減圧連続蒸留抽出法で捕集したマイワシの魚臭成分

吉和哲朗, 守本京三, 坂本宏司
石川行弘, 鴫田雅子, 森田牧朗

(1996年4月23日受付)

Volatile Compounds of Fishy Odor in Sardine by Simultaneous
Distillation and Extraction under Reduced PressureTetsuro Yoshiwa,^{*1} Kyoze Morimoto,^{*1} Koji Sakamoto,^{*1}
Yukihiro Ishikawa,^{*2} Masako Tokita,^{*3} and Makio Morita^{*3}

Volatile compounds collected by simultaneous distillation and extraction under reduced pressure from fresh and stored (10°C, 24 h) sardine *Sardinops melanosticta* mince were analyzed by GC/MS. According to the lowering of freshness in sardine, a total of 39 carbonyls (carbon numbers 5-15, C₅₋₁₅) and alcohols (C₂₋₈) increased, especially 2,4-heptadienal, 3,5-octadiene-2-one, 2,4-decadienal, and 2,4,7-decatrienal. The presence of fishy odor compounds (*E, E, Z*)-2,4,7-decatrienal and (*E, E, Z*)-2,4,7-tridecatrienal in the volatiles was established by synthesis of authentic compounds. This finding suggested that C₇₋₁₃ carbonyls formed via autooxidation of PUFA, such as 2,4-heptadienal, 3,5-octadiene-2-one, 2,4-decadienal, 2,4,7-decatrienal, and 2,4,7-tridecatrienal are the main contributors to the characteristic fishy off-flavor of sardine.

マイワシの臭気成分については、これまでに鮮度低下臭,^{1,2)} 加熱臭,³⁻⁵⁾ 加工品の臭気,⁶⁻¹⁰⁾ 酸化油臭¹¹⁾ など多くの報告がみられる。著者らもまた、前報¹²⁾ において、パージ・トラップ法 (P & T 法) を用いて捕集したマイワシの鮮魚および鮮度低下初期の揮発性成分を詳細に検討し、炭素数 2~6 (C₂₋₆) のアルコール類 (13 種)、C₃₋₇ のカルボニル化合物類 (21 種)、C₅₋₁₃ の炭化水素類 (20 種) などの 59 成分を同定もしくは推定し、それらの成分組成を明らかにした。P & T 法は、操作が簡単で再現性もある程度高いことから、現在各方面で利用されている。しかしながら、P & T 法で得られたカルボニル化合物は C₇ 以下の低沸点成分で、中・高沸点成分はほとんど回収されていない。一般に、後者に属する成分は臭いのベースになっていることが多く、魚臭についても C₈₋₁₀ のカルボニル化合物などとの関連が報告されている。¹³⁻¹⁶⁾ マイワシの鮮度低下に伴う臭気成分を詳細に検討するためには、これらの成分の消長は極めて重要と考えられる。

一方、中・高沸点成分の捕集に最も優れていると考え

られる方法の 1 つに連続蒸留抽出法¹⁷⁾ (SDE 法) がある。しかし、SDE 法などの蒸留法は加熱操作を伴うことから、加熱による成分変化の影響の少ない試料に適用される場合がほとんどである。マイワシの鮮度低下時の C₈₋₁₀ のカルボニル化合物を含む中・高沸点成分の消長については、適切な臭気捕集法が少ないことなどもあっていまだに未解明である。そこで、今回著者らは、マイワシの臭気成分の捕集に減圧下での SDE 法¹⁸⁾ (減圧 SDE 法) を用いて、試料の加熱による変化を可及的に低減しながら、P & T 法ではほとんど捕集できない中・高沸点の揮発性成分の捕集を試みた。また、捕集された臭気濃縮液中に魚臭との関連が指摘されている 2,4-ジエナール類の存在が推定されたので、デカトリエナール、トリデカトリエナールおよびトリデカテトラエナールを合成し、魚臭との関連性を検討した。

実験方法

材料および試料の調製 材料のマイワシ *Sardinops melanosticta* は、山口県沖の瀬戸内海で漁獲され、氷詰

^{*1} 広島県立食品工業技術センター (Hiroshima Prefectural Food Technology Research Center, 12-70, Hijiya-machi, Minami, Hiroshima 732, Japan).

^{*2} 鳥取大学教育学部 (College of Education, Tottori University, 4-101, Koyama-minami, Tottori 680, Japan).

^{*3} 日本女子大学家政学部 (Department of Food and Nutrition, Japan Women's University, 2-8-1 Mejiro-dai, Bunkyo, Tokyo 112, Japan).

