

## ヒト皮膚から放散するアンモニアに及ぼす歩行の影響

内山汐里<sup>1</sup>, 梅澤郁夫<sup>1</sup>, 村松真歩<sup>1</sup>, 関根嘉香<sup>\*2</sup>

<sup>1</sup>東海大学大学院 理学研究科 化学専攻  
〒259-1292 神奈川県平塚市北金目 4-1-1

<sup>2</sup>東海大学 理学部 化学科  
〒259-1292 神奈川県平塚市北金目 4-1-1

(2022年10月14日受付; 2022年12月9日受理)

## Effect of walking in shoes on ammonia emanating from human skin surface

by

Shiori UCHIYAMA<sup>1</sup>, Ikuo UMEZAWA<sup>1</sup>, Maho MURAMATSU<sup>1</sup> and Yoshika SEKINE<sup>\*2</sup>

<sup>1</sup>*Course of Chemistry, Graduate School of Science, Tokai University  
4-1-1 Kitakaname, Hiratsuka, Kanagawa, 259-1292 Japan*

<sup>2</sup>*Department of Chemistry, School of Science, Tokai University, Kanagawa, Japan  
4-1-1 Kitakaname, Hiratsuka, Kanagawa, 259-1292 Japan*

\*Corresponding author: E-mail: sekine@keyaki.cc.u-tokai.ac.jp

(Received on Oct. 14, 2022; accepted on Dec. 9, 2022)

### Abstract

Ammonia emanating from human skin surface is often increased by physical exercise including walking. The physical load induced by walking to human body may vary with the kind of shoes. This study aimed to verify the effect of walking in different kinds of shoes on the dermal emission of ammonia. The dermal emission fluxes of ammonia were simultaneously measured at sole (center), forearm and axilla of a healthy female volunteer by a passive flux sampler coupled with ion chromatography before and after 30 min-walk. The results showed the changes in the dermal emission flux of ammonia were different by shoes, and a remarkable increase caused by the physical load was found at forearm and axilla, rather than sole (center). This was probably because the walking is a whole-body exercise, not just the sole of the foot. Additional measurement was conducted at five points of the sole of foot, including thenar, center, arch, edge and heel, employing a tablet type colorimetric indicator for ammonia. Among the five points, the heel, arch and thenar were more sensitive to the physical stress by walking rather than the center of sole because of greater plantar pressure on these points.

Keywords: Human skin gas; Ammonia; Dermal emission; Passive flux sampler; Ion chromatography

## 1 緒言

ヒトの体表面から常時放散される微量な生体ガスは皮膚ガスと呼ばれ [1], ヒトの体臭の原因 [2-4] となるだけでなく, 室内空気中に拡散して室内臭気に影響すること [5, 6] が知られている. 皮膚ガスは, 体表面から放散される揮発性の有機・無機化合物であり, エネルギー基質 (炭水化物, タンパク質, 脂質) 等の代謝生成物, 腸内細菌による分解生成物, 吸入・経口摂取された外因性化学物質, 皮膚表面における生物的・化学的な反応生成物などから構成され [1], アンモニアはその一つである.

生体内のアンモニアは, 主としてたんぱく質・アミノ酸の代謝生成物であり, その大部分は肝臓の尿素サイクル中で尿素に変換され, 腎臓を通じて尿中に排出される. 一方, 血液が全身を循環する過程において, 血中からアンモニアが揮発して皮膚表面に移行し, 皮膚ガスとして放散されるため, 皮膚からのアンモニアの放散量は, 血中アンモニア濃度に関連することが知られている [7-9]. また, アンモニアは運動負荷によって皮膚からの放散量が増加することがある [10]. 運動負荷時のアンモニアの産生経路には, プリンヌクレオチド回路が関与しており, 運動のためエネルギー源として利用されたアデノシン三リン酸は, アデノシン一リン酸にまで分解される. このアデノシン一リン酸が脱アミノ酵素の作用によりイノシン酸に脱アミノ化される際にアンモニアが産生され [11], このアンモニアが筋肉組織から血中に移行することにより, 一時的に血中アンモニア濃度が増加し, 皮膚からのアンモニア放散量が増加する [10]. 一方, 汗は血漿が原料であり, 発汗時に血中アンモニアが汗腺を通じて皮膚表面から放散されることがある.

