

[研 究 報 文]

酵母細胞壁添加による濃縮ブドウ果汁の発酵停止の予防

後藤 (山本) 奈美、堺 哲也¹、佐藤昭佳²、戸塚 昭

国税庁醸造試験所、114 東京都北区滝野川2-6-30

¹ 現所属：中央葡萄酒(株)、401-13 山梨県勝沼町

² 現所属：天童ワイン(株)、994 山形県天童市

(Technical Report)

Prevention of Stuck Fermentations in
Concentrated Grape Must by the use of Yeast Hulls

NAMI GOTO-YAMAMOTO, TETSUYA SAKAI¹, AKIYOSHI SATO²
AND AKIRA TOTSUKA

National Research Institute of Brewing

Takinogawa, Kita-ku, Tokyo 114, Japan

¹⁾ Present address: Chu-oh Budoushu Co. Ltd.,

Katsunuma-cho, Yamanashi 401-13, Japan

²⁾ present address: Tendo Wine Co. Ltd.,

Tendo-shi, Yamagata 994, Japan

Yeast hulls were shown to be effective to prevent stuck fermentation of concentrated grape must.

Imported concentrated grape must, which is used for wine making after dilution in some Japanese wineries, sometimes suffers stuck fermentation. Its reason is probably the same as for excessively clarified must. Thus, commercial yeast hulls were added to white concentrated grape must before fermentation, and the yeast hulls were effective to prevent stuck fermentation especially in initial low yeast concentration. Viable yeast numbers of the must

with yeast hulls were higher, and methylen blue dyeing ratios were lower than the control. No significant difference except concentrations of alcohol and residual sugar was observed between the fermented wine with and without yeast hulls. (Accepted for publication 30 June 1993)

過度の果汁清澄や嫌氣的発酵によって、ワインの発酵後期に発酵が遅延したり停止したりする場合がある。Lafon-Lafourcade らは^{1, 2)}、酵母が分泌する中鎖脂肪酸がエタノールとともに酵母に阻害的に働くこと、酵母細胞壁画分を添加して脂肪酸を吸着することで発酵遅延や停止の予防に効果があることを示した。また、過度の果汁清澄による発酵遅延や停止は、酵母菌体の保持作用がなくなることや、栄養素の欠乏によると考えられていたが、Ollivier らは果汁の濁度が低いほど中鎖脂肪酸の吸着が少ないことを示した³⁾。その後、酵母細胞壁には不飽和脂肪酸、ステロール等、酸素制限条件下での酵母のアクティベーターの供給作用もあると報告されている¹⁻⁶⁾。

わが国では、ブドウの濃縮果汁（マスト）がワインの原料として利用されているが、マストワインは発酵遅延や停止に陥りやすいといわれている。この原因としては濃縮工程において添加される亜硫酸の影響との見解もあるが、濃縮果汁が過度に清澄化された果汁と同様の状態にあることが主たる要因ではないかと考え、酵母細胞壁を添加したところ、発酵遅延及び停止を防止する効果が確認されたので報告する。

方 法

酵母細胞壁は Lallemand 社製 Yeast Hull を使用し、発酵前の果汁に200mg/ℓ添加した。

仕込み1では、Pedro Ximenez（白）の濃縮果汁を比重換算糖度 22%（wt/vol）に希釈し、Lallemand 社製乾燥ワイン酵母、Prise de Mousse を10倍量の35-45℃の温湯で復元した後、250mg/ℓ、及び125mg/ℓになるよう果汁に添加した。発酵は、発酵栓を付けた720mℓ容ワイン瓶中、初発液量365mℓ、20℃で行い、発酵末期のアルコール度数を測定した。

