

全国新酒鑑評会出品酒に含まれる4-mercapto-4-methylpen tan-2-oneの解析

誌名	日本醸造協会誌 = Journal of the Brewing Society of Japan
ISSN	09147314
著者名	飯塚,幸子 磯谷,敦子 神田,涼子 藤井,力
発行元	日本醸造協会
巻/号	114巻2号
掲載ページ	p. 93-101
発行年月	2019年2月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



全国新酒鑑評会出品酒に含まれる 4-mercapto-4-methylpentan-2-one の解析

飯塚幸子・磯谷敦子・神田涼子・藤井 力

(独立行政法人酒類総合研究所)

平成 30 年 3 月 16 日受理

Analysis of 4-mercapto-4-methylpentan-2-one in sake presented at the Sake Contest

Sachiko IZUKA, Atsuko ISOGAI, Ryoko KANDA, and Tsutomu FUJII

(National Research Institute of Brewing, 3-7-1, Kagamiyama, Higashihiroshima, 739-0046 Japan)

Recently, "muscat-like", "litchi-like" or "citrus-like" odor characteristics have been indicated in sake presented at Sake Contests. As thiols were considered to contribute to these odor characteristics, we analyzed one of thiol compounds, 4-mercapto-4-methylpentan-2-one (4MMP), in sake presented at the Sake Contest in 2015. The content of 4MMP in 25 samples was 5 ~ 14 ng/L, which was higher than the perception threshold of 4MMP in sake (1.2 ng/L) previously reported. To study the influence of 4MMP on the odor property of sake, a sensory evaluation was performed with the addition of 4MMP to the sake. The 'sulfur' odor property was significantly enhanced by the addition of ≥ 8.0 ng/L of 4MMP. Though the addition of 16.0 ng/L of 4MMP significantly lowered the total appraisal, it significantly enhanced 'fruity' odor properties different from the aroma of ethyl caproate and isoamyl acetate.

Key words : 4-mercapto-4-methylpentan-2-one, 全国新酒鑑評会, チオール類, 官能評価

緒言

全国新酒鑑評会の予審ではプロフィール評価を行っているが¹, 近年, 自由記述欄には出品酒に「マスカット様」, 「ライチ様」, 「柑橘様」など, 「リング様」や

「バナナ様」と表現される吟醸香とは異なる香りの指摘がみられる (Table 1)。清酒の官能評価用語に関する宇都宮らの報告¹⁾にはこのような表現は記載されていないが, これらの香りには, リナロールなどのモノテルペンアルコールのほか²⁾ワイン^{3,4)}やビール^{5,6)}で

Table 1 The numbers of comments with relevance to thiols in sake samples submitted to Sake Contests from 2013-2017

Year	Number of entries	Numbers of comments related to thiols				total
		muscat-like	litchi-like	citrus-like	other	
2013	864	9	4	2		15
2014	845	10	7	2		19
2015	852	4	0	0	1 (4MMP-like)	5
2016	854	1	5	3	1 (3MH)	10
2017	860	3	5	9		17

報告されているチオール類の関与が考えられる。実際、2015 年に「4MMP (4-mercapto-4-methylpentan-2-one) 様」、2016 年に「3MH (3-mercaptohexanol)」と、それぞれ 1 本ずつではあるが化合物そのものの略称で指摘を受けた出品酒があり、清酒においても、チオール様の香りが認知されてきていると考えられる (Table 1)。

4-mercapto-4-methylpentan-2-one (4MMP) はソーヴィニオンブランワインの特徴香成分として知られており、ツゲ・エニシダ・カシスの芽と表現される、ややグリーン感のある、清涼さを連想させる香りを有する³⁾。また、赤ワインにおいても、4MMP がカシス香に関与する成分として報告されている⁷⁾。ワインでは、4MMP は原料であるブドウ果汁の中に前駆体 (システイン抱合体、グルタチオン抱合体) として存在し、アルコール発酵中に酵母の β -リアーゼによる分解を受けて生成する³⁾。

これまでに当所では、黄桜株式会社との共同研究に

より、清酒中にも 4MMP が存在することを初めて明らかにするとともに、4MMP とその前駆体の清酒醸造工程中での挙動及び清酒における検知閾値について報告した⁸⁾。清酒で 4MMP が生成する要因の一つは、醗初期のアミノ酸不足による酵母の代謝異常であることが推察されるが^{9,10)}、全国新酒鑑評会出品酒のような大吟醸酒の醸造も、酵母にとっては供給されるアミノ酸が少ないことから、4MMP が生成する可能性も考えられる。本研究では、全国新酒鑑評会出品酒について 4MMP 含量の測定を行うとともに、官能評価との関連や 4MMP 以外のチオール類の関与について検討した。また、4MMP を添加した清酒の官能評価試験を実施し、4MMP が清酒の香味に与える影響についても解析した。

