

異種酵母の混用によるブドウ酒の醸造試験

大塚謙一, 村木弘行, 四条徳崇, 増田博, 多田靖次

(昭和 33 年 9 月 30 日受理)

Use of Complex Yeast Cultures in White Wine-Making

By Ken-ichi OTSUKA, Hiroyuki MURAKI, Noritaka SHIJO,
Hiroshi MASUDA, and Seiji TADA

緒 言

元来, わが国の白ブドウ酒はいわゆる《コク味》が不足しているといわれている。このことについてはいろいろの原因が考えられるが, はっきり究明されていない。これを酵母の面からみると, 従来わが国では *Saccharomyces cerevisiae* OC-2 が多く用いられてきており, この酵母は発酵力旺盛で安全性が高いが, 酒質が単調になるきらいがある。そこで著者らは PASTEUR 以来雑菌酵母として認められてきた *Kloeckera* および *Torulopsis* を特に混用して, これらの酵母による酒質の複雑化を図ってみた。

欧米でもこの種の研究は 1953 年頃より活発になったようで, 特にソ連の研究報告が目につく。すなわち KIR'YALOVA ('53)¹⁾ および SHKLYAR ('53)²⁾ はリンゴ果汁で *Saccharomyces ellipsoideus* および *Torulopsis* の混合培養が酒質を向上せしめることを認め, 混合培養における aeration の効果にも注目している。混合比率は 1% が最もよい結果を与えている³⁾。SCHULLE ('53)⁴⁾ は *Zygosaccharomyces* (Z) の添加を行い, *Sacch. ellipsoideus* (S) との比率が $S/Z=4/1$ または $3/2$ の時が発酵率が高くなったと報じており, また, ZUBKOVA ('54)⁵⁾, RANKINE ('54)⁶⁾ らはブドウ酒酵母を数株混合して発酵させ, 単独のものより好結果をえている。CANTARELLI ('55)⁷⁾ は *Hanseniaspora* および *Kloeckera* の影響をいろいろの角度から詳細に検討している。

著者らは Delaware 果汁を用いて *Kloeckera apiculata* と *Sacch. cerevisiae* (Cruess 66), *Torulopsis* と Cruess 66 との組合せで混合培養した結果, その効果が認められたのでここに報告する。

仕 込 試 験

1. 供 試 料

1) 酒母として用いた酵母は次の 3 株である。

C-66 はブドウ酒酵母としてふつうに用いられる菌株であり, a-1, T-1 は本研究所で分離されたもので, 野生酵母として典型的とみなされる菌株である。

TABLE I 供試酵母 Strain Name and Origin of the Cultures Used

Strain No.	Name	Origin
C-66	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> Hansen Gr. III WH 1-7 (FAT)*	GOTO & YOKOTSUKA ⁸⁾
a-1	<i>Klöckera apiculata</i> (Reess <i>emend.</i> Klöcker) Janke	OHARA & NONOMURA ^{9), 10)}
T-1	<i>Torulopsis bacillaris</i> (Kroemer <i>et</i> Krumbholz) Lodder	OHARA & NONOMURA ^{9), 10)}

* Originally derived from E. M. MRAK (Univ. of California) to FAT (Faculty of Agriculture, Univ. of Tokyo) as Cruess 66.

2) 原料ブドウ果としては山梨県勝沼町岩崎産の Delaware を用い、採取してから1夜室温に放置したものを供試した。熟度は大略良好で病中害も少なかった。常法による果汁分析結果は次の通りである。

総	酸 (Total acids as tartaric).....	7.44 g/l
揮 発	酸 (Volatile acids as acetic)	0.33 //
糖	度 (Sugars by refractometer) ...	20.0 %

2. 仕込方法

1) 果汁採取：原料ブドウ果 620 kg (165貫) を除梗破碎機で破碎し、果梗 10.5 kg (2.8貫) を除き、自然流下によって果汁 255 l (1,415合) をえた。これを TABLE II に示すように区分した。亜硫酸は全く使用せず、発酵容器はホウロウのバットを用いた。

