

各種ワイン醸造用酵母のワイン醸造特性

樋川 芳仁・飯野 修一・中山 忠博・荻野 敏

Enological Characteristics of Various Wine Making Yeasts

Yoshihito HIKAWA, Shuichi IINO, Tadahiro NAKAYAMA and Satoshi OGINO

要 約

ワイン業界から個性的な県産ワイン醸成に適した優良性質の乾燥酵母の選択要望が強いことから、外国産乾燥酵母13菌株、液体培養酵母3菌株を用い、前年度の成果を基に仕込量を増大した試験醸造を行い、香味成分分析、官能評価及び味覚センサ測定により、供試酵母のワイン醸造特性を比較した。その結果、甲州種ブドウの清澄果汁を使用した果モロミの糖分減少からみた発酵経過からCRU-BLANC及び350の2菌株はDAP添加と発酵温度により旺盛な発酵力が得られた。発酵停止後、上澄み液の吸光度(660nm)の経時変化から350, 3K-4, SW, PRIMEUR, W-3及びR2の6菌株は供試酵母の中で沈降性が比較的良好であった。供試酵母が異なる生成ワインの化学分析値は色調(O.D.420nm)と全フェノール量との有意な正相関が見出され、PRIMEUR, 522及びBの3菌株はリンゴ酸量が著しく低い値を示し、350及びCRU-BLANCの2菌株は前年度と同様ノルマルプロパノール量が特異的に多いことを確認した。味覚センサ測定におけるセンサ脂質膜の解析値と、化学分析値との相関性を調べたところ、揮発酸量に負の相関が認められた。

1. 緒 言

我々は、前報¹⁾で、果汁清澄度の異なる供試酵母による果モロミの発酵経過及び生成ワインの香味成分の差異について報告した。この結果を基に、同じ原料ブドウを用いスケールアップした試験醸造を行い、香味成分の化学分析、味覚センサ測定及び官能評価により、供試酵母のワイン醸造特性について再現性を検討したので報告する。

2. 実験方法

2-1 醸造条件

2-1-1 供試酵母菌株

MAURI社(オーストラリア)のワイン醸造用乾燥酵母11菌株(PDM, Elegance, R2, 350, PRIMEUR, CRU-BLANC, 522, SAUVIGNON L3, SW, B, 796), LALVIN社(カナダ)のワイン醸造用乾燥酵母2菌株(EC1118, L2226)及び液体培養酵母は常用の*Sacch.cerevisiae* W-3, *Sacch.cerevisiae* OC-2, 既存の造成菌株 *Sacch.cerevisiae* 3K-4²⁾の3菌株を用いた。

2-1-2 供試果汁の調整

2004年10月13日、東山梨郡勝沼町で収穫した甲州種ブドウ253kgを常法により除梗・破砕後、ブドウ搾汁率や果汁清澄化処理等の醸造操作に影響を及ぼすペクチン性物質の分解酵素であるペクチナーゼ(ウルトラザイム100G 20mg/L)を加え、搾汁率62.8%の圧搾果汁を得た。圧搾後

の果汁にピロ亜硫酸カリウム100mg/Lを添加し、これを一晚室温で放置して懸濁物を沈殿させ上澄みの清澄果汁(比重1.066, Brix16.1, pH3.21, 総酸6.44g/L, リンゴ酸1.42g/L, 総窒素183mg/L, 懸濁度(OD660nm)0.042, 全フェノール533mg/L)に蔗糖を転化糖分22%になるよう補糖後、10L容ガラス瓶に7Lずつ分注し供試果汁とした。

2-1-3 供試酵母の調製

乾燥酵母は十分脱水されているので、加水させる必要があり、冷水ショックが起こらないよう恒温器で40℃に加温した殺菌水17.5mL(加水量は酵母重量の10倍)に乾燥酵母1.75gを振りかけるようにメーカーの使用 방법에準拠して加えた。5分後、この酵母膨潤液を浮遊させるようにゆっくり攪拌し、放冷20分(酵母膨潤液の温度と供試果汁のそれが5℃以内に調製)後、この酵母膨潤液を供試果汁に酒母歩合0.25v/v%になるように接種した(但し、液体培養酵母は前培養果汁4v/v%)。