実験方法

1. 試料

平成 26 酒造年度全国新酒鑑評会 (H26BY, 2015 年

Table 2 Sample list used in this study

No.	Indication numbers of odor profiles			Comments
	<i>koji</i>	yeasty-sake cake smell	sulfur smell	
1	1	1	0	thiol
2	2	1	0	thiol
3	1	0	0	thiol, muscat
4	4	0	0	thiol, 4MMP-like, pineapple
5	4	0	1	thiol, alcohol
6	0	0	0	thiol, aroma collapse
7	2	1	1	thiol, gassy
8	2	1	0	somewhat thiol?, cat urine
9	0	0	1	somewhat thiol?, thiol
10	1	0	0	somewhat thiol?, strong filtration smell, thiol
11	0	0	0	somewhat muscat-like, thiol
12	0	0	1	somewhat muscat-like, thiol
13	0	0	0	somewhat muscat-like?
14	0	1	0	pineapple?, thiol
15	2	0	0	white grape-like
16	1	1	1	various tastes that are not easily expressed, pineapple-like
17	0	1	2	watermelon-like, aroma collapse, thiol
18	1	1	0	foxy, unique, muscat
19	1	0	0	
20	0	1	0	
21	2	0	0	
22	0	0	1	
23	1	0	1	
24	0	2	1	
25	1	0	0	

Table 3 Gas chromatography analysis conditions

(A) Quantification of 4MMP contents	
GC	Agilent 6890
Column	HP-INNOWax (30 m × 0.25 mm, i.d. 0.25 μm film)
Carrier	Helium, 1.0 mL/min, constant flow mode
Oven	40° C (0.5min) → 1° C/min → 80° C → 10° C/min → 240° C (10min)
Injection	Splitless
MS	Agilent 5975
Mode	SIM
Monitor ion	4MMP, <i>m/z</i> 132; IS (4-methoxy-2methyl-2-mercaptobutan), <i>m/z</i> 134
(B) GC-olfactometry	
GC	Agilent 7890
Column	HP-INNOWax (30 m × 0.25 mm, i.d. 0.25 μm film)
Carrier	Helium, 1.5 mL/min, constant flow mode
Oven	40° C (0.5min) → 5° C/min → 240° C (15min)
Injection	Splitless
MS	Agilent 5973
Mode	Scan (<i>m/z</i> 29-350, 4.37 scan/sec.)

開催) 出品酒 25 点を試料とした (Table 2)。これらは、コメント欄の記載内容のほか、既報⁸⁾で 4MMP の検知閾値を求めた際に得たパネリストのコメントにきわめて近い表現であることから、チオール類の関与が考えられる指摘項目として「麴」、「酵母様粕臭」、「硫化物様」の指摘数を参考に選択した。

2. 香り特性評価

日常の官能評価においてチオール類の香り特性に鋭敏であり、これらを指摘することのできる当所職員 3 名をパネリストとして、試料 25 点の官能評価を行った。官能評価は、「4MMP (猫尿臭)」と「チオール」の 2 項目について、6 段階の尺度 (1, 全然感じない; 2, 非常に弱く感じる; 3, 弱く感じる; 4, 普通; 5, 強く感じる; 6, 非常に強く感じる) を用いた採点法により行い、さらに自由記述形式でコメントを求めた。

3. 4MMP 含量の測定

試料 25 点について、Tominaga らの方法¹¹⁾を参考に清酒の分析用に改変した方法⁸⁾でチオール類を選択的に抽出し、ガスクロマトグラフィー質量分析法 (GC/MS) を用いた Table 3 (A) に示す分析条件により、各試料について 3 回ずつ 4MMP 含量を測定した。

4. GC-Olfactometry (GC/O)

試料 25 点のうち、Table 2 に示した予審査でのコメント欄の記載内容と「麴」、「酵母様粕臭」、「硫化物様」等の指摘数から選抜した 7 点について、既報⁸⁾

に従い、Table 3 (B) に示す分析条件により GC/O を実施した。リテンションインデックス (RI) の算出は、*n*-アルカン (C6-C25) を標準物質として文献の方法¹²⁾に従った。

5. 4MMP を添加した清酒の官能評価試験

4MMP 濃度と官能評価との関連性を調べるため、4MMP (Penta Manufacturing Co., NJ, USA) を添加した清酒の官能評価試験を行った。官能評価は、清酒における 4MMP 検知閾値が 1.2 ng/L である⁸⁾ことから、市販清酒 (4MMP やその他のチオール類の関与が考えられる香り特性がないことを事前に官能評価で確認) に 4MMP 濃度が 1.0 ~ 16.0 ng/L になるよう、4MMP を段階的に添加した試料を上昇系列で提示し、当所職員 19 ~ 20 名をパネリストとして、日を替えて 2 回実施した。第 1 回目の試験は、評価項目の用語を選定することを目的として、香味について 5 段階の尺度 (良 1 ~ 悪 5) による採点法を用いるとともに、パネリスト 19 名に自由記述形式でコメントを求めた。第 2 回目の試験は、第 1 回目の試験で得たコメントから評価用語を統一、整理し、選定した用語 (香り、老香・硫黄系・清涼感・果実様; 味、甘辛・苦味・あと味) と総合評価の計 8 項目について、Fig. 1 (A) に示す評価用紙を用い、5 段階の尺度による採点法で実施した。なお、選定した用語については、パネリストに対し、Fig. 1 (B) に示す説明をすることにより、摺合せを行った。特に「果実様」の香りの評価につい

