

チオール化合物の主要な前駆体 「ジスルフィド結合型チオール」の 麦芽およびホップ中における発見

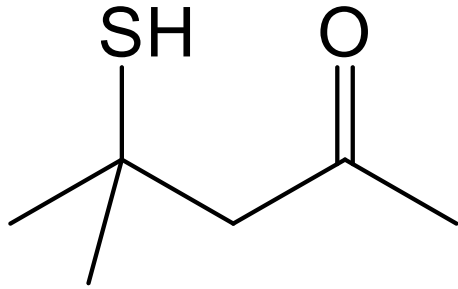
— 第67回 香料・テルペンおよび精油化学に関する討論会 —

岸本 徹

独立行政法人酒類総合研究所

低分子チオール化合物の例

・ 4-mercapto-4-methylpentan-2-one (4MMP)

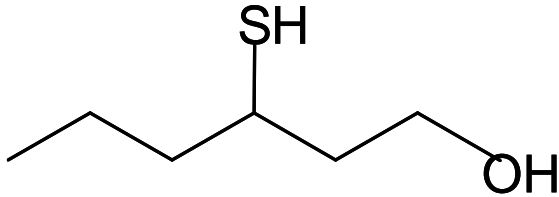


・ 弁別閾値(ビール中): **1.5 ng/L**

・ 含有: ビール、ワイン、緑茶、グレープフルーツ

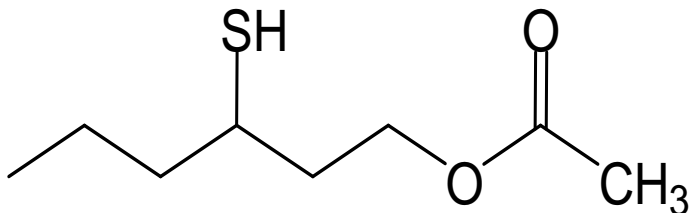
・ 香調: フルーティ、マスカット様、catty

・ 3-mercaptohexanol (3MH)



弁別閾値: **55.0 ng/L**

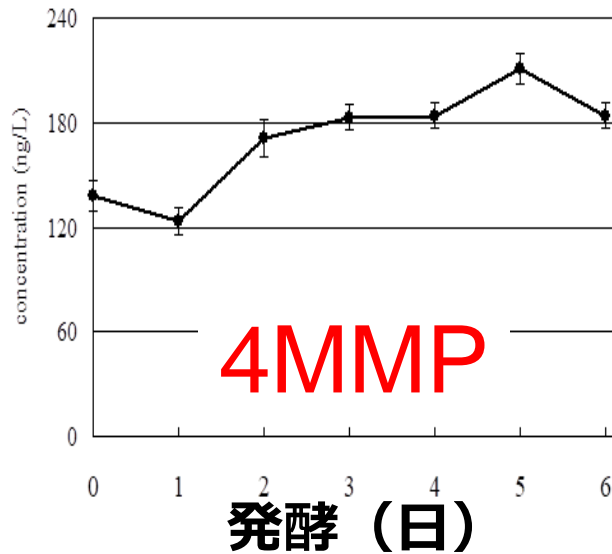
・ 3-mercaptohexyl acetate



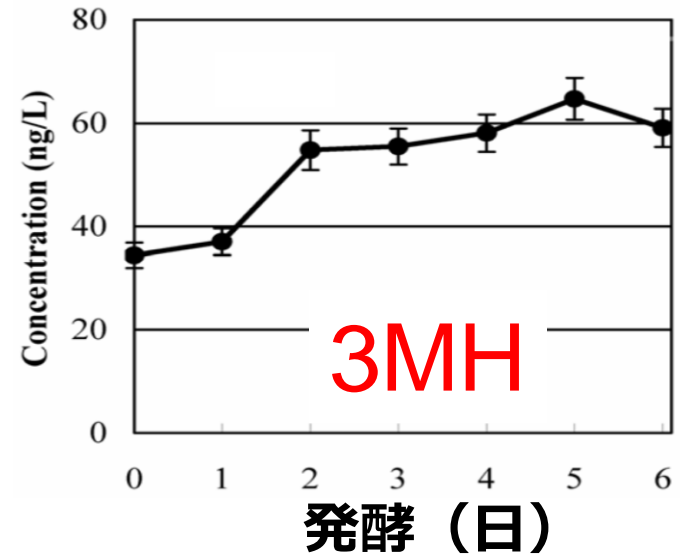
弁別閾値: **5.0 ng/L**

“発酵中に前駆体から生成してくる”

•ビール: 発酵中に増加



Kishimoto et.al *J. Agric. Food Chem.*, (2008)

