

令和 4 年 5 月 30 日現在

機関番号：82105

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2018～2021

課題番号：18K05770

研究課題名（和文）樽酒の味覚に及ぼすスギ心材抽出成分の影響解明

研究課題名（英文）Elucidating the influence of sugi heartwood extractives on the taste of barreled sake

研究代表者

河村 文郎（Kawamura, Fumio）

国立研究開発法人森林研究・整備機構・森林総合研究所・主任研究員 等

研究者番号：80353655

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：樽酒モデル飲料を室温保存し、経時的にアミノ酸分析を行った結果、対照の市販日本酒に対して組成・濃度の差が見られなかった。樽酒モデル飲料と対照の基本五味を味覚センサーによって測定した結果、前者では苦味の増加と甘味の減少が確認され、味覚を辛口寄りに変化させることが判明した。一方、うま味の変化は少なく、アミノ酸の分析結果を支持する形になった。スギ心材抽出物が樽酒の味覚の変化へ及ぼす原因になる成分をsequirin-C及びagatharesinolと特定した。日本酒中でスギ心材抽出物が高い糖化抑制作用を示しスッキリした味覚の印象を保つことを明らかにすると共に主な寄与成分をsequirin-Cと特定した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

産業規模の大きさからワインやウイスキーの樽材由来成分に関連した研究例は数多く存在する。しかしながら、スギ樽酒の樽材由来成分に関してはあまり研究が進んでおらず、特に味覚に影響する成分に関しては詳細が不明であった。本研究では、日本酒をスギ樽に入れて樽酒にしたときの味覚の変化について調べ、スギ心材抽出成分の影響を明らかにした。これらの結果によって、今まで樽酒製造の現場で経験的に知られていた極めて感覚的な印象（例：日本酒を樽酒にすると味がスッキリする等）を客観的な実験データによって説明することが可能となった。

研究成果の概要（英文）：The model beverage of barreled sake was stored at room temperature; amino acids were analyzed over time. The sample showed no difference in composition or concentration of amino acids to the control, commercial Japanese sake. The basic five tastes of the model beverage of barreled sake and control were measured by taste sensor. An increase in bitterness and a decrease in sweetness were observed in the former, which was elucidated to change the taste perception towards dryness. There was a little change in umami, which supported the results of the amino acid analysis. The constituents causing the change of taste was identified as sequirin-C and agatharesinol. It was found that sugi heartwood extracts could show the high anti-glycation activity in sake; maintains the impression of a clean taste. Sequirin-C was identified as the main constituent which contribute on the activity.

研究分野：木質科学 | 樹木に関わる天然物化学

キーワード：樽酒 スギ心材抽出成分 ノルリグナン sequirin-C 味覚 苦味 甘味 抗糖化活性

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

スギ (*Cryptomeria japonica* D. Don) は我が国の代表的な造林木であり、建築に広く利用される他、日本酒や焼酎の酒樽や大型貯水槽などの飲料 (食品) 容器としても使用されている。スギ材を飲料容器として利用する際、飲料中へスギ材由来の成分が溶出する。樽酒は、樽としてスギの甲付 (こうつき: 辺材・白線帯・心材を含む材) や赤身 (あかみ: 心材のみ) が使用される。甲付では、心材が内側に、辺材が外側になるように樽が組み立てられる。従って、飲料 (日本酒) に接触し、抽出現象が起きるのは「心材」である。これまでの研究で、スギ心材の抽出物にはノルリグナン類 (C₆-C₃-C₂-C₆化合物) の sequirin-C 及び agatharesinol が大量に含まれることが判明している。スギ心材抽出物は多種多様な成分から構成されるが、これら 2 成分の含有率が突出している。sequirin-C 及び agatharesinol は水酸基 (OH) を多数有し、エタノールと水の混合溶媒である日本酒への溶解性がたいへん高く、また、消臭作用を有するため日本酒の香りの向上に寄与することが知られている (松永ら, 2004)。しかしながら、スギ樽酒の味覚に影響を及ぼす樽材由来の成分については詳細が不明である。

