ワインのメトキシピラジン化合物

ワインでは、ブドウの品種、生産地域や気象条件さらには収穫時期などが重要視されている。

メトキシピラジン化合物は、これまでカベルネ・ソービニオン種の特徴的な香り成分と報告されているが、検出及び定量が困難な化合物であった。

本稿では、ブドウ及びワインにおけるメトキシピラジン化合物の挙動について解説していただきたい。今後、日本におけるブドウの栽培、さらにはワイン醸造への進展が期待される。

橋 爪 克 己

はじめに

ワインでは、ブドウの品種、生産地域や気象条件、収穫時期などブドウ果実の履歴を反映した特性が重視される。これらの品質特性には香氣成分が深く関与しているため、ブドウの品種特徴香成分を明らかにすることやブドウ栽培、ワイン醸造における香氣成分の挙動、役割などを明らかにすることは、ブドウ栽培・ワイン醸造学における古くからの重要な研究課題である。米国系ブドウに多く含まれるメチルアンスラニレート、マスカット系ブドウに多く含まれるモノテルペンアルコール類等が種又は品種の特徴香成分としてよく知られているが、ブドウの品種とその特徴香が解明されている例は必ずしも多くはない。2-メトキシ-3-イソブチルピラジンは、ボルドーはじめ世界的に重要な赤ワイン用品種であるカベルネ・ソービニオンの品種特徴香成分として1975年に報告¹⁾されて以来の注目成分である。

ブドウは、品種の商業的寿命が短い穀類などと異なり、欧州において何百年単位の歴史をもつ品種が商業的に連綿と栽培されてきている。アメリカやオーストラリアなどの新大陸においてもこれら欧州の伝統品種が重用されており、ワイン用ブドウに関しては欧州の伝統品種が世界的に優位を占めている²⁾。我が国においても欧州系専用品種の栽培面積が着実に増加しているが、そのような中で、気象条件は、ブドウ栽培にと

って避けて通れない問題である。1993年は記録的な大冷害の年であったが、この年、醸造試験所で造ったカベルネ・ソービニオン種の赤ワインは、色の薄さや味わいの乏しさだけでなく植物を想起させる特異臭が際だって強く、その品質は優れなかった。この特異臭に着目して市販ワインを見ると特定のブドウ品種に強く感じられるものがあり、これがワインの品質に大きく影響を及ぼしていることが伺われた。その後、文献等からこの特異臭は2-メトキシ-3-アルキルピラジン(MP)に由来する可能性が高いこと、オーストラリアでこの化合物が注目され先進的な研究が行われていることを知った。我が国もまた新大陸と同様、欧州とは異なる条件の下でブドウ栽培に取り組んでいるが、国産のブドウとワインのMPに関する知見はなく、MPの定量が困難であったため世界的に見てもあまり研究が進んでおらず検討に着手した。本稿では、これまでの知見と我々が行った検討結果をとりまとめて解説したい。

MP と ワイン

一般にピラジン環に簡単な置換基のついた化合物は独特の香氣(臭気)を持つものが多く、加熱処理や発酵により生成する食品フレーバー等として我々の身近に存在している。これはα-アルキルピラジンが多く、一般的に閾値はppmオーダーと高い。これに対し、植物に見られるメトキシ基とイソブチル、イソプロピル

第1図 2-メトキシ-3-アルキルピラジン化合物の化学構造

又は sec-ブチル基を持つ 2-メトキシ-3-アルキルピラジン (MP) (第1図) は、土や青い植物を思わせる臭気を発し、ピーマン、レタス、グリンピース、ジャガイモなど栽培野菜の臭気特性に重要な役割を果たしている^{3,4)}。これら MP は、閾値が極めて低く^{5,6)}、食物の香気成分としては最も低い値を示すものの一つである (第1表)。ワインでは、herbaceous/vegetative (ハーブ様の/植物的な) などと表現され、強い場合にはピーマンのように感じられる。ワイン中の MP の閾値は、水溶液と同程度に低い⁷⁾。

