

助成番号 0845

食品香気放散(フレーバーリリース)におけるミネラル塩類の効果

小竹 佐知子, 三浦 孝之, 阿久澤 良造

日本獣医生命科学大学応用生命科学部食品科学科

概要 【目的】食品からの香気放散(フレーバーリリース)は、食品の‘おいしさ’を決める要因の一つである香りに強く関係する。加工食品製造の調味・塩蔵工程において欠かすことのできない“塩類”のフレーバーリリースへの効果を明らかにすることを目的として、本研究では塩蔵加工食品の中でも亜硝酸塩・硝酸塩の添加が特徴的なハムを取り上げた。これらの塩類使用の有無が、仕上がった製品に含まれる香気成分組成にどのように影響するかを咀嚼モデル装置を用いて検討した。

【方法】豚ロース肉を、亜硝酸塩添加および無添加液にて1週間塩漬し、巻き締め、結紮後、加熱殺菌、冷却したものをそれぞれ、塩漬ハム試料(cured 試料)および無塩漬ハム試料(non-cured 試料)とし、また、塩漬操作を行わないで同様に調製したものを対照試料(control 試料)とした。各試料の水分含量、食塩濃度、亜硝酸根濃度、チオバルビツール酸値(以下、TBA 値)、色調を測定し、咀嚼モデル装置による模擬咀嚼中の放散香気を捕集して、ガスクロマトグラフマスペクトロメーター分析および匂い嗅ぎ分析を行った。試料の全香気抽出香気についても Solvent Assisted Flavor Evaporation(以下、SAFE)を適用して分析した。

【結果および考察】Cured 試料は 26.56 ppm の亜硝酸根濃度を示すものであり、ハム独特のピンク色を発色したのに対し、non-cured 試料および control 試料は、にぶい薄茶色～灰色を呈していた。酸化の度合いを示す TBA 値は、cured 試料が最も小さく、次いで、購入直後に調製した control 試料となり、亜硝酸塩無添加にて1週間漬け込んだ non-cured 試料における値が最も大きく、酸化の進んでいることが認められた。咀嚼モデル器による模擬咀嚼中に放散した香気成分を分析した結果、control 試料および non-cured 試料では、脂肪分解酸化物と考えられるアルデヒド類の検出量が多く、なかでも、hexanal の含量が顕著であった。一方、cured 試料におけるアルデヒド類の検出量は極端に低く、亜硝酸塩添加による酸化抑制効果が確認された。同様の傾向は、全香気抽出香気についても認められた。

1. 研究目的

香気は食品の‘おいしさ’を決める要因の一つであり、食品からの香気放散挙動を把握することが、食品加工・調理加工における高品質な製品の創作へとつながってゆく。特に加工食品製造の調味・塩蔵工程において欠かすことのできない“塩”が、このフレーバーリリースに対して「どのような効果を持つのか」ということを明らかにすることは食品科学分野において重要である。

本研究試料には、塩蔵加工食品の中でも亜硝酸塩・硝酸塩の添加が特徴的なハムを取り上げた。亜硝酸塩・硝酸塩は発色剤として広く知られた添加物であり、一般消費者

の関心も高い。そこで、発色剤の使用の有無(塩漬 vs 無塩漬)が、仕上がった製品に含まれる香気成分組成にどのように影響するかを検討した。香気成分組成分析については、近年着目されている食品咀嚼中に口腔内に放散する香気成分について検討した(小竹, 2008 および 2009)。この咀嚼放散香気は Fig. 1 に示すように、咀嚼中に口腔から鼻腔へと抜ける香気であり、人が食品を食する際のおいしさの判断に強く影響するものとなっている。測定にあたっては、人の咀嚼活動を模した口腔咀嚼モデル装置(Van Ruth, *et al.* (1995), Odake, *et al.* (2006))を用いて実験を行った。また、これとは別に、Solvent Assisted

Flavor Evaporation(以下 SAFE, Engel, W. *et al.*(1999))を適用した全香気抽出成分についても検討した。SAFE は、従来から香気抽出法として一般に用いられてきた蒸気蒸留法(Steam Distillation Extraction, 以下 SDE 法, Nickerson & Likens(1966))に替わって近年利用されはじめたもので、SDE 法が香気抽出工程で加熱操作を行うのに対し、SAFE は加熱工程を含まないで香気を抽出できることから、香気成分を加熱変性の懸念なく分析することが可能である。

