

肉および肉製品の風味成分に関する研究 I.

加熱時における豚肉の揮発性成分

上 隆 保・大 泰 司 論

(広島大学水畜産学部食品工業化学科)

A Study on the Flavor Components of Meat and Meat Products I. Some Volatile Constituents of Cooked Pork

Takayasu KAMI and Satoru ÔTAISHI

*Department of Food Chemistry and Technology, Faculty of Fisheries
and Animal Husbandry, Hiroshima University, Fukuyama*

(Text-figs. 1-6; Tables 1-2)

食品は含有する栄養素によりその価値を判定するばかりでなく、その食品のもつ固有の色および風味なども、食品価値を決定する重要な条件となる。特に風味は嗅覚・味覚・触覚・その他の複合感覚からなり、中でも嗅覚と味覚とは不可分な関係にあるとされている。PIPPEN ら¹⁾は、フレーバー (flavor) とは試料が審査員の口中で消費される時、口内と鼻腔内の双方に起こる刺戟であるとし、またオーダー (odor) とは試料を嗅ぐ時呼び起こされる刺戟であると定義している。

各種食肉のフレーバーの組成および前駆物質については、1960年以降多くの研究が行なわれている。YUEH ら²⁾は、牛赤肉の肉汁から硫化水素・アンモニア・アセトアルデヒド・アセトン・ジアセチル・蟻酸・酢酸・プロピオン酸・イソ酪酸・酪酸およびジメチルサルファイドを検出した。EL-GHARBAWI ら³⁾は、凍結乾燥した牛肉の室温貯蔵中に発生する揮発物を研究して、アセトアルデヒド・プロピオンアルデヒド・バレラルデヒド・ヘキサナール・アセトン・メチルメルカプタン・メチルジサルファイドおよび硫化水素を検出した。HORNSTEIN ら⁴⁾は、牛と豚の生肉の冷水抽出物を加熱分解して生成する揮発物から、アセトン・ホルムアルデヒド・アセトアルデヒド・アンモニア・硫化水素および二酸化炭素を検出し、両者の芳香は成分上の差でなくて量的な差であったと報告している。WICK ら⁵⁾は、コバルト60による照射が牛肉の揮発性成分に及ぼす影響を研究した。照射によってn-アルカナル類およびメチオナルが顕著に生成されるが、これらの成分は照射後日数が経過するにつれて、微量成分であるn-アルカンおよび1-アルケン類と共に減少し、逆にn-アルカノール類の増加が認められた。またOCKERMAN ら⁶⁾は、乾塩法のハムからホルムアルデヒド・アセトアルデヒド・プロピオンアルデヒド・イソブチルアルデヒド・バレラルデヒド・イソバレラルデヒド・アセトン・ジアセチル・メチルエチルケトン・蟻酸・酢酸・プロピオン酸・酪酸・イソカプロン酸・アンモニア・メチルアミン・硫化水素およびジサルファイドを検出した。CROSS ら⁷⁾は、塩漬ハムと塩漬しないハムを比較したが、後者にヘキサナールとバレラルデヒドを多量に見出した以外には、主成分のアセトンにもその他のブチルアルデヒド・プロピオンアルデヒド・アセトアルデヒド・イソブチルアルデヒド・イソバレラルデヒド・2-メチルブチルアルデヒド・硫化水素およびメタンチオールなどにも、ほとんど変化は認められなかったと報告している。

