ーノートー

におい受容機構を考慮した市販コーヒーの香気特性の解析

渡辺 桃子¹, 長谷川 登志夫^{1*}, 須賀 雅信², 藤原 隆司¹¹ 埼玉大学大学院理工学研究科 〒338-8570 埼玉県さいたま市桜区下大久保 255² 株式会社 AIJ 〒150-0002 東京都渋谷区渋谷 1-8-1 第3 西青山ビル 5F

市販コーヒーの複雑な香気特性を, におい分子間の相互作用を考慮した解析により検討した. Headspace 法を用いて香気成分を抽出したところ, 「香ばしさ」「酸っぱさ」というコーヒー特有の香気の特徴が変化した. この香気変化は, pyrazine 化合物, furan 化合物, 鎖状カルボニル化合物の含有比率の違いによりもたらされていた. 構造が類似した香気成分群がコーヒーの香気形成に大きく影響を与えていることが明らかとなった.

はじめに

コーヒーは, その独特な香気から, 長い間多くの飲料・加工品として親しまれている. 近年では, 缶コーヒーなどのコーヒー加工品の需要増加に伴い, コーヒー香料の重要性が高まっており^{1a)}, コーヒーの香気の鍵となる成分について精力的な研究が行われている. 今日までコーヒーの香気成分については, 約 1000 種類もの香気成分が報告されている²⁾. コーヒー中に多数存在する香気成分の中から, 香気抽出物を段階的に希釈して重要成分を探索する AEDA (Aroma Extract Dilution Analysis) 法³⁾を用いることにより, 28 成分が重要香気成分として見出されている⁴⁾. しかし, 見出された 28 成分を足し合わせてもコーヒーの香気は表されず, 真にコーヒーの香気の鍵となる成分は明らかになっていない.

我々は, 鼻の中に存在する嗅覚受容体に, においの元となる揮発性有機化合物 (以降, におい分子と呼ぶ) がはまることでにおいを感知する⁵⁾. 嗅覚受容体がにおい分子を受容する仕組みは非常に複雑である. 一つのにおい分子は複数の嗅覚受容体に受容され, 一つの嗅覚受容体は構造が類似した複数のにおい分子を認識する. 最近のにおい受容機構の研究によると, 構造の類似したにおい分子が複数存在する場合, におい分子を単独で応答させた場合と, 応答のパターンが異なる⁶⁾ (以降, におい分子間の相互作用と呼ぶ) ことが判明している. これにより, 複数のにおい分子を混合物として嗅いだ時の感覚が, におい分子を単独で嗅いだ時の感覚を足し合わせたものとは異なるという現象が起きる. 我々が日常で嗅ぐにおいは, 数百のにおい分子が混ざり合っただけの複合臭であり, 構成成分の相互作用によってできている.

従来の香気分析に用いられてきた AEDA 法は, 素材の香気を単一の成分に分け, 質や強さを基準として特徴となる成分を探索する³⁾ ため, におい分子間の相互作用が考慮されていない. コーヒーから同定された香気成分

の中には単一成分でコーヒーの香気を有しているものではなく, 複合的にコーヒーの香気が形成されると考えられている²⁾. しかしこのような観点での重要成分の検討は行われていない. 本検討では, におい分子間の相互作用を考慮した解析手法を用い, コーヒーの香気特性を明らかにした⁷⁾.

におい分子間の相互作用を考慮した解析手法

におい分子間の相互作用を考慮した解析では, 相互作用する可能性のある構造類似のにおい成分を単離せず, 抽出物そのものの香気を評価する. 具体的には, 素材と香気が類似している抽出物と類似していない抽出物を得た後, 抽出物間の香気と含有成分の比較から重要成分の検討を行う. この結果より, 素材香気的重要成分を導き出す手法である. 検討には次の二つのパターンが存在する (図-1).

