

甲州種ワインの高品質化に向けた栽培・醸造技術に関する研究 (第2報)

小松 正和・中山 忠博・恩田 匠・上垣 良信^{*1}・鈴木 幾雄^{*2}
木村 亮^{*2}・久本 雅嗣^{*3}・奥田 徹^{*3}・前島 善福^{*4}

Studies on the Technology of Viticulture and Winemaking for Higher Qualitative Koshu Wine (2nd Report)

Masakazu KOMATSU, Tadahiro NAKAYAMA, Takumi ONDA, Yoshinobu UEGAKI^{*1}, Ikuo SUZUKI^{*2},
Ryo KIMURA^{*2}, Masashi HISAMOTO^{*3}, Tohru OKUDA^{*3} and Yoshitomi MAESHIMA^{*4}

要 約

昨年度の実績をもとに22圃場を選定し、「圃場別試験」(栽培圃場の生育調査, 土壌分析, ブドウ果汁の成分分析, 試験醸造, ワインの成分分析および官能評価)を実施し, 前年度に得られた知見を検証した. 加えて, 「収穫時期別試験」, 「窒素源添加試験」, 「酵母別試験」, 「EU対応低アルコール試験」, 「中規模醸造実用化試験」の各試験を実施し, ワインの高品質化に繋がる栽培・醸造技術について検討した. その結果, 圃場別に, 資化性アミノ酸は, 528~1091mg/Lと果汁により約2倍の差異がそれぞれ認められた. 前年度に果汁中のアミノ酸含量が高かった試験区(圃場)では, 平成21年度も同様に果汁のアミノ酸含量が高い傾向がみられた. 前年度と同様, 資化性アミノ酸を多く含む果汁から醸造したワインは官能評価において高く評価された. 果汁の資化性アミノ酸と糖度の間には相関はなく, 収穫前の経時変化も異なることから, 収穫前や収穫時には糖度に加え, 資化性アミノ酸含量を把握することがワインの品質上重要であることが明らかになった. 資化性アミノ酸の果汁添加により, 生成ワインのエステル系香気の生成量が増加するとともに, 官能評価で高く評価された. POF-活性の酵母を使用することにより, フェノレ物質(4VP, 4VG)が生成されず, 官能評価において高く評価された.

1. 緒 言

甲州種ブドウは, 山梨県を代表するブドウ品種であり, 生食・醸造兼用品種として県内各地で栽培されてきた. これ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, 和食に合うワインとして, 日本人に愛されてきた. 一方, 近年, ワインのグローバル化が進む中, 多くの海外産ワインが輸入され, 消費者の目に留まる機会も増えてきた. また欧米の和食ブームの到来に伴い, 甲州種をはじめとする日本産ワインの輸出も増加してきた. このような状況の中, 甲州種ワインは他のワイン用品種と比較して香味が平板である, との指摘がなされてきた. このような背景を受け, ワインセンターでは, 他の研究機関やワイン酒造組合と協力して, 香味豊かな甲州種ワインの醸造を目的とした研究^{1)~15)}「甲州種辛口ワインの味の厚みを増す研究」(平成16~19年

度), 「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」(平成17~19年度)を行ってきた. これら研究の最終年度(平成19年度)の研究結果として, 原料ブドウのアミノ酸の含有量及び組成が, ワインの香味に大きな影響を与えることが明らかとなってきた.

そこで, 本研究では, 原料ブドウの栽培条件や土壌条件など, 圃場の諸種の条件(以下, 圃場条件)から, 収穫されたブドウ果実, これを圧搾したブドウ果汁, さらに果汁を発酵させたワインの品質までを一貫として研究対象に設定し, 次の3項について再現性の確認を含め3ヵ年に渡って検討することを研究目的とした.

- 1) 甲州種ワインの香味に影響を与えるブドウ果汁成分の特定
- 2) 果汁成分の含有量及び組成に影響を与える圃場条件の解明
- 3) 高品質な甲州種ワインに繋がる栽培・醸造条件の確立

昨年度の成果として, (1) 果汁中に“資化性アミノ酸”を多く含む原料ブドウから, 香りが豊かで官能審査

*1 山梨県富士工業技術センター

*2 山梨県果樹試験場

*3 国立大学法人山梨大学ワイン科学研究センター

*4 山梨県ワイン酒造組合

における評価点の高いワインができる傾向があること、(2)“フェノレ (煙・ホコリ・バンドエイド様の不快臭)”を含むワインが低い評価となることを確認した^{16) -18)}。

今年度は、昨年度の実績¹⁶⁾をもとに22圃場を選定し、「圃場別試験」を実施し、前年度に得られた知見を検証した。加えて、「収穫時期別試験」、「窒素源添加試験」、「酵母別試験」、「EU対応低アルコール試験」「中規模醸造実用化試験」の各試験を実施し、ワインの高品質化に繋がる栽培・醸造技術について検討した。

各試験の概要は次のとおり。

「圃場別試験」：圃場数を19から22圃場に変更した。昨年度と同様に、栽培圃場の生育調査、土壌分析、ブドウ果汁の成分分析、試験醸造、ワインの成分分析及び官能評価を実施し、ワインの品質と、圃場条件や原料果汁の成分との関連性について検討した。

「収穫時期別試験」：3圃場の果汁の糖度、酸度、アミノ酸等の果汁成分の経時変化を分析し、これら成分の圃場間差異やワイン原料として最適な収穫時期について検討した。

「窒素源添加試験」：果汁の“資化性アミノ酸”量がワインの品質を左右する因子であることを実証するとともに、窒素不足時に有効な窒素源について検討するため、同一果汁に様々な窒素源を添加し、同一条件で試験醸造を行い、生成ワインの官能評価を実施した。

「酵母別試験」：ワイン中の“フェノレ物質”生成は、酵母の持つ特定酵素 (Cinnamate decarboxylase) と関連があることから、同一果汁に異なるワイン酵母を添加し、同一条件で試験醸造を行った。生成ワインの官能評価及び成分分析から、フェノレ物質の生成とワイン品質の関連性について検討した。

「EU対応低アルコール試験」：現在、Koshu of Japan (KOJ) プロジェクトを中心に、甲州種ワインのEU諸国への輸出の活動が盛んに行われている。EU諸国への輸出にはEUワイン法に基づくワイン醸造^{19) -21)}が必須である。甲州種ワインの醸造では、補糖を行うのが通例であるため、EUワイン法上の補糖に関する規定により、低アルコール化が想定される。そこで低アルコール化によるワイン香味への影響を調査した。

