

## 嗅覚測定における欧州規格法と告示法の比較（その3）

天野 冴子 上野 広行

### 要 旨

臭気の嗅覚測定法である動的オルファクトメーター法（欧州規格法）と日本の悪臭防止法で定める三点比較式臭袋法（告示法）について、外国人と日本人をパネルとした臭気測定結果の比較や、希釈精度について検討を行った。

ブタノール、酢酸エチル、ヘキサナールについて、ポーランド人と日本人をパネルとして嗅覚測定を行った。告示法については、今回のパネルでは日本人の方がポーランド人に比べ嗅覚が鋭敏であった。また、オルファクトメーター法と告示法の測定結果を比較したところ、日本では同一パネルにおいてオルファクトメーター法で測定した閾値濃度は告示法に比べ高い傾向を示したが、ポーランドでは二法の測定結果に差異は認められなかった。これは両国で使用したオルファクトメーターの閾値の求め方が異なるためと考えられる。

また、硫化水素、ヘキサナール、イソ酪酸について告示法とオルファクトメーター法との希釈精度の違いとそれが嗅覚測定に与える影響を検討した。オルファクトメーター法では希釈精度は概ね良好であった。一方、告示法では硫化水素は良好であったが、イソ酪酸では60%程度の回収となり、嗅覚測定結果からも希釈誤差の影響が現れていると考えられた。また、ヘキサナールに関しては、低希釈倍数時に回収率が低下したが、閾値レベルに近い高希釈倍数時には回収率が100%に近く、嗅覚測定結果からも実際の嗅覚測定に対する影響は大きくないと考えられた。

キーワード：欧州規格法、告示法、オルファクトメーター法、三点比較式臭袋法、嗅覚閾値、希釈精度

## A Comparative Study of the Triangle Odor Bag Method and the Dynamic Olfactometry by European Standard in the Odor Measurement Method by Olfaction (3)

AMANO Saeko, UENO Hiroyuki

### Summary

The difference of the measurement results between the dynamic olfactometry, which is defined by the European standard, and the triangle odor bag method, which is defined by the offensive odor control law in Japan, were examined in Japan and Poland.

As we compared Pole with Japanese sense of smell, the threshold value of Pole were higher than that of Japanese. Incidentally, the results of the dynamic olfactometry are also same as those of the triangle odor bag method in Poland. Maybe this is because the dynamic olfactometry used in Poland was different from that used in Japan.

Dilution accuracy between the dynamic olfactometry and the triangle odor bag method were researched. Hydrogen sulfide, Hexanal and Isobutyric acid were used as samples. About the dynamic olfactometry, dilution accuracy was almost good for all samples. On the other side, about the triangle odor bag method, hydrogen sulfide and hexanal didn't have problem in deciding their threshold value, isobutyric acid had some issue because of this adsorption.

**Key word** : Dynamic Olfactometry, Triangle odor bag method, Threshold value, Dilution accuracy

## 1 はじめに

人の嗅覚により「におい」の強さを判定する嗅覚測定法は国際的に用いられている手法である。日本では平成7年に環境庁より測定方法が告示された<sup>1)</sup>3点比較式臭袋法(以下、「告示法」という。)が利用されるのに対して、EUにおいては動的オルファクトメーター法が規格化されている<sup>2)</sup>(以下「欧州規格法」という。)。欧州規格法と告示法は、どちらも元のおいを無臭空気で希釈して、人間がにおいをかぎ、閾値(においを感じる最低濃度)を求め、臭気濃度を算出する方法である。しかし、パネル(臭気の有無を判定する被験者)選定試験やにおいの希釈倍率等測定方法が異なる。

筆者らが平成13年度から行っている日本人をパネルとした両手法の比較検討調査<sup>3~7)</sup>では、同一パネルで同一臭気を測定した場合、欧州規格法は、告示法よりも閾値濃度が高く測定される傾向があった。また、欧州規格法及び告示法の希釈精度を求めたところ、臭気物質によっては器材への吸着等により希釈精度に問題が生じるおそれがあることが示唆された。

