

# 1H NMRスペクトルからみた連続式蒸留焼酎の品質特性

誌名	日本醸造協会誌 = Journal of the Brewing Society of Japan
ISSN	09147314
著者名	能勢,晶 朝日,輝 小路,博志
発行元	日本醸造協会
巻/号	114巻6号
掲載ページ	p. 363-376
発行年月	2019年6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



# $^1\text{H}$ NMR スペクトルからみた連続式蒸留焼酎の品質特性

能勢 晶<sup>1\*</sup>・朝日 輝<sup>2</sup>・小路博志<sup>2</sup><sup>1</sup>安田女子大学家政学部, <sup>2</sup>ニッカウキスキー株式会社 技術開発センター)

平成 30 年 7 月 17 日受理

Quality characteristics of continuously distilled shochu observed with Proton NMR spectra

Akira NOSE<sup>1</sup>, Akira ASAH<sup>2</sup>, and Hiroshi SHOJI<sup>2</sup>

(<sup>1</sup>Department of Lifestyle Design, Faculty of Human Ecology, Yasuda Women's University, 6-13-1 yasuhigashi, asaminami-ku, hirosshima 731-0153, Japan and <sup>2</sup>Technical development center, The Nikka whisky Distilling Co., Ltd., 967 Matsuyama, Masuo, Kashiwa, Chiba 277-0033, Japan)

Shochu is a traditional Japanese spirit. Continuously distilled shochu (type *kou*) has a pure taste like vodka or white rum. The fermented mash from corn, potatoes, molasses, or other sources is continuously distilled up to an alcohol content of about 95% (V/V). Proton NMR spectra of products of kou shochu were measured at 25°C and 5°C with 600MHz NMR. The interaction between water and ethanol molecules was promoted in some products of kou shochu and less or not at all in others. It was found that NaHCO<sub>3</sub> promoted the interaction between water and ethanol molecules and, at the same time, strengthened the water-ethanol hydrogen-bonding. It was also suggested that NaHCO<sub>3</sub> alters the taste of water-ethanol solution to be sweeter and less alcohol-stimulative. Hydrogen carbonate ion brought about in kou shochu through diluting water (*Warimuzu*) was able to promote the interaction between the water and ethanol molecules and affect the quality as an alcohol beverage.

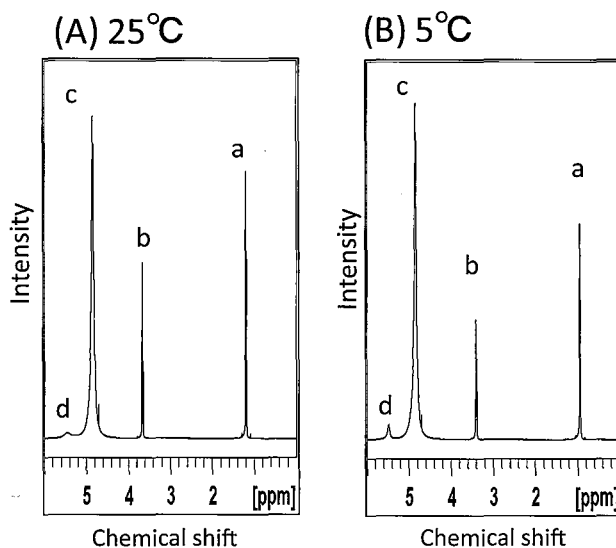
**Key words** : 連続式蒸留焼酎, 甲類焼酎, NMR スペクトル, 水-エタノール相互作用, 割水

## 緒言

連続式蒸留焼酎(焼酎甲類)は連続式蒸留機を用い、一般的にはアルコール分約97度近くまで蒸留してから水を加え、アルコール分を36度未満に下げることによって製造される<sup>1)</sup>。最近では外国で発酵と簡単な蒸留を行った粗留アルコールを輸入し、国内で連続蒸留を行って製造することが多いようである<sup>1)</sup>。その風味は米、麦、いもなどの原料の特性を有する本格焼酎とは異なり、「アルコールのほんのりとした甘い香りと味を有するニュートラルな酒質」<sup>1)</sup>、あるいは「没個性を最

大の特徴とした酒類」<sup>2)</sup>と表現されるように、他の酒類に比べると香り、味の成分が極端に少なく、純粋なアルコール水溶液に近いという特徴がある。このためか、化学分析<sup>3)</sup>や原材料<sup>4)</sup>に関する報告は一部ではあるものの、成分や品質に関する研究報告もあまり見られない。販売数量についてはここ十年で年間40万kl~50万klと本格焼酎と同程度で安定している<sup>5)</sup>。一方、販売されている商品の銘柄は本格焼酎に比べると圧倒的に少ない。このように、本格焼酎に比べ販売数量は同程度だが商品の銘柄数は少なく、風味はアルコールに近くてニュートラルな味わいの特徴とする焼酎

\* : 連絡先著者, nose-a@yasuda-u.ac.jp



**Fig. 1** <sup>1</sup>H NMR spectra of 25% (v/v) ethanol-water mixture at different temperatures. The temperatures are (A) 25°C, (B) 5°C. The peaks on the spectra were assigned to CH<sub>3</sub> of EtOH (peak a); CH<sub>2</sub> of EtOH (peak b); OH of H<sub>2</sub>O (peak c); OH of EtOH (peak d).

甲類が、その製品間でどのような違いがあるのだろうか、また純粋なアルコール水溶液とはどのように異なっているのだろうか。これらの疑問に答えることで焼酎甲類のさらなる品質向上に寄与することができるかもしれない。焼酎甲類の品質特性について、カチオン、アニオンなどの溶存成分や低沸点香気成分に加え、核磁気共鳴 (nuclear magnetic resonance: NMR) 分光法を用い解析を行うことで新たな知見を得たので報告する。

## 実験方法

### 1. 焼酎溶存成分の定量

全国的に販売されている焼酎甲類の市販品を6銘柄購入し分析に供した。総酸、アルコール分は国税庁所定分析法<sup>6)</sup>に従った。全アルカリ度は日本工業規格に定める「水質-アルカリ度の測定」<sup>7)</sup>を適用し、pH4.5まで塩酸を用いて滴定した。炭酸水素イオンは日本工業規格に定める「塩化ストロンチウム-塩酸滴定法」<sup>8)</sup>によって算出した。カチオンは島津マルチ形 ICP (Inductively Coupled Plasma) 発光分析装置 ICPE-9000を用い、試料中のアルコール濃度を5% (V/V) 以下にした上で定量した。アニオンは、ダイオネクス社製イオンクロマトグラフシステム ICS-1100、カラムは

IonPac AS12A を用い試料中のアルコール分を除去した上で定量した。総フェノールは日立分光光度計 U-2910 により、紫外外部吸収を測定し没食子酸を標準として計算した。香気成分は、アジレント・テクノロジー社製 7890A ガスクロマトグラフを用い、直接注入法で定量した。分析用カラムは、DB-WAX (0.32mm × 60m)、注入口と検出器 (FID) はともに 240°C、注入量は 1.0 μL、スプリット比は 16、カラムは 40°C で3分保持後、46°C までは 1°C /min、120°C までは 10°C /min、230°C までは 20°C /min で昇温し 10分保持した。

### 2. <sup>1</sup>H NMR スペクトルの測定

焼酎およびエタノール水溶液の<sup>1</sup>H NMR スペクトルは核磁気共鳴装置 AVANCE III 600MHz (BRUKER 社製) を用い測定した。測定試料は同軸の二重管 (Wilmad 社製) を用い、内側の管にはロック溶媒として D<sub>2</sub>O (99.9%D, Aldrich) を入れ、外側の管に測定する試料を入れた。OH プロトンの化学シフト値は、Wen and Hertz<sup>9)</sup>の方法に従いエタノールのメチル基の三重線の中心のピークを基準とし、OH プロトンとの距離として求めた (基準周波数に対する比率を ppm で示す)。焼酎は希釈などしないのでそのまま測定した。また、塩類などの溶存成分の影響を調べる時は