ブドウとワインの MP はレベルが低く、検出、定量が困難であったため⁸⁾、定量的なデータを伴った研究はあまり進まなかった。1980 年代後半にオーストラリアの Allen らが、同位体でラベルした内部標準と GC-CIMS (アンモニアガスイオン化法) を用いる定量法⁹⁾を開発し、彼らによって本格的な研究が始められた。彼らの方法は選択性、感度ともに優れているが内部標準や使用機器が一般的でないため、我々は、彼らの方法を参考に検討し、入手の容易なアルキルピラジンを内部標準とし、汎用的な GC-EIMS (電子イオン化法)、SIM (シングルイオンモニタリング) 法を用いる定量法を採用した¹⁰⁾。その後、改変を加えたこの方法は 50~100 mL の試料で閾値を十分に下回るレベルの

MP を定量することができる。感度と選択性は低いが前処理の簡便な GC-EIMS を用いるワイン中のイソブチル MP 定量法が、最近報告されている¹¹⁾。

ブドウの MP の変動要因

a ブドウ品種

イソブチル MP が、最初にかベルネ・ソービニオン種の果実から¹⁾、続いてソービニオン・ブラン種の果実とワインから検出された^{9,12,13)} こともあり、MP はこれらの品種特徴香成分と考えられてきた¹⁴⁾。しかしながら、その後、その他のボルドー品種 (セミヨン、メルロー、カベルネ・フラン) の果実やワインにも同レベルのイソブチル MP が存在する^{10,15)} こと、また、シャルドネ種やリースリング種の果実にも未熟な時期には高いレベルの MP が存在する¹⁶⁾ ことが判明し、ボルドー品種だけが MP を果実に蓄積するのではないことも明らかになった (第2図)。シャルドネやリースリング種の場合は、果実が成熟し収穫される時には果汁中の MP レベルは十分に低下しており官能的な寄与は無視できる。一方、我が国の赤ワイン用品種マスカット・ベリー A やブルゴーニュの赤ワイン用品種のピノ・ノワールは果実が未熟な時期でも MP はほとんど検出されない¹⁶⁾。ピノ・ノワール種は、果実に MP が検出されないにもかかわらず果梗にはボルドー品種より高いレベルの MP が含まれており¹⁷⁾ 大変興味深い。これらの結果から、ブドウ植物体における MP の蓄積レベルや集積部位がブドウの品種と深く関わっていることは間違いない。

一般的に品種特徴香という用語はワインにとって良

第1表 ピラジン化合物の官能特性

化合物名	閾 値	香気の特徴
アルキルピラジン	水溶液	
アルコキシピラジン	0.5~100 (mg/L)	
2-メトキシ-3-イソブチル	0.002 (μg/L)	ピーマン
2-メトキシ-3-イソプロピル	0.002	ピーマン・生ジャガイモ
2-メトキシ-3-ヘキシル	0.001	ピーマン
2-メトキシ-3-エチル	0.425	生ジャガイモ
2-メトキシ	700	特徴なし
	空気中	
2-メトキシ-3-イソブチル	0.42 (ng/L air)	
2-メトキシ-3-イソプロピル	0.047

第2図 ブドウ果実のMP含有量

い意味を伴って使われる。MPは、その香りが調和していると特定の品種群を印象付ける良い効果が期待されるが、一方、高濃度に含まれると植物的な臭気が強まり必ずしも良い特性ではなくなる。つまり、MPは濃度に依存してワインの品種に対して相反する二面性を示す。これまでの検討結果から特徴香として官能的に許容されるMPの濃度範囲は狭いことが知られている。オーストラリアのAllenは、フランスの代表的なワインの分析結果などを基に、イソブチルMPの適切な範囲をソービニオン・ブランの白ワインで8~20 ng/L、カベルネ・ソービニオンの赤ワインで7~15 ng/Lとしている⁷⁾。また、MPを高レベルに含むブドウ品種があまり栽培されていないドイツのRappは、白ワインにとってMPはそもそもオフ・フレーバーと断定している¹⁸⁾。近年、フランスのグループが、ソービニオン・ブラン種を代表する白ワインの香気成分は4-メルカプト-4-メチルペンタン-2-オンであってMPは必ずしもこれに当たらないとしており¹⁹⁾注目される。

