

緒 説

くん蒸麦芽の香気成分に関する研究

出 来 三 男*

目 次

- 第1章 緒 論
- 第2章 実験の部
- 第1節 実験方法
1. 試料
2. 挥発性物質の捕集
3. 栓器分析の諸条件
3. 1 ガスクロマトグラフィー (GC) の条件
3. 2 質量分析計 (Mass) の操作条件
- 第2節 総フェノール定量法の検討
1. 検量線の作成
2. 抽出法の検討
- 第3章 挥発性カルボニル化合物の確認
- 第1節 2, 4-DNPH の赤外線吸収スペクトル
- 第2節 2, 4-DNPH の NMR スペクトル
- 第3節 2, 4-DNPH のマススペクトル
- 第4章 泥炭くん蒸麦芽の揮発性カルボニル化合物の分離確認
- 第1節 薄層クロマトグラフィー (TLC) による分離
- 第2節 液体クロマトグラフィー (LC) による分離
- 第3節 GC - Mass による分離確認
- 第5章 泥炭くん蒸麦芽のフェノール性物質の確認
- 第6章 泥炭くん蒸麦芽の中性物質の分離確認
- 第7章 泥炭くん蒸麦芽の塩基性物質の確認
- 第8章 泥炭くん蒸麦芽の酸性物質の確認
- 第9章 考察
- 第1節 泥炭くん蒸麦芽中の総フェノール含有量とくん煙香気との相関
- 第2節 挥発性カルボニル化合物の挙動
- 第3節 中性物質の香気への寄与
- 第4節 ピラジン誘導体とくん香
- 第5節 酸性物質の役割
- 第10章 総 括
- 第11章 文 献

第1章 緒論

天然フレーバーの利用,合成フレーバーによる積極的な付香のほかに,乾燥,蒸煮,焙焼,くん蒸,発酵,塩蔵などの人工的な処理は,食品に好ましい香りを付与するための食品加工法として広く利用されている。ことに,食品の熱処理と香気に関しては,コーヒー豆の焙焼と揮発性物質,¹⁾脂質の加熱による香気の生成,²⁾ポテトの調理と揮発性硫黄化合物,³⁾醸造食品の香り,⁴⁾⁵⁾麦茶,⁷⁾焙焼でん粉の揮発性化合物⁸⁾⁹⁾など食品加工と香気との関係について多くの研究がなされている。

食品フレーバーの統計的な評価は官能検査を普遍化するうえから重要な手段であるが,さらに客観的な評価,あるいはフレーバーの統一的な因子の解明,フレーバー合成への接近のためにはフレーバーに関する個々の化合物を正確に把握することは重要なことである。最近の分析技術の進歩は,ことに赤外分光器,ガスクロマトグラフ,質量分析計,核磁気共鳴装置などを駆使した機器分析法の導入はこの方面的研究を容易にしている。¹⁰⁾

麦芽は食品加工,醸造用に,主として酵素剤として利用されており,特にウィスキー及びビール醸造の重要な糖化酵素並びにアルコール発酵の炭素源としての主原料となっている。このほか,麦芽エキスは滋養食品,育児食品の副原料としてその利用価値は高い。

わが国における麦芽の生産額は少なく,国内消費量の約80%は輸入に依存している現状である。¹¹⁾なかでもウィスキー醸造用の麦芽はほとんど輸入に頼っており,英国,オーストラリア,フランス及びカナダなどが主な供給地となっている。このウィスキー用の麦芽は泥炭(ピート)をコークスと共に焦した炉室内で乾燥させながらくん蒸したもののが使用されており,ウィスキーに特有なスモーキーフレーバーを付与するのに役立っている。

わが国の輸入公表によると,ウィスキー醸造用の原料麦芽のうち,泥炭でくん蒸処理した麦芽については特別な関税措置が採られているため,泥炭くん蒸のウィスキー用麦芽とその他の麦芽との鑑別が関税行政の面から要求されている。¹²⁾ウィスキー醸造用麦芽とその他の麦芽では前述したように,その製造工程からみると泥炭くん蒸の有無だけが異なっており,したがって,このことは両者を鑑別する唯一の可能性を持つことになる。このようなことから,泥炭のくん煙に由来する香気成分を中心として泥炭くん蒸麦芽から捕集した香気成分の検索を行なうことにより鑑定の基準を明らかにするのが本研究の主目的である。

他方,加工食品の香気と原料の化学成分との関係は清酒,¹³⁾味噌,¹⁴⁾ラム,¹⁵⁾ビール¹⁶⁾などについての報告がみられる。

るにすぎない。また,麦芽を主原料とする酒類の香気についてではウィスキーに関するものが多いが,原料麦芽及び泥炭のくん煙に由来する化学成分との関係についての研究は少ない。本研究では,麦芽に由来する化学成分,とくにフェノール性化合物,揮発性カルボニル化合物及び有機酸類の挙動とウィスキーの香気成分との関係を明らかにすることに他の目的がある。

ウィスキーフレーバーについては多数の報告がある。¹⁾⁷⁾¹⁸⁾¹⁹⁾ Schidrowitz²⁰⁾はウィスキーに含まれるフェノール類は原料麦芽とそのくん蒸に使用した泥炭のくん煙に由来していると推論しており,Steink²¹⁾は麦芽糖化液のアルコール発酵過程で生成するフェノール性物質は麦芽液中に含まれるフェルラ酸,バニリン及びp-クマル酸などを前駆物質としていることを明らかにし,エチルグアヤコールの生成系路を推定している。McFarlane²²⁾も泥炭くん蒸により乾燥した麦芽中の総フェノール量を定量し、さらに麦芽の水蒸気蒸留物についてガスクロマトグラフィーにより揮発性成分を分離し,フルフラール,グアヤコール,フェノール,クレゾールなどを確認し,これらのフェノール性物質は麦芽を乾燥するときに使用する泥炭の量に依存しており,とくに Islay whisky の強いスモーキーフレーバーは泥炭を焦して生ずる熱分解生成物に由来するものであると述べている。

ウィスキーの好ましい香気はくん香のほかに醸造中の発酵生産物によるものが多いがそれらの香気成分は前駆物質を原料麦芽の成分に依存していると考える。ウィスキーのくん香に直接的な役割を果している成分はフェノール性物質であるが木材の熱分解生成物²³⁾²⁴⁾で明らかにされているように好ましくくん香を得るにはフェノール性物質のほかにカルボニル中性物質などの相乗効果を必要とすると考えられている。

くん蒸処理は,古くは乾燥と抗菌作用による食品保存を主目的として水産食品,酪農品に広く利用されている食品加工法である。しかし真空加工法などの技術進歩により,くん蒸処理は,最近では食品保存としてよりも,むしろ食品へのくん煙付香による嗜好性向上が重視されるようになっている。そのため,くん煙に関する研究は,くん煙の生成条件と揮発性物質の関係,好ましくくん香の調合,²⁵⁾毒性の問題などくん香に関与する化合物について総合的な検討がなされている。

泥炭でくん蒸した麦芽の香気については,くん香成分の検索が中心になる。くん香の定性的な成分分析はガスクロマトグラフィー,質量分析法などにより多数の揮発性物質が分離同定され,くん香に関与するフェノール性物質との関係が論じられている。他方,前述したように,フェノール性物質のみでは単調なくん香しか与えないの

で、好ましい香りを得るにはカルボニル化合物、有機酸類などの参加を必要とすることから、これらの化合物の検索及びオフフレーバーの解明など総合的な研究が行なわれてきた。

泥炭でくん蒸しながら乾燥した麦芽は泥炭の熱分解によって生成するフェノール性物質がくん香の主要因となっていることから、本研究では麦芽中の総フェノール類の定量的な挙動、フェノール類の定性的な確認のほか、食品香気の評価のうえから中性、塩基性及び有機酸類の挙動についても検討した。研究方法としては麦芽の水蒸気蒸留により生成する揮発性物質を GC, GC-Mass, NMR, IRS などにより確認する方法を用いた。その結果、フェノール類は泥炭でくん蒸した麦芽の香気に相關があることを明らかにし、原料麦芽の化学成分とウィスキー香気との関連についても考察した。^{26) 27) 28)}

第2章 実験の部

第1節 実験方法

1. 試料

実験に使用した麦芽は英国、フランス、オーストラリア、カナダ産のもので、泥炭でくん蒸しながら乾燥したものである。くん蒸に使用した泥炭の量に応じ、それぞれ、(1)ライトタイプ(くん香の弱いもの)、(2)ヘビータイプ(くん香の強いもの)に分類されている。ビール用の原料麦芽は主として電熱乾燥又はコーケス燃料により乾燥されており、くん香はない。官能的には、ライトタイプの泥炭くん蒸麦芽とビール用の原料麦芽の区別は極めて困難である。

焙焼麦芽の調製は、ビール用麦芽を 220 ~ 225 で 30 分間焙焼して行なった。

2. 挥発性物質の捕集

麦芽約 4 kg を丸底フラスコにとり、N₂気流中で常圧で水蒸気蒸留し、留出液約 4 l を採取した。同時に、蒸留中に凝縮しないヘッドスペースに含まれるカルボニル成分は、2, 4 -ジニトロフェニルヒドラジン(2, 4 -DNP)塩酸溶液(2 規定塩酸水溶液に 2, 4 -DNP を飽和させたもの)に吸収させ、ヒドラゾン(2, 4 -DNPH)として沈殿させて捕集した。留出液は食塩を飽和させて 12 時間塩折したのち、分液漏斗中でエチルエーテルを用いて振とう抽出し、エーテル抽出液約 1.6 l を得た。エーテル抽出液に 5%NaHCO₃ 溶液 100ml を加えて振とうし、酸性物質を抽出した。この炭酸ソーダ抽出液は塩酸で酸性としたのち、エチルエーテルを用いて振とう抽出し、有機酸などの強酸性物質を抽出した。

一方、5%NaHCO₃ 溶液で抽出した残りのエーテル抽出液は、2 規定塩酸 100ml を加えて振とうし、塩基性物質を塩酸溶液に転溶させた。この塩酸溶液を分取し、1 規定 NaOH 溶液を加えてアルカリ性とし、エチルエーテルで振とう抽出してエーテル抽出液は塩基性物質の区分とした。塩酸処理後のエーテル溶液はフェノール性物質、アルコール類、カルボニル化合物、エステル類、炭化水素などの高沸点中性物質が含まれている。このエーテル溶液に 1 規定 NaOH 溶液 100ml を加えて振とうし、主としてフェノール性物質及びアルコール類をアルカリ溶液として分別した。このアルカリ溶液は 2 規定塩酸溶液を加えて酸性としたのち、エチルエーテルで振とう抽出し、このエーテル抽出物をフェノール性物質の区分とした。

フェノール性物質を分別した残りのエーテル溶液は、エステル、炭化水素などが含まれているのでこの画分を中性物質の区分とした。以上の分別抽出法について概略を Fig. 1 に示した。

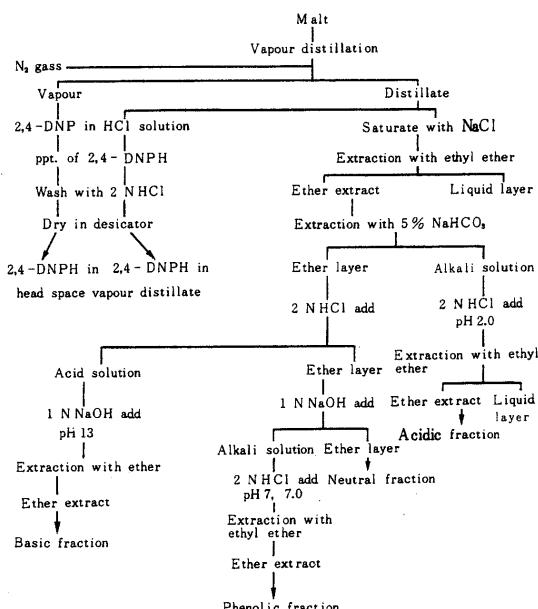


Fig. 1 Procedure for extraction

3. 機器分析の諸条件

3・1 ガスクロマトグラフィー(GC)の条件

装置：島津 GC5APF

カラム充てん剤：固定相担体として chromosorb GAW(80 ~ 100 mesh)を用い、PEG20M を 5%含浸させた。カラム長は 4 m × 3 mm，オンカラムで行なった。

カラム温度：80 ~ 240, 5 / min。

注入口温度： 280

キャリアーガス： He 60ml / min .

2 , 4 - DNPH の分離にはカラム充てん剤として OV - 101 (2 %), chromosorb GAW (60 ~ 80mesh) を用い , カラム温度は 200 ~ 300 , 5 / min. 注入口温度は 300 の条件で行なった。

3・2 質量分析計 (Mass) の操作条件

装置： 日立 K - 53 型ガスクロマトグラフ直結質量分析計 RMU - 6 E , 日立 RMU - 7 , 島津 LKB - 900 及び Jasco - Finigan 3100GC

測定条件： イオン加速電圧 1.8 ~ 3.5KV , イオン化電圧 70eV , イオン電流 60 μ A , イオン源温度 220

GC - Mass における GC 条件は , 3.1 の GC 条件にほぼ一致させた。

第2節 総フェノール定量法の検討

くん香の主体をなすものはフェノール性物質であると考えられているので麦芽中の総フェノール含有量を把握することはくん香とフェノール類との関係を明確にすることから重要な課題である。従来のフェノール類の定量法は , P - 置換体が 50% 以上も含まれているくん香のフェノール類を定量するのには不適であると指摘されている。動植物中の総フェノール定量として種々の方法が報告されているが , いずれも比較的高濃度のフェノールを含むものに適用されており , フェノール類の含有量が低い麦芽中の総フェノールの定量法として妥当なものではない。Tucker³⁰⁾ はスマーカードハムやソーセージの総フェノール定量に , 試料を 50% エタノールで抽出後 , 抽出液をほう酸ソーダ溶液中で 2 , 6 - ジクロロ - p - ベンズキノンイミンと反応させ , 呈色物質をブタノールに転溶させ , これを 635nm で比色定量している。この方法は試薬ブランクが高い値を示す欠点がある。堀米ら³¹⁾ は , 80% エタノールで 20 分間試料を加熱抽出し , 抽出液からアルコールを除去した後 , フォリン・デニス試薬によりフェノール類を呈色させている。この方法ではアルコールを完全に除去する必要がある。

McFarlane は試料を塩酸酸性にしたエチルエーテルで抽出し , アミノアンチピリンで呈色しているが , 呈色の安定性 , エーテル抽出液の定量的な採取及びアンモニア水への転溶に再現性がなく , とくに低濃度のフェノールを定量する場合の繰返し精度に難点がある。

ここでは ,くん煙に由来するフェノール性物質を再現よく定量するために , p - 置換体に対する感度の高いフォリン・デニス試薬を用いて 2 , 3 検討を行なった。

フェノール類とフォリン試薬との反応は , アルカリ性

溶液のもとで行なうが , アンモニウムイオンの存在は呈色を防害する。また , かせいソーダ溶液中では呈色が不安定であり , しかも白色沈殿の生成が著しく比色定量法として不適である。これに対して , 炭酸ソーダ溶液中では呈色の強度 , 安定性がともに良好であるが , 炭酸ソーダの濃度を高くすると沈殿が生成する。

炭酸ソーダの濃度と吸光度との関係を Table 1 に示す。

Table 1 Effect of composition of reaction mixture on optical

Folin reagent added ml	50 % Na ₂ CO ₃		Optical density	Note
	added ml	final concentration (%)		
0.3	0.5	2.5	0.480	
0.5	0.2	1.0	0.235	
0.5	0.4	2.0	0.435	
0.5	0.5	2.5	0.500 ppt	
0.5	0.6	3.0	0.500 ppt	
0.5	0.8	4.0	0.510	
0.5	1.0	5.0	0.510	
1.0	0.5	2.5	0.500 ppt	
1.0	1.0	5.0	0.480 ppt	

Table 1 からわかるように , 低い炭酸ソーダ濃度では呈色が不十分である。反応組成中の炭酸ソーダの最終濃度を 2.5% 以上にすると吸光度はほぼ一定の値を示す。しかし , フォリン試薬の添加量を増すと反応溶液中に白色沈殿が生成するが , 吸光度の減少は僅少であり定量の妨害とはならない。これらの結果から炭酸ソーダの最終濃度を 5 % とした。

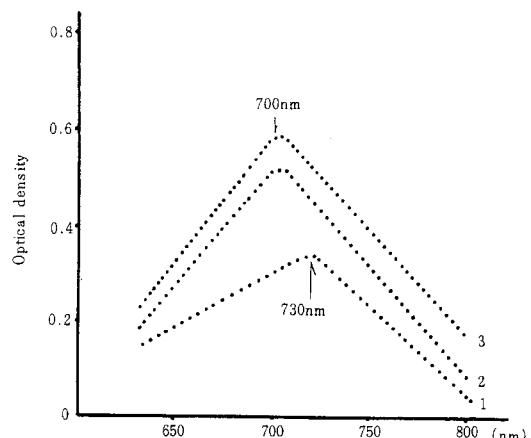


Fig.2 Absorption maxima of reaction mixture
Curve 1. Reaction time 30 min.
Curve 2. Reaction time 90 min.
Curve 3. Reaction time 120 min.

フォリン試薬とフェノールの反応生成物は 700nm に max を示す。この極大値は反応初期においては 730nm であり、時間経過とともに 700nm にシフトし、反応後 90 分間で一定になる。この呈色は 2 時間以上も安定である。これらの結果を Fig.2 に示す。

1. 検量線の作成

フェノールを 0 ~ 100ppm の濃度範囲になるように 5% 炭酸ソーダ溶液に溶かして標準液を調製する。10ml 容メスフラスコに各種濃度の標準液を加え、これに 0.5ml のフォリン・デニス試薬を加えて混合する。5% 炭酸ソーダ溶液で 10ml に定容したのち、室温に 2 時間放置後、試薬プランクを用いて 700nm における吸光度を測

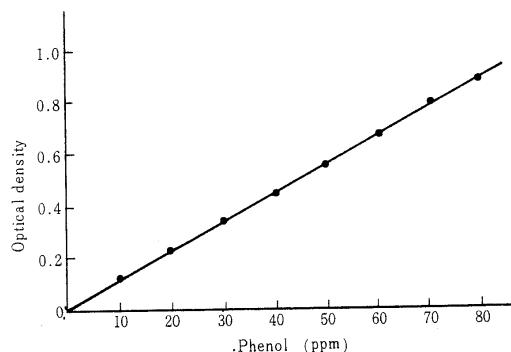


Fig.3 Calibration curve of phenol

定する。Fig.3 に示すようにフェノール 60ppm までは吸光度とフェノール濃度との間に直線関係がある。

20ppm と 50ppm のフェノールについて 5 回の繰返し測定を行なった結果を Table 2 に示す。20ppm では吸光度の変動係数は 1.4%，50ppm では 2.1% の変動係数であり、再現精度は良好である。

2. 抽出法の検討

麦芽中の総フェノール類を定量するために抽出法を検討した。

a). 50% エタノール抽出法

麦芽約 10g を正確にはかり取り、50% エタノール 50ml を加え、冷却管をつけて 15 分間沸騰浴上で加熱抽出する。これをろ過し、ろ液のアルコールをほとんど蒸発させたのち、水で 100ml に定容する。不溶物をろ過して除き透明液を検体とした。

b). エーテル抽出法

麦芽約 10g を正確にはかり取り、分液漏斗に移し入れ、2 規定塩酸で飽和したエチルエーテル 20ml を加えて振とう抽出する。エーテル抽出液は集めて別の分液漏斗に移し入れる。麦芽はさらに 20ml のエーテルで同様に振とう抽出し、抽出液は合わせる。このエーテル抽出液に 5% 炭酸ソーダ溶液 9.5ml を加えて振とうし、さらにフォリン試薬 0.5ml を加えてよく振とうする。水層は分液後、ろ過して試験管に移し入れる。これを 2 時間室温に放置したのち吸光度を測定する。

Table 2 Reproducibility of quantitation

Total Phenols	Exp. NO.	Optical density					\bar{x}	σ	c (%)
		1	2	3	4	5			
20 ppm		0.225	0.232	0.220	0.225	0.225	0.225	0.0038	1.43
50 ppm		0.548	0.537	0.527	0.553	0.526	0.538	0.0108	2.10

Table 3 Total phenol contents in malt obtained by different extraction method

Samples	Experimental	50% ethanol extraction		Ethyl ether extraction	
		Optical density	Total phenol (ppm)	Optical density	Total phenol (ppm)
Non-peated malt	1	0.378	175	0.115	1.1
	2	0.378	175	0.115	1.5
	3	0.381	180	0.173	1.6
Peated malt	1	0.440	225	0.490	4.5
	2	0.330	155	0.220	2.0
	3	0.310	140	0.300	2.8
	4	0.350	163	0.300	2.8
	5	0.310	140	0.300	2.8

両抽出法による測定結果は Table 3 に示す。エタノール抽出法では総フェノール量が著しく高い値を示している。これは蛋白質などが溶出されたことによるものと考える。したがって、くん煙香に関連するフェノール類の定量法としては、塩酸酸性エチルエーテルによる抽出法が合目的である。この方法ではエーテル抽出液の全量を用いて定量するので、エーテルの揮散、検体採取による誤差などが介在しないため再現性のよい結果が得られる。

第3章 挥発性カルボニル化合物の確認

揮発性カルボニル化合物は食品香気の重要な要素の一つであるため各種の食品及び食品原料についての研究が多い。特に穀粉を主原料とする食品フレーバーのうち、カルボニル化合物の非酵素的生成については Wiselblatt ら³²⁾によるパンオーブンガス中のカルボニル化合物の挙動、清水ら³³⁾の麦茶の揮発性モノカルボニル化合物の確認、Walter ら³⁴⁾及び Bryce ら³⁵⁾の炭水化物熱分解物中のカルボニル化合物の生成機構など多数の報告があり、食品の加熱によって生成するフレーバーとカルボニル化合物の関係が検討されている。^{36)~43)}

これらの揮発性化合物は食品中に微量しか存在しないので直接分離定量するには多くの困難がある。したがって、一般には 2,4-DNPH として捕集し濃縮する方法がとられている。2,4-DNPH として濃縮されたカルボニル化合物は結晶性物質として得られるので微量のカルボニル化合物が比較的多量に捕集できる利点がある。2,4-DNPH 混合物の相互分離には液体カラムクロマトグラフィー、^{44), 45), 46)} ペーパークロマトグラフィー⁴⁷⁾ 及び薄層クロマトグラフィー⁴⁸⁾ などが利用されており、赤外線吸収スペクトル及び可視吸収スペクトルの併用により化合物の分離確認を行なっている。カラムクロマトグラフィー、薄層クロマトグラフィーなどによる混合物の分離は分析所要時間が長く、定量的取扱いが困難である。この欠点を克服するために GC 分析法が開発され定量的な取扱いを容易にした。一方、定性的にも赤外線吸収スペクトルのほか、NMR、Mass 及び GC-Mass などの機器分析が導入され微量分析を容易にしている。

第1節 2,4-DNPH の赤外線吸収スペクトル
カルボニル、ケトン類の 2,4-DNPH は、指紋領域に、相当するアルデヒド、ケトンにもとづく吸収スペクトルが現われており、CH₂ の挙動は各化合物の同定に役立つことを 24 種類のアルデヒド、ケトンについて Ross⁴⁹⁾ が詳細に報告している。

著者はこれらの化合物について変角振動だけではなく、伸縮振動も同定の手段として有効であると考え、4000cm⁻¹ から 400cm⁻¹ 領域の吸収帯について検討した。

2,4-DNPH は共通して 3300cm⁻¹ に芳香族 NH の伸縮振動による鋭い吸収、3100cm⁻¹、1620cm⁻¹、1590cm⁻¹、1500cm⁻¹ にフェニル基による吸収及び 1520cm⁻¹、1340cm⁻¹ に芳香族ニトロ基に帰属される吸収、さらに 833cm⁻¹ のベンゼン環の隣接 2H による吸収スペクトルが観察される。これらの吸収スペクトルのなかで 3000cm⁻¹~2800cm⁻¹ 領域の伸縮振動は化合物の CH₂ 鎮により吸収強度に相違がみられる。

脂肪族アルデヒド類の 2,4-DNPH では 2900cm⁻¹ as CH₃、2920cm⁻¹ as CH₂、2870~2850cm⁻¹ s CH₃、s CH₂ が現われてあり、これらの吸収帯のうち CH₃、CH₂ の逆対称伸縮振動の吸収強度は CH₂ 鎮の長さに対応して相対的に異なっており propyl isobutyl、isovaleraldehyde では as CH₃ の強度が強く、C₄ 以上の直鎖アルデヒドでは as CH₂ 強度が大きくなってくる。これらの伸縮振動の吸収強度は一つの単位について一定であり、メチレン基では 1 個あたり分子吸光係数は as CH₂ で 75、s CH₂ で 45 とされており、メチル基の場合も同様なことがいえる。このように、吸収強度とメチル、メチレン基数との間には鎖長の短い範囲では比例関係があり、Francis らにより関係式が提出されている。⁵⁰⁾ C₂~C₆ アルデヒドの 2,4-DNPH の CH₃、CH₂ 強度も Fig. 4 に示すように炭素数との間に相関がある。

