

〔技術改善研究〕

製品の選好に大きな影響を与えるニオイの濃縮液の製法に関する研究

鷲家洋彦, 泉 了介, 松本 誠, 山岸憲史, 杉本 太, 柴原正文, 西村友里, 原田知左子

1 目的

日本人は衛生観念が強く、商品を選ぶ際にも「ニオイ」は重要な評価ポイントとなり得る。革製品、化粧品など、多くの製品においてニオイの良し悪しが選ばれる要因になっている。ニオイ成分はごく微量成分であるため、そのままでは分析が難しく、ニオイ成分を分析前に濃縮する技術が必要である。香りの専門機関においては、先進的とされる **SAFE** 蒸留 (**Solvent-Assisted Flavor Evaporation**) 技術が注目されている¹⁾。この技術は、種々の試料から極めて微量のニオイ成分を低温で高濃縮する手法である。

本研究では、**SAFE** による高真空蒸留によって皮革のニオイ濃縮液を作製し、汎用の前処理技術である **SPME** (**Solid Phase Micro Extraction**) 法と比較することによって、**SAFE** 濃縮の効果を明らかにすることを目的とした。

2 実験方法

2. 1 試料およびニオイ濃縮液の作製

試料は黒色のクロム鞣し牛革を用いた。2 mm 角に細切した 10.0 g の革、蒸留水 200 mL、およびジクロロメタン (特級) 200 mL を 500 mL 容の三角フラスコに入れ、常温で一晩振とうした。振とう後、分液ロートを用いて、下層のジクロロメタンを採取し革のニオイ抽出液を得た。次に、ニオイ抽出液約 200 mL をガラス製の **SAFE** 濃縮器 (有限会社桐山製作所) の滴下ロートへ注いだ。**SAFE** 濃縮器と油拡散ポンプ (大亜真空株式会社 **DS-A212Z**) を真空用排気ゴム管で接続し、**SAFE** 濃縮器の内部を 5×10^{-3} Pa 以下に減圧した後、滴下ロート内の試料を注入口から滴下した。30 °C でニオイ抽出液の **SAFE** による高真空蒸留を行い、ニオイ濃縮液を得た。その後、無水硫酸ナトリウムによってニオイ濃縮液を脱水した。さらに、クデルナ・ダニッシュ濃縮器によってニオイ濃縮液を 1 mL まで濃縮した。

2. 2 機器分析

多機能オートサンプラー **AOC-6000** (株式会社島津製作所) を接続したガスクロマトグラフ質量分析計 **GCMS-TQ8040** (株式会社島津製作所) を用いて革のニオイ成分分析を行った。分析用の試料は異なる前処理による 2 種類を準備した。上記の **SAFE** 濃縮、および **SPME** 濃縮の試料である。**SPME** は溶媒を使わず試料中の成分を抽出する方法である。特殊なコーティングがされた細い針状のファイバーが試料中のニオイ成分を吸着する。

SAFE 濃縮の試料について、2.1 で作製した試料を液体注入することによって分析した。注入モードはスプリット (1:10) とした。

SPME 濃縮の試料について、前処理は **SPME** 法で行った。20 mL 容のバイアルに 2 mm 角に細切した試料 2.00 g を入れ、ヘッドスペースの臭気成分を **SPME** ファイバー (**Carbon WR Fiber/PDMS 95 μ m**) で抽出した。注入モードは **HS-SPME** のスプリットレスとした。これらの試料の分析条件の詳細は表 1 に示した。

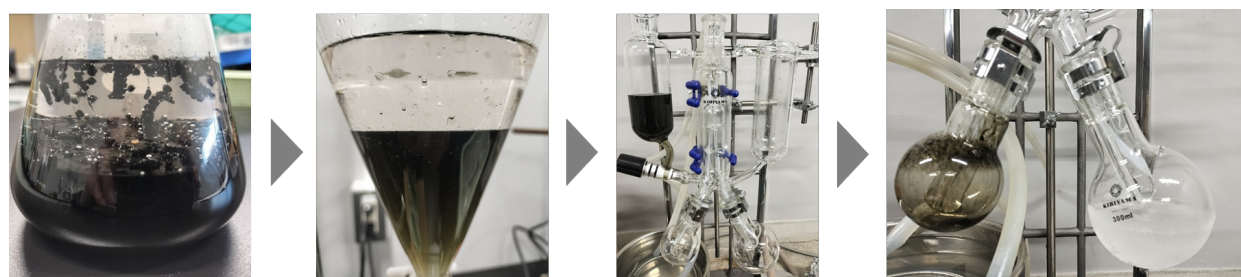
表 1 分析条件

ガスクロマトグラフ	
カラム	InertCap 5MS/NP (長さ30 m、内径0.25 mmID、膜厚0.25 μ m)
カラムオープン温度	40 °C (1分) $\rightarrow$ 10 °C/分 $\rightarrow$ 240 °C (10分)
気化室の温度	250 °C
注入モード	SAFE : スプリット (1:10) 、SPME : スプリットレス
キャリアガス	ヘリウム
キャリアガスの制御モード	線速度 50.0 cm/秒
質量分析計	
インターフェイス温度	250 °C
イオン源温度	200 °C
測定モード	Scan m/z 29.00-300.00