著者らは肉および肉製品の風味成分に関する研究の手始めとして、加熱時における豚肉の揮発性成分について研究を行なった。

本研究を遂行するに当たり、終始御指導御鞭撻を賜った広島大学理学部助教授林修一博士に深甚なる謝意を表す。

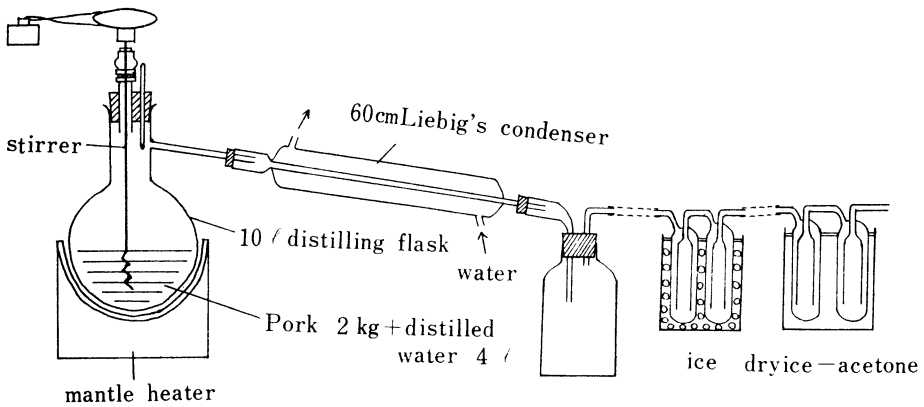
実験材料および方法

1. 実験材料

広島大学水畜産学部御幸農場で飼育した生体重120kgの、中ヨークシャー種の未經産雌豚を、昭和41年11月14日にと殺し、直ちに肩ロース部 (Boston Butt 部) 3kg を採取して、零下15~20°C に保ったディープフリーザーに保存した。

2. 揮発物の分離

3日後に解凍、脂肪・腱および血管等を除去して、チョッパーを通した肉2kgを、図1に示した低沸点物採取装置の枝付フラスコ (容量10l) に入れ、蒸留水4lを加えて、撪拌しながら2時間半加熱蒸留した。留出水および低沸点留出物は、常温・氷およびドライアイス-アセトン冷却の3個のトラップを順次通して捕集した。



Text-fig. 1. Apparatus used to isolate volatile substance from pork.

常温トラップに捕集された留出液は、2N-燐酸でpH3に調整したあとイソペンタンで抽出、可溶部と不溶部に分けた。イソペンタン可溶部はそのままガスクロマトグラフを利用して分析し、また不溶部は5部に分けて、それぞれカルボニル・アルコール・塩基性・酸性および硫黄化合物の分析にあてた。

3. ガスクロマトグラフィー

島津3AH熱電導度型ガスクロマトグラフを用いた。カラムは3mm×3mのステンレス-スティールカラム、充填剤は15% Tween-20を塗布した100~120メッシュのChromosorb-Wである。カラム温度は100°C、キャリアーガスの水素は1.5kg/cm²で流した。

4. イソペンタン不溶部の分析

1) カルボニル化合物 イソペンタン不溶部400mlに、2,4-ジニトロフェニルヒドラジンの0.2% 2N-塩酸溶液50mlを加えて、2日間冷蔵したあと約半量まで減圧濃縮して、生じた沈澱をロ別乾燥した。得られた2,4-ジニトロフェニルヒドラジンの混合物は、少量のクロロホルムに溶かし、DENTIおよびLubo²)の方法に従って薄層クロマトグラフィーを行なった。吸着体にはシリカゲルGを、展開溶媒にはクロロホルム-石油エーテル (75:25) の混合溶媒を使用した。

2) アルコール類 イソペンタン不溶部 400ml を使用し、LIPSCOMB および BAKER⁹⁾ の方法に従って、アルコール類の 3,5-ジニトロベンゾエートを調整した。ロ別した 3,5-ジニトロベンゾエートの粗結晶は、少量のクロロホルムに溶かし、SUNDT および WINTER¹⁰⁾ の方法に準じてペーパークロマトグラフィーを行なった。

3) 塩基性物質 イソペンタン不溶部 500ml を 55~65°C で減圧蒸留して、少量の茶褐色粘濁性の液体と白色の結晶を得た。白色の結晶は 175~190°C の間で融け、磷酸アンモニアと推定される。粘濁液と結晶の混合物に、10% 水酸化ナトリウムを加えて加熱、発生する揮発性気体をフェニルイソチオシアネートに吸着させたところ、直ちに白色結晶、m.p. 156~158°C、が得られた。この m.p. は、フェニルイソチオシアネートにアンモニアが反応して生じるフェニルチオウレアの m.p. 156~158°C に一致する。またこの結晶は、ベンゼン-酢酸エチル (10:1) の混合溶媒を展開剤に用いた薄層クロマトグラフィーにおいて、唯一個の赤色斑点 (混酸噴霧) を与えた。

