

[Original Paper]

赤ワインの初期低温醸しの効果

清水秀明*・河野美乃里・小山和哉・岩下和裕・後藤奈美

独立行政法人酒類総合研究所 〒739-0046 広島県東広島市鏡山3-7-1

Effect of Cold Soak on Red Wine Making

Hideaki SHIMIZU*, Minori KONO, Kazuya KOYAMA, Kazuhiro IWASHITA
and Nami GOTO-YAMAMOTO

National Research Institute of Brewing, 3-7-1 Kagamiyama, Higashi-Hiroshima, Hiroshima 739-0046, Japan

The effect of cold soak in pilot-scale and plant-scale vinification processes at various maceration temperatures was examined in nine wineries, and the produced wines were analyzed for chemical and sensory properties. Cold soak tended to increase total anthocyanins, color intensity, and total phenols (A280) of wine regardless of grape variety, when the temperatures for the cold soak and the subsequent maceration were controlled appropriately. The basic chemical components of wines were minimally affected by the cold soak. Total anthocyanins in the cold soak wines were higher than those in control wines, and some cold soak wines received favorable evaluation with regard to flavor, astringency, or body in the sensory analysis compared with control wines. The results indicate that cold soak carried out appropriately resulted in good coloration in many cases and had no deleterious effects.

Keywords: Cold soak, Cold maceration, Maceration, Winemaking, Red wine

諸言

赤ワインの色は、品質を評価する上で重要な要素のひとつであり、醸し発酵中にブドウの果皮から抽出されるが (Ribéreau-Gayon et al. 2006a), 我が国では、高温多雨の影響で赤ワイン醸造用ブドウの十分な着色が得られない場合が多い (Goto-Yamamoto et al. 2009, Kobayashi et al. 1967, Mori et al. 2007, Sugiura et al. 2018, van Leeuwen et al. 2004). 赤ワインの色を高め、安定化する方法として、ペクチン系酵素やドライアイス、高温、セニエ、デレスタージュなど様々な方法があるが、広く使われている方法のひとつに

初期低温醸しがある (Benucci et al. 2018, González-Neves et al. 2015, 後藤 2012, Koyama et al. 2007, Lukić et al. 2017, 大久保ら 2003, Sacchi et al. 2005, 山梨県ワイン酒造組合 2016).

初期低温醸しは、発酵前のエタノールがない状態で醪を赤ワインの一般的な醸し発酵温度と比べて比較的低温で数日間醸し、水溶性のアントシアニンや低分子タンニンを抽出する方法である (Álvarez et al. 2009, Benucci et al. 2018, González-Neves et al. 2015, Ortega-Heras et al. 2012, Sacchi et al. 2005). 低温下で発酵が進まず果帽が上に上がってこないため、色素の抽出が進むとともに (González-Neves et al. 2015, Ortega-Heras et al. 2012), 安定化が進み、高分子の色素重合体が形成される (Benucci et al. 2018, Canals et al. 2005, González-Neves et al. 2015). 多くの研究は初

* Corresponding author : (e-mail : h.shimizu@nrib.go.jp)

受付日 : 2020年7月9日

受理日 : 2020年9月29日

期低温醸しによって、ワインカラーやアントシアニンが増加する報告をしているが (Busse-Valverde et al. 2011, De Beer et al. 2006, Gómez-Míguez et al. 2007, González-Neves et al. 2013, González-Neves et al. 2015, Parenti et al. 2004, Reynolds et al. 2001), 明確な差異がないとの報告もある (Girard et al. 2001, Pérez-Lamela et al. 2007). その原因として、品種による効果の差異であったり、ブドウの熟度、醸し期間や温度などが違うことが考えられる (González-Neves et al. 2015). 特に温度は様々な報告があり、5°Cで5~15日 (Ribéreau-Gayon et al. 2006a), 15~20°Cで1~2日 (Boulton et al. 1996), 10~15°Cで数日 (Sacchi et al. 2005), 5~8°Cで8日 (Gordillo et al. 2010), 6~8°Cで4日 (Álvarez et al. 2009), 5±2°Cで3日及び6日 (Ortega-Heras et al. 2012), 6~8°Cで4日及び8日 (Álvarez et al. 2006), 15°Cで7日 (Gómez-Míguez et al. 2007), 10~15°Cで5日 (González-Neves et al. 2013), 5~10°Cで10日 (Heredia et al. 2001), 2°Cで10日 (Reynolds et al. 2001), 4°Cで1日及び3日 (Benucci et al. 2018), 5°Cで5日 (Lukic et al. 2017), 10°Cで5日 (González-Neves et al. 2015) など、どの温度がよいのか判然としない。

日本においては、カベルネ・ソーヴィニヨンで10°C, 2日間又は15°C, 3日間初期低温醸しを実施し、赤ワインの色 (ワインカラー: $A_{420} + A_{520}$) が向上したとの報告があるが (Koyama et al. 2007, 大久保ら 2003), 実際のワイン製造現場における効果について検証した例はない。そこで、日本国内の様々な品種を用いてワイナリーでの効果を検証するとともに、ワイナリーで製造する上での問題点を明らかにすることを目的に本試験を実施した。また、小規模試験において、初期低温醸しの温度効果についても合わせて検証した。

材料と方法

1. 理化学分析

すべてのワインは分析直前に遠心分離 (4°C, 7,700 × g, 10 min) を行いその上清を分析に供した。なお、発酵中醗の吸光度分析には再度遠心分離 (4°C, 15,000 × g, 1 min) を行いその上清を分析に供した。

Color Intensity, Color hue は、赤ワイン試料を2 mmの石英セルに入れ、分光光度計 (島津 UV-1850)

を用いて測定した。A420, A520, A620の値は10 mm換算値とし、Color IntensityをA420, A520, A620の合計値、Color hueをA420/A520の比とした (OIV 2009)。なお、製成ワインについては、含まれる亜硫酸の影響を排除するため、ワイン1 mLに10%アセトアルデヒド水溶液10 µLを添加し、45分後に吸光度を測定した。

