

トラップヘッドスペース-GC/MS を用いた食品のにおい分析

Odor analysis using Trap Headspace/GC/MS method

白田志保

Shiho SHIRATA

日本電子株式会社 データムソリューション事業部

〒190-0012 東京都立川市曙町 2-8-3 新鈴春ビル 11F

TEL 042-526-5076

E-mail : nakagami@jeol.co.jp

1 はじめに

食品の味覚とにおいが密接な関係にあることは知られている。しかし、その味覚・においを特徴付けている化学物質を明確にするためには、感覚的な分析手法と化学的な分析の手法を組み合わせる必要がある。感覚的な指標をもとにした分析手法としては、におい識別センサーや味覚センサーなどが使用されているが、これらでは味覚・においを特徴付けている化学物質を特定することはできない。一方、アミノ酸分析計や質量分析計を用いる化学分析手法では、化学物質の特定はできるものの、感覚的な指標との関連を議論することは難しい。

前回、ガスクロマトグラフ質量分析計（以下 GC-MS）に官能分析の一手法であるスニッフィングを化学分析手組み合わせた、スニッフィング-GC-MS とアミノ酸分析計を用いて、数種類の市販チーズを分析することにより、感覚的な指標とその背後にある化学物質の同定を試みた。アミノ酸分析の結果、ブルーチーズにおいては、うま味や苦味などに関与するたんぱく質構成アミノ酸がその刺激閾を越えて含まれていることが分かり、これがブルーチーズ独特の味につながっているものと考えられた。その一方で、熟成期間が短いチーズにおいては、刺激閾を下回る値であったことから、アミノ酸が味に及ぼす影響が少ないことが示唆された。

また、スニッフィング-GC-MS 分析の結果、熟成期間が異なるナチュラルチーズと加工品であるプロセスチーズでは香気成分に違いがあることが分かり、チーズの種類によって、特徴となるにおい成分があることを確認できた¹⁾。

今回、アミノ酸含有量の多いブルーチーズに着目し、世界三大ブルーチーズにおける、アミノ酸含有量と特徴となるにおい成分について評価したので報告する。

2 今回分析したブルーチーズについて

分析に用いたブルーチーズは、量販店で購入した世界三大ブルーチーズであるゴルゴンゾーラ（ピッカンテ）、スタイルトン、ロックホールである。その特徴を表 1 に示す。なお、味による評価は、ボランティアによる評価である。

ブルーチーズは、その地域に生育する青カビで製法されており、ゴルゴンゾーラのみ青カビの種類が異なる。また、その原料は、ロックホールのみ羊の乳であり、ゴルゴンゾーラ、スタイルトンは牛乳である。

表1 ブルーチーズ一覧

	チーズ名	原産国	原料	青カビ	製法	味 (JEOL内の試食より)
ナチュラルチーズ (熟成チーズ)	ゴルゴンゾーラ (ピッカンテ)	イタリア	牛	<i>P. galicum</i>	生乳に青カビを混ぜて作る	苦みがあり、アルコールに合いそう
	スタイルトン	イギリス	牛 (低脂肪乳)	<i>P. roqueforti</i>	固めたミルクから乳清を取り除き、スタイルトンシンクという台で細かくし、塩を加え、固める	アルコールに合いそう、塩味が強い
	ロックホール	フランス	羊	<i>P. roqueforti</i>	羊のミルクを温め、乳酸菌や酵素を加えて固め、乳清を除き、型に詰めて熟成させます。チーズの中に加えられた青カビが	他のブルーチーズよりもマイルド

図1に卓上型電子顕微鏡（日本電子製 JCM-6000）を用いたそれぞれの表面写真を示す。表1に示すように、ゴルゴンゾーラの青カビ(*P. galicum*)は、スタイルトンとロックホールの青カビ(*P. roqueforti*)と異なっているが、表面写真においても目視で違いがみられた。

