

## ノ ー ト

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気成分の定量秋山 朝子<sup>®1</sup>, 今井かおり<sup>1</sup>, 石田 幸子<sup>1</sup>, 伊藤 健司<sup>1</sup>,  
小林 正志<sup>1</sup>, 中村 秀男<sup>1</sup>, 野瀬 和利<sup>2</sup>, 津田 孝雄<sup>3</sup>

## 1 緒 言

食品は様々な成分から成る複合体であり, 単に栄養素の供給源というだけではなく, 食品がもつ風味や香りなどのヒトの嗜好面への働きも食品の重要な役割である. また, 摂取された様々な食品成分がヒトの身体でどのような挙動を示すかは, 興味をもたれる.

摂取した食品がヒトの身体からのにおい一口臭, 体臭などに影響を与えることは, 従来から経験的に指摘されているが, においに関与する成分は極微量であるため, 官能的には感知できても, 分析機器による検出は困難である. すなわち, におい成分は, 通常低濃度であることから, 前処理として濃縮を必要とする. 呼吸や汗を回収し, 吸着剤により濃縮する方法などがあるが, 一般的に煩雑で時間がかかることが多く<sup>1)2)</sup>, また, 皮膚にパージガスを流し続け捕集する方法<sup>3)</sup>では, 身体の一部が捕集装置に固定されるため被験者への負担が大きい. これに対して, 固相マイクロ抽出は前処理方法として, 操作が簡便で, 感度が高く, 精度も良いことから, 様々な分野で応用されている.

一方, ヒト皮膚表面から放出されるガス(皮膚ガス)として水素, アセトン, エタノールなどが報告されており<sup>4)~6)</sup>, 皮膚から様々な成分が放出されることが示唆されている. また, 皮膚ガスはサンプリング時に痛みや出血を伴わずに採取できることから, 被験者への負担が少なく, 連続的なサンプリングが容易であるため, 皮膚から放出される成分を経時的に追跡することが可能である.

そこで, 本研究では, 食品に含まれる成分のひとつである香気成分に着目し, 香気成分のヒトの体内での挙動について, 経口摂取した香気成分がヒトの皮膚から放出されるかどうかを皮膚ガスを分析することにより確認することを試みた. 皮膚ガスを高精度かつ高感度で分析することが重

要であることから, 固相マイクロ抽出及び加熱脱着装置付きガスクロマトグラフ/質量分析計(GC/MS)による分析条件を確立したので報告する.

## 2 実 験

## 2.1 試 薬

GC/MS 測定のための標準試料として 3,7-ジメチル-6-オクテン-1-オール(シトロネロール)(和光純薬製 85%), 3,7-ジメチル-2,6-オクタジエン-1-オール(ゲラニオール)(和光純薬製 90%), 3,7-ジメチル-1,6-オクタジエン-3-オール(リナロール)(和光純薬製 98%)を用いた. その他, 皮膚からの香気成分を抽出するためにエタノール(関東化学製 99.5%)を用いた.

また, 香気成分摂取用試料として, 市販のローズカプセル(ブルガリアンローズカプセル<sup>®</sup>, 市販元は生活の木), バラ精油(ローズオットー, 市販元はライブラ)を用いた.

## 2.2 装 置

香気成分の検出には, 加熱脱着式導入装置付き GC/MS を用いて行った. GC/MS (6890N/5973N 型, Agilent 製)を用いて選択イオン検出法(SIM)により測定した. 加熱脱着式導入装置は, (Thermodesorption System, Gerstel 製)を使用した. 注入部は, Cooled Injection System を使用した. 加熱脱着式導入装置は, 20℃ で 1 分間保持, その後, 300℃ まで毎分 60℃ で昇温し, 3 分間保持した. キャピラリーカラムは DB-5ms (長さ 30 m 内径 0.25 mm 膜厚 0.25 μm, J&W scientific), キャリヤーガスはヘリウムを用い, 流量は毎分 1.2 ml とした. カラム温度は, 50℃ で 1 分間保持, その後 180℃ まで毎分 5℃ で昇温, 更に 300℃ まで毎分 20℃ で昇温し, 5 分間保持した. GC と MS のトランスファーライン温度は 280℃, イオン源温度は 230℃, 電子イオン化(EI)電圧は 70 eV とした.