にされた鮮度良好なものを購入した。これを直ちに10℃の低温室でフィレー（皮付）にし、氷水で洗浄後水切りして-30℃の凍結室で急速凍結後、実験に供するまで数日間-80℃で凍結保管した。実験に用いる場合は、ポリエチレン袋に入れたまま流水中で半解凍し、氷冷しながらホモジナイザーで均一なミンチにした。直ちに分析に供したものを新鮮魚とし、ミンチをビーカーに入れて10℃に24時間貯蔵したものを鮮度低下魚として分析に供した。用いた試料の水分は、67.9%、脂質含量は11.9%であった。新鮮魚はほとんど魚臭は感じられず無臭に近かったが、鮮度低下魚では明らかにイワシ特有のくせのある魚臭の発生が認められた。

減圧連続蒸留抽出 減圧SDEは、下田ら¹⁸⁾の方法に準じて行った。すなわち、蒸留用ナス型フラスコ（1 l容）に、マイワシミンチ30 g、蒸留水500 mlおよび内部標準として、シクロヘキサノール水溶液（2 mg/ml）30 μ lを加え、減圧SDE装置に装着した。真空ポンプにより装置内の空気を除去し、沸騰開始と同時に真空ラインを閉じた。蒸留用フラスコを65℃恒温水槽で加温し、冷却管内に-10℃の冷媒を循環させることにより、減圧下での蒸留と抽出を自動的かつ連続的に進行させた。抽出溶媒としてはジエチルエーテル（100 ml）を用い、蒸留は60分間行った。蒸留後、抽出液を無水硫酸ナトリウムで脱水し、40℃以下で窒素気流を用いて濃縮し、臭気濃縮液約50 μ lを得た。新鮮魚の臭気濃縮液は、かすかな魚臭、酸敗臭および僅かな加熱臭が感じられた。一方、鮮度低下魚の臭気濃縮液では、明らかにイワシ特有の魚臭が感じられた。蒸留用フラスコを65℃に加温しているため、蒸留操作中に若干の加熱臭の生成と脂質の酸化が起こった可能性も考えられるが、本法で得られた臭気濃縮液には新鮮魚と鮮度低下魚との間に明らかな官能的違いが認められた。従って、後者の臭気濃縮液には鮮度低下により生成した成分を含んでいると考えられる。

GC/MS 分析 減圧SDE濃縮液および合成2,4-ジエナール類は、次の条件でGC/MS分析を行った。装置：MAGNUM（イオントラップ型、Finnigan MAT）、カラム：化学結合型シリカキャピラリーカラム（DB-WAX, 60 m $\times$ 0.25 mm i.d. $\times$ 0.25 μ m; J & W Scientific）、カラム温度：40℃-240℃（4℃/min）、注入口温度：250℃、キャリアガス：ヘリウム、線速度：40.7 cm/sec、スプリット比：1：30、イオン化モード：EI、走査：full scanモード（26~360 aum/s）、マルチプライヤー電圧：1250 V、イオントラップ・マニホールド温度：225℃。

分離成分の同定および定量 成分の同定は、ライブラリーサーチシステム（MAGNUM ライブラリーサーチ

システム：NIST MASS SPECTRA DATA BASE）による検索と Kovats Index (KI) から物質を推定し、標準物質（和光純薬工業、東京化成工業、Aldrich Chemical Co.）について測定したマススペクトルと KI 値との一致によった。成分の定量値は、内部標準物質であるシクロヘキサノール濃度を基準にして、内部標準に対する各ピークの相対面積比から算出した。

2,4-ジエナール類の合成 アマニ油150 gをジクロロメタン1 lに溶かし、オゾン発生機（日本オゾン0-1-2型、オゾン発生量1.2 g/h）を通した酸素（800 ml/min）を-30~-40℃で6時間通じた後、トリフェニルホスフィン0.15 molを加え、室温に戻した。これを減圧水蒸気蒸留装置に移し、最初は常圧で加温してジクロロメタンを留出させた。次に減圧下で水蒸気蒸留（蒸留温度40~45℃）を行った。一段目の冷却器は氷水を循環し、二段目はドライアイス寒剤によるトラップとした。一段目の凝結水に油が浮かなくなるまで蒸留を続けた。最初のジクロロメタン、一段目および二段目の凝結物を合わせ、よく振とうしてからジクロロメタン層を分取した。脱水後、効率の良い精留塔を通して常圧でジクロロメタンを留去し、ペンタンを加え同様に留去する操作を2~3回繰り返し、ジクロロメタンを完全に除き、部分オゾン分解アルデヒド混合物を得た。

水素化リチウムアルミニウムを加えて蒸留したジエチルエーテル300 mlに、2.7 g マグネシウム（グリニアル反応用）を窒素気流下に加え、60 mlのエチルブロマイド-ジエチルエーテル溶液（1：5 v/v）を還流させながら滴下して反応させた。これに、1-メトキシ-1-ブテン-3-イン（東京化成、約50%メタノール溶液）をペンタン100 mlに希釈し、2~3回水洗後、シリカゲル100 mlを充填したカラムを通して、滴下させ、さらに、シリカゲルカラムを200 mlのペンタンで洗い、反応液中に滴下した。そのまま一夜還流を続け、次に、上記の部分オゾン分解アルデヒド混合物を少量のペンタンで希釈し徐々に滴下した。続いて、10%塩化アンモニウム水溶液を徐々に滴下して生成物を分解し、ジエチルエーテル-ペンタン層を取り、塩化アンモニウム溶液と水で洗浄した。主生成物はTLC（シリカゲルGF（MERCK）、ヘキサノール-ジエチルエーテル2：1）で、 $R_f=0.26$ に紫外ランプ下スポットとして認められた。溶媒を減圧留去してから、シリカゲルカラム（800 ml）にヘキサノールで希釈吸着させ、ヘキサノール-ジエチルエーテル（8：2~6：4）で溶出し、上記主スポットのみの区分を集めた（収量約15 g）。

