

# 生理的状态を反映する匂いシグナルの同定

東京大学大学院農学生命科学研究科応用生命化学専攻生物化学研究室  
ERATO 東原化学感覚シグナルプロジェクト

しらす みか  
白須 未香

生物が放出する匂い“体臭”とは、体中の様々な分泌腺、器官、疾患患部などから分泌・放出される匂い成分の総体と考えられる。私たち、動物は自らの生理状態に起因する「匂い」を分泌して、周囲へ自らの存在を知らしめるとともに、他者から発せられた「匂い」を受け取ることで、様々な情報を得る。私たちの研究室では、体臭を化学シグナルととらえ、生物間コミュニケーションにおける化学シグナルの役割を理解することを目的とし、様々な分析化学的手法、官能評価法、行動実験を並行して行っている。本セッションでは、主に匂い嗅ぎガスクロマトグラフ質量（匂い嗅ぎ GCMS、図 1）を用いて、ヒトを含めた霊長類の体臭成分分析を行った研究を 2 例報告させていただきたい。

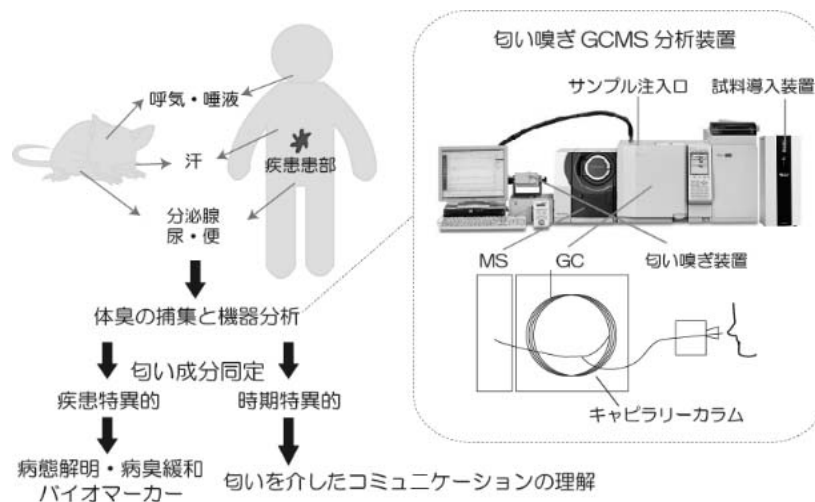


図 1 体臭研究（匂い捕集・分析・応用）の流れ

（右）体臭をそれぞれの性質に合わせた手法で捕集し、疾患や時期特異的な匂い成分を同定する。さらに、匂い成分の産生メカニズムや役割を解明する。（左）分析には、匂い嗅ぎ GCMS を使用。本装置は、質量分析計でサンプル構成成分の化学構造を、匂い嗅ぎポートでそれぞれの匂いの質を知ることができる。また、加熱脱着、冷却捕集、DMI (Difficult Matrix Introduction 法) が可能な試料導入装置(OPTIC4)を用いることで、これまでサンプル量が少なく分析困難な試料にも対応可能となった。

## 1) 疾患に伴う体臭変化メカニズムの解析 —浸潤性がんの場合—

現代人の代表的な疾患であるガンの中でも、特に皮膚に浸潤し自潰する進行乳ガン・進行頭頸部ガンにおいては、患部が特有の強烈な悪臭（ガン性悪臭）をもつことがある。こうした進行がん症例の多くは、手術等が根治的介入にならないため悪臭は患者のクオリティーオブライフをさげる大きな問題となる。悪臭は自潰したガン局所の感染が原因と考えられているが、感染菌は未だに同定されておらず、臨床現場における一般的な抗菌剤の処方消臭に対して必ず

しも有効な手段とはなっていない。私たちは、国立がんセンター長井俊治医師協力のもと 2009 年に、癌性悪臭の原因となる匂い成分 Dimethyl trisulfide (DMTS) (腐ったタマネギ様の匂い)、Trimethylamine (TMA) (腐魚臭)、Isovaleric acid (足裏臭) を匂い嗅ぎ GCMS 分析により同定した (Shirasu et al., Biosci. Biotechnol. Biochem, 2009)。今回、新たに十数名の癌患者患部の匂い分析、癌局所の網羅的菌叢同定、患部から生菌分離した菌自身が発する匂いの分析を行った。その結果、特に癌性悪臭の強い患者の患部には、悪臭を多く産生する特定の菌が共通して存在することが分かった (図 2) (Shirasu et al., in preparation)。

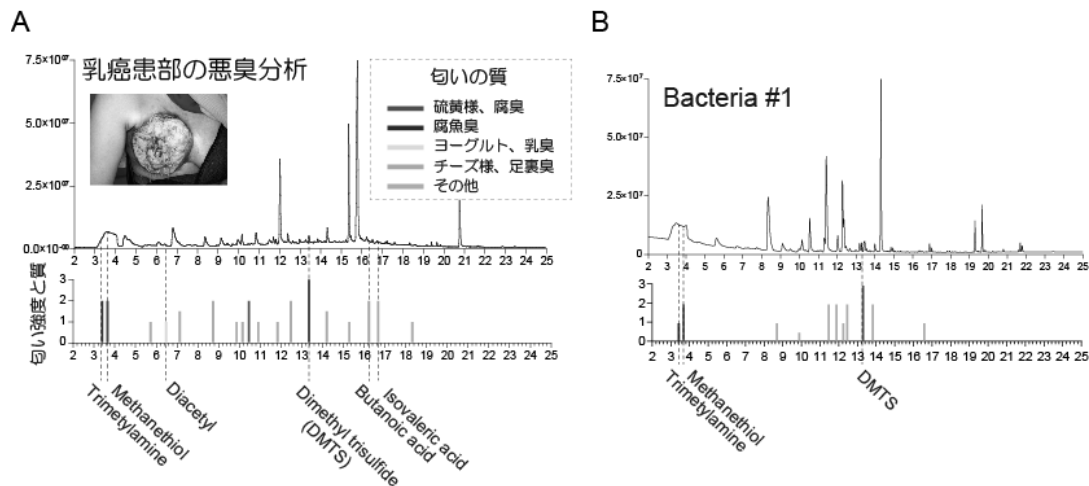


図 2 癌性悪臭の原因菌同定及び悪臭の産生メカニズム

(A) 乳癌患部の写真と匂い嗅ぎ GCMS 分析結果。DMTS を含む複数の悪臭が存在する。(B) 患部から同定された細菌を血液寒天培地で培養しそのヘッドスペースの匂い嗅ぎ GCMS 分析を行うと、DMTS、TMA が検出された。

## 2) 繁殖期を特徴づける体臭成分の解析 —ワオキツネザルの場合—

霊長類のなかでも、曲鼻猿類に属するワオキツネザルは、嗅覚コミュニケーションが発達しており、オス・メスの陰部、オスの腕に存在する臭腺 (上腕腺：腋の手前側、前腕腺：手首の内側) を用いて、普段の生活の中で様々なマーキングを行う。また、ワオキツネザルのオスの繁殖期特有の行動として、敵対するオスへの威嚇や、メスに対するセックスアピールの際に、自身の前腕腺の匂いをこすりつけた尻尾を相手に向けて振る“尾揺らし行動 (テールウェービング)”が報告されている (図 3)。

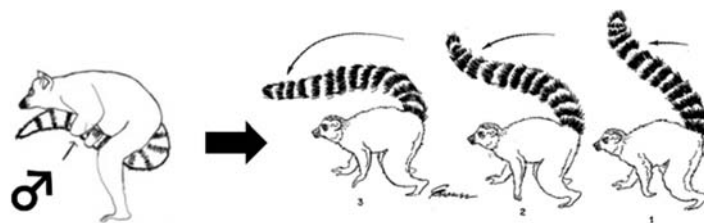


図 3 オスの匂い付け行動・尾揺らし行動

オスのワオキツネザルが、腕の臭腺を尻尾にこすりつけ尾揺らし行動を行う様子 (絵：宗近功、C.S. Evans, 1968)

しかし、現在までに、オスがマーキングに最もよく使用する前腕腺分泌液の成分分析の報告はなく、繁殖周期に伴って変化する成分についても報告されていない。そこで、私たちは京都大学霊長類研究所の今井啓雄先生、東京農業大学進化生物学研究所の宗近功先生との共同研究で、約2年に渡り定期的にオスの前腕腺分泌液を採取し、分泌液の成分分析と、オスの前腕腺分泌液に対するメスの行動を調べた。まず、分泌液の匂いに対するメスの反応を観察したところ、繁殖期の分泌液に対してメスは興味を示し、より長く匂いを嗅ぐことが確認された。なお、ヒトによる官能評価を行ったところ、繁殖期の分泌液は非繁殖期と比較して、フルーティ・フローラル様の香りが強いことが分かった。次に、匂い嗅ぎガスクロマトグラフ質量分析計を用いて、前腕腺分泌物の成分分析を行った結果、フローラル様の香りを呈する複数の長鎖アルデヒド (#21,26,28) が繁殖期に有意に増加していることが分かった (図4)。

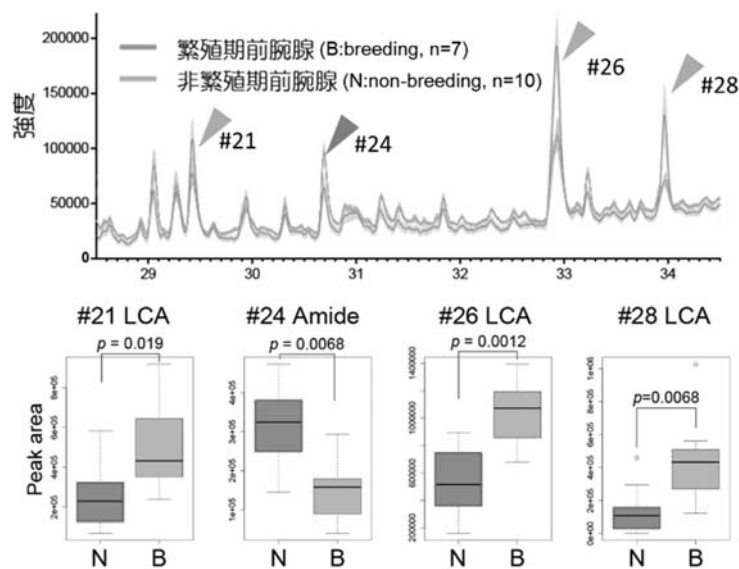


図4 ワオキツネザルの前腕腺分泌液の成分解析

(上) 繁殖期 (Breeding) と非繁殖期 (Non-breeding) のオス前腕腺分泌液の GCMS 分析結果。(下) 繁殖期と非繁殖期で分泌量に差が生じた成分。LCA : long chain aldehyde。Brunner-Munzel test with Benjamini-Hochberg correction.

また、オスの体内テストステロン濃度は繁殖期に増加することが既に報告されていたため、非繁殖期のオスにテストステロン投与を行い疑似繁殖期状態にしたところ、前出の長鎖アルデヒド群の含有量が繁殖期と同レベルまで上昇した。そこで、長鎖アルデヒド群のみの混合物をメス個体に呈示したところ、コントロールと比べて匂い嗅ぎ時間が有意に長くなることが分かった。以上より、オスの前腕腺に含まれ繁殖期に増加する長鎖アルデヒド群は、メスを誘引する化学シグナルとして機能している可能性が示唆された (Ito and Shirasu et al., manuscript in preparation)。本研究は、霊長類で初めてシグナルとして機能しうる成分を同定したものであり、霊長類の匂いコミュニケーションを研究する上で非常に興味深いものである。

私たちの研究室では、今回紹介させていただいた研究以外にも、さまざまな生物の体臭をターゲットとした嗅覚研究を行っており、皆様のご指導をいただけますと幸いです。

白須未香

連絡先: 〒113-8657 東京都文京区弥生 1-1-1 農学部 2 号館 203

E-mail: ashirasu@mail.ecc.u-tokyo.ac.jp

## 略歴

東京大学理学部生物化学科卒業

同大学院新領域創成科学研究科先端生命科学専攻後期課程修了 (生命科学博士)

平成 20 年 日本味と匂学会第 42 回大会若手ポスター賞

平成 21 年 32nd Annual CTRC-AACR San Antonio Breast Cancer Symposium, Avon  
Foundation-AACR International Scholar-in-Training Grant

平成 22 年 東京大学大学院農学生命科学研究科応用生命化学専攻 特任研究員

平成 22 年 日本農芸化学会トピックス賞

平成 25 年 東京大学大学院農学生命科学研究科応用生命化学専攻  
ERATO 東原化学感覚シグナルプロジェクト 特任助教

平成 26 年 日本農芸化学会トピックス賞

平成 29 年 日本味と匂学会研究奨励賞



## におい受容機構を考慮した GC-MS データの見方

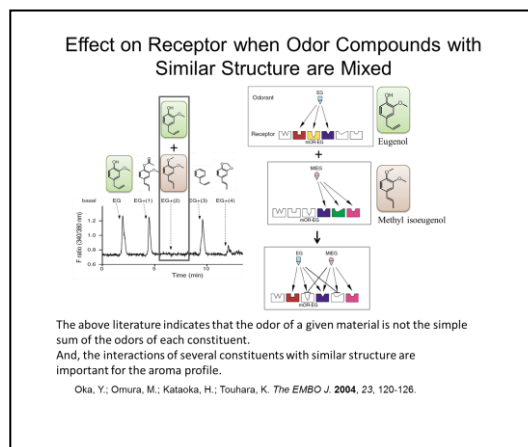
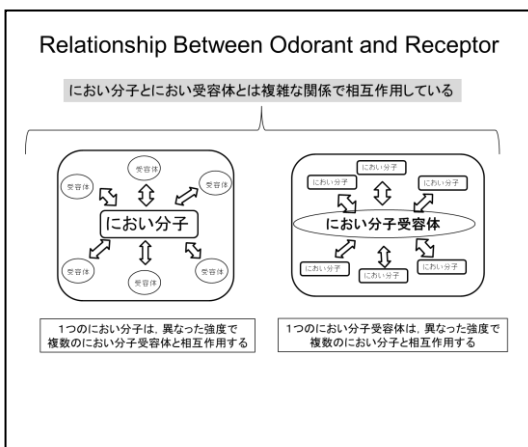
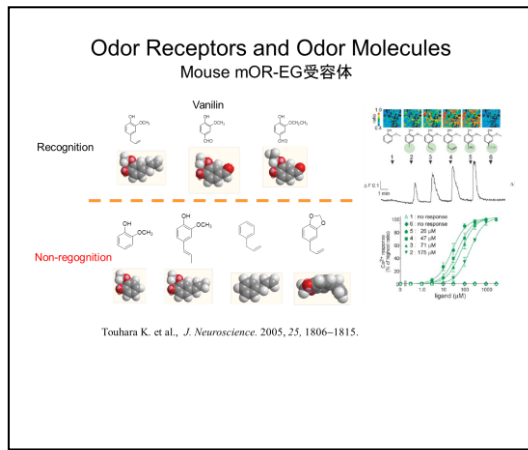
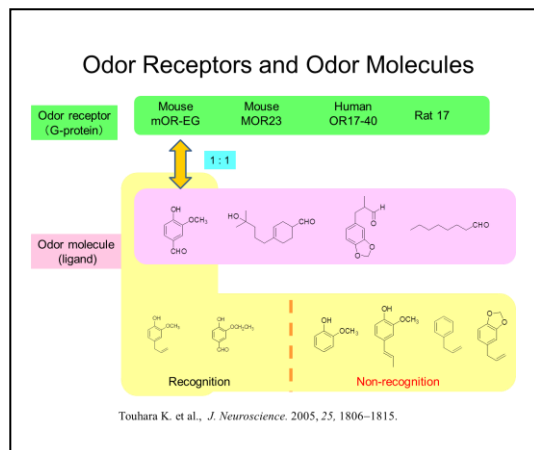
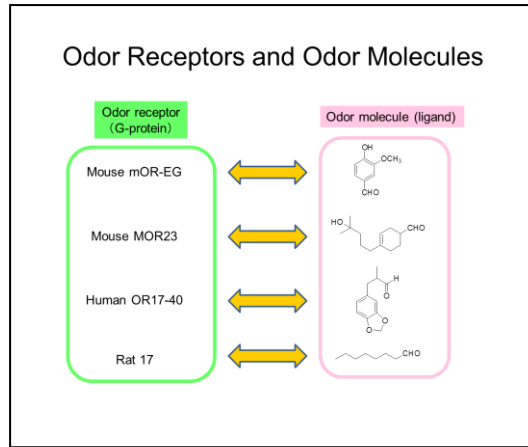
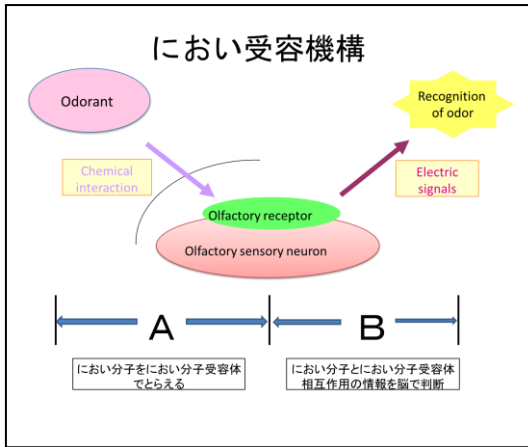
埼玉大学大学院理工学研究科 長谷川登志夫 (はせがわ としお)

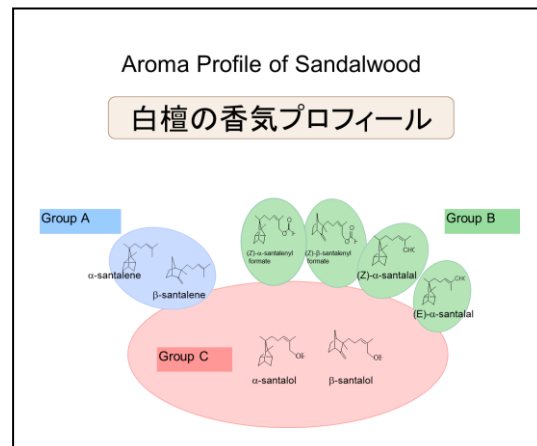
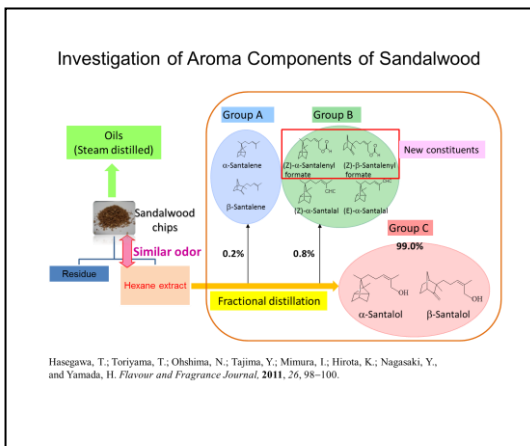
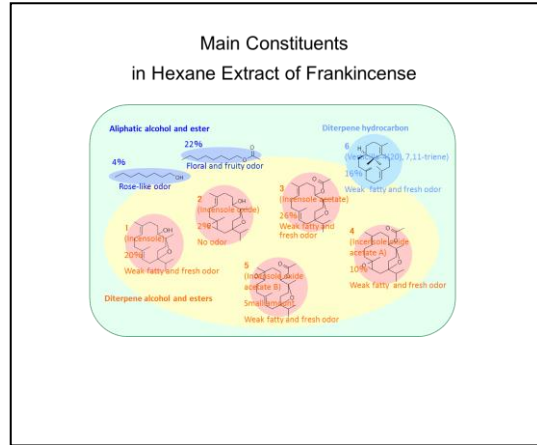
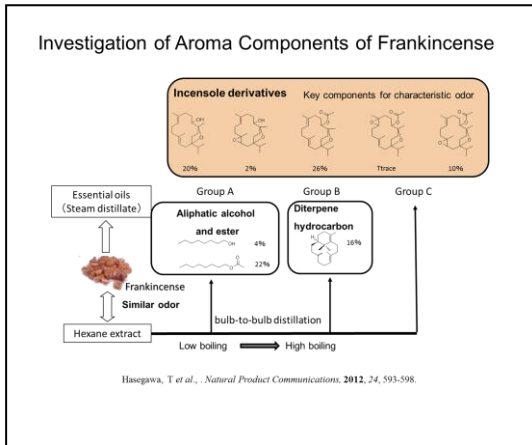
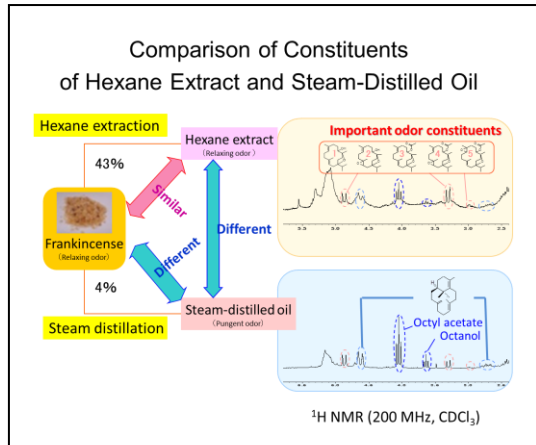
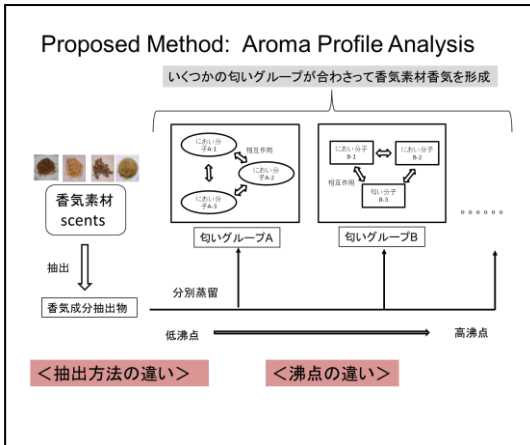
人がにおいを感じるプロセスの第一段階は、におい分子とにおい分子受容体との相互作用である。この相互作用の関係は単純な 1 : 1 対応になっていない。1 つのにおい分子は、複数の受容体によって異なった強さで認識され、一方、1 つの受容体は複数のにおい分子によって異なった強さで認識されている。このように、におい分子と受容体の関係は複雑である。現在までに分かっているにおい受容機構に関する研究から、構造の類似したにおい分子同士が混在する場合、受容体との相互作用において分子同士が相互に影響を及ぼしあうことが考えられる。香気素材の香気は、多くのにおい成分から構成されている。したがって、香気素材を構成する複数のにおい分子同士の相互作用によって、結果的に個々の成分の香気と素材の香気を直接結びつけることが困難になってしまう。

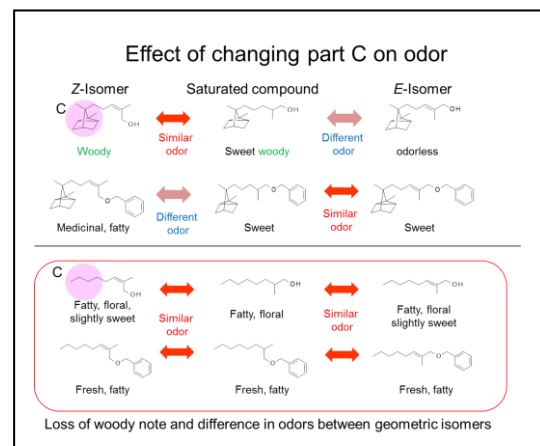
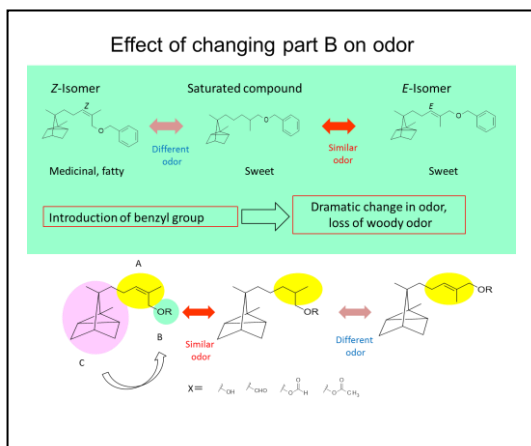
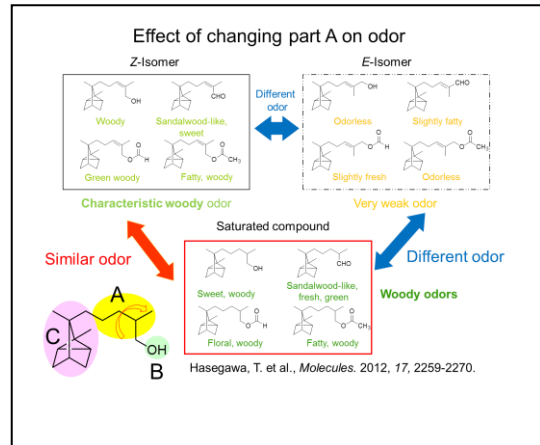
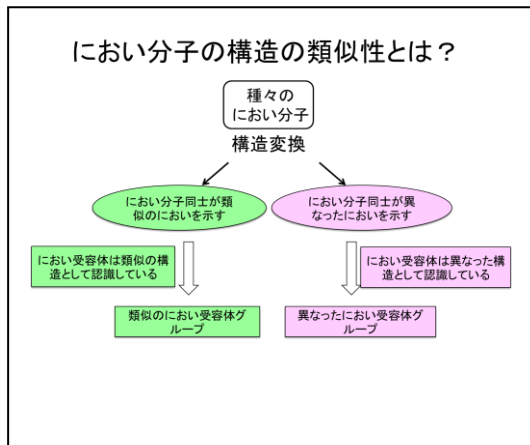
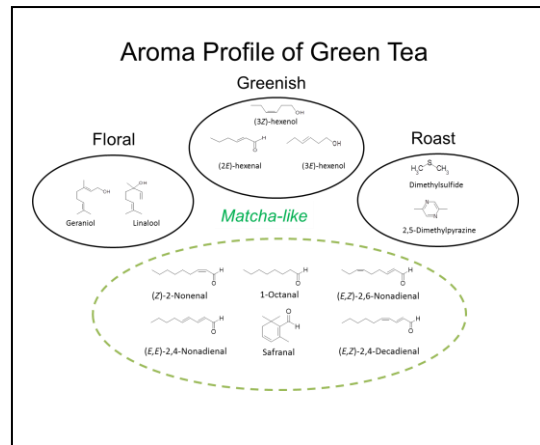
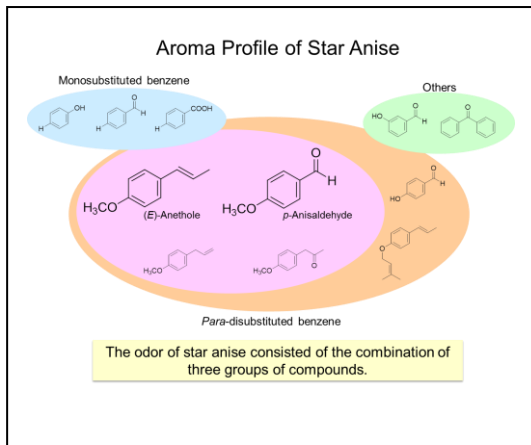
この問題を解決するには、におい分子間の相互作用を考慮した香気評価をする必要がある。つまり、相互作用しうる構造の似た分子同士を分けることなくグループとしてあつかって、素材そのものの香気を評価することである。この考えの下、新規の評価法を提案し、乳香やサンダルウッド (白檀) などの香材の香気について検討した。乳香のヘキサン抽出物を減圧分留することにより香気成分をほぼ 3 つの Group に分離できた。得られた留分の香気と含有成分の検討から、最も高沸点のジテルペン類を主成分として含有している留分 (構造類似の incensole 誘導体から構成されている) が乳香香気の特徴の発現にとって重要な成分群であることが見出した。この乳香香気の特徴を有している香気成分群の構成成分を単離して個々の香りを確認した。含有成分の incensole 誘導体は、いずれも脂肪臭様の香りを示した。つまり、個々の成分ではなく、これら類似の成分の集合 (相互作用) によって初めて乳香の香気が発現していることが判明した。同様の手法で、サンダルウッド (白檀) の香気特性の解明も行った。白檀材は、清々しいわゆる白檀の香りを有していた。この素材のヘキサン抽出物は素材の香りにかかなり類似し、その含有成分の大半は従来から報告されている白檀の主要二大成分  $\alpha$ -santalol と  $\beta$ -santalol であった。これらの成分以外に、ごくわずかではあるがホルミル基を有する化合物群に違いが認められた。この抽出物を減圧下注意深く分留することで、低沸点からそれぞれ香気の特徴の異なる 3 つのグループ Group A, Group B, そして Group C を得た。Group C の留分はほぼ  $\alpha$ -santalol と  $\beta$ -santalol から構成されていた。その香気の特徴から、白檀のベースとなる白檀香であることが認められた。Group B は、爽快な強い白檀香を有していた。構造類似のホルミル基を有する化合物群からなるこのグループの化合物が、白檀香気にとって重要な鍵化合物であることが判明した。さらに、その含有成分をそれぞれ単離したところ、いずれも Group B の有する爽快な強い白檀香とは明確に異なったにおいを有していた。相互作用を考慮した構造の類似したにおい成分から構成される成分群が得られたことになる。以上の検討によって、特徴的な分子構造を有する一群の成分群 Group A, Group B, そして Group C によって、白檀の香気の特徴を捉えることができた。これらをはじめとした一連の研究から、におい受容機構を考慮した、つまり構造類似の化合物間の相互作用を考慮することが、香気特性解明にとって重要であることを明らかにした。さらに、におい分子の受容体から見た構造の類似性についての知見を得るために、におい分子の構造と香りの関係についても検討した。その結果、見た目には類似構造と判定できない分子同士のにおい発現における構造類似性についての知見が得られた。

