

[研究報文]

液肥の窒素濃度がブドウ、マスカット・オブ・アレキサンドリアのアミノ酸組成と食味に及ぼす影響

平野 健・林 孝憲・岡本五郎

岡山大学農学部 〒700-8530 岡山市津島中1-1-1

Effect of Different Nitrogen Levels of Liquid Fertilizer on Amino Acid Composition and Taste of Muscat of Alexandria Grape Juice

Ken HIRANO, Takanori HAYASHI and Goro OKAMOTO

Faculty of Agriculture, Okayama University, Tsushima-naka, Okayama 700-8530, Japan

Three-year-old Muscat of Alexandria grapevines were planted in sand beds and treated with three levels of complete liquid fertilizer, containing nitrogen at 30 ppm (L), 60 ppm (M), or 90 ppm (H), daily from bud burst to harvest (these levels were lowered to one-third from veraison to enhance ripening). Arginine, alanine, glycine, glutamic acid, histidine, glutamine, valine, and lysine were accumulated at significantly higher concentrations with increasing nitrogen levels. Sensory evaluations using modified juice samples containing amino acids at their concentrations in the original L, M, and H juices showed that only threonine significantly affected the sweetness of Muscat of Alexandria grape juice: the sweetness was reduced when threonine was added at its original L and H concentrations of 544 and 777 nmol / mL, respectively.

Key words: fertilizer level, amino acids, Muscat of Alexandria, sensory evaluation, taste

緒言

ブドウ果実には糖、有機酸、アミノ酸など、様々な呈味成分が含まれるが、アミノ酸は品種により組成や総量が大きく異なり(4, 8, 12)、また、栽培条件による影響(6, 7)や年次変動も大きい(13)。アミノ酸は窒素を含む化合物であるため、窒素施肥量がアミノ酸の蓄積に大きく影響することが報告されている(5, 11)。Spaydら(14)は窒素施与量の増加に伴い、果汁のアミノ酸が増加するが、糖の蓄積が遅れることを明らかにした。

我々は以前の報告で、マスカット・オブ・アレキサンドリアとピオーネの果汁に含まれる各アミノ酸の濃度を人為的に調節し、食味の変化を調査した(2)。いずれの品種とも、食味の形成にアルギニンが最も重要な役割を果たし、水溶液では苦味を示すアルギニン、ヒスチジン、ロイシン、バリン、フェニルアラニン、イソロイシンがブドウの果汁中では甘味を増したり、酸味を減少させることを報告した。

本研究では、砂耕ベッドでマスカット・オブ・アレキサンドリアを液肥栽培し、液肥の窒素濃度の違いが果汁のアミノ酸組成に及ぼす影響を調査し、食味に及ぼす影響を考察した。

材料及び方法

植物材料：1999年3月に、岡山大学農学部実験圃場のサイドレスハウス内で3年生マスカット・オブ・アレキサンドリア36個体を砂耕ベッドに植え付けた(各樹の根域容積は50L)。発芽期から与える液肥の窒素濃度を3段階に変えた。すなわち、窒素濃度を30ppmに調節した総合液肥(大塚ハウス1号+2号：KNO₃ = 27.0 g, Ca(NO₃)₂·4H₂O = 31.7 g, MgSO₄·7H₂O = 16.7 g, NH₄H₂PO₄ = 5.0 g, EDTA-Fe = 1.5 g, H₃BO₃ = 0.3 g, MnSO₄·5H₂O = 0.2 g, ZnSO₄·7H₂O = 0.022 g, CuSO₄·5H₂O = 0.005 g, Na₂MoO₄·2H₂O = 0.002 g、それぞれ200L当たり)を与える区(L区)、L区の液肥を窒素のみ60ppmとした区(M区)、L区の液肥を窒素のみ90ppmとした区(H区)の計3処理区を設けた。各処理区とも灌水は行わず、液肥を毎日3Lずつ与え、ベッ

材料及び方法

2000年8月9日受理

ド下面から漏れ出る液肥はタンク (200 L) に回収し、2 週間おきに全量交換した。1 樹あたり 3 新梢とし、2 果房を着生させた。なお、ベレゾーン以降は窒素濃度をそれぞれ 1/3 にした。

