

ブドウ酒醸酵中の酵母について

(第6報) 発酵最盛期から発酵終了後にかけての酵母群の動態

小原 巖, 野々村英夫

(昭和36年8月30日受理)

Dynamic Aspect of Yeast-flora during vinous Fermentation

Part 6. Group Succession from the Middle of Fermentation to Post-fermentation Period

By Yuwao OHARA and Hideo NONOMURA

In the previous papers we have reported on many yeasts species isolated from fermenting musts and on their mode of action in the musts. However, they have been limited to those of the early stage of fermentation. In the present paper we deal with yeasts isolated from the middle to last stages of fermentation and the post-fermentation period. The following is the summary :

1) Six hundred isolates obtained from the musts (Kōshu variety used) of white wine were grouped, according to their galactose assimilability and the micro- and macromorphological characters, into thirteen groups. Then the representatives, 54 strains, of each of the groups were studied taxonomically according to the system of LODDER and KREGER-VAN RIJ (1952), and classified into the following ten species. *Saccharomyces cerevisiae*, *S. chevalieri*, *S. oviformis*, *S. fermentati*, *Schizosaccharomyces pombe*, *Candida robusta*, *Torulopsis colliculosa*, *T. bacillaris*, *Kloeckera apiculata*, *Pichia membranaefaciens*. The species related to three pitching yeasts (NJK-1, a SO₂-tolerant strain of *S. cerevisiae* ; Jerez-5, *S. oviformis* ; UCD-518, *S. beticus* or *S. fermentati*) were further divided into the pitching yeast type and the other type.

2) In the middle stage, the proportions of the pitching yeast descendants to total yeasts of each must were in the following order : NJK-1 > Jerez-5 >> UCD-519. It was also noticed that a sulfur dioxide pretreatment (130 ppm) of must increased the proportions.

3) In the post-fermentation period, *S. cerevisiae* group gradually diminished and *S. oviformis* and *S. fermentati* groups survived to dominante in the musts which contained 15 vol. per cent of alcohol. This tendency was accelerated in those musts which were sulfited prior to pitching.

緒 言

ブドウ酒の醸酵は、原料であるブドウに附着している酵母が常に直接、その醪に持ち込まれるので、自然醸酵を重じている地方ではすべてこの自然の酵母にたよっているが、培養した酵母を加える場合でも結局、醪はその酵母と自然の酵母群の混合物によって醸酵されるわけである。

AMERINE ら¹⁾の綜説によれば、例えばは FLORENZANO ('49) は天日乾燥したブドウを加え再醸酵させるイタリアの特殊なブドウ酒 (Governo) からは、いわゆるブドウ酒酵母 (*Saccharomyces cerevisiae* var. *ellipsoideus*) 以外の酵母が多く分離され、それらが特有の香味をつける働きをしているとし、また MALAN ら ('58) は貴腐ブドウには *Kloeckera apiculata* が多いことを指摘し、この酵母は揮発酸やアルデヒドを多く生成するのて有害であるとしている。多くの場合培養酵母を酒母として使用すれば、産地に特有のアロマやブケーが失われるといわれ、欧州特にイタリアやボルドー地方などでは自然醸酵による酵母群の綜合作用によってのみ良質のいわゆる高級酒ができるものと信じられている。しかし一般には安全な醸造を行なうため特定の優良酵母を純粋培養したのち、酒母として醪に加えているが、最近では、性質の違った酵母を混合して酒母に用い、香味に特徴をつけるような研究もみられる。

いずれにしても、これらの研究には、醸酵中の醪における酵母群の消長に関する生態学的な知識が必要となる。この問題に関して DOMERCQ²⁾ および PEYNAUD ら³⁾ はボルドー地方で多数のブドウ酒醸造場の醪から分離した酵母の分類学的研究の結果から、ブドウ酒製造中の酵母菌種の消長につき解折を行っているが、著者ら⁴⁾ は特定の醪から多数の菌種を分離し、それらの醸酵経過中における消長を追究するという方法で研究を行ってきた。即ち前報までには主として醪の醸酵開始期から、醸酵前期にかけて分離される酵母の検索同定、新種の記載、各酵母群の消長と亜硫酸に対する反応などを報告したが、本報では更に醪の醸酵最盛期から、醸酵終了期、および貯蔵熟成期にかけて、酒母として使用した酵母の消長および同時に発生してくる各種の酵母群について、それらの動態或は変遷する状態を追跡したのでその結果を報告する。

