

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 2 年 7 月 8 日現在

機関番号：11201

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2017～2019

課題番号：17K19215

研究課題名（和文）特徴的な香気成分をハイスループットに探索できる次世代におい分析装置開発への挑戦

研究課題名（英文）A development of an innovative technology to identify key odorants from complex volatile mixtures
<https://www-kofu.jsps.go.jp/kofu1/shinsei/shoriKanri/kadaiKanriList.do>

研究代表者

宮崎 雅雄（Miyazaki, Masao）

岩手大学・農学部・准教授

研究者番号：20392144

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 4,900,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では揮発性化合物の複雑な組成で作られる複合臭から、においに重要な化合物だけを効率的に同定する手法の開発に取り組んだ。具体的にはオMISSION法を全自動化した次世代におい分析装置の開発に挑戦する。オMISSION法とは、香料を調合して香気を再現する際にすべての香料を含むものと一成分を除いたものを作り、嗅ぎ比べ、除いたらにおいが変わるものを探してにおい形成に重要な成分を同定する手法である。これは非常に有効だが煩雑である。そこで香料の構成成分の同定や標品調達を全く必要としないオMISSION試料作成装置を開発し、におい識別装置をオンラインで接続し、ハイスループットな全自動オMISSION装置を完成させた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

我々の身近に存在する飲食品や消臭剤等には、様々な香料が含まれている。香料は、花や果物等が発する香気に似せて作られる。天然物が発する香気は様々な成分で形成され、組成の違いで多様なにおいが形成される。しかし構成成分すべてがにおい形成に寄与するわけではなく、全く寄与しない成分もある。よって香気成分から、においに重要なものだけを効率的に同定する手法の開発が切望されていた。申請者が考案した全自動オMISSION法については、複合臭の各成分を同定する必要、各成分の標品を準備する必要がなく重要な香気成分を絞り込むことができる。よって基礎研究のみならず商品開発など様々な分野で活用されると期待する。

研究成果の概要（英文）：The omission method is useful to identify key odorants each food and drink for developments of flavor and fragrance. In the method, a standard sample consisted of all volatile compounds and test samples, which are omitted one or some volatiles, are reconstructed by mixing authentic chemicals. Then, odor qualities are compared between the standard and the test samples by sniffing; if odor qualities are different between two samples, the omitted compounds are key odorants. However, it is not easy to prepare omission samples, because we have to identify chemical structures of compounds consisting of target odors, obtain authentic compounds, and reconstruct target odors that may be consisted of several compounds. To overcome these problems, we developed a high-throughput GC-MS system to prepare the omission samples automatically.

研究分野：生化学・分析化学

キーワード：香気成分 香料 消臭 GCMS 分析

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

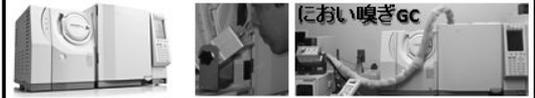
1. 研究開始当初の背景

我々の身近に存在する飲食品や化粧品、洗剤、消臭剤等には、様々な香料が含まれている。香料は、例えばバラの花やヒノキ、柑橘系の果物等の天然物が発する香気に似せて作られている。このような天然物が発する香気は様々な成分が混ざりあって形成されるので複合臭とも言われる。複合臭を形成する成分の種類や構成比の違いで多

種多様なにおいが形成される。しかし複合臭を構成している成分の全てがそのにおい形成に寄与しているわけではなく、寄与する割合が非常に低いものや、全く寄与しない成分も存在する。例えば単体で同じようなにおいを持つ成分が複合臭に二つ含まれていたとき、どちらか一方が無くなっても複合臭のにおいは大きく変わらないことがある。一方、構成比が低いマイナー成分でもそれが無くなると複合臭のにおいが大きく変わることもある。そこで香料の製造現場では、天然物が発する複合臭の中から、におい形成に重要な成分だけを効率的に同定したいという要望が常に生じている。