調査：結実後、各処理区の果房に無作為にラベルした 20 果粒について、経時的に果粒径を調査した。ベレゾーンから経時的に果粒をサンプリングし、果汁の TSS と滴定酸度を測定した。TSS が約 17°Brix に達した時に果房を収穫し (L 区は 8 月 27 日、M 区は 9 月 3 日、H 区は 9 月 5 日)、TSS が 17±0.5°Brix の果粒を選抜し、果汁を採取した。果汁はイオン交換樹脂アンバーライト CG120 (H⁺) で精製し、糖、有機酸を HPLC で、アミノ酸をアミノ酸自動分析計 (日本電子、JLC300) で分析した。

食味試験：各区の収穫果房をまとめ、果汁を採取し、イオン交換樹脂でアミノ酸を除去した。この果汁にブドウ糖と果糖を 1:1 で加えて °Brix を 17 に、また、KOH で pH を 4.4 に調整した。この調整果汁を base juice とし、これにアミノ酸分析の結果を基に、各区のアミノ酸組成になるように各アミノ酸を添加し、甘味、酸味、苦味、旨味の 4 項目について食味を順位法により比較した。パネルは男性 5 名、女性 5 名 (年齢は 20~34 歳) で、食味評価は室温、蛍光灯下で行った。評価結果は Wilcoxon の符号付順位検定により検定した。

結果と考察

新梢生長は窒素濃度が高い区ほど旺盛であったが、

副梢の再生長に有意差はなく、果粒肥大にも有意差は認められなかった (データ省略)。Spayd ら (14) は、White Riesling を用いた実験で、窒素施肥量の増加とともに果粒径が大きくなることを報告しており、本実験の結果と異なっている。これは、本実験では各区とも 3 年生と若い個体を用いていること、個体の植え付け時に根を水洗したために果粒の肥大が不良であったことが影響しているのかもしれない。

収穫時の果汁の糖、有機酸含量、pH を Table 1 に示す。TSS が 17°Brix に達した時点で収穫したが、L 区で収穫が最も早く、施肥窒素濃度が高いほど収穫が遅れた。L 区では収穫時の滴定酸度、酒石酸含量が有意に低く、pH が高かった。アミノ酸含量は L 区でアルギニン、ヒスチジン、グルタミン、リジンが他の 2 区に比べて有意に低く、H 区でアラニン、スレオニン、グリシン、グルタミン酸、バリンが高かった (Table 2)。窒素施肥量の増加とともに糖の蓄積や酸の減少が遅れることはこれまでに多くの報告があり (1, 5, 14)、本実験の結果と一致した。Spayd ら (14) は、White Riesling を用いた実験で、窒素施肥量の増加により果汁中の総アミノ酸濃度が増加したが、個々のアミノ酸について見ると、アルギニン、プロリン、スレオニンが増加したこと、岡本ら (10) は、Gros Colman を用いた実験で施肥量の増加により果汁中の総アミノ酸濃度が増加したが、これがグルタミン酸、アラニン、バリン、γ-アミノ酪酸の増加によることを報告している。本実験でも、総アミノ酸含量は施肥窒素濃度が高い区ほど高くな

ったが、増加するアミノ酸の種類は異なった。これは品種による違い、あるいは栽培方法によるものと思われる。また、マスカット・オブ・アレキサンドリアの果実では成熟期にアルギニン、プロ

Table 1. Effect of different nitrogen levels of liquid fertilizer on harvest date and juice compositions of Muscat of Alexandria grapes.

Treatment	Harvest date	TSS (°Brix)	Glucose	Fructose	Titratable acidity			pH
					Malic acid	Tartaric acid	(g / 100 mL)	
L	Aug. 27	17.05	8.41	8.48	0.52 b ^z	0.25	0.21 b	4.56 a
M	Sep. 3	17.42	8.61	8.63	0.61 a	0.23	0.27 a	4.34 b
H	Sep. 5	17.16	8.62	8.31	0.65 a	0.28	0.26 a	4.28 b

^z Means within a column denoted by a different letter are significantly different at the 5% level.

