

ブドウ酒中のポリフェノール成分について

(第1報) 発酵期間における果皮からのポリフェノールの溶出

四条徳崇, 雨宮昭郎, 村木弘行

(昭和36年10月30日受理)

Studies on the Polyphenol Constituents in Wine

Part 1. Extraction of Polyphenols into Wine during the Fermentation on Grape Skins

By Noritaka SHIJO, Shōrō AMEMIYA and Hiroyuki MURAKI

The effects of sulfiting and heat treatment on the optical density of must and the extraction of total tannins and coloring matters from grape (Muscat Bailey A) skins and seeds have been studied.

The extraction of polyphenols were promoted by the additions of an appropriate amount of sulfur dioxide (200 to 300ppm). However, it was noticed that there are some differences between the effects of sulfur dioxide on the optical density measured at 420 $m\mu$ and 530 $m\mu$; and on the amounts of total tannins and coloring matters determined by the potassium permanganate method of RIBEREAU-GAYON. It was shown that decreases in optical density were affected by the skins in must, whereas the more yellow color were reduced than red by fermenting on the skins after heating for 10 minutes at 60°C the crushed grapes.

緒 言

ブドウ酒中には色素, タンニンなどの形で各種のポリフェノールがふくまれている。これらのポリフェノールはブドウ酒の色調やシブ味などの重要な官能的性質を規正するばかりでなく, ブドウ酒の熟成, 褐変などの生物化学的变化にも密接な関係を持つものと思われ, 最も注目すべきブドウ酒成分の一つである。すでに外国ではポリフェノールに関してたとえば, HENNIG らによる研究^{21,22}, DURMISHIDZE によるタンニンの研究¹⁻⁶, RIBEREAU-GAYON らによる色素の研究⁷⁻¹⁰, あるいは RODOPULO によるブドウ酒の酸化還元に対するポリフェノールの役割の研究¹¹⁻¹⁵) などをはじめとして, 多くのすぐれた業績があり, ブドウおよびブドウ酒中のポリフェノールに関する解明は次第に進んできているがなお十分とはいえず, 一方わが国におけるこの方面の研究は未だきわめて少な

いのが現状である。

著者らは早くからブドウ酒成分の中でポリフェノール類に注目すべきであることを感じ、機会があるごとにその測定を試み、すでに皮醱酵期間の長さ¹⁶⁾およびブドウ果醱の加熱¹⁷⁾がポリフェノールの溶出量に及ぼす影響について報告し、またブドウ酒にポリフェノールオキシダーゼを加えた場合の酸素吸収量を測定し、ブドウ酒の熟成との関連を考究してきたが¹⁸⁾、今回さらに基本的な諸問題についてこの成分に関する追究を行なうことが必要ではないかと考え、最初にブドウ果醱の醱酵中にポリフェノールがどのような経過で原料ブドウ果からブドウ酒に移行するかを検討し、これを明らかにするとともにその溶出経過に対する亜硫酸の影響および果醱の加熱 (Hot-pressing) の影響を試験したので、その結果をここに報告する。

試験方法

試験は次の試験Aおよび試験Bの二項目とし、それぞれ TABLE I に示すような小規模の仕込を行なってポリフェノールの溶出量を測定した。

試験A：仕込を4区分に分け、亜硫酸の量を0(A-0), 100(A-1), 200(A-2), 300(A-3)ppmとし、ポリフェノールの溶出に及ぼす亜硫酸の影響を検討した。

試験B：破碎果の加熱圧搾を行なった場合のポリフェノール溶出量を検討した。仕込は2系列に分け、破碎果を加熱してからそのまま皮醱酵させたもの (B-1 系列) と、加熱してから直ちに圧搾して搾汁のみを醱酵させたもの (B-2 系列) とを比較すると共に、各系列をさらに2区分に分け、亜硫酸の量をそれぞれ 0 (B-10, B-20), および 200 (B-12, B-22) ppm として、亜硫酸の影響をもあわせて試験した。破碎果の加熱方法は先の報告¹⁷⁾に準じ、条件は 60°C 10 分間とした。

1. 供試料

昭和 35 (1960)年度山梨県塩山産の Muscat Bailey A 種ブドウ果を供試した。自然流下果汁の分析値は次の通りである。

還元糖 (Reducing sugars as glucose)	17.31 g/l
総酸 (Total acids as tartaric)	4.82 g/l

2. 仕込方法

その概要は TABLE I に示した通りで、原料ブドウは各区分ごとに手動の破碎機で破碎し、それぞれのコースにしたがってホウロウ引きのバットを用いて醱酵せしめた。酒母にはブドウ酒酵母 OC-2 を用い、主醱酵は約 10 日間で終了した。