そこで今年度は生活習慣の違い等により、臭気の種類によっては感受性が異なる可能性がある外国人をパネルとして嗅覚測定を行い、日本人をパネルとした嗅覚測定結果と比較検討した。今回は外国人としてポーランド人を比較対象とした。また、希釈精度については、これまで検討していない物質を追加して両手法の希釈精度を調査した。同時に嗅覚測定も併せて行い、物質による希釈精度の違いとそれが嗅覚測定に与える影響を検討した。

## 2 実験方法

### (1) 欧州規格法と告示法の概要

#### ア 告示法

3個のポリエステル製のにおい袋に無臭空気を入れ、このうちの1つに所定の希釈倍数になるよう原臭をガラス製注射器で注入する。これをパネルが嗅ぎ、においの有無を判定する方法である。判定試験は高濃度側から開始し、順に3倍ずつ濃度が低くなる下降法を用いている。

#### イ 欧州規格法

原臭の希釈はオルファクトメーターと呼ばれる希釈装置で連続的に行われる。日本で用いたオルファクトメーターとポーランドで用いたオルファクトメーターは、

いずれの装置も欧州規格法に適合しているものであり、低濃度側から試験を開始し、順に2倍ずつ濃度が高くなる上昇法を用いている。一方、閾値の求め方は、日本で用いた装置とポーランドで用いた装置では異なっていた。

日本ではOlfactomat-n2(オランダ OdourNet Holding BV社製)を用いた。本装置では2個の嗅ぎ口(スニフingポート)のいずれかから無臭空気と、希釈した試料が吐出される。パネルは「どちらのポートから臭気が出ているか」、「においの程度(わからない、かすかに感じる、はっきりわかる)」を回答する。パネルの回答が正解でかつにおいの程度が「はっきり」である状況が2回続いたら終了となり、最初の「正解かつはっきり」とその直前の希釈倍数の幾何平均を閾値とする。

ポーランドではT0-7(ドイツ Ecoma社製)を用いて実験を行った。本装置ではスニフingポートは1人1個であり、パネルはにおいを感じた時にボタンを押す。そのときの希釈倍数とその直前の希釈倍数との幾何平均を閾値とする。なお、試験中にランダムに無臭空気を呈示し、この無臭空気に対し「におう」と答えた割合が20%以上であるパネルのデータは使用しないことになっている。

### (2) 外国人と日本人による嗅覚測定結果の比較

#### ア 嗅覚測定の内容

日本人パネルでの嗅覚測定を当研究所で、ポーランド人のパネルでの嗅覚測定をポーランドのシュチェチン工科大学で行った。告示法の選定試験に合格した人をパネルとし、各国それぞれ2グループずつにわけ、実験を行った。日本人、ポーランド人のパネル情報を表1に示す。

欧州規格の標準物質となっているn-ブタノール、日本国内で告示法の精度管理として用いられている酢酸エチル、豆腐工場等から発生する大豆臭であるヘキサナールを使用臭気とした。ポーランド人をパネルとした告示法は各2回、その他は各3回測定を行った。測定実施日を表2に示す。

表 1 パネル参加状況

日本人 (12人)						ポーランド人 (12人)					
グループ A			グループ B			グループ I			グループ II		
名前	性別	年齢	名前	性別	年齢	名前	性別	年齢	名前	性別	年齢
A	男	24	G	男	24	M	男	24	S	男	23
B	女	56	H	女	58	N	女	23	T	男	22
C	女	30	I	女	56	O	女	24	U	女	23
D	女	24	J	女	53	P	男	25	V	男	22
E	女	22	K	女	29	Q	女	25	W	女	24
F	女	20	L	女	29	R	男	25	X	男	21

表 2 測定実施日

グループ	n-ブタノール	酢酸エチル	ヘキサナール
A	2006/8/22	-	2006/8/26
B	2007/1/25	2007/1/26	2007/1/27
I	2007/2/28	2007/3/1	2007/3/2
II	2007/2/28	2007/3/1	2007/3/2

