

## [ Research Note ]

## ブドウ栽培における殺菌剤キャプタンの施用とその発酵阻害作用について

後藤 (山本) 奈美<sup>1</sup>・山下裕之<sup>2</sup>・橋口知一<sup>1</sup>・沼田美子代<sup>1</sup><sup>1</sup>独立行政法人酒類総合研究所 〒739-0046 東広島市鏡山 3-7-1<sup>2</sup>長野県中信農業試験場 〒399-6461 塩尻市大字宗賀字床尾 1066-1

## Application of Pesticide Captan in Viticulture and Its Inhibitory Effect on Fermentation

Nami GOTO-YAMAMOTO<sup>1</sup>, Hiroyuki YAMASHITA<sup>2</sup>, Tomokazu HASHIGUCHI<sup>1</sup>  
and Mineyo NUMATA<sup>1</sup><sup>1</sup>National Research Institute of Brewing, Kagamiyama, Higashi-Hiroshima, Hiroshima 739-0046, Japan<sup>2</sup>Nagano Chusin Agricultural Experiment Station, Shiojiri, Nagano 399-6461, Japan

The pesticide Captan (*N*-trichloromethylthio-4-cyclohexene-1,2-dicarboximide) has been reported to inhibit alcohol fermentation during wine making. However, further information on this effect is not available in Japan. Therefore, we investigated the inhibitory effect of Captan by adding it to a small-scale vinification process. In the making of red wine, Captan at 5 mg/L delayed the onset of fermentation by 1 to 2 days. In white or blush wine making, Captan at 1 mg/L delayed the onset by 1 day, and that at 3 mg/L delayed the onset by 2 to several days. Thus, even if the residual concentration of Captan is lower than that specified by Japanese regulations (5 mg/kg of grape berries, without stem), the concentration must be considered in wine making. Notably, when applied to Merlot grapes at 30 days before harvest, Captan did not influence the fermentation profile or the sensory evaluation of the wine produced. As Captan was not detected in the wine after fermentation, it is surmised that Captan gradually degraded under acidic conditions, as has previously been reported.

**Key words:** Captan, fermentation inhibition, pesticide, wine fermentation

## 緒言

キャプタン (*N*-トリクロロメチルチオ-4-シクロヘキセン-1,2-ジカルボキシイミド、 $C_9H_8Cl_3NO_2S$ 、分子量 300.6、Fig. 1) はフタルイミド系殺菌剤 (ポリハロアルキルチオ殺菌剤) で、SH酵素の阻害作用を示し、種々の果樹、野菜、花卉などに使用されている。ブドウについては、晩腐病、灰色かび病、ベト病、黒とう病などに防除効果があるとされており、日本では使用回数は 2 回以内、使用時期は収穫 30 日前まで、と決められている (5)。一方、キャプタンには発酵阻害作用があり、醸造用ブドウに使用した場合、発酵開始を 20~40 時間遅延させると報告

されている (2)。また、キャプタンの酵母に対する最小生育阻害濃度は 10 mg/L と報告されている (3)。発売当初の使用説明書にも、発酵阻害作用があると書かれていたことから、ブドウの防除歴に入れられていない県もある。しかし、発酵阻害については現在の使用説明書には書かれておらず、日本の気象条件で使用基準を守って使用した場合に、どの程度の発酵阻害作用があるのかは明らかでない。‘シャルドネ’などワイン用ブドウにおいても、晩腐病の被害が大きいことから、発酵に悪影響がなけれ

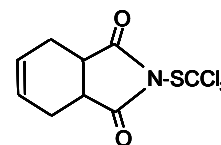


Fig. 1 Chemical structure of Captan.

2007年8月20日受理

ばキャプタンをワイン用ブドウの防除に使用できることが望ましい。以上のことから、ワインの発酵に及ぼすキャプタンの影響を検討することとし、果醪へのキャプタン剤添加試験、ならびにキャプタン剤を散布したブドウを用いた発酵試験を行った。また、発酵前後のキャプタンの定量も行ったので報告する。

## 材料と方法

### 1. キャプタンの添加発酵試験

凍結保存した‘甲州’と‘メルロー’を使用し、キャプタン剤を添加した赤・白の小仕込みを行った。キャプタン剤は、オーソサイド水和剤 80 (キャプタン 80%、日本農薬株式会社) を使用した。なお、キャプタンのブドウの残留基準が果梗を除いて 5 mg/kg であることから、果醪中のキャプタン濃度は 5 mg/L を超えることはないと考えられる。