1620cm⁻¹ から 1100cm⁻¹ の領域に現われる吸収帯は主にベンゼン核、ニトロ基などに帰属される吸収であり、相当するカルボニル化合物の確認には役立たない。1100cm⁻¹ から 400cm⁻¹ 領域にはベンゼン核の置換による CH の面外変角振動と、相当するアルデヒドのメチレンの変角振動が主なものであり、通常 C₄ 以上のメチレン鎖の CH₂ に相当する 720cm⁻¹ の位置に、アセトアルデヒド、プロピルアルデヒドでも顕著に吸収が現われていることから、この吸収帯で CH₂ 鎮長を推定することはできない。しかし、Fig. 5 に示すように指紋領域における吸収スペクトルは各アルデヒドの 2,4-DNPH を明瞭に区別できる。

芳香族アルデヒド、フランアルデヒドの 2,4-DNPH では Fig. 6 に示すように 3000cm⁻¹~2800cm⁻¹ の CH 伸縮振動の強度は弱く脂肪族アルデヒドと著しく異なっている。

芳香族アルデヒド、フルフラール、不飽和脂肪族アルデヒドの指紋領域における吸収スペクトルを Fig. 7 に示す。クロトンアルデヒドは 980cm⁻¹ にトランス CH=CH

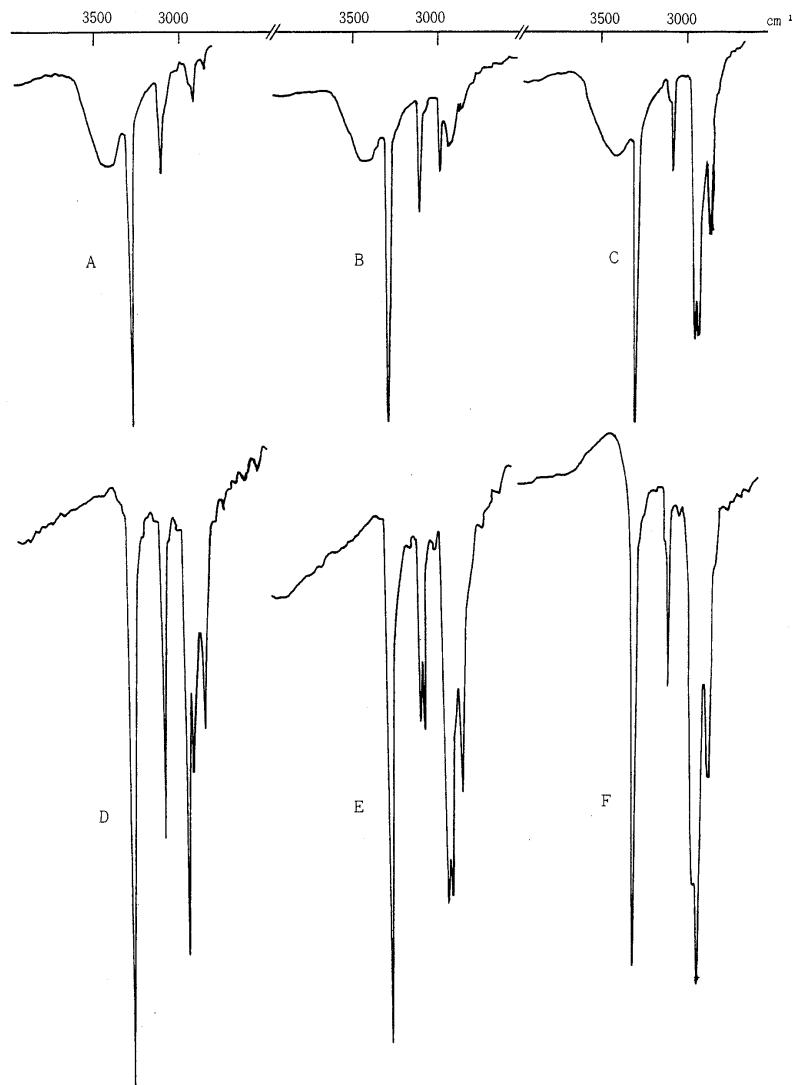


Fig.4 Infrared spectra of 2,4 - DNPHs of aliphatic aldehyde

A: Acetaldehyde, B: Propylaldehyde, C: n - Valeraldehyde ,

D: Isobutylaldehyde, E: Isovaleraldehyde, F: Capronaldehyde

の CH による吸収が現われている。p - アニスアルデヒド, o - バニリンでは 840cm^{-1} の吸収が顕著であり, o - バニリンの 1060cm^{-1} の吸収は C - O に帰属されるものであろう。フルフラールでは 900cm^{-1} 付近の一連の吸収がフラン環に特徴的であるがフルフラール誘導体で

ではこの吸収はそれほど明瞭ではない。

このように単離された 2 , 4 - DNPH は CH 变角振動などの吸収スペクトル及び吸収強度から相当するアルデヒドを推定できることを知った。

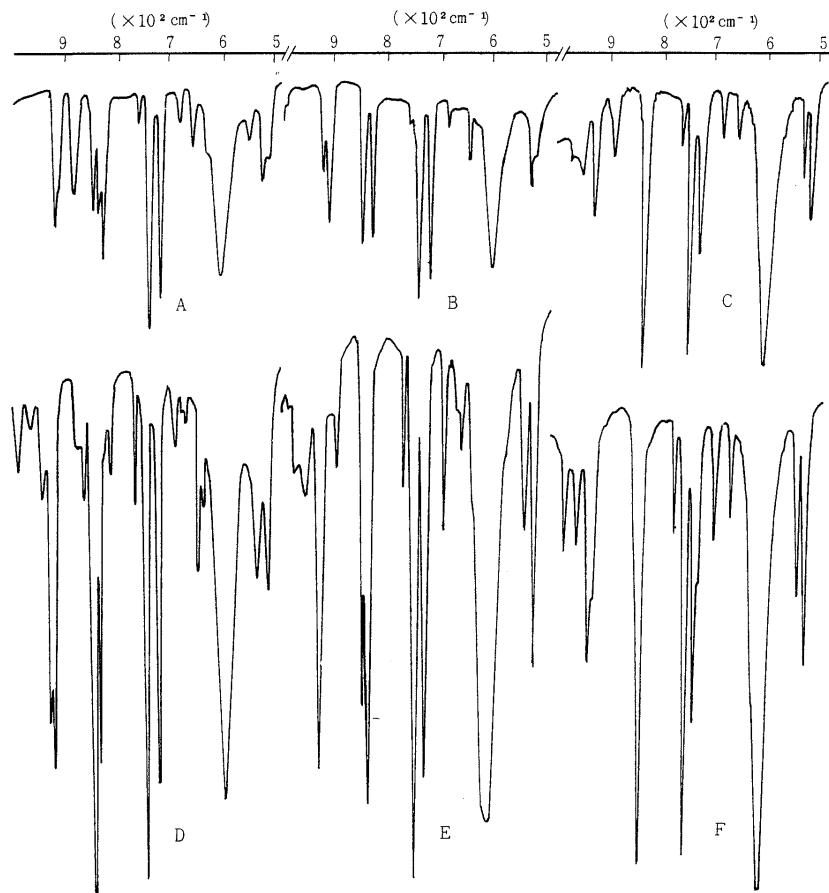


Fig.5 Infrared spectra of 2,4 - DNPHs of aliphatic aldehydes

A: Acetaldehyde, B: Propylaldehyde, C: n - Valeraldehyde ,

D: Isobutylaldehyde, E: Isovaleraldehyde, F: Capronaldehyde

第2節 2 , 4 - DNPH の NMR スペクトル

脂肪族アルデヒドの NMR スペクトルでは , カルボニル酸素の強い電気陰性度のために - CHO のプロトンは低磁場へシフトし , 9.4 ~ 10.5 ppm に現われる。芳香族アルデヒドも類似した化学シフトを示し , 9.7 ~ 10.5 ppm に単一シグナルが現われる。⁵¹⁾ところが , アルデヒドの 2 , 4 - DNPH では - N = CH - のプロトンは N 原子の電気陰性度もそれほど強くないため 7.6 ppm 付近に現われる。すなわち , アセトアルデヒド誘導体では 2.15 ppm にメチルプロトンの二重線がみられ , - N = CH - のメチンプロトンは 7.55 ppm に四重線として現われてあり , その結合定数は 6 cps である。7.9 ~ 9.1 ppm の数本のプロトンシグナルはベンゼン核のプロトンによる

ものであり , 7.9 ppm ($J_{AB} = 12$ cps) と 8.3 ppm ($J_{AB} = 12$ cps) はカップリングしており , それぞれベンゼン核の 5 , 6 位のプロトンである。9.05 ppm のプロトンは 2 個のニトロ基にはさまれているベンゼン核の 3 位プロトンであり , 5 位のプロトンとカップリングして 2 本にスプリットしている ($J_{AB} = 3$ cps)。ベンゼン核上のこれらのプロトンの化学シフトはアルデヒドの種類によって変化しない。プロピルアルデヒド誘導体では Fig. 8 に示すように等価なメチル基プロトンの三重線が 1.2 ppm にあり , 通常の CH_3 の化学シフトよりも低磁場へシフトしている。2.5 ppm の - CH_2 のプロトンは隣接した CH_3 , - CH により多重線を与えるがスピン結合定数は 7 cps となっている。

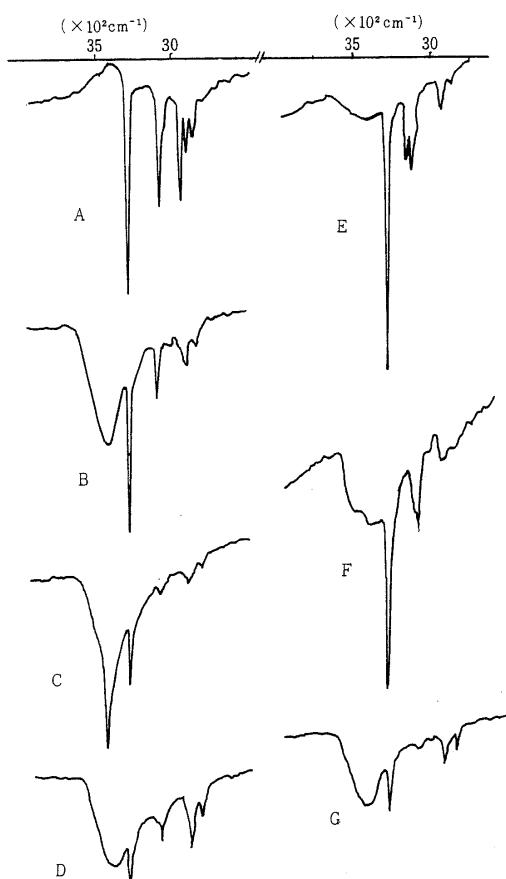


Fig. 6 Infrared spectra of 2,4 - - DNPHs

A: Methyl ethyl ketone, B: Crotonaldehyde, C: o - Vaniline, D: 2 - Acetyl - furan, E: 5 - Hydroxymethylfurfural F: Furfural, G: p - Anisaldehyde

C_4 以上の直鎖脂肪族アルデヒドでは $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ のプロトンシグナルは複雑な多重線を与えることになるが, CH_3-CH_2- プロトンは 0.9 ppm, $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ プロトンは 1.5 ppm 付近に多重線として現われ, N 原子に近い $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ プロトンは 2.45 ppm, $-\text{N}=\text{CH}-$ プロトンは 7.6 ppm に三重線として現われる。Fig. 9 にカブロンアルデヒドの 2,4 - - DNPH の NMR スペクトルを示す。

分枝アルデヒドの誘導体でも $\text{C}-\text{C}-\text{C}$ 軸での自由回転が起りうるので 2 個の CH_3 プロトンは等価となり 2 本のシグナルを与える。イソブチルアルデヒド誘導体では分枝 CH_3 のプロトンは 1.18 ppm に二重線として, 分枝炭素上の $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ プロトンは 2.7 ppm に多重線として現われる。また, $-\text{N}=\text{CH}-$ プロトンは分枝炭素の $\text{CH}-$ と

カップルして 2 本のシグナルを与える。 $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ 鎖をもつ分枝アルデヒド誘導体では 1.5 ppm 付近に $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ によるプロトンが現われ, $\text{N}=\text{CH}-$ プロトンが三重線として現われる。

このようにアルデヒドの 2,4 - - DNPH の NMR スペクトルは, 相当するアルデヒドの NMR スペクトルをよく反映しており, その化学シフトから容易にアルデヒド類を同定できる。とくにイソ型アルデヒドの確認には, NMR スペクトルが最も有効な手段となる。

第3節 2,4 - - DNPH のマススペクトル

マススペクトルによる分析は NMR 法に比較して微量の試料でよく, しかも 2 成分程度の混合物でも分子イオンピークから化合物の確認が可能である。ここでは, 標準アルデヒドを用いて調製した 2,4 - - DNPH を直接ガラス導入装置により測定したマススペクトルを解析し, 2,4 - - DNPH 確認のための基礎実験を行なった。

一般にアルデヒドのマススペクトルは脂肪族化合物では, カルボニル酸素の非結合性電子が脱離することによって起こる分子イオンと, 続いて起こる C - C の又は結合の開裂によって特徴づけられている。⁵²⁾ 芳香族化合物では脱水素による M - 1 イオンが特徴的である以外はフェニル化合物に共通した開裂様式に従うためそれほど顕著な特徴はみられない。フランアルデヒド類も芳香族アルデヒドと類似したイオンピークが現われる。これらのカルボニル化合物の 2,4 - - DNPH は低い蒸気圧にもかかわらず明瞭なマススペクトルを与える。

アセトアルデヒドでは Fig. 10 に示すように 2,4 - - DNPH の分子イオン $m/e 224$ (M^+) のピークが観察され, その相対強度は基準ピークの約 95% である。

ニトロ基を有する化合物に特徴的な $\text{M}^+-\text{O}-\text{M}^+-\text{NO}$, M^+-NO_2 などのイオンピークはそれほど顕著でない。 $m/e 180$, $m/e 152$, $m/e 122$ などの偶数イオンは分子イオンから脱酸素後, 対応するアルデヒド部分が開裂して順次脱 NO により生じたイオンと考えられる。アセトアルデヒドでは $m/e 79$ が基準ピークとなっている。

プロピルアルデヒドの場合も同様なマススペクトルを与える。Fig. 11 に示すように, 分子イオン $m/e 238$ (M^+) が基準ピークとなっており $m/e 180$, $m/e 152$, $m/e 122$, $m/e 79$ などのアセトアルデヒドの開裂に共通した偶数イオンピークが観察される。

これらの各イオンピークはニトロ基を含むベンゼン核に由来していることが精密質量分析によるエレメントテーブルの結果から明らかにできる。すなわち, Fig. 12 に示すように $m/e 180$ は $\text{C}_6\text{H}_4\text{N}_4\text{O}_3$ によるイオンであり, これは 2,4 - - DNPH の $-\text{N}=\text{C}-$ 結合が開裂して生成

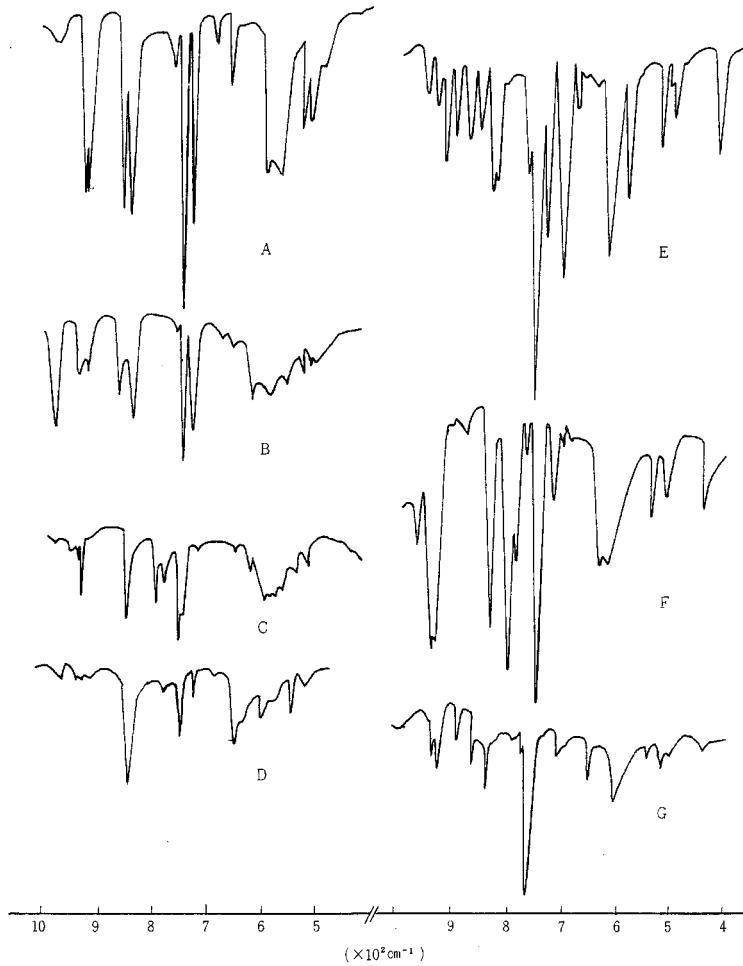


Fig.7 Infrared spectra of 2,4 - DNPHs

A: Methylethylketone, B: Crotonaldehyde, C: o - Vaniline ,
 D: p - Anisaldehyde, E: Furfural, F: 5 - Hydroxymethylfurfural ,
 G: 2 - Acetyl furan

したイオンである。この開裂は準安定イオン m/e 136.1 の存在からも説明できる。

C_6 までの直鎖の飽和脂肪族アルデヒドでは Fig.13 に示すようにいずれも類似した開裂イオンを示している。 C_4 以上のものでは 位の水素転移による開裂イオンから、さらに脱水された安定なイオン m/e 206 の生成が特徴的である。^{53), 54), 55)} このように $N = C$ 結合の開裂によって生成したアルキルラジカルのフラグメントピークが相当するアルデヒドの炭素数に対応して観察されるので

こ

れらの開裂イオンと分子イオンピークから容易にもとのアルデヒドを確認できる。

分枝脂肪族アルデヒドでは直鎖脂肪族アルデヒドの場合と類似した開裂パターンを示すが、分枝炭素での単純開裂による m/e 43 が顕著である。すなわち、Fig.14 に示すようにイソブチルアルデヒドでは m/e 43 の強度は基準ピークの約 80% となっている。しかし、イソバニルアルデヒドでは m/e 43 はそれほど顕著でなく、n - バニルアルデヒドのマススペクトルとの間に明瞭な区別はない。

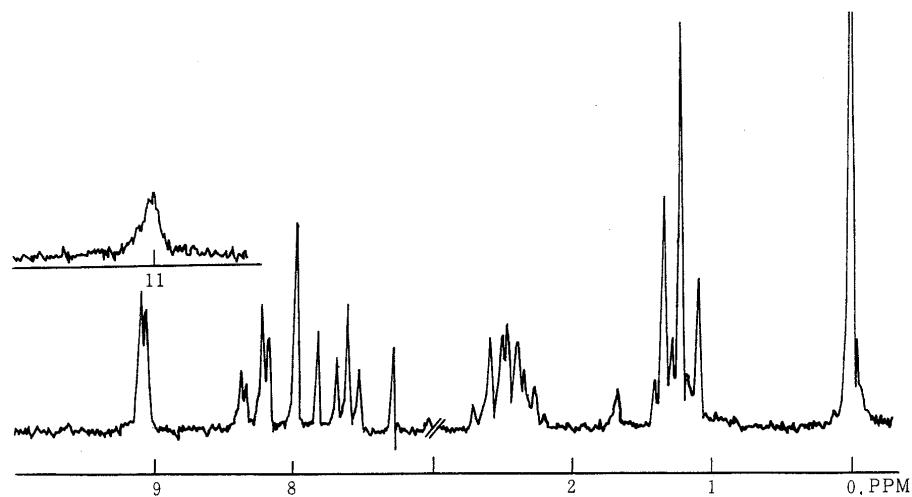


Fig.8 NMR spectrum of 2,4 - DNPH of propylaldehyde

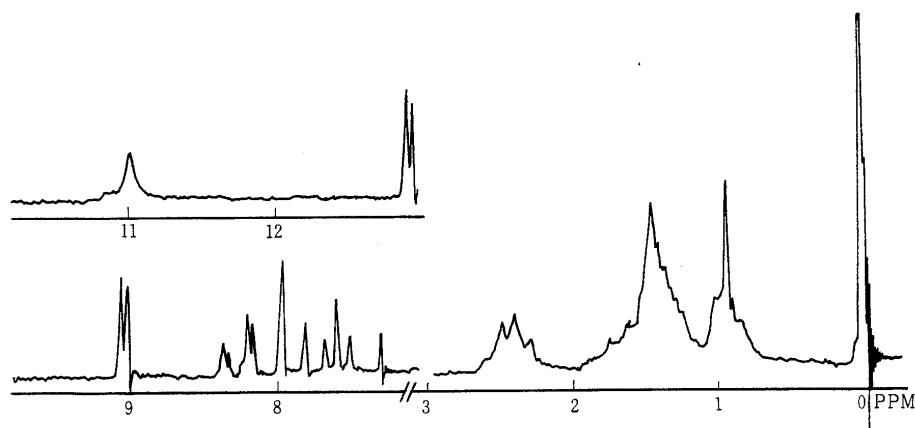


Fig.9 NMR spectrum of 2,4 - DNPH of capronaldehyde

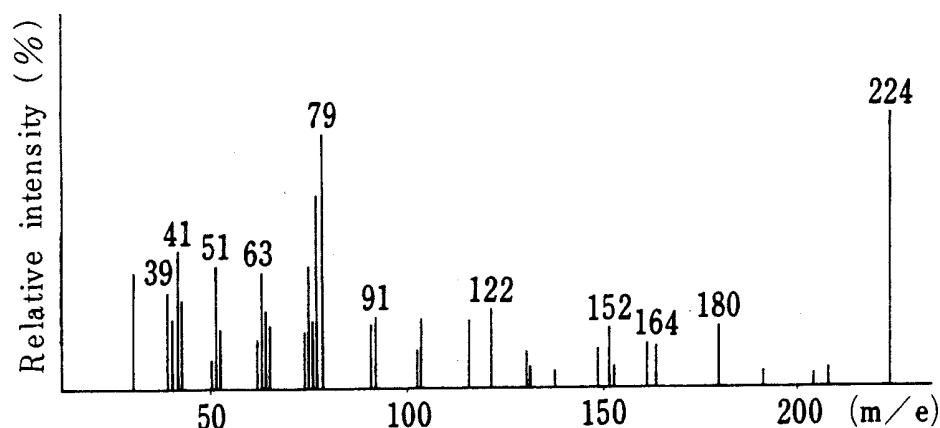


Fig.10 Mass spectrum of acetaldehyde - 2,4 - DNPH

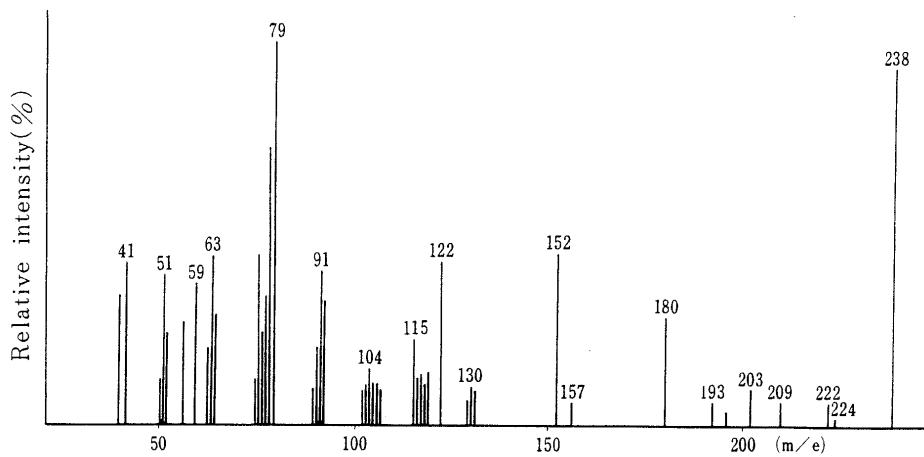


Fig.11 Mass spectrum of propylaldehyde - 2,4 - DNPH

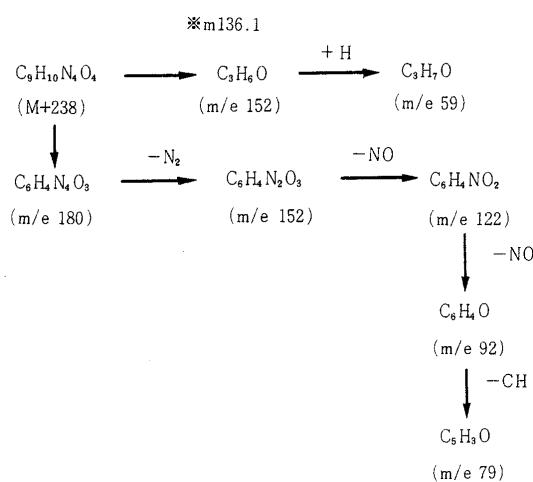


Fig.12 Scheme of fragmentation of propylaldehyde - 2,4 - DNPH

したがって、マススペクトルからイソ型化合物の確認は困難である。

イソバレルアルデヒドの 2,4 - DNPH は m/e 206 が基準ピークであり、その開裂様式は精密質量分析によるエレメントテーブルから Fig.15 に示す経路を考えた。

m/e 250 は分子イオンから脱水素されたイオンであり、これはさらに C_5H_{10} を脱離して $\text{C}_6\text{H}_4\text{N}_4\text{O}_3$ (m/e 180) を生成し、次いで N_2 2NO が脱離して $\text{C}_6\text{H}_4\text{O}$ (m/e 92) を生成する。m/e 206 は基準ピークとなり、精密質量分析の結果は $\text{C}_8\text{H}_8\text{N}_4\text{O}_3$ 支持している。このイオンは分子イオンから C_3H_7 が脱離する McLafferty 転位による

