新潟県産日本酒（地酒）の香気分析：機器分析による官能性評価

工学部化学システム工学科
技術専門職員　坂井 淳一

1．　新潟県は全国２位の日本酒生産県であるが、中小の蔵が多く、大規模メーカーは少ない状況にあり、いわゆる地酒の生産県である事に特徴がある。一方、酒類を含む食品業界全体に対する消費者側からの不信感、例えば原料や製造日の不当表示、添加物など、得に安全性や品質に対する保証の要求はますます厳しさを増している。このような状況の中で本県の酒蔵においては、消費者のニーズに対応した品質管理および品質保証が十分であるとは言いがたい。また、近年の消費者の嗜好の多様化により酵母を殺菌しない生酒、長期熟成酒（古酒）等の多品種、少量生産の傾向が増加しつつあるが、低アルコール度の日本酒においては、保管流通段階での品質の劣化、変性も考えられる。

そこで、本報告では日本酒の品質評価に大きく関わる香り：香気成分に着目し、最近の近年著しく進歩した有機分析機器（GC-MS、HPLC、NMR、FT-IR 等）ならびに人の嗅覚とこれらの機器を組合わせた新しい分析手法の紹介と、固相マイクロ抽出法などによる香気成分の捕集方法やキャピラリーカラムを用いたガスクロマトグラフィーによる成分の同定、定量方法に付いて筆者がこれまでに行なった実施例を含めて報告する。

2. 香気分析および実験

日本酒の成分分析に関しては各地の醸造試験場、醸造学会等での研究、報告[1)]がこれまでにも数多くなされているが、その多くはいわゆる“老ね香”や“火落ち“などの製造段階での生産管理に注目したものであり、保管、流通段階での規格化された香気成分の分析報告は少なく、法令等で定められた分析方法も無い状態である。筆者の属する研究室においてはGC-MS、HPLC、超伝導 NMR、FT-IR 等の有機化合物を分離、解析する諸設備が調っており、筆者はそのオペレートを担当し、薬用植物（生薬）等の天然物からの超微量生理活性物質の単離、同定の経験も有している。そこで、県内の地酒に対象を絞り、幾つかの最新の手法を取り入れた分析をそれぞれの試料に対して保存条件（温度、日数等）を変化させて経日的に成分変化を追跡し地酒の品質の迅速で簡便な分析方法の開発を試みた。

