

甲州ブドウの持つ香りのポテンシャルを引き出すワイン醸造

小林 弘憲

ワインに関する香り研究の伸展

ワインにおける香りは、色調、味、余韻などと共にワインを評価する重要なファクターである。それらワインの香り（フレーバー、アロマ、ブーケ）は、ブドウ品種、栽培・醸造方法、ワインの育成・熟成期間およびワインメーカーの思想・哲学などにより形成され、植物、野菜、果物、動物などを由来とするさまざまな言葉で形容される。また、ワインのテイasting会などでは、使用されるブドウ品種ごとに異なるワインの特徴を見いだすことも1つの醍醐味とされる。これは、ワイン醸造用品種の多くが、ブドウ果汁の段階ではなんら香りを持たず、ワイン醸造過程を経ることでそれぞれのブドウ品種に対応した特徴的な香りを獲得するためであると考えられている。近年、分析機器の進歩と共に、個々のブドウ品種が持つそれら香りの特徴を物質レベルで解明しようとする研究が盛んに行われ、たとえばソーヴィニヨン・ブラ

ンワインからは、品種特徴香を担うであろう特徴的なチオール化合物が数種類同定された¹⁾。中でも、グレープフルーツ、パッションフルーツ様の香気を持つとされる3-メルカプトヘキサノール（3MH）の生成は、その前駆体を担うシステイン抱合体（S-3-(hexan-1-ol)-L-cysteine, 3MH-S-cys)²⁾およびグルタチオン抱合体（S-3-(hexan-1-ol)-L-glutathione, 3MH-S-glut)³⁾の果汁中からの同定によりその発現メカニズムの提唱へと至った（図1）⁴⁾。これら知見は、ブドウ品種ごとの特徴を捉え、ターゲットコンパウンドに合わせたブドウ栽培およびワイン醸造を行うことで、一定の範囲において香りをコントロールする可能性を示唆していると考えられる。本稿では、甲州ブドウを例として、甲州ブドウの持つ特徴を捉え、香りのポテンシャルを最大限に引き出すための栽培および醸造を検討し、得られたいくつかの知見に関するまとめを報告する。

甲州ブドウ

甲州‘*Vitis vinifera* cv. Koshu’は、遙か1000年ものその昔、シルクロードを渡り日本の地に根付いたとされる日本固有のブドウ品種である（図2）。ブドウの成熟に伴い、果皮が薄い紫色を呈することから白ブドウと黒ブドウの中間としてグリ（Gri、フランス語で灰色という意味）ブドウと呼ばれ、独特の収斂味を有することが知られている。また、他の欧州系醸造用ブドウ品種（例；シャル

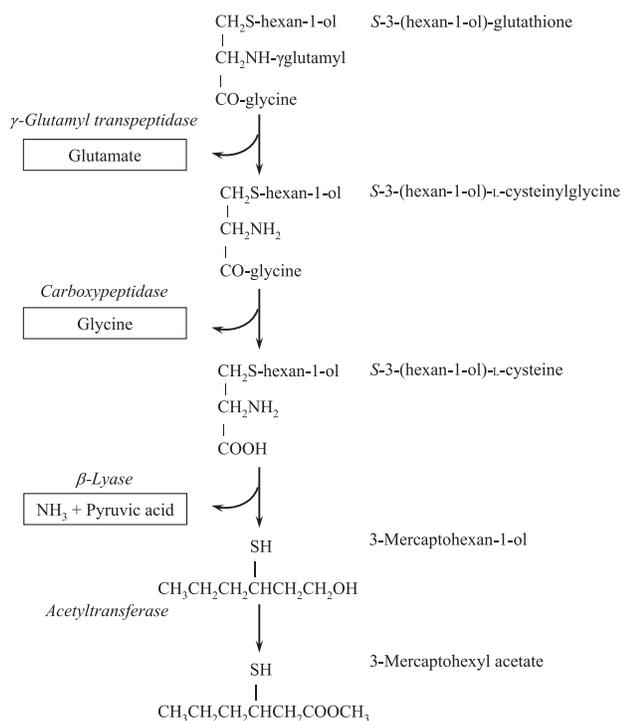


図1. 現在提唱されている3MH生成経路



図2. 紫色の果皮を有する日本固有のブドウ品種‘甲州’

