

ノート

Crude Rumの有機酸類の確認

出来三男, 加藤時信

1. 緒 言

前報¹⁾において, crude rum の香気成分として数種類の低級カルボニル化合物, アルコール類, 脂肪酸エチルエステル及びフェノール性化合物を確認し, これをジャマイカラムと比較した。これらの揮発性化合物は, ラムの官能的な芳香に寄与しているものであるが, crude rum とジャマイカラムの間で質的に顕著な相違はなかった。しかし, 比較的高沸点成分である脂肪酸エチルエステル, とくに炭素数 14 以上の脂肪酸エチルの相対比が crude rum では減少している。このことは crude rum とジャマイカラムの蒸留状態の相違によるのか, 或いは熟成工程を経ているか否かによる違いであるかは明らかでない。また crude rum やジャマイカラムで確認したこれらの揮発性化合物は質的にはウイスキー, ブランデー, コニヤック及びしょうちゅうなどの蒸留酒に共通に検出される成分でありラムのように糖みつを原料とする蒸留酒に特徴的なものではない。²⁾³⁾⁴⁾⁵⁾⁶⁾しかし, 醗酵原料の相違が蒸留酒の香気を性格づけていることは認められているところであり, 熟成工程と相俟って蒸留酒の風味を形成している。山田ら⁷⁾はウイスキーの熟成と有機酸の関係について検討し, ウイスキーの味覚に有機酸が関与することを認めている。

また, Nykanen ら⁶⁾はジャマイカラムに含まれる揮発性脂肪酸の挙動について検討し, 他の蒸留酒に存在しない炭素数 6 の枝鎖脂肪酸のほか, プロピオン酸, カプリン酸及び酪酸を主な揮発酸とする約 21 種類の脂肪酸類を確認している。さらに, Liebich ら⁸⁾も酢酸とカプリル酸を主成分とする約 14 種類の飽和脂肪酸をジャマイカラムのペンタン抽出物から検出し, 安息香酸やフランカルボン酸の存在も確認している。また, Maarse ら⁹⁾もほぼ類似した脂肪酸類を確認しているが, いずれの場合も二塩基酸は確認されていない。

著者らは熟成工程を経ないアルコール濃度の高い crude rum からクロロホルムで抽出した酸性物質をメチル化し, ガスクロマトグラフィー (以下 GC と略) により多数のピークを検出したが¹⁾本報告においてはこれらの各ピーク成分について質量分析計により同定を行ない数種類の酸性物質を確認したので報告する。

2. 実験方法

2・1 試 料

実験に用いた crude rum 及びラムは次のようなものである。

Crude rum : Rectified spirit made from molasses.
アルコール度数 88.5 度

Jamaica rum : Red 及び White rum で, アルコール度数はいずれも 44 度である。

2・2 酸性物質の捕集

2・2・1 質量分析に用いる試料の調製

ラム 100ml を分液ろ斗にとり, 水 100ml を加えて希釈しこれに食塩を加えて飽和させたのち再蒸留したクロロホルム 100ml を加えて 10 分間激しく振とうして抽出する。クロロホルム抽出液を分取し, これに 5 % 炭酸ソーダ水溶液 20ml を加えて振とうし, 酸性物質をアルカリ溶液に転溶させる。アルカリ抽出液は 2 規定塩酸水溶液で酸性 (pH 2) とし, 食塩を飽和させたのちエチルエーテル 50ml を加えて振とう抽出する。

エーテル抽出液は分取し無水硫酸ソーダで脱水後約 40 ° で減圧下でエーテルを留去して濃縮し, これを酸性物質とした。得られた酸性物質はジアゾメタンでメチル化し, 余分のエーテルをできるだけ低温で留去して濃縮したものを GC - Mass 用の試料とした。