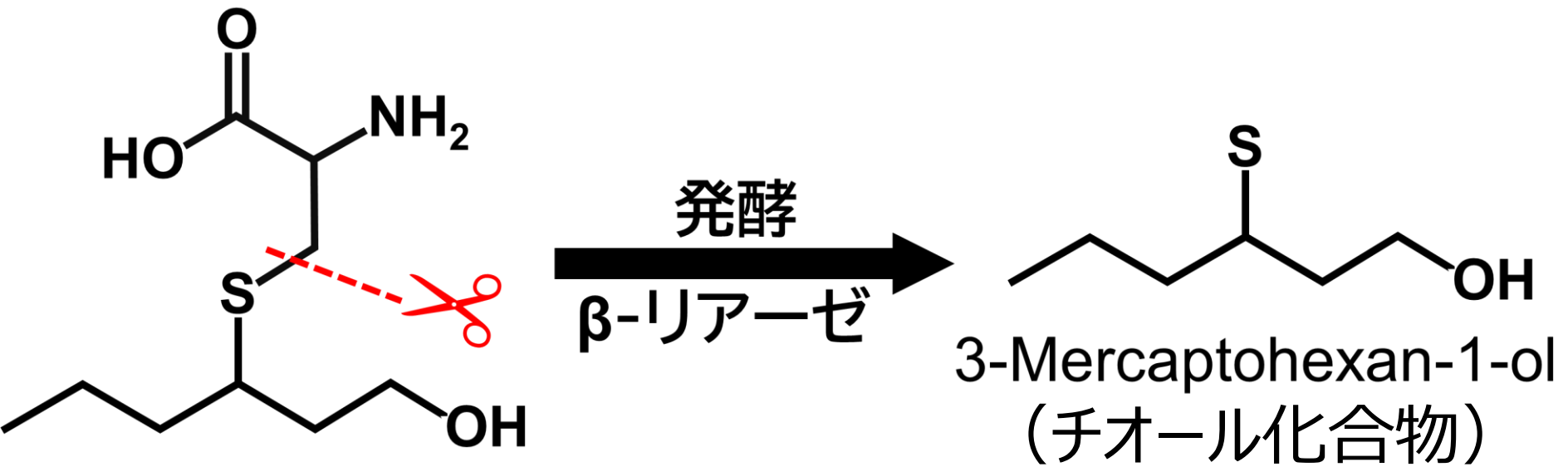


Kishimoto et.al *J. Am. Soc. Brew. Chem.* (2008)

•ワイン

チオール化合物はワインに含まれるが、ブドウ果汁中ではほとんど検出されない。

世界中で受け入れられてきた 主要な前駆体



※ Tominaga *et al.* A new type of flavor precursors in *Vitis vinifera* L. cv. Sauvignon Blanc: S-cysteine conjugates. *J. Agric. Food Chem.* **1998**, 46, 5215–5219.

“これが本当に**主要な**前駆体なのか？”

“これが本当に**主要な**前駆体なのか？”

前駆体濃度と発酵後の遊離型チオール濃度が比例しない。(比例するという報告が全くない)

※ Capone *et al.* Analysis of precursors to wine odorant 3-mercaptohexan-1-ol using HPLC-MS/MS: resolution and quantitation of diastereomers of 3-*S*-cysteinylhexan-1-ol and 3-*S*-glutathionylhexan-1-ol. *J. Agric. Food Chem.* 2010, 58, 1390–1395.

寄与そのものがほとんどない。

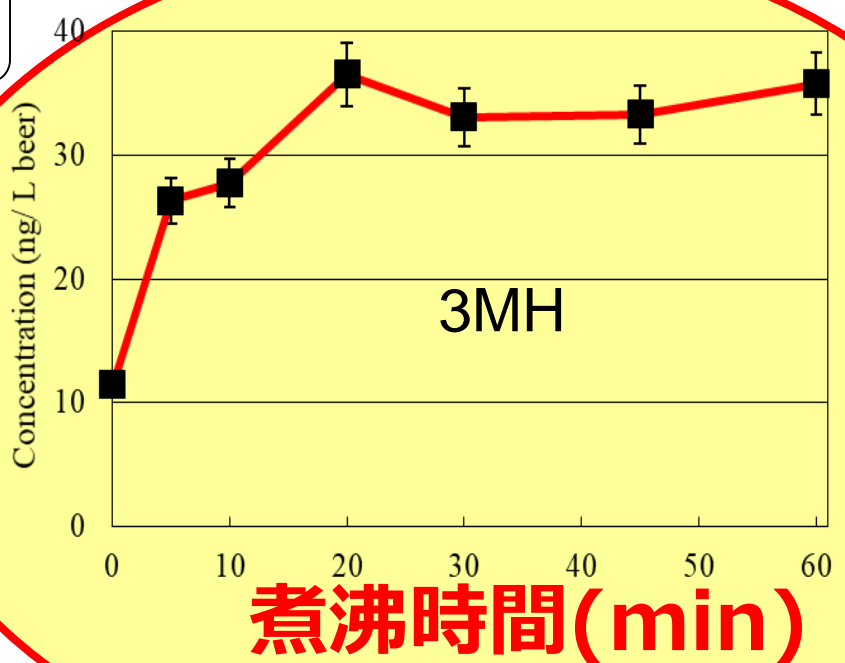
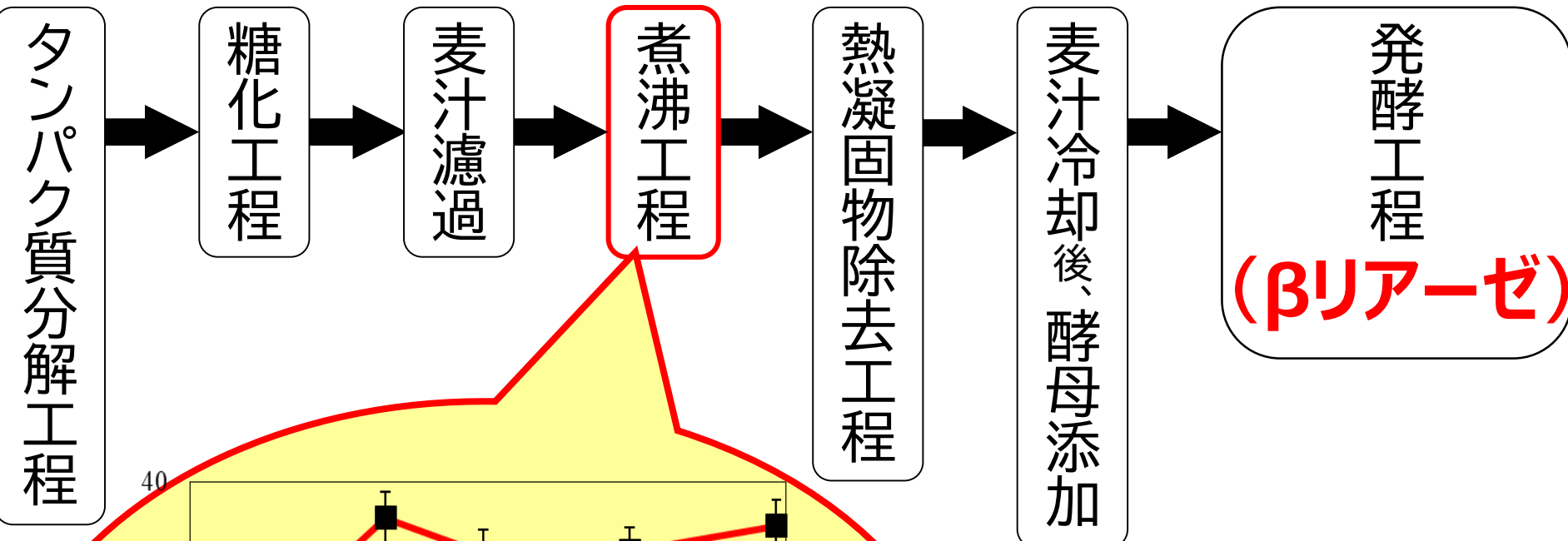
「"アミノ酸抱合体 + β リアーゼ” の寄与は、発酵中の全増加量の**3~8%**にすぎない」(ワイン・ビール)

