

奈良県産ブドウを用いたワインのマロラクティック発酵試験

都築 正男^{*1)}, 立本 行江^{*1)}

Malolactic Fermentation Tests of Wines Using Grapes from Nara Prefecture

TSUDUKI Masao^{*1)}, TATSUMOTO Yukie^{*1)}

奈良県内初のワイナリーが2022年に設立され、奈良県産業振興総合センターでは県産ブドウを使ったワインの発酵技術の確立を進めている。本研究では市販乳酸菌スターターを用いて県産ブドウワインのマロラクティック発酵試験を行った。マロラクティック発酵後のワインは酸味が和らぐ一方で、特に赤ワインで苦味が増し、重厚な味わいになり、奈良県産ブドウのワインにおいてもマロラクティック発酵の有用性を確認することができた。

1. 緒言

奈良県はブドウのワインを作るワイナリーが存在しない数少ない県のうちの1つであった¹⁾が、2022年夏に香芝市に県内初のワイナリーが開業し、奈良県産のブドウを用いたワインが商品化されている。この状況の中、奈良県農業研究開発センターではワイン用ブドウの栽培技術の確立を研究しており、奈良県産業振興総合センターでは奈良県産ブドウを用いたワイン醸造技術の確立を研究している。

メルローやカベルネ・ソーヴィニヨンなどの赤ワイン用のブドウ品種、白ワイン用の一部のブドウ品種は酸が多いため、これらのブドウを原料としてワインを醸造する場合、香味を良くするため酸を減らすことが望ましいとされている。

マロラクティック発酵 (MLF) は、ワイン醸造において重要な工程の一つであり、乳酸菌の働きにより、リンゴ酸を乳酸に変換する。MLFの効果は、①酸味を和らげ、②香味を改良・複雑にし、③微生物的な安定化に寄与する。

本研究では、奈良県農業研究開発センターで栽培した白ワイン用品種シャルドネ、モンドブリエと赤ワイン用品種メルロー、カベルネ・ソーヴィニヨンを用い、種の異なる市販乳酸菌スターターを使用した MLF 試験を行い、その効果や特徴を比較した。

2. 実験方法

2.1 供試原料ブドウ

奈良県農業研究開発センター果樹・薬草研究センター(奈良県五條市)で栽培した2023年産の白ワイン用品種シャルドネ(9月19日収穫)、モンドブリエ(9月14日収穫)と赤ワイン用品種メルロー(9月19日収穫)、カベルネ・ソーヴィニヨン(10月3日収穫)を使用した。

2.2 ワインの醸造

2.2.1 白ワイン

収穫したブドウ果実を房から外し、水洗後、ピロ亜硫酸カリウム(メタカリ)を果実重量に対して0.04%加え、ドライアイスを噴霧しながらハンドブレンダーで搾汁し、果皮および種子をろ過して果汁を得た。ブドウ果汁は糖度計で糖度を測定し、Brixが21に満たないものは、上白糖を添加しBrixが21になるように調製した。

糖度を調製した果汁に、YPD培地(1%酵母エキス、2%ペプトン、2%グルコース)で培養したワイン酵母培養液をブドウ果汁100mLあたり150μL添加し、発酵終了まで15°Cで温度管理した。発酵中は糖度を測定して発酵状況を管理し、発酵終了時期は、Brixが低下しなくなった時点とした。発酵を終了したワインもろみは遠心分離により酵母菌体、澱を除去した。

2.2.2 赤ワイン

収穫したブドウ果実を房から外し、水洗後、ピロ亜硫酸カリウム(メタカリ)を果実重量に対して0.04%加え、ドライアイスを噴霧しながらハンドブレンダーで搾汁した。ブドウ果汁は糖度計で糖度を測定し、上白糖を添加しBrixが21になるように調製した。

果汁は低温醸し(5°C、5日間)後、YPD培地で培養したワイン酵母培養液をブドウ果汁100mLあたり150μL添加し、25°C、4日間醸しを行い、その後、15°Cで発酵させた。発酵終了まで15°Cで温度管理した。発酵中は糖度を測定して発酵状況を管理し、発酵終了時期は、Brixが低下しなくなった時点とした。発酵を終了したワインもろみは遠心分離により酵母菌体、澱を除去した。