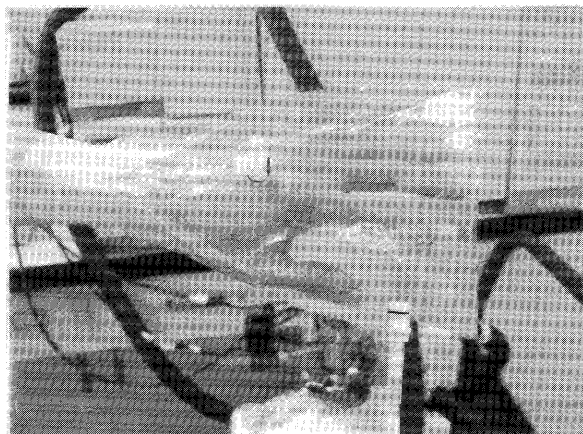
## 2.3 被験者

実験の主旨を詳しく説明し, 同意を得たボランティアか

<sup>1</sup> カネボウフーズ株式会社食品研究所: 569-0091 大阪府高槻市梶原 6-20-1

<sup>2</sup> 名古屋工業大学大学院工学研究科物質工学専攻: 466-8555 愛知県名古屋市昭和区御器所町

<sup>3</sup> 有限会社ビコデバイス: 464-0858 愛知県名古屋市千種区千種 2-22-8 名古屋医工連携イキュバータ 109 号室



**Fig. 1** Sampling of aromatic compounds exhaled from hand

A hand is covered with a PVF bag installing nozzles for 30 min. The end of the bag is wrapped with a plastic film "PARAFILM" to adhere the wrist. The inner space of the bag and the hand surface are washed with 25% of ethanol aqueous solution to collect aromatic compounds, which will be the sample solution.

ら皮膚放出成分の採取を行った。被験者は24~41 (31 ± 6.3) 歳の健康人男女8名 (男性2名, 女性6名) である。

#### 2.4 食品の摂取方法

賦香した食品として、ローズカプセル (内容量 300 mg/粒, オリーブ油, グリセリン, バラ精油を含む) 6粒, 又はバラ精油 39.3 mg, 又はゲラニオール添加ガム (3.1 g/粒) 3粒を喫食した。

ローズカプセルとバラ精油は, 約 100 ml の水とともに飲み込んだ。ガムは 10 分間かみ砕いた。

なお, 被験者は, 実験前日入浴後から香粧品などの使用を控えた。また, 摂取実験は, 食後 2 時間以上経過後開始し, 実験終了までは絶食, 禁煙とし, 水以外の摂取を行わなかった。

#### 2.5 試料採取方法

食品の摂取後, 1 時間間隔で被験者から試料採取した。

すなわち, 測定対象となる左手首から先を, 事前に測定対象となる香り成分が検出されないことを確認した無香料せっけんを用いて洗浄した。一辺を切断し開口した一口コック付きポリフッ化ビニル (PVF) 製バック (テドラーバック®, 155 mm × 200 mm) に左手を入れ, セロハンテープ, フィルムシート (パラフィルム®) を用いて, 手首部分でシールした (Fig. 1)。30 分間保持後, PVF 製バックに手を入れたまま, バック内部を 25% エタノールで洗浄し, 手から PVF 製バックをはずして洗浄液を回収し, メスフラスコに入れ, 25% エタノール用いて全量を 5 ml

