

畜肉だしの風味に関する研究
(Study on the Flavor in Meat Soup Stock)

鷺尾（高倉） 友紀子

畜肉だしの風味に関する研究
(Study on the Flavor in Meat Soup Stock)

鷺尾（高倉） 友紀子

日本獣医生命科学大学大学院獣医生命科学研究科

（指導教員：西村 敏英）

平成 26 年 9 月

略語の説明

GC-MS	Gas Chromatography-Mass Spectrometry
AEDA	Aroma Extract Dilution Analysis
GC-O	gas chromatography-olfactometry
FD	high flavor dilution
RI	retention indices
SAFE	solvent-assisted flavor evaporation
MACH	modular accelerated column heating
AMP	adenosine 5'-monophosphate
ADP	adenosine 5'-diphosphate
ATP	adenosine 5'-triphosphate
IMP	inosine 5'-monophosphate

目次

序論.....	1
1. 食品の「おいしさ」と風味.....	2
2. 食品の味と香り.....	2
(1) 食品の味と呈味成分.....	2
(2) 食品の香り.....	3
(3) 食品の香気成分.....	5
3. 食品における味と香りの相互作用.....	5
4. 畜肉だしの「おいしさ」と香気成分.....	8
(1) 畜肉だしの香り.....	8
(2) 鶏だしの「おいしさ」と香気成分.....	10
(3) 豚だしの「おいしさ」と香気成分.....	11
(4) 牛だしの「おいしさ」と香気成分.....	15
5. 本研究の目的.....	17
第1章 鶏だしの特性に寄与する香気成分の解明.....	18
緒言.....	18
I. 材料及び方法.....	20
1. 試薬類.....	20
2. 鶏だしの調製.....	20
3. 鶏だしの香気成分の抽出.....	20
4. Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS).....	20
5. Aroma Extract Dilution Analysis (AEDA).....	21
6. 香気成分の同定と定量.....	21
7. 香気再構成液と鶏だしの比較評価.....	21

(1) パネル.....	21
(2) 評価項目.....	21
(3) サンプル.....	22
(4) 官能評価.....	22
8. オMISSIONテストによる香気成分の特性評価.....	22
II. 結果.....	24
1. 寄与香気成分の同定.....	24
2. 香気再構成液と鶏だしの比較評価.....	27
3. 寄与香気成分の特性評価.....	29
III. 考察.....	31
第2章 豚だしの特性に寄与する香気成分の解明.....	33
緒言.....	33
I. 材料及び方法.....	35
1. 試薬類.....	35
2. 豚だしの調製.....	35
3. 豚だしの香気成分の抽出.....	35
4. Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS).....	35
5. Aroma Extract Dilution Analysis (AEDA).....	36
6. 香気成分の同定と定量.....	36
7. 香気再構成液と豚だしの比較評価.....	36
(1) パネル.....	36
(2) 評価項目.....	36
(3) サンプル.....	37
(4) 官能評価.....	37

8. オミSSIONテストによる寄与香气成分の解明.....	39
9. アディSSIONテストによる香气成分の特性評価.....	39
10. オミSSIONテストによる香气成分の特性評価.....	39
II. 結果.....	40
1. 寄与香气成分の同定.....	40
2. 香气再構成液と豚だしの比較評価.....	43
3. オミSSIONテストによる寄与香气成分の解明.....	45
4. 寄与香气成分の特性評価.....	48
III. 考察.....	52
第3章 ビーフエキスの特性に寄与する香气成分の解明.....	54
緒言.....	54
I. 材料及び方法.....	56
1. 試薬類.....	56
2. ビーフエキスの香气成分の抽出.....	56
3. Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS).....	56
4. Aroma Extract Dilution Analysis (AEDA).....	56
5. 香气成分の同定と定量.....	57
6. 香气再構成液とビーフエキスの比較評価.....	57
(1) パネル.....	57
(2) 評価項目.....	57
(3) サンプル.....	57
(4) 官能評価.....	58
7. オミSSIONテストによる寄与香气成分の解明.....	60
8. アディSSIONテストによる香气成分の特性評価.....	60

9. オミSSIONテストによる香気成分の特性評価.....	60
II. 結果.....	61
1. 寄与香気成分の同定.....	61
2. 香気再構成液とビーフエキスの比較評価.....	64
3. オミSSIONテストによる寄与香気成分の解明.....	66
4. 寄与香気成分の特性評価.....	69
III. 考察.....	73
第4章 畜肉だし呈味成分が香りの感覚強度に及ぼす影響.....	75
緒言.....	75
I. 材料及び方法.....	76
1. 試薬類.....	76
2. 鶏だしの調製.....	76
3. 香気・呈味再構成液と鶏だしの比較評価.....	76
(1) パネル.....	76
(2) サンプル.....	76
(3) 官能評価.....	77
4. オミSSIONテストによる香気増強効果を有する呈味成分の解明.....	79
5. アディSSIONテストによる香気増強効果を有する呈味成分の解明..	79
II. 結果.....	80
1. 香気・呈味再構成液と鶏だしの比較評価.....	80
2. オミSSIONテストによる香気増強効果を有する呈味成分の解明.....	82
3. アディSSIONテストによる香気増強効果を有する呈味成分の解明..	84

Ⅲ. 考察.....	96
総括.....	98
参考文献.....	103
謝辞.....	108

序論

食事は私たちが生命を維持し健康に生きていくのに必要なエネルギーや栄養素を体内に取り入れる必要不可欠な行為である。しかし、食事の意義は単なる栄養摂取のみにあるのではない。日々の食事により、私たちは生活に必要な満足感や充足感を得ることができる。

同じ食べ物でも、土地が違えばその食べ方、加工や調理の仕方が異なるなどの食習慣の違いがある。しかし、食習慣や食文化を超えて各地に共通して見られるのが汁物あるいはスープ類である。長年の人々の試行錯誤の結果、それぞれの国や地域に特有の汁物及びスープ料理が存在し、そのベースとなる「だし」の調理方法が確立されてきた。特に、鶏、豚、牛の肉あるいは骨を長時間煮込んで作る畜肉だしは、欧米ではスープストック、ブイヨン、フォン、中国では上湯、白湯、毛湯などと呼ばれ、様々な料理のベースとして、世界中で広く使用されている。料理人の間では多くの経験則があり、それらの知識が積み重ねられ、最適な畜肉だし調理方法が受け継がれてきている。これら「だし」の呈味成分に関しては、古くから研究が行われており、アミノ酸、ペプチド、核酸関連物質（特に5'-ヌクレオチド類）、有機酸、糖類、無機塩類などが含まれることが知られ、肉種別に定量されている¹⁾。しかし、これらの香気成分についての科学的解析を行った例は少ない。

そこで、本研究は、鶏、豚、牛の各種肉から調製された畜肉だしの特性に寄与する香気成分を解明すると同時に、畜肉だしを特徴付ける香気成分と呈味成分の相互作用を明らかにすることを目的として行われた。

以下に、本研究の意義を明確にし、得られた結果の考察に資するために、食品の味と呈味成分、香りと香気成分、味と香りの相互作用、更に、畜肉だしの「おいしさ」と香気成分に関する知見の概説を紹介する。

1. 食品の「おいしさ」と風味

食事を通して私たちは生活に必要な満足感や充足感を得るが、これらの意義に大きく関わっているのが「おいしさ」である。食品の「おいしさ」を決める要素として、物理的な要因と化学的な要因に分けて考えることができる。物理的な要因としては、触覚や視覚、聴覚で感じることができるテクスチャーや色、音などがある。この中で、テクスチャーは食感と訳されており、食べ物を噛んだ時のかたさや、飲み物を飲み込んだ時の喉ごしなどに影響する要因である。化学的な要因としては、味覚や嗅覚で感じることができる風味である。風味とは、食品を口に入れた時に感じる総合的な刺激を言い、その中でも味と香りは主要な構成要素である。味や香りは食べ物に含まれる化学物質によって感知できるので、化学的要因に分類される²⁾。例えば、畜肉や畜肉だしのうま味はグルタミン酸ナトリウムとイノシン酸ナトリウム、塩味は塩化ナトリウムによってもたらされる味である。

2. 食品の味と香り

(1) 食品の味と呈味成分

我々が、日常口にする食品の味は単一ではなく、数種の呈味成分が複雑に作用しあい、それらの化学物質が味覚受容器と接触することによって知覚される。

食品の味を構成する要素については、古代アリストテレスの時代から多くの種類があげられてきた。現在基本味としては、甘味、酸味、塩味、苦味、うま味の5つとする考え方が有力である。更に、5基本味とは明らかに異なる味として、辛味や渋味、えぐ味などがあげられる。

呈味物質は数千種あるが、その多くは2種以上の味を呈し、純粋に基本味を呈する物質としては、ショ糖（甘味）、塩酸、クエン酸または酒石酸（酸味）、食塩（塩味）、塩酸キニーネ（苦味）などである³⁾。

味を支配する呈味成分は食品中に数十%から数ppmまで、幅広い濃度で含まれている水溶性の物質である。様々な食品から、呈味成分として、アミノ酸、ペプチド、核酸関連物質、有機酸、有機塩基類、糖類、無機塩類などが分析、

定量されている。

(2) 食品の香り

我々は、日常食品を口にする際には、2種類の経路で香りを感じている。それは、食品を直接鼻で嗅いだときに感じられる香りと、飲食中に喉から鼻に抜けて感じられる香りであり、前者は **Orthonasal Aroma**、後者は **Retronasal Aroma** と呼ばれている。飲食中に感じる食品の香りは、主に **Retronasal Aroma** であり、その強さや広がり方（フレーバーリリース）は食品の「おいしさ」や「風味の良さ」を左右すると考えられている(Fig. 1)^{4,6)}。

Retronasal Aroma は多くの過程を経て知覚される。まず、液状食品の場合に、食品は咀嚼により唾液と混ざり合い、香気成分が食品から放出される。また、固体食品では、咀嚼により構造が壊れ、構造体にトラップされていた香気成分が放出される。これらの香気成分は喉を通過して鼻へと移動し、鼻の粘膜に存在する嗅細胞の嗅覚受容体を刺激する。この刺激が脳に到達することで、口に入れた食品からも香りを感じている。

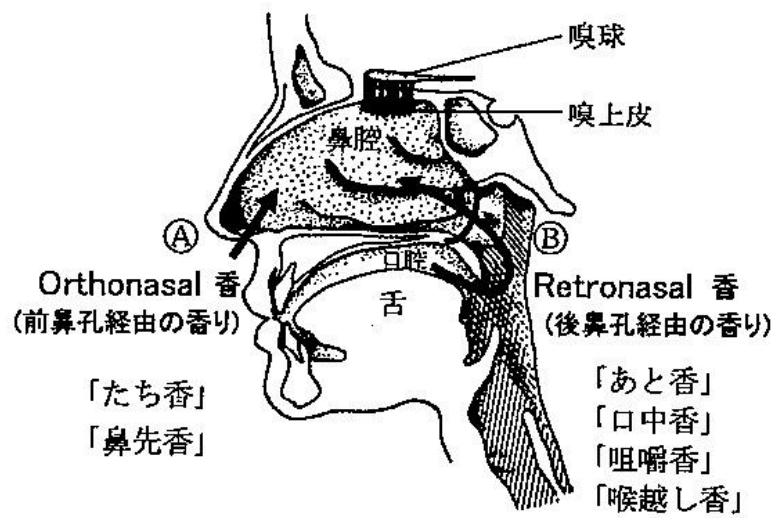


Fig. 1 香りを感じる二つの経路⁶⁾

(3) 食品の香気成分

食品にはそれぞれ固有の香りがあるので、我々は経験から、匂いを嗅ぐだけで多くの食品を同定あるいは識別することができる。また、香りから、その食品の品質を判断したり、腐敗を検知する能力さえも備えている。訓練されていない人でも 2000 種類の匂いを識別できると言われている⁷⁾。しかし、食品の香りの化学的研究は、香料などの研究を除くと歴史が浅い。香りを与える成分は揮発性であるから、分子量は比較的小さく、400 を超すことはないと言われている⁸⁾。この狭い分子量範囲内に、2600 もの香気成分が確認されている⁹⁾。このことは、食品中に分子量の等しい香気成分が複数種類存在している可能性を示唆している。食品に存在する香気成分を分離し、同定することの難しさの一つが、この要因である。

また、タンパク質や脂質などの成分が食品中に%のレベルで含まれているのに対し、香気成分は ppm あるいは ppb といった極めて微量しか存在していない。この様に、種類が多く、しかも微量しか含有されていない香気成分を全て同定、定量するには、効率的な濃縮機器、性能の高い分離装置と精度の良い同定手段が必要である。近年の機器分析技術の高度化により、超微量成分までが同定分離されるようになり、かなり複雑な香気成分についてもその化学的組成が明らかにされてきた。しかし、食品の特性に寄与する香気成分、つまり閾値以上の濃度で存在する香気成分を、機器分析により直接見出すことはできない為、高感度な人の鼻を検出器に利用したガスクロマトグラフィーオルファクトメトリー(gas chromatography-olfactometry (GC-O))及びアロマ抽出物希釈分析法(Aroma extract dilution analysis (AEDA))を用いて、食品の特性に寄与する香気成分を解明する手法が確立された¹⁰⁾。これら手法を用いて各種食品に寄与する香気成分を解明した例はまだまだ少ないのが現状である。

3. 食品における味と香りの相互作用

食べ物を食べるときに、食べ物の色、香り (Orthonasal Aroma) の刺激は、おいしさに影響を与えることはよく知られている。次に、それを口に入れると、

さらに多くの刺激を感じることになる。食品の温度、硬さ・柔らかさやジューシーさなどの食感、味並びに香りなどがある(Fig. 2)。これらの感覚刺激は、お互いに影響を与えることはよく知られている¹¹⁾。ここでは、本論文に直接関連する「味と香りの相互作用」に関して、これまでの知見を紹介する。

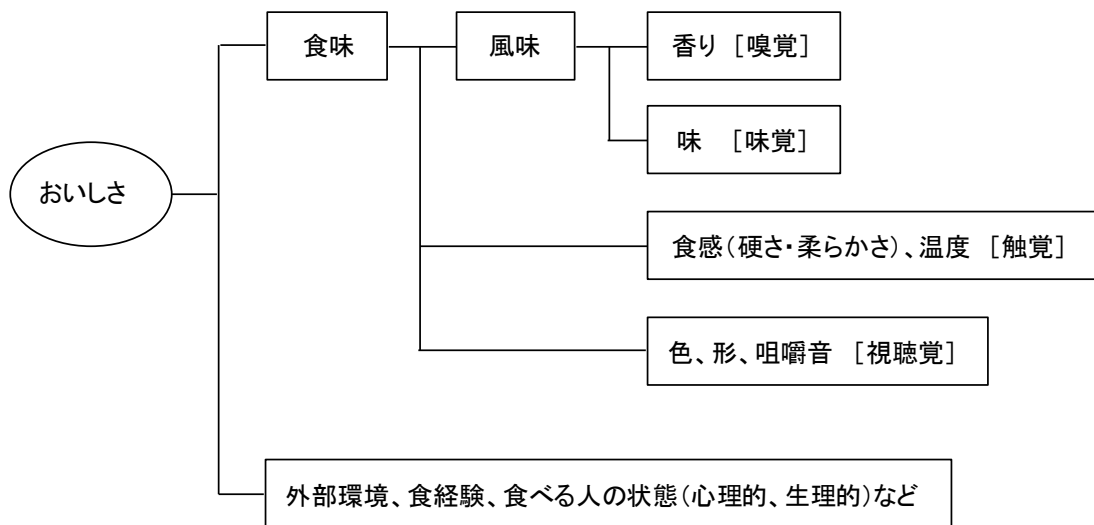


Fig. 2 食品のおいしさを決定する要素

味と **Orthonasal Aroma** の相互作用に関する研究によると、お互いの相互作用は少なく、それぞれ個別に感知されると考えられている¹²⁻¹⁵⁾。

一方、味と **Retronasal Aroma** の相互作用に関する研究は、**Retronasal Aroma** による味の増強効果を中心に、これまでに多くなされている。閾値濃度以下の呈味成分に閾値濃度以下の香気成分（例えば、**sodium saccharin**（甘味）と **benzaldehyde**（チェリー/アーモンド香））を添加すると、ヒトは、閾値濃度以下の呈味物質しか含まれない水溶液からでも味を認知できることが知られている¹⁶⁾。また、甘味溶液にストロベリー香料を添加すると甘味が増強されるが、ピーナッツバター香料の添加では増強されないことから、この甘味増強効果は香りの種類によることも明らかにされている¹⁷⁾。これらの組合せによる味の増強効果は、中枢神経において味と香り（**Retronasal Aroma**）からの刺激の融合が起こり、**Retronasal Aroma** による刺激が味の刺激であると混同されることで味の強度を強めていると説明されている^{18, 19)}。

また、味と香りの組合せ喫食経験が多い組合せなどにより、増強が起こりやすいとも考えられている²⁰⁾。このように、**Retronasal Aroma** による味の増強効果についての研究はこれまでに多くなされている。一方、**Retronasal Aroma** は「おいしさ」を左右する重要な要素であるにもかかわらず、味による **Retronasal Aroma** への影響についてはあまり解明されていないのが現状である。

4. 畜肉だしの「おいしさ」と香気成分

畜肉系食品においては、畜肉に特徴的な香気成分が、その食品のおいしさに大きく影響する^{21, 22)}。一方、食品には多くの香気成分が含まれているものの、実際に食品の香り特性に寄与する香気成分は限られた数の成分であることが知られている¹⁰⁾。

(1) 畜肉だしの香り

畜肉だしは一般的には鶏、豚、牛などの肉あるいは骨を煮込んで抽出したも

のである。畜肉だしの特徴は、抽出原料となる元の生肉や骨の香りは弱く、質的には金属的で獣様の生臭さが中心で、だしの香りとは大きく異なっているが、加熱されることによりはじめて好ましい肉様の香りを持つようになることである。従って、加熱抽出に要する時間は、長い場合が多い。このように、畜肉だしの香気は、だし素材中に含まれている前駆体成分が加熱抽出される過程で、分解や互いに反応することを繰り返して生成する。

畜肉だしを調製する上での重要なポイントとして、以下5点が挙げられる²³⁾。

- ① 新鮮な材料を用いる：水から煮出す際に材料の風味が移行するため新鮮な材料を使用する。材料が古いと脂肪の酸化や酵素による自己消化が進み、雑味が生じる。
- ② 適正な量を使用する：使用する材料が不足すると、味や香りの発現に重要な成分が抽出されず良質なだしができない。
- ③ 長時間かけて加熱する：特に骨を材料とする場合など、短時間では抽出が不十分となる。微沸騰状態で長時間（4時間程度）加熱することで、成分抽出及びだし水溶液中での生成物同士の複雑な反応が進み、良質なだしができる。
- ④ アクや脂肪を丁寧に除去する：アクは材料から抽出された筋しょうタンパク質（水溶性タンパク質：血液、酵素類など）が変性し、同じく抽出された脂肪が結合したものとされている。これらアクや脂肪はだしの質低下に繋がる雑味を与えるため、こまめに除去する。
- ⑤ 適度な加熱状態を保つ：だしが沸騰した後は、微沸騰状態（95℃前後）で材料を煮ることが重要である。専門的には、「ミジョテの状態」と言われている。

上記のように、畜肉だしは筋しょうタンパク質、脂質由来のアクを除去し、95℃前後で長時間（多くの場合4時間程度）加熱することで、だし水溶液中での水溶性生成物同士の複雑な反応が進み、畜肉だし独特の **Meaty flavor** が生成される為、茹で肉、蒸し肉などの短時間調理工程を経る一般的な加熱調理肉とはその特徴香気が大きく異なる。

加熱調理肉に含まれる香気成分については、これまで *gas chromatography-olfactometry (GC-O)*を用いた研究で明らかになってきた²⁵⁻³¹⁾。加熱調理肉の香気成分は、その中に含まれるアミノ酸、糖、核酸、タンパク質、脂質などの成分の分解や複雑な相互反応により生じることが分かっている。その中心となっていると考えられる反応はメイラード反応と呼ばれるアミノ基とカルボニル基の反応を端緒とする一連の反応であり、生成物同士の反応、分解、転移を含む複雑な反応により、非常に多くの生成物を生み出す²³⁾。

鶏、豚、牛の肉あるいは骨から調製される畜肉だしは、好ましい *meaty flavor* 等を有することから、日本をはじめとして、中国（上湯、白湯、毛湯）、欧米（スープストック、ブイヨン、フォン）、東南アジアなど、世界中で料理のベースとして幅広く使用されている。しかし、これまでに、畜肉だしの特性に寄与する香気成分の解明は殆ど行われていない。

(2) 鶏だしの「おいしさ」と香気成分

鶏だしは、*fatty flavor (fat or oily flavor at top to middle)*、*boiled meaty flavor (boiled meat-like flavor at middle to after)*、*roast meaty flavor (roast meat-like flavor at top to middle)*、*roast flavor (roast flavor at top to middle)*、*animalic flavor (raw meat flavor at middle to after)*を香気特性とし、料理のベースとして世界各国で使用されている。

蒸し鶏肉など加熱鶏肉の香気成分に関する研究から、香気成分として 2-methylthiophene 、 2-methyl-3-furanthiol 、 2-furfurylthiol 、 3-mercapto-2-pentanone、2-acetyl-1-pyrroline、2,5-dimethyl-3-furanthiol、3-(methylthio)propanal、2(*E*)-heptenal、1-octen-3-one、2,4,5-trimethylthiazole、2-formylthiophene 、 2-acetylthiazole 、 phenylacetaldehyde 、 nonanal 、 2-methoxyphenol、2-acetylthiophene、2-acetyl-2-thiazoline、2(*E*)-nonenal、2-formyl-5-methylthiophene、4-methylphenol、decanal、(*E,E*)-2,4-nonadienal、2(*E*)-decenal、(*E,E*)-2,4-decadienal、2(*E*)-undecenal、indole、 β -ionone、tridecanol、 γ -decalactone、 γ -dodecalactone、methanthiol、*p*-crezol、hexanal、

octanal、acetaldehyde、butyric acid、4-hydroxy-5-methyl-3(2*H*)-furanone、4-hydroxy-2,5-dimethyl-3(2*H*)-furanone、2-methyl-3,5-dimethyl pyradine、2,4,6-trimethyltetrahydro-1,3,5-thiadiazine、3,5-dimethyl-1,2,4-trithiolane、5,6-dihydro-2,4,6-trimethyl-4*H*-1,3,5-dithiazine、(*Z*)-1,5-octadien-3-one、acetic acid、butyric acid、(*E*)-4,5-epoxy-(*E*)-2-decenal、bis-(2-furfuryl)-disulphideなどが同定されている。その中で、2-methyl-3-furanthiol、2-furfurylthiol、3-(methylthio)propanal、methanethiol、2,4,5-trimethylthiazole、nonanal、2(*E*)-nonenal、2-formyl-5-methylthiophene、*p*-crezol、(*E,E*)-2,4-nonadienal、(*E,E*)-2,4-decadienal、2-undecenal、 β -ionone、 γ -decalactone、 γ -dodecalactone、hexanal、octanal、acetaldehydeは加熱鶏肉に特徴的な香気成分と言われている³²⁻³⁴)。特に、fatty、tallowyの香気特性を持つ、(*E,E*)-2,4-decadienalや γ -dodecalactoneは、加熱鶏肉香気への寄与が高いことが示されている。

