Botrytis cinerea の生産する
ヘテロ多糖のワイン醸造
に及ぼす影響

清水健一・Helmut DIETRICH*

Helmut Hans DITTRICH*

(サントネージュワイン研究室, *ガイゼンハイム)

昭和 59 年 12 月 26 日受理

Influence of Heteropolysaccharide
Produced by *Botrytis Cinerea* on
Fermentation of Grape MustKenichi SHIMIZU; Helmut DIETRICH,
and Helmut H. DITTRICH(Research Laboratory, Sainte Neige Wine
Co., Ltd. 107-1 Kamikanogawa,
Yamanashi-shi, Yamanashi-ken)

緒言

貴腐ワインの発酵を阻害する因子として、貴腐菌 (*Botrytis cinerea*) の生産するヘテロ多糖 "Botryticin" が報告されている¹⁻²⁾。このヘテロ多糖の生理活性として、発酵の阻害、グリセリン、酢酸生成の促進が指摘されている²⁾。

Botrytis cinerea の培養液より、ヘテロ多糖を単離、精製し、その発酵への影響について検討を加えた結果を報告する。

実験方法

1. 菌株及び培養条件

使用菌株は *Botrytis cinerea* (Geisenheim)。ヘテロ多糖の生産には、Czapek-Dox 培地 (グルコース 8%) を用い、フェルンバッフフラスコ中、室温 (20~25°C) で 15~20 日間静置培養を行った。

2. ヘテロ多糖の単離、精製

RIBÉREAU-GAYON らの方法²⁾に従って行った。

3. ヘテロ多糖の糖組成

常法により加水分解した試料の糖を薄層クロマトグラフィーによって分離し、発色後クロマトスキャンナーで

Fig. 1 Effect of Heteropolysaccharide on Fermentation of Grape Must

Fig. 2 Effect of Heteropolysaccharide on Glycerin Formation during Fermentation of Grape Must

Fig. 3 Effect of Heteropolysaccharide on Acetic acid Formation during Fermentation of Grape Must

分析した。

薄層クロマトグラフィーの条件は以下の通り：

薄層プレート；DC-Fertigfolie F-1440, Avicel, 20 × 20 cm (Schleicher und Schill)

展開溶媒；ベンゼン：n-ブタノール：ピリジン：水 (20 : 50 : 40 : 20) で 2 回展開。

発色；アニリンフタレートを噴霧後、110°C で 5 分間

加熱。

4. 発酵試験

正常果の Riesling, Müller-Thurgau の混合果汁 (pH 3.4, SO₂ 無添加, 全糖として 29 又は 24% となるように Sucrose 補糖) を用いた。

20°C で 3 日間 前培養した *S. cerevisiae* Epernay 株 (Geisenheim) を 10⁸ cells/ml となるように上記果汁中に接種し, 300 ml の三角フラスコに 100 ml ずつ分注して, 被検物質を加え 20°C で発酵試験を行った。発酵経過は重量減少量としてあらわした。

5. グリセリン, 酢酸の定量

・両者共, 酵素法によって定量を行った³⁾。

実験結果及び考察

1. *Botrytis cinerea* の生産する多糖類

Botrytis cinerea の培養液からグルカンとヘテロ多糖が得られた。RIBÉREAU-GAYON らは *Botrytis cinerea* 培養液中のグルカン, ヘテロ多糖の生成さらには健全果と貴腐果中の多糖類を比較し, 貴腐果では, 健全果に存在していなかったグルカンが生成すること, また, ヘテロ多糖の含量が, 健全なものに比し大幅に上昇することを報告している²⁾。この *Botrytis* の生成するグルカンは, 貴腐ワインの経過を困難にする 主要因であることが, DUBOURDIEU¹⁾ によって指摘されている。