(抽出液) とした。

なお, 食品を摂取する直前に, 同様に試料採取を行い, これを空試験試料とした。

#### 2.6 固相抽出

2.4 の抽出液から 2 ml を採取し, 蒸留水 8 ml, 塩化ナトリウム 2.0 g, 表面にポリジメチルシロキサン (PDMS) をコーティングした固相抽出用かくはん子 (全長 10 mm 膜厚 0.5 mm Twister®, Gerstel 製) とともに 10 ml バイアル瓶に入れ密栓した。常温で 1 時間かくはんし, 香り成分をかくはん子表面の固相に吸着させた。

このかくはん子を加熱脱着式導入装置付き GC/MS に導入し, 測定を行った。

#### 2.7 検量線の作成と添加回収試験

バラの香り成分のうち主要な 3 成分である, リナロール, シトロネロール, ゲラニオールについて検量線の作成及び固相抽出用かくはん子 (Twister®, Gerstel 製) による抽出の添加回収試験を行った。標準溶液を用いて回収実験を行い, GC/MS で測定を行った。標準溶液を調整する際は, 試薬純度による補正を行った。標準品の構造式とマススペクトルを Fig. 2 に示した。マスクロマトグラムからピーク面積を求めた。定量に用いたフラグメントイオンは, リナロールは  $m/z$ : 93, シトロネロールとゲラニオールは  $m/z$ : 69 で行った。

添加回収試験における標準品の添加量は, リナロール 4.36 ng, シトロネロール 5.65 ng, ゲラニオール 8.78 ng で行った。

### 3. 結果と考察

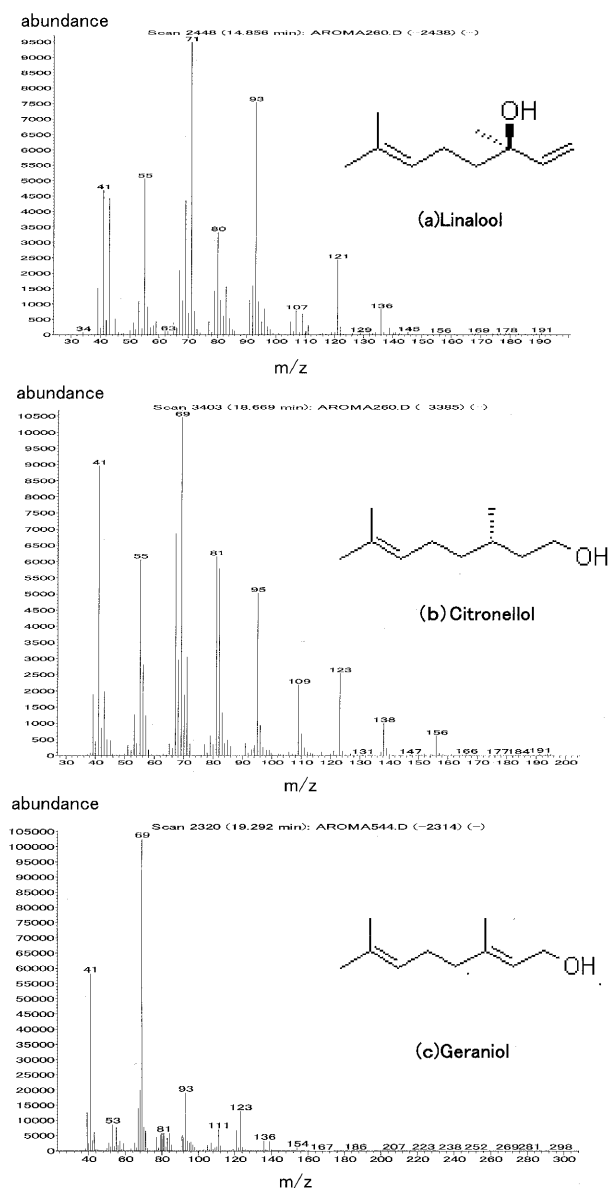
#### 3.1 バラ香り成分の検量線

添加回収試験を行った結果, 回収率はリナロール 89.6%, シトロネロール 79.7%, ゲラニオール 48.2% であり, 各々の相対標準偏差 (RSD) ( $n = 5$ ) が 3.2, 3.7, 3.9% と良好であった。

