

## 呼気から咽頭逆流を推定できるシステムの構築

## — 逆流指標に適した揮発性物質の選別 —

えん下改善プロジェクトスタッフ 結城 茜 長澤 正  
 大川勝正 杉山直人  
 聖隷三方原病院 片桐伯真  
 浜松市リハビリテーション病院 重松 孝 前田広士  
 藤島一郎

## Construction of Estimation System for Laryngopharyngeal Reflux by Breath Analysis

## Selection of Volatile Organic Compounds as Appropriate Indicators of Laryngopharyngeal Reflux

Akane Yuki, Tadashi Nagasawa, Katumasa Ookawa,  
 Naoto Sugiyama, Norimasa Katagiri, Takashi Shigematu,  
 Hiroshi Maeda and Ichiro Fujishima

## 1. 目的

呼気分析による逆流の推定のためには、逆流した食品中の揮発性物質が検出可能な濃度以上でなければならない。そこで、食品に利用されている濃度で検出可能かどうか、咽頭逆流モデル実験を行い、逆流指標に適した揮発性物質の選別をすることとした。

また、食品由来の揮発性物質が摂取、吸収後、代謝を受けないまま肺から放出される場合は、逆流の推定が困難である。そこで、摂取後の揮発性物質の経時的な変化について併せて検討することとした。

## 2. 実験方法

## 2.1 呼気採取・濃縮方法

呼気採取は酸素マスク、定流量ポンプにより呼気を吸引し、捕集管により濃縮する方法を用いた<sup>1,2)</sup>。呼気採取は流量200ml/minで12.5分間行い、捕集量は2.5 lとした。呼気の採取・濃縮に用いた装置等を表1に示す。本方法で呼気が採取できていることを、呼気と室内空気の比較により確認した(図1)<sup>3)</sup>。

表1 呼気採取・濃縮に用いた装置等

呼気採取・濃縮に用いた装置等		
定流量ポンプ	SP208-1000Dual II	ジーエルサイエンス
捕集管	Tenax TA	パーキンエルマー
酸素マスク	酸素フェースマスクOX-135	アトムメディカル



図1 室内空気と呼気の比較

## 2.2 揮発性物質の分析

揮発性物質の捕集後、内部標準物質(Toluene d8)を添加し、加熱脱着装置及び質量分析ガスクロマトグラフ(GC/MS)を用いて分析した。

加熱脱着及びGC/MS分析条件は、表2に示す。

表2 揮発性物質の分析条件

加熱脱着 GC/MS 条件	サーマルデソリプション TurboMatrix ATD (パーキンエルマー製)
揮発性の検出	Tenax TA
脱着温度	280°C
脱着流量	30ml/min
脱着時間	10分
入口スプリット	20ml/min
トラップ管の条件	Tenax TA
脱着剤	Tenax TA
トラップ温度	5°C
トラップ昇温速度	40°C/sec
脱着時間	25分
出口スプリット	10ml/min
GC/MS	Clarus 500 GC/MS (4-C-キニンエルマー製)
カラム	HP-5MS(60m, 0.25mm, 0.25µm)
温度	50°C(2min) → 10°C/min → 280°C(5min)
Carrier gas	ヘリウム, 17Psi
MS mode	Scan
MS range	33-400

## 2.3 咽頭逆流モデルによる評価

咽頭逆流モデル呼気と通常呼気の揮発性物質の揮発量を比較した。咽頭逆流時には咽頭に逆流物が付着した状態になると考え、飲料15mlでうがいをし、水で口をゆすいだ後の呼気を咽頭逆流モデル呼気とした。飲料は揮発性物質として2,3,5-Trimethyl pyrazine<sup>4)</sup>を含むココア、Limoneneを含むオレンジ

【ノート】

ジジュース及びMentholを含むミントティーを用いた。揮発量の差の統計解析は、関連のある2群の差の検定 (Paired t-test) で行った。

2. 4 経時変化

食品摂取後の呼気中の揮発性物質を経時的に測定した。測定条件は表3に示す。

表3 測定条件

測定条件		
①食品摂取前の呼気採取 (流量200mL/min、捕集量2.5g)		
②LimoneneまたはMentholを含む食品摂取	農産果汁Tastyオレンジ100% 200mL エンゲリドミニ (ミント風味) 2個	日本ミルクコミュニティ 大塚製薬
③口腔内洗浄のため水を摂取	100mL (Limonene食品)、150mL (Menthol食品)	
④食品摂取後の呼気採取 (流量200mL/min、捕集量2.5g)	摂取直後~12.5、12.5~25、25~37.5、37.5~50、 50~62.5、62.5~75、75~87.5、87.5~100、100~112.5分	

