

# 佐伯市鶴見地区における2021年度海底熟成清酒の 成分変化解析

塩 屋 幸 樹                      中 村 弘 幸

## 【要 旨】

佐伯市の海底で2021年11月から4ヶ月間熟成された清酒の酒成分の変化を解析した。グルコース濃度、酸度、アミノ酸度に大きな変化は見られなかった。有機酸は熟成期間・場所で変化した。着色度は海底熟成により大きく増加した。香気成分では熟成することで吟醸香が増加した。味認識装置による分析では塩味がわずかな変化があった。このような変化が、海底熟成清酒の特徴的な味や香りに影響することが示唆された。

## 【キーワード】

清酒 海底熟成 酒成分 香気成分 味覚センサー

## はじめに

2010年にフィンランド沖のバルト海にて、およそ170年前に沈んだとされたシャンパンが発見された。その分析結果によると、現在のものと比較し糖分が3倍も含まれており、甘いシャンパンだった<sup>1)</sup>。また、ワインも熟成度が高く美味しくなっていたと報告されている。一般的に海底は、水温が15～18℃で安定しており熟成に適していること、劣化の原因になる紫外線が差し込まないこと、海の音・振動がボトルに伝わり酒類に影響を与えと言われていたが、その詳細なメカニズムはいまだ解明されていない。しかしながら、通常の熟成と異なる味わいになることは間違いなく、国内外でこの海底熟成に着目され、ワインや清酒などを海底で熟成する取り組みが行われるようになってきた。スペインのバスク地方では、ワインを海底で6～12ヶ月間熟成させ、数量限定で販売されている<sup>2)</sup>。このワインには、海底熟成に耐え得るフレッシュさと凝縮感をバランスよく持ち合わせたブドウの品種が選ばれている。一方、国内では一時期オンラインショップのコマーシャルでも流れていたSUBRINAが有名である<sup>3)</sup>。この企業では静岡県南伊豆沖合、水深15メートルの海底でワインを7ヶ月間熟成させ販売している。通常のワインより高価であるが、その希少性から完売している。ただし、国内では台風などの影響で海が荒れるため、瓶の破損や流出に注意しなければならない。

ここで一般的な清酒の製造方法と貯蔵について説明する。まず原料となる玄米を精米する。吟醸酒では精米歩合を60%以下、大吟醸酒では50%以下にする。精米後は、洗米、浸漬、蒸煮の工程を経て、蒸米となる。この蒸米に麴菌をまき、2日間かけて麴をつくる。次に、蒸米、麴、

水をいれ酵母を大量に増殖させた酒母をつくる。この酒母に蒸米、麴、水を三回にわけて仕込む(3段仕込み)。一般的な清酒のもろみの発酵は20日ほどで、吟醸酒・大吟醸酒は低温下で30日程度で終了する。その後、もろみは压榨され、搾りたての新酒はろ過、火入れの工程後、貯蔵される。貯蔵期間は3～6ヶ月程度である。熟成中に色が濃くなり、新酒香が消え、味も刺激味がとれて丸くなる。その後、再度火入れし、瓶詰めされ出荷される。一部の酒蔵では雪室貯蔵や樽貯蔵しているところもある<sup>4)</sup>。清酒以外では、焼酎は1年程度、ワインは数年、ウイスキーに関しては数十年樽熟成することもある。このように一般的には酒類は熟成期間や環境によりその味は大きく変化する。そのため、海底熟成は新しい熟成方法として注目され始めている。

大分県佐伯市は九州屈指の水産物の水揚げ量を誇る地域である。しかし、新型コロナウイルスのパンデミックで、漁業にも大きな影響がでていた。そこで、鶴見地域では新たな海洋資源として、牡蠣の養殖に力をいれることにした。さらに、この牡蠣の養殖と近年注目され始めている酒類の海底熟成をあわせた「真牡蠣養殖と海底熟成酒」の試験事業に取り組み始めている。2020年の冬から6ヶ月かけ試験的に酒類150本が沈められた。飲食店関係者などによる試飲で高い評価を得た。そこで、2021年度から本格的に海底熟成酒に取り組みことにした。しかし、九州での海底熟成の実施例は少なく、海底熟成による酒類への影響は未知の部分が多かった。そこで、本研究では2021年11月から2022年3月まで佐伯市の海底で熟成された清酒の酒成分の変化を解析し、清酒における海底熟成の影響を評価した。

