

生食用ブドウの香気成分について

平野 健・安原正幸・岡本五郎

(作物機能調節学講座)

Received October 15, 1993

Aromatic Components of Several Table Grapes Produced in Japan

Ken HIRANO, Masayuki YASUHARA and Goro OKAMOTO

(Department of Eco-physiology for Crop Production)

Volatile components of grape berries of five table cultivars, 'Campbell Early', 'Kyoho', 'Ryuhō', 'Muscat Bailey A' (*V. vinifera* × *V. labrusca*), and 'Neo Muscat' (*V. vinifera*), were investigated using GC and GC-MS. Three different methods for volatile compound extraction from grape juice were tested.

In 'Neo Muscat', geraniol was analyzed most abundantly. Other volatiles, such as linalool, α -terpineol, citronellol, and nerol which were known to be major components of Muscat cultivars, were also detected.

2-phenylethanol, on the other hand, was the predominant major volatile in each of four hybrid cultivars tested. Methyl anthranilate, a characteristic volatile of *labrusca* cultivars, was not detected in any of these 4 cultivars.

Almost the same kinds of components were detected by both the methods of liquid-liquid extraction and solvent extraction. However, higher levels of volatiles were detected with solvent extraction. Only few components were detected with head space analysis.

緒 言

果実品質を食味の点から論じる場合、糖、有機酸、アミノ酸が重要な構成要素であるが、果実の香りも品質要素として大きな役割を持っている。バナナの独特の香りはイソアミルアセテートによるものであり、カンキツの香りは果皮の油胞中に含まれる精油成分に起因する¹⁾。また、リンゴ'ゴールデン・デリシャス'の主要な香気成分は ethyl 2-methylbutyrate, 1-hexanal, trans-2-hexanal であること²⁾、ニホンナシでは ethyl 2-methylbutanoate など³⁾、モモではヘキサノール、ベンジルアルデヒド、リナロールなどであること⁴⁾が報告されている。

ブドウの香気成分については多くの報告があるが、それらはいずれも *Vitis vinifera* のワイン用品種、数種の生食用品種、および *Vitis labrusca* の'コンコード'についてのものである。Stevens ら⁵⁾、Park ら⁶⁾、Wilson ら^{7,8)}、Riberau-gaiyon ら⁹⁾は'マスカット・オブ・アレキサンドリア' (*V. vinifera*) について、Williams ら¹⁰⁾は'イタリア'などのマスカット系品種について、主要な香気成分がゲラニオール、リナロールであることを報告している。また、強烈な香りを持っている'コンコード' (*V. labrusca*) の香気成分は、アントラニル酸メチルが主成分であり^{11,12)}、この成分が狐臭 (foxy flavor) の原因であることが知られている^{13,14,15)}。しかし、我が国で栽培されている生食用ブドウの多くが *V. vinifera* と *V. labrusca* の雑種

であり、それらが含む揮発性成分に関する報告例は少ない。そこで、本研究では、これらの品種の香気成分について調査した。

なお、果実の香気成分を分析する場合、果実表面から発散する揮発性物質を捕集する方法と、果汁から揮発性物質を抽出する方法が考えられる。本実験では食味としての香気成分を検討するため、果汁からの抽出を行った。果汁からの揮発性成分の抽出方法として、一般的に、Liquid-liquid extraction 法、Solvent extraction 法、Head-space analysis 法がある。そこで、これら3つの方法によって得られた揮発性成分を分析、同定し、その結果を比較検討した。

材 料 と 方 法

1) 供試材料

‘ネオマスカット’は岡山大学農学部圃場で栽培されている18年生の成木4樹(トンネル栽培、短梢せん定)から3果房を、‘竜宝’は岡山大学農学部圃場サイドレスハウス内で根域制限栽培されている6年生樹から3果房を、それぞれの収穫期(‘ネオマスカット’は9月17日、‘竜宝’は8月20日)にサンプリングした。また、‘巨峰’、‘キャンベル・アーリー’、‘マスカット・ベリー A’は岡山市内の青果卸売業者から購入した3果房を供試した。‘ネオマスカット’は2倍体の *V. vinifera*、他の品種は *V. vinifera* と *V. labrusca* の雑種であるが、‘キャンベル・アーリー’は *labrusca* の濃い2倍体品種、‘マスカット・ベリー A’は *vinifera* の濃い2倍体品種である。また、‘巨峰’は4倍体品種で、日本最大主要品種であり、‘竜宝’は‘巨峰’群の赤系品種として期待されている品種である。

