

香気成分における官能的な認知と化学分析結果
に対する主観的分析およびそれらの対比

九州工業大学大学院 生命体工学研究科 脳情報専攻

中野 貴理博

目次

第1章 諸言	1
第2章 背景	3
2.1 先行研究	
2.2 研究の位置づけと意義	
第3章 香気成分の官能的分析	7
3.1 原料の属性と香気成分との関係	
3.2 官能評価の手法と形式知化	
3.3 形式知の収集方法と結果	
3.4 クラスタ分析	
3.5 主成分分析	
3.6 SOM	
3.7 官能的评价に関する結論	
第4章 香気成分の化学的分析	29
4.1 香気成分の捕集	
4.2 香気成分の分取および定性分析	
4.3 分析結果の解析方法と結果	
4.4 クラスタ分析	
4.5 主成分分析	
4.6 SOM	
4.7 化学的評価に関する結論	
4.8 官能的评价と化学的評価の対比	
第5章 結論	49

謝辞

参考文献

第1章 諸言

人間が外部からの情報を摂取する器官として定義されている五感の中で、情報摂取量は視覚が83%、聴覚が11%、嗅覚が3.5%、触覚が1.5%、味覚が1%と言われており、視覚が大部分を占める重要な感覚器である事が分かる[1]。したがって、これらの外部情報をデジタル化して伝送するなどの五感に関する技術革新は、視覚および聴覚の情報が先行している。なぜなら、情報摂取量の順に加えて、伝達する被対象物がデジタル化し易く、また、受信した際の誤認が小さいためであると考えられる。例えば、視覚情報であれば色の三原色とその強度、聴覚のそれであれば周波数と音圧といった低次元の情報である点と、それら情報を受容した際の各感覚器での再生誤差（個人差、日差、体調差等）が無視出来るほど小さい点が挙げられる。

ここで、蓄音機、ラジオに次いでブラウン管のテレビが開発されたように、五感の重要性と開発とは必ずしも一致しないが、嗅覚に関する研究は遅れている。原因としては、一つは、先に述べた低い情報摂取量から後回しになっている点があるが、もう一つは、その受容の複雑さにあると考える。

まず、嗅覚が対象とする化学物質、つまり、香気性化合物は約40万種あると言われている[2]。これら全てを低次元のデジタル情報化するべきか議論される理由は、以下の嗅覚の受容体および経路が示唆している[2]-[4]。

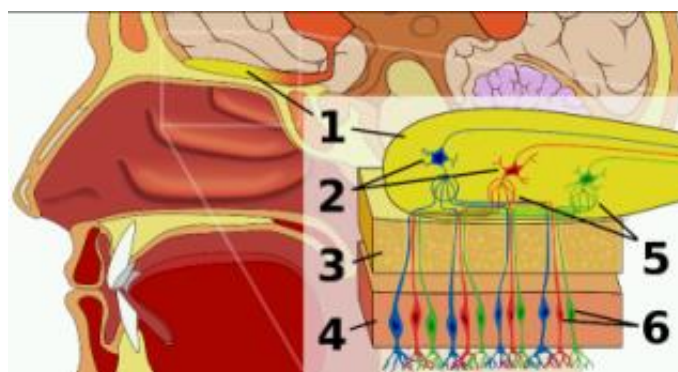


図 1.1 匂いの情報伝達経路

香気性化合物は、通常1種類で存在する事は少なく、異なる香気性化合物が混合した状態（香気成分）で存在する。これらが繊毛上の基質選択性を有する夫々のGタンパクと結合する事で一連のカスケード反応を誘発して嗅覚情報となる。また、嗅覚情報は、脳の眼窩前頭皮質、前頭皮質扁桃体および視床下部など各所に伝達され、最終的に「におい」として知覚される。つまり、嗅覚は、その香気性化合物の数の多さに複雑な受容経路により順応しており、その情報が未知の部分が多い脳の各所に送られている点で、詳細な機構の解明の途上であり、センシングやデジタル化等の応用は途上である。

この複雑さとあいまいさを含む嗅覚は、個人差、体調差、気候等で左右され、時には同一の香気成分でなくとも、同一の食物を連想させたりする。

本研究は、特定の食物を連想させるキー物質群を特定する手法を、40万種あると言われる香気性化合物をスクリーニングする事無く、かつ嗅覚から脳への複雑な経路および器官の解明を待たずして提案し、その妥当性について議論するものである。

第2章 背景

ワインや日本酒など酒類の官能評価においては、テイスティングと呼ばれる手法が多用されている。この中で、香りから連想される身近な食物を、その食物を原料に使用していないにも関わらず表現する作法がある。これは限定された香気成分から複数の食物を連想するというプロセスを経ており、特定の食物に含まれる香気性化合物または群でなくても、その食物を連想させているキー物質または群が存在すると考える事ができる。

本研究では、ワインにあらわれる香りに着目して、キー物質を絞り込む事の妥当性について、主観的分析を用いて議論する。

まずは以下に、これまでに行われてきた香りに関する研究動向と、本研究の位置づけを述べる。

2.1 先行研究

2.1.1 ワイン製造

ワイン作りの歴史は醸造酒の中で最も古く、紀元前6世紀のエジプトが発祥と言われており、その後、ローマ帝国支配によって葡萄栽培が欧州各地の修道院を中心に広がったとされている。新世界と言われるアメリカ、チリ、日本でワインが栽培されるにつれ、現在のテイスティングの手法が確立され、葡萄栽培とワイン製造とが情報化され、体系的に理解され始めた[5][6]。

ワインの原料は他の醸造酒に比べ単純で、葡萄の皮に発酵に必要な酵母が付着しているため、端的に言うとも葡萄さえ有れば良く、プロセスは原料を絞って発酵するのみと言える。これまでは、葡萄農家や醸造家が協力して、葡萄品質と醸造条件との関係を理解する際には、テイスティングという官能評価を頼りに品質向上が進められてきた。

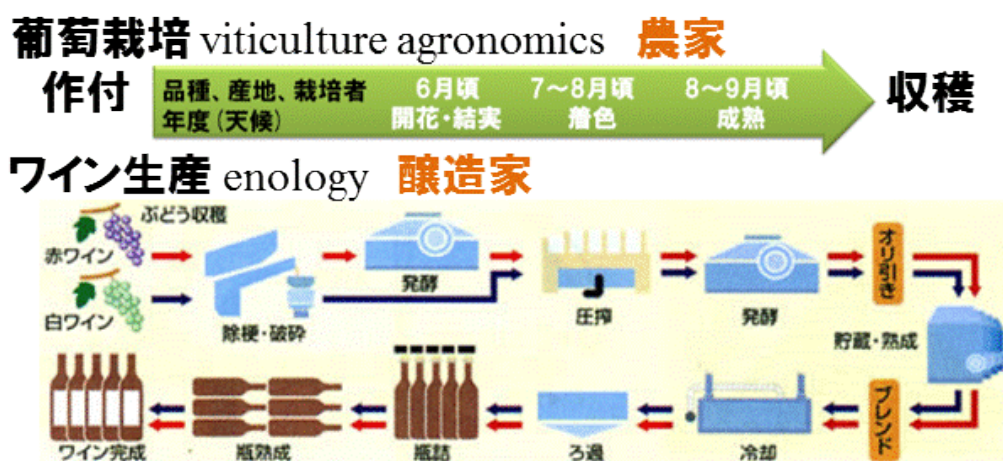


図 2.1 ワイン製造における葡萄栽培と醸造

また、近年になって、ワイン産地が近隣の大学と協力して、ワインの品質向上を目的として、原料とその発酵プロセスを解明するための研究がなされ始めている [7]-[9].

2.1.2 食品製造

食品産業でも好気性化合物の活用を取り入れている。古くは、保存を目的として特定の食物を別の食物に混ぜて香り付け(防腐)する方法が取られていたが、近年は、特定の食物から抽出した化合物(いわゆる香料)を別の食品に添加した製品が次々と上市されている。また、化学の進歩と低コスト化を背景に、抽出した成分の定性と、その合成物(人工香料)の食品への添加例は、イチゴを代表として枚挙に暇が無い [7]. ここでも、最終製品の合否判定には、未だに官能試験士による官能的な判定が重要視されている。

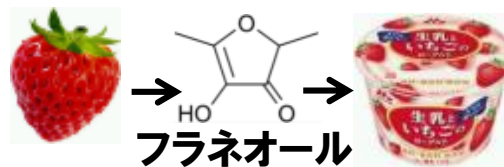


図 2.2 特定食品への特定食物の利用例

しかし、近年では食品および飲料メーカーが、葡萄農家と契約して大規模なワイン製造を手掛ける例が散見され、メーカー内部ではこれまで農家や醸造家が官能評価を頼りに行ってきたノウハウを、化学的アプローチから改良する手法が取られつつある。

ワインの見た目、香り、味わいに関する研究が精力的に行われている [8].

2.1.3 嗅覚に関する研究

目視や外部刺激を利用した生物学的アプローチによる細胞レベルの研究に加えて、90年代からはバイオ関連技術の進歩に伴い細胞内でのタンパク質や遺伝子に関わる研究が、上記の香料に関する研究と共に盛んになってきている [2][5][6][10].

2.2 研究の位置づけと意義

以上のように、これまでの研究例は好気性化合物を直接単離して活用する技術開発に留まっており、活用の目的別にキー物質を選定、合成して忠実に再現することを志向している様に感じられる。また、これら香料が脳でどう認知されているかについて、情報化された形式知と生物学や脳科学とを結びつける研究例は無い。

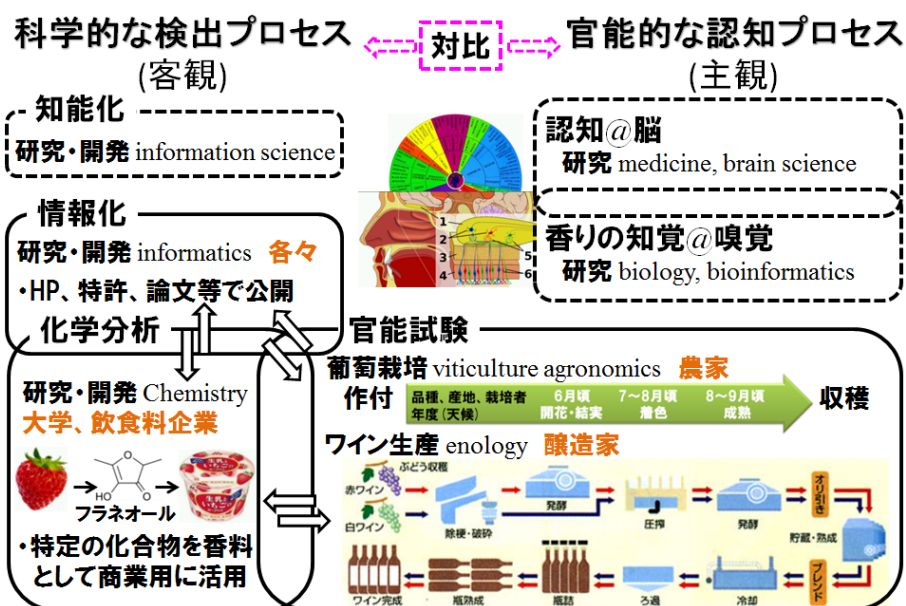


図 2.3 先行研究(実線)と本研究の位置付け(破線)

嗅覚を情報化して伝達先で再現する事を目的とするならば、香りを連想するのに十分なキー物質を限定して、その効果を確認する必要があると考えている。

本研究では、ワインが含む限定的な好気性化合物群から嗅覚を通じて脳で認知(連想)するテイスティング手法を逆手に取り、同一のワインについての官能的な認知結果と科学的な検出結果とを対比させる事の妥当性、そこから連想に必要なキー物質(または物質群)や特定化学構造を絞り込む事の妥当性について、主観的分析を用いて議論する。

第3章 香気成分の官能的分析

香りを科学的に理解する方法は2通りあると考える。1つは、人の官能的な感覚を頼りに分析および解析する方法である。

本章では、ワインの原料と製造方法が香りに与える影響と、その評価手法について記す。それをもとに、入手した試料とその評価結果の収集と、主観的な分析結果を述べる。

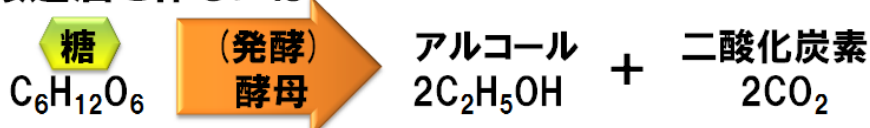
3.1 原料の属性と香気成分との関係

3.1.1 醸造酒

世界中に数多く存在するアルコールの中でも、ワインは最も歴史が古い。その製造法は他のアルコールの作製方法に比べ単純ため、香りを含めその風味は、原料であるぶどうから特に大きな影響を受ける。

原料に着目すると、ビール、日本酒などの醸造酒と異なり、ワインの原料となるぶどうには、最初から糖や水分、更には醗酵に必要な菌が含まれている。つまり、ぶどうさえあればワインを造ることが出来るため、ワインの香りや味わいは、ぶどう自体の個性・品質を強く反映したものとなる[5]。

醸造酒を作るには



お酒の種類と製造方法

主に、醸造酒、蒸留酒、混成酒などがある。

原料	米+水+米麴 デンプン→糖	麦+水+ホップ デンプン→糖	ぶどうだけ 単純ゆえ影響が大
醸造酒	日本酒	ビール	ワイン
蒸留酒	焼酎	ウイスキー	ブランデー

ぶどうは、糖や水分と酵母を最初から含んでいる

図 3.1 醸造とワイン

3.1.2 ワイン造りの風土

厳格な生産者ほど、ワイン製造において、ぶどうのブレンドを嫌う気質が有る。ボルドーやシャンパンなど一部の高級ワインを除き、単一のぶどう品種から作られたワインこそ至上とされる市場の要求と、ぶどう品種の特徴を最大限に活かそうとする生産者側の努力によって、ぶどう品種がワインに強く影響する風土が成り立っている[11].

3.1.3 ぶどう品種と環境要因での風味の変化

ワインの風味の多様性は、このワインの原料に用いられるぶどう自体の多様性に起因する。このワイン用のぶどうの品種は、野生のものやシノニムを含めて世界に約 5,000 品種あるといわれているが、実際にワイン原料用として使用されている主要品種は約 100 種程度といわれている。また、同一の品種のぶどうでも、産地や自然条件が影響するため、ワイン原料のぶどうは多種多様となる[5].

同一品種であっても、

○ 産地 (栽培地の風土や気候やぶどう品種や人)

○ 年度 (天候)

などによって、個性や品質が変化する



図 3.2 ワイン用のぶどうを決定付ける因子

こうした環境要因により得られたぶどうを使って製造されたワインは、風味が大きく異なる。ワインの風味は香りと味に分けられる。香りはアロマとブーケに、アロマはさらに第1アロマと第2アロマに細別される。第1アロマは原料ぶどう由来であり、醗酵工程を経てワインになった時に感知される品種特有の香りをいう。第2アロマは醗酵工程で酵母や乳酸菌が生成する香りをいう。ブーケは第3アロマともいわれ、醗酵終了後、タンクまたは樽で貯蔵中に生成する熟成香と、さらに瓶詰め後に瓶中で生成する熟成香のことをいう。また、その味わいは、有機酸類、ポリフェノール類、アルコール類、糖類など多くの成分の複雑な関係から生み出される[5].

また、風味のうち味わいについても、ぶどうの産地や気候によって変化する。味わいにおいて着目するのは、アタック、酸味、果実味(甘味)、アルコール感(苦

味), 渋み, バランス, 余韻など多くある[5][6].

産地を色濃く表す因子に酸味, 果実味(甘味), 渋みの三味が挙げられる. 葡萄の結実から収穫の期間のうち, 日照時間とほぼ比例して糖度が増加するのに対し, 酸味は非直線的に減少する. この変化によって, ぶどう品種の個性の中にも, 気候や産地による影響があらわれる[11].

ワインの香りには3種類ある

① 第一アロマ … 葡萄に由来する



… 製造過程で種を使用するとスパイシーな香りが生じる
(皮を使用すると色濃くなり、渋みや塩味が生じる)

② 第二アロマ … 発酵に由来する

花, キャンディー, ヨーグルト, etc.

③ 第三アロマ … 熟成に由来する

(ブーケとも言う) 木香, バニラ, キノコ, 腐葉土, etc.