一方、鶏肉より調製した「だし」は、蒸し鶏肉など加熱鶏肉に比べboiled meaty、roast meaty、roastなどの特性を有するが、これら特性に寄与する香気成分の解明は行われていない。

鶏だしに使用する香味野菜は各国で異なるものの、丸鶏を弱火で長時間煮込むという基本調理法は共通して同じである。最も一般的な調理法として、丸鶏を4時間程度穏やかに加熱することが行われており、これで良質の鶏だしが得られる。

(3) 豚だしの「おいしさ」と香気成分

豚だしにおいては、各国の豚を使用しただし調理法の調査を行った結果、外観の違いから大きく二つのタイプに分けられることが分かった(Table 1)。

一つは、豚大腿骨(髄を除去せず)を強沸騰状態で加熱することで、多くの乳化物が生成する白濁タイプである。もう一つは、豚大腿骨から髄を除去したものを弱沸騰状態で加熱することで、乳化物が生成しないクリアなタイプである。白濁タイプの豚だしは、fatty flavor、animalic flavorが強く、日本や中国

でラーメンや煮物のベースとして広く使用されている為、我々日本人に馴染み深いタイプである。クリアなタイプの豚だしは、roundness (light fatty or oily flavor)、full body (strong fatty flavor)、mouthfulness (rich boiled meat-like and complicated flavor)、continuity (long-lasting boiled meat-like flavor)を香気特徴とし、東南アジアでフォー（米麺入りスープ）や炒め物のベースとして広く使用されている(Table 1)。

加熱豚肉の香気に関する研究から、茹で豚肉には、hexanal、heptanal、nonanal、1-octen-3-ol、benzaldehyde、2-acetylthiazole、2-pentylfuranなどのカルボニル化合物や不飽和アルコールおよびフラン化合物などが比較的多く存在していることが示されている²²⁾。

また、白濁タイプの豚だしの香気成分は、gas chromatography-olfactometry (GC-O)を用いたこれまでの研究で明らかになっており、2-methyl-2-butenal、(*E*)-2-pentenal、hexanal、(*E*)-2-hexenal、heptanal、(*E*)-2-heptanal、octanal、(*E,E*)-2,4-heptadienal、(*E*)-2-octenal、nonanal、(*E*)-2-nonenal、decenal、(*E,E*)-2,4-nonadienal、(*E,E*)-2,4-decadienal、2-undecenal、tetradecanal、n-hexadecanoic acid、octadecanoic acid、(*Z,Z*)-9,12-octadecadienoic acid、1-octen-3-ol、1-octanol、1-dodecanol、1-undecanol、2-cyclohexen-1-ol、2-tetradecanol、(*E*)-2-nonen-1-ol、3-methyl-3-cyclohexen-1-ol、1,3-dimethyl-cyclopentane、5-methyl-1-heptene、limonene、1-tetradecene、2,3-dimethyl-1-pentene、4-methyl-cyclohexene、hexadecane、tetradecyl-oxirane、dodecyl-oxirane、1-ricosene、5-methyl-2-phenyl-1(*H*)-indole、2-pentyl-furan、1-hepten-3-one、2(*1H*)-pyridine、2-pentadecanoneなどの成分が同定されている。その中で、fatty、animalicなどの香気特性を持つ、hexanal、(*E,E*)-2,4-nonadienal、2-undecenal、1-octen-3-ol、1-octanolは、白濁タイプの豚だしに特徴的な香気成分と言われている³⁵⁾。

しかし、白濁タイプの豚だしに比べ、roundness、mouthfulness、continuityなどの特性を有するクリアなタイプの豚だしについては、その特性に寄与する

香気成分の解明は行われていない。クリアなタイプの豚だしに使用する香味野菜は各国で異なるものの、豚大腿骨を弱火で長時間煮込むという基本調理法は共通して同じである。

Table. 1 各国の豚を使用しただし調理法の調査結果

	Appearance	Raw materials	Recipe	Usage
Japan(豚骨スープ) China(白湯)	Milky (emulsified)	Pork thigh bone, skin, lard Whole chicken Leek, Onion, Carrot, Ginger	5h stewing after blanching	Noodle soup Stewed dish
China(毛湯)	Clear (unemulsified)	Pork thigh bone Whole chicken Leek, Ginger	4h stewing after blanching	Noodle soup Stewed dish
Thailand	Clear (unemulsified)	Pork thigh bone Radish, Onion, Garlic, Lemongrass, Cilantro leaf	4h stewing after blanching	Noodle soup Stir fry
Vietnam	Clear (unemulsified)	Pork thigh bone Red scallion, Leek, Onion, Carrot, Ginger	4h stewing after blanching	Noodle soup Stir fry

(4) 牛だしの「おいしさ」と香気成分

牛だしは、ヨーロッパを起源とし、スープやシチュー、ソースなど、西洋料理のベースに使用されるが、中南米、アジア、オーストラリア等多くの国へは現在商業的にビーフエキスという形で普及している。ビーフエキスは roasted flavor (oven-cooked meat with surface browning-like flavor)、boiled meaty flavor (boiled meat without browning-like flavor)、sweet meaty flavor (caramel-like sweet meaty flavor)を香気特性とし、コンソメスープ、シチュー、ブラウンソース等のベースとして現在世界中で広く使用されている。

茹で牛肉など加熱牛肉に含まれる香気成分については、これまで gas chromatography-olfactometry (GC-O)を用いた研究で明らかになっており、hexanal、2-methyl-3-furanthiol、2(*E*)-hexenal、2-heptanone、heptanal、2-acetyl-1-pyrroline、2-methyl-3-(methylthio)furan、dimethyl trisulphide、3-(methylthio)propanal、2(*E*)-heptanal、1-octen-3-one、1-octen-3-ol、1,5(*Z*)-octadien-3-one、2-octanone、2-acetylthiazole、2(*E*)-octenal、benzyl mercaptan、phenylacetaldehyde、2-nonanone、nonanal、2-acetylthiophene、2(*E*)-nonenal、(*E,Z*)-2,6-nonadienal、2-formyl-5-methylthiophene、2-decanone、(*E,E*)-2,4-nonadienal、benzothiazole、3-acetyl-2,5-dimethylthiophene、2-undecanone、(*E,E*)-2,4-decadienal、2-dodecanone、2-tridecanone、 β -ionone、bis(2-methyl-3-furyl) disulfide、2,3-butanedione、3-methylbutanal、2-methylbutanal、2,3-pentanedione、dimethyl disulfide、toluol、butyric acid、2,4-dimethylthiazole、ethenylbenzene、2,5-dimethylpyradine、4,5-dimethylthiazole、3-octanone、furfuryl acetate、2-ethyl-5-methylpyradine、octanal、2,3,5-trimethylpyradine、2,5-dimethyl-4-hydroxy-3(*2H*)-furanone、2-ethyl-3,6-dimethylpyradine、2-ethyl-3,5-dimethylpyradine、2-propyl-3-methylpyrazine、2-ethyl-3-hydroxypyran-4-one、1-undecene、4,5-dihydro-5-propyl-2(*3H*)-furanone、decanal、4,5-dihydro-5-butyl-2(*3H*)-furanone、2(*E*)-decenal、2-methylchinoxaline、undecanal、2-isopentyl-3,6-dimethylpyrazine、2(*E*)-undecenal、2(*E*)-dodecenal、

2-furfuryl-2-methyl-3-furyldisulfide 、 bis(2-furfuryl)disulphide 、 dimethylfuryl-2-methyl-3-furyldisulfide、2-methyl-3-furyl-2-methyl-3-thienyl disulfide などの成分が同定されている。その中で、3-(methylthio)propanal、2-ethyl-3,5-dimethylpyrazine 、 2-propyl-3-methylpyrazine 、 2-methyl-3-furanthiol、bis(2-methyl-3-furyl) disulfide、2-acetyl-1-pyrroline、2-acetylthiazole 、 2(*E*)-octenal 、 2(*E*)-nonenal 、 (*E,E*)-2,4-nonadienal 、 (*E,E*)-2,4-decadienal、1-octen-3-one、2-octanone、2-decanone、2-dodecanone、phenylacetaldehyde、 β -ionone、2-furfuryl 2-methyl-3-furyl disulfide は特徴的な香気成分と言われている^{25, 36, 37}。特に、cooked potato、meaty の香気特性を持つ、3-(methylthio)propanal と 2-furfuryl 2-methyl-3-furyl disulfide が加熱牛肉香気への寄与が高いことが示されている。

しかし、茹で牛肉などの加熱牛肉に比べ、roasted flavor、sweet meaty flavor などの特性を有するビーフエキスについては、その特性に寄与する香気成分の解明は行われていない。

以上のように、鶏だし、クリアなタイプの豚だし、ビーフエキスは、その好ましい香気特性から、世界各国で使用されているのにもかかわらず、その好ましい香気の特性に寄与する香気成分は殆ど解明されていないのが現状である。

5. 本研究の目的

以上に述べたように、近年の機器分析技術の高度化により、複雑な香気成分の分析が可能となり、加熱調理肉に含まれる香気については、これまで **gas chromatography-olfactometry (GC-O)**を用いてその知見が蓄積されている²⁵⁻³¹⁾。

一方、畜肉だしの特性に寄与する香気成分に関しては、ほとんど明らかになっていない。更に、畜肉だしを構成する呈味成分が、畜肉だし香気に及ぼす影響についての解明も全く行われていない。

こうした背景から、畜肉だしの特性に寄与する香気成分の解明と、畜肉だし呈味成分が香気に及ぼす影響を解明することを目標とし、以下の課題を取り上げ、研究を行った。

- ・ 畜肉だしの特性に寄与する香気成分の解明
 - － 鶏だし、豚だし、ビーフエキスの特性に寄与する香気成分の解明
- ・ 畜肉だし呈味成分が香りの感覚強度に及ぼす影響
 - － 鶏だしを構成する呈味成分が、鶏だし香気 sensation 強度に及ぼす影響評価

得られた結果は、4章に分けて記述した。

第1章では、鶏だしの特性に寄与する香気成分を解明し、各寄与香気成分の鶏だしにおける官能特性を解明した。

第2章では、クリアなタイプの豚だしの特性に寄与する香気成分を解明し、各寄与香気成分の豚だしにおける官能特性を解明した。

第3章では、ビーフエキスの特性に寄与する香気成分を解明し、各寄与香気成分のビーフエキスにおける官能特性を解明した。

第4章では、鶏だしを構成する呈味成分が鶏だし香気 sensation 強度に及ぼす影響評価を行い、鶏だし香気を増強する呈味成分を解明した。

第1章 鶏だしの特性に寄与する香気成分の解明

諸言

鶏肉は、脂肪含量が少ないことからヘルシーな食材として、日本をはじめ多くの国で料理に使用されている。鶏肉には、うま味成分が多く含まれていることから、それから抽出される鶏だしは、好ましい肉風味を有し、セイボリー領域の様々なメニューのベースとして世界中で使用されている。

鶏肉の香気成分に関する研究から多くの香気成分が同定させているが、その中で、2-methyl-3-furanthiol、2-furfurylthiol、3-(methylthio)propanal、methanethiol、2,4,5-trimethylthiazole、nonanal、2(*E*)-nonenal、2-formyl-5-methylthiophene、*p*-crezol、(*E,E*)-2,4-nonadienal、(*E,E*)-2,4-decadienal、2-undecenal、 β -ionone、 γ -decalactone、 γ -dodecalactone、hexanal、octanal、acetaldehyde は蒸し鶏肉など加熱鶏肉に特徴的な香気成分と言われている³²⁻³⁴⁾。特に、fatty、tallowy の香気特性を持つ、(*E,E*)-2,4-decadienal や γ -dodecalactone は、加熱鶏肉香気への寄与が高いことが示されている。これらの研究では、香気成分は茹でもしくは蒸し鶏肉から蒸留抽出もしくは直接抽出されており、鶏肉の加熱条件の違いで生じる香気成分の解析が中心である。

一方、本研究で対象としている「鶏だし」は、加熱鶏肉に比べ、boiled meaty、roast meaty、roast などの特性が強くなるが、この鶏だしの香り並びに香気成分に関する研究はこれまであまり多くない。鶏だしに含まれる香気成分については、gas chromatography-olfactometry (GC-O)を用いた研究で明らかになっており、*n*-butanol、*n*-pentanol、*n*-hexanol、*n*-heptanol、*n*-octanol、2-methyl-3-buten-2-ol、1-penten-3-ol、3-penten-2-ol、1-octen-3-ol、linalool、(*E*)-2-octen-1-ol、 α -terpineol、benzyl alcohol、1-phenyl-1-propanol、phenylethyl alcohol、phenol、*p*-crezol、*n*-pentylfuran、2-methylpyrazine、 γ -octalactone、acetone、2-butanone、2-heptanone、4-hexen-3-one、3-buten-2-one、*n*-valeraldehyde、*n*-hexanal、*n*-heptanal、*n*-octanal、*n*-nonanal、

2-methylcroton aldehyde、(*E*)-2-hexanal、(*E*)-2-heptanal、(*E*)-2-octenal、(*E*)-2-nonenal、(*E*)-2-decenal、(*E*)-2-undecenal、2,4-heptadienal、2,4-nonadienal、2,4-decadienal、benzaldehyde、piperonal、*p*-xylene、*o*-xylene、limonene、naphthalene、methylnaphthalene が同定されているが³⁸⁾、これら研究では、微粉碎した鶏肉を原料とし、アク除去せず steel vessel にて 90°C で 1 時間加熱を行っている。本研究で対象としている鶏だしとは、原料（丸鶏）、製法（アク除去、長時間加熱）が異なり、加熱鶏肉に近い製法となっている。

このように、fatty、boiled meaty、roast meaty、roast、animalic flavor などの好ましい香気を有する鶏だしについて、その特性に寄与する香気成分の特定はこれまでになされていない。

そこで、第 1 章では、鶏だしの特性に寄与する香気成分の解明と、寄与香気成分の官能特性の解明を行った。具体的には、鶏だしの水蒸気蒸留品から Aroma extract dilution analysis (AEDA) 法により、寄与香気成分を抽出し、更に high flavor dilution (FD) factors により、特に寄与度の高い香気成分を解明した。解明した寄与香気成分を鶏だし呈味再構成液に添加した水溶液と鶏肉から抽出した鶏だしの風味特性を官能評価で比較し、それぞれの寄与度を評価した。更に、各香気成分のオミSSIONテストを行う事により各香気成分の官能特性を評価した。

I. 材料及び方法

1. 試薬類

全ての試薬はシグマアルドリッチジャパン株式会社より購入した。

2. 鶏だしの調製

市販の丸鶏を4等分し、沸騰したお湯で2分間下茹でした後、流水で洗い、アク等を取り除いた。寸胴に下茹でした丸鶏4kgと水6.5kgを入れ、沸騰するまで強火で加熱し、沸騰後弱火にし、アクを除きながら $95\pm 2^{\circ}\text{C}$ で4時間煮込んだ。4時間後キッチンペーパーで濾過し、クリアな鶏だしを得た。鶏だしは使用時まで -21°C で保管した。

3. 鶏だしの香気成分の抽出

鶏だし20mlに内標準物質としてシクロペンタノールを1ppmとなるように添加し、沸騰水槽中常圧にて蒸留物が100mlとなるまで(約30分間)水蒸気蒸留を行った。得られた蒸留物をジエチルエーテルで3回抽出し、得られたジエチルエーテル相に無水硫酸ナトリウムを適量加え一晩放置後、窒素パージにて150 μl となるまで濃縮を行った。

4. Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS)

鶏だしの香気成分は、Agilent 6890 gas chromatograph と Agilent 5973 mass spectrometer (アジレント・テクノロジー株式会社) を用いて分析した。1 μl の鶏だし香気成分抽出物をTC-Wax カラム (60 m length \times 0.25 mm i.d., 0.25 μm film thickness; ジーエルサイエンス株式会社)へ注入した。キャリアガスとしてはヘリウムガスを用い、平均線速度 30 cm/s とした。オーブン温度は 40°C に5分間保持した後、 220°C まで $4^{\circ}\text{C}/\text{min}$ の速度で昇温し、 220°C で10分間保持した。GC-MS 条件は以下: スプリットレスモード; 注入口温度, 220°C ; valve delay, 60 s; scan range, 30-300 amu;

スキャン速度, 2.2 scans/s.

5. Aroma Extract Dilution Analysis (AEDA)

GC-O 装置として Gerstel ODP2 (ゲステル株式会社)を使用した。1 μ l の鶏だし揮発性画分を TC-Wax カラム (60 m length \times 0.25 mm i.d., 0.25 μ m film thickness; ジーエルサイエンス株式会社)へ注入した。GC 条件は上記記載 GC-MS 条件と同じである。各香気成分の FD factor は各香気成分の GC-O で検知可能な最大希釈濃度に対する希釈前濃度割合として測定した。FD chromatogram は、3 名のエキスパートパネルの平均値を示した。

6. 香気成分の同定と定量

香気成分の同定は、GC retention indices (RI)、Wiley mass spectral database (John Wiley and Sons, Inc.)とのマススペクトル比較、標準試薬との香気特性比較により行った。同定された各香気成分の定量値は、内標準物質であるシクロペンタノールに対するピークエリア面積比率より算出した。具体的には、シクロペンタノールに対する各香気成分標準試薬のレスポンスファクターをトータルイオンクロマトグラムにおけるピークエリア面積比率により算出し、シクロペンタノールに対する鶏だし揮発性画分中の各香気成分のピークエリア面積比率とレスポンスファクターを用いて、定量を行った。

7. 香気再構成液と鶏だしの比較評価

(1) パネル

鶏だしの香気評価について訓練された 3 名の専門パネルにて 3 回繰り返して評価を行った (n=9)。統計的な解析は、t 検定 (片側) を用いた。

(2) 評価項目

鶏だしと鶏だし呈味再構成液(taste-reconstituted chicken stock : t-Rec) (Table 2)の比較により、鶏だしの特性を表現する 6 つの以下の香気特性を評価項目として選定した : fatty flavor (fat or oily flavor at top to middle); boiled meaty flavor (boiled meat-like flavor at middle to after); roast meaty flavor (roast meat-like flavor at top to middle); roast flavor (roast flavor at top to middle); animalic flavor (raw meat flavor at middle to after); overall similarity (overall similarity to chicken stock)。

(3) サンプル

Dunkel らの報告による文献値³⁹⁾に基づいて鶏だし呈味再構成液 (taste-reconstituted chicken soup stock :t-Rec) を調製した(Table 2)。FD factor が 16 以上の香気 7 成分、もしくは 64 以上の香気 4 成分を t-Rec へ定量値添加したサンプル (各々CM7、CM4) を調製した。

(4) 官能評価

評価溶液は試飲カップにてパネリストへ供した。パネリストは上記 6 つの評価項目について、評価サンプルを t-Rec、鶏だしと比較し、評点 1.0 (not perceivable, = t-Rec), 2.0 (weak), 3.0 (medium), 4.0 (strong), 5.0 (very strong, =chicken soup stock)にて評点付けを行った。得られた結果の平均値をレーダーチャートへプロットした。

8. オミSSIONテストによる香気成分の特性評価

パネル、評価項目並びに官能評価は、前項 7 と同手法にて行った。サンプルは、CM4 から下記香気成分をオミットしたサンプルを調製した。OM1, methylpyrazine オミSSION; OM2, 2-ethyl-4-methylthiazole オミSSION; OM3, 3-(methylthio)propanal オミSSION; OM4, (*E,E*)-2,4-decadienal オミSSION。各サンプルを CM4 との比較においてパネリストへ供した。

Table 2. Composition of taste-reconstituted chicken stock (t-Rec)

no.	compound name	concn($\mu\text{mol/L}$)
1	L-Leucine	440
2	L-Tyrosine	220
3	L-Isoleucine	460
4	L-Tryptophan	50
5	L-Lysine hydrochloride	2470
6	L-Valine	190
7	L-Phenylalanine	270
8	L-Arginine	520
9	L-Histidine	850
10	Taurine	6600
11	L-Glutamic acid	1830
12	Sodium aspartate monohydrate	640
13	L-Glutamine	580
14	Succinate	1300
15	5'-GMP $2\text{Na} \cdot 7.5\text{H}_2\text{O}$	20
16	5'-IMP $2\text{Na} \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	350
17	NaCl	7020
18	NH ₄ Cl	8500
19	CaCl ₂ \cdot 2H ₂ O	140
20	MgCl ₂ \cdot 6H ₂ O	400
21	K ₂ HPO ₄	15340
22	Glucose	27
23	DL-Alanine	760
24	Glycine	600
25	L-Methionine	170
26	L-Proline	190
27	L-Serine	560
28	L-Threonine	300
29	L-Lactate	22600
30	Citric acid	140
31	Sodium acetate	300
32	L-Carnosine	2920

II. 結果

1. 寄与香氣成分の同定

鶏だし香氣成分抽出物を匂い紙にとり、3名の専門パネラーにて匂い嗅ぎを行った結果、fatty flavor、boiled meaty flavor、roast meaty flavor、roast flavor、animalic flavor の特徴を有し、鶏肉から抽出した鶏だしの香氣をよく再現していたことから、水蒸気蒸留法により鶏だしの特性香氣が蒸留、抽出されていることが確認された。

