

[Original Paper]

赤ワイン醸造時のマスト液体および果皮中のフェノール化合物濃度の変化

井上絵梨・久本雅嗣・渡辺(斉藤)史恵・奥田 徹*

山梨大学ワイン科学研究センター 〒400-0005 甲府市北新 1-13-1

Concentrations of Phenolics in Liquid Portion and Skins of Must during Red Winemaking

Eri INOUE, Masashi HISAMOTO, Fumie WATANABE-SAITO and Tohru OKUDA*

The Institute of Enology and Viticulture, University of Yamanashi, 1-13-1 Kitashin, Kofu 400-0005, Japan.

The concentrations of phenolics in liquid portion and skins of must were analyzed during red wine fermentation in order to investigate how the extraction of phenolic compounds occurred. In Cabernet Sauvignon (CS), total phenolics (TP) concentration in liquid portion of must continued to increase during fermentation, whereas in Muscat Bailey A (MBA), it continued to increase until the fifth day of fermentation and decreased thereafter. The maximum TP concentrations in liquid portion of must were 1802 mg/L for CS and 1436 mg/L for MBA. As for proanthocyanidin (PA) concentration in liquid portion of must, it continued to increase during fermentation in CS, as was observed in TP concentration, and reached 447 mg/L. On the other hand, in MBA, PA concentration reached a maximum on the fourth day of fermentation and decreased significantly thereafter to 31 mg/L. In addition, TP and PA concentrations in skins of CS must decreased until the ninth day of fermentation but surprisingly increased thereafter. The results suggested that phenolic compounds were reabsorbed by skin during fermentation. Total anthocyanins in the must liquid portion increased until the sixth day of fermentation for both CS and MBA, and decreased thereafter. It was also revealed that highly hydrophobic anthocyanins tended to be extracted in the second half of fermentation. On the other hand, anthocyanins in skin were extracted within approximately one week from the start of fermentation, regardless of grape variety or composition, and no changes were observed thereafter. Therefore, it was suggested that phenolic compounds extracted from skin, particularly PA, may be reabsorbed by skin, thereby reducing the concentration of phenolic compounds in wine during red wine making.

Keywords: Cabernet Sauvignon, Muscat Bailey A, phenolics, tannin, anthocyanin, extraction

緒 言

赤ワインにおいて、タンニンおよびアントシアニンはフェノール化合物の主要な要素であり、色調と

味わいに大きく寄与する。ワイン中のタンニンとアントシアニンの濃度は、ワインの価格と非常に強い正の相関関係を有するため、フェノール化合物の濃度が高いワインは、消費者に高品質なワインとして評価されていることが考えられる (Kassara and Kennedy 2011)。赤ワイン醸造においてフェノール

* Corresponding author (email: okuda@yamanashi.ac.jp)

化合物濃度を高める研究は多くなされており、マセレーションの延長、サーモ・ヴィニフィケーションやコールドマセレーションなど様々な手法について多くの実験が行われてきた (Sacchi and Adams 2005)。

また、近年は赤ワインに含まれるフェノール化合物の質的な違いについても注目が集まっている。例えば、高品質とされる赤ワインには、特に果皮由来のフェノール化合物濃度が高いことも知られている (Kassara and Kennedy 2011)。また、抽出されたフェノール化合物は、様々な反応により形態を変化させ、最終的には色素重合体など、安定な化合物に変化することが示唆されているが、これら醸造中から熟成に至る過程の重要性にも興味を持たれる。

日本のカベルネ・ソーヴィニヨン種 (CS) やメルロ種ワインのタンニン濃度は、アメリカなどで作られたワインよりも低く (Harbertson et al. 2008, Ichikawa et al. 2011)、また、日本で最も多く生産されているマスカット・ベリー A (MBA) 種の赤ワインは、タンニン濃度が非常に低い (平均 65 mg/L) (Ichikawa et al. 2011) ことが示された。その理由を解明するために、醸造中における CS と MBA のフェノール濃度の変化を分析したところ、MBA ワインは種子由来のタンニン濃度が非常に低いことが明らかになった (Okuda et al. 2014)。また、果皮タンニンはマストに一度は抽出されるが、CS および MBA 両品種で発酵 5 日目に濃度が急激に低下し、アントシアニン濃度についても同じ現象が認められた (Okuda et al. 2014)。これらの結果から、果皮や種子からマストの液体部分に抽出されたフェノール化合物が、マスト中に存在する果皮などの不溶性画分に再吸着され、液体部分から除去されている可能性が示唆された。Bindon et al. (2010) は、細胞壁物質へのタンニンの吸着および脱着の抽出モデルを提唱した。その後、アントシアニン類がセルロースやセルロース・ペクチン複合体とイオン性相互作用や疎水性相互作用によって結合していることや (Padayachee et al. 2012)、細胞壁物質とタンニンやアントシアニン類が結合親和性を有することが明らかになってきた。筆者らはモデル系を用いて CS や MBA の不溶性細胞壁成分がどの程度タンニンやアントシアニン類を吸着する能力を持つかを調べた結果、果皮などの不溶性細胞壁