図 3.3 ワインにあらわれる香りと産地の関係

味わい

アタック, 酸味, 果実味(甘味), アルコール感(苦味), 渋み, バランス, 余韻, など

特に留意する三味



これらを特徴付ける環境要因

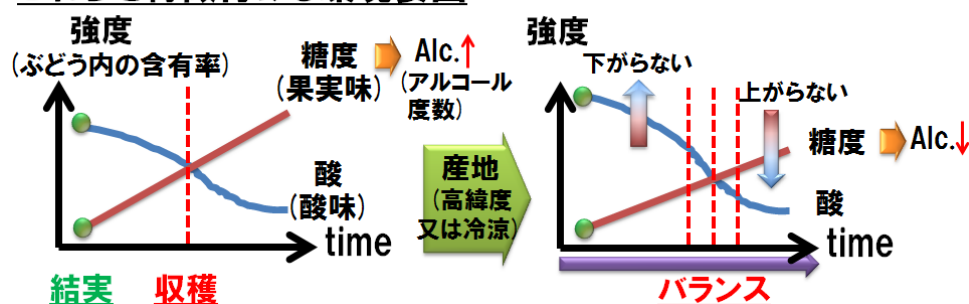


図 3.4 ワインにあらわれる味わいと産地の関係

このように, 原料の多様性と, 発酵・熟成過程での複雑な反応により, ワインの

風味はバライティー豊かなものとなっている。

3.2 官能評価の手法と形式知化

3.2.1 テイスティング

人の嗅覚は五感の中でも最も敏感な感覚である。人は、空気中を漂う ppb オーダーの濃度の化学物質を感じ取り、不快感を覚えることが可能であり、より高濃度になれば、その香りを嗅ぎ分けることも可能となる。

この様な高分別能を有する嗅覚を駆使する手法としてテイスティングの作法が有る[5][6][11]。

テイスティングに用いるグラスは、ISO 規格で定められた公差内のサイズのグラスを使用する事が殆どである。この場合、規定量 50cc 弱のワインを注いで、以下の①～③の順で各項目を確認する。

① 外観

1. 清澄度と輝き
2. 色調と濃淡： リム(グラスの淵の色), グラスの中心部からリムにかけての色
3. 粘性： あし(淵を流れる速度)
4. 印象(熟成感)

② 香り

1. エレメント： 果実, 花, 植物, 香辛料, 芳香性, 化学物質
2. その強弱
3. 印象(熟成感)

③ 味わい

1. アタック： 第一印象(軽い⇔強い)
2. 酸味
3. 果実味(甘味)
4. アルコール感(苦味)
5. 渋み
6. 余韻
7. 印象(バランス)

テイスティングは、①外観、②香り、③味わいの順に確認する為、味覚と融合せずに嗅覚のみで記憶と照合するプロセスを経る事が出来る。中でも、ワインのプロといわれるソムリエやワインエキスパートは、①視覚に引きずられない為に黒色のグラスを使ってテイスティングを行う場合さえ有る。彼らは、人がもつ高分別能を有する嗅覚に経験と知識を加えて、香りについて注意深く考察し、場合によっては、ワインを口にすることなくその品種や産地、生産年やワイン名などを言い当てる事が出来る[6][11]。

3.2.2 アロマホイール

テイスティングの際，ワインの香りは，身近にある様々なものに似ていると認知できる．例えば，白ワインであれば，レモンや林檎やパイナップルなどの香りを，赤ワインでは，ストロベリーやブルーベリーやチョコレート，コショウなどの要素を嗅ぎ分けることが出来る．

この点に着目して，開発された指標にアロマホイールが有る．これは，California 大学 Davis 校 (UC Davis) の Ann C. Noble とワイン産業関係者らが，ワイン造り手の感性と語彙を磨く為の開発したものである．



図 3.5 アロマホイールの例 (UC Davis)

アロマホイールの中で香りは大分類で 12 項目に分類され，中分類で 27 項目，さらに小分類で 90 項目に細分化されている．

ワインの香りを表現する際は，アロマホイールの各項目を指標に，身近にある様々なものに例えて言葉にしたり，記憶に留めたりする．項目に用いられているものは，世界各地で存在するため，この方法は現在，世界共通で行われている．

3.3 形式知の収集方法と結果

3.3.1 試料の入手

本研究に用いたワイン(試料)は56本であり, 田崎ワインサロンより入手した.

該サロンが授業に用いるものを入手しているため, ソムリエによりバリエーションを考慮して選定されたものと推測している(つまり, 恣意的な選定は実施していない).

表 3.1 入手した試料

No	name	Color	Grape			area	country	year
1	Piesporter Goldtropfchen Riesling Kabinett	w	Riesling			Mosel	Germany	2009
2	Central Otago Riesling	w	Riesling			Central Otago	New Zealand	2008
3	Willamette Valley Estate Riesling	w	Riesling			Willamette Valley	America	2009
4	Wachau Vom Stein Riesling Federspiel	w	Riesling			Wachau	Austria	2011
5	Alsace Riesling Andlau	w	Riesling			Alsace	France	2010
6	Erdener Treppchen Firsling Beerenauslese	w	Riesling			Mosel-Saar-Ruwer	Germany	2006
7	Hess collection Chardonnay	w	Chardonnay			Napa valley	America	2009
8	Beringer Chardonnay	w	Chardonnay			Napa valley	America	2010
9	Mercurey 1er Cru domaine Belleville	r	Pinot Noir			Bourgogne	France	2009
10	Givry 1er Cru le vignon domaine Vincent Lump	r	Pinot Noir			Bourgogne	France	2008
11	Cava Xenius Brut	ws	Macabeo	Parellada	Xarello	Catalunya	Spain	N.V.
12	Saint Ser	rz	Garnacha	Cinsault	Syrah	Provence	France	2009
13	IIIβ & Auromon Blanc Chardonnay	w	Chardonnay			Languedoc-Roussillon	France	2010
14	Sancerre domaine du Nozay	w	Sauvignon Blanc			Sancerre	France	2010
15	M. Chapoutier Pays d'Oc blanc	w	Terret Blanc	Vermentino		Languedoc-Roussillon	France	2011
16	Kressmann Solo Merlot	r	Merlot			Languedoc-Roussillon	France	2010
17	Farnese Montepulciano D'abruzzo	r	Montepulciano			Abruzzo	Italy	2009
18	Calera Pinot Noir 35th	r	Pinot Noir			Central Coast	America	2010
19	Francois Montand Brut	ws	Chardonnay			Gascogne	France	N.V.
20	Calera Pinot Noir CuveeV	r	Pinot Noir			Central Coast	America	2010
21	Empreinte Collioure rouge Domaine St Sebastien	r	Grenache Gris	Carignan		Collioure	France	2009
22	Chateau Rocher-Figeac	r	Cabernet Sauvignon	Merlot		Saint-Emilion	France	2009
23	Fleurie Georges Dubceuf	r	Gamay			Beaujolais	France	2009
24	Saint-Joseph Les Vins de Vienne	r	Syrah			Cotes du Rhone	France	2008
25	Roero Arneis Bruno Giacosa	w	Arneis			Piedmont	Italy	2011
26	Brogia Gavi	w	Cortese			Piedmont	Italy	2010
27	Lagrein Alois Lageder	r	Lagrein			Trenino-Alto Adige	Italy	2008
28	Dolceito di Diano D'Alba Costa Fiore Claudio alario	r	Dolcetto			Piedmont	Italy	2010
29	Masi Costasera Amarone classico	r	Corvina	Rondinella	Molinara	Veneto	Italy	2006
30	Barolo Poderi Aldo Conterno	r	Nebbiolo			Piedmont	Italy	2007
31	Malartic Lagravie Grand cru Classe	w	Cabernet Sauvignon	Merlot	Cabernet	Pessac-Leognan	France	2008
32	Terrunyo Cabernet Sauvignon block las terrazas	r	Cabernet Sauvignon			Maipo Valley	Chile	2008
33	HAY MAKER MARLBOROUGH SAUVIGNON	w	Sauvignon Blanc			Marlborough	New Zealand	2010
34	Bellini Chianti	r	Sangiovese	Canaiolo	Malvasia	Toscana	Italy	2010
35	Anthony Barton Bordeaux Blanc	w	Sauvignon Blanc			Bordeaux	France	2011
36	BRUNELLO DI MONTALCINO ANNATA	r	Sangiovese Grosso			Toscana	Italy	2007
37	Stag's Leap Cabernet Sauvignon	r	Cabernet Sauvignon	Merlot	Cabernet	Napa Valley	America	2005
38	The Futures Shiraz	r	Shiraz			Barossa Valley	Australia	2007
39	RIDGE LYTTON SPRINGS	r	Zinfandel	Petite Sirah	Carignan	Sonoma Valley	America	2009
40	Coldstream Hills Pinot Noir	r	Pinot Noir			Yarra Valley	Australia	2010
41	Au Bon Climat Nuits-Blanches Chardonnay	w	Chardonnay			Santa Maria Valley	America	2009
42	Penfolds Rawson's Retreat Semillon-Chardonnay	w	Semillon	Chardonnay		Magill Estate	Australia	2010
43	All that JAZZ marlborough sauvignon blanc	w	Sauvignon Blanc			Marlborough	New Zealand	2011
44	Henri Bourgeois Sancerre Le MD de Bourgeois	w	Sauvignon Blanc			Loire	France	2010
45	Robert Mondavi Napa Valley Cabernet Sauvignon	w	Sauvignon Blanc	Semillon		Napa Valley	America	2009
46	Errazuriz Estate Reserva Sauvignon Blanc	w	Sauvignon Blanc			Aconcagua Valley	Chile	2011
47	Chianti Classico Castello di Ama	r	Sangiovese	Malvasia	Merlot	Toscana	Italy	2007
48	Pio Cesare Nebbiolo Langhe	r	Nebbiolo			Piedmont	Italy	2008
49	M.CHAPOUTIER Gigondas Rouge	r	Garnacha	Syrah	Mourvedre	Cotes du Rhone	France	2009
50	E.Guigal Crozes Hermitage Blanc	r	Syrah			Cotes du Rhone	France	2007
51	Trimbach Riesling	w	Riesling			Alsace	France	2009
52	Rubaiyat Koshu Sur Lie	w	Koshu			山梨県勝沼町	Japan	2011
53	Montes Alpha Chardonnay	w	Chardonnay			Casablanca valley	Chile	2010
54	Domaine Bonnard Sancerre	w	Sauvignon Blanc			Loire	France	2010
55	Chatelain Pouilly-Fume	w	Sauvignon Blanc			Loire	France	2009
56	Chablis Drouhin Vaudon	w	Chardonnay			Bourgogne	France	2010

表中の「Color」はワインの色と種類を表しており, r: 赤ワイン, w: 白ワイン, rz: ロゼワイン, ws: 白のスパークリングワインを意味する. また, 「year」は

生産年を表しており，N.V.：各年のブレンドである，つまりノンビンテージ(生産年が無い)を意味している。

試料の分散性については，以下の通り。()内は標準偏差。

- ・ 葡萄品種

主のぶどう 25 種(2.30)，ブレンド含む 38 種(2.08)

- ・ 生産国，産地

10 か国(6.72)，36 地域(1.03)

- ・ 生産年

7 年分および生産年なし(6.02)

想定どおりバリエーションに富み，偏りは無かったと判断している。

3.3.2 試料の官能的評価の収集

56 本の試料について，香りに関する官能的な評価結果を収集した。

収集にはインターネット上のワインデータベース(Wine-searcher)を活用し，ワイン名と生産年から同一の試料に絞り込んで評価コメントを収集した。ヒットしたリンク先は小売りの販売ページであり，そこに記載された評価コメントは，どのサイトも近い内容であったため信頼性が高いと判断して使用した。例えば，日本のインポーターや小売り(ヴィノスやまさき，FWINES，楽天，等)がリンク先となっている場合も有ったが，コメントの内容は一言一句同じで有るため，発言権を有する者のコメントであり高い信頼性を有すると解釈して使用した。

Wine-searcher に該当する生産年のワインがヒットしない場合に限り，直接，商品名と生産年が該当するワインを検索して，香りに関する評価コメントを収集した。この時，Wine Spectator 等の優良な(信頼性の高い)コメント業者を併記してある場合に限って使用した。

他のデータベースとして，スマートフォンを中心とした Cellars や Vinica 等があったが，テイastingコメントは一般ユーザーが残しており，信憑性が低いと判断し，使用しなかった。

評価コメントの中に，アロマホイールに該当しない表現がいくつか有った。例えば，火打石，石灰，等，ソービニヨンブランというぶどう品種に表れるとされている香りであったため，その他の項目を設けた。また，黄色いリンゴ，スパイシーなリンゴ等の小分類に該当する項目が無いものは全て小項目のリンゴに当てはめた。

3.3.3 試料の官能的評価結果の数値化

56 本の試料について，収集した官能的評価結果を数値化した。

アロマホイールの小項目に該当するコメントには1点，形容詞として「わずかに」，「ほのかに」等の表現がある場合には0.5点とした。

試料 56 本で表現された香りは，アロマホイール内の香りの大分類 13 項目中の 11 項目，中分類 29 項目中の 17 項目，小分類 94 項目中の 41 項目に該当した。

アロマホイールで該当が無かった 2 つの大分類は、ワインの不健全さ(劣化)に関する刺激臭や酸化臭であるため、該当が無かった事は自然である。また、中分類、小分類で該当の無かった項目の大部分も同じくワインの劣化に関する表現である硫黄臭(ニンニクや濡れた犬)や土香(カビたコルク, ホコリ)であるのに加えて、ワインの熟成度合い(経時優化)に関する乾燥香(干草, 茶葉), 木香(ベーコン, フェノール), ならびに土香(マッシュルームや腐葉土)であり, 入手したワインが一番古いものでも 2005 年(2010 年入手時点)であったため, 自然であると考えている。

数値化したデータの分散性についても確認した。各試料内の香りの合計点(例えば, 試料 1 の「リンゴ」「パイナップル」で 2 点)は, 平均は 4.21 点(最大が 8 点, 最小が 2 点), 標準偏差は 1.60 であった。また, 試料間で各項目を足し合わせた点(例えば, 試料 1~56 の「リンゴの香り」の点数を全て足した値)の平均は 5.61 点(最大が 17.5 点, 最小が 1 点), 標準偏差は 4.67 点であった。以上から, 各試料および各成分は, 適度に分散していると判断した。

また, 数値化した各試料の相関係数を算出した。1540 個の相関係数のうち, 例えば, 0.5 以上の組み合わせは 94 個, 0.6 以上は 60 個, 0.7 以上は 14 個であった。試料を幅広く収集した事により, 適度に分散したと考えている。

次に, これらの数値化した官能評価結果に対し, 各試料の関連性を分析した(以下, 主観的分析と称す)。

3.4 クラスタ分析

3.4.1 方法

試料の各項目をベクトル(例えば, 小項目 41 個を用いる場合, 41 次元ベクトル)として捉え, 試料間でのユークリッド距離を算出した.

$$d_{ij} = \sqrt{\sum_{k=1}^{41} (x_{ik} - x_{jk})^2}$$

距離の近い試料同士を近くに配置してクラスターとした. クラスタ間は, ward 法を用いて, クラスタ化前後の分散の差が最小となるように求めた. 例えば, クラスタ P, Q において, 両クラスターの重心から各サンプルまでの距離の 2 乗和: $L(P \cup Q)$ と, 各クラスター内での重心から各サンプルまでの距離の 2 乗和: $L(P)$, $L(Q)$ の差: $d_{P,Q}$ が最小化するように求めた.

$$d_{P,Q} = L(P \cup Q) - \{L(P) + L(Q)\}$$



図 3.6 クラスタ分析の概念(互いの重心からの距離でグループ分け)

この手法を, 小分類, 中分類, 大分類の 3 通りに適用した. 中および大分類の得点は, 該分類が包含する下位分類の各項目が持つ得点の和とした(この手法を以下, 粗化と記す).

