九州大学学術情報リポジトリ
Kyushu University Institutional Repository

ブドウにおける栽培品種の果皮アントシアニン

白石，眞一
九州大学農学部果樹生産学

渡部，由香
九州大学農学部果樹生産学

https://doi.org/10.15017/23524

出版情報：九州大學農學部學藝雜誌. 48 (3/4), pp.255-262, 1994-03. 九州大學農學部
バージョン：
権利関係：

九大農学芸誌 (Sci. Bull. Fac. Agr., Kyushu Univ.)
第48巻 第3・4号 255-262 (1994)

ブドウにおける栽培品種の果皮アントシアニン

白石眞一・渡部由香
九州大学農学部果樹生産学
(1994年1月17日受理)

Anthocyanin Pigments in the Grape Skins of Cultivars (*Vitis spp.*)

Shiñichi SHIRAISHI and Yuka WATANABE
Fruit Science Laboratory, Faculty of Agriculture,
Kyushu University, Fukuoka 811-23

緒言

ブドウの果皮アントシアニンには，アグリコンであるアントシアニジンとして，シアニジン，ペオニジン，デルフィニジン，ペチュニジン，マルビジンがあり，これらはアントシアニジンB環の置換基の差異によって生じる．また，これらアントシアニジンは，配糖体の形となって細胞内の液胞中に存在しており，主要な配糖体の型として3-モノグルコシド，3, 5-ジグルコシド，さらにこれらに*p*-クマール酸の結合したものがある．

果皮アントシアニン組成は品種によって異なり，黒色品種である'巨峰'はマルビジン配糖体を主要アントシアニンとし（芥田・松富，1976a），赤色品種の'Flame Tokay'や'Delaware'はマルビジン配糖体を含まず，シアニジンやペオニジンの配糖体を主要アントシアニン（Akiyoshi *et al.*, 1963；芥田・松富，1976b）とすることから果皮アントシアニンの種類が果色の変異に関与していることが推察される．

配糖体型は種によって特徴があり，ヨーロッパブドウは3-モノグルコシドのみを，またアメリカブドウを代表種とする北アメリカ大陸原産のブドウは3-モノグルコシドの他に3, 5-ジグルコシドを含むとされる（Ribéreau-Gayon, 1974；Anderson *et al.*, 1970）．

アントシアニジンの種類を決定するB環のヒドロキシル化やメチル化，さらにアントシアニジンの配糖体化やアシル化に関しては，より高次な化合物を生合成する反応が遺伝的に優性であるとされている（Beale, 1941；Harborne, 1967；Heursel and Horn, 1977）．

以上のことから，ブドウ各品種の果皮アントシアニン組成を広く調査することにより，黒色品種と赤色品種の果皮アントシアニン組成の一般的な傾向を明らかにすることができ，さらにはそれぞれの品種の果皮アントシアニンについての遺伝的な背景も推察し得ると考えられる．

そこで多数のブドウ品種を供試して，果皮アントシアニン組成を調査し赤色品種と黒色品種のアントシアニン組成を比較した．さらにヨーロッパブドウと欧米雑種に出現するアントシアニン組成パターンの違いを調査し，現在の日本におけるブドウ品種育成の過程におけるアントシアニン組成の変異の方向性を調査した．

材料および方法

農林水産省果樹試験場安芸津支場，福岡県農業総合試験場園芸研究所，植原葡萄研究所，九州大学農学部実験圃場に保存されているヨーロッパブドウ21個体，欧米雑種38個体（4倍性品種21個体を含む），計59個体の成熟果実を用いた．

果実より剝皮した果皮を−20°Cで凍結させた後，凍結乾燥を行った．凍結乾燥果皮を1％塩酸に24時間浸漬し，粗抽出液を得た．ろ過後得られた粗抽出液をsep-Pak C_{18}（Waters）カートリッジに通し，アントシアニン色素を吸着させた．色素を吸着させたカートリッジを脱イオン水で充分に洗浄し，低分子の夾雑物を除去した．ついで，カートリッジに吸着した色素を1％塩酸酸性メタノールで溶出し，窒素ガスで濃縮したのち試料とした．試料をセルロース薄層プレート（フナコシ製アビセルSF）に展着し，2次元クロマトグラフィーを行った．展開溶媒は1次元方向にイソ

