

in silico 解析によるにおい成分異性体の溶解度パラメータ評価と食品包材への収着挙動解析

九州大学農学研究院 生命機能科学部門食料化学工学講座
松井 利郎

【目的】

近年、環境中の異臭成分が未開封食品の品質劣化を引き起こす異臭事故が多発している。この現象はにおい成分のプラスチック包材への収着により引き起こされると考えられているが、抜本的な対策は講じられていないのが現状である。これまで、当研究室ではFedors定数予測に基づくSolubility Parameter (SP値, δ)を用いて収着理論式 $S = \alpha S_{Oexp} [V_s \{(\delta_w - \delta_s)^2 - \delta_c^2\} / RT]$ を提案し、収着現象の解明を図ってきた。しかしながら、Fedors概念では原子団毎の凝集エネルギー密度の総和として分子凝集性を評価するため、におい成分異性体ではにおいの質や閾値が大いに異なるにもかかわらず、異性体間でのSP値の違いを評価することは不可能であった。そこで、本研究ではにおい成分異性体の収着挙動を正確に把握するために、まず実験的手法（接触角測定）に基づく、におい成分異性体のSP値予測を行った。続いて、予測されたSP値の妥当性を収着試験を実施することで検証するとともに、より客観的なSP値予測法としての*in silico*法の適用を試みた。

【方法】

(1) 接触角測定

接触角測定は接触角測定機 (G-1, Erma 社製) を用いて行った。基材としてpolytetrafluoroethyleneシートを用い、その表面に測定溶液を2.0 μ L滴下後、滴下した液滴の頂点の角度を読み取る直読法により、接触角測定を行った。

(2) 収着量測定

供試プラスチックフィルムとして低密度ポリエチレン (LDPE, 膜厚 30 μ m) を用いた。モデル溶液は、0.1 wt% アラビアガムを含むMacIlvaine buffer (pH 3.0) に対してにおい成分異性体をそれぞれ 50 ppm の濃度となるように添加して調製した。浸漬実験は、4 × 4 cm サイズにカットしたLDPEフィルムをモデル溶液 (20℃) に所定期間 (6 週間)、暗所に貯蔵することにより行った。

フィルムに収着したにおい成分の回収は、50 mL のdiethyletherにLDPEフィルムを2日間浸漬 (室温) することにより行った。におい成分を含むdiethyletherに内標準物質としてethyl pentanoateを0.5 μ L添加し、無水Na₂SO₄を加えることにより脱水処理を行った。その後、

43℃湯浴中で100 μ Lまで濃縮し、GC分析に供した。

浸漬試験終了後のモデル溶液からのにおい成分の回収は、溶液 5 mL に対して 5% NaHCO₃ 溶液 1.5 mL を添加した後、Porapak Type Q を用いた 30 mL の diethylether による固相抽出により行った。続いて、フィルムからの回収と同様に濃縮処理を行い、100 μ L のにおい成分濃縮物を得た。GC 分析条件を以下に示す。

- GC : 島津製作所製 GC-18A
- カラム : Agilent Technologies 製 DB-WAX (30 m × 0.25 mm i.d., 0.5 μ m film thickness)
- 注入口温度 : 250℃
- キャリヤーガス : ヘリウム
- 昇温条件 : 60-240℃ (5℃ /min)

フィルムに収着した化合物量は、溶解度係数 S (μ g · cm⁻³/ppm) で評価した。溶解度係数とはポリマーに対する溶解のしやすさを表す指標であり、1 ppm のにおい成分を含む溶液とフィルムが平衡状態にあるときの、フィルム 1cm³ に溶解しうる、におい成分の収着量を表している。フィルム中のにおい成分量 (μ g/cm³) を溶液中のにおい成分濃度 (ppm) で除することで、溶解度係数 S を算出した。

(3) MOPAC による生成熱の算出

半経験的分子軌道計算プログラム MOPAC を用いて、生成熱 ΔH_f の算出を行った。本研究では、DMSO に溶解したにおい成分を接触角測定に供していることから、におい成分は DMSO 及び空気と接していることになる。そこで、におい成分異性体の ΔH_f の算出は、溶媒環境 (誘電率設定) として DMSO 系及び真空を選択した。なお、真空中の誘電率は空気の誘電率 (1.000536) と仮定して真空中の ΔH_f を算出した。