TABLE II 仕込方法 Vinification Practices

区 分 Sign	果 汁 Fresh juice*	酒 母 Starter			補 糖 Sugar added
		C-66	a-1	T-1	
	l.	l.	l.	l.	kg.
C	129	3.9	—	—	6.8
a-A	18	—	0.6	—	1.0
a-B	18	0.4	0.2	—	1.0
a-C	18	0.5	0.1	—	1.0
T-A	18	—	—	0.6	1.0
T-B	18	0.4	—	0.2	1.0
T-C	18	0.5	—	0.1	1.0
N	18	—	—	—	1.0

* Free run juice.

2) 酒母添加：別にあらかじめ Delaware ブドウの殺菌果汁を準備しておき、使用酵母の各株を別々に斜面培養から 100 ml の果汁に接種して 30°C で3日間培養し、次にこれ

を 1 l に拡大して再び 30°C で 3 日間培養したものを酒母として使用した。各区に対する添加量は 3 % とし、その内容は TABLE II に示す通りで、酵母混用区についてはそれぞれ 1:2 および 1:5 の 2 種の容量比を試験した。

また酵母混用の場合には、*Kl. apiculata* (a-1), *T. bacillaris* (T-1) の酒母のみを果汁採取の直後に添加し、24 時間おくらせて翌日 *Sacch. cerevisiae* (C-66) の酒母を添加した。この処置は C-66 の生産するアルコールによって a-1, T-1 が早くから不活性化してしまうことを防ぎ、ある程度の発育増殖を確保する意味でとったものである。

3) 補糖：酒母添加の翌日に TABLE II のように精製白糖を加えて補糖した。この補糖量は酒母の量および補糖による液量の増加をもふくめて計算し補糖後の糖濃度が 23 g/100 ml となるようにしたものである。

4) 発酵および滓引き：発酵は地下室（室温 20~25°C）で行い、主発酵はいずれも約 8 日間で終了した。発酵状態その他に関して特に差異は認められなかった。発酵終了後 4 日目に第一次、それから更に 40 日後に第二次の滓引きを行い、上澄液をビンに移して貯蔵した。

結果および考察

1. 試験酒の分析結果

発酵が終了して清澄した直後の分析結果を TABLE III に示す。分析方法はすべて常法に従った。また主要な成分については 15 カ月のビン貯蔵後の分析結果をも併記した。

ブドウ酒の品質と関連して特に注目されるのは揮発酸および揮発性エステルの量であって、*Sacch. cerevisiae* (C-66) 単用区 (C) が最も生成量が少なく、*Kl. apiculata* (a-1), *T. bacillaris* (T-1) を用いた区は多い。特に T-1 を加えた区は著明な増加を示す。しかも a-1, T-1 を単用した区 (a-A, T-A) よりも C-66 と混用した区 (a-B, a-C, T-B, T-C) が著しく大きな生成量を示している。対照としての自然発酵区 (N) がこれらの中に相当する値を示していることから考えて、こゝに現われた差は明らかに添加酒母の影響と考えるとよいであろうが、この結果から、これらの酵母を混用することにより単用の場合とは異なったある種の joint action が現われるのではないかということが想像される。SAENKO ('46)¹¹⁾ は少量の *Kl. apiculata* の存在により *Sacch. ellipsoideus* の生長が刺戟されるとのべている。この実験では逆に *Sacch. cerevisiae* が *Kl. apiculata* および *T. bacillaris* の揮発酸生成を刺戟したような結果になっている。

アルデヒドは *Sacch. cerevisiae* 単用区が最も多く、*Kl. apiculata* または *T. bacillaris* を加えた区、特にそれぞれの単用区は生成量が少ない。CANTARELLI ('55)⁷⁾ は *Kloeckera* および *Hanseniaspora* に属する数種の apiculate yeast を用いて、揮発酸の生成の多いこと、および *Kloeckera* は elliptic yeast よりアルデヒドの生成量の少ないことを認めているが、本実験の結果もこれと一致している。

