

食肉の風味に寄与する香気成分 分析法の確立

2017年3月29日

○岸本 徹¹・ 上田 修司²・ 岩本 英治³

(¹旧所属:アサヒビール酒技研・ ²神戸大院農・ ³兵庫農技総セ)

背景と目的

“食のおいしさ”への取組

風味に寄与する香気成分の解析

黒毛和種牛肉の官能上の特徴差の調査

サンプルA：「濃厚な甘い香り」「まろやか」



サンプルB：上記の特徴を有しない 黒毛和種牛肉

サンプルC： // ホルスタイン

分析サンプル（赤身）

（サンプル提供：兵庫県立農林水産技術総合センター）



サンプルA（黒毛和種）



サンプルB（黒毛和種）



サンプルC（ホルスタイン）

官能評価による風味の確認

A (黒毛和種)

- ・ 甘い香り (2)
- ・ 味が濃い(2)
- ・ マイルド(2)
- ・ キレ悪い
- ・ 香ばしい
- ・ ミルク様の香
- ・ 濃厚な甘さ
- ・ 味の厚み・コク
- ・ 脂と甘味の調和、
- ・ もったり

B (黒毛和種)

- ・ コク(2)
- ・ 脂の匂いが強い
- ・ すっきり(2)
- ・ 脂の生臭さ
- ・ 甘みが少ない
- ・ もったり
- ・ 味は薄め

C (ホルス)

- ・ 醤油
- ・ 甘辛い、
- ・ 香ばしい
- ・ ふくらみがない
- ・ 堅い
- ・ 脂の甘味がない
- ・ 味が少ない

パネリスト N=5

加熱 & 香気抽出方法

- ① サンプル 50g
- ② 沸騰した蒸留水500ml 中に投入
- ③ 30秒間煮沸
- ④ 氷冷
- ⑤ そのままミルで粉碎し懸濁
- ⑥ 懸濁液に500mlのジクロロメタンを加え、
攪拌しながら室温で一晩抽出。

ポイント

- ・食の風味には、油脂のみならず、糖やアミノ酸由来の高極性の香気成分群が寄与している。
- ・高極性成分を効率的に抽出するために、抽出溶媒としてジクロロメタンを用いた。
- ・実際に、ペンタン、エーテルでの抽出に比べ、元の香味特徴（風味）を効率的に抽出（再現）できていた。

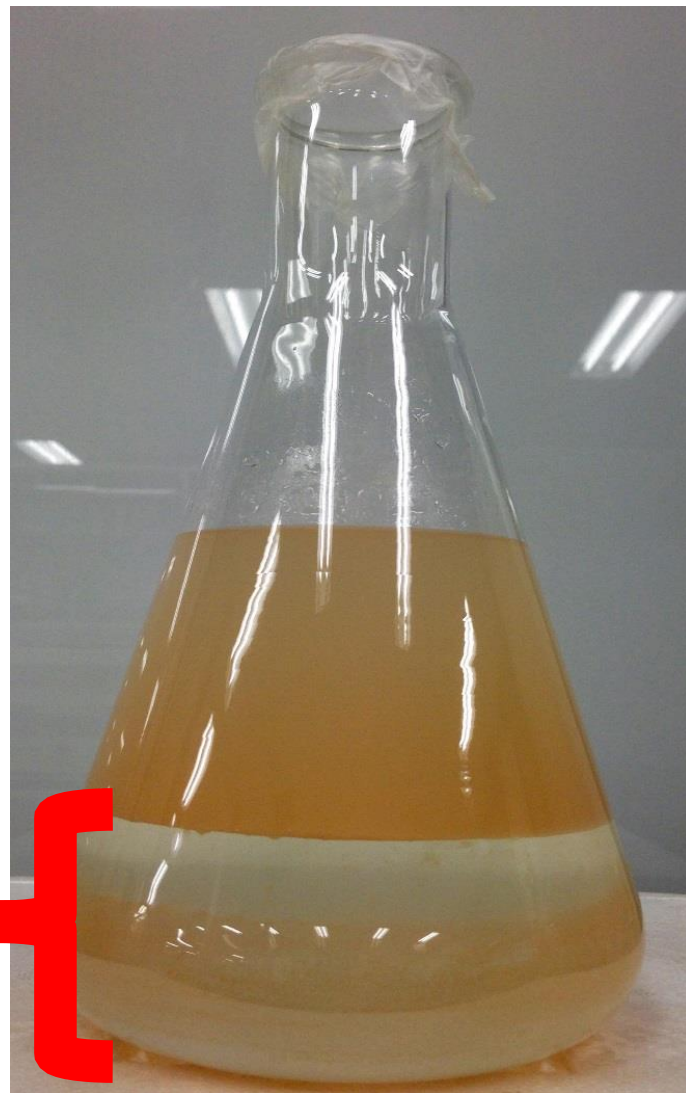


ガーゼ濾過



(溶媒抽出中)

