

## [研究報文]

## ワインの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

奥田 徹、福井正一、高柳 勉、横塚弘毅、  
山梨大学ワイン科学研究センター（〒400 - 0005 甲府市北新1丁目 13-1）

Effects of Heat-Cold Treatment and Bentonite Fining of Wines Produced from Five Grape Cultivars on Contents of Proteins and Acidic and Neutral Polysaccharides

Tohru OKUDA, Masakazu FUKUI, Tsutomu TAKAYANAGI, and Koki YOKOTSUKA

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

Appreciable amounts of acidic and neutral polysaccharides as well as proteins were removed from wines produced from five cultivars of grape grown in Kofu by bentonite fining (0.1% addition). However, the removal rate by bentonite fining of the polysaccharides was lower than that of the proteins, indicating that the polysaccharides were more stable than the proteins. Depending on the cultivar, even the wines after bentonite fining showed significant turbidity after heat-cold treatment (HCT). When wines were subjected to HCT followed by bentonite fining or vice versa, there was no statistically significant difference in the contents of proteins and polysaccharides due to the order of the two treatments. Analyses of the protein fractions obtained from wines by ammonium sulfate precipitation followed by dialysis revealed that appreciable amounts of acidic and neutral polysaccharides were present in the fractions. Thus it was surmised that complexes between proteins and polysaccharides were formed at various extents during winemaking, with some complexes precipitating and others remaining soluble.

**Key words:** polysaccharides, fining, proteins, acidic polysaccharides, neutral polysaccharides, bentonite, heat treatment

## 緒 論

ワインの不安定性に関わる主要な成分として、酒石酸塩（重酒石酸カリウム、酒石酸カルシウムなど）、タンパク質、多糖、タンニン、鉄や銅のような金属が知られている。それゆえ、清澄化処理はワインの安定化に欠かすことができないプロセスであるが、過剰な処理は、ワインの酸味や厚みあるいはコクの減少を起し、ワインの品質を劣化させかねない。今日、金属に起因するワインの不安定性はステンレススチール製醸造器具の導入によりほとんどなくなり、また酒石酸塩によるそれはワインの冷却処理によって著しく軽減された。

タンパク質は、ワインの混濁を起こす主要成分の一つであり (15)、加熱混濁テストで必要とみなされれば、主としてベントナイト処理によって除去されてきた (16)。前報では、ワイン（赤ワイン中でさえ）には加熱冷却やベントナイト処理後でも安定に存在するタンパク質が存在し (18)、これはプロシアニジンに由来する苦渋味を緩和する働きがあることを見

出した (6)。一方、高分子タンニン（タンニン）は、ワインに苦渋味を与える第一の成分であるが、鉄イオン ( $\text{Fe}^{3+}$ ) やタンパク質と結合して混濁や沈殿を与える。したがって、過剰なタンニンはゼラチンやPVPP（ポリビニルポリピロリドン）などの清澄化剤で除去されている。しかし、過度なタンニン除去は、ワインの品質、特に色調の変化や呈味（苦渋味）の淡白化や厚みの減少につながりかねない。多糖成分は、タンニンやタンパク質とともに、ワインに混濁を与える成分である一方、厚みやコク、また柔らかさを与え (8)、さらに混濁を保護する重要な成分（保護コロイド物質）の一つとして考えられており、過剰な加熱処理やベントナイト処理は、タンパク質を除去する一方で、保護コロイド物質と考えられている多糖成分をも除去する可能性がある (14)。しかし、ワインタンパク質に対する加熱冷却処理やベントナイト処理の影響に関する報告に比べて、多糖成分に及ぼす影響に関する研究は少ない。

そこで、本論文では、ワインに対して通常行われる安定化処理、すなわち、加熱、冷却、ベントナイ

ト処理がワインのタンパク質と多糖含量に及ぼす影響について研究した。

## 材料と方法

### 1. ワイン

1990、1995、1996、1999、及び 2000 年に山梨大学ワイン科学研究センターで収穫した 5 種のブドウ(甲州、セミヨン、シャルドネ、マスカット・ベリーA、カベルネ・ソービニオン)より常法に従って製造した 3 種の白テーブルワインと 2 種の赤テーブルワインを用いた。ワインは製造後、1.8-L ボトル中に 15℃で保存し、使用直前にメンブランフィルター(0.45 μm、アドバンテック東洋)で濾過した。

1990、1995、及び 1999 年産ワインは 2000 年 9 月～12 月に、2000 年産ワインは 2002 年 4 月に、1996 年産ワインは発酵終了後約 1 ヶ月後に各種分析及び処理を行った。