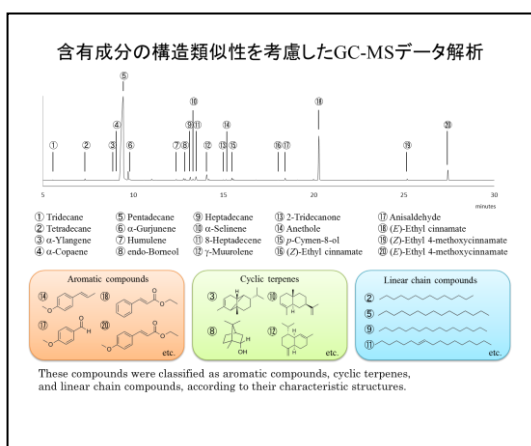
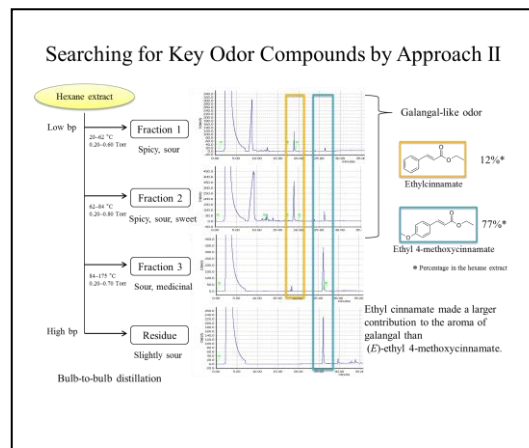
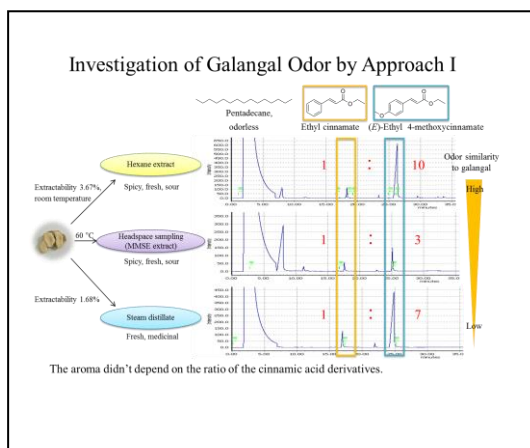
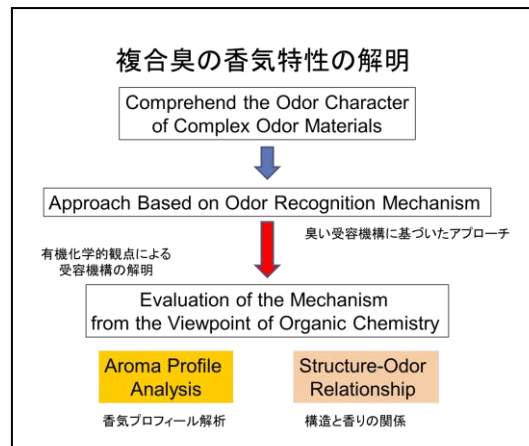
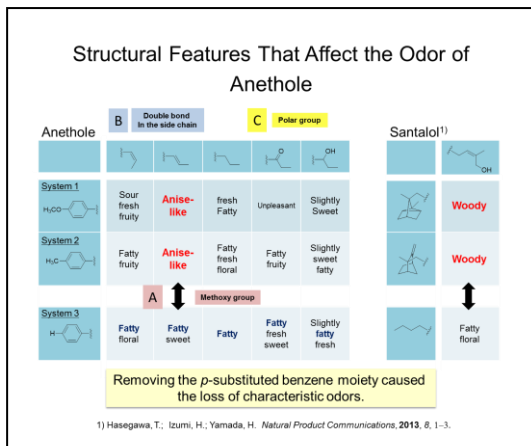
このような一連の検討によって得られた具体的な知見は、実際に得られた GC-MS データを、構造類似の構成成分のグループで分類してとらえることの重要性を示している。

<講演 PPT 抜粋>









筆者略歴

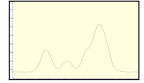
1982年埼玉大学理学部化学科卒業、1983年東京大学大学院理学系研究科有機化学専攻修了。理学博士。埼玉大学教養部教務職員、埼玉大学理学部基礎化学科助手を経て、2007年4月から現職。専門は香料化学、天然物化学。有機化学的なアプローチから、香気分子からどのようにして様々な匂いが作り出されているのか、その仕組みの解明に挑んでいる。

複雑なおい成分分析に有効な  
デコンボリューションテクニック

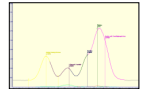
アナリティクス株式会社  
矢島敏行

はじめに

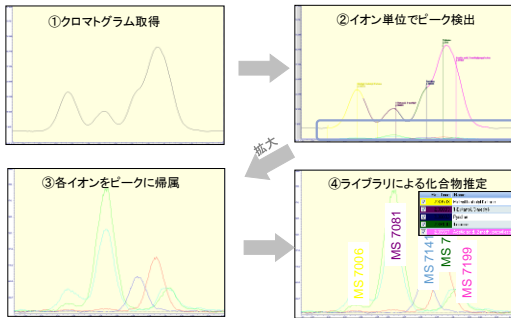
食品、化粧品に限らず、においは複数の揮発性成分により構成されることが多く、ガスクロマトグラフィーによる分離・検出に時間を要することや分離自体が困難なことも



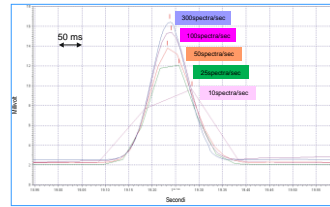
デコンボリューション  
クロマトグラムで分離が難しい化合物を質量分析装置で得られたスペクトルのイオン単位で分離する方法



デコンボリューション模式図

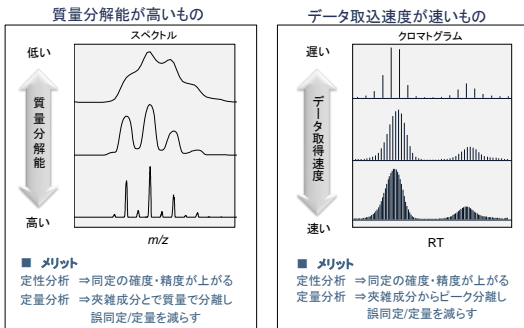


正確なピーク取得の重要性

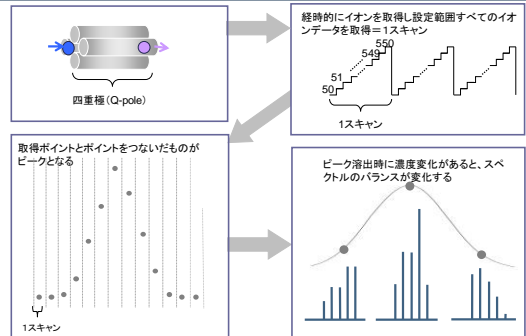


正確なピーク描画にはピークあたり 20 のデータポイントが必要  
→ 高速でスペクトルを取得できる質量分析計が適切

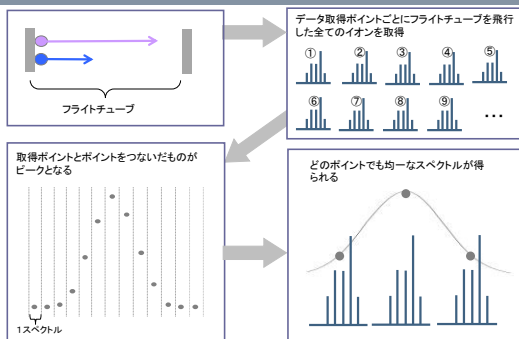
飛行時間型質量分析計のタイプ



四重極型質量分析計のスペクトル取得模式図



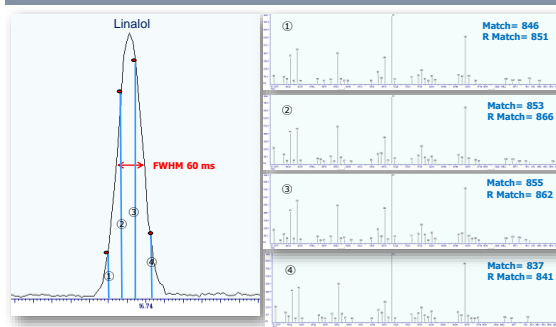
## 飛行時間型質量分析計のスペクトル取得模式図



AnalytiXense

7

## 飛行時間型質量分析計のスペクトル均一性



AnalytiXense

8

## データ取得速度の早い飛行時間型質量分析計のメリット

- ① データ取得速度が早い  
→ ピークを描画するために十分なデータポイントを得ることができる
- ② 溶出する物質の濃度変化による影響を受けない  
→ ピークを構成するスペクトルが均一

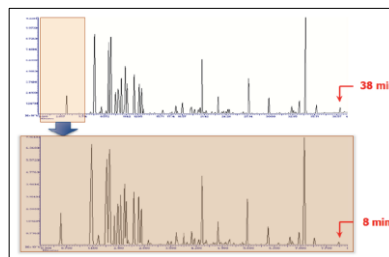
### デコンボリューションに最適

ピークをイオン単位で正確に描画可能で、走査 (Scan) していないので、ピークのどのポイントでも同じパターンをスペクトルを取得することができ、デコンボリューションが容易

AnalytiXense

9

## アプリケーション例 (Fast GC エッセンシャルオイル)

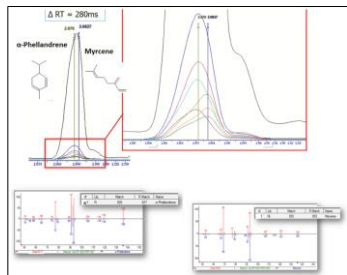


AnalytiXense

10

## アプリケーション例 (Fast GC エッセンシャルオイル)

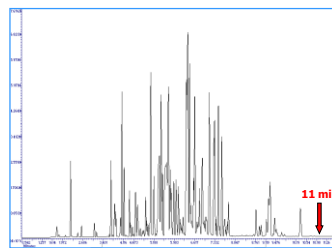
### ● デコンボリューション例



AnalytiXense

11

## アプリケーション例 (Fast GC & GCxGC 香水の香気成分)



175 identified compounds  
123 with Matching Factor > 700  
32 with Matching Factor > 900

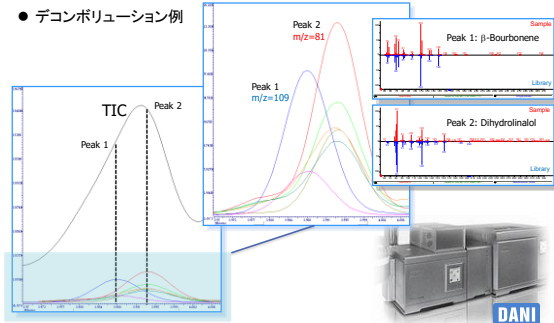


AnalytiXense

12

## アプリケーション例 (Fast GC & GCxGC 香水の香り成分)

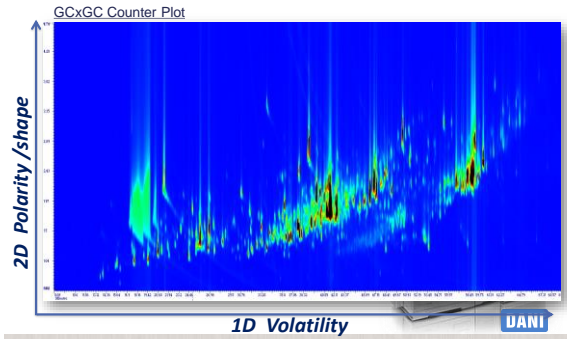
### ● デコンボリューション例



AnalytiXense

13

## アプリケーション例 (Fast GC & GCxGC 香水の香り成分)



AnalytiXense

14

## お問い合わせ

アナリティクセンス株式会社

イノベーションオフィス

- 〒108-0074 東京都港区高輪1-5-4 常和高輪ビル8階
- TEL 03-6721-7390 / FAX 03-6721-7391
- [info@analytixense.co.jp](mailto:info@analytixense.co.jp)
- <http://www.analytixense.co.jp/index.html>

AnalytiXense

15



# Agilent GC/MS 用異臭分析データベースのご紹介

アジレント・テクノロジー株式会社

せきぐち かつら  
関口 桂

## 1. はじめに

異臭分析を行うにはサンプルの前処理をはじめ、分析装置、測定条件、データ解析方法など最適な方法を選ぶ必要があります。一般には GC/MS が多く用いられていますが、網羅的な全イオン検出モード (scan モード) で測定を行うと検出される何百ものピークの中から目的の成分を探すことは容易ではありません。また、成分によって臭いの閾値は大きく異なり、他の成分との組み合わせやバランスによっても感じ方が異なります。本講演ではより簡単で確実な異臭分析を行うために役立つ、データベースを使ったソリューションをご紹介します。

## 2. 異臭データベースを使ったソリューションの特徴

異臭データベースには過去の事例にあった成分をはじめ、腐敗臭、消毒臭、容器や保管に関連する臭い等、臭いに関係する化合物を厳選して登録しています。また、組み合わせや濃度によっては異臭となりうる香気成分も含まれています。各化合物の臭いの種類、閾値情報も搭載し、MS スペクトルに加えてリテンションタイムまたはリテンションインデックスの情報を使い、精度の高い同定結果を、分かりやすい解析ソフトウェアと組み合わせることで可能にしています。

「未知サンプルの解析」ソフトウェアではデコンボリューションによるコンポーネン(成分)抽出、ライブラリ検索、ブランク減算までを自動で一括処理できます。ここで検索ライブラリに異臭データベースを用いれば登録されているリテンションタイムまたはリテンションインデックス情報から化合物を絞り込むことが可能になり、隠れた微量の異臭成分も検出しやすくなります。リテンションタイムロッキングを使えばデータベースのリテンションタイムと直接比較できるため最もシンプルな使い方ができますが、さまざまなカラム長さやサンプル導入方法にも対応できるようにリテンションインデックスによる解析も可能です。

GC/MS と同時ににおい嗅ぎ装置 (ODP) や化学発光硫黄検出器 (SCD) 等の GC 検出器でも信号を取り込めば解析画面で GC/MS の結果と並べて表示ができるため有用です。

データベースには数百の化合物が既に登録されていますが、必要に応じて化合物の追加も簡単に行うことができます。構造式の登録は CAS# から自動的にダウンロードすることができます。ライブラリ検索を行う際は、複数のライブラリを指定できますので異臭データベースにヒットがない場合は NIST 等のライブラリ検索結果を表示することもできます。

異臭分析用データベースを使った解析例をいくつかご紹介します。

Agilent  
Event Annex

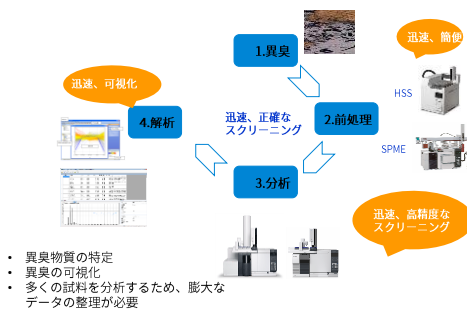
# Agilent GC/MS用異臭分析データベース

アジレント・テクノロジー株式会社  
営業本部 ライフサイエンス・化学分析統括部門  
クロマトグラフィー・質量分析営業部  
関口 桂

## 内容

- GC/MS用異臭分析データベース
- 開発の背景
- 使用例

## 異臭分析の流れとデータベースの役割



## GC/MS分析のメリット

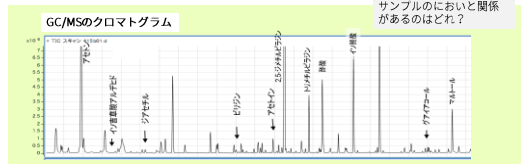
- システムが安価で堅牢
- 高い信頼性、安定性
- 高性能なカラムにより、ピーク分離能が高く、リテンションタイムの再現性も優れている



- スペクトルライブラリが充実
  - NIST/Wiley
  - 香料/匂い成分
  - 農薬
  - 薬物
  - メタボロミクス
- 前処理装置と組み合わせることで誘導体化などの工程を自動化できる

## 臭い分析のポイント

- 香り(におい)の強さと分析データの強度は同じではない
- 鼻に勝る検出器はない
- 成分のバランスが変わるとにおいも変わる
- 異性体によりにおいが変わる成分もある

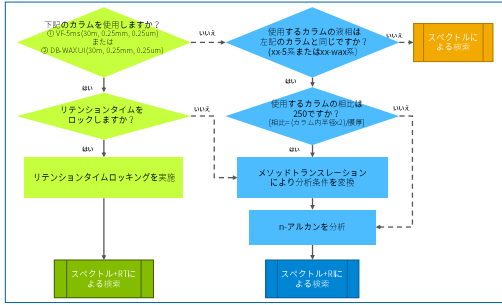


## 異臭分析用データベース開発の目的

簡単、確実ににおい物質特定のためのソリューションとして提供特徴：

- 異臭となりうる化合物を約500個ピックアップして登録。
- リテンションタイムロックしたメソッドを使用：スペクトル+リテンションタイムを使用したより正確な定性が可能。
- 異なるカラム長さや前処理法、システム構成に対応できるようにRI値も掲載。
- におい分析で一般的なWAXカラムの他に、汎用性の高いVF-5MSカラムの使用も可能。
- 各化合物のにおいの種類や閾値の情報も掲載。
- デコンボリューション+ライブラリ検索を自動化した解析ソフトで隠れたピークも逃さない。

## 異臭分析データベースの使い方



7

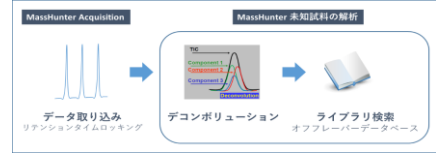
GC/MS 標準法



## 異臭分析データベースの使い方

手順

1. システムの準備
2. リテンションタイムロックング
3. サンプルの測定
4. 測定結果の解析

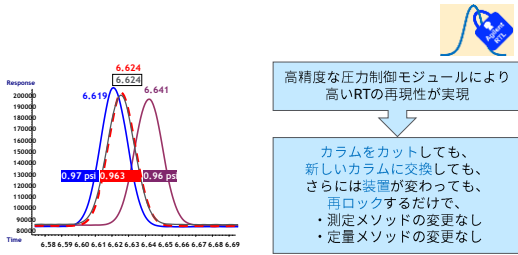


8

GC/MS 標準法



## リテンションタイム・ロックング (RTL) の特徴



RTLを使えば、n-アルカンの測定および補正作業が必要なし

9

GC/MS 標準法



## サンプルの測定

ロックされたカラム流量でサンプル測定 (scan測定) を行います。



10

GC/MS 標準法



## 測定結果の解析



11

GC/MS 標準法



## Scanデータから効率よく化合物を検出するデコンボリューション



MassHunter 未知サンプルの解析

解析ソフトウェアの機能

- ・デコンボリューション
- ・ライブラリ検索
- ・コンポーネント表示
- ・解析レポート

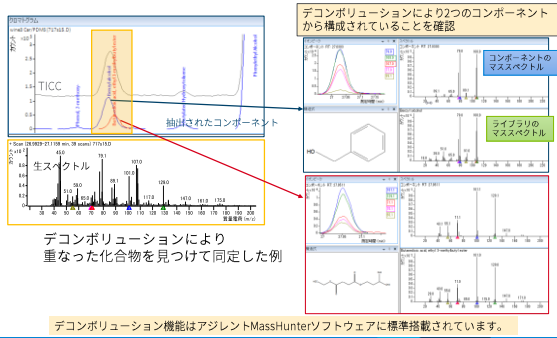
ピークがたくさんあっても、簡単に解析できます

12

GC/MS 標準法



### デコンボリューションによるコンポーネント抽出の例

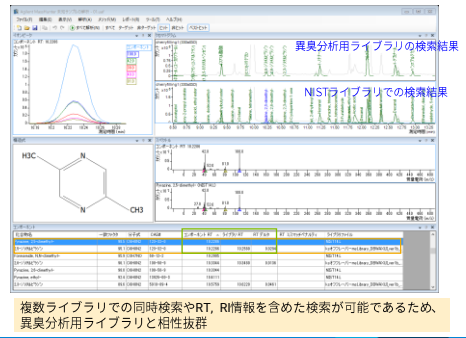


13

GC/MS 分析結果



### 未知サンプルの解析 同じデータファイルを複数のライブラリで同時検索

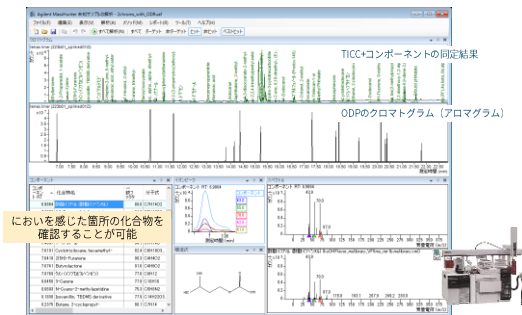


14

GC/MS 分析結果



### 未知サンプルの解析 ODPクロマトグラムと並べて表示

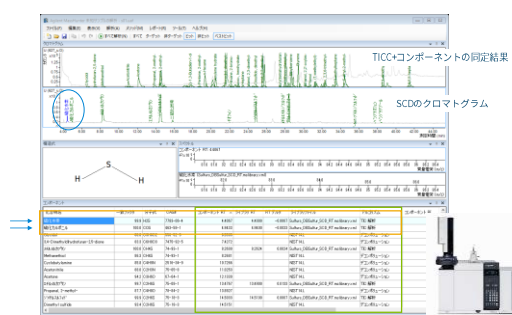


15

GC/MS 分析結果



### 未知サンプルの解析 GC検出器クロマトグラムと並べて表示



16

GC/MS 分析結果



## 皮膚及び呼気ガス分析 - 捕集剤 MonoTrap を用いた分析例

ジーエルサイエンス（株）第一開発部 ○佐藤 睦（さとうあつし）、武田まなみ（たけだまなみ）、東海大学理学部 関根嘉香（せきねよしか）、福島県立医科大学医学部 鈴木弘行、（すずきひろゆき）、井上卓哉（いのうえたくや）

### 1. はじめに

近年、ヒトから放散される生体ガス（呼気、皮膚ガス）が注目されている。中でも皮膚ガスは、体表面から放散される揮発性の有機・無機化合物の総称であり、代謝生成物や、吸入・経口摂取した化学物質、皮膚表面における生物的・化学的な反応生成物などから成る。これらは血液由来、皮膚腺由来、表面反応由来に大別でき、今後病気のマーカーや体内に取り込まれた化学物質の代謝の評価などへの応用が期待されている<sup>1)</sup>。また呼気ガス分析も低侵襲な病気診断の手法の一つとして古くから注目されており、既に様々な報告がされている<sup>2)</sup>。しかしながら、生体ガスのサンプリングは、対象物質が微量であることに加え、サンプリング間の行動が制限されてしまうなどの理由から困難とされてきた。そこで、本研究では関根らによって開発された パッシブ・フラックス・サンプラー(PFS)<sup>1), 3)</sup>を用いて体臭成分を探るべく、皮膚ガスをサンプリングしたものを加熱脱離により GC/MS 分析に供し、それらの放散量を定量するための検討を行った。また鈴木らと共に、肺癌診断への可能性を探るべく、肺癌患者の皮膚および呼気ガスの分析例<sup>4)</sup>を併せて報告する。

### 2. 体臭分析（皮膚ガス）

実験 2-1.皮膚ガスの捕集と測定  
PFS 法は、内部に捕集剤を設置した密閉系パッチを人体に一定時間固定し、パッチ内を拡散した皮膚ガス分子を捕集剤に吸着させる手法である。本研究では捕集剤として MonoTrap® RGPS TD を採用し、Fig.1 に示す PFS を被験者の後頭部に Fig.2 のように密着させ固定し、皮膚ガスを捕集した。固定には防水フィルム（3M 社製テガダーム™）を使用した。捕集後、Fig.3 に示す可搬型簡易加熱脱離装置で MonoTrap® RPS TD から皮膚ガ



Fig. 1 PFS for TD

PFS;  $\phi=14\text{mm}$ ,  $h=7.0\text{mm}$   
Monotrap  $\phi=2.9\text{mm}$ ,  $h=1.0\text{mm}$



Fig. 2 PFS on the neck



Fig. 3 Portable TD device

スを加熱脱離し、GC/MS 分析に供した。

## 2-2. 放散量の算出<sup>1)</sup>

GC/MS 分析で得られた捕集量  $W$ [ng]から、捕集時間  $t$ [h]と MonoTrap® RGPS TD の暴露面積  $S'$ (cm<sup>2</sup>)より、各成分の放散フラックス量 (Emission flux)  $E$ (ng/cm<sup>2</sup>/h)を求めた。

$$E = \frac{W}{S' \times t}$$

## 2-3. 被験者 (ボランティア) について

本研究では、20～50 代の社員を被験者とし皮膚ガス測定を行った。採取は 2017 年 7 月～8 月の期間中、1 日 1 回勤務中 15 時～17 時の時間帯に 1.5 時間行った。被験者には飲食、喫煙、移動など行動の制限は設けなかった。

## 2-4. 分析条件

|           |  |
|-----------|--|
| System    | GC2010Plus, QP2010Ultra, TD265   |
| Column    | InertCap® Pure-WAX (0.25 mmI.D., 60m, 0.25µm), 45°C (5 min)- 6°C/min- 250°C (15 min) |
| Carrier   | He, 36.0 cm/sec  |
| GC inlet  | 250°C, Split 1:10  |
| Detection | MS FASST   |
| Desorb    | 40°C(0.1 min) -45°C/sec- 250°C(1.5 min), 232 kPa                                     |

