

におい嗅ぎ GC-MS を用いた冷凍枝豆のブランチング有無による香り評価

大日方麗* 本田梨香子* 小竹佐知子** 小林史幸**
李潤珠***† 鈴木徹***

- * 東京海洋大学大学院海洋科学技術研究科食機能保全科学専攻(108-8477 東京都港区港南 4-5-7)
** 日本獣医生命科学大学応用生命科学部 (180-8602 東京都武蔵野市境南町 1-7-1)
*** 東京海洋大学産学・地域連携推進機構サラダサイエンス寄附講座 (108-8477 東京都港区港南 4-5-7)

要約

本研究では、ブランチング処理の有無が冷凍枝豆の香気に与える影響について調査した。ブランチング処理をした枝豆試料と非ブランチング試料を真空包装後に急速凍結させ、同等な食感を与える調理条件の下で茹で加熱し、官能評価とにおい嗅ぎ GC-MS (GC-MS/O) による香気分析を行った。官能評価の結果より、喫食時に鼻から抜ける香りでは有意差が認められなかったが、喫食直前の莢の香りでは、非ブランチング冷解凍試料の方が有意に良好であった。また、GC-MS/O の分析結果より、非ブランチング冷解凍試料ではグリーン様香気表現がより多く検出された。したがって、ブランチング処理の有無において枝豆香気に影響を与えるのは莢であることが示唆された。

キーワード: 凍結, 凍結食品, 枝豆, ブランチング, GC-MS/O

1. 緒言

生鮮の枝豆は収穫時期が限られ、入手できる期間が非常に短いため、国内供給量のうち半分以上は冷凍された状態で市販されている。野菜の冷凍保存において、 -20°C 以下の温度では品質保持が可能であるが、氷結晶の生成による細胞膜の破壊により細胞内に保持されていた多量の水分の流出(ドリップ)が起き、かつ細胞の膜構造体の破壊により各種酵素が働き褐変し、著しく品質を害する^{1,2)}。そのため野菜の凍結前にはブランチングという加熱処理が行われ、酵素の不活性化、組織の柔軟化が図られる。市販の冷凍枝豆も同様な処理が施され、近年ブランチング条件の最適化などで調理時の食感、色調においては、生鮮物の調理品と遜色ない製品が流通するようになった。しかし、冷凍枝豆は、生鮮枝豆を茹でて食べるような風味の豊かさに欠ける傾向が一般的に指摘されている。その原因として、ブランチング処理とその後の冷水での急冷によって、おいしさの要因の一つである風味、特に香りが抜けてしまうことが原因として考えられる。枝豆の香気成分に関しては、完熟大豆と同様に

豆臭、青葉臭の原因物質が同定されるとともに、完熟大豆には検出されなかった化合物が同定されたとの報告もある³⁾。また、収穫直後の枝豆(莢付き)を茹で加熱した試料と、収穫直後の枝豆をブランチング後急冷し冷解凍した試料、およびブランチングせずに(非ブランチング)冷解凍した試料の香気成分を比較した研究報告では、家庭用冷凍庫(-20°C)で3か月間保管した試料を官能評価、香気分析したところ、非ブランチング冷解凍試料では、ブランチング冷解凍試料に比べ、大豆不快臭である 1-octen-3-ol が 2~4 倍、hexanal が 4~5 倍多く検出され、香気劣化が指摘されている⁴⁾。こういった研究から枝豆の冷凍保存にはブランチング処理が必須とされて来た。

しかし、これまでの研究技術報告では保管中の空気との遮断や貯蔵温度など保管条件の影響、さらに解凍・加熱の条件が考慮されていないことが多い。すなわち、非ブランチング冷凍品でも凍結保管時や解凍・加熱時に起こる酵素反応、酸化を抑える手法を総合的に利用することで香気を含めた初期の品質を保持可能であると考えられる。こういった観点から香りの損失、栄養価の

†Fax:+81 3-5463-0522 E-mail:ylee000@kaiyodai.ac.jp

損失を避けられないブランチング処理を行わない非ブランチング冷解凍技術を検討した研究例は見られない。特に香気保持に焦点を絞った非ブランチング冷凍枝豆技術の可能性を検討した研究報告はこれまでにない。