2・2・2 GC に用いる試料の調製

ラム 500ml に 5 % 炭酸ソーダ水溶液 100ml を加え

本報を「Crude Rum の香気成分について (第 2 報)」とする

大蔵省関税中央分析所 千葉県松戸市若瀬 531

てアルカリ性としたのち、残液が約 100ml になるまで約 80 で減圧濃縮した。残液にエチルエーテル 30ml を加えて振とうし、中性及び塩基性物質を抽出除去する。残液はさらにエチルエーテルで同様に抽出処理し中性及び塩基性物質を完全に除去した。アルカリ液はりん酸を加えて酸性 (pH 2) としたのち食塩を加えて飽和させ、エチルエーテル 30ml を用いて激しく振とう抽出する。エチルエーテルによる抽出を 2 回繰返しエーテル液は合わせ、無水硫酸ソーダで脱水したのち、できるだけ低温でエーテルを留去して濃縮した。エーテル抽出物はジアゾメタンでメチル化し、これを GC 用の試料とした。

2・2・3 薄層クロマトグラフィー (TLC) に用いる試料の調製

ラムの約 100ml をそれぞれ大型蒸発皿にとり、沸とう浴上で蒸発乾固した。固形物は少量の水に溶かし、これを TLC 用の試料とした。

2・3 各種の測定条件

ガスクロマトグラフィーの条件は次のとおりである。

装置：島津 GC - 5A

カラム充填剤：poly - diethylene glycol succinate 20% , uniport K A , 80 ~ 100 メッシュ

カラム：ガラスカラム 2 m , キャリヤーガス：He 70ml / min . 水素：45ml / min , air : 0.9 l / min .

注入口温度：220 , カラム温度：目的により種々の温度で行なった。水素炎イオン化検知器。

質量分析計の測定条件は次のとおりである。

装置：日立 K - 53 ガスクロマトグラフを直結した日立 RMU - 6 E 型質量分析計を用いた。イオン加速電圧：1.8keV , m / e 600 , イオン化電圧：70eV , 電子電流 60 μ A.

薄層クロマトグラフィーの条件は次のとおりである。

プレート：シリカゲル , 厚さ 0.25mm , 展開溶媒：エタノール (96%) - 水 - アンモニア水 (25%) = 100 - 12 - 16 , 呈色試薬：ブロムクレゾールグリーン。

3 . 結果と考察

3・1 酸性物質の同定

酸性物質をメチルエステル化したもののガスクロマトグラムは Fig.1 に示した。crude rum から多数のピークを検出するが、とくに比較的初期に現われるピーク成分が顕著である。これらのピークパターンは、主な成

分においてはジャマイカラムと差がなくピークの相対強度比もよく類似している。しかし、crude rum にみられるピーク No. 5 の強度比はジャマイカラムのそれに比較して著しく大きい。

各ピーク成分について GC - Mass により同定した。ピーク No. 1 , 2 , 4 , 5 , 6 , 7 及び 8 はそれぞれ分子イオンピーク $M^+m/e130$, $M^+m/e158$, $M^+m/e172$, $M^+m/e186$, $M^+m/e214$, $M^+m/e242$, $M^+m/e270$ を示し Fig.2 に示したピーク No.5 のマスペクトルからわかるように各ピークの開裂様式はいずれも飽和の直鎖脂肪酸のメチルエステルのマスペクトルを示しており、それぞれカプロン酸 (C_6) , カプリル酸 (C_8) , ペラルゴン酸 (C_9) , カプリン酸 (C_{10}) , ラウリン酸 (C_{12}) , ミリスチン酸 (C_{14}) 及びパルミチン酸 (C_{16}) であると同定した。

微弱なピークはマスペクトルから確認できなかったもので、標準脂肪酸メチルのガスクロマトグラムの相対保持時間(Rt)から確認したものであり、それぞれ、 C_2 , C_3 (iso) , C_3 , C_4 (iso) , C_4 , C_5 (iso) , C_5 , C_7 , C_{11} , C_{13} , C_{15} , C_{17} , C_{18} , $C_{16}=1$, $C_{18}=1$, $C_{18}=2$ の存在が推定された。その結果は Fig.5 に示した。

