

ヘッドスペース法を利用した食品品質管理法の開発

加工技術グループ バイオチーム 高阪 千尋, 廣岡 青央, 山本 佳宏
京都市衛生環境研究所 生活衛生部門 伴埜 行則

要 旨

食用魚などの鮮度判定に従来より用いられている方法は結果の判定に24時間以上要し、品質管理に利用することは現実的ではない。そこで、迅速で簡便な食品の品質管理方法の構築を目的とし、食品の周囲の気体を希薄成分濃縮機材にて採取し、ガスクロマトグラフ質量分析計(GCMS)で分析を行った。今回、魚試料4種類から揮発する微量成分の経時変化を測定した結果、15種類の推定される化合物において変化を見出すことができた。今後、さらにこの中から鮮度の指標となる化合物を選抜することで、より短時間で結果の判定が可能な品質管理方法を確立できると考えられる。

1. はじめに

食品の安全性の確保や食中毒要因の分析のため、食用魚などの鮮度判定には細菌学的手法を用いるのが一般的であるが、結果の判定に24時間以上を要し、鮮魚の品質管理に利用することは現実的ではないと考えられる。そこで、迅速で簡便な食品の品質管理方法の構築を目的とし、食品の周囲の気体を希薄成分濃縮機材にて採取し、GCMSを用いて分析することにより鮮度の指標となる化合物を抽出し、鮮度を数値化することを目指した。

今回、京都市衛生環境研究所(衛環研)が日常業務の検査対象としている食用魚を試料とし、目的成分を特異的に濃縮できるNeedlEx(信和化工)を利用し、GCMSを用いたヘッドスペース分析を行うことにより、鮮度の指標となる測定対象化合物を網羅的に探索した。

具体的には、まず魚試料を密閉容器に入れ、試料周囲の雰囲気ガスを注射針(NeedlEx)を用いて吸引し、魚試料から揮発する成分を針内部の吸着剤により濃縮した。続いて、この注射針をGCMSの注入口にて加熱することで、吸着剤から揮発成分を脱離させ、GCMSに注入し分析した。

分析の結果、魚試料から複数の化合物が揮発していることが推定できた。このうち密閉容器内で放置した時間の経過とともにGCMSでの分析の出力が増加または減少した化合物は、鮮度の指標となる化合物の候補であり、鮮度の判定に利用できる可能性が高いと考えたため報告する。

2. 実験方法

2.1 サンプルング方法

魚試料は、衛環研より提供された中で鮮度の変化が速いと考えられる赤身魚4種類(シマアジ、アジ、サバ、サゴシ)を使用した。

揮発成分の濃縮にはNeedlExを使用した。サンプルング方法は北川式ガス採取器にNeedlExを取り付け、300ml容のセパラブルフラスコにサンプルを密閉し一定時間、吸引した(図1)。



図1 サンプルングの環境

2.2 GCMS 分析条件

バイアル瓶に入れた標準物質（1-ヘキサナール，2,3-ペンタンジオン，1-ペンテン-3-オール）をセパラブルフラスコへ入れ，分離，検出可能な条件を検討し，表1の条件にて分析を行った。試料を吸着したNeedlExをルアーロック型ガスタイトシリンジに接続し，既定の温度に設定したGCMSの注入口にて10秒間加熱，吸着した成分を脱離した後，注入した。

表1 揮発性成分のGCMS分析条件

機器	:GCMS-QP2010 Ultra (島津製作所)
カラム	:ULBON HR-52 (50 m x0.25 mm x0.25 μm)
カラムオープン	:40°C→(5°C/分)→70°C→(20°C/分)→200°C(3分)
検出	:GCMS, 200°C
キャリアガス	:He, 1.5 ml/分
注入	:1 ml, スプリット10:1, 200°C

2.3 吸着担体

吸着担体には，NeedlExの有機溶剤用，トリメチルアミン用，脂肪酸用，アルコール用を使用した。

2.4 対象化合物の探索

解体後にミキサーを用いて破碎した魚試料の揮発成分の経時変化を調べた。魚試料約10gをセパラブルフラスコに入れ，0，2，4，6，8，24，48，72時間後にそれぞれNeedlExの有機溶剤用を使用し100mlを吸引し，GCMSにて測定した。

3. 結果及び考察

3.1 サンプルング方法の検討

吸引時間が3分間の場合，GCMSによる化合物のデータベース検索に十分な出力が得られなかったため，吸引時間を15分間に延長し測定を行った。

3.2 吸着担体の検討

ミキサーで破碎したシマアジ20gをセパラブルフラスコに入れ，吸着担体4種類で経時的にサンプルングしてGCMSにて分析した結果，有機溶剤用のNeedlExを用いて濃縮した場合，最も多くの化合物のピークが確認できた。また，夾雑ピークが少なく，クロマトグラムのバックグラウンドが安定して操作性に優れていた。これは注入口温度が使用した4種類の中で最も低い(200°C)ためと考えられた。以上より，吸着担体として有機溶剤用