本研究では、生鮮枝豆を茹で加熱した試料をコントロールとし、生鮮枝豆をブランチング後急冷し、真空包装後に急速凍結、茹で解凍した試料と、ブランチングせずに真空包装後に急速凍結、茹で解凍した試料の比較を行った。におい嗅ぎガスクロマトグラフ質量分析計(GC-MS/O)を用いて分析し、ブランチングの有無による香気成分の変化の解明を試みた。GC-MS/Oは、におい物質を分離同定する機器分析技術(GC-MS)と、においを感知するヒトの嗅覚(Olfaction)を組み合わせた手法である⁵⁾。食品分析などの分野では、このGC-MS/Oが臭気の原因物質の同定に成果を上げているため、GC-MS/Oを取り入れることで、機器分析では感知できない枝豆香気を構成する微量なにおいを感知することが期待できる。また、GC-MS/O分析では、Aroma extract dilution analysis(AEDA法)を採用した。この手法に加え官能評価を行うことで、枝豆香気を総合的に評価し、非ブランチング冷解凍枝豆が、ブランチング冷解凍枝豆に比べ香気を保持できることを以下に示す。

2. 実験方法

2.1 試料

2020年9月に購入した岐阜県産の枝豆を使用した。個体差を防ぐため、その中から1つの莢に2-3粒入っている枝豆(試料重量2-4g)を使用した。また、いずれの分析試料も、加熱処理後は室温に放冷後、実験に供した。

2.2 茹で加熱およびブランチング処理・凍結処理

食品のおいしさには、テクスチャーが極めて大きな影響を及ぼす。呈味成分やその他の条件が仮に等しくても、テクスチャーの違いによって官能評価の結果も大きく異なることが知られており、特に半固体食品や固体食品ではその影響が著しい⁶⁾。したがって、本研究で用いた試料

の硬さを揃えるため、予備実験を行った。

試料の茹で加熱およびブランチング処理は、4Lの沸騰水に200gの試料を投入して行った⁷⁾。枝豆は塩茹でしたものが一般的であるため、沸騰水には枝豆重量に対し1%の食塩を添加した。生鮮枝豆を3分、5分、7分間に分けて茹で加熱し、20代の男女14名による5段階評価を行い、嗜好性を調査した。その結果、5分間茹で加熱した試料の嗜好性が最も高い結果であった。そこで、嗜好性の高い試料の力学特性を把握するため、試料の破断荷重をテクスチャーアナライザー(TA.XT plus, Stable Micro Systems)を用いて測定した。種皮と薄皮を除いて子葉を半割にし、子葉の中心部を下にして、直径3mmの円柱型のプランジャーを用いて、測定条件は変形90%、押し込む速度1mm/sと設定して圧縮試験を10回行った。5分間茹で加熱した試料の破断荷重は7Nであり、これを基準とした。

Table1に、破断荷重が7Nになる試料A、B、Cのブランチング・凍結解凍条件を示す。試料Aは生鮮枝豆を茹で加熱した試料、試料Bは生鮮枝豆をブランチング後急冷し、急速凍結後解凍した試料、試料Cはブランチングをせずに急速凍結後解凍した試料である。以降、試料Bはブランチング冷解凍試料、試料Cは非ブランチング冷解凍試料と記述する。凍結する際は、ナイロンポリ規格袋(飛竜N-6NP, 旭化成パックス株式会社)に試料が重ならない程度に入れ、真空包装し、-80℃ストッカー(超低温フリーザMDF-C8V1, 三洋電機株式会社)にて凍結させ、24時間保管した。本研究では保管時の変化因子を除くため24時間の保管に限定した。

Table1 Preparation of samples

Sample	Processing conditions
A	Boiling for 5 min
B	Blanching for 1 min → cooling for ice water → freezing at -80 °C → thawing by boiling for 1min
C	Freezing at -80 °C → thawing by boiling for 5min

2.3 官能評価

官能評価は、20～30代の男女14名により行った。試料Aを基準品として試料BおよびCに関して「食べる前の莢の香り」、「莢の色」、「食べたときの香り」、「食感」、「総合評価」の5つの項目について5段階(-2:悪い～+2:良い)で評価を行った。Tukey法により各試料間の多重比較をし、有意差検定を行った。供試は各試料2莢ずつとした。

