslovakia.

Table 2. Vitamin concentrations for culture test

Vitamin	Basal solution (μ g/ml)	Culture medium (μ g/ml)
Biotin	2	0.002
Ca-pantothenate	400	0.4
Folic acid	2	0.002
Inositol	2000	2.0
Nicotinic acid	400	0.4
p-Aminobenzoic acid	200	0.2
Pyridoxin-HCl	400	0.4
Riboflavin	200	0.2
Thiamin-HCl	400	0.4

た。これは培養試験管を直接に分光光度計（日立100-10型）で測定した。ビタミン要求性は、次の生育率(R)から判定した。

$$R(\%) = [\text{ビタミン欠培地における吸光度} / \text{ビタミン9種類の混合培地の吸光度}] \times 100$$

判定基準は次の通りとした：R = 0-19%のとき「必須的に要求」、20-79%のとき「部分的に要求」、80%以上のとき「要求性なし」。

3. イノシトール培地における発酵試験

(1) イノシトール培地の調製：Wickerhamの炭素源資化試験用培地(7)に準じて調製した。ビタミン群はイノシトールを除いた8種類を加え、さらに硫酸アンモニアを1%、グルコースを18%に調製し、pHを4.5とした。これを基本培地として、イノシトールを0、0.1、1、10、100および1000 mg/lとなるように添加した（Table 3.）。各イノシトール培地195mlを300ml容三角フラスコに分注してオートクレーブ滅菌（110℃、10分）した。

(2) 供試酵母の培養および発酵試験：供試酵母は、中温発酵性OC-2株および低温発酵性YM84株である。YM斜面培地で前培養した酵母をYPD（酵母エキス1%、ポリペプトン2%、グルコース2%）液体培地に1白金耳接種して、25℃、2日間培養した。のちこの全量を遠心分離（3000rpm、10分）して集菌し、さらに菌体を5回洗浄した。洗浄菌体は殺菌水50mlに懸濁して種母とした。この5mlをイノシトール培地195

mlに接種して発酵栓を付し、8℃および30℃で発酵させた（初発菌濃度 約 10^6 cells/ml）。発酵曲線を炭酸ガスの放出に伴う重量減から作成した。発酵終了後、発酵液のエタノール生成量をガスクロマトグラフィー(8)で分析した。

実験結果および考察

1. ビタミン要求性

培養温度毎の生育率をTable 4.に示す。供試酵母の単一ビタミン欠培地における生育率は、0-118%であり、また、9種類のビタミン欠培地における生育率は、0-79%であった。これより1種類あるいは複数のビタミン類を必須および部分的に要求することが示された。

次に生育率の結果に基づいて、供試酵母のビタミン要求性を表した（Table 5.）。中温発酵性酵母の2株（W-3, OC-2）は、ビオチンとパントテン酸を必須に、あるいは部分的に要求したが、他のビタミンの要求性は示されなかった。ビタミン要求性はこれら2種類にとどまり、また、培養温度による要求性の変化はみられなかった。

一方、低温発酵性酵母の2株（YM84, YM126）は、培養温度25、15、8℃においてイノシトール、ニコチン酸およびパントテン酸の3種類を必須に、あるいは部分的に要求した。ところが、培養温度30℃においてビタミン要求性は一挙に高まり、9種類のビタミンを全て必須に、あるいは部分的に要求した。すなわち要求ビタミンの種類が中温発酵性酵母

