

# ワイン酵母の低温増殖性と醗酵性

河村大造・五反田 晃

## Low Temperature-Growth and-Fermentation Characteristics of Wine Yeasts

Daizo KAWAMURA, and Akira GOTANDA

Wine yeast strains OC 2, W 3, KW 3, EC1118, and L2226 were examined for their growing and fermenting ability at low temperatures. Among the 5 strains tested, there were not much differences in the proliferation of strain cells at 5 or 10°C; the strain KW 3 had the most marked ability to ferment glucose at 10°C.

ワインの品質は原料ぶどうの品質・作柄により、左右されるところが大きい。他の酒類と同様、微生物管理は重要である。ワイン醸造では収穫したぶどう果実をそのまま使用するため、ぶどう果実に付着している酵母がもろみに移行する。そのため、純粋培養酵母を酒母として使用した場合でももろみ中の酵母相は極めて複雑である。これら野生酵母群の静菌ないし殺菌と果汁の酸化褐変防止のために二酸化イオウが添加されている。また、もろみは低pH (3.0~3.4)、高糖度 (20~24%) であることなどの特徴を有している。このような条件下のもろみを安全・順調に醗酵させ、良質のワインを醸造するために、諸外国はもちろん、日本でもこれまでに優良な酵母菌株が選択されてきた<sup>1)~5)</sup>。特に、白ワイン醸造用には高品質のワインを得るため低温性酵母が望まれ、選択された菌株の中ではW 3酵母<sup>3)</sup>、ぶどう酒酵母協会3号 (KW 3)<sup>5)</sup>が、一般に用いられている。また、近年、岸本ら<sup>6)~8)</sup>によって、新たに、低温醗酵性のワイン酵母が選択・育種されている。これまでに、個々のワイン酵母についてはその増殖力・醗酵力が測定されているが、それらを比較検討した報告は見当たらない。そこで、従来の代表的ないくつかのワイン酵母と今回我々の入手した固形の外国産のワイン酵母について清酒酵母を対照として低温下での増殖力・醗酵力を測定して比較検討したので、その結果を報告する。

## 実験方法

### 1. 菌株

ワイン酵母としてW 3酵母、KW 3酵母、ぶどう酒酵母協会1号としても頒布されているOC 2<sup>1)</sup>酵母と市販

の固形酵母 (LALLEMAND 社、カナダ) EC1118 (*Saccharomyces bayanus*), L-2226 (*Saccharomyces cerevisiae*) の5種類、対照として清酒酵母である広島2号 (H 2) 酵母と日本醸造協会7号 (K 7) 酵母の計7種類を用いた。

### 2. タリズムの判定

タリズムの判定は次のようにして行った。まず、孢子形成培地 [酢酸カリウム 1%, グルコース 0.05%, 酵母エキス (オリエンタル酵母) 0.1%, 寒天 2%] を用いて、子のう孢子を形成させた。それをマイクロマニピュレーターによって子のう解剖した。それによって得られた株が孢子形成能を有するかどうかでタリズムを判定した。H 2, K 7酵母については上記の方法では全く孢子クローンを得られなかったため、Random spore plating法<sup>9)</sup>によって子のう孢子を分離し、上記と同様にしてタリズムを判定した。

### 3. 増殖力の測定

増殖力の測定は、グルコース濃度 2%, 10%, 20% と変えた3種類のYPD培地 [酵母エキス 1%, ペプトン 2% (日本製薬)] を用いて行った。これに15°Cで静置培養した前培養液を本培養液中の接種時の酵母密度が約  $1.6 \times 10^6 / \text{ml}$  となるように接種した。この培養液を5°Cおよび10°Cに静置して経時的に採取し、適当に希釈してヘマチトメーターで酵母数を測定した。

### 4. 醗酵力の測定

醗酵力の測定は次のように行った。まず、醗酵栓を取り付けた1L容エルレンマイヤーフラスコにYPD液体

培地480mlを入れた。グルコース濃度は10%と20%の2種類を用いた。これに、15℃で静置培養した前培養液を本培養液中の接種時菌濃度が約 $1.0 \times 10^6$ /mlになるように接種して、10℃の水槽中に静置した。炭酸ガス発生に伴う減少重量を測定してアルコール生成量を推定し<sup>10)</sup>、醗酵力を調べた。