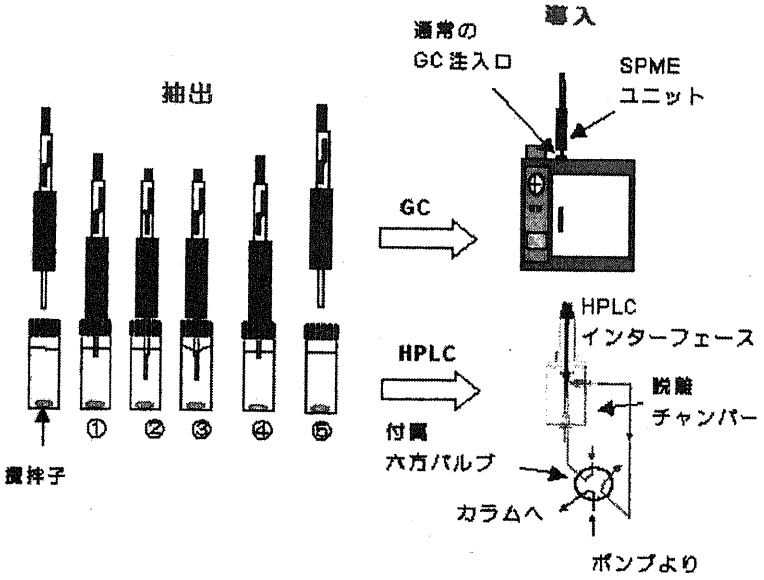
2-1. 従来の香気分析法および最近の分析法

人の五感（視覚、聴覚、触覚、味覚、嗅覚）のうち味覚と嗅覚についてはいまだに科学的な測定法法や基準となる単位もなくいわゆる官能的な領域である。今回対象とする嗅覚における科学的な測定法は環境基準における幾つかの悪臭物質の濃度基準、測定法が定まが定まっている他は、酒類を含む食品類や香料の香りや匂いを科学的に測定する方法も基準も存在しない。これは、匂い成分の数の多さ（一万種以上でなおかつ複雑な混合物）、人の嗅覚の感度（最新の分析機器の感度と同じあるいはそれ以上）、さらに、嗅覚は人それぞれの感性に依存し心理的な影響も受けること等が指摘（例えば通常の飲食における感じと目隠しをした状態での匂いの感覚は異なることが知られる）されている[2]。

以下にこれまでの嗅覚に対する科学的アプローチを幾つかまとめる。ある香りの成分を分析装置に検出可能なまで捕集濃縮し、その個々の成分（化学物質）を分離、定量することで特徴的な成分とその含有量(または人が感知できる閾値)で匂いの性格を示す方法である。

・香気成分の捕集濃縮

エタノール（酒精）を大量に含む酒類の香気分析においてはそのエタノールの影響のため微量かつ多成分である香気物質の捕集（濃縮）が不可欠である。これまでの報告では溶媒抽出法、ヘッドスペース濃縮法、吸着剤を用いる濃縮法等[3]が行なわれてきたが、ある程度の設備、機材が必要とされ、測定時間、コスト、再現性等に多くの問題があった。



そこで、固相マイクロ抽出法[4]（Solid Phase Micro Extraction: 以下 SPME 法とする）による香気成分の捕集を試みた。SPME 法では微量の香気成分をファイバー上にコーティングされた吸着剤に効率的に捕集し、そのままガスクロマトグラフィー（GC）または高速液体クロマトグラフィ（HPLC）の試料導入部に導入して分析を行なうもので、サンプリングが迅速簡便であり、再現性も比較的高い。

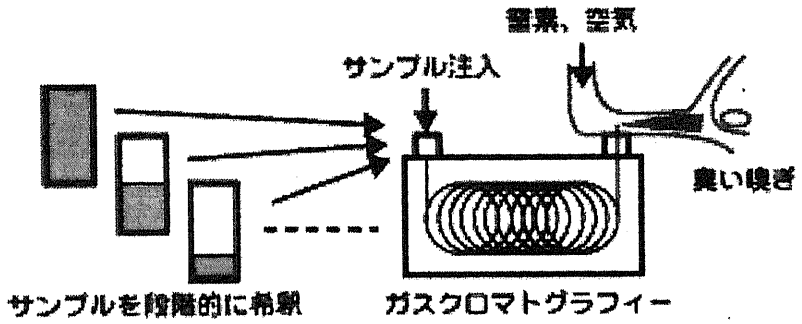
・香気成分の分析

GC-O（ガスクロマトグラフィー-オルファクトメトリー）、GC-Sniffing[5]

GC で分離されて出てくる各成分を TCD とか FID とか MS とかの検出器だけでなく、人間の鼻で匂いを嗅いで検出する。重要な香気成分の探索や原料などの異臭原因物質の調査などに使用。

AEDA（アロマ エキストラクト ダイリューション アナリシス）[6]

GC-O の応用。分析対象を 1 倍、2 倍、4 倍、8 倍、16 倍・・・というように希釈していきそれぞれに対して GC-O を行う。当然希釈するほど各成分の匂いは弱くなっていき、ある希釈倍率を過ぎると匂わなくなり、その成分の匂いが感じられる最大の希釈倍率をその成分の FD-Factor(フレーバーダイリューションファクター：もともとフレーバーの分析で始められたのでこう呼ぶが、現在では花の精油の分析とかでも FD-Factor と呼ばれている）と呼ぶ。FD-Factor が大きい成分ほど薄く希釈されても匂いが分かるので、匂いへの貢献度が大きいと考える。極微量しか存在しないが匂いに大きく寄与する成分の探索や人工香料調合の際に使用する成分の絞り込み（FD-Factor の小さい成分を処方から除く）に用いる。



