

## [Research Note]

蒜山で栽培されるヤマブドウ (*Vitis coignetiae* Pulliat) の樹による  
果皮中アントシアニン組成の相違

植木啓司<sup>1</sup>・今井 孝<sup>1</sup>・岡本五郎<sup>2</sup>・平野 健<sup>2</sup>

<sup>1</sup>岡山大学大学院自然科学研究科 〒700-8530 岡山市津島中 3-1-1

<sup>2</sup>岡山大学農学部 〒700-8530 岡山市津島中 1-1-1

Compositional Differences of Berry Skin Anthocyanins among *Vitis coignetiae*  
Grapevines Cultivated in the Hiruzen Highlands

<sup>1</sup>Keiji UEKI, <sup>1</sup>Takashi IMAI, <sup>2</sup>Goro OKAMOTO, and <sup>2</sup>Ken HIRANO

<sup>1</sup>Graduate School of Natural Science, Okayama University,

Tsushima-naka, Okayama, 700-8530, Japan

<sup>2</sup>Faculty of Agriculture, Okayama University, Tsushima-naka, Okayama, 700-8530, Japan

Berry skins of *Vitis coignetiae* Pulliat grapevines contain high levels of anthocyanin pigments, which are known to possess high antioxidative activity as well as strong resistance against light-decomposition. Several instances of morphological diversity have been found among the *coignetiae* vines cultivated in the Hiruzen Highlands, implying quantitative and compositional diversity in skin anthocyanins depending on the vine. Ten *coignetiae* vines in Hiruzen commercial vineyards were compared for skin anthocyanin content and composition. The anthocyanin content of the vines differed widely, although obvious relationships were not found between the content and vine vigor nor the leaf-fruit ratio. HPLC analyses of the pigments revealed that the major anthocyanins were marvidin-3, 5-diglucoside; marvidin-3-glucoside; and marvidin-3, 5-diglucoside-*p*-coumalate. These anthocyanins accounted for about 50-70% of the total anthocyanins as estimated by the peak areas in the chromatogram. The proportions of these 3 anthocyanins differed significantly among the vines tested, which suggests genetical diversity among the vines.

**Key words:** *Vitis coignetiae*, skin anthocyanins, genetical diversity

### 緒言

前報 (10) で報告したように、蒜山で生産されるヤマブドウ (*Vitis coignetiae* Pulliat) の果皮には、他のワインブドウ品種に比べて著しく高い濃度でアントシアニンが含まれている。また、その主成分はカベルネ・ソービニオン果実には含まれていないものであり、他にも特有の未知成分が存在する。著者ら (7, 9) は、これらの未知アントシアニン物質の同定を行うとともに、ヤマブドウ果皮から得られたアントシアニン色素は他の植物から抽出された色素に比べて、耐光性が非常に強いことを示した。したがって、ヤマブドウ果実のアントシアニン色素は、単に果汁やワインの着色の濃さとしてのみでなく、天然色素原料として高い価値を有するとも言える。

一方、蒜山で生産されるヤマブドウ樹には、発芽の早晩や幼葉の色、葉のRAPD分析の結果などから、遺伝的に異なるいくつかの系統が存在すると考えられる (6)。したがって、果皮に含まれるアントシアニンの濃度や組成にも、樹によって相違がある可能性が考えられる。

本報告は、蒜山で経済栽培されているヤマブドウ樹の中で、樹勢の異なる10樹について、果皮から抽出されたアントシアニン色素を分析し、その濃度と組成を比較したものである。

### 材料と方法

岡山県川上村明連地区内のヤマブドウ 6 園から、生育状態 (樹勢) の異なる10樹 (15年生自根樹) を供試した。これらの供試樹は、1980年前後に蒜山に自生するヤマブドウ樹から挿し木法によって育成さ

2002年 8月30日受理

れた個体群の中から、花穂の発育良好な数樹を母樹として、挿し木繁殖、定植されたものである。結実確定期（6月下旬）に各樹の新梢の発育状況を、果実成熟期（9月8日）に葉面積を、収穫期（10月2日）に収量を調査した。また、収穫果実から各樹30果粒（10粒×3反復）を任意にサンプリングした。ただちにピンセットで果皮を採取し、液体窒素で凍結させてから凍結乾燥し、乳鉢で粉末にした。この果皮サンプル10mgに1% HCl-MeOHを25mL加え、4℃で1時間抽出してから遠心分離（7000g×20分）し、その残渣を再度抽出し、上澄みを合わせた。その抽出液の一部を用い、535nmにおける吸光度を比色計（Beckman DU 530）により測定した。また、