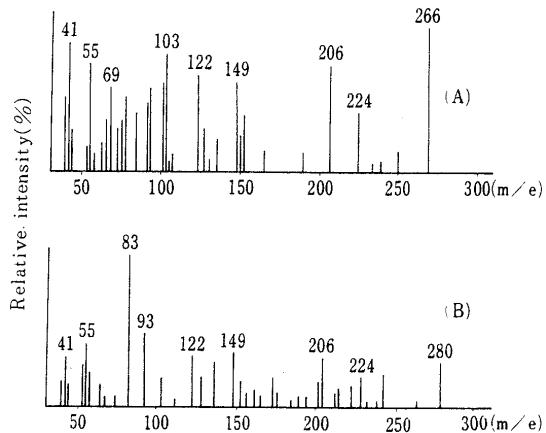


Fig.13 Mass spectra of valeraldehyde and capronaldehyde - 2,4 - DNPHs

(A) : Valeraldehyde - 2,4 - DNPH

(B) : Capronaldehyde - 2,4 - DNPH

開裂イオン $\text{C}_8\text{H}_8\text{N}_4\text{O}_4$ から脱水されて生成した安定なイオンと考えられ、準安定イオン m/e 190.2 もこの開裂を示唆している。しかし、イソブチルアルデヒドでは、位に水素がないためこの開裂は起っていない。

芳香族アルデヒド類の 2,4 - DNPH では二トロ基を含む芳香環のフラグメントーションのほかに、相当する芳香族アルデヒドの芳香環に由来する開裂イオンが観察される。すなわち、フェニルアセトアルデヒドでは、開裂によるトロピリウムカチオン m/e 91 が基準ピークとなっており、このイオンから生じたシクロペンタジェニルイオン m/e 65 及び、結合の開裂に対応したフェニルカチ

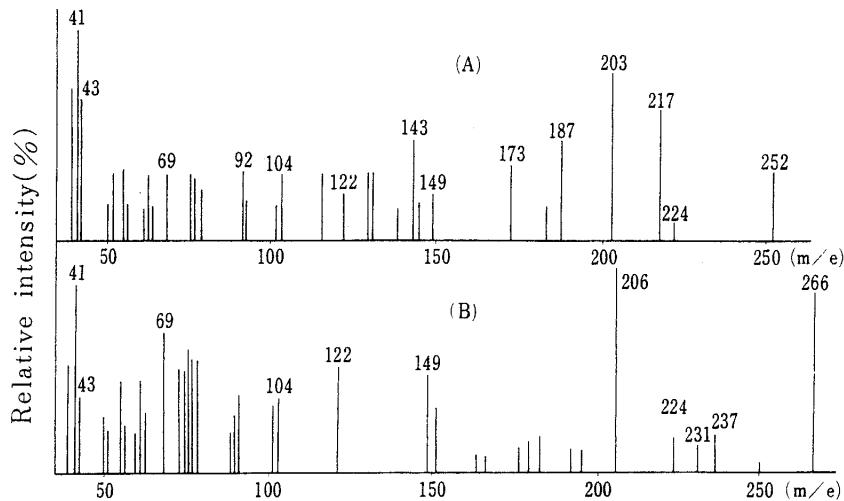


Fig.14 Mass spectra of branched aldehyde - 2,4 - DNPHs
 (A) : Isobutylaldehyde - 2,4 - DNPH (B) : Isovaleraldehyde - 2,4 - DNPH

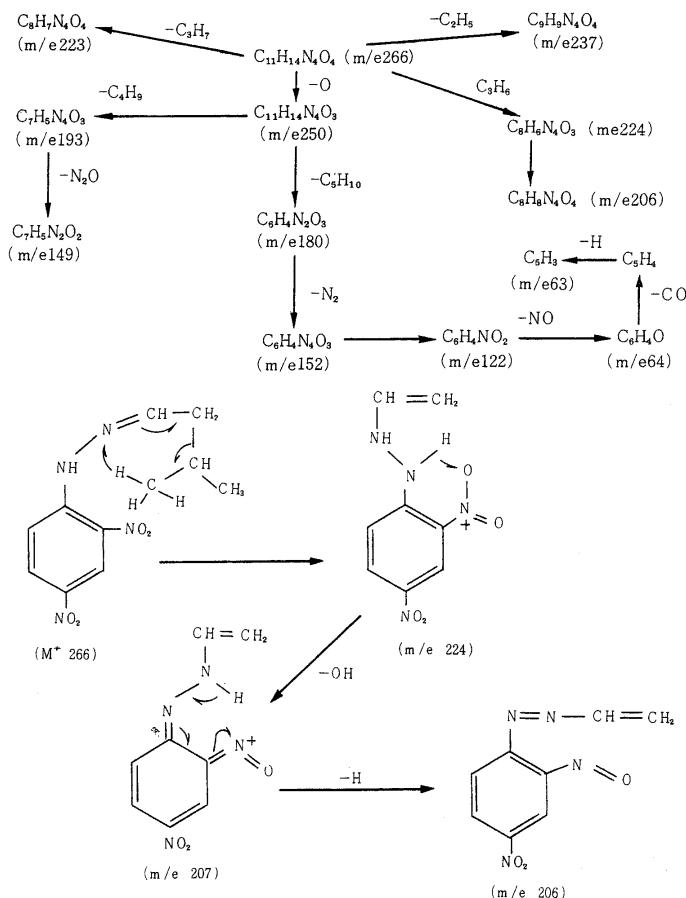


Fig.15 Scheme of fragmentation of isovaleraldehyde

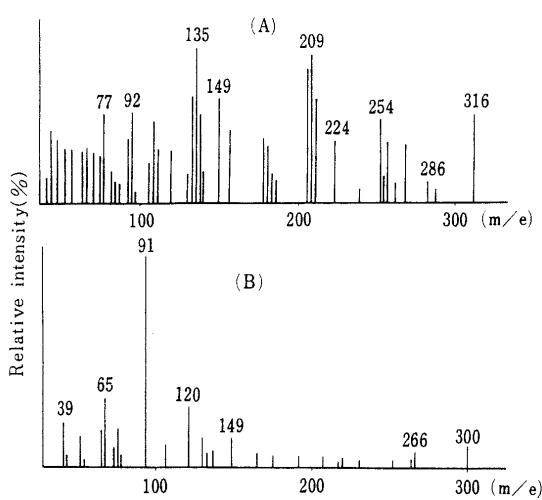


Fig.16 Mass spectra of 2,4 - DNPHs of aromatic aldehyde
 (A): Anisaldehyde - 2,4 - DNPH
 (B): Phenylacetaldehyde - 2,4 - DNPH

オン m/e 77, m/e 51 などが特徴ピークとして観察される。アニスアルデヒドの場合は m/e 135 が基準ピークであり分子イオンの相対強度は基準ピークの約 70%となっている。 m/e 77 の存在は芳香族アルデヒドを示している。Fig.16 にこれらの化合物のマススペクトルを示す。

- N = C - 結合がベンゼン環と共に役している化合物では C = N 結合の安定化のため - N - N = 結合の開裂が容易に起こる。このことは、アニスアルデヒドの場合に m/e 134, o - バニリンの場合に m/e 150 が顕著に観察されることから類推される。

Fig.17 に示すように精密質量分析によるとオルト位に置換基 OH をもつ o - バニリンでは OH が放出された m/e 315 が観察される。

m/e 152 ($C_6H_6N_3O_2$), m/e 153 ($C_6H_7N_3O_2$) は - N - N 結合の開裂による生成イオンと推定されるが、その開裂様式は明らかでない。 m/e 149 は $C_6H_5N_4O$ であり、このイオンは - N = C 結合の開裂イオンと考えられる。芳香族アルデヒドの場合も強い分子イオンピークが観察されるので開裂イオンを解析することにより相当するアル

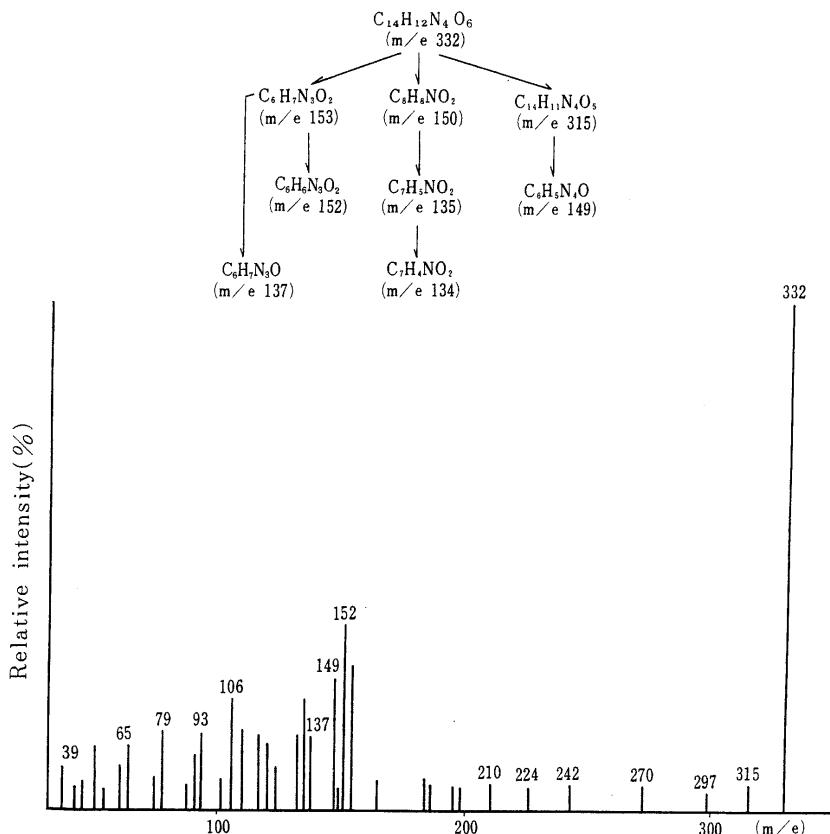


Fig.17 Mass spectrum of 2,4 - DNPH of - vaniline

デヒドの確認ができる。

フラン化合物は安定な芳香環を形成しているため分子イオンピークが顕著に観察される。フルフラールの2,4-DNPHでは分子イオン m/e 276 が基準ピークとなり、 m/e 97, m/e 95 が顕著である。これらのイオンピークはN-N結合の開裂による再配列イオンと考えられ、2-アセチルフランの場合も同様な開裂パターンを示している。フラン環に置換基を有しない化合物ではフラン環の開裂によって生成するシクロプロロペニル陽イオン m/e 39, m/e 29 が観察されるが、5-メチルフルフラールでは m/e 43 が顕著に観察される。これらのマススペクトルは Fig.18 に示す。

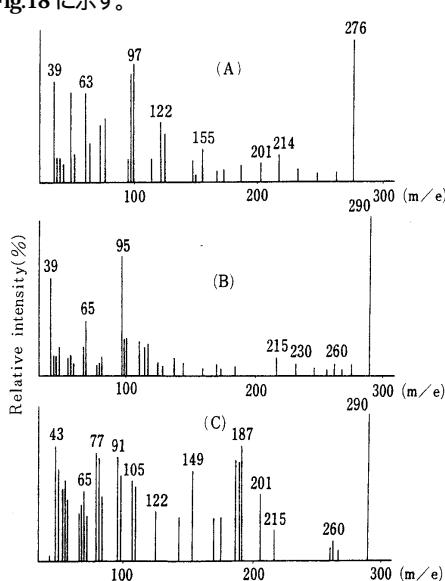


Fig.18 Mass spectra of 2,4 - DNPHs of furfural derivatives
(A): Furfural - 2,4 - DNPH ,
(B): 2 - Furfurylmethylketone - 2,4 - DNPH ,
(C): 5 - Methylfurfural - 2,4 - DNPH

5-ヒドロキシメチルフルフラールの場合は異なった開裂をしている。Fig.19 に示すように分子イオン m/e 306 は基準ピーク m/e 121 の約 30% の相対強度である。 m/e 288 は分子イオンから脱水されて生じたオキソニウムカチオンであり、この脱水機構は準安定イオン m/e 271 からも説明できる。この m/e 288 はジニトロベンゼン ($C_6H_3N_2O_4$) を放出して m/e 121 ($C_6H_5N_2O$) を生成する。この m/e 121 は基準ピークとなっているが、これはフラン環との共役により安定化されているためと考える。

m/e 288 m/e 121 の開裂は準安定イオン m/e 50.8 からも説明できる。

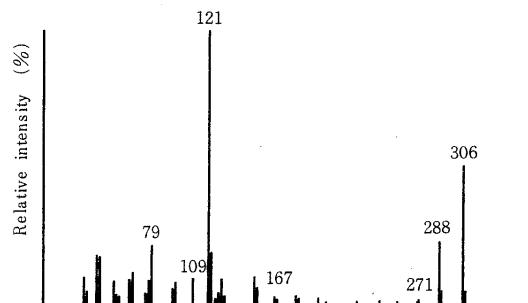
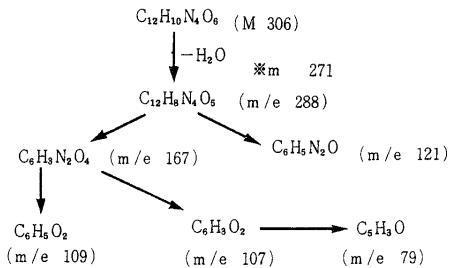


Fig.19 Mass spectrum of
5 - hydroxy methylfurfural
- 2,4 - DNPH

第4章 泥炭くん蒸麦芽の揮発性カルボニル化合物の分離確認

第1節 薄層クロマトグラフィー (TLC) による分離
泥炭くん蒸麦芽を水蒸気蒸留しヘッドスペースに含まれるカルボニル化合物を2,4-DNP 塩酸溶液に吸収させて2,4-DNPHとして捕集した。ヘッドスペースの香気は甘いカラメル様の芳香をもっているが、2,4-DNPHとして捕集するところの芳香は消失し、わずかに硫化物臭が残ることから水蒸気蒸留によって生成するヘッドスペースの香気はカルボニル化合物が主要成分であることがわかる。

蒸留液中に溶存しているカルボニル化合物は、留出液に塩酸を加えて最終濃度を2規定とし、これに2,4-DNP 塩酸溶液を加え、約12時間室温に放置後、生成した沈殿をろ過によって集め2,4-DNPHとして捕集した。

この二つの画分の2,4-DNPHをクロロホルムに溶かし、TLCで分離した。Fig.20, Fig.21にクロマトグラム及びデンシトグラムを示す。

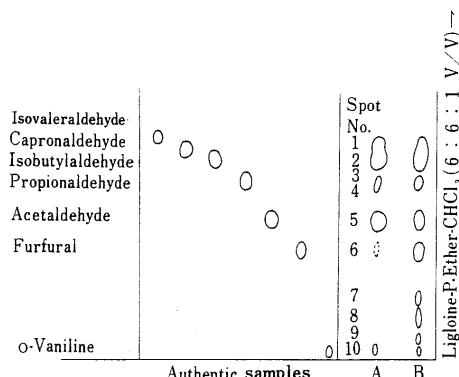


Fig.20 TLC chromatograms of 2,4 - DNPHs obtained from malt distillate
A : In head space fraction
B : In distillate fraction

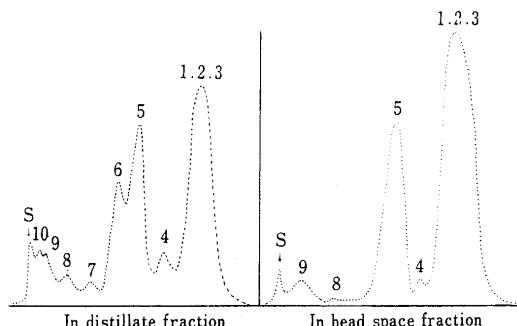


Fig.21 Densitograms of 2,4 - DNPHs obtained from malt distillate

ヘッドスペースから 5 個 , 留出液中から 8 個のスポットが検出される。このうち , スポット 1 , 2 及び 5 が多量成分である。スポット 6 , 7 , 8 はヘッドスペースでは微量成分である。スポット 1 , 2 , 3 はアルカリ処理により \max は深色移動する。スポット 6 の \max は 364nm であり , アルカリ処理により 430nm にシフトし , フルフラールの 2 , 4 - DNPH と類似した挙動を示す。スポット 10 はアルカリ処理で紫青色を呈することからジケトンと考える。スポット 1 , 2 , 3 の部分を掻き取りクロロホルムで抽出したもののマススペクトルは m/e 252 , 266 , 280 に分子イオンによるピークが観察されることから C_3 , C_4 , C_5 などの脂肪族アルデヒドの 2 , 4 - DNPH 混合物と考えられる。 C_3 以上の脂肪族アルデヒドの 2 , 4 - DNPH は TLC で完全に分別することはできなかった。

第2節 液体クロマトグラフィー (LC) による分離

蒸留液から捕集した 2 , 4 - DNPH を少量のクロロ

ホルムに溶かし , 内径 2 cm , 長さ 70cm のシリカゲルカラムを用い , クロロホルムを溶出剤として 100ml ずつ分取して分画した。

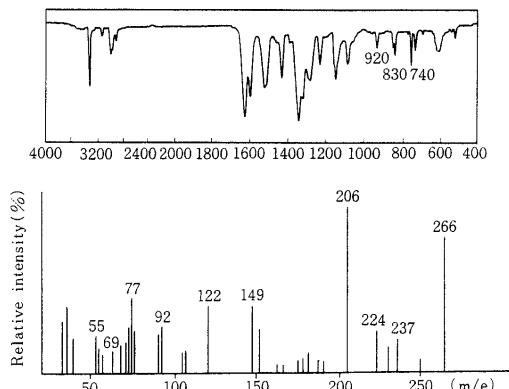


Fig.22 IR and Mass spectra of fraction 1

Fig.22 に示すように Fraction 1 は , 2950cm^{-1} CH_3 , 1380cm^{-1} CH_3 及び 1000cm^{-1} 以下の吸収帯 , さらに分子イオン m/e 266 から C_5 アルデヒドに対応している。マススペクトルはイソバレルアルデヒドのものとよく類似している。

Fraction 2 の赤外線吸収スペクトルは , 2920cm^{-1} CH_2 が CH_3 の強度よりも強く , 1000cm^{-1} から 900cm^{-1} の 4 本の吸収帯 , 700cm^{-1} から 600cm^{-1} の 2 本の吸収帯から n - カプロンアルデヒドが推定される。また , 分子イオン m/e 280 , m/e 83 の開裂ピークから対応するアルデヒドの炭素数は C_6 である。 m/e 251 (M - 29) , m/e 43 の相対強度から Fraction 2 は , n - カプロンアルデヒドに相当するものと認めた。Fig.23 にスペクトルを示す。

Fraction 3 はクロロホルム溶液中で 361nm に \max を

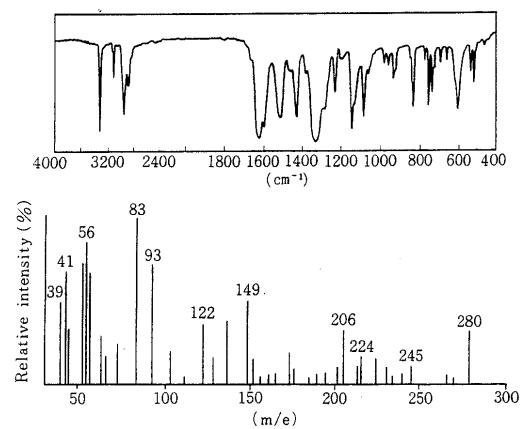


Fig.23 IR and Mass spectra of fraction 2

示し、アルカリ処理で 420nm にシフトする。1000cm⁻¹ 以下の吸収帯はイソブチルアルデヒドと対応しており、分子イオン m/e 252 から C₄ アルデヒドの 2, 4 - DNPH が考えられる。NMR スペクトルは 1.2ppm に分枝メチルの二重線が現われている。2.7ppm の多重線は分枝炭素の >CH - プロトンであり、このプロトンは 7.6ppm の N=CH - プロトンとカップルしている (J=6cps)。マススペクトルは Fig.24 に示すように m/e 43 が顕著であり、M-29 のピークがほとんど現われていない。これらの結果は Fraction 3 がイソブチルアルデヒドに相当することを示している。

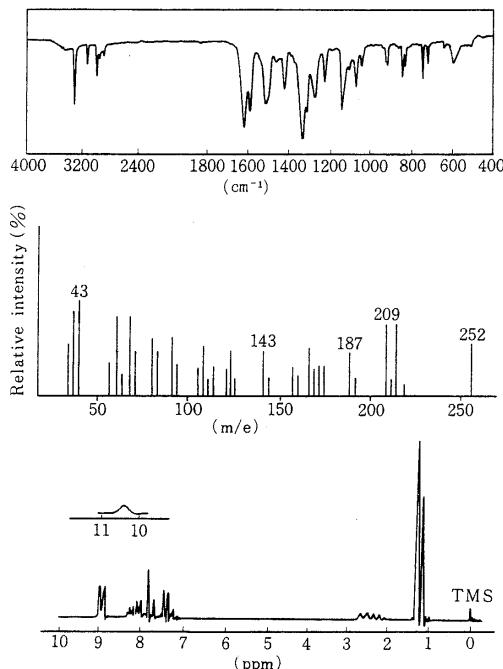


Fig.24 IR, Mass and NMR spectra of fraction 3

Fraction 4 は分子イオンピーク m/e 238 から対応するアルデヒドの炭素数は C₃ であり、NMR スペクトルは 1.3ppm に CH₃ プロトンの三重線、2.5ppm に CH₂ の多重線、7.5ppm に N=CH プロトンの三重線を示すことから n - プロピルアルデヒドの 2, 4 - DNPH と確認した。

Fraction 5 はクロロホルム溶液中で 358nm に max があり、アルカリ処理により 420nm にシフトする。マススペクトルから分子イオン m/e 224 が観察され、アセトアルデヒドが考えられる。850cm⁻¹ の吸収もアセトアルデヒドの 2, 4 - DNPH の型結晶バンドに一致している。また、2.2ppm のメチルプロトンの二重線と

7.6ppm の N=CH - プロトンの四重線からもこの画分がアセトアルデヒドに相当することを支持している。

Fraction 6 は 1100cm⁻¹ から 800cm⁻¹ の領域に特徴的な吸収帯が現われており、この吸収帯はフルフラールの 2, 4 - DNPH のものと一致している。マススペクトルでは m/e 276 に分子イオンが観察され、m/e 95, m/e 63, m/e 39 などの開裂イオンはこの画分がフルフラールに相当することを示している。Fig.25 に Fraction 4, 5, 6 の赤外線吸収スペクトルを示す。

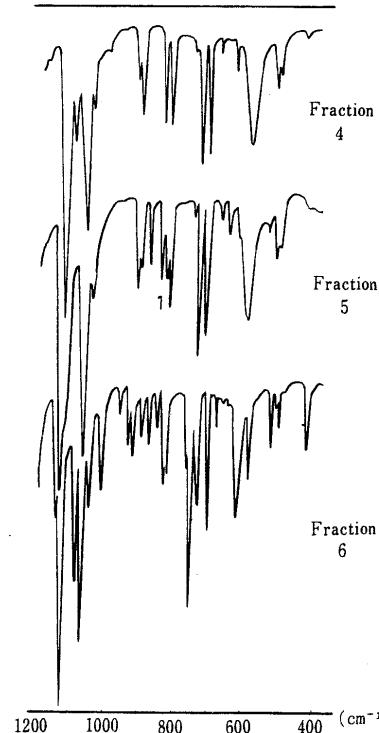


Fig.25 IR spectra of fraction 4, 5, 6

Fraction 7 は微量成分である。クロロホルム溶液中で 385nm に max があり、アルカリ処理により 500nm に max が移動することからこの画分はジアセチルの 2, 4 - DNPH と推定した。

