

ワイン発酵と微生物学研究について

ワイン科学研究センター

篠原 隆

1. はじめに

ワイン（ブドウ酒）は、ブドウ果実を原料とした発酵による酒類であり、現在、日本を始めとして世界で広く生産されている。日本でのワイン醸造は明治時代に始まるが、欧米のワイン生産国では2000年余の歴史を有し、それぞれの銘醸地と品質の特徴が確立されている。日本では最近のワインブーム（1997-1999年）により、ワイン生産量が増大した。しかし、世界的な視点からでは、日本のワイン生産および消費量が少ない。ちなみに、日本のワイン消費量は国民一人当たり2.5リットル/年である。比較すると、伝統的な欧米のワイン生産国の消費量は20~60リットル/人・年であり、ワイン新世界および伝統的なワイン消費国では10~20リットル/人・年である（1999年）。これらの数値から、日本のワイン生産の発展が、さらに期待されるころである。

さて、ワイン生産の基本はブドウ栽培（ブドウ収穫）とワイン醸造（発酵および熟成）である。このうちワイン発酵は、ブドウ果実（果もろみ）がワイン（酒類）になる基本工程であり、この発酵において、ワインの種類（赤、白、ロゼ/甘口、辛口）、ならびにワイン品質が決定される。よって本発酵には、発酵力と芳香味生成に優れたワイン酵母が使用される。すなわち、優れたワイン生産には、優良性質のワイン酵母を選択して使用することが、重要課題である。

ワインの醸造研究は明治時代の殖産奨励期より始まり、当初はブドウ栽培研究と共に各地の試験研究所にて行われた。明治時代のワイン醸造は多くが自然発酵あるいは清酒酵母を利用したとされる。また、外国産ワイン酵母の利用も検討された。昭和10年代に至り、日本産の優良ワイン酵母の採取と選択が研究されており、優良株 OC-2（きょうかい酵

母ブドウ酒用1号）が選抜された。本酵母は、今日、なお利用されている¹⁾。

山梨大学工学部にワイン研究の研究施設が創設されたのは、昭和22年（1947年）であり、当初、山梨県内および国内のワイン生産者の指導ならびにワイン研究を目的とした。これは当初、発酵研究所とよばれ、次いで発酵化学研究施設（1950年）に改名し、現在のワイン科学研究センター（2000年）となった。創設当初より、ワインの微生物学研究が行われており、日本産および外国産のワイン酵母が研究された¹⁾。これより、山梨県のワイナリーから優良ワイン酵母 W-3 株（山梨酵母/きょうかい酵母ブドウ酒用4号）が選抜されており、山梨県や国内のワイナリーにて広く利用されている²⁾。また、昭和32年に発酵生産学科（現在、物質・生命工学科の生命工学コース）が新設されており、ワイン微生物学研究などが大きく進展した。最近、私どもの研究室（発酵微生物工学研究部門）では「低温発酵酵母」、「リンゴ酸生産酵母」、「キラー酵母」、「海洋酵母」などが研究されており、これらの新しい酵母が甲州ワインなどの発酵に利用されている。

今日、日本のワイン生産技術は改善されて品質的にレベルアップしたが、これが国内のワイン産業全体に及びかつ世界的な競争力を有するには、さらなるワイン醸造学研究ならびに基礎研究（分子生物学研究など）が必要であると考え。ここでは「ワインの発酵と微生物学」の研究について、ワインの芳香成分の生成ならびにワイン酵母の育種を中心に、その概要を紹介する。

2. ワイン醸造工程と芳香成分の生成およびその制御について

ワインの芳香成分は、ブドウ果実、アルコール発酵、マロラクティック発酵および熟成の工程において生成される（表1）。ブドウ果実に由来する成分

表1 ワインの醸造工程と芳香成分の生成

醸造工程	芳香成分	生成量 ^{a)} (mg/L)	香り
ブドウ ↓	テルペノール, フェノール, ヘキゼナール, アルコール類	1~20	果実香 品種香
アルコール発酵 ↓	高級アルコール, エステル類, アルデヒド類, 脂肪酸, 硫黄化合物, (ポリオール) ^{b)}	200~600	発酵の香り 新酒の香り
マロラクティック発酵 ↓	乳酸エチル, アセトイン, ジアセチル, 酢酸	60~300	乳酸発酵の香り
熟成	エチルエステル類 (酢酸, 乳酸, コハク酸, リンゴ酸, 酒石酸のエチルエステル), アセタール, フルフラール, ジメチルサルファイド, 樽材成分 (樽貯蔵のとき)	10~100	熟成香

a) おおよその生成量 (合計値).

