

[研 究 報 文]

日本産ブドウのアスコルビン酸含有量およびワイン発酵と貯蔵過程における

アスコルビン酸濃度の変化

三木健夫・岩田祐輔・柳田藤寿・篠原 隆

山梨大学工学部附属ワイン科学研究センター

〒400-0005 山梨県甲府市北新 1-13-1

Change in Ascorbic Acid Content during Fermentation and Storage of Wine Grapes Grown in Japan

Takeo MIKI, Yuhsuke IWATA, Fujitoshi YANAGIDA, and Takashi SHINOHARA

The Institute of Enology and Viticulture, University of Yamanashi

Kitashin 1-13-1, Kofu, Yamanashi 400-0005, Japan

L-Ascorbic acid (AsA) has antioxidant activity and is present in wine and table grapes. The AsA content of fresh musts and wine produced from grapes grown in Japan was analyzed by HPLC. Analyses were carried out during the fermentation process and subsequent storage of the wine. Wine grape musts contained 0 to 29 mg/L AsA, whereas table grape musts contained 0 to 19 mg/L AsA. Most of the AsA in grape must disappeared during the fermentation process. The AsA content in fermentation musts to which AsA was added was also monitored. In these musts the AsA content decreased by 8-82% in white and red musts during fermentation, and decreased by a further 1-71% during the clarification and bottling processes. AsA also decreased by 6-32% during a 12-month cellared-storage period. The fermentation rates and flavor components were only slightly influenced by the addition of AsA. However, some color darkening was observed in the wines to which AsA had been added. Suggestions to prevent darkening include adjusting the sulfur dioxide concentration relative to AsA levels, purging of oxygen from bulk wine and/or bottled wine, or analyzing wine components. The AsA content in commercial bottled wines with AsA inclusion stated on the label was 0 to 39 mg/L.

Key words: antioxidant, ascorbic acid, fermentation, grape, wine

緒 言

ブドウ果実に含まれるL-アスコルビン酸(AsA)は抗酸化活性を有し、ブドウもろみおよびワインの酸化防止に有効である。また、AsAは抗酸化剤としてワインへの使用が認可されており、品質安定化および亜硫酸の代替として使用される。さらにAsAはビタミンCであり、この生理作用(ビタミン活性、抗酸化)による健康的な寄与も推定される。従って、ワイン用ブドウのAsA濃度および醸造過程の変化を知ることは、

ワインの酸化防止と品質管理の面から興味を持たれた。ブドウ果実(ブドウもろみ)のAsA濃度について、古い文献では11~183 mg/Kg (1) および5~150 mg/Kg (2) とされ、最近では20 mg/Kg (11)、42 mg/Kg (10)、50 mg/L (22) および100 mg/Kg (5) と報告された。ブドウ果実のAsAはワイン仕込みおよび発酵過程における空気酸化により分解して消失してゆくことから、この酸化抑制のためにブドウ破碎時やもろみに対してAsAが使用される場合がある。また、AsAの使用は新鮮な果実風味を有する白ワインや赤ワインが対象であり、通常、ビン詰め時にAsA 50~100 mg/Lが使用され

2008年7月30日受理

る。この AsA はビン詰めワインの初期の色調に影響しないが、その後に黄色の増色および褐変を促進する傾向がある (16、19、23)。

近年において、この褐変促進の原因と対策が検討されて次の結果を得た。それは、(i) AsA は酸素と速やかに反応して消失するが、この反応速度は亜硫酸と酸素との反応より早いこと、(ii) 亜硫酸は直接に酸素と反応するのではなく、主に過酸化水素 (H_2O_2) と反応しており、この H_2O_2 はフェノール化合物の酸化により発生すること、(iii) AsA はブドウもろみやワインに添加された初期に抗酸化作用を示すが、AsA 濃度が低下すると酸化促進すること、(iv) AsA の酸化によりデヒドロアスコルビン酸、過酸化水素および有機酸などが生成されており、また、鉄イオンと銅イオンの共存が増色褐変を促進すること、(v) 生成した酸化反応物の消去には遊離亜硫酸が必要であること、また、この AsA の酸化反応物に対応した亜硫酸濃度は理論的に 1 : 1 (AsA:SO₂、モル比) であるが、実際のワイン条件では 1 : 1.7 以上であること、(vi) AsA をワインに使用するときには、始めにワイン中およびビン内ヘッドスペースの酸素量を低減 (排除) すること、次いで AsA 濃度に対応して亜硫酸濃度を調整すること、が提言された (6、7、8、20)。また、AsA の効果として、品種香 (リナロールなど) の安定化および異臭 (2-アミノアセトフェノン、メチオナルなど) の生成抑制が報告 (4、21) された。

国内における AsA 使用の研究としては、白および赤ワインへの添加とワイン成分および品質への影響 (13、14、15、17)、マロラクティック発酵の誘導 (12) および輸入ワインの分析 (24) が報告された。しかし、国内におけるワイン用ブドウの AsA 濃度並びに AsA のワイン発酵中の挙動が明確にされていない。今回、国産ブドウとワイン醸造における AsA 濃度の変化および発酵に対する影響について調べた。また、外国産市販ワイン (AsA 使用の表示) を分析した。これらの結果を以下に報告する。

材料と方法

1. 供試材料と採取方法

分析および試験醸造には、2002 年および 2003 年の秋期に収穫された山梨県および長野県産のブドウを供試した。ワイン用ブドウはブドウ畑で採取し、また、

生食用ブドウは店頭で購入した。これを氷冷して研究室に持ち帰り実験に供した。供試ブドウは 22 品種であり、内訳はワイン用白ブドウ 9 種、同赤ブドウ 6 種および生食用ブドウ 7 種であった。また、外国産ワイン (ビン詰品、AsA 使用の表示) を購入して分析した。

