

[Research Note]

白ワイン醸造における種子の浸漬がワイン中のポリフェノール含量および抗酸化活性に 及ぼす影響

三島晶太¹・藤原和彦²・樋野学²・鶴永陽子³・秋廣高志⁴・松本敏一^{4*}

¹ 島根大学大学院生物資源科学研究科 〒690-8504 松江市西川津町 1060

²(株)島根ワイナリー 〒699-0733 出雲市大社町菱根 264-2

³ 島根大学教育学部 〒690-8504 松江市西川津町 1060

⁴ 島根大学生物資源科学部 〒690-8504 松江市西川津町 1060

Effect of grape seeds maceration on polyphenol content and antioxidant activity in white wine

Shota MISHIMA¹, Kazuhiko FUJIHARA², Manabu HINO², Yoko TSURUNAGA³, Takashi AKIHIRO⁴ and
Toshikazu MATSUMOTO^{4*}

¹Graduate School of Life and Environmental Science, Shimane University, Nishikawatsu 1060, Matsue, Shimane 690-8504,
Japan

²Shimane Winery, Taisha Hishine 264-2, Izumo, Shimane 699-0733, Japan

³Faculty of Education, Shimane University, Nishikawatsu 1060, Matsue, Shimane 690-8504, Japan

⁴Faculty of Life and Environmental Science, Shimane University, Nishikawatsu 1060, Matsue, Shimane 690-8504, Japan

The effects of grape seed maceration on total polyphenol content and antioxidant activity in white wines were investigated. Total polyphenol content in wines macerated with seeds was increased by 1.6- to 2.3-fold compared to the control. Proanthocyanidin content in wines macerated with seeds was significantly increased compared to the control. In wines macerated with seeds, the ORAC (oxygen radical absorbance capacity) value increased by 2.2 to 2.6 times compared to the control.

Key words: antioxidant activity, polyphenol, proanthocyanidin, ‘Shine Muscat’, white wine

緒言

最近、人気が高い、新品種の‘シャインマスカット’は、皮ごと食べられる黄緑色のブドウで、生食用として高値で取引されている。現在、島根県では‘シャ

インマスカット’栽培が普及されているが、果皮の生理褐変障害であるかすり症の発生が問題となっている。今後、全国的な‘シャインマスカット’の生産量増加に伴い、かすり症等の生食用に向かない規格外品が大量に発生することが予想されるため、その有効的な利用法の開発が期待されている。そこで、本研究では、シャインマスカットを用いたワインを試作し、さらにワインの抗酸化活性を増加させる醸造方法を検討した。

赤ワインと白ワインでポリフェノール含量が異なる大きな要因は、ワインの醸造方法である。ワイン醸

*Corresponding author

(email: tmatsumoto@life.shimane-u.ac.jp)

2016 年 12 月 12 日受理

本報告の一部は園芸学会中四国支部会平成26年度大会および ICP2014 で発表した。

造において赤ワインは果汁を発酵する際に種子や果皮を浸漬するのに対し、白ワインでは果汁のみを発酵させるため、種子や果皮に含まれるポリフェノール類がワイン中に溶出せず、白ワインの総ポリフェノール含量は赤ワインより少なくなる。白ワイン醸造においても、種子および果皮を浸漬することでポリフェノール含量を高めることができるが、渋味による品質低下も懸念される。

そこで本研究では、白ワイン中の総ポリフェノール含量を増加させるために種子を浸漬し、ワイン中の総ポリフェノール含量、抗酸化活性および品質に及ぼす影響を調査した。

材料および方法

材料

島根県農業技術センターから提供を受けた、無核栽培の‘シャインマスカット’成熟果を用いてワインを醸造した。また、‘シャインマスカット’の種子は、島根大学生物資源科学部附属本庄総合農場(松江市)で有核栽培された‘シャインマスカット’から種子を取り出し、実験に供試した。なお、種子に含まれるポリフェノール類を効率よく抽出するために、種子はペンチで潰したもの(以下、破碎種子)を供試した。

