

(山梨大発研報告 16 9~14 1981)

甲州種味なし果より試醸したワインの フェノール組成と褐変性について

米山智恵子・櫛田 忠衛

Phenolic Fraction and Browning Capacity of White Wine made from Abnormal (Ajinashi Disease) Koshu Grapes

CHIEKO YONEYAMA and TADAE KUSHIDA

The Institute of Enology and Viticulture, Yamanashi University, Kofu 400

The constituents and Properties of white wine made from abnormal (Ajinashi disease) Koshu grapes were investigated.

1. Raw Ajinashi grapes contained 112 g/l of reducing sugar and 392 mg/l of total phenol in contrast to the values of 174 g/l and 688 mg/l in normal grapes.

2. Total nitrogen and acid contents of Ajinashi wine were higher, but the other constituents, especially total phenol, were lower than those of normal wine.

3. In phenol fractions, flavonoid of Ajinashi wine was only about one third of that of normal wine, and tyrosol and cinnamates contents were also much lower than those of normal wine. There was no difference in non-phenolic compounds and other substances such as simple phenolic compound between the two wines.

4. Browning of Ajinashi wine appeared slower and weaker than that of normal wine, due to the lower content of flavonoid.

5. By the pattern analysis on Sephadex column, it was found that the amounts of nucleic and amino acid fractions of Ajinashi wine were slightly larger, but that of cinnamates fraction was much smaller than that of normal wine.

6. The quality of Ajinashi wine was judged to be poor, due to its very pale color, thin body and sour taste.

山梨県下では十数年前からブドウの糖度上昇を阻害する病気、いわゆる味なし果病が問題となっている¹⁾。ここ数年の研究によりこの病気は遺伝性ではなく接木伝染によって生ずるウイルス病で、本県のブドウ樹の過半数を侵しているということである²⁾。本研究施設の育種試験地においても甲州ブドウの味なし果の生育

中の成分変化について研究し³⁾、味なし果が外見上は健全果とほとんど差がないのに糖度がかなり低いこと、またフェノール成分が少ないこと等を認めている。そこで本報では甲州ブドウの味なし果より試醸したワインのフェノール組成とその褐変性を調べ、感能試験を行ったのでその結果を報告する。

実験材料及び方法

試験樹の選定及び果汁サンプルの調製

当育種試験地に生育中の7年生の甲州ブドウ果樹で過去3年間の平均果汁糖度が13度のものを味なし果樹、19度のものを健全果樹とし各2株ずつを試験樹とした。果実成熟中の成分変化を調べるため開花後30日目(7月10日)から10日毎に11月10日まで13回サンプリングをおこない、果実をつぶして綿布でしばった後遠心し(3000回/分, 10分間), その上澄液を分析に用いた。

ワインの試験及び一般分析

10月22日収穫のブドウ各30 kgを搾汁し(搾汁率60%)その一部を遠心して果汁分析に供した。残りの搾汁液はメタカリ100 mg/l 添加し240 g/l まで砂糖で補糖後酒母を加えて斗ビンで発酵させた。味なし果は15日で健全果は25日で主発酵が終了した。おり引き後濾過しメタカリ100 mg/l を加え 1.8 l ビンにつめて地下貯蔵庫に保管した。果汁とワインの一般分析は国税庁所定分析法⁴⁾によって行った。

全フェノールの定量法

Singleton ら⁵⁾の方法を一部改変して次のように行った。試料0.5 mlに2倍希釈したフェノール試薬0.5 mlを加え、0.4 M炭酸ナトリウム溶液2.5 mlを加えてよく攪拌後50°C 10分加熱し、ただちに水冷して765 nmにおける吸収を測定した。同様にして没食子酸の標準液で検量線を作成し、これより試料のフェノール量を算出した。

フラボノイドの定量法

フラボノイドはホルマリソ沈澱法⁶⁾で定量し、没食子酸として表わした。

フェノール性化合物の分画定量法

Sephadex G-10を用いたカラムクロマトグラフィー⁷⁾で、ワイン中のフェノール試薬陽性物質を非フェノール化合物、チロソール及び桂皮酸誘導体に分画定量し、いずれも没食子酸として表わした。