### 2. 加熱冷却

ワイン 200 mL を 300 mL-容三角フラスコに入れ、発酵栓を付けてオイルバス中で 80℃で 6 時間加熱した。自然冷却後 4℃で 17 時間冷却した(12)。加熱後及び冷却後にワインの濁度をコロナ濁度計(コロナ、UT-11 型)を用いて測定した。カオリン 1 mg/L によって生じる濁度を 1 unit として示した(17)。濁度を測定したワインをメンブランフィルターで濾過し、次の分析に用いた。

### 3. ベントナイト処理

ベントナイト濃度が 0.1% (w/v) になるように、5% (w/v) ベントナイト(BEN-GEL<sup>®</sup>, 株式会社ホーゲン、群馬)懸濁液をワインに加え、2 時間攪拌した後、4℃で 12 時間放置した。処理後のワインを 9200×g、20 分間遠心し、上清を得た。この操作を 2 回繰り返した。

### 4. ワインの硫酸塩析

ワインを 0.45 μm のメンブランフィルターで濾過し、濾液 3.6L を約 10 倍に減圧濃縮した。濃縮液に 60% 飽和(390 g/L)になるように硫酸を添加し、攪拌して溶解後、4℃で一夜静置した。これを遠心分離(18400×g、4℃、20 分間)し、得られた沈殿に約 10 倍量の蒸留水を加え、ガラスホモジェナイザーを用いてホモジェナイズした。ホモジェネイトを同上的ように遠心分離後、得られた沈殿に蒸留水を加

えて同様な操作を計 3 回行った。3 回の上清を合わせて透析膜に入れ、約 100 倍量の脱イオン水に対して 4℃で 3 日間、3 回水を換えて透析した。透析内液を凍結乾燥してタンパク質画分とした。

### 5. タンパク質、酸性多糖、中性多糖の定量

加熱冷却、ベントナイト処理、及び加熱冷却後ベントナイト処理あるいはベントナイト処理後加熱冷却したワイン(いずれも濾過あるいは遠心分離によって清澄化後)を透析膜(透過分子量、約 14,000、Viskase Companies, Inc.、三光純薬)を用い、20 倍量の水に対して 3 回、3 日間、4℃で透析した。透析膜は沸騰させた脱イオン水中に 30 分間浸漬してから使用した。

透析後のワイン中に含まれる全窒素、中性多糖、及び酸性多糖量は、それぞれマイクロケルダール法(7)、フェノール-硫酸法(4)、カルバゾール-硫酸法(1)で定量し、中性糖はグルコース換算で、また酸性糖はガラクトロン酸換算で示した。タンパク質量は全窒素量×6.25 で求めた。

### 6. 統計処理

同じ製造年度の同一品種のワイン 2 ボトルを用いて分析し、値は平均値で示した。すべてのデータは、エクセル統計を用いて統計分析(分散分析と t 検定)を行った。有意水準は  $p \leq 0.01$  あるいは  $p \leq 0.05$  とした。最小有意差検定(Fisher's LSD)は分散分析あるいは t 検定の結果に基づいて行った。

## 結果及び考察

### ワインのタンパク質、酸性多糖及び中性多糖含量

1990、1995、及び 1999 年の 3 ヶ年に製造した 3 種の白テーブルワインと 2 種の赤テーブルワインのタンパク質量、酸性及び中性多糖含量を Table 1 に示した。5 種の(無処理)ワインの中で、セミヨン白ワイン(平均 91.7 mg/L)のタンパク質含量が最も高く、一方甲州ワイン(29.6 mg/L)が最も少なかった。また、白ワインに比べてフェノール含量の多い赤ワイン、マスカット・ベリーA(47.2 mg/L)とカベルネ・ソービニオン(47.7 mg/L)にも白ワインと同程度の濃度で可溶性タンパク質が存在した。

タンパク質含量が 40 mg/L 以下のワインは、加熱・冷却によって統計学的に有意な減少を示さなかったが、加熱冷却とベントナイト処理の両方を行うと全

Table 1. Contents of proteins and acidic and neutral polysaccharides in three white and two red wines produced in 1990, 1995, and 1999 by conventional methods after heat-cold treatment (HCT) and HCT followed by bentonite fining.