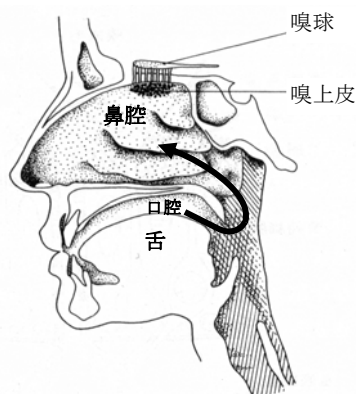


Fig. 1. Perceived aroma during mastication

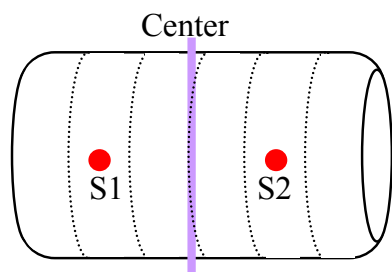


Fig. 2. Sample positions for measurements

2. 研究方法

2.1 試料調製方法

試料原材料である豚肉は、武蔵野市内の肉専門店より調製当日に購入したものをを用いた。0.8 kg の豚ロース肉 (*Musculus longissimus dorsi*) 4ブロックに対し、Table 1 に示す材料で1週間塩漬し(4°C)、巻き締め、結紮後、75°C湯中にてブロック肉中心部温度が63°Cに到達後30分間加熱殺菌し、その後冷却したものを塩漬ハム試料(cured 試料)とした。また、亜硝酸ナトリウム無添加液にて同様に調製したものを無塩漬ハム試料(non-cured 試料)とした。対照試料(control 試料)は、塩漬操作を行わずに巻き締め、結紮、加熱殺菌後冷却したものとした。

2.2 水分含量・食塩濃度・亜硝酸根濃度・酸化度・色調測定

調製した各試料より Fig. 2 に示す S1 の部位を採取し、水分含量(常圧定時乾燥法)、食塩濃度(モール法)、亜硝酸根濃度(cured 試料のみ測定、ジアゾ化法)、酸化度(チオバルビツール酸価、以下 TBA)、色調(ZE-2000 による L, a, b, 日本電色工業株式会社, 東京)を測定した。水分含量、食塩濃度、亜硝酸根濃度および酸化度については各試料につき3回繰り返し測定して平均値を求め、色調は試料部位より4箇所を測定して平均値を求め、試料間の有意差検定はチューキーの全群比較法により行った。

2.3 模擬咀嚼放散香気

人が咀嚼している際に感じる匂い分析を行うため、Fig. 3 に示す咀嚼モデル装置を用いた実験を行った。この装置は、ガラス二重構造部に恒温水を流して37°Cに保ちながら、サンプルフラスコ内に試料および人工唾液(Table 2)を入れ、上下回転運動するプランジャーにて模擬咀嚼を

Table 1. Ingredients of samples

	Control	Non-cured	Cured
Pork loin	0.8 kg × 4 pieces	0.8 kg × 4 pieces	0.8 kg × 4 pieces
Water	—	3.2 kg	3.2 kg
NaCl	—	8.0%	8.0%
Sucrose	—	1.5%	1.5%
Polyphosphate	—	0.5%	0.5%
NaNO ₂	—	—	625 ppm

行い、その間に放散した香り成分をテナックスチューブに捕集する仕組みと成っている。各試料 S2 部位 (Fig. 2) より 4.5 cm × 1 cm × 1 cm (4 g) に成形した試料を人工唾液 (2.9 mL) とともに咀嚼モデル装置により模擬咀嚼し (咀嚼頻度 1.36 回/秒, 咀嚼時間 15 分間)、咀嚼中の放散香気をテナックスチューブに捕集した。加熱脱着装置 (TDS-2, Gerstel, Mülheim an der Ruhr, Germany) により捕集香気をガスクロマトグラフ-マススペクトロメーター (6890GC-5973MSD, Agilent Technologies, Inc., Palo Alto, Ca, USA, 以下 GC-MS) に導入し、カラム (DB-WAX, φ 0.25 mm × 30 m, 膜厚 0.25 μm, Agilent Technologies) オープン 40°C にて 3 分間保持 → 8°C/min にて 25 分昇温 → 240°C にて 10 分間保持の条件で分析した。GC-MS 分析時には、熟練パネリスト (女性 5 名・男性 1 名, 平均年齢 22.5 歳) による匂い嗅ぎ分析も同時に行った。

