

【2021年ASEV JAPAN日本ブドウ・ワイン学会 技術賞】

ワインの自然発酵におけるスケールアップ法応用の可能性

乙黒美彩¹・丸藤葡萄酒工業株式会社²・岸本宗和¹

¹山梨大学ワイン科学研究センター, ²丸藤葡萄酒工業株式会社

2021 ASEV JAPAN TECHNICAL MERIT AWARD Potential for Scale-Up Method Application in Spontaneous Fermentation of Wine

Misa OTOGURO¹, Marufuji Winery² and Munekazu KISHIMOTO¹

¹The Institute of Enology and Viticulture, University of Yamanashi

²Marufuji Winery Co. Ltd.

1. はじめに

2022年4月に国税庁が公表した酒類製造業及び酒類卸売業の概況（令和3年調査分）（国税庁 2020）によると2021年1月1日現在のわが国のワイナリー数は413場であり、1年間で44場が増加したことになる。山梨県、長野県にいたってはいずれも7場増加している。2015年以降は日本全国で1年間に30～40以上のワイナリーが新設されており、これは2015年に「日本ワイン」が定義されたことにより日本ワインへの注目度が高まってきたことによると考えられる。日々上質なワインを製成しようと生産者は様々な取り組みを行ってきており、その中の1つにこれまで国内で広く利用されてきた乾燥酵母（ADY: Active Dry Yeast）をスターターとして添加する方法に代え、野生酵母を利用した自然発酵を試みるワイナリーも多くみられるようになった（Diaz et al. 2013）。150年近く続く日本のワイン醸造の歴史から高温多湿なわが国においては自然発酵では品質の高いワインを製造することは非常に難しいと考えられてきた。しかしながら、近年では自然発酵を用いて上質なワインを製造する事業者も現れてきた。

スケールアップ法（志賀ら 2020）は丸藤葡萄酒工業株式会社にて、経験的に実施されてきたワイン

醸造における自然発酵の技術である。我々（岸本と乙黒）がこの方法の存在を知ったのは2017年9月2日、日本ワインコンクール2017公開テイスティングの会場である。醸造を担当した安蔵正子氏に「なぜ毎年高品質のワインを醸造できるのか、どんな方法で醸造しているのか」と直接尋ねた時、衝撃を受けた。安蔵氏は「自然発酵ですよ」と返答したのだ。そして翌年から我々と丸藤葡萄酒工業株式会社はスケールアップ法に関する共同研究を開始した。

本稿では2021年12月山梨大学でオンライン開催された大会において、本技術賞の受賞講演を行った内容について紹介する。

2. スケールアップ法の概要と発酵期間中の酵母濃の変化

スケールアップ法の概略を図1に示す。スケールアップ法は複数の酒母を作製してその中から官能的な欠陥がなく旺盛な発酵を示すものを酒母として使用する Pied de Cuve 法（フランスの伝統的な拡大培養法）（Börlin et al. 2020, Moschetti et al. 2016）とは異なり、小スケールで自然発酵を開始し（第1段階）、徐々にスケールを大きくした1つの酒母（第3段階）を最終段階の本発酵で酒母の添加率を0.5～1.0%に

まで落として、200 L規模に拡大する方法である。本研究では2018年および2019年に収穫されたシャルドネを原料とした醸造工程から、1sts, 2nds, 3rds, 4rths, 4thm, 4thffの各段階と2019年はさらに1stf, 2ndf, 3rdfの各段階のマスト（図1）を採用し、YPD培地により酵母を分離した（Eder et al. 2017, Jolly et al. 2014）。分離株の同定には全菌体のタンパク質の質量分析によるMALDI-TOF MSを利用したAXIMA微生物同定システムを用いた。スケールアップ発

酵工程における全酵母数は2018年では 10^4 から 10^6 CFU/mL、2019年では 10^6 から 10^8 CFU/mLとなり、いずれもスケールアップの進行に伴って全酵母数が増加した。両年ともスケールアップ工程1stsでは*Candida zemplinina*, *Hanseniaspora uvarum*, *H. vinea*などが認められるものの、*S. cerevisiae*は検出できなかった。しかし、スケールアップが進むにつれて*S. cerevisiae*の優占率は上昇し、最終段階の4thffでは99~100%となった（図2）。