## 【実験方法】

### 1) 清酒サンプル

清酒は大分県佐伯市内の酒蔵の純米酒2種(純米酒A、B)、純米吟醸酒1種、純米大吟醸酒1種を用いた。

### 2) 海底貯蔵

海底貯蔵は佐伯市内の海底約15mの場所に、2021年11月から2022年3月までの4ヶ月間行われた。途中、成分変化解析のため2ヶ月後の2022年1月に一部のサンプルを引き上げた。また、比較対照として24度の貯蔵庫(暗所)で同期間貯蔵したサンプル(陸上保管)も準備した。

### 3) グルコース濃度測定

グルコース濃度測定には、グルコースCII・テストワコー(富士フォルク和光純薬株式会社)を使用し、操作方法は付属の取扱説明書に従った。清酒サンプルは5～20倍希釈し、測定に用いた。3回の測定値の平均を各清酒のグルコース濃度値とした。

### 4) 酸度およびアミノ酸度測定

国税庁所定分析法に基づき測定した<sup>5)</sup>。酸度は、清酒10mLを量り取り、200mLフラスコに入れた。混合指示薬(0.2gブロムチモールブルー、0.1gニュートラルレッド、300mLエタノール)を2～3滴加え、淡緑色になるまでN/10水酸化ナトリウム溶液を用いて滴定測定を行った。酸度の算出式は、「N/10水酸化ナトリウム溶液の力価(F)×滴定量」である。3回の測定値の平均を酸度値とした。

アミノ酸度は、清酒10mLを量り取り、200mLフラスコに入れた。フェノールフタレイン指示薬(0.5gフェノールフタレイン、50mLエタノール)を2～3滴加え、淡桃色になるまでN/10

水酸化ナトリウム溶液を加えた。その後、中性ホルマリン溶液（50mlホルマリンにフェノールフタレイン指示薬を数滴加え、N/10水酸化ナトリウム溶液で淡桃色になるまで中和し、水で100mLに調製）を5mL加え、淡桃色になるまでN/10水酸化ナトリウム溶液を用いて滴定測定を行った。アミノ酸度の算出式は、「N/10水酸化ナトリウム溶液の力価（F）×滴定量」である。3回の測定値の平均をアミノ酸度値とした。

#### 5) 有機酸成分および濃度測定

各清酒サンプルの有機酸（クエン酸、酒石酸、リンゴ酸、コハク酸、乳酸、酢酸）は高速液体クロマトグラフィー（HPLC）にて測定した。HPLCの分析条件は以下の通りである。

装置：HPLC（SHIMADZU）、カラム：ROA-Organic Acid H+、検出器：SPD-20A、移動相：0.005N硫酸、カラム温度：40°C、検出波長：210nm、流速：0.45mL/min

各有機酸濃度は、各有機酸標準液をもとに作成した検量線を用いて算出した。

#### 6) 香気成分および濃度測定

各清酒サンプルの香気成分解析は匂い嗅ぎ付きガスクロマトグラフィー質量分析器7890B GC-5977AMSD（Agilent Technologies社）を用いた。また、オートサンプラーとしてMultiPurpose Sampler（Gerstel社）を用いた。分析条件は以下の通りである。

固定相マイクロ抽出（SPME）ファイバー：Carboxen/PDMS（中極性）、試料加温条件温度：40°C、5分、GCカラム：Agilent 122-7032DB-WAX（30m×250μm）、カラム流量：1.9mL/min、カラム昇温設定：40°C→100°C（10°C/min）、100°C→250°C（8°C/min）、イオン源温度：230°C、EI法、GC-0流量比1対1