「中規模醸造実用化試験」：研究成果の実用化を視野に入れ、通常の試験醸造の約10倍規模での醸造を行い、小規模試験との関連性を調査した。

2. 実験方法

2-1 供試圃場と収穫日

表1に、供試圃場の圃場番号、その地域名、収穫日、生成ワインの番号、試験名について示す。

ワイン酒造組合員の協力のもと、県内の6地区 (甲府

表1 供試圃場の地域と収穫日、醸造試験区

圃場NO	地域	収穫日	醸造NO.	醸造試験区
1	勝沼	10月 8日	W1	
2	勝沼	9月29日	W2	
3	勝沼	9月14日	W3	収試A
	勝沼	10月 1日	W4	収試A
	勝沼	10月14日	W5	収試A
4	勝沼	10月 5日	W6	
5	勝沼	9月24日	W7	
	勝沼	9月24日	W8	
6	勝沼	10月13日	W9	
7	勝沼	9月27日	W10	
8	勝沼	9月16日	W11	収試B
9	御坂	9月13日	W12	
10	御坂	9月21日	W13	
11	一宮	10月 5日	W14	
12	一宮	9月25日	W15	
13	一宮	9月24日	W16	
14	一宮	9月27日	W17	
15	塩山	9月15日	W18	
16	塩山	10月 4日	W19	
17	塩山	9月17日	W20	
18	穂坂	10月14日	W21	
19	穂坂	10月 5日	W22	
20	甲府	9月17日	W23	
21	山梨	10月13日	W24	
22	山梨	9月14日	W25	収試C
	山梨	9月29日	W26	収試C
	山梨	10月13日	W27	収試C, 窒試1
	山梨	10月13日	W28	窒試2
	山梨	10月13日	W29	窒試3
	山梨	10月13日	W30	窒試4
	山梨	10月13日	W31	窒試5
3	勝沼	10月 1日	W32	窒試6
	勝沼	10月 1日	W33	酵試1, E試1
	勝沼	10月 1日	W34	酵試2
	勝沼	10月 1日	W35	酵試3
	勝沼	10月 1日	W36	酵試4
	勝沼	10月 1日	W37	酵試5
	勝沼	10月 1日	W38	酵試6
	勝沼	10月 1日	W39	E試2
	勝沼	10月 1日	W40	E試3
	勝沼	10月 1日	W41	E試4
4	勝沼	10月 4日	W42	中試：295L
	勝沼	10月 4日	W43	中試：302L
3	勝沼	10月14日	W44	中試：270L
	勝沼	10月15日	W45	中試：181L

※圃試：圃場別試験、収試：収穫時期別試験、窒試：窒素源添加試験、酵試：酵母別試験、E試：EU対応低アルコール試験、中試：中規模醸造実用化試験

・山梨・一宮・勝沼・穂坂・御坂) 22か所の圃場を選定し圃場別試験に供した。各圃場での収穫日は、各圃場を所有 (または契約) するワイナリーもしくはワインセンターが、ブドウの生育状況や仕込み計画等から判断した。

22圃場のうち3圃場 (No.3, No.8, No.22) では、8月24日から10月22日の間、6～7回定期的に果汁を採

取し、収穫時期別試験に供した。

窒素源添加試験では、圃場No.22の10月13日に収穫したブドウを原料とした。

酵母別試験及びEU対応低アルコール試験では、圃場No.3の10月1日に収穫したブドウを原料とした。

中規模醸造実用化試験では、圃場No.3及びNo.4のブドウを原料とした。

2-2 栽培条件及び生育状況調査

県果樹試験場の職員とともに定期的に圃場を訪問し、各試験圃場の園主の協力のもと、棚面状況調査、栽培管理調査、防除体系調査を実施した。(本報では調査結果を割愛した)

棚面状況調査の項目として、樹間面積、萌芽率、新梢長(開花期、着色始め、落葉期)、展葉枚数(開花期、着色始め、落葉期)、平均節間長(開花期、着色始め、落葉期)、葉色(開花期、着色始め、落葉期)、収穫期葉影率、新梢登熟枚数、登熟率、10aあたりの新梢数を設定した。

栽培管理調査の項目として、生育期間中の新梢管理、摘房及び房づくり、年間を通じての施肥及び灌水管理状況を設定した。

防除体系調査の項目として、年間を通じてブドウ樹の防除の目的で使用した薬剤名、使用量、使用時期を設定した。

2-3 土壌分析、土壌根系調査、土壌水分調査

県果樹試験場の職員とともに圃場を訪問し、土壌分析、土壌根系調査、土壌水分調査を実施した。(本報では調査結果を割愛した)

ブドウの生育ステージを考慮し、着色始め期に次に示す方法で土壌を採取し、必要な項目の調査を実施した。

土壌の採取方法として、調査対象に設定したブドウ樹の幹から半径約3mの円周上の5か所に、専用工具(直径4cm程のボーリング装置)で穴をあけ、表土を除いた深さ10~30cmの土をそれぞれ採取し、均質に混合した後、乾燥させ分析に供した。

土壌水分計(pFメータ)を用いて、6月末から10月末までの各圃場における土壌水分の推移(1週間毎)を計測した。

2-4 果汁(原料果汁)の調整

2-4-1 圃場別試験、収穫時期別試験、窒素源添加試験

各圃場で収穫日に収穫したブドウ30kgを除梗・破碎した後、小型水圧式圧搾機を用いて圧搾した。圧搾率は圧搾機の制約上55%とした。果汁を攪拌・均質化した後、

分析用に果汁を採取し、残りの果汁にピロ亜硫酸カリウム(SO₂として50ppm)を添加し醸造用原料とした。除梗、破碎、圧搾時には、果汁の酸化防止と温度調節の目的で、食品添加物規格の液化炭酸ガスを専用の装置(日本液炭(株)製、ドライホーン)で雪状ドライアイス化したものを適量使用した。なお、窒素源添加試験では、圧搾後に、6試験区分の果汁を一旦混合し、亜硫酸添加、補糖後、均質化させてから各発酵容器に分注した。

2-4-2 酵母別試験、EU対応低アルコール試験、中規模醸造実用化試験

収穫日に収穫したブドウ300~600kgを除梗・破碎した後、空圧式圧搾機(DELTA TOFFOLA社製)を用いて圧搾した。圧搾率は60%とした。果汁を攪拌・均質化した後、分析用に果汁を採取し、残りの果汁にピロ亜硫酸カリウム(SO₂として50ppm)を添加し醸造用原料とした。除梗、破碎、圧搾時には、果汁の酸化防止と温度調節の目的で、食品添加物規格の液化炭酸ガスを専用の装置(日本液炭(株)製、ドライホーン)で雪状ドライアイス化したものを適量使用した。なお、酵母別試験では、6試験区分をまとめて圧搾、亜硫酸添加、補糖後、均質化させた後、各発酵容器に分注した。EU対応低アルコール試験では、4試験区分をまとめて圧搾、亜硫酸添加、均質化させた後、各発酵容器に分注した。

2-5 ブドウ果実及び果汁の各種成分分析

ブドウ果実の品質調査として、房長、房重、着粒数(全体、主穂、副穂)、1粒重、着粒密度、軸長、軸重、果粒容積、果粒密度、1粒あたりの種子数を計測した。

ブドウ果汁について、次の各項目の分析を実施した。

- ・比重: 国税庁所定分析法²²⁾ による。
- ・糖度(Brix示度): アタゴ製、デジタル糖度計PR-101αを使用した。
- ・pH: (株)堀場製作所製、pHメーターF-21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。
- ・糖(ショ糖、ブドウ糖、果糖): 0.20μmのメンブランフィルターで濾過した果汁を、専用カラム(Shodex社製、KS-801+SC1011)の付いた液体クロマトグラフ(HPLC)により分離し、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): 0.20μmのメンブランフィルターで濾過した果汁、専用カラム(Shodex社製、KC-811×3)の付いたHPLCにより分離し、ポストカラム法(UV-Vis検出器、430nm)で分析した。

- ・全フェノール：蒸留水で50倍希釈した果汁1mLを分析試料として、Folin-Ciocalteu法で分析した²³⁾。(株)島津製作所製、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：果汁を0.01N HCl溶液で2倍希釈し、0.20 μm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た。日本電子(株)製、JLC500/V2形全自動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。
- ・カルシウム、カリウム、マグネシウム、銅、亜鉛、鉄、マンガン、リン、ケイ素：果汁10mL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超純水で5倍希釈し、(株)堀場製作所製、ULTIMA型ICP発光分析装置を用いて分析した。

