

漁港へドロ分解物の消臭効果とその有効成分

宮崎泰幸^{1†}・黒瀬慶子²・笹野義貴²・加藤重太郎²

Deodorant activity of decomposed fisherboat harbor sludge and identification of its effective compounds

Taiko Miyasaki^{1†}, Keiko Kurose², Yoshiki Sasano² and Jyutarō Kato²

Deodorant activity of decomposed fisherboat harbor sludge solution (DSS) was estimated and its effective compounds were determined, because DSS has been experimentally used as a deodorant for foul smell in fish market ground of the Fukuoka City Central Wholesale Fish Market, Japan. DSS used was obtained from an aerated septic tank incubated with fisherboat harbor sludge. Color of DSS was clear with slight brown and DSS slightly smells like mold. Filtered (0.45 μm) DSS (0.1 ml) was added to 0.5 ml of foul smell compound solution in a sealed vial. The foul smell compounds tested were trimethylamine (TMA), dimethylamine (DMA), propionic acid, butyric acid, isovaleric acid, dimethyl disulfide and dimethyl sulfide. The head space gas was analyzed with solid phase micro extraction—gas chromatograph (SPME-GC) or solid phase micro extraction—gas chromatograph mass spectrometer (SPME-GC/MS) system to estimate deodorant activity. Deodorant activity was shown only against TMA and DMA. About 80 % of TMA in the head space gas for 50 ppm TMA solution in a vial was diminished quickly when DSS was added. High performance liquid chromatography/mass spectrometer (LC/MS) and SPME-GC/MS analysis confirmed that DSS contained myristic acid, lauric acid, palmitic acid, dibutyl phthalate or its derivatives, benzoic acid, 4-ethoxy-, ethyl ester and so on. Concentration of myristic acid in DSS was about 5 ppm. Myristic acid (5 ppm) decreased about 31 % of the head space TMA for 10 ppm TMA solution in a vial. These results indicated that myristic acid is one of the effective deodorant compounds against TMA in DSS.

Key words : Decomposed sludge, Deodorant, Smell, Trimethylamine, Dimethylamine, Myristic acid

緒言

漁港や魚市場では、発生する生ゴミや鱗汚泥から発生する悪臭に悩まされている。社団法人福岡市中央卸売市場鮮魚市場協会では、漁港に溜まったへドロをバクテリアで分解浄化しているが、この分解物である溶液（以下消臭液）を塵芥置場をはじめ市場内随所に散布したところ市場内の悪臭が顕著に減少し、福岡市環境局保健環境研究所による市場内周辺の悪臭成分の分析（同研究所平成14年度非定期依頼検査報告書）でも、トリメチルアミン（TMA）、ノルマル酪酸、ノルマル吉草酸、イソ吉草酸、メチルメルカプタン、硫化メチルなどの悪臭物質が減少したことが確認されている。また、複数のテスターによる報告でも、こ

の消臭液で犬・猫・鶏などの臭気、靴下やゴム長の悪臭、柔・剣道着の悪臭などに対しても官能的に著しい消臭効果が認められたとされる（同協会の非公認資料）。

そこで、この消臭液の数種の悪臭物質に対する *in vitro* での消臭効果を調べ、その有効成分の一部を明らかにした。

材料と方法

消臭液

平成17年4月に社団法人福岡市中央卸売市場鮮魚市場協会から譲り受けた消臭液（ニューシルバーII）のうち、PESメンブレン（孔径0.45 μm ）ろ過した溶液を用いて

2006年9月28日受付. Received September 28, 2006.

1 水産大学校食品科学科 (Department of Food Science and Technology, National Fisheries University).

2 水産大学校食品科学科学生 (Student, Department of Food Science and Technology, National Fisheries University)

† 別刷り請求先 (Corresponding author) :taiko@fish-u.ac.jp

実験を行った。この消臭液は、漁港に溜まったヘドロを浄化槽内で好氣的にバクテリア分解してできた溶液で、わずかに褐色を帯びた透明で、かすかに土臭がしていた。同協会が財団法人日本食品分析センターに依頼分析した報告書では、浄化槽からは *Pseudomonas putida*, *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas chlororaphis*, *Pseudomonas vesicularis*, *Agrobacterium radiobacter*, *Aeromonas hydrophila* などが検出され、サイズ排除クロマトグラフィーによれば消臭液には分子量 500 以下の物質が高速液体クロマトグラフィー (HPLC) ピーク面積で 92% を占めていたとされている。

