

[Technical Brief]

ブドウ果汁の基本成分分析における手法間のデータ相関

亀山 直樹*・北沢 美佳

信州大学経済学部 千曲川ワインバレー分析センター 〒390-862 長野県松本市旭 3-1-1

Correlation Study of Analytical Techniques for Basic Analysis of Grape Must

Naoki KAMEYAMA* and Mika KITAZAWA

Chikumagawa Wine Valley Analysis Center, Faculty of Economics and Law, Shinshu University
3-1-1 Asahi Matsumoto-shi Nagano 390-8621 JAPAN

The purpose of this study was to provide the reference information to grape growers and wineries in Japan. The correlations of sugar content, acidity, density, pH, and YAN determined by conventional methods and by analytical devices – an ATAGO pocket brix meter, an ATAGO pocket brix-acidity meter, and an OenoFoss FTIR with the generalized calibration curves – were shown and relevant data were added to discuss the potential use of these devices. The devices were usable depending on the application. Grape growers could convert data measured with the ATAGO pocket brix meter to obtain conventional analysis. The results of OenoFoss FTIR measurement indicated the possibility that wineries could obtain conventional analysis values in Japan by data conversion using the generalized calibration curves supplied by FOSS. On the other hand, the development of original calibration curves was necessary to increase accuracy, particularly in pH and YAN measurements.

Key words: ATAGO, Brix, calibration curves, FTIR, OenoFoss

緒 言

本稿の目的は、果汁成分の測定・分析を行う栽培家やワイナリーが参照・活用できる情報を提供することである。また、同様のデータや知見を蓄積しているワイナリーを含めた業界内での情報共有促進に繋がる期待を込めている。

ブドウの収穫期に熟度を判断するために手軽に測れる成分値として糖度がある。現在、日本の栽培現場における果汁糖度の測定は、屈折計を用いて Brix 値を測ることが一般的である。その一方で、

酒税法及び酒類行政関係法令等解釈通達（国税庁 1999）で定められている「果実に含まれる糖類の重量」は、比重から指定の算式で算出する転化糖分値である。実際の現場で Brix 値から転化糖分値を推定したい場合、各人の経験や先達からの伝承に基づいて大まかに換算されていると推測される。筆者らのような多数のサンプルと幅広いレンジの値を測定する機会をもった者が、全国の栽培家が参照できる統一した換算式を示すことには一定の意義があると考えられる。そこで本稿では、株式会社アタゴのポケット糖度計 PAL-1 による Brix の測定値と、実測した比重より算出した転化糖分値の間の相関を求めるとともに、その妥当性の考察、Brix 測定時の遠心分離による清澄有無の差異を示した。

*Corresponding author (email:

kameyama_naoki@gm.shinshu-u.ac.jp)

2018 年 10 月 5 日受理

酸度も収穫判断に重要かつ基本的な成分値であり、一般的には中和滴定によって得られる滴定酸度 (Titratable Acidity) を総酸度 (Total Acidity) の近似値として酒石酸換算した値としている。ただし、中和滴定を行うことは個人規模の栽培家にとってハードルが高い。この酸度の簡易測定法のひとつとして、ポータブルな酸度計での測定を挙げることができる。その測定値と中和滴定による分析値との関係を示すことで、個人規模の栽培家自身が酸度を測定して収穫判断などに活用する道を広げることになると考える。本稿では、株式会社アタゴのポケット糖酸度計 PAL-BX | ACID2 による酸度の実測値と中和滴定による測定値との相関を示した。

糖度・比重・酸度・pH・資化性窒素などの基本的な成分値を測定する手段のひとつに、フーリエ変換赤外分光光度計 (Fourier transform infrared spectrometer : 以下 FTIR) を用いる方法を挙げることができる。この方法の最大の長所は、1 サンプルあたり 2~3 分間という短時間で全測定値を得られることである。糖度・比重・酸度・pH・資化性窒素という基本的な分析項目限定であっても、多数のサンプルを高頻度で分析する場合には、如何に短時間で行うことができるかが重要となる。短時間かつ一度の操作で全分析項目値を得ることができる FTIR を活用できれば、栽培現場での利便性向上や収穫適期判断、産地の特長抽出などの貢献につなげることができる。例えば、栽培家が共同利用できる分析施設などを運営する際に有効な方法となり得る。そういった場合、試薬が不要であることも FTIR の大きな利点となる。

ところが、ワイン専用の FTIR であっても、その分析結果と、日本で慣行的に行われている方法による分析結果とは単純には一致しない。FTIR での分析によって得られる出力値は使用される検量線に依存する。そして、メーカーから提供される検

量線の元となるデータの化学分析手法は国税庁所定分析法 (国税庁 1961) に規定されている方法とは異なる場合がある。例えば欧州における総酸度は、pH 7.0 での中和滴定値を硫酸換算した値が用いられることが多い。よって、FTIR による分析を行うためには、得られる値と日本における慣行分析方法による測定値との相関をとっておき補正や変換をするか、または日本の慣行分析方法に合わせた検量線を開発することが必要となる。FTIR は高額な機器であり、その導入には有効活用できることが絶対条件となる。よって、得られる分析値と日本における慣行分析方法での測定値との比較結果例を示しておくことは有用であると考え。本稿では、FTIR である FOSS 社のワイン分析装置 OenoFoss に、FOSS 社の提供する汎用検量線 (FOSS 社は“グローバル検量線”と呼称している) を組み合わせた分析結果と、日本で慣行的に行われている分析方法による測定値との比較結果を示した。具体的には、Brix・比重・総酸・pH・資化性窒素について分析値の相関を示した。

本稿に示した測定値の相関式は、上記の特定機器と検量線にのみ当てはまる。また、相関式を活用される際には、使われる機器の個体差を、各機器の保証精度を確認して加味する必要がある。

材 料 および 方 法

機器

比重は京都電子工業の酒類用振動式密度計 DA-155 を、pH は堀場製作所の pH メーター F-72 (電極 9615S-10D, 標準液 101-S で校正) を、Brix はアタゴのポケット糖度計 PAL-1 を、ポータブルな酸度計による酸度はアタゴのポケット糖酸度計 PAL-BX | ACID2 を用いて測定した。ポケット糖酸度計 PAL-BX | ACID2 による酸度測定時の 50 倍希釈には、標準附属品の電子天秤を用いた。フーリエ変換赤外分光光度計 (FTIR) は FOSS 社のワイ

ン分析装置 OenoFoss を使用した。

試薬

滴定で使用した試薬は、0.1 mol/L 水酸化ナトリウム溶液 (JIS K8001 による標定品) と 35%ホルムアルデヒド液 (JIS K8872) である。試料・試薬を希釈する場合には蒸留水を使用した。

果汁試料

長野県内の圃場で採取した果粒サンプルを手動の圧搾機で搾汁し、遠心分離 (2,000 rpm×10 分間) した後に上澄みを使用した。品種はメルロ、ピノ・ノワール、カベルネソービニオン、アルモノワール、シャルドネ、ソービニオンブラン、ピノ・グリ、龍眼である。生食用ブドウの巨峰、シャインマスカット、オリエンタルスター、サニードルチェ、ロザリオロッソ、黄華が全測定中に 1 サンプルずつ含まれている。特に明記しない場合、2017 年の熟期に採取した果粒を対象としている。一部の結果と考察に 2016 年に採取・測定したデータの提示、2016 年に採取し冷凍保存しておいた果粒サンプルを解凍し測定したデータの提示を含んでおり、その旨明記している。

Brix の測定

ポケット糖度計 PAL-1 のセンサー部に果汁試料を滴下して測定した。

比重、および糖度（比重換算値）の測定

酒類用振動式密度計 DA-155 により温度 15℃における比重を測定し、「酒税法及び酒類行政関係法令等解釈通達 第 3 条」(国税庁 1999) に規定された次の式で算出した。

$$\begin{aligned} \text{転化糖分} &= (\text{温度 } 15 \text{ 度における比重} - 1) \\ &\quad \times 100 \times 2.7 - 2.5 \end{aligned}$$

ポータブルな酸度計による酸度の測定

ポケット糖酸度計 PAL-BX | ACID2 に蒸留水で 50 倍希釈した果汁試料を滴下して測定した。果汁試料の 50 倍希釈には PAL-BX | ACID2 付属の秤(メーカーは「天秤」と呼称)を使用した。栽培現場

での実使用場面を想定してメーカーの提供するセットでの測定を実施した。

pH の測定

pH メーター F-72 により測定した。以下の滴定における pH 測定も同様である。

滴定酸度（総酸）の定量

「国税庁所定分析法 9-10 総酸（遊離酸）」(国税庁 1961) に規定された方法で定量を行い、そこに定められている次式で算出した。

$$\text{酒石酸 (g/100mL)} = \text{酸度} \times 0.075$$

資化性窒素量（YAN）の定量

酸度の定量を行った試料に「国税庁所定分析法 3-6 アミノ酸」(国税庁 1961) に規定された方法で pH 計を用いたフォルモール滴定を行い、次式により算出した。

$$\text{資化性窒素量 (mgN/L)} =$$

$$14 \times 10 \times \text{滴定値} \times 0.1 \text{ N NaOH の力価}$$

OenoFoss (FTIR) での測定

OenoFoss 本体のセンサー部に果汁試料を滴下し、PC 上で動作する制御ソフトウェア Foss Integrator 2 の出力する値を記録した。制御ソフトウェア Foss Integrator 2 では FOSS 社が OenoFoss 用に提供する汎用の検量線 (FOSS Analytical 2017a,b) を使用した。

