

[研究報文]

種々のpHをもつマスカット・ベリーAブドウマストから製造した
赤ワイン新酒の色調と色素パラメータ

横塚弘毅¹・奥田 徹¹・佐藤充克²

¹ 山梨大学発酵化学研究施設 〒400-0005 甲府市北新1丁目13-1

² メルシャン (株) 酒類技術センター 〒251-0057 神奈川県藤沢市城南 4-9-1

Effects of Initial pH of Muscat Bailey A Grape Must on the Color of Red Wines Produced

Koki YOKOTSUKA¹, Tohru OKUDA¹, and Michikatsu SATO²

¹ The Institute of Enology and Viticulture, Yamanashi University, Kofu, Yamanashi 400-0005, Japan

² Mercian Corp., 9-1, Johnan 4-chome, Fujisawa, Kanagawa 251-0057, Japan

The pH of must obtained by crushing Muscat Bailey A grapes (original pH 3.40) was adjusted to 3.06, 3.70, or 3.82 prior to addition of yeast. Musts at the four pHs were fermented at 20°C and pressed on day 6 after the addition of yeast. The must liquids obtained were ameliorated by adding sugar to give starting musts with a °Brix of 23, and they were fermented for one more week. The effects of the initial pHs of the musts on the total phenols, flavonoids, and various pigment parameters of the musts during fermentation and of the resultant wines during storage were investigated.

As they started to ferment, the pHs of all four musts decreased while their titratable acidities increased, perhaps due to components extracted from the skins. The differences in the pH and titratable acidity between the musts immediately after the start of fermentation and of the red wines produced from them were on average, only 0.07 and 0.14 %, respectively. Such small differences demonstrate the strong buffering capacity of the musts.

In all four musts, two wine color parameters at wine pH, $WC_{520}^{3.7}$ and $WC_{520}^{CH_3CHO}$, increased until the fermentation on the skins had finished, and then became roughly constant or decreased slightly after the musts had been pressed. The wine color at pH 0.4 (WCA) and polymeric pigment color (PPC) at pH 3.7 increased during fermentation for 2 days following the addition of yeast, after which they changed little. The lower the initial pH of the fermenting must, the higher was the $WC_{520}^{3.7}$, but the relationship between the WCA and the initial pH was not so consistent. After pressing, the color hue changed in only a small range between 0.62 and 0.67 depending on the initial must pH. Although the degree of pigment coloration of the wines produced was less the lower the initial must pH, the difference was in a small range between about 9.5 and 12.5%.

The four red wines made from the musts with different pHs were racked by centrifugation and sulfited with potassium metabisulfite to give concentrations of about 0, 20, or 50 mg/L as SO₂, bottled, and stored at 15°C. After one month, the total and flavonoid phenols and the WCA of the wines sulfited at bottling were not always higher than those of the unsulfited wines, but the other pigment parameters decreased with an increase in the amount of SO₂ added.

Key words : red wine, wine color, pH, anthocyanin

緒 論

赤ワインの特徴的な魅力は、その色調と苦渋味にあるが、その主要な原因となる成分はアントシ

アニン赤色素である。赤ワインの赤色は、アントシアニン・モノマー、色素オリゴマー、色素ポリマーに由来し、ワインの色合いと色調の強さは、ワインのpHと深く関連する (1, 2, 3)。一般に、ワインのpHは、フェノールやアスコルビン酸の酸

1998年3月30日受理

化・褐変、腐敗微生物の生育、アントシアニンのイオン化、亜硫酸の存在形態、タンパク質の溶解性、タンニン-タンパク質複合体の形成、有機酸の酸味の発現に非常に影響し、酒質と最も深く関わるワイン・ファクターの一つである。多くのワインメーカーは、ワインの滴定酸度あるいは有機酸濃度が酸味と直接に関連することから、マストの滴定酸度(総酸度)に関心をもち、低酸度のマストにしばしば補酸を行っている。しかし、ワインのpHと滴定酸度との間には直接的な関係がないこともあって(4)、マストのpHがワインの色調に及ぼす影響に関してそれほど関心を示さず、マストのpHが発酵速度や発酵中のマストの色調や他のマスト成分の変化に関する研究はほとんどない。

近年、ワイン中のフェノールの一種であるリスベラトロールが、血小板凝集抑制作用、低密度リポタンパク質の酸化阻害作用、血小板凝集を抑制し、血栓症を予防する作用をもつことが見出された(5-7)。1997年、この物質がガン発症のイニシエーション、プロモーション、及びプログレッションの3段階に作用し、発ガンを抑制することが報告され(8)、ワインフェノールに一層注目が集まるようになった。リスベラトロールやその他のフェノール類のほとんどは、ブドウの果皮や種子に含まれているので(9, 10)、これらのブドウ組織とともに醸し発酵させることによって製造される赤ワインの人氣が高まり、消費が急激に増えている。それ故、赤ワインの品質に関わる製造上の諸問題を一層研究する必要があるが、わが国の気候風土、特に本州以南の高温・高湿で、弱酸性火山灰土壌で生育し、高品質、高収量で収穫できる赤ブドウ品種は少ない。マスカット・ベリーA赤ワインは、優れたアロマやフレーバーが少なく、並級ワインに位置づけられるワインであるが、そのブドウの栽培の容易さと国内産原料ブドウが少ないということから、このブドウは新酒のうちに消費されるワイン原料としての重要性が高まっている。しかし、マスカット・ベリーAブドウはヨーロッパ系優良ブドウと同様な重要ワイン原料として認識されてこなかったため、今までこのブドウ

からの赤ワインの製造法に関する研究はほとんど見あたらない。また各々のワインの製造法は、原料ブドウ品種、産地、ワインの種類やスタイルなどによって、それぞれに適切な製造法を研究する必要がある。

