ノート

牛乳中から見いだされた2-ヨード-4-メチルフェノールの同定・定量

館野真奈¹ 山本裕美² 青木奈穂¹ 佐藤吉朗^{1,2,*}

Identification and Quantification of 2-Iodo-4-methylphenol in Milk

Mana TATENO¹, Hiromi YAMAMOTO², Naho AOKI¹ and Yoshio SATO^{1,2,*}¹Tokyo Kasei University:

1-18-1 Kaga, Itabashi, Tokyo 173-8602, Japan;

²Graduate School of Tokyo Kasei University:

1-18-1 Kaga, Itabashi, Tokyo 173-8602, Japan

*Corresponding author

It is well-known that a strange flavor, known as off-flavor, might be found in various food products. Even though these substances do not affect our body directly, they can cause a significant change in food flavor and smell, thereby lowering the quality of food products. A well-known example of off-flavor is the transfer of smell from one food product to another. We have previously studied how the smell of limonene, a flavor component of orange juice in paper cartons, is transferred from unopened packages to milk stored in paper cartons, and have confirmed cases where the milk develops a smell completely different from that of limonene. This smell was also confirmed to not have originated from orange juice, and was found to be similar to that of a halogenated phenol. This study aimed to identify this odor component, and our findings indicate the off-flavor component to be 2-iodo-4-methylphenol.

(Received May 14, 2019; Accepted July 23, 2019)

Key words: 牛乳 milk; オフフレーバー off-flavor; 2-ヨード-4-メチルフェノール 2-iodo-4-methylphenol; ガスクロマトグラフ質量分析計 GC-MS; 匂い嗅ぎ装置 ODP; 匂い嗅ぎ装置付き GC-MS GC-MS equipped ODP

緒言

食品には、オフフレーバーといわれる異臭がしばしば大きな問題になることがある。本来食品にない匂いが食品から感じられるときこれをオフフレーバーという¹⁾。これはヒトの体に直接影響を及ぼすことはないが、食品の品質を著しく低下させるものである。ある食品の匂いが他の食品に移行する場合などが良く知られた例である。われわれは、これまでオフフレーバー研究の一環としてオレンジジュースの主要な香気成分であるリモネンの匂い移りについて研究を進めてきた。すなわち、未開封紙パックオレンジジュースから牛乳へ匂い移りするという研究である^{2), 3)}。牛乳にとってリモネンはオフフレーバーとなるが、これを防ぐことは今後紙パック製品の流通において非常に有意義である。この研究を進める際に、匂い移りをさせていない開封直後の匂いがしないはずの牛乳から、本来の牛乳およびリモネンとはまったく異なる匂いが感じられ

る例が確認された。同時にこれは、オレンジジュース由来ではないことも確認できた。牛乳からこのような匂いが感じられるときもオフフレーバーというが、牛乳の場合のオフフレーバーとして考えられるものは、通常、他の食品等から匂い移りした場合、あるいは牛乳内部で酵素等が失活していないために脂肪成分が変化した場合、牛乳中の酸素と牛乳成分である脂肪等の酸化反応によって起こる場合、牛乳を産生した牛の飼料や牛自身の体調さらに飼育環境に問題があった場合などいくつかが想定される^{4)~7)}。今回観

Fig. 1. Structure of 2-Iodo-4-methylphenol

* 連絡先 satouy@tokyo-kasei.ac.jp

¹ 東京家政大学: 〒173-8602 東京都板橋区加賀 1-18-1² 東京家政大学大学院: 〒173-8602 東京都板橋区加賀 1-18-1

測された当該牛乳の匂いの質としてはプロモフェノールのようなハロゲン化フェノールの匂いであった。今回は、この匂い成分を明らかにすることを目的に研究を進めた。GC-MSを駆使することにより、このオフフレーバー成分が2-ヨード-4-メチルフェノール (Fig. 1) であることが判明した。