3. 分析方法

全タンニンおよび色素は RIBÉREAU-GAYON 法¹⁹⁾により、過マンガン酸カリウムの消費量であらわし、全タンニンの中で酢酸エチルに不溶性の部分を色素とした。可視部における吸光度は日立製作所製光電比色計 FPW-4 型により、5 倍に希釈した試料について液層 10mm のセルを用いて測定し、その他の分析はすべて常法にしたがって行なった。

結果および考察

1. 皮醱酵期間中におけるポリフェノールの溶出経過

仕込の日から主醱酵の終了した 11 日目までの間に、果皮および種子から溶出されたポ

TABLE I
仕込方法 *Vinification Practices*

区分 Must No. a)	ブドウ Grape	果梗 Stem	仕込操作* Course of Operations	SO ₂	酒母 Starter Added	補糖 Sugar Added	压榨 Pressing	
							液 Juice	粕 Pomace
	kg	kg		ppm	l	kg	l	kg
A-0	19.7	0.5	F→P	0	0.1	1.4	13.7	2.3
A-1	19.5	0.5	F→P	100	0.1	1.4	13.8	2.3
A-2	19.1	0.5	F→P	200	0.1	1.4	14.0	2.1
A-3	19.1	0.5	F→P	300	0.1	1.4	13.8	2.3
B-10	19.1	0.5	H→F→P	0	0.1	1.4	13.2	1.7
B-12	18.8	0.4	H→F→P	200	0.1	1.4	14.0	1.8
B-20 } B-22 }	17.1	0.4	{H→P→F H→P→F	0	0.1	0.5	5.2	4.1
			200	0.1	0.5	5.2		

*H, Heat-treatment (for 10 min. at 60°C); F, Fermentation; P, Pressing; F→P, Fermentation on the skins; H→F→P, Fermentation of the juice which was obtained from a preheated must. a) Corresponds to wine numbers in TABLE II.

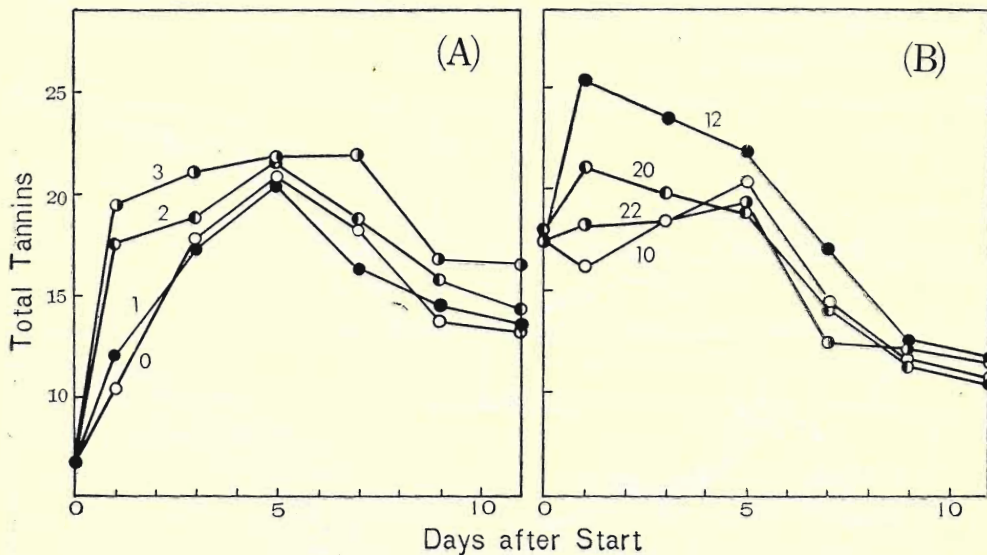


Fig. 1. Changes in the Amounts of Total Tannins (*N. KMnO₄*/ml/l) of Untreated Musts (A) and of Heat-Treated Musts (B) during the Fermentation. For Must No. see TABLE I.

