

加温による小袋入りマスタード中の辛味成分の変化

食品加工部 小島 均 橋本 俊郎

1. 緒言

マスタード中の主な辛味成分は、アリルイソチオシアネート (AITC) である。¹⁾²⁾³⁾この物質は揮発しやすく、水と接触すると徐々に分解する性質があり、これはマスタードの辛味の減少の一因である。³⁾⁴⁾

市販の納豆に添付されている小袋入りマスタードは、納豆菌を植え付けた蒸煮大豆と共に発酵室に入り加温されるため、加温しない物よりも辛味成分が減少すると考えられる。

そこで、マスタード中の辛味成分である AITC を高速液体クロマトグラフィー (HPLC) により分析し、加温した小袋入りマスタード中の辛味成分の含有量の変化の検討を行った。

2. アリルイソチオシアネートの HPLC による分析方法

2.1 HPLC による分析条件

イソチオシアネート類は、ODS カラムと [アセトニトリル / 水] 系の移動相を使用する逆相系の HPLC で分析可能である。⁵⁾そこで、分離カラムに山村化学製 YMC PackA - 312 ODS (150mm) を用い、[アセトニトリル / 水] の組成を変えてイソチオシアネート類の分離条件を検討し、[アセトニトリル 60 / 水 40] の組成で良い分離を得た。

なお、イソチオシアネート類の標品として [アリル] [n-プロピル]、[イソブチル] 及び [p-フェニルエチル] の各イソチオシアネートを用いた。

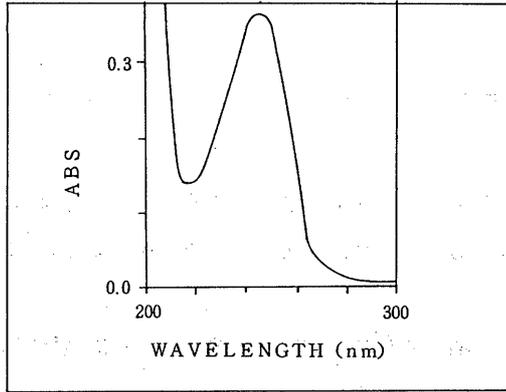
また、この移動相中での AITC の UV スペクトルから検出器の測定波長は、244nm に設定した。

表 1 に決定した HPLC の分析条件を示す。また、図 1 に [アセトニトリル 60 / 水 40] 中の AITC の UV スペクトルを、図 2 にイソチオシアネート類標準品のクロマトグラムを示す。

実験に使用した試薬は、アセトニトリル及び純水は和光純薬製 HPLC 用を、各イソチオシアネート類の標準品は、東京化成工業製を使用した。

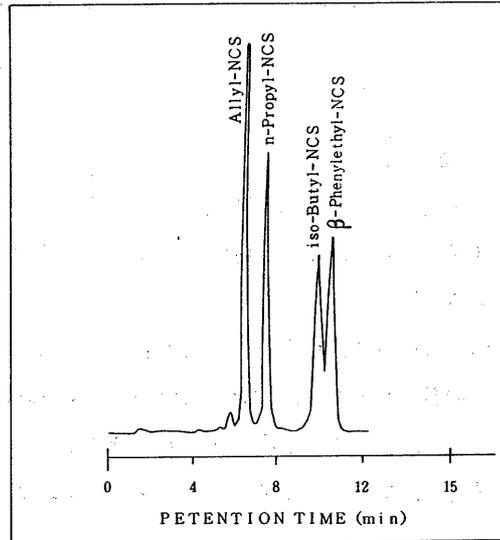
表 1 イソチオシアネート類の HPLC による分析条件

装置	: 島津 LC-6A
検出器	: 島津 SPD-6A
分離カラム	: YMC Pack A-312 ODS150mm
流量	: 1.0 (ml/min)
移動相	: アセトニトリル60 / 水40 (v/v)
カラム温度	: 30℃
測定波長	: 244 (nm)
試料注入量	: 5 (μl)