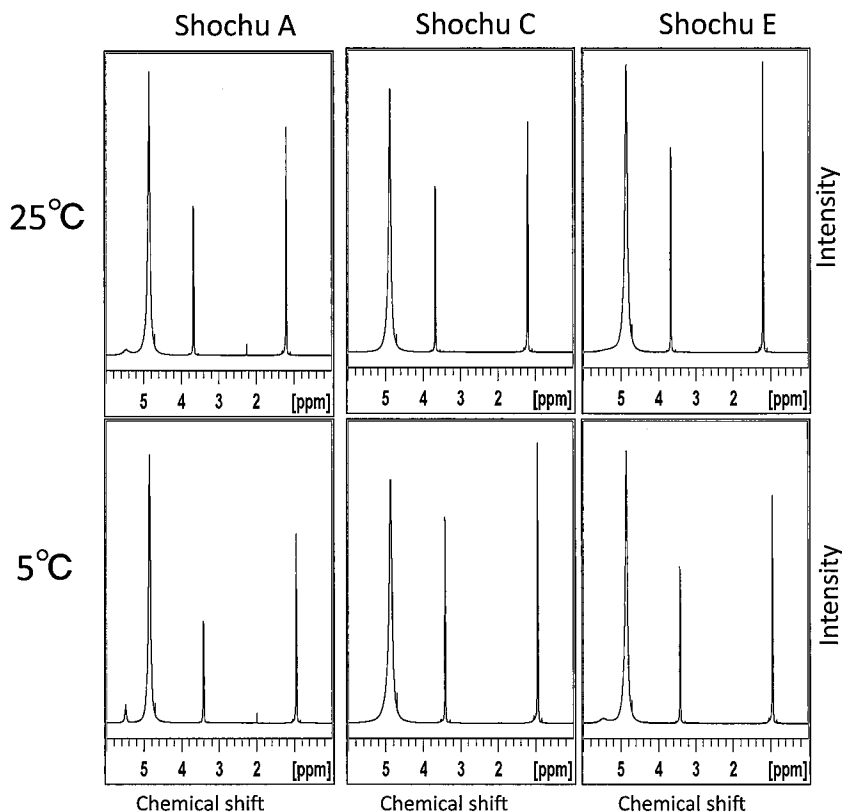


Fig. 2 <sup>1</sup>H NMR spectra of shochu samples. The spectra shown in the upper side were measured at 25°C ; the spectra in the lower side at 5°C.

25% (V/V) エタノール水溶液を用いた。測定温度は5°Cと25°Cで行ったが、二重管に入った試料を恒温水槽でそれぞれ温度一定とした後に測定を行った。

### 3. 官能評価方法

甘味、塩味、酸味、苦味、旨味の基本味と渋み、まろやかさ、アルコール刺激の項目についてニッカウキスキー(株)技術開発センターの研究員7名を評価員として、それぞれの評価項目の強さについて、5段階(1弱い、2やや弱い、3どちらとも言えない、4やや強い、5強い)で評価した。なお各項目とも、対照を3点として試料を評価した。希釈はMilli-Q水製造装置(Merck社)でつくった超純水を用いて行った。

## 結果及び考察

### 1. 焼酎の<sup>1</sup>H NMR スペクトルと化学シフト値

25% (V/V) エタノール水溶液の25°Cと5°Cにおける<sup>1</sup>H NMR スペクトルをFig. 1に示した。ピークa

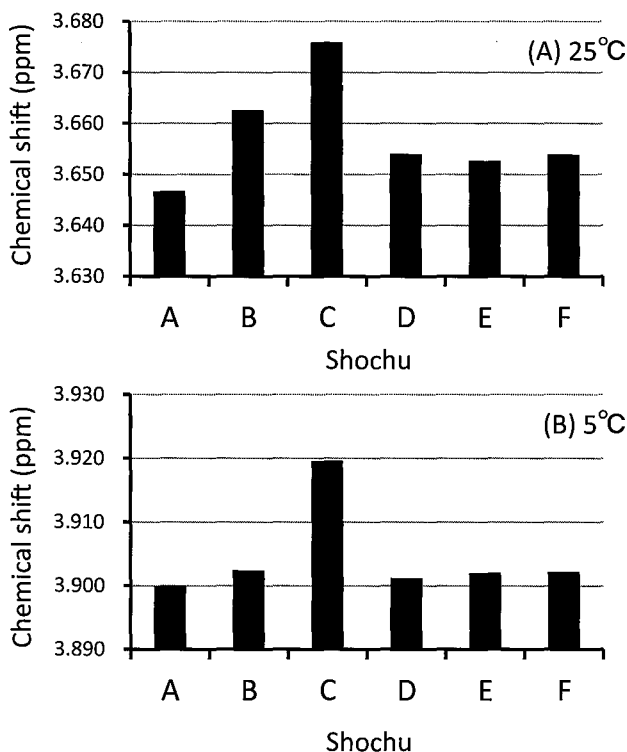
はエタノールのメチル基、ピークbはエタノールのメチレン基、ピークcは水のヒドロキシル基、ピークdはエタノールのヒドロキシル基にそれぞれ由来するものである。本実験で使用した核磁気共鳴装置は600MHzと解像度が高く、エタノール濃度25% (V/V) において水とエタノールのOH基のピークを別々に観察することができる。400MHzのNMRでは、このエタノール濃度で二つのピークを明確に観察することは困難であった(データ示さず)。エタノール濃度が低い場合<sup>10)</sup>や酸、塩基が存在すると<sup>11)</sup>水分子とエタノール分子のプロトン交換速度が速くなり、水とエタノールの二つのピークは一つのピークとして観察される。5°Cで測定したスペクトル(Fig.1 (B))のエタノールのOHピーク(ピークd)に比べて25°Cで測定した時のピーク(Fig.1 (A))のピークdはブロードに観察される。

次に6種の焼酎すべて(焼酎A, B, C, D, E,

**Table 1** OH proton chemical shifts of shochu samples measured at 25°C or 5°C.

	Chemical shift value (ppm)			
	25°C		5°C	
	H <sub>2</sub> O	EtOH	H <sub>2</sub> O	EtOH
Shochu A	3.647	4.255	3.900	4.536
Shochu B	3.663	n.d. <sup>a</sup>	3.902	4.513
Shochu C	3.676	n.d. <sup>a</sup>	3.920	n.d. <sup>a</sup>
Shochu D	3.654	n.d. <sup>a</sup>	3.901	4.490
Shochu E	3.653	n.d. <sup>a</sup>	3.902	4.520
Shochu F	3.654	n.d. <sup>a</sup>	3.902	4.512

<sup>a</sup> The peaks of water and ethanol merged into a single peak.



**Fig. 3** Comparison of OH proton chemical shift values of shochu samples measured at 25°C (A) or at 5°C (B)

F) につき <sup>1</sup>H NMR スペクトルを測定し、そのうち代表的な三つのスペクトル (焼酎 A, C, E) を Fig. 2 に示した。焼酎 A は 25°C と 5°C の両方の温度において、25% (V/V) エタノール水溶液と同様に水とエタノールのピークを独立して観察することができた。これに対して焼酎 C では 25°C と 5°C の両方において、水とエタノールのピークは一つのピークとして観察され、両温度において焼酎中の水分子とエタノール分子のプロトン交換が 25% (V/V) エタノール水溶液中

に比べ促進されていることがわかった。一方、焼酎 E は 25°C では水とエタノールのピークは一体化して一つのピークになっているが、5°C においては分離した二つのピークとして観察された。焼酎 B, D, F についても焼酎 E と同様に 5°C においてのみ二つのピークを観察することができた。以上のように、測定した焼酎において水分子とエタノール分子の分子間相互作用の程度に違いがあることが分かった。次に、これらの焼酎の 25°C と 5°C における水とエタノールの <sup>1</sup>H NMR

**Table 2** Contents of main components and pH values of shochu samples.

	Content					pH
	Total acid <sup>a</sup>	Total alkali (mmol/L)	Total phenol <sup>b</sup> (ppm)	Ethanol % (v/v)	HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (ppm)	
Shochu A	0.0	0.60	3	25.0	31	7.8
Shochu B	0.0	0.72	n.d.	25.0	36	7.9
Shochu C	0.0	1.12	n.d.	25.5	61	7.8
Shochu D	0.0	0.02	n.d.	25.3	<2	8.4
Shochu E	0.0	0.02	n.d.	25.2	<2	8.6
Shochu F	0.0	0.02	n.d.	25.5	<2	8.6

<sup>a</sup> The acidity of unity corresponds to 0.01M acetic acid

<sup>b</sup> The quantity of total phenols was evaluated as the amount of gallic acid.