4) 酸性物質 塩基性物質検出のためのイソペンタン不溶部の減圧蒸留において得た留液 500ml に、1% 水酸化ナトリウムを加えてアルカリ性とし、53~63°C で減圧濃縮した。フラスコの底に白色の結晶を得たので、硫酸酸性にしてエーテル抽出、ジアゾメタンを用いてメチルエステルとしてガスクロマトグラフィーを行なった。充填剤には 25% ジイソデシルフタレート塗布した Celite-545 (60~80 メッシュ) を用い、カラム温度は 165°C、キャリアーの水素は 0.5kg/cm² の流速で使用した。

5) 硫黄化合物 イソペンタン不溶部 600ml を三口フラスコにとり、水酸化ナトリウム溶液を加えて強アルカリ性として、28 時間加熱分解した。発生する気体は HING および WECKEL¹¹⁾ の方法に準拠して、シリカゲル乾燥管・飽和酢酸鉛溶液・0.5N-塩酸溶液・4% シアン化第二水銀溶液・3% 塩化第二水銀溶液の各トラップを順次通して吸収させた。飽和酢酸鉛トラップに白色の結晶および 0.5N-塩酸トラップに灰色の結晶が生じた。それらの結晶の一部を、BATZER および DOTY¹²⁾ に従ってヨウ化水素酸の多量を加えて分解させ、発生する気体のクロマトグラフィーを行なった。ガスクロマトグラフには、島津水素炎 GC-2B 型、カラムには 3mm×3m の銅カラム、充填剤には 3% Carbowax-1500 を塗布した Diasolid-L (100~120 メッシュ) を使用した。カラム温度は 62°C、キャリアーの窒素ガスは 15ml/min.、水素ガスは 70ml/min.、空気は 0.9l/min. の速度で流した。

水冷却およびドライアイス-アセトン冷却トラップの捕集物からは、期待した結果は得られなかった。

実験結果および考察

豚肉に多量の水を加えて加熱し、発生する低沸点化合物を留出水とともに捕集し、磷酸で酸性に調整したあと、イソペンタン可溶部と不溶部に分けて、イソペンタン可溶部は直接ガスクロマトグラフィーによって、また不溶部は 5 部に分けて、それぞれカルボニル・アルコール・酸性・塩基性および硫黄化合物の分析を行なった。その結果をまとめたものが表 1 である。

イソペンタン可溶部の Tween-20 によるガスクロマトグラムは、図 2 である。また標準物質の t_R 値との比較を表 2 に示す。

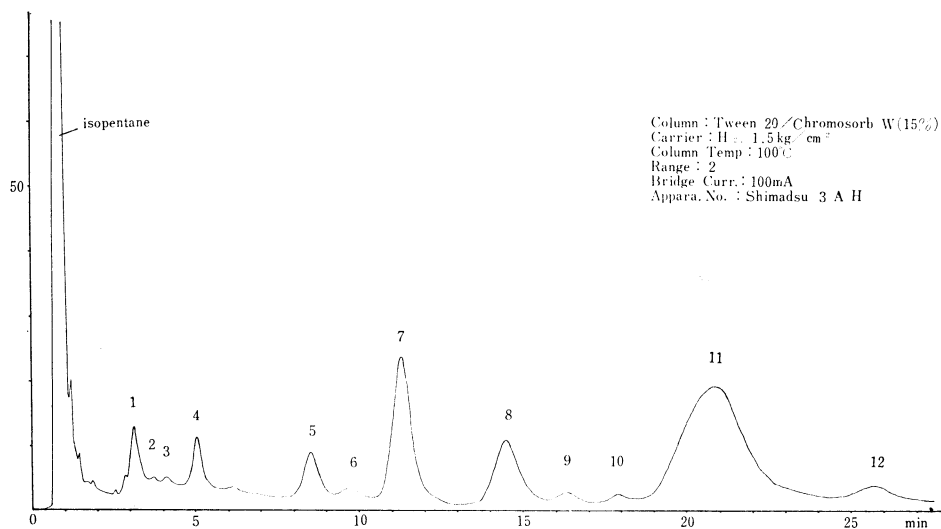
これによってブタノール・酢酸アミル・イソペンタノール・ヘキサノール・蟻酸・メチル-ヘプテルケトン・ノナノール・イソ酪酸およびオクタノールを推定した。ただし t_R 5.1 のピークは、メチル-アミルケトン・ペンタノールおよびヘプタナールのいずれの t_R にも一致する。また t_R が 3.0 より小さいピークに対しては、該当する化合物が多いので、帰属を決定するまでには至らなかった。

