報 文

煮物調理時の揮散香気分析法の開発

金子 秀*, 熊沢賢二

小川香料株式会社 解析研究所

Development of Analysis Methodology for Aroma-Active Vapor Components during Simmering

Shu Kaneko* and Kenji Kumazawa

Ogawa & Company, Ltd., 15-7 Chidori, Urayasu, Chiba 279-0032

To develop analysis methodology for aroma-active vapor components during simmering, a model apparatus simulating a simmering pot was constructed and applied to soy sauce preparation in this study. Vapor aroma components during simmering were collected using excess adsorption resin connected to the model apparatus by flowing dry air. We verified the applicability of the developed system in highly-reproducible experiments for collecting vapor aroma based on cumulative air flow volumes per minute and quantitative values of major vapor components. Additionally, using an Aroma Extract Dilution Analysis (AEDA) technique, 28 key aroma compounds were identified or tentatively identified from the vapor aroma concentrate of the soy sauce preparation during heating for 11 min. Because quantitative analysis of the aroma concentrate revealed that most of the aroma-active compounds detected by AEDA were not major components of the vapor aroma, a combination of GC-MS and GC-Olfactometry analyses are essential for clarifying the aroma-active components in the vapor phase during simmering.

(Received Nov. 12, 2015; Accepted Feb. 19, 2016)

Keywords : collection methodology, cooking aroma, simmer, soy sauce preparation, aroma extract dilution analysis

キーワード : 揮散香気, 煮物, 醤油調味液, 分析法, AEDA

多くの料理は、鍋やフライパンで食材を煮る、焼く、揚げる、蒸すなどの加熱の調理工程を経て完成する。とりわけ、食材を醤油、日本酒、みりん、砂糖などの調味料を混ぜ合わせた液体に浸漬し、煮沸させて調理する煮物は、日本料理の一般的な調理法の一つであり、その調理中に漂う刻々と変化する香りは、食欲をそそる好ましい香りである。

気相中の香気成分を捕集し、ガスクロマトグラフィーで分析する方法は、ダイナミックヘッドスペース法¹⁾やSolid Phase Micro Extraction (SPME) 法²⁾などが知られている。しかしながら、これらの手法を煮物調理中の揮散香気に適用するには、幾つか大きな課題がある。まず、調理中の揮散香気には大量の水蒸気が含まれるが、極めて揮発性の高い香気成分も多数含まれていることが推定されるため、分析前に窒素パージなどの脱水工程を経る必要がある手法では、これらの重要香気成分の検出が困難である。また、一般に料理は開放系で調理されるため、調理時の揮散香気を直接捕集する手法では、実験再現性の確保が難しい。さらに、刻々と変化する揮散成分を捉える分析手法として、Proton Transfer Reaction Mass Spectrometry (PTR-MS)

法³⁾やDirect Analysis in Real Time Mass Spectrometry (DART-MS) 法⁴⁾などのリアルタイム分析法が知られているが、これらの手法はクロマトグラフィー分離を行えないため、主要成分の追跡は容易だが、微量成分も含むことが予想される調理中の揮散香気寄与成分の探索には必ずしも有効ではないと考えられる。

そこで、本研究では、煮るあるいは茹でる調理工程を想定し、ダイナミックヘッドスペース法をベースとして、上記の課題を克服する香気捕集装置を構築し、さらに、得られた揮散香気濃縮物にGas Chromatography-Olfactometry (GC-O) およびAroma Extract Dilution Analysis (AEDA)⁵⁾を適用することにより、揮散香気寄与成分の解明を行う手法を開発した。

実 験 方 法

1. 実験材料

濃口醤油はキッコーマン株式会社製特選丸大豆醤油(750 mL, PET ボトル)を用い、みりんは宝酒造株式会社製タカラ純米本みりん(600 mL, PET ボトル)を用いた。以下

