

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 10 日現在

機関番号：32607

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2013

課題番号：24700808

研究課題名(和文) ソトロンおよびホモフラネオールによる発酵食品オフフレーバーのマスクング効果の解明

研究課題名(英文) The effect of masking for off-flavor of fermented foods by sotolon and homofuraneol

研究代表者

大畑 素子 (Ohata, Motoko)

北里大学・獣医学部・助教

研究者番号：60453510

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 1,800,000円、(間接経費) 540,000円

研究成果の概要(和文)：動物性発酵調味料の一つとして魚醤(ハタハタやカタクチイワシと食塩を混合し長期間発酵熟成)の香り特性を官能評価により明らかにした。特に「生臭い腐敗臭」がオフフレーバーに関連すると考えられた。オフフレーバーに寄与する可能性の高い香り成分をGC-匂い嗅ぎ分析等の機器分析により特定した。一方、他の動物性発酵調味料として肉醬(豚肉、麩、食塩を混合し12か月間発酵熟成)を調製し、香り成分分析を行ったところ嗜好性に対しソトロンが関与していることを示した。魚醤にソトロンを微量添加することで魚醤の「生臭い腐敗臭」が軽減されたことから、オフフレーバーに対するマスクング効果が示された。

研究成果の概要(英文)：We investigated the effect of masking for off-flavor of fermented fish sauces by sotolon. The odor profiles of fermented fish sauces were shown by the sensory evaluation, and the odor qualities that "fishy smell" and "foul smell" related to off-flavor of fermented fish sauces. Potent odorants in fermented fish sauces identified by GC-Olfactometry and GC-MS were likely to contribute to off-flavor. Since sotolon in fermented meat sauce, which it was made from pork meat by fermentation for long periods, contributed to palatability of fermented meat sauce, sotolon was added to fermented fish sauces and odor of them was evaluated. The odor qualities that "fishy smell" and "foul smell" of fermented fish sauces were reduced by added sotolon, then, the masking effect for off-flavor was shown.

研究分野：複合領域

科研費の分科・細目：生活科学・食生活学

キーワード：香り マスクング GC-匂い嗅ぎ

### 1. 研究開始当初の背景

魚醤に代表されるような動物性タンパク質を主成分とする発酵調味料は、日本人にとって一部の地域を除き古くからなじみがないため、その独特の風味がオフフレーバーとして時に不味さを感じさせることがある。

ところで、ソトロンは、清酒、醤油、ワイン、シェリー酒などの植物性発酵食品中で広く検出されており、いずれにおいても匂いの骨格を成す重要な香気成分である。また閾値は非常に低く、香調も強烈でインパクトがあるにもかかわらず、風味改善機能やオフフレーバーに対するマスキング効果に関する報告はない。ソトロンは魚醤からは検出の報告はない。一方で、他の動物性発酵調味料として肉醤(豚肉、麹、食塩を主原料とし、12か月間発酵熟成)があるが、近年の予備の実験により、動物性発酵調味料からは初めてソトロンを高濃度で検出し、非常に好ましい香気に寄与する可能性を示した。

### 2. 研究の目的

本研究では、肉醤からのソトロン検出と、ソトロンの肉醤の嗜好性への関与について再検討するとともに、魚醤のオフフレーバーに対するソトロンのマスキング効果を検証することを目的とした。

### 3. 研究の方法

(1) 研究に用いた魚醤は3種類であり、ハタハタと食塩を主原料とする日本製魚醤(日本国内のローカルマーケットにて購入)、カタクチイワシと食塩を主原料とするタイ製魚醤、カタクチイワシと食塩を主原料とするベトナム製魚醤(タイ製魚醤およびベトナム製魚醤は日本国内のインポートフードマーケットにて購入)を用いた。食品のための匂い評価用語を用いて、魚醤の匂いを適切に表現する評価用語をパネリスト(7名)により選出し、各評価用語に相当する匂いの強度を評点法でスコアリングした。一連の官能評価により各魚醤の香気特性を明らかにした。