イソペンタン不溶部の一部を、2,4-ジニトロフェニルドラゾンに変えて行なった薄層クロマトグラフィーの結果は、図 3 である。これには試料と標準物質の 2,4-ジニトロフェニルヒドラゾンが、同時に展開されているので、両者の比較から Rf 値 0.23・0.36・0.44・0.52 の各スポットは、それぞれジアセチル・アセトアルデヒド・イソブチルアルデヒド・ノナノールと同定できる。Rf 値 0.07 および 0.15 のス

Table 1. Some volatile constituents of cooked pork

authentic reference compounds	Isopentane soluble fraction	Isopentane insoluble fraction			
	gas chromatography	T. L. C. of 2, 4- dinitrophenyl- hydrazones	P.C. of 3, 5- dinitro- benzoates	chemical derivative	gas chromat- ography
diacetyl		○			
acetaldehyde		○			
isobutyraldehyde		○			
methyl-n-amyl ketone	△				
n-heptanal	△				
methyl-n-heptyl ketone	○				
n-nonanal	○	○			
methanol			○		
ethanol			○		
n-propanol			○		
n-butanol	○		○		
i-pentanol	○				
n-pentanol	△				
n-hexanol	○				
n-octanol	○				
ammonia				○	
formic acid	○				
propionic acid					○
isobutyric acid	○				○
n-butyric acid					○
isovaleric acid					○
n-valeric acid					○
hydrogen sulfide					○
methanethiol					○
ethanethiol					○

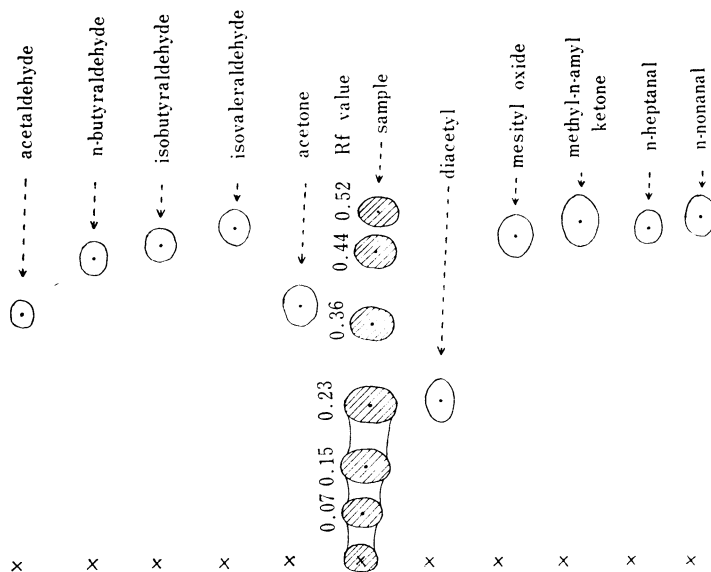
△ : was the same retention time among three compounds



Text-fig. 2. Gas chromatogram of isopentane soluble fraction isolated from cooked pork.