Variety	Year produced	Treatment	Protein	Acidic polysaccharide <sup>3</sup> (mg/L)	Neutral polysaccharide <sup>4</sup>
Koshu	1990	No treatment	31.0 <sup>a</sup>	45.4 <sup>a</sup>	176 <sup>a</sup>
		+ HCT <sup>1</sup>	28.9 <sup>a</sup>	47.8 <sup>a</sup>	156 <sup>a</sup>
		+ Bentonite <sup>2</sup> + HCT	19.6 <sup>b</sup>	26.8 <sup>b</sup>	154 <sup>a</sup>
	1995	No treatment	26.7 <sup>a</sup>	25.0 <sup>a</sup>	168 <sup>a</sup>
		+ HCT	25.2 <sup>a</sup>	25.1 <sup>a</sup>	159 <sup>ab</sup>
		+ HCT + Bentonite	12.9 <sup>b</sup>	19.6 <sup>b</sup>	157 <sup>b</sup>
	1999	No treatment	31.1 <sup>a</sup>	39.0 <sup>a</sup>	181 <sup>a</sup>
		+ HCT	29.5 <sup>a</sup>	37.6 <sup>a</sup>	147 <sup>a</sup>
		+ HCT + Bentonite	12.0 <sup>b</sup>	30.5 <sup>b</sup>	145 <sup>a</sup>
Chardonnay	1990	No treatment	44.6 <sup>a</sup>	30.9 <sup>a</sup>	178 <sup>a</sup>
		+ HCT	41.8 <sup>a</sup>	28.7 <sup>a</sup>	153 <sup>ab</sup>
		+ HCT + Bentonite	15.0 <sup>b</sup>	16.6 <sup>b</sup>	146 <sup>b</sup>
	1995	No treatment	42.0 <sup>a</sup>	26.3 <sup>a</sup>	162 <sup>a</sup>
		+ HCT	27.1 <sup>b</sup>	18.8 <sup>ab</sup>	157 <sup>a</sup>
		+ HCT + Bentonite	5.6 <sup>c</sup>	12.0 <sup>b</sup>	144 <sup>b</sup>
	1999	No treatment	54.2 <sup>a</sup>	28.4 <sup>a</sup>	151 <sup>ac</sup>
		+ HCT	25.4 <sup>b</sup>	18.3 <sup>b</sup>	143 <sup>b</sup>
		+ HCT + Bentonite	10.0 <sup>c</sup>	12.5 <sup>c</sup>	150 <sup>c</sup>
Semillon	1990	No treatment	119.8 <sup>a</sup>	49.6 <sup>a</sup>	157 <sup>a</sup>
		+ HCT	71.6 <sup>b</sup>	36.3 <sup>b</sup>	143 <sup>b</sup>
		+ HCT + Bentonite	36.0 <sup>c</sup>	28.3 <sup>c</sup>	40 <sup>c</sup>
	1995	No treatment	78.9 <sup>a</sup>	54.8 <sup>a</sup>	164 <sup>a</sup>
		+ HCT	48.7 <sup>b</sup>	36.6 <sup>b</sup>	147 <sup>a</sup>
		+ HCT + Bentonite	31.3 <sup>c</sup>	16.6 <sup>c</sup>	19 <sup>b</sup>
	1999	No treatment	76.4 <sup>a</sup>	54.3 <sup>a</sup>	166 <sup>a</sup>
		+ HCT	41.2 <sup>b</sup>	36.3 <sup>ab</sup>	141 <sup>b</sup>
		+ HCT + Bentonite	22.4 <sup>c</sup>	27.5 <sup>b</sup>	16 <sup>c</sup>
Muscat Bailey A	1990	No treatment	50.8 <sup>a</sup>	173 <sup>a</sup>	199 <sup>a</sup>
		+ HCT	27.1 <sup>b</sup>	167 <sup>a</sup>	166 <sup>b</sup>
		+ HCT + Bentonite	16.1 <sup>c</sup>	152 <sup>a</sup>	153 <sup>b</sup>
	1995	No treatment	51.3 <sup>a</sup>	249 <sup>a</sup>	235 <sup>a</sup>
		+ HCT	24.4 <sup>b</sup>	242 <sup>a</sup>	214 <sup>a</sup>
		+ HCT + Bentonite	20.5 <sup>c</sup>	206 <sup>b</sup>	215 <sup>a</sup>
	1999	No treatment	39.5 <sup>a</sup>	212 <sup>a</sup>	212 <sup>a</sup>
		+ HCT	33.1 <sup>a</sup>	196 <sup>a</sup>	191 <sup>a</sup>
		+ HCT + Bentonite	11.6 <sup>b</sup>	201 <sup>a</sup>	189 <sup>a</sup>
Cabernet Sauvignon	1990	No treatment	50.4 <sup>a</sup>	301 <sup>a</sup>	239 <sup>a</sup>
		+ HCT	35.4 <sup>b</sup>	263 <sup>a</sup>	231 <sup>a</sup>
		+ HCT + Bentonite	21.6 <sup>c</sup>	252 <sup>a</sup>	229 <sup>a</sup>
	1995	No treatment	46.1 <sup>a</sup>	356 <sup>a</sup>	269 <sup>a</sup>
		+ HCT	29.0 <sup>b</sup>	247 <sup>ab</sup>	237 <sup>a</sup>
		+ HCT + Bentonite	17.9 <sup>c</sup>	263 <sup>b</sup>	228 <sup>a</sup>
	1999	No treatment	46.5 <sup>a</sup>	302 <sup>a</sup>	282 <sup>a</sup>
		+ HCT	26.9 <sup>b</sup>	271 <sup>a</sup>	257 <sup>b</sup>
		+ HCT + Bentonite	20.2 <sup>c</sup>	208 <sup>b</sup>	210 <sup>c</sup>