結果と考察

本稿での測定値の有効桁数は 4~2 桁の範囲であるが、以下に示す回帰関数や決定係数は小数点以下 4 桁までを示す (小数第 5 位を四捨五入) ことに統一する。

Brix と比重換算糖度

糖度の測定方法として、ATAGO ポケット糖度計での Brix 測定が広く普及している。その測定値は、酒税法及び酒類行政関係法令等解釈通達 (国税庁 1999) に規定されている方法で測定・算出した転化糖分値とは原理的に一致しない。

Fig.1 は実際に測定した両値をプロットしたグラフである。横軸 (x) は ATAGO PAL-1 の Brix 値, 縦軸 (y) は比重値から換算した転化糖分値 (以下, 単に転化糖分値と呼ぶ), 標本数 (N) は N=197 である。このデータは決定係数 $R^2 = 0.9982$ で Eq.1 に回帰できる。

$$y = 1.1458x - 2.2956 \quad (\text{Eq.1})$$

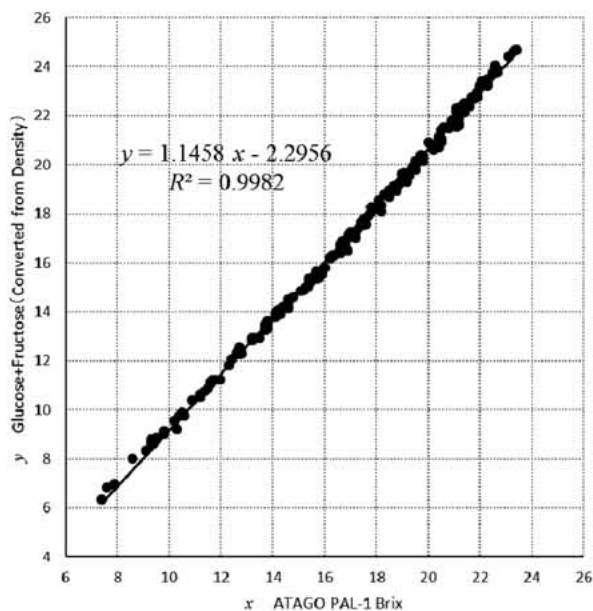


Fig.1. Correlation between ATAGO PAL-1 Brix and sugar content determined by density conversion (N=197)

Fig.2 は白・灰色のブドウのデータを, Fig.3 は黒ブドウのデータを抽出したグラフである。いずれのグラフにも Eq.1 の直線を記し, 各々のデータと Eq.1 との決定係数を示した。決定係数は, 白・灰色ブドウが $R^2 = 0.9986$, 黒ブドウが $R^2 = 0.9979$ となった。

以上の結果から, ATAGO PAL-1 の Brix 値を Eq.1 によって転化糖分値に換算することは実用上差し支えなく, またブドウ果皮の色による差分を考慮する必要もないと考えられる。ただし, Figs.1~3 から Brix 値が小さい範囲で, Eq.1 との差分が大きめであることが観察できる。

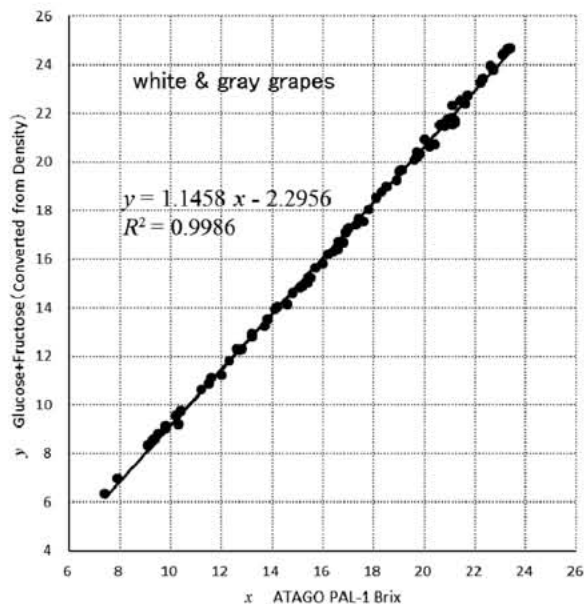


Fig.2. Correlation between ATAGO PAL-1 Brix and sugar content determined by density conversion (white & gray grapes N=83)

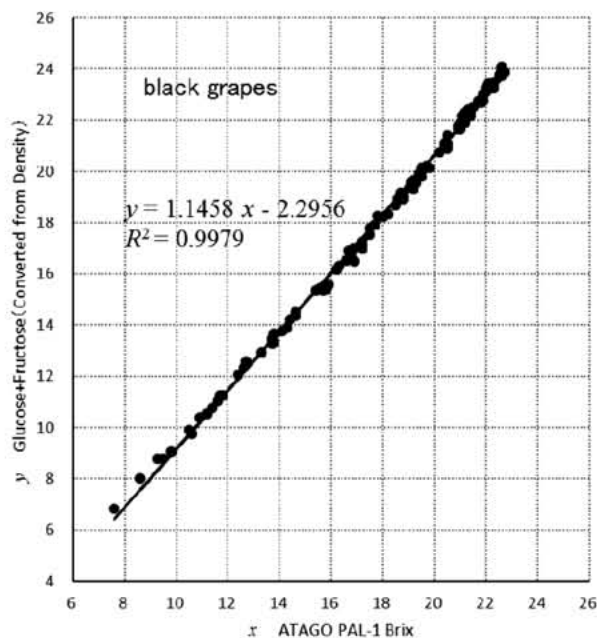


Fig.3. Correlation between ATAGO PAL-1 Brix and sugar content determined by density conversion (black grapes N=112)

そこで、収穫期に実用的な Brix 値として $\text{Brix} \geq 13$ のデータを抽出した結果が Figs.4~6 である。

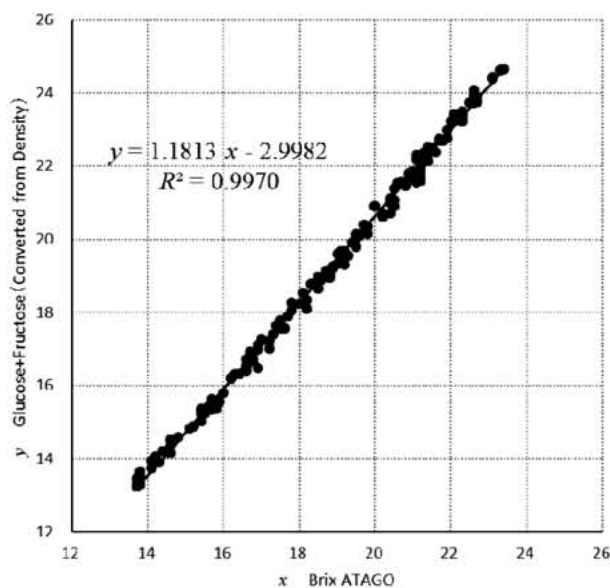


Fig.4. $\text{Brix} \geq 13$ of Fig.1 (N=157)

Fig.4 に示した通り、Fig.1 のデータから $\text{Brix} \geq 13$ を抽出した場合（標本数 N=157）、ATAGO PAL-1 の Brix 値 (x) と転化糖分値 (y) は決定係数 $R^2 = 0.9970$ で Eq.2 に回帰できる。

$$y = 1.1813x - 2.9982 \quad (\text{Eq.2})$$

Figs.5 および 6 に示した通り、ブドウ果皮の色による差分も見られないと言える。

Fig.7 は、2016 年の測定データ（標本数 N=77）を Fig.4 と同様にプロットした結果であり、ATAGO PAL-1 の Brix 値 (x) と転化糖分値 (y) は決定係数 $R^2 = 0.9938$ で Eq.3 に回帰できる。

$$y = 1.1871x - 3.3899 \quad (\text{Eq.3})$$

Eq.2 と Eq.3 を比較すると傾きは 2 桁以上一致しており（差分は 0.5%未満）、切片の差分は 0.39（約 13%）である。異なるサンプルの分析結果をほぼ同じ式で回帰できており、特に傾きはよく一致していると捉えることができる。

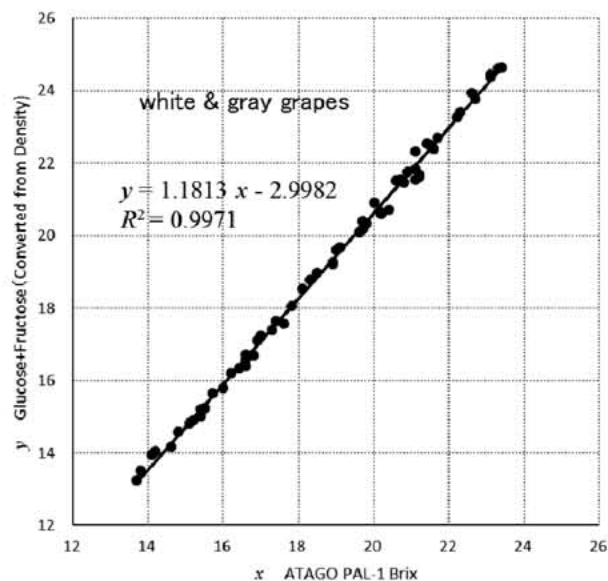


Fig.5. $\text{Brix} \geq 13$ of Fig.2 (white & gray grapes N=61)

