

表14 38試験区の果実の各種分析結果

23圃場・38試験区		平均	最大	最小	標準偏差
房長 (cm)	タテ	18.4	27.3	13.2	2.3
	ヨコ	7.9	9.7	5.9	0.8
房重 (g/房)		309.4	390.0	155.0	54.6
粒長 (mm)	タテ	20.2	22.1	13.8	1.4
	ヨコ	18.4	19.9	13.6	1.2
粒重 (g/粒)		4.7	5.7	1.9	0.7
着粒数 (粒/房)		66.8	138.4	43.0	15.6
果皮色	L*	45.4	58.9	37.0	4.0
	a*	11.7	19.0	-4.3	4.7
	b*	13.4	23.7	6.4	3.2
種数 (個/粒)		2.2	2.8	0.0	0.5

表15 38試験区の果汁の各種分析結果

23圃場・38試験区		平均	最大	最小	標準偏差
比重		1.067	1.078	1.060	0.006
糖度 (Brix示度)		16.3	19.2	14.5	1.4
総酸 ¹⁾ (g/L)		6.8	9.5	5.2	0.8
pH		3.29	3.53	3.14	0.08
クエン酸 (g/L)		0.7	0.8	0.5	0.1
酒石酸 (g/L)		3.5	5.6	2.3	0.8
リンゴ酸 (g/L)		1.8	3.8	0.8	0.5
ブドウ糖 (g/L)		75.8	91.1	63.7	7.8
果糖 (g/L)		78.1	94.4	65.4	7.8
銅 (ppm)		1.8	6.0	0.2	1.8

1) 酒石酸として

表16 38試験区のワインの各種分析結果

23圃場・38試験場		平均	最大	最小	標準偏差
発酵日数 (日)		26	55	12	9.2
比重		0.990	0.996	0.988	0.002
アルコール (vol%)		12.9	13.6	11.9	0.4
エキス		1.9	3.2	1.4	0.4
総酸 ¹⁾ (g/L)		6.8	8.5	5.6	0.7
pH		3.15	3.46	3.01	0.10
色調 (ABS)	430nm	0.038	0.064	0.026	0.010
	530nm	0.009	0.020	0.005	0.003
全フェノール ²⁾ (mg/L)		399	659	273	87
クエン酸 (g/L)		0.7	0.8	0.5	0.1
酒石酸 (g/L)		2.1	3.0	1.3	0.3
リンゴ酸 (g/L)		1.8	3.0	1.2	0.4
コハク酸 (g/L)		1.0	1.2	0.9	0.1
乳酸 (g/L)		0.3	0.4	0.3	0.0
酢酸 (g/L)		0.3	0.5	0.2	0.1
ブドウ糖 (g/L)		0.0	0.6	0.0	0.1
果糖 (g/L)		3.8	14.8	0.6	2.7
グリセリン (g/L)		6.5	7.1	6.0	0.3
銅 (ppm)		0.03	0.15	0.00	0.03

1) 酒石酸として

2) 没食子酸として

(2) 総酸および有機酸組成の発酵前後の変化

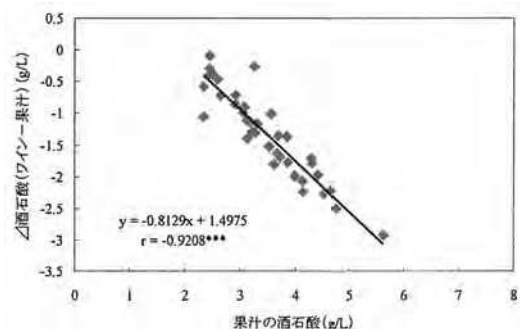
38試験区の果汁およびワイン中の総酸および酸成分の大部分を占める脂肪族有機酸 (6種類) を測定し、発酵前後の総酸および有機酸組成の変化を調べた。なお、以下の文章中または図中の記述「 Δ ○○ (ワインー果汁) (○○は、総酸やクエン酸など.) は、発酵前後の○○成分の変化量 (ワイン中の含有量から果汁中の含有量を引き算) を意味する。