続いて AEDA 法による鶏だし寄与香氣成分の同定を行った。その結果、9 香氣成分が FD factor が 16 以上を示し(Fig. 3)、そのうち以下 7 香氣成分が同定、定量された: methylpyrazine, 2-ethyl-4-methylthiazole, 3-(methylthio)propanal, 2-ethyl-1-hexanol, 3-methyl-2-cyclopentenone, 3-methylbutanoic acid, (*E,E*)-2,4-decadienal (Table 3)。

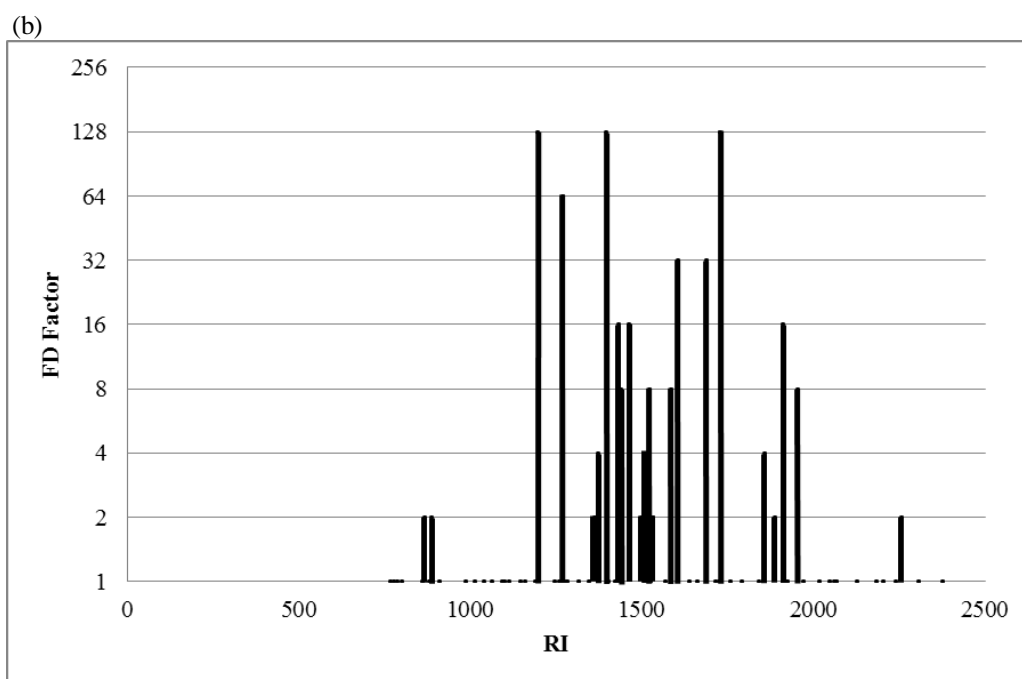
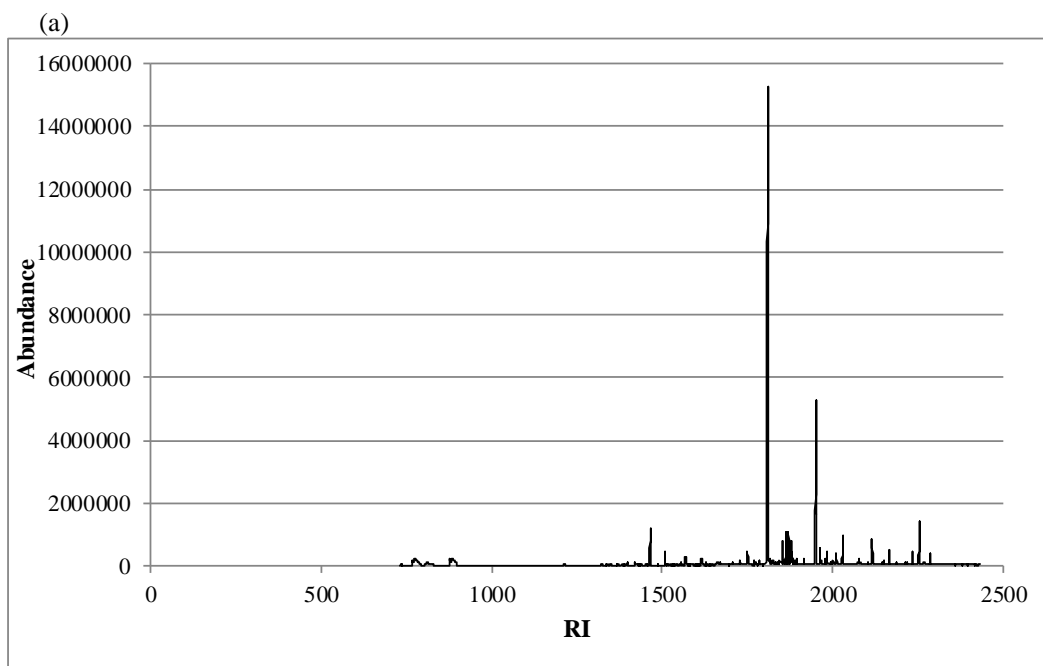


Fig. 3. (a) Gas chromatogram of the volatile fraction of chicken soup stock. (b) Flavor dilution (FD) chromatogram obtained by application of aroma extract dilution analysis (AEDA) on the volatile fraction of chicken soup stock.

Table 3. Aroma-active compounds (FD \geq 16) identified in chicken soup stock.

no.	aroma compound ^a	aroma quality ^b	RI ^c	FD factor ^d	concentration (ppb) ^e
1	Methylpyrazine	burnt, roast	1195	128	0.38
2	2-Ethyl-4-methylthiazole	roast, nutty	1267	64	0.28
3	3-(Methylthio)propanal	cooked potato-like, green	1396	128	3.79
4	2-Ethyl-1-hexanol	minty	1429	16	9.02
5	3-Methyl-2-cyclopentenone	burnt	1462	16	3.38
6	3-Methylbutanoic acid	blue cheeze-like	1603	32	14.7
7	unknown	roast, nutty	1685	32	-
8	(<i>E,E</i>)-2,4-Decadienal	fatty, chicken skin-like	1727	128	19.49
9	unknown	sweety, caramel-like	1907	16	-

^a Identification was performed by comparing the following criteria: retention index; aroma quality and aroma threshold perceived at the sniffing port; mass spectra with reference compounds. ^b Aroma property perceived at the sniffing port. ^c Retention index determined in comparison to a homologous series of n-alkanes. ^d Flavor dilution factor. ^e Concentration in chicken stock.

2. 香気再構成液と鶏だしの比較評価

同定された香気成分の鶏だし香気における寄与度を確認する為に、FD factor が 16 以上の 7 香気成分 (unknown の 2 成分を除く) と FD factor が 64 以上の 4 香気成分をそれぞれ t-Rec に添加したサンプル(各々 CM7、CM4)について、t-Rec と鶏だしとの比較評価を専門パネルにより行った。その結果、t-Rec (1.0 点) に比べて、CM7 と CM4 の評点が各項目で高くなり、特に、“fatty flavor” (1.0 点→4.4 点) と “animalic flavor” (1.0 点→4.6 点) については、CM7、CM4 共に大きく向上し、鶏だし (5.0 点) に近い評点となった(Fig. 4)。更に、CM7 と CM4 の比較では、全ての項目で評点に大差がなかった。このことから、FD factor が 64 以上の methylpyrazine、2-ethyl-4-methylthiazole、3-(methylthio)propanal、(E,E)-2,4-decadienal は鶏だしの特性に寄与する香気成分であることが示された。また上記香気成分で鶏だし香気特性に関する再現性が高い事から、本手法により鶏だしの寄与香気成分を見出すことが可能であることが確認された。

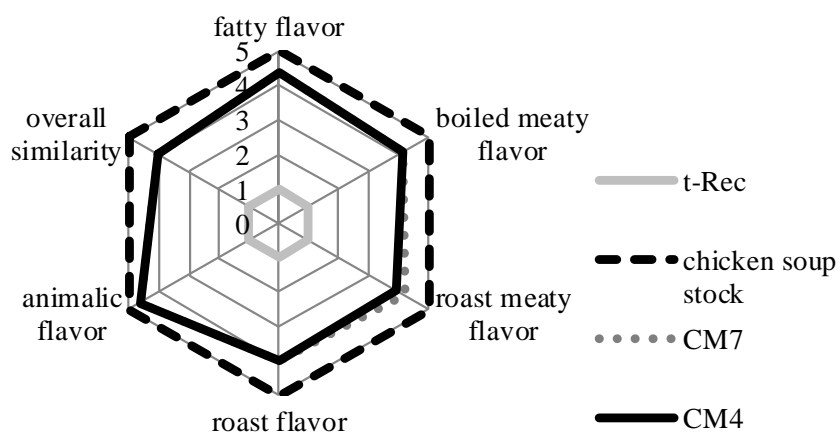


Fig. 4. Comparative flavor profile analysis of taste-reconstituted chicken soup stock (t-Rec) (gray), chicken soup stock (dashed), a complete mixture of 7 (CM7) (gray dot), and 4 (CM4) (black) odor compounds dissolved in t-Rec.

3. 寄与香气成分の特性評価

同定された各香气成分の官能特性を把握すべく、オMISSIONテストを行った。その結果、CM4に比べて、OM1からOM4のいくつかの項目の評点が、特にOM3とOM4の評点が低くなることが分かった(Fig. 5)。具体的には、OM1の“roast”の評点(2.7点)がCM4(4.0点)の評点に比べ大きく低下した($p < 0.001$)。このことから、methylpyrazineは鶏だし香气において“roast”香に寄与していることが示された。同様に、OM2の“roast meaty”(2.1点)と“roast”(2.9点)がCM4(各々3.9点, 4.0点)に比べて大きく低下した($p < 0.001$)ことから、2-ethyl-4-methylthiazoleは“roast meaty”香と“roast”香に寄与していた。また、OM3の“boiled meaty”(2.2点)がCM4(4.2点)に比べて大きく低下した($p < 0.001$)ことから、3-(Methylthio)propanalは“boiled meaty”香に寄与していた。更に、OM4の“fatty”(2.1点)、“animalic”(2.4点)、“boiled meaty”(3.2点)がCM4(各々4.4点, 4.6点, 4.2点)に比べて大きく低下した($p < 0.001$)ことから、(*E,E*)-2,4-decadienalは“fatty”香、“animalic”香、“boiled meaty”香に寄与していることが分かった。

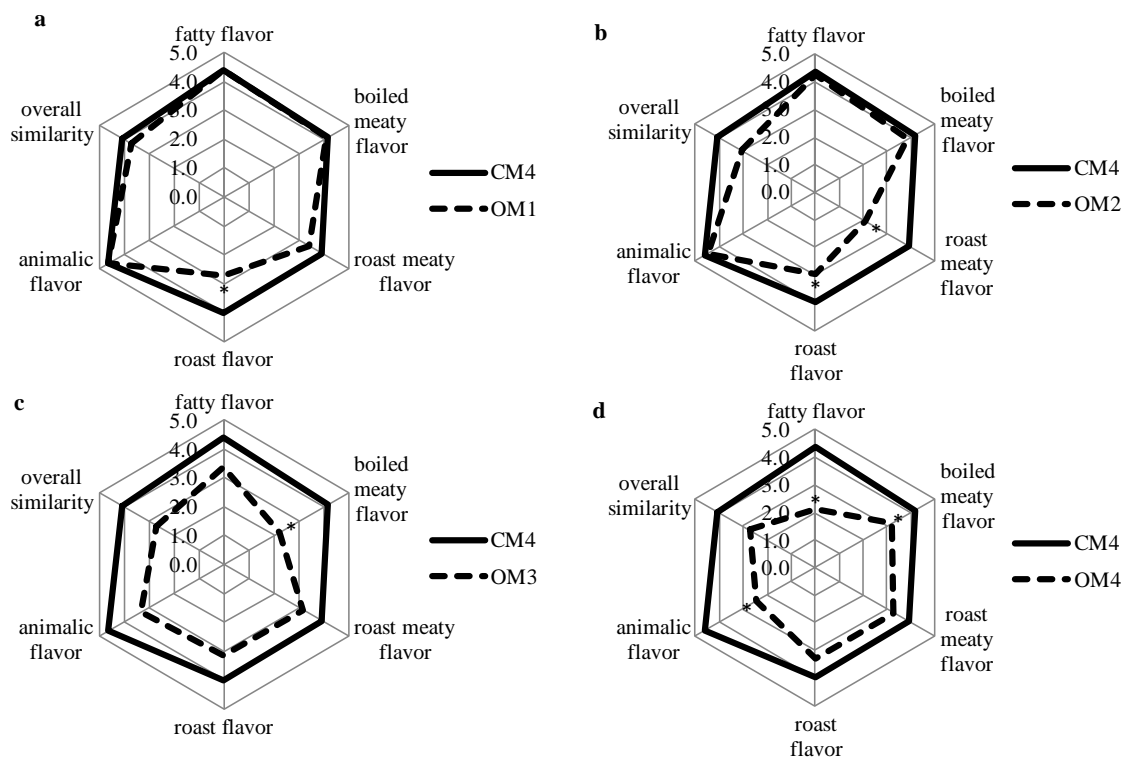


Fig. 5. Comparative flavor profile analysis of complete mixture (CM4) (black) consisting of 4 odorants dissolved in t-Rec and (a) OM1 (dashed) (Methylpyrazine omission), (b) OM2 (dashed) (2-Ethyl-4-methylthiazole omission), (c) OM3 (dashed) (3-Methylthio)propanal omission), (d) OM4 (dashed) ((*E,E*)-2,4-Decadienal omission)(* $p < 0.001$).

III. 考察

得られた結果から、methylpyrazine と 2-ethyl-4-methylthiazole は鶏だしにおいて、共に“roast”香に寄与し、更に 2-ethyl-4-methylthiazole は“roast meaty”香にも寄与していることが分かった。3-(Methylthio)propanal と(*E,E*)-2,4-decadienal は、共に“boiled meaty”香に寄与するが、(*E,E*)-2,4-decadienal は更に“fatty”香、“animalic”香も有していた。また、これら 4 香気成分は鶏だしにとって重要な寄与香気成分であることが示された。

AEDA 法により寄与度の高い香気成分を解明し、更に解明した香気成分の再構成とオMISSIONテストにより、各香気成分の鶏だしにおける官能特性解明をしたのは、本研究が初めてである。

一方で、諸言にて述べたように、蒸し鶏など加熱鶏肉の特性に寄与する香気成分の研究は行われており、その中で寄与度の高い成分として、2-methyl-3-furanthiol、2-furfurylthiol、3-(methylthio)propanal、methanethiol、2,4,5-trimethylthiazole、nonanal、2(*E*)-nonenal、2-formyl-5-methylthiophene、*p*-crezol、(*E,E*)-2,4-nonadienal、(*E,E*)-2,4-decadienal、2-undecenal、 β -ionone、 γ -decalactone、 γ -dodecalactone、hexanal、octanal、acetaldehyde がその特徴的香気と言われている³²⁻³⁴。特に、(*E,E*)-2,4-decadienal や γ -dodecalactone は、加熱鶏肉香気への寄与が高いことが示されている。

鶏だしの寄与香気成分のうち、3-(methylthio)propanal と(*E,E*)-2,4-decadienal は、加熱鶏肉香気成分と同様であるが、methylpyrazine と 2-ethyl-4-methylthiazole は加熱鶏肉の香気成分としては見出されず、鶏だしの寄与香気成分として初めて見出された。

加熱鶏肉の研究では、鶏肉を 116~119°C で 30~60 分間加熱処理を行い、鶏肉から香気成分を蒸留抽出もしくは直接抽出している。その官能特性は、“fatty”、“tallowy”、“meaty”、“sweet”などが中心となっている。一方鶏

だしは、鶏肉とその 1.6 倍量の水を原料とし、微沸騰（95℃）で長時間（4 時間）加熱することから、短時間（30～60 分）加熱の加熱鶏肉に比べ、特に“roast meaty”、“roast”など roast 系の特徴がより強くなったと考えられる。

このことから、オミSSIONテストの結果で官能特性が“roast”及び“roast meaty”であった methylpyrazine と 2-ethyl-4-methylthiazol が、鶏だしでのみ寄与香気成分として見出されたと推察される。

加熱鶏肉においては、その特性香気は脂肪酸の酸化分解物中心であり、鶏脂に多く含まれる不飽和脂肪酸であるリノール酸が酸化分解することで生成したと推察される。また加熱時間が 30～60 分の短時間の為、一般的に roast 系香気とされる pyrazine 類、thiazole 類²⁴⁾が少なかったと考えられる。一方、鶏だしは、筋しょうタンパク質、脂質由来のアクが除去され、加熱鶏肉に比べ 4 倍～8 倍の長時間加熱されている中で、水溶性低分子成分（アミノ酸、糖、核酸、脂質やその分解物）によるアミノ-カルボニル反応を端緒とする反応が進むことで、より roast 系の特徴が強くなり、methylpyrazine と 2-ethyl-4-methylthiazol の 2 成分が寄与成分となったと推察される。

しかし、これら生成メカニズムの解明と加熱鶏肉と「だし」の寄与香気成分の違いを明確にする為に、加熱時間及び脂質やタンパク質の影響についての更なる研究が必要である。

第2章 豚だしの特性に寄与する香気成分の解明

諸言

豚肉はタンパク質以外にビタミンB1も多く含み、イスラム教やユダヤ教など宗教的忌避を除き、多くの国で料理に使用されている。豚肉から抽出される豚だしは好ましい肉風味を有し、セイボリー領域の様々なメニューのベースとして世界中で使用されている。序論にて述べたように、豚だしには大きく二つのタイプがある。一つは、豚大腿骨（髄を除去せず）を強沸騰状態で加熱することで、多くの乳化物が生成する白濁タイプである。もう一つは、豚大腿骨から髄を除去したものを弱沸騰状態で加熱して調製するもので、乳化物が生成しないクリアなタイプである。

白濁タイプの豚だしは、*fatty flavor*、*animalic flavor* が強く、日本や中国でラーメンや煮物のベースとして広く使用されている。この豚だしは、我々日本人に馴染み深いタイプである。一方、クリアなタイプの豚だしは、*roundness* (*light fatty or oily flavor*)、*full body* (*strong fatty flavor*)、*mouthfulness* (*rich boiled meat-like and complicated flavor*)、*continuity* (*long-lasting boiled meat-like flavor*)を香気特徴とし、東南アジアでフォー（米麺入りスープ）や炒め物のベースとして広く使用されている。

白濁タイプの豚だしの香気成分は、*gas chromatography-olfactometry* (GC-O)を用いた研究により、多くの成分が明らかになっている。その中で、*hexanal*、*(E,E)-2,4-nonadienal*、*2-undecenal*、*1-octen-3-ol*、*1-octanol* は特徴的な香気成分と言われている³⁵⁾。しかし、クリアなタイプの豚だしの特性に寄与する香気成分の特定はなされていない。

そこで、第2章では、クリアなタイプの豚だしの特性に寄与する香気成分の解明と、寄与香気成分の官能特性の解明を行った。具体的には、クリアなタイプの豚だしの *solvent-assisted flavor evaporation* (SAFE)⁴⁰⁾ 蒸留品から *Aroma extract dilution analysis* (AEDA)法と *high flavor dilution* (FD) *factors* の組合せにより、寄与香気成分を抽出し、更にオミSSIONテストにより特に寄与度

の高い香気成分を解明した。解明した寄与香気成分をクリアなタイプの豚だし呈味再構成液に添加した水溶液と豚肉から抽出したクリアなタイプの豚だしの風味特性を官能評価で比較し、それぞれの寄与度を評価した。更に各香気成分のアディクションテスト、オMISSIONテストを行う事により各香気成分の官能特性を解明した。

I. 材料及び方法

1. 試薬類

全ての試薬はシグマアルドリッチジャパン株式会社より購入した。

2. 豚だしの調製

市販の豚大腿骨を 2 等分し、沸騰したお湯で 5 分間下茹でした後、流水で洗い、アク、髄を取り除いた。寸胴に下茹でした豚大腿骨 2.2kg と水 13.9kg を入れ、沸騰するまで強火で加熱し、沸騰後弱火にし、アクを除きながら弱火 ($93 \pm 2^{\circ}\text{C}$) で 4 時間煮込んだ。4 時間後キッチンペーパーで濾過し、クリアな豚だしを得た。豚だしは使用時まで -21°C で保管した。

3. 豚だしの香気成分の抽出

豚だし (20ml) をジエチルエーテル (20ml) で 3 回抽出し、得られたジエチルエーテル相に無水硫酸ナトリウムを適量加え一晩放置し、solvent-assisted flavor evaporation (SAFE) 蒸留⁴⁰⁾を行った。更に窒素パーズにて 100 μl となるまで濃縮を行った。

4. Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS)

豚だしの香気成分は、Agilent 6890 gas chromatograph と Agilent 5973 mass spectrometer (アジレント・テクノロジー株式会社) へ modular accelerated column heating (MACH) system (ゲステル株式会社) を組み合わせて分析した。2 μl の豚だし香気成分抽出物を DB-Wax カラム(LTM column, 10-m length \times 0.18 mm-ID, 0.3- μm film thickness; アジレント・テクノロジー株式会社)へ注入した。キャリアガスとしてはヘリウムガスを用い、平均線速度 38 cm/s とした。オープン温度は 40°C に 1 分間保持した後、 220°C まで $15^{\circ}\text{C}/\text{min}$ の速度で昇温し、更に 240°C まで $25^{\circ}\text{C}/\text{min}$ の速度で昇温し、 240°C で 3 分間保持した。GC-MS 条件は以下: スプリ

ットレスモード; 注入口温度, 200°C; purge on time, 60 s; scan range, 29-350 amu; スキャン速度, 2.2 scans/s.