2-6 小規模試験醸造及び発酵経過観察

2-6-1 基本条件

2-4項で得た果汁に、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た。

$$\text{転化糖分} = (\text{比重} - 1) \times 100 \times 2.7 - 2.5 \dots \text{式①}^{23)}$$

補糖後の果汁を発酵容器(試験区により、30L容サーマルタンク(新洋技研工業(株)製)、発酵栓付き10L容ガラス容器のいずれかを選択)に移し、市販の乾燥酵母(Laffort社製、Zymaflore VL-1(POF-活性[Phenolic Off Flavors]))を1mL当り106個以上の密度になるよう添加し、液温を18℃に制御し発酵させた。

発酵中の果醪を定期的に採取し、液体クロマトグラフでブドウ糖、果糖、グリセロール、エタノール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把握した。

各果醪の残留還元糖が4g/L前後(一部例外あり)に達した段階でピロ亜硫酸カリウム(SO₂として100ppm)を添加した後、液温を-4℃以下に下げ発酵を停止させた。その後、液温を2~3週間、-4℃以下に保ち、酒石の除去および濃下げを行った。

濃下げ後、果醪の上澄液を0.45 μmのメンブランフィルターで濾過した後、720mLガラス瓶に詰めワイン試料(表1の45試験区)とした。

2-6-2 各試験における変更・追加点

各試験の一部試験区においては、基本条件(上記1)の一部を次のように変更・追加した。

窒素源添加試験(W27~32)：発酵前に、各種窒素源

を添加した。W27は無添加(コントロール)とした。W28にアルギニン、W29にプロリン、W30にグルタミン、W31にリン酸水素二アンモニウム(以下、DAP)、W32に発酵促進剤(以下、Go-ferm)をそれぞれ添加した。添加量は、果汁の資化性アミノ酸量及び各製剤中の窒素量を勘案し、W28、W29、W30、W31では各500mg/L、W32では2.4g/Lとした。

酵母別試験(W33~38)：果汁に添加する乾燥酵母を変更した。W33は基本条件と同一(Laffort社、Zymaflore VL-1)。W34はLaffort社、Zymaflore VL-2、W35はLaffort社、Zymaflore VL-3、W36はLallemand社、Lalvin EC-1118、W37はAB Mauri社、Maurivin R-2、W38はDSM社、Fermicru AR-2にそれぞれ変更した。なお、各製造元情報によるPOF活性[Phenolic Off Flavors]は、VL-1、VL-2、EC-1118、R-2、AR-2はいずれも不活性(POF-)となっている。

EU対応低アルコール試験(W33、W39-41)：補糖量及び補糖方法を変更した。W33は基本条件と同一(コントロール)。W39は補糖量を20%に変更した。W40は補糖量を20%に変更し、発酵温度を15℃とした。W41は補糖量を20%に変更するとともに、補糖方法をブドウ糖濃度が1g/L以下になった時点で半量ずつ計2回補糖する方法に変更した。

中規模醸造実用化試験(W42~45)：発酵容器及び発酵温度を変更した。W42~44は330L容サーマルタンクを、W45は密閉型ステンレスタンクをそれぞれ使用した。発酵温度を、W43は15℃に、W44は16~18℃(タンク周囲に水道水を流し冷却したため定温ではない)にそれぞれ変更した。

2-7 ワインの各種成分分析(香気を除く)

・比重、アルコール、エキス：国税庁所定分析法²²⁾によった。

・総酸(酒石酸換算)(g/L)、pH、糖類(ショ糖、ブドウ糖、果糖)、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、カルシウム、カリウム、マグネシウム、銅、亜鉛、鉄、マンガン、リン、ケイ素：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。

2-8 ワインの香り成分分析

2-8-1 ヘッドスペース・ガスクロマトグラフ質量分析計法(HS-GC/MS法)

HS-GC/MS法¹⁴⁾を用いて、酢酸イソアミル(以下、IA)、酢酸ヘキシル(以下、HA)、カブロン酸エチル(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)の定量分析を行った。

また、ワイン1 μ Lを直接GC/MS（株式会社島津製作所製、GCMS-QP5050A）に注入する直接注入法（使用カラム：J&W Scientific社製、DB-1（60m,0.25 μ m, 0.25mm）、温度条件：気化室200 $^{\circ}$ C、カラム70 $^{\circ}$ C（3 min hold） \rightarrow 250 $^{\circ}$ C（10 $^{\circ}$ C/min）、検出器：250 $^{\circ}$ C）も併用した。

2-8-2 超高速液体クロマトグラフ質量分析計法（UPLC-MS/MS法）

甲州種ワインは他品種の白ワインと比較して、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（以下、4VP）および4-ビニルグアイアコール（以下、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、Waters製Acquity GC/MS/MSを使用した簡便かつ高速な分析法を開発し、分析を実施した。

0.20 μ mのメンブランフィルターで濾過したワイン2~10 μ Lを分析試料とした。これを専用カラム（Waters社製BEH C18 1.7 μ m, 2.1 \times 50mm）の付いた超高速液体クロマトグラフ（UPLC）で分離し、四重極型質量分析計で定量した。溶離液には、水-アセトニトリル混合溶液（流量0.6mL/min, グラジエント条件：95:5（0 min） \rightarrow 55:45（3 min） \rightarrow 5:95（3.1min） \rightarrow 95:5（4 min））を使用した。標準液は市販の試薬（Lancaster社製4VP, Wako社製4VG）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。

2-9 ワインの官能評価試験

ワインの香味について、山梨県内のワイン醸造関係者50名による、19項目の官能評価を行った。評価項目として、「総合評価」、「色調」、「香り」、「味」を設定し、+3（優）~-3（難）の7段階評価とした。「香り」及び「味」については、内訳として「果実香」、「花様香」、「蜂蜜様香」、「柑橘系香」、「異臭」、「ホコリ・煙臭」、「薬品臭」、「果実味」、「旨味」、「味の厚み」、「甘味」、「酸味」、「薄さ」、「苦味」、「渋み」の各項目を設定し、0（感じない）~4（強過ぎる）の5段階評価とした。各ワインの評点平均値を算出し、解析に供した。

3. 結果および考察

年度の甲州種ブドウの生育状況は、夏から秋にかけて朝晩が涼しく、降雨が少なくなったなど天候に恵まれたため、例年よりも病害被害が少なく、全体的に糖度、酸度ともに高い傾向があった。

3-1 圃場別試験

図1に、22試験区の生成ワインの官能評価結果を示す。縦軸は、「総合評価」項目の審査員50人の平均値である。総合評価の平均点は、-0.3~+1.1と試験区（圃場）間で有意な差異が認められた。同一の醸造条件で醸造していることから、差異の要因として果汁成分の違いによるもの、特に資化性アミノ酸含量の違いによるものと推測された。