仕込み2では、Pedro Ximenez、及び Malbec（赤）の濃縮果汁を直接還元糖換算糖度22%（wt/vol）に希釈し、Pedro Ximenez はW-3、Malbec はOC-2をそれぞれ YEPD 培地で培養後、初発酵母密度が 2×10^8 cells/mℓになるように添加し、Pedro Ximenezは20℃、Malbec は25℃で発酵させた。発酵は、発酵栓を付け空間部を窒素置換した720mℓ容ワイン瓶中、初発液量450mℓで行い、経日的にアルコール度数の測定とpH 10.6でのメチレンブルー染色⁷⁾を行い、生菌数及び染色率を求めた。

各サンプリングは、過剰の通気を避けるため、発酵栓を付けたまま内容物を攪拌、均一化し、約 5 ml を採取した。アルコール度数はアルコメイトAL-2 (理研計器) を用いて測定した。製成ワインの酢酸、グルコース及びフラクトースはF-キット (ベーリング・マンハイム) を用いて測定した。

結 果

1. 仕込み1

両酵母密度とも、酵母細胞壁添加区の方が発酵が早く終了し、生成アルコール度数が高かった (Fig. 1)。また、酵母密度の低い実験区の方が酵母細胞壁の添加効果が顕著に認められた。また、生成酒の分析値には、アルコール度数及び残糖分以外に顕著な違いが認められなかった。 (Table 1)。

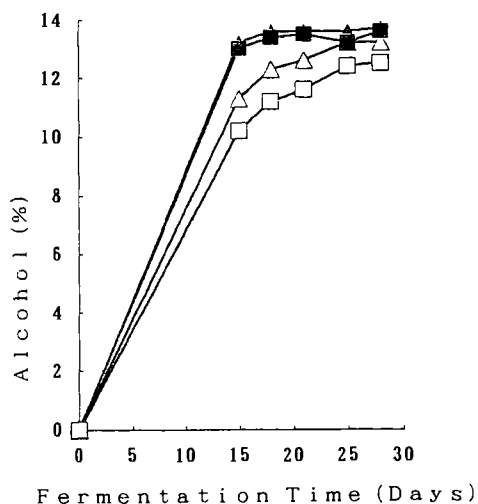


Fig. 1. Fermentation of concentrated Pedro Ximenez must after dilution with (■ ▲) or without (□ △) yeast hulls (experiment 1).

Initial yeast concentration was 250mg/l (▲ △) or 125mg/l (■ □).

2. 仕込み2

仕込み1で用いた *Prise de Mousse* は凝集性の強い酵母で、酵母密度を求めるのが困難であったため、仕込み2では凝集性の弱いW-3とOC-2を使用した。W-3を用いた Pedro Ximenez の仕込みでは、仕込み1同様、酵母細胞壁添加区の方がアルコールの生

成が早く、最終アルコール度数も高くなった。また、添加区の方が酵母生菌数が高く、メチレンブルー染色率が低かった (Fig. 2-A)。一方、OC-2を用いた Malbec の仕込みでは、酵母細胞壁無添加区でも発酵阻害が認められず、両者の発酵経過にはほとんど差異がなかった (Fig. 2-B)。細胞壁添加区と無添加区の生成酒の成分には、Pedro Ximenez のアルコール度数及び残糖分以外に、ほとんど差がなかった (Table 2)。