3 結果と考察

3. 1 SAFE 蒸留技術

図 1 に SAFE 蒸留によって牛革のニオイ濃縮液を作製する工程を示した。牛革をジクロロメタンで抽出すると、ニオイ成分を含む黒色の抽出液が得られた (図 1 の①)。黒色は製造工程で牛革に配合した顔料や染料に由来する。次に、分析ロートで水層と有機溶剤層を分離した (図 1 の②)。下層の有機溶剤層を SAFE 濃縮器の滴下ロートへ注いだ (図 1 の③)。蒸留容器 (図 1 の④の左側) はウォーターバスで 30 °C に加温、回収容器 (図 1 の④の右側) は液体窒素で冷却した。高真空下で SAFE 濃縮器内へ抽出液を滴下すると、黒色の不揮発性成分は蒸留容器へ、有機溶剤に溶けた透明なニオイ成分は回収容器へ分離した。SAFE 蒸留にかかる時間は 50 分間であった。



① ニオイ成分の抽出 ② 有機溶剤層を回収 ③ SAFE 蒸留前 ④ SAFE 蒸留後

図 1 SAFE 蒸留による牛革のニオイ濃縮液の作製

約 200 mL のニオイ濃縮液が得られたが、官能評価によると有機溶剤由来のニオイが支配することが明らかになった。そのため、この段階では濃縮が不十分であると考えられる。この後、回収容器に無水硫酸ナトリウムを加え、有機溶剤を一晩脱水した。脱水後、クデルナ・ダニッシュ濃縮器でさらに濃縮を行い、最終的に 1 mL までニオイ成分を濃縮した。SAFE 濃縮の有利な点は、高真空下において低温でニオイ成分を濃縮できることである。しかし、試料 1 点の濃縮に相当の処理時間を要する。

とくに時間がかかる工程は **SAFE** 蒸留である。蒸留は 1 時間程度を要し、**SAFE** 濃縮器が複雑な形状であるため内部の洗浄にも相当の時間が必要である。そのため、1 日で処理できる試料は数点である。汎用の **SPME** 濃縮はオートサンプラーで濃縮工程を自動化でき、**GC-MS** による連続分析を行うことができる。これらの濃縮方法はそれぞれ長所と短所があり、適切な使い方が重要である。

3. 2 GC/MS 分析

クロム鞣し牛革のトータルイオンカレントクロマトグラム（**TIC** : Total Ion Current Chromatogram）を図 2 に示した。赤色が **SAFE** 濃縮による試料の **TIC**、黒色が **SPME** 濃縮による試料の **TIC** である。横軸は保持時間（分）であり、縦軸の検出強度のスケールは共通である。使用したキャピラリーカラムは微極性タイプであり、低沸点化合物の保持時間は短く、高沸点化合物の保持時間は長い。