第3節 GC - Mass による分離確認

直接ガラス導入装置による質量分析は単離した化合物を対称とするが、¹立松ら⁵⁶⁾はアルカロイド類の混合物を直接ガラス導入装置によりマススペクトルを測定し、混合物の分子イオンピークから化合物の確認と定量分析を試みている。しかし、多数の成分を色々な割合で含む試料、あるいは異性体混合物では、混合スペクトルの解析は困難である。したがって混合試料の分析ではあらか

じめ TLC, LC などにより分別しなければならない。この分取操作は長時間を要し,かつ多量の試料を必要とするなどの難点がある。これに対して, GC - Mass 法は、微量試料をあらかじめ分取することなしに直接分離同定できる分析法である。

Ralls⁵⁷⁾及びStephens⁵⁸⁾は 2, 4 - DNPH を - ケト酸と共に熱分解し,再生したカルボニル化合物を直接ガスクロマトグラフィーで分離し,ピークの保持時間から化合物を同定する方法により多数の飽和脂肪族化合物を確認している。⁵⁹⁾山西ら⁶⁰⁾もゴマ油香氣のカルボニル化合物を Girard T 試薬により分別し,再生 GC 法により多数のカルボニル化合物を同定している。このような酸性物質との接触分解反応によるカルボニル化合物再生法は GC と直結した熱分解装置が必要であり,比較的多量の試料を必要とするなどの欠点がある。

Soukoup ら⁶¹⁾はカラム温度 200 ~ 250 の条件で 2, 4 - DNPH を直接 GC に注入することによって数種のアルデヒド類及びケトン類を分離している。清水ら⁶²⁾も数種のカルボニル化合物の 2, 4 - DNPH について GC による分離条件を検討し,同族体では炭素数と保持時間の対数との間に直接関係があることを明らかにし,この方法を焙焼でん粉のカルボニル化合物の分離確認に応用している。⁶³⁾さらに Kallio ら⁶⁴⁾は 2, 4 - DNPH の微量分析化について検討し,GC の検知器に ECD を用いると FID の 500 倍も感度が増すと報告している。このような GC による 2, 4 - DNPH の直接分析は食品中の微量カルボニル化合物の迅速分析に有効な手段であるが,GC で分離した各ピークの確認は標準添加法又は保持時間などから化合物の種類を決定する必要があり,未知試料の混合物では個々の成分を確認するのに多大の労力を必要とする。

質量分析計は化合物の分子量及び分子構造を確認するのに有効であり,さらに GC と直結した Mass は微量の揮発性化合物の分離確認に不可欠なものである。

Halvarson⁶⁵⁾は発酵ソーセージのカルボニル化合物の 2, 4 - DNPH を再生 GC 法で遊離させたカルボニル化合物を直接 GC - Mass により分析し,15 種類の化合物を同定している。

しかし,カルボニル化合物を 2, 4 - DNPH のまゝで GC - Mass を用いて分離同定した報告はない。著者は OV - 101 をカラム充てん剤として GC - Mass により 2, 4 - DNPH を分離同定できることを明らかにした。

2, 4 - DNPH の GC 分離に SF - 96 が用いられている。ところが,この液相は GC - Mass の充てん剤としてはバックグラウンドの影響が強く現われるため好まし

くない。DEXSIL - 300GC, OV - 101, OV - 1 などの低濃度(3%)を液相とした場合,2, 4 - DNPH の相互分離はよく,SF - 96 と変わらない分離能を示す。OV - 101(2%),カラム温度 190 ~ 300, 5 / min の条件で分離したときのガスクロマトグラムを Fig.26 に示す。

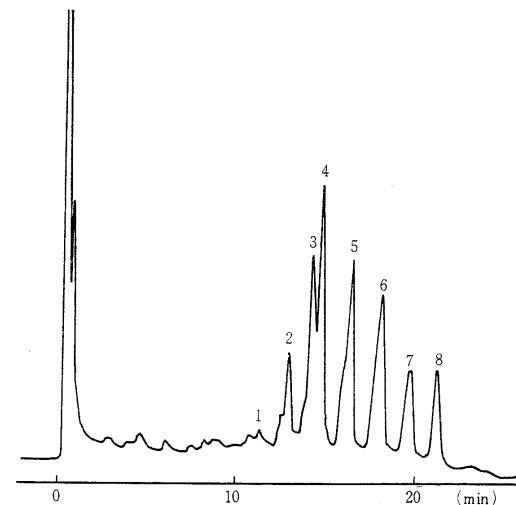


Fig.26 Gas chromatogram of 2,4 - DNPHs of aliphatic aldehyde

Column: OV - 101(2%),
glass column, 2 m, column temperature: 190 ~ 300, 5 / min. programing, FID, He, 60 ml / min.
Peak 1. n - propylaldehyde, peak 2. n - butylaldehyde,
peak 3. isovaleraldehyde, peak 4. n - valeraldehyde,
peak 5. hexanal, peak 6. heptanal,
peak 7. octanal, peak 8. nonanal

ヘッドスペース及び蒸留液中の 2, 4 - DNPH のガスクロマトグラムは Fig.27, 28 に示す。ヘッドスペース画分からは 7 個のピークを検出し,その相対強度比はピーク 8 が 53.0% で主成分をなしており,ピーク 4(25.3%), ピーク 6(19.1%) などが主なものである。これに対して,留液中からは 12 個のピークが検出される。主成分はピーク 4 であり,相対強度比は 23.3% となっている。このほか,ピーク 8(22.7%), ピーク 6(13.2%) などが主な成分であり,さらに高沸点領域に数個の弱いピークが検出される。ヘッドスペースと留液中の 2, 4 - DNPH のガスクロマトグラムはよく類似している。

GC - Mass のイオンモニターによるクロマトグラムも GC の場合と同様なパターンを示す。これらの各ピー

クについて GC - Mass によりマススペクトルを測定した。

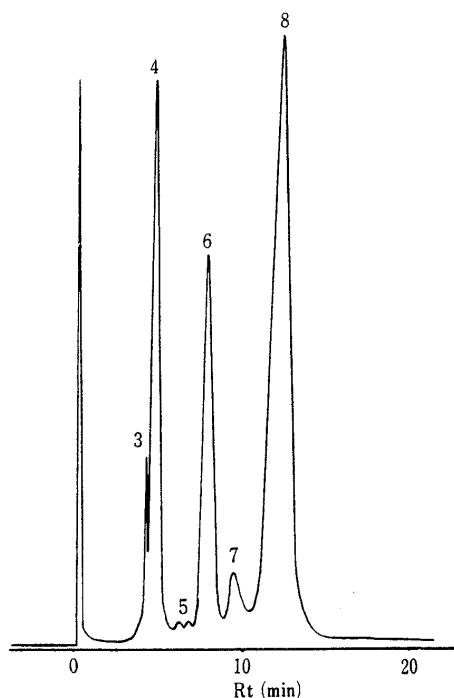


Fig. 27 Gas chromatogram of 2,4 - DNPH obtained from head space of malt distillate

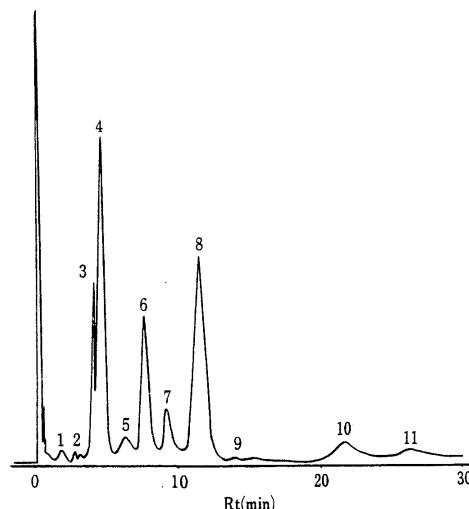


Fig. 28 Gas chromatogram of 2,4-DNPH obtained from distillate of malt

ピーク 1 は、 $m/e 210$ に分子イオンピークが観察され、 $m/e 188$ 、 $m/e 149$ 、 $m/e 122$ などの開裂イオンは 2, 4 - DNPH を示唆する。分子イオン $M^+ 210$ はホルムア

ルデヒドに相当する。この成分は TLC, LC による分離では確認できなかったものである。ピーク 2 は明瞭なマススペクトルを与えないもので同定できなかった。ピーク 3 とピーク 4 はともに分子イオン $m/e 224$ が観察され、相当するアルデヒドは C_2 化合物である。ピーク 3 では $m/e 153$ 、 $m/e 154$ 、 $m/e 183$ などが強い強度を示すのに対して、ピーク 4 ではこれらのピーク強度は弱く、 $m/e 152$ が強く観察される。このように、同一分子イオンを示す二つのピークはアセトアルデヒドの構造異性体によるものと考えられる。

ピーク 5 およびピーク 6 も分子イオン $m/e 252$ を示す。ピーク 5 のマススペクトルで $m/e 224$ 、 $m/e 238$ は C_2 、 C_3 化合物が混在していることを示すものであり、分子イオンの強度から考えると C_3 化合物の割合が高い。また、 $m/e 252$ は GC の保持時間からイソブチルアルデヒドによる分子イオンと認めた。ピーク 6 は分子イオン及び保持時間から n - ブチルアルデヒドと確認した。

ピーク 7 及び 8 の分子イオン $m/e 266$ に相当するアルデヒドは C_5 化合物である。GC の保持時間からピーク 7 はイソバレルアルデヒドであり、ピーク 8 は n - バレルレルアルデヒドと同定した。ピーク 8 では $m/e 237$ が顕著に観察される。このイオンピークは $M^+ - 29$ によるものであり、イソ型化合物では顕著でない。 C_5 以上の化合物では $M^+ - 29$ の強度からイソ型の区別が可能である。ピーク 10 とピーク 11 はともに分子イオン $m/e 280$ を示し、ピーク 11 では $m/e 251$ ($M^+ - 29$) が顕著に観察されることから、ピーク 10 をイソカプロンアルデヒド、ピーク 11 を n - カプロンアルデヒドと確認した。 C_6 化合物はヘッドスペース画分からは検出できなかった。

泥炭くん蒸麦芽の水蒸気蒸留物から 2,4 - DNPH として分離確認したカルボニル化合物は Table 4 に示す。

Table 4 Carbonyl compounds identified in distillate of peated malt

Carbonyl compounds detected	Method for identification
Capronaldehyde	GC - Mass, GC, TLC, UV
Isovaleraldehyde	GC - Mass, GC, IR, NMR, UV, TLC
n - Valeraldehyde	GC - Mass, GC
Isobutyl aldehyde	GC - Mass, GC, IR, NMR, UV, TLC
n - Butyl aldehyde	GC - Mass, GC
Propylaldehyde	GC - Mass, GC, IR, NMR, TLC, UV
Acetaldehyde	GC - Mass, GC, IR, NMR, TLC, UV
Formaldehyde	GC - Mass
Furfural	IR, TLC, UV

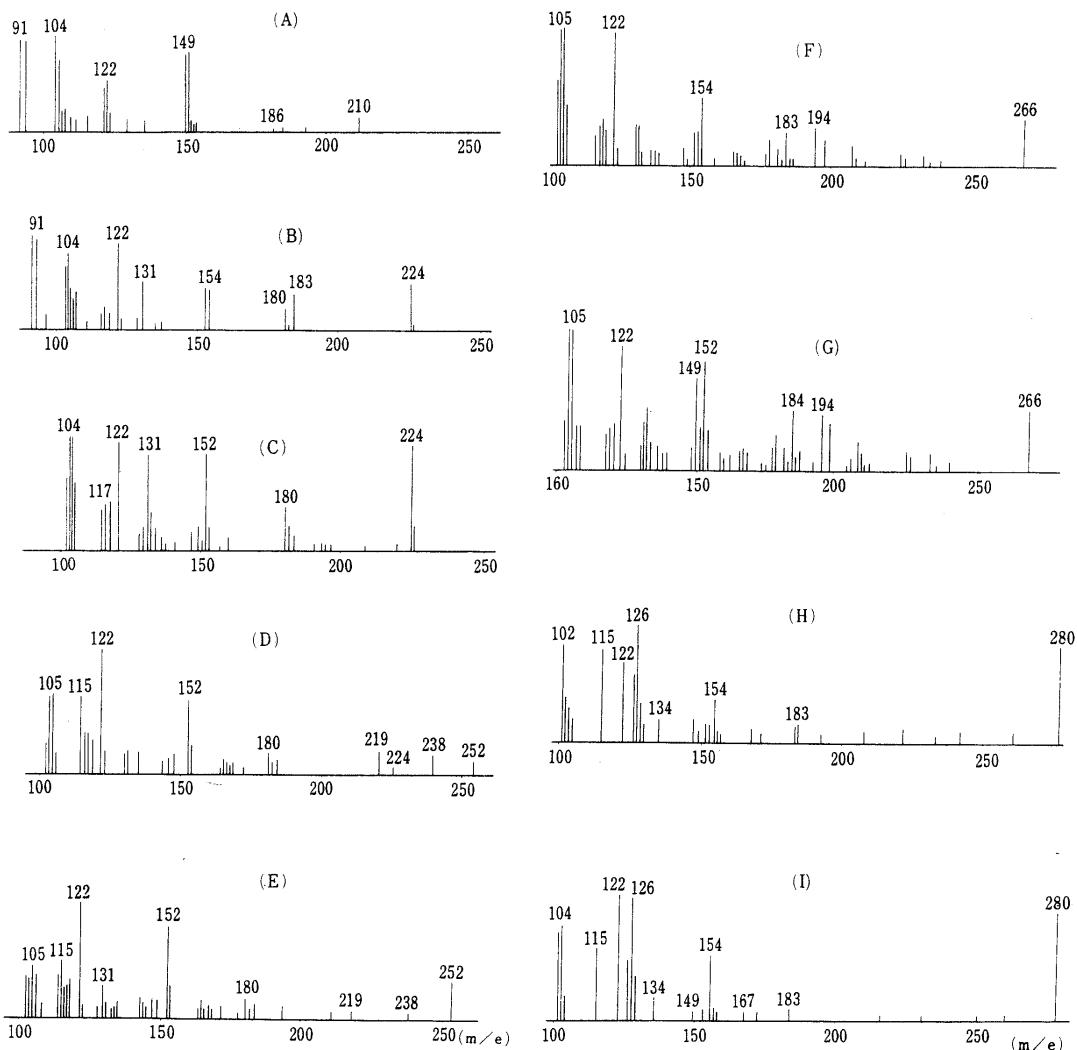


Fig. 29 GC - Mass spectra of 2,4 - DNPHs obtained from distillate of malt

(A) Peak 1, (B) Peak 3, (C) Peak 4, (D) Peak 5, (E) Peak 6, (F) Peak 7, (G) Peak 8, (H) Peak 10, () Peak 11, Peak numbers are same as cited in Fig.28 Conditions of measurement of GC - Mass : Instrument of GC - Mas Finnigan 3100 GC, EM.HV : 2000V, Beam current : 200 μ V, Column : Glass(1m), OV - 1(3%) packing, Column temperature : 190 Injection temperature : 230 , Carrier gas : He

第5章 泥炭くん蒸麦芽のフェノール性物質確認

フェノール性画分はクレゾール様の強い臭いのほかにかすかに甘い芳香がある。くん香はかなり弱くそれほど感じない。この香気は官能的にはオフレーバーに属す

るものである。この画分のガスクロマトグラムを Fig.30 に示す。Fig.30 に示すように約 30 個のピークが検出される 主要ピークはピーク 16, 18, 23 であり, この 3 種の成分で全体の約 90% を占めている。主要ピークを GC - Mass により確認した。すなわち, ピーク 2 は m/e 96 に分子イオンピークが観察され これが基準ピークとなっている。 m/e 95 は分子イオンから脱水素イオンによるも

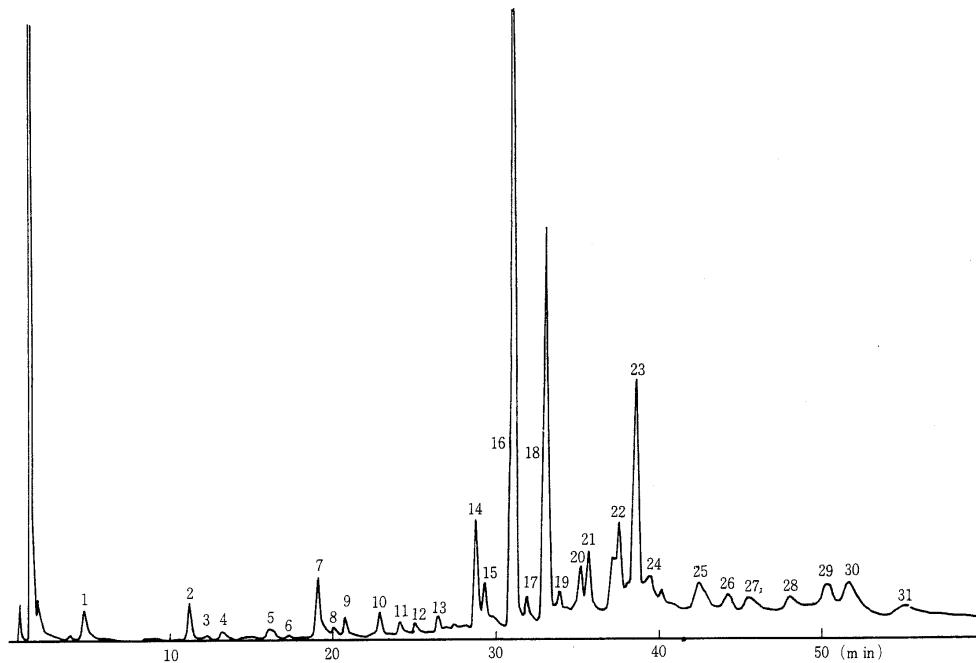


Fig. 30 Gas chromatogram of phenolic fraction

のでありアルデヒドの特徴的イオンとして観察される。
 $m/e 66$ 及びシクロプロペニルカチオン $m/e 39$ などのフラグメントイオンはフルフラールの開裂イオンと一致している
 ピーク 5 は $m/e 110$ に分子イオンが観察され、ピーク 2 よりも 14 質量数だけ増している。分子イオンが基準ピークであり、 $m/e 95$ は脱メチルしたものである。
 $m/e 67$ 及び $m/e 43$ はアセチル基の存在を考えてよい。
 $m/e 39$ はフラン環からホルミルラジカルの脱離したシクロプロペニルカチオンである。これらの開裂イオンは 2 - アセチルフランを満足している。

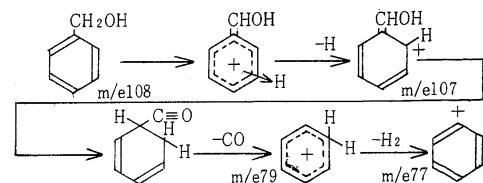
ピーク 6 は分子イオン $m/e 106$ と分子イオンから脱Hした $m/e 105$ が特徴的であり、アルデヒドが推定できる。 $m/e 77$ はフェニルイオンによるものであり、 $M^+ - 29$ に相当する。分子イオンからベンズアルデヒドと確認した。ピーク 7 は分子イオン $m/e 110$ 及び $m/e 109(M^+ - H)$ が顕著であり、 $m/e 95(M^+ - CH_3)$ 、 $m/e 81(M^+ - CHO)$ 、 $m/e 39$ などの開裂イオンは 5 - メチルフルフラールとよく一致している。ピーク 9 は $m/e 98$ が分子イオンであり、 $m/e 97$ に脱水素したイオンが観察され、アルデヒドであることがわかる。 $m/e 81$ は $M^+ - OH$ によって生成したオキソニウムイオンと考えることができる。したがってピーク 9 はヒドロキシフルフラールであり、その開裂イオンは 5 - ヒ

ドロキシフルフラールとよく一致している。

これらの各ピークのマススペクトルを Fig.31 に示す。

ピーク 10 では分子イオン $M^+ 124$ が観察される。この分子イオンから脱メチルしたイオン $m/e 109$ が基準ピークとなっている。 $m/e 109$ からさらに脱 CO したイオン $m/e 81$ の存在は o - 又は P - 置換のメトキシフェノールの構造を与える。o - 置換では $m/e 53$ の強度が強い特徴がある。これらの開裂イオンは o - メトキシフェノールと一致している。

ピーク 11 は $m/e 108$ が分子イオンであり、 $m/e 107$ 、 $m/e 79$ $m/e 77$ などが強イオンピークとして観察される。 $m/e 107$ は分子イオンから脱 H したイオンであり、このイオンから脱 CO した $m/e 79$ が基準ピークとなっていく。さらに $m/e 79$ から脱 2H したイオン $m/e 77$ の生成が観察されることからベンジルアルコールを考えればこれらの開裂様式を説明できる。⁶⁶⁾



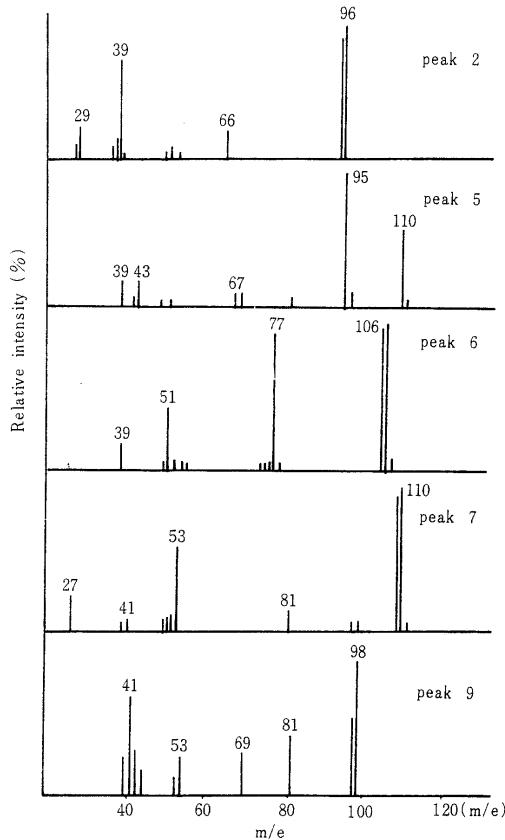


Fig.31 Mass spectra of phenolic compounds
Peak numbers are same as cited in Fig.30

ピーク 12 は分子イオン m/e 138 が基準ピークである。 m/e 123, m/e 95 などのイオンピークは、分子イオンが順次 CH_3 , CO を脱離したイオンによるものと考える^{6,7)} とその開裂方式はピーク 10 とよく類似している。ピーク 14 も同様な開裂方式によるイオンピークを与えることからこれらの化合物はメチルグアヤコール及びエチルグアヤコールであり、そのマススペクトルはいずれも標準のものと一致する。これらのマススペクトルは Fig.32 に示す。

ピーク 13 は m/e 109 が分子イオンであり、奇数のイオンピークを示すことから N 原子を含む分子を考えた。 m/e 94 は $M - 15$ であり基準ピークとなっている。 m/e 66 は m/e 94 から脱 CO したものであり、 m/e 39 はフランと同様な方式で生成したシクロプロペニルイオンと考えられる。これらのフラグメントイオン及び分子イオンから 2 - アセチルピロールと確認した。このマススペクトルを Fig.33 に示す。

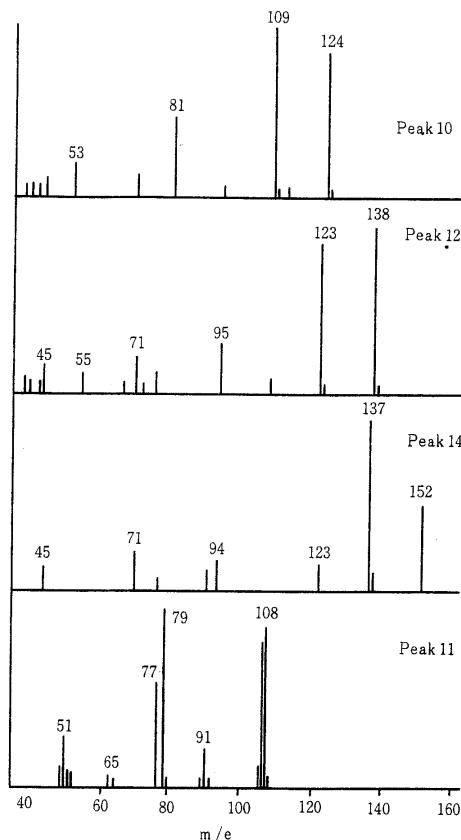


Fig.32 Mass spectra of phenolic compounds
Peak numbers are same as cited in Fig.30

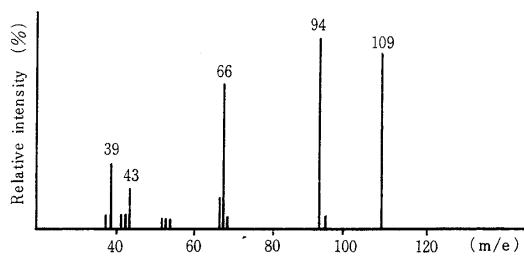


Fig.33 Mass spectrum of peak No.13
Peak number is same as cited in Fig.30

ピーク 16 は分子イオン m/e 94, m/e 66, m/e 39 から容易にフェノールと同定した。ピーク 18 は分子イオン m/e 108 及び分子イオンから脱水素された m/e 107 が存在し m/e 77, m/e 79, m/e 39 の各開裂イオンピークから o - クレゾールと確認した。ピーク 19 は $M^+ 122(70)$, m/e 107(100), m/e 77