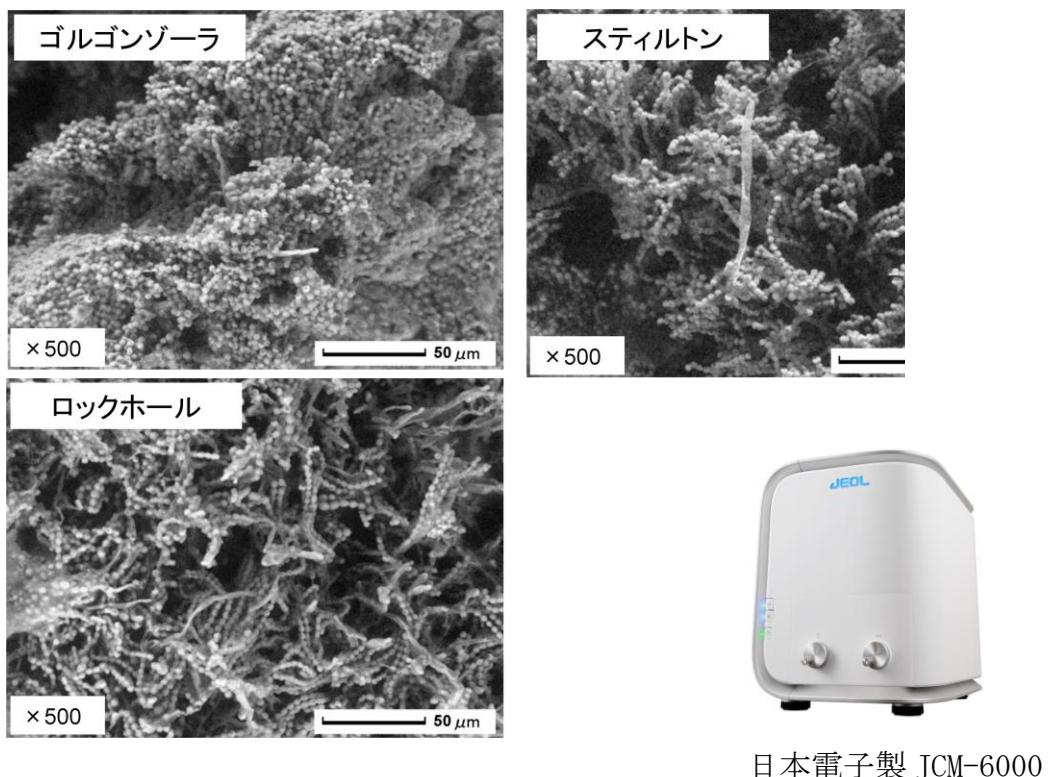


図1 各ブルーチーズにおける表面写真

3 アミノ酸分析結果

3-1 方 法

今回、たんぱく質構成アミノ酸である20種類を分析対象とした。表2に分析対象としたアミノ酸の種類とその味、その味を感じる刺激閾（味を感じる最低濃度）を示す。表2に示されているアミノ酸の刺激閾を基準とし、アミノ酸分析により得られたチーズに含まれるアミノ酸濃度がその刺激閾以上あるいは以下のかを確認した。

なお、表2は水溶液で評価されているため、単位はmg/dlであるが、水溶液の比重を1とし

て、mg/100g で換算している。

表2 アミノ酸の味と刺激閾²⁾

	アミノ酸名	略語	刺激閾 mg/dL	甘味	苦味	うま味	酸味	塩味
甘味中心のアミノ酸	リジン	Lys	50	○	○			
	アラニン	Ala	60	○		△		
	グリシン	Gly	110	○				
	セリン	Ser	150	○				
	グルタミン	Gln	250	△		△		
	スレオニン	Thr	260	○				
	プロリン	Pro	300	○	○			
苦味中心のアミノ酸	アルギニン	Arg	10		○			
	ヒスチジン	His	20		○			
	メチオニン	Met	30		○	△		
	イソロイチジン	Ile	90		○			
	トリプトファン	Trp	90		○			
	バリン	Val	150	△	○			
	フェニルアラニン	Phe	150		○			
うま味中心のアミノ酸 (ナトリウム塩)	ロイシン	Leu	380		○			
	グルタミン酸	Glu	30	△		○		△
酸味中心のアミノ酸	アスパラギン酸	Asp	100			○		○
	アスパラギン	Asn	100		△		○	
味が無いアミノ酸	チロシン	Tyr	-					
	シスチン	Cys	-					

※刺激閾(閾値):味を感じる最低濃度

チーズ試料の前処理手順を図 2 に示す。各チーズ 15g に純水 75 mL を加え、ホモジナイザーで 2 分間粉碎した。その後、3000 ppm で 20 分間遠心分離し、その上澄みを 0.45 μ m のフィルターを用いてろ過し、たんぱく質除去を行った。測定については、図 3 に示すアミノ酸分析計 (日本電子製 JLC-500V2) を用いた。

