

## [ 研 究 報 文 ]

ブドウ ‘ミュラー・トゥルガウ’ の成熟経過におけるモノテルペン類の変化と  
ワイン中のモノテルペン濃度に及ぼす醸造条件の影響相馬紀子<sup>1</sup>・後藤（山本）奈美<sup>2</sup>・磯谷敦子<sup>2</sup>・古川準三<sup>1</sup><sup>1</sup>北海道ワイン株式会社製造部 〒047-8677 北海道小樽市朝里川温泉 1-130<sup>2</sup>独立行政法人酒類総合研究所 〒739-0046 広島県東広島市鏡山 3-7-1**Change in Monoterpene Concentration of Grapes during Berry Development and Influence of Vinification Conditions on Monoterpene Concentration in Müller-Thurgau wine**Noriko SOMA<sup>1</sup>, Nami GOTO-YAMAMOTO<sup>2</sup>, Atsuko ISOGAI<sup>2</sup> and Jyunzo FURUKAWA<sup>1</sup><sup>1</sup>Hokkaido Wine LTD., Asarikawaonsen, Otaru-shi, Hokkaido 047-8677, Japan<sup>2</sup>National Research Institute of Brewing, Kagamiyama, Higashi-hiroshima-shi, Hiroshima 739-0046, Japan

Monoterpene alcohols are known to contribute to the aroma of Müller-Thurgau wine. In this study, we examined the change in monoterpene concentration of Müller-Thurgau grapes during maturation. Also, the effects of grape maturity and enological pectinase preparations on the monoterpene concentration in Müller-Thurgau wine were investigated. Linalool was the major monoterpene in Müller-Thurgau grapes, existing in both free and bound forms, and the total concentration of monoterpenes increased during maturation. Müller-Thurgau wine made from grapes collected 14 weeks after flowering (overripe) contained higher levels of monoterpenes and received higher organoleptic evaluation than wine made from 10-week-old grapes. Treatment with enological pectinase preparations possessing glycosidase activity increased the monoterpene concentration in Müller-Thurgau wine and improved the results of organoleptic evaluation. However, the increased monoterpene concentrations were not organoleptically detectable in ethanol solution. Thus, the enzyme treatment possibly increases the concentrations of unknown aroma compounds as well as monoterpenes.

**Key words:** bound monoterpene, free monoterpene, Müller-Thurgau

## 結 言

ブドウ果実に由来する香りは、ワインの品質を評価する上で重要な要素の一つである。ブドウ果実に由来する香気成分のうち、モノテルペンアルコール(以下、モノテルペン)類は、マスカット系ブドウの主要な香気成分であるとともに、‘リースリング’、‘ゲヴェルツトラミナー’、‘ミュラー・トゥルガウ’などのドイツ系品種にも含まれ、そのワインの香りに寄与していると考えられている(7、9、11、19)。モノテルペン類には多くの種類があるが、香りへの寄与が大きい成分は

リナロール、ネロール、ゲラニオール、シトロネロール、 $\alpha$ -テルピネオールの5種類であり、これらの成分は、果実や果汁では香りを有さない結合型の配糖体、6-O- $\alpha$ -L-ラムノピラシル- $\beta$ -D-グルコピラノシド、6-O- $\alpha$ -L-アラビノフラノシル- $\beta$ -D-グルコピラノシド(17)、および6-O- $\beta$ -L-アピオフラノシル- $\beta$ -D-グルコピラノシド(15)の状態が多く存在することが知られている。結合型のモノテルペン類は、ワインの貯蔵中に酸性条件で化学的に分解してモノテルペンが遊離する(4)とともに、酵素的にもグリコシドが分解されることが知られている。酵素的分解は、ラムノース、アラビノース、アピオースのグリコシド結合が分解された

2007年8月20日受理

後、 $\beta$ -グルコシダーゼによってモノテルペンが遊離する2段階の反応によると考えられている(9)。しかし、ブドウ果実のグリコシダーゼはグルコースで阻害されるなどの理由でマスト中では有効に作用しない(9)。ワイン酵母のグリコシダーゼ活性は至適 pH が5でマスト中の活性は低いが、グルコースで阻害されず、菌株によってモノテルペンの遊離活性が異なることが知られている(2, 9)。また、*Aspergillus niger* を起源とする醸造用ペクチナーゼ製剤には、夾雑物として $\beta$ -グルコシダーゼのほか、 $\alpha$ -アラビノシダーゼなどの活性が含まれているものがあり、これを利用する方法も検討された(9)。*Aspergillus* 由来のグルコシダーゼ活性もグルコースで阻害されるため、発酵終了後に添加することが必要で、これらの活性を高めた製品が開発されている。

‘マスカット・オブ・アレキサンドリア’、‘ゲヴェルツトラミナー’および‘リースリング’では、果実の成熟中の変化(1, 5, 6, 18)、除葉・摘房(8)や施肥量(16)がモノテルペン含量に及ぼす影響、ならびにワインの熟成の影響(13)が報告されている。一方、‘ミュラー・トゥルガウ’は、わが国では‘ケルナー’に次いで栽培面積の広いドイツ系品種であるが、日本の栽培条件での成熟中のモノテルペン含量の変化など、栽培・醸造にとって重要なデータは報告されていない。

そこで本研究では、わが国の主要な‘ミュラー・トゥルガウ’の栽培地域である北海道における成熟過程の果実中のモノテルペン類含量の変化と、それに及ぼす腐敗果の影響について検討した。また、小仕込み試験醸造を行い、原料ブドウ果実の収穫時期、腐敗果混在の有無、ワイン酵母の菌株、酵素剤使用の有無およびその種類の影響について検討し、若干の知見を得たので報告する。

