

ニオイの分析とその評価

九州大学大学院農学研究院助教授

下田 満哉

1 はじめに

視覚，聴覚，触覚，味覚，嗅覚，いわゆる五感と呼ばれるものである。このうち前三者を物理感覚と呼び，それを精密に計測する手段があり単位も標準化されている。これに対して，後二者は化学感覚と呼ばれ，計測法はもとよりその単位も未だ標準化されていない。したがって，化学感覚の計測はいわゆる官能に頼っているのが現状である。味覚については，甘味，酸味，塩味，旨味，苦味の五つの基本的味覚（五原味）から成ることがほぼ明らかにされている。それに対して嗅覚では，原臭の存在はかつて予測されたものの現在に至っても確かめられておらず，原臭の存在自体が否定的に考えられている。

ニオイの質：既にニオイ成分は1万種程報告されている¹⁾が，それぞれ程度の差はあるものの特異的なニオイを呈する。自然界ではこれらの成分が単独で存在することはあり得ず，非常に複雑な混合物として存在するためにニオイの質における多様性は益々複雑なものとなっている。このようにニオイの質に関しては絶望的状况ともいえるが，僅かでもニオイの科学を進展させるには，ニオイがヒトに及ぼす心理的效果を詳細に調査し，色彩分野における色立体のように，ニオイ空間の立体モデルを構築する必要があると思われる。私達はこのための努力を重ねてきたが，ニオイの評価の難しさを痛感している。例えば，一定強度（濃度）のニオイ成分蒸気を発生させること



の困難さ，官能検査ブース内の残香の問題，さらには嗅覚の疲労（数時間で完全に麻痺してしまう）のために十分に長い休憩が必要など。理想的には個々のニオイ成分についてその官能特性を明らかにする必要がある。すなわち，系統的に選ばれたニオイ表現用語を用いて専門家パネルによる官能評価を行い，その結果をデータベース化することは極めて重要と考える。これは最近流行の“感性工学”という言葉で表現される学際領域のみならず，ヒトと物質との心理的係りという途方もなく大きな学問領域を拓く手掛りになるかもしれない。一つの試みとして，アメリカは香料原料として有用な144種の化合物と15種類の代表的な精油について146のニオイ用語，140名程度の専門パネルを用いた官能評価を国家プロジェクトとして行い，ATLAS OF ODOR CHARACTER PROFILESをAmerican Society for Testing and MaterialsのData series No. 61²⁾として1985年に公開している。この種のデータベースとしては最も充実したものであるが，144成分と15種類の精油しか扱っていないのは，このような取り組みの限界を示唆しているのかもしれない。

ニオイ強度：ニオイ強度を表すやり方に閾値を用いる方法がある。閾値には検知閾，認知閾，弁別閾があり，それぞれ次のように定義されている。すなわち，検知閾はヒトがニオイを感じることができる最底限の濃度，認知閾は何のニオイかを数種類のニオイを表す言葉の中から適切に選ぶことができる最低限の濃度，

著者略歴

1976年 九州大学農学部食糧化学工学科 卒業
1981年 九州大学大学院農学研究所博士課程 終了（農学博士）
1981年 九州大学農学部 助手
1990年 九州大学農学部 助教授
2000年 大学改組により名称変更
九州大学大学院農学研究院 生物機能科学部門 食品バイオ工学講座

受賞歴

1990年 日本食品工業学会 奨励賞

専門 香りの分析と評価

超臨界二酸化炭素を使用する非加熱殺菌・酵素失活

弁別閾はニオイ強度及び質に関して違いが識別できる最低限の濃度である。単一成分のみを含む試料のニオイ強度は、その濃度を検知閾で割った値（オーダー・ユニット、Odor Unit）により定量的に取り扱うことができる。これは混合試料では個々のオーダー・ユニットの合計としてトータル・オーダー・ユニットを定義することにより混合試料のニオイ強度を表すことができる。また、個々の成分のオーダー・ユニットをトータル・オーダー・ユニットで割ったものは、ニオイ寄与率と呼ばれ、これは全体のニオイに対する各成分の寄与率を示している。これらの考え方は合理的にみえるが、大きな問題が二つある。一つはニオイ強度に関して相加性を仮定していること、もう一つはすべての成分の閾値が明らかにされている訳ではないことである。確かに、閾値はニオイ研究において機器分析と官能を関係付けるための重要な手段であるが、閾値（認知閾）が明らかにされている成分は有香成分の10%にも及ばないというのが現状である。理由は先ほど述べたように閾値を求めるためには、多くの人々の協力と膨大な費用がかかるためである。

