

ラ・フランス果汁およびアルコール - エステル混合水溶液のヘッドスペースGC分析における塩析効果

誌名	日本食品工学会誌 = Japan journal of food engineering
ISSN	13457942
著者名	飛塚, 幸喜 安食, 雄介 野内, 義之
発行元	日本食品工学会
巻/号	10巻3号
掲載ページ	p. 155-162
発行年月	2009年9月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



◇◇◇◇ 原著論文 ◇◇◇◇

ラ・フランス果汁およびアルコール-エステル混合水溶液の ヘッドスペース GC 分析における塩析効果

飛塚幸喜[†], 安食雄介, 野内義之

山形県工業技術センター

Effect of Salting-out on the Analysis of Flavor Components in La France Pear Juice and in an Aqueous Solution Containing Alcohols and Esters by Static Headspace Gas Chromatography

Koki TOBITSUKA[†], Yusuke AJIKI and Yoshiyuki NOUCHI

Yamagata Research Institute of Technology, 2-2-1 Matsuei, Yamagata, Yamagata 990-2473, Japan

Static headspace gas chromatography is one of the most frequently used techniques for the analysis of flavor components in foods and beverages. Although the technique has many advantages over other methods, one of its major drawbacks is low sensitivity for substances of intermediate and high boiling point. The purpose of this study is to analyze the effect of salting-out on the sensitivity of static headspace gas chromatography (SHS-GC) and static headspace solid phase micro extraction gas chromatography (SPME-GC) for flavor components in foods and beverages. In the present study, we analyzed flavor components in La France pear juice and in an aqueous solution containing alcohols and esters by SHS-GC and SPME-GC after salting-out with saturated sodium chloride. We then analyzed the differences in detection sensitivity obtained with and without using a salting-out procedure during sample preparation. The detection sensitivity for almost all flavor components in both samples was improved by the addition of sodium chloride. The improvement in detection sensitivity by the addition of sodium chloride tended to increase as the molecular weight of the alcohols increased and as that of the esters decreased. In conclusion, addition of sodium chloride was extremely effective for improving the sensitivity of detection of flavor components by SHS-GC and SPME-GC.

Keywords: headspace gas chromatography, flavor, aroma, salting out, SPME

1. 緒 言

近年、「におい」の分析評価には「におい識別装置」など各種のガスセンサを応用した機器も広く用いられるようになってきた [1] が、においを構成する成分を同定、定量するためには依然としてガスクロマトグラフ (以下 GC) やガスクロマトグラフ質量分析計 (GC-MS) が欠かせない。

GC および GC-MS 分析に供するため香気成分を抽出・分離するには数多くの手法があるが、大別すると、1.

蒸留法, 2. 抽出法, 3. その他, に分類されるといわれる [2].

「蒸留法」は、水蒸気蒸留や減圧蒸留など各種の蒸留により香気成分を分離するか、または蒸留法と溶媒抽出法とを組み合わせ (Simultaneous distillation extraction など) 香気成分濃縮物を得る手法である。蒸留法は揮発性成分のみを分離、濃縮することができる反面、操作がやや煩雑で特別な器具を必要とする場合があり、また試料の加熱を伴うため熱に不安定な香気成分が化学変化する危険性がある。「抽出法」は、低沸点の有機溶剤を用いて試料から香気成分を抽出した後、溶剤を留去して香気成分濃縮物を得る手法である。本法は操作が簡便であり、また特別な器具を必要としない反面、香気成分以外の難揮発性成分が同時に抽出、

(受付 2009 年 5 月 28 日, 受理 2009 年 6 月 25 日)

〒990-2473 山形県山形市松栄2-2-1

Fax : 81-23-644-3228, E-mail : tobitsukako@pref.yamagata.jp

濃縮され GC 分析に支障をきたす場合がある。例えば大豆など、脂質を多く含む食品には適さない手法である。以上のとおり、蒸留法、抽出法にはそれぞれ長所、短所がある。

「その他」の方法で代表的なものがヘッドスペース法で、動的ヘッドスペース法 (Dynamic headspace 法) と静的ヘッドスペース法 (Static headspace 法, 以下 SHS 法) とがある。動的ヘッドスペース法は、吸着剤 (多孔質ポリマや活性炭など) を充填した小型カラムにヘッドスペースガスを通気して香氣成分を捕集した後、捕集成分を加熱脱離して GC 等の分析機器に導入するのである。本法は揮発性成分のみを分離、濃縮することが可能で測定感度も高い反面、操作が煩雑で高価な装置を必要とする。SHS 法は、試料を密閉容器中に一定時間保持した後、香氣成分を含むヘッドスペースガスを採取して分析するものである。本法は、動的ヘッドスペース法と同様に揮発性成分のみを採取することが可能であるうえ、操作が極めて簡便、特別な装置を必要としない、少量の試料で分析が可能、再現性に優れるなど多くの長所がある一方で、中高沸点成分に対する感度が低いことが唯一ともいえる短所である。食品や酒類を特徴づける香氣成分の多くは中高沸点成分であるともいわれ [3,4], 香りの評価においてこれらの分析は重要である。