イソアミルアルコールに対する内部標準液としてノルマルアミルアルコール、酢酸イソアミルおよびカプロン酸エチルに対する内部標準液としてカプロン酸メチルを用いた。

#### 7) 着色度

検体について430nmにおける吸光度を測定し、次式によって検体の着色度を算出した<sup>5)</sup>。

着色度 = (吸光度/吸収セルの光路長 (mm)) × 10

#### 8) 味覚センサーでの解析

分析には味認識装置SA402B（インテリジェントセンサーテクノロジー社）を用いた。特性の異なる5種類の人工脂質膜と2本の参照電極を用いて、呈味成分の吸着による脂質膜の膜電位変化を測定し、酸味・塩味・苦味雑味・渋味刺激・苦味・渋味・旨味・旨味コクの8種類の味数値を測定した。解析は、味認識装置内の解析ツールを用いて、各サンプル検体の味数値の平均値の比較および主成分分析による意味づけを行った。

### 【実験結果および考察】

#### 1) 海底熟成

2021年11月から2022年3月までの4ヶ月間佐伯沖の海底で4種類の清酒を熟成した。4ヶ月海底熟成した清酒瓶には石灰藻やフジツボなどの付着が確認された（図1）。



図1 海底熟成後の清酒瓶の写真

## 2) 清酒のグルコース濃度、酸度およびアミノ酸度の変化

4種類の清酒のグルコース濃度、酸度およびアミノ酸度のそれぞれ測定値および貯蔵前の値を1とした相対値を図2～図4に示す。

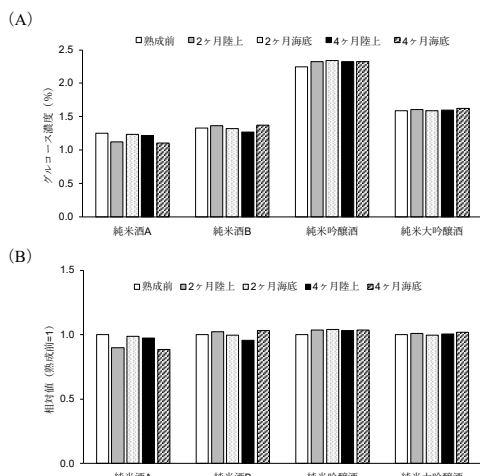


図2 清酒の熟成期間・場所によるグルコース濃度の変化 (A) 各清酒のグルコース濃度の測定値 (B) 熟成前のグルコース濃度を1としたときの相対値

麹菌により米のデンプンが分解されグルコースが生成される。一方、酵母はグルコースを資化しアルコールを生成する。そのためグルコース濃度は清酒製造時の発酵具合をみる重要な因子である。また、清酒の甘さにも関わる因子である。熟成前の純米酒A、純米酒B、純米吟醸酒、純米大吟醸酒のグルコース濃度は、それぞれ1.25%、1.33%、2.25%、1.59%だった。4ヶ月海底熟成後の各グルコース濃度は、1.11%、1.37%、2.32%、1.62%だった。4ヶ月海底熟成の純米酒Aのグルコース濃度が1割減少していた。また、他の清酒では2ヶ月陸上貯蔵・海底熟成および4ヶ月陸上貯蔵・海底熟成のグルコース濃度では大きな変化はみられなかった。今回のサンプルは火入れ後の清酒のため、麹菌と酵母は死滅し、酵素も失活しておりグルコース濃度の大きな変化は無かったものと推測される。しかし、純米酒Aで濃度が減少した理由は不明である。

酸度は清酒中に存在する有機酸の含量を中和滴定した値で、一般的に値が高いと辛く感じ、低いと淡麗になるといわれている。熟成前の純米酒A、純米酒B、純米吟醸酒、純米大吟醸酒の酸度は、1.33、1.60、1.45、2.07だった。4ヶ月海底熟成後の各清酒の酸度は、1.40、1.60、1.54、2.11と大きな変化は見られなかった。また、2ヶ月陸上貯蔵・海底熟成および4ヶ月陸上貯蔵の値も

