

国産ワインにおけるフェノール系オフフレーバー「フェノレ」について

誌名	日本醸造協会誌 = Journal of the Brewing Society of Japan
ISSN	09147314
著者名	恩田,匠
発行元	日本醸造協会
巻/号	108巻12号
巻号補足	
掲載ページ	p. 881-889
発行年月	2013年12月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター

Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



国産ワインにおけるフェノール系オフフレーバー「フェノレ」について

フェノレやブレットと呼ばれる赤ワインのフェノール性の異臭は、世界中のワインで深刻な問題となっている。これまで国内では十分な情報がなかったが、国産ワインのフェノレに取り組んでおられる著者に、国産ワインのフェノレの現状と予防について解説していただいた。

恩 田 匠

1. はじめに

ワインには多種多様な香り¹⁾が含まれる。このワインに含まれる香り物質は、(1) ブドウ果実に由来する第一アロマ、(2) 発酵に由来する第二アロマや、(3) 熟成によって豊かに発展するブーケの3つの大きなグループに分けられる。これら多種の香り物質の複雑な構成が、ワインの品質をほとんど決定すると言える。当然のことながら、健全で良好な香り物質が、好ましいバランスと濃度で含まれることが重要である。

しかしながら、醸造工程や貯蔵上の過誤により、ワインに好ましくない影響を与える、様々なオフフレーバー(欠陥臭、欠損臭)²⁾が付与されることがある。このオフフレーバーは、ワイン製品の品質低下や劣化の直接的な原因であることから、その発生防止がきわめて重要である。したがって、ワイン製造技術者には、まずはワインの品質を低下させる、多種のオフフレーバーの検知と特定ができること、さらにそのオフフレーバーの発生原因や発生機構を理解した上で、その未然の発生防止措置を講ずることができることが求められる。

本稿では、最近、赤ワインの品質劣化原因の一つとして注視されるようになっている「フェノレ(‘*phénolé*’)³⁻⁷⁾と通称される、フェノール系のオフフレーバーについて紹介する。

2. ワインのオフフレーバー

ワインの品質を低下させるオフフレーバーの発生原因やその起源は多様である。ワインのオフフレーバーは、(1) ブドウ果実の未熟さに由来するもの、(2) 酸化的劣化など発酵管理や貯蔵上の過失に起因するもの、(3) 微生物汚染によるもの、(4) コルクの欠陥によるもの、(5) 硫黄系物質に起因するものと還元臭、(5) 外的な要因によるもの、などに大別される。近年の分析機器の発達により、従来は不明であった様々な香り物質が同定、検出されるようになってきている。これらオフフレーバーは、低濃度で含まれるだけでも、ワインに本来含まれるアロマやブーケなどの良好な香りをマスキングする。その結果、ワインの品質が低下したり、ワインを楽しむ喜びが軽減されることになる。さらに、高濃度になると異臭としてとらえられ、商品価値を著しく下げることにつながる。

3. 「フェノレ」

「フェノレ(‘*phénolé*’)」という用語は、「フェノール系のオフフレーバー(phenolic off-flavor)」あるいは「揮発性フェノール(volatile phenol)」の慣用名である。フランス語の「フェノール性の～」という意味を示す形容詞にあたる。フランスのボルドー地方などでは、名詞としても慣用的に用いられているので、本稿でも「フェノレ」と記載する。