我々は、数ある香氣成分抽出・分離方法のなかでも、とくに多くの長所をもつ SHS 法に着目した。SHS 法では中高沸点成分の感度を向上させるため、試料に塩類を添加することがしばしば行われる [5,6]。これは塩類の添加による香氣成分の塩析を狙ったものである。本研究では、ラ・フランス果汁およびアルコール-エステル混合水溶液を SHS-GC 法および SPME-GC 法で分析し、これらに塩化ナトリウムを添加した際の検出感度の変化について検討して幾つかの知見を得たので報告する。

2. 実験方法

2.1 試料

2.1.1 ラ・フランス果汁

2007 年に山形県寒河江市で収穫されたラ・フランス (約 20kg) を水洗した後、果皮と果芯とを除去し、果肉をミキサ (MX-X50 型, 松下電器産業(株)) で約 2 分間破碎した。破碎されペースト状となった果肉を偏りのないように十分混合した後、ポリエチレン製容器 (内径約 60 mm×高さ約 80 mm) に約 170 g ずつ分注して -80°C で貯蔵した。これを使用時に流水中で解凍し、遠心分離 (2520×g, 15 min) した上清をラ・フランス果汁とした。

2.1.2 アルコール-エステル混合水溶液

7 種類のアルコール (メタノール, エタノール, 1-ブ

ロパノール, 1-ブタノール, 1-ペンタノール, 1-ヘキサノール, 1-ヘプタノール) および 4 種類の酢酸エステル (酢酸エチル, 酢酸プロピル, 酢酸ブチル, 酢酸ペンチル) を各 500 mg/L 濃度となるように蒸留水に溶解した。これを蒸留水で希釈して必要濃度の水溶液を調製した。アルコールおよび酢酸エステルには特級試薬を用いた。

2.2 GC 分析

2.2.1 静的ヘッドスペース GC 法 (SHS-GC 法)

ラ・フランス果汁またはアルコール-エステル混合水溶液 (2 mL) をガラス製バイアル (内径約 20 mm×高さ約 45 mm) に入れ、PTFE 被覆セプタムで密封した。これをオートサンプラ (AOC-5000 型, (株)島津製作所) で 40°C に保温, 500 rpm で 20 分間攪拌した後、ヘッドスペースガス 1 mL を GC に注入した。塩析の試験では、試料に塩化ナトリウム 0.8 g を加えて同様に操作した。なお、これらの操作は全て 3 回ずつ行い、GC ピーク面積の平均値を求めた。

2.2.2 静的ヘッドスペース固相マイクロ抽出 GC 法 (SPME-GC 法)

ラ・フランス果汁またはアルコール-エステル混合水溶液 (5 mL) をガラス製バイアル (内径約 28 mm×高さ約 60 mm) に入れ、PTFE 被覆セプタムで密封した。これを 40°C に保温, マグネチックスターラで攪拌 (約 500 rpm) しながら、ヘッドスペース部に SPME ファイバ (ポリジメチルシロキサン, 膜厚 100 μm, SUPELCO 製) を挿入して 20 分間保持した。次に、SPME ファイバを GC 注入口 (250°C) に 10 分間挿入して吸着成分を加熱脱離した。塩析の試験では、試料に塩化ナトリウム 2.0 g を加えて同様に操作した。なお、これらの操作は全て 3 回ずつ行い、GC ピーク面積の平均値を求めた。

2.2.3 GC 分析条件

(株)島津製作所製 GC-17A を用い、以下の条件で分析した。キャリアガス, He (22kPa); スプリット比, 1 対 1; カラム, ZB-5 (内径 0.53 mm×長さ 30 m, 膜厚 3.0 μm, Phenomenex 製); カラム温度, 40°C (5 min), 40→190°C (10°C/min); 検出器, FID (250°C)。

3. 結果および考察

3.1 ラ・フランス果汁の香氣成分分析

Table 1 に、ラ・フランス果汁および飽和量の塩化ナトリウムを加えたラ・フランス果汁を SHS-GC 法, SPME-GC 法で分析した結果を示す。なお、塩化ナトリウム無添加 SHS 区において検出される 17 成分のみを示した。SPME 区ではこれらの 17 成分以外にも複数の成分 (未同定) が検出される。また参考として、ラ・

Table 1 GC peak area of La France pear volatile compounds*.