実 験 の 部

1. 供試材料および供試醪

TABLE I に示した通り、甲州種のブドウを除梗破碎したのち圧搾した果汁にショ糖を加え屈折計で測定した糖度が26%になるまで補糖し、充分攪拌したのち6等分して、15l 宛斗瓶に分注した。そのうち3区分にはメタカリ ($K_2S_2O_8$) を SO_2 として 130 ppm 加え、いずれも醸酵栓をつけ 15°C に約 15 時間静置したのち酒母を加えた。酒母は日本醸造協会ブドウ酒酵母1号 (*S. cerevisiae* OC-2 の亜硫酸耐性株：以下 NJK-1 とする) とシェリー酒酵母である Jerez-5 (*S. oviformis* の皮膜形成、集落粗面株) および *S. beticus* UCD-519 (J. B. S. CASTOR より分譲された *S. fermentati* の孢子形成能退化、皮膜形成、集落粗面株) の3株をそれぞれあらかじめ殺菌した果汁に培養したもので、その醸酵最盛期のものを醪に対し2%の割合で添加した、従ってその直後の醪では野性酵母数より培養酵母数が優勢であった。醸酵は 15°C 前後の地下室で比較的ゆるやかに行なわれ NJK-1 の醪 (K, KS) はいずれも3週間、シェリー酒酵母の醪は亜硫酸無処理区 (B,

J) が 3.5 週間, 亜硫酸処理区 (BS, JS) は 4 週間で主醸酵を終った。

TABLE I

仕込方法および醪区分 *Vinification Practices*

区 分	補 糖	酒 母	酒母として使用した酵母		
Must	Lot	Sugaring*	Starter	SO ₂	Pitching yeast used
	<i>l</i>	% ^{a)}	<i>l</i>	<i>ppm</i>	
K	15	26	k : 0.3	0	} <i>Saccharomyces cerevisiae</i> OC-2 ^{b)}
K S	15	26	k : 0.3	130	
B	15	26	b : 0.3	0	} <i>S. beticus</i> UCD-519 (<i>S. fermentati</i>),
B S	15	26	b : 0.3	130	
J	15	26	j : 0.3	0	} <i>S. oviformis</i> RIF-7129, Sherry
J S	15	26	j : 0.3	130	

*) Cane sugar was added to the must (Kōshu) which contained originally 15.7 g/dl of reducing sugars as glucose and 0.56 g/dl of total acids as tartaric (pH 3.20).

a) By refractometer reading, b) SO₂-tolerant strain, c) Acquired from Univ. of California, Davis (UCD), a nonsporulating, pellicle forming and dull-colony strain, originally isolated from a Spanish sherry by Prof. H. SCHANDERL, d) A pellicle forming and dull colony strain.

2. 試料採取および酵母の分離

上記 6 種の醪より酵母を分離する場合, 試料の採取時期は仕込後の日数よりは, それぞれ醪の醸酵経過に対応した時期を選んだ。即ち Fig. 1 に示したように生菌数がおよそ最高に達した醸酵最盛期に第 1 回目の試料 (I) を採り, 酒精分がおよそ最高に達し醸酵が終りに近づいた時期に第 2 回目の試料 (II) を採り, その後は, 滓引きを 2 回行ない, 主醸酵に関与した酵母が殆んど除去されてから, なお暫く放置したのち生じた沈澱物 (III) および醸酵容器の上部に空間をあけたまま翌年初夏まで放置し, その液面に生じた皮膜 (IV) を試料とした。試料 I ~ II は試料採取時, 醪全体を均一にするよう攪拌したのち採集し, 試料 IV は皮膜のみで沈降しているものは含まないものである。