ブタノール/酢酸/水＝8/2/3（V/V），2次元方向に酢酸/塩酸/水＝15/3/82（V/V）を用いた．

展開後の薄層プレートをよく風乾させ，2次元クロマトグラム上の各スポットの配列性，可視光および紫外線下での色調とモリブデン試薬（Bently, 1960）での呈色反応を調査し，アントシアニンの同定を行った．さらに，それぞれのスポットを2波長クロマトスキャナー（島津製作所CS-910，測定波長530nm，対照波長700nm）で測定し，組成比を求めた（太田ら，1979）．

結　　果

第1図に2次元クロマトグラムの模式図を示す．クロマトグラム上のスポットは，結合糖の種類やアシル化の有無によって，4つのグループに分けられた．各グループ内のスポットは，アントシアニンB環の置換基数2個のシアニジン－ペオニジン系列と，置換基数3個のデルフィニジン－ペチュニジン－マルビジン系列に分けられ，さらに，クロマトグラム下方よりデルフィニジン，ペチュニジン，シアニジン，マルビジン，ペオニジンの順に配列した．

第1表に各スポットの色調とモリブデン試薬による呈色反応を示す．シアニジン，マルビジン，ペオニジンの3，5-ジグルコシドとそのアシル化色素は紫外線下で蛍光を発した．またモリブデン試薬の噴霧によりシアニジンが藤色に，ペチュニジン，デルフィニジンが青色に変化した．

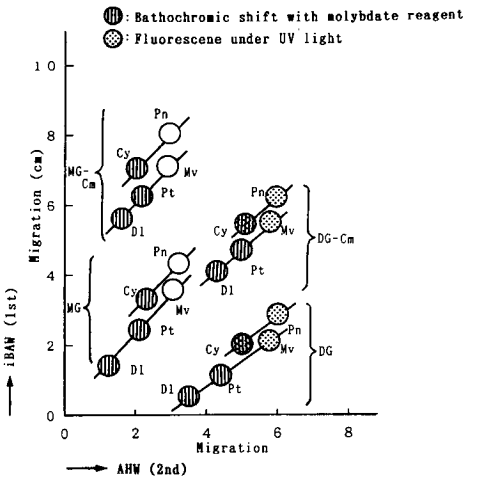

Fig. 1. Schematic two-dimentional thin-layer chromatogram of anthocyanins from grapes.
iBAW ; isobutanol : acetic acid : water ＝ 8 : 2 : 3 (v/v).
AHW ; acetic acid : hydrochloric acid : water ＝ 15 : 3 : 82 (v/v).
Dl ; Delphinidin, Pt ; Petunidin,
Mv ; Malvidin, Cy ; Cyanidin, Pn ; Peonidin,
MG ; 3-monoglucoside, DG ; 3, 5-diglucoside,
Cm ; acylated with *p*-coumaric acid.

第2表にヨーロッパブドウに属する品種の果皮アントシアニン組成を示す．全ての品種において3-モノグルコシドのみが検出された．赤色品種はシアニジンあるいはペオニジン主体型のアントシアニン組成を持つものが多かった．またこれらの品種はアシル化アントシアニンの含量が少なかった．赤紫や黒の果色を持つ品種はマルビジン配糖体を主要色素とし，アシル化アントシアニンを比較的多く含んでいた．

第3表に欧米雑種の品種の果皮アントシアニン組成を示す．赤色品種のほとんどがシアニジン主体型のアントシアニン組成を持っていた．黒色や赤紫色の果皮に含まれる主要アントシアニジンの種類は，デルフィニジンやマルビジンであった．ほとんどの品種がジグルコシドを含んでいたが，'Suffork red' のように3-モノグルコシドのみを含む，いわゆるヨーロッパブドウ型の配糖体型を示す品種も存在した．

第4表に日本において育成された4倍性の品種の果皮アントシアニン組成を示す．赤色品種はシアニジンやペオニジンを主要アントシアニジンとするアントシアニン組成が多く，黒色品種はマルビジン配糖体を多く含んでいた．

