

常陸牛の香り成分の研究（第2報）

岩佐 悟* 飯尾 恒** 吉浦 貴紀*

1. はじめに

茨城県は、常陸牛を年間9千頭近く出荷している（図1）。激しさを増す各県のブランドや産地間競争に打ち勝つため、常陸牛を核としたブランド力向上への取り組みが行われている。近年、消費者の嗜好は多様化しており、単なる霜降り肉というだけでなく、肉のおいしさを構成する要素である香りなどの新たな付加価値の創造が求められている。



図1 常陸牛

2. 目的

呼気ガス測定装置、ヘッドスペースガスクロマトグラフ質量分析計（以下、HS-GC/MS とする）による分析、官能評価結果を比較することで、肉の香りに影響を与える成分の解明と、評価手法の開発を行う。

本研究は「フレーバーリリースプロファイリングと遺伝子解析を活用した肉のおいしさ向上に関する試験研究事業」として、畜産センター肉用牛研究所、畜産センター養豚研究所が取り組んできた事業の一部であり、平成26年度より当センターもHS-GC/MSを用いた分析について参画している。

最終年度である平成27年度は以下の研究を行った。

- ①HS-GC/MS の分析条件の決定
- ②熟成前後で変化する香気成分の探索
- ③主要香気成分の探索

3. 研究内容

3.1 HS-GC/MSの分析条件の決定

ヘッドスペース分析は、バイアル中で試料から気相（以後、HS とする）に揮発する成分を、HS ごと分析する手法である。ヒトが嗅ぐのに近い条件で香気成分を分析できる¹⁾が、HS ごと分析するため感度が低いという弱点がある。感度を向上させるには、揮発成分を含むHS を一度トラップ管等に吸着させて濃縮するか、サンプル加熱温度・時間を調整する方法がある。

サンプル加熱は、温度が高いほど揮発成分のHS への

分配率は高く、また分配平衡に達する速度も速くなると考えられる。そこで、既報²⁾では、感度を高くするためにバイアル加熱温度を高く（70℃）した分析条件での検討を行ったが、加熱中に脂の酸化が起きることによる揮発成分の増加が起きてしまうことが分かった。そこで、バイアル加熱温度50℃でサンプル量、トラップ管へのサンプリング回数を上げることによる感度の向上について検討を行った。

3.1.1 サンプル量の検討

サンプルは常陸牛のロース芯を厚さ4mmにカットしたものを使用した。ホットプレート上にテフロン加工したアルミホイルを敷いた状態で285℃に加熱し、表、裏を25秒ずつ焼いた後、再度、表を5秒焼いたものをすり鉢で粉碎した。

分析に用いるサンプルの量を1g、2g、3gにした場合のクロマトグラムピーク面積値（以後、面積値とする）を比較した。その他の分析条件は表1の通り。

表1 HS-GC/MSの分析条件

装置	S-trapHS 付き JMS-Q1050GC (日本電子(株))
バイアルサイズ	22ml
サンプル量	1g (すり鉢で粉碎)
サンプリング回数	10回
トラップ管	GL Trap1 (TENAX)
クライオ時間	-90℃ 3分
カラム	InertCap Pure-WAX (60m×0.25mm (d. f. 0.50 μm))
昇温条件	40℃ (3min) →10℃/min →250℃ (10min)
カラム流量	2ml/min
イオン化エネルギー	70eV
イオン源温度	200℃
SCAN 範囲	m/z29-350

3.1.2 サンプリング回数の検討

サンプリング回数を1回、3回、5回、10回にした場合の面積値を比較した。その他の分析条件は表1の通り。

3.2 熟成前後で変化する成分の探索

3.2.1 熟成条件

肉用牛研究所、及び国立研究開発法人 日本原子力研究開発機構が呼気ガス測定装置を用いて同一牛肉における熟成中の放出ガスを経時的に分析した結果、牛肉の総ガス放出量は直線的な変化ではなく、一度大きな総ガス放出量ピークを示した後、総ガス放出量が落ちつき、再度総ガス放出量が増加する可能性が示された(データ非掲載。茨城畜産研報49号にて掲載予定)。そこで、総ガス放出量が落ちつき始めた熟成8日目および再度総ガス放出量の増加が認められた熟成21日目に着目し、揮発成分の組成比にどのような変化があるか検討した。

