

## イチゴ果実を原料とした醸造品の開発に関する研究

上 木 勝 司\*・塩 沢 昌 代・横 山 啓 子

(山形大学農学部応用微生物学研究室)

(昭和62年8月27日受理)

### Attempts to Make Brewages from Strawberry Fruits

Katsuji UEKI\*, Masayo SHIOZAWA and Keiko YOKOYAMA

Laboratory of Applied Microbiology, Faculty of Agricultural Chemistry,  
Yamagata University, Tsuruoka 997, Japan

(Received August 27, 1987)

#### Summary

Production of brewages from strawberry fruits was attempted.

Five yeast strains including wine yeasts and sake yeasts were tested for the fermentation of the fruit, and a strain of wine yeast, *Saccharomyces cerevisiae* OC-2 was selected for the brewing. Fermentation proceeded well even in fruits crushed very slightly by hands. Refrigeration of the fruit at  $-20^{\circ}\text{C}$  for at least 1 year did not brought about any significant effects on the brewing.

The brewage obtained after the removal of debris of the fruit from the fermentation fluid by filtration and centrifugation had a red coloration and emitted fragrance fundamentally composed of the sweet odor of the strawberry fruit. The brewage, however, tasted very sour, and its ethanol concentration was very low. Thus, crushed fruits should have been supplemented with fermentable sugars such as sucrose at concentrations over 15% (w/v) to increase the ethanol concentration to the level of that in the prevailing wine and to weaken the acid taste. The ethanol concentration increased to the maximum level, i. e., about 2.5 M with increasing the concentration of supplemented sucrose up to 25% (w/v). The pH value of the brewage was 3.5~3.9, and the acidity was about 0.6. The brewage contained ascorbic acid at a high concentration and, as main amino acids, serine and cysteine.

#### はじめに

本報告は、山形県酒田市農水産課の要請により1985年度より取り組んできた受託研究、「イチゴ、メロン等のワイン化に関する試験研究」の一部をまとめたものである。

庄内地域におけるイチゴの栽培は、1985年度実績で、作付面積は190haにおよび、収穫高も1,600tを越えている。また、砂丘地域を中心とする酒田市内管内における1986年度の出荷量は約1,200tに及び、イチゴは庄内砂丘地域における特産農産物の一つとなっている。なお、生食には適さないキズものや小粒のものなど、そのうちのかなりの部分が加工用としてジャムの製造などに利用されており、ワイン等への醸造加工を始めとした、更に高い付加価値が期待される加工利用法の開発が求められてきた。

ワイン等のアルコール飲料の品質を規定する要因としては、酸味、甘味、渋味などの味覚上の特性、更には、香り、色調、アルコール度などをあげることができる。従って、ワイン等の開発に際しては、これらの品質にかかわる諸要因に注目しつつ、(1) 原料の特性の把握及びその保存法、(2) 原料の一次処理法（破碎のし方、不用部分の除去など）、(3) 使用酵母及び発酵温度などの発酵条件の選択、更には、(5) オリヒキ、熟成及び保存条件などの発酵処理後の品質の安定性にかかわる問題など、多くの課題を検討する必要がある。

本研究は、上記の諸課題に留意しつつ、イチゴ果実を原料とした醸造品開発の可能性を、ワイン、更にはブランデー等の蒸留酒に重点を置いて、探ることを目的として取り組まれた。

## 材 料 と 方 法

### 供試イチゴ果実及び発酵条件

原料イチゴ果実には山形県酒田市浜中産の宝交早生を用い、収穫後1日から3日間室温下で放置したもの及びそれを2週間から1年間-20℃で凍結保存したものをを用いた。酵母はワイン醸造用酵母2菌株(*Saccharomyces cerevisiae* OC-2及びKW-3株)、清酒醸造用酵母2菌株(*S. cerevisiae* 協会7号及び協会9号株)、「平核無」カキの果実より分離した未同定の野生酵母1菌株(J5-4株)の計5菌株を使用した。

醸造方法の概略は以下の通りである。オートクレーブで滅菌したイチゴ果実破砕液(以下、破砕液)に菌を接種し、約24時間、30℃で静置して前培養し、菌濃度が $10^8$  cells/mlのレベルの菌液を得る。この前培養菌液を用いて、破砕液またはそれに糖(しょ糖またはぶどう糖)を添加したもの300mlから2,000mlに菌濃度が $10^4$  cells/mlのレベルになるように菌を接種し、静置して発酵させた。発酵容器にはプラスチックねじ蓋付き広口ガラス瓶(容量600ml)とナス型フラスコ(容量3,000mlまたは5,000ml)を破砕液の仕込量にあわせて使用した。