成分がブドウ果粒中の 30% 程度のフェノール化合物を吸着する能力を持つことを示した (Inoue et al. 2019)。

フェノール化合物は通常、果皮および種子細胞の液胞に存在し、赤ワイン醸造時には、抽出中にフェノール化合物に対して化学的または物理的な親和性を有する物質を避けつつ、液胞から液体部分に移動する必要がある。フェノール化合物は水素結合や疎水結合などで他の化合物と結合しやすいことが知られており、例えばタンニンはタンパク質や多糖類と強い結合を生じることが知られている。実際、ブドウに含まれるフェノール化合物のうち、細胞壁由来のタンパク質との親和性が高いフェノール化合物は強く結合し、醸造時のフェノール化合物の抽出性が低下することが報告された (Springer et al. 2014)。Garrido-Bañuelos et al. (2019) は、果皮細胞壁組成をビンテージや果実の熟度から比較し、細胞壁の構成要素の一つであるペクチン含有率が、フェノール化合物の抽出率に影響を与えることを示した。また、細胞壁等に存在する空隙の大きさや網目構造もフェノール化合物の吸着に大きな影響を与えることが報告されている (Bindon et al. 2012)。

こういったフェノール化合物に対する親和性は、フェノール化合物が果皮や種子などの液胞細胞から抽出される過程を阻害し、また、抽出されたフェノール化合物が再吸着される要因になると考えられる。高品質な赤ワインを醸造するためには、これらの機構を理解し、制御することが求められる (Kassara and Kennedy, 2011)。特に、高品質赤ワインに多いとされる果皮由来のタンニンやアントシアニンの抽出機構の解明に興味を持たれた。

そこで、本研究では、赤ワイン醸造中のマストにおいて、主要なフェノール化合物であるタンニンとアントシアニンが果皮から液体部分にどのように抽出され、また再吸着が本当に起きているかを明らかにすることを目的に実験を行った。

実験方法

1. 試薬

実験に使用した全ての試薬は、特級または精密分析用であった。フォーリン・シオカルト (F-C) 試薬、牛血清アルブミン (フラクション V) は富士フ

イルム和光純薬株式会社（日本，大阪）から購入した。

2. 試料ブドウ

本実験に使用されたCSとMBA（ベリー×マスカット・ハングルクの交雑種）は、ともに7年生で、山梨大学の試験圃場（35° 66′ N；138° 58′ E）で栽培され、2015年9月24日に収穫したものをを用いた。糖度はCSおよびMBAでそれぞれ16.7° Brixと21.8° Brixであった。試料ブドウはKober 5BBに接ぎ木され、コルドン方式の剪定を行い、栽培管理を実施した。

3. 試験醸造

試験醸造に用いたブドウは、収穫された後手で除梗および破碎を行い、3.5 kg ずつ5 L容ガラス瓶に分け、SO₂濃度で70 mg/Lになるようにピロ亜硫酸カリウムを添加した（Sampaio et al. 2007）。CSは、MBAの糖度と同等にするため21° Brixになるように補糖を行った。発酵1日目に酒母としてLalvin EC1118（Lallemmand社）を果汁に200 mg/kg添加した。また、マストと果帽が混合するように、1日に2回ガラス瓶を回した。その際、酸化を防ぐために少量の固形ドライアイスを加えて攪拌およびサンプリング等を行った。各試験醸造は独立系で3つずつ行った。

4. 発酵中のマストおよびブドウ果皮のサンプリング

サンプリングは、発酵期間中の毎日午前9時に行った。梅酒瓶に少量の固形ドライアイスを入れてヘッドスペースをCO₂で満たした後、マスト約15 mLを20 mL容の遠心管に採取した。サンプリング後、20℃で15,000 x gで5分間遠心分離を行った。その上清部分を別の容器に移し、マストのサンプル試料とした。また、同時に約5 gの発酵中の果皮を採取し、速やかに液体窒素で凍結し、分析で使用するまで-80℃で保存した。

5. ブドウ果皮のアントシアニンの抽出

ブドウ果皮のアントシアニンの抽出は、Mori et al. (2005)の方法をもとに行った。250 mgのブドウ果皮を液体窒素中で乳鉢および乳棒を用いて粉碎

し、4℃で24時間、5 mLの抽出溶媒（ギ酸／水／メタノール（2:28:70 v/v/v））で暗所にて抽出した。その後、抽出物を15,000 x gで4℃で5分間遠心分離し、その上清部分を別の容器に移し分析用の果皮サンプルとした。

6. ワインカラーの分析

ワインカラーの分析およびColor intensityの算出は、Ribéreau-Gayon et al. (2006)の方法に従い、A₄₂₀、A₅₂₀およびA₆₂₀の合計値により求めた。

7. HPLCによるアントシアニンの分析

アントシアニンの分析は、Inoue et al. (2019)の方法に従って行った。

8. 全フェノール（Total Phenolics; TP）とウシ血清アルブミン（BSA）結合性タンニン（Proanthocyanidin; PA）の分析

TPは、フォーリン・シオカルト法（Singleton and Rossi 1965）に基づいて、1/10スケールにて行った。PAの分析は、Harbertson et al. (2002)らのBSA沈殿法により行った。

結果および考察

1. 発酵および色調の推移

CSおよびMBAを用いて醸造試験を行った結果、アルコール発酵は、MBAにおいて若干遅れ早く終了したが、両品種とも6日目辺りでアルコール濃度が12%に達し、その後平衡状態になり、約1週間で発酵が終了した[Fig. 1 (a)]。これらのことから、今回の醸造試験におけるアルコール発酵は健全に進行したものと考えられた。