サンプリングした果粒は果皮を除去し、果肉をホモジナイザーで磨砕した。0℃、10,000gで10分間遠心分離し、上澄みを吸引濾過した。その果汁100mlを0.6Nあるいは0.1N-KOH溶液でpH約7.0に調節し、内部標準物質として0.25%の2-オクタノール(100%エタノール溶液)10 μ lを加えた。

2) 揮発性成分の抽出方法

Liquid-liquid extraction 法

上記の果汁100mlを200ml用の分液ロートに入れ、n-ペンタン40mlを加え、振とうし、静置後、溶媒層を8,000gで5分間遠心分離し、上澄みを得た。残った水層について上記の操作をさらに2回繰り返した。得られた溶媒層を合わせ、無水硫酸ナトリウムを加えて脱水した。これを30℃で1~2mlに減圧濃縮した後、バイアルに移し、さらに減圧下で0.5~1mlまで濃縮した。

Solvent extraction 法

Gunataら¹⁶⁾の方法で洗浄したAmberlite XAD-2樹脂(50-80mesh)をガラスカラム(径10mm、長さ30cm)に高さ約10cmになるように詰めた。カラムをメタノール約100ml、ジエチルエーテル約100mlで洗浄した後、蒸留水50mlを通した。続いて、上記の果汁100mlを通し、蒸留水50mlを通した後、n-ペンタン100mlで溶出し、無水硫酸ナトリウムを加えて脱水した。これを30℃で1~2mlに減圧濃縮し、バイアルに移し、さらに減圧下で0.5~1mlまで濃縮した。

Head-space analysis 法

上記の果汁100mlをHead-space ボトル(100ml容)内に密封し、ウォーターバスインキュベーターで振とうした。温度は室温、70℃、100℃とし、抽出時間は30分または1時間とした。

3) 香気成分の分析及び同定

Liquid-liquid extraction 法、Solvent extraction 法で得られた揮発性濃縮物1 μ lを用い、GC(島津GC-14A、検出器FID、カラム:島津CBJWAXS30-50、内径、0.32mm、膜厚0.5

μm , 長さ30m, 気化室温度: 170°C, 検出器温度: 230°C, カラム温度: 70°C~220°C, 5°C/min, キャリアーガス: N_2 , 3 ml/min, 注入量: 1 μl , スプリットレス) により分析した. Head-space analysis 法については各々のボトル内の Head-space ガスをガスタイトシリンジで500 μl 採取し, GC で分析した. 揮発性成分の同定は, クロマトグラムの分析試料と標品との保持時間から推定し, さらに, GC-MS (JEOLJMS-D300MASSSPECTROMETER, カラム: 10%PEG20Mガラスカラム, 内径2.6mm, 長さ2 m, 気化室温度: 200°C, カラム温度: 70°C~200°C, 10°C/min, 注入量: 2 μl) を用いて, 分子量を測定, 成分を同定した.