2. 果汁試料の調製方法

ブドウ果実 2、3 房を水洗いして紙タオルで拭き、果粒を外して手で破碎し木綿布に入れて搾り、この果汁に 5% 亜硫酸水溶液 (果汁濃度として、SO₂ 200 mg/L) およびペクチン分解酵素 (果汁濃度としてスクラーゼ N (三共 (株))、200 mg/L) を加えた。これを冷蔵庫 (5°C) に入れて 1 時間後にろ紙 (Advantec, No.2) でろ過した。この上澄部分をメンブランフィルター (0.45 μm) でろ過して AsA 分析に供した。発酵液およびワインも同様にメンブランフィルターでろ過したのち分析した。また、果汁糖分を手持ち屈折計 ((株) アタゴ Master M) で計測した。

3. AsA 添加の発酵試験

発酵試験は AsA 添加量を 0、200、500 および 1000 mg/L として、甲州ブドウ果汁を用いた 200 mL スケールで行った。ブドウ果汁はオートクレーブ滅菌 (110°C、10 分) し、発酵容器 (300 mL 三角フラスコ) には通気性の培養栓 (シリコセン、信越ポリマー (株)) を付した。予め種母として、5 mL の果汁にワイン酵母 W-3 株 (*Saccharomyces cerevisiae*) を斜面培養から接種し 25°C で 2 日間培養した後、これを 200 mL の果汁 (糖分 18%) に加えて静置で 20°C、15 日間発酵させた。なお、AsA は種母添加前に加えた。発酵開始後は培養栓を通して二酸化炭素が放出され、また、空気中の酸素流入が可能な条件であった。本発酵試験は 2 連で行い、1 連は二酸化炭素の放出による重量減少を測定し、他の 1 連は経時的に AsA 濃度を分析した。

4. AsA 添加の小規模試験醸造

2002 年および 2003 年の秋期に小規模試験醸造 (7 L スケール) を行った。これには本ワイン科学研究センター・育種試験地 (甲府市) で収穫されたワイン用ブドウを使用した。白ワインの場合、常法により仕込み (亜硫酸 50 mg/L、ペクチン分解酵素 200 mg/L、清澄果汁に糖分 23% まで補糖、酒母 200 mL/W-3 株) を行い、発酵容器 (10 L ガラス製) には発酵栓を付して 18~20°C で発酵させた。AsA 区 (AsA/F 区) には発酵前に AsA 200 mg/L を加えた。赤ワインの場合、常法に

よりかもし発酵(亜硫酸30 mg/L、酒母200 mL/W-3株、糖分24%まで補糖、発酵温度20~28°C)を7日間行い、次いで後発酵に移り発酵容器(10 L ガラス製)には発酵栓を付して18~20°Cで発酵させた。AsA 区(AsA/F区)には後発酵のときにAsA 200 mg/Lを加えた。また、マロラクティック発酵を自然発生させた。この後に、白および赤ワイン共に滓引き、ろ過および壇詰め(720 mL 壇、コルク栓)して地下セラー(室温10~18°C)に保管した。これらの仕込みから壇詰めまでの日数は約90~100日であった。なお、発酵終了時および壇詰め前に亜硫酸濃度(添加量50 および40 mg/L)を調整した。また、壇詰め時にAsA 添加区(AsA/B区: 添加量200 mg/L)を設定して成分変化を見た。

5. AsA およびワイン成分の分析

AsA の分析は高速液体クロマトグラフィーで行い、運転条件は次の通りとした。HPLC ポンプ: 日立 L-6000、カラム: 内径4.6 mm×長さ250 mm、充填剤: Mightysil RP-18 GP/粒径5 µm (関東化学(株))、溶離液: 1%メタリン酸水溶液、流速: 1.0 ml/min、カラム温度: 45°C、ピーク検出: UV 254 nm、試料注入量: 5 µL。

一般成分については国税庁所定分析法(22)に従った。芳香成分の分析は2方法のガスクロマトグラフィーで行った: (1) 直接注入法によるアセトアルデヒド(AcH)、酢酸エチル(EA)、高級アルコール(THA=n-プロピル、iso-ブチルおよびiso-アミルアルコール)、iso-アミルアルコール/iso-ブチルアルコール(A/B)および乳酸エチル(EL)などの分析は、試料(ワイン)2 mLに2% n-アミルアルコール0.2 mL(内部標準物質)を混和し、この1 µLをガラスカラム(内径3 mm×長さ2 m、充填剤15% PEG を Chromosorb AW 60/80 mesh に含浸、ガスクロマトグラフ: 日立 GC-263-30・FID付)に注入し、窒素ガス30 ml/min およびカラム温度95°Cで分析した、(2) 溶媒抽出法によるイソアミルアセテート(iAA)、カプロン酸エチル(EtC6)および2-フェニルエチルアルコール(2-Ph)などの分析は、試料10 mLに0.5% n-オクタノール0.2 mL(内部標準物質)を混和し、これにイソオクタン1.5 mLを加えて15分間、振とう抽出した後に、本抽出溶媒層を分離して無水硫酸ソーダで乾燥し、この4 µLをキャピラリーカラム(TC-Wax コーティング、0.25 mm×60 m: No.1010-27162/GL Science Co.)、ガスクロマトグラフ:

日立 GC-3000・FID付)に注入して、ヘリウムガス0.9 mL/minの条件下にカラム温度100から220°Cまで昇温分析した。

結果と考察

1. ブドウ果実のAsA濃度

供試ブドウの採取時期と生産地および分析結果をTable 1, 2に示す。AsA濃度は白ブドウで0~29 mg/L、また、黒ブドウで0~19 mg/Lであった。このうち10 mg/L以上のブドウは20試料(全体の28.5%)であったが、その他50試料(全体の71.4%)は9 mg/L以下と低いレベルであった。AsA濃度の比較的に高い品種

Table 1 Ascorbic acid content of wine and table grapes from Yamanashi and Nagano areas - (1) White grapes.