不揮発酸については *Sacch. cerevisiae* を加えた区 (C, a-B, a-c, T-B, T-C) は少なく、これを加えない区 (a-A, T-A, N) は多くなっている。恐らくはリンゴ酸の分解に関する差ではないかと思われる。

15 カ月のビン貯蔵の後では、揮発酸およびアルデヒドの減少、揮発性エステルの増加が

TABLE III 新酒の分析結果 Analysis of the Wines Obtained

区分	ビン貯蔵	比重	アルコ ール	エキス	還元糖	総 酸	揮発酸	不揮発酸	揮 発 性 エステル	アルデ ヒド
Wine	Bottle storage	sp.gr.	Alc.	Ex.	R.S.a)	T. A.b)	V. A.c)	F. A.d)	V. E.e)	Ald.f)
	Month		Vol. %			g/l.			mg/l.	
C	0	0.9931	12.72	2.45	2.9	7.53	0.40	7.03	76	63
	15					7.88	0.28	7.53	264	33
a-A	0	0.9940	10.92	2.17	7.0	8.33	0.52	7.68	94	27
	15					8.39	0.39	7.90	312	20
a-B	0	0.9948	11.72	2.61	9.5	8.03	0.73	7.12	108	39
	15					7.93	0.60	7.18	294	28
a-C	0	0.9945	9.24	1.81	7.0	7.67	0.71	6.78	136	41
	15					7.96	0.53	7.30	283	34
T-A	0	0.9931	10.96	1.97	4.7	8.61	0.75	7.67	117	25
	15					7.45	0.58	6.72	280	23
T-B	0	0.9940	10.84	2.17	16.5	7.72	0.78	6.74	139	38
	15					7.32	0.53	6.66	292	29
T-C	0	0.9953	11.72	2.74	12.4	7.80	0.87	6.71	155	40
	15					7.92	0.58	7.19	296	35
N	0	0.9946	13.08	2.94	7.2	8.40	0.61	7.64	146	33
	15					7.93	0.53	7.27	287	30

a) Reducing sugars as glucose ; b) Total acids as tartaric ; c) Volatile acid as acetic ;
d) Fixed acid as tartaric ; e) Volatile esters as ethylacetate ; f) Aldehyde as acetaldehyde.

認められたが、不揮発酸についてのみは増加した区も減少した区もあって、一定の傾向を示していない。

2. 試醸酒の利き酒結果

分析と同時に利き酒も試みたが、発酵終了直後の新酒については酒質がいずれも荒く、香味の差を明確に判定することが困難であった。15カ月の貯蔵によって調熟した後の利き

TABLE IV 試醸酒の利き酒結果 Results of Taste Testing

区 分	評 点	順 位	清澄度	評 言
Wine	Score	Ranking	Clarity	Remarks
C	16	7	Clear	
a-A	9	2	"	delicate
a-B	8	1	"	rich body
a-C	15	6	"	
T-A	12.5	4	"	
T-B	11.5	3	"	
T-C	14	5	"	ester-like odor
N	16	7	"	

酒においては TABLE IV に示す通りの結果が得られた。score は総合点が最高1、最低3として研究所員6名で採点した合計点である。

この利き酒の結果では、酒母として *Sacch. cerevisiae* を単用したものは成績が悪く、*Kl. apiculata* と *T. bacillaris* を混用したものの方がすぐれている。供試した *Kl. apiculata* と *T. bacillaris* との比較では前者の方がよく、酒母混合比としては *Sacch. cerevisiae* の2に対して1の割合のものがよい結果であった。