<sup>1</sup> Heating at 80°C for six hours followed by cooling at 4°C for 17 hours.

<sup>2</sup> Bentonite fining (1 g/L) was done twice.

<sup>3</sup> Acidic polysaccharide was showed as galacturonic acid equivalent.

<sup>4</sup> Neutral polysaccharide was showed as glucose equivalent.

The superscripted letters a - c indicate significant differences ( $p < 0.05$ ). There is no significant difference between samples with the same letter.

性について十分な検討をするために、市販ワインの清澄化に一般的に用いられている条件よりも強い条件とした。それにもかかわらず、加熱冷却及びベントナイト処理後に5種のワインには、5.6~36.0 mg/L ( $n = 15$ , 平均 18.2 mg/L) のタンパク質が残存した。従ってこの強化試験条件で残存する可溶性分子は、非常に安定にワイン中に存在する化合物であると考えられる。

ワインの酸性多糖は主としてガラクトuron酸のポリマーであるペクチンであり、主要な画分としてラムノガラクトラン、アラビノガラクトン、及びアラバンが知られている(2, 3, 11)。一方、中性多糖として、酵母による分泌あるいは自己融解に由来するマンナン、乳酸菌によるβ-グルカンの分泌が知られている(5, 9, 10, 11)。これらの多糖のなかには、糖タンパク質として取り扱われるものもあるが、本実験では、ケルダール窒素分解法、カルバゾール-硫酸法、及びフェノール-硫酸法によって検出定量できる高分子成分(透析によって透析膜内に残る物質)を、それぞれタンパク質、酸性多糖、中性多糖とした。

3年間に製造した5種ワインの酸性及び中性多糖の平均含有量は、それぞれ甲州で36.5と175 mg/L(合計 212 mg/L)、シャルドネで28.5と164 mg/L(193 mg/L)、セミヨンで52.9と162 mg/L(215 mg/L)、マスカット・ベリーAで211と215 mg/L(426

mg/L)、カベルネ・ソービニオンで320と263 mg/L(583 mg/L)であった。Usseglio-Tomasset (13) によ

てのワインでタンパク質量の減少が見られた。本実験での加熱冷却及びベントナイト処理条件は、安定

ればワインの多糖含量は 300~1000 mg/L の範囲にある。ここで得られたワインの多糖（酸性+中性）含量は 193 mg/L（シャルドネ）~583 mg/L（カベルネ・ソービニオン）で、かれらの分析値よりもかなり少なかった。3 種の白ワインのいずれにおいても、酸性多糖（n = 9、25.0~54.8 mg/L、平均 39.3 mg/L）より中性多糖（n = 9、151~181 mg/L、平均 167 mg/L）が多く、一方、赤ワインでは、酸性多糖（n = 6、173~356 mg/L、平均 266 mg/L）と中性多糖（n = 6、199~282 mg/L、平均 239 mg/L）含量に大きな差異はなかった。白ワインに酸性多糖量が少ないのは、醸し発酵が行われないので果皮ペクチンのワインへの移行が少ないことに起因していると考えられる。

酸性多糖含量に関して、1990 年産及び 1995 年産セミヨンワインと 1999 年産シャルドネワインを除いて、無処理ワインと加熱冷却ワインとの間に（統計学的に）有意な差はなかったが、加熱冷却ワインとベントナイト処理ワインの間には、分析した 15 点のワインのうち 9 点に差があり、残りの 6 点には差がなかった。一方、中性多糖含量に関して、15 点のワインのうち 5 点で無処理ワインと加熱冷却ワインとの間に差があり、10 点は差がなかったが、加熱冷却ワインとベントナイト処理ワインの間には、6 点に差があり、9 点に差がなかった。セミヨンワインでは加熱冷却+ベントナイト処理により大きな中性糖量の減少が見られた。今回実験に使用したセミヨンワインは、アルコール濃度、滴定酸度、pH、揮発酸濃度、遊離・結合亜硫酸濃度、フェノール濃度等において、他品種の試料と差異は認められなかった。セミヨンワインの加熱冷却+ベントナイト処理により中性糖量がどのような原因で減少したのかは不明であり、今後検討する必要があると考える。

