

報 文

バターフレーバーのキャラクタリゼーション (第1報)

ラクトン類の分析

加 藤 時 信, 関 川 義 明*

Characterization of Butter Flavor(1)
—Analysis of Lactones in Butter Flavor—

Tokinobu KATO and Yoshiaki SEKIKAWA*

*Central Customs Laboratory, Ministry of Finance

531, Iwase, Matsudo-shi, Chiba-ken, 271 Japan

The identification and determination of lactones in butter flavor was investigated.

The identification of lactones was able to carry out easily by gas chromatography and mass spectrometry.

As lactones were relatively unstable substance, the determination of lactones was proposed to be performed directly by gas chromatography without pretreatment of the samples. The samples for gas chromatography were prepared only by adding internal standard substance (γ -octalactone) into the chloroform solution of butter flavor.

The conditions of gas chromatography for the determination of lactones in butter flavor were as follows; column: Silicone OV-101 (5% on chromosorb GAW DMCS, 80—100 mesh, 3 mm x 2 m), column temperature: 100—340°C (6°C/min, programed), injection port temperature: 350°C, carrier gas: He (50 ml/min) and detector: FID.

It was shown that these techniques were useful for the analysis of the imported butter flavor.

—Received June 15, 1984—

1 緒 言

バターフレーバーはマーガリン、ベーカリー製品等にバターの風味を付与するための食品添加物として用いられている。古来、この目的にはミルクそのものが使用されていたが、近年、低カロリー、低コレステロール指向及び経済性等を考慮して少量の添

加で効率良くバターの風味を付与できる新しいバターフレーバーの開発、輸入が盛んになっている。

最近輸入されているバターフレーバーは、①乳脂や植物油脂と香料を混合したもの、②油脂の部分分解物と香料を混合したもの、③ミルクの部分分解物又はこれに香料を混合したもの、④香料の混合物等複雑多岐にわたっている。これらの商品が輸入され

*大蔵省関税中央分析所 〒271 千葉県松戸市岩瀬 531

る際の関税率表上の商品分類は、主として香気性物質を基とした混合物として税番第 33.04 号か、その他の調製食料品として税番第 21.07 号かについて度々問題が生じている。また、これらの商品にはミルクに由来する成分を含む場合が多いので、輸入制限品目に該当するか否かの問題も含んでいるために、関税行政においては、その組成を明らかにすることは極めて重要であり、迅速、的確な組成分析が強く望まれている。

このような要望に答えるため著者らはバターフレーバーの組成分析法について検討を重ねているが、本報では、多くのバターフレーバーから検出されるラクトン類 (δ -ラクトンと γ -ラクトン) の分析法について検討した結果を報告し、第 2 報¹⁾では、脂肪酸と油脂の分析法について報告する。

ラクトン類のうち δ -ラクトンは天然のバター及び発酵工程を経たミルククリームの微量成分として存在していることが知られている²⁾ ほか、 δ -ラクトン及び γ -ラクトンは香料原料として合成され流通している。ラクトン類の性質としては、水とともに過熱すると一部オキシ酸に変わったり、水酸化アルカリによって容易に開環し相当するオキシ酸のアルカリ塩を生ずる³⁾ など、物理化学的に不安定であることが特徴である。したがって、ラクトン類の分析、特に定量分析には十分な注意が必要な化合物である。ここではラクトン類の分析時における挙動と定性・定量分析法について検討した結果二、三の知見を得たので報告する。

2 実 験

2・1 試薬及び試料

クロロホルム、エチルエーテル、塩化ナトリウム、無水硫酸ナトリウム、N/10 水酸化ナトリウム (水溶液)、N/10 水酸化カリウム (エチルアルコール溶液) 及び N/10 塩酸は市販 (和光純薬製) の試薬特級を使用した。

標準のラクトン類としては、 δ -ヘプタラクトン、 δ -ノナラクトン、 δ -デカラクトン、 δ -ウンデカラクトン、 δ -ドデカラクトン、 γ -ヘキサラクトン、 γ -ヘプタラクトン、 γ -オクタラクトン、 γ -デカラクトン及び γ -ドデカラクトンを用