上記生成物1.3 gを少量の乾燥ジエチルエーテルに溶かして、0.46 eq/lの水素化リチウムアルミニウム乾燥ジエチルエーテル溶液（48 ml）に加え、3時間還流し

た。¹⁹⁾ 少量の水で分解後, メタノールで生成物を抽出し, さらにメタノールを減圧濃縮して残渣をジエチルエーテルで抽出し, 濃縮して還元生成物を得た。

還元生成物の一部をメタノール-2M 塩酸 (9:1) に溶解し, 直ちに, 炭酸水素ナトリウムを投入して, 中和した。これをヘキサンで抽出, 水洗して 2,4-ジエナール類混合物を得た。

合成 2,4-ジエナール類の分離 デカトリエナール, トリデカトリエナールおよびトリデカテトラエナールは, 2,4-ジエナール類混合物から HPLC を用いて分離した。HPLC 条件は, ポンプ: L-6000 (日立), 検出器: 紫外検出器 UV-7000 (東京理化学器械), カラム: Zorbax-ODS (4.6 mm×150 mm), 溶媒: メタノール-水 (8:1), 流速 1.2 ml/min, 検出波長: 275 nm である。なお, 分取の際は 7.6 mm×250 mm のカラムおよび 2 mm 光路長の検出セルを用いた。試料は展開溶媒に溶解して注入し, 分取した 2,4-ジエナール類の画分は水で希釈後ヘキサンで抽出し, N₂ 吹き付けで濃縮した。

NMR 測定 デカトリエナール, トリデカトリエナールおよびトリデカテトラエナールは, 次の条件で ¹H-

NMR スペクトルを測定した。装置: Bruker AMX 400 WB Spectrometer (400 MHz), 溶媒: CDCl₃, 内部標準: TMS。

結果および考察

減圧 SDE で捕集した魚臭成分 減圧 SDE 法によって得られたマイワシミンチ (10°C, 24 時間) の揮発性成分の典型的なトータルイオンクロマトグラムを Fig. 1 に示した。各成分の同定結果と定量値を Table 1 に示した。新鮮魚からは 70 成分が検出され, C₃₋₁₁ のアルコール類 15 成分, C₃₋₁₅ のカルボニル化合物類 30 成分, C₅₋₂₅ の炭化水素類 17 成分およびその他 5 成分の計 67 成分を同定もしくは推定した。鮮度低下魚からは 82 成分が検出され, アルコール類 15 成分, カルボニル化合物類 34 成分, 炭化水素類 19 成分およびその他 5 成分の計 73 成分を同定もしくは推定した。

新鮮魚, 鮮度低下魚ともにヘプタデカン, 2,6,10,14-テトラメチルペンタデカンおよび 9-オクタデセンが著しく多く検出され, 3 成分でそれぞれ全体の 72.5%, 64.8% を占めていた。笠原・西堀²⁰⁾ も, 焼き塩干しマイワシの揮発性成分を分析し, ヘプタデカン, 2,6,10,14-

Fig. 1. Total ion chromatogram of volatile compounds in stored sardin mince (10°C, 24 h).

The identity of each numbered peak is listed in Table 1. I.S. shows an internal standard (cyclohexanol). GC/MS conditions are shown as follows: EI, DB-WAX (60 m×0.25 mm i.d.×0.25 μm), 40°C-240°C (4°C/min), carrier gas He, linear velocity 40.7 cm/sec.