2-1-4 発酵温度の違いが供試酵母による果もろみの発酵経過に及ぼす影響

前報¹⁾の結果を基に、同じ清澄果汁を使用した供試酵母による果もろみの糖分減少からみた発酵経過を確認した。すなわち、供試酵母の10菌株(PDM, R2, 522, PRIMEUR, OC-2, W-3, EC1118, Elegance, CRU-BLANC, 350)は13℃, 5菌株(L3, CRU-BLANC, SW, L2226, B)

及び3菌株(3K-4, 796, 350)は発酵助剤としてリン酸水素二アンモニウム500mg/L(以下DAPという)を添加し、室温20℃及び25℃の恒温室内においてそれぞれ発酵させた。特に、供試菌株の中でPRIMEUR菌株にはDAP添加し、CRU-BLANC及び350の菌株は発酵温度の違いが果もろみの発酵経過に及ぼす影響を調べた。

供試酵母による果もろみの発酵速度について、発酵末期の還元糖の経日変化を測定し、ほぼ4g/Lに達するまでの酵母添加後の発酵日数を求め比較した。又、この還元糖量を発酵停止の日安としてピロ亜硫酸カリウム100mg/Lを添加して行った。

2-1-5 供試酵母の沈降速度

酵母の沈降速度の指標として、JEONG Seok Taeらの方法³⁾により供試酵母の沈降速度を測定した。すなわち、発酵停止後の各もろみを再懸濁させた後、液面から6cmのサンプルを経目的に採取し、OD660nm値を測定した。

2-1-6 各もろみの澱引き・ろ過

発酵が終了した各もろみの上澄み液のOD660nm値が変化しなくなったと判断された時に遊離亜硫酸が30mg/Lになるようピロ亜硫酸カリウムを加えて澱引きを行い、メンブランフィルター(ポアサイズ:0.8 μ m, ADVANTEC CELLULOSE ACETATE)でろ過し、生成ワインの分析試料等とした。

2-2 分析方法

2-2-1 pH, 色調, 全フェノール, 総窒素, 還元糖, リンゴ酸等

pHはpHメータ((株)堀場製作所, F-21), 色調は分光光度計((株)島津製作所, UV-1200)で測定した。全フェノールはSingletonらの比色法⁴⁾に準じて行い、総窒素はセミマイクロケルダール法⁵⁾で測定した。還元糖はソモギーの変法⁶⁾で測定した。リンゴ酸は酵素法(Fキット, ロシュ・ダイアグノスティックス(株))で測定した。その他は国税庁所定分析法⁷⁾に基づいて分析した。

2-2-2 揮発成分, 高級アルコール及び脂肪酸エチルエステル

アセトアルデヒド, 酢酸エチル, ノルマルプロピルアルコール, イソブチルアルコール, イソアミルアルコール, 酢酸イソアミル, カプロン酸エチル及びガブリル酸エチルの分析はガスクロマトグラフを用い既報⁸⁾によった。

2-2-3 味覚センサによるサンプル測定

味覚センサは(株)インテリジェントセンサーテクノロジー(神奈川)の味認識装置SA402Bを用い、サンプル(生成ワイン18点)の味の識別が可能か否かについて検討した。表1の各センサ脂質膜を用い、表2のセンサ変換表により味覚を推定した。すなわち、基準サンプル(W-3)の測定値を基に補正処理を行い、その他のサンプルは基準サンプルに対する差分出力とした。この補正処理データを用い、同社のコンピュータ解析装置により表2の味覚項目について人間が感じる味強度の違いを推定した。

表1 センサ脂質膜の組成

センサ名	脂質	可塑剤
AC0	Palmitic acid	DOPP
AN0	Phosphoric acid di-N-decyl ester	DOPP
C00	Tetradodecyl ammonium bromide	NPOE
AE1	Tetradodecyl ammonium bromide	DOPP
AAE	Trioctylmetyl ammonium chloride	DOPP
	Phosphoric acid di-(2-ethylhexyl) ester	DOPP
OE1	Tetradodecyl ammonium bromide	DOPP
	n-tetradodecyl alcohol	

DOPP: Dioctyl phenylphosphonate

NPOE: 2-nitrophenyl octyl ether

表2 センサ変換表

味覚項目	使用したセンサ
酸味	AC0相対値
苦味雑味/食	C00相対値
渋味刺激	AE1相対値
にがり系苦味	AN0CPA値
苦味/食	C00CPA値
渋味	AE1CPA値
旨味	AAE相対値
塩味	OE1相対値
旨味コク	AAECPA値