い、これらは曾田香料 (株)、アルドリッチケミカル社及びリーパー工業社製である。

バターフレーバーの試料としては各種の輸入品を用いた。これらは以下輸入品 A,B,C……で記載し、具体的な商品名及び製造者名は省略する。

2・2 装 置

ガスクロマトグラフは島津製作所製の GC-7A 型にクロマトパック C-R1B を接続したもの、質量分析計は日立製作所製の M-80B 形に M-0101 データ処理装置を接続したものを使用した。

2・3 ラクトンと水酸化アルカリの反応

N/10 水酸化ナトリウム (水溶液) 又は N/10 水酸化カリウム (エチルアルコール溶液) に δ -デカラクトンを 0.04 モル加えて混合し、混合液から一定時間毎に 5ml ずつ採取して N/10 塩酸で中和滴定した。各中和滴定の結果から、ラクトンがオキシ酸の塩に変化する割合の経時変化を求めた。

2・4 水蒸気蒸留

バターフレーバーの約 2g を採取し、1 時間に約 900ml 留出する速度で水蒸気蒸留し、留出液に塩化ナトリウムを飽和させて塩析し、香気性物質をエチルエーテルで抽出した。このエチルエーテル抽出液は無水硫酸ナトリウムで脱水した後、低温で濃縮し、香気性物質の GC-MS による定性試験またはラクトン類の留出挙動の確認試験のための検体として用いた。

2・5 GC-MS の条件

2・5・1 GC-MS 用ガスクロマトグラフィーの条件

カラム: Silicone OV-101, 3% on Chromosorb GAW-DMCS, 80~100 mesh, 3mm ϕ × 200 cm ガラスカラム

カラム温度: 80~240°C, 5°C/min 昇温

注入口温度: 260°C

キャリアガス: He, 30ml/min

2・5・2 質量分析計の条件

モード: GC-MS Auto

イオン化法: EI

スキャンスピード: 5 sec

イオン化電圧: 70 eV

その他通常の GC-MS 条件により質量スペクトルを測定し、各ピークの質量スペクトルからピークに近接したバックグラウンドを差し引いたものを各成分の質量スペクトルとした。

2・6 ガスクロマトグラフィーによるラクトン類の定量条件

2・6・1 検体の調製

バターフレーバーと内部標準物質として γ -オクタラクトンを精ひょう混合シクロロホルム (約 5 ml) を加えて振とうした。バターフレーバーがクロロホルムに完溶の場合は全体を検体とし、一部不溶物が存在する場合はろ紙を用いてろ過し、ろ液を検体とした。バターフレーバーと内部標準物質の採取量は、バターフレーバー中に含まれるラクトン類の量を予備実験により概算し、ラクトン類が 10% 程度の場合にはバターフレーバー約 1g に対し内部標準物質約 50mg を採取した。

2・6・2 ガスクロマトグラフィーの条件

カラム: Silicone OV-101, 5% on Chromosorb GAW-DMCS, 80~100 mesh, 3 mm ϕ $\times$ 200 cm ガラスカラム

カラム温度: 100~340°C, 6°C/min 昇温

注入口温度: 350°C

キャリアガス: He, 50ml/min

検出器: FID

3 結果及び考察

3・1 水酸化アルカリ溶液中における δ -デカラクトンの挙動

水酸化アルカリ溶液に δ -デカラクトンを加えて δ -デカラクトンが δ -オキシデカン酸の塩に変化する様子を Fig.1 に示した。 δ -デカラクトンは N/10 水酸化ナトリウム水溶液中では、混合直後、約 30 秒で 88% がオキシ酸の塩になり、10 分後に 96% がオキシ酸の塩となってそれ以降平衡が保たれた。また、N/10 水酸化カリウムのエチルアルコー