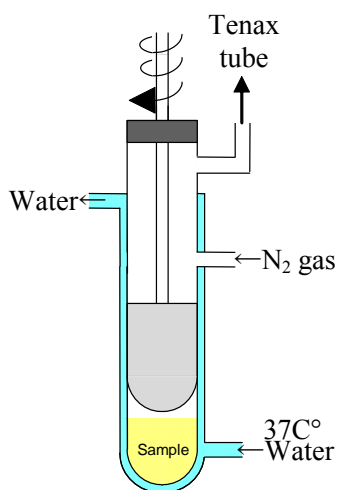


Fig. 3. Mouth model system

Table 2. Artificial saliva composition

Substance	Quantity (/L)
NaHCO ₃	5.208 g
K ₂ HPO ₄ ·3H ₂ O	1.369 g
NaCl	0.877 g
KCl	0.477 g
CaCl ₂ ·2H ₂ O	0.441 g
mucin	2.160 g
α-amylase	200,000 unit

2. 4 全香り抽出

各試料 S2 部位 (Fig. 2) 100 g に同量の脱イオン水を添加し、ホモジナイズ後に試料 2 倍量のジクロロメタンを混合し (1 時間静置)、溶剤溶解成分を抽出した。静置後分液ロートによりジクロロメタン層を採取し、無水硫酸ナトリウムにより 1 時間脱水後濾過して、濾液を蒸留濃縮した後、Fig. 4 に示す香り成分抽出装置 (SAFE) により香り成分を抽出した (Engel, W. *et al.*, 1999)。香り抽出物は 50 μL に濃縮後、0.1 μL を 2. 3 と同条件にて GC-MS 分析した。SAFE 香り抽出法は香り成分抽出過程において、熱を加えない点が特徴的であり、本実験試料のハムのような冷蔵温度にて食する食品試料の香り抽出には適したものと考えられている (Engel, W. *et al.*, 1999)。

3. 研究結果

3. 1 水分含量・食塩濃度・亜硝酸根濃度・酸化度・色調

各試料の水分含量、食塩濃度、亜硝酸根濃度および酸化度の結果を Table 3 に示す。水分含量は control 試料が最も低く、次いで non-cured 試料が続く、cured 試料が最も高かった。Non-cured 試料と cured 試料の塩漬に際しては、塩漬液にポリリン酸塩を添加したことから、水分含量が高くなったと考えられる。食塩濃度は、control 試料では極僅かであり、non-cured 試料および cured 試料では、それぞれ 1.40% および 1.37% であった。亜硝酸根濃度は、cured 試料において 26.56 ppm であった。食品衛生法により定められたハム製品の亜硝酸根濃度は 70 ppm を上限としてお

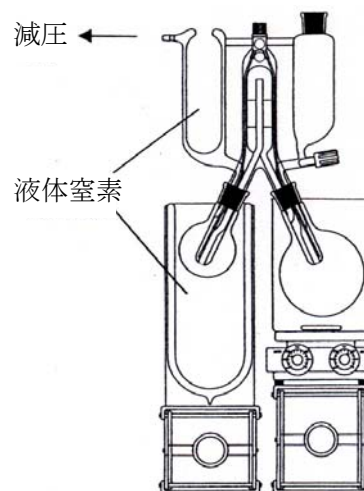


Fig. 4. SAFE apparatus (Engel, W. *et al.*, 1999)

Table 3. Properties of samples

	Water content	NaCl	NO ₂ ⁻	TBA
	(%)	(g/100 g)	(ppm)	(—)
Control	69.0 ± 1.7 ^a	0.06 ± 0.01 ^a	—	0.036 ± 0.005 ^b
Non-cured	71.4 ± 2.1 ^{ab}	1.40 ± 0.00 ^c	—	0.104 ± 0.008 ^c
Cured	73.9 ± 0.8 ^b	1.37 ± 0.00 ^b	26.56 ± 0.87	0.003 ± 0.000 ^a

Values indicate mean ± standard deviation. The different small letters in the same column indicate significant differences analyzed by Tukey's test at significant level $p < 0.05$.