### 分析方法

成分分析にはすべて、発酵液を1,000 xg, 10分間の遠心を行い、また、必要な場合は、更にメンブランフィルター(孔径0.8 µm, Millipore Co.)でろ過して固形物を除去して得られた液体部分を試料として用いた。なお、発酵液中の各成分の濃度はこの固形物を除去した試料液当りの値で表してある。エタノールは日立ガスクロマトグラフ163型を使用して定量した。試料液に除蛋白剤であるメタリン酸溶液(25%メタリン酸/5N硫酸)を5分の1容加えて1晩以上静置した後、1,000 xg, 10分間の遠心を行って得られた上清をガスクロマトグラフにかけた。還元糖はDNPA法<sup>1)</sup>で、全糖はフェノール-硫酸法<sup>2)</sup>でそれぞれブドウ糖を標準試料にして定量した。アスコルビン酸の定量はヒドラジン法<sup>3)</sup>で行った。アミノ酸の定量は日立高速アミノ酸分析装置835型を用いて行った。

### 発酵液中の酵母菌濃度の測定

発酵液中の酵母菌濃度は希釈平板法で測定した。すなわち、イチゴ果実を家庭用のミキサーで十分に破砕して得られた破砕液をオートクレーブで滅菌した後、上記の

醸造方法に準じて、前培養菌液を接種し、18℃で発酵させた。発酵各時期に発酵液を無菌的に採取し、滅菌水で希釈した後、トマト寒天培地(トマト抽出液(pH 6.0)+寒天(2%))で、1日から2日間、30℃で平板培養し、コロニー数を計数した。

## 結 果 と 考 察

### 酵母菌株及びイチゴ果実の一次処理の発酵に及ぼす影響

ミキサーで軽く破砕したイチゴ果実に、ワイン醸造用酵母であるOC-2とKW-3株、清酒醸造用酵母である協会7号と9号株及び未同定の野生酵母であるJ5-4株を $10^5$  cells/mlレベルの菌濃度で接種し、室温下で発酵させた。なお、供試イチゴ果実の糖度はぶどう糖相当で9~10% (w/v)程度であり、一般のワイン並のエタノール濃度を実現するためには糖分を補充する必要があると思われたため、しょ糖を7% (w/v)添加した破砕液の発酵を無添加のものと比較した。また、イチゴ果実のヘタは、そう強くはないものの、苦みを呈するため、ヘタを除去した果実とヘタ付き果実の破砕液についても発酵を比較した。夜間でも30℃を越えるなど、室温が非常に高かったため、J5-4株接種発酵液以外はいずれも極めて活発に発酵し、菌接種の翌日、すなわち菌接種後1日目には早くも激しい発泡が認められた。発泡は3日目まで激しく続いたが、その後、急激に低下した。特に、OC-2株接種のものは激しく発泡した。なお、J5-4株接種のものも2日目には発泡を開始し、醸造用酵母を接種した場合に比べて弱いものの、その後6日目にかけて発泡を続けた。それぞれ発泡が低下した時点で、すなわち醸造用酵母接種のものは5日目に、J5-4株接種のものは7日目に、発酵液をさらし布でろ過して果肉残渣を除去した後、低温(8~10℃)下に移した。醸造用酵母接種の発酵液では、低温下で静置した間、約2週間の間に、おそらくペクチン質と思われる多量のゼリー状のオリを生じた。この発酵液を5,000 xg, 5分間遠心し、ゼリー状のオリを除去したところ、赤色で透明の、イチゴ果実の香りをベースとした芳香を呈する、ワイン様醸造液が得られた。なお、J5-4株接種発酵液ではゼリー状のオリがあまり生成せず、上記処理で得られた醸造液はやや粘性の高いものであった。表-1は上記の各条件で発酵させて得られた醸造液の性質をまとめたものである。糖無添加で、すなわちイチゴ果実の糖分のみで発酵させると、醸造用酵母接種の場合でも、ぶどう糖0.26Mから0.3M、

Table 1. Effects of yeast strains and addition of sucrose on the fermentation of strawberry fruits<sup>a)</sup>.

