

市販ラム酒における香気成分分析及びラム酒の最適な分析条件の検討

宮下 広海*, 西崎 有美*, 松澤 昌夫*, 今井 真弓*

Analysis of aroma components in commercial rums, and study for best analysis condition in rums

Hiroumi MIYASHITA*, Yumi NISHIZAKI*, Masao MATSUZAWA* and Mayumi IMAI*

*Kobe Customs Laboratory, 12-1,Shinko-cho,Chuo-ku,Kobe,Hyogo 650-0041 Japan

We measured gas chromatograms of the aroma components of 9 commercial rums by the solvent extraction method based on the customs analysis method and studied the most appropriate analysis conditions. Under the condition of a GC start column temperature of 50°C, all peaks of seven components were observed. When preparing test solutions for GC measurement, the peak size of ester aroma components became larger when the test solution was concentrated at a low pressure and in much shorter times. Under these analysis conditions, the gas chromatogram of the 9 commercial rums showed that many alcohol aroma components such as isoamyl alcohol were observed and of rum types, dark rums have many aroma components. The head space solid phase micro extraction method was able to detect ester aroma components with high sensitivity.

1. 緒 言

ラム酒とは、さとうきびから得られる搾汁や糖蜜を原料として得られる蒸留酒の一種であり、液体の色や風味によっていくつかの種類に分類される。液体の色では、濃褐色のダークラム、琥珀色のゴールドラム及び無色のホワイトラムの3種類に分類される。

関税分類において、輸入ラム酒は国内分類例規 2208.40 に認定基準が規定されており、その基準を満たすものは関税率表第 2208.40 号のラム酒に、満たさないものは第 2208.90 号のその他の蒸留酒又は第 22.07 項に分類される。ラム酒に分類されると関税は無税であるが、その他の蒸留酒等に分類されると有税となるため、ラム酒の認定基準を満たすか否かの判断は重要である。この認定基準にはさとうきび製品（さとうきびの搾汁、シロップ、甘しや糖の糖蜜）のみを発酵して得られる蒸留酒であることその他、小売容器以外の状態で輸入される貨物の香気成分のガスクロマトグラムが小売容器入りの市販ラム酒に類似していること、輸入品からアルコール 4 成分（n-プロピルアルコール、イソブチルアルコール、イソアミルアルコール、β-フェニルエチルアルコール）及びエステル 3 成分（カブロン酸エチル、カプリル酸エチル、カプリン酸エチル）が検出されること等があり、分析を必要とする項目については、税関分析法 No. 116「ラムの分析法」¹⁾に基づき確認を行っている。

このうち、香気成分のガスクロマトグラムが市販ラム酒に類似、という基準についてはその類似性を確認するための参考例として、

現在、税関分析法「ラムの分析法」に市販ラム酒のガスクロマトグラムが 2 例掲載されているだけである。本研究では、香気成分のガスクロマトグラムの参考例を増やし、ピークパターンの把握を容易にするために、複数の市販ラム酒について香気成分のガスクロマトグラムを収集するとともにこれらの香気成分の特徴について考察した。また併せて、ガスクロマトグラムのピークの確認に最適な分析条件を検討した。

2. 実 験

2.1 試料及び試薬

2.1.1 試料

市販ラム酒 9 試料

2.1.2 試薬

n-プロピルアルコール（和光純薬工業）
 イソブチルアルコール（和光純薬工業）
 イソアミルアルコール（和光純薬工業）
 β-フェニルエチルアルコール（和光純薬工業）
 カブロン酸エチル（和光純薬工業）
 カプリル酸エチル（和光純薬工業）
 カプリン酸エチル（和光純薬工業）
 クロロホルム（和光純薬工業）
 炭酸水素ナトリウム（和光純薬工業）
 無水硫酸ナトリウム（米山薬品工業）

* 神戸税関業務部 〒650-0041 兵庫県神戸市中央区新港町 12-1

塩化ナトリウム (和光純薬工業)