図 1 醤油調味液加熱時の揮散香气捕集装置

の化合物以外のすべての化合物は東京化成株式会社より購入した。5-ヒドロキシメチル-2-フランカルボアルデヒド、アセトアルデヒド、および2-メトキシ-4-ビニルフェノールはシグマアルドリッチジャパン合同会社より購入した。2-アセチル-1-ピロリン、3,5-ジメチル-2-ビニルピラジン、および2,6-ジメトキシ-4-ビニルフェノールは文献^{(6)~(8)}に従って合成した。

2. 調理香捕集装置

調理香捕集装置は200-mL三つ口フラスコに空気を通気するためのガラス管を接続し、他方にリービッヒ冷却管を接続した(図1)。三つ口フラスコは変圧器(東京理工舎株式会社)で出力調整したマントルヒーター(大科電器株式会社)にて加熱した。揮散香气はリービッヒ冷却管の先に接続したガラス管に吸着樹脂100mg(porapak type Q, 80~100メッシュ, 日本ウォーターズ株式会社)を充填し捕集した。加熱中の揮散香气を捕集するために、毎分100mLの空気を通気した。

3. 醤油調味液の揮散香气濃縮物の調製

調理香捕集装置の有効性を検証するモデル実験の材料として、醤油調味液を使用した。濃口醤油5mL、みりん7.5mL、砂糖3gおよび蒸留水7.5mLを200-mL三つ口フラスコに入れ、80Vの交流電圧で加熱した。加熱中毎分100mLの空気を通気し、揮散香气を吸着樹脂に捕集した。香气濃縮物は、ジクロロメタン1.0mLにて吸着樹脂より脱着し、過剰量の無水硫酸ナトリウムで乾燥することにより得た。成分の相対定量は、内部標準物質として2-オクタノール(10μg)を香气濃縮物に添加することにより行った。

香气濃縮物の寄与成分の特定は、匂い嗅ぎガスクロマトグラフィー(GC-O)によるAEDA、およびGC-MSを用いて行った。

4. 調理香捕集時の空気の積算通気量の測定

調理香捕集装置の吸着樹脂を充填したガラス管の先に湿式ガスメーター(株式会社シナガワ)を接続し、空気の積算通気量を測定した。

5. 匂い嗅ぎガスクロマトグラフィー(GC-O)

熱電導検出器(TCD)を搭載したアジレント株式会社製ガスクロマトグラフィー6850シリーズを使用した。カラムはDB-WAXおよびDB-1カラム(いずれも膜厚0.25μm, 内径0.25mm, カラム長30m, アジレントテクノロジー株式会社)を使用した。注入量は1μL, スプリットレス分析で行った。キャリアガスはヘリウム(1mL/min)を用いた。注入口温度は250℃, パージ時間は60秒で行った。カラムオープンの昇温プログラムは、40℃から開始し、210℃まで毎分5℃昇温した。検出器は230℃に設定した。ガラス製の匂い嗅ぎポートをTCD検出器の出口に繋ぎ、リボンヒーターで210℃以上に設定した。また、香气成分を速やかに除去するために、TCDの出口に毎分100mLの湿潤空気を通気した。GC-O分析は3人の被験者により行い、匂いの質の決定は各被験者のGC-Oによる匂い評価により行った。