(A) Score sheet	(B) Description of attributes used to the sensory evaluation																																																									
Test code _____ Name _____ Date _____ Instruction Please check only the one box that represents your response.																																																										
<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="width: 10%;">Odor</th> <th style="width: 15%;">Almost not perceivable</th> <th style="width: 15%;">Slight</th> <th style="width: 15%;">Perceivable</th> <th style="width: 15%;">Strong</th> <th style="width: 15%;">Very strong</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td><i>Hine-ka</i></td> <td>--- □ ---</td> <td>--- □ ---</td> <td>--- □ ---</td> <td>--- □ ---</td> <td>--- □ ---</td> </tr> <tr> <td>Sulfur smell</td> <td>--- □ ---</td> <td>--- □ ---</td> <td>--- □ ---</td> <td>--- □ ---</td> <td>--- □ ---</td> </tr> <tr> <td>Refreshed feeling (Odor reminiscent of green)</td> <td>--- □ ---</td> <td>--- □ ---</td> <td>--- □ ---</td> <td>--- □ ---</td> <td>--- □ ---</td> </tr> <tr> <td>Fruity</td> <td>--- □ ---</td> <td>--- □ ---</td> <td>--- □ ---</td> <td>--- □ ---</td> <td>--- □ ---</td> </tr> <tr> <td colspan="6">If you can detect any fruity odor, check the corresponding boxes (multiple answers possible).</td> </tr> <tr> <td></td> <td>Muscat □</td> <td>Litchi □</td> <td>Citrus □</td> <td>Other □ ()</td> <td></td> </tr> </tbody> </table>	Odor	Almost not perceivable	Slight	Perceivable	Strong	Very strong	<i>Hine-ka</i>	--- □ ---	--- □ ---	--- □ ---	--- □ ---	--- □ ---	Sulfur smell	--- □ ---	--- □ ---	--- □ ---	--- □ ---	--- □ ---	Refreshed feeling (Odor reminiscent of green)	--- □ ---	--- □ ---	--- □ ---	--- □ ---	--- □ ---	Fruity	--- □ ---	--- □ ---	--- □ ---	--- □ ---	--- □ ---	If you can detect any fruity odor, check the corresponding boxes (multiple answers possible).							Muscat □	Litchi □	Citrus □	Other □ ()		<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="width: 10%;">Odor</th> <th style="width: 40%;">Attributes</th> <th style="width: 50%;">Description</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td><i>Hine-ka</i></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>Sulfur smell</td> <td>Odor derived from sulfur (including rubber odor, sulfide-like, etc.)</td> <td></td> </tr> <tr> <td>Refreshed feeling (Fresh and green)</td> <td>Refreshing aroma suggestive of a grass or a leaf in a good sense</td> <td></td> </tr> <tr> <td>Fruity</td> <td>Aroma suggestive of fruits</td> <td></td> </tr> </tbody> </table>	Odor	Attributes	Description	<i>Hine-ka</i>			Sulfur smell	Odor derived from sulfur (including rubber odor, sulfide-like, etc.)		Refreshed feeling (Fresh and green)	Refreshing aroma suggestive of a grass or a leaf in a good sense		Fruity	Aroma suggestive of fruits	
Odor	Almost not perceivable	Slight	Perceivable	Strong	Very strong																																																					
<i>Hine-ka</i>	--- □ ---	--- □ ---	--- □ ---	--- □ ---	--- □ ---																																																					
Sulfur smell	--- □ ---	--- □ ---	--- □ ---	--- □ ---	--- □ ---																																																					
Refreshed feeling (Odor reminiscent of green)	--- □ ---	--- □ ---	--- □ ---	--- □ ---	--- □ ---																																																					
Fruity	--- □ ---	--- □ ---	--- □ ---	--- □ ---	--- □ ---																																																					
If you can detect any fruity odor, check the corresponding boxes (multiple answers possible).																																																										
	Muscat □	Litchi □	Citrus □	Other □ ()																																																						
Odor	Attributes	Description																																																								
<i>Hine-ka</i>																																																										
Sulfur smell	Odor derived from sulfur (including rubber odor, sulfide-like, etc.)																																																									
Refreshed feeling (Fresh and green)	Refreshing aroma suggestive of a grass or a leaf in a good sense																																																									
Fruity	Aroma suggestive of fruits																																																									