Color intensityおよびpHの推移をFig. 1 (b) およびFig. 1 (c) に示した。Color intensityは、CSおよびMBAともに発酵初期に増加し発酵開始後約5日で最大値に達したが、その後低下した。本試験醸造に用いたCSブドウがMBAブドウに比べて着色が良くなかったため、Color intensityがMBAにおいて一時的に高くなった。また、Color intensityはワインの色調を知る上で重要な指標であるが、ワインのpHにおいて赤色に発色しているアントシアニンは少ないため、本指標はアントシアニン量を示しているわけ

ではない。Color intensityが発酵後期に下がった理由として、発酵中のpH上昇によるアントシアニンの無色化 (Castaneda-Ovando et al. 2009) や、コピグメンテーションによる色調の変化 (Boulton 2001)、アントシアニンの一部がVitisin Aや色素重合体などに变化したことなどが考えられ (Jackson 2014)、以前の報告結果を支持した (Okuda et al. 2014)。本結果は一般的な挙動であり、特にMBAにおいてColor intensityの低下が大きいことは、タンニン濃度が低いことによってアントシアニンが安定化しないことも要因として考えられた。

2. 醸造中におけるマスト液体分および果皮中の全フェノール量 (TP) およびBSA結合性タンニン量 (PA) の推移

マストの液体部分に含まれるTPおよびPA濃度をFig. 2 (a) およびFig. 2 (b) に示した。なお本研究ではマスト液体部分と共存する果皮中に存在するフェノール化合物の全体の量を考えるため、液体部分の濃度だけでなく、1 kgのブドウから600 mLの液体が得られる (圧搾率60%) として得られるフェノール化合物量を算出しグラフ左軸に記載した。なお、実際の圧搾率はブドウの果皮や果肉成分が溶解することで徐々に増加し、発酵終了時には75～85%の圧搾

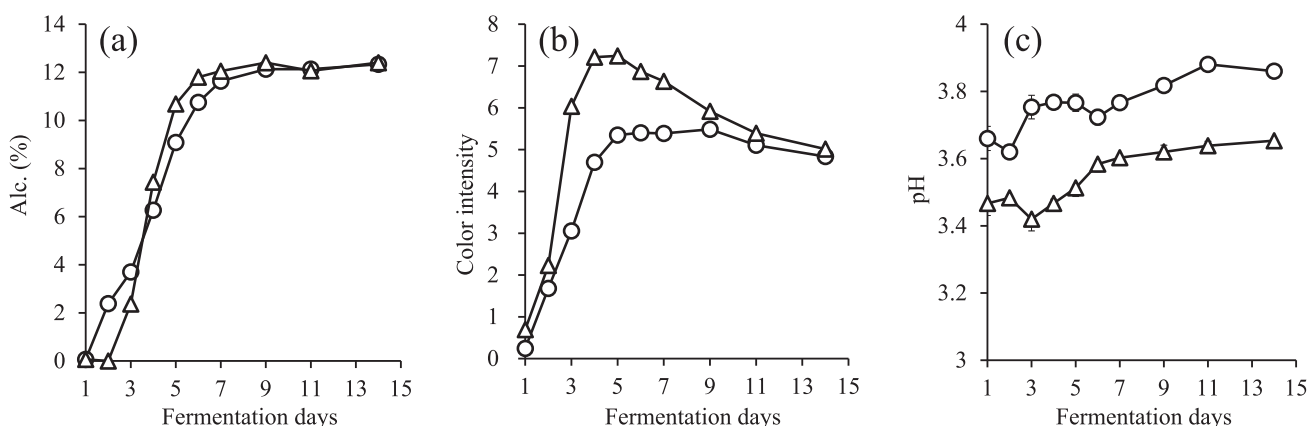


Fig. 1 Changes in (a) alcohol concentrations, (b) color intensity and (c) pH during fermentation of CS and MBA wines. CS, circles; MBA, triangles. Bars show standard deviations (n=3).

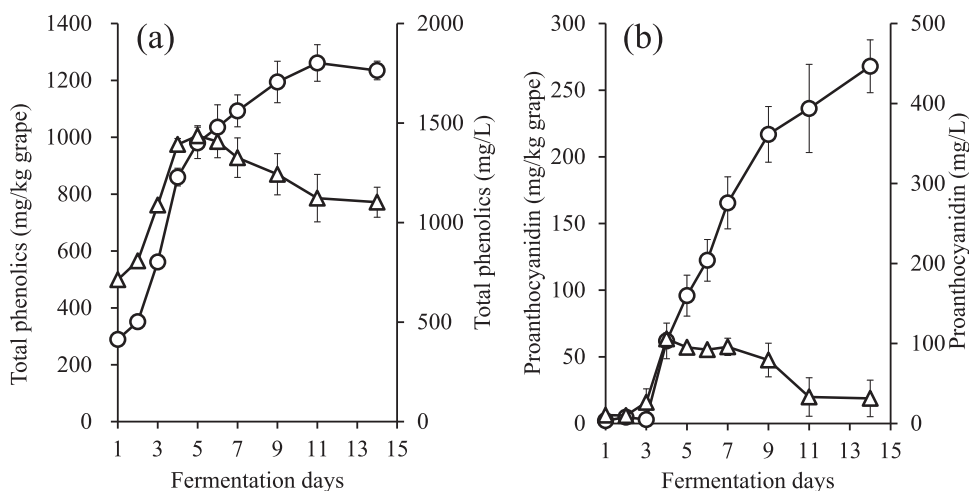


Fig. 2 Changes in (a) TP concentration and (b) PA concentration during fermentation of CS and MBA must. CS, circles; MBA, triangles. Bars indicate standard deviation (n = 3).