Table 4. Color properties of samples

	L	a	b
	(—)		
Control	63.12 ± 1.85 ^b	4.69 ± 0.62 ^a	8.45 ± 0.76 ^c
Non-cured	60.75 ± 1.73 ^b	4.23 ± 0.49 ^a	7.22 ± 0.23 ^b
Cured	55.58 ± 2.37 ^a	9.12 ± 0.50 ^b	3.96 ± 0.45 ^a

Values indicate mean ± standard deviation. The different small letters in the same column indicate significant differences analyzed by Tukey's test at significant level $p < 0.05$.

り、本試料は適正に調製されたものといえる。酸化の度合いを示す TBA 値は、cured 試料が最も小さく、次いで、購入直後に調製した control 試料となり、亜硝酸塩無添加にて1週間漬け込んだ non-cured 試料における値が最も大きかった。このことから、亜硝酸塩は、酸化反応を抑制する効果のあることが認められた。

亜硝酸塩は食品衛生法において発色剤と分類されていることから、ハム独特のピンク色の呈色にかかわる重要な化合物である。各試料の色調の結果を **Table 4** に示す。目視では、control 試料および non-cured 試料の2試料が、にぶい薄茶色～灰色を呈していたのに対し、cured 試料はハムに特有なピンク色を呈していた。明度を示す L 値は、control 試料の値が最も高く、次いで non-cured 試料となり、cured 試料の値が最も低かった。大きな値ほど赤色が強いことを示す a 値は、control 試料および non-cured 試料が 4.69 および 4.23 であったのに対し、cured 試料では 9.12 と高かった。b 値(大きな値ほど黄色が強いことを示す)は control 試料が最も高く、次いで non-cured 試料となり、cured 試料の値が最も低かった。

3. 2 模擬咀嚼中放散香気成分

咀嚼モデル装置による模擬咀嚼中に放散した香気成

分を分析した結果(**Fig. 5**)、GC-MS 検出化合物は control 試料において 120 化合物、non-cured 試料において 99 化合物、cured 試料において 92 化合物であった。これらの検出化合物のうち、匂い嗅ぎパネリストによって知覚された香気化合物は control 試料において 84 化合物(検出化合物の 70%)、non-cured 試料において 70 化合物(71%)、cured 試料において 59 化合物(64%)であった。これら検出化合物のうち、hexanal(草の匂い)をはじめとするアルデヒド類の占める割合に顕著な特徴が認められた(**Fig. 6**)。

すなわち、検出化合物のうち、control 試料では 76.7%、non-cured 試料では 58.9% がアルデヒド類であり、このうち hexanal の占める割合は control 試料で 64.5%、non-cured 試料で 40.9% にも達した。一方、cured 試料におけるアルデヒド類の占める割合は 7.7% と他の 2 試料に比べて低く、hexanal においても 0.5% と顕著に低かった。Hexanal 以外のアルデヒド類には、propanal、pentanal、(E)-2-nonenal、(E,E)-2,4-nonadienal が認められた。その他の香気成分では、cured 試料においてケトン類(2-butanone, 2-pentanone, 1-hydroxy-2-butanone など)の比率(40.0%)が他の 2 試料(control 試料 4.2%、non-cured 試料 16.4%)に比べて多か

ったこと、および、cured 試料においてベンゼン類(1-ethyl-3-methylbenzene, 2-methyl-1-butenylbenzene など)の比率(24.3%)が他の2試料(control 試料 12.2%, non-cured 試料 11.6%)に比べて多かったことが認められた。

3.3 全香気抽出成分

SAFE による試料全香気抽出の香気成分分析においても、3.2 模擬咀嚼中放散香気成分分析結果と同様の結

果が得られた。すなわち、検出化合物数は control 試料、non-cured 試料、cured 試料の順に小さくなり、アルデヒド類の検出化合物に占める割合が control 試料、non-cured 試料、cured 試料の順で少なくなった。また、アルデヒド類における hexanal に占める割合は、control 試料および non-cured 試料では高く、cured 試料では僅かしか認められなかった。