リフェノールの量を経時的に測定し、Fig. 1 および Fig. 2 に示す結果が得られた。またこの期間中におけるポリフェノールの溶出に影響を及ぼすべき条件として果醪の品温とアルコールの生成量とが考えられるが、これらについて経時的に測定した結果は Fig. 3 および Fig. 4 に示した通りである。

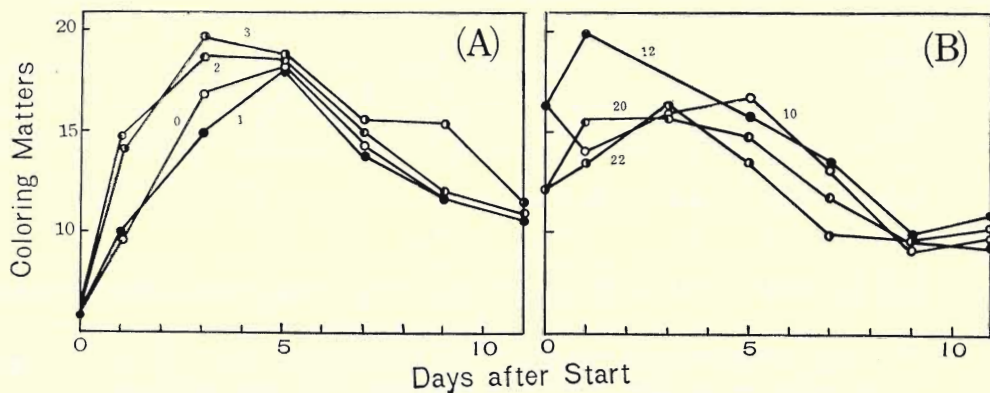


Fig. 2. Changes in the Amounts of Coloring Matters ($N. KMnO_4$ ml/l) of Untreated Musts (A) and of Heat-Treated Musts (B) during the Fermentation. For Must No. see TABLE I.

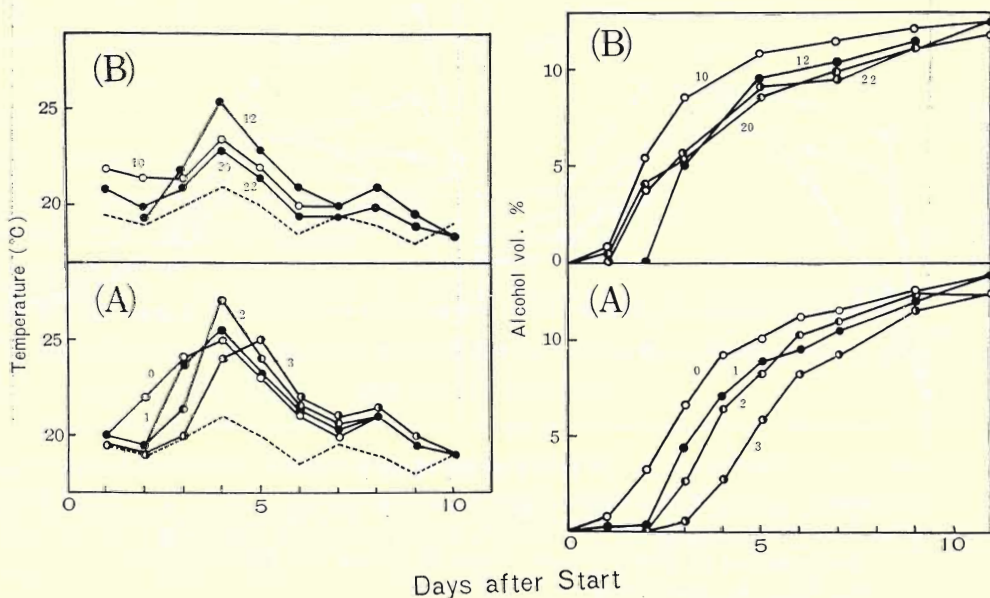


Fig. 3

Fig. 3. Temperature of Untreated (A) and Heat-Treated Musts (B) during the Fermentation., Room Temperature.

Fig. 4. Increase in Alcohol Contents of the Musts during the Fermentation. For Must No. see TABLE I.

