

## [ 研 究 報 文 ]

## 分光光学的パラメータを用いた判別分析による国産赤ワインの原料ブドウの推定

奥田 徹<sup>1,2</sup>・佐野仁美<sup>2</sup>・久本雅嗣<sup>1,2</sup>・横塚弘毅<sup>1,2</sup><sup>1</sup>山梨大学大学院医学工学総合研究部<sup>2</sup>山梨大学工学部附属ワイン科学研究センター

〒400-0005 山梨県甲府市北新1丁目13-1

**Estimation of Grape Varieties for Japanese Red Wines  
using Discriminant Analysis with Spectrophotometric Parameters**

Tohru OKUDA, Hitomi SANO, Masashi HISAMOTO, and Koki YOKOTSUKA

Interdisciplinary Graduate School of Medicine and Engineering & The Institute of Enology and Viticulture,  
University of Yamanashi, 13-1 Kitashin-1-Chome, Kofu, Yamanashi 400-0005, Japan

Discriminant analysis of Cabernet Sauvignon (*Vitis vinifera*), Muscat Bailey A (hybrid: Bailey×Muscat Hamburg), and Merlot (*V. vinifera*) red wines produce in Japan were carried out using some spectrophotometric and other parameters. With twelve variables ( $A_{280}$ ,  $A_{320}$ ,  $A_{360}$ ,  $A_{420}$ ,  $A_{520}$  and  $A_{620}$  values, wine color in acid, polymeric pigment color, color hue and color intensity) or with 5 selected variables ( $A_{280}$ ,  $A_{320}$ ,  $A_{420}$ ,  $A_{520}$  and  $A_{620}$  values), these variety could discriminate at a sensitivity rate of 86.7% or 76.7%, respectively. The discriminant functions obtained from 3 major red wine varieties were applied to the other minor varieties. The plotted discriminant functions showed that varieties belong to *V. vinifera* were in the second or third quadrants, and other varieties were in the first and fourth quadrants.

**Key words:** Discriminant analysis, red wine, variety, spectrophotometric

## 緒 言

ワインの醸造には通常、単独または複数品種のブドウが用いられ、醸造に用いたブドウ品種がボトルのラベル表示と一致するかどうかは、官能検査によりある程度確認できる。しかし、品種を特定するためには、かなり熟練したパネルによる検査が必要であり、官能検査以外の簡便で科学的な品種識別法の開発が望まれている。国産赤ワインの場合、大部分のワインが、カベルネ・ソービニオン (CS) (*Vitis vinifera*)、メルロー (MER) (*V. vinifera*)、マスカット・ベリーA (MBA) (Bailey×Muscat Hamburg) などの品種を用いて造られており、一部の地域では他の品種の使用が知られている。ワインの原料であるブドウの場合、遺伝子を利用した品種識別法が確立して

いるため、品種の同定は比較的正確に行うことが出来る (5、10)。しかし、醸造されたワインでは、遺伝子の利用が期待できず、他の成分を用いた品種識別法の開発が必要である。

Alexandre ら (1) はガスクロマトグラフィー (GC) で同定した揮発性化合物を用いた統計解析により品種の識別を行った。Forina ら (4) はフェノール化合物やアミノ酸を用いた分析によりイタリアワインの品種同定を行っている。Rossouw・Marais (9) はダイオードアレイ検出器をもちいた高速液体クロマトグラフィー (HPLC) により同定したフェノール化合物をもちいて品種識別を行った。Pueyo ら (7) はタンパク質を用いた品種識別を試みている。その他、いくつかの方法により品種や栽培地域、製法の識別が試みられている (2、3、6)。これらの報告では、ワインに含まれる複数の成分の濃度等を統

2008年3月28日受理

計処理することにより、それらの識別を行っている。ワイン原料品種の分析は、ワイン製造における品質管理に重要であるだけでなく、品種特性の解析などにも有用である。HPLC や GC を用いた分析では、比較的高価な機器の使用と分析技術が必要である。そこで、本実験ではワインの品質管理のために一般に用いられている機器 (pH メーター、分光光度計など) による簡易分析により、国産ワインの原料ブドウの品種識別法の開発を試みた。