ワイン中に発生する「フェノレ」の本体は、(1) 4-

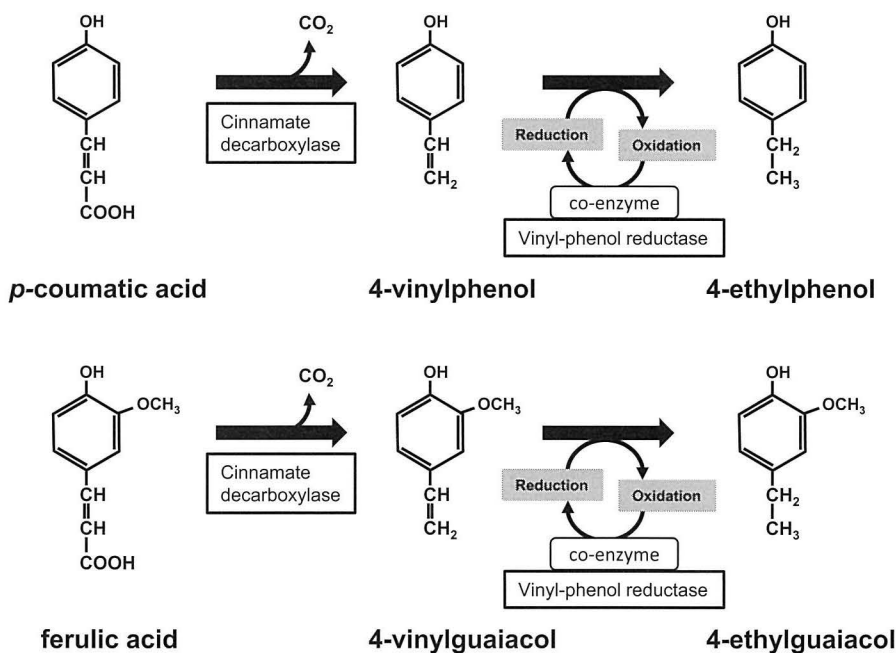
ヴィニルフエノール (4-vinylphenol) と (2) 4-ヴィニルグアイアコール (4-vinylguaiacol) のヴィニルフエノール類, (3) 4-エチルフエノール (4-ethylphenol) および (4) 4-エチルグアイアコール (4-ethylguaiacol) のエチルフエノール類を含む4種である。これらフェノレの化学式とその生成経路を第1図に示す。ワインのフェノレ類4種は、いずれもブドウ果汁中に含まれるケイ皮酸類, すなわち *p*-クマル酸 (4-ヒドロキシケイ皮酸) およびフェルラ酸 (3-メトキシ-4-ヒドロキシケイ皮酸) を前駆体として、微生物の2つの連続した酵素作用を受けることにより生成される。(前駆体のケイ皮酸類は無臭である。) このケイ皮酸類 (*p*-クマル酸 / フェルラ酸) から、ケイ皮酸脱炭酸酵素 (cinnamate decarboxylase) の作用により、ヴィニルフエノール類 (4-ヴィニルフエノール / 4-ヴィニルグアイアコール) が生成される。次に、ヴィニルフエノール類から、ヴィニルフエノール還元酵素

(vinylphenol reductase) の作用により、エチルフエノール類 (4-エチルフエノール / 4-エチルグアイアコール) が生成される。

4. 白ワインのフェノレ

本稿は赤ワインのフェノレを主題とするが、現状において、白ワインのフェノレと赤ワインのそれとを混同して議論することも多く見受けられる。そこで、赤ワインのフェノレの前に、白ワインのフェノレについても若干補足する。

白ワインには、前述した4種のフェノレ物質のうち、ヴィニルフエノール類の2種、すなわち4-ヴィニルフエノールおよび4-ヴィニルグアイアコールのみ^{3,8,9)}が様々な濃度で検出される。基本的に、白ワインにはエチルフエノール類は検出されない。これは、一般に白ワイン製造工程が赤ワインと比較して低温で管理されること、マロラクティック発酵を行わない場合には



第1図 フェノレとその生成経路

ワインにおけるフェノレの前駆体は、*p*-クマル酸とフェルラ酸である。

白ワインの場合、ワイン酵母のケイ皮酸脱炭酸酵素 (Cinnamate decarboxylase) により、ケイ皮酸類から、ヴィニルフエノール類 (4-ヴィニルフエノール / 4-ヴィニルグアイアコール) が生成される。

赤ワインの場合、ブレタノマイセス酵母の2つの酵素、すなわちケイ皮酸脱炭酸酵素とヴィニルフエノール還元酵素 (Vinyl-phenol reductase) により、ヴィニルフエノール類を中間体として、エチルフエノール類 (4-エチルフエノール / 4-エチルグアイアコール) が生成される。

アルコール発酵後すぐに亜硫酸が添加されること、特にその pH が低いこと、pH が低いと亜硫酸も有効に作用することなどから、後述する *Brettanomyces* 属酵母（エチルフェノール類生成菌）が増殖できないためである。著者らはまれに、エチルフェノール類が認められる国産白ワインを見いだすことがあるが、それらの pH は高い値（多くの場合 pH3.5 以上）を示すことを確認している。

このヴィニルフェノール類 2 種の官能的な特徴は、各種論文において、4-ヴィニルフェノールは「生ゴム」様、4-ヴィニルグアイアコールは「カーネーションの花」様の臭いと説明³⁾されている。その他、「薬品（消毒薬）」、「水彩絵の具」、「絆創膏（バンドエイド）」、「線香」、「紙（段ボール）」、「ほこりっぽい臭い」などのように表現されることが多い。これらの臭いが存在することで、白ワインの果実香などがマスキングされたり、強い薬品的な異臭の原因となる。

ヴィニルフェノール類生成の原因微生物は、ワイン醸造に用いられるワイン酵母 *Saccharomyces cerevisiae* そのものであり、ワイン酵母のもつ酵素作用により生成されることが分かっている。これは、多くの *S. cerevisiae* が、ケイ皮酸脱炭酸酵素（フェノール系オフフレーバー活性；*Pof*+) を保持しているためである。近年では、このヴィニルフェノール類がオフフレーバーであることが認識されたことから、ケイ皮酸脱炭酸酵素を保持しないワイン酵母の選抜が行われ、「フェノール系オフフレーバー・ネガティブ（*Pof*-）」を訴求した乾燥酵母が市販されるようになっていく。