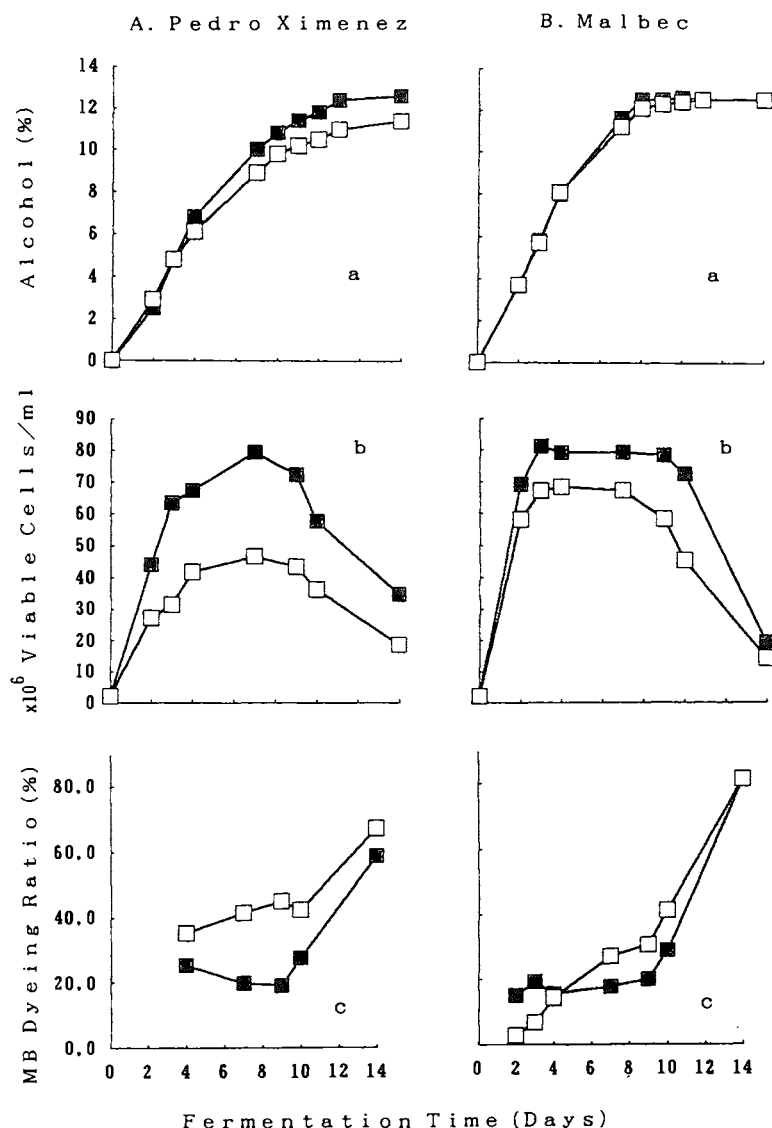


Fig. 2. Fermentation of concentrated must after dilution with (■) or without (□) yeast hulls (experiment 2).
 a: Alcohol production, b: Changes of viable yeast cells/ml,
 c: Changes of methylene blue dyeing ratio at pH 10.2.

Table 1. Analysis of wine fermented with and without 200 mg/l of yeast hulls (experiment 1).

Initial yeast concn.	250mg/l		125mg/l	
	+	-	+	-
Yeast hulls				
Alcohol (%)	13.7	13.2	13.6	2.5
Glucose (g/l)	0.09	0.49	0.10	3.42
Fructose (g/l)	0.83	5.90	0.96	15.81
pH	3.45	3.40	3.45	3.40
Total acid ¹ (g/l)	6.4	6.8	6.3	6.8
Acetic acid (g/l)	0.39	0.34	0.34	0.33
A280	7.2	6.4	6.8	6.3
A420	0.191	0.199	0.196	0.195

Concentrated must of Pedro Ximenez was diluted and fermented by a commercial dried yeast, Prise de Mousse, at 20 °C .

¹ Tartaric acid equivalent.

Table 2. Analysis of wine fermented with and without 200 mg/l of yeast hulls (experiment 2).

Must	Pedro Ximenez		Malbec	
	+	-	+	-
Yeast hulls				
Alcohol (%)	12.7	11.4	12.5	12.5
Glucose (g/l)	0.05	1.84	0.09	0.08
Fructose (g/l)	3.70	23.38	0.34	0.96
pH	3.55	3.60	3.50	3.50
Total acid ¹ (g/l)	4.5	4.6	6.8	6.0
Acetic acid (g/l)	0.11	0.17	0.43	0.48
A280	6.2	5.9	49.6	50.3
A420	0.138	0.127	4.31	4.37
A530	ND ²	ND	4.47	4.58

Must of Pedro Ximenez was fermented by W-3 at 20°C, and must of Malbec was fermented by OC-2 at 25°C.

