

(訳注及び免責事項) この記事は、下記のサイトから、AWRI の同意を得て翻訳したものです。

<https://www.awri.com.au/wp-content/uploads/TN05.pdf>

なお、翻訳には細心の注意を払っていますが、完全性及び正確性を保証するものではありません。

発酵停滞または発酵遅延の救済のためのプロトコール

Procedure for rescue of stuck or slow alcoholic fermentation



このプロトコールをいつ使うのか

このプロトコールは、遅延または停滞した発酵のための「レスキュー（救済）」酵母培養液の作成に必要な手順を示す。これは、ワイン醸造家、AWRI 研究者、および酵母メーカーが共有する経験に基づいて作成された。

このプロトコールは、アルコール分が 12%(v/v)以上、残糖が約 5~10 g/L 以上のワイン発酵液、特に発酵が通気、栄養源の添加、酵母細胞壁の添加、または更なる酵母接種などの標準的な手段で十分に反応しない時に推奨される。このスケールアップ方法の目的は、発酵が相対的に困難な条件にレスキュー酵母を順応させることである。

発酵液のアルコール分と糖濃度が低い場合は、かなりの時間と資材を必要とするこの方法よりも、順調に発酵を終了したばかりのワインの酵母の滓か、標準的な手順でブドウ果汁に酵母を増殖させて活性化したばかりの酵母培養液を使用して救済を試すことを推奨する。

問題のあるワインを救済に最も適した状態にするための準備段階

・発酵が停滞したワイン中の酵母の生存率を確認する (Iland *et al.* 2004 を参照、訳注：メチレンブルー染色法など)。60～70%未満の場合は有害な環境であることを裏付ける。

・マロラクティック発酵 (MLF) が始まっている場合は、MLF が完了するまで待つことが望ましい。次に、遊離亜硫酸濃度を 30 mg/L (pH 3.5 の場合) とするために必要な亜硫酸塩を追加し、少なくとも 24 時間放置する。必要ならば、ベントナイト処理と滓引きをする。

・酸化を防ぐために不活性ガスでワインを覆う。

・沈殿した酵母は救済を妨げる可能性があるので、可能であればワインを滓引きして除く。

・揮発酸量 (VA) を確認する。もし VA > 1.0 g/L なら有害な環境であるので、その場合は救済前に VA の削減を検討する必要がある。

・アルコール濃度を確認する。もしアルコールが 15%(v/v) を超えるならば、推奨される最大量の酵母細胞壁 (訳注：発酵助成剤として販売されている) の添加を考える。(注意—酵母細胞壁は新しく、古くない／悪臭がない／汚染されていないこと。クリーンなワインに最大推奨量の 2 倍の酵母細胞壁を数時間浸漬して官能評価により確認する。)

・微量栄養素の補給と有害物質の吸着の両方の作用によって再発酵しやすくするために、市販の酵母細胞壁製剤の添加を考慮する。

・YAN を測定し、20 mg/L YAN に調整する (100 mg/L の DAP は 20 mg/L の YAN の供給になる)。YAN の総量を考慮して、市販の発酵助成剤の推奨量を添加することは、有益だろう。

・ほとんどの発酵停滞したワインは残存グルコースよりも残存フルクトースが多いので、フルクトースを資化しやすいレスキュー酵母の使用を考える。

救済手順

以下のプロトコールは、1000 L の問題のある発酵中のワインに再接種する酵母の調製用であり、より大きい容量にスケールアップできる。

1. 発酵中のワイン全量を 18～22℃に温める。
2. 活性化培地を準備する。これは、可能であればブドウ果汁、またはブドウ濃縮果汁、水、複合栄養剤をベースにしている。いずれの場合も、使用前に 20℃に合わせる必要がある。2つの「レシピ」を以下に示す。

ブドウ果汁の活性化培地	濃縮果汁を水で希釈した活性化培地
10 L のブドウ果汁（亜硫酸を含まない） 5 L の清浄な水（塩素を含まない） 15 g の DAP 推奨量の 10 倍量の市販発酵助成剤（ステロール類）	15 L の清浄な水（塩素を含まない） 3 kg のブドウ濃縮果汁 （ブドウ濃縮果汁は容積ではなく重量で計量する。ブドウ濃縮果汁は糖分が約 67%なので、この量は約 2 kg のショ糖に相当する。） 15 g の DAP 推奨量の 10 倍量の市販発酵助成剤（ステロール類）

3. 酵母を再水和する。推奨される通常の酵母接種量の 2 倍を使用する。1000 L の場合、5 L の清浄な水（塩素などの阻害物質を含まない）に 38～40℃で 15 分間懸濁することで、500 g の乾燥酵母を再水和する。最初に添加した時に酵母が完全に水に浸るようにする以外は、この段階では攪拌しない。ワイン醸造家からの意見によると、最もうまくいく酵母は、PDM または Prize de mousse として市販されている株である。酵母メーカーは、Lalvin Uvaferm 43, Maurivin Elegance, または Oenoferm Freddo などのフラクトース資化性の強い酵母をよく推奨する。特別な発酵条件の場合、推奨される菌株と活性化手順については、酵母の供給元に相談すること。
4. 再水和の時間の後、活性化培地（15 L）を、培養液を冷却するために、少量ずつ数回に分けて徐々に加えるが（下表を参照）、各添加は 5 分間隔で行う。添加するたびに注意深く混合する。残糖の約 50%が消費されるまで、活性化した培養液を静置する（比重計で監視する）。これには約 4 時間かかるようである（下表を参照）。
5. この時点で、問題のある発酵中のワインを 20 L 加え、フィルターろ過した空気を 1 分当たり 0.01～0.1 容量の速度で通気する（つまり、容量が 40 L の場合、空気の流量は 0.4～4 L /分の範囲になる）。可能であれば、スターラーバー（攪拌子）またはオーバーヘッドミキサーで攪拌して培養液を懸濁状態に保ち、酸素移動を容易にする。空気圧縮機（エアコンプレッサー）、マイクロオキシジェネーション装置、または機器グレードの除菌された圧縮空気のポンペを通気段階で使用する必要がある。酸素は、酵母細胞膜が高いアルコール濃度でその構造を維持するのを助ける必須栄養素である。もし通気が不可能ならば、ステロールを含む複合栄養剤（訳注：発酵助成剤）を空気または酸素の代わりに使用する必要がある。
6. 残糖濃度を 1 時間ごとに監視する。約 50%が発酵したら、再び容量が 2 倍になるように問題のある発酵中のワインを添加し、通気を続ける。