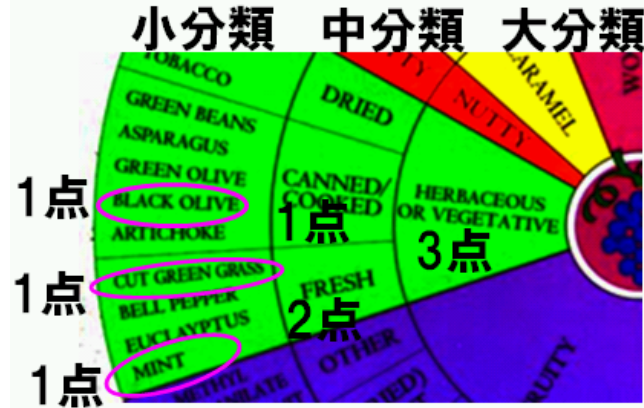


図 3.7 小分類の中および大分類へのデータ粗化の例

3.4.2 結果

(1) 小分類での分析結果

結果を図 3.8 に示す。

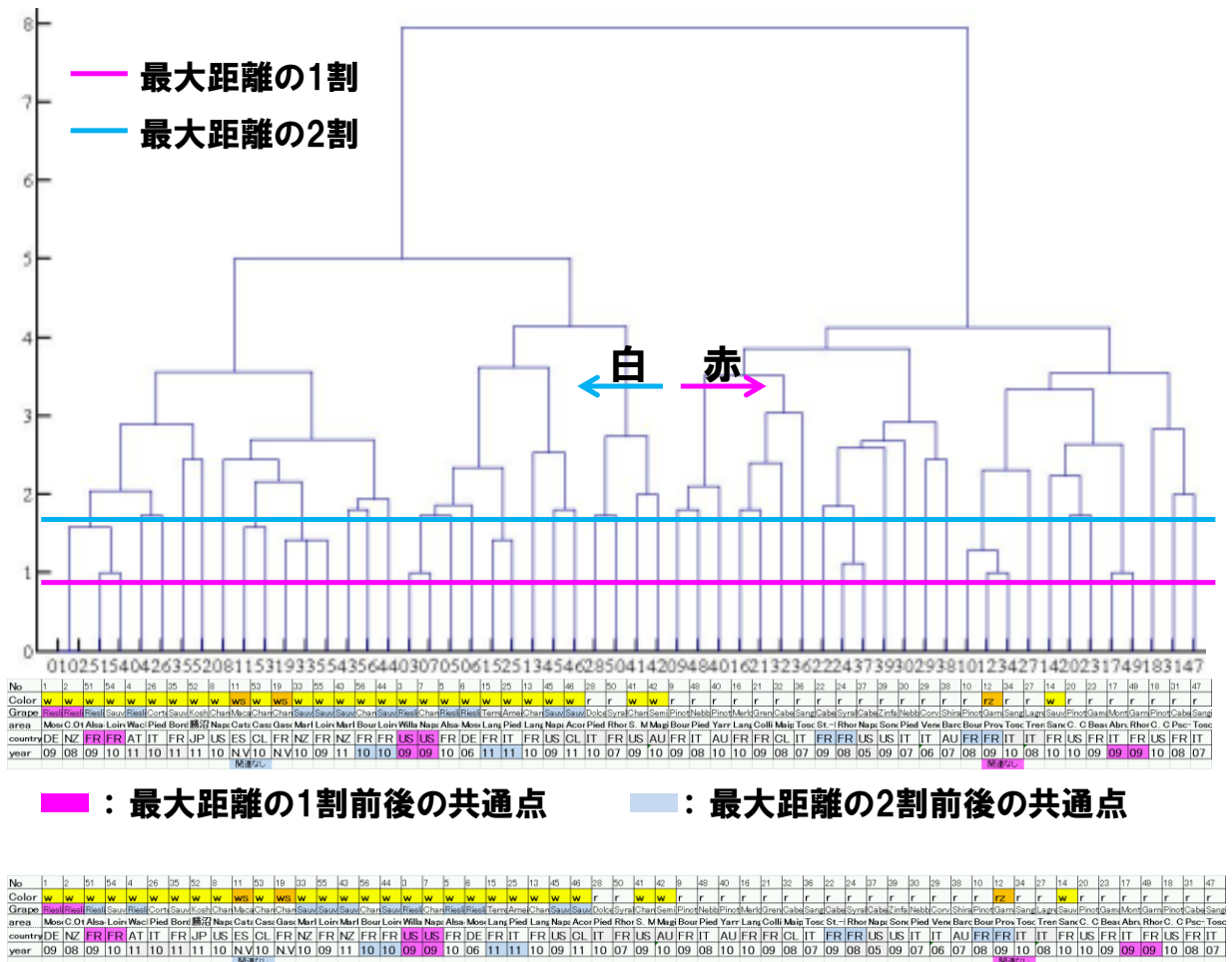


図 3.8 官能評価結果の小分類を用いたクラスター分析(上)と,元の試料の属性(下)

最も遠いクラスター2つは、丁度、白と赤のワインに分かれた。試料 No. 14 の白ワインのみ、赤ワインのクラスターに含まれた。なぜならば、テイスティングコメントには「ミント」および「ユーカリ」しか表現されておらず、赤ワインで多用される表現であるためと考えられる。また、白と赤に分かれたのは、視覚情報が香りを連想させている可能性も考えられる。

また、得られたデンドログラムのクラスター分類の指標には、縦軸(距離)の最大値に対して1割または2割前後のクラスターを抽出し、元の試料の属性(ぶどう、生産国、立地、等)と比較し、ワインの属性とクラスターとの共通点を模索した。

クラスター毎の距離が最大距離の1割以下には、5つのクラスターが該当し、同一のぶどう、生産国、生産年の少なくとも1つ以上を含んだ。クラスター距離を2割以下とすると、ぶどう、生産国、生産年の一致する試料数が増加した。これは、ぶどうの経歴が香りに影響している証拠と考えられる。

また、ロゼワインは赤の方に含まれた。理由は、「ラズベリー」「ストロベリー」の赤系果実を表現しており、赤ワインで多用される表現であるためと考えられる。

(2) 中分類での分析結果

結果を図 3.9 に示す。

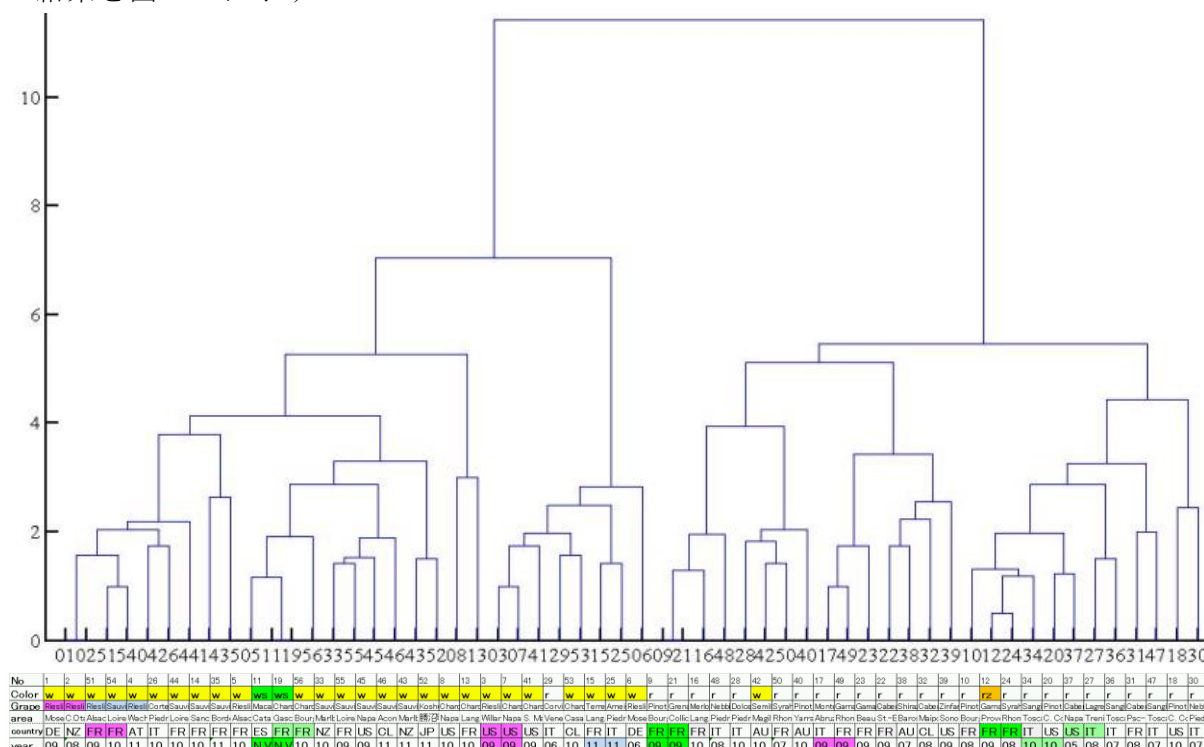


図 3.9 官能評価結果の中分類を用いたクラスター分析

最も遠いクラスター2つは、殆が白と赤の同色のワインに分かれた。細かい傾向も小分類のそれと同様であった。また、近い距離でクラスター化したところ、同一のぶどう、生産国、生産年を含んでおり、これらのクラスターは、小分類の距離1割合で得られたクラスター4つを維持していた。さらに、生産国と生産年が小分類時よ

りも増加したのに加えて、スパークリングワインでのクラスター新形成を確認した。

ロゼワインは赤ワインクラスターに属したままであったが、新たに同一生産国のクラスターを形成した。ロゼワインと形成相手はいずれも、ベリー系果実の点数がそれぞれ、2点と3点であり、中分類への粗化によって類似点が明らかにできたと考えている。

また、スパークリングワインについては、いずれも点数の合計点が2点と平均点の4.21に比べて低い。これは製造過程かテイस्टィングの過程で、発泡に起因して、香気成分が減少したか認知され難くなっており、中分類への粗化によってこの点が明瞭になったためと考えている。

以上から、小分類から中分類へのデータの粗化は妥当であったと考えている。

(3) 大分類での分析結果

結果を図 3.10 に示す。

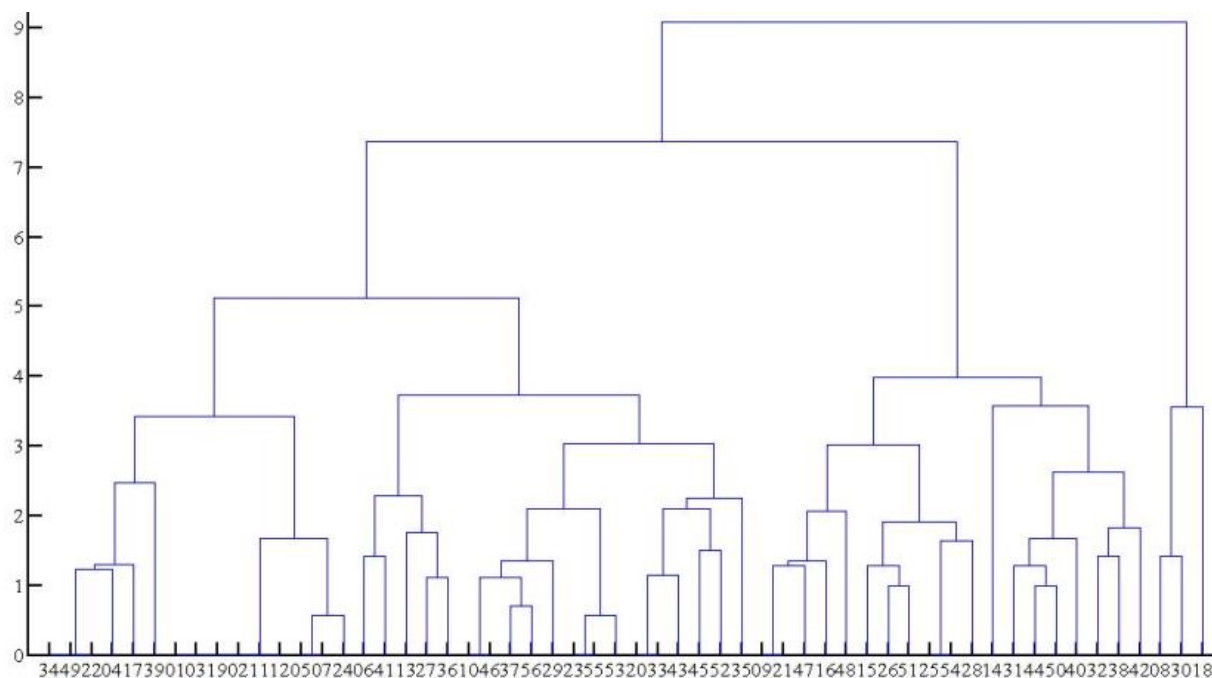


図 3.10 官能評価結果の大分類を用いたクラスター分析

距離ゼロのクラスターが増加し、赤、白も混合した。56 試料中、距離 1 割以下が 23 個、距離 2 割以下が 51 個となっており、距離が近すぎるため解析には不適と判断した。

3.5 主成分分析

3.5.1 方法

各試料の各成分と最も強い相関を持つ(=寄与している)軸を第1主成分とし、それと直交する軸として第2主成分をとった。これらの軸が成す面に、各試料の各成分ベクトルを射影(以下、縮約)した。

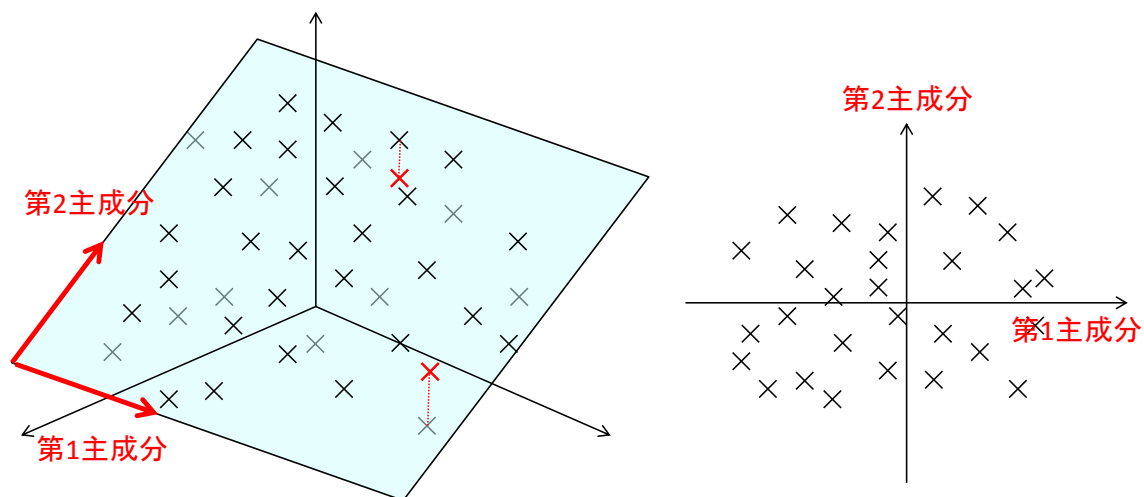


図 3.11 主成分分析の概念図

3.5.2 結果

(1) 小分類での分析結果

結果を図 3.12 に示す。

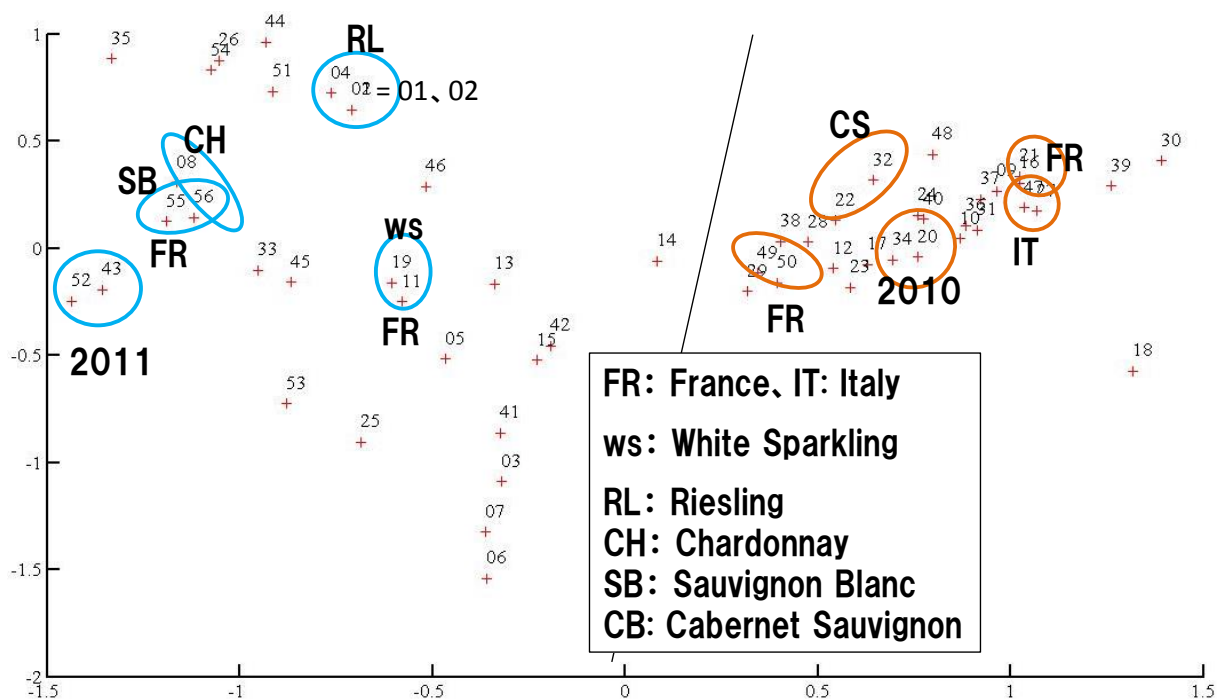


図 3.12 官能評価結果の小分類を用いた主成分分析

左右で白または赤ワインと2分された。また、白ワインは全体的にまばら、赤ワインは一か所に集中した。後者は、第二主成分の値に変動が小さく、第一と第二成分に正の相関を確認した。これは、赤ワインの表現に「ベリー系」が多いため、類似性が白ワインに比べて高くなったと考えている。

近いワインを比較すると、ぶどう共通が4つ、生産国共通が5つ、生産年共通が2つ、ワイン種(スパークリング)が1つであった。

(2) 中分類での分析結果

結果を図 3.13 に示す。

左右で白または赤ワインと2分された。これは小分類と同様の結果であった。

また、近接するまたは完全に重なったワイン数が増えており、小分類と比べると、ぶどう共通が4→6つ、生産国共通が5→8つ、生産年共通が2→4つと増加した。

小分類では近接していたワイン種(スパークリング)は、中分類では完全に重なった。

ここで、小分類では偏在していた赤ワインは、中分類を用いると散在する結果となった。つまり、粗化は単純にデータを粗くして、互いのワインを近接または一致し易くしている訳では無く、かつ、今回の粗化が妥当であったと考えている。