2.2 分析装置

- ・ガスクロマトグラフ (GC)
 - 装置 : HP6890 (Agilent)
 - カラム : DB-WAX 長さ 30 m, 内径 0.25 mm, 膜厚 0.25 μ m
 - カラム温度 : 50 $^{\circ}$ C (3min) \rightarrow (10 $^{\circ}$ C/min) \rightarrow 240 $^{\circ}$ C (13 min) 80 $^{\circ}$ C (1 min) \rightarrow (10 $^{\circ}$ C/min) \rightarrow 240 $^{\circ}$ C (13 min)
 - 注入口温度 : 250 $^{\circ}$ C
 - 注入量 : 3 μ L
 - スプリット比 : 10:1
 - キャリアガス : He, 流量 1.0 mL/min
 - 検出器 : 水素炎イオン化検出器 (FID)
 - 検出器温度 : 250 $^{\circ}$ C
- ・ガスクロマトグラフ質量分析計 (GC-MS)
 - 装置 : HP6890/5973MSD (Agilent) HP6890/JMS-Q1000GC (日本電子)
 - カラム : HP-5MS 長さ 30 m, 内径 0.25 mm, 膜厚 0.25 μ m
 - カラム温度 : 50 $^{\circ}$ C (3 min) \rightarrow (10 $^{\circ}$ C/min) \rightarrow 240 $^{\circ}$ C (13 min)
 - 注入口温度 : 250 $^{\circ}$ C
 - キャリアガス : He, 流量 2.2mL/min
- ・ロータリー・エバポレーター : R-134 (柴田科学器械)
- ・ヒートブロック : Reacti-ThermIII (PIERCE)
- ・SPME 用ファイバー : 65 μ mPDMS/DVB ファイバー (ポリジメチルシロキサン/ジビニルベンゼンポラスポリマー) (SUPELCO)

2.3 実験方法

2.3.1 検液の調製

本研究に使用した市販ラム酒 9 試料を Table 1 に示す。これらのラム酒を用いて、税関分析法 No.116 に記載の方法により検液を調製した。

2.3.2 GC オープン初期温度の検討

2.3.1 において調製した各試料の検液について、GC のオープン初期温度を 50 $^{\circ}$ C 又は 80 $^{\circ}$ C にそれぞれ設定し、ガスクロマトグラムを収集した。

2.3.3 濃縮時圧力の検討

ロータリー・エバポレーターを用いて濃縮する際の圧力を 300 mbar, 450 mbar, 550 mbar にそれぞれ設定し、2.3.1 において調製した各試料の検液について、ガスクロマトグラムを収集した。

2.3.4 ヘッドスペース固相マイクロ抽出法 (以下「HS-SPME 法」) による微小ピークの改善検討

試料 2.5 mL に精製水を加えて 10 mL にしたもの (4 倍希釈) 及び NaCl 約 3 g を同一のバイアル瓶に採取した。これをヒートブロックを用いて攪拌しながら 50 $^{\circ}$ C で 5 分加熱し平衡化した後、SPME ファイバーの先端部分をバイアル瓶のヘッドスペースに保持し 50 $^{\circ}$ C で 30 分間加熱して香気成分を捕集し、ガスクロマトグラムを収集した。GC 測定はスプリットレス注入法により 50 $^{\circ}$ C から 240 $^{\circ}$ C まで昇温する条件において行い、併せて同一条件下において GC/MS による測定を行った。

3. 結果及び考察

3.1 GC オープン初期温度の検討

2.3.1 において調製したダークラムである Sample 1 の検液について、GC のオープン初期温度を 80 $^{\circ}$ C 又は 50 $^{\circ}$ C に設定して測定した結果を Fig.1 に示す。税関分析法に記載の条件である 80 $^{\circ}$ C の場合、ラム酒の認定基準にある香気成分 7 成分のうち、n-プロピルアルコールを除く 6 成分についてピークを確認した。n-プロピルアルコールについては、標準物質を用いて GC のリテンションタイムを確認したところ、溶媒抽出時に使用したクロロホルムのピークと重なっていることが判明した。各沸点はクロロホルムが 61.2 $^{\circ}$ C、n-プロピルアルコールが 97.4 $^{\circ}$ C であり 80 $^{\circ}$ C では両者が気化されるまでの時間に大差がなく、ピークが分離されないものと思料される。一方、50 $^{\circ}$ C の場合、香気成分 7 成分のピークを全て確認した。

Table 1 Profiles of rum samples

Sample	Rum type	Country of origin
1	DARK	Commonwealth of Puerto Rico
2		Commonwealth of Puerto Rico
3		Dominican Republic
4	GOLD	Commonwealth of Puerto Rico
5		United States of America
6		Virgin Islands
7	WHITE	Commonwealth of Puerto Rico
8		United States of America
9		Jamaica

