

## ワインの抗酸化能に与える亜硫酸ナトリウムの影響

杉田 収

新潟県立看護大学 (看護基盤科学)

### Effect of Sulfur Dioxide on Antioxidant Activity of Wine

Osamu Sugita

Basic Nursing Science, Niigata College of Nursing

キーワード: 活性酸素(active oxygen), 抗酸化物質(antioxidants), ワイン(wine), 亜硫酸ナトリウム(sodium sulfide), クメンヒドロペルオキシド/ヘモグロビン・メチレンブルー法(cumene hydroperoxide/haemoglobin・methylene blue method)

#### Abstract

Red and white wines have potent antioxidant properties for oxidation of human low-density lipoproteins. The antioxidant activities of wine were determined by the cumene hydroperoxide/haemoglobin・methylene blue (CHP/Hb・MB) method that was developed by us. The antioxidant activities of red wine ( $n = 2$ ), additive-free red and white wines ( $n = 2$ ), and white wine ( $n = 2$ ) averaged 2200 nmol/ml, 350 nmol/ml, and 830 nmol/ml, respectively. Sulfur dioxide as an antioxidant additive for wine behaved like natural antioxidants in wine.

The purpose of sulfur dioxide is to inhibit polyphenol oxidase enzymes and to inhibit the growth of wild yeast or bacteria. The amount found in wine averages 14.5 mg/L as free sulfur dioxide. The level of antioxidant activity of sulfur dioxide in wine was estimated at about 180 nmol/ml by CHP/Hb・MB method.

The antioxidant activity of additive-free wine was about one-sixth that of red wine and one-half that of white wine. It is commonly said of sulfur dioxide in wine that the taste is not pleasing. However, the activity of two kinds of additive-free wine was low.

#### 要旨

赤ワインと白ワインは共に、人 LDL (低比重リポタンパク) の酸化に対して強力な抗酸化作用を有している。ワインの抗酸化能は我々が開発したクメンヒドロペルオキシド/ヘモグロビン・メチレンブルー(CHP/Hb・MB)法で測定可能であった。赤ワイン ( $n=2$ ), 赤・白無添加ワイン ( $n=2$ ), 白ワイン ( $n=2$ ) の抗酸化能は、それぞれ 2200 nmol/ml, 350 nmol/ml, 830 nmol/ml であった。ワインの酸化防止剤として添加された亜硫酸ナトリウムからの遊離型亜

硫酸（二酸化硫黄）は、ワインが持つ天然の抗酸化物質のように振舞った。

亜硫酸ナトリウムの添加目的はワイン中の酵素であるポリフェノールオキシダーゼの不活性化と、野生種酵母や細菌の増殖抑制である。ワイン中の遊離型亜硫酸（二酸化硫黄）の濃度は平均 14.5 mg と報告されていることから、ワインに添加された亜硫酸ナトリウムの抗酸化能は CHP/Hb・MB 法では、約 180 nmol/ml と推定された。

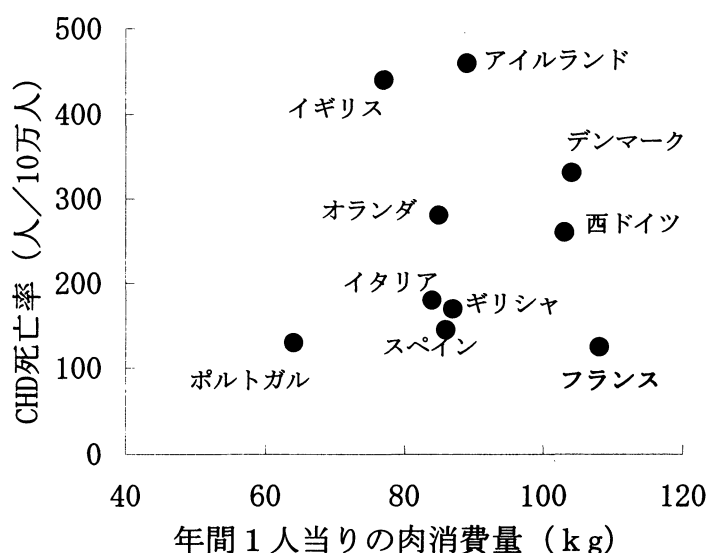
亜硫酸ナトリウム無添加ワインの抗酸化能は通常の赤ワインの 1/6 であり、白ワインの 1/2 であった。ワインの添加物である亜硫酸ナトリウムは我々にとっては好ましくないものと言われているが、無添加ワインの抗酸化能は低いレベルであった。