2. 研究の目的

日本酒をスギ樽に入れて樽酒にするとスギ心材抽出成分が日本酒に溶出し、味を変化させる。味覚をわかりやすく捉える方法として基本五味 (甘味、苦味、酸味、塩味、うま味) という表現がある。まだ実用化の一手手前である嗅覚センサーとは異なり、味覚センサーは既に実用化されており、本装置を用いて基本五味を測定することによりスギ心材抽出成分の樽酒の味覚への影響を数値化し、客観的に評価することが可能である。

本研究では、スギ心材抽出成分の樽酒の味覚への影響を解明することを目的とした。スギ心材抽出物や主要ノルリグナン類を添加した樽酒モデル飲料について味覚センサーによる基本五味の測定並びに味覚の変化に寄与する成分の特定を行う。また、樽酒の保存におけるスギ心材抽出成分の安定性、アミノ酸組成への影響並びに基本五味とは別の概念である「コク」に関する日本酒の糖化反応への影響を解明する。

3. 研究の方法

(1) スギ心材主要ノルリグナン類の単離

70 年生スギ心材を粉碎し、メタノールを用いて抽出した。抽出溶液をロータリーエバポレーターにより濃縮乾固し、スギ心材メタノール抽出物を得た。メタノール抽出物を有機溶媒でフラクショネーションし、酢酸エチル可溶部からクロマトグラフィーにより sequirin-C 及び agatharesinol を単離した。構造を核磁気共鳴分光法 (NMR) により確認した。

(2) 樽酒モデル飲料の調製

市販日本酒の平均的な度数に相当する 15% エタノール水溶液を用いてスギ心材粉末の抽出を行った。抽出溶液をロータリーエバポレーターにより濃縮乾固し、スギ心材抽出物を得た。市販日本酒にスギ心材抽出物を添加し、樽酒モデル飲料を調製した。

(3) 樽酒モデル飲料の味覚測定

スギ心材抽出物添加濃度を 100 ug/mL とした樽酒モデル飲料 (C) を調製し、味覚センサー (AISSY 株式会社, レオ) を用いて味覚の基本五味 (甘味、塩味、酸味、苦味、うま味) を測定した。抽出物を添加しない日本酒をコントロール (A) として同様に測定した。さらに、日本酒の代わりに 15% エタノール水溶液を用いてスギ心材抽出物溶液 (B) を調製し、抽出物単独での基本五味を測定した。

(4) 味覚に影響を及ぼす成分の特定

市販日本酒に抽出物 (SE) あるいはノルリグナン類 [sequirin-C (SQC), agatharesinol (AR)] を添加し、樽酒モデル飲料及びモデル液を調製した。詳細は次の通りである。樽酒モデル飲料 (スギ抽出物添加) [終濃度 (ug/mL): SE 100 = SQC 14.2, AR 13.3] (C), ノルリグナン液 [(ug/mL): SQC 14.2, AR 13.3] (D), sequirin-C 液 [(ug/mL): SQC 20] (E), agatharesinol 液 [(ug/mL): AR 20] (F)。抽出物を添加しない日本酒をコントロール (A) とした。(3) と同様に基本五味を測定し、結果を比較した。

(5) 樽酒モデル飲料のアミノ酸分析

スギ心材抽出物添加濃度を 30, 100, 300 (ug/mL) とした樽酒モデル飲料を調製し、アミノ酸の組成・濃度を超高速液体クロマトグラフィーによって分析した。抽出物を添加しない日本酒をコントロールとした。これらのサンプルを 25℃、暗所でエージングし、アミノ酸分析を経時的に 2 ヶ月後まで行った。

(6) 日本酒中でのノルリグナン類の安定性の確認

市販日本酒にスギ心材抽出物を添加し、樽酒モデル飲料を調製した(終濃度 50 ug/mL, 気相率 25%)。15%エタノール水溶液を用いて同様に調製したサンプルをコントロールとした。これらのサンプルを 5 または 25、暗所で放置した。スギ心材より単離した sequirin-C 及び agatharesinol を用いて検量線を作成し、UHPLC によってこれらを経時的に定量した。