**1) 赤ワイン**  $-30^{\circ}\text{C}$  で凍結保存した‘メルロー’を除梗し、全体の果粒を混合した後、1 L 容広口瓶 1 本当たり 430 g の果粒を破碎して仕込んだ。果醪にピロ亜硫酸カリウム 80 mg/kg を添加し、比重換算糖度 22% まで上白糖で補糖した。果粒重量の 80% を液量とみなし、キャプタン剤水懸濁液をキャプタン濃度として 0、5、50 mg/L になるよう添加した。酵母は Lalvin L2323 および Uvaferm CM 0.2 g/L を標準的な方法で添加し、各 2 連で室温  $25^{\circ}\text{C}$  で発酵させ、炭酸ガス減量を記録した。

**2) 白ワイン**  $-30^{\circ}\text{C}$  で凍結保存した‘甲州’約 12 kg を解凍・除梗・破碎後、ピロ亜硫酸カリウム 80 mg/kg、Lallemand 社ペクチナーゼ 0.1 g を添加し、メッシュの袋に入れて手で搾れるところまで搾汁し、1 晩  $4^{\circ}\text{C}$  でダブルバージュ後、果汁濁度を約 80 NTU に調整した。比重換算糖度約 21% まで上白糖で補糖し、ホルモール窒素が 200 mg N/L になるよう、リン酸水素 2 アンモニウムを 0.42 g/L 添加した。キャプタンを赤ワインと同様の方法で 0、1、3、5 mg/L になるよう果汁に添加し、360 mL 容ワイン瓶に 230 mL を分注し、アルミホイルで蓋をした。酵母は Uvaferm CEG および Zymaflore VL3 を 0.2 g/L 添加し、室温  $20^{\circ}\text{C}$  と  $15^{\circ}\text{C}$  で各 2 連で発酵させ、炭酸ガス減量を記録した。

キャプタン剤添加発酵前後のキャプタンの定量には、‘甲州’および‘メルロー’の果汁を用い、補糖、

ピロ亜硫酸カリウムの添加、およびホルモール窒素の調製は上記白ワインと同様に行った。キャプタン剤はエタノールに懸濁・溶解し、果汁に 0、1、3 mg/L になるよう添加した。酵母は Uvaferm CEG を用い、室温  $20^{\circ}\text{C}$  で静置、発酵させ、炭酸ガス減量を記録した。発酵終了後、ピロ亜硫酸カリウムを 150 mg/L 添加し、遠心上澄をキャプタン濃度の定量に用いた。発酵前の果汁は、 $-30^{\circ}\text{C}$  で凍結保存後、キャプタン濃度の定量に用いた。

### 2. キャプタン剤を散布したブドウの栽培および小仕込み試験

試験材料は長野県中信農業試験場(長野県塩尻市)において改良マンソン仕立てで栽培されている 8 年生‘メルロー/5BB’3 樹を用いた。試験区は、収穫(2006 年 10 月 5 日)前 30 日と 60 日にオーソサイド水和剤 800 倍散布区、収穫前 30 日オーソサイド水和剤 800 倍散布区、無散布区を設け、晩腐病対象以外の殺菌、殺虫薬剤散布は 2006 年 長野県農作物病害虫・雑草防除基準に従って行った。

このように栽培された‘メルロー’各約 3 kg を小仕込み用に用いた。‘メルロー’は、除梗・破碎して 4 L 容梅酒瓶に仕込んだ。上白糖で比重換算糖度 22% まで補糖し、ピロ亜硫酸カリウムの添加、およびホルモール窒素の調製はキャプタン剤添加発酵試験と同様に行った。酵母は Uvaferm CM を用い、 $25^{\circ}\text{C}$  の室温で発酵させ、炭酸ガス減量を記録した。発酵終了後、ピロ亜硫酸カリウムを 150 mg/L 添加し、メッシュの袋を用いて手で搾れるところまで搾汁した後、遠心分離し、360 mL 容ワイン瓶に保存し、一般分析および官能検査に供した。