イ 試料の作成と分析

アで示した使用臭気について、嗅覚測定用の原ガス試料を以下のように作成し、濃度を定量した。

① n-ブタノール

活性炭を通した空気を 50L 導入した 50L ポリエステルバッグに n-ブタノール 8 $\mu$ L を注入した。その後ドライアーを用いて試料を気化させ、39ppm のガスを作成した。

濃度の定量は 51.7ppm のボンベ入り標準ガス (住友精化製) を用いてガスクロマトグラフにより行った。ガスクロマトグラフの測定条件を表 3 に示す。

表 3 ガスクロマトグラフ測定条件

ガスクロマトグラフ : HP6890
カラム : J&W 社製 DB-5 (内径 0.53mm 長さ 30m)
オープン温度 : 100°C
注入口温度 : 200°C
検出器 (FID) 温度 : 230°C
キャリアーガス : He 30mL/min
試料注入量 : 0.5mL (ガスタイトシリンジ)

② 酢酸エチル

活性炭を通した空気を 50L 導入した 50L ポリエステルバッグに酢酸エチル 200 $\mu$ L を注入した。その後ドライアーを用いて試料を気化させ、984ppm の原ガスを作成した。

標準試料は真空ビン (1L) に酢酸エチル 4 $\mu$ L を導入し、加熱気化させ、983.5ppm のガスを作成した。

濃度の定量にはガスクロマトグラフを用いた。測定条件は

試料注入量以外の項目は表 3 と同様である。試料注入量は 0.2mL である。

③ ヘキサナール

活性炭を通した空気を 10L 導入した 10L ポリエステルバッグにヘキサナール 13 $\mu$ L を注入し、気化させた。さらに 50L ポリエステルバッグに活性炭を通した空気を 49.5L 導入した後、上記で作成したガスを 500mL 注入し、濃度 2.6ppm の試料ガスを作成した。

濃度の定量は、DNPH カートリッジ (Supelco LpDNPH) を用いて、200mL の試料ガスに含まれるヘキサナールを捕集し、5mL のアセトニトリルで溶出後、HPLC-UV を用いて行った。測定条件を表 4 に示す。標準溶液としてアルデヒド標準液 (Supelco DNPH-Mix) を用いた。

表 4 HPLC 測定条件

HPLC : 島津 LC10			
カラム : Supelco 社製 LC-PAH (内径 2.1mm 長さ 25cm)			
カラムオープン : 35°C			
検出器 : 島津 SPD-M10 AVP (UV 360nm)			
注入量 : 5 $\mu$ L			
流速 : 0.2mL/min			
移動相 : 水 : アセトニトリル			
グラディエントプログラム :			
5%アセトニトリル水 : アセトニトリル			
0分	40	:	60
4分	40	:	60
17分	0	:	100
24分	0	:	100

(3) 希釈精度の比較

ア 試料の作成と分析

3 種類の臭気物質について、濃度既知の試料を欧州規格法、告示法でそれぞれ希釈し、希釈ガス中の濃度を求めた。その濃度と、希釈倍数から計算で求めた濃度と比較をすることで、希釈精度を調べた。

試料として、以前当所で行った実験より希釈精度の差は認められたものの嗅覚測定との差がそれほど認められなかった硫化水素、2(2)で用いたヘキサナール、告示法において希釈誤差が多いと報告されている<sup>8)</sup>イソ酪酸を用いて行った。試料の作成方法及び分析方法は以下のとおりである。

① 硫化水素

活性炭を通した空気を 49.5L 導入した 50L ポリエステルバッグに標準ガス（硫化水素 4.65ppm）を 500mL 導入し、0.465ppm の試料ガスを作成した。この試料ガス 10mL を、液体酸素で冷却した濃縮管（ODPN GL サイエンス）に窒素 200mL を流しながら注入して濃縮し、その後加熱導入器で濃縮管を 150℃まで加熱し GC に導入した。

定量にはガスクロマトグラフを用いた。測定条件は以下の通りである。

表5 ガスクロマトグラフ測定条件

ガスクロマトグラフ : HP5890
カラム : GS-Q (内径 0.53mm、長さ 30m)
オープン温度 : 50℃
注入口温度 : 130℃
検出器 (FPD) 温度 : 200℃
キャリアーガス : He 200 kPa