※ Subileau *et al.* New insights on 3-mercaptohexanol (3MH) biogenesis in sauvignon blanc wines: Cys-3MH and (*E*)-hexen-2-al are not the major precursors. *J. Agric. Food Chem.* 2008, 56, 9230–9235.

※ Michel *et al.* Screening of brewing yeast β -lyase activity and release of hop volatile thiols from precursors during fermentation. *Brewing Science* 2019, 72,179–186.

決定的な根拠(事象)は次頁 ↓ ↓ ↓

(ビールの製造工程)



Kishimoto, J. Am. Soc. Brew. Chem. (2008)

**煮沸工程で
顕著に増加！**

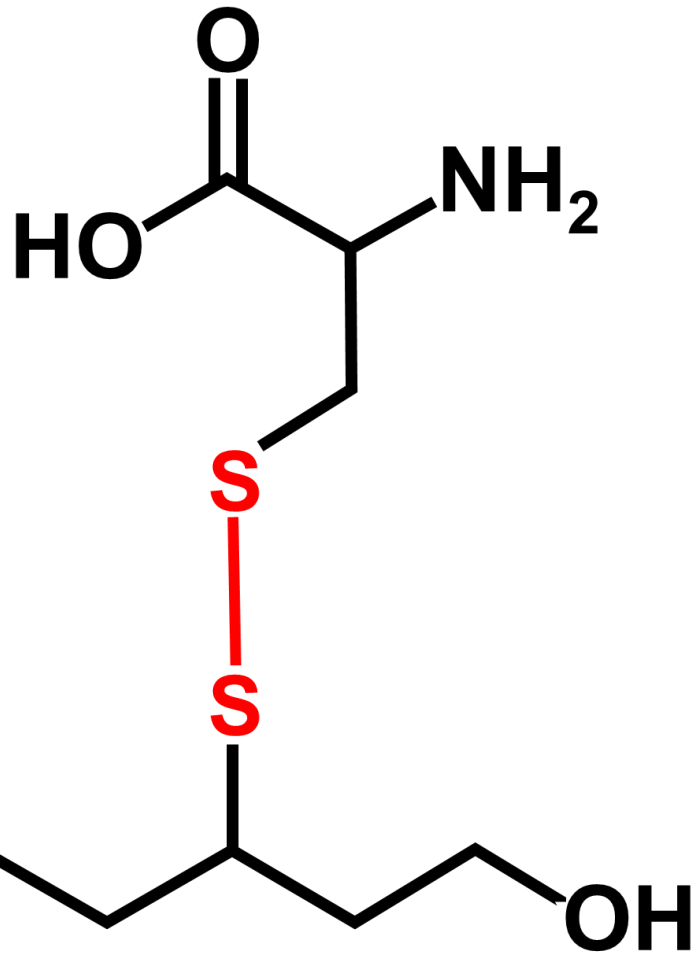


別の結合様式が存在

目的：**主要な**前駆体を見出す

可能性

ジスルフィド結合体



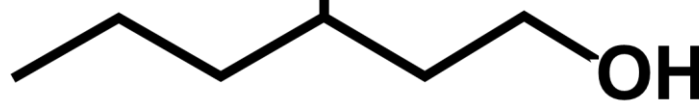
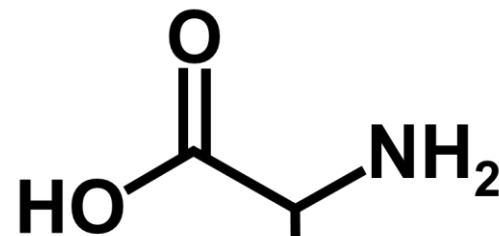
・ -SH基の**一般的な**結合様式

