

固相マイクロ抽出法を用いた香気成分分析による 新潟県産地酒の特性評価

応用分析技術分野 坂井 淳一

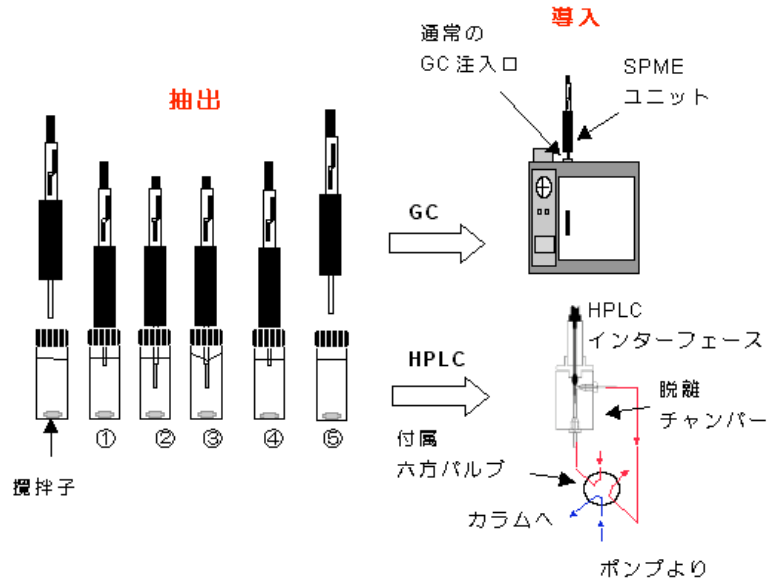
1. 本県（新潟県）は全国2位の日本酒生産県であるが、中小の蔵が多く、大規模メーカーは少ない状況にあり、いわゆる地酒の生産県である事に特徴がある。一方、近年、酒類を含む食品業界に対する消費者側からの製品の安全性や品質に対する要求はますます厳しさを増している。このような状況の中で中小のメーカーが多い本県の酒蔵においては、消費者のニーズに対応した品質管理および品質保証が十分であるとは言いがたい。また、近年の消費者の嗜好の多様化および大手メーカーに対抗するための差別化の要求により酵母を殺菌しない生酒、長期熟成酒（古酒）等の多品種、少量生産の傾向が増加しつつあるが、低アルコール度の日本酒においては生産後の保管、流通段階での品質の劣化、変性も考えられる。これまで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、報告が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成分変化の報告はほとんど無い状態である。

これまで、筆者は平成14年度奨励研究、No. 14915015, “有機機器分析法を組合わせた新潟県産日本酒（地酒）の経時的品質評価の試み”として、近年著しく進歩した有機機器分析の手法を組合わせ迅速で簡便な日本酒（地酒）の香気成分の濃縮方法の検討とキャピラリーGC分析による成分の同定等を行ってきた。その結果、日本酒の香気成分の分析手段として、固相マイクロ抽出（以下、SPME法と称する：数マイクロンのファイバー上に吸着剤を結合させ、吸着時のみファイバーを試料に露出、目的成分を吸着させ、その後、ファイバーを分析機器の注入口に直接導入する）をGC分析に用いた所、短時間かつ再現性よく簡便に日本酒の香気成分の分析が可能となることを見出し、平成15年度新潟大学教室系技術職員専門研修¹⁾において技術報告として報告した。今回は、固相マイクロ抽出法を用いるGC分析により得られるスペクトルパターンの解析により新潟県産地酒の香気成分の特徴を明らかにする目的で種々検討を行っているが、本報告では日本酒の香成分を同定、解析する強力な手段であるGC-MS（質量分析法）の紹介を兼ねて実例を挙げながら報告する。

2. 香気分析および分析実験

・香気成分の捕集濃縮

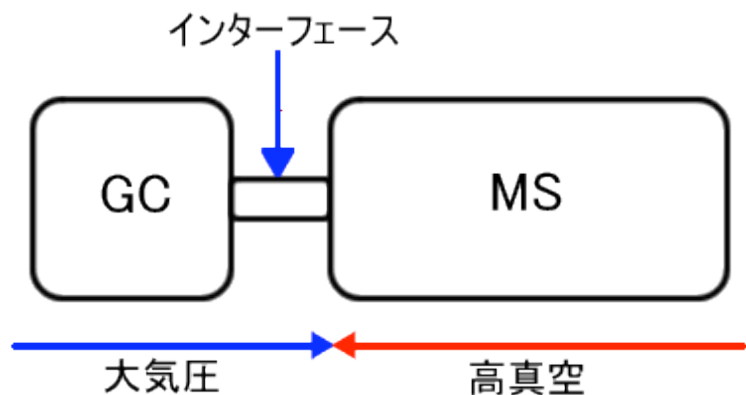
エタノール（酒精）を大量に含む酒類の香気分析においてはそのエタノールの影響のため微量かつ多成分である香気物質の捕集（濃縮）が不可欠である。これまでの報告では溶媒抽出法、ヘッドスペース濃縮法、吸着剤を用いる濃縮法等³⁾が行なわれてきたが、ある程度の設備、機材が必要とされ、測定時間、コスト、再現性等に多くの問題があった。