率になると推定されたが、正確な液体の量を算出することは困難であるため、本実験では圧搾率は一定として算出した。CSのTP濃度は、アルコール発酵とともに上昇し続けたが、一方MBAのTP濃度はあるころ発酵5日目までピークに減少し、Okuda et al. (2014)と同様の結果が得られた。また、最大のTP濃度はそれぞれCSで1802 mg/L, MBAで1436 mg/Lであった。PA濃度に関しては、CSではTP濃度と同様、発酵期間中上昇し続け447 mg/Lであった。MBAでもTP濃度同様アルコール発酵開始後4日目で最大濃度106 mg/Lに達した後、減少傾向が認められ31 mg/Lまで減少した。この結果はMBAワインには種子由来のPAが含まれていないことや、両品種において果皮由来のタンニンが発酵後期に減少すること (Okuda et al. 2014) が大きく関与していると考えられた。

さらに、醸造期間中における果皮に含まれるTP, PA量の推移をFig. 3 (a) およびFig. 3 (b) に示した。1 kgのブドウの果皮に含まれるフェノール化合物量を算出するため、同じロットのブドウの果皮を手で分離し、得られた果皮量がマスト中に存在するとして図の左側に果皮中に存在するフェノール化合物量として表示した。なお、発酵の経過とともに、果皮も徐々に分解され少なくなることが考えられるが、マスト中の正確な果皮量を定量することが困難であるため、果皮量に大きな変化はないと仮定し

て、14日目までの果皮に存在するフェノール化合物量を算出した。CS果皮中のTP量は、発酵開始から3～9日目まで減少したが、その後増加した。また、PA量の推移でも同様の推移が見られた。よってCSでは、フェノール化合物のなかでも、PAが果皮に再吸着したことが示唆された。本実験によりアルコール発酵が終了した果皮には発酵前の半分程度のTPまたはPAが残存することが明らかになった。CSでは1 kgのブドウ中のTP量は、1日目では300 mg程度、同じ時期の果皮中に800 mg程度含まれるため、果汁と果皮の合計として1100 mg程度のTPが含まれることになった。一方、14日目の液体部分のTP量が1 kgのブドウあたり1200 mg程度あり、同時期の果皮では540 mgであり14日目の合計は1700 mg以上となった。すなわちこれらの差になる500 mg相当のTPが種子などから抽出されたことが考えられた。果皮中のTPが増加する時期は種子由来のタンニンが増加する時期であり (Okuda et al. 2014)、種子由来のタンニンなどがマスト中の果皮に再吸着することが示唆された。一方、果皮由来フェノール化合物が果皮に吸着している可能性も考えられた。MBA果皮のTP量は発酵開始から6日目まで急激に減少し、その後は緩やかに増加した。本結果から、MBAでもアルコール発酵終了後の果皮には発酵初期の1/3程度のTPが残存することが明らかになった。発酵初期の1 kgのブドウの液体部分に含まれるTP量は550

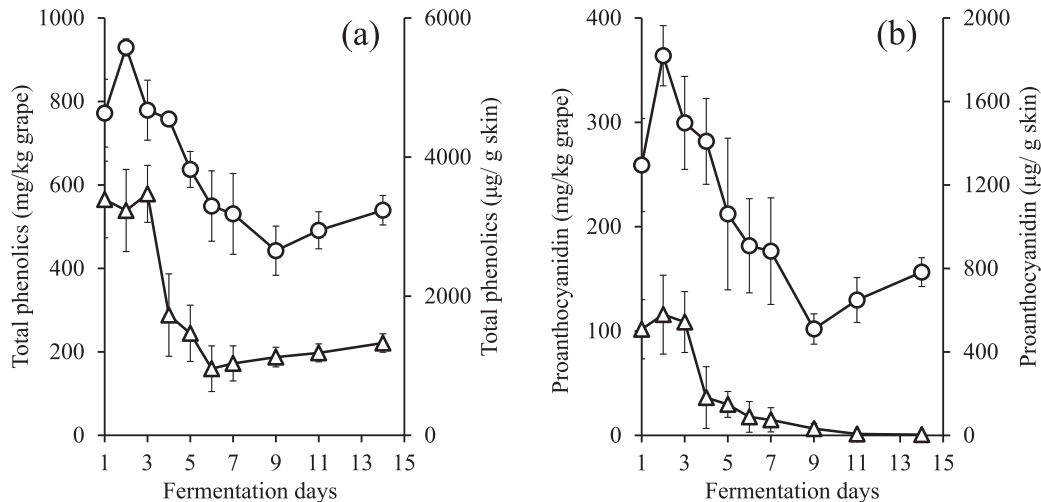


Fig. 3 Changes in (a) TP concentration and (b) PA concentration during fermentation of CS and MBA skins. CS, circles; MBA, triangles. Bars indicate standard deviation (n = 3).

mg 程度で、同時期の果皮に含まれる TP 量は 570 mg 程度であり、発酵初期には液体と果皮に 1120 mg 程度の TP が含まれた。一方 14 日目ではこれらの合計は 1000 mg 程度であり種子からの TP の溶出が少ないことが示唆された。PA 量は発酵 3 日目から減少しはじめ、11 日目で果皮中の PA はほとんどなくなった。よって MBA では一度マストに抽出された PA 以外のフェノール化合物が果皮に再吸着したことが考えられた。これらの結果は、果皮の細胞壁物質はマストに抽出されたフェノール化合物の中でも、より選択的に PA を吸着することを示した。一方 MBA ではマストに抽出される PA が少ないので、PA 以外の