ガスクロマトグラフィー(GC)を用いた消臭液による消臭効果の測定

10ml バイアルに悪臭物質水溶液 500 μ l および消臭液 100 μ l を入れ、ブチルゴムセプタムでふたをした。十分に攪拌し 10 分間 40°C に保った後、ヘッドスペースガスを固相マイクロ抽出装置 (SPME) (blue fiber, 65 μ m, PDMS/DVD, Supelco, USA) に 40°C で 15 分間吸着させた。吸着させた SPME を GC に適用した。対照実験として、悪臭物質 500 μ l および蒸留水 100 μ l を 10ml バイアルに入れたもので同様に分析を行った。

GC は、日立 G6000 システムに 60m \times 0.25mm (i.d.) CP-Sil 88 キャピラリカラム (VARIAN 製) を用い、検出器としては、日立非水素炎有機物検出器 (NFOD) を用いた。キャリアガスはヘリウムとし、流速 2.5ml/分、カラム温度 50°C (一定) で 10 分間分析を行った。悪臭物質としてはそれぞれ 100, 50, 10ppm に蒸留水で希釈した TMA (キシダ化学), ジメチルアミン (DMA) (シグマアルドリッチジャパン化学用), プロピオン酸 (和光純薬工業特級), 酪酸 (和光純薬工業特級), イソ吉草酸 (和光純薬工業特級), ジメチルジスルフィド (和光純薬工業一級) およびジメチルスルフィド (和光純薬工業特級) を用いた。

対照と試験の添加した悪臭物質のピーク面積の平均 (n=3) に有意 (t 検定 $p < 0.05$) とみなせる差が認められた場合に消臭効果があったものと判断した。

ガスクロマトグラフィー質量分析装置 (GC/MS) を用いた消臭液による消臭効果の測定

10ml バイアルに悪臭物質水溶液 500 μ l および消臭液 100 μ l を入れ、ブチルゴムセプタムでふたをした。充分

に攪拌し 10 分間 40°C に保った後、GC による場合と同様に SPME 吸着を 40°C で 15 分間行った。対照実験として、悪臭物質 500 μ l および蒸留水 100 μ l を 10ml バイアルに入れたもので同様に分析を行った。

GC/MS は、パーキンエルマー社製 Turbo Mass システムに 60m \times 0.25mm (i.d.) DB-5 MS キャピラリカラム (J&W Scientific, USA) を設置した。インジェクト後 1 分間のスプリットレス分析を行った後、スプリットモード (40:1) へ移行した。オープン温度は初期温度 40°C から 3°C/分で昇温し、最終温度 70°C とした。カラムヘッド圧は 20psi とした。悪臭物質としては、TMA (100, 50, 10ppm) 水溶液を用いた。対照と試験の悪臭物質のピーク面積の平均 (n=3) に有意 (t 検定 $p < 0.05$) とみなせる差が認められた場合、減少したピーク面積を対照のピーク面積で割った比率 (%) を消臭効果として示した。また、対照と試験に有意 (t 検定 $p < 0.05$) とみなせる差が認められない場合消臭効果 0% (消臭効果なし) と判断した。

高速液体クロマトグラフィー質量分析計 (LC/MS) を用いた消臭液成分の分析

ろ過 (0.45 μ m) した試料 20 μ l を LC/MS に適用し、分析を行った。LC/MS 装置は、Waters 2690 および Waters TMD System に、4.6mm (i.d.) \times 150mm CAP CELL PAC C18 MG カラム (資生堂社製) を用いた。移動相は 50% メタノールとし、流速 0.3ml/分、イオン化の条件は、ネブライザー温度 100°C, エキスパンション温度 105°C, ソース温度 200°C とした。検出器としては、フォトダイオードアレー検出器 996PDA を用いた。

SPME-GC/MS を用いた消臭液成分の分析

ろ過した試料 1.0ml を SPME バイアル (4ml) に入れ、SPME (blue fiber, 65mm, PDMS/DVD または red fiber, 100 μ m, Polydimethylsiloxane, Supelco, USA) を試料溶液に浸し、40°C で 20 分間吸着・濃縮させた。吸着させた SPME を GC/MS に適用し、分析を行った。