官能検査は、酒類総合研究所の 8 人の職員・研究生を審査員に、異味・異臭の有無を問う方法と、長野県中信地域のワイナリー関係者 19 名を審査員に、通常のワインには認められない、すなわちキャプタンに起因すると思われる異味・異臭、およびその他の異味・異臭の有無を問う方法で行った。

### 3. キャプタン濃度の定量

#### 1) 使用試薬

キャプタン濃度の定量に使用した溶媒は、すべて関東化学製の残留農薬試験用(300 倍濃縮試験品)のものを用いた。検量線作成用のキャプタンは、残留農薬試験用 1000 mg/L トルエン溶液を関東化学か

ら購入し、希釈して0.10~1.5 mg/Lのアセトン溶液とした。

## 2) 分析方法

キャプタン濃度は、上路ら (4) の方法を参考に、次のように定量した。キャプタン無添加果汁またはワインについては、試料20 mLを採取しエキストレルート NT20 カラムに負荷し、10分放置後、ヘキサン70 mLで溶出させた。溶出液を約1 mLとなるまで30°Cで減圧濃縮し、窒素気流下で乾固させた。これをアセトン:シクロヘキサン=3:7混合溶液2 mLで溶解し、GPC-GC/MSで定量した。

キャプタン添加果汁については、前述の方法において、試料を1 mL、カラムをエキストレルート NT1、ヘキサンを6 mL、アセトン:シクロヘキサン=3:7混合溶液を3 mLとして行った。

## 3) GPC-GC/MS 条件

GPC-GC/MS は島津製作所の Prep-Q を用い、次のとおり行った。GPC 部、装置: LC-20A、カラム: Shodex CLNPak EV-200 (150 mm×2 mm I.D.)、移動相: アセトン:シクロヘキサン=3:7、流速: 0.1 mL / 分、注入量: 10 µL、フラクション: 200 µL。GC/MS 部、装置: GCMS-QP2010、カラム: deactivated silica tubing (5 m×0.53 mm I.D.) + DB-5ms (5 m×0.25 mm I.D. df=0.25 µm) + DB-5ms (25 m×0.25 mm I.D. df=0.25 µm)、注入方法: Programmed Temperature Vaporization、120°C (5 min) → 100°C/min → 250°C (33.7 min)、カラム温度: 82°C (5 min) → 8°C/min → 300°C (7.75 min)、キャリアガス: He 120 kPa、インターフェーズ温度: 250°C、イオンソース温度: 200°C、スキャン範囲: 86-450、定量イオン: 149、確認イオン: 107、117。

ス減量) を Fig. 2 に示す。

赤ワイン (‘メルロー’) では、キャプタン濃度 5 mg/L では発酵の開始がやや遅延したが、最終的な炭酸ガス減量は対照と同様になった。50 mg/L では大幅な遅延となり、実験を打ち切った。

白ワイン (‘甲州’) では、当初、赤ワインと同じキャプタン濃度としたところ、5 mg/L、50 mg/L とも発酵を開始しなかったため、再度、低濃度区で実験を行った。1 mg/L では15°C、20°Cとも1日弱発酵開始が遅れ、20°Cでは3 mg/L で2日、5 mg/L では5日の遅れになった。15°Cではさらに発酵開始の遅延が大きくなった。