5. Aroma Extract Dilution Analysis (AEDA)

GC-O 装置として Gerstel ODP2 (ゲステル株式会社)を使用した。2 μ l の豚だし揮発性画分を DB-Wax カラム (10 m length \times 0.18 mm i.d., 0.3 μ m film thickness; アジレント・テクノロジー株式会社)へ注入した。GC 条件は上記記載 GC-MS 条件と同じである。各香気成分の FD factor は各香気成分の GC-O で検知可能な最大希釈濃度に対する希釈前濃度割合として測定した。FD chromatogram は、3名のエキスパートパネルの平均値を示した。

6. 香気成分の同定と定量

香気成分の同定は、GC retention indices (RI)、Wiley mass spectral database (John Wiley and Sons, Inc.)とのマススペクトル比較、標準試薬との香気特性比較により行った。同定された各香気成分の定量は、各標準試薬を段階的にジエチルエーテルに溶かしたスタンダードに対するピークエリア面積比率より算出した。

7. 香気再構成液と豚だしの比較評価

(1) パネル

豚だしの香気評価について訓練された3名の専門パネルにて3回繰り返し評価を行った (n=9)。統計的な解析は、t検定 (片側) を用いた。

(2) 評価項目

豚だしと豚だし呈味再構成液 (taste-reconstituted pork stock : t-Rec) (Table 1)の比較により、豚だしの特性を表現する5つの以下の香気特性を評価項目として選定した : roundness (light fatty or oily flavor), full

body (strong fatty flavor), mouthfulness (rich boiled meat-like and complicated flavor), continuity (long-lasting boiled meat-like flavor), overall similarity (overall similarity to pork stock)。

(3) サンプル

藤村らの報告による方法⁴¹⁾に従って豚だし呈味成分分析 (アミノ酸、ATP 代謝物、無機塩) を行い、分析値に基づいて豚だし呈味再構成液 (taste-reconstituted pork soup stock :t-Rec) を調製した (Table 4)。FD factor が 64 以上の香気 15 成分もしくは特に寄与度の高い香気 4 成分を t-Rec へ定量値添加したサンプル (各々 CM15、CM4) を調製した。

(4) 官能評価

評価溶液は試飲カップにてパネリストへ供した。パネリストは上記 5 つの評価項目について、評価サンプルを t-Rec、豚だしと比較し、評点 1.0 (not perceivable, = t-Rec), 2.0 (weak), 3.0 (medium), 4.0 (strong), 5.0 (very strong, =pork soup stock)にて評点付けを行った。得られた結果の平均値をレーダーチャートへプロットした。

Table 4. Composition of Taste-Reconstituted Pork Stock (t-Rec)

No.	Compound name	Concn (mg/100g)
1	Taurine	3.36
2	L-Threonine	1.11
3	L-Serine	0.82
4	Glycine	2.48
5	L-Alanine	2.38
6	L-Valine	1.00
7	L-Leucine	1.11
8	L-Proline	1.48
9	Monosodium glutamate	4.88
10	Lactic acid	20.0
11	Potassium dihydrogen phosphate	8.79
12	Calcium chloride	4.03
13	Potassium chloride	26.1
14	Magnesium chloride	3.34
15	Sodium chloride	400

8. オミッショントテストによる寄与香気成分の解明

パネルは、前項7と同手法にて行った。

サンプルは、CM15 から下記香気成分をオミットしたサンプルを調製した。acetol (OM1-1), nonanal (OM1-2), acetic acid (OM1-3), benzaldehyde (OM1-4), 1-octanol (OM1-5), 3-methylbutanoic acid (OM1-6), 2-pentadecanone (OM1-7), octanoic acid (OM1-8), nonanoic acid (OM1-9), δ -decalactone (OM1-10), methyl palmitate (OM1-11), decanoic acid (OM1-12), dodecanoic acid (OM1-13), 5-(hydroxymethyl) furfural (OM1-14), vanillin (OM1-15)。各サンプルを CM15 との比較においてパネリストへ供した。

官能評価において、パネリストは CM15 に対する全体の類似性(overall similarity)について、評点 1.0 (different), 2.0 (little similarity), 3.0 (similar), 4.0 (almost the same), 5.0 (same)にて評点付けを行った。得られた結果の平均値を棒グラフへプロットした。

9. アディッショントテストによる香気成分の特性評価

パネル、評価項目及び官能評価は、前項7と同手法にて行った。

サンプルは、t-Rec へ下記香気成分を1成分ずつ定量値でアディクションしたサンプルを調製した：acetol (AD1), octanoic acid (AD2), δ -decalactone (AD3), decanoic acid (AD4)。各サンプルを t-Rec との比較においてパネリストへ供した。

10. オミッショントテストによる香気成分の特性評価

パネル、評価項目及び官能評価は、前項7と同手法にて行った。

サンプルは、CM4 から下記香気成分を1成分ずつオミットしたサンプルを調製した：acetol (OM2-1), octanoic acid (OM2-2), δ -decalactone (OM2-3), decanoic acid (OM2-4)。各サンプルを CM4 との比較においてパネリストへ供した。

II. 結果

1. 寄与香気成分の同定

豚だし香気成分抽出物を匂い紙にとり、3名の専門パネラーにて匂い嗅ぎを行った結果、roundness、full body、mouthfulness、continuityの特徴を有し、豚肉から抽出した豚だしの香気をよく再現していたことから、SAFE 蒸留法により豚だしの特徴香気が蒸留、抽出されていることが確認された。

続いて AEDA 法による豚だし寄与香気成分の同定を行った。その結果、FD factor が 64 以上を示した以下 15 香気成分が同定、定量された (Fig. 6): acetol, nonanal, acetic acid, benzaldehyde, 1-octanol, 3-methylbutanoic acid, 2-pentadecanone, octanoic acid, nonanoic acid, δ -decalactone, methyl palmitate, decanoic acid, dodecanoic acid, 5-(hydroxymethyl) furfural, vanillin (Table 5)。

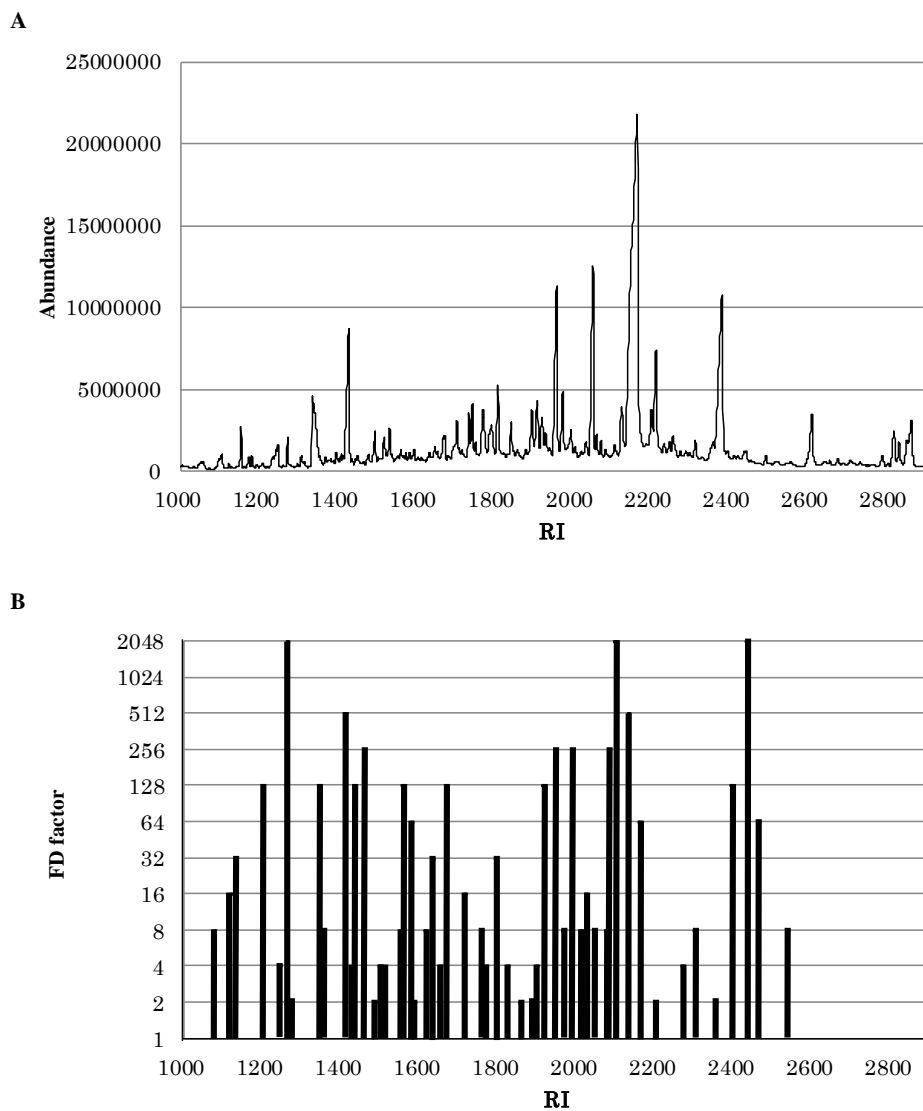


Fig. 6. Gas Chromatogram and Flavor Dilution (FD) Chromatogram.
 A: Gas chromatogram of the pork soup stock extract. B: Flavor dilution (FD) chromatogram obtained by applying the aroma extract dilution analysis (AEDA) to an extract of pork soup stock.

Table 5. Aroma-Active Compounds (FD \geq 64) Identified in the Pork Stock

No.	Aroma compound ^a	Aroma quality ^b	RI ^c	FD factor ^d	Concn (ppm) ^e
1	Acetol	mushroom-like, green	1197	128	0.74
2	Nonanal	oily, bitter	1261	2048	0.01
3	Acetic acid	sour	1343	128	0.04
4	Benzaldehyde	almond-like, roasty	1410	512	0.50
5	1-Octanol	fatty, oxidized oil-like	1456	256	2.60
6	3-Methylbutanoic acid	animal, cheese-like	1576	64	0.03
7	2-Pentadecanone	sweet	1913	128	0.06
8	Octanoic acid	oily, green, pungent	1986	256	1.10
9	Nonanoic acid	waxy, fatty	2081	256	0.04
10	δ -Decalactone	sweet, milky	2094	2048	0.77
11	Methyl palmitate	sweet	2130	512	2.20
12	Decanoic acid	fatty, sweet	2159	64	6.50
13	Dodecanoic acid	camphor	2392	128	1.00
14	5-(Hydroxymethyl) furfural	musty	2431	2048	0.20
15	Vanillin	vanilla	2460	64	0.10

^a Identification was performed by comparing the following criteria: retention index; aroma quality and aroma threshold perceived at the sniffing port; mass spectra with reference compounds.

^b Aroma property perceived at the sniffing port.

^c Retention index determined in comparison to a homologous series of n-alkanes.

^d Flavor dilution factor.

^e Concentration in pork stock.

2. 香気再構成液と豚だしの比較評価

同定された香気成分の豚だし香気における寄与度を確認する為に、FD factor が 64 以上の 15 香気成分を t-Rec に添加したサンプル (CM15) について、t-Rec と豚だしとの比較評価を専門パネルにより行った。その結果、t-Rec (1.0 点) に比べて、CM15 の評点が全ての項目で高くなり、特に、“roundness” (1.0 点→4.2 点) と “continuity” (1.0 点→4.1 点) については大きく向上し、豚だし (5.0 点) に近い評点となった(Fig. 7)。このように、上記香気成分で豚だし香気特性に関する再現性が高い事から、本手法により豚だしの寄与香気成分が正しく見出されたことが確認された。

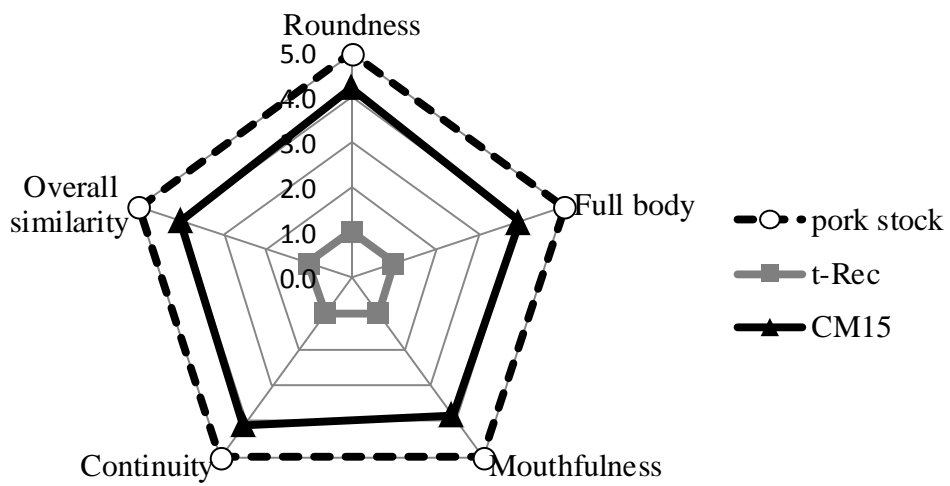


Fig. 7. Comparative Flavor Profile Analysis of the Taste-reconstituted Pork Stock (t-Rec, gray) and Pork Stock (dashed) and of the Complete Mixture (CM15, black) Consisting of Fifteen Aroma Compounds Dissolved in t-Rec.

3. オミッショントテストによる寄与香气成分の解明

15 寄与香气成分から、特に寄与度の高い香气成分を決定すべくオミッショントテストを行った。

その結果、acetol だけを除いた構成液 OM1-1 (2.8 点; $p < 0.001$)、octanoic acid だけを除いた構成液 OM1-8 (2.6 点; $p < 0.001$)、 δ -decalactone だけを除いた構成液 OM1-10 (3.0 点; $p < 0.001$)、decanoic acid だけを除いた構成液 OM1-12 (2.4 点; $p < 0.001$)の類似性は、CM15 (4.0 点)のものに比べて有意に低くなった(Fig. 8)。つまり、acetol、octanoic acid、 δ -decalactone、decanoic acid が豚だしの特性に寄与する特に寄与度の高い成分であると推定された。

特に寄与度の高いこれら 4 香气成分の豚だし香气における寄与度を確認する為に、4 香气成分を t-Rec に添加したサンプル (CM4) について、t-Rec と CM15 との比較評価を専門パネルにより行った。その結果、全体の類似性 (overall similarity) において CM4 の評点が 3.6 点と CM15 の評点 (4.0 点) に近くなり、更に全ての項目において、CM4 の評点が CM15 と同等となった (Fig. 9)。このことから、4 香气成分 acetol、octanoic acid、 δ -decalactone、decanoic acid は豚だしの特性に寄与する最も寄与度の高い香气成分であり、本手法により豚だしの寄与香气成分が正しく決定されたことが確認できた。

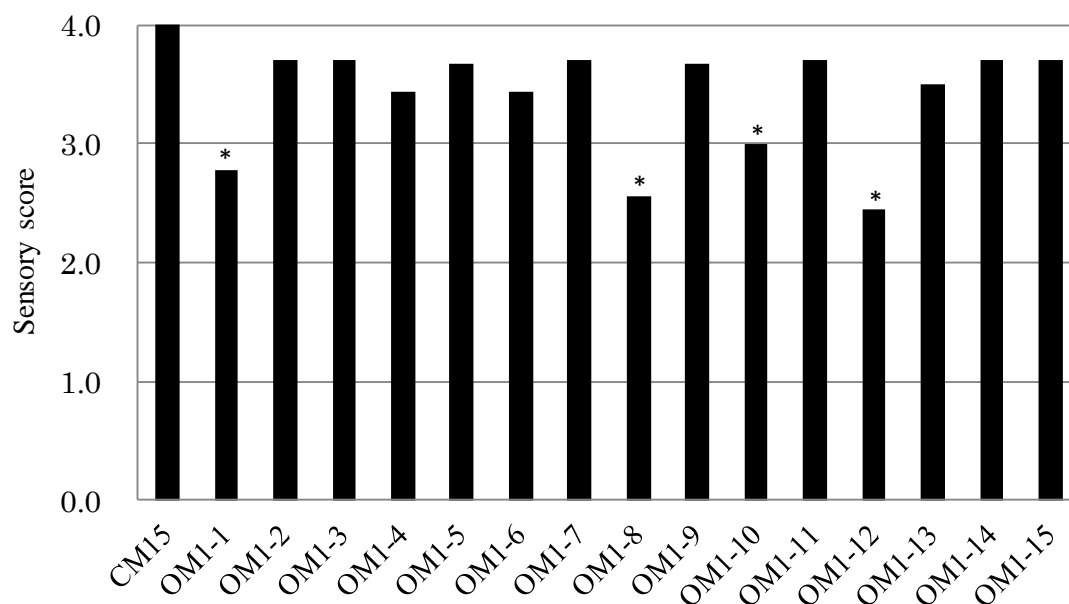


Fig. 8. Comparative Overall Similarity Analysis of the Complete Mixture (CM15) Consisting of Fifteen Aroma Compounds Dissolved in t-Rec and OM1-1 (acetol omission), OM1-2 (nonanal omission), OM1-3 (acetic acid omission), OM1-4 (benzaldehyde omission), OM1-5 (1-octanol omission), OM1-6 (3-pethylbutanoic acid omission), OM1-7 (2-pentadecanone omission), OM1-8 (octanoic acid omission), OM1-9 (nonanoic acid omission), OM1-10 (δ -decalactone omission), OM1-11 (methyl palmitate omission), OM1-12 (decanoic acid omission), OM1-13 (dodecanoic acid omission), OM1-14 (5-(hydroxymethyl) furfural omission), and OM1-15 (vanillin omission). * $p < 0.001$ is considered statistically significant.

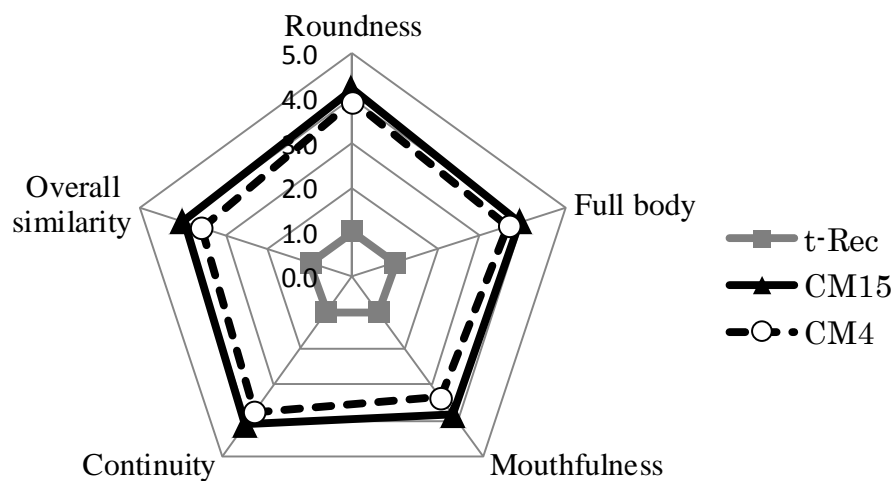


Fig. 9. Comparative Flavor Profile Analysis of Taste-reconstituted Pork Stock (t-Rec) (gray) and of a Complete Mixture (CM15; black) Consisting of Fifteen Aroma Compounds Dissolved in t-Rec, and of a Complete Mixture (CM4; dashed) Consisting of Four Aroma Compounds Dissolved in t-Rec.

4. 寄与香气成分の特性評価

特に寄与度の高い成分として選定された4香气成分の官能特性を把握すべく、アディクションテストを行った。その結果、t-Rec に比べて、AD1 から AD4 のいくつかの項目の評点が高くなることが分かった(Fig. 10)。具体的には、AD1 の“mouthfulness”と“continuity”の評点(各々1.6点、1.5点)が t-Rec(1.0点)の評点に比べ高くなった($p < 0.001$)。このことから、acetol は豚だし香气において“mouthfulness”と“continuity”に寄与していることが示された。同様に、AD2 の“roundness”(1.7点)と“mouthfulness”(1.7点)が t-Rec に比べて高くなった($p < 0.001$)ことから、octanoic acid は“roundness”と“mouthfulness”に寄与していた。また、AD3 の“roundness”(1.8点)が t-Rec に比べて高くなった($p < 0.001$)ことから、 δ -decalactone は“roundness”に寄与していた。更に、AD4 の“full body”(1.8点)が t-Rec に比べて高くなった($p < 0.001$)ことから、decanoic acid は“full body”に寄与していることが分かった。

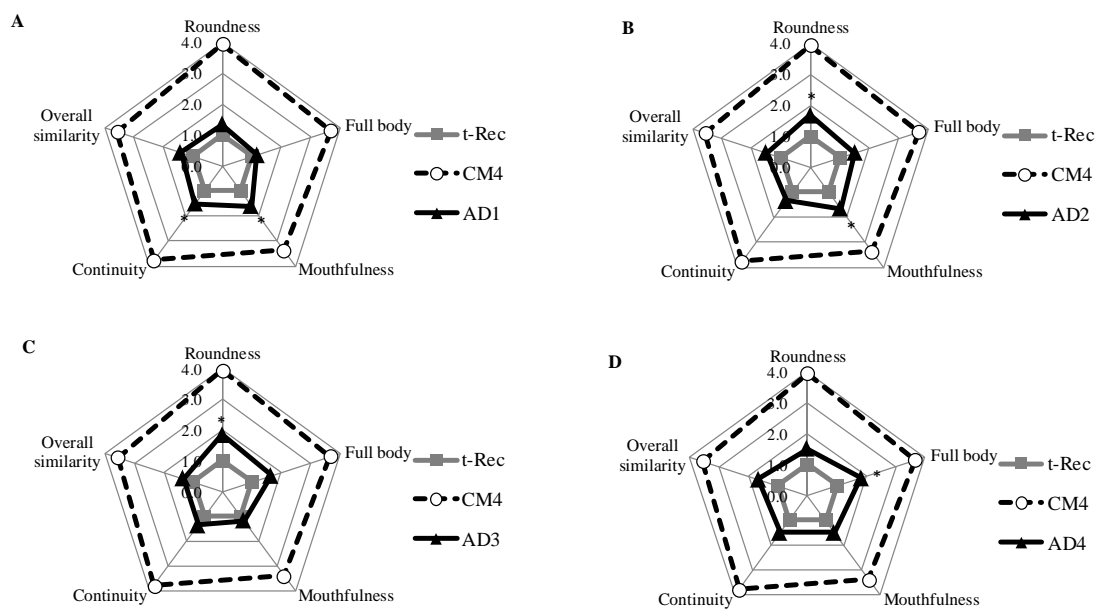


Fig. 10. Comparative Flavor Profile Analysis of a Complete Mixture (CM4; dashed) Consisting of Four Aroma Compounds Dissolved in t-Rec and of (A) AD1 (black; acetol addition), (B) AD2 (black; octanoic acid addition), (C) AD3 (black; δ -decalactone addition), and (D) AD4 (black; decanoic acid addition).

