

## ブドウ酒醸酵中の酵母について

(第3報) 果醪中における亜硫酸の殺酵母作用

小原巖, 野々村英夫, 湯目英郎\*

(昭和33年10月15日受理)

### Dynamic Aspect of Yeast-flora during Vinous Fermentation

#### Part 3. Effect of Sulfiting or Alcohol Addition on Yeasts in Grape Musts

By Yuwao OHARA, Hideo NONOMURA, and \*Hideo YUNOME

It was found that the wild yeast groups including Apiculate yeasts (A), *Torulopsis bacillaris* type (T) and Kahm yeast group (K) disappeared immediately after the addition of 150 ppm of sulfur dioxide (Must No. 3), whereas there was little difference of the yeast flora between the must sulfited with 75 ppm of sulfur dioxide (No. 2) and the unsulfited must (No. 1).

Six volume percent of alcohol added to the fresh juice inhibited the development of the A-group (*Kloeckera apiculata*) effectively, but of T-group only slightly (Fig. 3, No. 7).

On the other hand, however, it was a remarkable fact that the number of viable cells of the true wine yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) decreased according to the amount of sulfur dioxide added prior to pitching: more than eighty per cent of the total cells died in the must sulfited with 150 ppm of sulfur dioxide, and more than ninety five percent with 200 ppm, though the damage was slight with 75 ppm.

ブドウ酒の醸造では原料を完全に殺菌せず, 野生酵母の付着したまゝのブドウを仕込むのが普通である。従って醸酵中の果醪からは当然各種の酵母が分離される。著者らは先きに果醪中の主要酵母の割合を測定した際, 同時にそれら分離株の亜硫酸に対する耐性について試験し, 野生酵母の増殖を実際的に阻止するには  $\text{SO}_2$  130 ppm 以上を添加することが必要であろうと推定した。

亜硫酸は元来ブドウ酒の醸造において, その殺菌作用と同時に還元力のある点が巧みに応用されているもので, 現在でもまだ総ての点で亜硫酸に代用することの出来るものがないようである。従って果醪における亜硫酸の効用に関する研究は多いが, それが果醪中の主要酵母群の消長に及ぼす影響については, 未だほとんど明らかにされていない, これらの問題はブドウ酒醸造を微生物学的に管理する上に, 基礎的資料となるものであるから,

\* 株式会社寿屋研究部

著者らは前報<sup>1)</sup>に引き続き今回は  $\text{SO}_2$  0~200 ppm を添加した果醪で、醸酵経過中の主要酵母群の生菌数を測定して亜硫酸のブドウ酒酵母及び野生酵母に対する殺菌効果を比較試験した。なお野生酵母の増殖を抑制する他の一因子であるアルコールを醸酵開始前に添加した場合についても亜硫酸と同様比較試験したので、それらの結果を報告する。

### 供試果醪

昭和32年(1957) 度山梨県勝沼産の甲州種ブドウを10月下旬に採取し、常法により除梗破碎した後、軽く压榨して得られた果汁をよく混和し、その20 l宛をTABLE Iのように7区に区分して仕込みをした。

TABLE I 仕込区分 Vinification Records

区分 No.	果汁 Fresh <sup>a)</sup> juice	糖量 Sugar added	生成酒精(予想) Alcohol <sup>b)</sup> (probable)	亜硫酸添加 Sulfiting <sup>c)</sup> $\text{SO}_2$	酒母添加 Starter	(酵母数) (Yeast cells)
	<i>l</i>	<i>g/l</i>	<i>vol. %</i>	<i>ppm</i>	<i>ml</i>	$\times 10^6$ per <i>ml</i>
1	20	230	(13.6)	0	400	(0.8)
2	20	230	(13.6)	75	400	(0.8)
3	20	230	(13.6)	150	400	(0.8)
4	20	230	(13.6)	75	- <sup>d)</sup>	(90)
5	20	230	(13.6)	150	- <sup>d)</sup>	(80)
6	20	230	(13.7)	200	- <sup>d)</sup>	(100)
7	20	152	(6.0 <sup>e)</sup> +9.0)	0	400	(0.8)

a) Koshu (Katsunuma); b) After BENVEGNIN et al.; c) With  $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_5$ ; d) All yeasts obtained from the must No. 1~3 was reused respectively; e) Added to the fresh juice.