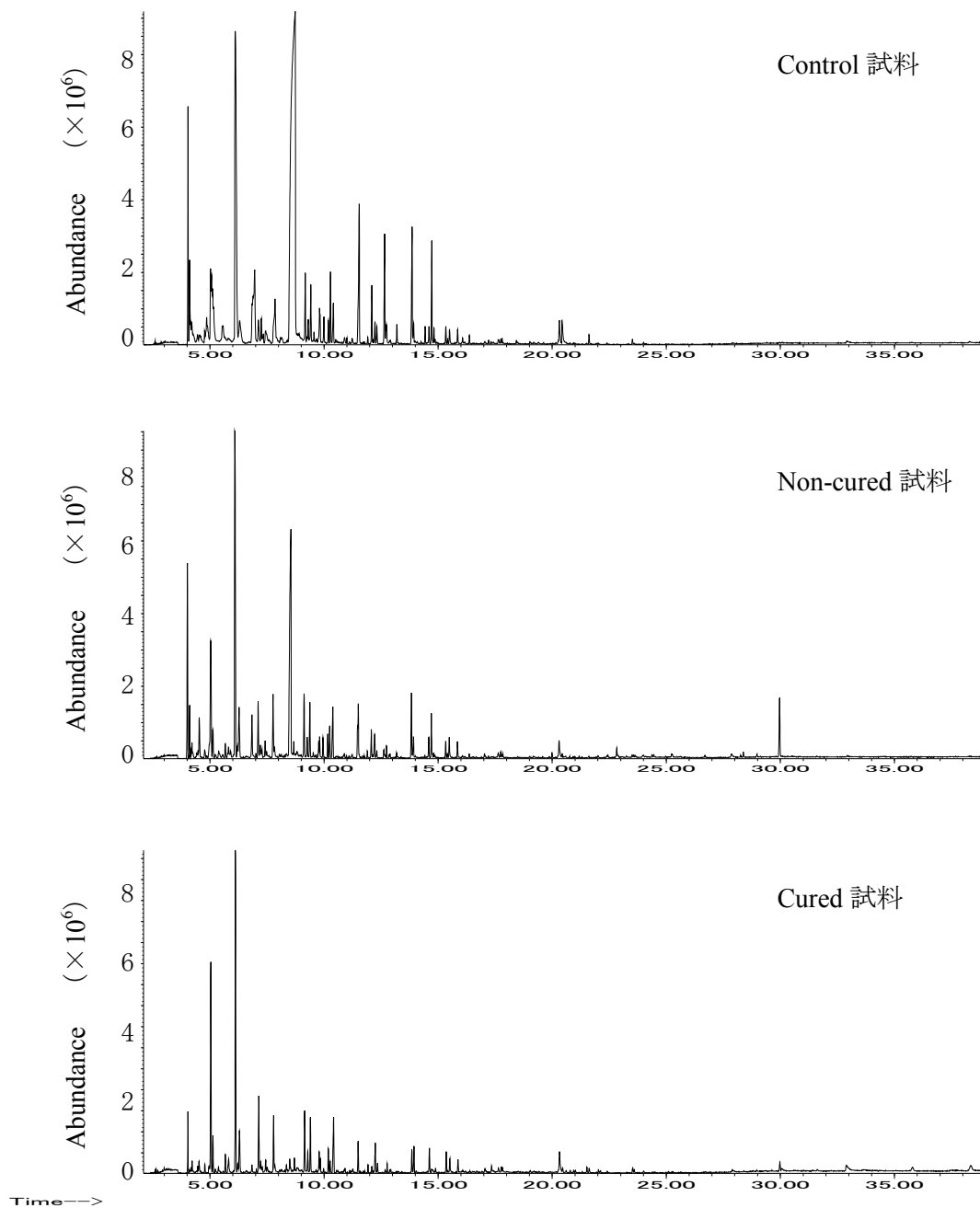


Fig. 5. Time intensity chromatogram of GC

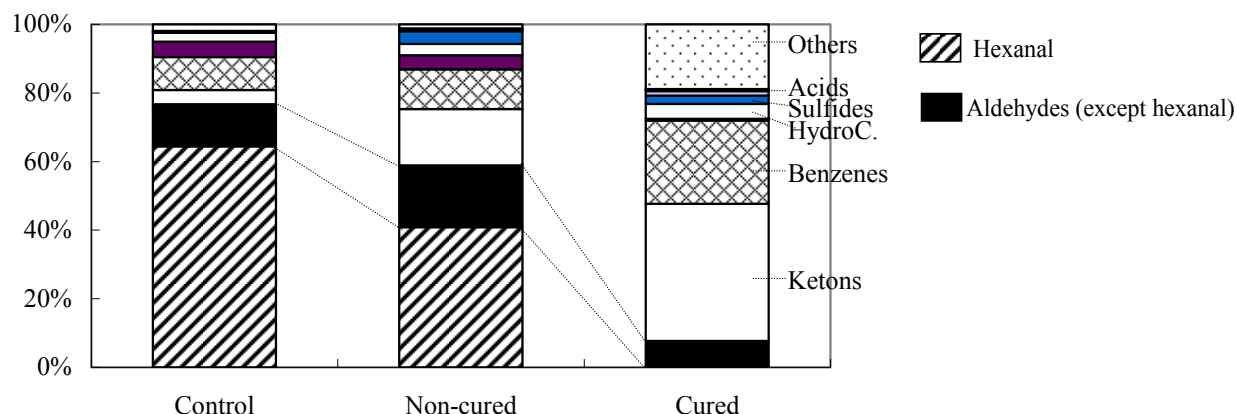


Fig. 6. Released volatile compounds during mastication

4. 考 察

亜硝酸塩および硝酸塩はハム製造で用いられる食品添加物で、発色剤と分類されているものであり、ハム製造においては非常に古くから使われてきた歴史がある (Binkerd & Kolari(1975))。発色剤の添加効果には、名称に由来するハム独特のピンク色を呈する発色効果、および嫌気的条件下で行う塩漬中のボツリヌス菌発生の抑制効果がよく知られている。本実験試料においても、cured 試料においては、鮮やかなハム独特のピンク色が見られたのに対し、control 試料および non-cured 試料では当然のことながら発色は全く見られなかった。

この他の亜硝酸塩の添加効果として、豚挽肉を用いた実験において (Shahidi, 1987)、塩漬処理をしない(亜硝酸塩無添加)場合に、TBA 値が上昇し、官能的な嗜好性の落ちることが報告されている。本研究試料においても、亜硝酸塩を添加した cured 試料の TBA 値は最も低く、これに対し、non-cured 試料の値が最も高くなって、亜硝酸塩添加による酸化抑制効果が明確に認められた。control 試料の値が non-cured 試料に比べて低かったのは、原材料肉を購入した直後に巻き締め、結紮、加熱殺菌後冷却したことから、酸化に寄与する工程としては殺菌中の加熱操作のみであったことが推測される(室温からの実質の加熱時間は 75 分間であった)。Non-cured 試料は、冷蔵温度にて 1 週間、亜硝酸塩無添加の溶液(食塩、砂糖、ポリリン酸塩)中に浸漬された状態にあり、この間に酸化反応が進んだものと考えられる。