《パターン I》二つの抽出物間で含有成分に差がある場合

含有に差のある成分を, 素材香気の類似性を失わせる重要な香気成分として捉える. 含有に差のある成分が失われることで, 素材の香気の特徴づけるにおい成分間の相互作用に変化が生じ, 素材にとって重要な香気を失わせる.

図-1 におい分子間の相互作用を考慮した解析法

*Corresponding author : E-mail : toshihase@gmail.com

《パターンⅡ》二つの抽出物間で含有成分に差がない場合

抽出物間での含有成分比率の違いが素材香气にとって重要であると捉える。におい分子がにおい受容体に応答する強さは、におい分子により異なる。におい受容体に応答する強さが強い分子と弱い分子が存在する際、弱い分子が多く存在すれば、強い分子を押しわけ、応答の弱い分子が応答する可能性が考えられる。つまり含有成分比率の違いによって、におい分子間の相互作用に変化があると考える。

素材からの香气成分抽出

アラビカ種の市販コーヒー豆（株式会社 AIJ）を素材として用い、市販コーヒーの香气特性を検討した。素材としたコーヒー豆を手挽きのミルを用いて粉碎し、香气成分を抽出した。温度と圧力を変化させることにより、含有する香气成分の組み合わせが異なった三つの抽出物を得た後、香气と含有成分の比較を行った（図-2）。

香气成分の抽出法として、headspace MMSE (Monolithic Material Sorptive Extraction) 法⁸⁾と vacuum headspace 法⁹⁾の2種類の headspace 法を用いた（図-3）。headspace MMSE 法による抽出では、ジーエルサイエンス社製のモノリスシリカ系捕集剤、Mono Trap[®]DCC18を使用した。素材（5g）を入れたバイアル瓶に捕集ディスクをセットし、常圧下で60℃の水浴に浸し香气を捕集した。GC分析に供するため、捕集ディスクをジクロロメタンに浸し、5分間超音波を照射することで headspace MMSE 捕集物を含んだ抽出物（以降、MMSE 抽出物と呼ぶ）を得た。vacuum headspace 法による抽出では、素材（10g）を入れたナスフラスコを2mmHgの減圧下60℃で加熱し、メタノールとドライアイスで冷却した試験管に香气成分を捕集した。減圧および加熱を終了した後、試験管を常温に戻し、無色透明の液体として、vacuum headspace（60℃）抽出物（以降、VH60 抽出物と呼ぶ）を得た。同様の vacuum headspace 法を用い、素材（10g）を入れたナスフラスコを2mmHgの減圧下90℃で加熱し、メタノールとドライ

図-2 素材からの香气抽出に用いた各種 headspace 法

アイスで冷却した試験管に香气成分を捕集した。減圧および加熱を終了した後、試験管を常温に戻し、無色透明の液体として、vacuum headspace（90℃）抽出物（以降、VH90 抽出物と呼ぶ）を得た。これらの一連の実験を二回行い、その再現性を確認した。

抽出物の官能評価

得られた三つの抽出物は、それぞれ多くの香气の特徴を有していた。香气の違いを詳細に観察したところ、VH90 抽出物の香气はコーヒー特有の「香ばしさ」を最も強く感じた。反対にMMSE 抽出物の香气は「酸っぱさ」が最も強く表れ、コーヒー特有の「香ばしさ」は非常に弱いものであった。抽出物の香气の傾向を捉えるため、「香ばしさ」「酸っぱさ」という二つの特徴に絞って、QDA 法により官能評価を行った。その結果、沸点の高い成分を捕集するにつれ、「香ばしさ」が増加し、「酸っぱさ」が減少するという傾向が明確に見られた（図-2）。つまり、多くの香气を有するコーヒー香气の中で、「香ばしさ」「酸っぱさ」という二つの特徴が香气捕集温度に依存して変化することが明らかになった。以上の香气変化をもたらす成分について詳細な知見を得るため、GC分析により構成成分の比較を行った。