また, 各香り成分の検量線の直線性については, 相関係数がリナロール  $r^2 = 0.998$ , シトロネロール  $r^2 = 0.999$ , ゲラニオール  $r^2 = 0.997$  と良好であった。検出限界 (DL), 定量限界 (QL) 及び検量線範囲を Table 1 に示した。

更に, 実試料におけるマトリックス効果を考慮し, 香り成分を摂取せずに採取した抽出液を用いて, 添加回収実験を行った。その結果, 回収率はリナロール 53.5%, シトロネロール 66.7%, ゲラニオール 55.1% であり, 各々の RSD ( $n = 5$ ) が 6.8, 3.6, 4.1% と良好であった。

各成分はその分子内に水酸基を有するので, ある程度, 親水性を示すものと予想され, 疎水性成分に親和性の高い固相マイクロ抽出法では, やや低い回収率であったと考え



**Fig. 2** Mass spectra and chemical structures of aromatic compounds in rose essential oil  
(a) linalool; (b) citronellol; (c) geraniol

られる。しかし、RSD が 7% 以下で、ほぼ安定的に回収されており、定量上問題ないと考えられる。

### 3・2 ヒト皮膚からの香氣成分放出の確認

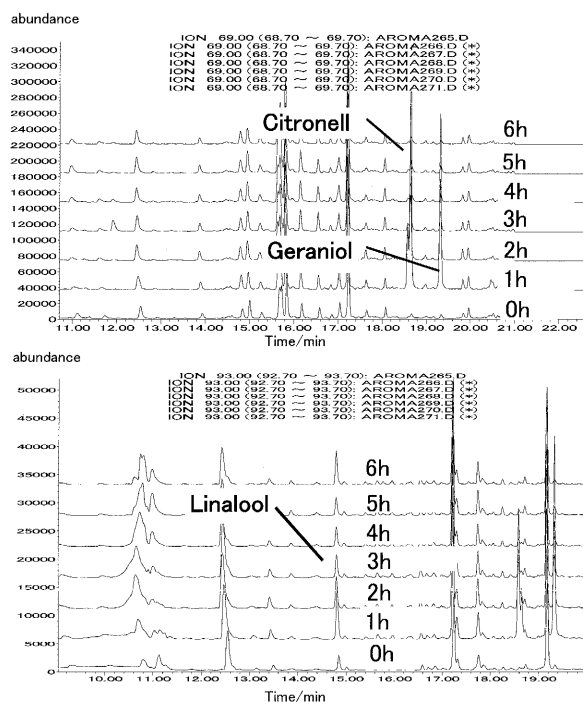
バラ精油（ローズオットー）を経口摂取し、ヒト皮膚から放出されるバラ精油の香氣成分の確認を行った。

バラ精油 39.3 mg を摂取した。なお、被験者は 1 名で行った。このとき、各香氣成分の摂取量は、リナロール 0.67 mg、シトロネロール 27.68 mg、ゲラニオール 8.80 mg となった。

SCAN モードで GC/MS 測定を行い、マススペクトルから香氣成分の同定を行った。その結果、ヒト皮膚放出成分

**Table 1** Detection of Aromatic Compounds

|             | DL/ng | QL/ng | Added/ng     |
|-------------|-------|-------|--------------|
| Linalool    | 0.027 | 0.27  | 0.87 ~ 13.62 |
| Citronellol | 0.023 | 0.23  | 1.13 ~ 16.96 |
| Geraniol    | 0.032 | 0.32  | 1.65 ~ 24.78 |



**Fig. 3** Ion chromatograms of geraniol, citronellol ( $m/z$ : 69.0) and linalool ( $m/z$ : 93.0)

Chromatograms were stacked as every 1 hour after intake of rose essential oil. Blank determined before intake of the essential oil was shown as “0 hour”.