## 材料と方法

### 1. 供試材料と採取方法

北海道浦臼町鶴沼ワイナリーNo.6の圃場、1996年植栽の‘ミュラー・トゥルガウ’150樹からランダムに果房を選び、2005年は開花後4週目から、2006年は開花後6週目から14週目まで1週間おきに採取した。

### 2. 果汁試料の調整方法

採取した果房から375粒をランダムに選び、5%亜硫酸水をSO<sub>2</sub>として100 mg/kgとなるように添加し、フー

ドリミキサーで破碎した。得られた果汁を遠心分離(3000 rpm, 10 min)し、上澄を凍結保存し、分析に供試した。2005年の果汁は、腐敗果を取り除かずに試料を調整した。2006年は、11週目から腐敗果を取り除いた健全果のみの果汁、および腐敗果が混在した果汁を調整した。

### 3. 果汁分析

糖度は比重から算出した。酸度、pHは国税庁所定分析法に従って分析した。

### 4. 市販ペクチナーゼ剤のグリコシダーゼ活性測定

醸造用ペクチナーゼ剤には、ペクチナーゼ活性のほかに $\beta$ -グルコシダーゼ活性等を有し、モノテルペン類の配糖体からの遊離を促進する作用があるとされるものがある。今回は、この様な効果をうたった市販ペクチナーゼ剤AおよびB、ならびに对照としてろ過性の改善効果があるとされる市販ペクチナーゼ剤Cを用いた。篠原ら(12)の方法を一部改変して、 $\beta$ -グルコシダーゼ活性、 $\alpha$ -アラビノシダーゼ活性および $\alpha$ -ラムノシダーゼ活性を測定した。グリコシダーゼ反応の基質として20 mM *p*-ニトロフェニル $\beta$ -D-グルコピラノシド(MP Biomedicals)、5 mM *p*-ニトロフェニル $\alpha$ -L-アラビノフラノシドおよび5 mM *p*-ニトロフェニル $\alpha$ -L-ラムノピラノシド(Sigma)を使用した。基質溶液、pH 3.5クエン酸バッファー(0.1 M クエン酸、0.2 M クエン酸ナトリウム)および酵素希釈液の各1 mLを混合し、30°Cで10分間反応させた後、3 mLの0.2 M炭酸ナトリウム溶液を加えて反応を停止させた。その後O.D.400 nmを測定して、10分間に遊離した酵素剤1 g当たりの*p*-ニトロフェノール量を次のように求め、これを酵素活性とした。

遊離 *p*-ニトロフェノール (nmol)

$$= \Delta O.D. (O.D.test - O.D.blank) \times 6.0 \text{ (mL)}$$

$$\times 1000/18.1 \text{ (} p\text{-ニトロフェノールのモル吸光係数)}$$

$$(1/cm \cdot \mu\text{mol}) \times 1 \text{ (光路長 cm)} \times \text{(希釈率)}$$

$$= \Delta O.D. \times 331 \times \text{(希釈率)}$$

なお、供試酵素剤は純水で溶解・希釈し、希釈率と遊離*p*-ニトロフェノール量が比例する濃度で活性を測定した。

### 5. 小仕込み試験醸造

2006年9月21日(開花後10週目、収穫期)、10月4日(開花後12週目)、10月18日(開花後14週目、過熟期)にブドウを収穫し、約10 kgずつ小仕込み試験醸造を行った。ブドウは手作業で除梗、破碎し、ピロ

亜硫酸カリウムをSO<sub>2</sub>として 50 mg/Lとなるように添加後、3 時間スキンコンタクトを行い、バスケット式圧搾機を用いて圧搾した。次に、得られた清澄果汁を、必要に応じてグルコースで20%まで補糖した。これに、酵母を300 mg/L添加し、室温、ガラス容器にて発酵した。発酵終了後、5%亜硫酸水をSO<sub>2</sub>として100 mg/Lとなるように添加した。その後、オリ引きを2回を行い、精製ワインとした。

酵母は maurivin Elegance を用い、12 週目の試験醸造には maurivin PDM も用いて、酵母の比較を行った。また、12 週目の試験醸造には、健全果のみの仕込みと腐敗果が混在した仕込みを行い、比較した。10 週目と14 週目の試験醸造には、健全果のみを用いた。

ペクチナーゼ剤比較試験には、開花後12 週目の果汁を maurivin Elegance を用いて発酵し、精製ワインとしたものに、各ペクチナーゼ剤を使用説明書通りの量添加し、15~20°C、約1 か月間静置した。その後、ベントナイト 200 mg/L でオリ下げ処理を行った。

酵素剤のスキンコンタクト時の添加試験には、開花後12 週目の果実を用い、試験区にペクチナーゼ剤 A を添加した。

## 6. ワインの一般成分

アルコール分の測定にはアルコメイト（理研計器）を用い、他の成分は国税庁所定分析法に従って分析した。

## 7. モノテルペン類分析サンプルの調製

遊離型モノテルペン類は、果汁およびワインをそのままGC-MS分析に供した。結合型モノテルペン類の分析は、Park et al. (6) の分析方法を一部改変し、固相抽出した結合型モノテルペンを酵素分解して遊離型とし、GC-MS分析に供した。まず、12 mLメタノールと24 mL蒸留水でボンドエルト<sup>®</sup>C18 カラム（ジーエルサイエンス株式会社）をコンディショニングしたのち、10 mL試料をアプライし、12 mL 蒸留水で洗浄後、10 mLメタノールで溶出した。溶出物をエバポレーター（40°C、60 mbar）で乾固させ、乾固物を10 mL pH 5.0 リン酸/クエン酸バッファー（0.1 M NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>、0.05 M Na<sub>3</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>O<sub>7</sub>）で溶解し、10 mg粗ジグリコシダーゼ剤（天野エンザイム）を加え、30°C、24 hr静置して反応させたもの。相馬紀子・後藤（山本）奈美・磯谷敦子・古川準三