茨城県中央食肉公社よりと畜後8日目の常陸牛リブローズを購入し、と畜後8日目の牛肉を熟成0日目と設定した。購入後、リブローズより胸最長筋を採取し、スライスまたはそのまま真空包装機(NPC, KN-3)にて真空包装した。牛肉は設定した熟成日数の日にミートスライサー(KIPROSTAR, PRO-250ES-B)にて4mm厚にスライスした。スライス後、真空包装機にて真空包装した後、試験前日まで冷凍保存した。試験前日に冷蔵庫にて一晩解凍した後、縦5cm、横3cmに加工した(肉用牛研究所にて実施)。

3.2.2 調理・前処理条件

試験当日に市販ホットプレートおよびシリコン加工アルミホイルを用いて、約285℃で両面30秒ずつ加熱したものをすり鉢で粉碎した。

3.2.3 分析条件

表1の条件で分析を行った。

3.3 主要香気成分の探索

HS-GC/MSの分析結果として得られる各成分の面積値は、バイアル加温条件においてバイアルHSに揮発した成分の濃度に比例していると考えられる。しかし、香気成分はそれぞれ嗅覚閾値が異なるため、濃度が高いからと言って香りが強いとは限らない。そこで、各成分の面積値をそれぞれの嗅覚閾値(文献値³⁾)で除するとにおいの感覚量の数値に近づくと考えられる⁴⁾。3.2における熟成21日目のサンプルにおける面積値/嗅覚閾値を用いて、常陸牛の主要香気成分の探索を行った。

4. 研究結果と考察

4.1 HS-GC/MSの分析条件の検討

4.1.1 サンプル量の検討

サンプリング量を増加させても面積値に大きな変化は見られなかった。サンプルは粉碎したものを使用しているが、赤身部分、脂部分を均等に分析にかけることが1g以下では難しくなるため、サンプル量は1gが適切であると考えられた。

表2 サンプル量による揮発成分面積値の変化

推定成分*	肉1g	肉2g	肉3g
ペンタン	387233	486925	580095
4-メチルペンタン	257818	263758	276664
ヘキサノール	257818	263758	276664
ジエチルエーテル	211471	218170	200586
メチルシクロペンタン	64642	65591	68579
アセトアルデヒド	7880679	9639857	10371188
二硫化炭素	1144932	1087957	1393352
ジメチルスルフィド	607372	545580	691469
プロパナール	98689	93396	122890
アセトン	18133117	18802128	18172842
メタノール	499322	682946	964152
3-ブタノール	689727	811666	743760
イソバレルアルデヒド	275555	166711	90152
イソプロピルアルコール	6299392	6817577	7063038
エタノール	72491460	75528980	84127728
ジアセチル	4299355	3879644	3707379
トリハロメタン	66853	59663	80230
トルエン	199190	192667	194265
ヘキサナール	266299	222232	345982
エチルベンゼン	42028	43891	56908
2-ブタノール	31185	34043	36822
p-キシレン	4231	4295	6797
アセトイン	15706921	14027690	12778909
酢酸	580206	549129	460304
ペンズアルデヒド	36999	38661	35599
酪酸	30074	34258	36488
ブチラクトン	114453	106503	97630

※各ピークの質量数とNISTライブラリとの照合による

4.1.2 サンプリング回数の検討

サンプリング回数が多いほど面積値が増大した(表3)。トラップ10回でも各成分の分離ができており、一方でこれ以上のサンプリングはオートサンプラーの設定上困難なことから、サンプリング回数は10回とし、以後の分析を行った。