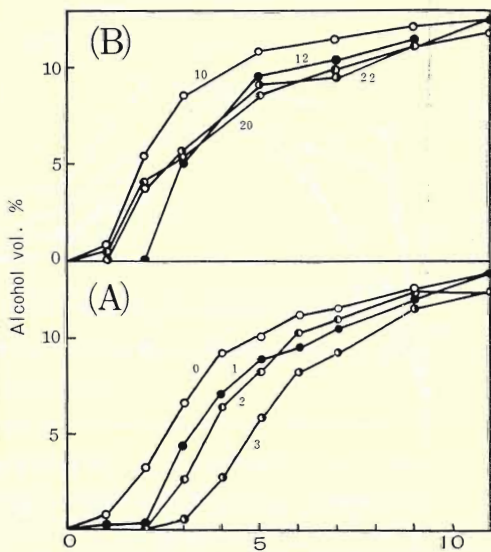


Fig. 4

試験Aの場合は全タンニンおよび色素は各区とも仕込後ただちに急激に増加し、5日目前後に最高値に達し、その後は次第に減少する。この減少は恐らく酸化などによって不溶性となって沈澱するためと思われる。

亜硫酸の多いもの(A-2, A-3)は少ないもの(A-0, A-1)に比べて醱酵初期における増加が特に急激で到達する最高値も大きい。亜硫酸が多ければ醱酵開始はおそくなり、Fig. 4で明らかなようにアルコールの生成もおそい。したがってアルコールによる色素、タンニンの溶出は少ないはずである。にもかかわらず醱酵初期にこのような増加を示すのは亜硫酸による溶出効果のためと思われる。ただしこの溶出効果があらわれるためには200ppm以上の SO_2 が必要で100ppmではその効果が認められなかった。

5日目以後に減少する全タンニンおよび色素量も亜硫酸の多いものではゆるやかに、これは亜硫酸によって酸化が防止されるためと思われる。

亜硫酸による溶出効果は特に色素について著しいようで、A-0, A-1では全タンニンと色素とが5日目を頂点としてほぼ類似した型の増減を示すのに対し、A-2, A-3では全タンニンに比べて色素の増加が急激で仕込後3日目にすでに頂点に達している。

試験Bでは醱酵前に加熱によりポリフェノールはすでに相当量が溶出してしまっていて、それ以上には大して増加しない。しかし加熱したのちに皮醱酵を行なわせた場合には亜硫酸による溶出作用が見られ、B-12では全タンニンおよび色素はともに醱酵初期に増加する。加熱してから直ちに圧搾して搾汁のみを醱酵させた場合(B-20, B-22)は果皮からの溶出は全たく行なわれないはずであるが、それにもかかわらず醱酵初期に多少の増加を示す場合がある。その原因は不明であるが、亜硫酸はこの増加に対してはほとんど影響しない。

2. 皮醱酵期間中における色調の変化

仕込の日から主醱酵終了までの間における色素の溶出による色調の変化する経過を420 μ および530 μ における吸光度(A_{420} , A_{530})の測定によって追跡した結果をFig. 5, Fig. 6, Fig. 7に示す。

A_{530} は液の赤色の濃さを示すもので、通常の赤色ブドウ果汁はこの波長で極大吸光度を示す。 A_{420} は液の黄色の濃さを示すもので、ブドウ酒が褐変した場合は A_{530} の減少とともに A_{420} の増加が起きる。したがってこの両波長における吸光度の比(A_{530}/A_{420})をとれば褐変の強さを示す指標とすることができる²⁰⁾。

試験Aの場合、 A_{420} は日数とともに増加するが亜硫酸の少ないものは増加が早く2日目に最高値に達するのに対し、亜硫酸の多いものは増加がおそく、最高値に達するのは4~5日目である。最高値における吸光度は亜硫酸の最も多いA-3がとびぬけて大きい。最高値に達したあとは急激に減少して11日目には各区とも大差のない値となる。

A_{530} は各区とも大体同じ速度で増加し、4~5日目に最高値に達し、その後は減少するが、最高値の大きさは亜硫酸の多いものほど大きい。

A_{530}/A_{420} の変化の経過はやや不規則なグラフとなったが(Fig. 7)、A-0, A-1, A-2の3区は大きな差異を示さず、日数とともに増加する傾向を持つ。A-3区のみは特異な経過を示し、4日目から6日目にかけて著しく低い比の値を示す。これは赤色と黄色とで増加と減少に時間的ズレがあり、醱酵初期には主として赤色が濃くなり、4~6日目に

至って集中的に黄色が増加し、7日目以後は赤色の減少に比べて黄色の減少が急速であることを示すものである。主醱酵終了時における各区での比の値は亜硫酸の多いものの方が大きく、赤色の勝った良好な色調であることがわかる。