* $p < 0.001$ is considered statistically significant.

特に寄与度の高い成分として選定された4香り成分の官能特性を把握すべく、更にオMISSIONテストを行った。その結果、CM4に比べて、OM2-1からOM2-4のいくつかの項目の評点が低くなることが分かった(Fig. 11)。具体的には、OM2-1の“mouthfulness”と“continuity”の評点(各々2.5点、2.5点)がCM4(各々3.4点、3.8点)の評点に比べ大きく低下した($p<0.001$)。このことから、acetolは豚だし香りにおいて“mouthfulness”と“continuity”に寄与していることが示された。同様に、OM2-2の“roundness”(2.5点)と“mouthfulness”(2.4点)がCM4(各々3.9点、3.4点)に比べて大きく低下した($p<0.001$)ことから、octanoic acidは“roundness”と“mouthfulness”に寄与していた。また、OM2-3の“roundness”(2.4点)がCM4(3.9点)に比べて大きく低下した($p<0.001$)ことから、 δ -decalactoneは“roundness”に寄与していた。更に、OM2-4の“full body”(2.3点)、“mouthfulness”(2.3点)がCM4(各々3.7点、3.4点)に比べて大きく低下した($p<0.001$)ことから、decanoic acidは“full body”と“mouthfulness”に寄与していることが分かった。

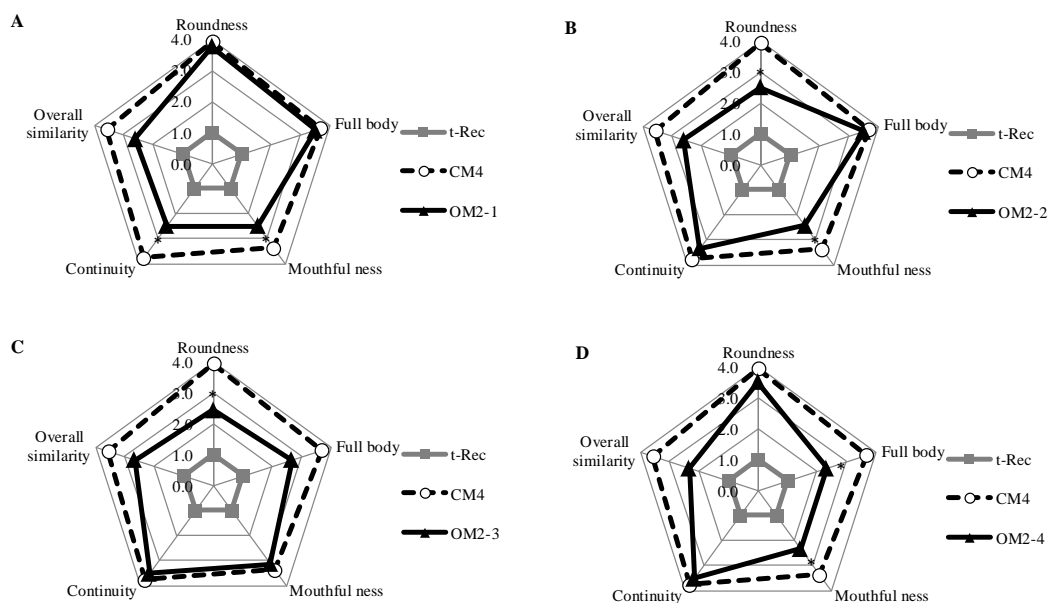


Fig. 11. Comparative Flavor Profile Analysis of a Complete Mixture (CM4; dot) Consisting of Four Aroma Compounds Dissolved in t-Rec and of (A) OM2-1 (black; acetol omission), (B) OM2-2 (black; octanoic acid omission), (C) OM2-3 (black; δ -decalactone omission), and (D) OM2-4 (black; decanoic acid omission). * $p < 0.001$ is considered statistically significant.

III. 考察

アディクションテスト、オミSSIONテストにて得られた結果から、acetol、octanoic acid、decanoic acid は豚だしにおいて、共に mouthfulness (boiled meat-like rich and complicated flavor)に寄与し、acetol は更に continuity (a long-lasting boiled meat flavor)に、octanoic acid は更に roundness (fatty or oily light flavor)に寄与していることが分かった。また decanoic acid は、mouthfulness に加え full body (fatty strong flavor profile)にも寄与していた。一方、 δ -decalactone は roundness にのみ寄与していた。また、これら 4 香気成分は豚だしにとって重要な寄与香気成分であることが示された。

諸言にて述べたように、白濁タイプの豚だしは、fatty flavor、animalic flavor が強く、その特性に寄与する香気成分の研究は行われており、その中で寄与度の高い成分の研究も行われており、hexanal、(*E,E*)-2,4-nonadienal、2-undecenal、1-octen-3-ol、1-octanol が白濁タイプの豚だしの寄与香気成分であることが知られている³⁵⁾。

しかし、白濁タイプの豚だしに見出されたこれら香気成分は、roundness、full body、mouthfulness、continuity を特性とするクリアタイプの豚だしの寄与香気成分としては見出されなかった。この理由の一つとして、骨髄の有無と加熱条件の違いが考えられる。白濁タイプの豚だしは、骨髄を除去しない豚大腿骨を強沸騰状態で加熱する。骨髄には多くの脂質が含まれていることが知られており⁴²⁾、更に、鶏だしや牛だしにおいて、脂肪含有量が高いほど、多くの脂質酸化物が生成されることが知られている³²⁾。このことから、白濁タイプの豚だしにおいては、骨髄に含まれる多くの脂質が、約 100°Cの強沸騰状態で長時間加熱され、多くの脂質乳化物が生成することで、主に脂質酸化分解反応が起こり、これら香気成分が生成したと考えられる。一方、白濁タイプの豚だしに見出されたこれら香気成分は、クリアなタイプの豚だしの寄与香気成分としては見出されなかった理由

として、クリアなタイプの豚だしは、大腿骨周辺の付着脂肪を含むものの、骨髄を除去するため白濁タイプに比べて脂質含量が少ない。更に、クリアなタイプの豚だしでも脂質酸化分解反応が中心となるものの、93°C前後の弱火で乳化物を生成させずに煮込むため、白濁タイプの豚だしに比べると脂質酸化反応が少なく、寄与成分が異なると推察される。

クリアなタイプの豚だしにおいて、AEDA法により寄与度の高い香気成分を解明し、更に解明した香気成分の再構成とアディクションテスト、オミクションテストにより、各香気成分の豚だしにおける官能特性解明をしたのは、本研究が初めてである。

しかし、これらクリアなタイプの豚だしの生成メカニズム及び白濁タイプの豚だしとの寄与香気成分の違いについて、更なる研究が必要である。

第3章 ビーフエキスの特性に寄与する香気成分の解明

諸言

牛肉は良質なタンパク質が豊富に含まれ、ヒンドゥー教などの忌避を除き、多くの国で料理に使用されている。序論にて述べたように、牛だしは、ヨーロッパを起源とし、スープやシチュー、ソースなど、西洋料理のベースに使用されるが、中南米、アジア、オーストラリア等多くの国へは現在商業的にビーフエキスという形で普及している。ビーフエキスは商業的に、牛肉を約 100°C に煮込んだ牛だしから油脂を取り除き、120~140°C での殺菌、濃縮により肉風味を強化する製法で作られる⁴³⁾。

茹で牛肉などの加熱牛肉については、これまで gas chromatography-olfactometry (GC-O) を用いた研究で多くの香気成分が同定されている。その中で、3-(methylthio)propanal、2-ethyl-3,5-dimethylpyrazine、2-propyl-3-methylpyrazine、2-methyl-3-furanthiol、bis(2-methyl-3-furyl) disulfide、2-acetyl-1-pyrroline、2-acetylthiazole、2(*E*)-octenal、2(*E*)-nonenal、(*E,E*)-2,4-nonadienal、(*E,E*)-2,4-decadienal、1-octen-3-one、2-octanone、2-decanone、2-dodecanone、phenylacetaldehyde、 β -ionone、2-furfuryl 2-methyl-3-furyl disulfide は特徴的な香気成分とされている^{25, 36, 37)}。特に、cooked potato、meaty の香気特性を持つ、3-(methylthio)propanal と 2-furfuryl 2-methyl-3-furyl disulfide が加熱牛肉香気への寄与が高いことが示されている。これら研究では、香気成分を茹でた牛肉から蒸留抽出もしくは直接抽出している。しかし、牛肉から抽出した牛だしを更に加熱濃縮し、roasted flavor、boiled meaty flavor、sweet meaty flavor などの特性を持つビーフエキスについて、その特性に寄与する香気成分の特定はなされていない。

そこで、第3章では、ビーフエキスの特性に寄与する香気成分の解明と、寄与香気成分の官能特性の解明を行った。具体的には、ビーフエキスの solvent-assisted flavor evaporation (SAFE)⁴⁰⁾ 蒸留品から Aroma extract dilution analysis (AEDA)法と high flavor dilution (FD) factors の組合せによ

り、寄与香气成分を抽出し、更にオミッショントテストにより特に寄与度の高い香气成分を解明した。解明した寄与香气成分をビーフエキス呈味再構成液に添加した水溶液とビーフエキスの風味特性を官能評価で比較し、それぞれの寄与度を評価した。更に各香气成分のアディッショントテスト、オミッショントテストを行う事により各香气成分の官能特性を解明した。

I. 材料及び方法

1. 試薬類

全ての試薬はシグマアルドリッチジャパン株式会社より購入した。

2. ビーフエキスの香気成分の抽出

ビーフエキス (Bordon Beef extract; JBS S/A 社, Brazil) (20ml) をジエチルエーテル (20ml) で 3 回抽出し、得られたジエチルエーテル相に無水硫酸ナトリウムを適量加え一晩放置し、solvent-assisted flavor evaporation (SAFE) 蒸留⁴⁰⁾を行った。更に窒素パージにて 100 μ l となるまで濃縮を行った。

3. Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS)

ビーフエキスの香気成分は、Agilent 6890 gas chromatograph と Agilent 5975 mass spectrometer (アジレント・テクノロジー株式会社) へ modular accelerated column heating (MACH) system (ゲステル株式会社) を組合わせて分析した。2 μ l のビーフエキス香気成分抽出物を DB-Wax カラム (LTM column, 10-m length \times 0.18 mm-ID, 0.3- μ m film thickness; アジレント・テクノロジー株式会社) へ注入した。キャリアガスとしてはヘリウムガスを用い、平均線速度 38 cm/s とした。オープン温度は 40 $^{\circ}$ C に 1 分間保持した後、220 $^{\circ}$ C まで 15 $^{\circ}$ C/min の速度で昇温し、更に 240 $^{\circ}$ C まで 25 $^{\circ}$ C/min の速度で昇温し、240 $^{\circ}$ C で 3 分間保持した。GC-MS 条件は以下: スプリットレスモード; 注入口温度, 200 $^{\circ}$ C; purge on time, 60 s; scan range, 29-350 amu; スキャン速度, 2.2 scans/s.

4. Aroma Extract Dilution Analysis (AEDA)

GC-O 装置として Gerstel ODP2 (ゲステル株式会社) を使用した。2 μ l のビーフエキス揮発性画分を DB-Wax カラム (10 m length \times 0.18 mm

i.d., 0.3 μm film thickness; アジレント・テクノロジー株式会社)へ注入した。GC 条件は上記記載 GC-MS 条件と同じである。各香気成分の FD factor は各香気成分の GC-O で検知可能な最大希釈濃度に対する希釈前濃度割合として測定した。FD chromatogram は、3 名のエキスパートパネルの平均値を示した。

5. 香気成分の同定と定量

香気成分の同定は、GC retention indices (RI)、Wiley mass spectral database (John Wiley and Sons, Inc.)とのマススペクトル比較、標準試薬との香気特性比較により行った。同定された各香気成分の定量は、各標準試薬を段階的にジエチルエーテルに溶かしたスタンダードに対するピークエリア面積比率より算出した。

6. 香気再構成液とビーフエキスの比較評価

(1) パネル

ビーフエキスの香気評価について訓練された 3 名の専門パネルにて 2 回繰り返し評価を行った (n=6)。統計的な解析は、t 検定 (片側) を用いた。

(2) 評価項目

ビーフエキスとビーフエキス呈味再構成液 (taste-reconstituted pork stock : t-Rec) (Table 6) の比較により、ビーフエキスの特性を表現する 4 つの以下の香気特性を評価項目として選定した : roasted flavor (oven-cooked meat with surface browning-like flavor)、boiled meaty flavor (boiled meat without browning-like flavor)、sweet meaty flavor (caramel-like sweet meaty flavor)、overall similarity (overall similarity to beef extract)。

(3) サンプル

藤村らの報告による方法⁴¹⁾に従ってビーフエキス呈味成分分析(アミノ酸、ATP代謝物、糖、有機酸、無機塩)を行い、分析値に基づいてビーフエキス呈味再構成液(taste-reconstituted beef extract :t-Rec)を調製した(Table 6)。FD factor が 32 以上の香り 7 成分もしくは特に寄与度の高い香り 4 成分を t-Rec へ定量値添加したサンプル(各々CM7、CM4)を調製した。

(4) 官能評価

評価溶液は試飲カップにてパネリストへ供した。パネリストは上記 5 つの評価項目について、評価サンプルを t-Rec、ビーフエキスと比較し、評点 1.0 (not perceivable, = t-Rec), 2.0 (weak), 3.0 (medium), 4.0 (strong), 5.0 (very strong, =beef extract)にて評点付けを行った。得られた結果の平均値を表に示した。

Table 6. Composition of taste-reconstituted beef extract (t-Rec)

No.	Compound name	Concentration ^a (mg/100g)
1	L-threonine	0.83
2	L-proline	0.19
3	glycine	0.68
4	L-alanine	2.34
5	L-valine	0.41
6	L-methionine	0.24
7	L-isoleucine	0.19
8	L-leucine	0.34
9	DL-tyrosine	0.46
10	L-phenylalanine	0.32
11	L-arginine	0.41
12	L-histidine	4.28
13	monosodium glutamate	0.63
14	L-glutathione, reduced	3.95
15	taurine	3.02
16	creatinine	7.20
17	NaCl	10.70
18	KCl	49.60
19	L-mannose	0.10
20	D-fructose	0.25
21	D-glucose	0.50
22	L-lactic acid	0.43
23	succinic acid	0.63
24	inosinic acid	2.67

^a Concentration in beef extract.

7. オミSSIONテストによる寄与香气成分の解明

パネルは、前項6と同手法にて行った。

サンプルは、CM7から下記香气成分をオミットしたサンプルを調製した。

2,3,5-trimethyl pyrazine (OM1-1)、1-octen-3-ol (OM1-2)、3-methylbutanoic acid (OM1-3)、benzaldehyde (OM1-4)、fulfuryl alcohol (OM1-5)、acetyl pyrrol(OM1-6)、4-hydroxy-2,5-dimethyl-3(2*H*)-furanone (OM1-7)。各サンプルをCM7との比較においてパネリストへ供した。

官能評価において、パネリストはCM7に対する全体の類似性(overall similarity)について、評点 1.0 (different), 2.0 (little similarity), 3.0 (similar), 4.0 (almost the same), 5.0 (same)にて評点付けを行った。得られた結果の平均値を棒グラフへプロットした。

8. アディSSIONテストによる香气成分の特性評価

パネル、評価項目及び官能評価は、前項6と同手法にて行った。

サンプルは、t-recへ下記香气成分を1成分ずつ定量値でアディSSIONしたサンプルを調製した: 2,3,5-trimethyl pyrazine (AD1)、1-octen-3-ol (AD2)、3-methylbutanoic acid (AD3)、4-hydroxy-2,5-dimethyl-3(2*H*)-furanone (AD4)。各サンプルをt-Recとの比較においてパネリストへ供した。

9. オミSSIONテストによる香气成分の特性評価

パネル、評価項目及び官能評価は、前項6と同手法にて行った。

サンプルは、CM4から下記香气成分を1成分ずつオミットしたサンプルを調製した: 2,3,5-trimethyl pyrazine (OM2-1)、1-octen-3-ol (OM2-2)、3-methylbutanoic acid(OM2-3)、4-hydroxy-2,5-dimethyl-3(2*H*)-furanone (OM2-4)。各サンプルをCM4との比較においてパネリストへ供した。

II. 結果

1. 寄与香气成分の同定

ビーフエキス香气成分抽出物を匂い紙にとり、3名の専門パネラーにて匂い嗅ぎを行った結果、roasted flavor、boiled meaty flavor、sweet meaty flavor の特徴を有し、ビーフエキスの香气をよく再現していたことから、SAFE 蒸留法によりビーフエキスの特徴香气が蒸留、抽出されていることが確認された。

続いて AEDA 法によるビーフエキス寄与香气成分の同定を行った。その結果、7香气成分が FD factor が 32 以上を示し(Fig. 12)、以下のように同定、定量された：2,3,5-trimethyl pyrazine、1-octen-3-ol、3-methylbutanoic acid、benzaldehyde、furfuryl alcohol、acetyl pyrrol、4-hydroxy-2,5-dimethyl-3(2*H*)-furanone (Table 7)。

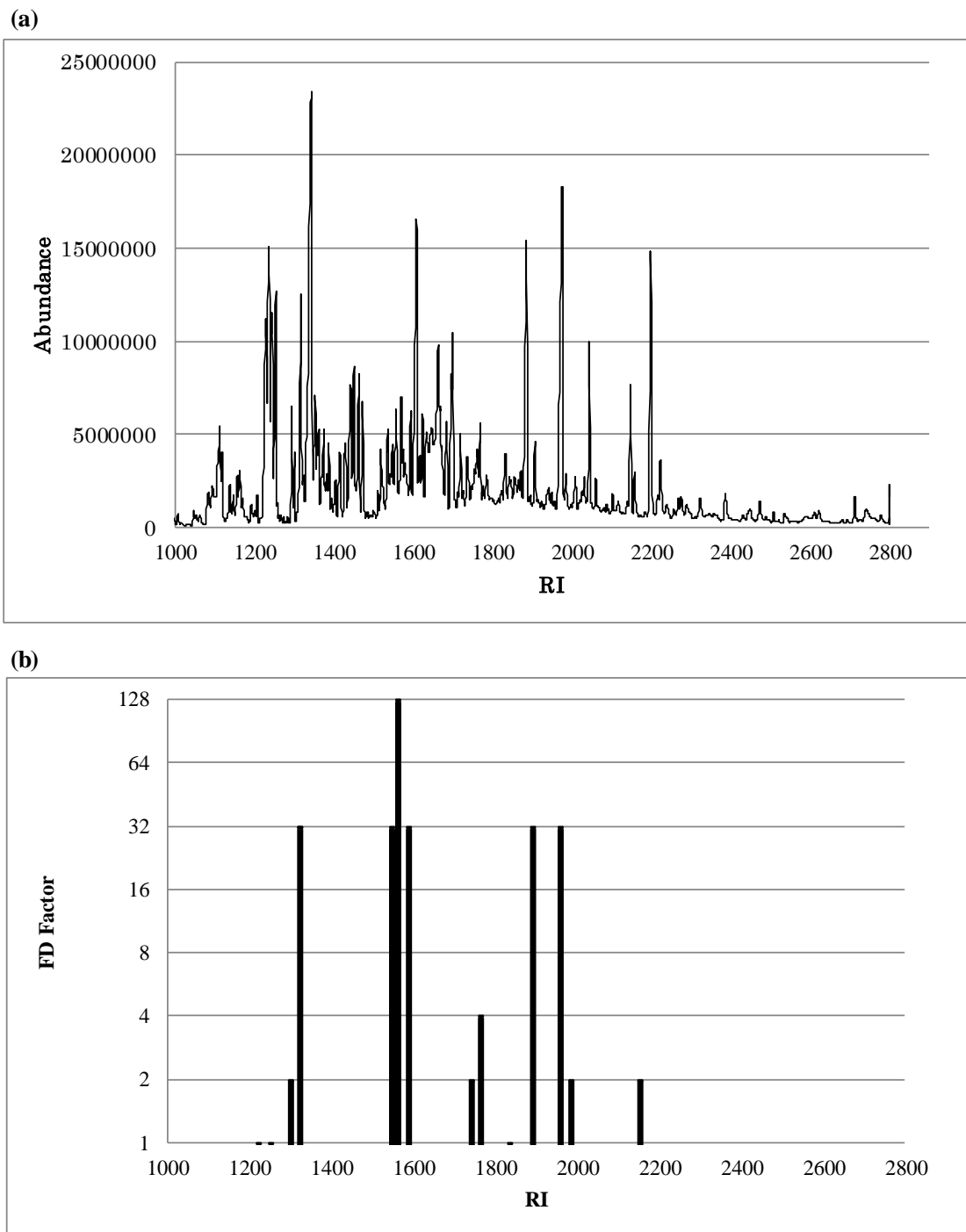


Fig. 12 (a) Gas chromatogram of the volatile fraction of beef extract. (b) Flavor dilution (FD) chromatogram obtained by application of aroma extract dilution analysis (AEDA) on the volatile fraction of beef extract.

Table 7. Aroma-active compounds (FD \geq 32) identified in beef extract.

No.	Aroma compound ^a	Aroma quality ^b	RI ^c	FD factor ^d	Concentration ^e (ppm)
1	2,3,5-trimethyl pyrazine	roasty, nutty	1320	32	0.185
2	1-octen-3-ol	mushroom-like	1321	32	0.002
3	benzaldehyde	almond-like, floral	1544	32	0.169
4	furfuryl alcohol	sweet, fermented	1559	128	1.144
5	3-methylbutanoic acid	animal, cheese-like	1586	32	12.745
6	2-acetylpyrrole	sweet, caramel-like	1891	32	4.705
7	4-hydroxy-2,5-dimethyl- 3(2 <i>H</i>)-furanone	sweet, strawberry-like	1956	32	5.210

^a Identification was performed by comparing the following criteria: retention index; aroma quality perceived at the sniffing port; mass spectra with reference compounds. ^b Aroma property perceived at the sniffing port. ^c Retention indices determined in comparison with a homologous series of n-alkanes. ^d Flavor dilution factor. ^e Concentration in beef extract.