フェノール化合物が果皮に再吸着し、結果的にフェノール量の少ない赤ワインとなる可能性が示唆された。

3. 醸造中におけるマスト液体部分および果皮中のアントシアニン量の推移

マスト液体部分に含まれる全アントシアニン量は、CS, MBA 両品種において発酵開始後 6 日目まで増加し、最大濃度に達した後減少した [Fig. 4 (a), Fig. 4 (b)]. また、果皮中の全アントシアニン量は、発酵開始後 5 日目まで急激に減少した後は平衡状態のまま推移した [Fig. 5 (a), Fig. 5 (b)].

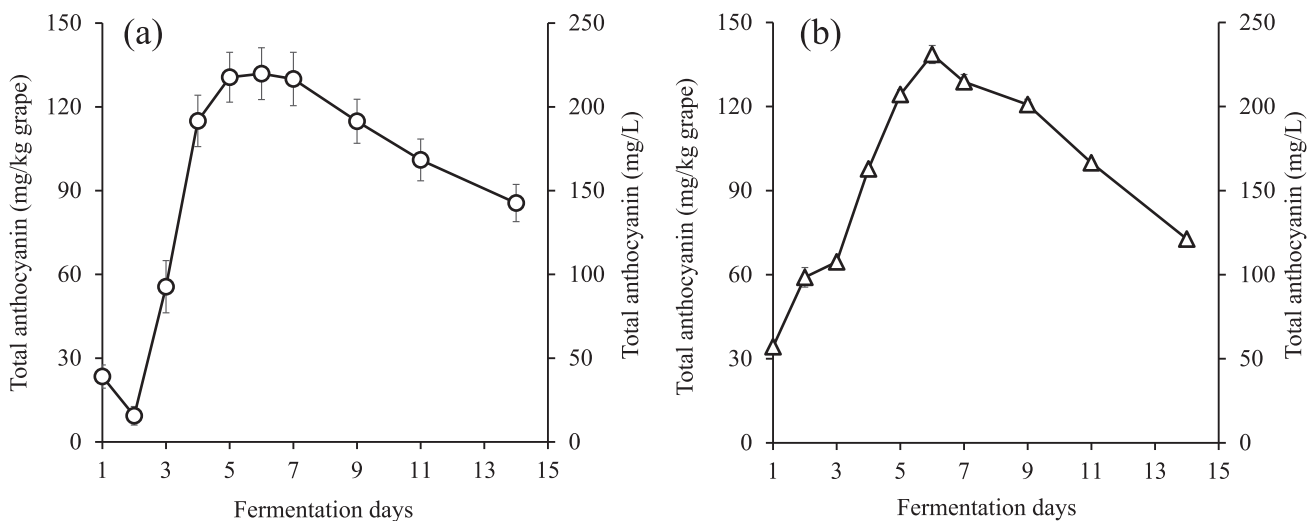


Fig. 4 Changes in total anthocyanin concentration during fermentation of (a) CS and (b) MBA must. Bars indicate standard deviation (n = 3).

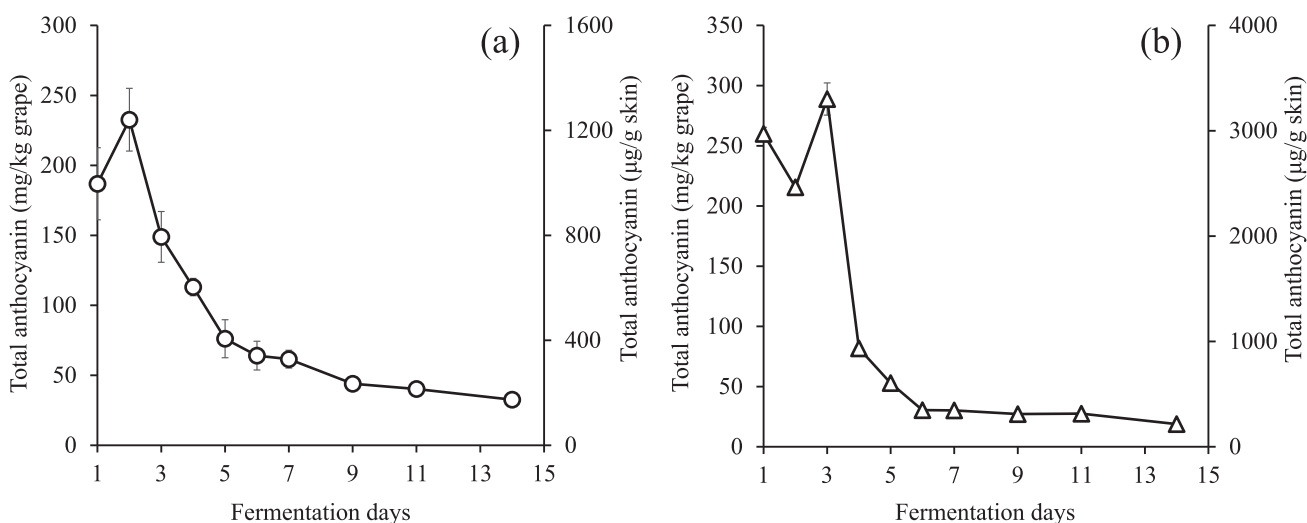


Fig. 5 Changes in total anthocyanin concentration during fermentation of (a) CS and (b) MBA skins. Bars indicate standard deviation (n = 3).