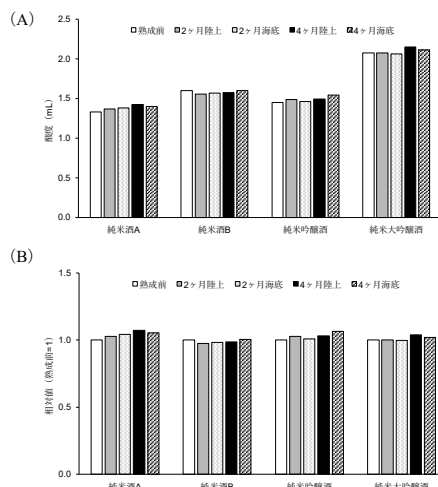


図3 清酒の熟成期間・場所による酸度の変化 (A) 各清酒の酸度の測定値 (B) 熟成前の酸度を1としたときの相対値

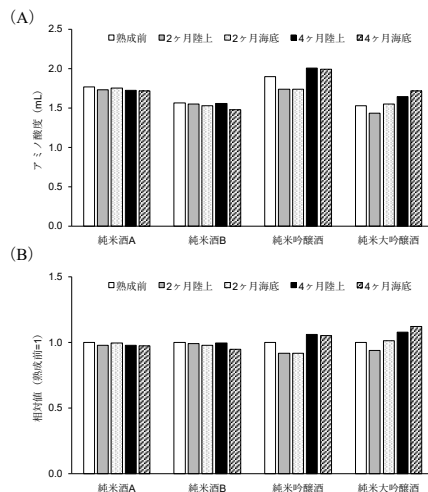


図4 清酒の熟成期間・場所によるアミノ酸度の変化 (A) 各清酒のアミノ酸度の測定値 (B) 熟成前のアミノ酸度を1としたときの相対値

大きな変化はみられず、熟成期間・場所の違いで酸度の変化は見られなかった。

アミノ酸度は清酒に存在するアミノ酸の量を中和滴定した値である。一般的に値が高いと芳醇で濃厚になる。熟成前の純米酒A、純米酒B、純米吟醸酒、純米大吟醸酒のアミノ酸度は、1.76、1.56、1.90、1.53であった。4ヶ月海底熟成後の各アミノ酸度は、1.71、1.48、1.99、1.71だった。4ヶ月海底熟成の純米大吟醸酒でアミノ酸度が1.1倍高くなっていた。このことは何らかの理由で純米大吟醸酒中のタンパク質が分解されアミノ酸の量がわずかに増加したためだと考えられる。そこで、L-グルタミン酸の濃度を測定してみたが、サンプル間の濃度の違いは確認されなかった。今後、アミノ酸分析による全アミノ酸の含有量の変化を解析する必要がある。

### 3) 清酒の有機酸濃度の変化

清酒中の有機酸には、クエン酸、酒石酸、コハク酸、乳酸などが含まれている。各有機酸は酸味や旨味などに関わっている。熟成前の値を1とした4種類の清酒の有機酸相対値を表1に示す。クエン酸に関しては、純米酒Aと純米吟醸酒の海底貯蔵で濃度の増加が確認された。純米酒Aの酒石酸については陸上貯蔵で増加、海底熟成で減少と貯蔵場所で見られた。また、純米吟醸酒の酒石酸については2ヶ月で増加し、4ヶ月で減少していた。純米酒Aのリンゴ酸でも、陸上貯蔵で増加、海底熟成で減少と貯蔵場所で見られた。リンゴ酸に関しては、純米酒Bと純米大吟醸酒の陸上貯蔵では減少、純米吟醸酒と純米大吟醸酒の海底熟成では増加するなど、熟成期間と場所により変化が見られた。コハク酸については、熟成期間、保管場所による変化はほとんどなかった。乳酸は純米吟醸酒の海底熟成で熟成期間による減少傾向がみられた。酢酸は、純米酒Aの陸上保管で熟成期間による減少傾向がみられた。その他は大きな変化はなかった。有機酸の量の変化は大きかったが、その理由は不明であり今後さらなる解析が必要である。

