

樽酒の成分について

松永恒司・古川恵司・原 昌道
(菊正宗酒造(株)総合研究所)

平成 13 年 12 月 3 日受理

Components of *Taru-Sake*

Koji MATSUNAGA, Keiji FURUKAWA and Shodo HARA
(General Research Laboratories of Kiku-masamune Sake Brewing Co. Ltd., 1-8-6
Uozaki-nishimachi, Higashinada-ku, Kobe, Hyogo 658-0026)

Components of *Taru-Sake* (the sake stored in the cedar cask) were analyzed by GC-MS (gas chromatograph-mass spectrometry). Fifteen sesquiterpenoids were separated from hexane soluble part of *Taru-Sake*. The principal components of sesquiterpenoids were delta-cadinene (sesquiterpene), cubenol, epi-cubenol, cedrol, beta-eudesmol (sesquiterpene alcohol), cryptomerione (sesquiterpene ketone), and so on. The main Sesquiterpenoids of *Taru-Sake* were sesquiterpene alcohol. Content of sesquiterpenoids in *Taru-Sake* tended to increase as the storage period became longer and the storage temperature rose. Analyses of the components in the 0~100% (v/v) ethanol extracts from the cedar cask sawdust showed that the increase of ethanol concentration lead to the increase of sesquiterpenoids content and to the high proportion of sesquiterpene. Sesquiterpenoids content in commercial *Taru-Sake* was not correlated with acetaldehyde content and with coloration value (abs. 490 nm).

Key words : 樽酒, 木香, セスキテルペン類

緒 言

樽酒とは杉材で作られた樽に清酒を一定期間貯蔵して樽詰のまま、或いは瓶に移し替えて消費者に提供されるもので、その色や香りに特徴がある。これらの特徴は主に杉樽から清酒に移行する成分に由来し、香り成分については杉材においてその主体をなしているといわれているテルペン類、中でもセスキテルペン類が樽酒に大きく影響しているものと考えられる¹⁾。しかし、これまでに樽酒においてそれら成分を分離・同定した報告はなされていない。

そこで我々は樽酒から簡易的に杉樽成分を抽出する方法を設定し、GC-MS 分析に供することによって杉樽成分、主にそのセスキテルペン類を分離・同定した。

実験方法

1. 供試サンプル

当社上撰本醸造酒、同サンプルを吉野杉製の 1 斗樽に詰め 4°C, 15°C, 30°C で貯蔵し、1~63 日目に 1 合ずつサンプリングしたもの、杉樽木粉 0.2g に 0~100% エタノール 15ml を加え 24 時間振盪抽出した上清、並びに市販の瓶詰め樽酒 7 種類を分析に供した。

2. サンプルからの杉樽成分の抽出

各サンプル 3ml を 1cm 径試験管に採り、そこに内部標準として 0.02% L-カルボン・エタノール溶液 20 μ l と抽出溶媒として n-ヘキサン 150 μ l を加え密閉し、ボルテックスで 5 分間激しく攪拌した。3000 rpm, 10 分間遠心分離し、水層と溶媒層を分離した。溶媒層を杉樽成分抽出画分とした。杉樽木粉からの抽出上

清については水層と溶媒層への杉樽成分の分配量を一定にするため、エタノール濃度を20%に調整してから同様の抽出操作を行った。

3. 杉樽成分抽出画分の分析

杉樽成分抽出画分5 μ lを島津製作所製ガスクロマトグラフ質量分析計(以下GC-MSと称する)QP-5000に注入し、以下に示す条件で杉樽成分の分離・定性を行った。

カラム : 信和化工 FFS URBON HR-SS-10
50 m \times 0.25 mm ϕ

カラム温度: 60 $^{\circ}$ C(1 min) \rightarrow 220 $^{\circ}$ C(7 min)
昇温速度 5 $^{\circ}$ C/min

