

[研 究 報 文]

ヤマブドウの貴腐化に関する基礎的研究

—ヤマブドウ果皮抽出物の *Botrytis cinerea* に対する生育活性—伊藤傑¹・芦谷竜矢^{2*}・楠本倫久³・関根伸浩²・高橋孝悦²¹山形大学大学院農学研究科 〒997-8555 山形県鶴岡市若葉町 1-23-1-1²山形大学農学部 〒997-8555 山形県鶴岡市若葉町 1-23-1-1³岩手大学大学院連合農学研究科 〒020-8550 岩手県盛岡市上田三丁目 18-8**Fundamental Studies of a Method for Inducing Noble Rot in *Vitis coignetiae*
- Bioactivity of *Vitis coignetiae* (yamabudou) berry skin extract against *Botrytis cinerea* -**Satoru ITO¹, Tatsuya ASHITANI^{2*}, Norihisa KUSUMOTO³, Nobuhiro SEKINE², and Koetsu TAKAHASHI²¹ Graduate School of Agricultural Sciences of Yamagata University, Tsuruoka-shi, Yamagata 997-8555, Japan² Faculty of Agriculture, Yamagata University, Tsuruoka-shi, Yamagata 997-8555, Japan³ The United Graduate School of Agricultural Sciences, Morioka, Iwate 020-8550, Japan

The bioactivity of *Vitis coignetiae* (yamabudou) berry skin components against *Botrytis cinerea* was examined to study artificial methods to treat noble rot in this cultivar. Berry skins of *V. coignetiae* and eight commercial grape species were extracted successively with *n*-hexane, ethyl acetate, and methanol. The activity of the *n*-hexane extract differed among the nine species. The *n*-hexane extract of *V. coignetiae* berry skin significantly promoted the growth of *B. cinerea*. Then, the *n*-hexane extract of *V. coignetiae* berry skin was hydrolyzed with alcoholic NaOH and the acidic fraction obtained from the hydrolysis was methylated with CH₂N₂ and analyzed by GC-MS and GC-FID. Methyl linoleate was the major component in the acidic fraction. Fungal growth promoting activity was further examined using authentic fatty acid samples and fractions I to VII from the *n*-hexane extract of *V. coignetiae* berry skin, and notable fungal growth promoting activity was found in fractions I and II. Fractions I and II were hydrolyzed with alcoholic NaOH. The acidic fraction of I contained linoleic acid, linolenic acid, and palmitic acid, and the neutral fraction of I contained sitosterol. The acidic fraction of II contained linoleic acid, oleic acid, and palmitic acid; however, the neutral fraction of II did not contain sitosterol. These results suggest that fraction I is composed of linoleic acid-sitosterol ester and fraction II is composed of linoleic acid and lower alcohols.

Key words: *Vitis coignetiae*, *Botrytis cinerea*, noble rot, berry skin, *n*-hexane extract

緒 言

日本では、野生種のブドウとして7種8変種が確認されており、中でもヤマブドウ (*Vitis coignetiae*)、サンカクヅル (*V. flexuosa*)、エビヅル (*V. ficifolia*) の3種が最も広く分布している (李 1996)。特に、その野生種ブドウの内、ヤマブドウは様々な冷涼地域で栽培

されており、ワインやジュースなどに加工されて地域特産品として中山間地の経済に大きく貢献している。通常のワインは酸化防止剤を添加して褐変を防いでいるが、ヤマブドウワインは、果皮に濃い色素が含有されているため、ワイン製造過程でその色素が溶出して濃色ワインとなること、有機酸を多く含むため低 pH であること、ポリフェノール成分等の抗酸化物質を含むこと (後藤ら 2006) 等により酸化防止剤無添加でも褐変し難く、常温保存も可能である (永田 2003) と

*Corresponding author (email: ashitani@tds1.tr.yamagata-u.ac.jp)