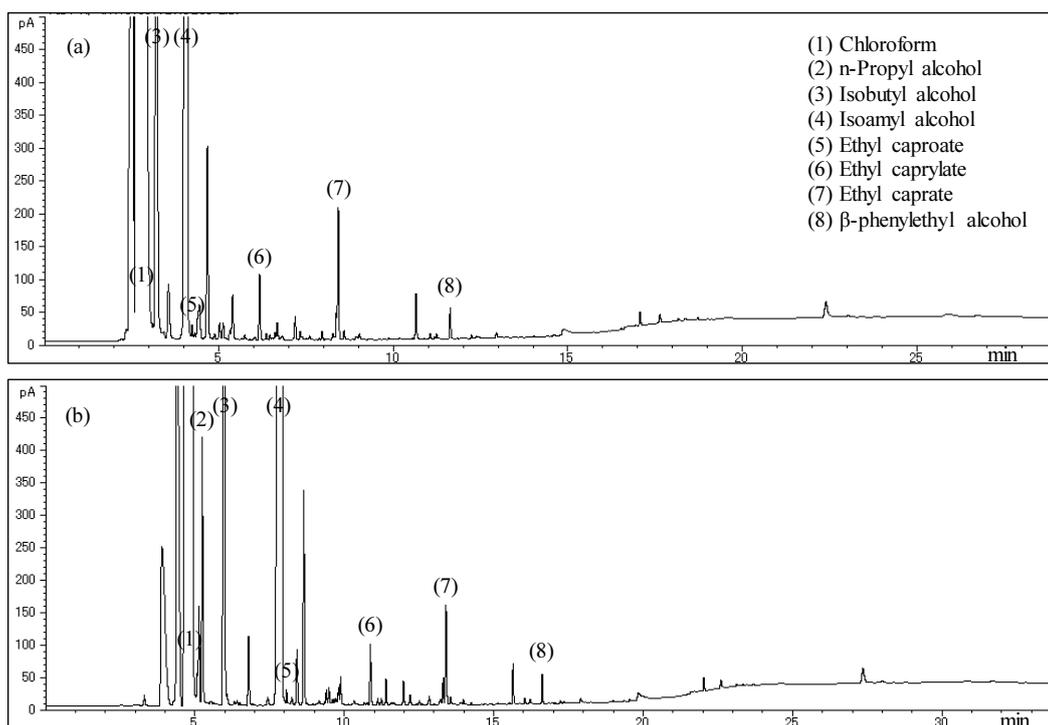


Fig.1 Gas chromatogram of Sample 1 (DARK RUM).
 (a) Measured from 80 °C to 240 °C
 (b) Measured from 50 °C to 240 °C

3.2 濃縮時圧力の検討

ロータリー・エバポレーターの圧力を 300 mbar, 450 mbar, 550 mbar にそれぞれ設定し濃縮した検液について分析を行った。試料に Sample 1 を使用し、GC のオープン初期温度を 50 °C にして測定した結果を Fig.2 に示す。また全試料について同様の条件で測定し、ピーク面積により比較した結果を Fig.3 に示す。イソアミ

ルアルコール、β-フェニルエチルアルコール及びエステル 3 成分のピーク面積は 300 mbar において最大となった。一方、n-プロピルアルコール及びイソブチルアルコールのピーク面積は 550 mbar において最大となった。低沸点香気成分は低圧下において短時間で濃縮するとロス量が増え、高沸点香気成分はより高圧下において長時間かけて濃縮するとロス量が増えるものと考えられる。