Furukawa et al. [9] は皮膚アンモニアの全身分布を調べるため, 男女ボランティア 10 名を対象に安静時の全身 13 部位 (頭部, 頸部, 胸部, 腹部, 背部, 腰部, 左上腕部, 左前腕部, 手掌部, 臀部, 大腿部, 下腿部および足底部) におけるアンモニア放散量を測定した結果, 個人差はあるが足底部 (足心) の放散量が最も高かったと報告している. 足底部の皮下には血管が多数分布しており, 血液由来の皮膚ガスが常時放散していると考えられる. 歩行はヒトの基本的な移動運動であり, また靴の種類によって歩行動作が影響を受け, 足底部だけでなく全身性の筋肉疲労に関与する可能性がある. 本研究の目的は, ヒト皮膚から放散されるアンモニアの挙動に及ぼす歩行の影響を明らかにすることであり, 歩行に伴う①足底部 (足心), 前腕部および腋窩部におけるアンモニア放散量の変化を靴の種類を変えて調べ, さらに②足底部におけるアンモニア放散量の詳細分布を調べた結果, 有用な知見が得られたので報告する.

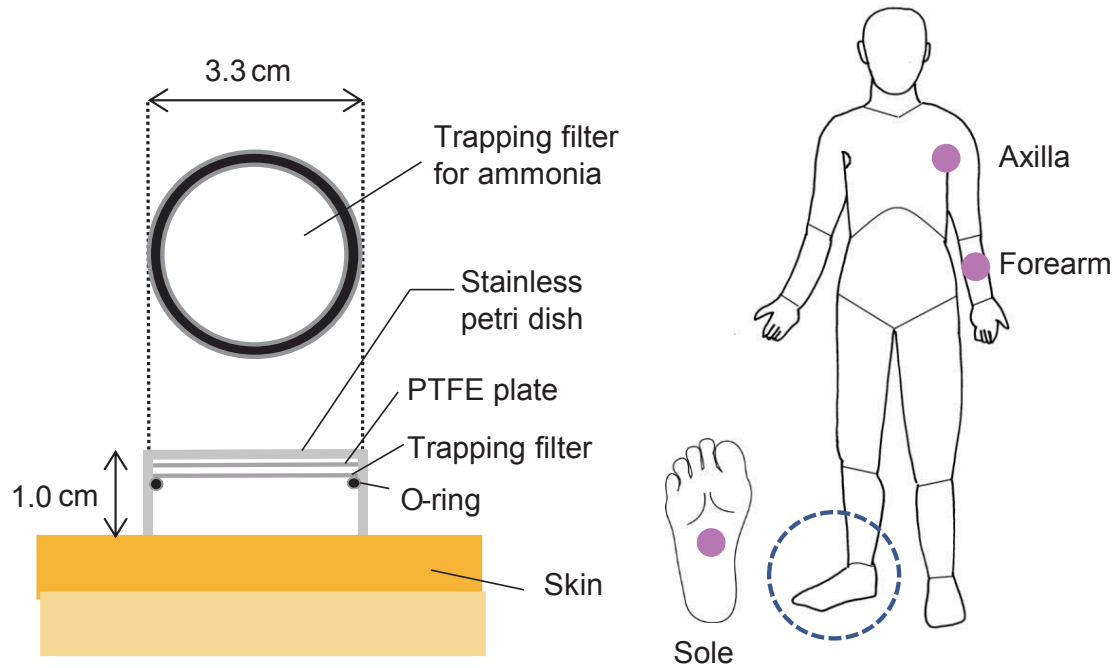
## 2 実験方法

### 2.1 試薬

市販のリン酸 (関東化学社製, 特級, > 85%), グリセリン (関東化学社製, 特級, > 99%), メタノール (関東化学社製, HPLC グレード), アセトニトリル (関東化学社製, HPLC グレード) および硫酸アンモニウム (関東化学社製, 特級, > 99.5%) を用いた.