2.2.3 ワイン酵母

ワイン醸造に使用した酵母は、日本醸造協会のブドウ酒用4号(W-4)、Lallemand社ワイン酵母PERSY(赤)、AB Mauri社ワイン酵母UOA MaxiThiol(白)、AWRI350(赤)

^{*1)} メディカル技術支援科(当時: バイオ・食品グループ)

である。

2.3 マロラクティック発酵

発酵が終了したワインに市販乳酸菌スターターの製品処方に従い菌懸濁液を添加し、20°CでMLFを促した。発酵終了はリンゴ酸が約100ppm以下になる時点を目安とした。

使用した乳酸菌スターターは、Lalolemand社MLF乳酸菌MBR ALPHA (*Oenococcus oeni*) およびMBR ML PRIME (*Lactiplantibacillus plantarum*) である。

2.4 試験醸造ワインの成分分析

上槽したワインは、pH、糖度、酸度、アルコール、亜硫酸、有機酸、香气成分を分析した。pHはコンパクトpHメータB-711（株）堀場製作所製）を用いて測定した。糖度はデジタル糖度計PR-101a（株）アタゴ製）および手持屈折計RAB-32（アズワン（株）製）を用いて測定した。酸度は国税庁所定分析法²⁾に準じて分析した。アルコールは振動密度計Alcolyzer SAKE System（株）アントンパールジャパン）を用いて測定した。亜硫酸はワイン用亜硫酸測定器HI84500（ハンナインスツルメンツ・ジャパン（株）製）を用いて測定した。有機酸は100倍希釈し、フィルターろ過したものを試料として使い、キャピラリー電気泳動装置7100（アジレントテクノロジー（株）製）を使用して分析した。泳動条件は次のとおりに行った。カラム：アジレントテクノロジー（株）製fused-silica（75µmID, 75cm）、泳動バッファー：アジレントテクノロジー（株）製Organic Acid Buffer for CE pH 5.6、印加電圧：-25 kv、温度：20°C、波長：350 nm, ref 200 nm、注入量：2 sec./50 mmBar、キャピラリー温度：20°C。香气成分はガスクロマトグラフ質量分析計GCMS-QP2010Ultra（島津製作所（株）製）を用いて分析した。分析条件は次のとおりである。カラム：アジレントテクノロジー（株）製HP-INNOWAX（Length 60 m, 0.25 mmID, Film 0.25 µm）、カラムオープン：0-5 min.:40°C, 5-25 min.:40-240°C, 25-30 min.:240°C、キャリアガス：ヘリウム、スプリット比：5.0、サンプリング：ヘッドスペース（80°C, 10分）。

また、生成したワインは当センター職員、奈良県庁食農部職員、県内ワイン製造者11名により、「奈良県産業振興総合センターにおける人を対象とする研究倫理審査規程」に従い（申請番号：産総セR5-05）官能評価を行った。評価は色、香り、味、印象などについて自由記載とした。

3. 結果および考察

3.1 白ワイン

試験醸造を行ったMLF前の白ワインの分析値を表1に示す。各ブドウ品種につき、2種類の酵母を使用して醸造したが、使用酵母によって酸度以外に分析値に大きな違い

は見られなかった。モンドブリエではアルコールが15.3~15.5%、酸度が6.2~6.4、pHが3.8であった。シャルドネはアルコールが13.3~13.5%、酸度が5.6~6.4、pHが4.1~4.2を示した。MLFの条件として、pH 3.25~3.50、アルコール濃度が10~13.5%とされており³⁾、この条件からは幾分外れるが、乳酸菌はpH7付近でも問題なく増殖することや、菌種によるがある程度のアルコール耐性があることから乳酸菌スターターの増殖は可能であると考えられた。

表1 アルコール発酵後の白ワインの分析値

ブドウ品種 酵母	モンドブリエ		シャルドネ	
	W-4	UOA MaxiThiol	W-4	UOA MaxiThiol
アルコール(%)	15.50	15.34	13.41	13.33
pH	3.8	3.8	4.1	4.2
酸度	6.2	6.4	5.6	6.4
発酵前Brix	23.2	23.2	21.6	21.6
発酵後Brix	8.0	8.1	7.4	7.4
遊離亜硫酸(ppm)	1.0	1.3	1.0	1.7
発酵日数(日)	23	23	19	14