考　　察

アントシアニンの生合成はさまざまな植物で研究されているが，遺伝生化学的な手法を用いた近年の報告によると，アントシアニンB環の3'や5'位のヒドロキシル化はアントシアニンの前駆物質の段階で起こると考えられている（Forkmann, 1980 ; Spribille and Forkmann, 1984 ; Stotz and Forkmann, 1982）．またアントシアニンのメチル化に関しては，ペチュニアを用いてアントシアニンを基質とした研究がなされており（Jonsson *et al.*, 1982），このメチル化反応は生合成系の最終段階で起こるという説が有力になっている．

花弁中にブドウ果皮と同様のアントシアニジン組成を持っているアザレアやペチュニアで，アントシアニン生合成の経路に関与する遺伝子が明らかにされており（Heursel and Horn, 1977 ; Wiering, 1974），これらの報告からブドウ果皮におけるアントシアニンのB環に関する生合成経路を推定した（第2図）．

Table 1. Detection methods for grape anthocyanins on thin-layer chromatogram (Avicel SF Cellulose)

Anthocyanin		Color	Fluorescence	Molybdate Shift
Cyanidin	3 MG[x]	Red	−	+
	3 MG-Cm[y]		−	+
	3, 5 DG[z]		+	+
	3, 5 DG-Cm		+	+
Peonidin	3 MG	Red	−	−
	3 MG-Cm		−	−
	3, 5 DG		+	−
	3, 5 DG-Cm		+	−
Delphinidin	3 MG	Red-purple	−	+
	3 MG-Cm		−	+
	3, 5 DG		−	+
	3, 5 DG-Cm		−	+
Petunidin	3 MG	Red-purple	−	+
	3 MG-Cm		−	+
	3, 5 DG		−	+
	3, 5 DG-Cm		−	+
Malvidin	3 MG	Red-purple	−	−
	3 MG-Cm		−	−
	3, 5 DG		+	−
	3, 5 DG-Cm		+	−

[x] 3 MG ; 3 -monoglucoside. [y] Cm ; acylated with *p*-coumaric acid.
[z] 3, 5 DG ; 3, 5 -diglucoside.

Table 2. Anthocyanin composition (%) in skin of grape cultivars (*V. vinifera*).

Cultivars	Fruit[x] color	Anthocyanidin[y]					Glycoside[z]		Type
		Cy	Pn	Dl	Pt	Mv	MG	Acy	
Sekihoku	R	100	0	0	0	0	100	0	I
Morgenshön	R	98	0	2	0	0	100	0	
Flame Tokay	R	97	3	+	0	0	100	0	
Ruby Okuyama	R	97	0	3	0	0	100	0	
Kaiji	R	91	4	5	0	0	100	1	
Sekirei	R	76	22	2	0	0	100	0	
Garnet	R	80	17	2	1	0	100	2	
Benisanjaku	R	82	0	18	0	0	100	0	
Beniareki	R	7	83	0	0	10	100	2	II
Red Malaga	R	24	64	1	3	8	100	0	
Itchkimar	B	1	68	1	2	28	100	4	
Queen	B	12	56	1	1	20	100	2	
Rizamat	RP	13	8	5	12	62	100	26	V
Mario	RP	11	0	11	14	64	100	32	
Tagobi	B	2	20	6	6	66	100	35	
Gros Colman	B	4	25	2	2	67	100	23	
Black Damascus	B	2	13	7	8	70	100	36	
Alexandrouli	B	4	17	9	9	71	100	15	
Malbec	B	0	11	9	9	71	100	23	
Zweigeltrebe	B	0	11	5	6	78	100	22	
Royal	B	0	6	3	4	87	100	44	

[x] R ; Red, B ; Black, RP ; Red Purple.
[w] Cy ; Cyanidin, Pn ; Peonidin, Dl ; Delphinidin, Pt ; Petunidin, Mv ; Malvidin.
[z] MG ; Monoglucoside, DG ; Diglucoside, Acy ; Acylated anthocyanin.

Table 3. Anthocyanin composition (%) in skin of grape cultivars (*V. vinifera* × *V. labrusca*).