発酵前後のキャプタン濃度を分析するため、再度白 (‘甲州’) およびブラッシュ (‘メルロー’) の添

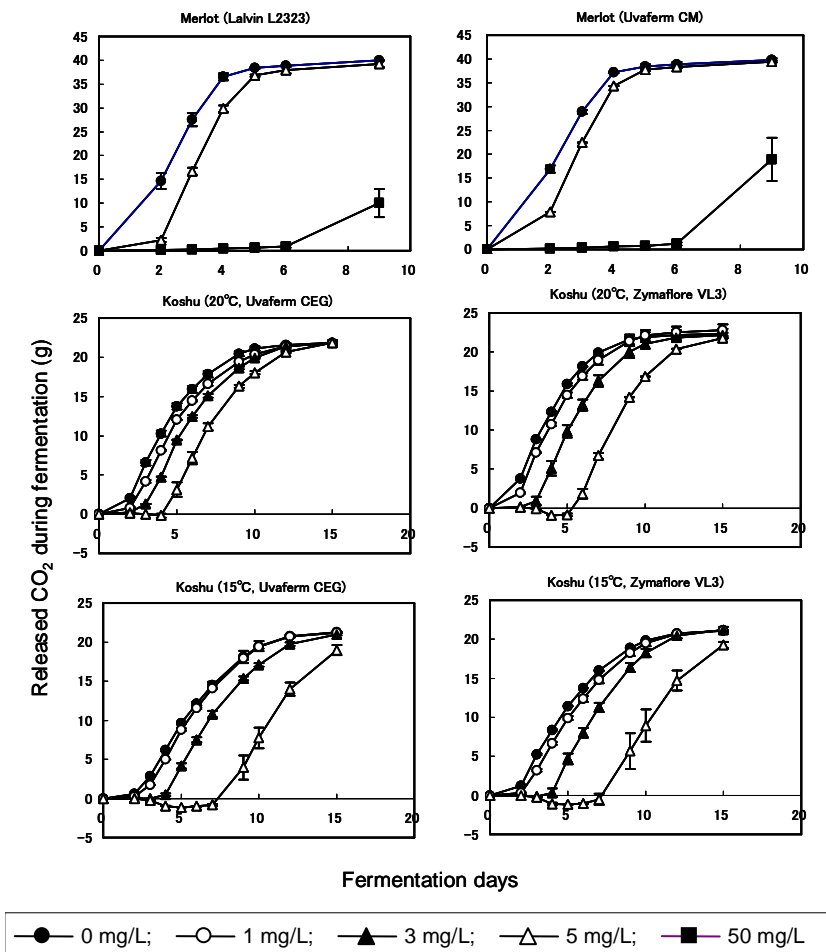


Fig. 2 Fermentation profiles of small-scale vinification with or without addition of 1 wine (Merlot) was fermented at 25°C, and white wine (Koshu) at 15°C and 20°C. Graph shows mean ± SD (n=2). White wine mash (Koshu) added with 50 mg/L of Captan is not shown as it was not fermented.

後藤 (山本) 奈美・山下裕之・橋口知一・沼田美子代

## 1. キャプタンの添加発酵試験

添加発酵試験の発酵経過 (炭酸ガ

加発酵試験(発酵温度 20°C)を行った。Fig. 3 の発酵経過に示すとおり、‘甲州’、‘メルロー’とも 1 mg/L では 1 日、3 mg/L では 4~6 日の発酵開始の遅れが認められた。

白ワイン(果汁仕込み)では、果皮に残留したキャプタン剤の一部のみが果汁に移行すると予想されるが、赤ワインよりも低温、低 pH で発酵が行われることが多いため、同濃度添加した場合は、赤ワインより発酵阻害の影響が出やすいと考えられる。果汁・果醪の成分や添加される酵母の菌株、密度、増殖活性、発酵温度の違いなどによって影響の大小はあると考えられるが、今回の発酵試験の結果から、果汁に 3 mg/L 程度残留すると発酵開始に無視できない遅延を生じる危険性が高いと思われる。従って、醸造用ブドウ(特に白ワイン用ブドウ)へのキャプタンの残留については、残留基準値以下の濃度であっても、注意が必要と言える。

なお、キャプタン添加による一般分析値への影響は認められなかった(データ省略)。

## 2. キャプタン剤散布ブドウの栽培と小仕込み試験

2006 年は、通常防除薬剤散布をしても晩腐病発生が多い年であった。対照区とキャプタン剤 1 回散布区、2 回散布区の小仕込みの発酵経過 (Fig. 4) には、ほとんど差がなかった。製成したメルロー赤ワインの一般分析の結果を Table 1 に示す。もとのブドウが異なるため、成分に若干のバラツキはあるが、異常な値は認められなかった。

次に、小仕込みワインについて、「異味・異臭があれば記入してください。」という設問で、散布回数などは示さずに、8 人の審査員で官能評価を行った。その結果 (Table 2)、原料ブドウに起因すると思われる指摘(トウモロコシ、ピーマン様の香り)、醸造に起因すると思われる指摘(産膜臭、酢エチ臭、ダイアセチルなど)、および酸味、苦味などの指摘で、通常のワインと大きく異なる異味・異臭の指摘は認められなかった。また、ワイナリー関係者 19 名を審査員に、通常のワインには認められない、すなわちキャプタンに起因すると思われる異味・異臭、およびその他の異味・異臭の有無を問う方法で官能審査を