上記のアントシアニン抽出液をφ0.45μmフィルターで濾過し、HPLC（JASCO）で分析した。HPLC条件の設定は佐藤（8）の報告を参考にし、以下のとおりとした。カラム：ODS, φ4.6mm×250mm、溶離液：溶媒A（0.4%リン酸）と溶媒B（溶媒A+アセトニトリル（20:80））、流速：1.0mL/min、グラジエント（溶媒Bの濃度）：0 min 10% → 0-30 min 17.5% → 30-60 min 50%。

## 結果と考察

主枝1m当たりの新梢合計長は、樹により約4~15mの範囲にあり、葉果比（m<sup>2</sup>/kg）も0.60~2.91と著しい差があった（Table 1）。すなわち、No. 1、

Table 1. Shoot growth and fruit production<sup>2</sup> in 10 *V. coignetiae* grapevines cultivated in the Hiruzen Highlands.

Vine no.	Total shoot length /1 m-cordon (m)	Leaf area /1 m-cordon (m <sup>2</sup> )	Yield /1 m-cordon (kg)	Leaf-fruit ratio (m <sup>2</sup> /kg)
1	15.0	2.28	0.86	2.64
2	13.8	3.19	1.10	2.91
3	13.2	3.48	1.68	2.07
4	12.0	1.93	0.67	2.91
5	7.3	1.34	1.07	1.25
6	6.2	0.66	1.10	0.60
7	6.2	0.68	0.45	1.53
8	4.4	1.26	1.20	1.05
9	4.4	1.27	0.72	1.77
10	4.0	0.56	0.40	1.42

<sup>2</sup> Shoot growth was measured at the berry set stage (June 21), leaf area at berry maturation (September 8), and yield at harvest (October 2).

2、3、4樹では新梢の成長が旺盛で、葉果比も高い値を示したのに対し、No. 8、9、10樹は樹勢が弱い傾向であった。No. 4、7樹で収量が著しく少なかったのは、成熟後期の晩腐病の多発によるものであった。

果皮中のアントシアニン含量（OD<sub>535</sub>）は、No. 1、2、3、4、5樹とNo. 7樹では他の樹よりも低く、特に樹勢の強い樹で低い傾向が伺える（Fig. 1）。しかし、樹勢が中程度または弱い樹では、着色程度との間に一定の傾向は見られなかった。一方、葉果比の特に低かったNo. 6、8樹では、いずれもアントシアニン含量が最も高かった。多くのブドウ栽培品種においては、着果過多の場合には果実の着色が

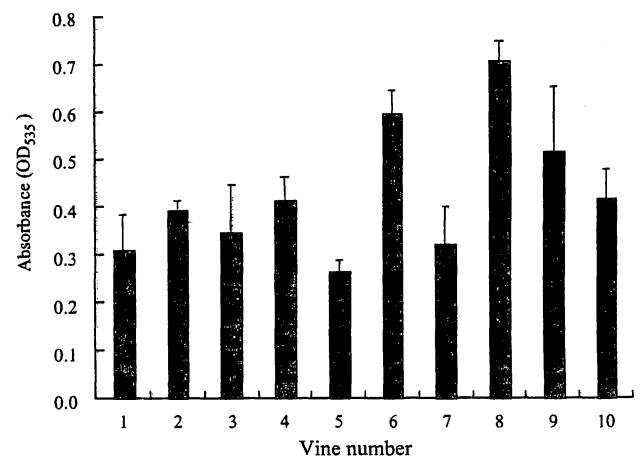


Fig. 1. Skin anthocyanin content of 10 *V. coignetiae* grapevines cultivated in the Hiruzen Highlands. Anthocyanins extracted from 10 mg of lyophilized skin samples were suspended in 50 mL of MeOH containing 1% HCl. Bars indicate SD, n = 3.