<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="width: 10%;">Taste</th> <th style="width: 15%;">Dry</th> <th style="width: 15%;">Slightly dry</th> <th style="width: 15%;">Normal</th> <th style="width: 15%;">Slightly sweet</th> <th style="width: 15%;">Sweet</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Sweet/dry</td> <td>--- □ ---</td> <td>--- □ ---</td> <td>--- □ ---</td> <td>--- □ ---</td> <td>--- □ ---</td> </tr> <tr> <td></td> <td>Almost not perceivable</td> <td>Slight</td> <td>Perceivable</td> <td>Strong</td> <td>Very strong</td> </tr> <tr> <td>Bitterness</td> <td>--- □ ---</td> <td>--- □ ---</td> <td>--- □ ---</td> <td>--- □ ---</td> <td>--- □ ---</td> </tr> <tr> <td></td> <td>Not sharpness</td> <td>Almost no sharpness</td> <td>Normal</td> <td>Slight sharpness</td> <td>Sharpness</td> </tr> <tr> <td>Aftertaste</td> <td>--- □ ---</td> <td>--- □ ---</td> <td>--- □ ---</td> <td>--- □ ---</td> <td>--- □ ---</td> </tr> </tbody> </table>	Taste	Dry	Slightly dry	Normal	Slightly sweet	Sweet	Sweet/dry	--- □ ---	--- □ ---	--- □ ---	--- □ ---	--- □ ---		Almost not perceivable	Slight	Perceivable	Strong	Very strong	Bitterness	--- □ ---	--- □ ---	--- □ ---	--- □ ---	--- □ ---		Not sharpness	Almost no sharpness	Normal	Slight sharpness	Sharpness	Aftertaste	--- □ ---	--- □ ---	--- □ ---	--- □ ---	--- □ ---	<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="width: 10%;">Taste</th> <th style="width: 40%;">Attributes</th> <th style="width: 50%;">Description</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Sweet/dry</td> <td>Sweet; feeling sweetness superior to dry Dry; feeling less sweetness ; feeling acidity and /or alcohol superior to sweetness</td> <td></td> </tr> <tr> <td>Bitterness</td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>Aftertaste</td> <td></td> <td></td> </tr> </tbody> </table>	Taste	Attributes	Description	Sweet/dry	Sweet; feeling sweetness superior to dry Dry; feeling less sweetness ; feeling acidity and /or alcohol superior to sweetness		Bitterness			Aftertaste											
Taste	Dry	Slightly dry	Normal	Slightly sweet	Sweet																																																					
Sweet/dry	--- □ ---	--- □ ---	--- □ ---	--- □ ---	--- □ ---																																																					
	Almost not perceivable	Slight	Perceivable	Strong	Very strong																																																					
Bitterness	--- □ ---	--- □ ---	--- □ ---	--- □ ---	--- □ ---																																																					
	Not sharpness	Almost no sharpness	Normal	Slight sharpness	Sharpness																																																					
Aftertaste	--- □ ---	--- □ ---	--- □ ---	--- □ ---	--- □ ---																																																					
Taste	Attributes	Description																																																								
Sweet/dry	Sweet; feeling sweetness superior to dry Dry; feeling less sweetness ; feeling acidity and /or alcohol superior to sweetness																																																									
Bitterness																																																										
Aftertaste																																																										
<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="width: 10%;">Total evaluation</th> <th style="width: 15%;">Very good</th> <th style="width: 15%;">Good</th> <th style="width: 15%;">Normal</th> <th style="width: 15%;">Small defect</th> <th style="width: 15%;">Defect</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td></td> <td>--- □ ---</td> <td>--- □ ---</td> <td>--- □ ---</td> <td>--- □ ---</td> <td>--- □ ---</td> </tr> </tbody> </table>	Total evaluation	Very good	Good	Normal	Small defect	Defect		--- □ ---	--- □ ---	--- □ ---	--- □ ---	--- □ ---	<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="width: 10%;">Total evaluation</th> <th style="width: 90%;">Comprehensive evaluation of odor and taste</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td></td> <td></td> </tr> </tbody> </table>	Total evaluation	Comprehensive evaluation of odor and taste																																											
Total evaluation	Very good	Good	Normal	Small defect	Defect																																																					
	--- □ ---	--- □ ---	--- □ ---	--- □ ---	--- □ ---																																																					
Total evaluation	Comprehensive evaluation of odor and taste																																																									
Comments	Comments																																																									