・麦、大豆タンパク質にも非常に多く含まれる

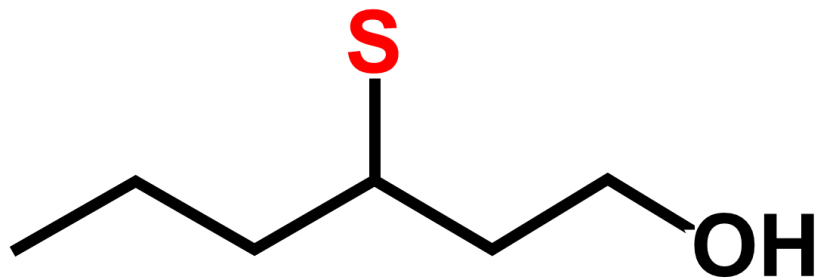
・生体のタンパク質3次元構造の構成等には欠かせない結合

存在の確認方法

ジスルフィド結合の還元

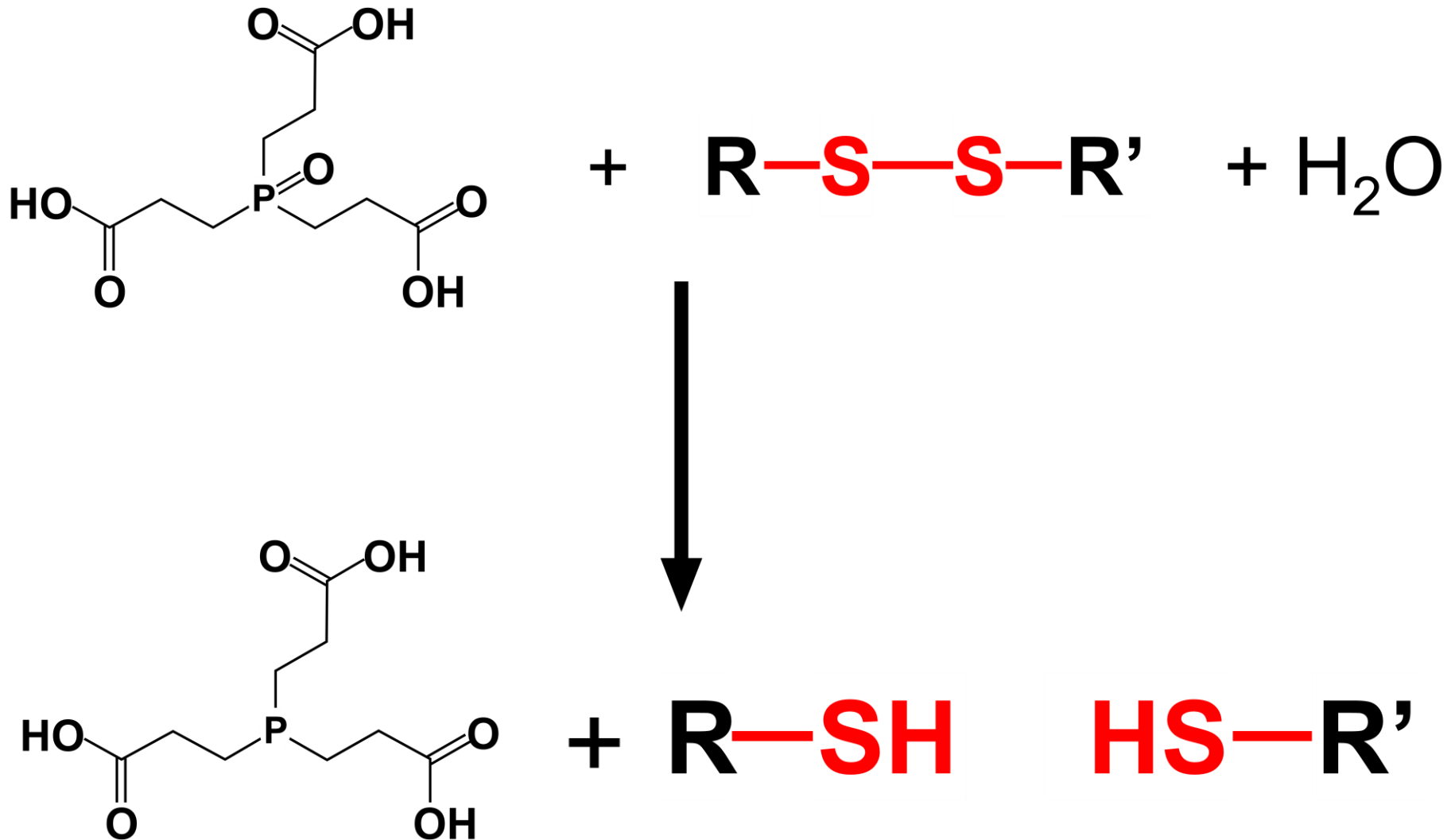


遊離型チオールが増加



ジスルフィド結合特異的還元剤

Tris(2-carboxyethyl)phosphine (TCEP)



指標

遊離型 **3-mercaptohexan-1-ol (3MH)**

・3MHは麦芽にもホップにも含まれる。

cf) 4MMPなどはホップのみに含まれる。

3MH の定量

100 mL サンプル(内部標準: 3MH-d5)



香気成分の抽出: 30 mL 酢酸エチル



MetaSEP IC-**Ag** column に酢酸エチル層をチャージ

*Takazumi et. al. *Anal. Chem.* 2017, 89, 11598



システイン溶液にて溶出



GC (Agilent 8890)

DB-WAX UI column (30 m length × 0.25 mm inner diameter; film thickness = 0.25 μm)



