SHIMADZU
Excellence in Science

Application News

No. A622

光吸収分析

紫外可視分光光度計を用いた ビールの色度・苦味価・ジアセチルの測定

アルコール飲料の中でビールは人気が高く、昨今ではクラフトビールなど多様で個性的なビールも多く発売され、市場は賑わいを見せています。これらビールの品質が一定であることを証明するためには、官能評価に加えて、様々な分析装置を用いての評価が有効です。

紫外可視分光光度計はビール分析に有用な装置の一つです。ビール官能評価の国際基準法には、ASBC（American Society of Brewing Chemists）と EBC（European Brewery Convention）が定めた方法があり、日本でも大手ビール製造メーカーを中心とした国際技術委員会（BCOJ：Brewery Convention of Japan）が、ビールに関する分析法を制定しています。

ASBC の方法では、12 の検査項目のうち、色度（Beer-10）と苦味価（Beer-23）については紫外可視分光光度計を用いて検査する、となっています。また、紫外可視分光光度計を用いることにより、ビールに含まれるジアセチルや鉄分、ポリフェノールなども分析することが可能です。

ここでは、紫外可視分光光度計 UV-1900i を用いて、市販されているビールの色度、苦味価、ジアセチルの測定をしましたので、ご紹介します。

K. Kawahara, K. Maruyama

■測定試料（色度と苦味価）

市販されているビール 4 種類を用意し、色度と苦味価を測定しました。測定試料の外観を図 1 に、各試料の詳細を表 1 に示します。

図 1　測定試料の外観

表 1　測定試料の種類と特長

	種類	特徴
A	ベルジャン ホワイト	色が非常に淡く、スパイシーな酸味がする。サッパリとした味わい。
B	ピルスナー	世界で最も普及している種類。大手メーカーの主要ビールもこの種類。黄金色。
C	インディアン ペールエール	ホップを多く使用するため香りと苦味が強い。アルコール度数も高め。
D	ペールエール	金色～銅色。豊かな香りが特徴。

■色度

ビールの色はホワイトエールと呼ばれる淡色のものから、スタウトのような黒系のものまで様々な色合いがあります。ビールの色の強さを表す単位として、ASBC で定められている SRM 法（Standard Reference Method）、または EBC で定められている EBC 法（European Brewery Convention）が使用されます。これらの規格では単一波長の吸光度を用いて値を算出します。各規格での色の参考図を図 2 に示します。

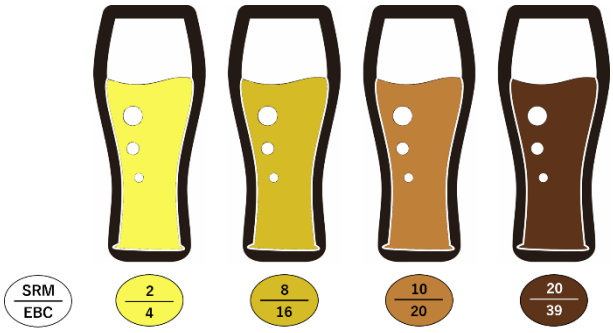

図 2　SRM と EBC の色の参考図

UV-1900i を用いて、図 1 に示すビール 4 種類の色度を測定しました。測定方法は「METHODS of the ASBC, Method Beer-10A」[1] と「BCOJ ビール分析法、8.15 苦味価」[2] を参考にしました。測定のフローチャートを図 3 に、測定装置を図 4 に示します。色度計算には 430 nm における吸光度値を用いますが、濁りの確認のために 700 nm における吸光度値も測定します。

◆色度測定のフローチャート

1) セルに蒸留水を入れ、ベースライン測定を行う。
↓
2) セルに脱気処理したビールを入れ、430 nmと700 nmにおける吸光度値を測定する。
↓
3) それぞれの吸光度値を光路長1/2インチの吸光度値（$A^{1/2}$）に換算する。
換算式 $A^{1/2}$ ＝ 1.27×（光路長10 mmの吸光度値）
↓
4) 700 nmにおける吸光度値が430 nmにおける吸光度値に0.039を乗じた値以下であることを確認する。
（値が超える場合はろ過や清澄化する）
↓
5) SRM単位＝ 10×希釈率× $A^{1/2}$、430 nm （式1）
EBC単位＝ SRM単位×1.97 （式2）

注意：実際に測定される際には必ずASBCとBCOJを参照してください。

図 3 色度測定におけるフローチャート

図 4 紫外可視分光光度計 UV-1900i

各試料の 430 nm と 700 nm における吸光度値と、式 1 または式 2 で計算される SRM/EBC の測定結果を表 2 に示します。D はビール中に濁りが見られたため、溶液をろ過した後に測定を行いました。図 1 の外観から、A、B、C、D の順番で色が濃くなりますが、SRM 値または EBC 値も A、B、C、D の順番に値が増加しました。

表 2 各試料の色度測定結果

試料名	吸光度値 430 nm	吸光度値 700 nm	SRM 値	EBC 値
A	0.310	0.008	3.9	7.7
B	0.482	0.008	6.1	12.1
C	0.725	0.013	9.2	18.1
D	1.078（ろ過後）	0.051（ろ過後）	13.7	27.0