Table 2. t_R and ratio of isopentane soluble fraction isolated from cooked pork

Peak No.	Ratio (%)	t_R	authentic reference compounds	
			Name	t_R
1	3.7	3.1	n-butanol	3.1
2	trace	3.8	amyl acetate	3.9
3	trace	4.2	isopentanol	4.2
4	4.3	5.1	methyl-n-amyl ketone, n-pentanol, n-heptanal	5.1
5	4.4	8.6	n-hexanol	8.9
6	2.0	9.8	formic acid	9.8
7	12.5	11.4		
8	8.5	14.6	methyl-n-heptyl ketone	14.2
9	2.0	16.5	n-nonanal	16.4
10	1.5	18.1	isobutyric acid	18.1
11	37.3	21.0		
12	4.8	25.9	n-octanol	26.0

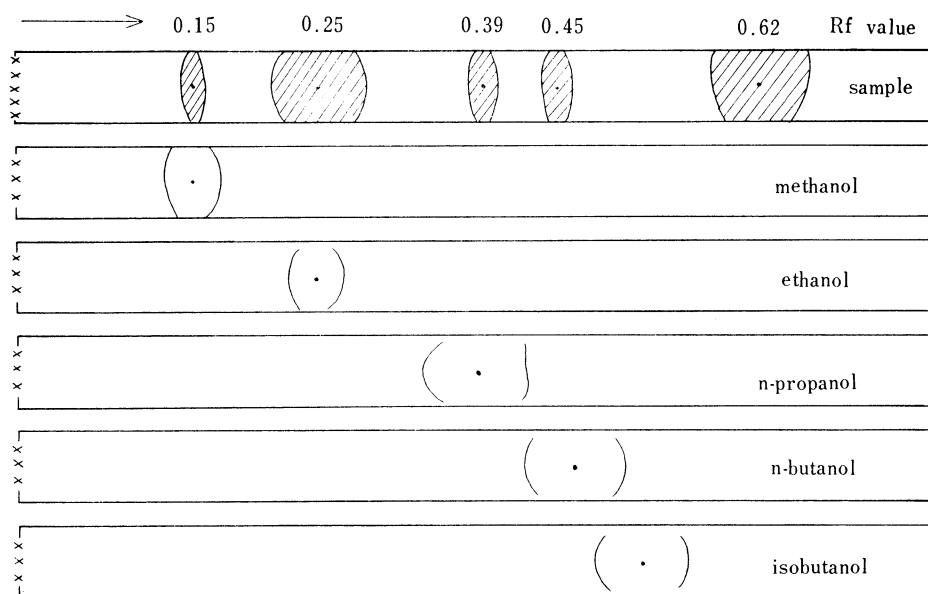


Text-fig. 3. T. L. C. of 2,4-dinitrophenylhydrazones obtained from isopentane insoluble fraction.
CHCl₃-Pet. ether (75 : 25)

ポットは、ポリカルボニルあるいは芳香族カルボニル化合物と推定するが、確認するまでには至らなかった。

しかし、イソペンタン可溶部のガスクロマトグラフィー（図2）において、その存在を推定したところのメチル-ヘプチルケトン、および帰属の決定にまで至らなかったメチル-アミルケトンとヘプタナールは、この薄層クロマトグラフィーにては検出できなかった。これはこれらの Rf 値が接近しているため、分離不十分によるものとする。

イソペンタン不溶部中のアルコール類を、3,5-ジニトロベンゾエートに変えて行なったペーパークロマトグラフィーの結果は、図4である。標準物質の Rf 値の比較から、0.15・0.25・0.39および0.45のバンドは、それぞれメタノール・エタノール・プロパノールおよびブタノールと同定した。このうちブタノールは、イソペンタン可溶部のガスクロマトグラフィーで見出されている。Rf 値 0.62 のバンドは同定するまでに至らなかった。

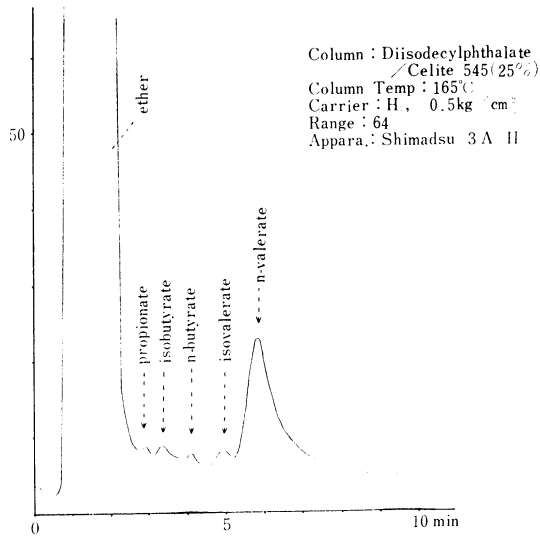


Text-fig. 4. P. C. of 3,5-dinitrobenzoates obtained from isopentane insoluble fraction.

