

技術論文

酢酸エチル抽出を用いたガスクロマトグラフィー によるワイン中酢酸の定量法

高橋宗一郎¹, HUDAGULA¹, 南典子¹, 佐藤理奈², 川上誠²,
阿部眞久³, 阿部茂¹, 山口昭弘^{1*}

¹ 酪農学園大学農食環境学群食と健康学類

² 地方独立行政法人北海道立総合研究機構 産業技術環境研究本部食品加工研究センター

³ 特定非営利活動法人ワインクラスター北海道

Gas Chromatographic Determination of Acetic Acid in Wine Using Ethyl Acetate Extraction

Soichiro Takahashi¹, Hudagula¹, Noriko Minami¹, Rina Sato², Makoto Kawakami²,
Masahisa Abe³, Tsutomu Abe¹ and Akihiro Yamaguchi^{1*}

¹ Department of Food Science and Human Wellness, Rakuno Gakuen University,
Midorimachi 582, Bunkyodai, Ebetsu-shi, Hokkaido 069-8501

² Food Processing Research Center, Hokkaido Research Organization,
Midorimachi 589-4, Bunkyodai, Ebetsu-shi, Hokkaido 069-0836

³ Winecluster Hokkaido, Otaru-unga Terminal, Ironai 1-1-12, Otaru-shi, Hokkaido 047-0031

“Geographical Indication (GI) Hokkaido” has been operating since 2018 with the aim of ensuring the quality and branding of wine produced in Hokkaido. The amount of volatile acid, mostly acetic acid, should be regulated for GI certification since excessive amounts contribute to objectionable off-flavors of wine. In this study, a new application of gas chromatography (GC) followed by ethyl acetate extraction was examined as a simple and reliable method of measuring acetic acid in wine. Higher reproducibility (RSD: 2.1% to 4.4%) was observed in three types of wine samples with different acetic acid concentrations (254 to 756 µg/mL), accompanied by satisfactory recoveries (98% to 102%). The determination range was 254 to 1236 µg/mL, well covering the required criterion (<1000 µg/mL). Significant correlations were recognized between the GC method and high-performance liquid chromatography (HPLC), which has been approved as a screening method for measuring volatile acid in GI wine ($r=0.993$, $p<0.0001$, $n=22$), and also the distilled-titration method ($r=0.974$, $p<0.0001$, $n=19$). Thus, the proposed GC method for the determination of acetic acid in wine samples is simple and reliable; furthermore, it will be useful as an alternative reference based on a different principle to the traditional titration method or the prevalent HPLC method.

(Received Apr. 7, 2020; Accepted Aug. 3, 2020)

Keywords : Wine, Volatile acid, Acetic acid, GI Hokkaido, GC
キーワード : ワイン, 揮発酸, 酢酸, GI 北海道, GC

近年、国内原料を使用した日本ワインの中でも北海道産ワインが大きな注目を集めている。池田町で1960年代より本格的なブドウ栽培および醸造が始まって以来¹⁾、ワイナリー数は漸増で推移していたが、2000年以降急激に増加し²⁾、2019年10月現在、北海道には41か所のワイナリーが存在する。冷涼な気候を活かし、ドイツ系品種や生食用ブドウを使用したワインづくりが道内各地で行われているが、温暖化の影響によって、これまで栽培が難しかったピノ・ノワール等の *Vitis vinifera* 系品種の栽培も盛んとなり

つつある³⁾。特に近年は小、中規模ワイナリーが多く設立されており、世界的に消費者の関心を大きく集めている自然派ワイン⁴⁾のように、自然に逆らわない栽培および醸造を行う生産者もいる。

こうした状況の中、2018年6月、ワインとしては山梨に次いで国内2例目となるワインの産地として、国税庁から地域のブランドを保護する地理的表示 (GI) 制度の指定を受けた。この制度に基づきワインに「北海道」を表示するためには、指定品種の道内産原材料のみを使用し、製造工

¹ 〒069-8501 北海道江別市文京台緑町 582, ² 〒069-0836 北海道江別市文京台緑町 589-4, ³ 〒047-0031 北海道小樽市色内 1-1-12