## 3. 結果

### 3-1. 溶媒抽出と加熱脱離の比較

MonoTrap® RGPS TD から吸着成分を脱離する方法について、溶媒抽出と加熱脱離の比較を行った。標準試料溶液を 1 µL、40 mm 四方、厚さ 0.1mm の PTFE シートに添加し、60°C で 90 分間、PFS を用いて捕集を行った後、溶媒抽出(500 µL - ジクロロメタン)と加熱脱離(250°C)で GCMS 分析に供し、両者のピークの S/N を比較した。これまで採用されてきた溶媒抽出に対して加熱脱離では、Diacetyl は 2.8 倍、Acetoin は 30.6 倍の S/N を得ることができた。

### 3-2. 社内ボランティアによる放散フラックスの比較

被験者 (男性 M : 40 代前半 1 名、50 代前半 1 名、女性 F : 30 代後半 1 名) の後頭部から検出された(a)Diacetyl、(b)Acetoin の放散フラックスを示す。Diacetyl、Acetoin は 40 代男性が、ペラルゴン酸は 50 代男性が最大となった。30 代女性のみから紫外線吸収剤 (メトキシケイヒ酸エチルヘキシル) やメチルパラベンなどの日焼け止めに由来する成分<sup>4)</sup>が、男性喫煙からはメントールが特徴的に検出された。

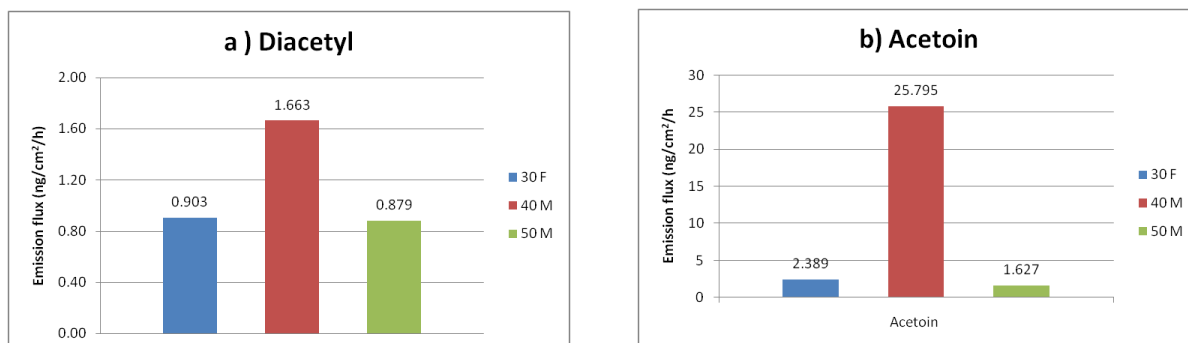


Fig. 4 Emission flux from nape of the neck; (a) Diacetyl, (b) Acetoin

#### 4.結論

PFSは、人体にサンプラーを固定するのみで皮膚ガスのサンプリングが可能であり、被験者へのストレスや行動制限を少なくすることができる手法である。また、加熱脱離で導入することで、皮膚から放散するより微量な成分を検出することができる。本研究では、皮膚から放散する Diacetyl、Acetoin などの放散スラックス量を求めることにより、年代や個人による放散量の差や、被験者が皮膚に塗布した日焼け止めに由来する成分などの微量成分を確認することができた。PFS の特徴であるサンプリングの簡便さと定量性と、高感度分析を可能にする加熱導入を組み合わせることによって今後、外因的化学物质の内部暴露評価や病気のマーカー探索などへの応用が期待できる。

#### 5.肺がん患者の呼気及び皮膚ガス分析

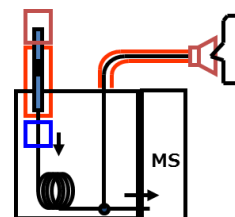
肺がん等、病気に罹った人が発する特長的なニオイ(VOC)は、従来より経験的に「病臭(gill odor)」と呼ばれている。近年、これをバイオマーカーとして、病気の早期発見を行うための研究が進められている。主なサンプルは、呼気や体臭(皮膚ガス)であり、それらは化学種が幅広く濃度が低い。また、雰囲気由来などコンタミを防止した効率のよいサンプリング・測定手法が求められている。本報告では MonoTrap® (簡易捕集剤) と加熱脱着装置を用い、肺がん患者の呼気、皮膚ガスの分析結果を報告する。

##### 5.1 分析の方向性 (網羅的な分析の前に)

VOC の網羅的分析に入る前に、経験的に長年認識されている「病臭」や、摘出手術時に医師が感じるという「生ぐさ臭」に着目し、摘出部位を実際に嗅ぎ官能評価を行う。



「ヒラメ、魚屋、カツオの血合い、クジラ刺し、磯臭さ」と表現されるニオイを癌細胞部位から感じる事が出来た。この結果から、癌細胞自体からの匂いを精度よく確認するため、各細胞のVOCを捕集材に濃縮し、鼻ガスクロ（GC/MS/O）で個々のニオイを評価した。



5.2 結果 癌細胞においてだけ、感じる香气成分が存在する可能性が高く、「鉄くさい、生ぐさい、チーズ」様のニオイを感じた。既存の検出器では検知出来ない成分も人間の鼻を利用するGCOであれば、可能性がある知見は得られた。

Table1 においのコメント表

| Time (min) | Tumor (T) |      |         |     |      |     | Normal (N) |     |         |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|------------|-----------|------|---------|-----|------|-----|------------|-----|---------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
|            | 課員A       |      | 課員B(女性) |     | 課員A  |     | 課員A        |     | 課員B(女性) |     | 課員A |     |     |     |     |     |     |     |
| 20.3       | 06t       | 06t  | 06t     | 07t | 07t  | 07t | 08t        | 08t | 08t     | 06n | 06n | 06n | 07n | 07n | 07n | 08n | 08n | 08n |
| 20.4       | 弱         | 06t  | 06t     | 弱   | 3-Hs | 07t | 弱          | 08t | 弱       | 06n | 06n | 弱   | しいた | 07n |     |     |     |     |
| 21.3       | 弱         | 06t  | 06t     | 弱   | しいた  | 07t | 弱          | 08t | 弱       | 06n | 06n | 弱   |     |     |     | 中   | チーズ | 08n |
| 23.2       | 強         | アミン  | 06t     | 中   | 鉄くさい | 07t | 強          | 生臭  | 08t     | 弱   | 06n | 弱   | 鉄   | 07n |     |     |     |     |
| 24.4       |           |      |         | 弱   | 花?   | 07t |            |     |         |     |     | 弱   | 足   | 07n |     |     |     |     |
| 24.6       |           |      |         | 弱   | プラス  | 07t |            |     |         |     |     | 弱   | ヨーグ | 07n |     |     |     | 08n |
| 25.8       | 弱         |      | 06t     | 弱   | 鉄くさい | 07t |            |     | 08t     | 弱   | 06n | 弱   | ヨーグ | 07n |     |     |     | 08n |
| 26.1       |           |      |         | 弱   | 鉄くさい | 07t |            |     |         |     |     | 弱   | ヨーグ | 07n |     |     |     |     |
| 26.5       | 中         |      | 06t     | 弱   | ドック  | 07t |            |     |         |     |     | 弱   | しいた | 07n |     |     |     |     |
| 34.3       | 中         | 薬(錠) | 06t     | 弱   | 古い   | 07t |            |     |         |     |     | 弱   |     |     |     |     |     | 08n |
| 35         |           |      |         | 弱   | 草・へ  | 07t |            |     |         |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| 35.1       |           |      |         | 弱   | 鉄くさい | 07t |            |     |         |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| 35.9       |           |      |         | 弱   | 鉄くさい | 07t |            |     |         |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| 36.4       | 中         | 脂肪   | 06t     | 中   | チーズ  | 07t | 中          | チーズ | 08t     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| 37.2       | 弱         | 06t  | 06t     | 弱   | 水槽   | 07t | 中          | 焦げ  | 08t     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| 37.5       |           |      |         | 弱   | こげ   | 07t | 弱          | 08t |         |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| 38.9       |           |      |         | 弱   | バス   | 07t |            |     |         |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| 39.4       | 弱         |      | 06t     | 弱   | 米    | 07t |            |     |         |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| 40.6       |           |      |         | 弱   | チーズ  | 07t |            |     |         |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| 40.7       |           |      |         | 弱   | バス   | 07t |            |     |         |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| 40.9       |           |      |         | 弱   | へくさい | 07t |            |     |         |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| 41.1       |           |      |         | 弱   | 足    | 07t |            |     |         |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| 41.6       |           |      |         | 弱   | 蜂蜜   | 07t |            |     |         |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| 42.6       | 弱         |      | 06t     |     |      |     |            |     |         |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| 42.9       | 弱         |      | 06t     |     |      |     |            |     |         |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| 43.5       | 中         | 消毒   | 06t     |     |      |     |            |     |         |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| 46.3       |           |      |         | 弱   | 花    | 07t |            |     |         |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| 47.4       |           |      |         | 弱   | 古い   | 07t | 弱          | 08t |         |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| 47.4       |           |      |         | 弱   | 蜂蜜   | 07t | 弱          | 汗臭  | 08t     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| 47.8       | 中         | わた   | 06t     | 弱   | 汗臭   | 07t | 弱          |     |         |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| 48         |           |      |         | 中   | 汗臭   | 07t |            |     |         |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| 49         |           |      |         | 弱   | へん   | 07t |            |     |         |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| 49         |           |      |         | 弱   | 薬?   | 07t |            |     |         |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| 49         |           |      |         | 弱   | クレ   | 07t |            |     |         |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| 53.9       | 弱         |      | 06t     |     |      |     |            |     |         |     |     |     |     |     |     |     |     |     |

“→”で示した成分が、Tumorで顕著に検出された。抽出後のがん細胞自体のにおいを2名が嗅いで覚え、GC-MS-Oでそれに近いキャラクターのにおいを検知したデータ。23.2 minが手術室で嗅いできたにおいと最も近いと感じた成分。23.2 min、36.4 min、47.8 minがTだけで出ており、傾向が見える。

本結果から、癌細胞特有のにおいがある事が示唆され、皮膚、呼気ガスの網羅的な分析を行ったが、マーカー物質の断定までは至らず、更なる検体数および、サンプリング手法の改良が示唆された。呼気、皮膚ガス共に詳細な結果については講演時に発表する。

5. 参考文献

- 1) 関根嘉香、木村桂大、古川翔太：皮膚ガスの測定，空気清浄，54(5)340-346 (2017)
- 2) Diana Poli, Paolo Carbognani, Massimo Corradi, Matteo Goldoni, Olga Acampa, Bruno Balbi, Luca Bianchi, Michele Rusca and Antonio Mutti Email author, Respiratory Reserch 2005, 6, 71
- 3) Kimura, K., Sekine, Y., Furukawa, S., Takahashi, M. and Oikawa, D.: Measurement of 2-nonenal and diacetyl emanating from human skin surface employing passive flux sampler – GCMS system, *J. Chromatogr. B*, 1028, 181-185, (2016)
- 4) AACR, April 5, 2017 @Washintong D.C. Takuya Inoue, Yuki Matsumura, Hironori Takagi, Yuki Owada, Yuzuru Watanabe, Takumi Yamaura, Mitsuro Fukuhara, Naoyuki Okabe, Takeo Hasegawa, Manami Takeda, Atsushi Sato, and Hiroyuki Suzuki



# 法科学分野におけるガスクロマトグラフィー／赤外分光法（GC/IR 法）の活用

佐賀県警科捜研 ○内川 貴志<sup>うちかわ たかし</sup>

## 【はじめに】

科学捜査研究所では、各種法律に基づいた取り締まりの一環として鑑定業務を行っている。そこで導き出される鑑定結果は、被疑者の逮捕や、公判に証拠として使用されるものであり、被疑者の今後の人生に大きく影響を及ぼす重要なものである。よって決して間違いがない正確無比な結果が要求される。しかし、犯罪の形態は常に進化・巧妙化しており、鑑定技術の向上がなければ正確な鑑定を維持することは難しい。薬物犯罪は特にこの傾向が顕著であり、数年来社会問題となっている危険ドラッグの出現により対象となる規制薬物も大幅に増加しており、高い鑑定技術を持って対応しなければならない状況である。

我々は鑑定技術の向上、強化を目的として、GC/IR を用いた検査法について研究を行い成果を報告してきた。今回は、我々の研究成果を踏まえた GC/IR 法の法科学分野における有効性について紹介する。

## 【GC/IR の特徴】

ガスクロマトグラフ／赤外分光光度計（GC/IR）は、薬物識別能力は高いが事前の単離作業を必要とする FT-IR の前段階に GC を組み合わせた装置で、複数の薬物が混入した試料でも装置内でカラム分離が行われ、薬物単体の赤外吸収スペクトルを測定することが可能な装置である。薬物鑑定で一般的な GC/MS と比較すると、検出感度、ダイナミックレンジ、ランニングコストの点で若干劣っているが、その短所を補って余りある優れた異性体識別能力を有している。また、GC/IR の特徴は、データベース構築が容易、多成分検索が可能な点が挙げられる。更に GC/IR は、試料の赤外吸収スペクトルを採取する状態が固相（SOLID PHASE）か気相（GAS PHASE）かで2種類の装置に分かれるが、我々は、積算回数を増やすことで S/N 比の改善が見込め、Over Deposit 分析（重ね書き分析）が可能な点で、より高感度分析が望める SOLID PHASE の装置での検討を行っている。装置の簡単な構成を Fig.1 に示す。

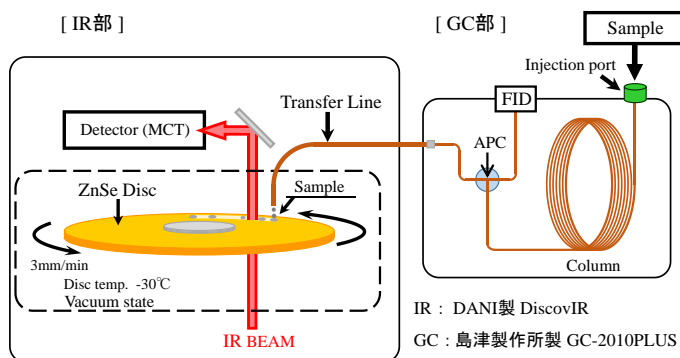


Fig.1 SOLID PHASE GC/IRの装置構成

## 【GC/IR を用いた違法薬物の位置異性体識別】

違法薬物には位置異性体が存在するものがある。法律では、覚せい剤等の乱用薬物に対してその薬物構造を特定して規制していることから、位置異性体の多くは未規制の場合が多い。これらを確実に識別することは法執行上極めて重要であることは前述のとおりであるが、違法薬物の検査機関で主に実施される GC/MS や LC/MS 等による分析では、違法薬物とその位置異性体を識別することは非常に困難であり、検査機関共通の課題となっていた。我々は、この課題の解決に GC/IR が有効である

ことにいち早く気づき、様々な違法薬物及びその位置異性体に対して GC/IR の有用性を検討し、各種学会において報告してきた。これらの薬物は GC/MS 等では識別は困難であるが、GC/IR ではメタノール等の有機溶媒で 100ppm 前後に試料を調製し分析すれば容易に IR スペクトルを得ることができる。その一例として XLR11 とその位置異性体について紹介する。XLR11 は、麻薬として規制されているが、Fig.2 で示したとおりフッ素の結合位置の違いによる未規制の位置異性体が存在する。これを GC/IR で測定したところ、Fig.3 に示すような IR スペクトルが得られ、1500cm<sup>-1</sup>~700cm<sup>-1</sup> の範囲に異性体間で明確な差異が観測された。このように GC/IR は簡便に位置異性体の識別が可能な装置である。

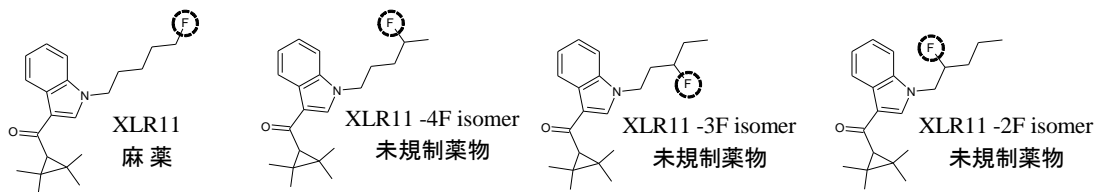


Fig.2 XLR11 及びその位置異性体

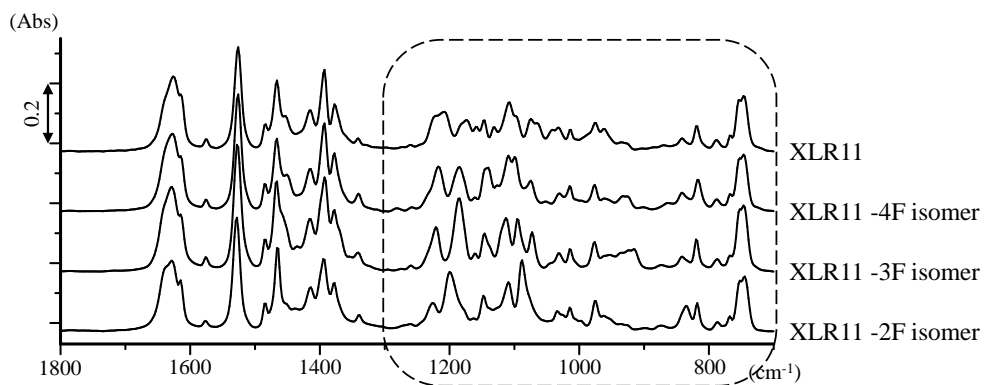


Fig.3 XLR11及び位置異性体のIRスペクトル

### 【GC/IR を用いた尿中覚せい剤の光学異性体識別】

覚せい剤（メタンフェタミン：MA）は、国内で最も乱用されている薬物の1つであり、厳格に規制されている。MA には不斉炭素に伴う光学異性体が存在しているが、乱用される MA が主に *d*-MA であるのに対し、パーキンソン病治療薬として認可されている処方薬に、その薬を適正服用した患者の尿から *l*-MA が検出されるといった薬物が存在する。尿中より両者を識別することは非常に重要であるが、これらは通常の定性検査では全く識別できない。一般的な識別法はキラルカラムの使用又は光学分割用誘導体化試薬で MA をジアステレオマーに変化させた後に GC-MS 等で分析するものであるが、これらの手法では得られる MS 情報が両者全く同じであり、保持時間差のみでの識別となるため、分析の都

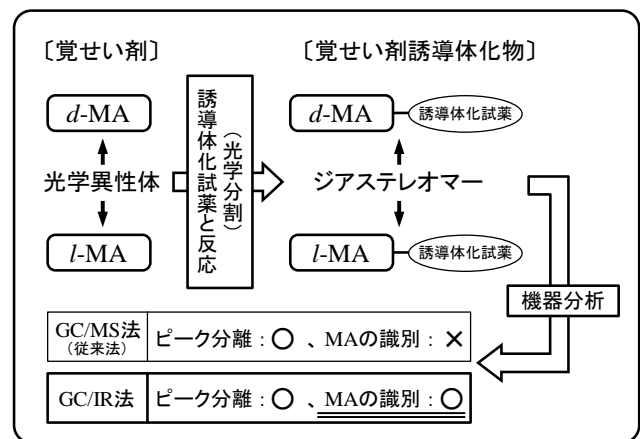


Fig.4 覚せい剤 (MA) の光学異性体識別方法

度に標準品と保持時間の比較を行う必要性が生じてしまう。我々は、MA を従来法と同じく誘導体化試薬でジアステレオマーに変化させた後に、GC/IR 分析を実施する新たな識別法 (Fig.4) を、誘導体化試薬の選定も含めて検討した。その結果、(S)-2-アセトキシプロピオニルクロライド ((S)-APC) を誘導体化試薬に用いた分析において、*d*-MA 及び *l*-MA の(S)-APC 誘導体化物の IR スペクトルの一部に確実な差異が出現することが確認され (Fig.6)、新たな覚せい剤の光学異性体識別法を確立することができた。この手法を実際の試料に応用したところ、乱用薬物者の尿に含有している MA (約 50ppm) が *d*-MA であることが判明し (Fig.7)、この手法の有用性が立証された。

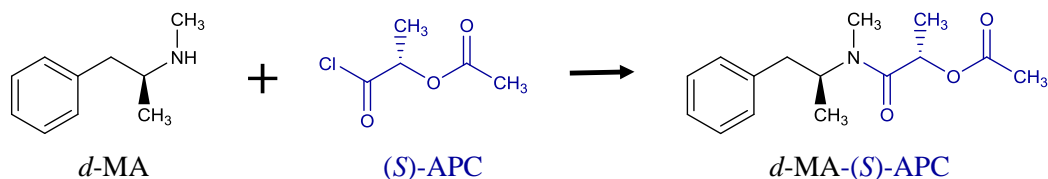


Fig.5 *d*-MAと(S)-APCの反応図

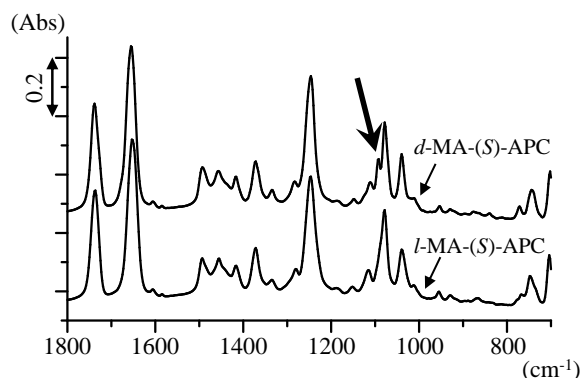


Fig.6 *d*-MA-(S)-APC及び*l*-MA-(S)-APCのIRスペクトル

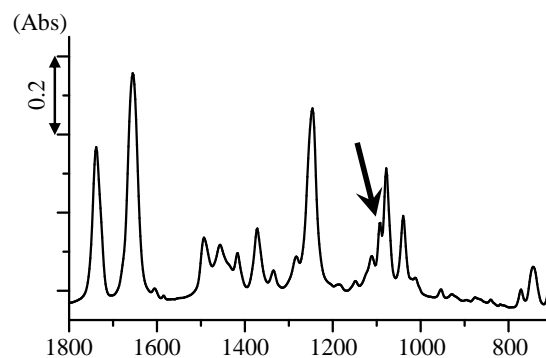


Fig.7 尿試料より得られたMA-(S)-APCのIRスペクトル

### 【GC/IR による尿中フルオロメタンフェタミン類の位置異性体識別及び高感度化】

GC/IR は、GC/MS と比べ検出感度面で劣っており、違法薬物の粉末のような高濃度試料向けの装置という認識が広まっており、高感度が要求される生体試料中の違法薬物についての検討事例は我々が行った前述の尿中覚せい剤の光学異性体識別以外は皆無である。我々は、指定薬物である 2 位～4 位のフルオロメタンフェタミン (FMA : Fig.8) を GC/IR を用いて尿試料から検出かつ識別可能か検討を行った。FMA は遊離塩基状態で測定すると、GC/IR の装置特性により異性体間で IR スペクトルの強度に差が生じてしまう。スペクトル強度を一定にするために各 FMA は、無水トリフルオロ酢酸による TFA 誘導体処理を行った。続いて GC/IR の高感度化に際し、GC 注入方法に PTV (プログラム昇温気化) 法による大量試料導入法を採用し、更に IR スペクトルの積算処理による S/N 比の改善に伴うスペクトルの明瞭化を行ったところ、通常仕様より一桁以上の感度向上に成功した。この条件下で FMA を添加した尿を試料として分析を行ったところ、0.05ppm という低濃度の FMA でも、スペクトル強度は異なるが、25ppm の標準試料と同じ IR スペクトル形状の結果が得られた (Fig.9～11)。更には異性体間での識別も明確に観測された (Fig.12)。以上の結果より、GC/IR は、PTV 法を採用する等高感度仕様にする事で生体試料を対照とした位置異性体識別分析にも十分対応可能であることが示された。

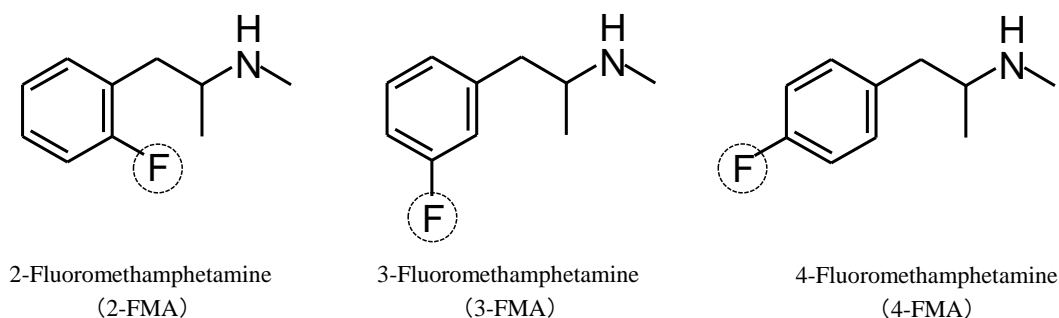


Fig.8 2-, 3-, 4-FMAの構造式

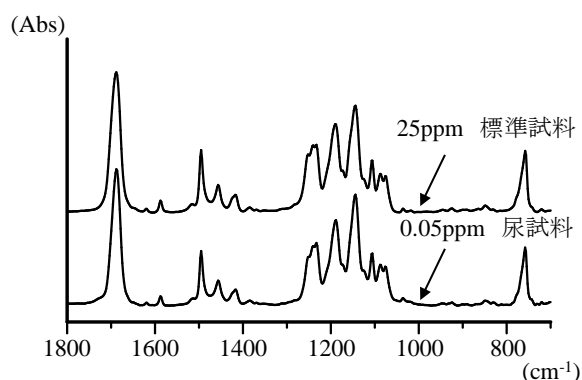


Fig.9 2-FMA-TFAのIRスペクトル

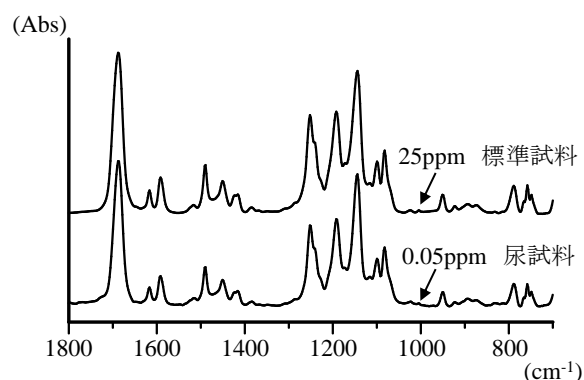


Fig.10 3-FMA-TFAのIRスペクトル

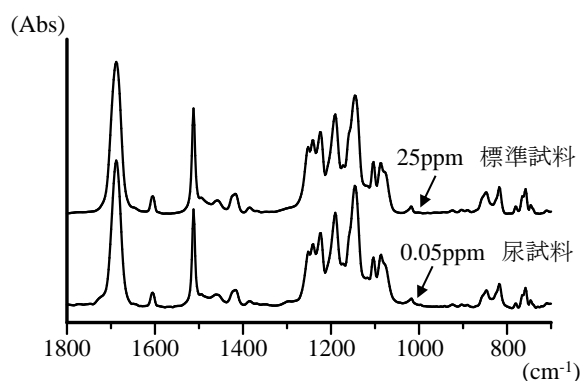


Fig.11 4-FMA-TFAのIRスペクトル

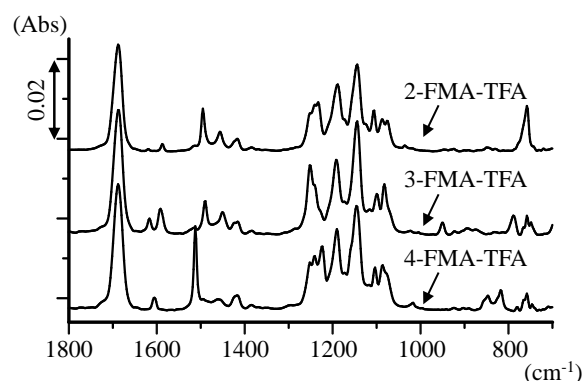


Fig.12 2-, 3-, 4-FMA-TFAのIRスペクトルの比較

## 【まとめ】

前述のとおり、鑑定業務は人の今後を左右する重要な業務であり、鑑定人は少しでも疑念があればそれを払拭し正確な結果を報告する義務がある。現状では、違法薬物の鑑定において異性体までの検討を依頼者側より要求される事例は多くない。しかし違法薬物の一部には位置異性体が存在し、多くが未規制である事実がある以上、鑑定人としてこの問題を避けて通ることはできない。我々はこの問題を解決する最も有効な手段が GC/IR での検査であると考えて研究活動を行っている。今後更に進化・巧妙化して行くであろう薬物犯罪への対応も考慮すれば、GC/IR は法科学分野において更に欠かすことができない重要な装置になって行くことが予想される。