② ヘキサナール

2(2)③と同様の方法である。

③ イソ酪酸

活性炭を通した空気を 10L 導入した 10L ポリエステルバッグにイソ酪酸 8μL を注入し、気化させた。さらに 50L ポリエステルバッグに活性炭を通した空気を 49.5L 導入した後、上記で作成したガスを 500mL 注入し、濃度 2.07ppm の試料ガスを作成した。試料は常温濃縮<sup>9)</sup>し（濃縮管 : 0.3%FFAP+0.3%H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> on UnicarbonB 60/80mesh (GL サイエンス) 0.9g 充填)、その後加熱導入器で濃縮管を

200℃まで加熱し注入した。

定量にはガスクロマトグラフを用いた。測定条件は表6の通りである。

表6 ガスクロマトグラフ測定条件

ガスクロマトグラフ : HP5890
カラム : UA-FFAP (内径 0.53mm、長さ 30m、膜厚 1.0μm)
オープン温度 : 50℃(2min)-16℃/min-190℃
注入口温度 : 200℃
検出器 (FID) 温度 : 230℃
キャリアーガス : He 160 kPa

また、欧州規格法、告示法の各希釈倍数におけるガス採取量を以下に示す。

表7 欧州規格法におけるガス採取量 (L)

希釈倍数	ガス採取量(L)		
	硫化水素	ヘキサナール	イソ酪酸
32	0.5	5	1.5
65	0.5	10	3
135	1	10	5
266	2	10	10
526	4	15	-
1032	5	20	-

表8 告示法におけるガス採取量 (L)

希釈倍数	ガス採取量(L)		
	硫化水素	ヘキサナール	イソ酪酸
30	0.5	5	1.5
100	1	10	4
300	2	10	10
1000	5	20	-

イ 嗅覚測定

希釈精度の差が嗅覚測定結果に影響があるかを調べるため、欧州規格法、告示法を用いた嗅覚測定試験を日本人パネルで併せて行った。各物質の嗅覚試験日は表9の通りである。パネルの情報、グループ分けは表1と同様である。測定回数は欧州規格法、告示法もいずれも3回ずつ行った。測定実施日を表9に示す。

表9 測定実施日

グループ	硫化水素	ヘキサナール	イソ酪酸
A	2006/8/23	2006/8/26	-
B	-	2007/1/27	2007/2/2

### 3 結果

#### (1) 外国人と日本人による嗅覚測定結果の比較

ポーランド人パネルおよび日本人パネルの嗅覚閾値の平均を算出し、表 10 に示した。人間の感覚量は濃度の対数に比例する<sup>10)</sup>ため、閾値は対数値で示している。ここで、日本人パネルによる酢酸エチルのデータはグループ B の 6 人分のみである。

既往の文献値と比較すると、n-ブタノールでは欧州規格法で規定された参照値及び永田ら<sup>8)</sup>の測定結果 4.6 に対し、今回の測定結果は 4.2~5.1 であった。酢酸エチルについては日本国内 7 機関が告示法を用いて精度試験を行なった際の平均値<sup>11)</sup> 5.8 に対し、5.6~6.2 であった。ヘキサナールは永田らの測定結果の 2.4 に対し 2.3~3.0 であった。以上のように、今回の測定結果は文献値と大きなずれはなかったが、パネルや機器の違いにより閾値の絶対値の濃度は 4~8 倍程度変動していた。

告示法について日本人とポーランド人を比較すると、日本人の嗅覚閾値はポーランド人の嗅覚閾値に比べ 0.5~0.7 低い傾向が見られた。3 種類の臭気物質すべてについて、有意水準 5% で有意差を認めた。告示法については、日本人とポーランド人とではほぼ同様の器材・方法で試験を行っているため、今回のパネルについてはポーランド人より日本人の嗅覚の方が鋭敏であったことを示している。