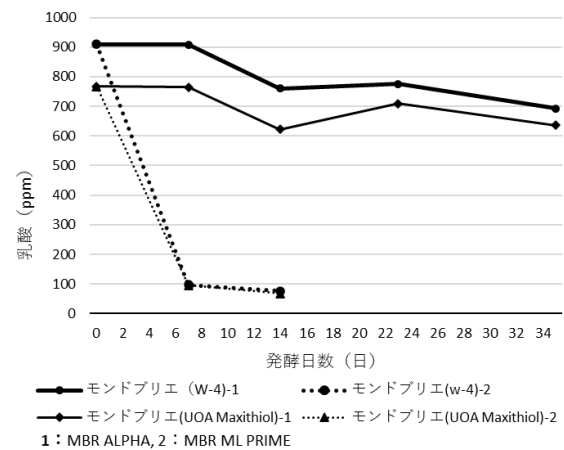


図1 MLF中のリンゴ酸の変化（モンドブリエ）

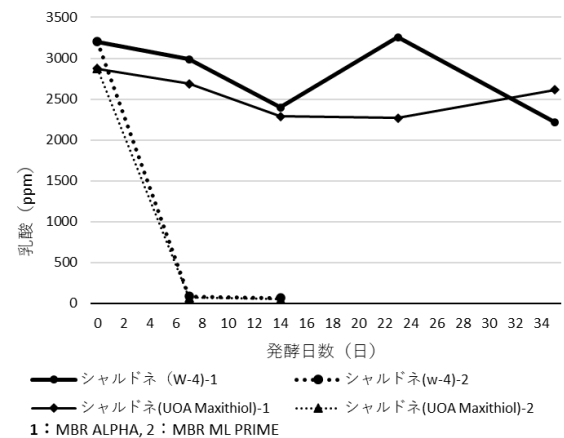


図2 MLF中のリンゴ酸の変化（シャルドネ）

MLF 期間中のリンゴ酸の含量の経時変化を, モンドブリエは図 1 に, シャルドネは図 2 に示した。

両品種とも乳酸菌スターター MBR ML PRIME の使用で, 7 日目にはリンゴ酸が 100 ppm 以下となり, リンゴ酸の消費を確認した。

一方乳酸菌スターター MBR ALPHA を使用した場合, ブドウ品種, 使用酵母にかかわらず発酵 35 日間経過後も, リンゴ酸の減少が見られず, MLF は起こらなかった。後述する赤ワインでは MBR ALPHA の使用で, MLF が起こったことから, 今回使用した白ワイン用ブドウ品種では, 乳酸菌スターターの生育に必要な栄養分が不足していた可能性が考えられた。

MLF 後の有機酸および酸度は, ブドウの品種, 使用酵母に関わらず, リンゴ酸は 100 ppm 以下に減少し, 乳酸の増加に伴い酸度が低下した。またその他の有機酸は大きな変化はなく, リン酸は幾分減少した (表 2)。

モンドブリエのワインは MLF 前のリンゴ酸が 760~900 ppm で, MLF 後の乳酸は 3~5 倍の約 1000 ppm に留まり, シャルドネでは MLF 前のリンゴ酸が 2800~3200 ppm あり, MLF 後の乳酸は 8~12 倍の約 3000 ppm と大きく増加した。

香気成分は MLF の前後で両品種とも, 大きく変動する成分は少なく, 使用酵母に関わらず, 酢酸エチル, カプリン酸エチルは減少し, 酢酸イソブチル, 酪酸エチル, 酢酸ヘキシルはわずかに減少傾向, イソブチルアルコール, イソアミルアルコールは同等かわずかに増加傾向, カブロン酸エチルはわずかに増加傾向を示した (表 3)。