Table 1. Volatile compounds identified in fresh and stored sardine mince

Peak No.	Compounds	KI*1	Estimated conc. (ng/g) *2	
			Fresh	10°C, 24 h
1	Ethyl formate	815	39.8	34.3
2	Butanal	866	—*4	8.2
3	Ethyl acetate	883	104.2	86.5
4	3-Methyl-1,4-heptadiene*3	915	—	10.4
5	Ethanol	937	39.7	64.3
6	2-Ethylfuran	948	—	6.4
7	3-Pentanone	974	—	2.2
8	Pentanal	975	—	4.1
9	2-Butenal	1039	26.6	32.3
10	2,3-Pentanedione	1055	46.5	76.2
11	Hexanal	1080	82.3	146.8
12	(E)-2-Pentenal	1124	12.3	26.4
13	1-Penten-3-ol	1160	88.5	154.2
14	Heptanal	1186	—	18.4
15	Limonene	1201	—	10.2
16	(E)-2-Hexenal	1220	22.3	62.3
17	(Z)-4-Heptenal	1243	8.6	20.4
18	1-Pentanol+1-Hexen-3-ol	1250	6.3	16.5
19	(E)-3-Undecen-5-yne*3	1261	6.2	14.7
20	3-Ethenylcyclooctene*3	1276	—	8.5
21	Octanal	1290	5.8	9.7
22	(E)-2-Penten-1-ol*3	1309	5.6	9.9
23	(Z)-2-Penten-1-ol	1319	30.2	74.4
24	1-Hexanol	1352	10.1	16.5
25	Nonanal	1394	—	10.3
26	(E, Z)-2,4-Hexadienal*3	1401	—	9.5
27	(E)-2-Octenal	1433	8.1	24.2
28	1-Octen-3-ol	1451	70.6	104.3
29	Acetic acid	1452	7.5	20.1
30	(E, Z)-2,4-Heptadienal*3	1467	28.2	98.3
31	1,5-Octadien-3-ol*3	1487	24.3	70.8
32	2-Ethyl-1-hexanol	1491	10.2	16.4
33	(E, E)-2,4-Heptadienal	1502	116.4	332.3
34	(E, Z)-3,5-Octadien-2-one*3	1525	10.1	40.1
35	Benzaldehyde	1532	2.3	8.2
36	(E)-2-Nonenal	1541	4.2	14.6
37	(Z)-2-Nonenal*3	1546	6.3	12.5
38	(E, Z)-2,4-Octadienal*3	1566	7.7	20.4
39	(E, E)-3,5-Octadien-2-one*3	1576	10.4	42.5
40	(E, Z)-2,6-Nonadienal	1592	11.8	56.7
41	(E, E)-2,4-Octadienal*3	1595	12.3	54.4
42	Hexadecane	1600	46.5	44.3
43	Unknown	1609	—	18.4

Table 1. (Continued)

Peak No.	Compounds	KI* ¹	Estimated conc. (ng/g)	
			Fresh	10°C, 24 h
44	β -Caryophyllene	1618	—	18.5
45	Cyclooctanol* ³	1622	12.3	32.6
46	Unknown	1630	10.0	24.2
47	Unknown	1667	60.5	60.7
48	2,6,10,14-Tetramethylpentadecane	1672	326.4	390.6
49	2,5-Octadien-1-ol* ³	1689	58.7	150.3
50	Heptadecane	1700	5280.4	6900.6
51	(<i>E, E</i>)-2,4-Nonadienal	1707	17.3	50.1
52	Ethylbenzaldehyde* ³	1718	22.3	28.7
53	7-Hexadecene* ³	1722	146.2	458.4
54	3-Hexadecene* ³	1729	130.5	126.3
55	10-Undecenal* ³	1731	24.6	40.7
56	1-Heptadecene	1749	68.2	60.3
57	(<i>E, Z</i>)-2,4-Decadienal* ³	1771	18.6	36.2
58	Octadecane	1800	76.3	84.4
59	(<i>E, E</i>)-2,4-Decadienal	1818	36.5	98.6
60	Tridecanal	1821	12.2	26.1
61	(<i>E, Z, Z</i>)-2,4,7-Decatrienal* ³	1828	24.3	86.5
62	10-Undecyn-1-ol* ³	1842	66.2	78.6
63	Unknown	1878	12.1	26.3
64	(<i>E, E, Z</i>)-2,4,7-Decatrienal	1883	22.5	86.1
65	Nonadecane	1900	64.4	74.6
66	Butenylcyclohexene* ³	1903	80.3	110.5
67	9-Octadecene* ³	1918	298.2	310.3
68	Unknown	1963	9.7	20.1
69	Nonatrienal* ³	1970	8.4	30.2
70	2-Methyl-7-octadecyne* ³	1984	34.3	30.4
71	2-Carene-10-al* ³	2004	6.5	9.9
72	Dodecatriene* ³	2048	62.6	74.3
73	Pentadecanal* ³	2142	6.8	22.4
74	(<i>E, E, Z</i>)-2,4,7-Tridecatrienal	2194	9.1	32.2
75	Dimethylethyl-methylphenol* ³	2262	16.1	16.4
76	Tricosane	2300	18.3	16.5
77	Unknown	2307	14.5	18.3
78	Unknown	2310	6.3	14.8
79	1,2,3-Propanetriol	2330	130.4	122.7
80	Unknown	2367	10.1	10.0
81	Tetracosane	2400	12.2	10.4
82	Pentacosane	2500	20.4	20.6

*¹ Kovats index of samples' peak.*² quantified using calibration curve of internal standard (cyclohexanol).*³ Tentative identification by NIST MS data base, or literature reference MS spectra and KI.*⁴ Not detected.