(自己紹介)

1 略歴

1989年熊本大学工学部工業化学科を卒業、同年4月より佐賀県警察本部刑事部科学捜査研究所に入所し現在に至る。専門は化学鑑定全般。

2 研究内容

GC/IRを用いた違法薬物の研究に従事

3 出身地

佐賀県武雄市

4 趣味

旅行、特に北海道を多数回訪問している。

5 座右の銘

己を知る

## 「ヒトの匂いのサンプル採集と計測の仕方」

—ヒトのにおいとは肌からの香りや臭いと、服を着た状態でのにおい、香水などをつけた状態でのにおい—

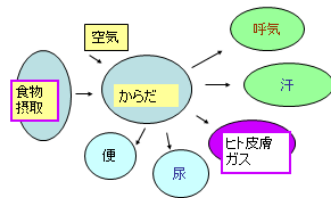
有限会社ピコデバイス 津田孝雄

昔は伝染病の媒体として蚊が恐れられていました。ヒトの皮膚へ蚊が降着するのを防ぐことが必要で、皮膚上にある蚊の誘引物質を探す研究がなされました。汗中にはミリモル濃度の乳酸、ナトリウムイオン、カリウムイオン、塩素イオンなどが、マイクロモル濃度のグルコースなどが存在します。蚊の誘因には乳酸濃度が関与し、また炭酸ガス濃度が関与します。お酒を飲むと皮膚からアルコールが出てきますので、蚊が誘因され、皮膚への蚊の降着数が増加します。

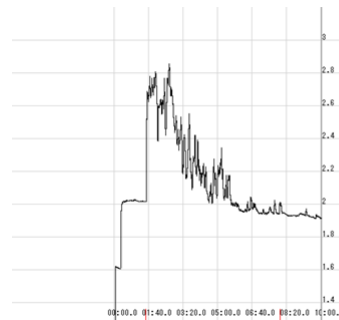
私たちは、お酒を飲むと、5分後に皮膚表面からアルコールが検出できることを見出した。このとき、アルコールの溶出する近辺にガスクロマトグラフのチャート上に他のピークがかなり認められることに気がつきました。これがヒト皮膚ガス(香りの成分やアセトン、メタン、水素ガスなど)の発見につながったのです。

### ヒトの物質収支

ヒト皮膚ガス、汗はヒトの代謝の中で大きなウェイトを占める。



2



21

縦軸：湿度、横軸：皮膚上面からの距離

汗は1日に1.8リットル程度はでます。体の表面積を2平方メートルとしますと手の表面からは一分間当たり0.03グラムの汗が出ていることとなります。この値は手に袋をかぶせて測定しました結果と合致します。皮膚ガスも体全体から放出されています。

運動や散歩のような生理的負荷が加われば、発汗はさらに進み、一日5～8リットルの発汗量となります。ヒトからの皮膚ガスも体に依存して、たくさん放出されているでしょう。

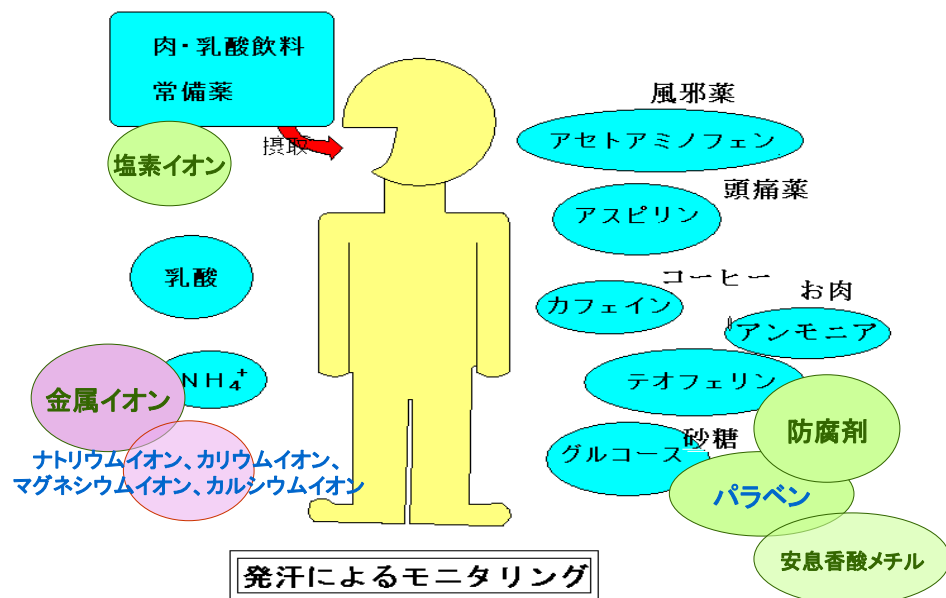
## 1. 部屋や服のヒトの匂い

ヒトが部屋に入れば、その人の汗や、皮膚ガスや呼気から部屋の中にいろんな成分を放出します。また衣服についている化学物質も部屋の中に揮発し、ただよっていきます。部屋の中がヒトの香りで満たされていきます。

## 2. 匂いと疾病、食べ物と身体からの匂い、香りとヒトの習慣

花の香り、お線香の香り、お台所の香り、消毒液の香り、タバコの香り、コーヒーの香りは、衣服についてきます。衣服を変えてもしばらくは体から匂ってきます。

体内の疾患があればその独特のにおいを放つといわれています。例えば、糖尿病の疾患のヒトは尿などが甘い匂いを放つことが知られています。これまでの実験から、汗を含めて食事、常備薬、ドリンク剤、香料成分を含んだ食品、常備薬、香料そのもの、興奮剤などを摂取すると、体内から早ければ5分、遅くなれば5時間後に体表面に達することがわかりました。体の中に入った香りは、血液に直接入った成分はすぐに香り、食べ物は小腸に入ってから血液に吸収されますので、30—40分後からしばらくたって香りだします。健康なヒトには、健康なにおいが発散しているのではないのでしょうか。よい健康な香りを放出していることが、ヒトの望みであるでしょう。



### 3. サンプルングする方法

#### 3-1. 肌からの直接のサンプルング



皮膚ガス  
サンプルング



図1

手のひらを含む全体 ( $650 \sim 750 \text{ cm}^2$ ) からの採取、指からの皮膚ガス ( $40 \text{ cm}^2$ )、腕プローブでのサンプルング（一筆用の溝を用いる）、脇プローブ、腹部や脇についてお椀型のプローブ、頭頂部全体を覆って採取、足を覆って採取します。

#### 3-2. 肌のおいと下着

肌のおいとは、着用している肌着と肌からのおいの合算と考えたほうがよい。肌着自体にかなりのノネナールがしみこませてあり、これの一部がノネナールに変化しています。したがってノネナールの測定の際は、この影響を考えて実施することが肝要です。しかしながら、人の感じる香りは、合算した化学成分ともいえます。

#### 3-3. 人からの“におい”が漂う距離

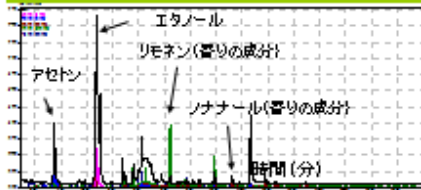
自分のおいを気にする人は、自分からのおいがかなりの距離で漂うと考えてしまう。

ミツバチは仲間との交信に 1 キロメートルの距離でもおいで知らせることができます。

NHK の取材番組の提案で、人の用いる香水についてこの実験を実施してみました。風洞（初期風速 1.5 メートル/秒）を作り人につけた香水が風に乗っていく状態を測定しました。3~5 メートル離れても香水の匂いは検知できました。



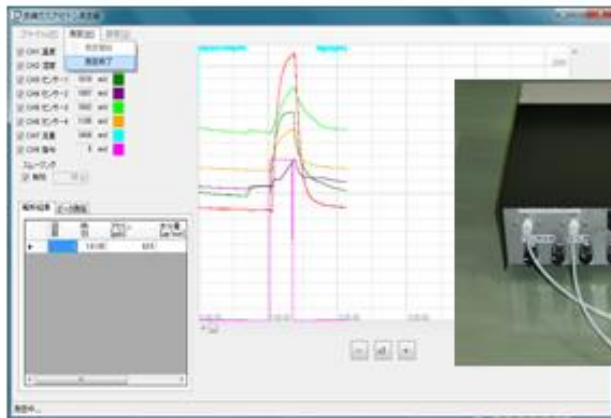
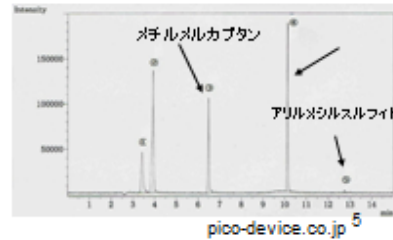
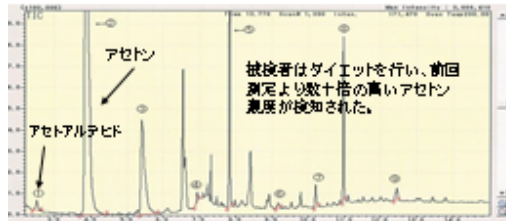
手から皮膚ガスを5分間捕集し、そのうちの25mlを低温濃縮し、オンラインでガスクロマトグラフ/質量分析計により測定した



ヒト皮膚ガス

皮膚ガスの捕集場所  
手、腕、足、頭部、腹部等

バラの香りのチューインガム(ふわりんか)



**指を用いた皮膚ガスアセトン・エタノール検知器。**

指を容器の中に差し込んで、約2分で測定、多数のセンサーの使用  
(半導体センサー、電気化学型センサー、湿度センサー、他複数のセンサー)

pico-device.co.jp

#### 4. ウェアラブルへのアプローチ

世の中の動向が現在ウェアラブル化へと向かっています。ヒトの生体情報を非侵襲的に得ることが非常に大切であり、ヒトの皮膚表面からはヒト皮膚ガス及び汗が得られます。本装置は、手首に装着し体表からの発汗量を測定する装置です。汗や皮膚ガスは生命現象に深く関与しており、ヒトの状態が通常の状態であるか、あるいは刺激ストレスによる発汗状態にあるのかの判断ができます。健康な状態と危険予知に発汗は対応しており、ウェアラブル化により健康の状態を気軽にチェックすることができます。ウェアラブル発汗計を作りました。発汗計の情報は無線通信で、PC上に送り、見守り、閲覧、プリントアウト、さらには解析することでさまざまな場面での発汗の状態を知ることができます。これにより、異常な発汗から危険を察知することや、緊張といった生理的な情

報を手軽に知ることができます。

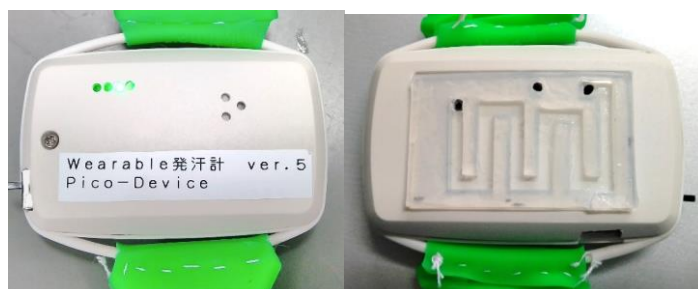


図2 ウェアラブル発汗計

本体にポンプ・センサー・無線通信といった機能すべての回路が集約されており、またポンプとセンサーの間欠的な動作を連動させ一定の間隔で測定データ（湿度、温度）をインターネット上に蓄積することができます。これにより消費電力を低減しつつ、長時間の使用を行うことができます。

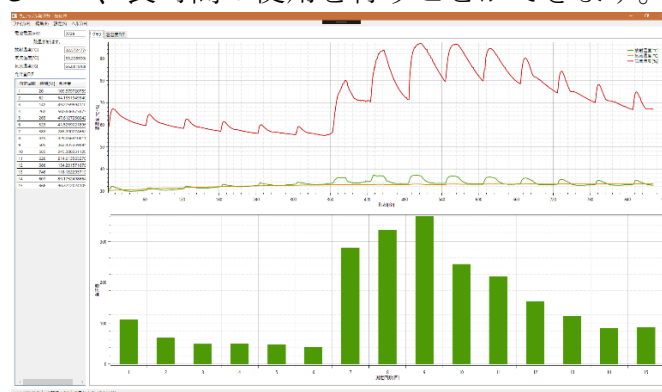


図3 ウェアラブル発汗計用ソフトウェアの測定画面

さらに、独自の皮膚ガスを捕集するための形状を施したシリコン部分（特許）を設けています。この展開を進めて、皮膚ガスを検知する装置作る計画を進行させています。

1. 関連が協会などの情報 **1. 関連学会** 日本呼吸病態生化学研究会（1998～2008）日本安定同位体・生体ガス医学応用学会（2009～現在）、2017 第9回

**出版物** 1. 「呼吸生化学 一測定とその意義一」小橋恭一編著 メディカルレビュー社（1998）

2. 「Gas Biology Research in Clinical Practice」edited by Y.Yoshikawa, Y.Naito, Karger, 2011.

**国際** : International Association of Breath Research (LABR) 2005～、Journal of Breath research を発行、国際会議 Breath Analysis Summit (2007～)

**文献（皮膚ガス）**

1. ” New measurement of hydrogen gas and acetone vapor in gases emanating from human skin” , K.Naitou, T. Tsuda, K.Nose, T.Kondo, A.Takasu, and T.Hirabayashi, Instrumental Sci. Technol., 2002, 30(3), 267-280.

2. “Relationship between skin acetone and blood・・hydroxybutyrate concentration in diabetes” , N. Yamane, T. Tsuda, K. Nose, A. Yamamoto, H. Ishiguro, and T. Kondo, Clin. Chim. Acta, 2006, 365, 325-329.

3. “Identification of ammonia in gas emanated from human skin and its correlation with that in blood” , K.

Nose, T. Mizuno, N. Yamane, T. Kondo, H. Ohtani, S. Araki and T. Tsuda, Anal. Sci., 2005, 21(12), 1471-1474.

4. “皮膚ガスを用いたアルコールの検知” 津田孝雄、第23回<sup>13</sup>C 医学応用研究会・第10回日本呼吸病態生化学研究会 合同学術大会、2007、10月、東京、講演要旨 p.24.

5. “皮膚ガス：一酸化窒素の確認と低酸素室での挙動”、大桑哲男、水野辰夫、野瀬和利伊藤 宏、津田孝雄、第67回分析化学討論会、2006、秋田、講演番号 E2002、講演要旨集、p.77

#### 香りと匂い

6. “固相マイクロ抽出及び加熱脱着ガスクロマトグラフィー/質量分析計によるヒト皮膚から放出される香氣成分の定量”、秋山朝子、今井かおり、石田幸子、伊藤健司、小林正志、中村秀男、野瀬和利、津田孝雄、分析化学、2006、55(10),787-792.

7. “香料の傾向摂取による芳香成分の対表面からの放出挙動”、秋山朝子、伊藤健司、AROMA RESEARCH, 2006、7(1),63-65.

8. “ヒト皮膚ガス及びバラの香りへのアプローチサンプリングと分析デバイス” 津田孝雄、第56年会 日本分析化学会、2006年9月、徳島、講演番号 D1008T、講演要旨 p.77.

9. “ニンニク摂取に伴う皮膚ガス・呼吸中のイオウ化合物の確認と口中清涼剤の効果測定、(ピコデバイス、名工大、小林製薬)津田孝雄、野瀬和利、高瀬琴女、宇野 明、中島賢治、第67回日本分析化学討論会、2006、秋田、講演番号E2006、講演要旨、p.74.

10. “ヒト皮膚から揮散される化学物質と香り”、津田孝雄、AROMA RESEARCH, 9, 63-72,2008.

11. “食材野菜からの香りのオンライン濃縮分析及び成分値による野菜の評価、(デザイナーフーズ、ピコデバイス)丹羽真清、松嶋俊紀、津田孝雄、久永真央、日本分析化学会第58年会、2009、北大、講演番号H1007、講演要旨 p.184.

12. ”An exploratory comparative study of volatile compounds in exhaled breath and emitted by skin using selected ion flow tube mass spectrometry”, C. Turner et al., Rapid Commun. Mass Spectrom, 2008, 22, 526-532.

13. “Determination of acetaldehyde and acetone emanating from human skin using a passive flux sampler-HPLC system, Yoshika Sekine, Satomi Toyooka, S.F. Watta, J. Chromatogr. B, 859 (2007)201-207.

14. “Dimethyl Trisulfide as a Characteristic Oder Associated with Fungating Cancer Wounds, M. Shirasu, S. Nagai, R. Hayashi, A. Ochiai, K. Touhara, Biosci. Biotechnol. Biochem., 73,2117-2120,2009.

#### 測定法

15. “Novel instrumentation for determination of ethanol concentration in human perspiration by gas chromatography and a good interrelationship in ethanol concentration in sweat and blood”, T. Kamei, T. Tsuda, Y. Mibu, S. Kitagawa, H. Wada, K. Naitoh, K. Nakanishi, Anal. Chim. Acta, 1998, 365, 259-266.

16. Direct temperature-controlled trapping system and its use for the gas chromatographic determination of organic vapor released from human skin”, K. Naitoh, Y. Inai, T. Hirabayashi, and T. Tsuda, Anal. Chem. 2000, 72(13), 2797-2801.

#### 特許

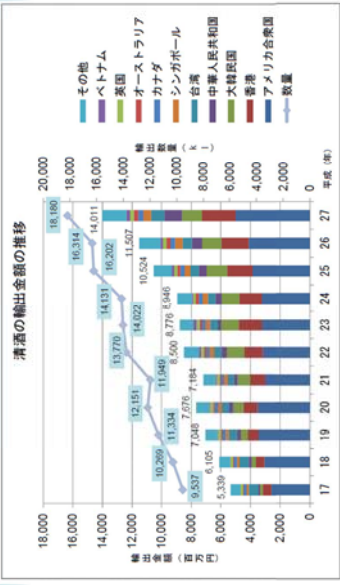
特許(JST, ピコデバイス、津田) 17. “皮膚透過ガス収集装置および皮膚透過ガス測定装置”、特許第 4024818号、特許第 4024817号、特許第 3850662号、特許公開 2006-234843. US 7247137 B2, US 7266404 B2, US 7261692 B2, 18. 表面放出ガスサンプリング装置”、特許公開 2007-155385. 18 抗体による加熱時における同時温度制御、US 6661241 B2. 19. 簡易検出法に関する特許及び検知方法など 特許及び実用新案 ピコデバイス他. 20. ウェアラブル発汗計 実用新案出願

## GC-FID による日本酒中のジアセチル測定

信和化工株式会社

藤村 耕治

2017.12.01



平成27年、品目別輸出金額

| 品目 | 金額 (百万円) | 対前年比   | シェア(輸出額) | 第1位     | 第2位   | 第3位   |
|----|----------|--------|----------|---------|-------|-------|
| 清酒 | 14,011   | 121.8% | 35.9%    | アメリカ合衆国 | 香港    | 大韓民国  |
|    |          |        |          | 4,997   | 2,282 | 1,384 |

国別別「平成27年」酒類の輸出動向について」より

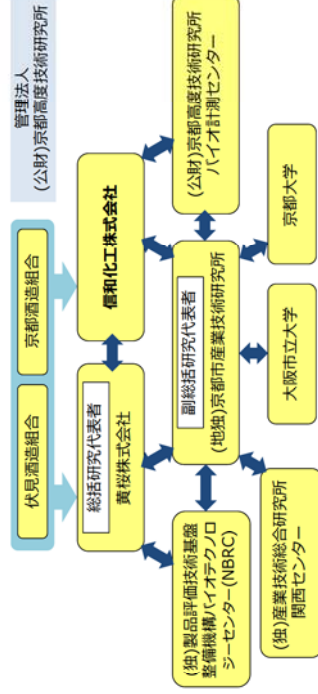
http://www.na.go.jp/hofyodoku/pre02015/naie\_yorudoku/pdf/balc\_winhofyodoku/pre02015/naie0503-1428268456258768427

2

2017.12.01

平成25年度～平成27年度  
戦略的基盤技術高度化支援事業 (サポートインダストリー事業)

「世界市場を開拓するSake・大吟醸生産システムの革新」



3

2017.12.01

平成25年度～平成27年度  
戦略的基盤技術高度化支援事業 (サポートインダストリー事業)

分析者からの要求 (分析対象)

フレバー: カブロン酸エチル  
酢酸イソアミル など

$10^{-3}$  g/L  
ヘッドスペース-GC法

オフフレーバー: アルデヒド・ジアセチル

$10^{-5} \sim 10^{-4}$  g/L  
ヘッドスペース-GC法  
(ECD)

有機酸: 乳酸、ピルビン酸、コハク酸、リンゴ酸、クエン酸

$10^{-2} \sim 10^{-1}$  g/L  
HPLC法  
エステル化-GC法

アミノ酸: 必須アミノ酸

$10^{-2} \sim 10^{-1}$  g/L  
HPLC法

5

2017.12.01

平成25年度～平成27年度  
戦略的基盤技術高度化支援事業 (サポートインダストリー事業)

営業サイトの要求

- ① 国内で評価の高い大吟醸酒を、海外に大規模に供給できること
- ② 従来品とは異なる、世界市場でワインと同じレベルで勝負できる製品を開発すること



製造現場の課題

- ① 高品質大吟醸酒の大規模 + 安定生産
- ② 目的とする品質の製品を開発するプロトコルの確立
- ③ 製造現場で導入可能な簡便、低コストの分析技術

4

2017.12.01

ジアセチルの定量

ジアセチル (Diacetyl)

IUPAC名: 2,3-ブタンジオン

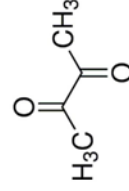
化学式: C<sub>4</sub>H<sub>8</sub>O<sub>2</sub>

分子量: 86

比重: 0.99

沸点: 88 °C

水に易溶、エタノールに混和



- ・ バター様・ヨーグルト様の臭気
- ・ 乳酸菌などの微生物による発酵時に生成
- ・ 清酒製造業では好ましくない臭気 (つわり香)

できるだけシンプルな (安価な)  
システムで分析したい

水素炎イオン化検出器  
(FID) での測定に  
チャレンジ

6

2017.12.01

## ジアセチルの定量

## 意外と難しいジアセチルの定量

- 弁別閾値が低い (日本酒で 100 ~ 500 ppb)
- 沸点、蒸気圧、分配係数等がエタノールに近似
- クロマトグラフ分析にて、水、エタノールが分析を阻害する
- エタノールリッチなサンプルからの捕集濃縮が困難
- エタノールリッチなサンプルからの固相抽出が困難
- ヘッドスペース-GC法が主流 (検出器: ECD)

7

2017.12.01

※ ヒール酒造組合国際技術委員会 (BCO) 法を応用

8

2017.12.01

## ジアセチルの定量



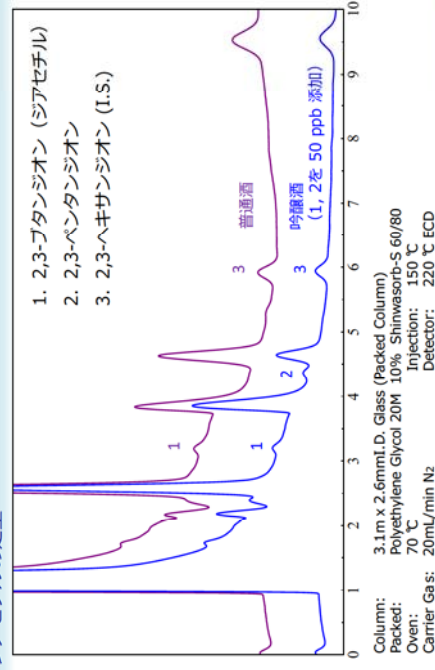
GC-ECD分析

※ ヒール酒造組合国際技術委員会 (BCO) 法を応用

8

2017.12.01

## ジアセチルの定量



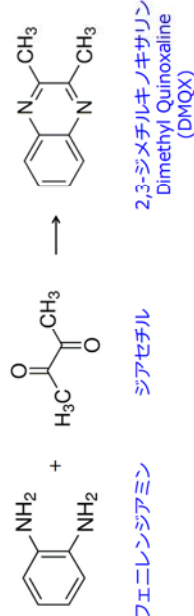
9

2017.12.01

## ジアセチルの定量

ジアセチルの検出感度上昇 → 誘導体化

- ケトンに対する第一級アミンの求核付加反応を利用した誘導体化法



o-フェニレンジアミン

ジアセチル

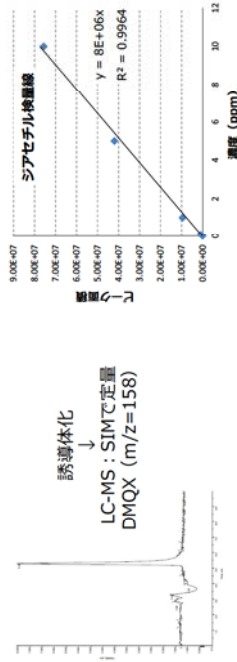
2,3-ジメチルキノキサリン  
Dimethyl Quinoxaline  
(DMQX)

10

2017.12.01

## ジアセチルの定量

乳酸菌を培養した液体培地中のジアセチル測定



資料：京都市産業技術研究所

11

2017.12.01

## ジアセチルの定量

| 菌株番号                            | アルコール耐性なし + 有機酸産生 |             | 麹汁培地  |             | MRS培地 |             |
|---------------------------------|-------------------|-------------|-------|-------------|-------|-------------|
|                                 | 濃度                | ジアセチル (ppm) | 濃度    | ジアセチル (ppm) | 濃度    | ジアセチル (ppm) |
| <i>L. carnosum</i> F301         | 0.500             | 2.5         | 0.500 | 2.5         | 0.406 | 1.5         |
| <i>L. carnosum</i> F302         | 0.426             | 0.5         | 0.426 | 0.5         | 0.441 | 1.5         |
| <i>L. curvatus</i> F506         | 0.403             | 14.6        | 0.403 | 14.6        | 0.716 | 3.4         |
| ★ <i>L. mesenteroides</i> F1304 | 0.789             | 0.8         | 0.789 | 0.8         | 0.597 | 1.3         |
| <i>L. curvatus</i> F1308        | 0.438             | 1.9         | 0.438 | 1.9         | 0.679 | 2.3         |
| ★ <i>L. curvatus</i> F1401      | 0.573             | 1.8         | 0.573 | 1.8         | 0.705 | 2.7         |
| <i>L. citreum</i> F1403         | 0.233             | 0.5         | 0.233 | 0.5         | 0.721 | 1.2         |
| <i>L. citreum</i> F1708         | 0.308             | 1.0         | 0.308 | 1.0         | 0.781 | 2.3         |
| <i>L. casei</i>                 |                   | 7.1         |       | 7.1         |       | 13.4        |