Table 2. Effect of different nitrogen levels of liquid fertilizer on juice amino acid composition of Muscat of Alexandria grapes at harvest.

Treatment	Amino acid (nmol / mL)								
	Arg	GABA	Ala	Thr	Gly	Pro	Glu	His	Asn
L	2142.2 b ^z	972.3	393.1 b	544.1 ab	179.6 b	623.0	147.3 b	104.0 b	163.4
M	5105.6 a	1123.1	566.5 b	395.2 b	291.8 b	653.3	206.2 b	209.0 a	235.0
H	5374.3 a	1196.7	1083.4 a	777.0 a	696.5 a	682.4	289.5 a	198.7 a	196.8

^z Means within a column denoted by a different letter are significantly different at the 5% level.

リン、アラニン、 γ -アミノ酪酸、スレオニン、セリンが急増すると報告されている (3) が、これらは窒素施肥濃度を高めた場合に増加したアミノ酸とは一致しなかった。

調整果汁に各区のアミノ酸組成でアミノ酸を添加した場合の食味の比較を行った結果、酸味、苦味、旨味では処理区間に差がなかったが、甘味は M 区が他の 2 区より有意に強く、L 区と H 区の間には有意差がなかった (Table 3)。そこで、この食味の差がどのアミノ酸によるものかを検討した。

まず、収穫果実のアミノ酸組成を M 区と H 区で比較するとアラニン、スレオニン、グリシン、グルタミン酸、バリンに有意な差があることから、この 5 種類のアミノ酸について食味を比較した。すなわち、base juice に M 区の濃度でアミノ酸を添加する際、アラニン、スレオニン、グリシン、グルタミン酸、バリンのいずれかを H 区の濃度になるように添加し、これと M 区、H 区の濃度ですべてのアミノ酸を添加した果汁との食味比較を行った。その結果、スレオニンを H 区の濃度で添加した果汁 (他のアミノ酸はすべて M 区の濃度で添加) は、すべてのアミノ酸を M 区の濃度で添加した果汁に比べて有意に甘味が低く、H 区のアミノ酸濃度の果汁と有意差がなかった (Table 4)。他の 4 種類のアミノ酸については、H 区の濃度で加えても M 区のアミノ酸濃度の果汁と食味に差はなく、H 区のアミノ酸濃度の果汁よりも有意に甘味が強かった。この結果、M 区と H 区のアミノ酸濃度に調整した果汁の食味の違いはスレオニン濃度の違いによるものと考えられた。

次に、M 区と L 区の間で収穫果実のアミノ酸濃度に有意な差のあったアルギニン、ヒスチジン、グルタミン、リジンにスレオニンを加えた 5 種類のアミノ酸について、上記と同様の食味

Table 3. Effect of amino acid composition on the taste of Muscat of Alexandria grape juice ^z.

Amino acid composition	Score for each taste ^y			
	Sweetness	Sourness	Bitterness	Umami ^x
L	1.7 b ^w	2.2	1.9	2.1
M	2.7 a	2.2	1.9	2.0
H	1.6 b	2.5	2.2	1.9

^z Amino acids were added at the level of each treatment composition to a base juice obtained by passing Muscat of Alexandria grape juice through an ion-exchange resin column to remove amino acids.

^y Higher values indicate a stronger taste for each given characteristic.

^x Deliciousness or deepness of taste.

^w Means within a column denoted by a different letter are significantly different at the 5% level.

Table 4. Effects of alanine, glycine, valine glutamic acid, and threonine on the sweetness of Muscat of Alexandria grape juice ^z.

Modified M-composition ^y	M-composition ^x	H-composition ^x
Ala	=	+
Thr	-	=
Gly	=	+
Glu	=	+
Val	=	+

^z =, sweetness not changed; -, sweetness reduced; +, sweetness increased, compared to juice with the M or H composition (p<0.05).