以上のことから、本論文では、ブドウマストをpH 3.06~3.82に減酸あるいは補酸し、種々のpHに調整したマストから製造した赤ワインの色調と色素パラメータを調べ、マスカット・ベリーA赤ワインの新酒を製造する際に、ワインの色調の観点からマストのpHを調整する意義を検討したので報告する。

材料と方法

1. 赤ワインの製造

山梨大学発酵化学研究施設付属育種試験地で1995年10月初旬に収穫されたマスカット・ベリーAブドウを用いた。このブドウを1%リンゴ酸で洗浄後水洗した。

洗浄したブドウ60 kgを5 kgづつ12区分に分け、手動小型破砕機により除梗破砕し、破砕機より流出した各破砕物をそれぞれ別の5 L 容ポリバケツに直接落とした。ブドウ破砕物(マスト)をポリバケツに落とす直前に、二酸化イオウにして75 mg/Lの濃度になるようにピロ亜硫酸カリウムを12のポリバケツにそれぞれ予め入れておいた。このとき、果汁のpHは3.40、糖度は19.2 °Brix、滴定酸度は酒石酸換算0.60 g/100 mLであった。

12個のバケツを1区3個づつ4区分に分けて、各区のマストのpHを3.06、3.40、3.70及び3.82に調整した。すなわち、pH 3.06マストは破砕物の酸度を酒石酸で1%とすることによって、pH 3.70マストは果汁50 mLに固体KOH 5 gを溶かしたものを16 mLを破砕物に加えることによって、pH 3.82マストは果汁50 mLに固体KOH 10 gを溶かしたものを20 mLを破砕物に加えることによって得られた。pH 3.40マストは無処理の破砕物をそのまま用いた。マストのpHは、補酸あるいは補アルカリを行い、一夜放置後に測定した。

ブドウ1 kgから約600 mLの果汁を得、酒母用

果汁とした。35~36 °Cの温水100 mL に乾燥酵母 (*Saccharomyces cerevisiae* Uvaferm CM) 9 g を加えた懸濁液を調製し、これを酒母用果汁に加えてゆるく攪拌後、一夜静置して酒母とした。

各バケツ中のマスト (5 kgブドウに相当)へ60 mL ずつの酒母を加え、20 °Cで発酵を行った。酒母添加後6日目に圧搾して果皮と種子を除いた。圧搾後の(液体)マストの液量は平均3.43 Lであった。この液体マストに、ブドウ破碎直後の果汁の糖度に換算して23 °Brix まで上白糖を用いて補糖(平均180.5 g)した。補糖したマストを5 L 容ポリタンクに移して二次発酵を行った。発酵終了後、7000 rpmで遠心分離し、その上清を0.8 µmのメンブランフィルターで濾過した。分析のため、発酵中のマストより経時的に50mL ずつの試料を採取した。

発酵、澱引きそして濾過後、瓶詰めを行う前に、ワインへ遊離亜硫酸として0、10~20、40~50 mg/L となるようにピロ亜硫酸カリウムを添加した。ワインの遊離亜硫酸濃度は、ピロ亜硫酸カリウムを添加後1日目に測定した。

2. マストとワインの一般分析

すべての分析は同じ試料について少なくとも2回行い、得られた分析値はそれらの平均値で示した。同じpHのマストから製造したワイン(または発酵マスト)が3つあるので、6試料の分析値の平均ということになる。マストとワインの糖度、アルコール、pH、滴定酸度、糖度、遊離亜硫酸及び結合亜硫酸は、“Methods for Analysis of Musts and Wines” (11)に従って分析した。

全フェノール量及びフラボノイド型フェノール量はそれぞれ、Slinkard and Singletonの方法(12)とKramling and Singletonの方法(13)で定量し、値は没食子酸換算で表した。

3. 赤ワインのスペクトル分析

赤ワインのスペクトル分析は、前報(1, 2, 3)に準じて行った。すべての赤ワインは分析直前に0.45 µmのメンブランフィルターで濾過した。吸収スペクトルの測定はすべて1 mmあるいは10 mmのガラスセルを用いて行った。

(1) ワインカラー (wine color, $WC=A_{520}^{3.7}$)

赤ワインを重酒石酸カリウムで飽和した10%エタノール水溶液(pH 3.7)で20倍に希釈後10 mmセルを用いて520 nmと420 nmの吸収を測定した。得られた値に20倍をかけて、これをワインのpH(pH 3.7)でのワインカラー($WC_{520}^{3.7}$)とした。

(2) pH 0.4でのワインカラー (wine color at pH 0.4, $WCA=A_{520}^{0.4}$)

無色のカルピノールベースを赤色のフラビリウムベースとするために、ワインを1.0N-HClで20倍に希釈した後(ワインのpHは0.4となる)、520 nmの吸光度を測定した。得られた吸光度に20をかけたものを酸性でのワインカラー(WCA)とした。

(3) 色素重合体カラー (polymeric pigment color, $PPC=A_{520}^{SO_2}$)

(1)と同様に20倍に希釈したワイン6.5 mLに20%メタ重亜硫酸カリウム溶液0.1 mLを加えて1分後に、520 nmの吸収を測定し、得られた値に20をかけたものを色素重合体カラー(PPC)とした。

(4) 過剰のアセトアルデヒド添加後のワインカラー ($A_{520}^{CH_3CHO}$)

Somer and Evansの方法(14)で行った。すなわち、2mLの試料液に10%アセトアルデヒド水溶液20 µLを添加し、45分後に520 nmでの吸光度を測定した。

