

Application Note

島津アプリケーションノート No.17(食品)



Food

食品劣化による異臭の解析

青山 佳弘 齋藤 良弘 岡村 嘉之
 Y.AOYAMA Y.SAITO Y.OKAMURA

1.はじめに

食品を暖かな場所に置き忘れて腐らせてしまったり、冷蔵庫に保管してカビを生やしてしまった経験を皆さんもお持ちと思います。食品は腐敗や劣化によって、見た目の変化だけでなく異臭を放つこともあります。人は外観上の変化よりも、僅かなにおいの変化を感じ取り、その食品を食べて大丈夫かどうか？を判断することの方が多くかもしれません。

食品のにおいの変化して、人がそのにおいに嫌悪感を感じると異臭となります。

ひとことで異臭といってもその成分や発生原因は様々で、食品自身に含まれる成分の変質や外部からの混入成分によって品質に変化が起こり異臭を発生させます。

今回のアプリケーションノートでは劣化を起こした、または劣化を再現させた食品について、におい識別装置 FF-2A による評価を行い、さらに GC/MS 法による成分分析を行った結果をご報告します。

2.バニリンの分解による薬品臭

バニラの香りを放つバニリンはアイスクリームなどの乳製品への着香のため食品に添加されます。バニリンは分解によりアルデヒド基が外れ、独特の薬品臭を放つグアヤコールを生成します。バニリンとグアヤコールの構造式を図 2-1 に示しました。食品に含まれるバニリンが分解されグアヤコールが生成されてしまうと異臭の原因となってしまいます。

バニリンの分解には土壌などに多く含まれる細菌が関与しており、90℃程度の殺菌では死滅せず果汁飲料などに混入するとグアヤコールを生成して異臭の原因となることが報告されています¹⁾。グアヤコールによる異臭苦情は果汁飲料だけでなく、ココア飲料やプリンに関する事例が報告されています^{2),3)}。

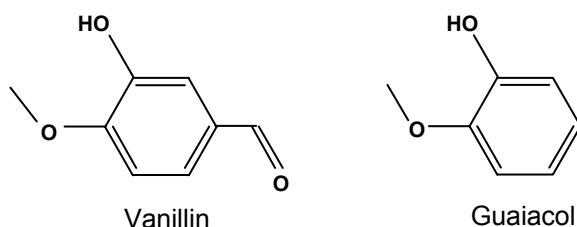


図2-1 VanillinとGuaiacolの構造式

我々はバニリンが添加されている市販のプリンを用いて、グアヤコールを発生させる劣化の再現実験を行い、そのにおいを評価しました。市販プリンに土壌抽出水を添加して、実験的に菌によるグアヤコール生成を再現した試料を作製して、におい識別装置FF-2Aによる識別結果とGC/MSによる異臭成分の同定を行った結果をご紹介します。

- 1) 東洋食品工業短大・東洋食品研究所 研究報告書,21,105-115(1996)
- 2) 奈良県保健環境研究センター年報,第 40 号,(平成 17 年度)
- 3) におい・かおり環境学会誌,41,4,256(2010)

2-1.試料調製

試料プリン:

市販のカップ入りプリンを購入して使用しました。

土壌抽出水:

バニリンの分解を促す土壌抽出水は、弊社研究所近くの道路沿いの植え込みの土 6g を採取し、これに蒸留水 6g を加え、よく振り混ぜて土壌を蒸留水に分散させました。これを 2000rpm で 5 分間遠心分離後、上澄み液を採取して土壌抽出水としました。

試料調製:

プリンのカラメル部分を入れないようにプリン本体をヘッドスペースサンプラー用バイアルに 3.0g 量り採りました。そこに土壌抽出水 0.5g を添加し、バイアルを封入して、土壌抽出水入り試料を作製しました。比較試料として土壌抽出水の代わりに蒸留水を入れた蒸留水入り試料を作製しました。

2-2.におい識別装置FF-2Aによる識別結果

土壌抽出水入り試料と、蒸留水入り試料について、40℃-24 時間保温後、室温に戻しました。

それぞれの試料を PET 製サンプルバッグに移し、乾燥窒素ガスを充填し、室温下(23℃)で 2 時間放置しておいを発生させサンプリングを行いました。このサンプリングの際、蒸留水入り試料には土壌抽出水の

においを考慮するために、土壌抽出水 0.5mL を追加しました。

土壌抽出水入り試料は、においガス濃度が高かったため、そのにおいガスを別のサンプルバッグに入れ乾燥窒素ガスを加えて 5 倍に希釈した測定用ガスを作成し、測定を行いました。

絶対値表現解析を行った結果を、図 2-2-1、図 2-2-2 に示しました。絶対値表現解析は、指標となる基準ガスを設定し、サンプルのにおいガスと基準ガスの測定値を比較解析し、基準ガスとの関係性を、質と強度に分けて数値で表現する解析方法です。

図 2-2-1 に示したレーダーチャートには、指標となる基準ガスに島津で選定した9種類のガスを用いた、スタンダードモードでの解析結果を示しました。

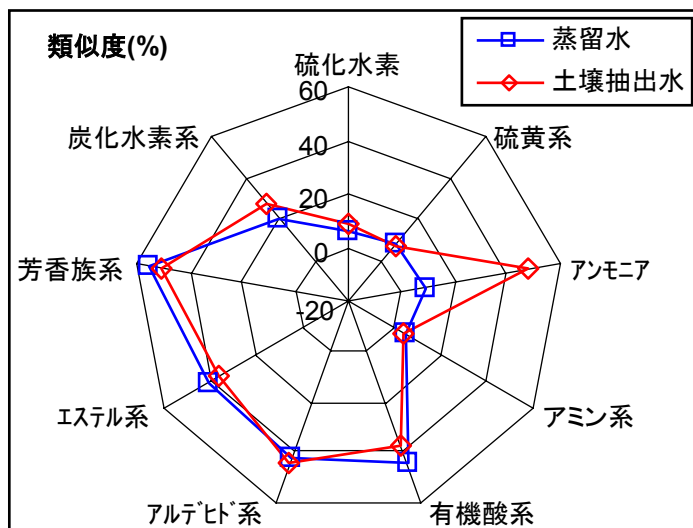


図 2-2-1. プリンのにおいの質(類似度)の変化

レーダーチャート上のパターンが変化していることから、土壌抽出水入り試料は、そのにおいが蒸留水入り試料に比べ変化していることが分かります。

図 2-2-2 には、臭気指数の考え方をういた強さの予測値である「臭気指数相当値」により、においの強さを表現した結果を示しました。土壌抽出水入り試料はその変性により、蒸留水入り試料に比べ、においが強くなるという結果が得られました。