2010年10月4日受理

われている。

一方、極甘口ワインの中でも微生物学的に最も興味をもたれるといわれているワインとして貴腐化したブドウから造られる貴腐ワインがある(椎尾 1990)。貴腐化とは、完熟したブドウ果実の表面に特定の気象条件の下で不完全菌の一種 *Botrytis cinerea* が繁殖し、その作用で水分蒸散が起これ、ブドウ果汁の糖分が上昇する現象である(椎尾 1990、湯目ら 1981、銭林・増田 1986)。また、*B. cinerea* の生育したブドウはワックスエステルが減少し(Comménil et al. 1999)、貴腐化によってグリセロールなどワインのこく味成分となるポリオールが増加するため、醸造したワインは糖分、こく味ともに良質のものになるとされている(椎尾 1990)。さらに、貴腐ワインでは通常のワインと比べ香氣成分も変化し、同じ品種でも、土地や年によっても変化することが報告されている(Genovese 2007、Miklósý et al. 2000、Miklósý・Kalmár 2004)。現在、貴腐ワインは限られた地域で果皮の薄い数種のブドウに限り生産されており、高価で取引されている。そのため、ヤマブドウの貴腐化が可能となれば、より付加価値の高いワインの商品化が図られ、さらなる地域活性化につながると考えられる。しかしながら、ヤマブドウを用いた貴腐化についての研究例や、ヤマブドウに多く含まれているとされている多様な生理活性成分の *B. cinerea* に対する活性の研究は行われていない。貴腐化は上記のように果皮の薄いブドウ(‘セミヨン’、‘リースニング’等)に限られており、ヤマブドウで貴腐化の例は無い。しかしながら、人工で気象コントロールされた中で貴腐化を行っている研究例(椎尾 1990)もあり、*B. cinerea* の繁殖が可能であるならば、ヤマブドウの貴腐化の可能性が考えられる。そこで、本研究ではまず、ヤマブドウ果皮抽出物の *B. cinerea* に対する生育活性と活性成分の検討を行い、化学成分的に *B. cinerea* の繁殖にヤマブドウが適しているか考察を行った。

材料と方法

1. 抽出物試料

試料は月山ワインヤマブドウ研究所から提供を受けたヤマブドウ (*V. coignetiae*) を用いた。また、対照として市販の‘甲斐路’、‘ルビーオクヤマ’、‘甲州’、‘スチューベン’、‘巨峰’、‘ピオーネ’、‘レッドグロ

ーブ’、‘タノレッド’を用いた。ヤマブドウおよび市販ブドウ 8 品種は新鮮なうちにカビ等の発生が見られない果粒から果皮を剥き、得られた果皮は直ちに凍結乾燥した。凍結乾燥後の果皮ヤマブドウ (167 g)、‘甲斐路’ (115 g)、‘ルビーオクヤマ’ (13.0 g)、‘甲州’ (67.8 g)、‘スチューベン’ (43.5 g)、‘巨峰’ (13.9 g)、‘ピオーネ’ (24.6 g)、‘レッドグローブ’ (13.0 g)、‘タノレッド’ (36.8 g) を *n*-hexane、ethyl acetate、methanol を用いて各々 1~3 日間、各 3 回逐次抽出し、ロータリーエバポレータにて溶媒を留去して抽出物を得た。

2. 供試菌

供試菌には北海道大学大学院農学研究科応用菌学講座から譲渡された *B. cinerea* (AHU9517) を用いた。

3. 培地の調製

1/50 PDA 培地はパールコアポテトデキストロース寒天培地(栄研株式会社) 0.78 g、寒天 20 g を蒸留水 1 L に添加して調製した。1/100 YBA 培地は Yeast extract 0.2 g、Bacto peptone 0.2 g、Sodium acetate 0.4 g、寒天 20 g を蒸留水 1 L に添加して調製した。

4. 生育活性試験

逐次抽出物を $5 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ になるように、培地上に塗布し、その中央に *B. cinerea* (AHU9517) を植菌した。試験ごとに溶媒のみを塗布したものを同時に行い、blank とした。培養は 25.5°C、暗条件下で行い、測定は 24 時間毎に 90°、4 方向の菌糸半径を計測した。活性の評価は生長率(生長率 = 試験培地の平均菌糸半径 / blank の平均菌糸半径 × 100)を求めて行った。培地は事前の検討の結果、生育速度、菌糸の厚さ等が最適と考えられた 1/50 PDA 培地と 1/100 YBA 培地を用いた。

5. 統計分析

ブドウ果皮 *n*-hexane 抽出物の生育活性試験で得られた測定値はソフトウェア SPSS10.0 を用いて、Duncan の多重検定(Duncan's multiple range test)を行なった。

