

[研 究 報 文]

辛口白ワインの厚みと高分子化合物の関係

奥田 徹¹・福井正一¹・久本雅嗣¹・飯野修一²・樋川芳仁²・
荻野 敏³・高柳 勉¹・横塚弘毅¹¹山梨大学大学院医学工学総合研究部・ワイン科学研究センター 〒400-0005 甲府市北新1丁目13-1
(³前) ²山梨県工業技術センター 〒400-0055 甲府市大津町2094

Relationship between Macromolecules and Thickness of Dry White Wine

Tohru OKUDA¹, Masakazu FUKUI¹, Masashi HISAMOTO¹, Shuuichi IINO², Yoshihito HIKAWA²,
Satoshi OGINO^{2,3}, Tsutomu TAKAYANAGI¹, and Koki YOKOTSUKA¹¹Interdisciplinary 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^{2,3}Yamanashi Prefectural Industrial Technology Center, 2094 Otsu, Kofu, Yamanashi 400-0055, Japan

The effect of components of commercially produced Japanese dry white wine on wine thickness was investigated. Sensory evaluation of wine thickness was carried out by 9 panelists. The relationship between the thickness value and the concentration of wine components was determined. The concentrations of low-molecular-weight neutral and acidic sugars, phenolics, and amino acids in the wine showed a low correlation with thickness values. In contrast, the concentration of macromolecules obtained by dialysis of the wine showed a high correlation with thickness values ($r = 0.802$). Among the macromolecules, neutral polysaccharides were the principal component contributing to wine thickness, and their concentration showed a high correlation with thickness values ($r = 0.783$). The data indicate that macromolecules significantly affect the texture and/or body of wine.

Key words: macromolecule, neutral polysaccharide, protein, thickness, white wine

緒 言

甲州種ブドウから醸造される白ワイン（以下、甲州ワイン）は、日本のオリジナル白ワインとして長い歴史を持ち、国産ワインとして重要なカテゴリーを形成している。しかし、甲州ワインは一般に味や品種香が薄く、平坦であり、一方独特の苦味が欠点と考えられる。これらの欠点を補うために、シュール・リー法や樽発酵・樽貯蔵などの醸造における努力がなされ、近年では国際的にも認められるほど、酒質が著しく向上した。しかし特に、辛口に製造された甲州ワインでは、酒質の平坦さが強調され、水っぽい（watery）ワインとなるため、厚みの増強が必要であると考えられる。

そこで、本報告では甲州ワインの厚みの向上を目的とした基礎的な実験を行った。

味覚に対する研究では、五原味（甘味、塩味、苦味、酸味、うま味）や香りについて多くの研究がなされ、これらの味に寄与する基本的な化合物の特定や、その知覚機構について多くの報告がされている（12）。これらの五原味に加え、辛み、渋み（収斂み）、コク、厚み、香り、テクスチャー（硬軟、粘度など）がワインのフレーバーに大きな影響を与えていると考えられる。これらの要素のうち、コクおよび厚みは抽象的な表現であり、官能検査におけるパネリスト間でも、統一した感覚を共有しにくい要素である。さらに日本語では厚みやコクという表現が多いが、英語では *thickness*、*body*、や *fullness* などの表現も使われており、言葉だけでな

2007年3月14日受理

く、言語による感覚の相違も存在すると考えられる(8、13)。これらの要素に影響する化合物には、遊離のアミノ酸類、高級アルコール、糖類(少糖類、多糖類)、ペプチド類、タンパク質などが予想された。これらの化合物は低分子化合物と高分子化合物に大別できるが、低分子化合物の厚みへの影響についてはすでに一部を報告した(9)。高分子化合物は、明確な呈味を示さないことから、ワインの呈味に関する研究例は少ないが、ワインタンパク質はフェノール化合物の呈味を軽減すること(5、19)、およびモデルワイン中で多糖類が fullness の感覚を与える(20) ことなどが報告されている。これらのことから、高分子成分がワインの厚みに影響を及ぼす可能性が示唆された。そこで、本実験ではワイン中の成分のうち、厚みに影響を与える高分子成分の検索を行なった。