不良になることが一般的に知られているが(3, 5)、本調査の結果はそれらとは異なるものである。すなわち、果実の着色は樹の遺伝的特性によって大きく

影響されている可能性が高い。

各樹の果皮から得られたアントシアニン抽出物をHPLC分析した結果、3種の主要なピーク (Fig. 2

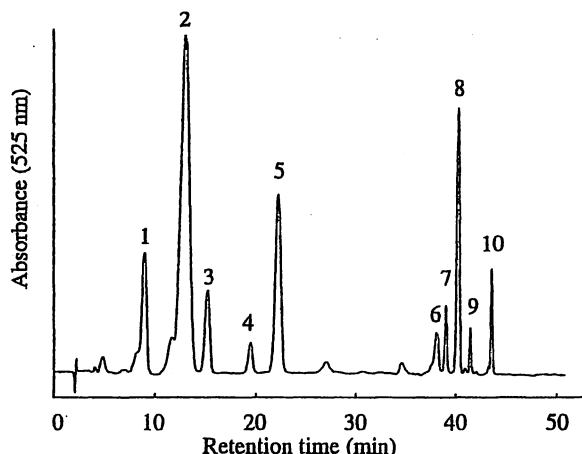


Fig. 2. HPLC chromatogram of the pigments extracted from *V. coignetiae* berry skins. Column: ODS, i.d.4.6×250 mm; flow rate 1.0mL/min.; detection: 525 nm; mobile phase:solution A:0.4% phosphoric acid, solution B:80% AcCN+20% solution A; gradient(solution B %): 0 min 10% → 0-30min 17.5% → 30-60 min 50%.

のピーク2、5、8)の他に7種の小さいピーク(同、ピーク1、3、4、6、7、9、10)が検出された。3つの主要成分は、GC-MS及びNMR分析により、それぞれマルビジン-3, 5-ジグルコシド、マルビジン-3-グルコシド、マルビジン-3, 5-ジグルコシド-*o*-カクマル酸であることが示されている(7, 9)。また、他のアントシアニンは、ワインブドウ果皮とワインのアントシアニンをほぼ同じ方法でHPLC分析したWulfら(11)の報告から、次のように推定される。ピーク1: デルフィニジン-3-グリコシド、ピーク3: ペチュニジン-3-グリコシド、ピーク4: ペオニジン-3-グリコシド、ピーク7: マルビジン-3-グルコシド-酢酸、ピーク9: マルビジン-3-グルコシド-コーヒー酸、ピーク10: マルビジン-3-グルコシド-*o*-カクマル酸。これらの中で、ピーク2と8のマルビジン-3,5-ジグルコシド及びマルビジン-3,5-ジグルコシド-*o*-カクマル酸は、マルビジン-3-グルコシドを主成分とする一般のワイン用品種(*V. vinifera*)には存在せず、*labrusca*系品種やMascadineブドウに存在することが知られている(1, 2, 12)。

本実験で分析したヤマブドウ果皮のアントシアニンの内で、主要3成分の各ピーク面積比率と他の成

分の合計したピーク面積比率を算出し、Table 2に示した。ヤマブドウの主成分であるマルビジン-3,5-ジグルコシドとマルビジン-3,5-ジグルコシド-*o*-カクマル酸のピーク面積率の合計値は、No. 1、4、6樹では約70%に達するが、No. 2、3、5、9樹では約50~60%であり、No. 7、8、10樹では約40%と低かった。また、マルビジン-3,5-ジグルコシドとマルビジン-3,5-ジグルコシド-*o*-カクマル酸のピーク面積率を比較すると、No. 2、5、8、9、10樹では前者が圧倒的に高いが、No. 1、7、8樹では両者がほぼ同じ面積率であった。

このように、本研究で調査したヤマブドウ10樹には、果皮中の全アントシアニン含量の多少だけでなく、マルビジンのジグルコシドとモノグルコシドとの量的バランス、あるいはマルビジン-3, 5-ジグルコシドとマルビジン-3, 5-ジグルコシド-*o*-カクマル酸とのバランスにも、さまざまなものが含まれている。Igarashiら(4)らはヤマブドウ果皮に含まれるマルビジン-3,5-ジグルコシドが高い過酸化物質分解能力を持つことを、また、新保ら(9)は、ヤマブドウ果皮から抽出したアントシアニン色素は、赤キャベツ色素、紫イモ色素に比べて、有意に高い光

Table 2. HPLC peak area percentages of anthocyanins extracted from the berry skin of 10 *V. coignetiae* grapevines cultivated in the Hiruzen Highlands.

