甲州ワインおよびシャルドネワインに
含まれるアミノ酸の分析と比較

三木健夫*・篠原 隆

(山梨大学ワイン科学研究センター)

平成 20 年 6 月 2 日受理

Characteristics of Amino Acid Compositions
of Koshu and Chardonnay Wines

Takeo MIKI*, Takashi SHINOHARA

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

Amino acid compositions of Koshu and Chardonnay wines produced from 1998 to 2006 were investigated. The analysis of 19 amino acid compositions of 14 wine, revealed that arginine and proline were contained in all wines analyzed. In contrast, some amino acids were specifically contained in each Koshu wine or Chardonnay wine (e.g. glutamine in Koshu wine and alanine in Chardonnay wine). Each wines contained most proline of all other amino acid. The proline concentrations in Koshu wines were about 2 times higher than those of Chardonnay wines.

Key words : amino acid, proline, wine, Koshu, Chardonnay

緒 言

ブドウ果汁は、主な窒素化合物としてアミノ酸、ポリペプチド、タンパク質およびアンモニウムイオンを含む¹⁾。これらの成分比はブドウ品種、栽培地域等により増減するものの、ブドウ果汁中の窒素成分の大半は、これら 4 つの成分で構成されていることが知られている。これら窒素成分のうち、アミノ酸量はワイン酵母の生育および発酵性と関連性を示す²⁾。また、ロイシン、イソロイシン、バリンから脱アミノ反応を経て、イソアミルアルコールやイソブチルアルコールなどが生成し、これらアルコールからエステル類が生成する

こと、さらに、フェニルアラニン、トリプトファンやチロシンはワイン酵母によって芳香成分（フェニルプロパノイド）へ代謝されることから³⁾、アミノ酸とワイン酒質は密接な関係にある。

ブドウ果汁に含まれるアミノ酸量は、白ブドウに比べて赤ブドウに多く含まれる傾向が見られ、その濃度範囲は広範囲（100-2000 mg/l）にあることが報告されている¹⁾。さらに、果汁中のアミノ酸は発酵過程でワイン酵母により資化されるため、ワイン中に残存するアミノ酸比率は果汁中のそれとは異なる。他方、甲州ブドウは、古来より山梨県で栽培される白ブドウ品種であり、本ブドウから醸造される甲州ワインは地域の特産品の一つとされている。本ワインに関しては、一般成分の年次別調査および新しい醸造法の構築等、甲州ワイン酒質向上のための研究がなされている^{5,6,7)}。最近、清酒に含まれるアミノ酸の呈味性について調査がなされ、4 種のアミノ酸（アラニン、アルギニン、グルタミン酸およびアスパラギン酸）が呈味性を示すことが示唆された⁴⁾。一方、甲州ワインに含有されるアミノ酸について経年的に調査し、他の白ワインと比較した報告はない。本研究では、甲州およびシャルドネワイン 14 点に含まれるアミノ酸 19 種について調査し、この比較を行ったので報告する。

実験方法

1. 供試ワイン

山梨大学ワイン科学研究センターにて小規模ワイン試験醸造（100 L スケール）された甲州ワインおよびシャルドネワイン（1998~2006 年製造）を実験に供試した。試験醸造には、山梨大学ワイン科学研究センター育種試験地（南斜面）にて栽培された、甲州ブドウおよびシャルドネブドウ（樹齢 15~20 年）を使用した。また、各果汁には年度別に同一菌株、すなわち 1998, 2000, 2004 および 2006 年にはワイン酵母 *Saccharomyces cerevisiae* W-3 株を接種し、1999, 2003 および 2005 年には *S. cerevisiae* OC-2 株を接種し発酵させた。発酵は 20~25°C で行い、エタノール濃度が 12.0~12.5% に達した時点で発酵を停止させ、澱引きを行った。発酵開始後、90~110 日目にろ過・瓶詰を行い、地下セラーにて貯蔵（20°C）したものを供試ワインとした。

2. アミノ酸分析方法

試料中のアミノ酸は Stocchi らの方法⁸⁾に従い測定した。すなわち、ワイン試料 20 μ l を蒸留水で 5 倍に希釈し、これに 0.5 M KHCO_3 緩衝液を 100 μ l を加えた。これにアセトンに溶解した 2 mM Dabcyl-Cl を 100 μ l を加え、70°C で 10 分間加熱し、アミノ酸を標識した。この溶液を 70% エタノールで 5 倍に希釈したものを標識アミノ酸溶液とした。標識アミノ酸溶液 10 μ l を HPLC に注入し、Sunfire C 18 カラム (Waters 社：粒子径 3.5 μ m 4.6 $\times$ 150 mm) を用いてアミノ酸を分析した。