ドネ、メルロー)と比較して果粒が2倍以上大きくなる。現状、おもに棚式での栽培がなされ、全国生産量の約90%が山梨県で栽培されている。生食および醸造用ブドウとして日本古来の伝統的な地位を確保しながらも生食用に関しては人々の嗜好の変化にあわせた新しい交配種の創出により、またワイン醸造用に関しては欧州系醸造用ブドウ品種から得られるワインや輸入ワインの影響により、今日その栽培面積および生産量の減少という問題にも直面している。これらのことから、甲州ブドウの特徴を今まで以上に引き出す栽培方法および醸造方法の確立は急務といえる。

甲州ワインからの香り探索

甲州ワインからさまざまな香気成分抽出法(抽出溶媒の種類変更, 極性の違いを利用したアロマの分画および特定化合物に焦点を当てた選択抽出方法など)を用いて香気成分を抽出し、匂いかぎ(gas chromatography-olfactometry, GC-O)分析および質量分析器(gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS)による解析を行った結果、以前より多数報告のある脂肪酸エステル類のほかに、正に貢献すると考えられる香気成分としてβ-ダマセノンおよび3MHの存在を日本ワインとして甲州ワインから初めて見いだした(表1)^{5,6)}。同時に揮発性フェノール化合物である4-ヴィニルフェノール(4VP)⁷⁾および2-メトキシ-4-ヴィニルフェノール(=4-ヴィニルグアイヤコール, 4VG)⁷⁾の影響も明らかとなった(表1)⁸⁾。特に、薬品臭、フェノール臭の印象を持つ4VPの濃度は、その閾値を考慮すると非常に高濃度であり、結果、甲州ワインに含まれるいくつかのアロマは、4VPなどによる香りのマスキング作用により醸造されたワインにまで十分に反映されていないことが示唆された⁸⁾。同時に、アップルコンポート(リンゴのシロップ漬け)、ブルカリアンローズなどのニュアンスを持つβ-ダマセノンおよびグレープフルーツなどの柑橘系アロマとして認識される3MHの存在は、甲州ワインに秘められた新たな香りの可能性も我々に与えてくれた。

表1. 甲州ワインから見出された香り

物質名	閾値(水溶液中)	香りの印象
3MH	60 ng/l	グレープフルーツ
β-ダマセノン	50 ng/l	アップルコンポート
4VP	85 μg/l	薬品臭
4VG	32 μg/l	燻製香

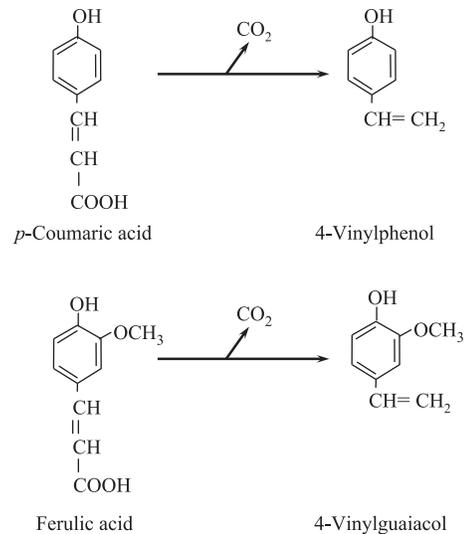


図3. 揮発性フェノール化合物の生成経路

新しい甲州ワイン醸造への展開

ワインに含まれる香りをコントロールする機会として、栽培時、醸造時、育成・熟成時などが挙げられる。GC-O分析およびGC-MS解析により得られた甲州ワインにとって正および負に関与すると考えられるこれら香気成分に焦点を当て、それぞれの物質にあわせた個々の取り組みを開始した。

