

ヘッドスペース固相マイクロ抽出 (HS-SPME) 法及びガスクロマトグラフ質量分析 (GC/MS) 法によるりんご加工品中の香気成分分析

南館 正知*, 宮下 広海*, 松澤 昌夫*, 今井 真弓*

Analysis of aroma components in apple processed products by headspace solid-phase microextraction (SPME) method and gas chromatography/mass spectrometry (GC/MS)

MINAMIDATE Yoshitomo*, MIYASHITA Hiroumi*, MATSUZAWA Masao* and IMAI Mayumi*

*Kobe Customs Laboratory, 12-1, Shinko-cho, Chuo-ku, Kobe, Hyogo, 650-0041 Japan

Despite the fact that apple-derived syrup (Chapter 17) and apple juice (Chapter 20) are both processed apple products, there is a large difference in the tariff rates between the two. Some of the syrups are occasionally declared as juice. Currently, discrimination between syrup and juice is done by organoleptic examination, acidity measurement, and sugar content measurement. In this study, we investigated whether it is possible to objectively discriminate between apple-derived syrup and apple juice by aroma component analysis. Using gas chromatogram, we measured the aroma components of two types of apple-derived syrup (with aroma or not), 8 imported condensed juices, one raw apple and two types of commercially prepared juice (straight or reduced concentrate juice) by headspace solid-phase microextraction (SPME) method and compared the components. As a result, β -damascenone was detected in all samples except for syrup without aroma when analyzed using Polydimethylsiloxane / Divinylbenzene fiber. From this fact, it was found that it is impossible to discriminate between syrup and juice by aroma components analysis alone. However, this also suggests that it may be possible to determine whether or not aroma components of apple remain in the juice by measuring β -damascenone in aromatic components.

1. 緒 言

関税分類上、果実から得られたジュースは関税率表第 20 類に分類される。これは果実を機械的に搾汁することによって得られ、清澄、ろ過、脱酸素、殺菌等の工程を経て製品となったものである。

一方、果実を搾汁、ろ過、殺菌、酵素処理、脱イオン処理等を行ったもので、甘味は強いが香気や酸味は無い物品の輸入申告が近年散見される。これらは主に砂糖の代替品として食品に添加する目的で利用される。このような物品の多くは、ジュース本来の性格が残っていないため、糖水として第 17 類に分類され、第 20 類の物品と比較して関税率が高くなるが、その輸入においては果実から搾汁したことを理由に第 20 類の物品として申告される場合が多く、特にりんごから得られた物品が多く見受けられる。このような物品の分類は、現状では官能試験や糖類の定性定量、酸度測定等の結果に加え、製造工程も考慮して行っているが、そこに客観的な分析手法である香気成分の分析結果が加われば、より適正な分類が可能になると考えられる。そこで本研究では、香気成分を迅速かつ単純に抽出でき、かつ低コストで分析が可能なヘッドスペース固相マイクロ抽出 (HS-SPME) 法とガスクロマトグラフ質量分析 (GC/MS) 法により、りんご由来の糖水並びにりんごジュース及びりんご中の香気成分を分析し、それぞれの間にどの

ような差異があるかを把握することで、物品がジュースとして第 20 類に分類されるか否かの判断が可能か検討を行った。

2. 実 験

2.1 試料及び試薬

2.1.1 試料

りんご由来の糖水

(酸味と芳香が無いもの 1 試料,

酸味は無いが芳香が有るもの 1 試料)

りんごジュース

(輸入品濃縮ジュース 8 試料, 市販品ストレートジュース 1 試料, 市販品濃縮還元ジュース 1 試料, いずれも香料不使用のもの)

生りんご 1 試料 (フジ)

2.1.2 試薬

塩化ナトリウム (和光純薬工業)

2.2 装置及び測定条件

・ガスクロマトグラフ質量分析計 (GC-MS)

装置 : HP6890/5973MSD(Agilent)

カラム : HP-5MS 長さ 30 m, 内径 0.25 mm, 膜厚 0.25 μ m

* 神戸税関業務部 〒650-0041 兵庫県神戸市中央区新港町 12-1

カラム温度 : 50° C(5 min)→(10° C/min)→240° C(13 min)