Grape variety	Date of sampling	Vineyard area	Ascorbic acid (mg/L)	Sugar content (%)
<u>Wine grapes</u>				
Koshu -1	2002. Sept. 20	Yamanashi	7	16.2
Koshu -2	2002. Oct. 7	Yamanashi	0	19.0
Koshu -3	2002. Oct. 9	Yamanashi	0	18.2
Koshu -4	2003. Sept. 29	Yamanashi	0	15.0
Koshu -5	2003. Oct. 14	Yamanashi	4	16.4
Koshu -6	2003. Oct. 14	Yamanashi	1	16.6
Chardonnay -1	2002. Aug. 9	Yamanashi	2	15.2
Chardonnay -2	2002. Sept. 5	Yamanashi	0	20.0
Chardonnay -3	2002. Sept. 11	Yamanashi	0	18.4
Chardonnay -4	2002. Sept. 28	Nagano	11	21.6
Chardonnay -5	2003. Aug. 26	Yamanashi	7	17.2
Chardonnay -6	2003. Sept. 17	Yamanashi	0	19.0
Chardonnay -7	2003. Sept. 27	Yamanashi	0	19.6
Chardonnay -8	2003. Sept. 29	Yamanashi	25	19.0
Sauvignon blanc -1	2002. Aug. 9	Yamanashi	7	16.4
Sauvignon blanc -2	2002. Aug. 27	Yamanashi	0	19.2
Sauvignon blanc -3	2003. Aug. 26	Yamanashi	10	16.2
Sauvignon blanc -4	2003. Sept. 5	Yamanashi	0	17.0
Sémillon -1	2002. Aug. 9	Yamanashi	1	9.8
Sémillon -2	2002. Aug. 28	Yamanashi	10	17.4
Sémillon -3	2003. Aug. 26	Yamanashi	11	14.0
Riesling -1	2002. Aug. 9	Yamanashi	2	13.6
Riesling -2	2002. Aug. 27	Yamanashi	0	15.8
Riesling -3	2002. Sept. 11	Yamanashi	0	18.0
Riesling -4	2003. Aug. 26	Yamanashi	8	13.2
Riesling -5	2003. Sept. 11	Yamanashi	0	14.4
Ugni blanc -1	2002. Aug. 9	Yamanashi	0	7.2
Ugni blanc -2	2003. Sept. 5	Yamanashi	29	11.6
Ugni blanc -3	2003. Sept. 12	Yamanashi	10	11.0
Ugni blanc -4	2003. Sept. 20	Yamanashi	9	12.0
Ugni blanc -5	2003. Oct. 10	Yamanashi	7	12.6
Pinot blanc	2002. Sept. 28	Nagano	10	19.0
Kerner	2002. Sept. 28	Nagano	5	17.4
Niagara	2002. Sept. 28	Nagano	3	17.0
<u>Table grapes</u>				
Koshu -1	2002. Sept. 15	Yamanashi	3	16.8
Koshu -2	2002. Oct. 12	Yamanashi	0	17.0
Koshu -3	2003. Oct. 14	Yamanashi	1	17.2
Kaiji	2002. Sept. 16	Yamanashi	10	20.0
Niagara	2002. Sept. 22	Nagano	3	14.4
Delaware	2002. Aug. 9	Yamanashi	0	16.6
Range for white grapes:			0 - 29	7.2 - 20.0

Table 2 Ascorbic acid content of wine and table grapes from Yamanashi and Nagano areas – (2) Black grapes.

Grape variety	Date of sampling	Vineyard area	Ascorbic acid (mg/L)	Sugar (%)
Wine grapes				
Muscat Bailey A -1	2002. Aug. 28	Yamanashi	4	15.4
Muscat Bailey A -2	2002. Sept. 16	Yamanashi	13	18.6
Muscat Bailey A -3	2002. Sept. 24	Yamanashi	0	17.2
Muscat Bailey A -4	2003. Aug. 26	Yamanashi	8	14.2
Muscat Bailey A -5	2003. Sept. 12	Yamanashi	17	17.0
Muscat Bailey A -6	2003. Sept. 30	Yamanashi	1	18.0
Cabernet Sauvignon -1	2002. Sept. 24	Yamanashi	11	18.6
Cabernet Sauvignon -2	2002. Sept. 28	Nagano	12	20.0
Cabernet Sauvignon -3	2002. Oct. 9	Yamanashi	6	20.2
Cabernet Sauvignon -4	2003. Sept. 5	Yamanashi	12	17.2
Cabernet Sauvignon -5	2003. Sept. 20	Yamanashi	8	17.0
Cabernet Sauvignon -6	2003. Oct. 10	Yamanashi	10	19.2
Merlot -1	2002. Aug. 9	Yamanashi	3	15.0
Merlot -2	2002. Sept. 11	Yamanashi	8	19.4
Merlot -3	2002. Sept. 28	Nagano	5	21.4
Merlot -4	2003. Aug. 26	Yamanashi	5	16.2
Merlot -5	2003. Sept. 20	Yamanashi	7	19.6
Merlot -6	2003. Oct. 10	Yamanashi	9	19.6
Pinot noir -1	2002. Aug. 9	Yamanashi	3	19.2
Pinot noir -2	2002. Aug. 16	Yamanashi	0	19.0
Pinot noir -3	2002. Sept. 28	Nagano	2	16.4
Pinot noir -4	2003. Aug. 26	Yamanashi	0	15.6
Syrah -1	2002. Aug. 9	Yamanashi	2	12.2
Syrah -2	2002. Sept. 24	Yamanashi	7	18.2
Syrah -3	2003. Aug. 26	Yamanashi	7	13.8
Syrah -4	2003. Sept. 29	Yamanashi	14	17.2
Dornferder	2003. Aug. 26	Yamanashi	17	18.4
Table grapes				
Kyoho	2002. Sept. 15	Yamanashi	19	20.8
Pione	2002. Sept. 15	Yamanashi	14	18.4
Steuben	2002. Sept. 15	Yamanashi	11	17.6
Range for black grapes :			0 - 19	12.2 - 21.4