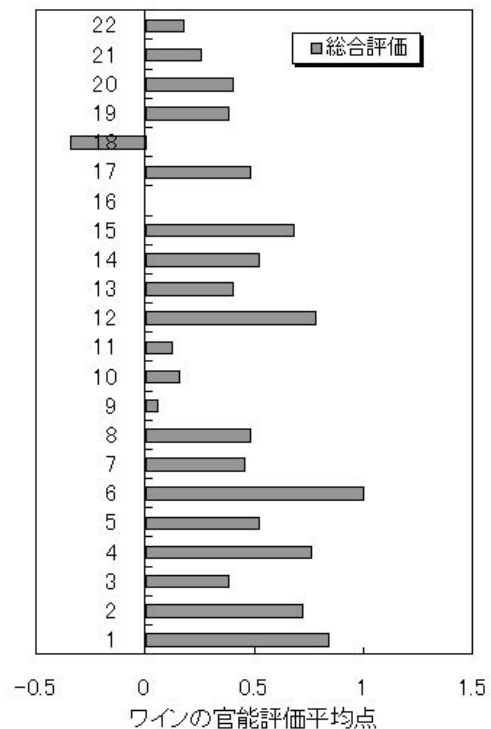


図1 生成ワイン（22試験区）の官能評価結果

表2に、22試験区（圃場）の原料ブドウ果汁の遊離アミノ酸量（総量及び資化性含量）を示す。醸造試験区が複数設定してある圃場（No.3, No.5, No.22）では慣行の収穫日を代表とした。甲州種ブドウ中に検出された29種類の遊離アミノ酸の総和（以下、総アミノ酸）は、837~2154mg/Lと果汁により約2.5倍の差異が、資化性アミノ酸（総アミノ酸から酵母が発酵中に資化（利用）できないプロリンの含量を減じたもの）は、528~1091mg/Lと果汁により約2倍の差異がそれぞれ認められた。また、平成19, 20年度に果汁中のアミノ酸含量が高かった試験区（圃場）では、平成21年度も同様に果汁のアミノ酸含量が高い傾向がみられた。

図2に、22試験区（圃場）の原料ブドウ果汁の資化性アミノ酸含量と、ワインの官能評価結果（総合評価）の相関図を示す。両者には正の高い相関（相関係数 $r=0.800^{***}$ 、危険率0.1%で有意）が認められ、資化性アミノ酸を多く含む果汁から醸成したワインほど、官能評価で品質が高いワインとなることが明らかとなった。

表2 果汁の遊離アミノ酸（総量と資化性含量）

圃場NO	醸造NO.	総アミノ酸 ¹⁾	資化性アミノ酸 ²⁾
		mg/L	mg/L
1	W1	1361	848
2	W2	1459	742
3	W4	1443	713
4	W6	1906	890
5	W7	1001	572
6	W9	2154	994
7	W10	1323	711
8	W11	1099	752
9	W12	837	589
10	W13	1458	1091
11	W14	1228	560
12	W15	1336	795
13	W16	1348	597
14	W17	1357	802
15	W18	1259	725
16	W19	1473	572
17	W20	1232	528
18	W21	1158	752
19	W22	1642	654
20	W23	1450	803
21	W24	1507	569
22	W26	1735	529
最小		837	528
最大		2154	1091
平均		1398	718
標準偏差		281	148

- 1) 総アミノ酸 (mg/L) : 果汁中に含まれる遊離アミノ酸含量を合計したもの。
- 2) 資化性アミノ酸 (mg/L) : 総アミノ酸から、酵母が資化(利用)できないプロリンの含量を減じたもの。

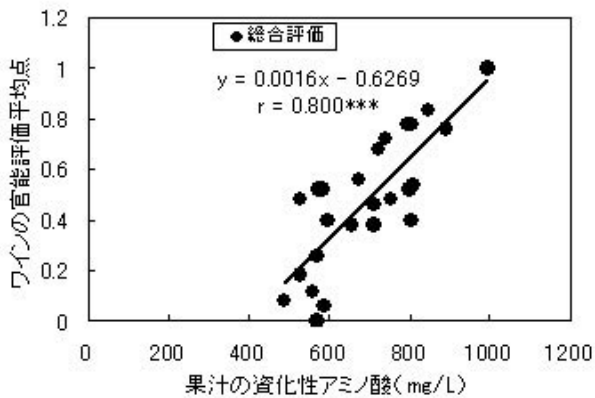


図2 果汁の資化性アミノ酸とワインの官能評価の関係

「香り」や「味」の項目でも、「総合評価」と同様に果汁の資化性アミノ酸との間に正の相関（それぞれ、相関係数 $r=0.724^{***}$ 、 $r=0.734^{***}$ ）が認められた。また、香りや味の各項目の中では、「果実香」、「花様香」、「果実味」、「旨味」において果汁の資化性アミノ酸と正の相関が高かった。（ $r=0.6$ 以上）

ワインの果実香の構成成分である脂肪酸エステル類に

ついて、果汁の資化性アミノ酸との関係を調べた。図3に、22試験区（圃場）の原料ブドウ果汁の資化性アミノ酸と、ワインの酢酸イソアミルの相関図を示す。両者には正の高い相関（相関係数 $r=0.830^{***}$ 、危険率0.1%で有意）が認められ、資化性アミノ酸を多く含む果汁から醸成したワインほど、ワイン中の酢酸イソアミルの生成量が増える傾向がみられた。カプロン酸エチルなど、他の脂肪酸エステル類と果汁の資化性アミノ酸にも正の相関が認められた。

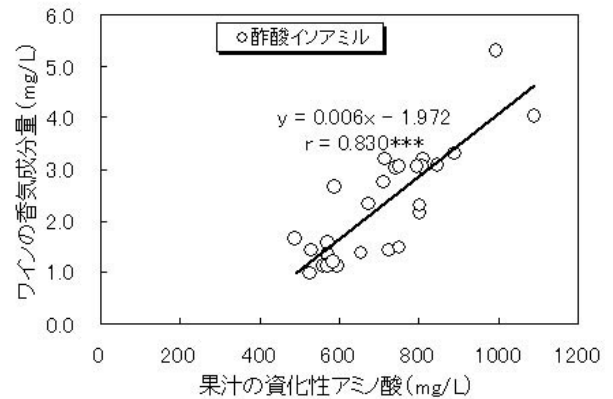


図3 果汁の資化性アミノ酸とワインのエステル系香気物質の関係

図4に、22試験区（圃場）の原料ブドウ果汁の資化性アミノ酸と、発酵日数の相関図を示す。両者には負の高い相関（相関係数 $r=-0.794^{***}$ 、危険率0.1%で有意）が認められ、資化性アミノ酸を多く含む果汁から醸成したワインほど、発酵が停滞することなく速やかに進行する傾向がみられた。

これらの相関関係は、過去2カ年度^{13), 16)}にも認められている。

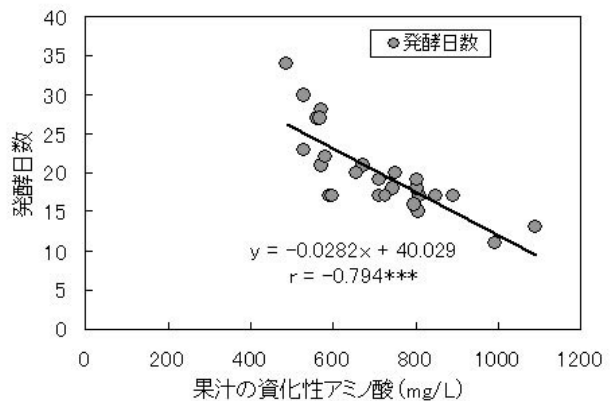


図4 果汁の資化性アミノ酸と発酵日数の関係

以上のことから、栽培年度に依らず甲州種ブドウには資化性アミノ酸含量に差異があり、これが要因となりワ

インの品質にも差異ができるものと考えられた。すなわち、甲州種ブドウでは、資化性アミノ酸が少なく発酵中に酵母が必要とする窒素源が不足し、アルコール発酵が緩慢になるとともに、副産物である脂肪酸エステル類の生成量が減少するものと考えられた²⁴⁾。ゆえに、健全な発酵と果実様香気の生成のためには、醸造前に果汁の資化性アミノ酸含量を把握することが重要である。