Cultivars	Fruit[x] color	Anthocyanidin[y]					Glycoside[z]			Type
		Cy	Pn	Dl	Pt	Mv	MG	DG	Acy	
Red Millennium	R	99	0	1	0	0	94	6	8	I
Red Niagara	R	96	0	4	0	0	97	3	6	
Red port	R	95	0	5	0	0	77	23	77	
Suffork red	R	94	3	3	0	0	100	0	0	
keuka	R	93	0	7	0	0	95	5	7	
Catawba	R	78	22	0	0	0	72	28	36	
Captivator	R	74	23	3	0	0	80	20	19	
N. Y. Muscat	B	24	60	3	3	10	91	9	46	II
Wayne	B	47	0	53	0	0	71	29	8	III
Steuben	B	29	0	71	0	0	78	22	43	
Hicks	B	45	1	51	3	0	62	38	65	
Campbell early	B	35	16	30	19	0	35	65	64	IV
Concord	B	36	8	39	15	2	62	38	49	
Glenora	B	2	5	18	18	57	54	46	36	V
Schuyler	B	2	8	9	18	63	61	39	81	
Alden	B	0	9	9	14	68	52	48	42	
Violet Uehara	RP	0	16	0	0	84	4	96	42	

[x] R ; Red, B ; Black, RP ; Red Purple.
[w] Cy ; Cyanidin, Pn ; Peonidin, Dl ; Delphinidin, Pt ; Petunidin, Mv ; Malvidin.
[z] MG ; Monoglucoside, DG ; Diglucoside, Acy ; Acylated anthocyanin.

Table 4. Anthocyanin composition (%) in skin of tetraploid grape cultivars (*V. vinifera* × *V. labrusca*).

Cultivars	Fruit[x] color	Anthocyanidin[y]					Glycoside[z]			Type
		Cy	Pn	Dl	Pt	Mv	MG	DG	Acy	
Ikawa 1090	R	93	1	6	0	0	96	4	31	
Jasmin	R	90	0	10	0	0	100	0	60	
Ikawa 1100	R	86	1	13	0	0	98	2	24	I
Beniizu	R	82	8	10	0	0	100	0	52	
Ryuho	R	73	9	17	1	0	77	23	23	
Benizuiho	R	72	0	28	0	0	93	7	8	
Red queen	R	21	79	0	0	0	49	51	29	
Sinano berry	R	29	71	0	0	0	42	58	61	
Olympia	R	28	71	1	0	0	68	32	13	
Akitu 4 gou	R	31	69	0	0	0	63	37	14	II
Akakei-Pioné	R	42	59	0	0	0	99	1	42	
Beniyamahiko	R	24	61	3	3	9	88	12	27	
Rhodo berry	R	42	53	2	2	1	85	15	62	
Ishiharawase	B	22	20	36	22	0	25	75	45	IV
Kyoho	B	5	5	13	28	49	67	33	44	
Black Olympia	B	0	0	17	18	65	71	29	53	
Takao	B	0	11	30	30	29	51	44	49	
Kokuho	B	0	18	11	20	51	66	34	65	V
Pione	B	5	4	22	21	48	65	35	49	
Izunishiki	B	0	0	24	25	51	65	35	40	
	B	0	0	10	21	69	70	30	61	

[x] R ; Red, B ; Black, RP ; Red Purple.
[w] Cy ; Cyanidin, Pn ; Peonidin, Dl ; Delphinidin, Pt ; Petunidin, Mv ; Malvidin.
[z] MG ; Monoglucoside, DG ; Diglucoside, Acy ; Acylated anthocyanin.

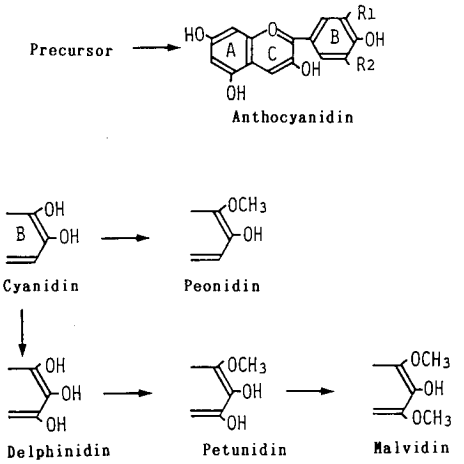

Fig. 2. Biosynthesis of B-ring substitution of anthocyanin in grape skin.