表 2 生成白ワインの有機酸・酸度

ブドウ品種	モンドブリエ				シャルドネ			
	W-4		UOA MaxiThiol		W-4		UOA MaxiThiol	
	MLF前	ML PRIME	MLF前	ML PRIME	MLF前	ML PRIME	MLF前	ML PRIME
酒石酸	1837.1	1858.4	1749.8	1743.5	854.6	900.7	887.3	964.1
リンゴ酸	909.8	76.6	767.9	68.1	3204.2	62.8	2874.0	47.6
クエン酸	125.5	149.6	146.5	160.2	193.8	198.5	202.9	202.3
コハク酸	2077.2	1729.9	2389.2	2118.9	1596.4	1498.6	1414.0	1198.3
ピルビン酸	97.9	42.3	117.2	91.3	38.6	45.1	146.1	52.8
酢酸	583.0	653.1	763.0	966.3	441.1	567.3	586.1	552.8
乳酸	213.1	1022.1	341.2	1083.5	291.1	3701.9	409.7	3140.3
リン酸	356.0	161.4	381.1	228.8	788.6	362.5	708.3	348.9
ピログルタミン酸	38.6	49.3	144.9	50.1	63.4	38.6	114.3	109.6
酸度	6.2	5.6	6.4	5.2	5.6	4.8	6.4	4.4

表 3 生成白ワインの香気成分

ブドウ品種	モンドブリエ				シャルドネ			
	W-4		UOA MaxiThiol		W-4		UOA MaxiThiol	
	MLF前	ML PRIME	MLF前	ML PRIME	MLF前	ML PRIME	MLF前	ML PRIME
酢酸エチル	67.09	60.20	113.32	60.99	85.71	62.37	129.43	86.49
酢酸イソブチル	0.18	0.16	0.12	0.06	0.14	0.11	0.08	0.07
酪酸エチル	0.74	0.70	1.24	0.67	0.54	0.48	0.65	0.59
プロパノール	18.86	19.90	73.63	78.47	19.68	19.38	70.36	65.36
イソブチルアルコール	29.85	35.19	10.26	12.14	24.78	27.46	8.31	8.77
酢酸イソアミル	8.27	6.59	6.62	3.03	4.85	4.13	4.49	4.59
イソアミルアルコール	165.18	169.88	91.57	91.24	106.53	122.76	92.82	101.88
カブロン酸エチル	0.35	1.23	0.66	0.92	1.30	1.63	0.77	1.08
酢酸ヘキシル	0.06	0.03	0.10	0.02	0.11	0.08	0.14	0.12
カプリル酸エチル	1.55	1.81	2.08	1.11	1.69	2.25	1.36	1.72
カプリン酸エチル	2.65	1.37	4.40	0.96	12.65	5.65	14.24	4.89

MLF 後のワインの官能評価では, リンゴ酸が少ないモンドブリエは MLF 前後の味の変化が少なく, 若干酸味が和らいだという評価を得た。一方, シャルドネは酸味が穏やかなワインになった評価を得た。

3.2 赤ワイン

表 4 アルコール発酵後の赤ワインの分析値

ブドウ品種	メルロー			カベルネソーヴィニオン		
	W-4	PERSY	AWRI350	W-4	PERSY	AWRI350
アルコール(%)	12.50	12.45	12.55	12.20	12.24	12.20
pH	4.1	4.1	4.1	3.9	3.9	4.0
酸度	6.8	5.6	6.4	8.4	7.6	9.0
発酵前Brix	21.3	21.3	21.3	21.7	21.7	21.7
発酵後Brix	7.7	7.5	7.6	7.8	7.4	7.6
遊離亜硫酸(ppm)	2.8	2.9	2.8	1.5	1.7	1.8
発酵日数(日)	11	11	15	11	11	13

試験醸造を行った MLF 前の赤ワインの分析値を表 4 に示す。3 種類の酵母を使用した試験醸造において, 酸度以外は分析値に大きな違いは見られなかった。メルローはアルコールが 12.5%前後, 酸度が 5.6~6.8, pH が 4.1 であった。カベルネ・ソーヴィニオンはアルコールが 12.0~12.2%, 酸度が 7.6~9.0, pH が 3.9~4.0 であった。白ワインと同様に MLF の適切な条件からは幾分外れるが, 乳酸菌は pH7 付近でも問題なく増殖することから乳酸菌スターターの増殖は可能であると考えられた。