Table 3. Inositol medium for fermentation test

Glucose	180g	Biotin	0.02mg
(NH ₄) ₂ SO ₄	10g	Ca-pantothenate	2mg
L-histidine	100mg	Folic acid	0.0015mg
DL-methionine	200mg	Nicotinic acid	0.4mg
DL-tryptophan	200mg	p-Aminobenzoic acid	0.2mg
KH ₂ PO ₄	8.5g	Pyridoxin-HCl	0.4mg
K ₂ HPO ₄	1.5g	Riboflavin	0.2mg
MgSO ₄ · 7H ₂ O	5g	Thiamin-HCl	0.4mg
NaCl	1g	Inositol:	
CaCl ₂ · 2H ₂ O	1g		0, 0.1, 1, 10, 100, or 1000mg
H ₂ BO ₃	5mg		
CuSO ₄ · 5H ₂ O	0.4mg		
KI	1mg		
FeCl ₃ · 6H ₂ O	2mg		
MnSO ₄ · 7H ₂ O	4mg		
Na ₂ MoO ₄ · 2H ₂ O	2mg		
ZnSO ₄ · 7H ₂ O	4mg		

Ajusted to final volume of 1000ml with distilled water.
pH4.5 (adjusted with 6N-HCl or 6N-NaOH)

Table 4. Growth of wine yeasts in vitamin deficient medium at various temperatures

Vitamin deficiency ^{a)}	Growth rate (%)															
	W-3				OC-2				YM84				YM126			
	30	25	15	8 °C	30	25	15	8 °C	30	25	15	8 °C	30	25	15	8 °C
Biotin	21	79	23	69	17	18	27	74	0	98	93	92	9	92	105	92
Ca-Panto.	0	1	1	20	1	1	2	8	0	103	101	103	76	19	47	28
Folic acid	103	102	95	103	103	101	102	101	0	101	100	101	40	92	101	101
Inositol	97	96	100	95	102	100	97	96	0	52	58	49	0	12	53	1
Nicotinic	98	99	104	101	107	99	95	99	0	100	100	103	9	2	4	4
p-Aminoben.	102	101	103	102	110	95	101	100	0	118	103	103	36	106	105	107
Pyridoxin	94	97	96	99	86	90	100	98	0	97	106	103	17	101	105	103
Riboflavin	105	100	101	102	114	94	94	102	0	99	104	100	2	103	108	102
Thiamin	99	101	103	103	94	103	100	101	0	111	98	109	63	99	107	107
9 vitamins	1	1	2	3	1	2	7	3	0	79	59	19	0	1	1	1
None ^{b)}	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
(O.D. _{660nm})	1.0	1.1	1.0	1.0	1.0	1.2	1.1	1.1	0.1	1.0	1.0	1.0	0.5	1.0	0.9	1.0

a) One or all nine vitamins deficient in medium.

b) Control: nine vitamins were contained in medium; growth of the cultures (cell concentration) shown in parenthesis.

Table 5. Vitamin requirements of wine yeasts at various temperatures

Yeast-temp. ^{a)}		Vitamin requirement ^{b)}									:	Yeast-temp.		Vitamin requirement										
		Bi:Pa:Fo:In:Ni:pA:Py:Ri:Th												Bi:Pa:Fo:In:Ni:pA:Py:Ri:Th										
W- 3, 30°C		△	○	-	-	-	-	-	-	-	:	OC-2, 30°C		○	○	-	-	-	-	-	-	-	-	-
25		△	○	-	-	-	-	-	-	-	:	25		○	○	-	-	-	-	-	-	-	-	-
15		△	○	-	-	-	-	-	-	-	:	15		△	○	-	-	-	-	-	-	-	-	-
8		△	○	-	-	-	-	-	-	-	:	8		△	○	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Yeast-temp.		Vitamin requirement									:	Yeast-temp.		Vitamin requirement										
		Bi:Pa:Fo:In:Ni:pA:Py:Ri:Th												Bi:Pa:Fo:In:Ni:pA:Py:Ri:Th										
YM, 30°C		○	○	○	○	○	○	○	○	○	:	YM, 30°C		○	△	△	○	○	△	○	○	△		
84	25	-	-	-	△	-	-	-	-	-	:	126	25	-	○	-	○	○	-	-	-	-	-	-
	15	-	-	-	△	-	-	-	-	-	:		15	-	△	-	△	○	-	-	-	-	-	-
	8	-	-	-	△	-	-	-	-	-	:		8	-	△	-	○	○	-	-	-	-	-	-

a) Yeast strain and culture temperatures.

b) Bi: biotion; Pa: Ca-pantothenate; Fo: folic acid; In: inositol; Ni: nicotinic acid; pA: p-aminobenzoic acid; Py: pyridoxin; Ri: riboflavin; Th: thiamin.