山梨県の主要品種である甲州を用いて製造された白ワインには、このヴィニルフェノール類が比較的高い濃度で含まれることがいくつかの研究^{10,11)}から明らかになっている。したがって、甲州種白ワインにおいては、*Pof*- の酵母である、Zymaflore VL-1（Laffort 社製）、LS2（DSM 社製）、または 228（Lallemand 社製）などを用いて、フェノレフリーのワイン醸造を行うことが、高品質な製品製造につながるが実証¹²⁾されている。

5. 赤ワインのオフフレーバーとフェノレ

(1) 赤ワインのオフフレーバー

赤ワイン製造は、白ワインと比べてより煩雑な工程

を経て、製品化されるまでに長期間を要する。特に、果皮とともに発酵を行う「醸し発酵」工程や、アルコール発酵後の乳酸菌による「マロラクティック発酵」工程、さらに樽などを用いた「貯蔵・熟成」工程があり、瓶詰め後も長期保蔵される期間が長いことから、酸化や雑菌類の汚染などの劣化が生じる機会が多くなる。このことから、従来の国産赤ワインでは、産膜酵母や酢酸菌などの微生物汚染と酸化にともなう強いオフフレーバー、すなわち酢酸エチル、アセトアルデヒド、酢酸などが検出されることがしばしばあった。しかしながら、近年ではこれらの強いオフフレーバーが高濃度で検出されるような、著しく劣化したワインの頻度は少なくなってきた。一方で、近年、赤ワインのオフフレーバーとして、本稿の主題である「フェノレ（'phénol'）」³⁻⁷⁾が注目されるようになった。

(2) 赤ワインのフェノレ

赤ワインのフェノレの生成原因は、白ワインの場合と異なる。赤ワインのフェノレの本体は、4 種のフェノレ物質のうちの、4-エチルフェノールおよび 4-エチルグアイアコールである。官能的な特徴としては、4-エチルフェノールは、「馬小屋」や「汗臭い鞍」、4-エチルグアイアコールは、「スモーキー」あるいは「スパイシー」などと説明³⁾されている。その他、「動物」、「獣」、「生革」、「ぬれた犬」、「薬品」、「焼き畑」、「タバコ」あるいは「燻製」なども表現される。これらは、低濃度でもワインの良好な香りをマスキングし、高濃度になると強い異臭となる。

このエチルフェノール類は、1900 年初頭に、英国のストックビールにおける「ワイン様の香り（"vinous", wine-like flavor）」⁵⁾として認識されていたことが報告されている。このことは、当時のフランスワインには、一般的にフェノレが含まれていたことが推察される。英国の研究者により、ワインより早くその発生メカニズムについての研究⁵⁾が行われ、そのワイン様の香りを生成する微生物が、ビール酵母のアルコール発酵後に、二次発酵を行う酵母であることが判明した。この新種の酵母には、「英国の醸造工業（British brewing industry）」との密接な関係性から *Brettanomyces*（プレタノミセス）という属名が与えられた。この種のビールでは、ワインの高品質化のために、*Brettanomyces* 属酵母のスターターが用いられ、その利用技術が特許化されている。また、この *Brett*-

anomyces 属酵母の生成する香りを、「ブレット臭 (Brett flavor)」とも呼ぶようになった。

一方で、赤ワインにおけるフェノレは、特定のワイン産地やブドウ品種、特にフランス・ボルドー地方の赤ワインに特徴的・宿命的な香りと考えられ、必ずしもオフフレーバーとして認識されてこなかった経緯がある。また、しばしば樽を用いた貯蔵期間中に顕著に発生^{13,14)}したことから、樽熟成に関与する重要な香り成分の一つであると考えられることも多かった。このことから、カリフォルニアでは、フェノレの風味を高級感のあるワインのスタイルとしてとらえ、積極的な利用¹⁵⁾が試みられたこともあった。

近年になって Chatonnet らの研究により、赤ワインにおいても、フェノレが主に貯蔵熟成期間において、*Brettanomyces* 属酵母の汚染により生成されるエチルフェノール類であること、さらにこのフェノレがオフフレーバーであることが確認された。このエチルフェノール類は、古くは野生乳酸菌類により生成されると考えられていたこともあったが、一般的なワイン製造において乳酸菌はほとんど関与しないこと^{3,4)}が明らかになっている。

Chatonnet ら⁴⁾によると、4-エチルフェノールと4-エチルグアイアコールの閾値は、赤ワイン中においてそれぞれ、0.605 mg/l および 0.110 mg/l (水中ではそれぞれ、0.130 mg/l および 0.025 mg/l) と報告された。また、4-エチルフェノールと4-エチルグアイアコールをワイン中での典型的な存在比率⁴⁾である 10:1 で混合したときの溶液の閾値は、0.369 mg/l であるとされている。この Chatonnet ら⁴⁾の初期の研究においては、ボルドー産ワインを中心としたフランス赤ワインの4-エチルフェノールおよび4-エチルグアイアコールの平均値は、それぞれ 0.440 mg/l (標準偏差 0.179, 最大値 6.047 mg/l) および 0.082 mg/l (標準偏差 0.230, 最大値 1.561 mg/l) であり、2/3 のワインが閾値以上のフェノレを含んでいた。なお、我々の研究において、比較対象として、無作為に選抜したフランス・ボルドー産の市販赤ワイン 13 点 (5,000 円～9,000 円台の価格帯) について、フェノレの調査を行った結果、4-エチルフェノールおよび4-エチルグアイアコールの平均値は、それぞれ 0.169 mg/l (標準偏差 0.563, 最大値 0.482 mg/l) および 0.046 mg/l (標準偏差 0.132, 最大値 0.098 mg/l) であった。