以上得られたフラボノイド、非フェノール化合物、チロソール及び桂皮酸誘導体の量を全フェノール量より差引いてその他の物質の量とした。

桂皮酸誘導体の混合物は Sephadex LH-20 カラムクロマトグラフィー⁸⁾で、Cis-coutaric acid, trans-coutaric acid 及び trans-coftaric acid に分画定量し、いずれも没食子酸として表わした。

単純フェノール類については、ワインと等容の酢酸エチルで3回抽出後無水硫酸ナトリウムで脱水し、エ

バポレーターで濃縮したものをトルエン:ギ酸エチル:ギ酸=5:4:2⁹⁾の溶媒でTLCを行いUVによる蛍光及びフェノール試薬による発色を調べた。

褐変性試験

300 mlの共栓付き三角フラスコに250 mlのワインを入れ60°Cの恒温室に静置し、24時間ごとに450 nmにおける吸光度を測定して褐変の進行を調べた。又、7日後のサンプルについてその可視部の吸光スペクトルを測定し、その褐変性を比較した。

パターンアナリシス

ワインの10倍濃縮物2 mlを2.2×48 cmのSephadex G-10のカラムにかけ、pH=3.0の酢酸溶液500 ml、次いで蒸留水500 mlで溶出し溶出液の270及び330 nmにおける吸収を高津ダブルビーム分光光度計UV 140型を用いて測定しそのUV吸収パターンを作成した。

酎酒テスト

試験後半年貯蔵したワインの色、香り、味について5名のパネルに採点を依頼した。良いものを1、悪いものを5とし、別に総評もいただいた。

実験結果及び考察

果実成熟中における全フェノール量の変化

7月10日より11月10日までの期間における果汁中の全フェノール量の変化を図-1に示した。又参考として屈折糖度計示度も同グラフに示した。味なし果汁の全フェノール量の変化は健全果のものとはほぼ同様の経過

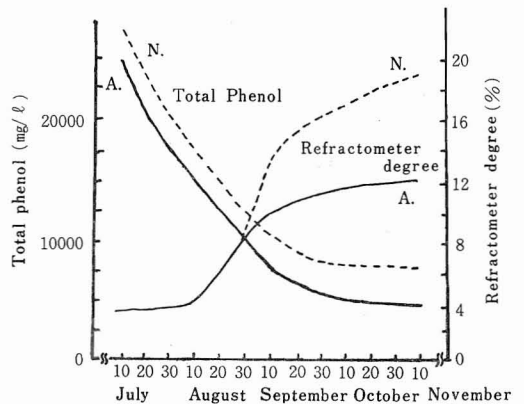


Fig. 1. Ripening changes in total phenol and refractometer degree of Koshu musts.

N. : Normal must

A. : Ajinishi must

を示し、未熟期には非常に高い値(2000 mg以上)を示したが、その後急激に減少し9月末よりほぼ一定(約400 mg/ℓ)となった。しかし全期間中味なし果汁の全フェノール量は常に健全果より低い値を示し収穫期の10月22日には健全果汁で688 mg/ℓ、味なし果汁では392 mg/ℓであった。一方糖度の方は、両者とも8月10日頃より急激に上昇し始めたが、8月25日頃からは両者間にはっきりした差が認められるようになり、収穫期には健全果で18.4度、味なし果で13.6度となった。

仕込み果汁及び試醸ワインの一般分析値

味なし果汁の全フェノール量と糖度が健全果のものより非常に少ないことは前述の通りであるが、総酸の場合は逆に味なし果の方が健全果より若干多く、pHは低いことが認められた。

試醸ワインの場合、味なし果ワインの全窒素量は健

全果ワインより3割程度多く、又総酸量は果汁の場合と同様に幾分多いにもかかわらずpHは逆に高くなったことが認められた。その他の成分は健全果ワインよりも少なく、特に全フェノール量は健全果の340 mg/ℓに対し223 mg/ℓであった(表-2)。このように味なし果ワインの全フェノール量が健全果ワインよりも少ないことは原料果汁の組成からしても予想できたことであるがこの結果は過去の報告¹⁰⁾とは逆であった。

試醸ワインのフェノール性化合物の組成

味なし果及び健全果より試醸した各ワインのフェノール性化合物の組成は表-3に示した通りである。味なし果ワインの全フェノール量は前述の如く健全果ワインの340 mg/ℓに対し223 mg/ℓと少なく数年熟成したワイン並みの含量であった。この含有量の差は表からわかるように主にフラボノイドによるもので健全果ワ

Table 1. Composition of Koshu grape musts.