ピーク No. 3 はジャマイカラムにも認められるが、そのマスペクトルは Fig.3 に示したように $m/e126$ に分子イオンの顕著なピークが現われている。 $m/e95$ は M - 31 によるものでありヘテロ原子と二重結合で結合している炭素の陽イオンが安定化されて開裂した $-OCH_3$ の存在を示すものである。分子イオンピークの強度比が比較的強く、また M - 31 がベースピークとなっているのはこの化合物が芳香性を帯びていることを示している。このようなことから $m/e67$ 及び $m/e68$ はフランイオンによるものと考えられる。 $m/e39$ をシクロプロペニルイオン ($C_3H_3^+$) とするとこの化合物はメチルフロエートと考えることができる。さらにこの化合物のマスペクトルは 2 - メチルフロエートのそれとよく一致することからピーク No. 3 を 2 - フリールカルボン酸メチルと同定した。これは Liebich らも確認しており、未成熟の crude rum から確認されたことはジャマイカラムと共通した性質をもつことを示している。

3・2 高沸点酸性物質の検討

ラムを沸とう浴上で蒸発乾固したものの薄層クロマトグラムは Fig.4 に示した。酸性物質が微量であるため顕著なスポットは検出されないが crude rum からは R_f 0.47 に 1 個の顕著なスポットを検出した。このスポット成分は R_f 値から二塩基酸ではなく鎖状の高級脂肪酸又は Liebich らも検出している芳香族酸であると推定

ノート Crude Rum の有機酸類の確認

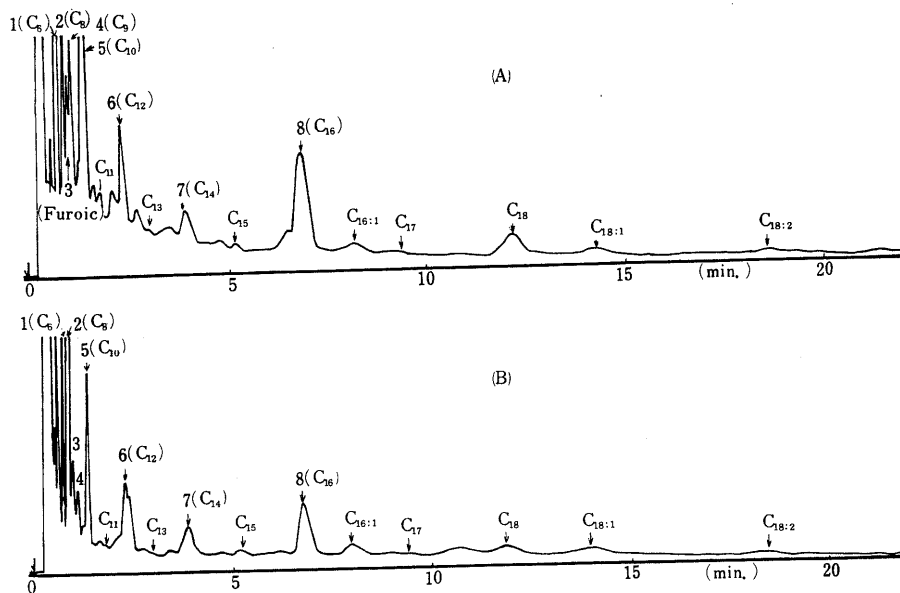


Fig.1 Gas chromatograms of fatty acids of Jamaica rum (white) and crude rum as methyl esters

(A): Crude rum (B): Jamaica rum (white)