2-2-4 採点法によるサンプルの官能評価

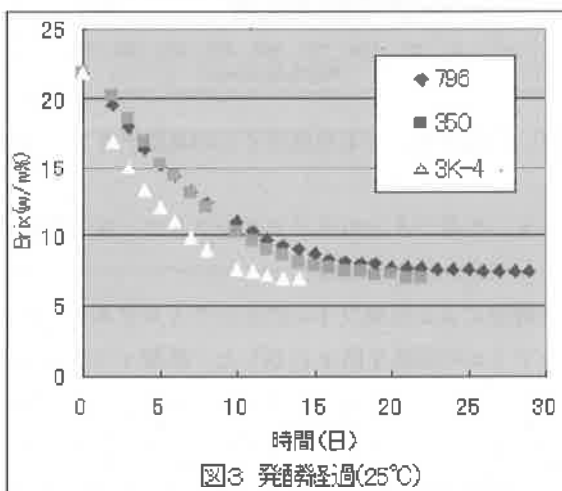
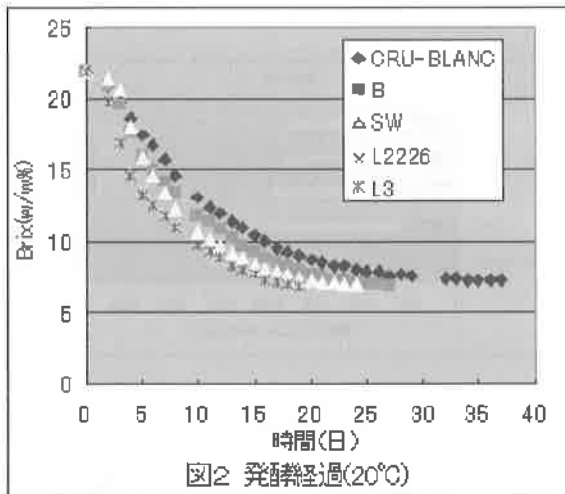
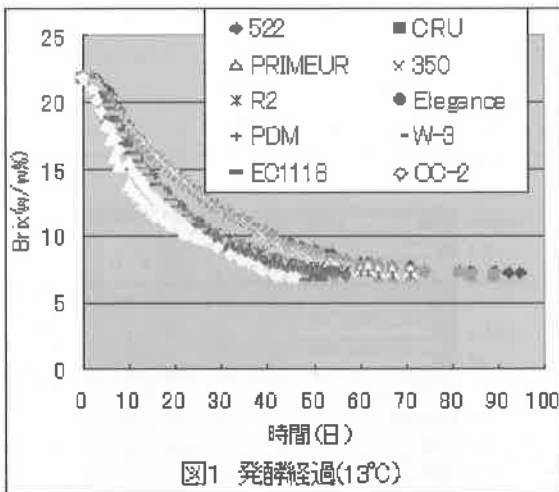
官能評価は色調(0~1), 清澄(0~1), 香り(0~6), 味(0~8), 調和(0~4)の5つの項目について採点法により県内ワイン製造業者24名により実施した。

3. 結果及び考察

3-1 供試酵母の発酵経過

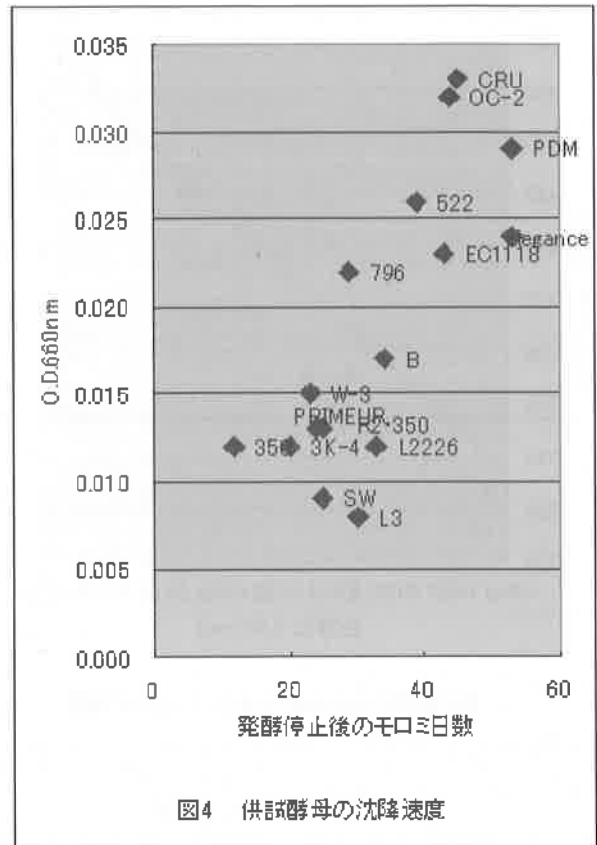
発酵温度の違いが供試酵母による果もろみの発酵経過に及ぼす影響を図1, 図2, 図3に示した。その結果、