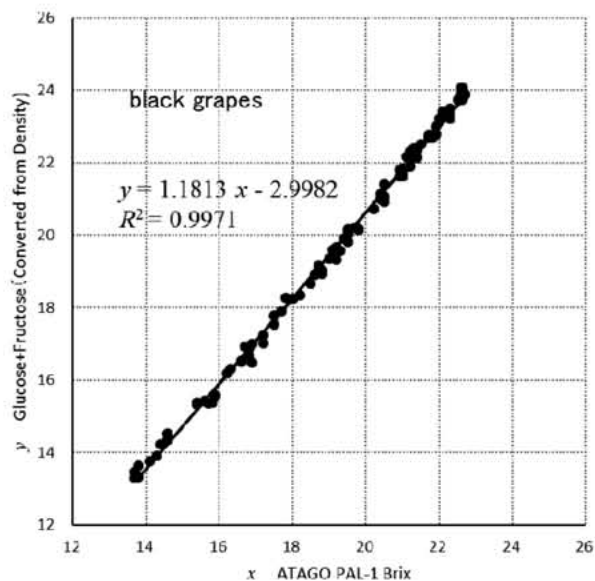


Fig.6. $\text{Brix} \geq 13$ of Fig.3 (black grapes N=95)

以上の結果より、実用的な Brix 値の範囲では Eq.2 による換算を行って差し支えないと考える。参照用に Eq.2 の x に 12~24 を代入した y の値を Table1 に示した。

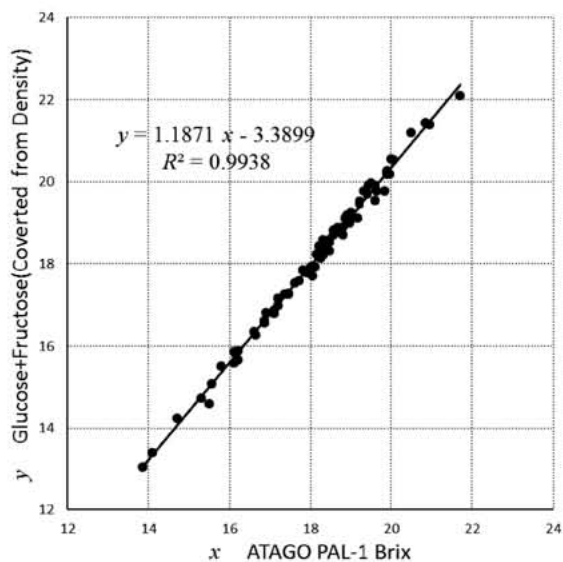


Fig.7. Correlation between ATAGO PAL-1 Brix and sugar content determined by density conversion (previous samples, N=77)

$$y = 1.1813x - 2.9982$$

x	y
12	11.1774
13	12.3587
14	13.5400
15	14.7213
16	15.9026
17	17.0839
18	18.2652
19	19.4465
20	20.6278
21	21.8091
22	22.9904
23	24.1717
24	25.3530

x: Brix(ATAGO PAL-1)

y: 比重換算糖度(転化糖分值)

Table 1. Example of conversion using Eq.2

ところで、本節の冒頭で述べた通り、Brix 値と転化糖分值とは原理的に異なる。Brix 値は質量パーセント濃度(以下 wt/wt と呼ぶ)であり、糖度(転化糖分值)は質量/体積の濃度である(以下 wt/vol と呼ぶ)。Fig.8 は、横軸 (x) に Brix 値をとり、縦軸 (y) に Brix (wt/wt) と糖度 (wt/vol) の換算表 (Zoechlein et al. 1995) に示された糖度値にブドウ

糖・果糖への換算係数 1.0526 を乗じた値をプロット (●のドットで表示) したグラフである。

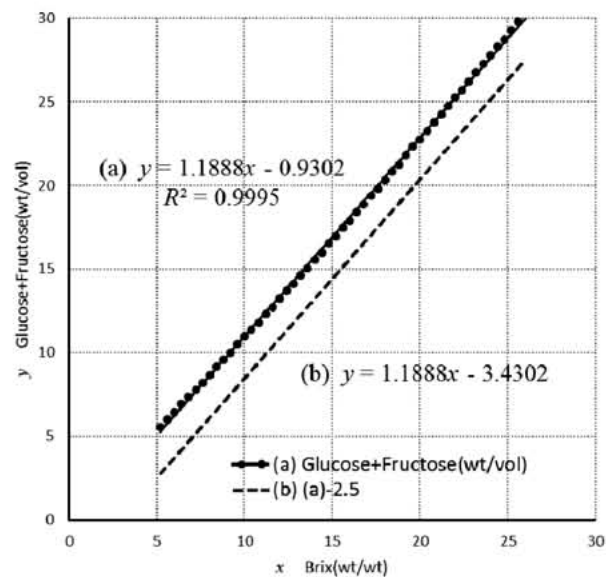


Fig.8. Interconversion between Brix (wt/wt) and glucose+fructose (wt/vol)

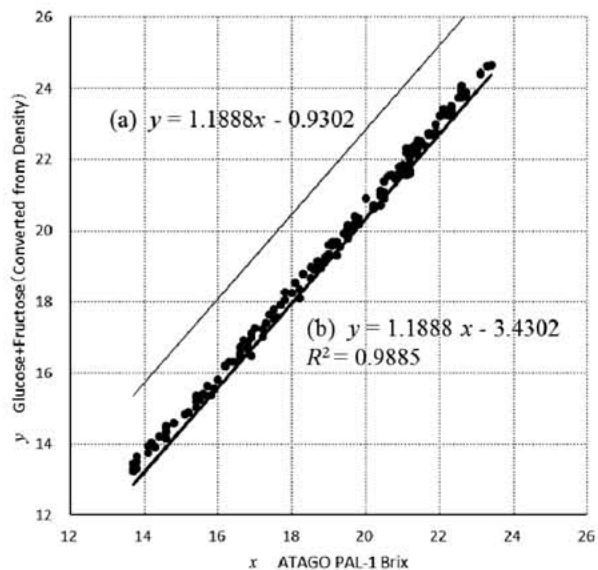


Fig.9. Comparison of data from Fig.4 and equation from Fig.8

Fig.8 に示した直線 a はドットで示したブドウ糖・

果糖換算値の回帰直線, 直線 b は直線 a から酒税法施行令で規定されている転化糖分算出式と同じく 2.5 を減じた結果であり, それぞれ Eq.4, Eq.5 となる.

$$\text{直線 a: } y = 1.1888x - 0.9302 \quad (\text{Eq.4})$$

$$\text{直線 b: } y = 1.1888x - 3.4302 \quad (\text{Eq.5})$$

この Eq.4, Eq.5 を Fig.4 の実測データに重ねると Fig.9 となる. 実測値は Eq.4 (直線 a) と Eq.5 (直線 b) の間に収まり, Eq.5 との相関係数は $R^2 = 0.9885$ である. このことは, 実測値から得られた換算式 Eq.2 の妥当性を示していると考えられる. なお, 実測値が Eq.5 (直線 a) に対してやや大きめの値に分布する理由は, Eq.5 導出時に減じた切片値 2.5 (糖以外の成分が含まれることを考慮した減算) が実測サンプルに対して過剰であったためと推察される.

ここまで, 栽培者自身で簡単に測定できる Brix 値から, 比重より換算した転化糖分値を求める変換式とその妥当性を示した. その測定データは採取した果粒サンプルを搾汁し, 更に遠心分離 (2,000 rpm×10 分間) した試料に対する分析値である. しかしながら, 栽培者が自身での Brix 測定時に果汁の遠心分離を行うことは現実的ではない. Fig.10 は 2016 年に ATAGO PAL-1 による Brix 測定において遠心分離有無の比較を行った結果である. 横軸 (x) は遠心分離有りの, 縦軸 (y) は遠心分離無しの Brix 測定値であり, 標本数 (N) は N=56 である. このデータは決定係数 $R^2 = 0.9976$ で Eq.6 に回帰できる.

$$y = 1.0142x - 0.2337 \quad (\text{Eq.6})$$

Eq.6 における x と y の差分は $x=14 \sim 21$ の範囲で 0.3% 以下である. ATAGO PAL-1 による Brix 測定における遠心分離有無での差分は実用上問題ないレベルであることがわかる.

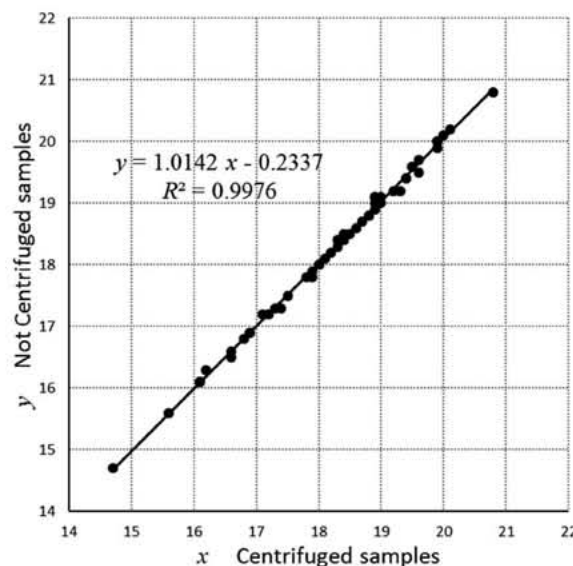


Fig.10. Comparison between centrifuged and NOT centrifuged samples (N=56)

以上より, 栽培の現場において, 果汁を手動の圧搾機で絞り, 遠心分離を行わずに ATAGO PAL-1 による Brix 測定を行うこと, その Brix 値を Eq.2 に代入して転化糖分値に変換することの妥当性を示すことができたと考える.