GC/MS は、パーキンエルマー社製 Turbo Mass システムに 60m \times 0.25mm (i.d.) DB-5 MS キャピラリカラム (J&W Scientific, USA) を設置した。インジェクト後 2 分間のスプリット分析を行った後、スプリットモード (40:1) へ移行した。オープン温度は初期温度 40°C から 5°C/分で昇温し、最終温度 240°C とした。カラムヘッド圧は 12psi とした。EI モード 70eV, m/z 20-300/0.5 秒サイク

Table 1 Deodorant activity of decomposed fisherboat harbor sludge solution against several foul compounds

Compounds	Concentration		
	10 ppm	50 ppm	100 ppm
Trimethylamine	Effective	Effective	Effective
Dimethylamine	Effective	Effective	Not Effective
Propionic acid	Not Effective	Not Effective	Not Effective
Butyric acid	Not Effective	Not Effective	Not Effective
Isovaleric acid	Not Effective	Not Effective	Not Effective
Dimethyl disulfide	Not Effective	Not Effective	Not Effective
Dimethyl sulfide	Not Effective	Not Effective	Not Effective

Decomposed fisherboat harbor sludge solution (0.1 ml) was added to 0.5 ml of foul smell compound solution in a sealed vial(10 ml). The head space gas was analyzed with SPME-GC.

ルとした。ピークの同定はリテンションタイムの標純試薬との比較ならびに Mass スペクトルの WILEY, NBS および NIST データベースとの照合により行った。

ミリスチン酸による TMA の消臭効果の測定

悪臭物質水溶液として TMA 水溶液を、消臭液としてミリスチン酸水溶液を用いて GC/MS を用いた消臭液による消臭効果の測定と同様に実験を行った。

結果および考察

消臭液による消臭効果

調べた悪臭物質 7 種それぞれの 100, 50 および 10ppm 水溶液のうち、GC を用いて消臭効果が認められたものは、100, 50 および 10ppm の TMA ならびに 50 および 10ppm の DMA のみであった (Table 1)。つまり調べた濃度では、アミンに対しては消臭効果が認められたが、有機酸や含硫化合物に対して効果は認められなかった。

GC の検出器として NFOD を用いて消臭効果の判定を行った (Table 1) が、TMA では濃度 (10~100ppm) とピーク面積の相関の直線性があまり良くなかった。そこで定量的に精度を上げるために GC/MS を用いて TMA に対する消臭効果を調べた。その結果、消臭液を加えることにより、ヘッドスペースガス中の TMA は、TMA 溶液の濃度が 100ppm で 22%, 50ppm で 81%, 10ppm では 83% が減少した。

消臭液成分の分析

次に消臭液の有効成分の検索を行った。Fig. 1A および B に LC/MS による分析で得られた消臭液の総イオンクロ

マトグラフ (TIC) および紫外吸収検出 (210nm) によるクロマトグラフをそれぞれ示した。TIC では少なくとも 3 つのピーク (P1~P3) が認められ、そのうち 2 つ (P1 および P2) に紫外吸収が認められた。P1~P3 のマススペクトルをとったが、濃度が低かったことに加え、分離が不十分であったため、きれいなスペクトルは得られなかった。しかし、P1 および P2 には m/z 149, P3 には m/z 185 の大きなフラグメントイオンが認められた。

そこで消臭液中の成分を SPME で濃縮し、GC/MS で分析した。SPME には極性の異なる 2 種を用いてそれぞれ GC/MS に適用した。TIC を Fig. 2 に、検出された成分を Table 2 に示した。Fig. 2 で認められた大きなピークの多くはシラン化合物やフッ素化合物で、消臭液を入れないブランクテストでも認められたことから、SPME そのものやセプトム由来であり、消臭液由来のものではないと考えられた。2 種の SPME どちらを用いても最も大きかったピークは、リテンションタイム 38.9 分のピークであり、そのマススペクトルのライブラリによる検索と標品のリテンションタイムから、ミリスチン酸と考えられた (Table 2)。類似の物質としてはリテンションタイム 33.8 分にラウリン酸およびリテンションタイム 43.7 分にパルミチン酸等の脂肪酸が認められた。ミリスチン酸には m/z 185 のフラグメントが検出され LC/MS で得られたピーク P.3 (Fig. 1) のマススペクトルの特徴に一致した。