実験方法

1. 試料

当該牛乳 (オフフレーバーの認められたもの) および通常牛乳 (オフフレーバーの認められないもの) を用いた。

2. 試薬等

塩化ナトリウム (和光純薬工業社製特級)、2-ヨード-4-メチルフェノール (コンビブロック社製97%) を用いた。

試料調製: 臭気調製用バイアル (ゲステル社製20 mLスクリュバイアル) に当該牛乳または通常牛乳8 mL、塩化ナトリウム2 gおよび水1 mLを混合した。

固相マイクロ抽出用ファイバーはスペルコ社製DVB/CAR/PDMS 2 cmを使用した。

加温装置: 試料の加温にはヤマト社製Water Bath BW 4001を使用した。

GC-MS装置: アジレント・テクノロジー社製7890A-5975Cを使用した。

ODP: ゲステル社製ODP 2を使用した。

インデックス用直鎖アルカン: *n*-アルカン混合標準溶液

林純薬工業社製 環境分析用試薬を使用した。

リテンションインデックス: 2,309 (DB-WAX) にて検索した。

3. オフフレーバー捕集法

2.で調製した試料を60℃5分間前加熱し、60℃40分間保温加熱後、SPMEをファイバー挿入して固相マイクロ抽出法により、匂い成分を捕集した。これをGC-MS分析に供した。オフフレーバー検出、検量線作成には同様の捕集法を用いた。

4. GC-MSによるオフフレーバー物質の分析

ハロゲン化フェノール様のオフフレーバーの認められた牛乳を匂い嗅ぎ装置付GC-MSにより分析し、オフフレーバー物質の確認を実施した。すなわち、Table 1に示す条件で当該試料を分析した。成分の同定・定量においてはTable 2の条件でGC-MS分析を実施した。

5. リテンションインデックスの作成

Table 1の条件でGC-MS分析を実施し、直鎖アルカンを使用したリテンションインデックスを作成した。

結果および考察

1. 牛乳中のオフフレーバー物質の同定

当該牛乳を試料として、Table 1のGC-MS条件で分析したところ、Fig. 2に示すクロマトグラムの27.3分の保持時間に匂い嗅ぎ装置より牛乳から感じられたオフフレーバーと同じ匂いが観測された。しかし、Fig. 2に示すとおり、27.3分の保持時間には顕著なピークは観測されな

Table 1. Condition of GC-MS equipped ODP analysis

GC	Agilent Technologies 7890A
Column	Agilent Technologies DB-WAX (30 m × 0.25 mm, 0.25 μm)
ODP	GERSTEL ODP 2
Injection mode	Splitless (0.5 min)
Carrier gas	Helium 1 mL/min, G1 grade)
Oven temp.	40℃ (5 min) → 10℃/min → 250℃ (10 min)
Injection temp.	250℃
MS	Agilent Technologies 5975C
Ionization	EI positive
Detection	Scan mode (<i>m/z</i> 20~550)
Ion source temp.	230℃
Quadrupole temp.	150℃

Table 2. Condition of GC-MS analysis

GC	Agilent Technologies 7890A
Column	Agilent Technologies DB-WAX (30 m × 0.25 mm, 0.25 μm)
Injection mode	Splitless (0.5 min)
Carrier gas	Helium (1 mL/min, G1 grade)
Oven temp.	40℃ (5 min) → 10℃/min → 250℃ (10 min)
Injection temp.	250℃
MS	Agilent Technologies 5975C
Ionization	EI positive
Detection	SIM mode (<i>m/z</i> 107, 234)
Ion source temp.	230℃
Quadrupole temp.	150℃