実験結果および考察

1. 酵母のタリズム

試験に供した酵母のタリズムを検討した。その結果を表1に示した。孢子形成率・発芽率の低い株が多く、OC2酵母以外は完全な四分子は得られなかった。OC2酵母から得られた四分子の孢子クローンはいずれも孢子形成能が無く、 $a : \alpha$ がほぼ2 : 2に分離したので、ヘテロタリズム株であることが明らかとなった。山崎ら<sup>11)</sup>によると、OC2酵母にはホモタリズムとヘテロタリズムの2種類の株が存在するとしており、当センター保有のOC2酵母はそのうちのヘテロタリズム株であることがわかった。KW3酵母については孢子は分離できたが、全く発芽しなかったため、孢子クローンを得られず、タリズムについては明らかにできなかった。他の3酵母については分離した孢子の発芽能が低く、四分子がそろわなかったが、取得できた孢子クローンについて孢子形成能を検討した。その結果、W3酵母とL-2226酵母はホモタリズム株であり、EC1118酵母はヘテロタリズム株であると推定された。H2、K7酵母についてはそれぞれ19株、17株の孢子クローンを分離した。いずれも孢子形成能がなく接合型があった。この結果は、清酒酵母はヘテロタリズム株が多いという報告<sup>12)</sup>の結果と一致していた。

表1 酵母のタリズム

| 菌 株    | 四分子がそろって<br>発芽した組数 | 孢子形成した株数<br>／子のう孢子から<br>分離・発芽した株数 | タリズム |
|--------|--------------------|-----------------------------------|------|
| OC2    | 6                  | 0／24                              | He   |
| W3     | 0                  | 12／13                             | Ho   |
| KW3    | 0                  | 0／0                               | 不明   |
| EC1118 | 0                  | 0／18                              | He   |
| L-2226 | 0                  | 11／11                             | Ho   |
| H2     | 0                  | 0／19                              | He   |
| K7     | 0                  | 0／17                              | He   |

He : ヘテロタリズム  
Ho : ホモタリズム

2. 低温下での増殖力

ワイン酵母5株の低温下での増殖を検討した。対照としてH2酵母、K7酵母を用いた。まず、グルコース濃度2%、5℃での結果を図1に示した。KW3酵母の増殖が他の酵母より優れており、OC2酵母の増殖が他の酵母より遅いことが認められた。その他の3つの酵母に

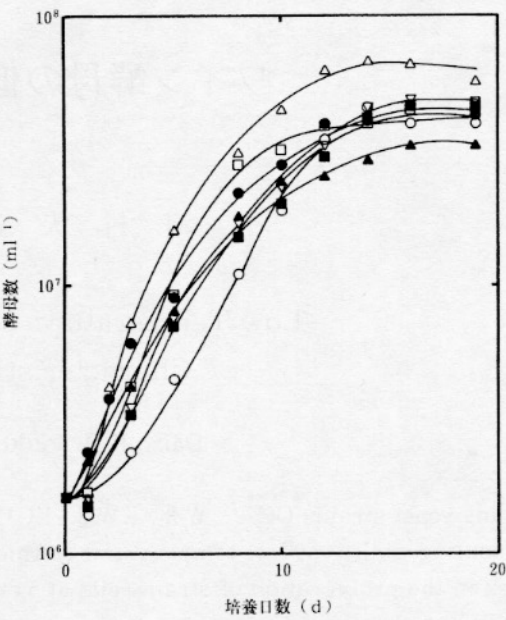


図1 ワイン酵母の低温下における増殖  
グルコース濃度2%、培養温度5℃  
○, OC2 ; ●, W3 ; △, KW3 ; ▲, EC1118  
□, L-2226 ; ■, H2 ; ▽, K7

ついては明確な差は認められなかった。次に、温度10℃で、グルコース濃度2%、10%、20%のときの増殖を図2に示した。グルコース濃度2%、10%では7株とも増殖速度はほぼ同じでほとんど差は認められなかった。しかし、グルコース濃度10%では、定常期における酵母密度に差が生じていた。すなわち、EC1118酵母の酵母密度が7株中で最も高く、OC2酵母の酵母密度が7株中で最も低くなり、他の5株の酵母密度がその中間にあった。また、グルコース濃度20%の場合も、増殖速度は7株間でほとんど差が認められなかったが、グルコース濃度10%の場合と同様、定常期での酵母密度に差が認められた。EC1118酵母、W3酵母、L-2226酵母の酵母密度が同程度で他より高く、以下KW3酵母、OC2酵母の順であった。H2酵母、K7酵母は5株のワイン酵母より定常期の酵母密度が低いことがわかった。このことは、ワインもろみ中の糖濃度が清酒もろみ中のそれより数倍高いため、それに適した性質を持つ酵母が選択されたためと推察される。