6. 加水分解物の分析

1) 加水分解

定法(Shriner et al. 1997)に従い、ブドウ果皮 *n*-hexane 抽出物に NaOH ethanol 溶液(NaOH 8 g、ethanol 250 mL、蒸留水 25mL)を加え、1.25~1.5 時間加熱還流後、ゆっくりと冷却し、加水分解物を得た。

加水分解物は 1%-NaOH 水溶液と diethylether を用いて分配抽出し、diethylether 層を濃縮して中性部を得た。水層を 1N-HCl によって酸性にした後、再度 diethylether

によって抽出し、有機層を濃縮することで酸性部を得た。

2) 酸性部の分析

酸性部を *N*-methyl-*N*-nitroso-*p*-toluenesulfonamide (関東化学) を用いて定法 (飯泉 1978) により合成したジアゾメタンでメチル化し、GC-MS (QP-5000, Shimadzu) および GC-FID (G-3000, Hitachi) で分析した。GC 分析は気化室温度 230°C、DB-1 30 m×0.32 mm カラムを使用し、カラム槽温度条件 100°C、1 分間保持後、5°C/min で昇温、320°C、10 分間保持で行った。また、定量分析は methyl linoleate と標準物質 (heneicosane) の検量線を用い、各ピーク面積から算出して行った。成分の同定は標品 FAME Qualitative Mixture No.0874 (GL Science) のメチル化物、methyl linoleate S0325 (東京化成工業株式会社) を用いて行ない、標品によって同定できなかった成分は検索ソフト NIST12 および NIST62 を用いて推定した。

3) 中性部の分析

中性部は TMSI-H (GL Science) および *N,O*-Bis(trimethylsilyl)-acetamide (GL Science) を用いてシリル化し、GC-MS (QP-5000 Shimadzu) で分析を行なった。中性部の GC 分析は気化室温度 230°C、DB-1 30 m×0.32 mm カラムを使用し、100°C で 1 分間保持後、200°C まで 5°C/min、200°C 以降は 3°C/min で昇温し、320°C で 9 分間保持するカラム槽温度条件で行った。成分の同定には以前の研究 (芦谷ら 2001) で単離し、研究室で保存されていた sitosterol の標品を用いた。

7. ヤマブドウ果皮抽出物の分画

分画にはカラムクロマトグラフィーを用い、固定相にシリカゲル 60N (球状・中性 40-100 μm、関東化学)、

移動相に *n*-hexane と ethyl acetate (99:2-95:5) の混合溶液を使用した。得られた分画物を TLC (25 TLC aluminum sheets 20×20cm Silica gel 60 F₂₅₄) 分析に供し、成分の確認を行った。

結果と考察

1. ブドウ果皮抽出物の *B. cinerea* に対する生育活性試験

Fig. 1 にヤマブドウと市販ブドウ 8 品種の果皮 *n*-hexane 抽出物の *B. cinerea* に対する活性試験結果を示す。Ethyl acetate と methanol 抽出物ではほとんど活性の差は認められず、最も成長率に差が見られたのは *n*-hexane 抽出物であった。一般に、溶媒によって抽出される成分の種類は異なり、*n*-hexane、ethyl acetate、methanol の順に極性の高い成分が抽出されることが知られている。今回差が見られた *n*-hexane 抽出物には最も極性の低い成分である脂質、ワックス成分が含まれていると考えられ、その成分組成の差異が活性に影響したものと思われる。また、果皮に存在する低極性物質は、内部の細胞膜に存在するものもあるが、ほとんどはブドウ果実の水分蒸発を防ぐためや表面を疎水性に保つ役割でワックス質として果皮表面、クチクラ層に存在している。今回の実験では果皮表面のみの抽出ではなく、果皮全体を抽出したが、多くは果皮表面に存在するワックスが得られたものと考えられる。

特に、*n*-hexane 抽出物の *B. cinerea* に対する活性試験では、1/100 YBA 培地よりも 1/50 PDA 培地で明瞭な促進活性が認められ、ヤマブドウ (162%)、‘甲斐路’ (150%)、‘タノレッド’ (150%) の 3 品種が高い促進活性を示した。両培地間で生育の相違が見られた理由