なお、MOPAC による構造最適化条件は以下の通りである。

Job type : Minimize energy

Theory : AM1 closed shell

Property : Cosmo salvation in water, heat of formation

Additional : GEO-OK MMOK

また、モル体積は構造式描画ソフト ChemDraw を用いて算出した。

【結果及び考察】

(1) SP 値標準成分を用いた接触角と SP 値の相関

SP 値と接触角との相関関係を得るため、異性体間で同じ原子団構成を持たないにおい成分を SP 値標準成分として接触角測定に供した。例えば、1-hexanal は構成原子団としてメチル基を 1 つ有しているが、その構造異性体である 2-hexanal では 2 個のメチル基を有するため、両者は異なる SP 値として算出され、1-hexanal は他の構造異性体とは異なる（独立した）固有の SP 値を示す。本研究で用いた固有の SP 値を示すにおい成分を以下に示した。なお、カッコ内は Fedors 定数により算出した SP 値である。

linalool ($\delta = 20.4$ MPa^{1/2}), 3-phenyl-1-propanol ($\delta = 24.2$), 1-hexanal ($\delta = 19.5$), 1-decanol ($\delta = 20.5$), α -terpineol ($\delta = 22.2$), phenyl propionate ($\delta = 23.1$), 1-octanol ($\delta = 21.0$), benzaldehyde ($\delta = 23.8$), benzylalcohol ($\delta = 26.2$)

これら SP 値標準成分を接触角測定に供した結果、接触角 θ (°) と Fedors 法により求めた SP 値との間には高い相関関係 ($r = 0.947$) が成立することが判明した (Fig. 1)。すなわち、このことは接触角がにおい成分の分子凝集性を示す指標として十分活用可能なことを示唆するものであり、得られた単回帰式を用いることで、これまで推定が不可能であった異性体の SP 値の相違が接触角測定により評価可能なことを示すものであった。

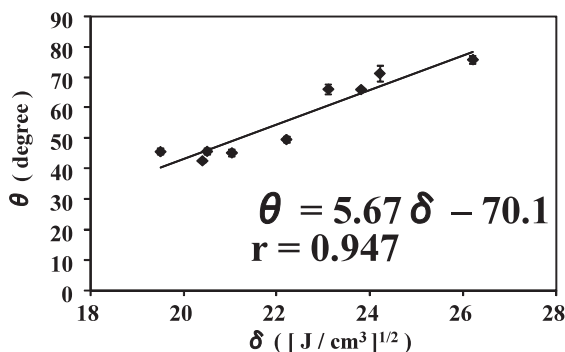


Fig. 1 SP 値 (δ) と接触角 (θ) の相関

(2) DMSO 溶媒中での接触角 - SP 値の相関

常温で固体状態であるにおい成分異性体が存在することから、このようなにおい成分異性体の場合は溶媒に溶解させ、接触角測定を行う必要がある。そこで、前節 (1) で明らかになった SP 値 - 接触角相関の適用性を普遍化するため、溶媒へ溶解したにおい成分についての接触角測定と SP 値との相関解析を再度試みた。におい成分溶解用溶媒として、揮発性が低く、広汎な溶解性を示す dimethylsulfoxide (DMSO) を選択した。

まず、DMSO への添加量の検討を行った。DMSO 溶媒に対する linalool のモル濃度が 0.63, 2.4, 5.6, 13, 51 M となるよう調製した試料を接触角測定に供した。DMSO 中での linalool 濃度の増加に伴い、 θ 値は減少し、モル濃度 5.6

M 以上で linalool 単独で認められた接触角 ($\theta = 42.7$) に近づくことが判明した (Fig. 2)。従って、以降の試験において、DMSO に対するにおい成分濃度は 5.6 M とした。

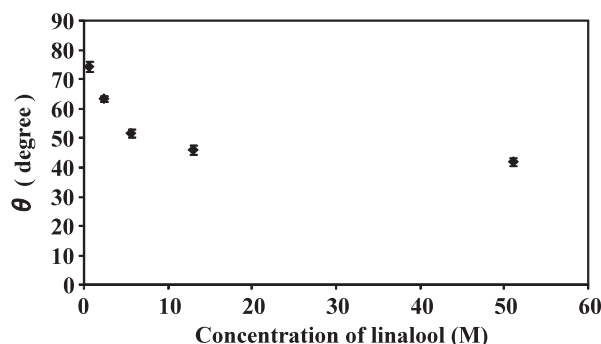


Fig. 2 linalool 添加量の検討

次いで、DMSO 溶解した各種におい成分の接触角測定を再度行い、その相関を検証した。なお、使用したにおい成分は (1) で使用したものに加え、室温で固体である lauric acid ($\delta = 19.1$) を用いた。その結果、Fig. 3 で示したように DMSO 溶解試料についても接触角と Fedors 定数に基づき算出された SP 値との間に高い相関 ($r = 0.967$) が認められたことから、いかなる試料形態に対しても本法（接触角法による SP 値予測）は適用可能であることが判明した。