以上の結果から亜硫酸の添加は色調を濃くし、また赤色の強い良好な色にする効果があるといえる。しかし吸光度によって示された色調と、過マンガン酸カリウムの消費量によって示された色素量とは亜硫酸の効果に多少の差があり、後者(色素量)は亜硫酸の多いものほど醱酵初期に急激な増加を示しているが、前者(色調)ではこのような現象は見られない。したがって過マンガン酸カリウムの消費量によって測定された色素量は必ずしも実際の色調を示すものではないことが知られる。

試験Bの結果、色調は加熱によって得られた濃さ以上には増大せず、吸光度は多少の不規則さはあるが大体において日数とともに減少する。主醱酵終了時における A_{420} は搾汁のみを醱酵させたもの(B-20, B-22)の方が著るしく大きな値を持ち、皮醱酵させたもの(B-10, B-12)は小さい。このことから果皮の存在は黄色の減退を促進する効果を持つのではないかという疑念が生じる。なお A_{420} に対する亜硫酸の影響はほとんど認められなかった。

A_{530} についても B-2 系列の方が大きな吸光度を示すが、その差は A_{420} ほど大きくない。また A_{530} に対しては亜硫酸の効果が認められ、亜硫酸を加えたものの方が吸光度が大きく、残存する赤色が多いことを示している。

A_{530}/A_{420} は皮醱酵を行なわせたもの(B-10, B-12)の方が大きく、良好な色調であることを示し、 A_{530} , A_{420} の各個別の増減とあわせて考えると、皮醱酵をさせたものは搾汁

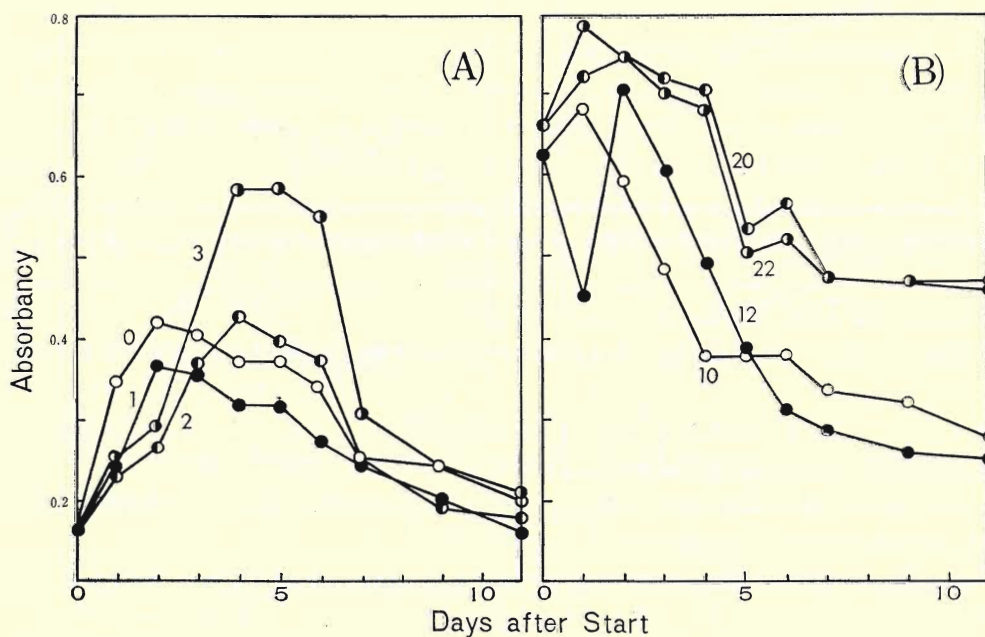


Fig. 5. Changes in the Absorbancy at $420m\mu$ of Untreated Musts (A) and of Heat-Treated Musts (B) during the Fermentation.