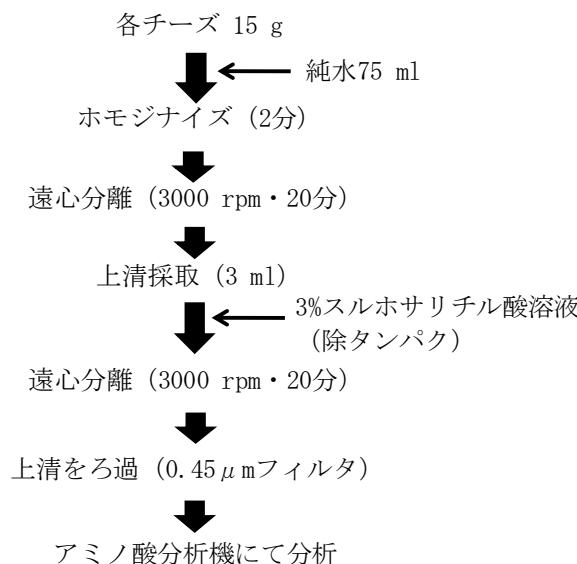


図2 アミノ酸分析における前処理のフローチャート



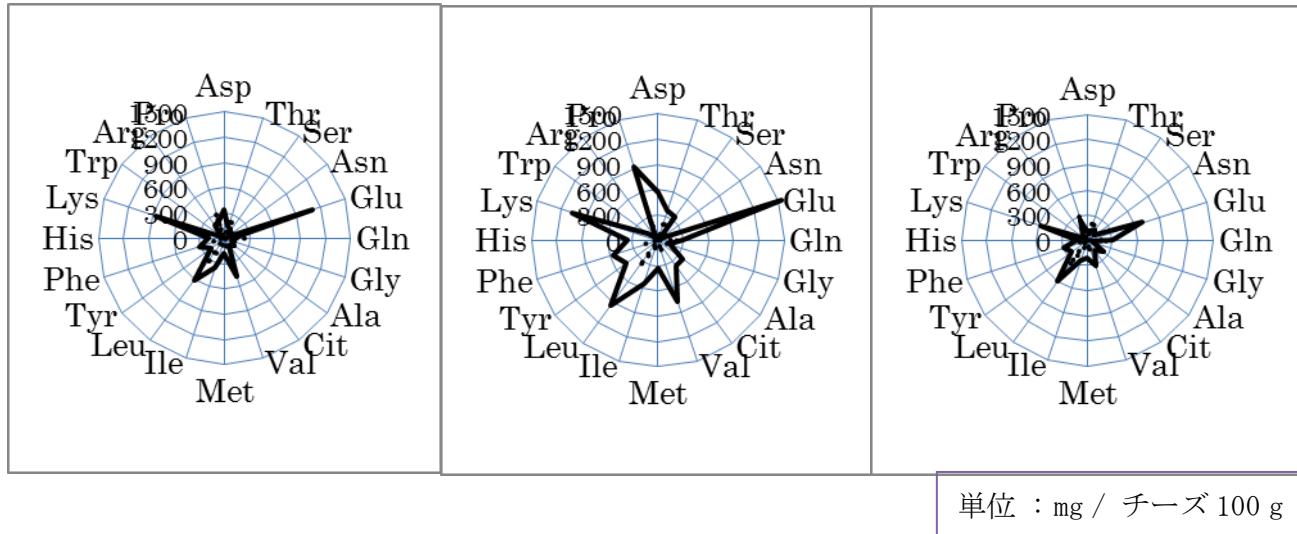
図3 アミノ酸分析装置 (JLC-500V2)

3-2 結果

図 4 に各ブルーチーズにおけるアミノ酸濃度のレーダーチャートを示す。なお、表 2 の刺激

闕は点線で、測定で得られたアミノ酸濃度は実線で示した。

今回分析したブルーチーズにおいて、うま味として感じる Gli や苦味として感じる Leu、Met、Val、His、Phe、Ile さらに甘味として感じる Lys については、最低濃度を超えて含まれていた。スティルトンについては、他のブルーチーズよりもうま味を感じるグルタミン酸や苦みを感じるアミノ酸類が多く含まれていた。また、ロックホールにおいては、他のブルーチーズよりもアミノ酸濃度が低かった。これは、ロックホールは他のチーズよりも味がマイルドであるというボランティアによる味評価と比べて妥当な結果であった。



ゴルゴンゾーラ

スティルトン

ロックホール

図 4 ブルーチーズにおける各アミノ酸濃度のレーダーチャート

4 におい分析結果

4-1 方法

表 3 に GC/MS 条件、表 4 に HS 条件を示す。前処理は行わず、約 1g を直接バイアル瓶に詰め、トラップ-HS 法を用いて測定した。測定は、スニッフィングを搭載した GC/MS を用い、直接特徴となるにおいを嗅ぎながら分析した (図 5)。