6. Aroma Extract Dilution Analysis (AEDA)

ジクロロメタンにより香气濃縮物を段階的に4倍から4096倍まで希釈し、DB-WAXカラムを装着したGC-O装置により測定した。AEDAは各サンプルにつき3名の被

表 1 成分定量に使用した抽出イオンの質量数および抽出イオンの MS スペクトル中の強度割合

化合物	抽出イオン m/z	抽出イオンの MS スペクトル中の強度割合
2-methyl-2-butene	55	0.379
2-methylpropanal	72	0.133
ethyl acetate	61	0.063
2-methylbutanal	57	0.207
3-methylbutanal	71	0.035
2-methylpropanol	74	0.039
1-butanol	56	0.277
3-methylbutanol	55	0.153
acetic acid	60	0.284
phenylacetaldehyde	91	0.508
2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4(4H)-pyranone	144	0.126
1,2,3-propanetriol	61	0.460
5-hydroxymethyl-2-furancarboxyaldehyde	97	0.263
acetaldehyde	44	0.438
2,3-butanedione	43	0.662
ethyl 2-methylbutanoate	102	0.242
2,3-pentanedione	100	0.162
ethyl 3-methylbutanoate	88	0.225
2-acetyl-1-pyrroline	111	0.075
acetic acid	60	0.284
3-(methylthio)propanal	48	0.277
2-ethyl-3,5-dimethylpyrazine	135	0.335
2-methylbutanoic acid	74	0.389
3-methylbutanoic acid	60	0.475
2-methoxyphenol	109	0.319
4-ethylacetophenone	133	0.330
4-ethyl-2-methoxyphenol	137	0.422
4-hydroxy-2,5-dimethyl-3(2H)-furanone	128	0.230
5(or 2)-ethyl-4-hydroxy-2(or 5)-methyl-3(2H)-furanone	142	0.171
4-ethylphenol	107	0.468
2-methoxy-4-vinylphenol	150	0.289
2,6-dimethoxyphenol	154	0.298
2,6-dimethoxy-4-vinylphenol	180	0.274
2-octanol	55	0.095

験者が 3 回ずつ繰り返し実験を行い、各香気ピークの検出は、全被験者のそれぞれ 2 回以上検出と定義した。各 Flavor Dilution (FD) ファクターは、検出した最大希釈度の値とした。

7. GC-MS

アジレント株式会社製ガスクロマトグラフィー 7890A、および 5975 inert XL マス検出器を使用した。カラムは DB-WAX カラム（膜厚 0.25 μm 、内径 0.25 mm、カラム長 60 m、アジレントテクノロジー株式会社）を使用した。注入量は 1 μL 、スプリット注入（スプリット比 30:1）又はスプリットレス注入で分析を行った。スプリットレス分析のパージ時間は 60 秒で行った。キャリアガスはヘリウム（1 mL/min）を用いた。注入口は 250°C に設定し、スプリット分析のカラムオープンの昇温プログラムは、80°C から開始し、230°C まで毎分 5°C 昇温した。スプリットレス分析のカ

ラムオープンの昇温プログラムは、35°C から開始し、35°C で 1 分間保持した後、230°C まで毎分 5°C 昇温した。質量分析計のイオン化電圧は 70 eV、イオン源の温度は 150°C で行った。

8. 揮散香気濃縮物の主要成分および香気寄与成分の同定

主要揮散成分は、香気濃縮物の GC-MS 測定データの該当ピークと標準物質の GC-MS 測定データの Kovats GC リテンションインデックス (RI) およびマススペクトルの一致により同定した。揮散香気寄与成分は、揮散香気濃縮物および標準物質の GC-MS 測定データの該当ピークの RI およびマススペクトルの一致、および GC-O 分析における該当ピークの香気特徴および RI の一致により同定した。

9. 香気成分の定量

各香気成分の定量は、GC-MS におけるトータルイオンクロマトグラムのピーク面積値を用いた内部標準法（2-オ

クタノール (10 µg), レスポンスファクターを 1 と仮定) にて算出した。各成分のピーク面積値は, 特徴的なイオン質量数で抽出したクロマトグラムのピーク面積値を各成分のマススペクトルにおける抽出イオンの強度割合で除することにより算出した。各成分の抽出イオン質量数とマススペクトルにおける抽出イオンの強度割合を表 1 に示した。