### 2.2 被験者試験 (1)

歩行に伴う体表面からのアンモニア放散量の変化を調べるため, 2021 年 11 月に被験者 1 名を対象に靴の種類を変えて歩行した時の足底部 (足心), 前腕部および腋窩部におけるアンモニア放散フラックスを測定した. 皮膚アンモニアの放散量は個人間差が大きいため, 今回は研究の目的・個人情報の取扱い等について説明して同意が得られた被験者 1 名 (女性, 25 歳) を対象とした. 皮膚ガスの測定には, アンモニア測定用パッシブ・フラックス・サンプラー (Passive Flux Sampler, PFS) [9] を用いた.



**Fig. 1** Schematic view of the passive flux sampler (PFS) and sampling positions for the determination of ammonia emanating from skin surface.

Fig. 1 に示すように PFS は本体部（ステンレス製メソウム缶）、フッ素樹脂板、アンモニア捕集材および留め具（O-リング）で構成され、捕集材は、2% リン酸-1% グリセリン/メタノール溶液をセルローズろ紙（Advantec 社製 No.51A, 20 mm $\phi$ , 0.18 mm）に Dipping 法で含浸させ、真空デシケーター内で 1 時間減圧乾燥させて作製した。

試験日当日、はじめに被験者の足底部（足心）、前腕部および腋窩部に皮膚表面に PFS を設置し、サージカルテープ（日東電工社製優肌絆<sup>®</sup> アルファ）を用いて固定し、皮膚アンモニアを 30 分間受動的に捕集した。捕集中、被験者は素足で安静に過ごした。次に被験者は靴を履いて、東海大学湘南校舎 17 号館内を 30 分間歩行した。歩行場所および歩行距離はいずれの試験においても同一とした。歩行後、同様に足底部、腋窩部および前腕部に PFS を設置し、皮膚アンモニアを 30 分間捕集した。靴の種類は、被験者自身が所有する運動靴、レインブーツ、ムートンブーツおよびハイヒールの 4 種類とした (Fig. 2)。試験は各靴について 3 回繰り返して行い、試験順はランダム化した。靴下は着用しなかった。尚、アンモニア放散量には、タンパク質摂取が影響することがあるため、被験者は試験当日の朝食およ



**Fig. 2** Photos of four kinds of shoes used in this experiment. All shoes were owned by the tested healthy female volunteer.

び昼食において肉、魚、大豆などの摂取は控えた。また、歩行前後の靴の中の温度・相対湿度を測定した。測定には、おんどとり（ティアンドデイ社製、TR-72wf）を用い、着用直前および直後の靴の内部にセンサを速やかに挿入して直読した。

PFSに捕捉されたアンモニアは Milli-Q 水 8.0 mL で振とう抽出（150 rpm, 15 分間）し、Millex-HP フィルター（Millipore 社製、13 mm, 孔径 0.45  $\mu\text{m}\phi$ ）によりろ過後、イオンクロマトグラフ装置に導入してアンモニウムイオンを定量した。イオンクロマトグラフ装置の分析条件を Table 1 に示す。検量線用の標準溶液には、硫酸アンモニウム水溶液の希釈系列（0.0, 0.20, 0.50, 2.0 および 5.0  $\text{mg L}^{-1}$ ）を用い、溶液濃度およびピーク面積の間には良好な直線関係が認められた（ $r = 0.996$ ）。試料溶液のピーク面積を検量線に代入し、得られたアンモニア捕集量  $W$  (ng)、捕集時間  $t$  (h) および捕集部の面積  $S$  ( $\text{cm}^2$ ) から、①式により捕集部位  $i$  におけるアンモニアの放散フラックス  $E_i$  ( $\text{ng cm}^{-2} \text{h}^{-1}$ ) を求めた。