## 材料と方法

### 試料ワイン

国産原料ブドウだけで造られた市販の赤ワイン 147 点を用いた。このうち、単一ブドウ品種から醸造されたワイン (単一品種ワイン) の主要品種は CS (18 点)、MER (36 点)、MBA (16 点) であり、他の品種が 45 点あった。また、これらのワインの醸造年は 1997 年産 1 点、1999 年産 4 点、2000 年産 5 点、2001 年産 8 点、2002 年産 18 点、2003 年産 42 点、2004 年産 36 点および不明 1 点であった。すべての分析は 2005 年 10 月～2006 年 1 月の間に行った。

### 一般分析

比重、滴定酸度および pH は国税庁所定分析法注解に従って分析した。エタノール濃度は簡易アルコール分析器 (簡易アルコール分析器 AL-2 型アルコメイト) を用いて測定した。エキスは比重とアルコール濃度を用いた間接法で算出した。

### 紫外スペクトル分析 ( $A_{280}$ 、 $A_{320}$ および $A_{360}$ 値) (11)

1 M HCl 5 mL にワイン 100  $\mu$ L を添加し、1 時間後、光路長 10 mm の石英セルを用いて、水を対照として 280、320 および 360 nm における吸光度を測定した。

### 可視スペクトル分析 ( $A_{420}$ 、 $A_{520}$ および $A_{620}$ 値) (11)

光路長 2 mm のガラスセルでワインの 420、520 および 620 nm の吸光度を測定した。

### pH 0.25 でのワインカラー (Wine Color in Acid (WCA)) (11)

ワイン 1 mL に 1.0 N HCl 19 mL を加えた後 (pH 0.25)、光路長 10 mm の石英セルを使って 520 nm の吸光度を測定した。

### 色素重合体カラー (Polymeric pigment color (PPC)) (11)

蒸留水に重酒石酸カリウムを飽和量加え、この溶液とエタノールを 9 対 1 の割合で混合し、一晚室内に放置後濾過し、10%エタノール重酒石酸カリウム溶液を作成した。赤ワイン 1 mL に 10%エタノール重酒石酸カリウム 20 mL を加えて希釈した後、520 nm の吸光度を光路長 10 mm の石英セルを用いて測定した。この 21 倍希釈ワイン 6.5 mL に、20%メタ重亜硫酸カリウム溶液 0.1 mL を加え、一分後に 520 nm の吸光度を測定した。この値に 21 倍をかけ、これを色素重合体カラー (PPC) とした。

### 全アントシアニン量 (11)

ワイン 1 mL に 0.1 M HCl を 44 mL を添加後、1 M HCl を使用して pH 1.0 に調節し、50 mL に定容した。その後 3 時間放置し、光路長 10 mm の石英セルで 520 nm の吸光度を測定した。

### 色素パラメータ (8、11)

赤ワインを 0.45  $\mu$ m のメンブランフィルターでろ過し、直ちにその pH を測定した。

この赤ワイン 5 mL に 40 mL の蒸留水を加え、その pH を 0.2 M クエン酸ナトリウムあるいは 0.1 M リン酸を用いて、元のワインの pH と同じ値に調整し、蒸留水で 50 mL に定容後、光路長 10 mm の石英セルを使って 520 nm と 420 nm の吸光度を測定し、 $A_{420}/A_{520}$  の比 (Color hue) と二つの吸光度の和 ( $A_{420}+A_{520}$ ) (Color intensity) を算出した。

### 統計処理

統計処理には統計ソフト「エクセル統計 2000」を用いた。判別分析には正準判別を用い、得られた判別係数を用いて計算した判別関数を算出した。また、各品種の重心へのマハラノビスの平方距離から品種の推定を行った。なお、判別係数は、その変数が判別関数 (この論文では品種の識別をするための式) にどの程度の寄与をするかを算出した関数の係数であり、標準化判別係数は、判別係数の寄与の程度を標準化して示した数である。品種識別の際に用いる第 1 および第 2 ベクトル (Function 1 および 2) の判別関数は、実験で得られた変数に判別係数を掛けたものの合計に定数項を足すことにより求めた。

Table 1 Average values of the variables studied in Cabernet Sauvignon, Muscat Bailey A, and Merlot red wines produced in Japan