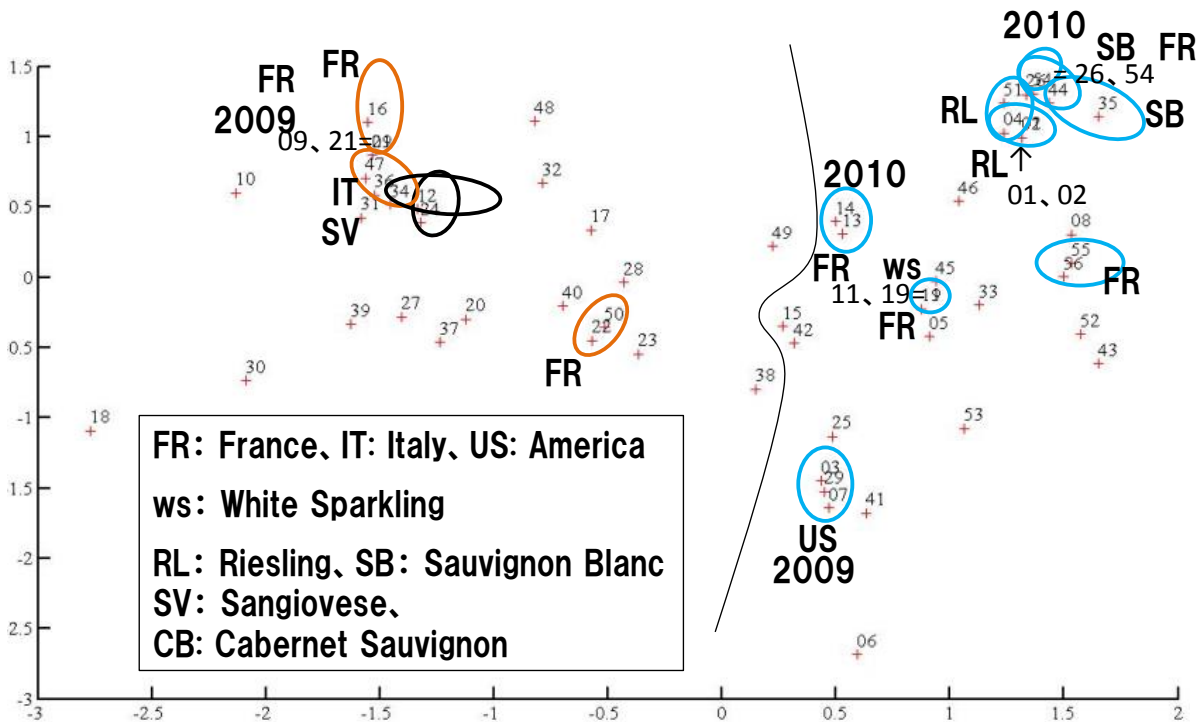


図 3.13 官能評価結果の中分類を用いた主成分分析

(3) 大分類での分析結果

結果を図 3.14 に示す。

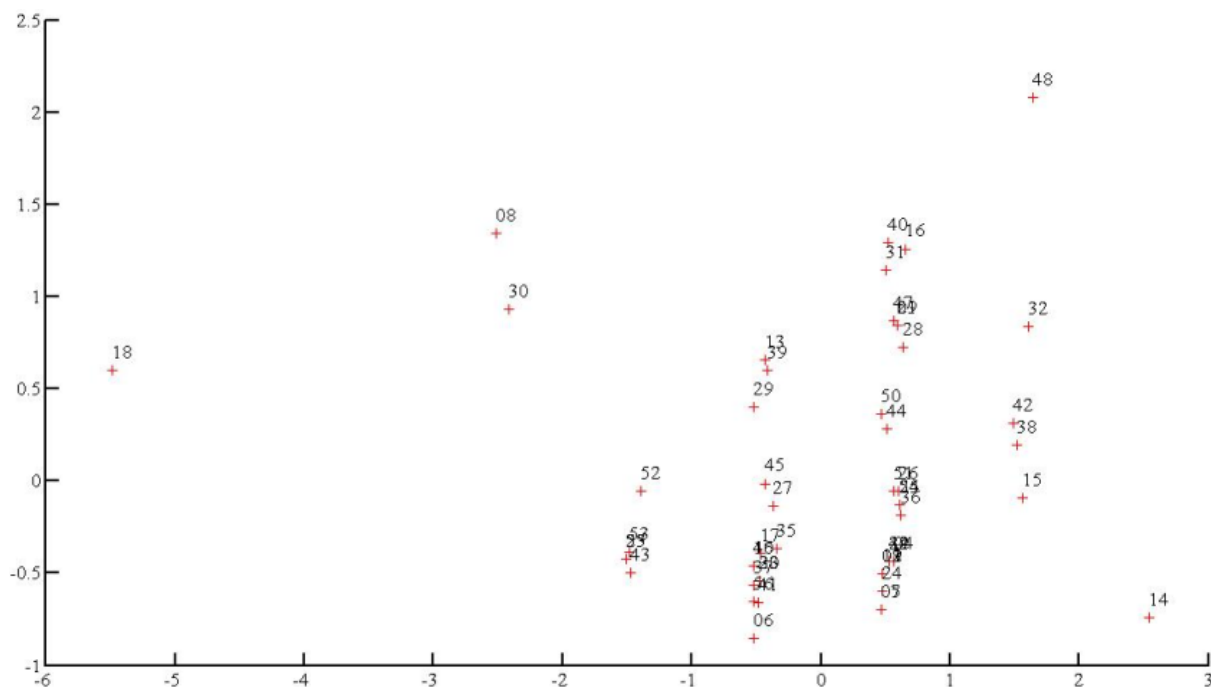


図 3.14 官能評価結果の大分類を用いた主成分分析

重なる試料が増加し、赤と白が混在したため、解析の意義なしと判断した。

(4) クラスタ分析との類似点

クラスタ分析において、距離の最大値の 1 割でクラスタ化を行うと、小分類では 5 つ、中分類では 8 つのクラスタが得られ、それらの属性について、小分類では 4 つ (No. 01 と No. 02, No. 51 と No. 54, No. 3 と No. 7, No. 17 と No. 49), 中分類では 7 つ (上記に加え, No. 11 と No. 19, No. 09 と No. 21, No. 12 と No. 24) に、ぶどう、生産国、生産年の少なくとも 1 つ以上の共通点を確認できている。このクラスタが主成分分析上でどの様に存在したかを確認すると、小分類では 3 つ (No. 17 と No. 49 以外), 中分類でも 7 つ (No. 17 と No. 49 以外) は近接している事が分かった。この No. 17 と No. 49 の共通項は生産年のみであり、他の試料間の共通項と異なった。

(5) クラスタ分析と異なる点

クラスタ分析において、距離の最大値の 1 割でクラスタ化を行うと、小分類では 5 つ、中分類では 8 つのクラスタが得られている。一方、主成分分析で近接した試料は、小分類で 11 つ、中分類で 18 つと多かった。

クラスタ分析において、距離の最大値を 1 割→2 割に上げてクラスタ化を行うと、例えば小分類での解析で共通項が見いだせる数は 4→15 つと増加した。この時、それぞれが近接する試料 No が、クラスタ分析と主成分分析では異なる事が分かった。

3.6 自己組織化マップ (SOM)

3.6.1 方法

各試料の各成分をベクトルとみなし，あるベクトルと近接する周囲のベクトルとを近づける操作を，ニューラルネットを用いて繰り返し，あたかも自己組織化的に，類似のベクトル同士は漸近し，異なるベクトルは遠ざかった空間を形成する．この空間を2次元平面上に縮約して self-organized mapping (SOM) 結果を得た．

この手法により，試料間の非線形な関係性を平面上に幾何学的に表現した．

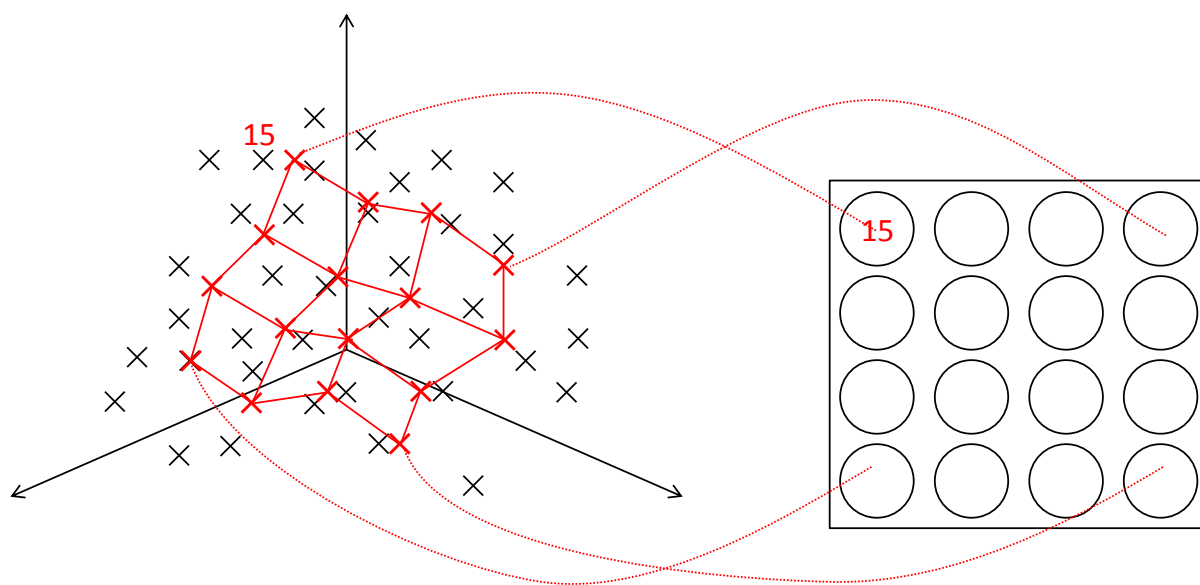


図 3.15 self-organized mapping (SOM) の概念図

3.6.2 結果

(1) 小分類での分析結果

数字は試料を表す．試料間の類似性を表現するために，SOM 出力の際，酷似したベクトルは同一のマスに数字を入れた．酷似していない試料については 1 マス以上空けて写像し，空けた 1 マスの色(赤-青)で，ベクトル間の距離(遠-近)を設けた．試料間の距離が遠いほど赤黒く，距離近いほど青色が濃くなることとした．結果を図 3.16 に示す．

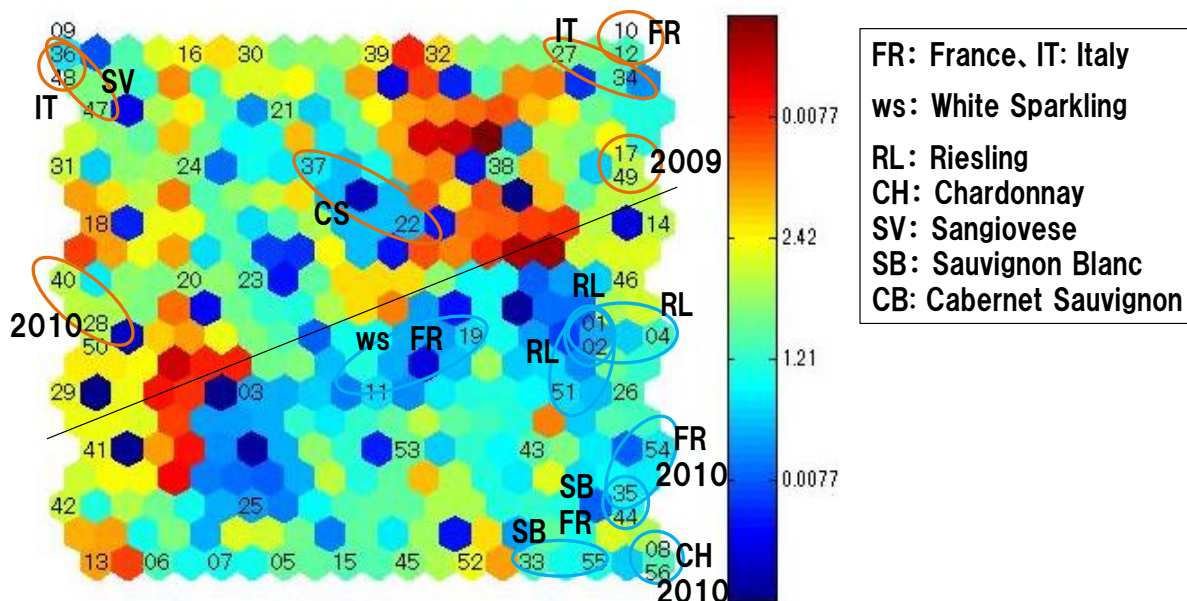


図 3.16 官能評価結果の小分類を用いた SOM

赤ワインと白ワインが上下に分かれ、その境界に赤色のマスが入っている事が分かった。これらの類似性は遠いことが示唆される。

また、赤ワインの領域(上半分)ほど、赤色のマスが多い事が分かる。これは赤ワイン間の方が白ワイン間よりも、相対的に類似性に欠く事を意味している。検出した赤ワインに含まれる揮発性化合物群の中でも香気成分によるものと考えている。

さらに、近接する試料の共通点は、ぶどう 8 つ、生産国 6 つ、年が 4 つと、スパークリングワインの近接が確認できた。

(2) 中分類での分析結果
 結果を図 3.17 に示す。

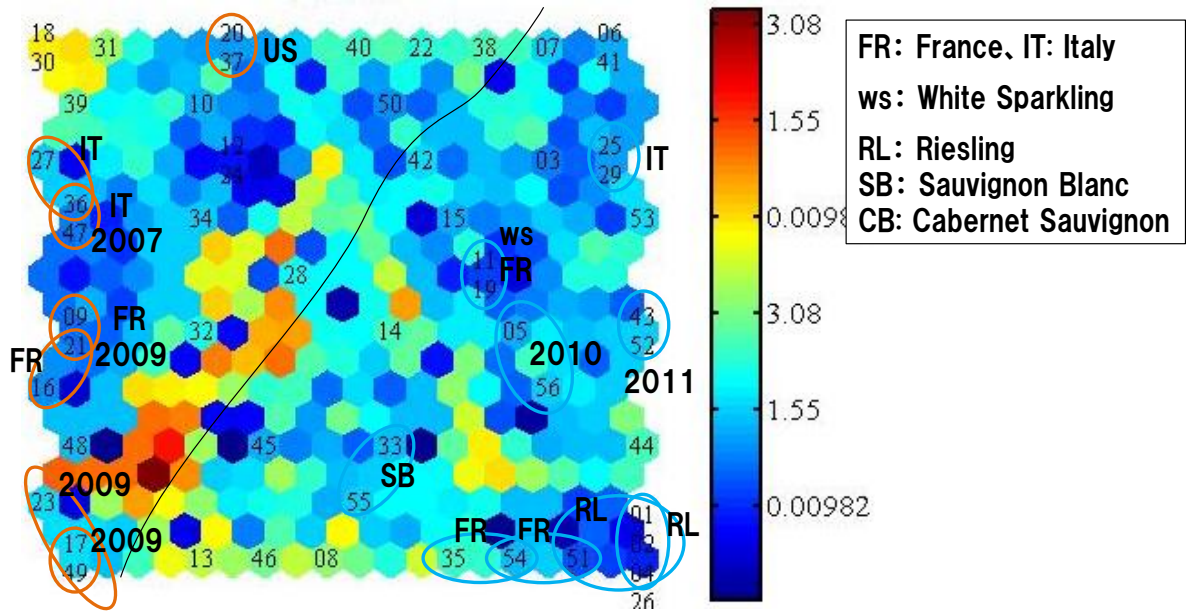


図 3.17 官能評価結果の中分類を用いた SOM

左右で赤白のワインに二分され，境界に距離の遠さを表す赤色が確認できた．また，全体的に色の濃淡が減少し，ぶどう 8→7つ，生産国 6→9つ，年が 4→6つといずれも増加し，加えて，スパークリングワインが近接→一致へと変化した．

中分類へのデータの粗化は，各試料間を類似化させ近接させる効果を持つ，つまり，ワインの属性(ぶどう，国，生産年)という大枠で捉えた際の共通項を探しやすくなる一方，各試料(ワイン)の個性が弱まった結果とも考えられる．