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。

・質量分析

ガスクロマトグラフィー（GC）で分離した各成分はその保持時間の一致により同定することが可能であるが、標準物質がない場合や成分数が多い場合（日本酒の含有香気成分数は数十〜数百にのぼる）は保持時間からでは困難である。そこでその分離成分を高真空中でイオン化しその質量数を知る質量分析が有効である。そこで、GCと質量分析装置（MS）をインターフェースで接続し、個々の分離成分のマススペクトルを測定することが行われる。得られる情報としては分子イオン



そこでその分離成分を高真空中でイオン化しその質量数を知る質量分析が有効である。そこで、GCと質量分析装置（MS）をインターフェースで接続し、個々の分離成分のマススペクトルを測定することが行われる。得られる情報としては分子イオン

ピークに基づく分子量の情報、二次的な開裂に伴うフラグメントイオンピークの解析による情報などがあり、さらに元素の同位体存在比から精密分子量の測定測定や数万にのぼるで化合物の標準スペクトルデータベースからの検索により同定を行うことができる。

2-1. 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 50/30 μ 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 \times 0.25 mm (J & W サイエントフィク) をカラムとして使用し、キャリアーガスとして 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。

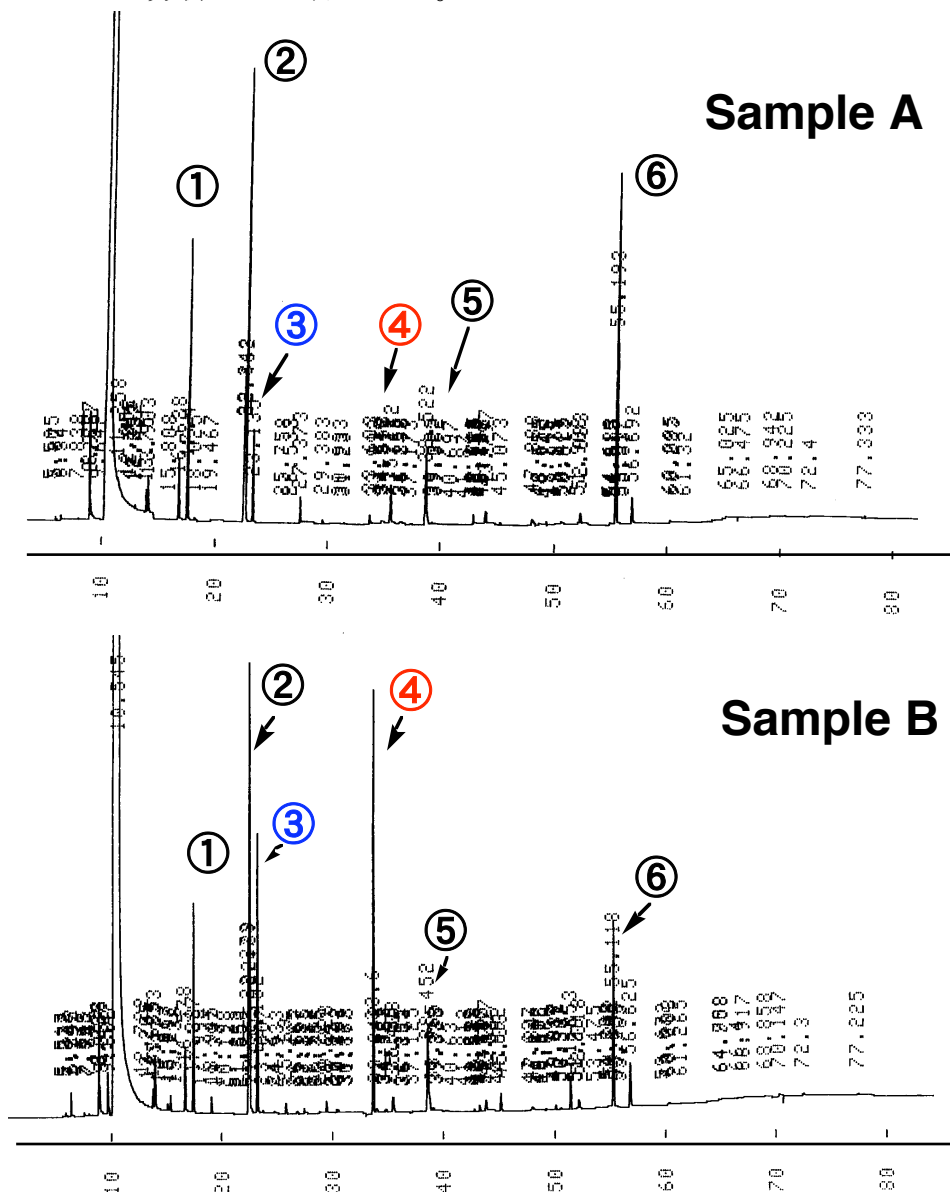
4) GC-MS 分析

日本電子 GC-Mate BU-20 型二重収束 GC-MS 装置を用いた。使用カラムは GC 分析で用いた DB-WAX 60 m \times 0.25 mm (J & W サイエントフィク) をそのまま用い、GC 条件も同一とした。イオン化は熱電子イオン化 (EI) で加速電圧は 70 eV で行った。分離ピークの測定は分子量範囲 40~500、サンプリングはスキャン時間 1 秒、サンプリング間隔 0.5 秒で行った。