以上、官能的データの重要性とそれが如何に不足しているかということとを述べた。このような状況からニオイ分析は揮発性成分分析と実際はほぼ同じである。すなわち、ニオイ分析は試料の前処理（揮発性成分の分離、濃縮）と機器分析（同定、定量）が中心であるが、申し訳程度にニオイ成分の分析を指向した特殊な方法がいくつかある。本稿では、ニ

オイ分析に特徴的な手法を中心に紹介したい。

2 前処理

最もニオイが強いとされている1-p-Menthen-8-thiolの水中の閾値は0.02ng/kg（20pg/kg）である。これに対して香気成分分析の常套手段であるガスクロマトグラフ（GC）の水素炎イオン化検出器（FID）の最小検出量は5pg/sec程度であるので、ピークの半値幅を2secと仮定するとスプリットレスで全量注入、試料からの回収率を100%と仮定しても、0.5kgの試料を1回のGC導入が可能なサンプルサイズまで濃縮する必要がある。1マイクロリットルまでの濃縮としても、濃縮率は10～100万倍に及ぶ。さらに定量分析にはこの10倍量程度は必要となる。しかしながらこのような高倍率の濃縮においては、挟雑物の影響を避けるための特別な操作が必要となることから回収率の低下は避けられない。

ヘッドスペースガス分析法³⁾：密閉容器内の試料の上部空間をヘッドスペース、そこに存在する揮発性成分をヘッドスペースガスと呼んでいる。本法はヒトがニオイを嗅ぐのに最も近い成分組成を分析する方法として重要である。平衡ガス組成を分析するために試料を恒温下に一定時間放置した後、ヘッドスペースガスを数百mlサンプリングする。環境中の悪臭物質の捕集は数十～数百リットルの空気を捕集管に通気することにより行われる。表1は代表的なニオ

イ成分の空気中での検知閾である。例えば、トリメチルアミンの検知閾は2.4ppb（分圧基準）であるので数ml以上のヘッドスペースガスがあれば理論上FIDで検出可能であることがわかる。なお、現在わかっている気相中の検知閾が最も低い成分は2-Iodophenol（2.51 ppt）である。水中揮発性有機化合物（VOC）の捕集には、ヘッドスペースガス分析の一つの方法であるパーミアンドラップ法が多用されている。

固相抽出法⁴⁾：本法は、芳香族ポリマービーズを充填したカラムに、液体試料を流しニオイ成分など疎水性物質を選択的に吸着させ、カラム内に残存した水溶性成分を少量の水で溶出・洗浄した後、エーテルで目的成分を溶出させる方法である。本法は、アルコール飲料からの香気成分の回収に優れた特性を有することから清酒、ビール等の香気成分の濃縮に用いられている。さらに、界面活性剤を含む水溶液中の揮発性成分の前処理が可能であることから、

表1 あるニオイ物質の空気中での検知閾

物質	分子式	検知閾濃度 (分圧ppm)
Acetic acid	C ₂ H ₄ O ₂	0.145
Ammonia	NH ₃	5.75
Benzaldehyde	C ₇ H ₆	0.0417
2-Bromophenol	C ₆ H ₅ BrO	0.0000251
Butanol	C ₄ H ₁₀ O	0.490
Coumarin	C ₉ H ₆ O ₂	0.000724
Decanal	C ₁₀ H ₂₀ O	0.000891
Dimethylamine	C ₂ H ₇ N	0.0813
Dimethylformamide	C ₃ H ₇ NO	100
Acetaldehyde	C ₂ H ₄ O	0.186
Ethanol	C ₂ H ₆ O	28.8
Ethyl acetate	C ₄ H ₈ O ₂	2.63
Ethyl octanoate	C ₁₀ H ₂₀ O ₂	0.000575
Hexanal	C ₆ H ₁₂ O	0.0138
cis-3-Hexenal	C ₆ H ₁₀ O	0.000661
m-Cresol	C ₇ H ₈ O	0.000794
Pyridine	C ₅ H ₅ N	0.0851
Sulfur dioxide	SO ₂	0.708
Toluene	C ₇ H ₈	1.55
Trimethylamine	C ₃ H ₉ N	0.00240