(3) 大分類での分析結果

結果を図 3.18 に示す．

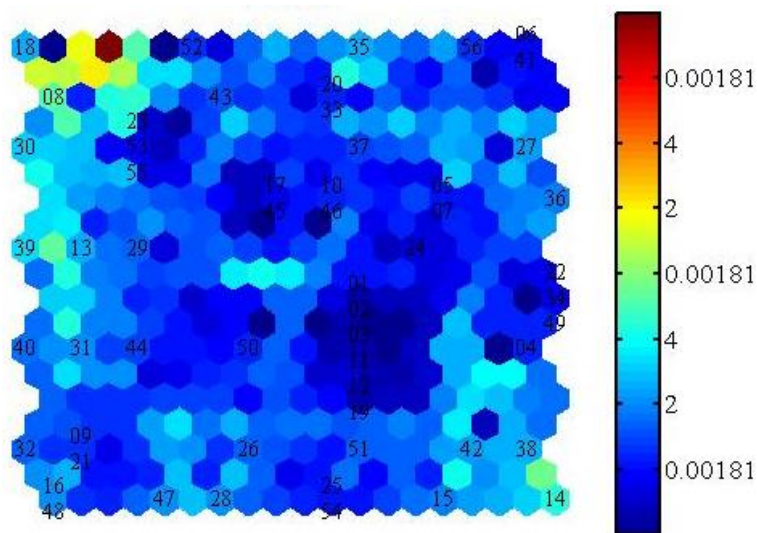


図 3.18 官能評価結果の中分類を用いた SOM

試料 18 を除き、全体的に相対的な距離の近い青色となり、重なるが試料が増加した。試料 18 だけが遠い位置付けとなったのは、香りの点数が 8 点と 56 試料中で最も高い上、「煙」という特徴的な表現が該当する大項目を含んでいたためと考えている。

赤と白の存在位置が混合していることから解析の意義なしと判断した。

3.7 官能的評価に関する結論

ワインの香りは、ぶどう品種と生産条件(属性)に強く影響を受けることを述べた。

この影響が偏りないようにワイン(試料)を選定し、それらの官能的評価コメントを点数化して、相関と主観的分析を行った。

試料間の相関は、相関係数 0.5 以上が 94 組、0.7 以上が 14 組であり、想定どおり分散した試料である事を確認した。

そこで、クラスター分析、主成分分析、SOM を実施し、ワインに表れている香りと属性との相関を調べ、用いた分析方法の妥当性を確認した。結果の概要を記す。

- 白と赤ワインが明瞭に二分された
- ワインの属性に係る共通項目を含むものが近い距離に存在した
- 分析に用いるデータの次元を下げる(粗化する)と中程度であれば相関性が向上したが、粗化しすぎると同一物となりデータとして使用価値が低下した

以上から、官能的な評価結果を数値化して主観的分析を行った結果は妥当であったと判断している。

第4章 香気成分の化学的分析

香りを科学的に理解するもう1つの方法は、香りを構成する物質群を化学的に分析し、既知の香気性化合物と比べながら解析する方法である。ここで、ある香り、例えば林檎の香りは、単一の香気性化合物に由来するのではなく、複数の香気性化合物がある割合で混合された状態である。つまり、香りの科学的分析は、香りを構成する成分を単離・定量化して初めて成功と言える。

香りを捕集し、単離後に物質を特定して、定量化するのは技術的に非常に困難であり、また、可能であっても非常に時間がかかる。

本章では、香気性化合物の単離・特定・定量化の工程を、分離・定性・定量化に変更することで、簡便かつ短時間で分析可能かを確認するため、ワインの香りに含まれる香気性化学物群を捕集し、分離、定性および定量的な解析を行い、それらワインの属性との関連について主観的な分析を行った結果を述べる。

4.1 香気成分の捕集

混合成分から化学物質を抽出する4つの手法を記す。

① Liquid Phase Extraction (LPE, 液相抽出法)

標的物質を液相で抽出する古典的な手法であり、安価に大量に抽出できる利点がある。事前に、用いる液相側に標的物質が溶解すること標品を用いて確認する必要がある。また、抽出作業は、ホモジナイズ、抽出、分液、濃縮(、必要があればさらに分離)を行うため、長時間を要する。また、標的以外も分取してしまう低選択性もデメリットとして挙げられる[12]。

② Solid Phase Extraction (SPE, 固相抽出法)

標的物質か又は、標的以外を固相に吸着させ分取を行う古典的な手法である。安価、簡便、大量に抽出できる利点がある。事前に、吸着剤の選定と、吸着後の取出条件の最適化が必要なため長時間を要し、標的以外も分取してしまう低選択性もデメリットとして挙げられる[12]。

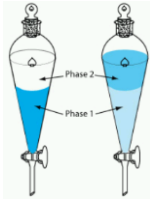
③ Head Space (HS, ヘッドスペース法)

揮発または蒸発成分を蒸発前の液面の直上部分から直接吸引する簡便な手法である。揮発成分の濃度が低い為、加熱して蒸発させて濃度を向上させる事もある。簡便だが、吸引ガスが低濃度なため強い分析強度が得られない事や、加熱時に熱変性や熱分解する物質の分析に向かないといったデメリットが有る[13]。

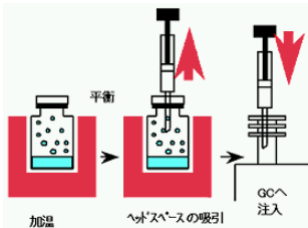
④ Solid Phase Micro Extraction (SPME, 固相マイクロ抽出法)

多孔質なポリマーなど、高吸着性の表面を有するファイバーを用いる簡便な方法である。低濃度な成分でも高濃度で吸着できるため、現在最も使用される方法となっている[14]。

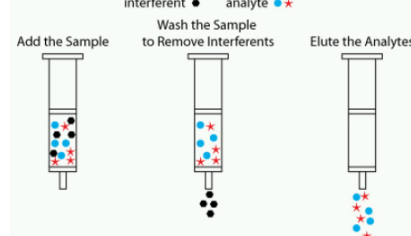
① LPE: Liquid Phase Extraction
液相で抽出して分液後に液相除去
⇒ 標的に対し低選択性(古典的)



③ HS: Head Space
蒸発成分を直接分析
⇒ 吸引ガスが低濃度なため低強度



② SPE: Solid Phase Extraction
標的又は、標的以外を固相に吸着
⇒ 選択性又は、取出の条件最適化が必要



④ SPME: Solid Phase Micro Extraction
高吸着性のファイバーに揮発成分を吸着
⇒ 簡便かつ高吸着性(最新手法)

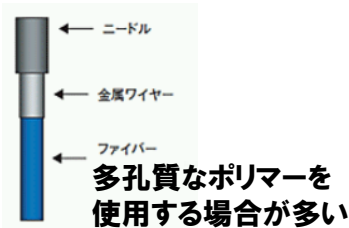


図 4.1 標的物質の代表的な抽出方法

本研究では、SPME を用い、ヘッドスペース法と組み合わせた HS-SPME 法を検討した。具体的には、分子量 40~275(炭素数 3~20)までの揮発性ないし半揮発性化合物を捕集可能な SIGMA-ALDRICH 社 SPELCO(材質: DVB/Carboxen/PDMS)を用いた。また、テイ스팅グラスに注がれた規定量のワインが有する表面積と内部容積に対応する様に考慮し、23°C-50%RH の中、円柱状の 110cc のガラス製バイアル内に 5cc の試料を注ぎ、5 分静置し、その後、ヘッドスペース付近に SPME を設置した。SPME への吸着時間は、以下に述べる質量分析の条件に対する検出強度が好適となる 5 分間とした。

4.2 香気成分の分取および定性分析

4.2.1 香気成分の分離および分析手法の選定

ワインから抽出した香気成分は単一化合物では無いため分離が必要であり、かつ、分離後はそれと思しき化合物であると推定する定性が必要となる。

分離方法としては、Liquid Chromatography(LC)または Gas Chromatography(GC)が挙げられる。今回は、分離後に分取して他の操作を必要としないため、比較的分子量の気体ないし揮発性の化合物の分離を得意とする GC を選定した。

分析手法としては、香気成分が室温(23°C付近)で揮発性を有し人間に無害である有機物という事を前提とすると、今回は、香気性化合物を単離していないため、Fourier Transform Infrared spectroscopy(FT-IR)による官能基分析や Nuclear

Magnetic Resonance (NMR) による炭素および水素の位置推定は困難である。また、Flame Ionization Detector (FID) 等のように試料を単に時間毎に検出する場合は、別途標準試料の準備が必要となり、膨大な量の化学物質を準備する必要がある。そこで、香気成分が微量、かつデータベースの充実から、Mass Spectroscopy (MS) を選定した。

MS は、感度が ppb~ppm であり、精度も調整次第で数%まで向上可能である。20 世紀に入って真空ポンプの小型化により TEM, SEM に次いで汎用化が進み、用途としては水質検査等の環境面、香料分析や製品検査等の石油化学面、生体物質の構造解析等の生化学面、血中の薬物濃度や出火原因の特定等の法医学面など多岐に渡る。これに伴い、National Institute of Standards and Technology (NIST), National Institute of Advanced Industrial Science and Technology (AIST), National Institute for Materials Science (NIMS) 等の国立機関や Wiley が精力的に化合物のデータベースを拡充している [15][16]。

今回は、定性分析のために、JEOL の保有する 20 万件以上の検体数を有するデータベースを活用した。

4.2.2 類似の研究例

SPME 等と、GC および MS を使用したワインの香気成分の分析事例が、2006 年以降散見される。ぶどう品種 (Merlot と Cabernet Sauvignon) と産地 (France と California) の 4 種のワインに表れる香りを比較した報告例 [17]、吉草酸エステル系の新規 4 物質を定性した報告例 [18]、樽に用いた樅と製造工程毎に樽から出る香気成分の定性に関する報告例 [19] など、次々とワインの香気成分の定性に MS を活用した報告がなされている。

4.2.3 GC および MS

装置系を GC-MS、分析手法及び結果を GC/MS と表記する、GC-MS は、GC と MS を可能な限り近くに接続したものである。具体的には、GC (Agilent Technologies 社製 7890A) と MS (JEOL 社製 jms-Q1000GC Mk-II) を直接接続した。

4.2.4 GC の装置系とカラムの選定

GC は精密に温度制御が可能なオープンであり、香気成分等の試料を導入可能な注入口と MS への接続部を有し、それらを繋ぐように試料分離用のカラムを内在する。

カラムは中空糸状の細長い管構造で、管の内壁に沿って化学物質を吸着する固定相を有する。固定相はシリカゲル、活性炭やポリジメチルシロキサンなどからなり、試料が固定相に吸着され、固定相中を通る際、各化合物と固定相との相互作用の差によってカラム出口に排出されるまでの到達時間に差が生じることにより分離を可能とするものである。用途によって、比較的長さが短く太い分取用のパックドカラムか、分取に向かないが高い理論段数 (高分離能) を有するキャピラリーカラムを使

用可能である。また、分取の標的物質によってカラムの固定相、長さ、内径、固定相(液相の膜厚)を選定する必要がある。

今回は、分取を必要とせず分離後にMSで定性が可能なキャピラリーカラムを用い、固定相の酸性による構造変化や分解を懸念し、かつエステルやアルコール系の芳香族等の香料の分離に強いポリエチレングリコール相当の固定相を有する、ZB-WAXカラム(Zebron社製phenomenex,長さ30m,内径0.25umのガラスファイバー,ファイバー内に約1umの液相固定相)を選定した。

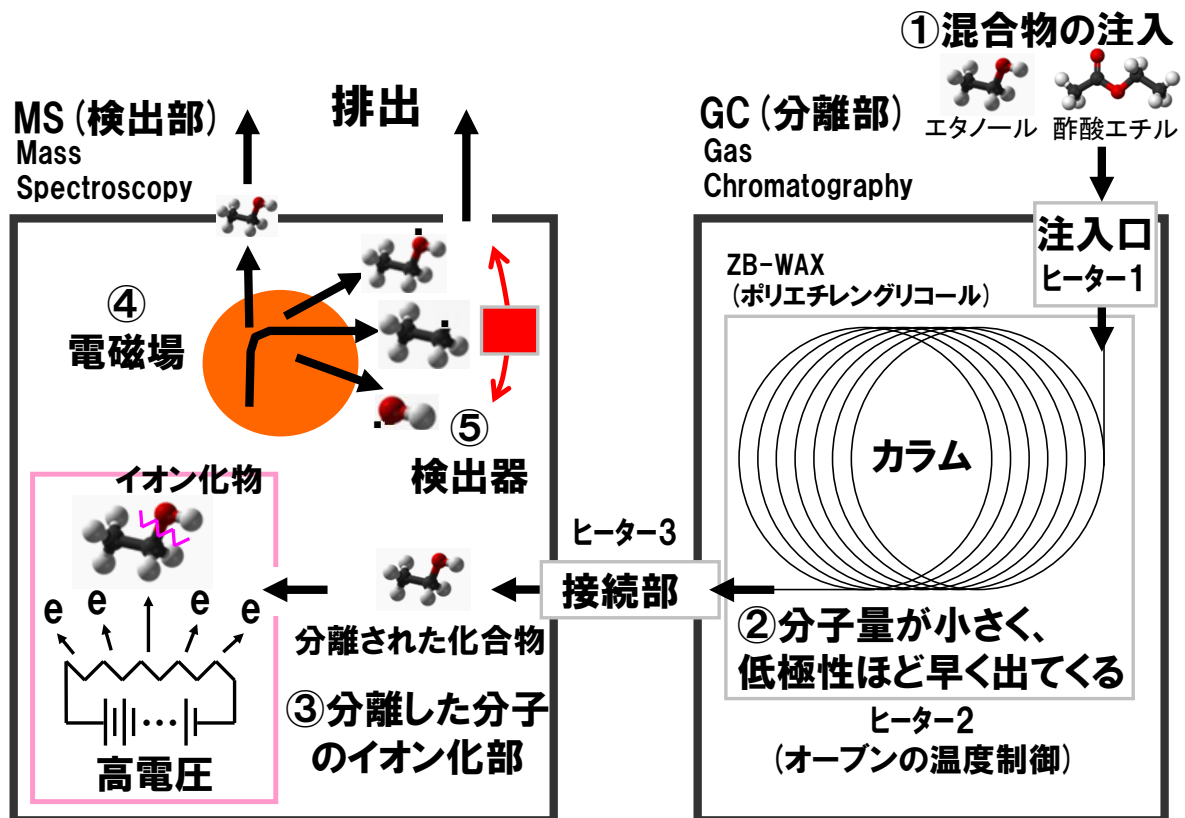


図 4.2 GC-MS の装置系概要

4.2.5 MS の装置系

MS 内部は高真空であり、GC で分離した化合物を高電圧化でイオン化(フラグメント化)し、装置内部の分離部を飛行させて電氣的・磁氣的な作用により質量電荷比(m/z)に応じて分離した各フラグメントの個数を検出する事が可能である。この m/z と個数のパターンが化合物毎にほぼ固有であることから、約 20 万のデータベースを参照することで、未知化合物であってもほぼ定性が可能となる。「ほぼ」と記載したのは、本分析系では光学異性体は判別が難しいためである。

4.2.6 GC/MS 分析条件

m/z に影響しない He ガスをキャリアガスとし、化合物濃度が低い懸念から、注入

口は揮発した化合物の全てを分離部へ導入するスプリットレスモードとした。用いた MS において最高感度となるようにイオン化部の出力と検出器電圧を設定し、これを元にカラムの分離能を最大限に発揮できるオープンの温度プロファイルを模索した。カラムは一般に、温度が低いと各化合物の溶出時間は長くなり、結果、各化合物間の溶出時間差が大きくなる一方、各ピークが広がり、感度と精度(S/N, シグナル/ノイズ比)の低下に繋がる。

He ガスの流速 1cc/min において、オープンの昇温途中で香気性化合物群が分離せず密集した為、今回は、途中で昇温速度の変化する多段の温度プロファイルを用いると化合物が良く分離し好適である事が分かった。また、測定後は毎回、SPME: Solid Phase Micro Extraction(捕集器)を 200℃, GC を 240℃に上昇し、MS で残留物が洗浄された事を確認して、次の測定に移行した。

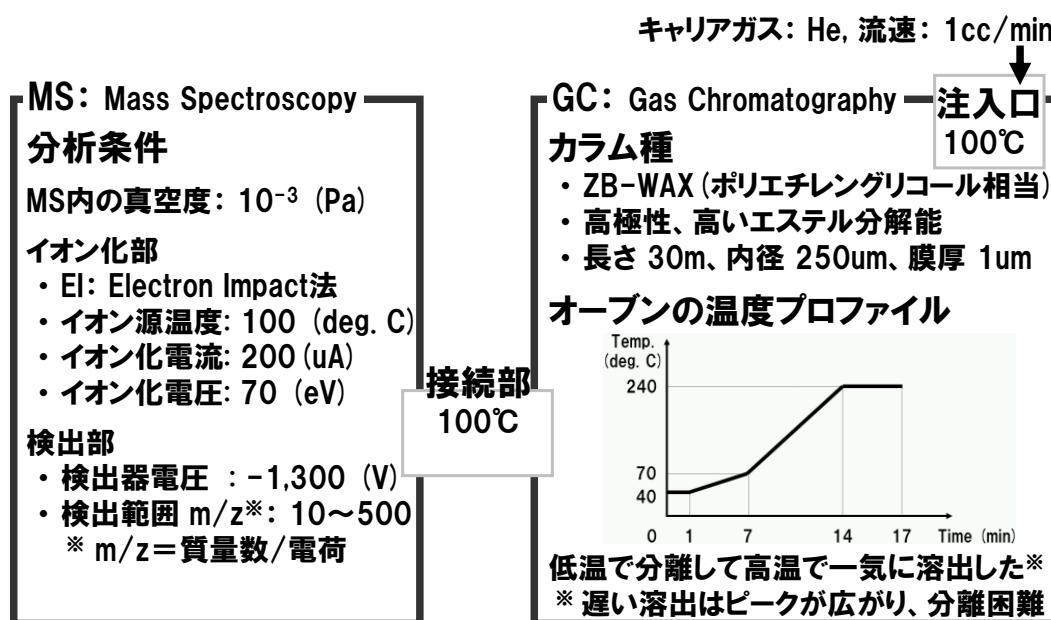


図 4.3 GC/MS の各種条件

4.3 分析結果の解析方法と結果

4.3.1 SPME と GC/MS による香気成分の化学的分析結果

GC で分離された化合物は時間差で MS にて検出される、時間毎に検出された全イオンの強度のうち、最も強いものを 100 として MS データを規格化した。結果の一例とそのマイナーピークの拡大図を示す。

