栽培条件の異なるブドウ「甲州」を用いたワインの 個性化醸造技術の確立に関する研究

工業技術センター・富士工業技術センター 1 ・果樹試験場 2 ・山梨大学 3 ・山梨大学 3 ・山梨大学 5 ウイン科学研究センター 4 ・山梨県ワイン酒造組合 5

小松正和·飯野修一·中山忠博·原川守·上垣良信¹·猪股雅人²·齊藤典義²· 時友裕紀子³·久本雅嗣⁴·與田徹⁴·上野昇⁵

Studies on the Characterization of White Wine from Koshu Grape Viticulture

Industrial Technology Center, Fuji Industrial Technology Center ¹, Fruit Tree Experiment Station ², University of Yamanashi ³, Institute of Enology and Viticulture, University of Yamanashi ⁴, Yamanashi Pref. Wine Manufacturers' Association ⁵

Masakazu KOMATSU, Shuuichi IINO, Tadahiro NAKAYAMA, Mamoru HARAKAWA, Yoshinobu UEGAKI ¹, Masato INOMATA ², Noriyoshi SAITO ², Yukiko TOKITOMO ³, Masashi HISAMOTO ⁴, Tohru OKUDA ⁴, and Noboru UENO ⁵

要約

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、圃場間格差および薬剤散布体系(ボルドー液)、醸造条件(液化炭酸ガス)、収穫時期、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。その結果、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。ボルドー液の棚上散布により、果房の付着量や果汁中の銅含有量を低減できた。官能評価より、薬剤散布体系による有意差は認められず、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。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、4VP及び4VG量が顕著に少ないことが確認された。果汁中のプロリン以外の遊離アミノ酸量と発酵日数には、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を境に、それ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るものと考えられた。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、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た。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。

1. 緒 言

日本固有の品種であるブドウ「甲州」は、山梨県を中心に古くから生食・醸造兼用品種として栽培されてきた。ブドウ「甲州」を原料とした白ワインは、繊細、淡麗、まろやかな味わいを特徴としたオリジナルワインとして評価され日本人に愛されてきた。近年、ワインの世界的なグローバル化が進むなか、日本市場においても多くの外国産ワインが輸入され、また国産ワインが欧米諸国をはじめとして海外へ輸出されるようになった。このような流れの中で、消費者のワインへの嗜好も変化し始め、甲州種ワインはワイン専用品種の白ワインと比較

して、果実香が乏しく、味わいも平板であるとの指摘が されるようになってきた。年々増加する輸入ワインに対 抗し、国内外において確固たる地位を築いていくために は、消費者の要求する香味豊かな甲州種ワインづくりが 求められている。

そこで本研究では、甲州種ワインの品質向上を目的として、栽培圃場や栽培管理、収穫時期の異なる原料ブドウを用いて、甲州種ワインの香気成分に及ぼす要因を明らかにするとともに、香気成分を助長させる醸造条件について検討した.

平成17年度は、山梨県内の2箇所の栽培圃場(甲府圃場及び果試圃場)を供試し、栽培管理(ボルドー液の

散布有無)や収穫時期(各圃場 5 期(甲府圃場: 8 月 23日,9 月 2 日,12日,22日,10月 3 日;果試圃場:8 月30日,9 月 9 日,20日,30日,10月11日))の異なる20種類の試験区を設定し、ブドウ樹の生育や果実品質、ワインの香気成分に及ぼす影響について検討した^{1)、2)、3)}.平成18年度は、平成17年度と同様な試験区を設け研究結果を再確認するとともに、同年度に存在を確認した微量香気成分を助長させる醸造条件について検討した⁴⁾.

本年度は、過去2ヵ年にわたり調査してきた甲府市お よび山梨市にある2圃場において、圃場の違い、収穫時 期、ボルドー液の散布有無および散布方法の違いが果実 品質およびワインの香気成分に及ぼす影響について再現 性を確認するとともに、醸造条件として果汁(果醪)と 酸素との接触有無・一部(3種類)および使用酵母の違 い (POF (Polyphenol Off Flavor) 活性の有無) がワイ ンの香気成分に及ぼす影響を検討した。また、過去2年 間の結果から圃場の違い(圃場条件)がワインの香気成 分に及ぼす影響が大きかったことから、 圃場条件(立地 条件、土壌成分、施肥、生育中の新梢・摘房・薬剤散布 等の栽培管理、樹のクローンなどの条件の総称)の違い が果汁及びワインの品質に及ぼす影響を調査するため、 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、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.

また、平成18年度醸成したワインの微量香気成分について、第2報⁴以降に検討を加えたので併せて報告する.

2. 実験方法

2-1 薬剤散布体系と果実品質、病害発生の調査

圃場の違いやボルドー液の散布の有無,散布方法の違いが果実品質に及ぼす影響を調査するため,甲府圃場(甲府市里吉,標高260m)の18年生ウイルスフリー樹と果樹試験場圃場(山梨市江曽原,標高460m,以下:果試圃場)の11年生ウイルスフリー樹が植栽されている2園を供試した.

いずれの園も棚栽培・長梢剪定樹を供試し、結実確認 後に収量が約1.8t/10aになるように着果量を調整した.

(1) 薬剤散布体系

薬剤散布は、両圃場とも表1で示すボルドー液散布有無、散布方法が異なる3試験区を設置した。ボルドー液散布区とボルドー液棚上散布区は、使用薬剤は同様であるが、散布区では棚下から果房も含めて薬剤を散布し、棚上散布区では果粒肥大期以降、棚の上部から葉のみに薬剤を散布した。また、一部で棚下からのボルドー液の最終散布期を変えた試験区を設け、収穫時に果房に残存する銅の測定に供した。

(2) 果実品質

果粒軟化期以降,果汁の糖度(屈折計示度:Brix),酸含量(酒石酸換算)を継時的に調査した.成熟期の果実品質調査として,収穫盛期に各試験区10果房の果実を採取し、品質調査を行った.

果房に付着した銅は、果房全体を0.5N-HClで洗浄後、 洗浄液中の銅イオンをICP発光分析法で定量し、果房重 あたりの銅量に換算した.

(3) 病害発生の調査

ボルドー液散布の有無や散布時期を変えた場合の,葉における病害発生について,9月25日に各試験区100葉を採取し,べと病・さび病の発生程度を調査した.

2-2 原料ブドウと小規模試験醸造

(1) ブドウの収穫時期 (甲府・果試圃場)

原料ブドウの収穫時期は、平成17年度および平成18年度のワインの官能評価で香りの強さ・質の評価が高かった早期(平成17年度換算で2.5期)と、酵母の違いを調査する目的から慣行の収穫期よりやや遅い時期(平成17年度換算で4期)の2期を設定し、果汁の糖度および酸含量の経時変化から収穫日を決定した。8月末の時点では、甲府圃場は昨年並み、果試圃場は昨年より半週早くに推移していた。甲府圃場では、9月12日(I期)および10月4日(I期)、果試圃場では9月18日

	20,1	のの人間のマン米万万円で	
圃場・散布日	ボルドー液散布区	ボルドー液棚上区	ボルドー液無散布区
甲府圃場 6月6日	icボルドー66D(40倍)	icボルドー66D(40倍)	アミスター10フロアブル(1000倍)
果試圃場 6月20日	アディオン水和液 (2000倍)	アディオン水和液(2000倍)	アディオン水和液(2000倍)
両圃場 7月6日	icボルドー66D(40倍)	icボルドー66D(40倍) (棚上散布)	ホライズンドライフロアブル(5000倍)
両圃場 7月26日	icボルドー66D(40倍) アディオン水和液(2000倍)	icボルドー66D(40倍) アディオン水和液(2000倍) (棚上散布)	アミスター10フロアブル(1000倍)アディ オン水和液(2000倍)

表 1 試験圃場の薬剤散布体系 2)

z) 落花期~収穫期までの薬剤散布, 他の時期はそれぞれの慣行防除.