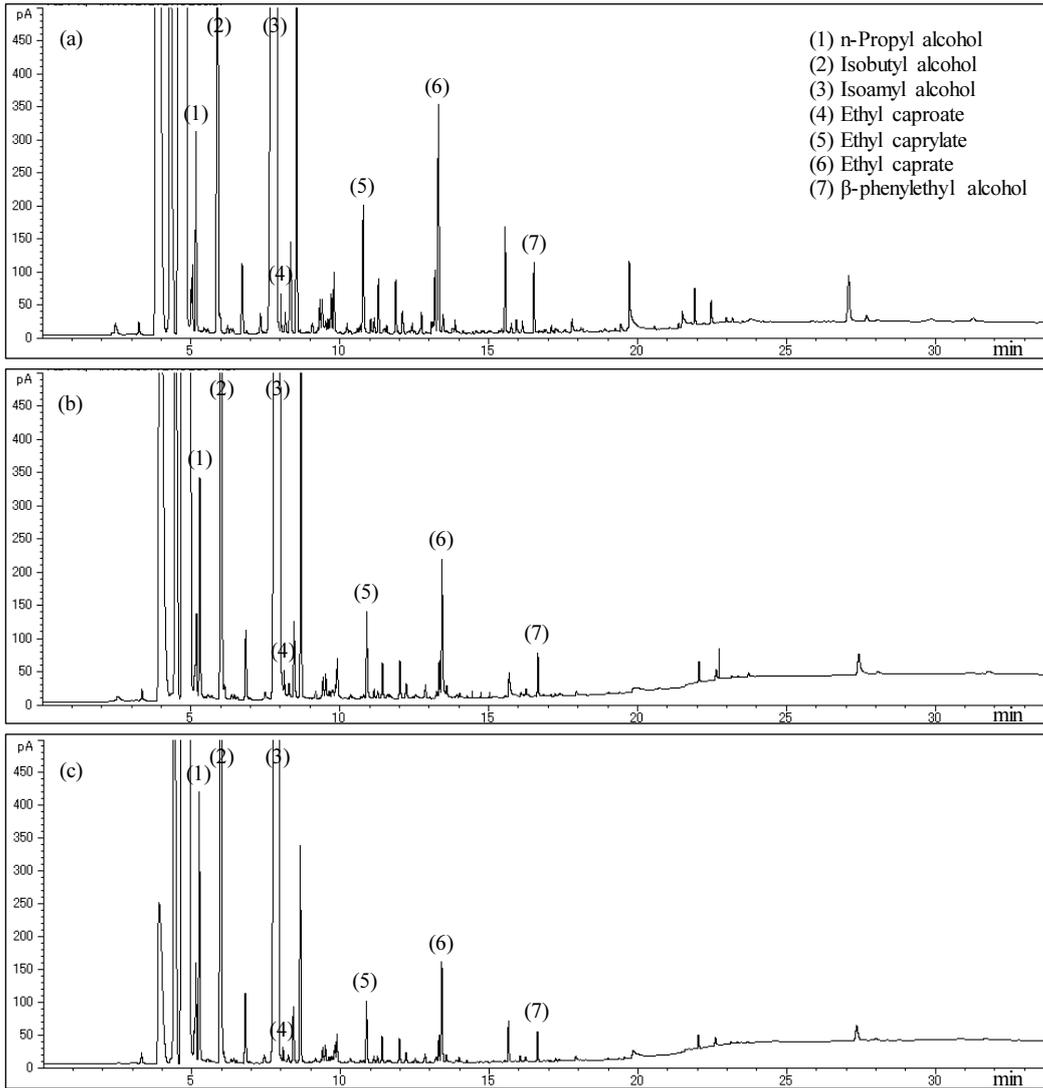


Fig.2 Gas chromatogram of Sample 1 measured from 50 °C to 240 °C.

- (a) Concentrated at 300 mbar
- (b) Concentrated at 450 mbar
- (c) Concentrated at 550 mbar