b 気象及び栽培条件

ブドウ果実のMPレベルの第1次的な変動要因はブドウ品種である。しかしながら、ブドウ果実のMP

レベルには栽培における二次的な要因も重要な影響を及ぼす。第2図からブドウの成熟に伴って果実のMPレベルが低下することは明らかであるが、オーストラリアでは、ソービニオン・ブラン種及びカベルネ・ソービニオン種果実のMPレベルは温暖な地域と比較して冷涼な地域で遅く低下することが報告されている^{13,20)}。当所で過去20年間に山梨県産カベルネ・ソービニオン種から醸造された全ての赤ワインにイソブチルMPが検出されたが、そのレベルは年毎に大きく変動していた¹⁰⁾。1989~1994年の6年間について見ると、MP濃度と原料果実の成熟度の指標、収穫前の日照時間、平均気温との間に比較的高い相関が認められ、果実が良く熟すとイソブチルMPレベルが低下することが推定された(第2表)。平均気温についてオーストラリアの報告と同様の傾向が見られたのであるが、6年間で最も冷涼であった1993年でもオーストラリアの冷涼地域のブドウ成熟期の平均気温と比較して、山梨県甲府市のそれは明らかに高く、また、平均気温と日照時間の間には相関関係は見られず互いに独立していた。このことから、ブドウの成熟期が比較的温暖な山梨県では、気温もさることながら、日照がより重

第2表 カベルネ・ソービニヨン赤ワインのイソブチル MP 濃度と
ブドウの成熟指標及び気象条件

年度	収穫月日	イソブチル MP (ng/L ワイン)	ブドウの果汁成分			9月の気象条件	
			Brix (度)	pH	滴定酸度 (g/L)	平均気温 (°C)	日照時間 (時間)
1989	10月18日	16.7	17.2	3.6	6.4	23.5	122.1
1990	10月11日	4.0	18.2	4.0	4.1	23.3	161.2
1991	9月29日	10.5	17.8	3.7	7.3	23.2	122.0
1992	10月6日	7.7	17.1	3.3	9.4	22.6	186.8
1993	10月4日	35.4	16.1	3.3	11.3	21.7	108.8
1994	10月3日	3.4	18.6	3.8	5.4	23.6	151.6
MP 濃度との相関係数			-0.892	-0.767	0.650	-0.789	-0.716

(注) 平均気温と日照時間との間の相関係数は 0.216

第3図 生育段階の異なるカベルネ・ソービニヨン果実の MP 含有量に及ぼす光照射の影響
(○) 照射 (■) 暗処理対照, データは 3 回の平均値と標準偏差

第4図 飽和 CaCl_2 溶液で処理した開花後30日のカベルネ・ソービニオン果実のMP含有量に対する光照射の影響
(□) イソブチルMP光処理, (◆) イソブチルMP暗処理, (△) イソプロピルMP光処理, (■) イソプロピルMP暗処理値は3回の平均値

要な役割を果たしていると考えられた。

同一ブドウ樹のカベルネ・ソービニオン果実のMP

レベルが果房の日当たり(照度)に依存して変動すること¹⁵⁾や水溶液中のMPが光で減少すること⁸⁾が既に報告されていたが,ブドウ果実のMPレベルの変動要因をさらに詳細に検討するため,果房からブドウ果粒を切り放し同一の温度条件下で光(自然光の1/10以下の微弱な光)照射実験を行った。この結果,生の無傷な未熟果実(開花後約30日)では光によってMPレベルが上昇し,成熟が進むと(開花後約50日及び70日)同じ光によってMPレベルは減少した(第3図)。これに対して飽和 CaCl_2 水溶液に浸した未熟果実(開花後約30日:MP生合成が阻害されていると推定。)は同じ光照射によってMPレベルは指数的に低下した¹⁶⁾(第4図)。これらの実験結果から,ブドウ果実ではMPの生成と光分解が同時に進行し,ブドウ果実が未熟な時期は果実のMP生成能が強く,光の分解を上回るためMPレベルが上昇し,成熟が進むとブドウ果実のMP生成能が低下し光による分解が上回りMPレベルが低下するものと推定された。これまでの知見から推定されるブドウ果実のMPレベルの変動要因を取りまとめたのが第5図である。品種,光とともにブドウ果実のMP生成能が重要なポイントと考えられる。土壌の水分が多い場合やブドウ樹が若い場合には果実に植物臭が残しやすいことが経験的に知