表3 サンプリング回数による揮発成分面積値の変化

推定成分*	トラップ1回	トラップ3回	トラップ5回	トラップ10回
ペンタン	69554	226735	387233	358417
4-メチルペンタン	55991	168291	257818	79895
ヘキサノール	55991	168291	257818	298426
ジエチルエーテル	115941	193215	211471	250406
メチルシクロペンタン	10688	41169	64642	82365
アセトアルデヒド	5545421	16918161	7880679	9013500
二硫化炭素	248279	909565	1144932	3055599
ジメチルスルフィド	104179	389824	607372	747227
プロパナール	27834	65538	98689	94439
アセトン	3940001	12387133	18133117	30027617
メタノール	663285	407996	499322	794056
3-ブタノール	186463	780945	689727	1319179
イソバレルアルデヒド	100555	203165	275555	42936
イソプロピルアルコール	8827652	5259430	6299392	13976300
エタノール	22061770	62488501	72491460	93514119
ジアセチル	1986778	3597140	4299355	5569859
トリハロメタン	18209	46600	66853	174404
トルエン	62310	136305	199190	386277
ヘキサナール	22369	71316	266299	339603
エチルベンゼン	9793	29098	42028	113794
2-ブタノール	10324	21809	31185	69946
p-キシレン	446	2525	4231	16286
アセトイン	1294723	7743230	15706921	27968227
酢酸	41135	261568	580206	918960
ペンズアルデヒド	11949	30888	36999	75444
酪酸	542	7212	30074	78775
ブチラクトン	17426	83004	114453	228900

※各ピークの質量数とNISTライブラリとの照合による

4.2 熟成前後で変化する成分の探索

入手できたサンプル量の都合により、熟成0日目と8日目、熟成0日目と21日目の比較は、異なるサンプルを使用した。熟成0日目と8日目(表4)では、面積値に明確(2倍以上)な変化の見られた成分はなかった。

表4 熟成0日目と8日目の揮発成分面積値の変化

推定成分※	熟成0日目	熟成8日目
ペンタン	762378	823383
ヘキサン	944732	945962
メチルシクロペンタン	293755	277566
アセトアルデヒド	5875043	4099605
二硫化炭素	1048112	585536
ジメチルスルフィド	1803221	2175696
プロパナール	271900	261682
アセトン	20891457	20329821
メタノール	403570	645037
イソバレルアルデヒド	390372	402610
イソプロピルアルコール	26128753	30867400
エタノール	178771770	181731802
ジアセチル	9644273	7062798
アセトニトリル	320986	275639
トリハロメタン	334065	378922
トルエン	464038	333391
ヘキサナール	1574901	2150914
1-ブタノール	54603	61122
アセトイン	52907420	36764963
酢酸	1422763	1853325
ベンズアルデヒド	58298	54349
イソ酪酸	90734	139942
酪酸	150842	137830
ブチラクトン	279929	339349
カプロン酸	351800	274721

※各ピークの質量数とNISTライブラリとの照合による

熟成0日目と21日目(表5)では、アルデヒド類のプロパナール、ヘキサナールが減少し(図2)、低級脂肪酸の酪酸、カプロン酸が増加した(図3)。

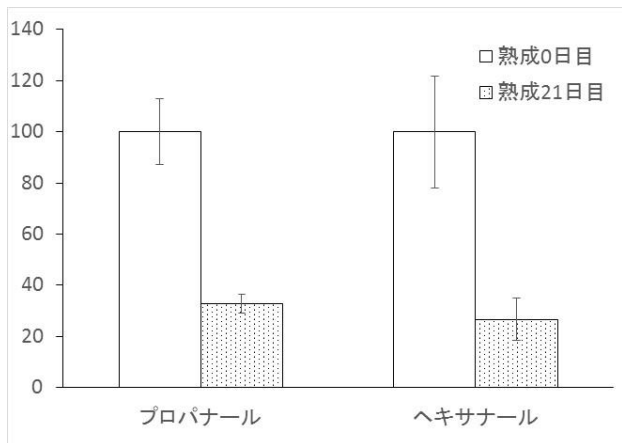


図2 熟成0日目と21日目のアルデヒド類の面積値の変化(熟成0日目を100とした相対値)

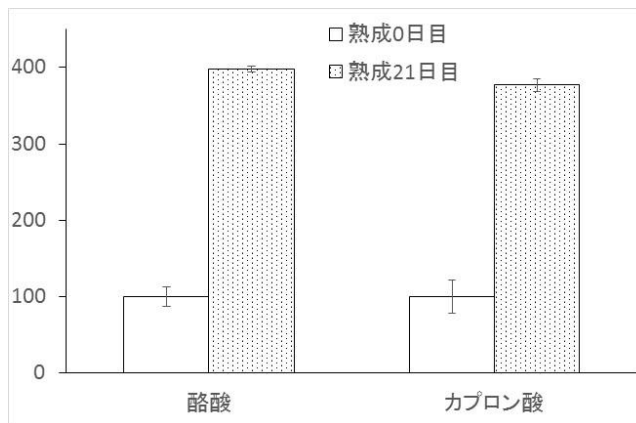


図3 熟成0日目と21日目の低級脂肪酸の面積値の変化(熟成0日目を100とした相対値)

