連続式蒸留塔システムによる乳タンパク質加水分解物の脱臭

浅野祐三[§], 飯山百合子, 久保田哲夫*, 越智 浩**, 溝田輝彦, 小久保貞之

森永乳業(株) 食品総合研究所

* 森永乳業(株) 分析センター

** 森永乳業(株) 栄養科学研究所

Removal of Odors from Milk Protein Hydrolysates using Continuous Distillation Column System

Yuzoh Asano[§], Yuriko Iiyama, Tetsuo Kubota*, Hiroshi Ochi**,
Teruhiko Mizota and Sadayuki Kokubo

Food Research and Development Laboratory, Morinaga Milk Industry Co., Ltd.

1-83, 5-Chome, Higashihara, Zama-shi, Kanagawa-ken 228-8583, Japan

* Analytical Research Center, Morinaga Milk Industry Co., Ltd.

1-83, 5-Chome, Higashihara, Zama-shi, Kanagawa-ken 228-8583, Japan

** Nutritional Science Laboratory, Morinaga Milk Industry Co., Ltd.

1-83, 5-Chome, Higashihara, Zama-shi, Kanagawa-ken 228-8583, Japan

To remove the odors from four types of milk protein hydrolysates, a continuous distillation column system was used. The solutions of milk protein hydrolysates were distilled under a reduced pressure with steam injection and the removed odors were evaluated by gas chromatography (GC), gas chromatography-mass spectrometry (GC/MS) and gas chromatography - olfactometry (GC-O). Undesirable odors from four types of milk protein hydrolysates were efficiently removed under the appropriate conditions in the distillation column. In GC/MS analysis results, the removal efficiency of alkylbenzenes in the milk protein hydrolysates was more than 80%. In GC analysis results, especially dimethyl trisulfide and methional responsible for undesirable odors were removed at an efficiency of about 40% and 70%, respectively. Characteristic odors of the milk protein hydrolysates were detected by a sniffing test method using GC.

(Received Apr. 7, 2003 ; Accepted Oct. 1, 2003)

近年、食品の生理機能性については、ますます着目され関心が高まる一方である。特にその中でもタンパク質加水分解物に含まれるペプチドの各種生理活性効果について多く報告されている¹⁾。しかし、実際にペプチドを利用する際に問題となるのは、分解率が高くなるほど味が苦くなる²⁾³⁾ことである。また、これまでに酵素、酸化等による乳の異常風味に関しても Shipe, W.F. ら⁴⁾によって多く研究されている。これらを改善する方法として活性炭や高分子樹脂を通して苦み成分を吸着させたり、多孔質膜で一部の不良風味成分を吸着或いは分離して風味改善を行っている。特に最近ではナノフィルトレーション膜を用いた不良風味成分を分離、低減した乳タンパク質加水分解物に関する

報告⁵⁾がなされている。しかし、これらの方法は不良風味成分を除去すると同時にペプチドの生理機能を有する成分も一部吸着除去してしまう欠点を有している。

そこで本実験は、乳タンパク質加水分解物に含まれるペプチドの有効成分をそのままに保持した状態で不良な臭味を改善することを目的に行った。すでに筆者ら⁶⁾が報告した独自の連続式蒸留塔システムで、水蒸気を塔内に直接吹き込む水蒸気蒸留法を採用して乳タンパク質加水分解粉末の水溶液の脱臭処理試験を行った。塔内で水蒸気の分圧を高め、かつ塔内を減圧することで処理原液中の各臭気物質の分圧すなわち沸点を下げ、ペプチドの成分を変えずに不良臭気物質を優先的に揮発除去することを試みた。アミノ酸の苦味を味センサーで測定する方法⁷⁾の報告はすでになされているが、筆者らは脱臭処理前後における臭味変化(改善)を数値化するため及び回収した臭気成分を同定及び定量するためガスクロマトグラフ質量分析計 (GC/MS)

〒228-8583 神奈川県座間市東原 5-1-83

* 〒228-8583 神奈川県座間市東原 5-1-83

** 〒228-8583 神奈川県座間市東原 5-1-83

[§] 連絡先 (Corresponding author), y_asano@morinagamilk.co.jp

とガスクロマトグラフ (GC) で分析・解析し, かつ匂い嗅ぎ GC を使用して臭気成分の特徴を確認したので以下に報告する.

実験方法

1. 実験材料

実験材料としては, 森永乳業製(株) のカゼインを酵素(加水) 分解して得られたものを乾燥したカゼイン分解粉末 C-25 (分解率 25%), C-35 (分解率 35%) 及びホエイを酵素(加水) 分解して得られたものを乾燥したホエイ分解粉末 W-15 (分解率 15%), W-25 (分解率 25%) の合計 4 種類で各々 5% (w/w) 水溶液としたカゼイン分解液及びホエイ分解液を使用した.