表15及び16に示すように、果汁およびワインの総酸の平均値はいずれも6.8g/Lであったが、最大値と最小値の差はワインの方が小さかったことから、果汁の総酸量と Δ 総酸 (ワインー果汁) の相関を求めたところ単相関係数 $r = -0.5930$ (危険率0.1%で有意) と負のやや強い相関を認められた。果汁の総酸が多い場合 (7.8g/L以上) には発酵中に減少、少ない場合 (6.2g/L以下) には増加する傾向がみられた。

6種類の有機酸のうち、果汁ではクエン酸、酒石酸、リンゴ酸が、ワインではクエン酸、酒石酸、リンゴ酸、コハク酸、乳酸、酢酸がそれぞれ検出された。

クエン酸は、発酵前後で平均値、最大、最小のいずれもほとんど変化がなかった (Δ クエン酸 (ワインー果汁) $= -0.1 \sim 0.1$ g/L, 標準偏差0.0g/L)。

酒石酸は、発酵前後で平均値が3.5g/Lから2.1g/Lへと約1g/L減少し、最大値と最小値の差および標準偏差も小さくなった。果汁の酒石酸量と Δ 酒石酸 (ワインー果汁) の相関を求めたところ、図8に示すように単相関係数 $r = -0.9208$ (危険率0.1%で有意) と負の強い相関を認められ、果汁の酒石酸量が多いほど発酵中に多く減少する傾向がみられた。

図8 38試験区の果汁の酒石酸と Δ 酒石酸

リンゴ酸の平均値は、いずれも1.8g/Lであったが、最大値と最小値の差はワインの方が小さかった。そこで、果汁のリンゴ酸量と Δ リンゴ酸 (ワインー果汁) の相関を求めたところ、図9で示すように単相関係数 $r = -0.8086$ (危険率0.1%で有意) と負の強い相関が認められたが、果汁のリンゴ酸量1.8g/Lを境に、これより多い場合には発酵中に減少する傾向が、逆に少ない場合には発酵中に増加する傾向がみられた。

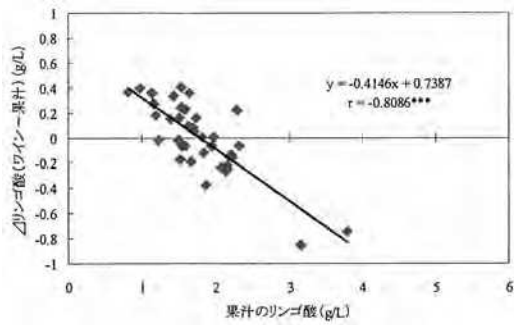


図9 38試験区の果汁のリンゴ酸とΔリンゴ酸

コハク酸、乳酸、酢酸は、果汁には存在せず、発酵中に酵母の代謝により生成される有機酸である。ワイン中のコハク酸、乳酸、酢酸の平均値は、それぞれ1.0g/L、0.3g/L、0.3g/Lであり、最大値と最小値の差はいずれも±0.2以内と試験区間でほとんど差異は認められなかった。これらの有機酸は、酵母の代謝系で一定の濃度に制御されているものと推察された。

果汁中の有機酸の和とΔ有機酸の和（ワイン果汁）の相関を求めたところ、図10で示すように単相関係数 $r = -0.9287$ （危険率0.1%で有意）と負の強い相関を認められ、果汁の有機酸の和が6.4g/L前後を境に、これより多い場合には発酵中に減少、少ない場合には増加した。

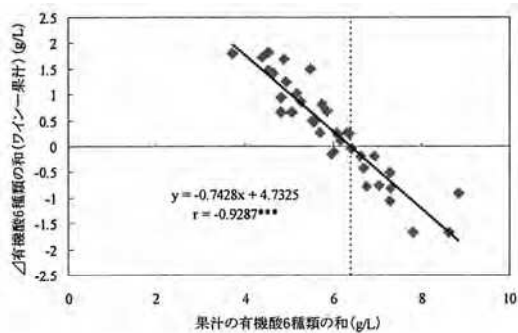
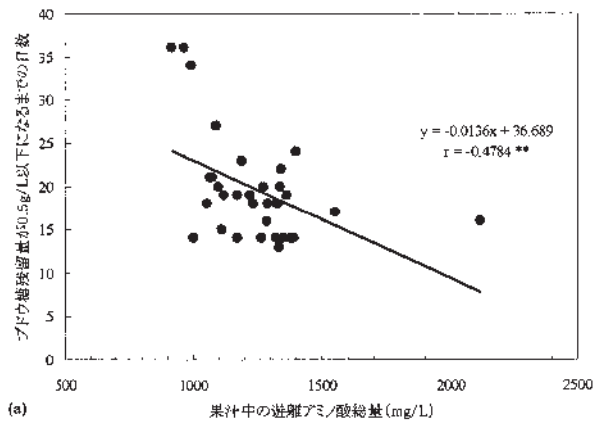