注入口温度 : 250° C

キャリアガス : He, 流量 2.2 mL/min

・ ヒートブロック : Reacti-ThermIII(PIERCE)

・ SPME 用ファイバー (4 種類)

65 µm PDMS/DVB ファイバー

(ポリジメチルシロキサン/ジビニルベンゼン)

(SUPELCO)

50/30 µm DVB/Carboxen/PDMS ファイバー

(ジビニルベンゼン/カルボキセン/ポリジメチルシロキサン)

(SUPELCO)

85 µm Carboxen /PDMS ファイバー

(カルボキセン/ポリジメチルシロキサン)

(SUPELCO)

85 µm Polyacrylate ファイバー

(ポリアクリレート)

(SUPELCO)

2.3 実験方法

試料 10 g 及び NaCl 約 3 g を同一のバイアル瓶に採取した。こ

れをヒートブロックを用いて攪拌しながら 50° C で 5 分加熱し平衡化した後, SPME ファイバーの先端部分をバイアル瓶のヘッドスペースに保持し 50° C で 30 分加熱して香気成分を捕集し, GC-MS で測定した。測定はスプリットレス注入法により 50° C から 240° C まで昇温する条件において行った¹⁾。

2.4 ピークの同定

GC-MS によって得られたクロマトグラムのピークマスペクトルと WILEY 275 ライブラリーのマスペクトルとの一致によって行った。

3. 結果及び考察

3.1 SPME ファイバーの検討

各ファイバーを用いた試料の測定結果を Table.1 に示す。全試料において, PDMS/DVB ファイバーを用いた場合に最も多くの種類の成分が同定されたので, 本研究では PDMS/DVB ファイバーを用いた測定結果の解析を行った。

Table 1 The number of identified components in each fiber

fiber	syrup		imported concentrated juice								raw apple	commercially prepared juice	
	without aroma	with aroma	i	ii	iii	iv	v	vi	vii	viii		not from concentrate	from concentrate
PDMS/DVB	23	24	25	24	16	20	15	27	10	11	29	32	18
Polyacrylate	8	15	22	19	15	8	11	16	8	4	10	14	3
CAR/PDMS	5	10	10	8	9	6	14	15	2	5	24	29	11
DVB/CAR/PDMS	10	9	11	7	7	8	8	7	8	9	23	29	10

PDMS: Polydimethylsiloxane

DVB: Divinylbenzene

CAR: Carboxen

3.2 加工程度による香気成分の差異

PDMS/DVB ファイバーを用いて、各試料から確認できた成分を官能基別に分類し、成分数として集計したものを Table.2 に示す。りんごの香気成分として知られるアルコール、エステル、アルデヒド、ケトン類等^{2),3)}が同定された。

これらの成分数を比較したところ、エステルが多く含まれる品種であるフジ³⁾の生りんご及びストレートジュースからはエステ

ル類が多数確認されたが、糖水及び濃縮ジュースではいずれの試料もエステルが少なく、全く検出されない試料もあった。アルコール、アルデヒド及びケトン類は全試料において同程度に検出された。糖水と濃縮ジュースでは強度差はあるものの香気成分の種類に差は認められなかった。

アルデヒド等の一部の成分群について生りんごやストレートジュースよりも濃縮ジュース等において多数検出されていた。

Table 2 The number of components in each identified functional group

components type	Syrup		imported concentrated juice								raw apple	commercially prepared juice	
	without aroma	with aroma	i	ii	iii	iv	v	vi	vii	viii		not from concentrate	from concentrate
Alcohol	6	5	6	5	3	3	5	6	3	4	3	6	6
Ester	6	5	2	4	4	3	5	8	2	0	17	18	6
aldehyde	4	4	7	5	3	3	1	5	2	3	3	1	3
ketone	1	2	2	3	2	2	1	3	2	3	2	3	1
other	6	8	8	7	4	9	3	5	1	1	4	4	2