のNeedlExを選択した。

3.3 対象化合物の探索

得られたGCMSのクロマトグラムを，セパラブルフラスコ内で魚試料を放置した経過時間の順に並べ比較した。このうちアジについての結果を図2に示した。図2では時間の経過とともに増加，減少するピークが複数，観察でき，保持時間(分)(RT)の順に少なくとも8種類のピーク(2.77, 2.86, 2.90, 2.93, 3.11, 3.18, 3.60, 8.40)にて変化があった。これらのピークのマスマスペクトルを，GCMS付属のソフトウェアを用いてデータベースに保存されている化合物のマスマスペクトルのパターンと比較した。その結果，マスマスペクトルのパターンの類似度の高さから推定された化合物名は順に，イソバレアルデヒド，1-ペンテン-3-オール，2,3-ペンタンジオン，ジエチルケトン，イソアミルアルコール，ジメチルジスルフィド，1-ヘキサナール，1-ウンデセンであった。これらの化合物名をRTの順に表2へ示した。表2では，経過時間に伴いクロマトグラムにおいてピークが最大になった面積を100%としたときの各化合物の増加，減少を示した。

今回，サバ，サゴシについては，アジ(図2)に相当する経過時間に伴うクロマトグラムの変化は示さないが，サバ，サゴシについても経過時間に伴って増加，減少したピークが少なくともそれぞれ6種類存在し，データベースの検索の結果，推定される化合物名を表2に示した。また，比較のため，標準品で確認できた3種類の化合物(1-ヘキサナール，2,3-ペンタンジオン，1-ペンテン-3-オール)についても，これら6種類に加え併記した。

なお，この3種類の化合物については，今回の魚試料の分析とは別に，標準品を魚試料と同一の条件にて測定し，RTおよびマスマスペクトルが一致した。これより，この3種類の化合物についてはデータベースの検索結果が正しいと考えており，化合物名にアスタリスクを付記した。それ以外に表2に挙げた化合物名は，データベース内にてマスマスペクトルのパターンが類似していたことからソフトウェアの検索結果に表示された，推定される化合物名にすぎない。今後，上記の3種類の化合物と同様の手順にて標準品を用いたRTおよびマスマスペクトルのパターンの確認が必要である。