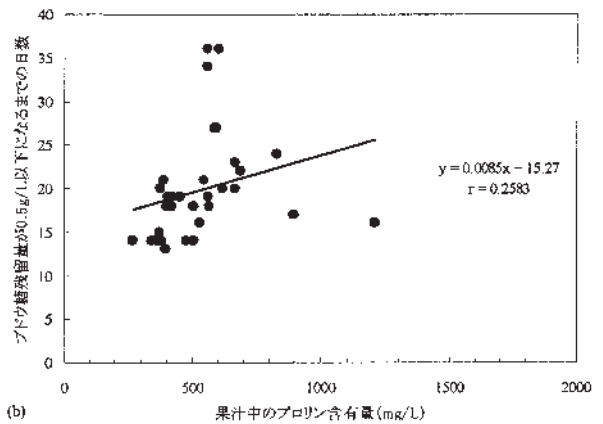
図10 38試験区の果汁の有機酸6種類とΔ有機酸6種

(3) 果汁の遊離アミノ酸含有量と発酵日数の関係

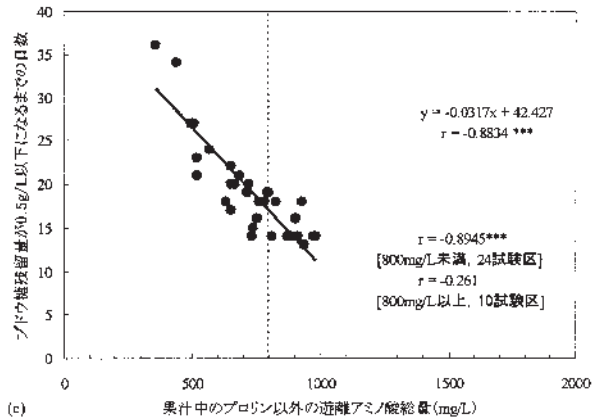
検討に先立ち、各試験区の糖類の発酵経過を見直したところ、順調に還元糖が4g/Lまで減少し発酵停止となった試験区と、還元糖が7g/Lまで減少したところで減少速度が緩慢になり結果として発酵日数が長くなった試験区の2種類が認められた。両者の発酵経過の違いを調べたところ、発酵中に優先的に減少するブドウ糖は両者とも順調に減少していたが（減少速度は試験区により異なる）、果糖は前者は順調（1日当たり1g/L以上の減少速度）に4g/L以下まで減少したのに対し、後者では6g/L前後で減少速度が急に低下（1日当たり0.2g/L程度）していた。また、後者ではブドウ糖がほぼゼロになった



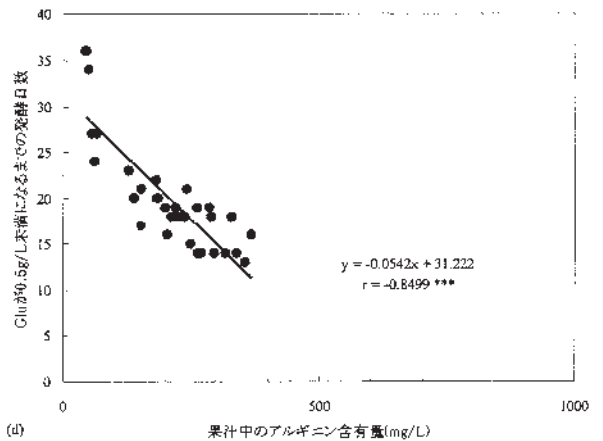
(a)



(b)



(c)



(d)

