

スパークリングワイン製造のための高酸度果汁からの原酒 醸造におけるマロラクティック発酵生起技術

誌名	日本醸造協会誌 = Journal of the Brewing Society of Japan
ISSN	09147314
著者名	恩田,匠 小嶋,匡人 長沼,孝多
発行元	日本醸造協会
巻/号	114巻5号
掲載ページ	p. 281-286
発行年月	2019年5月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



スパークリングワイン製造のための高酸度果汁からの原酒醸造 におけるマロラクティック発酵生起技術

恩田 匠*・小嶋匡人・長沼孝多
(山梨県産業技術センター)

平成 30 年 6 月 18 日受理

Technical Improvements of Malo-lactic Fermentation for the Production of
Sparkling Wine from Wines with High Acidity

Takumi ONDA*, Masato KOJIMA and Kota NAGANUMA

(Yamanashi Industrial Technology Center, 2517, Katsunuma, Katsunuma-cho, Koshu-shi, Yamanashi 409-1316 JAPAN)

We are investigating sparkling wine making from mainly 'Koshu' by the traditional method. In sparkling wine production by an in-bottle secondary fermentation method, it is important to achieve malo-lactic fermentation completely in wine vinification. On the other hand, in still wine making from 'Koshu', the malo-lactic fermentation is not induced positively. Also, some reports have clarified that the malo-lactic fermentation was difficult in wine making from 'Koshu'. In this study, wine making from 'Koshu' according to the recommended method in champagne production, and test vinification by a co-inoculation method using the expansion culture of lactic acid bacteria was carried out. Results showed that malo-lactic fermentation can be stably carried out by the recommended method for champagne production.

Key words : ワイン, スパークリングワイン, 瓶内発酵, マロラクティック発酵, シャンパーニュ, 甲州

緒言

我々は、国産スパークリングワインの高品質化のための研究^{1,2,3)}を実施している。特に、シャンパーニュ製造の規則 (EU のワイン関連法およびシャンパーニュ AOC 規則) やシャンパーニュ委員会の推奨法^{4,5,6,7,8,9,10,11)}にしたがった、瓶内二次発酵法によるスパークリングワイン製造の実証実験を行ってきた。

シャンパーニュ製造における原酒ワインの醸造においては、マロラクティック発酵^{12,13,14,15,16)}を完全に遂行することがきわめて重要である⁹⁾とされている。これは、リンゴ酸を含む原酒ワインを用いて二次発酵さ

せた場合、混入した野生乳酸菌が、長い二次発酵と貯蔵熟成期間中に増殖することがしばしばあるからである。この瓶内二次発酵における野生乳酸菌の汚染は、シャンパーニュ製造における典型的な醸造上の事故であり、その結果として異臭の生成や、乳酸菌の産生する粘性物質によって、ルミアージュ工程のオリ下げが困難になる原因となる。

一方で、シャンパーニュの原料果汁は、一般に酸度が高く pH が低いことから、マロラクティック発酵乳酸菌の増殖が困難で、従来はマロラクティック発酵の完全な遂行は困難であった。そのため、古くから、主にシャンパーニュ委員会の醸造部や大手メーカーによ

* corresponding author

って、地道な技術開発が行われてきた。まずは、現地で「ピエ・ド・キューブ・マロ」と呼ばれる乳酸菌の拡大培養液を調製して利用する方法が開発された。本法は、高酸度の果汁で馴養され、高い乳酸菌生菌数と活性を保持した拡大培養液を、アルコール発酵が終わったもろみに添加して、安定的にマロラクティック発酵を達成するものである。さらに最近では、アルコール発酵期間中に、この乳酸菌拡大培養液を添加して、アルコール発酵とマロラクティック発酵を同時並行的に実施する、いわゆるコイノキュレーション法を実施することが推奨されている。本コイノキュレーション法は、より安定したマロラクティック発酵の達成と、マロラクティック発酵期間の短縮に有効であるとされている。このマロラクティック発酵期間の短縮は、寒冷地にあるシャンパーニュ地方においては極めて重要である。従来はマロラクティック発酵の達成のためには、もろみの加温が必要であったが、乳酸菌拡大培養液を用いたコイノキュレーション法はその必要がなく、「加温の必要のないマロラクティック発酵法」と呼ばれ、徐々に製造現場に普及されつつある。