**ジクロロメタン層
(下層・500ml)**



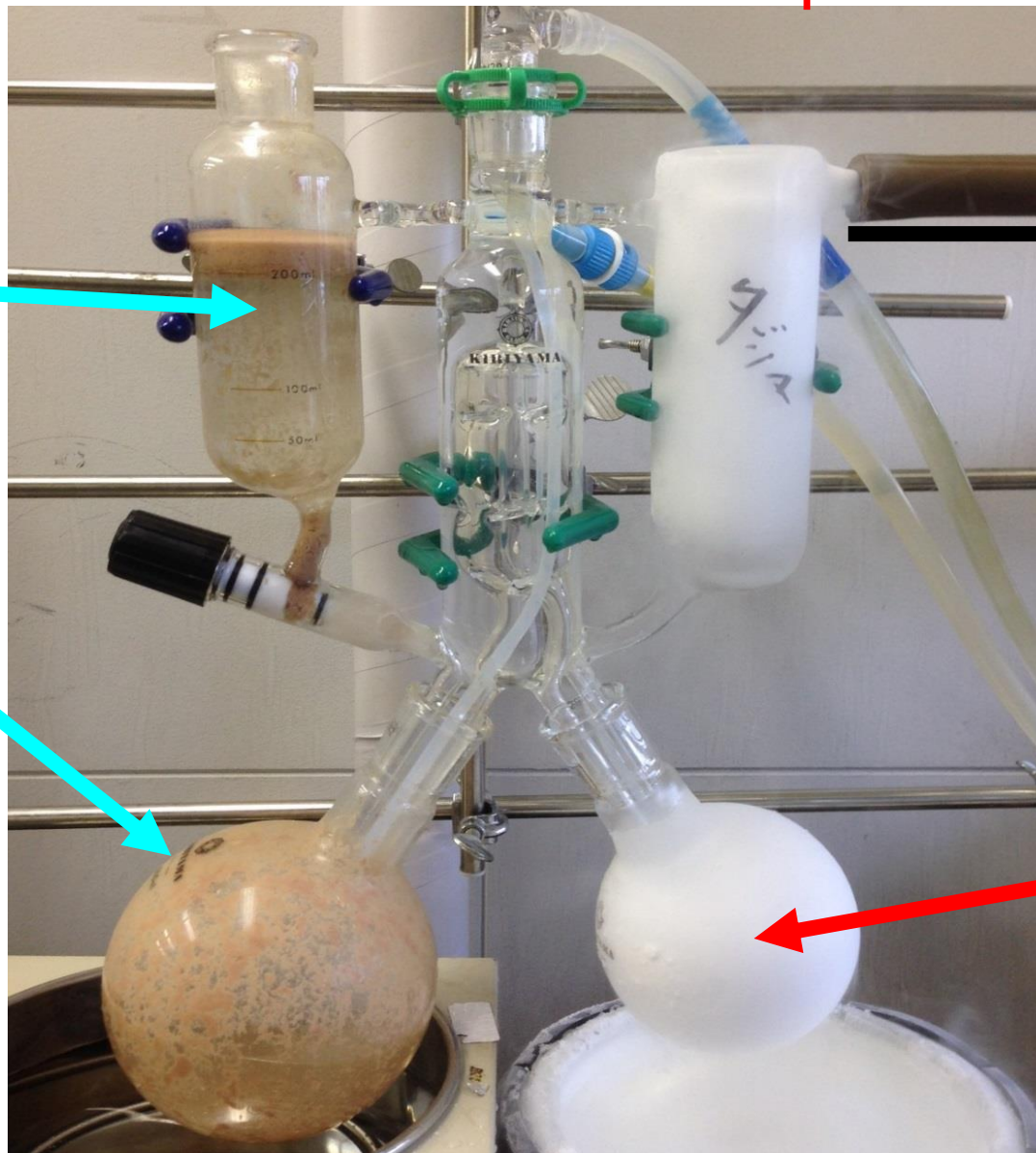
ポイント

- ・ジクロロメタン層には不揮発性油脂が多く含まれているために、
- ・このまま、ジクロロメタン層のみを濃縮すると、「油脂のかたまり」となる。
- ・不揮発性油脂を除くために、必ず、抽出溶媒の蒸留工程が必要。
- ・蒸留の中でも、蒸留サンプルに熱負荷を与えない「Solvent Assisted Flavor Evaporator(SAFE)」が最も有効。