図11 34試験区の果汁のアミノ酸と発酵日数

時点で既に前者よりもアルコール度数が高くなっており、より多くの果糖が残った段階で発酵が弱まったものと推測された。そこで、すべての試験区で同一条件で計れるブドウ糖の残留量が0.5g/L以下になるまでの発酵日数（以下、Glu日数）と、果汁の遊離アミノ酸含有量の関係を調べた結果を図11に示す。なお、38試験区のうち4試験区は発酵経過の分析頻度が少なくGlu日数を求められなかったため除外した。

まず、34試験区の果汁のアミノ酸総量とGlu日数の相関を求めたところ、図11 (a) で示すように単相関係数 $r = -0.4784$ (*危険率1%で有意) とやや強い負の相関が認められた。そこで、最も含有比率の高いアミノ酸であるプロリンとGlu日数の相関を求めたが、図11 (b) で示すように単相関係数 $r = 0.2583$ と強い相関は認められなかった。これは酵母が発酵中にプロリンを消費できないためであると考え、発酵中に消費できるプロリン以外の遊離アミノ酸総量とGlu日数の相関を求めた。その結果、図11 (c) で示すように単相関係数 $r = -0.8834$ (危険率0.1%で有意) と強い負の相関が認められ、プロリン以外の遊離アミノ酸総量が多いほど発酵が速やかに進行することが明らかになった。また、プロリン以外の遊離アミノ酸総量が600~800mg/Lを境にそれ以上の試験区では、発酵日数との相関は低くなり(800mg/L以上の10試験区の単相関係数は、 $r = -0.261$)、Glu日数は15日前後であった。なお、果樹圃場で含有量の少なかったアルギニンとGlu日数の相関についても、図11 (d) で示すように単相関係数 $r = -0.8499$ (危険率0.1%で有意) と強い負の相関が認められた。なお、プロリン以外の遊離アミノ酸総量の比較的多かった試験区はNO.20, NO.31, NO.25, NO.32, NO.23 (多い順, 910mg/L以上) であり、比較的低かった試験区はK 6,

K 7, K 8, K10, K 9 (少ない順, 510mg/L以下) であった。

以上のことから、34試験区のうち24試験区(23圃場のうち14圃場)で窒素欠乏により発酵が遅延していたことが示唆された。一方、果汁中のプロリン以外の遊離アミノ酸が600~800mg/Lを境にそれ以上の試験区では、順調に発酵が進行していたものと考えられた。

窒素欠乏による遅延のないアルコール発酵を行うためには、ブドウ果汁中の酵母が消費できるプロリン以外の遊離アミノ酸総量を十分含有する原料ブドウを用いることが重要であり、今後も継続して県内各地域の圃場で栽培されたブドウ果汁中の遊離アミノ酸分析を実施し、プロリン以外の遊離アミノ酸量が多い圃場に共通する条件を特定したい。また、併せて発酵助剤の使用有無についても検討したい。

(5) ワイン中のフェニルプロパノイドについて

本実験ではワイン中のフェニルプロパノイドを短時間で測定するにあたり新たなHPLC測定法を開発した。この結果、各化合物とも明瞭かつ比較的短時間で測定できることがわかった。

本方法で行った各ワインのフェニルプロパノイド量の結果は図12に示す。

(6) 官能評価

図13に、38試験区のワインの官能評価結果(一部)を示す。棒グラフは、39人の審査員のうち無回答を除いた評価点の平均値(評点平均値)である。評価点が高いほど、香りが強く(項目①)、香りの質が高い(項目⑩)ことをそれぞれ示す。また、表17に各項目の評点の高かった3試験区(1, 2, 3位)および低かった

