麦茶の香氣に関する研究(第3報)

麦茶の揮発性モノカルボニル化合物について

清水康夫, 松任茂樹, 伊東保之, 岡田郁之助

(東海大学女子短期大学)

昭和 43 年 6 月 13 日 受 理

Studies on Flavor of Roast Barley (MUGI-CHA) Part III. Separation and Identification of Volatile Mono-Carbonyl Compounds

By Yasuo SHIMIZU, Shigeki MATSUTO, Yasuyuki ITO, Ikunosuke OKADA

Laboratory of Food Chemistry, Women's College, Tokai University

Volatile carbonyl components of the MUGI-CHA flavor were converted to mono 2,4-dinitrophenylhydrazones (2,4-DNPHs) and bis 2,4-DNPHs. The volatile mono 2,4-DNPHs were subjected to gas chromatography and fourteen peaks were detected. Among those, twelve 2,4-DNPHs were isolated in crystalline form by using column and thin-layer chromatographies. These compounds were identified by their IR, UV-spectra and mixed melting point test. Compounds identified are methanal, ethanal, propanone, 2-methylpropanal, 2-methylbutanal, 2-butanone, 3-pentanone, 2-methyl-3-pentanone, furfural (syn, anti), and 5-methylfurfural (syn, anti).

2-Methyl-3-pentanone had a characteristic menthol-like flavor, but the dilute solution had sweet flavor which is one of characteristic flavors of roast barley.

(Received June 13, 1968)

大麦の焙焼中の各成分の変化については, 第 2 報⁽¹⁾において, 焙焼の進行につれてカルボニル化合物が増加することを報告した. 麦茶の香氣抽出物に, 2,4-dinitrophenylhydrazine 溶液を加え, カルボニル化合物を捕集すると, 特徴ある焙焼香氣の一部が消失し, 香氣が変化することを知った. これらのことは, カルボニル化合物が麦茶など穀類の焙焼香氣について関係の深いことを示すものである. 大麦の焙焼中に揮発する香氣の研究については王ら⁽²⁾の報告がある. 2-methylpropanal, 2-methylbutanal, furfural, 2,3-pentadione, ethylglyoxal および pyruvaldehyde などを分離報告している. カルボニル化合物の検索については, その 2,4-dinitrophenylhydrazone (以下 2,4-DNPH と略す) とし, これを適当な溶媒にとかし直接ガスクロマトグラフに注入し検出する Soukoup ら⁽³⁾の方法について検討を加え, 別報⁽⁴⁾に報告した. この方法を応用して麦茶の香氣成分である揮発性モノカルボニル化合物について検討を加え,

上記化合物のほかに新たに, methanal, ethanal, propanone, 2-butanone, 3-pentanone, 2-methyl-3-pentanone, 5-methylfurfural の存在を確認したので報告する.

実験の部

試料: 試料麦茶は第 1 報⁽⁵⁾に用いたものと同じ大麦を焙焼し, 焙焼直後のものを用いた.

基準標品: 基準 2,4-DNPH は別報⁽⁴⁾に用いたものと同じであり, 2-methyl-3-pentanone は次に示す経路を経て相当する 2-methyl-3-pentanol を合成し, これを Beckmann 酸化してケトンとした.

合成した 2-methyl-3-pentanone は精留をくりかえし, bp 113~115°C の留分を集めた. 常法にしたがい, 2,4-DNPH を作り, 減圧昇華精製した. 融点 112°C の赤橙色針状結晶を得た.

これらの基準標品は文献記載の諸性質と一致し, ガスクロマトグラフならびに薄層クロマトグラフ的に単一であるものを用いた.