図5に示すように、果汁の資化性アミノ酸と糖度には相関性が認められないことから、糖度やpH、総酸に加えて資化性アミノ酸含量を測定する必要がある。資化性アミノ酸を測定するためには、高価な専用装置が必要であるので、現場では資化性アミノ酸と相関性の高く¹⁶⁾、簡便に測定できる「ホルモール態窒素」を測定することが望ましい。

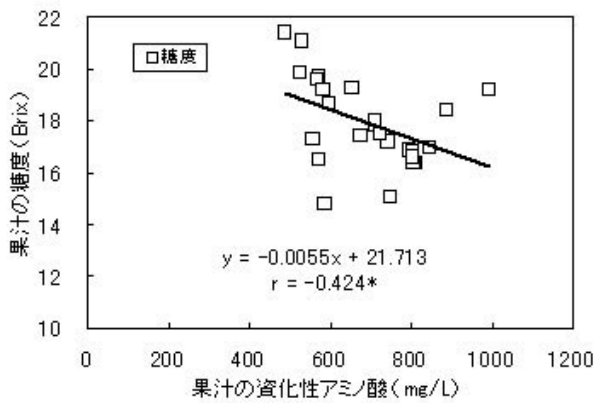


図5 果汁の資化性アミノ酸と糖度の関係

3-2 収穫時期別試験

図6に、3圃場（表1の圃場No.3, No.8, No.22）における果汁の資化性アミノ酸含量の8月下旬から10月下旬経時変化を示す。圃場A, B, Cはそれぞれ圃場No.3, 8, 22である。いずれの圃場とも、ブドウの成熟とともに、資化性アミノ酸は減少する傾向を示した。8

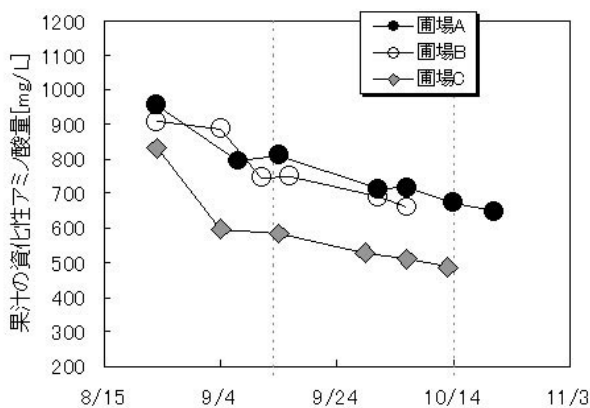


図6 3圃場における果汁の資化性アミノ酸の経時変化

月下旬から9月中旬にかけて約200mg/Lまた、9月中旬から10月中旬にかけての収穫時期には約100mg/Lそれぞれ減少していた。また、収穫時期に果汁の資化性アミノ酸が少ない圃場では、収穫前の8月下旬においても他圃場と比較して少ないことから、事前に収穫時期における資化性アミノ酸含量の多少を予測できる可能性が示唆された。

図7に、3圃場（表1の圃場No.3, No.8, No.22）における果汁の糖度の8月下旬から10月下旬経時変化を示す。いずれの圃場とも、ブドウの成熟とともに、糖度は増加する傾向を示した。

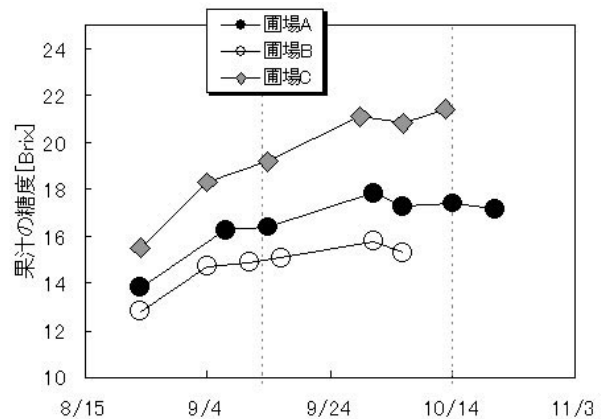


図7 3圃場における果汁の糖度の経時変化

図8に、圃場A及び圃場Cにおける収穫時期の異なる原料果汁から醸造したワインの官能評価結果を示す。9月中旬から10月中旬の果汁中の資化性アミノ酸含量が675~810mg/Lであった圃場Aでは、生成ワインの官能評価点に大差はみられなかったが、488~584mg/Lと低く推移した圃場Cでは、遅く収穫したブドウから醸造したワインほど官能評価点が低かった。

図2や過去の蓄積データ^{13), 16)}から総合的に判断する

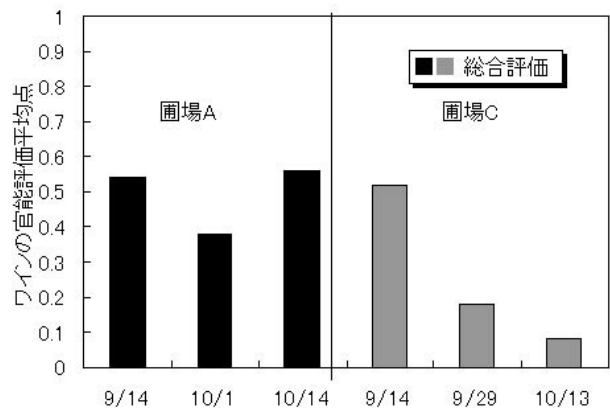


図8 同一圃場で収穫時期の異なる原料果汁から醸造したワインの官能評価結果（圃場A, C）

と、果汁の資化性アミノ酸が700~800mg/L以上あることが健全な発酵及び香氣生成に必要と考えられる。

以上のことから、糖度やpH、総酸に加えて資化性アミノ酸含量の経時変化を測定し、バランスの取れた時点で収穫するのが望ましい。

3-3 窒素源添加試験

果汁の“資化性アミノ酸”量がワインの品質を左右する因子であることを実証するとともに、窒素不足時に有効な窒素源について検討するため、同一果汁に5種類の窒素源を添加し、同一条件で試験醸造を行い、生成ワインの官能評価を実施した。

図9に、同一果汁に5種類の窒素源を添加し醸造したワインの官能評価結果を示す。図中の試験区No.は、それぞれ1:無添加(コントロール), 2:アルギニン, 3:プロリン, 4:グルタミン, 5:リン酸水素二アンモニウム(DAP), 6:発酵促進剤(Lallemand, Go-ferm)であり、添加量はNo.2~No.5で500mg/L, No.6は2.4g/Lとした。なお、No.6の添加量は、他の試験区と窒素量を合わせるために、通常の添加量の約8倍量とした。官能評価結果から、アルギニン、グルタミン、DAP、Go-fermを添加したものは、コントロールと比較して明らかな品質向上が認められた。