$$E_i = \frac{W}{St} \quad \dots \text{①}$$

**Table 1** Analytical condition of ion chromatography for the determination of ammonia trapped by PFS.

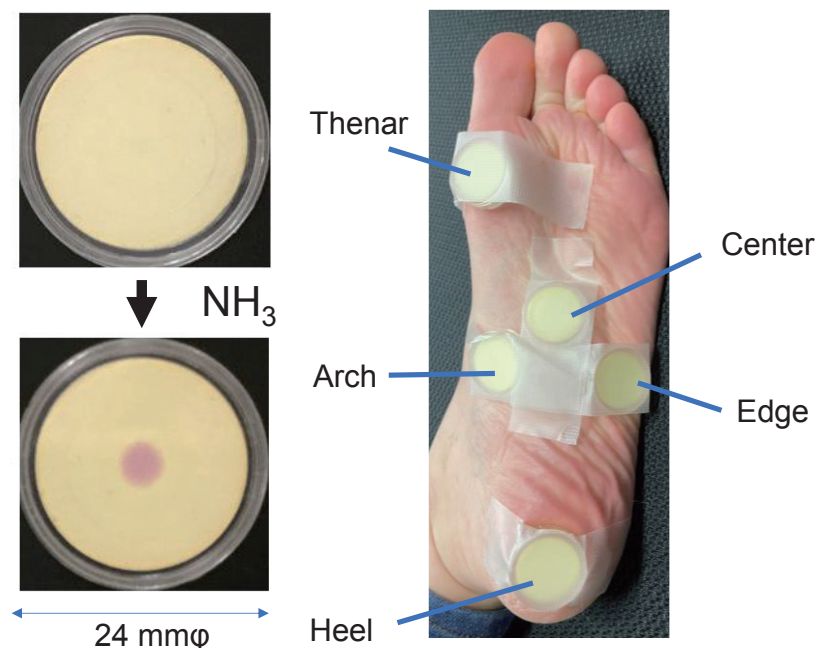
Pump	Shimadzu, LC-20AD
Conductivity detector	Shimadzu, CDD-10A <sub>VP</sub>
Recorder	Shimadzu, C-R8A
Auto-sampler	Shimadzu, SIL-10Ai
System controller	Shimadzu, SCL-10A <sub>VP</sub>
Column oven	Shimadzu, CTO-10A <sub>VP</sub>
Column	Shimadzu, IC-C4 (4.6 mm $\phi$ $\times$ 150 mm)
Oven temperature	313 K
Carrier solution	3.0 mM Phosphoric acid/acetonitrile
Flow rate	1.0 mL min <sup>-1</sup>
Injection volume	20 $\mu\text{L}$

### 2.3 被験者試験 (2)

足底部におけるアンモニア放散量の分布を調べるため、2021 年 11 月に被験者 1 名を対象に歩行した時の足底の母指球、土踏まず、足心部、足刀部および踵におけるアンモニア放散フラックスを測定した。被験者は試験 (1) と同一とし、被験者の負担を軽減するため、普段履きなれている運動靴を用い、予備試験と本試験の 2 回のみ実施した（本試験は予備試験の結果を良く再現していたので、結果は本試験のみ記す）。アンモニアの測定には、PFS よりもサイズが小さいアンモニアインジケーター（ガステック社製、短時間用、CID-3F）[12] を用いた。アンモニアインジケーターは、直径 24 mm、高さ 7.6 mm のタブレット状であり、アンモニアとの呈色反応により黄色から赤色に変化する (Fig. 3)。

試験当日、はじめに被験者の母指球、土踏まず、足心部、足刀部および踵にアンモニアインジケーターを 15 分間設置して色の変化を確認し、同一の照明条件下、スマートフォンのカメラで検知部を撮影して画像を取り込み、測色アプリを用いて CIELAB 表色系で定義される  $L^*$ （明度）、 $a^*$ （赤～緑の度合い）、 $b^*$ （黄～青の度合い）を測定した後、色差  $\Delta E^*ab$  を算出し、メーカーより提供された検量線を用いてアンモニア放散フラックスに換算した。また別途、運動靴着用時の足圧分布をインソール型足圧計（ソルティド社製、SI-GP190）により測定した。この足圧計は、足底部にかかる圧力分布を測定し、相対値で表示するものである。

本研究は、東海大学湘南校舎「人を対象とする研究」倫理委員会の承認を得て実施した。



**Fig. 3** View of the ammonia indicator for the colorimetric determination of ammonia emanating from skin surface and the deployment at thenar, center, arch, edge and heel of the tested healthy female volunteer.