b) 2, 3-ブタンジオール (500-700mg/L), グリセロール (6-8 g/L). これらは低揮発性成分であり, 甘味/コク味に寄与する. その生成量が大きいので括弧で示す.

は, 揮発テルペノール, 揮発フェノール, ヘキゼナール, アルコール類等であり, 果実香や品種香に寄与する. ワイン酵母によるアルコール発酵ではエチルアルコールが主要成分であるが, この二次生産物として高級アルコール, 揮発エステル, アルデヒド, 脂肪酸, 硫黄化合物等が生成し, これらが発酵の香り (新酒の香り/酒の香り) に寄与する. マロラクティック発酵は乳酸菌によるリンゴ酸分解であり, 乳酸が主要成分であるが, さらに乳酸エチル, アセトイン, ジアセチル, 酢酸等が生成されており, 乳酸発酵の香気として寄与する. 熟成工程では有機酸 (乳酸, コハク酸, リンゴ酸, 酒石酸) のエチルエステル類が生成していくが, これらは果実様や花様の芳香を有しており, 熟成香に寄与する. また, 残糖分のカaramel化に由来するカaramel香や焦臭が生成する. 樽発酵および樽貯蔵を行ったとき, 樽材からの芳香成分 (バニリン, ケルカスラクトン等) が樽香として寄与する.

これまでに多数の日本産および外国産ワインの芳香成分を分析し, その生成条件と香気特性や品質への関与を検討してきた. その結果, テルペノール (2), アルコール (8), エステル (10), カルボニル化合物 (2), ポリオール (2), ラクトン (1), および脂肪酸 (4) について, その成因と品質的意義を示した (括弧内は化合物数)³⁾. とくに, 基本的な発酵香気成分であるアセトアルデヒド, 酢酸エチル, 高級アルコール, アセトインおよび乳酸エチルの迅速な分析のためには, ごく微量のワイン (1 μ l) をガスクロマトグラフに導入する簡便法を確立した. 本研究により, アセトアルデヒ

ド, 酢酸エチルおよびアセトインは微生物管理と香気品質の指標であり, 高級アルコール (n-プロピルアルコール+iso-ブチルアルコール+iso-アミルアルコール) と組成比 (A/B比: iso-アミルアルコール/iso-ブチルアルコール) は発酵条件の指標であり, また, 乳酸エチルはマロラクティック発酵の指標であることを示した. さらに香気成分を抽出してガスクロマトグラフィー分析する方法を設定して, より芳香的に重要なエステル類 (酢酸イソアミル, カプロン酸エチル, カプリル酸エチル, カプリン酸エチルなど/花, 果物の香り), 2-フェニルエチルアルコール (バラの花の香り), およびテルペノール類 (リナロール, α -テルピネオール, ゲラニオール/品種香) を分析している. いずれも, ワインの香気的および品質的特性と密接に関与する成分である.

分析される芳香成分の中において, 高級アルコールとA/B比はアルコール発酵条件を直接的に反映することから, 主要な発酵条件の関与を解明した (図1). すなわち, 高級アルコール (HA) の高生成 (200-500mg/L) は発酵の促進条件であり, 一方, 低生成 (100-200mg/L) は発酵の抑制条件である. A/B比に関与するのは, 発酵におけるワイン酵母の栄養成分的な好適条件 (A/B比が小さい値) か, あるいはストレス (阻害的/欠乏状態) 条件である (A/B比が大きい値). よって, 高級アルコールやエステル類の生成を制御するには, ワイナリーでの発酵条件 (ブドウ果実の成熟, ワイン酵母の選択と利用, 仕込み方法, 発酵容器, 発酵温度, 微生物管理など) の設定が必要であり, これが

