ブタ小腸の保存中に生ずる揮発性成分の同定

灘 本 知 憲*, 川 村 正 純*
浦 部 貴 美 子*, 安 本 教 傳**

* 滋賀県立短期大学食物学科

** 京都大学食糧科学研究所

Identification of Volatiles Evolved during Storage of Porcine Small Intestine

Tomonori NADAMOTO,* Masazumi KAWAMURA,* Kimiko URABE*
and Kyoden YASUMOTO**

* Department of Food Science, Shiga Prefectural Junior College, Hikone 522

** Research Institute for Food Science, Kyoto University, Uji 611

Nippon Eiyō Shokuryō Gakkaishi (*J. Jpn. Soc. Nutr. Food Sci.*) 45, 147~153 (1992)

Volatiles evolved from porcine small intestine during storage were analyzed and some of them were identified. Porcine small intestine produced a specific offensive odor after storage for 1-2 days at 20°C. Volatiles in the head space were trapped by a Tenax-GC column and analyzed by GC-MS and GC; in qualitative experiments, regenerated volatiles were analyzed after reaction with HgCl₂. The volatiles identified included alcohols, carbonyl compounds, amines, and sulfur compounds. Of these groups of compounds, methylmercaptan, ethanol, 1-propanol, 3-methylbutanol and 3-methylbutanal were identified as the 5 major components. The amounts of these components increased markedly after storage for 0.5-1 day. The time courses of their increases were associated with the increase in odor intensity, as evaluated by sensory tests, and with the increase of total bacterial counts. These results suggest that the development of offensive odor from pig small intestine is due largely if not completely to the increase of microorganisms and the ensuing putrefaction and fermentation. Storage of small intestine at a lower temperature prevented the development of the offensive odor; the period during which the characteristic odor was hardly detectable organoleptically was prolonged to 4 days and one month (minimum) by storage at 4°C and -20°C, respectively.

Key Words porcine, small intestine, storage, volatiles, odor.

(Received October 31, 1991)

ウシやブタなどの枝肉生産からの副生物は貴重な食糧・生物資源であるにもかかわらず、欧米諸国やアジア、アフリカの諸国と比べて、わが国ではその食用としての利用用途は必ずしも十分とはいえない。今日の枝肉生産技術が精肉生産を優先目的とし、畜産副生物は衛生的処理が施されていないことも加わって、輸送・貯蔵中に風味やテクスチャーを損ねやすく、また汚染微生物が繁殖し、腐敗しやすい。畜産副生物が今日なお低・未利用資源の位置におかれているおもな原因は、このような取扱いの難しさにあると考えられる。とくに内臓類は急速な鮮度低下と悪臭の発生が顕著であり、ブタ小腸はそ

の典型的な例とされている。しかしながら、悪臭が強いとされるブタ小腸でさえ屠殺直後の新鮮物では異臭はほとんど感じられない。悪臭は、魚肉の保存臭¹⁾などと同様、保存中になんらかの機作で発生するものと考えられる。したがって鮮度低下、悪臭発生の原因を明らかにし、その抑制方法を研究・開発することが利用用途拡大のために必要であるが、ブタ小腸をはじめ家畜類の内臓の悪臭成分やその発生機作に関する基礎的な研究例はこれまでほとんど見られない。

本報ではブタ小腸を実験対象として、内臓類の鮮度維持・防臭技術に関する基礎的知見を得る目的でその保存中に発生する揮発性成分の同定を試みた。

* 〒522 彦根市八坂町 1900

** 〒611 宇治市五ヶ庄

実験方法

1. 実験材料

実験材料のブタ小腸は数カ所の屠場から入手した。ブタの品種、飼育条件などの設定は行っていない。屠殺直後に入手した新鮮なブタ小腸を -40°C で冷凍保存し、必要量を解凍して実験に供した。

2. 試薬類

Tenax-GC は島津製作所(株)より購入した。一般細菌測定用の標準寒天培地は日本製薬(株)より購入した。ガスクロマトグラフィー(GC)における標準物質として、メチルメルカプタンは悪臭物質試験用標品を、その他エタノール、1-プロパノール、3-メチル-1-ブタノール、3-メチルブタノール、ヘキサノール、ジメチルジスルフィド、トリメチルアミンなどは可能な限り高純度の標品をおのおの和光純薬(株)より購入した。