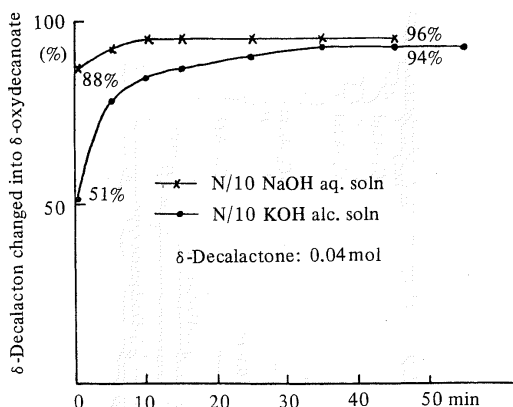


Fig.1 Degradation behavior of δ -decalactone to δ -oxydecanoate in alkaline solution

ル溶液中では、混合直後は 51% がオキシ酸の塩に変化し、それ以降徐々にアルカリを消費して 35 分で 94% がオキシ酸の塩となって平衡に達した。なお、 δ -デカラクトンはアルカリ性水溶液中では乳濁しているが、アルカリ性エチルアルコール溶液中では透明に溶解する。

このようにラクトンはアルカリを消費して相当するオキシ酸の塩に変化する性質を有する。したがって、ラクトンが含まれているフレーバーを分析する際にはこの性質を十分に考慮して行う必要がある。例えば、フレーバー中の香気物質をアルカリ処理によって酸性画分と中性画分に分離する場合、ラクトンの一部はそのまま中性画分に残り、また、一部は相当するオキシ酸の塩となって酸性画分へ移行する。また、通常、フレーバー中の油脂の量及び遊離脂肪酸の量を求めるために行われるけん化価及び酸価の測定に際してはラクトンもアルカリを消費するので、油脂や脂肪酸の量を反映したけん化価、酸価を求めることができない。

3・2 水蒸気蒸留におけるラクトンの留出挙動

輸入品 A (バターフレーバー) の 2g を水蒸気蒸留して留出液を 900ml づつ 4 本採取した。4 本の留出液から別々にエチルエーテルを用いて回収した香気性物質のガスクロマトグラムを Fig.2 に示した。なお、成分の同定は GC-MS によった。この

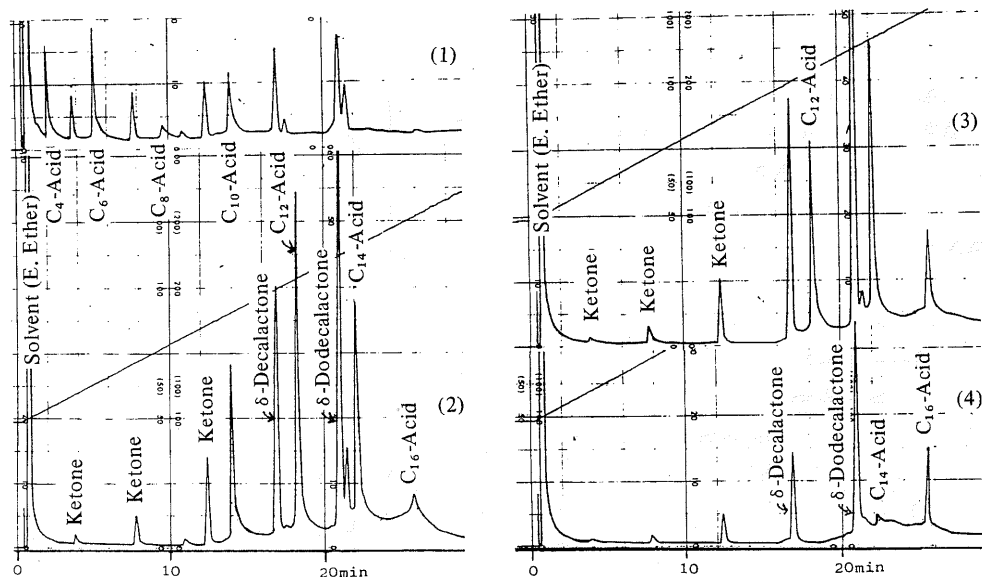


Fig.2 Gas chromatograms of fractionated steam distillate from imported good A

(1) : Fraction of 0~900ml(42%)