第5図 ブドウ果実のMPレベルの変動要因

第3表 ブドウ果梗の破砕物抽出液から AEDA によって検出された
青い臭気成分の同定結果

化 合 物	Retention Index		臭いの性質
	DB-WAX	Ultra 1	
n-ヘキサナール	1099	800	グリーン
(E)-2-ヘキセナール	1200	844	グリーン
(Z)-1,5-オクタジエン-3-オン	1346	963	ゼラニウム様, 金気様グリーン
2-メトキシ-3-イソプロピル MP	1394	1092	草, 土
Unknown	1484	—	キュウリ様
2-メトキシ-3-イソブチル MP	1500	1211	ハーブ様, 土
(E, Z)-2,6-ノナジエナール	1561	1150	キュウリ様
n-ドデカナール	1737	1402	柑橘類の皮様

flavour dilution factor が4以上のものを同定した。

られている²¹⁾。気温が冷涼な場合を含めて、このような条件の下では植物の活発な栄養生長が遅くまで続き、それに伴って MP の生成能力も遅くまで高く維持され、MP レベルの低減が遅くなると推定される。生体における MP 生成機構の詳細は明らかではないが、植物によく見られる MP のアルキル鎖側の化学構造がバリン、イソロイシン、ロイシンの3種類のアミノ酸の炭素骨格と共通であることから、これらのアミノ酸の代謝に何らかの関係があるものと推定される。ブドウの着色、成熟を促すため、成熟期に入った果房の周囲の葉を取り除き果房への日照量を増す除葉操作が冷涼地域などで行われている。この操作は果実の植物臭の低減にも有効であることが報告されているが²²⁾、これには日光による MP の直接的な分解が寄与しているものと考えられる。

果房に届く光の量は、マクロな気象要因だけでなく、ブドウ樹の管理という人為的な要素にも依存するため、良好に成熟した果実を収穫するためには地域に適した品種、栽培管理法が必要である。我が国は南北に長く寒冷な地域から暖地まで気象条件には大きな差があるが、山梨県はボルドー品種の原栽培地と比較してブドウ成熟期の平均気温は明らかに高くまた日照時間は短い。このことから推測すると、我が国でボルドー品種が栽培されている大部分の地域では、1993 年のような気象は例外的であり、日照の条件が十分であれば、MP は通常の収穫期には官能的に問題のないレベルに低下していると考えられる。しかしながら、緯度や高度の高い冷涼な地域で果房への日照が不足したり、未熟なブドウをやむを得ず収穫した場合などには、MP レベ

ルが高すぎ、ワインの品質を損なうことが十分に起こり得ると考えられる。

醸造工程と MP

通常の熟度で収穫されたカベルネ・ソービニオン種果房の部位ごとの MP レベルを調べたところ、それまで報告されていた果汁だけでなく、果皮と果梗に高いレベルの MP が含まれていた¹⁰⁾。これら果房中の MP の不均一な分布は、原料処理工程における果梗の混入や果皮の醸しの有無によって、上乘せされる MP があることを示している。果汁を発酵する白ワインと比較して果実全体を醸す赤ワインの場合には醸造工程の影響をより強く受けると考えられる。実際、搾汁率を上げると果皮などから MP の溶出が増しワインの MP レベルが上昇する¹¹⁾。

a 果梗臭と MP

赤ワインの果もろみに果梗が添加されたり混入した場合、ワインに特異臭が付く。これは果梗臭と呼ばれ、Stemmy flavor²³⁾を構成する臭気と考えられる。ブドウ葉の破砕物やマストの青い臭気成分は古くから研究されているが^{24,25,26)}、そこに報告されている成分は、植物のみどりの香気成分として一般的に良く知られている C6, C9 のアルデヒド及びアルコール²⁷⁾が大部分である。先に述べたとおり、果梗にはイソブチル及びイソプロピル MP が高レベルに含まれており、これらの官能的特性と果梗臭の類似性から MP の寄与が想定された。生果梗の磨砕液からジクロロメタンで抽出・濃縮した香気成分について Aroma Extract Dilution Analysis (AEDA: GC-臭い嗅ぎ法を発展させた