総アントシアニンは、亜硫酸の影響を排除し、pH 1.0における吸光度A520として測定した (Boulton 2001, Somers and Evans 1977, 横塚 2000)。すなわち、赤ワイン試料100 µLに0.2 M酢酸/塩酸緩衝液 (pH 1) 900 µLと10%アセトアルデヒド水溶液20 µLを添加し、45分後にA520を測定した。

総フェノールの指標である吸光度A280 (Somers and Evans 1977) は、赤ワイン試料を純水で1/100に希釈した後、光路長10 mmの石英セルで測定した。

縮合型タンニン (以下「Proanthocyanidin」) は、塩酸バニリン法で測定した (Nakamura et al. 2003)。ガラス製のネジ口試験管にワイン320 µL, 9 mol/L HCl 800 µL, 1%バニリン溶液800 µLを加え、30°C, 20分、反応させた後、500 nmにおける吸光度を測定した。検量線は0, 25, 50, 100, 200 mg/L (+)-Catechin溶液を用いて作成し、 $r^2 \geq 0.995$ を確認の上、ワイン試料のProanthocyanidin濃度を算出した。

発酵の進捗はBrix計 (アタゴ社 PAL1) で確認するとともに、アルコール分をガスクロマトグラフ (Agilent 6890N) で分析した。アミノ酸度はエタノール添加法 (藤田ら 2015)、その他の分析は国税庁所定分析法により行った。

2. 官能評価分析

製成後3ヶ月後のワインについて、JIS Z 9080に従い2点識別試験及び2点嗜好試験で初期低温醸しの効果を検証した。初期低温醸しとコントロールの2点を1組とし、2点識別試験として「色の濃い方: Color」「原料由来の香りが強く感じる方: Aroma from grape」「渋み (収斂味) が強い方: Astringency」「厚み (ボディ感) が強い方: Body」を、2点嗜好試験として「香りが優れている方: Flavor」「総合的な品質が優れている方: Overall quality」を評価項目とした。評価員は、ワインの官能評価経験の豊富な山梨県ワイン酒造組合各社及び酒類総合研究所の職員

で、2016年は19名、2017年は17名で実施した。また、原料のブドウ品種のみ明示して実施した。

3. 小規模試験醸造

国内2産地 (A, B), 2017年産のマスカット・ベリーA (以下「MBA」) を用い、4区分 (初期低温醸し温度が (i) 4°C, (ii) 10°C, (iii) 15°C, (iv) 初期低温醸しを実施しない区分 (コントロール区)) で試験を実施した。 (i) ~ (iii) については、ブドウ各1.4 kg を除梗破碎後ピロ亜硫酸カリウム (富士フィルム和光純薬株, 食品添加物) を 200 mg/L になるよう添加 (二酸化硫黄として約 100 mg/L), 再水和した乾燥酵母 3001 (LALLEMAND 社) を説明書記載の半分、125 mg/L になるよう添加、各温度 (4°C, 10°C, 15°C) で5日間醸した後、残り半分、125 mg/L になるよう再水和乾燥酵母を添加し、25°C の恒温室で醸し発酵を行った。 (iv) については、ブドウ各1.4 kg を除梗破碎後、ピロ亜硫酸カリウムを 100 mg/L になるよう添加し (二酸化硫黄として約 50 mg/L), 再水和した乾燥酵母 3001 を 250 mg/L になるよう添加後、25°C の恒温室で醸し発酵を行った。補糖は、上白糖 (三井製糖株式会社) を用い、比重換算糖度が 23 w/v% になるよう、25°C の恒温室に移して1日後に実施した。発酵中の醪のサンプリングは、5か所から行い1つのサンプルとし、1. 理化学分析に従い、Color Intensity, Brix, アルコール分を測定した。プレスはBrix 値の変動がなくなった3日目に行った (産地AのMBAでは (i) 11日目, (ii) 10日目, (iii) 9日目, (iv) 6日目, 産地BのMBAでは (i) 12日目, (ii) 12日目, (iii) 11日目 (iv) 8日目)。発酵終了後、遠心分離による滓引き (20°C, 5,150 × g, 10 min) を行い、マロラクティック発酵 (MLF) スターター MBR Alpha (LALLEMAND 社) を添加し、20°C 恒温室に静置した。F-キット L-リンゴ酸 (J. K. インターナショナル) を用いて L-リンゴ酸濃度が 100 mg/L 以下になったことを確認後、遠心分離による滓引き (20°C, 5,150 × g, 10 min) を行い、上清にピロ亜硫酸カリウムを 100 mg/L になるよう添加後、瓶詰を行い以降の分析を行った。

4. ワイナリーにおけるワイン製造 (実証試験)

9社のワイナリーに初期低温醸し、通常醸し(以下

「コントロール」) の条件でワインを製造してもらった。使用品種は、MBA, メルロー (以下「Mer」), カベルネ・ソーヴィニオン (以下「CS」), ツヴァイゲルトレーベ (以下「Zwei」), アルモノワール (以下「Alm」), 山幸 (以下「Yama」), 小公子 (以下「Sks」) の7品種 (15サンプル) である。初期低温醸し温度及び低温醸し期間は、6~19°C, 平均4.3日であった。なお、温度条件の設定や、プレス時期などは各ワイナリーの実情にあわせて実施していただくよう依頼した。発酵のスケールはポットレベルからタンクでの実醸造まで様々である (11 kg ~ 8648 kg, 平均 1480 kg)。製成ワインを、酒類総合研究所に送付してもらい、遠心分離 (20°C, 5,150 × g, 10 min) による滓引きをした後、ワイン用亜硫酸測定器/HI 84500 (HANNA 社) にて遊離亜硫酸濃度を測定し、分子状亜硫酸が 0.6 mg/L になるよう、ピロ亜硫酸カリウムを添加し、360 mL 瓶に瓶詰め後、以降の分析に供した。