ヘテロ多糖の糖組成は, 分析の結果, マンノース 70%, ガラクトース 20%, グルコース 5%, ラムノース 5% であった。RIBÉREAU-GAYON らは, マンノース 60%, ガラクトース 30%, グルコース 5%, ラムノース 5% という値を報告している¹⁻²⁾。

2. ヘテロ多糖がワインの発酵に及ぼす影響

高糖濃度果汁 (全糖含量 29%) 中では, 2,000 mg/l のヘテロ多糖添加により, 発酵は初期において抑制されたが, 中期以降は全く正常に進行した。600 mg/l においては, ごくわずかな阻害が認められるに過ぎず, 300 mg/l 以下では, 発酵阻害は全く認められなかった。また全糖含量 24% の果汁中では, 2,000 mg/l の濃度でも, 発酵阻害は全く観察されなかった (Fig. 1)。

グリセリン, 酢酸生成に及ぼすヘテロ多糖の効果は Fig. 2, 3 に示した。果汁の糖濃度にかかわらず, 2,000 mg/l のヘテロ多糖存在下でも, これら 2 つの物質の生成促進は全く進められなかった。これらの結果は

RIBÉREAU-GAYON らの報告²⁾と大きく異なる。この原因としては, ヘテロ多糖の糖組成の差, 発酵試験に用いた果汁, 酵母菌株の相違なども考えられるが, 例えば Tenuazotic acid⁴⁾, Malformin A⁵⁾, Hadacidin⁶⁾, Tabtoxin⁷⁾, Fragin⁸⁾ などのような植物病原性のカビや細菌によって生産される毒素のヘテロ多糖標品への混入などの可能性も否定できない。

貴腐ワインの発酵阻害の原因としては, 高糖濃度の他にチアミンの欠乏⁹⁾が報告されている。実際の貴腐果汁中における, *Botrytis* に起因するヘテロ多糖の含量は 600 mg/l よりずっと低いことを考慮すると, このヘテロ多糖が貴腐ワインの発酵阻害に寄与していることは考えにくい。なお, *Botrytis* により生成されるグルカンには発酵阻害作用は認められなかった。また, Dextran (5,000 mg/l), Arabinogalactan (2,000 mg/l), Laminarin (100 mg/l) などの多糖類も発酵阻害作用を示さなかった。

貴腐ワインの発酵を順調に行なわせる目的で, 筆者らは, 高糖濃度耐性ワイン酵母を検索, 取得したが¹⁰⁾, これらの株が “Botryticin” による発酵阻害をうけるか否か, 目下検討中である。

文 献

- 1) D. DUBOURDIEU: *These présentée à l'Université de Bordeaux II* (1978)
- 2) P. RIBÉREAU-GAYON, P. SUDRAUD: *Actualités Oenologiques et Viticoles* (Dunod, Paris) 224 (1981)
- 3) J. RIBÉREAU-GAYON, E. PEYNAUD, P. SUDRAUD, P. RIBÉREAU-GAYON: *Analyse et contrôle des Vins* (Dunod, Paris) (1972)
- 4) Y. MIKAMI, Y. NISHIJIMA, H. IIMURA, A. SUZUKI, S. TAMURA: *Agr. Biol. Chem.*, **35** 611 (1971)
- 5) R. W. CURTIS: *Plant Physiol.* **33** 17 (1958)
- 6) R. A. GRAY, G. W. GANGER, E. D. KACZKA, H. B. WOODRUFF: *Plant Physiol.* **39** 204 (1964)
- 7) P. A. TAYLOR, R. D. DURBIN: *Physiol. Plant Pathol.* **3** 9 (1973)
- 8) S. TAMURA, A. MURAYAMA, K. HATA: *Agr. Biol. Chem.* **31** 758 (1967)
- 9) H. H. DITTRICH, W. R. SPONHOLZ, H. G. GOEBEL: *Vitis* **13** 336 (1975)
- 10) 清水健一, 原武, 足立哲夫, 秋山裕一: 醸協 投稿準備中