〔農化 第 43 卷 第 6 号, p. 417~422, 1969〕

米菓の香気成分に関する研究 (第1報)

米菓の香気成分の検索

倉沢文夫, 本間 勝, 佐藤 尚, 植木圭一, 白井 正, 早川利郎, 森上 健

(新潟大学農学部農芸化学科)

昭和 43 年 10 月 7 日 受 理

Studies on the Flavor Components of Rice Cake
Part I. Research of Flavor Components of Rice CakeBy Humio KURASAWA, Masaru HONMA, Hisashi SATO,
Keiichi UEKI, Masashi SHIRAI, Toshiro HAYAKAWA and Ken MORIGAMI*Department of Agricultural Chemistry, Faculty of Agriculture, Niigata University*

It is possible to extract flavor component from rice cake by hot water. The water extracts of flavor from rice cake contained hydrogen sulfide, ammonia, carbon dioxide and some carbonyl compounds. The components responsible for the flavor were not a single compound but consisted of these compounds, such as hydrogen sulfide, ammonia, carbon dioxide and some carbonyl compounds. An aqueous solution of the mixture containing these compounds developed organoleptically the typical flavor of rice cake. As carbonyl compounds, acetaldehyde, isobutylaldehyde and propionaldehyde were isolated and identified. Two other carbonyl compounds were assumed to be 3-methylbutylaldehyde and *n*-capronaldehyde. Contents of phenylhydrazones of carbonyl compounds were determined by Chromscan: acetaldehyde 38.3%, isobutylaldehyde 24.1%, propionaldehyde 7.2%, a compound (tentatively assigned as 3-methylbutylaldehyde) 14.1%, a compound (tentatively assigned as *n*-capronaldehyde) 5.0%.

(Received October 7, 1968)

緒 言

米菓の香気成分の検索は米菓の品質を向上させるうえからも、米以外の原料から米菓を製造するうえからも重要である。しかしながら米菓の香気成分については明らかでない。米飯の香気については小幡、田中ら⁽¹⁾、安松⁽²⁾の研究がある。小幡、田中は米飯の香気成分として炭酸ガス、アンモニア、硫化水素、アセトアルデハイドが存在することを見出した。安松は米飯の香気のカルボニル化合物について検討して、アセトアルデハイド、プロピオンアルデハイドまたはアセトン、メチルエチルケトン、*n*-パレルアルデハイド、*n*-カプロアルデハイドを推定し、これらのうちアセトアルデハイド、*n*-カプロアルデハイドは赤外吸収スペクトルで同定している。斎藤ら⁽³⁾は米菓を製造するときに各種アミノ酸を添加して米菓の匂いの改善方法を検討している。

私どもは米菓の香気成分が水溶性で、温水によって溶出されやすいことを見出した。よって米菓の香気の水抽出物について薄層クロマトグラフィー、ガスクロマトグラフィーによって検索した結果を報告する。

実 験 方 法

1. 試料 実験試料は亀田製菓株式会社より恵与を受けた。試料は粳米米菓で、製造方法の概要は次のようである。

玄米→搗精→浸漬→製粉(約 60 メッシュ)→蒸練→水槽にて冷却→練り→型ぬき→1 番乾燥→ねかせ→2 番乾燥→焼き→味付→乾燥→仕上げ→包装

私たちの実験用試料には焼きを完了したものを用いた。焼き入れには電気運行窯が用いられていた。すなわち 2 番乾燥した乾燥餅は窯の中に入れられ、電熱によっ

て生地表面温度を4~4.5分で160°Cに加熱し, 160±20°Cで2~2.5分加熱して焼き上げられた。焼き上げられた製品は直ちにビニールの袋に入れ, 5°Cの冷所に保管した。試料は米菓特有の香気があった。

2. 香気成分の検索 米菓を粉碎し, 約10倍量の温水を加え, 攪拌後直ちに濾過した。濾過液は米菓同様の香気があった。香気を抽出する際に水以外に有機溶剤(メチルアルコール, エチルアルコール, アセトン, エーテル)を用いたが, 米菓の香気成分はこれらの溶剤では温水のように溶出されなかった。よって米菓の香気成分の溶出には温水を用いることにした。