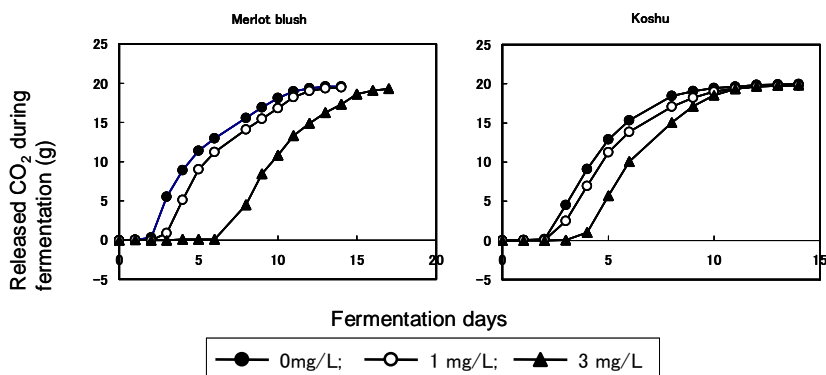


Fig. 3 Fermentation profile of small-scale vinification at 20°C with or without addition of Captan.

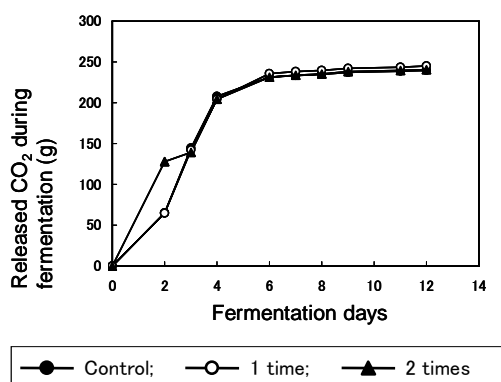


Fig. 4 Fermentation profile of small-scale red wine making using Merlot grapes with or without Captan treatment. Merlot grapes were grown in a vineyard of Nagano Chusin Agricultural Experiment Station at Shiojiri, Nagano. Aqueous solution of Orthocide 80 wettable powder containing 80% active ingredient was sprayed at 30 days and/or 60 days before harvest (October 5, 2006) with a power sprayer at the dose recommended by the manufacturer (125 g/100 L, 200 L/10 a).

Table 1 Composition of red wines made from Merlot grapes with or without Captan treatment.

Wine sample made from Merlot	Alc (%)	Extract (%)	pH	Titrateable acidity* (g/100 mL)
Control (without spray)	12.7	2.90	3.7	0.77
Sprayed 1 time	12.3	2.53	3.6	0.75
Sprayed 2 times	12.3	2.79	3.7	0.84

\*Shown as tartaric acid.

Fermentation profile of these wines are shown in Fig. 4.

行ったところ、青臭い、酸化臭、薬品臭、酸味などの指摘があったものの、キャプタンに起因すると思

Table 2 Sensory evaluation of Merlot red wine with or without Captan treatment.

Wine sample made from Merlot	Normal quality*	Comments
Control (without spray)	6/8	diacetyl, slight flavor of film yeast, strong acid, bitter
Sprayed 1 time	6/8	thin, bitter (2), slight flavor of ethyl acetate
Sprayed 2 times	5/8	corn like flavor, bell pepper like flavor, a little of green odor, diacetyl

\*Number of panelers who evaluated the sample without unusual flavor or taste out of a panel of 8 tasters.

われる異味・異臭の指摘はいずれもゼロであった。すなわち、今回の実験ではキャプタンによるワインの香味への影響は認められなかった。

### 3. キャプタン濃度の定量

キャプタン散布ブドウの小仕込みに用いた果汁、および製成ワインのキャプタン濃度、ならびにキャプタン添加発酵試験の前後のキャプタン濃度を Table 3 に示す。キャプタン散布試料のキャプタン濃度は果汁でも低く、ワインからは検出されなかった。

Caster et al. (2) は、カリフォルニアで栽培されているブドウ ‘エンペラー’ に 4 週間おきに 4 回、キャプタンの粉剤を施用したところ、最終の施用から 60 日後に、2 mg/L が検出され、このブドウを用いて醸し発酵および果汁での発酵を行ったところ、いずれも発酵開始が 24 時間遅れたと報告している。彼らの実験では、最終の施用から収穫までの間の降雨量が 1.34 インチ (33.5 mm) と報告されていることから、施用回数が多いことに加えて、降雨量が少ないことが、今回の実験よりも残留が多い原因ではないかと推察される。