Fig. 1 Score sheet and description for the sensory evaluation of the added 4MMP.(A), score sheet;(B), description of attributes used to the sensory evaluation. Samples were coded with random 3-digit numbers.

では、パネリストが果実様の香りを感じた場合に選択する項目を「マスカット」、「ライチ」、「柑橘」及び「その他」とし (Fig. 1 (A) グレーに着色した箇所)、「リンゴ様」や「バナナ様」と表現される吟醸香とは明確に区別した。

6. 統計解析

Excel 統計 (Bellcurve for Excel ver.2.00), と T.TEST 関数 (Microsoft excel 2007) を用い、有意水準 5% あるいは 1% で、分散分析 (ANOVA), 平均値の差の検定 (Dunnnett 検定), 相関解析, 有意差検定を行った。なお, Dunnnett 検定は, 対照群と 2 つ以上の処理群に対し, 母平均について対照群と処理群の対比較を同時に検定するための多重比較法である。

実験結果及び考察

1. 試料の香り特性

試料 25 点 (Table2) について, チオール類の関与が考えられる香り特性を有するかを確認するため, チ

オール類の香り特性に鋭敏な当所職員 3 名による官能評価試験を行った。パネリスト 3 名の評価の平均値 (Table4) の分散分析 (ANOVA) では, 各評価項目の平均値に有意差は認められなかった。これらの試料のうち, No.4-6, No.14, No.22 については, 「4MMP ?」や「マスカット様」など, チオール類の関与が考えられるコメントを得られた。

2. 4MMP 含量

4MMP 含量を各試料 3 回ずつ測定し, その平均値を Table4 に示した。今回測定した試料 25 点の 4MMP 含量は 5 ~ 14 ng/L (平均値は 8.2 ng/L) で, いずれも以前に報告した清酒における 4MMP の検知閾値 1.2 ng/L, 並びに掛米品種に一般米の吟おうみを用いた純米酒の 4MMP 含量 (3.7 ng/L) よりも高い値であった⁸⁾。さらに, そのうちの過半数の 13 点は, 掛米品種にみずほのか (グルテリン含量を低減させたタンパク質変異体米) を用いた純米酒の 4MMP 含量 (7.7 ng/L) よりも高い値であり, 中には 2 倍近

Table 4 Sensory evaluation of sake and contents of 4MMP in sake samples

No.	Sensory evaluation score of		Sensory evaluation comments	Contents of 4MMP (ng/L)
	cat urine (4MMP)	thiol		
1	2.3	2.7	ester, alcohol	12.1
2	4.3	4.3	moldy, grassy	6.0
3	2.7	4.0		5.0
4	5.0	5.0	moldy, 4MMP?	6.3
5	2.7	2.7	muscat-like	5.9
6	2.7	3.7	muscat-like, sulfur	8.9
7	3.3	3.7	ethyl acetate, isoamyl acetate, mushroom, egg-like	9.6
8	2.0	2.7		9.4
9	2.3	2.7		7.2
10	2.7	2.7	ester	8.7
11	3.3	3.7	ester, alcohol, ammonia	10.2
12	3.7	4.0	papery, grassy	4.9
13	2.3	3.3	papery, <i>hine-ka</i>	10.0
14	3.7	3.7	muscat, soy sauce	8.5
15	3.7	3.3		5.7
16	2.3	2.7	soy sauce	13.9
17	3.7	3.7	alcohol	7.3
18	2.7	3.3	ethyl acetate (2 panelists), grassy	9.7
19	3.0	3.3	ester, alcohol	9.5
20	3.3	4.0	burnt, soy sauce	9.1
21	4.0	4.3		6.1
22	4.7	4.7	ester, 4MMP?	4.9
23	2.7	3.7	moldy	7.1
24	3.0	3.3	isoamyl acetate, mushroom	6.1
25	2.3	2.3	acetic acid, <i>nama hine-ka</i>	13.6
Mean value	3.1	3.5		8.2

Sensory evaluation was carried out using a scale of 1 to 6 (1, not perceivable; 2, very weak; 3, weak; 4, normal; 5, strong; 6, very strong) by 3 panelists with a high sensitivity to the odor of thiols. No.4-6, 14 and 22 were samples in which the panelists pointed out the comment considered thiols.

い 4MMP 含量の試料もあった。4MMP は、グルテリン含量を低減させたタンパク質変異体米を掛米として醸造した清酒で感知される特徴香に寄与する成分の一つであるが⁸⁾、鑑評会出品酒にも 4MMP が含まれることは、清酒における 4MMP 生成機構の解明への手掛かりとなるとともに、清酒の香味特性を多様化する手段の一助となることが期待される。

一方で、鑑評会での審査 (Table2) 及び当所のパネリスト 3 名による官能評価 (Table4) で「4MMP」あるいは「チオール」に関連性のある指摘があった試料 5 点 (No.4-6, No.14, No.22) の 4MMP 含量は、4.9 ~ 8.9 ng/L と高くなく、試料 25 点の 4MMP 含量と香り特性評価の点数の相関分析でも、「猫尿臭 (4MMP)」, 「チオール」の項目にどちらも危険率 1%

で有意な負の相関がみられ (猫尿臭 (4MMP)-0.56, チオール-060), 今回選択した試料では、官能評価特性と 4MMP 含量は一致しない結果となった。このことから、官能評価で感じる「猫尿臭 (4MMP)」や「チオール」の香りには、4MMP 以外の他の成分の関与が考えられた。

3. GC-Olfactometry (GC/O)

鑑評会出品酒の香り特性に対する 4MMP 以外のチオール類の関与について調べるため、チオール類を選択的に抽出した試料を用いて GC/O を行った。GC/O は試料 25 点の中から 7 点を選択して行ったが、いずれも同じような結果であったため、そのうちの 1 点 (No.25) について熟練したパネリスト 2 名で実施した結果を Table 5 に示した。Retention index (RI) 1361