結果と考察

1. 小規模試験醸造

MBA を用いた小規模試験では、初期低温醸し温度の違いで Color Intensity に差が生じた (Fig. 1)。ブドウ A と B では吸光度の値は大きく異なったが、傾向としては類似した結果となった。初期低温醸し中の 15°C 試験区では2日で Color Intensity の上昇が頭打ちになったが (Fig. 1 (A), (B)), 10°C 試験区、4°C 試験区では徐々に上昇し、温度に応じた Color Intensity となった。25°C に昇温を開始した5日目以降の 15°C 試験区では、他の試験区ほど Color Intensity が上昇せず、6日目に最大値となり、最終的に4°C 試験区、10°C 試験区、コントロールより低い値で推移した。15°C 試験区では、初期低温醸し中にアルコール発酵が始まっており、6日目時点でのアルコール分は、(A) で 12.0% (Fig. 1 (A)), (B) で 9.5% (Fig. 1 (B)) であったことから、発酵で生成したアルコールによってコピグメンテーション又はセルフアソシエーションが壊された、又は酵母細胞壁にアントシアニンが結合したため、Color Intensity が減少したのではないかと考えられる (Morata et al. 2003, Somers and Evans 1979)。

したがって、Color Intensity を上昇させる観点か

らは、(果皮からアントシアニンをある程度抽出された後) 泡の生成や比重の変化など発酵の兆候が観察された場合は、低温のまま醸したままにせず、速やかに温度を上昇させることが重要と思われた。今回の場合は、15°C 試験区においては2日で Color Intensity の上昇が止まっていること、4~5日目にはアルコール分が上昇していたことを考え合わせると、Color Intensity を強くするためには15°Cにおける初期低温醸し期間は2~3日が適当であったと考え

られる。

初期低温醸し期間については、5°Cで5~15日 (Ribéreau-Gayon et al. 2006a), 15~20°Cで1~2日 (Boulton et al. 1996), 10~15°Cで数日 (Sacchi et al. 2005), 5~8°Cで8日 (Gordillo et al. 2010), 5°Cで5日 (Lukic et al. 2017), 10°Cで5日 (González-Neves et al. 2015) など様々な条件で実施されているが、抽出は温度依存性があること、アルコール分が上昇すると Color Intensity は減少していくことを考え合わせると、発酵が最盛になる前には、初期低温を止め速やかに温度上昇のタイミングを踏む必要がある。

また、醗後半は、Color Intensity やアントシアニンが減少していくので (井上ら 2020), プレスのタイミングも大切である。アントシアニンは酵母や植物の細胞壁に結合する報告もあることから (Morata et al. 2003, Padayachee et al. 2012), Color Intensity を減少させない観点からは、抽出を終えたら適宜のタイミングでプレスを行った方が好ましい。大久保ら (2003) の研究において、初期低温醸しの方がコントロールよりも赤色のカラー ($A_{420} + A_{520}$) が上昇したのは、初期低温醸しの効果とともに、初期低温醸し区の方が発酵終了時からプレスまでの日数が短いことも一因にあると思われた。今回の初期低温醸し区の実験において、コントロール区よりも Color Intensity が高くならなかったのは、上述の理由によるものと考えられ、初期低温醸し期間及びプレス of タイミングを改善することで Color Intensity が向上すると思われる。

製成ワインの分析値を Table 1 に示す。Color Intensity は発酵後期の結果と同じで、Total Anthocyanin,

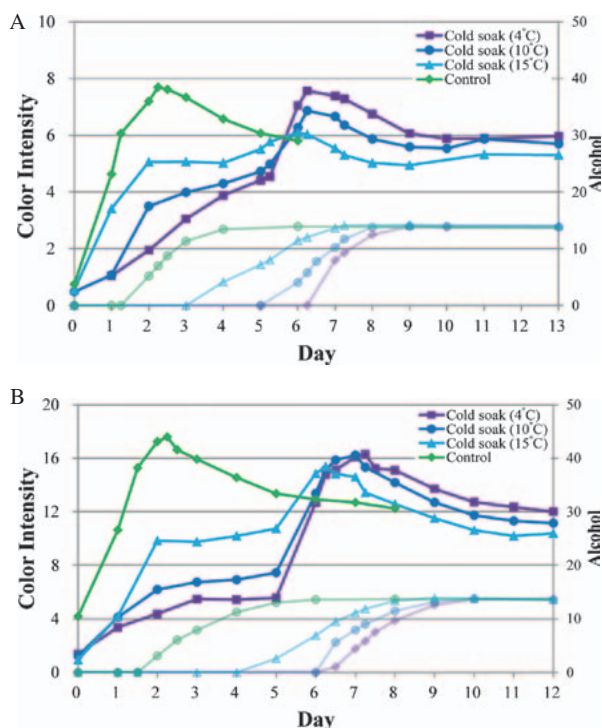


Fig. 1 Wine color intensity ($A_{420} + A_{520} + A_{620}$) during fermentation of Muscat Bailey A harvested from regions A and B.