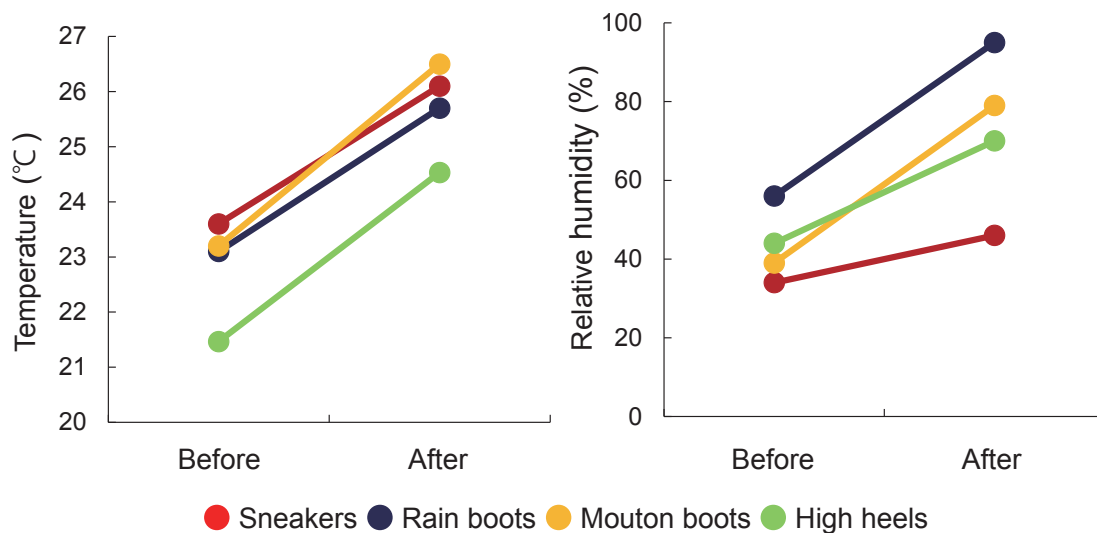
### 3 結果と考察

#### 3.1 歩行に伴うアンモニア放散量の変化

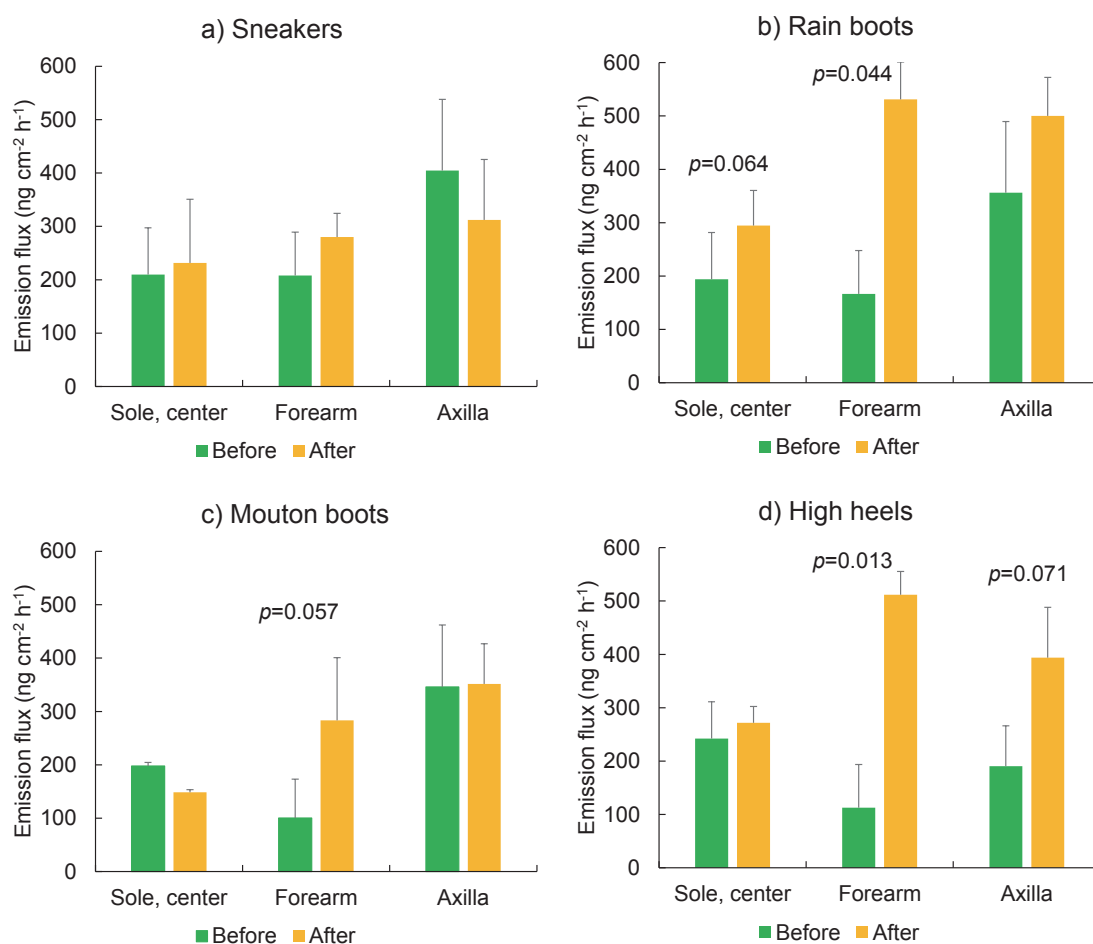
歩行前後における靴内部の温度および相対湿度の変化を Fig. 4 に示す (3 回測定 of 平均値). 靴内部の温度は, 歩行中の被験者の体温が伝わり, いずれも増加傾向を示し, その増加割合も同等であった. なお, ハイヒールに関しては他と比べて低い温度を示し, 開口部が広いために室内温度により近くなったものと考えられる. 一方, 相対湿度についても歩行後に増加する傾向を示したが, 増加割合は靴の種類によって異なり, レインブーツ=ムートンブーツ>ハイヒール>運動靴の順であった. レインブーツやムートンブーツは, 足首まで覆われる構造であり, また素材も厚手であるため, 湿気がこもりやすかったと考えられる. 運動靴は薄手の布素材のため通気性が高く, 湿度の増加が抑制されたと思われる. ハイヒールは, 開口部は大きいものの, 素材が人工皮革であるため, 運動靴に比べて相対湿度が高くなったものと考えられる.

歩行前後の足底部 (足心), 前腕部および腋窩部におけるアンモニア放散フラックスの測定結果を Fig. 5 に示す. 棒グラフは各靴を履いて歩行する前後のアンモニア放散フラックスの平均値, エラーバーは標準偏差である (各  $n = 3$ ). 歩行前のアンモニア放散フラックスに着目すると, 運動靴, レインブーツおよびムートンブーツを着用する試験では, 腋窩部>前腕部=足底部 (足心) となり, この被験者の場合は腋窩部において放散量が比較的多かった. 一方, ハイヒールを着用する試験では, 足底部 (足心) >腋窩部>前腕部の傾向となった. この理由は明確ではないが, 被験者の心理状態が反映された可能性が考えられる. 皮膚からのアンモニア放散量には自律神経が関与し, 交感神経優位の時に増加する [13]. したがって, アンモニア放散量には心理的ストレスも影響し, 安静時であっても心理状態によって変動しやすい [14]. ハイヒールは被験者が初めて着用する新品であり, この靴に対する思い (期待感など) が副交感神経を優位にさせ, その影響が前腕部および腋窩部におけるアンモニア放散フラッ

ヒト皮膚から放散するアンモニアに及ぼす歩行の影響



**Fig. 4** Changes in temperature and relative humidity inside the each shoe before and after walking in these shoes for 30 minutes (average of three repeated trials of one healthy female volunteer).