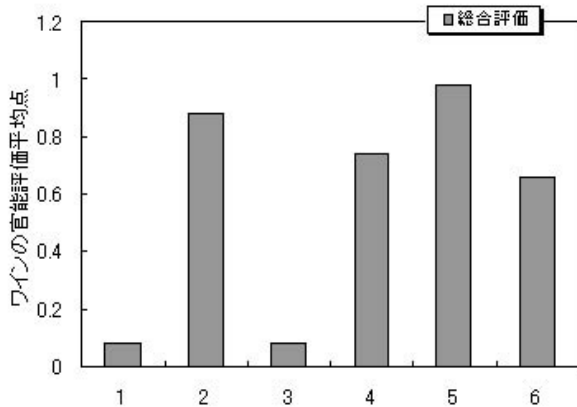


図9 同一果汁に異なる窒素源を添加し醸造したワインの官能評価結果

各試験区の窒素源添加直後の遊離アミノ酸について表3に示す。試験区No.1~No.5では、いずれもほぼ添加量どおりの増加が確認できた(DAPについては、NH3として表示されており、DAPに換算すると415mg/L)。試験区No.6は、主に不活性酵母から構成される発酵促進剤であるが窒素源の種類に関するデータが公開されて無かった。アミノ酸分析の結果、主要なアミノ酸が万遍なく含まれていることがわかった。また、試験区No.2, No.4, No.5, No.6では、資化性アミノ酸含量の増加が

確認できた。

表3 各窒素源添加後の果汁の遊離アミノ酸含量

試験区	総アミノ酸 (mg/L)	資化性 (mg/L)	Pro (mg/L)	Arg (mg/L)	Ala (mg/L)
ctrl	1704	263	1440	59	25
Arg	2226	748	1478	564	19
Pro	2163	235	1928	53	19
Gln	2185	741	1444	59	27
DAP	1779	345	1434	55	20
Go-F	1834	370	1464	66	40
試験区	Glu (mg/L)	Gln (mg/L)	Thr (mg/L)	GABA (mg/L)	NH3 (mg/L)
ctrl	14	15	3	66	4
Arg	8	13	2	66	1
Pro	9	13	2	64	1
Gln	23	474	4	66	3
DAP	9	14	2	65	107
Go-F	51	20	5	73	3

図10に、同一果汁に5種類の窒素源を添加し醸造したワインの発酵経過を示す。コントロールと比較して、資化性アミノ酸が増加した試験区No.2, No.4, No.5, No.6では資化性アミノ酸量の増加量に応じて発酵が速やかに進行した。特に、アルギニンを添加したNo.2で発酵が速く進行した。一方、Proを添加したNo.3では有意な差はみられなかった。

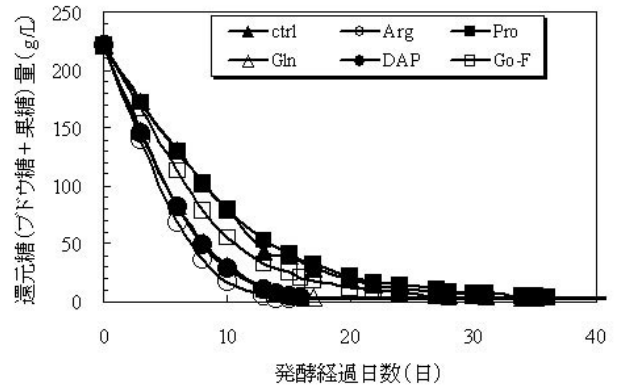


図10 同一果汁に異なる窒素源を添加し醸造したワインの発酵経過

図11に、同一果汁に5種類の窒素源を添加し醸造したワインに含まれるエステル系香氣成分量を示す。コントロールと比較して、資化性アミノ酸が増加した試験区No.2, No.4, No.5では、IA, EC6, EC8ともに生成量が増加し果実香がより強く感じるワインとなったことが確認された。一方、No.3, No.6では有意な増加はみられなかった。

以上のことから、果汁の資化性アミノ酸含量がワインの品質を左右する因子であることが実証できた。現在、

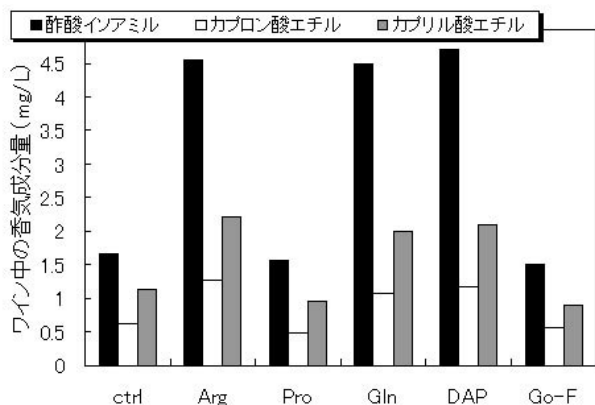


図11 同一果汁に異なる窒素源を添加し醸造したワインのエステル系香気成分

アミノ酸は食品衛生法上の食品添加物ではあるが、酒税法において果実酒に添加出来る物質ではないことから、窒素不足の果汁にはDAPを添加することが望ましい。今後は、他のアミノ酸や発酵促進剤等の添加効果を検討したい。

3-4 酵母別試験

ワイン中の“フェノレ物質”生成は、酵母の持つ Cinnamate decarboxylase と関連があることから、同酵素を持たない酵母 (POF-) を中心に6種類のワイン酵母を同一果汁に添加し、同一条件で試験醸造を行った。生成ワインの官能評価及び成分分析から、フェノレ物質の生成とワイン品質の関連性について検討した。

図12に、同一果汁に6種類の酵母を添加し醸造したワインの官能評価結果を示す。図中の試験区No.は、それぞれ1: Zymaflore VL-1 (Laffort社), 2: Zymaflore VL-2 (Laffort社), 3: Zymaflore VL-3 (Laffort社), 4: Lalvin EC-1118 (Lallemand社), 5: Maurivin R-2 (AB Mauri社), 6: Fermicru AR-2 (DSM社) である。製造元によるPOF活性は、No.1, No.2, No.4, No.5, No.6 はネガティブ、No.3は情報なしであった。官能評価結果

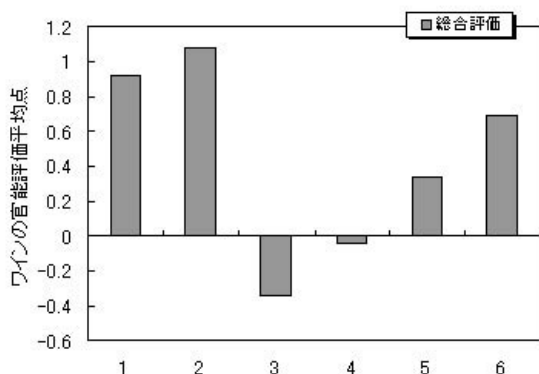


図12 同一果汁に異なる酵母を添加し醸造したワインの官能評価結果 (総合評価)

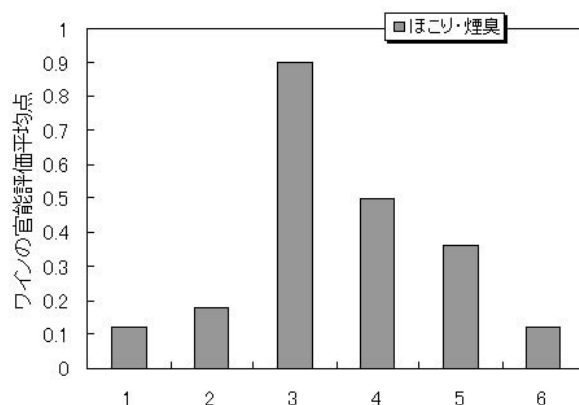


図13 同一果汁に異なる酵母を添加し醸造したワインの官能評価結果 (ホコリ・煙臭)