ワイン醸造

ワイン醸造は、2013年8月6日および2014年8月6日に(株)島根ワイナリー(出雲市)のワイン醸造研究施設内で行なった。‘シャインマスカット’の果肉は硬く、手作業での搾汁が困難であるため、果粒を市販の料理用ミキサーで無核栽培された‘シャインマスカット’を破碎後、布で搾汁し、果汁と果皮等の残さ(以下、果皮)に分け、果皮は布袋に入れ醸造時に浸漬した。また、種子は破碎後、ティーバックに入れて果皮と同時に浸漬し、2013年は、果汁2 Lに対し破碎種子5 g (0.25 % (w/w))、10 g (0.5 % (w/w))および15 g (0.75 % (w/w))を5日間浸漬し、無処理区を含め計4処理区を設け、3反復行なった。2014年は、果汁1.5 Lに対し破碎種子11.25 g (0.75 % (w/w))、15 g (1 % (w/w))を7日間浸漬し、無処理区を含め計3処理区設け、3反復で行なった。

容量5 Lの梅酒瓶に果汁2 L(2013年)および1.5 L(2014年)を入れ、糖度22度および酸度0.7%になるようにグルコースを用いた補糖と酒石酸およびリンゴ酸

での補酸を行なった。なお、無処理区では、容量5 Lの梅酒瓶に果汁2 L(2013年)および3 L(2014年)を入れた。2013年は、酵母(UOAMaxithiol、マウリ社)0.2 g/L、2014年は、酵母(ICV OKAY、マウリ社)0.2 g/Lを水和により活性化させた後に加え、酸化防止の目的でメタ重亜硫酸カリウムを0.1 g/L添加し、15℃の暗所で発酵させた。1週間後に果皮を除去し、再び15℃の暗所で発酵させた。1週間後、発酵停止と酸化防止の目的でメタ重亜硫酸カリウムを2013年は0.1 g/L、2014年は0.17 g/L添加し、漉引き後、360 mLのワインボトルに瓶詰めした。

ワイン成分分析

ワインの総ポリフェノール分析は、フォーリン・チオカルト法(Singleton et al. 1965)を用い、ワインを蒸留水で10倍希釈し、マイクロプレートリーダーで、波長680 nmの吸光度を測定し、総ポリフェノール含量をカテキン相当量として表した。

プロアントシアニジン分析は、バニリン-硫酸法(Oki et al. 2002)で行なった。ワインを蒸留水で2倍希釈し、紫外可視分光光度計UV-1240(島津製作所)を用いて、波長500 nmの吸光度をカテキン相当量としてプロアントシアニジン含量を表した。

抗酸化活性の評価は、渡辺ら(2013)の方法に準じてH-ORAC法で測定した。ワインを200倍希釈し、マイクロプレートリーダー(SH-9000Lab、コロナ電気)を用いて、蛍光強度の経時変化を波長485 nmおよび520 nmで2分間隔で45回測定し、ORAC値をTrolox相当量で表した。

また、ワインのアルコールおよび総酸度は、国税庁所定分析法に基づいて測定した。

ワインの官能検査は、(株)島根ワイナリーの熟練した醸造担当者4名により行なった。評価は、「色調」、「香り」、「味」および「総合評価」の4項目を設定し、+5点(良い)〜-5点(悪い)の11段階と短評で評価した。

結果および考察

ワイン中の総ポリフェノール含量については、2013年は無処理区で370.4 mg/Lであったのに対し、破碎種子0.25 %区、0.5 %区および0.75 %区では、それぞれ538.2 mg/L、611.7 mg/Lおよび717.7 mg/Lと高くなった(Table 1)。また、破碎種子添加量の増加に伴ってワイン中の総ポリフェノール含量も有意に増加し、

Table 1 Effect of seed maceration on total polyphenol content and proanthocyanidin content in white wines (2013).

	Total polyphenol content (mg CTE/L $\pm$ SE)		Proanthocyanidin content (mg CTE/L $\pm$ SE)	
control	370.4 $\pm$	10.4 a *	57.3 $\pm$	4.0 a **
seeds 0.25 %	538.2 $\pm$	13.1 b *	136.3 $\pm$	0.3 b **
seeds 0.5 %	611.7 $\pm$	9.7 c *	211.3 $\pm$	1.8 c **
seeds 0.75 %	717.7 $\pm$	9.2 d *	387.2 $\pm$	9.3 d **

Values are expressed as mg/L catechin equivalent (CTE) (n=3).

* Values followed by different letters are significantly different at $p < 0.05$ by Tukey HSD.

**Values followed by different letters are significantly different at $p < 0.05$ by Mann-Whitney U test.

SE = standard error.

Table 2 Effect of seed maceration on alcohol, total acidity, total polyphenol content and proanthocyanidin content in white wines (2014).