揮発性カルボニル化合物の捕集: 焙焼直後の麦茶 10 kg を粉碎してカルボニル化合物を含まない稀メタノール (1:1) 40 l を加え, 常温で攪拌抽出を行ない, 遠心分離して抽出液を得た. 残渣に稀メタノール (1:1) を加え洗浄し, 先の抽出液に合した. Fig. 1 に示すようなトラップを連結し, 40°C 以下で減圧濃縮を行ない, カルボニル化合物を捕集した. D, E, F のトラップに C の抽出液を加え, 揮発性カルボニル化合物を 2,4-DNPH として捕集し, Fig. 2 に示すように, 揮発性モノ 2,4-DNPH-I, および揮発性ビス 2,4-DNPH-II に分画した⁽⁵⁾.

大麦の焙焼時の煙中のカルボニル化合物の捕集: 大麦を密閉容器中で電熱式ドラム焙焼機により焙焼し, その煙を 2,4-DNP 塩酸溶液中に導き, カルボニル化合物

Fig. 1. Distillation Apparatus for Trapping Volatile Carbonyl Compounds.

A: Washing flask containing 2,4-DNP solution

B: Distillation flask, muffled with a heater

C: Collecting trap

D, E, F: Trapping flask containing 2,4-DNP solution

Fig. 2. Fractionation of 2,4-DNPH.

を 2,4-DNPH として捕集した. さらに 2,4-DNPH-I' および II' に分画した.

揮発性カルボニル 2,4-DNPH のガスクロマトグラフィー: 水素炎検出器をそなえた柳本 5DH 型ガスクロマトグラフを用い, 別に報告した方法にしたがい, 2,4-DNPH を直接注入によるガスクロマトグラフィーにより検索した. 試料を適当な可燃性溶剤, 酢酸エチル, ペンゼンなどを用い適当な濃度に溶解し, 2 μ l~10 μ l を直接ガスクロマトグラフに注入した. 各ピークの保持時間, および基準標品を添加注入したときのピークの重りより同定を行なった.

2,4-DNPH の単離および同定: 先に分画した 2,4-DNPH-I は Schwartz⁽⁶⁾ のカラムクロマトグラフィーにより alkanal, alkanone, alkenal に分画し, さらに上に述べたガスクロマトグラムのピークを指標として, 吸着剤として, silica gel G (メルク, 厚さ 0.25 mm) alumina G (メルク, 厚さ 0.25 mm) を用い, 展開剤として benzene-hexane (1:1), benzene-ethylacetate (19:1), hexane-ether (96:4, 4:1), acetonitrile 飽和 hexane, などを組合せた薄層クロマトグラフィーによって, ガスクロマトグラフ的にも薄層クロマトグラフ的にも単一となるまで精製した. これら単離した 2,4-DNPH は柳本微量融点測定装置により融点測定を行ない, 紫外部および可視部吸収スペクトルは日立 124 型自記分光光度計により, クロロホルム溶液, およびアルコール性苛性カリを加えたときの最大吸収波長を測定した. 赤外吸収スペクトルは柳本 ISG-I 型により KBr 法により測定した. 単離した 2,4-DNPH は混融試験, UV, IR およびガスクロマトグラムの保持時間, 薄層クロマトグラムの *R_f* を用いて同定を行なった.

実験結果および考察

麦茶の揮発性モノカルボニル化合物の 2,4-DNPH-I のガスクロマトグラムを Fig. 3 に示した. 溶出順序にしたがって番号をつけ, 14 個のピークを認めた. 保持時間および標品の添加注入したときのピークの重りおよび別報⁽⁴⁾の保持時間と構成炭素数との関係を示す線より化合物の構造を推定した. この結果を Table I に示した. 2,4-DNPH-II はガスクロマトグラフ的には検知されず, bis-2,4-DNPH などであると思われる. これについては別報において述べる. 大麦の焙焼中の煙について同じように分離し, ガスクロマトグラフで検索すると, furfural, 5-methyl furfural などが量的に多く検出され,

定性的には麦茶のそれと差を認めなかった。ピーク 1 は methanal と想定され, 黄色の針状結晶 (mp 166°C) が単離され, methanal と同定された。ピーク 2 は ethanal と想定され, 黄色の針状結晶 (mp 164~166°C) が単離され ethanal と同定された。ピーク 3 は propanal およ

び propanone と想定されたが, 融点 126°C の黄色針状結晶が単離され, propanone と同定された。propanal の 2,4-DNPH は単離されなかった。ピーク 4 は 2-methyl-

Fig. 3. The Typical Gas Chromatogram of 2,4-DNPH of MUGI-CHA.