Vitamin requirement: ○, essential; △, partial; -, no requirement.

と相違し、培養温度によりビタミン要求性が大きく変動した。この様に低中温（8-25℃）でイノシトールなどのビタミン要求性が、また、30℃におけるビタミン要求性の著しく増大する性質が示された。そこで他の低温発酵性酵母5株のビタミン要求

性を調べたところ、全ての菌株が15℃でイノシトールのみを部分的に要求しており、また、30℃では5-9種類のビタミンを必須あるいは部分的に要求した(9)。これらの結果から低温発酵性酵母のビタミン要求性は、低中温（8-25℃）でイノシトールおよ

び他の数種を要求し、30℃ではイノシトールを含む5-9種類と多種類を要求する性質であることが明らかになった。このように30℃のビタミン要求性が増大するのは、本温度における酵母の生育能が低下するに伴って、ビタミンの合成活性も大きく減退するためと推測した。

中温発酵性の供試2株のビタミン要求性は、従来の*S. cerevisiae*の要求性に合致した。しかし、低温発酵性*S. bayanus*の供試2株のビタミン要求性は、それと相違してイノシトールの他、数種類を要求し、ピオチンを要求しなかった。下面発酵ビール酵母(*S. carlsbergensis*)の低温における生育には、ピオチンとイノシトールの必須的必要性(10, 11)が、また、清酒酵母(*S. sake*)の場合に、パントテン酸とイノシトールの必須的必要性(12)が報告されている。それらのビール酵母および清酒酵母は低温発酵性を有する酵母株と推定され、また、イノシトール要求性であって、今回の低温発酵性ワイン酵母と関連したビタミン要求性であることが認められた。

酵母の増殖因子としてのイノシトールは、フォスファチジルイノシトールとそのリン酸塩の構成成分であり、これらのリン脂質が細胞膜に存在して膜流動性に関与しており、また、物質代謝の情報伝達物質としての機能を有する。酵母はイノシトール合成能ならびにイノシトール取込み能を有している(13)。中温発酵性酵母(*S. cerevisiae*)は強力なイノシトール合成能を有しており、イノシトール要求性を

示さないと考えられる。これに対して、低温発酵性酵母(*S. bayanus*)はイノシトール合成能が弱いこと、さらに低温や30℃の中温において必須的必要性を示したことから、イノシトール合成酵素群の温度感受性であることが推測された。

低温発酵性酵母がイノシトールなどのビタミン要求性を有すること、および要求性が生育温度により変化することは、発酵液中のビタミン濃度と発酵温度が酵母の生育とアルコール発酵に影響することを意味しており、発酵工程において注意すべきことである。

2. イノシトール培地における発酵試験結果

(1) 発酵経過：発酵温度8℃および30℃における発酵経過をFig.1.に示す。中温発酵性酵母OC-2株の場合、8℃発酵におけるイノシトール10および100ppm濃度が良好な発酵経過であった。1ppm以下の濃度では発酵が遅れたが、無添加区においてもほぼ同様に発酵が行われた。30℃発酵では10ppm以下の濃度で良好な発酵経過であり、発酵に対するイノシトール濃度の影響は小さかった。

低温発酵性酵母YM84株では、イノシトール濃度の影響が大きく現れた。8℃発酵の場合、良好な発酵経過が10ppm以上の濃度であり、1ppmでは発酵が遅れており、0.1ppmおよび無添加ではごく僅かの発酵にとどまった。30℃発酵ではいずれの濃度においても途中で発酵が停止しており、とくに1ppm以下の濃度では僅かの発酵であっ