カラム流量: 2 ml/min He

気化室温度: 230 $^{\circ}$ C

インターフェース温度: 250 $^{\circ}$ C

試料導入法: スプリットレス

各成分の含量はトータルイオンクロマトグラムにおけるピークの対内部標準ピーク面積比からCedrol(ppb)として示した。

4. アセトアルデヒドの測定

ロッシュ・ダイアグノスティックス社製F-キットを用いて測定した。

5. 着色度の測定

杉の心材色が吸収ピークを示すといわれる490 nm²⁾での着色度を測定した。

実験結果

1. 杉樽成分の同定

上撰本醸造(樽貯蔵前)の抽出画分並びに樽酒の一例として1斗樽中で15 $^{\circ}$ C, 2週間貯蔵したサンプルの杉樽成分抽出画分のGC-MSトータルイオンクロマトグラムをFig. 1に示す。上撰ではピークが全く見られなかったのに対して、樽貯蔵サンプルでは多くのピークが認められた。マススペクトル解析の結果、これらのピークは大部分がセスキテルペン類であり、保持時間15~19分までのピークはセスキテルペン、22~28分までのピークはセスキテルペンアルコールであると考えられた。そこで杉材精油のセスキテルペン類を調べた報告³⁻⁷⁾における溶出時間との比較やマススペクトル解析の結果、これらの内の15ピークを同定することが出来た。同定されたピークと各ピークの含量(Cedrol換算)をFig. 1及びTable. 1に示す。比較的含量が多かったものは、セスキテルペンの δ -Cadinene(ピークNo.2), セスキテルペンアルコールのCubenol(ピークNo.6), Epi-cubenol(ピークNo.7), Cedrol(ピークNo.9), β -Eudesmol(ピークNo.13), セスキテルペンケトンのCryptomerione(ピークNo.15)等であった。今回同定された成分は15種類であったが、未同定のピークを含めてマススペクトルから判断して、セスキテルペンアルコールと

Table 1 Components and their quantity of principal sesquiterpenoids in the hexane extracts of *Taru-Sake* stored in a cedar cask for 2 weeks at 15 $^{\circ}$ C.

18 L of Sake (*Jyosen*) were stored in a cedar cask (capacity; 18 L). Each peak number corresponds to that shown in Fig. 1.

Sesquiterpene			Sesquiterpene alcohol			Sesquiterpene ketone		
Peak No.	Compounds	Content (ppb)	Peak No.	Compounds	Content (ppb)	Peak No.	Compounds	Content (ppb)
1	α -Muurolene	12	5	Gleenol	139	15	Cryptomerione	262
2	δ -Cadinene	256	6	Cubenol	489			
3	α -Curcumene	17	7	Epi-cubenol	1073			
4	Calamenene	9	8	Elemol	126			
			9	Cedrol	268			
			10	γ -Eudesmol	101			
			11	Torreyol	262			
			12	α -Eudesmol	225			
			13	β -Eudesmol	455			
			14	Kongol	228			

Contents represented as Cedro(ppb).

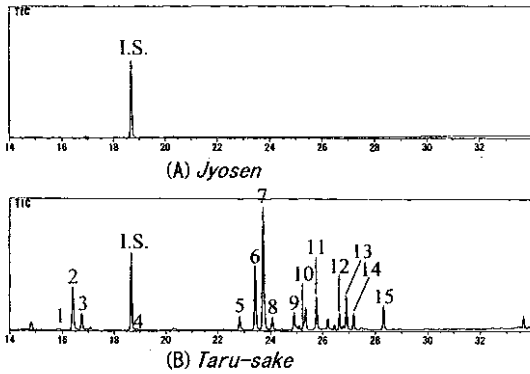


Fig. 1 The total ion chromatogram of GC-MS of (A) *Jyosen* (sake before storing in a cedar cask), (B) *Taru-sake*