Vine no.	Peak no. and supposed anthocyanin <sup>z</sup>				Others
	2 Marvidin-3,5-diglucoside	5 Marvidin-3-glucoside	8 Marvidin-3,5-diglucoside-p-coumarate	10 Malvidin-3-glucoside-p-coumarate	
1	33.0	1.8	34.1	2.6	31.2
2	42.6	14.7	10.5	2.5	32.2
3	34.2	5.5	23.7	3.6	36.6
4	52.8	5.7	17.2	3.6	24.3
5	32.6	8.3	17.6	2.8	41.4
6	50.4	5.8	22.4	4.9	21.4
7	20.3	12.5	20.2	3.9	47.0
8	19.1	11.7	20.0	3.7	48.1
9	33.5	11.2	15.1	2.9	40.0
10	32.5	18.0	5.5	6.1	44.0

<sup>z</sup> Peak numbers 2, 5, and 8 were identified by Shinpo *et al.* (2002); number 10 indicated by the work of Nagel & Wulf (1979).

安定性を有することを報告している。蒜山で栽培されているヤマブドウ樹の遺伝的な特性の調査や系統分類を進めるとともに、食品としての機能性がより優れた果実を生産するヤマブドウ樹の検索が必要である。

### 要 約

ヤマブドウ (*Vitis coignetiae* Pulliat) の果実は、一般のワインブドウ品種に比べて高濃度のアントシアニンを含み、その色素は高い光安定性と過酸化物質消去能を有する。しかし、蒜山で栽培されているヤマブドウ樹には、形態的あるいは遺伝的に種々の個体差が存在する。本研究では、果皮に含まれるアントシアニン含量とその成分を、経済栽培されている10樹について調査した。果皮中のアントシアニン含量には樹による差が大きかったが、樹勢や葉果比との間には一定の傾向がなかった。HPLC分析の結果、各樹とも主要アントシアニン成分はマルビジン-3,5-ジグルコシド、マルビジン-3-グルコシド、マルビジン-3,5-ジグルコシド-カクマル酸であり、全アントシアニンの約50~70% (ピーク面積比) を占めた。これらの3成分の量的バランスは樹によって

大きく異なり、樹による遺伝的変異の存在が推測された。

### 引 用 文 献

1. Calvi, J. P. and F. J. Francis. Stability of Concord grape (*V. labrusca*) anthocyanins in model systems. *J. Food Sci.* 43: 1448-1456 (1978).
2. Flora, L. F. Influence of heat, cultivar and maturity on the anthocyanidin-3,5-diglucosides of Muscadine grapes. *J. Food Sci.* 43: 1819-1821 (1978).
3. 平野 健・加藤淳子・岡本五郎. 施肥濃度と着果量が'巨峰'ブドウ果実の成熟に及ぼす影響. *J. ASEV Jpn.* 13: 15-21 (2002).
4. Igarashi, K., K. Tanaka, M. Makino, and T. Yasui. Antioxidative activity of major anthocyanin isolated from wild grapes. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi* 36: 852-856 (1989).
5. Lavee, S., and G. Nir, *Grape In Handbook of Fruit Set and Development* (Monselise, S. P. edis), p.171-175, CRC Press, Florida, USA (1986).

6. 李 登科・植木啓司・壇原東吾・平野 健・岡本五郎. 蒜山で栽培されるヤマブドウ (*Vitis coignetiae* Pulliat) 樹の形態的・遺伝的相違. J. ASEV Jpn. 13: 90-91 (2002).
7. Okamoto, G., K. Ueki, T. Ichi, H. Aoki, M. Fujiwara, and K. Hirano. Juice constituents and skin pigments in *Vitis coignetiae* Pulliat grapevines. *Vitis* 41: (2002).
8. 佐藤充克・鈴木由美子・矢内隆章・生駒 元・高松秀和・花牟礼研一. ブルーベリーのアントシアニン組成とブルーベリー・ワインの生理的効果. J. ASEV Jpn. 11: 74-79 (2000).
9. 新保国之・市 隆人・植木啓司・岡本五郎. ヤマブドウ (*Vitis coignetiae* Pulliat) 色素の化学構造および熱・光安定性. 日本農芸化学会2002年度大会講演要旨集, p. 239 (2002).
10. 植木啓司・青木秀之・岡本五郎・平野 健. ヤマブドウ (*Vitis coignetiae* Pulliat) 果実の成熟に及ぼす葉数の影響と果汁の成分的特徴. J. ASEV Jpn. 12: 58-65 (2001).
11. Wulf, L. W. and C. W. Nagel. High-pressure liquid chromatographic separation of anthocyanins of *Vitis vinifera*. *Am. J. Enol Vitic.* 29: 42-50 (1978).
12. Yokotsuka, K. and V. Singleton. Disappearance of anthocyanins as grape juice is prepared and oxidized with PPO and PPO substrates. *Am. J. Enol. Vitic.* 48: 13-25 (1997).