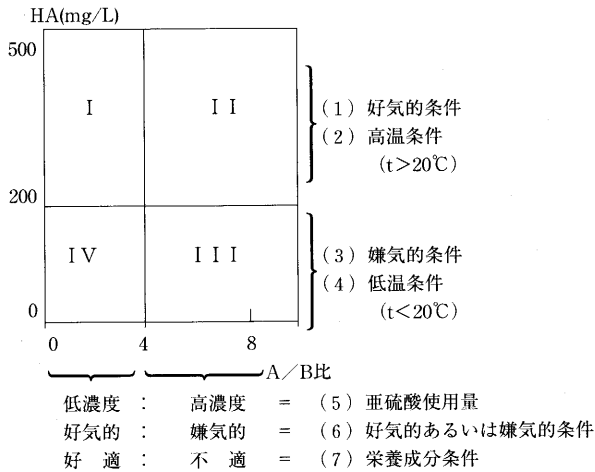


図1 高級アルコールの生成とA/B比に関する発酵条件

HA：高級アルコール（n-プロピルアルコール＋iso-ブチルアルコール＋iso-アミルアルコール）。
A/B比：iso-アミルアルコール／iso-ブチルアルコール。

表2 市販ワインの芳香成分

香気成分	白ワイン (mg/L)			
	甲州-1	甲州-2	甲州-3	デラウエア
アセトアルデヒド	67	41	15	3
酢酸エチル	46	44	36	109
高級アルコール	219	129	421	272
A/B	5.9	9.0	3.6	1.4
アセトイン	0	0	0	5
乳酸エチル	19	0	0	162
酢酸イソアミル	1.0	0.7	0.8	0.4
カブロン酸エチル	0.8	0.9	0.5	0

ワインの芳香的および風味の特性を形成する。

次に市販の甲州ワインとデラウエアワイン（国産品）の分析例を示して、その香気特性と発酵条件を推測する（表2）。

この分析値を見ると、甲州ワインのサンプル1と2はアセトアルデヒドおよびA/B比がやや高いこと、高級アルコールが低いレベルであること、しかし、エステル類（酢酸イソアミル、カブロン酸エチル）が一定以上のレベルにあることから、果実香/果物香の特徴を有すること、また、制御された条件（ストレス）下の発酵が推定される。サンプル3はアセトアルデヒドおよびA/B比が低く、高級アルコールが高いレベルにあること、また、カブロン酸エチルが低いレベルにあることから、発酵香気は高いが果物香の低い香りであること、さらに緩やかな

制御の発酵条件が推定される。デラウエアワインは高級アルコールが高い傾向であること、A/B比およびエステル類が低いことから好氣的発酵促進条件が推定され、また、酢酸エチルと乳酸エチルが高レベルであったことから発酵香気の特異臭のあること、および微生物管理（発酵制御）の不備が示唆される。このように芳香成分の分析は、香気特性の解析と発酵条件の評価に有効である。

3. ワイン微生物とその応用研究について

ワイン醸造では、自然界に由来する野生微生物が関与している。以下にワインの醸造工程とその微生物を示す（表3）。

ブドウ畑から収穫されたブドウ果実には、野生微生物が多少とも生息してワイン発酵に関与する。通常、ワイン酵母（選抜された優良性質の酵母）を培養しブドウもろみに加えて、アルコール発酵が誘導される。この発酵過程におけるエタノール生成により、野生微生物の多くが死滅するが、一部は発酵後も生存して影響する。次のマロラクティック発酵は、乳酸菌によりリンゴ酸が分解されて乳酸と二酸化炭素になる工程である。これにより、ワインの酸味が低減して丸い風味となる。通常、赤ワインや高酸度の白ワインに誘発されており、本発酵にはワイン乳酸菌（選抜された優良性質の乳酸菌）がスターターとして使用される。伝統的なワイン生産地においては、自然発酵によるアルコール発酵とマロラク

表3 ワイン醸造工程と関係する微生物

醸造工程	ワイン微生物
[ブドウ果実]	野生酵母, 乳酸菌, 酢酸菌, カビ
↓	
[アルコール発酵]	ワイン酵母/野生酵母 (培養酵母/自然発酵)
↓	
[マロラクティック発酵]	ワイン乳酸菌/野生乳酸菌 (培養乳酸菌/自然発酵)
↓	
[貯蔵・熟成]	ワイン酵母 (シュール・リー/酵母おり) / 野生酵母, 乳酸菌, 酢酸菌など (微生物汚染)
↓	
[製品]	微生物汚染—中味, コルク栓, ラベル 庫カビ—セラー内の壁, 設備, 壇に発生