圃場 番号	醸造試験区 番号	地区	圃場名	収穫日	収量* (t/10a)	ボルドー液 散布有無*	酵母	破砕 除梗	仕込量 (kg)
1	1 2 3	甲府	里吉	9月12日	3.0 1.8 1.0	無散布	VL3	液体	20
	5		 	10月4日	1.8	! ! !	VL1	炭酸	
2	26		玉諸	10月1日	1.5	i			
3	6 7 8 9	山梨	果樹試験場	9月18日	1.8			ガス 大気(半)	
	10 11		1	10月2日				大気	
4	34	·	¦ 菱山	10月1日;		散布		:	8.6
-4 5 6 7	16	n₩ / TD		10月9日		: 無散布			
5	25	勝沼		10月3日	2.0	! !			
	23 24		勝沼	10月4日 10月24日		散布			
8	12		上岩崎	10月24日) 10月14日)					20
10	27		直星型	10月15日		無散布	1	液体	20
11	15			10月7日		, ///m// //-	1	10011	
12	17	穂坂	穂坂	10月16日		無散布	VL3	炭酸	
13	13			10月16日	1.3	1			
14	14		i	10月16日		散布		ガス	
15	21			10月16日		無散布]		
16	19			9月25日		! !			
17	18		:	9月27日	1.7	1			
18	22		!	10月14日		散布			
19	22 28 29			9月21日 10月1日	2.0	1110年			
15		一宮	一宮	10月10日	2.0	! !			
	ăĭ			9月21日	2.0	1			50
20	32		i		2.0	; !			
	30 31 32 33			10月1日 10月10日	2.0	1			
21	20	御坂	御坂	9月18日		散布	1	: :	20
22	35 36 37	勝沼	東雲	9月26日 10月4日 10月11日	1.5	無散布			500
23	38		休息	10月18日		散布	VL1		
	* 各ブ	下ウ 提供者	の自己申告!						

表 2 平成19年度ワインセンター試験醸造試験区 (栽培条件および醸造条件)

(Ⅰ期) および10月2日(Ⅱ期) となった.

(2) 原料ブドウの圃場条件

圃場条件の違いが果汁及びワインの品質に及ぼす影響を調査するため、山梨県内のワイン会社12社の協力のもと、山梨県内の5地区(甲府・山梨・一宮・勝沼・穂坂・御坂)21圃場で栽培された甲州種ブドウの提供を受けた。上述の甲府・果試圃場を加え、23圃場で収穫されたブドウを用いて、各醸造条件のもと試験醸造を行った。表2に38試験区の栽培条件および醸造条件について示す。収穫日は基本的に各ワイン会社が自社で仕込むために決めた最適日である。また、一部圃場では1週間前後ずらした複数の収穫日を設定した(圃場番号1、3、19、20、22)。

(3) 醸造条件

平成18年度の試験醸造では、全醸造工程(除梗・破砕・搾汁・発酵・貯酒等)において果醪と酸素との接触を可能な限り排除した試験区(以下、 CO_2 区)を設定し、同一原料ブドウを用いて通常の大気下での試験醸造(以下、対照区)と比較した。その結果、ワインの官能評価において、 CO_2 区は対照区と比較して、香りの質が良く、柑橘様香気が強いと評価された。また、後述のGC-

FPDおよびGC/O分析結果から果試圃場の CO_2 区では、対照区の約4倍(濃度)および16倍(FDファクター)もの3-メルカプト-1-ヘキサノール(以下、3MH)が存在したことが明らかとなった。そこで本年度は、果試圃場のI期を除き CO_2 区とした。果試圃場のI期では、収穫した原料ブドウを3分し CO_2 区および一部 CO_2 区、対照区の3試験区を設定した。一部 CO_2 区では、醸造工程のうち搾汁のみを大気下で行った。搾汁後の果汁の渇変度合い(目視)は、対照区-部 CO_2 区>C O_2 区の順序であった。

(4) 果汁 (搾汁液) の調製

収穫したブドウ約20kgを除梗・破砕後、小型水圧式 圧搾機を用いて搾汁を行い、搾汁率約46.5%の果汁(搾 汁液)を得た。果汁分析試料等を採取した後、残りの搾 汁液にピロ亜硫酸カリウム(SO_2 として50ppm)を添加 した。

CO₂区では、日本液炭社製の食品添加物規格の液化炭酸ガスからドライアイス簡易製造器(ドライホーン、同社製)を介して雪状のドライアイスを製造.これを除梗破砕機や圧搾機、発酵用容器、瓶詰めラインの周囲等に適量散布し炭酸ガスを発生させ、除梗・破砕・搾汁の各工程において果醪と酸素との接触を可能な限り排除した

状態とした上で仕込みを行った.

(5) ワインの小規模試験醸造

上記の各搾汁液9Lを発酵栓付き10L容ガラス容器に採取し、比重換算で転化糖分22%となるように式①より算出した蔗糖量を添加し仕込果汁とした.

転化糖分=(比重-1)×100×2.7-2.5···式 $\mathbb{1}^5$ 一部試験区では、30L容あるいは300L容のステンレス製サーマルタンクを使用した。各仕込果汁に市販の乾燥酵母(Zymaflore VL-3(POF活性ポジティブ),一部試験区ではZymaflore VL-1(POF活性ネガティブ))を1 mL当り 10^6 個以上の密度になるよう添加し、室温18 $\mathbb{2}^6$ の恒温室で発酵させた。発酵中の果醪を定期的に採取した後、液体クロマトグラフィーでブドウ糖と果糖の総量(残留還元糖量)およびエタノール含有量を定量することにより、発酵中の各果醪の発酵経過を経時的に測定した。各果醪の残留還元糖が4 g/L前後に達した段階でピロ亜硫酸カリウム(SO_2 として100ppm)を添加した後、液温を-4 $\mathbb{2}^6$ $\mathbb{2}^$

澱下げ後の果醪の上澄液を $0.45\,\mu\,\mathrm{m}$ のメンブランフィルターで濾過した後, $720\mathrm{m}$ Lガラス瓶に詰めワイン試料とした.

醸造試験区の内容については、3-2 項および3-7 項に記載した.

2-3 ワインの官能評価

ワインの香気について以下の方法で官能評価を行っ た.

(1) パネル

山梨県内のワイン醸造関係者39名

(2) 評価方法

各ワインの香りをかいだ後、口に含み、トップノートと口中香を総合した印象を評点法にて評価した。質問項目は香りの強さ、果実香、柑橘様香気、花様香気、蜂蜜様香気(甘い香り)、ほこり・けむりのにおい、薬品のにおい、酵母臭、異臭、香りの質の10項目で前報4)と同様に7段階評価とした。

(3) 解析方法

各ワインの評点平均値についてt検定により、有意差 検定を行った.

2-4 ワインの 微量 香 気 成 分 分 析 (GC/O, GC-FPD)

(1) 香気成分の抽出・分画

香気成分の抽出にはエーテル・ペンタンによる溶媒抽

出法を用い,前報⁴⁾ と同様の方法で香気濃縮物(除酸部)を得た.