(2) : Fraction of 900~1,800ml(24%)

(3) : Fraction of 1,800~2,700ml(18%)

(4) : Fraction of 2,700~3,600ml(16%)

GC Column : Silicone OV-101,5%,3mmφ×2m, Temp : 100~340°C, 6°C/min

バターフレーバーには、 δ -デカラクトンと δ -ドデカラクトンが含まれていた。

水蒸気蒸留に際し、ラクトン類は蒸留の初期 (0~900ml) から最後の4本目 (2,700~3,600ml) にかけて留出しており、完全に留出させるには非常に長時間を要することが判明した。このようにラクトンが水蒸気蒸留において長時間留出しつづけるのは、熱水中でラクトンと相当するオキシ酸との平衡混合物になっているためと推定される。したがって、ラクトンが含まれているバターフレーバー中の香気成分を水蒸気蒸留によって定量的に回収することは困難であることが示唆された。

以上に示したようにラクトンはアルカリを消費したり、水中でも一部オキシ酸に変化するなどの不安定な化合物なので、ラクトンを含むバターフレーバーの分析に当たっては分析手段の選択に十分な注意が必要である。

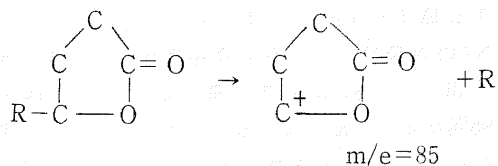
3・3 CG-MSによるラクトン類の確認

フレーバー中の香気成分の同定には、水蒸気蒸留々出物のGC-MSによる確認法が広く活用されているが、バターフレーバー中のラクトンの確認もこの方法が最も迅速で確実な方法と考えられる。

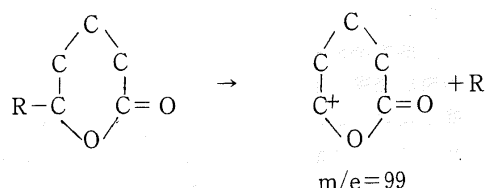
著者らがルーチン分析で取り扱った種々のバターフレーバーから検出されたラクトン類は多くの場合、アルキル基の鎖長の異なる δ -ラクトンであり、まれに γ -ラクトンを含むものもあった。

γ -及び δ -ラクトンの質量スペクトルは、W. H. Mc Fadden らの報告⁴⁾にもあるとおり、それぞれ次の式に示すように側鎖のアルキル基が切れて生じたラクトン環イオン (M-R) をベースピークとする特徴的なスペクトルであり、分子イオンも検出されるのでこれらの同定は容易であった。

γ -Lactones



δ -Lactones :



各種バターフレーバーから検出されたラクトン及び標準として用いたラクトンの質量スペクトルは Fig.3 及び Fig.4 に示した。

3・4 ガスクロマトグラフィーによるラクトン類の定量

ラクトン類の定量法としては、カルボン酸及び水酸基を定量して間接的に行う方法⁵⁾が知られているが、この方法はバターフレーバーのように脂肪酸、モノグリセリド等が共存する試料には適用できない。そこで、ガスクロマトグラフィーにより定量する方法について検討した。

一般にバターフレーバーは多種類の成分からなる混合物であるので、ガスクロマトグラフに注入する検体は、前処理によって不揮発成分を除去したり、酸性物質と分画して防害物質を除去したものが望ましいが、3・1 及び 3・2 で記載したとおりラクト