## 目的

一般的に牛肉等の消費量と脳血管障害との関連性が明らかになる一方で、フランス人は多量の肉を消費しているにもかかわらず、脳血管障害が少ない事実に対して、予期に反した説（パラドックス）として「フレンチパラドックス」なる言葉が生まれた<sup>1)</sup>。図1は Ulbricht らの論文のデータを改変引用したものである<sup>2)</sup>。図1では、フランスでは牛、羊、山羊肉の消費が多いにもかかわらず、冠動脈性心疾患(CHD: coronary heart disease)による死亡率の低いことが示されている。1992年 Renaud らによる疫学調査により、低い冠動脈性心疾患の死亡率と、フランスでのワインの多量消費との関連性が指摘された<sup>1)</sup>。その後多くの研究者により、脳血管障害の予防には、ポリフェノールを多量に含む赤ワインが有効とされた<sup>3~5)</sup>。

ポリフェノールの有効性は、その抗酸化作用にあるが、様々なワインの抗酸化能に関する質的な検討が行なわれていない。ここでは新しい抗酸化能の測定法（クメンヒドロペルオキシド/ヘモグロビン・メチレンブルー法）<sup>6)</sup>で、ワインの持つ抗酸化能と、通常のワインに酸化防止剤として添加される亜硫酸ナトリウム ( $\text{Na}_2\text{SO}_3$ : 一般的な呼称で亜硫酸塩と表示されていることが多い) の抗酸化能に与える影響を測定したので報告する。

図1 フレンチパラドックス：  
牛・羊・山羊肉の消費量  
と冠動脈性心疾患 (CHD)  
死亡率 (文献2を改変)



## 研究方法

試料のワインは赤ワイン2本 (Red-1: Santa Rita, Chile, Red-2: Chateau Lacla Verie, France), 白ワイン2本 (White-1: Dr Höfer, Germany, White-2: Ca' Rugate Soave, Italia), 亜硫酸塩無添加の岩の原赤ワイン(特別限定醸造 酸化防止剤無添加 赤)・白ワイン(特別限定醸造 酸化防止剤無添加 白)の合計6本である。ワインの抗酸化能は既報の方法<sup>7)</sup>で行なった。通常の赤ワインは12%エタノール液で10倍希釈して測定し、特に低値のワインは希釈なしで測定した。亜硫酸ナトリウムは12%エタノール液と蒸留水との2種類の溶媒で溶解し、遊離型亜硫酸(二酸化硫黄(SO<sub>2</sub>))濃度で40 ppmになるように調整して試料とした。ワインは開栓後室温放置で22日までの抗酸化能の変化を追跡した。同様に2種類の亜硫酸ナトリウム液も、その変化を追跡した。

## 結果

亜硫酸塩を含む赤ワインの抗酸化能は Red-1: 2290 nmol/ml, Red-2: 2040 nmol/ml, 白ワインの White-1: 1020 nmol/ml, White-2: 643 nmol/ml であった。

また亜硫酸塩無添加の赤ワイン: 593 nmol/ml, 白ワイン: 107 nmol/ml であった。

図2には3種類の赤ワイン (Red-1, Red-2, 亜硫酸塩無添加の赤ワイン) を開栓後、室温で保存した場合の、抗酸化能の変化を示した。亜硫酸塩を含む通常の赤ワインは高い抗酸化能を有し、開栓後の抗酸化能は低下したが、亜硫酸塩無添加の赤ワインより高い抗酸化能を保持した。