2.4 香気成分分析

2.4.1 香気濃縮物の調製

GC-MS/O分析用の試料調製には、官能評価と試料条件を同様にするため、非加熱状態で香気抽出が可能な固相抽出法(カラム濃縮法)を採用した。この方法は、非極性の芳香族ポラスポリマービーズを充填したガラスカラムに液体試料を流下させ、疎水性相互作用により香気成分を吸着させる方法である⁸⁾。試料A、B、Cを莢ごと細かく切り刻んで、試料20gに蒸留水40mlを加えホモジナイズし、10000rpmで10分間遠心分離し(4℃)、上澄みを香気成分分析用の試料とした。ポラパックQ(50-80 mesh, Waters Co. Ltd., Milford, MA)10mlを充填したガラスカラム(内径2cm×40cm)に試料を流下させ、香気成分を吸着剤に吸着させた⁹⁾。吸着させた香気成分は100mlのジエチルエーテルを流下して溶出させ、無水硫酸ナトリウムにより脱水後、窒素で濃縮した。

2.4.2 GC-MS/OによるAEDA分析

固相抽出法により得られた濃縮物を、GC-MS装置(6890N GC/5973inert MSD, Agilent Technologies)に1μl供し、MSとにおい嗅ぎ装置(ODP2 Sniffing port, GERSTEL)への流量比が1:2となるように香気成分をカラム出口で溜出分岐した。その他の条件はTable2に示す。香気濃縮物は4th倍に順次ジエチルエーテルで希釈してAEDA分析を行い、においを感じた最大希釈時の希釈倍率をFlavor dilution factor (FDファクター)とした¹⁰⁾。におい嗅ぎは訓練された20代の男女2名で行った。

Table 2 GC-MS conditions

	Conditions
Column	DB-WAX (Agilent Technologies)
Column dimension	30 m×0.25 mm I.D., ×0.25 μm df
Oven ramping program	40°C (4 min) → 8 °C/min → 240°C (10 min)
Flow mode	Constant flow
Column flow	1.5 mL/min
Average linear velocity	33 cm/sec
Carrier gas	helium
Injection temperature	240 °C
Ion source temperature	230 °C
MS conditions	SCAN mode

2.4.3 GC-MS分析による大豆不快臭の同定

GC-MS/Oによる分析と同じ香気濃縮物を試料とし、同様のGC-MS装置に1μl供して分析を行った。分析条件はTable2と同様に行った。

3. 結果および考察

3.1 官能評価によるブランチング有無の比較

試料Aを基準とした試料B、Cの各項目に関する官能評価の結果をFig.1に示す。「食べる前の莢の香り」では、試料B-C間でBの評価が低い結果であったが、試料A-B間と試料A-C間に有意差は認められなかった。「莢の色」では、試料A-B間でBが良いと評価されたが、試料A-C間と試料B-C間に有意差は認められなかった。

「食べる前の莢の香り」、「莢の色」に有意差が見られた一方で、「食べた時の香り」、「食感」、「総合評価」の3項目に関しては有意差が認められなかった。特に「食感」に関しては、予め破断荷重を揃えてブランチング条件を設定したため、人による知覚にも影響を及ぼさず、揃えられていたことが確認された。したがって、非ブランチング冷解凍試料による外観の変化や風味の低下は見られなかったと考えられる。

評価項目のうち「食べた時の香り」に有意差が認められなかったのに対し、「食べる前の莢の香り」に有意差が認められたことから、豆を咀嚼し

た際に鼻から抜ける香りではなく、喫食直前に鼻に近づく「莢」が、枝豆の香りに影響を与えていることが示唆された。

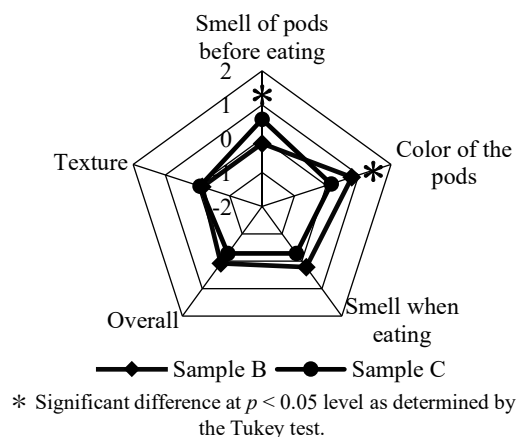


Fig. 1 Sensory evaluation of sample B and C compared with sample A.