*連絡先 (Corresponding author), yama-aki@rakuno.ac.jp

程もすべて北海道で行われていることが条件となる。また、大学などで構成される地理的表示「北海道」管理委員会（以下GI北海道）の官能試験と理化学分析を受け、品質の基準を満たす必要がある¹⁾。この理化学分析の評価項目の1つである揮発酸は、ワインの官能に関わる重要な成分であり、その95%近くを占めているのが酢酸である⁵⁾。ワインのスタイルによって、揮発酸の感じ方は異なり^{5)~7)}、10%エタノール混合液における酢酸臭の閾値は200~300 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ^{8)~10)}とされている。酢酸700~1100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 付近の濃度で、酢酸特有の鼻につく刺激臭を感じ、ワインに不快なニュアンスを与えるとされている⁶⁾。一方で、ワインのテイストにおける酢酸の役割は悪いものばかりではなく、一定量存在すべきという研究も存在する⁵⁾。しかし、過剰に存在すると酸化臭と表現され、オフフレーバーとして扱われることが多いため¹¹⁾、酢酸生成を抑えるための研究もなされており¹²⁾、国際ブドウ・ワイン機構(OIV)は揮発酸の上限値を1200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (酢酸値)と設定している¹³⁾。

GI北海道では、公定法の水蒸気蒸留滴定法¹⁴⁾による総揮発酸の基準値を1500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 以下と設定している¹⁾。また、公定法の水蒸気蒸留滴定法では一度に多数の試料を測定することが困難であるため、簡易検定法として、ポストカラムpH緩衝化法と電気伝導度検出器を組み合わせた高速液体クロマトグラフィー(HPLC法)¹⁵⁾を利用できるとしており、基準値をより厳しく1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 未満と定めている。したがって、HPLCによる酢酸測定値が1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ を超えた場合は、公定法である水蒸気蒸留滴定法により再度、揮発酸を測定し値を確定させる運用となっている。本研究では、GI北海道認証の理化学分析において揮発酸の簡易検定法として採用されているHPLC法とは原理的に異なる酢酸エチル抽出を用いたガスクロマトグラフィー(GC)によるワイン中の酢酸定量法の開発を検討した。

なお、HPLC法については特殊な検出系が必要であり、ワインのような複雑なマトリックス試料の場合、夾雑物の影響を受ける危険性もあることから、多種多様なワインの品質管理に貢献できる新たな手法としてのGC法の可能性を併せて検証した。

実験方法

1. 試薬

塩化ナトリウム(関東化学社製)、酢酸エチル(ナカライテスク社製)、10 mg/mL 2-プロパノール、0.1 mol/L 塩酸、無水硫酸ナトリウムおよび容量分析用酢酸($f=1.000$) (いずれも和光純薬社製)を用いた。

2. ワイン試料

GI北海道の認証を2019年6月までに受けたワイン35種、ワインビネガー添加前後のワイン6種および、スパークリングワインを含む国内産3種、国外産7種のワインを試料とした。この内、酢酸濃度が低い白ワインW1、中程

度の赤ワインR1および高い赤ワインR2の3種を条件検討に使用した。

3. 測定用ワイン試料液の調製

共栓ガラス試験管(5 mL)にワイン試料250 μL 、0.1 mol/L 塩酸50 μL 、蒸留水680 μL 、塩化ナトリウム約0.5 g、内部標準物質として10 mg/mL 2-プロパノール20 μL および酢酸エチル1000 μL を加え、かくはん機(ダイレクトミックスTS-50、サーマル化学産業社製)を用いて激しく5分振とうし、1460 g、10分、25℃の条件で遠心分離した。酢酸エチル層を、無水硫酸ナトリウム約1 gを含む新しい共栓ガラス試験管に採り、10分静置後、2 mL バイアル瓶(Thermo scientific社製)に移した。

