

メチルメルカプタンに対する植物成分の消臭力測定法の検討

化学室 池間 洋一郎・比嘉 三利

1. 緒言

植物成分は抗菌作用¹⁾や抗酸化作用²⁾、消臭作用等の多種多様な機能を有している。消臭作用については、ハーブ類の精油³⁾や緑茶抽出物⁴⁾等にみられるように、多くの植物由来の成分が悪臭を除去する効果が知られている。

近年、生活水準の向上に伴い、私たちの生活環境や衛生環境に対する関心が高まるにつれて、口臭や生活異臭等に対する防臭や消臭の意識が強くなってきている。現在利用されている消臭物質は合成物よりも安全性の高い天然物由来のものが好まれ、その検索及び実用化^{5)~7)}が積極的に行われている。

一方、植物成分の消臭力の測定例についてはこれまでにいくつか報告されているが、^{6) 8) 9)}いずれも分析法や消臭力測定法の検討結果のデータが少ないことや、また同じ悪臭成分を対象にした報告でも研究者によってその濃度、サンプル量、反応時間やヘッドスペースガスの採取量等の条件が異なることから、同じ植物抽出物でも消臭力の比較が困難である。

本研究は県内に生育する多種類の薬用植物から消臭成分を検索するため、消臭効果の測定方法の確立を目的としている。すでに報告されているこれまでの結果との比較及び消臭成分の検索に最適な消臭力測定法の検討を行うため、口臭や腐敗肉臭の主成分といわれる悪臭成分メチルメルカプタンを対象にして、標準液の濃度や保温時間等の諸条件を検討し、さらに消臭物質エピカテキンの消臭力を測定したので報告する。

2. 実験材料及び方法

2.1 試薬

メチルメルカプタン (CH_3SH) 標準液と銅クロロフィリンナトリウム (SCC) は和光純薬製を、標品のエピカテキンはAldrich製を使用した。

2.2 CH_3SH 溶液の調製

CH_3SH は悪臭物質試験用標準液 ($1\mu\text{g}/\mu\text{l}$ ベンゼン溶液) をエタノールで $10\mu\text{g}/\text{ml}$ に希釈して冷凍庫 (-15°C) に保存した。消臭力測定開始直前にこの溶液を各濃度に水で希釈し、氷冷しながら、試験に供した。

2.3 CH_3SH のガスクロマトグラフ (GC) 測定条件

CH_3SH の測定は島津のGC-9Aを使用し、以下の条件で行った。

カラム: Polyphenyl ether 5 ring 5%, uniport 80~100メッシュ (ジーエルサイエンス製), テフロンチューブ $6\text{m} \times 3.2\text{mm}$ (内径), カラム温度: 70°C , キャリアガス: N_2 $40\text{ml}/\text{分}$, 検出器: FPD

エタノールで希釈した標準 CH_3SH をGC分析した結果、 CH_3SH 、エタノール、ベンゼンの3つのピークが認められるガスクロマトグラムが得られ、 CH_3SH のピークは2分後に出現し、約5分間で分析できた。 CH_3SH 分析の1例を図1に示す。

2. 4 消臭力測定条件⁶⁾

試料をpH7.5の0.1Mリン酸緩衝液1mlに溶解して内容量30mlのバイアルに調製したCH₃SH溶液を1ml加え、直ちにシリコン栓をして37°Cの水浴中に保温した。5分後、ヘッドスペースを300 μ lガスタイトシリンジで抜き取り、GC分析でCH₃SHピークの高さを測定し、絶対量を求めた。同一サンプルで2回繰り返し、その平均から消臭率を次のように計算した。

$$\text{消臭率 (\%)} = (C - S) / C \times 100$$

C : 対照のCH₃SH量

S : 試料添加時のCH₃SH量

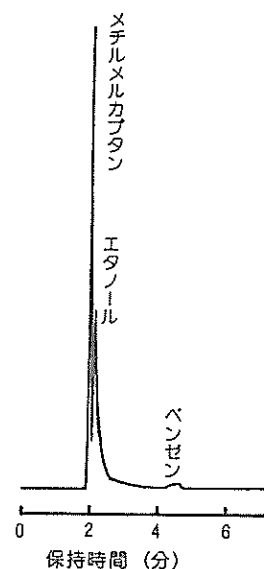


図1 CH₃SH標準液のガスクロマトグラム

3. 結果及び考察

3. 1 CH₃SHの検量線の作成

悪臭物質試験用CH₃SH標準液をベンゼンで希釈して5、10、20、40 μ g/mlの濃度に調整し、1 μ lをGCに注入して得られたCH₃SHのピーク高より検量線を作成した。図2に示すように0~20 μ g/mlの間に良好な直線性を示す検量線が得られたが40 μ g/mlではピーク高は低下する傾向を示した。ヘッドスペースガスのCH₃SH量は直接この検量線から求めた。