※抽出・蒸留工程中に熱負荷を与えると、食肉の風味は一気に変化してしまう。

蒸留

Solvent Assisted Flavor Evaporator (SAFE)

赤身溶媒抽出液



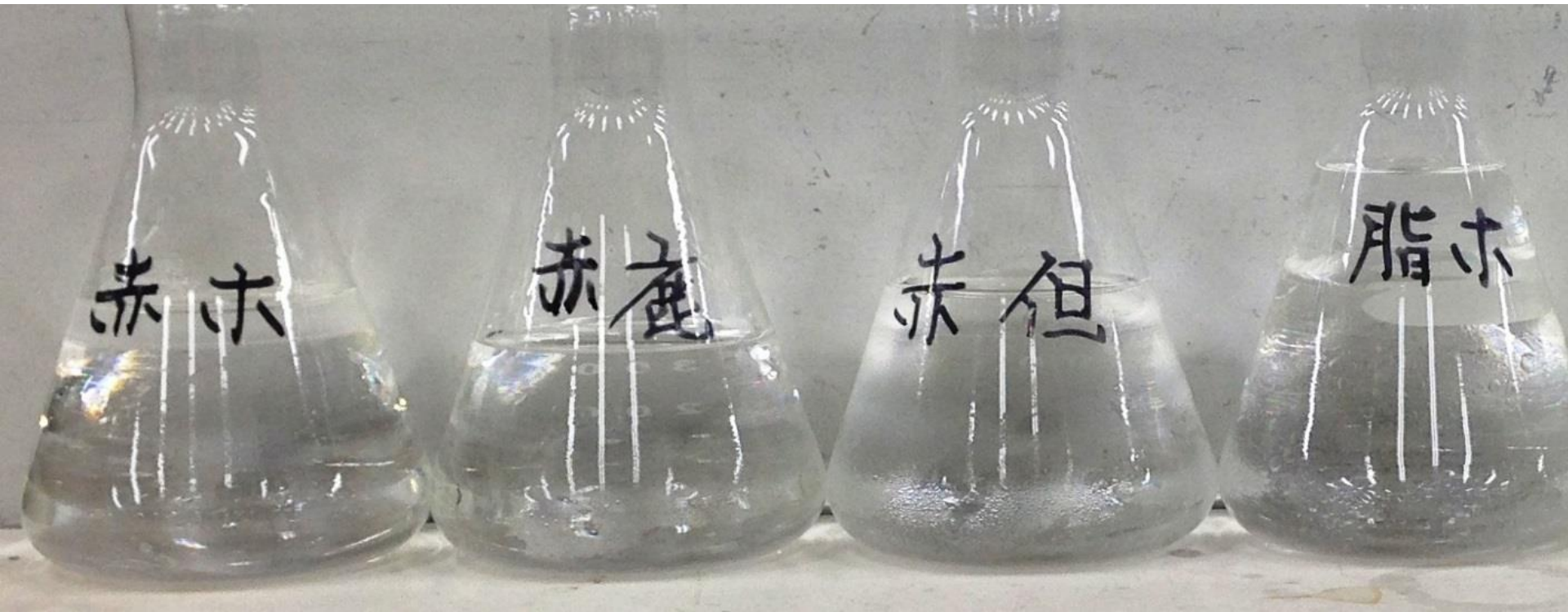
真空ポンプ

1.5×10^{-5} torr

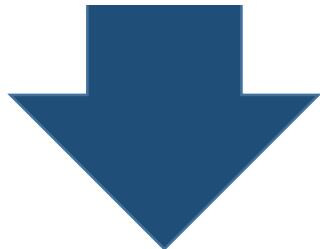
捕集香気

液体N₂
(-196°C)