(2) 香気濃縮物の分析 (GC/O分析)

香 気 濃 縮 物 はGC/O (Gas chromatography/Olfactometry) 分析により、前報 4 と同様の方法でAEDA (Aroma Extract Dilution Analysis) を用い、においの評価を行った。ワイン100mlを使用し、30mgまで濃縮したものをGCに注入し、これを順次4 n 倍 (n=0, 1, 2, \cdots) に希釈して常に同量 (0.5μ l) 注入し、においが感じられなくなるまで GC/O分析を行った。においが感じられた最大の希釈倍数(1, 4, 16, 64, 256, 1024) を各ピーク(におい)のFDファクターとして示した。

(3) 3MHの分析 (GC-FPD分析)

甲州種ワイン中に含有する3MHの含有量は、様々な品種のワインの文献値 ⁶⁾ から10~1,000ng/Lの範囲にあると推測されるため、ワイン200mLを約100mgまで濃縮した香気濃縮物を用いてGC-FPD分析を行い、ワイン中の3MH含有量を測定した。定量方法は、香気濃縮物のピーク面積と、市販の試薬(ACROS製)から調製した標準物質のピーク面積より求めた。GC分析条件は前項のGC/O分析と同一とした。

2-5 ワインの香気成分分析(HS-GC/MS, HPLC-UV)

(1) ヘッドスペース (HS) -GC/MS分析法

今年度、ワインセンターで試験醸造した38種類のワイン(No.1からNo.38)について、ヘッドスペースーGC/MS分析法による酢酸イソアミル(以下、IA)、酢酸ヘキシル(以下、HA)、カプロン酸エチル(以下、EC6)、カプリル酸エチル(以下、EC8)、カプリン酸エチル(以下、EC10)、4-ビニルグアイアコール(以下、4VG)の簡便な定性・定量分析法を検討した。

ワイン10mLに内部標準物質(I.S.)としてシクロへキサノール(135mg/L)及びトルエンd8(160mg/L)の50%エタノール水溶液を100μL添加した.検量線用の標準液は13%エタノール水溶液にて調整した.これらのサンプルはヘッドスペースサンプラー(Turbo Matrix HS,Perkin Elmer製)に 7800、100 に 780、100 に 780 に 780

GCに は 装 置 と し てSHIMADZU GC-17A Gas Chromatograph 直結SHIMADZU GCMS-QP5050Aを用いた. カラムはDB-WAXカラム (30m×0.25mm, 膜厚0.5 μm, J&W製) を用い, カラムオーブンは40℃にて5分保持後, 240℃まで10℃/minで昇温した後5分保持

した. イオン化はEI法で行い、検出器ゲインは1.4kVとした. MSによる定量はSIMモードで行った.

(2) HPLC-UV分析法

甲州種ワインは他品種の白ワインと比較してフェノール性化合物が多いとされており、収穫時期の遅いブドウから醸造したワインを中心に、フェノールの香気成分である4-ビニルフェノール(4VP)および4-ビニルグアイアコール(4VG)(白ワインのフェノレ成分)の強い香気がしばしば問題視されている。そこで、今年度ワインセンターで試験醸造した38種類の甲州種ワイン(No.1からNo.38)について、HPLC-UV分析法による4-ビニルフェノール(4VP)、4-ビニルグアイアコール(4VG)の簡便な定性・定量分析法を検討した。

 $0.45 \, \mu \, \text{mo}$ メンブランフィルターで濾過したワイン20 $\mu \, \text{L}$ を分析試料とした.これを高速液体クロマトグラフィー(HPLC)によりUV検出器で280nmの吸光度を測定した.標準液は市販の試薬(4VP:Lancaster製、4VG:Wako製)を100%エタノール中に溶解した後、13%エタノール水溶液に調整した.定量方法は,種々の濃度に調製した標準液のピーク面積から検量線を作成し,試料のピーク面積を検量線に当てはめ求めた.

2-6 フェニルプロパノイド分析

フェニルプロパノイド化合物は、前述のフェノール性香気成分の前駆体となるほか、ワインの色調や苦味等の呈味にも関与している。そこで、今年度ワインセンターで試験醸造した38種類の甲州種ワイン(No.1からNo.38)について、HPLC-DAD分析法によるフェニルプロパノイド(カフタリック酸、クータリック酸、コーヒー酸、p-クマル酸、フェルラ酸、コーヒー酸のエチルエステル体、p-クマル酸のエチルエステル体、フェルラ酸のエチルエステル体)の簡便かつ短時間での定性・定量分析を試みた。

0.45 μmのメンブランフィルターで濾過したワインを 分析試料とした. これを高速液体クロマトグラフィー (HPLC) によりDiode array検出器 (200~600nm) で 吸光度を測定した. 各成分の定量に用いた標準物質について,カフタリック酸及びクータリック酸は甲州種ワインよりクロマトグラフィーによる単離,コーヒー酸,p-クマル酸,フェルラ酸は東京化成製,エチルエステル体 3 種は合成によりそれぞれ得た.

2-7 香気以外の成分分析

(1) ブドウ果実

仕込み時に、20kgの原料ブドウから平均的な大きさの10房をサンプリングし、次の6項目の測定を行った.

- ·房長 (cm) (10房の平均値)
- ・房重(g/房)(10房の平均値)

- ・粒長 (mm) (10房から採取した100粒の平均値)
- ・粒重 (g/粒) (10房から採取した100粒の平均値)
- ・着粒数(粒/房)(房重を粒重で除して算出)
- ・種数 (個/粉) (10房から採取した100粉の平均値)
- ・ブドウ果皮色 (L*a*b*表色系) (10房から採取した100粒の平均値):日本電色工業製,測色色差計ZE6000及びコニカミノルタ製,分光測色計CM-3500dを使用した.

(2) ブドウ果汁

搾汁直後の果汁をサンプリングし次の各項目の分析に 供した.

- ・比重:国税庁所定分析法によった.
- ・糖度 (Brix示度): アタゴ製, デジタル糖度計PR-101 α を使用した.
- ・総酸 (酒石酸換算) (g/L): 果汁10mLを分取し, 1/10N-NaOH水溶液でpH8.2まで滴定し, 得られた値を 酒石酸に換算して示した.
- ・pH:堀場製作所製, pHメーターF-21を使用した.
- ・糖類(ショ糖、ブドウ糖): $0.45\,\mu\,\mathrm{m}$ のメンブランフィルターで濾過した果汁を分析試料とし、HPLCによりRI 検出器で分析した.
- ・有機酸(クエン酸、酒石酸、リンゴ酸、コハク酸、乳酸、酢酸): $0.45\,\mu\text{m}$ のメンブランフィルターで濾過した果汁を分析試料とし、HPLCによりポストカラム法 (UV-Vis検出器) で分析した.
- ・全フェノール:蒸留水で50倍希釈した果汁1 mLを分析試料として、Folin-Ciocalteu法で分析した. 島津製、分光光度計UV-1200を使用し765nmの吸光度測定し、得られた値を濃度既知の没食子酸の吸光度を用いて換算して示した.
- ・遊離アミノ酸: $0.45\,\mu\text{m}$ のメンブランフィルターで濾過した果汁を0.01N HCI溶液で 5 倍希釈し, $0.20\,\mu\text{m}$ のメンブランフィルターで濾過したものを分析試料とし,日立製,L-8500形高速アミノ酸分析計を用いて41種類の遊離アミノ酸を一斉分析した.但し,分析結果を確認したところ,定性・定量できなかった比較的強いピークが 1 本存在した.
- ・Cu含有量:果汁20mLを濃硝酸および過酸化水素水を用いて湿式灰化した後,得られた無色透明な溶液を1%HCl溶液で2.5倍希釈し分析試料とし,SEIKO製,SAS760型原子吸光分析装置を用いて分析した.