^y Amino acids were added to the base juice (refer to Table 3) at the M treatment concentration except for alanine, threonine, glycine, glutamine, or valine, each of which was added at the H treatment concentration.

^x Amino acids were added to the base juice at the M or H treatment concentration.

Table 5. Effect of arginine, histidine, glutamine, lysine, and threonine on the sweetness of Muscat of Alexandria grape juice ^z.

Modified M-composition ^y	M-composition ^x	L-composition ^x
Arg	=	+
Thr	-	=
His	=	+
Gln	=	+
Lys	=	+

^z =, sweetness not changed; -, sweetness reduced; +, sweetness increased, compared to juice with the M or L composition (p<0.05).

^y Amino acids were added to the base juice (refer to Table 3) at the M treatment concentration except for arginine, threonine, histidine, glutamine, or lysine, each of which was added at the L treatment concentration.

^x Amino acids were added to the base juice at the M or L treatment concentration.

Table 2. continued.

Amino acids (nmol / mL)										
Leu	Gln	Ser	Val	Asp	Lys	Ile	Phe	Tyr	Met	Total
130.7	50.3 b	74.1	53.6 b	72.8	42.3 b	69.7	59.9	34.0	9.9	5898.6
139.1	133.2 a	197.2	57.4 b	132.4	72.5 a	71.3	80.0	51.6	12.0	9732.4
191.8	164.8 a	155.2	103.2 a	89.8	77.9 a	74.6	55.1	51.3	29.2	11687.6

比較を行った結果、スレオニンを L 区の濃度で添加した果汁は、M 区のアミノ酸濃度の果汁に比べて有意に甘味が低く、L 区のアミノ酸濃度の果汁と有意差がなかった (Table 5)。他の 4 種類のアミノ酸については M 区のアミノ酸組成の果汁と食味に差はなく、L 区のアミノ酸濃度の果汁よりも有意に甘味が強かった。この結果、M 区と L 区のアミノ酸濃度に調整した果汁の食味の違いもスレオニン濃度の違いによるものと考えられた。

そこで、スレオニン濃度の違いが食味に与える影響を調査した。すなわち、base juice に M 区の濃度でアミノ酸を添加する際、スレオニンだけは 0、100、200、400、800 nmol / mL になるように添加した 5 種類の果汁を用意し、果汁の食味を比較した。その結果、スレオニン濃度が 100、200 nmol / mL では 0 nmol / mL の果汁よりも甘味が有意に強くなったが、400 nmol / mL では有意差はなく、800 nmol / mL では甘味が有意に低下した (Table 6)。

以前の報告で筆者ら (2) は、マスカット・オブ・アレキサンドリア果汁の食味において、アルギニンが酸味を減少させ甘味を強めるなど、大きな役割を果たすことを報告した。今回の実験では、L 区と M 区の間にはアルギニン含量に大きな差が見られたが、食味に関しては差がなかった。これは、以前の報告では、調整果汁に対し pH の調整を行っておらず、pH が 2.0~2.2 のかなり酸味の強い果汁を用いていたため、アルギニンの影響が強く表れたと考えられる。本実験で、マスカット・オブ・アレキサンドリア果汁の食味にスレオニンが大きな影響を及ぼすことが明らかとなったが、小俣 (9) はスレオニンは単独では甘苦味を示すこと、著者らの実験では苦味を示すことが報告されている (2)。本実験でスレオニンが 100~200 nmol / mL 程度の濃度で甘味を強めること、800 nmol / mL で甘味を弱めたことは、味の相乗作用あるいは相殺作用によると思われる。ただ、本実験では TSS 17°Brix、pH4.4 という条件でのみ実験を行っており、収穫果実のアミノ酸組成が食味に及ぼす影響をより正確に評価するためには、様々な TSS、pH で比較する必要があると思われる。

摘要

マスカット・オブ・アレキサンドリアを砂耕し、

Table 6. Effect of threonine concentration on the sweetness of Muscat of Alexandria grape juice^z.

Conc. of Thr ^y (nmol / mL)	Thr 0 ^x
100	+
200	+
400	=
800	-

^z =, sweetness not changed; -, sweetness reduced; +, sweetness increased (p<0.05).