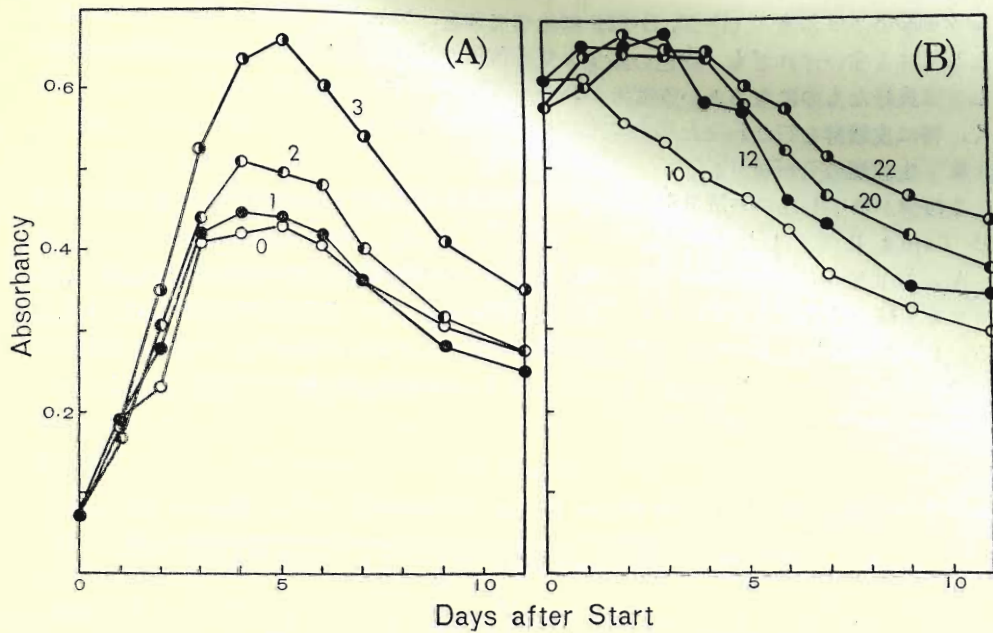


Fig. 6. Changes in the Absorbance at 530 $m\mu$ of the Musts during the Fermentation. For Must No. see TABLE I.

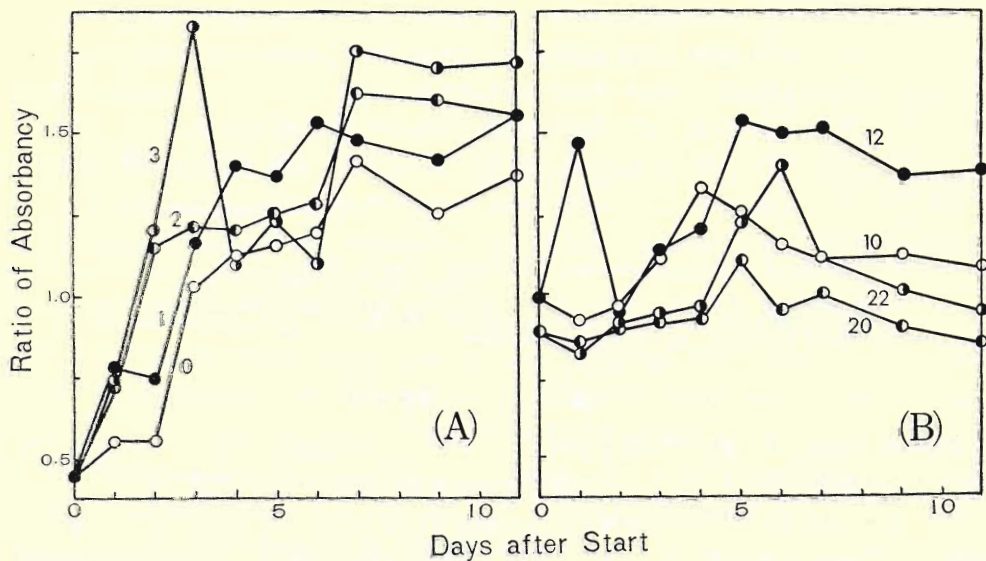


Fig. 7. Changes in the Ratio of Absorbance at 530/420 $m\mu$ of Untreated Must (A) and of Heat-Treated Musts (B) during the Fermentation. For Must No. see TABLE I.

のみを醸酵させたもの (B-20, B-22) に比べて黄色, 赤色ともに減少率が高く, 色の濃さとしてはうすいけれども, 赤色の減少よりも黄色の減少の方が著るしいために色の性質としては良好なものになるということがわかる。また亜硫酸を加えたものはこの値が大きくなり, 特に皮醸酵を行なわせた場合にその効果が著明である。

3. 生成酒の分析値

主醸酵が終了したのち清澄を待って2回の滓引きを行ない, 新酒を得た。新酒の分析値は TABLE II に示した通りである。分析の日時は仕込から約2ヶ月後であった。