実験結果

甲州ワインに含まれるアミノ酸含有量（プロリンを除く）を Table 1 に示した。甲州ワイン 7 点に含まれるアミノ酸量は 160–636 mg/l の間にあり、この平均値は 326.1 mg/l であった。アルギニンおよびグルタミンは全ての年度で検出された。次いで、リジン、メチオ

ニン、フェニルアラニンは多くの年度で検出された。これに対して、アスパラギン、アスパラギン酸、グリシン、セリン、トレオニン、チロシンおよびバリンは全ての甲州ワインで検出されなかった。

シャルドネワインに含まれるアミノ酸量（プロリンを除く）を Table 2 に示した。シャルドネワイン 7 点に含まれるアミノ酸量は 192–563 mg/l の間にあり、それらの平均値は 375.9 mg/l であった。アルギニン、アラニンおよびリジンは全ての年度で検出された。次いで、ヒスチジン、トリプトファンが多くの年度で検出された。一方、アスパラギン、フェニルアラニン、セリン、トレオニン、チロシンおよびバリンは全てのシャルドネワインで検出されなかった。

甲州ワインおよびシャルドネワイン計 14 点のプロリン濃度を Figure-1 に示した。全てのワインで多量のプロリンが検出された。甲州ワインに含まれるプロリンは 332–767 mg/l の間にあり、平均値は 643.4 mg/l であった。他方、シャルドネワインでは 177–386 mg/l

Table 1 Amino acid composition of Koshu wine. –Harvested 1998–2006–

	1998	1999	2000	2003	2004	2005	2006
Alanine	—	—	—	123.5	6.0	36.0	—
Arginine	48.0	39.8	23.2	38.1	19.2	38.8	25.4
Aspartic acid	—	—	—	—	—	—	—
Glutamic acid	64.7	—	41.2	—	—	—	—
Asparagine	—	—	—	—	—	—	—
Glutamine	75.8	62.7	23.9	164.3	111.8	122.1	72.6
Glycine	—	—	—	—	—	—	—
Histidine	—	—	—	59.4	55.2	71.8	—
Isoleucine	27.7	32.8	11.9	—	—	—	—
Leucine	—	—	28.1	18.0	35.9	—	—
Lysine	51.8	50.8	—	16.8	50.2	23.4	14.2
Methionine	31.2	59.9	—	215.8	—	42.2	59.3
Phenylalanine	24.8	49.7	32.3	—	42.0	25.6	—
Serine	—	—	—	—	—	—	—
Threonine	—	—	—	—	—	—	—
Tryptophan	15.1	—	—	—	—	—	—
Tyrosine	—	—	—	—	—	—	—
Valine	—	—	—	—	—	—	—
Total	339.0	295.6	160.6	636.0	320.2	359.9	171.5

Data indicate the concentrations of the amino acid (mg/l) in the wine. Means of triplicate measurements within the experimental error, maximum $\pm$ 5.0. —: Not detected.

Table 2 Amino acid composition of Chardonnay wine. -Harvested 1998-2006-

	1998	1999	2000	2003	2004	2005	2006
Alanine	58.3	62.4	83.2	86.2	44.4	62.1	42.1
Arginine	56.4	86.3	109.6	97.4	79.2	100.3	44.6
Aspartic acid	—	—	—	—	—	—	—
Glutamic acid	—	—	—	73.7	—	—	—
Asparagine	—	182.3	—	91.1	—	—	—
Glutamine	—	—	—	—	65.8	82.3	—
Glycine	—	—	—	—	—	—	117.1
Histidine	—	—	—	23.0	65.0	128.0	65.0
Isoleucine	—	—	—	—	24.0	47.9	—
Leucine	—	—	—	30.9	19.0	27.3	18.2
Lysine	62.3	50.0	70.0	61.0	45.0	75.0	65.0
Methionine	—	—	—	—	—	—	32.8
Phenylalanine	—	—	—	—	—	—	—
Serine	—	—	—	—	—	—	—
Threonine	—	—	—	—	—	—	—
Tryptophan	15.2	35.0	12.0	—	—	40.0	—
Tyrosine	—	—	—	—	—	—	—
Valine	—	—	—	36.9	—	—	—
Total	192.2	416.0	274.8	500.2	342.4	562.9	384.9

Data indicate the concentrations of the amino acid (mg/l) in the wine.
Means of triplicate measurements within the experimental error, maximum ± 5.0 . — : Not detected.