Peak No.1 α -muurolene(15.87 min), 2 δ -cadinene(16.40 min), 3 α -curcumene(17.07 min), 4 calamenene(18.95 min), 5 gleenol(22.83 min), 6 cubenol(23.42 min), 7 epi-cubenol(23.73 min), 8 elemol(24.06 min), 9 cedrol(24.90 min), 10 γ -eudesmol(25.26 min), 11 torreyol(25.77 min), 12 α -eudesmol(26.64 min), 13 β -eudesmol(26.90 min), 14 kongol(27.19 min), 15 cryptomerione(28.31 min)

I. S. : inner standard(L-carvone)

考えられる成分が量的にも種類のにも圧倒的に多かった。その他、図には示していないが34分以降の部分でマススペクトルから判断してジテルペン類と考えられる成分(未同定)が微量検出された。

2. 抽出条件の違いが杉樽成分抽出量に与える影響
上撰本醸造酒を1斗樽に詰めて4, 15, 30°Cで貯蔵した。各樽の貯蔵酒を経時的に63日目までサンプリングし、未同定のものも含めてそのセスキテルペン、セスキテルペンアルコール、および両者を合わせた含量を測定した(Fig. 2)。なお、未同定成分はマススペクトルからセスキテルペンかセスキテルペンアルコールかを判定した。セスキテルペンは30°C貯蔵では7日目に最大値を示し、その後徐々に減少した。4, 15°C貯蔵では20日前後まで増加し、その後はほぼ一定値で推移した。セスキテルペンアルコールはどの温度でも増加し続けたが、増加速度は貯蔵温度が高いほど大きかった。

3. 抽出エタノール濃度が杉樽成分抽出量並びに組成に与える影響

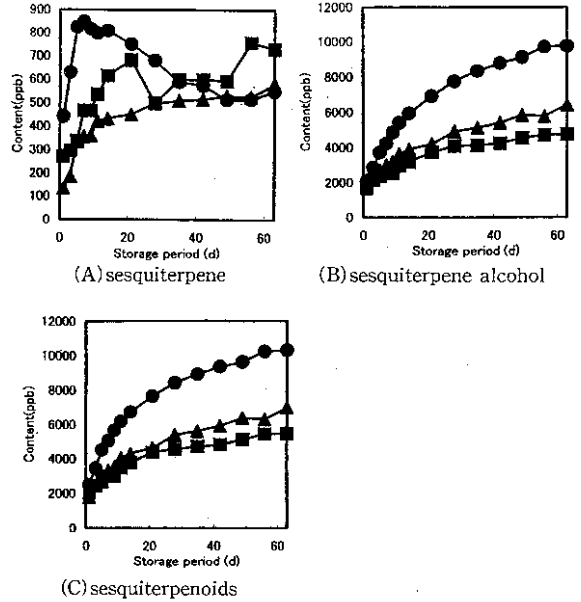


Fig. 2 Time course of the content of (A) sesquiterpene, (B) sesquiterpene alcohol, and (C) sesquiterpenoids in the *Taru-Sake*.

18 L of Sake (*Jyosen*) were stored in a cedar cask (capacity; 18 L) for 63 days at 4, 15, and 30°C. Symbols shows the storage temperature : (■)4°C, (▲)15°C, (●)30°C. Contents represented as Cedrol (ppb).

杉樽木粉を0~100% エタノールで抽出した時のセスキテルペン並びにセスキテルペンアルコールの含量を Fig. 3 に示す。セスキテルペンとセスキテルペンアルコールを合わせたセスキテルペン類含量は、エタノール濃度が高くなるにしたがって多くなった。例えばエタノール100%では0%つまり蒸留水による抽出の約20倍となった。また抽出成分中でのセスキテルペンとセスキテルペンアルコールの割合もエタノール濃度と共に変化した。即ちセスキテルペンが占める割合は抽出エタノール濃度30%までは全体のほぼ1割程度であるのに対して、それ以上の濃度では徐々に増加し、エタノール100%ではセスキテルペンの割合が約4割に達した。