から、評価点の高い順に、VL-2, VL-1, AR-2, R-2, EC-1118, VL-3であった。特に、VL-3及びEC-1118は平均点がマイナスと低い評価であった。総合評価の平均点が低い要因を、各項目で探したところ、「ホコリ・煙臭」(図13)及び「薬品臭」の平均点が高く、これらの臭いが総合評価の点数を下げたものと考えられた。そこで、これら臭気の原因物質と推察される4VG及4VPの含有量を測定した。

図14に、同一果汁に6種類の酵母を添加し醸造したワインの4VG含量を示す。VL-3, EC-1118, R-2の順に含量が多く、VL-1, VL-2, AR-2は検出限界近くの極微量であった。また、4VG含量と「ホコリ・煙臭」の各棒グラフの形状は一致していた。同様のことは、4VP含量と「薬品臭」にもみられた。

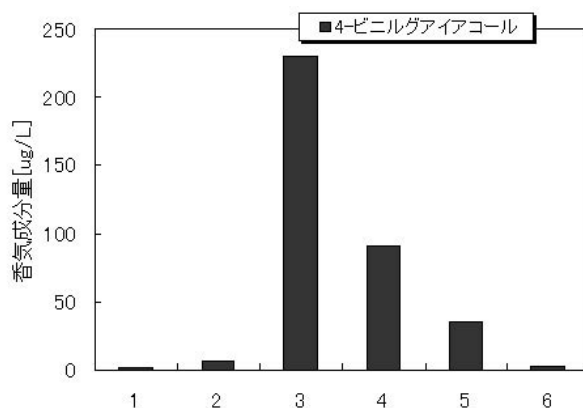


図14 同一果汁に異なる酵母を添加し醸造したワインの4ビニルグアイアコール (4VG)

以上のことから、フェノレ物質がの生成は、ワインの品質を下げる要因になることが確かめられた。特に遅くに収穫した甲州では、フェノレ物質の前駆体であるp-クマル酸及びフェルラ酸が多く含まれることから、醸造時にはPOF-活性の酵母を使用することが望ましい。今後は、各ワイナリーの要望を踏まえ、各種酵母の甲州種

ワインにおけるPOF活性を調べたい。

3-5 EU対応低アルコール試験

甲州種ワインのEU諸国への輸出には、EUワイン法に基づくワイン醸造^{19) -21)}が必須である。補糖を行うのが通例である甲州種ワインの醸造では、EUワイン法上の補糖に関する規定により、低アルコール化が想定される。そこで低アルコール化によるワイン香味への影響を調べた。

図15に、同一果汁に補糖量や発酵温度等を変えて醸造したワインの官能評価結果（総合評価及び薄さ）を示す。図中の試験区No.は、それぞれ1：コントロール（補糖22%，発酵温度18℃），2：C20（補糖20%，発酵温度18℃），3：T15（補糖20%，発酵温度15℃），4：2C（補糖20%，発酵温度18℃，2回補糖（ブドウ糖1g/L以下））である。生成ワインのアルコール分は、それぞれ1：12.8%，2：11.7%，3：11.9%，4：11.6%であった。官能評価結果から、発酵温度を下げるにより評価が高くなることが明らかとなった。一方で、補糖量の減少は、生成ワインの味覚に薄さを生じ、総合的な品質の低下を招く要因となる可能性が認められた。

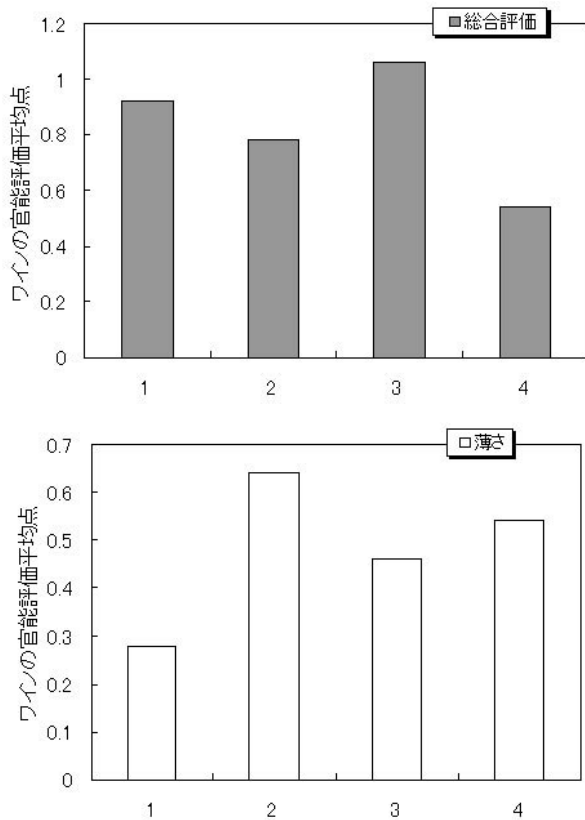


図15 同一果汁に補糖量や発酵温度等を変えて醸造したワインの官能評価結果（上：総合評価，下：薄さ）

図16に、同一果汁に補糖量や発酵温度等を変えて醸造したワインの官能評価結果（総合評価及び薄さ）を示す。

す。コントロールと比較して、いずれもエステル系香気成分含量が増加した。特に、発酵温度を下げたものは増加量が多く、ワインの品質向上に寄与したものと推察された。

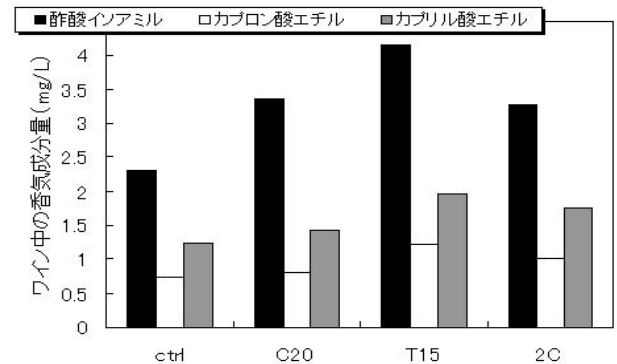


図16 同一果汁に補糖量や発酵温度等を変えて醸造したワインのエステル系香気成分

以上のことから、補糖量を減らした場合には、生成ワインが薄く感じられるが、発酵温度を下げエステル系香気成分を増やすことにより、品質低下を抑制できることが明らかとなった。今後は、薄さの改善策を検討したい。

3-6 中規模醸造実用化試験

研究成果の実用化を視野に入れ、通常の試験醸造の約10倍規模での醸造を行い、小規模試験との関連性を調査した。図17に、醸造規模の異なるワインの官能評価結果を示す。図中の試験区No.は、それぞれ1：ワインA（30Lサーマルタンク，発酵温度18℃）（コントロール），2：ワインA（276Lサーマルタンク，発酵温度18℃），3：ワインB（30Lサーマルタンク，発酵温度18℃）（コントロール），4：ワインB（276Lサーマルタンク，発酵温度18℃），5：ワインC（30Lサーマルタンク，発酵温度18℃）（コントロール），6：ワインC（270Lサーマルタンク，発酵温度15℃），7：ワインC（181Lステンレスタンク，発酵温度16~18℃）である。官能評価結果から、

