

ノート

バターフレーバーのキャラクタリゼーション (第3報)

—香気性物質の分析—

加藤 時 信, 笹 川 邦 雄*

Characterization of Butter Flavor(3)
—Analysis of Aroma Components—

Tokinobu KATO and Kunio SASAKAWA*

*Central Customs Laboratory, Ministry of Finance
531, Iwase, Matsudo-Shi, Chiba-Ken, 271 Japan

The identification and determination of aroma components in butter flavor was investigated.

The identification of aroma components was able to carry out easily by gas chromatography and mass spectrometry. Mass spectra of aroma and non aroma volatile component identified in butter flavor were presented.

For the determination of aroma components in butter flavor, gas chromatography using γ -octalactone as internal standard was established. Following GC conditions were recommended ; Silicone OV-101 (5% on chromosorb GAW DMC S, 80-100 mesh, 3mm Φ ×2m), column temperature : 100-340°C, carrier gas : He (50ml/min) and detector : FID.

It was shown that the techniques were useful for the rapid analysis of aroma components in the imported butter flavor.

—Received July 4, 1985—

1 緒 言

輸入バターフレーバーは、ミルク成分、油脂、香気性物質、溶剤、乳化剤または保留剤等が種々の割合で組合せられている。これらの組成を知ることは、第1報¹⁾に述べたように関税率表上の商品分類及び

輸入制限品目に該当するか否かを決定するために必要である。中でも香気性物質の分析、特に定量結果は、“香気性物質をもととした混合調製品”として関税率表第33.04号に該当する商品か否かの判断基準の一つとして重要である。

香気性物質の全重量を求める方法としては、一般

*大蔵省関税中央分析所 〒271 千葉県松戸市岩瀬 531

には水蒸気蒸留法が用いられているが、前報^{1,2)}までに指摘したとおり、バターフレーバーにはラクトン類のように不安定な化合物及びジアセチルや酪酸のように蒸気圧の高い化合物が混在しているほか、溶剤または保留剤としてプロピレングリコール、ベンジルアルコール及び合成トリグリセリドのような揮発性化合物が多量含まれているものがあるので、水蒸気蒸留法によって香気性物質を定量することの困難な場合が多い。

本報では、輸入バターフレーバーのガスクロマトグラフィーによって検出される成分が香気性物質であるか、溶剤または保留剤であるかを確認するために著者らがルーチン分析で行っているスクリーニング法を紹介するとともに、香気性物質の簡易・迅速定量法としてガスクロマトグラフィーによる方法について検討した結果を報告する。

2 実 験

2. 1 試薬及び試料

ラクトン類、低級脂肪酸等香気性物質の標準試薬、エチルエーテル及びクロロホルムは市販の試薬特級または1級を使用した。

試料としては各種輸入バターフレーバーを用いた。

2. 2 装 置

ガスクロマトグラフは島津製作所製のGC-7A形にクロマトパック 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 揮発性成分のスクリーニング

2. 3. 1 検体の調製

バターフレーバー中の揮発性成分が香気性物質であるか、溶剤または保留剤であるかのスクリーニングは、ガスクロマトグラフィー及びGC-MSによった。

ガスクロマトグラフィー用の検体は、試料が液体であってマイクロシリンジで直接採取できるものは試料そのものを検体とし、試料が粉状、フレーク状またはペースト状のものは試料濃度が10%程度のクロロホルム溶液またはエチルエーテル溶液を調製

して検体とした。なお、後者の場合、クロロホルムまたはエチルエーテルに不溶性の物質が存在すれば、定性用ろ紙を用いてろ過し、ろ液を検体とした。

GC-MS用の検体は、主として試料の水蒸気蒸留々出物からエチルエーテルで回収したものを検体とした。なお、試料が揮発性成分のみからなる場合には試料そのものを検体とした。

2. 3. 2 ガスクロマトグラフィーの条件

分離カラム：Silicone OV-101, 5% on Chromosorb GAW DMCS, 80~100 mesh, 3mm ϕ $\times$ 2m, 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

なお、香気性物質用の分離カラムにはPEG系の充填剤を使用すれば、より良好な結果が得られることが多いが、バターフレーバーには高級脂肪酸等の高沸点成分が共存したり、低級脂肪酸のようにPEG系の充填剤では強いテーリングをする成分が含まれていることが多いのであえて上記の条件を選定した。

2. 3. 3 GC-MSの条件

2. 3. 3. 1 GC-MS用ガスクロマトグラフィーの条件

分離カラム：Silicone OV-101, 3% on Chromosorb GAW DMCS, 80~100 mesh, 3mm ϕ $\times$ 2m, 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. 3. 3. 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：4sec

イオン化電圧：70eV

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. 4 香気性物質の定量

2. 4. 1 内部標準物質の選択

バターフレーバー中の香気性物質の定量は、前報まで^{1,2)}に指摘したように、バターフレーバーの組成特性、簡易・迅速性を考慮して、内部標準物質を用いるガスクロマトグラフィーにより全香気性物質の量を一度に求める方法を選定した。これに使用する内部標準物質としては、 γ -オクタラクトンを用いることとしたが、その理由は① バターフレーバーの主要香気性物質として一般に配合されている γ 及び δ -ラクトン類、メチルケトン類、エステル類等とガスクロ重量感度が近似していること、及び② 大部分のバターフレーバーには γ -オクタラクトンとガスクロ保持時間の一致する成分が含まれていないことである。