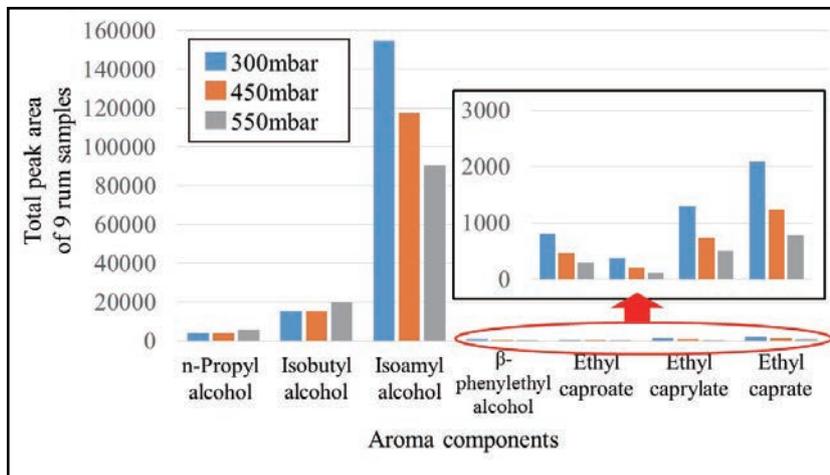
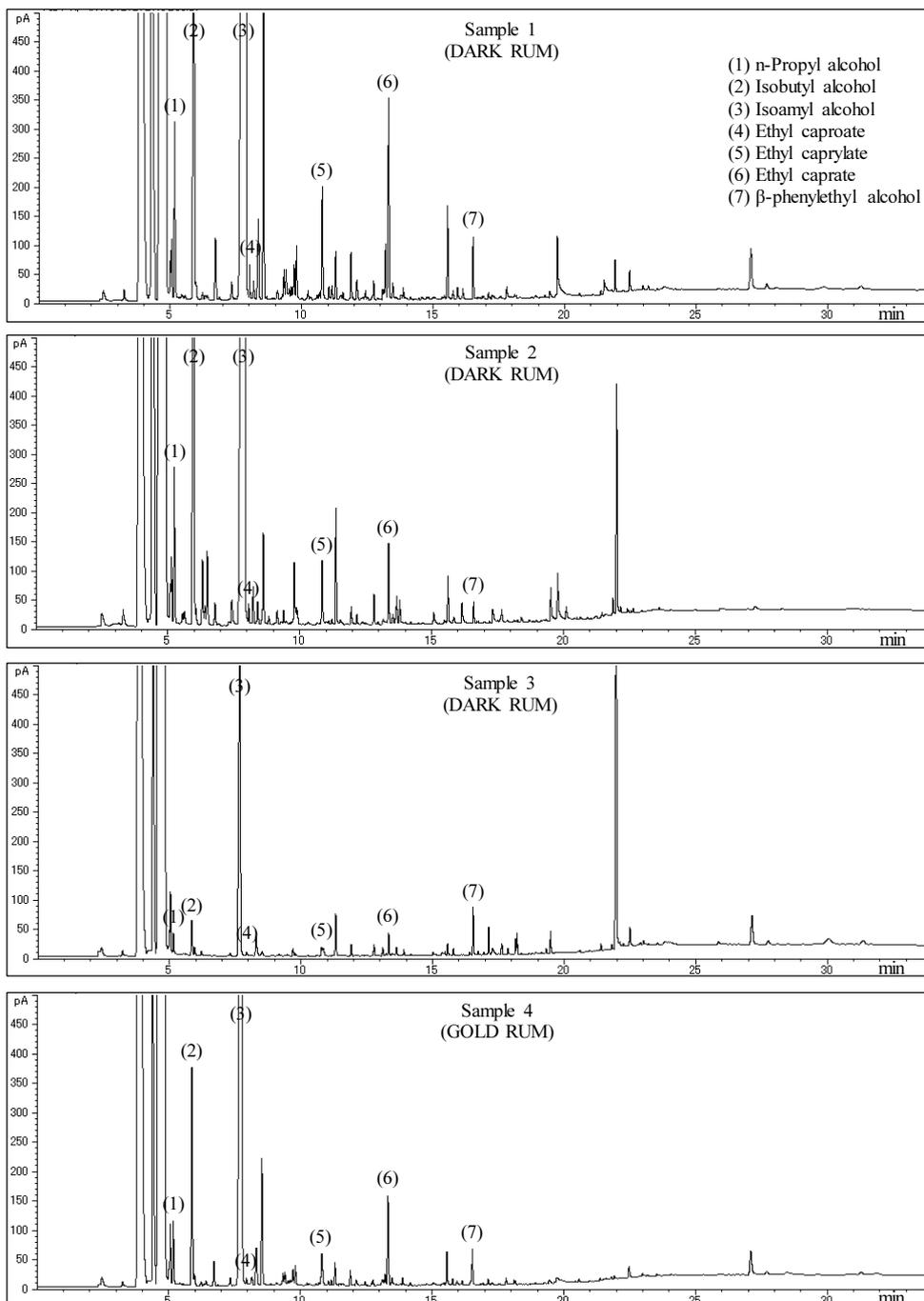


Fig.3 Results of peak area of aroma components in 9 rum samples.

3.3 香気成分の特徴

3.1 及び 3.2 の結果から GC のオープン初期温度を 50 °C、濃縮時の圧力を香気成分 5 成分がピーク最大値を示した 300 mbar に設定して全試料のガスクロマトグラムを測定した結果を Fig.4 に示す。さらに Fig.4 について、試料別に香気成分のピーク面積値を集計したものを Fig.5 に示す。Fig.3 から香気成分別に見ると、含有成分としてはイソアミルアルコールが圧倒的に多く、続いてイ

ソブチルアルコール、n-プロピルアルコールの順となった。β-フェニルエチルアルコール及びエステル 3 成分は、アルコール系香気成分と比較するとわずかしか検出されなかった。Fig.5 において試料別に見ると同色系統のラム酒でも試料によって香気成分に差があった。全体としてはダークラムに香気成分が最も多く、ゴールドラムとホワイトラムの比較ではわずかに前者が多いものの大きな差は無かった。