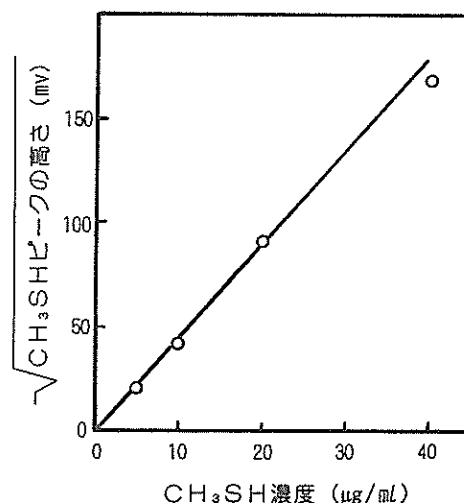


図2 CH₃SHの検量線

3. 2 保温時間によるヘッドスペースCH₃SH濃度の変化

2 μ g/mlに調整したCH₃SH 1mlと緩衝液1mlをバイアルに加えて37°Cで1、2、3、4、5分間の各条件で保温してヘッドスペースガスを分析した。

図3に示すように保温時間1分間からCH₃SHは比較的高い濃度を示し、2分、3分と時間の経過にしたがってCH₃SH濃度はゆるやかに上昇し、4分から5分間の保持時間で十分に安定した濃度を示した。このことから消臭測定条件の保温時間を5分間に設定した。

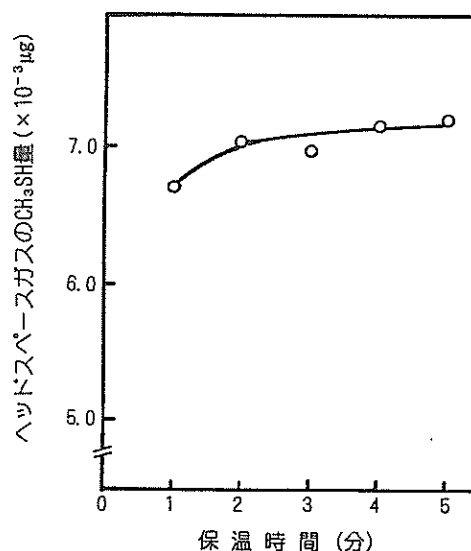


図3 保温時間に対するヘッドスペースガス中のCH₃SH濃度

3. 3 消臭力測定に使用するCH₃SH標準液濃度の影響

消臭力測定法に使用するCH₃SHの濃度については、1 μ g/mlを0.5ml使用して植物抽出物3mgに対する消臭力の測定⁶⁾や2 μ g/mlを1mlを使用して茶カテキン10mgの消臭力測定⁸⁾がある。このように研究者によってCH₃SH標準液の濃度や使用する量が異なるので、消臭力測定に使用するCH₃SHの最適濃度を得るため、濃度を変化させてその消臭力を比較した。まず、標準液濃度とヘッドスペースガスのCH₃SH濃度の関係を調べた。

10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の CH_3SH 標準エタノール溶液を各々1、2、3、4 $\mu\text{g}/\text{ml}$ になるように水で希釈し、各々の標準液に対して、37 $^\circ\text{C}$ 、5分間保温後のヘッドスペースガス分析を行った。各濃度のヘッドスペースガスに含まれる CH_3SH の量は、その濃度に応じて直線状に増加することがわかった。結果を図4に示す。さらにこれらの各濃度の CH_3SH 1 ml に対して現在口腔用の消臭剤として利用されているSCC30 mg と緩衝液1 ml を加えて消臭力を測定した。図5から CH_3SH 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ に対するSCC30 mg の消臭力は100%、2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ では80%、3 $\mu\text{g}/\text{ml}$ では79%、4 $\mu\text{g}/\text{ml}$ では75%の消臭力を示した。同量のSCCを用いてもその消臭力は2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 濃度で小さくなり、その後3 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ではほとんど変わらず、4 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ではやや低下する傾向を示した。