3. 低温下での醗酵力

醗酵力について検討した。その結果を図3に示した。グルコース濃度10%、10℃の場合はKW3酵母の醗酵速度が他の酵母のそれより若干大きいことが認められたが、大きな差ではなかった。その他の酵母はほとんど同程度であった。グルコース濃度20%、10℃の場合はKW3酵母の醗酵速度が他の6株より著しく大きかった。他のワイン酵母4株については、200時間後くらいから少しずつ

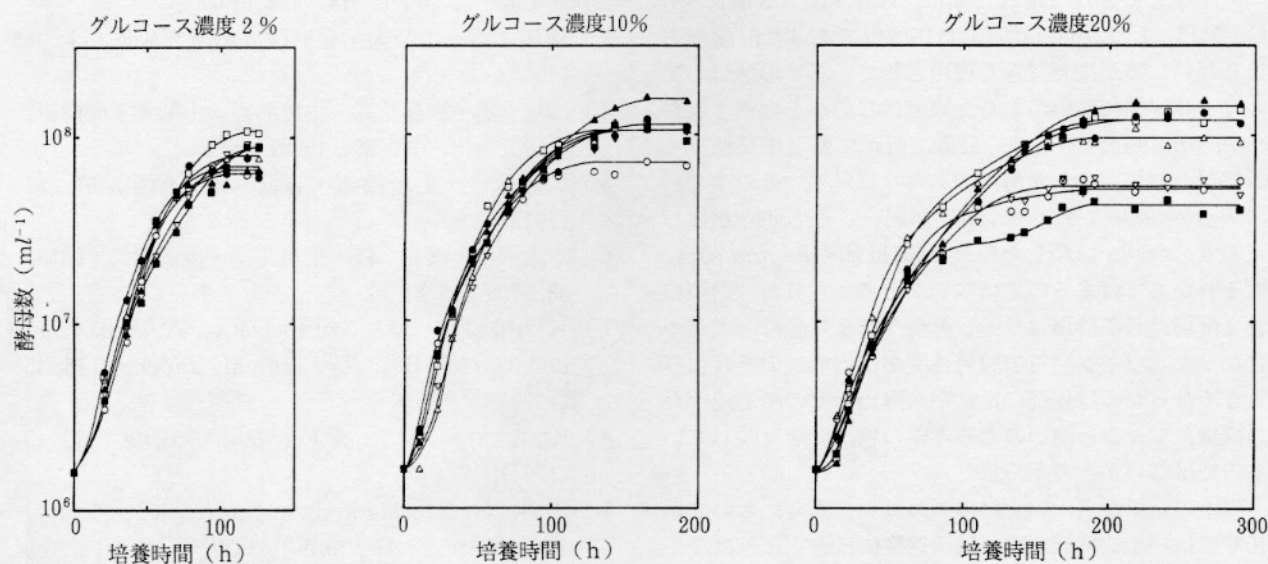


図2 ワイン酵母の低温下における増殖

培養温度10°C

○, OC 2 ; ●, W 3 ; △, KW 3 ; ▲, EC1118 ; □, L-2226 ; ■, H 2 ; ▽, K 7

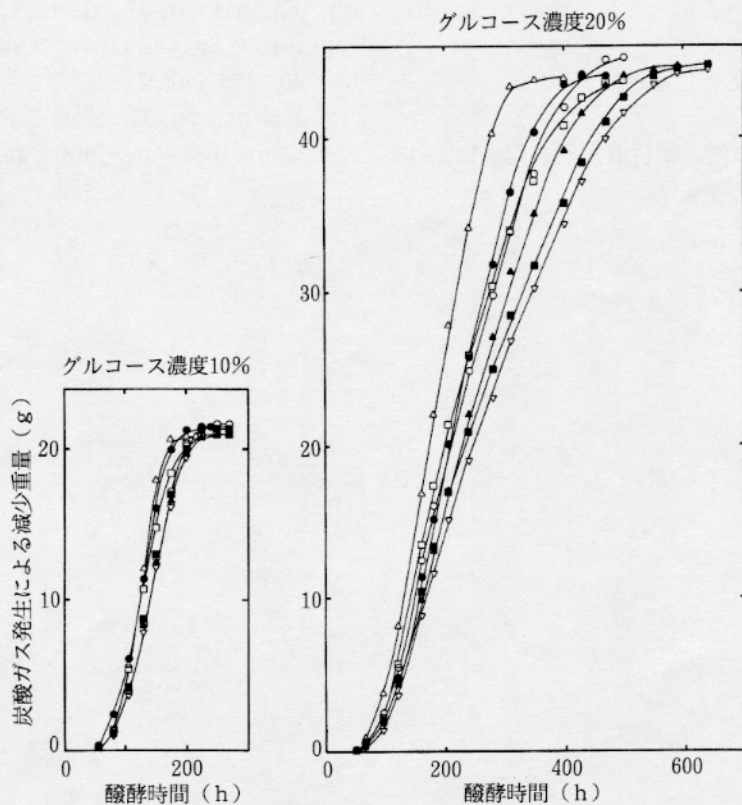


図3 ワイン酵母の低温下における醸酵

醸酵温度10°C

○, OC 2 ; ●, W 3 ; △, KW 3 ; ▲, EC1118 ; □, L-2226 ; ■, H 2 ; ▽, K 7

つ差が生じてきた。優れた順に、KW 3, W 3 酵母, O C 2 酵母, L-2226 酵母, EC1118 酵母であった。醗酵力にしないで差が生じてきた理由として、各々の酵母のアルコール耐性に違いがあるためではないかと推察された。*S. bayanus* は岸本らが、最近、新たに低温増殖性ワイン酵母として定義した酵母である<sup>7) 13) 14)</sup>。その中で、*S. bayanus* はエタノール耐性が弱いことも明らかにしており、今回、試験したEC1118酵母 (*S. bayanus*) にもそれがあてはまるのではないかと考えられた。対照の H 2 酵母, K 7 酵母はワイン酵母 5 株より醗酵速度が小さかった。ワイン酵母の醗酵速度が清酒酵母のそれより大きくなったのは先程、定常期の酵母濃度の項で述べたと同様、ワインと清酒のもろみ中の糖濃度を反映しているのではないかと考えられた。

以上の結果から、いずれのグルコース濃度においても 10℃ではワイン酵母 5 株の増殖速度にほとんど差はなく、10℃での醗酵速度においては KW 3 酵母が特に優れており、次に、W 3 酵母が優れていることが明らかになった。