テトラメチルペンタデカンが非常に多いことを報告している。しかし、これらの成分は、新鮮魚と鮮度低下魚の間で量的な差がほとんどないことから、鮮度低下に伴って生成する魚臭との関連はないものと考えられる。

新鮮魚に比べて鮮度低下魚において量的に多く検出された主な成分は次のとおりである。アルデヒド類はヘキサナール、(E)-2-ペンテナール、ヘプタナール、(E)-2-ヘキセナール、(Z)-4-ヘプテナール、オクタナール、ノナナール、(E, Z)-2,4-ヘキサジエナール、(E)-2-オクタナール、(E, Z)-2,4-ヘプタジエナール、(E, E)-2,4-ヘプタジエナール、(E)-2-ノネナール、(Z)-2-ノネナール、(E, Z)-2,4-オクタジエナール、(E, Z)-2,6-ノナジエナール、(E, E)-2,4-オクタジエナール、(E, E)-2,4-ノナジエナール、10-ウンデセナール、(E, Z)-2,4-デカジエナール、(E, E)-2,4-デカジエナール、トリデカナール、(E, Z, Z)-2,4,7-デカトリエナール、(E, E, Z)-2,4,7-デカトリエナール、ノナトリエナール、ペンタデカナールおよび2,4,7-トリデカトリエナールの26成分である。ケトン類は2,3-ペンタンジオン、(E, Z)-3,5-オクタジエン-2-オンおよび(E, E)-3,5-オクタジエン-2-オンの3成分である。アルコール類はエタノール、1-ペンテン-3-オール、1-ペンタノール、1-ヘキセン-3-オール、(Z)-2-ペンテン-1-オール、1-ヘキサノール、1-オクテン-3-オール、1,5-オクタジエン-3-オール、シクロオクタノールおよび2,5-オクタジエン-1-オールの10成分である。炭化水素類は7-ヘキサデセンである。これらの成分は、マイワシの鮮度低下に伴って生成すると考えられる。

このうち、1-ペンテン-3-オール(草様の・グリーン臭、匂いしきい値: 400 $\mu\text{g}/\text{kg}$)は、P & T法において鮮度低下に伴って特異的に多く検出される成分であり、¹²⁾ 新鮮な海産物の臭気成分としてリボキシゲナーゼおよびヒドロペルオキシドリナーゼにより高度不飽和脂肪酸(PUFA)から生成されると考えられている。²¹⁾ リボキシゲナーゼはマイワシにも存在することが報告されている。^{22,23)} 1-ペンタノール(ワイン様の・エーテル様の)、1-ヘキサノール(グリーン臭・油臭い)、1-オクテン-3-オール(マッシュルーム臭)、(Z)-1,5-オクタジエン-3-オール(土臭い・マッシュルーム臭)および(E, Z)-2,5-オクタジエン-1-オール(土臭い・マッシュルーム臭)もリボキシゲナーゼが関与してPUFAから生成する新鮮な海産物の臭気成分であり、匂いしきい値は10~500 $\mu\text{g}/\text{kg}$ であることが知られている。²⁴⁾ これらの C_{5-8} のアルコール類は、匂いしきい値が高いので、生成量の少ない鮮度低下初期においては魚臭との関連性は少ないと考えられる。ヘキサナール(グリーン臭・アルデヒド臭)、(E)-2-ペンテナール(グリーン臭・

リンゴ様の)、(E)-2-ヘキセナール(グリーン臭・カメムシ様の)、(E)-2-ノネナール(キュウリ様の・ボール紙様の)、(E, Z)-2,6-ノナジエナール(キュウリ皮様の)の C_{5-9} のアルデヒド類もまたリボキシゲナーゼが関与してPUFAから生成される新鮮な海産物の臭気成分であり、匂いしきい値は0.01~4.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ であることが知られている。²⁴⁾ また、(E, Z)-2,6-ノナジエナールはアユ特有の香気に重要な役割をするとの報告もあるが、²⁵⁾ タラの冷蔵臭の原因成分とされている(Z)-4-ヘプテナール^{26,27)}の前駆物質と考えられている。²⁴⁾ これらのアルデヒド類は、匂いの質および匂いしきい値の低さから、複合的にマイワシ特有の臭気の生成にトップノートおよびミドルノートとして関与していると考えられる。なお、(Z)-1,5-オクタジエン-3-オールから生成すると考えられる(Z)-1,5-オクタジエン-3-オン(ゼラニウムの葉様の、0.001 $\mu\text{g}/\text{kg}$)²⁴⁾および低温貯蔵したイワシ油で検出されている1,5-オクタジエン-3-ヒドロペルオキシド²⁸⁾(グリーンゼラニウム様の・金属臭、0.03-0.12 ng/l)²⁹⁾は検出されなかったが、匂いしきい値が極めて低いので微量に存在して鮮度低下時の臭気に関与している可能性も考えられる。