さらに疎水性の異なるアントシアニン類でかつ全体のアントシアニン量に対する比率が高かった3種 [CS; Cyanidin-3-glucoside (Cy-3-glc), Malvidin-3-glucoside (Mv-3-glc), Malvidin-3-acetyl glucoside (Mv-3-

Acglc), MBA; Peonidin-3-glucoside (Pn-3-glc), Mv-3-glc, Malvidin-3-(6-*p*-coumaroyl)-glucoside-5-glucoside (Mv-3-(6-*p*-coumaroyl)-glc-5-glc)] の発酵中のマストおよび果皮中での推移を Fig. 6 および Fig. 7 に示した。疎水性

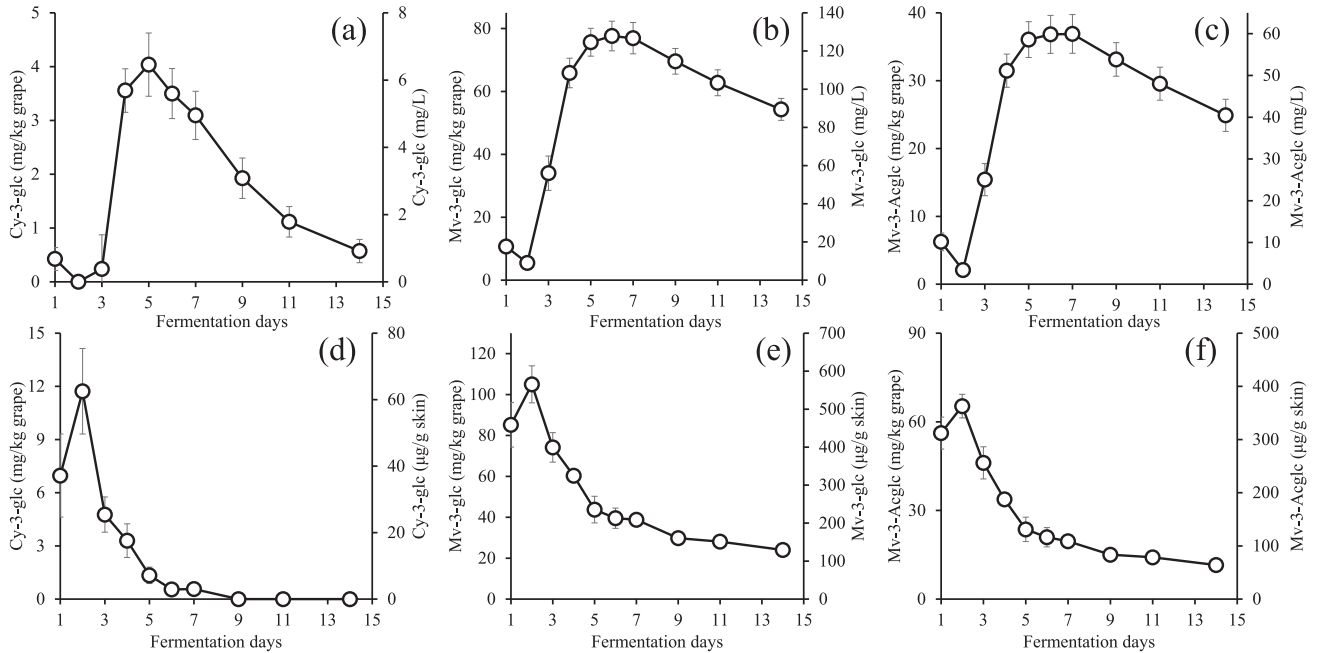


Fig. 6 Changes in concentration of three types of anthocyanin during fermentation of CS must (a, b, c) and CS skin (d, e, f). Bars show standard deviations (n=3).