Table 1. Chemical analyses of wines from small-scale

	Total Anthocyanin	Color Intensity ($A_{420} + A_{520} + A_{620}$)	Color Hue (A_{420} / A_{520})	Proanthocyanidin (mg/L) ^{a)}	A_{280nm}	Alcohol (% v/v)	Total Acidity	Amino Acid	pH	Extract	
A	Cold Soak (4°C)	1.85	5.26	0.72	75 ± 14	1039	14.0	6.82	0.85	3.91	2.52
	Cold Soak (10°C)	1.92	5.02	0.70	70 ± 7	984	14.0	6.38	0.71	3.98	2.52
	Cold Soak (15°C)	1.67	4.46	0.82	41 ± 5	933	13.9	6.53	0.96	4.05	2.34
	Control	1.86	5.00	0.72	82 ± 15	1004	13.6	6.81	0.71	3.92	2.58
B	Cold Soak (4°C)	2.16	9.64	0.47	288 ± 18	1299	13.7	11.76	0.63	3.42	2.84
	Cold Soak (10°C)	2.11	8.84	0.49	244 ± 0	1259	13.6	11.18	0.67	3.48	2.64
	Cold Soak (15°C)	2.00	8.14	0.51	217 ± 11	1195	13.9	10.91	0.71	3.51	2.72
	Control	2.24	9.87	0.48	335 ± 7	1361	13.8	11.54	0.81	3.49	2.87

a) Means and standard deviations because values varied widely

Proanthocyanidin, A280は、初期低温醸し温度15℃の処理区が、他の処理区と比べて低い値となっており（初期低温醸し中にアルコール発酵が始まっていたことが原因と思われる）、特にProanthocyanidinについては、初期低温醸し温度が15℃、10℃、4℃の順に低くなっていた（Table 1）。それ以外のAlcohol, Total acidity, Amino acid, pH, Density, Extractに大きな違いは観察されず、先行研究の結果と一致している（Casassa et al. 2019）。

2. 実証試験

2年間にわたる実証試験において、15検体中10検体で総アントシアニンが上昇した（Fig. 2, Table 2）。

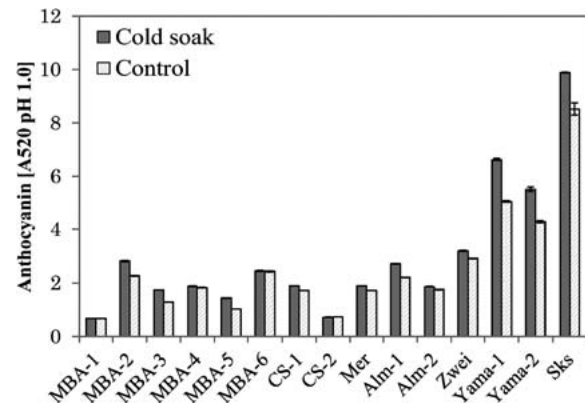


Fig. 2 Effect of cold soak on total anthocyanin in fifteen wine samples.

Abbreviations: MBA, Muscat Bailey A; CS, Cabernet Sauvignon; Mer, Merlot; Alm, Harmo Noir; Zwei, Zweigeltrebe; Yama, Yamasachi; Sks, Shokoshi.

Table 2. Chemical analyses of wines in winery experiments

Cold Soak Condition			Total Anthocyanin		Color Intensity (A420+A520+A620)		Color Hue (A420/A520)		Proanthocyanidin (mg/L) ^{a)}		A _{280nm}	
Temperature [°C]	Day		Cold Soak	Control	Cold Soak	Control	Cold Soak	Control	Cold Soak	Control	Cold Soak	Control
MBA-1	10-11	4	0.67	0.68	2.76	3.48	0.79	0.80	296 ± 20	325 ± 13	809	843
MBA-2	7	4	2.82	2.25	8.92	6.30	0.64	0.63	1020 ± 84	1073 ± 56	1827	1496
MBA-3	7-15	3	1.74	1.29	4.31	3.44	0.67	0.71	359 ± 11	280 ± 12	1004	858
MBA-4	12-15	5	1.89	1.84	4.76	4.69	0.66	0.65	296 ± 41	205 ± 0	1098	1052
MBA-5	6-9	4	1.44	1.04	5.30	4.30	0.74	0.86	88 ± 19	47 ± 5	970	840
MBA-6	19	3	2.44	2.42	7.78	8.57	0.46	0.45	191 ± 20	491 ± 100	1306	1434
CS-1	11-12	4	1.90	1.73	7.67	6.76	0.67	0.69	1282 ± 82	1119 ± 65	1188	1126
CS-2	13-17	6	0.72	0.74	2.42	2.77	1.00	0.87	625 ± 55	750 ± 27	725	750
Mer	8-19	4	1.99	1.80	10.37	9.70	0.48	0.52	905 ± 7	1011 ± 72	1293	1313
Alm-1	6-13	4	2.71	2.20	18.52	14.80	0.41	0.47	1427 ± 5	785 ± 4	1633	1369
Alm-2	11-14	4	1.87	1.76	12.64	12.18	0.42	0.44	863 ± 32	859 ± 32	1203	1198
Zwei	11-12	4	3.20	2.91	14.01	11.93	0.37	0.38	2268 ± 80	1349 ± 37	1543	1334
Yama-1	10-14	6	6.62	5.05	13.78	12.10	0.64	0.86	248 ± 58	370 ± 29	2148	1971
Yama-2	8	5	5.50	4.29	10.85	9.58	0.83	0.92	<40	<40	1802	1698
Sks	10-12	4	9.88	8.52	21.42	15.36	0.37	0.37	129 ± 52	304 ± 35	2704	2479