日本人について、告示法と欧州規格法の測定結果を比較すると、告示法で測定された嗅覚閾値の方が欧州規格法で測定された嗅覚閾値に比べ 0.5 程度低かった（全ての物質において有意水準 5% で有意）。これは、日本人の

測定で用いたオルファクトメーター(Olfactomat-n2)は、においを“はっきり”感じるとするまで検知したとみなさないため、告示法よりも閾値濃度が高く測定されるためである<sup>7)</sup>。

一方、ポーランド人について告示法と欧州規格法の測定結果を比較するとそれほど大きな差はなく、いずれの物質も有意水準 5% では有意差が認められなかった。前述した告示法の結果より日本人とポーランド人に嗅覚の差があるとする、使用した機器の違いの影響が嗅覚の差を相殺している可能性がある。すなわち、ポーランド人の測定で用いた欧州規格 (T0-7) では、においを感じた時点で検知したとみなすため、告示法に近い閾値が得られることが考えられる。

次に、各測定条件における個人間の閾値のばらつきを見るため、個人閾値の分布を図 1~3 に示した。なお、このデータは告示法における上下カット、欧州規格法における測定後のスクリーニングを行った後のデータを使用している。上述のように、告示法による日本人の閾値濃度が低い傾向が表れている。また、個人閾値は、いずれの方法でも、濃度の対数で概ね 1 程度、すなわち濃度換算で 10 倍程度の範囲に分布していることがわかる。欧州規格法におけるパネル選定基準は n-ブタノール 20~80 ppb (log ppt で 4.3~4.9) である。今回用いたパネル 24 人は全て告示法のパネル選定試験に合格しているが、うち 18 人が欧州規格法のパネル選定基準を満たしていない。したがって、欧州規格法のパネルを安定して確保するためには、多くの被験者をテストする必要があり、時間・コストがかかる。

表 10 日本人とポーランド人による嗅覚閾値測定結果の平均値

	閾値(log ppt)					
	n-ブタノール		酢酸エチル		ヘキサナール	
	告示法	欧州規格法*	告示法	欧州規格法*	告示法	欧州規格法*
日本人	4.2 (17ppb)	4.7 (53ppb)	5.6** (0.36ppm)	6.1** (1.3ppm)	2.3 (0.20ppb)	3.0 (0.94ppb)
ポーランド人	4.9 (88ppb)	5.1 (140ppb)	6.2 (1.7ppm)	6.1 (1.2ppm)	2.8 (0.68ppb)	2.7 (0.48ppb)