2. 4. 2 香気性物質の GC 重量感度の測定

内部標準物質の γ -オクタラクトン及びバターフレーバーから検出された各種香気性物質の標準試薬を各々約 100mg 採取し、10ml のエチルエーテルに溶解して混合試料を調製した。この混合試料を 2. 3. 2 に記載したガスクロマトグラフィーの条件に準拠して測定し、 γ -オクタラクトンのピーク面積強度に対する各種香気性物質のピーク面積強度の比を求めた。なお、このときのガスクロマトグラフィーの条件は 2. 3. 2 に記載した条件のうちカラム最高温度を 240℃までとして行った。また、各成分のピーク面積強度は、べつにガスクロマトグラフィーにより求めた試薬純度と試薬の採取量により補正した。

2. 4. 3 輸入バターフレーバー中の香気性物質の定量

バターフレーバーと内部標準物質の γ -オクタラクトンを精秤混合し、クロロホルムに溶解して検体を調製した。この時の試料採取量は、輸入バターフレーバーに含まれている香気性物質の含量が約 1% から数十%と多種多様な商品があるので画一的にで

きない。したがって、予備実験により主要香気性物質の量を予測して試料の採取量を決定した。内部標準物質はバターフレーバー中の香気性物質のうちガスクロマトグラムにおいて最強ピークを示す成分より少なく採取した。

このようにして調製した検体を用いて、2. 3. 2 に記載したガスクロマトグラフィーの条件により分析し、内部標準物質のピーク面積強度と各香気性物質のピーク面積強度の関係から常法により香気性物質の含有量を求めた。即ち、次式により算出した。

香気性物質含有量 (%)

$$= \frac{(a_i \times f + b_i \times f' + \dots)}{S_i} \times \frac{W_{st}}{W} \times 100$$

但し a_i 又は b_i : 香気性物質 a 又は b のピーク面積強度

f 又は f' : 内部標準物質に対する香気性物質 a 又は b の GC 重量感度

S_i : 内部標準物質のピーク面積強度

W_{st} : 内部標準物質の採取量 (mg)

W : 試料の採取量 (mg)

3 結果及び考察

3. 1 揮発性成分のスクリーニング

3. 1. 1 ガスクロマトグラフィー

上記 2. 3. 2 の項に述べた条件により測定した各種の輸入バターフレーバーのガスクロマトグラムを Fig.1~4 に示した。成分の同定はガスクロ保持時間及び後述の GC-MS によった。

バターフレーバーを直接ガスクロマトグラフィーによって分離すると香気性物質、溶剤または保留剤等によるピークが検出される。

バターフレーバーに配合されている香気性物質は、 γ 及び δ -ラクトン類、メチルケトン類、低級脂肪酸類が主体であり、これらの多くは天然バター、発酵バター、加熱バターまたはリパーゼ分解バターの香気成分として知られている^{3,4,5,6)}。