ティック発酵の行われることがある。しかし、自然発酵では微生物相の変動による発酵管理および品質的安定性に問題がある。

微生物研究においては、まず、ワイン生産地における微生物の生態を明らかにして制御を図ること、次いでワイン環境から分離される野生微生物群から、優良性質の酵母や乳酸菌を選抜して利用すること、が課題である。これまで山梨県内のブドウ畑やワイナリーを中心に、野生微生物相の解析と優良微生物の選抜、育種研究を進めてきた⁴⁾。ここにワイン酵母などの研究概要を紹介する。

1) 野生酵母のエコロジーおよび酵母相解析とDNA情報の利用

ブドウ果実に分布する野生酵母は、*Kloeckera/Hanseniaspora*, *Cryptococcus*, *Rhodotorula*, *Candida* などの4属12種であった⁵⁾。しかし、これらはワイン発酵に有用性の少ない酵母である。次いで、ワイン酵母と同一種である *Saccharomyces cerevisiae* 野生株を探索した。ワイン醸造環境から選抜分離法により本野生株を採取し解析したところ、分離酵母は35核型、249株に整理された(表4)⁶⁾。本野生酵母はブドウ畑土壌に由来するものが多いこと、また、その出現が季節的に変動したこと、ブドウ畑土壌中の昆虫などに運ばれてブドウ果実やブドウ果汁に移行し、発酵もろみとワイン中に生存して酵母相に反映したと考察した。この分離株から優良ワイン酵母を選抜すべく醸造学的性質を検討中である。

近年、DNA分析(PFGE, RFLP, RAPD-PCRなど)の適用によって、迅速な属、種あるいは菌株レベルでの判別(同定)が可能となり、本法により生産地固有の酵母相⁷⁾の解析と優良酵母の選抜、および培養したワイン酵母と野生酵母の競合など⁸⁾が研究された。

2) 新規な発酵特性を有するワイン酵母の選抜と利用

(a)低温発酵性：本性質は新鮮な果実香および発酵風味の増強に重要な特性である。ワイン酵母の中から、低温(7~10℃)での発酵性に優れた2菌株が選抜された。この2株は2-フェニルエチルアルコール、その酢酸エステル、リンゴ酸、グリセロールおよびコハク酸の高生産性であり、一方、酢酸が低生産性であった。その性質はワイン芳香味の改良に有用である⁹⁾。最近、同様の発酵特性を有する海洋酵母株(*S. cerevisiae*)が選抜されており、白ワイン醸造に利用されている¹⁰⁾。

(b)フェノール性異臭の生産性と制御：揮発フェノール(ビニルガヤコール、ビニルフェノールなど)は高濃度に含まれると、フェノール性異臭(POF)となる。これが特定産地のワインにみられる匂いであり、また、生産年により変動したことから調べた。ワイン酵母および関連酵母を試験したところ、国産ワイン酵母ならびに大多数の酵母がPOF生産性であること、また、ブドウもろみ中の一定レベル以上のフェノール酸(フェルラ酸、p-クマール酸など、10~50ppm)の存在が、POFの成因と分かった。これらの結果より、POFの発生を制御する条件(POF低生産性酵母株の使用、フェノール酸濃度の低下、野生微生物の管理など)を提示した¹¹⁾。また、Pof+株の遺伝的安定性、およびPADI遺伝子の存在をPFGE-サザンブロット解析から明らかにした¹²⁾。POFはビール発酵の異臭でもあり、その発生源と制御法が研究されている。

(c)高発酵性とストレス耐性：これは発酵能の基本的解明ならびにワイナリーでの発酵の迅速化および高糖果汁の発酵促進に有用な性質である。もろみからの分離株(*S. cerevisiae*)およびワ