また、添加発酵試験を前後の分析値は、発酵前が添加した値よりやや低いものの、ほぼ妥当な値であった。果汁 0 mg/L に対する 3 mg/L の添加回収率は、‘甲州’ 96%、‘メルロー’ 97%と良好であった。一方、製成したワインからはいずれもキャプタンが検出されず、発酵中に減少することが示された。

なお、キャプタンはアルカリ条件では速やかに分解することが知られているが、Angioni et al. (1) は、マスト中のような酸性条件でもテトラヒドロフタルイミド、テトラヒドロフタラミン酸、およびテトラヒドロフタル酸に分解し、発酵阻害を示さなくなることを報告した。彼らは 5.5 mg/kg 程度のキャプタンをマストに添加すると 72 時間後には pH 4 では 0.76 mg/L、pH 3 では 1.12 mg/kg まで減少したこと

を報告している。また、散布されたキャプタンは、ブドウでは主に光分解と共蒸留 (codistillation、水蒸気蒸留と同じ原理で高沸点の成分が蒸散すること) によって減少するものと推察している。

今回の添加発酵試験で、3 mg/L のキャプタンを白またはブラッシュの仕込み時に添加すると発酵開始が遅れたが、最終的には対照と同じアルコール濃度まで発酵したことから、発酵開始までの間に大部分のキャプタンが分解したものと推定される。

今後は、白ワイン用ブドウへの散布・試験醸造試験、マロラクティック発酵に及ぼす影響の検討、ならびに使用基準にしたがってキャプタンを施用した場合の残留濃度、搾汁時の果汁への移行率などの検討が必要である。

Table 3 Captan concentration in grape juices and wines after fermentation.

	Captan concn. (mg/L)	
	Juice	Wine
Merlot maceration		
Control (without Captan treatment)	Tr	ND
Sprayed 1 time	Tr	ND
Sprayed 2 times	0.06	ND
Koshu		
without addition of Captan	0.056	ND
with addition of 1 mg/L of Captan	0.777	ND
with addition of 3 mg/L of Captan	2.40	ND
Merlot blush		
without addition of Captan	Tr	Tr
with addition of 1 mg/L of Captan	0.825	ND
with addition of 3 mg/L of Captan	2.50	ND

Tr, trace (<0.01mg/L); ND, not detected.

### 要約

高濃度のキャプタンには発酵阻害作用が認められ、赤ワインでは残留基準の 5 mg/L で、発酵開始が 1~

2日遅れた。白ワインでは果汁中の濃度3 mg/Lで発酵開始が2~数日遅れた。従って、キャプタンの使用に当たっては使用基準を守るとともに、残留基準値以下であってもその濃度に注意が必要であることが明らかになった。しかし、キャプタンを使用基準通りに散布した‘メルロー’では発酵の遅延は認められなかった。キャプタンを添加した果汁、ならびにキャプタンを散布したブドウを用いた小仕込み試験で、ワインからはキャプタンが検出されず、報告されているように発酵中に分解することが示唆された。また、成分や官能評価に対するキャプタンの影響は認められなかった。

### 謝 辞

官能検査にご協力いただいた酒類総合研究所および長野県中信地域のワイナリー関係者の皆さまに深謝致します。

### 文 献

1. Angioni, A., V. L. Garau, A. Aguilera del Real, M. Melis, E. V. Minelli, C. Tuberoso and P. Cabras. GC-ITMS determination and degradation of Captan during winemaking. *J. Agric. Food Chem.* 51: 6761-6766 (2003).
2. Castor, J. G. B., K. E. Nelson and J. M. Harvey. Effect of Captan residues on fermentation of grapes. *Am. J. Enol. Vitic.* 8: 50-57 (1957).
3. Conner, A. J. The comparative toxicity of vineyard pesticides to wine yeasts. *Am. J. Enol. Vitic.* 34: 278-279 (1983).
4. 上路雅子・小林裕子・中村幸二編著. 2002年版 残留農薬分析法. pp. 86-87. ソフトサイエンス社. 東京 (2002).
5. 米山伸吾・安藤和彦・都築司幸編. 農薬便覧 第10版 pp. 菌 312-315. 農山漁村文化協会. 東京 (2004).