SAFEによる蒸留液 (不揮発性成分を含まない透明)



無水硫酸ナトリウムにて脱水

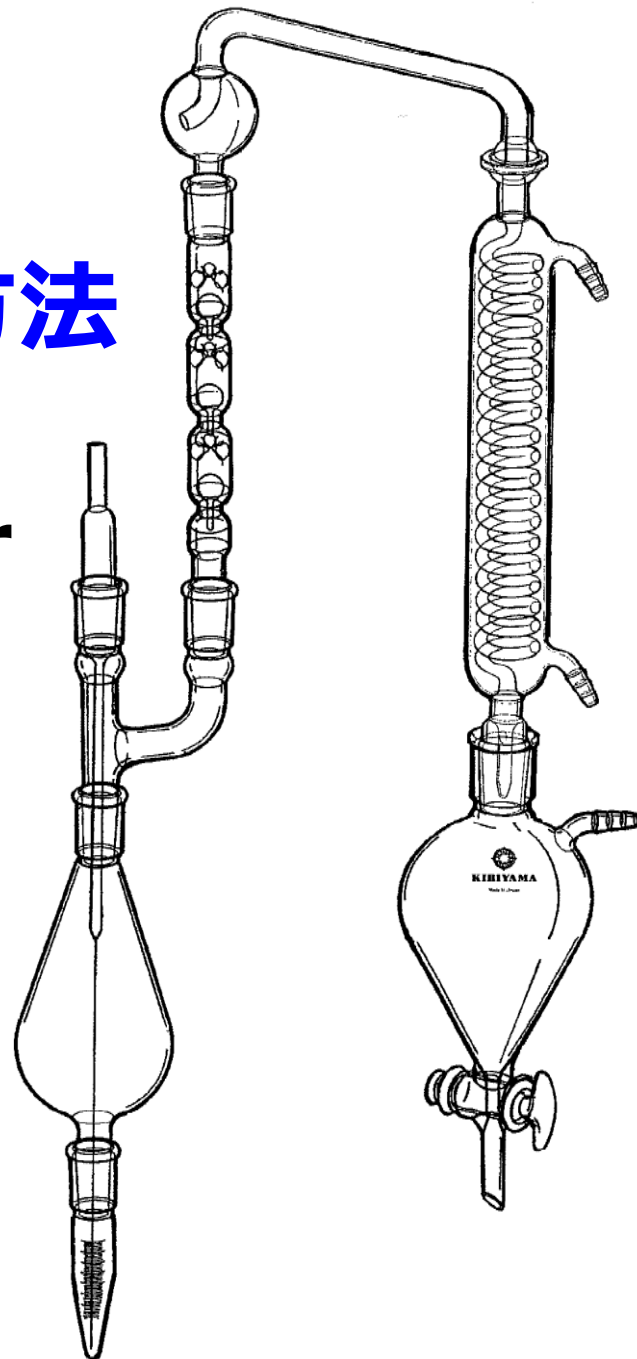
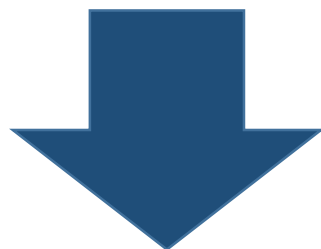


【濃縮】

低沸点化合物を損失しない方法

Kuderna-Danish Evaporative Concentrator

- 200 μ L まで濃縮 (2000倍濃縮)
- 濃縮液に『**元サンプルの特徴**』が抽出(再現)されていることを確認



匂いかぎGC (GC-Olfactometry) による寄与成分解析



※ 装置の特徴

装置 : CharmAnalysis™

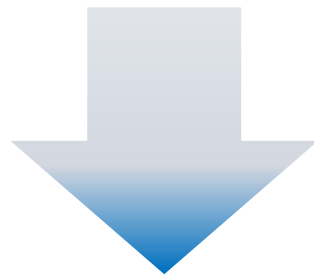
**通常の“匂いかぎGC”に比べて
より鮮明に香気を検出できる**

GC-Olfactometry 分析結果

全 般

サンプルA・B・Cから

総計63の香気を検出



強度指標 (=FD factor: 4^n で表す)
を比較して、寄与成分を推定。

全サンプルを通じて強度が高い香気 (20種)