\* : オルファクトメーターの機種は、日本人の場合 Olfactomat、ポーランド人の場合 T0-7 である。

\*\* : 酢酸エチルの日本人のデータはグループ B のみである。

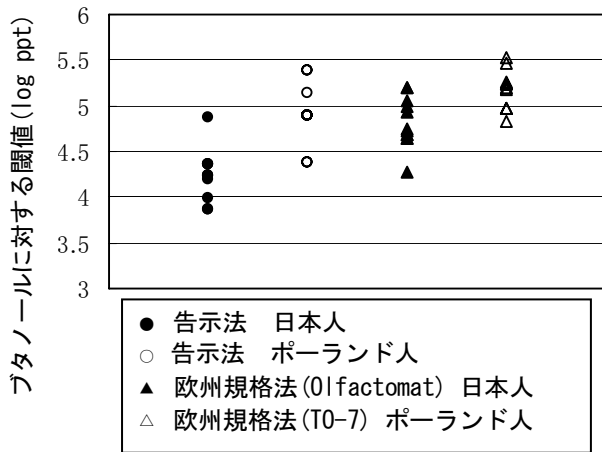


図1 ブタノールに対する個人閾値

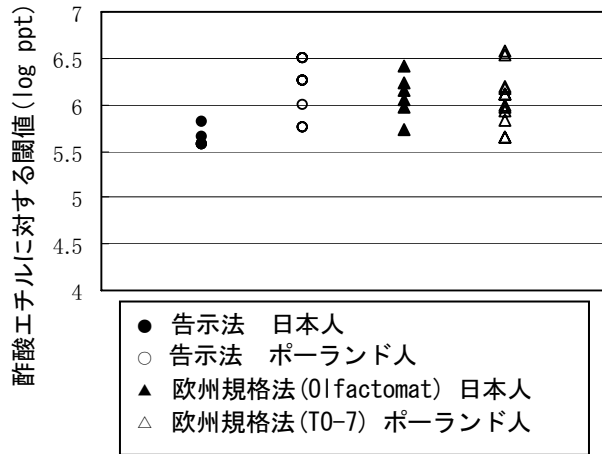


図2 酢酸エチルに対する個人閾値

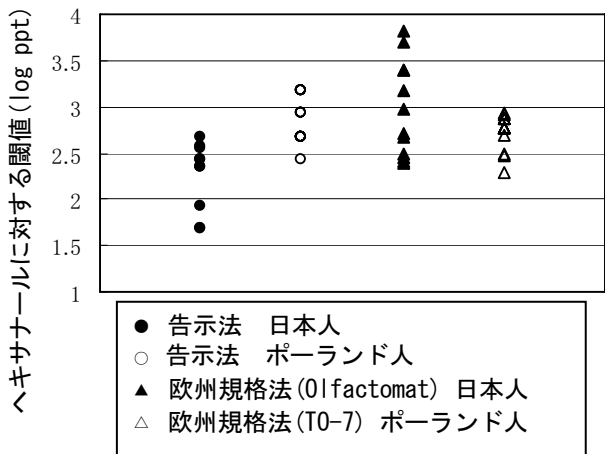


図3 ヘキサナールに対する個人閾値

(2) 希釈精度の比較検討調査

ア 機器分析での結果

硫化水素、ヘキサナール、イソ酪酸の測定結果を図4から図6に示す。なおここで表記されている回収率(%)とは以下の計算式より求めたものであり、100%であれば希釈誤差がないことを示している。

$$\text{回収率(\%)} = \frac{\text{実測した希釈ガス中の物質濃度(ppb)}}{\text{計算から求めた物質の濃度(ppb)}} \times 100$$

硫化水素については、両手法とも回収率は良好であった。オルファクトメーター法については、平成13年度調査結果では、回収率が50%程度の場合があったが、これは希釈倍数が10000倍の場合であり、1600倍程度では今回のデータと同様に良好であった<sup>3)</sup>。このオルファクトメーターによる実際の閾値測定では1600倍以下の希釈倍数で閾値が求まるケースが多いことから、実用的には大きな問題はないと考えられる。

ヘキサナールについては、欧州規格法ではばらつきはあるものの良好であったのに対し、告示法では30倍、100倍希釈時に回収率が低下した。この理由は明確ではないが、閾値レベルに近い300倍、1000倍時には回収率が100%に近くっており、実際の嗅覚測定に対する影響は大きくないと考えられる。