Fig. 4. The Thin-layer Chromatogram of 2,4-Dinitrophenylhydrazones.

1. Isolated 2-methyl-3-pentanone 2,4-DNPH
 2. Authentic *n*-pentanal 2,4-DNPH
 3. Authentic 2-pentanone 2,4-DNPH
 4. Authentic 5-methyl-2-butanone 2,4-DNPH
 5. Synthetic 2-methyl-3-pentanone 2,4-DNPH
- Solvent system : *n*-hexane-diethyl ether (96 : 4)
Adsorbent : Silica gel G (activated for 2 hr at 110°C)

Table I. The Volatile Mono-Carbonyl Compounds of Roast Barley (MUGI-CHA)

Peak No.	<i>R_i</i> (min)	Inferred compounds	Identified compounds	Method of identification
1	2.7	Methanal	Methanal	mp, UV, IR, & <i>R_f</i> (TLC*)
2	3.5	Ethanal	Ethanal	mp, UV, IR, & <i>R_f</i> (TLC)
3	4.5	Propanone or propanol	Propanone	mp, UV, IR, & <i>R_f</i> (TLC)
4	5.4	2-Methylpropanal	2-Methylpropanal	mp, UV, IR, & <i>R_f</i> (TLC)
5	5.8	Butanal or 2-butanone	2-Butanone	mp, UV, IR, & <i>R_f</i> (TLC)
6	7.0	3-Methylbutanal 2-Methylbutanal or 3-pentanone	2-Methylbutanal and 3-pentanone	mp, UV, IR, & <i>R_f</i> (TLC) mp, UV, IR, & <i>R_f</i> (TLC)
7	7.8	Pentanal, 2-pentanone or 2-methyl-3-pentanone	2-Methyl-3-pentanone	mp, UV, IR, & <i>R_f</i> (TLC)
8	8.7	4-Methyl-2-pentanone	Unidentified	
9	9.3	2-Hexanone	Unidentified	
10	10.0	3-Heptanone or cyclopentanone	Unidentified	
11	11.8	2-Heptanone or furfural	Furfural (syn and anti forms)	mp, UV, IR, & <i>R_f</i> (TLC)
12	14.4	2-Octanone	Unidentified	
13	15.1	5-Methylfurfural	5-Methylfurfural (syn and anti forms)	mp, UV, IR, & <i>R_f</i> (TLC)
14	19.6	6-Methylhexanal	Unidentified	

TLC : thin-layer chromatography

Fig. 5.

E: IR Spectra of Anti-furfural 2,4-DNPH in KBr disc.

(— authentic; isolated)

Isolated crystal red, mp 225°C.

F: IR Spectra of 3-Pentanone 2,4-DNPH in KBr disc.

(— authentic; isolated)

Isolated crystal orange, mp 156°C.

G: IR Spectra of 2-Methylpropanal 2,4-DNPH in KBr disc.

(— authentic; isolated)

Isolated crystal yellow, mp 180°C.

H: IR Spectra of 2-Butanone 2,4-DNPH in KBr disc.

(— authentic; isolated)

Isolated crystal yellowish orange, mp 114°C.

I: IR Spectra of Propanone 2,4-DNPH in KBr disc.

(— authentic; isolated)

Isolated crystal yellow, mp 126°C.

J: IR Spectra of Syn-5-methyl-furfural 2,4-DNPH in KBr disc.

(— authentic; isolated)

Isolated crystal orange, mp 221~223°C.