Must	Normal	Ajinashi
Refractometer degree (%)	18.4	13.6
Reducing sugar (g/ℓ) ^{a)}	174	112
Total acid (g/ℓ) ^{b)}	7.7	8.1
pH	3.12	3.10
Total phenol (mg/ℓ) ^{c)}	688	392

a) as glucose

b) as tartaric acid

c) as gallic acid

Table 2. Composition of Koshu white wines.

Wine	Normal	Ajinashi
Alcohol (vol %)	13.7	13.5
Specific gravity	0.9920	0.9940
Extract (g/ℓ)	31	26
Reducing sugar (g/ℓ) ^{a)}	11.6	6.0
Total acid (g/ℓ) ^{b)}	6.3	6.5
Volatile acid (g/ℓ) ^{d)}	0.43	0.35
pH	3.03	2.97
Total phenol (mg/ℓ) ^{c)}	340	223
Total nitrogen (mg/ℓ)	87	114
Ash (g/ℓ)	1.4	1.3
Alkalinity	18.6	17.7

For a), b), c) see Table 1.

Table 3. Phenolic composition of Kosshu white wines.

Wine	Normal		Ajinashi	
	mg/ℓ	(%)	mg/ℓ	(%)
Total phenol	340	(100)	223	(100)
Flavonoids	111	(33)	40	(18)
Non-phenolics	50	(15)	50	(22)
Tyrosol	26	(8)	17	(8)
Cinnamates	127	(37)	94	(42)
cis-Coutaric acid	11		5	
trans-Coutaric acid	6		15	
trans-Caftaric acid	110		74	
Others	26	(8)	22	(10)

a) Each phenolic content was calculated as gallic acid

Table 4. Taste testing of Kosshu white wines.

Pannel	Color		Odór		Taste		Total Score	
	N.	A.	N.	A.	N.	A.	N.	A.
A	1	3	1	3	1	4	3	10
B	1	3	1	2	1	3	3	8
C	1	3	1	2	1	4	3	9
D	1	3	1	2	1	3	3	8
E	1	3	1	3	1	4	3	10

N. : Normal wine

A. : Ajinashi wine

インの111 mg/ℓに対し味なし果ワインではわずか40 mg/ℓと約1/3しか存在しなかった。次に甲州種のワインに特有な桂皮酸誘導体の含量も健全果ワインの約2/3程度であり、かつ健全果ワインでは、trans-coutaric acid > cis-coutaric acid であったのに対し、味なし果ワインでは逆に trans-coutaric acid の方が少なかった。その他チロシンからの発酵生産物であるチロソールも味なし果ワインでは少なかった。非フェノール物質及びその他の物質はほとんど差が認められなかった。その他の物質（主に単純フェノール類）の内容を知る為に図-2にTLCの結果を示したが両者の差はほとんど認められなかった。

味なし果ワインの褐変性

味なし果及び健全果ワインの褐変の進行は図-3に示したとおりであった。褐変の主役をなすと考えられているフラボノイド含量の少ない味なし果ワインは褐

変の進行が遅くかつ褐変の度も健全果ワインに比べて小さいことがわかった。

60℃に7日置いた後の褐変ワインについて400~600 nmの範囲で吸光度を調べた結果は図-4のようであった。健全果ワインが480nm付近に肩のある曲線を示したのに比べ味なし果ワインは400~600nmの範囲でなだらかな曲線を示し両者の褐変に差のあることが認められた。又、いずれの波長における吸収も味なし果ワインの方がずっと低い値であった。

パターンアナリシス

味なし果及び健全果ワインのパターンは図-5のようであった。両者のパターンの大きな違いは味なし果ワインのピーク2, 3が健全果ワインのそれより大きいことおよびピーク7が健全果ワインよりずっと小さいことの二点である。ピーク2, 3は主にヌクレオチドとヌクレオシドおよびアデニンとフェニルアラニン、