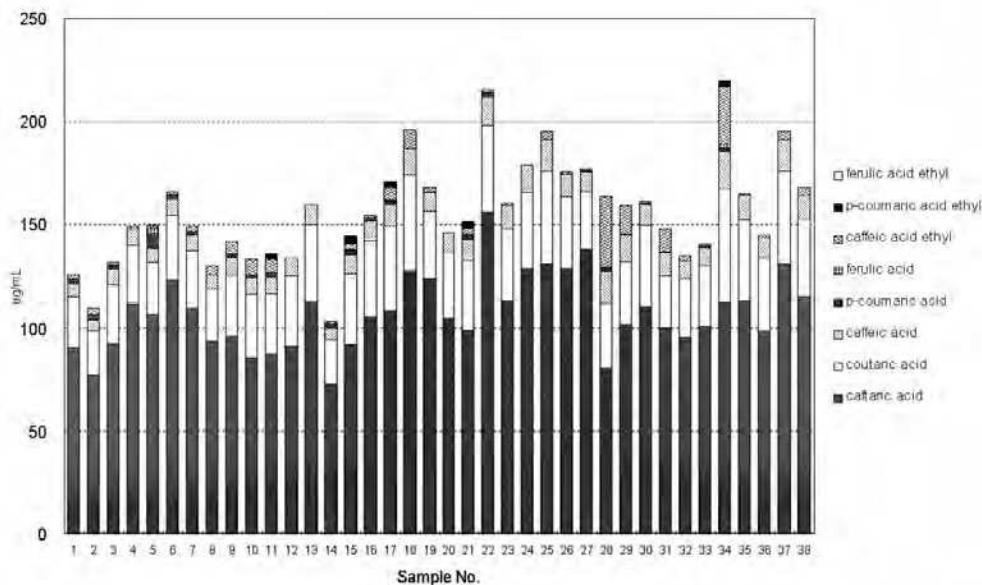


図12 各ワインのフェニルプロパノイド量 (mg/mL)

3 試験区 (36, 37, 38位), 中間 (19位) をそれぞれ示す.

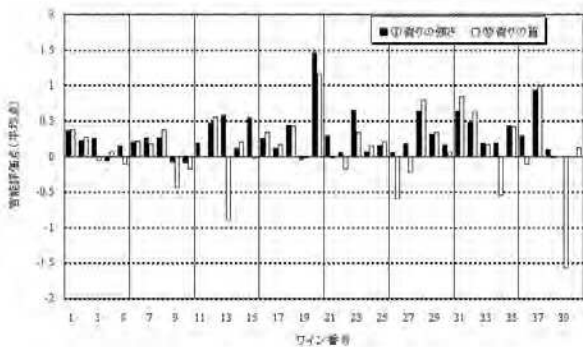


図13 38試験区の香りの官能評価結果 (強さ・質)

表17 38試験区の香りの官能評価結果 (強さ・質)

	順位	1位	2位	3位	19位	36位	37位	38位
①香りの強さ		20	37	23	3	4	9	10
②果実香		20	37	28	2	26	34	13
③柑橘様香気		20	31	28	15	26	13	34
④花様香気		37	20	35	6	34	26	13
⑤蜂蜜様香気 (甘い香り)		37	36	30	8	10	26	13
⑥ほこり・けむりのおい		13	34	26	4	20	31	37
⑦薬品のおい		13	9	34	2	20	37	31
⑧酵母臭		13	26	5	7	31	37	35
⑨異臭		13	26	9	12	31	32	37
⑩香りの質		20	37	31	17	34	26	13

評価平均値について t 検定による有意差検定を行った結果の一部を示す. 項目①「香りの強さ」について, 最も評点の高かったNO.20は, 2位のNO.37に対して危

険率1%で有意に香りが強く, 3位のNO.23に対して危険率0.1%で有意に香りが強いとされた. また, 3位のNO.23と19位のNO.3には有意差認められなかったが, NO.23と20位のNO.2とは危険率5%で有意差が認められた. 項目⑩「香りの質」について, 最も評点の高かったNO.20は, 2位のNO.37および3位のNO.31, 4位のNO.28に対して有意差は認められなかったが, 5位のNO.32に対しては危険率5%で, 19位のNO.17に対しては危険率0.1%で有意に香りの質が高いとされた. また, 3位のNO.31と19位のNO.17とは危険率0.1%で, 4位のNO.28とNO.17とは危険率1%で, 5位のNO.32とNO.17とは危険率5%でそれぞれ有意差が認められた.

全体としては, NO.20, NO.37, NO.31, NO.28等が比較的良好な評価を, 一方NO.13, NO.26, NO.34, NO.9等が比較的に悪い評価を受けた.