スニッフィング-GC/MS とは、GC のキャピラリーカラムの末端にスプリッタを装着し、抵抗感 (ガードカラム) を用いて、MS とにおい嗅ぎ (スニッフィング) に分岐させるシステムである。用いる抵抗管の長さと内径により、MS とスニッフィングへの分岐比率を設定できる。今回のスニッフィング条件は、におい分析に重きをおき、MS とスニッフィングのタイムラグを少なくした条件とした (図 6)。

表3 GC/MS条件

カラム	ZB-WAX 60 m (Length), 0.25 mm (I.D.), 0.25 μ m (d.f.)
昇温条件	40 °C (5 min) → 5 °C/min → 100 °C (0 min) → 10 °C/min → 250 °C (5 min)
カラム流量 (Mode)	1.0 mL/min (Constant Flow)
イオン化エネルギー	70 eV
イオン源温度	200 °C
GCITF 温度	210 °C
SCAN 範囲	m/z 29-300 (500 msec)

表4 HS 条件	
サンプリングモード	Trap
トラップの種類	G L Trap1
抽出回数 (トラップモード)	3 回
M HE トラップ (再攪拌時間)	5 times (2 分)
ドライバージ時間	2.5 min
バイアル量	22 mL
試料量	0.95 g
サンプリング温度	70 °C
Heating Time	10 min



図5 において分析に使用した GC/MS
(日本電子製 JMS-Q1050GC)

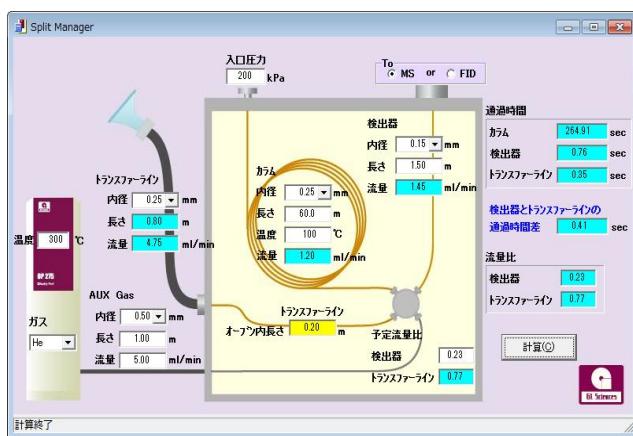


図6 スニッフィング条件

4-2 結果

図7に各ブルーチーズのTICC、検出された各成分のスニッフィング結果およびマススペクトルによるライブラリー解析結果を示す。スニッフィングの結果、最初に検出された成分は、生臭いにおいや発酵したにおいを感じ、その後、ブルーチーズの特徴的なにおいや薬品臭のようにおいを感じた。薬品臭として感じた化合物は、ライブラリー検索の結果、4-methylanisole や p-Cresol と推定された。

また、ニンニク様のにおいとして知られる Methyl disulfide や玉ねぎ様のにおいとして知られる Dimethyltrisulfide のような硫黄系化合物も3種類のブルーチーズに特徴的にふくまれていた。図7に示すように、ブルーチーズにおいて、それぞれを特徴づけるにおいは、成分の違いではなく、検出されたにおい成分の量比によるバランスの違いであることがわかった。

特に、スタイルトンでは、ニンニク様のにおいである Methyl disulfide やたまねぎ様の Dimethyltrisulfide が他のブルーチーズよりもピーク面積値が3倍程度高い傾向であり、ケトン類においても相対的に高い傾向であった。

ゴルゴンゾーラにおいては、硫黄系化合物は他のブルーチーズよりも少ないが、ケトン類は多く含まれていた。また、バターやチーズのにおいとして知られている 2,3-Butandione が多く含まれており、この化合物がにおいの主になっていることがスニッフィング結果によりわかった。

羊の乳を原料にしたロックホールにおいては、C5～C8 ケトン類のピーク面積値が炭素数が増えるに従い高くなる傾向であり、C9 以降はほとんどピーク面積値が変わらなかった。薬品臭として感じた p-Cresol についてもロックホールが多く含まれていた。