複合臭からにおいの形成に重要な化合物を探索する手法としてオMISSION法が確立している。例えば右図に示すようにある複合臭がA~Eの5成分で出来ていたとする。複合臭を5種の標品を混合して再現する場合、5成分の中から1成分ずつ除去(オMISSION)した試料も同時に作成する。5成分すべてを含む試料のにおいを基準とした際に、A~Eのどの化合物を除去した試料のにおいが基準臭から大きく変化するか、官能評価者がにおいを嗅いで評価する。例えば化合物Aを除去した試料のにおいが、基準臭から大きく変化していれば、化合物Aが試料のにおい形成に一番重要な化合物であると特定できる。オMISSION法は、複合臭のにおいを特徴づける成分探索法として非常に有効である。しかし現状では、煩雑といった問題点があり、一般にあまり浸透していない。オMISSION試料の作成には、事前に対象となる複合臭の全成分をGC/MSで同定し、再構築の標品を準備しなければならない。我々が普段嗅いでいる食品の香りやペット臭は、通常数百の化合物で構成されているため、GC-MSで数百全ての成分を同定するのは非常に難しく、仮に同定できたとしてもすべての標品を入手するのも難しい。市販されていない成分が含まれていた場合、高度の技術と多大な労力をかけて標品を合成する必要もある。また複合臭の構成比は一般に複雑な場合が多く、標品の調合も大変面倒である。オMISSION試料の数が増えれば官能評価者の労力が増え、複数のオMISSION試料を評価することも難しくなる

従来の分離分析⇒におい同定の限界



GC-MS
構造情報から文献でにおい情報を調べる

におい嗅ぎGC
各成分の構造情報と同時に単体でのにおい質が分かる
個々のにおいの重要度が不明
⇒新たな分析装置の必要性

従来のオMISSION法の概要とその問題点は

複合臭を構成する5成分 A+B+C+D+E (基準臭)

オMISSION試料

- B+C+D+E ← A除去
- A+C+D+E ← B除去
- A+B+D+E ← C除去
- A+B+C+E ← D除去
- A+B+C+D ← E除去

基準臭と各成分除去試料のにおい質の変化を比較

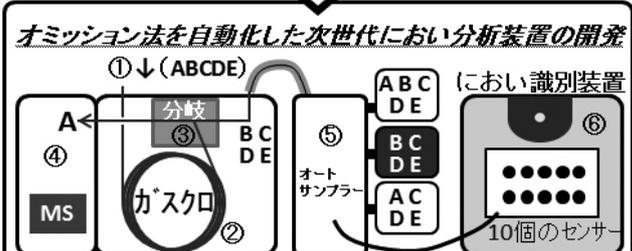
③ 試料の準備が難しい
複雑で調合が難しい
同定できない
市販品がない

紅茶のGC-MS分析結果

⑥ 官能評価が難しい

- 多検体を評価が大変
- 結果の個人差
- 熟練した人材が必要

オMISSION法を自動化した次世代におい分析装置の開発



① 試料の導入
② 成分のガスクロ分離
③ 成分の仕分け(除去したい成分はMSへ)
④ 質量分析で除去成分の確認
⑤ 基準臭、オMISSION試料の作製
⑥ センサーで分析

におい識別装置
10個のセンサー

2. 研究の目的

本研究では機器分析を最大限に活用した全自動オMISSION装置の開発を目指す。具体的には、まず GC のオプションであるスイッチングデバイスを活用し、オMISSION試料作製に成分の同定や定量、標品の準備を全く必要としない前処理装置を開発する。次に既存の金属酸化物半導体センサを有したにおい識別装置を活用して基準臭と各オMISSION試料間のおいの違いを数値化できる解析法を確立する。最終的には前処理装置とにおい識別装置をオンラインで接続し、ハイスループットな全自動オMISSION装置を開発し、有用性を検証する。

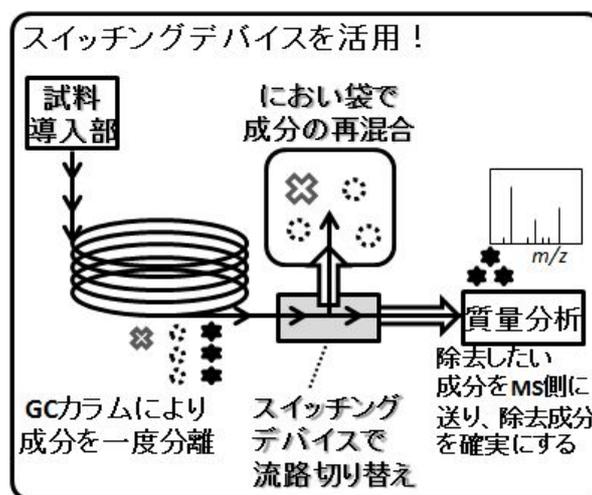
3. 研究の方法

まず香料の構成成分の同定や標品調達を全く必要としないオMISSION試料作成装置の開発と、金属酸化物半導体センサを有したにおい識別装置を活用し、基準臭とオMISSION試料のおいの違いを数値化して順位付けする解析法を確立する。次に試料作成装置とにおい識別装置をオンラインで接続し、ハイスループットな全自動オMISSION装置を完成させる。