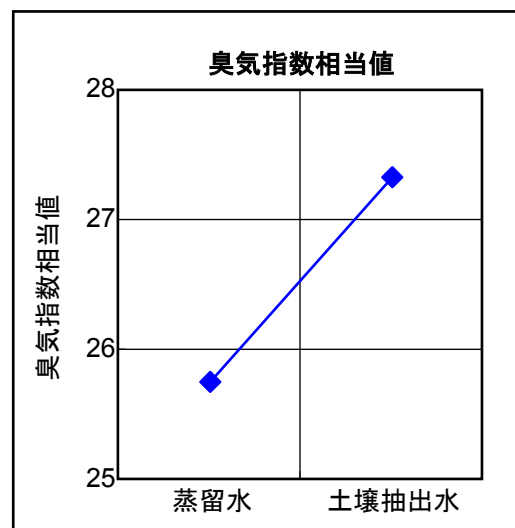


図 2-2-2. プリンのにおいの強さの変化

2-3.ヘッドスペースGC/MSによる異臭成分分析結果

土壌抽出水入り試料と蒸留水入り試料について、封入直後、40°C-8 時間保温後、40°C-24 時間保温後でヘッドスペース GC/MS による分析を行いました。分析条件を表 2-3-1 に示しました。

それぞれの試料条件での結果を図 2-3-1 に示しました。上段のオレンジ色で示したクロマトグラムは土壌抽出水入り試料の結果で、下段の黒色で示したクロマトグラムは蒸留水入り試料の結果です。

強度の高い検出ピークについて得られたマススペクトルの、シミラリティ検索による定性分析を行いヒッ

トした化合物の名称と構造式をクロマトグラムに示しました。

封入直後は土壌抽出水入り試料、蒸留水入り試料共に強度の高いピークは Furfural だけでした。

蒸留水入り試料では 40°C-8 時間経過後も、強度の高いピークは Furfural だけでしたが、土壌抽出水入り試料では多くのピークを検出し、Furfural は検出できなくなりました。Furfural と保持時間が非常に近いピークが確認できましたが、このピークは酢酸でした。

表2-3-1 分析条件

| | | | |
|------------|------------------|----------------|---|
| ヘッドスペース | 装置 | ガスクロマトグラム質量分析計 | |
| 装置 | : TurboMatrix HS | 装置 | : GCMS-QP2010 Plus |
| オープン温度 | : 90°C | カラム | : DB-WAX (長さ30 m, 内径0.32 mmID, 膜厚0.25 μm) |
| ニードル温度 | : 200°C | カラム温度 | : 50°C-10°C/分-250°C(5分) |
| トランスファー温度 | : 210°C | 気化室温度 | : 220°C |
| HSキャリアガス圧力 | : 140kPa | インターフェース温度 | : 230°C |
| 注入時間 | : 0.2分 | イオン源温度 | : 200°C |
| | | スキャンモード | : m/z 29~350 |
| | | キャリアガス | : He, 120 kPa |

40°C-24時間経過試料では蒸留水入り試料でも多くのピークが検出され、強度は異なるものの土壤抽出水入り試料と蒸留水入り試料で多くの検出ピークが一致し、有機酸やアルコールの発生が確認できました。土壤抽出水入り試料からは Butandiol 2 と Guaiacol が特異的に検出されました。

2,3-Butandiol は光学異性体が存在する化合物で

図 2-3-1 では溶出順の早い方を 2,3-Butandiol 1 とし遅い方を 2,3-Butandiol 2 としました。2,3-Butandiol 1 は蒸留水入り試料と土壤抽出水入り試料共に検出されましたが、溶出の遅い 2,3-Butandiol 2 は土壤抽出水入り試料で特異的に検出されました。この原因については不明ですが、微生物の分解生成により一方が特異的に生成された可能性が考えられます。