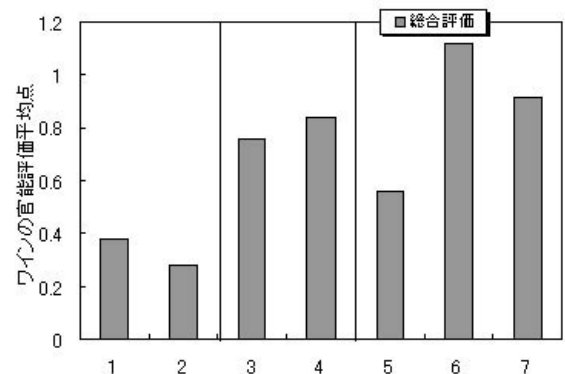


図17 醸造規模の異なるワインの官能評価結果

補糖量の減少により生成ワインに薄さが感じられ、醸造規模に依らず同等の品質になることが確かめられた。また、発酵時には、液温を18℃以下に下げることが品質向上に繋がることが示唆された。

4. 結 言

昨年度の実績をもとに22圃場を選定し、「圃場別試験」(栽培圃場の生育調査、土壌分析、ブドウ果汁の成分分析、試験醸造、ワインの成分分析および官能評価)を実施し、前年度に得られた知見を検証した。加えて、「収穫時期別試験」、「窒素源添加試験」、「酵母別試験」、「EU対応低アルコール試験」、「中規模醸造実用化試験」の各試験を実施し、ワインの高品質化に繋がる栽培・醸造技術について検討した。その結果、圃場別に、資化性アミノ酸は、528~1091mg/Lと果汁により約2倍の差異がそれぞれ認められた。前年度に果汁中のアミノ酸含量が高かった試験区(圃場)では、平成21年度も同様に果汁のアミノ酸含量が高い傾向がみられた。前年度と同様、資化性アミノ酸を多く含む果汁から醸造したワインは官能評価において高く評価された。果汁の資化性アミノ酸と糖度の間には相関はなく、収穫前の経時変化も異なることから、収穫前や収穫時には糖度に加え、資化性アミノ酸含量を把握することがワインの品質上重要であることが明らかになった。資化性アミノ酸の果汁添加により、生成ワインのエステル系香気の生成量が増加するとともに、官能評価で高く評価された。POF-活性の酵母を使用することにより、フェノレ物質(4VP、4VG)が生成されず、官能評価において高く評価された。補糖量の減少に伴う低アルコール化により、ワインに薄さが感じられたが、発酵温度を下げエステル系香气成分を増やすことにより官能的な評価を高めることができた。

今後は、窒素源添加試験や酵母別試験を継続するとともに、複数年度の蓄積データを解析し果汁の資化性アミノ酸を増やすための圃場条件(栽培管理や土壌組成など)を明らかにしていきたい。

参考文献

- 1) 飯野 修一, 樋川 芳仁, 中山 忠博, 荻野 敏, 奥田 徹, 吉田 愛知, 久本 雅嗣, 高柳 勉, 横塚 弘毅: 山梨県工業技術センター研究報告, No.19, p.25 (2005)
- 2) 奥田 徹, 久本 雅嗣, 飯野 修一, 樋川 芳仁, 中山 忠博, 荻野 敏, 高柳 勉, 横塚 弘毅: A.SEV Japan. Vol.16, No.3, p.124 (2005)
- 3) 飯野 修一, 樋川 芳仁, 中山 忠博, 荻野 敏, 奥田 徹, 久本 雅嗣, 高柳 勉, 横塚 弘毅: 山梨県工業技術センター研究報告, No.20, p.23

(2006)

- 4) 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研究報告書, No.1, p.55 (2006)
- 5) 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研究報告書, No.1, p.59 (2006)
- 6) 時友裕紀子: 山梨県総合理工学研究機構研究報告書, No.1, p.63 (2006)
- 7) 飯野 修一, 小松 正和, 中山 忠博, 奥田 徹, 久本 雅嗣, 高柳 勉, 横塚 弘毅: 山梨県工業技術センター研究報告, No.21, p.23 (2007)
- 8) 奥田 徹, 福井 正一, 久本 雅嗣, 飯野 修一, 樋川 芳仁, 荻野 敏, 高柳 勉, 横塚 弘毅: A.SEV Japan. Vol.18, No.1, p.15 (2007)
- 9) 小松 正和, 上垣 良信, 樋川 芳仁, 飯野 修一, 中込 一憲, 上野 昇, 時友裕紀子: A.SEV Japan. Vol.18, No.3, p.154 (2007)
- 10) 小松 正和, 飯野 修一, 中山 忠博, 奥田 徹, 久本 雅嗣, 高柳 勉, 横塚 弘毅, 前島 善福: A.SEV Japan. Vol.18, No.3, p.154 (2007)
- 11) 小松 正和, 飯野 修一, 中山 忠博, 原川 守, 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研究報告書, No.2, p.43 (2007)
- 12) 飯野 修一, 小松 正和, 中山 忠博, 奥田 徹, 久本 雅嗣, 高柳 勉, 横塚 弘毅: 山梨県工業技術センター研究報告, No.22, p.6 (2008)
- 13) 小松 正和, 飯野 修一, 中山 忠博, 原川 守, 上垣 良信, 猪股 雅人, 齊藤 典義, 時友裕紀子, 久本 雅嗣, 奥田 徹, 上野 昇: 山梨県工業技術センター研究報告, No.22, p.154 (2008)
- 14) 小松 正和, 飯野 修一, 中山 忠博, 原川 守, 上垣 良信, 猪股 雅人, 齊藤 典義, 時友裕紀子, 久本 雅嗣, 奥田 徹, 上野 昇: 山梨県総合理工学研究機構研究報告書, No.3, p.43 (2008)
- 15) 小松 正和, 飯野 修一, 中山 忠博, 上垣 良信, 齊藤 典義, 時友裕紀子, 奥田 徹, 久本 雅嗣, 上野 昇: A.SEV Japan. Vol.19, No.2, p.78 (2008)
- 16) 小松 正和, 中山 忠博, 恩田 匠, 上垣 良信, 鈴木 幾雄, 荘 富盛, 久本 雅嗣, 奥田 徹, 前島 善福: 山梨県工業技術センター研究報告, No.23, p.38 (2009)
- 17) 小松 正和, 恩田 匠, 中山 忠博, 上垣 良信, 鈴木 幾雄, 荘 富盛, 齊藤 典義, 久本 雅嗣, 奥田 徹, 前島 善福: A.SEV Japan. Vol.20,

- No.3, p.74 (2009)
- 18) 恩田 匠, 小松 正和, 中山 忠博, 上垣 良信,
鈴木 幾雄, 莊 富盛, 齊藤 典義, 久本 雅嗣,
奥田 徹, 前島 善福 : A.SEV Japan.Vol.20,
No.3, p.76 (2009)
 - 19) EU規則 (EC), No.423/2008 (2008)
 - 20) EU規則 (EC), No.479/2008 (2008)
 - 21) EU規則 (EC), No.606/2009 (2009)
 - 22) 日本醸造協会 編 : 第 4 回改正 国税庁所定分析
法注解, p.68 (1993)
 - 23) 葡萄酒醸造法 : 山梨県工業技術センター, p.91
(2000)
 - 24) ワイン学 : 産業調査会, p.99 (1998)