一方、 C_8 のケトン類である(E, Z)-3,5-オクタジエン-2-オンおよび(E, E)-3,5-オクタジエン-2-オン、並びに、 C^{7-10} のアルデヒド類である(E, Z)-2,4-ヘプタジエナール、(E, E)-2,4-ヘプタジエナール、(E, Z)-2,4-デカジエナール、(E, E)-2,4-デカジエナール、(E, Z, Z)-2,4,7-デカトリエナールおよび(E, E, Z)-2,4,7-デカトリエナールは、新鮮な海産物に存在し、PUFAの自動酸化によって増加することが報告されている。²⁴⁾ (E, Z)-2,4-ヘプタジエナールおよび(E, E)-2,4-ヘプタジエナールは、潮沼などで大量発生して魚臭を感じさせる黄金藻の産生する魚臭物質と推定されている。¹⁴⁾ また、(E, Z, Z)-2,4,7-デカトリエナールは魚様の不快臭の主成分であると報告されている。¹³⁾ 最近、(E, E, Z)-2,4,7-異性体も魚油の魚臭さに関係あると報告された。¹⁶⁾ また、アラキドン酸の酸化生成物中に2,4,7-トリデカトリエナールが報告されており、³⁰⁾ その匂いの性格を示唆するものとして(E, E, Z)-2,4,7-トリデカトリエナールがチキンフレーバーの構成成分として報告されている。³¹⁾ さらに、 C_9-10 のジエナール類はニシン油の酸敗臭に大きく関与しているとの報告もある。¹⁵⁾ なお、二重結合を4個以上持つ $n-3$ 系PUFA(EPA, DHAなど)からは、2,4,7,10-トリデカテトラエナールも生じることが予想されるが、今回の鮮度低下初期のマイワシ臭気濃縮液中には検出されなかった。

以上述べたように、鮮度低下魚で量的に多く検出された成分の中では、2,4-ジエナール類と魚臭との関連の深

さが推測された。しかしながら, 今回臭気濃縮液中に検出された2,4,7-デカトリエナールなどの重要なジエナール類は, いずれもマススペクトルのみによる推定の域を出ない。マイワシの鮮度低下初期にジエナール類が生成され, これらの成分が魚臭に関与していることをより明確にするためには, それらを合成し, マススペクトルとKI値の比較を行う必要がある。そこで, 引き続いて, 臭気濃縮液中に存在が推定された2,4-ジエナール類の合成を行い, 成分の同定と臭気の確認を行った。

ジエナール類の合成 自動酸化の $\text{V} \rightarrow \text{V}^{\text{O}}$ および $\text{V} \rightarrow \text{V}^{\text{O}}$ という開裂

のパターンによってリノール酸から2,4-デカジエナールが, また, リノレン酸から2,4-ヘプタジエナールが生じることはよく知られている。この開裂パターンによってリノレン酸からは2,4,7-デカトリエナールもまた生じる。そこで, 次の合成法によって (*E, E, Z*)-2,4,7-デカトリエナールおよび (*E, E, Z*)-2,4,7-トリデカトリエナールを得て標品とした。アマニ油 (リノレン酸, リノール酸およびオレイン酸を含む) を部分オゾン分解して生じるアルデヒド類は, I V^{O} , II V^{O} , III V^{O} , IV V^{O} , V V^{O}

および VI V^{O} の混合物である。これらをRCHOと書くと, Fig. 2に示した反応でRに対応した (*E, E*)-2,4-ジエナール類を合成できる。合成したジエナール混合物のHPLC分離をFig. 3に示した。各ピーク成分はGC/MSにより図中に示したように推定された。HPLCで分取したデカトリエナール, トリデカトリエナール, トリデカテトラエナールと推定される区分をNMRにかけた結果をTable 2に示した。デカトリエナールは δ 値, 結合定数共に既報¹³⁾の (*E, E, Z*)-2,4,7-デカトリエナールと一致した。トリデカトリエナールおよびトリデカテトラエナールと既報の (*E, E, Z*)-2,4,7-デカトリエナールのデータを比較すると共役ジエナール構造の所がよく一致しており, (*E, E*)-2,4-ジエナールであることが確認された。なお, 本合成条件では, トリデカトリエナールの7位, トリデカテトラエナールの7, 10位は原料リノール酸のZ型構造が保持されていると考えられる。これらのマススペクトルをFig. 4に示した。イオントラップ型質量分析計の特徴と

Fig. 3. HPLC separation of dieneals.

HPLC conditions are shown as follows: Zorbax-ODS (4.6 mm $\times$ 150 mm), methanol-water (8:2), velocity 1.2 ml/min, monitor 275 nm.

Table 2. ^1H -NMR data of (*E, E*)-2,4-dienals

	Protons (carbon No.)	δ (Multiplicity, J Hz)
Decatrienal		
	1	9.54 (d, 8.0)
	2	6.09 (dd, 15.2, 8.0)
	3	7.09 (dd, 15.6, 10.2)
	4	6.34 (dd, 15.2, 10.8)
	5	6.26 (dt, 15.2, 6.0)
Tridecatrienal		
	1	9.54 (d, 8.0)
	2	6.09 (dd, 15.3, 8.0)
	3	7.08 (dd, 15.3, 10.4)
	4	6.33 (dd, 15.3, 10.3)
	5	6.27 (dt, 15.3, 6.1)
Tridecatetraenal		
	1	9.50 (d, 7.9)
	2	6.12 (dd, 15.3, 7.9)
	3	7.09 (dd, 15.3, 10.4)
	4	6.35 (dd, 15.1, 10.4)
	5	6.26 (dt, 15.1, 5.9)

Fig. 2. Synthetic scheme of (*E, E*)-2,4-dienals.