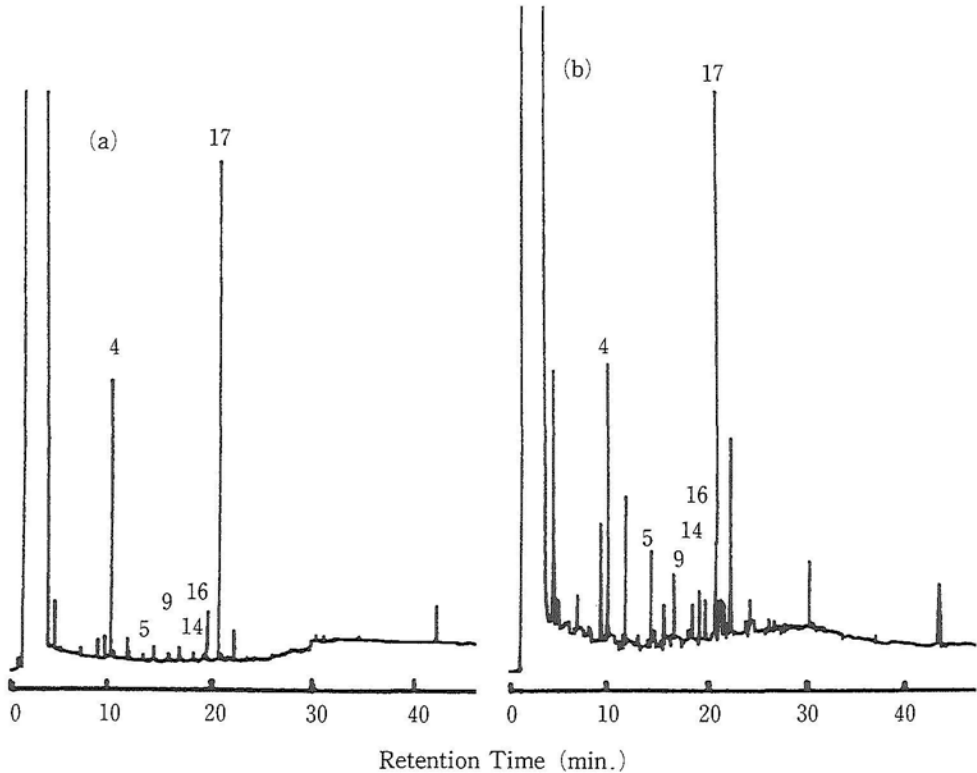


Fig. 1 Gas chromatograms of volatiles extracted from 'Neo Muscat' grape juice. (a) : Liquid-liquid extraction. (b) : Solvent extraction. Peak numbers correspond to those in Table 3.

Table 1 Levels of volatile compounds of various grape cultivars (Liquid-liquid extraction^{a)})

	Campbell Early	Kyoho	Ryuhō	Muscat Bailey A	Neo Muscat
Linalool	—	—	—	—	T
α -Terpineol	—	2.05	—	—	1.13
Citronellol	—	1.12	—	—	T
Nerol	—	2.03	—	—	4.33
Geraniol	—	T ^{b)}	—	—	36.98
2-Phenylethanol	12.28	20.4	79.98	86.42	—

^{a)} Results are given as $\mu\text{g}/100\text{ml}$ juice.

^{b)} Trace

結 果

Liquid-liquid extraction 法

‘ネオマスカット’のクロマトグラムを Fig. 1 (a) に示した。このクロマトグラムに現れたピークのうち5種類は、標品について得られたクロマトグラムのピークの保持時間と GC-MS の分析結果から、リナロール、 α -テルピネオール、シトロネロール、ネロール、ゲラニオールであると確認され、ゲラニオールが量的に多かった (Table 1, 3)。‘キャンベル・ア

Table 2 Levels of volatile compounds of various grape cultivars (Solvent extraction^{a)})

	Campbell Early	Kyoho	Ryoho	Muscat Bailey A	Neo Muscat
Linalool	—	—	—	—	T
α -Terpineol	—	3.12	—	—	3.51
Citronellol	—	1.81	—	—	2.69
Nerol	—	2.69	—	—	4.03
Geraniol	—	T ^{b)}	—	—	35.74
2-Phenylethanol	19.48	23.01	92.77	119.00	—

^{a)} Results are given as $\mu\text{g}/100\text{ml}$ Juice.

^{b)} Trace

Table 3 Volatile components of various cultivars detected and determined with GC and GC-MS.

Peak No.	Molecular weight, substance name	Cultivar and extraction method ^{a)}
1	96	C(L,S), K(L,S), R(L,S)
2	106	C(L,S), K(L,S), R(L,S), M(L,S), N(L,S)
3	198	K(L,S)
4	130 2-octanol (internal standard)	
5	154 linalool	N(L,S)
6	154	K(L)
7	131	C(S)
8	117	C(L,S), R(L,S)
9	154 α -terpineol	K(L,S), N(L,S)
10	162	C(L)
11	142	C(L,S), K(L,S)
12	129	R(L)
13	122	R(S)
14	156 citronellol	K(L,S), N(L,S)
15	164	C(L)
16	154 nerol	K(L,S), N(L,S)
17	154 geraniol	K(L,S), N(L,S)
18	142	C(S), K(S)
19	173	M(L)
20	220	N(L,S)
21	122 2-phenylethanol	C(L,S), K(L,S), R(L,S), M(L,S)
22	156	N(L)
23	175	C(L,S), K(L,S), R(L,S)
24	102	K(S)
25	213	K(L,S), R(L,S)
26	167	N(L,S)

^{a)} C : ‘Campbell Early’, K : ‘Kyoho’, R : ‘Ryoho’, M : ‘Muscat Bailey A’, N : ‘Neo Muscat’.