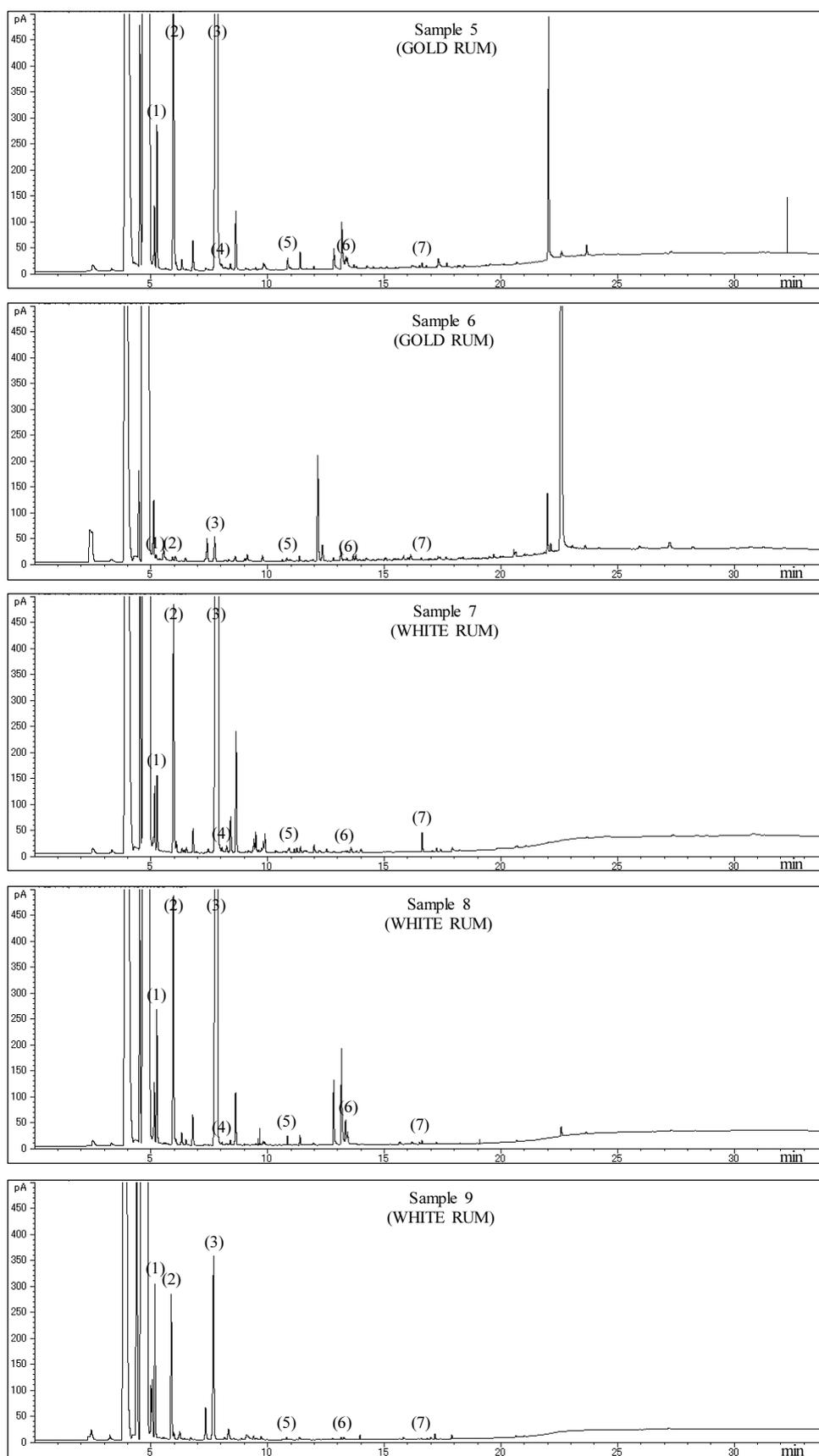


Fig.4 Gas chromatogram of 9 rum samples.

All samples were concentrated at 300 mbar, measured from 50 °C to 240 °C in GC.

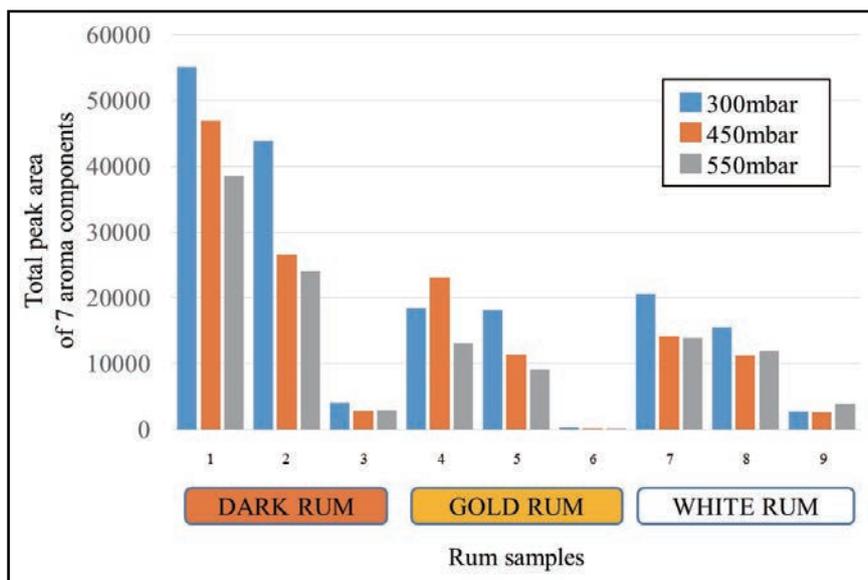


Fig.5 Results of peak area of rum samples in 7 aroma components.