我々が主な原料ブドウとして用いている、山梨県の主要な品種である‘甲州’では、スティルワイン製造においてマロラクティック発酵が導入されることはまれであるが、主に果汁のpHが低いことからその達成が困難であることが製造現場で認識されている。また、野々村ら¹²⁾は、‘甲州’におけるマロラクティック発酵の困難性は、低pH条件だけでなく、乳酸菌の増殖に必要な栄養素の不足である可能性を指摘している。さらに、本邦では、瓶内二次発酵法による製品製造におけるマロラクティック発酵の重要性は全く認識されてこなかった。そのため、国産スパークリングワイン製造におけるマロラクティック発酵についての知見は皆無に等しかった。

一方で、我々は既に、シャンパーニュ製造の推奨法を用いて、スパークリングワイン原料としては比較的酸度の低い果汁（酸度9.4 g/l 酒石酸換算、pH 3.11）からのワイン製成におけるマロラクティック発酵の達成には成功³⁾している。しかしながら、シャンパーニュ製造の推奨される高酸度（約12 g/l 酒石酸換算）の甲州果汁では、そのマロラクティック発酵の達成に苦慮する可能性があり、そのマロラクティック発酵期間における成分推移を含めた実証試験が必要で

あることが考えられた。

そこで、シャンパーニュ製造の推奨法にしたがって、マロラクティック発酵試験を行い、その工程の成分推移について解析した結果について報告する。

実験方法

1. 供試ブドウ果汁

山梨県甲州市産の‘甲州’（2017年8月30日）および、比較対照として山梨県北杜市産の‘シャルドネ’（2017年9月5日）を、ワイン醸造用の原料ブドウとして用いた。収穫日は、収穫日までの経時的な成分分析から、果汁の酸度が12～13 g/l（酒石酸換算）付近となることを目標とした。原料ブドウからの果汁の調製は、既報³⁾のとおり、シャンパーニュ製造の推奨法に従って、全房圧搾と果汁の分画（一番搾り果汁「キュベ」と二番搾り果汁「タイユ」）、ダブルバージュ、オリ引きを行い、濁度を調整した。

なお、後述する乳酸菌拡大培養液を調製するための二番搾り果汁は、ワイン製成を行うための果汁調製に先立ち、8月18日に収穫したブドウから同様に圧搾を行って得たものを用いた。

本論文では、分画した一番搾り果汁（キュベ）のみのワイン製造についての結果のみを記載した。

2. 供試微生物

ワイン醸造（アルコール発酵）用の乾燥酵母として、シャンパーニュ委員会推奨の酵母の一つである、*Saccharomyces cerevisiae* VITILEVURE QUARTZ（Station CEnologique de Champagne 社製）を用いた。マロラクティック発酵のための乳酸菌製剤として、同じくシャンパーニュ委員会推奨の *Oenococcus oeni* BL01（Station CEnotechnique de Champagne 社製）を用いた。

3. 乳酸菌拡大培養液の調製

シャンパーニュ製造において「ピエ・ド・キューブ・マロ」³⁾と呼ばれる、乳酸菌の「拡大培養液」は、シャンパーニュ製造の推奨法に従って、次のように調製した。すなわち、まず果汁（二番搾り果汁）9 ml と熱水9 ml を混合したものを25℃に調整し、乳酸菌製剤を4 g/l、乾燥酵母を0.5 g/lになるようにそれぞれ添加して、25℃で72時間培養して活性化した。この前培養液を、果汁（二番搾り果汁）282 ml に添加し、さらに乾燥酵母を0.2 g/lになるように