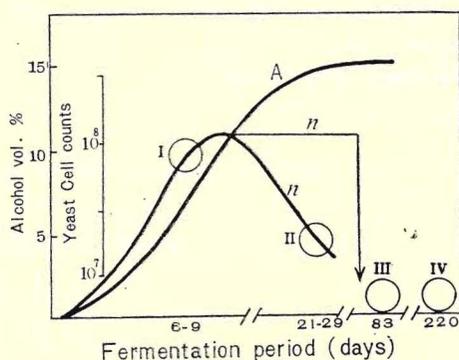


Fig. 1. Conditions of the musts at the periods (I—IV) sampled. A, Alcohol; n, total yeast cells; n', viable yeast cells; I, middle stage of fermentation; II, last stage of fermentation; III, lees; IV, pellicle on the must. Arrow indicates racking.

分離培地に果汁寒天(ブドウ果汁を醗に水で希釈しショ糖で B11g. 10° となし, 酸性ソーダで pH 5.8 に補正し, 寒天 2% を加える) を使用し, 希釈分離法により, 各分離試験毎に, 無作為抽出方式で 25 株ずつ合計 600 株を分離し斜面培養として, 分群試験に供した。それらから更に分類学的実験に供した酵母は希釈分離法を繰返して純粋にした。

3. 分離した酵母の分群と分類および論議

1) ガラクトース資化能による分群

酒母に使用した種類の酵母は Fig. 2 に示したようにガラクトースの資化能によって 2 分することができる。また醗の主醗酵以後の段階から分離される酵母群には培養的および形態的には *S. cerevisiae* に類似しているが, ガラクトースの資化能のない点で区別されるものが多いので, 始めに分離株全部についてガラクトースの資化試験を行なった。

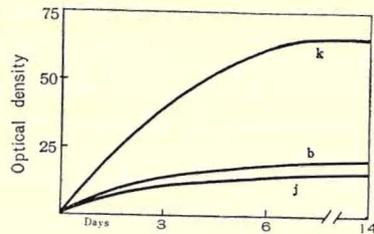


Fig. 2. Growth of wine yeast JK-1 (k), *S. beticus* (b), and sherry yeast Jerez-5 (j) in the Wickerham's medium containing 0.5 per cent galactose. For yeast strains see TABLE I.

ガラクトースの資化試験は WICKERHAM⁵⁾ の液体培地で 25°C に培養し, 1 週間後および 2 週間後に Klett 型光電比色計で吸光度を測定し, 無糖培地のものと比較した。その結果は TABLE II の通りであった。即ち NJK-1 を酒母とした醗 (K, KS) ではガラクトースを資化しないもの (-) が, シェリー酒酵母の醗 (B, BS, J, JS) ではガラクトースを資化するもの (+) が, 酒母として添加した酵母と区別されるもので, 醗によってはこれらの酵母が可成増殖しており, また醗酵終了後には一般にガラクトースを資化しない酵母が多くなった。

TABLE II

ガラクトース資化能否により分群された分離菌株数の分布

Grouping Assimilation of each 25 Isolates
Obtained from Successive Stages of Different Musts

区分 Must	Assim. of galactotose	No. of isolate from				区分 Must	Assim. of galactose	No. of isolate from			
		stage : I	II	III	IV			stage : I	II	III	IV
K	{+}	25	25	24	0	KS	{+}	23	25	3	0
	{-}	0	0	1	25		{-}	0	0	22	23
B	{+}	13	16	22	0	BS	{+}	8	14	0	0
	{-}	12	3	3	23		{-}	17	11	25	25
J	{+}	19	17	23	0	JS	{+}	0	0	0	0
	{-}	6	8	2	23		{-}	25	25	25	25

*For I-IV Stages see Fig. 1.