さらに詳細に解析するため、クロマトグラムで得られた各香気成分のピーク面積値について、主成分分析を行った結果を Fig.6 に示す。主成分得点分散図（スコアプロット）について、主成分得点とピーク面積値の間の相関関係を示す因子負荷量分散図（ローディングプロット）と関連付けて見ると、スコアプロットの第 1 主成分軸（横軸）は、ローディングプロットにおいて全香気成分が正の相関を持っていることから香気成分の総量に関係し、第 2 主成分軸（縦軸）は、ローディングプロットにおいて n-プロピルアルコール（アルコール臭）と β-フェニルエチルアルコール（バラ臭）に強い相関関係が認められることから香りの種類に関係していると思料された。このことからラム酒の特徴を見ると、ホワイトラムの 3 点は原点付近に集中しており、香気成分が全体的に少なく、これといった特徴が無いことを示した。ダークラムはいずれも原点から離れており、全体的に香気成分が多いこと、特に Sample 1 及び Sample 2 にその特徴が顕著であった。ゴールドラムはホワイトラムとダークラムの間の特徴を示した。

3.4 HS-SPME 法による微小ピークの改善検討

Fig.3 及び Fig.4 においてアルコール系香気成分と比較して β-フェニルエチルアルコール及びエステル 3 成分のピークが小さかったことから、別の方法によりこれらのピーク強度を改善できないか検討を行った。酒類の香気成分分析は多数行われており²⁾³⁾⁴⁾、このうち HS-SPME 法は香気成分を高感度で検出できるほか、溶媒を必要とせず作業も簡便であるとの利点があることから、この方法による検討を行った。試料として Sample 1 を使用した場合の HS-SPME 法の結果を税関分析法で得られたクロマトグラムと比較した図を Fig.7 に示す。中央のカプリル酸エチル及びカプリン酸エチルは、税関分析法よりもピーク強度が増大し、試料量が 1/20 にも関わらず高感度に検出できた。一方、両端のカプロン酸エチル及び β-フェニルエチルアルコールは、HS-SPME

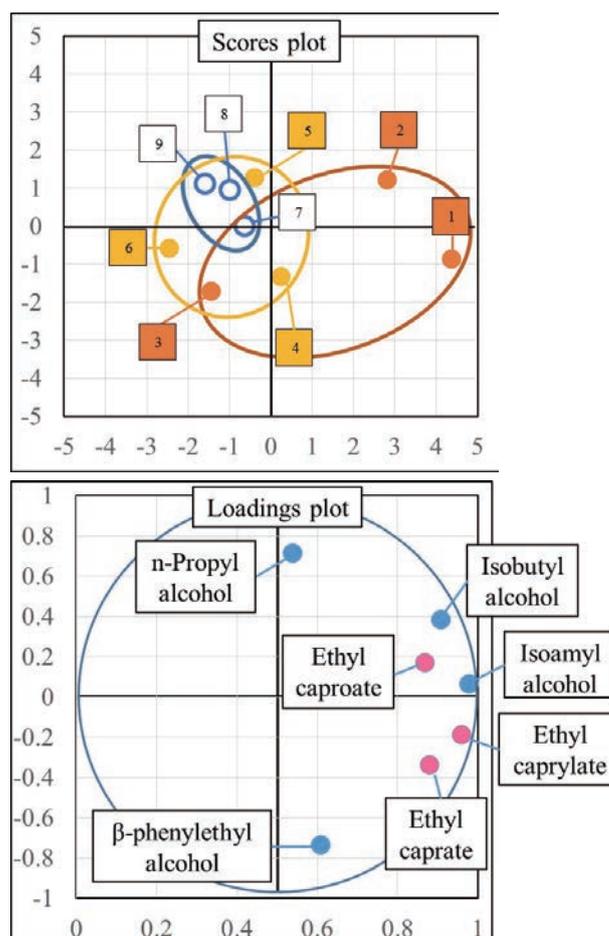


Fig.6 Results of Principal component analysis in peak area of 9 rum samples. All samples were concentrated at 300 mbar, measured from 50 °C to 240 °C in GC.