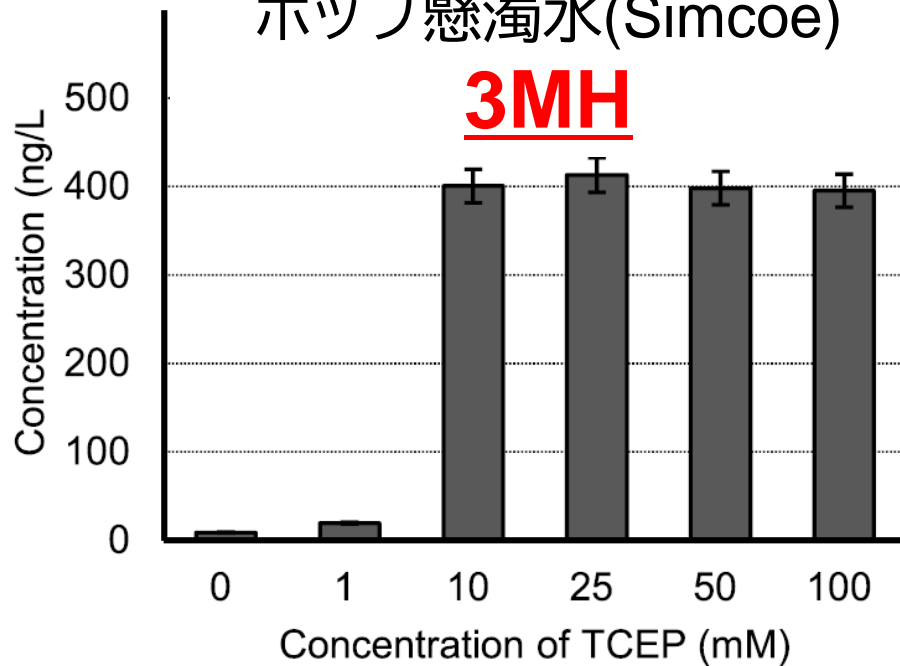
MS Triple Quad system (Agilent 7000D)

- electron ionization (EI)
- multiple reaction monitoring (MRM) mode

TCEP 添加濃度の検討

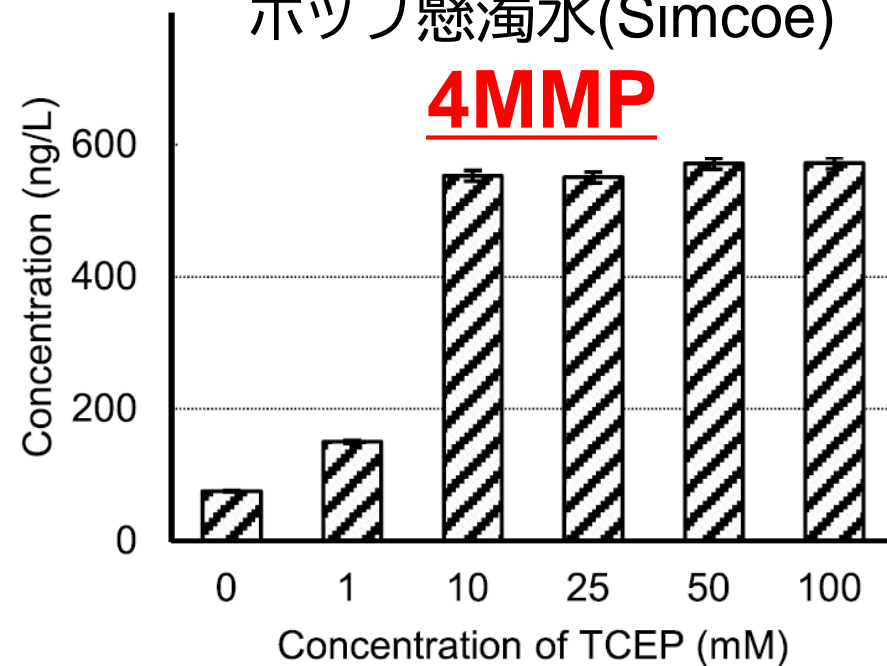
ホップ懸濁水(Simcoe)

3MH



ホップ懸濁水(Simcoe)