材料と方法

試料ワイン

試料ワインとして市販の辛口(エキス 3%未満)白ワイン(国内産 51 点、外国産 17 点、計 68 点)を用いた。

官能検査

パネラー9名により 68 点の市販辛口ワインの厚みについて官能評価を行い、各ワインの厚みを 4 点法(1~4 点)で数値化した。これらの試料のうち、パネラーの評価がばらつかず、偏差の少ない(得点の信頼区間 0.81 以下)試料を選抜し、成分分析の実験に用いた。試料ワインのブドウ品種は、甲州 12 点、シャルドネ 6 点、セミヨン 2 点、プチマンサン 1 点、シルバーナ 1 点であった。これらの選抜ワインのエキス濃度の平均値は 1.93%であった。

高分子化合物の調製

試料ワイン 600 mL を 1/3 量程度までロータリーエバポレーターで濃縮し、透析膜(透過分子量 13,000、Viscase 社)に入れ、4°C で脱イオン水に対して十分に透析(3~4 日間)した。透析内液を用いて、成分分析を行った。その後、透析内液を凍結乾燥し、高分子画分として秤量した。

成分分析

タンパク質は 6N HCl で加水分解(110°C、24 時間加)後、遊離するアミノ酸量から測定した(24)。アミノ酸は HPLC 分析(HITACHI L-8500)によりニンヒドリン

発色法で測定した。

中性糖はフェノール硫酸法(2)で測定し、グルコース換算で示した。試料溶液 0.5 mL に 5%フェノール水溶液 0.5 mL を加え、混合し、静置した。その後濃硫酸 2.5 mL を液面に直接滴下するように加え、濃硫酸による発熱を促した。30 分放置して室温に戻した後、490 nm の吸光度を測定した。0~70 µg/mL の標準物質(グルコース)により作成した検量線より中性糖量を求めた。高分子の中性糖は中性多糖とした。

酸性糖はカルバゾール硫酸法(1、21)で測定し、ガラクトuron酸換算で示した。即ち、試験管に 25 mM Borax 硫酸溶液を 2.5 mL 入れ、氷冷しながら試料溶液又はガラクトuron酸標準溶液 0.5 mL を管壁に沿って静かに加えよく混合した。この溶液を沸騰湯浴中で 10 分間反応させた。その後再度氷冷し、0.125%カルバゾール-メタノール溶液 100 µL を管壁に沿って静かに加え、よく混合した。沸騰湯浴中で 15 分間保持し発色させた。反応液を室温まで冷却し、530 nm の吸光度を測定しガラクトuron酸により作成した検量線より酸性糖量を求めた。高分子の酸性糖は酸性多糖とした。

フェノール性化合物は Folin-Ciocalteu (F-C) 法で測定し、没食子酸換算で示した(23)。試験管に、脱イオン水 7.9 mL を入れ、そこに適当な濃度に希釈したサンプルを 100 µL 添加して攪拌をした。これに市販の F-C 試薬を 0.5 mL 入れて、攪拌した。この溶液に 20%炭酸ナトリウム溶液を 1.5 mL を加え攪拌した。20°C で 2 時間静置後、765 nm の吸光度を測定した。没食子酸標準液の検量線より全フェノール量を算出した。高分子のフェノール性化合物は高分子タンニンとした。

結果と考察

1. ワイン中の高分子化合物(凍結乾燥物量)と厚みとの相関関係

ワイン中に存在する化合物のうち、多糖類、タンパク質および重合したフェノール化合物などが高分子化合物であると考えられた。そこで、透析によりワインより高分子化合物を調製した。凍結乾燥によって得られた粉末の重量を測定した結果、ワイン 1 L 当たりの凍結乾燥物量は平均 293 mg (n = 20、最高濃度 750 mg/L、最低濃度 133 mg/L)であった。凍結乾燥物量と厚みの得点との相関係数は 0.732 (n = 20、p < 0.001) と非常に高かった (Fig. 1)。このことから、ワインの厚みに