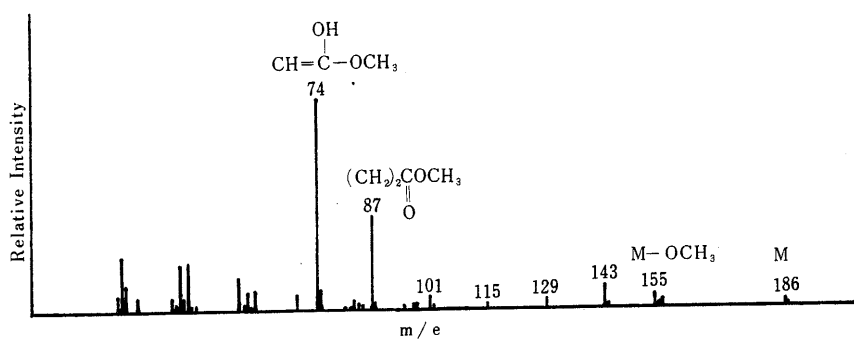


Fig.2 Mass spectrum of peak No.5 cited in Fig.1

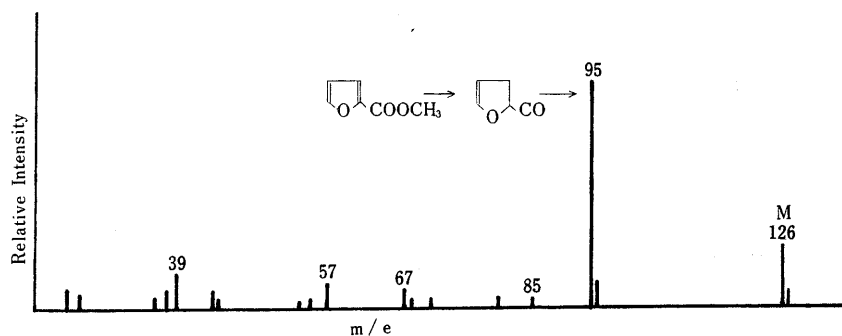


Fig.3 Mass spectrum of peak No.3 cited in Fig.1

されるが確認していない。一方ジャマイカラムから Rf0.47 の弱いスポットのほかに succinic acid の Rf 値に一致する弱いスポット及び数種の二塩基酸に相当するスポットを検出するが、これらが二塩基酸であるかについてはガスクロマトグラフィーによっても確認されていないこと及び Liebhich らもラム中の酸性物質として二塩基酸の存在を否定していることからさらに検討を要するものとする。

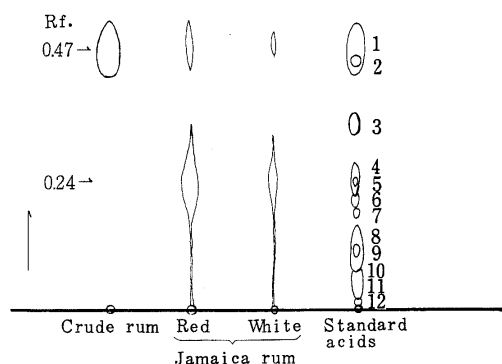


Fig.4 Thin layer chromatograms of non volatile fatty acids

1:Caproic, 2:2-Furoic, 3:Kojiic, 4:Succinic, 5:Itaconic, 6:Maleic, 7:Malic and Malonic, 8:Gluconic, 9:Tartaric, 10:Glyceric, 11:Oxalic, 12:Fumaric

3・3 Crude rumの脂肪酸組成比

酸性物質のメチルエステル化物のガスクロマトグラムから各ピークの相対強度比を算出した。Table 1 からわかるように、カプリル酸が全体の 49.5%を占めており、このほかにラウリン酸、カブロン酸などが主な成分となっている。酢酸がほとんど認められないのは試料調製中の損失によるものと考えるが、ミリスチン酸以上の高沸点成分は極めて少ない。これらの組成比は酢酸の損失を考慮すればLiebhich らがジャマイカラムで得られた結果と類似するが、酸性物質全体の組成はこれまでジャマイカラムで確認されたものと必ずしも一致しない。このことは酸性物質が熟成に関与していることから蒸留酒のおかれた環境と関連して考察すべきであろう。またフラン誘導体の存在は糖みつを原料とするラムに特徴的な成分であるかどうかは多くの蒸留酒について比較検討しなければならないと考える。

4. 総括

crude rum の酸性物質として多数の成分を検出したが、なかでも飽和の直鎖脂肪酸が主なものであり、とくにカブロン酸、カプリル酸、カプリン酸及びラウリン酸が主成分であった。このほか微量成分として C_2 , C_3 , C_9 , C_{14} , C_{16} , C_{18} , $C_{18=1}$ などの脂肪酸の存在を認