バターフレーバーの溶剤または保留剤としては乳糖、デキストリン、水添植物油または落花生油等の難揮発性のものが多いが、プロピレングリコール、

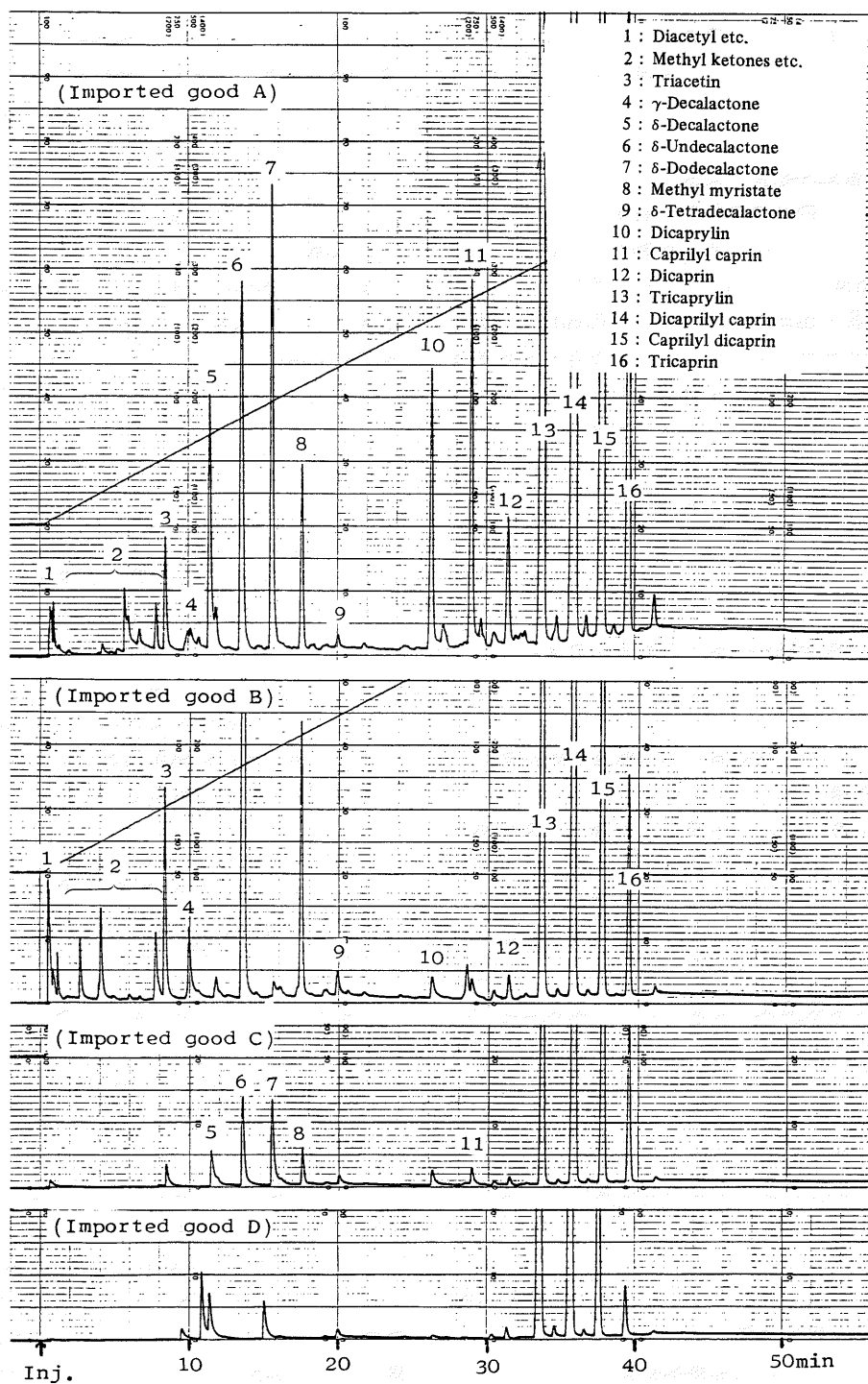


Fig.1 Gas chromatograms of liquid type butter flavors
 GC conditions are cited in paragraph 2・3・2.
 Components were identified by GC-MS.