Table 5 Sensory profiles of thiol extracted sake samples by GC/O

RI	Odor property		Candidate thiols	References RI	References
	panelist A	panelist B			
1196	thiol	4MMP, thiol	delta-3-isopentenyl methyl sulfide	1191	13)
1298	unpleasant, butanol?	vitamin	(2)-propenyl methyl disulfide	1273	14)
1310	burnt rubber	vitamin, medical powder	2-methyl-3-furanthiol	1310	15)
1326		vitamin	3-mercapto-2-pentanone	1343	16)
1361	4MMP	4MMP	2-mercapto-3-pentanone	1361	17)
			4MMP	1363	15)
1384		meaty	4-mercapto-3-hexanone	1405	17)
1411	unpleasant		2-furfrylthiol	1411	18)
1413		gravy	dipropyl disulfide	1413	19)
			2-(1-mercaptoethyl) furan	1413	16)
1478	resin		diallyl disulfide	1478	20)
			allyl(E)-1-propenyl disulfide	1413	21)

Sample, No.25

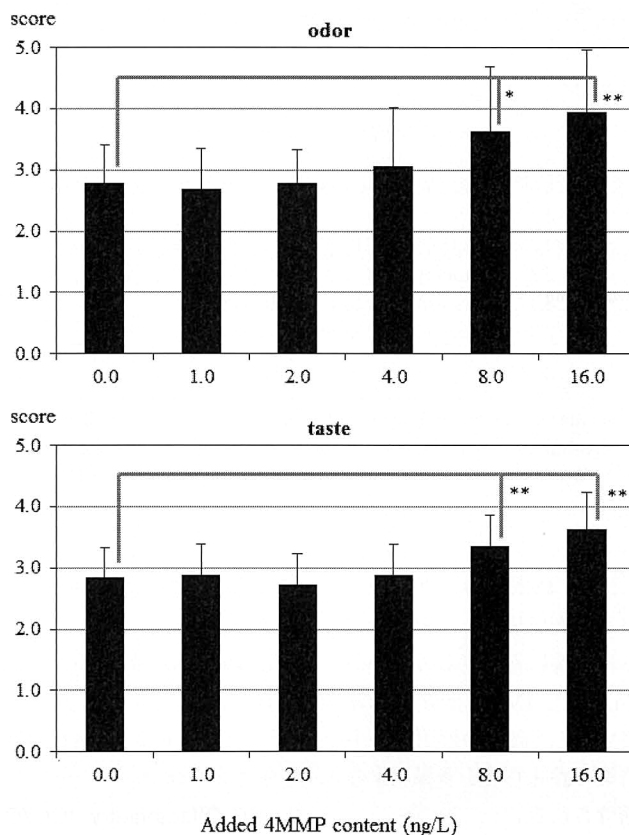


Fig. 2 Influence of the added 4MMP on sake quality.

Low numerical scores using a scale of 1 to 5 correspond to highly favorable evaluations. Asterisks indicate: *, 5%; **,1% level of significance.

に「4MMP」が検出された (Table 5 グレーに着色した領域) ほか, RI 1196, RI 1298, RI 1310, RI 1326, RI 1384, RI 1413 にもチオール類の関与が考えられ