A₄₂₀ は主醸酵終了時の値と比べて同じ位かまたは多少増加しているが, A₅₃₀ および過マンガン酸カリウム消費量によって測定された全タンニン, 色素量はいずれも減少している。しかし亜硫酸の多いものはその減少率が小さく, 貯蔵中にポリフェノールを安定に保つ効果があることを示している。したがって A₅₃₀/A₄₂₀ も亜硫酸の多いものほど大きく, 良好な色調を呈している。

TABLE II
新酒の分析結果 *Analyses of the Wines Obtained after two Months Storage*

区分 Wine No.	アルコ ール	エキス	還元糖		総酸	揮発酸	揮発エ ステル ヒド	アルデ ヒド	全タン ニン	色素	吸光度 Absorbancy	
	Alc.	Ex.	a) R.S	b) T.A.	c) V.A.	d) V.E.	e) Ald.	f) T. T.	g) C. M.	420m μ	A ₅₃₀ /A ₄₂₀	530m μ
	vol%	g/dl	g/l		mg/l			N. KMnO ₄ ml/l				
A-0	13.9	2.97	0.18	5.24	0.31	73.7	68.6	7.76	5.70	0.202	0.137	0.68
A-1	13.0	2.97	0.17	5.36	0.28	77.2	81.8	8.94	5.55	0.232	0.212	0.81
A-2	12.2	2.79	0.17	5.84	0.36	66.7	168.9	10.17	8.30	0.260	0.282	1.08
A-3	13.0	2.07	0.17	6.14	0.38	21.0	152.5	10.81	8.35	0.297	0.352	1.19
B-10	13.9	2.50	0.17	4.04	0.43	14.8	45.0	6.58	5.65	0.260	0.138	0.53
B-12	12.0	2.61	0.20	5.27	0.41	56.1	120.7	10.17	8.30	0.275	0.234	0.85
B-20 } B-22 }	13.7	3.03	0.47	5.71	0.29	108.8	50.3	7.22	5.94	0.335	0.188	0.56

a) Reducing sugars as glucose, b) Total acids as tartaric, c) Volatile acids as acetic, d) Volatile esters as ethylacetate, e) Aldehydes as acetaldehyde, f) Total tannins, g) Coloring matters.

要 約

Muscat Bailey A 種ブドウ果を原料として赤ブドウ酒の試醸を行ない, その際に皮醸酵期間中に果皮からポリフェノールの溶出される経過を追跡して次の結果を得た。

1) 過マンガン酸カリウム消費量によって測定される全タンニンおよび色素の量と, 420m μ , 530m μ の吸光度 (A₄₂₀, A₅₃₀) によって測定される色調は, ともに醸酵初期に増加し, 2~5日目に最高値に達するがその後は減少する。

2) 過マンガン酸カリウム消費量によって測定される全タンニンと色素は SO₂200 ppm 以上の亜硫酸添加により醸酵初期における増加が特に急激となり, 到達する最高値も大きく, その後の減少もゆるやかである。この作用は特に色素について著るしい。

3) A_{420} (黄色) は亜硫酸の少ないものの方が早く増加し, A_{530} (赤色) は亜硫酸の量に関係なく同じ位の早さで増加する。

4) したがって過マンガン酸カリウム消費量によって測定される色素量と, 吸光度によって測定される色調とは必ずしも一致しないことがわかる。

5) 果醪を醱酵前に 60°C , 10 分間加熱することによりポリフェノールはほとんど最大限まで溶出される。しかし加熱後に亜硫酸を添加して皮醱酵を行なわせた場合, なお多少のポリフェノールが溶出された。

6) 醱酵後期における吸光度の減少は果皮の存在により促進されるようで, 特に A_{530} よりも A_{420} の減少が促進される。その結果, 果皮との接触時間が長いものは赤色の方が強くなり, 良好な色調を示す。

7) 亜硫酸の添加は A_{420} には関係なく, A_{530} の減少のみを防止する。したがって亜硫酸の添加はポリフェノールの溶出をうながすばかりではなく, 赤ブドウ酒の色調を良好にする効果があり, なお貯蔵中におけるポリフェノールの減少をも防止するのに有効である。