(7)カテコール核を有する酒類関連成分の安定性の比較

市販日本酒または 15%エタノール水溶液を用いて Sequirin-C, catechin, epicatechin 及び quercetin の溶液を調製した(終濃度 10 ug/mL)。5 で(6)と同様の実験を行い、各化合物の安定性を比較した。

(8)市販酒類中での sequirin-C の安定性の比較

pH を測定済の日本酒、焼酎及びワインを用いてスギ心材抽出物の溶液(終濃度 50 ug/mL)を調製した。25 で(6)と同様の実験を行い、sequirin-C の安定性を比較した。

(9)市販樽酒に含まれるスギ心材ノルリグナン類の定量

1 2 社の市販樽酒について(6)と同様の手法でスギ心材ノルリグナン類を定量した。市販樽酒は希釈することなく、メンブランフィルターろ過後原液のまま使用した。

(10)溶媒として市販日本酒を使用した抗糖化活性評価

スギ心材抽出物、sequirin-C 及び agatharesinol について、溶媒を常法(Jang et al.2010)におけるリン酸緩衝液(pH 7.4)から日本酒(pH 4.3)に置き換え、抗糖化活性を測定した。Aminoguanidine をポジティブコントロールとした。常法 4) (反応条件を 60、16 h に変更)による抗糖化活性を測定し、結果を比較した。

4. 研究成果

(1)樽酒モデル飲料の味覚測定と味覚に影響を及ぼす成分の特定

図 1 に樽酒モデル飲料、市販日本酒(コントロール)、スギ心材抽出物溶液及びノルリグナン液の基本五味の測定結果を示す。スギ心材抽出物のみ(B)はほぼ苦味のみであり、その他の味は非常に弱かった。樽酒モデル飲料(C)はコントロール(A)に対して苦味の増加とその抑制効果としての甘味の減少が確認された。また、酸味もやや増加した。うま味の変化は少なく、アミノ酸の分析結果を支持する形になった。酒類の辛口の定義として糖分(甘味)が少ないほど、酸が多いほど、またアミノ酸が少ないほど辛口であるとされるので、この実験結果は、日本酒を樽酒にすることによって味覚を辛口寄りに変化させたと解釈できる。辛口の別の表現として「スッキリした」との表し方もあるため、日本酒を樽酒にすることによりスッキリした印象が得られることが示唆される。

スギ心材 15%エタノール抽出物には sequirin-C が 14.2%、agatharesinol が 13.3%含有されていた。樽酒モデル飲料(C)と等量の sequirin-C 及び agatharesinol のみを含むノルリグナン液(D)は(C)に近い苦味と甘味の変化を示し、特に苦味に関しては完全な変化量を示したため、これらの成分を味覚変化への主な寄与成分と特定した。sequirin-C (E)と agatharesinol (F)を個別に測定した結果、特に sequirin-C の味覚への影響が大きいことが分かった。