添加して、馴養培養した。馴養培養は最初 25℃で開始し、最終的に 20℃になるように制御した。この培養期間中、経時的に有機酸の分析を行い、リンゴ酸不検出であることを確認して、乳酸菌拡大培養溶液とした。

4. コイノキュレーション法によるアルコール発酵とマロラクティック発酵

コイノキュレーション法による、アルコール発酵とマロラクティック発酵によるワイン製成は、次のように実施した。発酵栓をつけたガラス瓶（満量で約 12 l 容量）を発酵容器として使い、9 l の果汁を入れ、発酵温度を 18℃に設定した。このワイン製成には、3 連の反復試験を設けた。調製した果汁に、活性化した乾燥酵母を添加し、その翌日に事前に調製した乳酸菌拡大培養液をもちみの 3% 容量分植菌した。糖組成の分析を行い、残糖が 1 g/l 以下に達したとき、アルコール発酵が終了したものとみなした。また、マロラクティック発酵の推移は、有機酸組成の分析により、リンゴ酸が不検出になるまで経時的に調べた。

なお、同時に、小スケールの果汁（300ml）を用いて、乳酸菌拡大培養液を用いずに、コイノキュレーション法によってワイン製成する比較対照試験を行った。すなわち、（一般的なスティールワインのマロラク

ティック発酵のための乳酸菌添加のように）乳酸菌製剤を少量のワインで水和後に直接、アルコール発酵期間中のもろみに添加した。このときも 18℃で発酵を促して、エタノール含量や有機酸含量を測定した。

5. 成分分析

果汁、もろみおよびワインの総酸（滴定酸度）、有機酸組成（クエン酸、酒石酸、リンゴ酸、コハク酸、乳酸、酢酸）および糖組成（ショ糖、ブドウ糖、果糖）、エタノール含量は、既報³⁾にしたがって、常法や高速液体クロマトグラフィーにより解析した。

実験結果および考察

乳酸菌拡大培養液調製のための‘甲州’の果汁（二番搾り果汁）は、総酸（滴定酸度）13.8 g/l、酒石酸 10.5 g/l、リンゴ酸 9.2 g/l（pH 2.86）を含んだ。この果汁の酸度は、シャンパーニュ製造における知見⁸⁾と比較しても、極めて高い値を示した。この果汁を用いて、シャンパーニュ製造の推奨法にしたがって、乳酸菌拡大培養液の調製を行ったときの成分推移を Fig. 1 に示した。3 日間の活性化期間の後、馴養培養を行い、12 日後にリンゴ酸が不検出となり、拡大培養液が完成したことを確認した。

なお、図表には示さないが、‘シャルドネ’を用い

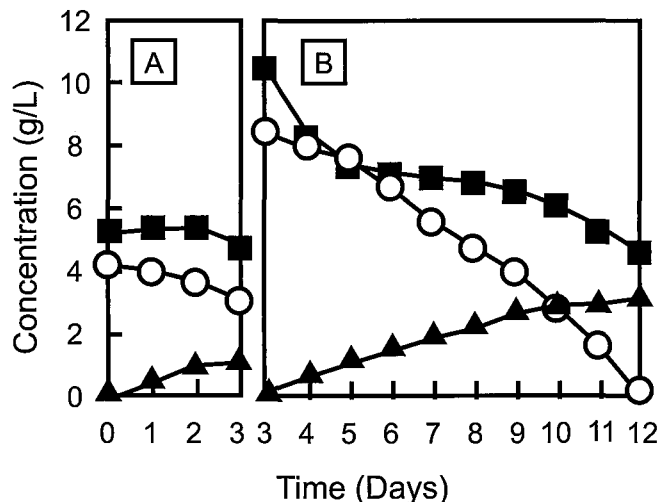


Fig. 1 Changes in concentrations of tartrate, malate and lactate in the preparation period of expansion culture of lactic acid bacteria using Taille juice

A: period of activation, B: period of acclimatization culture, ■: tartrate, ○: malate, ▲: lactate.