結果及び考察

1. マストの初発pHが発酵速度及びワインのpHと滴定酸度に及ぼす影響

品質のよいテーブルワインを製造するための原料マストのpHと滴定酸度は、それぞれ3.4以下と0.65%以上であることが望ましいとされている(15)。赤のテーブルワインを製造するときでさえ、望ましい糖度、滴定酸度及びpHは、それぞれ20.5~23.5%、>0.65%、<3.4である。日本の気候風土で栽培が容易なマスカット・ベリーAブドウの場合、このような高い糖度と低いpHをもつマストを商業的に手に入れるのは容易でない。そこで、

本研究では、マスカット・ベリーAマストの通常のパH範囲の下限に近いpH 3.06、上限に近いpH 3.82及びそれらの中間的な2つのpHである3.40と3.70に調整したもの、計4種の異なったpHをもつマストを発酵させた。マストは高い緩衝能をもつことが知られている(16)。pH 3.70のブドウ破碎物(マスト)の酸度を酒石酸で1%とした直後のpHは2.80であったが、翌日にそのpHは3.06となった(以後pH 3.06マストと称する)。また、アルカリでpH 4.01としたマストの翌日のpHは3.82であったが(以後pH 3.82マストと称する)、pH 3.70としたマストの翌日のpHは変わらなかった(以後pH 3.70マストと称する)。このように、マストの緩衝能は高いので、補酸あるいは補アルカリ後のマストのpHが一定になるには一夜近くマストを放置する必要がある。一方、pH調整しなかったマストのpHはブドウ破碎直後3.40であったが、翌日にはpH 3.55となった(以後pH 3.40マストと称する)。

Fig. 1は、マストの初発pHがエタノール生成速度、発酵中のマストのpHと滴定酸度に及ぼす影響を調べた結果である。マストの初発pHは発酵速度や発酵中のマストのpHや滴定酸度に顕著に影響しなかった。発酵中のマストのpHは酵母添加後6日目までわずかに減少し、その後上昇して初発pHのレベルに戻ったが、各pHカーブの差は初発pHのそれと大きく違わなかった。すなわちワイン発酵中のマストのpH変化は、初発pHで異なるが、変化の差はわずか0.03~0.09、平均0.07であった。マストの初発の滴定酸度は、pH 3.06マストで0.97%、pH 3.40マストで0.60%、pH 3.70マストで0.54%、pH 3.82マストで0.45%であったが、発酵中徐々に上昇し、発酵後のワインではそれぞれ0.98、0.73、0.71、0.67%となった。発酵中のマストのpHおよび滴定酸度が若干変化する原因は、酵母の有機酸代謝や発酵中に果皮から抽出された酸成分に由来すると考えられるが、詳細についてはさらに検討する必要がある。また、マスト中に存在する金属イオンや有機酸などのブドウ成分が、マストの持つ高い緩衝能の原因となっていると考

えられた。しかし、本研究はワインの赤色の色調とマストの初発pHとの関連を明らかにすることを

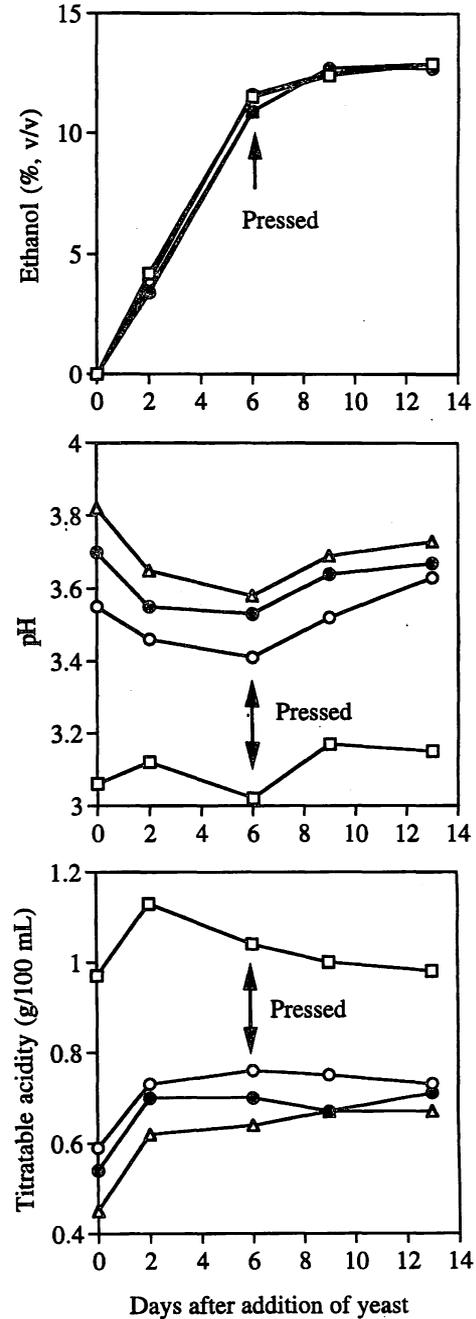


Fig. 1. Changes in ethanol, pH, and titratable acidity during fermentation of red wine from Muscat Bailey A musts with different pHs. Must pH: □, 3.06 must; ○, 3.40 must; ●, 3.70 must; △, 3.82 must.