3.2 GC-MS/O による AEDA 分析におけるブランチング有無の香り成分の比較

GC-MS/O による AEDA 分析の結果を Table 3 に示す。これは、におい嗅ぎ表現の中からミント、キュウリ、スイカなどと表現されたものを「グリーン様香り」として抜粋し、試料 A, B, C 間でグリーン様香気の FD ファクターを比較したものである。前述したように FD ファクターはにおいを感じた最大希釈時の希釈倍率を表しており、大きい程その化合物が試料の香りに寄与している可能性が高い。試料 C では、保持時間 15.94 分、16.65 分および 19.21 分において、グリーン様香気の FD ファクターが試料 A, B より大きいことが示された。試料 B では、知覚できなかったにおいが 3 つあったことから、これらはブランチング処理および冷水での急冷によって消失したものと推定される。保持時間 24.18 分と 25.97 分において、試料 B が試料 A あるいは C より FD ファクターが高くなっており、これはブランチング処理での加熱によって、グリーン様香り以外の香り生成物が発生している可能性があると考えられる。そして、この 2 つの保持時間では、全ての試料において FD ファクターが他の保持時間に比べて高いことから、枝豆の特徴香気を形成している可能性が示唆された。

次に、FD ファクターが 1 の時の、試料 A,

B, C 間におけるグリーン様香気の表現数を比較したものを Table 4 に示す。試料 C が、試料 A および B に比べ表現数が多く、非ブランチング冷凍試料の方がグリーン様香気をより多く知覚したことが認められた。したがって、この結果と、Table 3 で示した試料 C におけるグリーン様香気の FD ファクターが他 2 試料より大きいという結果が、官能評価の「食べる前の莢の香り」項目において、試料 C が有意に良いと評価されたことに関連すると考えられた。

Table 3 Results of AEDA with GC-MS/O

Retention time (min)	Characteristics of odor	FD factor		
		A	B	C
15.40	Watermelon-like, cucumber-like	1	4	1
15.94	Cucumber-like, stinkbug-like	1	-	4
16.65	Cucumber-like, stinkbug-like	4	4	16
18.60	Minty, watermelon-like	4	4	4
19.21	Cucumber-like, stinkbug-like	1	-	16
19.89	Grassy, stinkbug-like	4	-	4
21.34	Minty	4	4	4
24.18	Minty	16	64	16
25.97	Minty	64	64	16

Table 4 Number of expressions of green-like aroma in each sample (FD factor = 1)

Sample	Number of expressions
A	13
B	10
C	22

3.3 GC-MS 分析によるブランチング有無の大豆不快臭の比較

収穫直後の枝豆とブランチング処理の有無による香り成分の比較に関する既報告では⁴⁾、家庭用冷凍庫(-20 °C)で 3 か月間保管した試料を官

能評価, 香気分析したところ, 非ブランチング冷解凍試料では, ブランチング冷解凍試料に比べ, 大豆不快臭である 1-octen-3-ol が 2~4 倍, hexanal が 4~5 倍多く検出され, 香気劣化が指摘されている. 本実験でも, この 2 化合物が検出されたため, それらのピーク面積を試料 B-C 間で比較した(Table 5). 非ブランチング冷解凍試料 C は, ブランチング冷解凍試料 B に比べ, 1-octen-3-ol は 1.2 倍, hexanal は 4.1 倍となり, 既報⁴⁾に比べ増加が抑えられていた. これは, 枝豆を冷凍する際, 真空包装後に急速凍結したことにより, 酸化を抑えられたことが要因として考えられる.

Table 5 Comparison of samples B and C of hexanal and 1-octen-3-ol

Compounds	Peak area	
	B	C
Hexanal	1.43×10 ⁶	5.91×10 ⁶
1-Octen-3-ol	1.33×10 ⁷	1.55×10 ⁷

4. 結論

ブランチング処理の有無が冷凍枝豆の香気に与える影響について, 「官能評価」と「GC-MS/O による香気分析」にて比較した. 官能評価において, 「食べる前の莢の香り」ではブランチングの有無により有意差が認められたのに対し, 「食べた時の香り」ではブランチングの有無により有意差が認められなかった. これより, 「莢」が枝豆の品質に影響していることが示唆された. また, GC-MS/O の分析結果において, 非ブランチング冷解凍試料はグリーン様香気が最も多く含まれており, FD ファクターも他 2 試料より大きかった. これらが, 官能評価で有意に良いと評価されたことに関連すると考えられる. 以上の結果から, 本実験の条件(真空包装後-80℃急速凍結させ, -80℃で 24 時間保管し, 茹で解凍)下では, ブランチングをせずに冷解凍する方が, ブランチング処理を施すよりも, より新鮮な枝豆香気を保持することができると考えられた.