Compound	Molecular weight	Kovats index	SHS				SPME			
			Without NaCl		With NaCl		Without NaCl		With NaCl	
			Area	(%)	Area	(%)	Area	(%)	Area	(%)
Methanol	32.04	372	12949	9.87	28649	8.02	487	0.12	460	0.07
Ethanol	46.07	446	22222	16.93	75481	21.14	4470	1.09	6302	0.92
1-Propanol	60.09	563	301	0.23	1268	0.35	102	0.02	348	0.05
Butylaldehyde	72.10	595	540	0.41	1717	0.48	94	0.02	317	0.05
Ethyl acetate	88.11	620	2458	1.87	10657	2.98	733	0.18	2830	0.42
2-Methyl-1-propanol	74.12	634	84	0.06	525	0.15	55	0.01	270	0.04
1-Butanol	74.12	669	1459	1.11	9508	2.66	1407	0.34	7352	1.08
Propyl acetate	102.13	717	772	0.59	3186	0.89	618	0.15	2522	0.37
2-Methyl-1-butanol	88.15	744	80	0.06	662	0.19	150	0.04	986	0.14
1-Pentanol	88.15	772	17	0.01	98	0.03	32	0.01	213	0.03
3-Methyl-1-butyl acetate	116.16	779	41	0.03	105	0.03	54	0.01	139	0.02
Hexylaldehyde	100.16	804	6074	4.63	24990	7.00	9193	2.24	35717	5.24
Butyl acetate	116.16	814	37511	28.58	106110	29.71	71678	17.46	168089	24.65
1-Hexanol	102.17	870	712	0.54	7348	2.06	5456	1.33	48248	7.08
Pentyl acetate	130.19	912	972	0.74	3092	0.87	6100	1.49	18061	2.65
1-Heptanol	116.20	972	22	0.02	31	0.01	72	0.02	531	0.08
Hexyl acetate	144.21	1008	45034	34.31	83704	23.44	309776	75.47	389445	57.12
Total	—	—	131248	100.00	357131	100.00	410477	100.00	681832	100.00

*The values present averages of triplicate determinations.

フランス果汁を SHS-GC 法で分析した GC クロマトグラムを Fig. 1 に示す。

SPME-GC 分析では、リンゴ、イチゴ、トマト、ブドウジュース、オレンジジュース、コーヒー、ワイン、ブランデー、ビール [7] および日本酒 [8] など、食品や飲料の香気成分分析に応用例の多い PDMS (ポリジメチルシロキサン) ファイバを使用した。SPME 法は試料のヘッドスペースガスまたは試料そのものに針状のファイバを接触させて目的成分を捕集するもので、食品、飲料、医薬品、農薬および環境汚染物質の分析など幅広い分野で用いられている。本法は特別な装置を必要とせず費用も安価であり、操作は極めて簡便である。

本試験では、塩析のために添加する塩として塩化ナトリウムを供試したが、これには長井の報告 [5] を参考にした。これはウイスキーに種々の塩類を加えて SHS-GC 分析し、エステルの検出感度の変化について報告したものである。陽イオン 17 種類 (塩化物)、陰イオン 15 種類 (ナトリウムまたはカリウム塩) について試験し、エステルの検出感度の向上には塩化ナトリウムの添加が最も効果的であったとしている。このことに加えて、塩化ナトリウムは毒性が低く安価で入手が容易であることから分析用の試薬として適当であると考え、本研究では塩化ナトリウムを供試することとした。塩化ナトリウムを添加することによりラ・フランス果汁に溶解している香気成分が塩析され、ヘッドスペースガスの

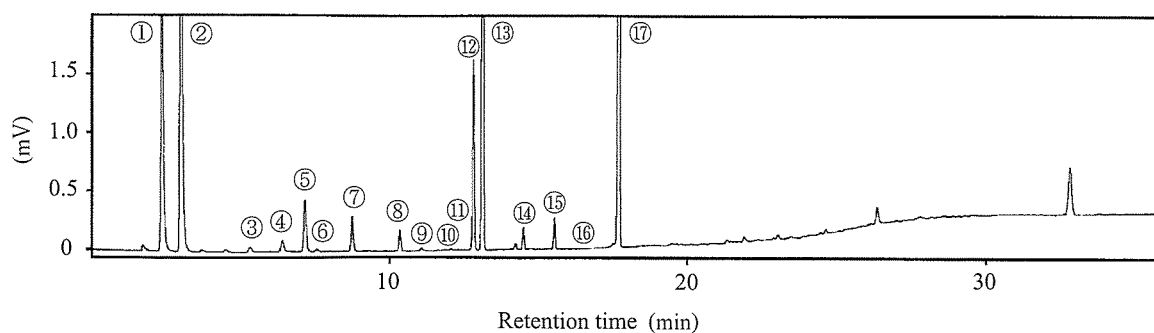


Fig. 1 GC chromatogram of La France pear volatile compounds.