3.3 特定の香気成分の差異による糖水とジュースの判別

PDMS/DVB ファイバーを用いて各試料から確認された成分を官能基別に分類し Table.3 に示す。糖水とジュースが香気成分の差異により判別可能かどうかを検証するため、「糖水」と「ジュース及び生りんご」の 2 つの試料群に分け、片方の試料群からは共通して同定されるが、他方の試料群からは同定されない成分を検索した。しかしながら、該当する成分は無かった。そのため、今回使用した試料間においては香気成分分析によって、りんご由来の糖水とりんごジュースを判別することは困難であった。

3.4 特定の香気成分の差異による芳香の残留の判別

次にりんごの芳香が残留しているかどうかを香気成分の差異から判別可能かどうかを検証するため、「芳香の無い糖水」と「芳香の有る試料」の 2 つの試料群に分け、片方の試料群からは共通して同定されるが、他方の試料群からは同定されない成分を検索した。その結果、「芳香の有る試料」群から共通して β -ダマセノンが同定された。Fig. 1ー13 に各試料を PDMS/DVB ファイバーを用いて測定した際のクロマトグラム及び β -ダマセノンの保持時間の拡大図を示す。

β -ダマセノンは持続性の高い、きわめて強い果実様の甘い香気を有する物質 (閾値 $2\text{ ng/L}\cdot\text{水}$)⁴⁾であり、天然ではバラ、りんご、ぶどう、プラム、アブリコット、ラズベリー等の果実、それから作られるアルコール飲料、アルテミシア、カモミルの精油、紅茶、タバコにも存在⁵⁾する。 β -ダマセノンはりんごの香気成分の一種であり、りんごの芳香が残留しているか判別する指標として適したものである。

そのため、香気成分中の β -ダマセノンを測定することにより、りんごの芳香が残留しているかどうかを判別することができる可能性が示された。

また、Polyacrylate ファイバーを用いて測定を行った場合も、「芳香の有る試料」群の全試料で β -ダマセノンが確認されたことから、このファイバーも有効であった。

以上のことから、香気成分中の β -ダマセノンの測定に加え、HPLC 等で糖分や有機酸を測定することにより、りんご由来の糖水とりんごジュースを客観的に判別することができる可能性が示された。

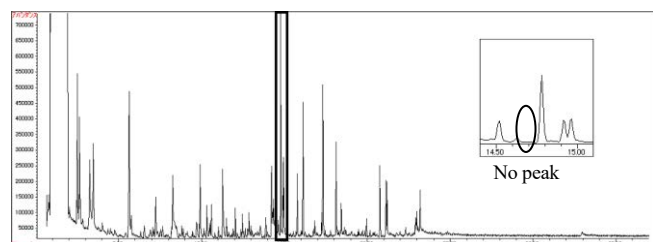


Fig.1 Gas chromatogram of syrup without aroma

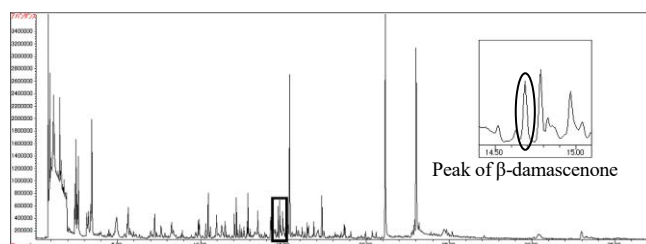


Fig.2 Gas chromatogram of syrup with aroma

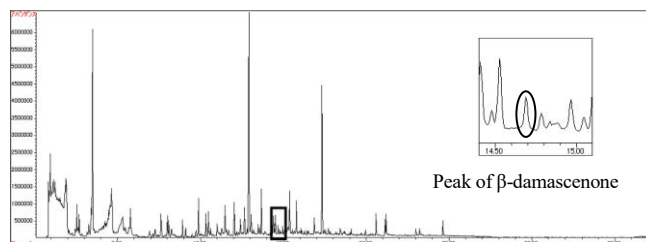


Fig.3 Gas chromatogram of concentrated juice (i)

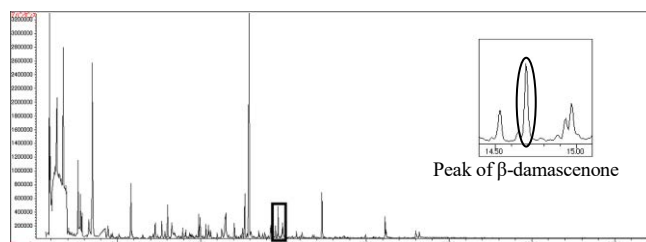


Fig.4 Gas chromatogram of concentrated juice (ii)