1の間にあり、平均値は266.0 mg/lであった。

考 察

本研究で供試した甲州およびシャルドネワインに含まれる総アミノ酸量は、460-1403 mg/lの範囲にあり、これまで報告のあるワインのアミノ酸量の分析値の範囲内にあることがわかった¹⁾。また、甲州ワイン7点は、平均969.5 mg/lのアミノ酸を含むのに対して、シャルドネワイン7点は、平均641.9 mg/lのアミノ酸を含んでおり、甲州ワインはシャルドネワインに比べて、量的に多くのアミノ酸を含んでいることがわかった。また、甲州ワインおよびシャルドネワインに含まれるアミノ酸のうち、製造年度に関わらず一定して含まれるものはアルギニンおよびプロリンであった。これに対して、両ワインで検出されないアミノ酸はアスパラギン酸、セリン、トレオニンおよびチロシンであった。プロリンおよびアルギニンは、ワイン中で多く見出されるアミノ酸であり、それぞれ1000 mg/lに達する場

Fig. 1 Proline concentrations in Koshu and Chardonnay wines.

合もあることが知られている。他方、アスパラギンおよびチロシンは果汁からほとんど検出されないアミノ酸であり、また、セリンおよびトレオニンは20-30 mg/lしか存在しない事が報告されている¹⁾。さらに、ワインに含まれるアミノ酸は、スキンコンタクトやシェールリーなどの醸造技法を行うことによっても変化するが今回、供試したワインは、これらの醸造技法を用いていない。これらの知見から、今回、分析を行ったワイン14点は、既に報告されているワインのアミノ酸組成および含有範囲と一致していることがわかった。

次に、甲州ワインおよびシャルドネワインに含まれるアミノ酸を比較した。今回、供試した甲州ワイン7点全てにグルタミン（平均90.4 mg/l）が検出されたが、シャルドネワインでは2004と2005年に検出されたのみであった。一方、シャルドネワインでは一定してアラニン（平均62.7 mg/l）が検出されたのに対して、甲州ワインでは2003、2004および2005年に検出されるのみであった。さらに、メチオニンおよびフェニルアラニンは甲州ワインに含有されるが、トリプトファンおよびヒスチジンはシャルドネワインに含有されており、両ワインのアミノ酸組成に明確な違いが見られた。1980-1982年に製造された市販ワイン16点（甲州ワイン14点、シャルドネワイン2点）のアミノ酸組成においても今回、分析したアミノ酸組成と同様の傾向を示すことが報告されている⁹⁾。最近、岩野らは純合成清酒に20種類アミノ酸を個別に加え、その呈味性について調査した⁴⁾。この結果、4種類のアミノ酸（アラニン、アルギニン、グルタミン酸、アスパラギン酸）が呈味性を示し、官能評価に影響を与えることを報告している。本報告によれば、アラニンは甘みや旨味を示すアミノ酸として良く評価され、アルギニンは苦味を、また、グルタミン酸およびアスパラギン酸は酸味と渋みを示すアミノ酸として評価された。そこで本研究において、これら呈味性アミノ酸の含有量を調査した。今回、甲州ワインではアルギニンが全ての年度で含有されたが、アラニン、アスパラギン酸およびグルタミン酸は検出される年度が少ないこと、これに対してシャルドネワインではアラニンとアルギニンが全ての年度で含有されることがわかった。甲州ワインは他の白ワインと比較して、官能評価学的に平板な味であることが指摘されている⁶⁾。一方、シャルドネワインでは呈味性を示すアミノ酸であり、良い評価を与えるアラニン

が一定して含有されたことは興味深い結果であった。アラニンは、純合成清酒において253 mg/lが閾値とされており¹⁰⁾、シャルドネワインに含有されるアラニン濃度（62.7 mg/l）は、これと比較すると低濃度であったが今後、ワインの酒質とアミノ酸組成および濃度との関係について検討する必要があると考えられた。