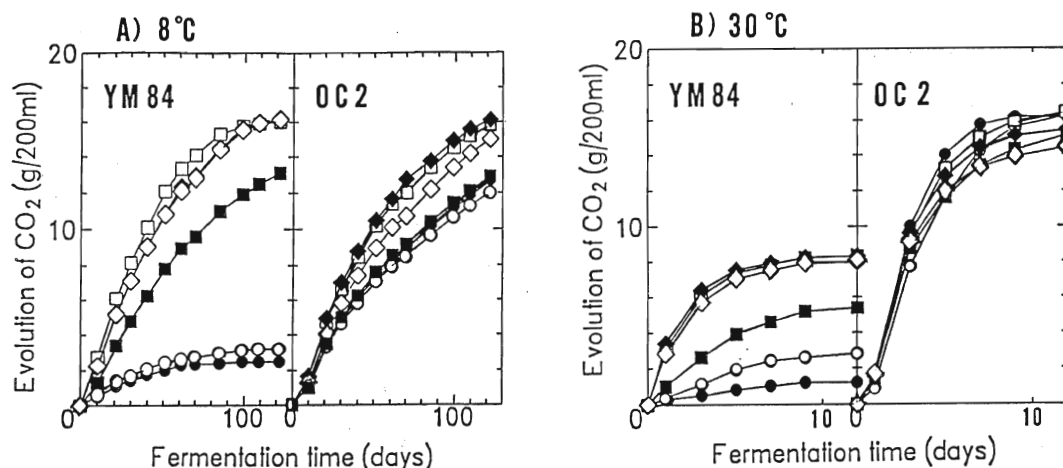


Fig. 1. Time course of alcoholic fermentation by mesophilic wine yeast OC-2 and cryophilic wine yeast YM84. Inositol medium (200ml scale: 18% glucose, 0-1000ppm inositol) was fermented at 8℃ and 30℃. Symbols: ●, 0ppm; ○, 0.1ppm; ■, 1ppm; □, 10ppm; ◆, 100ppm; ◇, 1000ppm.

た。この発酵停滞現象は供試した低温発酵性酵母の特性(6)であり、30℃において酵母の生育が微弱となったことに起因したと考えた。

(2) エタノール生成量：各発酵液のエタノール生成量をTable 6.に示す。

OC-2株の場合、30℃発酵におけるエタノール生成量が9-10%であって、イノシトール濃度の影響が小さかった。しかし、8℃発酵においては10ppm以上の場合にエタノールを10%以上生成したが、1ppm以下においてエタノール生成量が7-8%であって、イノシトール濃度の影響が見られた。これは低温(8℃)において、細胞のイノシトール合成能が低下するのに対応して細胞外からのイノシトール取込みを能動的に行うために、培養液中のイノシトール濃度が影響したと推察した。

YM84株の場合、8℃発酵においてはイノシトール10ppm以上でエタノールを10%以上生成したが、1ppm以下のときエタノール生成量が相

当に低下した。この結果から低温における正常な発酵のためには、10ppm以上の必要性が示唆された。30℃発酵においては、いずれのイノシトール濃度においても発酵停止を起こしたために、エタノールが低生成であった。

以上の結果から、中温性酵母および低温性酵母ともに低温発酵の場合には、イノシトールの存在が関係しており、その必要濃度として10ppm以上であることが認められた。また、中温発酵の場合、中温発酵性酵母はイノシトール濃度の影響を受けないが、低温発酵性酵母ではイノシトール要求性であるために、10ppm以上の濃度が必要と認めた。

3. ブドウ果汁におけるビタミン濃度とアルコール発酵

ワイン酵母のビタミン要求性とアルコール発酵への影響を、ブドウ果汁中のビタミン濃度から考察した。先ずブドウ果汁(果もろみ)中のビタミン濃度を文献値(14-16)から示す(Table 7.)。同時