LC/MS の結果の P.1 および P.2 には m/z 149 の強力なシグナルが観察された。そこで、GC/MS のイオンクロマトグラフを m/z 149 でスキャンしなおしたところリテンションタイム 33.3, 36.6, 36.9 および 43.9 分にピークが認められたが 36.6 および 36.9 分のピークは SPME 由来のフッ素化合物であった。また、GC/MS のデータベース

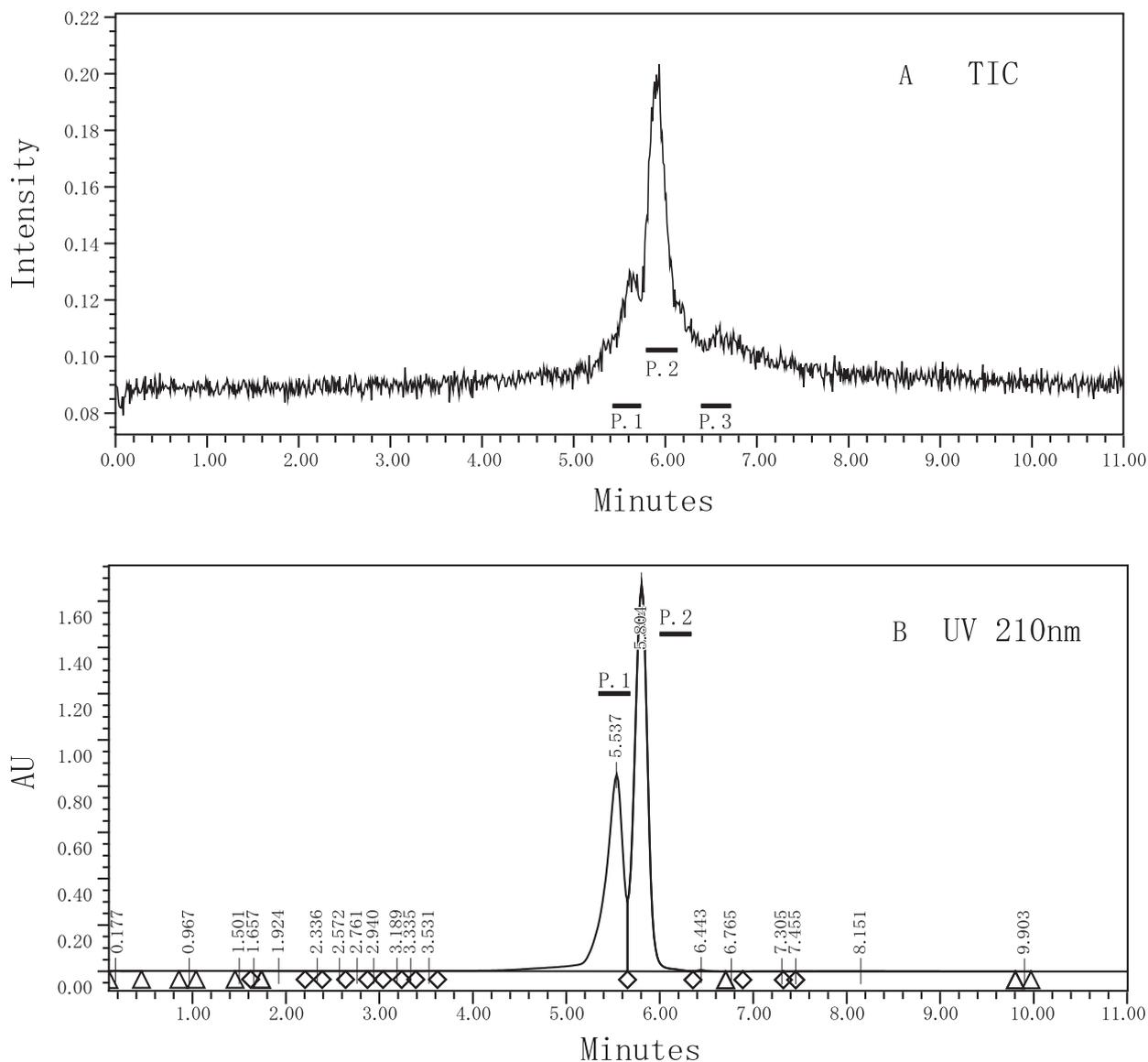


Fig.1

HPLC chromatograms of the decomposed sludge solution detected with a mass spectrometer (A) and a UV detector (B). Filtered solution (20 μ l) was applied to a LC/MS system (Waters 2690 system with 996PDA and TMD). Column used was a CAPCELL PAK C18 MG (5 μ m 4.6 mm I.D.x150 mm), Shiseido Fine Chemicals Co., Japan with 50% methanol (0.3 ml/min) solvent. Total ion chromatograph (TIC) and chromatograph of absorbance at 210 nm are shown. TMD nebulizer, expansion and ion source temperature were 100, 105 and 200°C, respectively.