終りに終始御指導を戴いた本研究の故多田靖次先生, 小原巖先生に厚く御礼申し上げます。

文 献

- 1) DURMISHIDZE, S. V. and T. P. TSISKARISHVILI : Changes of tannin substances during the ripening process of grape bunch (transl.). *Biokhim. Vinodeliya, Akad. Nauk SSSR, Sbornik*, **3**, 7 (1950)
- 2) DURMISHIDZE, S. V. : Transformation of tannin substances during the processing of wine grapes (transl.). *Ibid.*, **4**, 161 (1953)
- 3) DURMISHIDZE, S. V. : d-Catechol in the composition of grape tannin (transl.). *Dokl. Akad. Nauk SSSR*, **73**, 987 (1950)
- 4) DURMISHIDZE, S. V. : l-Gallocatechin in the composition of tannins of grape (transl.). *Ibid.*, **77**, 859 (1951)
- 5) DURMISHIDZE, S. V. and N. N. NUTSUBIDZE : Chromatographic study of tannins in the grape vine (transl.). *Ibid.*, **96**, 1197 (1954)
- 6) DURMISHIDZE, S. V. : The polyphenoloxidase of grapes and its role in wine technology (transl.). *Biokhimiya*, **15**, 58 (1950)
- 7) RIBÉREAU-GAYON, P. : Differentiation of the coloring matters of French grapes and wines from those of hybrid strains of grapes (transl.). *C. R. Acad. Agr.*, Paris, **39**, 800 (1953)
- 8) RIBÉREAU-GAYON, P. : Coloring matter of red grapes. Differentiation of plants and wines (transl.). *Ann. Falsif. Fraudes*, **47**, 436 (1954)
- 9) RIBÉREAU-GAYON, P. and J. RIBÉREAU-GAYON : Separation of the anthocyanins of raisins (transl.). *C. R. Acad. Sci.*, Paris, **238**, 2114 (1954)
- 10) RIBÉREAU-GAYON, J. and P. RIBÉREAU-GAYON : Identification of the antho-

- cyanins of raisins (transl.). *Ibid.*, **238**, 2188 (1954)
- 11) RODOPULO, A. K. : Oxidizing enzymes of Champagne varieties of grapes and musts (transl.). *Biokhim. Vinodeliya, Akad. Nauk SSSR, Sbornik*, **3**, 43 (1950)
 - 12) RODOPULO, A. K. : The fermentative and non-fermentative oxidation systems of must and wine (transl.). *Ibid.*, **4**, 211 (1953)
 - 13) RODOPULO, A. K. : The role of tannins in the oxidation of must and wine (transl.). *Vinodelie i Vinogradarstvo*, **10**, No. 9, 20 (1950)
 - 14) RODOPULO, A. K. : Oxidation-reduction processes taking part in the production of wines. (transl.). *Ibid.*, **12**, No. 1, 21 (1952)
 - 15) RODOPULO, A. K. : Oxidation-reduction processes in the grape brew and in the wine (transl.). *Trudy Vsesoyuz. Nauch. Issledovatel. Inst. Vinodeliya i Vinogradarstva "Magarach"* **4**, 3 (1953)
 - 16) 四条徳崇, 村木弘行, 多田靖次 : ブドウ酒醸造における皮醱酵期間について (第1報) 赤ブドウ酒醸造における皮醱酵期間, 山梨大醱酵研, **6**, 37 (1959)
 - 17) 村木弘行, 四条徳崇, 多田靖次 : ブドウ酒醸造における破碎果の加熱圧搾について, 山梨大醱酵研, **6**, 25 (1959)
 - 18) OTSUKA, K., H. MURAKI and S. GOTO : Sur la quantité d'oxygène absorbée par le vin en présence de l' oxydase de patate. *C. R. Soc. Biol.*, Paris, **150**, 1833 (1956)
 - 19) RIBÉREAU-GAYON, J. and E. PEYNAUD : *Analyse et Contrôle des Vins*. p. 405, Lib. Polytechnique Ch. Béranger, Paris (1951)
 - 20) PONTING, J. D., D. W. SANSHUCK, and J. E. BREKKE : Color measurement and deterioration in grape and berry juices and concentrates. *Food Res.*, **25**, 471 (1960)
 - 21) HENNIG, K. and R. BURKHARDT : Über die Farb und Gerbstoffe, sowie Polyphenole und ihre Veränderungen im Wein. *Weinberg u. Keller*, **4**, 374 (1957)
 - 22) HENNIG, K. and R. BURKHARDT : Der Nachweis phenolartiger Verbindungen und hydroaromatischer Oxycarbonsäuren in Traubenbestandteilen, Wein und weinähnlichen Getränken. (I)-(II). *Ibid.*, **5**, 542 ; 593 (1958)