果皮の主要アントシアニジンとしてシアニジンを含むグループ，すなわちタイプⅠはアントシアニジンB環のメチル化や5'のヒドロキシル化が進まない品種群である．タイプⅡは3'位のメチル化が進んだペオニジンを多く含む5'位のヒドロキシル化は起こりにくい品種群である．さらにタイプⅢはメチル化色素が現れず，アントシアニンB環の5'位のヒドロキシル化が進んだデルフィニジンを主要色素とする品種群である．また，5'位のヒドロキシル化が起こり，さらに3'位5'位のメチル化が進み，マルビジン以外のアントシアニジンを含むタイプⅣ，アントシアニン生合成の最終産物であるマルビジンを多く含むタイプⅤがある．

赤色品種のアントシアニン組成はシアニジン主体のタイプⅠか，あるいはシアニジンとペオニジンを含むタイプⅡであり，黒色品種のアントシアニン組成はタイプⅢ，Ⅳ，あるいはⅤであった．しかしながら，'Itchkimar' や 'New York Muscat (N. Y. Muscat)' のように，黒色品種の中にもタイプⅡのアントシアニン組成を持つものがあり，また，'Rizamat' や 'バイオレット植原 (Violet Uehara)' のようにタイプⅤの中に赤色品種に近い紫赤色の果皮色を持つものがあり，更に細かく果色とアントシアニンの関係を調査することが必要であると考えた．

今回の調査では，種に特有のアントシアニン組成が存在することが明らかとなった．ヨーロッパブドウにはタイプⅠ，Ⅱ，Ⅴが見いだされ，タイプⅢ，Ⅳは見られなかったことから，この種はアントシアニンB環のヒドロキシル化が進むと同時にメチル化も進むと考える．欧米雑種では全てのアントシアニジンタイプ

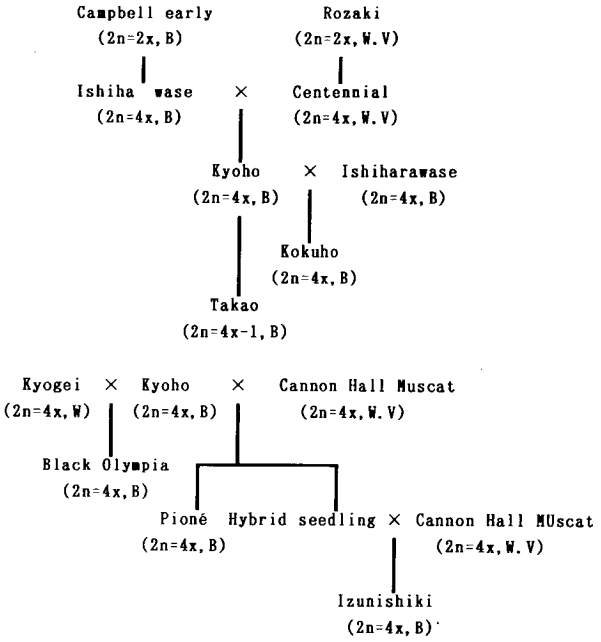

Fig. 3. Parentages of black grapes related 'Kyoho'.
B : Black, W : White, V : *V. vinifera* .

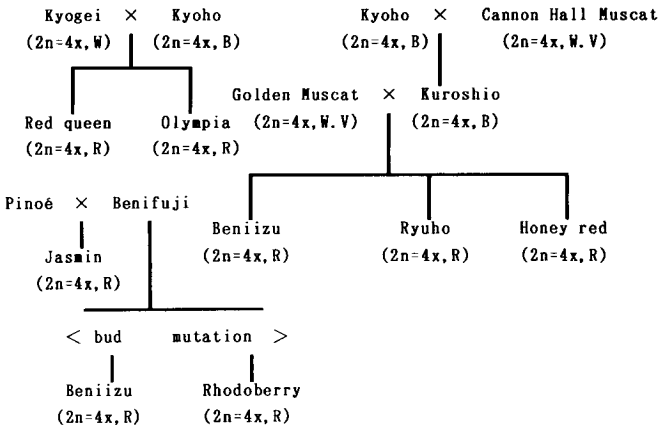

Fig. 4. Parentages of the red tetraploid grapes related 'Kyoho'.
B : Black, W : White, V : *V. vinifera*.