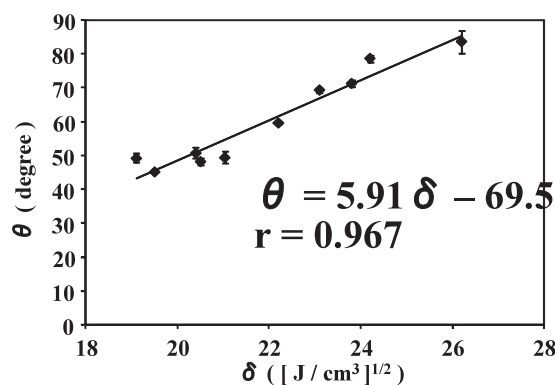


Fig. 3 DMSO 溶解時の SP 値 (δ) と接触角 (θ) の相関

(3) おい成分異性体の SP 値予測及び LDPE フィルムに対する収着挙動

Fig. 3 で得られた単回帰式 ($\theta = 5.91\delta - 69.5$) を用いて、29 種類のにおい成分異性体（構造異性体及び幾何異性体）の SP 値の予測を試みた (Table 1)。その結果、接触角に基づき算出された SP 値は、異性体毎にそれぞれ独立した SP 値を示した。このことは、接触角測定により得られた SP 値が個々の異性体の分子凝集性の違いを的確に反映していることを示唆するものであった。

そこで、接触角による求めた供試異性体の SP 値の妥当性と収着性評価に対する適用性を検証するため、各異性体の LDPE フィルムに対する収着挙動を検証した。実験は、

Table 1 Fedors 定数に基づく SP 値と接触角測定より予測した SP 値の比較

Compounds	SP value (Fedors)	SP value (contact angle)
2-decanol	20.2	19.5
3-decanol		19.9
4-decanol		19.7
2-decanone	17.9	19.1
3-decanone		18.5
4-decanone		17.5
3-methyl-2-pentanone	17.8	21.8
4-methyl-2-pentanone		22.6
2,3-dimethylpyrazine	23.2	24.4
2,5-dimethylpyrazine		24.6
2,6-dimethylpyrazine		25.4
γ -dodecanolactone	18.8	20.6
δ -dodecanolactone		24.1
2,3-lutidine	19.3	25.4
2,4-lutidine		25.8
2,5-lutidine		25.0
2,6-lutidine		25.2
3,4-lutidine		25.3
3,5-lutidine		25.5
(E)-2-hexen-1-ol	22.1	24.1
(Z)-2-hexen-1-ol		23.8
(E)-3-hexen-1-ol	22.1	25.4
(Z)-3-hexen-1-ol		24.6
(E)-2-nonen-1-ol	20.9	22.1
(Z)-2-nonen-1-ol		21.6
(E)-2-hexenal	19.7	25.3
(E)-2-heptenal	19.2	24.9
(E)-2-octenal	19.4	20.1
(E)-2-nonenal	19.1	18.6

各におい成分を溶解させた溶液に, LDPE を収着平衡に達するまで6週間浸漬させ, フィルム及び溶液から化合物を回収, 定量し, 収着量を評価した. Table 1 に示したように, 異性体によって LDPE フィルムに対する溶解度係数は異なる値となった. これまで, 異性体間での収着挙動を比較検討した報告例はなく, 同じ原子団組成を有するにおい成分であっても立体構造の違いによって収着挙動が異なることが初めて明らかとなった. 香気寄与度(閾値)の異なる異性体間での収着挙動の相違は, 香気劣化に大きく影響を及ぼすことから, 本収着試験で得られた知見は極めて重要と考える.

Table 1 で示したにおい成分異性体間での収着挙動の違いを解明するため, 収着時のエンタルピー変化に基づく収着式の適用を試みた. その結果, 溶解度係数の対数値と指数項との間には良好な直線関係が成立し ($r = 0.975$, Fig. 4), Fedors 法に基づく SP 値では困難であった従来法での異性体の収着挙動の予測が可能となった (Fig. 5). また, この知見は, におい成分のフィルムへの収着挙動並びに SP 値が異性体間で異なることを明示するものであり, 接触角測定法より算出した SP 値の妥当性が改めて示された.