2. 香気再構成液とビーフエキスの比較評価

同定された香気成分のビーフエキス香気における寄与度を確認する為に、FD factor が 32 以上の 7 香気成分を t-Rec に添加したサンプル (CM7) について、t-Rec とビーフエキスとの比較評価を専門パネルにより行った。その結果、t-Rec (1.0 点) に比べて、CM7 の評点が全ての項目で高くなり、特に、“boiled meaty flavor” (1.0 点→4.5 点) については大きく向上し、ビーフエキス (5.0 点) に近い評点となった (Table 8)。このように、上記香気成分でビーフエキス香気特性に関する再現性が高い事から、本手法によりビーフエキスの寄与香気成分が正しく見出されたことが確認された。

Table 8. Comparative flavor profile analysis of beef extract and taste-reconstituted beef extract (t-Rec) and complete mixture consisting of seven aroma compounds dissolved in t-Rec (CM7).

	Average score		
	beef extract	t-Rec	CM7
roasted flavor	5.0	1.0	4.4
boiled meaty flavor	5.0	1.0	4.5
sweet meaty flavor	5.0	1.0	4.4
overall similarity	5.0	1.0	4.4

3. オミッショントテストによる寄与香气成分の解明

7 寄与香气成分から、特に寄与度の高い香气成分を決定すべくオミッショントテストを行った。

その結果、2,3,5-trimethyl pyrazine だけを除いた構成液 OM1-1 (3.2 点; $p < 0.001$)、1-octen-3-ol だけを除いた構成液 OM1-2 (2.8 点; $p < 0.001$)、3-methylbutanoic acid だけを除いた構成液 OM1-3 (2.7 点; $p < 0.001$)、4-hydroxy-2,5-dimethyl-3(2*H*)-furanone だけを除いた構成液 OM1-7 (3.7 点; $p < 0.001$)の類似性は、CM7 (4.4 点)のものに比べて有意に低くなった (Fig. 13)。つまり、2,3,5-trimethyl pyrazine、1-octen-3-ol、3-methylbutanoic acid、4-hydroxy-2,5-dimethyl-3(2*H*)-furanone がビーフエキスの特性に寄与する特に寄与度の高い成分であると考えられた。

特に寄与度の高い4香气成分のビーフエキス香气における寄与度を確認する為に、4香气成分を t-Rec に添加したサンプル (CM4) について、t-Rec と CM7 との比較評価を専門パネルにより行った。その結果、全体の類似性 (overall similarity) において CM4 の評点が 4.2 点と CM7 の評点 (4.4 点) に近くなり、更に全ての項目において、CM4 の評点が CM7 と同等となった (Table 9)。このことから、4香气成分 2,3,5-trimethyl pyrazine、1-octen-3-ol、3-methylbutanoic acid、4-hydroxy-2,5-dimethyl-3(2*H*)-furanone はビーフエキスの特性に寄与する最も寄与度の高い香气成分であり、本手法によりビーフエキスの寄与香气成分が正しく決定されたことが確認できた。

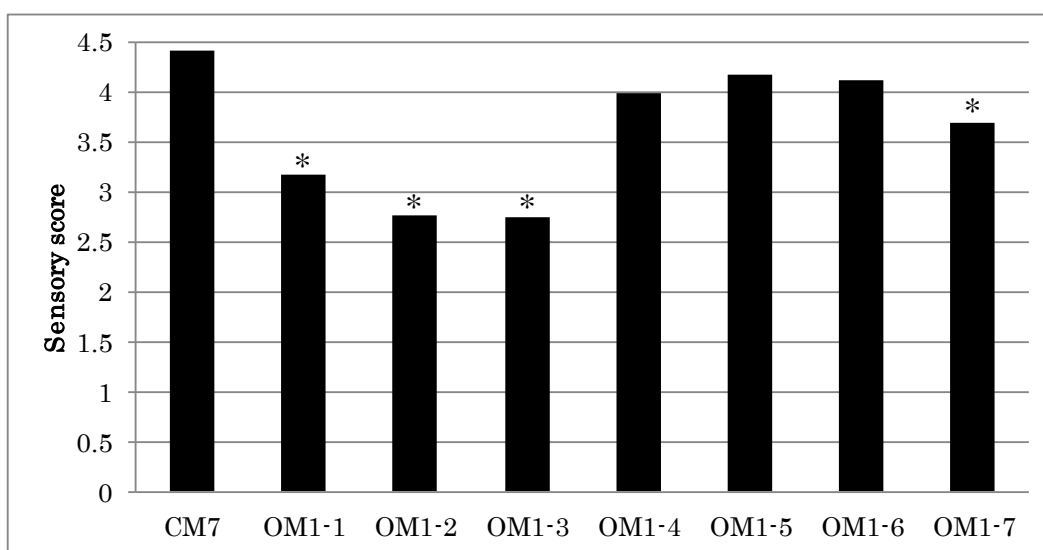


Fig. 13 Comparative overall similarity analysis of complete mixture consisting of seven aroma compounds dissolved in *t*-Rec (CM7) and OM1-1 (2,3,5-trimethyl pyrazine omission), OM1-2 (1-octen-3-ol omission), OM1-3 (3-methylbutanoic acid omission), OM1-4 (benzaldehyde omission), OM1-5 (furfuryl alcohol omission), OM1-6 (acetyl pyrrol omission), OM1-7 (4-hydroxy-2,5-dimethyl-3(2*H*)-furanone omission). * $p < 0.001$ was considered statistically significant.

Table 9. Comparative flavor profile analysis of beef extract and taste-reconstituted beef extract (t-Rec) and complete mixture consisting of seven aroma compounds dissolved in t-Rec (CM7) and complete mixture consisting of four aroma compounds dissolved in t-Rec (CM4).

	Average score			
	beef extract	t-Rec	CM4	CM7
roasted flavor	5.0	1.0	4.3	4.4
boiled meaty flavor	5.0	1.0	4.3	4.5
sweet meaty flavor	5.0	1.0	4.3	4.4
overall similarity	5.0	1.0	4.2	4.4

4. 寄与香气成分の特性評価

特に寄与度の高い成分として選定された4香气成分の官能特性を把握すべく、アディクションテストを行った。その結果、t-Recに比べて、AD1からAD4のいくつかの項目の評点が高くなることが分かった(Table 10)。具体的には、AD1の“roasted flavor”の評点(2.4点)がt-Rec(1.0点)の評点に比べ高くなった($p<0.001$)。このことから、2,3,5-trimethyl pyrazineはビーフェキス香气において“roasted flavor”に寄与していることが示された。同様に、AD2の“boiled meaty flavor”(2.3点)がt-Recに比べて高くなった($p<0.001$)ことから、1-octen-3-olは“boiled meaty flavor”に寄与していた。また、AD3の“boiled meaty flavor”(2.2点)がt-Recに比べて高くなった($p<0.001$)ことから、3-methylbutanoic acidは“boiled meaty flavor”に寄与していた。“sweet meaty flavor”については、優位な差は認められなかったが、AD3とAD4(各々2.0点、2.0点)でt-Recに比べて高めの傾向となったことから、3-methylbutanoic acidと4-hydroxy-2,5-dimethyl-3(2H)-furanoneは共に“sweet meaty flavor”に寄与している可能性が示唆された。

Table 10. Comparative flavor profile analysis of beef extract and taste-reconstituted beef extract (t-Rec) and complete mixture consisting of four aroma compounds dissolved in t-Rec (CM4) and AD1 (2,3,5-trimethyl pyrazine addition), AD2 (1-octen-3-ol addition), AD3 (3-methylbutanoic acid addition), and AD4 [4-hydroxy-2,5-dimethyl-3(2*H*)-furanone addition].

Flavor descriptor	Average score						
	beef extract	t-Rec	CM4	AD1	AD2	AD3	AD4
roasted flavor	5.0	1.0	4.2	2.4*	1.3	1.3	1.8
boiled meaty flavor	5.0	1.0	4.3	1.2	2.3*	2.2*	1.3
sweet meaty flavor	5.0	1.0	4.3	1.3	1.3	2.0	2.0

* $p < 0.001$ was considered statistically significant.

特に寄与度の高い成分として選定された4香り成分の官能特性を把握すべく、更にオMISSIONテストを行った。その結果、CM4に比べて、OM2-1からOM2-4のいくつかの項目の評点が低くなることが分かった(Table 11)。更に、OM2-3とOM2-4の特性がアDITIONテストと一部異なる結果となった。具体的には、OM2-3の“boiled meaty flavor”と“sweet meaty flavor”の評点(各々2.8点、2.5点)がCM4(各々4.3点、4.3点)の評点に比べ大きく低下した($p<0.001$)。このことから、3-methylbutanoic acidはビーフエキス香りにおいて“boiled meaty flavor”のみならず、“sweet meaty flavor”にも寄与していることが示された。更に、OM2-4の“sweet meaty flavor”(2.6点)がCM4(4.3点)に比べて大きく低下した($p<0.001$)ことから、4-hydroxy-2,5-dimethyl-3(2H)-furanoneは“sweet meaty flavor”に寄与していることが分かった。アDITIONテスト単独では上記寄与が確認できなかったことから、寄与香り成分同士が共存することで、各特性が增強されていることが推察された。

Table 11. Comparative flavor profile analysis of beef extract and taste-reconstituted beef extract (t-Rec) and complete mixture consisting of four aroma compounds dissolved in t-Rec (CM4) and OM2-1 (2,3,5-trimethyl pyrazine omission), OM2-2 (1-octen-3-ol omission), OM2-3 (3-methylbutanoic acid omission), and OM2-4 [4-hydroxy-2,5-dimethyl-3(2*H*)-furanone omission].

Flavor descriptor	Average score						
	beef extract	t-Rec	CM4	OM2-1	OM2-2	OM2-3	OM2-4
roasted flavor	5.0	1.0	4.2	2.6*	3.8	3.8	3.1
boiled meaty flavor	5.0	1.0	4.3	3.6	2.5*	2.8*	3.5
sweet meaty flavor	5.0	1.0	4.3	3.3	3.4	2.5*	2.6*

* $p < 0.001$ was considered statistically significant.

III. 考察

アディクションテスト、オミSSIONテストにて得られた結果から、1-octen-3-ol と 3-methylbutanoic acid はビーフエキスにおいて、共に boiled meaty flavor (boiled meat-like flavor from middle to last)に寄与し、3-methylbutanoic acid は更に sweet meaty flavor (the caramel-like sweet meaty flavor from middle to last)に寄与していることが分かった。また 2,3,5-trimethyl pyrazine は、roasted flavor (a roasted flavor from top to middle)にのみ、4-hydroxy-2,5-dimethyl-3(2*H*)-furanone は sweet meaty flavor (the caramel-like sweet meaty flavor from middle to last)にのみ寄与していた。また、これら4香気成分はビーフエキスにとって重要な寄与香気成分であることが示された。ビーフエキスにおいて、AEDA法により寄与度の高い香気成分を解明し、更に解明した香気成分の再構成とアディクションテスト、オミSSIONテストにより、各香気成分のビーフエキスにおける官能特性解明をしたのは、本研究が初めてである。

一方で、諸言にて述べたように、茹で牛肉など加熱牛肉の特性に寄与する香気成分の研究は行われている。その中で寄与度の高い成分に関する研究も行われており、3-(methylthio)propanal、2-ethyl-3,5-dimethylpyrazine、2-propyl-3-methylpyrazine、2-methyl-3-furanthiol、bis(2-methyl-3-furyl) disulfide、2-acetyl-1-pyrroline、2-acetylthiazole、2(*E*)-octenal、2(*E*)-nonenal、(*E,E*)-2,4-nonadienal、(*E,E*)-2,4-decadienal、1-octen-3-one、2-octanone、2-decanone、2-dodecanone、phenylacetaldehyde、 β -ionone、2-furfuryl 2-methyl-3-furyl disulfide は加熱牛肉の特徴的香気であることが知られている。これら香気成分の官能特性は、“meaty”、“burnt”、“fatty”と表現されている^{25, 36, 37}。特に、cooked potato、meatyの香気特性を持つ、3-(methylthio)propanalと2-furfuryl 2-methyl-3-furyl disulfideが加熱牛肉香気への寄与が高いことが示されている²⁴。

しかし、加熱牛肉に見出されたこれら香気成分は、**roasted flavor**、**boiled meaty flavor**、**sweet meaty flavor** を特徴とするビーフエキスの寄与香気成分としては見出されなかった。この理由として、加熱牛肉は、牛肉由来の香気を中心だが、ビーフエキスは、牛肉を除去した牛だしを原料とし、更に加熱濃縮している為、牛だし由来の香気を中心であることが考えられる。加熱牛肉では、含硫化合物が主な寄与香気成分となっており、これらの含硫化合物は、チアミン（ビタミン B1）の分解や、含硫アミノ酸（システインやメチオニン）と糖との反応により生成してくると考えられる。

一方、ビーフエキスは、牛肉を除去した牛だしを原料とし、加熱肉に比べ長時間の加熱濃縮工程を経ることで、加熱牛肉の特性とは異なる、ビーフエキス独特の **roasted flavor**、**boiled meaty flavor**、**sweet meaty flavor** が生成される。Wood らの報告によると、ビーフエキスの独特な香気は、可溶性アミノ酸と還元糖のメイラード反応と、更に無機塩で促進される反応により生成されることが知られている^{44, 45)}。このことから、本研究にて見出されたビーフエキスの寄与香気成分は、牛肉から抽出された可溶性低分子成分（アミノ酸、糖、核酸、脂質やその分解物）同士の長時間の加熱濃縮工程を通したアミノ-カルボニル反応を端緒とする反応、及び、牛脂からだしに抽出される脂肪酸の酸化・分解反応により生成し、**boiled meaty flavor**、**roasted flavor**、**sweet meaty flavor** の香気特性を呈していると考えられる。

しかし、これら生成メカニズムの解明と加熱牛肉とビーフエキスの寄与香気成分の違いについて、更なる研究が必要である。

第4章 畜肉だし呈味成分が香りの感覚強度に及ぼす影響

緒言

序論にて述べたように、我々は食品を口に入れた時に、味 (taste)、香り (smell)、食感 (texture)、温度 (temperature)、色 (color)、刺激 (irritation) など多くの感覚刺激を経験する。これら個々の感覚は、お互いに相互作用していると考えられている¹¹⁾。その中でも、特に味と香りの相互作用は強く、風味と呼ばれている。

味と Orthonasal Aroma に関する研究によると、それらお互いの相互作用は少なく、それぞれ個別に感知されると考えられている¹²⁻¹⁵⁾。

味と Retronasal Aroma の相互作用に関する研究は、Retronasal Aroma による味の増強効果を中心に、これまでも多くなされている¹⁶⁻²⁰⁾。一方 Retronasal Aroma は「おいしさ」を左右する重要な要素であるにもかかわらず、味の Retronasal Aroma への影響についての研究は少ない。味による Retronasal Aroma の増強効果についての研究として、甘味領域 (チェリージュースやカスタード) において、ショ糖がチェリーフレーバーやバニラフレーバーを増強した研究があるが⁴⁶⁾、セイボリー領域、特に畜肉だしにおける、味の畜肉だし香気増強効果についての研究はこれまでなされていない。

第4章では、呈味成分が畜肉だし香気に及ぼす影響を解明すべく、鶏だしを例に研究を行った。具体的には、鶏だしを構成する呈味成分が鶏だし香気感覚強度に及ぼす影響評価を行うべく、鶏だし香気濃度を一定とし、鶏だしを構成する各種呈味成分のオMISSIONテスト、アDITIONテストを行うことで、鶏だし香気を増強する呈味成分を解明した。

I. 材料及び方法

1. 試薬類

L-Histidine、IMP、ADP はシグマアルドリッチジャパン株式会社より、Glycine、Potassium hydroxide、Lactic Acid、Acetic Acid は関東化学株式会社より、AMP、ATP はオリエンタル酵母工業株式会社より、その他の試薬は和光純薬工業株式会社より購入した。

2. 鶏だしの調製

地元で購入した丸鶏を 4 等分し、沸騰したお湯で 2 分間下茹でした後、流水で洗い、アク等を取り除いた。寸胴に下茹でした丸鶏 4kg と水 6.5kg を入れ、沸騰するまで強火で加熱し、沸騰後弱火にし、アクを除きながら $95 \pm 2^\circ\text{C}$ で 4 時間煮込んだ。4 時間後キッチンペーパーで濾過し、クリアな鶏だしを得た。鶏だしは使用時まで -21°C で保管した。

3. 香気・呈味再構成液と鶏だしの比較評価

(1) パネル

パネルには、市販の鶏だしの素（「丸鶏がらスープ」：味の素株式会社）に鶏だし香気香料組成物（「Meaty flavor」：味の素株式会社）を添加した事による鶏だし香気（Retronasal Aroma）強度の増強を評価する訓練を行った。基本 5 味を識別できる者の中で、さらに、上記鶏だし香気強度の増強を識別できる 10 名をパネルとして選定し評価を行った。統計的な解析は、t 検定（片側）を用いた。

(2) サンプル

鶏だし香気香料組成物 (210ppm)（「Meaty flavor」：味の素株式会社）と食塩 (0.4%) 混合水溶液(soup stock aroma: SA)に、藤村ら⁴¹⁾及び Dunkel ら³⁹⁾の報告による文献値に基き鶏だし呈味構成成分である 28 成分(Table 12) を添加した香気・呈味再構成液(complete mixture of 28

taste compounds :CM28)を調製した。サンプルを鶏だしとの比較においてパネリストへ供した。

(3) 官能評価

評価溶液は試飲カップにてパネリストへ供した。パネリストは鶏だし香気の強度について、評価サンプルを SA、鶏だしと比較し、評点 1.0 (very weak, = SA), 2.0 (weak), 3.0 (medium), 4.0 (strong), 5.0 (very strong, = 鶏だし)にて評点付けを行った。得られた結果の平均値を棒グラフへプロットした。

Table 12. Composition of taste compounds of chicken soup stock

no.	compound name	concentration (mg/100g)
1	L-Lysine	2.308
2	L-Glutamic Acid	2.128
3	Glycine	1.680
4	L-Threonine	1.604
5	L-Alanine	1.452
6	L-Proline	1.348
7	L-Serine	1.312
8	DL-Methionine	1.172
9	L-Arginine	0.964
10	L-Aspartic Acid	0.544
11	L-Leucine	0.504
12	L-Phenylalanine	0.400
13	L-Valine	0.268
14	L-Histidine	0.196
15	L-Isoleucine	0.180
16	L-Tyrosine	0.812
17	Inosine	6.000
18	IMP	132.8
19	AMP	4.000
20	ADP	1.320
21	ATP	0.480
22	Hypoxanthine	0.560
23	Lactic Acid(85-92%)	81.40
24	Acetic Acid(2%)	36.00
25	KOH	19.00
26	K ₂ HPO ₄	180.0
27	MgCl ₂	15.00
28	CaCl ₂	0.044

4. オミSSIONテストによる香気増強効果を有する呈味成分の解明

パネルは、前項3と同手法にて行った。

サンプルは、CM28からTable 1の28呈味成分を1成分ずつオミットしたサンプルを調製した。各サンプルをCM28との比較においてパネリストへ供した。

官能評価において、評価溶液は試飲カップにてパネリストへ供した。パネリストは鶏だし香気の強度について、評価サンプルをSA、CM28と比較し、評点 1.0 (very weak, = SA), 2.0 (weak), 3.0 (medium), 4.0 (strong), 5.0 (very strong, =CM28)にて評点付けを行った。得られた結果の平均値を棒グラフへプロットした。

5. アディSSIONテストによる香気増強効果を有する呈味成分の解明

パネルは、前項3と同手法にて行った。

サンプルは、SAに対し、オミSSIONテストにて評点が3.5点以下となった呈味成分を添加したサンプルを調製した。各サンプルをSAとの比較においてパネリストへ供した。

官能評価において、評価溶液は試飲カップにてパネリストへ供した。パネリストは鶏だし香気の強度について、評価サンプルをSA、CM28と比較し、評点 1.0 (very weak, = SA), 2.0 (weak), 3.0 (medium), 4.0 (strong), 5.0 (very strong, =CM28)にて評点付けを行った。得られた結果の平均値を棒グラフへプロットした。

II. 結果

1. 香気・呈味再構成液(CM28)と鶏だしの比較評価

CM28 の鶏だし香気強度を確認する為に、SA と鶏だしとの比較評価を専門パネルにより行った。その結果、SA (1.0 点) に比べて、CM28 の評点が 4.3 点となり、鶏だし (5.0 点) に近い評点となった(Table 13)。このように、SA と CM28 は香気濃度が同じにもかかわらず、香気の感覚強度が強くなったことから、鶏だし呈味成分の存在により香気の感覚強度が増強されたことが判明した。そこで、鶏だし呈味成分のオMISSIONテスト、アディクションテストにより、各呈味成分が鶏だし香りの感覚強度に及ぼす影響を以下に評価した。

Table 13. Comparative meaty flavor analysis of chicken soup stock and soup stock aroma (SA) and complete mixture of 28 taste compounds dissolved in SA (CM28).