MLF 期間中のリンゴ酸の含量の経時変化を, メルローは図 3, カベルネ・ソーヴィニオンは図 4 に示した。

乳酸菌スターター MBR ALPHA を使用したものは, メルローで発酵 14 日目, カベルネ・ソーヴィニオンで発酵 14~23 日目でリンゴ酸はほぼ 100 ppm 以下となり, リンゴ酸をほぼ消費した。一方, 乳酸菌スターター MBR ML PRIME を使用したものは, 両ブドウ品種とも発酵 7 日目にリンゴ酸が 100 ppm 以下となり, MBR ALPHA より速く MLF が終了した。

MBR ML PRIME (*L. plantarum*) は乳酸発酵期間中, 菌が増殖しないためスターターを大量に添加するのに対し, MBR ALPHA (*O. oeni*) は, 増殖しながら発酵することから, スターターの添加量は少ない。そのため発酵初期はワイン中の菌数が少なく, リンゴ酸の減少も小さくなる。これにより発酵期間が MBR ML PRIME より長くなったと考えられた。発酵期間に差が見られたものの, いずれの乳酸菌スターターであってもスムーズに乳酸発酵が進んだ。

MLF 前後の有機酸および酸度は, ブドウの品種, 使用酵母に関わらず, よく似た変化をしており, リンゴ酸が大きく減少し, 概ね 100 ppm 以下となり, 乳酸が大きく増加した。それに伴い酸度が低くなった。またその他の有機酸は酒石酸, 酢酸が増加し, リン酸が減少したものが大半であった (表 5)。

赤ワイン用の両ブドウ品種は, リンゴ酸が多く含まれており, MLF 後の乳酸はメルローで MLF 前の 4~8 倍の 2,100

～3,400 ppm, カベルネ・ソーヴィニオンで MLF 前の 9～14 倍の 4,500～5,500 ppm に大きく増加した。

香気成分は MLF の前後で両品種とも、大きく変動する成分は少なく、カプリン酸エチルはブドウ品種、酵母、乳酸菌の違いに関わらず MLF 後は減少した(表 6)。その他の成分は一定の増減の傾向がある成分は無かった。

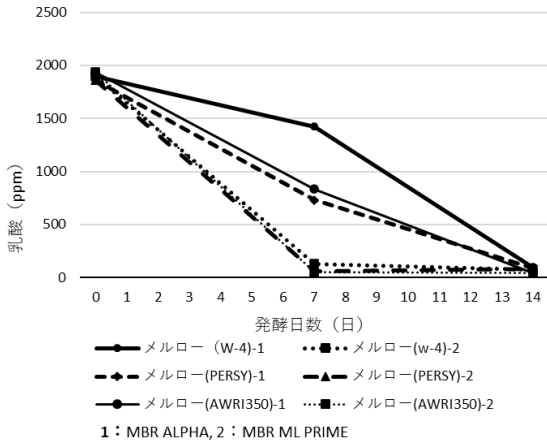


図 3 MLF 中のリンゴ酸の変化 (メルロー)

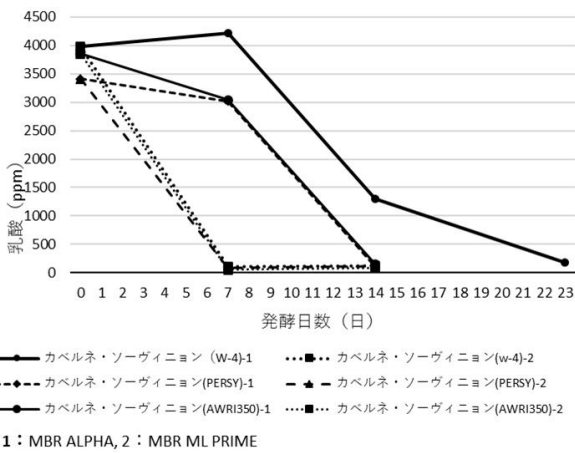


図 4 MLF 中のリンゴ酸の変化 (カベルネ・ソーヴィニオン)