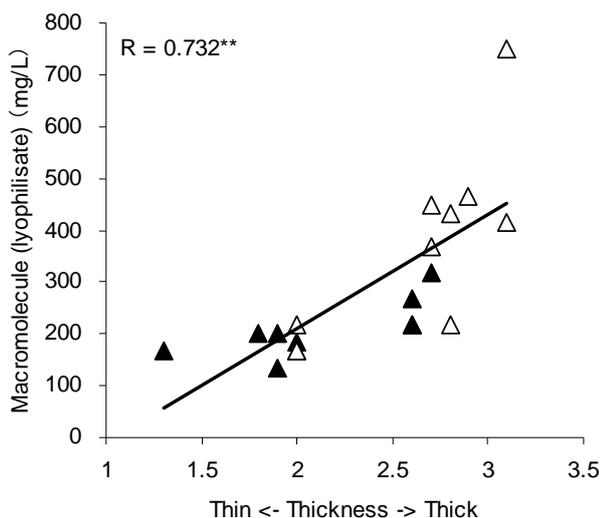


Fig. 1 Relationship between concentration of macromolecules (in lyophilisate) and thickness of white wine. Macromolecules were obtained by lyophilization of the dialyzed fraction of the wines. (▲), wines made from Koshu grapes; (△), wines made from grapes of other varieties. **, $p < 0.01$.

高分子化合物が大きな影響を与えている可能性が示唆された。

2. 高分子化合物の組成と厚みとの相関関係

透析によって得られた高分子化合物の組成を Fig. 2 に示した。凍結乾燥を行うと、操作上、若干の損失が生じた。このため、組成の分析には、透析の際に得られる透析内液を用いた。透析内液の組成は、中性多糖が最も多く (平均 232 mg/L ワイン)、酸性多糖 (平均

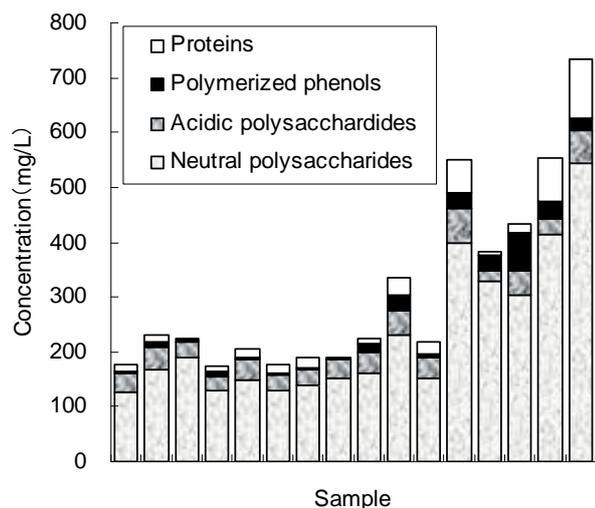


Fig. 2 Concentration of macromolecules in samples obtained by dialysis of white wines.

37 mg/L ワイン)やタンパク質 (平均 27 mg/L ワイン)、フェノール化合物 (平均 17 mg/L ワイン) などが検出された。これらの分析によって得られた各高分子濃度の合計の平均値は 313 mg/L ワインとなり、凍結乾燥物の重量の平均値 (293 mg/L ワイン) とほぼ一致した。また、凍結乾燥物重量と、透析液中の四つの成分の合計値は高い相関を示した (相関係数 0.938)。このことから、凍結乾燥による試料の損失は微量であったと判断した。ただし、多糖類やフェノール化合物の測定法の特異性の低さから、各成分の分析上の多少のオーバーラップが考えられるため、これらの合計値は実際の値より若干高くなる可能性がある。また、測定に用いるワインの量が不足したため、各成分の分析が困難となったワインが 4 試料存在した。

糖類、タンパク質および高分子タンニン量の合計値から推定される高分子化合物濃度と厚みとの相関を Fig. 3 に示した。相関係数は 0.802 ($n = 16$, $p < 0.001$) となり、凍結乾燥物量から計算した厚みとの相関係数よりもさらに高い値が得られた。このことから、ワイン中の高分子化合物がワインの厚みに大きな影響を与えている可能性が示唆された。