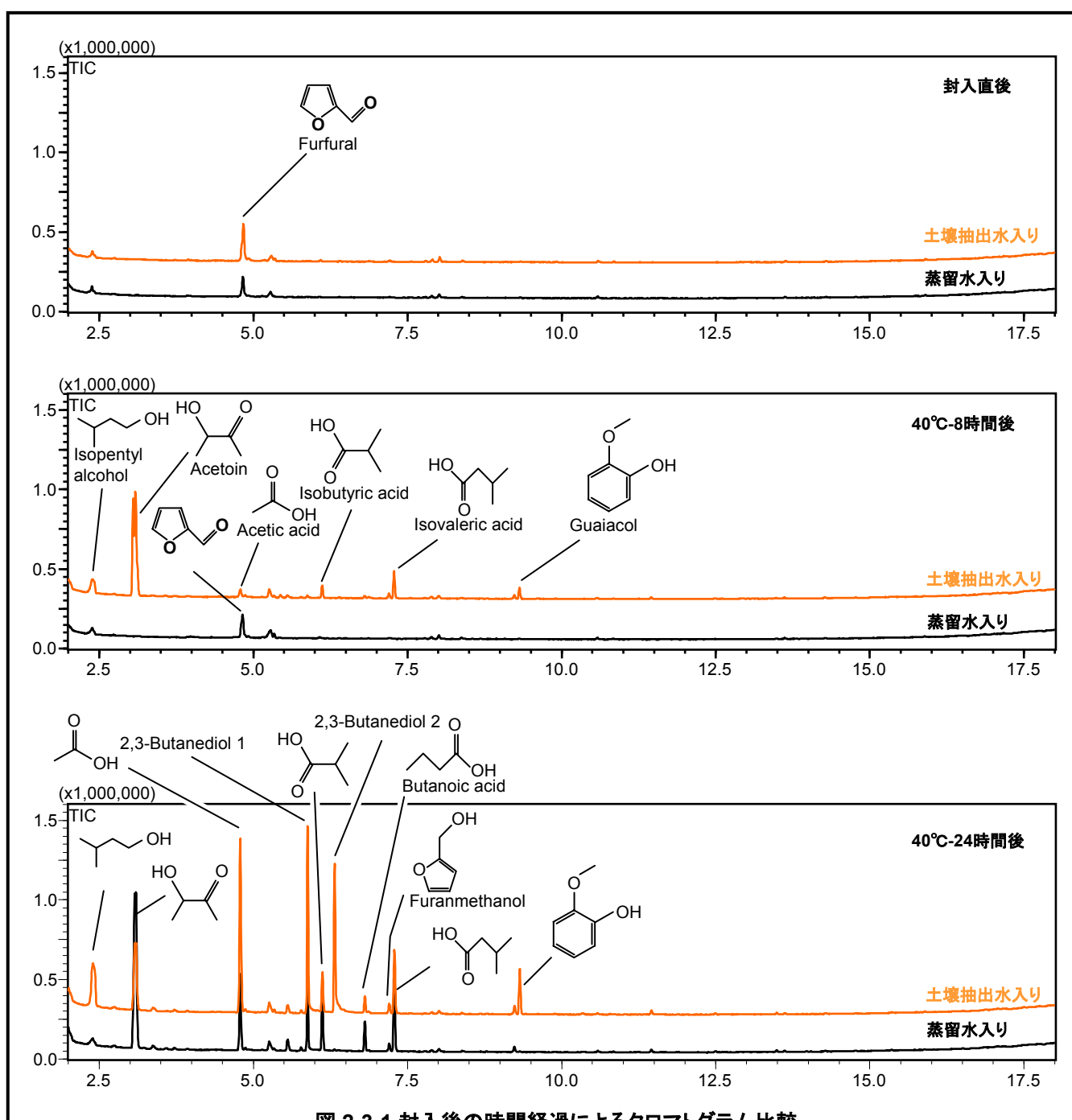


図 2-3-1 封入後の時間経過によるクロマトグラム比較

土壌抽出水入り試料から特異的に検出された Guaiacol について解析を行いました。Guaiacol 検出ピークのマススペクトルによるシミュラリティ検索結果を図 2-3-4 に示しました。特徴的な m/z である m/z 109 クロマトグラムを各試料調整条件で図 2-3-2 に示しました。オレンジ色で示したクロマトグラムが土壌抽出水入り試料の結果で、黒色で示したクロマトグラムが蒸留水入り試料の結果です。上段が封入直後、中段が 40°C-8 時間経過、下段が 40°C-24 時間経過での結果で、各条件でのクロマトグラムの Guaiacol ピーク

に▼を付しました。GC/MS では目的成分の特徴的な m/z のクロマトグラムを描くことで、その成分のピークを選択的に検出できます。

Guaiacol は土壌抽出水入り試料のみで、特異的に検出されることが確認でき、時間経過と共に強度が増しており、生成量が増大していると考えられます。

この実験結果から土壌に含まれる菌の作用によりプリンに含まれるバニリンが分解され Guaiacol を生成すると考えられます。

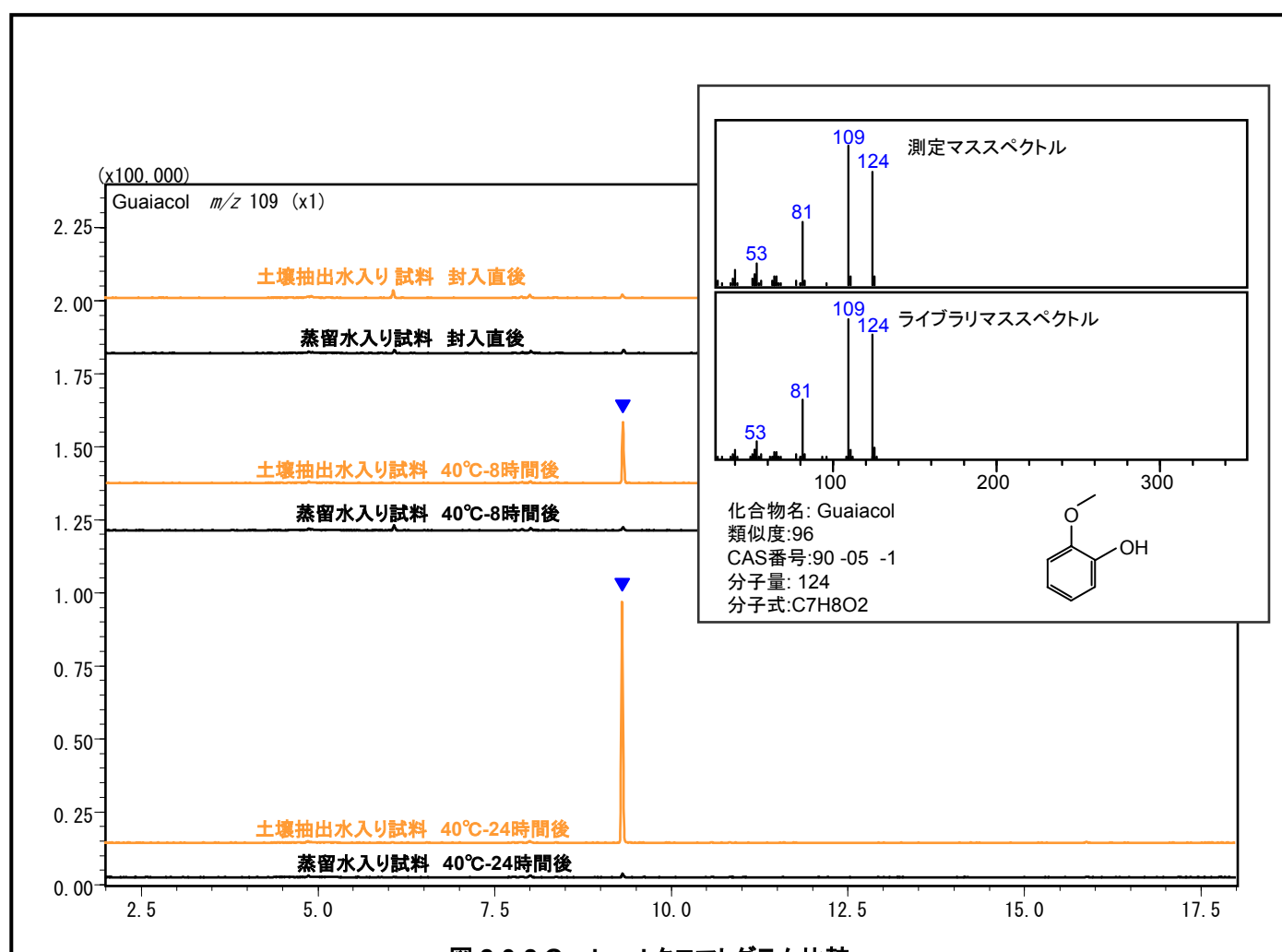


図 2-3-2 Guaiacol クロマトグラム比較

次に、時間経過と共にピークが検出されなくなった Furfural について考察しました。Furfural は甘く焦げた香りを呈する化合物で開封直後に強く検出されましたが、40°C-8 時間経過後は土壌抽出水入り試料では検出されなくなりました。蒸留水入り試料では 40°C-8 時間経過後も検出されましたが、40°C-24 時間後では検出されなくなりました。