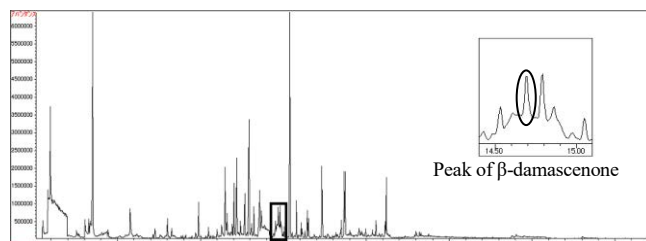


Fig.5 Gas chromatogram of concentrated juice (iii)

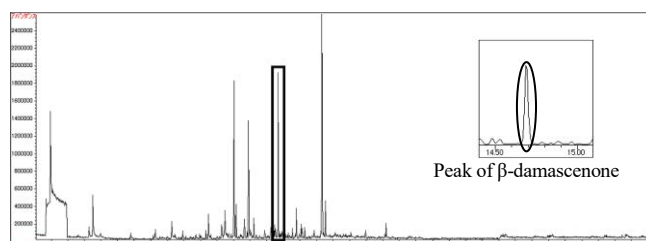


Fig.6 Gas chromatogram of concentrated juice (iv)

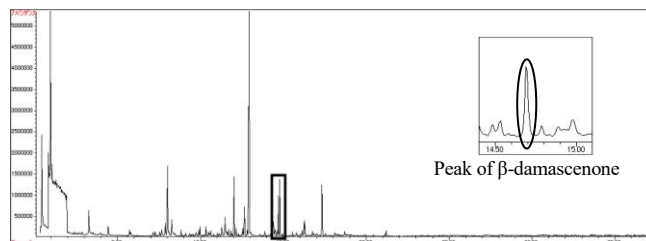


Fig.7 Gas chromatogram of concentrated juice (v)

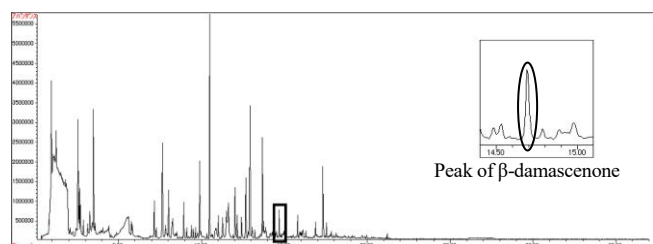


Fig.8 Gas chromatogram of concentrated juice (vi)

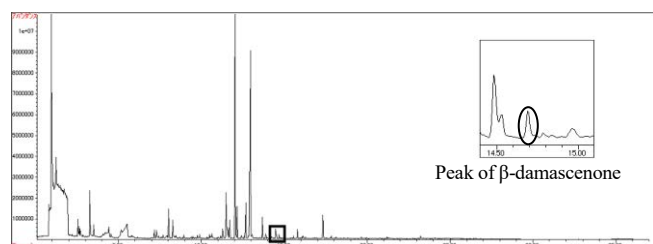


Fig.9 Gas chromatogram of concentrated juice (vii)

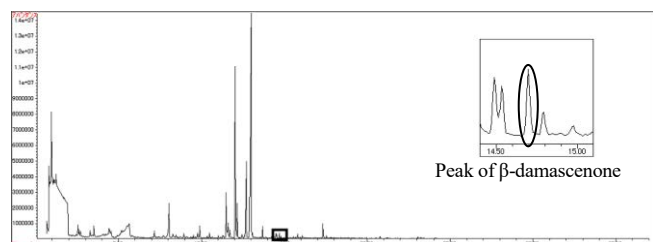


Fig.10 Gas chromatogram of concentrated juice (viii)