世界のその他の産地におけるエチルフェノール類の発生頻度は様々である。ポルトガル (2001 年) における検討¹⁶⁾では、試験した赤ワインサンプルの 84% が、閾値以上の濃度のエチルフェノール類を含有すること (4-エチルフェノールの最大値 4.430 mg/l) が報告されている。オーストラリア (2000 年)¹⁷⁾の赤ワインでは、4-エチルフェノールが平均で 0.400～0.800 mg/l (最大で 2.700 mg/l) 含まれることが報告されている。

なお、赤ワインには、ヴィニルフェノール類は検出されない³⁾のが一般的である。これは、まず *S. cerevisiae* のケイ皮酸脱炭酸酵素活性が、ブドウ果汁に含まれるポリフェノール類 (プロシアニジンとカテキン) によって阻害されるためであることが分かっている。また、ヴィニルフェノール類は、*Brettanomyces* 属酵母によるエチルフェノール類生成の中間体であるが、*Brettanomyces* 属酵母の 2 つの酵素反応は迅速に進むため、中間体としてのヴィニルフェノール類はワイン中に残存しないと説明されている。

6. 国産赤ワインのフェノレ調査

この赤ワインのフェノレについての研究は、ボルドー大学を中心に進展³⁴⁾してきた。最近になって、本邦においても、主にフランス・ボルドーでの研究についての情報の普及が進む中で、赤ワインのフェノレが認識されるようになってきた。本邦の各種ワイン審査会においても、この赤ワインのフェノレによる欠陥を指摘されることが多くなり、注意が払われるようになっている。

本邦では、篠原ら^{8,18,19)}によって、いくつかの先駆的な研究が行われ、その検討の中で国産赤ワイン 13 点について4-エチルフェノールの定量分析¹⁹⁾が実施されたが、国産赤ワインとしてのフェノレの発生頻度を明らかにするには至っていなかった。

以上のような背景から、我々はまず、現状における、国産赤ワインのフェノレの発生頻度を明らかにすることを目的として研究²⁰⁾に着手した。供試赤ワイン試料として、2010 年から 2012 年の間に入手した市販国産赤ワイン 386 点を用いた。この供試赤ワインの内訳としては、原料ブドウで大別して、カベルネ・ソーヴィニヨンやメルロなどのいわゆる欧州系品種を主要原料とした、いわゆる「欧州系 (*Vitis vinifera* grape

varieties)」が153点、マスカット・ベリーAやブラック・クィーンなどの国内改良系や北米系を主要原料とした、「非欧州系 (non-*Vitis vinifera* grape varieties)」が233点を含んだ。サンプルの醸造年は最も古いもので2002年、新しいもので2012年、2009年のものが最も多く、2010年が次に多かった。供試赤ワイン中の4-エチルフェノールおよび4-エチルグアイアコールの定量分析は、超高速液体クロマトグラフータンデム型質量分析計を用いて実施した。その結果、市販国産赤ワイン386点の4-エチルフェノールの平均値は0.098 mg/l (標準偏差0.157) であり、最も高かったもので1.665 mg/lであった (第1表)。4-エチルグアイアコールの平均値は0.023 mg/l (標準偏差0.046) であり、最も高いもので0.337 mg/lであった。

いくつかの海外における報告^{3-5,18,19)}と同様に、国産赤ワインのフェノレの定量分析値においても、サンプル間で大きなバラツキがあることが分かった。白ワインで問題となるフェノレ (4-ヴィニルフェノールと4-ヴィニルグアイアコール) については、いずれのワイン試料からも、ほとんど痕跡程度 (0.020 mg/l 付近) しか検出されなかった。このことは、4-エチルフェノールと4-エチルグアイアコール生成経路の前駆物質であるこれらの2つのフェノレが、赤ワインには残存しないとする知見^{3,5)}を裏付ける結果となった。

今回の4-エチルフェノールの定量分析結果についての、各品種グループ (欧州系と非欧州系) 別の発生頻度の分布を第2図に示した。欧州系と非欧州系ともに、全く健全な品質と言える0.100 mg/l未満のサン