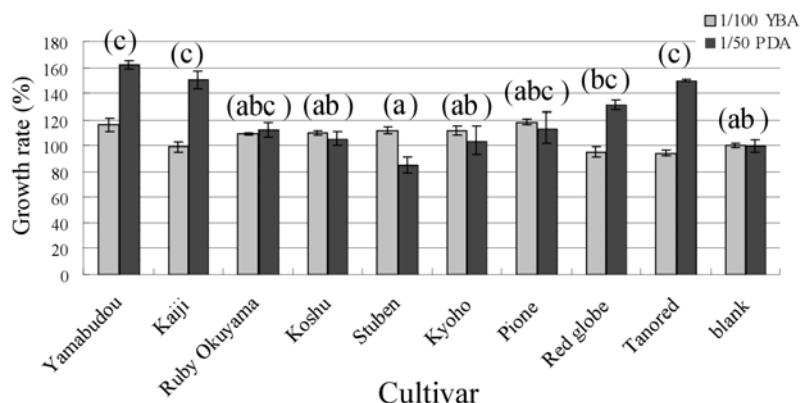


Fig. 1 *B. cinerea* growth activities induced by *n*-hexane extracts of berry skin. Letters (a-c) show significant difference at the level of $p=0.05$ according to Duncan's multiple range test for the results on 1/50 PDA medium.

については、栄養源物質と生育促進/阻害物質の量比のバランスが関係しているものと考えられ、最も明瞭な差が現れた 1/50 PDA 培地で今後の実験を進めていくことが本研究の目的に適していることが示された。また、明瞭な差が現れた 1/50 PDA 培地における結果について Duncan の多重検定を行なった結果、ヤマブドウ (c)、‘甲斐路’ (c)、‘タノレッド’ (c) で blank (ab) に比べ $p=0.05$ で有意な促進活性があると判断された。従って、ヤマブドウ果皮 *n*-hexane 抽出物に最も生育促進活性があることが明らかとなった。

また、各ブドウ品種果皮の *n*-hexane 抽出物の収率は、凍結乾燥重量あたり、ヤマブドウ (3.3%)、‘甲斐路’ (0.52%)、‘ルビーオクヤマ’ (0.52%)、‘甲州’ (0.24%)、‘スチューベン’ (0.15%)、‘巨峰’ (0.32%)、‘ピオーネ’ (0.20%)、‘レッドグローブ’ (0.52%)、‘タノレッド’ (0.29%) であった。ヤマブドウの *n*-hexane 抽出物の収率は、他と比較して高く、他の市販ブドウに比べて低極性成分を多く含有していることが示された。

2. ブドウ果皮 *n*-hexane 抽出物の分析

ヤマブドウおよび市販ブドウ 8 種の果皮 *n*-hexane 抽出物加水分解物の酸性部メチル化物の分析結果を Table 1 に示す。GC-MS 分析により、methyl palmitate、methyl linoleate、methyl stearate、methyl arachidate を同定し、methyl oleate、methyl linolenate を推定した。また、未確認化合物 7~13 が認められた。ヤマブドウ果皮で methyl palmitate、methyl linoleate、methyl oleate、methyl linolenate、

methyl stearate を確認した。その内 methyl linoleate の含有量は *n*-hexane 抽出物加水分解物の酸性部メチル化物 1 g あたり 560 mg/g と最も多く、ヤマブドウ果皮には linoleic acid のエステルが多く含まれていることが推察された。また、甲斐路果皮には methyl palmitate が 134 mg/g と最も多く、palmitic acid のエステルが多く含まれることが示唆された。‘タノレッド’ は化合物 11 (未同定) が 190 mg/g と最も多く、この化合物から構成される成分が含まれることが示唆された。他の果皮では、‘スチューベン’ に他のブドウには見られない化合物 7 が認められ、このブドウ果皮 *n*-hexane 抽出物が唯一抑制活性を示したことから、この化合物 7 が関与することが考えられた。‘甲州’ は GC 上で目立った脂肪酸のピークが観察されず、脂肪酸類を多く含んでいないことが示唆された。そのため、活性成分が少なくブランクと同等の活性を示したものと考えられた。

以上の結果から、用いたブドウ果皮間でワックス質の脂肪酸組成が異なり、特にヤマブドウは特有の構成になっていることが示された。

3. 分画物の生育活性および活性分画物の分析

1) 生育活性

カラムクロマトグラフィーによって、ヤマブドウ果皮 *n*-hexane 抽出物から 7 つの分画物が得られた (Fig. 2)。TLC で確認して単独成分と考えられた分画物 I (16.5%)、および II (10.5%) が全体の約 1/4 を占めていた。これ以外の分画物 III~VII は TLC 分析でスポット