RAS（レトロナーサル　アロマ　シュミレーション）[7]

人の感じる香りの内、鼻から感じる香りと口に含み咽から鼻に抜ける香り（ワインのグラスからの香りと口に含み飲み下す時の香り）に分け、成分および濃度既知の試料を基準として臭いセンサーで分析してその結果を多変量分析（主成分分析）しその特徴を示す。

2-2.　実験

1）試料：県内産メーカーの市販品をそのまま使用した。

2）固相マイクロ抽出法（SPME）による香気成分の捕集濃縮

本実験では日本酒試料 10ml をセプタム付きバイアル管にとり、40℃でそのヘッドスペース部に 30 分間 SPME ファイバーを露出させ、香気成分の捕集を行なった。用いた SPME ファイバーはスペルコ社の 50/30μ Stable Flex DVD/ CAR/PDMS を使用した。

3) キャピラリーカラムによるガスクロマトグラフィー分析

島津 GC4B-FID 検出器を用い、DB-WAX 60 m×0.25 mm （J & W サイエンテフィク）をカラムとして使用し、キャリヤーガスとして He を 1.0mL/min、スプリットレスモードで 230℃の注入口に 5 min 間 SPME ファイバーを保持して捕集成分の加熱脱着を行った。カラム分析温度は 50℃で 5 min 保持後、3℃／min で 230℃まで昇温させさらに 230℃で 20 min 保持した。また、分離成分の保持時間校正用として n-デカン（C10）ならびに n-テトラデカン（C14）を内部標準として所定量を分析試料に添加した。

3. 結果および考察

固相マイクロ抽出法（SPME 法）を用いて得られた県内産日本酒 A 銘柄の香気成分のガスクロマトグラムを Fig.1 に示した。縦軸にはピーク強度を、横軸にはサンプル注入時からの時間を示し、成分の同定は保持時間（Kovats index 換算）と GC-MS 分析により行なった。 その結果、濃縮方法で問題となるエタノール（EtOH）による香気成分の妨害も殆ど見られず、30 成分以上の香気成分が検出された。再現性も比較的良好であった（同一試料を複数回分析し、最大誤差は±8%であった）。含有成分の主なものはイソアミルアルコール、β-フェネチルアルコール、イソブタノール、酪酸エチルなどであった。また、銘柄が異なるサンプルではその香気成分の組成ならびに検出量が明らかに異なり、分析チャートを一瞥することにより容易にその銘柄を決定することができ、本分析法の有効性が認められた。