からリナロール、シトロネロール、ゲラニオールを初めて同定することができた。実験結果を Fig. 3, 4 に示した。Fig. 4 における絶対量は、片手の手首から上の手掌部全体において、30 分間に放出された各成分の量を示した。なお、実試料における添加回収試験の回収率を用いて補正を行った。

摂取後は、6 時間までモニタリングを行った。その結果、上記 3 成分共に、摂取後 30 ~ 60 分で検出量が最大となり、その後、徐々に減少する同一の傾向を示した。

### 3・3 市販ローズカプセル摂取時の経時変化

市販のローズカプセル 6 粒を摂取し、皮膚から放出されるバラ香氣成分を測定した。なお、被験者は 1 名で行った。ローズカプセルは、ゼラチン質のカプセルの内部にオリーブオイルとグリセリンで 1% 程度に希釈したバラ精油（ローズオットー）が封入されている。各香氣成分の

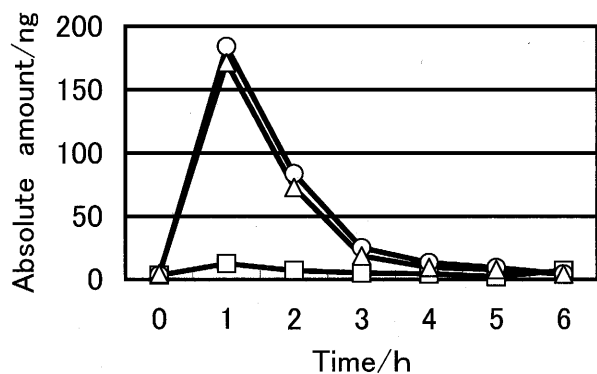


Fig. 4 Absolute amount of aromatic compounds exhaled from hand skin after intake of rose essential oil

Intake amount of rose essential oil was 39.3 mg. △: geraniol; ○: citronellol; □: linalool

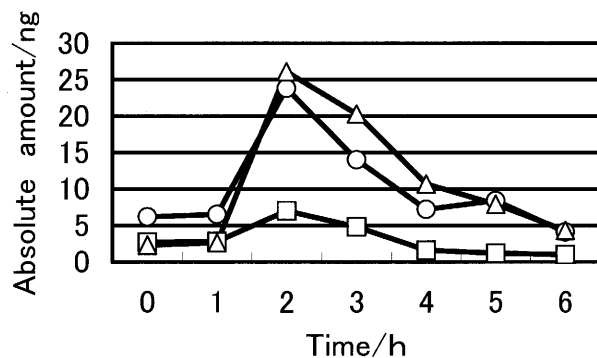


Fig. 5 Absolute amount of aromatic compounds exhaled from hand skin after intake of rose capsule

A rose capsule is 300 mg and contains 3 mg of rose essential oil. Intake amount of rose essential oil was 18 mg of 6 capsules. △: geraniol; ○: citronellol; □: linalool

摂取量は、リナロール 0.60 mg, シトロネロール 10.50 mg, ゲラニオール 5.34 mg となった。

摂取後は、6 時間までモニタリングを行った。その結果、上記 3 成分の挙動はバラ精油と異なり、摂取後 90～120 分で検出量が最大となった。実験結果を Fig. 5 に示した。

### 3.4 通常食品（ガム）による香料摂取

通常の食品レベルの少量の香気成分を摂取した場合について測定を行った。1 粒にゲラニオール 50 mg を配合し、通常の嗜好食品として風味調整を行ったガムを作製した。このガムを 3 粒摂取し、放出されたゲラニオールの測定を行った。ガムは、かみ砕いた後ガムベースが口腔内に残査として残るので、配合された香料も大半がガムベース中に残る。かみ砕き方で個人差があるが、90% 程度がガムベースに残ると一般に言われている。