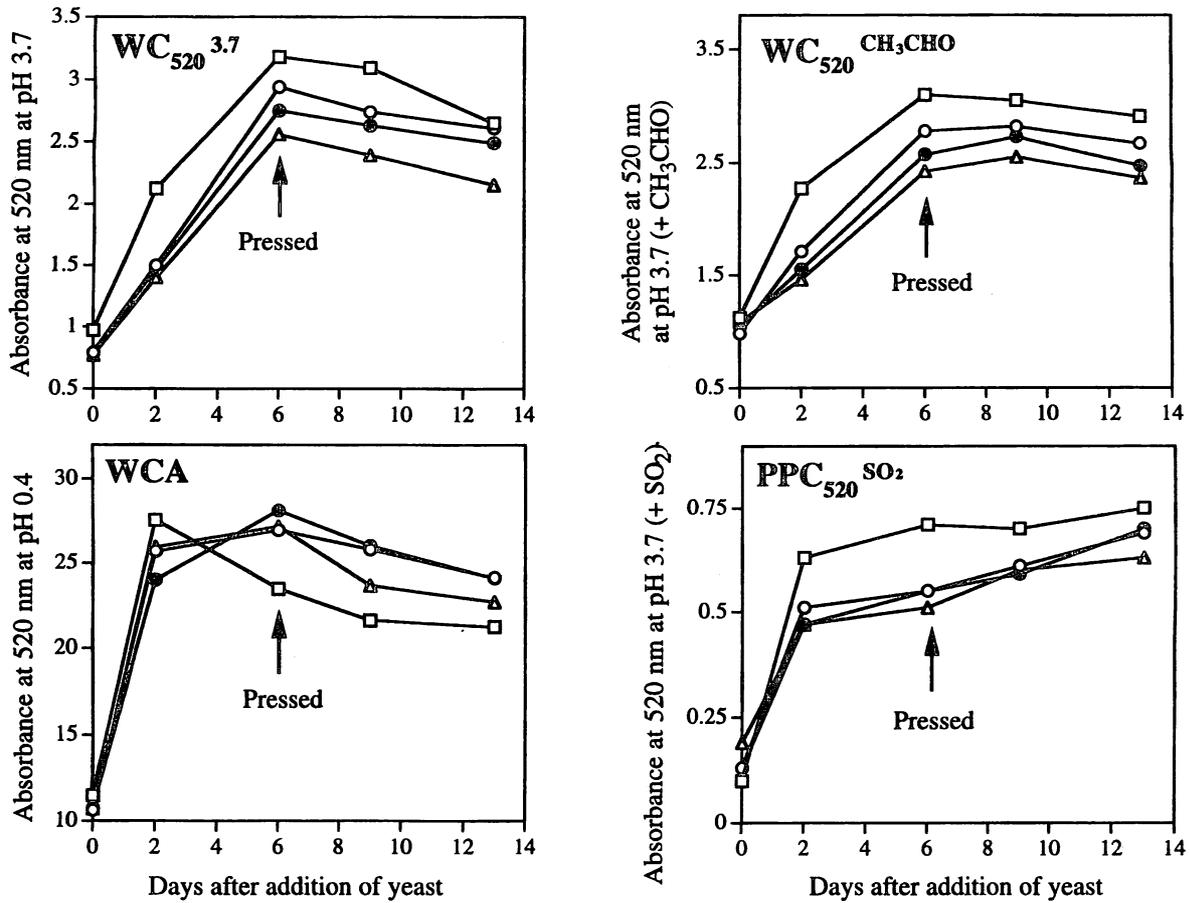


Fig. 2. Changes in wine color at pHs 3.70 and 0.4, and wine color at pH 3.7 in the presence of excess acetaldehyde, and polymeric pigment color during fermentation of red wine from Muscat Bailey A musts with different pHs.. The symbols are the same as Fig. 1.

目的としたので、滴定酸度の変化に関してはこれ以上検討しなかった。

Fig. 2は、発酵中の4つの色素パラメータ、すなわちpH 3.7でのワインカラー (WC₅₂₀^{3.7})、過剰のアセトアルデヒド添加後のpH 3.7でのワインカラー (WC₅₂₀^{CH₃CHO})、pH 0.4でのワインカラー (全色素、WCA)、過剰の亜硫酸存在下でのpH 3.7でのワインカラー (PPC、色素重合体カラー) の変化を示したものである。0日目では、ブドウを破碎直後のために果皮からの色素の溶出はほとんどなく、4種のパラメータ各々の中において異なったマスト間の値の差は小さかった。しかし、アルコール生成の開始から、マストを圧搾して果皮を除去した6日目まで、4種のパラメータ値の全ては増加した。6日目以降、PPC値はほぼ一定となったが、その他の3つのパラメータ値は減少した。

マストを圧搾後には、新たに果皮から色素が抽出されないにもかかわらず、アントシアニン色素は無色の高分子フェノールと結合したり、あるいは色素同士の結合により高分子化したり、あるいはこれらの高分子フェノールがタンパク質と結合して不溶性となることによって、WC₅₂₀^{3.7}とWCAは減少したものと考えられる。WC₅₂₀^{3.7}パラメータの大きさの順序は、マストの初発pHの順序と逆比例し、pHが低いマストのWC₅₂₀^{3.7}ほど高くなっている。これは、低いpH下では酸化が起こりにくく、アントシアニンが安定に存在するためと考えられた。一方、6日目以降のWCAは初発pHが3.06 < 3.82 < 3.70 ≒ 3.55のマストの順に大きい傾向にあったが、統計学的にはpH 3.06とpH 3.40及び3.70マストとの間 (p=0.05) にのみ有意差が認められた。この結果より、WCAはマストのpHの順

序とは直接関係なく、マストのpHが極端に低かったり (pH 3.06)、あるいは高かったり (pH 3.82) するマストよりは、ごく普通のpHのマスト (pH 3.40、pH 3.70) の方がより多い色素 (WCAが高い) が存在することが分かった。また、pH 3.06マストのWCAは、6日目に大きく減少した。一般にアントシアニンはタンニンなどのフラボノイドの共存で安定化されるが (17)、pH 3.06マストは何らかの理由でフラボノイド型フェノールの濃度が低かったため (データは示していない)、マスト中のアントシアニンの安定性が低く、このためにWCAが急激に低下したと考えられた。