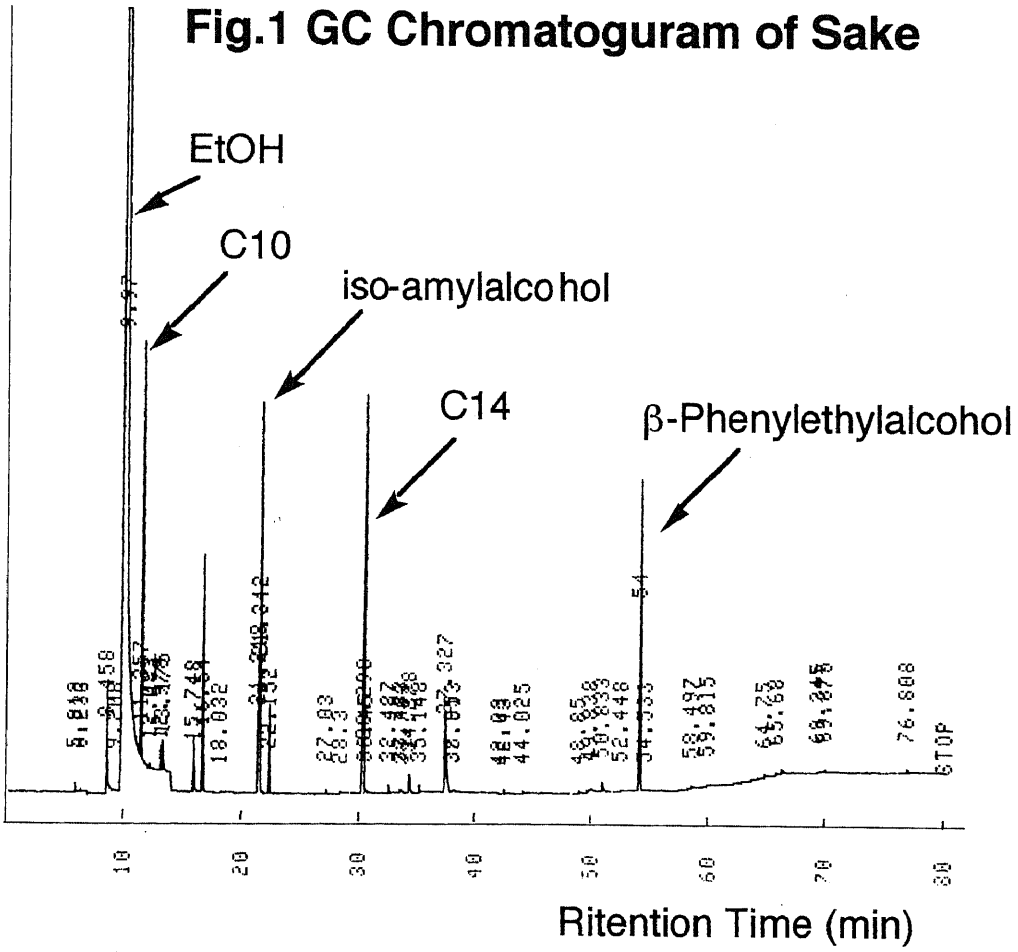


Fig.1 GC Chromatoguram of Sake

現在、本実験の SPME 法による日本酒の香気成分のガスクロマトグラフィー（GC）による香気成分の保管方法によるの経時的変化の追跡、GC-MS による定量を行なっており、得られた結果を基に、味覚や色、臭気等の感覚的変化と得られた日本酒成分変化の関係を検討し、最も日本酒の品質（味覚や色、臭気等）と相関の高い指標となる成分物質（指標物質）

を幾つか選ぶ作業を行なっている。この少数の指標化合物の選定は、中小企業の多い県内酒造メーカーにおいても適用可能な簡便で迅速な分析方法とするためには必要不可欠と考えている。以上の手法がある程度確立された後、実際の多種、多品目にわたる地酒製品について本分析方法の適用を試み、実用化を計るための問題点の洗い出しと改良を行なう必要がある。

謝辞

本研究の一部を担当して頂いた工学部 安東研究室の学生諸氏に深く感謝致します。また、日本酒サンプルを御恵与頂きました新潟県新発田市菊水酒造株式会社ならびに菊水酒造醸造部の渡辺勝也氏に謝意を表します。

本研究は日本学術振興会平成14年度科学研究費補助金 奨励研究(B)14915015ならびに菊水酒造株式会社の援助により新潟大学工学部において行われた。

文献

1)吉沢 淑, *日醸協誌*. 68, pp. 59-61, 1973.; 西村 顕, 近藤恭一, 他, *醗酵工学*, 67, pp. 237-244, 1989.; 稲橋正之, 吉田清, 他, *日醸協誌*. 92, pp. 151-158, 1997.

2) 下田満哉, *Sumica Chemical Analysis Service News*, 2001-1, pp. 3-6, 2001.

3) 坂本宏司, 下田満哉, 筬島豊, *日本農芸化学会誌*, 67, pp.685-692, 1993.

4) 下田満哉, *化学と生物*, 35 (7), pp. 507-508, 1997., *スペルコ技術資料*, Bulletin 869A (T195869A), 1998.

5) M. Shimoda, *et al.*, *J. Agric. Food Chem.*, 44, pp. 3909-3912, 1996.

6) P. Schermann., *et al.*, *J. Agric. Food Chem.*, 45, p. 867, 1997.

7) D. Kathryn, *et al.*, *J. Agric. Food Chem.*, 49, pp. 1388-1393, 2001.