^y Threonine was added to the base juice at each concentration. Other amino acids were added at the M treatment concentration.

^x Amino acids except for threonine were added to the base juice at the M treatment composition.

3 段階の窒素濃度 (N; 30 ppm = L 区、60 ppm = M 区、90 ppm = H 区、ベレゾーン以降は各 1/3 濃度) の液肥を毎日与えて栽培した。果汁のアミノ酸の内、アルギニン、アラニン、グリシン、グルタミン酸、ヒスチジン、グルタミン、バリン、リジンが液肥の窒素濃度の増加とともに高くなった。得られた果実のアミノ酸組成が食味に与える影響を調査したところ、スレオニンがマスカット・オブ・アレキサンドリア果汁の甘味に大きな影響を及ぼし、M 区の果汁に含まれる濃度 (395 nmol / mL) では食味に影響しないが、L 区、H 区の濃度 (それぞれ 544、777 nmol / mL) では甘味を低下させることが明らかとなった。

引用文献

1. Christensen, P. L., M. L. Bianchi, W. L. Peacock, and D. J. Hirschfeld. Effect of nitrogen fertilizer timing and rate on inorganic nitrogen status, fruit composition, and yield of grapevines. *Am. J. Enol. Vitic.* 45: 377-387 (1994).
2. 平野 健・窪田澄子・西 敏明・岡本五郎. ブドウ果汁の食味に及ぼすアミノ酸組成の影響. *J. ASEV Jpn.* 9: 89-96 (1998).
3. 平野 健・芝原律雄・岡本五郎. 'マスカット・オブ・アレキサンドリア' ブドウ果実のアミノ酸と揮発性成分の季節変化. *園芸学会雑誌* 65 (別 2): 238-239 (1996).
4. Huang, Z. and C. S. Ough. Amino acid profiles of commercial grape juices and wines. *Am. J. Enol. Vitic.* 42: 261-267 (1991).
5. Kliewer, W. M. Effect of nitrogen on growth

- and composition of fruits from 'Tompson Seedless' grapevines. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 96: 816-849 (1971).
6. Kliewer, W. M. and C. S. Ough. The effect of leaf area and crop level on the concentration of amino acids and total nitrogen in 'Tompson Seedless' grapes. Vitis 9: 196-206 (1970).
 7. Kliewer, W. M. and R. J. Weaver. Effect of crop level and leaf area on growth, composition, and coloration of 'Tokay' grapes. Am. J. Enol. Vitic. 22: 172-177 (1971).
 8. Kluba, R. M., L. R. Mattick and Hackler. Changes in the free and total amino acid composition of several *Vitis labruscana* grape varieties during maturation. Am. J. Enol. Vitic. 29: 102-111 (1978).
 9. 小俣 靖. "美味しさ"と味覚の科学. p. 124-193. 日本工業新聞社 (1986)
 10. 岡本五郎・真鍋雅子・平野 健. ブドウ 'グロー・コールマン' に対する好適施肥濃度の検討. J. ASEV Jpn. 8: 14-24 (1997).
 11. Ough, C. S. Effect of nitrogen fertilization of grapevines on amino acid metabolism and higher-alcohol formation during grape juice fermentation. Am. J. Enol. Vitic. 31: 122-123 (1980).
 12. 佐藤充克・長尾明利・西 裕・有泉一征・八木佳明・大塚謙一. ブドウ果汁のアミノ酸組成による品種類縁性およびアンペログラフィーによる分類との関係. ASEV Jpn. Rep. 5: 202-214 (1994).
 13. Spayd, S. E. and J. Andersen-Bagge. Free amino acid composition of grape juice from 12 *Vitis vinifera* cultivars in Washington. Am. J. Enol. Vitic. 47: 389-402 (1996).
 14. Spayd, S. E., R. L. Wample, R. G. Evans, R. G. Stevens, B. J. Seymour, and C. W. Nagel. Nitrogen fertilization of White Riesling grapes in Washington. Must and wine composition. Am. J. Enol. Vitic. 45: 34-42 (1994).