Table 6. Alcoholic fermentation in inositol medium by wine yeasts

Yeast strain	Fermentation temp. (°C)	Ethanol production (v/v%)					
		Inositol (ppm)					
		0	0.1	1	10	100	1000
OC-2	8	7.9	8.3	8.6	10.0	10.9	10.7
	30	10.5	10.5	10.1	9.7	9.8	9.5
YM84	8	1.7	2.0	8.8	10.5	10.9	10.8
	30	0.9	1.9	3.6	5.4	5.4	5.3

Table 7. Concentrations of vitamins in grape musts and vitamin requirements of wine yeasts

Vitamin (mg/l)	Concentrations in grape musts		Vitamin requirements		Require- ment ^{c)}
	Otsuka	Amerine et al.	for		
	(1977) ⁽¹⁴⁾	(1980) ⁽¹⁵⁾	growth ^{a)}	fermen- tation ^{b)}	
		Range and average			
Biotin	0.001–0.009	0.001–0.06, 0.003	0.002	0.020	○ △ –
Pantothenic	0.2 –2	0.2 –11, 0.82	0.4	2	○ △ –
Folic acid	0.001–0.050	t –0.05, –	0.002	0.0015	–
Inositol	140 –710	200 –800 ^{d)}	2	≥10	○ △ –
Nicotinic acid	0.3 –18	0.3 –9, 3.3	0.4	0.4	○ –
p-Aminobenzoic	0.04 –0.05	0.01 –0.09, 0.05	0.2	0.2	–
Pyridoxin	0.1 –0.9	0.1 –2.9, 0.42	0.4	0.4	–
Riboflavin	0.06 –1.0	t –1.5, 0.02	0.2	0.2	–
Thiamin	0.2 –0.5	0.1 –1.2, 0.33	0.4	0.4	–

a) Data from Table 2. b) Data from Tables 3. and 6. c) Data (growth temperature: 8-25°C) from Table 5.; ○: essential, △: partial, -: no requirement. d) Amerine et al. (1970)⁽¹⁶⁾.

に、ワイン酵母のビタミン要求性を示した。

Table 7. のデータからブドウ果汁（果もろみ）中には、9種のビタミンが全て含有されていた。また、パラアミノ安息香酸を除く8種類の濃度は、ワイン酵母の生育に必要な濃度にほぼ合致していた。今回の供試酵母4株の要求するビタミンはビオチン、パントテン酸、イノシトールおよびニコチン酸であった。これらのうちイノシトールとニコチン酸は、ブドウ果汁に十分に高濃度に含有されていた。とくに低温発酵性酵母はイノシトール10ppm以上を要求したが、ブドウ果汁の濃度はその10倍以上であった。ブドウ果汁のビオチンとパントテン酸の濃度は酵母の生育必要量をほぼ満足させるが、アルコール発酵試験の培地濃度（生育試験培地の5-10倍濃度）に達しない場合があることが示された。従って、中温性ワイン酵母（*S. cerevisiae*）はビオチンとパントテン酸の要求性を有しており、実際のワイン仕込みにおいては、これらの濃度も注意すべき点となる。これに関連して、国内の酒税法ではパントテン酸の補添が許可されている。

供試した低温発酵性ワイン酵母（*S. bayanus*）の2株は、8-25℃においてイノシトール単独、あるいはイノシトールの他パントテン酸およびニコチン酸を要求した。また、30℃において生育が微弱となり、さらに多種のビタミンを要求した。それより低温発酵性酵母はビタミン要求性が多様であり、かつ30℃の中温においてアルコール発酵が停滞することから、ブドウ果汁成分ならびに発酵温度の管理についても、より注意する必要がある。

今回、ビタミン要求性試験に供試したワイン酵母は4株にとどまったが、今後、さらに多くの菌株について試験すべきと考える。国産ブドウのビタミン濃度（可食部1000グラム当り）はニコチン酸（1mg）、リボフラビン（0.1mg）およびチアミン（0.5mg）について報告¹¹⁾された。しかし、その他のビタミン濃度について文献に見出せなかった。

今後、新たにワイン酵母やその他の酵母が分離、選択されてゆくであろうが、ビタミン要求性などの生理学的性質を明らかにすることは、酵母研究ならびに発酵管理といった実用面から重要と考える。