白ワインの3種類の同様な抗酸化能変化を図3に示した。亜硫酸塩が添加された通常の白ワインの抗酸化能は、赤ワインの約1/2で低く、亜硫酸塩無添加の白ワインは他の白ワインよりさらに低い抗酸化能であった。

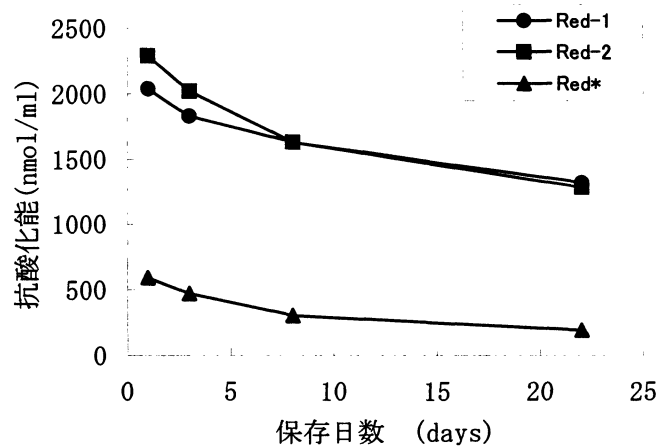


図2 赤ワインの抗酸化能と開栓後の抗酸化能変化

Red\*は無添加赤ワイン

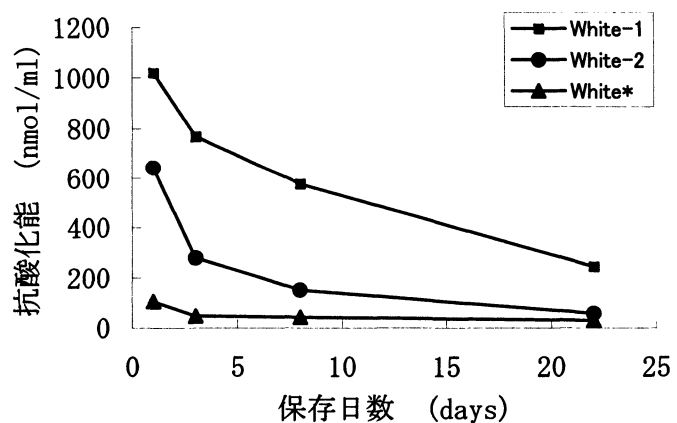


図3 白ワインの抗酸化能と開栓後の抗酸化能変化

White\*は無添加白ワイン

開栓後の抗酸化能は赤ワインより急速に低下した。

通常のコワインに添加される亜硫酸ナトリウムを本法で測定した結果を図4に示した。遊離型亜硫酸の40 ppmまでは、添加量と抗酸化能との関係はほぼ直線的で、添加量の増加に伴ない、見かけの抗酸化能が上昇した。

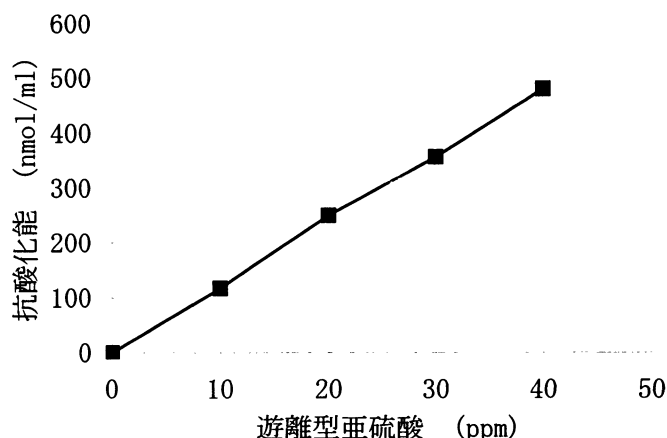


図4 亜硫酸ナトリウム（遊離型亜硫酸）の見かけの抗酸化能

通常のコワインに添加される亜硫酸ナトリウムの12%エタノール液と蒸留水への添加液との2種類について、コワインと同じ条件の室温保存での見かけの抗酸化能の変化を図5に示した。両者には明らかな違いがあり、12%エタノール液に比べ、蒸留水の亜硫酸ナトリウムは急速に見かけの抗酸化能が低下した。