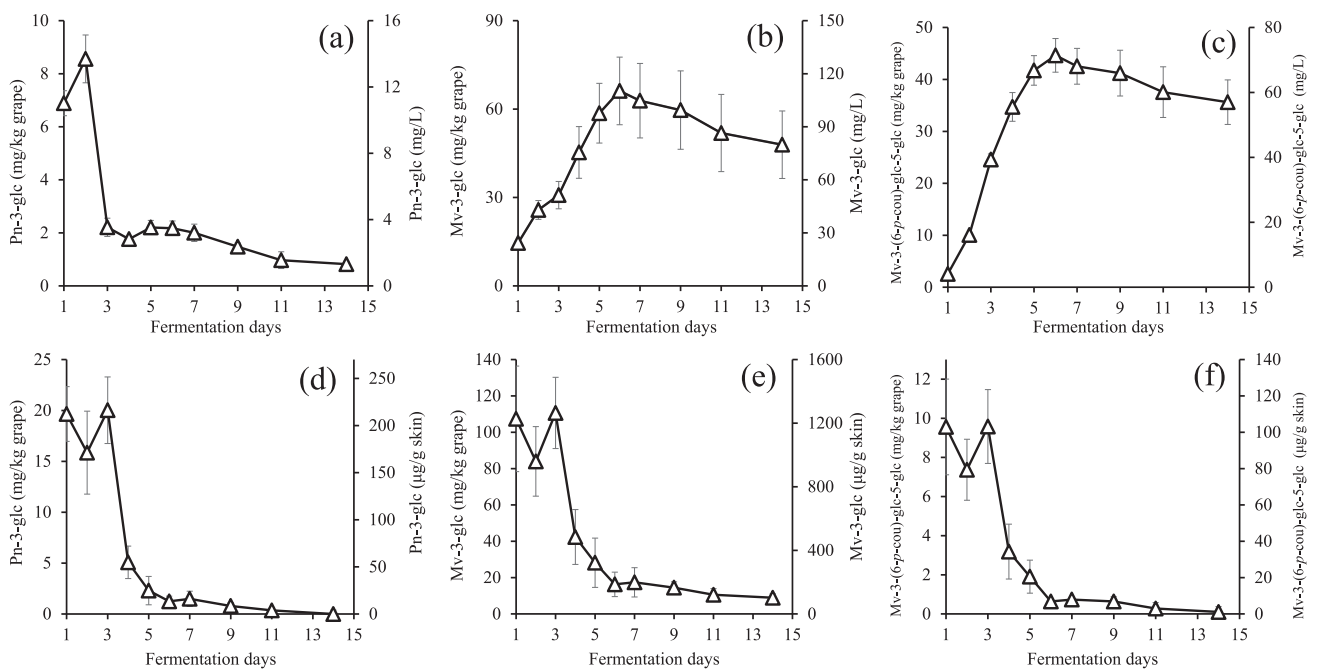


Fig. 7 Changes in concentration of three types of anthocyanin during fermentation of MBA must (a, b, c) and MBA skin (d, e, f). Bars show standard deviations (n=3).

の低いCy-3-glcやPn-3-glcなどのアントシアニンは、発酵初期にマストへ抽出され、その後大きく減少した [Fig. 6 (a), Fig. 7 (a)]. Cy-3-glcおよびPn-3-glcよりも疎水性が高いアントシアニンとして、Mv-3-glcが存在する。Mv-3-glcはCSおよびMBAワイン中に最も多く含まれるアントシアニン類であることが知られている (Ryan and Revilla 2003, Koyama et al. 2017). CSおよびMBA両品種におけるMv-3-glcは発酵開始から一週間ほどかけて抽出され、その後CSで39%, MBAで52%減少した。果皮からも同様に抽出され、その後平衡状態となった [Fig. 6 (b) (e), Fig. 7 (b) (e)]. また、疎水性の高いMv-3-AcglcおよびMv-3-(6-*p*-coumaroyl)-glc-5-glcは発酵初期の抽出でMv-3-glcと同様の挙動を示したが、マストへ抽出された後の減少率が低く、それぞれCSで22%, MBAで15%であった。このことから、疎水性の低いアントシアニン類は容易に抽出されやすく、疎水性の高いものは少し遅れて発酵中期にかけて抽出される傾向にあることが示唆された。しかし発酵中の果皮に含まれるアントシアニン量は品種や組成に関係なく、発酵開始から一週間ほどで抽出され、その後変化は観察されなかった。よって発酵期間中に抽出されたPAは果皮に再吸着したが、アントシアニン類は再吸着が起こらなかったことが示唆された。また、ブドウ1 kgあたりのアントシアニン量において、マストのアントシアニン量が果皮に比べて少なかった (Fig. 6, Fig. 7)。その要因として、pH上昇による無色化やコピグメンテーション、種子PAによる色素安定化 (Sparrow et al. 2015) に加え、発酵中にブドウや酵母由来の多糖類やタンパク質と結合し安定化しており、従来の分析方法では検出できない形でワイン中に存在している可能性が考えられた。

以上の結果より、一度果皮から抽出されたフェノール化合物、特にPAは果皮に再吸着し、ワインのフェノール化合物濃度を低下させている可能性があることが示唆された。また本結果は、モデル系実験において果皮由来の細胞壁物質にPAが吸着することを示した先行研究結果を支持した (Inoue et al. 2019)。アントシアニンに関しては、疎水性の低いものほど発酵初期に抽出され、その後マストからも消失する。一方疎水性の高いアントシアニンは、抽出された後もマスト中に残存することが明らかになっ

た。しかし、一度抽出されたアントシアニンは果皮に再吸着せず、無色化や安定化などの影響を大きく受けたと推測された。

本研究では醸造中のマスト液体部分および果皮中のフェノール化合物の抽出挙動を調べ、果皮からどのようにフェノール化合物が抽出され、一部は再吸着することを明らかにした。また、赤ワイン醸造において圧搾時の果皮には相当量のTPやPAが存在し、その量が発酵中に増加することが明らかになった。従って、液体であるワイン中のフェノール化合物濃度を高める目的では、果皮中のフェノール化合物が最低となる時期に圧搾することが、再吸着を防止する上で、最良であると考えられた。今回の結果では、CSでは9日目、MBAでは6日目で圧搾することが適当であったと考えられた。しかし、種子や果肉にも吸着は起こりうるため、これらを含めた実験が必要である。さらに、高品質な赤ワインを醸造するという観点では、フェノール化合物濃度のみが指標となるわけではなく、マセレーションの期間やパンチダウン、ポンピングオーバーなど果帽の処理方法やその強さも大きな影響を与えることが考えられた。また、ワインになってからの長期的な色調の安定性などを考慮した果皮、種子、果肉などの重要性について報告されており (Sparrow et al. 2015)、抽出や吸着の現象を追う以外にもさらに多くの実験が必要である。今後、赤ワイン醸造のためのさらなるフェノール化合物抽出機構が明らかになることが期待される。