L : liquid-liquid extraction, S : solvent extraction.

ーリー', '竜宝', 'マスカット・ベリー A' では 2-フェニルエチルアルコールのみが検出された (Table 1, 3). '巨峰' は α -テルピネオール, シトロネロール, ネロール, ゲラニオール, 2-フェニルエチルアルコールが検出され, とくに 2-フェニルエチルアルコールが量的に多かった. また, 未同定の成分として 15 種類の揮発性成分が認められ, とくにピーク No. 2 の物質 (分子量: 106) は調査した全品種に含まれていた (Table 3).

Solvent extraction 法

'ネオマスカット' のクロマトグラムを Fig. 1 (b) に示した. このクロマトグラムに現れたピークのうち 5 種類は, 標品について得られたクロマトグラムのピークの保持時間と GC-MS の分析結果から, リナロール, α -テルピネオール, シトロネロール, ネロール, ゲラニオールであると確認され, ゲラニオールが量的に多かった (Table 2, 3). 'キャンベル・アーリー', '竜宝', 'マスカット・ベリー A' では 2-フェニルエチルアルコールのみが検出された (Table 2, 3). '巨峰' は α -テルピネオール, シトロネロール, ネロール, ゲラニオール, 2-フェニルエチルアルコールが検出され, 2-フェニルエチルアルコールが量的に多かった. また, 未同定の成分として 16 種類の揮発性成分が認められ, この場合もピーク No. 2 の物質 (分子量: 106) は調査した全品種に含まれていた (Table 3).

Head-space analysis 法

'キャンベル・アーリー', '竜宝', 'マスカット・ベリー A' の果汁を 70°C, 30 分で抽出したが, 揮発性成分はほとんど検出されなかった. そこで '巨峰' の果汁を 100°C, 30 分, また 'ネオマスカット' の果汁を常温 (23°C) で 1 時間, さらに 100°C, 30 分抽出したが, いずれも揮発性物質は検出されなかった.

考 察

Stevens ら⁵⁾, Park ら⁶⁾は, 'マスカット・オブ・アレキサンドリア' の揮発性成分を分析し, 主要成分としてリナロール, ゲラニオールを同定し, これらの成分がこの品種の香気成分に大きく寄与していると報告した. また, Riberau-Gayon ら⁹⁾は, マスカット系の数品種 ('マスカット・オブ・アレキサンドリア', 'イタリア', 'フロンティナン') を調査し, いずれもリナロール, ゲラニオールが多く含まれることを報告している.

今回供試した 'ネオマスカット' では, Liquid-liquid extraction, Solvent extraction の両方法でリナロール, α -テルピネオール, シトロネロール, ネロール, ゲラニオールが検出された. 'ネオマスカット' は 'マスカット・オブ・アレキサンドリア' と '甲州三尺' の交雑によって育種された *V. vinifera* 品種であり, 'マスカット・オブ・アレキサンドリア' に似たうまみを持ち, マスカット香を有する¹⁷⁾. 本研究で確認できた揮発性成分の結果も, 上記のマスカット系品種についての報告とよく似ており, ゲラニオールが 'ネオマスカット' の主要成分であると思われる.

Guanta ら¹⁶⁾は, モノテルペンアルコールが豊富ではないマスカット系以外の品種 (non-Muscat grape varieties) に, 2-フェニルエチルアルコールが多量に含まれていることを報告している. 本研究でも 'キャンベル・アーリー', '巨峰', '竜宝', 'マスカット・ベリー A' の全品種において, 2-フェニルエチルアルコールが検出された. また, 'キャンベル・アーリー', '巨峰', '竜宝', 'マスカット・ベリー A' は *V. vinifera* と *V. labrusca* の雑種であるが, '巨峰' にのみ 2-フェニルエチルアルコール以外に微量ではあるが α -テルピネオール, シトロネロール, ネロール, ゲラニオールというマスカット系品種に認められる成分が検出された. *V. labrusca* の 'コンコード' においても果汁中にリナロール, α -テルピネオールが検出されていることから¹¹⁾, 香気成分の種類は必ずしも種や系統によって決定されるものではないのか