1. Methanol, 2. ethanol, 3. 1-propanol, 4. butylaldehyde, 5. ethyl acetate, 6. 2-methyl-1-propanol, 7. 1-butanol, 8. propyl acetate, 9. 2-methyl-1-butanol, 10. 1-pentanol, 11. 3-methyl-1-butyl acetate, 12. hexylaldehyde, 13. butyl acetate, 14. 1-hexanol, 15. pentyl acetate, 16. 1-heptanol, 17. hexyl acetate.

香氣成分濃度が上昇し, 結果として SHS-GC 法および SPME-GC 法における分析感度の向上が期待される。

SHS 区と SPME 区の総ピーク面積値を比較すると, 塩化ナトリウム無添加区では SPME 区が SHS 区の約 3.1 倍, 塩化ナトリウム添加区では SPME 区が SHS 区の約 1.9 倍大きかった。一方, 各香氣成分の面積値を比較すると, 塩化ナトリウム添加区, 塩化ナトリウム無添加区ともに, Kovats index が 717 以下の成分は全て SHS 区で大きく, Kovats index が 744 以上の成分は全て SPME 区で大きかった。これは保持時間が短い成分は比較的親水性が高いため, SPME ファイバ (ポリジメチルシロキサン) との親和性が低く, 逆に保持時間の長い成分は疎水性が高く, SPME ファイバとの親和性が高いためと考えられる。

本試験において, SHS 区ではヘッドスペースガス 1 mL を GC に注入した。理論的には, GC に注入するヘッドスペースガスを増加させれば相応の感度向上が期待できるが, GC 装置の構造上, 注入可能なヘッドスペースガス量は限られるため現実的には困難である。以上のことから, SPME 法は SHS 法と比較して, 特に疎水性の高い成分に対して高感度に分析できることがわかった。

SHS 区と SPME 区それぞれにおいて, 塩化ナトリウム添加区と塩化ナトリウム無添加区の各ピーク面積値を比較すると, SPME 区のメタノールを除き, 全て塩化ナトリウム添加区で大きくなった。塩化ナトリウムの添加により, 総ピーク面積値は SHS 区で約 2.7 倍, SPME 区では約 1.7 倍となった。Table 1 に示した 4 試験区の中で, 総ピーク面積値が最も小さい塩化ナトリウム無添加 SHS 区と, 最も大きい塩化ナトリウム添加 SPME 区とを比較すると, 総ピーク面積値は約 5.2 倍の差となり, またメタノール, エタノールおよびブチルアルデヒドを除いた全てのピーク面積値が塩化ナトリウム添加 SPME 区で大きくなった。また SHS 区, SPME 区とも, 塩化ナトリウム無添加区では痕跡程度にしか認められない幾つかのピーク (未同定) が, 塩化ナトリウムを添加することにより明瞭なピークとして検出することが出来た。ラ・フランス果汁香氣成分の測定感度の向上には, 塩化ナトリウムの添加が極めて有効であることがわかった。

以上のことは, 塩化ナトリウムを添加することにより水溶液中の香氣成分が気相に移行し易くなることを意味している。このことを考慮すると, 蒸留法による果汁からの香氣成分の採取等においても, 塩化ナトリウムを添加することによりその回収率が向上する可能性が考えられる。香氣成分ではないが, 食品添加物 (保存料) であるパラオキシ安息香酸エステル類の分析では, 水蒸気蒸留により試料 (水溶液または水懸濁液) から目的成分を分取するが [9], 分取効率を上げるため

に飽和量の塩化ナトリウムを添加する例がある。

SHS 区, SPME 区それぞれについて, 塩化ナトリウム添加区と塩化ナトリウム無添加区の各ピーク面積値を比較すると, 塩化ナトリウムの添加によりピーク面積値が大きく増加する成分とわずかしこ増加しない成分とがあることがわかる。大きく増加する成分は, 1-ヘキサノール (塩化ナトリウム無添加区の 10.3 倍 (SHS 区), 8.8 倍 (SPME 区)), 1-ペンタノール (塩化ナトリウム無添加区の 5.9 倍 (SHS 区), 6.7 倍 (SPME 区)), 酢酸エチル (塩化ナトリウム無添加区の 4.3 倍 (SHS 区), 3.9 倍 (SPME 区)) などであり, わずかしこ増加しない成分は, エタノール (塩化ナトリウム無添加区の 3.4 倍 (SHS 区), 1.4 倍 (SPME 区)), 酢酸ヘキシル (塩化ナトリウム無添加区の 1.9 倍 (SHS 区), 1.3 倍 (SPME 区)) などである。これらの結果をみると, 塩化ナトリウムを添加することにより, アルコールでは比較的分子量の大きいものでピーク面積値が大きく増加し, エステルでは逆に分子量の小さいものでピーク面積値が大きく増加しているようにも見受けられる。そこで, アルコールとエステルそれぞれについて, 各成分の分子量とピーク面積比 (塩化ナトリウム添加区のピーク面積値/塩化ナトリウム無添加区のピーク面積値) を散布図とし, Fig. 2 に示す。若干の例外はあるものの, アルコールでは 1-ヘプタノールを除き, SHS 区, SPME 区とも分子量の大きいものでピーク面積比が大きくなる傾向がみられた (Fig. 2, (a))。これに対して, エステルでは逆に分子量の大きいものでピーク面積比が小さくなる傾向がみられた (Fig. 2, (b))。アルコールおよびエステルのピーク面積値の変化は, 塩化ナトリウムの塩析作用によると考えられるが, アルコールやエステルの種類により塩析作用の度合いは様々であると考えられる。