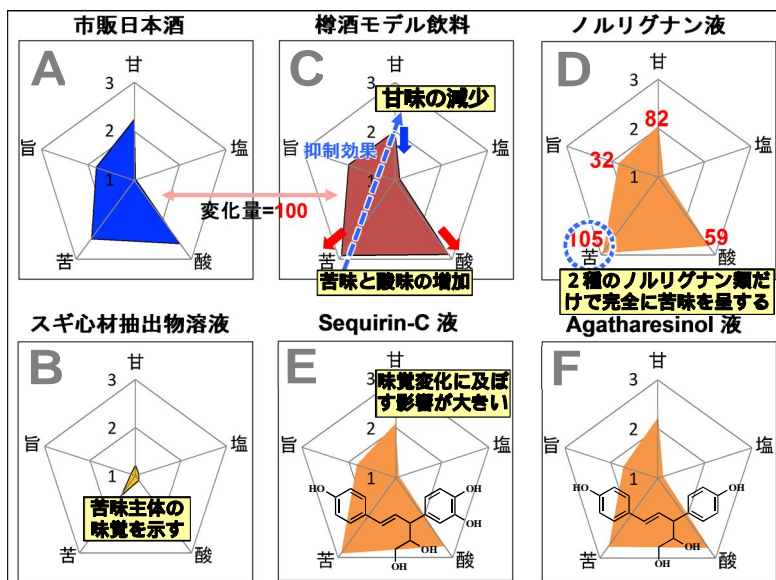


図 1 味覚測定結果

(2) 樽酒モデル飲料に含まれるスギ心材抽出物のアミノ酸組成への影響

図2に調製直後の樽酒モデル飲料のアミノ酸組成を示す。エージング(放置)に伴い、わずかなアミノ酸濃度の低下があった。しかしながら、樽酒モデル飲料とコントロールの間でアミノ酸濃度の低下率に差はなく、スギ心材抽出物のアミノ酸組成・濃度への影響はないことが分かった。

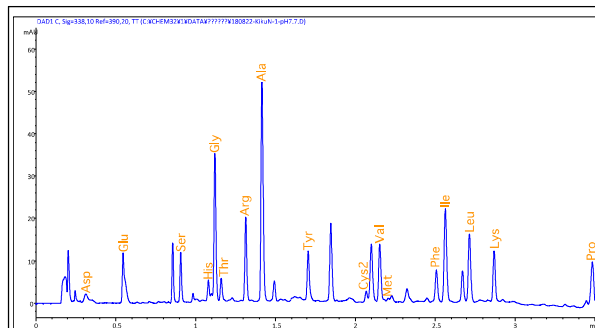


図2 樽酒モデル飲料のアミノ酸組成

(3) 日本酒中でのノルリグナン類の安定性の確認

図3に日本酒及び中性溶媒中でのノルリグナン類の安定性(残存率)を示す。日本酒及び中性溶媒中でのノルリグナン類の安定性を比較した結果、sequirin-Cは、25℃で極めて初期の2日後に、15%エタノール中では完全に消失したが、日本酒中では100%残存していた。日本酒中で6ヶ月間の長期保存後に、sequirin-Cは25℃で30%、5℃で85%程度残存し、顕著に安定化することが明らかになった。また、agatharesinolも日本酒中で安定化する傾向が見られた。このような安定化作用は、主に日本酒の有する弱酸性の酸性度に起因することを明らかにした。また、この安定化作用は日本酒の有する緩衝能によりさらに向上することが分かった。その他、日本酒に含まれる抗酸化物質も安定化に寄与していると推察された(データ省略)。

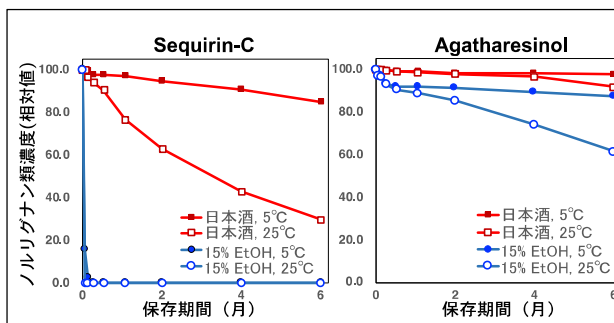


図3 日本酒及び中性溶媒中でのノルリグナン類の安定性

(4) カテコール核を有する酒類関連成分の安定性の比較

ワイン等の酒類に含まれることが知られている catechin, epicatechin 及び quercetin を用いて実験を行い、樽酒成分である sequirin-C の結果と比較した。中性溶媒中では、芳香環と共役した二重結合を側鎖に有する quercetin 及び sequirin-C が非常に不安定であり、catechin 及び epicatechin は比較的安定ではあったが、32日間で一定量の減少を示した。日本酒中では、これら全ての成分が安定化し、特に sequirin-C の安定化が顕著であった(図4)。