表4 野生酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)の分離および核型

分析項目	分離源				計
	土壌	ブドウ果	果汁	搾り粕	
分離株の分布(A)	116	42	56	35	249株
核型の由来	17	5	8	5	35型
出現核型数(B)	23	20	15	14	
核型当たりの菌株数(A/B)	5.0	2.1	3.7	2.5	

イン酵母 (W-3, OC-2) の孢子クローン株から、ブドウ果汁 (糖分35%) の発酵試験により高発酵性株を選抜した。この選抜株は、アルコール高生産性およびストレス耐性 (13%エタノール, 1.3M NaCl, 熱ショック/40°C) を示した¹³⁾。さらに関連する遺伝子発現を検討中である。

(d)キラー活性：キラー酵母はキラー蛋白質を分泌して、その感受性酵母を死滅させる能力を有する。よって、キラーワイン酵母から分泌されるキラー蛋白質 (抗菌物質) を、有害酵母の防除に利用することが考えられる。ワイン酵母 (*S. cerevisiae*) 48株のキラー型はK₂ (12株), KHS (8株), KHR (1株) および非キラー (27株) であった¹⁴⁾。そこでK₂型キラー蛋白質を分離、濃縮、精製して、野生酵母などに対するキラー活性を試験した¹⁵⁾。さらに、キラー蛋白質の解析と発現を検討中である。微生物の生産する抗菌物質については、食品のバイオプリザベーションへの利用が注目されている。

3) 従来法による交雑育種の研究

従来法による育種は実用的であり、以下に研究例を示す。

(a)凝集性：発酵後期に発酵液中の酵母が凝集して沈澱することは、その後の濾過工程と酵母回収の作業が容易となり、望まれる性質である。研究室保存株を試験したところ、有用な凝集性酵母株はワイン酵母1株および*S. cerevisiae* 野生株4株と少なかった。次いで凝集性形質のワイン酵母への導入を試みた。交雑法 (孢子接合) により強い凝集性野生株の形質をワイン酵母に導入し、次いで戻し交雑により、有用な凝集性ワイン株が造成された¹⁶⁾。なお、凝集性はビール酵母の重要な性質であり、凝集性遺伝子 *FLO1* の解析と分子育種の研究がある¹⁷⁾。

(b)リンゴ酸の分解性と生産性：これはワイン酸度の調整に役立つ性質である。ワイン酵母および*S. cerevisiae* 野生株のL-リンゴ酸の分解性/生産性を調べたところ、多数の酵母株が分解性があり、リンゴ酸生産株は少数であった。次いで生産株を呼吸能欠損変異処理することにより、高生産性株 (リンゴ酸生成量約1-2 g/L) が造成できた。これらの高生産性株および分解性株の特性は、ワイン試験醸造において有効に発現された (図2)¹⁸⁾。

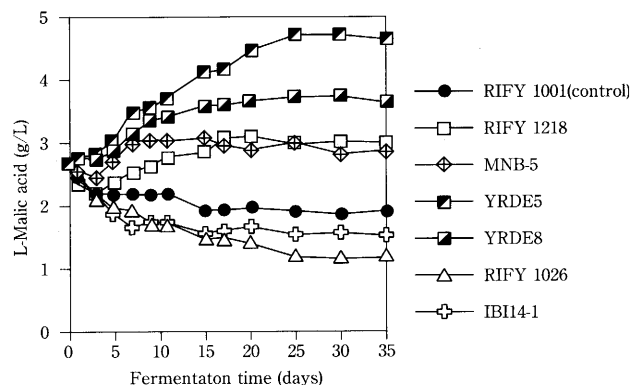


図2 発酵中のL-リンゴ酸濃度の変化 [リンゴ酸生産性酵母および分解性酵母による白ワイン試験醸造]
供試果汁：甲州ブドウ果汁；リンゴ酸生産性株：RIFY1218 (ワイン株), YRDE5 (呼吸能欠損変異株), YRDE8 (呼吸能欠損変異株), MNB-5 (野生株)；リンゴ酸分解性株：RIFY1001 (ワイン株), RIFY1026 (ワイン株), IBI14-1 (野生株)。