市販コーヒーの重要成分

GC分析には、検出器にFIDを搭載したGC-353（ジーエルサイエンス社製）を用いた。カラムはInertCap Pure-WAX（30m×0.250mm I.D., df:0.25μm）を、キャリアガスはheliumを使用した。注入口250℃、オーブンは40℃に設定し（5分間維持）、250℃まで4℃/分で昇温した後、到達温度を30分間維持した。分析の結果、抽出物間で香气の違いがあったにも関わらず、含有成分の有無の違いは認められなかった（各抽出物共通で53成分検出）。しかし抽出物間で構成成分の含有量は明確に異なっていた。におい受容機構を考慮すると、抽出物間の香气の違いを生み出す原因として、図-1のパターンⅡの含有成分比率の違いが影響すると推測された。つまり、含有成分比率の違いが大きく、抽出物の香气変化に伴い変化する成分が、コーヒー香气に重要な成分であると推測された。含有成分比率の違いの大きい成分を見出すため、MMSE 抽出物からVH90 抽出物までの変化率を $[(VH90 \text{ 含有比率}) / (MMSE \text{ 含有比率})] \times 100$ により算出した。この値が100より大きいほど、MMSE 抽

図-3 (左)MMSE 装置図 (右)vacuum headspace 装置図

出物から VH90 抽出物へ、含有成分比率の増加割合が大きく、値が小さいほど含有成分比率の減少割合が大きくなる。これらの変化が大きい順に共通成分 53 成分から 22 成分を抜粋した (表-1)。変化率の大きい成分は 12 成分存在し (ID 1-12)、増加した成分 5 成分、減少した成分 7 成分であった。変化率の小さい成分で、変化の大きい 12 成分と構造が類似した成分が 10 成分存在した (ID 13-22)。見出された成分の構造に着目すると、増加および減少した成分は、それぞれ構造の類似した pyrazine 化合物、furan 化合物、鎖状カルボニル化合物に分類された (図-4)。増加した 2-ethyl-3,5-dimethylpyrazine (1) は従来の AEDA 法では強い香ばしさを有する香気成分として見出されていたが⁴⁾、今回の結果では、構造類似の多くの pyrazine 類の含有比率は減少していた。本論文「はじめに」で述べた複合臭の考えでは、減少することも成分間の相互作用に影響を与え、その結果香気に変化する。つまり、単独で香ばしい香気を発現しているのではなく、構造類似の pyrazine 類との相互作用によりにおいを発現していることを示している。また acetic acid (3) の香気の特徴は酸っぱさであるが、今回の結果では抽出物の酸っぱさが減少する一方で、その含有比率は増加した。単一成分の含有量が香気の変化と対称的に変化している。この結果も、単一成分の変化のみで全体の香気の特徴が決まっているのではなく、図-4 に示した構造類似の鎖状カルボニル化合物の相互作用によりにおいを発現していることを示している。つまりこれら一連の結果は、構造類似の複数の成分が、におい分子間の相互作用により、「香ばしさ」「酸っぱさ」というコーヒー特有の二つの香気の特徴を作り出していることを支持している。