³⁾ ヒトの標準化嗅覚閾値 "臭気の研究 26巻1号 27-47(1995年)より抜粋

市販のシャンプーに添加されている香料成分の濃縮に優れた特性を示した。本法で使用可能な吸着剤としては、Porapak Q, Chromosorb 101, Amberlite XAD-2などがある。この抽出用カラムは、エーテル、メタノール、水で順次洗浄することにより再生され、繰り返し使用が可能である。しかしながら、樹脂を十分量のエーテルで洗浄した後も、微量の不純物（主としてアルキルベンゼン類）が溶出することがあるので、微量分析では注意が必要である。飲料水の異臭に関してヒトはとりわけ敏感であり、これに関するクレームは分析技術者をしばしば悩ませていると思われる。本法は、この分野で最も威力を発揮する前処理法として注目される。

SPME法⁵⁾：フィルム相（例えば、非極性フィルムとしてはpolydimethylsiloxane、極性フィルムとしてはpolyacrylate、他にポラスポリマーなど）がコーティングされた微細なfused silica fiber（図1）を一定温度に保持されている試料溶液内に直接、あるいはそのヘッドスペース中に露出させることにより揮発性成分をフィルム相に収着させることができる。一定時間（数十分程度）

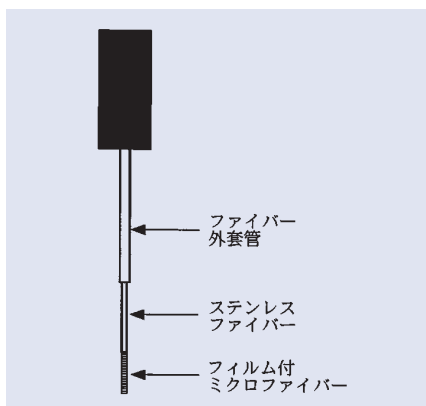


図1 固相マイクロ抽出器

経過した後、fiberを針状の鞘に引き込み、そのままGCセプタムを貫通させ気化室にてfiberを露出させる。揮発性成分は直ちに熱脱着されGC分析が始まる。このようにSPME法はサンプリングが簡易迅速であるばかりでなく、それを直接GC及びGC-MS分析に供することができるという特長を有する。図2は本法によりリンゴ果汁の香気成分を分析した例である。本法は、本来環境水中の揮発性有機化合物を抽出・濃縮するために開発されたものであるが、現在では食品はもとより、タバコ喫煙香⁶⁾、石油製品⁷⁾などに対しても適用例が多数見られる。

3 分析技術

GC分取 - 匂い嗅ぎ法⁸⁾：GCで分離される各成分のニオイの質と強度を知ることはとりわけ重要である。図3のようなGC分取ニオイ嗅ぎ法が考案されている。先ず、5～8min間の溶出物を一括分取し、そのフラクションのニオイ嗅ぎを行う。次いで、2min程度のフラクション毎に分取 - ニオイ嗅ぎを行い、最後に最も重要なニオイを呈したフラクション内で溶出する成分に対しては、個々に分取してそのニオイ特性を確認する。本法では、化学結合したフィルム（固定相）をもつ通常のGCキ

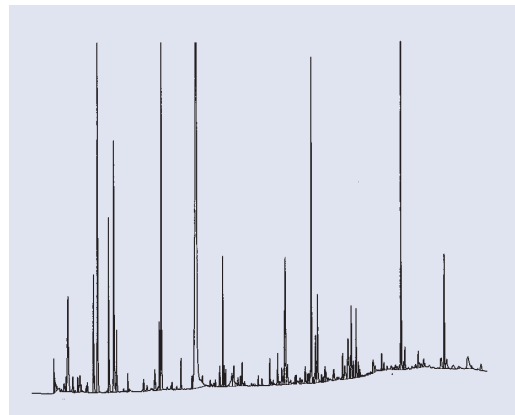


図2 リンゴ果汁の固相マイクロ抽出法によるヘッドスペースガス分析

ャピラリーカラム（内径0.32mm、フィルム厚1μm）を短く（～25cm）切って分取用捕集カラムとして使用することにより、冷却なしに室温で効率的な捕集を可能としていることに特徴がある。また、この捕集カラムはテーパーをつけた小さなガラス管にGCオープンの外から差し込んで使用されるので、瞬時に交換可能である。捕集成分は微量のエーテルで紙上に溶出してそのニオイを嗅ぐことができる。図4は、脱脂粉乳の特徴香気成分を検索したときのものである。