表2に挙げた推定される化合物のピーク的面積は，ほとんどが時間の経過とともに増加するものが多かった

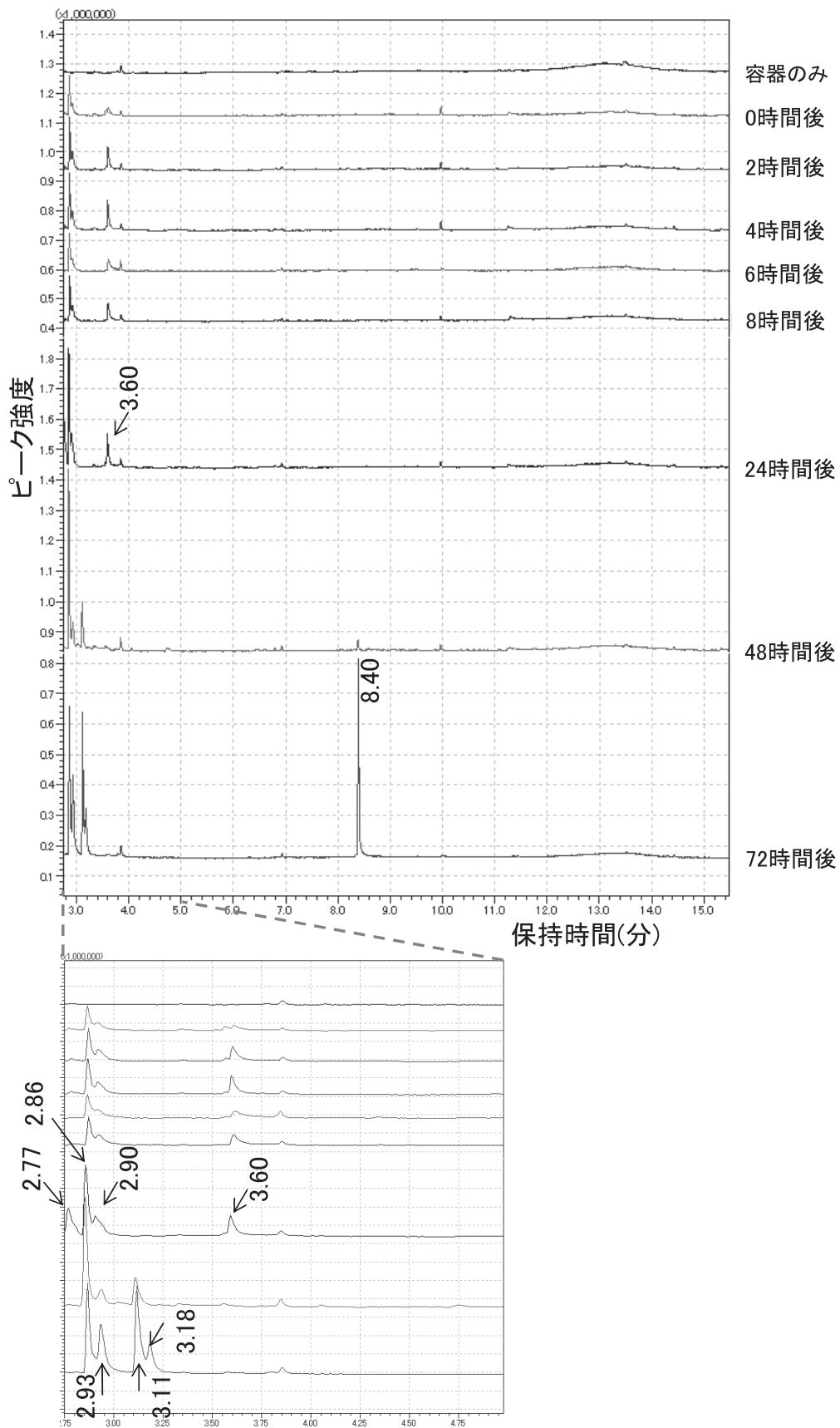


図2 経過時間に伴うクロマトグラムの比較 (アジ)

表2 揮発性成分の経時変化

アジ

化合物名 時間	イソバレルアルデヒド (リンゴ様芳香 ¹⁾)	1-ペンテン-3-オール* (芝様、グリーン ²⁾)	2,3-ペンタンジオン* (カラメル様、腐った ²⁾)	ジエチルケトン (アセトン様香 ¹⁾)	イソアミルアルコール (アルコール香、甘い芳香 ¹⁾)	ジメチルジスルフィド (ニンニク様 ¹⁾)	1-ヘキサナール* (グリーン ²⁾)	1-ウンデセン
	RT	2.77	2.86	2.90	2.93	3.11	3.18	3.60
0	10	29	37	0	0	0	20	0
2	15	30	61	0	0	1	68	0
4	17	34	65	0	0	0	80	0
6	4	37	45	1	0	0	63	0
8	11	38	55	0	0	1	64	0
24	100	81	100	2	0	1	100	0
48	9	100	17	18	35	0	0	5
72	2	86	45	100	100	100	0	100

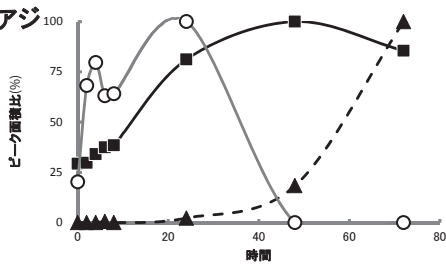
サバ

化合物名 時間	イソバレルアルデヒド (リンゴ様芳香 ¹⁾)	1-ペンテン-3-オール* (芝様、グリーン ²⁾)	2,3-ペンタンジオン* (カラメル様、腐った ²⁾)	2-エチルフラン (フルーティ、甘い ²⁾)	2-メチル-2-ブテンナール (フルーティ、甘い ²⁾)	1-ヘキサナール* (グリーン ²⁾)	2-メチル-2-ペンテンナール (フルーティ、甘い ²⁾)	2-ペンチルフラン (フルーティ、甘い ²⁾)	オクタナール (柑橘類様 ²⁾)
	RT	2.77	2.86	2.90	2.95	3.19	3.60	3.94	6.59
0	13	57	47	2	0	39	0	4	0
2	18	74	81	4	8	70	1	13	55
4	25	73	85	9	11	72	1	16	82
6	29	72	94	17	11	78	2	23	0
8	22	59	79	10	12	72	12	24	41
24	44	93	100	44	40	100	37	68	70
48	65	91	75	59	73	85	74	84	100
72	100	100	87	100	100	89	100	100	54

サゴシ

化合物名 時間	1-ペンテン-3-オール* (芝様、グリーン ²⁾)	インペンチルメチルエーテル	2,3-ペンタンジオン* (カラメル様、腐った ²⁾)	ジエチルケトン (アセトン様香 ¹⁾)	プロピオン酸エチル	イソアミルアルコール (アルコール香、甘い芳香 ¹⁾)	ジメチルジスルフィド (ニンニク様 ¹⁾)	1-ヘキサナール* (グリーン ²⁾)	1-ウンデセン
	RT	2.86	2.90	2.90	2.92	2.99	3.10	3.60	8.38
0	70	0	50	0	0	0	0	56	0
2	65	0	68	0	0	0	0	100	0
4	70	0	86	1	0	0	0	77	0
6	99	0	100	0	0	0	0	73	0
8	69	0	87	1	0	0	0	74	0
24	100	0	80	0	0	0	0	54	0
48	78	4	0	43	100	100	1	7	25
72	0	100	0	100	15	23	100	4	100