7. アルコール濃度を徐々に上げて、確実に酵母を順応させるために、このステップを少なくとも2回繰り返す。
8. この酵母培養液をタンクに加えて混合する。酵母培養液を添加する時、発酵中のワイン全量に約 20 mg DAP/L を添加してもよい。発酵液を 18～22℃に維持し、酵母が沈殿するのを防ぐために、少なくとも1日1回攪拌またはポンプで循環する。酸化を防ぐのに十分な酵母の活性がない可能性があるため、発酵液の通気は危険だろう。発酵していることが確かな時は、限定的な通気が有益な場合がある（5 mg/L の O₂ に相当する量）。
9. 少なくとも毎日、残糖濃度を分析する。この段階では、より正確な測定が必要で、Clinitest（訳注：市販の還元糖測定試薬）または別の方法を使用する。発酵速度が非常に遅い（1g/L/日未満）場合は、AWRI に連絡して支援を求める。

次の表は、添加の量と時期をまとめたものである。

処理段階	累積時間 (分)	品温 (℃)	添加量 (L)	累積容量 (L)	コメント
再水和	0	40	5	5	攪拌しない
冷却	15	約 35	2	7	活性化培地を添加して混合する
冷却	20	約 30	3	10	上記と同じ
冷却	25	約 25	5	15	上記と同じ
冷却	30	約 20	5	20	上記と同じ
順応培養	約 240	約 20	20	40	問題のある発酵液を添加して連続的に通気する
順応培養	約 600	約 20	40	80	上記と同じ
順応培養	(約 50%の残糖が残っている時)	約 20	80	160	上記のステップをさらに続けることもある

この工程の期間は変わりうることや、経過時間は次の発酵液の添加時期の指標として用いるべきではないことに注意する。糖分の消費速度の方がずっと重要である。酵母の再水和から発酵中のワイン全体への接種までの合計時間は、12～72 時間になるだろう。

酵母数が多いということは、存在する糖を急速に代謝できることを意味するので、酵母がどの段階でも残糖をすべて発酵してしまわないように注意する必要がある。もし順応中の培養液が「辛口になった」ならば、酵母活性の急速な低下が予想されるため、また新しい培養液を準備する必要がある。また、酵母活性の急速な低下が予想され、新しい培養液を準備する必要があるため、各段階での YAN が 20 mg/L YAN を下回らないことを確実にする。

特に困難な場合は、ワイン醸造家たちは、レスキュー酵母培養液をタンクに添加するより、ワイン発酵液をレスキュー培養液の最終段階に段階的に添加することで成功してきた。このような状況では、一定量の温めたワイン発酵液を 1 日 1 回または 1 日 2 回、酵母培養液が入っているタンクに移し、発酵速度を監視するために、各添加の前後に残糖濃度を測定する必要がある。

謝辞

この仕事は、オーストラリア政府からのマッチングファンドとともに、投資団体であるワイン・オーストラリアを通じてオーストラリアのブドウ栽培者とワインメーカーによってサポートされた。AWRI は Wine Innovation Cluster のメンバーである。

また、次のサプライヤーの方々にも感謝する： Lallemand Australia 社の Jason Amos 氏；AB Mauri 社の Anthony Heinrich 氏；CHR Hansen 社の Amanda Tanga 氏；IMCD Australia 社の Sue Mills 氏。

参考文献と著書

Eglinton, J.M., McWilliam, S.J., Fogarty, M.W., Francis, I.L., Kwiatkowski, M.J., Høj, P.B., Henschke, P.A. 2000. The effect of *Saccharomyces bayanus*-mediated fermentation on the chemical composition and aroma profile of Chardonnay wine. *Aust. J. Grape Wine Res.* 6 (3): 190-196.

Henschke, P.A. 1997. Preparing a yeast starter culture: fresh or dried yeast? Allen, M., Leske, P., Baldwin, G. (eds.) *Advances in juice clarification and yeast inoculation: proceedings of a seminar*, 15 August 1996; Melbourne, Vic. Adelaide, SA: ASVO: 17-21.

Iland, P. Bruer, N. Edwards, G. Weeks, S. Wilkes, E. 2004. Chemical analysis of grapes and wine: techniques and concepts. Patrick Iland Wine Promotions: Campbelltown, SA: iv, 110.

Soubeyrand, V., Julien, A., Sablayrolles, J.-M., 2006. Rehydration protocols for active dry wine yeasts and the search for early indicators of yeast activity. *Am. J. Enol. Vitic.* 57(4), 474-480.

問い合わせ（訳注：以下はオーストラリア国内向けの情報）

さらなる情報については下記まで問い合わせること。

AWRIヘルプデスク

Phone 08 8313 6600 **Fax** 08 8313 6601 **Email** helpdesk@awri.com.au

Website http://www.awri.com.au/industry_support/winemaking_resources/

Address Wine Innovation Central Building, Corner of Hartley Grove & Paratoo Rd, Urrbrae (Adelaide), SA 5064