熟成期間	サンプル名	熟成場所	クエン酸	酒石酸	リンゴ酸	コハク酸	乳酸	酢酸
2か月	純米酒A	陸上貯蔵	1.56	1.12	1.36	1.04	1.12	0.88
		海底熟成	1.25	0.83	1.13	1.04	1.03	0.86
	純米酒B	陸上貯蔵	0.87	1.04	0.82	1.05	1.00	0.96
		海底熟成	0.81	0.91	1.03	1.01	1.00	1.05
	純米吟醸酒	陸上貯蔵	1.31	1.39	1.03	1.05	1.05	1.01
		海底熟成	1.06	1.95	1.15	1.00	0.83	0.97
純米大吟醸酒	陸上貯蔵	1.04	0.95	0.87	0.91	1.11	1.05	
	海底熟成	0.94	0.81	0.82	1.00	0.91	0.97	
4か月	純米酒A	陸上貯蔵	0.81	1.27	2.82	1.00	1.04	0.75
		海底熟成	1.21	0.82	0.43	0.99	1.01	1.18
	純米酒B	陸上貯蔵	0.95	1.05	0.50	1.05	0.95	1.06
		海底熟成	0.83	1.12	0.77	1.03	0.93	1.07
	純米吟醸酒	陸上貯蔵	1.05	1.02	1.24	1.00	0.86	1.04
		海底熟成	1.45	1.23	1.33	1.00	0.71	1.03
純米大吟醸酒	陸上貯蔵	1.04	0.80	0.70	1.07	0.89	1.04	
	海底熟成	0.94	1.13	1.35	1.00	1.11	1.04	

表1 清酒の熟成期間・場所による有機酸の変化のまとめ

### 4) 清酒の香気成分濃度の変化

清酒には吟醸香とよばれるフルーツのような華やかな香りをもつ特徴がある。代表的な吟醸香として、酢酸イソアミルのバナナ様の香り、カプロン酸エチルのリンゴ様の香りがある。また、マジクインキのようなアルコール感のあるイソアミルアルコールも清酒の香りを支える重要な成分である。そこで、この3種類の香気成分の熟成期間・場所による変化を図5に示す。酢酸イソアミルとカプロン酸エチルとも4ヶ月熟成することで増加する傾向がみられ

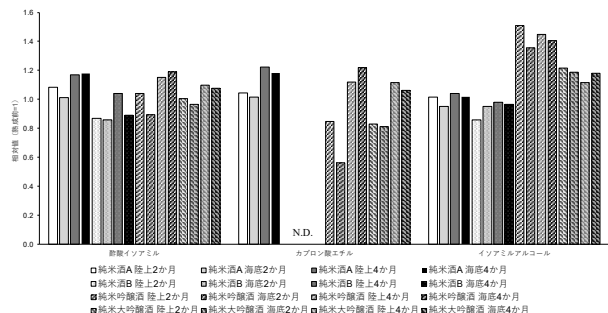


図5 清酒の熟成期間・場所による香気成分の変化

酢酸イソアミルとカプロン酸エチルの内部標準液としてカプロン酸メチル、イソアミルアルコールの内部標準液としてノルマルアルコールを用いた。純米酒Bのカプロン酸エチルの濃度は検出限界以下で検出できなかった。N.D.=Not Detected

た。しかし、海底熟成と陸上保管で大きな差は見られなかった。一方、イソアミルアルコールに関しては純米吟醸酒で約1.5倍高くなっており、貯蔵することでアルコール感が強くなる結果となった。海底熟成酒の官能評価では、香りの違いも指摘されており、これら吟醸香の変化が影響していると思われる。しかし、清酒には100種以上の香気成分が含まれているため、今後は吟醸香以外の香気成分についても評価する必要がある。