して, 分子イオンピークなどのほかに $M/Z+1$ のイオンピーク ((*E, E, Z*)-2,4,7-デカトリエナールでは133および151, (*E, E, Z*)-2,4,7-トリデカトリエナールで

Fig. 4. Mass spectra of compounds identified as (E, E, Z)-2,4,7-decatrienal, (E, E, Z)-2,4,7-tridecatrienal, and (E, E, Z, Z)-2,4,7,10-tridecatetraenal.

These mass spectra were measured by using an ion trap mass spectrometer (MAGNUM, Finnigan MAT).

は175および193, (E, E, Z, Z)-2,4,7,10-トリデカテトラエナールでは191)が見られる。減圧SDE濃縮物中の2,4,7-デカトリエナールおよび2,4,7-トリデカトリエナールと推定される2つのピークのマスマスペクトルおよびKI値は、それぞれ(E, E, Z)-2,4,7-デカトリエナール並びに(E, E, Z)-2,4,7-トリデカトリエナールのマスマスペクトルおよびKI値とよく一致した。合成したジエナール類混合物も、また、HPLCで分離した(E, E, Z)-2,4,7-デカトリエナール, (E, E, Z)-2,4,7-トリデカトリエナールおよび2,4,7,10-トリデカテトラエナールのいずれの区分も強烈な生臭い(魚様の)匂いを持っていた。従来から魚臭との関連が知られている(E, Z, Z)-異性体と同様に、これらの物質も二重結合3ヶ以上のPUFAに由来する魚の生臭い匂いの重要な要因である可能性は高いと考えられる。なお、合成品には、各(E, E)型異性体より少し小さいKI値を示す別の異性体が少量混入しており、(E, Z)型異性体であると推定される。減圧SDE濃縮液のトータルイオンクロマトグラムでも2,4,7-トリデカトリエナールで、(E, E, Z)型異性体の少し前に(E, Z, Z)型異性体と推定されるピークが認められた。

マイワシの臭いについては、カルボニル化合物が原因と考えられており、^{3,4)} 著者らもP & T法で捕集した魚臭成分の分析結果に基づいて、マイワシの鮮度低下時に発生する臭気に関して、C₃₋₇のカルボニル化合物や多量に生成する1-ペンテン-3-オールの寄与について考察した。¹²⁾ 今回の研究により、さらに新たに、マイワシの鮮度低下時に(E, Z)-および(E, E)-2,4-ヘプタジエナール, (E, Z)-および(E, E)-3,5-オクタジエン-2-オン, (E, E)-2,4-デカジエナール, (E, Z, Z)および(E, E, Z)-2,4,7-デカトリエナールが顕著に増加することを明らかにした。また、強烈な生臭い匂いを持つ(E, E, Z)-2,4,7-デカトリエナールおよび(E, E, Z)-2,4,7-トリデカトリエナールが鮮度低下時に増加することを確認した。ヘキサナール、並びに2,4-ヘプタジエナール, 3,5-オクタジエン-2-オン, 2,4-デカジエナールおよび2,4,7-デカトリエナールの異性体は低濃度では新鮮魚の香気の一助となるが、高濃度では複合して酸化魚臭を呈すると考えられている。²⁴⁾ マイワシにおいても特有の臭気の生成には、前述したC₅₋₉のアルデヒド類のほかに、PUFAの自動酸化で生成されるこれらの不飽和カルボニル化合物がより大きく寄与しているものと推察される。とりわけ、(E, Z, Z)-および(E, E, Z)-2,4,7-デカトリエナールを含む2,4-ジエナール類は、バックノートとしてマイワシの魚臭に重要な役割を果たすものと考えられる。

終わりに、本研究を行うに当たり、合成ジエナール類のNMRスペクトルの測定をして下さった日本女子大学理学部の高橋征三教授に深く感謝します。

文 献

- 1) 滝口明秀, 堀口辰司: マイワシの揮発性カルボニル測定による品質判定. 千葉水研報, 42, 73-76 (1984).
- 2) 廣川由紀, 木咲 弘: 低温貯蔵したマイワシの鮮度と揮発性成分量の検討. 家政誌, 41, 295-301 (1990).
- 3) 小泉千秋, CAO thi Kieu-Thu, 野中順三九: マイワシ普通肉の加熱臭気について. 日水誌, 45, 1307-1312 (1979).
- 4) 中村弘二, 飯田 遥, 徳永俊夫, 三輪勝利: 赤身魚の焼臭とくに揮発性脂肪酸および揮発性カルボニル化合物について. 日水誌, 46, 221-224 (1980).
- 5) 遠藤泰志, 藤本健四郎: 加熱マイワシ肉の臭気の除去および発生防止について. 日食工誌, 36, 563-568 (1989).
- 6) 飯田 遥, 中村弘二, 徳永俊夫: 冷凍貯蔵中の丸干しレイワシ臭気成分の変化-I. 臭気成分起源の検索. 東海水研報, 98, 77-85 (1979).
- 7) 飯田 遥, 中村弘二, 徳永俊夫: 冷凍貯蔵中の丸干しレイワシ臭気成分の変化-II. 部位別の変化. 東海水研報, 98, 87-92 (1979).
- 8) 笠原賀代子, 西堀幸吉: 燻煙レイワシ香気成分. 日水誌, 47, 113-119 (1981).
- 9) 笠原賀代子, 西堀幸吉: 糖漬レイワシ香気成分. 日水誌, 47, 121-125 (1981).
- 10) 笠原賀代子, 西堀幸吉: 魚肉かば焼香気成分. 日水誌, 50, 1241-1244 (1984).