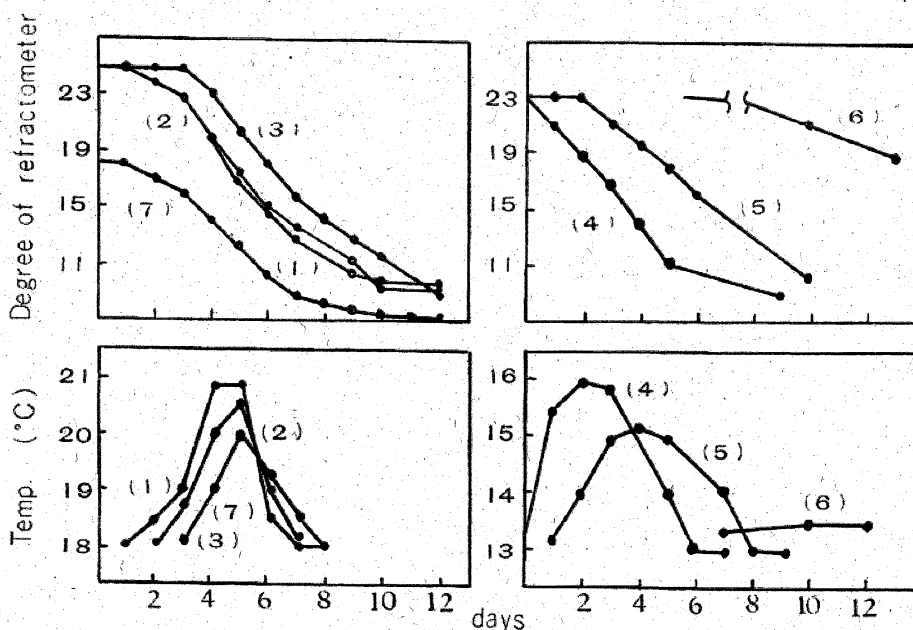


Fig. 1. Changes in Degree of Refractometer and Temperature during Fermentation of Musts.

果汁の直接還元糖分（ブドウ糖として）は 152 g/l、総酸（酒石酸として）は 7.5 g/l であった。酒母は *Saccharomyces cerevisiae* (OC-2) を殺菌果汁に純粋培養したものを使用した。No. 1, 2, 3 の3区には亜硫酸を、No. 7 区にはアルコールを添加したあと、数時間後に酒母として添加し、その増殖及び野生酵母の消長を観察した。No. 4, 5, 6 の3区は亜硫酸を加えたあと低温室 (5°C) に貯蔵し No. 1, 2, の主醸酵が終了した時、沈降した全酵母をそれぞれ別に添加して再使用しブドウ酒酵母の亜硫酸による死滅と増殖の状態を観察した。

各試験区の醸酵経過は 24 時間毎に品温及び糖濃度を測定（屈折計による）し Fig. 1 に示した通りである。亜硫酸を添加した果醪では醸酵がおくれ最高品温も低くなっているが SO<sub>2</sub> 75 ppm 添加のもの (No. 2) は無添加のもの (No. 1) と大差は認められない。

## 実験及び考察

### 1. 全酵母生菌数の測定

果汁寒天の平板培養法により、果醪 1 ml 中の生菌数を測定し、主醸酵期間 (10 日間) の増殖状態を Fig. 2 に図示した。

SO<sub>2</sub> 150 ppm 及びアルコール 6 vol. % を添加した果醪は醸酵経過が 1 日位おくれるが、対照醪と同様に果醪の糖分が約 10% 位消費される頃（仕込後数日）その最高生菌数に達し、いずれも 0.9 億/ml 内外であった。補糖をしなかった果醪 (No. 7) も全酵母数はその他のものと同程度であったので酵母数を最高まで増殖させる糖分は果汁中 (15%) に既に必要以上含まれていたものと解される。またこの果醪 (No. 7) では、最高生菌数に達した時果醪中のアルコール濃度は、その他の果醪の場合より数% 高くなっているため、果醪中の酵母の増殖停止時期は単に蓄積されたアルコール濃度によって決定されているものではないと考えられる。