(3) 果醪

・発酵経過:果醪の発酵経過を調査するため、 $2 \sim 3$ 日に1回の割合で発酵容器から果醪をサンプリングし、 $0.45\,\mu\,\mathrm{m}$ のメンブランフィルターで濾過したものを分析試料とし、残留還元糖(ショ糖+ブドウ糖)及びグリセロール生成量、エタノール濃度をHPLCによりRI検出器

で分析した.

(4) ワイン

- ・比重,アルコール,エキス:国税庁所定分析法によった
- ・総酸 (酒石酸換算) (g/L), pH, 糖類 (ショ糖, ブドウ糖), 有機酸 (クエン酸, 酒石酸, リンゴ酸, コハク酸, 乳酸, 酢酸), 全フェノール:果汁と同様に分析した.
- ・遊離アミノ酸:果汁と同様に分析した. 但し, 希釈率は2倍, 注入量を標準液に対して2倍に増量し実質等倍として分析した.
- ・Cu含有量:今年度の試験醸造ワインは一部を除きエキス分2.00以下の辛口であったことから、 $0.45\,\mu$ mのメンブランフィルターで濾過したワインを直接分析試料とした.但し,赤ワインについては,果汁と同様に湿式灰化した後 $1\,\%$ HCI溶液で2.5倍希釈し分析試料とした.

3. 結果及び考察

3-1 生育及び果実品質特性(甲府・果試圃場)

図1に各圃場,薬剤散布体系ごとの糖度および酸含量の推移を示した. 圃場別に比較すると,果試圃場では最終的な糖度は20度に達したが,甲府圃場では16度であり,昨年までと同様に果試圃場で糖度が高い傾向にあった. 両圃場の生育を比較すると,表3に示すとおり果試圃場で1.5m以上の新梢の割合が高く,樹勢が旺盛であったが、これが品質差に及ぼす影響は明らかではない.

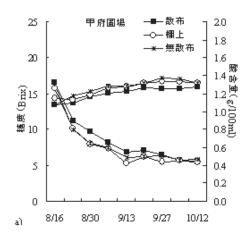
ボルドー液散布体系の違いを比較すると、甲府圃場の ボルドー液散布区において糖度がやや低い傾向にあった が、果試圃場では散布体系の違いによる差は認められな かった. 表 4 に収穫時の果実品質を示す. 収穫時の糖度

表3 甲府圃場および果試圃場の生育調査結果

	開花	満開期	新村	消の長さ別	割合(落葉	期)
	始期	個用別	1m未満	1~1.5m	1.5~2.0m	2.0m以上
甲府圃場	5/28	6/1	68%	22%	7%	3%
果試圃場	6/5	6/8	44 %	18%	11%	27%

表 4 薬剤散布体系の違いが「甲州」の果実品質に及ぼ す影響

圃場	薬剤散布体系	房長	房重	着粒数	1 粒重	着粒密度	糖度	酸度
囲場	栄用取作体示	cm	g	粒	g	粒/cm	Brix	g/100ml
produced litt	ボルドー液散布	22.4	341.7	72.0	4.6	4.0	15.8	0.58
甲府圃場 9月12日	ボルドー液棚上散布	20.8	325.7	69.9	4.5	4.3	16.2	0.48
0 /11211	ボルドー液無散布	21.8	341.6	77.7	4.3	4.3	16.2	0.56
pet = b peet list	ボルドー液散布	20.2	356.8	87.7	4.0	5.5	18.9	0.55
果試圃場 9月19日	ボルドー液棚上散布	17.9	318.0	76.4	4.1	5.4	18.9	0.54
0 /110 []	ボルドー液無散布	18.3	319.5	77.1	4.1	5.2	18.8	0.57



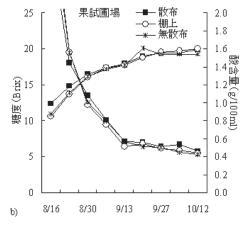


図1 甲府・果試圃場の糖度・酸含量の継時変化

は甲府圃場で16度程度、果試圃場で19度程度であった。糖度の推移と同様に、甲府のボルドー液散布区の糖度がやや低い傾向にあったが、過去2ヶ年 $^{1)$,4)を見てもボルドー液の散布の有無が糖度に及ぼす影響はないと考えられることから、試験区による誤差と考えられる。

他の果実品質を圃場ごとで比較すると, 果試圃場で着 粒数が多く, 果粒が小さい傾向であった.

表 5 にボルドー液散布体系の違いと成葉の病害発生程

表 5 薬剤散布体系の違いが「甲州」の病害発生に及ぼす影響

圃場	薬剤散布体系	成葉での発病度 ^{z)}				
凹场	栄用臥仰冲ボ	べと病	さび病			
	ボルドー液散布	4.5	5.3			
甲府圃場	ボルドー液棚上散布	5.5	6.5			
	ボルドー液無散布	28.8	15.8			
	ボルドー液散布	0.5	2.0			
果試圃場	ボルドー液棚上散布	0.5	2.0			
	ボルドー液無散布	58.5	8.8			

z) 発病度= {(4A+3B+2C+D) / (4×調査葉数)} ×100 (発斑の面積: A:51%以上、B:31~50%、C:11~30%、D: 10%以下、E:0%) 度を調査した結果を示す.いずれの圃場においてもボルドー液無散布区では、べと病、さび病とも発病度が著しく高く、収穫時には早期に落葉する様子も観察された. 一方、ボルドー液の散布方法の違いは、発病度には影響せず、いずれも病害の発生抑制に効果が認められた.

表 6 果房へのボルドー液の散布と銅付着量(甲府)

散布	i 日 ^{z)}	Cu付着量(mg/kg)					
6 月	6 日	1.54					
6月6日	7月6日	2.73					
6月6日	7月26日	3.02					
無背	 汝布	0.02					

z) 果房へのボルドー液の散布日

表6にボルドー液散布日と果房の銅付着量を示す.棚下からのボルドー液の最終散布時期を変えた果房では、6月6日(落花直後)の1回のみ果房に散布した試験区に対し、2回散布によってCu付着量が倍増した.

銅の残存が3MH等のワインの香気成分の生成に悪影響を及ぼす一方で、ボルドー液無散布による早期落葉などを誘発する病害の発生は、永年作物であるブドウの樹体維持にとっては好ましくない。そのため、棚上からのボルドー液の散布を行うなど、果房への銅の付着を最小限に抑えることを考慮しながら、ボルドー液の使用を基本とした防除体系は重要であると考えられる。

3-2 果汁成分と発酵経過(甲府・果試圃場)

(1) 果汁成分 (糖・酸・銅) と果皮色

表7に各圃場,薬剤散布体系で収穫期 I または II 期に収穫されたブドウ20kgを搾汁率46.5%で搾汁した果汁(搾汁液)の各種成分およびブドウの果皮色を示す.