酵母添加前のマスト (ブドウ破碎物) に75 mg/Lの亜硫酸を添加したにもかかわらず、亜硫酸添加の翌日にはすでにマスト中に遊離亜硫酸は全く存在しなかった (20~40 mg/Lの結合亜硫酸は存在した)。もしも、アントシアニンに亜硫酸が結合し、それによって脱色されているならば、アセトアルデヒド添加によって $WC_{520}^{CH_3CHO}$ は増加するはずである。しかし、いずれのpHのマストでも $WC_{520}^{3.7}$ 値と $WC_{520}^{CH_3CHO}$ 値の間に差は少なく、それらのカーブを比較しても大きな差異は認められなかった (Fig.2)。これは亜硫酸は主としてアントシアニンに結合しておらず、果皮からアントシアニンが溶出前に果汁中にすでに存在したアセトアルデヒドやピルビン酸などのカルボニル化合物と結合し

ていることが推定された。PPCは、アントシアニン自身の酸化・重合やアントシアニンと酸化フェノールとの重合によって生成されるので (V. L. Singleton, 私信 (1997))、マストのpHが高い方がより多量のPPCがあるものと推定されたが、最も低いpH (3.06) のマストにおいて最も高いPPC値となり、他の3つのpHのマストのPPC値はそれほど大きく違わなかった。これは予期せぬ結果であり、さらに詳細に検討する必要がある。

2. カラー・ヒューと色素の着色度合い

カラー・ヒュー ($A_{420}^{3.7}/A_{520}^{3.7}$) はワインの酸化・褐変の度合いに関連し、degree of pigment coloration [DPC、 $(WC_{520}^{3.7}/WCA_{520}^{0.4}) \times 100\%$] はワインに存在する全色素の中で、ワインのpHで着色している色素の割合を示す。二つのパラメータ、 $WC_{520}^{3.7}$ とPPCの測定は全ての試料をpH 3.7にしてから行ったので、各マスト間の色素パラメータを相互に比較することができる。Fig. 3に示したように、各マストのカラー・ヒューは酵母添加直後から非常に異なった。しかし、6日目以降になると、マストの初発pHが低い方がわずかに小さなカラー・ヒュー値を示す程度で、数値的にも0.62~0.67とほとんど差異はなかった。発酵開始後2日目まで、いずれのマストのDPCも非常に低い値であった。これはエタノールが十分生成されていないので、マスト中の色素量が非常に少なく、ま

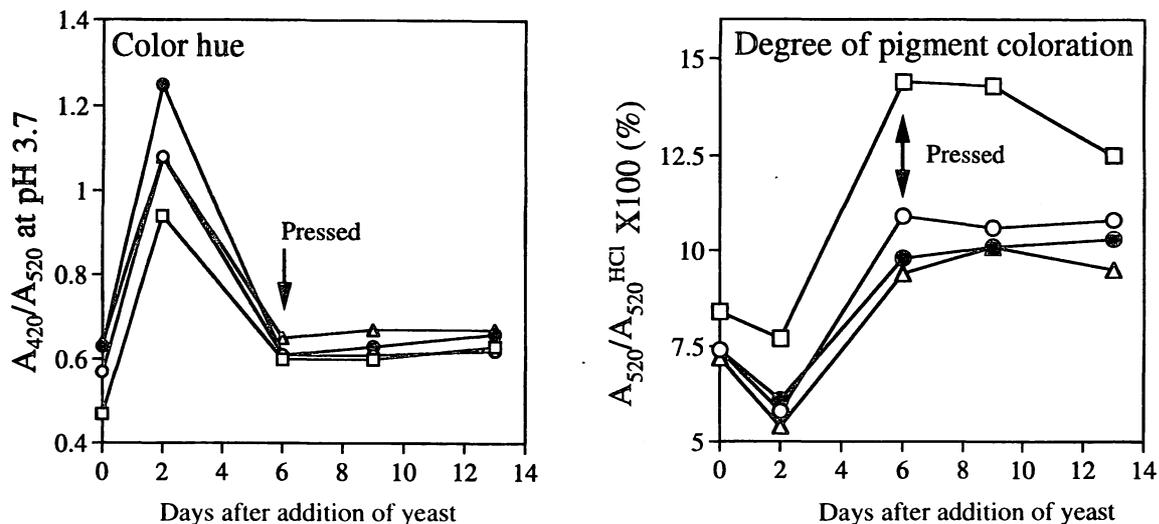


Fig. 3. Changes in wine hue and degree of pigment coloration during fermentation of red wine from Muscat Bailey A musts with different pHs. The symbols are the same as in Fig. 1.

Table 1. Special and phenolic analyses of red wines produced from Muscat Bailey A musts with different initial pHs followed by strage for one month after the addition of SO₂^z.