(複数試料の分析)は Ugni blanc (0~29、平均 11.0 mg/L)、Sémillon (1~11、平均 7.3 mg/L)、Cabernet Sauvignon (6~12、平均 9.8 mg/L)、Merlot (3~9、平均 6.1 mg/L) および Syrah (2~14、平均 7.5 mg/L) であった。また、熟期の遅い品種 (Ugni blanc、Cabernet Sauvignon) および長野県産ブドウ (塩尻市桔梗ヶ原) は AsA 濃度が比較的に高い傾向であった。この分析結果より、ワイン用ブドウおよび生食ブドウは共に低い AsA レベルであることが示された。また、これは既報の分析値 20 mg/Kg と近似した。しかし、外国産ブドウにおいてはより高いレベル (50~100 mg/Kg) が報

告 (5、22) されていることから、国産ブドウにおいてもより高い AsA 濃度の場合が推測される。今後さらに生産地、品種および収穫期における AsA 分析が必要と考えられる。

2. AsA 添加の発酵試験 [200 mL スケール]

本発酵試験のアルコール発酵曲線、AsA 濃度の推移および発酵液の分析結果を示す (Fig.1、2、Table 3)。

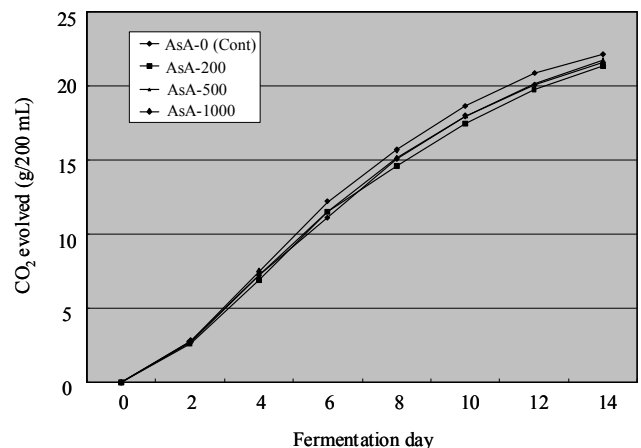


Fig.1 Fermentation curves of grape juice with or without addition of ascorbic acid – 200 mL scale. Amounts of ascorbic acid added: 0, 200, 500 and 1000 mg/L. Grape juices were fermented at 20°C.

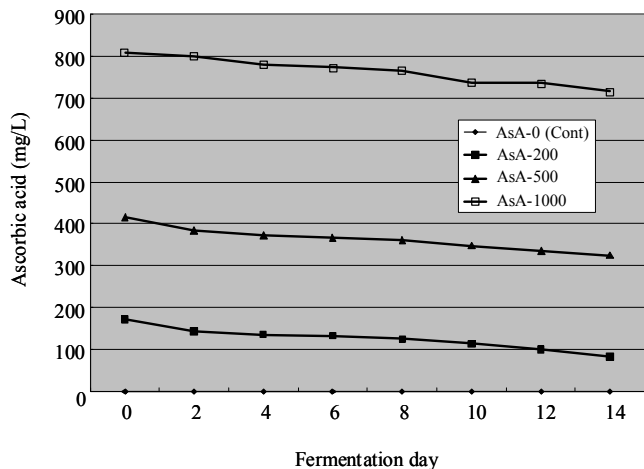


Fig. 2 Change in ascorbic acid content during fermentation – 200 mL scale. Amounts of ascorbic acid added: 0, 200, 500 and 1000 mg/L

Table 3 Alcoholic fermentation of grape juice with ascorbic acid – 200 mL scale.

Test lot ^{a)}	Alcohol (v/v%)	pH	T.A. ^{b)} (g/L)	Ascorbic acid (mg/L)	AcH ^{c)} (mg/L)	EA ^{d)} (mg/L)	THA ^{e)} (mg/L)	A/B ^{f)}
AsA-0 (Control)	10.0	3.05	8.22	0	18	21	220	6.3
AsA-200	10.0	3.07	8.41	66	9	20	209	7.4
AsA-500	10.1	3.02	8.52	275	8	19	216	6.5
AsA-1000	10.1	3.01	8.41	696	15	22	230	6.2

a) Addition of L-ascorbic acid: 0, 200, 500 and 1000 mg/L. b) Total acid is expressed as tartaric acid. c) Acetaldehyde. d) Ethyl acetate. e) Sum of n-propyl, iso-butyl and iso-amyl alcohols. f) Iso-amyl alc./Iso-butyl alc.

AsA 添加 3 区 (200、500、1000 mg/L) の発酵曲線には大差がなく、また、対照区 (AsA 0 mg/L) とほぼ同様であった。これにより、AsA 添加による発酵速度への影響はほとんど無いことが示された。一方、AsA 濃度は発酵中に約 90 mg/L 低下し、この AsA 減少速度は約 6 mg/L・日 (1~14 日間) であった。発酵後の AsA 残存率 (発酵終了時の濃度/発酵初期の濃度×100) は AsA-200、AsA-500 および AsA-1000 の区分について 38.8%、66.1%および 86.1%であった。

発酵 4 区分のエタノール生成量は 10.0-10.1 (v/v%) とほぼ同じであった。また、pH、総酸および芳香成分 (AcH、EA、THA) についてもほぼ同様の値であった。これより、AsA 添加による発酵成分への影響は小さいことが示された。なお、AsA 添加区は対照区より pH が低くて総酸の高い傾向にあり、添加した AsA が有機酸として作用したと推察した。

3. AsA 添加の小規模試験醸造 (7 L スケール)

白ワイン (Koshu、Chardonnay-1) の発酵中におけるエタノール生成および AsA 濃度の変化を示す (Fig. 3、4、Table 4)。エタノールの生成経過は AsA 区と対照区がほぼ同一であり、また、アルコール発酵速度およびエタノール生成量もほぼ同一であった。よって、AsA 添加によるエタノール生成への影響は示されなかった。AsA 濃度は対照区 (Koshu、Chardonnay-1) がほぼゼロ (0~2 mg/L) であった。一方、AsA 添加区では発酵過程と壺詰め過程で減少した。すなわち、AsA 添加 (200 mg/L) した後の AsA 濃度は 150 mg/L (Koshu)