Table 2 Absolute amounts of geraniol exhaled from hand skin before and after intake of chewing gum containing geraniol for 8 subjects

|                | Before/ng | After/ng | After - Before/ng |
|----------------|-----------|----------|-------------------|
| Subject A      | 6.2       | 17       | 10.8              |
| Subject B      | 5.5       | 6.2      | 0.7               |
| Subject C      | 7.8       | 9.2      | 1.4               |
| Subject D      | 1.8       | 8.3      | 6.5               |
| Subject E      | 0.4       | 2        | 1.6               |
| Subject F      | 1.5       | 4.8      | 3.3               |
| Subject G      | 0.9       | 1.7      | 0.8               |
| Subject H      | 0.8       | 2.1      | 1.3               |
| average        | 3.1       | 6.4      | 3.5               |
| $\sigma_{n-1}$ | 2.9       | 5.2      | 3.8               |

Intake amounts of geraniol was 15 mg of 9.3 g of chewing gum. Chewing gum was chewed for 10 min. Sampling was performed after 1 hour of intake of chewing gum. Subjects were 6 female and 3 male (average age  $31.0 \pm 6.3$ ). Geraniol increased significantly after intake ( $P < 0.025$ ).

被験者は 20 代から 30 代の男女 8 名とし、ガム摂取前と摂取後 30～60 分についての 8 名の放出量を Table 2 に示した。

摂取後は、8 名全員においてゲラニオール放出量が増加していた。 $t$  検定において、 $P < 0.025$  ( $Sd = 3.59$ ) であり、有意に増加が認められた。摂取前でもゲラニオールが検出されているが、これは大気中に存在するゲラニオールが皮膚表面に付着したり、元来体内に存在していたものが検出されたと推定される。

### 3.5 摂取食品形態の影響

バラ精油を直接摂取した場合は、検出量が最大になるのは摂取後 30～60 分であったが、カプセルで摂取した場合は 90～120 分後で最大となった。

精油、カプセル摂取時における香気成分の体内吸収時間が異なるため、それによって放出時間も異なると推測される。体内での代謝時間には、個人差や体調・環境などにより多少の差が生じると考えられる。ただし、本実験の場合、ローズカプセル摂取時は、カプセルのゼラチン質を体内で消化するのに時間がかかった分、香気成分の吸収が遅れ、そのため放出されるのに時間が掛かったと推定される。

### 3.6 摂取量と放出量の関係

バラ精油摂取実験について、各時間の検出量から精油摂取前の検出量を差し引き、この値を香料摂取の影響による香気成分放出量とした。各定量値は 30 分間に捕集された香気成分量なので、これを 2 倍にして 60 分当りに換算し、1～6 時間の香気成分放出量の合計値を算出した。更

に実験に使用した片手の表面積を  $350\text{ cm}^2$ , ヒトの体表面積を  $1.5\text{ m}^2$  として, 6 時間までに体表全体から放出される香氣成分の量を見積もった<sup>7)</sup>. 汗腺は頭皮・顔面・手のひら・足の裏などに多く存在し, それらの部位で発汗量も多いと考えられるが, 簡便のため発汗量を全体表で均一と仮定して概算した. その結果, リナロール  $2.60\text{ }\mu\text{g}$ , シトロネロール  $25.64\text{ }\mu\text{g}$ , ゲラニオール  $22.02\text{ }\mu\text{g}$  となった. これは, 摂取した各香氣成分の 0.39, 0.09, 0.25% であった. 成分により比率が異なるのは, 分子構造や極性等の化学的性質によるものと考えられる.

## 5 結 言

本研究により, 食品として摂取したバラ香氣成分が, 皮膚ガスとしてヒトの皮膚から放出されることを確認することができた. また, バラ香氣成分は, 固相マイクロ抽出及び加熱脱着装置付き GC/MS により簡便に定量することが

可能となった.