イソ酪酸については、欧州規格法では比較的良好であったが、告示法では回収率が60%程度と低く、嗅覚測定結果への影響があることが予想される。

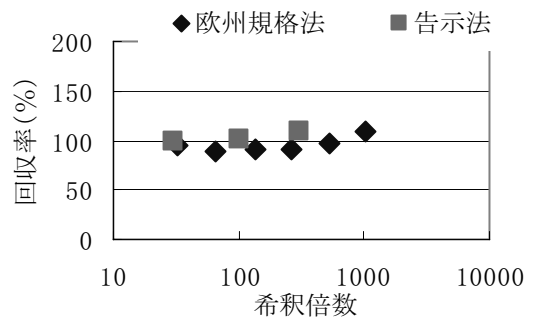


図4 硫化水素測定結果

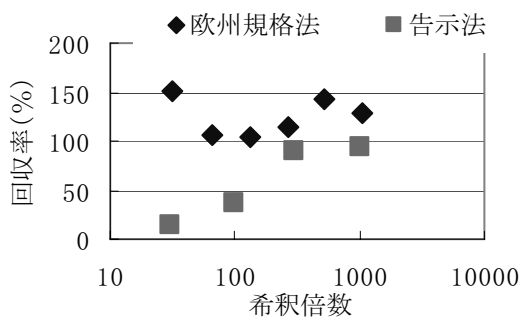


図5 ヘキサナール測定結果

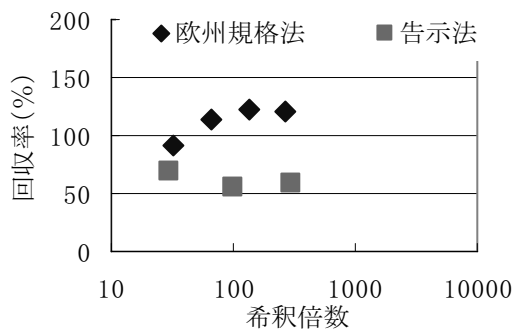


図6 イソ酪酸測定結果

イ 嗅覚測定試験の結果

硫化水素、ヘキサナール、イソ酪酸の嗅覚測定結果を表11に示す。

表11 嗅覚閾値測定結果

	嗅覚閾値(log ppt)	
	欧州規格法	告示法
硫化水素	3.1	2.5
ヘキサナール	3.0	2.3
イソ酪酸	3.6	4.0

硫化水素、ヘキサナールについては、欧州規格法に比べ告示法の方が閾値濃度は0.6~0.7 低く測定されているが、これは前述のように、Olfactomat-n2 と告示法との閾値の求め方による差異のためである。Olfactomat-n2 はにおいを“はっきり”感じるまで検知したとみなさないため、告示法で測定した嗅覚閾値よりも0.5程度高い値を示す<sup>7)</sup>。したがって、硫化水素、ヘキサナールについては希釈誤差の影響を受けていないことが現れている。

一方、イソ酪酸については、告示法の方が高くなっている。これは回収率が告示法では60%程度となっているため、閾値濃度が高くなったと考えられる。

4 おわりに

欧州規格法と告示法について、外国人と日本人をパネ

ルとした臭気測定結果の比較や、希釈精度について検討を行った。その結果、今回のパネルについては、告示法においては日本人の方がポーランド人に比べ嗅覚が鋭敏であった。一方、欧州規格法においては、顕著な差は認められなかった。この原因として、両国で使用したオルフクトメーターの閾値の求め方が異なる点と、今回のパネルを告示法の選定試験で選定した点が考えられる。

今後は、欧州規格のパネル選定基準「n-ブタノールの嗅覚閾値が20-80ppbである」に合格したパネルを告示法、欧州規格法でそれぞれ選抜し、測定結果を検証していく予定である。

なお、この報告は環境省の平成17年度嗅覚測定に係わる欧州標準規格対応検討調査委託の一部である。

参考文献

- 1) 環境省告示第63号：臭気指数及び臭気排出強度の算定方法
- 2) CEN: EN13725 Air Quality-Determination of Odor Concentration by Dynamic Olfactometry (2003)
- 3) 東京都：平成13年度環境省業務委託 嗅覚測定に係る欧州標準規格対応検討調査報告書
- 4) 東京都：平成14年度環境省業務委託 嗅覚測定に係る欧州標準規格対応検討調査報告書
- 5) 東京都：平成15年度環境省業務委託 嗅覚測定に係る欧州標準規格対応検討調査報告書
- 6) 東京都：平成16年度環境省業務委託 嗅覚測定に係る欧州標準規格対応検討調査報告書
- 7) 上野広行ら：嗅覚閾値測定における下降法と上昇法の差異の影響、におい・かおり環境学会誌、37, pp.15-22(2006)
- 8) 永田好男ら：三点比較式臭袋法による臭気物質の閾値測定結果、日本環境衛生センター所報、17, pp.77-89(1990)
- 9) 伊藤暢浩ら：常温吸着法を用いた大気中の低級脂肪酸の分析、愛知県公害調査センター所報、21, pp.15-19(1993)
- 10) 社団法人におい・かおり環境協会：嗅覚とにおい物質、pp.24(1998)
- 11) 社団法人臭気対策研究協会：嗅覚測定法マニュアル、pp.177(2003)
- 12) 岩崎好陽：新訂臭気の嗅覚測定法、pp.112(2004)