第6図 ブドウ果実の葉とMP含有量

香氣成分分析法で個別成分の官能的な寄与の大きさを推定できる。)と成分同定を行ったところ、C8ケトン、C6アルデヒド、C9アルデヒドといった不飽和脂肪酸の酸化分解物とともにイソプロピル及びイソブチルMPが官能的な寄与が大きい成分として検出された(第3表)。それらの成分のうちMP以外は醸し中に官能的に無視できるレベル以下に急速に減少したが、MPは減少することなくワインに移行し、官能的な寄与が推定されるレベルで検出された。また、果梗のMP濃度は葉や果汁などと比較して顕著に高い(第6図)ことから、これらMPが果梗に由来するワインの特異臭の有力な原因物質と推定された¹⁷⁾。特にイソプロピルMPは、果梗以外の部位ではほとんど検出されず、空気中の閾値がイソブチルMPよりさらに1オーダー低い⁶⁾ため寄与が大きいと考えられる。

b 蒸きょう処理果梗の利用とMP

ピノ・ノワールのようなポリフェノールが欠乏しがちなブドウから赤ワインを醸造する場合に、果梗を意図的に果もろみに添加する醸造法がある。この操作はワインのボディを増すが、反面、特異臭味が付き、ワインの赤色が顕著に減少する欠点があり²⁸⁾、一般的には採用されない。果梗中のMPは揮発性であるところから、除梗操作をおこなって果実と分離した後に、果梗の加熱処理によってこの特異臭の除去を行い利用することが可能か検討した。その結果、蒸きょう処理は果梗のMPの低減に有効であり、常圧約60分の処理で95%以上のMPを除くことができた。同時に、果梗の蒸きょう処理はフラボノイドの溶出を容易化し、生の果梗を果もろみに添加した場合に見られる赤ワインの赤色の減少を緩和する効果も認められた²⁹⁾。カベルネ・ソービニオン種を用いて試験醸造をしたところ、蒸きょう処理した果梗を果もろみに添加して生成した

赤ワインは、果実のみ又は生果梗を添加したワインと比較して新酒時及び1年貯蔵後に官能的に優れた特性を示した。果梗から溶出したポリフェノールは、比較的小さい分子量のものが多く、果実のそれとはやや異なった官能特性を示すように思われた。ブドウ各部位のポリフェノールの組成、化学構造は部分的に解明されつつあるが³⁰⁾、果梗中のポリフェノールをより有効に利用するためには今後の検討も必要と思われる。

おわりに

MPは、低濃度ではワインの原料ブドウを特徴付ける香氣成分となり、高濃度ではブドウ果梗臭などのオフ・フレーバーとなる2面性を持つ香氣成分である。さらに、MPは、ブドウの収穫年の気象や栽培地域、栽培方法、収穫時期といった原料果実の履歴や、醸造過程における果梗の取扱などをワインに反映する指標的成分でもある。ワインにとって、MPレベルは、香氣(臭気)そのものだけでなく、それに連なる諸要因を総合的に表すものとして意識されるべき品質項目であると思われる。我が国では気象や栽培環境面の制約から欧州系ブドウの商業的栽培には常に困難が付きまとう。明治以来多くの先達を苦しめてきたこれら諸問題の解決は必ずしも容易なこととは思われない。しかしながら、ブドウの持つ潜在的な適応能力²⁾に加え、関係者の息の永い努力により、適切な品種の選択、栽培・管理が行われ、欧州系ブドウはゆっくりとした足どりながら我が国に根付きつつあるように思われる。今後は、単にブドウの品種だけではなく栽培地域などを反映したワインの品種特性にも感心が深まることが予想される。それとともにこの方面の研究と応用面の進展が期待される。

参考文献

- 1) C. Bayonove, R. Cordonnier and P. Dubois: C. R. Acad. Sci. Ser. D, **281**, 75 (1975).
- 2) M. G. Mullins, A. Bouquet and L. E. Williams: Biology of The Grapevine (Cambridge University Press, Cambridge), p.1 (1992).
- 3) K. E. Murray and F. B. Whitfield: J. Sci. Food. Agric., **26**, 973 (1975).