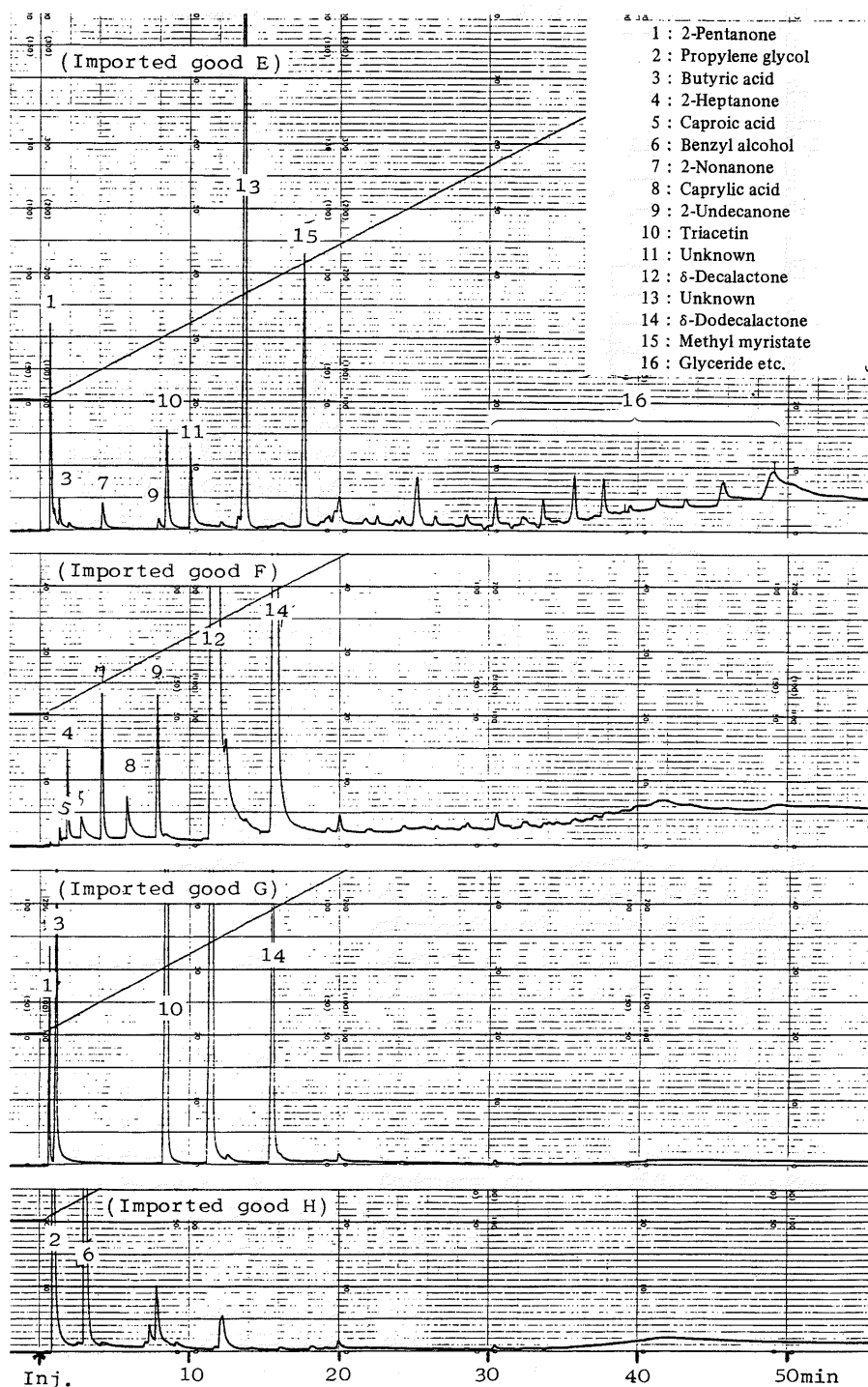


Fig.2 Gas chromatograms of liquid type butter flavors

GC conditions are cited in paragraph 2*3*3.

Components were identified by GC-MS.

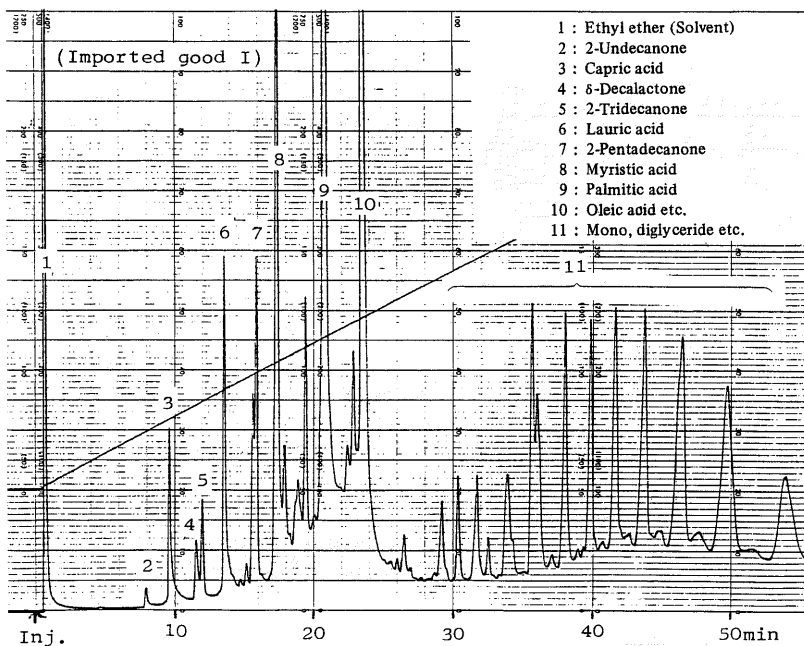


Fig.3 Gas chromatogram of paste type butter flavor(Solution of ethyl ether)
 GC conditions are cited in paragraph 2・3・2.

Components were identified by GC-MS.

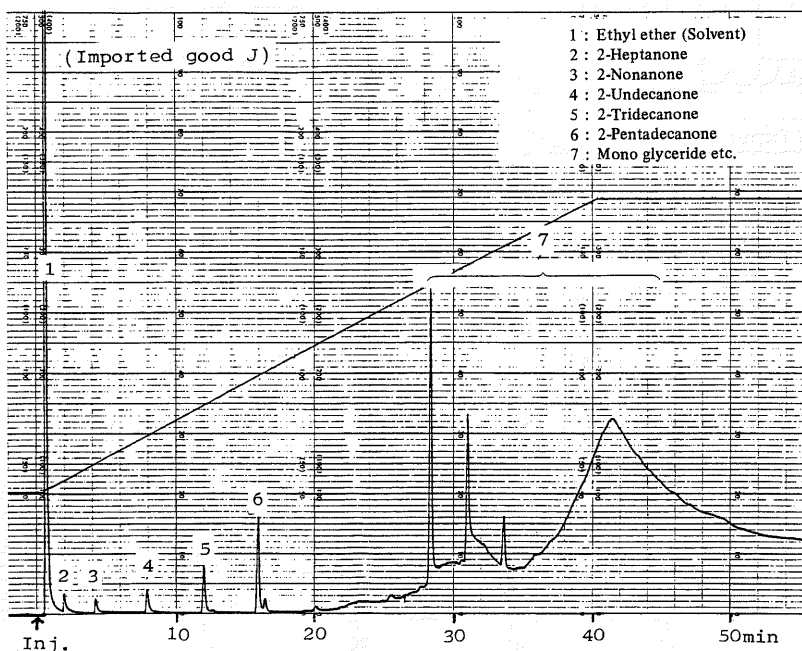


Fig.4 Gas chromatogram of flake type butter flavor (Solution of ethyl ether)
 GC conditions are cited in paragraph 2・3・2.