(30), m/e 39(15)から p - エチルフェノールである。ピーク 23 は分子イオン M^+ 150, m/e 135, m/e 107, m/e 77 などの開裂イオンの存在からアルキル置換フェノールが推定される。マススペクトルはピーク 19 と同じ開裂方式に従つてあり、ピーク 19 よりも質量数 28 だけ多くなっている。分子イオン m/e 150 からブチルフェノールと認めた。これらのマススペクトルは Fig.34 示す。

フェノール性画分のいくつかは TMS 化したのち GC - Mass で分離した。TMS 化したガスクロマトグラムは Fig.35 に示した。

ピーク 11 は分子イオン M^+ 222 が観察され、分子イオンから CH_3 が放出された m/e 207 が基準ピークとなつて m/e 147 にイオンピークを示さないので OH は 1 個であるしたがつて、TMS 化されないもとの化合物の分子量は 150 である。分子イオン及び $M^+ - 15$ が非常に強いことからフェノール性化合物が推定できる。^{6,8)} m/e 133 は $M^+ - (OSi(CH_3)_3)$ イオンであり、強度はそれほど強くない。 m/e 191 は基準ピークの約 20% の強度を示し、分子イオンから脱 - OCH_3 したものと考えられる。このことは準安定イオン m/e 164.3 からも説明できる。これらの結果から相当するフェノール系化合物として 4 - ビニルグアヤコールが妥当である。

ピーク 12 では m/e 166 に強い分子イオンが観察される。

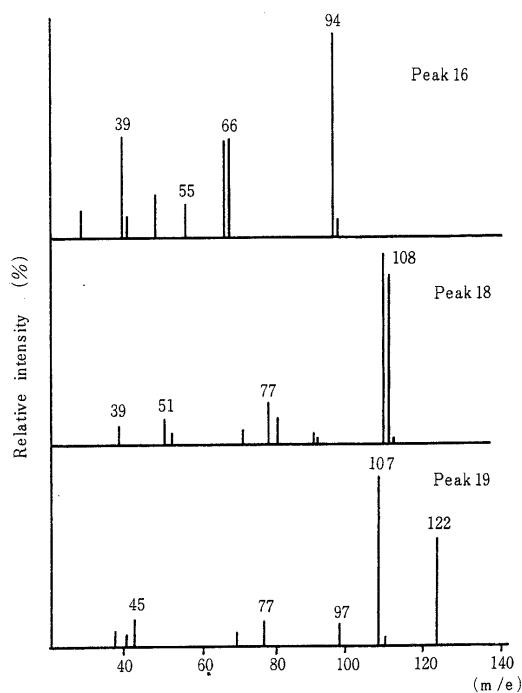


Fig.34 Mass spectra of phenolic compounds
Peak numbers are same as cited in Fig.30

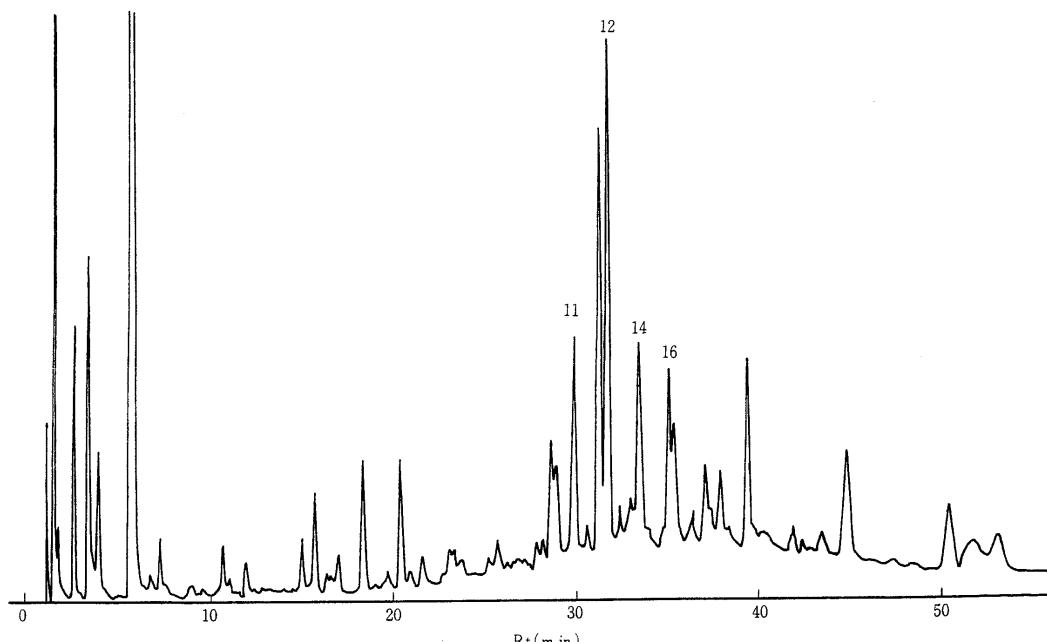


Fig.35 Gas chromatogram of TMS derivatives of phenolic fraction

$M^+ - CH$ (m/e 151)が基準ピークとなっており, m/e 147 が現われていないことから OH は 1 個である。したがって, TMS されないものとの化合物の分子量は 94 でありフェノールと確認した。

ピーク 14 は m/e 180 が分子イオンピークであり, m/e 165($M^+ - CH_3$), m/e 91 などの強い開裂イオンからフェノール系化合物が推定される。フェノール類の TMS 誘導体のマススペクトルは分子イオン及び $M^+ - 15$ が基準ピークとなる場合が多い。分子イオン m/e 180 からもとの化合物の分子量は 108 であり, 相当するアルキルフェノールとしてクレゾールが考えられる。クレゾールの 3 つの異性体は $M^+ - CH_3$ に対する m/e 91 の挙動から決定できる。すなわち, m , p - 置換では m/e 91 のイオン強度は, 基準ピーク(m/e 165)の 10% 程度にすぎないが, o - 置換ではその強度比は約 60% となる。これらの挙動からピーク 14 は o - クレゾールと確認した。ピーク 16 は m/e 179($M^+ - 15$), m/e 73 から TMS 化されないものとの化合物の分子量は 122 となる。 m/e 73 が基準ピークであり第 1 級アルコールの TMS 化物の特徴を示している。さらに m/e 105, m/e 91 の存在から - フェニルエチルアルコールと同定した。TMS 化フェノール類のマススペクトルを Fig.36 に示す。

フェノール性画分から次の化合物が確認される。

Furfural, 5 - Methylfurfural, 2 - Acetyl furan, 5 - Hydroxyfurfural, Benzaldehyde, Benzylalcohol, - Phenylethylalcohol, Guiacol, Methylguiacol,

Ethylguiacol, Phenol, o - Cresol, m - Cresol, p - Cresol, 4 - Vinylguiacol, p - Ethylphenol, p - Butylphenol, 2 - Acetylpyrrol.

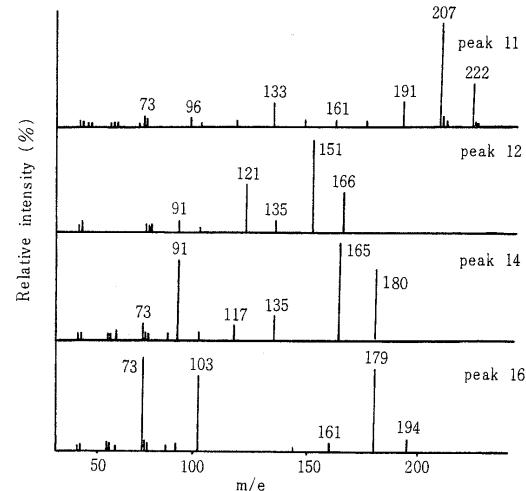


Fig.36 Mass spectra of TMS derivatives in phenolic fraction
Peak numbers are same as cited in Fig.35

第 6 章 泥炭くん蒸麦芽の中性物質の分離 確認

非カルボニル性の中性物質で直接香氣に関与している

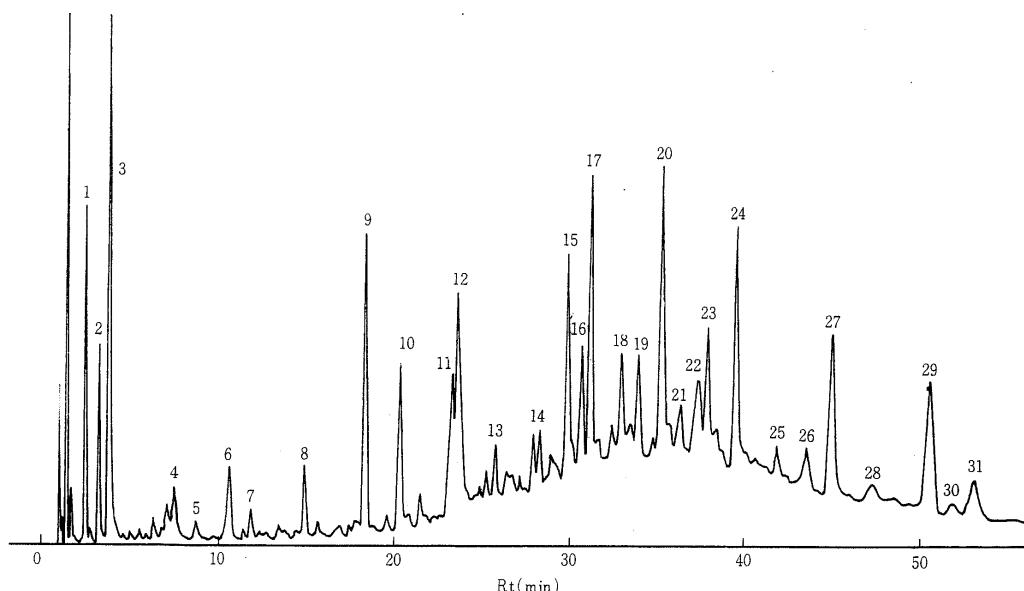


Fig. 37 Gas chromatogram of neutral fraction

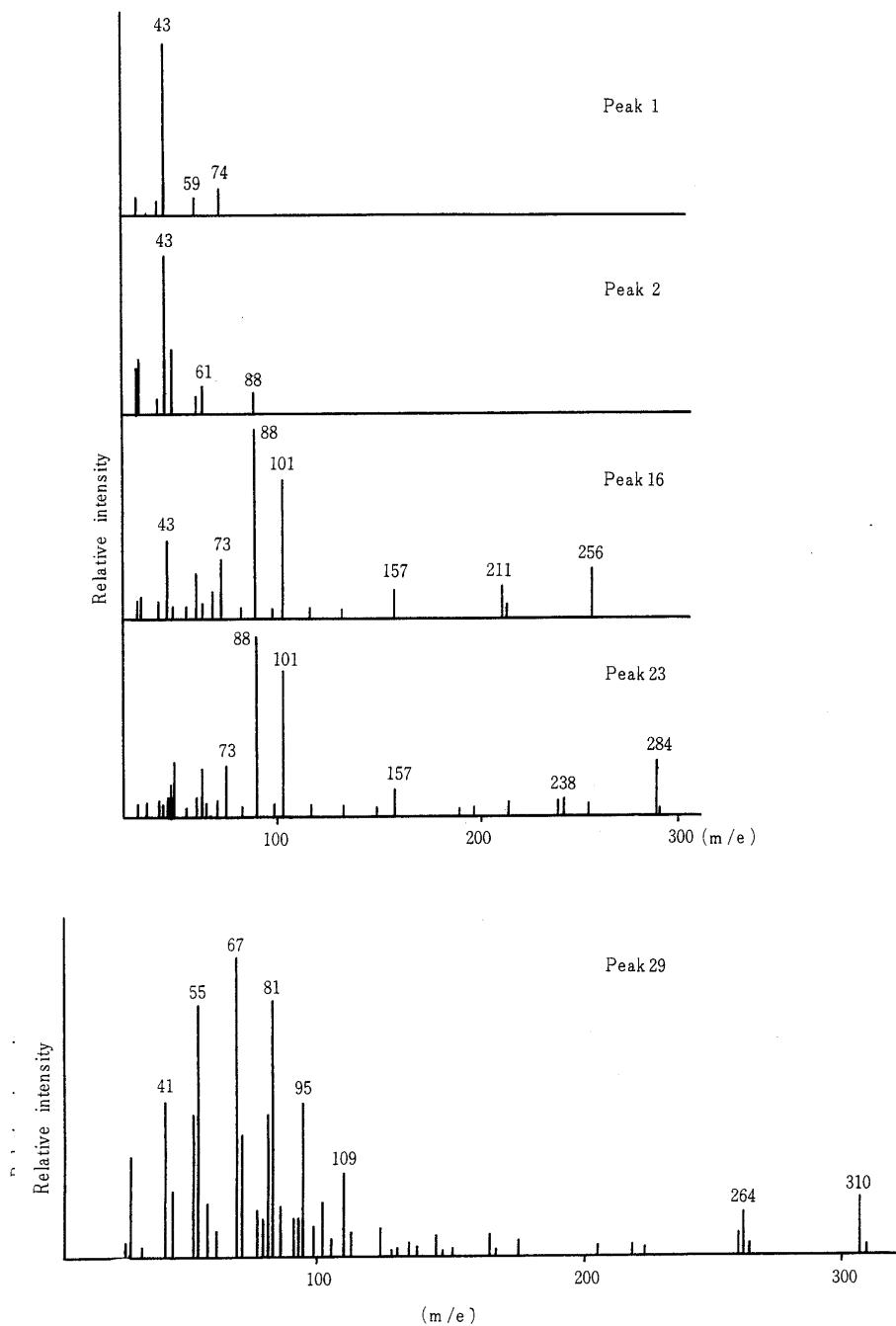


Fig.38 Mass spectra of peak 1,2,16,23 and 29 in neutral fraction

Peak numbers are same as cited in Fig.37

成分は主としてテルペン系炭化水素類であり、これらの成分は植物体の精油として知られている。麦芽の水蒸気蒸留液中の中性画分は淡い芳香を示す。この中性画分からFig.37に示すように多数の成分が検出される。

GC-Massにより主要ピークの確認を行なった。ピーク1($M^+ 74$, $m/e 43$, $m/e 31$)及びピーク2($M^+ 88$, $m/e 73$, $m/e 43$)は分子イオン及び開裂イオンからそれぞれmethyl acetate, ethyl acetateと確認した。脂肪酸エステルのマススペクトルは開裂による再配列イオンが特徴的であり、アルキルラジカルの規則的な開裂イオンから化合物の確認が可能である。^{69), 70), 71)}

ピーク16, 23, 24, 29, 31はいずれも脂肪酸エステルのマススペクトルを示している。すなわち、ピーク16は分子イオン $M^+ 256$ が観察され、この分子イオンから C_2H_5 , C_3H_7 が開裂した $M^+ - 29$, $M^+ - 43$ のフラグメントイオンのほか $M^+ - 45$ (- OC_2H_5)によるフラグメントイオンが観察される。 $m/e 88$ が基準ピークである。このイオンはMcLafferty開裂によるエトキシ基を含む再配列イオンである。このことからピーク16は分子イオン $M^+ 256$ からethyl myristateと同定した。

ピーク23も同様な開裂方式を示し、 $m/e 88$ が基準ピークとなっている。分子イオン $M^+ 284$ はピーク16より C_2H_4 だけ多い化合物であることからethyl palmitateと確認した。一方ピーク24と29, 31は脂肪酸エチルエステルの開裂パターンに類似しているが $m/e 88$ は基準ピークとならない。したがって不飽和結合の存在が推定できる。ピーク24は分子イオン $M^+ 282$ から $C_{18}H_{34}O_2$ となり不飽和数1個となる。 $m/e 237$ ($M^+ - OC_2H_5$), $m/e 211$ などからethyl hexadecenoateと同定した。ピーク29は分子イオン $M^+ 310$ から $C_{20}H_{38}O_2$ が与えられ各開裂イオンからethyl oleateである。ピーク31は分子イオン $M^+ 308$ から $C_{20}H_{36}O_2$ となり、不飽和結合2個が存在する。各開裂イオンは脂肪酸エチルと同様な挙動を示すことからethyl linoleateと同定した。これらの脂肪酸エチルエステルのマススペクトルは標準品のものとよく一致する。

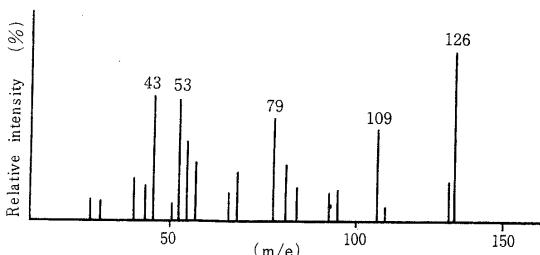


Fig.39 Mass spectrum of peak No. 12
Peak number is same as cited in Fig.37

ピーク12は $m/e 126$ に分子イオンピークが観察される。基準ピークは $m/e 53$ であり、開裂イオン $m/e 109$, $m/e 81$, $m/e 51$ はmethyl furoic acidを支持しており、Fig.39に示すようにそのマススペクトルは標準の5-methyl furoic acidと一致している。

高級脂肪酸のエチルエステルが麦芽中から検出されるのは興味あることであり、その生成が水蒸気蒸留による二次的反応生成物であるか、あるいは大麦の発芽による代謝生産物であるかについては明らかでない。酒類に検出される脂肪酸エチルとの関連からこの問題は今後の検討課題である。

エステルのほかに中性画分の主要ピークとして炭化水素が検出される。すなわち、ピーク6($M^+ 198$), ピーク8($M^+ 226$), ピーク10($M^+ 254$), ピーク15($M^+ 282$), ピーク22($M^+ 310$), ピーク27($M^+ 338$)はいずれもマススペクトルから奇数炭素数をもつパラフィン系炭化水素であり、ピーク7($M^+ 240$), ピーク18($M^+ 296$), ピーク25($M^+ 324$), ピーク31($M^+ 352$)などは偶数炭素数をもつ飽和炭化水素である。これらのパラフィン系炭化水素の相対比は奇数炭素数のものが高くなっている。

確認されたパラフィン系炭化水素類は、Table 5に示す。

Table 5 Hydrocarbons identified in malt distillate

Compounds	Peak NO.	Mass data Molecular ions
$C_{14}H_{30}$	6	198
$C_{15}H_{32}$	7	212
$C_{16}H_{34}$	8	226
$C_{17}H_{36}$	9	240
$C_{18}H_{38}$	10	254
$C_{19}H_{40}$	13	268
$C_{20}H_{42}$	15	282
$C_{21}H_{44}$	18	296
$C_{22}H_{46}$	22	310
$C_{23}H_{48}$	25	324
$C_{24}H_{50}$	27	338
$C_{25}H_{52}$	31	352
$C_{27}H_{56}$	32	380

中性区分に含まれるアルコール性化合物を確認するためTMS化したのちGC-Massにより分離同定した。TMS誘導体のマススペクトルは一般に分子イオンの強度が非常に弱く検出できない場合が多い。しかし、分子イ

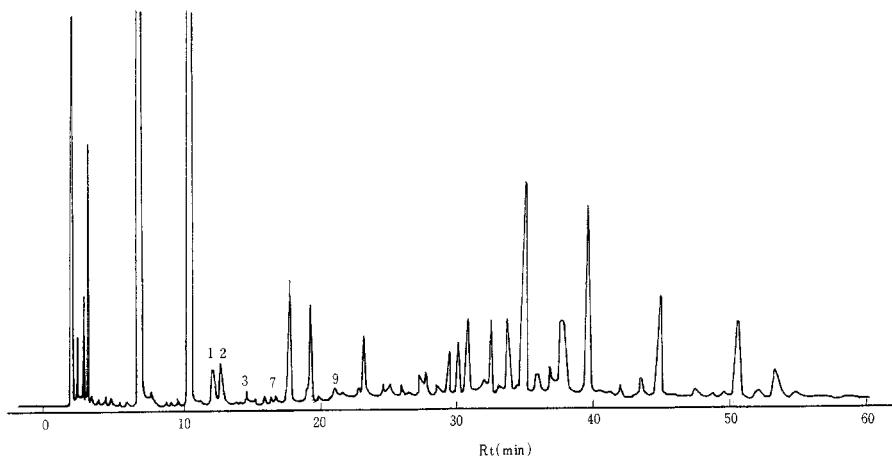
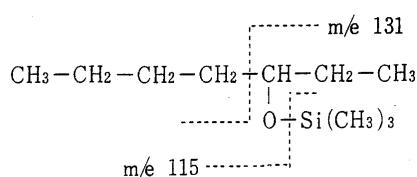


Fig.40 Gas chromatogram of neutral fraction treated with TMS

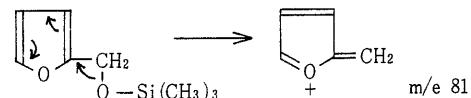
オンからトリメチルシリル基の CH_3 が脱離した $\text{M}^+ - 15$ のイオンが観察され、トリメチルシリルエーテルに関する $\text{m} / \text{e} 73, \text{m} / \text{e} 89$ などが特徴的なピークとして観察される。⁷²⁾ また、ポリアルコール類の TMS 誘導体のマススペクトルは、 $\text{m} / \text{e} 147$ が現われるので水酸基の数を推定できる。

中性画分を TMS 化したもののガスクロマトグラムは Fig.40 に示した。

ピーク 1 では $\text{m} / \text{e} 173$ が最高質量数のイオンピークであり、したがって、TMS 化合物の質量は 188 となる。 $\text{m} / \text{e} 147$ が現われていないので OH は 1 個である。分子イオンからトリメチルシリル基が脱離した $\text{m} / \text{e} 115(\text{M}^+ - 73)$ が基準ピークである。一般に第 2 級直鎖アルコールの TMS 誘導体では $\text{m} / \text{e} 73(\text{Si}(\text{CH}_3)_3^+)$ が基準ピークとなるので第 1 級アルコールと区別できる。ピーク 1 では $\text{m} / \text{e} 73$ は基準ピークの約 90% の強度を示している。一方 $\text{m} / \text{e} 131$ の強いイオンピークは分子イオンから C_4H_9 が脱離したものであり、したがって C_5 に活性炭素が存在している。TMS 化されないもとの分子量は 116 であり $\text{C}_7\text{H}_{16}\text{O}$ が与えられる。 $\text{m} / \text{e} 131$ のフラグメントイオンから 3 - heptylalcohol と同定した。

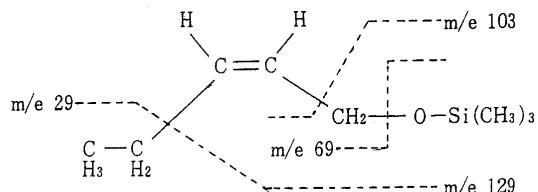


ピーク 3 は $\text{m} / \text{e} 170$ に分子イオンが現われている。 $\text{m} / \text{e} 155$ は $\text{M}^+ - \text{CH}$ であり、 $\text{m} / \text{e} 73$ の特徴ピークから TMS 誘導体である。 $\text{m} / \text{e} 147$ が現われていないので OH は 1 個と考えられる。したがって、もとの化合物の分子量は 98 となり $\text{m} / \text{e} 45, \text{m} / \text{e} 81(\text{M}^+ - \text{OSi}(\text{CH}_3)_3^+)$ からフランアルコールが推定される。



これらの開裂イオンの存在からピーク 3 は 2 - furfurylalcohol と確認した。

ピーク 7 は $\text{m} / \text{e} 143$ が最高質量数のイオンピークとして観察され、TMS 誘導体の分子イオンは $\text{m} / \text{e} 158$ に相当する。したがって、もとの化合物の分子量は 86 であり $\text{C}_5\text{H}_{10}\text{O}$ からシクロ環又は不飽和数 1 個が考えられる。 $\text{m} / \text{e} 143$ が基準ピークとなっているので第 1 級アルコールであり、 $\text{m} / \text{e} 103$ は単純開裂によって生成したトリメチルシリル基を含むフラグメントイオンと考えると次の構造式が推定できる。



開裂イオン $m/e 103, m/e 69, m/e 55, m/e 129$ の存在はこの化合物を満足するものである。したがって、この化合物は pent - 2 - en - 1 - ol である。異性体の区別は明らかにできなかった。

ピーク 9 は $m/e 173$ が最高質量数のイオンピークである。 $m/e 73$ が基準ピークとなっており第 2 級アルコールであろう。TMS 化されないもとの化合物の分子量は 116 となる。 $m/e 131(M^+ - C_4H_9), m/e 117(M^+ - C_5H_{11})$ が顕著に観察されることから 2 - heptylalcohol と同定した。これらのマススペクトルを Fig.41 に示した。

第 7 章 泥炭くん蒸麦芽の塩基性物質の確認

食品香気のなかで塩基性物質はオフフレーバーに属するものが多く、食品加工によって生成する塩基性成分は糖・アミノカルボニル反応との関係から多くの研究がなされている。^{73), 74), 75), 76), 77)}