(2005 年 9 月 15 日, 日本分析化学会第 54 年会において一部発表)

## 文 献

- 1) 澤野清仁: 香料, **182**, 123 (1994).
- 2) 小林彰夫: 日本食品科学工業会誌, **44**, 169 (1997).
- 3) Z. Zhang, J. Cai, G. Ruan, G. Li: *J. Chromatogr. B*, **822**, 244 (2005).
- 4) K. Naitoh, T. Tsuda, K. Nose, T. Kondo, A. Takase, T. Hirabayashi.: *Instrum. Sci. Technol.*, **30**, 267 (2002).
- 5) T. Kamei, T. Tsuda, Y. Mibu, S. Kitagawa, H. Wada, K. Naitoh, K. Nakashima: *Anal. Chim. Acta*, **365**, 259 (1998).
- 6) T. Tsuda, S. Noda, S. Kitagawa, T. Morishita: *Biomed. Chromatogr.*, **14**, 1 (2000).
- 7) 藤本薫喜, 渡辺 孟, 坂本 淳, 湯川幸一, 森本和江: 日本衛生学雑誌, **23**, 443 (1968).

## Determination of Aromatic Compounds in Exhaled from Human Skin by Solid-Phase Micro Extraction and GC/MS with Thermo Desorption System

Asako AKIYAMA<sup>1</sup>, Kaori IMAI<sup>1</sup>, Sachiko ISHIDA<sup>1</sup>, Kenji ITO<sup>1</sup>,  
Tadashi KOBAYASHI<sup>1</sup>, Hideo NAKAMURA<sup>1</sup>, Kazutoshi NOSE<sup>2</sup> and Takao TSUDA<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Foods Laboratory, Kanebo Foods, LTD., 6-20-1, Kajihara, Takatuki-shi, Osaka 569-0091

<sup>2</sup> Department of Materials Science & Engineering, Graduate School of Engineering, Nagoya Institute of Technology, Gokiso, Showa-ku, Nagoya-shi, Aichi 466-8555

<sup>3</sup> Pico-device, 2-22-8-109, Chigusa, Chigusa-ku, Nagoya-shi, Aichi 464-0858

(Received 26 December 2005, Accepted 9 June 2006)

An analytical method for the determination of aromatic compounds exhaled from hand skin has been proposed. The sampling of exhaled aromatic compounds was performed as follows: after the intake of aromatic compounds included in chewing gum or a capsule, exhaled skin gas was collected from a hand. The hand was covered with a sampling bag of poly vinyl fluoride (PVF) for 30 min. Then, the inner space of the sampling bag was sprayed with a 25% of ethanol aqueous solution. After removing the hand from the bag, the trapped solution containing skin gas was collected. The aromatic compounds in the trapped solution were extracted to the solid phase as Twister<sup>®</sup> (stir bar coated with poly dimethyl siloxane, Gerstel). Extracts were determined by gas-chromatograph mass spectrometry using a thermo desorption system and a selective ion mode. Linalool, citronellol and geraniol, which are the main components of rose essential oil, were detected from the skin of a hand after an oral intake of rose oil. The exhaled absolute amount of linalool, citronellol and geraniol increased in 30 to 60 min, and then decreased after intake. The recoveries of linalool, citronellol and geraniol were 53.5%, 66.7% and 55.1%, respectively. The correlation coefficient of the standard curves for linalool, citronellol and geraniol were 0.9977, 0.9994 and 0.9987, respectively. Each compound exhaled from the skin of a human body during 6 hours after intake was estimated to be, according to the amount of intake, 0.39%, 0.09% and 0.25%, respectively, for one subject. The absolute amount of geraniol exhaled from a hand increased significantly after oral intake for 8 subjects ( $P < 0.025$ ). This is the first report to present hard proof that an aromatic compound was exhaled from human skin after its intake as food.

**Keywords :** geraniol; skin gas; GC/MS; solid-phase extraction; thermo-desorption system.