4. 検量線用酢酸標準溶液の調製

容量分析用酢酸を用い、12 mg/mL 酢酸標準溶液を調製した。共栓ガラス試験管に蒸留水920、910および890 μL を採り、12 mg/mL 酢酸標準溶液をそれぞれ10、20および40 μL 加えた後、試料液の調製手順にしたがい同様に抽出した。これらの酢酸標準溶液はワイン試料250 μL 中の酢酸濃度として、480、960および1920 $\mu\text{g}/\text{mL}$ に相当する。なお、実際のワイン試料測定においては、酢酸480 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 濃度の一点検量線により定量した。

5. ワインへの酢酸添加回収試験

ワイン試料3種(W1, R1, R2)につき、試料液の調製手順において、蒸留水680 μL の内、250 μL を480 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 酢酸溶液に置き換えた添加試料を調製し、同様の抽出操作を行った。

6. GC法による酢酸測定

ガスクロマトグラフ(GC353B)、オートサンプラー(ASI-240)、高極性カラムInertCap WAX-HT(0.25 mm i.d. \times 30 m, $df=50 \mu\text{m}$ 、いずれもジーエルサイエンス社製)を用いてGC分析を行った。試料液注入量は1 μL (スプリット比1:10)、キャリアガスはヘリウムを流速1.4 mL/分で使用した。注入口温度および検出器温度は共に240℃とし、昇温プログラムは、40℃を10分保持後、16℃/分で上昇、220℃に達した時点で冷却を開始した。再び40℃となつてから10分以上経過した後、次の測定を行った。検出器は水素炎イオン化検出器(FID)を使用し、1サイクルを40分とした。測定後のデータ処理にはChromato-PRO(ランタイムインスツルメンツ社製)を使用した。

7. HPLC法による酢酸測定

HPLC法による酢酸測定は、GI北海道認証ワイン22試料および国産2試料、国外産6試料について、ポストカラムpH緩衝化電気伝導度検出法¹⁵⁾により行った。カラムはShim-pack SCR-102H(300 mm \times 8 mm I.D., 島津製作所社製)、移動相は5 mmol/L p -トルエンスルホン酸水溶液、検出試薬は100 $\mu\text{mol}/\text{L}$ EDTA および20 mmol/L Bis-Trisを含む5 mmol/L p -トルエンスルホン酸水溶液を用いた。試料は遠心分離(9170 g, 5分)上清を水で20倍に希釈し、

フィルター (0.45 μm) をろ過後, 10 μL を注入した。

8. 水蒸気蒸留滴定法による酢酸測定

水蒸気蒸留滴定法による揮発酸の分析は, GI 北海道認証ワイン 19 試料を用い, 公定法¹⁴⁾ にしたがった。試料 10 mL を水蒸気蒸留後, 留液約 100 mL をとり, フェノールフタレイン指示薬を加え, 0.1 mol/L 水酸化ナトリウム溶液を用いて滴定した。

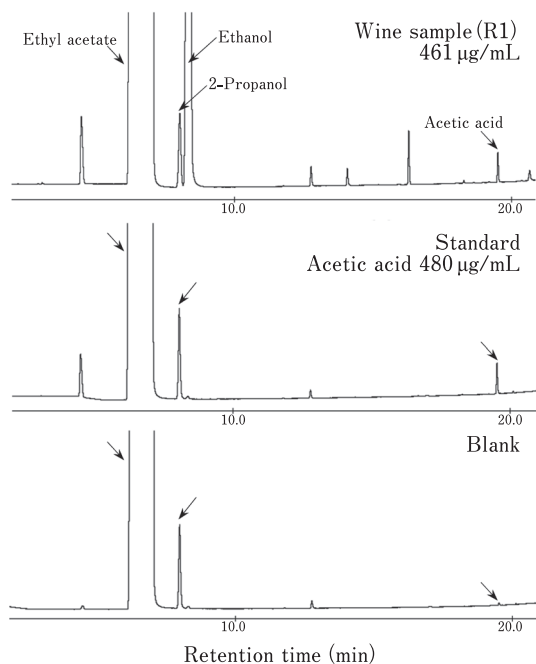


Fig. 1 Typical chromatograms of wine sample, standard and blank

Ethyl acetate as solvent front, and 2-Propanol as internal standard are observed all chromatograms, while Ethanol is detected from only wine sample.