Table 1 Yields of methylated components in acidic fraction obtained from *n*-hexane extract.

| | Retention time (min) | Yield ² (mg/g) | | | | | | | | |
|-------------------|----------------------|---------------------------|-------|---------|-----------|--------------|-------|-------|--------|-------|
| | | Yamabudou | Kaiji | Tanored | Red globe | Ruby okuyama | Pione | Kyoho | Stuben | Koshu |
| Methyl palmitate | 17.5 | 86.6 | 134.0 | 42.1 | 31.9 | 31.2 | 149.0 | 33.1 | 46.6 | — |
| Methyl linoleate | 20.5 | 560.0 | — | — | — | — | — | — | trace | — |
| Methyl oleate | 20.6 | trace | — | — | — | — | — | — | — | — |
| Methyl linolenate | 20.7 | 178.0 | — | — | — | — | — | — | — | — |
| Methyl stearate | 21.3 | trace | 33.0 | 32.1 | — | 26.8 | 64.6 | 22.3 | trace | — |
| Methyl arachidate | 24.8 | — | 41.7 | 96.7 | — | 33.4 | 67.8 | 23.2 | trace | trace |
| Component 7 | 27.9 | — | — | — | — | — | — | — | 111.0 | — |
| Component 8 | 28.0 | — | 19.7 | 58.9 | 23.4 | 10.6 | 76.3 | 20.6 | — | — |
| Component 9 | 31.2 | — | 55.7 | trace | trace | — | 35.2 | — | — | trace |
| Component 10 | 34.1 | — | 66.2 | 83.6 | trace | trace | trace | — | — | — |
| Component 11 | 36.8 | — | 8.7 | 190.0 | 81.3 | trace | trace | — | — | — |
| Component 12 | 39.3 | — | — | 86.9 | 40.6 | — | 15.8 | — | — | — |
| Component 13 | 41.3 | — | — | 77.3 | 66.3 | 89.9 | 160.0 | — | 60.5 | — |

²Yields (mg/g) were calculated from the standard curve (heneicosane-methyl linoleate) based on the weight of the methylated acidic fraction obtained from the *n*-hexane extract.

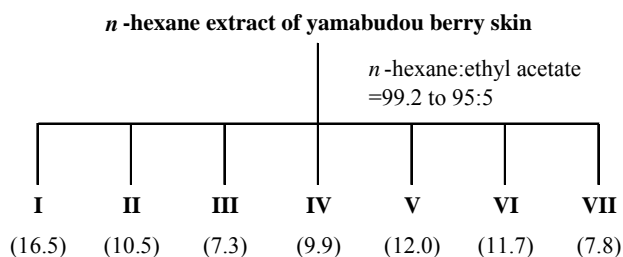


Fig. 2 TLC fractionation of *n*-hexane extract of yamabudou berry skin.
Parenthesis: percentage weight based on *n*-hexane extract.

が複数見られたことから複数の成分の混合物であると考えられた。同一濃度 (5 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$) で試験した分画物および脂肪酸標品の生育活性の結果 (Fig. 3) を見ると、

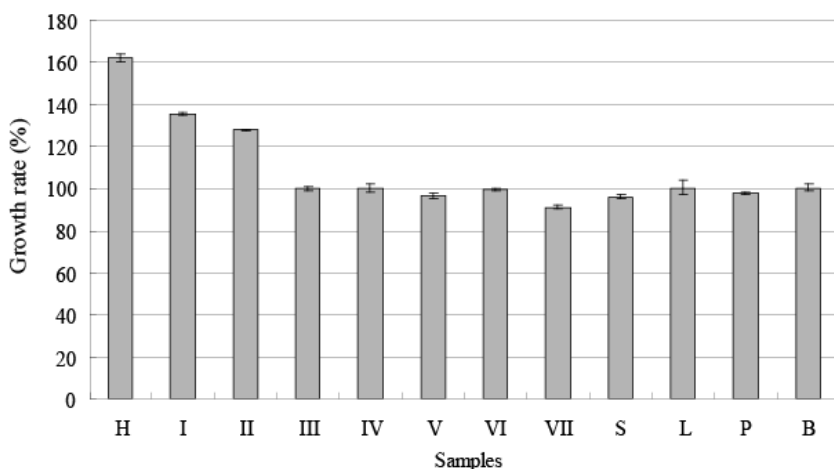


Fig. 3 *B. cinerea* growth activities of TLC fractions and fatty acid standards.