**Table 3** Contents of main cations and anions in shochu samples.

	Concentration (ppm)											
	Na <sup>+</sup>	K <sup>+</sup>	Ca <sup>2+</sup>	Mg <sup>2+</sup>	Cu <sup>2+</sup>	Fe <sup>2+</sup>	Mn <sup>2+</sup>	PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	Cl <sup>-</sup>	SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	Br <sup>-</sup>
Shochu A	16.0	0.8	0.2	0.2	0.06	0.06	0.008	0.3	4.6	0.3	0.2	0.1
Shochu B	17.7	0.2	0.2	0.0	0.00	0.04	0.005	<0.2	6.3	1.3	0.6	<0.1
Shochu C	15.9	0.6	4.4	2.4	0.00	0.05	0.006	0.4	3.3	0.3	0.1	<0.1
Shochu D	0.02	0.3	0.5	0.1	0.02	0.06	0.008	<0.2	<0.1	<0.1	0.1	<0.1
Shochu E	0.26	0.3	0.3	0.0	0.05	0.05	0.007	<0.2	0.2	<0.1	0.3	<0.1
Shochu F	0.96	0.1	0.1	0.0	0.01	0.05	0.005	<0.2	<0.1	<0.1	0.1	<0.1

化学シフト値を Table 1 に示した。純水の水素結合の程度は<sup>1</sup>H NMR の化学シフト値によって調べられ、温度が低いほどプロトンのピークはスペクトル上で低磁場方向にシフトし、化学シフト値としては値が大きくなることが知られている<sup>12,13)</sup>。一般に、水素結合に関与しているか否かにより、プロトンは異なる化学シフト値を持ち、水素結合すると低磁場シフトする。実際に観測されるのは、両者の化学シフト値の加重平均の化学シフト値をもつ一本のシグナルである<sup>14)</sup>。つまり、化学シフト値が低磁場方向に大きくなるほど、水素結合構造（水素結合のネットワーク）が発達しているということである。A 以外の焼酎 B～F は 25℃ においてはエタノール単独のピークを確認できず、焼酎 C のみは 5℃ においても確認できなかった。水とエタノールの個別の OH ピークが一体化するということは、プロトン周りの電子の観点からすると「水とエタノールの区別が付かなくなった」ということを示している。水のピークのプロトンの化学シフト値を Fig. 3 に示した。25℃ と 5℃ の両方において焼酎 C の水のプロトンの化学シフト値が他の焼酎に比べて明らかに高いことがわかる。なお、エタノール水溶液の OH プロトンの化学シフト値はエタノール濃度 25% (V/V)

から 26% (V/V) の範囲においては一定であり<sup>10)</sup>、今回測定した焼酎の化学シフト値は、製品のアルコール濃度の影響を受けることはない。

以上のことから、焼酎 C は他の焼酎よりも溶液全体として水素結合が発達し、プロトン交換が促進された状態にあると考えることができた。

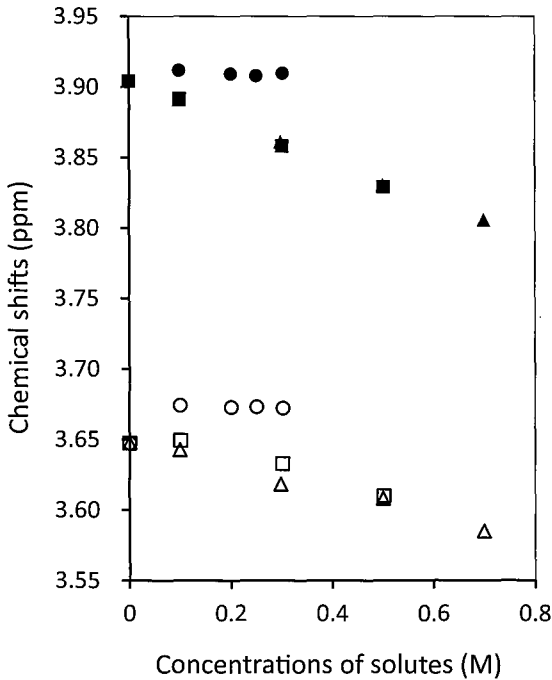
## 2. 焼酎の溶存成分

焼酎の一般成分の分析結果を Table 2 に示した。6 種の焼酎ともに総酸の値は 0、pH は 7.7～8.6 程度であり、酸類は含まれていなかった。全アルカリ度では、焼酎 D、E、F はほぼ 0 であったが、焼酎 A で 0.60、焼酎 B は 0.72、焼酎 C は 1.12 と最も高い値を示した。HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> 濃度は、焼酎 A が 31ppm、焼酎 B が 36ppm、焼酎 C が 61ppm であった。一部の焼酎には炭酸水素イオンが存在し、焼酎 C においてその濃度は最も高いことが確認された。フェノール性物質は焼酎 A にのみわずかに検出された。

主要なカチオンとアニオンの定量結果を Table 3 に示した。炭酸水素イオンが含まれていた焼酎 A、B、C には、ナトリウムが 16～18ppm 含まれていた。また炭酸水素イオン含量が最も高かった焼酎 C には、ナトリウムに加えてカルシウムとマグネシウムが、そ

**Table 4** Contents of main flavor components in shochu samples.

	Concentration (ppm)						
	Acetaldehyde	Ethyl acetate	Methyl alcohol	Propyl alcohol	Isobutyl alcohol	Isoamyl alcohol	$\beta$ -phenylethyl alcohol
Shochu A	2.5	4.3	2.8	11	24	61	1.1
Shochu B	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Shochu C	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Shochu D	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Shochu E	7.4	4.1	1.5	7	15	36	1.1
Shochu F	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.



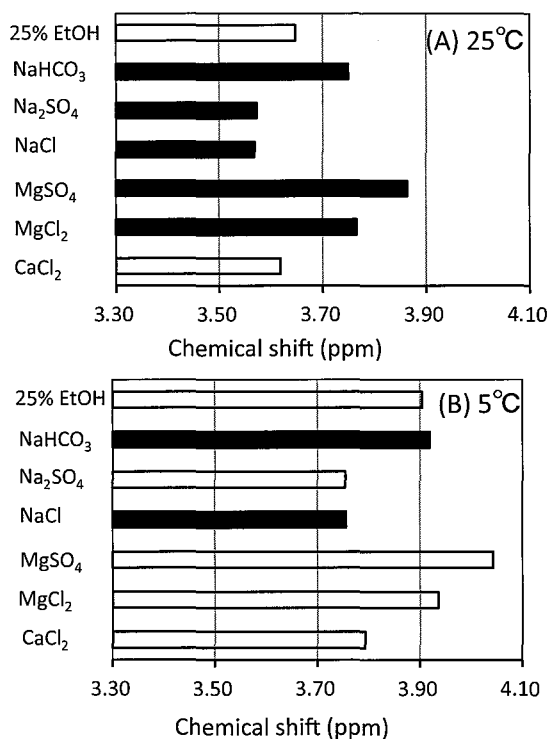
**Fig. 4** OH proton chemical shifts in 25% (V/V) EtOH-H<sub>2</sub>O mixtures containing sodium salts at 25°C and 5°C : (○) NaHCO<sub>3</sub>, 25°C ; (□) Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 25°C ; (△) NaCl, 25°C ; (●) NaHCO<sub>3</sub>, 5°C ; (■) Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 5°C ; (▲) NaCl, 5°C .