MLF 後のワインの官能評価では、メルローは MLF 前には香りがやや少ないが、果実味が出ているという評価が多く見られた。MLF 後では、乳酸菌スターターとして MBR ALPHA を用いたワインは苦味が強く、香りを強く感じると評価された。乳酸菌スターターとして MBR ML PRIME を用いたワインは、苦味が少なく香りを強く感じるという評価があった。

カベルネ・ソーヴィニオンは、MLF 前には香りが強く、渋味が強いとの評価が見られた。MLF 後では、2 種の乳酸菌スターターで差は少なく、より重厚な味わいで香りも強く感じるとの評価であった。

表 5 生成赤ワインの有機酸・酸度

ブドウ品種 酵母 乳酸菌	メルロー								
	W-4			PERSY			AWR1350		
	MLF前	ALPHA	ML PRIME	MLF前	ALPHA	ML PRIME	MLF前	ALPHA	ML PRIME
酒石酸	673.7	709.5	731.2	704.1	815.7	976.3	796.1	1045.7	1024.0
リンゴ酸	1897.2	100.0	75.5	1858.7	89.3	85.1	1937.7	43.7	46.4
クエン酸	142.0	134.1	188.9	147.8	49.7	208.4	171.9	125.7	204.0
コハク酸	1645.5	1311.6	1431.3	1691.5	1574.1	2021.6	1309.1	1332.5	1461.9
ピルビン酸	39.8	86.7	81.2	100.3	48.6	37.4	126.8	36.6	37.7
酢酸	791.0	1183.4	1254.1	814.9	1889.5	2086.3	1167.5	1605.9	1468.0
乳酸	526.7	2152.6	2594.3	421.9	2497.2	3161.1	803.7	3070.4	3400.4
リン酸	1025.1	506.8	620.2	925.1	516.2	630.1	1203.5	581.1	611.1
ピログルタミン酸	69.1	62.7	74.0	94.3	53.0	84.8	83.6	74.4	57.9
酸度	6.8	4.8	5.2	5.6	4.4	5.2	6.4	4.4	5.2

ブドウ品種 酵母 乳酸菌	カベルネ・ソーヴィニオン								
	W-4			UOA MasThiol			AWR1350		
	MLF前	ALPHA	ML PRIME	MLF前	ALPHA	ML PRIME	MLF前	ALPHA	ML PRIME
酒石酸	702.5	1032.9	1055.1	596.0	909.9	903.3	514.7	803.7	741.1
リンゴ酸	3985.0	174.4	121.4	3409.4	96.7	112.1	3853.0	151.5	80.6
クエン酸	282.3	138.7	389.1	271.5	204.2	380.8	267.8	377.6	323.4
コハク酸	1940.4	969.0	1929.9	1924.0	1977.2	1999.8	1888.3	1972.8	1754.4
ピルビン酸	53.1	146.1	76.1	76.4	57.7	74.0	93.2	97.4	77.1
酢酸	941.6	1604.2	1412.3	862.5	1753.4	1392.3	481.5	1246.0	807.3
乳酸	391.7	4537.6	5523.0	491.7	4581.7	4717.6	571.7	5534.5	5296.5
リン酸	688.3	859.7	433.1	610.6	341.0	329.7	691.9	402.7	384.9
ピログルタミン酸	95.1	90.4	185.3	57.2	119.2	116.1	41.3	20.5	129.1
酸度	8.4	5.2	5.6	7.6	4.8	4.8	9.0	5.2	5.2