Alcohol (% v/v)		Total Acidity		Amino Acid		pH		Extract		
Cold Soak	Control	Cold Soak	Control	Cold Soak	Control	Cold Soak	Control	Cold Soak	Control	
MBA-1	9.8	9.6	7.66	9.98	0.61	0.63	3.67	3.48	2.35	2.65
MBA-2	13.6	13.9	6.91	7.14	0.83	0.83	3.93	3.89	2.81	2.79
MBA-3	13.7	13.5	6.78	6.69	0.68	0.65	3.91	3.87	2.43	2.43
MBA-4	11.2	11.2	7.92	8.15	1.00	0.85	3.98	3.93	3.10	3.04
MBA-5	13.9	13.6	7.66	7.38	0.74	0.56	3.59	3.57	2.30	2.20
MBA-6	13.2	13.3	8.70	8.63	0.81	0.92	3.59	3.57	3.04	2.89
CS-1	12.0	11.9	6.74	6.57	0.66	0.62	3.84	3.81	2.32	2.29
CS-2	11.9	10.7	5.84	7.42	0.75	0.72	4.17	3.97	2.55	2.37
Mer	11.4	12.1	7.25	7.96	0.65	0.70	3.64	3.65	2.34	2.50
Alm-1	10.9	10.8	8.84	8.24	0.68	0.67	3.37	3.39	2.23	2.06
Alm-2	11.3	11.7	13.36	13.53	0.71	0.82	3.21	3.22	2.69	2.80
Zwei	13.0	12.7	7.00	6.65	0.68	0.64	3.55	3.58	2.32	2.13
Yama-1	12.6	11.5	11.28	10.35	1.46	1.30	3.61	3.62	3.38	3.10
Yama-2	12.7	12.7	10.62	10.43	1.13	0.90	3.49	3.48	3.08	2.76
Sks	12.8	12.6	8.85	8.25	1.58	1.51	3.46	3.51	3.02	2.91

a) Means and standard deviations because values varied widely

Abbreviations: MBA, Muscat Bailey A; CS, Cabernet Sauvignon; Mer, Merlot; Alm, Harmo Noir; Zwei, Zweigeltrebe; Yama, Yamasachi; Sks, Shokoshi.

上昇しなかった5検体のうち1検体は、初期低温醸しとしては問題なかったものの総アントシアニンは上昇しなかった (Alm-2)。3検体は、コントロールと比べて醸し温度や期間が全体的に不足していたため、総アントシアニンは上昇しなかったと思われた (MBA-1, MBA-4, CS-2)。他1検体は初期低温醸し温度が19.4℃と高かったこと、酵母添加が3日目だったことも原因と考えられたが、詳細な理由はよくわからない (MBA-6)。一方、総アントシアニンが上昇した10検体の内、3検体は初期低温醸し後の醸し発酵時の最高温度がコントロールより高かったこともあり、総アントシアニンが上昇したのが、初期低温醸しによるのか、醸し発酵温度の違いによるのか判然としない (Alm-1, Zwei, Sks)。ただ、これらを除き、7検体で初期低温醸しによって、総アントシアニンが上昇する結果であった。

官能評価の結果を Table 3 に示す。‘Color : 色の濃さ’ の評価では、Yama-1 及び Yama-2 を除き、総アントシアニンの分析値と一致する結果となった。つまり、総アントシアニンが上昇した検体 (Table 3 の variety の右肩に “a” で示す) は、官能評価でも色が濃いという結果になった。その他にも、‘Flavor : 香り’、‘Astringency : 渋み (収斂味)’、‘Body : 厚

み (ボディ感)’ 等の項目は、コントロールに比べて評価が有意によくなる場合もあり、初期低温醸しによって総アントシアニンが上昇した検体については、必ず官能評価でポジティブな評価になる訳ではないものの、概してコントロールより劣る品質にはならなかった。ただし、上述のように温度条件が必ずしも適切ではなかったと考えられる場合には、有意に評価が下がる検体もあった。

小規模試験醸造と同様、Alcohol, Total acidity, Amino acid, pH, Density, Extract の値に大きな違いは観察されず (Table.2)、先行研究の結果と一致している (Casassa et al. 2019)。

3. 初期低温醸しの留意点

今回の結果及び過去の知見も含めて、初期低温醸しの留意点は以下のとおりである。

1) 初期低温醸し温度

ブドウに付着している野生微生物の増殖抑制の観点からも、できるだけ低温で実施するのがよいと思われた (10℃以下推奨)。近年の論文の温度条件をみても、5～10℃が多い (Álvarez et al. 2009, Benucci et al. 2018, González-Neves et al. 2015, Gordillo et al. 2010, Lukic et al. 2017, Ortega et al.

Table 3. Sensory analysis of wines in winery experiments

Variety	Vintage	Color		Flavor		Aroma from Grape		Astringency		Body		Overall Quality	
		Cold Soak	Control	Cold Soak	Control	Cold Soak	Control	Cold Soak	Control	Cold Soak	Control	Cold Soak	Control
MBA-1	2016	1	18*	8	11	7	12	6	13	6	13	6	13
MBA-2 ^a	2016	19*	0	9	10	9	10	13	6	15*	4	10	9
MBA-3 ^a	2016	15*	4	9	10	12	7	14*	5	15*	4	11	8
MBA-4	2017	6	11	10	7	9	8	6	11	6	11	8	9
MBA-5 ^a	2017	16*	1	13*	4	12	5	15*	2	13*	4	14*	3
MBA-6	2017	0	17*	3	14*	3	14*	4	13*	4	13*	2	15*
CS-1 ^a	2016	16*	3	8	11	10	9	11	8	11	8	10	9
CS-2	2017	3	14*	4	13*	4	13*	4	13*	4	13*	4	13*
Mer ^a	2016	15*	4	16*	3	13	6	8	11	9	10	10	9
Alm-1	2016	18*	1	12	7	15*	4	12	7	13	6	13	6
Alm-2	2017	13*	4	7	10	10	7	11	6	10	7	7	10
Zwei	2017	17*	0	14*	3	12	5	11	6	12	5	12	5
Yama-1 ^a	2016	10	9	15*	4	14*	5	12	7	8	11	14	5
Yama-2 ^a	2017	9	8	7	10	12	5	5	12	7	10	4	13*
Sks	2017	16*	1	10	7	10	7	11	6	9	8	11	6

Paired comparison tests were carried out by 19 and 17 panelists for 2016 and 2017 vintage, respectively. Each value represents the numbers of panelists who chose either cold soak or control as a higher one.

a) Total anthocyanins in cold soak are higher than those in control in Table 2.

*) Significant differences (binomial distribution, $P < 0.05$) between each cold soak and control group.