## 要 約

5 種類のワイン酵母の低温増殖性・醗酵性を比較検討した。低温増殖性はほとんど差が認められなかったが、低温醗酵性はぶどう酒酵母協会 3 号 (KW 3) が優れていることが明らかになった。

## 文 献

1) 坂口謹一郎・森 貞信・鎮目淑夫：農化，13，713 (1937)。

2) 井上辰一郎：農化，14，824 (1938)。  
 3) 横塚 勇：山梨大学発酵研究所研究報告，1，63 (1954)。  
 4) 横塚 勇・後藤昭二・両角嘉喜：山梨大学発酵研究所研究報告，9，89 (1962)。  
 5) 大塚謙一・原 昌道・吉沢 淑：醸協，67，871 (1972)。  
 6) 岸本宗和・篠原 隆・相馬英一・後藤昭二：醸協，88，708 (1993)。  
 7) KISHIMOTO, M., SHINOHARA, T., SOMA, E., and GOTO, S. : *J. Ferment. Bioeng.*, 75, 451 (1993)。  
 8) KISHIMOTO, M. : *J. Ferment. Bioeng.*, 77, 432 (1994)。  
 9) FINK, G. R. : *Methods in Enzymology*, Vol. XV II A, TABOR, H., and TABOR C. W. ed. (Academic Press, New York and London), p.69 (1970)。  
 10) 飯塚 廣・後藤昭二：酵母の分類同定法，第 2 版，(東京大学出版会，東京)，p.40 (1973)。  
 11) 山崎豊彦・石川 貢・野々村英夫：山梨大学発酵研究所研究報告，17，1 (1982)。  
 12) 中里厚実：清酒酵母の分類学，初版，竹田正久編 (建帛社，東京)，p.71 (1985)。  
 13) KISHIMOTO, M., OSHIDA, A., SHINOHARA, T., SOMA, E., and GOTO, S. : *J. Gen. Appl. Microbiol.*, 40, 135 (1994)。  
 14) KISHIMOTO, M., SOMA, E., and GOTO, S. : *J. Gen. Appl. Microbiol.*, 40, 83 (1994)。