との照合から、33.3分および43.9分のピークはそれぞれ、4-エトキシ安息香酸エチルエステルおよびジブチルフタレート類縁物質と考えられた。いずれも m/z 149のフラグメントイオンを持ち、さらにベンゼン環の保有により紫外吸収の性質を持つことから、それぞれLC/MSの結果のP.1およびP.2のいずれかに相当すると考えられた。

以上のことから、試料溶液に含まれる主な成分は4-エ

トキシ安息香酸エチルエステル、ジブチルフタル酸またはその誘導体等の類似物質、ミリスチン酸、ラウリン酸およびパルミチン酸等の脂肪酸であると考えられた。そこで、GC/MSでピーク面積の最も大きかったミリスチン酸の消臭効果を調べた。

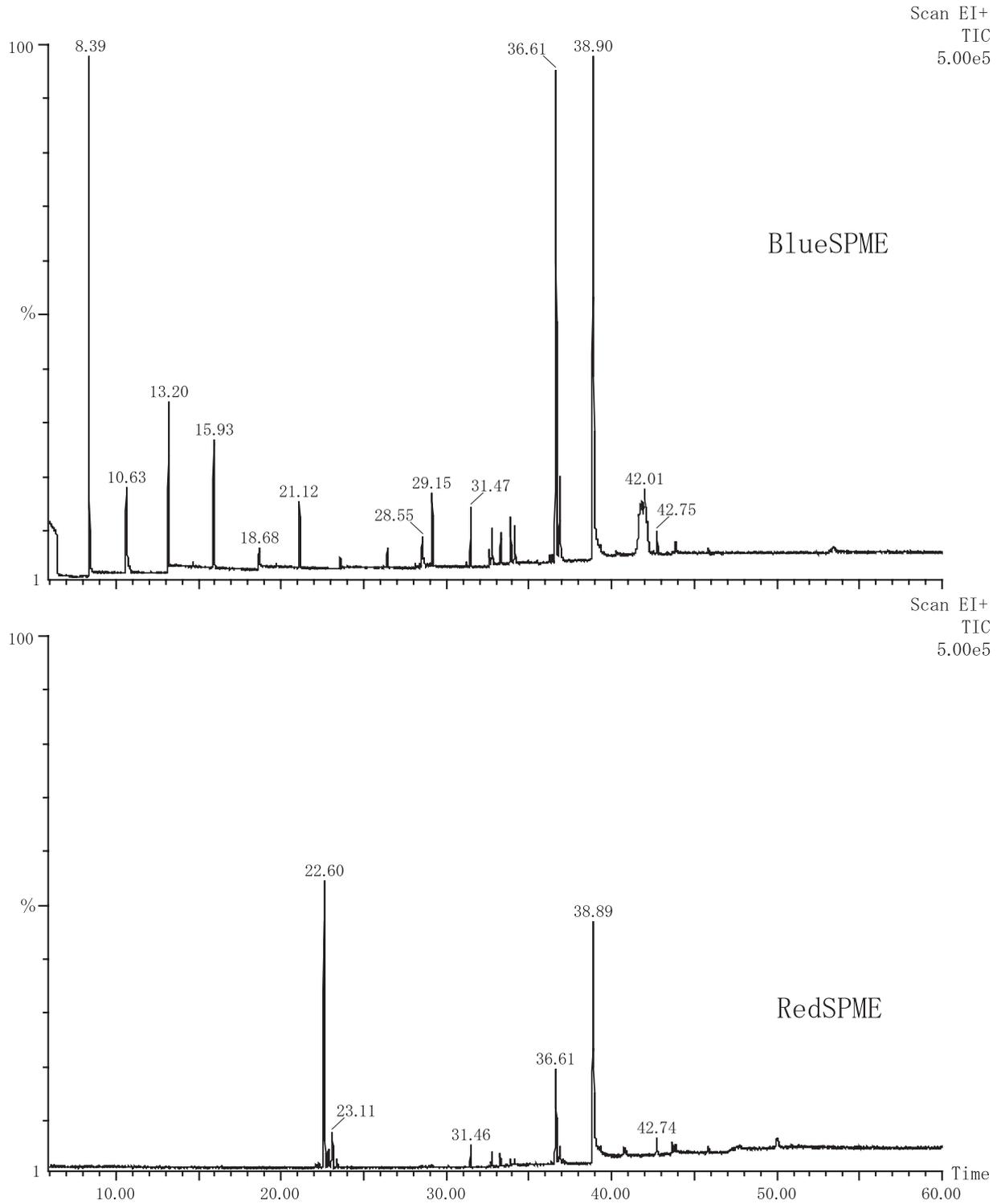


Fig.2

Total ion chromatograph of the decomposed sludge solution. Components of the solution were concentrated with two types of SPME fiber (Blue fiber; Supelco 65 μ m, PDMS/DVD and Red fiber; Supelco 100 μ m, Polydimethylsiloxane) at 40°C for 20 min. The SPME fiber was applied to GC/MS (Perkin Elmer Turbo Mass System) with a DB-5 MS column 60 m \times 0.25 mm (J&W Scientific, USA). Most of large peaks are siloxanes and fluoric compounds derived from SPME fiber. The largest peak of the solution was myristic acid at 38.9min.

Table 2 Detected peaks in decomposed fisherboat harbor sludge solution with SPME-GC/MS

Retention time (min.)	Area (Blue fiber)	Area (Red fiber)	Compounds
8.4	19859		*Si compound* ¹
10.6	6062		*Si compound
13.2	7346		Oxime
14.7	219		Unknown
15.9	6307		Unknown
18.7	1493		*Si compound
19.7	120		*Si compound
21.1	2439		*Si compound
22.1		413	*F compound* ²
22.3		247	*F compound
22.6		17452	*F compound
22.9		1337	*F compound
23.1		2254	*F compound
23.4		520	*F compound
23.6	409		*Si compound
26.2	82		*Si compound
26.4	689		*Si compound
28.1	174		*Si compound
28.4	135		Unknown
28.5	2140		Unknown