8 時間後の土壌抽出水入り試料では Furfural が検出できなくなった一方で Furfuryl alcohol を強く検出しました。Furfuryl alcohol は Furfural が還元され生成したと考えられ、Furfural と同様に焦げた香りを呈します。40°C-24 時間経過後試料では土壌抽出水入り試料、蒸留水入り試料ともに Furfural は検出されず

Furfuryl alcohol が検出されました。

図 2-3-3 に Furfural と Furfuryl alcohol のマススペクトルを示し、各時間経過試料について Furfural に特徴的な m/z 96 と Furfuryl alcohol に特徴的な m/z 98 でのクロマトグラムを示しました。

今回の結果から Furfural の還元は菌の混入に関係なく進行しますが、菌の混入により還元反応が加速されるようです。Furfural と Furfuryl alcohol はにおいの性質も似ていることから、においの変化要因となる可能性は低いと考えられますが、蒸留水入り試料でも Furfuryl alcohol への経時変化が認められることから、鮮度指標となりうる可能性があります。

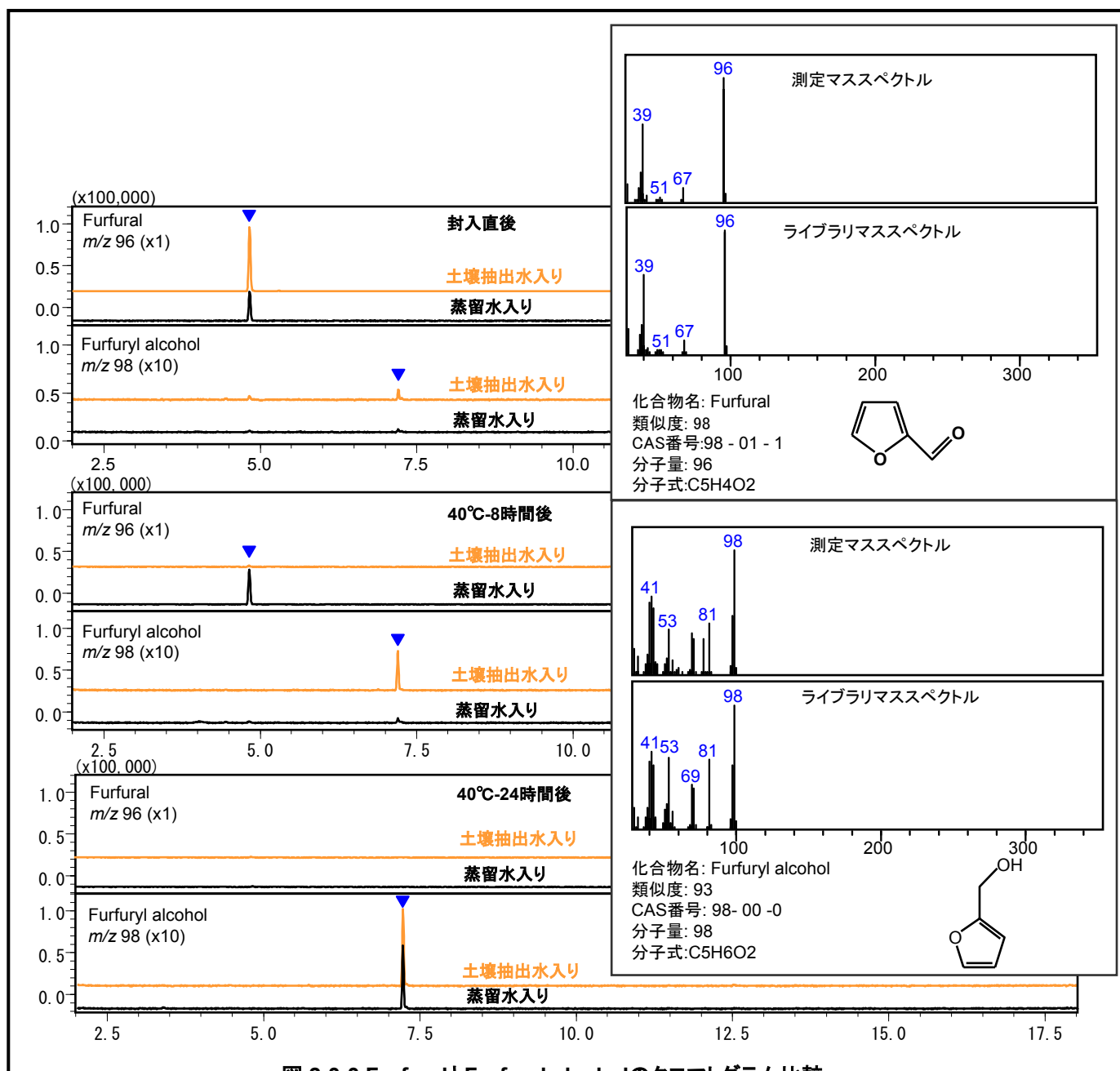


図 2-3-3 FurfuralとFurfuryl alcoholのクロマトグラム比較

3.カビが発生したチーズ

冷蔵庫に保存した食品にカビが生えてしまった経験は、皆さんもお持ちかもしれません。食品にカビが発生すると外見だけでなく、においも変化します。食品の種類によっては非常に強い悪臭を放つ場合もあり、においの変化でカビの発生を感じる方が多いのではないのでしょうか。

我々は、カビが発生し悪臭が確認できるチーズについて、新品の同一製品と比較して分析を行いました。はじめに、におい識別装置 FF-2A による識別を行い、GC/MS による成分分析を行いました。カビの発生したチーズ試料を以降カビチーズとし、新品のチーズ試料を新品チーズとしました。

3-1.におい識別装置FF-2Aによる識別結果

新品チーズ、カビチーズともに、1g を PET 製サンプルバッグに入れ、乾燥窒素ガスで充填し、室温下 (23℃) で2時間放置して、においガスを発生させました。両においガスとも濃度が高かったため、そのにおいガスを別のサンプルバッグに入れ、乾燥窒素ガスを加えて、新品チーズは2倍、カビチーズは5倍に希釈した測定用ガスを作成し、測定を行いました。