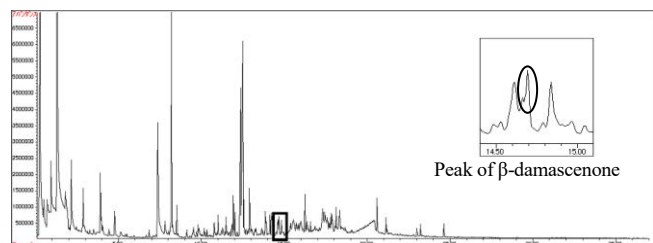


Fig.11 Gas chromatogram of raw apple

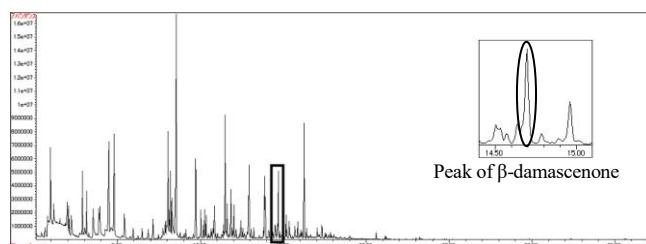


Fig.12 Gas chromatogram of commercially prepared juice not from concentrate

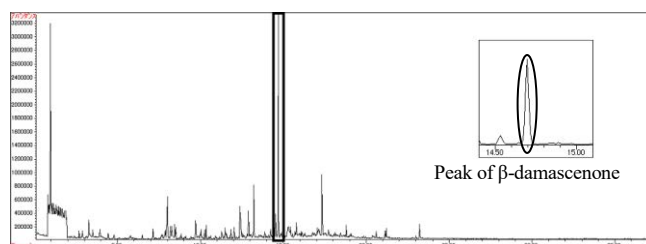


Fig.13 Gas chromatogram of commercially prepared juice from concentrate

4. 要 約

本研究では、ヘッドスペース SPME 法と GC-MS を用いて、りんご由来の糖水及びりんごジュースの香気成分を測定することによる判別方法を考案、検討した。

今回検討した中では測定に用いる SPME ファイバーは PDMS/DVB ファイバーが最も多くの種類の成分が同定され、多くの香気成分を測定可能であった。

今回用いた試料群からは、アルコール、エステル、アルデヒド、ケトン類等が同定され、糖水と濃縮ジュースでは香気成分の種類に差は認められなかった。

「糖水」と「ジュース及び生りんご」の2つの試料群に分け香気成分の比較を行ったが、一方の試料群のみから共通して同定される成分は確認されず、香気成分分析によって、りんご由来の糖水とりんごジュースを判別することは困難であった。

同定成分のうちβ-ダマセノンが確認可能か否かでりんごの芳香が残留しているか判別することができる可能性が示された。これに加え、HPLC 等で糖分や有機酸を測定することにより、りんご由来の糖水とりんごジュースが客観的に判別することができる可能性が示された。

文 献

- 1) 宮下広海, 西崎有美, 松澤昌夫, 今井真弓: 関税中央分析所報, **59**, 47 (2019)
- 2) 大石栄恵: 家政学雑誌, **27**, 8, P.566 (1976)
- 3) 奥田治: “香料化学総覧”, P.207 (1968), (廣川書店)
- 4) 後藤奈美: 日本醸造協会誌, **110**, 3, P.139 (2015)
- 5) 社団法人 有機合成化学協会: “有機化合物辞典”, P.530 (1985), (講談社)