糖酸度計による酸度と滴定酸度

酸度 (総酸値) の測定は一般的には中和滴定で行われるが, 最近では簡単に酸度を測定できるポータブルな機器も市販されている. ATAGO のポケット糖酸度計 PAL-BX | ACID2 もそのひとつである. Fig.11 は両方法による実測値とその関係を示したグラフである. 横軸 (x) は ATAGO PAL-BX | ACID2 で測定した酸度, 縦軸 (y) は滴定酸度 (総酸) の酒石酸換算値, 標本数 (N) は N=197 である. このデータは決定係数 $R^2 = 0.9768$ で Eq.7 に回帰できる.

$$y = 1.2507x - 0.2232 \quad (\text{Eq.7})$$

Fig.11 を見ると, 実測データ分布の Eq.7 に対する広がりが大きいことが観察される. これを定量的に表すと, Eq.7 と実測値 y_i との最大差分の絶対値 ($\max |y_i - y|$) は 0.4962, 標準偏差 (σ) は 0.1176

となる。

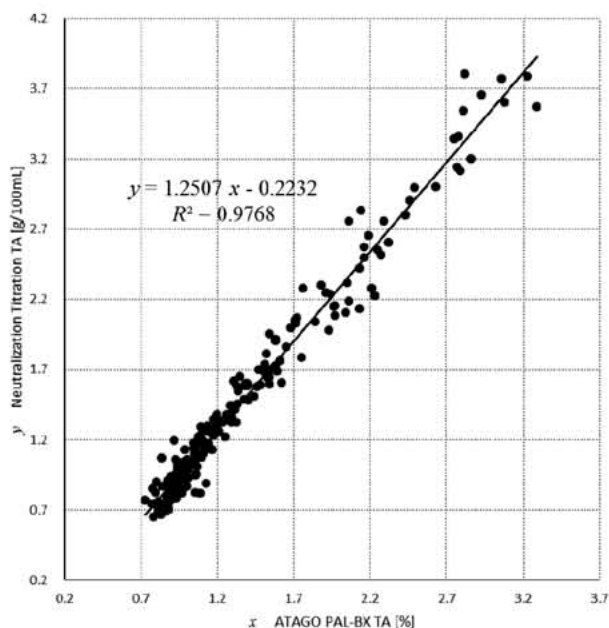


Fig.11. Correlation between ATAGO PAL-BX total acidity and total acidity determined by neutralization titration (N=197)

以上の結果から、ATAGO PAL-BX | ACID2 で酸度を測定し、Eq.7 によって滴定酸度（総酸）の酒石酸換算値に換算して活用する際には、標準偏差（ σ ）が 0.12 程度（すなわち 3σ が 0.36 程度）となり、また標本数 $N=197$ の実測において差分が 0.5 程度となった事実の存在を想定する必要があると言える。厳密に酸度を知りたい際にはその都度正確に滴定等を行うべきであるが、栽培現場で熟期の酸度変化を捉える用途などでは活用できると考える。なお、ATAGO PAL-BX | ACID2 での酸度分析では果汁試料 50 倍希釈の精度が測定結果に影響を与えること、蒸留水が必要なことに留意を要する。「材料と方法」で記した通り、本稿の測定における果汁試料の 50 倍希釈には ATAGO PAL-BX | ACID2 付属の天秤を使用している。天秤の精度検証を行っていないので、得られた結果のばらつきが天秤に起

因する可能性とその度合を示すことはできない。

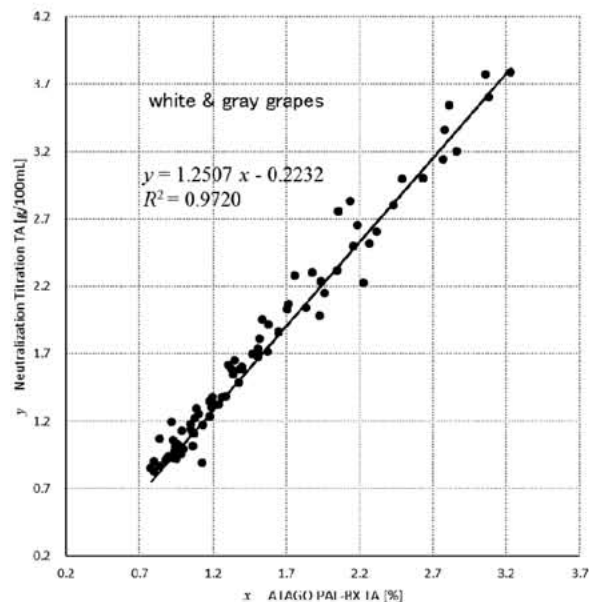


Fig.12. Correlation between ATAGO PAL-BX total acidity and total acidity determined by neutralization titration (white & gray grapes N=83)

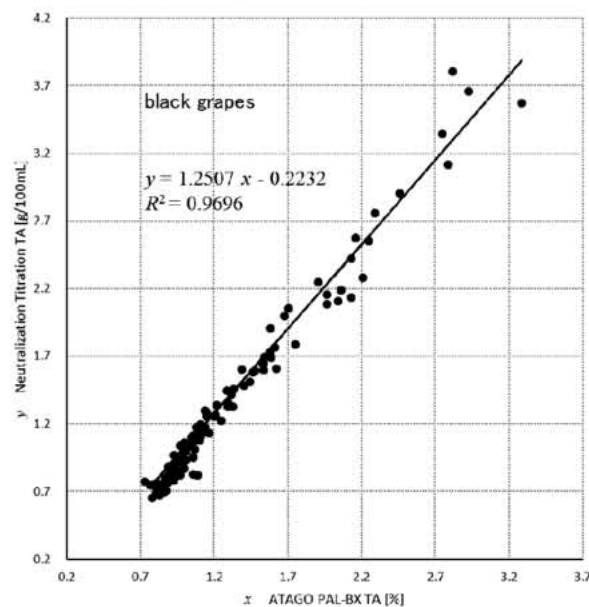


Fig.13. Correlation between ATAGO PAL-BX total acidity and total acidity determined by neutralization titration (black grapes N=112)

Fig.11 から白・灰色ブドウのデータ抽出したグラフが Fig.12, 黒ブドウのデータを抽出したグラフが Fig.13 である. いずれのグラフにも Eq.7 の直線を記し, 各々のデータと Eq.7 との決定係数を示した. 決定係数は, 白・灰色ブドウが $R^2 = 0.9720$, 黒ブドウが $R^2 = 0.9996$ となった. この結果から, ブドウ果皮の色による差分は見られないと言える.

FTIR による糖度・比重・酸度（総酸値）・pH・資化性窒素量

以下では, ブドウ果汁の基本的な分析項目である糖度・比重・酸度（総酸値）・pH・資化性窒素量について, FOSS 社 OenoFoss と慣行的な分析手法との測定結果比較を示す. FTIR の分析値は使用する検量線に依存する. 以下の結果は FOSS 社が汎用に提供している OenoFoss 用の検量線（FOSS Analytical 2017a,b）によって得られた値である.

（糖度）

Fig.14 は糖度の比較であり, 横軸 (x) は OenoFoss の TSS (Total Soluble Solids) 値, 縦軸 (y) は ATAGO PAL-1 の Brix 値, 標本数 (N) は N=192 である. 標本数 (N) は OenoFoss の検量線（FOSS Analytical 2017a）に規定された測定範囲に収まるデータの数としている（以下全ての分析項目で同様）. Fig.14 のデータは決定係数 $R^2 = 0.9973$ で Eq.8 に回帰できる.

$$y = 0.9145x - 3.1026 \quad (\text{Eq.8})$$

Fig.15 は白・灰色のブドウのデータを, Fig.16 は黒ブドウのデータを抽出したグラフである. いずれのグラフにも Eq.8 の直線を記し, 各々のデータと Eq.8 との決定係数を示した. 決定係数は, いずれも $R^2 = 0.9973$ となった.

以上の結果から, 汎用検量線による OenoFoss の TSS 値と ATAGO PAL-1 の Brix 値を, ブドウ果皮の色を考慮することなく Eq.8 によって換算できると考えられる.