今後は, グリーン様香気を形成する香気化合物を明らかにするとともに, 枝豆の特徴香気である可能性が高いと考えられる保持時間 24.18

分と 25.97 分における香気化合物の解明を試みることで, 非ブランチング冷凍の香気保持の可能性を明確なものにしていく. また, 今回「莢」が枝豆の品質に影響していることが示唆されたことから, 「豆そのものの香り」や「莢そのものの香り」の香気分析を行うことで, 「莢」が枝豆の品質に影響しているのかどうか明確にしていく.

References

- 1) Takamiya, K., "Vegetable science", 1993, Japan Publishing Co., Tokyo, pp. 159. (in Japanese)
- 2) Suzuki, T., Frozen food and home freezing. *Journal for the Integrated Study of Dietary Habits*. 2020, **30**(4), pp. 178-182. (in Japanese)
- 3) Sugawara, E., Ito, T., Odagiri, S., Kubota, K. and Kobayashi, A., Changes in Aroma Components of Green Soybeans with Maturity, *Journal of the Agricultural Chemical Society of Japan.*, 1988, **62**(2), pp. 149-155. (in Japanese)
- 4) Sugawara, E., Changes in Aroma Components of Green Soybeans during Refrigeration, *Journal of Home Economics of Japan.*, 1994, **45**(6), pp. 545-548. (in Japanese)
- 5) Egi, N., Hirao, K., Mitsuboshi, S., Yoneyama, Y., Murakami, M. and Tanaka, T., The Main Aroma Compounds in Cookie Analysis of the Main Aroma Compounds in Cookies Using Steam Distillation Extraction and Aroma Extract Dilution Methods, *Journal of the Japanese Society for Food Science and Technology.*, 2020, **67**(5), pp. 171-175. (in Japanese)
- 6) Takahashi, R. and Nishinari, K., Analytical Methods for Deliciousness of "Bunseki", *The journal of the Japan Society for Analytical Chemistry.*, 2010, **8**, pp. 388-394. (in Japanese)
- 7) Negishi, M. and Sakai, Y., Study on storage of fruits and vegetables (2), *Bulletin of the Agricultural Research Institute of Kanagawa Prefecture.*, 1970, **109**, pp. 1-16. (in Japanese)
- 8) Nakamura, R., "New food analysis method", 1996, Japan Publishing Co., Tokyo, pp. 692-693. (in Japanese)
- 9) Shimoda, M., Hirano, K. and Osajima, Y., Concentration of volatile components in foods with porous polymer column, *The journal of the Japan Society for Analytical Chemistry.*, 1987, **36**(11), pp. 792-798. (in Japanese)
- 10) Ullrich, F. and Grosch, W., Identification of the most intense volatile flavour compounds formed during autoxidation of linoleic acid, *Z. Lebensm. Unters. Forsch.*, 1987, **184**, pp. 277-282. (in German)

Aroma Evaluation of Frozen Green Soybeans (Edamame) with/without Blanching Treatment Using Gas Chromatography-mass Spectrometry Coupled with Olfactometry (GC-MS/O)

Rei OBINATA*

Rikako HONDA*

Sachiko ODAKE**

Fumiyuki KOBAYASHI**

Younju LEE****†

Toru SUZUKI***

* Course of Food Science and Technology, Graduate School of Marine Science and Technology
(4-5-7 Konan, Minato-ku, Tokyo, 108-8477)

** Faculty of Applied Life Science, Nippon Veterinary and Life Science University
(1-7-1 Kyonanchō, Musashino, Tokyo, 180-8602)

*** Salad Science (Endowed Laboratory), Office of Liaison and Cooperative Research, Tokyo University of
Marine Science and Technology
(4-5-7 Konan, Minato-ku, Tokyo, 108-8477)

Summary

In this study, we aimed to investigate the effect of blanching treatment on the aroma of frozen green soybeans (edamame). Frozen samples were vacuum-packed and blanched under conditions that yielded the same texture, and sensory evaluation and aroma analysis were conducted by gas chromatography-mass spectrometry-olfactometry (GC-MS/O). The results of sensory evaluation revealed no significant difference in the retronasal aroma while eating; however, the aroma of the frozen-thawed pods with unblanching immediately before eating was significantly better. Furthermore, GC-MS/O analysis detected a more green-like aroma in unblanched edamame, substantiating that blanching treatment undesirably affects the aroma of frozen edamame.

Keywords: Freezing, Frozen food, Edamame, Blanching, GC-MS/O