2) 代表菌株の分類同定

次に各試料毎に、ガラクトース (+) および (-) の両群それぞれを更に形態学的並びに培養的性質によって分類学的に区別できる限り分群し、なお、その各群からの代表菌株として 54 株を選び、LODDER⁵⁾ らの方法による所定の分類学的性質を試験して検索を行なった結果、次のような属種に同定された。なお前報までに記載しなかったものおよび標準記載のみでは酵母群の消長を解析するに不十分なものなどは供試菌株の特徴を同時に記載した。

同定株とその特性

Identified Strains and their Additional Characteristics

1a. *Saccharomyces cerevisiae* Hansen Type I
(pitching yeast type)

Seven strains were studied : S-43~S-48, and NJK-1 (OC-2).

The streak culture on malt agar is shining and smooth after one month at 25°C. A more or less well-developed pseudomycelia are formed on slide culture.

1b. *Saccharomyces cerevisiae* Hansen Type II
(wild type)

Thirteen strains were studied : S-49~S-61.

The streak culture on malt agar is shining, with a tendency to have the slight structure of stripes and warts. No pseudomycelium or a primitive pseudomycelia are poorly formed on slide culture,

Galactose fermentation of one strain studied (S-61) is slow and weak.

2a. *Saccharomyces fermentati* (Saito) Lodder et
Kreger-van Rij Type I
(glistening type)

Six strains were studied : S-63~S-68.

The streak culture on malt agar is shining after one month at 25°C. No pellicle is formed in malt extract or grape juice.

2b. *Saccharomyces fermentati* (Saito) Lodder et
Kreger-van Rij Type II (dull type)

Syn. *Saccharomyces beticus* Marcilla

Eight strains were studied : S-69~S-71, S-72 (a, b, c, d), and UCD-519 (*S. beticus*).

The streak culture on malt agar is dry and rough, often folded after one month at 25°C. A ring and a pellicle are formed after the fermentation finished in malt extract or grape juice. Spores were observed in potato-plug or V-8 agar.

In the strains of S-72 group and UCD-519, spores were not observed in any sporulation media used.

The strains of S-72 group were isolated only from the must pitched with UCD-519 and they were identified with *S. beticus*.

3a. *Saccharomyces oviformis* Osterwalder Type I (glistening type)

Three strains were studied : S-62, S-73, S-74.

The streak culture on malt agar is shining. No pellicle is formed in malt extract or grape juice.

3b. *Saccharomyces oviformis* Osterwalder Type II (dull type)

Six strains were studied : S-75~S-79, and Jerez-5 (RIF-7129).

The streak culture on malt agar is dry, rough and raised. A ring and a pellicle are formed in malt extract or grape juice after the fermentation finished. Spores were observed on potato plug or V-8 agar.

There were some transitional strains in the shape and size of the cells between *S. fermentati* and *S. oviformis*. They were tentatively classified into each species.

The degree of sporulation of the type II (colony rough, pellicle former) of above two species is poorer than that of type I (colony shining, non-pellicle former). Most of strains of type II poorly sporulated only in potato-plug or in V-8 agar.

4. *Saccharomyces chevalieri* Guilliermond

Two strains were studied : S-80 and S-81.

Growth in malt extract : After 3 days at 25°C cells are oval, 3~5×5~9 μ . After one month a ring and islets are present. Growth on malt agar : After 3 days at 25°C cells are oval, 2.5~6×3.5~9 μ . After one month the streak culture is greyish white, smooth. Slide culture : Primitive pseudomycelia are fairly

well developed. Sporulation: Spores were observed even in malt agar culture, 1~4 per ascus. A conjugation precedes ascus formation. Assimilation: Glucose +, galactose + (weak), sucrose +, maltose -, lactose -, raffinose + (slow), mellibiose -. Fermentation: Glucose and sucrose.

This species is considered as one of the wild yeast groups which are isolated from the later stage of wine fermentation.

5. *Shizosaccharomyces pombe* Lindner

Two strains were studied: O-11 and O-12.