(2) 各魚醤を脱臭水で5倍に希釈し、内部標準物質としてメチルデカノエイトを添加し、ジクロロメタンと酢酸エチルを用いた液液抽出より抽出物を調製した。その後、得られた抽出物から Solvent Assisted Flavor Evaporation (SAFE) 法により香気濃縮物を調製後、Aroma Extract Dilution Analysis (AEDA) 法を適用した GC-匂い嗅ぎ分析および GC-MS 分析により各魚醤の香気寄与成分を特定した。

(3) 動物性発酵調味料である肉醤を再度調製し、この嗜好性決定因子としてソトロンが肉醤の香気に高く貢献することを再現した。具体的には、図1に示すように、新鮮な豚ひき肉(三元交雑種)と米麹(10%)、食塩(10%)を混合し、30℃で12か月間発酵熟成させた。

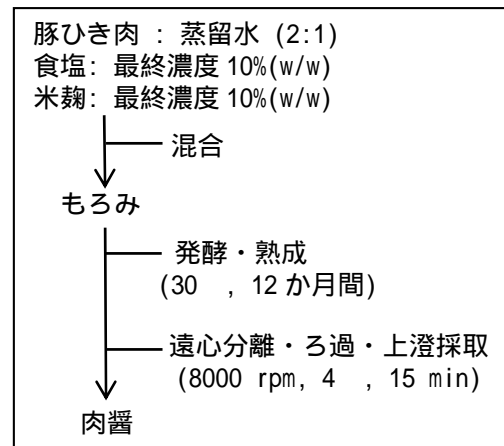


図1 肉醤の調製

12か月間の発酵熟成期間中、経時的に、一般細菌数、乳酸菌(非耐塩性)数、大腸菌数の変化を希釈平板法により測定した。同時に、ELISA法によりペロ毒素検出も試みた(大腸菌ペロ毒素キット「オーソ®VT1/VT2®、オーソ・テクニカ・ダイアグノスティック」)。

12か月間の発酵熟成後、肉醤を採取し、脱臭水にて5倍に希釈したのち、内部標準物質としてメチルデカノエイトを添加し、ジクロロメタンと酢酸エチルによる液液抽出して抽出物を得た。得られた抽出物をSAFEにより蒸留し、濃縮後、AEDA法を適用したGC-0分析により、肉醤の匂いに対するソトロンの香気寄与度を数値化した。次に、GCにてソトロンを定量した。ソトロンの定量には、検量線:ソトロン濃度(mg/ml 20%肉醤) = {(ソトロンのピーク面積 / メチルデカノエイトのピーク面積) - 0.4384} / 0.0746 (r<sup>2</sup>=1.000)を用いた。肉醤の熟成に伴うソトロン濃度の変化を知るため、熟成開始直後、熟成3か月、熟成6か月、熟成9か月、熟成12か月の肉醤を採取し、ソトロン濃度を定量した。

(4) ソトロンの標準化合物を低濃度から段階的に3種類の魚醤(脱臭水にて5倍に希釈)に添加し、各評価用語に対する匂いの強度を評点法によりスコアリングした。

### 4. 研究成果

(1) 官能評価に先立ち、3種の魚醤の匂いを適切に表現する評価用語をディスカッションして選出した。選出に際して用いた用語は、食品のための匂い評価用語であり、その用語には無いが重要と考えられる匂いの質については自由記述とディスカッションにより決定した。その結果、「パンチ」「深みのある」「むかっとくるような」「ツンツンした」「重い」「腐敗臭」「生臭い」「発酵臭」「チーズ臭」「甘い」「塩味を連想するような」の11種の評価用語が選出された。これらの用語に相当する匂いの強度を評点法にて評価したところ、3種の魚醤間で、有意差がなく、同