5. まとめ

世界三大ブルーチーズの味とにおいの特徴となる化学物質の特定を試みた結果、スタイルトンが他のブルーチーズよりもアミノ酸やにおいの成分の量比が多い傾向であった。ロックホールはアミノ酸含有量が他のブルーチーズよりも少ない傾向であった。におい成分については、p-Cresol がにおいの特徴的な成分であった。

このように、スニッフィング-GC/MS システムとトラップ HS の組み合わせることによって、含有量が低く、においを感じる閾値レベルの成分であっても、トラップ機能による濃縮効果によって、高感度な検出が可能となり、微量のにおい成分分析に有効なツールとなることがわかった。さらに、アミノ酸分析機と組み合わせることにより、味覚や栄養機能の評価にもつながることが分かった。

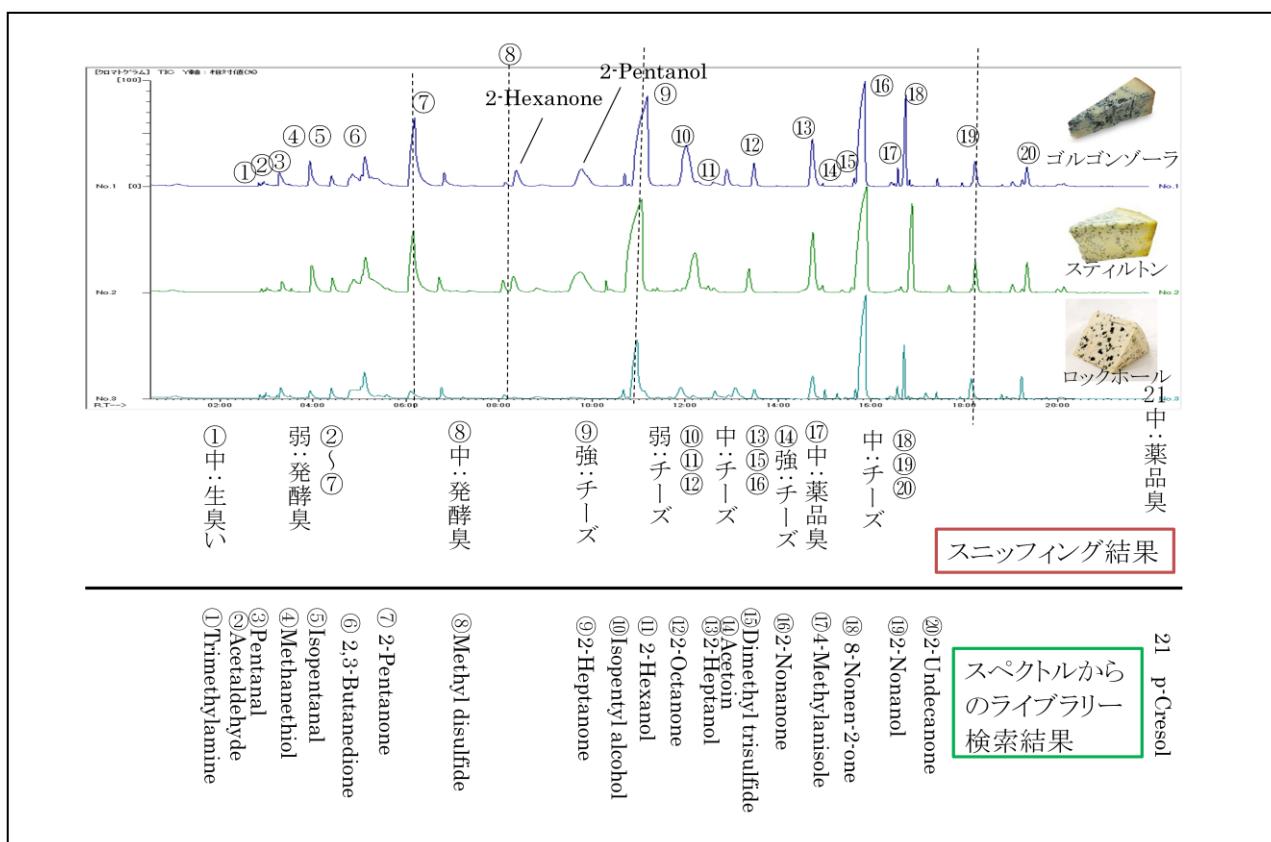


図 7 各ブルーチーズの TICC、

1) 白田

- ツフィングシステムを組み合わせたにおいて分析、『第24回　において・かおり環境学会要旨集』、82-84 (2012)

2) 味の素株式会社編、『アミノ酸ハンドブック』、44-51 (2003)