保存による市販コーヒーの香気特性の変化

におい受容機構を考慮することで、市販コーヒーの香

表-1 市販コーヒー抽出物中の含有成分比較

ID	compound	peak area ratio (%) ^a			変化率(%)	classification ^b
		MMSE	VH60	VH90		
増加	1 2-ethyl-3,5-dimethylpyrazine	0.01	0.34	0.60	600	P
	2 furfuryl methyl sulfide	0.01	0.16	0.29	290	F
	3 acetic acid	3.20	4.26	9.15	286	C
	4 2-acetylfuran	0.71	1.54	1.78	250	F
	5 2-furanmethanol	24.73	39.28	41.55	168	F
減少	6 Pyridine	9.78	3.63	3.41	35	P
	7 ethylpyrazine	1.93	0.89	0.70	36	P
	8 2,3-dimethylpyrazine	1.08	0.58	0.40	37	P
	9 2-ethyl-6-methylpyrazine	1.24	0.88	0.56	45	P
	10 2,6-dimethylpyrazine	3.55	2.31	1.82	51	P
	11 acetox-2-propanone	5.78	3.63	3.16	55	C
	12 2-furanmethanol acetate	6.85	5.23	3.93	57	F
	13 2,3,5-trimethylpyrazine	1.24	1.10	0.83	-	P
	14 pyrazine	0.35	0.29	0.33	-	P
	15 2-methylpyrazine	8.06	5.89	6.34	-	P
変化なし	16 3-hydroxy-2-butanone	1.81	0.89	1.06	-	C
	17 1-hydroxy-2-propanone	2.30	1.58	2.70	-	C
	18 2,5-dimethylpyrazine	1.70	1.75	1.21	-	P
	19 2-ethyl-5-methylpyrazine	0.39	0.50	0.40	-	P
	20 furfural	1.62	1.60	1.94	-	F
	21 5-methylfurfural	2.00	2.19	1.72	-	F
	22 3-methylbutanoic acid	2.69	3.73	3.43	-	C
	Total	81.03	82.22	87.28		

a: FID検出による全体のピーク面積を100とした各ピーク面積の比率

b: P=pyrazines, F=furans, C=open-chain carbonyl compounds

気特性が明らかになった。この手法を用いることで、市販コーヒーの保存中における香気の特徴の変化を捉えることができると考えた。市販コーヒーの香気は保存中に変化し、特徴的であった「香ばしさ」が弱くなり、さらに弱い発酵臭が感じられた。焙煎直後のコーヒー特有の香ばしい香気は時間とともに容易に変化することは経験的に知られている^{1b)}。そこで、コーヒーの香気変化に影響を及ぼす成分の検討を行うため、焙煎直後のコーヒー豆と時間が経過したコーヒー豆からそれぞれ香気成分を抽出し、香気と含有成分の比較検討を行った。

時間の経過に伴いコーヒー特有の「香ばしさ」が変化する傾向があったため、前述の検討で最も「香ばしい」香気を有していた vacuum headspace 法を検討に用い、素材の加熱条件を 90℃ にし、香気を捕集した。焙煎直後のコーヒー豆と時間が経過したコーヒー豆から、それぞれ vacuum headspace 法により香気を抽出した。焙煎直後のコーヒー豆として、焙煎直後の未開封の市販品を使用した。時間が経過したコーヒー豆として、焙煎直後のコーヒー豆の焙煎日より半年前に焙煎したコーヒー豆を、開封後半年常温で保存したものをを使用した。2mmHg の減圧下において、それぞれ 90℃ で素材を加熱して香気を抽出した。得られた 2 種類の抽出物の香気を比較したところ、「焙煎直後のコーヒー豆から得られた抽出物」と比較して、「時間が経過したコーヒー豆から得られた抽出物」の香気は、香ばしさが減少し、発酵臭に似た「酸っぱい」香気を有していた。これら二つの抽出物間の含有成分を検討することにより、保存中の香気の品質に影響を与える成分を検討した。GC 分析の結果、抽出物間で含有成分比率が変化し、図-1 のパターン II の含有成分比率の違いが香気に影響していることが推測された。焙煎直後のコーヒー豆の含有成分比率を基準にした変化率を算出すると、市販コーヒーの重要香気成分 22 成分のうち変化率の著しい成分として 10 成分の存在が認められた (表-2, 図-4)。つまりこれら 10 成分がコーヒー豆の香気の品質に影響を与えうる成分として見出された。