Abbreviations: MBA, Muscat Bailey A; CS, Cabernet Sauvignon; Mer, Merlot; Alm, Harmo Noir; Zwei, Zweigeltrebe; Yama, Yamasachi; Sks, Shokoshi.

2012). 暖地ではブドウを冷却しておくことが望ましいが、外気温の変化等で醗温度が上昇してしまい、発酵が始まる兆候が観察された場合(泡が出始めた、比重が下がり始めたなど)は、初期低温醸しを止め、市販ワイン酵母を添加するとともに、通常発酵温度の20~28℃程度まで醗品温を上げて(Boulton et al. 1996, Fugelsang et al. 2007, Ribéreau-Gayon et al. 2006a, 山梨県ワイン酒造組合 2016)、ワインカラーをさらに抽出、安定化させることが肝要である。今回の実証試験の結果を見ると、初期低温醸し温度が10℃以下の条件下で初期低温醸しを行った場合、総アントシアニンやColor Intensity (Table 2)、官能評価で色のみならず、香り、渋み、厚みがコントロールよりもよくなる場合もあった(Table 3: 加えて、初期低温醸し以降の発酵温度も標準的な経過であったものが多い)。Fugelsang et al. (2007)も、効果的な初期低温醸しのためには醗の温度を速やかに低くすることや目的温度に達したらその温度を維持することを述べていることから、初期低温醸しの温度については可能な限り注意を払う必要があると思われる。醗品温を下げるために、ドライアイスや液体窒素を用いる方法もあるが(Álvarez et al. 2006, Álvarez et al. 2009, Busse-Valverde et al. 2011, Fugelsang et al. 2007, Ortega et al. 2012, Parenti et al. 2004)、日本で販売しているドライアイスは食品添加物用ではないので留意が必要である(食品添加物用の液化炭酸ガスからスノードライアイスを製造する装置で造ったドライアイスを使うのは問題ない)。

2) 酵母を入れるタイミング

今回の小規模試験では、初期低温醸し前後(①除梗破碎時、②初期低温醸し後温度上昇開始時(5日目))に半分量ずつの市販ワイン酵母を添加した。これは初期低温醸し温度を変えた試験(4℃、10℃、15℃)を実施する上で、野生微生物の増殖による影響をできるだけ排除するためであった。実際の醸造においても、市販ワイン酵母を除梗破碎時に添加しておく、初期低温醸し中に不測の事態で醗温度が上昇した場合でも、野生微生物より市販ワイン酵母が優勢になりやすく、ワインの品質劣化のリスクが少なくなると思われる。したがって、初期低温醸し前後に市販ワイン酵母を添

加する方が、野生微生物の活動抑制の観点からよいと思われる(Parenti et al. 2004)。

3) プレスのタイミング

醗後半以降は赤ワインのワインカラーが減少していくので、目指すワインの品質設計に合わせてプレスする。ロングマセレーションという技術もあるが、高品質なブドウであることが求められる(Ribéreau-Gayon et al. 2006a)。主発酵終了後の醸し期間が長いと、種子タンニンが徐々に抽出されてくるため、荒い渋みを避けるにはむやみに醸し期間を長くしない方が好ましいという報告や(後藤 2012, Koyama et al. 2007, Peyrot des Gachons et al. 2003)、ワインカラー最大値付近でのプレスをしたワインはフルーティ感が出て、早飲みワインに適しているとの記載もある(Ribéreau-Gayon et al. 2006a)。最終的には、色素やタンニンが予定通り抽出されたことを官能評価による確認も含めて判断した方がよい(安蔵 2018, 戸塚, 東條 2018, 山梨県ワイン酒造組合 2016)。

4) その他(健全果、亜硫酸など)

腐敗果が混入していると、野生微生物が増殖し、品質を損なうリスクが大きくなるので、ブドウは健全果を用いる。また、アルコールがない発酵前の状態では、低温で生育可能な野生微生物も存在するので、亜硫酸を添加し、野生微生物の活動を抑制することが好ましい(山梨県ワイン酒造組合 2016)。亜硫酸の効果は様々な本、論文の中で解説されており、40~50 mg/Lの濃度になるように添加することで乳酸菌、酢酸菌や*Kloeckera*等野生酵母の一部の生育を抑制する報告があること(Bokulich et al. 2015, Constanti et al. 1998, Fugelsang et al. 2007, Henick-Kling et al. 1998)、特に初期低温醸し中の野生微生物の活動を抑制する観点からは、除梗破碎時に70~100 mg/Lの濃度になるよう添加するなど適切な亜硫酸管理を行うことが望ましい(山梨県ワイン酒造組合 2016)。その他、酵母の栄養源の管理を行うこと、必要に応じて補酸も検討することが大切である。

以上のように、初期低温醸しについて、今回の試験のみならず、過去の知見も含め、留意点を記載した。従前から言われているように、ブドウの品質が

ワインの品質を左右する最重要なファクターであることは言うまでもないが、醸造過程が重要でないわけではない。教科書等書かれている醸しの原理、発酵中の酵母など微生物の挙動をよく理解した上で、初期低温醸しの技術を用いることで、ブドウのポテンシャルを引き出す高品質なワインを製造することが可能になると思われる。

要 約

海外や小規模試験において赤ワインの色の向上に効果があると報告のある初期低温醸しについて、日本ワインに用いられる様々な品種を用いてワイナリーで試験醸造を行いその効果を検証した。初期低温醸しやその後の温度条件が適切であった場合は、品種を問わず、総アントシアニン、Color Intensity, 総フェノール (A280) が、通常の醸し方法と比べて高くなる傾向であった。総アントシアニンが向上したサンプルは官能評価においても、ワインの香り、渋味 (収斂味)、厚み (ボディ感) が通常醸しと比べて良いと評価される場合もある一方で、通常の醸造方法と顕著な差が認められない場合もあったが、概して劣る結果は認められなかった。