実験結果および考察

1. 揮散香気捕集装置を用いた香気捕集実験の再現性

煮物料理のプロセスを模した揮散香気捕集装置を用いた香気捕集法の実験再現性を確かめるために, モデル醤油調味液を用いて有効性を評価した (図 1)。水蒸気とともに揮散する香気成分の多くは, 鍋蓋や落し蓋により大部分は鍋に戻り還流されるが, 一部が漏れて揮散する。この状態を

表 2 揮散香気捕集装置の積算通気量

加熱時間 (分)	積算通気量 ^{ab} (L/min)		相対標準偏差 (%)
	平均	標準偏差	
0-1	0.08	0.00	0
1-2	0.14	0.01	7
2-3	0.18	0.01	3
3-4	0.18	0.01	3
4-5	0.17	0.01	7
5-6	0.11	0.01	5
6-7	0.10	0.01	6
7-8	0.11	0.01	5
8-9	0.11	0.01	5
9-10	0.11	0.01	9
10-11	0.10	0.01	6

^a 吸着樹脂出口の積算通気量を測定した。 ^b 3 回の繰り返し実験のデータを記載した。

再現するため, 香気捕集装置に冷却管を装着し, 冷却管の先に接続したガラス管に吸着樹脂を充填し, 揮散する香気成分を捕集した。

まず, 実験中に吸着樹脂を充填したガラス管出口からの通気量を 1 分ごとに測定したところ, 初期に毎分 100 mL に設定した流量は, 加熱と共に徐々に上昇し, 加熱後沸騰するまでの 2~4 分に最大毎分 180 mL に達した後, 再び毎分 100 mL 程度に下がった (表 2)。3 回の繰り返し実験の結果, 各時間帯の流量は, 通気量が増加した沸騰前後の加熱 2~5 分を含め, いずれの時間帯も相対標準偏差で 10% 未満であった。

次に, 本装置で捕集した揮散香気成分の定量再現性を検証した。醤油調味液を 11 分間加熱した間に捕集した揮散香気は, 主に 2-メチルプロパナール, 3-メチルブタナール, 5-ヒドロキシメチル-2-フランカルボアルデヒドなど表 3 に示す 13 成分であった。繰り返し実験の結果, いずれの化合物の定量も相対標準偏差で 20% 未満であった (表 3)。

以上の実験から, 本装置を用いた揮散香気捕集法は, 刻々と変化する調理中の香気成分の捕集に有用な手段になりうると考えられる。

2. 醤油調味液から揮散する香気の寄与成分の解明

次に, 醤油調味液から揮散する香気の寄与成分を明らかにするために, 醤油調味液を 11 分間加熱した間に捕集した揮散香気濃縮物の GC-O を実施し, 28 の香気ピークを検出した (表 4)。これらのうち, 表 3 で示した主要揮散成分は 6 成分のみであったことから, 醤油調味液から揮散する香気寄与成分の多くは, 低濃度で存在する低閾値の成分であり, GC-MS に加えて, GC-O による香気寄与成分の探索が, 加熱時の揮散香気寄与成分の解明に極めて有効であることがわかった。

表 3 醤油調味液を 11 分間加熱した際の主要揮散成分

化合物	揮散量 ^{ab} (µg)		相対標準偏差 (%)
	平均	標準偏差	
2-methyl-2-butene	6.6	1.0	15
2-methylpropanal	29	2	8
ethyl acetate	8.9	0.4	4
2-methylbutanal	8.7	1.1	13
3-methylbutanal	28	1	5
2-methylpropanol	4.3	0.7	15
1-butanol	3.3	0.6	18
3-methylbutanol	4.0	0.2	6
acetic acid	4.7	0.2	5
phenylacetaldehyde	3.4	0.3	7
2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4(4H)-pyranone	3.1	0.6	18
1,2,3-propanetriol	5.8	1.0	17
5-hydroxymethyl-2-furancarboxyaldehyde	13	3	19

^a 2-octanol (10 µg) を内部標準物質として使用し, レスポンスファクターを 1 と仮定して算出した。 ^b 3 回の繰り返し実験のデータを記載した。