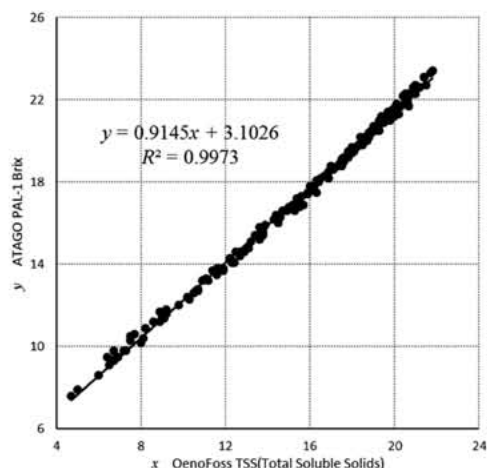


Fig.14. Correlation between OenoFoss total soluble solids and ATAGO PAL-1 Brix (N=192)

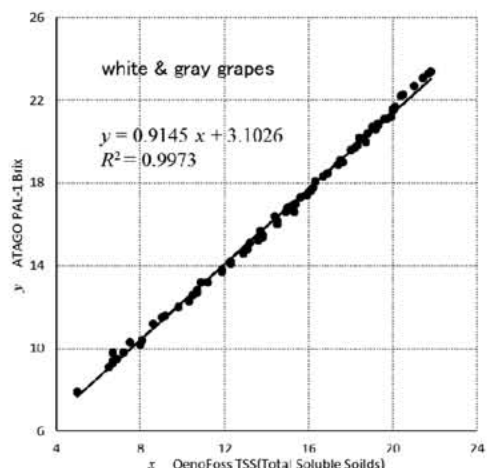


Fig.15. Correlation between OenoFoss total soluble solids and ATAGO PAL-1 Brix (white & gray grapes N=79)

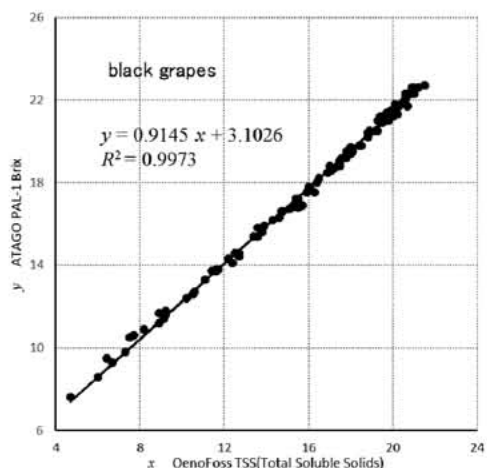


Fig.16. Correlation between OenoFoss total soluble solids and ATAGO PAL-1 Brix (black grapes N=111)

(比重)

Fig.17 は比重データの比較であり、横軸 (x) は OenoFoss による測定値、縦軸 (y) は酒類用振動式密度計 DA-155 による測定値、標本数 (N) は N=194 である。このデータは決定係数 $R^2 = 0.9961$ で Eq.9 に回帰できる。

$$y = 1.0353x - 0.0366 \quad (\text{Eq.9})$$

Eq.9 は $y = x$ とほぼ等しく、差分は $1.04 \leq x \leq 1.10$ の範囲で 0.2% 以下である。

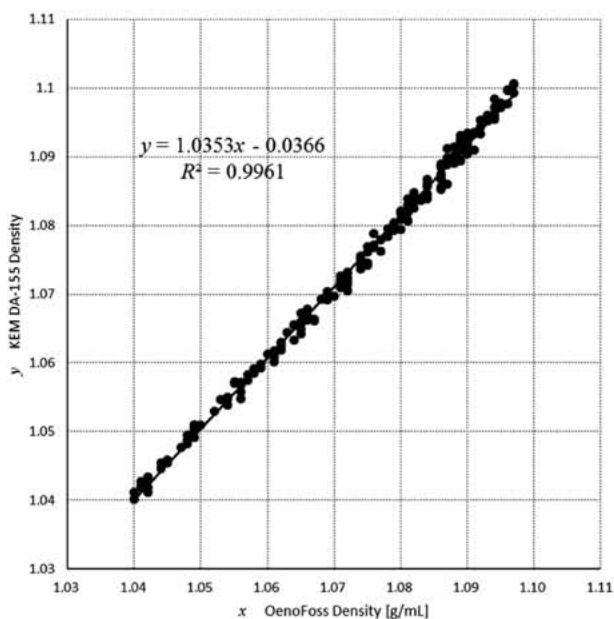


Fig.17. Correlation between OenoFoss density and KEM DA-155 density (N=194)

Figs.18 および 19 はそれぞれ白・灰色ブドウと黒ブドウのデータを抽出したグラフである。いずれのグラフにも Eq.9 の直線を記し、各々のデータと Eq.9 との決定係数を示した。決定係数は、白・灰色ブドウが $R^2 = 0.9960$ 、黒ブドウが $R^2 = 0.9962$ となった。

以上の結果から、ブドウ果皮の色を考慮することなく、汎用検量線 (FOSS Analytical 2017b) によ

る OenoFoss の Density 値と酒類用振動式密度計 DA-155 による比重値を Eq.9 で換算でき、両測定値はほぼ等しいと言える。

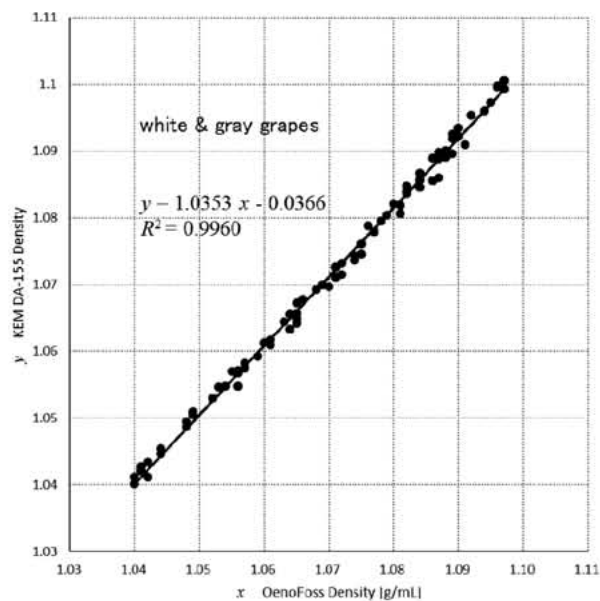


Fig.18. Correlation between OenoFoss density and KEM DA-155 density (white & gray grapes N=80)

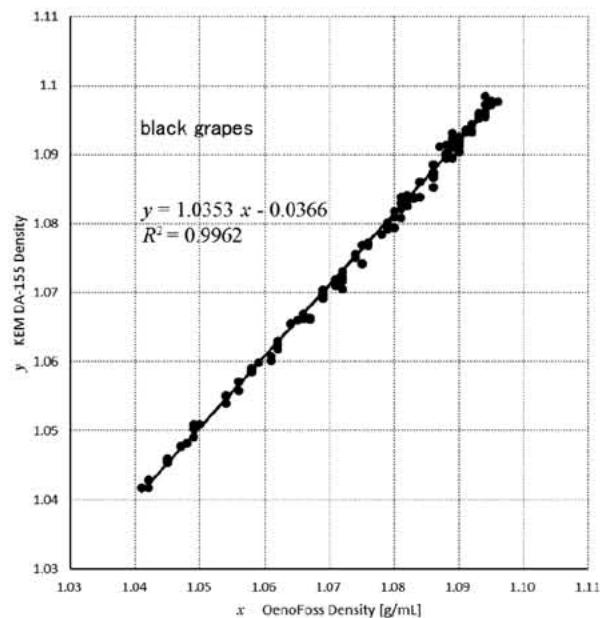


Fig.19. Correlation between OenoFoss density and KEM DA-155 density (black grapes N=112)

(酸度)

Fig.20 は酸度測定値の比較であり、横軸 (x) は OenoFoss による総酸値、縦軸 (y) は滴定酸度 (総酸) の酒石酸換算値、標本数 (N) は N=161 である。両値は決定係数 $R^2 = 0.9890$ で Eq.10 に回帰できる。

$$y = 0.9440x - 0.2607 \quad (\text{Eq.10})$$

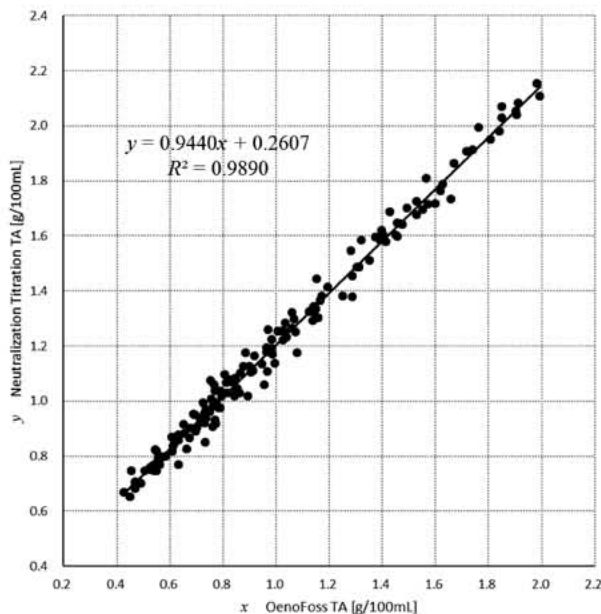


Fig.20. Correlation between OenoFoss total acidity and total acidity determined by neutralization titration (N=161)

Figs.21 および 22 はそれぞれ白・灰色ブドウと黒ブドウのデータを抽出したグラフである。いずれのグラフにも Eq.10 の直線を記し、各々のデータと Eq.10 との決定係数を示した。決定係数は、白・灰色ブドウが $R^2 = 0.9848$ 、黒ブドウが $R^2 = 0.9908$ となった。

以上の結果から、果皮の色を考慮することなく、汎用検量線による OenoFoss の総酸値と滴定酸度 (総酸) の酒石酸換算値を Eq.10 によって換算できると考えられる。