ビールの色は、今回紹介した単一波長測定の他に三刺激値で表す方法もあります。三刺激値を求める方法では可視領域の透過スペクトルを測定後、CIELAB 法で定められる L*、a* および b*を求めます。この方法では、単一波長法では得られない色に関する情報を得ることが可能です。

苦味価

苦味はビールの味を決める主要な成分の一つで、香り付けに使われるホップに由来します。ホップを沸騰させるとホップの花からα酸が抽出され、イソα酸に変換されます。このイソα酸がビールの苦味成分となります。

苦味価の測定では、各試料の国際苦味単位（IBU）を求めます。この手法はビール中に含まれる苦み成分を溶媒溶出し、275 nm における吸光度値を測定する方法です。

UV-1900i を用いて、図 1 に示すビール 4 種類の苦味価を測定しました。測定方法は「METHODS of the ASBC, Method Beer-23A」[3] を参考にしました。測定のフローチャートを図 5 に示します。

◆苦味価測定のフローチャート

1) 10℃に冷却した脱気処理したビール10.0 mLを50 mL容量の遠沈管に入れる。
↓
2) 少量のオクチルアルコールを添加する。
↓
3) 3 mol/L塩酸1 mLとイソオクタン20 mLを加える。
↓
4) 遠沈管を振とう器を用いて15分間振とうする。
↓
5) 3000 rpmで5分間遠心分離を行い、イソオクタン層を取り出す。
↓
6) イソオクタン層を10 mmセルに取り、275 nmにおける吸光度値を測定する。
(ベースライン測定では純粋なイソオクタンを用いる)
↓
7) 下記式を用いて苦味価（IBU）を算出する。
IBU＝50×（275 nmにおける吸光度値）

注意：実際に測定される際には必ずASBCを参照してください。

図 5 苦味価測定におけるフローチャート

各試料の苦味価の測定結果を表 3 に示します。C が最も数値が高く、A が最も数値が低い結果となりました。C のインディアペールエール（IPA）はホップを大量に使うため、香りと苦味が強いビールになります。測定結果においても他の試料と比べると最も苦味価が高いことがわかりました。

表 3 各試料の苦味価測定結果

試料名	吸光度値 275 nm	苦味価（BU）
A	0.253	12.5
B	0.661	33.0
C	1.146	57.5
D	0.838	42.0

■ジアセチル

ビール本来のおいしさを損なう不快な香りをオフフレーバー[4]と呼び、ビール中に含まれるジアセチルと2,3-ペンタンジオン（総称して vicinal diketone：VDK）量が多いと、この不快なオフフレーバーが発生することが知られています。VDKは、ビール中に一定量以上存在すると、バタースコッチと呼ばれる香りが付着します。しかしながら、このVDKは、酵母存在下では脱水素酵素により還元され無臭化されます。このため、ビールの製造工程では、発酵過程が終了した後、VDKを酵母に消費させる熟成過程を必要とします。したがって、発酵過程終了後のVDK濃度チェックは、ビールの風味にとって非常に重要と言えます[5]。

VDKの評価は主に官能評価により行われていますが、前処理を行うことで、紫外可視分光光度計でもVDKの一部であるジアセチルの定量分析が可能です。

今回、発酵過程終了後のビールを5種類用意し、時間経過に伴うジアセチル量の濃度変化をUV-1900iを用いて測定しました。測定方法は「METHODS of the ASBC, Method Beer-25C」[6]を参考にしました。測定のフローチャートを図6に示します。

◆ジアセチル測定のフローチャート

［試薬調製］

A リン酸水素二カリウム水溶液
K_2HPO_4 33 gを水100 mLに溶解する。

B 塩酸ヒドロキシルアミン水溶液
$NH_2OH \cdot HCl$ 11 gを水250 mLに溶解する。

C 酢酸ナトリウム水溶液
CH_3COONa 35 gを水100 mLに溶解する。

D ヒドロキシルアミンアセテート緩衝液
A : B : C=2 : 4 : 1の割合で混合する。

E アセトン-リン酸水素二カリウム
無水K_2HPO_4 29 gを水に溶かし、アセトンを40 mL加え、全量200 mLになるよう水を加える。

F 酒石酸水酸化アンモニウム水溶液
酒石カリウムナトリウムの飽和水溶液12 mLと濃アンモニア水3 mLを混合する。

G 硫酸第一鉄水溶液
$FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 5 gを1 %H_2SO_4 100 mLに溶解する。