9. 統計処理

統計処理には Prism 6 (Graph Pad Software 社製) を用いた。

実験結果

1. 酢酸検量線

GC 測定によって得られたクロマトグラム (Fig. 1) のピーク高と面積値それぞれについて内部標準物質である 2-プロパノールとの比をとり, 検量線を作成した (Fig. 2)。ピーク高および面積値双方において良好な比例関係が見られ, 相関係数はともに 0.999 と高く, p 値は 0.0001 以下であった。定量範囲は下限 100 $\mu\text{g/mL}$ ($S/N=2.5$) ~ 上限 1920 $\mu\text{g/mL}$ であった。以降の測定には面積値を用いた。

2. 酢酸添加回収率および同時再現性

酢酸濃度が低い白ワイン (W1), 中程度の赤ワイン (R1) および高濃度の赤ワイン (R2) を使用し, それぞれ 480 $\mu\text{g/mL}$ の酢酸を添加した試料とともに GC 測定した (Table 1)。このとき, 1 種類につき 3 つの測定試料を調製して測定を行った。添加回収率は 98~102%, 再現性は

Table 1 Recovery and reproducibility of acetic acid measured in wine samples by GC method

Wine sample	Spiked ($\mu\text{g/mL}$)	Found ($\mu\text{g/mL}$)	RSD (%) ($n=3$)	Recovery (%)
W1	0	254	4.4	—
	480	730	2.7	101
R1	0	471	2.1	—
	480	951	3.8	98
R2	0	756	3.5	—
	480	1236	4.3	102

Data represent mean of three independent runs.

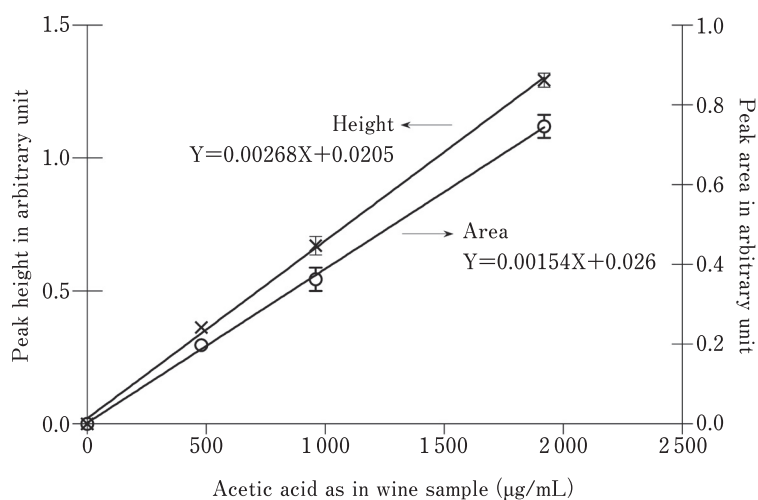


Fig. 2 Calibration curves using peak area and height values

Data represent mean \pm SD ($n=3$). Both calibration curves show highly significant correlation ($r=0.999$, $p<0.0001$).

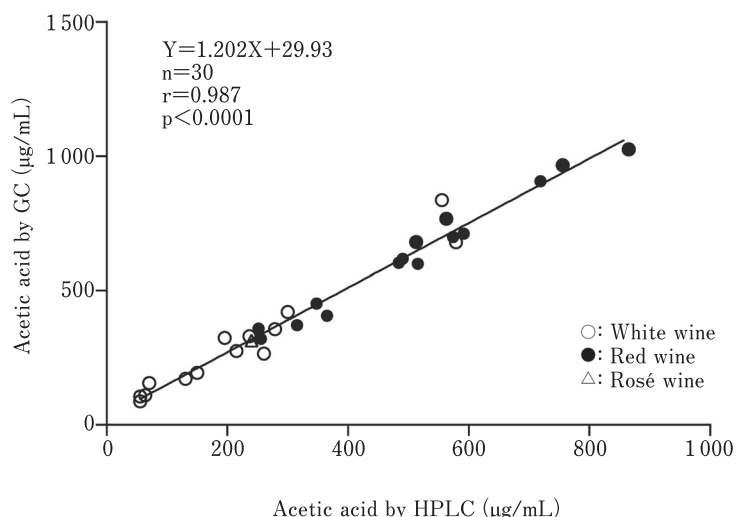


Fig. 3 Correlation between the concentrations of acetic acid measured by HPLC and GC