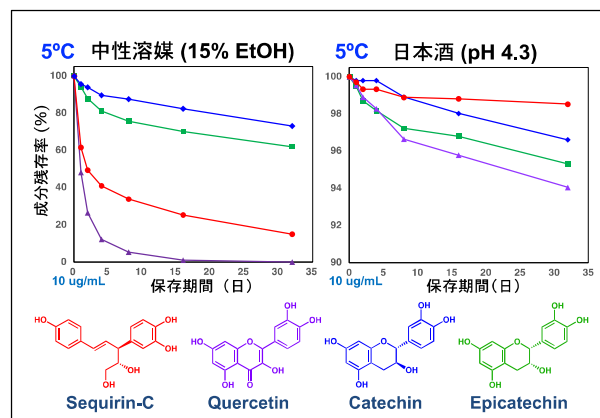


図4 カテコール核を有する酒類関連成分の安定性

(5) 市販酒類中での sequirin-C の安定性の比較

Sequirin-Cはワイン(pH 3.5)及び日本酒(pH 3.7-4.7)中では非常に安定であったが、芋焼酎(pH 5.3)中では中庸な安定性を示し、米焼酎(pH 7.6)及び麦焼酎(pH 7.5)中では非常に不安定であった(図5)。米焼酎にスギ心材抽出物を添加し味覚センサーで基本五味を測定した結果、抽出物の味覚への影響は確認されず(データ省略、日本酒を用いた研究成果(1)とは異なる結果となった)。

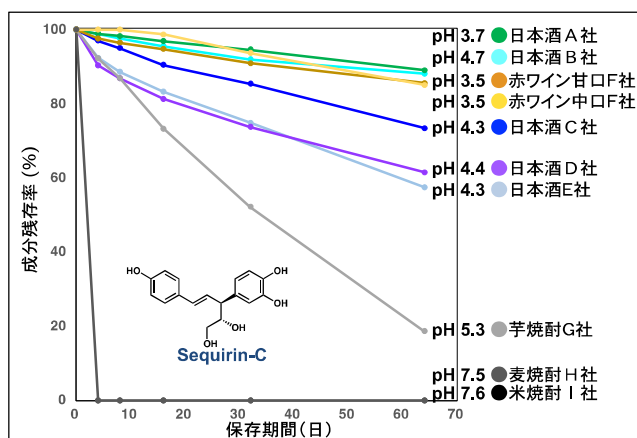


図5 市販酒類中での sequirin-C の安定性

(6)市販スギ樽酒中のノルリグナン類濃度

図6に12社の市販樽酒に含有されるノルリグナン類の濃度を示す。市販樽酒に含有されるsequirin-C/agatharesinol比は多様性(0~6.3)を示し、大部分の市販樽酒で比が2程度であったとする松永らの報告(2004)と大きく異なる結果が得られた。ノルリグナン類濃度はメーカーによって大きく異なり、特にsequirin-C濃度の差が顕著であった。Sequirin-Cの12社の最高値は、5.2 ug/mLであり、本研究で用いたスギ心材抽出物に換算すると抽出物約37 ug/mLと推定された。Sequirin-Cの12社の平均値は1.6 ug/mLであり、抽出物約11 ug/mL相当と推定された。これらの値は約20年前に行われた同様の実験結果(松永ら,2004)と比較して低くなっており、近年スギ心材抽出物による強すぎる苦味や香りを消費者が好まなくなっている傾向を把握することができた。図6に示した通常の樽酒とは異なる木桶仕込みの日本酒5社商品について同様の実験を行った結果、ノルリグナン類の濃度は図6, O社に近く、非常に低濃度であった(データ省略)。スギ木桶の使用の繰り返しによって溶出するノルリグナン類の濃度は低くなることが多いと推察された。