様の匂い特性を有していることが判明した。しかし、ベトナム製魚醤およびタイ製魚醤において、「チーズ臭」が強い傾向があり、また、3種とも「甘い」匂いが弱いことが示された。(図2)また、全ての魚醤で「腐敗臭」および「生臭い」に対するスコアが高く、これらの評価用語に対する匂いおよび成分がオフフレーバーに関係すると考えられた。

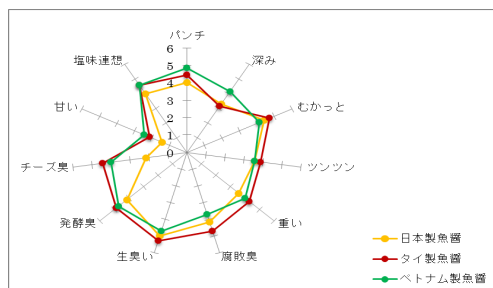


図2 3種の魚醤の匂い特性

(2) AEDA法を適用したGC-0分析により、3種の魚醤の香気寄与成分を検索した(表1)。香気寄与度すなわち Flavor dilution factor (FD-factor)が高いほど、それぞれの魚醤の匂いに対して寄与度が高いことを示す。

表1 各魚醤中の香気寄与成分と寄与度

保持時間	匂いの質	化合物	FD-factor		
			J	T	V
39.8	チーズスナック様	Butanoic acid	-	5 <sup>^</sup> 2	5 <sup>^</sup> 3
41.9	納豆様	3-methyl butanoic acid	5 <sup>^</sup> 0	5 <sup>^</sup> 3	5 <sup>^</sup> 3
42.1	出汁醤油様	5-methyl-2(5H)-furanone	-	5 <sup>^</sup> 2	5 <sup>^</sup> 2
46.6	納豆様	4-methyl pentanoic acid	-	5 <sup>^</sup> 2	5 <sup>^</sup> 1
54.9	醤油様・べっこう飴様・甘い	2-ethoxy-3,4-dihydro-2H-pyran	-	-	5 <sup>^</sup> 3
56.5	生臭い・生肉様	3-hydroxy-cyclopentene	5 <sup>^</sup> 0	5 <sup>^</sup> 3	5 <sup>^</sup> 0
60.4	メープルシロップ様・ナッツ様	unknown	-	5 <sup>^</sup> 2	5 <sup>^</sup> 0

FD-factor: 香気寄与度 (flavor dilution factor)

J: 日本製魚醤

T: タイ製魚醤

V: ベトナム製魚醤

日本製魚醤では、高FD-factorを示したのは、納豆様の匂いを呈した 3-methyl-butanoic acid (FD-factor=5<sup>^</sup>0) および生臭い匂い・生肉様の匂いを呈した 3-hydroxy-cyclopenten (FD-factor=5<sup>^</sup>0)であった。この 3-methyl-butanoic acid は3種すべての魚醤から高いFD-factorと共に検出された。タイ製魚醤において高いFD-factorを示したのは、日本製魚醤と同様に 3-methyl-butanoic acid (FD-factor=5<sup>^</sup>3) および 3-hydroxy-cyclopenten (FD-factor=5<sup>^</sup>3)であった。ベトナム製魚醤において高いFD-factorを示したのは、チーズスナック菓子様の匂いを呈した butanoic acid (FD-factor=5<sup>^</sup>3)、納豆様の匂いを呈した 3-methyl-butanoic acid

(FD-factor=5<sup>^</sup>3) 醤油・べっこう飴様の匂いを呈した 2-ethoxy-3,4-dihydro-2H-pyran (FD-factor=5<sup>^</sup>3)であった。これらがそれぞれの魚醤の匂いに高く貢献し、官能評価で明らかになった匂い特性のうち特に匂い強度の高かった「生臭い」「発酵臭」「腐敗臭」「むかっとくるような」特性に関連すると考えられた。