ワインを透析後、透析内液に含まれる高分子画分は、ワインの厚みと強い相関関係を示すことが明らかにな

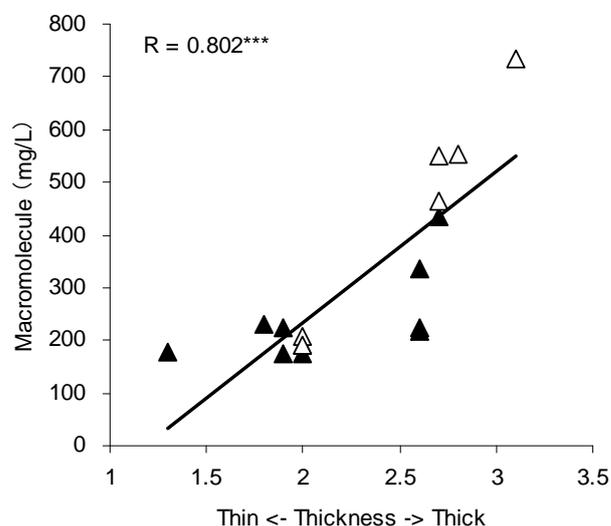


Fig. 3 Relationship between concentration of macromolecules and thickness of white wines. Macromolecules include neutral and acidic polysaccharides, proteins, and polymerized phenols in the dialyzed fraction of white wines. (▲), wines made from Koshu grapes; (△), wines made from grapes of other varieties. ***, $p < 0.001$.

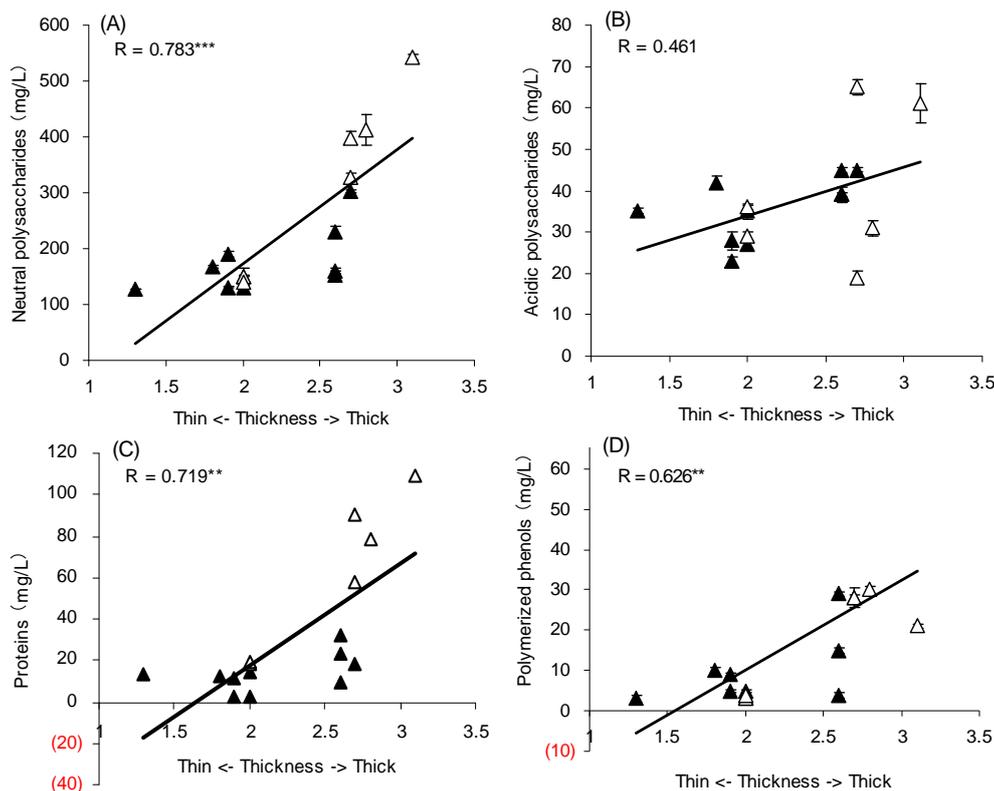


Fig. 4 Relationship between concentrations of (A) neutral polysaccharides, (B) acidic polysaccharides, (C) proteins, and (D) polymerized phenols in the dialyzed fraction, and thickness of white wines. (▲), wines made from Koshu grapes; (△), wines made from grapes of other varieties. **, $p < 0.01$; ***, $p < 0.001$.