このように最高生菌数には各区共大差がみられないのであるが、亜硫酸添加直後の生菌数をみると、SO<sub>2</sub> 75~150 ppm を添加した果醪ではその殺菌効果が認められ、野生酵母の亜硫酸による淘汰もこの時期にみられた。

### 2. 亜硫酸またはアルコール添加と果醪中の野生酵母

供試果醪 (No. 1, 2, 3, 7) について醸酵経過中前報<sup>1)</sup>と同様にして酵母を分離し、それらを *Saccharomyces* (S), *Apiculate yeasts* (A), *Kahm yeasts* (K), *Torulopsis bacillaris*

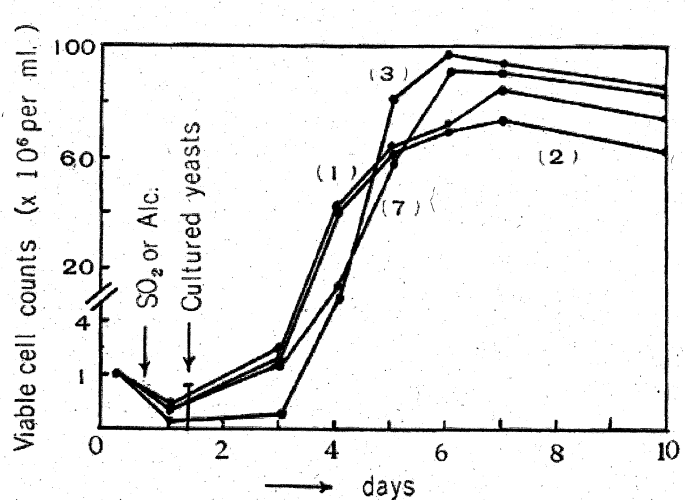


Fig. 2. Effect of Sulfiting or Alcohol Addition on the Viable Cell Counts during Fermentation of Musts.

type (T) 及びその他 (O) の5群に大別した。次にこれら各群の分離される頻度と、その時期における全酵母生菌数から各野生酵母群の生菌数を算出した結果は Fig. 3 のようになった。

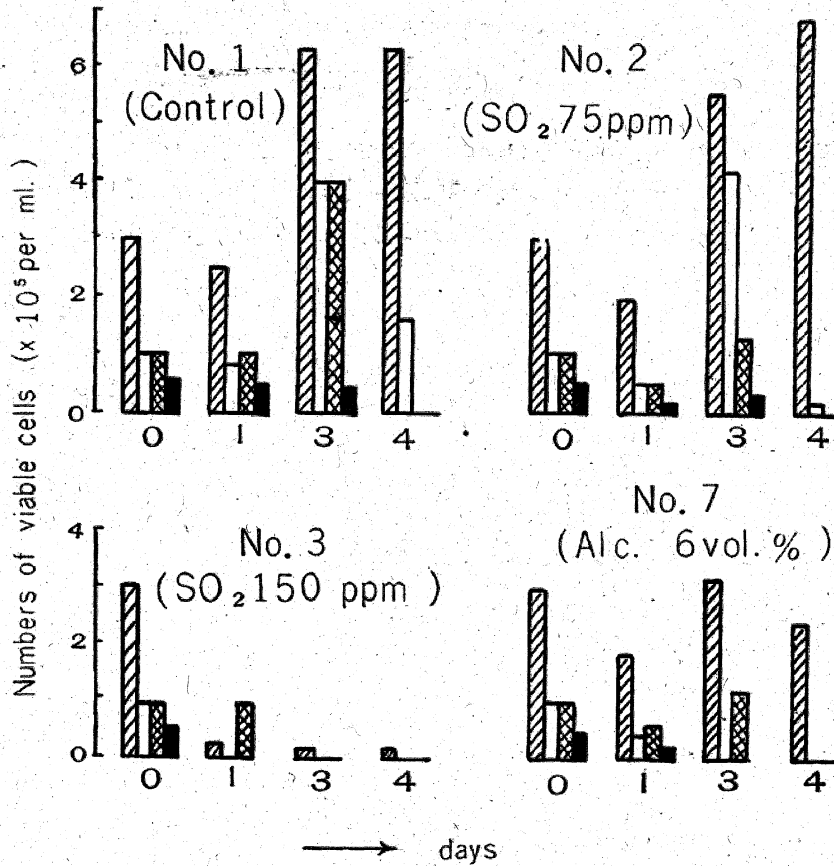


Fig. 3. Effect of sulfiting or Alcohol Addition on Various Wild Yeast Groups in Fermenting Musts. ■, T; □, A; ▨, K; ●, other non-Sacch. yeast group (O).