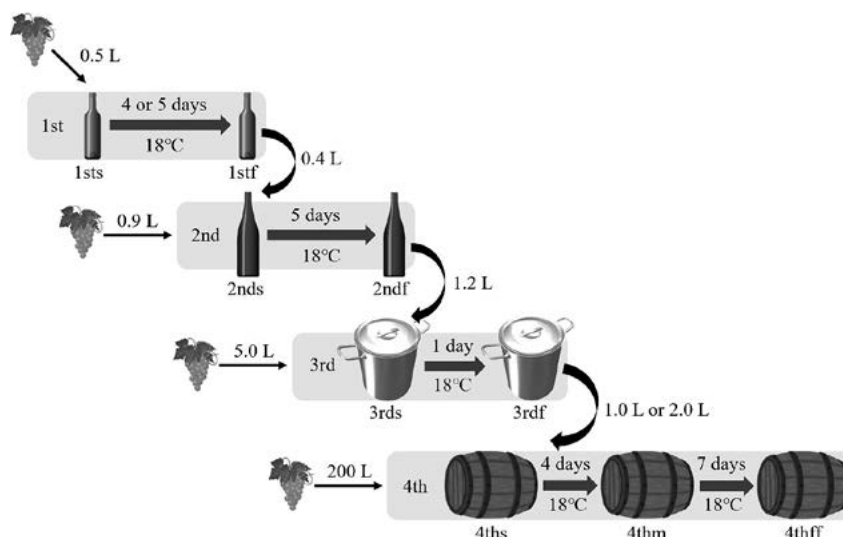


図1 スケールアップ法の概略とサンプリング

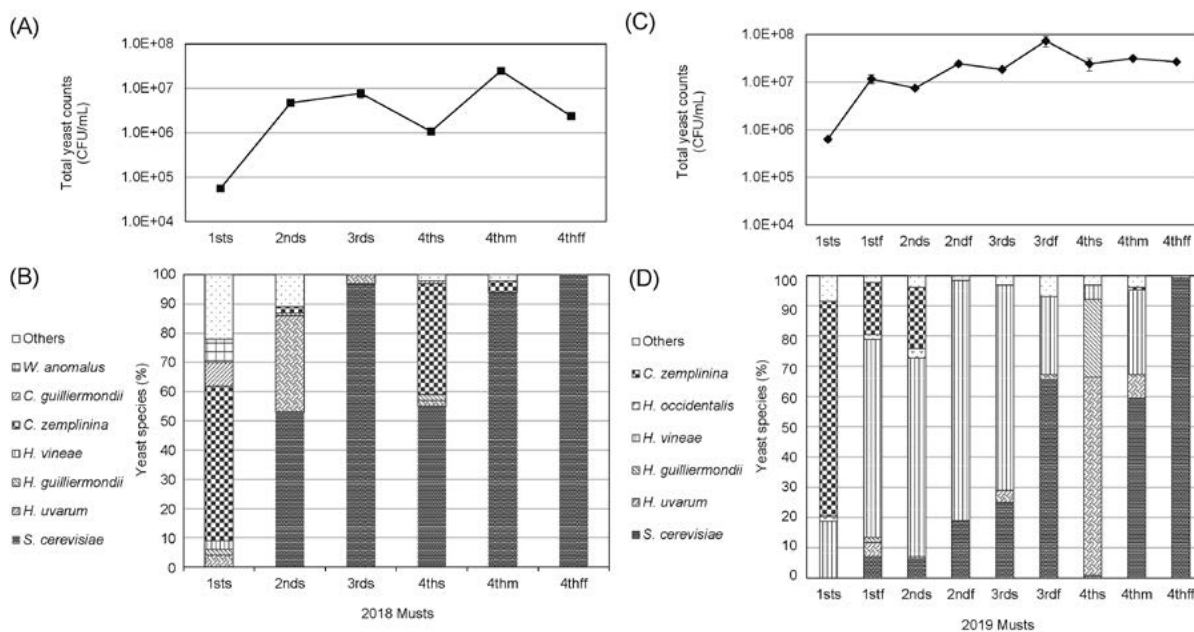


図2 スケールアップ工程における全酵母数および酵母叢の変化

(A) 2018年の全酵母数の変化 (B) 2018年の酵母叢の変化 (C) 2019年の全酵母数の変化 (D) 2019年の酵母叢の変化

3. 製成ワインの成分分析と官能評価

マストと製成ワインの一般成分は国税庁所定分析法に従って行い、製成ワインの官能評価も実施した。スケールアップ法で製成されたワインはアルコール12%以上、還元糖2 g/L以下となり、スタックなどを引き起こすことなく、完全に発酵が終了した。発酵初期の第1段階から第2段階までは官能的にも香気成分分析結果においても、酢酸や酢酸エチルなどのオフフレーバーの生成が認められるものの、スケールアップが進むにつれてこれらのオフフレーバーが減少していくことが明らかになった。

一方、1stマストの一部をスケールアップせずに静置培養し、自然発酵を行ったところ2018年ではアセトアルデヒド、酢酸エチルおよび酢酸が顕著に増加した。これらのことから本法が自然発酵において健全なワインを醸造するための有効な醸造技術になり得る可能性を示した。

4. 今後の展望

スケールアップ法による自然発酵の研究では発酵後期に優勢となった*Saccharomyces cerevisiae*の種内多様性やnon-*Saccharomyces*属酵母がもたらすプラスの影響などに関しては未だに未解明である。今後は*Saccharomyces cerevisiae*の多様性がもたらす製成ワインへの影響やnon-*Saccharomyces*酵母が生成に関与する香り成分の分析などを通じて、本スケールアップ法の全容解明を行い、本法が高温多湿で原料ブドウの酸が落ちやすい日本のような栽培環境でも、自然発酵において健全なワインを醸造するための基盤技術としての確立を目指す。

謝辞

技術賞の授与にあたり、推薦や選考に携わっていただきました。後藤奈美会長をはじめ理事の先生方、選考委員の皆様には厚く御礼申し上げます。また、山梨大学ワイン科学研究センター発酵微生物工学研究部門の卒業生である志賀樹氏、現在修士課程2年に在籍している山田潮路氏には、本研究とともに精力的に実施していただきました。ここに改めて感謝の意を表します。官能評価や醪のサンプリングにご協力いただきました丸藤葡萄酒工業株式会社の社員の皆様とこの受賞とともに喜びたいと思います。

本研究の一部はダイバーシティ研究環境実現イニシアチブ（牽引型）女性研究者対象・地域貢献型研究支援の助成を受けて実施しました。

引用文献

- 国税庁. 2022. 酒類製造業及び酒類卸売業の概況（令和3年調査分）