4MMP



シンプルなサンプル

ポイント: ホップ, 麦芽中のS-S結合の存在を
個別に調べるため

ホップ懸濁水



品種: Citra



10g/L水

ホップ懸濁水



品種: Simcoe



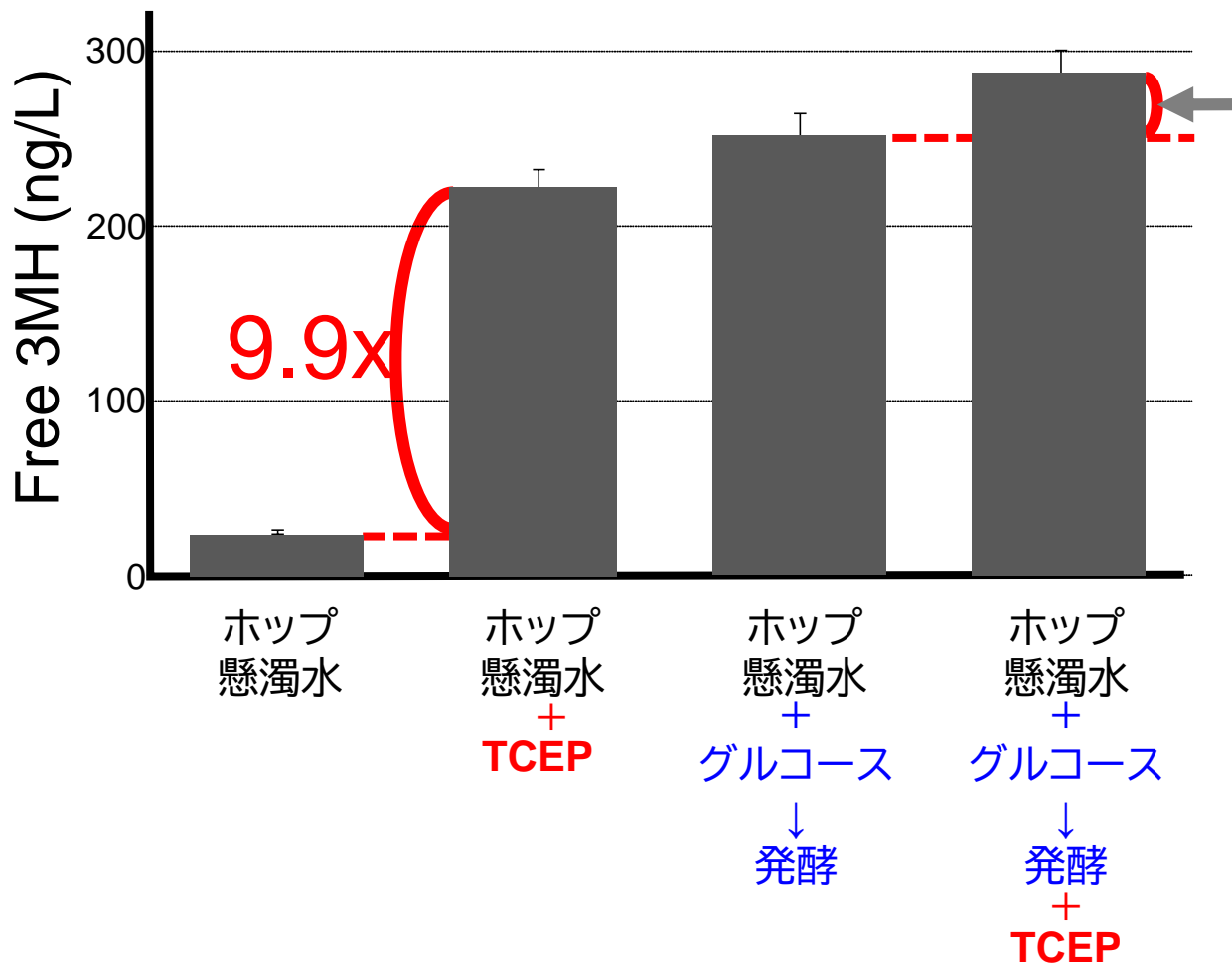
10g/L水

麦汁

ホップ無添加



Citra[®]



わずか量しか
増加しない

※意味すること
S-S 結合が発酵中に
既に還元されている。

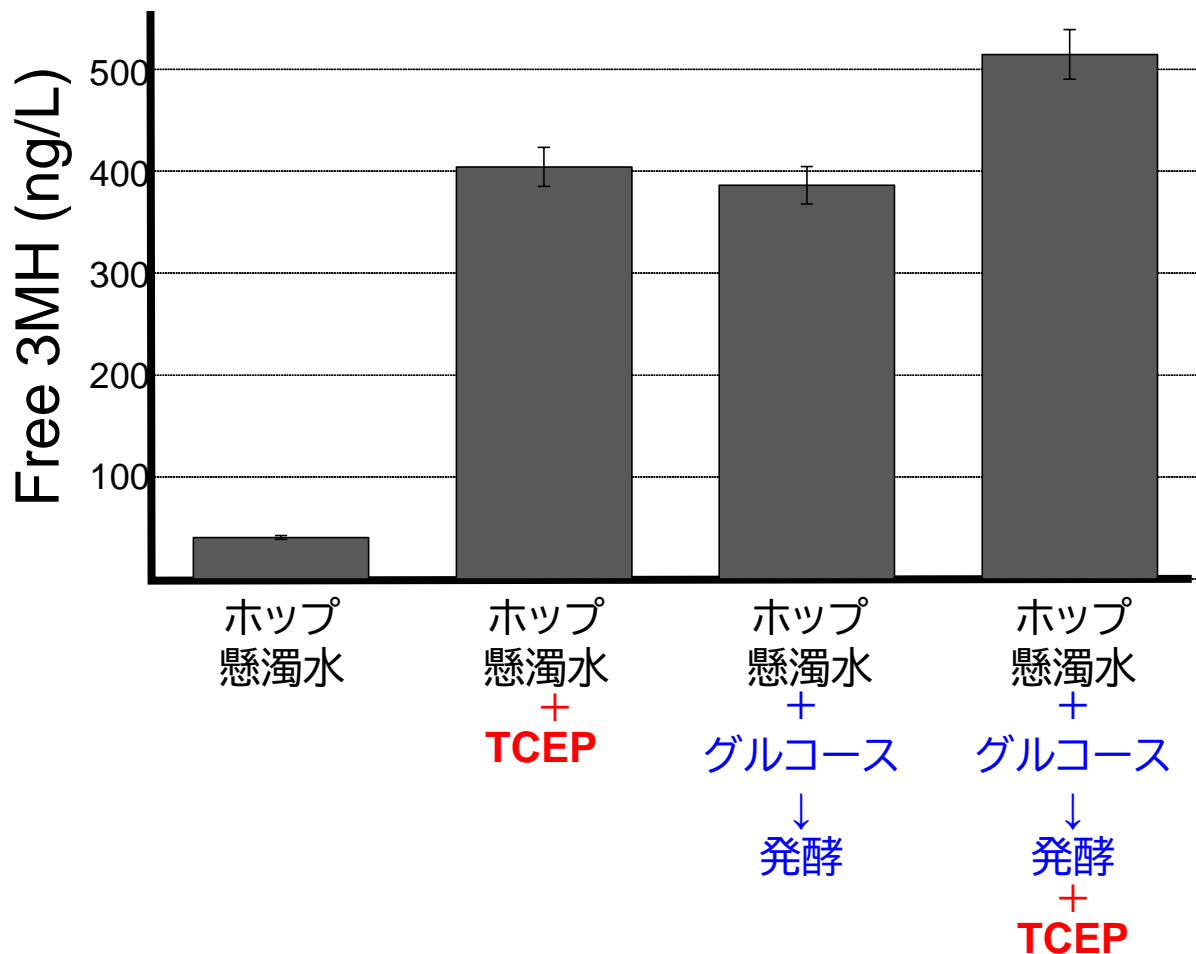
発酵中における
還元率(試算値)