	Free SO ₂ (mg/L)	Total phenols (mg GAE/L)	Flavonoid phenols (mg GAE/L)	A ₅₂₀ at pH 3.7 (WC ₅₂₀ ^{3.7})	A ₄₂₀ at pH 3.7	A ₄₂₀ (+CH ₃ CHO) at pH 3.7 (WC ₅₂₀ ^{CH₃CHO})	A ₅₂₀ (+SO ₂) at pH 3.7 (PPC)	A ₅₂₀ at pH 0.4 (WCA)	PPC/ WC ₅₂₀ ^{CH₃CHO}	PPC/ WCA
(A) pH 3.06 must										
A-1 (no SO ₂ added when bottled)	0	930	723	3.27	2.29	3.01	1.04	15.3	0.35	0.07
A-2 (SO ₂ added to wine when bottled)	22	1080	911	3.03	1.88	3.19	1.01	19.8	0.32	0.05
A-3 (SO ₂ added to wine when bottled)	47	1040	870	2.21	1.34	2.74	0.76	20.5	0.28	0.04
(B) pH 3.40 must										
B-1 (no SO ₂ added when bottled)	0	1260	1064	3.39	2.21	3.01	0.96	22.0	0.32	0.04
B-2 (SO ₂ added to wine when bottled)	20	1040	847	2.76	1.88	2.91	0.84	16.3	0.29	0.05
B-3 (SO ₂ added to wine when bottled)	50	1160	960	1.93	1.32	2.72	0.76	23.8	0.28	0.03
(C) pH 3.70 must										
C-1 (no SO ₂ added when bottled)	0	1145	995	3.21	2.11	3.00	1.01	21.5	0.34	0.05
C-2 (SO ₂ added to wine when bottled)	20	1156	968	2.91	2.08	3.15	1.00	22.1	0.32	0.05
C-3 (SO ₂ added to wine when bottled)	50	1058	882	2.07	1.60	2.79	0.76	24.5	0.27	0.03
(D) pH 3.82 must										
D-1 (no SO ₂ added when bottled)	0	968	805	3.22	2.50	2.96	1.23	18.9	0.42	0.07
D-2 (SO ₂ added to wine when bottled)	20	912	687	2.83	2.09	2.51	0.98	17.4	0.29	0.04
D-3 (SO ₂ added to wine when bottled)	47	814	640	1.45	1.12	2.13	0.40	17.4	0.19	0.02

^z No free SO₂ was contained in the original red wines used for the strage experiment. †he free SO₂ concentration of the wines was determined one day after the addition of potassium metabisulfite. Total and flavanoid phenols and the various pigment parameters were determined one month after bottling.

たその色素の一部はブドウの破碎中にジフェノールの酵素酸化によって生成したキノンによって脱色されたためと考えられる (18)。発酵期間全般に渡ってpH 3.06 マストのDPC値が最も高いが、これはpHが低い方がポリフェノール酸化酵素の作用が低く、また非酵素的な酸化も起こり難いことが関係しているのかも知れない (19, 20)。

3. 赤ワイン貯蔵初期のフェノール及び色素パラメータの変化

ワイン酵母をマストに添加後13日目に発酵容器からとりだし、遠心分離によって澱引き後、メンブランフィルター濾過した。このようにして製造した赤ワインに、遊離亜硫酸が約20 mg/L (Table 1 中、20~22 mg/L)、あるいは約50 mg/L (Table 1 中、47~55 mg/L) になるようにピロ亜硫酸カリウムを加え、1カ月貯蔵した後、ワイン中の亜硫酸量、全フェノール量、フラボノイド量及び種々の色素パラメータを測定した。貯蔵実験に使用したワイン (Table 1 中のA、B、C、及びD) の総亜硫酸量は、それぞれ11、21、23、及び22 mg/L であり、遊離亜硫酸は全く存在しなかった。

pH 3.06 マストから造ったワイン (瓶詰め時pH 3.15) に瓶詰め直前に亜硫酸を添加し、貯蔵後1カ月目の3つのワイン (A-1, A-2, A-3を比較) の全フェノールを測定した結果、瓶詰め時に亜硫酸を添加しなかったワインよりも添加したワインの方が110~150 mg/L 多いことが分かった。またフラボノイド型フェノール量も亜硫酸を添加したワインの方が147~188 mg/L 多かった。ワインカラー ($WC_{520}^{3.7}$) と420 nmでの吸光度 ($A_{420}^{3.7}$) は亜硫酸添加量が増えるとともに低下し、pH 0.4での520 nmの吸光度 (WCA) は亜硫酸添加ワインの方が高く、色素重合体カラー (PPC) は、瓶詰め時に47 mg/Lの遊離亜硫酸を含むワイン (A-3) が最も低かった。すなわち、瓶詰め時に亜硫酸を添加することは、フェノールの酸化防止に非常に有効であり、赤ワインの褐変防止に効果的に働いていることが分かった。

pH 3.40、3.70及び3.82マストから製造したワ

イン (瓶詰め時のpHはそれぞれ3.63、3.67及び3.73) に添加した亜硫酸がフェノール量や色素パラメータに及ぼす影響は、pH 3.06マストから製造したワインに対するそれとはかなり異なった。亜硫酸を添加したワインの全フェノール量やフラボノイド型フェノール量は、亜硫酸無添加ワインのそれらよりも必ずしも高いとは限らず、一定の傾向を示さなかった。pHが高いマストでは、低いマストよりもフェノールは酸化しやすいので、瓶詰め時に亜硫酸を添加してもフェノールの酸化防止効果は小さくなっていると考えられた。瓶詰め時の亜硫酸の添加効果が一定の傾向を示さないのは、WCA値を比較したときにも認められ、3つの実験区 (B、C、D) において、亜硫酸をより多く添加したワインの方が必ずしも高いWCA値を示さなかった。しかし、その他のパラメータ値 ($WC_{520}^{3.7}$ 、 $A_{420}^{3.7}$ 、PPC、 $WC_{520}^{CH_3CHO}$) は、亜硫酸の添加量の増加とともに、小さくなった。これは亜硫酸による赤色色素や褐色色素の脱色が起こったためと考えられる。