CRU-BLANC及び350菌株はDAPと発酵温度により発酵速度が著しく速くなことが分かった。



3-2 供試酵母の沈降速度

アルコール発酵が終了した酵母は塊を形成して仕込容器の底に沈降していくが、各モロミの澱引きまでにおける上



澄み液の液面から6cmの位置でのOD660nmを経日変化を調べ、供試酵母による各もろみの上澄み液のOD660nm値が変化しなくなったと判断された日との関係を供試酵母の沈降速度として図4に示した。

その結果、W-3、350 (13及び25°C)、PRIMEUR、3K-4、R2及びSW菌株の沈降速度は比較的速いことが分かった。これらの酵母を使用することにより発酵終了後の澱引き作業を早く行うことが可能であると考えられる。

3-3 生成ワインの色調と全フェノールの関係

澱引き・ろ過後における供試酵母による生成ワインの黄色度(OD420nm値)と全フェノールとの関係を図5に示した。今回、色調(OD420nm値)と全フェノールとの関係に有意な正の相関が認められた。酸化防止剤として使用される亜硫酸はワインの色調と深い関係があることから、供試酵母の亜硫酸耐性やポリフェノール類の抽出効率⁹⁾などの検討を行う必要があると考えられる。

3-4 生成ワインのリンゴ酸量

供試酵母による生成ワインのリンゴ酸量を分析した結果(図6)、PRIMEUR、522及びB菌株は比較的にリンゴ酸量が低い値を示した。このことは、前報と同様にワイン醸造用酵母のリンゴ酸分解能⁹⁾によるものと考えられ再現性を確認した。