3. 結果と考察

3. 1 咽頭逆流モデル

ココアを用いた咽頭逆流モデル呼気中に、2,3,5-Trimethyl pyrazineを検出できなかった (図2)。一方、Limonene、Mentholは呼気濃度で検出できた (図3)。オレンジジュースを用いた咽頭逆流モデル呼気中にLimoneneを通常呼気よりも有意に多く検出した (p=0.007;両側検定)。ミントティーを用いた咽頭逆流モデル呼気中と通常呼気中のMentholには、有意な差はなかったが、咽頭逆流モデル呼気中の方がMentholを多く検出するように見受けられた。

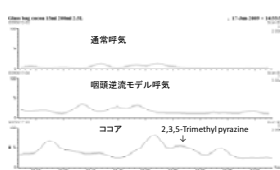


図2 通常呼吸と咽頭逆流モデル呼吸の比較

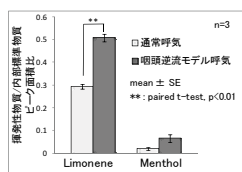


図3 通常呼吸と咽頭逆流モデル呼吸の比較

3. 2 経時変化

Limonene、Mentholともに摂取後の時間経過により、呼気中濃度は減少するように見受けられ、吸収後、肺からの放出は少ないと考えられた。しかし、Limoneneは摂取して37.5分後まで摂取直後と同濃度検出され、100分後においても、摂取前の10倍程度検出された (図4)。一方、Mentholは摂取直後が最も多く検出され、その後速やかに減少し、100分後において摂取前の3倍程度検出された (図5)。

これらのことから、逆流時の呼気中濃度変化を鋭敏にとらえ得るMentholの方がLimoneneよりも逆流の指標に適していると考えられた。

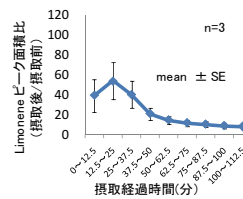


図4 呼気中のLimoneneと摂取経過時間の関係

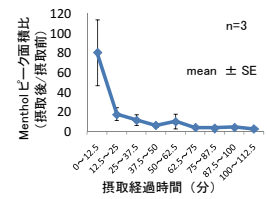


図5 呼気中のMentholと摂取経過時間の関係

4. まとめ

2,3,5-Trimethyl pyrazineは呼気濃度で検出できず、逆流指標としての利用は困難と考えられた。pHを推定するためには、呼気濃度で検出可能な物質を今後、選別していく必要がある。一方、Limonene、Mentholは呼気濃度で検出可能で、肺からの放出は少ないと考えられた。また、Mentholの方が摂取後、速やかに呼気中から減少するため、逆流指標として適していると考えられた。今後、逆流が疑われる高齢者において、Menthol摂取後の呼気採取と咽頭逆流検査 (pH・インピーダンス測定) を同時に実施し、呼気により咽頭逆流の判定が可能か検討する。

参考文献

- 1) 世古民雄 他：空気中の揮発性有機化合物分析における熱脱着法の吸着剤TenaxTA/Carboxen 1000の特性, 分析化学, Vol.52, No.12, 1215-1220 (2003).
- 2) 伊佐治信一 他：マルチベット型捕集剤(Tenax TA/Carboxen1000)を用いたVOC測定法の検討, J. Hokkaido For. Prod. Res. Inst. Vol.19, No.3, 7-10 (2005).
- 3) Michael Phillips et al: Variation in volatile organic compounds in the breath of normal humans, Journal of Chromatography B, 729, 75-88 (1999).
- 4) 結城 茜 他：呼気から咽頭逆流を推定できるシステムの構築—揮発性物質のpH依存性の検討—静岡県工業技術研究所研究報告第3号,19-20(2010).