れぞれ 4.4ppm, 2.4ppm 含まれていた。カルシウムとマグネシウムは他の焼酎にはほとんど含まれていなかった。その他のカチオン含量は焼酎間で大きな差はなかった。アニオン類は、焼酎 A, B, C で塩素イオンが 3 ~ 6ppm 程度と硫酸イオン、リン酸イオンが 0.3 ~ 1.3ppm 程度認められた。焼酎 D, E, F については、カチオン類、アニオン類ともにほとんど含まれていなかった。

次に焼酎に含まれる主な香気成分の分析結果を Table 4 に示した。焼酎 A と E にはイソブチルアルコールとイソアミルアルコールを中心に若干の香気成分が認められた。その他の焼酎では、分析したすべての成分が検出されなかった。以上のように、カチオン類、アニオン類を含むもの、さらに香気成分を含むもの、またそれらをほとんど含まない焼酎甲類が存在していることが分かった。

### 3. 焼酎溶存成分と<sup>1</sup>H NMR スペクトルの変化

(1) 塩類の影響 焼酎中のカチオンではナトリウムが最も多く含まれていたため、3 種のナトリウム塩 (NaHCO<sub>3</sub>, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, NaCl) が 25% (V/V) エタノール水溶液中で、水の OH プロトンの化学シフト値に与える影響を 25°C と 5°C において調べた (Fig. 4)。Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> と NaCl は、25°C と 5°C の両方において、濃度の増加とともに OH プロトンの化学シフト値を高磁場方向にシフトさせ、溶液全体として水素結合構造を壊していくことがわかった。一方、NaHCO<sub>3</sub> は両方の温度において、逆に低磁場方向にシフトさせ、水素結合構造を発達させることがわかった。これら以外の塩についても同様に測定を行い、0 ~ 1M での直線性を確認し、それぞれの塩が 1M あたりに変化させる OH プロトンの化学シフト値 ( $\Delta$  ppm/M) を求め、各塩の 25% (V/V) エタノール水溶液における 1M でのシフト値を計算して Fig. 5 に示した。塩濃度 0.5M において水分子とエタノール分子のピークがスペクトル上で別々に独立して存在しているものは白色の棒グラフで、水分子とエタノール分子のプロトン交換が促進されて二つのピークが一つに合体しているものは黒色の棒グラフで示した。ただし、NaHCO<sub>3</sub> については溶解性が悪いので 0.25M でのスペクトルで判断した。25°C の結果 (Fig. 5 (A)) では、MgSO<sub>4</sub> と MgCl<sub>2</sub> の



**Fig. 5** Effect of salts (1.0M) on the OH proton chemical shifts in 25% (V/V) EtOH-H<sub>2</sub>O mixtures. White column: Both peaks of EtOH and H<sub>2</sub>O existed separately at 0.5M (0.25M for NaHCO<sub>3</sub>) in the <sup>1</sup>H NMR spectrum. Black column: The peaks of EtOH and H<sub>2</sub>O merged into a single peak at 0.5M (0.25M for NaHCO<sub>3</sub>).

マグネシウム塩がNaHCO<sub>3</sub>と同様に、水-エタノールの水素結合を発達させることがわかった。CaCl<sub>2</sub>は逆に水-エタノールの水素結合構造を壊すという結果であった。また、CaCl<sub>2</sub>以外の塩は水分子とエタノール分子のプロトン交換を促進してピークが一つになっていた。5°C (Fig. 5 (B)) においては25°Cと同じくNaHCO<sub>3</sub>とMgSO<sub>4</sub>とMgCl<sub>2</sub>が25% (V/V) エタノール水溶液よりも大きい化学シフト値を示し、水-エタノールの水素結合を発達させている。また、5°Cで水分子とエタノール分子のプロトン交換を促進してピークが一つになったのはNaHCO<sub>3</sub>とNaClだけであった。結果として、5°Cにおいて25% (V/V) エタノール水溶液の水-エタノールの水素結合を発達させ、同時に水分子とエタノール分子のプロトン交換を促進すると

いう影響を与えるのはNaHCO<sub>3</sub>だけであった。

## (2) 焼酎中の塩類の効果

① <sup>1</sup>H NMR スペクトルとOHプロトン化学シフト値の変化 0~1Mの濃度での各種塩の比較において、NaHCO<sub>3</sub>は5°Cという低温において25% (V/V) のエタノール水溶液の水とエタノールのプロトン交換を促進し、同時に水素結合構造を発達させるという効果を併せ持つことがわかったが、焼酎甲類に含まれているNaHCO<sub>3</sub>の濃度はTable 2に示したように数十ppmといった程度である。このような低濃度においてNaHCO<sub>3</sub>のこれらの効果がどのように発揮されるのかについて調べた。Fig. 6に25% (V/V) エタノール水溶液((a))とNaHCO<sub>3</sub>をそれぞれ1×10<sup>-5</sup>M((b)), 1×10<sup>-4</sup>M((c)), 1×10<sup>-3</sup>M((d)), 1×10<sup>-2</sup>M((e)), 1×10<sup>-1</sup>M((f)) 含んだ溶液の5°Cにおける<sup>1</sup>H NMRスペクトルを示した(1×10<sup>-3</sup>MがHCO<sub>3</sub><sup>-</sup>濃度で61ppmに相当する)。H<sub>2</sub>OとEtOHのOHプロトンのピークの変化についてNaHCO<sub>3</sub>濃度の増加とともに見てみると、NaHCO<sub>3</sub>を含んでいない(a)と比べ、NaHCO<sub>3</sub>濃度1×10<sup>-5</sup>Mの(b)と1×10<sup>-4</sup>Mの(c)では水とエタノール両方のピークとも形状はほとんど変化していないが、1×10<sup>-3</sup>Mの(d)ではEtOHのピークが極端にブロードになり、かろうじてその痕跡が分かる程度となっている。1×10<sup>-2</sup>Mの(e)ではEtOHのピークは水のピークと一体化することで完全に消滅し、確認することはできなくなっている。1×10<sup>-1</sup>Mの(f)においても同様である。NaHCO<sub>3</sub>が1×10<sup>-3</sup>Mから1×10<sup>-2</sup>M含まれることでエタノールと水のピークは合体し、水分子とエタノール分子のプロトン交換が促進されている様子がスペクトルの変化から確認することができる。

NaHCO<sub>3</sub>と同様に、Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>とNaClについても25°Cと5°CにおいてNMRスペクトルを測定し、そのOHプロトンの化学シフト値の変化をFig. 7に示した。NaHCO<sub>3</sub>を含んだ溶液では5°Cにおいて、その濃度が1×10<sup>-2</sup>Mとなったときに水とエタノールのピークが完全に一つになったことが観察できたが(Fig. 6)、化学シフト値はこの濃度において急激に増加していることがわかる(Fig. 7 (B))。Fig. 7では、それぞれの溶液において水とエタノールの二つのピークが完全に一つになった点を矢印で示した。60% (V/V) のエタノール水溶液ではエタノール濃度が高いので水とエタノ



ールのピークを明瞭に観察することができ、酸や塩基、フェノール類がある濃度において水とエタノールのプロトン交換を促進し、二つのピークが一つになると同時に化学シフト値が急激に高くなることは以前に報告した<sup>15)</sup>。NaClは5℃において、その濃度が $1 \times 10^{-1}$ Mのときピークは一つになったが、その化学シフト値はNaHCO<sub>3</sub>のときのように急激に増加することはないむしろ減少気味であった。またNa<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>を含んだ溶液ではピークは二つに分離したままであった。25℃での変化をFig. 7の(A)に示したが、5℃ではピークが一つにならなかったNa<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>においても $1 \times 10^{-2}$ Mでピークが一つとなり、化学シフト値も上昇している。また、NaClはNaHCO<sub>3</sub>と同じ濃度の $1 \times 10^{-3}$ Mにおいてピークが一つとなることがわかった。このようにNa<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>とNaClは25℃においてはプロトン交換を促進する傾向が認められたが、プロトン交換速度が小さくなると考えられる5℃の低温では、25℃