麦芽の水蒸気蒸留物から分離した塩基性画分はアミン臭があり好ましいものではない。ガスクロマトグラフィーで分離すると Fig.42 に示すように数個のピークが検出される。

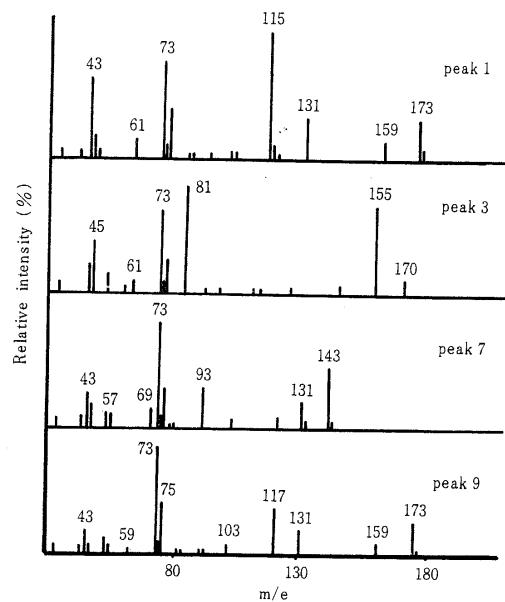


Fig.41 Mass spectra of TMS derivatives of neutral fraction
Peak numbers are same as cited in Fig.40

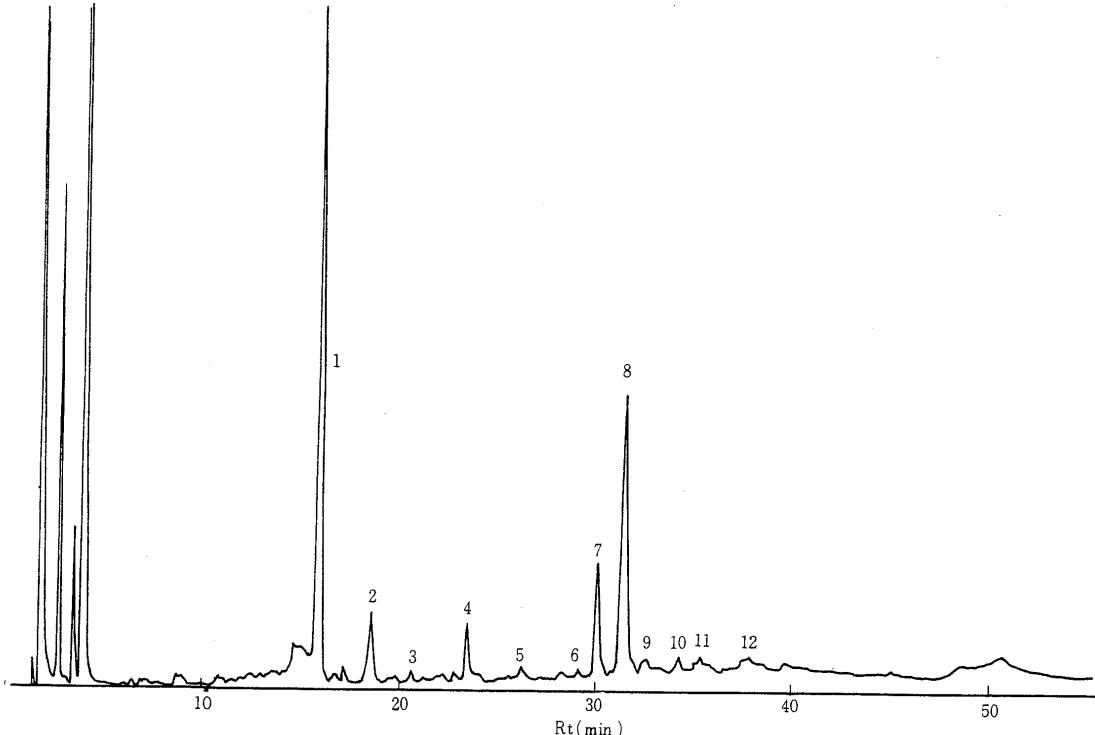


Fig.42 Gas chromatogram of basic fraction

Table 6 Compounds identified in basic fraction of peated malt distillate

Compounds	Peak number	Mass data
2,5-Dimethyl pyrazine	1	108, 42, 39, 40, 81, 28, 38, 52, 41, 80
Ethyl pyrazine	2	107, 108, 80, 53, 52, 39
Trimethyl pyrazine	4	42, 122, 39, 81, 27, 54, 53, 52, 38, 41, 51,
Propyl pyrazine	5	94, 107, 122, 39,
2,6-Diethyl pyrazine	6	135, 136, 39, 108, 53,
Triethyl pyrazine	7	164, 149, 163, 39, 56, 136,
2-Methyl-5-acetyl pyrazine	8	136, 94, 39
1-Furfuryl pyrol	9	81, 147, 53, 27, 39, 51
2-Acetyl pyrol	10	94, 109, 66, 39, 43

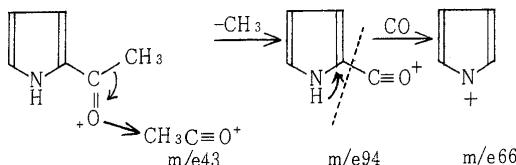
主要ピークを GC - Mass で同定した。すなわち、ピーク 1 は分子イオン $m/e 108$ が観察され、このイオンピークが基準ピークとなっている。開裂イオンは偶数イオンが顕著であり主なフラグメントイオンの相対強度は次のようになっている。

$M^+ 108(100)$, $42(85)$, $39(25)$, $40(22)$, $81(13)$, $38(6)$, $28(5)$, $52(4)$, $80(3)$, $67(3)$, $m/e 42$ のフラグメントはプロトンが付加したアセトニトリリイオン $CH_3 - C - N^+ H$ と考えられておりピラジン類の典型的な開裂の一つである。この開裂パターンは -ジメチルピラジンによく一致している。

ピーク 2 は分子イオン $m/e 107$ が基準ピークになっている。 $m/e 80$, $m/e 53$ が観察されエチルピラジンのマススペクトルと一致する。ピーク 4 は分子イオン $m/e 122$ が現われてあり, $m/e 42$ が基準ピークとなっている。 $m/e 39$, $m/e 81$ の存在はトリメチルピラジンである。ピーク 5 も分子イオン $m/e 122$ が観察されるが基準ピークは $m/e 94$ であり, $m/e 107(M^+ - 15)$ の存在からプロピルピラジンと同定した。これらのマススペクトル及び GC の保持時間は標準のものとよく一致している。

ピーク 6 は分子イオン $m/e 136$ と分子イオンから脱水素された $m/e 135$ が顕著に観察される。 $m/e 135$ が基準ピークであり, $m/e 108$, $m/e 53$, $m/e 39$ の各フラグメントイオンは 2,6 -ジエチルピラジンと一致する。

ピーク 10 は分子イオン $m/e 109$ であり, $m/e 94$ が基準ピークとなっている。 $m/e 66$ は $m/e 94$ から CO が脱離して生成したイオンであり, $m/e 43$, $m/e 39$ の存在から 2 - アセチルピロールと確認した。



ピーク 7 は $m/e 164$ に分子イオンが現われてあり, $m/e 163$, $m/e 149(M^+ - 15)$, $m/e 136$, $m/e 56$, $m/e 39$ などの開裂イオンはトリエチルピラジンのマススペクトルと一致する。ピーク 8 は $m/e 136$ が分子イオンであり, $m/e 94$, $m/e 39$, $m/e 121$ が顕著なイオンとして現われてあり, $m/e 93(M^+ - 43)$ が観察されることからアセチルピラジンであり, $m/e 136$ から 2 - メチル - 5 - アセチルピラジンと認めた。

ピーク 9 は分子イオン $m/e 147$ が観察される。 $m/e 81$ が基準ピークとなっており, $m/e 53$, $m/e 27$, $m/e 39$, $m/e 51$ などの開裂イオンは 1 - フルフリルピロールと一致しており, GC の保持時間からもこの化合物が支持される。

塩基性画分から 9 種類の含窒素化合物を確認した。これらの化合物は焙焼麦芽から顕著に検出されることから麦芽の水蒸気蒸留によって起る熱反応生成物に由来するものと推定される。

主要なピークのマススペクトルデーターを Table 6 に示す。

第 8 章 泥炭くん蒸麦芽の酸性物質の確認

水蒸気蒸留液から分別した酸性物質は脱水後ジアメゾタンでメチルエステル化した。Fig.43 に示すように GC により多数のピークが検出される。

GC - Mass により主要ピークを確認した。ピーク 1 ($M^+ 74$, $m/e 43$, $m/e 59$, $m/e 74$), 及びピーク 2 ($M^+ 88$, $m/e 57$, $m/e 88$, $m/e 59$) は開裂イオンからそれぞれ methylacetate, methylpropanoate であり, 相当する酸は酢酸及びプロピオン酸と確認した。ピーク 3 は $m/e 102$ に弱い分子イオンピークが観察される。分子イオンから C₄ 化合物のメチルエステルが推定される。基準ピーク $m/e 43(C_3H_7)^+$ に対する $m/e 74$ の相対強度は 2

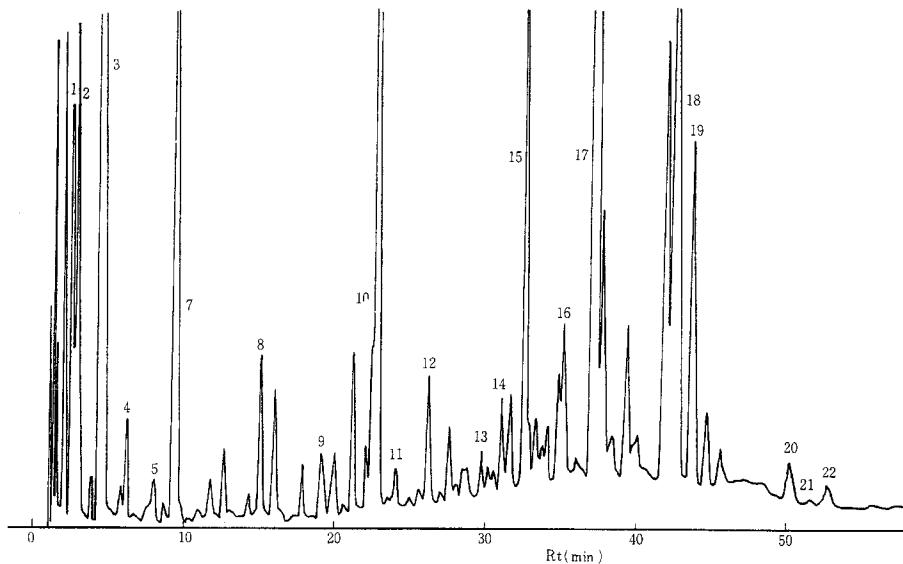


Fig.43 Gas chromatogram of acidic fraction

%程度であり、これに対して、 m/e 71 のイオン強度は約 30%となっている。C₄以上の化合物では 6 員環遷移状態をとるので 位の水素転移による開裂が起こる。したがって一般には m/e 74 の再配列イオンが基準ピークとなるが、ピーク 3 では m/e 74 はほとんど観察されない程度である。したがって、分枝炭素の存在が考えられる。分子イオン m/e 102 から 2 - methylpropionic acid の methyl ester と同定され、相当する酸は 2 - methylpropionic acid である。

ピーク 5 は分子イオン M^+ 116、基準ピーク m/e 74、 m/e 43、 m/e 57、 m/e 85 などのフラグメントピークから C₅ カルボン酸のメチルエステルである。イソ型の C₅ 化合物では 位に水素原子をもつので 開裂が起り m/e 74 が基準ピークとなり開裂パターンは直鎖 C₅ とほぼ類似するが m/e 88 の再配列イオンが観察され、さらに m/e 29 の相対強度が弱くなる特徴がみられる。ピーク 5 では m/e 88 が観察され、 m/e 29 の相対強度から 3 - methyl - butanoic acid のメチルエステルと同定した。したがって、相当する酸は 3 - methylbutanoic acid である。

ピーク 6 は分子イオン m/e 116、 m/e 74 が基準ピークであり、 m/e 88 が観察されないことから C₅ 直鎖カルボン酸のメチルエステルであり相当する酸は n - valeric acid である。

ピーク 7 は酸性画分中で最も大きいピーク強度を示し

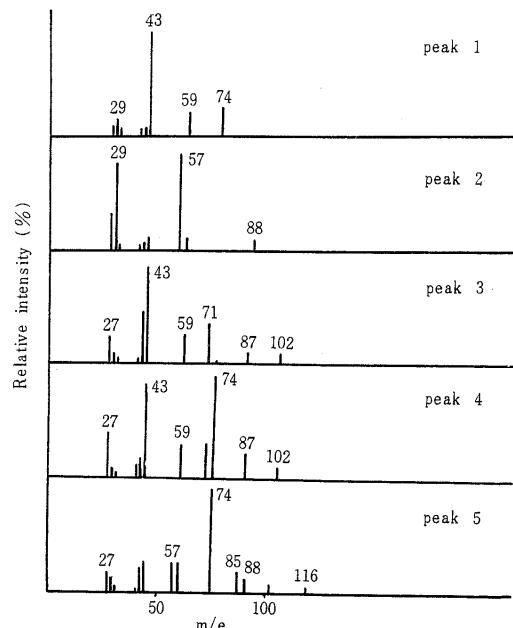


Fig.44 Mass spectra of peak number 1,2,3, 4 and 5
Peak numbers are same as cited in Fig.43

ている。そのマススペクトルは $M^+ 130$ に分子イオンが観察され, $M^+ - 29$ イオンは全く現われていない。

C_6 直鎖のエステルに比較して $m/e 43$ の相対強度が強く, 分枝炭素の存在が推定される。開裂様式は 4 - methyl valeric acid のメチルエステルと一致していることからピーク 7 は 4 - methyl valeric acid と同定した(Fig.44)。

ピーク 8 ($M^+ 130$), ピーク 9 ($M^+ 144$), ピーク 10 ($M^+ 158$), ピーク 11($M^+ 172$), ピーク 12($M^+ 186$)及びピーク 15($M^+ 214$)は, いずれも $m/e 74$ が基準ピークとなっており, $M^+ - 31$ のアシリウムイオン及び $(CH_3)_n COOCH_3$ の含酸素フラグメントイオンが観察されることから直鎖のカルボン酸メチルエステルである。したがって, 分子イオンから相当する酸はそれぞれ, C_6 , C_7 , C_8 , C_9 , C_{10} , C_{12} の脂肪酸と確認した(Fig.45, Fig.46,)。

ピーク 13 は Fig.47 に示すように $m/e 126$ に分子イオンピークが観察され $M^+ - 31$ ($m/e 95$) が基準ピークになっている。95 は分子イオンから $-OCH_3$ が脱離したイオンと考えるとメチルエステル化しないものとの化合物の分子量は 112 である。したがって, 分子式 $C_5H_4O_3$ からフラン環が導かれる。 $m/e 95$ はフラン環をもつ化合物に特

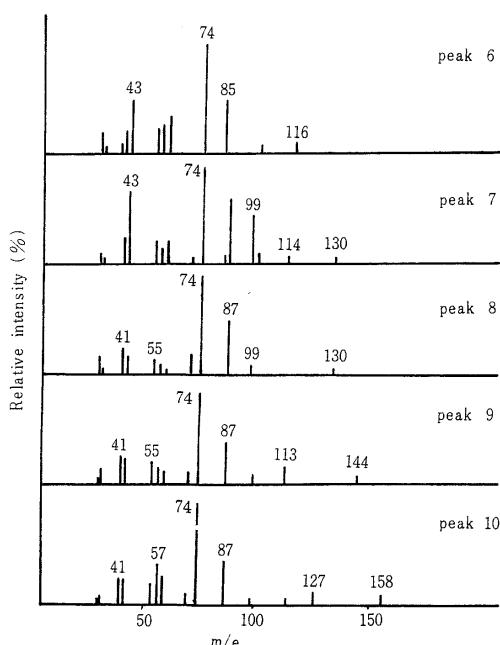


Fig.45 Mass spectra of peak number 6, 7, 8, 9, and 10
Peak numbers are same as cited in Fig.43

有な開裂イオンであり, $m/e 67$, $m/e 51$ から 2 - furoic acid と確認した。

ピーク 14 では分子イオン $m/e 136$, $m/e 105$ などの強いイオンピークが観察されることからベンゾイル基の存在が推定される。 $m/e 77$ はフェニルラジカルによるイオンピークであり, このイオンは $m/e 105$ から脱 CO によって生成したものである。この開裂は準安定イオン $m^* 56.5$ から説明できる。Fig.47 に示すように, このマススペクトルは methyl benzoate のフラグメンテーションを満足しており, したがって, 相当する酸は benzoic acid と同定した。

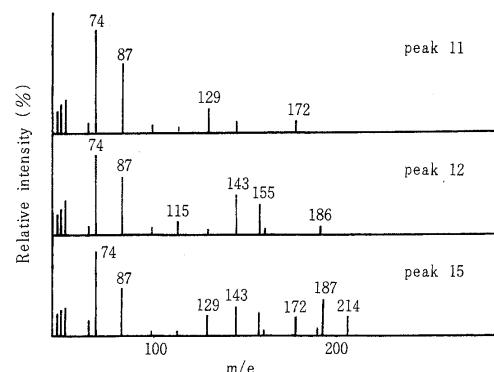


Fig.46 Mass spectra of peak No. 11, 12, and 15
Peak numbers are same as cited in Fig.43

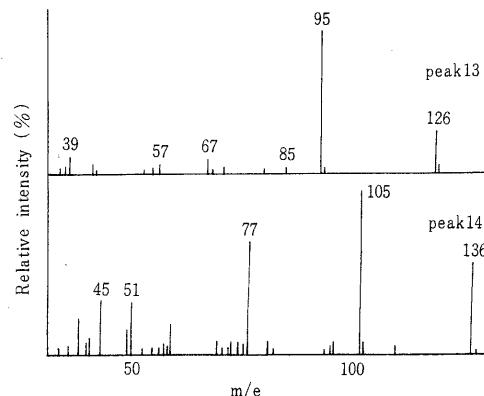


Fig.47 Mass spectra of peak number 13 and 14
Peak numbers are same as cited in Fig.43
ピーク 16 は分子イオン $m/e 150$ が顕著に観察され, 基準ピークは $m/e 91$ である。各開裂イオンはベンジル化合物の特徴を示している。分子イオンからメチル基が置換された benzoic acid のメチルエステルが考えられるが $m/e 91$ が非常に強くこと及び $M^+ - 31$ が弱くことからベン

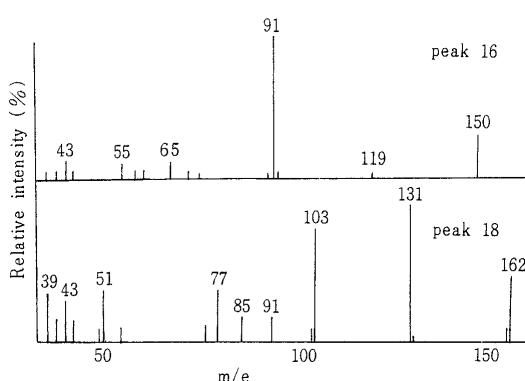


Fig.48 Mass spectra of peak number 16 and 18

Peak numbers are same as cited in Fig.43

ゾイル基の存在は考えられない。一方、- 置換体では m/e 91 が強いピークとなり $M^+ - 60$ などのイオンが観察されるので区別できる。これらのイオンピークはピーク 16 では現われていない。これらの結果から相当する酸は phenylacetic acid と同定した。⁷⁸⁾

ピーク 18 は分子イオン m/e 162 が現われてあり、分子イオンから $-OCH_3$ が脱離した m/e 131 が基準ピークとなっている。このイオンからさらに脱 CO したイオンピーク m/e 103 の存在は cinnamic acid のメチルエステルを支持している。この開裂パターンは methyl cinnamate と一致することから相当する酸は cinnamic acid と同定した。

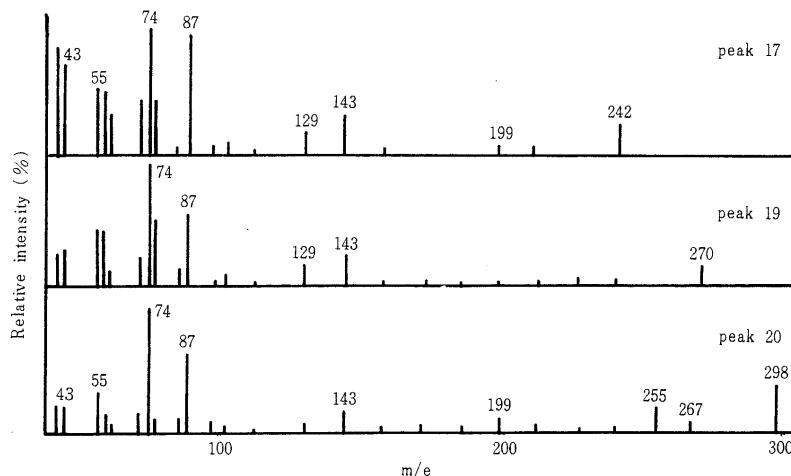
ピーク 17($M^+ 242$)、ピーク 19($M^+ 270$)、ピーク 20

Fig.49 Mass spectra of peak number 17, 19, and 20

Peak numbers are same as cited in Fig.43

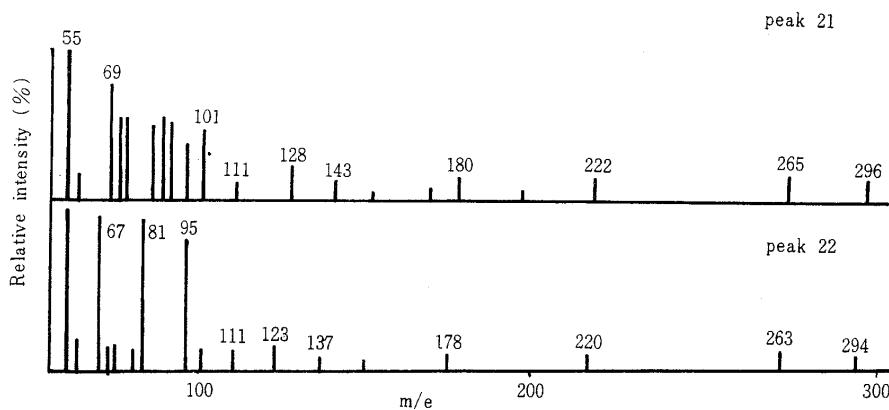


Fig.50 Mass spectra of peak number 21 and 22

Peak numbers are same as cited in Fig.43

(M⁺298)はいずれも m/e 74 が基準ピークであり, m/e 87 及び含酸素フラグメントピーク(CH₃OOC(CH₂)_n)などの存在は直鎖脂肪酸メチルエステルであることを示しており, それぞれ C₁₄, C₁₆, C₁₈の飽和脂肪酸に相当する。

ピーク 21 及びピーク 22 は分子イオンピークが m/e 296, m/e 294 に現われており, m/e 55 が基準ピークとなっている。これらのピークのマススペクトルは, ピーク 19 よりも質量数が 2 及び 4 だけ少ないため C₁₈ 脂肪酸の不飽和結合をもつものであることが判る。各フラグメントピークも不飽和脂肪酸の開裂を支持している。したがって, ピーク 21 は oleic acid, ピーク 22 は linol-eic acid と同定した。

第9章 考 察

第1節 泥炭くん蒸麦芽中の総フェノール含有量 とくん煙香気との相関

食品のくん蒸処理は樹木をくん蒸し, そのくん煙に食品を曝して乾燥し,くん煙香を食品に付与する二つの目的があり古くから食品貯蔵法の一つとして広く利用されている。この加工法は食品を直接焙焼する方法とは異なるが熱分解生成物が香気に寄与する点で共通した性格をもつものといえる。すなわち, 焙焼処理は食品の構成物質が直接熱分解されるがくん蒸処理ではくん蒸に用いる木質の熱分解生成物が食品に付着又は吸着される間接的なものである。木質の熱分解生成物とくん煙香気との関連については Wasserman をはじめとして広範な研究があり,くん煙香の主体はフェノール性化合物とくにグアヤコール, 4-メチルグアヤコール, 2, 6-ジメチルフェノールなどが関係していると推論している。

Bratzler⁷⁹⁾もくん煙香と総フェノール量との相関について検討し,くん煙香はフェノール部分にあることを示唆している。

泥炭をくん蒸するときに生成する熱分解生成物についての報告は少なく, ウィスキー醸造の面から Shidrowitz らがポットスチルウィスキー中のフェノール類は麦芽の乾燥に使用する泥炭のくん煙に起因すると指摘しており, Braus ら⁸⁰⁾はフェノール類は発酵中麦芽のリグニンが代謝されて生成すると推論している。McFarlane はウィスキー原料麦芽について, 乾燥方法の相違による麦芽中の総フェノール量の増加はほとんどみられないが泥炭の量に応じて総フェノール量が増加することを認めている。このことから泥炭くん蒸麦芽のくん煙香は泥炭の熱分解生成物に依存していることは明らかである。