亜硫酸無添加のもの (No. 1) では仕込後3日目頃 (酒精分 1°) に野生酵母の増殖が最高に達し約 150万/ml となった。その内容はT群のものが最も多く、次いで、A, K群共ほぼ同じ程度に増殖し、O群は増殖していない。4日後にはK, O群共に消滅しA群も半分以下になっているのに対しT群はほとんど死滅していない。

SO<sub>2</sub> 75 ppm 添加のもの (No. 2) では野生酵母の増殖が多少阻止されているが、No. 1と同様に仕込3日後に最高になり各野生酵母群共増殖している。4日後にはO群のものは死滅し矢張りT群が残るが、対照区と比較するとA群が早く消滅していることがわかる。

SO<sub>2</sub> 150 ppm 添加のもの (No. 3) ではもはやいずれの野生酵母群にも増殖は見られなかった。

アルコールを 6 vol. % 添加したもの (No. 7) では酒精分に対する耐性の強いT群のものが僅かに増殖するがA群もO群も3日後にはみられなかった。

前報では主として分離株による耐性試験とその分布状態から、自然の flora と差をつけるには  $\text{SO}_2$  130 ppm 以上を添加することが必要であろうと推定したが今回の実験では  $\text{SO}_2$  150 ppm を加えたもの (No. 3) では、野生酵母が完全に殺菌されていた。

今回の場合の A 群は *Kloeckera apiculata* ばかりであったため A 群は亜硫酸及び特にアルコールに対して T 群より著しく弱いわけであるが、若し *Kl. magna* 等が多ければ A 群もこの場合よりも多く生き残るものと考えられる。なお S 群としたものの中には *Saccharomyces rosei* の他 *Sacch. oviformis* も含まれ前者は最初に数%の割合で存在し4日後から見られなくなったが  $\text{SO}_2$  150 ppm 添加果醪では最初から分離されなかった。後者は主発酵の終わった酒から分離されるが実際主発酵にどの程度関与しているかは問題である。概して言えば *Torulopsis bacillaris*, Apiculate yeasts, Kahm yeasts, *Sacch. rosei* 等が最初優性であるが、その割合は *Sacch. cerevisiae* の増殖のみが圧倒的であるため、それに比較すればその他のものの増殖は極めて少なく、 $\text{SO}_2$  を 150 ppm 程度果汁に加えれば事実上、最初から *Sacch. cerevisiae* (酒母及び果房よりの) 単一種によって醸酵されるようになる。