3. 臭気成分の捕集方法

ブタ小腸磨砕物のヘッドスペースガスを多孔質ポリマーの一種である Tenax-GC に吸着させる方法で揮発性成分を捕集した。ブタ小腸 50 g を 20°C (または所定の温度) に一定時間保存した後、20 倍量の蒸留水とともに磨砕した。磨砕物 10 ml を試験管に移し、 60°C に加温しながら窒素ガスを 20 ml/min で一定時間 (通常 30 分間) 通じて遊離した揮発性成分を Tenax-GC に導き吸着させた。なお、吸着された揮発性成分は加熱しながら窒素ガスを通じると脱着されてくるが、この脱着ガスがブタ小腸そのものと同質の内臓臭を有することは官能的に確認することができた。捕集装置の概要を Fig. 1 に示した。

Fig. 1. Apparatus for trapping volatiles from porcine small intestine.

Porcine small intestine stored for a predetermined period was homogenized in twenty volumes of distilled water. The homogenates (10 ml) were incubated at 60°C and the head space gas was led onto a Tenax-GC column for 30 min by flowing N_2 gas (20 ml/min).

4. 臭気成分の分析、同定

Tenax-GC に吸着された揮発性成分を試料加熱導入装置 (島津 FLS-1 型) を用いて脱着させ、GC-MS (島津ガスクロマトグラフ/質量分析計 GC-9AP, GCMS-QP1000A) に導入して成分の同定を行った。ガスクロマトグラフのカラムとしては VOCOL (Supelco ガラスキャピラリーカラム VOCOL, $60\text{ m} \times 0.75\text{ mmID}$) を用いた。カラム温度設定プログラムは 40°C で 5 分間保持、 $5^{\circ}\text{C}/\text{min}$ で 200°C まで昇温、 200°C で 3 分間保持とした。得られた個々の成分のマススペクトラムをライブラリーのスペクトラムと比較して同定を行った。

5. GC による揮発性成分分析条件

ブタ小腸の揮発性成分の分析はおもに GC によって行った。実験方法 3 に示した方法で捕集した揮発性成分を、GC-MS と同様の条件で、試料加熱導入装置島津 FLS-3 型を用いて、検出器として FID を装着した島津ガスクロマトグラフ GC-15APF で分析した。GC-MS で検出、同定された成分のうち主要な物質のピークについては標準物質の保持時間と比較することで確認した。

6. 試料の塩化第二水銀による処理

20°C に 2 日間保存したブタ小腸から調製した臭気捕集用磨砕物に塩化第二水銀を 0.1% となるように加え、 60°C で 30 分間加温後、そのヘッドスペースのガス 2 ml を直接 GC に導入して分析した。得られたクロマトグラム上のピークの消長を塩化第二水銀無添加のそれと比較することで揮発性イオウ化合物の定性的確認を行った。

7. 一般細菌数の測定

20°C に一定時間保存したブタ小腸試料 50 g を 10 倍量の生理食塩水中で磨砕した後、対数的に希釈し、混釈平板培養法によって一般細菌数を計測した。

実験結果

1. ブタ小腸の揮発性成分の経時的変化

Table 1 は 20°C に保存したときのブタ小腸、大腸、肝臓の臭気変化を官能的に観察した結果を示したものである。新鮮なブタ小腸には強い臭気は感じられず、その臭気はむしろ感覚的には魚の刺身と似かよっていた。ところが、半日程度経過すると特有の臭気を感じられ、1 日後には強い内臓臭が感知されるようになった。2 日目以降では強い内臓臭に混じって腐敗臭を感じられた。したがって、今回の実験では内臓臭の分析、同定の対象としておもに 20°C で 1 日または 2 日保存の試料を用いた。ちなみに小腸で認められるこのような臭気発生経過は大腸でもほぼ同様に観察されたが、肝臓ではこれほどの強い臭気は感じられず、また時間的にも遅く現れる傾向を示した。

Table 1. Sensory evaluation for development of offensive odor in porcine internal organs during storage at 20°C.