もしれない。また、清水ら¹⁸⁾によると、‘マスカット・ベリー A’は全体的に香気が少ないが、リナロールを微量に含んでいることを報告している。本実験では‘マスカット・ベリー A’からリナロールは検出されなかったが、揮発性成分をさらに濃縮することで検出できるかも知れない。

V. labrusca はアントラニル酸メチルが特徴的に含まれるとされているが、本実験で供試した品種のうち *V. labrusca* にもっとも近い‘キャンベル・アーリー’でもこの成分は検出されなかった。

Liquid-liquid extraction 法と Solvent extraction 法の2つの抽出方法による揮発性成分の差異については、検出された成分の種類は変わらなかったが、Solvent extraction 法の方が Liquid-liquid extraction 法よりも量的に多く検出された (Table 1, 2)。Solvent extraction 法は樹脂 (Amberlite XAD-2) を通すことによって糖や酸のような多くの干渉物質を除去することが可能となる。Liquid-liquid extraction 法は Solvent extraction 法に比べて短時間で抽出できるが、多くの夾雑物を含み、抽出が不完全であるため検出成分が量的に少なくなったのかもしれない。また、ブドウ果汁中には本実験で確認できた揮発性成分の配糖体が、不揮発性成分として大量に存在することが報告されている¹⁶⁾。この配糖体は酵素などにより分解されて揮発性成分になる。Solvent extraction 法は抽出に時間がかかるため、抽出の間に配糖体の分解が生じたのかも知れない。

Head-space analysis 法は、Tenax-GC 等のカラムに揮発性成分を吸着させて、濃縮導入装置を用いて GC で分析する方法が通常行われている^{2,3,19,20)}。また、清水ら¹⁸⁾は、コールド・トラップを用い‘マスカット・ベリー A’について、Head-space ガスを濃縮し揮発性成分を分析している。本実験では Head-space ボトル (100ml) で得られた Head-space ガスを直接 GC で分析した。今回用いた Head-space ボトルでは、GC で検出できる濃度で揮発性成分を得ることができなかったが、吸着カラムや濃縮導入装置を利用することによって、揮発性成分の分析が可能になるかもしれない。

なお、今回の研究で、同定された6種類の揮発性成分の他に20種が検出されたが、同定するには至らなかった。それらの中には分子量106の物質のように、すべての品種に共通して存在するものや、‘ネオマスカット’のみに存在するもの (分子量: 167, 220)、『キャンベル・アーリー’と‘巨峰’から Solvent extraction 法によってのみ抽出されたもの (分子量: 142) など、特定の品種や抽出法によって得られた物質がある。これらについても成分の同定とともに、さらなる検討が必要である。

また、‘デラウエア’、『甲斐路’、『ピオーネ’など、他にも重要な生食用ブドウが多数あるので、それらについても検討する必要がある。

摘 要

生食用の雑種4品種 (‘キャンベル・アーリー’、『巨峰’、『竜宝’、『マスカット・ベリー A’) と *V. vinifera* の‘ネオマスカット’の香気成分を調査した。また、果汁中の揮発性成分を Liquid-liquid extraction 法、Solvent extraction 法、Head-space analysis 法の3種類の方法で抽出し、その結果を比較検討した。

‘ネオマスカット’からは *V. vinifera* の代表的な香気成分であるリナール、 α -テルピネオール、シトロネロール、ネロール、ゲラニオールが検出された。とくにゲラニオールが量的に多かった。雑種4品種からは多量の2-フェニルエチルアルコールが検出された。しかし *V. labrusca* に特徴的に含まれるとされるアントラニル酸メチルは検出されなかった。

Liquid-liquid extraction 法、Solvent extraction 法の2つの抽出方法では、検出成分の

種類は変わらなかったが、Solvent extraction 法の方が揮発性成分が量的に多く検出された。Head-space analysis 法では得られた揮発性成分が少なく同定もできなかった。