要 約

1. ワイン酵母4株のビタミン要求性を調べた。供試株は中温発酵性 *Saccharomyces cerevisiae* 2株：W-3, OC-2および低温発酵性 *S. bayanus* 2株：YM84, YM126であった。
2. 中温発酵性の2株はビオチンとパントテン酸を必須に、あるいは部分的に要求した。これらのビ

タミン要求性は培養温度（8-30℃）によって変化せず、一定であった。この結果は従来の *S. cerevisiae* のビタミン要求性に合致した。

3. 低温発酵性の2株は8-25℃の培養温度においてイノシトール、ニコチン酸およびパントテン酸を必須に、あるいは部分的に要求した。培養温度30℃ではイノシトールなど9種のビタミンの全てを必須に、あるいは部分的に要求した。これらのビタミン要求性は中温発酵性株と相違した。
4. アルコール発酵に対する培地中のイノシトール濃度の影響を検討した。中温発酵性酵母OC-2株に対するイノシトール濃度の影響は30℃で見られなかったが、8℃では発酵の促進効果が示された。低温発酵性酵母YM84株の場合、8℃での順調な発酵には10ppm以上の濃度が必要であったが、30℃発酵ではいずれの濃度であっても発酵が停滞した。
5. ワイン酵母のビタミン要求性とアルコール発酵への影響を、ブドウ果もろみ中のビタミン濃度（文献値）から考察した。

文 献

- (1) J.P.van der Walt and D.Yarrow: Growth in vitamin-free medium, vitamin requirements, pp.86-87. In N.J.W.Kreger-van Rij (ed.), The yeasts, a taxonomic study, 3rd ed. Elsevier Science Publishers, Amsterdam (1984).
- (2) M.A.Amerine, H.W.Berg, R.E.Kunkee, C.S.Ough, V.L.Singleton, and A.D.Webb: Technology of wine making, 4th ed. p.176, Avi Publishing Co. Inc., Connecticut (1980).
- (3) 後藤昭二：醸工、39, 709-713 (1961).
- (4) M.Kishimoto, T.Shinohara, E.Soma, and S.Goto: *J. Ferment. Bioeng.*, 75, 451-453 (1993).
- (5) 岸本宗和、篠原 隆、相馬英一、後藤昭二：醸協、88, 708-713 (1993).
- (6) M.Kishimoto, A.Oshida, T.Shinohara, E.Soma, and S.Goto: *J. Gen. Appl. Microbiol.*, 40, 135-142 (1994).
- (7) 飯塚廣、後藤昭二：酵母の分類同定法、pp.61-67, 136, 東京大学出版会 (1977).
- (8) T.Shinohara and M.Watanabe: *Agric. Biol. Chem.*, 40, 2475-2477 (1976).
- (9) 押田明成：山梨大学修士論文-低温発酵性ワイン酵母の生理学的特性と遺伝学的考察、1994年3月22日。

-
- (10) 天羽幹夫：農化、53, R129-140 (1979).
- (11) M.Amaha and M.Takeuchi: *J. Inst. Brew.*, 67, 339-344 (1961).
- (12) 竹田正久、塚原寅次：醸協、57, 1109-1111 (1962).
- (13) 仁川純一：酵母のイノシトール輸送系-遺伝子の構造解析、pp.114-128. 福井作蔵監修・酵母研究最先端、医学出版センター (1992).
- (14) 大塚謙一：ブドウ酒編、pp.322-325. 醸造成分一覧、日本醸造協会 (1977).
- (15) M.A.Amerine and C.S.Ough: *Methods for analysis of musts and wines*, p.155, John Wiley & Sons, New York (1980).
- (16) M.A.Amerine and M.A.Joslyn: *Table wines*, p.240, University of California Press, Berkely (1970).
- (17) 科学技術庁資源調査会：図説食品成分表、pp. 162-163、一橋出版 (1988).