Storage (days)	Intensity of offensive odor (odor characteristics)		
	Small intestine	Large intestine	Liver
0	quite faint	quite faint	quite faint
0.25	weak	weak	faint
1	strong	strong	weak
2	strong (with faintly sour odor)	strong (with faintly rancid odor)	weak (with faintly sour odor)
3	strong (with sour and rancid odor)	strong (with rancid odor)	weak (with sour and rancid odor)

Table 2. Main volatile components in the head space of porcine small intestine after storage for 1-2 days at 20°C.

Components	Detection methods*	Components	Detection methods*
Carbonyl compounds		Alcohols	
Acetaldehyde	MS, RT	Ethanol	MS, RT
Acetone	MS	1-Propanol	MS, RT
Propanal	MS	1-Butanol	MS
2-Methylpropanal	MS	2-Methyl-1-propanol	MS
2-Butanone	MS	Methyl cellosolve	MS
3-Methylbutanal	MS, RT	3-Methyl-1-butanol	MS, RT
2-Methylbutanal	MS	2-Methyl-1-butanol	MS
Pentanal	MS, RT	1-Hexanol	MS, RT
Hexanal	MS, RT	1-Heptanol	MS
Heptanal	MS, RT	1-Decanol	MS
Octanal	RT	Organic acids	
Nonanal	MS, RT	Acetic acid	MS
Decanal	MS	Amines	
Sulfur compounds		Trimethylamine	MS
Methylmercaptan	RT, CHEM		
Dimethyl disulfide	MS, RT		
Dimethyl trisulfide	MS		

* The components were identified from MS data (MS), retention time data (RT), and qualitative analysis with HgCl₂ (CHEM), respectively. The details of the methods were described in the text.

2. ブタ小腸の揮発性成分の同定結果

ブタ小腸を 20°C で 1 日または 2 日間保存した後、実験方法 3, 4 によって GC-MS による臭気成分の同定を行った。数回にわたる実験の結果、全イオンクロマトグラムでは合計 70 を超えるピークが検出された。マススペクトルの解析結果からそれらの構造を決定あるいは推定した。同定結果が明確なもののうち、屠場で用いられる消毒薬成分と考えられる物質 ($M^+=108$; μ -クレゾー

ル) やブタ小腸以外から混入したと考えられる物質 (ジメチルポリシロキサン, $[(CH_3)_2SiO]_n$; $M^+=222$; $n=3$, $M^+=296$; $n=4$, $M^+=370$; $n=5$) を除き、臭気を構成すると考えられる成分についてまとめた結果を Table 2 に示した。表中に示すようにいくつかのピークについては、臭気捕集試料に標準物質を添加した場合と無添加の場合のガスクロマトグラムを比較することで GS-MS による同定結果の確認を行った。

Fig. 2. Gas chromatogram of volatiles collected from porcine small intestine before and after reaction with 0.1% HgCl_2 .

To the homogenates prepared as described in Fig. 1 were added portions of (or not added) HgCl_2 to make the final concentration to 0.1%. After incubation of the homogenates at 60°C for 30 min in a capped 100 ml-vial, 2 ml of the head space gas was collected and injected directly into GC. Authentic ethanol and methylmercaptan were treated with 0.1% HgCl_2 and analyzed in the same way as with sample.

GCでの保持時間が5分以下のピーク成分は、GC-MSによる分析において試料に混在する空気と重なって溶出され、また空気をバージするために試料導入の際にあらかじめ低温のキャリアガスを流すとピーク成分そのものも消失するために同定することができなかった。しかしながらFIDを検出器としたGCのクロマトグラム上ではこの保持時間帯に顕著なピークが存在していた。このピーク成分はFig. 2に示すように保持時間がメチルメルカプタンのそれとよく一致し、また揮発性成分捕集時に塩化第二水銀を添加した場合はピーク高が大きく減衰することからイオウ化合物であることが確認された。これらの結果、本物質をメチルメルカプタンと同定した。