Strains	Crushed fruits		Ethanol (M)	Taste
	Sucrose <sup>b)</sup>	Calyx		
OC-2	—	—	0.52	sour
	+	+	1.08	sour
	+	—	1.32	sour
KW-3	—	—	0.60	sour
	+	—	1.12	sour
Kyokai No. 7	—	—	0.52	sour
	+	+	1.22	sour
Kyokai No. 9	—	—	0.44	sour
	+	+	1.00	sour
	+	—	1.12	sour
J5-4	—	—	0.34	sweet
	+	—	0.88	sweet

a) Crushed fruits with or without calyces were fermented at room temperature with or without the addition of sucrose.

b) Concentration of sucrose added to crushed fruits was final 7% (w/v).

すなわち約5% (w/v) 相当しかエタノールが生成されず、ぶどう糖9~10% (w/v) に相当するその糖度から考えると、破碎液中の糖分のかかなりの部分が酵母の増殖に使われてしまうものと思われた。しかし、糖添加（ヘタ除去）発酵液では糖無添加に比べてエタノール濃度が0.5 M から0.8 M ほど高くなっており、特にOC-2株接種では0.8 M と、7% (w/v) の添加し、糖濃度、すなわち約0.4 M のぶどう糖に対応したエタノール濃度の上昇が認められ、添加し、糖はほぼ完全にエタノールへと変換されているものと考えられた。なお、ヘタ入り発酵液ではヘタ除去発酵液に比べエタノール生成が低くなる傾向が認められた。発酵の弱かったJ5-4接種発酵液のエタノール濃度は醸造用酵母接種の場合の約70%であった。味覚上の点では、J5-4接種は強い甘味を呈していたが、発酵が強く進んだ醸造用酵母接種はすべて強い酸味を呈していた。なお、ヘタ入りとヘタ除去とでは特に味覚上の違いは認められなかった。

収穫後2日間室温下に放置した後、-20℃で約3週間凍結保存したイチゴ果実について、上記4種の醸造用酵母を用いて、添加し、糖濃度を12% (w/v) に上げ、低温

下(8~10℃)で発酵させた。この場合、果実の破碎は手で軽く押しつぶす程度とし、接種菌濃度は $10^4$  cells/ml レベルとした。いずれも菌接種3日目以降に発泡が活発化し、その後12日間にわたって発泡し続けた。さらし布ろ過、更には遠心処理を行って得られた醸造液は、ゼリー状のオリが充分に生成しなかったため、やや粘性の高いものとなった。低温条件下など、発酵が活発に進行しない場合には、ペクチン様物質の不溶化が充分に起こらないものと推察された。エタノール濃度はOC-2とKW-3株接種では1.66M、協会7号株接種は1.22M、協会9号株接種では0.96Mと、清酒醸造用酵母よりもワイン醸造用酵母接種の方が高かった。なお、酸味がやや和らいだものの、味、香り、色調はいずれも表-1に示したものと基本的に変わず、冷凍保存処理は発酵には特にきわだった効果は及ばないものと結論された。

以上の結果より、イチゴ果実を上記醸造用酵母を用いて発酵させた場合、いずれも色と香りにおいて優れた特質を有するワイン様の醸造液を得ることができるが、発酵の強さから見ると、上記4種の醸造用酵母のうちではOC-2株が最も適していると思われた。また、エタノール濃度を一般のワイン並に上げ、なおかつ甘味を残して酸味を和らげるためには、少なくとも15% (w/v) をこえる糖分の補充が必要であると推察された。

#### イチゴ破碎液の発酵中の成分変化と酵母菌濃度の変化

上記試験結果をふまえ、15% (w/v) 以上の糖添加濃度で、OC-2株を用いて、接種菌濃度を $10^4$  cells/ml レベルに、また、発酵温度を18℃にして、発酵中の破碎液の成分変化を調査した。イチゴ果実の破碎は、冷凍及び生のいずれを用いた場合も、「材料と方法」に記してある酵母菌濃度の測定に供した場合以外は、手で軽く押しつぶす程度とした。

し、糖15% (w/v) 添加破碎液を上記条件で発酵させた場合、一般に菌接種後2日目には激しく発泡を始めた。発酵液はその後約5日間にわたって激しく発泡し続け、その間にゼリー状の物質が析出した。発泡は8日目から9日目には低下し始めたものの、その後、更に11日目にかけて持続した。

図-1はし、糖15% (w/v) 添加破碎液の発酵中の酵母菌濃度の変化を示す。酵母は菌接種後直ちに増殖を始め、菌接種後3日目までの間に、菌濃度は接種時の $2.09 \times 10^4$  cells/ml から約 $1.0 \times 10^8$  cells/ml へと指数的に上昇した。4日目以降は著しい菌濃度の上昇は認められ