溶媒：[CH₃CN 60/H₂O 40]
 対象：[CH₃CN 60/H₂O 40]
 セル長：10 mm 濃度：0.02 mg/l

図1 アリルイソチオシアネートのUVスペクトル



流量：1.0 ml/min カラム温度：30℃
 カラム：YMC-Pack A-312 ODS (4.6 * 150 mm)
 移動相：[CH₃CN 60/H₂O 40] 検出器：UV 244 nm

図2 イソチオシアネート類標準品のクロマトグラム

2.2 マスタード中のAITCの抽出方法

抽出溶媒の検討は、AITCが水に難溶であるため水とAITCを良く溶解し、HPLCの移動相組成と同様な[アセトニトリル/水]系について、次のように行った。

アセトニトリルの割合を60%~100%の範囲で変え、試料マスタードにAITC標準溶液を段階的に添加した試料からAITCを抽出し各々の溶媒組成について回収率を検討した。また、

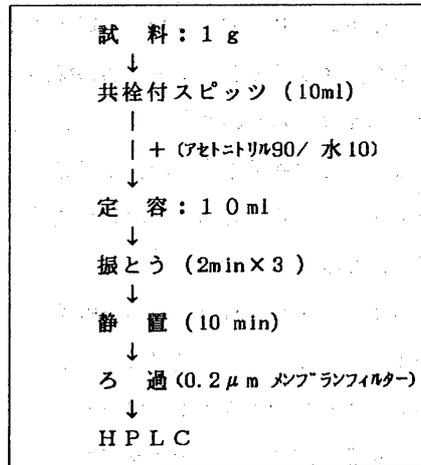


表2 抽出溶媒 [アセトニトリル90/水10] によるマスタード中のアリルイソチオシアネートの回収率

添加量 (mg)	測定値 (mg/g)	回収量 (mg)	回収率 (%)
0.00	1.48	---	---
2.43	4.07	2.59	107
4.87	6.55	5.07	104
7.30	9.01	7.53	103
9.73	11.63	10.15	104