資料：京都市産業技術研究所

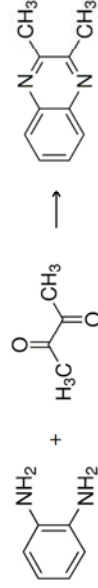
12

2017.12.01



ジアセチルの定量

LC-MS は高価なシステム → ガスクロマトグラフィーでの分析法を模索



o-フェニレンジアミン

ジアセチル

2,3-ジメチルキノキサリン  
Dimethyl Quinoxaline  
(DMQX)

- ・ 炭素数が増加しFID感度が上昇
- ・ 有機溶媒への抽出が可能

13

2017.12.01

ジアセチルの定量

検液 (日本酒)

20 mL 密柱試験管に 10 mL 添加

内部標準 (ナフタレン)

o-フェニレンジアミン 1% エタノール溶液 1 mL

攪拌後、2 分間静置

クエン酸三ナトリウム 31% 水溶液 8 mL

トルエン 1 mL

転倒混和

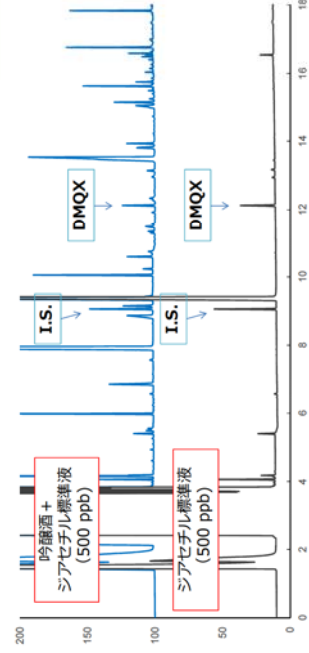
上層 2  $\mu$ L

GC-FID 分析

14

2017.12.01

ジアセチルの定量



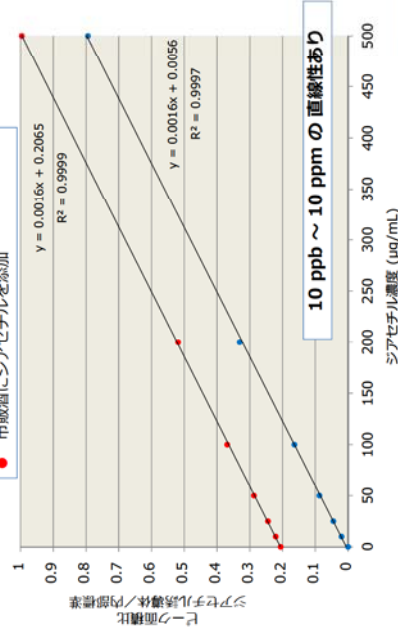
カラム: 5%フェニル-ジメチルポリシロキサン液相 キヤピラリー-カラム  
 サイズ: 30 m x 0.25 mm I.D.  $df=0.25 \mu m$   
 オープン温度: 70°C・3 min Hold → 10 °C/min 昇温 → 170 °C → 20 °C/min → 270 °C  
 キャリアガス: He, 1.5 mL/min スプリット: 5 : 1  
 検出器: FID, 270 °C 注入口: 250 °C  
 サンプル注入量: 2.0  $\mu$ L

15

2017.12.01

ジアセチルの定量

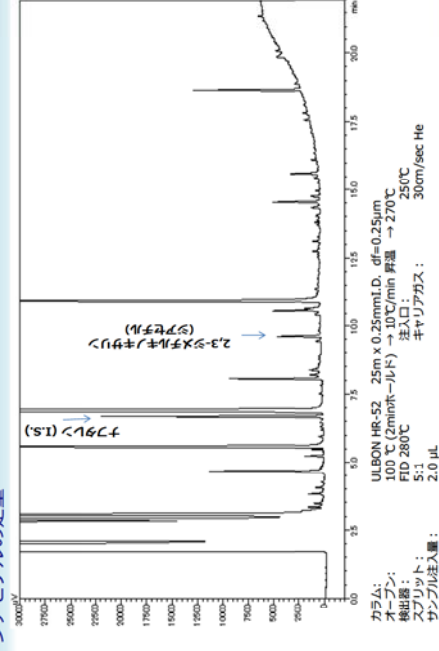
- 15%エタノール水溶液にジアセチルを添加
- 市販酒にジアセチルを添加



17

2017.12.01

ジアセチルの定量



16

2017.12.01

ジアセチルの分析例

ジアセチル誘導体化キット

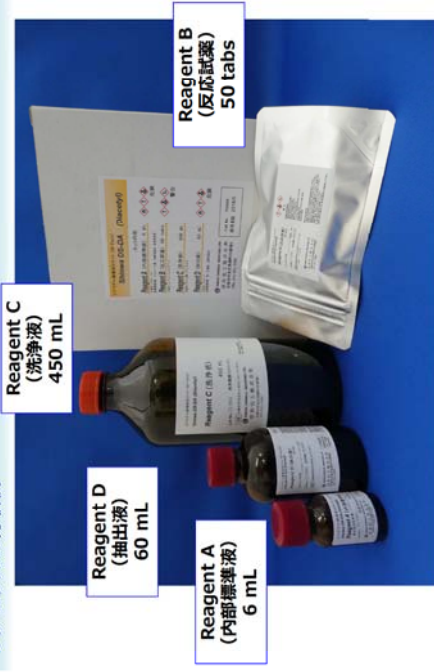
Shinwa DS-DA (Diacetyl)

- ・ 日本酒に含まれるジアセチルを GC-FID で測定可能
- ・ 10 ppb ~ 10 ppm の検量線で直線性を確認
- ・ 酸化重合する o-フェニレンジアミン試薬をタブレット化
- ・ 処理時間 5分
- ・ 加熱の必要なし

18

2017.12.01

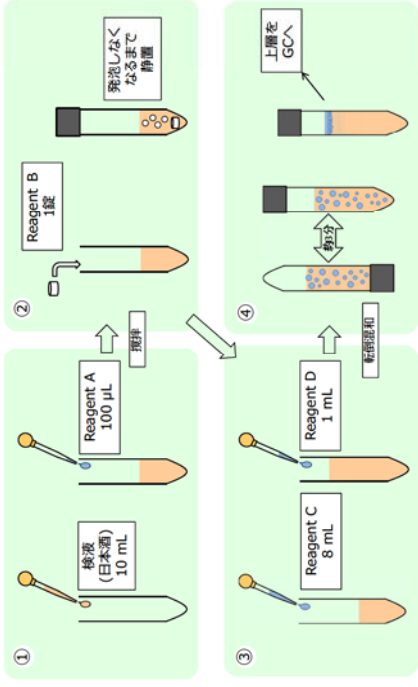
ジアセチルの分析例



19

2017.12.01

ジアセチルの分析例

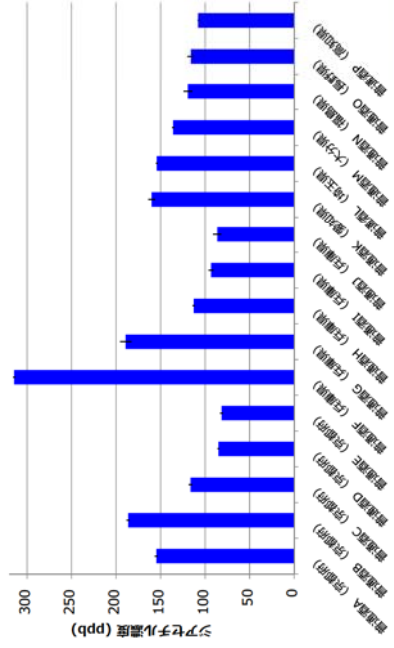


20

2017.12.01

分析例

市販普通酒 16銘柄のジアセチル濃度

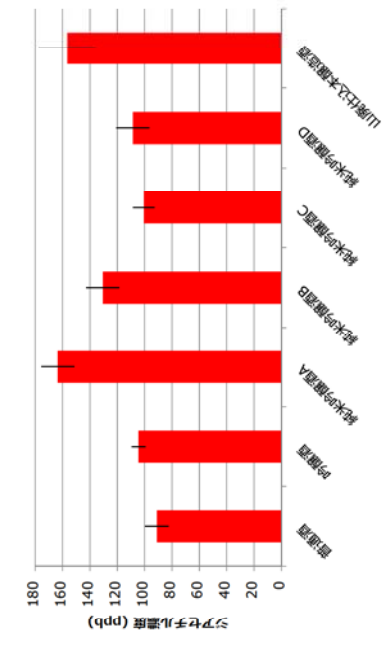


21

2017.12.01

分析例

酒類別各銘柄のジアセチル濃度

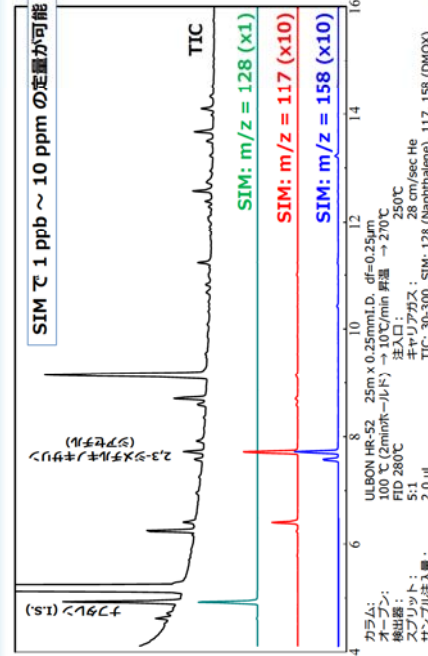


資料：黄桜株式会社

22

2017.12.01

分析例



23

2017.12.01

ご清聴ありがとうございました

24

2017.12.01

## 医薬品残留溶媒—ヘッドスペース法に適さない成分の分析—

(株) <sup>しまづせいさくしよ</sup>島津製作所 <sup>かいほう</sup>グローバルアプリケーション開発センター <sup>わだとよひと</sup>和田豊仁

### 【緒言】

安全で有効な医薬品をより早く患者様に提供するため、国際的な医薬品承認審査の基準の合理化・標準化が必要となり、1990年4月、日本・米国・ヨーロッパの各医薬品規制当局と業界団体によりICH（医薬品規制調和国際会議）が発足した。ICHの合意により、日本でもヨーロッパや米国の試験法と、ほぼ同等の医薬品の残留溶媒の試験法が定められた。この医薬品残留溶媒の試験法は日本薬局方17改正の一般試験法に記載されている。本試験法は主に、比較的毒性が高いクラス1,2相当の残留溶媒のヘッドスペース—GCの試験法について詳細に記載されている。クラス1,2の成分名と濃度限度値をTable 1,2に示した。表中の★印をつけた成分が「ヘッドスペース分析に適さない化合物および非水溶性医薬品の試験用に使われる可能性のある溶媒」で、市販されているクラス2の混合標準溶液に含まれていない8成分である。米国薬局方(USP)では、これらの8成分のジメチルスルホキシド(DMSO)溶液の標準原液を、Class2Cという名称で発売している。Class2Cの試験法については、USP467でも示されておらず、同様に日本薬局方でも「適切にバリデーションされた方法により試験を実施するという記載」があるだけである。Class2Cの8成分は、濃度限度値が低いもの、FIDで感度が低いものが含まれているのも分析法の確立が難しい一因であろう。

本研究では「ヘッドスペース分析に適さない化合物および非水溶性医薬品の試験用に使われる可能性のある溶媒」(Class2C)の化合物について、水溶性試料における分析検討を行ったので報告する。

| Table1 クラス1溶媒の濃度限度値(ppm) |       | Table2 クラス2溶媒の濃度限度値(ppm) |       |                         |       |
|--------------------------|-------|--------------------------|-------|-------------------------|-------|
| Name                     | 濃度限度値 | Name                     | 濃度限度値 | Name                    | 濃度限度値 |
| Benzene                  | 2     | Acetonitrile             | 410   | Methanol                | 3000  |
| Carbon tetrachloride     | 4     | Chlorobenzene            | 360   | ★2-Methoxyethanol       | 50    |
| 1,2-dichloroethane       | 5     | Chloroform               | 60    | Methylbutylketone       | 50    |
| 1,1-dichloroethene       | 8     | Cumene                   | 70    | Methylcyclohexane       | 1180  |
| 1,1,1-trichloroethane    | 1500  | Cyclohexane              | 3880  | Dichloromethane         | 600   |
|                          |       | 1,2-Dichloroethene       | 1870  | ★N-methylpyrrolidone    | 530   |
|                          |       | 1,2-Dimethoxyethane      | 100   | Nitromethane            | 50    |
|                          |       | ★N,N-Dimethylacetamide   | 1090  | Pyridine                | 200   |
|                          |       | ★N,N-Dimethylformamide   | 880   | ★Sulfolane              | 160   |
|                          |       | 1,4-Dioxane              | 380   | Tetrahydrofuran         | 720   |
|                          |       | ★2-Ethoxyethanol         | 160   | Tetralin                | 100   |
|                          |       | ★Ethylene glycol         | 620   | Toluene                 | 890   |
|                          |       | ★Formamide               | 220   | 1,1,2-Trichloroethylene | 80    |
|                          |       | Hexane                   | 290   | Xylene                  | 2170  |



## 【装置と実験】

### 試料の調製および混合標準溶液の調製

以前の USP-31<467> の method I に、GC への液体試料直接注入の試験法が記載されており、ここでは試料を 50 倍に水で希釈されていた。本法でも試料の希釈倍率は 50 倍とした。

試料を粉碎後、約 0.2g を 10mL のメスフラスコに採取、水にて溶解、メスアップした。試料には市販の胃薬、頭痛薬を用い、そのまま分析、または混合標準溶液を添加して回収率を求めた。

標準混合原液は濃度限度値の約 5 倍になるように DMSO に溶解して調整した。(USP から発売されている Class2C と同様の濃度) この標準原液を水にて希釈して混合標準溶液を調整した。Table 3 に調製した混合標準溶液の濃度を示した。試料を 50 倍希釈したときの濃度限度値の 1/4~2 倍濃度となるように検量線の混合標準溶液を調製した。

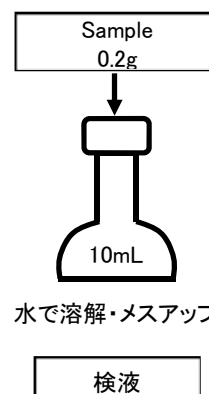


Fig.1 試料の溶解・希釈

Table 3 標準溶液の濃度(mg/L)

|                       | 混合標準原液 | 限度値相当濃度 x1/4 | 限度値相当濃度 x1/2 | 限度値相当濃度 | 限度値相当濃度 x1.5 | 限度値相当濃度 x2 |
|-----------------------|--------|--------------|--------------|---------|--------------|------------|
| 2-Methoxyethanol      | 251    | 0.25         | 0.5          | 1.01    | 1.51         | 2.01       |
| 2-Ethoxyethanol       | 820    | 0.82         | 1.64         | 3.28    | 4.92         | 6.55       |
| N,N-Dimethylformamide | 4568   | 4.57         | 9.13         | 18.27   | 27.4         | 36.54      |
| N,N-Dimethylacetamide | 5655   | 5.66         | 11.31        | 22.62   | 33.93        | 45.24      |
| Ethylene glycol       | 3123   | 3.12         | 6.24         | 12.49   | 18.73        | 24.98      |
| N-Methylpyrrolidone   | 2670   | 2.67         | 5.34         | 10.68   | 16.02        | 21.36      |
| Formamide             | 1135   | 1.14         | 2.27         | 4.54    | 6.81         | 9.08       |
| Sulfolane             | 833    | 0.83         | 1.66         | 3.33    | 4.99         | 6.65       |

GC は、島津製作所製 GC-2010plusAF、オートインジェクターに AOC-20i/s、データ処理装置は、島津ワークステーション Labsolution GC を使用した。GC の分析条件を下記に示した。

気化室温度: 160 °C, 注入法: 高圧スプリット法、キャリアーガス: He

カラム温度: 50°C (7min) - 4°C/min - 110°C (0min) - 10°C/min - 220°C (10min)

カラム: SH-Rtx-WAX 0.53mm x 30m, df = 1um

検出器: FID 検出器温度: 240 °C, 注入量: 1uL

## 【結果と考察】

必要な濃度と分離を考慮し、高圧スプリット注入により多くの試料をカラムに導入させることにした。Fig.2 に限度値相当濃度 (試料を 50 倍希釈の場合) の混合標準溶液のクロマトグラムを示した。8 成分が良好な分離、感度を示しているのがわかる。

Fig.3 に、限度値相当濃度の 1/4 から 2 倍までの濃度の混合標準溶液の検量線を示した。R<sup>2</sup>=0.995 以上と良好な直線性を示した。

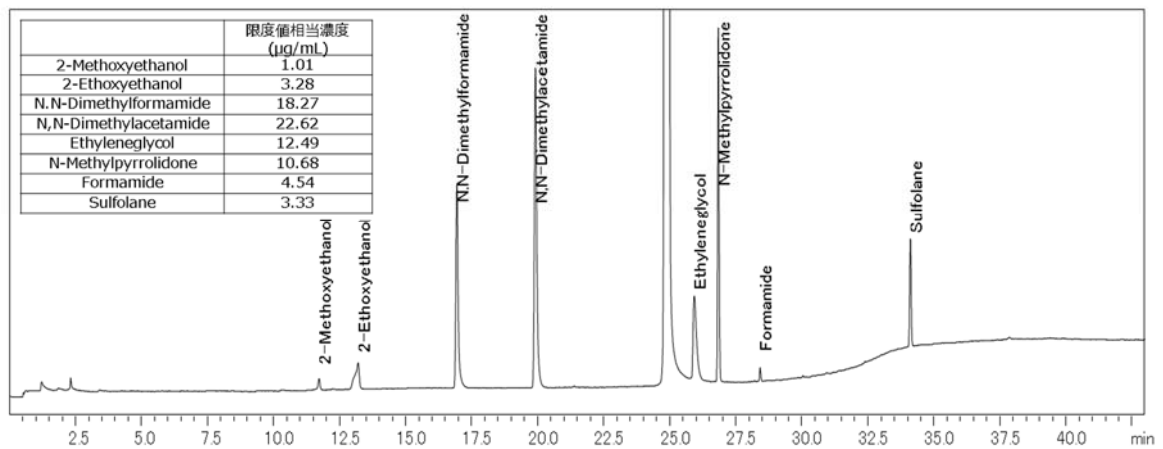


Fig.2 限度値相当濃度(試料を 50 倍希釈の場合)の混合標準溶液のクロマトグラム

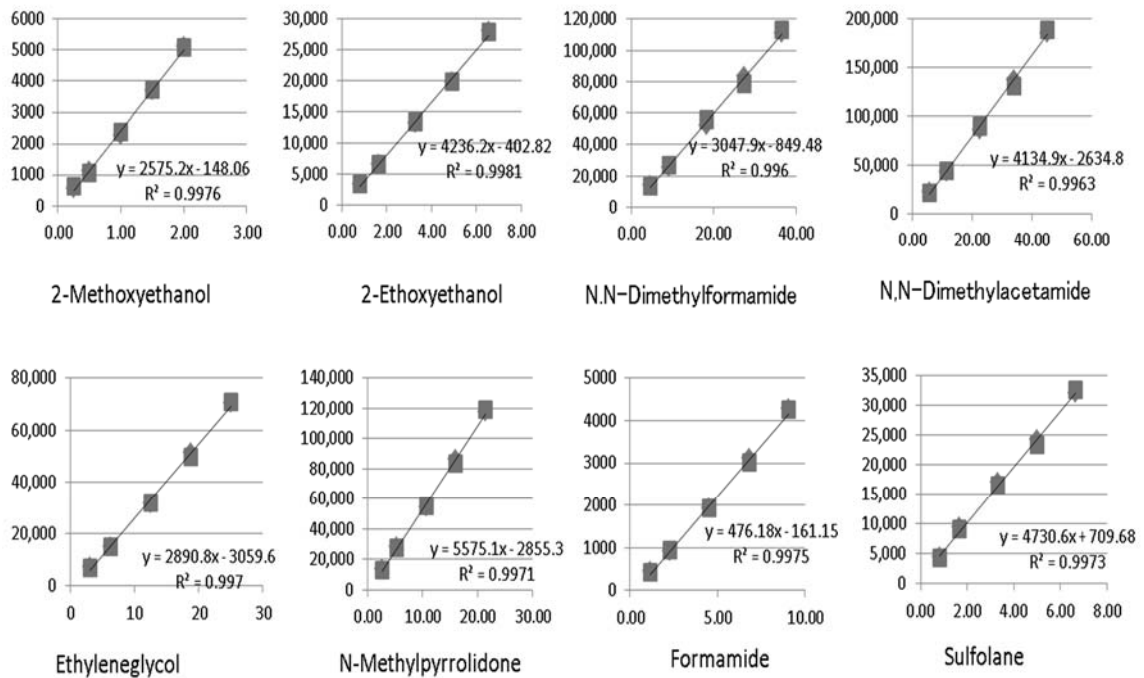


Fig.3 限度値相当濃度の 1/4 から 2 倍までの混合標準溶液の検量線

Table 4 に 限度値相当濃度 (試料を 50 倍希釈の場合) の混合標準溶液の面積値( $\mu\text{V}/\text{sec.}$ ) の繰り返し再現性を示した。%RSD で 0.6~3%と良好な再現性を示した。

胃薬の約 50 倍希釈溶液と、同溶液に限度値相当標準溶液を添加した場合のクロマトグラムを Fig.4 に示した。胃薬の約 50 倍希釈溶液からはいくつかのピークが検出されたが、Class2C の 8 成分は検出されなかった。

Table 5 に、胃薬溶液に限度値相当標準溶液を添加した試料の定量値の繰り返し再現性と回収率を示した。%RSD で 0.6~3%と良好な再現性を示した

Table 4 限度値相当濃度の混合標準溶液の面積値(μV/sec.)の繰り返し再現性

|           | 2-Methoxy ethanol | 2-Ethoxy ethanol | N,N-Dimethyl formamide | N,N-Dimethyl acetamide | Ethylene glycol | N-Methyl pyrrolidone | Formamide | Sulfolane |
|-----------|-------------------|------------------|------------------------|------------------------|-----------------|----------------------|-----------|-----------|
| 濃度(ug/mL) | 1.01              | 3.28             | 18.27                  | 22.62                  | 12.49           | 10.68                | 4.54      | 3.33      |
| 1         | 2,357             | 14,034           | 57,562                 | 94,730                 | 34,066          | 58,566               | 2,076     | 18,505    |
| 2         | 2,402             | 14,161           | 55,148                 | 91,270                 | 35,332          | 59,523               | 2,032     | 17,728    |
| 3         | 2,268             | 14,296           | 58,393                 | 97,970                 | 36,117          | 61,085               | 2,115     | 17,994    |
| 4         | 2,423             | 14,178           | 57,797                 | 94,561                 | 35,655          | 59,257               | 2,139     | 18,303    |
| 5         | 2,443             | 14,121           | 55,307                 | 91,321                 | 35,823          | 59,948               | 2,155     | 17,983    |
| 6         | 2,300             | 14,113           | 58,085                 | 96,484                 | 36,098          | 61,913               | 2,167     | 17,868    |
| mean      | 2,366             | 14,151           | 57,049                 | 94,389                 | 35,515          | 60,049               | 2,114     | 18,064    |
| SD        | 70.0              | 87.0             | 1438.8                 | 2701.8                 | 768.1           | 1237.8               | 51.5      | 287.9     |
| %RSD      | 2.96              | 0.62             | 2.52                   | 2.86                   | 2.16            | 2.06                 | 2.44      | 1.59      |

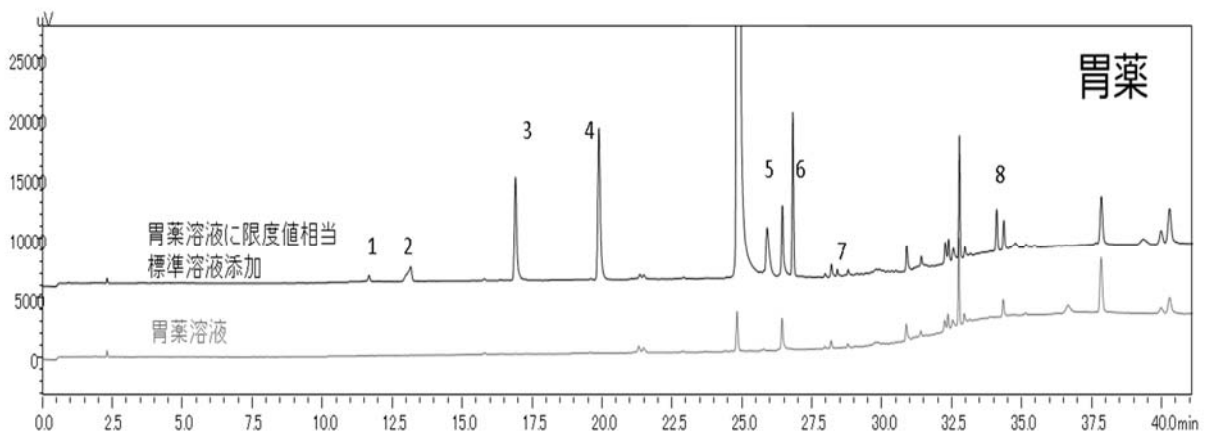


Fig. 4 胃薬の50倍希釈溶液と、同溶液に限度値相当標準溶液を添加した場合のクロマトグラム

Table 5 胃薬溶液に限度値相当標準溶液を添加した試料の、定量値の繰り返し再現性と回収率

| 濃度(ug/mL)   | 2-Methoxy ethanol | 2-Ethoxy ethanol | N,N-Dimethyl formamide | N,N-Dimethyl acetamide | Ethylene glycol | N-Methyl pyrrolidone | Formamide | Sulfolane |
|-------------|-------------------|------------------|------------------------|------------------------|-----------------|----------------------|-----------|-----------|
| 1           | 0.91              | 3.26             | 17.0                   | 21.2                   | 12.8            | 10.0                 | 4.94      | 2.84      |
| 2           | 0.94              | 3.26             | 18.1                   | 22.4                   | 12.8            | 10.2                 | 4.46      | 2.88      |
| 3           | 1.00              | 3.25             | 18.1                   | 21.7                   | 12.3            | 9.6                  | 4.90      | 2.82      |
| 4           | 0.94              | 3.26             | 18.4                   | 22.7                   | 13.0            | 10.3                 | 4.98      | 2.90      |
| 5           | 0.99              | 3.18             | 18.2                   | 22.4                   | 12.9            | 10.2                 | 4.85      | 2.96      |
| 6           | 0.90              | 3.26             | 18.0                   | 22.2                   | 12.6            | 10.1                 | 4.52      | 2.91      |
| mean        | 0.95              | 3.24             | 17.96                  | 22.11                  | 12.74           | 10.07                | 4.77      | 2.88      |
| SD          | 0.04              | 0.03             | 0.47                   | 0.55                   | 0.24            | 0.27                 | 0.22      | 0.05      |
| %RSD        | 4.11              | 0.99             | 2.60                   | 2.48                   | 1.86            | 2.69                 | 4.70      | 1.71      |
| 添加濃度(ug/mL) | 1.01              | 3.28             | 18.3                   | 22.6                   | 12.5            | 10.7                 | 4.54      | 3.33      |
| 回収率         | 100.6             | 99.5             | 99.4                   | 98.5                   | 99.3            | 98.5                 | 106.9     | 100.2     |