4) 遺伝子解析および分子育種

近年において、ワイン酵母の遺伝子解析や遺伝子導入などの研究が活発となっている。以下に遺伝子研究を紹介し、また、内外の研究を展望する。

(a)皮膜形成遺伝子：産膜酵母による皮膜形成は汚染現象であり、異臭味が生成して風味を劣化させる。産膜酵母の皮膜形成機構の解明のために、シェリー酒酵母 Jerez-5 (*Torulaspora delbrueckii*) の皮膜形成遺伝子を探索した。染色体DNAを断片化して検索した結果、gF1 (3.7Kbp) と gF2 (4.0 Kbp) に皮膜形成形質が保持された。これは*S. cerevisiae* 第11番染色体に高い相同性領域があり、gF1領域に *RPL14A* 遺伝子 (5.8S rRNA 結合蛋白質をコード) が、また、gF2領域に *RCN1* 遺伝子 (カルシニューリン結合蛋白質をコード) が存在した (図3)¹⁹⁾。これは産膜酵母による汚染防止の基礎研究として、関連遺伝子と発現ネットワークの解析を進めている。

(b)内外の遺伝子研究について：ワイン酵母の醸造学的性質に関係する遺伝子が研究された。それは、(1)遺伝子解析：亜硫酸耐性遺伝子、亜硫酸関連遺伝子とグルコース耐性遺伝子、(2)遺伝子導入：マロラクティック酵素遺伝子+リンゴ酸透過酵素遺伝子、乳酸生成遺伝子、(3)DNA マイクロアレイ解析 (窒素代謝)、(4)実用的遺伝子組換え酵母の育成法、(5)遺伝子工学研究の展望：遺伝子工学とワイン酵母の改良²⁰⁾、テラーメードワイン酵母の育種²¹⁾などで

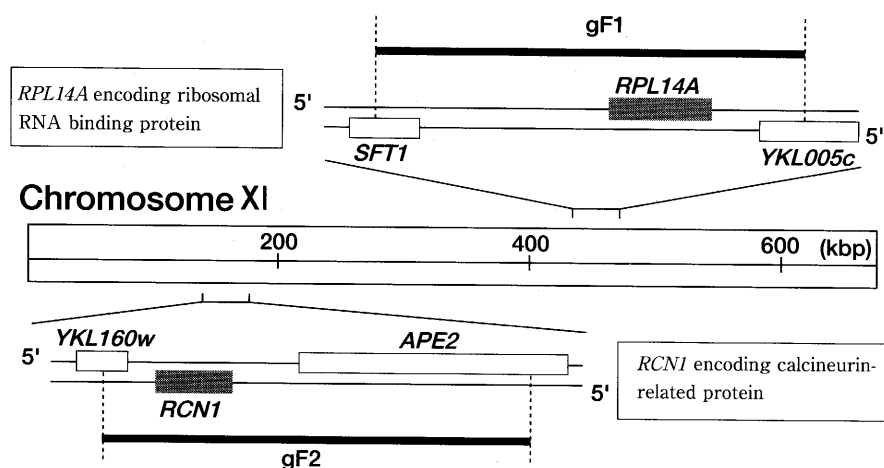


図3 皮膜形成遺伝子（推定）の *S. cerevisiae* 染色体 XI 上の相同領域
 gF1, gF2: シェリー酵母 Jerez-5 (*Torulaspota delbrueckii*) の DNA フラグメント, 皮膜形成能 (+); 相同 ORF: *RPL14* (810bp), *RCN1* (636 bp) [*Saccharomyces* Genome Database より].

ある。

4. おわりに

近年、微生物のゲノム解読が急速に進み、出芽酵母 *S. cerevisiae* のゲノム情報が1996年に、また、分裂酵母 *Schizosaccharomyces pombe* のゲノム情報が2002年に公開された。このように酵母学研究もゲノム科学の時代に入った。これらのゲノム情報に基づいて、発酵環境における酵母相の解析と有用酵母の選抜と育成、有用菌株の遺伝子解析と分子育種、遺伝子発現ネットワークの解析と発酵工学への利用が進むと予想される。さらなるワイン微生物学の研究発展が期待される。