4. 市販樽酒のセスキテルペン類の定量

市販瓶詰め樽酒7種のセスキテルペン類含量を Fig. 4 に示す。7社のうち4社の製品ではセスキテルペン類含量に大きな差は見られなかったが、1社はそれらの2倍以上、もう1社はそれらの5倍以上の含量

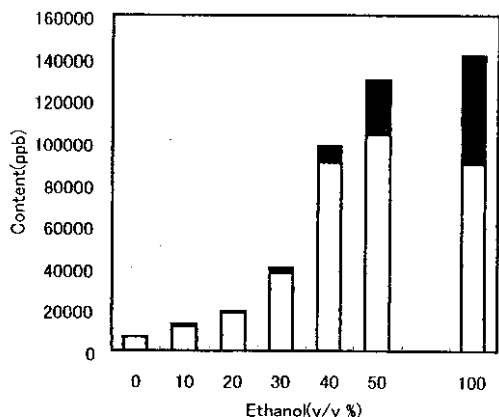


Fig. 3 Components in the ethanol solution extracts from the cedar cask sawdust.

0.2g sawdust of the cedar cask was added to 15 ml 0~100% ethanol(v/v) and mixed for 24 hours. The contents of sesquiterpenoids in the supernatants were analyzed. Sesquiterpenoids were composed of sesquiterpene (■) and sesquiterpene alcohol (□). Contents represented as cedrol (ppb).

を示した。またセスキテルペン類がほとんど含まれていないものも1社見られた。ただし、トータル量の多少に差は見られるものの、各成分の組成比にはほとんど違いは認められなかった (データ省略)。

更にこれら樽酒7点のセスキテルペン類含量とアセトアルデヒド含量並びに吸光度 (490 nm) の関係を Fig. 5 に示す。樽酒7種のアセトアルデヒド含量は 16~53 ppm, 吸光度は 0.05~0.025 であった。セスキテルペン類含量とアセトアルデヒド含量並びに吸光度の間には相関は認められなかった。

考 察

今回、樽酒中から 15 種類のセスキテルペン類を同定した。15 種類以外にもマススペクトルからセスキテルペン類と特定できるピークが多数、また含量は小さいもののジテルペン類と思われるピークも少数認められたことから、樽酒中には杉樽由来のテルペン類が多岐にわたって含まれることが明らかとなった。これらテルペン類の内、最も量的に多かったのはセスキテルペンアルコールであった。これは清酒がアルコール分 20% 以下と、溶媒としては比較的極性が高いため、水酸基を持ったセスキテルペンアルコールが優先して

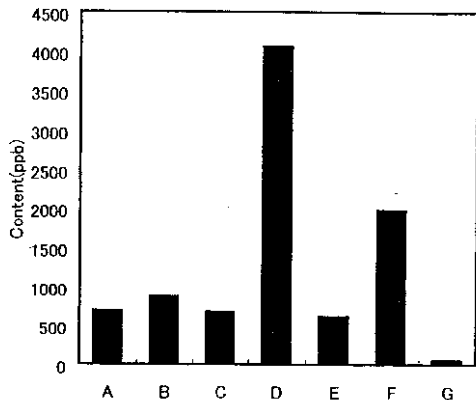


Fig. 4 Contents of sesquiterpenoids of commercial Taru-Sake produced by seven brewers (A~G).

Contents represented as cedrol (ppb).