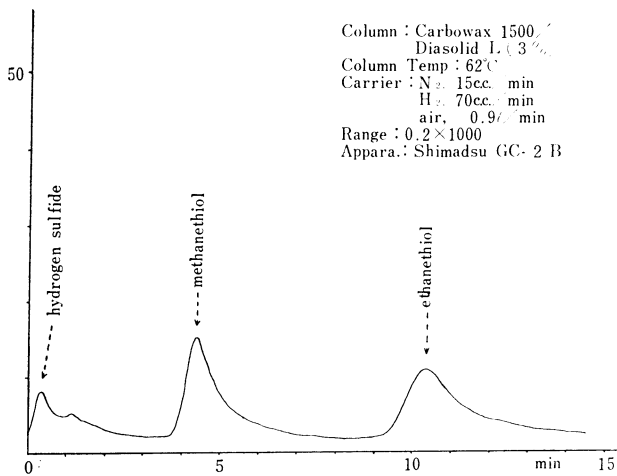
イソペンタン不溶部の燐酸々性濃縮物は、強アルカリ性においてアンモニア臭の気体を発生したので、フェニルイソチオシアネートに吸収させ、フェニルチオウレアを調製して確認した。この誘導体の薄層クロマトグラフィーは、唯一の赤色斑点のみを与えたので、アンモニア以外の塩基性物質は含まないものとする。

酸性物質はメチルエステルに変えて、ガスクロマトグラフィーで分析した。そのガスクロマトグラムは図5であって、この結果からプロピオン酸・イソ酪酸・酪酸・イソ吉草酸および吉草酸が同定できた。イソペンタン可溶部のガスクロマトグラフィーで推定した蟻酸は、このガスクロマトグラフィーにおいては検出できなかった。これは溶媒のエーテルのピークにかくれたためである。

硫黄化合物の分析には、イソペンタン不溶部の一部を強アルカリ性にして加熱分解、発生する気体を酢酸鉛溶液・0.5N-塩酸溶液・シアン化第二水銀溶液および塩化第二水銀溶液の中を順次導いて吸収させた。酢酸鉛溶液から白色沈澱、0.5N 塩酸溶液から灰色沈澱を得たので、多量のヨウ化水素酸を加えて分解し、再生した硫黄化合物をガスクロマトグラフィーによって分析した。その結果が図6である。



Text-fig. 5. Gas chromatogram of methyl esters obtained from isopentane insoluble fraction.



Text-fig. 6. Vapor phase chromatogram of sulfur compounds obtained from isopentane insoluble fraction.

ただし、酢酸鉛溶液から得た結晶の分解では、硫黄化合物は再生されなかった。これより硫化水素・メタンチオールおよびエタンチオールを同定した。

以上によって、豚肉の加熱によって発生する低沸点化合物として、アセトアルデヒド・イソブチルアルデヒド・n-ニールアルデヒドなどのアルデヒド類と、ジアセチルおよびメチル-n-ヘプチルケトンを検出した。アルコール類として、メタノール・エタノール・n-プロパノール・n-ブタノール・イソペンタノール・n-ヘキサノール・n-オクタノールを、塩基性物質としてアンモニアを、脂肪酸として蟻酸・プロピオン酸・イソ酪酸・n-酪酸・イソ吉草酸・n-吉草酸を、また硫化水素・メタンチオール・エタンチオールなどの硫黄化合物を検出した。

豚肉の低沸点揮発物から、このように多数のアルコール類を分析し得たのは、この研究が最初であり、イソ吉草酸・*n*-吉草酸およびエタンチオールについても未だ報告を見ない。しかし、低沸点化合物の分析は非常に困難であるので、今後の研究によってより正確な結果を期したい。