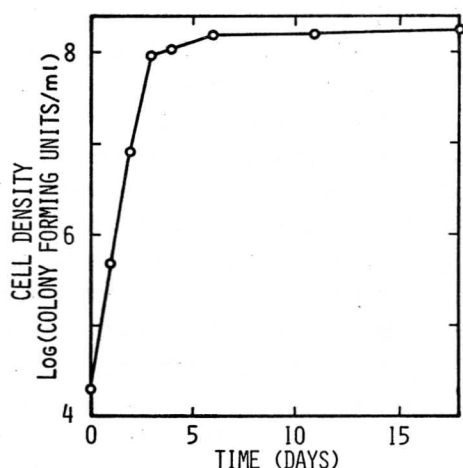


Fig. 1. Proliferation of yeast cells in crushed strawberry fruits. Crushed fruits supplemented with 15% (w/v) sucrose were fermented at 18°C.

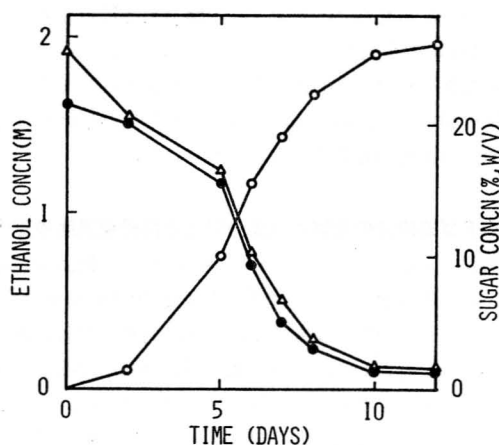


Fig. 2. Fermentation of crushed strawberry fruits. Crushed fruits supplemented with 15% (w/v) sucrose were fermented at 18°C. Concentrations of ethanol (○), total sugars (●) and reducing sugars (△) are presented.

ず、発泡が完全に停止した11日目の菌濃度は  $1.58 \times 10^8$  cells/ml であり、その後1週間を経た18日目では  $1.80 \times 10^8$  cells/ml であった。図-2は同じくしょ糖15% (w/v) 添加破碎液の発酵中のエタノール濃度及び糖濃度の変化を示す。エタノールは2日目より検出され始め、その後、8日目までの6日間で約1.7 M まで急激に濃度が上昇した。8日目以降はエタノール濃度の上昇はゆるやか

になり、発泡がほぼ完全に停止した12日目には約2 Mに達していた。一方、糖濃度は全糖、還元糖ともにエタノール濃度の上昇に対応して低下し、菌接種時には20% (w/v) をこえていた全糖及び還元糖濃度は12日目にはいずれも2.0% (w/v) 程度に低下していた。

なお、しょ糖にかえてぶどう糖を添加した場合、発酵中のエタノール及び糖濃度の変化はしょ糖添加のものと基本的にかわらなかったが、最終的に得られた醸造液は極めて強い苦みを呈した。また、本試験では、酒母としての前培養菌液の調製には滅菌破碎液を使用したものの、それ以外は特別な雑菌汚染防止措置を施さずに破碎液を発酵させたが、酸敗その他の雑菌汚染による障害は認められなかった。ワイン醸造で一般的に使用されている雑菌汚染防止剤であるメタ重亜硫酸カリウム ( $K_2S_2O_5$ ) を添加した場合は、時間をおいて徐々に赤色の色調が回復してくるものの、破碎液は速やかに退色して白色となった。なお、最終濃度0.05% (w/v) でメタ重亜硫酸カリウムを添加した場合、接種菌に対しても激しい殺菌効果が及び、少なくとも菌接種後16日間はエタノール生成が認められず、また、糖濃度も変化しないなど、破碎液は全く発酵しなかった。

イチゴ破碎液の液体部分にはぶどう糖などの還元性の単糖のほかにはペクチンなどの可溶性の多糖が含まれている。ちなみに、イチゴ果汁中のペクチンの濃度は0.4% (w/v) 程度といわれている。それ故に、多糖を含めた全ての糖成分の総和である全糖の濃度は還元糖の濃度よりも高くなるはずである。しかるに、本試験では、図-2に示した結果に代表されるように、全糖濃度に比べて還元糖濃度の方がわずかに高くなっており、還元糖の定量にイチゴ破碎液中の糖以外の還元性の物質が影響しているものと思われた。また、しょ糖を添加したにもかかわらず、菌接種時に全糖とほぼ同濃度の還元糖が検出され、しかも、全糖、還元糖濃度のいずれもがしょ糖相当の濃度でぶどう糖を添加したものとかわらなかった。破碎液中では、イチゴ果肉及び酵母菌由来のインベルターゼにより、極めて速やかにしょ糖が加水分解されるものと思われた。