溶出したものと推察された。このことはエタノール濃度を変えて杉樽成分の抽出を行った実験の結果とも一致した。即ちセスキテルペン類の内セスキテルペンアルコールが占める割合は、エタノール濃度 20% では 9 割程度であったのがエタノール濃度が大きくなるに従って減少し、100% では 6 割を下回った。これはエタノール濃度を変えたことにより抽出溶媒の極性が変化したためであると考えられた。またこれらの結果より、例えば醸造酒と蒸留酒のようにエタノール濃度が違う酒類では、抽出される成分が量的にも、また質的にも大きく異なってくるのが予想された。

樽酒中の樽材抽出成分はその貯蔵期間と温度によって大きく変化することが明らかとなった。即ち貯蔵期間が長くなるほど抽出されるセスキテルペン類の量は多くなり、また貯蔵温度が高くなるほど抽出速度が速くなった。これらの結果は樽酒の製造において、夏期と冬期のように外気温や貯蔵する原酒の温度に大きな差がある場合には品質管理上十分な注意が必要であることを示している。例えば抽出されたセスキテルペン類の量を比較すると、4°C で 14 日間貯蔵した量に達するまでに、15°C 貯蔵では約 9 日間、30°C 貯蔵では 3 日間しかかからなかった。また、このセスキテルペン類を指標とした樽材抽出成分の測定法は、樽材由来成分の多少を明確に数値化することが可能であることから、安定した樽香を有する樽酒を製造するための有効な手段になるものと期待される。

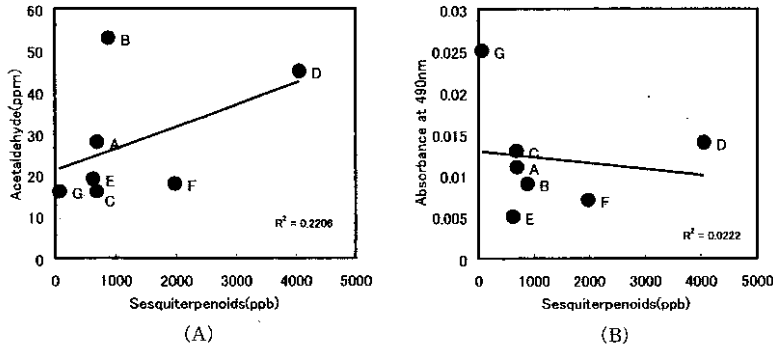


Fig. 5 Relationship between sesquiterpenoids and (A) acetaldehyde, (B) absorbance at 490 nm in the commercial *Taru-Sake* produced by seven brewers (A~G)
Contents of sesquiterpenoids represented as cedrol (ppb).

全国のメーカー7社の市販瓶詰め樽酒のセスキテルペン類含量並びに組成の比較を試みたところ、量的に比較的多いものから殆ど含まれていないものまで、バリエーションに富んだものとなっていた。これらの違いは Fig. 2 に示した結果から、各社の製造過程における貯蔵期間の長短、貯蔵温度、また貯蔵に用いた樽材の材質の違い等により生じたものと考えられた。一方、木香様臭の原因物質とされ、杉樽に清酒を貯蔵することによって増加することが知られている⁹⁾アセトアルデヒド含量は16~53 ppmであり、これらは全て清酒中で閾値といわれる80 ppm^{9,10)}を下回っていた。従って、少なくとも今回の試料において樽酒の木香には、アセトアルデヒドよりもセスキテルペン類の方が寄与が大きいと考えられた。またセスキテルペン類とアセトアルデヒドの含量をプロットしたところ、両者には全く相関が認められなかった (Fig. 5(A))。その他に貯蔵中に増加することが考えられるものとして杉樽容器から溶出する着色成分²⁾があるが、着色度とセスキテルペン類含量との間にも相関は認められなかった (Fig. 5(B))。アセトアルデヒド含量や着色度がセスキテルペン類含量との間に相関が見られなかった原因として、これら2つはセスキテルペン類と異なり、樽貯蔵前の原酒においても少なからず存在することや、貯蔵中の増加に対して貯蔵温度や杉樽の材質などの貯蔵条件が与える影響がセスキテルペン類とは異なることなどが考えられる。以上のことから、アセトアルデヒド含量や着色度の多少を樽香の指標とすることは必ずしも妥当ではなく、セスキテルペン類の定量