絶対値表現解析を行った結果を、図 3-1-1、図 3-1-2 に示します。図 3-1-1 より、レーダーチャート上のパターンが変化していることから、新品チーズに対してカビの発生したチーズはにおいの質が変化していることがわかります。また、図 3-1-2 より、カビの発生によりチーズはそのにおいが強くなるという結果が得られました。

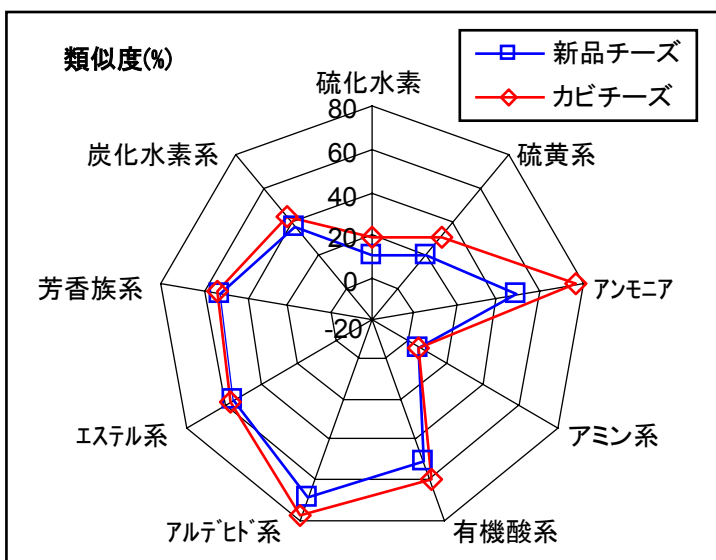


図3-1-1. チーズのにおいの質(類似度)の変化

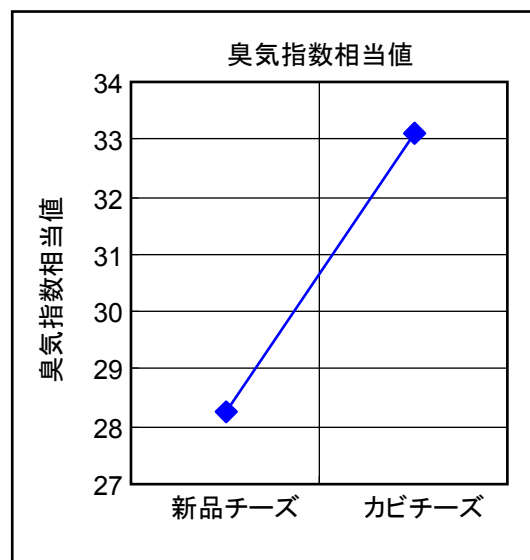


図3-1-2. チーズのにおいの強さの変化



におい識別システム (FF-2020 Sシステム)

3-2.ヘッドスペースGC/MSによる異臭成分分析結果

試料約 1g をヘッドスペースサンプリング専用瓶に封入し表 3-2-1 に示した分析条件で GC/MS による分析を行いました。分析は新品チーズとカビチーズのそれぞれについて行いました。

図 3-2-1 に新品チーズの分析結果を示しました。強度の高いピークに、マススペクトルによるシミュラティ検索の結果から同定した化合物の構造式を、付しました。

検出された Acetoin は、乳製品ではバター風味の香りとして知られています。その他に Acetic acid (酢酸), Butanoic acid (酪酸), Hexanoic acid (カプロン酸) が検出され、これらはいずれも悪臭成分として知られていますが、バターやチーズなどの乳製品では特有の香り成分として含まれることが知られています。

新品チーズからは異臭成分ではあるものの、チーズ特有の香りを構成する成分が検出されました。

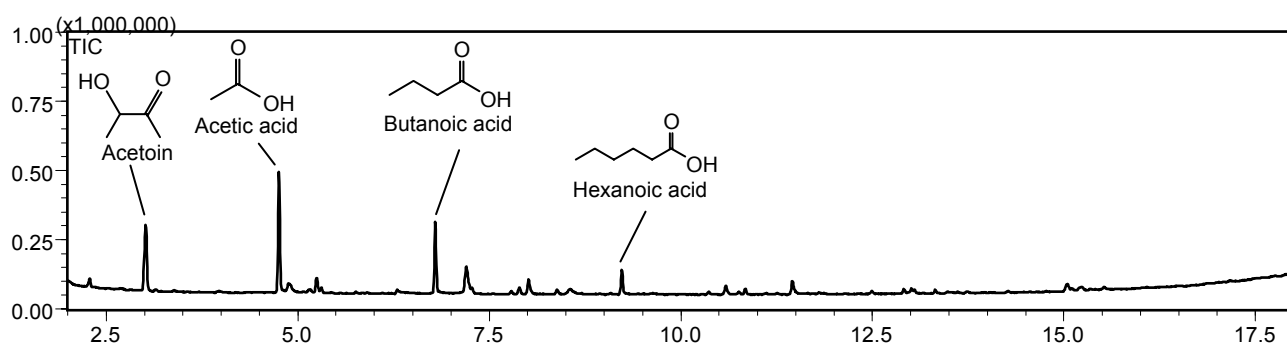


図3-2-1 新品チーズ分析結果

表3-2-1 分析条件

| | | |
|---------------------|------------|---|
| ヘッドスペース | 装置 | ガス chromatogram 質量分析計 |
| 装置 : TurboMatrix HS | 装置 | : GCMS-QP2010 Plus |
| オープン温度 : 90°C | カラム | : DB-WAX (長さ30 m, 内径0.32 mmID, 膜厚0.25 μm) |
| ニードル温度 : 200°C | カラム温度 | : 50°C - 10°C/分 - 250°C (5分) |
| トランスファー温度 : 210°C | 気化室温度 | : 220°C |
| HSキャリアガス圧力 : 140kPa | インターフェース温度 | : 230°C |
| 注入時間 : 0.2分 | イオン源温度 | : 200°C |
| | スキャンモード | : m/z 29~350 |
| | キャリアガス | : He, 120 kPa |



ヘッドスペースGC-MSシステム(GCMS-QP2010 Ultra, TurboMatrix HSシリーズ)