RI	化合物名	香調	A	B	C
1501	decanal	グリーンフレッシュ	16384	16384	16384
1530	trans-2-nonenal	油酸化	16384	16384	16384
1608	(アルデヒド由来臭)	グリーンフレッシュ	16384	16384	16384
1690	(2E,4E)-Nonadienal	油酸化	16384	16384	16384
1745	(アルデヒド由来臭)	ミョウガ	16384	16384	16384
1989	(E)-4,5-epoxy-(E)-2-decenal	金属	16384	16384	16384
1441	methional	煮ポテト	4096	16384	16384
1641	(アルデヒド由来臭)	ミョウガ	16384	4096	16384
2099	γ -decalactone	ラクトン	16384	16384	4096
1299	2-methyl-3-furanthiol	チアミン臭	16384	16384	1024
1422	Nonenal	油酸化	16384	16384	1024

**A・B・Cともに
アルデヒド類が主体となって
骨格を形成**

(黒毛和種)

(ホルスタイン)

サンプルA >> サンプルC
サンプルB

FD factorの比較と香調

により寄与成分を推察

(サンプルCに比べて) **A, B** で高い成分

RI	化合物名	香調	サンプルA	サンプルB
1900	γ -octalactone	ラクトン甘い香り	16384	256
2185	δ -decalactone	甘いラクトン	16384	1024
1800	trans2,trans4-decadienal	油酸化	16384	16384
1423	nonanal	油酸化	16384	16384
1299	2-methyl-3-furanthiol	チアミン臭	16384	16384
2099	γ -decalactone	ラクトン	16384	16384
1684	γ -hexalactone	甘い、ミルク	16384	4096
2548	Vanillin	チョコ バニラ	4096	256
2015	γ -nonalactone	ラクトン甘い香り	1024	256
1105	hexanal	青葉	1024	1024
1331	2-acetyl-1-pyrroline	穀物	256	4
1787	γ -heptalactone	甘い、ミルク	256	4
1623	butyric acid	チーズ、納豆様	256	4
1757	2-undecenal	油酸化	256	16
1291	octanal	グリーンフレッシュ	256	16
983	2,3-butanedione	ジアセチル	256	256
2368	indole	花様、インドール	256	64
2190	2-aminoacetophenone	ぶどうグレープ	64	64
1395		青臭い (アルデヒド由来臭)	64	64
1709		ミント	16	1

(Bに比べて) **A**で高い成分 (=黄色塗)

RI	化合物名	香調	サンプルA	サンプルB
1900	γ -octalactone	ラクトン甘い香り	16384	256
2185	δ -decalactone	甘いラクトン	16384	1024
1800	trans2,trans4-decadienal	油酸化	16384	16384
1423	nonanal	油酸化	16384	16384
1299	2-methyl-3-furanthiol	チアミン臭	16384	16384
2099	γ -decalactone	ラクトン	16384	16384
1684	γ -hexalactone	甘い、ミルク	16384	4096
2548	Vanillin	チョコ バニラ	4096	256
2015	γ -nonalactone	ラクトン甘い香り	1024	256
1105	hexanal	青葉	1024	1024
1331	2-acetyl-1-pyrroline	穀物	256	4
1787	γ -heptalactone	甘い、ミルク	256	4
1623	butyric acid	チーズ、納豆様	256	4
1757	2-undecenal	油酸化	256	16
1291	octanal	グリーンフレッシュ	256	16
983	2,3-butanedione	ジアセチル	256	256
2368	indole	花様、インドール	256	64
2190	2-aminoacetophenone	ぶどうグレープ	64	64
1395		青臭い (アルデヒド由来臭)	64	64
1709		ミント	16	1

甘い香り（Aの特徴）に寄与すると推定される成分

RI	化合物名	香調	サンプルA	サンプルB
1900	γ-octalactone	ラクトン甘い香り	16384	256
2185	δ-decalactone	甘いラクトン	16384	1024
1800	trans2,trans4-decadienal	油酸化	16384	16384
1423	nonanal	油酸化	16384	16384
1299	2-methyl-3-furanthiol	チアミン臭	16384	16384
2099	γ-decalactone	ラクトン	16384	16384
1684	γ-hexalactone	甘い、ミルク	16384	4096
2548	Vanillin	チョコ バニラ	4096	256
2015	γ-nonalactone	ラクトン甘い香り	1024	256
1105	hexanal	青葉	1024	1024
1331	2-acetyl-1-pyrroline	穀物	256	4
1787	γ-heptalactone	甘い、ミルク	256	4
1623	butyric acid	チーズ、納豆様	256	4
1757	2-undecenal	油酸化	256	16
1291	octanal	グリーンフレッシュ	256	16
983	2,3-butanedione	ジアセチル	256	256
2368	indole	花様、インドール	256	64
2190	2-aminoacetophenone	ぶどうグレープ	64	64
1395		青臭い（アルデヒド由来臭）	64	64
1709		ミント	16	1