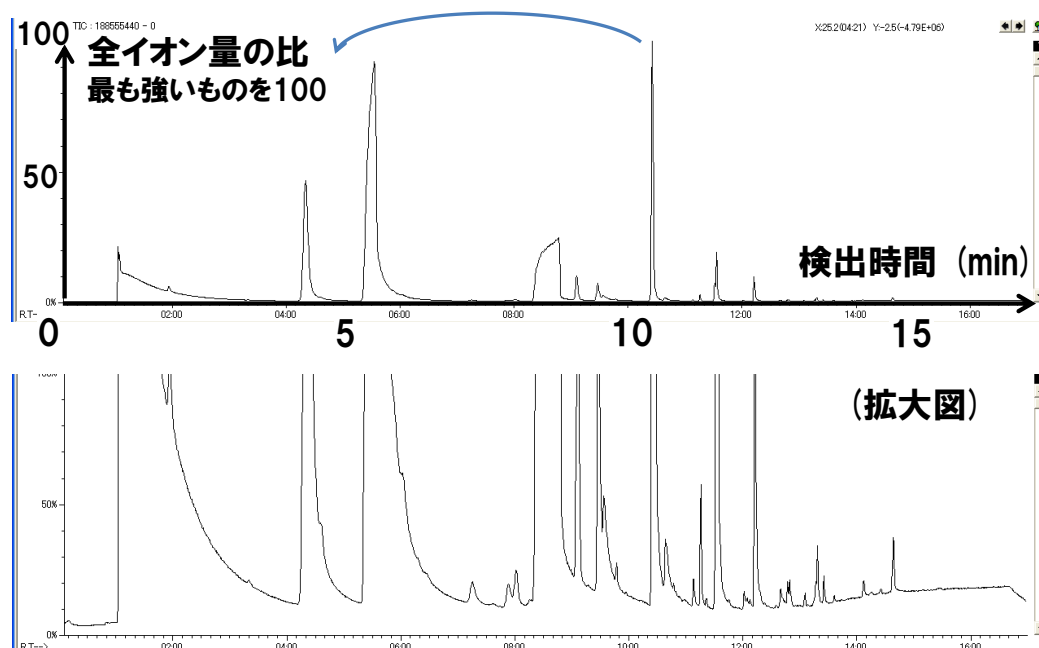


図 4.4 SPME と GC/MS による分析結果例 (下は拡大図)

窒素，酸素，二酸化炭素等の空気中のガスを除くと，水やエタノールを含む 90 種の揮発性化合物を検出できた．このうち，良好なピーク分離ができた化合物は 70 種であった．

MS の測定原理から各ピークの面積強度が各化合物の含有率に比例することを考慮し，良好かつ十分な S/N 比で得られた 52 の化合物について面積強度を算出した．

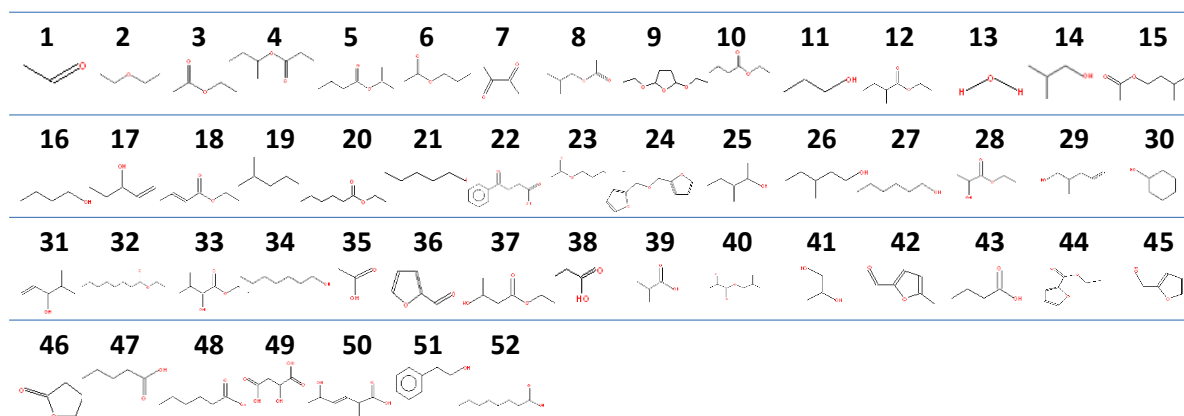


図 4.5 面積強度算出に用いた 52 の揮発性化合物

以上の 56 本のワインにおける，52 化合物の面積強度を示す．また，面積強度を用いた各試料間の相関係数を算出した結果を示す．

表 4.3 化学的分析した各試料間の相関係数（色が濃いマスほど相関係数が大きい）

Table with 56 columns labeled '試料1' through '試料56' and 56 rows. The diagonal is all 1.000. Values range from approximately 0.504 to 0.998, with darker shading indicating higher correlation.

て持つものが多かった。

これらは、官能評価の数値化が 0, 0.5, 1 点であるのに対し、化学分析結果は、面積強度という多段階の値を持ち、各物質の強度が産地に繋がったと考えられる。必ずしも香気成分が産地と関係する揮発性化合物を有するとは言えない。詳細は後述する。

4.5 主成分分析

結果を図 4.7 に示す。

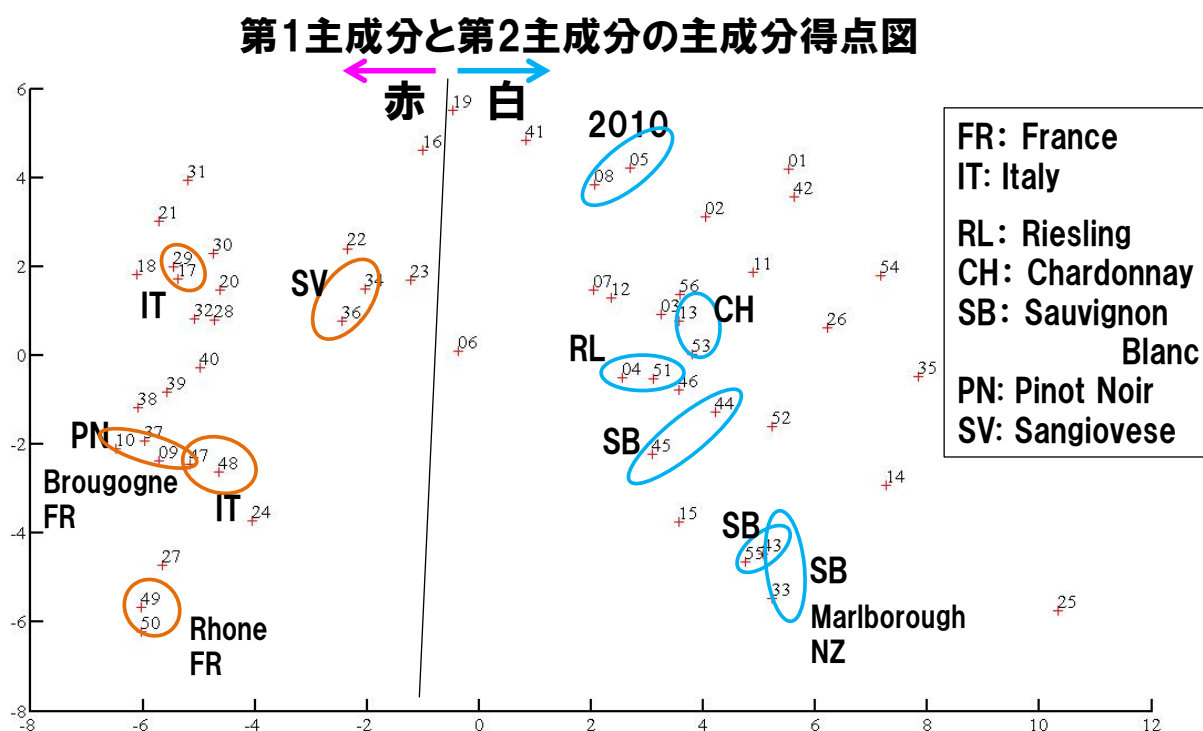


図 4.7 化学的分析の結果を用いた主成分分析

結果は、以下の通り。

- 左右で赤，白に二分された。
- 属性の共通点は、ぶどう 7 つ，生産エリアが 3 つ，生産国が 6 つ，生産年が 3 つであった。
- クラスタ分析に対して，共通属性の殆どが一致した。しかし，生産年で一致するものが減少した。

4.6 SOM

結果を図 4.8 に示す。

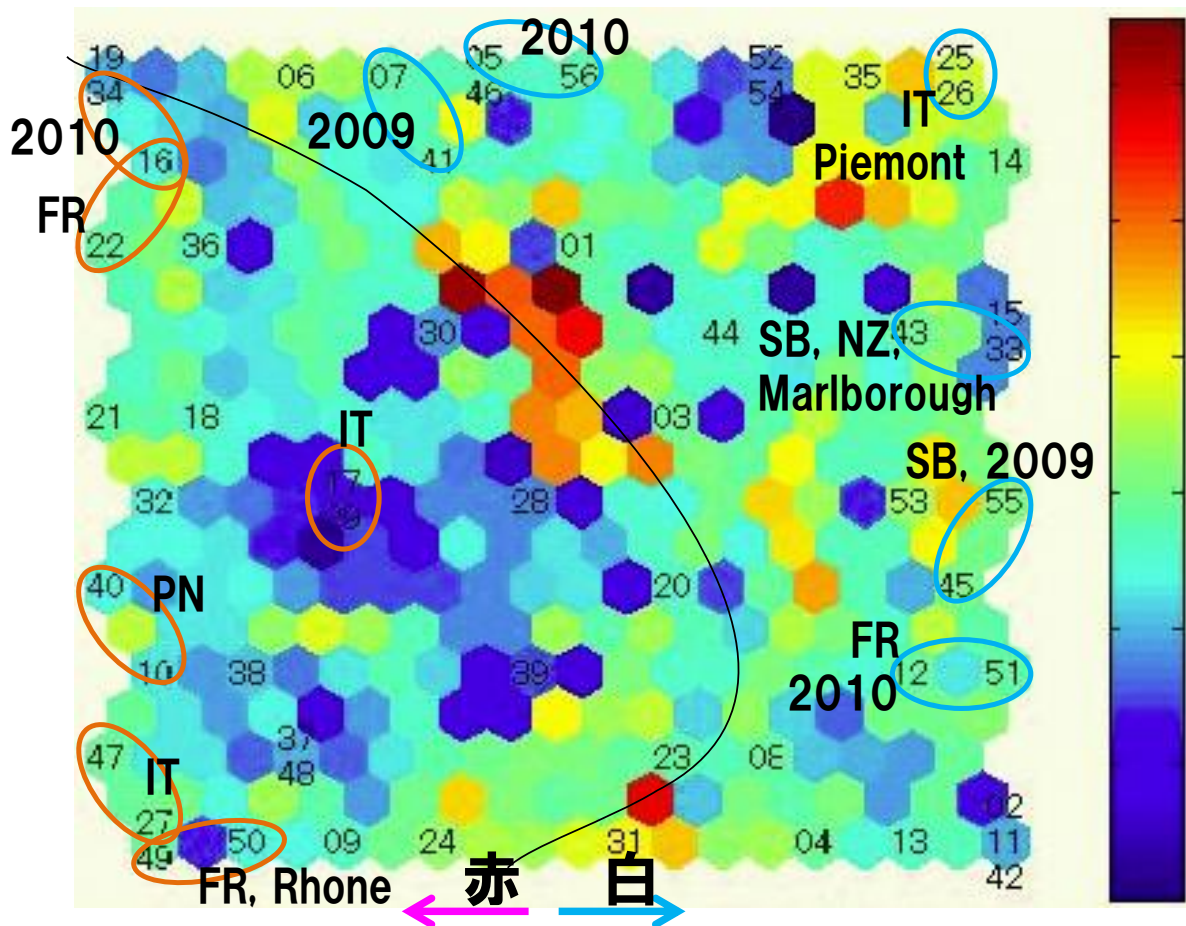


図 4.8 化学的分析の結果を用いた SOM

結果の概要を記す.

- 左右で赤/白に二分化された.
- 近接試料の共通点は、ぶどう 3 つ、生産地域 3 つ、生産国 7 つ、生産年が 5 つであった.
- クラスタ分析ないし主成分分析に対して、共通属性の殆どが一致した.

4.7 化学的評価に関する結論

揮発性化合物群の簡易かつ効率的な捕集方法と定性方法に着目して、ワインから出る揮発性化合物群の化学的分析を行った. 56 本の試料から検出された 90 種の化合物のうち、検出ピーク分離が可能かつ SN 比の高い 52 種の化学物質を選定し、各面積強度を算出した.

- 試料毎に検出された化合物は似通っており、(相関係数) > 0.99 が 78 組あった.
得られた試料-化合物量の行列を用いて、主観的分析(クラスタ分析, 主成分分析, SOM を実施した.

結果の概要を記す.

- 白ワインと赤ワインが明瞭に二分化された.

- 各距離が近い試料同士には、ワインの属性に係る共通項目を含むものが確認でき、この傾向(試料同士)は、各主観的分析で同様であった。
- 距離が近い試料の中には、属性に係る生産国よりも狭い生産地域が一致する試料同士も確認できた。

以上から、化学的な分析結果に対して主観的分析を行うことができ、それらの評価結果は妥当であると考えている。

4.8 官能的評価と化学的評価の対比

官能的評価と化学的評価を対比させ、認知に関わる香気性化合物(群)の特定を試みた。

各評価における試料間の相関は、官能的評価に用いた 41 の小分類に対して相関係数が 0.5 以上は 94 組あるのに対し、化学的評価に用いた 52 の化合物に対して相関係数が 0.5 より小さい組み合わせは 77 組、0.99 より大きい組み合わせは 78 組であった。この理由は、官能的評価で表現される単語数が 41 分類に対して少ない：ノルムが小さいのに対し、化学的分析で検出された 52 化合物は殆ど全ての試料に含まれている：ノルムがほぼ揃っている事による。そもそも、各評価のノルムの差が生じた理由は、以下に記す認知と検知の差と考えている。

次に、官能的アプローチの主観的分析(クラスター分析、主成分分析、SOM)と、化学的アプローチの主観的分析との関連を確認した。

結果、一致する点として、各アプローチ内での主観的分析間と同傾向であり、赤ワインと白ワインで二分され、距離が近い試料は共通の属性(葡萄品種、生産国、生産年)を含んだ。この距離の近い試料は、各主観的分析間で共通した。

各アプローチ間で比較すると、赤ワインと白ワインで二分され、距離が近い試料は共通の属性を含む点は一致したが、距離の小さい試料の組み合わせは各アプローチ間で一致せず、その大きさにも相関が無い事が分かった。

ここで、官能評価では揮発性化合物群のうち香気性成分を認知しているのに対し、化学分析では揮発性化合物の全てを分析して定量化を行い、ベクトルに取り入れている点が相関や主観的分析の差異として表れていると考えた。



図 4.9 化学的分析の結果を用いた SOM 分析

このギャップを解消するには、化学分析で検知した化合物群から、認知に寄与する香気性化合物群を抽出する必要があると考え、対比用の SOM を実施し、各要素マップを作成した。

計算方法は、(ベクトル) = (化合物 1, 化合物 2, …, 化合物 52, 官能的表現 1, …, 官能的表現 29) とし、化学的分析のみでマップ上の配置を決め、各ユニットの特徴は化学的分析と官能的表現の双方を表現した。