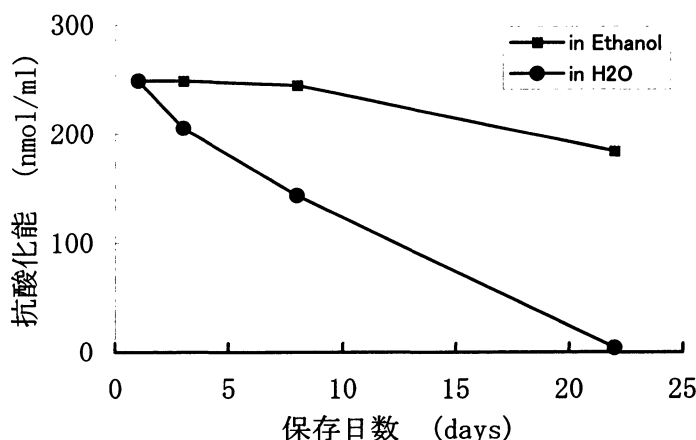


図5 亜硫酸ナトリウム（遊離型亜硫酸）の抗酸化能の経時変化

### 考察

赤コワインと白コワインの抗酸化能はWhiteheadらの化学発光法による報告がある<sup>8)</sup>。彼らの測定法による結果は、赤コワインは白コワインより10倍以上の高い抗酸化能であった。ここで報告したCHP/Hb・MB法による赤コワインと白コワインの抗酸化能は、赤コワインの平均は2200 nmol/mlであり、白コワインの平均は830 nmol/mlで、約2.7倍の差であった。また同じCHP/Hb・MB法での測定で、既に我々が報告した日本茶、紅茶の持つ抗酸化能との比較では、赤コワインは約10倍高い抗酸化能であった<sup>7)</sup>。

これらのコワインにはいずれにも酸化防止剤として亜硫酸塩が添加されていた。近年の健康志向により、添加剤としての亜硫酸塩が問題視されている。そのためにコワインの醸造元では酸化防止剤を添加しない特別限定醸造法でコワインを製造し発売するようになった。その無添加のコワインが有する抗酸化能は、平均で350 nmol/mlであり、他の酸化防止剤添加の赤コワイン、白コワインの抗酸化能より明らかに低いものであった。

酸化防止剤を添加したワインと無添加のワインの抗酸化能を比較するには、添加される酸化防止剤の亜硫酸塩が抗酸化能値に無関係であることが前提であるが、ここでの抗酸化能の測定法である CHP/Hb・MB 法は、亜硫酸塩の持つ還元能を抗酸化能として測定することが明らかになった(図4)。亜硫酸塩の持つ還元能は、ワイン中に存在するポリフェノール由来の本来の抗酸化能と異なる抗酸化能である。そのために、亜硫酸塩の持つ還元能由来の抗酸化能を「見かけの抗酸化能」とした。従って通常の酸化防止剤が添加された赤ワイン、白ワインの抗酸化能は、ワインが持つ本来の抗酸化能と、添加された亜硫酸塩の持つ「見かけの抗酸化能」とが合わさった抗酸化能である。そこで酸化防止剤が添加されたワインの真の抗酸化能は、添加された亜硫酸塩の持つ「見かけの抗酸化能」を差し引かねばならない。通常の酸化防止剤添加ワインに検出される遊離型亜硫酸は 2.8~22.5 mg/l (平均 14.5 mg/l) であると報告されている<sup>9)</sup>。図4から推測すれば、その酸化防止剤の見かけの抗酸化能は、約 40~270nmol/ml (平均 180 nmol/ml) に相応した。