(7) 香気成分分析

(i)ヘッドスペース (HS) -GC/MS分析法

図14に, 5種類のエステル類 (IS, HA, EC6, EC8, EC10) について, 38試験区のワイン中の濃度を示す. 試験区間で明らかに濃度差 (5成分の総和: 0.8~5.3mg/L) が認められた. また, 1成分の濃度が高い試験区では, 他の4成分も高い傾向がみられた. そこで, 各エステル類同士の相関を求めたところ, 表18に示すように, いずれも強い正の相関が認められ, 特にアセチル基をもつもの同士や炭素鎖が6本同士, 本数が近い同士 (6本と8本, 8本と10本) では0.8以上であった.

(ii)HPLC-UV分析法

図15 (a) に4VGとその前駆体であるフェルラ酸, (b)

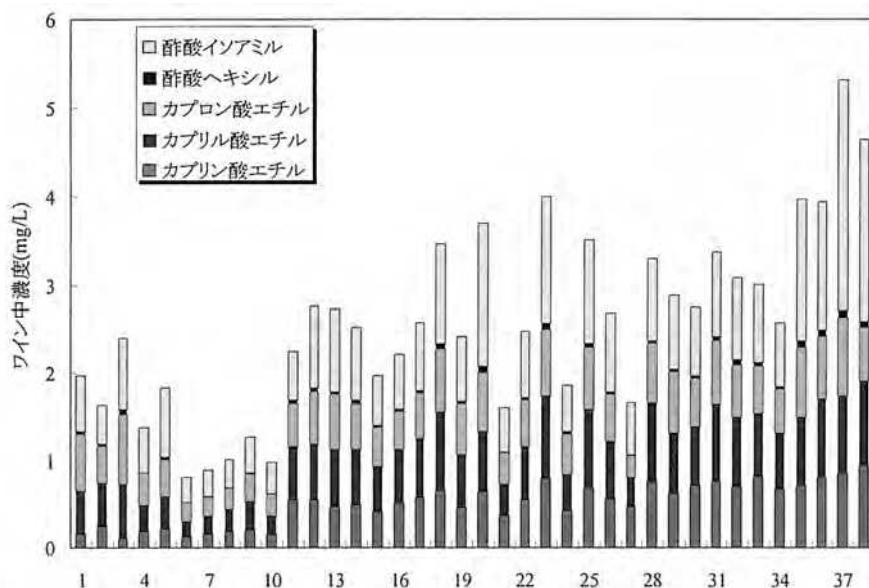


図14 38試験区のワインの香気成分濃度 (エステル類5種)

表18 38試験区のワイン中のエステル化合物同士の相関

相関係数	酢酸ヘキシル	カプロン酸エチル	カプリル酸エチル	カプリン酸エチル
酢酸イソアミル	0.890***	0.763***	0.750***	0.734***
酢酸ヘキシル		0.879***	0.831***	0.713***
カプロン酸エチル			0.876***	0.642***
カプリル酸エチル				0.874***

に4VPとその前駆体であるp-クマル酸について、38試験区のワイン中の濃度を示す。POF活性のネガティブな酵母VL-1を使用した試験区 (NO.5, NO.37, NO.38) では、POF活性がポジティブな酵母VL-3を使用した他の試験区と比較して、明らかな違いが認められた。すなわち、フェルラ酸およびp-クマル酸の脱炭酸が起こらなかった結果、4VGは20 μg/L以下、4VPは検出限界 (5 μg/L未満) と極微量であり、一方フェルラ酸およびp-クマル酸は1.3~1.8mg/Lと2~3倍含まれていた。