## 8. モノテルペン類のGC-MS分析

モノテルペン類は、ポリジメチルシロキサンをコー

ティングした攪拌子（Gerstel 社製 Twister）にモノテルペンを吸着させ、これを加熱脱着導入システム（TDS）を用いて GC-MS に注入する方法〔stir bar sorptive extraction（SBSE）法〕で分析した。

まず、バイアル中で NaCl 2.0 g、試料 10 mL、および内部標準 4-ノナノール 10 μL を混合し、攪拌子で NaCl を溶解した後、Twister を入れ攪拌（700 rpm、30 min）し、香氣成分を吸着させた。内部標準濃度は、2005 年の試料の分析には 60.94 mg/L、2006 年は 55.0 mg/L を用いた。香氣成分を吸着した Twister を Gerstel 社製の加熱脱着装置 TDS 2 に装着し、60°C/min で 20°C から 230°C まで昇温することにより香氣成分を加熱脱着した。脱着した香氣成分は -150°C に保持したインレット CIS4 の温度を 12°C/秒で 250°C まで昇温することにより GC のカラムに注入した。注入は、スプリットレスで行った。GC は Agilent 社製 GC6890 を用い、カラムは HP-INNOWax（30 m×0.25 mm×0.25 μm）を使用した。GC オープンの温度は、40°C で 5 分間保持した後 5°C/min で 240°C まで昇温し、15 分間保持した。キャリアガス（ヘリウム）流量は 1.0 mL/min とした。化合物の検出は、Agilent 社製 MSD5973 を用い、SIM モードで以下のイオンをモニターした。4-ノナノール：m/z=101、リナロール：m/z=93、121、α-テルピネオール：m/z=121、93、シトロネロール：m/z=123、ネロール：m/z=93、121、ゲラニオール：m/z=123、93、121。検量線用の標準物質は、サンプルと類似した条件になるよう、果汁の遊離モノテルペン類の測定には 0.5% リンゴ酸を含む 1% エタノール水溶液、ワインの遊離モノテルペン類の測定には 0.5% リンゴ酸を含む 11.7% エタノール水溶液、果汁およびワインの結合型モノテルペン類の測定には pH 5.0 リン酸/クエン酸バッファーを用いて調製した。

## 9. 官能評価

発酵後の酵素剤処理の影響の評価は、マグニチュード推定法（ISO 11056）に従い、訓練された評価者 7 人で行った。すなわち、酵素剤無処理のワインを標準サンプルとして 30 点としたときの、テストサンプルの好ましい香りの強さを点数（上限はなし）で評価した。テストサンプルには対照と酵素処理ワイン 3 点を用い、内容は示さずにランダムな 3 桁の番号をつけて、ランダムな順番で提示した。評価値は自然対数を取り、対応のある二元配置の分散分析を行い、ボンフェローニ

の方法でペアごとの比較を行った。統計解析には SPSS 11.0J を用いた。

また、酵素処理によって増加したモノテルペン類の香りの強度を評価することを目的として、酵素剤無処理ワインとペクチナーゼ剤 B 処理ワインの遊離型モノテルペン類含量を、5%エタノール溶液に添加し、2点嗜好試験法に従い訓練された評価者 7 人で行った。

腐敗果混在の影響、および収穫期の影響の評価は、2点嗜好試験法に従い、訓練された評価者 8 人で行った。

マグニチュード法、2点嗜好法とも、色の影響を排除するため黒色の国際規格テイスティンググラスを用い、トップノートのみで評価した。

### 結果と考察

#### 1. 果実の一般成分の変化

実験に用いた 2005 年および 2006 年の果実の果粒重、果汁の TSS (Total soluble solids)、滴定酸度、および pH の変化を Fig. 1 に示す。2006 年の腐敗果の混入率は、11 週目 12.5%、12 週目 19.7%、13 週目 19.4%、14 週目 50.0%であった。腐敗果にはかびを生じたものが多く、また黒く日焼けけたものがあった。

#### 2. 果実のモノテルペン類の組成と成熟中の変化 (Figs. 2, 3)

果汁試料中の主要モノテルペン類、すなわち、遊離型と結合型リナロール、ゲラニオール、 $\alpha$ -テルピネオール、ネロール、シトロネロール含量を分析した。遊離型リナロールは、2005 年は 7 週目から、2006 年は 6 週目から増加した。リナロールについてゲラニオールの含量が高かったが、その他の遊離型モノテルペン類は低濃度で、また他品種での報告同様、遊離型モノテルペン類は次に述べる結合型モノテルペン類より低濃度であった。

結合型モノテルペン類も、リナロールが最も高濃度で、両年とも 7 週目から 14 週目まで増加し、14 週目で 2005 年は 99.93  $\mu\text{g}/\text{kg}$  berries、2006 年は 146.59  $\mu\text{g}/\text{kg}$  berries であった。栽培年によって若干の違いはあるが、結合型  $\alpha$ -テルピネオール、および 2006 年の結合型ゲラニオールも成熟期間中に増加する傾向が認めら