- 4) G. P. Rizzi : Food Review International, **4**, 375 (1988).
- 5) J. A. Maga and C. E. Sizer : J. Agric. Food. Chem., **21**, 22 (1973).
- 6) M. G. Chisholm, L. A. Guiher and S. M. Zaczek : Am. J. Enol. Vitic., **46**, 56 (1995).
- 7) M. S. Allen : Aust. Grapegrower Winemaker., **381**, 7 (1995).
- 8) H. Heymann, A. C. Noble and R. B. Boulton : J. Agric. Food Chem., **34**, 268 (1987).
- 9) R. L. N. Harris, M. J. Lacey, W. V. Brown and M. S. Allen : Vitis, **26**, 201 (1987).
- 10) K. Hashizume and N. Umeda : Biosci. Biotechnol. Biochem., **60**, 802 (1996).
- 11) Y. Kotseridis, A. Anocibar Belouqui, A. Bertrand and J. P. Doazan : Am. J. Enol. Vitic., **49**, 44 (1998).
- 12) O. P. H. Augustyn, A. Rapp and C. J. van Wyk : S. Afr. J. Enol. Vitic., **3**, 53 (1982).
- 13) M. J. Lacey, M. S. Allen, R. L. N. Harris and W. V. Brown : Am. J. Enol. Vitic., **42**, 103 (1991).
- 14) M. S. Allen, M. J. Lacey, R. L. N. Harris and W. V. Brown : Am. J. Enol. Vitic., **42**, 109 (1991).
- 15) M. S. Allen, M. J. Lacey and R. L. Harris : Wein-Wiss., **48**, 211 (1993).
- 16) K. Hashizume and T. Samuta : Am. J. Enol. Vitic., **50**, 194 (1999).
- 17) K. Hashizume, S. Kida and T. Samuta : J. Agric. Food Chem., **46**, 4382 (1998).
- 18) A. Rapp : Wine Analysis (Springer-Verlag, Berlin), p.29 (1988).
- 19) P. Darriet, T. Tominaga, V. Lavigne, J. N. Boidron and D. Dubourdieu : Flavour and Fragrance J., **10**, 385 (1995).
- 20) M. S. Allen, M. J. Lacey and S. Boyd : J. Agric. Food Chem., **42**, 1734 (1994).
- 21) D. I. Jackson and P. B. Lombard : Am. J. Enol. Vitic., **44**, 409 (1993).
- 22) R. A. Arnold and A. M. Bledsoe : Am. J. Enol. Vitic., **41**, 74 (1990).
- 23) R. B. Boulton, V. L. Singleton, L. F. Bisson and R. E. Kunkee : Principle and Practice of Winemaking (Chapman & Hall, New York), p.582 (1995).
- 24) H. L. Wildenrad, E. T. Christensen, B. Stackler, A. Caputi Jr., K. Slinkard and K. Scutt : Am. J. Enol. Vitic., **26**, 148 (1975).
- 25) W. S. Joslin and C. S. Ough : Am. J. Enol. Vitic., **29**, 11 (1978).
- 26) T. Herraiz, M. Herraiz, G. Reglero and P. J. Martin-Alvarez : J. Agric. Food Chem., **38**, 969 (1990).
- 27) 畑中顯和 : 農化, **67**, 1391 (1993).
- 28) R. B. Boulton, V. L. Singleton, L. F. Bisson and R. E. Kunkee : Principle and Practice of Winemaking (Chapman & Hall, New York), p.221 (1995).
- 29) K. Hashizume and T. Samuta : J. Agric. Food Chem., **45**, 1333 (1997).
- 30) J. M. Souquet, V. Cheynier, F. Brossaud and M. Moutounet : Phytochemistry, **43**, 509 (1996).