(1) 無機成分(炭酸ガス, アンモニア, 硫化水素)の検索: 炭酸ガス 米菓200gを秤取, 粉碎したものを丸底フラスコに入れ, 水2000mlを加えてよく振盪する。湯浴の温度を80~90°Cに保ち, ときどき内容物を振盪しながら膨化させ, 2時間窒素ガスを通じた。流出してくる香気成分を10%水酸化バリウム溶液に導入したのに白色の沈殿が生じた。よって香気成分中に炭酸ガスの存在を認めた。

アンモニア 上記の方法で流出してくる香気成分をネスラー試薬をしみ込ませた濾紙に接触させたのに黄褐色に変色した。よって香気成分中にアンモニアの存在を認めた。

硫化水素 上記の方法で流出してくる香気成分を10%酢酸鉛をしみ込ませた濾紙に接触させたのに黒褐色に変色したので, 香気成分中に硫化水素の存在を認めた。

以上のように, 香気成分の無機成分としては炭酸ガス, アンモニア, 硫化水素の存在を認めた。

(2) カルボニル化合物の検索: 一般に食品の加熱による香気の生成は食品中のアミノ酸と糖との加熱によって生成されるカルボニル化合物による場合が多い⁽⁴⁾。

第1図 米菓の香気成分のカルボニル化合物の捕集装置

A: 洗浄瓶 B: 香気発生瓶 C, D: 香気捕集瓶 E: 洗浄瓶

米菓の場合にも米餅を加熱することによって香気が生成されるので, 香気成分にはカルボニル化合物が含まれるものと考えられる。よって次の図のようにして, 香気成分のカルボニル化合物を2,4-ジニトロフェニルヒドラジン^{(1),(5)}と反応させてヒドラゾンとして検出した。

米菓約200gを秤取し, これを磁製乳鉢にて手早く粉碎した後, 2lの丸底フラスコに入れ, これに2lの水を加えてよく振盪する。これを80°Cの水槽中に入れ, 内容物の温度が80°CになったらN₂ガスを通じて2時間加熱する。生ずる香気成分は2,4-ジニトロフェニルヒドラジン溶液中に導入して, カルボニル化合物の2,4-ジニトロフェニルヒドラゾン(2,4-DNPと略記する)として捕集した。得られた2,4-DNPは良く水洗した。収量7.5mg。

2,4-ジニトロフェニルヒドラジン溶液の調製 2,4-ジニトロフェニルヒドラジン2gを濃硫酸30mlに溶解させ, これに95%エチルアルコール300mlをよく攪拌しながら少量ずつ加え, 冷蔵庫内で保管する。この試薬はできるだけ使用前日に調製するようにした。

i) カルボニル化合物の2,4-DNPのペーパークロマトグラフィー

密閉したシリンダーの底にデカリンで飽和したジメチルホルムアミドを入れ, この中に110°Cで2時間乾燥した濾紙をつるし, 4日間放置する。濾紙に2,4-DNPのメチルアルコール溶液を滴下し, 再びデカリンで飽和したジメチルホルムアミドのシリンダー中で1夜放置後, 上昇法でジメチルホルムアミド飽和のデカリン溶液中で展開した。結果は第2図のようである。

アセトアルデヒド-2,4-DNPと同一

第2図 米菓の香気成分のカルボニル化合物の2,4-DNPのペーパークロマトグラフィー

S: 試料
1, 2: アセトアルデヒド-2,4-DNP
3: 2,4-ジニトロフェニルヒドラジン

の R_f をもつものと、その他 3 個のスポットが得られた。

ii) カルボニル化合物の 2,4-DNP の薄層クロマトグラフィ

吸着剤としてメルク製の Silica gel G を使用した。Silica gel G 35 g に対し水 70 ml を加え、層の厚さを 0.15 mm にしてガラス板上に流し、10~20 分間室温で乾燥後 105~120°C で 30 分~2 時間加熱して用いた。

(2) で得られたカルボニル化合物の 2,4-DNP のエーテル溶液を薄層に滴下した。薄層の装置は東洋科学会社

第 3 図 米菓の香気成分のカルボニル化合物の 2,4-DNP の薄層クロマトグラフィ

S 試料	R_f
1. ホルムアルデヒド-2,4-DNP	1.02
2. アセトアルデヒド-2,4-DNP	1.00
3. プロピルアルデヒド-2,4-DNP	1.31
4. イソブチルアルデヒド-2,4-DNP	1.53
5. <i>n</i> -カプロアルデヒド-2,4-DNP	1.86
6. <i>n</i> -カプリルアルデヒド-2,4-DNP	1.88
7. メチルエチルケトン-2,4-DNP	1.37
8. メチル <i>n</i> -プロピルケトン-2,4-DND	1.47
9. 3-メチルブチルアルデヒド-2,4-DNP	1.67
10. 2,4-ジニトロフェニルヒドラジン	0.16