れた。結合型ネロールおよびシトロネロールは含量が低く、2006 年は検出されなかった。

‘マスカット・オブ・アレキサンドリア’ や ‘リースリング’ では、遊離型、結合型ともにリナロール、次いでゲラニオール濃度が高く、‘ゲヴェルツトラミナー’ ではゲラニオール濃度が最も高くリナロール濃度は低いと報告されている (3)。今回の分析結果から、‘ミュラー・トゥルガウ’のモノテルペン組成は ‘リースリング’ に近いことが示された。なお、Rapp (7) は、ドイツ系ブドウ品種をテルペン類の分析値からタイプ分けし、‘ミュラー・トゥルガウ’は ‘リースリング’ タイプのテルペンプロファイルを示したと報告している。‘マスカット’ タイプの品種はリナロールやゲラニオール濃度が高いのに対し、‘リースリング’ タイプの品種はリナロールやゲラニオールよりも、香りの弱い (閾値の高い) トランスリナロールオキサイドの含量が高かった。さらに、‘ミュラー・トゥルガウ’と ‘リースリング’ はヒドロキシリナロール含量の多寡で識別できると報告しているが、今回はこれらの成

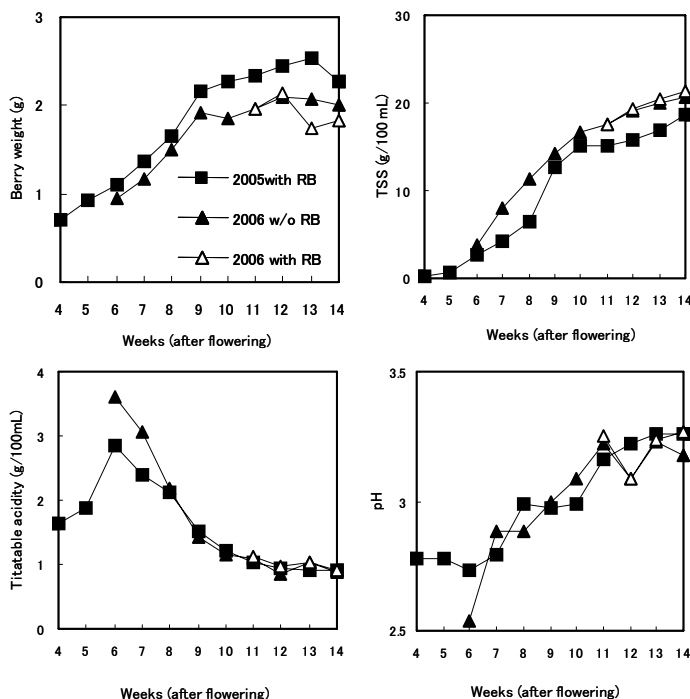


Fig. 1. Changes in berry weight, total soluble solids (TSS), titratable acidity (as tartaric acid), and pH of Müller-Thurgau grape during ripening in 2005 and 2006. RB, rotten berries.

分は分析していない。

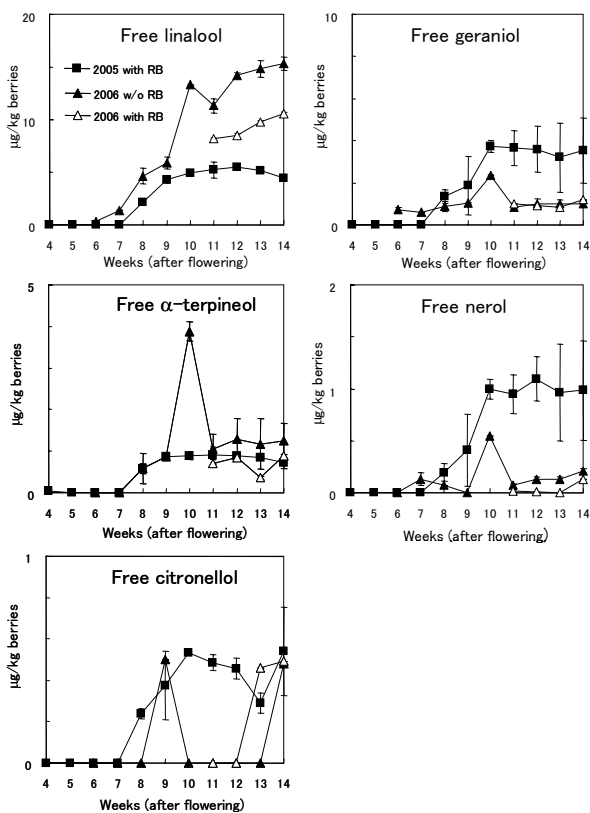


Fig. 2. Changes in free monoterpene concentrations of Müller-Thurgau berries during ripening in 2005 and 2006. RB, rotten berries. Vertical bars represent standard errors of analysis (n=2).