2. 実験装置とその操作法

図 1 に連続式蒸留塔システムのフローシートを示した. 全高 850 mm の塔内に直径 160 mm の水平回転円盤と直径 200 mm の固定受皿を交互に 21 組セットした. 塔頂部から 50℃ に加熱した処理原液を 50 L/h に調整 (塔内滞留時間 17 s) し, 処理原液を水平回転円盤から回転数 250 rpm で外側に流して飛ばし, それを固定受皿で内側に集め流すことを繰返し回収した. その間, 塔底部から約 130℃ 水蒸気を 5 kg/h で吹込んで処理原液と向流で接触させ, 減圧下

により塔内雰囲気温度を 60~70℃ に調整した. 吹込み水蒸気と共に留出除去した臭気成分を, 真空ポンプで圧力 -60~-70 kPa として塔頂部から 2 段の冷却コンデンサーに導き回収した.

3. 臭気成分の分析方法

(1) ガスクロマトグラフ質量分析計 (GC/MS, 以下 GC/MS と略して記述する)

- ・装置: Agilent 製 model 6890 (GC) 及び model 5973 (MS)
- ・カラム: Agilent 製 INNOWAX (30 m×0.25 mm; 膜厚 0.5 μm)
- ・オープン温度: 40℃~ (4℃/分) ~120℃~ (6℃/分) ~240℃ (10 分間)
- ・キャリアガス: ヘリウム (1.2 mL/分)
- ・注入口温度: 265℃
- ・注入方法: スプリットレス
- ・イオン化電圧: 70 eV
- ・固相マイクロ抽出 (SPME) 用ファイバー: Supelco 製 50/30 μm, Stable Flex DVB/Carboxen/PDMS

予め選定した SPME ファイバーをヘッドスペース法にて 35℃ で 30 分間乳タンパク質分解液の臭気物質を吸着させた後, それぞれ測定した. なお, アルキルベンゼン類の

図 1 連続式蒸留塔システムフローシート

定量分析は、クロマトグラム上の各ピーク面積から求める方法⁸⁾で行った。

(2) ガスクロマトグラフ (GC, 以下 GC と略して記述する)

- ・装置：Agilent 製 model 6890
- ・カラム：Agilent 製 INNOWAX (30 m×0.25 mm ; 膜厚 0.5 μm)
- ・オープン温度：35℃ (10 分) ~ (15℃/分) ~ 260℃ (2 分間)
- ・キャリアガス：ヘリウム (2 mL/分)
- ・注入口温度：230℃
- ・注入方法：スプリット 1 : 15
- ・検出器：化学発光硫黄検出器 (SCD)
- ・固相マイクロ抽出 (SPME) 用ファイバー：Supelco 製 85 μm, Polyacrylate Coating

予め選定した SPME ファイバーを直接浸漬法で NaCl を添加したカゼイン分解粉末 (C-25) の水溶液中に 37℃ で 60 分間浸漬し、硫黄化合物の臭気物質を吸着させた後測定した。なお、臭気物質は、その標準物質を規定量として測定サンプルに上乗せして行う被検成分追加法⁹⁾にて定量した。

(3) 匂い嗅ぎ GC 法

図 2 に匂い嗅ぎ GC 法分析フローを示した。カゼイン分解粉末 C-25 水溶液 600 mL を 400 mL のジエチルエーテルで抽出した。その際混入した水は無水硫酸ナトリウムで除去した。その後エバポレーターで減圧 (30℃, 790 hPa) してジエチルエーテルを揮発除去することで 0.5 mL に濃縮し、それを 1 μL 注入して測定した。大口径のキャピラリーカラムの出口を二つに分岐 (比率 10 : 90) し、一方 10% を検出器に導入してガスクロマトグラムを記録し、他方 90% をガラス製のスニフingポートへ導き、分離された各ピーク成分の匂い嗅ぎを同時に行い、匂いのピークを確認¹⁰⁾した。

- ・装置：日立製作所(株) 製 model G-5000
- ・カラム：Agilent 製 INNOWAX (30 m×0.53 mm ; 膜

図 2 匂い嗅ぎ GC 法分析フロー

厚 1.0 μm)

- ・オープン温度：40℃ ~ (4℃/分) ~ 120℃ ~ (6℃/分) ~ 240℃ (10 分間)
- ・キャリアガス：ヘリウム (10 mL/分)
- ・注入口温度：265℃
- ・注入方法：スプリットレス
- ・検出器：水素炎イオン検出器 (FID)