Growth in malt extract: After 3 days at 25°C cells are cylindrical with rounded ends, $2.5 \times 6 \sim 13 \mu$. Vegetative reproduction by fission. After one month, no pellicle. Growth on malt agar: After 3 days at 25°C cells are cylindrical, $4.5 \sim 5 \times 5 \sim 9 \mu$, a few round cells many also be formed. After one month the streak is glistening, light brown. Slide culture: No pseudomycelium. Spores were observed even in malt agar culture. Assimilation: Glucose +, galactose -, sucrose +, maltose +, lactose -. Fermentation: Glucose +, galactose -, sucrose +, maltose +, lactose -, raffinose +, mellibiose -.

This species was not isolated from the early stage of must fermentation and may be considered as one of the wild yeast groups of the later stage.

6. *Candida robusta* Diddens et Lodder

Two strains were studied: O-9 and O-10. These isolates grow slowly and are perishable becoming brown.

7. *Torulopsis colliculosa* (Hartmann) Saccardo

Four strains were studied: S-82~S-85. These isolated grow slowly and are perishable becoming brown.

8. *Torulopsis bacillaris* (Kr. et Krumbh.) Lodder

One strain was studied: T-11.

9. *Kloeckera apiculata* (Reese emend. Kloecker) Janke

One strain was studied: A-13.

10. *Pichia membranaefaciens* Hansen

Two strains were studied: K-16 and K-17.

3) 醪の各時期における分離菌株

上記の代表株を選びだした各単位群を一応その代表株と同一種の集まりと見做すと、それぞれの醪の各時期における群別分離株の分布は TABLE III のようになる。

TABLE III
醪の各時期における分離菌株の群別分布
Grouping of Each 25 Isolates Obtained from Successive Stages of Different Musts

区分	酵母	菌株数	No. of isolate	区分	酵母	菌株数	No. of isolate
Must	Group	stage :	I II III IV	Must	Group	stage :	I II III IV
K	{ <i>C. robusta</i>	I	1 1	{ <i>S. cerevisiae</i>	I	25 25	K S
			* * *			1	
	{ <i>C. cerevisiae</i>	II	24 23 16	{ <i>P. membranaef.</i>	II		3
			1 8			1	
	{ <i>P. membranaef.</i>	I	1	{ <i>Sz. pombe</i>	I		20 22
			20			3	
{ <i>S. fermentati</i>	II	5	{ <i>S. oviformis</i>	II	3		
		5					
B	{ <i>T. bacillaris</i>	I	1	{ <i>T. bacillaris</i>	I	1	B S
			1 1			1	
	{ <i>S. cerevisiae</i>	II	13 16 22	{ <i>S. cerevisiae</i>	II		8 14
			23			1	
	{ <i>S. fermentati</i>	I	* * *	{ <i>Sz. pombe</i>	I		6 25
			(10)(8)(3) 2			3	
{ <i>S. oviformis</i>	II	2	{ <i>S. oviformis</i>	II	(16)(11)(18)		
		2					
J	{ <i>Kl. apiculata</i>	I	1	{ <i>T. colliculosa</i>	I	1	J S
			2			1	
	{ <i>T. bacillaris</i>	II	1	{ <i>S. fermentati</i>	I		* * * 1
			1			24 25 25 24	
	{ <i>T. colliculose</i>	I	19 17 23	{ <i>S. oviformis</i>	II		* * * *
			25				
{ <i>S. cerevisiae</i>	II	3 7 2					

An asterisk (*) attached to a number indicates that similar strains of the species which were used for pitching the must.

Numbers of isolates referring to *S. beticus* (S-72 group) are given in parenthesis.

3-1) 主醱酵中の酵母

醪の主醱酵中の段階 (I, II) では、酵母として添加した酵母がどの程度、その醪中で増殖するかということが問題となるが、この実験では酒母として添加した酵母と同じタイプのものは、それを添加しなかった醪からは分離されなかったので TABLE III で星印 (*) をつけた分離株を酒母から増殖した酵母と考え、それらの百分率を示すと TABLE IV のようになる。即ち NJK-1 のような増殖力および醱酵力共に早く且つ強い酵母を酒母として充分管理された状態で添加すれば、醪中の各時期における分離菌株の群別分布中でも圧倒的優勢に増殖するのに対し、シェリー酒酵母のように醱酵力は強くとも初期増殖速度のややおくれるものでは、野生の *S. cerevisiae* 群に増殖がおさえられる、ただし Jerez-5 は亜硫酸耐性が比較的強いので、亜硫酸を加えた醪 (JS) では酵母の状態が良いかぎり醪中でも優勢に増殖できることがわかる。これらのことは、使用酵母株を別々に試験管内で培養し、初期増殖速度や亜硫酸の影響を比較した実験例 (Fig. 3) からも推察さ