Components were identified by GC-MS.

ベンジルアルコールまたは合成トリグリセリドのように、この実験に用いたガスクロマトグラフィーの条件で検出されるものも使用されている。これらの成分のほか、乳化剤または乳脂の部分分解物に由来すると思われる高級脂肪酸、モノ及びジグリセリドが検出されるバターフレーバーもある。

Fig.1 は輸入品 A, B, C 及び D のガスクロマトグラムである。これらのバターフレーバーは液状であり、溶剤または保留剤としてカプリル酸とカプリン酸をグリセリド構成脂肪酸とする合成トリグリセリドが使用されている。香気性物質としては δ -ラクトン類が主体でミスチン酸エチル、メチルケトン類、ジアセチル等が配合されている。

Fig.2 は輸入品 E, F, G 及び H のガスクロマトグラムであり、これらも液状のバターフレーバーである。輸入品 E は落花生油に香気性物質が溶解されている。輸入品 F はサフラワー油に香気性物質が溶解されている。輸入品 G は香気性物質が主体 (約

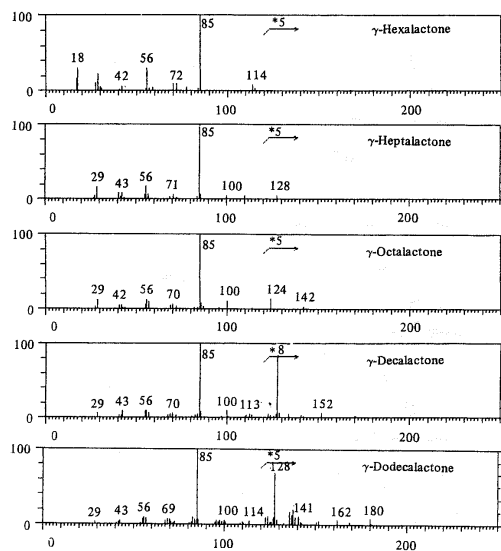


Fig.6 Mass spectra of aroma components
(2) γ -Lactones

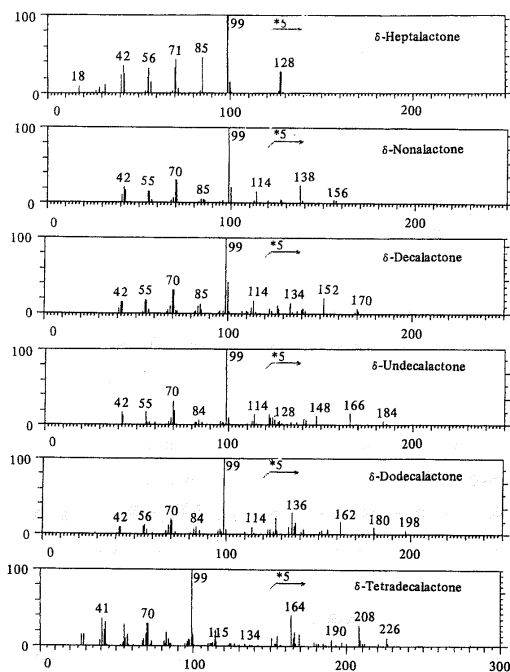


Fig.5 Mass spectra of aroma components
(1) δ -Lactones

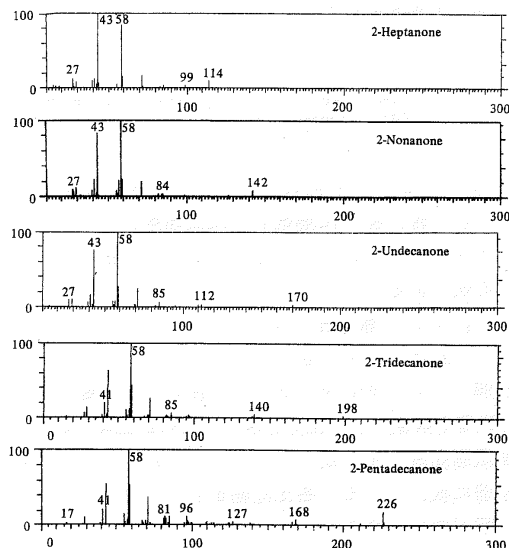


Fig.7 Mass spectra of aroma components