総 括

生体量120kgの中ヨークシャー種、未経産雌豚の肩ロース部 (Boston Butt 部) 2 kg に蒸留水 4 l を加えて、攪拌しながら2時間半蒸留し、留出物を捕集して分析した。2N-燐酸でpH 3 に調整したあと、イソペンタンで抽出してイソペンタン可溶部と不溶部に分けた。イソペンタン可溶部はそのまま熱電導度型ガスクロマトグラフィーによって、また不溶部は5部に分けて、それぞれカルボニル・アルコール・塩基性・酸性および硫黄化合物を分析した。

アンモニア・ジアセチル・アセトアルデヒド・イソブチルアルデヒド・メチル-*n*-ヘプチルケトン・*n*-ノナール・メタノール・エタノール・*n*-プロパノール・*n*-ブタノール・イソペンタノール・*n*-ヘキサノール・*n*-オクタノール・蟻酸・プロピオン酸・イソ酪酸・*n*-酪酸・イソ吉草酸・*n*-吉草酸・硫化水素・メタンチオールおよびエタンチオールの存在を確認した。

引 用 文 献

- 1) PIPPEN, E. L. and KLOSE, A. A.: *Poultry Sci.*, **34**, 1139-1146 (1955).
- 2) YUEH, M. H. and STRONG, F. M.: *J. Agric. Food Chem.*, **8**, 491-494 (1960).
- 3) EL-GHARBAWI, M. I. and DUGAN, L. B.: *J. Food Sci.*, **30**, 814-816 (1965).
- 4) HORNSTEIN, I. and CROWE, P. E.: *J. Agric. Food Chem.*, **8**, 494-498 (1960).
- 5) WICK, E. L. KOSHIKA, M. and MIZUTANI, J.: *J. Food Sci.*, **30**, 433-440 (1965).
- 6) OCKERMAN, H. W. BLUMER, T. N. and CRAIG, H. B.: *J. Food Sci.*, **29**, 123-129 (1964).
- 7) CROSS, C. K. and ZIEGLER, P.: *J. Food Sci.* **30**, 610-614 (1965).
- 8) DENTI, E. and LUBOZ, M. P.: *J. Chromatog.*, **18**, 325-330 (1965).
- 9) LIPSCOMB, W. N. and BAKER, R. H.: *J. Am. Chem. Soc.*, **64**, 179-180 (1942).
- 10) SUNDT, E. and WINTER, M.: *Anal. Chem.*, **29**, 851-852 (1957).
- 11) HING, F. S. and WECKEL, K. G.: *J. Food Sci.*, **29**, 149-157 (1964).
- 12) BATZER, O. F. and DOTY, D. M.: *J. Agric. Food Chem.*, **3**, 64-67 (1955)

SUMMARY

The shoulder meat (Boston Butt) used in the experiments was obtained from Middle Yorkshire gilt, weighing 120 Kg. This ground fresh lean pork, 2 Kg, and distilled water, 4 l, were placed in a 10 l-distilling flask equipped with a stirrer, heated at 100°C for 2.5 hours. The distillates and volatiles were collected to 3 traps cooled with water, ice, and dry ice-acetone.

The distillates in the water-cooled trap were adjusted to pH 3 with 2N phosphoric acid and extracted four times with portions of isopentane. The isopentane extracts were dried over anhydrous sodium sulfate, filtered off, and isopentane was distilled off at atmospheric pressure through a Widmer's distilling tube.

The dried isopentane soluble fraction was investigated by gas chromatography on an apparatus equipped with thermal conductivity detector.

The isopentane insoluble fraction was used for chemical studies of carbonyl compounds, alcohols, basic substances, acidic substances, and sulfur compounds.

The compounds which have been identified include ammonia, diacetyl, acetaldehyde, isobutyraldehyde, methyl-*n*-heptyl ketone, *n*-nonanal, methanol, ethanol, *n*-propanol, *n*-butanol, isopentanol, *n*-hexanol, *n*-octanol, formic acid, propionic acid, isobutyric acid, *n*-butyric acid, isovaleric acid, *n*-valeric acid, hydrogen sulfide, methanethiol, and ethanethiol.