った。そこで、高分子画分中の糖類、タンパク質および高分子タンニン量と厚みとの関係を検討した。

3. 中性多糖含量と厚みとの相関関係

2の実験によりワイン中の高分子化合物のうち80%を占める主要成分は中性多糖であった。この中性多糖は、果実由来のアラビノガラクトン類と、発酵中に酵母からワインへ移行するマンノプロテインが主要成分であると考えられる(3, 17, 18)。これらの成分はワインの酒質の安定化に寄与する化合物として近年注目されている(3, 16)。中性多糖濃度と厚みとの相関係数は0.783 ($p < 0.001$)となり、非常に高い相関関係を示した(Fig. 4A)。このことからワイン中の中性多糖類は、酒質の安定化だけでなく、厚みにも大きな影響を与える可能性が示唆された。

4. 酸性多糖含量と厚みとの相関関係

2の実験によりワイン中の高分子化合物のうち酸性多糖が占める割合は12%程度と比較的低かった。この酸性多糖は、果実由来のペクチン類が主要成分であると考えられる(17, 21)。酸性多糖濃度と厚みとの相関

係数は0.461と比較的低く(Fig. 4B)、本成分は厚みに大きな影響を与えていないと考えられた。

5. タンパク質含量と厚みとの相関関係

2の実験によりワイン中の高分子化合物のうちタンパク質含量は9%と低かった。しかしタンパク質濃度と厚みとの相関係数は0.719 ($p < 0.01$)と高く(Fig. 4C)、本成分は厚みに大きな影響を与えている可能性が示唆された。ワイン中に存在するタンパク質の大部分は、ブドウ由来のストレス応答性タンパク質である(7, 15)。これらのタンパク質は糖鎖が結合したグリコプロテインやプロテオグリカンであると考えられる(4, 14, 22)。

6. 高分子タンニン含量と厚みとの相関関係

2の実験によりワイン中の高分子化合物のうちフェノール化合物(高分子タンニン)含量は5%と低かった。しかし高分子タンニンと厚みとの相関係数は0.626 ($p < 0.01$)と高く(Fig. 4D)、本成分は厚みに影響を与えている可能性が示唆された。これらのタンニンはブドウ由来と考えられる。しかし、醸造中および熟成中の重合などが考えられるため、醸造及び貯蔵条件も

含量に影響を与えると考えられた。

Table 1. Correlation coefficient and significance levels between thickness and macromolecule components in Kosshu white wine (n = 10).

	Correlation coefficient (<i>r</i>)
Lyophilisate	0.739*
Neutral polysaccharides	0.607
Acidic sugars	0.537
Proteins	0.506
Polymerized phenols	0.592
Total macromolecules	0.649*

*, $p < 0.05$.

以上の実験から、ワインの厚みに高分子化合物が大きな影響を与え、そのうち、中性多糖類とタンパク質の影響が重要であると考えられた。特に、中性多糖量はその含量が多く、厚みに大きな影響を与えている可能性が示唆された。また、ワイン中のタンパク質は一般に糖と結合しているため、タンパク質の濃度が中性糖の濃度に影響を与える可能性も考えられた。ワインの厚みを付与するためにはこれらの成分の含量を高める必要があることが示唆された。

一般にタンパク質は混濁の形成原因のひとつと考えられている。このため、ベントナイト処理などの澄清化処理により出来る限りのタンパク質を除去することが行われている。しかし、ベントナイト処理後のワインや、タンパク質と結合するフラボノイドが豊富な赤ワインにもタンパク質が存在することから、一部のタンパク質だけが混濁に関与しているとも考えられる(6, 24)。また、一部の中性多糖やタンパク質は、ワインの泡の形成に寄与することが知られている(10)。また、混濁の抑制作用や、フェノール化合物に由来する苦味の軽減や、アロマ成分の吸着などにも寄与していると考えられる(11)。したがって、厚みに影響を与える高分子化合物を特定し、これを増加させ、一方で混濁形成やアロマ成分の吸着活性を持つ高分子化合物だけを除去するための醸造技術の開発が望まれる。