H: *n*-hexane extract of yamabudou berry skin, I - VII: refer to fractions shown in Fig. 2,
S: stearic acid, L: linoleic acid, P: palmitic acid, B: blank, Sample concentration: 5 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$.

methyl linoleate (50.0%)、methyl palmitate (6.50%)、methyl linolenate (24.6%) が確認でき、中性部で sitosterol (48.2%) が確認できた。II は酸性部で methyl linoleate (60.8%)、methyl palmitate (15.7%)、methyl oleate (19.8%) が確認でき、中性部では sitosterol などの成分は確認出来なかった。このことから、I の主要成分は linoleic acid と sitosterol のエステルと推定され、II は linoleic acid とグリセリンなどの低級アルコールから構成されているエステルであると推察された。

おわりに

今回の研究により、ヤマブドウ果皮 *n*-hexane 抽出物には市販ブドウを上回る *B. cinerea* (AHU9517) の生育に対する促進活性があることが示された。*B. cinerea* が繁殖するとワックス質が減少するという報告

分画物 I (136%) と II (128%) に促進活性が見られ、III~VII には活性は見られなかった。また、標品として用いた linoleic acid、palmitic acid、stearic acid には活性は見られず、遊離脂肪酸単独では活性を示さないことが示された。また、分画物 I と II に活性が見られたが、ヤマブドウ果皮 *n*-hexane 抽出物の活性には及ばず、量的にも 1/4 程度であった為、各成分による複合的な作用などがあることが考えられた。

2) ヤマブドウ分画物 I、II の分析

分画物 I と II を加水分解し、酸性部メチル化物、中性部シリル化物を GC-MS で分析し、含有比をピーク面積比から算出した。その結果、分画物 I は酸性部で

(Comménil et al. 1999) があるが、今回の実験によって各ブドウ果皮抽出物で生育活性の差が見られたことから、*B. cinerea* の繁殖はワックス質の種類によって影響されることも示唆された。従って、*B. cinerea* 繁殖時に、ヤマブドウ果皮表面に存在するワックス質は生育を促進する効果があると考えられ、ヤマブドウは貴腐化を行う上で、少なくとも化学成分的には良い条件にあると考えられた。また、同抽出物に含まれる促進活性成分 (分画物 I、II) はいずれも linoleic acid を主な構成成分として含んでいた。今回の実験では、貴腐化可能なブドウとして知られているセミオン、リースニング等は入手できなかったため、対象として用いることができず、また、文献等を調べてもこれらのワックス組成等も知られていない。また、これまでのブドウの脂肪酸組成の研究 (Roufet et al. 1987、Grancarevic・

Radler 1971) から、果皮ワックスの量や脂肪酸組成は、果実の成熟時期、乾燥状態によって変化することが知られている。今回の実験では成熟期間ごとの分析を行っていないが、ヤマブドウにおいても成熟度に応じてワックス質が変化することが考えられる。

今後、これらの貴腐化可能ブドウのワックス質やヤマブドウ果皮のワックス質の成分がさらに分析され、詳細が明らかになれば、貴腐化に適する品種の開発も可能になると思われる。また、ヤマブドウの貴腐化を行うためには、化学成分的要因以外の検討も必要であり、気象コントロール下での貴腐化試験等を検討することで、将来的にヤマブドウから貴腐ワインの製造を行うことが可能となると思われる。

謝 辞

本研究で用いた菌株は、北海道大学大学院農学研究科応用菌学講座から分譲いただいた。また、ヤマブドウは月山ワインヤマブドウ研究所から提供された。ここに感謝申し上げる。