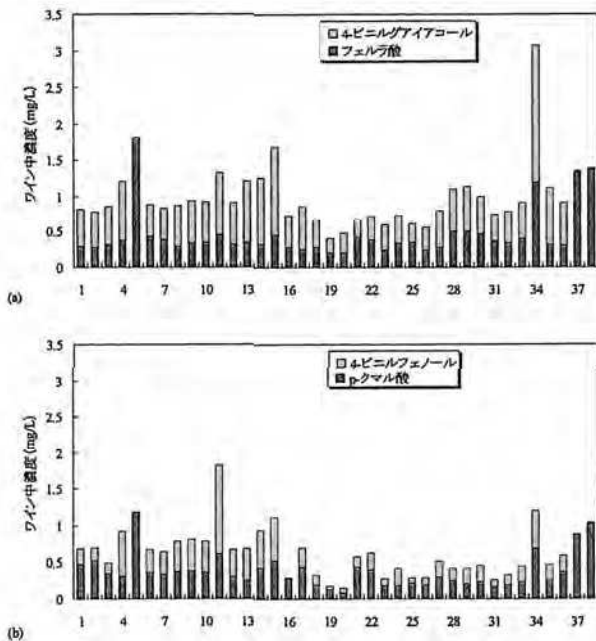


図15 38試験区のワインの香り成分 (フェノール類) 及びその前駆体の濃度

また、官能評価で香りの質が高いと評価されたNO.20やNO.37では、4VG及び4VPのいずれも低い濃度であった。一方、「ほこり・けむりのにおい」が他の試験区と比べて強いと評価されたNO.34は、4-ビニルグアイアコールおよびその前駆体のフェルラ酸の濃度が他と比べて明らかに多く官能評価と一致した。同様に「ほこり・けむりのにおい」および「薬品のにおい」が他の試験区と比べて強いと評価されたNO.13や26では、フェノール類の濃度に有意差は認められなかったが、「酵母臭」や「異臭」も強く他に好ましくない香り成分があったものと推察された。

(8) 遊離アミノ酸含有量と香り成分の関係

表19に、38試験区のワイン中の香り成分量 (酵母が関与する2種類のフェノレ物質及び5種類のエステル類) と果汁中のプロリン以外の遊離アミノ酸総量との相関をそれぞれ示す。このうちEC6との相関図を図16に示す。

4VG及び4VPとの間にはほとんど相関は認められなかったが、酢酸イソアミル、酢酸ヘキシル、カプロン酸エチル、カプリル酸エチル、カプリン酸エチルとは0.1%の危険率で強い正の相関 ($r = 0.659 \sim 0.838$) が認められた。このことから果汁中のプロリン以外の遊離アミノ酸が、エステル類の生成に関与していることが示唆された。エステル類の生成経路については、ロイシン等のアミノ酸の脱アミノ、脱炭酸 (エールリッヒ経路) や糖質からアミノ酸が生合成される経路の中間代謝産物であるケト酸のオーバーフローからの生成が報告されている⁷⁾。以上のことから、果汁中のプロリン以外の遊離アミノ酸香り成分生成の点においても重要であることが明らかとなった。

表19 38試験区の果汁中アミノ酸とワイン香り成分

相関係数	プロリン以外のアミノ酸総量
4-ビニルグアイアコール	0.070
4-ビニルフェノール	-0.326
酢酸イソアミル	0.659***
酢酸ヘキシル	0.753***
カプロン酸エチル	0.743***
カプリル酸エチル	0.838***
カプリン酸エチル	0.717***

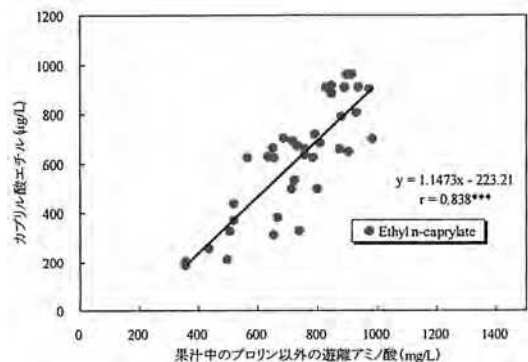


図16 38試験区のワインの香り成分と果汁中のプロリン以外のアミノ酸

4. 結 言

甲府圃場及び果試圃場の2圃場において、圃場、薬剤散布体系（ボルドー液）、収穫時期、醸造条件（液化炭酸ガス）、酵母（POF活性）の違いが、果実・果汁・ワインの品質およびワインの香気成分に及ぼす影響について検討した。また、山梨県内23圃場で栽培された甲州種ブドウから38種類のワインを醸成し、圃場の違いが果汁およびワインの各種成分、ワインの香気について比較検討した。

<甲府・果試圃場>

糖・酸の推移は、8月末時点で甲府圃場では昨年並み、果試圃場では半週早かったが、収穫時の糖度は甲府圃場で約16度、果試圃場で約19度と過去2ヵ年の結果と同様に果試圃場の方が高かった。収穫時の果房の着色は、I期、II期ともに果試圃場の方が赤味が濃かった。