る香りが検出された。これらのピークについて, RI 及び香りの特徴を文献¹³⁻²¹⁾と比較し, 候補物質と考えられる化合物を示した。今回のデータでは, マスス

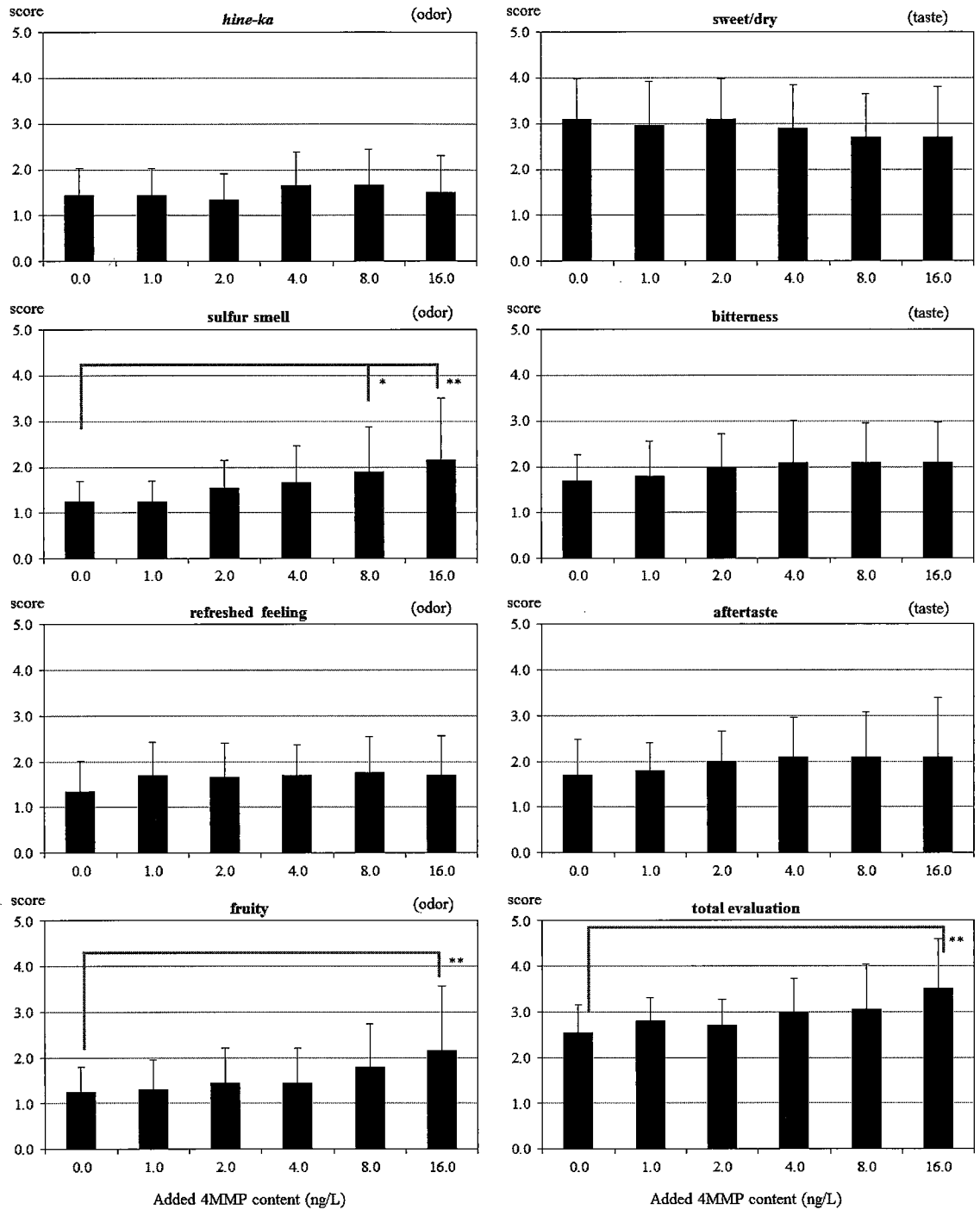


Fig. 3 Influence of the added 4MMP on sake sensory profiles.

Sensory evaluation was carried out using the score sheet shown in Fig.1. Asterisks indicate: *, 5%; **,1% level of significance.

ベクトルを得ることができなかつたため同定はできなかつたが、4MMP だけではなく他のチオール類も清酒中に存在する可能性が示唆された。

4. 清酒の香味に対する 4MMP の影響

4MMP を添加した清酒の官能評価試験を行い、4MMP 濃度と官能評価との関連性について検討した。

官能評価試験は日を替えて 2 回行ったが、第 1 回目の試験では、香りと味について 5 段階の尺度（良 1～悪 5）を用いた採点法で評価するとともに、パネリストにコメントを求め、第 2 回目の試験で評価項目とする官能評価用語を選定した。採点法による香味評価について、パネリスト 19 名の平均値を Fig. 2 に示した。Dunnett 検定により平均値の差の検定を行ったところ、香りと味のどちらも 4MMP 濃度 8.0 ng/L 以上の試料で、4MMP 無添加の試料よりも有意に評価が低くなった。また、パネリストには自由記述形式でコメントを求めたが、4MMP 濃度 8.0 ng/L 以上の試料では、香りで「獣臭」や「硫黄系」、味で「苦い」、「重い」などの指摘があり、これらが 4MMP 濃度 8.0 ng/L 以上の試料の評価を下げた理由であると考えられた。コメントで指摘が多かつた評価用語を整理し、香りの評価で老香・硫黄系・清涼感（グリーンな感じ）・果実様の 4 項目、味の評価で甘辛・苦味・あと味（もたつく⇔きれあり）の 3 項目、総合評価としてすばらしい⇔難点ありの 1 項目を加えた計 8 項目を、第 2 回官能評価試験の評価項目に選定した。

第 2 回目の試験では、上記の評価項目について Fig. 1 (A) に示した評価用紙を用いて、5 段階の尺度による採点法で評価するとともに、パネリストにコメントを求めた。採点法による香味評価について、パネリスト 20 名の平均値を Fig. 3 に示した。Dunnett 検定により平均値の差の検定を行ったところ、4MMP 濃度 8.0 ng/L 以上の試料で、「硫黄系」の香りの評価において 4MMP 無添加の試料と比較して有意な差が認められた。4MMP 濃度 16.0 ng/L 以上の試料では、「総合評価」で 4MMP 無添加の試料よりも有意に評価が低くなり、全体としては 4MMP 濃度が高すぎると清酒の香味特性として良くない傾向であった。しかしながら、4MMP 濃度 16.0 ng/L の試料では、「果実様」の香りの評価においても 4MMP 無添加の試料と比較して有意な差が認められ、その香りの特徴として「マスカット」3、「ライチ」4、「柑橘」2、「その他」3