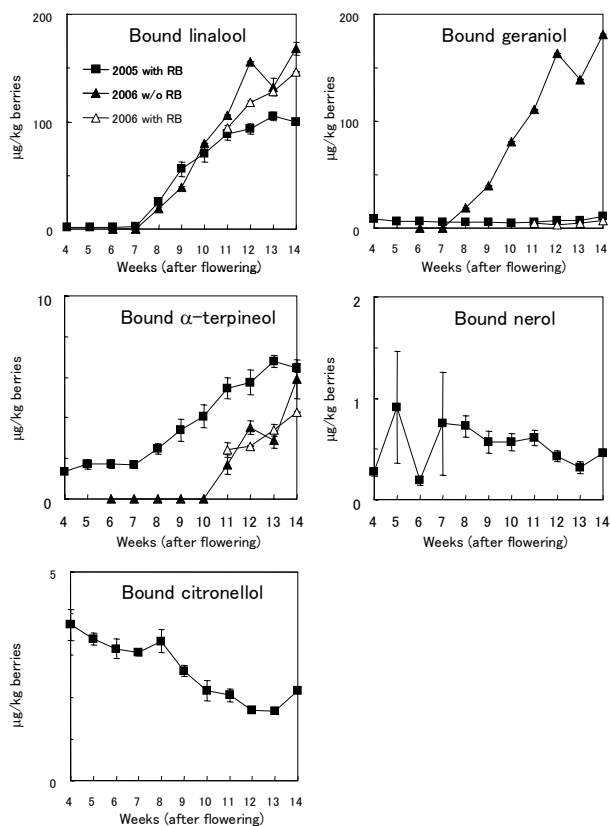


Fig. 3. Changes in bound monoterpene concentrations of Müller-Thurgau berries during ripening in 2005 and 2006. RB, rotten berries. Vertical bars represent standard errors of analysis (n=2).

Table 1 Experimental design for small-scale vinification and must composition<sup>z</sup>.

Symbol	Weeks after flowering	Expeimental design	TSS <sup>y</sup>	Titrateable acidity <sup>x</sup>	pH
a	10		16.7	1.16	3.09
b	12	Control of 12 weeks	19.6	0.99	3.08
c	12	Enzyme addition at skin contact	19.4	0.96	3.07
d	12	With rotten berries	19.9	0.92	3.03
e	12	Yeast strain (PDM)	19.6	0.99	3.08
f	14		21.0	0.88	3.21

<sup>z</sup>Unless otherwise described, the juice without rotten berries and without enzyme addition at the skin contact was fermented by a yeast strain Elegance.

<sup>y</sup>Total soluble solid (g/100 mL).

<sup>x</sup>Expressed as tartaric acid (g/100 mL).

平野ら (5) は、‘マスカット・オブ・アレキサンドリア’ 果汁の成熟中の遊離型モノテルペン類の濃度変化を調べ、リナロールは、ベレーゾンの約 1 か月後から急激に蓄積し、収穫期にピークに達した後、果実が過熟になるにつれて減少したと報告した。また、同様

に‘マスカット・オブ・アレキサンドリア’ を用いて、遊離型および結合型モノテルペン類の濃度は成熟中に増加することが報告されており (1, 6, 18)、今回得られた‘ミュラー・トゥルガウ’の結果も同様の傾向であった。

Table 2 Composition of wine.

Symbol	Fermentation days	Alc. (%)	Extract (%)	Titrateable acidity <sup>2</sup>	pH
a	25	11.55	2.81	1.14	3.03
b	26	11.75	2.63	0.98	3.19
c	29	11.70	2.89	0.95	3.14
d	29	11.65	3.38	0.95	3.14
e	26	11.65	2.66	0.99	3.15
f	21	12.50	2.84	0.92	3.22

<sup>2</sup>Expressed as tartaric acid (g/100 mL).

Table 3 Glucosidase activities of enological pectinase preparations.

Enzyme preparations	Glycosidase activities (nmol/g) <sup>2</sup>		
	$\beta$ -Glucosidase	$\alpha$ -Arabinosidase	$\alpha$ -Rhamnosidase
A	138.2	14.0	3.8
B	196.0	35.1	9.1
C	39.0	1.2	0.3

<sup>2</sup>Glycosidase activities are expressed as the amount of *p*-nitrophenol produced from the glycoside substrate by 1 g of enzyme preparation at pH 3.5, 30°C for 10 min.

腐敗果混在の試料では、遊離のリナロール濃度が健全果のみの試料より濃度が低い傾向があったが、その他の成分には顕著な違いは認められなかった。

### 3. 小仕込み試験醸造のマストおよびワインの一般成分

小仕込み試験の各区のデザインと果汁の一般成分を Table 1 に、得られたワインの一般成分を Table 2 に示す。マストの糖度は 12 週目の平均が 19.6 g/100 mL、14 週目で 21.0 g/100mL であった。酸度は 10 週目で 1.16 g/100 mL、12 週目で平均 0.97 g/100 mL と高く、14 週目で 0.88 g/199 mL まで減少した。pH はいずれも 3.0 以上であった。

### 4. ペクチナーゼ剤のグリコシダーゼ活性 (Table 3)

市販ペクチナーゼ剤 3 種類、A、B および C について、グリコシダーゼ 3 種類 ( $\beta$ -グルコシダーゼ、 $\alpha$ -アラビノシダーゼおよび  $\alpha$ -ラムノシダーゼ) の活性を、ワインの

条件に近い pH 3.5 で測定した。その結果、ペクチナーゼ剤 B が 3 酵素活性とも一番高い値を示した。ペクチナーゼ剤 A の  $\beta$ -グルコシダーゼは、B とほぼ同程度の活性を示したものの、 $\alpha$ -アラビノシダーゼと  $\alpha$ -ラムノシダーゼは 40% 程度の活性であった。対照として用いたペクチナーゼ剤 C のグリコシダーゼ 3 種類の活性は低かった。

## 5. ワインの小仕込み試験と官能評価

### 1) 収穫時期の影響 (Fig. 4)

開花後 10 週、12 週、14 週の健全果のみを原料としたワイン (a、b、f) を比較すると、成熟とともに、遊離型と結合型のモノテルペン類含量が多くなった。開花後 10 週 (a) と 14 週のワイン (f) を用いて、香りが良い方を選ぶ 2 点嗜好法で官能評価を行ったところ、7 人の審査員全員が 14 週 (f) のワインの方を良とし、5% の危険率で有意差のあることが示された。