赤ワインに過剰のアセトアルデヒドを添加すると、アントシアニンの4位の炭素に結合している亜硫酸を脱離させることから、一時的に脱色されていたアントシアニンが赤色に戻ることはよく知られている事実である。それゆえ、Somers and Evans (14) は、赤ワインに過剰のアセトアルデヒドを添加後にワインカラーを測定した ($WC_{520}^{CH_3CHO}$)。Table 1に示したように、亜硫酸を添加しないワイン (A-1、B-1、C-1、D-1) では、アセトアルデヒド添加によって $WC_{520}^{CH_3CHO}$ 値は $WC_{520}^{3.7}$ 値よりも0.21~0.38も低くなり、過剰のアセトアルデヒドの添加はワインカラー値そのものをかなり低下させることが分かった。しかし、瓶詰め時に亜硫酸を添加したワインの $WC_{520}^{CH_3CHO}$ 値は、アセトアルデヒド無添加で測定した $WC_{520}^{3.7}$ 値よりも高く、その差は亜硫酸を多量に添加したワインほど大きかった。このように、アセトアルデヒドは、アントシアニン-亜硫酸結合体から亜硫酸を離し、遊離のアントシアニンとするが、その赤色強度はアセトアルデヒドによって減少する。

従って、マスト中に存在する 4 位の炭素に亜硫酸が結合したアントシアニンの濃度は、 $WC_{520}^{CH_3CHO}$ と $WC_{520}^{3.7}$ の差から算出される濃度よりも大きいと思われる。

Somers and Evans (14) は、赤ワインの熟成を $A_{520}^{SO_2}/A_{520}^{CH_3CHO}$ と $A_{520}^{SO_2}/A_{520}^{HCl}$ という 2 つの比で表すことを試み、これらを 'Chemical Age' と名づけた。そして約 8 カ月熟成させたワインの $A_{520}^{SO_2}/A_{520}^{CH_3CHO}$ は 0.1 ~ 0.5、 $A_{520}^{SO_2}/A_{520}^{HCl}$ は 0.02 ~ 0.2、また 15 年間熟成させた赤ワインの $A_{520}^{SO_2}/A_{520}^{CH_3CHO}$ は 1.0 に近づき、 $A_{520}^{SO_2}/A_{520}^{HCl}$ は 0.9 に近づくことを見出した。これらの値は、ワイン中で発酵あるいは熟成中に増加する色素重合体カラーの割合を示したものである。本研究では、1 カ月熟成させたワインの $A_{520}^{SO_2}/A_{520}^{CH_3CHO}$ 値は 0.19 ~ 0.42、 $A_{520}^{SO_2}/A_{520}^{HCl}$ 値は 0.02 ~ 0.07 にあり、Somers and Evans ら (14) によって報告された若いワインと同様な値となった。一方、発酵中及び発酵直後の $A_{520}^{SO_2}/A_{520}^{HCl}$ 値は 0.02 ~ 0.04 の範囲にあり、また $A_{520}^{SO_2}/A_{520}^{CH_3CHO}$ 値は 0.20 ~ 0.32 の間にあって、マストの初発 pH による差異はほとんど認められなかったが、種々の pH の同一のマストにおいては、発酵が進行するとともに $A_{520}^{SO_2}/A_{520}^{HCl}$ の比は非常にわずかに上昇した。

以上の結果、非常に高い pH (3.82) のマストから造ったワインに亜硫酸を添加して 1 カ月保存したワインの全フェノールやフラボノイド量は、pH 3.82 よりも低い pH 3.40 や pH 3.70 のマストから造ったワインのそれらよりも低く、3 種のワインカラー ($WC_{520}^{3.7}$ 、 $WC_{520}^{CH_3CHO}$ 、WCA) もまた低い傾向にあった。一方、pH が 3.06 と低いマストから造ったワインでは、全フェノールやフラボノイド量は他の pH のマストから造ったワインのそれらよりも必ずしも高くなく、 WC_{520}^{HCl} (WCA) 値は低く、また PPC 値は高い傾向にあり、pH が低いマストを使えば色調の点から優れた赤ワインがいつでも造れるわけではないことが分かった。結局、pH 無調整のマスト (pH 3.40) とその pH に最も近いマスト (pH 3.70) を用いて造ったワインが最も高いフェノール量と良好な色素パラメータをもつ傾

向があることが分かった。すなわち、マストの pH を調整してもワインの色調を必ずしも改善できず、原料ブドウの品質の重要性が再確認された。

要 約

マスカット・ベリー A 赤ブドウを破碎して得られるマスト (pH 3.40)、このマストの pH を 3.06、3.70、あるいは 3.82 に調整して得られる 3 種のマスト、計 4 種の異なった pH をもつマストに酵母を加えて 20 °C で発酵させ、酵母添加後 6 日目に圧搾した。得られた液体マストに、果汁糖度に換算して 23 °Brix となるように補糖し、さらに 1 週間発酵を続けた。発酵終了後、濃引きし、亜硫酸を終濃度 20 ~ 50 mg/L になるように加えて 1 カ月 15 °C で保存した。発酵中及び貯蔵中の全フェノール量、フラボノイド量や各種の色素パラメータを調べ、マストの初発 pH がワインの全フェノール、フラボノイド及び非フラボノイド型フェノール量や色素パラメータに与える影響を検討した。

マストが発酵を開始するとともに、全ての 4 種のマストの pH は減少し、一方、滴定酸度は、多分果皮から溶出した成分によって上昇した。発酵開始直後のマストの pH 及び滴定酸度と製造したワインのそれらの差は、それぞれ平均 0.07 と 0.14 % だけであり、マストは強い緩衝能をもつことが分かった。

発酵中の色素パラメータを調べたところ、4 種の異なった pH のマストの全部で、ワインの pH での 2 種のワインカラー ($W_{520}^{3.7}$ 、 $W_{520}^{CH_3CHO}$) は、醸し発酵が終わるまで上昇し、圧搾後ほぼ一定あるいはやや減少した。一方、全色素量を示す pH 0.4 でのワインカラー (WCA) と色素重合体カラー (PPC) は、酵母添加後 2 日目まで上昇したが、以後の変化はそれほど大きくなかった。 $WC_{520}^{3.7}$ は、マスト (ワイン) の pH が低いほど大きいのが、WCA は必ずしもそうでなかった。ワインのカラー・ヒューはマストの初発 pH でほとんど変わらず (0.62 ~ 0.67)、着色色素の割合は低い pH のマストから造ったワインほど低いとその差はわずかで、約 9.5 ~ 12.5 % の範囲にあった。