（リンゴ、桃、バニラ各 1）の指摘があつた。4MMP は、ワインではカシス⁷⁾、ビールではマスカット⁵⁾と果実様の香りとしてプラスに評価されており、4MMP 濃度と清酒の官能評価との関連性については、さらに詳細な検討が必要ではあるものの、Fig. 3 の結果から、高濃度の 4MMP の存在下で、従来知られている吟醸香の「果実様」とは異なる、「マスカット」、「ライチ」、「柑橘」様の香りが強まることが明らかとなった。

要 約

- (1) 平成 26 酒造年度全国新酒鑑評会出品酒の「マスカット様」、「ライチ様」、「柑橘様」と表現される香り特性について、チオール類の関与を予測した検討を行った。
- (2) チオール類の関与が考えられるコメントや指摘のあつた試料 25 点の 4MMP 含量は、5～14 ng/L で、いずれも以前に報告した清酒における 4MMP の検知閾値 (1.2ng/L) よりも高かつた。
- (3) チオール類を選択的に抽出した試料の GC/O を行った結果、4MMP 以外のチオール類も清酒中に存在する可能性が示唆された。
- (4) 4MMP を添加した清酒の官能評価試験を行い、清酒の香味に対する 4MMP の影響を調べた。その結果、8.0 ng/L 以上の 4MMP の添加により、「硫黄系」の香り特性が有意に増強された。また、16.0 ng/L 以上の 4MMP の添加により、総合的な香味評価は有意に低下したものの、「マスカット」、「ライチ」、「柑橘」などと表現される「果実様」の香り特性も増強された。

謝 辞

官能評価試験に協力頂いた独立行政法人酒類総合研究所伊豆英恵博士をはじめとする職員有志に感謝します。

文 献

- 1) 宇都宮仁, 磯谷敦子, 岩田博, 中野成美: 酒類総合研究所報告: **178**, (5), 45-52 (2006)
- 2) 渡邊睦, 植田真理, 浅井拓也, 西村顕: 特開 2002-238572 (2001)
- 3) 富永敬俊, ドウニ・デュブルデュー: 醸協, **98**, 628-637 (2003)

- 4) 小林弘憲：醸協， **111**, 381-387 (2016)
- 5) 岸本徹：醸協， **104**, 157-169 (2009)
- 6) 蛸井潔：醸協， **107**, 306-316 (2012)
- 7) Rigou, P., Triay, A., Razungles, A: *Food Chem.*, **142**, 242-248 (2014)
- 8) Iizuka-Furukawa, S., Isogai, A., Kusaka, K., Fujii, T., Wakai, Y. : *J. Biosci. Bioeng.*, **123**, 209-215 (2017)
- 9) 古川幸子, 水間智哉, 清川良文, 飯田修一, 松下景, 前田英郎, 春原嘉弘, 若井芳則：生物工学, **82**, 83-92 (2004)
- 10) 古川幸子, 水間智哉, 清川良文, 飯田修一, 松下景, 前田英郎, 春原嘉弘, 若井芳則：生物工学, **83**, 108-116 (2005)
- 11) Tominaga, T., Dubourdieu, D. : *J. Agric. Food Chem.*, **54**, 29-33 (2006)
- 12) Halang, W. A., Langlais, R., Kugler, E. : *Anal. Chem.*, **13**, 1829-1832 (1978)
- 13) Chung, H. Y. : *J. Agric. Food Chem.*, **47**, 2280-2287 (1999)
- 14) Chau, C. -C., Lin, Y. -C., Mau, J. -L. : *J. Agric. Food Chem.*, **45**, 3211-3215 (1997)
- 15) Kishimoto, T., Wanikawa, A., Kono, K., Shibata, K. : *J. Agric. Food Chem.*, **54**, 8855-8861 (2006)
- 16) Guentert, M., Bruening, J., Emberger, R., Koepsel, M., Kuhn, W., Thielmann, T., Werkhoff, P. : *J. Agric. Food Chem.*, **38**, 2027-2041 (1990)
- 17) Tamura, H., Fujita, A., Steinhaus, M., Takahisa, E., Watanabe, H., Schieberle, P. : *J. Agric. Food Chem.*, **58**, 7368-7375 (2010)
- 18) Sanz, C., Czerny, M., Cid, C., Schieberle, P. : *Eur. Food Res. Tec.*, **214**, 299-302 (2002)
- 19) Schulz, H., Krüger, H., Liebmann, J., Peterka, H. : *J. Agric. Food Chem.*, **46**, 5220-5224 (1998)
- 20) Rotsachakul, P., Chaiseri, S. Cadwallader, K. R. : *J. Agric. Food Chem.*, **56**, 528-536 (2008)
- 21) 小林彰夫, 天谷正行, 久保田紀久枝, 森澤千尋：農化, **71**, 1273-1277 (1997)