参考文献

- 1) 後藤昭二: ブドウ酒醸造微生物学の進歩(1), 醸協, **80**, 392-398 (1985).
- 2) 小澤俊治, 後藤昭二: おどろ酒用酵母第4号 (山梨酵母), 醸協, **87**, 626-628 (1992).
- 3) 篠原隆: ワイン発酵と芳香成分の生成, 化学工業, **48**, 131-135 (1997).
- 4) 篠原隆, 柳田藤寿: ワイン醸造における微生物相及び有用菌株の選抜育種, 農化, **70**, 680-683 (1996).
- 5) F. YANAGIDA, F. ICHINOSE, T. SHINOHARA, and S. GOTO: Distribution of wild yeasts in the white grapes varieties at central Japan. *J. Gen. Appl. Microbiol.*, **38**, 501-504 (1992).
- 6) 篠原隆, 古屋博一, 柳田藤寿, 三木健夫: 国内のワイン醸造環境から分離された *Saccharomyces cerevisiae* の多様性, 日本微生物資源学会, 第7回大会講演要旨集, p. 23 (2000).
- 7) A. VERSAUD, P. COURCOUX, C. ROULLAND, L. DULAU, and J.-N. HALLET: Genetic diversity and geographical distribution of wild *Saccharomyces cerevisiae* strains from the wine-producing area of Charentes, France. *Appl. Environ. Microbiol.*, **61**, 3521-3529 (1995).
- 8) M. CONSTANTI, M. POBLET, L. AROLA, A. MAS and J. M. GUILLAMON: Analysis of yeast populations during alcoholic fermentation in a newly established winery. *Am. J. Enol. Vitic.*, **48**, 339-344 (1997).
- 9) 岸本宗和, 相馬英一, 篠原隆, 後藤昭二: *Saccharomyces bayanus* と *Saccharomyces cerevisiae* のワイン醸造学的特性比較, 醸協, **93**, 231-237 (1998).
- 10) 柳田藤寿, 小玉健太郎, 篠原隆: 海洋酵母からの白ワイン醸造用酵母株の選抜, 醸協, **97**, 150-161 (2002).
- 11) 篠原隆: ワインのフェノール性異臭の成因について, 醸協, **96**, 182-188 (2001).
- 12) T. SHINOHARA, S. KUBODERA and F. YANAGIDA: Distribution of phenolic yeasts and production of phenolic off-flavors in wine fermentation. *J. Biosci. Bioeng.*, **90**, 90-97 (2000).
- 13) 伊藤義晃, 三木健夫, 篠原隆: 高発酵性ワイン酵母の評価とストレス耐性との関連, 日本ブドウ・ワイン学会誌, **12**, 134-135 (2001).
- 14) 篠原隆, 柳田藤寿, 後藤昭二: ワイン酵母のタリズム, 倍数性およびキラー性について, 山梨大学

- 発酵研究所研究報告, **27**, 7-11 (1992).
- 15) 青木康宏, 三木健夫, 篠原隆, 柳田藤寿: 酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) YMT45-3 のキラール因子に関する研究, 農化, 74, 増刊: 2000年度大会講演要旨集, p. 137 (2000).
- 16) T. SHINOHARA, S. MAMIYA and F. YANAGIDA: Introduction of flocculation property into wine yeasts (*Saccharomyces cerevisiae*) by hybridization. J. Ferment. Bioeng., **83**, 96-101 (1997).
- 17) 渡淳二: 凝集性酵母の分子育種, 醸協, **88**, 665-670 (1993).
- 18) 篠原隆, 岡田英明, 柳田藤寿: ワイン酵母のリンゴ酸生産性と分解性および高生産性株の造成, 日本ブドウ・ワイン学会誌, **10**, 2-11 (1999).
- 19) 添川一寛, 三木健夫, 篠原隆: シェリー酵母 Jerez-5 の皮膜形成に関わる遺伝子の探索, 日本ブドウ・ワイン学会誌, **11**, 165-166 (2000).
- 20) B. BLONDIN, S. DEQUIN and P. BARRE: Genetic engineering and improvement of enological yeasts. Bull. L'O. I. V., **71**, 407-414 (1998).
- 21) I. S. PRETORIUS: Tailoring wine yeast for the third millennium: novel approaches to the ancient art of winemaking. Proceedings of the ASEV 50th Anniversary Annual Meeting, Seattle 2000, pp. 261-270 (2001).