圃場別に比較すると、3-1項で示したBrix糖度と同様に、果試圃場の方が甲府圃場より比重が高く、その分補糖量は減少した。また、酸含量は圃場間で大差はなかった(3-1項)が、その主要成分である酒石酸とリンゴ酸の組成比(酒石酸/リンゴ酸、以下T/M比)を比較すると、収穫時期に寄らず甲府圃場の方がT/M比は高かった。

果試圃場の薬剤散布体系別に果汁中の銅含有量を比較

すると、散布区>棚上散布区>無散布区となった。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 減できることが確認された。

今年度初めて収穫されたブドウの果皮色を色差計を用いて $L^*a^*b^*$ 表色系で数値化を試みた.各圃場,同一薬剤散布体系で,収穫期間比較すると,いずれも L^* : I 期>I 期, a^* : I 期<I 期, b^* : I 期>I 期となっており,ブドウの成熟に伴い,赤味(a^*)と青み(b^*)を増し,明度(L^*)が低下,すなわち紫色が強くなったことを示しており正しく数値化できることが確認された.また,同一収穫期で圃場間比較すると,I 期,I 期ともに L^* : 甲府>果試, a^* : 甲府<I 果試,I となり,果試圃場の方がいずれの収穫期ともに着色度合いが進んでいたことが裏付けられた.図 I に果式・甲府圃場の収穫時期 I の写真を示す.

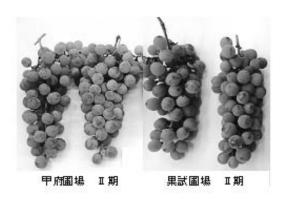


図2 果試・甲府圃場の収穫期Ⅱ期の写真

(2) 醸造試験区

表 8 に、各圃場の醸造試験区の諸条件及び、発酵日数、最終エタノール濃度をそれぞれ示す。各醸造試験区の条件について次に示す。A~Eは甲府圃場、F~Kは果試圃場で収穫されたブドウを用いた試験区である。FとGのみボルドー液を散布した試験区で、前者は棚下散布、後者は棚上散布である。A~C及びF~Jの収穫期 I、D、E、Kは収穫期 II である。A、B、Cは収量のみ異なる。D、Eは使用酵母のみ異なる。H、I、Jは醸造条件のみが異なる。

表7 甲府・果試圃場の各薬剤散布体系及び収穫時期の果汁(搾汁液)の各種成分およびブドウ粒の果皮色

圃場	薬剤散布	ЦX	【穫期/日	補糖量	比重	рН	総酸	酒石酸	リンゴ酸	T/M比	ブドウ糖	果糖	銅	L*	a*	b*
	ボルドー液			g/L			g/L	g/L	g/L		g/L	g/L	ppm		10粒平均	J
甲府	無散布	Ι	9月12日	82	1.064	3.21	6.8	4.7	1.9	2.5	76.7	76.9	0.27	57.0	0.3	17.1
中州	無散布	Π	10月4日	63	1.070	3.32	5.8	3.7	1.1	3.2	82.8	85.0	0.29	49.4	7.6	16.2
	散布	Ι	9月18日	39	1.078	3.26	6.6	3.2	2.0	1.6	83.5	84.7	5.76	40.2	14.5	10.5
4き田	棚上散布	Ι	9月18日	39	1.078	3.25	6.8	3.5	2.2	1.6	90.9	92.2	1.74	45.5	12.1	15.8
果試	無散布	Ι	9月18日	39	1.078	3.24	6.5	3.6	2.2	1.6	88.5	89.5	0.27	45.2	13.3	14.3
	無散布	II	10月2日	39	1.078	3.37	5.7	2.4	1.5	1.6	91.1	94.4	0.43	41.2	16.3	10.5

NO.	圃場	ボルドー液	H)	又穫期/日	収量	醸造条件	牛/酵母	発酵日数	残糖	エタノール
				days	t/10a			days	g/L	vol%
A		無散布	Ι	9月12日	3.0	CO_2	VL-3	27	1.9	13.1
В		無散布	Ι	9月12日	1.8	CO_2	VL-3	41	5.3	13.2
C	甲府	無散布	Ι	9月12日	1.0	CO_2	VL-3	21	3.9	13.0
D		無散布	Π	10月4日	1.8	CO_2	VL-3	29	3.9	12.9
E		無散布	${\rm I\hspace{1em}I}$	10月4日	1.8	CO_2	VL-1	29	4.2	12.9
F		散布	Ι	9月18日	1.8	CO_2	VL-3	55	4.1	12.7
G		棚上散布	Ι	9月18日	1.8	CO_2	VL-3	49	4.3	12.7
Н	4≑⊞	無散布	Ι	9月18日	1.8	CO_2	VL-3	44	4.2	12.7
I	果試	無散布	Ι	9月18日	1.8	一部 CO_2	VL-3	35	4.3	12.4
J		無散布	Ι	9月18日	1.8	対照	VL-3	36	4.1	12.5
K		無散布	II	10月2日	1.8	CO_2	VL-3	35	3.1	12.8
	38詢	試験区の平均						26	3.8	12.8

表8 甲府・果試圃場の各醸造試験区の諸条件及び発酵経過

(3) 発酵経過

図3に、各圃場(ボルドー液無散布、収穫期 I 期)の発酵中のショ糖、ブドウ糖、果糖の減少およびグリセロール、エタノールの生成をモニターすることにより発酵経過を観察した結果を示す。

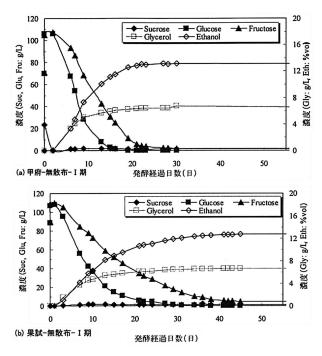


図3 発酵経過(甲府・果試圃場,無散布, I期)

果試圃場の各試験区では、甲府圃場と比較して、発酵初期から停止するまで発酵が緩慢に進行し、果試圃場の方が甲府圃場よりも発酵が長期化した。今年度醸造した38試験区の平均26日間と比較しても10~30日長かった(表8).

このことから果試圃場の試験区では,ブドウ果汁中に 発酵上必要不可欠な成分が欠乏している可能性が考えら れたので、今年度醸造した38試験区の果汁成分との比較を行った。その結果、表 9 に示すように果試圃場のすべての試験区で果汁中の遊離アミノ酸が少なく、特にアルギニン(Arg)が他試験区よりも明らかに少ないことが判明した。そこで、38試験区の果汁の遊離アミノ酸含有量と発酵日数の関係について検討した。この結果については、3-7 項に記述した。

(4) 果汁の遊離アミノ酸含有量の年度比較

表10に、各圃場の平成18年度及び平成19年度の果汁(収穫日2種)の主要遊離アミノ酸含量を示す。遊離アミノ酸総量について圃場別に年度比較すると、甲府圃場では収穫時期に寄らず平成19年度の方が約300mg/L(前年比130%)多いのに対し、果試圃場では逆に平成19年度の方が700~800mg/L(前年比60%)少なかった。このことから果汁中の遊離アミノ酸量は、収穫年により大きく変動することが示唆された。

また、総アミノ酸量に対するプロリンの比率について圃場間で比較すると、年度に依らず同じ収穫時期(ブドウの成熟度)では果試圃場の方がプロリンの比率が高かった。23圃場の果汁においても、年度に依らずプロリン比率の高い圃場と低い圃場が認められており(ブドウの成熟とともに9~10月の1ヶ月に上昇するプロリン比率よりも大きな差)、この要因が樹の系統、土壌、栽培管理等のいずれにあるのかは今後の課題である。

3-3 ワインの成分(甲府・果試圃場)