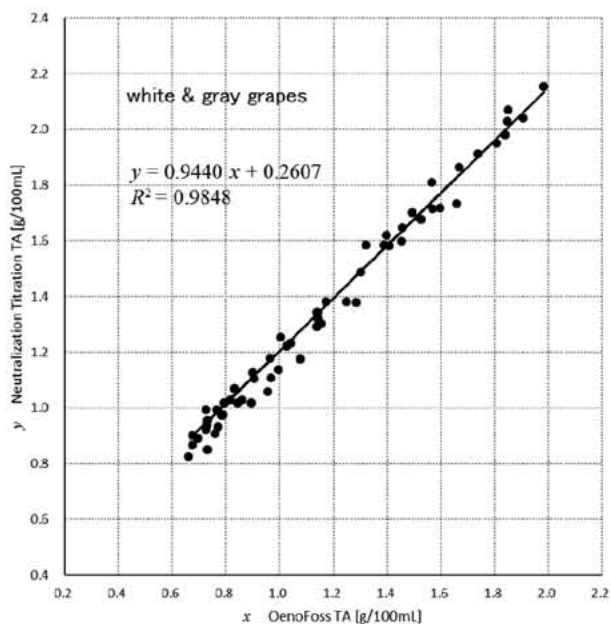


Fig.21. Correlation between OenoFoss total acidity and total acidity determined by neutralization titration (white & gray grapes N=60)

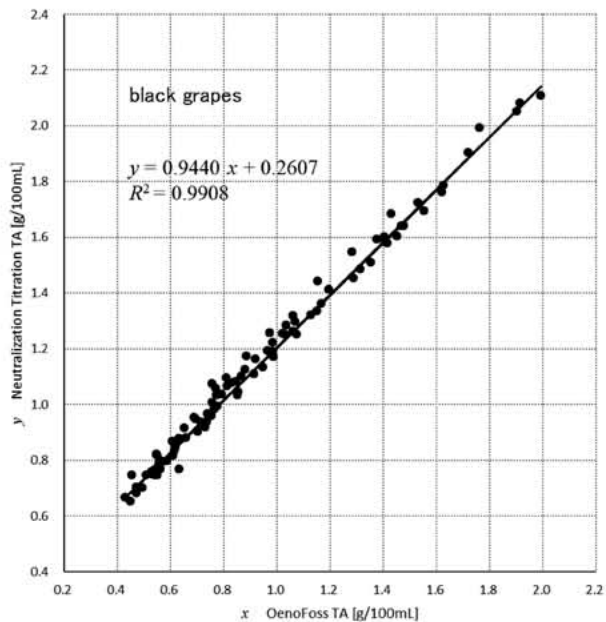


Fig.22. Correlation between OenoFoss total acidity and total acidity determined by neutralization titration (black grapes N=99)

（前年に採取し冷凍保存したサンプルの酸度測定結果）

OenoFoss の導入に当たり、まず前年（2016 年）に採取して冷凍保存したおいた果粒サンプルの分析を行った。その酸度測定結果から、OenoFoss と汎用検量線（FOSS Analytical 2017a）の組み合わせによる分析で留意すべき特徴が見られたので記しておく。総酸度以外の測定値には同様な特徴は観測されていない。なお、果粒サンプルの冷凍は家庭用冷凍庫で行っており、いわゆる瞬間冷凍ではなく、冷凍する過程の管理も一切なされてない。また解凍は冷蔵庫に放置することにより行っており、同じく解凍する過程の管理は一切行われていない。実際に栽培者が保存するのであれば同様な環境下で行うと推察される。

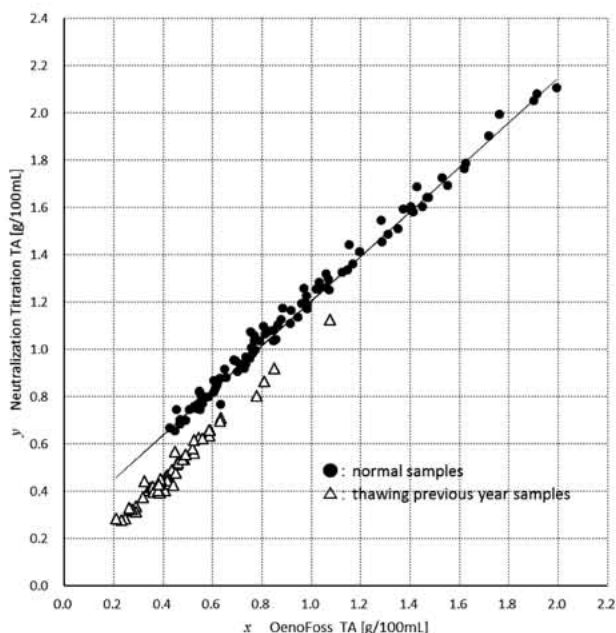


Fig.23. Correlation between OenoFoss total acidity and total acidity determined by neutralization titration (black grapes include thawed samples from previous year)

Fig.23 は、Fig.22 で示した黒ブドウの酸度データ（●でプロット）に、2016 年に採取して冷凍保存

をしておいた黒ブドウの果粒サンプルのデータ（△でプロット）を加えたグラフである。両者には傾きがほぼ同じで切片が異なる傾向が見られる。前年に採取したサンプル果粒の酸度は経時変化（冷凍や解凍の過程における酒石酸塩生成とその溶解度合による影響等を含む）により低下していると推察できるが、測定方法間での相関にまで差分が現れていることに注意を要する。すなわち、OenoFoss による FOSS 社から提供される汎用検量線（FOSS Analytical 2017a）を用いた分析結果から換算により滴定酸度を求める際には、採取直後のサンプルと冷凍保存サンプルとで異なる換算式が必要となる。

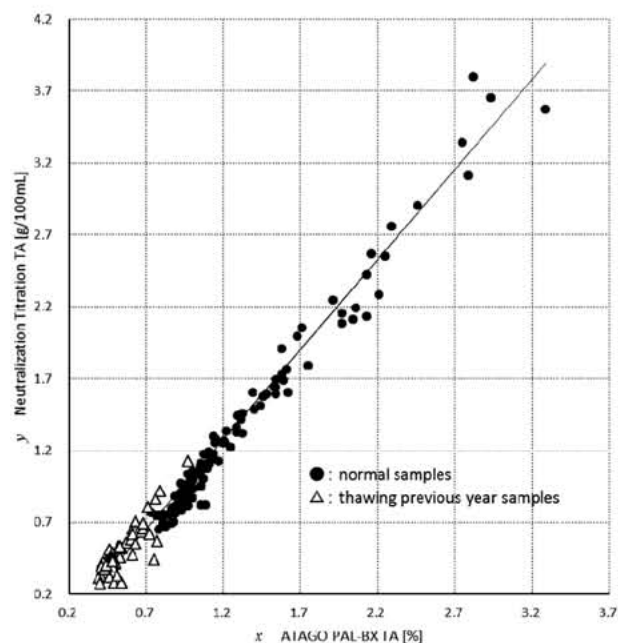


Fig.24. Correlation between ATAGO PAL-BX total acidity and total acidity determined by neutralization titration (black grapes include thawed samples from previous year)

比較のため、Fig.11 の ATAGO ポケット糖酸度計 PAL-BX | ACID2 による黒ブドウの酸度測定データ（●でプロット）に、2016 年に採取して冷凍保存をしたサンプルの測定データ（△でプロット）を

加えたグラフを Fig.24 に示す。Fig.23 と異なり、両サンプルの測定方法間でのデータ相関は同じ傾向である。冷凍保存サンプルのデータは、糖酸度計での測定結果と滴定酸度ともに同割合で値が低下したと解釈できる結果である。このことから、OenoFoss による総酸度分析結果の特徴と留意点を認識できる。

なお、究明には別途データ取りを要するが、冷凍による酒石酸塩生成と解凍によるその溶解度合などが要因である可能性、冷凍・解凍とは無関係に採取後の経時変化だけでも影響している可能性もある。OenoFoss と FOSS 社から提供される汎用検量線 (FOSS Analytical 2017a) の組み合わせで総酸値を得る際には、サンプル採取から測定までの経過時間による影響があり得ることへの留意が必要であり、確実に安定した分析を望むのであれば、サンプル採取後早期に分析する方が適切であろう。ただし、経時変化による影響の定量的評価にはそこに着目し、冷凍・解凍の有無なども含めたデータ収集と解析を要する。本稿の測定では冷凍・解凍を含む経時変化の追及・検証を実施していない。

また、この現象の発生原因としては、使用している検量線において、冷凍・解凍や採取からの時間経過によって生じる成分変化の測定スペクトラムへの影響をノイズとして除外できていないことが推察できる。冷凍・解凍したサンプル、時間経過したサンプルのデータを含めた検量線を適切に作成することで回避できる可能性がある。なお、FOSS 社 FTIR の検量線開発方法は FOSS 社が提供しているソフトウェアのマニュアル (FOSS Analytical 2014) に記載されている。

(pH)

Fig.25 は pH 測定値の比較であり、横軸 (x) は OenoFoss による測定値、縦軸 (y) は pH メーター F-72 による測定値、標本数 (N) は N=195 である。