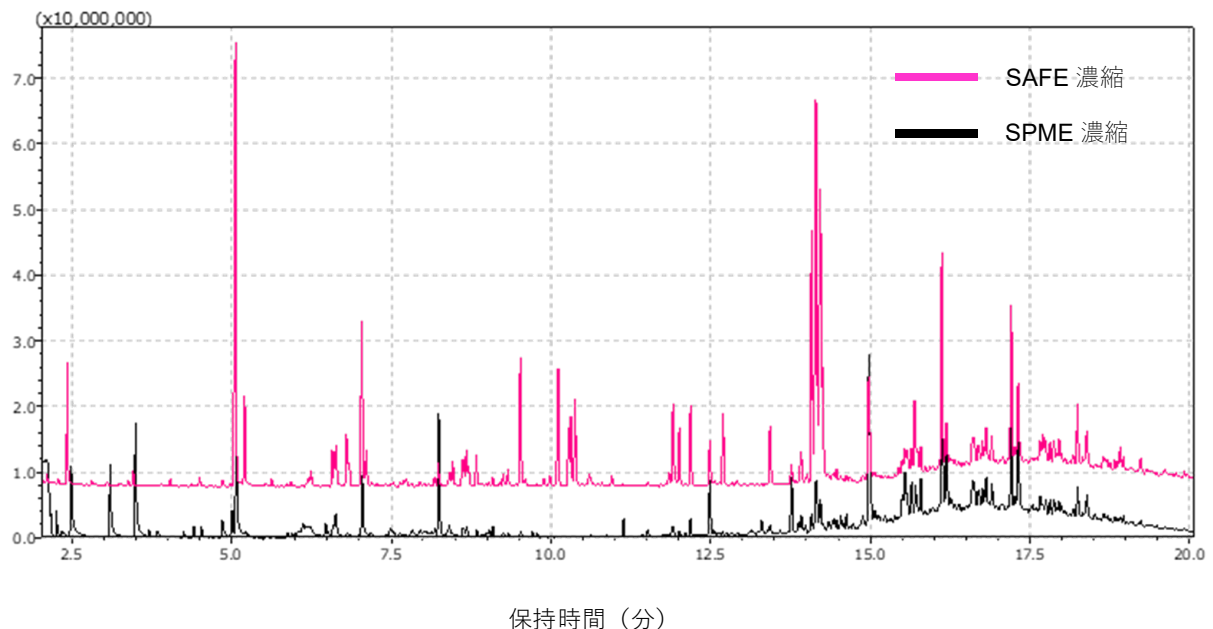


図 2 クロム鞣し牛革の **TIC**

図 2 において、**SAFE** 濃縮の **TIC** のピーク数が多いことがわかる。**SPME** 濃縮のピーク数は前処理で使用する **SPME** ファイバーの種類に依存する。今回使用した **SPME** ファイバーは **Carbon WR Fiber/PDMS** である。このファイバーのターゲットは高揮発性物質であり、多くのニオイ成分がファイバーに吸着することから、分析条件の最適化で用いることが多い。注意点として、**TIC** の面積比が必ずしもニオイ成分の比を示すわけではない点である。**TIC** を比較する場合、1 つのニオイ成分に着目し、その成分量を比較する意味はある。しかし、複数のニオイ成分の相互間で、その成分量の比較は困難である。そのため、多くの成分を一斉かつ迅速にノンターゲット分析する場合、**SPME** 濃縮が適していると考えられる。

一方、**SAFE** 濃縮の試料は有機溶剤を 200 mL から 1 mL まで 200 倍濃縮した試料であり、スプリット比は 1 : 10 とした。皮革の脂肪分等の化学分析でヘキサンやジクロロメタンを使用する。本研究では、溶出力の強いジクロロメタンを使用することにより、黒色の染料や顔料も有機溶剤中に抽出した。

ニオイと関係が薄い不揮発性成分は **SAFE** 蒸留の段階で除去したため、ニオイ成分は有機溶剤中に溶けていると考えられる。そのため、**SAFE** 濃縮の **TIC** の面積比は実際のニオイ成分の面積比に近いと考えられる。極微量のニオイ成分をターゲット分析し、かつニオイ成分を定量分析する場合、**SAFE** は有効な手法である可能性が高い。

3. 3 **SAFE** 濃縮と **SPME** 濃縮の比較

抽出温度について、**SAFE** 濃縮は低温で濃縮できることが特徴であり、熱で変性する試料のニオイ成分の抽出に優れている。**SPME** 濃縮は室温から 100 °C まで、さらに高温でもニオイ成分が抽出可能であることから、熱的に安定した試料のニオイ成分の抽出に向いている。抽出時間について、**SAFE** 濃縮はガラス機器の洗浄時間を考慮すると 1 試料あたり約 2 時間必要である。一方、**SPME** は **SPME** ファイバーへの吸着を考慮すると、数十分程度必要である。抽出物、つまり **TIC** の形状について、**SAFE** 濃縮は使用する有機溶剤、**SPME** 濃縮は選択するファイバーに依存する。**SAFE** 濃縮では高沸点の夾雑成分の除去が可能である、**SPME** 濃縮を用いて夾雑成分を除去しようとする、抽出時間、およびファイバーの種類を検討する必要がある困難である。抽出の自動化について、**SAFE** 濃縮は手作業のため不可能である。一方、**SPME** 濃縮はオートサンプラーを併用すると自動化でき、連続分析も行うことができる。上述したように、**SAFE** 濃縮はターゲット分析による定量分析、**SPME** 抽出はノンターゲット分析による定性分析に向いている。そのため、まず **SPME** 濃縮で未知の試料をスクリーニングし、重要なニオイ成分を調査する場合、さらに **SAFE** 濃縮で分析する手順が適切と考えられる。

4 結論

SAFE による高真空蒸留によって、皮革のニオイ濃縮液を作製した。**SPME** 濃縮と比較することによって **SAFE** 濃縮の効果を検討した結果、**SAFE** 濃縮はターゲットを絞った定量分析に有効である可能性が示唆された。このように、用途に応じた分析前処理法の選定ガイドラインを確立できたことは、公設試験研究機関としての技術支援力向上につながる。また、本研究で得られた技術は、革以外の地場製品の香気改善、異臭分析、消臭効果評価など幅広い分野に応用可能である。**SAFE** 技術を保有する工業系の公設試は全国的にも少なく、県内外企業に対する差別化された技術支援が可能になる。これまでに蓄積した技術シーズの **GC-MS/MS** によるニオイ成分の定量技術、およびニオイ嗅ぎ **GC** による官能評価技術も併せて活用し、県内産業の技術支援に取り組んでいく。

参考文献

- 1) Wolfgang Engel, Wolfgang Bahr and P. Schieberle, Solvent assisted flavour evaporation – a new and versatile technique for the careful and direct isolation of aroma compounds from complex food matrices, European Food Research and Technology, 209, 237–241, 1999.

(問合せ先 鷲家洋彦)