表4 醤油調味液を11分間加熱した際の揮散香気寄与成分

No.	RI ^a		香気特徴	化合物	FD factor ^b	定性・定量 ^c	揮散量 ^{de} (μg)	
	DB-WAX	DB-1					平均	標準偏差
1	703		stimulus	acetaldehyde	4	A	3.4	0.1
2	818		malty	2-methylpropanal	4	A	29	2
3	947		fruity	ethyl acetate	16	A	8.8	0.3
4				2-methylbutanal	1024	A	8.7	1.2
5	954		malty	3-methylbutanal		A	28	1
6	968	746	fruity	ethyl 2-methylpropanoate ^f	1		nd ^g	—
7	977		milky	2,3-butanedione	256	A	0.58	0.06
8	1041		fruity	ethyl 2-methylbutanoate	1	B	0.016	0.003
9	1049		milky	2,3-pentanedione	4	A	0.21	0.02
10	1062		fruity	ethyl 3-methylbutanoate	1	B	0.033	0.004
11	1296	960	mushroom-like	1-octen-3-one ^f	4		nd ^g	—
12	1339		popcorn-like	2-acetyl-1-pyrroline	16	B	0.0038	0.0002
13	1409		sour	acetic acid	1	A	4.7	0.3
14	1449		cooked potato-like	3-(methylthio)propanal	1024	A	0.33	0.03
15	1458		nutty, earthy	2-ethyl-3,5-dimethylpyrazine	16	B	0.0074	0.0013
16	1560	1295	nutty	2-vinyl-3,5-dimethylpyrazine ^f	1		nd ^g	—
17	1639		honey-like	phenylacetaldehyde	4	A	3.4	0.3
18				2-methylbutanoic acid	1	A	0.030	0.001
19	1663		sour	3-methylbutanoic acid		A	0.043	0.004
20	1853		spicy, anis-like	2-methoxyphenol	4	B	0.013	0.001
21	1862		almond-like	4-ethylacetophenone	4	A	0.059	0.011
22	2024		burnt, spicy	4-ethyl-2-methoxyphenol	16	A	0.029	0.001
23	2030		caramel-like	4-hydroxy-2,5-dimethyl-3(2H)-furanone	4	A	0.055	0.008
24	2061		caramel-like	5(or 2)-ethyl-4-hydroxy-2(or 5)-methyl-3(2H)-furanone	1	A	0.21	0.04
25	2175		animal-like	4-ethylphenol	16	B	0.0078	0.0007
26	2191		spicy	2-methoxy-4-vinylphenol	64	A	0.22	0.03
27	2260		spicy	2,6-dimethoxyphenol	1	B	0.0064	0.0012
28	2566		spicy, burnt	2,6-dimethoxy-4-vinylphenol	1	B	0.014	0.003

^a 各カラムにおけるリテンションインデックス (RI) 値. ^b Flavor Dilution ファクター. ^c A: スプリット分析 (スプリット比 30:1), B: スプリットレス分析. ^d 2-octanol (10 μg) を内部標準物質として使用し, レスポンスファクターを1と仮定して算出した. ^e 3回の繰り返し実験のデータを記載した. ^f DB-WAX および DB-1 カラムにて行った香気濃縮物および標準物質の GC-O 分析における該当ピークの RI および香気特徴の一致により推定した. ^g GC-MS 分析では非検出.

最も多く検出された成分は, アルデヒド類 (1, 2, 4, 5, 14, 17) であり, いずれもストレッカーアルデヒドであった. とりわけ, アセトアルデヒド (1) は, 大気圧下での沸点が非常に低く (約 20℃), 一般的な溶媒の濃縮を行うような香気濃縮物調製方法では, 検出することが困難であるが, 本手法では吸着樹脂からの香気成分の脱着を少量の有機溶媒で行い, 濃縮工程を経なかったため, 検出することが可能であった.