ヒトが食品や飲料の表面から発散する匂いを嗅ぐ際には, 食品や飲料の表面近くに存在する香氣成分を含む空気を吸気とともに鼻に導く。この「空気」は, SHS-GC 分析におけるヘッドスペースガスとほぼ同じものであるため, ヒトが匂いとして知覚している成分の組成を測定, 考察するためにはヘッドスペース法が最も適しているとされる [10-12]。Table 1 の 4 試験区のうち, 塩化ナトリウム無添加 SHS 区がこれに相当する。この塩化ナトリウム無添加 SHS 区と他の 3 試験区の香氣成分組成を比較すると大きな違いがみられる。塩化ナトリウム添加 SHS 区では, ラ・フランスの香りに最も大きく寄与する成分の 1 つである [13] 酢酸ヘキシルの割合が, 塩化ナトリウム無添加 SHS 区の約 68% と小さく, 逆に 1-ヘキサノールは約 3.8 倍, 1-ブタノールは約 2.4 倍, 酢酸エチルは約 1.6 倍大きかった。塩化ナトリウム無添加 SPME 区では, 酢酸ヘキシルの割合が塩化ナトリウム無添加 SHS 区の約 2.2 倍, 1-ヘキサ

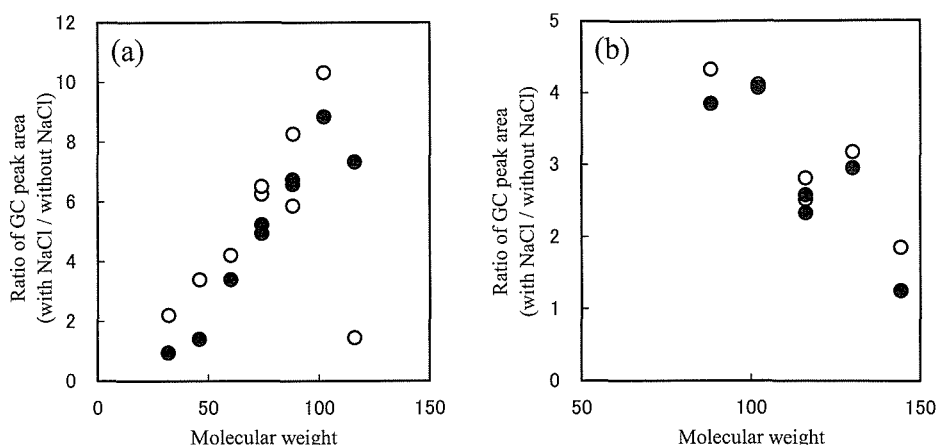


Fig. 2 Molecular weight and ratio of GC peak area.
(a) Alcohol; (b) ester; ○ SHS; ● SPME.

ノールは約 2.5 倍，酢酸ペンチルは約 2.0 倍大きく，逆にメタノールは約 1.2%，エタノールは約 6.4%，1-ブタノールは約 31%と小さかった。塩化ナトリウム添加 SPME 区では，酢酸ヘキシルの割合が塩化ナトリウム無添加 SHS 区の約 1.7 倍，1-ヘキサノールは約 13 倍，酢酸ペンチルは約 3.6 倍大きく，逆にメタノールは約 0.7%，エタノールは約 5.4%，酢酸エチルは約 22%と小さかった。以上のように，これら 3 試験区では塩化ナトリウム無添加 SHS 区と比較して多くの成分を高感度で分析することができる一方で，香氣成分の組成はそれぞれ大きく異なることがわかる。よって，これらの分析手法により得られた値から，匂いを構成する成分の組成について考察する際には，十分留意する必要があると考えられる。また，本研究では PDMS ファイバ（膜厚 100 μm ）のみを試験したが，揮発性化合物に汎用性のあるファイバには，ジピニルベンゼン分散 PDMS や Carboxen 分散 PDMS ファイバなどもあり，

これらのファイバにおいてどのような結果が得られるかは興味深い。この点は今後の検討課題としたい。

3.2 アルコール-エステル混合水溶液の分析

3.2.1 塩化ナトリウムの添加による検出感度の変化

前節のラ・フランス果汁の試験において，塩化ナトリウムの添加によりアルコールでは分子量の大きいもので，エステルでは逆に分子量の小さいもので GC ピーク面積値がより大きくなる傾向がみられた。ラ・フランス果汁以外の試料でも同様の現象がみられるかどうかを調べるため，アルコールとエステルとを溶解した水溶液を調製して同様の試験を行った (Table 2)。ラ・フランス果汁に含まれる成分の中からアルコール 7 種類とエステル 4 種類とを供試した。ラ・フランス果汁のアルコールおよびエステル濃度は，概ね数 mg/L から数十 mg/L 程度であるため [14]，これらの濃度にあわせて各 5 mg/L および各 50 mg/L 濃度の水溶液を調

Table 2 GC peak area of headspace gas of an aqueous solution containing alcohols and esters*.