今回用いたハム試料は塩漬後、63℃にて加熱殺菌をするタイプのもので、ハムの分類としては cured cooked

product になる。ハム試料そのものではないが、豚ロースの挽肉に対して 25% 量の水を加えて 73℃にて 10 分間加熱したもの (non-cured)、および、水に食塩 (2.0%)、砂糖 (1.5%)、アスコルビン酸 (0.05%)、亜硝酸塩 (150 ppm) を加えて同様の操作を行ったもの (cured) について、SDE 法とページ&トラップ法を用いて香気を分析した報告がある (Ramarathnam *et al.*, 1991 および 1993)。これらによると、non-cured 試料での hexanal および pentanal の検出量が、cured 試料に比べて顕著に多かったと報告されている。SDE 法は香気抽出過程にて加熱操作が加わり、また Ramarathnam らのページ&トラップ法の香気抽出条件は、65℃にて 10 時間行っている。したがって、これら両報告とも、加熱過程での香気成分の分解・生成等を考慮しなくてはいけないものの、non-cured 試料における hexanal の多量検出は、本実験結果と同様の傾向を示している。本研究では、模擬咀嚼放散香気においては、室温にての模擬咀嚼中の放散香気を捕集したものであることから、実際に人が食する際の香気成分組成に近いものと考えられる。また、全香気抽出も加熱工程を経ない SAFE 法を用いたものであり、これまでも、SAFE はビール (Helge *et al.*, 2005) や果物類 (Tokitomo *et al.*, 2005) など、冷蔵温度にて食する食品における香気成分組成分析に実績を上げてきている。すなわち、本研究で採用した方法は、実験過程における香気成分組成の変性はおきにくい条件であった。したがって、豚挽肉を用いたモデル系試料のみでなく、実際のハム製品においても亜硝酸塩添加により hexanal 発生が抑制されることが明らかになったといえる。