次に、甲州およびシャルドネワインに含まれるプロリン濃度の違いについて検討した。ワインに含まれるプロリンは、元来ブドウ果汁に含まれるものが、大部分を占めている。甲州ブドウ果汁に含まれるプロリンは、平均500~600 mg/lであることが報告されている^{11,12)}。また、発酵前期から中期にかけて、ブドウ果汁に含まれるアミノ酸はワイン酵母により資化されるために、総アミノ酸量は急激に減少するが、プロリンはほとんど減少しない。この理由として、本アミノ酸をワイン酵母が資化するには、プロリンオキダーゼ（EC 1.5.99.8）を要するため、低酸素状態で進む発酵過程ではプロリン資化が減退する為と考えられている。しかし、プロリンを単一窒素源として発酵させた場合では、プロリンのほとんどが消費されることも報告されている¹³⁾。しかしながら、ワイン発酵でプロリン資化に影響する要因については明らかにされていない。今回、供試したワイン14点でもプロリンは高濃度（177-767 mg/l）に含有されており、甲州ワインはシャルドネワインに比べ約2倍のプロリンを含んでいることがわかった。このように、甲州ワインがプロリンを多く含む理由については、1) 甲州ブドウ果汁のプロリン量 2) ワイン酵母のプロリン資化の違い等、が考えられる。今後、この点を明らかにするためには、ブドウ果汁に含まれるアミノ酸とその資化性についても調査する必要があると考えられた。なお、プロリンは清酒において雑味を与える成分として評価されているが¹⁴⁾、甲州ワインの場合、プロリンが酒質にどのように影響を与えるか興味があり、今後の研究課題である。

要 約

本研究では、1998-2006年に試験醸造された甲州ワインおよびシャルドネワインのアミノ酸濃度を調査し、両ワインのアミノ酸組成の違いについて比較した。その結果、甲州ワインにはグルタミンが、シャルドネワインにはアラニンが特徴的に含まれている点で異なった。また、甲州ワインはシャルドネワインに比べ約2倍

のプロリンを含んでいた。

文 献

- 1) 醸造物の成分(財)日本醸造協会 (平成 11 年)
p 352-359
- 2) 秋田 修, 蓮尾徹夫, 大場俊輝, 宮野信之; 発
酵工学, 65, 19-26 (1987)
- 3) Graham H. Fleet (Ed); Wine Microbiology
and Biotechnology, Chapter 4 pp 130-135,
Harwood Academic Publishers, Switzerland,
(1993)
- 4) 岩野君夫, 高橋和弘, 伊藤俊彦, 中澤伸重; 醸
協誌, 99(9), 659-664 (2004)
- 5) 船橋章, 桑平秀夫, 菊池敬; ASEV Jpn. Rep.,
5(2), 174-177(1994)
- 6) 岸本宗和, 袖山政一; 醸協誌, 98(3), 210-216
(2003)
- 7) 青木康宏, 土橋雅純, 三澤茂計, 荻野敏, 三木
健夫, 柳田藤寿, 篠原隆; J. ASEV Jpn., 15(1),
2-8 (2004)
- 8) Stocchi, V., Palm, F., Piccoli, G., Biagiarelli,
B., Magnani, M., Masat, L., and Cucchiaroni,
L.: Amino acids, 3, 303-309 (1992)
- 9) Koki Yokotsuka, Kazuhiko Nozaki, and
Toshihide Matsudo: J. Inst. Enol. Vitic.
Yamanashi Univ., 19, 39-56 (1984)
- 10) 岩野君夫, 高橋和弘, 伊藤俊彦, 中澤伸重; 醸
協誌, 99(9), 659-664 (2004)
- 11) Koki Yokotsuka, Takeo Shimizu, and Tatsuji
Seki; J. Inst. Enol. Vitic. Yamanashi Univ.,
28, 23-35 (1993)
- 12) Michikatsu Sato, Akitoshi Nagano, Yutaka
Nishi, Kazuyuki Ariizumi, Yoshiaki Yagi,
and Kenichi Otsuka: ASEV Jpn. Rep., 5(3),
202-214 (1994)
- 13) Ough, C. S. and Stashak, R. M.: Amer. J.
Enol. Viticult., 25, 7-12 (1974)
- 14) 岩野君夫, 伊藤俊彦, 中澤伸重; 醸協誌,
100 (9), 639-649 (2005)