	Average score		
	chicken soup stock	SA	CM28
meaty flavor	5.0	1.0	4.3

2. オミッショントテストによる香気増強効果を有する呈味成分の解明

鶏だし 28 呈味成分から、鶏だし香気強度を増強する呈味成分を解明すべく 1 成分ずつオミッショントテストを行った。基準溶液は、SA を 1.0 点、CM28 を 5.0 点として用いた。

その結果、Glu オミッション (1.9 点; $p < 0.01$)、IMP オミッション (1.9 点; $p < 0.01$)、 K_2HPO_4 オミッション (2.6 点; $p < 0.01$) での評価は、すべて 3.0 点以下となり、CM28 (5.0 点) に比べて、鶏だし香気強度に関する評点が著しく低い値を示した。これらに続いて、低い評点を示したのが、Pro オミッション (3.2 点; $p < 0.01$)、Ala オミッション (3.3 点; $p < 0.01$)、His オミッション (3.3 点; $p < 0.01$)、Lys オミッション (3.4 点; $p < 0.01$)、Met オミッション (3.4 点; $p < 0.01$)、Leu オミッション (3.4 点; $p < 0.01$)、Tyr オミッション (3.4 点; $p < 0.01$)、ATP オミッション (3.4 点; $p < 0.01$)、KOH オミッション (3.4 点; $p < 0.01$)、AMP オミッション (3.5 点; $p < 0.01$)、 $MgCl_2$ オミッション (3.5 点; $p < 0.01$) が 3.5 点以下で CM28 (5.0 点) に比べて評点が低くなった (Fig. 14)。

以上の結果から、Glu、IMP、 K_2HPO_4 が鶏だし香気増強に特に寄与する呈味成分であり、次に Pro、Ala、His、Lys、Met、Leu、Tyr、ATP、KOH、AMP、 $MgCl_2$ が鶏だし香気増強に寄与する呈味成分であることが判明した。

最も寄与度の高い (3.0 点以下) 3 成分 (Glu、IMP、 K_2HPO_4) を A グループ (A)、次に寄与度の高い (3.5 点以下) 11 成分 (Pro、Ala、His、Lys、Met、Leu、Tyr、ATP、KOH、AMP、 $MgCl_2$) を B グループ (B) として以下アディッショントテストを行った。

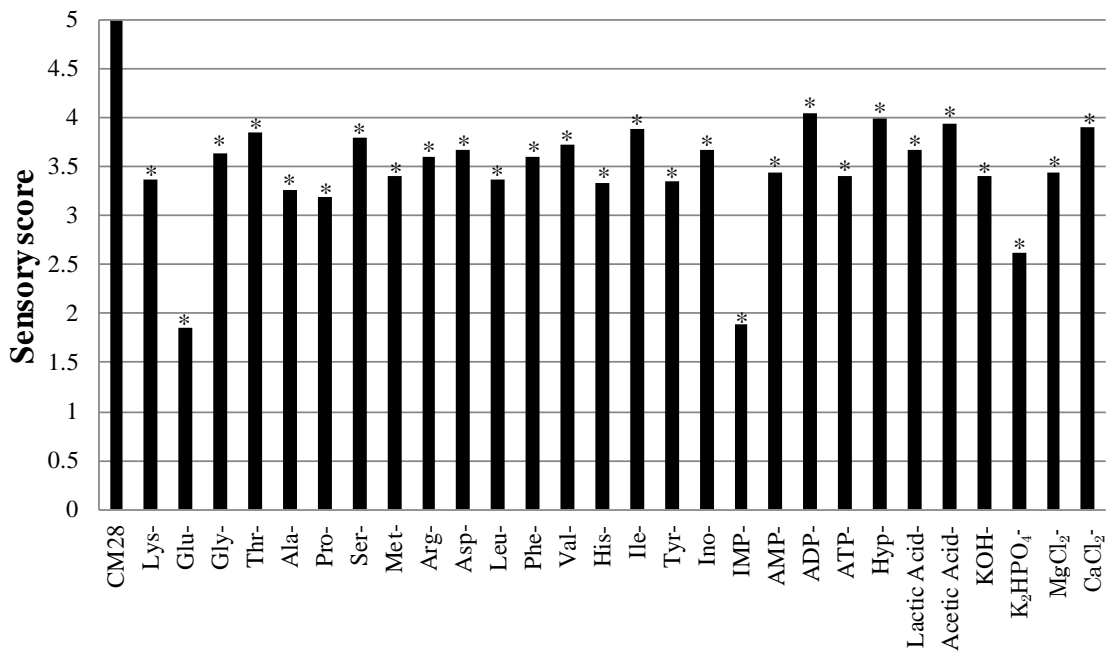


Fig. 14. Comparative meaty flavor analysis of complete mixture (CM28) consisting of 28 taste compounds dissolved in SA and the same mixture in which each taste component was omitted (* $p < 0.01$).

3. アディクションテストによる香気増強効果を有する呈味成分の解明

オMISSIONテストにより見出された鶏だし香気強度増強に寄与する14成分(A+B)について、増強の効果が1成分単独効果によるものか、複数成分の組合せ効果によるものか把握すべく、1成分ずつのアディクションテストを行った。その結果、どの成分においてもSAに比べて鶏だし香気の感覚強度が高くなったが、全て3.5点以下となり、CM28(5.0点)に比べて低くなった(Fig. 15)。つまり、1成分単独で鶏だし香気の感覚強度を大きく増強する成分は見られなかった。また、オMISSIONテストにて特に増強する成分として見出されたAグループ成分(Glu、IMP、 K_2HPO_4)が必ずしも他成分に比べて評点が高くならなかったことから、これら成分は、1成分個別に寄与するのではなく、他成分との組合せにおいて増強効果を有することが推察された。

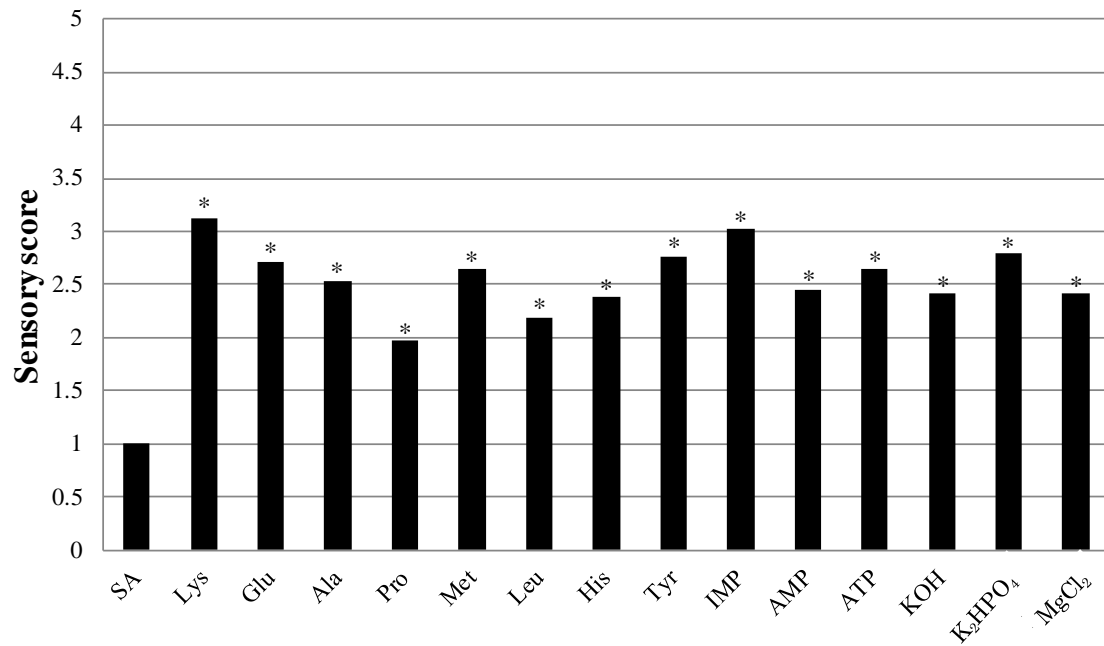


Fig. 15. Comparative meaty flavor analysis of SA and the same mixture in which each taste component was added(* $p < 0.01$).

そこで、A グループ成分 (Glu、IMP、 K_2HPO_4) の組合せ効果を確認すべく、3 成分全てもしくは 2 成分ずつ SA へアディクションテストを行った。その結果、Glu+ K_2HPO_4 (2.6 点)、IMP+ K_2HPO_4 (2.5 点) に比べ、Glu+IMP の 2 成分組み合わせたサンプルの評点 (3.7 点) が高くなり、3 成分全て添加したサンプルの評点 (3.9 点) に近くなった (Fig. 16)。つまり、Glu と IMP の 2 成分を組み合わせることで、鶏だし香気的感覺強度を大きく増強できることが判明した。

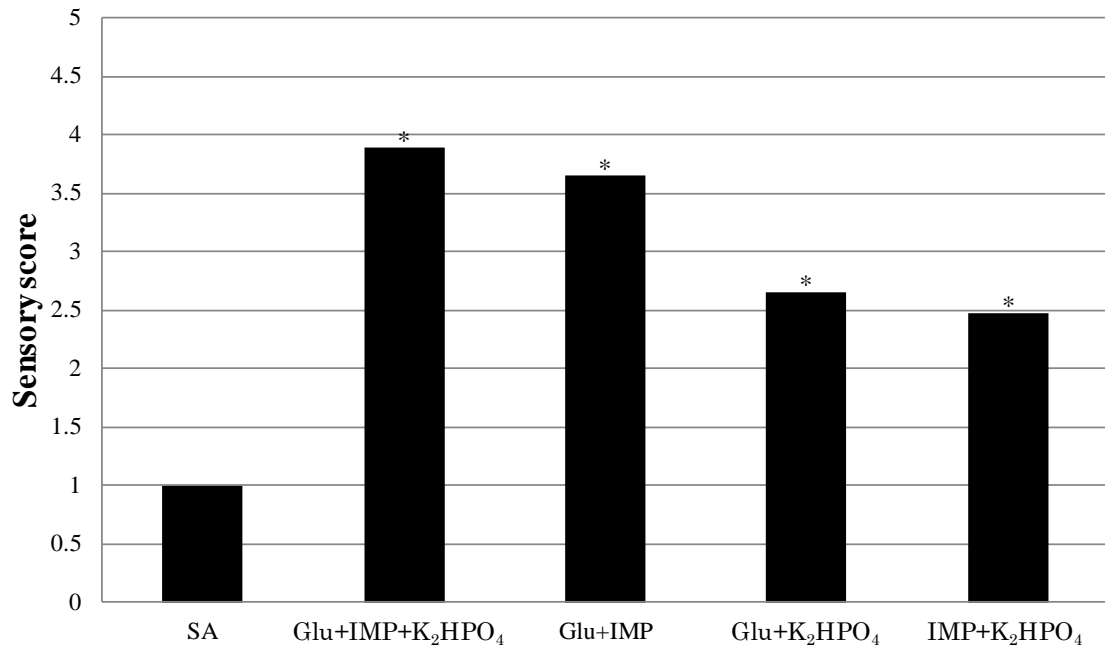


Fig. 16. Comparative meaty flavor analysis of SA and the same mixture in which taste components were added(* $p < 0.01$).

続いて、B グループに含まれる成分を、遊離アミノ酸(BI)、核酸関連物質(BII)、無機塩類(BIII)の3つのグループに分けて、それぞれをA (Glu、IMP、 K_2HPO_4) と組合せ(A+BI、A+BII、A+BIII)、SA へアディクションテストを行った。その結果、A+BIII (3.8 点) が3つの中で最も評点が高く、次にA+BII (3.7 点) が高くなる傾向となった(Fig. 17)。つまり、B グループにおいては、無機塩類(BIII)、核酸関連物質(BII)の順で、鶏だし香気的感覺強度を強める傾向となった。

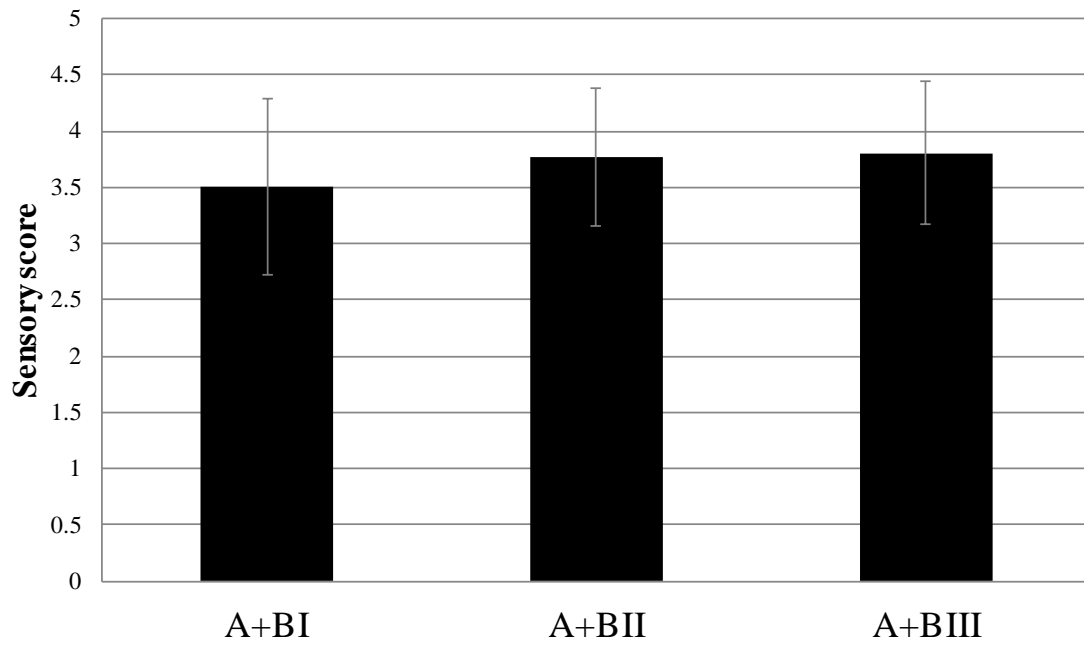


Fig. 17. Comparative meaty flavor analysis of taste compounds dissolved in SA. A: Glu+IMP+K₂HPO₄, BI: Lys+Ala+Pro+Met+Leu+His+Tyr, BII: AMP+ATP, BIII: KOH+MgCl₂

さらに、BIII の KOH と MgCl₂それぞれの鶏だし香気増強効果を確認する為に、KOH と MgCl₂それぞれ A (Glu、IMP、K₂HPO₄) と組合せ (A+KOH、A+MgCl₂)、SA へアディクションテストを行った。その結果、A+KOH (4.1 点) 及び A+MgCl₂ (3.8 点) のどちらも A+BIII 同等以上の高い評点を示した(Fig. 18)。このことから、無機塩類(BIII)においては、KOH、MgCl₂ 共に、鶏だし香気的感覺強度を増強する傾向となり、特に A+KOH の増強効果が高い傾向となった。

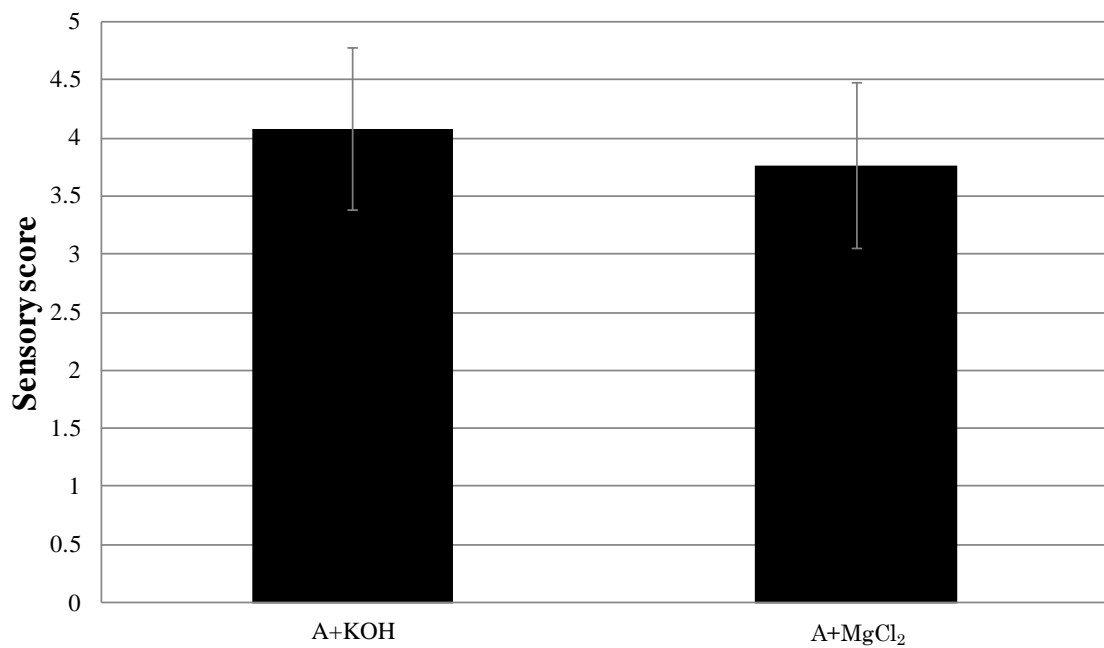


Fig. 18. Comparative meaty flavor analysis of taste compounds dissolved in SA.
A: Glu+IMP+K₂HPO₄

無機塩類(BIII)に続いて、核酸関連物質(BII)も鶏だし香気的感覺強度を強める傾向があったことから、鶏だし香気増強効果が高かった A (Glu、IMP、 K_2HPO_4) +KOH に BII の成分である AMP もしくは ATP を組合わせ(A+KOH +AMP、A+KOH+ATP)、 SA へアディクションテストを行った。その結果、A+KOH+ATP (3.5 点) では評点が低い傾向となったが、A+KOH+AMP では評点が 4.2 点と高い傾向となり、A+KOH より更に鶏だし香気的感覺強度を増強する傾向を示した(Fig. 19)。

以上のことから、畜肉だし香気的感覺強度を強める傾向がある成分は、Glu、IMP、 K_2HPO_4 、KOH、 $MgCl_2$ 、AMP の 6 成分であると推察された。

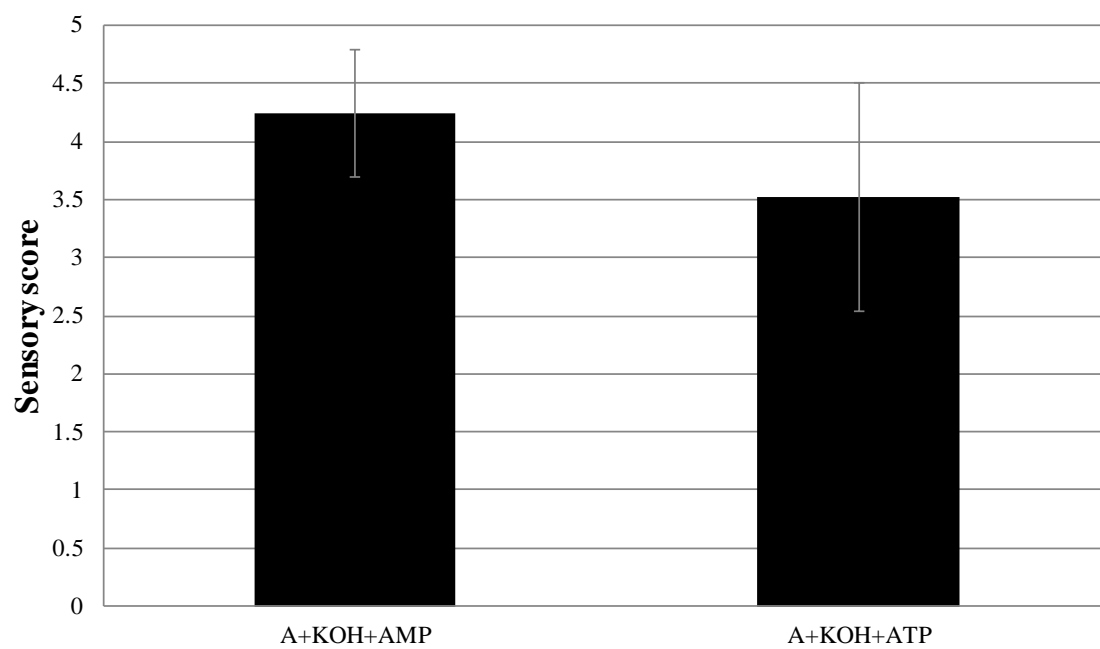


Fig. 19. Comparative meaty flavor analysis of taste compounds dissolved in SA.
A: Glu+IMP+K₂HPO₄

最後に、この 6 成分組合わせ (A+BIII+AMP)、A、A+B の 3 つの試料について、横並びで SA ヘアディッシュンテストを行うことで、6 成分による鶏だし香気再現性を評価した。その結果、A+BIII+AMP (4.0 点) は、A (3.7 点) よりも評点が高く、また A+B (3.9 点) と同様の強度を示した (Fig. 20)。このことから、A+BIII+AMP が鶏だし香気の感覚強度を増強する傾向が認められた。

以上の結果を総合すると、Glu、IMP、K₂HPO₄、KOH、MgCl₂、AMP の主に 6 成分で、「再構成だし」の鶏だし香気 of 感覚強度が形成される傾向が示された。

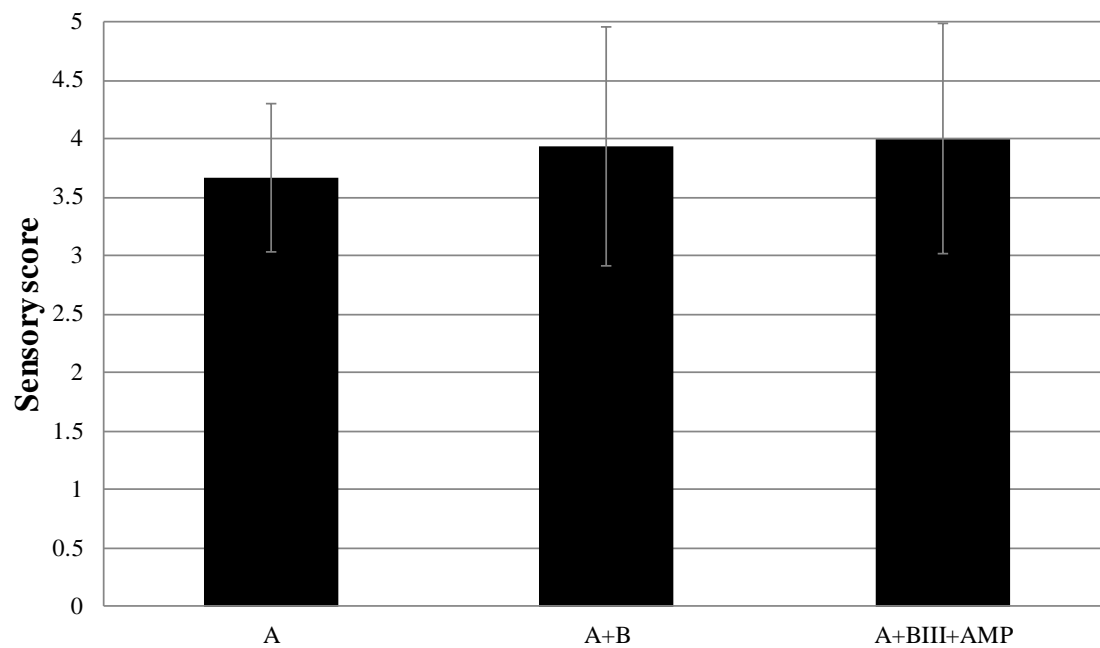


Fig. 20. Comparative meaty flavor analysis of taste compounds dissolved in SA. A: Glu+IMP+K₂HPO₄, B: Lys+Ala+Pro+Met+Leu+His+Tyr+AMP+ATP+KOH +MgCl₂, BIII: KOH+MgCl₂,