Variable	Cabernet Sauvignon		Muscat Bailey A		Merlot	
	Average	SD <sup>1</sup>	Average	SD <sup>1</sup>	Average	SD <sup>1</sup>
Extract (%)	3.11	0.40	3.04	0.42	2.73	0.33
T. A. <sup>2</sup> (g/100mL)	0.58	0.05	0.67	0.31	0.57	0.11
A <sub>280</sub>	41.4	7.32	37.8	7.77	45.5	7.45
A <sub>320</sub>	17.1	3.47	26.0	4.84	18.5	3.20
A <sub>360</sub>	6.90	1.60	7.27	2.60	7.73	1.81
A <sub>420</sub>	0.59	0.13	0.38	0.10	0.56	0.16
A <sub>520</sub>	3.23	0.76	2.41	1.11	3.58	1.19
A <sub>620</sub>	0.16	0.05	0.11	0.04	0.17	0.07
WCA <sup>3</sup>	9.89	4.26	13.92	7.65	9.94	3.90
PPC <sup>4</sup>	2.63	0.63	1.48	0.39	2.82	0.89
Hue	0.95	0.14	0.94	0.20	0.86	0.12
Intensity	5.88	1.78	4.03	0.98	6.34	1.79

<sup>1</sup>SD, standard deviation<sup>2</sup>T.A., titratable acidity as tartaric acid equivalent.<sup>3</sup>WCA, wine color in acid<sup>4</sup>PPC, polymeric pigment color.

## 結果

### 12項目を使つての品種識別

測定した16項目のうち、アルコール（平均13.4%、標準偏差1.15）、比重（平均0.994、標準偏差0.005）、pH（平均3.66、標準偏差0.20）および滴定酸度（平均0.612、標準偏差0.182）は品種間での数値のばらつきが非常に少ないことから、品種識別の項目から除外した。また、測定した全てのデータに対してSmirnov-Grubbs検定（有意水準0.05）による外れ値の検出を行い、外れ値を持つ試料は全て除外した。また、各品種から醸造されたワインのうち、品種あたりの点

数が少ない場合、統計上正確な結果が得られにくいと考えた。そこで国産赤ワインで多く使われている3品種（CS 18点、MBA 10点およびMER 32点、合計60点）について、12項目（A<sub>280</sub>、A<sub>320</sub>、A<sub>360</sub>、A<sub>420</sub>、A<sub>520</sub>およびA<sub>620</sub>値、WCA、PPC、全アントシアニン量、Color hue、Color intensity）を用いて、判別分析を行い、品種識別を行った。これら3品種の項目ごとの平均値と標準偏差をTable 1に示した。また、判別分析により得られた判別係数および標準化判別係数をTable 2に示した。また、これらの値から計算した判別関数を用いて識別図をFig. 1に示した。

Table 2 Discriminant coefficients and standardized coefficients obtained by multiple discriminant analysis with 12 limit variables.

Variable	Function 1		Function 2	
	Discriminant Coefficient	Standardized Coefficient	Discriminant Coefficient	Standardized Coefficient
Extract (%)	-0.0125	-0.0047	2.0994	0.7922
T. A. (g/100 mL)	0.0539	0.0085	-0.1421	-0.0225
A <sub>280</sub>	-0.1286	-0.9846	0.1083	-0.8291
A <sub>320</sub>	0.5302	1.9590	-0.1202	-0.4443
A <sub>360</sub>	0.1161	0.2274	-0.1986	-0.3890
A <sub>420</sub>	-5.4001	-0.7894	3.8383	0.5611
A <sub>520</sub>	-0.0906	-0.0988	0.4191	0.4570
A <sub>620</sub>	11.4694	0.6795	4.7994	0.2843
WCA	-0.0155	-0.0768	0.1278	0.6832
PPC	-0.0608	-0.0472	0.0861	0.0668
Hue	0.6878	-0.1008	4.8799	0.7150
Intensity	-0.3839	-0.6619	-0.4072	-0.7021
Constant	-0.9585	—	-5.3340	—