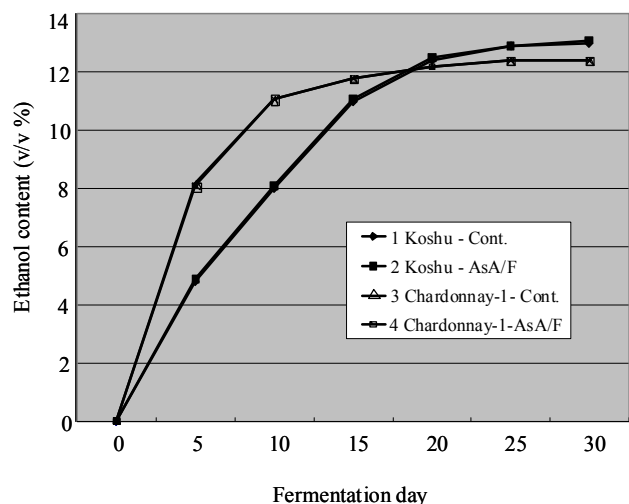


Fig. 3 Fermentation curves of small-scale white wine making using Koshu and Chardonnay grapes, with or without addition of ascorbic acid - 7 L scale. The fermentation was performed at 18-20°C. Amount of ascorbic acid added: 200 mg/L.

および 170 mg/L (Chardonnay-1) となり、次いで発酵中に減少して 138 および 160mg/L (発酵 30 日目) となり、この壺詰め後に 116 および 146mg/L に低下した。この場合の AsA 減少量は AsA 添加後、発酵 30 日後および壺詰めまでに、それぞれ 50 と 30 mg/L (Koshu、Chardonnay-1)、12 と 10 mg/L、および 22 と 14 mg/L であり、この合計が 84 および 54 mg/L であった。これは減少率 [減少量/AsA 添加量 (200 mg/L) ×100] として 42%および 27% (Koshu、Chardonnay-1) であった。試験醸造ワイン (Koshu、Chardonnay-1、Muscat Bailey A : MBA (赤ワイン)) のワイン成分について、エタノール、pH、総酸、揮発酸および芳香成分 (AcH、EA、THA、A/B、EL、2-Ph、i-AA、EtC6) の濃度は AsA 区および対照区がほぼ同じ程度であった (Table 4)。また、亜硫酸濃度について AsA 区と対照区は大差がなかった。このように発酵速度および発酵成分の生成に対する AsA 添加の影響は、ほとんど示されなかった。この結果は上記の発酵試験 (200 mL スケール) と同様であり、また、従来の報告 (3) と一致した。しかし、ワイン色調 (黄色 : OD 430 nm) は AsA 区が対照区より増色しており、この AsA 区の増色率 (AsA 区/対照区×100) は Koshu、Chardonnay-1 および MBA が 117、121 および 108%であった。この増色の一因として、本試験醸造の AsA 添加量 200 mg/L は通常の使用

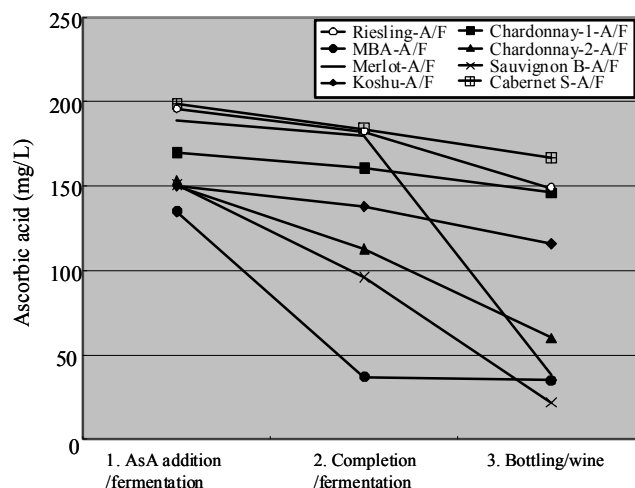


Fig. 4 Change in ascorbic acid content during small-scale wine making with addition of ascorbic acid - 7 L scale. White wines: Koshu, Chardonnay, Sauvignon blanc (Sauvignon B), Riesling. Red wines: Muscat Bailey-A (MBA), Cabemet Sauvignon (Cabemet S), Merlot. A/F: Test lot with the addition of ascorbic acid (200 mg/L) during fermentation period. Completion/fermentation: The completion of fermentation period. Bottling/wine: The bottling of new wine.

Table 4 Wine components in experimental wine making with or without ascorbic acid – 7 L scale.

Lot ^{a)}	Alcohol (v/v%)	pH	T.A. ^{b)} (g/L)	V.A. ^{c)} (g/L)	Ascorbic acid (mg/L)	F-SO ₂ ^{d)} (mg/L)	T-SO ₂ ^{e)} (mg/L)	O.D. ^{f)} 430nm
1) Koshu - Cont	12.5	3.10	8.25	0.24	0	21	97	0.113
2) Koshu - AsA	12.6	3.21	8.02	0.25	116	22	84	0.132
3) Char-1- Cont	13.1	3.45	7.61	0.23	0	11	106	0.117
4) Char-1- AsA	13.1	3.48	7.80	0.20	146	13	93	0.142
5) MBA - Cont	13.2	3.74	5.36	0.34	0	26	78	0.975
6) MBA - AsA	13.2	3.73	5.43	0.34	35	23	92	1.056

Lot	AcH ^{g)} (mg/L)	EA ^{h)} (mg/L)	THA ⁱ⁾ (mg/L)	A/B ^{j)}	EL ^{k)} (mg/L)	2-Ph ^{l)} (mg/L)	i-AA ^{m)} (mg/L)	EtC6 ⁿ⁾ (mg/L)
1) Koshu - Cont	32	56	253	4.1	4	80	1.9	0.8
2) Koshu - AsA	30	58	232	4.0	4	72	1.7	0.8
3) Char-1- Cont	16	39	495	8.0	6	20	1.3	1.1
4) Char-1- AsA	17	36	478	7.5	5	17	1.2	1.3
5) MBA - Cont	4	40	771	3.5	31	53	1.0	0.4
6) MBA - AsA	5	38	751	3.5	27	56	0.9	0.4

a) White wines: Koshu and Char-1 (Chardonnay-1), 2002; Red wines: MBA (Muscat Bailey A), 2003.