両値は決定係数 $R^2 = 0.8875$ で Eq.11 に回帰できる。

$$y = 1.0343x - 0.1302 \quad (\text{Eq.11})$$

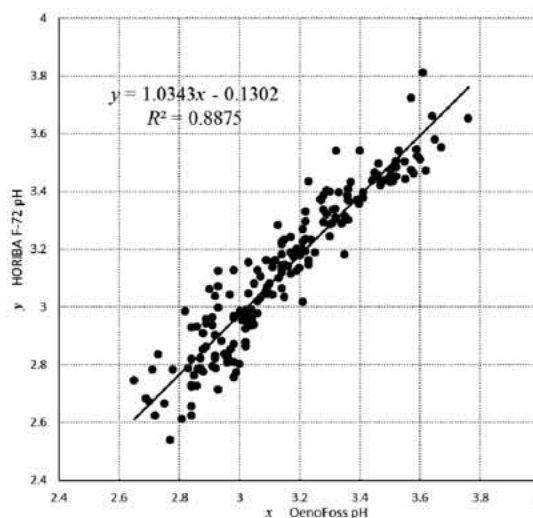


Fig.25. Correlation between OenoFoss pH and pH determined with HORIBA F-72 (N=195)

Fig.25 より、pH 測定値の相関では、Fig.14 の糖、Fig.17 の比重、Fig.20 の総酸と比較してバラツキが大きいことを観察できる。縦軸の pH メーター F-72 による測定値は滴定酸度の分析過程の値である。その滴定酸度と OenoFoss による総酸度の相関を示した Fig.20 よりも Fig.25 のバラツキの方が大きいことから、その要因が pH メーター F-72 の測定値に起因するとは考え難い。Fig.25 におけるバラツキを定量的に示すと、Eq.11 と実測値 y_i との最大差分の絶対値 ($\max |y_i - y|$) は 0.2383、標準偏差 (σ) は 0.08819 (3σ が 0.267 程度) となる。

Fig.25 を白・灰色ブドウと黒ブドウに分け、更に品種別に示した結果が Figs.26 および 27 である。いずれのグラフにも Eq.11 の直線を記し、各々の全データと Eq.11 との決定係数を示した。Fig.26 からデータ分布に品種による傾向が存在する可能性を観察できる。品種毎のデータ数が少ないために断定はできないが、Fig.26 でシャルドネは Eq.11 の下方に、ソービニョンブランは Eq.11 の上方に分布して

いる傾向が見られる。Fig.27 は、黒ブドウ品種にバラツキの大きなデータが存在する可能性、分布の傾きが Eq.11 より大きい品種がある可能性を示唆している。水素イオン濃度という共通成分の測定において、このような品種による差異が発生する要因としては、使用している検量線作成時に、本稿で測定した品種による測定スペクトラムの差分をノイズとして除外できていないことが推察できる。

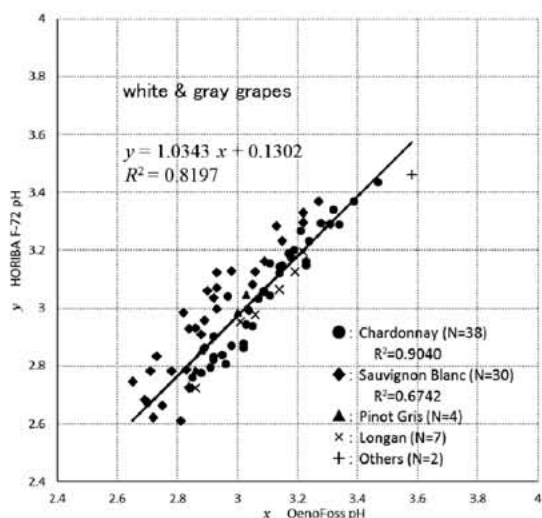


Fig.26. Correlation between OenoFoss pH and pH determined with HORIBA F-72 (white & gray grapes N=81)

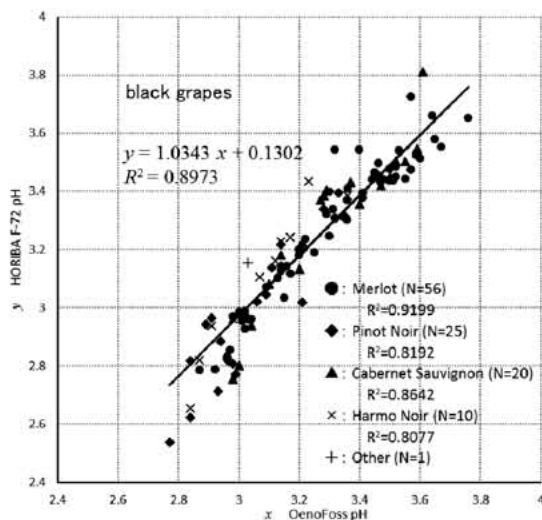


Fig.27. Correlation between OenoFoss pH and pH determined with HORIBA F-72 (black grapes N=112)

以上の結果から、熟期の pH 変化を大まかに捉える用途であれば、OenoFoss と FOSS 社の提供する汎用検量線 (FOSS Analytical 2017a) によって pH 値を測定し、必要に応じて Eq.11 で換算する活用はできると考える。OenoFoss による分析によって、より厳密な pH 値を得たい場合には、検量線開発とその検証を、より多くのデータを取得しながら進める必要があると考える。

(資化性窒素)

Fig.28 は資化性窒素 (YAN) 測定値の比較であり、横軸 (x) は OenoFoss による測定値、縦軸 (y) はフォルモール滴定による測定値、標本数 (N) は N=151 である。両値は決定係数 $R^2 = 0.8523$ で Eq.12 に回帰できる。

$$y = 0.7090x - 6.7240 \quad (\text{Eq.12})$$

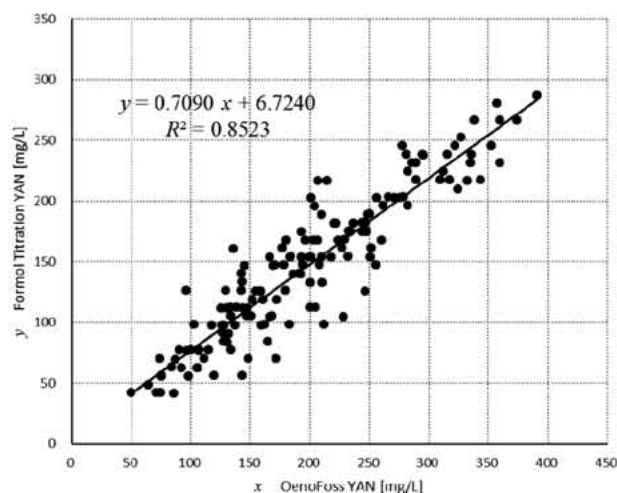


Fig.28. Correlation between OenoFoss YAN and YAN determined by formol titration (N=151)

Fig.28 より、資化性窒素測定値間のバラツキは Fig.25 の pH 同様に大きいことを観察できる。Fig.28 におけるバラツキを定量的に示すと、Eq.12 と実測値 y_i との最大差分の絶対値 ($\max |y_i - y|$) は 64.27、標準偏差 (σ) は 22.95 (3σ が 68.9 程度) となる。

なお、資化性窒素の定量でのフォルモール滴定では滴定量が少なく、Fig.28 に示したデータの滴定量は最小で 0.30mL である。よって、その読み取り誤差や 1 滴の滴定量によるバラツキへの影響にも注意を要する。

Fig.28 のデータを pH 同様に品種別にプロットした結果が Figs.29 および 30 である。Fig.29 を白・灰色ブドウ、Fig.30 を黒ブドウと 2 つに分け、いずれのグラフにも Eq.12 の直線を記し、各々の全データと Eq.12 との決定係数を示した。

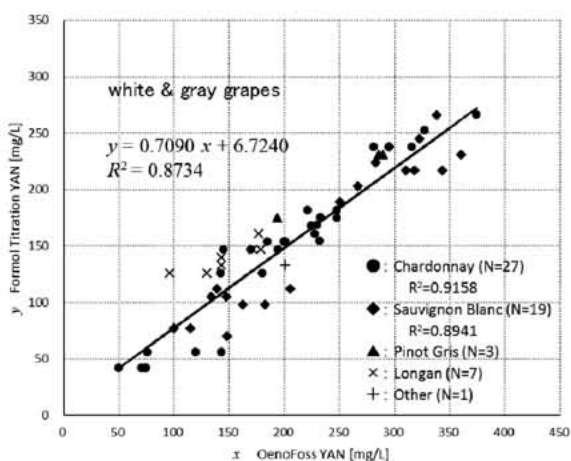


Fig.29. Correlation between OenoFoss YAN and YAN determined by formol titration (white & gray grapes N=57)

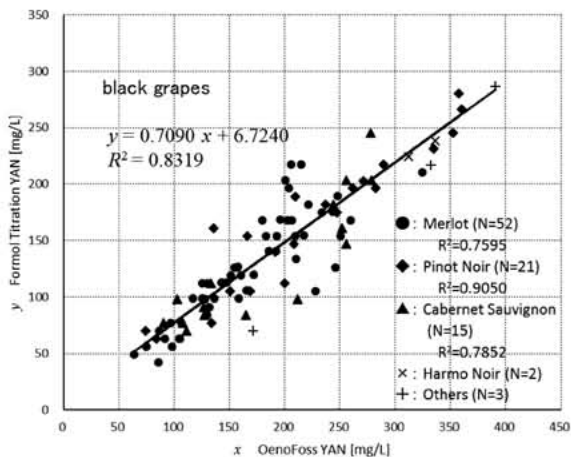


Fig. 30. Correlation between OenoFoss YAN and YAN determined by formol titration (black grapes N=93)