匂い嗅ぎGCの結果は、“推察”に過ぎない！

8成分

- 2-acetyl-1-pyrroline
- vanillin
- γ -hexalactone
- γ -heptalactone
- γ -octalactone
- γ -nonalactone
- γ -decalactone
- δ -decalactone

が、

サンプルAの香気特徴「濃厚な甘い香り」に寄与していると推察した。

“推察”の域を超えるためには

濃度定量結果を用いて

香気物質の添加 & 官能評価

が必要。

(“固形食品”であるため困難⇒含有濃度の比較)

含有濃度の比較

サンプルA（黒毛和種）

サンプルB（黒毛和種）

サンプルC（ホルスタイン）

定量分析のための前処理方法

- ① サンプル 50g
- ② 沸騰した蒸留水500ml 中に投入
- ③ 30秒間煮沸
- ④ 氷冷
- ⑤ そのままミルで粉碎し懸濁
- ⑥ **内部標準（安定同位体）を添加**
- ⑦ 懸濁液に500mlのジクロロメタンを加え、
攪拌しながら室温で一晩抽出。

内部標準化合物 (安定同位体)

(= Stable Isotope Dilution Assay (SIDA) 法)

精度の高い定量

- **2-acetyl-pyrroline-*d*4**
- **vanillin-*d*3**
- **γ -nonalactone-*d*7**
- **γ -octalactone-*d*4**
- **γ -decalactone-*d*4**
- **γ -undecalactone-*d*2**
- **γ -hexalactone-*d*5**

※*d*=重水素

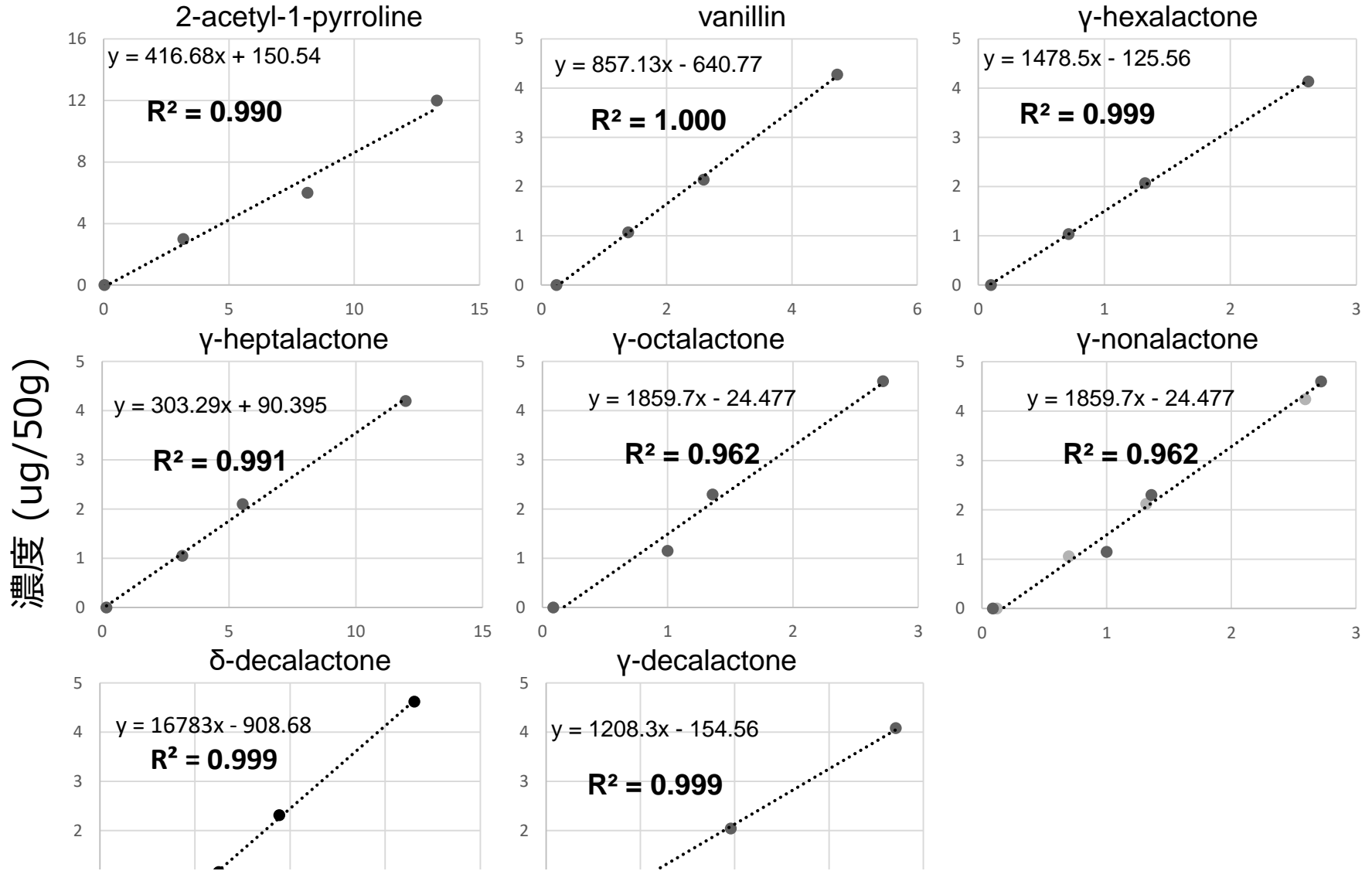
GC-MS-MS (Agilent 7000C GC/MS TripleQuad)