が存在し，ヒドロキシル化とメチル化の反応は別々に起こると考える．現存の栽培品種では純粋なアメリカブドウは少ないが，アメリカブドウ原種に最も近いといわれている'Concord'，'Hicks'のアントシアニン組成は，デルフィニジンを多く含むタイプIIIやタイプIVであり，メチル化があまり進んでいないことから，ヒドロキシル化が進んでもメチル化が起こりにくい性質はアメリカブドウに由来すると推察する．

巨峰関連品種は日本で育成された品種で，欧米雑種であるが，アントシアニン組成の特徴はヨーロッパブドウと同様の傾向を示した．これらの品種は育種の際に，果実の大粒化と共に品質の向上を目的として，ヨーロッパブドウの性質を多く取り入れるように交配が行われたため（第3，4図），アントシアニン組成の特徴もヨーロッパブドウの品種群に近くなったと思われる．

また，欧米雑種の品種である'Suffork red'や'ジャスミン（Jasmin）'では欧米雑種の特徴である3，5-ジグルコシドが見られなかった．

一般に，ヨーロッパブドウは3-モノグルコシドのみを含み，欧米雑種では3，5-ジグルコシドが存在するため，果皮アントシアニンの配糖体型は品種成立に関与した種の判定に補助的に利用されてきた（Carreno-Diaz and Luh, 1969 ; Chen and Luh, 1967 ; Koeppen and Basson, 1966 ; Sakellariades and Luh, 1974 ; Somers, 1966）．しかし，ヨーロッパブドウで3回戻し交雑した品種からは3，5-ジグルコシドが見いだされないという報告もあり（太田ら，1978），配糖体型を利用する品種の種の判定には疑問が残っていた．

今回の調査で，欧米雑種の品種の配糖体型は様々であることが判明したので，配糖体型によって品種成立に関与した種を推察するのは不適当であると言わざるを得ない．

アシル化については，ヨーロッパブドウではタイプVの品種群ではアシル化が進む傾向があったが，欧米雑種の品種群ではアシル化アントシアニンとアントシアニジン型の関連はなかった．アシル化アントシアニンの遺伝様式についてはヨーロッパブドウと欧米雑種では異なることが推察される．

日本における生食用ブドウ品種の育種目標として，高品質の品種の育成があげられており，交配によりヨーロッパブドウの形質を導入する傾向がある．今後もこの傾向が進めば，果色のアントシアニン型としてはヨーロッパブドウ型のタイプI，II，Vが増加すると考えられる．

要　　約

ヨーロッパブドウ21個体，欧米雑種38個体（4倍性品種21個体を含む），計59個体の成熟果実の果皮アントシアニン組成を調査し，アントシアニジンB環の5'位のヒドロキシル化，およびメチル化の有無によって以下のように品種を分類した．

タイプI：最も単純な型であるシアニジン（Cy）を主要色素とするCy型．

タイプII：ペオニジン（Pn）を主要色素とし，他にシアニジンを多量に含むPn+Cy型．

タイプIII：デルフィニジン（Dl）を主要色素とす

るDl+Cy型.

タイプIV：ヒドロキシル化もメチル化も起こるが最終産物のマルビジンを含まないDl+Pt+Cy+Pn型.

タイプV：ヒドロキシル化もメチル化も進んだマルビジン（Mv）を主要色素とするMv型.