29.1	3684		Unknown
31.2	200		*Si compound
31.5	2612	978	Unknown
32.6	480		*Si compound
32.8	1735	918	Bisphenol
33.3	1600	905	Benzoic acid, 4-ethoxy-, ethylester
33.9	2685	363	Lauric acid
34.1	1944	240	Benzopyran
35.5	112		*Si compound
36.3	355		*Si compound
36.4	614		*F compound
36.6	34112	6693	*F compound
36.9	5006	1004	*F compound
38.9	43305	20714	Myristic acid
39.3	182		Bisphenol derivative
40.3	139		*Si compound
42.0			*F compound
42.7	1315	1076	Unknown
43.7		680	Palmitic acid
43.9	688	434	Dibutyl phthalate or derivatives
45.9	257	447	Butyl phthalate
50.0		1538	Unknown
53.4	406		*Si compound

*, derived from SPME fiber or septum.

*¹, Si compound is siloxane or its derivatives.

*², F compound is fluoric compound.

ミリスチン酸の TMA に対する消臭効果

100, 50 および 10ppmTMA に対してミリスチン酸の濃度を変えて消臭効果を調べ、結果を先に示した消臭液の消臭効果とあわせて Table 3 に示した。各濃度の TMA に対して消臭液と同等の消臭効果を発揮するには、100～500ppm のミリスチン酸が必要であったが、ミリスチン酸は TMA に対して消臭作用があることが明らかとなった。

Table 3 Deodorant activity of myristic acid against various concentrations of trimethyl amine (% decreased)

Concentration of myristic acid (ppm)	Concentration of Trimethylamine (ppm)		
	10	50	100
5	31	0	0
10	62	—*1	—
50	62	39	—
100	85	—	11
250	—	72	—
500	—	89	26
1000	—	—	38
Decomposed sludge solution*2	83	81	22

*1, not tested.

*2, not diluted original deodorant solution.

Trimethylamine solution(0.5ml) and myristic acid solution (0.1ml) were sealed in a vial(10ml) and stayed at 40°C for 10min with shaking. The head space gas was analyzed with SPME-GC/MS.