今回検出されたブタ小腸の揮発性成分はTable 2に示すように5群に大別することができる。成分の種類が多かったのはカルボニル化合物群とアルコール群であり、そのうちエタノール、1-プロパノール、3-メチル-1-ブタノール、ヘキサナール、3-メチルブタナールが量的に多かった。イオウ化合物は3種検出され、そのうちメチルメルカプタン、ジメチルジスルフィドが量的に多かった。アミン類としてはトリメチルアミンのみが検出されたが、FIDを検出器として用いたGCではエタノールの大きなピークと重なっていたためにその存在を確認することができなかった。有機酸類はほとんど検出できな

かった。

3. ブタ小腸揮発性成分の保存時間による変化

ブタ小腸を 20°C で保存したときの揮発性成分の変化の一例をFig. 3に示した。つねに同一のGCパターンが得られるということにはなかったが、保持時間24分の未同定物質のピークが一部の試料について認められたことを除けば、新鮮物では概してヘキサナール以外の大きなピークは存在しなかった。典型的な内臓臭を感じる保存1日後には、捕集される揮発性成分量が著増した。カルボニル化合物群では新鮮物にも認められるヘキサナール以外に炭素数3~9のアルデヒド類が、またアルコール群ではエタノール、プロパノール、3-メチルブタノールが増加した。イオウ化合物群ではメチルメルカプタン、ジメチルジスルフィドの増加が認められた。とりわけ生成量が多かったのは、エタノールとメチルメルカプタンであった。保存2日目ではさらに揮発性成分量が増加した。ほとんどのアルデヒド類は保存1日目よりも著増することはなかったが、3-メチルブタナールのみは激増した。アルコール群では1日目よりさらにエタノールとプロパノールが増加したのをはじめ、3-メチルブタノールが顕著に増加した。イオウ化合物群では1日目よりいっそうメチルメルカプタンとジメチルジスルフィド量が増加した。

Fig.3. Gas chromatogram of volatiles from porcine small intestine after storage for 0, 1 and 2 days at 20°C.

Volatile components trapped by the apparatus described in Fig.1 were desorbed from Tenax-GC by flowing the carrier gas (N_2) in a flush sampler heated at 200°C, then led onto the column (VOCOL, 60 m $\times$ 0.75 mm ID) of GC equipped with an FID detector. 1: methyl-mercaptan, 2: ethanol, 3: propanal, 4: 1-propanol, 5: 3-methylbutanal, 6: pentanal, 7: 3-methyl-1-butanol, 8: dimethyldisulfide, 9: hexanal, 10: 1-hexanol, 11: heptanal, 12: unidentified, 13: octanal, 14: nonanal.

このような保存期間の経過に伴う主要揮発性成分の群別の量的変化を一般細菌数の変化とともに Fig.4 にまとめた。カルボニル化合物群は新鮮物にもある程度存在しており、その後の顕著な増加は認められなかった。2 日目の増加はもっぱら 3-メチルブタナールによるものであった。アルコール群やイオウ化合物群は悪臭を感じ始める保存半日後から 1 日後にかけて顕著に増加する傾向を示した。単純にピーク面積だけで比較した場合、図で示した三つの成分群のみで、保存半日後では揮発性成分総量の 77% を、1 日後では 89% を、2 日後では 98% を占めていた。また各成分群の総量に占める主要揮発性成分の比率を保存半日後、1 日後、2 日後について計算すると、アルコール群ではエタノール、1-プロパノール、3-メチルブタノールの合計がそれぞれ 85, 99, 99%, カルボニル化合物群ではヘキサナールと 3-メチルブタナールの合計がそれぞれ 58, 49, 81%, またイオウ化合物群ではメチルメルカプタンとジメチルジスルフィドの合計がいずれの保存日数でも 100% を占めていた。一方、一般細菌数については悪臭を強く感じる保存 1 日目までの増加が最も激しく、上記の主要な揮発性成分群の増加と対応する関係が認められた。

4. 冷蔵、冷凍時の揮発性成分の発生経過

ブタ小腸を 20, 4, -20°C で保存したときの揮発性成分の発生経過を Fig.5 で比較した。GC クロマトグラム の総ピーク面積で見ると、20°C では前述のように半日後から 1 日後にかけて指数的に増加した。4°C 冷蔵では 5 日目程度までは揮発性成分総量には新鮮物と差が認められなかったが、6~7 日目から急速に増加した。なお、この時点で特有の内臓臭の発生することが官能的にも感じられた。データとして示していないがこのときのクロ

Fig.4. Relationship between the amounts of volatiles and total bacterial counts of porcine small intestine after storage at 20°C.