### 2) 腐敗果の影響 (Fig. 5)

開花後 12 週の果実を用いて、健全果のみの小仕込み (b) と、腐敗果が混在した果実の小仕込み (d) を行

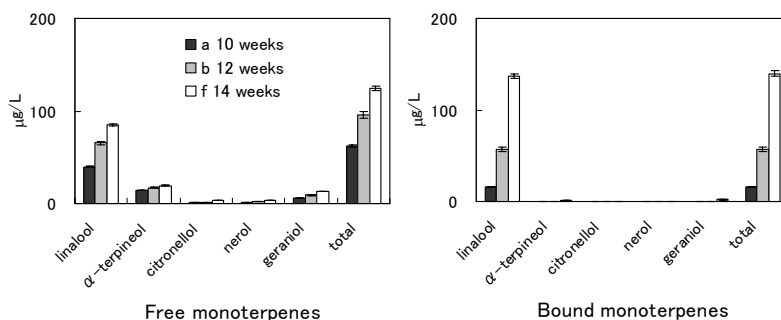


Fig. 4. Effect of harvest time on monoterpene concentration of Müller-Thurgau wine. Vertical bars represent standard errors of analysis (n=2).

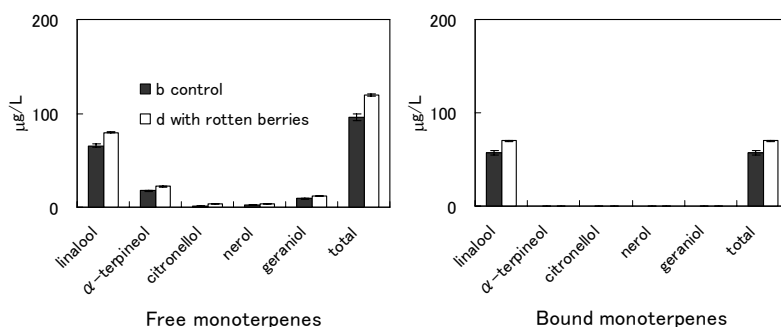


Fig. 5. Effect of rotten berries on monoterpene concentration of Müller-Thurgau wine. Berries in 2006 without and with rotten berries are used for wine b and d, respectively. Vertical bars represent standard errors of analysis (n=2).

った。Shimizu et al. (10) はブドウの貴腐菌や灰色かび病菌として知られる *Botrytis cinerea* が、リナロールを代謝して水酸化物などの香りの低い成分に転換すると報告しているが、今回の実験では腐敗果混在 (d) の遊離型と結合型のモノテルペン類含量は健全果のみ (b) より低くなることはなかった。腐敗の原因となる微生物の種類によってテルペン類の分解活性が異なるものと推定された。なお、2点嗜好法による官能評価の結果、両サンプルに有意差は認められなかったが、腐敗果混在のワインに重い香りの指摘が複数あった。

### 3) ワイン酵母の影響 (Fig. 6)

Maurivin Elegance (b) と PDM (c) には顕著な差は認められなかった。配糖体からのモノテルペン類の遊離には、酵母のグルコシダーゼ活性の寄与が大きいことが報告されている (2)。Elegance は  $\beta$ -グルコシダーゼ活性が高く、モノテルペン系の香りの遊離に優れているとされているが (<http://www.maurivinyeast.com/media/26.pdf>)、PDM を含むワイン酵母は、清酒酵母やビール酵母と比較してこれらの酵素活性が高いと報告されていることから (11)、両菌株に差がなかったのではないかと推察される。

### 4) スキンコンタクト時の酵素処理の影響 (Fig. 7)

スキンコンタクト時に酵素剤を添加した場合、結合型モノテルペン類含量には差はなかったが、遊離型モノテルペン類含量、特に、リナロールの含量が多くなった。これは、スキンコンタクト時にペクチナーゼ剤を用いることで、果皮からの結合型モノテルペン類の抽出が促進され、さらに加水分解も促進されたため、と考えられた。ペクチナーゼ剤に含まれるグリコシダーゼ類はグルコースの阻害を受けるため、ドライワインに添加しないと効果がないと言われている (9) が、今回の実験

では、スキンコンタクト時に添加しても、発酵終了後に添加した場合と遊離のモノテルペン含量は同程度となった。

### 5) 発酵終了後の酵素処理の影響 (Fig. 8)

市販ペクチナーゼ剤 A (b-A) および B (b-B) を使用説明書どおりの濃度で 12 週目の果実から醸造した

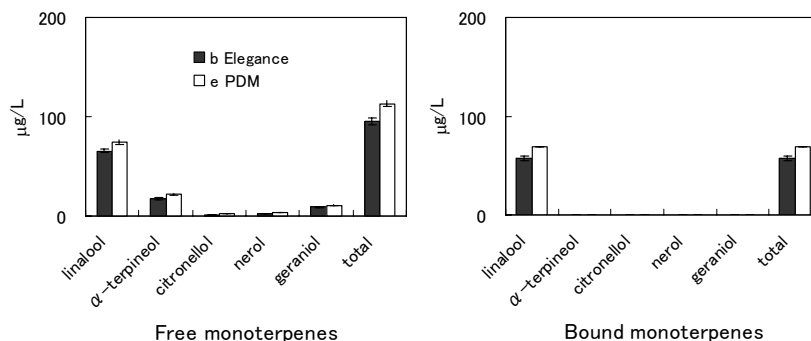


Fig. 6. Effect of yeast strain on monoterpene concentration of Müller-Thurgau wine. Vertical bars represent standard errors of analysis (n=2).