香りの抑制 フェノール臭発生の要因は、ワイン中における4VPの含有量のみならず4VPおよび4VGの存在比も問題となる⁷⁾。また、それら揮発性フェノールはp-クマル酸およびフェルラ酸をそれぞれの前駆物質として酵母のphenyl acrylic acid decarboxylase (PAD)により生成される(図3)⁹⁾ことから、ワインにおけるそれら化合物の生成量は、ブドウの性質、発酵条件に大きく依存する。事実、甲州ブドウ果皮はその成熟に伴い紫色へと着色することから、他の白ワイン用醸造品種に比べ、トータルフェノールを多く含むと共にp-クマル酸およびフェルラ酸量も多く、それら化合物の生合成遺伝子の発現量も高い¹⁰⁾。よって、収穫時期が遅いブドウから得られるワインほど4VPおよび4VGの生成量も増加する傾向にあり(図4)、従来の一般的な甲州ブドウの収穫時期(10月中旬)を考慮すると、フェノール臭の指摘が少なくなかったことも頷ける。他方、PDA活性の低い(polyphenol off flavor negative, POF-)酵母の利用は、他のワインでの既知報告⁷⁾同様、いずれの生育時期のブドウを用いても低い揮発性フェノール生成量を示した(図4)。これらの結果は、栽培および醸造の両面から甲

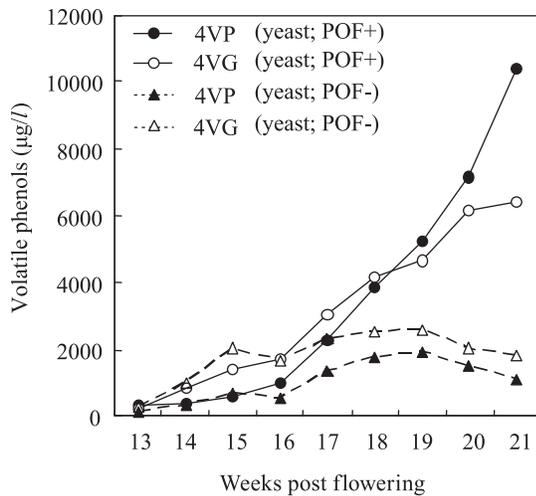


図4. 異なる生育ステージの甲州ブドウを用いた揮発性フェノール生成量の違い

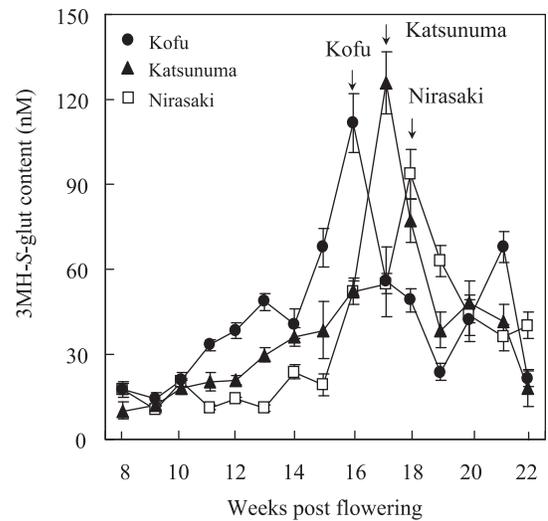


図6. 甲州ブドウ果汁に含まれる前駆体3MH（グルタチオン抱合体）の挙動

州ワインにおける揮発性フェノール濃度をコントロールすることにより今まで以上にクリーンな甲州ワイン醸造の可能性を示唆した。

香りの増強 β-ダマセノン⁵⁾は、カロテノイド骨格を持つキサントフィル類のネオキササンチンを起点とし、酸化開裂、酵素修飾、酸加水分解などの多くの化学反応を経て生合成され¹¹⁾、ワイン中では、甘く優美な香りとして貢献している¹²⁾。これら知見を基に甲州ブドウにおけるβ-ダマセノンの局在およびその発現に関する諸条件を検討した結果、果皮に多く含まれる（図5）とともにpH、温度、酸素などがそのリリースに重要なファクターであった⁵⁾。そこで、果皮を有効利用することを目的に、ブドウをすぐに圧搾せず、果皮と果汁とを一定期間浸漬することで果皮に含まれる成分を果汁中に移行させるス