Cont: No addition; AsA: Ascorbic acid 200 mg/L.

b) See Table 3 c) Volatile acid as acetic acid. d) Free SO₂. e) Total SO₂. f) Optical density.

g, h, i, j) See Table 3. k) Ethyl lactate. l) 2-Phenylethyl alcohol. m) Iso-amyl acetate. n) Ethyl caproate.

レベルより高かったことが考えられた。なお、通常の AsA 使用量 50~100 mg/L における増色は対照区より低い場合や同程度の場合があり、また、5~12%ほど高くなる場合が報告された (15、16、19)。

次に試験醸造 8 区分の AsA 区 (上記の Koshu、Chardonnay-1 および MBA を含む) について、発酵から壇詰め過程における AsA 濃度の推移を比較した (Fig. 4)。この場合に AsA 区には AsA 200mg/L が添加され、また、これら対照区の AsA 濃度は 0~8 mg/L であった。この 8 区分の AsA 濃度の変化について見ると 4 区分 (Cabernet Sauvignon、Riesling、Chardonnay-1 および Koshu の AsA/F 区) が緩やかに減少しており、4 区分 (Merlot、Chardonnay-2、Sauvignon blanc および MBA の AsA/F 区) が急速に減少した。また、急速に減少した 4 区分は、(i) ほぼ直線的な低下 (Chardonnay-2、Sauvignon blanc)、(ii) 発酵中に急速に低下 (MBA) および (iii) 発酵後に急速な低下 (Merlot)、に分かれた。この場合の AsA 濃度の減少は添加時に 1~65 mg/L であり、発酵中に 9~98 mg/L であり、また、発酵終了から壇詰めまでに 2~142 mg/L であった。この減少量の合計について、緩やかに減少した 4 区分は 33~84 mg/L であり、急速に減少した 4 区分は 140~178 mg/L であった。また、それぞれの減少率 (減少量/添加量×100) は 16.5~42% および 70~

89%であった。

4. ワイン貯蔵における AsA 濃度およびワイン成分の変化

試験醸造ワイン (壇詰め、720 mL 容、コルク打栓) は 12 ヶ月間、地下セラーに保管して成分変化をみた (Table 5)。AsA 添加 11 区分について、貯蔵 12 ヶ月後の AsA 濃度は 0~156 mg/L と大きな差があった。このうち貯蔵時における初発濃度の高かった 6 区分 (Koshu-AsA/F、Koshu-AsA/B、Chardonnay-1-AsA/F、Chardonnay-1-AsA/B、Riesling-AsA/F、Cabernet S-AsA/F) は、貯蔵 12 ヶ月後も残存濃度が高かった (73~156 mg/L)。しかし、初発濃度の低かった 5 区分 (Chardonnay-2-AsA/F、Sauvignon blanc-AsA/F、MBA-AsA/F、Pinot noir-AsA/F、Merlot-AsA/F) では残存濃度が低かった (0~11 mg/L)。この AsA 減少量は 11~64 mg/L の範囲にあり、平均が 32.4 mg/L であった。この場合の AsA 減少率 (貯蔵 12 ヶ月間に減少した濃度/貯蔵時の初発濃度×100) は、初発濃度の高い AsA の 6 区分が 6.6~37.1% と低く、初発濃度の低かった AsA の 5 区分が 81.6~100% と高かった。このように、AsA 濃度の減少は発酵、壇詰めおよび貯蔵の過程と連続して小さい場合と、反対に、この過程で大きくなる場合が示された。このような壇詰めワインの貯蔵中における AsA 濃度の減少については、国産ワインで 22~176

Table 5 Wine components in bottled wines cellared for 12 months.

Wine lot ^{a)}	Ascorbic acid (mg/L)		F - SO ₂ / T - SO ₂ (mg/L) ^{b)}				Color (O.D.)			
	Months of storage		Months of storage				Months of storage			
	0	12	0 : 12	0 : 12	0 : 12	0 : 12	430 nm	530 nm	0 : 12	0 : 12
White wines										
1. Koshu-Control	0	0	21	12 / 97	64	0.117	0.196 / 0.064	0.127		
2. Koshu -AsA/F	116	73	22	20 / 89	84	0.132	0.193 / 0.062	0.112		
3. Koshu -AsA/B	173	109	21	19 / 97	96	0.105	0.188 / 0.062	0.112		
4. Chardonnay 1: Control	0	0	11	9 / 106	64	0.117	0.196 / 0.064	0.127		
5. Chardonnay 1: AsA/F	146	116	15	9 / 93	91	0.142	0.222 / 0.055	0.105		
6. Chardonnay 1: AsA/B	156	137	18	17 / 96	93	0.114	0.194 / 0.056	0.102		
7. Chardonnay 2: AsA/F	60	11	17	3 / 72	45	0.165	0.288 / 0.057	0.122		
8. Sauvignon blanc - AsA/F	22	0	32	6 / 119	65	0.168	0.284 / 0.065	0.122		
9. Riesling -AsA/F	146	109	35	18 / 89	72	0.128	0.189 / 0.052	0.099		
Red wines										
10. MBA ^{c)} Control	0	0	26	12 / 78	64	0.975	1.170 / 1.263	1.470		
11. MBA - AsA/F	35	2	23	9 / 92	65	1.056	1.268 / 1.328	1.646		
12. Pinot noir - AsA/F	14	1	16	5 / 65	64	1.541	1.878 / 0.857	1.074		
13. Merlot - AsA/F	38	2	13	5 / 46	44	2.280	3.010 / 2.870	2.950		
14. Cabernet S. - AsA/F	167	156	33	19 / 86	57	1.090	2.520 / 1.660	2.450		

a) Control, no addition; AsA/F, ascorbic acid addition (200 mg/L) to must at fermentation;