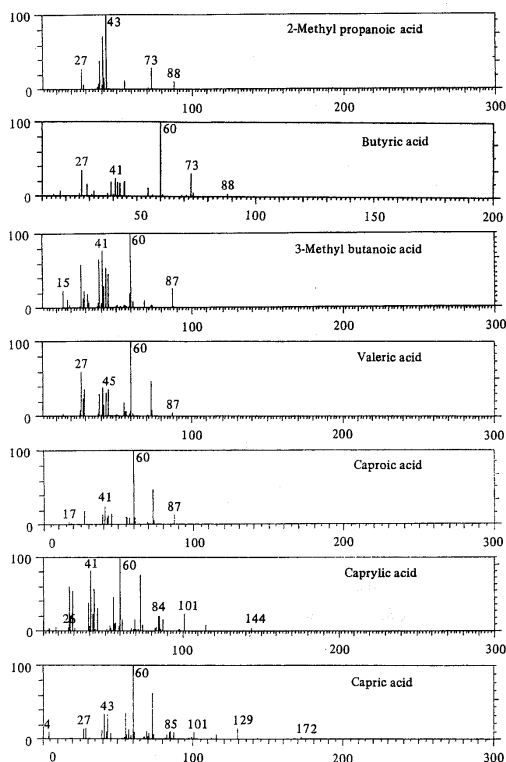


Fig.8 Mass spectra of aroma components
(4) Fatty acids

70%) であり、そのほかにトリアセチンが含まれている。輸入品 H は溶剤または保留剤としてプロピレングリコールとペンシルアルコールが併用されている例である。

Fig.3 は、輸入品 I のガスクロマトグラムであり、これはペースト状のもので、エチルエーテルに溶解してガスクロマトグラフに注入した。輸入品 I は乳脂を酵素により部分分解したものが主体であり、高級脂肪酸、モノ及びジグリセリドによるピークが顕著に検出される。香気性物質としてはメチルケトン類が主体である。

Fig.4 は輸入品 J のガスクロマトグラムであり、これはワックスをフレーク状にした感じのもので、エチルエーテルに溶解してガスクロマトグラフィーに注入した。輸入品 J は保留剤として水素添加した

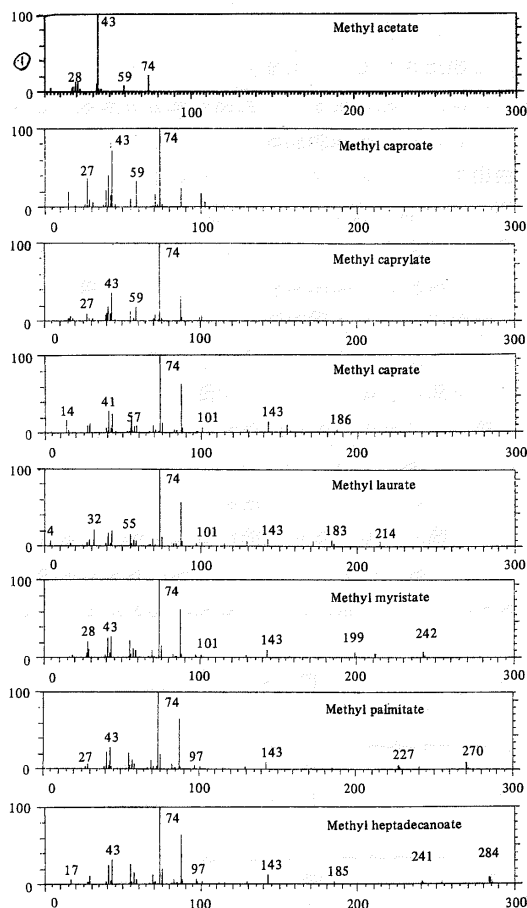


Fig.9 Mass spectra of aroma components
(5) Fatty acid methyl esters

パーム油のモノ及びジグリセリドが使用されており、香気性物質としてはメチルケトン類が含まれている。

以上の例のほか第1報¹⁾及び第2報²⁾に数種のバターフレーバーのガスクロマトグラムが示されている。

3. 1. 2 質量スペクトル

輸入バターフレーバーのGC-MSによって得られた香気性物質の質量スペクトルは、Fig.5～11に示した。化合物の同定は主としてデータ集^{7,8)}、またはM-0101データ処理装置のデータベース検索システムを参考として行った。ここに掲載した質