第 4 図 結晶 No. 1 の赤外吸収スペクトル (KBr 0.5/200)

1. Acetaldehyde 2,4-dinitro phenylhydrazone
2. 結晶 No. 1

の model HC-20 を使用した。薄層は水飽和ベンゼンに展開した。展開された 2,4-DNP は 5 個のスポットに分離され、展開距離の小なるものから順に R_f 値 (標準アセトアルデヒド-2,4-DNP の展開距離を基準とした値) No. 1 1.03, No. 2 1.28, No. 3 1.57, No. 4 1.69, No. 5 1.86 であった。結果は第 3 図のようである。

No. 1, No. 3, No. 4 のスポットの色は濃かったが、他のスポットの色はうすかった。 R_f 値では No. 1 はアセトアルデヒド-2,4-DNP, No. 2 はプロピルアルデヒド-2,4-DNP, No. 3 は イソブチルアルデヒド-2,4-DNP, No. 4 は 3-メチルブチルアルデヒド-2,4-DNP, No. 5 はカプロアルデヒド-2,4-DNP と同じであった。

(3) カルボニル化合物の 2,4-DNP の単離: 米菓から抽出したカルボニル化合物の 2,4-DNP をエーテルに溶解し、これを薄層のガラス板 (20×20 cm) に 10 mm おきに、スポットの大きさ 5 mm に滴下した。そして薄層の吸着剤には Silica gel G を用い、展開剤には水飽和ベンゼンを用いた。No. 1, No. 2, No. 3, No. 4, No. 5 の部分をそれぞれ Silica gel G とともにガラス板から取り出した。得られたカルボニル化合物の 2,4-DNP はエーテルで抽出し、エーテルを低温にて蒸発後、エチルアルコール 10 ml を加えて、2,4-DNP を溶解させ、冷蔵庫内に放置した。

i) 結晶 No. 1 の単離

No. 1 に相当する部分から黄色針状結晶が析出した。結晶をエチルアルコールに溶解して再び薄層クロマトグラフを行ない、No. 1 の部分をエーテルで抽出後エチルアルコールで再結を行なった。幅のある針状結晶が得られた。融点 157°C, アセトアルデヒド-2,4-DNP と混融せるに 157~157.5°C で融点の降下はなかった。結晶の赤外吸収スペクトルは第 4 図のようである。

No. 1 の赤外吸収スペクトルはアセトアルデヒド 2,4-DNP のそれと全く同様であった。元素分析値 $\text{CH}_3 \cdot \text{CH} : \text{N} \cdot \text{NHC}_6\text{H}_3(\text{NO}_2)_2$ として計算値 C 42.86, H 3.57%, 実験値 C 42.92, H 3.69%。よって No. 1 の結晶はアセトアルデヒド-2,4-DNP であることを認めた。

ii) 結晶 No. 3 の単離

No. 3 の部分を含む 10 ml のエチルアルコール溶液は濃縮して、結晶を析出させた。結晶を再び薄層クロマトグラフィ

一にかけて, No. 3 の部分を集めて, 少量のエチルアルコールに溶解して冷所に放置した. 棒状の結晶が析出した. エチルアルコールにて再結晶した. mp 170~173°C. $R_s=1.60$, $R_s=1.60$ のイソブチルアルデヒド-2,4-DNP の mp 179.5°C でこれより低かった. 結晶の赤外吸収スペクトルは第5図のようである. イソブチルアルデヒド-2,4-DNP の赤外吸収スペクトルとだいたい

$$\text{CH}_3 \cdot \text{CH} \cdot \text{CH} = \text{N} \cdot \text{NHC}_6\text{H}_3(\text{NO}_2)_2$$

同じであった. 元素分析値: $\text{CH}_3 \cdot \text{CH} \cdot \text{CH} = \text{N} \cdot \text{NHC}_6\text{H}_3(\text{NO}_2)_2$ として計算値 C 47.62, H 4.76, N 22.22%.