のようなプロトン交換を促進する効果は見られなかった。一方、NaHCO<sub>3</sub>は5℃においても、水とエタノールのピークが一つになると同時に化学シフト値の急激な増加が認められ、他の二つの塩に比べて明らかにプロトン交換を促進する効果が強いことがわかった。

② OHプロトンのピーク半値幅への影響 エタノール水溶液中において種々の溶質が水分子とエタノール分子のプロトン交換速度に与える影響については、OHプロトンの半値幅の増減を観察することでも調べることができ、物質によってその変化は異なっている<sup>16)</sup>。Fig. 7にその化学シフト値を示したOHプロトンのピークについて、それぞれの半値幅の変化をFig. 8に示した。Fig. 7と同じく水のピークとエタノールのピークが一体化して一つになった点を矢印で示している。25℃における測定結果 (Fig. 8 (A)) でNaHCO<sub>3</sub>について見てみると、Fig. 7において二つのピークが一体化して化学シフト値が急激に増加した濃度1

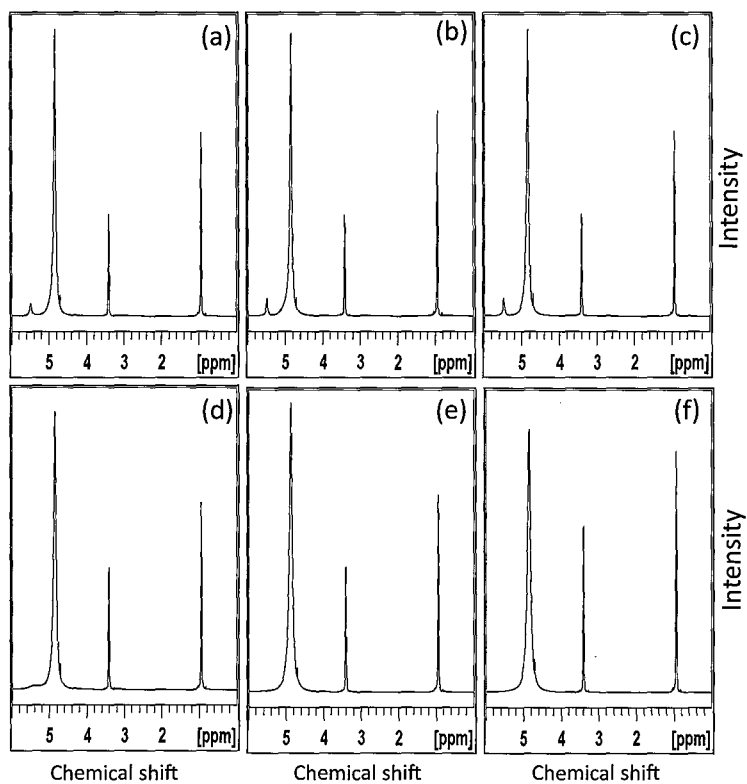


Fig. 6 <sup>1</sup>H NMR spectra of 25% (V/V) EtOH-H<sub>2</sub>O mixtures containing NaHCO<sub>3</sub> of different concentrations measured at 5°C. The NaHCO<sub>3</sub> concentrations are (a) 0, (b)  $1 \times 10^{-5}$ , (c)  $1 \times 10^{-4}$ , (d)  $1 \times 10^{-3}$ , (e)  $1 \times 10^{-2}$ , and (f)  $1 \times 10^{-1}$ M.

$\times 10^{-3}$ Mにおいて、半値幅も急激に大きくなりその後減少していることがわかる。 $\text{Na}_2\text{SO}_4$ と $\text{NaCl}$ についても同様な傾向が認められたが、 $\text{NaHCO}_3$ ほど半値幅が大きく変化することはなかった。5℃の結果 (Fig. 8 (B)) において $\text{NaHCO}_3$ は、25℃での変化のように水とエタノールのピークが一体化するのを境に半値幅が大きく変化するというのではなく、ピークが一体化した前後の濃度において半値幅は徐々に大きくなっていった。ピークの半値幅の変化から見ても、 $\text{NaHCO}_3$ は他の二つのナトリウム塩に比べ、水-エタノールのプロトン交換速度に対してより強い影響を与えていると考えることができた。

### (3) 他の成分の影響

焼酎 A と E には低沸点の香気成分が含まれている。このうち最も濃度の高かったイソアミルアルコールについて、25% (V/V) エタノール水溶液の<sup>1</sup>H NMR

スペクトル上の水とエタノールの OH ピークに及ぼす影響を調べた (Fig. 9)。水とエタノールのピークの化学シフト値は、イソアミルアルコールの濃度が増加しても、5℃と25℃において、両ピークともに変化することはない、また両ピークの合体なども起こらなかった。これらより、イソアミルアルコールは水-エタノールの相互作用には影響を及ぼさないと考えることが出来た。

Fig. 6 に示したように、 $\text{NaHCO}_3$ は5℃において25% (V/V) エタノール水溶液中の水とエタノールのプロトン交換を促進し、その濃度が $1.0 \times 10^{-3}$ Mからスペクトル上で水とエタノールのピークは一体化し始め、 $1 \times 10^{-2}$ Mで完全に一体化している。同じ5℃において、焼酎 C のスペクトルでは水とエタノールのピークは一体化しているが、焼酎 A と B では一体化していない (Table 1)。Table 2 に示された焼酎中の