れる。なお、酒母の酵母が弱い場合 (B, J) には醸酵前期の典型的な野生酵母である *T. bacillaris* と *Kl. apiculata* がその間に増加し、醸酵最盛期以後まで残存したもののあることが認められる。

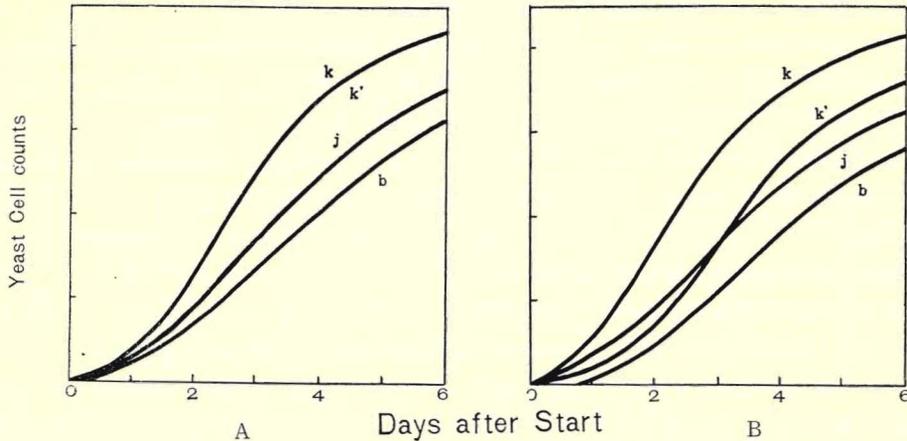


Fig. 3. Growth curves of wine yeasts (K, K') and sherry yeast (b, j) in the early stage of fermentation of the musts of B11g. 25°, pH 3.20 at 15°C. A, In the non-sulfited must; B, in sulfited (150 ppm. SO₂) must. k', Wine yeast OC-2 (*S. cerevisiae*). For other yeast see footnote to Fig. 2.

また酒母を添加する前に亜硫酸 (130 ppm) 処理を行なったものでは、醸酵前期の野生酵母群 (*C. robusta*, *T. colliculosa*, *T. bacillaris*, *Kl. apiculata*) が抑圧されたほか野生の *S. cerevisiae* も衝激を受けるため、酒母としてあとから加えた酵母の増殖により、醗中で占める割合が実際に増加したことが認められる。

TABLE IV

醸酵最盛期および終期の醗中における使用酵母数の割合

Ratios of the pitching yeasts to the Total Isolates (n)
of each Must in the Middle and Last stages of Fermentation

Stage of Fermentation	NJK-1/n		<i>S. beticus</i> /n		Jerez-5/n	
	Must*: K	KS	B	BS	J	JS
	%	%	%	%	%	%
Middle (I)	96	100	40	64	12	96
Last (II)	92	100	32	44	28	100

* See TABLE I

3-2) 主醸酵終了後の酵母

主醸酵終了後の段階 (III, IV) では、主醸酵中もっとも優勢であり、且つ主役を演じた *S. cerevisiae* 群が滓引きされ除去されるばかりでなく、次第に死滅するため減少し、残存する酵母 (生菌数) は、その大部分が、*S. oviformis* もしくは *S. fermentati* 群に遷移