### 【結論】

本法により Class2C の8成分を高感度一斉分析が可能であった。限度値相当濃度の標準溶液の面積値の%RSDは3%以内、限度値相当濃度の1/4~2倍の濃度範囲の標準溶液直線性は、各成分ともR2=0.995以上と良好であった。胃薬溶液に限度値相当濃度を添加した場合の回収率は99~107%、定量値の繰り返し再現性(%RSD)は5%以内と良好であった。

本法を用いることにより、水溶性試料のClass2C溶媒について、限度試験等のスクリーニング分析だけでなく、定量試験が可能になったといえる。

- 参考文献 1) 平成28年3月7日厚生労働省告示64号 第17改正日本薬局方  
 2) USP-31-〈467〉 Organic Volatile Impurities  
 3) USP-37-〈467〉 Residual Solvents

## 濃縮装置によるにおい成分の高感度化と解析ソフトウェアの活用

西川計測株式会社 小野由紀子（おのゆきこ）

### はじめに

質量分析計(MS)はガスクロマトグラフの検出器のひとつと言っても良いほど、近年普及が進みあらゆる分野で利用されている。ガスクロマトグラフの他の検出器との大きな違いとしては質量情報が得られることがあげられるが、市販されているライブラリーを用いて簡便に化合物の同定が行えることから、GC-MSは未知成分の定性ツールとして多用されている。食品・飲料の分野においても、「食」を豊かにすることを目的とし様々な研究・開発がすすめられている中でGC-MSにおけるにおい成分の分析は重要とされている。さらには、品質管理、安全性といった場面においても官能試験の裏付けや、異臭原因の特定など、社会の安全・安心と快適な生活を支えるべくGC-MSは活躍している。とりわけ食品香気においては臭気閾値が非常に低い成分がその匂いに強く寄与している場合が多く、におい成分の微量での検出が望まれる。近年、検出器の高感度化が進んではいるものの、それでも人の嗅覚に及ばないケースが多いことから、GC-MSにおいて微量分析を行う場合は、抽出や濃縮など何らかの前処理が必要とされる。におい成分分析の前処理法としては、水蒸気蒸留、液々抽出、吸着管への捕集、ヘッドスペース法、ページ&トラップ法、SPME法、SBSE法などがあげられる。なかでも人が実際に感じる匂いに成分組成がもっとも近い手法にヘッドスペース法があるが、従来この方法は導入できる量に制限があり高感度での分析が困難とされていた。

今回紹介する大容量ヘッドスペース(Large Volume Static Headspace :LVSH)は、大容量のヘッドスペースガスをEntech 7200自動濃縮装置内のTenax捕集管で濃縮し、クライオフォーカシングをかける事によりその全量をGC-MSへ導入する前処理方法である。また、弊社では香気成分に特化したデータベース「AromaOffice」の開発を行っており、現行のVer.6においてはそのエントリー数が10万件を超え、この種のデータベースとしては世界有数と考えられる。ここでは、Entech 7200-GC-MSによるにおい成分の高感度分析と、AromaOfficeを用いた解析例を紹介する。

### におい成分の高感度化

アメリカEntech Instruments社のEntech 7200自動濃縮装置は、従来環境大気中に微量に存在する有害汚染物質などの揮発性有機化合物(Volatile Organic Compounds : VOCs)の分析に活用されてきた。近年、装置内の全サンプルパスを不活性化処技術Silonite-Dでコーティングすることにより、硫黄化合物に代表されるような極性の高いVOCsへの応用が可能となったことから、食品・飲料中のにおい成分の分析等にEntech 7200が適用されるようになった。2つの濃縮モジュールと1つのクライオフォーカスモジュールから構成され

た3ステージ濃縮は、濃縮モードを使い分けることで acetaldehyde など低沸点の化合物から、4-vinylguaiacol、indole など沸点の高い化合物までを濃縮することが可能である。通常 10~1000mL のヘッドスペースガスの濃縮が可能であり、その際夾雑物となる空気、水分、エタノールを効率的に除去し、VOCs を濃縮しその全量を GC-MS へ導入するため高感度な分析が可能となる。

## 解析ソフトウェア

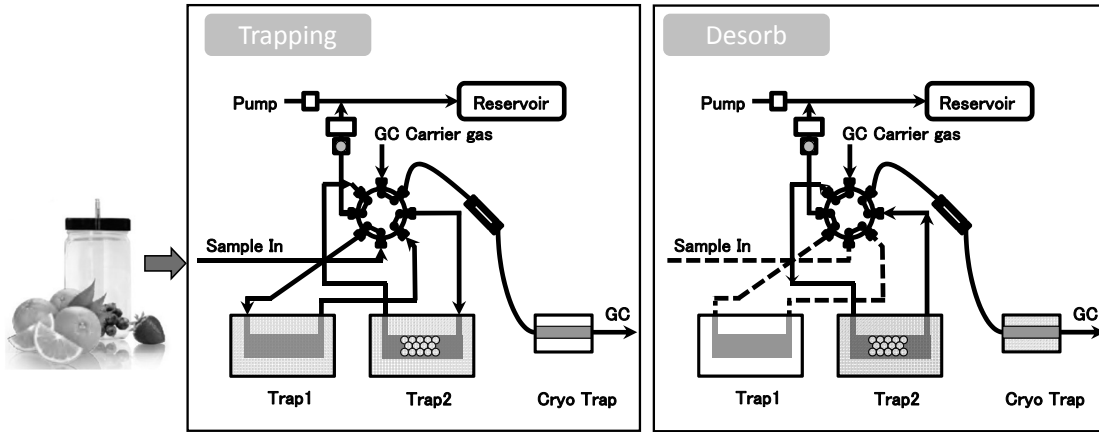
AromaOffice は、国内外 14 の著名な雑誌に掲載された文献から化合物情報および文献情報を収録したデータベースソフトウェアであり、におい成分の辞書として構造式、保持指標、においの特性など様々な情報を検索する事が可能である。また、Agilent 社製の解析ソフトウェア「GC/MS ChemStation」と連携することにより、未知成分の同定支援ソフトとして定性分析を飛躍的に効率化させることができる。

GC-MS を用いた化合物の同定では、ライブラリーに収録されている既知化合物のスペクトルと得られた未知化合物のスペクトルの類似度から化合物の特定を行うことが一般的である。しかしながらにおい成分においては、異性体が多く存在することや、同族体の中にほぼ同じフラグメントパターンが有するものが存在することがあるため、そのような場合はスペクトルによる化合物の同定は困難となり煩雑化する。そこで重要となるのが、保持指標 (Retention Index : RI) である。直鎖の炭化水素との相対保持値に基づく本指標は、カラムからの溶出時間を示す保持時間 (Retention Time : RT) とは異なり化合物特有の値として固定化して扱うことができる。AromaOffice における化合物の同定では、ライブラリーによるスペクトルの類似度と、保持指標の両者を組み合わせて利用することにより、未知化合物のより正確な同定が可能となる。濃縮を行ったにおい成分の TIC では数百のピークが検出されることも少なくはない。その中からにおい成分を自動検出してくれる機能や、TIC 上で複数のピークが重複している場合に単一成分のスペクトルを自動で抽出するデコンボリューション機能など、効率的なおい成分の定性のアシストを可能とする。

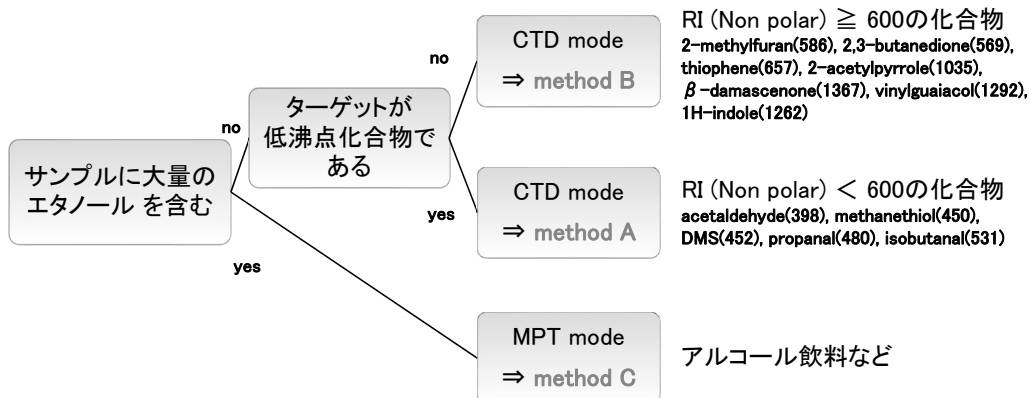
## おわりに

におい成分分析における前処理から解析までのアプローチとして、LVSH を用いた Entech 7200 自動濃縮装置と AromaOffice の紹介を行った。今後も GC-MS が社会の快適な生活を支えるべく研究開発や品質管理の分野で活躍していくための一助となれば幸いです。

Entech 7200 濃縮/脱離時のサンプルフロー



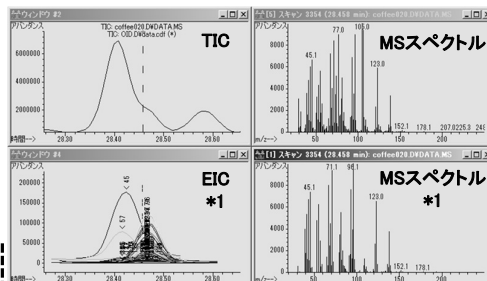
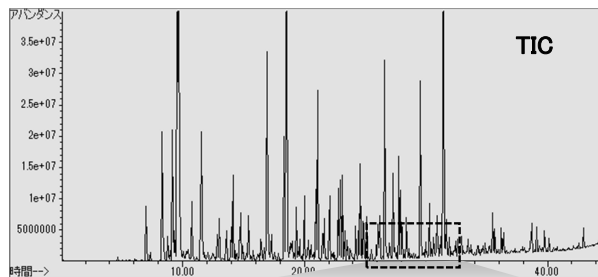
Entech 7200 濃縮モードの選択



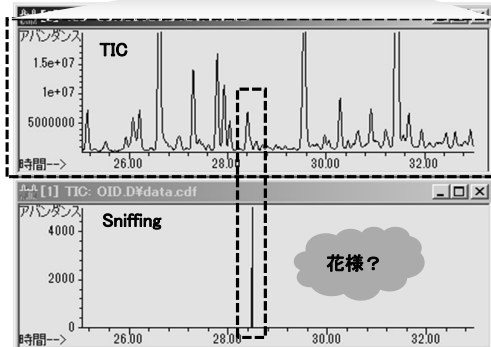
# AromaOffice データ解析例



## コーヒー中のリナルール解析例



拡大



\*1 デコンボリューションした情報

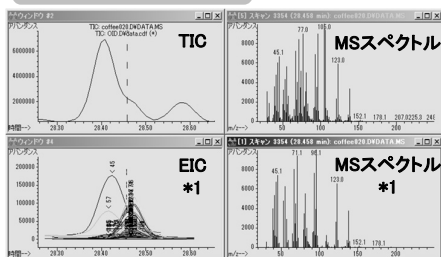
デコンボリューション  
マウスで指定したRTに溶出する  
EIC(m/z)を絞り込むことにより、  
RTの異なる夾雑物を除去した  
MSスペクトルが取得できます。

Nishikawa

# AromaOffice データ解析例



## デコンボリューション



\*1 デコンボリューションした情報

## ライブラリーサーチ結果(MSスペクトル)

ライブラリーサーチ結果(AromaOffice)

| Hit | RT | RI | Name   | RI | MW  | Formula | *CASNo      | Library |
|-----|----|----|--|----|-----|---------|-------------|---------|
| 1   | 60 |    | LINALOOL L \$\$ 1,6-OCTADIEN-3-OL 3,7-DIMETH         | 0  | 154 | C10H18O | 000078-70-6 | W9N08.L |
| 2   | 45 |    | 2-Cyclopenten-1-one, 3-methyl- (CAS) \$\$ 3-Meth     | 0  | 96  | C6H8O   | 002758-18-1 | W9N08.L |
| 3   | 43 |    | 2-Cyclohexen-1-one, 4,4,6-trimethyl- \$\$ 4,4,6-Trim | 0  | 138 | C9H14O  | 018395-73-8 | W9N08.L |
| 4   | 38 |    | cis-Salvene \$\$ CIS-2-METHYL-3-METHYLENE-5-         | 0  | 124 | C9H16   | 999029-42-5 | W9N08.L |
| 5   | 30 |    | 1-Ethynylcyclopentanol \$\$ 1-Ethynyl-1-cyclopent    | 0  | 110 | C7H10O  | 017355-19-3 | W9N08.L |
| 6   | 25 |    | ALPHA-TERPINOLENE \$\$ Cyclohexene, 1-methyl         | 0  | 136 | C10H16  | 000556-52-9 | W9N08.L |

## アロマサーチ結果(MSスペクトル+RI)

| RT     | RI   | Area | Area% | Int | RI-Ave | RI-Diff | Hit | CAS No  | Formula | Character | Name(MS Library)                  |
|--------|------|------|-------|-----|--------|---------|-----|---------|---------|-----------|-----------------------------------|
| 28.458 | 1554 |      |       | 155 | 1551   | 3       | 60  | 78-70-6 | C10H18O | alltree   | LINALOOL L \$\$ 1,6-OCTADIEN-3-OL |

| RI-Ave | RI-Diff | Hit | CAS No  | Formula | Character | Name(MS Library)                  |
|--------|---------|-----|---------|---------|-----------|-----------------------------------|
| 1551   | 3       | 60  | 78-70-6 | C10H18O | alltree   | LINALOOL L \$\$ 1,6-OCTADIEN-3-OL |

アロマサーチ  
ライブラリーサーチの結果を、  
RIでさらに絞り込むことで定性確度  
が向上します。

Nishikawa

## 香気化合物ノンターゲット分析をシステムチックに行う TD-GC/MS ワークフロー

サーモフィッシャーサイエンティフィック株式会社  
クロマトグラフィー & MS 事業部 アプリケーション部  
土屋 文彦 (つちや ふみひこ)

### ◆はじめに

近年、食品の異臭などによるクレーム対応や食品開発のための味のデザインを目的とした分析のニーズが高まっています。これらの分析では未知の化合物探索という要素があることから、ノンターゲット分析をベースにした検体間比較やキャラクタライゼーションという一般のルーチン分析とは異なるデータ処理のノウハウや高い網羅性が必要とされます。

この様な状況において、前処理装置を含む最近の GC-MS システムの性能は、一回の測定で数百あるいはそれ以上の化合物を検出するのに十分なポテンシャルを有しています。このことは非常に良い面ですが、一方そのような膨大なデータ解析に対する作業量は既に通常の分析者の処理能力をはるかに超えているか、少なくとも迅速な結果提出が求められるクレーム対応などのケースでは大きな障害となります。このように大量のピークデータからいかに必要な情報の抽出をサポートするツールは分析を成功させる大きなカギとなります。

ノンターゲット分析における検体間比較では以下の事が求められます。

- ① 繰り返し測定による偶発的エラーの確認 (定量的な精度を有する分析装置)
- ② 自動ライブラリサーチとその正確さ (デコンボリューション)
- ③ データ比較のためのスプレッドシートの作成 (ピークアライメント)
- ④ 統計的処理による結果の精査 (ANOVA、多変量解析など)

本発表では、比較的揮発性化合物が多いサンプルを用いて上記の①～④を満たすワークフローを検証することで、その実用性を評価した結果について報告します。

### 装置の選定

再現性の確認については、定量的な精度での繰り返し測定が可能なシステムとして、Markes International 社の加熱脱着装置 (UNITY-ULTRA-xr™) に搭載されるリコレクション機能を採用しました。このシステムの利点は、サンプルからあらかじめ数十回の測定に相当する量の香気化合物を TD チューブに捕集して、それを流路のスプリット比調節で、複数回にわたり同量ずつ GC に送る事が可能なことです。この際、大量にサンプリングする事で TD チューブの個体差および環境からの意図せざる微量なコンタミネーションの影響を相対的に低下させることが可能です。

自動ライブラリサーチとスプレッドシートの作成については、Thermo Scientific™



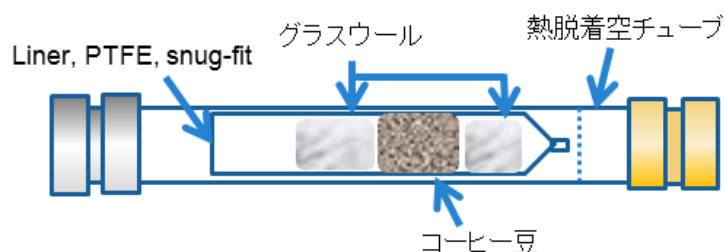
TraceFinder™ 4.1 ソフトウェア (Thermo Fisher Scientific) に搭載されている Deconvolution Plugin およびアンノウンスクリーニングによるピークアライメントを採用しました。

統計処理による結果の精査では、TraceFinder 4.1 ソフトウェアでレポートアウトされるスプレッドシートを市販の多変量解析ソフトウェア (JMP™ 11 : SAS Institute Inc.) により解析し、検体間比較におけるデータの質について確認しました。

#### ◆ サンプルおよび装置

##### サンプル

市販のコーヒー豆 5 種類 (モカ、キリマンジャロ、ドイトン、マンデリン、ブラジル) を購入し、それぞれ 50mg を下図のように TD 管 (空チューブ) にセットしました。



##### 装置

質量分析装置: Thermo Scientific ISQ LT シングル四重極 GC-MS システム

加熱脱着装置: UNITY-ULTRA-xr

##### 測定条件

###### ● GC 条件

Column : TG-WAXMS 30 m, 0.25 mm I.D., 0.25  $\mu$ m

Oven : 40°C (1 min) -4°C/min - 220°C (5 min)

Carrier Mode : 1.0 mL/min

Transfer Line Temp. : 220°C

###### ● 加熱脱着条件

コールドトラップ : UNITY 2/TD-100 Cold Trap Tenax TA

TD チューブ : Tenax TA

###### ● MS 条件

Ionization Mode : EI

Ion Source Temp. : 250°C

Emission Current : 50  $\mu$ A

Scan range :  $m/z$  33~300

## 検証するワークフロー

以下の手順でノンターゲット分析とそのデータ解析を実施しました。評価の基準は、いつ、だれが、どこで、何回やっても同じ結果が得られるよう、分析者の経験や先入観に影響されず結果が導かれるワークフローであることとしました。

加熱脱着装置のリコレクションによる繰り返し測定

GC-MS測定(5検体×繰り返し3回)

デコンボリューション

ピークアライメント

スプレッドシート

統計処理(精査)

多変量解析



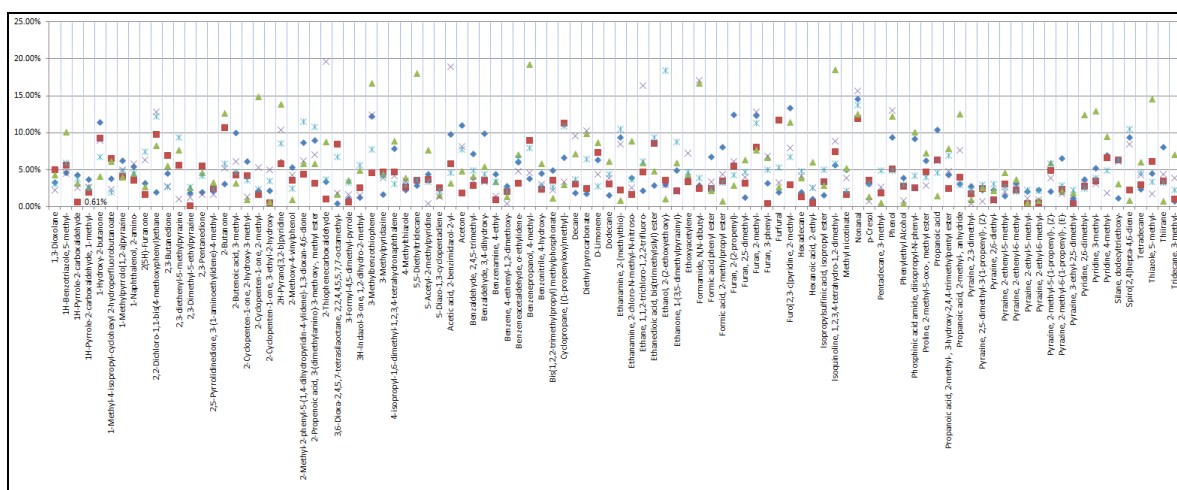
TraceFinder™ ソフトウェア



## ◆ 結果

### リコレクションの再現性

一連の分析においてコーヒー豆サンプルで確認された揮発性化合物から 代表として 100種類のベースピークを抽出し繰り返し測定 (N=3) における再現性を集計したところ、いずれも20%以内のRSD値が得られ、さらにそのうちの90%は10%以下のRSD値を示しました。この結果から、リコレクションを用いた繰り返し測定は、システムの不安定さや偶発的なアーティファクトの有無を評価するための有効な手法であると考えられました。

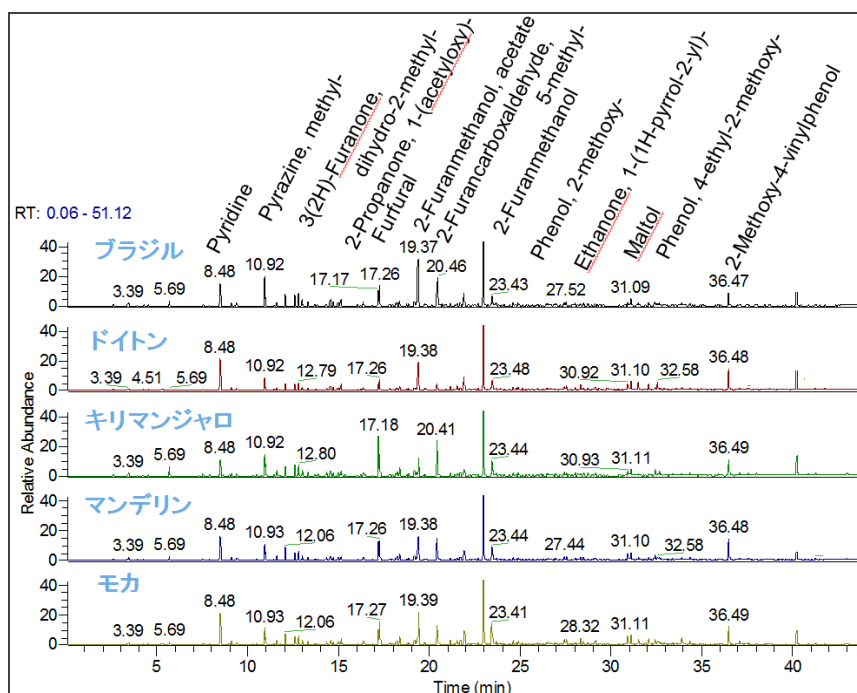


## TD-GC-MS 分析結果

今回の分析条件において得られた15データ（5検体×3回）についてTraceFinder 4.1ソフトウェアのDeconvolution Plugin1.2により自動ピーク解析を実施しました。

コーヒー豆の揮発ガスからは、ピラジン類25種、硫黄化合物21種、その他エステル化合物、テルペン類、その他香気性化合物多数を含む362の化合物が確認されました。この際、ライブラリにはNISTのmainlibを用いました。

なお、今回デコンボリューションに要した時間は15データで約2時間でした。

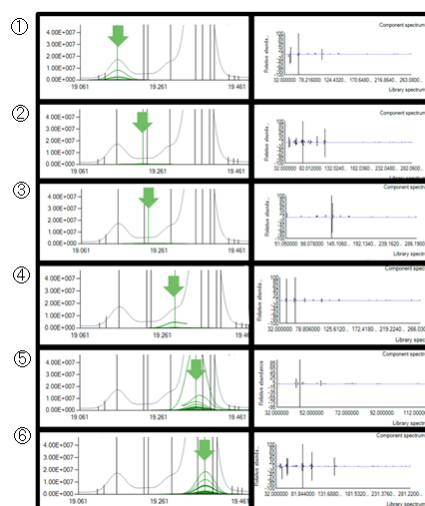


## デコンボリューション

デコンボリューションプロセッシングにより、今回の測定データにおいて、500を超えるピークが自動検出されました。このうちサーチインデックス（SI：ライブラリ一致率のスコア）の値が700以上および800以上を示したピーク数はそれぞれ、362および288でした。デコンボリューションの有効性を確認するためピークの重なりが予想される19.17～19.38分の領域についての検出結果を確認しました（右図）。

この領域では次の六つのピークが検出されました。

- ① 2-Butanone, 3,3 -dimethyl-,
- ② 2-Cyclopenten-1-one, 2,3 -dimethyl-,
- ③ Pyrazine, 2-methyl-6-(1 -proprnyl)-、
- ④ 2 -Butanone, 1 -(acetyloxy)-、
- ⑤ 2 ,3-BUTANEDIOL、
- ⑥ 2-Furanmethanol、 acetate



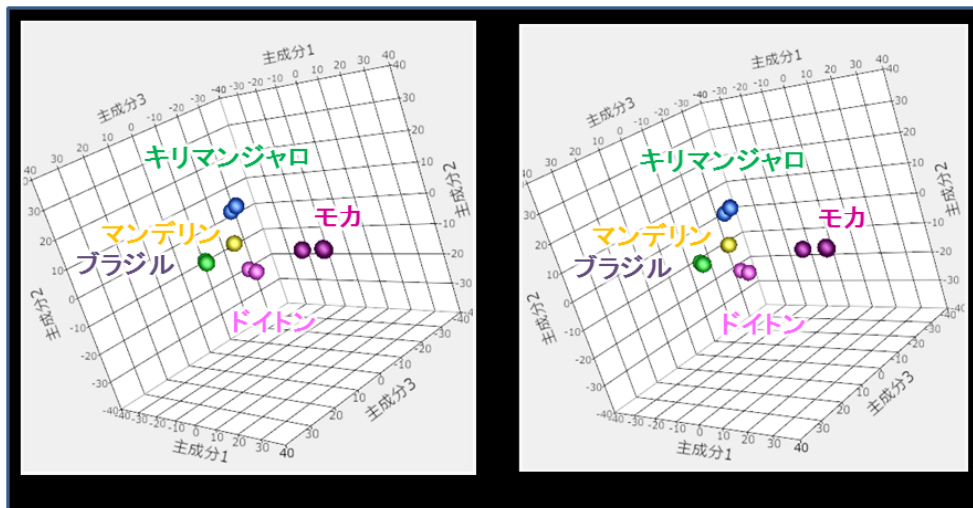
## ピークアライメント

コーヒー豆揮発性化合物 15 データのピークアライメントは1時間で完了しました。解析後 TraceFinder ソフトウェアのレポート機能により、表計算ソフトウェアで読み込み可能な形式 (下図) でスプレッドシートのアウトプットが可能です。このスプレッドシートにおいて多変量解析に必要な情報は、化合物名、サンプル名とそれぞれに対応する面積値ですが、保持時間、定量イオンなど付随する情報を加えることも可能です。