K: IR Spectra of Syn-furfural 2,4-DNPH in KBr disc.

(— authentic; isolated)

Isolated crystal yellow, mp 212°C.

L: IR Spectra of 2-Methylbutanal 2,4-DNPH in KBr disc.

(— authentic; isolated)

Isolated crystal yellow, mp 125°C.

propanal と想定され, 黄色の 2-methylpropanal (mp 180°C) が単離, 同定された. ピーク 5 は *n*-butanal, 2-butanone の 2,4-DNPH が想定されたが, 黄橙色の融点 114°C の針状結晶が単離され, 2-butanone と同定された. *n*-butanal は単離されなかった. ピーク 6 は小さなピークであるが, 3-methylbutanal, 2-methylbutanal および 3-pentanone が想定されたが, 黄色の融点 125°C の結晶および橙色の融点 156°C の針状結晶が単離された. それぞれ 2-methylbutanal, および 3-pentanone と同定された. 3-methylbutanal は単離確認できなかった. ピーク 7 は比較的量の多い成分で, *n*-pentanal, あるいは Greenwood ら⁽⁷⁾ が澱粉の熱分解生成物のガスクロマトグラフの研究において推定した 2-pentanone, 3-methylbutanone などが想定される. この区分より融点 112.5~113.5°C の橙色針状結晶が得られた. 上記の想定化合物と混融試験, IR の結果は一致せず, また薄層クロマトグラムは Fig. 4 に示すように, これらの *R_f* より高い *R_f* を示す. この系においては炭素数の高いものの方がより高い *R_f* を示すので, この未知 2,4-DNPH は炭素数の 1 つ多い化合物であることが推定される別報⁽⁴⁾の Fig. 2 に示した構成炭素数とガスクロマトグラフの保持時間の関係を示す図において, (3-alkanone の関係線) *R_t* 7.7 のものには, 2-methyl-3-pentanone が想定される. この物質を合成し, 2,4-DNPH に誘導すると, 融点 112°C, 赤橙色の針状結晶が得られた. 上に単離した結晶と混融試験, IR, UV, *R_f* などとも一致し, このものを 2-methyl-3-pentanone と同定した. ピーク 7, 8, 9, 10 は少量で結晶として単離できず, ガスクロマトグラムから推定するとどまった. ピーク 11 は furfural と想定され, 黄色針状の融点 212°C, および赤色の融点 225°C の 2 つの結晶を得た. この 2 つの結晶は furfural の 2,4-DNPH の *syn* 型および *anti* 型と一致した. ピーク 12 は結晶を単離できず, ガスクロマトグラム上から推定を行なった. ピーク 13 は 5-methylfurfural と想定され, 橙色の融点 221~223°C の針状結晶, および暗赤色の融点 199~200°C の結晶を分離した. 5-methylfurfural の 2,4-DNPH の *syn* 型および *anti* 型と同定された. 以上, 単離した 12 個の 2,4-DNPH の IR を Fig. 5 に示した. furfural および 5-methylfurfural は, 糖, セルロースの熱分解によって生成することが認められているが⁽⁸⁾, これらの 2,4-DNPH はそれぞれ *syn* 型および *anti* 型が相互に重り合っ

て, 薄層クロマトグラフィーでは完全に分離しがたいが, このガスクロマトグラフ法によってよく分離するので, これを指標として, あたかも 1 つのスポットと思われる furfural, 5-methylfurfural の 2,4-DNPH 混合物を上の部分, 下の部分に分離し, これを繰り返すことにより完全に 2 つに分離することができる. 澱粉, きな粉, ほうじ茶⁽⁹⁾の 2,4-DNPH のガスクロマトグラムにおいても furfural および 5-methylfurfural の存在が認められる. これらの物質は糖類, 多糖類などの加熱により生成すると考えられる. 生大麦のカルボニル化合物については, methanal, ethanal, propanone, 2-methylpropanal などの低級のカルボニル化合物を認めているにすぎない⁽¹⁰⁾. 大麦を焙焼したときに, 加熱とともにカルボニル化合物は一旦減少し, 150°C をすぎ焙焼のはげしくなるにつれて急に増大する⁽¹¹⁾. すなわち生大麦にもとから存在したカルボニル化合物は揮散し, 新たに熱分解によってカルボニル化合物, フルフラールが生成すると考えられる. 2-methylpropanal, 2-methylbutanal などはアミノ酸のストレッカー分解により生成すると推論⁽²⁾されているが, 焙焼のような激しい条件下では, これらの物質も澱粉など多糖類の熱分解により生成されるのではないと思われる.