第5図 結晶 No. 3 の赤外吸収スペクトル
1. Isobutylaldehyde 2,4-dinitrophenylhydrazone
2. 結晶 No. 3

第6図 結晶 No. 4 の赤外吸収スペクトル
1. 3-Methylbutylaldehyde 2,4-dinitrophenylhydrazone
2. 結晶 No. 4

第7図 結晶 No. 2 の赤外吸収スペクトル
1. Propylaldehyde 2,4-dinitrophenylhydrazone
2. 結晶 No. 2

実験値 C 48.08, H 4.89, N 22.22%.

以上のようにして, 結晶 No. 3 はイソブチルアルデヒド-2,4-DNP であることを認めた. 後述のガスクロマトグラフィーの実験もこの結果をうらづけている.

iii) 結晶 No. 4 の単離

No. 4 の成分を含む 10 ml のエチルアルコール溶液は減圧にて濃縮して冷所に放置した. 析出した結晶は少量のエチルアルコールに溶解し, 再び薄層クロマトグラフィーを行ない No. 4 の部分を集めて, 少量のエチルアルコールに溶解して冷蔵庫内に放置した. 析出した結晶はエチルアルコールにて再結をした. mp 110~113°C の板状結晶が得られた. $R_s=1.70$, $R_s=1.70$ の 3-メチルブチルアルデヒド-2,4-DNP (mp 122.8°C) および 2-メチルブチルアルデヒド-2,4-DNP (mp 128.4°C) より融点は低かつ

$$\text{CH}_3 \cdot \text{CH} \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CH} = \text{N} \cdot \text{NH} \cdot \text{C}_6\text{H}_3(\text{NO}_2)_2$$

た. 元素分析値: $\text{CH}_3 \cdot \text{CH} \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CH} = \text{N} \cdot \text{NH} \cdot \text{C}_6\text{H}_3(\text{NO}_2)_2$ として理論値 C 49.61, H 5.29, N 21.04%, 実験値 C 49.20, H 5.20, N 20.99%. 結晶 No. 4 の赤外吸収スペクトルの結果は第6図のようである. よって結晶 No. 4 は 3-メチルブチルアルデヒド-2,4-DNP と考えられるが, まだ不純物が混在しているものと思われる.

iv) 結晶 No. 2 の単離

No. 2 の成分を含む 10 ml のエチルアルコール溶液は減圧濃縮後, 冷蔵庫内に放置した. 析出した結晶は再び薄層クロマトグラフィーにかけ, No. 2 に相当する部分を集めてエチルアルコールにて精製した. mp 130~135°C の棒状の結晶が得られた. 元素分析値 $\text{CH}_3 \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CH} = \text{N} \cdot \text{NH} \cdot \text{C}_6\text{H}_3(\text{NO}_2)_2$ として理論値 C 45.37, H 4.20, N 23.54%, 実験値 C 44.09, H 4.13, N 24.26%. 結晶 No. 2 の赤外吸収スペクトルの結果は第7図のようである.

以上のように, 結晶 No. 2 は mp は合成品プロピルアルデヒド 2,4-DNP (mp 154.5°C) より低いが, R_s 値, 赤外

吸収スペクトルの結果と、後述のガスクロマトグラフィーの結果よりプロピルアルデヒド-2,4-DNP であるとした。

v) 結晶 No. 5 の単離

No. 5 を含む成分を再び薄層クロマトグラフィーにかけ、No. 5 に相当する部分を集めて、少量のエチルアルコールに溶解して冷蔵庫内に放置した。無定型に近い結晶が析出した。結晶 No. 5 は少量のため精製することはできなかったが、 R_f の点だけでは *n*-カプロアルデヒド-2,4-DNP であると推定される。

(4) 米菓の香気成分のカルボニル化合物の 2,4-DNP のガスクロマトグラフィー：カルボニル化合物の 2,4-DNP を Stephens および Teszler 法⁽⁶⁾で *o*-フタル酸と 350°C で反応させ、再生したカルボニル化合物をガスクロマトグラフで分析した。米菓から得られたカルボニル化合物の 2,4-DNP 100 mg をとり、少量のクロロホルムに溶解し、これにセライト (80~100 メッシュ) 1 g を添加して、攪拌しながらクロロホルム液を揮散させて完全に除く。これに *o*-フタル酸 1 g を加えて、よく混合し、徐々に加熱して約 350°C で 1 時間加熱する。生ずるカルボニル化合物を -15~-20°C に冷

却したエチルアルコールに捕集する。カルボニル化合物を含むエチルアルコール溶液 0.001 ml を用いてガスクロマトグラフィーを行なった。結果は第 8 図のようである。