¹ Tartaric acid equivalent.

² Not determined.

考 察

濃縮果汁は亜硫酸濃度が高いため、発酵が困難であるとも言われているが、後期の発酵遅延または停止の原因にはならないと考えられる。おそらく過度に清澄化した果汁同様、酵母の阻害物質である中鎖脂肪酸を吸着するコロイド成分が少ないことが原因ではないかと推察される。

今回の小仕込み試験では、Pedro Ximenez の濃縮果汁の発酵停止を市販酵母細胞壁の添加で回避することができた。細胞壁添加区では、無添加区より酵母のメチレンブルー・染色率が低く、生菌数が高かった。なお、ここで用いたアルカリ・メチレンブルー染色は、通常の弱酸性のメチレンブルー染色より酵母細胞内の還元酵素の活性を鋭敏に測定でき、酵母の活性状態を測定するのに適した方法であると報告されている⁷⁾。また、全酵母数も細胞壁添加区の方が無添加区より高く、細胞壁添加によって酵母の死滅・不活性化が遅れるだけでなく、酵母の増殖促進効果もあると考えられる。一方、Malbec の場合は、細胞壁無添加区でも発酵遅延や停止が認められず、この場合は細胞壁添加区も無添加区と同様な発酵経過をとった。

酵母細胞壁の添加により、酵母臭が付いたり、アミノ酸等が増加したりする影響も予想されたが、 A_{280} 値に一定の傾向は認められず、アルコール度数、残糖分以外の分析値には、細胞壁添加区と無添加区の間には有意な差が認められなかった。また、官能検査の結果、どの生成酒にも酵母臭は認められなかった。

現在、わが国では酵母細胞壁は果実酒の製造工程中に混和できる物品に指定されていないが、諸外国では発酵遅延・停止の予防及び救済のために使用されている。酵母細胞壁は、高糖濃度、残留農薬、*Botrytis cinerea*、高温醗酵¹⁾、及び嫌気発酵⁴⁾に起因する発酵遅延・停止に効果があると報告されているが、本実験の結果、わが国でワイン醸造に利用されている濃縮果汁の発酵遅延・停止にも予防効果があることが明らかになった。酵母細胞壁添加の効果と影響については、今後、仕込み規模をスケール・アップして、さらに詳細な検討が必要であると考えられる。

引用文献

1. Lafon-Lafourcade, S., C. Geneix, and P. Ribéreau-Gayon. Inhibition of alcoholic fermentation of grape must by fatty acids produced by yeasts and their elimination by yeast ghosts. *Appl. Environ. Microbiol.*, 47:1246-1249 (1984).
2. Lafon-Lafourcade, S., C. Geneix, and P. Ribéreau-Gayon. Les modalités de mise en oeuvre des ecorces de levure in vinification. *Conn. Vigne Vin*, 18:111-125 (1984).
3. Ollivier, C., T. Stonestreet, F. Larue and D. Dubourdieu. Incidence de la composition colloïdale des mouts blancs sur leur fermentatescibilite. *Conn. Vigne Vin*, 21 : 59-70 (1987).
4. Munoz, E., and W. M. Ingledew. Effect of yeast hulls on stuck and sluggish wine fermentations: Importance of the lipid component. *Appl.*

Environ. Microbiol. 55:1560–1564 (1989).

5. Bernath, K., and A. Bertrand. Les acides gras estérifiés, les sterols et le squalène des enveloppes cellulaires de levure. *J. Intern. Sci. Vigne Vin*, 26 : 41–48 (1992).
6. Munoz, E., and W. M. Ingledew. Yeast hulls in wine fermentations – A review. *J. Wine Res.*, 1:197–209 (1990).
7. 佐見学、杉下朗夫、藪内精三：酵母の活性状態を測定する方法としてのアルカリ性メチレンブルー染色法の評価、平成4年度日本生物工程学会大会講演要旨集、57 (1992).