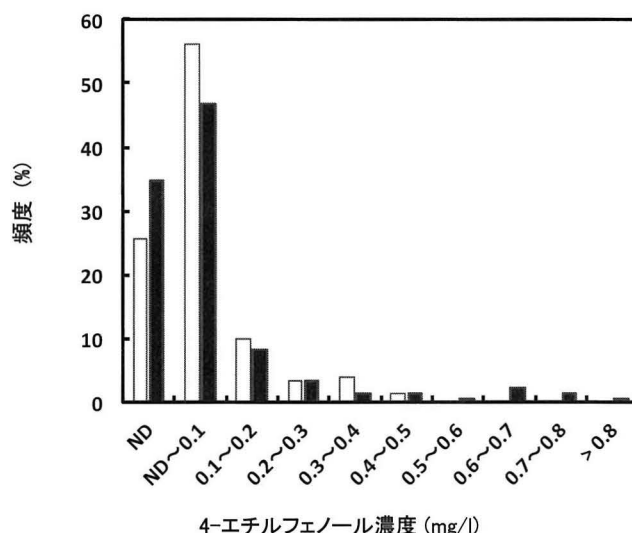
第1表 国産赤ワイン386点におけるフェノレ濃度

	4-エチルフェノール (mg/l)	4-エチルグアイアコール (mg/l)
平均値	0.098	0.023
標準偏差	0.157	0.046
最大値	1.665	0.337
最低値 ¹⁾	ND ²⁾	ND ²⁾

ほとんどのサンプルにおいて、4-ヴィニルフェノールと4-ヴィニルグアイアコールはほとんど不検出であった

1) 検出限界は、4-エチルフェノールが0.005 mg/l、4-エチルグアイアコールが0.010。

2) ND：不検出。



第2図 供試ワインを4-エチルフェノール濃度で分別した頻度分布

供試ワイン386点は、欧州系原料ワイン (*Vitis vinifera* grape varieties：白色のカラム) と233点の非欧州系原料のワイン (non-*Vitis vinifera* grape varieties：黒いカラム) を含む。

ブルが全体の82%を占めた。一方で、0.200 mg/l以上の試料は、欧州系および非欧州系ともに約10%存在した。4-エチルフェノールの閾値を超えていると考えられる0.400 mg/l以上の試料は、供試試料全体で3.9%のみ存在した。以上のことから、大多数の国産赤ワインは、フェノレ汚染においては健全であることが明らかとなった。

欧州系と非欧州系の試料間での違いとしては、非欧州系の試料には、4-エチルフェノールが 0.500 mg/l 以上の高いフェノレ濃度を示す試料が多く存在する傾向が認められた（第2図）。

7. 国産赤ワインのフェノレ原因微生物調査

供試ワイン中の、フェノレの発生原因微生物である、*Brettanomyces* 属酵母細胞の検出²⁰⁾を、抗原抗体反応を用いて特異的に検出する市販検査キット（Z-Wine Assay, Unitech Scientific LLC 社製）を用いて行った。その結果、 0.100 mg/l 以上の4-EPが検出された試料（全体の18%）からは、 10^4 個/ml以上～ 10^6 個/ml超の細胞が検出された。フェノレが高濃度で検出された、非欧州系のワイン試料（全体の3.9%）からは、簡易検査キットを用いた解析から、高い濃度（ 10^4 個/ml以上～ 10^6 個/ml超）の*Brettanomyces* 属酵母の細胞が検出²⁰⁾された。

それらのフェノレと*Brettanomyces* 属酵母の細胞が高濃度で検出された試料は、供試試料全体の平均pHが3.55のところ、pH 3.7～4.1と高い値を示した。ワインのpHが高くなると、同じ遊離亜硫酸濃度であっても、遊離亜硫酸からリリースされる、殺菌効力をもつ分子状亜硫酸濃度が低くなることが分かっている。したがって、これらのワイン試料は、赤ワインの貯蔵熟成あるいは保蔵期間中に、*Brettanomyces* 属酵母が生育しやすかった可能性が考えられた。したがって、フェノレの発生防止には、亜硫酸管理とともにpHの管理が重要である可能性が推察された。

8. *Brettanomyces* 属酵母の検索

赤ワイン製造工程において、樽熟成工程にある赤ワイン試料からの*Brettanomyces* 属酵母の検索²¹⁾を行った。フェノレと*Brettanomyces* 属酵母の細胞が高濃度で検出された試料からいくつかの酵母を検出し、その純粋分離を行った。分離された酵母は、いびつな卵

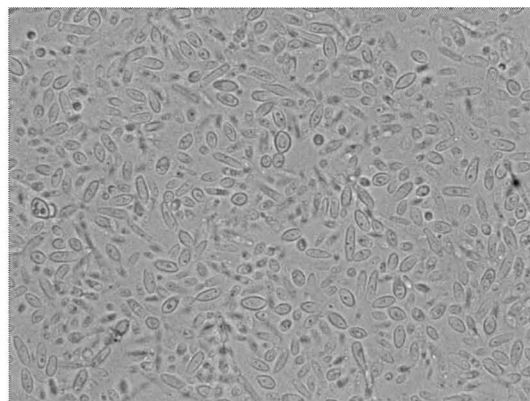


写真1 ワイン製造工程から分離した*Brettanomyces* 属酵母の光学顕微鏡写真(1000倍で観察)