Fig. 2. GC-TIC of off-flavored milk

Fig. 3. Mass spectra of 2-Iodo-4-methylphenol

かった。そこで、作成されたりテンションインデックスから可能性のある化合物を検索したところ、2-ヨード-4-メチルフェノールが候補に挙がった。本化合物の標準品を500 ppt牛乳に添加し、その匂いを確認したところ、当該牛乳と同じ匂いが確認された。この2-ヨード-4-メチルフェノール添加牛乳をTable 1の方法に従ってGC-MS分析を実施したところ、27.3分の保持時間に2-ヨード-4-メチルフェノールのピークが観測され、匂い嗅ぎ装置より、当該牛乳と同じ匂いが観測された。この時の27.3分の保持時間に観測されたピークのマスペクトルをFig. 3に示す。この時観測された特徴的な質量 m/z 107, 234をTable 2の条件で当該牛乳についてGC-MS (SIM) 分析を実施したところ、標準品の2-ヨード-4-メチルフェノールと同じ強度比で m/z 107, 234が観測された。したがって、当該牛乳中のオフフレーバー物質を2-ヨード-4-メチルフェノールと同定した。

2. 当該牛乳中の2-ヨード-4-メチルフェノールの定量

当該（オフフレーバー）牛乳に0, 10, 20, 40 pptとなるように2-ヨード-4-メチルフェノールを添加し、Table 2の条件でGC-MS分析を行い、標準添加法により当該牛乳中の2-ヨード-4-メチルフェノールを定量したところ、当該牛乳から約20 pptという低濃度の2-ヨード-4-メチルフェノールが検出された。

3. ま と め

今回、オフフレーバーの認められた牛乳より初めて2-ヨード-4-メチルフェノールを同定し、その含有量を約20 pptと定量した。ちなみにこれまで食品から2-ヨード-4-メチルフェノールが検出された例は、ミネラルウォーターからのみである⁸⁾。

2-ヨード-4-メチルフェノールには分子内にヨウ素が含まれているが、酪農家ではヨウ素系の消毒剤を使用してい

るという情報があり、当該物質の発生源に関係している可能性があると考えられる⁸⁾。今後は当該物質の発生源と牛乳への移行メカニズムの推定を進めていきたい。

文 献

- 1) 後藤哲久, 佐藤吉朗, 吉田 充. 食品危害要因. 東京, テクノシステム出版, 2014, pp. 381-385 (ISBN 978-4-924728-71-4)
- 2) Aoki, R., Tokuda, A., Shigemura, Y., Mineki, M., Sato, Y. Aroma leakage from orange juice packed in gable-top paper containers chilled distribution. *Shokuhin Eiseigaku Zasshi*, **58** (5), 229-233 (2017).
- 3) Aoki, R., Tokuda, A., Shigemura, Y., Ohira, Y., Kamitakahara, M., Fujiwara, Y., Sekiba, Y., Sato, Y. Transference of aromatic compounds from orange juice packed in paper container to milk in another paper container. *Nippon Shokuseikatsu Gakkaishi*, **29**(2), 119-122 (2018).
- 4) Cadwallader, K. R., Singh, T. K. Flavours and Off-flavours in milk and dairy products. *Advanced dairy chemistry*. Springer, 631-690 (2009).
- 5) Urbach, G. Effect of feed on flavor in dairy foods. *J. Dairy Sci.*, **73**(12), 3639-3650 (1990).
- 6) Barrefors, P., Granelli, K., Appelqvist, L.-A., Bjoerck, L. Chemical characterization of raw milk samples with and without oxidative off-flavor. *J. Dairy Sci.*, **78**(12), 2691-2699 (1995).
- 7) Vazquez-Landaverde, P. A., Velazquez, G., Torres, J. A., Qian, M. C. Quantitative determination of thermally derived off-flavor compounds in milk using solid-phase microextraction and gas chromatography. *J. Dairy Sci.*, **88**, 3764-3772 (2005).
- 8) Strube, A. Influence of chemical structure on absolute odor thresholds and odor characteristics *ortho*- and *para*-halogenated phenols and cresols. *Flavour and Fragrance J.*, **27**(4), 304-312 (2012).