Compound	Molecular weight	SHS				SPME			
		5 mg/L		50 mg/L		5 mg/L		50 mg/L	
		Without NaCl	With NaCl	Without NaCl	With NaCl	Without NaCl	With NaCl	Without NaCl	With NaCl
Methanol	32.04	130	260	1479	2901	119	37	423	158
Ethanol	46.07	217	798	2482	9502	93	81	704	992
1-Propanol	60.09	354	1861	4128	25662	154	504	1707	7262
1-Butanol	74.12	546	4113	6879	58209	521	3086	5777	52410
1-Pentanol	88.15	807	8998	10562	86920	3902	22063	66836	156178
1-Hexanol	102.17	1206	19594	17181	116504	8816	83997	76368	436253
1-Heptanol	116.20	1648	29687	23705	114048	38202	232350	178995	859240
Ethyl acetate	88.11	4842	29078	68396	213992	1270	6980	16331	83412
Propyl acetate	102.13	10006	57504	104006	334725	7170	47611	74958	243958
Butyl acetate	116.16	16199	72218	134586	421693	33912	118014	178512	592667
Pentyl acetate	130.19	23916	81295	171532	473983	86932	272057	446533	1008400

*The values present averages of triplicate determinations.

製して試験した。

SHS 区と SPME 区それぞれにおいて、塩化ナトリウム添加区と塩化ナトリウム無添加区の各ピーク面積値を比較すると、SPME 区のメタノール (5, 50 mg/L) とエタノール (5 mg/L) を除き、全て塩化ナトリウム添加区で大きくなった。これはラ・フランス果汁とほぼ同様の結果である。

Fig. 2 の試験と同様に、アルコールおよびエステルの分子量とピーク面積比 (塩化ナトリウム添加区のピーク面積値 / 塩化ナトリウム無添加区のピーク面積値) の散布図を Fig. 3 に示す。いくつかの例外はあるものの、アルコールでは SHS 区、SPME 区とも分子量の大きいものでピーク面積比がより大きくなる傾向がみられた (Fig.3, (a), (b))。エステルでは、一部の例外を除き分子量の大きいものでピーク面積比がより小さくなる傾向がみられた (Fig.3, (c), (d))。 (a) から (d) の全ての試験において、ラ・フランス果汁の試験と類似した結果が得られた。全ての試験区で最もピーク面積比が大きかったのは 1-ヘプタノール (5 mg/L, SHS-GC 法) で、塩化ナトリウムの添加により GC ピーク面積値が約 18

倍となった。

3.2.2 測定感度

SHS-GC および SPME-GC 分析における、およその定量限界を調べる目的で以下の試験を行った。3.2.1 で供試したアルコールとエステルの混合水溶液 (各 10 mg/L) を調製し、さらにこれを順次 10 倍希釈した水溶液を調製した。これらに塩化ナトリウムを加えて SHS-GC 法および SPME-GC 法で分析し、検出できる最低の濃度を求めた。なお、GC 分析におけるノイズレベルを考慮して、ピーク面積値が $100 \mu\text{V} \cdot \text{sec}$ を超える最低の濃度を求めることとした。

SHS-GC 法ではアルコール、エステルとも、分子量が大きいものほど低濃度でも測定が可能であり、供試したアルコールでは 1 から 10^{-1} mg/L、エステルでは 10^{-1} から 10^{-2} mg/L の範囲であった。SPME-GC 法においても同様に、アルコール、エステルとも分子量が大きいものほど低濃度でも測定が可能であり、供試したアルコールでは 10 から 10^{-3} mg/L、エステルでは 10^{-1} から 10^{-4} mg/L の範囲であった (Table 3)。