植物抽出液の消臭物質を検索する場合、比較基準となるSCCの消臭力がすでに100%を示すと、SCCよりも強い消臭力を有する植物抽出液の検索には不適當である。つまりSCCよりも強い消臭物質の検索には、比較するSCCの消臭力を60~80%の値に低く設定することが必要と考えられる。その条件を満たすには標準 CH_3SH 濃度を2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 以上にすることが必要であるが、濃度を高くした4 $\mu\text{g}/\text{ml}$ では、同じ30 mg のSCCを反応させた消臭力でも弱い値を示す傾向にある。したがって、より感度よく植物抽出物の消臭力を測定するための CH_3SH 濃度は、2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ が適當であると考えられる。

3. 4 ヘッドスペースガス中の CH_3SH の再現性

これまでの実験結果から、消臭力の測定には CH_3SH 標準液の濃度を2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、pH7.5リン酸緩衝液、保温時間を5分間の条件に設定した。これらの測定条件は、SCC10 mg に対する消臭力を基準にした宇井ら^{B)}の方法とほぼ同じ条件であった。 CH_3SH 標準液を30 ml のバイアルに1 ml とり、リン酸緩衝液を1 ml 加えて37 $^\circ\text{C}$ 、5分間保温後、ヘッドスペースガス量300 μl をGCに注入し、ピーク高を測定した。ヘッドスペースガスのGCクロマトグラムは図6に示すように CH_3SH の単一ピークのみが認められ、標準液に含まれているエタノールやベンゼンのピークは検出されなかった。

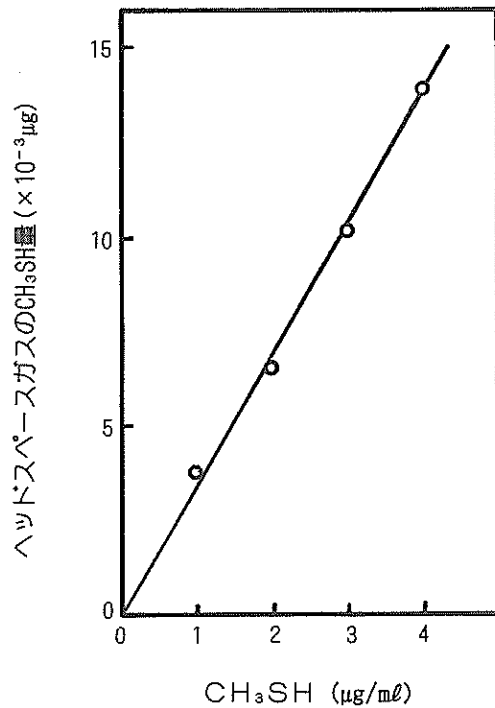


図4 標準 CH_3SH 濃度と保温後のヘッドスペースガス中の CH_3SH 量の関係

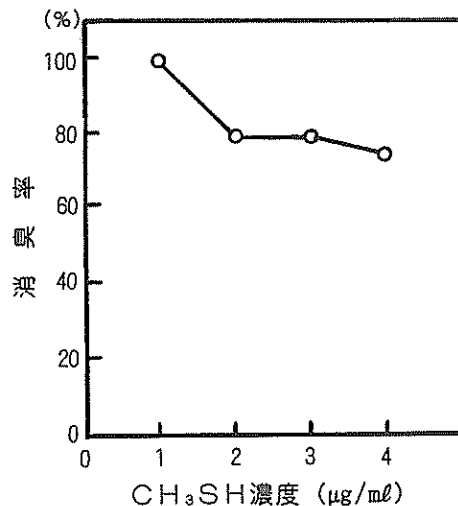


図5 CH_3SH 標準液濃度とSCCの消臭率

本方法による分析を10回繰り返し、定量性の有無を検討した。

ヘッドスペースガスに含まれるCH₃SHの定量値は、表1に示すように変動係数が $\sigma/\bar{x} \times 100 = 7.0\%$ とバラツキが少なく満足できる結果であった。