は樽酒の品質評価の手段として有用であると考えられた。

セスキテルペン類には薬効が知られているものがあり、今回樽酒中で確認されたものの中にも、 β -Eudesmol や Elemol に抗潰瘍作用が認められている^{11,12)}。また昔から森林浴など、森の香りにはリラックス効果があると言われてきたが、近年杉材(抽出物)の香りには脳の活動を抑え、鎮静的な状態を作り出す作用があることが科学的に明らかとなってきた^{13,14)}。このように樽酒には清酒本来の健康増進作用¹⁵⁾に加えて、杉樽由来の機能性成分が含まれていることが示唆された。

要 約

- 1) 樽酒から簡便に杉樽由来成分を抽出する方法を設定した。
- 2) GC-MS 分析の結果、樽酒中で15種類のセスキテルペン類を同定した。
- 3) 樽酒に含まれるセスキテルペン類は主にセスキテルペンアルコールであった。
- 4) 樽材から抽出されるセスキテルペン類の量は、貯蔵期間が長く、また貯蔵温度が高くなるほど多くなった。
- 5) 樽材の木粉からエタノール水溶液で樽材成分を抽出したところ、エタノール濃度が高くなるほどセスキテルペンとセスキテルペンアルコールを合わせた総量は多くなった。総量に占める割合は前者が高くなった。

6) 市販樽酒中のセスキテルペン類含量とアセトアルデヒド含量や着色度との間には相関は認められなかった。

謝 辞

セスキテルペン類の同定に際して多大なご教授をいただきました，鹿児島県工業技術センターの森田慎一先生に厚くお礼申し上げます。

なお本報告の内容については，平成13年度日本醸造学会大会において発表した。

文 献

- 1) 城代進 鮫島一彦 編：“木材化学講座4”海青社，大津市，100 (1993)
- 2) 甲斐勇二，寺谷文之：木材学会誌，**25**，77 (1979)
- 3) Borjinn SHIEH, Yoshitomi IIZUKA, and Yoshiharu MATSUBARA: Agric. Biol. Chem., **45**, 1493 (1981)
- 4) 谷田貝光克，宮崎良文，森田慎一：木材学会誌，**37**，345 (1991)
- 5) 森田慎一，谷田貝光克，藤田晋輔：木材学会誌，**41**，938 (1995)
- 6) 長濱静男，田崎正人，西村慶二，田島正啓：木材学会誌，**41**，330 (1995)
- 7) 長濱静男，田崎正人，実近智明，西村慶二，田島正啓：木材学会誌，**42**，1121 (1996)
- 8) 山田正一：醸試報，**100**，82 (1928)
- 9) 土肥和夫，宮内俊一，川本雅之：醸工，**52**，416 (1974)
- 10) 秋田修，北野一好，五味勝也，内山幸二，奥田利光，石井徹，古市明紀，原田哲夫，西川久雄，佐藤信：醸協，**75**，595 (1980)
- 11) Mari NOGAMI, Toshitsugu MORIURA, Michinori KUBO and Tadato TANI: Chem. Pharm. Bull., **34**, 3854 (1986)
- 12) Takayuki MATSUNAGA, Chika HASEGAWA, Toru KAWASUJI, Hideyo SUZUKI, Haruo SAITO, Tadashi SAGIOKA, Rihei TAKAHASHI, Hideko TSUKAMOTO, Toshiyuki MORIKAWA and Takeshi AKIYAMA: Biol. Pharm. Bull., **23**, 595 (2000)
- 13) 森川岳，藤井敬久，藤田直人，畠山英子，宮崎良文：第51回日本木材学会大会研究発表要旨集 178 (2001)
- 14) 藤井敬久，畠山英子，森川岳，宮崎良文：第51回日本木材学会大会研究発表要旨集 179 (2001)
- 15) 今安聡，川戸章嗣：平成13年度日本醸造学会大会講演要旨集 21 (2001)