図3 マスタード中のアリルイソチオシアネート抽出フローシート

抽出方法は AITC が、揮発し易く水と反応し

分解し易いことから、迅速に抽出できる図3に示すフローシートに従って行つた。

検討の結果、抽出溶媒に[アセトニトリル90/水10]を用いると、表2に示すように良い回収率を得たので、以後抽出にはこの組成の溶媒を用いた。

3. マスタード中のAITCの分析結果と考察

3.1 分析結果

室温下(20°C)の試験区[X]と発酵室と同じ温度下(40°C)の試験区[Y]で18hr経過したマスタード中のAITCを上述の方法により分析し結果を比較した。

試験区[X]及び[Y]のマスタード中のイソチオシアネート類を分析した結果、図4及び図5のタロマトグラムに示すように両者ともAITCのみを検出した。

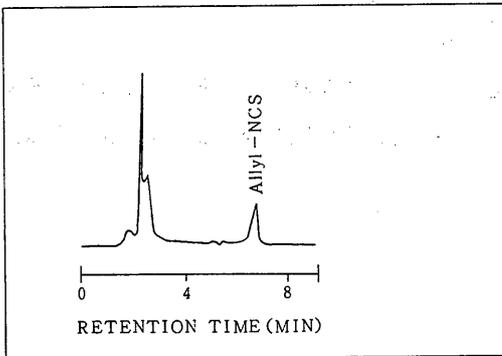
また、表3に示す分析結果及び

統計量より、試験区[X]に対し試験区[Y]のAITC濃度は、約30%減少したと考えられた。

3.2 考察

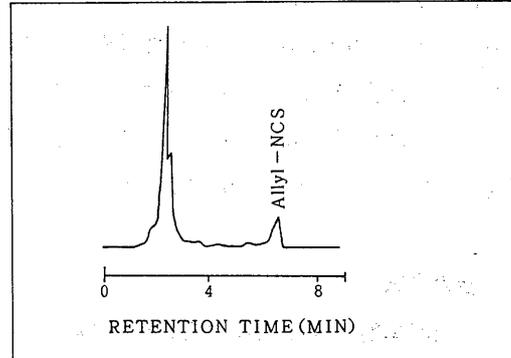
表3 マスタード中のアリルイソチオシアネートの分析値及び統計量

	[X] (20°C--18hr)	[Y] (40°C--18hr)
分析値	1.53 1.44 (mg/g) 1.50 1.43 1.50	1.00 (mg/g) 0.954 1.01
統計量	n x=5 x a=1.48 $\sigma x=0.039$ $\Sigma x =10.96$ $(\Sigma x)^2 / n x=10.952$ $S x = \Sigma x^2 - (\Sigma x)^2 / n x$ =0.0074	n y=3 y a=0.988 $\sigma y=0.024$ $\Sigma y =2.930$ $(\Sigma y)^2 / n y=2.928$ $S y = \Sigma y^2 - (\Sigma y)^2 / n y$ =0.0018



試料: [X] (20°C, 18hr) 流量: 1.0 ml/min
カラム: YMC Pack A-312 ODS (4.6*150mm)
移動相: (CH₃CN 60/H₂O 40) 検出器: UV 244nm

図4 マスタード中のアリルイソチオシアネートのクロマトグラム



試料: [Y] (40°C, 18hr) 流量: 1.0 ml/min
カラム: YMC Pack A-312 ODS (4.6*150mm)
移動相: (CH₃CN 60/H₂O 40) 検出器: UV 244nm

図5 マスタード中のアリルイソチオシアネートのクロマトグラム

試験区 [X] 及び試験区 [Y] のマスタードの中のAITC濃度の差異を検討するため平均値の差の検定を行った。以下に検定の経過を示す。

平均値の差の検定の結果から，試験区 [Y] のマスタード中のAITC濃度は，1%の危険率で，減少

<p>①仮説 $H_0 : x_a = y_a$</p> <p>②t_0の計算 $x_a - y_a = 0.492$ $S_x - S_y = 0.0092$ $\phi = n_x + n_y - 2 = 6$ $1/n_x + 1/n_y = 0.533$ $t_0 = 0.492 / (\sqrt{0.0092/6} \times \sqrt{0.533}) = 17.2$</p>	<p>③ t分布表の数値との比較 自由度 (ϕ) が6で，危険率が5%及び1%の場合について行った。</p> <p>$t(6, 0.05) = 2.45 < t_0 = 17.2$ $t(6, 0.01) = 3.71 > t_0 = 17.2$</p> <p>ゆえに仮説 $H_0 : x_a = y_a$ は，棄却される。</p>
--	--

するといえる。またこのことから，試験区 [Y] のマスタードは，試験区 [X] と比較し辛味が減少すると考えられる。

4. 結 言

マスタード中のイソチオシアネート類を，ODS系カラムと移動相として[アセトニトリル 60 / 水 40]を使用した逆相系HPLCで分析した結果，イソチオシアネート類としてはアリルイソチオシアネートのみを検出した。

マスタード中のアリルイソチオシアネートは，抽出溶媒に[アセトニトリル 90 / 水 10]を用い容易に抽出でき，回収率は概ね100%であった。また本法の検出限界はマスタード中のアリルイソチオシアネートとして0.05 mg / g，再現性は相対標準偏差で2.1%であった。

40 で18hr経過したマスタードは，20 で18hr経過したものよりも辛味成分であるアリルイソチオシアネート濃度が約30%減少した。このことから，納豆製造の際，発酵室を経過したマスタードは，経過しないものよりも辛味が減少する。

参考文献

- 1) 川岸舜朗：日食工誌，32，836（1985）
- 2) 斎藤進・高間絶子：食品原料学改訂第2版，510（1978）
- 3) 加藤博通・檜作進・内海成・鬼頭誠・山内文男・小倉長雄・中林敏郎：新農産物利用学，217（1987）
- 4) 第3版食品添加物公定書注解，85（1974）
- 5) 橋本俊郎：HPLCによる大根の辛み成分の分析，茨城県工業技術センター研究報告第17号（1989）