図3-2-2にカビチーズの分析結果を示しました。新品チーズ結果と同様に強度の高いピークに、マススペクトルによるシミュリティ検索の結果から同定した化合物の構造式を付しました。カビチーズ試料では Styrene, Isovaleric acid が強く検出され、その他に Isobutyric acid, Phenylethyl Alcohol が特徴的に検出されました。Isovaleric acid は慣用名でイソ吉草酸, Isobutyric acid はイソ酪酸で、共に悪臭成分として知られていて、イソ吉草酸は足の裏の臭いや腐ったチーズの臭いと表現される成分です。カビチーズでは、新品チーズと比較して、より強力な悪臭成分を検出しました。

カビチーズにおいて Styrene は特異的に非常に強く検出され、Phenylethyl Alcohol も特異的に検出されました。カマンベールチーズにおいてフェニルアラニンが前駆体となり Styrene や Phenylethyl Alcohol が生成されることを示唆する報告^{4),5)}があることから、今

回のカビチーズにおいても、フェニルアラニンから生成した可能性が高いと考えられます。フェニルアラニンはチーズに多く含まれるアミノ酸で、構造式を図3-2-3に示しました。

図3-2-4に新品チーズ分析結果とカビチーズ分析結果の強度軸を合わせ、結果を重ねたクロマトグラムを示しました。新品チーズで検出された Acetoin, Acetic acid は、カビチーズでは強度が非常に低く、Butanoic acid, Hexanoic acid の悪臭成分はカビチーズで高い強度で検出されました。カビチーズでは、新品チーズと比較して強力な悪臭成分が、高く検出されました。

4) Yves Pagot, Jean-Marc Belin, Florence Husson and Herry Eric Spinnler, *J. of Research*, **74**, 180 (2007)

5) Sylviane Roger, Chritiane Degas and J. C. Gripon, *Food Chemistry*, **28**, 129 (1988)

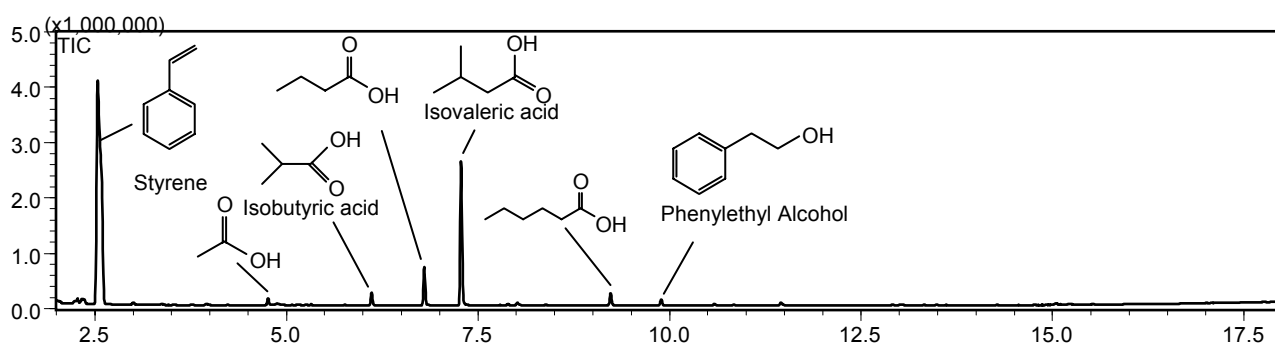


図3-2-2 カビチーズ分析結果

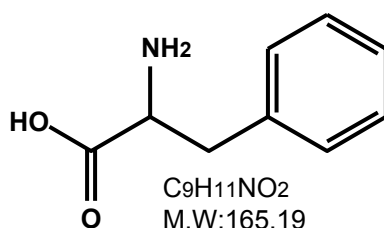


図3-2-3 フェニルアラニン構造式

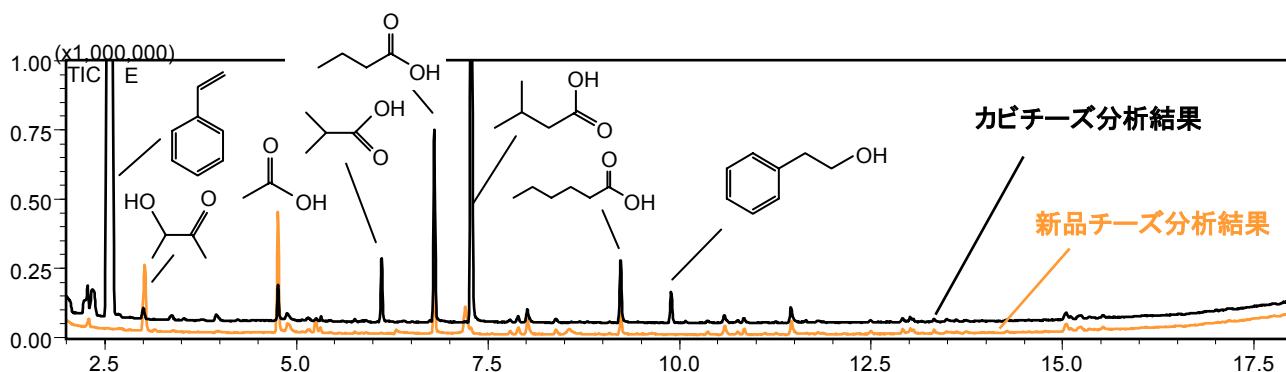


図3-2-4 新品チーズ、カビチーズクロマトグラム比較

4.エビ・塩鮭のにおい成分分析

生鮮食品のエビと塩鮭の分析例を紹介します。生鮮食品において、においは風味や味に影響を与えるだけでなく、人が嫌悪を感じるにおいを発生してしまう場合、たとえ食べられる品質であっても廃棄されてしまう可能性があります。エビと塩鮭の分析では加熱脱着 GC/MS(以下 TD-GC/MS と略記)による分析を

行いました。TD-GC/MS では試料を加熱することなく多くのにおい成分を捕集、濃縮することができ、生鮮食品のように少しの加熱でもにおいに変化してしまう可能性がある試料の分析や微弱なにおいの高感度分析に有効です。

4-1.サンプリング

TG-GC/MS のためのサンプリング概念図を図4-1-1に示しました。

試料を試料瓶に封入し揮発成分で充満させ、その後、窒素ガス入口と捕集管を取り付けた出口流路を設け、100mL/分の流量で窒素ガスをサンプル瓶内に流し、におい成分を捕集しました。捕集管の充填剤は Carbotrap B + Carboxen1000 を用いました。

サンプリングを試料封入直後、1日後、2日後、3日後で行い、時間経過によるにおい成分の変化を比較しました。エビは封入量 2.5g、捕集量 1Lにてサンプリングし、塩鮭は封入量 5.0g、捕集量 2Lにてサンプリングしました。サンプリングした捕集管を TD-GC/MS により表 4-1-1 に示した分析条件で分析しました。