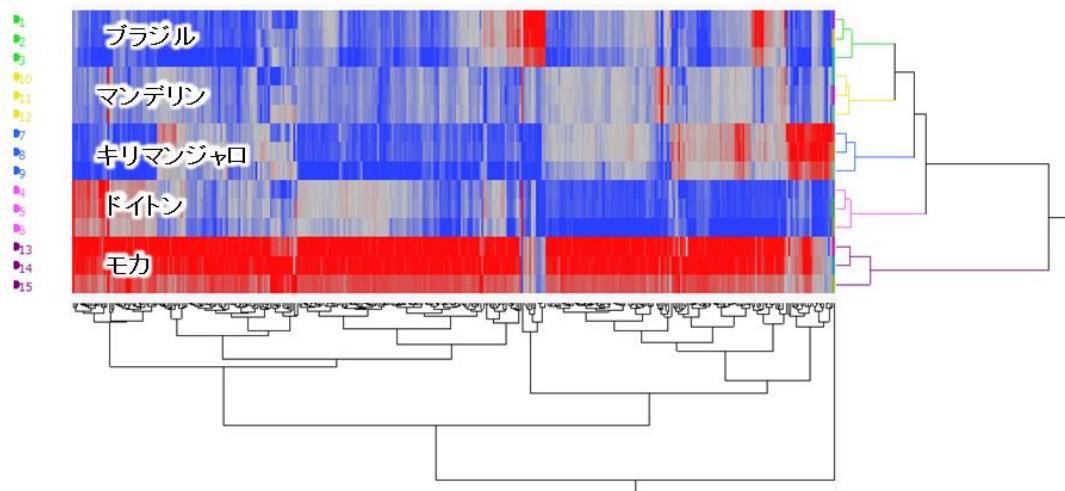
|  | Brazil.2 | Brazil.3 | Brazil.4 | Dotung.2 | Dotung.3 | Dotung.4 | Kilimanjaro.2 | Kilimanjaro.3 | Kilimanjaro.4 | Mandehaling.2 | Mandehaling.3 | Mandehaling.4 |
|--|----------|----------|----------|----------|----------|----------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| n-Heptane from 3-Heptane                       | 6.58E+04 | 8.58E+04 | 1.01E+05 | 6.64E+04 | 9.02E+04 | 9.68E+04 | 7.00E+04      | 9.11E+04      | 8.93E+04      | 8.12E+04      | 1.01E+05      | 1.25E+05      |
| 1-(methoxyacetyl)-5-hydroxydantrolin           | 2.00E+06 | 1.85E+06 | 1.60E+06 | 1.21E+06 | 1.04E+06 | 9.25E+05 | 4.28E+06      | 4.13E+06      | 3.55E+06      | 1.90E+06      | 1.75E+06      | 1.61E+06      |
| n-Octane from 2-Octene                         | 1.10E+05 | 1.20E+05 | 1.10E+05 | 1.12E+05 | 1.19E+05 | 1.15E+05 | 2.82E+05      | 3.07E+05      | 2.73E+05      | 1.55E+05      | 1.62E+05      | 1.71E+05      |
| Octane (CAS)                                   | 7.36E+06 | 7.41E+06 | 7.15E+06 | 7.25E+06 | 1.59E+06 | 1.59E+06 | 4.00E+05      | 4.28E+05      | 4.17E+05      | 8.44E+06      | 8.84E+06      | 2.38E+06      |
| 4-chloromethyl-2-dioxat                        | 1.38E+05 | 4.07E+04 | 4.07E+04 | 8.13E+04 | 2.71E+04 | 1.04E+04 | 1.06E+05      | 3.51E+04      | 1.05E+05      | 1.35E+05      | 4.48E+04      | 0.00E+00      |
| 1a-Pentyl-1-thio-2-thio                        | 2.67E+06 | 2.60E+06 | 2.48E+06 | 2.44E+06 | 2.37E+06 | 2.23E+06 | 3.01E+06      | 3.07E+06      | 2.84E+06      | 2.89E+06      | 3.04E+06      | 3.04E+06      |
| 2-Propanone (CAS)                              | 7.36E+06 | 7.41E+06 | 7.15E+06 | 7.25E+06 | 1.59E+06 | 1.59E+06 | 4.00E+05      | 4.28E+05      | 4.17E+05      | 8.44E+06      | 8.84E+06      | 2.38E+06      |
| Pentanoic acid, (S)-3-Pentyl-2-methyl          | 1.63E+07 | 1.65E+07 | 1.47E+07 | 1.24E+06 | 4.98E+05 | 4.48E+05 | 8.90E+05      | 8.85E+05      | 8.47E+05      | 1.95E+06      | 1.98E+06      | 1.87E+06      |
| 2,4-Dimethoxy-3-(3-Pentyl-2-methyl)acetic Acid | 2.55E+04 | 2.86E+04 | 2.43E+04 | 1.95E+04 | 1.95E+04 | 2.59E+04 | 2.29E+04      | 2.63E+04      | 3.07E+04      | 3.25E+04      | 1.09E+04      | 2.52E+04      |
| 1-H-iso  | 8.61E+05 | 1.18E+06 | 1.37E+06 | 7.19E+05 | 9.02E+04 | 9.68E+04 | 7.00E+04      | 9.11E+04      | 8.93E+04      | 7.50E+04      | 1.15E+05      | 1.45E+05      |
| 1,4-Dioxane                                    | 1.48E+06 | 1.24E+06 | 9.65E+05 | 1.18E+06 | 1.18E+06 | 1.18E+06 | 9.34E+05      | 7.03E+05      | 1.42E+06      | 1.42E+06      | 1.21E+06      | 1.05E+06      |
| 5,1,4-Dihydroxy-2-pyrone                       | 7.28E+04 | 9.20E+04 | 9.79E+04 | 7.91E+04 | 7.91E+04 | 7.91E+04 | 1.13E+06      | 1.23E+06      | 7.96E+04      | 1.06E+06      | 1.24E+06      | 1.24E+06      |
| trans-Butene-2                                 | 3.21E+05 | 3.90E+05 | 4.07E+05 | 1.83E+05 | 1.83E+05 | 1.83E+05 | 2.70E+05      | 3.30E+05      | 3.14E+06      | 3.34E+06      | 3.14E+06      | 3.14E+06      |
| isopropyl-1-cyclohexene                        | 2.19E+05 | 2.78E+05 | 3.10E+05 | 2.20E+05 | 2.20E+05 | 2.20E+05 | 3.03E+05      | 3.48E+05      | 1.20E+05      | 1.84E+05      | 2.71E+05      | 2.71E+05      |
| (-)-(R)-1-(2,6-Dimethylphenyl)ethanone         | 2.51E+04 | 2.78E+04 | 3.05E+04 | 2.04E+05 | 2.04E+05 | 2.04E+05 | 1.13E+05      | 1.23E+05      | 3.21E+04      | 6.75E+04      | 2.18E+04      | 2.18E+04      |
| Nonane (CAS)                                   | 1.90E+05 | 1.67E+05 | 1.43E+05 | 1.10E+05 | 1.10E+05 | 1.10E+05 | 2.07E+05      | 2.01E+05      | 1.50E+05      | 1.43E+05      | 1.30E+05      | 1.30E+05      |
| (+)-1-dioxynol                                 | 8.33E+05 | 1.15E+06 | 1.29E+06 | 7.69E+05 | 7.69E+05 | 7.69E+05 | 1.24E+06      | 1.37E+06      | 7.94E+05      | 1.12E+06      | 1.45E+06      | 1.45E+06      |
| Propanal, 2-methyl                             | 3.56E+06 | 3.66E+06 | 3.38E+06 | 2.50E+06 | 2.50E+06 | 2.81E+06 | 2.85E+06      | 1.87E+06      | 1.89E+06      | 3.14E+06      | 3.34E+06      | 3.44E+06      |
| 3,4-Dihydroxybutanal, 2-methyl                 | 1.54E+06 | 1.58E+06 | 1.55E+06 | 7.54E+05 | 9.39E+05 | 9.80E+05 | 6.20E+05      | 7.62E+05      | 7.69E+05      | 8.86E+05      | 1.08E+06      | 1.20E+06      |
| Butanal, 2-methyl                              | 9.95E+06 | 9.93E+06 | 8.94E+06 | 4.00E+06 | 4.15E+06 | 3.67E+06 | 1.92E+07      | 1.91E+07      | 1.67E+07      | 1.00E+07      | 1.03E+07      | 1.01E+07      |
| Butanal, 2-methyl                              | 9.95E+06 | 9.90E+06 | 8.53E+06 | 3.80E+06 | 3.96E+06 | 3.50E+06 | 9.62E+06      | 9.54E+06      | 8.33E+06      | 1.02E+07      | 1.02E+07      | 1.00E+07      |
| t-Butyl ester of 2-methylbutanoic acid         | 6.65E+04 | 6.86E+04 | 6.51E+04 | 6.33E+04 | 6.96E+04 | 6.74E+04 | 3.37E+04      | 3.56E+04      | 3.06E+04      | 6.36E+04      | 7.07E+04      | 6.42E+04      |
| Propanoic acid, 2-methyl                       | 6.65E+04 | 6.86E+04 | 6.51E+04 | 6.33E+04 | 6.96E+04 | 6.74E+04 | 3.37E+04      | 3.56E+04      | 3.06E+04      | 6.36E+04      | 7.07E+04      | 6.42E+04      |
| Butanal, 2-methyl                              | 3.95E+06 | 3.95E+06 | 3.25E+06 | 2.00E+06 | 1.98E+06 | 1.71E+06 | 4.60E+06      | 4.69E+06      | 4.01E+06      | 4.26E+06      | 4.30E+06      | 4.12E+06      |
| Acrolein oxime                                 | 4.20E+06 | 4.21E+06 | 3.64E+06 | 2.16E+06 | 2.10E+06 | 1.82E+06 | 5.28E+06      | 4.75E+06      | 4.11E+06      | 4.65E+06      | 4.57E+06      | 4.46E+06      |
| 4,5-dihydro-2H-pyridin-2-one                   | 8.86E+04 | 9.17E+04 | 9.17E+04 | 7.50E+04 | 9.00E+04 | 8.65E+04 | 7.50E+04      | 8.14E+04      | 7.60E+04      | 8.44E+04      | 9.73E+04      | 1.00E+05      |
| Benzene  | 4.80E+05 | 7.10E+05 | 8.19E+05 | 5.12E+05 | 7.34E+05 | 8.69E+05 | 4.98E+05      | 7.88E+05      | 9.25E+05      | 4.13E+05      | 6.67E+05      | 9.20E+05      |
| BUT-2-ENEDINITRILE                             | 4.80E+05 | 7.10E+05 | 8.19E+05 | 5.12E+05 | 7.34E+05 | 8.69E+05 | 4.98E+05      | 7.88E+05      | 9.25E+05      | 4.13E+05      | 6.67E+05      | 9.20E+05      |
| 2-Acetoxyethyl n-1-hydroxy-2-octanoate         | 7.59E+04 | 1.10E+05 | 1.42E+05 | 0.00E+00 | 0.00E+00 | 0.00E+00 | 0.00E+00      | 0.00E+00      | 0.00E+00      | 1.45E+04      | 1.80E+04      | 1.82E+04      |
| Furan, 2,5-dimethyl-                           | 1.31E+06 | 1.31E+06 | 1.20E+06 | 7.29E+05 | 7.34E+05 | 6.69E+05 | 1.64E+06      | 1.64E+06      | 1.45E+06      | 1.30E+06      | 1.57E+06      | 1.32E+06      |

## 統計的解析結果

下図にはSI値800以上のピーク288種について、コーヒー豆5種の揮発性化合物のスコアプロットを示しました。繰り返し3回における各ポイントは品種ごとに明確に分離されており、各ピーク面積の再現性が高かったこと、さらに今回検出された化合物で検体間の違いを説明できることが確認されました。また、5種のコーヒー豆の中では、モカが他の4種と第一主成分で分かれていることが確認されました。



この結果について次の図に示したクラスター解析結果を確認したところ、モカに高い濃度を示す化合物が全体の9割近く存在することが確認されました。このことは、これらの化合物がモカとその他のコーヒーの香りの差に影響する可能性を示唆すると考えられました。



### サンプルの特徴に寄与する化合物の探索

今回使用したコーヒー豆については、種の違い以外にローストの度合いの違いがあることからその影響について確認しました。解析の手順では、ローストの度合い（浅煎り、中煎り、深煎り）を便宜的にスコア値（深煎りが高い値となる）に置き換えたものと、GC/MS で得られた面積値をそれぞれ目的変数と説明変数に位置づけました。

この両変数間の関連性を確認するため、主成分分析の際に自動計算される両変数間の相関係数を指標とし、この中で（相関係数） $>0.800$ のピークをリストアップしました。解析の結果 58 のピークが得られましたが、その中から香気活性の明確な代表的な化合物例を以下の表にまとめました。香気活性については、Odor Searchソフトウェア（アルファ・モス・ジャパン株式会社）のライブラリから引用しました。

| RT (分) | 化合物                                       | SI  | 香気活性 (Oder Searchライブラリ参照)  | 相関係数  |
|--------|---|-----|--|-------|
| 9.72   | Phenol, 4-ethyl- (CAS)                    | 860 | castoreum; coffee; cranberry; rum                                | 0.953 |
| 10.03  | Benzenemethanol, $\alpha$ -methyl- (CAS)  | 886 | apricot; castoreum; cherry; floral; gardenia; grape              | 0.947 |
| 12.15  | 2-Butylfuran                              | 809 | chicken; cranberry; pork; tomato                                 | 0.827 |
| 17.83  | Furan, 2-[(methylthio)methyl]-            | 925 | coffee; garlic; horseradish; liver; mustard; onion; pork         | 0.896 |
| 21.27  | 2-Propenal, 3-phenyl- (CAS)               | 949 | allspice; almond; apple; apricot; aramis; balsam; banana         | 0.91  |
| 21.52  | 5H-5-Methyl-6,7-dihydrocyclopentapyrazine | 823 | chocolate cocoa; coconut; coffee; cream ice cream                | 0.868 |
| 25.96  | Methyl nicotinate                         | 868 | fern fougere; leather; oakmoss mousse de chene; tobacco          | 0.923 |
| 28.34  | Ethanone, 1-(3-pyridinyl)- (CAS)          | 886 | bread baked bread; jasmin; lily; nut filbert; tuberose tubereuse | 0.823 |
| 31.5   | difurfuryl ether                          | 962 | coffee; nut  | 0.981 |
| 32.06  | Phenol, 2-methyl- (CAS)                   | 908 | antimicrobials; cassie acacia farnesiana; castoreum              | 0.819 |
| 32.1   | Phenol (CAS)                              | 928 | antimicrobials; denaturants; deodorant agents                    | 0.827 |
| 41.79  | indole                                    | 925 | cassie acacia farnesiana; chocolate cocoa                        | 0.966 |

◆まとめ

- コーヒー豆サンプルの揮発性化合物をTD-GC/MSで測定した結果、SI値800以上のサーチ結果を示す300近いピークが確認されました。
- UNITY-ULTRA-xr のリコレクション機能により定量的に再現性の良い繰り返し測定が可能でした。
- TraceFinder ソフトウェアの Deconvolution Plugin に搭載されたデコンボリューションアルゴリズムは、スペクトルの純度を向上させることでライブラリサーチ結果の正確性を高め、さらに微量ピークの検出に対しても高い効果が期待されました。
- TraceFinder ソフトウェアのアンノウンスクリーニングで得られるピークアライメントで得られたスプレッドシートは他の市販多変量解析ソフトウェアでも利用できる拡張性を有しています。
- ここに示した検体間比較ワークフローにより、分析者の経験や先入観が結果に影響することなくシステムチックにデータ解析を完了することができました。

# 木由来の香りと木を用いた住空間～成分分析と人の生理・心理応答～

九州大学大学院農学研究院 清水邦義(しみずくによし)

## 1. はじめに

本稿では、木関連素材が有する匂いの生活応用を考えた場合に、社会実装出口だと考えられる「アロマ(精油、匂い素材)産業」ならびに「住環境産業」に着目し、その評価方法やそこから明らかとなった機能性について紹介したい。

これまで、さまざまな研究分野で香りの機能性の研究が進められてきた。生理学・心理学・脳科学の分野では生理・心理的な応答について、農芸化学・分析化学では匂い成分の分析について研究されており、その他、生物学・分子生物学の分野においても研究が行われている。しかし、各々の研究方法では、匂い成分によるヒトへの作用を正確に検証することは難しく、統合した匂いの評価方法の確立が期待されている。私たちは、各研究方法を組み合わせることによって、実環境応用に適した匂いの利用法の提案が出来ると考え、匂い成分の分析、香りによる生理・心理応答や匂い存在下の実住環境における視覚作業時の作業効率、睡眠の質への影響についても多面的解析を試みた。

## 2. 匂いの機能性の評価方法

PC を用いた視覚作業中に、匂いを含有する空気を吸入させ、生理・心理応答および作業効率に変化があるかを検討した。実験の様子を図 1 に、実験の流れを図 2 に示した。PC 作業のような長時間の単調な視覚刺激を与えられたヒトは、作業効率が低下することでミスが発生したり、眠気や疲労、ストレスが増大したりすることが考えられる。したがって、特に匂いによる作業効率の低下抑制や、眠気の抑制や疲労回復等について、検討を行った。それぞれ匂いを呈示する量を2段階(低濃度群と高濃度群)に設定し、清浄空気を対照とした 3 条件で比較することで、匂いの効果を調査した。

また、視覚作業ではなく、睡眠中に匂いを吸入させ、生理・心理応答および睡眠の状態に変化があるかを検討した。さらに、睡眠不足による睡眠覚醒リズムの不調は肌質の低下をもたらすという報告があるため、睡眠を伴う実験では肌質の状態についても調査した。

それぞれの実験で吸入させた匂い成分は、ガスクロマトグラフィー質量分析装置(GC-MS)により定性および定量分析を行った。

## 3. アロマ素材(精油、匂い素材)の機能性

精油などの匂い素材は、古来より様々な目的に用いられてきた。儀式の際に使用されたり、医薬品や防腐剤として使用されたりしており、薬理学的作用や精神的な作用など、精油の機能性は古くから知られていた。例として、ローズマリーは、消臭効果や抗菌効果を有するため、14 世紀ヨーロッパ



パでのペスト流行時に使用されたことが知られている。その他、古くから現在に至るまで、ラベンダーは緊張や不安を和らげ、気分を穏やかにするとしてアロマセラピーなどに広く利用されている。

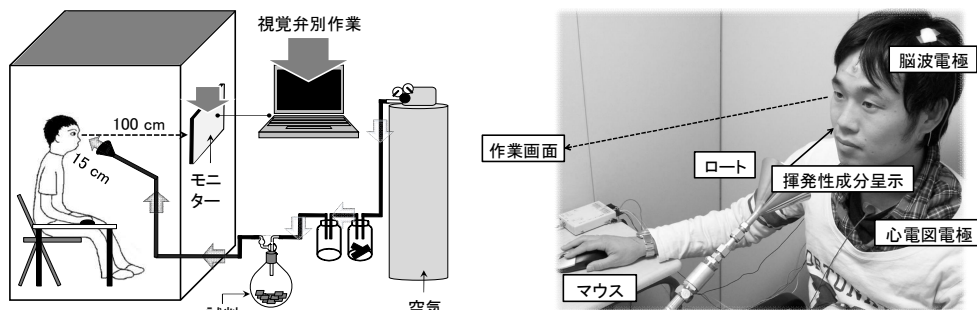


図 1 実験の様子(左: 香り呈示装置の模式図、右: 防音室内の様子)

|       |       |                        |       |       |
|-------|-------|------------------------|-------|-------|
| 5分    | 5分    | 30分                    | 5分    | 3分    |
| 調査    | 安静    | 作業                     | 安静    | 調査    |
| アンケート | 座位・閉眼 | 座位・開眼・視覚作業             | 座位・閉眼 | アンケート |
| ←     |       | 匂い成分の呈示 (1.0 L/分, 45分) |       |       |
| ←     |       | 生理応答の計測                |       |       |

図 2 実験の手順

精油は16世紀に初めて利用されたことが知られており、20世紀中旬では香料や化粧品として利用されることが一般的となってきた。自然由来の匂いは多種多様な化合物を含み、機能性も多岐にわたるため、その機能性がさまざまな場面で有効に利用されてきたと考えられる。

匂いの種類や濃度の違いによって、ヒトの生理・心理にさまざまな影響を与えることは、誰もが経験することだが、科学的データの蓄積はまだ少ない。ここでは、私たちが検討した数種類の匂いがヒトの生理・心理に与える影響について紹介したい。

### 3-1. 月桂樹(ローレル)の葉の香り

月桂樹(*Laurus nobilis* L.)の葉を乾燥させたものは、香辛料として広く使用されている。また、葉から水蒸気蒸留により得られた精油は、食品の香り付けや薬、化粧品などにも使われる。月桂樹葉の機能性として、抗けいれん作用や抗炎症作用、抗菌活性、抗酸化活性など多岐にわたる生理活性を有することが知られている。

月桂樹の匂い分析結果を図3に示した。月桂樹葉の香りに対する主観評価の結果、低濃度条件では対照(空気のみ)と変わらないが、高濃度条件では“危険な”・“はっきりした”・“落ち着かない”の項目において高値を示した。低濃度および高濃度の月桂樹葉成分の吸入により、どちらも対照と比較して心拍間隔が短い値を示したことから、作業後半の覚醒状態が維持されていたことが分かった(図4)。また、興味深いことに、低濃度の月桂樹葉の香りを吸入することによって、正答率の低下抑制に寄与することが示された。課題に対する反応速度は、低濃度および高濃度条件ともに対照よりも速い値を示した。これらの知見から、低濃度の月桂樹葉の匂い成分には、心理的な影



響は認められないにもかかわらず、生理的な覚醒状態の維持に寄与し、正答率の低下抑制という  
 ビジランス(持続的注意力)維持の機能を持つことが示唆された<sup>1,2)</sup>。

| No. | 成分                 | 量 (μg) |       |
|-----|--------------------|--------|-------|
|     |                    | 低濃度    | 高濃度   |
| 1   | α-pinene           | 0.3    | 1.5   |
| 2   | sabinene           | 1.4    | 13.8  |
| 3   | β-pinene           | 0.2    | 1.7   |
| 4   | 1,8-cineole        | 8.9    | 102.3 |
| 5   | linalool           | 5.2    | 81.0  |
| 6   | α-terpineol        | 1.3    | 21.4  |
| 7   | α-terpinyl acetate | 6.1    | 71.2  |
|     | 総量                 | 23.4   | 292.9 |

図3 被験者に呈示した月桂樹葉の匂い成分の量

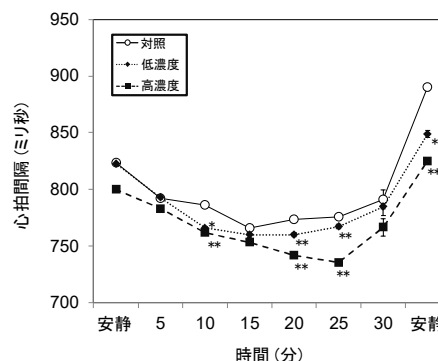


図4 月桂樹葉による心拍変動の経時変化への影響

低濃度および高濃度条件ともに対照よりも短い値を示した

(\*:  $P < 0.05$ , \*\*:  $P < 0.01$ . Student's *t*-test)。

### 3-3. モミ精油の香り

シベリアモミ(*Abies sibirica*)の木は、心地良い香りを有する葉を持ち、ヨーロッパや北アメリカでクリスマスツリーとして使われるだけでなく、暗く長い冬の間ずっと部屋に置いておく習慣があるようである。針葉から得られた精油は、抗菌作用や抗ウィルス作用などが知られており、シベリアでは伝統的に人々の健康を維持するとして重宝されている樹木である。日本では、森林浴と似た芳香を有するとして、アロマセラピーなどにも使用される。

モミ精油の匂い分析結果を図5に示した。モミ精油の香りに対する主観評価の結果、低濃度条件では対照(空気のみ)と変わらないが、高濃度条件では“強い”・“落ち着かない”・“危険な”の項目において高値を示した。低濃度および高濃度のモミ精油成分の吸入により、対照と比較して、作業後の安静時のθ波の割合が大きい値を示した。また、低濃度および高濃度条件では、課題終了時より終了後の安静時でθ波の上昇を示した(図6)。一方、低濃度および高濃度条件ともに、対照と比較して正答率および反応時間に差は認められなかった。これらの知見から、モミ精油の匂い成分は、作業効率へ影響を与えず、作業後の覚醒度を低下させる効果を有することが期待された。これらの効果から、モミ精油の睡眠誘導効果が期待できる可能性が考えられる<sup>3,4)</sup>。

| No. | 成分             | 量 (μg) |       |
|-----|----------------|--------|-------|
|     |                | 低濃度    | 高濃度   |
| 1   | santene        | 3.5    | 10.2  |
| 2   | tricyclene     | 2.7    | 8.3   |
| 3   | α-pinene       | 90.4   | 277.8 |
| 4   | camphene       | 27.2   | 81.8  |
| 5   | β-pinene       | 2.9    | 9.9   |
| 6   | myrcene        | 1.1    | 3.3   |
| 7   | δ-3-carene     | 16.2   | 50.7  |
| 8   | limonene       | 4.3    | 14.2  |
| 9   | bornyl acetate | 1.1    | 2.1   |
|     | 総量             | 149.3  | 458.2 |

図5 被験者に呈示したモミ精油の匂い成分の量

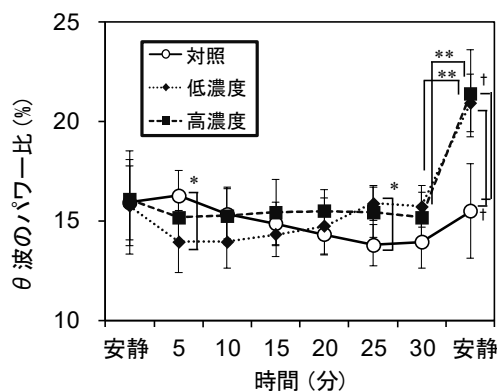


図6 モミ精油によるθ波の経時変化への影響

低濃度および高濃度条件は、対照と比較して高値を示した

(†:  $P < 0.1$ , \*:  $P < 0.05$ . Student's *t*-test)。また、低濃度お

よび高濃度条件では、実験終了時(30分)より終了後の安静時で上昇を示した(\*\*:  $P < 0.01$ . Paired *t*-test)。

| No. | 成分         | 量 (μg) |       |
|-----|------------|--------|-------|
|     |            | 低濃度    | 高濃度   |
| 1   | (-)-酢酸ボルニル | 279.4  | 716.3 |

図7 被験者に呈示した(-)-酢酸ボルニルの量

### 3-4. (-)-酢酸ボルニル(bornyl acetate)の香り

(-)-酢酸ボルニルとは、マツやモミなどのマツ科樹木から得られる精油に多く含まれており、香料として森の香りを演出する際に使用されることが多い成分である。(-)-酢酸ボルニルは抗炎症作用や鎮静作用を有することが報告されている。

#### 3-4-1. 課題作業時における(-)-酢酸ボルニルの影響

(-)-酢酸ボルニルの分析結果を図7に示した。(-)-酢酸ボルニルの香りに対する主観評価の結果、低濃度条件では対照(空気のみ)と変わらないが、高濃度条件では“はっきりした”・“強い”の項目において高値を示した。低濃度および高濃度の(-)-酢酸ボルニルを吸入した場合、課題終了時より終了後の安静時で $\theta$ 波の上昇を示した。心拍間隔について、高濃度条件で、対照と比較して高値を示した。また、低濃度および高濃度条件では、課題終了時より終了後の安静時で心拍間隔の上昇を示した。交感神経活動では、高濃度条件で、対照と比較して高値を示した。また、低濃度および高濃度条件では、課題終了時より終了後の安静時で交感神経活動の抑制を示した(図8)。一方、高濃度条件では、対照と比較して、課題の正答率が低値を示した。これらの知見から、(-)-酢酸ボルニルは、作業後の覚醒度を低下させる効果を有する効果が期待された。これらの効果から、(-)-酢酸ボルニルの睡眠誘導効果が期待できる可能性が考えられる<sup>5,6)</sup>。