AsA/B, ascorbic acid addition (200 mg/L) to new wine at bottling.

b) Free and total SO₂.

c) Muscat Bailey A.

mg/L (初発濃度の 20~100%に相当、6~10 ヶ月間の貯蔵) (13、15、17) が、また、外国産ワインで 16~57 mg/L (初発濃度の 26~88%に相当、11~12 ヶ月間の貯蔵) (9、16) が報告された。よって、今回の貯蔵試験における AsA 濃度の変化は、従来の試験結果とほぼ合致した。

試験醸造 14 区分の亜硫酸濃度は、貯蔵 12 ヶ月において遊離型および総亜硫酸が 1~26 mg/L および 1~54 mg/L 減少した。Koshu および Chardonnay-1 の AsA 区 (AsA/F および AsA/B) について、亜硫酸濃度の低下は対照区より小さく、AsA 添加による酸化抑制の効果が示された。しかし、Muscat Bailey-A の試験区では AsA 区と対照区の亜硫酸濃度が同程度であり、AsA 添加の影響は示されなかった。その他の AsA 区では、亜硫酸濃度の低下が大きい区分 (Chardonnay-2、Sauvignon blanc、Cabernet S) と小さい区分 (Riesling、Pinot noir、Merlot) があつた。この様に AsA 添加における亜硫酸

濃度への影響は、試験醸造区により相違した。

ワイン色調は貯蔵中に増色しており、その増色率 (貯蔵後の値-初期値/初期値×100) は 430 nm および 530 nm において 20.0~131.2% および 2.8~114.0% であつた。Koshu 試験区の色調について、AsA 区 (AsA/F、AsA/B) と対照区は貯蔵 12 ヶ月後の 430 nm の値がほぼ同じであり、また、530 nm の値について AsA 区分が対照区より低かつた。よって、これらの試験区分は貯蔵後の黄色 (430 nm) が同程度であり、AsA 添加による増色への影響が示されない結果であつた。Chardonnay 試験区について、貯蔵後の 430 nm の値は AsA/F 区が対照区より高く、AsA/B 区が低かつた。また、530 nm の値は AsA の 2 区分が対照区より低かつた。よって、Chardonnay 試験区では壘詰め時の AsA 添加が増色抑制に有効なことが示唆された。MBA 試験区では貯蔵試験の前後ともに、AsA 区 (AsA/F) が対照区より濃色であつた (430 nm および 530 nm)。すな

わち、MBA 試験区では AsA 添加による増色促進が示された。その他の試験区について、増色の大きい AsA 区分 (Chardonnay-2-AsA/F、Sauvignon blanc-AsA/F、Riesling-AsA/F、Cabernet S-AsA/F) と小さな AsA 区分 (Pinot noir-AsA/F、Merlot-AsA/F) が示された。この様に、ワイン色調に対する AsA 添加の影響は試験区により相違した。

AsA 使用におけるワイン増色は予想されるものであるが、これは許容範囲にあることが望まれる。この増色の対策としては緒言で述べたように、壘内酸素の排除および AsA 使用量に対応した亜硫酸濃度の調整がある (6, 8)。これに準拠すれば AsA 50 mg/L を添加したとき、この AsA の酸化反応とこれに起因する増色褐変反応の抑止のためには、遊離亜硫酸 31 mg/L を要する。今回の試験醸造において、発酵と貯蔵過程での AsA 減少量が 44~200 mg/L であったので、これに対処するための亜硫酸量は 27~124 mg/L と計算される。これに対して、本試験醸造過程における亜硫酸使用量 (総量) は 140 mg/L (白ワイン) および 120 mg/L (赤ワイン) であったが、この亜硫酸量では酸化反応で減少した AsA 量に対処できる場合と、対処できない場合が想定された。よって、AsA 使用における要件として、先ず AsA 使用量に対応した亜硫酸濃度の調整、次いでワインおよび壘内の酸素量 (濃度) の低減および関連するワイン成分の分析管理が提示される。

また、上記の試験結果より AsA 濃度および増色などの変化は、試験区分によって大きく影響されることが示された。よって、ワインの醸造条件 (ブドウ品種、醸造法、保管) に対応した AsA 使用法を明確にすることが必要であり、今後の研究課題と考える。

5. 外国産ワインの AsA 含有量の分析

市販の外国産ワイン (壘詰め品、AsA 使用の表示) の分析結果を示す (Table 6)。白ワインの含有量は 0~39 mg/L であり、赤ワインでは 18~30 mg/L であった。これは既報 (24) の市販輸入ワインの AsA 分析値 (0~32.4 mg/L) とほぼ同様の濃度レベルであった。この分析結果より、供試ワインの AsA 使用量としては 30~100 mg/L が推定された。なお、市販の国産ワイン (壘詰め品) の AsA 濃度については、全ての供試品が不検出であった (分析データは示していない)。また、AsA 使用を表示した国産ワインは店頭に見られなかった。

Table 6 Ascorbic acid content in imported wines. ^{a)}

No. Production	Grape variety / Appellation	Ascorbic acid (mg/L)
White wines		
1	Australia Sémillon, Chardonnay	39
2	Australia Muscat	35
3	Australia Sémillon, Chardonnay	1
4	Australia Sémillon, Chardonnay	14
5	Australia Sémillon, Chardonnay	5
6	Chile Sauvignon blanc, Sémillon	0
7	Chile Chardonnay	0
8	Italy Pinot, Chardonnay	0
Red wines		
9	France Beaujolais nouveau	30
10	France Beaujolais-Village	18
11	France Beaujolais "Chiroubles"	22
12	France Beaujolais nouveau	20
13	France Beaujolais nouveau	23

a) Statement of ascorbic acid use on the label.