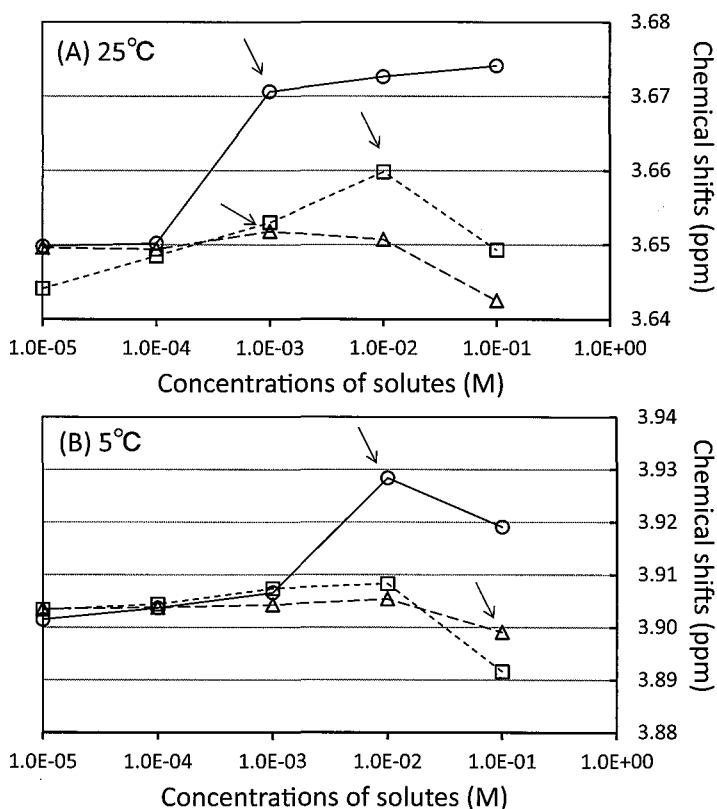


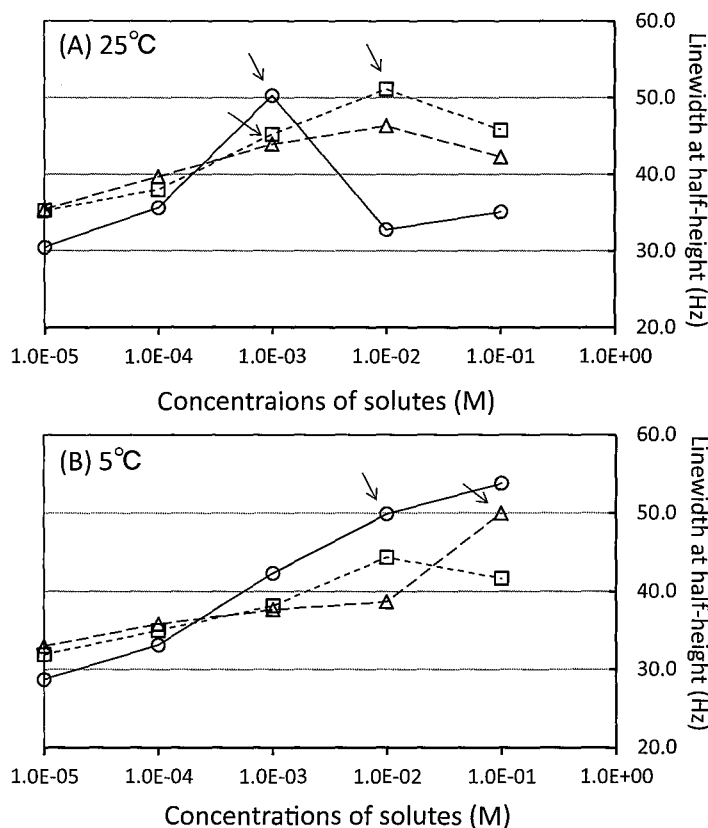
Fig. 7 Changes in OH proton chemical shifts in 25% (V/V) EtOH-H<sub>2</sub>O mixtures containing sodium salts for lower concentrations below  $1 \times 10^{-1}$ M at 25°C (A) and 5°C (B) : (○)  $\text{NaHCO}_3$ ; (□)  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ; (△)  $\text{NaCl}$ . The arrows show each point of the two peaks of water and ethanol merging into a single peak.

炭酸水素イオン濃度をモル濃度で表わすと、焼酎 A は  $5.1 \times 10^{-4}$ M, 焼酎 B は  $5.9 \times 10^{-4}$ M, 焼酎 C は  $1.0 \times 10^{-3}$ M となり、この濃度差がスペクトルの違いに出ているものと思われる。一方、焼酎 A と B の炭酸水素イオン濃度はほぼ同じであるにもかかわらず、25℃においては、焼酎 A のみが水とエタノールのピークが一体化していない。焼酎 A は炭酸水素イオンやその他の塩などが含有されているにもかかわらず、その NMR スペクトルはエタノール水溶液と同じパターンを示している (Fig. 2)。酸、塩、フェノール成分がプロトン交換を促進し、水とエタノールのピークを一体化させる濃度<sup>15)</sup>や OH ピークの半値幅の変化<sup>16)</sup>は各成分によって異なることは報告したが、本報告で測定した焼酎の<sup>1</sup>H NMR スペクトルの変化とその要因についてさらに詳細に考察するためには、NaHCO<sub>3</sub> 以

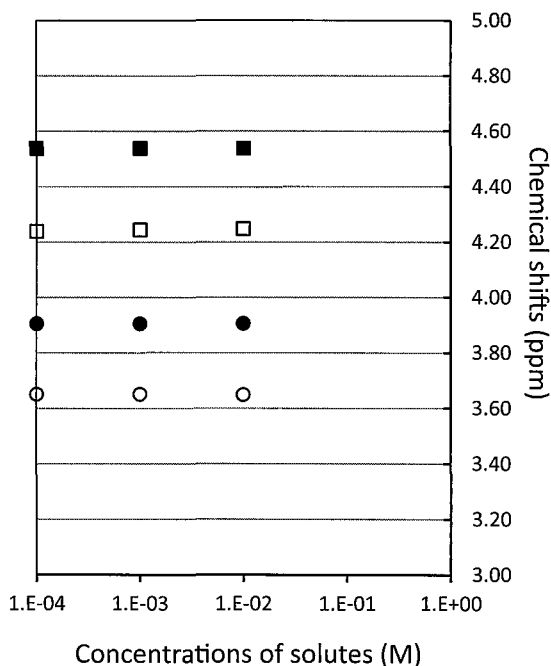
外の塩類やその他の微量成分の影響についても調べて行く必要がある。

#### 4. アルコール水溶液に及ぼす官能的影響

本研究においては、600MHz と高解像度の NMR を用いることで独立して観察することができる水とエタノールの OH プロトンのピークの変化を調べることにより、ある焼酎甲類においてその水分子とエタノール分子の相互作用が含有される炭酸水素イオンによって促進され、その水素結合構造が発達していることが明らかとなった。次に、この炭酸水素イオンが存在することでどのような官能的变化が起こるのか、NaHCO<sub>3</sub> を含有するエタノール水溶液の味を評価することで調べた。NaHCO<sub>3</sub> を含まない純粋な 25% (V/V) のエタノール水溶液を対照として、NaHCO<sub>3</sub> を 50ppm, 100ppm それぞれ含有した 25% (V/V) のエタノール

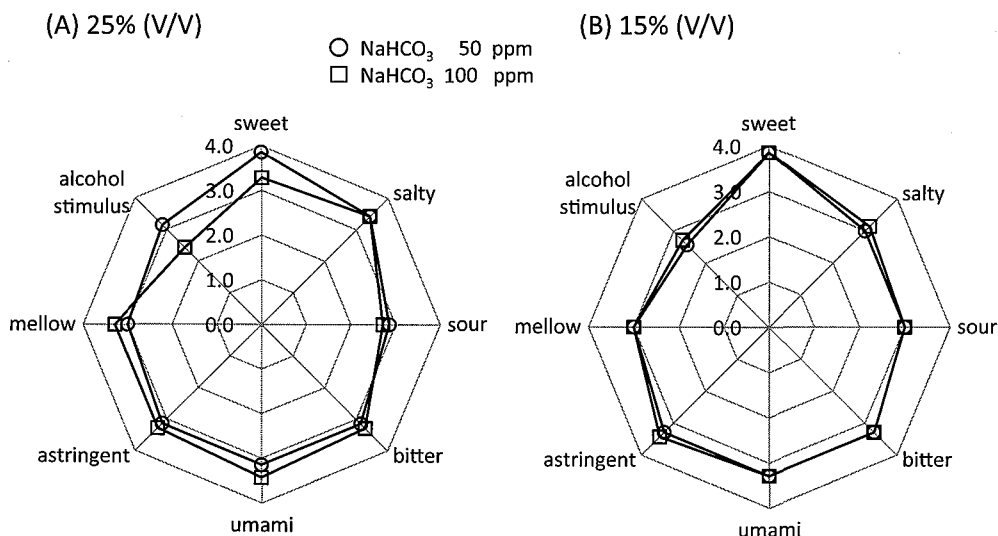


**Fig. 8** Line widths at half-height of OH proton peaks of <sup>1</sup>H NMR spectra of 25% (V/V) EtOH-H<sub>2</sub>O mixtures containing sodium salts for lower concentrations below  $1 \times 10^{-1}$ M at 25°C (A) and 5°C (B) : (○) NaHCO<sub>3</sub> ; (□) Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ; (△) NaCl. The arrows show each point of the two peaks of water and ethanol merging into a single peak.



**Fig. 9** OH proton chemical shifts of H<sub>2</sub>O and EtOH in 25% (V/V) EtOH-H<sub>2</sub>O mixtures containing isoamyl alcohol at 25°C and 5°C : (○) H<sub>2</sub>O, 25°C ; (□) EtOH, 25°C ; (●) H<sub>2</sub>O, 5°C ; (■) EtOH, 5°C .