【参考】通常のGC-MSではノイズが高く **正確な** 定量ができない



カラム : DB-WAX (30m×0.25mm×0.25μm)
昇温条件 : 35°C (5min)→4°C/min→217°C→ポストラン250°C注入
条件 : 2μL スプリットレス (Back flush仕様)
検出器 : Triple Quadrupole MRMモード

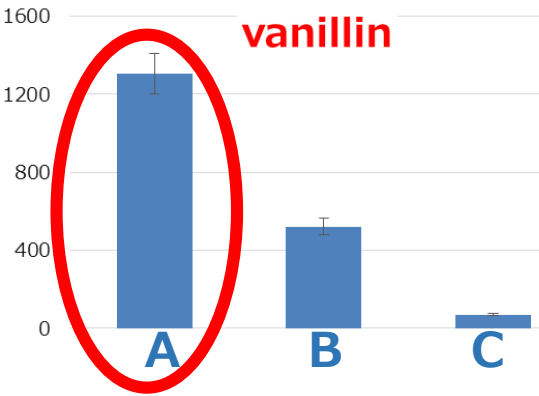
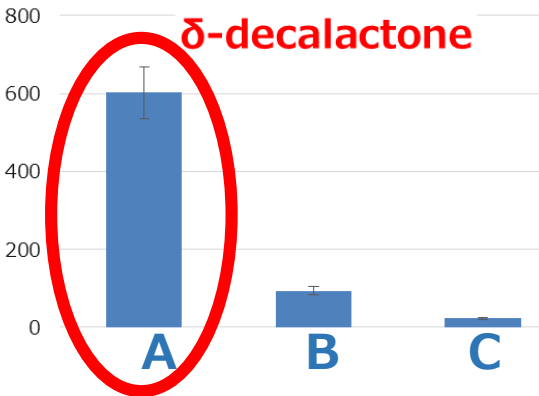
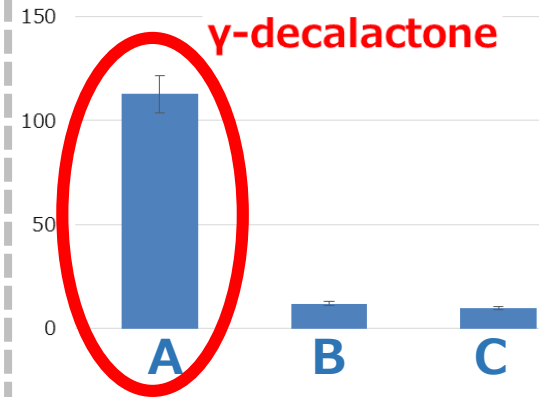
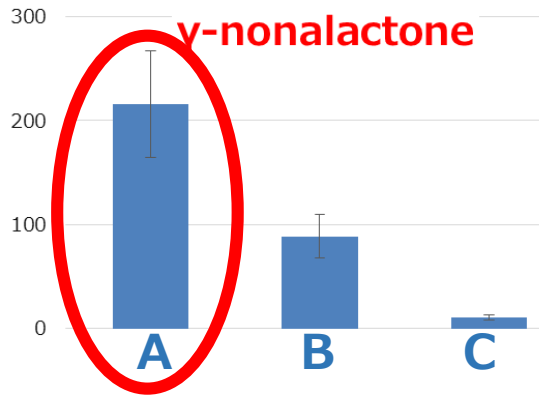
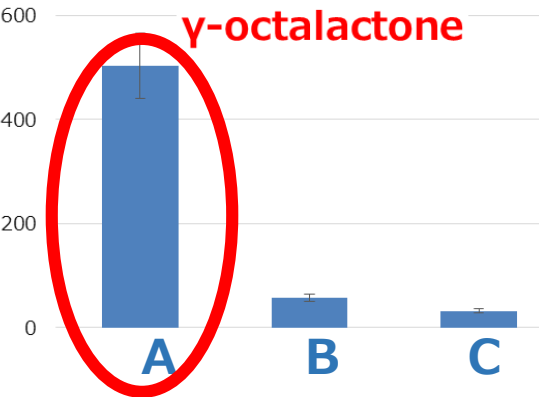