米菓のカルボニル化合物としては No. 1, No. 2, No. 3 が得られた。もう 1 つのピークは溶媒のエチルアルコールである。そして試料のピークの相対保持時間はそれらの対象物の相対保持時間と必ずしも一致しなかった。よって米菓のカルボニル化合物のガスクロマトグラフィーと同時に、それぞれアセトアルデヒド、*n*-プロピルアルデヒド、イソブチルアルデヒドを別々に加えてガスクロマトグラフィーを行なったのに、アセトアルデヒドは No. 1 に、*n*-プロピルアルデヒドは No. 2 に、イソブチルアルデヒドは No. 3 のピークにそれぞれ一致した。なお、3-メチルブチルアルデヒド、カプロアルデヒドはアルコールと一致したため検出することはできなかった。

(5) 米菓のカルボニル化合物 2,4-DNP の薄層クロマトグラムのクロモスキャンによる測定

米菓のカルボニル化合物の 2,4-DNP を水飽和ベンゼンを展開剤とする薄層クロマトグラフィーを行ない、各展開物の量比を英国製 Joissy のクロモスキャンで測定した。結果は第 9 図のようである。

第 8 図 米菓からのカルボニル化合物のガスクロマトグラフィー

Column: Polyethylen glycol 4000 (PEG-4000) を Celite 545 (60~80 mesh) に 175°C で 20% コーティングしたもの。

Carrier gas: He 30 ml/min (at 100°C)

Oven temp.: 100°C

Injection temp.: 100°C

Attenuation: $\times 16$

Chart speed: 40 mm/min

Bridge current: 90 mA

試料の相対保持時間	対象物の相対保持時間
Peak No. 1 1.00	アセトアルデヒド 1.00
" No. 2 1.74	<i>n</i> -プロピルアルデヒド 1.69
" No. 3 2.03	イソブチルアルデヒド 1.93
" No. 4	3-メチルブチルアルデヒド 2.92
" No. 5	<i>n</i> -カプロアルデヒド 3.00

第 9 図 米菓カルボニル化合物の 2,4-DNP の薄層クロマトグラムのクロモスキャン

フィルター: 720 m μ スリット: 0.5 mm

干渉フィルター: 100 倍率: 1 $\times$ 2

反射法

No. 1 (アセトアルデヒド-2,4-DNP) 38.3%, No. 2 (プロピルアルデヒド-2,4-DNP) 7.2%, No. 3 (イソブチルアルデヒド-2,4-DNP) 24.1%, No. 4 (3-メチルブチルアルデヒド-2,4-DNP 推定) 14.1%, No. 5 (カプロアルデヒド-2,4-DNP R_f 値より推定) 5.0% 含まれる。

以上のように、米菓の香気成分として、無機物としては硫化水素、アンモニア、炭酸ガスが含まれ、カルボニル化合物としてはアセトアルデヒド、プロピルアルデヒド、イソブチルアルデヒドの存在を認め、3-メチルアルデヒド、カプロアルデヒドの存在を推定した。

これら成分の量的関係は測定できなかったが, カルボニル化合物 (アセトアルデハイド, プロピルアルデハイド, イソブチルアルデハイド, 3-メチルブチルアルデハイド, カプロアルデハイド) と, 無機成分 (硫化水素, アンモニア, 炭酸ガス) を含む溶液は米菓同様の香気があることを認めた.

実験に用いた米菓は亀田製菓株式会社からいただいた. 研究費の一部は桜井芳人教授を代表とする昭和 40 年, 41 年度文部省試験研究費の援助によった. 本実験について御討論していただいた東京大学教授藤巻正生博士, 助教授加藤博道博士に感謝の意を表する. 本研究の一部

は昭和 41 年度, 42 年度日本農芸化学会大会において講演した.

- (1) Y. Obata and H. Tanaka : *Agr. Biol. Chem.*, **29**, 191 (1965).
- (2) K. Yasumatsu, S. Moritaka and S. Wada, **30**, 478 (1966).
- (3) 斎藤昭三 : 文部省試験研究, 昭和 41 年経過報告.
- (4) 藤巻正生 : 日本食品工業学会第 14 回大会シンポジウム講演集, p. 41 (1967).
- (5) 日本化学会編 : 実験化学講座 (続), 有機化合物の定性確認法, 中巻, p. 595.
- (6) R. L. Stephens and A. P. Teszler : *Anal. Chem.*, **32**, 1047 (1960).