The amounts of volatiles were represented in terms of integrator counts of respective peaks. ■: carbonyl compounds, ▨: alcohols, ▩: sulfur compounds, □: others or unknown compounds, ●.....●: total bacterial count.

Fig. 5. Time course of volatiles evolution from porcine small intestine on storage at 20, 4 and -20°C .

The amounts of volatiles were represented as described in Fig. 4. ■—■: stored at 20°C , ○—○: stored at 4°C , △—△: stored at -20°C .

マトグラムは 20°C で半日から1日保存した後に見られるパターンときわめて類似していた。 -20°C 冷凍保存の場合は, Fig. 5 に1カ月までの経過を示したが, ガスクロマトグラムのパターンは少なくとも数カ月間は新鮮物のものとほとんど変わらなかった。

考 察

今回の実験で, ブタ小腸の利用をはかる際に問題となる特異な臭気, 本報告中では“内臓臭”という表現で表したが, の主要成分についてはほぼ明らかにすることができた。

一般に家畜類や魚類の内臓は“足の速い”ことが知られている。ブタ小腸の内臓臭は新鮮な状態では微弱であり, 鮮度低下に伴って発生するものと考えられる。小腸の鮮度低下は肝臓と比較するとかなり速かったが, これは小腸が, 大腸と同様もともと無菌的なものではないことを考えれば当然かもしれない。

ブタ小腸からの揮発性成分の捕集に関してはいくつかの方法を試みた。ヘッドスペースガスを濃縮せずに GC の試料とするとピーク数がきわめて少ないクロマトグラムとなった。そこでヘッドスペースガスの簡便な濃縮法²⁾として多く用いられている Tenax-GC を使用した。さらにカットされた小腸をそのまま臭気捕集の試料とするとクロマトグラムパターンの再現性が低かったが, 蒸留水を加えて磨砕した試料を用いることでこの問題は解決できた。より効率的な揮発性成分の捕集のため減圧下で捕集²⁾すると, 磨砕処理の有無に関わらず試料の水分が大量に Tenax-GC 管に凝縮するために GC による分析が行えなかった。本実験で用いた方法は, 改善の余

地があるものの, 脱着された臭気が官能的に小腸の臭気とはほぼ同質のものであることから, 妥当なものと考えられる。

畜産副生物の揮発性成分そのものに関する報告例は見当たらないが, 今回検出・同定された揮発性成分のなかで小腸に特異的と思われる物質は見あらず, いずれの成分も多くの動物性食品, 植物性食品あるいはそれらの加工品中に共通して存在する物質であった。食肉の臭気成分⁴⁾⁵⁾についてはとくに加熱臭の観点^{6)~9)}から多くの研究例がある。生肉を保存した場合の臭気成分についての報告は少ないが, 長期の保存によってカルボニル化合物類が顕著に増加することが報告³⁾されており, 明らかに本報告の小腸の保存臭とは異なっている。魚臭については数多くの報告¹⁾がある。臭気成分としては, アンモニア, トリメチルアミンなどの揮発性塩基類¹⁰⁾, 酢酸, 酪酸などの揮発性酸類¹¹⁾, 加熱と関連した多くの揮発性カルボニル類¹²⁾, 硫化水素, メチルメルカプタン, ジメチルスルフィドなどの揮発性イオウ化合物類¹³⁾, アルコール類が検出されている。揮発性酸類がほとんど認められなかった点を除けば, ブタ小腸の揮発性成分は魚臭成分と類似した構成といえる。