#### タンパク質画分中の多糖含量

多糖はコロイド生成を防ぎ (15)、またワインにコクを与える物質と考えられる。Table 1 で示したように、清澄化処理によるタンパク質と多糖の挙動はワインによって異なることが分かった。しかし、いくつかのワインではタンパク質と多糖の量的変化は関連している傾向があった。そこで、加熱冷却やベントナイト処理によって主としてタンパク質の不溶化や沈殿が起こり、一方多糖は本来これらの処理によ

って影響されないが、その一部はタンパク質-多糖複合体（共有結合でない）として不溶化される、という仮説を立てた。

ワインよりタンパク質-多糖複合体を分離するために、本研究では硫酸（60%飽和）塩析法を用いた。中西ら (11) は、甲州ワインの濃縮液を透析し、その内液に硫酸を 80%飽和に加えた後、遠心分離して得られた沈殿の主体はタンパク質で遊離の多糖は含まれず、多糖は遠心上清に 4 倍量のアルコールと食塩（1%）を添加して沈殿させた。この方法によって 1988 年と 1989 年に製造した甲州ワイン中の多糖の 88%および 82%が凍結乾燥物として回収された。多糖画分のタンパク質含量は 0.5%と 0.7%であったので、実験中の損失を加味すると、ほぼ定量的に多糖が回収されたことになる。これらのことから、硫酸塩析によってワインから得られたタンパク質画分中の多糖は（共有結合していない）タンパク質-多糖複合体か、グリコプロテイン（糖タンパク質）か、あるいはプロテオグリカンと考えられた。

1996 年産の 4 種のワインについて、ベントナイト処理、加熱冷却、並びにベントナイト処理に続いて加熱冷却を行った試料から硫酸塩析と透析によって得られたタンパク質画分のタンパク質含量、酸性及び中性多糖含量を測定した (Table 2)。本実験では、分析件数（n = 2）が少なかったので統計処理は行わず、表中の値は 2 つの分析値の平均で示した。

1996 年の甲州白ワインを加熱冷却してもタンパク質、酸性多糖及び中性多糖含量のいずれも処理前とほとんど変らなかったが、ベントナイト処理、あるいはベントナイト処理+加熱冷却によって 3 成分（タンパク質、酸性及び中性多糖）は減少した (Table 2)。それにもかかわらず、加熱冷却によって混濁が生成し、甲州ワインの濁度は、加熱後に 8.5 unit、冷却後に 10.5 units となった（処理前、1.5 unit）。セミヨン白ワイン及びマスカット・ベリーA赤ワインの 3 成分含量は各種処理によって減少する傾向が認められた。これらの 2 つのワイン（セミヨンとマスカット・ベリーA）の加熱後の濁度は、それぞれ 22 と 21 units（処理前それぞれ 1.5 と 1.4 unit）、冷却後の濁度はそれぞれ 29 と 26 units であり、タンパク質と中性糖量の減少との関連が注目される。カベルネ・ソービニオン赤ワインの 3 成分もまた、各種処理によって減

Table 2. Contents of proteins and acidic and neutral polysaccharides in wines after bentonite fining, heat-cold treatment (HCT) and bentonite fining followed by HCT, and in precipitates obtained by addition of ammonium sulfate to the wines.