まとめ

市販コーヒーの香気特性をにおい分子間の相互作用を

表-2 市販コーヒー保存中における含有成分比率の変化

ID	compound	Peak area ratio (%) ^a		変化率(%)
		焙煎直後	時間経過	
増加	14 pyrazine	0.31	0.70	225
	19 2-ethyl-5-methylpyrazine	0.48	0.89	186
	9 2-ethyl-6-methylpyrazine	0.61	1.08	178
	8 2,3-dimethylpyrazine	0.48	0.77	159
	12 2-furanmethanol acetate	3.34	5.13	154
減少	4 2-acetylfuran	1.71	2.52	148
	6 pyridine	3.16	0.53	17
	3 acetic acid	8.53	2.64	31
	17 1-hydroxy-2-propanone	2.77	1.49	54
	13 2,3,5-trimethylpyrazine	0.99	0.59	60

a: FID検出による全体のピーク面積を100とした各ピーク面積の比率

図-4 市販コーヒーの香気特性に影響する重要成分

考慮した解明手法を用いて検討した。その結果、単一の成分ではなく、構造の類似した成分群がコーヒー香気の特徴の変化に影響することを明らかにした。本研究により見出した重要成分群に着目して、その成分群に対してAEDA法等の手法を用いることで、さらなる重要な成分の探索につながると考えている。

キーワード：コーヒー、香気特性、相互作用、head-space、構造類似

参考文献

- 1) 長谷川香料株式会社：(2013), (a) フレーバーの歴史と文化, “香料の科学”, p 21-26, (b) コーヒーフレーバー, “香料の科学”, p 99-100, 講談社.
- 2) 旦部幸博：(2017), おいしさを生み出すコーヒーの成分, “コーヒーの科学「おいしさ」はどこで生まれるのか”, p 130-164, 講談社.
- 3) Grosch, W.: Evaluation of the flavour of wheat and rye bread crusts by aroma extract dilution analysis, *Z Lebensm Unters Forsch*, **185**, 111-113, (01987).
- 4) 吉儀英記：(2006), コーヒーのフレーバー, “香料入門”, p 116-132, フレグランスジャーナル社.
- 5) 渋谷達明, 外池光雄：(2002), 嗅細胞におけるにおい受容, “アロマサイエンスシリーズ 21 [1] においの受容”, p 104-105, フレグランスジャーナル社.
- 6) Touhara, K.: Olfactory receptor antagonism between odorants, *The EMBO Journal*, **23** (1), 120-126, (2004).
- 7) 渡辺桃子：コーヒーの複合的香気の検討, 第 31 回におい・かおり環境学会講演要旨集, 69, (2018).
本研究の結果の一部は上記学会にて報告した.
- 8) 長谷川登志夫, 藤原隆司, 蔵屋英介：(2019), 固相抽出, “実践 ニオイの解析・分析技術 香気成分のプロファイリングから商品開発への応用まで”, p 83-91, エヌ・ティー・エス.
- 9) 中島基貴：(2004), ヘッドスペース技術と香料開発, “アロマサイエンスシリーズ 21 [8] 香りの技術動向と研究開発”, p 186-222, フレグランスジャーナル社.

Aroma Profile Analysis of Commercially Available Coffee Based on the Odor Recognition Mechanism

Momoko WATANABE¹, Toshio HASEGAWA^{1*}, Masanobu SUGA², Takashi HUJIHARA¹

¹ Graduate School of Science and Engineering, Saitama University
255 Shimoookubo, Sakura-ku, Saitama-shi, Saitama 338-8570, Japan

² AIJ, Inc.

No. 3 Nishi-Aoyama Building 5F, 1-8-1 Shibuya, Shibuya-ku, Tokyo 150-0002, Japan

Abstract We clarified the aroma profile of coffee using our analytical method for complex odors that considers the interaction of the constituents contributing to the aroma. We focused on differences in the boiling points of volatile components contained in coffee and investigated the relationship between these components and the aroma of coffee. Extracts were obtained from coffee beans using two headspace methods: headspace monolithic material sorptive extraction and vacuum headspace extraction. The odors from the extracts that showed clear changes were “roasty” and “sour”. There were large differences in the relative amounts of pyrazines, furans, and open-chain carbonyl compounds in these extracts. The characteristic odor of coffee arose from the combination of these similarly structured components.

Key words : coffee, aroma profile, interaction, headspace, similar structure

(受稿 令和元年 11 月 11 日)

(受理 令和 2 年 2 月 3 日)