図-3は発酵中のアスコルビン酸濃度の変化を示す。イチゴ果実はアスコルビン酸含量が高く、菌接種直後では還元型が約120  $\mu\text{g/ml}$ 、酸化型が約450  $\mu\text{g/ml}$ 、総計約570  $\mu\text{g/ml}$  と高い値を示した。発酵の進行にともなって、還元型がわずかに減少し、逆に酸化型が増加する傾向が認められたが、全アスコルビン濃度は変化しなかった。

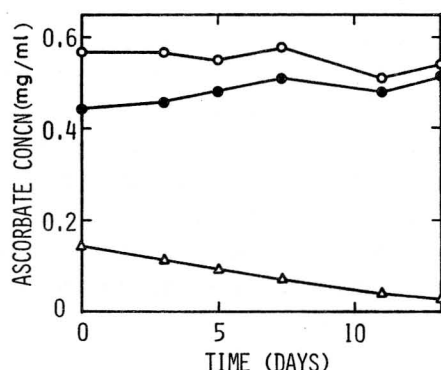


Fig. 3. Concentration of ascorbic acid in fermenting crushed strawberry fruits. Crushed fruits supplemented with 17% (w/v) sucrose were fermented at 18°C. (○): oxidized form + reduced form, (●): oxidized form, (△): reduced form.

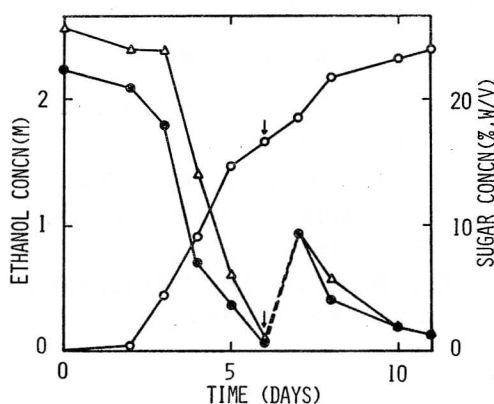


Fig. 4. Addition of sucrose to fermenting crushed strawberry fruits. Concentrations of ethanol (○), total sugars (●) and reducing sugars (△) are presented. Crushed fruits supplemented with 15% (w/v) sucrose were fermented at 18°C for 6 days, and debris of the fruit were removed by filtration. The filtrate was supplemented with sucrose at final 10% (w/v) and fermented again at 18°C. Arrows indicate the time of the addition of sucrose to the filtrate.

図-4は15% (w/v) しゅ糖添加破碎液の発酵途中で更にしゅ糖を追添加した場合のエタノール及び糖濃度の変化を示す。この場合、菌接種後6日目の発酵液をさらし布でろ過して果肉残渣を除去した後、しゅ糖を10% (w/v)

追添加した。エタノール濃度はしゅ糖を追添加した6日目には1.75Mに達していた。なお、この場合、6日目には発泡はやや低下のさざしを見せていたが、糖追添加により再び活発化した。エタノール濃度は糖追添加以降も上昇し続け、完全に発泡が停止した11日目には約2.5Mに達していた。一方、全糖及び還元糖のいずれも6日目には約1% (w/v) に低下しており、糖追添加により一次的に上昇するものの、11日目には約3% (w/v) に低下していた。しゅ糖追添加の時期を9日目に遅らせた場合や濃度を15% (w/v) に高めた場合も検討したが、いずれも発泡が停止した時点のエタノール濃度は約2.5Mであった。