3. 論 議

SAENKO¹¹⁾ は *Kl. apiculata* : *Sacch. ellipsoideus* の比を 1:1 から 1:40 まで種々に変えて試験した結果、1:10 の時に最良のブドウ酒が得られたとしている。本試験の結果では *Kl. apiculata* : *Sacch. cerevisiae* が 1:2 のものが最も好成绩であって、この混合比は SAENKO の結果に比べて *Kl. apiculata* の比率がやゝ高いように思われるが、この相違は原料ブドウ果、使用酵母株の相違などにもとづくものとも考えられる。しかしいずれにしても問題が香味の良不良というデリケートな問題だけに、今回のみの実験結果から早急には判定を下し難く、さらに数次の試験とその結果の統計的処理をまけて適当な混用比を決定すべきものと思われる。特に使用酵母株の選択、また酒母添加時における各酵母の生菌数の比率およびそれがブドウ果の自然酵母群と共にどのように消長するかの動態など、多くの残された問題の究明が必要であろう。しかし少なくとも今回の試験によって従来のような単一酒母を用いた場合よりも混合酒母を用いた方が酒質の向上する見込みのあることは明らかにされたものと考ええる。

要 約

Sacch. cerevisiae, *Kl. apiculata* および *T. bacillaris* の3種の酵母を、それぞれ単独におよび2種ずつ混合して酒母とし、白ブドウ酒の仕込試験を行った。その結果 *Sacch. cerevisiae* 単用よりも、他の酵母、特に *Kl. apiculata* を混用したブドウ酒の方がよい利き酒結果を与え、酵母混用によってブドウ酒の酒質を向上させることができる可能性が示された。試醸酒の分析結果からは、*Kl. apiculata*, *T. bacillaris* は揮発酸、揮発性エステルを増加させるが、特に *Sacch. cerevisiae* と混用した場合にその増加が著るしいこと、アルデヒドの生成量は *Sacch. cerevisiae* より少ないことなどが認められた。

終りに酵母株を分譲され、また種々御助言を戴いた本研究所の小原巖教授に御礼申し上げますと共に、利き酒に協力された研究所の諸兄にも深謝の意を表します。

文 献

- 1) KIR'YALOVA E. N. : Importance of joint action of various types of yeast in increasing the quality of wine. (transl.) *Mikrobiol.*, **12**, 123 (1953) ; *C. A.*, **50**, 5233 (1956)
- 2) SHKLYAR, M. Z. : The effect of aeration on the proliferation rate and fermentation intensity of mixed yeast cultures. (transl.) *Ibid.*, **12**, 130 (1953) ; *C. A.*, **50**, 5236 (1956)

- 3) KIR'YALOVA, E. N. and M. Z. SHKLYAR : The selection of yeast strains for the combined culturing in wine making. (transl.) *Ibid.*, **12**, 141 (1953) ; *C. A.*, **50**, 5974 (1956)
- 4) SCHULLE, H. : Combined activity of *Saccharomyces* and *Zygosaccharomyces* during the fermentation of must. *Arch. Mikrobiol.*, **18**, 133 (1953) ; *C. A.*, **48**, 10291 (1954)
- 5) ZUBKOVA, R. D. : The role of complex yeast cultures in fruit wine-making. (transl.) *Ser. Fiziol. i Med.*, **3**, 31 (1954) ; *C. A.*, **48**, 10291 (1954)
- 6) RANKINE, B. C. : Fermentation by pairs of wine yeasts. *Australian J. Appl. Sci.*, **5**, 298 (1954) ; *C. A.*, **49**, 561 (1955)
- 7) CANTARELLI, C. : Metabolism of apiculate yeasts of the genera *Kloeckera* and *Hanseniaspora*. *Ann. microbiol.*, **6**, 85 (1955) ; *C. A.*, **49**, 13592 (1955)
- 8) 後藤昭二, 横塚勇 : 国内に保存されているブドウ酒酵母の分類, (第1報) 醸工 **34**, 537 (1956)
- 9) 小原巖, 野々村英夫 : ブドウ酒醸酵中の酵母について (第2報) 分類同定と醸造学的性質, 農化, **30**, 524 (1956)
- 10) OHARA, Y. and H. NONOMURA : Dynamic aspect of yeast-flora during vinous fermentation. Supplement to Part 2. Characteristics of the identified strains. 山梨大醸酵研, **3**, 1 (1956)
- 11) SAENKO, N. F. Complex cultures of yeast in wine making. (transl.) *Vinod. i Vinograd.*, **6**, (2), 12 (1946) ; *C. A.*, **41**, 3256 (1947)