	Wine <sup>1</sup>				Ammonium sulfate precipitation				
	Protein	Acidic polysaccharide <sup>5</sup> (mg/L)	Neutral polysaccharide <sup>6</sup>	Total	Precipitate obtained by addition of (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (mg/L)	Protein	Acidic polysaccharide (µg/mg precipitate)	Neutral polysaccharide	Total
<b>Koshu wine</b>									
No treatment	16.1 (4.0%) <sup>3</sup>	82.5 (20.7)	300 (75.2)	399 (99.9)					
+ HCT <sup>2</sup>	14.7 (4.0)	79.9 (21.6)	275 (74.3)	370 (99.9)					
+ Bentonite fining <sup>4</sup>	11.9 (3.9)	54.9 (17.8)	242 (78.3)	309 (100)					
+ Bentonite fining + HCT	5.4 (2.8)	47.4 (24.3)	142 (72.8)	195 (99.9)					
<b>Precipitate from wine after treatment(s)</b>									
No treatment					32	53.1 (18.9)	47.2 (16.8)	181 (64.3)	281 (100)
+ HCT					21	33.3 (11.0)	36.5 (12.0)	233 (76.9)	303 (99.9)
+ Bentonite fining			23		21.7 (7.3)	48.3 (16.3)	226 (76.4)	296 (100)	
+ Bentonite fining + HCT					20	21.0 (5.5)	55.0 (14.4)	305 (80.1)	381 (100)
<b>Semillon wine</b>									
No treatment	160 (25.6)	78.0 (12.5)	388 (62.0)	626 (100.1)					
+ HCT	108 (24.6)	72.6 (16.5)	258 (58.8)	439 (99.9)					
+ Bentonite fining	94.6 (24.9)	72.0 (18.9)	213 (56.1)	380 (99.9)					
+ Bentonite fining + HCT	89.0 (26.0)	57.6 (16.8)	196 (57.1)	343 (99.9)					
<b>Precipitate from wine after treatment(s)</b>									
No treatment					70	574 (65.2)	28.2 (3.2)	279 (31.7)	881 (100.1)
+ HCT					14	207 (27.2)	26.3 (3.5)	529 (69.4)	762 (100.1)
+ Bentonite fining					7	143 (27.7)	31.1 (6.0)	343 (66.3)	517 (100)
+ Bentonite fining + HCT					11	81.8 (16.7)	34.4 (7.0)	373 (76.2)	489 (99.9)
<b>Muscat Bailey A wine</b>									
No treatment	140 (12.6)	334 (30.2)	633 (57.2)	1107 (100)					
+ HCT	81.7 (9.3)	296 (33.6)	454 (57.1)	882 (100)					
+ Bentonite fining	38.6 (4.9)	263 (33.5)	483 (61.5)	785 (99.9)					
+ Bentonite fining + HCT	12.1 (1.8)	234 (34.0)	442 (64.2)	688 (100)					
<b>Precipitate from wine after treatment(s)</b>									
No treatment					58	229 (38.9)	105 (17.8)	255 (43.3)	589 (100)
+ HCT					26	138 (18.7)	150 (20.3)	450 (61.0)	738 (100)
+ Bentonite fining					21	100 (11.8)	271 (32.0)	476 (56.2)	847 (100)
+ Bentonite + HCT					24	83.3 (12.7)	217 (33.0)	358 (54.4)	658 (100.1)
<b>Cabernet Sauvignon</b>									
No treatment	37.5 (4.1)	410 (44.7)	470 (51.2)	918 (100)					
+ HCT	35.8 (5.9)	370 (61.1)	400 (33.0)	606 (100)					
+ Bentonite fining	28.7 (5.4)	320 (60.5)	180 (34.0)	529 (99.9)					
+ Bentonite fining + HCT	26.9 (7.5)	210 (58.7)	121 (33.8)	358 (100)					
<b>Precipitate from wine after treatment(s)</b>									
No treatment					43	698 (62.0)	190 (16.9)	237 (21.1)	1125 (100)
+ HCT					30	333 (40.8)	160 (19.6)	323 (39.6)	816 (100)
+ Bentonite fining					25	240 (23.9)	212 (21.1)	552 (55.0)	1004 (100)
+ Bentonite + HCT					35	220 (26.9)	257 (31.5)	341 (41.7)	818 (100.1)

<sup>1</sup> Four table wines were produced in 1996 by conventional methods.<sup>2</sup> Heating at 80°C for six hours followed by cooling at 4°C for 17 hours.<sup>3</sup> Values in parentheses are percentages of the total.<sup>4</sup> Bentonite fining (1 g/L) was done twice.<sup>5</sup> Acidic polysaccharide was showed as galacturonic acid equivalent.<sup>6</sup> Neutral polysaccharide was showed as glucose equivalent.