Sniff-GC(AEDA)⁹⁾：キャピラリーカラムの出口を二つに分岐し、一方を検出器に、他方をSniffing Portへ導きGC分析を行いながら各成

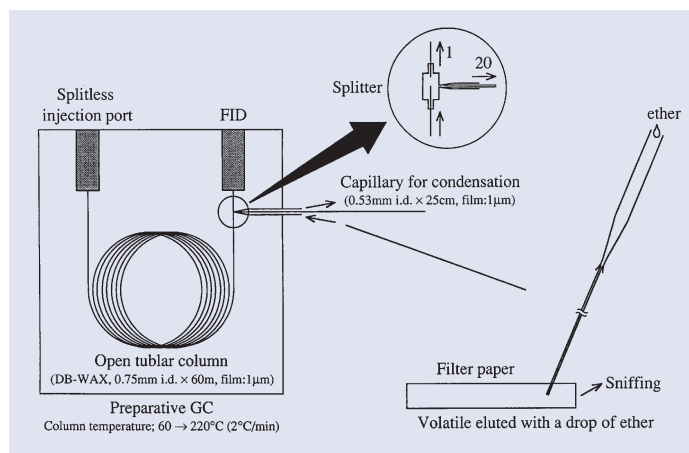


図3 分取GCニオイ嗅ぎ法

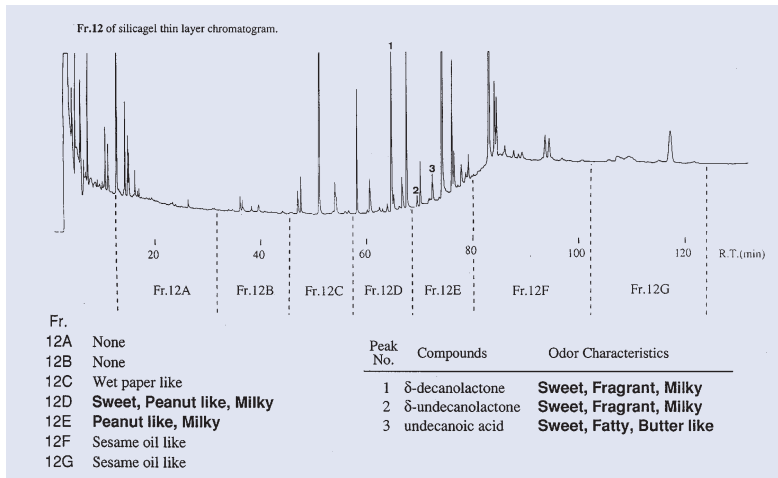


図4 分取GC法によるニオイ評価

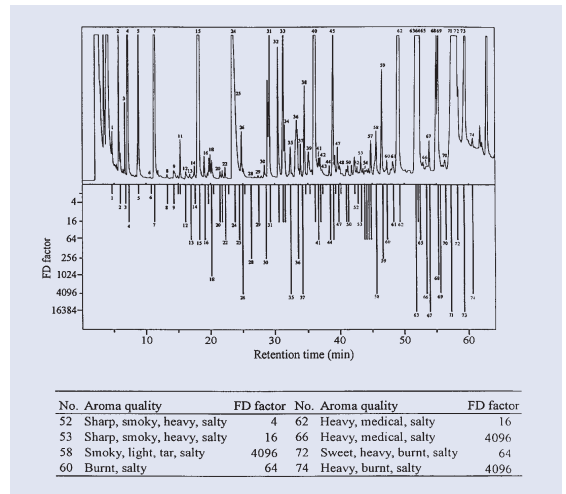


図6 醤油ニオイ濃縮物のアログラフ(下段)
上段は水素炎イオン化検出器の応答

分のニオイ嗅ぎを同時に行う方法が Sniff-GCである(図5)。ニオイ成分の Sniffing Portでの滞留を防ぎ、鼻粘膜の乾燥を防ぐために Sniffing Portの出口に水蒸気飽和させた空気を毎分100ml程度供給する。このような装置を用いてニオイ濃縮物を順次希釈した一連の試料について希釈率が低い順に Sniff-GCを行う。このとき成分(A)は1/16倍希釈試料で、成分(B)は1/128倍希釈試料でニオイが認められなくなるとすると、この試料に関して成分(B)は(A)に比べて8倍ニオイ寄与率が高いことを意味する。これを Aroma Extract