Table 3 The components in each identified functional group

components type	syrup		imported condensed juice	
	without aroma	with aroma	i	ii
alcohol	<ul style="list-style-type: none"> • butanediol • carbitol • benzyl alcohol • phenethyl alcohol • menthol • undecanol 	<ul style="list-style-type: none"> • butanediol • nonanol • phenethyl alcohol • furandimethanol • (hydroxymethyl)frn 	<ul style="list-style-type: none"> • butanediol • methyl-butanediol • benzyl alcohol • (hydroxyfuryl)ethanone • phenethyl alcohol • dichloropropanol 	<ul style="list-style-type: none"> • methylbutanol • butanediol • hexanol • benzyl alcohol • phenethyl alcohol
ester	<ul style="list-style-type: none"> • ethyl hexanoate • ethyl octanoate • ethyl decanoate • ethyl dodecanoate • phenylethyl phenylacetate • dibutyl terephthalate 	<ul style="list-style-type: none"> • methyl furancarboxylate • ethyl octanoate • ethyl decanoate • octyl adipate • dioctyl terephthalate 	<ul style="list-style-type: none"> • butyl butyrate • butyl isobutyrate 	<ul style="list-style-type: none"> • γ-butyrolactone • ethyl hydroxybutanoate • methyl furancarboxylate • 2,2,4-trimethyl-3-isopropyl isobutyl pentanoate
aldehyde	<ul style="list-style-type: none"> • frufural • nonanal • decanal • hydroxy methyl frufural 	<ul style="list-style-type: none"> • frufural • methyl frufural • nonanal • decanal 	<ul style="list-style-type: none"> • frufural • benzaldehyde • phenyl acetaldehyde • nonanal • decanal • hydroxy methyl frufural • dodecanal 	<ul style="list-style-type: none"> • hexanal • frufural • benzaldehyde • decanal • hydroxy methyl frufural
ketone	<ul style="list-style-type: none"> • hexanedione 	<ul style="list-style-type: none"> • 2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-one • β-damascenone 	<ul style="list-style-type: none"> • 2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-one • β-damascenone 	<ul style="list-style-type: none"> • 2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-one • 4-phenyl-3-butene-2-one • β-damascenone
other	<ul style="list-style-type: none"> • acetyl furan • decanoic acid • dodecanoic acid • heptadecane • hexadecanoic acid • octadecanoic acid 	<ul style="list-style-type: none"> • acetyl furan • acetylcytidine • di-tert-butylbenzene • nonanoic acid • undecanoic acid • tetradecanoic acid • hexadecanoic acid • octadecanoic acid 	<ul style="list-style-type: none"> • formamide • nonanoic acid • decanoic acid • dodecanoic acid • tetradecanoic acid • N,N-dimethyltridecylamine • hexadecanoic acid • octadecanoic acid 	<ul style="list-style-type: none"> • methylbutanoic acid • hexanoic acid • benzoic acid • methyl benzimidazolone • undecanoic acid • hexadecanoic acid • octadecanoic acid

Table 3 The components in each identified functional group

components type	imported condensed juice		
	iii	iv	v
alcohol	<ul style="list-style-type: none"> •butanediol •linalyl oxide •phenethyl alcohol 	<ul style="list-style-type: none"> •benzyl alcohol •phenethyl alcohol •di-tert-butylphenol 	<ul style="list-style-type: none"> •methionol •ethylhexanol •phenethyl alcohol •eugenol •di-tert-butylphenol
ester	<ul style="list-style-type: none"> •γ-butyrolactone •methyl furoate •ethyl octanoate •methyl glycinate 	<ul style="list-style-type: none"> •3-hydroxy-2,2,4-trimethylpentyl isobutyrate •geranyl acetate •dibutyl phthalate 	<ul style="list-style-type: none"> •hexyl formate •methyl furancarboxylate •ethyl octanoate •2,2,4-trimethyl-3-isopropyl isobutyl pentanoate •dibutyl phthalate
aldehyde	<ul style="list-style-type: none"> •furfural •methyl furfural •hydroxy methyl furfural 	<ul style="list-style-type: none"> •furfural •benzaldehyde •nonanal 	<ul style="list-style-type: none"> •benzaldehyde
ketone	<ul style="list-style-type: none"> •2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-one •β-damascenone 	<ul style="list-style-type: none"> •β-damascenone •3-hydroxy-β-damascenone 	<ul style="list-style-type: none"> •β-damascenone
other	<ul style="list-style-type: none"> •acetylfuran •vitispirane •hexadecanoic acid •octadecanoic acid 	<ul style="list-style-type: none"> •acetylfuran •benzoic acid •nonanoic acid •vitispirane •tetrahydrotrimethylnaphthalene •dihydrotrimethylnaphthalene •cyclodecane •calacorene •decanoic acid 	<ul style="list-style-type: none"> •acetylfuran •decanoic acid •farnesene