内臓臭が官能的に感じられる状態で, 揮発性成分として初期に観察されるのはメチルメルカプタンとエタノールであった。臭気の特徴から見て, メチルメルカプタンは内臓臭の主要因と考えざるをえない。また内臓臭がさらに強く感じられる状態では, 両物質に加えて, とくにプロパノール, 3-メチルブタノール, 3-メチルブタナールが増加した。ジメチルスルフィドも著量認められることがあった。強い内臓臭はメチルメルカプタンに加えてこれらの物質が主要な原因物質になっていると考えられる。これらの物質が生成することは, 臭気発生過程に微生物による腐敗, 発酵が関与していることを強く示唆しており, 一般細菌数の測定結果もこれを支持するものであった。その他では GC-MS で検出されたトリメチルアミンの関与が考えられるが, GC ではその存在を確認することができなかった。また GC で保持時間 24 分のピークは, GC-MS 分析では検出できなかった。本ピークは悪臭を感じない新鮮物中に相当量存在していたので悪臭の主要成分とは考えがたい。さらに今回, 揮発性有機酸類はほとんど検出されなかったが, Tenax-GC による捕集能には問題がないので, 少なくとも保存1日目程度のブタ小腸揮発性成分中の存在量はわずかと考えられる。

ブタ小腸の臭気発生は冷凍保存ではほぼ完全に抑えられたが, 冷蔵状態ではわずかに数日間程度しか抑制されなかった。畜産副生物, とくに小腸や大腸の鮮度の維持・臭気発生の防止には, 屠場における衛生管理法も含めた

技術開発が要求されている。魚臭については、提案されているいくつかの臭気発生防止・脱臭技術や¹⁾、無菌保存時の魚臭発生機作についての研究報告など¹⁴⁾、魚臭に関して集積された知見が、内臓臭の発生防止法開発に多くの示唆を与えているように思える。

要 約

ブタ小腸を室温で保存した際、急速に発生する揮発性成分の同定を行った。

1) ブタ小腸の揮発性成分としてカルボニル化合物13種、アルコール類10種、イオウ化合物3種、有機酸1種、アミン類1種を検出、同定した。

2) 主要な揮発性成分はメチルメルカプタン、エタノール、プロパノール、3-メチルブタノール、3-メチルブタナールと考えられた。またこれらの物質の増加時期に一般細菌数の急増が観察された。

3) ブタ小腸の悪臭発生は20℃では半日目から現れたが、冷蔵では1週間程度、冷凍では少なくとも1カ月抑制された。

文 献

1) 太田静行(編)：魚臭・畜肉臭，(1981)，恒星社厚

生閣(東京)

- 2) Hollis, O.L. : *Anal. Chem.*, **38**, 309 (1966)
- 3) Vercellotti, J.R., St. Anjelo, A.J., Legendre, M.G., Sumrell, G., Dupy, H.P. and Flick, G.J., Jr. : *J. Food Comp. Anal.*, **1**, 239 (1988)
- 4) MacLeod, G. and Seyyedean-Ardebili, M. : *CRC Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, **14**, 309 (1981)
- 5) Shahidi, F., Rubin, L.J. and D'Souza, L.A. : *CRC Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, **24**, 141 (1986)
- 6) Buttery, R.G., Ling, L.C., Teranishi, R. and Mon, T.R. : *J. Agric. Food Chem.*, **25**, 1227 (1977)
- 7) Minor, L.J., Pearson, A.M., Dawson, L.E. and Schweigert, B.S. : *Poult. Sci.*, **44**, 535 (1965)
- 8) Bodrero, K.O., Pearson, A.M. and Magee, W.T. : *J. Food Sci.*, **46**, 26 (1981)
- 9) Mottram, D.S. : *J. Agric. Food Chem.*, **32**, 343 (1984)
- 10) 徳永俊夫 : 日水誌, **41**, 547 (1975)
- 11) Hughes, R.B. : *J. Sci. Food Agric.*, **11**, 47 (1960)
- 12) Hughes, R.B. : *J. Sci. Food Agric.*, **14**, 893 (1963)
- 13) Herbert, R.A., Ellis, J.R. and Shewan, J.M. : *J. Sci. Food Agric.*, **26**, 1187 (1975)
- 14) Herbert, R.A. and Shewan, J.M. : *J. Sci. Food Agric.*, **26**, 1195 (1975)

(1991年10月31日受理)