要 約

赤ワイン醸造で果皮に含まれるフェノール化合物の抽出機構を調べるために、マスト液体部分と果皮両方に含まれるタンニンおよびアントシアニンを定量した。マスト中のフェノール化合物の一部は、一度抽出されたあと果皮に再吸着し、ワインのフェノール化合物濃度を低下させている可能性が示唆された。一方、アントシアニンはマストへ抽出された後、疎水性の違いによって残存率が変化した。果皮への再吸着は認められなかった。また、CSでは発酵9日目、MBAでは6日目にそれぞれ果皮中のフェノール化合物量が最低となることが明らかになり、果皮中のフェノール化合物濃度が最低となるタイミ

ングで圧搾を行うことによって、ワイン中のフェノール化合物濃度を高められる可能性が示唆された。

文 献

- Bindon KA, Smith PA, Holt H and Kennedy JA. 2010. Interaction between grape-derived proanthocyanidins and cell wall material. 2. Implications for vinification. *J Agric Food Chem* **58**: 10736–10746.
- Bindon KA, Bacic A and Kennedy JA. 2012. Tissue-specific and developmental modifications of grape cell walls influence the adsorption of proanthocyanidins. *J Agric Food Chem* **60**: 9249–9260.
- Boulton R. 2001. The copigmentation of anthocyanins and its role in the color of red wine: A critical review. *Am J Enol Vitic* **52**: 67–87.
- Castaneda-Ovando A, de Lourdes Pacheco-Hernández M, Páez-Hernández ME, Rodríguez JA and Galán-Vidal CA. 2009. Chemical studies of anthocyanins: A review. *Food Chem* **113**(4): 859–871.
- Garrido-Bañuelos G, Buica A, Schückel J, Zietsman AJ, Willats WG, Moore JP and Du Toit WJ. 2019. Investigating the relationship between grape cell wall polysaccharide composition and the extractability of phenolic compounds into Shiraz wines. Part I: Vintage and ripeness effects. *Food Chem* **278**: 36–46.
- Harbertson JF, Kennedy JA and Adams DO. 2002. Tannin in skins and seeds of Cabernet Sauvignon, Syrah, and Pinot noir berries during ripening. *Am J Enol Vitic* **53**: 54–59.
- Harbertson JF, Hodgins RE, Thurston LN, Schaffer LJ, Reid MS, Landon JL, Ross CF and Adams DO. 2008. Variability of tannin concentration in red wines. *Am J Enol Vitic* **59**: 210–214.
- Ichikawa M, Ono K, Hisamoto M, Matsudo T and Okuda T. 2011. Concentrations of BSA-binding proanthocyanidins in red wines produced in Japan. *Food Sci Technol Res* **17**: 335–339.
- Inoue E, Kobayashi H, Hoshino R, Hisamoto M, Watanabe-Saito F and Okuda T. 2019. Adsorption properties of grape phenolics to grape insoluble cell wall materials. *Food Sci Technol Res* **25**(6): 863–869.
- Jackson RS. 2014. Wine science: principles and applications. Academic Press, Massachusetts.
- Kassara S and Kennedy JA. 2011. Relationship between red wine grade and phenolics. 2. Tannin composition and size. *J Agric Food Chem* **59**: 8409–8412.
- Mori K, Sugaya S and Gemma H. 2005. Decreased anthocyanin biosynthesis in grape berries grown under elevated night temperature condition. *Sci Hort* **105**(3): 319–330.
- Okuda T, Furuya S, Inoue E, Chikada Y, Ichikawa M, Saito F and Hisamoto M. 2014. Extraction of proanthocyanidins during fermentation of Muscat Bailey A and Cabernet Sauvignon wines. *J ASEV Jpn* **25**: 90–96.
- Padayachee A, Netzel G, Netzel M, Day L, Zabarar D, Mikkelsen D and Gidley MJ. 2012. Binding of polyphenols to plant cell wall analogues-Part 1: Anthocyanins. *Food Chem* **134**: 155–161.
- Ribéreau-Gayon P, Glories Y, Maujean A and Dubourdieu D. 2006. Handbook of Enology Volume 2: The Chemistry of Wine Stabilization and Treatments 2nd Edition. John Wiley & Sons, Chichester.
- Sacchi KL, Bisson LF and Adams DO. 2005. A review of the effect of winemaking techniques on phenolic extraction in red wines. *Am J Enol Vitic* **56**(3): 197–206.
- Sampaio TL, Kennedy JA and Vasconcelos MC. 2007. Use of microscale fermentations in grape and wine research. *Am J Enol Vitic* **58**(4): 534–539.
- Singleton VL and Rossi JA. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am J Enol Vitic* **16**: 144–158.
- Sparrow AM, Damberg RG, Bindon KA, Smith PA and Close DC. 2015. Interactions of grape skin, seed, and pulp on tannin and anthocyanin extraction in Pinot noir wines. *Am J Enol Vitic* **66**(4): 472–481.
- Springer LF and Sacks GL. 2014. Protein-precipitable tannin in wines from *Vitis vinifera* and interspecific hybrid grapes (*Vitis* spp.): Differences in concentration, extractability, and cell wall binding. *J Agric Food Chem* **62** (30): 7515–7523.