82.4%

発酵中の3MH
全増加量に対する
寄与率(試算値)

71.4%

Simcoe®



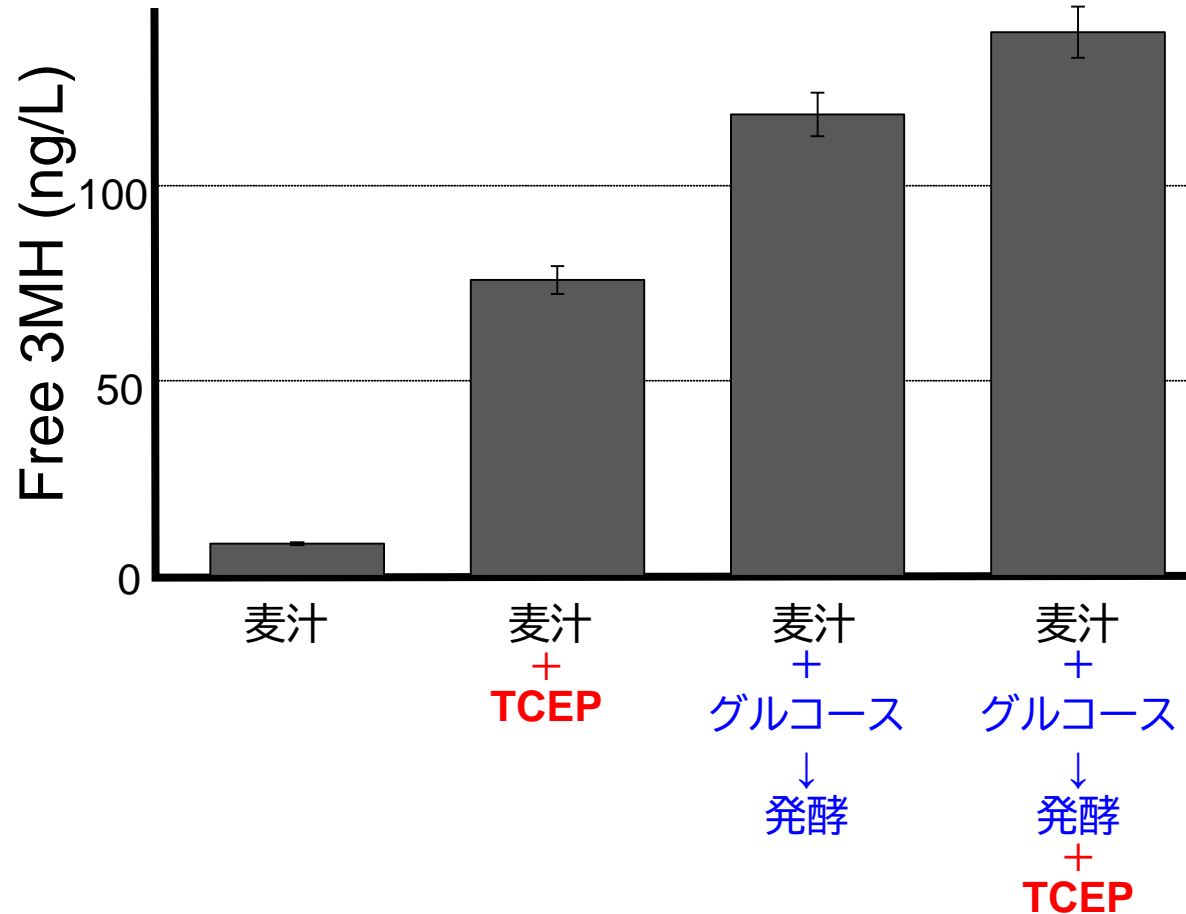
発酵中における
還元率(試算値)

64.7%

発酵中の3MH
全増加量に対する
寄与率(試算値)

68.0%

ホップ^o無添加麦汁



発酵中における
還元率(試算値)