謝 辞

本研究は農研機構・生研支援センター「革新的技術開発・緊急展開事業 (うち地域戦略プロジェクト)」の支援を受け、日本ワインの競争力強化コンソーシアムの取組の一環として行いました。また、ワイン製造等にご協力頂くとともに適宜アドバイスを頂きましたワイナリー各社様 (池田町ブドウ・ブドウ酒研究所, 勝沼醸造株式会社, 三和酒類株式会社 安心院葡萄酒工房, 株式会社ショーブル ドメヌ ヒデ, 株式会社広島三次ワイナリー, 株式会社宝水ワイナリー, 北海道ワイン株式会社, マンズワイン株式会社, メルシャン株式会社 シャトーメルシャン (五十音順)), ブドウをご提供頂きました朝日町ワイン様, 官能評価分析にご協力頂いた山梨県ワイン酒造組合の方々及び酒類総研役職員の方に厚く御礼申し上げます。

文 献

Álvarez I, Aleixandre J, García M and Lizama V. 2006.

Impact of prefermentative maceration on the phenolic and volatile compounds in Monastrell red wines. *Analytica Chimica Acta* **563**: 109–115.

Álvarez I, Aleixandre J, García M, Lizama V and Aleixandre-Tudó JL. 2009. Effect of the prefermentative addition of copigments on the polyphenolic composition of Tempranillo wines after malolactic fermentation. *European Food Research and Technology* **228**: 501–510.

安蔵光弘. 2018. ルモンタージュと圧搾 *In* ボルドーでワインを造ってわかったこと. pp. 80–89. イカロス出版.

Benucci I, Cerreti M, Liburdi K, Nardi T, Vagnoli P, Ortiz-Julien A and Esti M. 2018. Pre-fermentative cold maceration in presence of non-*Saccharomyces* strains: Evolution of chromatic characteristics of Sangiovese red wine elaborated by sequential inoculation. *Food Research International* **107**: 257–266.

Bokulich NA, Swadener M, Sakamoto K, Mills DA and Bisson LF. 2015. Sulfur dioxide treatment alters wine microbial diversity and fermentation progression in a dose-dependent fashion. *Am J Enol Vitic* **66**: 73–79.

Boulton R. 2001. The copigmentation of anthocyanins and its role in the color of red wine: A critical review. *Am J Enol Vitic* **52**: 67–87.

Boulton RB, Singleton VL, Bisson LF and Kunkee RE. 1996. Red and white table wines. In *Principles and Practices of Winemaking*. pp. 193–243. Chapman & Hall, New York.

Busse-Valverde N, Gómez-Plaza E, López-Roca JM, Gil-Muñoz R and Bautista-Ortín AB. 2011. The extraction of anthocyanins and proanthocyanidins from grapes to wine during fermentative maceration is affected by the enological technique. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **59**: 5450–5455.

Canals R, Llaudy M, Valls J, Canals J and Zamora F. 2005. Influence of ethanol concentration on the extraction of color and phenolic compounds from the skin and seeds of Tempranillo grapes at different stages of ripening. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **53**: 4019–4025.

Casassa LF, Sari SE, Bolcato EA, Diaz-Sambueza MA, Catania AA, Fanzone ML, Raco F and Barda N. 2019. Chemical and sensory effects of cold soak, whole cluster

- fermentation, and stem additions in Pinot noir wines. *Am J Enol Vitic* **70**: 19–33.
- Constanti M, Reguant C, Poblet M, Zamora F, Mas A and Guillaumon JM. 1998. Molecular analysis of yeast population dynamics; effect of sulphur dioxide and inoculum on must fermentation. *International Journal of Food Microbiology* **41**: 169–175.
- De Beer D, Joubert E, Marais J and Manley M. 2006. Maceration before and during fermentation; Effect on Pinotage wine phenolic composition, total antioxidant capacity and objective colour parameters. *South African Journal of Enology and Viticulture* **27**: 137–150.
- Fugelsang KC and Edwards CG. 2007. Must Processing. *In Wine Microbiology*. pp. 106–110. Springer, New York.
- 藤田晃子, 塚本香, 藤井力, 後藤 (山本) 奈美. 2015. エタノールを使用したブドウ果汁の資化性窒素 (アミノ酸) の分析方法. *J ASEV Jpn* **26**: 133–140.
- Girard B, Yuksel D, Cliff M, Delaquis P and Reynolds A. 2001. Vinification effects on the sensory, colour and GC profiles of Pinot noir wines from British Columbia. *Food Research International* **34**: 483–499.
- Gómez-Míguez M, González-Miret G and Heredia F. 2007. Evolution of colour and anthocyanin composition of Syrah wines elaborated with pre-fermentative cold maceration. *Journal of Food Engineering* **9**: 271–278.
- González-Neves G, Gil G, Favre G, Baldi C, Hernández N and Traverso S. 2013. Influence of winemaking procedure and grape variety in the colour and composition of young red wines. *South African Journal of Enology and Viticulture* **34**: 138–146.
- González-Neves G, Favre G, Gil G, Ferrer M and Charamelo D. 2015. Effect of cold pre-fermentative maceration on the color and composition of young red wines cv. Tannat. *Journal of Food Science and Technology* **52**: 3449–3457.
- Gordillo B, López-Infante MI, Ramírez-Pérez P, González-Miret ML and Heredia FJ. 2010. Influence of pre-fermentative cold maceration on the color and anthocyanic copigmentation of organic Tempranillo wines elaborated in a warm climate. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **58**: 6797–6803.
- Goto-Yamamoto N, Mori K, Numata M, Koyama K and Kitayama M. 2009. Effects of temperature and water regimes on flavonoid contents and composition in the skin of red-wine grapes. *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin* **43**: 75–80.
- 後藤奈美. 2012. 赤ワインの渋味: ブドウ栽培と醸造の影響. *日本醸造協会誌* **107**: 210–218.
- Henick-Kling T, Edinger W, Daniel P and Monk P. 1998. Selective effects of sulfur dioxide and yeast starter culture addition on indigenous yeast populations and sensory characteristics of wine. *Journal of Applied Microbiology* **84**: 865–876.
- Heredia F, Escudero M, Hernandez D, Gordillo B, Meléndez A, Vicario I and González M. 2010. Influence of the refrigeration technique on the colour and phenolic composition of Syrah red wines obtained by pre-fermentative cold maceration. *Food Chemistry* **118**: 377–383.
- 井上絵梨, 久本雅嗣, 渡辺 (齊藤) 史恵, 奥田 徹. 2020. 赤ワイン醸造時のマスト液体および果皮中のフェノール化合物濃度の変化. *J ASEV Jpn* **31**: 21–29.
- Kobayashi A, Fukushima T, Nii N and Harada K. 1967. Studies on the thermal conditions of grapes. VI. Effects of day and night temperature on yield and quality of Delaware grapes. *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science* **36**: 373–379.
- Koyama K, Goto-Yamamoto N and Hashizume K. 2007. Influence of maceration temperature in red wine vinification on extraction of phenolics from berry skins and seeds of grape (*Vitis vinifera*). *Biosci Biotechnol Biochem* **71**: 958–965.
- Lukić I, Budić-Leto I, Bubola M, Damijanić K and Staver M. 2017. Pre-fermentative cold maceration, saignée, and various thermal treatments as options for modulating volatile aroma and phenol profiles of red wine. *Food Chemistry* **224**: 251–261.
- Morata A, Gómez-Cordovés MC, Suberviola J, Bartolomé B, Colomo B and Suárez JA. 2003. Adsorption of anthocyanins by yeast cell walls during the fermentation of red wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **51**: 4084–4088.
- Mori K, Goto-Yamamoto N, Kitayama M and Hashizume K. 2007. Loss of anthocyanins in red-wine grape under high temperature. *Journal of Experimental Botany* **58**:

- 1935–1945.
- Nakamura S, Tsuji S and Tonogai Y. 2003. Analysis of proanthocyanidins in grape seed extracts, health foods and grape seed oils. *Journal of Health Science* **49**: 45–54.
- OIV. 2009. Chromatic characteristics. *In* Compendium of International Methods of Analysis of Wines and Musts. OIV-MA-AS2-07B.
- 大久保圭祐, 後藤 (山本) 奈美, 岡崎直人. 2003. 赤ワイン醸造における低温醸し (Prefermentation Cold Soak) のアントシアニン色素抽出効果. *日本醸造協会誌* **98**: 193–200.
- Ortega-Heras M, Pérez-Magariño S and González-Sanjosé M. 2012. Comparative study of the use of maceration enzymes and cold prefermentative maceration on phenolic and anthocyanic composition and colour of a Mencía red wine. *LWT - Food Science and Technology* **48**: 1–8.
- Padayachee A, Netzel G, Netzel M, Day L, Zabarás D, Mikkelsen D and Gidley MJ. 2012. Binding of polyphenols to plant cell wall analogues–Part 1: Anthocyanins. *Food Chemistry* **134**: 155–161.
- Parenti A, Spugnoli P, Calamai L, Ferrari S and Gori C. 2004. Effects of cold maceration on red wine quality from Tuscan Sangiovese grape. *European Food Research and Technology* **218**: 360–366.
- Pérez-Lamela C, García-Falcón M, Simal-Gándara J and Orriols-Fernández I. 2007. Influence of grape variety, vine system and enological treatments on the colour stability of young red wines. *Food Chemistry* **101**: 601–606.
- Peyrot des Gachons C and Kennedy JA. 2003. Direct method for determining seed and skin proanthocyanidin extraction into red wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **51**: 5877–5881.
- Reynolds A, Cliff M, Girard B and Kopp T. 2001. Influence of fermentation temperature on composition and sensory properties of Semillon and Shiraz wines. *Am J Enol Vitic* **52**: 235–240.
- Ribéreau-Gayon P, Dubourdieu D, Donèche B and Lonvaud A. 2006a. Red winemaking. *In* Handbook of Enology, vol 1, 2nd ed. pp. 327–395. Wiley, England.
- Ribéreau-Gayon P, Dubourdieu D, Donèche B and Lonvaud A. 2006b. Extracting tannins and anthocyanins during winemaking. *In* Handbook of Enology, vol 2, 2nd ed. pp. 191–193. Wiley, England.
- Sacchi K, Bisson L and Adams D. 2005. A review of the effect of winemaking techniques on phenolic extraction in red wines. *Am J Enol Vitic* **56**: 197–206.
- Somers TC and Evans ME. 1977. Spectral evaluation of young red wines: Anthocyanin equilibria, total phenolics, free and molecular SO₂, “chemical age”. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **28**: 279–287.
- Somers TC and Evans ME. 1979. Grape pigment phenomena: Interpretation of major colour losses during vinification. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **30**: 623–633.
- Sugiura T, Shiraishi M, Konno S and Sato A. 2018. Prediction of skin coloration of grape berries from air temperature. *The Horticulture Journal* **87**: 18–25.
- 戸塚昭, 東條一元. 2018. 赤ワインの醸造. *In* 新ワイン学. pp. 133–165. ガイアブックス.
- 山梨県ワイン酒造組合. 2016. 赤ワインの醸造概論. *In* 山梨県ワイン製造マニュアル. pp. 45–49. 今村出版.
- 横塚弘毅. 2000. ワイン製造 (その7). *日本醸造協会誌* **95**: 318–327.
- van Leeuwen C, Friant P, Choné X, Tregoat O, Koundouras S and Dubourdieu D. 2004. Influence of climate, soil, and cultivar on terroir. *Am J Enol Vitic* **55**: 207–217.