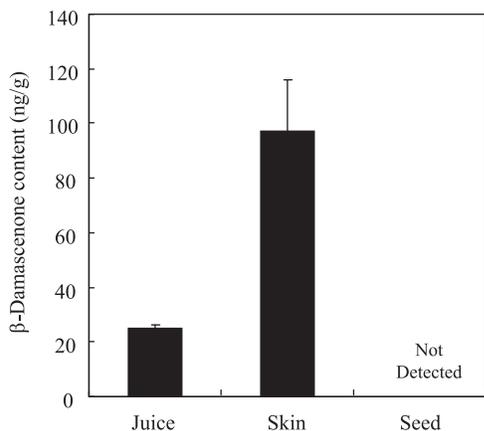


図5. 甲州ブドウ各器官におけるβ-ダマセノンの局在

キンコンタクト法を積極的に取り入れた。またβ-ダマセノン前駆体からの変換効率を向上させる酸素および温度の影響も考慮し、果汁搾汁時における適度な酸素との接触および果汁の澄清化からアルコール発酵期間を通じた温度の調節を施すことで香りの増強を図った。これらさまざまな醸造方法の組み合わせは、甲州ブドウから新たな香りの側面を引き出すことのできた一例である。

また、柑橘系のアロマである3MHに焦点を当てた取り組みでは、まず、重金属類と結合しその特徴的な香りを消失してしまうチオール化合物の特徴からブドウ防除剤として用いるボルドー液（硫酸銅と石灰の混合液）の使用回数および使用タイミングに関し、収穫時期までできるだけ残存しないよう再検討した。また、甲州ブドウ果汁に含まれる前駆体3MH量の挙動を山梨県内における甲州ブドウ主要栽培地（甲府地区、測定した畑の標高273 m、勝沼地区、測定した畑の標高396 m、韮崎地区、測定した畑の標高540 m）ごとに調べた結果、各栽培地においてそのピークとなる時期が異なり（図6）¹³⁾、ブドウ成熟ステージと深い関係を示した。つまり、標高が高く、ブドウの成熟ステージが遅い栽培地ほど開花から前駆体3MHのピークを迎えるまでの時間を要し、一方、標高が低くブドウの成熟ステージが早い地域ほど短時間でそのピークに達した。これら結果を受け、栽培地ごとに最大のポイントでの収穫を目指した（年次でもその頂点をとる時期は異なるため、毎年測定およびピークにあわせた収穫が望ましい）。また、ブドウに含まれる前駆体3MH含有量のみならず、酵母のβ-リアーゼ様酵素活性の違いも考慮し、甲州果汁を用いた小規模発酵試験

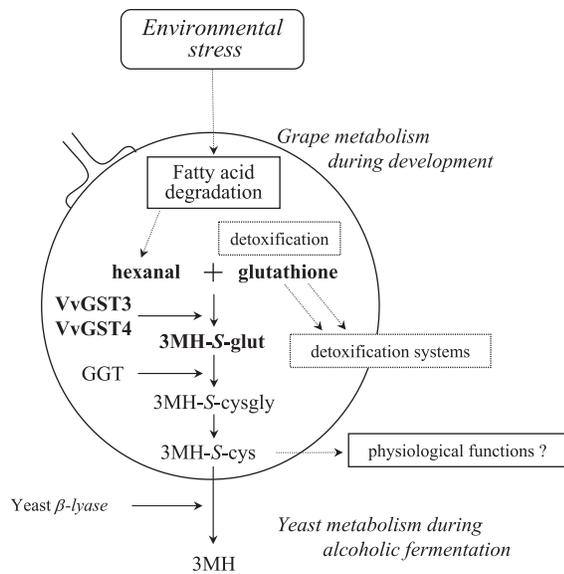


図7. ブドウ果粒における前駆体3MH合成経路の仮説

から変換効率の高い酵母をアルコール発酵において使用した。さらには、酸素の介在が3MHのリベレーションを妨げることから果汁の搾汁時から不活性ガスの利用などにより酸化防止に努めた。このような栽培および醸造に関する細やかな取り組みにより甲州ワインでは今まで表現されることの少なかった柑橘様のアロマを引き出すに至った。