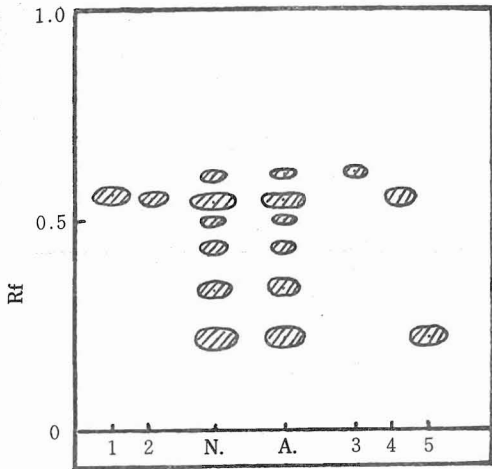


Fig. 2. TLC of ethyl acetate extracts of Koshu white wines.

Solvent : toluene : ethyl formate : formic acid (5/4/2, by volume)
 Plate : Wako gel F254 (10×10 cm)
 1 : protocatechuic acid 2 : caffeic acid 3 : p-coumaric acid
 4 : tyrosol 5 : caftaric acid
 N. : extract of normal wine
 A. : extract of Ajinashi wine

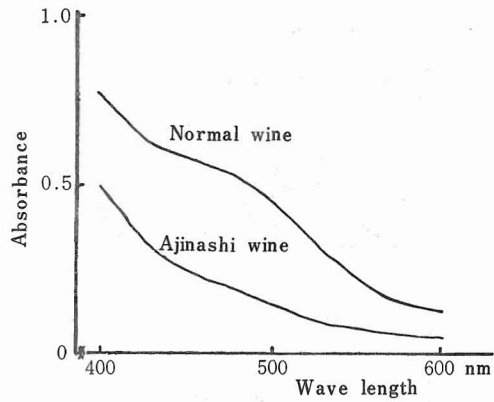


Fig. 4. Absorption spectra of Koshu white wines incubated at 60°C for 7 days.

チロシン等によるUV吸収であると考えられており¹¹⁾ これらの窒素化合物が多いことは先に述べたワインの全窒素が味なし果ワインの方が大きかった一因と考えられる。次にピーク7は桂皮酸誘導体の量を表わしており、これがきわめて大きいことが甲州種白ワインの特徴である。⁸⁾ 味なし果ワインのピーク7が甲州種白ワインの新酒に特有な台形をしておらず、ほぼ三角形をしていることからその味(特に渋味)の点でも健全果ワインとは若干異なることが推定される。

要 約

甲州ブドウの味なし果より常法通りに試醸したワインのフェノール組成, 褐変性, 啤酒結果等を健全果のものと比較検討した。

1. 原料ブドウの還元糖及び全フェノールは健全果の174 g/l, 688 mg/lに対し, 味なし果は112 g/l, 392 mg/lと少なかった。

2. 味なし果ワインの全フェノールは健全果ワインの340 mg/lに対し, 223 mg/lであった。また他のほとんどの成分も健全果ワインよりも少なかった。しかし, 全窒素は健全果ワインの87 mg/lに対し, 114 mg/lと多く, また総酸は6.3 g/lに対して6.5 g/lと若干多いにかかわらず pHは逆に後の方が高かった。

3. 味なし果ワインの全フェノールが少ないのは, 主にフラボノイドによるもので, 他に桂皮酸誘導体とチロソールも若干影響していることがわかった。

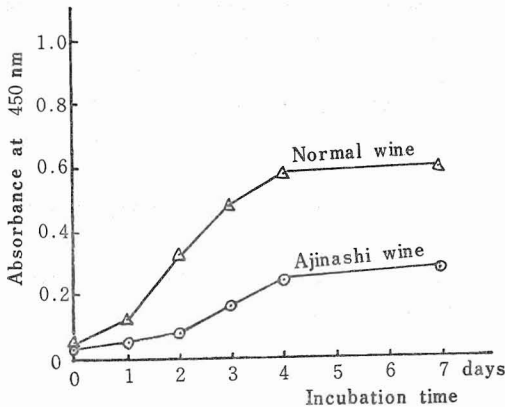


Fig. 3. Changes in browning of Koshu white wines during incubation at 60°C.