(3) 一方で肉醤を再度調製し、細菌数の評価およびペロ毒素の検出を行った。また香気寄与成分およびソトロンについても再評価した。

発酵熟成開始直後、一般細菌、乳酸菌、大腸菌いずれも 1.0×10<sup>6</sup>cfu/g であった。一般細菌および乳酸菌は 6 か月後には 1.0×10<sup>4</sup>cfu/g まで減少し、大腸菌は熟成 2 週目以降の検出は確認されなかった。(図3)ペロ毒素検出キットを用い、ペロ毒素の有無を ELISA (450nm) 法で評価したところ、吸光度は 0.066 であった。吸光度 0.150 以下は、ペロ毒素陰性と判断されることから、ペロ毒素の検出は認められなかった。

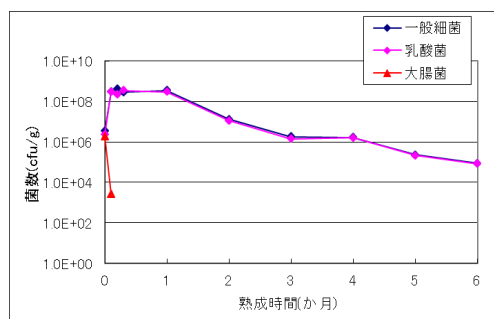


図3 6か月までの熟成に伴う細菌数の変化

AEDAの結果(図4)最も高いFD-factorを示したのは、ホモフラネオールとソトロンで、FD-factor=4<sup>^</sup>6であった。

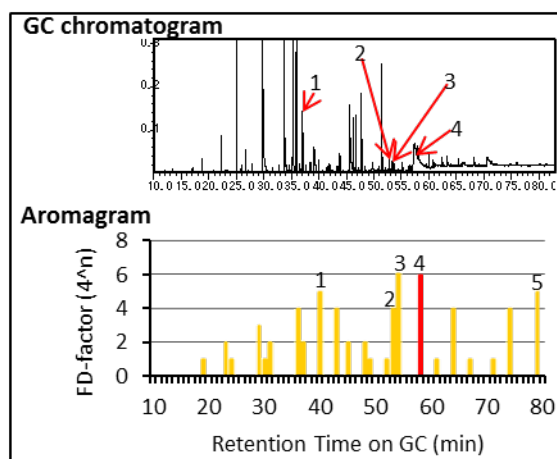


図4 GCクロマトグラム(上)とアロマトグラム(下)

GCクロマト縦軸;検出強度, アロマトグラム縦軸; FD-factor, ピーク No.1; 3-methyl butanoic acid, ピーク No.2; 4-hydroxy-2,5-dimethyl-3(2H)-Furanone, ピーク No.3; homofuraneol, ピーク No.4; sotolon.

本研究では HEMF は検出され、高い FD-factor を示したが、結果は示していないが、予備実験時や熟成環境を変えた場合は検出が変動することが確認された。これは、HEMF が耐塩性酵母によって生合成される香気成分であることがすでに報告されていることから、本研究では耐塩性酵母を人為的に添加しておらず、コンタミネーションにより生成し、香りに寄与したものと考えられた。ソトロンについては、予備実験等を通しその濃度に変動が見られなかったため、再現性が確認された。したがって、当初の研究計画では HEMF を用いた実験を進める予定であったが、一定の再現性が認められないことから、ソトロンについてのみ実験を進めた。

熟成によるソトロン量の経時変化を図5に示した。熟成6か月までは検出されなかったが、9か月で36.57mg/ml、12か月で147.43mg/mlのソトロンが検出された。

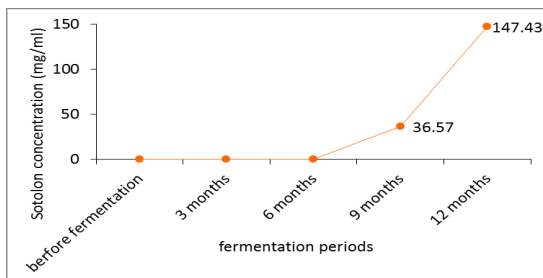


図5 熟成に伴うソトロン濃度の経時変化

(4) 各魚醤へのソトロン添加濃度を段階的に変化させ、11種類の匂い評価用語に相当する匂いの強度の変化を検証した。なお、本研究の予備実験および本実験において、ホモフラネオールの検出に関して一定の再現性が得られなかったため、マスキング効果の検証には至らなかった。