表11に、各圃場で栽培されたブドウから醸造したワインの各種成分を示す。比重は $0.989\sim0.990$ 、エキスは $1.54\sim2.00$ 、残糖は $1.9\sim5.3$ g/Lと、いずれの試験も比較的辛口なワインであった。発酵停止の基準として残糖約4g/Lを設定したが、発酵容器内へ酸素の侵入を極力抑制するために還元糖測定を $2\sim3$ 日に1回としたので±2g/Lの誤差が生じた。pHは $3.03\sim3.33$ であり、い

ずれの試験区でも果汁と比較して0.1~0.2低い値となった。全フェノールは没食子酸換算で273~417mg/Lであり、収穫期Ⅱの方がⅠより含有量が多くなる傾向と、圃場間格差が認められた.総酸は5.6~7.7g/Lであり、果汁の総酸と比較すると、果汁の総酸が約6g/Lより少ない試験区では増加する傾向がみられた.有機酸6種類(クエン酸、酒石酸、リンゴ酸、コハク酸、乳酸、酢酸)の発酵前後の含有量の変化をみてみると、酒石酸が0.4

~2.9g/L減少し、コハク酸が約1g/L、乳酸が約0.2g/L、酢酸が約0.4g/L生成した。リンゴ酸は、試験区により増減の両方がみられた。総酸及び有機酸の発酵前後の増減についての考察は、3-7項(2)に記載した。銅の含有量については、果汁中で多かったボルドー液散布区を含め全ての試験区で、0.05ppm未満であり発酵中に他の成分と結合し沈殿し澱として除去されたものと推察された。

表 9 甲府・果試圃場の果汁中の主要な遊離アミノ酸の含有量

圃場	ボルドー液	収量	収穫期	総アミノ酸	Pro以外	P	ro	A	rg	Al	la	G]	lu	Glul	NH_2
		t/10a		mg/L	mg/L	mg/L	%								
	無散布	3.0	I	1117	714	403	36%	218	20%	66	6%	71	6%	95	9%
甲府	無散布	1.8	I	1360	799	562	41%	200	15%	84	6%	95	7 %	92	7%
中州	無散布	1.0	I	1283	756	527	41%	204	16%	78	6%	85	7 %	91	7%
	無散布	1.8	П	1340	654	686	51%	182	14%	56	4%	43	3%	56	4 %
	散布	1.8	Ι	962	358	603	63%	47	5%	40	4 %	80	8%	26	3%
果試	棚上散布	1.8	I	916	358	558	61%	44	5%	40	4%	82	9%	30	3%
木矶	無散布	1.8	I	993	437	557	56%	51	5%	52	5%	90	9%	55	6%
	無散布	1.8	П	1398	567	831	59%	62	4%	47	3%	48	3%	90	6%
38試	験区の平均			1247	730	517	41%	222	18%	70	6%	60	5%	83	7%

Pro: プロリン, Arg: アルギニン, Ala: アラニン, Glu: グルタミン酸, GluNH₂: グルタミン

表10 甲府・果試圃場の果汁中の主要な遊離アミノ酸の年度比較

年度	圃場	収穫日	総アミノ酸	Pro以外	Pı	Pro		rg	Al	a	Gl	u	$GluNH_2$	
			mg/L	mg/L	mg/L	%	mg/L	%	mg/L	%	mg/L	%	mg/L	%
	甲府	9月13日	1085	692	393	36%	230	21%	89	8%	61	6%	77	7 %
2006	中州	9月25日	1049	568	480	46%	171	16%	67	6%	40	4%	35	3%
(H18)	果試	9月20日	1680	820	861	51%	200	12%	125	7%	102	6%	76	5%
	木武	10月2日	2271	1012	1259	55%	212	9%	127	6%	121	5%	112	5%
	甲府	9月12日	1360	799	562	41%	200	15%	84	6%	95	7%	92	7 %
2007	中州	10月4日	1340	654	686	51%	182	14%	56	4%	43	3%	56	4 %
(H19)	4年田	9月18日	993	437	557	56%	51	5%	52	5%	90	9%	55	6%
	果試	10月2日	1398	567	831	59%	62	4 %	47	3%	48	3%	90	6%

 $Pro: \mathcal{I}$ ロリン、 $Arg: \mathcal{I}$ アルギニン、 $Ala: \mathcal{I}$ アラニン、 $Glu: \mathcal{I}$ グルタミン酸、 $GluNH_2: \mathcal{I}$ グルタミン

表11 甲府・果試圃場の醸造試験区における生成ワインの各種成分

NO.	圃場	比重	アルコール	エキス	残糖	рН	全フェノール	総酸	酒石酸	リンゴ酸	コハク酸	銅
			vol%		g/L		$mg/L^{1)}$	$g/L^{2)}$	g/L	g/L	g/L	ppm
A		0.990	13.2	2.00	1.9	3.06	273	7.0	2.7	1.3	0.9	0.05未満
В		0.990	13.2	2.00	5.3	3.09	273	6.8	2.4	1.5	1.0	0.05未満
C	甲府	0.990	13.1	1.98	3.9	3.15	319	6.8	2.5	1.5	0.9	0.05未満
D		0.990	12.9	1.93	3.9	3.11	375	7.2	2.0	1.5	1.2	0.05未満
E		0.989	13.0	1.69	4.2	3.05	333	5.6	1.9	1.4	1.1	0.05未満
F		0.990	12.8	1.90	4.1	3.24	417	7.7	2.0	2.0	1.2	0.05未満
G		0.990	12.8	1.90	4.3	3.03	384	6.7	2.0	2.1	1.2	0.05未満
Н	# 4≥ H	0.990	12.6	1.85	4.2	3.21	380	7.5	1.8	2.1	1.1	0.05未満
I	果試	0.990	12.6	1.85	4.3	3.05	380	6.5	2.1	2.0	1.1	0.05未満
J		0.990	12.6	1.85	4.1	3.17	370	7.7	2.0	2.2	1.2	0.05未満
K		0.989	12.5	1.54	3.1	3.33	417	7.0	2.0	1.9	1.2	0.05未満

1) 没食子酸として, 2) 酒石酸として

3-4 官能評価結果(甲府・果試圃場)

甲府・果試圃場,各薬剤散布体系で収穫期 I または II 期に収穫されたブドウから,いずれかの酵母(VL-1,VL-3)を使用して 3 種類の醸造条件(CO_2 区,一部 CO_2 区,対照区)で醸造した各ワインの官能評価を評点法に て実施し,以下のような結果を得た.

(1) 圃場の違い

図4に圃場の違いによる官能評価結果の比較を示す. 収穫期 I 期(甲府:9月12日,果試:9月18日)のワインを比較した結果,いずれの項目においてもサンプル間に有意差は認められなかった.収穫期 II 期(甲府:10月4日,果試:10月2日)については,果試圃場のワインが甲府圃場のワインに比較して,危険率5%で有意に柑橘様香気が強いとされた.この結果は昨年度とも一致している 4).

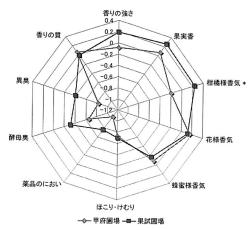


図4 圃場の違いによる官能評価結果の比較(Ⅱ期)

(数値は評点平均値, **は1%, *は5%危険率で 各々有意差あり.)

(2) 薬剤散布体系 (ボルドー液) について

果試圃場のボルドー液散布区,棚上散布区,無散布区 について比較した結果,いずれの項目においてもサンプ ル間に有意差は認められなかった.