表5 熟成0日目と21日目の揮発成分面積値の変化

推定成分※	熟成0日目	熟成21日目
ペンタン	390633	390320
ヘキサン	397077	384183
メチルシクロペンタン	109816	92484
アセトアルデヒド	4344023	3064252
二硫化炭素	1469986	1269359
ジメチルスルフィド	1008750	1034805
プロパナール	254232	83763
アセトン	16929025	15707092
メタノール	215309	374380
イソバレルアルデヒド	436602	732352
イソプロピルアルコール	11684036	9609624
エタノール	96054597	69710993
ジアセチル	9781388	8866470
アセトニトリル	303871	246720
トリハロメタン	412247	435725
トルエン	227886	131886
ヘキサナール	1137172	303233
1-ブタノール	57566	47628
アセトイン	64684090	72278429
酢酸	2338230	4336147
ベンズアルデヒド	44691	47056
イソ酪酸	81118	133194
酪酸	190442	758429
ブチラクトン	363803	507289
カプロン酸	168345	634549

※各ピークの質量数とNISTライブラリとの照合による

4.3 主要香気成分の探索

アセトイン、エタノール、アセトンは、面積値は大きかったが、嗅覚閾値が大きいため、面積値/嗅覚閾値では小さくなっており、主要な香りにはなっていないと考えられた。一方、嗅覚閾値の小さいカプロン酸、酪酸、ヘキサナール、ジアセチル、アセトアルデヒドは面積値/嗅覚閾値が大きく、主要な香気成分になっていると考えられた(表6)。

表6 揮発成分面積値と面積値/嗅覚閾値

推定成分※1	面積値	面積値/嗅覚閾値※2
ペンタン	390320	279
ヘキサン	384183	256
メチルシクロペンタン	92484	54
アセトアルデヒド	3064252	2042835
二硫化炭素	1269359	6045
ジメチルスルフィド	1034805	517402
プロパナール	83763	83763
アセトン	15707092	374
メタノール	374380	11
イソパレルアルデヒド	732352	732352
イソプロピルアルコール	9609624	370
エタノール	69710993	134060
ジアセチル	8866470	177329407
アセトニトリル	246720	19
トリハロメタン	435725	95
トルエン	131886	400
ヘキサナール	303233	1082976
1-ブタノール	47628	1253
アセトイン	72278429	144557
酢酸	4336147	722691
ベンズアルデヒド	47056	9411
イソ酪酸	133194	88796
酪酸	758429	3991730
カプロン酸	634549	1057581

※1: 各ピークの質量数とNISTライブラリとの照合による
 ※2: 嗅覚閾値は文献値³⁾による。アセトインに嗅覚閾値は参考成分(メチルイソプロピルケトン)の数値を使用⁴⁾

7. 参考文献等

- 1) 菅原悦子・保坂由貴子：日本家政学会誌, 60, 54 (2009)
- 2) 茨城県工業技術センター研究報告 vol143, 29 (2014)
- 3) 永田 好男・竹内 教文：日環セ所報, No.17, 77(1990)
- 4) 西島 裕人, 2014年, 自動濃縮装置を用いたにおい嗅ぎ - GC/MSによる乳製品の『におい』評価, SCAS NEWS, 39号, 7(2014)

5. まとめ

- ①HS-GC/MSの分析条件を決定した
- ②熟成前に比べ、熟成21日目はアルデヒド類のプロパナール、ヘキサナールが減少し、低級脂肪酸の酪酸、カプロン酸が増加することが分かった。
- ③面積値/嗅覚閾値で比較をすることで主要香気成分を探索し、カプロン酸、酪酸、ヘキサナール、ジアセチル、アセトアルデヒドの寄与が大きいと考えられた。

6. 今後の課題

肉用牛研究所において、今回分析した熟成0日目、8日目、及び21日目のサンプルの呼気ガス測定装置による分析、官能評価を実施している。本研究における結果も含め、肉の香りに影響を与える香り成分の解明と、評価手法の開発を今後も行う予定である。