H ジアセチル標準液
濃度500 mg/Lの水溶液とし、暗所で保存する。

［測定手順］

1) 脱気処理したビール30 mLを試料用試験管に入れる。
↓
2) 試薬D 1 mLをトラップ用試験管に入れ、試料用試験管とチューブで繋ぐ。
↓
3) N_2ガスの流量を100～150 mL/minに設定し、試料用試験管に流す。
↓
4) 試料用試験管のみを65 ℃の水浴に入れ、1.5時間ほど通気する。
↓
5) 通気後、トラップ用試験管を取り出し、70～80 ℃の水浴で10分間加熱し、温かいうちに試薬E 0.5 mLを加える。
↓
6) 冷却後、試薬F 1.5 mLを加えて混合し、さらに試薬G 0.1 mLを加えて混合し、全量が5 mLになるよう試薬Aを加える。
↓
7) 混合後、2～3分後に530 nmにおける吸光度値を測定する。

［標準試料］

試薬Hを用いて、濃度0.5, 1.0, 1.5, 3.0, 4.0 mg/Lの標準試料を調製する。試薬D 1mLに標準試料1 mLを加え、上記測定フローの5)～7)と同様の手順で測定する。

注意：実際に測定される際には必ずASBCを参照してください。

図6 ジアセチル測定におけるフローチャート

標準試料の測定結果を表 4 に、検量線を図 7 に示します。また、各試料のジアセチルの測定結果を表 5 に示します。発酵過程終了後の期間が長くなるに従い、ジアセチルの濃度が減少し、ボトリング前の濃度が最も低くなることがわかりました。これより、発酵過程終了後、熟成期間を十分に設けることが、ビール中のジアセチル量減少のためには必要であると言えます（一般的には、発酵温度とほぼ同じ温度で、7～10 日間熟成させます[5]）。

表 4　標準試料の測定結果

試料濃度（mg/L）	吸光度値 530 nm
0.5	0.004
1.0	0.007
1.5	0.013
3.0	0.026
4.0	0.032

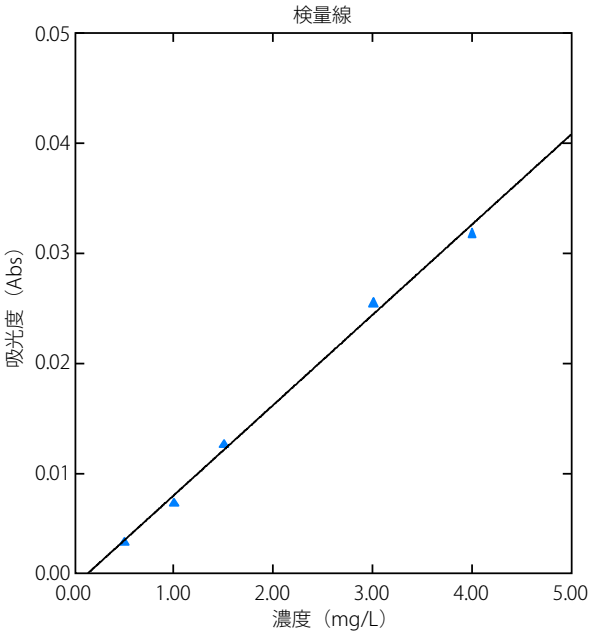

図 7　標準試料の検量線

表 5　各試料のジアセチル測定結果

主発酵終了後の期間	吸光度値 530 nm	試料濃度（mg/L）
4 日目	0.023	2.81
5 日目	0.019	2.30
7 日目	0.015	1.90
ボトリング前	0.007	0.74

■まとめ

UV-1900i を用いてビールの色度、苦味価、ジアセチル濃度を求めました。これらの数値はビールの品質を保つために非常に重要な指標です。紫外可視分光光度計を用いることで、様々なビールの指標を定量的に評価することが可能になります。

<謝辞>
本測定を行うにあたり、ご協力いただいた有限会社 二軒茶屋餅角屋本店（伊勢角屋麦酒）鈴木成宗社長、佐々木基岐氏に感謝いたします。

<参考文献>
1) American Society of Brewing Chemists, St. Paul, ASBC Methods of Analysis, Beer 10A, (1958, rev. 1975)
2) ビール酒造組合『改定　BCOJ ビール分析法』公益財団法人日本酒造協会, 8.15 苦味価（2013）
3) American Society of Brewing Chemists, St. Paul, ASBC Methods of Analysis, Beer 23A, (1968, rev. 1975)
4) 鈴木成宗「発酵野郎！世界一のビールを野生酵母でつくる」新潮社（2019）
5) 岸本徹「ビールのオフフレーバーに関する近年の知見」J. Japan Association on Odor Environment Vol. 44, No. 1, P.13-20 (2013)
6) American Society of Brewing Chemists, St. Paul, ASBC Methods of Analysis, Beer 25C, (1964, rev. 1987)

株式会社 島津製作所　分析計測事業部
グローバルアプリケーション開発センター
初版発行：2020 年 6 月
島津コールセンター　0120-131691
(075) 813-1691

※本資料は発行時の情報に基づいて作成されており、予告なく改訂することがあります。
改訂版は下記の会員制 Web Solutions Navigator で閲覧できます。
https://solutions.shimadzu.co.jp/solnavi/solnavi.htm
会員制情報サービス「Shim-Solutions Club」にご登録ください。
https://solutions.shimadzu.co.jp/
会員制 Web の閲覧だけでなく、いろいろな情報サービスが受けられます。