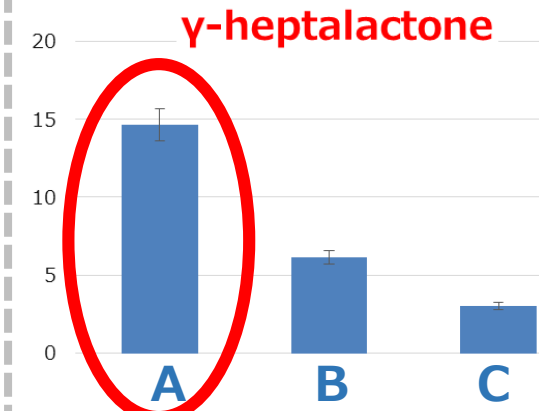
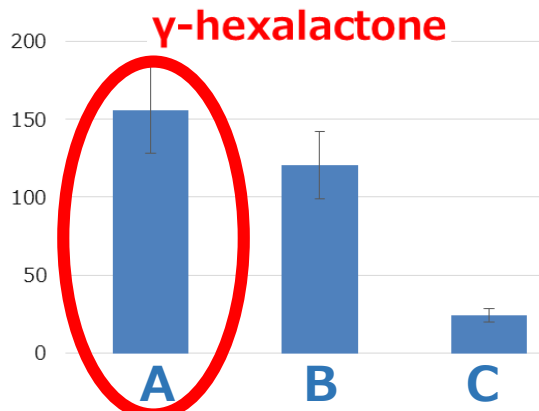
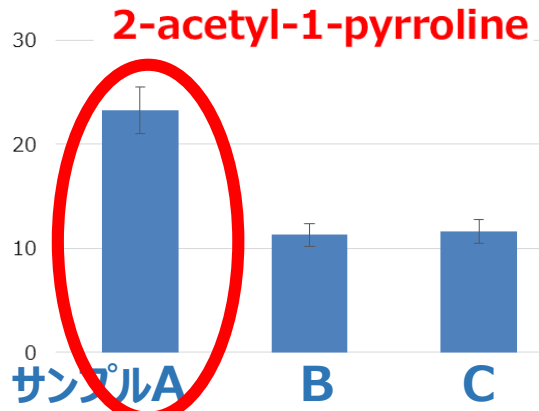
定量性の確認 (対象 8 成分)



精度の高い定量方法を確立できた。

着目した8成分の定量値

ng/50g肉サンプル



各N=3サンプル

【まとめ】

GC-Olfactometry結果から寄与成分と推察していた

8成分

- 2-acetyl-1-pyrroline
- vanillin
- γ -hexalactone
- γ -heptalactone
- γ -octalactone
- γ -nonalactone
- γ -decalactone
- δ -decalactone

は、

定量値においても“サンプルA”で高く特徴に寄与している可能性を確認した。