- 志賀樹, 乙黒美彩, 山田潮路, 安蔵正子, 大村春夫, 岸本宗和, 2020. 自然発酵におけるスケールアップ法がワイン品質に与える影響. *J. ASEV Jpn.*, **31**, 133–139
- Börlin M, Miot-Sertier C, Vinsonneau E, Becquet S, Salin F, Bely M, Lucas P, Albertin W, Legras J and Masneuf-Pomarède M. 2020. The “*ped de cuve*” as an alternative way to manage indigenous fermentation: impact on the fermentative process and *Saccharomyces cerevisiae* diversity. *Oeno One* **3**: 435–442.
- Diaz C, Molina AM, Nähring J and Fischer R. 2013. Characterization and Dynamic Behavior of Wild Yeast during Spontaneous Wine Fermentation in Steel Tanks and Amphorae. *Biomed Res Int* 540465.
- Eder MLR, Reynoso C, Lauret SC and Rosa AL. 2017. Isolation and Identification of the Indigenous Yeast Population during Spontaneous Fermentation of Isabella (*Vitis labrusca* L.) Grape Must. *Front Microbiol* **8**: 532.
- Jolly NP, Varela C and Pretorius IS. 2014. Not your ordinary yeast: Non-*Saccharomyces* yeasts in wine production uncovered. *FEMS Yeast Res* **14**: 215–237.
- Moschetti G, Corona O, Gaglio R, Squadrito M, Parrinello A, Settanni L, Barone E and Francesca N. 2016. Use of fortified *ped de cuve* as an innovative method to start spontaneous alcoholic fermentation for red winemaking. *Aust J Grape Wine Res* **22**: 36–45.