Table 3 The components in each identified functional group

components type	imported condensed juice		
	vi	vii	viii
alcohol	<ul style="list-style-type: none"> •butanediol •furanmethanol •furylethanol •benzyl alcohol •phenethyl alcohol •di-tert-butylphenol 	<ul style="list-style-type: none"> •butanediol •propanol •phenethyl alcohol 	<ul style="list-style-type: none"> •butanediol •(hydroxymethyl)fructose •benzyl alcohol •phenethyl alcohol
ester	<ul style="list-style-type: none"> •ethyl butyrate •γ-butyrolactone •hexyl acetate •ethyl hydroxybutanoate •methyl furancarboxylate •ethyl octanoate •hexyl butyrate •dibutyl phthalate 	<ul style="list-style-type: none"> •methyl furoate •2,2,4-trimethyl-3-isopropyl isobutyl pentanoate 	
aldehyde	<ul style="list-style-type: none"> •furfural •formylpyrrole •benzaldehyde •nonanal •hydroxy methyl furfural 	<ul style="list-style-type: none"> •furfural •benzaldehyde 	<ul style="list-style-type: none"> •furfural •benzaldehyde •hydroxy methyl furfural
ketone	<ul style="list-style-type: none"> •2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-one •β-damascenone •3-hydroxy-β-damascenone 	<ul style="list-style-type: none"> •β-damascenone •geranylacetone 	<ul style="list-style-type: none"> •furyl hydroxyethanone •2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-one •β-damascenone
other	<ul style="list-style-type: none"> •formamide •ethylhexanoic acid •benzoic acid •vitispirane •decanoic acid 	<ul style="list-style-type: none"> •xylene 	<ul style="list-style-type: none"> •xylene

Table 3 The components in each identified functional group

components type	raw apple	commercially prepared juice	
		not from concentrate	from concentrate
alcohol	<ul style="list-style-type: none"> •furfuryl alcohol •methylheptenol •(hydroxymethyl)benzaldehyde 	<ul style="list-style-type: none"> •hexanol •methylheptenol •linalyl oxide •linalool •phenethyl alcohol •terpineol 	<ul style="list-style-type: none"> •hexanol •ethylhexanol •linalyl oxide •linalool •phenethyl alcohol •di-tert-butylphenol
ester	<ul style="list-style-type: none"> •ethyl methylbutyrate •methylbutyl acetate •ethyl butyrate •propyl butyrate •ethyl pentanoate •pentyl acetate •ethyl tiglate •propyl methylbutanoate •ethyl octanoate •hexyl acetate •butyl methylbutanoate •propyl octanoate •ethyl heptanoate •hexyl butyrate •ethyl octanoate •hexyl methylbutanoate •dibutyl phthalate 	<ul style="list-style-type: none"> •butyl acetate •ethyl butyrate •ethyl methylbutyrate •methylbutyl acetate •isopentyl acetate •pentyl acetate •methyl hexanoate •ethyl hydroxybutanoate •butyl methylbutanoate •butyl butyrate •ethyl hexanoate •hexyl acetate •butyl methylbutanoate •propyl hexanoate •(methylthio)propyl acetate •ethyl hydroxyhexanoate •benzyl acetate •hexyl methylbutanoate 	<ul style="list-style-type: none"> •ethyl butyrate •ethyl methylbutyrate •methylbutyl acetate •ethyl hexanoate •hexyl acetate •dibutyl phthalate
aldehyde	<ul style="list-style-type: none"> •frufural •hexanal •hydroxymethyl frufural 	<ul style="list-style-type: none"> •benzaldehyde 	<ul style="list-style-type: none"> •frufural •benzaldehyde •hydroxymethyl frufural
ketone	<ul style="list-style-type: none"> •2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-one •β-damascenone 	<ul style="list-style-type: none"> •6-methyl-5-heptene-2-one •kamphor •β-damascenone 	<ul style="list-style-type: none"> •β-damascenone
other	<ul style="list-style-type: none"> •farnesene •hexadecanoic acid •octadecanoic acid •tris(1,3-dichloro-2-propyl)phosphate 	<ul style="list-style-type: none"> •bornene •vitispirane •farnesene •hexadecanoic acid 	<ul style="list-style-type: none"> •methylpentadiene •hexadecanoic acid