型あるいは伸長した楕円の細胞形態を示した(写真1)。YM平板培地を用いて培養した結果、クリーム色の滑らかな外観のコロニーを形成し、偽菌糸を形成した。液体培地では皮膜形成し、グルコースを発酵してガスを生産した。また、*Brettanomyces* 属酵母の選択培地として用いられるYNB培地に良好に生育した。さらに、*p*-クマル酸とフェルラ酸を含んだ培地で増殖した結果、フェノレを生成した。以上のことから、本分離株は、*Brettanomyces* 属酵母であると推定された。これは、本邦における、ワインからの*Brettanomyces* 属酵母の初の分離例となり、我が国の赤ワイン醸造においても確かにフェノレ原因酵母が存在することが明らかになった。

9. *Brettanomyces* 属酵母の増殖防止

ワインにおける、*Brettanomyces* 属酵母の制御方法は、Suárezら⁶⁾によりまとめられている。タンバクの清澄化剤の利用（ゼラチン、卵白など）、精密ろ過、物理的な手法（低温下での熟成、低pH）、前駆体を軽減する方法（低温醸し発酵など）、各種添加物（亜硫酸、キトサン、ソルビン酸など）、加圧法（400～500Pa）、生物学的な手法（バクテリオシンなど）などが、主に実験的に試みられている。

亜硫酸による*Brettanomyces* 属酵母の制御については、前述したように、分子状亜硫酸の管理、すなわち遊離亜硫酸濃度とpHの管理が重要である。各種文献では、汚染微生物抑止のためには、分子状亜硫酸が $0.5\sim0.8\text{ mg/l}$ 付近にあることが推奨⁶⁾されている。

第2表 各種のpHと亜硫酸濃度に調整した赤ワインにおける分離 *Brettanomyces* 属酵母菌株の増殖性

pH (実測値)	3.6					3.3			
	(3.53)	(3.60)	(3.63)	(3.61)	(3.62)	(3.29)	(3.30)	(3.31)	(3.30)
遊離亜硫酸 (mg/l) ¹⁾	0	11	20	32	41	0	7	15	24
分子状亜硫酸 (mg/l) ²⁾	0	0.22	0.37	0.62	0.78	0	0.27	0.57	0.94
分離 <i>Brettanomyces</i> の増殖性 ³⁾	++	+	±	-	-	++	+	-	-
フェノレの検出 ⁴⁾	++	+	-	-	-	++	-	-	-

1) ランキン法による実測値, 2) pHと遊離亜硫酸濃度から算出された値, 3) 1ヶ月培養後の濁りを肉眼観察 (++++: 著しく生育, +++: 良好に生育, ++: 生育, ±: やや生育, -: 生育は認められない), 4) 1ヶ月培養後のフェノレの臭気を官能的に確認 (++++: 非常に, +++: 強い, ++: 検出, ±: やや検出, -: 不検出)

一方で, *Brettanomyces* 属酵母は, 菌株により亜硫酸耐性が異なることが報告²²⁾されている。我々²¹⁾は, 分離した *Brettanomyces* 属酵母数菌株を用いて, 各pHにおける亜硫酸による増殖阻害条件を調べた。赤ワイン(12.5%)を用いて, 酒石酸でpH調整した後に, 各種の濃度になるように亜硫酸塩(ピロ亜硫酸カリウム)を添加した試験培地を作製した。この培地に, 分離した *Brettanomyces* 属酵母の前培養液を生菌数 10^3 個/mlになるように添加し, 18℃における増殖性を調べた。その結果, 我々の分離株は, 分子状亜硫酸濃度が0.6 mg/l付近以上で, その生育が阻害される結果が得られた(第2表)。国産赤ワインの平均pH 3.55において, 分子状亜硫酸0.6 mg/lとするためには, 約27 mg/lの遊離亜硫酸が必要となる。

なお, 分離 *Brettanomyces* 属酵母は, 60℃数分間での加熱処理によって容易に死滅した。このことから, ワインの低温加熱処理は瓶詰め後の *Brettanomyces* 属酵母の増殖抑止などには有効であることを確認している。

10. *Brettanomyces* 属酵母の増殖抑止法の確立に向けて

Brettanomyces 属酵母は, フェノレのみならず, 酢酸, 脂肪酸類, および「ネズミ臭」と称されるテトラヒドロキシピラジン類などの様々なオフフレーバー^{6,23)}を生成することが分かっており, 赤ワイン製造における大きな品質劣化原因菌であるといえる。我々の研究において, 現状における国産赤ワインのフェノレ汚染の頻度は低いことが分かった。しかしながら, 今後, 本邦においても, 特に長期熟成タイプの赤ワイン製造がますます本格的に行われるようになるときには, フェノレの発生が問題となる可能性は高いと考えられる。