The Taille juice was containing 10.5 g/L tartate and 9.2 g/L malate.

Table 1 Components of the juices from *Koshu* and *Chardonnay* prepared in this study

		Brix	Total acid (g/L as tartate)	Tartate (g/L)	Malate (g/L)	pH
<i>Koshu</i>	Cuvée ¹⁾	14.0	12.1	7.1	6.0	2.85
<i>Chardonnay</i>	Cuvée ¹⁾	17.2	13.0	7.2	7.3	2.85

1) The juices were collected by a traditional pressure method in the Champagne Region. The Cuvée was the juice taken from the first section in presses of the grapes. In champagne making, the cuvée is the first 2,050 litres of juice from 4,000 kg of grapes.

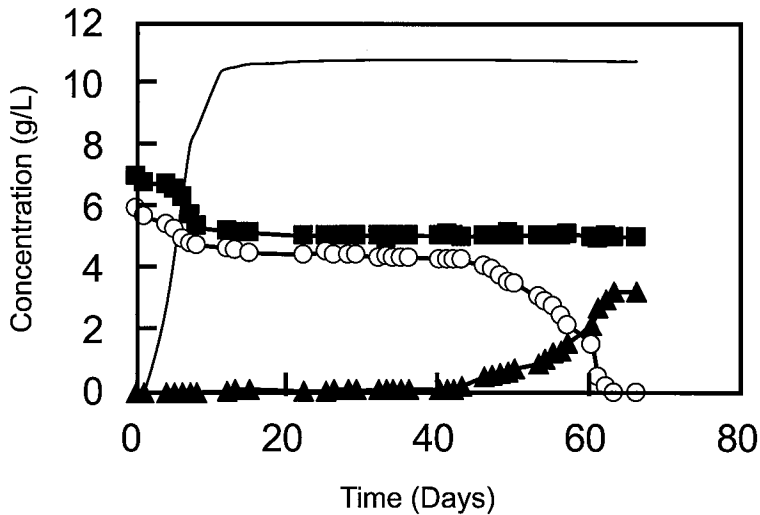


Fig. 2 Changes in components of must in the co-inoculation fermentation of *Koshu*
 ■ : tartrate, ○ : malate, ▲ : lactate, line: ethanol.

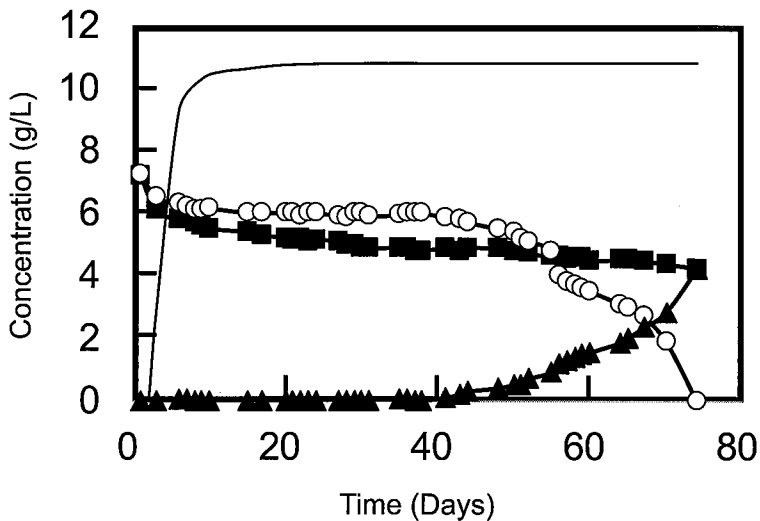


Fig. 3 Changes in components of must in the co-inoculation fermentation in the co-inoculation fermentation of *Chardonnay*
 Symbols are the same as Fig. 2