異なったpHの4種のマストから造ったワインに亜硫酸(無添加、遊離亜硫酸として約20 mg/L、約50 mg/Lの3種)を添加後瓶詰めし、1カ月貯蔵した。亜硫酸を添加したワインの全フェノール量、フラボノイド量及びWCA値は、亜硫酸を添加しないワインのそれらよりも必ずしも高いとは限らず一定の傾向を示さなかった。しかし、その他の色素パラメータは亜硫酸添加量の増加とともに小さくなった。

謝 辞

本研究は、本研究室学生、村松奈穂氏(現白百合醸造株式会社)の協力を得て行った。心より感謝します。

引用文献

1. 横塚弘毅, カベルネ・ソービニオン及びマスカット・ベリーA赤ワインの熟成中における色調の変化, I. 色素パラメータのスペクトル分析. 日本醸造協会誌 90 : 222-229 (1995).
2. 横塚弘毅, カベルネ・ソービニオン及びマスカット・ベリーA赤インの熟成中における色調の変化, II. 赤ワインのイソアミルアルコール抽出で水層に残った色素ポリマー画分の性質. 日本醸造協会誌 90 : 485-491 (1995).
3. 横塚弘毅, カベルネ・ソービニオン及びマスカット・ベリーA赤ワインの熟成中における色調の変化, III. 赤ワインの溶媒抽出による4つの色素画分の分別と得られた画分のpH及び亜硫酸に対する感受性. 日本醸造協会誌 90 : 560-565 (1995).
4. 横塚弘毅・矢嶋瑞夫・高柳 勉・佐藤充克・坂本恭輝, 日本産及びタイ産ブドウから製造した白及び赤ワインのpHとそれに関連した化学成分及び赤色素パラメータとの関連. ASEV日本ブドウ・ワイン学会誌 7 : 15-23 (1996).
5. Teissedre, P. L., E. N. Frankel, A. L. Waterhouse, H. Peleg and J. B. German, Inhibition of in vitro human LDL oxidation by phenolic antioxidants from grapes and wines. J. Sci. Food Agric., 70:55-61 (1996).
6. Frankel, N., A. L. Waterhouse, and J. E. Kinsella, Inhibition of human LDL oxidation by resveratrol. Lancet 341: 1103-1104 (1993).
7. Shan, C. W., Effects of polydatin on platelet aggregation of rabbits. Yaoxue Xuebao. 23: 394-396 (1988).
8. Jang, M., L. Cai, G. O. Udeani, K. V. Slowing, C. F. Thomas, C. W. W. Beecher, H. H. S. Fong, N. R. Farnsworth, A. D. Kingdom, R. G. Mehta, R. C. Moon, and J. M. Pezzuto, Science 275: 218-220 (1997).
9. Okuda, T. and K. Yokotsuka, *Trans-Resveratrol* concentrations in berry skins and wines from grapes grown in Japan. Am. J. Enol. Vitic. 47: 93-99 (1996).
10. Sato, M. Y. Suzuki, T. Okuda, and K. Yokotsuka, Contents of resveratrol, piceid and their isomers in commercially available wines made from grapes cultivated in Japan. Biosci. Biotech. Biochem. 61: 1800-1805 (1997).
11. Amerine, M. A. and C. S. Ough. Method for Analysis of Musts and Wines. p.341, John Wiley & Sons, New York (1980).
12. Slinkard, K., and V. L. Singleton, Total phenol analysis: automation and composition with manual methods. Am. J. Enol. Vitic. 28: 49-55 (1977).
13. Kramling, T. E. and V. L. Singleton, An estimate of the nonflavonoid phenols in wines. Am. J. Enol. Vitic. 20: 86-91 (1969).
14. Somers, T. C. and M. E. Evans, Spectral evaluation of young red wines: anthocyanins equilibria, total phenolics, free and molecular SO₂, chemical age. J. Sci. Food Agric. 28: 279-287 (1977).
15. Amerine, M. A., R. E. Kunkee, C. S. Ough, V. L. Singleton, and A. D. Webb, The Technology of Wine Making. 4th ed. p.89, AVI Pub-

- lishing Company, Inc. Westport, Connecticut (1980).
16. Amerine, M. A., R. E. Kunkee, C. S. Ough, V. L. Singleton, and A. D. Webb. The Technology of Wine Making. 4th ed. p.97, AVI Publishing Company, Inc. Westport, Connecticut (1980).
 17. Singleton, V. L. and E. K. Trousdale, Anthocyanin-tannin interactions explaining differences in polymeric phenols between white and red wines. *Am. J. Enol. Vitic.* 43: 63-69 (1992).
 18. Yokotsuka, K. and V. L. Singleton, Disappearance of anthocyanins as grape juice is prepared and oxidized with PPO and PPO substrates. *Am. J. Enol. Vitic.* 48: 13-25 (1997).
 19. Yokotsuka, K., S. Makino, and V. L. Singleton, Polyphenol oxidase from grapes: Precipitation, re-solubilization and characterization. *Am. J. Enol. Vitic.* 39: 293-302 (1988).
 20. Yokotsuka, K., T. Shimizu, and T. Shimizu, Polyphenoloxidase from six mature grape varieties and their activities towards various phenols. *J. Ferment. Bioeng.* 71: 156-162 (1991).