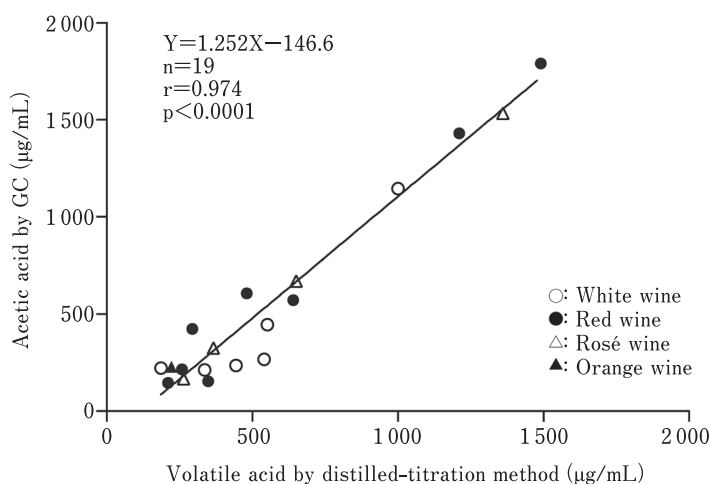


Fig. 4 Correlation between the concentrations of volatile acid and acetic acid measured by distilled-titration and GC, respectively

RSD 2.1~4.4%と、ともに良好であった。

3. HPLC 法との相関

GI 北海道認証を受けた 22 種および国内産 2 種、国外産 6 種のワイン試料について、今回の GC 法による測定値と、HPLC 法による測定値（ともに 1 回測定）との相関を調べた (Fig. 3)。一次回帰式は $Y=1.202X+29.93$ であり、相関係数は 0.987、 p 値は 0.0001 以下と、有意な相関関係が認められた。

4. 蒸留滴定法との相関

GI 認証を受けた北海道産ワイン 19 試料の GC 測定値と、公定法に指定されている蒸留滴定法により測定した値（ともに 1 回測定）との相関を調べた (Fig. 4)。一次回帰式は $Y=1.252X-146.6$ であり、相関係数は 0.974、 p 値は 0.0001 以下と、有意な相関関係を示した。

考 察

ワインの品質評価に関連して、揮発酸を含めたワイン中の数百の香り成分の測定が様々な手法で行われてきた¹⁶⁾。本研究においても、酢酸エチル抽出の検討に先駆け、当初、GC へ直接注入する Direct Injection 法¹⁷⁾や、一般的にタンパク除去の目的で使用されるアセトンを加え、 -30°C で 1 時間凍結させる冷アセトン法を検討した。しかし、Direct Injection 法においては、酢酸ピークが突然半減する現象が度々見られ安定した測定ができなかった。一方、冷アセトン法においても、ある程度の測定精度は得られたものの、HPLC 法との相関は $r=0.359$ と低く定量法としての課題が多かった。マイクロシリンジのプランジャやカラム注入口への水溶性成分の残存に加え、ガラス容器への酢酸の吸着ロスが変動要因と考えられた。