果実の成熟に伴い糖度は上昇し酸含量は低下したが、ボルドー液散布の有無による糖度・酸含量への影響は認められなかったが、ボルドー液無散布の体系では葉の病害の発生が多かった。棚上散布では、棚下散布と比較して搾汁液中の銅含有量を低減できた。果汁中の総酸量は、I期、II期とも、両圃場で差異はなかったが、主要成分である酒石酸とリンゴ酸の比率（T/M比）は甲府圃場の方が高かった。

発酵中の糖類の減少及びエタノールの生成により発酵経過をモニターした結果、果試圃場の方が発酵速度が遅く、発酵日数も長期化した。果汁成分を調べたところ、果試圃場の試験区では遊離アミノ酸（特にアルギニン）が少なく（前年比60%）、発酵遅延の要因と示唆された。銅含有量は薬剤散布体系に依らず0.05ppm未満と発酵中に減少した。ワイン中の全フェノール量及びフェノレ成分（4VP, 4VG）は、POF活性の無い酵母（VL-1）を使用した試験区では、POF活性のある酵母（VL-3）と比較して明らかに少なかった。官能評価より、薬剤散布体系による有意差は認めず、仕込み時に液体炭酸ガスを使用した試験区では香りの質が有意に良いとされた。

<38試験区の比較>

果汁中の銅含有量は、薬剤散布体系により大きく異なり、ボルドー液散布区では無散布区並みに低い試験区（約0.3ppm）から約6ppmまで幅広かった。また、生育期間中にボルドー液を散布したとしても果汁（搾汁液）中の銅含有量が少なければ3MHの香気生成には影響はなく、ボルドー液の散布体系（時期・回数・方法等）を工夫することにより果汁中の銅含有量（果房の付着量）を減少させる可能性を示唆された。

果汁及びワイン中の総酸の比較から、果汁中の総酸が多い場合には発酵中に減少、少ない場合には増加することが明らかになった。主要成分である脂肪族有機酸量を比較した結果、酒石酸は果汁中の含有量が多いほど多

く減少したが、リンゴ酸は1.8g/L（果汁中）を境に増減が分かれ、多い場合には減少、少ない場合には増加した。また、発酵中に生成するコハク酸、乳酸、酢酸は、ほぼ一定値であった。

果汁中のプロリン以外の遊離アミノ酸量と発酵日数の相関を求めたところ、強い負の相関が認められ、窒素欠乏により発酵が遅延していたことが示唆された。また、資化性アミノ酸が600~800mg/L以上の試験区では、発酵日数との相関は低く、順調に発酵が進行していた。また、果汁中のプロリン以外の遊離アミノ酸量とワイン中の香気成分量の相関を求めたところ、果実様の香気をもつエステル類と強い正の相関が認められた。これらのエステル類を多く含む試験区のワインは、官能評価で良い評価を受けていた。これらのことから甲州種ワインの中には、果汁中のプロリン以外の遊離アミノ酸が酵母の増殖に対して量的に十分ではなく、結果として発酵速度や香気生成に影響を及ぼし、ワインの品質に影響を与える可能性が示唆された。

5. 謝 辞

本研究を遂行するにあたり、多大なるご助言をいただいたボルドー第2大学醸造学部の富永敬俊博士に心より感謝申し上げます。

参考文献

- 1) 中込一憲・小林和司・齊藤典義・三森真里子・古屋 栄：山梨県総合理工学研究機構，Vol.1, P.55 (2006)
- 2) 樋川芳仁・飯野修一・中山忠博・荻野 敏：山梨県総合理工学研究機構，Vol.1, P.59 (2006)
- 3) 時友裕紀子：山梨県総合理工学研究機構，Vol.1, P.63 (2006)
- 4) 小松正和・飯野修一・中山忠博・上垣良信・中込一憲・齊藤典義・時友裕紀子・上野 昇：山梨県総合理工学研究機構，Vol.2, P.43 (2007)
- 5) 葡萄酒醸造法：山梨県工業技術センター，P.91 (2000)
- 6) Claudia Barbara Fretz, Jean-Luc Luisier, Takatoshi Tominaga, Renato Amado: Am. J. Enol. Vitic., Vol.56, P.407 (2005)
- 7) ワイン学：産業調査会，P.99 (1998)