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の香気成分のガスクロマトグラムを下に示した。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。

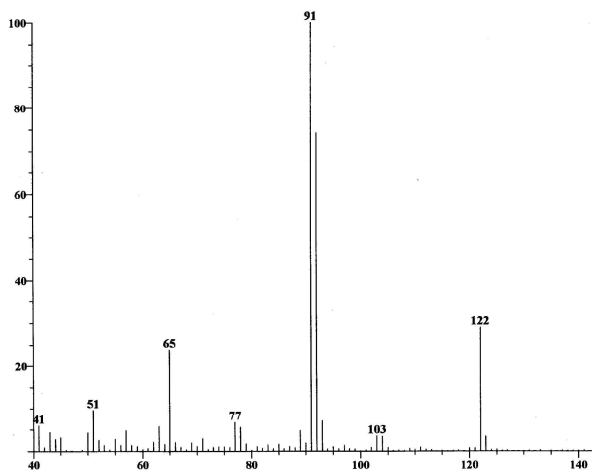
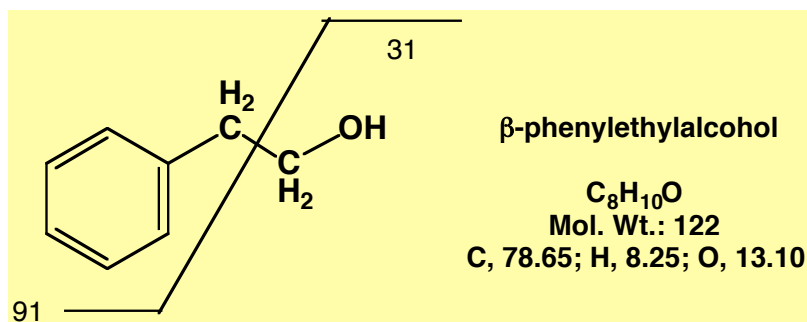


GC Chromatogram of Sake (Sample A, B)

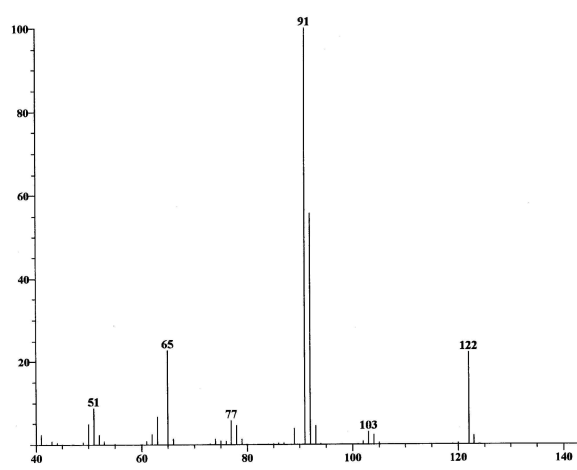
- | | |
|----------------------------|--------------------------------|
| ① 3-Methyl-1-butyl acetate | ④ Acetic acid |
| ② 3-Methyl-1-butano | ⑤ 2,3-Butanediol |
| ③ Ethyl hexanoate | ⑥ β -phenylethyl alcohol |

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た。

含有成分の一例として **β-phenylethylalcohol** (下図) を質量分析法により同定したので、その測定マススペクトル (下左図) とデータベースにより検索した標準物質のスペクトルを (下右図) に示した。



Scan No : 2362



Data Base (NIST®)
 β-phenylethylalcohol

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 16 年度科学研究費補助金 奨励研究 16920022 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) H15 年度新潟大学教室系技術職員専門研修要旨集, pp. 51-55, **2003**.