今回実験に用いた試料のうち、甲州種ワインは全体的に高分子化合物が少ない傾向を示した。この原因は、品種特性であることも考えられた。そして、甲州種ワインにおける高分子化合物濃度の低さが、ワインの酒質を薄く、平坦なものにしている可能性が示唆された。

しかし、本実験で用いたワインの試料数が不十分であるため、品種間で高分子化合物の含量に差があるか否かを決定するのは困難であると判断した。

一方、甲州種ワインだけを対象として、厚みと高分子化合物濃度との相関関係を計算した結果を Table 1 に示した (n = 10)。甲州種ワインだけで計算を行った場合も、高分子化合物は厚みと高い相関を示し、各高分子成分に対する相関係数が 0.5 以上であった。このことから、同一品種のブドウから製造したワインにおいても、厚みと高分子化合物濃度は高い相関があり、高分子化合物がワインの厚みに影響を及ぼしている可能性が強く示唆された。

本実験では、ワインの厚みを分析型官能検査により得点化した。通常、このような分析型試験を行う場合、基準となる化合物を用いて試験要素の基準化を行い、パネルの訓練が必要である。しかし、本試験では厚みに対する基準化合物が特定されておらず、パネリストによる感覚的なばらつきが大きいと考えられた。実際、厚みという概念自体が一定のものではなく、パネリストによる得点のばらつきが認められた。今後、このような実験を繰り返すことにより、厚みに寄与する化合物を特定し、厚みという概念を体系化するとともに、標準となる基準化合物を決定し、それを利用した分析型官能検査を試みる必要がある。

要 約

ワインの官能検査で得られた厚みの評価点と、そのワインに含まれる高分子画分濃度との相関関係を調べた。透析によって得られたワイン中の高分子成分は、中性多糖、酸性多糖、高分子タンニン、タンパク質で構成されており、中性多糖が占める割合が多かった(平均で 74%)。高分子画分と厚みの得点との間に高い相関 ($R = 0.802$) が見られた。また、中性多糖、タンパク質および高分子タンニン濃度と厚みとの間に高い相関が認められた。以上の結果から、白ワインの厚みに高分子化合物が関与している可能性が示唆された。

謝 辞

本実験の遂行にあたり、高分子化合物の測定に貢献した山梨大学工学部土木工学科の吉田愛知君に感謝する。また、本研究は、山梨県・山梨大学・山梨県ワイン酒造組合の共同研究の一部として行われた。