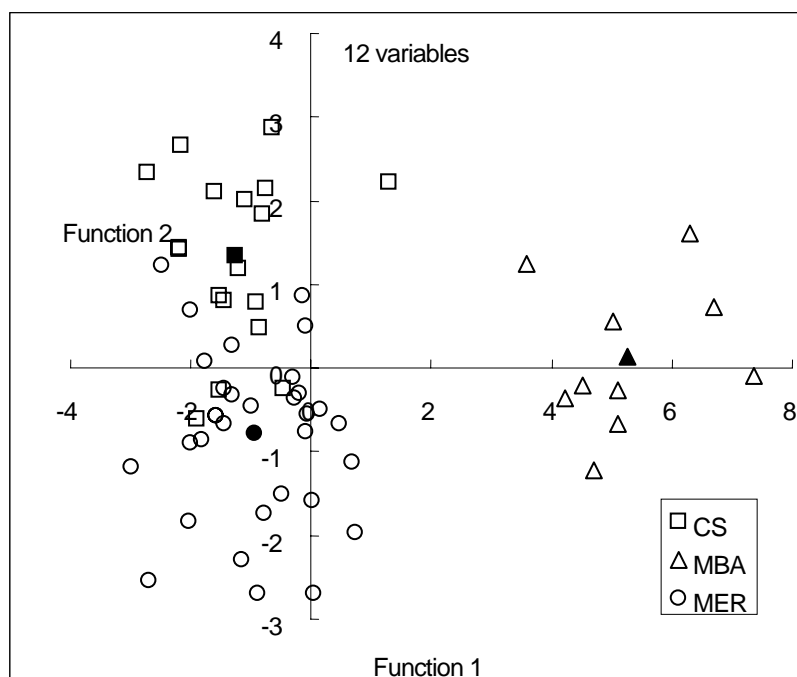


Fig. 1 Discrimination of Cabernet Sauvignon, Muscat Bailey A and Merlot wines by multiple discriminant analysis with 12 limit variables. □, Cabernet Sauvignon (CS); △, Muscat Bailey A (MBA); ○, Merlot (MER). Closed figure of each symbol showed centroids of variety.

第1ベクトル (Function 1) (横軸) では、 $A_{280}$ や $A_{320}$ 値の標準化判別係数が高かった。また、Fig. 1 を見ると、第1ベクトルはCSやMERのグループとMBAのグループ間で大きな違いが認められた。すなわち、第1ベクトルではCSやMERと、MBAのブドウの全フェノール量とシナナム酸類の濃度が異なり、これらのブドウ品種の大別が可能であることが示された。

第2ベクトル (Function 2) (縦軸) では、CSが正の値、MERが負の値にまとまって表示された (Fig. 1)。また、エキスや $A_{280}$ 値とともに種々の波長の吸光度値が大きな影響を与えることが示された。これらのことから、色調の相違がCSとMERの品種の違いに重要であると考えられた。

得られた判別係数を用いた分析の結果、計算により算出される3品種の識別的中率は86.7%となり、これら3品種の識別が高い精度で可能であることが示された。また、3品種のうち、MBAの品種識別的中率は100%であった。しかし、CSとMERの識別は完全ではなく (CSでは83%、MERでは84%的中率)、これらの識別のためには、HPLCなどを用いた成分分析など他の分析項目が必要であると考えられた。

以上のことから、国産赤ワインの主要品種であるCS、MERおよびMBAについて分光光学的手法により比較的容易にワインの原料品種を推定できることが明らかになった。

Table 3 Discriminants coefficients and standardized coefficients obtained by multiple discriminant analysis with 5 limit variables.

Variable	Function 1		Function 2	
	Discriminant Coefficient	Standardized Coefficient	Discriminant Coefficient	Standardized Coefficient
$A_{280}$	-0.1519	-1.1633	-0.1555	-1.1905
$A_{320}$	0.5105	1.8862	-0.0292	0.1079
$A_{420}$	-6.0596	-0.1994	5.4683	0.7994
$A_{520}$	-0.1828	-0.8858	-1.0095	-1.1009
$A_{620}$	5.4012	0.3200	20.7485	1.2292
Constant	-0.2914	—	3.2655	—