した。このことは最近 DOMERCQ²⁾ もボルドー地方で多数の果醗について、醗酵終期には *S. oviformis* がブドウ酒酵母 (*S. ellipsoideus*) に次いで多く分離されたことを報告しているのと同じし、著者らは特定の醗について、その変動の状態を研究したわけであるが、この現象は、亜硫酸処理醗ではいずれも醗酵後2カ月位の間に見られ、無処理のものでは、それよりおくれ6カ月位の間に見られたので、醗酵前の亜硫酸処理により醗酵後の *S. cerevisiae* 群は、それが酒母から増殖したものであるか、ブドウ果に由来するものであるかを問わず、その消滅が促進されているように考えられる。

この *S. cerevisiae* 群が *S. oviformis* もしくは *S. fermentati* 群と交替する時期には *S. chevalieri* や *Sz. pombe*, *P. membranaefaciens* などの群も分離されるようになるが、結局供試醗のように生成されるアルコール濃度の高い環境 (TABLE V) では最後にアルコール耐性や亜硫酸耐性の強い *S. oviformis* もしくは *S. fermentati* 群が生き残り、また皮膜を形成して増殖もする結果、それが生菌数の大部分を占めるようになるものと考えられる。元来 *S. oviformis* と *S. fermentati* の両種は細胞形の僅かな相異で区別されているので Type culture と詳しく比較すれば、分離株には両種の間接的な株も多く、生態学的には同一群として取扱うかせいぜい前期のようにタイプ I とタイプ II とに区別する程度に留めるのが实际的であろう。なおこの群の酵母は、生成酒を辛口に仕上げるのに有益であり、甘口酒では再醗酵を招いて有害であるといわれている。

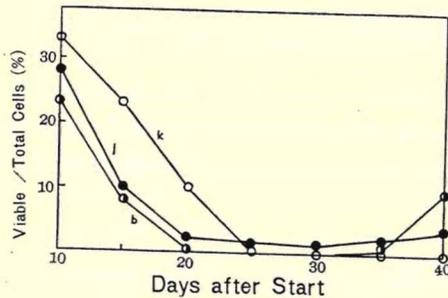


Fig. 4. Ratios of viable to total cells of each yeast (k,b,j) in the later stages of fermentation of a sulfited (130 ppm, SO₂) must of Blg. 26°, pH 3.2 at 30°C. For yeast strains see footnote to Fig. 2.

しかしもし生成酒のアルコール濃度が低ければ醗酵終了後 (III) でも *Pichia* などの真性産膜酵母群 (それらの生存を確認した) が酒の皮膜酵母として増殖していることは当然予測される。別に 300ml 容フラスコで Blg. 26° の果汁 100ml をそれぞれ NJK-1 およびシェリー酒酵母で醗酵させたのち、醗酵終了後も滓引きせず放置した実験でも同様の傾向がうかがわれた (Fig. 4)。即ち酵母の死滅する時期の生菌数は NJK-1 (k) が最低で、特に亜硫酸を加えたもので甚だしかったのに対しシェリー酒酵母 (b, j) では醗酵終了後も、それらの皮膜を形成する酵母の生菌数の占める割合が次第に増加した (生菌数の割合はローダミン染色法による)。なお、また生成ブドウ酒を1年間貯蔵したのちの分析結果 (TABLE V) でも、酒母にシェリー酒酵母を使用したものはアルデヒドおよびエステル含量がやや多く、喇酒の結果ではシェリー酒酵母を使用したものでも、特に亜硫酸を添加したもの (JS) がよく、その酵母の特徴を示した。即ち NJK-1 は容易に醗中で圧倒的な増殖を示すがシェリー酒酵母でも Jerez-5 を酒母とし、その管理、醗の亜硫酸処理、生成酒の酒精度数などに充分留意すれば殺菌しない醗中でも添加酵母の純粋培養