- 11) K. Nakamura, H. Iida, and T. Tokunaga: Separation and identification of order in oxidized sardine oil. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **46**, 355-360 (1980).
- 12) 吉和哲朗, 守本京三, 坂本宏司, 石川行弘: パージ・トラップ法によるマイワシ臭気成分の分析. 日本誌, **58**, 2105-2110 (1992).
- 13) P. W. Meijboom and J. B. A. Stroink: 2-trans, 4-cis, 7-cis-Decatrienal, the fishy off-flavor occurring in strongly autoxidized oil containing linolenic acid or ω 3, 6, 9, ect., fatty acids. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **49**, 555-558 (1972).
- 14) 中原正展, 高野 良, 伊藤裕之, 矢野 洋, 平瀬 進, 針間矢研二: 黄金藻 *Uroglena americana* の臭気成分について. 農化, **62**, 157-159 (1988).
- 15) T. C. Y. Hsieh, S. S. Williams, W. Vejaphan, and S. P. Meyers: Characterization of volatile components of menhaden fish (*Brevoortia tyrannus*) oil. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **66**, 114-117 (1989).
- 16) C. Karahadian and R. C. Lindsay: Low temperature deodorizations of fish oils with volatile acidic and basic steam sources. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **67**, 85-91 (1990).
- 17) T. H. Schultz, R. A. Flath, R. Mon S. B. Eggling and Teranishi: Isolation of volatile components from a model system. *J. Agric. Food Chem.*, **25**, 446-449 (1977).
- 18) 下田満哉, 平野好司, 笹島 豊: ポーラスポリマーカラムによる食品香気成分の濃縮. 分析化学, **36**, 792-798 (1987).
- 19) J. D. Chanley and H. Sobotka: The partial reduction of an enzyme system by lithium aluminum hydride. *J. Am. Chem. Soc.*, **71**, 4140-4141 (1949).
- 20) 笠原賀代子, 西堀幸吉: 発酵調味料によるみりん干しの魚臭抑制. 日本誌, **57**, 737-741 (1991).
- 21) D. B. Josephson and R. C. Lindsay: Enzymic generation of volatile aroma compounds from fish, in "Biogenesis of Aromas, ACS Symp. Ser. 317" (ed. by T. H. Parliment and R. Croteau), American Chemical Society, Washington, D. C., 1985, pp. 201-219.
- 22) S. Mohri, S.-Y. Cho, Y. Endo, and K. Fujimoto: Lipoxigenase activity in sardine skin. *Agric. Biol. Chem.*, **54**, 1889-1891 (1990).
- 23) S. Mohri, S.-Y. Cho, Y. Endo, and K. Fujimoto: Linoleate 13 (S)-lipoxygenase in sardine skin. *J. Agric. Food Chem.*, **40**, 573-576 (1992).
- 24) D. B. Josephson: Seafood, in "Volatile Compounds in Foods and Beverages" (ed. by H. Maarse), Marcel Dekker, Inc., New York, 1991, pp. 179-201.
- 25) T. Hirano, C. Zhang, A. Morishita T. Suzuki, and T. Shirai: Identification of volatile compounds in ayu fish and its feeds. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **58**, 547-557 (1992).
- 26) A. S. McGill, R. Hardy, J. R. Burt, and F. D. Gunstone: Hept-cis-4-enal and its contribution to the off-flavour in cold stored cod. *J. Sci. Food Agric.*, **25**, 1477-1489 (1974).
- 27) A. S. McGill, R. Hardy, and F. D. Gunstone: Further analysis of the volatile components of frozen cold stored cod and the influence of these on flavour. *J. Sci. Food Agric.*, **28**, 200-205 (1977).
- 28) S. Wada and R. C. Lindsay: Occurrence of the green aroma compound, 1,5-octadien-3-hydroperoxide, in stored sardine oil. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **58**, 1195 (1992).
- 29) H. Guth and W. Grosch: Comparison of stored soya-bean and rapeseed oil by aroma extract dilution analysis. *Leb. Wis. Tech.*, **23**, 59-65 (1990).
- 30) H. T. Badings: Cold-storage defects in butter and their relation to the autoxidation of unsaturated fatty acids. *Ned. Melk-Zuiveltijdschr.*, **24**, 147-256 (1970).
- 31) P. D. Harkes and W. J. Begemann: Identification of some previously unknown aldehydes in cooked chicken. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **51**, 356-359 (1974).