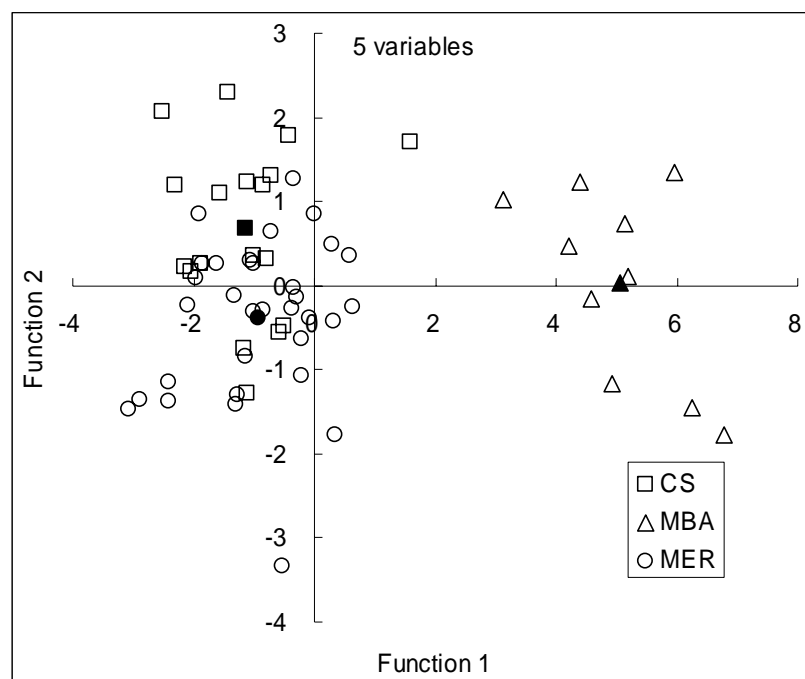


Fig. 2 Discrimination of Cabernet Sauvignon, Muscat Bailey A and Merlot wines by multiple discriminant analysis with 5 limit variables. □, Cabernet Sauvignon (CS); △, Muscat Bailey A (MBA); ○, Merlot (MER). Closed figure of each symbol showed centroids of variety.

### 5項目での品種識別

上記のように12項目の分析項目を使用した場合、CS、MERおよびMBAから醸造された市販ワインにおいては、原料ブドウ品種を高い確率で推定できることが明らかになった。しかし、標準化判別係数がほぼ0である測定項目が複数存在したことから、項目をさらに減らすことが可能であると考えた。また、種々の測定項目が存在すると測定が煩雑になるため、実験を簡略化できない。そこで、標準化判別係数の低い項目を除外して、分光分析5項目 ( $A_{280}$ 、 $A_{320}$ 、 $A_{420}$ 、 $A_{520}$ および $A_{620}$ 値) だけによる判別分析を行った。その時の判別係数および標準化判別係数をTable 3に得られた値から計算した識別図をFig. 2に示した。

5項目による判別分析を行った結果、品種ごとにプロットの集団が見られた (Fig. 2)。また、得られた判別係数を用いた分析の結果、識別的中率は76.7%となった。3品種のうちMBAの識別的中率は100%であった。12項目で識別を行った場合に比べて、CSとMERの識別がやや困難であるが、5項目による判別分析でも識別は可能であると判断した。さらに $A_{520}$ 値を分析項目から減らした場合、識別的中率が70%に低下した。この場合、CSとMERの識別がやや困難になった

が、MBAはこれらの欧州系品種と明確に区別された (データは示していない)。以上の結果から、4~5項目程度の分光分析によりMBAは欧州系品種と区別がつくものと考えられた。

### その他の品種の判別分析

CS、MBAおよびMERによる判別分析から得られた判別関数を用いて、他の品種の識別について検討した。試料には単一品種から製造されたワインで、ブラック・クイーン (BQ) (Bailey×Golden Queen) (4点)、カベルネ・フラン (CF) (*V. vinifera*) (4点)、CS (18点)、甲斐ノアール (KN) (Black Queen×CS) (6点)、MBA (16点)、MER (36点)、野生種 (Wild) (6点)、ヤマ・ソービニヨン (YS) (*V. coignetiae*×CS) (6点)、ツヴァイゲルト・レーベ (ZR) (*V. vinifera*) (8点) を用いた。なお、本実験には外れ値を持つワインも分析に供し、識別図を作成した (Fig. 3)。試料数が少ない品種も存在するため、明確な判断は不可能であるが、この識別で *V. vinifera* 系ブドウは第2、第3象限およびその近傍に、その他のブドウ品種は第1、4象限にプロットされることが示された。また、各品種は大部分まとまってプロットされる傾向が見られた。特に、5項