赤色品種はタイプIとタイプIIが多かった．特にタイプIの品種群はすべて赤色の果色を持っていた．タイプIIの品種は赤色品種と黒色品種があった．タイプIII，IV，Vはほとんどが黒色品種であったが，赤紫色の果色を示す品種も存在した．

ヨーロッパブドウではI，II，Vが，欧米雑種では全てのタイプが見いだされた．巨峰関連の品種群はヨーロッパブドウと同様，タイプI，II，Vが多かった．

欧米雑種の品種の中にアメリカブドウの血を引く系統に特有であるといわれる3，5-ジグルコシドを含んでいない品種が見いだされた．

文　　献

Akiyoshi. M., A. D. Webb and R.E. Kepner 1963 The major anthocyanin pigments of Vitis vinifera varieties, Frame Tokay, Emperor, and Red Malaga. *Am. J. Enol.*, **28**: 177-181

芥田三郎・松富直利 1976a 本邦産果実のアントシアニン色素に関する研究（第1報）交配紫色ブドウ品種，巨峰のアントシアニン色素について．日食工誌，**23**: 101-107

芥田三郎・松富直利 1976b 本邦産果実のアントシアニン色素に関する研究（第2報）赤色種Delawareブドウのアントシアニン色素について．日食工誌，**23**: 108-112

Anderson. D. W., E. A. Julian, R. E. Kepner and A. D. Webb 1970 Chromatograhic investigation of anthocyanin pigments in *VITIS CINEREA*. *Phytochemistry*, **9**: 1569-1578

Beale. G. H. 1941 Gene relations and synthetic processes. *J. Genet.*, **42**: 197-214

Forkmann. G. 1980 The B-ring hydroxylation pattern of intermediates of anthocyanin synthesis in pelargonidin-and cyanidin-producing lines of *Matthiola incana*. *Planta*, **148**: 157-161

Harborne, J. B. 1967 Comparative Biochemistry of the FLAVONOIDS. Academic Press, London and New York.

Heursel, J and W. Horn 1977 A hypothesis on the inheritance of flower colours and flavonoids in *Rhododendron simsii* Planch. *Z. Pflanzenzuchtg*, **79**: 238-249

Jonsson, L. M. V., M. E. G. Aarsmann, A. W. Schram and G. J. H. Bennink 1982 Methylation of anthocyanins by cell-free extracts of flower buds of *Petunia Hybrida*. *Phytochemistry*, **21**: 2457-2459

太田英明・芥田三郎・白石真一・筬島豊 1978 *Vitis vinifera*品種でバッククロスされたY系ブドウ3系統のアントシアニン色素．日食工誌，**25**: 421-425

太田英明・芥田三郎・筬島豊 1979 セルロース薄層クロマトグラフィーーデンシトメトリーによるブドウアントシアニン色素の簡易分析法．日食工誌，**26**: 204-208

Ribereau-Gayon, P. 1974 "The Chemistry of Red Wine Color", *in* "Chemistry of Wine making", ed. by Webb, A. D. American Chemical Society.

Spribille, R. and G. Forkmann 1984 Conversion of dihydroflavonls to flavonols with enzyme extracts from flower buds of *Matthiola incana* R. Br. *Z. Naturforsch*, **39**: 714-719

Stotz, G and G. Forkmann 1982 Hydroxylation of the B-ring of flavonoids in the 3'-and 5'-position with enzyme extracts from flowers of *Verbena hybrida*. *Z. Naturforsch*, **37c**: 19-23

Wicring, H. 1974 Genetics of flower colour in *Petunia hybrida Hort. Genen Phaenen*, **17**: 117-134

Summary

The anthocyanin compositions of *Vitis vinifera*. *V. vinifera* × *labrusca* and tetraploid grapes bred in Japan were investigated. Based on anthocyanin composition, cultivars were classified into five types as follows ;

I. Cy types ; Those having mostly cyanidin.

II. Pn+Cy types ; Peonidin (more than 50 %) +Cyanidin, having low 5' hydroxyl groups.

III. Dl+Cy types ; Delphinidin (more than 50%) +Cyanidin, having low methylated anthocyanin.

IV. Cy+Pn+Dl+Pt type ; Those having hydroxyl and methylated anthocyanin, except malvidin.

V. Mv type ; Those having mostly malvidin.

V. vinifera cultivars had the anthocyanin composition of type I. II or V. In *V. vinifera* × *labrusca*, all anthocyanin types were observed. The anthocyanin types of tetraploid grape cultivars bred in Japan were similar to those of *V. vinifera* cultivars.