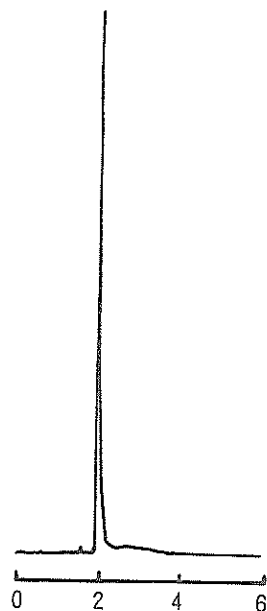


図6 ヘッドスペースガスに含まれるCH₃SHのガスクロマトグラム

表1 ヘッドスペースガス中のCH₃SHの再現性

	CH ₃ SHピーク高さ(mV)	CH ₃ SH量(×10 ⁻³ μg)
1	1009	7.02
2	754	6.04
3	723	5.91
4	769	6.10
5	1023	7.06
6	846	6.41
7	847	6.42
8	1067	7.22
9	1005	7.00
10	813	6.28
平均値 \bar{x}	885.6	6.55
標準偏差 σ	121.2	0.46

変動係数 $\sigma/\bar{x} \times 100 = 7.0\%$

3. 5 植物成分エピカテキンの消臭力の測定

設定した消臭力測定法で実際にエピカテキンの消臭力を測定した。エピカテキンはカテキン類の一種で消臭力は弱い、緑茶の消臭成分として知られている。⁸⁾

標品のエピカテキン3mgに対する消臭力を測定した結果、エピカテキンの消臭力は18%を示し、設定した本測定条件で充分測定できることが分かった。

4. 結 論

CH₃SHに対する消臭効果を有する植物成分の検索を行うための、CH₃SHの定量法及び消臭効果の測定法を検討し、以下の結果を得た。

- ① 標準CH₃SHの検量線は濃度20μg/mlまで良好な直線性を示した。
- ② 1から5分間までの37℃保温時間によるヘッドスペースガスのCH₃SH濃度変化を測定した結果、保温時間5分間の条件で安定したCH₃SH濃度を示した。
- ③ 消臭力測定に使用するCH₃SHの濃度を1～4μg/mlに設定してSCC30mgの消臭力を比較した結果、CH₃SH濃度を2μg/mlが最適であった。
- ④ ヘッドスペースガス中のCH₃SH定量の再現性は、変動係数7.0%の満足できる結果が得られ、消臭力測定法を確立できた。
- ⑤ 緑茶の消臭成分のひとつであるエピカテキンの標品3mgに対する消臭力を測定した結果、エピカテキンの消臭力は18%を示し、本測定条件で充分測定できることが分かった。

5. 文 献

- (1) 奥田治、香料化学総覧1、P15 廣川書店 1980.
- (2) 幹 渉、月刊フードケミカル P61~64 NO.5 1990.
- (3) 西田耕之助、東高志、P P M NO.20 P16~20 1984.
- (4) 宇井美樹、安田英之、日本農芸化学会誌 VOL.38 NO.12 P1475~1479 1991.
- (5) 月刊フードケミカル、NO.11 P96~104 1990.
- (6) 月刊フードケミカル、NO.12 P73~92 1993.
- (7) 食品産業ハイセパレーション・システム技術研究組合編、機能性食品素材の高度分離精製と開発 P523~537 食品産業ハイセパレーション・システム技術研究組合 1992.
- (8) 常田文彦、石川正夫他 日本農芸化学会誌、VOL.58 NO.6 P585~589 1984.
- (9) 安田英之、宇井美樹、日本農芸化学会誌、VOL.66 NO.10 P1475~1479 1992.
- (10) 宇井美樹、安田英之、柴田柁樹、丸山考、堀田博、原利男、安田環、日本食品工業学会誌 VOL.38 NO.12 P1098~1102 1991.

編 集 沖縄県工業技術センター

発 行 沖縄県工業技術センター

〒904-2234 沖縄県うるま市字州崎 12 番 2

T E L (098)929-0111

F A X (098)929-0115

U R L <https://www.pref.okinawa.lg.jp/site/shoko/kogyo/>

著作物の一部および全部を転載・翻訳される場合は、当センターに

ご連絡ください。