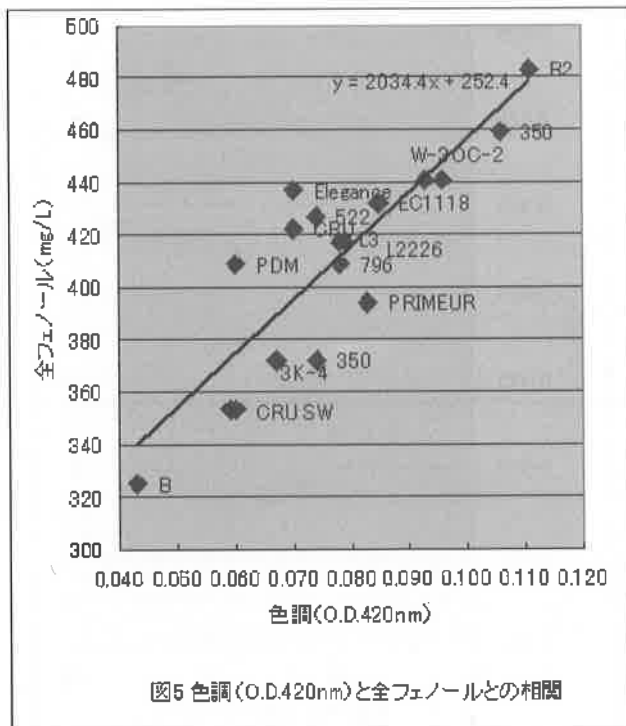


図5 色調(O.D.420nm)と全フェノールとの相関

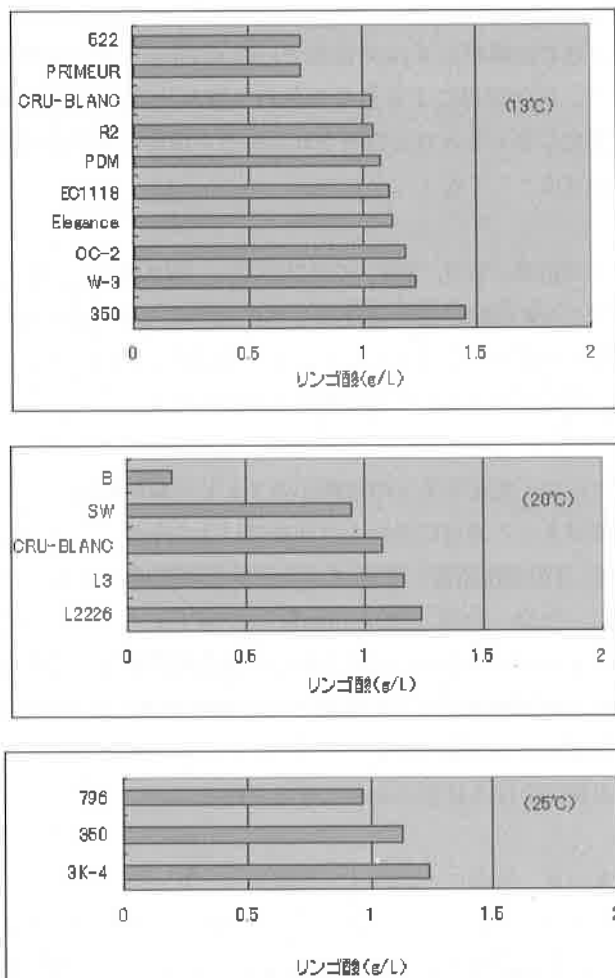


図6 供試酵母による生成ワインのリンゴ酸量

3-5 生成ワインの高級アルコール量

供試酵母による生成ワインの高級アルコールを分析した結果(図7), 350及びCRU-BLANCの2菌株は前報¹⁾と同様, ノルマルプロパノール生成量が特異的に多いことを確認した。

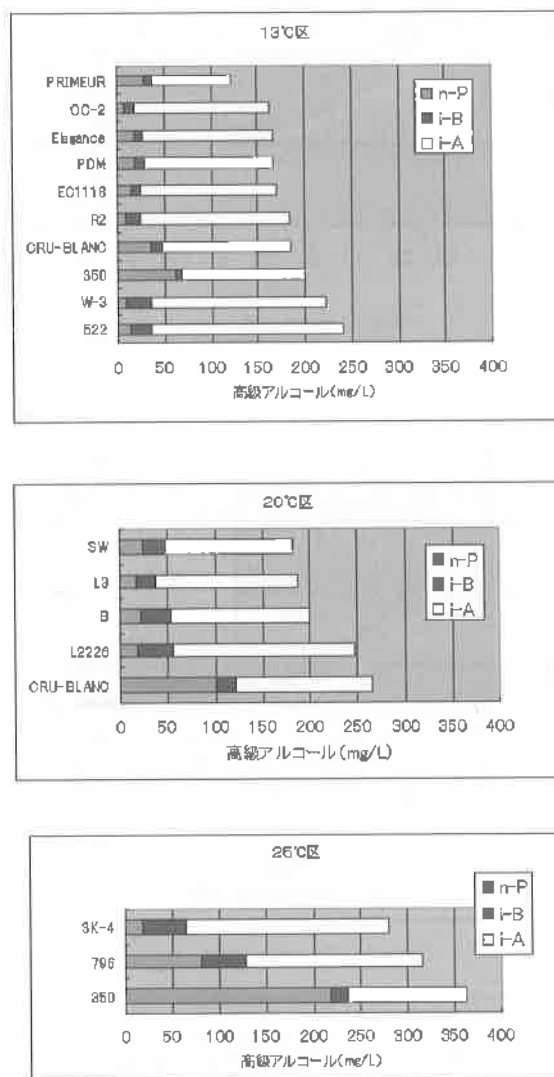


図7 供試酵母による生成ワインの高級アルコール量

3-6 生成ワインのイソアミルアルコールと酢酸イソアミル量との関係

供試酵母による生成ワインのイソアミルアルコールと酢酸イソアミルの関係を図8に示した。酢酸イソアミルは高級アルコールの一つであるイソアミルアルコールとアセチルCoAを基質としてアルコールアセチルトランスフェラーゼにより酵母細胞内で作られることが報告¹⁰⁾されており, 同様な傾向を示すことが分かった。