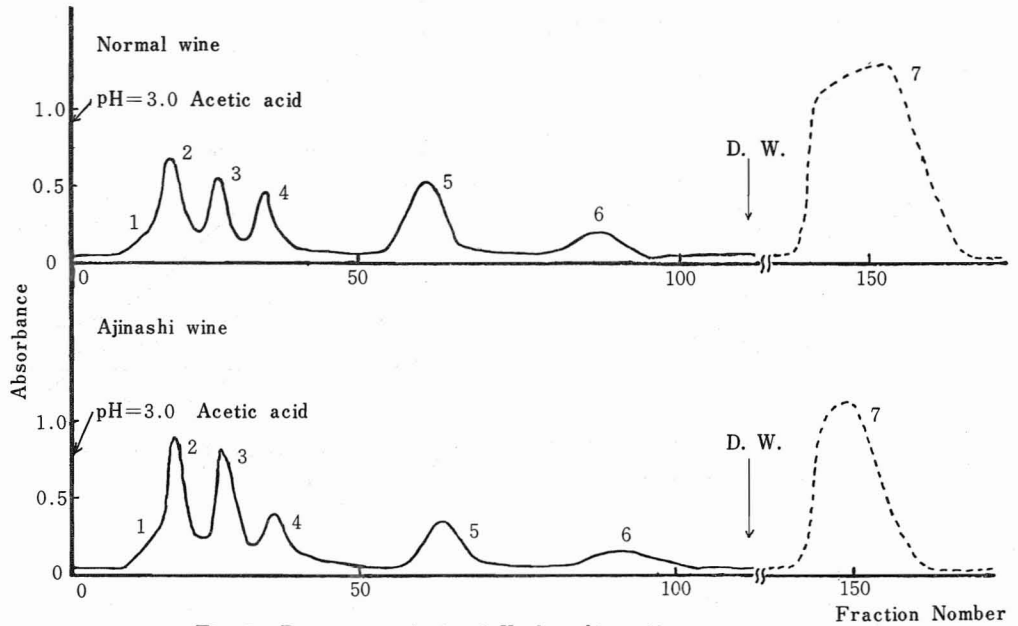


Fig. 5. Pattern analysis of Koshu white wines.

Column : Sephadex G-10, 2.2×48 cm

Fraction : 5g

Flow rate : 100 ml/hr.

— 270 nm, ----- 330 nm

4. 味なし果ワインはフラボノイドが少ないために褐変の進行が遅く、また褐変ワインの吸光スペクトルも健全果ワインのものと異なった。

5. パターンアナリシスによって、味なし果ワインの核酸及びアミノ酸画分が健全果ワインよりも若干多いが、桂皮酸誘導体画分が非常に少ないことがわかった。

6. 喇酒の結果、味なし果ワインは色がうすく、香りが弱く、酸味を感ずるが味は水っぽくて評価が低かった。

本研究において、試料の甲州ブドウを選択、収穫してご提供いただいた育種試験地主任の山川祥秀助教授及び実験の一部を担当された清水均君、藤原稔君に感謝の意を表します。またワインの試醸に種々お手伝いいただいた雨宮昭郎技官に感謝いたします。

3) 山川：園芸学会誌，投稿中

4) 村上監修：国税庁所定分析法注解，p. 23，日本醸造協会（1974）

5) Singleton, V. L., Rossi, J. A. Jr.: *Am. J. Enol. Vitic.*, **16**, 144 (1965)

6) Kraming, T., Singleton, V. L.: *Am. J. Enol. Vitic.*, **20**, 86 (1969)

7) 米山，榑田：食工誌 **27**，623 (1980)

8) 米山，榑田：山梨大発研報，**15**，9 (1980)

9) Peri, C., Pompei, C.: *Am. J. Enol. Vitic.*, **22**, 55 (1971)

10) 小沢，飯野，樋川，加賀美：山梨県食品工業指導所報告，**12**，28 (1980)

11) 米山，榑田：昭和51年度日本食品工業学会第28回大会講演要旨集，p. 31

文 献

1) 足立：山梨の園芸，p. 24，山梨県果樹園芸会（1980）

2) 難波：農業および園芸，p. 55，養賢堂（1980）