酢酸エチル抽出を検討するにあたり、塩化ナトリウム、無水硫酸ナトリウム、0.1 mol/L 塩酸を加える操作を取り入れた。塩化ナトリウムは飽和状態にすることにより塩析効果で酢酸の抽出効率を上げるとともに、エマルジョン形成を予防し¹⁸⁾、実際に2-プロパノールと酢酸の抽出量が増大した。無水硫酸ナトリウムは酢酸エチル層に残存する水溶性成分を除くために加えており¹⁹⁾、冷アセトン法で問題となっていた水溶性成分のシリンジへの吸着も大きく改善した。また、使用後にはプランジャを抜き、完全に乾燥させることで、プランジャのさびつきを効果的に防ぐことができた。0.1 mol/L 塩酸は、ワインの pH に依存し酸型とイオン型で存在する酢酸（酸解離定数 4.8）を、ワイン自体の pH に左右されず確実に pH < 2 とすることで定量性を確保するために加えたものである。新たに加えたこれらの操作により測定精度が向上し、良好な再現性と回収率（Table 1）に加え、HPLC 法および蒸留滴定法との高度に有意な相関（Fig. 3, 4）が認められるようになった。なお、一般的に、色素成分を除去するために活性炭が用いられるが²⁰⁾、活性炭の微粉末を加えたところ、遠心後の水層と溶媒層の中間に残存し上清分取の妨げとなり、かつ、色素除去の効果もあまり見られなかったため、加えないこととした。これまで本法により約 20 種類の赤ワイン試料の測定を計 60 回以上行ってきたが、酢酸測定への影響は認められなかった。こうした、塩酸性とすることで酢酸抽出率が向上すること、および活性炭による色素除去操作が不要であることは、本研究において得られた新たな知見である。測定作業の簡便化は、多数試料に対して迅速な結果報告が求められる簡易検定法において特に重要である。

ワイン試料中の酢酸量を定量するにあたり、面積値とピーク高それぞれを用いて濃度計算を行ったとき、ピーク高から算出した値の方が、面積値を用いた値より高くなる傾向にあった。これは、内部標準物質 2-プロパノールの保持時間が、ワイン中に大量に存在するエタノールと近いことで、より鋭敏に動くピーク高は影響を受け易いためと考えられた。実際、2-プロパノールを除いて酢酸量を算出すると、面積値との差はほとんどなくなった。2-プロパノールはワイン中には自然に存在しない物質であり、GC を使用したエタノール測定の公定法においても内部標準物質として用いられている¹⁴⁾。

本 GC による簡易検定法においては一点検量線を採用している。これは、GI 北海道の採否に関わる揮発酸 1500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ を確実に担保できる 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ を簡易検定における基準値に設定していること、および 3 点検量線の濃度範囲にわたる十分な直線性（Fig. 2）、良好な再現性および添加回収率（Table 1）が確認できていることに加え、基準値を超えた際には公定法による再測定を要するため、より迅速な結果が得られることを優先したものである。したがって、より正確な測定値を求める場合は、3 点検量線の

使用が望ましい。

本 GC 法と HPLC 法（Fig. 4）および公定法の蒸留滴定法（Fig. 5）との間には有意な相関が認められたものの、帰帰式の傾きが示すように、GC 法による測定値はこれらの手法に比べて系統的に高値となる傾向にあった。HPLC 法の前処理は希釈のみであるが、GC 法では酢酸エチル抽出を行っていることが測定値に影響を与えていると考えられる。実際、酢酸エチルブランクにおいても、わずかながら酢酸ピークが確認されており、試薬あるいは作業環境由来の一定量の酢酸混入の可能性が示唆されている。一方、蒸留滴定法については、水蒸気蒸留の段階における一定の損失と、滴定時の変動が定量精度に影響し、特に低濃度域では相関が劣ることとなったと考えられる。ただ、GC 法が他の手法よりも高値を示す傾向にあることは、公定法に先立つ簡易検定法として運用するにあたって、偽陰性を確実に避けることに繋がると考えられる。