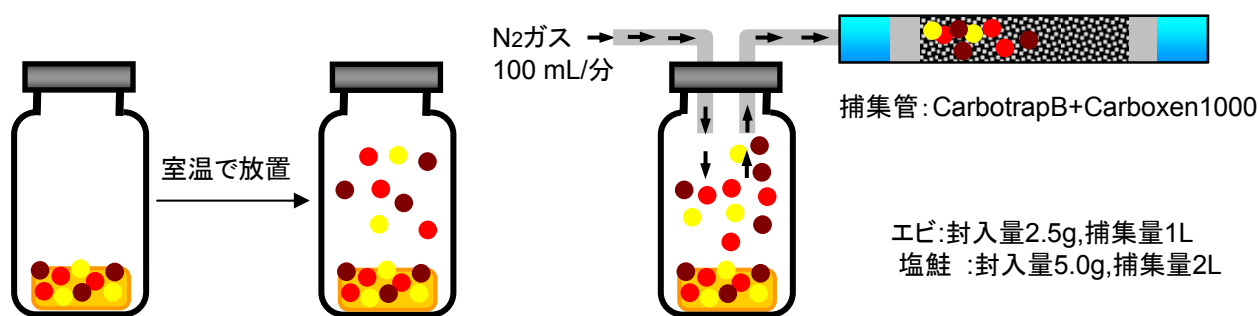


図4-1-1 サンプリング概念図

表4-1-1 分析条件

| | |
|-------------------------------|---|
| サーマルディソープションシステム | ガスクロマトグラム質量分析計 |
| 装置 : TD-20 | 装置 : GCMS-QP2010 Plus |
| 捕集管 : CarbotrapB+Carboxen1000 | カラム : Stabilwax (長さ30m 内径0.32mm 液相膜厚 0.5 μ m) |
| サンプリング温度 : 250°C | カラム温度 : 40°C(4分)-10°C/分-250°C(10分) |
| サンプリング時間 : 10分 | インターフェース温度 : 260°C |
| サンプリング流量 : 50mL/分 | イオン源温度 : 230°C |
| トラップ管 : TENAX-TA | スキャンモード : m/z29-550 |
| トラップ冷却温度 : -20°C | キャリアガス : He(120kPa) |
| トラップ加熱温度 : 250°C | 注入方法 : スプリット(スプリット比 10:1) |
| トラップ加熱時間 : 10分 | |
| ライン温度 : 230°C | |
| バルブ温度 : 230°C | |
| IF温度 : 230°C | |

4-2-1.エビ・塩鮭分析結果

エビ試料の TD-GC/MS による分析結果を図4-2-1に示しました。封入直後は検出されたピークは少なく、1日後にはトリメチルアミンが強く検出されました。魚介類で品質低下の表現手法として使用されるアミン臭や魚腐臭の原因の一つはトリメチルアミンで、エビでは1日放置することでトリメチルアミンが強く検出されるようになったことから、アミン臭が強くな

ったことがわかります。他にもアミン類の化合物が検出されましたが、2日目以降の検出強度の変動は少なく、その他にニンニク様の異臭とされる硫黄化合物やアルコール類が検出されました。硫黄化合物は2日目でも最も強度が高く、3日目では減少しました。アルコール類は時間経過と共に強度が高くなる傾向でした。

塩鮭試料の TD-GC/MS による分析結果を図 4-2-2 に示しました。封入直後はエタノールが強く検出され、1日後では大きな変化はなく、2日後以降から-OH 基を持つアルコール化合物が多く検出されました。3日後でトリメチルアミン、硫黄化合物、ジアセチルなどの異臭成分が、強度が低いながらも検出されました。エビと比較して塩鮭は異臭による品質劣化が進行しにくいと考えられます。

魚介類の鮮度を評価する指標としてK 値が知られていますが、トリメチルアミンによるアミン臭による品質劣化と、K 値との相関は認められておらず⁶⁾、トリメチルアミンのにおいの強さと鮮度評価は関連づけられないようです。

6)「海-自然と文化」東海大学紀要海洋学部 第4巻 第2号 31-36(2006)