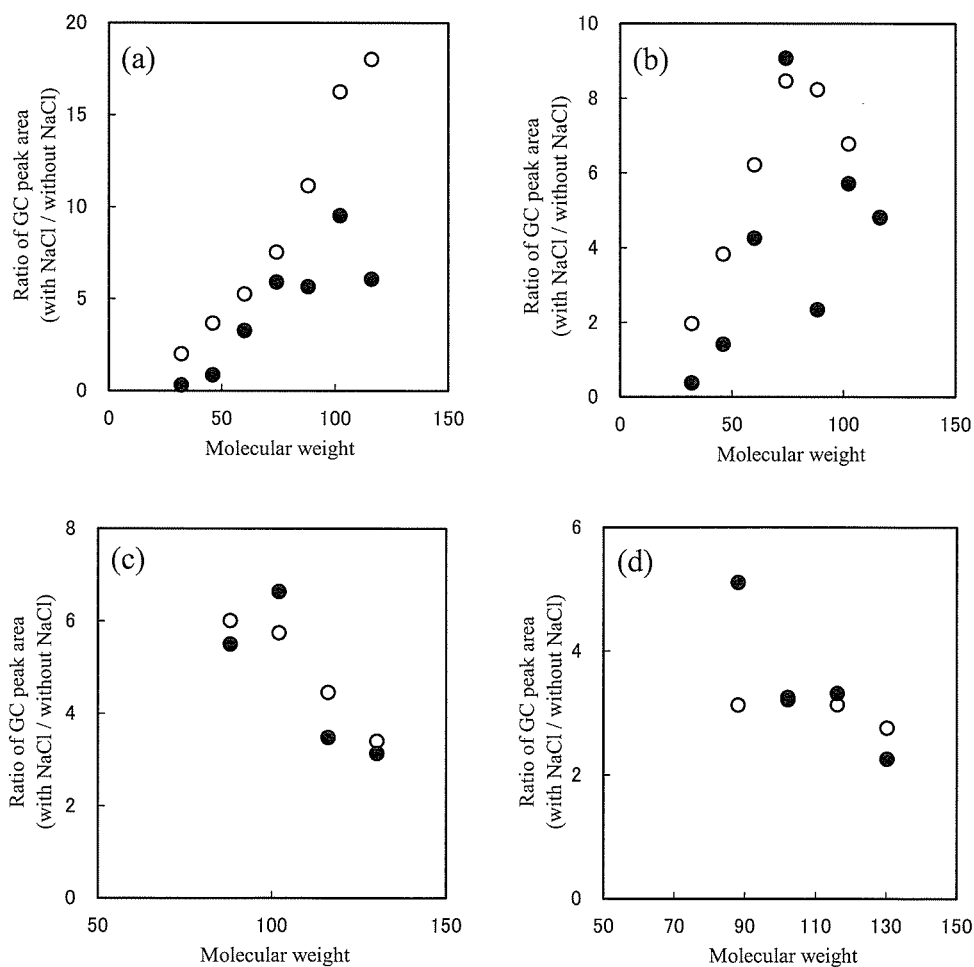


Fig. 3 Molecular weight and ratio of GC peak area.

(a) Alcohol, 5 mg/L; (b) alcohol, 50 mg/L; (c) ester, 5 mg/L; (d) ester, 50 mg/L ○ SHS; ● SPME.

Table 3 Approximate lower limit concentration of quantitative analysis*.

	Compound	SHS	SPME
Alcohol	Methanol	1	10
	Ethanol	1	10
	1-Propanol	1	1
	1-Butanol	10 ⁻¹	1
	1-Pentanol	10 ⁻¹	10 ⁻¹
	1-Hexanol	10 ⁻¹	10 ⁻²
	1-Heptanol	10 ⁻¹	10 ⁻³
Ester	Ethyl acetate	10 ⁻¹	10 ⁻¹
	Propyl acetate	10 ⁻²	10 ⁻²
	Butyl acetate	10 ⁻²	10 ⁻³
	Pentyl acetate	10 ⁻²	10 ⁻⁴

*mg/L

Table 3 に示したアルコールおよびエステルのうち、エタノールの弁別閾値は 1.4%，1-プロパノール、1-ブタノールは 50 mg/L、1-ヘキサノールは 5 mg/L、酢酸エチルは 25~50 mg/L、酢酸プロピルは 30 mg/L と言われている [15,16]。これらと Table 3 に示した値とを比較すると、これらの成分について SHS 法および SPME 法の定量限界はヒトの弁別閾値を大きく下回ることがわかった。

4. 結 論

本論文では、SHS-GC 法および SPME-GC 法による香気成分分析における塩化ナトリウムの塩析効果について検討した。ラ・フランス果汁およびアルコールとエステルの混合水溶液を試験し以下の知見を得た。

ラ・フランスの香気成分のうち、比較的分子量（概ね 100 以下）のものは SHS-GC 法、高分子量（概ね 100 以上）のものは SPME-GC 法の感度が高かった。ラ・フランス香気成分の総ピーク面積値で比較すると、SPME-GC 法は SHS-GC 法の約 1.9 倍（塩化ナトリウム添加時）から約 3.1 倍（塩化ナトリウム無添加）の感度であった。ラ・フランス果汁、アルコール-エステル混合水溶液とも、飽和量の塩化ナトリウムを添加することにより、ほぼ全ての成分の検出感度が向上した。検出感度の向上が最も著しかったのは 1-ヘプタノール（5 mg/L 濃度、SHS-GC 法）で、塩化ナトリウムの添加により GC ピーク面積値が約 18 倍となった。塩化ナトリウムを添加することにより、アルコールでは分子量が大きいもので、エステルでは分子量が小さいもので、GC ピーク面積値がより大きく増加する傾向がみられた。塩化ナトリウムの添加は SHS-GC 法および SPME-GC 法の分析感度向上に極めて有効であった。