化学分析のみで配置を決めた SOM を図 4.10 に示す。

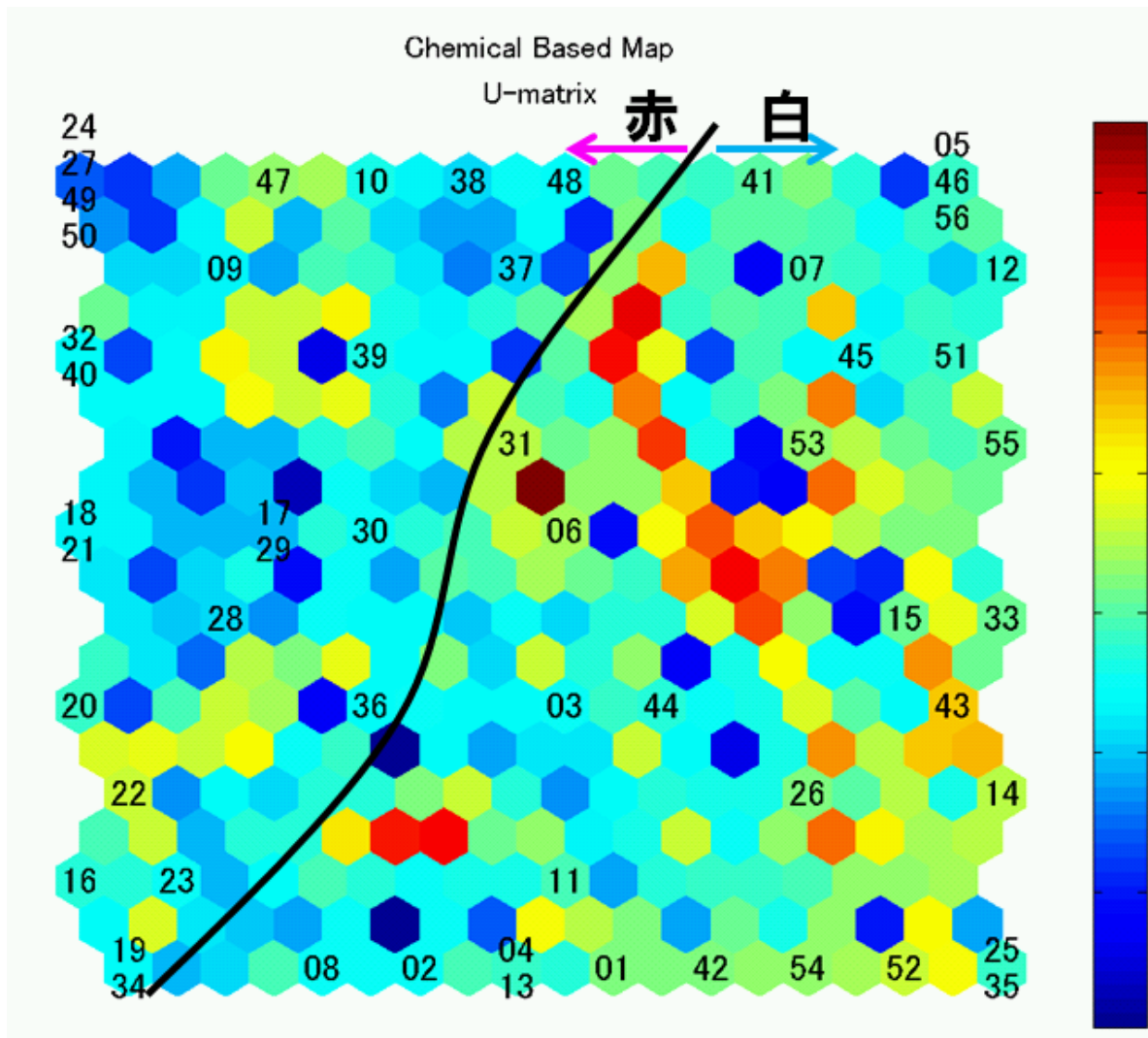


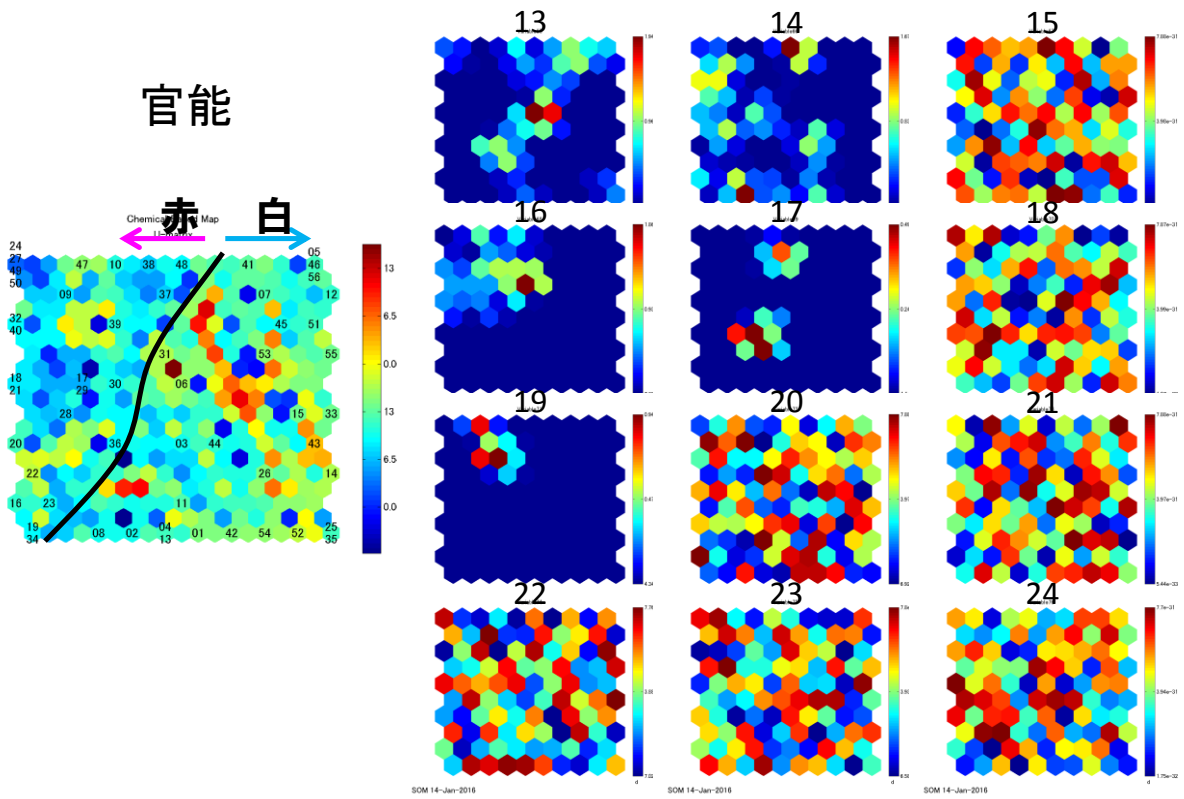
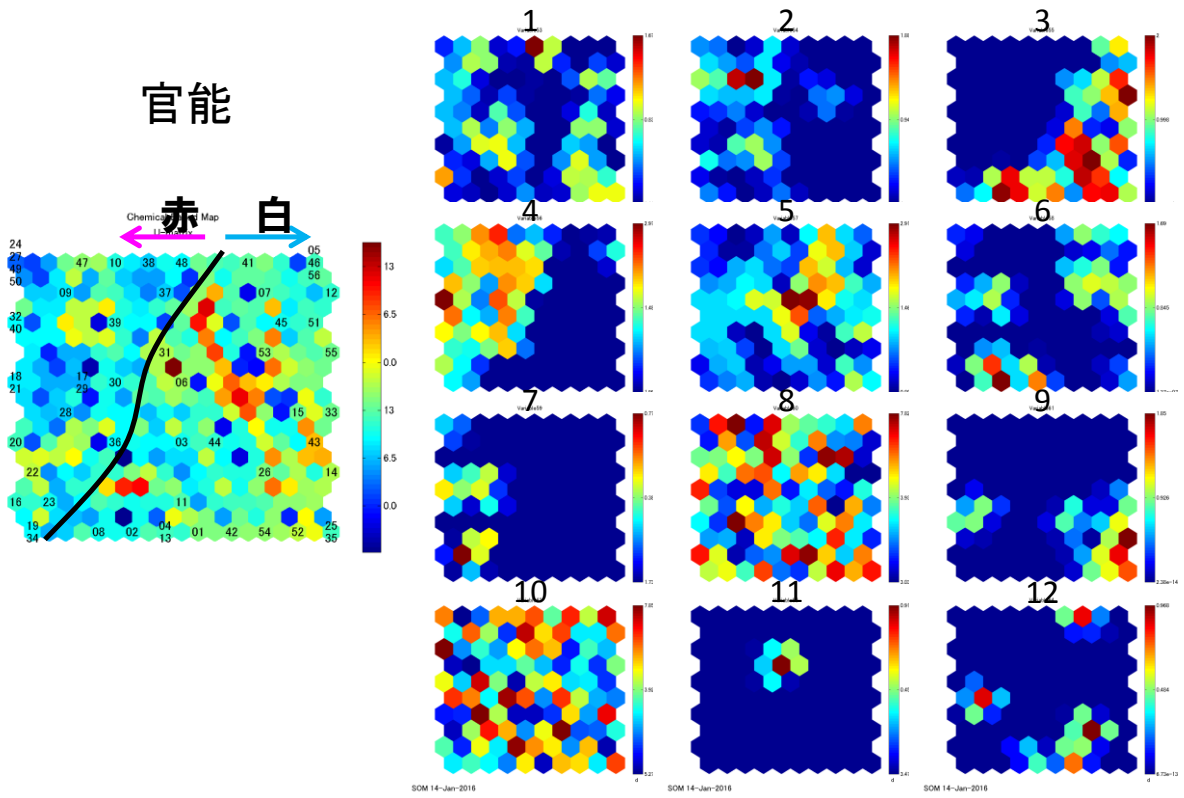
図 4.10 対比用の SOM

この SOM 上の各試料の位置に対し、官能的評価結果の寄与度合いを要素マップ上に表現した。要素マップの作成にあたっては、官能評価の中分類を使用し、表現にあたっては、関連の高～低を夫々、赤色～青色の諧調で表現した。中分類を用いたのは、小分類 41 次元では試料数 56 本と近く、関連性を表現、解析できなかった為である。

官能評価と共に図 4.11 に示す.

(番号) (官能評価)

- 1 Floral (花香)
- 2 spicy (スパイス香)
- 3 citrus (柑橘)
- 4 berry (ベリー系)
- 5 Tree fruit (木生り)
- 6 Tropical fruit (南国)
- 7 Dried fruit (乾燥)
- 8 その他
- 9 flesh (果肉・葉肉)
- 10 canned/cooked
- 11 dried
- 12 nutty (ナッツ)
- 13 Caramel (キャラメル香)
- 14 Resinous (樹脂)
- 15 phenolic (フェノール類)
- 16 burned (焦げ臭)
- 17 earthy (土香)
- 18 moldy (かび臭)
- 19 petroleum (石油類)
- 20 sulfur (硫黄臭)
- 21 pungent (刺激性物質臭)
- 22 Hot
- 23 cool
- 24 oxidized
- 25 yeasty (イースト香)
- 26 lactic (乳系の)
- 27 その他
- 28 鉱物
- 29 肉



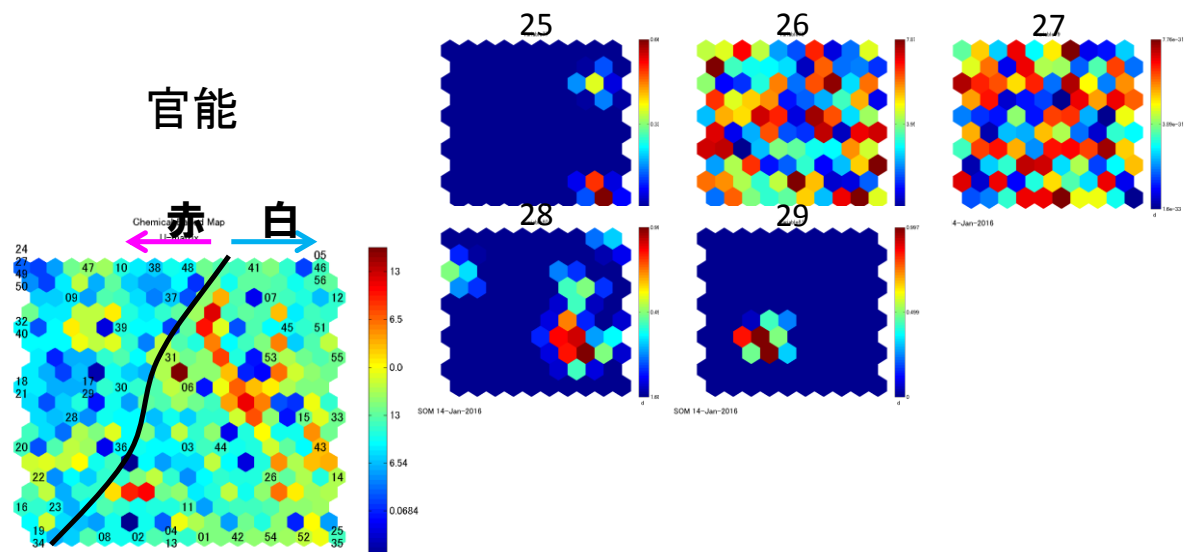
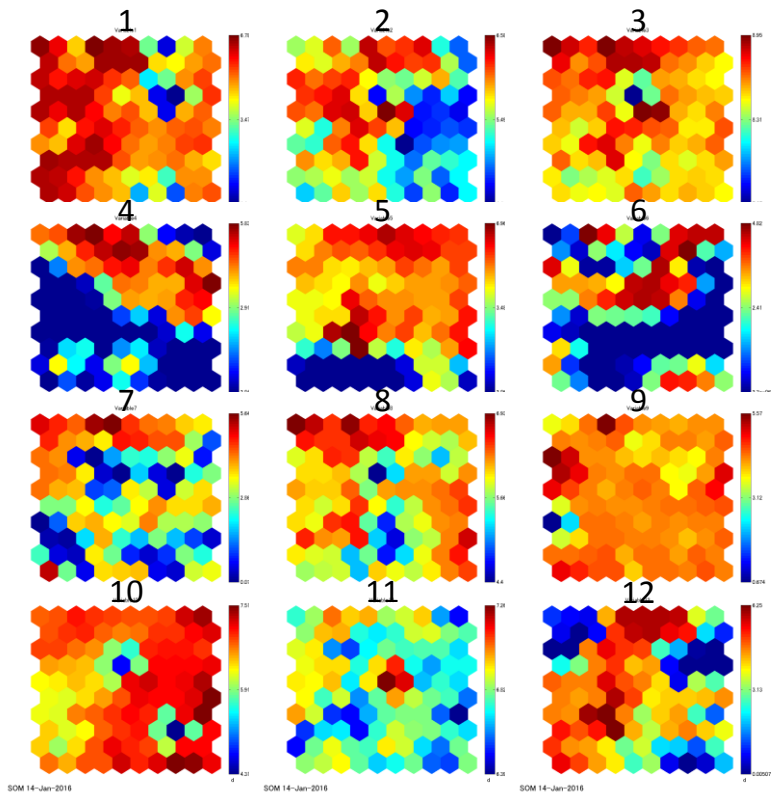
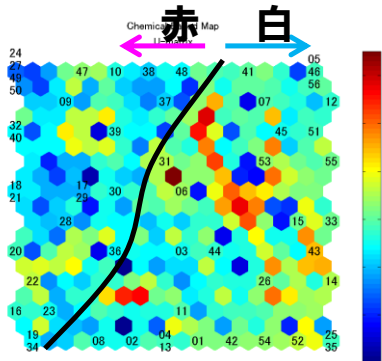


図 4.11 官能評価の一覧と要素の寄与

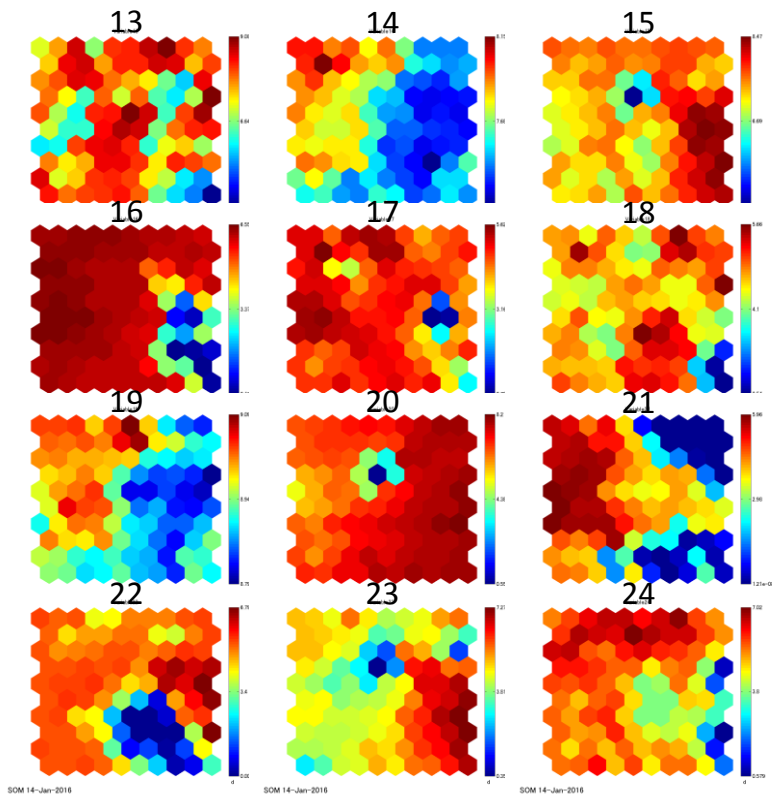
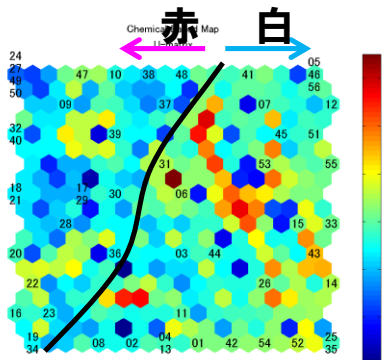
29 個の表現に関する各要素マップにおいて、青色～赤色のグラデーションを有するもの、局所的に関連する試料群を有するもの、全体的に関連性を持たないものに大別される事が分かった。グラデーションを有するものには、赤/白の境界線と領域が一致する表現が有り、表現 3 の citrus（柑橘）は白ワインに、表現 4 の berry（ベリー系）は赤ワインに使用されていた事が見て取れた。