Table 2 Components of wines fermented in this study

	Test scale	Addition of lactic acid bacteria	Ethanol (% vol.)		Tartrate (g/L)		Malate (g/L)		Lactate (g/L)		Acetate (g/L)	
			Ave.	S.D.	Ave.	S.D.	Ave.	S.D.	Ave.	S.D.	Ave.	S.D.
<i>Koshu</i>	9L	Using expansion culture	10.8	0.1	5.1	0.3	ND		3.3	0.1	0.3	0.1
<i>Chardonnay</i>	9L	Using expansion culture	10.8	0.1	4.2	0.2	ND		4.2	0.1	0.2	0.1
<i>Koshu</i>	300mL	Using expansion culture	10.8	0.1	5.1	0.1	ND		3.2	0.1	0.2	0.0
	300mL	Without expansion culture	10.8	0.1	5	0.2	4.7	0.1	ND		ND	
<i>Chardonnay</i>	300mL	Using expansion culture	10.8	0.1	4.2	0.2	ND		4.2	0.2	0.2	0.1
	300mL	Without expansion culture	10.8	0.1	4.1	0.2	6.1	0.1	ND		ND	

All experiments were performed in triplicate. The data show average (Ave.) and standard deviation (S.D.)

た検討においても、ほぼ同様な結果が得られ、11日間後に拡大培養液が得られた。

今回のワインの試験醸造のために調製した、‘甲州’と‘シャルドネ’の原料果汁（一番搾り果汁）の成分分析値を Table 1 に示した。今回の目的とした、シャンパーニュ製造で推奨されている、きわめて高酸度の果汁が得られたことを確認した。一方で、シャンパーニュ製造における知見⁸⁾と比較して、総酸（滴定酸度）は同等であるものの、酒石酸とリンゴ酸含量が高く、pH が極めて低い値を示した。したがって、今回の検討における、乳酸菌の増殖はきわめて困難になることが予想された。

調製した乳酸菌拡大培養液を用いて、9 l スケールのコイノキュレーション法によるワイン製成、すなわちアルコール発酵とマロラクティック発酵期間中の成分推移を Fig. 2（‘甲州’）と Fig. 3（‘シャルドネ’）に示した。また、製成されたワインの成分分析値を Table 2 に示した。‘甲州’原料では、22 日間でアルコール発酵が終了し、68 日間でマロラクティック発酵が完全に達成され、リンゴ酸不検出となった。また、‘シャルドネ’を原料とした場合も、22 日間でアルコール発酵が終了し、75 日間でマロラクティック発酵が完全に達成され、リンゴ酸不検出となった。既報における検討（甲州原料の総酸（滴定酸度）3.0～7.7 g/l 酒石酸の果汁）と比べると、マロラクティック発酵が生起して乳酸が検出し始める時期が遅くなり、マロラクティック終了までの期間は長くなった。これは今回検討した果汁の総酸（滴定酸度）が高く、pH がきわめて低かったため、乳酸菌の増殖が遅くなったことに起因するものと考えた。今回の検討からは、‘甲州’が‘シャルドネ’に比べて、マロラクティッ

ク発酵の達成が困難であるとは認められなかった。いずれにしても、両品種でアルコール発酵とマロラクティック発酵が遂行できたことを明らかにした。

一般に、コイノキュレーション法による（糖分が残存するもろみにおける）ワイン製成では、乳酸菌による揮発酸生成が懸念されることがある。しかしながら、シャンパーニュ製造における知見では、原料果汁の pH が低い場合（pH 3.10 付近）には、揮発酸生成はきわめて低い（シャンパーニュ製造では、0.4 g/L 以上で欠点として指摘されることがある）ことが周知されている。今回の検討においても、酢酸の生成は比較的小さいことが確認された（Table 2）。