### 5) 清酒の着色度の変化

一般的に清酒の着色は日光などの紫外線により引き起こされ、劣化の要因として知られている。海底熟成・陸上貯蔵した各清酒の着色度を図6に示す。熟成前の純米酒A、純米酒B、純米吟醸酒、純米大吟醸酒の吸光度は、0.074、0.045、0.055、0.022であった。4ヶ月海底熟成後の各値は、0.082、0.074、0.092、0.033だった。純米酒Aを除いた3種の吸光度は熟成前より1.5倍以上高くなっていった。また、陸上保管も吸光度が1.2倍ほど高くなっていったが、海底熟成の方がその割合は高かった。その理由として、海底にわずかながらも日光が届き着色したものと推測される。

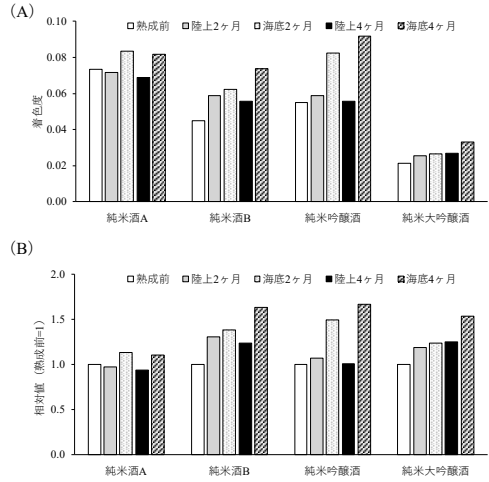


図6 清酒の熟成期間・場所による着色度の変化 (A) 各清酒の着色度の測定値 (B) 熟成前の酸度を1としたときの相対値

### 6) 清酒の味覚変化

各清酒サンプルの味認識装置による分析結果を表2に示す。各味の数値は値が高いほどその味が強いことを示しており、同味覚内での差が0.5以上の場合、ヒトが差を感じ始める目安とされている。また味数値は機器解析法に準じ、酸味では-13、塩味では-6、それ以外では0を無味点とした。表2のように、全ての清酒サンプルで0.5以上の変化は観察されなかった。また、主成分分析結果でも大きな変化は確認されなかった。しかし、塩味に関してはわずかな差が生じていた。清酒における塩味は有機酸塩による「濃醇感」の評価に活用できる可能性が報告されている<sup>6)</sup>。数名による官能評価で味の違いはみられており、この塩味のわずかな差が影響していると推測される。なお、事前試験にて図1のように栓をロウで覆うことで、海水が流入しないことは確認している。

サンプル名	貯蔵期間	貯蔵場所	酸味	苦味	渋味	旨味	塩味	香気	渋味	旨味
純米酒A	0ヶ月	熟成前	-12.86	2.57	0.37	9.20	2.21	0.21	0.22	4.46
		陸上貯蔵	-12.89	2.60	0.45	9.11	1.88	0.18	0.20	4.26
	2ヶ月	海底熟成	-12.86	2.53	0.38	9.14	2.05	0.17	0.21	4.42
		陸上貯蔵	-12.87	2.51	0.35	9.16	2.02	0.14	0.22	4.30
	4ヶ月	海底熟成	-12.88	2.48	0.38	9.20	2.08	0.14	0.22	4.44
		陸上貯蔵	-12.87	2.51	0.35	9.16	2.02	0.14	0.22	4.30
純米酒B	0ヶ月	熟成前	-12.39	2.11	0.39	9.30	2.03	-0.07	0.23	3.36
		陸上貯蔵	-12.41	2.11	0.41	9.23	1.81	-0.06	0.24	3.28
	2ヶ月	海底熟成	-12.48	2.13	0.40	9.25	1.70	-0.04	0.21	3.30
		陸上貯蔵	-12.40	2.12	0.39	9.27	1.88	-0.08	0.24	3.34
	4ヶ月	海底熟成	-12.42	2.08	0.34	9.29	1.99	-0.06	0.23	3.38
		陸上貯蔵	-12.41	2.11	0.41	9.23	1.81	-0.06	0.24	3.28
純米吟醸酒	0ヶ月	熟成前	-13.80	2.43	0.13	9.71	3.05	-0.04	0.21	4.39
		陸上貯蔵	-13.79	2.47	0.16	9.63	2.99	-0.02	0.21	4.30
	2ヶ月	海底熟成	-13.79	2.40	0.14	9.66	2.87	0.00	0.20	4.28
		陸上貯蔵	-13.80	2.41	0.09	9.70	3.03	-0.04	0.21	4.47
	4ヶ月	海底熟成	-13.84	2.44	0.14	9.66	2.73	0.04	0.19	4.52
		陸上貯蔵	-13.80	2.41	0.09	9.70	3.03	-0.04	0.21	4.47
純米大吟醸酒	0ヶ月	熟成前	-11.36	2.15	0.13	8.51	4.61	-0.09	0.21	3.74
		陸上貯蔵	-11.39	2.14	0.18	8.47	4.42	-0.12	0.22	3.67
	2ヶ月	海底熟成	-11.39	2.13	0.16	8.47	4.48	-0.13	0.23	3.64
		陸上貯蔵	-11.38	2.09	0.11	8.49	4.49	-0.19	0.22	3.63
	4ヶ月	海底熟成	-11.43	2.08	0.09	8.53	4.51	-0.15	0.21	3.68
		陸上貯蔵	-11.38	2.09	0.11	8.49	4.49	-0.19	0.22	3.63