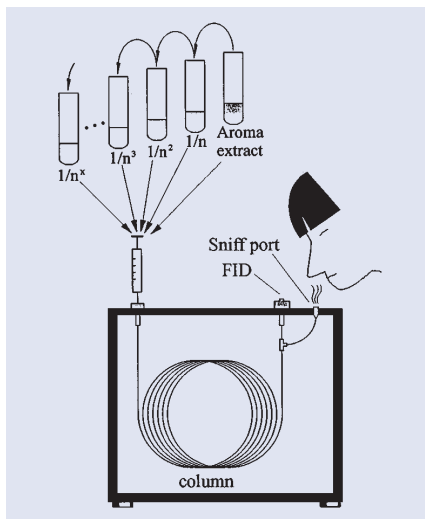


図5 Sniff-GCとAroma Extract Dilution Analysis

Dilution Analysis(AEDA)¹⁰⁾と呼び、ピークのニオイが認められた最終希釈率をFD Factorと呼んでいる。本法によると、ニオイ寄与率のみならずニオイの質も明らかにすることができる。図6は、最もニオイが複雑な試料の一つである醤油のニオイ濃縮物についてAEDAを行った結果である。

4 おわりに

ニオイの研究はおもしろいけど難しい。このことをわかってもらいたくて、官能的にニオイを評価することの難しさとその重要性に関して多くの紙面を割いた。そして分析化学的手法について私達が行ってきたことを中心に解説した。この分野の研究は、未だプレ・サイエンス的であるのかもしれない。今後、夢のような話ではあるがニオイ成分の化学構造とニオイの質及び強度の関係が解明されることを期待したい。これが実現しなければニオイ研究の飛躍的な進展はないであろう。心理的(情緒的あるいは文化的)、生理学的そして分析化学的アプローチがますます重要になることは間違いない。

文献

- 1) Volatile Compounds in Food, Qualitative and Quantitative Data, (1993), (editors; H. Maarse and C. A. Visscher, TNO Biotechnology and Chemistry Institute, 3700 AJ Zeist, The Netherlands).
- 2) Atlas of Odor Character Profiles. (1985) compiled by Andrew Dravnieks, Institute of Olfactory Sciences, Park Forest, IL 60466
- 3) 下田満哉: ヘッドスペース法の進歩と課題, *Fragrance Journal*, 1997(6), 21-26.
- 4) 下田満哉, 平野好司, 笹島 豊: ポーラスポリマーカラムによる食品香気成分の濃縮, *分析化学*, 36(11), 792-798 (1987).
- 5) 下田満哉: 試料中の目的成分をそのまま測る固相マイクロ抽出法, *化学と生物*, 35(7), 507-508 (1997).
- 6) T.J. Clark and J.E. Bunch: Qualitative and Quantitative Analysis of Flavor Additives on Tobacco Products Using SPME-GC-Mass Spectroscopy. *J. Agric. Food Chem.*, 45, 844-849 (1997).
- 7) P.A. Martos, A. Saraullo and J. Pawliszyn: Estimation of Air/Coating Distribution Coefficients for Solid Phase Microextraction Using Retention Indexes from Linear Temperature-Programmed Capillary Gas Chromatography. Application to the Sampling and Analysis of Total Petroleum Hydrocarbons in Air. *Anal. Chem.*, 69, 402-408 (1997).
- 8) M. Shimoda, H. Shiratsuchi, Y. Nakada, Y. Wu and Y. Osajima: Identification and Sensory Characterization of Volatile Flavor Compounds in Sesame Seed Oil. *J. Agric. Food Chem.*, 44, 3909-3912 (1996).
- 9) F. Ullrich and W. Grosch: Identification of most intense volatile flavor compounds formed during autoxidation of linoleic acid. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.*, 184, 277-283 (1987).