わが国に輸入されている各種の麦芽について総フェノ

Table 7 Total phenol contents in malt

Sample No.	Total phenol (ppm)		
	Non-peated malt	Lightly type peated malt	Heavy type peated malt
1	1.5	3.8	8.5
2	1.0	2.4	7.5
3	1.4	4.1	11.3
4	0.6	4.3	8.8
5	0.5	4.8	15.1
6	1.6	2.1	6.1
7	1.8	4.8	7.8
8	2.0	4.5	6.9
9	1.8	4.1	7.4
10	1.1	3.9	6.4

ール量を定量した結果を Table 7 に示す。

泥炭でくん蒸しないビール用の麦芽の総フェノール量は 2.0ppm 以下である。これらのフェノール類は麦皮のポリフェノールが乾燥中に熱分解して生成したものと考えられる。

ウィスキー用の麦芽はくん蒸に使用した泥炭使用量に応じてライトリータイプとヘビータイプに類別されている。ライトリータイプの麦芽の総フェノールは 2 ~ 5 ppm であり, 2 ppm 付近のものはビール用麦芽と総フェノール量で区別できない。ヘビータイプの麦芽は最高 15ppm の値を示すものであるが 6 ~ 7 ppm が多い。総フェノール量 15ppm の麦芽は官能的にくん煙香を感知できるが 4 ppm 以下の麦芽では官能的にくん煙香を判別するのは困難である。

10人の審査員により, 総フェノール含有量 20, 10, 4, 2, 0 ppm の試料についてくん煙香の有無を官能的に判定した結果は Table 8 に示した。4.0ppm 以下ではくん煙香があると判別できる確率は 50% 程度であり, 麦芽中の総フェノール量とくん煙香との間に何ぞほど深い相関は認められない。

くん蒸処理に用いる泥炭の量はくん蒸の程度によって異なるがヘビータイプでは麦芽の約 10 倍量の泥炭をくん蒸するといわれている。泥炭のくん煙中の総フェノールの大部分は揮散し約 1% 程度が麦芽に付着するとされている。この泥炭をくん蒸したときに生成する煙成分についての報告はない。そこで,くん蒸麦芽の香気を検索するために泥炭のくん煙成分について検討した。

英國産及び北海道産の泥炭を 400 度熱分解し, 分解生成物を水に吸収させ Liquid smoke solution (くん液) を調製した。このくん液を水蒸気蒸留し, 留出液を常法

Table 8 Organoleptic test for smoke flavour

	Total phenol contents in malt used for panel test				
	20ppm	10ppm	4 ppm	2 ppm	0 ppm
Number of positive answer	14	14	12	9	10
Relative ratio of positive answer (%)	89	89	71	53	59

Panelist number :20

Positive :smoke flavour

に従って分画した。泥炭のくん液はフェノール臭の強い刺激性の好ましくない香りである。くん液の蒸留液はくん煙香のほかに弱いカラメル様の芳香が感じられる。

中性画分のガスクロマトグラムを Fig.51 に示す。

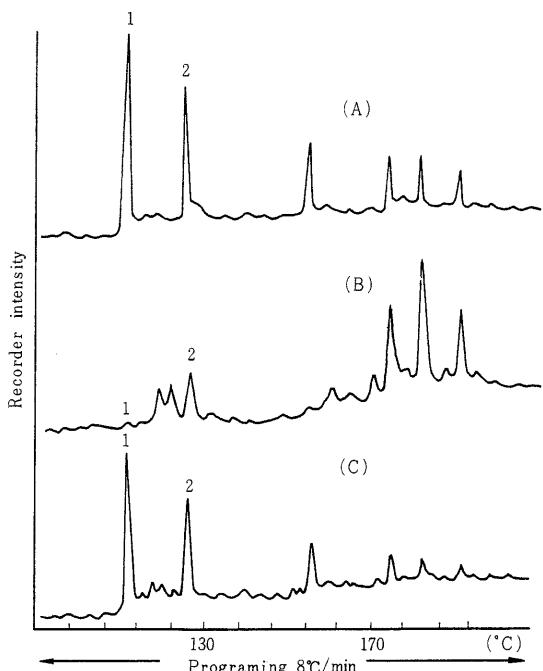


Fig.51 Gas chromatograms of neutral fraction of peat smoke
 A: Hokkaido peat, B: Liquid smoke solution (commercial), C: England peat

メチルフルフラール, フルフラール, アセチルフランなどが中性画分の主成分を占めている。一方フェノール性画分は強いスモークフレーバーをもっておりその香気は泥炭でくん蒸した麦芽の香気に類似している。このフェノール性画分からも多数のピークが GC によって分離される。Fig.52 に示すように, 主要ピークはゲアヤコ

ル, フェノール, - クレゾール, エチルフェノールであり, これらのフェノール類がくん煙香の主体をなしていることがわかる。

Fagerson⁸¹⁾は炭水化物の熱分解生成物としてフルフラールやメチルフルフラールの生成機構を推論しており, Johnson ら⁸²⁾も糖の熱分解物の主成分としてフルフラールの先駆物質は 5 - ヒドロキシメチルフルフラールであることを明らかにしている。また, グルコースや多糖質の熱分解生成物, ⁸³⁾ Saw dust⁸⁴⁾ のスモークフレーバーから多数のフラン誘導体が確認されており, 炭水化物を主成分とする泥炭の熱分解生成物も本質的には糖, でん粉, 木質などの熱分解生成物と共に通していることがわかる。くん煙付香だけを目的として調製された市販の Liquid smoke solution はフェノール成分については泥炭の熱分解物と著しい相違はみられないが, 中性画分のうちフルフラールが極めて少なく, メチルフルフラール, アセチルフルフラール類も相対的に減少している。

醸造品に含まれるフェノール類は直接原料に由来するもののほか, 発酵工程における代謝生産物などがあり, これらは製品の香気に寄与している。ウィスキー用麦芽のくん煙香は泥炭の熱分解生成物のうちフェノール系物質が麦芽の乾燥工程中に付着したものに起因することは明らかである。横塚ら⁸⁵⁾は味と香気について揮発性フェノールの前駆物質としてアルキルフェノール類の関与を考えており, Steinke も小麦を原料とする発酵液中の揮発性フェノール類はフェノールカルボン酸が脱炭酸することにより生成するビニルフェノール類が還元されてアルキルフェノール類を生成すると推論している。これらのフェノール性化合物は蒸留酒の香気を形成しており, ウィスキーからも多数のフェノール性化合物が分離されている。とくにウィスキーから検出されるフェノール性化合物は原料麦芽のフェノール類の寄与を無視することはできない。

各種タイプの泥炭くん蒸麦芽の水蒸気蒸留液から分離したフェノール性画分のガスクロマトグラムを比較すると, Fig.53 に示すようにヘビータイプの麦芽ではフェノールの強いピークが現われており, - クレゾール, ゲアヤコールなどが主要ピーク成分をなしている。泥炭くん蒸をしていない麦芽ではフェノールのピークは微弱ながら検出され, - クレゾール, ゲアヤコール類は痕跡程度である。これに対してエチルフェノールの相対強度が高くなっている。

ライトリータイプの麦芽ではヘビータイプのものよりフェノールのピーク強度は低下しているが, - クレゾールやゲアヤコールなども明らかに確認される。英国産及びチェコ産のライトリータイプ麦芽ではフェノール含有

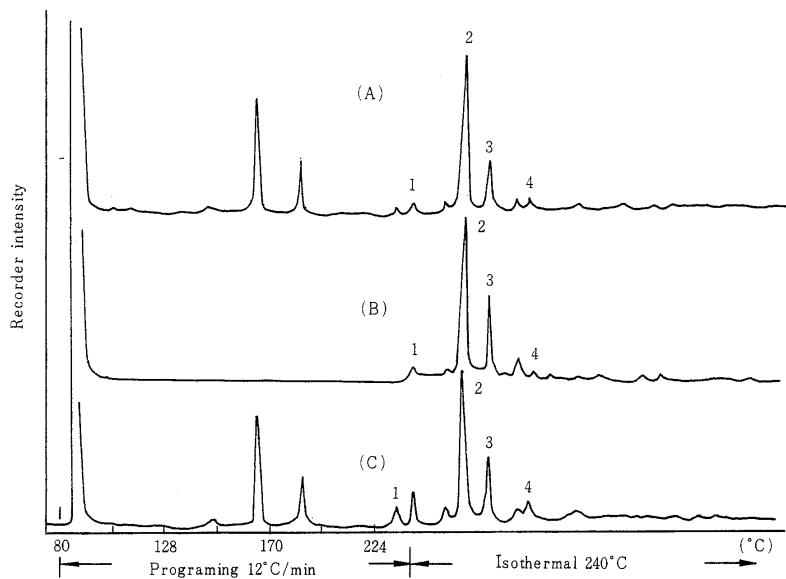


Fig.52 Gas chromatograms of phenolic fraction of peat

A: Hokkaido peat, B: Liquid smoke solution (commercial)

C: England peat

peak 1: guiacol, peak 2: phenol, peak 3: o - creasol,

peak 4: ethyl phenol

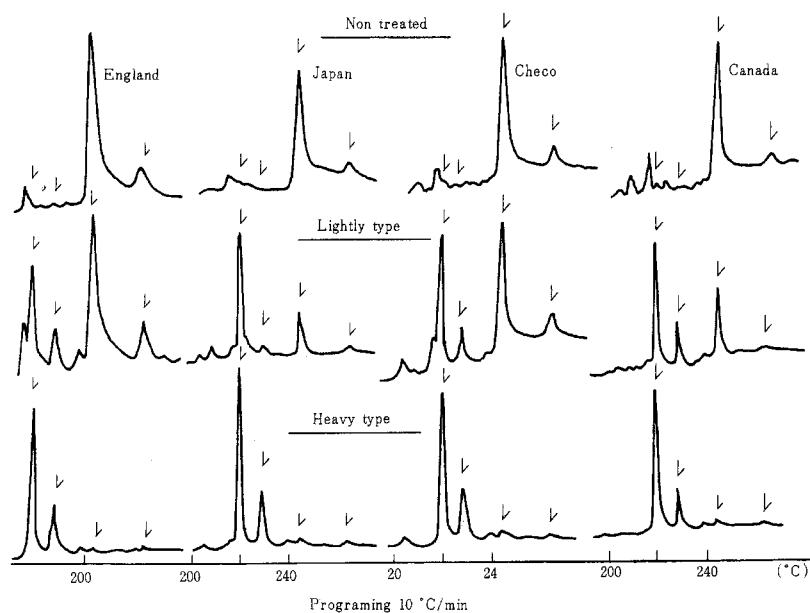


Fig.53 Gas chromatograms of phenolic fraction of peated malt

量が低く、ガスクロマトグラムからわかるように相対強度はエチルフェノールよりもわずかに低い傾向がみられる。これらのフェノール類は泥炭の熱分解生成物から顕著に検出される化合物であり、したがって、泥炭くん蒸麦芽のフェノール性物質との間に相関関係があることが明らかにされた。

McFarlane が指摘したようにフェノールや o-クレゾールの含有量は泥炭くん蒸の程度に依存しているが、グアヤコールはそれほど顕著に変動していない。くん香に対する寄与はグアヤコールよりもむしろ、フェノールと o-クレゾールが大きいものと推論される。

微量成分として m-クレゾール、4-メチルグアヤコール、4-エチルグアヤコール、エチルフェノールなどのアルキルフェノールなどが検出される。グアヤコール類はくん液中から主要なくん香成分として確認されており、ビール用麦芽からは確認できなかったことから泥炭の熱分解物に由来しているものと推論した。アルキルフェノール類はビール用麦芽からも検出されるので恐らく麦芽中のポリフェノール類の分解生成物と考えられる。

Kornreich ら⁸⁶⁾も wood smoke flavour の主成分はフェノール、グアヤコール、4-メチルグアヤコール、4-ビニルグアヤコールなどであることを認めている。泥炭くん蒸麦芽のフェノール性画分から検出されるフェノール、o-クレゾールなどの挙動はくん蒸の程度に対応していることはガスクロマトグラムの相対強度比から明らかであり、ウィスキー用麦芽のフェノール類は泥炭の熱分解生成物に依存していると結論した。

第2節 挥発性カルボニル化合物の挙動

揮発性カルボニル化合物は食品に特徴的な香気を与える主要な成分であり、とくに穀類を原料とする食品香気に関するカルボニル化合物は香気の非酵素的生成、かつ変現象の面から大麦⁸⁷⁾、ピーナツ⁸⁸⁾、カ力オ⁸⁹⁾、ビーフ⁹⁰⁾などの焙焼により生成するカルボニル化合物の挙動が検討されている。焙焼により生成するカルボニル化合物はフルフラール、ヒドロキシフルフラール、脂肪族アルデヒド類が主なものであり、これらの化合物の生成にはストレッカーフィクス⁹¹⁾反応が関与している。

くん煙の揮発性カルボニル化合物は Bratzler、Lustre、White ら⁹¹⁾によって検討されており、くん蒸食品から数種のアルデヒド類を分離している。くん煙中のカルボニル化合物としてフルフラール類、ホルムアルデヒド、アセトアルデヒド、ペンタナールなどが確認されており、これらの化合物は好ましくくん香に寄与することが明らかにされている。

揮発性カルボニル化合物は高い蒸気圧をもっているた

めヘッドスペースの香気として重要である。焙焼香気としてメタナール、エタナール、5-メチルフルフラールなどは麦茶の芳香の主役であり、ココアの甘い香気にはイソブチルアルデヒド、イソバレルアルデヒド、フェニルアセトアルデヒドが関与している。

泥炭くん蒸麦芽を水蒸気蒸留するときに生成する甘いカラメル様の香気は、ヘッドスペース成分を 2, 4-DNPH として捕集すると特有の甘い芳香は消失することから、カルボニル化合物が主体をなしていることがわかる。2, 4-DNPH として分離したカルボニル化合物のうち、イソバレルアルデヒドが全体の約 50% を占めており、アセトアルデヒドが 25%、イソブチルアルデヒドが 20% となっており、この 3 成分で全体の 95% を占めている n-プロピルアルデヒド、n-ブチルアルデヒド、フルフラールなどは微量成分であり、このほか、ホルムアルデヒド、ダイアセチルなどの寄与もあるが、香気に対するカルボニル類の効果は質的よりもむしろ量的な要因が大きいことから、麦芽のヘッドスペース香気はイソバレルアルデヒド、イソブチルアルデヒド及びアセトアルデヒドが重要な役割を果していると考える。

Table 9 Amino acid composition in peated malt

Amino acids	Relative molar ratio (%)	
	Peated malt before distillate	Peated malt after distillate
Lysine	3.28	1.81
Arginine	2.89	3.16
Aspartic acid	8.04	7.70
Threonine	0.71	0.56
Serine	0.08	0.09
Glutamic acid	14.78	17.38
Proline	32.59	31.89
Glycine	6.03	6.00
Alanine	7.90	7.26
Cystine	7.13	7.09
Leucine	7.92	8.20
Isoleucine	3.95	3.98
Tyrosine	0.81	0.72
Phenylalanine	3.91	4.20

蒸留液中に含まれる脂肪族アルデヒド類は質的にはヘッドスペース成分と差はないが、プロピルアルデヒド、n-ブチルアルデヒド、フルフラールなどの相対比が高くなっている。このほか蒸留液にはメチルフルフラール、5-ヒドロキシメチルフルフラール、2-アセチルフラン、ベンズアルデヒドなどが含まれており、とくにフルフラール、メチルフルフラール類の相対比が大きい。これらのカルボニル類は泥炭でくん蒸しない麦芽からも

同様に検出されることから泥炭の熱分解物に由来するものよりも、むしろ水蒸気蒸留のさいの熱分解反応生成物に依存している。このことは、麦芽をメタノール・エチルエーテル混液(1:1v/v)で抽出したものからは揮発性カルボニル化合物を検出しないことから説明できる。

カルボニルの生成とアミノ酸の消長についてはパンのベーキングにおいて検討されており、アスパラギン酸とグルタミン酸の減少が大きいとされている。麦芽の蒸留前後におけるアミノ酸の消長をしらべた結果をTable 9に示した。蒸留後の麦芽中の構成アミノ酸のうち、ヒスチジン、アスパラギン酸、スレオニン、プロリン、アラニンなどが減少しており、香気成分とアミノ酸との関係が示唆される。

第3節 中性物質の香気への寄与

アルデヒド、ラクトンなどのカルボニル化合物は糖質、脂質、アミノ酸などを前駆物質とする加熱香気の特徴成分であり、食品の芳香を形成するのに寄与している。アルデヒド、ラクトン以外の中性物質ではアルコール類、エーテル類、エステル類が重要な成分であり果実の芳香、発酵製品の香気に関係している多数のアルコール、エステル、芳香族エーテル類が検出されている。

くん香に関するアルデヒド、ラクトン以外の中性物質では飽和アルコール、芳香族アルコール、フルフリルアルコールなどのアルコール類、C₂、C₃、C₄、C₅、C₆などの脂肪酸メチルがあげられている。

泥炭くん蒸麦芽から分離されるこれらの成分のうち、特徴的な化合物は脂肪酸エチルである。すなわち、C₂、C₁₂、C₁₄、C₁₆、C₁₈など主として高級脂肪酸エチルが顕著に検出される。炭素数の小さい脂肪酸エチル類は酢酸エチル以外に検出できないが、このことは麦芽油の脂肪酸組成が主としてC₁₆、C₁₈の脂肪酸で構成されており低級脂肪酸が少ないと関連しているものと考えられる。

脂肪酸エチルはウィスキー、ビールなどの香気の主成分でありアルコール発酵の特徴的な成分であるが、麦芽からC₁₂～C₁₈の飽和脂肪酸エチルが検出されるのは興味あることである。くん香からC₆までの脂肪酸メチルが検出されているが、エチルエステル類を確認した報告はない。麦芽から検出される高級脂肪酸エチルは麦芽の発芽過程で生成した遊離脂肪酸がエステル化されたものであるか、あるいは加熱による化学的生成物であるか明らかにしていないので、麦芽の発芽生理との関係からさらに検討を必要とする。

このほかエチルエステル類として酢酸メチル、フリル酢酸が分離された。フロン酸はでん粉の焙焼香気からも分離されており、糖質の熱分解生成物である。フロン酸は

ほとんど芳香はないが、そのメチルエステルは甘い芳香をもつ化合物として重視されている。

パラフィン系炭化水素も中性画分の主成分となっている。検出された化合物はC₁₂からC₂₇までの奇数及び偶数の炭化水素であり、C₁₈、C₂₀、C₂₃の相対比が高い。なかでも、奇数炭素数の割合が大きい。オレフィン系炭化水素は検出できなかった。このような炭化水素はたばこスモーカーからも検出されている。⁹²⁾パラフィン系炭化水素は麦芽のワックス成分として存在するが、中性画分から検出されるこれらのパラフィン系炭化水素は泥炭の熱分解生成物に由来すると考えるのが妥当である。パラフィン系炭化水素の香気成分としての効果は期待できない。

アルコール類の多くはTMS誘導体としてGC-Massから確認した。2-Methyl-1-pentylalcohol、1-Heptylalcohol、2-Heptylalcohol、3-Heptylalcohol、n-Nonylalcoholなどの飽和アルコール、(cis)-pen-2-en-1-olなどが特徴的な脂肪族アルコールとして検出される。これらの化合物は果実様の芳香に寄与しており、とくに(cis)-pen-2-en-1-olはバナナの特徴的な香気として評価されている重要な化合物である。⁹³⁾

芳香族アルコール類として、Furfuryl alcohol、2-Phenyl ethylalcohol、3-Phenylpropylalcoholなどが検出される。Furfurylalcoholは炭水化物のカラメル化及び脱水生成物として検出されており、2-Phenylalcohol類はエチル類の前駆物質としての役割りをもっているため香気成分への寄与は高いものといえる。マルトールはメイラード型の非酵素的かつ変反応により少量生成することが知られている。でん粉の焙焼物、⁹⁴⁾コーヒー豆、穀類、麦芽の焙焼物や水蒸気蒸留物からマルトールが確認されており、これらの食品に芳香性のカラメル様の香りを与えている。泥炭くん蒸麦芽の蒸留物からもマルトール及び5-Methylcyclopent-2-en-2-ol-1-oneが検出される。マルトール関連化合物は焙焼香気の主要成分であり、⁹⁵⁾その香気特性はPittet⁹⁶⁾によって詳細に検討されている。

第4節 ピラジン誘導体とくん香

焙焼食品の焦臭はピラジン類の効果が大きく、焙焼香気の特徴成分として評価されており、⁹⁷⁾ローストビーフ、⁹⁸⁾ピーナツなどから多数のピラジン類が分離されている。^{99), 100), 101)}ピラジン誘導体の生成は糖とアミノ酸のストレッカー反応によることが明らかにされており、王ら¹⁰²⁾はカルボニルとイソロイシンとの反応によりアルキルピラジンの生成経路を検討しており、アミノ酸はピラジンの窒素源としてのみ役立ついると推論している。

麦芽を 300 度焙焼したものから分離されるピラジン類は Methylpyrazine, Ethylpyrazine, 2 - Ethyl - 6 - methylpyrazine, Trimethylpyrazine であり, 麦茶, コーヒー, ピーナツなどの焙焼による生成物と共にした成分である。泥炭くん蒸麦芽の水蒸気蒸留液からも 2, 3 - Dimethylpyrazine, Trimethylpyrazine, 2, 6 - Diethylpyrazine, Propylpyrazine が検出される。これらの化合物はピラジン臭が強く好ましくない香気に分類されるものと思われるが,くん蒸麦芽の焦臭とは直接関係づけることはできない。このような含窒素化合物は食品中の蛋白質, アミノ酸と糖質との反応生成物であり, 食品の加熱香気として最も重要な成分と考えられており, その生成系路についてモデル系による研究も行なわれている。泥炭くん蒸麦芽から分離されるピラジン類は焙焼麦芽に比較して量的にそれほど多くないので不快臭の要因として考慮する必要はないが, ウィスキー中のアルキルピラジン類は麦芽に由来していることは明らかである。このほか, 含窒素成分としてアセチルピロールの存在が確認されるがこの化合物はコーヒーのアロマコンプレックスの 1 成分として確認されている。

このような塩基性物質は焙焼食品に好ましい香気を付与するうえで重要な因子となっているが焙焼香気を目的としない食品加工ではむしろ不快臭の原因となる。麦芽を原料とする発酵製品に対してもこれらの塩基性物質はその香気に大きな影響を与えているものと考える。

第 5 節 酸性物質の役割

炭水化物の熱分解によって生成する酸類は糖の酸化によって生成することが明らかにされている。これらの酸類は焙焼香気の中間産物として重要な成分が多い。Hunter ら¹⁰⁴⁾はパン発酵液における有機酸の消長と香気との関係を検討しており, Wiseblatt¹⁰⁵⁾もオープンガス中の有機酸として酢酸の寄与を認めている。炭水化物のカラメル化で生成する有機酸はぎ酸, 酢酸, 乳酸, ピルビン酸などが知られており, 焙焼香気のなかから C₂ ~ C₇¹⁰⁶⁾ フェニル酢酸, 二塩基性酸が確認されている。くん香からもぎ酸, プロピオノン酸などのほか不飽和脂肪酸が分離されているが, いずれも低級脂肪酸について検討している。

泥炭くん蒸麦芽の水蒸気蒸留液に含まれる酸性物質は C₂, C₃, C₇, C₈ などの直鎖飽和脂肪酸及び 4 - Methylpentanoic acid が主成分であり, とくに 4 - Methylpentanoic acid の相対比は約 30% となっている。高級脂肪酸として C₁₂, C₁₄, C₁₆, C₁₈, C₂₀, などが確認されるがこれらの相対比は低い。不飽和脂肪酸としてオレイン酸, リノール酸, リノレン酸が分離される。不飽和脂肪酸の割合は飽和酸に比較して著しく小さい。これらの脂肪酸類は麦芽の固有成分でありビール用麦芽とウィスキー用麦芽の間に本質的な差がない。麦芽のエーテル抽出物から酸性物質を分離し, その脂肪酸組成をみると, Fig.54 に示すように, 蒸留物で顕著に現われる低級