要 約

2002 年および 2003 年に収穫された山梨県産および長野県産のワイン用および生食用ブドウについて、L-アスコルビン酸 (AsA) 含有量を分析した。ブドウは破碎、圧搾して果汁を採取し、これをろ過して HPLC により分析した。AsA 濃度は 70 試料 (22 品種) について 0~29 mg/L と低いレベルであった。AsA 添加 (200~1000 mg/L) によるブドウ果汁 (もろみ) の発酵速度およびワイン成分への影響はほとんど認められなかった。しかし、AsA 添加はワイン色調 (OD) を増色促進させる傾向であった。AsA 濃度は醸造経過 (発酵、壘詰め、貯蔵) と共に減少しており、この減少率が試験区分により大きく相違した。この結果は AsA 濃度の変化および増色褐変に対するワイン醸造条件 (ブドウ品種、発酵、保管) の影響を示しており、ワインの種類や品質に対応した AsA 管理の必要性が示唆された。また、AsA 使用における注意点として亜硫酸濃度の調整、酸素濃度の低減および成分分析を提示した。市販の外国産ワイン (13 点、AsA 使用の表示) を分析した結果、AsA 濃度は 0~39 mg/L であった。

謝 辞

試験用のブドウ収穫にご協力頂きました山梨県および長野県のワイナリー関係者の皆様に深謝致します。

文 献

1. Amerine, M.A. and M.A. Joslyn. Vitamins. In "Table wines", p.275-277. University of California Press, Berkeley (1970).
2. Amerine, M.A. and C.S. Ough. Ascorbic acid (Vitamin C). In "Methods for analysis of must and wines", p.68-69. John Wiley & Sons, Inc., New York (1980).
3. Amerine, M.A. and W.V. Cruess. Substitutes for sulfur dioxide, Growth factors. In "The Technology of Wine Making", p.175-177. The AVI Publishing Company, Inc., Connecticut (1960).
4. Bertrand, A. et G. de Revel. Utilisation d'une nouvelle technologie en vinification pour l'amélioration de l'arôme du vin. *Revue des Oenologues*. No.89 : 19-22 (1998).
5. Boulton, R.B., V.L. Singleton, L.F. Bisson, R.E. Kunkee. Miscellaneous compound, vitamins. In "Principales and Practices of Winemaking", p.51-52. Chapman & Hall, New York (1996).
6. Bradshaw, M.P., V. Cheynier, G.R. Scollary and P.D. Prenzler. Defining the ascorbic acid crossover from anti-oxidant to pro-oxidant in a model wine matrix containing (+)-catechin. *J. Agric. Food Chem.* 51: 4126-4132 (2003).
7. Danilewicz, J.C.. Interaction of sulfur dioxide, polyphenols, and oxygen in a wine-model system: Central role of iron and copper. *Am. J. Enol. Vitic.* 58: 53-60 (2007).
8. du Toit, W. New findings regarding ascorbic acid in wine. *Wynboer*. 203, 63-64 (2006).
9. Fessler, J.H.. Erythorbic acid and ascorbic acid as antioxidants in bottled wines. *Am. J. Enol. Vitic.* 12: 20-24 (1961).
10. Galabrese G. Table grape nutritional value. *Bull. L'O.I.V.* 76: 122-135 (2003).
11. 香川芳子監修. 食品成分表 2006. pp.124-125. 女子栄養大学出版部. 東京 (2005).
12. 小谷恭弘・花牟礼研一・佐藤充克. 白ワインにおけるアスコルビン酸添加によるマロラクティック醗酵の効率的誘導. *ASEV Jpn.* 8 : 87-94 (1997).
13. 榎田忠衛・伊藤けさ子. ブドウ酒醸造における酸化防止剤の利用に関する研究—第1報. 山梨大発酵研. No. 10 : 31-41 (1963).
14. 榎田忠衛・丸山智章・吉田紘一. ブドウ酒醸造における酸化防止剤の利用に関する研究—第2報. 山梨大発酵研. No. 11 : 65-69 (1964).
15. 榎田忠衛・丸山智章・伊藤けさ子. ブドウ酒醸造における酸化防止剤の利用に関する研究—第3報. 山梨大発酵研. No. 12 : 35-39 (1965).
16. Marks, A.C. and J.R. Morris. Ascorbic effects on the post-disgorgement oxidative stability. *Am. J. Enol. Vitic.* 44: 227-231 (1993).
17. 丸山智章・榎田忠衛. 白ブドウ酒に及ぼす EDTA とアスコルビン酸の影響について. 山梨大発酵研. No. 13 : 43-49 (1966).
18. 西谷尚道監修・注解編集委員会編. 第四回改正国税庁所定分析法注解. pp. 62-79. 日本醸造協会 (1993).
19. Panagiotakopoulou, V. and J.R. Morris. Chemical additives to reduce browning in white whines. *Am. J. Enol. Vitic.* 42: 255-260 (1991).
20. Peng, Z., B. Duncan, K.F. Pocock and M.A. Sefton. The effect of ascorbic acid on oxidative browning of white wines and model wines. *Aust. J. Grape Wine Res.* 4: 127-135 (1998).
21. Rauhut, D., P.G. Shefford, C. Roll, H. Kürbel and O. Löhnertz. Effect of diverse oenological methods to avoid occurrence of atypical aging and related off-flavours in wine. In "Oenologie 2003". A. Lonvaud-Funel, G. de Revel, and P. Darriet (Ed.), pp. 376-379. TEC & DOC, Paris (2003).
22. Ribéreau-Gayon, P., D. Dubourdieu, B. Donèche, A. Lonvaud. Ascorbic acid. In "Handbook of Enology, Vol.1", p.234-237. John Wiley & Sons, Ltd., England (2006).
23. Swart, E., J. Marais and T.J. Britz. Effect of ascorbic acid and yeast strain on Sauvignon blanc wine quality. *S. Afr. Enol. Vitic.* 22: 41-46 (2001).
24. 柳田顕郎・橋本昭洋・黄木信夫. 高速液体クロマトグラフィーによるワイン中の総アスコルビン酸、総エリソルビン酸、ソルビン酸の同時迅速定量法. 醸協. 85 : 750-754 (1990).