これらの単離同定された化合物については, alkanal は刺激的な香りを持ち, furfural, 5-methylfurfural は桂皮アルデヒドのような強い香りをもつ. 2-methyl-3-pentanone は menthol のような香りを持ち, うすいときには甘い香りがする. 3-alkanone 系の物質は焙焼香氣に關係の深い物質のようであり, 先に報告した, 酸性部高沸点香氣成分であるマルトール, イソマルトール, パニンおよびフェノール性物質とともに麦茶の香氣を構成すると思われる.

要 約

麦茶香氣抽出物に, 2,4-dinitrophenylhydrazine 塩酸溶液を加えると特徴ある香氣の一部が消失し, 香氣の変化することを知った. 麦茶香氣のカルボニル化合物を 2,4-DNPH として捕集し, ガスクロマトグラフで検索を行ない, 14 個のピークを認めた. このピークを指標として, カラムおよび薄層クロマトグラフィーによりこれら誘導体の単離を行ない, methanal, ethanal, 2-methylpropanal, propanone, 2-methylbutanal, 2-butanone, 3-pentanone, 2-methyl-3-pentanone の 2,4-DNPH および furfural, 5-methylfurfural の *syn* 型および *anti*

型 2,4-DNPH を合せ 12 個の成分を単離同定した。

2-Methyl-3-pentanone は menthol ようの香りを持ち, うすいときには甘い香りと味をもち, 麦茶の香味を特徴づける物質の 1 つと思われる。furfural および 5-methylfurfural は桂皮アルデヒドのような香りを持ち, その他の alkanal とともに麦茶香気に関与し, さきに報告した酸性部香気であるマルトール, イソマルトール, バニリン, およびフェノール類縁物質などとともに麦茶の香気を構成するものと思われる。

本研究を行なうに当り, 御指導, 御鞭撻を賜った京都大学名誉教授武居三吉先生, 三井哲夫教授, 橋爪 斌先生および京都大学食品工学科, 農芸化学科研究室に深く感謝いたします。

なお本研究の一部は昭和 42 年 10 月, 日本農芸化学会

シンポジウム (静岡) にて講演した。

- (1) 清水康夫, 松任茂樹, 伊東保之, 岡田郁之助: 農化, **42**, 426 (1968).
- (2) P. Wang, H. Kato and M. Fujimaki: *Agr. Biol. Chem.*, **32**, 501 (1968).
- (3) R. J. Soukoup, R. J. Scappellino and E. Danielczik: *Anal. Chem.*, **36**, 2255 (1964).
- (4) 清水康夫, 松任茂樹, 伊東保之, 岡田郁之助: 農化, **43**, 211 (1969).
- (5) E. A. Day: *Food Technol.*, **19**, 1585 (1965).
- (6) D. P. Schwartz, O. W. Parks and M. Keeney: *Anal. Chem.*, **34**, 669 (1962).
- (7) D. J. Bryce and C. T. Greenwood: *Die Stärke*, **15**, 285 (1963).
- (8) K. Kato: *Agr. Biol. Chem.*, **31**, 657 (1967).
- (9) 清水康夫: 日本農芸化学会シンポジウム講演, 1967, 10 月 (静岡).
- (10) 清水康夫, 松任茂樹, 岡田郁之助: 農化, 投稿予定.