4. 研究成果

(1) オMISSION試料自動作成機の開発

GCのカラムで分離した成分を2流路に分岐するスイッチングユニットが市販されている。通常これは、一方を質量分析計に、もう一方を別の検出器に接続して使う。本研究では、スイッチングデバイスをオMISSION試料の作成に使用する。即ちスイッチングデバイスを装着した GC を準備して、試料の構成成分を GC で分離

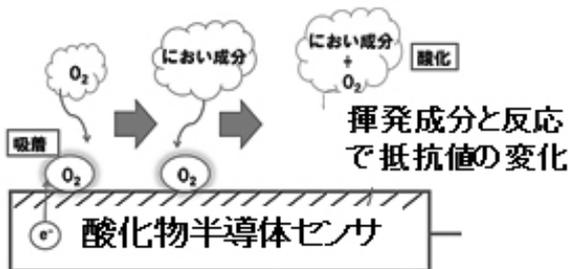


後、除去したい成分のみ MS 側に送り、その他は試料袋に回収して特定成分を除いた複合臭を再構築できるようにした。この大きな利点は、分子種を同定できない成分、ピークとして検出できない化合物でも確実に除去したオMISSION試料を作成できる点、MS 情報から除去した成分を確認できる点、複雑な組成の複合臭でも容易に試料調整できる点にある。本研究では、まず 10 種程度の成分で構成した香料をモデル試料として、90%以上の回収率が得られるように回収部を改良した。

(2) おい識別装置を活用したオMISSION試料の解析法確立

10 種程度の成分で構成され、既に従来のおMISSION法で各成分の寄与度が分かっている人工香料で基準臭とオMISSION試料を作り、化合物に対する反応性が異なる 10 個の金属酸化物半導体センサ(半導体が揮発成分と接触した時に生じる抵抗値変化が数値化される)を有したにおい識別装置(FF- 2020、島津製作所)で測定した。各試料に対して 10 個のセンサ値が得られるので、この値を使い 10 次元上に 1 本のベクトルを描出できる。そして基準臭とオMISSION試料のベクトル間の角度を内積の公式から算出する。基準臭とオMISSION試料の角度が大きい順に並べれば、どの成分を除去した時に複合臭のおいが大きく変わるか、におい形成に寄与する成分を数値で評価できる。標品を使った複合臭で調べると、においがしない成分 3 種を除去したオMISSION試料のベクトルの向きは、基準臭

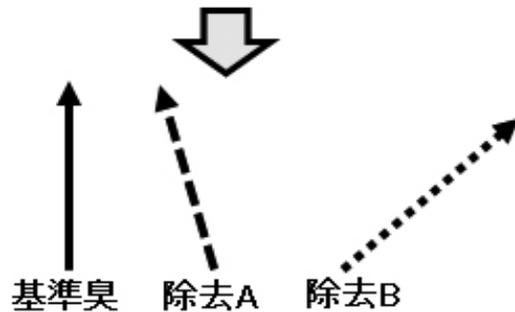
金属酸化物半導体センサを利用したオMISSION試料



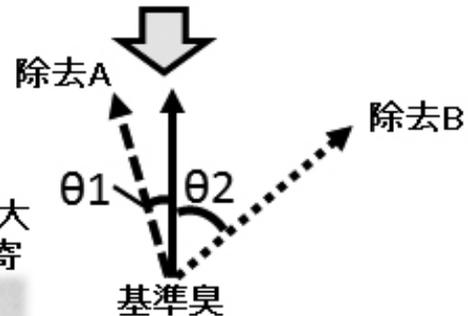
10個のセンサを有するにおい識別装置を活用
(FF-2020、島津製作所)

	CH1	CH2	CH3	CH4	CH5	CH6	CH7	CH8	CH9	CH10
基準臭	0.4402	0.4434	0.2581	0.1556	0.1191	0.5216	0.2665	0.1179	0.3032	0.2554
除去A	0.3914	0.3791	0.2084	0.1301	0.1009	0.4488	0.2463	0.096	0.2668	0.2205
除去B	0.4145	0.4125	0.2507	0.1462	0.1341	0.4779	0.2613	0.1039	0.2887	0.2405