(3) 収穫期の違い

甲府(里吉)圃場の収穫期 I 期(9月12日)と I 期(10月4日)のブドウから醸造されたワインについて比較した結果、いずれの項目においてもサンプル間に有意差は認められなかった。果試圃場の I 期(9月18日)と I 期(10月2日)については、I 期のワインが I 期に比較して、危険率 5 %で有意に異臭が強いとされた。

(4) 酵母の違い

VL-1を使用したワインが、VL-3のワインと比較して、危険率5%で有意に酵母臭と異臭が強いとされた.

但し、今年度醸造した38試験区のワインのうち、VL-1 を使用したものの中にはVL-3と比べて果実香、柑橘様香気、花様香気、蜂蜜様香気が強く、けむり・ほこりのにおい、薬品のにおい、酵母臭、異臭が弱く、香りの質が良いと評価されたワインもあり、今後さらに試験区を増やして比較検討する必要がある。

(5) 炭酸ガス量の違い

破砕除梗時の液体炭酸ガスの有無について、炭酸ガス中で行った場合が大気中に比べ、危険率 5%で有意に香りが強いとされた、香りの質については、危険率 1%で、 CO_2 区が一部 CO_2 区および対照区に比べ有意に良い、とされた、この結果は昨年度とも一致している 4 .

(7) 全体として

官能評価の結果、ボルドー液散布・低散布・無散布の 違いは認められなかった。 醸造条件については破砕除梗 時に液体炭酸ガスを利用することで香りの質がよくなる と考えられた.

3-5 香気成分分析結果(甲府・果試圃場)

表12に、各圃場で栽培されたブドウから醸造したワインの各種香気成分(発酵由来のエステルおよびフェノール)を示す。圃場別に比較すると、全体として甲府圃場の方が、果試圃場よりもエステル成分が多い傾向を示した。同じ搾汁液を2分してVL-3(POF+)またはVL-1(POF-)を添加して醸造したDとEを比較すると、POF活性がネガティブなEでは4VGが微量、4VPが不検出と、明らかにフェノール類の生成抑制が認められた。また、Eの方が全体としてエステル類の含有量が多かった。なお、香気成分と遊離アミノ酸の関係について、3-7項(8)に示した。

3-6 平成18年度試験醸造ワインの香気成分分析に ついて(甲府・果試圃場)

平成18年度に試験醸造したワインについて、昨年度の研究報告書 4) で発酵経過と香りの官能評価について示した. 今年度は、その中で比較的評価の高かった果試圃場のボルドー液無散布・CO₂処理区に着目し、同試験区の収穫期1~3期(収穫日:9月11日,9月20日,10月2日)のワインに含まれる微量香気成分を有機溶媒を用いて抽出・濃縮し、GC/O分析およびGC/MS分析、GC-FPD分析を行い香りの強度(寄与)および濃度の側面から検討を加えた.

AEDA法を用いたGC/O分析結果を表13に示す。FDファクターが4以上を示したにおいピークについて掲載した。FDファクターは、その数値が大きいほど、そのピーク(におい物質)のワイン香気への寄与が大きいことを示唆している。

圃場 NO. IA HA EC6 EC8 EC10 4VG 4VP μ g/L $\mu \, \mathrm{g/L}$ $\mu \, \mathrm{g/L}$ $\mu \, \mathrm{g/L}$ $\mu g/L$ $\mu \, \mathrm{g/L}$ μ g/L Α В С 甲府 D Ε N.D. F G Н 果試 Ι J K

表12 甲府・果試圃場の醸造試験区における生成ワインの香気成分

 ${
m *XIA:}$ 酢酸イソアミル, ${
m HA:}$ 酢酸ヘキシル, ${
m EC6:}$ カプロン酸エチル, ${
m EC8:}$ カプリル酸エチル, ${
m EC10:}$ カプリン酸エチル, ${
m 4VP:}$ 4-ビニルグアイアコール, ${
m 4VP:}$ 4-ビニルフェノール

※N.D.: 不検出

表13 平成18年度収穫のブドウを用いたワインの*GC/O分析結果

NI.	RI**	においかぎ口でのにおい -	F	Dファクタ	_	#**
No	KI	にわいから口でのにわい -	1期	2期	3 期	- 推定化合物
1	732	イースト臭、酸臭	1024	1024	1024	3-methylbutanol
2	873	果実様、バナナ様	16	4	4	3-methylbutyl acetate
3	982	ジャガイモ、味噌様	16	4	16	3-(methylthio)-1-propanol
4	1003	果実様	16	16	64	ethyl hexanoate
5	1109	バラ様	256	1024	256	2-phenylethanol
6	1143	草様、柑橘様	1	16	16	3-mercapto-1-hexanol
7	1162	甘い、カラメル、黒砂糖	1	1	4	sotolon
8	1175	甘()	1	4	4	
9	1231	カビ、薬品臭	1	4	4	4-vinylphenol
10	1311	カビ、けむりくさい、お香	16	64	64	2-methoxy-4-vinylphenol
11	1347	果実様、甘い	1	4	16	
12	1380	蜂蜜、煮リンゴ様	16	16	64	β -damascenone
13	1400	甘い、バニラ様	1	4	16	vanillin
14	1462	果実様、甘い	1	4	16	
15	1745	カビ、汗臭	1	4	64	1H-indole-3-ethenol

^{*}果樹試験場、ボルドー液無処理区、炭酸ガス処理

その結果、1期に比較して2期と3期のワインの方が、全体的にFDファクターが高く、特に甘い香りのFDファクターが高い傾向にあった。2期と3期は類似していた。

図5に平成18年度試験醸造ワインの官能評価結果を示す。2007年2月に行われたワインの官能評価では、果試圃場2期のワインが、同1期より香り、果実香、柑橘様香気、花様香気、蜂蜜様香気が強いとされ、また、3期のワインは1期より香り、果実香、柑橘様香気が強いと判定されており4、GC/O分析の結果と共通点がみられた。

図6に、官能評価結果(柑橘様香, けほこり・けむ

りのにおい)およびGC/MS・GC-FPD分析による香気成分量(4VG及び3MH)をそれぞれ示す。糖度・酸度について、ブドウの成熟に伴い糖度は徐々に上昇、酸度は徐々に減少する傾向がみられた。「柑橘様香気」の強さについては、9月20日に強さのピークがみられた。「柑橘様香気」の主成分である3MHの含有量を測定した結果、9月20日が563ng/Lと最も多く、官能評価と一致した傾向を示した。同様な傾向は「果実香」や「花様香気」やそれらの主成分であるエステル類等にもみられた。一方、「けむり・ほこりのにおい」については、主成分である4VGの含有量がブドウの成熟とともに2,300 μ g/Lまで単調に増加し9月20日以降は閾値の

^{**}RI(Retention Index)はDB-5カラムにおける数値である.