に近い状態で醗酵が行なわれ、またほとんどその酵母のみからなる皮膜（フロール）が形成されるので、生成酒はその酵母の特徴的な香味を持ったものとなったわけである。

TABLE V
生成酒の分析 Analysis of the Wines obtained after One Year Storage

区分	酒精	エキス	総酸 ^{a)}	揮発酸 ^{b)}	揮発エステル ^{c)}	アルデヒド ^{d)}
Must	Alcohol	Ex	Total Acids	Volatile A.	V. Esters	Aldehyde
	vol. %		g per l			mg per l
K	14.8	2.3	6.05	0.28	152	59
K S	14.7	2.3	5.75	0.40	182	78
B	14.8	2.1	5.67	0.40	273	88
B S	15.0	2.4	5.80	0.46	211	88
J	14.8	2.4	6.29	0.48	268	87
J S	14.5	2.5	6.19	0.28	222	83

a) Total acids as tartaric, b) volatile acids as acetic,

c) Volatile esters as ethylacetate, d) Aldehydes as acetaldehyde.

要 旨

1) 山梨県産の甲州種ブドウを原料とし、酵母別および亜硫酸処理別に6種類の白ブドウ酒醗を仕込み、それらから分離される酵母を次のような酵母群に分類し、それぞれの酵母群の消長を醗酵最盛期(I)、終期(II)、第2次の滓(III)および貯蔵中の皮膜(IV)に互って追跡した。

2) 分離した600株の酵母をLODDERらの方法により

Saccharomyces cerevisiae, *S. chevalieri*, *S. oviformis*, *S. fermentati*, *Shizosacch. pombe*, *Candida robusta*, *Pichia membranaefaciens*, *Torulopsis bacillaris*, *T. colliculosa*, *Kloeckera apiculata* の10種に同定し、なお *S. cerevisiae*, *S. oviformis* および *S. fermentati* は更に酒母として使用したものとその他のタイプに分けてその消長を調べた。

3) 酒母として添加した酵母が醗中で増殖し優勢になった度合はブドウ酒酵母 NJK-1 > シェリー酒酵母 Jerez-5 >> シェリー酒酵母 *S. beticus* の順であった。

亜硫酸処理 (SO₂ 130 ppm) により主醗酵中は酒母として添加した酵母群の割合が増加し、NJK-1 を添加した醗では殆んどそれが 100% となったが、Jerez-5 を添加した醗でも主醗酵中ばかりでなく、主醗酵終了後の皮膜（フロール）中にも添加酵母が圧倒的優勢となった。

4) 主醗酵が終わったあと（酒精分 15°、皮膜が形成されるような状態で貯蔵した）、*S. cerevisiae* 群は減少するのに対し、残存する *S. oviformis* もしくは *S. fermentati* 群が増殖して生菌数の大部分を占めるようになる傾向が見られた。なお *S. chevalieri*, *Sz. pombe* および *P. membranaefaciens* なども、この *S. cerevisiae* 群の死滅する時期に分離された。

上記の *S. cerevisiae* 群と *S. oviformis* もしくは *S. fermentati* 群との交替は醗酵前

に亜硫酸処理した醪の方が、処理しないものより早く起った。

終りに本研究に協力された加賀美元男、湯目英郎、川島克巳、山崎豊彦、三枝貞子の諸君に謝意を表します。

文 献

- 1) AMERINE, M. A. and W. V. CRUESS : The Technology of Wine Making. AVI Pub. Co., Westport (1960)
- 2) DOMERCQ, S. : Etude et classification des levures de vin de la Gironde. *Ann Tech. Agr.*, **6**, 5-58 ; 139-183 (1957)
- 3) PEYNAUD, E. and DOMERCQ, S. : A review of microbiological problem in wine making in France. *A. J. Enol. Vitic.* **10**, 69 (1959)
- 4) 小原, 野々村 : ブドウ酒醱酵中の酵母について (第2報) 農化 **30**, 524 (1956) ; 山梨大醱酵研 **3**, 1 (1956) ; 小原, 野々村, 湯目 : 同上 (第3~5報) 同誌 **6**, 7 ; 13 (1959) ; **7**, 1 (1960),
小原, 野々村, 湯目 : ブドウ酒の果醪から分離された新酵母, 農化 **34**, 709 (1960)
- 5) LODDER, J. and N. J. W. KREGER-VAN RIJ : *The Yeasts, A Taxonomic study.* North Holland Pub. Co., Amsterdam (1952)