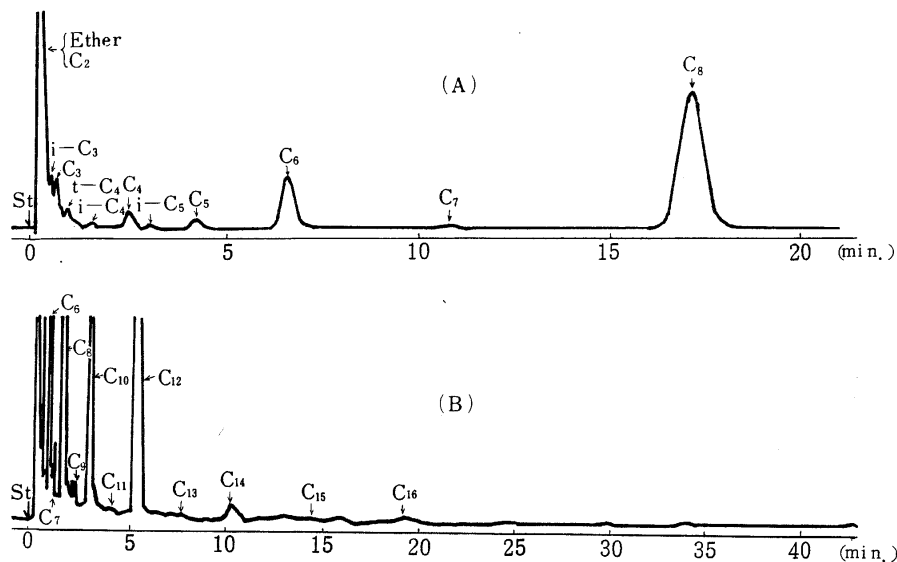


Fig.5 Gas chromatograms of fatty acid of crude rum as methyl esters

A: Column temperature 70

B: Column temperature 170

Table 1 Relative amounts of fatty acids excluding acetic acid in crude rum

Acids	Relative amounts	Acids	Relative amounts
Isopropionic	2.7	Capric	10.0
Propionic	3.8	Undecanoic	Tr.
tert.-butyric	0.9	Lauric	16.8
Isobutyric	Tr.	Tridecanoic	Tr.
Butyric	1.5	Myristic	0.7
Isovaleric	Tr.	Pentadecanoic	Tr.
Valeric	1.1	Palmitic	0.2
Caproic	10.7	Palmitoleic	Tr.
Enanthic	1.4	Heptadecanoic	Tr.
Caprylic	49.5	Stearic	Tr.
2-furoic	Tr.	Oleic	Tr.
Pelargonic	0.9	Linoleic	Tr.

めた。また、微量成分であるが 2 - フリルカルボン酸が GC - Mass により確認されたが、この成分はウイスキーやブランデーなどの蒸留酒からは検出されていないものであり、また熟成過程で生成するものとも考えられないことから、糖みつを原料とするラム酒に特徴的な成分と考えられる。

crude rum とジャマイカラムの酸性物質は定性的にほぼ類似しているが高級脂肪酸の組成比に差がみられた。二塩基酸やオキシ酸は crude rum からは確認できなかった。

文 献

- 1) 出来三男, 加藤時信: 本誌, No.11, 1(1971).
- 2) J.H.Kahn, E.G.La Rose, H.A.Conner: *J.Food.Sci.*, **33**, 395(1968).
- 3) J.H.Kahn: *J.Ass.off.analyt.Chem.*, **52**, 1166(1969).
- 4) L.Nykänen, E.Puputti, H.Suomalainen: *J.Food Sci.*, **33**, 88(1968).
- 5) F.Drawert.W.Heimann, G.Tsantalís: *Z.analyt.Chem.*, **228**, 170(1967)(C.A).
- 6) L.Nykänen.E.Puputti, H.Suomalainen: *Kem.Teollisuus*, **25**, 399(1968)(C.A).
- 7) 山田正三, 福井靖彦: 農化, **36**, 933(1962).
- 8) H.M.Liebich, W.A.Koenig, E.Bayer: *J.chromatog.Sci.*, **8**, 527(1970).
- 9) H.Maarse, M.C.ten Noever de Brauw: *J.Food Sci.*, **31**, 951(1966).

On Aroma Components of Crude Rum (2)

Identification of Organic Acids in Crude Rum

Mitsuo DEKI, Tokinobu KATO

Central Customs Laboratory, Ministry of Finance
531, Iwase, Matsudo-shi, Ciba-ken.

Received Oct. 1, 1971