謝 辞

本研究の一部は平成 20 年度農林水産省委託事業（新たな農林水産政策を推進する実用技術開発事業、研究課題番号：2038）の委託を受けて行った。記して謝意を表す。

引 用 文 献

- 1) M. Kawasaki, M. Nakajima, M. Tonoike; "Characteristics and analysis evaluation of aroma components (Nioi busshitsu no tokusei to bunseki hyouka)", Fragrance Journal Ltd, Tokyo, Japan, 2003, pp. 28-31.
- 2) Nihon syokuhin kougyou gakkai; "Advances in food science and technology (IV)" (in Japanese), Kourin, Tokyo, Japan, 1990, p. 8.
- 3) N. Nishiya; "Analytical methods of aroma components by gas chromatography (2) (koukiseibun no gasukuromatogurafi niyoru bunsekihou (2))". J. Brew. Soc. Japan, **78**, 435-438 (1983).
- 4) A. Kobayashi; "Recent progress in flavor research" (in Japanese). J. Japanese Soc. Food Sci. Technol, **44**, 169-176 (1997).
- 5) H. Nagai; "Improved analysis of flavor components in alcoholic beverages by headspace gas chromatography" (in Japanese). J. Japanese Soc. Food Sci. Technol, **39**, 264-270 (1992).
- 6) H. Nagai; "Improved sensitivity of headspace gas chromatography and its application to residual solvents analysis of medicines" (in Japanese). Bunseki Kagaku, **41**, 491-495 (1992).
- 7) Solid phase microextraction CD, SPME application reference guide & new video demonstrations 6th edition, SUPELCO
- 8) H. Utsunomiya; "Analysis of free fatty acids, higher alcohols and esters in sake by headspace/solid phase micro extraction" (in Japanese). J. Brew. Soc. Japan, **94**, 252-257 (1999).
- 9) Nihon yaku gakkai; "Methods of analysis in health science" (in Japanese), Kanehara, Tokyo, Japan, 2000, p. 287.
- 10) H. Sugisawa; "Gas chromatography for flavor analysis (Gasukuromatogurafi tokuni hureba bunseki)". J. Japanese Soc. Food Sci. Technol, **35**, 564-572 (1988).
- 11) A. Kobayashi; "Analytical methods of food aroma" (in Japanese). J. Brew. Soc. Japan, **85**, 630-637 (1990).
- 12) A. Kobayashi; "Taste in food and flavor (Syokuhin no sikou to nioi)". J. Japanese Soc. Food Sci. Technol, **41**, 165-171 (1994).
- 13) K. Tobitsuka; "Aroma components of La France and

comparison of aroma patterns of different pears” (in Japanese). *Nippon Nogeikagaku Kaishi*, **77**, 762-767 (2003).

- 14) K. Tobituka, M. Miura, S. Kobayashi; “Retention of European pear (La France) flavor using cyclodextrin (Sikurodekisutorin niyoru seiyonasi (rahuransu) koukiseibun no hoji)”. *Nippon nogeikagakukai taikai kouenyousi*, 135 (2007).
- 15) Nihon Jyozo Kyokai; “Components in brewed products (Jyozobutsu no seibun)”, Nihon Jyozo Kyokai, Tokyo, Japan, 1999, p. 24, 30.
- 16) K. Takahashi; “On desired physiological function of sake” (in Japanese). *J. Brew. Soc. Japan*, **85**, 286-292 (1990).

要 旨

静的ヘッドスペース GC 法 (SHS-GC 法) は食品や飲料の香気成分分析に多用され, 多くの長所をもつ手法であるが, 中高沸点物質に対する感度が低いことが弱点である. 本研究は, 塩析による SHS-GC 法および静的ヘッドスペース固相マイクロ抽出 GC 法 (SPME-GC 法) の測定感度の向上における基礎的データの採取を目的とした. ラ・フランス果汁およびアルコールエステル混合水溶液に飽和量の塩化ナトリウムを添加して SHS-GC 法および SPME-GC 法で分析し, 香気成分の検出感度の変化を計測した.

ラ・フランス果汁, アルコールエステル混合水溶液とも, 塩化ナトリウムを添加することにより, ほぼ全ての香気成分の検出感度が向上した. 塩化ナトリウムの添加による検出感度の向上は, アルコールでは分子量が大きいものでより大きく, エステルでは逆に分子量が小さいものでより大きくなる傾向がみられた.