ンは不安定なので定量的な前処理は困難である。したがって、バターフレーバーを単に溶媒に溶解し、内部標準物質を添加混合したものを検体として分析することとした。

ガスクロマトグラフィー用のカラムとしては、極性の強いもの、例えば PEG-20M では Fig.5 に示

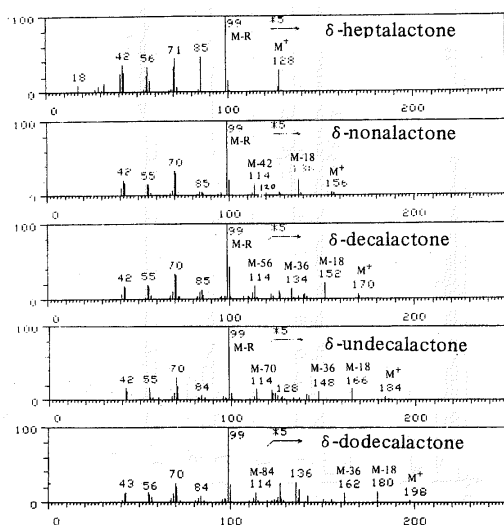


Fig.4 Mass spectra of δ -Lactones

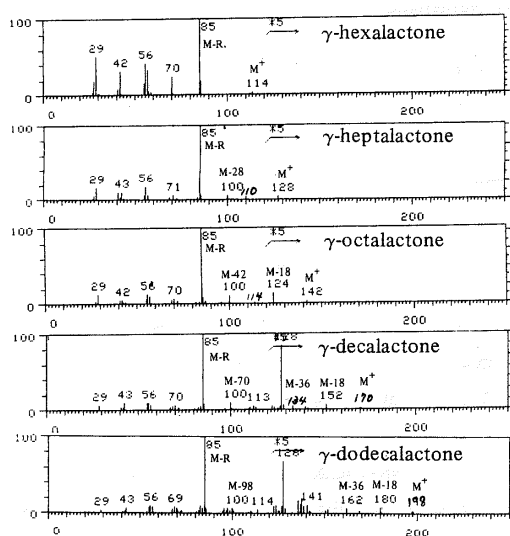


Fig.3 Mass spectra of γ -Lactones

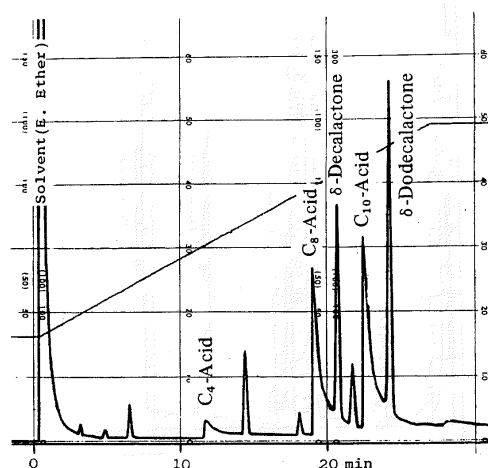


Fig.5 Gas chromatogram of imported good B
PEG-20M, 5%, 2m, 80-240°C, 6°C/min
He: 50ml/min, FID

したとおり共存する脂肪酸のピークがテーリングするので好ましくなかった。これらの予備実験の結果を参考として2・6に示したとりのガスクロマトグラフィーによる定量条件を選定した。これによ

て測定したガスクロマトグラムの例は Fig.6 に示したとおり良好な分離を示す。

内部標準物質として選定した γ -オクタラク톤の検出感度は他のラクトンと同一だったので、内部標準物質と試料中のラク톤のピーク面積強度比とサンプリング量の関係から直接ラクトン定量することができた。また、著者らが入手したバターフレーバーには、保持時間が γ -オクタラクトンと一致する成分は存在しなかった。

Table 1 にこの方法によって分析した輸入バターフレーバー中のラクトン類の含有量の例を示した。この方法はバターフレーバー中のラクトン類の定量法として、操作は簡便で、迅速に行うことのできる優れた方法であると考えられる。