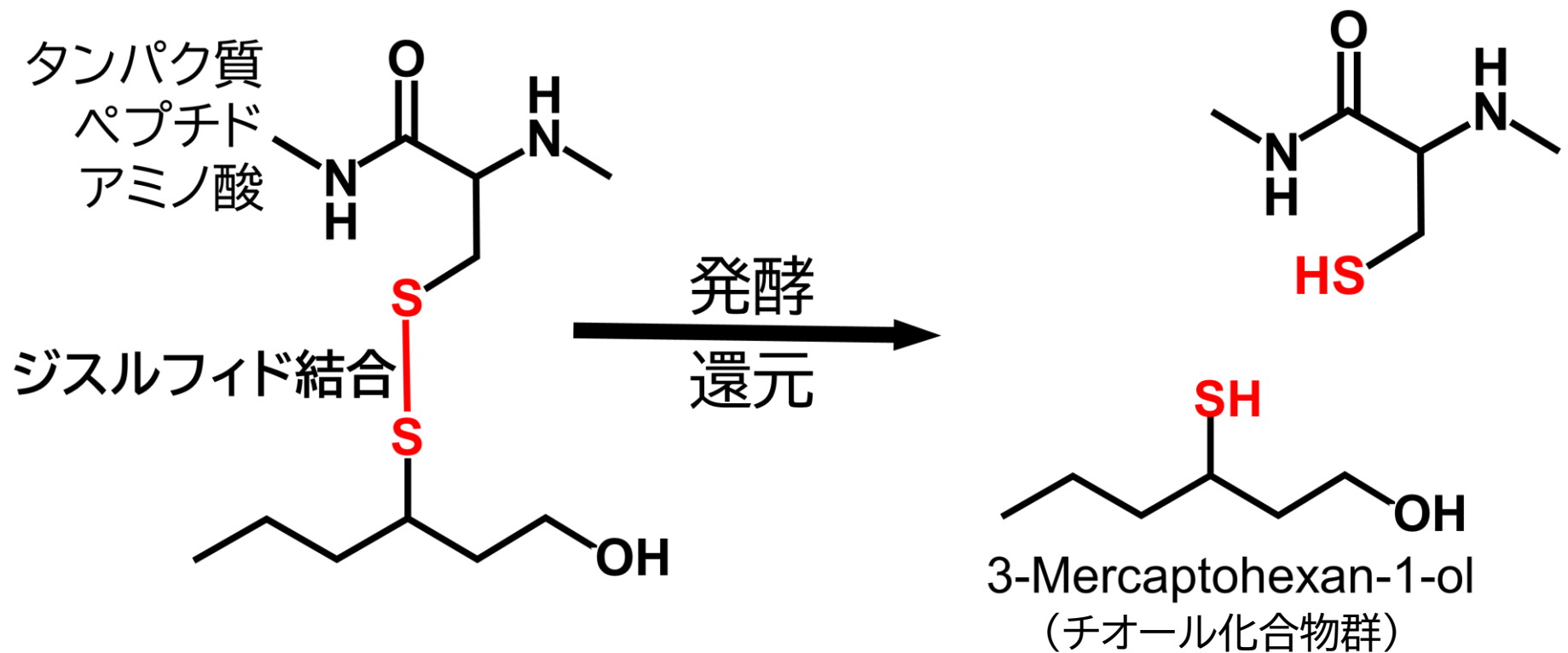
68.7%

発酵中の3MH
全増加量に対する
寄与率(試算値)

42.2%

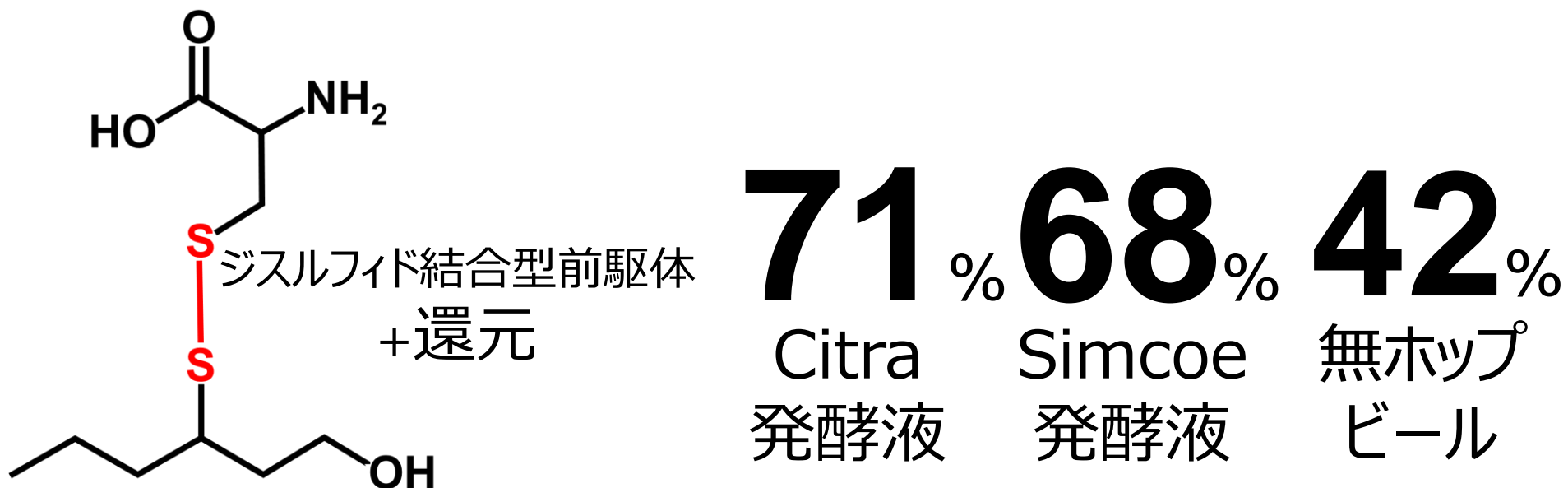
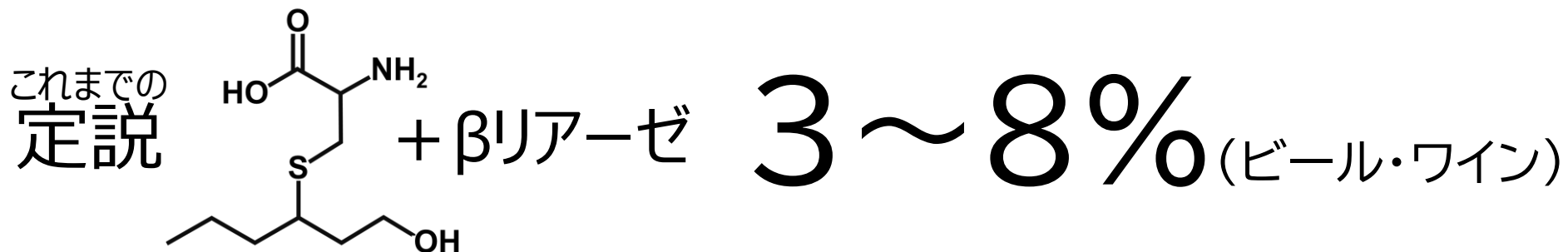
まとめ:

麦汁冷却工程以降にホップを添加したとき 示唆される前駆体と遊離の仕組み



まとめ

発酵中の**全増加量**に占める寄与度(%)



ご清聴ありがとうございました