なお、小スケール（300 ml）で、乳酸菌拡大培養液を用いずに、乳酸菌製剤を直接投入して、コイノキュレーション法でワイン製成した結果のワインの成分値を Table 2 に示した。乳酸菌製剤を直接もろみに添加した場合は、マロラクティック発酵が生起しなかったことが確認された。

以上のことから、シャンパーニュ製造の推奨法に従って、「乳酸菌拡大培養液」を用いてコイノキュレーション法を行うことは、高酸度の果汁からのワイン製成におけるマロラクティック発酵の安定化に寄与し、マロラクティック発酵終了までの期間を短縮できることが可能であることが推察された。本方法は、我が国においては、北海道などの産地において産出されることが多い高酸度果汁からのスティルワイン製成において、安定したマロラクティック発酵を達成するためにも有効であることが考えられた。

謝 辞

シャンパーニュ製造法について教示いただいたシャ

ンパーニュ委員会の皆様に御礼申し上げます。

本研究は生研支援センター「革新的技術開発・緊急展開事業（うち地域戦略プロジェクト）」の支援を受けて行った。

参考文献

- 1) 恩田匠・小松正和・中山忠博：瓶内二次発酵法によるスパークリングワイン製造のための圧搾とその果汁成分，日本ブドウ・ワイン学会誌，**26**，5-9（2015）
- 2) 恩田匠・小松正和・中山忠博：瓶内二次発酵のための酵母発酵種の調製，日本ブドウ・ワイン学会誌，**28**，3-7（2017）
- 3) 恩田匠・小松正和・中山忠博：伝統的瓶内二次発酵法によるスパークリングワイン製造における成分の推移，日本醸造協会誌，**112**，836-848（2017）
- 4) 恩田匠：シャンパーニュ地方でブランド性の確立について考えたこと，食品工業，**56**，39-50（2013）
- 5) 恩田匠：シャンパーニュにおけるシャンパン造り，葡萄酒技術研究会講演要旨集，**52**，5-14（2013）
- 6) 恩田匠，アサンブラージュ，シャンパン製造における最大の秘密，日本醸造協会誌，**109**，168-180（2014）
- 7) 恩田匠：シャンパーニュ地方におけるシャンパン製造，山梨県葡萄酒製造マニュアル（山梨県ワイン酒造組合，山梨），p.60-71，（2016）
- 8) 恩田匠：シャンパーニュ地方におけるシャンパーニュ製造（前編）；ブドウの収穫から果汁の調製まで，日本醸造協会誌，**111**，266-301（2016）
- 9) 恩田匠：シャンパーニュ地方におけるシャンパーニュ製造（中編）；原酒ワインの製成，日本醸造協会誌，**111**，712-727（2016）
- 10) 恩田匠：シャンパーニュ地方におけるシャンパーニュ製造（後編，その1），日本醸造協会誌，**113**，212-225（2018）
- 11) 恩田匠：シャンパーニュ地方におけるシャンパーニュ製造（後編，その2），日本醸造協会誌，**113**，296-307（2018）
- 12) 野々村英夫・小原巖・加々美久・風間敬一：ブドウ酒のマロラクテック発酵に関する研究（第2報）原料および仕込方法の影響について，**58**，743-748（1963）
- 13) Boulton, R. B., Singleton, L. V., Linda Bisson, F., R. Kunkee, E. : Principles and Practices of Winemaking (Springer Science & Business Media, New York) , p.91-95, (1996)
- 14) Bauer, R. and Dicks, L.M.T.: Control of Malolactic Fermentation in Wine. A Review, S. Afr. J. Enol. Vitic., **25** (2) 74-88 (2004)
- 15) Lerm, E., Engelbrecht, L., Du Toit, M. : Malolactic fermentation: The ABC'S of MLF, Afr. J. Enol. Vitic., **31** (2) , 186-212 (2010)
- 16) 恩田匠：国産赤ワイン製造における市販乳酸菌スターターを用いたマロラクティック発酵試験，日本醸造協会誌，628-635（2015）