要 約

ヤマブドウの貴腐化を行うことを目標とし、その基礎的知見を蓄積するためヤマブドウ果皮成分の貴腐化適性について検討した。ヤマブドウ (*Vitis coignetiae*) および 8 種の市販ブドウ果皮逐次抽出物 (*n*-hexane、ethyl acetate、methanol) を用いて *Botrytis cinerea* の生育活性試験を行った結果、*n*-hexane 抽出物に、ブドウ果皮間で *B. cinerea* の生育活性に差が見られ、特にヤマブドウの *n*-hexane 抽出物に高い促進活性が認められた。生育活性試験で活性の見られたヤマブドウの *n*-hexane 抽出物をアルコール性水酸化ナトリウムで加水分解し、酸性部と中性部に分け、酸性部をジアゾメタンによりメチル化し GC-FID および GC-MS 分析を行った結果、ヤマブドウ果皮には methyl palmitate、methyl linoleate、methyl stearate、methyl linolenate、methyl oleate が確認され、特に methyl linoleate が多いことから、果皮のワックスは linoleic acid のエステルを主体とする構成となっていることが示唆された。活性成分を特定するため、ヤマブドウ果皮 *n*-hexane 抽出物を分画し、分画物 (I~VII) の活性を調べた結果、I と II に生育活性が見られた。さらに、I と II を加水分解し、酸性部メチル化物と中性部シリル化物の分析を行った

結果、I は酸性部に methyl linoleate、methyl palmitate、methyl linolenate、中性部に sitosterol が確認され、II は酸性部に methyl linoleate、methyl palmitate、methyl oleate が確認され、sitosterol は確認されなかった。従って、I は linoleic acid と sitosterol のエステル、II は linoleic acid とグリセリンなどの低級アルコールにより主に構成されていると考えられた。

文 献

- 芦谷竜矢・氏家正嗣・長濱静男・上野智子・坂井克己.
2001. スギ樹皮抽出成分の特徴. 木材学会誌 47: 276-281.
- Comménil P., L. Belingheri, G. Bauw, and B. Dehorter. 1999. Molecular characterization of a lipase induced in *Botrytis cinerea* by components of grape berry cuticle. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 55: 37-43.
- 後藤信太郎・岡本五郎・平野健. 2006. ブドウ属植物の果汁に含まれるアントシアニンの光分解を防ぐポリフェノール成分について. 日本ブドウ・ワイン学会誌 17: 61-69.
- Genovese A. 2007. Sensory properties and aroma compounds of sweet Fiano wine. *Food Chem.* 103: 1228-1236.
- Grncarevic M. and F. Radler. 1971. A review of the surface lipids of grapes and their importance in the drying process. *American Journal of Enology and Viticulture* 22: 80-86.
- 飯泉新吾. 1978. 新実験化学講座. p. 150. 丸善. 東京.
- Miklósý É. and Z. Kerényi. 2004. Comparison of the volatile aroma components in noble rotted grape berries from two different locations of the Tokaji wine district in Hungary. *Analytica Chimica Acta* 513: 177-181.
- Miklósý É., Z. Kalmár, V. Pölös, and Z. Kerényi. 2000. Study of volatile aroma components in young Tokaji Aszu. *Chromatographia Supplement* 51: 305-308.
- 永田勝也. 2003. 新特産シリーズ ヤマブドウ 安定栽培の新技术と加工・売り方. pp. 22-23. 農山漁村文化協会. 東京.
- 李世誠. 1996. 日本野生ブドウと中国野生ブドウとの関連. pp. 76-85. 中川昌一編. 日本ブドウ学. 養賢堂. 東京.
- Roufet M., C.L. Bayonove, and R.E. Cordonnier. 1987. Lipid composition of grapevine berries, *Vitis vinifera* L.:

- Changes during maturation and localization in the berry. *Vitis* 26: 85-97.
- Shriner R.L., C.K.F. Hermann, T.C. Morrill D.Y. Curtin and R.C. Fuson. 1997. *The Systematic Identification of Organic Compounds Seventh Edition*. p. 355. John Wiley & Sons, New York.
- 椎尾 剛. 1990. ブドウの人為的貴腐化に関する基礎的研究. 北海道東海大学紀要理工学系 3: 103-108.
- 湯目英郎・錢林裕・達真雄. 1981. 貴腐ワインの成分特性 - 糖、アルコール、有機酸などについて. 醸酵工学会誌 59: 169-175.
- 錢林裕・増田正裕. 1986. 貴腐ワインの特性成分とその官能的役割. 日本醸造協会雑誌 81: 731-734.