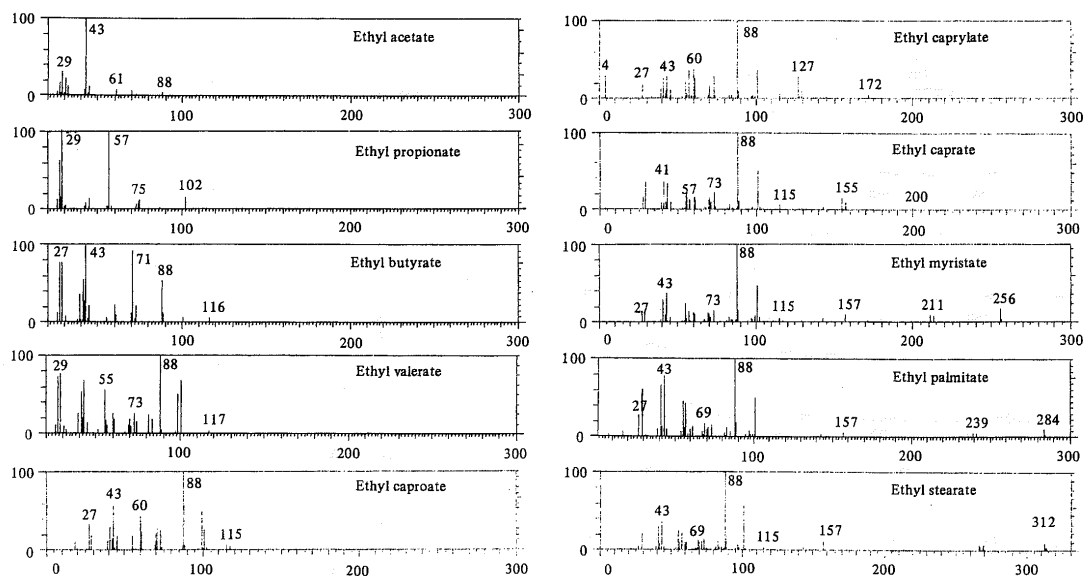


Fig.10 Mass spectra of aroma components

(6) Fatty acid ethyl esters

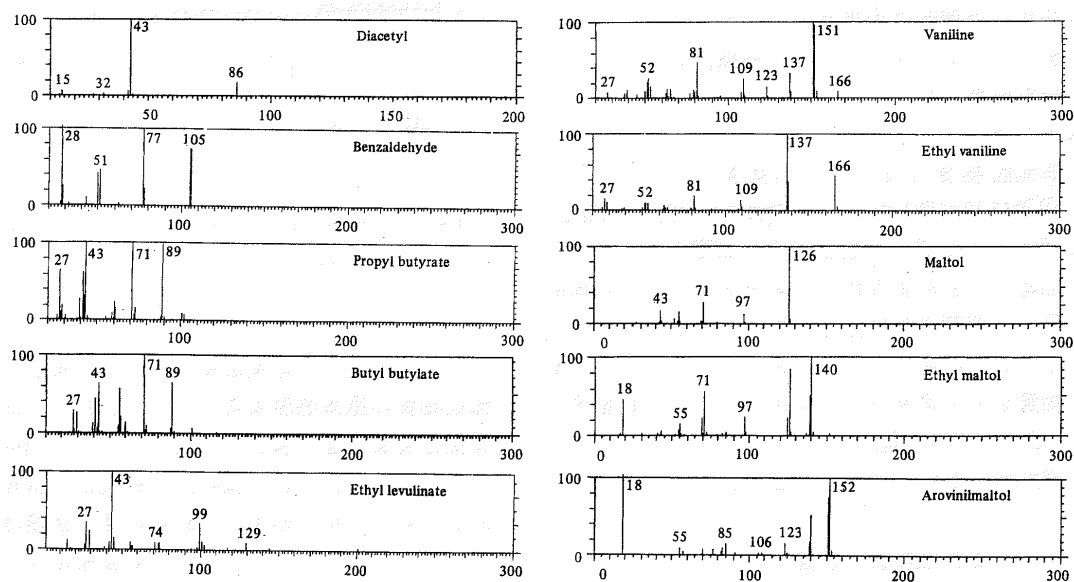


Fig.11 Mass spectra of aroma components

(7) Other

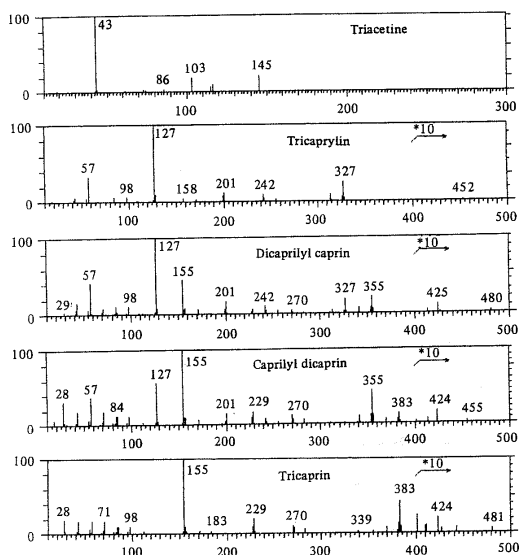


Fig.12 Mass spectra of non aroma components
(1) Triglycerides

量スペクトルはすでに文献等に報告されているものが多いが、今後輸入されるバターフレーバーのルーチン分析への便利さを考慮して、著者らがこれまでに分析したバターフレーバーから検出されたものの大部分を収録した。

輸入バターフレーバーのGC-MSによって得られた香気性物質以外のものの質量スペクトルは、Fig.12及び13に示した。なお、遊離の脂肪酸は炭素数が10以下のものを香気性物質として掲載した。

以上述べてきたように、バターフレーバーの揮発性成分には溶剤または保留剤のような成分も含まれていることがあるので、バターフレーバー中の香気性物質をガスクロマトグラフィーにより定量するには、あらかじめ上記のようなスクリーニングによって組成を明らかにしておく必要がある。

3. 2 香気性物質の定量

輸入バターフレーバー中の香気性物質の定量は、上記2. 4. 3の項に述べたように、γ-オクタラク톤を内部標準物質とするガスクロマトグラフィーをベースとして行った。