以上、香りの探索から得られたさまざまな香りに焦点を当て、目的とする物質に合わせたブドウ収穫時期の再考、ブドウ各部位の有効利用法の検討、酵母ごとの酵素活性の違いを活かしたワイン醸造および温度コントロールは、さまざまなスタイルの甲州ワインを創造する可能性を示した。今回得られた甲州ブドウおよびワインからのメッセージは、今まで表現することができなかった甲州ワインの多面性をフレーバーバイオケミストリーや植物生理学といった視点からのアプローチにより得られた一例である。

現在の取り組みと将来への展望

貴腐ワイン（貴腐菌、*Botrytis cinerea*に感染されたブドウから得られるワイン）に含まれる3MH含有量は、通常のワインと比較して著しく高い¹⁴⁾ことから、*Botrytis cinerea*などの感染刺激により前駆体3MH量も増加する

と考えられている^{15,16)}。筆者らは、低温、高温、紫外線などさまざまなエリシター処理を環境ストレスのモデルとしてブドウに付加した結果、前駆体3MH量が増加するとともに、ブドウ内におけるそれら合成に関与すると考えられる酵素類（グルタチオンS-トランスフェラーゼなど）の活性も増強されることを示し¹⁷⁾、3MH合成メカニズムの仮説を提唱した(図7)。現在、香りや味に関与するブドウ果実成分に及ぼすブドウ生育環境の影響について盛んに研究が行われている。今後、それぞれのブドウ品種が持つ香りの特徴と環境要因との関連性がさらに見いだされることで、ワインの世界で広く用いられている‘テロワール＝ブドウ栽培地（産地）が形成するブドウおよびワインの特徴’の概念が、科学的に解明されることを期待する。

本研究は、旧ボルドー大学醸造学部（現 Institut des Sciences de la Vigne et du Vin, ISVV）デュブルデュー研究室・故富永敬俊博士および山梨大学ワイン科学研究センター・鈴木俊二准教授との共同研究で行われたものである。ここに厚く感謝の意を申し上げます。

文 献

- 1) Tominaga, T. *et al.*: *Flavour Fragrance J.*, **13**, 159 (1998).
- 2) Tominaga, T. *et al.*: *J. Agric. Food Chem.*, **46**, 5215 (1998).
- 3) Peyrot, de Gachons, C. *et al.*: *J. Agric. Food Chem.*, **50**, 4076 (2002).
- 4) Dubourdieu, D. and Tominaga, T.: *Wine Chemistry and Biochemistry*, Springer Science + Business Media, p275 (2009).
- 5) Kobayashi, H. *et al.*: *J. ASEV. Jpn.*, **18**, 22 (2007).
- 6) Kobayashi, H. *et al.*: *J. ASEV Jpn.*, **15**, 109 (2004).
- 7) Chatonnet, P. *et al.*: *J. Sci. Food Agric.*, **62**, 191 (1993).
- 8) Kobayashi, H. *et al.*: *J. ASEV. Jpn.*, **17**, 75 (2006).
- 9) Smit, A. *et al.*: *J. Agric. Food Chem.*, **51**, 4909 (2003).
- 10) Kobayashi, H. *et al.*: *Plant Biotechnol. Rep.*, **5**, 79 (2011).
- 11) Skouroumounis, G. K. and Sefton, M. A.: *Carotenoid-Derived Aroma Compounds*, The American Chemical Society, p241 (2001).
- 12) Kotseridis, Y. and Baumes, R.: *J. Agric. Food Chem.*, **48**, 400 (2000).
- 13) Kobayashi, H. *et al.*: *Am. J. Enol. Vitic.*, **61**, 176 (2010).
- 14) Sarrazin, E. *et al.*: *J. Agric. Food Chem.*, **55**, 1437 (2007).
- 15) Thibon, C. *et al.*: *Food Chem.*, **114**, 1359 (2009).
- 16) Thibon, C. *et al.*: *J. Agric. Food Chem.*, **59**, 1344 (2011).
- 17) Kobayashi, H. *et al.*: *J. Exp. Bot.*, **62**, 1325 (2011).