消臭液のミリスチン酸濃度と消臭効果

消臭液を SPME-GC/MS に適用した方法に従い、消臭液に含まれるミリスチン酸量を定量したところ、およそ 5 ppm であった。Table 3 に示したように、5 ppm の標品のミリスチン酸であっても 10ppmTMA に対して 31% の消臭効果、つまり消臭液のおよそ 37% (31/81×100%) の消臭効果が認められた。

こうしたことから、消臭液にはミリスチン酸以外にも消臭効果を発揮する物質があることが考えられた。消臭液にはミリスチン酸以外にもラウリン酸などの脂肪酸やジブチルフタル酸などが含まれていたが、ミリスチン酸と同様に酸であったり、それらの構造から界面活性作用を有していることなどから、これら物質には塩基である TMA に対して消臭効果が期待できる¹⁾。ミリスチン酸に、これら有機酸あるいは消臭液に検出された 4-エトキシ安息香酸エチルエステルやジブチルフタレート類縁物質などの作用が加わり、消臭液の効果に寄与していることも考えられる。

今後、これら物質の濃度を明らかにし、その濃度での消臭効果やこれら物質を混合することによる効果なども明らかにする必要がある。

総合考察

消臭液に含まれていたミリスチン酸には TMA に対して消臭効果が認められた。ミリスチン酸以外の消臭液に含まれていた脂肪酸にも消臭効果が期待できる。こうした脂

肪酸は、洗剤や魚類等由来の漁港ヘドロが分解し生成した物と考えられた。消臭液にはまた、内分泌かく乱作用が疑われるジブチルフタル酸やエトキシ安息香酸などが含まれており、プラスチック可塑剤などの石油工業製品由来の物質と考えられる。安全性が疑わしいこれら物質を含む消臭液は、その適用対象を十分に考慮して使用する必要がある。魚介類の腐敗臭の一つである TMA²⁾が効果的に消臭できたことから、消臭液を商品の鮮魚に直接触れることのない魚市場構内塵芥置き場等に散布することは効果的であ

ると考えられる。

消臭液の消臭効果は官能的に瞬時に発揮したことから、バクテリアなどによる生物的分解とは異なり、化学的な作用によるものと考えられた。

福岡市環境局保健環境研究所による市場内周辺の悪臭成分の分析（同研究所平成 14 年度非定期依頼検査報告書）では、TMA 以外の異臭成分（有機酸や含硫化合物）に対しても消臭液は消臭効果があったとされる。今回の *in vitro* 実験では 10ppm 以上の悪臭物質水溶液を用いた。これらの物質は、さらに 1/1000 程度の濃度でも官能的にはにおいを感じるものも多く³⁾、より低濃度の実験も行うべきと思われる。また、より低濃度であれば、TMA や DMA 以外に対しても消臭効果が認められたかもしれない。しかし 10ppm 水溶液であっても、分析を行ったそのヘッドスペースガス中の濃度は検出器の検出限界に近いものであり実験方法の検討が必要である。

また、消臭液を魚市場に散布した場合、有機酸や含硫化

合物に対しても消臭液は消臭効果があったとされることから、今回調べたミリスチン酸などの脂肪酸だけでなく、消臭液から検出された4-エトキシ安息香酸エチルエステルおよびジブチルフタレート類縁物質の有機酸や含硫化合物に対する消臭効果も明らかにする必要があるが、こうした実験は今後の課題としたい。

なお今回の実験モデルは、魚市場での消臭剤の散布の例のように希薄な濃度の悪臭物質（床などに残った悪臭成分）へ消臭剤を散布した場合ではなく、高濃度の悪臭源に消臭剤を散布した場合の環境中への悪臭成分の逸散量の評価であると考えられる。

謝 辞

本研究は、社団法人福岡市中央卸売市場鮮魚市場協会

甲斐田克治氏からの依頼により、食品科学科経費を用いて行った。関係各位に御礼申し上げます。

参考文献

- 1) 谷田貝光克, 川崎通昭: 香りと環境, アロマサイエンスシリーズ 21 ④, フレグランスジャーナル社, 東京 (2003).
- 2) 大田静行 (編): 魚臭・畜肉臭~においの化学とマスキング~, 初版. 恒星社厚生閣, 東京, p.2 (1981).
- 3) 石黒辰吉: 臭気の測定と対策技術, 第1版第1刷, オーム社, 東京, 12-13 (2002).