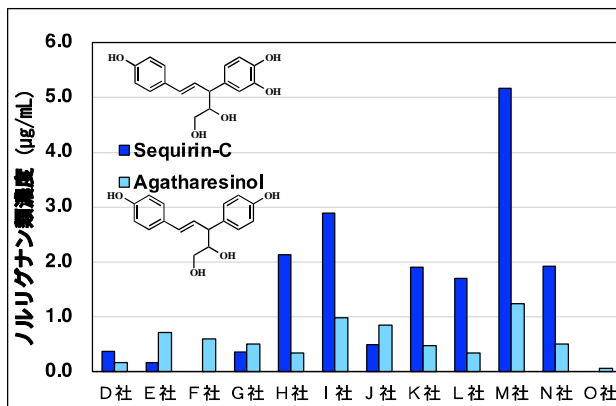


図6 市販樽酒中のノルリグナン類濃度

(7)溶媒として市販日本酒を使用したスギ心材抽出成分の抗糖化活性評価

日本酒を長期保存すると、含有されるアミノ酸やタンパク質と糖類の糖化反応(メイラード反応)が進行し、琥珀色に着色すると共にコクが増す(Ogasawara et al. 2006)。本研究ではスギ心材抽出物の抗糖化活性を測定した結果、日本酒を用いた方法(以下日本酒法)と常法のいずれにおいても高い抗糖化活性を示した。対照的に、ポジティブコントロール(PC)のaminoguanidineは日本酒法において活性が非常に低くなった。スギ心材抽出物中換算濃度のsequirin-C及びagatharesinolをそれぞれ単独で試験した結果、agatharesinolは活性が非常に低かった。一方、sequirin-Cはいずれの方法でも高い活性を示し、スギ心材抽出物の主要な抗糖化活性成分であることが分かった。

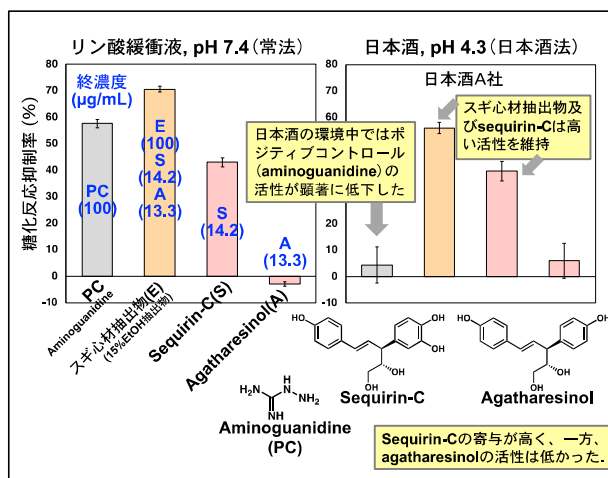


図7 スギ心材抽出成分の抗糖化活性

図8に市販樽酒中での抽出物濃度[研究成果(6)及び文献(松永ら,2004)]を踏まえた抗糖化活性評価の結果を示す。sequirin-C濃度が近年の市販樽酒中での平均値程度であった場合も抗糖化活性を示すことが分かった。

以上の結果から、樽酒の保存においてスギ心材抽出物は、コクを増加させることなくスッキリとした印象を維持することが示唆された。

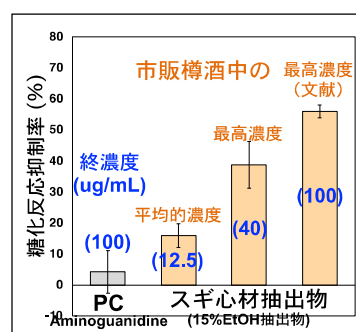


図8 市販樽酒中での抽出物濃度を踏まえた抗糖化活性評価

《参考文献》

松永ら. (2004) 樽酒の成分について(2). 醸協, 99: 585-590.
 Ogasawara, M. et al. (2006) Taste enhancer from the long-term ripening of miso (soybean paste). Food Chem, 9: 736-741.
 Jang, D.S. et al. (2010) Constituents of the flowers of Platycodon grandiflorum with inhibitory activity on advanced glycation end products and rat lens aldose reductase in vitro. Arch Pharm Res, 33: 875-880.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 河村文郎
2. 発表標題 スギ心材抽出成分が樽酒の味覚に及ぼす影響（第2報）
3. 学会等名 第71回日本木材学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 河村文郎
2. 発表標題 スギ心材抽出成分が樽酒の味覚に及ぼす影響
3. 学会等名 第71回日本木材学会大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Fumio Kawamura
2. 発表標題 Reaction products formed with food constituents and norlignans dissolving from sugi barrel for sake
3. 学会等名 30th International Symposium on the Chemistry of Natural Products (ISCP30) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 河村文郎
2. 発表標題 スギ心材抽出成分が樽酒の味覚に及ぼす影響（第3報）
3. 学会等名 第72回日本木材学会大会
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------