	Alcohol (%)	Total acidity (%)	Total polyphenol content (mg CTE/L $\pm$ SE)		Proanthocyanidin content (mg CTE/L $\pm$ SE)	
control	12.2	0.7	328.4 $\pm$	7.3 a **	107.0 $\pm$	3.9 a **
seeds 0.75 %	12.3	0.7	761.1 $\pm$	45.7 b **	291.1 $\pm$	20.3 b **
seeds 1 %	12.2	0.7	717.6 $\pm$	25.2 b **	281.3 $\pm$	5.5 b **

Values are expressed as mg/L catechin equivalent (CTE) (n=3).

**Values followed by different letters are significantly different at $p < 0.05$ by Mann-Whitney U test.

SE = standard error.

無処理区の 1.6～1.9 倍となった。2014 年は、破碎種子 0.75 %区と 1 %区でそれぞれ 761.1 mg/L、717.6 mg/L と無処理区 328.4 mg/L の 2.2～2.3 倍となり、有意な増加が認められたが、破碎種子処理区間では有意な差は認められなかった(Table 2)。また、2014 年の試験において、ワインのアルコール濃度は全ての試験区で 12.2 %または 12.3 %となり、総酸度についても、全ての試験区で 0.7 %であり大きな差は認められなかった(Table 2)。

通常、ワインの総ポリフェノール含量は、赤ワインでは 1000～4000 mg/L (Pellegrini et al. 2000, Pazourek et al. 2005)、白ワインでは 300～800 mg/L (Pazourek et al. 2005)とされる。また、ワイン用ブドウの種子には約 10,000 mg/ 100 g DW のフェノール化合物が含まれている(Makris et al. 2007)。したがって、破碎種子を浸漬した試験区における総ポリフェノール含量の増加は、ブドウ種子に含まれるポリフェノールに由来するものと考えられた。

ワイン中のプロアントシアニジン含量は、2013 年は、破碎種子 0.25 %区、0.5 %区および 0.75 %区でそれぞれ 136.3 mg/L、211.3 mg/L および 387.2 mg/L となり、無処理区(57.3 mg/L)の 2.4～6.8 倍と有意に増加した(Table 1)。しかし、2014 年は、無処理区が 107.0 mg/L と比べ、破碎種子 0.75 %区と破碎種子 1 %区では、そ

れぞれ 291.1 mg/L、281.3 mg/L となり、増加量は無処理区の 2.6～2.7 倍であった(Table 2)。2014 年での増加量が 2013 年より低下した要因として、破碎種子からの抽出効率の低下が考えられた。しかし、ワイン中のポリフェノール含量は、2013 年と 2014 年で大きな差がないことから、抽出効率が低下した可能性は低いと思われることから、種子に含まれるプロアントシアニジン含量の個体差によるものと推測される。

Bozan ら(2008)はブドウ種子には 27.0～43.3 mg/g DW のプロアントシアニジンが含まれ、ブドウ種子に含まれる全フェノール化合物含量の約 30 %を占めていると報告している。また、白ワインに含まれるオリゴメリック・プロアントシアニジンは約 10 mg/L、赤ワインに含まれるオリゴメリック・プロアントシアニジンは約 180 mg/L と言われる(Moreno et al. 2003)。本実験の結果から、破碎種子を 0.5 %以上浸漬することで、白ワイン中のプロアントシアニジン含量が赤ワイン以上となる可能性が示唆された。

抗酸化活性評価方法の 1 つである H-ORAC 法を用いた結果、無処理区では、2796.3 $\mu\text{mol/g}$ であったのに対し、破碎種子 0.75 %区および 1 %区では、それぞれ 7286.4 $\mu\text{mol/g}$ 、6100.1 $\mu\text{mol/g}$ と有意な増加が認められ、無処理区の 2.2～2.6 倍となった(Fig. 1)。

以上の結果から、破碎種子の浸漬が、白ワイン中の

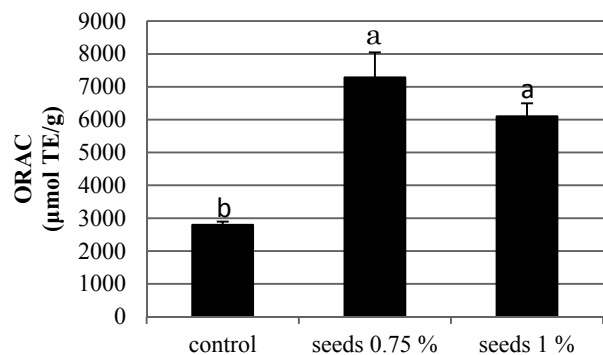


Fig. 1 Effect of seed maceration on ORAC value of white wines (2014).