謝 辞

ガスクロマトグラフ質量分析計の使用に際しては、本学農学部生物資源開発学講座 梶山慎一郎助手のご援助を得た。記して厚く御礼申し上げます。

文 献

- 1) 伊藤三郎：果実の科学，89—91，朝倉書店，東京（1991）
- 2) Willaert, G. A., P. J. Dirinck, H. L. D. Pooter and N. M. Schamp : Objective measurement of aroma quality of Golden Delicious apples as a function of controlled-atmosphere storage time. *J. Agric. Food Chem.* **31**, 809—813 (1983)
- 3) Takeoka, G. R., R. G. Buttery and R. A. Flath : Volatile constituents of Asian pear (*Pyrus serotina*). *J. Agric. Food Chem.* **40**, 1925—1929 (1992)
- 4) Hovart, R. J., G. W. Chapman Jr, J. A. Robertson, F. I. Meredith, R. Scorza, A. M. Callahan and P. Morgens : Comparison of the volatile compounds from several commercial peach cultivars. *J. Agric. Food Chem.* **38**, 234—237 (1990)
- 5) Stevens, K., J. Bomben, A. Lee and W. H. Mcfadden : Volatiles from grapes. Muscat of Alexandria. *J. Agric. Food Chem.* **14**, 249—252 (1966)
- 6) Park, K. S., C. Morrison, D. O. Adams and A. C. Noble : Distribution of free and glycosidically bound monoterpenes and mesocarp of Muscat of Alexandria grapes during development. *J. Agric. Food Chem.* **39**, 514—518 (1991)
- 7) Wilson, B., C. R. Strauss and P. J. Williams : The distribution of free and glycosidically-bound monoterpenes among skin, juice and pulp fractions of some white grape varieties. *Am. J. Enol. Vitic.* **37**, 107—111 (1986)
- 8) Wilson, B., C. R. Strauss and P. J. Williams : Changes in free and glycosidically bound monoterpenes in developing Muscat grapes. *J. Agric. Food Chem.* **32**, 919—924 (1984)
- 9) Riberau-gaiyon, P., J. N. Biordon and A. Terrier : Aroma of Muscat grape varieties. *J. Agric. Food Chem.* **23**, 1042—1047 (1975)
- 10) Williams, P. J., C. R. Strauss and B. Wilson : Classification of the monoterpenoid composition of Muscat grapes. *Am. J. Enol. Vitic.* **32**, 230—235 (1981)
- 11) Stern, D. J., A. Lee, W. H. Mcfadden and K. L. Stevens : Volatiles from grapes. Identification of volatiles from Concord essence. *J. Agric. Food Chem.* **15**, 1100—1103 (1967)
- 12) 杉浦 明・稲葉昭次・門屋一臣・新居直祐・仁藤伸昌・行永寿二郎・高木敏彦・水谷房雄・田辺賢二・山下研介・松井弘之：新・果樹園芸学，171—172，朝倉書店，東京（1991）
- 13) 伊藤三郎：果実の科学，79—80，朝倉書店，東京（1991）
- 14) Nelson, R. R. and T. E. Acree : Concord wine composition as affected by maturity and processing technique. *Am. J. Enol. Vitic.* **29**, 83—86 (1978)
- 15) Nelson, R. R., T. E. Acree, C. Y. Lee and R. M. Butts : Methylanthranilate as an aroma constituent of American wine. *J. Food Sci.* **42**, 57—59 (1977)
- 16) Gunata, Y. Z., C. L. Bayonove, R. L. Baumes and R. E. Cordonnier : The aroma of grapes. Extraction and determination of free and glycosidically bound fractions of some grape aroma components. *J. Chromatogr.* **331**, 83—90 (1985)
- 17) 植原宣純：ブドウ品種解説，43，植原葡萄研究所，山梨（1992）
- 18) 清水純一，渡辺正澄：醸造用ブドウ果実の揮発性成分。 *J. Japan. Soc. Hort. Sci.* **50**, 386—392 (1981)
- 19) Dirinck, P., L. Schreyen and N. Schamp : Aroma quality evaluation of tomatoes, apples and strawberries. *J. Agric. Food Chem.* **25**, 759—763 (1977)
- 20) Dirinck, P. J., H. L. D. Pooter, G. A. Willaert and N. M. Schamp : Flavor quality of cultivated strawberries : The role of the sulfur compounds. *J. Agric. Food Chem.* **29**, 316—320 (1981)