水溶液の味について、「実験方法」の項で示した各項目につき対照を3点として1点から5点までの5段階で比較評価した。同時に、アルコール刺激がより弱いところでのNaHCO<sub>3</sub>の影響を調べるため、15% (V/V) のエタノール水溶液にもおいて同様な官能評価を行った (Fig. 10)。25% (V/V) (Fig. 10 (A)) では、NaHCO<sub>3</sub> を50ppm 含んでいる場合、「甘味」が3.9と高い値を示し対照よりもやや強く感じられるという結果であった。他の項目ではそれほど差は認められなかった。同じ25% (V/V) のNaHCO<sub>3</sub> 濃度100 ppmでは、「甘味」は3.3とそれほど高くはなかったが、「アルコール刺激」が2.4と対照よりやや弱く感じるという結果となった。アルコール濃度を低くした15% (V/V) の結果では (Fig. 10 (B)), NaHCO<sub>3</sub> 濃度50ppmの場合、「甘味」が3.9と高く、「アルコール刺激」が2.6と低かった。他の項目は顕著な差はなかった。NaHCO<sub>3</sub> 濃度100ppmにおいても「甘味」が3.9、「アルコール刺激」が2.7と同様な結果を示した。統計的な有意性を確認するためt検定を行った結果、アルコール度数15% (V/V) のNaHCO<sub>3</sub> 濃度50ppmと100ppmの「甘味」について5%危険率で有意となった。以上の結果より、アルコール度数が25% (V/V) と高い場合は明確な違いは見えなかったが、15% (V/V) ではNaHCO<sub>3</sub> 濃度が50ppmと100ppmの両



**Fig. 10** Organoleptic effect of NaHCO<sub>3</sub> on the taste of ethanol-water solutions for which ethanol contents were 25% (V/V) (A) and 15% (V/V) (B). The NaHCO<sub>3</sub> concentrations are (○) 50ppm, (□) 100ppm.

方において、「甘味」が増すことが確認された。そのことがアルコール刺激の低減につながっているものと考えることができた。

##### 5. 連続蒸留式焼酎と割水について

焼酎 C に含まれる炭酸水素イオンは 61ppm であるが、アルコール分 95 度まで連続蒸留したスピリッツを 25 度まで割水したと想定し、炭酸水素イオンはすべて割水に由来しているとすれば割水用水中のその濃度は、およそ 83ppm と考えることができる。ナトリウムについても同様に考えると割水用水中の濃度は 22ppm となる。宮水 40 点<sup>17)</sup>の炭酸水素イオン濃度の平均をとってみると冬季で 138ppm、夏季で 124ppm である。同じくナトリウム<sup>17)</sup>の平均値は冬季で 27ppm、夏季で 25ppm である。以上より、焼酎 C に用いた割水用水は、平均的な宮水に比べると炭酸水素イオンでおよそ 63%、ナトリウムでおよそ 85% 含有していることになる。焼酎 C に含まれる塩類がすべて割水用水に由来しているとしても、濃度的には問題のないレベルであった。

木製の樽による長期間の熟成を必要とするウイスキーなどにおいては、熟成中に起こる水分子とエタノール分子の相互作用の変化が「まろやか」な味わいに関係していると考えられている<sup>18)</sup>。示差走査熱量計による分析により、熟成したウイスキーでは水-エタノールの相互作用が増加していることが報告されている<sup>19,20)</sup>。熟成したウイスキー原酒で観察される水-エタノール相互作用を示す水とエタノールの共融ピークは、その熟成原酒を蒸留すると観察することが出来なくなるが、その蒸留残渣を添加することで再度そのピークが出現することが示され、熟成したウイスキー原酒の水-エタノールの相互作用に影響を与えている要因の一つは無機塩であることが報告されている<sup>21)</sup>。カメで熟成を行う泡盛においては、カメより溶出した金属類<sup>22)</sup>によってアルコール分子と水分子の相互作用が促進されることが報告されている<sup>23)</sup>。また、泡盛に複数の金属イオンが存在することで、水-エタノールの相互作用が促進されることも示されている<sup>24)</sup>。NMR を用いた解析では、熟成したウイスキーとブランデーの<sup>1</sup>H NMR スペクトルの OH プロトンの半値幅は、-32°C という低温における測定において貯蔵年数とともに大きくなっており、熟成による影響全体に比べると小さいものの樽材浸出物が水-エタノールの相互作用に影

響を及ぼしていることが示されている<sup>25)</sup>。熟成したブランデーにおいては、<sup>17</sup>O NMR スペクトルの H<sub>2</sub>O ピークの半値幅は未熟成のものに比べて小さくなっており、ブランデーに含まれる樽由来の不揮発性成分である有機酸などが水-エタノールの相互作用に影響を与えていることが報告されている<sup>26,27)</sup>。熟成した泡盛では、<sup>17</sup>O NMR スペクトルの H<sub>2</sub>O ピークの半値幅が未熟成のものに比べて減少し、また<sup>1</sup>H NMR スペクトルでは水とエタノールのプロトン交換が促進されてピークが一つになっていることが報告されている<sup>28)</sup>。また、<sup>17</sup>O NMR で pH を変化させて得た水の OH ピークの半値幅-pH 曲線より、熟成年数の長いウイスキーやブランデーほど水のプロトン交換速度が速くなっていることが報告されている<sup>29)</sup>。最近では、焼酎の熟成における無機塩の溶媒和についても報告されており、NaCl または KCl はこれらイオンの第二溶媒和核にエタノールが取り込まれて、エタノールと水の水素結合が部分的に切断され、動粘度は減少し、吸熱反応が起きたものと推察されている<sup>30,31)</sup>。

以上のようにウイスキーやブランデー、泡盛などの蒸留酒では、熟成中に水分子とエタノール分子の相互作用が促進され、その要因の一つとして無機塩が報告されている。我々は、水-エタノール混合溶媒において、塩類、酸類及びフェノール類などが水-エタノールの水素結合にどのように影響を与えるのかを<sup>1</sup>H NMR を用いて網羅的に調べた<sup>15)</sup>。同時にウイスキーの熟成原酒において、熟成年数とともに増加してくる樽材由来成分によって水素結合構造が定量的に強められていることを報告した<sup>32,33)</sup>。清酒<sup>33,34)</sup>、焼酎<sup>16,33)</sup>などについても NMR スペクトルに加え、ラマンスペクトルも用い溶存成分と水素結合構造の関係について調べ、実際の酒類において、水-エタノールの水素結合を介した相互作用が含有成分によってどのように影響されているのかを報告した。溶存成分が水素結合を強くする作用機作としては、酸類、フェノール類はプロトンを供与することにより、逆に、塩基はプロトンを引き付けることによって水素結合構造を発達させることが示された<sup>15,35)</sup>。塩類については単位電荷当たりの結晶イオン半径が水素結合を強くする力に関係していることが報告されている<sup>15)</sup>。本研究において、NaHCO<sub>3</sub> は他のナトリウム塩 (NaCl, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) とはかな

り異なる効果を示すことが分かった。 $\text{HCO}_3^-$ はプロトン供与性および受容性の両方を有しているため、水素結合を促進させる効果が高いと考えられる。エタノール水溶液中に $\text{NaHCO}_3$ が存在することで、NMRスペクトル上では、水とエタノールのプロトン交換速度が促進され両者のピークが一体化し、その後濃度の増加に応じて化学シフト値が大きくなっていく。このスペクトルの変化から、水とエタノールの分子間相互作用が活発になり、同時に溶液中の水-エタノールの水素結合構造が発達していく様子をうかがい知ることができる。