法では確認できなかった。これは HS-SPME 法では使用した試料量が 2.5 mL であり香気分量が少ないこと, 更に分析を行った時点で試料の開封から時間が経過していたことから当該成分が揮散又は分解して減少していたと考えられる。なお, GC/MS を用いて

HS-SPME 法により全試料を測定した結果は Table 2 のとおりであり, Sample 5 及び Sample 6 以外の 7 試料は, β -フェニルエチルアルコール及びエステル 3 成分を全て検出できた。

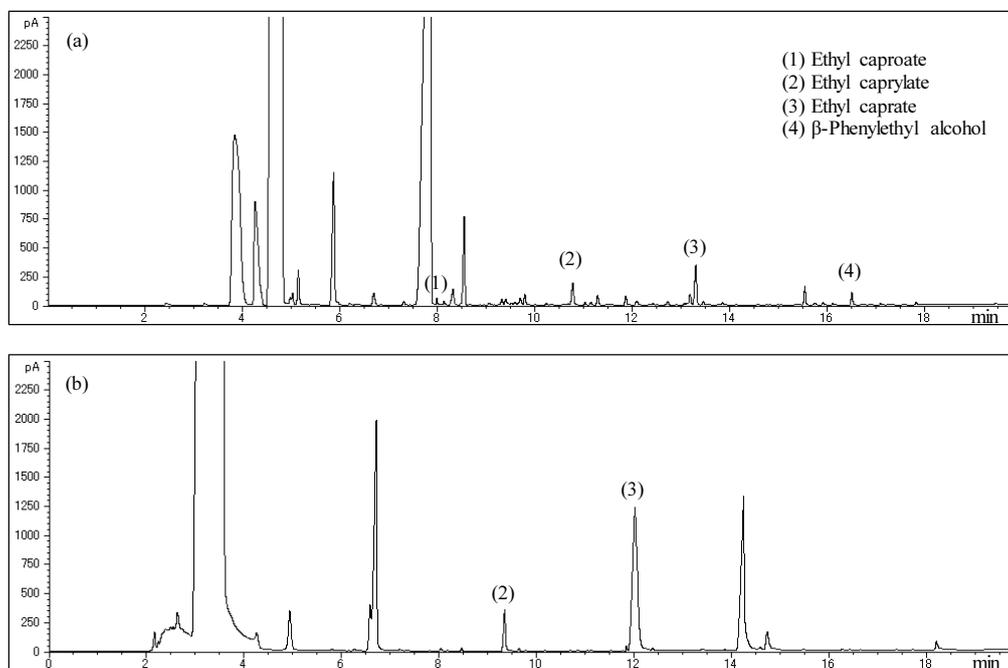


Fig.7 Comparison of the customs analysis method and head space solid phase micro extraction method in rum analysis.

(a) Customs analysis method

(b) Head space solid phase micro extraction method

Table 2 Results of detection aroma components by GC/MS

Sample	Rum type	n-Propyl alcohol	Isobutyl alcohol	Isoamyl alcohol	β -phenylethyl alcohol	Ethyl caproate	Ethyl caprylate	Ethyl caprate
1	DARK	○	○	○	○	○	○	○
2		×	○	○	○	○	○	○
3		×	○	○	○	○	○	○
4	GOLD	×	○	○	○	○	○	○
5		○	○	○	×	○	○	○
6		×	×	×	×	×	○	○
7	WHITE	○	○	○	○	○	○	○
8		○	○	○	○	○	○	○
9		○	○	○	○	○	○	○

「○」 and 「×」 means detected and no detected.

4. 要 約

市販ラム酒について、税関分析法に基づく溶媒抽出法により香气成分のガスクロマトグラムを収集し、最適な分析条件の検討を行った。GCのオープン初期温度を50℃にすることで、溶媒であるクロロホルムとn-プロピルアルコールのピークが分離され、香气成分7成分のピークを確認できた。またピークが小さい傾向のあったβ-フェニルエチルアルコール及びエステル系香气成分は、

低圧下において短時間で濃縮するほどピークが大きくなった。今回検討した市販ラム酒の傾向としては、アルコール系香气成分のピークが大きく、特にイソアミルアルコールのピークが非常に大きかった。ラム酒の種類別では、ダークラムに香气成分が多かった。エステル系香气成分は、HS-SPME法を用いることでさらに高感度に検出でき、GC/MSと併用して分析することによりピークの確認に有効な方法であることがわかった。

文 献

- 1) 税関分析法 No.116 「ラムの分析法」 (http://www.customs.go.jp/ccl_search/analysis_search/a_116_j.pdf)
- 2) 福田央, 韓錦順: 日本醸造協会誌, **110**,4,P.261(2015)
- 3) 宇都宮仁: 日本醸造協会誌, **94**,3,P.252(1999)
- 4) 比嘉賢一, 玉村隆子, 西平守智, 照喜名重智, 村田亮, 池間洋一郎: 沖縄県工業技術センター研究報告書, **10**,P.31(2008)