#### イチゴ破碎液のペクチナーゼ添加発酵

発酵中に析出するゼリー状物質を70%エタノールで遠心洗浄して高分子成分を集め、それを試料に市販のペクチナーゼ (和光純薬工業, EC 3.2.1.15) を作用させたところ、全糖濃度は変化せず、還元糖濃度が速やかに上昇し、このゼリー状物質はペクチンを主成分とするものと推察された。そこで、発酵中にペクチンを加水分解して発酵の糖源として利用し、ゼリー状物質の析出を抑えることが可能と思われたため、イチゴ破碎液のpHをこのペクチナーゼの至適pHであるpH 4.5に調整し、ペクチナーゼを0.5 mg/mlの濃度で添加して発酵させてみた。ペクチナーゼ添加ではゼリー状物質が析出せず、最終的に得られた醸造液は無添加のものに比べて粘性が低く、その点で味覚的にも良好であった。なお、先にも述べたように、イチゴ果汁のペクチン含量は0.4% (w/v) 程度といわれており、ペクチナーゼ添加では無添加に比べて発酵終了時のエタノール濃度がわずかに高くなる傾向がみられたものの、発酵中のエタノール及び糖濃度の変化はペクチナーゼ無添加のものとはほとんど変わらなかった。

#### イチゴ果実醸造液の特性

OC-2株でイチゴ果実を発酵させて得られた醸造液は、イチゴ果実の香りをベースとした芳香を呈する赤色の透明な液体であり、発酵条件によっては若干の苦みを呈するものの、口当りのよいものであった。なお、醸造液ではイチゴ果汁に見られる500 nmの吸収ピークが著しく低下しており、果汁そのものに比べて黄色味を増した色調を呈した。醸造液のpHは3.5~3.9、全窒素は約0.003% (w/v)、酸度は約0.6であった。エタノール濃度

は添加した糖の濃度に依存し、15% (w/v) しゅ糖添加では1.8~2.0Mであり、発酵途中で更に10% (w/v) 以上追加した場合は約2.5Mであった。味覚上の特性では、15% (w/v) 以下のしゅ糖添加で発酵させた場合は、残留糖濃度が1% (w/v) 程度となり、酸味の強いものとなったが、更に糖添加濃度を高めると酸味を抑え適度の甘味を残すことができた。醸造液は果汁とかわらぬ高濃度のアスコルビン酸を有し、また、セリン (3.47  $\mu\text{g}/\text{ml}$ )、システイン (2.39  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) 及びバリン (0.25  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) を主とする、極めて特色あるアミノ酸組成を示した。なお、イチゴ果実1kgをしゅ糖15% (w/v) 添加で発酵させると1,000ml近くの醸造液を得ることができた。また、醸造液を減圧濃縮してエタノール濃度が約40% (v/v) の蒸留液を得たが、イチゴ果実の香りをベースとするのはかな芳香を呈するものであった。

#### お わ り に

近年、ワインの消費は拡大の傾向にあるが、その一方で、輸入の拡大とともに、全国的にも、いわゆる一村一品運動などの地域おこし運動の一環としてなど、ワイン造りが盛んになり、ブドウ以外の果実を原料としたものも含め、低価格でしかも良質のワインが豊富に供給されており、ワイン市場は激しい過当競争下に入りつつあるといわれている。それ故に、新たなワインを開発し市場に参入するためには、原料の特性等が十分に生かされた、個性豊かなものであることが一つの条件としてあげられている。イチゴ果実を原料とした場合、既に述べたように、イチゴ果実の香りと色をベースとした極めて個

性的なワイン及び蒸留酒の醸造が可能であり、この点は今後商品化を目指して更に検討を進める上での一つのポイントであるといえる。いうまでも無いことではあるが、ワイン等のアルコール飲料はあくまでも嗜好品の一つである。それ故に、本研究の実用化、すなわち、商品化に向けた今後の検討においては、広範な消費者を対象とした官能テストを重ねるなど、嗜好に焦点をあてた検討を重視するとともに、生産コスト等についての綿密な検討を行う必要がある。これらの点は今後に残された最も重要な課題である。

#### 謝 辞

アミノ酸分析及び酸度、全窒素濃度の測定は、正田醤油株式会社佐藤哲郎氏に御協力頂いた。庄内地域におけるイチゴの生産高に関する資料は庄内経済連大川元弥氏より御提供頂いた。また、本研究を遂行する上で、斎藤研一氏をはじめ酒田市役所農水産課の皆さんには多くの励ましを頂いた。ここに深く感謝の意を表します。

#### 引 用 文 献

- 1) Momose, T., Inaba, A., Mukai, Y., and Watanabe, M.: *Talanta*, 5, 275 (1960).
- 2) 福井作蔵：還元糖の定量法，生物化学実験法A—1（瓜谷郁三，志村憲助，中村道徳，船津 勝編），東京大学出版会（1969）。
- 3) 京都大学農学部農芸化学教室：農芸化学実験書（増補）第2巻，産業図書（1957）。