実験結果及び考察

1. GC/MS による臭気成分の分析

図 3 にはカゼイン分解粉末 C-25 と C-35 の 5% (w/w) 水溶液の脱臭処理前後液での GC/MS 分析クロマトグラムを、図 4 にはホエイ分解粉末 W-15 と W-25 の 5% (w/w) 水溶液の脱臭処理前後液での GC/MS 分析クロマトグラムを示した。

図 3 及び図 4 から、クロマトグラム上で検出された acetic acid, benzaldehyde, decanoic acid 及びアルキルベンゼン類のピーク高さは、カゼイン分解液とホエイ分解液で脱臭処理後に減少していることが確認された。特にリテンションタイム 29~35 分で検出されたアルキルベンゼン類の脱臭処理前後における顕著なピーク高さの減少がカゼイン分解液とホエイ分解液の双方から確認された。この現象はすでに筆者ら⁶⁾が報告している。acetic acid は強い匂いと酸味を有し、benzaldehyde はアーモンド様香気を有し、decanoic acid は脂肪様のやや不快臭を有する¹¹⁾ことが知られている。ただし、後述する匂い嗅ぎ GC 法では acetic acid 様香気は検出されていないので、その閾値がかなり高いものと推察される。また、アルキルベンゼン類はそれほど強い匂いではないが食品には適さないものが多い。表 1 にアルキルベンゼン類の除去率を示した。カゼイン分解粉末 (C-25, C-35)、ホエイ分解粉末 (W-15, W-25) の 5% (w/w) 水溶液からアルキルベンゼン類の除去率は平均で各々 77%, 85%, 92% 及び 91% であった。

2. GC による硫黄化合物の定量分析

図 5 にカゼイン分解粉末 C-25 の 5% (w/w) 水溶液の GC 分析によるクロマトグラムを示した。GC/MS 分析では定量可能なピークが検出されなかったリテンションタイム 16~17 分と 20~21 分にそれぞれ硫黄化合物である三硫化ジメチルとメチオナールの標準物質のピークにほぼ一致して検出された。さらに、被検成分追加法で三硫化ジメチルとメチオナールを定量分析し、その結果を表 2 に示した。三硫化ジメチルでは、脱臭処理前後で濃度が 2.4 ppb から 1.4 ppb に低下し、その時の除去率は 39.2% であった。メチオナールでは、脱臭処理前後で濃度が 68.7 ppb から脱臭処理後に 20.0 ppb に低下し、その時の除去率は 70.4% であった。これらの硫黄化合物は、食品を加熱した際に生ずる¹²⁾ことがすでに知られており、低濃度で影響力のある不良な臭気物質としてとらえられている。ここで、

三硫化ジメチル及びメチオナルの脱臭処理における除去率は、約 40% 及び 70% と算出されたが、実際にこれらの臭気物質を匂い嗅ぎ GC 法で確認することを次に試みた。

3. 匂い嗅ぎ GC 法による乳タンパク質分解物臭気の確認

図 6 では、カゼイン分解粉末 C-25 水溶液を匂い嗅ぎ GC 法で検出した匂いのピークを、予め GC/MS で分析した時のクロマトグラム上に示した。これは、GC/MS クロマトグラム上で検出した臭気物質の標準物質を GC/MS と匂い嗅ぎ GC で測定し、各々のクロマトグラム上で同一標準物質を検出したときのリテンションタイムを突き合わせることで、GC/MS クロマトグラムのリテンションタイムにおおよそ対応する匂い嗅ぎ GC クロマトグラムのリテンションタイムを推定して示した。これを見ると、リテン

ションタイム 30 分過ぎに乳タンパク質分解物の特徴的な匂いが多く検出された。全般的に生ミート臭、カゼイン臭等が検出され、GC 分析で同定された硫黄化合物はリテンションタイム 20 分前後に検出された。この結果からわかるように、実際に匂いが検出されたリテンションタイム上に必ずしも GC/MS クロマトグラム上でピークが見られるわけではなく、また逆に GC/MS クロマトグラム上で高いピークが見られたリテンションタイムに匂いのピークが必ずしも検出されるわけではないことを確認できた。

従って、GC/MS 分析でクロマトグラム上での臭気物質のピーク高さを見るだけでは適切に脱臭の研究を進めることは困難であり、本実験で行った匂い嗅ぎ GC 法は、今後脱臭の研究を進めていく上で有効な手段であることを確認した。