少したが、ベントナイト処理あるいは加熱冷却の両方によって多糖含量の大きな減少が認められた。しかし、加熱冷却による混濁の生成は、マスカット・ベリーAとセミヨンワインよりも小さく、加熱後 11 units、冷却後 14 units であった (処理前 1.8 unit)。1996 年産ワインと Table 1 の 3 年間に製造した 4 品種ワインを比べると、カベルネ・ソービニオンワインの多糖含量の変化の程度に相違が見られた以外は、かなり類似した結果となった。タンパク質、酸性及び中性多糖を合計して全高分子成分とし、それに占める各成分の割合 (高分子成分組成) を比較した。他のワインに比較してセミヨンワインにおけるタンパク質の割合は大きく約 25% であった。赤ワインの全高

分子成分量に占める酸性多糖量の割合ほうが白ワインに占めるそれよりも大きかった。無処理及び各種処理した白ワインにおいて酸性多糖よりも中性多糖の割合がかなり大きかったが、赤ワインでは両者の間の差異は小さかった。このように加熱冷却やベントナイト処理によって、タンパク質のみが除去されるのではなく、除去の割合に差があるものの多糖もまた除去された。

1996 年産 4 品種ワインを硫酸塩析することによって得られたタンパク質画分の組成を比較した (Table 2)。無処理ワインから硫酸塩析によって得られるタンパク質画分量 (凍結乾燥物) のほうが、加熱冷却、ベントナイト処理、ベントナイト処理 + 加熱冷却後

のワインから得られるタンパク質画分量よりもかなり多かった。また、硫酸塩析物中のタンパク質が占める比率も、無処理のものは処理ワインより高かった。これらのことは、加熱冷却またはベントナイト処理により沈殿するタンパク質と残存するタンパク質に質的な違い（結合糖鎖の量など）があり、硫酸塩析に対する感受性が変化したことを示唆するが、詳細については今後明らかにする必要があると考える。また試料によりタンパク質量及び多糖量の合計値にばらつきがあったが、これらの成分以外の成分が多量に存在するとは考えにくく、ばらつきは凍結乾燥物の水分含量に起因すると推察した。従ってこれらの成分の構成比（%）は変わらないものと考えた。

#### 加熱冷却処理とベントナイト処理を行う順序

本論文をまとめるにあたり、Table 1 と Table 2 の結果を比較可能かどうか問題となった。すなわち、Table 1 では加熱冷却を行った後ベントナイト処理を行い、Table 2 ではベントナイト処理を行った後に加熱冷却を行った。そこで、2000 年産の 5 品種ワインに加熱冷却とベントナイト添加の二つの処理を行ったとき、それらの順序がタンパク質の除去に与える影響を調べた。

Table 3 に示したように、無処理甲州ワインと加熱冷却処理甲州ワインとの間に、並びに無処理と加熱冷却処理マスカット・ベリーAワインの間にタンパ

ク質含量の有意の差はなかった。対照的に、無処理のシャルドネ、セミヨン及びカベルネ・ソービニオンワインのタンパク質含量は、それらの加熱冷却ワインのタンパク質含量よりも有意に高かった。一般に、用いた全てのワインにおいて、無処理ワインとベントナイト処理ワインのタンパク質含量の間に顕著な差異が認められた。しかし、加熱冷却とベントナイト処理の 2 つを同一ワインに行う順序を代えても有意の差は認められなかった。したがって、Table 1 と Table 2 の結果を比較することは可能と考えられた。

#### 要 約

ベントナイト処理によってワインよりタンパク質は除去されるが、同時にかなり多量の酸性及び中性多糖もまた除去された。しかし、清澄化処理によるタンパク質と多糖量の減少の割合は異なり、多糖のほうが安定に存在する傾向が認められた。ブドウ品種によって、0.1%ベントナイト処理を行った後のワインでさえ加熱冷却テストで混濁が生じた。加熱冷却処理とベントナイト処理の両方を用いてワインの清澄化を行う際、2つの処理の順序を代えても残存タンパク質量に大きな差異はなかった。ワインの硫酸沈殿と透析により得られたタンパク質画分の組成を分析した結果、画分中に多量の酸性及び中性多糖が認められ、タンパク質と多糖が複合体をつくって溶存していると思われた。

Table 3. Effects of heat-cold treatment <sup>1</sup> and bentonite fining <sup>2</sup> on removal of soluble proteins from table wines.