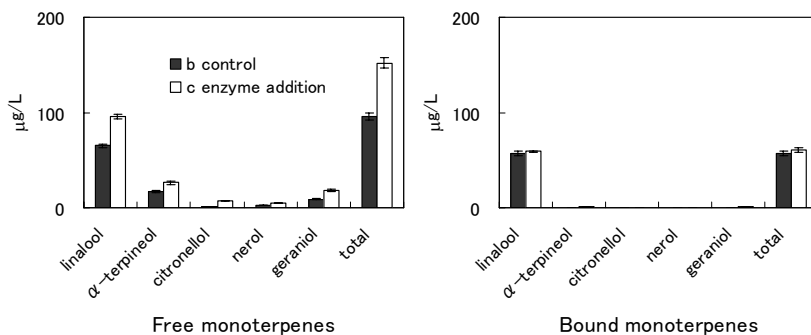


Fig. 7. Effect of enzyme addition at skin contact on monoterpene concentration of Müller-Thurgau wine. Enzyme preparation A was added to must c. Vertical bars represent standard errors of analysis (n=2).

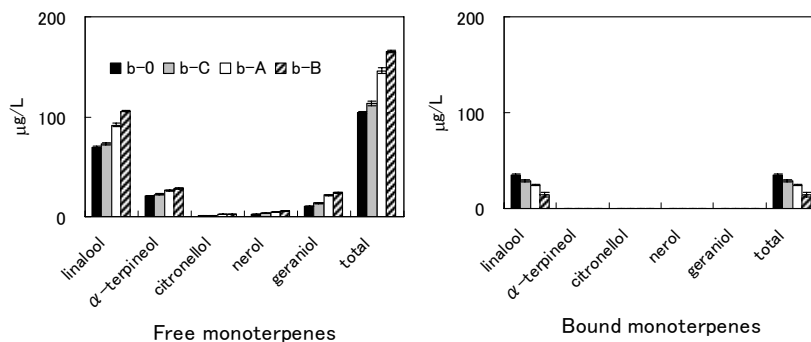


Fig. 8. Effect of enzyme treatment after fermentation on monoterpene concentration of Müller-Thurgau wine. Pectinase preparations A, B, and C at the concentrations recommended by suppliers were added to wine b and the mixture were kept at 15-20 °C for 1 month. Control and enzyme treated wines were treated with bentonite. Vertical bars represent standard errors of analysis (n=2).

ワイン (b) に添加した場合、結合型モノテルペン類含量は低下し、遊離型モノテルペン類含量は多くなった。一方、ペクチナーゼ剤 C 処理区 (b-C) はコントロールとほとんど差が無く、各酵素剤のグリコシダーゼ活性測定 (Table 3) とよく一致する結果となった。

酵素剤無処理 (b-0) と酵素剤処理をした 3 点、計 4 点の香りの強さをマグニチュード法で評価したところ、無処理と酵素剤処理 3 点の間に有意差があり、酵素剤処理を行った方が良いという結果となった。しかし、酵素剤 3 種類の間には有意な差は無かった。また、モノテルペン類の匂いの閾値は、ワイン中で、リナロールが 50 µg/L、 $\alpha$ -テルピネオールとネロールが 400 µg/L、ゲラニオールが 130 µg/L とされており (9)、今回のワインサンプル中の濃度はリナロールが閾値を超えているものの比較的低く、酵素剤で増加した量もあまり大きくはなかった。

そこで、無処理のワイン (b-0)、ならびに最もモノテルペン濃度の高かったペクチナーゼ処理ワイン (b-B) のそれぞれと同濃度のモノテルペン類をエタノール溶液に添加し、2 点嗜好法で香りの強い方を選ぶ官能評価を行った。その結果、b-0 : b-B = 2 : 6 で有意差はなく、また区別がつかないという意見が多くあった。なお、b-B の 10 倍濃度のモノテルペンを加えた場合は、b-0 : (b-B)  $\times$  10 = 1 : 7 (5%危険率で有意差なし)、b-B : (b-B)  $\times$  10 = 0 : 8 (1%危険率で有意差あり) であった。

## 結 論

‘ミュラー・トゥルガウ’のワインでは、ワインをペクチナーゼ処理することで、モノテルペン濃度が上昇し、官能的にも香りの評価が向上するが、その変化はモノテルペン濃度の上昇によっては説明できないことが明らかになった。すなわち、モノテルペン類以外の香気成分も酵素剤によって増加し、アロマ増強に寄与していると推察される。以前より、モノテルペン類はドイツ系品種のワインの香りの一部しか説明できないと指摘されており (9)、Tominaga et al. (14) は、‘ソービニヨン・ブラン’の特徴香として報告された 4-メルカプト-4-メチルペンタン-2-オンなどの揮発性チオール化合物が‘ゲヴェルツトラミナー’や‘リースリング’などのワインの香りにも寄与していることを報告している。また、ノルイソプレノイドやセスキテル

ペンなど、モノテルペン以外の香気成分も配糖体として含まれていることが報告されている (9, 19)。今後、これらモノテルペン以外の香気成分にも着目した研究が必要であると考えられた。