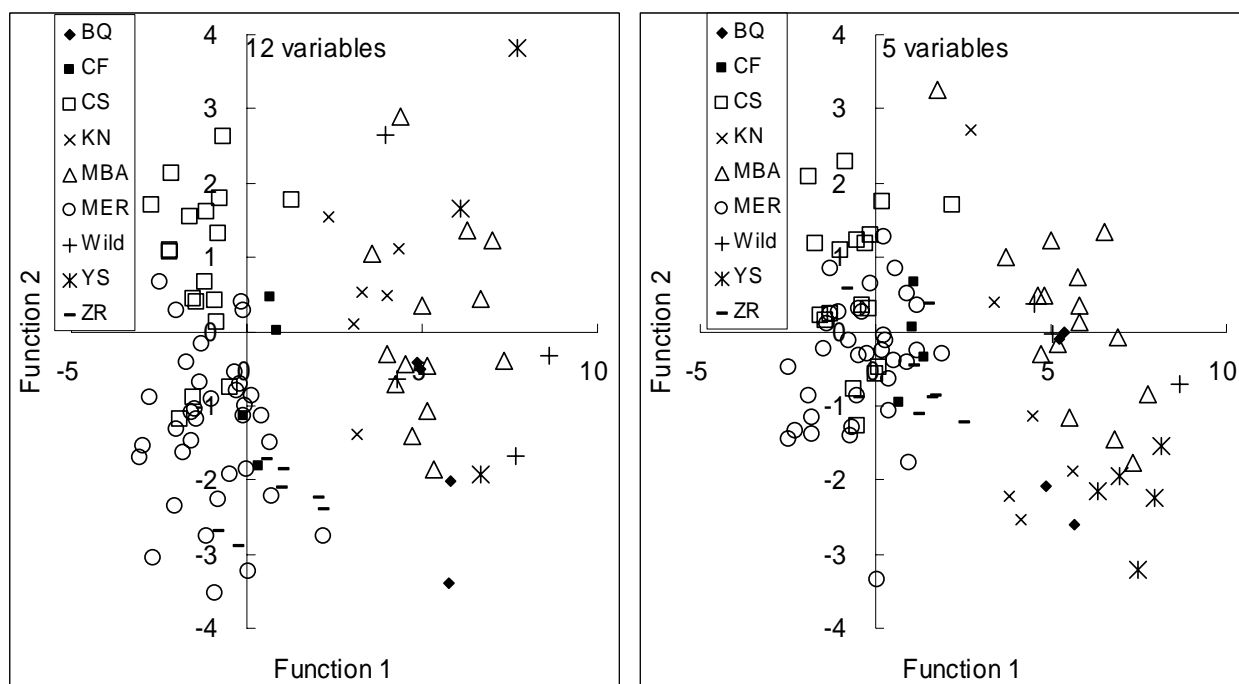


Fig. 3 Discrimination of wines produced in Japan by multiple discriminant analysis with 12 (left) and 5 (right) limit variables.  
 (◆) Black Queen, (■) Cabernet franc, (□) Cabernet Sauvignon, (×) Kai noir, (△) Muscat Bailey A, (○) Merlot, (+) Wild grape, (\*) Yama Sauvignon, (-) Zweigelt rebe.

目による判別分析から得られた判別関数を用いて分析した場合、品種ごとのまとまりがはっきりする傾向が見られた。本実験で試料に用いたワインは、さまざまな醸造メーカーで造られた市販ワインであり、ワインの醸造方法も異なると考えられるにも関わらず、品種ごとのまとまりが見られることから、選択した測定項目（特に吸光度値）は品種の特性を明確に示す重要な分析項目であることが確認された。本実験では主要3品種以外の品種を識別するために、主要3品種から得た判別関数を利用したが、他の品種の試料数が多く得られれば、これらの品種をさらにはっきり識別するための新たな判別関数を得ることが可能であると考えられる。また、複数の品種が混合されたワインでは、中間的な判別関数を示した（データは示していない）。ただし、混合比率の変動によりプロット位置が変化するため、複数の品種が混合されたワインの品種識別は、本方法では困難であった。