アジ



サバ

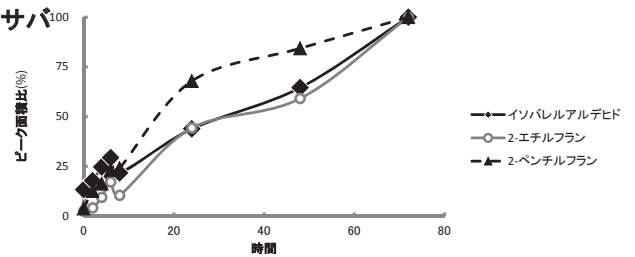


図3 揮発性成分の経時変化の例

が、中にはアジの1-ヘキサナールのようにいったん増加し、その後、減少する傾向の化合物もあった。表2に示したうち、ピーク面積の経時変化の例を、アジとサバ

から3種類ずつ抜粋し(太枠部分)、図3に示した。サゴシについては、ピーク面積の増加、減少の傾向が明確ではなかったため、図には示さなかった。今後、魚試料

の鮮度管理に応用していくにあたり、例えば、継続して増加の傾向のある揮発性成分（今回の条件下の例ではサバのイソバレラルデヒド）では、ある一定濃度に達した時間、また、増加後に減少する成分（今回の条件下の例ではアジの1-ヘキサナール）では、減少が始まった時間に着目し、従来から行われている細菌学的手法における基準値と同等とみなし消費期限として記載する、といった応用が期待できる。なお、図2で非常に大きなピークが観察できた1-ウンデセンと類似度の高い化合物は、72時間後に出現しており、鮮度管理が必要と考えられる24時間前後よりも長い時間が経過した後であるため、今回、考察の対象としなかった。

新鮮な魚から生成する揮発性成分の匂いはあまり強くなく、スイカやキュウリ様のおいを有し、鮮度の低下により生臭い匂いを発生する¹⁾。また、一般的に言われている魚臭い匂いはトリメチルアミンなどのアミン類よりもむしろ、脂質に由来するカルボニル化合物に多いことが確認されている²⁾。測定できた化合物のうち、文献^{3) 4)}に記載のあった香りの特徴を表2に付記する。今回の条件下でも同様に、トリメチルアミンはほとんど検出されず、草のような香り等を含むカルボニル化合物が多く認められる傾向があった。また、既報²⁾のマイワシで多く観測された揮発性化合物（1-ヘキサナール、2,3-ペンタンジオン、1-ペンテン-3-オール）が今回用いた魚試料でも検出された。鮮度管理の指標となる化合物を選抜するには、このような魚種に関わらず比較的多量に測定できるものが適しているのか、あるいはその魚種に固有の揮発性化合物を測定する方がよいのか検討する必要がある。

今後、今回見出した15種類の推定される化合物と、従来からの細菌学的手法による鮮度判定結果との相関関係について比較検討し、鮮度の指標となる化合物を選抜することにより、さらに短時間で鮮度の判定が可能な品質管理方法を確立できると考えられる。

4. まとめ

迅速かつ簡便な食品の品質管理方法の構築を目的とし、ヘッドスペース分析法により魚試料4種類から揮発する微量成分を希薄成分濃縮機材により濃縮し、その経時変化をGCMSにて測定した結果、今回の分析条件下では、15種類の推定される化合物において変化を見出した。今後、さらにこの中から鮮度の指標となる化合物を選抜することで、より短時間に鮮度判定ができる可能

性を示唆した。

謝辞

本事業はJST（独立行政法人科学技術振興機構）の平成24年度研究成果最適展開支援プログラム A-STEP「簡易な動的ヘッドスペース分析法を利用する揮発成分選択の高感度分析法の食品品質管理への応用」により実施した。御支援、御指導いただいた方々に心より謝意を表します。

参考文献

- 1) 荒井綜一他：“最新 香料の事典”，p.321，朝倉書店（2000）。
- 2) N. Ganeko et al. : J. Food Sci., 73[S83], (2008).
- 3) <http://www.nihs.go.jp/hse/food-info/chemical/kanshi/index-kanshi.html>（豊福肇：厚生労働科学研究費補助金 食品の安心・安全確保推進研究事業 “食品衛生監視員による食品衛生監視手法の高度化に関する研究” 平成21-23年度総合研究報告書，(2012)）。
- 4) 財団法人日本醸造協会：“醸造物の成分”，p.24, p.44, p.156, (1999)。