Table 1 Contents of Lactones in imported butter flavors

Butter flavor (Origin)	Content (%)		
	δ -decalactone	δ -dodecalactone	γ -nonalactone
A (Netherlands)	0.3%	0.8%	—
B (Denmark)	3.6	7.0	—
C (Denmark)	3.8	7.3	—
D (Denmark)	43.3	23.8	—
E (U.K.)	0.2	0.02	—
F (Netherlands)	99.0	—	—
G (Netherlands)	—	99.6	—
H (Netherlands)	6.9	13.1	14.4
I (U.K.)	0.9	0.2	0.2
J (France)	10.0	3.1	—
K (France)	10.4	5.3	—
L (USA)	0.5	0.4	—

4 要 約

バターフレーバー中のラクトン類の分析法について検討した。

ラクトン類の同定は GC-MS によって容易に行うことができた。

ラクトン類の定量は、ラクトン類が不安定な化合物であることを配慮して、前処理を行わないで検体を調製し、直接ガスクロマトグラフィーによる方法を選定した。

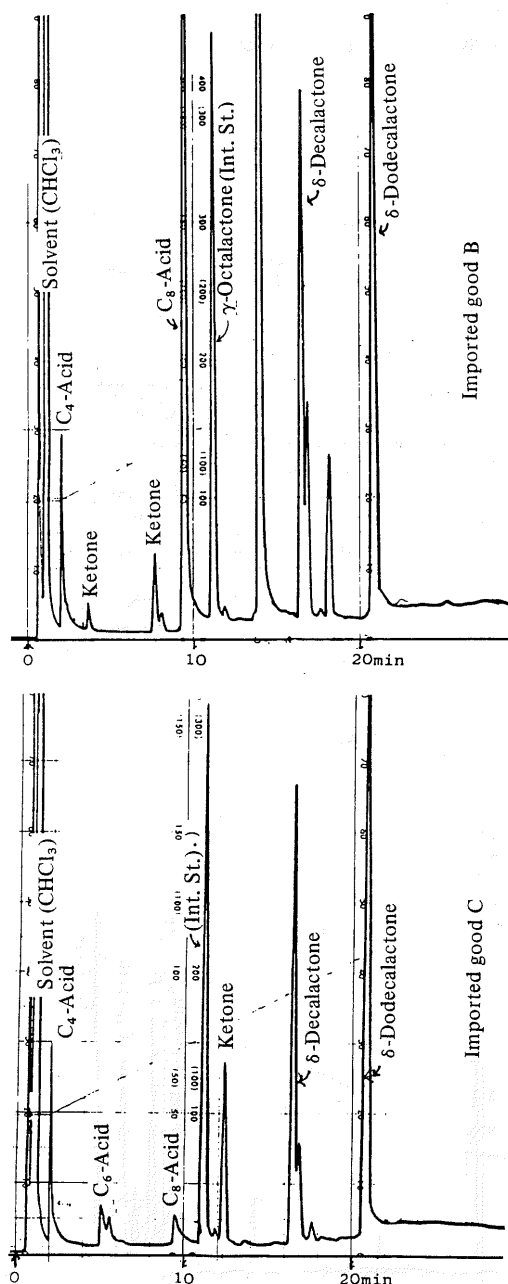


Fig.6 Gas chromatograms of imported good B and imported good C
GC conditions are cited in paragraph 2・6

報文 バターフレーバーのキャラクタリゼーション（第1報）ラクトン類の分析

バターフレーバー中のラクトン類定量のための条件は2・6に示したとおりである。

この方法を輸入バターフレーバーの分析に応用し、良好な結果が得られた。

文 献

- 1) 加藤時信, 岩本和郎: 本誌, **25**, 9 (1985)
- 2) J.Boldingh and R.J.Taylor: Nature, **194**, 909 (1962)
- 3) 化学大辞典編集委員会編: “化学大辞典”, **9**, 518 (1962) (共立出版)
- 4) W.H.Mc Fadden, E.A.Day and M.J.Diamond: Anal, Chem., **37**, 89 (1965).
- 5) 化学大辞典編集委員会編: “化学大辞典”, **9**, 520 (1962) (共立出版)