表2 清酒の熟成期間・場所による全味覚のまとめ

## ま と め

本研究では2021年11月から2022年3月まで佐伯市の海底で4ヶ月間熟成された4種類の清酒の酒成分を解析した。まず外観では清酒瓶に石灰藻やフジツボなどが付着していた。この付着は

瓶によって異なるため、海底熟成酒の希少性を高める要因の一つとなっている。グルコース濃度とアミノ酸度は一部の海底熟成酒でわずかな変化がみられた。一方、酸度に関しては熟成期間・場所による変化はなかった。また、有機酸に関しては熟成期間・場所により成分が変化していた。これらの変化は、海底熟成が影響しているかもしれないが、変化に法則性がみられず、海底の影響を明らかにするためにはサンプル数を増やし、長期間貯蔵する必要がある。香気成分解析では、吟醸香が熟成期間が長くなるにつれて増加していた。しかし、海底と陸上で大きな差はみられなかった。清酒の香りには吟醸香以外にも様々な成分が関与しているため、それらの詳細な解析が必要である。最後に、味認識装置による分析ではヒトが差を感じ始める目安とされる0.5以上の変化は見られなかった。しかし、塩味でわずかに変化があった。大規模な官能評価は行なっていないが、数名の学生による官能評価では味や香りに海底熟成と陸上保管で違いがあり、今回明らかになった酒成分の変化が官能評価にあらわれていると考えられる。しかし、成分分析と実際の味・香りの関連を明らかにするためには、清酒の官能評価トレーニングを受けた方により官能評価してもらう必要がある。以上をまとめると、2021年度の佐伯市での海底熟成清酒では、酒成分、香りと味覚でも変化が確認され、九州の海でも特徴的な海底熟成酒を開発することができることが示された。

## 謝 辞

海底熟成酒のサンプルを提供していただいた佐伯市鶴見振興局の方々、鶴見地域シングルシード養殖協議会の方々には心より御礼申し上げます。

## 参考文献

1. Philippe Jeandet et al. : Chemical messages in 170-year-old champagne bottles from the Baltic Sea: Revealing tastes from the past. PNAS, 112 : 5893-5898 (2015)
2. Crusoe Treasure <https://www.terre-wine.com/pages/underwaterwine>
3. SUBRINA <https://subrina.jp>
4. 八海醸造株式会社 <https://www.hakkaisan.co.jp/vision/story/>
5. 国税庁所定分析法 3
6. 豊田健太郎ら：味覚センサーを用いた清酒の後味評価 *J. Brew. Soc. Japan.*, 111 : 49-58 (2016)