また, フェノール類の多く (20, 25, 26, 27, 28) やケトン類 (7, 9, 11, 21), ピラジン類 (15, 16), 2-アセチル-1-ピロリン (12) も加熱によって生成する化合物であり⁸⁾, 揮散香気寄与成分の多くは加熱反応生成物であることが判明した. 他方, エステル類 (3, 6, 8, 10), 酸類 (13, 18, 19), 5 (or 2)-エチル-4-ヒドロキシ-2 (or 5)-メチル-3 (2H)-フラノン (24) は醤油の香気寄与成分であり⁸⁾⁹⁾, また, 加熱によって生成する可能性は低いため, 醤油調味液に元々含有していた成

分が揮散して検出された成分であると考えられた.

さらに, AEDA により, 2-メチルブタナール (4), 3-メチルブタナール (5), および 3-(メチルチオ)プロパナール (14) が最も高い FD ファクターで検出され, 2,3-ブタンジオン (7) および 2-メトキシ-4-ビニルフェノール (26) が次に高い FD ファクターで検出された. これらの主要な揮散香気寄与成分はいずれも加熱反応生成物であると考えられ⁸⁾⁹⁾, 加熱によって増加した化合物であることが推定された.

以上のことから, 本分析法は, モデル調理中の揮散香気に含まれる非常に揮発性の高い成分や閾値の低い成分の検出が可能であり, 揮散香気寄与成分の解明に非常に有効であった.

3. 加熱時間と揮散香気寄与成分の関係

次に, 図1に示す香気捕集装置の吸着樹脂を充填したガラス管の代わりにガラスウールのみ充填したガラス管とガラス製の円錐形の漏斗を接続し, 人の鼻によって刻々と変

表 5 醤油調味液の揮散香気寄与成分の加熱時間と揮散量の関係

No.	化合物 ^a	揮散量 ^{bc} (μg)				各加熱時間帯における 単位時間あたりの変化量 (μg/min)			
		5 分	11 分	17 分	29 分	0~5 分	5~11 分	11~17 分	17~29 分
4	2-methylbutanal	0.093	8.7	18	16	0.19	1.3	1.6	-0.17
5	3-methylbutanal	5.6	28	56	59	1.1	3.8	4.7	0.19
7	2,3-butanedione	0.064	0.58	1.0	1.3	0.013	0.086	0.071	0.028
14	3-(methylthio)propanal	0.029	0.33	1.1	2.7	0.0058	0.051	0.13	0.14
26	2-methoxy-4-vinylphenol	0.017	0.21	0.45	1.4	0.0035	0.033	0.040	0.075

^a 加熱 11 分の醤油調味液揮散香気濃縮物の AEDA において FD ファクター ≥ 64 を示した成分を抜粋した. ^b 2-octanol (10 μg) を内部標準物質として使用し, レスポンスファクターを 1 と仮定して算出した. ^c 3 回の繰り返し実験の平均値を記載した.

化する揮散香気の変化を確認した. その結果, 沸騰前から加熱香を想起させる malty, milky な香りが検知され, 沸騰後はさらに醤油, みりん等の素材を強く加熱した際に感じられる potato 様や roasty な香りも検知され, より複雑で強い香りに変化した. さらに加熱後しばらくしてから, spicy/burnt, sweet/caramel 様の香りが検知されるようになり, 一方で malty な香りが消失し, より重厚で加熱感の強い香りの変化を確認した. そこで, この変化を明らかにするために, 表 4 で示した香気寄与成分のうち, FD ファクターの高かった 5 成分に着目し, 加熱時間と揮散量の関係を明らかにした (表 5). その結果, いずれの成分も加熱により継続的に増加したが, 特に malty な香調の 2-メチルブタナール (4) および 3-メチルブタナール (5) の増加量が多かった. さらに, 2-メチルブタナール (4), 3-メチルブタナール (5), および milky な香調の 2,3-ブタンジオン (7) は, 沸騰後の加熱 5~11 分および 11~17 分の揮散量が非常に多く, 加熱 17 分以降はほとんど揮散していなかったのに対し, potato 様の香調の 3-(メチルチオ)プロパナール (14) および spicy な香調の 2-メトキシ-4-ビニルフェノール (26) は加熱 5 分から 29 分まで継続して揮散していたことが判明した. 特に, 3-(メチルチオ)プロパナール (14) は加熱 11 分以降に揮散量が多かった. このように, 加熱時間によって, 揮散香気寄与成分量のバランスは変化しており, 人の鼻により確認した香調の変化を支持する結果となった.