酸化防止剤としての亜硫酸塩は、ワインの醸造開始のブドウ破碎時から発酵終了時にも添加され、さらに貯蔵中や出荷時にも添加されている<sup>10)</sup>。この亜硫酸塩を添加しないということは、ワインの抗酸化能を低下させることであった。しかし酸化防止剤無添加の醸造法がさらに改良され抗酸化能が保持されたワインが完成することを望みたい。酸化防止剤無添加ワインはフレッシュでフルーティな味であり、それは現代的な健康飲料にふさわしい味に感じられた。

## 結論

通常の酸化防止剤が添加された赤ワインと白ワインには共に高い抗酸化能が認められた。赤ワインは 2200 nmol/ml 程度の抗酸化能で、日本茶や紅茶の約 10 倍高い抗酸化能であった。白ワインは 830 nmol/ml 程度の抗酸化能で、赤ワインより低い抗酸化能であるが、それでも日本茶や紅茶の 3~4 倍高い抗酸化能であった。

一方酸化防止剤が添加されていないワインの抗酸化能は 350 nmol/ml 程度の抗酸化能で、高い抗酸化能を有する緑茶程度であった。

ワインの抗酸化能は開栓後徐々に低下したが、白ワインは赤ワインより早く低下した。通常のワインには酸化防止剤として亜硫酸ナトリウムが添加されているが、それは遊離亜硫酸の濃度で約 40 ppm 添加され、飲用される段階では 2.8~22.5 ppm の遊離亜硫酸が検出されている。本法によるワインの抗酸化能の測定では、この亜硫酸塩の持つ還元能が抗酸化能として測定されていた。そのため亜硫酸塩由来の「見かけの抗酸化能」はどの程度か見積もったところ、その「見かけの抗酸化能」は約 40~270 nmol/ml、平均で約 180 nmol/ml 相当の抗酸化能と推定された。

## 文献

- 1) Renaud S, de Lorgeril M. Wine, alcohol, platelets, and the French paradox for coronary heart disease. *Lancet* 1992; 339: 1523-6.
- 2) Ulbricht TLV, Southgate DAT. Coronary heart disease: seven dietary factors. *Lancet* 1991; 338: 985-92.

- 3) Frankel EN, Kanner J, German JB, Parks E, Kinsella JE. Inhibition of oxidation of human low-density lipoprotein by phenolic substances in red wine. *Lancet* 1993; 341: 454-7.
- 4) Maxwell S, Cruickshank A, Thorpe G. Red wine and antioxidant activity in serum. *Lancet* 1994; 344: 193-4.
- 5) Kondo K, Matsumoto A, Kurata H, et al. Inhibition of oxidation of low-density lipoprotein with red wine. *Lancet* 1994; 344: 1152.
- 6) Sugita O, Ishizawa N, Matsuto T, Okada M, Kayahara N. A new method of measuring the antioxidant activity of polyphenols using cumene hydroperoxide. *Ann Clin Biochem* 2004; 41: 72-7.
- 7) 杉田 収, 石澤信人, 中野正春, 松戸隆之, 岡田正彦. クメンヒドロペルオキシド/ヘモグロビン・メチレンブルー法による緑茶・紅茶の抗酸化能. *臨床病理* 2003; 51: 859-63.
- 8) Whitehead TP, Robinson D, Allaway S, Syms J, Hale A. Effect of red wine ingestion on the antioxidant capacity of serum. *Clin Chem* 1995; 41: 32-5.
- 9) Ough C. Determination of sulfur dioxide in grapes and wines. *J Assoc Off Anal Chem* 1986; 69: 5-7.
- 10) 渡辺正平, 飯野修一, 乙黒親男. ワインの SO<sub>2</sub> 使用に関する技術的諸問題. *醸協* 1987; 82: 762-7.