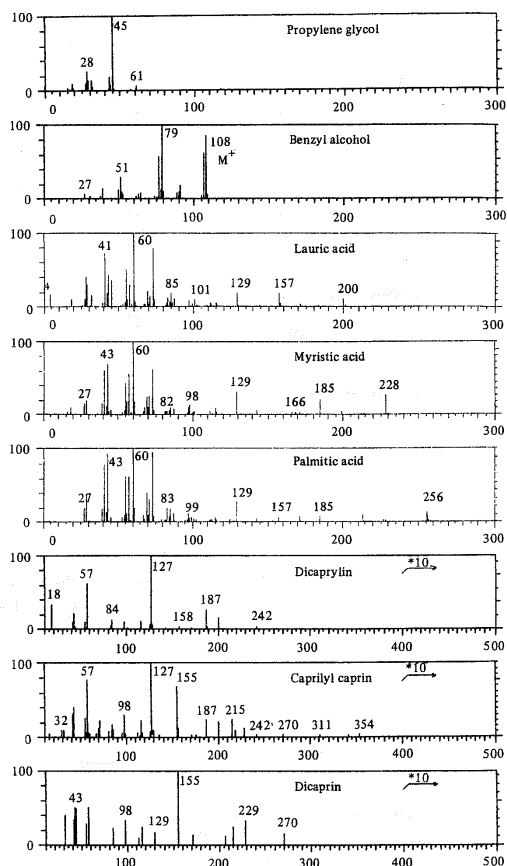


Fig.13 Mass spectra of non aroma components
(2) Other

Table1 はγ-オクタラク톤のガスクロマトグラフィーにおける重量感度を1とした場合の各種香気性物質の重量感度であり、これを用いて試料中の香気性物質の量を算出した。ただし、Table1に示されていない化合物は現時点で高純度の標準試薬が入手できていないので、それらの重量感度は測定していないが、これらについては重量感度を1と仮定して行った。

なお、バターフレーバーの中にはジアセチル、2-ペンタノンのように定量用試料調製に用いるエチルエーテルと分離困難な低沸点成分を含むものがあ

Table1 Relative weight sensibility of aroma components
(γ -octalactone=1.00)

δ -lactones		fatty acids	
nonalactone	1.00	butyric acid	0.80
decalactone	1.00	caproic acid	0.99
undecalactone	1.00	caprylic acid	1.10
dodecalactone	1.00	capric acid	1.46
γ -lactones		fatty acid methyl esteres	
hexalactone	0.84	methyl caproate	1.15
heptalactone	0.89	methyl caprate	1.33
octalactone	1.00	methyl laurate	1.27
decalactone	1.22	methyl myristate	1.26
dodecalactone	1.21	methyl palmitate	1.25
methyl ketones		fatty acid ethyl esterres	
2-pentanone	1.00	ethyl caproate	1.15
2-hexanone	1.00	ethyl caprylate	1.25
2-heptanone	1.00	ethyl caprate	1.25
2-nonanone	1.00	ethyl myristate	1.25
2-undecanone	1.00	ethyl palmitate	1.25
2-tridecanone	1.00	ethyl stearate	1.30
2-pentadecanone	1.00	other	
		benzaldehyde	1.00
		vaniline	0.64
		ethyl vanillin	0.73
		maltol	1.00
		ethyl maltol	1.00
		furfuryl alcohol	0.53

るが、このような成分は上記の方法で定量できないので、上記の方法で定量できた成分と無溶媒の試料を直接ガスクロマトグラフィーにより測定した低沸点成分のピーク相対面積強度の関係から算出した。

γ -オクタラクトンを内部標準物質として添加して調製した試料について測定したガスクロマトグラムの例は第1報に示されている。

この方法により約20種の輸入バターフレーバー中の香気性物質の含量を求めた結果、約1%から数10%と広範な商品があった。

4 要 約

バターフレーバー中の香気性物質の簡易・迅速分

析法について検討した。

試料中の揮発性成分の同定はガスクロマトグラフィー及びガスクロマトグラフ質量分析法によって行った。その結果、バターフレーバーの揮発性成分には、香気性物質以外の成分、例えば香気性物質の溶剤または保留剤として使用されているトリアセチン、プロピレングリコール等が含まれていることが判明した。したがって、バターフレーバー中の香気性物質の定量に先立って構成成分を確認する必要がある。

香気性物質の定量法として、 γ -オクタラクトンを用いた内部標準物質とするガスクロマトグラフ法を確立した。

文 献

- 1) 加藤時信, 関川義明: 本誌, 25, 1 (1985)
- 2) 加藤時信, 岩本和郎: 本誌, 25, 9 (1985)
- 3) 赤星亮一: “香料の化学”, 305 (1983) (大日本図書)
- 4) 諸江辰男: “食品と香料”, 185 (1979) (東海大学出版会)
- 5) Dr. J. Boldingh and R. J. Taylor: Nature, 194, 909 (1962)
- 6) 蟹沢恒好: 日本食品工業学会誌, 30, 572 (1983)
- 7) S. R. Heller and G. W. A. Milne: “EPA/NIH Mass Spectral Data Base”, (1978) (National Technical Information Service)
- 8) A. Cornu and R. Massot: “Compilation of Mass Spectral Data”, (1975) (Heyden&Son)