Values are expressed as μmol/L Trolox equivalent (TE) (n=3).

Values followed by different letters are significantly different at $p < 0.05$ by Mann-Whitney U test.

Bar = standard error.

総ポリフェノール含量および抗酸化活性の増加に影響を及ぼすことが明らかとなった。ワインに含まれるポリフェノールに関しては、強い内皮依存性血管弛緩作用(山崎ら 2011)、食餌性高コレステロール血症ラットの血小板凝集能亢進作用の抑制等多数の研究例が報告されている(小林ら 2008)。また、白ワインに関してもポリフェノール含量を増加させることで、インスリン欠乏による糖尿病ラットに効果があること(Landrault et al. 2003)やハムスターのアテローム性動脈硬化症を防ぐ効果等が報告されている(Auger et al. 2005)。

しかし、ポリメリック・プロアントシアニジンは、若い赤ワインの渋みの主要な指標となっており、渋みとポリメリック・プロアントシアニジン含量は強く関連している(Sun et al. 2013)。また、白ワインでは、ポリフェノール類等による渋みが官能評価を低下させる要因となる。本研究において、破碎種子の浸漬により無処理区と比べ、総ポリフェノール含量およびプロアントシアニジン含量が有意に増加したことから、シャインマスカットワインの渋みによる官能評価への影響が考えられた。そこで、官能評価を行なったところ、Fig. 2, 3 に示すように、2013 年には、「色調」、「香り」、「味」および「総合評価」全てにおいて、破碎種子 0.5 % 区で最も評価が高く、次いで 0.75 % 区、無処理区となった。また、短評においても、破碎種子浸漬区で渋味があるという指摘はなかった。一方、破碎種子 0.25 % 区

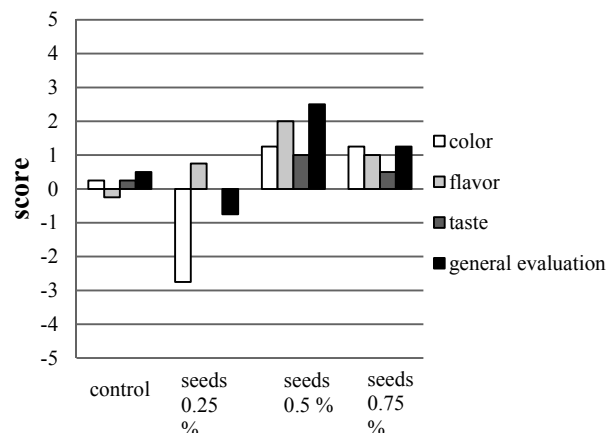


Fig. 2 Effect of seed maceration on sensory test of white wines (2013).

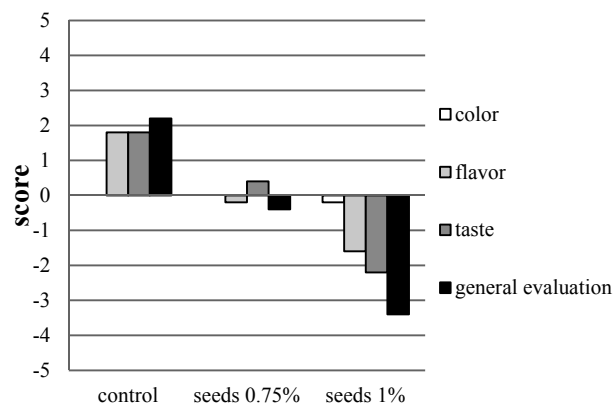


Fig. 3 Effect of seed maceration on sensory test of white wine (2014).

については、「色調」の評価が最も低かった。この要因としてワインのピンクングが考えられた。しかし、2014 年の官能評価では、色調以外の評価項目において、無処理区が最も高く、次いで破碎種子 0.75 % 区、1 % 区で大幅に低下した。短評において、破碎種子 0.75 % 区では、渋味があるという指摘があったことから過度なポリフェノール含量の増加が官能評価に影響を及ぼすと考えられるため、0.5 % 区が適当と考えられる。

以上の結果から、白ワイン醸造時における破碎種子の浸漬は、ワイン中の総ポリフェノール含量および抗酸化活性の増加に有効であると考えられた。しかし、官能評価の結果から、白ワイン中のポリフェノール含量が 600 mg/L 程度までは官能評価に影響を及ぼさないが、700 mg/L を超えると渋味が官能評価に影響を及ぼすことが推測された。したがって、今後は、シャイ