## 要 約

ブドウ ‘ミュラー・トゥルガウ’のモノテルペン類は、遊離型・結合型ともにリナロール、次いでゲラニオールの濃度が高かった。モノテルペン類の総量は遊離型・結合型ともにブドウの成熟期間中に増加し、最終の試料である開花後 14 週に最も高くなった。開花後 10 週、12 週、14 週の果実を用いて小仕込み試験を行ったところ、ワイン中のモノテルペン類は遅い時期のものほど高い濃度を示し、官能検査の結果、14 週のワインは 10 週のものより有意に香りが高いと評価された。発酵終了後、グリコシダーゼ活性を有する醸造用ペクチナーゼ剤で処理するとモノテルペン濃度が増加し、香りの官能評価も向上したが、酵素処理によって増加したモノテルペン量では香りの変化を説明できなかった。従って、モノテルペン以外の香気成分も醸造用ペクチナーゼ剤で増加することが推定された。

## 謝 辞

マグニチュード法による官能検査をご教示頂いた酒類総合研究所宇都宮仁副部門長、粗ジグリコシダーゼ剤をご提供頂いた天野エンザイム株式会社、ならびに官能検査にご協力頂いた皆さまに感謝いたします。

## 文 献

1. Dimitriadis, E., and P. J. Williams. The development and use of a rapid analytical technique for estimation of free and potentially volatile monoterpene flavorants of grapes. *Am. J. Enol. Vitic.* 35: 66-71 (1984).
2. Dubourdieu, D., P. Darriet, C. Ollivier, J.-N. Boidron, and P. Ribéreau-Gayon. Rôle de la levure *Saccharomyces cerevisiae* dans l'hydrolyse enzymatique des hétérosides terpéniques du jus de raisin. *C. R. Acad. Sci. Paris*, 306, Série III: 489-493 (1988).
3. Gunata, Y. Z., C. L. Bayonove, R. L. Baumes, and R. E. Cordonnier. The Aroma of grapes. I. Extraction and determination of free and glycosidically bound



- fractions of some grape aroma components. *J. Chromatography* 331: 83-90 (1985).
4. Gunata, Y. Z., C. L. Bayonove, R. L. Baumes, and R. E. Cordonnier. Stability of free and bound fraction of some aroma components of grapes cv. Muscat during the wine processing: preliminary results. *Am. J. Enol. Vitic.* 37: 112-114 (1986).
  5. 平野 健・芝原律雄・朝岡克拓・岡本五郎. ブドウ ‘マスカット・オブ・アレキサンドリア’ 果汁の成熟中におけるモノテルペンの変化. *園学雑.* 67: 907-911 (1998).
  6. Park, S. K., J. C. Morrison, D. O. Adams, and A. C. Noble. Distribution of free and glycosidically bound monoterpenes in the skin and mesocarp of Muscat of Alexandria grapes during development. *J. Agric. Food Chem.* 39: 514-518 (1991).
  6. Rapp, A. Wine aroma from gas chromatographic analysis. *In Wine Analysis.* H. F. Linskens, and J. F. Jackson (Ed.), pp. 29-66. Springer-Verlag, Berlin (1988).
  7. Reynolds, A. G., and D. A. Wardle. Impact of various canopy manipulation techniques on growth, yield, fruit composition, and wine quality of Gewürztraminer. *Am J. Enol. Vitic.* 40: 121-129 (1989).
  8. Ribéreau-Gayon, P., Y. Glories, A. Maujean, and D. Dubourdieu. 7. Varietal aroma. *In Handbook of Enology, Vol. 2, The Chemistry of Wine, Stabilization and Treatment.* 2<sup>nd</sup> ed. pp. 206-211. Wiley, Chichester (2006).
  9. Shimizu, J., M. Uehara and M. Watanabe. Transformation of terpenoids in grape must by *Botrytis cinerea*. *Agric. Biol. Chem.* 46:1339-1344 (1982).
  10. 清水健一. 酒類の香りとモノテルペン類. *醸協.* 89: 594-600 (1994).
  11. 篠原 隆・川本康裕・柳田藤寿. ワイン酵母のグリコシダーゼ活性およびその発酵におけるテルペノール濃度への効果. *醸協.* 93: 215-223 (1998).
  12. Simpson, R. G., and G. C. Miller. Aroma composition of aged Riesling wine. *Vitis* 22: 51-63 (1983).
  13. Tominaga, T., R. Baltenweck-Guyot, C. Peyrot de Gachons, and D. Dubourdieu. Contribution of volatile thiols to the aromas of white wines made from several *Vitis vinifera* grape varieties. *Am. J. Enol. Vitic.* 51: 178-181 (2000).
  14. Voirin, S. G., R. L. Baumes, S. M. Bittour, Z. Y. Günata, and C. L. Bayonove. Novel monoterpene disaccharide glycosides of *Vitis vinifera* grapes. *J. Agric. Food Chem.* 38: 1373-1378 (1990).
  15. Webster, D. R., C. G. Edwards, S. E. Spayd, J. C. Peterson, and B. J. Seymour. Influence of vineyard nitrogen fertilization on the concentrations of monoterpenes, higher alcohols, and esters in aged Riesling wines. *Am. J. Enol. Vitic.* 44: 275-284 (1993).
  16. Williams, P. J., C. R. Strauss, B. Wilson, and R. A. Massy-Westropp. Novel monoterpene disaccharides of *Vitis vinifera* grapes and wines. *Phytochemistry* 21: 2013-2020 (1982).
  17. Wilson, B., C. R. Strauss, and P. J. Williams. Change in free and glycosidically bound monoterpenes in developing Muscat grapes. *J. Agric. Food Chem.* 32: 919-924 (1984).
  18. Zoecklein, B. W., K. C. Fugelsang, B. H. Gump, F. S. Nury. Flavor and aroma extraction. *In “Wine analysis and production”,* p. 267-269. Chapman & Hall, New York (1995).