図 3 カゼイン分解液 (C-25, C-35) の GC/MS クロマトグラム

図 4 ホエイ分解液 (W-15, W-25) の GC/MS クロマトグラム

表 1 アルキルベンゼン類除去率

乳タンパク質分解液 アルキルベンゼン類	乳タンパク質分解液			
	C-25	C-35	W-15	W-25
(1-Pentylhexyl) benzene	78	88	100	81
(1-Butylheptyl) benzene	78	88	75	96
(1-Propyloctyl) benzene	79	84	78	92
(1-Ethylnonyl) benzene	78	80	100	—
(1-Pentylheptyl) benzene	74	81	84	93
(1-Butyloctyl) benzene	72	82	94	93
(1-Methyldecyl) benzene	79	89	95	94
(1-Propylnonyl) benzene	74	85	100	—
(1-Ethyldecyl) benzene	80	76	—	—
(1-Pentylloctyl) benzene	69	78	—	—
(1-Methylundecyl) benzene	76	100	100	89
(1-Propyldecyl) benzene	87	88	—	—
平均除去率 (%)	77	85	92	91

図 5 カゼイン分解液 (C-25) の GC クロマトグラム

表 2 カゼイン分解液 (C-25) の脱臭処理における
三硫化ジメチル, メチオナール濃度及び除去率

	三硫化ジメチル [ppb]	メチオナール [ppb]
脱臭処理前	2.4	68.7
脱臭処理後	1.4	20.0
除去率 (%)	39.2	70.4

図 6 カゼイン分解液 (C-25) の匂い嗅ぎ GC 分析

要 約

(1) 乳タンパク質分解粉末 (C-25, C-35, W-15 及び W-25) 水溶液から acetic acid, benzaldehyde, decanoic acid 及びアルキルベンゼン類が GC/MS 分析のクロマトグラム上で同定され, アルキルベンゼン類の除去率は平均でおおよそ 80% 以上であった。

(2) GC 分析で乳タンパク質を分解していく際に発現す

る特徴的な匂いを有している硫黄化合物である三硫化ジメチルとメチオナールを検出し, 脱臭処理前後での三硫化ジメチルとメチオナールの除去率はそれぞれ約 40%, 70% であった。

(3) 匂い嗅ぎ GC 法による乳タンパク質分解液の確認で, GC/MS 分析によるクロマトグラム上でリテンションタイム 30 分過ぎに乳タンパク質分解物の特徴的な匂が多く検出され, 全般的に生ミート臭, カゼイン臭等が特徴的であった。GC/MS 分析では検出できない臭気物質の発現を, 匂い嗅ぎ GC 法では確認することができた。

文 献

- 1) 横越英彦, アミノ酸とペプチドの生理機能, *ILSI*, **69**, 21-28 (2002).
- 2) 千葉英雄, 荒井綜一, 食品・医薬品分野における蛋白質テラリング, 「ペプチドの構造と呈味性」, (学会出版センター, 東京), pp. 75-93 (1988).
- 3) 井澤 登, 蛋白質加水分解物の苦味とその除去, *食科工*, **46**, 501-507 (1999).
- 4) Shipe, W.F., Bassette, R., Deane, D.D., Dunkley, W.L., Hammond, E.G., Harper, W.J., Kleyn, D.H., Morgan, M.E., Nelson, J.H. and Scanlan, R.A., Off flavors of milk : Nomenclature, standards, and bibliography, *J. Dairy Sci.*, **30**, 201-211 (1978).
- 5) 早澤宏紀他, 「臭気の低減された蛋白質加水分解物の製造方法」, 特開平 10-271958 (1998. 10. 13).
- 6) 浅野祐三, 飯山百合子, 久保田哲夫, 岩附慧二, 外山一吉, 連続式蒸留塔システムによる乳原料等の脱臭, *食科工*, **49**, 801-807 (2000).
- 7) Toko, K. and Fukusaka, T., Measurement of hydrophobicity of amino acids using a multichannel taste sensor, *Sensors and Materials*, **9**, 171-176 (1997).
- 8) 雨宮良三, ガスクロマトグラフィー, 「ガスクロマトグラフ分析」, (共立出版, 東京), pp. 14-53 (1958).
- 9) 荒木 峻, ガスクロマトグラフィー, 「定量分析」, 第 3 版 (東京化学同人, 東京), pp. 89-95 (1981).
- 10) 下田満哉, 箴島 豊, 香気成分の分析と評価, *日本調理科学学会誌*, **34**, 114-117 (2001).
- 11) 印藤元一, 合成香料, 「合成香料各論」, 第 1 版 (化学工学日報社, 東京), pp. 13-58 (1996).
- 12) 三浦 洋, 食品の品質特性と加工技術, *食品衛生研究*, **35**, 1027-1041 (1985).

(平成 15 年 4 月 7 日受付, 平成 15 年 10 月 1 日受理)