Wine	Residual soluble proteins (mg/L)									
	No treatment		Heat-cold treatment		Bentonite fining		Heat-cold treatment followed by bentonite fining		Bentonite fining followed by heat-cold treatment	
	Mean <sup>3</sup> (n = 2)	SD <sup>4</sup>	Mean (n = 2)	SD	Mean (n = 2)	SD	Mean	SD	Mean	SD
Koshu	38.0 <sup>a</sup>	1.84	36.5 <sup>a</sup>	0.28	15.9 <sup>b</sup>	1.49	15.1 <sup>b</sup> (n = 4)	0.80	15.0 <sup>b</sup> (n = 4)	1.40
Chardonnay	59.6 <sup>a</sup>	4.46	50.4 <sup>b</sup>	2.55	25.7 <sup>c</sup>	1.13	23.3 <sup>c</sup> (n = 5)	1.87	24.6 <sup>c</sup> (n = 5)	1.19
Semillon	87.6 <sup>a</sup>	4.67	47.8 <sup>b</sup>	3.61	33.0 <sup>c</sup>	0.50	30.2 <sup>c</sup> (n = 4)	0.99	29.9 <sup>c</sup> (n = 4)	2.03
Muscat Bailey A	73.3 <sup>a</sup>	8.42	67.7 <sup>a</sup>	1.77	29.5 <sup>b</sup>	3.61	26.7 <sup>b</sup> (n = 3)	1.50	26.6 <sup>b</sup> (n = 3)	0.85
Cabernet Sauvignon	46.2 <sup>a</sup>	3.39	41.3 <sup>b</sup>	0.99	30.7 <sup>c</sup>	2.55	26.0 <sup>c</sup> (n = 3)	0.50	28.1 <sup>c</sup> (n = 3)	0.78

<sup>1</sup> Five table wines were produced in 2000 by conventional methods.

<sup>2</sup> Heating at 80°C for six hours followed by cooling at -4°C for 17 hours.

<sup>3</sup> Bentonite fining (1 g/L) was done twice.

<sup>4</sup> Standard deviation.

Statistical analysis was conducted among the treated wines. Superscripted letters a - c indicate significant differences ( $p < 0.01$ ). There is no significant difference between samples with the same letter.

## 文 献

1. Bitter, T. and R. Ewins. Modified carbazole reaction for uronic acids. *Biochem. J.* 81: 43 (1961).
2. Brillouet, J.-M., C. Bosso, and M. Moutounet. Isolation and characterization of an arabinogalactan from a red wine. *Am. J. Enol. Vitic.* 41: 29-36 (1990).
3. Dietrich, H., H. Schmitt, and K. Wucherpfennig. The alteration of the colloids of must and wine during winemaking. II. Changes of the charge and molecular weight distribution of the polysaccharides. *Vitic. Enol. Sci.* 47: 87-95 (1992).
4. Dubois, M., K. A. Gilles, J. K. Hamilton, P. A. Rebers, and F. Smith. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal. Chem.* 28: 350-356 (1956).
5. Feuillat, M., C. Charpentier, G. Picca, and P. Bernard. Production des colloids par levures dans le vin mousseux elabore selon la methode champenoise. *Rev. Fr. Oenol.* 111: 36-45 (1988)
- 6 Fukui, M., Yokotsuka, K., Ishii, R., O'mahony, M., and Rousseau, B. Investigation of potential of catechin and grape seed dimeric phenols in water by wine proteins. *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie.* 35: 355-361 (2002).
7. Horowitz, W. (ed.) A.O.A.C. 12th ed. pp. 927-8. Method 47.021. Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC (1975).
8. Jackson, R. S. *Wine Science \_ Principles and Applications.* pp. 432-466, 1994
9. Llauberes, R. M., D. Dubourdieu, and J.-C. Villetaz. Exocellular polysaccharide from *Saccharomyces* in wine. *J. Sci. Food Agric.* 41: 277-286 (1987).
10. Llauberes, R. M. Structure of an extracellular \_ D-glucan from *Pediococcus* sp., a wine lactic bacteria. *Carbohydr. Res.* 203: 103-107 (1990).
11. 中西載慶、野崎一彦、徳田宏晴. 甲州ワインからの多糖類の分離とその性質. *ASEV Japan Reports*, 5:19-26 (1994) .
12. Pocock, K.F. and B.C. Rankine. Heat test for detecting protein instability in wine. *Australian Wine Brew. Spirits Rev.* 91:42-3 (1973).
13. Usseglio-Tomasset. Les colloides glucidiques soluble des mouts et des vins. *Conn. Vigne. Vin.* 10: 193-226 (1976).
14. Waters, E. J., W. Wallace, M. E. Tate, and P. J. Williams. Isolation and partial characterization of a natural haze protective factor from wine. *J. Agric. Food Chem.* 41:724-730, (1993).
15. Yokotsuka, K., K. Nozaki, and T. Kushida. Turbidity formation caused by interaction of must proteins with wine tannins. *J. Ferment. Technol.* 61: 413-416 (1983).
16. 横塚弘毅. 醸造物の成分、ワイン編、第 VII 章フェノール化合物、327-342、日本醸造協会 (1999) .
17. Yokotsuka, K. and V. L. Singleton. Interactive precipitation between graded peptides from gelatin and specific grape tannin fractions in wine-like model solutions. *Am J. Enol. Vitic.* 38:199-206 (1987).
18. 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).