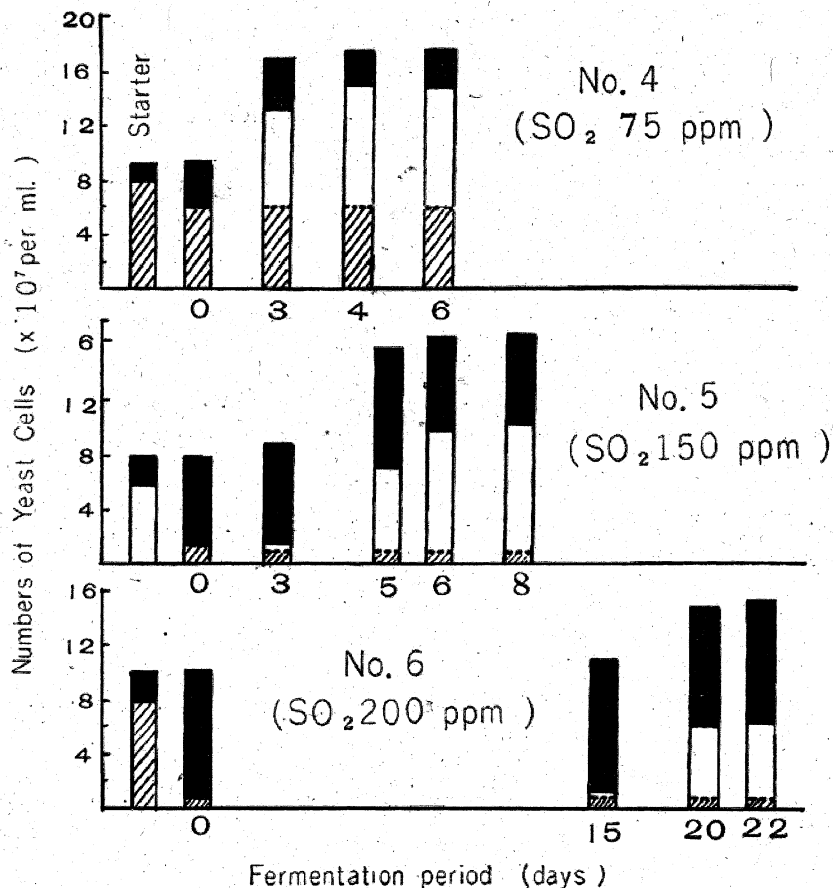


Fig. 4. Effect of Sulfiting on True Wine Yeasts in Musts.  
 ■, dead; ▨, survived; □, newly propagated cells.

### 3. 亜硫酸のブドウ酒酵母に対する影響

供試果醪 No. 4, 5, 6 はそれぞれ No. 1, 2, 3, の主醸酵の終わった酵母を全部加えて再使用し, 最初から多量の酵母量 (0.7~1億/ml) を添加したものである。その酵母はほとんど最初から *Sacch. cerevisiae* であったが No. 4 ( $\text{SO}_2$  75 ppm) では, その約 25% が, No. 5 ( $\text{SO}_2$  150 ppm) では 80% 以上が, No. 6 ( $\text{SO}_2$  200 ppm) では 95% 以上が亜硫酸処理のため死滅した, 即ち野生酵母を實際上消滅させる  $\text{SO}_2$  の濃度 (150 ppm) では酒母として接種した *Saccharomyces* もその亜硫酸のため, 意外に多数死滅することが判明した (Fig. 4)。

なお接種酵母の生菌数の多いもの (No. 4) と少ないもの (No. 5) とでは, その増殖によって到達した最高生菌数 (1.5億/ml, 1億/ml) には差が認められるが, 果醪中で新しく増殖した酵母数には大差が認められず, その量も 0.9億/ml 位で, 酒母添加量の少ない場合 (No. 1~3) と大体同じ程度である。即ち普通果醪中で増殖する酵母の最高生菌数は, その接種量, 亜硫酸, 補糖, アルコール添加 (数%), 増殖終期におけるアルコール濃度等により増減することは余り認められなかった。

### 要 約

果汁に亜硫酸またはアルコールを添加し, その醸酵中の酵母を群別に分類したあと, それぞれ各群についてその消長を観察した。

1) 亜硫酸を  $\text{SO}_2$  150 ppm 程度加えた果醪では *Torulopsis bacillaris*, Apiculate yeasts, Kahm yeasts, *Saccharomyces rosei* 等の果房に優性な各群はいずれも事実上完全に殺菌され, 増殖しなかった。  $\text{SO}_2$  75 ppm では Apiculate yeasts が多少減少するが, 全般的に亜硫酸無添加の対照区と大差がみられなかった。

2) アルコールを 6 vol. % 添加した場合は Apiculate yeasts の殺菌は完全であったが *Torulopsis bacillaris* はかなり生き残った。

3) 亜硫酸を  $\text{SO}_2$  150 ppm 添加した場合, 野生酵母は完全に殺菌されるが, 同時に酒母として接種した *Saccharomyces cerevisiae* の生菌数も大巾 (80%以上) に減少し,  $\text{SO}_2$  200 ppm では 95% 以上が増殖能力を失なった。

4) 酒母として接種した酵母が果醪中で新たに増殖する量 (酵母数) は, 増殖終止期までに蓄積されたアルコール濃度, 補糖量, 酒母添加量によっては直接影響を受けなかった。

### 文 献

- 1) 小原巖, 野々村英夫: ブドウ酒発酵中の酵母について (第2報) 分類固定と醸造学的性質, 農化, 30, 524 (1956)
- 2) BENVENIGNI, L., E. CAPT et G. FIGUET: *Traité de vinification*. 2 ed. Payot, Lausanne (1951)