アルデヒド類は、脂肪の酸化分解物として生成されるこ

とがわかっており、先に示した酸化の度合いを示す TBA 値の高かった non-cured 試料において、hexanal をはじめとするアルデヒド類が多く検出されたことは、相互に呼応した結果と考えられる。

5. 今後の課題

本研究では、塩蔵食品のなかでも、食塩と発色剤である亜硝酸塩を添加したハム製品についてとりあげ、調製直後の試料において亜硝酸塩添加試料での抗酸化効果を確認することが出来た。今後はさらに、塩蔵品として保存されることが一般的なハム製品について、調製直後から保存日数経過に伴う各種測定項目の変動を検討する必要があると考えられる。

文献

- Binkerd, E. F. and Kolari, O. E. (1975): *Fd. Cosmet. Toxicol.* 13, 655-661
- Engel, W., Bahr, W. and Schieberle, P. (1999): *Eur. Food Res. Technol.*, 209, 237-241
- Helge, T. F. and Schieberle, P. (2005): *J. Agric. Food Chem.*, 53, 6049-6055
- Nikerson, G. B. and Linkens S. T. (1966): *J. Chromatography*, 21, 1-5
- Odake, S., Van Ruth, S. M., and Akuzawa, R. (2006): *Food Science and Technology, Res.*, 12, 256-260
- 小竹佐知子 (2008): 調理科学, 41, 84-92
- 小竹佐知子 (2009): 藤森嶺編著「香りの科学と美学」, pp.83-94
- Poligné, I., Colligna, A., and Trystram, G. (2002): *J. Food Sci.*, 67, 2976-2986
- Ramarathnam, N., Rubin, L. J., and Diosady, L. L. (1991): *J. Agric. Food Chem.* 39, 344-350
- Ramarathnam, N., Rubin, L. J., and Diosady, L. L. (1993): *J. Agric. Food Chem.* 41, 933-938
- Shahidi, F., Yun, J., Rubin, L.J., and Wood, D. F. (1987): *Can. Inst. Food Sci. Technol. J.*, 20, 104-106
- Tokitomo, Y. and Schieberle, P. (2005): *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 69, 1323-1330
- Van Ruth, S. M., Roozen, J. P. and Cozijnsen, J. L. (1995): *Food Chem.* 53, 15-22

No. 0845

Effect of Mineral-Salts on Flavor Release from Food

Sachiko Odake, Takayuki Miura, and Ryozo Akuzawa

Nippon Veterinary and Life Science University, Faculty of Applied Life Science

Summary

Flavor release from food has much influence on palatability. Released flavor from loin ham samples was measured to investigate how nitrate or nitrite influenced on the flavor profile. Loin pork meats were cured by using a solution of sodium chloride, sucrose, sodium polyphosphate and sodium nitrite (hereafter referred to as cured sample), then rolled with strings, boiled at 75°C for 30 minutes after the center of the meat reached at 63°C, and then cooled down. Non-cured samples were prepared as the same procedure without sodium nitrite, and control sample was just rolled, boiled and cooled down.

The concentration of sodium nitrite in the cured sample was 26.56 ppm. Thiobarbituric acid value of the non-cured sample was the highest and that of the cured sample was the lowest. This indicated that sodium nitrite played as an antioxidant compound. Released volatiles from samples were analyzed with a mouth model machine, which mimicked human mastication behavior. The total amount of released volatiles from the control sample was the highest following by the non-cured sample, and that from the cured sample was the lowest. Aldehydes predominated in the control and the non-cured samples, and particularly, hexanal occupied 64.5% and 40.9% in the control and the non-cured samples, respectively. The content of hexanal in the cured sample was only 0.5%. Aldehydes were considered to be generated compounds from lipid oxidation reaction. Then sodium nitrite was concluded as an important ingredient for anti-oxidation in cured products.