シヤインマスカットワインの渋みが官能評価に及ぼす影響について調査し、特に渋みの閾値についてはより深く検討する必要がある。また、本研究では、ワイン醸造において実用的でない方法を含むが、今後のさらなる検討に参考になると考えられる。

要約

本研究では、シヤインマスカットワイン醸造過程における破碎種子の浸漬が、ワイン中の総ポリフェノール含量および抗酸化活性に及ぼす影響について調査した。

ワイン中の総ポリフェノール含量は、無処理区と比較して破碎種子浸漬区で1.6～2.3倍となり、有意な増加が認められた。プロアントシアニジン含量に関しても、無処理区と比べ、破碎種子浸漬区で有意に増加した。また、白ワインの抗酸化活性を評価すると、ORAC値は、破碎種子0.75%区および1%区で無処理区の2.2～2.6倍となり、有意な増加が認められた。以上の結果から、破碎種子の浸漬が、白ワイン中の総ポリフェノール含量および抗酸化活性の増加に影響を及ぼすと考えられた。

文献

Auger, C., J. M. Rouanet, R. Vanderlinde, A. Bornet, K. Décordé, N. Lequeux, J. P. Cristol, and P. L. Teissedre. 2005. Polyphenols-enriched chardonnay white wine and sparkling Pinot Noir red wine identically prevent early atherosclerosis in hamsters. *J. Agric. Food Chem.* 53: 9823 - 9829.

Bozan, B., G. Tosun, and D. Özcan. 2008. Study of polyphenol content in the seeds of red grape (*Vitis vinifera* L.) varieties cultivated in Turkey and their antiradical activity. *Food Chemistry*. 109: 426 - 430.

小林優子・山田晃子・村田恵理・清水良美・利美賀子・下田智子・曾田智美・伊藤恒賢・石幡明・片野由美. 2008. 食餌性高コレステロール血症ラットの血小板機能に対する赤ワインポリフェノール成分長期摂取の効果. *山形医学*, 26 (2): 61-68.

Landrault, N., P. Pouchet, J. Azay, M. Krosniak, F. Gasc, C. Lenin, G. Cros, and P. L. Teissedre. 2003. Effect of a Polyphenols-enriched chardonnay white wine in diabetic rats. *J. Agric. Food Chem.* 51: 311 - 318.

Makris, D. P., G. Boskou, and N. K. Andrikopoulos. 2007. Polyphenolic content and in vitro antioxidant characteristics of wine industry and other agri-food solid waste extracts. *Journal of Food Composition and Analysis*. 20: 125-132.

Moreno, C. S., G. Cao, B. Ou, and R. L. Prior. 2003. Anthocyanin and proanthocyanidin content in selected white and red wines. Oxygen radical absorbance capacity comparison with nontraditional wines obtained from highbush blueberry. *J. Agric. Food Chem.* 51: 4889 - 4896.

Oki, T., M. Masuda, M. Kobayashi, Y. Nishiba, S. Furuta, I. Suda, and T. Sato. 2002. Polymeric procyanidins as radical-scavenging components in red-hulled rice. *J. Agric. Food Chem.* 50: 7524 - 7529.

Pazourek, J., D. Gajdošová, M. Spanilá, M. Farková, K. Novotná, and J. Havel. 2005. Analysis of polyphenols in wines: Correlation between total polyphenolic content and antioxidant potential from photometric measurements Prediction of cultivars and vintage from capillary zone electrophoresis fingerprints using artificial neural network. *Journal of Chromatography A*. 1081: 48 - 54.

Pellegrini, N., P. Simonetti, C. Gardana, O. Brenna, F. Brighenti, and P. Pietta. 2000. Polyphenol content and total antioxidant activity of *Vini Novelli* (Young Red Wines). *J. Agric. Food Chem.* 48: 732 - 735.

Sun, B., M. Sá, C. Leandro, I. Caldeira, F. L. Duarte, and I. Spranger. 2013. Reactivity of polymeric proanthocyanidins toward salivary proteins and their contribution to young red wine astringency. *J. Agric. Food Chem.* 61: 939 - 946.

Singleton, V.L. and J.A. Rossi. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am. J. Enol. Vitic.*, 16: 144 - 158.

渡辺純・沖智之・竹林純. 2013. H-ORAC 分析法標準作業手順書. 1 - 16.

山崎理美・岩田宏紀・村田恵理・片野由美・石幡明. 2011. 強い内皮依存性血管弛緩作用をもつ新たな赤ワインポリフェノールの特性. *山形医学*. 29 (2): 45-56.