次に、SOM 上の各試料とその位置に対し、化学分析で得た各化合物の寄与度合いを、同様に要素マップで表現した。結果を図 4.12 に示す。

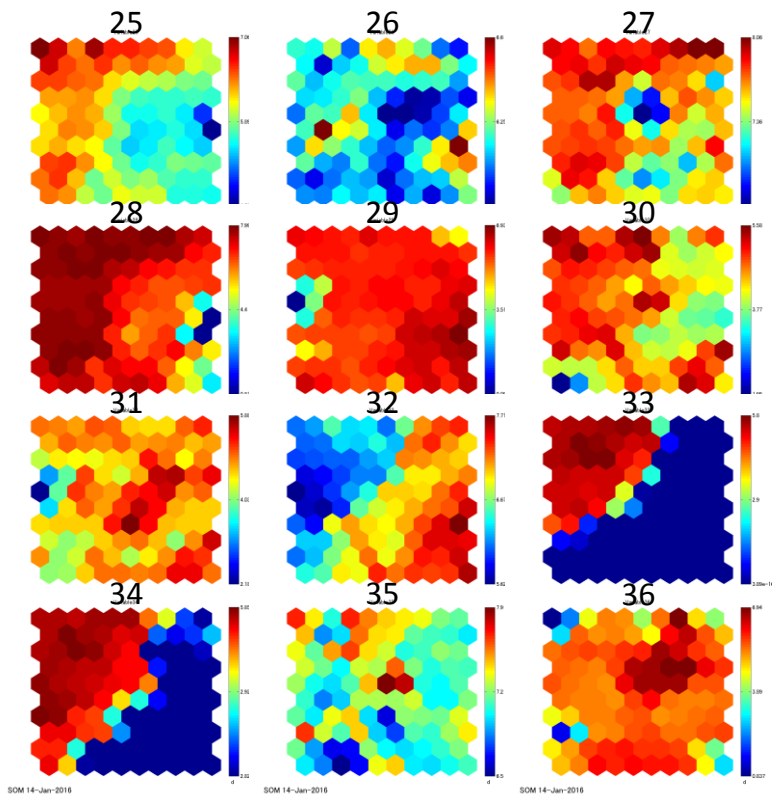
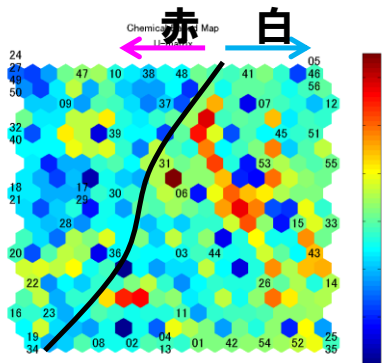
化学成分



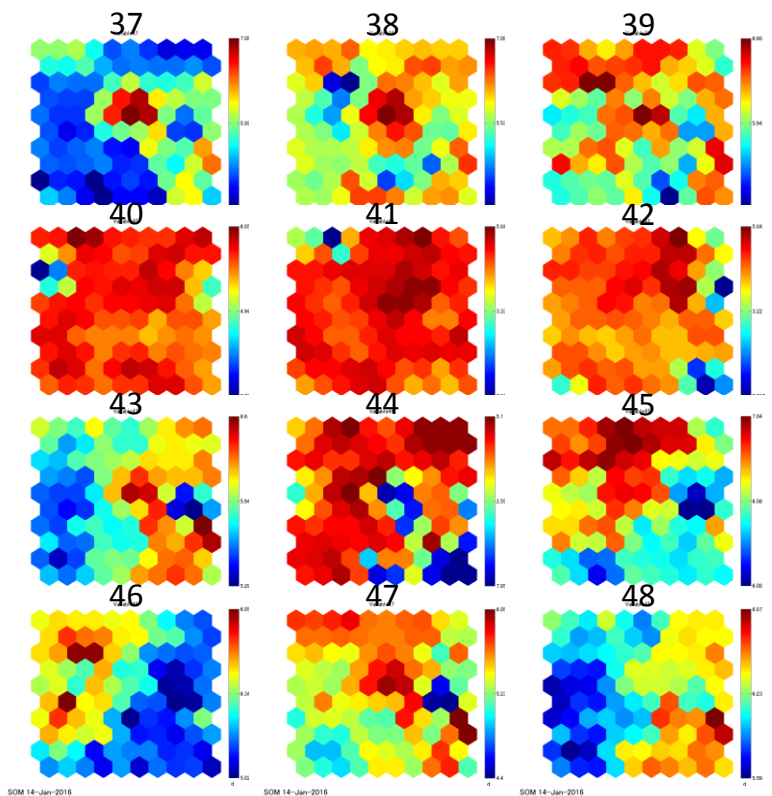
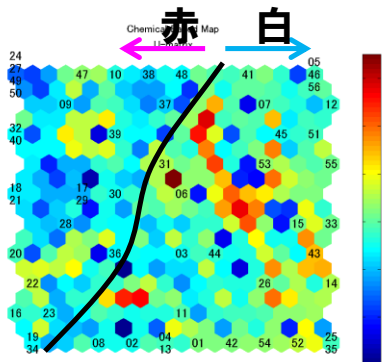
化学成分



化学成分



化学成分



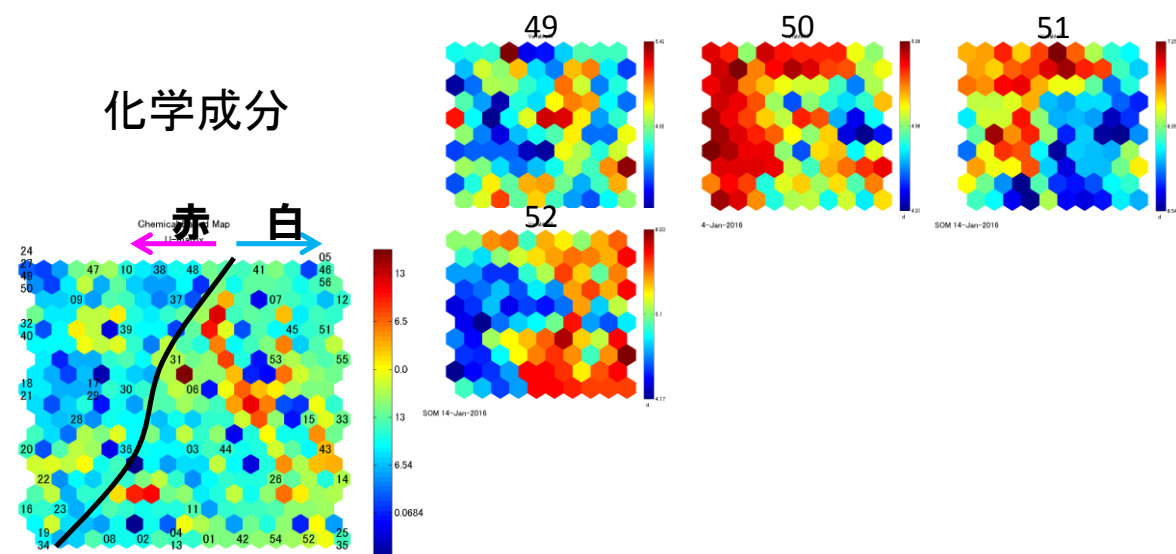


図 4.12 化合物要素の寄与

52 個の化合物に関する各要素マップにおいて、青色～赤色のグラデーションを有するものと、局所的に関連する試料群を有するものとに大別される事が分かった。グラデーションを有するものには、赤/白の境界線と領域が一致する化合物が有り、赤ワインの領域に該当する化合物は、化合物 34 の 1-ヘプタノールと化合物 46 の γ -ブチロラクトンで有る事が見て取れた。

ここで、1-ヘプタノール、 γ -ブチロラクトンの 2 つの化合物は、夫々、芳香性や酸化臭、独特な匂いでアンズに含まれる事が既に知られている [20]。これらは、官能表現 4 の berry (ベリー系) と領域が一致する事から、上記の 2 つの化合物がベリー系を思わせる化合物である可能性が示唆された。

今回は、試料数の不足から官能表現の中分類を使用した。用いる試料数を増やして芳香性の食物が記載された小分類を用いれば、同様の手法にて、官能表現と化合物の要素マップとを照合する事で、特定の芳香性の食物を思わせる化合物または化合物群を推定する手法となりうると考えている。

第5章 結論

第1章では、嗅覚の複雑さについて述べた。人間の五感の中でも嗅覚に関する研究は、低い情報摂取量ながら、約40万種ある香気性化合物に対して複雑な受容経路により順応した情報が脳の各所に送られて認知されている点で、解明が遅れている。

第2章では、本研究の位置付けについて記載した。香りを科学的に理解する方法は二通りあると考えている。特定の食物から抽出した成分を人の官能的な感覚を頼りに評価する古典的手法(官能的アプローチ)と、数多の食物からの抽出物を捕集、分離、分析し、それらの配合物を官能評価と照合する膨大なリソースを要する手法(化学的アプローチ)である。本研究は、認知経路の複雑さを許容し、特定の食物を連想させる揮発性化合物群(香気成分)を早期に決定可能な手法を提案し、その妥当性を議論した。

第3章では、官能的アプローチについて本研究が着眼した手法とその妥当性を述べた。

まず、嗅覚が他の五感に左右されずに香気成分のみを評価し、その結果を身近な食物に例えて形式的に表現するテイスティング手法と、ワイン(試料)に関するテイスティング結果(形式知)は情報化が進んでいる点に着眼した。

研究用の試料はワインサロンより56本入手した(品質が保証され、標準的なワインが中心、属性がバライティに富む、つまり恣意的選定でない)。各試料の形式知収集にはインターネット上のデータベース(Wine-searcher)を活用し、偏りの無い高い妥当性を有する情報を収集した。形式知そのものの場合は1点、形容詞として「わずかに」、「ほのかに」等の表現がある場合には0.5点としてデータ化した。

データに対し、クラスター分析、主成分分析、self-organized mapping (SOM)の3つの主観的分析を行った結果、いずれの分析においても、白ワインと赤ワインが明瞭に二分化され、ワインの属性に係る共通項目を含むものが近い距離に存在し、この傾向(試料同士)は、各主観的分析でほぼ同傾向であった。

第4章では、化学的アプローチについて本研究が着眼した手法とその妥当性を述べた。揮発性化合物は収集・分離・定量化・分析を実施した。収集には、微量でも高濃度で吸着できるSolid Phase Micro Extraction (SPME)を、分離には、比較的分子量の揮発性化合物に強いGas Chromatography (GC)を、分析には、高感度で、定性の為のデータベースの充実から、Mass Spectroscopy (MS)を選定して検討した。結果、90種の揮発性化合物を検出でき、良好なピーク分離と十分なシグナル/ノイズ比を持つ52の化合物について面積強度を算出し、試料毎の化合物群のモル含有量のデータとした。これに対し3つの主観的分析を行った結果は、前章と同様であった。距離が近い試料の中には、属性に係る生産国よりも狭い範囲である生産地域が一致する試料同士も確認できた。

第5章では、官能的アプローチ(第3章)と化学的アプローチ(第4章)を対比した。結果、一致する部分としては、各アプローチ内での主観的な分析結果は同傾向であり、赤ワインと白ワインで二分され、数値化した際に距離が近い試料は原料の属性に共通項を含む点が挙げられた。各アプローチでの試料間の相関係数が

大きく異なる事も鑑み、夫々のアプローチにおいて、共通した香気成分が存在するか、または、明らかな寄与成分が存在する可能性が考えられた。そこで、各成分の寄与を分かり易く表現、理解するため、SOMによる要素マップの作成を実施した。化学的分析のみでマップ上の配置を決め、各ユニットの特徴は化学的分析と官能的表現の双方を表現した。各アプローチで一致した赤ワインの領域に相当する、官能的表現にブラックベリーが、化合物に1-ヘプタノール、 γ -ブチロラクトンが挙げられた。既知情報から該化合物はアンズに含まれ、芳香性、酸化臭、独特な匂いを有する事が分かり、特定の食物を思わせる化合物群を推定する手法となる可能性を示せた。

謝辞

本研究を遂行するに当たり，草案から具体化まで，終始ご指導ご鞭撻頂きました本学大学院生命体工学研究科の永松正博教授および堀尾恵一准教授に心より感謝申し上げます。また，発散しかけていた本研究内容に対し，副査を通じてアイディアと共に道筋を与えて下さった本学生命体工学研究科の田中啓文教授および吉田香准教授に深く感謝致します。さらに，本研究を遂行するにあたって，試料をご提供して下さいました田崎ワインサロンの元場章人支配人と進一博副支配人に，加えて，試料の分析に関する基礎的教養および装置使用を下さった日本電子株式会社および株式会社クラレに心より御礼申し上げます。

最後に，これまで 9 年間の長きにわたり学生生活を温かく見守り続けてくれた父中野正博と，一番近くで様々な面から支えてくれ一緒にワインの香りを楽しんでくれた妻里花と娘有花に，心より喜びの念と感謝の意を表します。

参考文献

- [1] 産業教育機器システム便覧 日科技連出版（日本），1972
- [2] 感覚の地図帳 山内照雄・鮎川武二
- [3] 化学受容の科学 東原和成 編
- [4] ギャノン生理学 原書 23 版
- [5] 日本ソムリエ協会 教本，飛鳥出版（日本），2011.
- [6] 遠藤誠 監修，ワインテイスティング book，成文堂出版（日本），pp. 28-85, 2010.
- [7] A. Antonelli, L. Castellari, C. Zambonelli, A. Carnacini, Yeast influence on volatile composition of wines, *J. Agric. Food Chem.*, vol. 47, pp. 1139-1144, 1999.
- [8] H. Alexandre, V. Ansanay-Galeote, S. Dequin, B. Blondin, Global gene expression during short-term ethanol stress in *Saccharomyces cerevisiae*, *FEBS Lett*, vol. 498, pp. 98-103, 2001.
- [9] M. A. Villena, J. Ubeda, R. C. Otero, A. Briones, Optimization of a rapid method for studying the cellular location of b-glucosidase activity in wine yeasts, *J. Appl. Microbiol*, vol. 99, pp. 558-564, 2005.
- [10] D. Ulrich, E. Hoberg, A. Rapp, S. Kecke, Analysis of strawberry flavor - discrimination of aroma types by quantification of volatile compounds, *Z. Lebensm Unters Forsch A*. vol. 200, pp. 218-223, 1997.
- [11] 田崎ワインサロンテキスト，2009.
- [12] Image and Video Exchange Forum
- [13] SHIMADZU ホームページ：<http://www.an.shimadzu.co.jp/index.htm>
- [14] 株式会社カネカテクノロジーサーチホームページ：<https://www.ktr.co.jp/>
- [15] JEOL GC/MS ソリューションセミナー2010「GC/MS」の基礎講座 樋口哲夫
- [16] Kirihiro NAKANO, Masahiro NAGAMATSU, “Chemical Approach to Fragrance of Wine,” *Journal of the Biomedical Fuzzy Systems Association*, Vol. 18, No. 2, pp. 83-88, 2013.
- [17] O. Gürbüz, J.M. Rouseff, R. L. Rouseff, “Comparison of Aroma Volatiles in Commercial Merlot and Cabernet Sauvignon Wines Using Gas Chromatography - Olfactometry and Gas Chromatography - Mass Spectrometry,” *Agricultural and Food Chemistry*, Vol. 54, No. 11, pp. 3990-3996, 2006.
- [18] E. Campo, J. Cacho, V. Ferreira, “Solid phase extraction, multidimensional gas chromatography mass spectrometry determination of four novel aroma powerful ethyl esters Assessment of their occurrence

- and importance in wine and other alcoholic beverages,” *Journal of Chromatography A*. Vol.1140, pp.180–188, 2007.
- [19] M. J. B. Cabrita, R. Garcia, N. Martins, M. D. R. Gomes da Silva, A. M. C. Freitas, “Gas Chromatography in the Analysis of Compounds Released from Wood into Wine,” *Advanced Gas Chromatography - Progress in Agricultural Biomedical and Industrial Applications*, pp.185–208, 2012.
- [20] 長谷川香料 HP : <http://www.t-hasegawa.co.jp/index.php>