以上, AEDA, GC-MS 分析, および官能評価の結果を考え合わせると, 加熱中の揮散香気の香気特徴は刻々と変化しており, その要因は主に香気に高く寄与している加熱反応生成物の生成速度と生成量がそれぞれ異なることに起因すると考えられた.

要 約

本研究では, 煮物料理のプロセスを模した揮散香気捕集装置を構築した. 鍋部はガラス容器を使用し, 鍋蓋の代わりに冷却管を接続した. また, 加熱中の揮散香気の捕集は,

一定量の空気を系内に通気し, 出口側に吸着容量の大きい吸着樹脂を大過剰量用いることで, 捕集量を安定させた. また, 濃縮工程のない香気抽出物調製法を採用することでアセトアルデヒドのような揮発性の極めて高い香気寄与成分の検出も可能であった. 香気寄与成分の特定には, GC-MS 分析に加えて GC-O 分析も実施することにより, 主要な香気寄与成分に加えて, 多くの微量で低閾値の香気寄与成分も同定することが可能であった. さらに, 異なる加熱時間での揮散成分量を比較することにより, 継続的な香気寄与成分の変化を追跡することが可能であった.

文 献

- 1) 小林彰夫, 食品香気研究法, 日本食品科学工学会誌, **44**, 169-176 (1997).
- 2) 下田満哉, 食品分析—香気成分—, ぶんせき, 472-478 (2013).
- 3) Hansel, A., Jordan, A., Holzinger, R., Prazeller, P., Vogel, W. and Lindinger, W., Proton transfer reaction mass spectrometry : on-line trace gas analysis at ppb level. *Int. J. of Mass Spectrom. and Ion Proc.*, **149/150**, 609-619 (1995).
- 4) Cody, R.B., Laramée, J.A. and Durst, H.D., Versatile new ion source for the analysis of materials in open air under ambient conditions. *Anal. Chem.*, **77**, 2297-2302 (2005).
- 5) Schieberle, P., New developments in methods for analysis of volatile flavor compounds and their precursors. In *Characterization of Food: Emerging Methods*, Goankar, A., Ed.; Elsevier: Amsterdam, The Netherlands : pp. 403-431 (1995).
- 6) Buttery, R.G., Ling, L.C., Juliano, B.O. and Turnbaugh, J.G., Cooked rice aroma and 2-acetyl-1-pyrroline. *J. Agric. Food Chem.*, **31**, 823-826 (1983).
- 7) Czerny, M., Wagner, R. and Grosch, W., Detection of odor-active ethenylalkylpyrazines in roasted coffee. *J. Agric. Food Chem.*, **44**, 3268-3272 (1996).
- 8) Kaneko, S., Kumazawa, K. and Nishimura, O., Studies on the key aroma compounds in raw (unheated) and heated Japanese soy sauce. *J. Agric. Food Chem.*, **61**, 3396-3402 (2013).
- 9) Steinhaus, P. and Schieberle, P., Characterization of the key aroma compounds in soy sauce using approaches of molecular sensory science. *J. Agric Food Chem.*, **55**, 6262-6269 (2007).

(平成 27 年 11 月 12 日受付, 平成 28 年 2 月 19 日受理)