エタノール水溶液に炭酸水素イオンが存在することで官能的には甘味が増し、アルコール刺激が低減するといった効果があることが示唆された。焼酎甲類としての品質は、アルコールとしての純粋さが良いのか、あるいは刺激のとれたまろやかな味わいの方が良いのかなど、その方向性が定まっているというわけではないと思われる。今回分析した焼酎でも、フェノール成分や低沸点香気成分が含まれているものもあり、これらの成分も官能的に影響を与えているであろう。炭酸水素イオンが製品段階でどのように影響を与えているのかについては、その他の成分との相互作用や評価するアルコール度数などの評価条件、また評価項目についてもさらに検討したうえで調べていかなければならない。NMRスペクトルの化学シフト値などのデータに基づいて、ウォッカの水-アルコール水素結合の構造性について考察した報告<sup>36)</sup>もあるが、世界的に飲まれているウォッカ、ラム、ジンなどのホワイトスピリッツと販売数量やその品質で競っていくためには、連続式蒸留焼酎においても単なるアルコールとは異なる品質について、さらにその個性に磨きをかけていくことも有効な手段となり得るのではないと思われる。

## 要 約

①市販の連続蒸留式焼酎の<sup>1</sup>H NMRスペクトルを25℃と5℃で測定した結果、水分子とエタノール分子のピークが、25% (V/V) エタノール溶液と同様に両温度において別々に存在する焼酎と、25℃では二つのピークが一体化し5℃でのみ分離している焼酎、さらに両方の温度において二つのピークが一体化している焼酎が存在しており、この両方の温度においてピークが一体化している焼酎は水-エタノールの水素結合が全

体として他の焼酎よりも強くなっていることも分かった。

②①において25℃と5℃の両温度で水分子とエタノール分子のピークが一体化し、水-エタノール分子間相互作用が最も促進されている焼酎は、他の焼酎に比べ炭酸水素イオン含量が高く、ナトリウム、カルシウム、マグネシウムなども多く含まれていた。

③炭酸水素イオンには、5℃において水-エタノールのプロトン交換を促進し、同時に水素結合構造を発達させる力があることがわかった。このことは<sup>1</sup>H NMRスペクトルの半値幅の変化からも確認することができた。この効果は他のNa塩、Ca塩、Mg塩には認められなかった。炭酸水素イオンの存在が、焼酎において水-エタノール相互作用を促進し、水素結合構造を強くしている主要因であると考えることが出来た。

④官能評価の結果、炭酸水素ナトリウムが15% (V/V) のエタノール水溶液に存在することで「甘味」を強く感じ、「アルコール刺激」が低減することが示唆された。

⑤割水用水に含まれていると考えられる炭酸水素イオンは、連続式蒸留焼酎の水-エタノール相互作用の強さに影響を与え、アルコール刺激の低減という効果を持っていることが示唆された。

## 参考文献

- 1) 酒類総合研究所情報誌, お酒のはなし 特集 焼酎1 (概要), 5 (2017)
- 2) 西谷尚道: 醸協, 89 (5), 330-340 (1994)
- 3) 大森大陸, 秋山裕一: 醸協, 80 (6), 415-417 (1985)
- 4) 堀井幸江, 橋口知一, 伊木由香理, 伊豆英恵, 須藤茂俊: 醸協, 106 (1), 45-49 (2011)
- 5) 国税庁課税部酒税課: 平成30年3月 酒のしおり, 47 (2018)
- 6) 注解編集委員会編, 第四回改正国税庁所定分析法注解, (公益財団法人日本醸造協会, 東京) (1993)
- 7) 日本工業規格 JIS K 0400-15-10: 1998, 水質-アルカリ度の測定, <http://kikakurui.com/k0/K0400-15-10-1998-01.html>
- 8) 日本工業規格 JIS K 0101: 1998, 25.1 塩化ストロンチウム-塩酸滴定法, <http://kikakurui.com/k0/K0101-1998-01.html>

- 9) W. Y. Wen and H. G. Hertz : *J. Solution Chem.*, **1**, (1), 17-37 (1972).
- 10) A. Coccia, P. L. Indovina, F. Podo and V. Viti : *Chem. Phys.*, **7**, 30-40 (1975).
- 11) Z. Luz, D. Gill and S. Meiboom : *J. Chem. Phys.*, **30** (6), 1540-1545 (1959).
- 12) J. C. Hindman : *J. Chem. Phys.*, **44** (12), 4582-4592 (1966).
- 13) N. Muller : *J. Chem. Phys.*, **43**, 2555-2556 (1965).
- 14) 荒田洋二 : 「水の書」共立出版株式会社, 東京, 26-29 (1998)
- 15) A. Nose, M. Hojo and T. Ueda : *J. Phys. Chem. B*, **108** (2), 798-804 (2004).
- 16) A. Nose, T. Hamasaki, M. Hojo, R. Kato, K. Uehara and T. Ueda : *J. Agric. Food Chem.*, **53** (18), 7074-7081 (2005).
- 17) 高岡祥夫編, 続灘酒, (灘酒研究会, 神戸) 45-46 (1988)
- 18) K. Nishimura and R. Matsuyama : Maturation and maturation chemistry, p. 244-253. In J. R. Piggott, R. Sharp and R. E. B. Duncan (ed.), The science and technology of whiskies. Longman Scientific & Technical, Essex, UK (1989).
- 19) K. Koga and H. Yoshizumi : *J. Food. Sci.*, **42** (5), 1213-1217 (1977).
- 20) K. Koga and H. Yoshizumi : *J. Food. Sci.*, **44**, 1386-1389 (1979).
- 21) K. Nishimura, M. Ohnishi, M. Masuda, K. Koga and R. Matsuyama : Reactions of wood components during maturation, p. 241-255. In Piggott, J. R. (ed.), Flavour of distilled beverages: origin and development. Ellis Horwood, Chichester, UK (1983).
- 22) 玉城武, 桑原健治, 長嶺順子, 高江洲朝清 : 醸協, **78** (12), 973-976 (1983)
- 23) 玉城武, 桑原健治, 長嶺順子, 高江洲朝清, 西谷尚道 : 醸協, **62** (3), 99-103 (1984)
- 24) 中曾根早苗, 大城寿賀子, 名嘉博幸, 宇地原敏夫 : 醸協, **99** (10), 750-757 (2004)
- 25) 赤星亮一, 大熊広一 : 農化, **58** (4), 357-365 (1984)
- 26) T. Aishima and K. Matsushita : Measurements of food aging by multinuclear NMR, p. 321-337. In Charalambous, G. (ed.), Frontiers of flavor. Elsevier, Amsterdam (1988).
- 27) T. Aishima, K. Matsushita and K. Nishikawa : Measurements of brandy aging using O<sup>17</sup> NMR and small angle X-ray scattering, p. 473-478. In Cantagrel, R. (ed.), Elaboration et connaissance des spiritueux. Lavoisier-Tec & Doc, Paris, France (1992).
- 28) 玉城武, 松下和弘, 樋岡克哉, 高宮義治 : 農化, **60** (3), 191-197 (1986)
- 29) 大河内正一, 石原義正, 稲葉慎, 上平恒 : 農化, **69** (6), 679-683 (1995)
- 30) 佐無田隆, 谷山健弘, 廣あおい : 醸協, **112** (5), 350-356 (2017)
- 31) 佐無田隆, 谷山健弘, 廣あおい : 醸協, **113** (1), 37-46 (2018)
- 32) A. Nose, M. Hojo, M. Suzuki and T. Ueda : *J. Agric. Food Chem.*, **52**, 5359-5365 (2004)
- 33) A. Nose and M. Hojo : *J. Biosci. Bioeng.*, **102** (4), 269-280 (2006).
- 34) A. Nose, M. Myojin, M. Hojo, T. Ueda and T. Okuda : *J. Biosci. Bioeng.*, **99**, 493-501 (2005).
- 35) 北條正司, 能勢晶 : 分析化学, **57**, (3), 171-181 (2008)
- 36) N. Hu, D. Wu, K. Cross, S. Burikov, T. Dolenko, S. Patsaeva and D. Schaefer : *J. Agric. Food Chem.*, **58**, 7394-7401 (2010)