これまで GI 北海道の認証を受けたワインの揮発酸量は 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 程度のものから 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ を超えるものまで様々であった。これは多様な各国のワインにおいても酢酸値には大幅な開きが認められていることと共通する⁶⁾¹⁰⁾¹⁶⁾¹⁹⁾²¹⁾。野生酵母による自発的発酵を行う生産者が世界的に増えている中、国内においても同様の傾向が見られ、それに伴い酢酸濃度の範囲はより広がってきている。酢酸は酢酸菌による汚染だけではなく、野生酵母や乳酸菌により生成されることもあり、市販の培養酵母を使用しない醸造においては、酢酸濃度が高くなるリスクが付きまとう²²⁾。また、エタノール産生を担う酵母である *Saccharomyces cerevisiae* の発酵による副産物としても酢酸は知られており⁹⁾、特に高糖度条件下で発酵が行われることによって、多量に生成されることが分かっている²³⁾²⁴⁾。国内においても、収穫時期を冬まで遅らせ、ブドウの糖度を上げてつくられるアイスワインが製造されており、実際にこうしたアイスワインでは酢酸濃度が高くなる傾向にある。このように北海道をはじめ全国的にも、ワイナリーごとに様々な製法でワインが醸造されており、酢酸が高濃度になるリスクが少なくないことから、品質管理として簡便に揮発酸量をモニタリングする必要性も高まってきている。

以上、本 GC 法は、様々なワインの酢酸濃度を多数試料においても簡便に測定可能であることから、GI 認証における簡易検定法として、あるいは様々なスタイルのワインに対する品質管理法の 1 つとして適した手法であると考えられる。

要 約

酢酸エチル抽出を用いた GC によるワイン中酢酸の定量方法を検討した。その結果、酢酸濃度 254~756 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の様々な種類のワインにおいて、再現性（RSD 2.1~4.4%）および回収率（98~102%）ともに良好な結果を示した。本

GC 法により測定した北海道産ワイン試料の酢酸値は、GI 北海道認証の公定法となっている蒸留滴定法および簡易検定法として採用されている HPLC 法による測定値と有意な相関が認められた。本 GC 法は異なる測定原理に基づく新たな酢酸の定量法として有用な手法であると言える。

本研究を進めるにあたり貴重なご助言をいただきました。札幌国税局 課税第二部 鑑定官室 橋口知一室長、北山賀隆主任鑑定官、酒税課 団体企業係 神高章弘係長、北海道ワイン株式会社 製造本部 河西由喜部長に心より感謝を申し上げます。