反応性の異なる10個のセンサから得られた数値より、個々の分析試料に対して10次元上に1本のベクトルを算出（においの数値化）



基準臭のベクトルと除去A、除去Bのベクトル間の角度を算出（ベクトル内積の公式活用）



成分Aより成分Bを抜いた時の角度変化が大きいため、成分Bがにおい質形成に大きく寄与していると推察できる（におい質形成への寄与度の順位付け）

除去Bから官能評価で確認する



角度変化の大きさ
 $\theta 1 < \theta 2$

のベクトルの向きとほぼ重なり、ベクトル間の角度が小さかった。よって官能評価をする前に、オMISSION試料自動作成機で作成した試料をにおい識別装置で分析することができると分かった。

(3) 全自動オMISSION装置開発

課題1で開発するオMISSION試料自動作成機のガス回収部のラインを延長してにおい識別装置のオートサンプラーと直結し、試料導入からオMISSION試料の作成、におい識別装置での分析までをすべて自動化させたプロトタイプの作成を行った。複数の試料を夜オートサンプラーのバイアルにいれ、分析を仕掛けると、朝までに作成したオMISSION試料のにおい識別装置による分析が終わっている。分析に余った試料を被験者が官能評価することが可能となり、主観的、客観的に複合臭の作成に寄与する化合物の評価が可能となった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Miyazaki Tamako, Nakata Katsushi, Nishimura Takashi, Abe Shintaro, Yamashita Tetsuro, Miyazaki Masao	4. 巻 82
2. 論文標題 Identification of 2-phenylethanol with a rose-like odor from anal sac secretions of the small Indian mongoose (<i>Herpestes auro-punctatus</i>)	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry	6. 最初と最後の頁 232 ~ 237
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/09168451.2017.1419854	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Miyazaki Masao, Miyazaki Tamako, Nishimura Takashi, Hojo Wataru, Yamashita Tetsuro	4. 巻 44
2. 論文標題 The Chemical Basis of Species, Sex, and Individual Recognition Using Feces in the Domestic Cat	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Chemical Ecology	6. 最初と最後の頁 364 ~ 373
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10886-018-0951-3	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Miyazaki, T., Nishimura, T., Yamashita, T., and Miyazaki, M.	4. 巻 36
2. 論文標題 Olfactory discrimination of anal sac secretions in the domestic cat and the chemical profiles of the volatile compounds	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 J Ethol	6. 最初と最後の頁 99 ~ 105
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10164-017-0532-x	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Miyazaki, M., Toisawa, M., Kita, J., Kinoshita, M. and Yamashita, T.	4. 巻 -
2. 論文標題 An innovative technology to identify key odorants from mixtures of volatile compounds. 2019 IEEE International Symposium on Olfaction and Electronic Nose (ISOEN)	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 2019 IEEE International Symposium on Olfaction and Electronic Nose (ISOEN)	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1109/ISOEN.2019.8823512	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計6件（うち招待講演 2件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 樋澤舞雪、喜多純一、木下太生、山下哲郎、宮崎雅雄
2. 発表標題 自動オMISSION試料作製装置を活用した柑橘系フルーツから特徴的な香気物質の探索
3. 学会等名 日本味と匂学会第52回大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Mayuki Toisawa, Jun-ichi Kita, Takaaki Inoue, Taisei kinosita, Tetsuro Yamashita, Masao Miyazaki
2. 発表標題 An innovative technology to identify key odorants from mixtures of volatile compounds emitted from foods and drink
3. 学会等名 The 3rd International Symposium on Innovations in Plant and Food Science (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 宮崎雅雄、山下哲郎
2. 発表標題 大容量ヘッドスペース自動濃縮装置Entech7200 とGC×GC-MS を活用した香気成分のノンターゲット分析
3. 学会等名 日本味と匂学会第52回大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 樋澤舞雪、喜多純一、青山佳弘、木下太生、山下哲郎、宮崎雅雄
2. 発表標題 全自動オMISSION試料作製装置の開発
3. 学会等名 日本味と匂学会第51回大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 宮崎雅雄
2. 発表標題 全自動オMISSION試料作製装置と酸化物半導体センサを組み合わせた香気分析法の開発
3. 学会等名 香り環境の計測と制御に関する調査専門委員会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 宮崎雅雄
2. 発表標題 ネコの縄張り行動を化学的見地から紐解く：Entech7200とPegasus 4D GCxGC-TOFMSを活用したにおい成分の超高分離分析の一例
3. 学会等名 におい・かおりを科学する2018（招待講演）
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計0件

〔取得〕 計1件

産業財産権の名称 におい評価装置	発明者 宮崎雅雄、喜多純一、木下太生、青山佳弘、山下哲郎	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、第6683318号	取得年 2020年	国内・外国の別 国内

〔その他〕

-

6. 研究組織		
氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考