3-7 味覚センサの解析値と成分分析値との関係

味覚センサ測定における2-Nitrophenyl octyl ether Tetradodecyl ammonium bromideの脂質膜で構成されるセンサCOO相対値と、化学分析による揮発酸量との相関性を図9に示した。

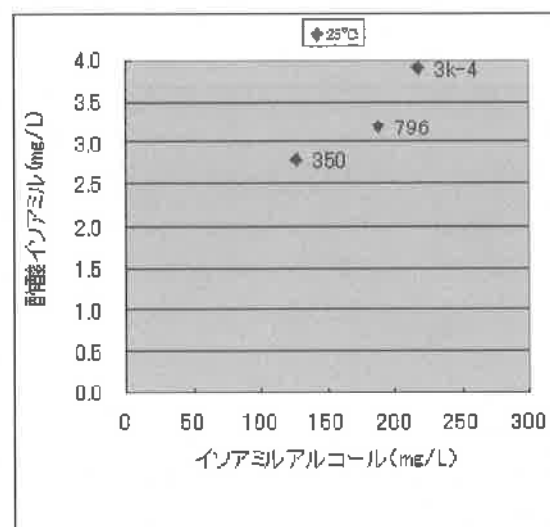
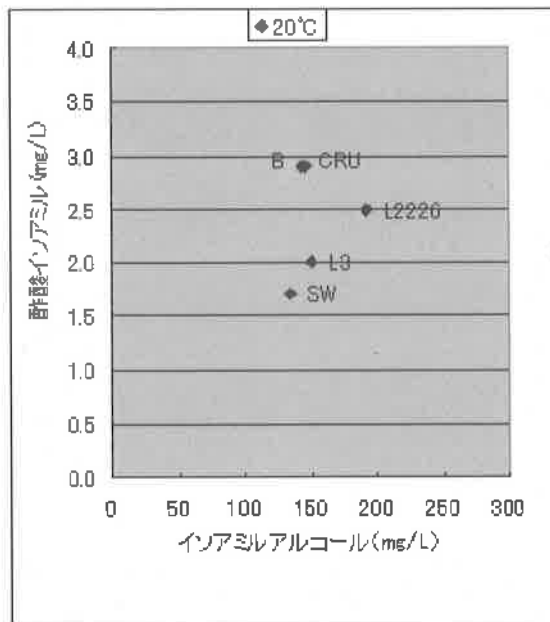
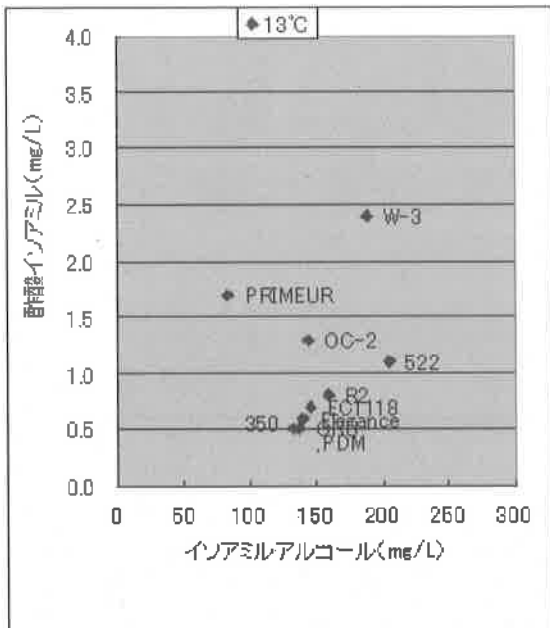