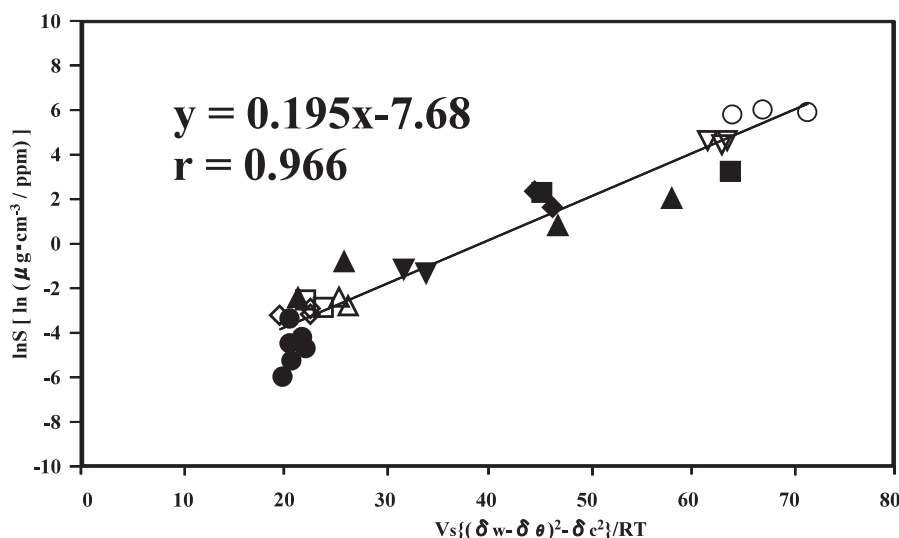


Fig. 4 接触角測定より予測した SP 値を適用した時の収着理論式の指数項と溶解度係数 S の相関

2-, 3- or 4-decanol (○), 2-, 3- or 4-decanone (▽), 3- or 4-methyl-2-pentanone (▼), 2,3-, 2,5- or 2,6-dimethyl- pyrazine (◇), γ - or δ -dodecanolactone (■), 2,3-, 2,4-, 2,5- 2,6-, 3,4- or 3,5-lutidine (●), (E)- or (Z)-2-hexen-1-ol (△), (E)- or (Z)-3-hexen-1-ol (□), (E)- or (Z)-2-nonen-1-ol (◆), (E)-hexenal, heptenal, octenal, nonenal (▲)

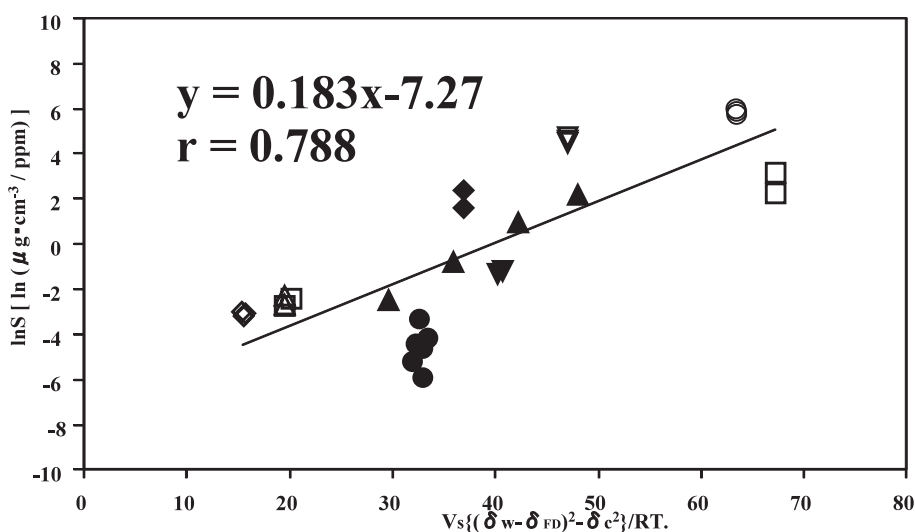


Fig. 5 Fedors 定数より算出した SP 値を適用した時の収着理論式の指数項と溶解度係数 S の相関

2-, 3- or 4-decanol (○), 2-, 3- or 4-decanone (▽), 3- or 4-methyl-2-pentanone (▼), 2,3-, 2,5- or 2,6-dimethyl-pyrazine (◇), γ - or δ -dodecanolactone (■), 2,3-, 2,4-, 2,5- 2,6-, 3,4- or 3,5-lutidine (●), (E)- or (Z)-2-hexen-1-ol (△), (E)- or (Z)-3-hexen-1-ol (□), (E)- or (Z)-2-nonen-1-ol (◆), (E)-hexenal, heptenal, octenal, nonenal (▲)