III. 考察

Retronasal Aroma による味の増強効果についての研究は、これまでも多くなされているが¹⁶⁻²⁰⁾、味の Retronasal Aroma への影響についての研究は少ない。諸言にて述べたように、味による Retronasal Aroma の増強効果について、甘味領域における研究があり、vanillin、citral、furanol 香気に、ショ糖、食塩、クエン酸を添加したところ、食塩、クエン酸では大きな増強効果は得られないものの、ショ糖にて、3 フレーバー共 Retronasal Aroma が大きく増強したことが知られており⁴⁶⁾、これら増強効果は、喫食経験が多い組合せにより、起こりやすいと考えられている²⁰⁾。しかし、セイボリー領域、特に畜肉だしにおける、味の畜肉だし香気エンハンスについての研究はこれまでなされていない。畜肉だしにおいて、呈味成分による香気エンハンス効果を見出したのは、本研究が初めてである。

藤村らは、Glu 及び IMP によるうま味の相乗効果ならびに、K の風味に及ぼす影響が要因となり、これら 3 成分が鶏だしの主要な呈味成分であると報告している⁴¹⁾。今回確認された 6 成分にも、Glu、IMP、K が含まれていたことから、主要な呈味成分が香気的感覺強度にも影響を与えていると考えられた。このうち、うま味成分である Glu と IMP は、舌全体に広がる味刺激と、その感覚が口腔内に長く続く特性がある。この特性が香気的感覺強度を高めている可能性が考えられる。

また、ショ糖で vanillin、citral、furanol 香気が増強されるのと同様に、味と香りの組合せ喫食経験が多い組合せなどにより、増強が起こりやすいことが考えられる。抽出した鶏だし中には MSG、IMP が含まれており (Table 12)、我々が鶏だしの喫食を通して、鶏だし香気と MSG、IMP の組合せについて多くの喫食経験を有していることから、これら組合せで鶏だし香気が増強されたと考えられる。

さらに、本研究において、AMP が香気的感覺強度を強める傾向を示した。この理由として、AMP は MSG とうま味の相乗効果を示すと報告さ

れていることから、AMP 添加によるうま味の増強により香りの感覚強度が強められたと推察された。

しかし、これら呈味成分による香気増強メカニズムについては未解明な部分が多い。中枢神経において味と **Retronasal Aroma** の刺激の融合が起こり、**Retronasal Aroma** と味の刺激が混同されることで増強される考え方^{18, 19)}に加え、呈味成分の存在により、実際に香気の揮発量が変化することにより増強されている可能性も考えられる。後者を検証するためには、呈味成分と香気成分の各種組合せにおいて、ヘッドスペース中の香気成分の定量、及び、**Retronasal Aroma** のみならず **Orthonasal Aroma** も含めた官能評価が今後必要である。

総括

本研究では、畜肉だしの特性に寄与する香気成分の解明と、畜肉だし呈味成分が香気に及ぼす影響解明を目的とした。鶏、豚、牛の肉あるいは骨を長時間煮込んで作る畜肉だしは、好ましい **meaty flavor** や **fatty flavor** 等を有することから、日本をはじめとして、中国（上湯、白湯、毛湯）、欧米（ブイヨン、フォン）、東南アジアなど、世界中で料理のベースとして幅広く使用されている。料理の重要なベースとなるゆえに、プロの料理人はその品質を非常に大切にしており、これら畜肉だしの調理法は、多くの料理人の長い間の試行錯誤と経験から積み重ねられ、受け継がれてきている。本研究では、各国のプロのシェフの協力を得て、畜肉だし調理法を教授頂き、その調理法を忠実に再現して調製した畜肉だしを試料として用いることにより、畜肉だしの特性に寄与する香気成分を解明することに成功した。

第 1 章においては、水蒸気蒸留法および AEDA(Aroma Extract Dilution Analysis)法により鶏だし中の香気寄与度の高い化合物を選定した結果、FD ファクター16 以上の 7 成分が選定された。更に呈味再構成液を用いた添加評価結果、FD factor が 64 以上の 4 香気成分（methylpyrazine、2-ethyl-4-methylthiazole、3-(methylthio)propanal、(E,E)-2,4-decadienal）が鶏だし香気特性に最も寄与する成分として選定された。寄与度の高い 4 成分を添加した再構成液は鶏だし香気の再現性が高く、寄与成分が正しく選定されたことが示された。更に、寄与度の高い 4 成分について、オMISSIONテストから、各成分の鶏だしにおける官能特性を解明した。

第 2 章においては、SAFE(Solvent-Assisted Flavor Evaporation)法および AEDA 法によりクリアなタイプの豚だし中の香気寄与度の高い化合物を選定した結果、FD ファクター64 から 2048 の 15 成分が選定された。更にオMISSIONテストにより寄与度の高い成分を絞り込んだ結果、acetol、octanoic acid、 δ -decalactone、decanoic acid の 4 成分がクリアタイプの豚だし香気特性に最も寄与する成分として選定された。寄与度の高い 4 成分を添加した再構成液は豚

だし香気の再現性が高く、寄与成分が正しく選定されたことが示された。更に、寄与度の高い 4 成分について、アディクションテストおよびオMISSIONテストから、各成分の豚だしにおける官能特性を解明した。

第 3 章においては、スープやシチュー、ソースなど、西洋料理のベースとして商業的に世界中で広く使用されているビーフエキスに着目し、世界で最も使用されている JBS S/A 社(ブラジル)の 1st グレードビーフエキス (Bordon Beef extract) について、その特性に寄与する香気成分を解明した。SAFE 法および AEDA 法によりビーフエキス中の香気寄与度の高い化合物を選定した結果、FD ファクター32 以上の 7 成分が選定された。更にオMISSIONテストにより寄与度の高い成分を絞り込んだ結果、2,3,5-trimethyl pyrazine、1-octen-3-ol、3-methylbutanoic acid、4-hydroxy-2,5-dimethyl-3(2H)-furanone の 4 成分がビーフエキス香気特性に最も寄与する成分として選定された。寄与度の高い 4 成分を添加した再構成液はビーフエキス香気の再現性が高く、寄与成分が正しく選定されたことが示された。更に、寄与度の高い 4 成分について、アディクションテストおよびオMISSIONテストから、各成分のビーフエキスにおける官能特性を解明した。

1 章から 3 章の研究を通して、畜肉だしには、多くの香気成分が含まれているが、畜肉だしの香りの特性に寄与する香気成分は限られた数の成分であることが明らかとなった。実際、畜肉より抽出しただしを 5.0 点、呈味成分再構成液を 1.0 点とした評価で、鶏だしでは、わずか 4 香気成分で、鶏だしの香気特性を 4.1 点 (鶏だし 5.0 点) まで再現し、豚だしではわずか 4 香気成分で、豚だしの香気特性を 3.6 点 (豚だし 5.0 点) まで再現、更にビーフエキスでも、わずか 4 成分でビーフエキスの香気特性を 4.2 点 (ビーフエキス 5.0 点) まで再現した。これら key となる成分を見出したことは、今後畜肉だしの「おいしさ」研究に大いに貢献できると考えられる。

また、これら畜肉だしの特性に寄与する香気成分は、だし調理工程における、アミノ酸、糖、核酸、タンパク質、脂質などの成分の分解や、複雑な相互反応により生じると考えられる。その中でも原料の肉部位からだしに抽出される水

溶性低分子成分（アミノ酸、糖、核酸、脂質やその分解物など）によるアミノカルボニル反応を端緒とする反応や、脂肪部からだしに抽出される脂質の酸化・分解反応がだし香気生成の中心となっていると推察される。鶏だしは丸鶏を使用し、原料に肉部位、鶏皮由来の脂肪部位共に多いため、肉由来のアミノカルボニル反応を端緒とする反応、脂肪由来の脂質酸化分解反応の両方の反応が起こっていると考えられる。methylpyrazine、2-ethyl-4-methylthiazole、3-(methylthio)propanal は前者、(E,E)-2,4-decadienal は後者の反応が主な生成経路と推察される。またビーフエキスも、牛脂を含む牛肉を原料とするため、アミノカルボニル反応を端緒とする反応、脂質酸化分解の両方の反応が起こっていると考えられ、2,3,5-trimethyl pyrazine、4-hydroxy-2,5-dimethyl-3(2H)-furanone、3-methylbutanoic acid は前者、1-octen-3-ol は後者の反応が主な生成経路と考えられる。一方クリアなタイプの豚だしは、豚大腿骨を原料とする。大腿骨周りに脂肪付着があり脂質を含むが、肉部位は殆ど含まない。このことにより、脂質酸化分解反応が主な反応となり、acetol、octanoic acid、 δ -decalactone、decanoic acid が生成したと推察される。

鶏脂、豚脂、牛脂の脂肪酸組成を比べると、飽和脂肪酸であるステアリン酸（18：0）が、鶏脂 6.4%、豚脂 14.4%、牛脂 15.7%、不飽和脂肪酸のリノール酸（18：2）が鶏脂 12.5%、豚脂 9.6%、牛脂 3.7%である⁴⁸⁾。加熱肉に関する過去の報告において、加熱鶏肉の特徴香気は脂肪酸の酸化分解物中心³²⁻³⁴⁾、加熱豚肉の特徴香気は脂肪酸の酸化分解物とアミノカルボニル反応由来生成物²²⁾、加熱牛肉の特徴香気はアミノカルボニル反応由来生成物中心^{25, 36, 37)}とされている。この理由として、鶏脂、豚脂、牛脂の順で不飽和脂肪酸（リノール酸）が多く、飽和脂肪酸（ステアリン酸）が少なく、脂肪酸酸化分解物が生成しやすいことが影響していると推定される。一方、今回研究対象とした、だしの特徴香気において、鶏だし、ビーフエキス共に、寄与香気成分のうち、脂肪酸の酸化分解反応由来と考えられるのは、(E,E)-2,4-decadienal（鶏だし）、1-octen-3-ol（ビーフエキス）の1成分ずつのみと少なく、豚だしは寄与香気成分4成分共に脂肪酸の酸化分解物であった。この理由として、鶏だしはアク（脂

質含む) 除去工程において、脂質が多く除去される為、脂質含量が少なくなり、脂肪酸酸化分解物の寄与度がビーフエキスと同等レベルとなったと考えられる。豚だしは、上述のように、原料に大腿骨周辺に付着する脂肪を含むが、肉部位は殆ど使わない為、加熱豚肉とは異なり、脂質酸化分解反応中心であったと考えられる。しかし、これら生成メカニズムの解明と加熱肉と「だし」の寄与香気成分の違いを明確にする為、加熱時間及び脂質やタンパク質の影響についての更なる研究が必要である。

序章で述べたように、味と香りは食品の「おいしさ」を決める重要な構成要素であり、それらはお互いに強く相互作用していると考えられている。そこで、第4章においては、畜肉だし呈味成分が畜肉だしの香りの感覚強度に及ぼす影響を鶏だしを例に研究した。鶏だしを構成する各種呈味成分を、鶏だし香気香料組成物(「Meaty flavor」:味の素株式会社)へオミッショントテスト、アディッショントテストを行うことで、Glu、IMP、 K_2HPO_4 、KOH、 $MgCl_2$ 、AMPの6成分で鶏だし香気感覚強度を増強する傾向があり、特にGluとIMPの2成分を組み合わせることで、鶏だし香気感覚強度を増強できることを見出した。Gluが風味(味と香りの複合的感覚)を増強することは、これまでも知られているが⁴⁷⁾、GluとIMPによるうま味が、香りを含む風味に及ぼす影響を調べた研究はなされていない。特に、香りのみに着目した研究はこれまでにない。本研究においては、香り(Retronasal Aroma)を評価する訓練された専門パネルにより香りの評価を実現することで、畜肉だしにおいて呈味成分、特にうま味成分が畜肉だしの香りを増強する効果を初めて見出した。しかし、これらの増強効果が、Retronasal Aromaに限定されるのか、Orthonasal Aromaにおいても増強効果を有するのかは未だ解明されていない。これらを解明する為には、呈味成分と香気成分の各種組合せにおいて、ヘッドスペース中の香気成分の定量、及び、Retronasal AromaのみならずOrthonasal Aromaも含めた官能評価が必要であり、今後の課題である。

以上のように、本研究では、各国のプロの料理人の協力を得ることで、畜肉だし調理法を忠実に再現して調製した畜肉だしを試料として用いることにより、

畜肉だしの「おいしさ」特性に寄与する香気成分を解明することに成功し、更に呈味成分により畜肉だし香気成分が増強されることも見出した。これら新たな知見と共に、今後の研究展開におけるいくつかの課題を見出した。近年、科学と料理がお互いに接近することで、料理人の経験と勘に頼ってきた部分に科学的な視点を持ち込み、調理工程に関する科学的裏付けを得るための各種の試みが行われている。本研究も、その全容解明に少なからず貢献できたと言える。

参考文献

- 1) 太田静行, 「だし・エキスの知識」, (幸書房), pp. 136-154(1996)
- 2) 大越ひろ, 神宮英夫, 「食の官能評価入門」, (光生館), pp. 2-4(2009)
- 3) 島田淳子, 下村道子, 「調理とおいしさの科学」, (朝倉書店), pp. 98-113(1993)
- 4) Shephard GM, Smell images and the flavour system in the human brain. *Nature*, **444**, 316–321 (2006).
- 5) Verhagen JV, Engelen L, The neurocognitive bases of human multimodal food perception: sensory integration. *Neurosci. Biobehav. Rev.*, **30**, 613–650 (2006).
- 6) 小竹佐知子, 食品咀嚼中の香気フレーバーリリース研究の基礎とその測定事例の紹介, 日本調理科学会誌, **41**, 84-92(2008)
- 7) 市岡正道, 「フレーバーの化学と生理学」, (建帛社), pp. 74-79 (1972)
- 8) 山下市二ほか, 「最新食品フレーバー技術」, (工業技術会), pp. 1-14(1988)
- 9) Weurman C., Van Straten S., Vrijer F., List of Volatile Compounds in Food, 3 rd edit., (1973). With suppl. 1 to 7, (1976). Zeist, Holland: Central Institute for Nutrition and Food Research TNO.
- 1 0) Schieberle P, New developments in methods for analysis of volatile flavor compounds and their precursors. In “Characterization of Food: Emergine Methods”, eds Gaonkar AG. Elsevier Science, Amsterdam, The Netherlands, pp. 403-431 (1995).
- 1 1) 山野善正, 「おいしさの科学事典」, (朝倉書店), pp. 65-367 (2003)
- 1 2) Gillan DJ. Taste-taste, odor-odor, and taste-odor mixtures: greater suppression within than between modalities. *Percept Psychophys*, **33**, 183-185(1983)
- 1 3) Hornung DE, Enns MP. The independence and integration of olfaction and taste. *Chem. Senses*, **9**, 97-106(1984)

- 1 4) Hornung DE, Enns MP. The contributions of smell and taste to overall intensity: a model. *Percept Psychophys*, **39**, 385-391(1986)
- 1 5) Enns MP, Hornung DE. Contributions of smell and taste to overall intensity. *Chem Senses*, **10**, 357-366(1985)
- 1 6) Dalton P., Doolittle N., Nagata H., Breslin P.A.S., The merging of the senses integration of subthreshold taste and smell. *Nature Neuroscience*, **3**, 431-432(2000)
- 1 7) Frank RA, Byram J. Taste-smell interactions are tastant and odorant dependent. *Chem. Senses*, **13**, 445-455(1988)
- 1 8) Murphy C., Cain W.S., Taste and olfaction: independence vs. interaction. *Physiology & Behavior*, **24**, 601-605(1980)
- 1 9) Murphy C., Cain W.S., Bartoshuk L.M., Mutual action of taste and olfaction. *Sensory Processes*, **1**, 204-211 (1977)
- 2 0) Breslin P.A., Doolittle N., Dalton P., Subthreshold integration of taste and smell: the role of experience in flavor integration. *Chem. Senses*, **26**, 1035(2001)
- 2 1) Shahidi F, Flavor of meat and meat products-an overview. In “Flavor of Meat and Meat Products,” eds Shahidi F. Chapman and Hall, Cornwall, U. K., pp. 1-3(1994).
- 2 2) Mottram DS, Flavour formation in meat and meat products: a review. *Food Chem.*, **62**, 415-424(1998)
- 2 3) 熊倉功夫, 伏木亨, 「だしとは何か」, (アイ・ケイコーポレーション), pp. 55-56, 135-136(2012)
- 2 4) 荒井綜一, 小林彰夫, 矢島泉, 川崎通昭, 「香料の事典」, (朝倉書店), pp. 301-313(2012)
- 2 5) Farmer L. J., Patterson R. L. S., Compounds contributing to meat flavour. *Food Chem.*, **40**, 201-205(1991)
- 2 6) Kersch R., Grosch W., Comparative evaluation of potent odorants of

- boiled beef by aroma extract dilution and concentration analysis. *Z. Lebensm. Unters. Forsch. A*, **204**, 3-6(1997)
- 2 7) Kerscher R., Grosch W., Comparison of the aromas of cooked beef, pork, and chicken. In "Frontiers of the Flavour Science," ed. by Schieberle, P., Engel, K.-H., Freising, Germany, pp. 17-20(2000)
- 2 8) Sollner K., Schieberle P., Decoding the key aroma compounds of a Hungarian-type salami by molecular sensory science approaches. *J. Agric. Food Chem.*, **57**, 4319-4327(2009)
- 2 9) Christlbauer M., Schieberle P., Characterization of the key aroma compounds in beef and pork vegetable gravies a la chef by application of the aroma extract dilution analysis. *J. Agric. Food Chem.*, **57**, 9114-9122(2009)
- 3 0) Carrapiso A. I., Jurado A., Timon M. L., Garcia C., Odor-active compounds of Iberian hams with different aroma characteristics. *J. Agric. Food Chem.*, **50**, 6453-6458(2002)
- 3 1) Carrapiso A. I., Ventanas J., Garcia C., Characterization of the most odor-active compounds of Iberian ham headspace. *J. Agric. Food Chem.*, **50**, 1996-2000(2002)
- 3 2) Gasser U., Grosch W., Primary odorants of chicken broth. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.*, **190**, 3-8(1990)
- 3 3) Kerler J., Grosch W., Character impact odorants of boiled chicken: changes during refrigerated storage and reheating. *Z. Lebensm. Unters. Forsch. A*, **205**, 232-238(1997)
- 3 4) Farkas P., Sadecka J., Kovac M., Siegmund B., Leitner E., Pfannhauser W., Key odourants of pressure-cooked hen meat. *Food Chem.*, **60**, 617-621(1997)
- 3 5) Xu Y, Chen Q, Wu P, Xu X, Wang K, Pan S, *Shipin Kexue* (Beijing, China), **32**, 274-277(2011)

- 3 6) Gasser U., Grosch W., Identification of volatile flavor compounds with high aroma values from cooked beef. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.*, **186**, 489-494(1988)
- 3 7) Specht K., Baltes W., Identification of Volatile Flavor compounds with High Aroma Values from Shallow-Fried Beef. *J. Agric. Food Chem.*, **42**, 2246-2253(1994)
- 3 8) Wilson R. A., Katz I., Review of literature on chicken flavor and report of isolation of several new chicken flavor components from aqueous cooked chicken broth. *J. Agric. Food Chem.*, **20**, 741-747(1972)
- 3 9) Dunkel A., Hofmann T., Sensory-directed identification of β -alanyl dipeptides as contributors to the thick-sour and white-meaty orosensation induced by chicken broth. *J. Agric. Food Chem.*, **57**, 9867-9877(2009)
- 4 0) Engel W., Bahr W., Schieberle P., Solvent assisted flavour evaporation -a new and versatile technique for the careful and direct isolation of aroma compounds from complex food matrices. *Eur. Food Res. Technol.*, **209**, 237-241 (1999)
- 4 1) Fujimura S., Kawano S., Koga H., Takeda H., Kadowaki M., Ishibashi T., Identification of Taste-Active Components in the Chicken Meat Extract by Omission Test – Improvement of Glutamic Acid, IMP and Potassium Ion. *Animal Science Technology* (In Japanese) **66**, 43-51 (1995)
- 4 2) Moerck K.E., Ball H.R., Jr., Lipids and fatty acids of chicken bone marrow. *J. Food Sci.*, **38**, 978-980 (1973)
- 4 3) 齊藤不二男, 「食肉加工の実際」, (食品資材研究会), pp. 281-289(1982)
- 4 4) Jarboe J. K., Mabrouk A. F., Free amino acids, sugars, and organic acids in aqueous beef extract. *J. Agric. Food Chem.*, **22**, 787-791(1974)
- 4 5) Wood T., The browning of ox-muscle extract. *J. Sci. Food Agric.*, **12**,

61-69(1961)

- 4 6) Green B.G., Nachtigal D., Hammond S., Lim J., Enhancement of retronasal odors by taste. *Chem. Senses*, **37**, 77-86(2012)
- 4 7) 岸恭一, 西村敏英, 「タンパク質・アミノ酸の科学」, (工業調査会), pp. 259-264(2007)
- 4 8) 香川芳子, 「五訂増補食品成分表2009資料編」, (女子栄養大学出版部), pp. 206-229(2008)

謝辞

本研究を行うに当たり終始御懇篤なるご指導と、ご鞭撻を賜りました日本獣医生命科学大学大学院教授 西村敏英先生に深く感謝申し上げます。また、本研究の実現に向けて技術提供でご協力を頂きました日本獣医生命科学大学大学院 江草愛先生に厚く御礼申し上げます。

このような貴重な機会を与えて下さった味の素㈱ 常務執行役員兼食品研究所所長 水澤一氏、執行役員兼食品研究所技術開発センター長 野坂千秋氏、食品研究所技術開発センター次長 満生昌太氏、研究開発企画部部長 島圭吾氏、また常に適切なお助言を頂きました味の素㈱ 食品研究所技術開発センター部長 若林秀彦氏に深く感謝いたします。