約440 μ g/Lを大きく越えていたが、官能評価では9月11日よりも香りが弱い評価となった。この要因としては、9月20日以降に3MHをはじめ「果実香」、「花様香気」等のかおりが増加し、4VGのにおいがマスキングされたものと推察される。

香気成分の分析では、ヒトが感じる官能的な強さと客 観的な定量値である濃度の双方を併せて検討することが 重要であることが確認された。

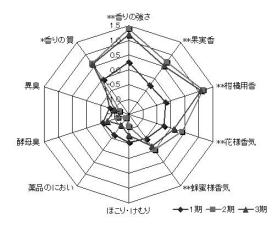
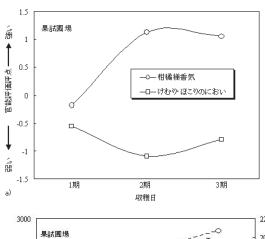


図 5 平成18年度試験醸造ワインの官能評価結果 (果試圃場、ボルドー液無散布区)



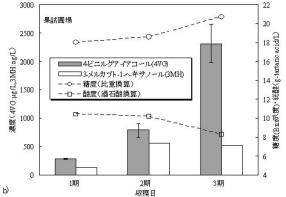


図 6 果汁の糖度・総酸,ワインの香りの強さおよび香 気成分の濃度(平成18年度試験醸造)

3-7 23圃場、38試験区の果汁およびワイン

表14~表16に,今年度ワインセンターで試験醸造した23圃場,38試験区の果実,果汁,ワインの各種分析結果(平均値,最大値,最小値,標準偏差)をそれぞれ示す.

(1) 薬剤散布体系と果汁中の銅含有量

図7に、38試験区の薬剤散布体系(ボルドー液の散布有無)と果汁中の銅含有量について示す。薬剤散布体系別の銅含有量は、それぞれ0.20~0.78ppm(ボルドー液無散布)、0.32~5.99ppm(ボルドー液散布)であった。ボルドー液散布区では、10倍以上の圃場間格差が認められた。これはボルドーの散布量、散布回数、散布時期、散布方法(棚上、棚下等)などの薬剤散布体系の違いにより、果房(主に果皮)の銅付着量が異なり、果汁中の含有量に差異が生じたものと推測された。一方、ワインに残留した銅含有量は、すべての試験区で0.15ppm未満と少量であり大部分は澱として除去されたものと考えられる。

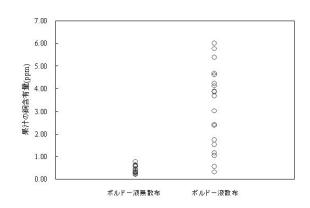


図7 薬剤散布体系と果汁中の銅含有量

ワインの官能評価において柑橘様香気が最も強いと評価され、ワイン中の3MH含有量も約500ng/Lと38試験区の中で最も高かった試験区NO.20は、ボルドー液散布区であった。3MHは銅と容易に結合し香らなくなるため、NO.20の果汁中の銅は少ないことが予想された。そこで果汁中の銅含有量を他のボルドー液散布区と比較したところ、NO.20の果汁中の銅含有量は0.32ppmとボルドー散布区の中で最も低く、ボルドー無散布区と同程度であった。これらのことから、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が示唆された。但し、1試験区のみの結果であるので、今後もデータを蓄積し確認していく。

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
pН	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
pН	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「△○○(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(\triangle クエン酸(ワインー果汁)= $-0.1\sim0.1$ 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。

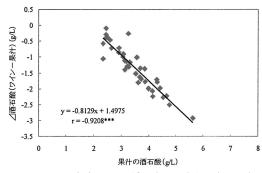


図8 38試験区の果汁の酒石酸と⊿酒石酸

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-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.

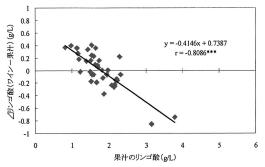


図9 38試験区の果汁のリンゴ酸と△リンゴ酸

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 \triangle 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.

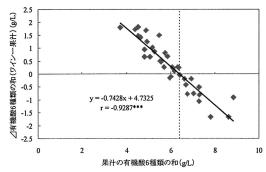
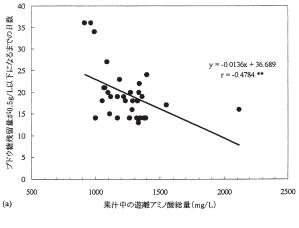
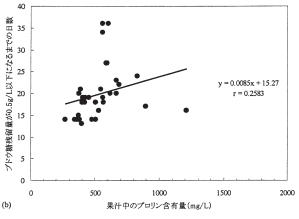


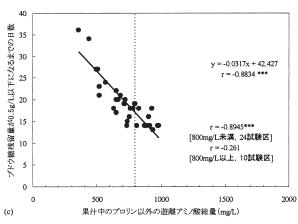
図10 38試験区の果汁の有機酸6種と⊿有機酸6種

(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







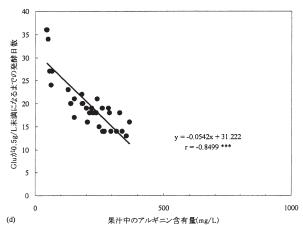


図11 34試験区の果汁のアミノ酸と発酵日数

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、比較的少なかった試験区はK6,

K7, K8, K10, K9 (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。評価点が大きいほど、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

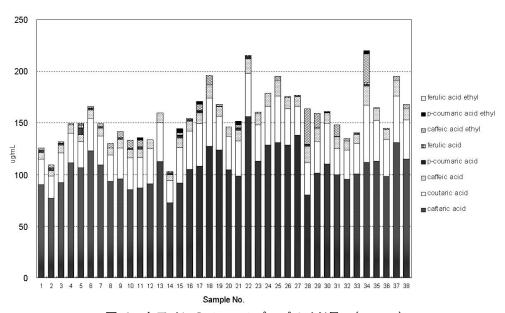


図12 各ワインのフェニルプロパノイド量 (mg/mL)

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

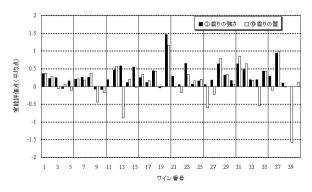


図13 38試験区の香りの官能評価結果 (強さ・質)

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・けむりのにおい	13	34	26	4	20	31	37
⑦薬品のにおい	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等が比較的良い評価を、一方NO.13、NO.26、NO.34、NO.9等が比較的悪い評価を受けた.

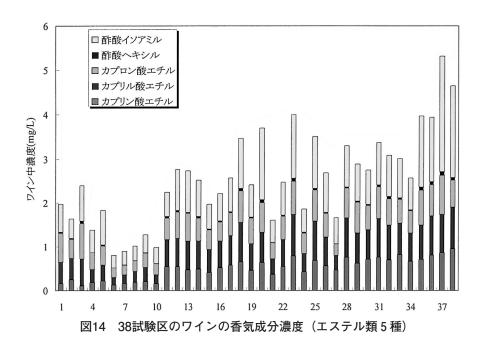
(7) 香気成分分析

(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)



				•
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***

表18 38試験区のワイン中のエステル化合物同士の相関

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 μ g/L以下、4VPは検出限界(5 μ g/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。

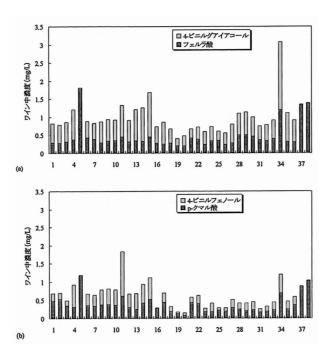


図15 38試験区のワインの香気成分(フェノール類) 及びその前駆体の濃度

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た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気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気成分の関係

表19に、38試験区のワイン中の香気成分量(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=0.659~0.838)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プ。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気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気成分

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***

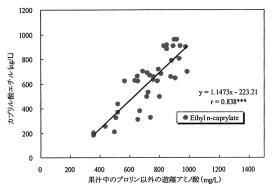


図16 38試験区のワインの香気成分と果汁中のプロリン以外のアミノ酸

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る.

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)