(4) *in silico* 解析に基づくにおい成分異性体の SP 値予測

SP 値算出式 $\delta = (\text{Ecoh}/V)^{1/2}$ における凝集エネルギーを系の転移エンタルピーと仮定し, DMSO 系での生成熱と真空中での生成熱の差として算出することで, におい成分異性体 21 種について SP 値を算出し, 接触角測定より予測した SP 値と MOPAC より予測した SP 値との相関を検討した. その結果, 構造異性体及び幾何異性体それぞれ

について, 異性体間で相違が確認され (Table 2), 接触角測定より予測した SP 値とも良好な相関が得られた ($r = 0.891$, Fig. 6). このことから, MOPAC に基づくにおい成分の SP 値予測が可能であることが示されたが, その汎用性についてはさらに多種類のにおい成分を用いた検討が必要である.

Table 2 MOPAC に基づく SP 値算出

Compounds	MV [cm ³ /mol]	$\Delta H_f(\text{DMSO}) - \Delta H_f(\text{air})$ [kJ/mol]	$\sqrt{\{[\Delta H_f(\text{DMSO}) - \Delta H_f(\text{air})]/\text{MV}\}}$ [(J/cm ³) ^{1/2}]
2-decanol	191.4	480580	14.3
3-decanol	191.4	481351	13.4
4-decanol	191.4	481408	12.7
2-decanone	190.7	403460	14.7
3-decanone	190.7	399703	14.9
4-decanone	190.7	400079	14.2
3-methyl-2-pentanone	125.0	274223	17.2
4-methyl-2-pentanone	125.0	278386	18.2
2-heptanoic acid	132.3	446379	21.1
3-heptanoic acid	132.3	448727	21.5
2-methylhexanoic acid	139.0	534219	23.2
5-methylhexanoic acid	139.0	536306	24.0
2,3-dimethylpyrazine	108.4	130152	18.8
2,5-dimethylpyrazine	108.4	126372	21.2
2,6-dimethylpyrazine	108.4	127101	21.3
γ -dodecanolactone	212.8	601133	17.8
δ -dodecanolactone	214.1	596593	17.2
(E)-2-hexen-1-ol	118.6	253415	18.3
(Z)-2-hexen-1-ol	118.6	243826	17.2
(E)-2-nonen-1-ol	168.2	339488	16.9
(Z)-2-nonen-1-ol	168.2	329953	16.1

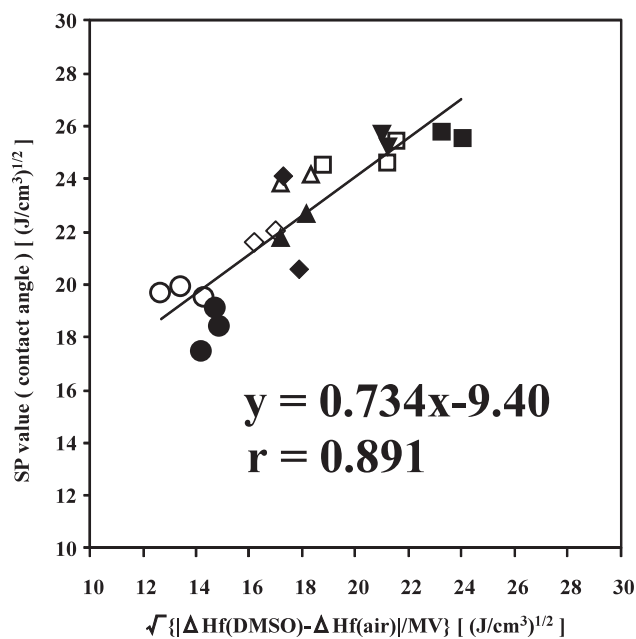


Fig. 6 MOPAC より算出した SP 値と接触角測定より予測した SP 値の相関

2-, 3- or 4-decanol (○), 2-, 3- or 4-decanone (●), 3- or 4-methyl-2-pentanone (▲), 2- or 5-heptanoic acid (▼), 2- or 5-methylhexanoic acid (■), 2,3-, 2,5- or 2,6-dimethyl-pyrazine (□), γ - or δ -dodecanolactone (◆), (*E*)- or (*Z*)-2-hexen-1-ol (△), (*E*)- or (*Z*)-2-nonen-1-ol (◇)