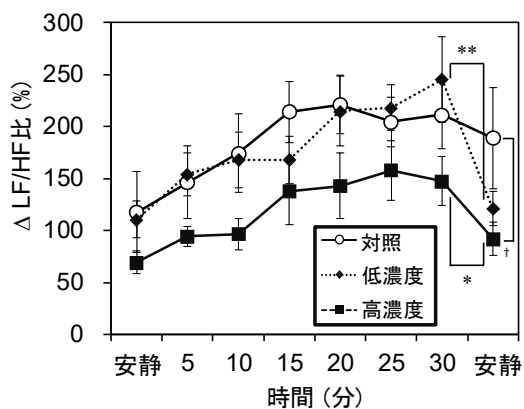


図8 (-)-酢酸ボルニルによる交感神経活動の経時変化への影響

交感神経活動の指標であるLF/HFの値は、測定開始時の値を基準とした相対値で示した。LF/HFは、高濃度条件で対照より高値を示した(†:  $P < 0.1$ . Student's *t*-test)。また、低濃度および高濃度条件では、実験終了時(30分)より終了後の安静時で上昇を示した(\*:  $P < 0.05$ , \*\*:  $P < 0.01$ . Paired *t*-test)。



図9 実験棟の外観および内装

### 3-4-2. 睡眠時における(-)-酢酸ボルニルの影響

(-)-酢酸ボルニルの香りあり群と、香りなし群で2週間就床時刻と起床持続時間を調査したところ、香りあり群でのみ、2週間目で就床時刻は早くなり、起床持続時間は短くなった。一方、香りあり群でのみ、目尻の水分および油分の主観評価について、実験開始時より実験終了時で高い値を示した。これらの知見から、(-)-酢酸ボルニルは睡眠を誘導し、肌質を改善する効果が期待できる可能性が示唆された。

## 4. 木を用いた住環境の快適性

日本人の歴史と文化は、木を利用してきたそれと言っても過言ではないだろう。古代から現代に至るまで、木は様々なかたちで日本人の生活に関わっており、日用品や工芸品など生活文化や生活様式を代表する物の多くが木で作られてきている。特に、四季の変化が激しい日本では木造住宅が好まれており、木材の持つ湿度の調整作用や、特に匂い成分(揮発性成分)が人々の健康や快適性に少なくとも一部は関与していたと考えられる。

実験を行うための建物として、無垢材である「津江杉」を内装に用いた建物(A棟)、表面が塗装やクロスで覆われている内装材を用いた建物(便宜上、本稿では非無垢材を用いた建物と呼ぶ:B棟)という2種の実験棟を九州大学のキャンパス内に建設した(図9)。被験者にとって、視覚的に棟間の区別がないように設定するため、見た目の印象が同様になるように、B棟(非無垢材)の壁紙にはA棟(無垢材)に近い木目調のものを用いた。この非無垢材棟は、薬の臨床試験におけるプラセボに相当するものと意図して設計された。

実験棟の建設によって、本空間の温度・湿度や揮発性成分といった物理・化学的条件を測定できるようになっただけでなく、本空間に滞在した際のヒトの生理・心理応答を測定し、分析することが可能となった。昨今の健康志向の高まりにより、木材がヒトの心身に及ぼす効果・効能を期待する消費者の潜在的ニーズは、ますます増えている。「木材はヒトと相性が良い」、「無垢材を用いた家ではよく眠れる」など経験的・主観的に語られてきたが、それらについてヒト存在下にて科学的に検証した例は少なく、多くの噂が存在するにとどまっていた。しかし、プラセボ棟としてのB棟(非無垢材)とA棟(無垢材)を比較することによって様々な噂の検証を行うことができるようになり、揮発成分の季節変動、ヒト存在下での無垢材の調湿作用、睡眠へ及ぼす影響など、これまで明確にされてこなかった木の家の噂の科学的データの蓄積が進みつつあるため、本稿で紹介したい。

### 4-1. 匂い成分

各実験棟内の匂い成分について、定期的に捕集し、GC/MS(ガスクロマトグラフ/質量分析装置)を使用して、定性および定量を行った。2014年3月から2016年4月までの室内匂い成分の変化を図10に示した。季節に関わらず、A棟(無垢材)でB棟(非無垢材)よりも匂い成分濃度が高いことが分かった。また、夏季に匂い成分濃度が高く、冬季に低くなることが示された<sup>7)</sup>。木の家に対して、好感や快適性を抱きやすい要因のひとつとして、豊富な匂い成分が関係している可能性が考えられたため、今後の検討課題としたい。

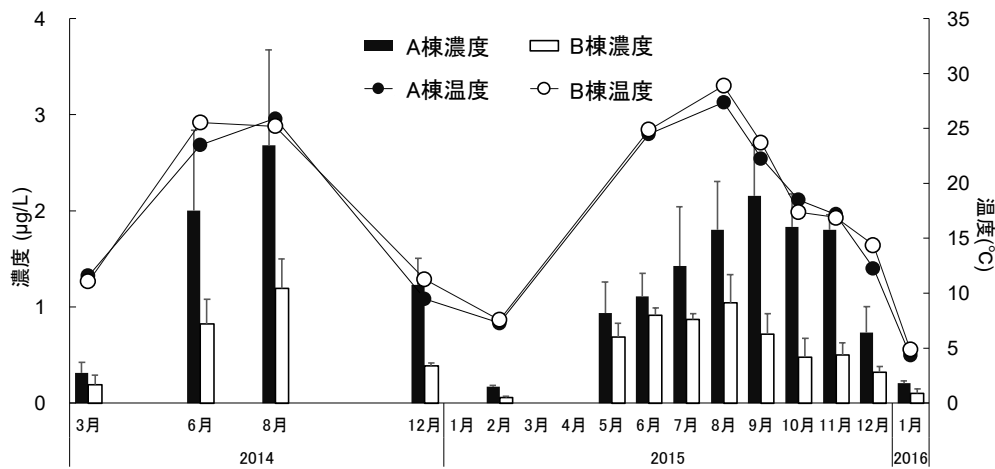


図 10 各実験棟における匂い成分および温度の経時変化

#### 4-2. 調湿作用

各実験棟で在室者が睡眠中の温湿度変化を調査した。睡眠時間は23時から翌朝7時までの約8時間とし、春季・梅雨季・冬季にそれぞれ測定を行った。結果として、季節に関わらず、A棟(無垢材)でB棟(非無垢材)よりも湿度が低値を示した。これは、睡眠中の在室者の発汗や不感蒸泄により、時間とともに湿度が上昇するが、A棟(無垢材)では湿度の上昇を抑制したと考えられる。したがって、湿度を一定に保つ作用は、在室者がいる状態でも、A棟(無垢材)で強く発揮されることが明らかとなった。

#### 4-3. 作業課題

アロマ素材(精油、匂い素材)の機能性と同様の実験方法で、各実験棟内で視覚作業中のヒトの生理・心理応答を調査した。結果として、A棟(無垢材)では、後頭部における $\alpha$ 波が課題終了後にB棟(非無垢材棟)と比較して回復しやすいことが示された(図11)。本データは、疲労回復効果と関連づけられるかもしれない。

#### 4-4. 睡眠の質

4-3の実験方法を改変し、30分の作業課題の代わりに、8時間の睡眠をとることにより、各実験棟における睡眠状態を調査した。睡眠状態として、8時間の睡眠中で、それぞれ睡眠第3段階とレム睡眠の時間の長さを測定した。睡眠第3段階は、一般的に中等度睡眠期とも呼ばれ、深い眠りで、外からの呼びかけにも反応しにくい状態を表す。一方、レム睡眠は、身体は眠っているが、脳は覚醒に近く、浅い眠りの状態を示す。結果として、睡眠第3段階の長さは、A棟(無垢材)でB棟(非無垢材)より長い値を示した。また、レム睡眠の長さは、A棟(無垢材)でB棟(非無垢材)より短い値を示した(図12)。A棟(無垢材)では比較的深い眠りが長く、浅い眠りが短いため、高い睡眠の質が得られる空間であることが分かった。

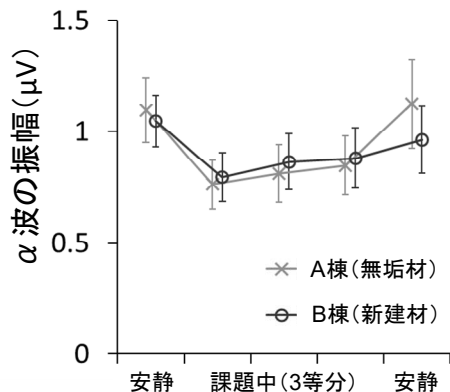


図 11 各実験棟による α 波の経時変化への影響の経時変化

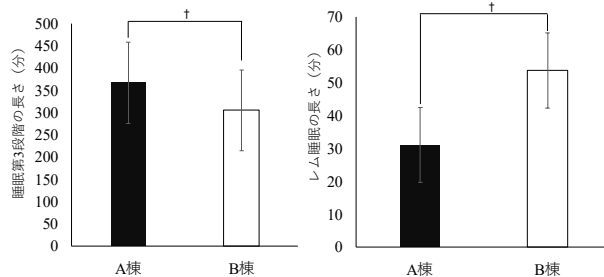


図 12 各実験棟による睡眠状態への影響

睡眠第 3 段階の時間は A 棟(無垢材)で B 棟(非無垢材)よりも長く、レム睡眠の時間は B 棟(非無垢材)よりも短い値を示した(†:  $P < 0.1$ , Student's *t*-test)。

## 5. 結論

本稿では 3 種類のアロマ素材の機能性と木を用いた住環境の快適性について紹介した。月桂樹の香りは覚醒状態を維持し、モミ精油および(-)-酢酸ボルニルの香りは覚醒状態の低下に寄与することが明らかとなった。前者の 2 種は元気になる匂いグループ、後者の 2 種は癒しの匂いグループとして、それぞれ比較的機能性が類似したグループに分けられることが示唆された。さらに、(-)-酢酸ボルニルの香りは睡眠誘導効果も期待された。木を用いた住環境では、無垢材を内装に用いた建物内で作業したヒトに対し、作業後の疲労を回復させるとともに、高い睡眠の質を与えることが示唆された。さらに研究データの蓄積が必要であるが、これらの結果からも、香りの機能性に関する研究は、ヒトに関する分野・香り成分に関する分野に加え、実応用としての居住空間に関する分野など、多面的な波及効果が期待できる。さらなる科学的エビデンスの蓄積により、機能性香粧品や香り空間の創出へとつなげたい。

## 6. 謝辞

本研究には、過去 10 年間、九州大学農学研究院森林圏環境資源科学研究室に所属した多くの学生・研究員ならびに、学内外の大学のみならず企業の研究者が関わっている。この場をお借りして、深くお礼申し上げます。

## 参考文献

1. 松原恵理, 深川未央, 岡本剛, 福田淳子, 林ちか子, 大貫宏一郎, 清水邦義, 近藤隆一郎: 月桂樹の多機能性～月桂樹葉揮発性成分が注意力維持に及ぼす影響～. *AROMA RESEARCH* 11(4), 370-379 (2010).

2. Eri MATSUBARA, Mio FUKAGAWA, Tsuyoshi OKAMOTO, Atsuko FUKUDA, Chikako HAYASHI, Koichiro OHNUKI, Kuniyoshi SHIMIZU, and Ryuichiro KONDO: Volatiles emitted from the leaves of *Laurus nobilis* L. improve vigilance performance in visual discrimination task.
3. 松原恵理, 深川未央, 岡本剛, 大貫宏一郎, 清水邦義, 近藤隆一郎: モミ精油の多機能性～モミ精油は視覚作業後の覚醒状態を低下させる～. *AROMA RESEARCH* **12**(2), 180-186 (2011).
4. Eri MATSUBARA, Mio FUKAGAWA, Tsuyoshi OKAMOTO, Koichiro OHNUKI, Kuniyoshi SHIMIZU, and Ryuichiro KONDO: The essential oil of *Abies sibirica* (Pinaceae) reduces arousal levels after visual display terminal work. *Flavour and Fragrance Journal* **26**(3), 204-210 (2011).
5. 松原恵理, 深川未央, 岡本剛, 大貫宏一郎, 清水邦義, 近藤隆一郎: (-)-酢酸ボルニルの多機能性～“森の香り” (-)-酢酸ボルニルが視覚作業後の覚醒状態や緊張緩和に及ぼす効果～. *AROMA RESEARCH* **12**(1), 76-83 (2011).
6. Eri MATSUBARA, Mio FUKAGAWA, Tsuyoshi OKAMOTO, Koichiro OHNUKI, Kuniyoshi SHIMIZU, and Ryuichiro KONDO: (-)-Bornyl acetate induces autonomic relaxation and reduces arousal level after visual display terminal work without any influences of task performance in low-dose condition. *Biomedical Research* **32**(2), 151-157 (2011).
7. 清水邦義, 吉村友里, 中川敏法, 松本清, 鷲岡ゆき, 羽賀栄理子, 本傳晃義, 中島大輔, 西條裕美, 藤田弘毅, 渡邊雄一郎, 岡本元一, 井上伸史, 安成信次, 永野純, 山田祐樹, 岡本剛, 大貫宏一郎, 石川洋哉, 藤本登留: スギ材を内装材として使用した室内空間における揮発性成分の分析およびその季節変動. *木材学会誌* **63**(3), 126-130 (2017).

(自己紹介)

受賞歴: 2014 年第 54 回日本木材学会賞受賞「霊芝の生理活性の探索ならびに活性発現機構に関する研究」

研究ポリシー: 天然素材のよろずやを目指し、人と天然素材にかかわるすべての分野(生薬・機能性食品・コスメ・アロマ・トイレタリー・木材や畳等がかかわる住環境)の社会実装につながる物質からヒトまでの幅広い研究を目指しています。最近、機能性表示食品の開発・届け出支援に多くのエフォートを割いています。機能性表示食品の届け出において、消費者庁の掲げる要件として、「関与成分」「作用機序」「ヒト試験」の知見と、査読付き論文の存在がありますが、このような方向性は、今後、ありとあらゆる天然素材の関わる社会実装において、スタンダードな考え方になっていくと感じています。香りの世界にも、機能性表示食品のような、効能記載の公的届け出制が制度化、それによる市場拡大がなされることを期待しています。



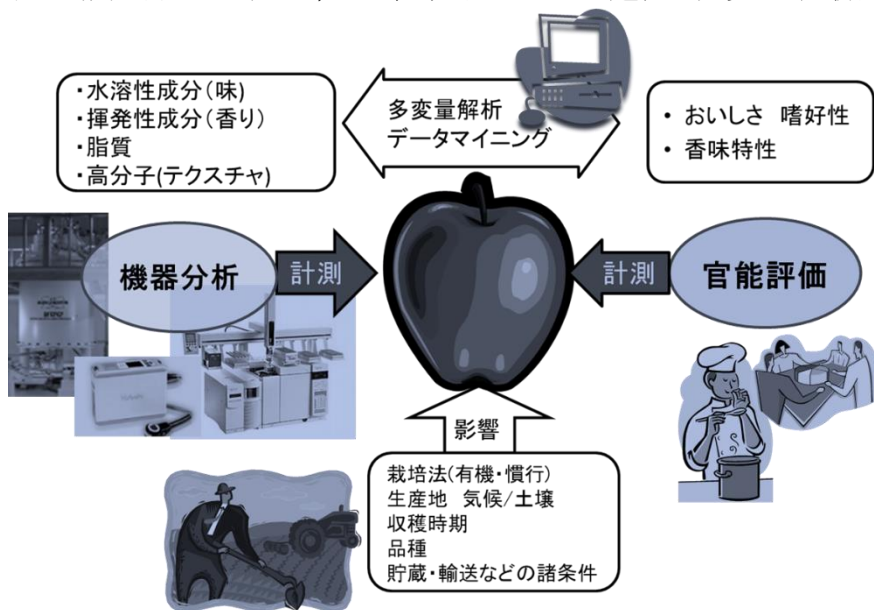
# リンゴ・モモの香気特性はどこから？ ～品種・栽培・貯蔵の効果とそのメカニズムを探る～

(国研)農研機構 中央農業研究センター たなか ふくよ 田中 福代

おいしい農産物とは何だろうか？ 多くの要因がある中で、近年「おいしさ」に占める香りの役割に注目が集まっている。香りは、食品に個性や多様さを与えるもの。甘みや塩味を強調することもあれば、ひそかに食欲をそそり、満足感・幸福感をもたらしてくれることもある。特に果物では香りが風味や嗜好性を左右する。各国が果物の価格や品質競争を繰り広げる中で、国産果物の優位性を保つために官能評価と連携した香り研究が不可欠になりつつある。また、かつては高嶺(値)の花であった分析機器やデータ解析技術もお手ごろになり、研究資金が潤沢とは言えない農業研究においても、香り分析へのチャレンジが増加している。そのような状況にあって、サンプル間のばらつきにジタバタしながら解析を進める筆者らの試行錯誤(悪あがき)をまじえながら、バラ科果物の香りを左右する諸要因について紹介したい。

## ■ Goal & Strategy

いつも食べているリンゴやモモの風味は同じ品種であっても常に同じではない(当たり前だ)。私たちが感じ取る風味の違いに大きく影響を与える成分、すなわち官能特性や嗜好性の鍵となる成分を見つけ、その制御法を確立したい。このために、同一ロットあるいは同一個体の果実を機器分析と官能評価でシェアし、各種条件の違いが果実成分に及ぼす効果の特徴づけ、同時に官能評価のデータを取得する。さらには、その変動の要因を明らかにすべく、生理化学的アプローチ(遺伝子発現など)も併用する。これらのデータを統合解



析することにより、生産・流通側の条件と農産物の風味や嗜好性が「含有成分」を介して結び付けられることになる。このような研究を進めることによって、「おいしい」果物の生産・流通技術の構築とともに、その作物が「おいしい」わけを科学的に説明したい。すなわち、「おいしい」農産物にストーリーを添えてお届けすることを目指している(図1)。

図1 メタボローム解析を利用した農産物の風味研究のイメージ

## ■みつ入りリンゴの甘い香り

みつ入りリンゴは日本やアジア諸国で極めて人気が高い。リンゴのみつとは果実の細胞の隙間にソルビトールなどの糖分を含む水分が溜まったものだ(現象はそうだが、実は、みつができるメカニズムは未解明)。半透明の様子が蜜のように見えることから「みつ」と呼ばれているが、蜂蜜(糖度 75 以上)とは異なるものである。これまで、みつ入りリンゴがこれほど好まれる理由はわかっていなかった。そこで、みつ入り・みつ無しの「ふじ」の官能評価と揮発性・水溶性成分のプロファイリングを実施し、みつ入りリンゴの「おいしさの不思議」の解明に取り組んだ。

まず、官能評価(図2)において香りの強さをニオイかぎで比較すると、みつ入り果はみつ無し果より有意に強かった。しかし、ノーズクリップを装着して香りの影響を排除して味の強度を評価したところ、両者に有意差は認められなかった。さらに、ノーズクリップをはずし、香りを含めた評価では、みつ入り果はフルーティ、フローラル、スイートな特性が強く、また嗜好性もみつ無し果より有意に高かった。これより、香りがみつ入り果の嗜好性にプラスに寄与していることが明らかとなった。

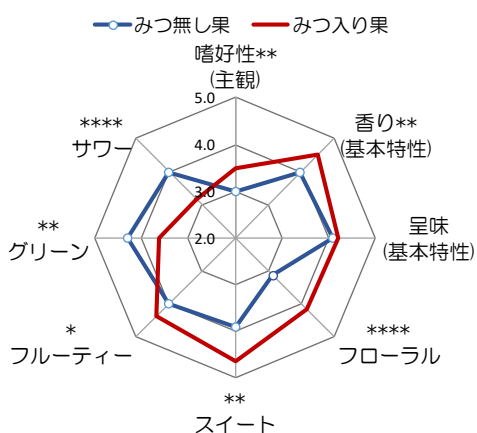


図 2 リンゴ「ふじ」のみつの有無と官能特性  
小川香料(株)専門パネル(n=29)による

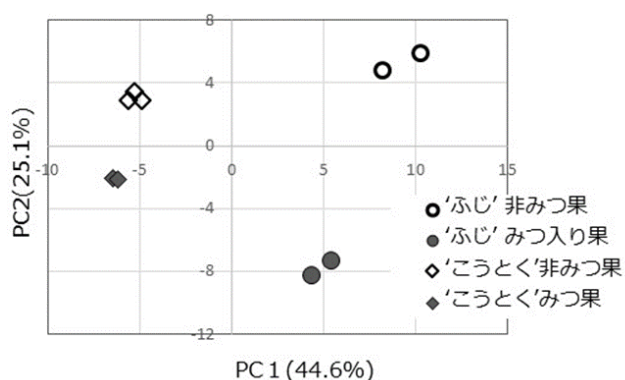


図 3 リンゴの香味成分の主成分スコアプロット  
第二主成分でみつの有無が分離する

成分プロファイリングでは、「ふじ」「こうとく(こみつ®)」の 2 品種を用い、揮発性・水溶性成分の強度に基づいて多変量解析を実施した(図 3)。そのローディングから、みつ入りリンゴを特徴づける成分はエチルエステル類と推定された。エチルエステル類はフルーティ、フローラル、スイートな香調を示し、しかも同じ脂肪酸のエステルの中で最も嗅覚における閾値が小さいことが知られている。みつ入り「ふじ」から検出されている酪酸エチル、2-メチル酪酸エチル、カプロン酸エチルなどはバナナやパイナップル、吟醸酒にも共通するフルーティな香り成分でもある。また、エチルエステル類は「北斗」、「おいらせ」、「あおり 21(春明 21®)」など、みつ入りリンゴに共通する成分群であった。このように、エチルエステル類の増加がみつ入りリンゴの風味を高



めている可能性が強く示唆された。そこで、みつ無しリンゴのジュースに、みつ入りリンゴから検出されたエチルエステル類を添加すると、期待通り、みつ風味が高まることが確認できた。これらのデータから、みつ入りリンゴで高まるエチルエステル類は、みつ入りリンゴの嗜好性に強く寄与する成分と結論した。

さて、エチルエステル類が多量に生成するためには、基質となるエタノールを必要とする。エタノールといえば発酵である。そこで、リンゴ果肉の細胞間隙のガス組成に着目した。細胞間隙は通常は大気組成のガスの占める割合が高いが、みつ入りリンゴではみつ部分は想像通り低酸素状態にあった。さらに、発酵過程に関与する酵素群関連遺伝子の高発現もみつ部分で確認された。以上から、みつ入りリンゴでは低酸素状態にあるみつ部分でエタノールが集積し、これを基質として生成した多量のエチルエステルがみつ入りリンゴに華やかな風味を与えていると考えられる。

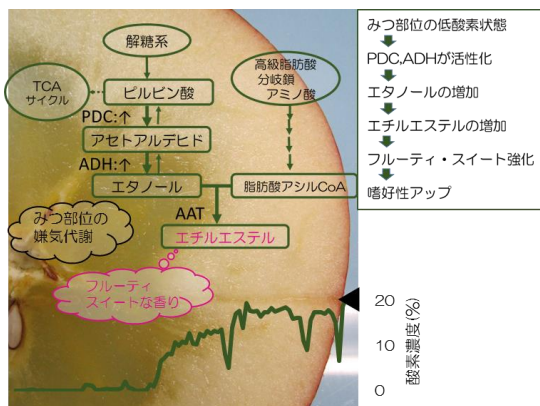


図4 みつ入りリンゴらしい風味の形成過程

#### ■エチレンとリンゴの香り

リンゴの香りは二つの機作でエチレンに制御されている。一つは品種のエチレン生成能の強さであり、遺伝形質によって決まっている。香氣成分の生成経路の重要な酵素がエチレンによって制御されているため、「王林」のようにエチレンの生成量が多い品種では強い香りを呈することが知られている。一方、エチレン受容体に結合してエチレンの働きを阻害する薬剤(1-MCP)を使用すると香氣成分の濃度が低下する。私たちの分析例では、その抑制効果は「王林」の、特にエチルエステル類の減少で顕著であった。

二つ目の機作はエチレンの生成自体が環境条件によって制御されている点である。栽培期間中の条件をみると、葉摘みの有無、収穫時の熟度などによってエチレンの生成量は異なり、その結果として香氣成分のプロファイルも異なる。私たちは無農薬栽培を続けたリンゴ「ふじ」においては、エチレン生成が抑えられていることを報告した。それは、とりもなおさずリンゴの味と香りの成分プロファイルの変化を招いたと考えられるが、特に香氣成分のプロファイルが大きく異なった。無農薬リンゴ「ふじ」によるエチレン生成抑制の原因は未解明だが、私たちは病害虫ストレスに対する応答を推定している(ストレスに会うと植物のエチレン発生量は増加するのが常識だが、そこには単純でない植物ホルモンのクロストークがあるようだ)。香氣成分の生成には比較的高濃度のエチレンが必要であるため、その生成が少なければ、1-MCPを添加した時と同様にエステルの生成は減少する。極端な場合には、環境因子は品種間差に相当する変化をも生む。

エチレンは収穫後の香氣成分組成にも大きく影響する。エチレンはリンゴが樹にあるときよりも、収穫した後に生成量が増大するため、香氣成分も多くは収穫から遅れて増加する。多くの場合、エステル類が高まるのに2週間ほどかかる。「王林」は香りが強いと述べたが、実は収穫直後はパリパリした爽やかな風味のリン

ゴだ。消費地に出回るまでの間にバーストするエチレンの働きで、エステル類に富んだ甘いフルーティな香りのリンゴになる。また、CA(Controlled Atmosphere) 貯蔵では、エチレン生成の抑制が起こるため、「ふじ」などは夏季まで硬度(食感)を維持できる反面、香気成分は減少する。

#### ■モモの香気成分

国産モモは食味品質に優れており、海外市場での人気が急速に高まっている。以前から台湾を中心に東アジアへの輸出実績があるが、最近、フランスとタイにモモを試験的に輸送し、現地の官能評価受託機関と共同で消費者の嗜好性テストを実施したところ、極めて好評であった(農水省委託プロ, 2015年)。また、日本在住外国人での嗜好性テストでも高い評価を得た(2016年)。では、その高評価を裏付ける成分は何か? 官能特性を端的に示す成分は何か? 私たちは GC/MS, LC/MS, NMR 等の複数の分析機器を組み合わせたメタボローム解析と官能評価の統合解析の適用を試みた。具体的には、一宮白桃, 川中島, なつっこ (以上8月初旬), 幸茜, さくら, 甲斐黄桃(9月半ば), という特徴の異なる品種を供試し, 上記の嗜好性テストとは別に分析型官能評価を実施した。また, 嗜好性テストにおいて一品種 100 個以上の試料を一度に入手することによって生じるサンプル間のばらつきに対応するため, 貯蔵条件を変化させることにより試料の特性(成熟程度)に広がりを持たせることにした。このようにして, 官能特性に寄与する重要成分の抽出や品種特性の解析を主目的に, 貯蔵条件が官能特性と成分プロファイルに及ぼす効果やの解明をおまけとして解析した。現時点で, この大掛かりな実験全般にわたる詳細な解析は終了していないが, 香気成分と香り特性の関連解析の結果や, 官能特性を特定の成分で単純化して再現する試みについて紹介する。

#### ■おわりに

降ってわいたように農産物の品質研究に香り研究の波が訪れた。これを一時的なものに終わらせることなく定着させていきたい。そのために, 分析技術の更なる高度化もさることながら, 必ずしも分析オタクでなくても取っつきやすい装置, マニュアル, アプリケーションの開発, Casual Metabolomics に期待する。



- ◆ 愛媛県出身 (みかんっ子から 突如リンゴゲークに)
- ◆ 東京理科大学薬学部卒, 博士(農学) 筑波大学
- ◆ 日本土壤肥料学会, 日本農芸化学会, 日本食品科学工学会, 日本アイソトープ協会 会員
- ◆ 趣味 バレエ鑑賞, ひとカラ・アカペラ, スポーツ観戦, 温泉旅行(願望)
- ◆ 小鳥 3羽 almost 巣立ち完了, お気楽な分析三昧の日々