図8 供試酵母による生成ワインのイソアミルアルコールと酢酸イソアミルとの関係

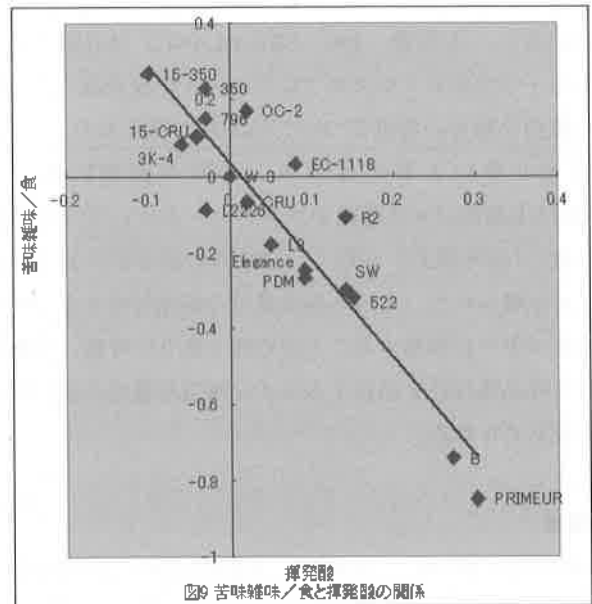


図9 苦味雑味/食と揮発酸の関係

その結果、味覚センサの解析値の一つである「苦味雑味/食 (COO相対値)」と揮発酸量は有意な負の相関があり、酸性苦味は酸の濃度が高くなると解離が抑制され、結果的に苦味が減少したと思われるが、味覚センサは味物質に対して広い範囲に、応答するので必ずしも化学分析値と対応しないかもしれない。また、味覚センサによる味の評価では、PRIMEURはW-3をコントロールとして「苦味雑味/食」「渋味刺激」が弱いことが分かった。

3-8 生成ワインの官能評価

採点法 (20点満点) によるサンプル (生成ワイン18点) の官能評価結果を表1に示した。

表1 採点法によるサンプルの官能評価

	色調	清澄	香り	味	調和	計
最大値	1.0	1.0	3.3	3.8	2.4	11.0
最小値	0.6	0.6	2.0	2.8	1.6	8.4
平均	0.8	0.9	2.9	3.5	2.1	10.1

官能的に特徴のある供試酵母が数点あったが、原料果汁の過剰清澄化による発酵遅延などが影響しているものも多くスコアは全体的に低い結果であった。

4. 結 言

甲州種白ワインの発酵において、ワイン醸造用酵母による醸造特性を比較した。同じ清澄果汁を用いてスケールアップによる醸造試験を行ったところ、発酵温度及び発酵助剤により旺盛な発酵力が認められた。発酵停止後、各モロミの酵母の沈降速度に違いがあった。化学分析による香味成分において3菌株(B, 522, PRIMEUR)はリンゴ酸分解能が高く、2菌株(350, CRU-BLANC)は高級アルコールの一つであるノルマルプロパノール生成が高く、これら特徴的な酵母の特性について再現性が得られた。一方、味覚センサによる生成ワインの味の評価においてPRIMEUR菌株はW-3菌株をコントロールとして「苦味雑味/食」「渋味刺激」が弱く、味物質の識別が可能であることが示唆された。これら供試酵母の醸造特性を赤ワイン醸造用ブドウに利用することが可能であり、今後、甲州種ブドウ等品種特性を助長するワイン醸造用酵母の選択基準にも役立てられる。

参考文献

- 1) 樋川芳仁, 飯野修一, 中山忠博, 萩野敏: 山梨工技セ研究報告, 18, 141 (2004)
- 2) 飯野修一, 渡辺正平: 山梨食工指報告, 17, 16 (1985)
- 3) JEONG Seok Tac, 後藤(山本)奈美: J.ASEV IPN. 12, 10 (2001)
- 4) V.L. Singleton and J.A. Rossi, Jr.: Am. J. Enol. Vitic. 16, 144 (1965)
- 5) 日本薬学会編: 「衛生試験法注解」, 金原出版(株) 71 (1973)
- 6) 小原哲二郎, 鈴木隆雄, 岩尾裕之: 食品分析ハンドブック, 建帛社, 217 (1977)
- 7) 注解編集委員会編: 第四回改正国税庁所定分析法注解, (財)日本醸造協会 (1993)
- 8) 飯野修一, 樋川芳仁, 中山忠博, 萩野敏: 山梨工技セ研究報告, 18, 138 (2004)
- 9) 後藤昭二, 山崎真司, 山川祥秀, 横塚勇: 発酵工学, 56, 133 (1978)
- 10) 善本裕之, 藤原大介, 坊垣隆之, 長澤直, 藤井敏雄: 生物工学会誌, 79, 33 (2001)