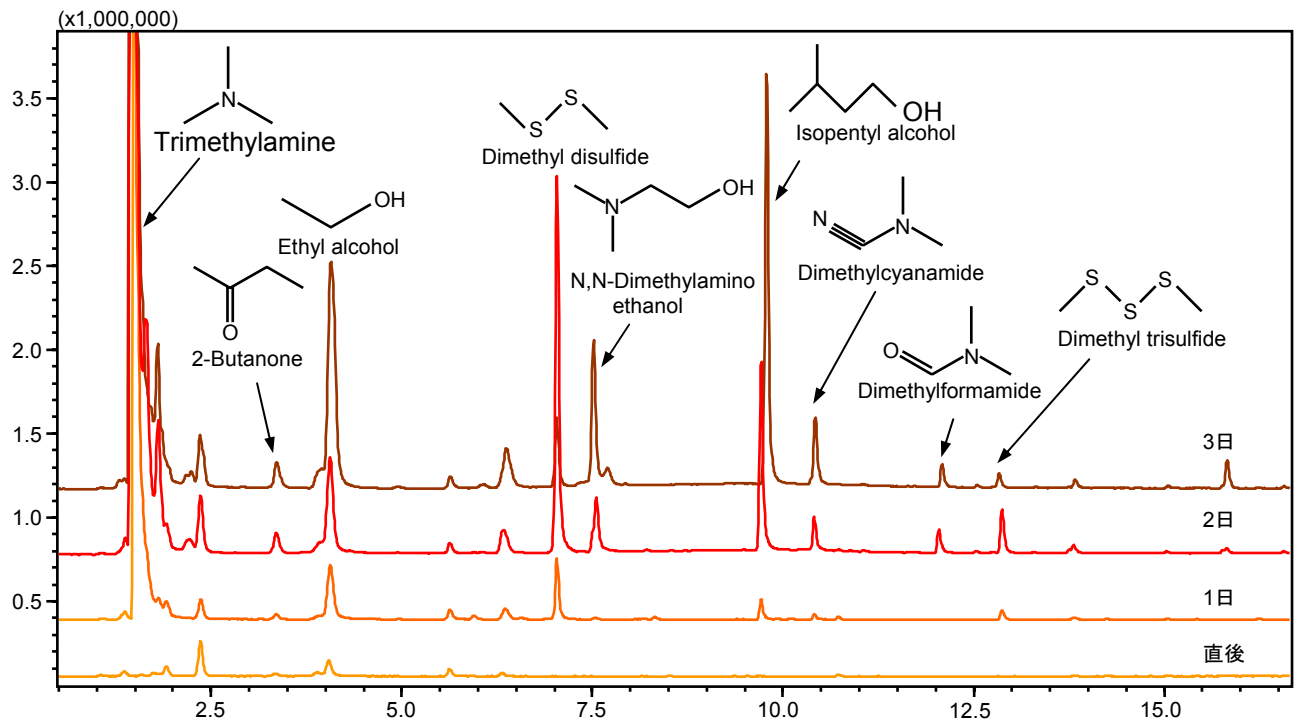


図 4-2-1 エビ分析結果

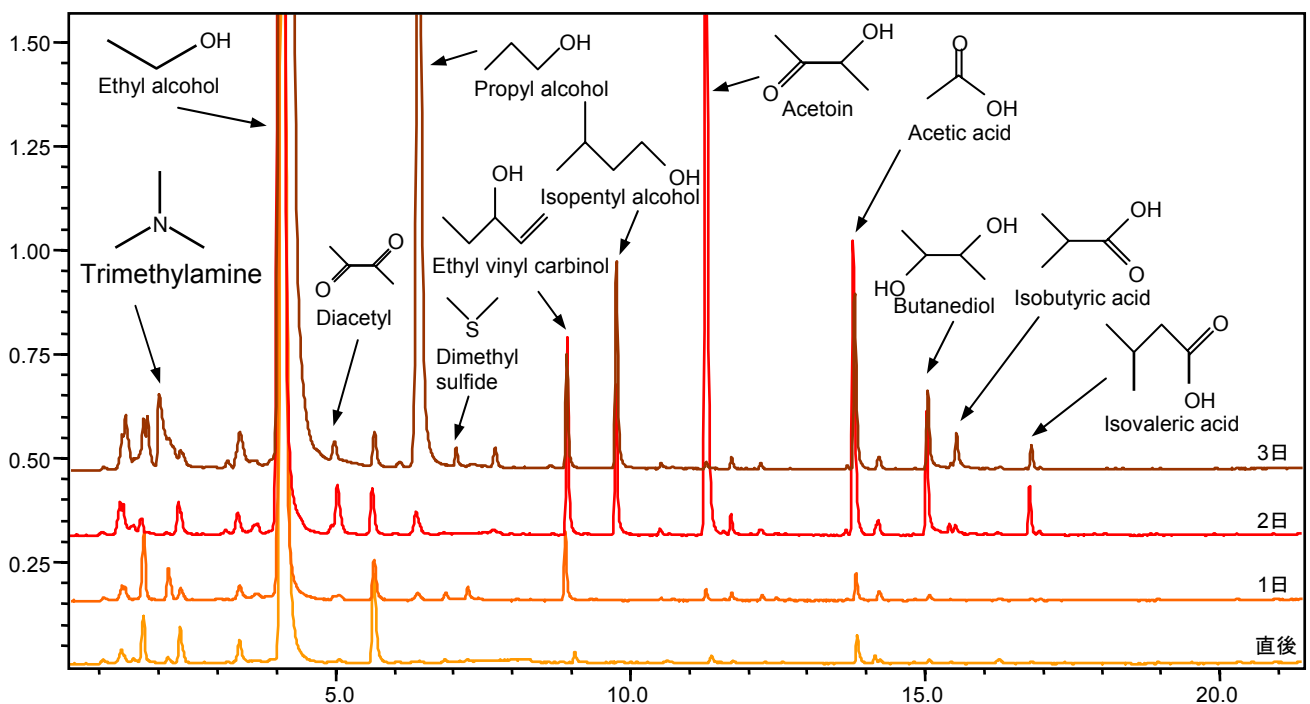


図 4-2-2 塩鮭分析結果

4-2-2.トリメチルアミンの定量分析

トリメチルアミンについて発生ガスの定量分析を行いました。メタノールにて希釈したトリメチルアミンの標準試料を、捕集管に0.1 μg , 0.3 μg , 1 μg 相当添加し、エビ、塩鮭試料と同様に測定し、得られた結果から図4-2-4に示した検量線を作成しました。

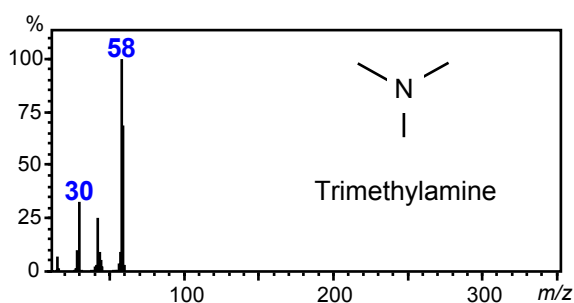
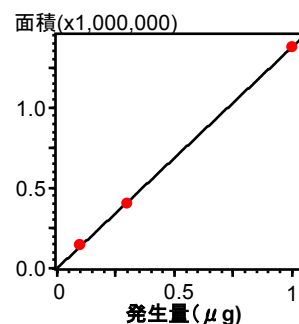


図4-2-3 トリメチルアミンマススペクトル

図4-2-3に示したトリメチルアミンのマススペクトルから、トリメチルアミンは m/z 58が特徴的に検出され、定量分析は m/z 58のクロマトグラムでの面積値を用いました。3日目のエビ試料で、捕集した気体500mLあたり1 μg と定量できました。

図4-2-4 トリメチルアミン検量線 (m/z 58)

5.まとめ

今回のアプリケーションノートでは食品劣化による異臭の解析として、食品劣化を再現して異臭の分析を行いました。食品劣化の過程において、においの強さの増大と、においの質の変化をFFで確認することができ、品質変化を捉えることができました。同じ試料をGC/MSにて測定することで、異臭に起因する成分を検出することができました。

このようにFFとGC/MSを組み合わせることで、品質管理と品質異常に対応する分析を行うことが可能です。

エビと塩鮭のにおい成分の経時変化をTD-GC/MSにて実施しました。TD-GC/MSによるサンプリングでは生鮮食品を加熱することなく、発生するにおいを高感度に分析することが可能です。



サーマルディソープションGC-MSシステム(GCMS-QP2010 Ultra, TD-20)

*本資料は発行時の情報に基づいて作成されており、予告なく改訂することがあります。

初版発行 2010年12月