タイ製魚醤にソトロンを段階的濃度で添加した結果を図6のレーダーチャートに示した。ソトロンの添加による全体的な匂い特性のバランスの変化は見られなかった。しかし、有意差は見られなかったものの、40ppm ソトロン添加において、「生臭い」「腐敗臭」における強度が低くなり、逆に「甘い」「深みのある」匂いにおける強度が高くなる傾向が見られた。

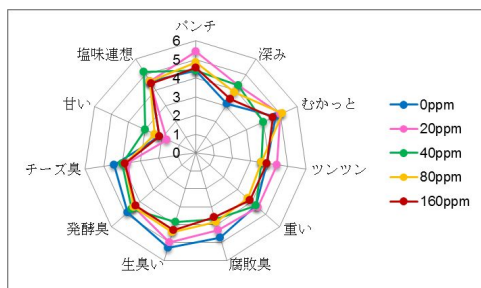


図6 ソトロン添加によるタイ製魚醤の匂い特性の変化

ベトナム製魚醤にソトロンを段階的濃度で添加した結果を図7のレーダーチャートに示

した。ソトロンの添加による全体的な匂い特性のバランスの変化は見られなかった。しかし、有意差は見られなかったものの、160ppm ソトロン添加において、「生臭い」「腐敗臭」「発酵臭」における強度が低くなり、「甘い」匂いにおける強度が高くなる傾向が見られた。

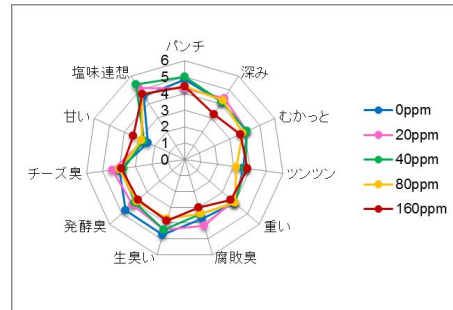


図7 ソトロン添加によるベトナム製魚醤の匂い特性の変化

日本製魚醤にソトロンを段階的濃度で添加した結果を図8のレーダーチャートに示した。20ppm ソトロン添加によって、有意差は見られなかったが「甘い」匂いにおける強度が強くなり、160ppm 添加で「発酵臭」が弱くなる傾向が見られた。同様に 160ppm 添加で有意に「腐敗臭」は弱くなった ( $p < 0.1$ )。一方、80ppm 添加で「重い」匂いにおける強度が、160ppm 添加で「生臭い」匂いにおける強度が有意に低下した ( $p < 0.05$ )。以上より、ソトロンの添加によりオフフレーバーに関連していると考えられる腐敗臭および生臭い匂い特性が軽減される傾向にあり、マスキング効果が示唆された。

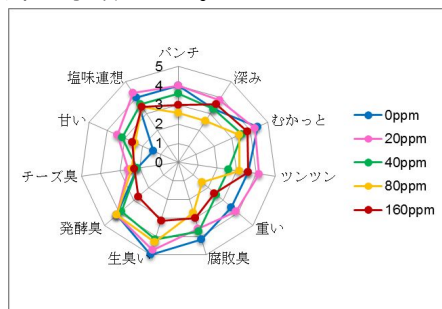


図7 ソトロン添加によるベトナム製魚醤の匂い特性の変化

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔その他〕

ホームページ等

<http://food-kitasato.jp/>

## 6. 研究組織

(1) 研究代表者

大畑 素子 (OHATA MOTOKO)

北里大学・獣医学部・助教

研究者番号: 60453510