製造現場の衛生管理を徹底することは基本であるが,

それでもワイン製造現場で, *Brettanomyces* 属酵母が全く存在しない環境を確立することは容易ではないと考えられる。そこで, 我々の研究で再確認されたように, ワイン製造工程における亜硫酸とpH管理を徹底することが重要である。pH管理のためには, まずは収穫時期の適切な判断が必要である。次に, 原料果汁の段階で分析を行い, 安全醸造上のリスクが高い場合には, 酒石酸などの有機酸類を添加することが必要である。一方で, 系統的な研究が行われているとはいえないが, 国産赤ワインは全体的に見てpHが高い傾向にあることが指摘されている。これは, ワインの単に酸度のみの問題ではないことも考えられ, 今後の検討が必要な課題である。

また, *Brettanomyces* 属酵母汚染のより高度なリスク管理方法として, 各製造工程, 特に熟成工程において, 現場で利用可能な市販の分析キットを用いて, 経時的なモニタリングを行い, 汚染の有無をチェックすることが重要になると予想される。樽熟成工程などで, *Brettanomyces* 属酵母が検出された場合, 各種製剤を用いた澱引き・澱下げにより, 汚染酵母を除去することは有効であると考えられる。最近では, 特にキトサン系の澱下げ剤の利用が注目されつつある。

Brettanomyces 属酵母の増殖抑止のための決定的な対応策は未だ確立されておらず, 今後も詳細な検討が必要である。

11. おわりに

赤ワインのフェノレは, フランス・ボルドー地方での例のように, 原料ブドウ品種や産地に特徴的な香り, あるいは熟成により生じる良好な香味であると誤解されてきた。本邦でも, 欠点としての認識はうすかったが, 最近ではオフフレーバーであることが強く認識されるようになってきた。したがって, 今後は *Brettan-*

omyces 属酵母汚染の抑止を考慮しながら赤ワイン製造を行ない、高品質な製品製造を実施しなければならないと考える。

本研究は、独立行政法人科学技術振興機構 研究成果展開事業研究成果最適展開支援プログラム (A-STEP: Adaptable and Seamless Technology Transfer Program through target-driven R&D) フィージビリティスタディ【FS】探索タイプ (Exploratory Research) における成果を一部含みます。

〈山梨県工業技術センター支所ワインセンター〉

参考文献

- 1) 塚本俊彦, 西野晴夫: 第5章酒質の表現用語, 小原巖ら編, ワイン学 (産調出版, 東京) p.324-332 (1998)
- 2) Ribéreau-Gayon, P., Glories, Y., Maujean, A., Dubourdieu, D.: La nature chimique, l'origine et les conséquences des principaux défauts organoleptiques, Traité d'oenologie Tome 2 - Chimie du vin. Stabilisation et traitements 5e édition, (Dunod, Paris), p.295-361 (2004)
- 3) Ribéreau-Gayon, P., Glories, Y., Maujean, A., Dubourdieu, D.: 8.4.1 Les phénols volatils responsables des certaines déviations olfactives de type <phénolé> des vins, Traité d'oenologie Tome 2 - Chimie du vin. Stabilisation et traitements 5e édition, (Dunod, Paris), p.307-324 (2004)
- 4) Chatonnet, P., Dubourdieu, D., Boidron, J.-N., Pons, M.: The origin of ethylphenols in wines. J. Sci. Food Agric., 60, 165-178 (1992)
- 5) Licker, J. L., Acree, T. E. and Henick-Kling, T.: What is "Brett" (*Brettanomyces*) Flavor?: A preliminary investigation, ACS Symposium Series (American Chemical Society), 714, 96-115 (1999)
- 6) R. Suárez, J.A. Suárez-Lepe, A. Morata and F. Calderón: The production of ethylphenols in wine by yeasts of the genera *Brettanomyces* and *Dekkera*: A review, Food Chemistry, 102, 10-21 (2007)
- 7) 篠原 隆: ワインのフェノール性異臭の成因について, 醸協, 96, 182-188 (2001)
- 8) Chatonnet P, Dubourdieu D and Boidron J.N.: Incidence de certains facteurs sur la décarboxylation des acides phénols par la levure, Conn Vigne Vin, 23, 59- 62 (1989)
- 9) Chatonnet, P., Dubourdieu, D., Boidron, J.-N., Lavigne, V.: Synthesis of volatile phenols by *Saccharomyces cerevisiae* in wines, J. Sci. Food Agric., 62, 191-202 (1993)
- 10) 小林弘憲, 富永敬俊, 勝野泰朗, 安蔵光弘, 味村興成, 鈴木由美子, デュブルデュー=デュニ, 大久保敏幸: 甲州ワイン中の揮発性フェノール化合物濃度に影響を与える因子, 日本ブドウ・ワイン学会誌, 17, 75-80 (2006)
- 11) 恩田ら: 投稿中
- 12) 小松ら: 投稿中
- 13) Boidron, J. N., Chatonnet, P. and Pons, M.: Influence du bois sur certaines substances odorants des vins, Connaiss Vigne Vin, 22, 4, 275-294 (1988)
- 14) Boidron, J. N., Chatonnet, P. and Monique, P.: Elevage des vins rouges en fûts de chêne: Evolution de certains composés volatils et de leur impact aromatique, Sci. Alim., 10, 565-587 (1990)
- 15) Fugelsang, K. C., Osborn M. M. and Miller, C. J.: *Brettanomyces* and *Dekkera*. Implications in wine making, ACS Symposium Series (American Chemical Society), 536, 110-129 (1993)
- 16) Rodrigues, N., Gonçalves, G., Pereira-da-Silva, S., Malfeito-Ferreira, M. and Loureiro, V.: Development and use of a new medium to detect yeasts of the genera *Dekkera*/*Brettanomyces*, J. Appl. Microbiol., 90, 588-599 (2001)
- 17) Pollnitz, A. P., Pardon, K. H., Sefton, M. A.: Quantitative analysis of 4-ethylphenol and 4-ethylguaiacol in red wine, J Chromatogr A, 31, 101-109 (2000)
- 18) Shinohara, T., Kubodera, S. and Yanagida, F.: Distribution of Phenolic Yeasts and Production of Phenolic Off-Flavors in Wine Fermentation, J. Biosci. Bioeng., 90, 90-97 (2000)
- 19) 篠原 隆, 中山賢一郎, 三木健夫, 柳田藤寿: ワインの芳香成分の解析及び品質について, 日本ブドウ・ワイン学会誌, 18, 152-153 (2007)
- 20) 恩田ら: 日本食品保蔵学会誌, 印刷中
- 21) 恩田ら: 投稿中
- 22) Conterno, L., Joseph, C.M. L., Arvik, T. J.,