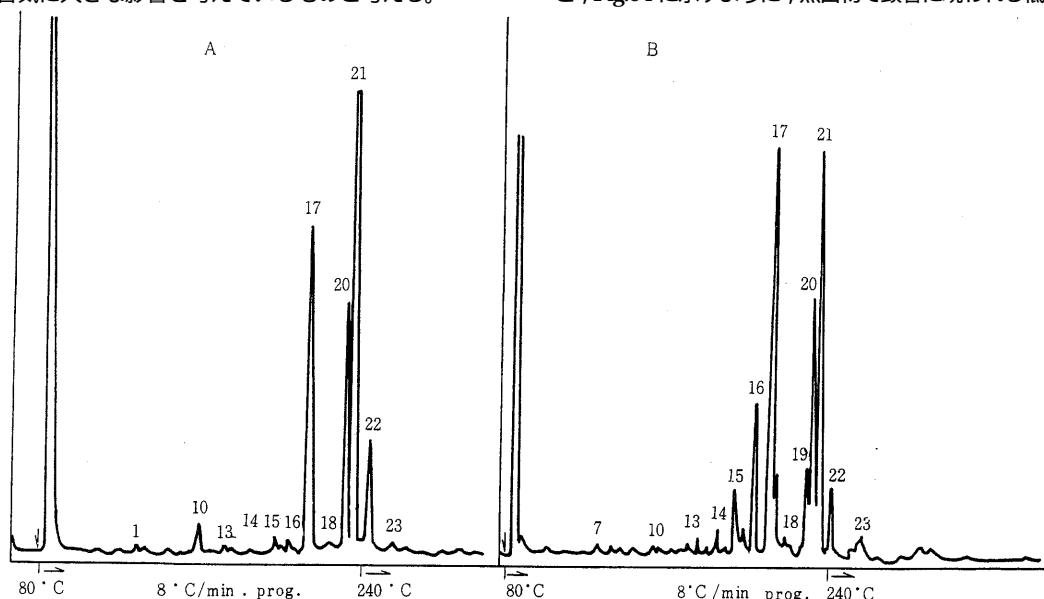


Fig.54 Gas chromatograms of acidic fraction

A: Distillate of peated malt, B: Ether extract of peated malt

脂肪酸類は著しく減少しており, C_{16} 及び C_{18} の不飽和酸類が顕著に検出される。このことは, 高級不飽和脂肪酸類の蒸気圧が低いために蒸留物として捕集できなかったことで説明できる。ビール用麦芽とウィスキー用麦芽との間ではこれらの不飽和脂肪酸に相違がない。

Table 10 Compounds identified in peated malt

Compounds	Compounds
Formaldehyde	$C_{15}H_{32}$
Acetaldehyde	$C_{16}H_{34}$
Propionaldehyde	$C_{17}H_{36}$
n-Butylaldehyde	$C_{18}H_{38}$
Isobutylaldehyde	$C_{19}H_{40}$
n-Valeraldehyde	$C_{20}H_{42}$
Isovaleraldehyde	$C_{21}H_{44}$
Capronaldehyde	$C_{23}H_{48}$
Furfural	$C_{24}H_{50}$
2-Acetyl furan	$C_{25}H_{52}$
5-Methylfurfural	$C_{27}H_{52}$
5-Hydroxyfurfural	2,5-Dimethyl pyrazine
Benzaldehyde	Ethyl pyrazine
Guaiacol	Trimethyl pyrazine
Methylguaiacol	Propyl pyrazine
Ethylguaiacol	2,6-Diethyl pyrazine
Phenol	2-Methyl-5-acetyl pyrazine
o-Cresol	1-Furfuryl pyrol
m-Cresol	2-Acetyl pyrol
p-Cresol	Acetic acid
p-Ethylphenol	Propionic acid
p-Butylphenol	Isobutyric acid
4-Vinylguaiacol	n-Valeric acid
β -Phenylethyl alcohol	Isocaproic acid
2-Heptyl alcohol	Caprylic acid
3-Heptyl alcohol	Peralgonic acid
2-Furfuryl alcohol	2-Furoic acid
cis-Pen-2-en-1-ol	Capric acid
Benzyl alcohol	Benzoic acid
Methyl acetate	Phenyl acetic acid
Ethyl acetate	Lauric acid
Ethyl palmitate	Myristic acid
Ethyl hexadecenoate	Palmitic acid
Ethyl oleate	Cinnamic acid
Ethyl linoleate	Stearic acid
5-Methylfuroic acid	Oleic acid
Propyl benzene	Linoleic acid
$C_{14}H_{30}$	Linolenic acid

脂肪酸類はアルコール発酵においてエステル生成の前駆物質としてウィスキーとビールの芳香成分に寄与することになるが,¹⁰⁷⁾ 不飽和酸の存在は醸造品ではむしろオフフレーバーとして影響する。したがって、ウィスキーとビール醸造に用いる原料麦芽の油脂組成は製品香気を支配する重要な因子となる。

芳香族酸として安息香酸、フェニル酢酸、桂皮酸が確認される。これらの酸類はそれ自身でも芳香をもっており、醸造品の芳香成分であるフェノールエステル類の前駆物質としての役割を果しているものと考える。

フラン誘導体として 2-Furoic acid が顕著に検出される。この化合物は糖の分解生成物として確認されており,¹⁰⁾ このメチルエステルは特徴的な香気をもつものとして注目されている。

酸性物質と泥炭の熱分解生成物との間には相関は認められない。

第 10 章 総 括

強力な糖化作用をもつ麦芽は酒類の醸造、水飴製造、麦芽エキスの製造用原料として広く利用されており、なかでも、ウィスキー、ビールの発酵原料としての需要がその大半を占めている。ところが麦芽の国内生産量は極めて微々たるものであり国内需要を充足できない現状である。とくに醸造酒の需要拡大は原料麦芽の大半を輸入に求めざるを得なくなっている。わが国で輸入している麦芽は主として英国、フランス、カナダで製造されたものであり輸入麦芽の約 80%がビール製造用の麦芽である。輸入麦芽については関税が賦課されているが、ウィスキー製造用の麦芽については関税を免除する措置がとられている。このような行政目的からウィスキー用の麦芽で泥炭を用いてくん蒸した麦芽とくん蒸処理をしない麦芽の鑑定分析が必要とされる。

ウィスキーはスモーケフレーバーをもつ蒸留酒としてよく知られているものであるが、それは発酵原料に泥炭でくん蒸した麦芽を使用することに起因している。食品の香気はその素材を反映している場合が非常に多く鑑定分析においては原料と製品の香気は分析に重要な情報を提供することが多い。ウィスキー製造用麦芽は泥炭くん蒸の有無においてはビール用麦芽と区別される。このことは、両者を判別する可能性を示している。このように香気成分は品質鑑定における重要な因子となっており、その一つとして官能検査による品質鑑定が広く行われている。最近では、ガスクロマトグラフィー、質量分析計の利用により香気に関する化学成分の分離確認と個々の化合物の香気における位置づけが明らかにされるこ

とから官能検査による香りの規格化を補足する手段として機器分析が評価されている。

ウィスキーの香気に関しては多くの報告がみられるが原料麦芽との関係から考察したものはない。著者はこの点を明らかにするために麦芽の水蒸気蒸留液についてガスクロマトグラフィー、質量分析計を中心に香気成分を分離同定し、それらの化学成分と麦芽の香気との関係を考察した。

1. 揮発性カルボニル化合物を2, 4-DNPH誘導体として捕集し、この混合物をLC, NMR, Mass, GC-Massで分離し確認する方法を検討した。アルデヒド類の2, 4-DNPHはGCで分解することなしに検知されることをGC-Massのスペクトルから明らかにし、さらにカルボニル2, 4-DNPHの開裂機構について考察し、GC-Massは微量のカルボニルの2, 4-DNPHを同定するのに有効であることを示した。さらにこの方法を麦芽の水蒸気蒸留物によって得られるカルボニルの2, 4-DNPHの分離同定に応用し、イソバレルアルデヒド、イソブチルアルデヒド、アセトアルデヒド、フルフラールなどを確認した。カルボニル化合物としてn-ブロピルアルデヒド、n-ブチルアルデヒド、n-バレルアルデヒドなどの脂肪族アルデヒドのほか、5-メチルフルフラール、2-アセチルフラン、ベンズアルデヒドなどの微量成分が確認された。これらのアルデヒド類は穀類を用いる調製食品の香気成分として分離されている。

2. 泥炭くん蒸麦芽の総フェノール量をフォリン試薬を用いて定量する方法を検討した。総フェノールは麦芽の酸性エーテル抽出液を呈色直前にアンモニアアルカリ性にして吸光度を測定して定量した。この方法により、0.05~20ppmの範囲のフェノールを定量することができる。

麦芽中の総フェノールをこの方法で定量した。ウィスキー用麦芽は2~15ppmの範囲であるが、この数値はビール用麦芽の0~1.0ppmに比較して高いことから、これらのフェノール類は泥炭の熱分解による分解生成物に由来するものと結論できる。総フェノール量が5ppm以下の麦芽は官能検査によるスモーカフレーバーの判別は不確実である。しかし、総フェノール量10ppm以上のものでは官能検査によりほぼスモーカフレーバーを感じできる。

3. ウィスキー用麦芽から分離確認されたフェノール性化合物のうち、グアヤコール、フェノール、o-クレゾール、m-クレゾール、メチルグアヤコール、エチルグアヤコールなどはビール用麦芽からは痕跡しか検出されないのでこれらのフェノール類の挙動は泥炭の熱分解

生成物に依存していると結論した。

p-エチルフェノール、ブチルフェノール、バニリンなどはビール用の麦芽からも検出されるので麦芽固有な成分であり、p-エチルフェノールとフェノールの相対比は泥炭くん蒸麦芽の判別に有効である。アルキルフェノール類は水蒸気蒸留による熱分解生成物であるか、あるいは麦芽の発芽による代謝生産物に由来するか明らかにできなかったので今後の研究課題として残される。

4. アルデヒド以外の中性物質としてC₁₂, C₁₃, C₁₄, C₁₅, C₁₆, C₁₇, C₁₈, C₁₉, C₂₀, C₂₁, C₂₂, C₂₃, C₂₄, C₂₅, C₂₇の飽和炭化水素の占める割合は大きい。このうち、C₁₆, C₁₈, C₂₃, C₂₄などの相対比がとくに大きい。

脂肪族アルコール類はTMS誘導体として分離し、1-Heptylalcohol, 2-Heptylalcohol, 3-Heptylalcohol, 2-Methyl-1-pentylalcohol, n-Nonylalcohol (cis)-pen-2-en-1-ol, Furfurylalcohol, などが顕著に検出された。環状ケトンとして5-Methylcyclopent-2-en-2-ol-1-one, Maltolが検出されるがその量は極めて少ない。芳香族アルコールとして2-Phenyl ethylalcoholが確認された。

エステル類としてC₁₂~C₁₈の脂肪酸エチルが顕著に検出されることは興味ある事実である。

5. 培焼した麦芽からMethylpyrazine, Ethylpyrazine, 2-Ethyl-6-methylpyrazine, Trimethylpyrazineなどのアルキルピラジンが検出される。これらの各成分は培焼食品の塩基性物質とよく類似している。泥炭くん蒸麦芽の塩基性物質は、2, 3-Dimethylpyrazine, Trimethylpyrazine, Propylpyrazine, 2, 6-Diethylpyrazineなどが主要なものであり、これらは泥炭くん蒸麦芽のピラジン類と共通している。

6. C₂, C₃, C₄, C₅, C₇, C₈, C₉, C₁₂, (C₁₃), C₁₄, (C₁₅), C₁₆, C₁₈の直鎖飽和脂肪酸、4-Methylpentanoic acid及びC₁₈の不飽和脂肪酸としてオレイン酸、リノール酸、リノレン酸が確認される。芳香族酸として2-Furoic acid, 2-Phenylacetic acid, Cinnamic acid, Benzoic acidが検出される。これらの有機酸類は芳香成分の先駆物質としての役割をもっており重要な香気成分と考える。

泥炭くん蒸麦芽の水蒸気蒸留物から確認された化合物の多くは種々の食品から分離されたものであるが麦芽の成分としては本研究によりはじめて明らかにした。とくに脂肪酸エチルの存在は麦芽以外の穀物からは検出されていない。泥炭くん蒸による分解生成物が直接麦芽の香気に関与するものとしてフェノール、クレゾール類、グアヤコール、エチルグアヤコールなどがあり、これらの

成分は麦芽のくん香に寄与しており、泥炭くん蒸処理と相關がみとめられる。したがって、フェノール、クレゾール、グアヤコールの3成分の挙動はウイスキー用麦芽の判別に直接的な情報を提供するものである。また、ウイスキーから検出される多数のフェノール性物質は原料麦芽のポリフェノール類の分解生成物のほかに、泥炭の

熱分解生成物に由来するものが多く、食品衛生の面から検討する必要があると思われる。

本研究において種々ご指導、ご助言を戴いた九州大学薬学部吉村英敏教授、長崎大学薬学部吉村 実教授に厚く感謝します。

第11章 文 献

- 1) J. Stoffelsma, G. K. Ketleus and J. Pypker: *J. Agr. Food Chem.*, **16**, 1000 (1968).
- 2) A. Crossley, T. D. Heyes and B. J. F. Hudson: *J. Ame. Oil Chem. Soc.*, **39**, 9 (1962).
- 3) M. R. Gumbmann and H. K. Burr: *J. Agr. Food Chem.*, **12**, 404 (1964).
- 4) 横塚 保, 逆井利夫, 浅尾保夫: 農化, **41**, 428 (1967).
- 5) H. J. Wobben, R. Timmer, R. Ter Heide and P. J. de Valois: *J. Food Science*, **36**, 464 (1971).
- 6) *ibid.* **36**, 554 (1971).
- 7) 清水康夫, 松任茂樹, 伊東保之, 岡田郁之助: 農化, **41**, 654 (1967).
- 8) 王 宝水, 桜井芳人: 食品工誌, **15**, 514 (1968).
- 9) 清水康夫, 松任茂樹, 水沼保之, 岡田郁之助: 食品工誌, **17**, 385 (1970).
- 10) P. Issenberg, A. Kobayashi and T. J. Mysliwy: *J. Agr. Food Chem.*, **17**, 1377 (1969).
- 11) 日本関税協会, 日本貿易月表 (1972).
- 12) 関税暫定措置法, (昭和35年3月法36号).
- 13) 菰田 快, 山田正一: 農化, **40**, 173 (1966).
- 14) 柴崎一雄, 岩渕せつ子: 食品工誌, **17**, 193 (1970).
- 15) 出来三男, 加藤時信: 本誌, No.11, 1 (1971). No.12, 89 (1972).
- 16) 菰田 快, 山田正一: 農化, **41**, 51 (1967).
- 17) L. Nykänen, E. Puputti and H. Suomalainen: *J. Food Science*, **33**, 88 (1968).
- 18) K. Nishimura and M. Masuda: *J. Food Science*, **36**, 819 (1971).
- 19) J. H. Kahn, E. C. LaRoe and H. A. Conner: *J. Food Science*, **33**, 395 (1968).
- 20) P. Schidrowitz and F. Kaye: *J. Soc. Chem. Ind.*, **24**, 558 (1905).
- 21) R. D. Steinke and M. C. Paulson: *Agr. and Food Chem.*, **12**, 381 (1964).
- 22) C. MacFarlane: *J. Institute Brewing*, **74**, 272 (1968).
- 23) W. Fiddler, R. C. Doerr, A. E. Wasserman and J. M. Salay: *Agr. and Food Chem.*, **14**, 659 (1966).
- 24) 金 和子: 化学と生物, **10**, 654 (1972).
- 25) A. E. Wasserman: *J. Food Science*, **31**, 1005 (1966).
- 26) 出来三男, 大野幸雄: 本誌, No.10, 1 (1971).
- 27) 出来三男: *ibid.* No.13, 13 (1973).
- 28) 出来三男, 加藤時信, 大野幸雄, 吉村実: 農化大会講演 (昭46.4).
- 29) G. Urbach: *J. Chromatog.*, **12**, 196 (1963).
- 30) I. W. Tucker: *J. Assoc. Offic. Agr. Chemists*, **25**, 779 (1942).
- 31) 堀米隆男, 神立 誠: 農化, **40**, 449 (1961).
- 32) L. Wiselblatt and F. E. Kohn: *Cereal Chem.*, **37**, 55 (1960).
- 33) 清水康夫, 松任茂樹, 伊東保之, 岡田郁之助: 農化, **43**, 217 (1969).
- 34) R. H. Walter and I. S. Fagerson: *J. Food Science*, **33**, 294 (1968).
- 35) D. J. Bryce, C. F. Greenwood: *Die Starke*, **15**, 285 (1963).

- 36) B. S. Miller, J. A. Johnson and R. J. Rbison: *Cereal Chem.*, **38**, 507 (1961).
- 37) Y. Linko, J. A. Johnson and B. S. Miller: *Cereal Chem.*, **39**, 468 (1962).
- 38) H. Ng., D. J. Reed and J. W. Pence: *Cereal Chem.*, **39**, 468 (1962).
- 39) E. Collin: *J. Agr. Food Chem.*, **19**, 533 (1971).
- 40) D. F. Brown, V. J. Senn, F. G. Dollar and L. A. Goldblatt: *J. Food Scence*, **33**, 595 (1968).
- 41) D. F. Brown, V. J. Senn, F. G. Dollar and L. A. Goldblatt: *J. Ame. Chem. Soc.*, **50**, 16 (1973).
- 42) 清水康夫, 松任茂樹, 伊東保之, 岡田郁之助: 農化, **42**, 421 (1968).
- 43) B. R. Johnson, G. R. Waller and R. L. Foltz: *J. Agr. Food Chem.*, **19**, 1025 (1971).
- 44) D. P. Chwartz and C. R. Brewington: *Microchem. J.*, **13**, 310 (1968).
- 45) D. P. Schwartz, O. W. Parks and M. Keesrey: *Anal. Chem.*, **34**, 669 (1962).
- 46) L. J. Papa and L. P. Turner: *J. Chromatogr. Sci.*, **10**, 747 (1972).
- 47) R. Ellis, A. M. Gaddes and G. T. Currie: *Anal. Chem.*, **30**, 475 (1958).
- 48) D. P. Schwartz, J. Shamey and C. R. Brewing: *Microchem. J.*, **13**, 407 (1968).
- 49) L. H. Ross: *Anal. Chem.*, **25**, 1288 (1953).
- 50) S.A. Fransis: *J. Chem. Physi.*, **18**, 56 (1950).
- 51) F. A. Bovey: "NMR Data Tables for Organic Compound I," Interscience Publishes, New York (1967).
- 52) J. H. Beynon, R. A. Saunders and A. E. Wilialms: "The mass spectra of organic molecules," Elsevier Publishing Co., (1968).
- 53) D. Goldsmith and C. Djerassi: *J. Org. Chem.*, **31**, 3661 (1966).
- 54) R. J. C. Kleipool and Th. Heins: *Nature*, **203**, 1280 (1964).
- 55) C. Djerassi and S. D. Sample: *Nature*, **208**, 1314 (1965).
- 56) 立松 晃, 後藤俊夫: 薬誌, **85**, 152 (1965).
- 57) J. W. Ralls: *Anal. Chem.*, **22**, 332 (1960).
- 58) R. L. Stephens and A. P. Tezler: *Anal. Chem.*, **32**, 1047 (1960).
- 59) W. G. Galetto, R. E. Kepner and A. D. Webb: *Anal. Chem.*, **38**, 34 (1966).
- 60) 山西貞, 竹井遙子, 小林彰夫: 農化, **41**, 526 (1960).
- 61) R. J. Soukup, R. J. Scarpellino and E. Danielozik: *Anal. Chem.*, **36**, 2255 (1964).
- 62) 清水康夫, 松任茂樹, 伊東保之, 岡田郁之助: 農化, **43**, 211 (1969).
- 63) 清水康夫, 松任茂樹, 水沼保之, 岡田郁之助: 食品工誌, **17**, 385 (1970).
- 64) H. Kallio, R. R. Linko and J. Kaitraanta: *J. Chromatogr.*, **65**, 355 (1972).
- 65) H. Halvarson: *J. Chromatogr.*, **66**, 35 (1972).
- 66) T. Aczel and H. E. Lumpkin: *Anal. Chem.*, **32**, 1819 (1960).
- 67) 佐々木慎一: "質量スペクトル演習," 化学の領域増刊, 南江堂 (1970).
- 68) F. C. Dallos and K. G. Koeppl: *J. Chromatogr. Sci.*, **7**, 565 (1969).
- 69) A. G. Sharkey, Jr., J. L. Shultz and R. A. Friedel: *Anal. Chem.*, **31**, 87 (1959).
- 70) A. C. Noble and W. W. Nawar: *J. Agr. Food Chem.*, **19**, 1040 (1971).
- 71) E. M. Emery: *Anal. Chem.*, **32**, 1495 (1960).
- 72) A. G. Sharkey, Jr., R. A. Friedel and S. H. Langer: *Anal. Chem.*, **29**, 770 (1957).
- 73) Pao - Shui Wang and G. V. Odell: *J. Agr. Food Chem.*, **20**, 206 (1972).
- 74) M. E. Mason and B. Johnson: *J. Agr. Food Chem.*, **14**, 454 (1966).
- 75) J. A. Newell, M. E. Mason and R. S. Mallock: *J. Agr. Food Chem.*, **15**, 767 (1967).
- 76) G. P. Rizzi: *J. Agr. Food Chem.*, **20**, 1081 (1972).
- 77) P. E. Koehler, M. E. Mason and J. A. Newell: *J. Agr. Food Chem.*, **17**, 393 (1969).
- 78) F. W. McLafferty and R. S. Gohlke: *Anal. Chem.*, **31**, 2076 (1959).

- 79) L. J. Bratzler, M. E. Spooner, J. B. Wetherspoon and J. A. Maxey: *J. Food Science*, **34**, 146 (1969).
- 80) H. Braus and F. D. Miller: *J. Assoc. Offic. Agr. Chemists*, **41**, 141 (1958).
- 81) L. S. Fagerson: *J. Agr. Food Chem.*, **17**, 747 (1969).
- 82) R. R. Johnson, E. D. Alford and G. W. Kinzer: *J. Agr. Food Chem.*, **17**, 22 (1969).
- 83) K. Kato: *Agr. Biol. Chem.*, **31**, 657 (1967).
- 84) A. O. Lustre and P. Issenberg: *J. Agr. Food Chem.*, **17**, 1387 (1969).
- 85) 横塚保, 逆井利夫, 浅尾保夫: 農化, **41**, 434 (1967).
- 86) M. R. Kornreich and P. Issenberg: *J. Agr. Food Chem.*, **20**, 1109 (1972).
- 87) E. Collins: *J. Agr. Food Chem.*, **19**, 533 (1971).
- 88) D. F. Brown, V. J. Senn, J. B. Stanley and F. G. Dollear: *J. Agr. Food Chem.*, **20**, 700 (1972).
- 89) Michel Van Preag, H. S. Stein and M. S. Tibbets: *J. Agr. Food Chem.*, **16**, 1005 (1968).
- 90) H. M. Liebich, D. R. Douglas, A. Zlatkis, F. Müggler - Chavan and A. Donzel: *J. Agr. Food Chem.*, **20**, 96 (1972).
- 91) R. H. White, J. W. Howard and C. J. Barnes: *J. Agr. Food Chem.*, **19**, 143 (1971).
- 92) E. Gelpi and J. Oro: *J. Chromatogr. Sci.*, **8**, 211 (1970).
- 93) E. L. Wick, T. Yamanichi, A. Kobayashi, S. Valenzula and P. Issenberg: *J. Agr. Food Chem.*, **17**, 751 (1969).
- 94) 清水康夫, 松任茂樹, 水沼保之, 岡田郁之助: 食品工誌, **17**, 391 (1970).
- 95) 伊東保之: 香料, No.102, 11 (1972).
- 96) A. O. Pittet, P. Rittersbacher and R. Muralidhara: *J. Agr. Food Chem.*, **18**, 929 (1970).
- 97) P. E. Koehler, M. E. Mason and G. V. Odell: *J. Food Science*, **36**, 816 (1971).
- 98) K. Watanabe and Y. Sato: *J. Agr. Food Chem.*, **19**, 1017 (1971).
- 99) J. P. Walradt, A. O. Pittet, T. E. Kinlin, R. Muralidhara and A. Sanderson: *J. Agr. Food Chem.*, **19**, 972 (1971).
- 100) B. R. Johnson, G. R. Waller and A. L. Burlingame: *J. Agr. Food Chem.*, **19**, 1020 (1971).
- 101) C. K. Shu, G. R. Waller: *J. Food Science*, **36**, 579 (1971).
- 102) 王宝水, 加藤博通, 藤巻正生: *Agr. Biol. Chem.*, **33**, 1775 (1969).
- 103) P. K. Koehler, M. E. Mason and J. A. Newell: *J. Agr. Food Chem.*, **17**, 393 (1969).
- 104) I. R. Hunter, H. Ng and J. W. Pence: *J. Food Science*, **26**, 578 (1961).
- 105) L. Wiseblatt: *Cereal Chem.*, **37**, 734 (1960).
- 106) B. A. Brown, K. S. Konigsbacher, F. E. Ellison and G. E. Mann: *J. Food Science*, **33**, 595 (1968).
- 107) K. Heyns, R. Stute and H. Paulsen, *Carbohydrate res.*, **2**, 132 (1966).
- 108) J. W. Foster: "Chemical Activity of Fungi," Academic Press, New York (1945).
- 109) K. Biemann: "Mass Spectrometry, Organic Chemical Application," McGraw - Hill Book Co. Inc., New York (1962).
- 110) F. W. McLafferty: "Mass Spectrometry of Organic Ions," Academic Press, New York (1963).

Studies on Aroma Compounds in Peated Malt

Mitsuo DEKI

**Central Customs Laboratory, Ministry of Finance,
531, Iwase, Matsudo - shi, Chiba - ken, Japan.**

- Received June 30, 1973 -