表 6 生成赤ワインの香気成分

ブドウ品種 酵母 乳酸菌	メルロー								
	W-4			PERSY			AWR1350		
	MLF前	ALPHA	ML PRIME	MLF前	ALPHA	ML PRIME	MLF前	ALPHA	ML PRIME
酢酸エチル	81.16	62.21	102.45	73.71	95.56	52.16	128.14	90.81	81.79
酢酸イソブチル	0.05	0.03	0.05	0.02	0.03	0.01	0.06	0.03	0.03
酢酸エチル	0.39	0.26	0.40	0.28	0.33	0.17	0.63	0.43	0.38
プロパノール	11.05	12.58	12.21	33.43	36.68	34.86	47.21	49.09	48.97
イソブチルアルコール	47.87	62.72	62.35	26.74	33.14	31.34	28.95	34.36	33.98
酢酸イソアミル	0.38	0.22	0.30	0.27	0.26	0.15	0.53	0.31	0.26
イソアミルアルコール	265.40	271.00	284.91	235.85	240.59	239.60	219.76	226.80	224.05
カプロン酸エチル	1.01	0.87	0.94	0.81	0.82	0.71	0.96	0.97	0.95
酢酸ヘキシル	0.004	0.003	0.002	0.004	0.002	0.001	0.004	0.001	0.001
カプリル酸エチル	1.12	0.99	0.88	0.92	0.97	0.92	0.99	1.12	1.10
カプリン酸エチル	3.49	1.50	1.05	4.41	1.85	1.02	2.24	0.86	0.79

ブドウ品種 酵母 乳酸菌	カベルネ・ソーヴィニオン								
	W-4			UOA MasThiol			AWR1350		
	MLF前	ALPHA	ML PRIME	MLF前	ALPHA	ML PRIME	MLF前	ALPHA	ML PRIME
酢酸エチル	111.99	53.08	46.11	37.54	65.70	70.06	62.96	82.82	90.16
酢酸イソブチル	0.25	0.10	0.08	0.03	0.07	0.06	0.10	0.10	0.11
酢酸エチル	0.49	0.24	0.20	0.14	0.24	0.23	0.36	0.41	0.45
プロパノール	15.06	13.67	13.81	29.60	42.45	45.51	55.18	54.54	58.21
イソブチルアルコール	58.26	55.15	56.79	26.82	30.68	31.54	29.80	33.62	35.13
酢酸イソアミル	3.47	1.57	1.22	1.26	1.38	1.10	2.62	2.41	2.67
イソアミルアルコール	275.87	259.97	264.22	205.32	209.83	203.04	201.62	201.78	199.24
カプロン酸エチル	0.99	0.78	0.76	0.47	0.72	0.68	0.68	0.95	1.02
酢酸ヘキシル	0.02	0.01	0.01	0.02	0.01	0.002	0.04	0.02	0.02
カプリル酸エチル	1.07	0.78	0.77	0.61	0.73	0.71	0.99	1.08	0.96
カプリン酸エチル	2.86	1.25	1.30	1.53	0.91	0.92	4.14	2.11	1.67

4. 結言

奈良県産ブドウを用いたワインの MLF 試験を行い、白ワイン (モンドブリエ, シャルドネ) では乳酸菌スターターとして MBR ML PRIME (*L. plantarum*) を使用すると乳酸発酵が起こったが、MBR ALPHA (*O. oeni*) では乳酸発酵は起こらなかった。

赤ワイン (メルロー, カベルネ・ソーヴィニオン) では、使用した 2 種の乳酸菌スターターで乳酸発酵が起こった。

MLF 後のワインの成分はリンゴ酸が大きく減少し、乳酸が増加したが、その他の成分は大きな変化が見られなかった。

MLF 後のワインは酸味が和らぐ一方で、特に赤ワインで苦味が増し、重厚な味わいになり、奈良県産ブドウのワイ

ンにおいても MLF の有用性を確認することができた。

謝辞

本研究を進めるにあたり, 奈良県農業研究開発センター果樹・葉草研究センター米田健一総括研究員をはじめとする職員の方々には原料ブドウの提供について多大な配慮とご協力いただき, 深謝いたします。また, 官能評価に協力して頂いた職員の方々, 木谷ワイン代表木谷一登氏に, 深謝いたします。

なお, 本研究で使用したキャピラリー電気泳動装置は, 公益財団法人 JKA の「機械振興補助事業」により導入, 設置したものである。



参考文献

- 1) 国税庁編, 日本ワイン産地マップ, 国税庁, 2020
- 2) 標準分析法注解編集委員会編, 酒類総合研究所標準分析法注解, p.89-90, 日本醸造協会, 2017
- 3) 横塚弘毅, 日本醸造協会誌, (95), p.17-22, 2000