Henick-Kling, T. and Bisson, L. F. : Genetic and physiological characterization of *Brettanomyces bruxellensis* strains isolated from wines, Am. J. Enol. Vitic., 57, 139-147 (2006)

23) Snowdon, E. M., Bowyer, M. C., Grbin, P. R. and Bowyer, P. K. : Mousy off-flavor: a review, J. Agric. Food Chem., 54, 6465-74 (2006)

執筆者紹介 (順不同・敬称略)

恩田 匠 < Takumi ONDA >

昭和 42 年 8 月 27 日生まれ<勤務先と所在地>山梨県工業技術センター支所ワインセンター 〒409-1316 山梨県甲州市勝沼町勝沼 2517 <略歴>平成 4 年東京農業大学大学院農学研究科博士前期課程修了, 同年山梨県庁入庁・山梨県工業技術センター配属, 平成 20 年山梨県工業技術センター支所ワインセンターへ異動, 現在に至る。<抱負>山梨県ワインセンターの研究成果をワインの高品質化につなげていきたい。<趣味>浜田省吾, 村上春樹, スティーヴン・キング, 最近はアイロンがけ。

谷口 (山田) 亜樹子 < Akiko YAMADA TANIGUCHI >

昭和 39 年 5 月 19 日生まれ<勤務先と所在地>鎌倉女子大学 〒247-8512 神奈川県鎌倉市大船 6-1-3 <略歴>平成元年東京農業大学大学院農学研究科農芸化学専攻博士前期課程修了, 平成元年同大学 (農学部農芸化学科) 助手, 平成 7 年同大学講師, 平成 17 年～現在, 同大学客員研究員, 平成 20 年鎌倉女子大学 (家政学部管理栄養学科) 准教授, 現在に至る。<抱負>

ワインをめぐる世界一周旅行をしたい。<趣味>晩酌, 美味しいお酒と料理を食べて楽しむことです。

小柳 淳 < Atsushi KOYANAGI >

昭和 54 年 8 月 14 日生まれ<勤務先と所在地>キリン協和フーズ株式会社 〒300-0398 茨城県稲敷郡阿見町阿見 4041 <略歴>平成 16 年東北大学大学院農学研究科修士課程修了, 同年メルシャン(株)入社, 酒類研究所加工用酒類研究室配属, 平成 22 年キリン協和フーズ(株)食品開発研究所配属, 現在に至る。<抱負>様々な視点から「おいしさ」を追求し, 提供していくことで, 社会に貢献していきたい。<趣味>ドライブ。

渡辺信行 < Nobuyuki WATANABE >

昭和 43 年 5 月 31 日生まれ<勤務先と所在地>ヨイキゲン株式会社 〒719-1175 岡山県総社市清音上中島 372-1 <略歴>平成 3 年神奈川大学経済学部経済学科卒, 平成 5 年国分(株)退社後, ヨイキゲン(株)へ入社。<抱負>酒をテーマに楽しい時を提供したい。<趣味>アコースティックギター, 飲み歩き。