本実験では、簡便な分析手法でワインの製造に用いた原料ブドウ品種の識別を行うことを目的としたため、分光光学的パラメータを用いたが、HPLC等の利用によりワイン中に存在する化合物を詳細に分析し併用すれば、さらに識別精度が高くなると考えられる。

## 要約

国産ブドウから製造された市販の赤ワインの分光光学的分析および他のいくつかの簡便な分析で得られたデータを用いて、ワインの原料ブドウの推定を行った。主要3品種（CS、MBAおよびMER）から造られたワインを判別分析法で分析した結果、

1. 12項目（ $A_{280}$ 、 $A_{320}$ 、 $A_{360}$ 、 $A_{420}$ 、 $A_{520}$ および $A_{620}$ 値、WCA、PPC、全アントシアニン量、Color hue、Color intensity）による分析では86.7%の確率で3品種の識別ができた。
2. 5項目（ $A_{280}$ 、 $A_{320}$ 、 $A_{420}$ 、 $A_{520}$ および $A_{620}$ ）による分析では76.7%の確率で3品種を識別できた。
3. 判別関数をプロットした場合、CSは第2象限に、MERは第3象限に、MBAは第1および第4象限に示され、特にMBAは明確に識別（100%）できた。
4. 得られた判別関数を用いて他の品種をプロットした場合、*V. vinifera*系の品種は第2および第3象限に、他の品種は第1および第4象限に示された。

以上の結果から、国産赤ワインの原料ブドウの品種は、それらのワインを簡便な分光分析することにより推定することが可能なことが分かった。

## 文 献

1. Aleixandre, J. L., V. Lizama, I. Alvarez, and M. J. Garcia. Varietal differentiation of red wines in the Valencian region (Spain). *J. Agric. Food Chem.* 50: 751-755 (2002).
2. Almela, L., S. Javoloy, J. A. Fernandez, and J. M. Lopez-Roca. Varietal classification of young red wines in terms of chemical and colour parameters. *J. Sci. Food Agric.*, 70: 173-180 (1996).
3. Burns, J., W. Mullen, N. Landrault, P.-L. Teissedre, M. E. J. Lean, and A. Crozier. Variations in the profile and content of anthocyanins in wines made from Cabernet Sauvignon and hybrid grapes. *J. Agric. Food Chem.* 50: 4096-4102 (2002).
4. Forina, M., C. Aroanino, M. Castino, and M. Ubigli. Multivariate data analysis as a discriminating method of the origin of wines. *Vitis* 25: 189-201 (1986).
5. 後藤 (山本) 奈美・万 光華・沼田美子代・荒巻 功・橋爪克己. Simple Sequence Repeat (SSR)解析による不明ブドウ品種の同定. *J. ASEV Jpn.* 15(2): 52-57 (2004).
6. Latorre, M. J., C. Garcia-Jares, B. Medina, and C. Herero. Pattern recognition analysis applied to classification of wines from Galicia with certified brand origin. *J. Agric. Food Chem.* 42: 1451-1455 (1994).
7. Pueyo, E., M. Dizey, and C. Polo. Varietal differentiation of must and wines by means of protein fraction. *Am. J. Enol. Vitic.* 27: 255-261 (1993).
8. Ribereau-Gayon, P., Y. Glories, A. Maujean, and D. Dubourdieu. Part one "The Chemistry of Wine", in *Handbook of Enology 2nd edition, Volume 2*, pp 141-203, John Wiley & Sons, Chichester, England (2006).
9. Rossouw, M. and J. Marais. The phenolic composition of south African Pinotage, Shiraz and Cabernet Sauvignon wines. *South Afric. J. Enol. Vitic.* 25: 94-104 (2004).
10. Thomas, M. R. and N. S. Scott. Microsatellite repeats in grapevine reveal DNA polymorphisms when analysed as sequence-tagged sites (STSs). *Theor. Appl. Genet.* 86: 985-990 (1993).
11. 横塚弘毅. ワイン製造 (その 7). *醸造協会誌* 95: 318-327 (2000).