Fig.29, Fig.30 のデータ分布に、品種や色の差異による明らかな傾向の存在までを読み取ることはできない。品種によっては明らかに Eq.12 から外れているように見えるが（例えば Fig.29 の竜眼）、サンプルデータ数が少なく、値の分布域も狭いため、傾向を議論するには不十分である。参考までにデータ数 $N > 10$ の品種について、品種毎のデータと Eq.12 との決定係数を示すと、シャルドネは 0.9158、ソービニョンブランブランは 0.8941、メルロは 0.7595、ピノ・ノワールは 0.9050、カベルネソービニョンは 0.7852 となっている。

ところで、Figs.28～30 に示した OenoFoss の資化性窒素 (YAN) は α アミノ態窒素 (α -Amino Nitrogen) とアンモニア (Ammonia) からの換算値である (FOSS Analytical 2017a)。

$$\text{YAN} = \alpha\text{-Amino Nitrogen} + 0.82 \times \text{Ammonia} \quad (\text{Eq.13})$$

α アミノ態窒素とアンモニアのそれぞれの検量線により得られた値を Eq.13 で換算して資化性窒素量としている。本稿で扱っている試料に対する実際の測定において、アンモニア値が FOSS 社から提供されている検量線の測定レンジ (FOSS Analytical 2017a) を超えているために Eq.13 による資化性窒素量の算出を行わずに無効扱いにしているデータが存在する。Fig.30 でアルモノワール (Harmo Noir) のデータが極端に少ない理由はこれに該当する。

また、OenoFoss 検量線のアプリケーションノート (FOSS Analytical 2017a) に記載されている検量線作成用サンプルデータ分布のグラフから、120 mg/L 以上のアンモニア値、200 mg/L 以上の α アミノ態窒素値のサンプル数が極端に少ない傾向を読み取ることができる。これらの事実から、アンモニア値・ α アミノ態窒素値の大きさに依存したバラツキが生じている可能性を想定することができる。しかしながら、Fig.28 において Eq.13 で求められる資化性窒素 (YAN) の値が大きいかほどバラツキが

大きくなる傾向は見られない．そこで更なる確認のために，アンモニア値と α アミノ態窒素値それぞれに対する Fig.28 のバラツキを可視化したグラフが Figs.31 および 32 である．Fig.31 の横軸はアンモニア値，Fig.32 の横軸は α アミノ態窒素値とし，いずれの縦軸も Eq.12 による推定値 y と実測値 y_i との差分の絶対値 $|y_i - y|$ とした．Fig.31 と Fig.32 から，アンモニア値が 120 mg/L 以上， α アミノ態窒素値が 200 mg/L 以上の領域でバラツキが大きいという傾向は見られないことがわかる．

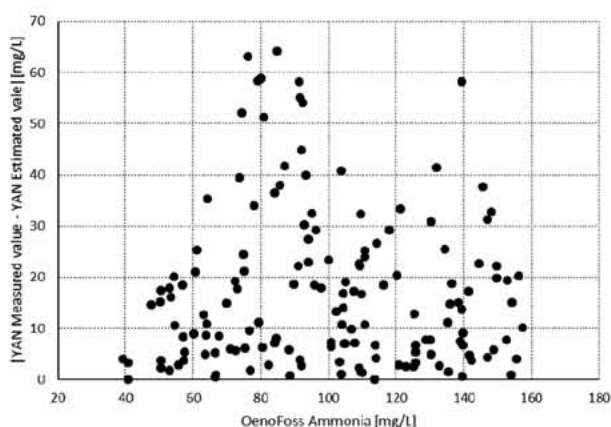


Fig.31. Scatter plot of OenoFoss ammonia vs. difference between measured and estimated YAN (N=151)

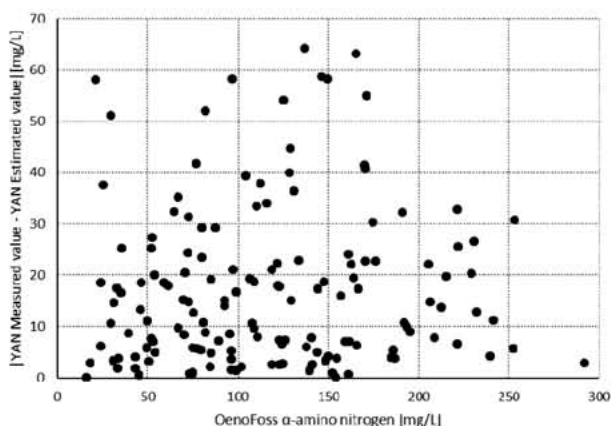


Fig.32. Scatter plot of OenoFoss α -amino nitrogen vs. difference between measured and estimated YAN (N=151)

以上より，本稿の測定結果からは，資化性窒素量の OenoFoss による測定値とフォルモール滴定値との相関に見られるバラツキの要因として，pH の場合に見られたような品種による違いや，OenoFoss の測定値の元となるアンモニアと α アミノ態窒素の検量線の測定レンジやサンプルデータ分布の影響を想定することはできない．しかしながら，フォルモール滴定での滴定量が少ないことから生じる測定誤差だけでは説明できない大きさと分布のバラツキが観察される．

pH の場合と同様に，大まかな資化性窒素量を捉える用途であれば，OenoFoss と汎用検量線 (FOSS Analytical 2017a) からの換算式 Eq.13 での測定を行い，必要に応じて Eq.12 で換算する活用はできると考える．OenoFoss による分析によって，より正確な資化性窒素量を得たい場合には，資化性窒素量そのものの検量線開発と検証を，多くのフォルモール滴定値とスペクトルデータの蓄積によって進める必要があると考える．

(OenoFoss での測定結果に対する総括)

FTIR である OenoFoss により試薬不要な簡単操作で短時間に果汁分析を行うことができる．糖度・比重・総酸度については，FOSS 社が提供している汎用検量線 (FOSS Analytical 2017a,b) で得られる測定結果と，日本で慣行的に行われている分析方法で得られる値との間に，決定係数 $R^2 = 0.98$ 以上の相関式を得ることができている．よって，OenoFoss の測定結果を本稿で示した相関式で換算する活用法，または汎用検量線 (FOSS Analytical 2017a,b) を “Slope and Intercept Adjustment” により補正する方法 (FOSS Analytical 2014) を選択肢にできると考える．また，本稿のようなデータで独自に検量線を作成し，今後の測定に使用することで利便性を高めることができる．ただし，採取後に冷凍保存または時間経過した果粒サンプルの総

酸度を扱うためには、そういったサンプルのデータ収集と解析による相関の把握、もしくはそういったサンプルのデータを適正数含めてその影響を除外した検量線の開発を行う必要がある。

pH については、決定係数 $R^2 = 0.8875$ の相関式を得られているが、データ分布のバラツキが大きく、品種による違いも観察される。値の推移を大まかに掴む用途であれば本稿で示した相関式での換算も選択肢であるが、より正確な測定結果を得るためには多様な品種を含めた測定データを蓄積しながら検量線の開発と検証を繰り返し進めることが求められる。

資化性窒素については、決定係数 $R^2 = 0.8523$ の相関式を得られているが、pH 同様にデータ分布のバラツキが大きく、その要因推定もできていない。本稿で示した相関式での換算により大まかな値を得ることはできるが、更に測定データ数を増やすとともに資化性窒素値の検量線（アンモニアと α アミノ態窒素の検量線から得られる値の換算ではなく）開発とそれによる再評価を進めることが必要であろう。

要 約

ブドウ果汁分析の基本データである糖度・酸度・比重・pH・資化性窒素量に対して、異なる分析手法間の相関を示した。日本で慣行的に行われている国税庁所定分析法による分析値と、ATAGO のポケット糖度計・糖酸度計、FOSS 社のフーリエ変換赤外分光光度計（FTIR）OenoFoss と FOSS 社が提供する汎用検量線の組み合わせによる測定値との相関・換算式を示すとともに、結果から見えた留意点や課題を提示した。今後、測定データに基づいた OenoFoss の検量線開発とその評価を進め、栽培家・ワイナリー・共同分析施設などでの FTIR の活用による分析効率向上への一助となる情報提供を継続する予定である。

利益相反に関する開示事項

信州大学経法学部千曲川ワインバレー分析センターは、本稿における測定で使用した機器メーカーやその代理店等から研究費・寄付を含む一切の利益供与を受けておりません。

謝 辞

本稿の一部データをまとめるにあたりご助言をいただいた独立行政法人酒類総合研究所理事長後藤奈美氏に御礼申し上げます。

ブドウサンプルを採取させていただくとともに、日頃から情報やご意見を頂戴している長野県東信地区の栽培家の皆さまのご協力に感謝いたします。

本稿に記載したデータ収集と分析の一部は、総務省 IoT サービス創出支援事業（平成 28 年度補正予算、平成 29 年度に実施）として、また、長野県より補助を受けた地域ワイン分析ラボ整備事業（平成 28 年度に実施）として行われました。関係各位に感謝いたします。

文 献

- FOSS Analytical, 2017a, Application Note AN0271 Rev.4 “OenoFoss Must”.
- FOSS Analytical, 2017b, Application Note AN0054 Rev.3 “OenoFoss MustII”.
- FOSS Analytical, 2014, FTIR Calibrator Software Manual 6006 1557 / Rev.2.
- 国税庁. 1999. “酒税法及び酒類行政関係法令等解釈通達”, 第 3 条.
- 国税庁. 1961. “国税庁所定分析法”, 3-6 及び 9-10.
- Zoecklein, B. W., K. C. Fugelsang, B. H. Gump, and F. S. Nury. 1995. “Wine Analysis and Production”, 519-520. Chapman & Hall.