文 献

- 山本 博 (2006). 「日本ワインを造る人々 北海道のワイン」, 株式会社ワイン王国, 東京, pp. 97-132.
- 鹿取みゆき (2016). 「日本ワイン北海道」, 虹有社, 東京, pp. 35-44.
- Hirota, T., Yamazaki, T., Yasui, Y., Furukawa, J., Niwa, K., Nemoto, M., Hamasaki, T., Shimoda, S., Kanno, H., and Nishino, Z. (2016). Climate change favors viticulture and wine production in Hokkaido, Japan — An example of pinot noir cultivation since 1998 —. *Climate in Biosphere*, **17**, 34-45 (平田知良, 山崎太地, 安井美裕, 古川準三, 丹羽勝久, 根本 学, 濱寄孝弘, 下田星児, 菅野洋光, 西尾善太. 気候変動による北海道におけるワイン産地の確立—1998 年以降のピノ・ノワールへの正の影響—, 生物と気象).
- González, P. A. and Dans, A. P. (2020). Natural wine: do consumers know what it is, and how natural it really is? *J. Clean Prod.*, **251**, 119635.
- Moura, A. V., Schuller, D., Faia, A. M., Silva, R., Chaves, S., Sousa, M. J., and Real, M. C. (2011). The impact of acetate metabolism on yeast fermentative performance and wine quality: reduction of volatile acidity of grape musts wines. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **89**, 271-280.
- Lambrechts, M. G. and Pretorius, I. S. (2000). Yeast and its importance to wine aroma - a review. *South African Journal for Enology and Viticulture*, **21**, special issue 97.
- Miranda, A., Pereuda, V., Pontes, M., Albuquerque, F., and Marques, J. C. (2017). Acetic acid and ethyl acetate in Madeira wine: Evolution with ageing and assessment of the odour rejection threshold. *Ciência e Técnica Vitivinícola*, **32**, 1-11.
- Ferreira, V., Ortín, N., Escudero, A., López, R., and Cacho, J. (2002). Chemical characterization of the aroma of Grenache rosé wines: Aroma extract dilution analysis, quantitative determination, and sensory reconstitution studies. *J. Agric. Food Chem.*, **50**, 4048-4054.
- Siebert, T. E., Smyth, H. E., Capone, D. L., Neuwöhner, C., Pardon, K. H., Skouroumounis, G. K., Herderich, M. J., Sefton, M. A., and Pollnitz, A. P. (2005). Stable isotope dilution analysis of wine fermentation products by HS-SPME-GC-MS. *Anal. Bioanal. Chem.*, **381**, 937-947.
- Juan, F. S., Cacho, J., Ferreira, V., and Escudero, A. (2012). Aroma chemical composition of red wines from different price categories its relationship to quality. *J. Agric. Food Chem.*, **60**, 5045-5056.
- 東原和成, 佐々木佳津子, 渡辺直樹, 鹿取みゆき, 大越基裕 (2017). 「日本のワインアロマホイール & アロマカードでわかる! ワインの香り」, 虹有社, 東京, pp. 41-74.
- Moura, A. V., Schuller, D., Faia, A. M., and Real, M. C. (2008). Reduction of volatile acidity of wines by selected yeast strains. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **80**, 881-890.
- International Organization of Vine and Wine (2019). International Code of Oenological Practices, OIV, Paris, pp. 429-430.
- 公益財団法人 日本醸造協会 (2017). 「酒類総合研究所標準分析法注解」初版, 東京, pp. 7-44, 78-102.
- 株式会社島津製作所 (2014). 有機酸分析法. 特開 2014-48137, 3月17日.
- Culleré, L., López, R., and Ferreira, V. (2019). The instrumental analysis of aroma-active compounds for explaining the flavor of red wine. In "Red Wine Technology," ed. by Morata, A., Academic Press, UK, pp. 283-307.
- Villén, J., Señoráns, J. F., Reglero, G., and Herráiz, M. (1995). Analysis of wine aroma by direct injection in gas chromatography without previous extraction. *J. Agric. Food Chem.*, **43**, 717-722.
- Pinu, F. R. and Boas, S. G. (2017). Rapid quantification of major volatile metabolites in fermented food and beverages using gas chromatography-mass spectrometry. *Metabolites*, **7**, 37.
- Louw, L., Roux, K., Tredoux, A., Tomic, O., Nase, T., Nieuwoudt, H. H., and Rensburg, P. V. (2009). Characterization of selected South African young cultivar wine using FTMIR spectroscopy, gas chromatography, and multivariate data analysis. *J. Agric. Food Chem.*, **57**, 2623-2632.
- Kobayashi, R., Matsumoto, M., Takahara, Y., and Tanaka, T. The methylene blue adsorption properties by kanpyo product. *J. Technology and Education*, **25**, 7-11 (小林 稜, 松本将弥, 高原美規, 田中孝国. 紐状干瓢製品の示すメチレンブルー吸着特性, 技術・教育研究論文誌).
- Juan, F. S., Ferreira, V., Cacho, J., and Escudero, A. (2011). Quality and aromatic sensory descriptors (mainly fresh and dry fruit character) of Spanish red wines can be predicted from their aroma-active chemical composition. *J. Agric. Food Chem.*, **59**, 7916-7924.
- Goto, N. (2013). Terminology of wine aroma evaluation. *Journal of Japan Association on Odor Environment*, **44**, 390-396 (後藤奈美. ワインの香りの評価用語, におい・かおり環境学会誌).
- Bely, M., Rinaldi, A., and Dubourdieu, D. Influence of assimilable nitrogen on volatile acidity production by *Saccharomyces cerevisiae* during high sugar fermentation. *J. biosci. bioeng.*, **96**, 507-512.
- Erasmus, D. J., Cliff, M., and Vuuren, H. J. J. (2004). Impact of yeast strain on the production of acetic acid, glycerol, and the sensory attributes of icewine. *Am. J. Enol. Vitic.*, **55**, 371-378.

引用 URL

- 国税庁. 酒類の表示 地理的表示「北海道」生産基準, https://www.nta.go.jp/taxes/sake/hyoji/chiri/1806_besshi01.htm (2018. 6. 28)

(令和 2 年 4 月 7 日受付, 令和 2 年 8 月 3 日受理)