文 献

1. Bitter, T. and R. Ewins. Modified carbazole reaction for uronic acids. *Biochem. J.*, 81: 43 (proc.) (1961).
2. Dubois, M., K. A. Guilles, J. K. Hamilton, P. A. Robers, and F. Smith. Colorimetric method for determination of sugar and related substances. *Anal. Chem.* 28: 350-356 (1956).
3. Dupin, I. V. S., V. J. Stockdale, P. J. Williams, G. P. Jones, A. J. Markides, and E. J. Waters. *Saccharomyces cerevisiae* mannoproteins that protect wine from protein haze: Evaluation of extraction methods and immunolocalization. *J. Agric. Food Chem.* 2000: 48, 1086-1095 (2000).
4. Fukui, M. and K. Yokotsuka. Content and origin of protein in white and red wines: Changes during fermentation and maturation. *Am. J. Enol. Vitic.* 54: 178-188 (2003).
5. Fukui, M., K. Yokotsuka, R. Ishii, R., M. O'Mahony, and B. Rousseau. Investigation of potential taste reduction of catechin and grape seed dimeric phenols in water by wine proteins. *Lebensm. Wiss. u-Technol.* 35: 355-361 (2002).
6. Fukui, M., T. Okuda, T. Takayanagi, and K. Yokotsuka. Changes in amount of nitrogenous compounds from skins and seeds of four grape cultivars during extraction using juice- or fermenting must-like model solutions. *J. Wine Res.* 13: 203-215 (2002).
7. 福井正一・奥田 徹・高柳 勉・横塚弘毅. セミヨン果汁及びワイン中に存在するタンパク質の性質. *日本醸造協会誌* 98 (3): 582-588 (2003).
8. Gawel, R., A. Oberholster, and I. L. Francis. A 'mouth-feel wheel': terminology for communicating the mouth-feel characteristics of red wine. *Aust. J. Grape Wine Res.* 6: 203-207 (2000).
9. 飯野修一・樋川芳仁・中山忠博・荻野 敏・奥田 徹・吉田愛知・久本正嗣・高柳 勉・横塚弘毅. 甲州種辛口ワインの味の厚みを増す研究. *山梨県工業技術センター研究報告* 19, 25-31 (2005)
10. López-Barajas, M., E. López-Tamames, S. Buxaderas, G. Suberbiola, and M. C. de la Torre-Boronat. Influence of wine polysaccharides of different molecular mass on wine foaming. *Am. J. Enol. Vitic.*, 52: 146-150 (2001).
11. Lubbers, S., C. Charpentier, M. Feuillat, and A. Voilley. Influence of yeast walls on the behavior of aroma compounds in a model wine. *Am. J. Enol. Vitic.* 45: 29-33 (1994).
12. Meilgaard, M. C., G. V. Civille, and B. T. Carr. Sensory attributes and the way we perceive them. In *Sensory evaluation techniques* (4th ed.). pp7-24, CRC Press, Florida (2007).
13. Noble, A. C., R. A. Arnold, J. Buechsenstein, E. J. Leach, J. O. Schmidt, and P. M. Stern. Modification of standardized system of wine aroma terminology. *Am. J. Enol. Vitic.* 38: 143-146 (1987).
14. 奥田 徹・福井正一・高柳 勉・横塚弘毅. ワインタンパク質および多糖含量に及ぼす加熱冷却とベントナイト処理の影響. *日本ブドウ・ワイン学会誌* 14: 2-8 (2003).
15. Okuda, T., M. Fukui, T. Takayanagi, and K. Yokotsuka. Characterization of major stable proteins or polypeptides in Chardonnay wine. *Food Sci. Technol. Res.* 12: 131-136 (2006).
16. Ribéreau-Gayon, P., Y. Glories, A. Maujean, D. Dubourdieu. Organic acids. In *Handbook of enology Vol. 2: The chemistry of wine stabilization and treatments* (2nd Ed.). pp3-50, Wiley, England (2006).
17. 高柳 勉・奥田 徹・横塚弘毅. ブドウ果実成熟中の可溶性多糖の変化. *山梨大学発酵研究所研究報告* 31: 9-13 (1996).
18. 高柳 勉・奥田 徹・松土俊秀・横塚弘毅. セミヨン果汁へのペクチナーゼ添加がワインの多糖成分に与える影響. *日本ブドウ・ワイン学会誌* 13: 22-27 (2002).
19. 棚橋博史. ワイン中の多糖類の起源とその役割. *醸造協会誌* 89: 524-529 (1994).
20. Vidal, S., L. Francis, P. Williams, M. Kwiatkowski, R. Gawel, V. Cheynier, E. Waters. The mouth-feel properties of polysaccharides and anthocyanins in a wine like medium. *Food Chem.* 85: 519-525 (2004).
21. Yokotsuka, K., K. Ito, K. Nozaki, T. Kushida. Koshu grape pectins isolation, chemical composition, and precipitation. *J. Int. Enol. Vitic.* 17: 59-63 (1982).
22. Yokotsuka, K. and V. L. Singleton. Glycoproteins: Characterization in a hybrid grape variety (Muscat

Bailey A) juice, fermenting must, and resultant red wine. *Am. J. Enol. Vitic.* 48: 100-114 (1997).

23. 横塚弘毅. ワイン製造 (その7) . 日本醸造協会誌 95: 318-327 (2000).

24. 横塚弘毅・奥田 徹・福井正一・久本雅嗣・高柳 勉・木羽信敏. ワインの清澄化処理中におけるタンパク質の挙動のゲル電気泳動分析. 日本ブドウ・ワイン学会誌 17: 49-60 (2006).