**Fig. 5** Dermal emission flux of ammonia measured by the PFS - ion chromatography methodology at sole (center), forearm and axilla of the tested female volunteer before and after walking in shoes: a) in sneakers, b) in rain boots, c) in muton boots and d) in high heels. Error bar shows a standard deviation of triplicate runs ( $n = 3$ ).

クスに表れたと思われる。

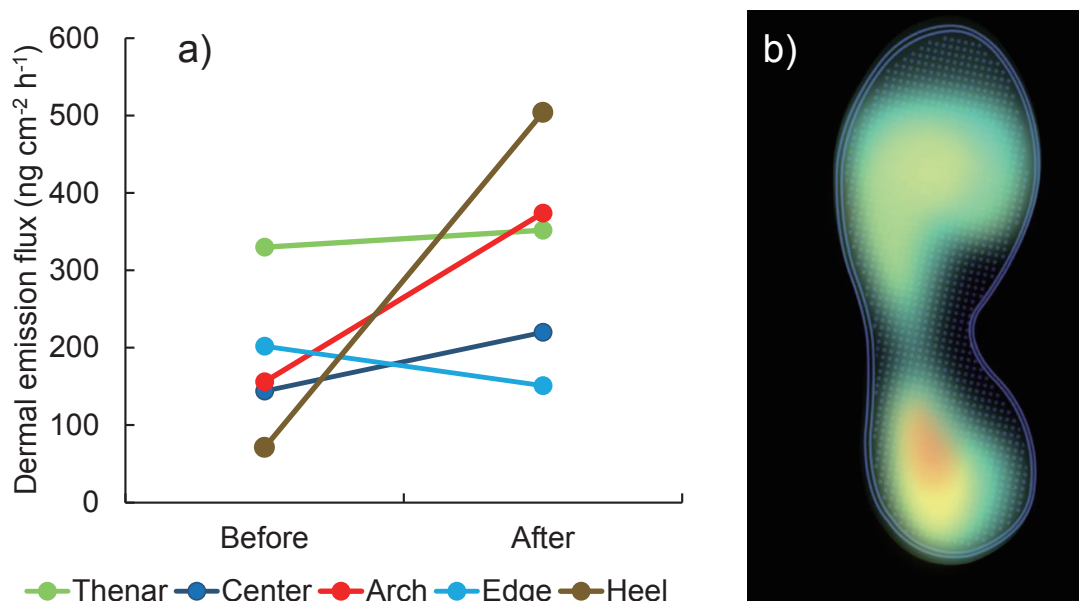
運動靴は被験者が普段履きなれているものであり、運動靴を履いて歩行した場合、足底部（足心）における歩行前のアンモニアの放散フラックスが  $2.0 \times 10^2 \pm 88 \text{ ng cm}^{-2} \text{ h}^{-1}$  であったのに対して、歩行後は  $2.3 \times 10^2 \pm 1.2 \times 10^2 \text{ ng cm}^{-2} \text{ h}^{-1}$  であり、有意な増減はみられなかった。前腕部および腋窩部においても同様に変化は見られなかった。一方、レインブーツは被験者が雨天時に履いて利用するものであり、使用頻度は運動靴に比べて低い。このレインブーツを履いて歩行した場合、足底部（足心）における放散フラックスは歩行前の  $1.9 \times 10^2 \pm 79 \text{ ng cm}^{-2} \text{ h}^{-1}$  に対して、歩行後は  $3.0 \times 10^2 \pm 66 \text{ ng cm}^{-2} \text{ h}^{-1}$  となり、1.5 倍の有意な増加が見られた (Paired t-test,  $p = 0.064$ )。また前腕部では 1.6 倍の有意な増加が見られ ( $p = 0.044$ )、腋窩部では 1.4 倍の増加傾向が見られた。ムートンブーツは、被験者がプライベートで外出する時に着用するもので、運動靴に次いで使用頻度が高い。このムートンブーツを着用した場合、アンモニア放散フラックスは足底部（足心）および腋窩部では変化が見られなかったが、前腕部で 2.8 倍の有意な増加が見られた ( $p = 0.057$ )。ハイヒールは被験者が初めて着用する新品であったため、被験者は歩行するのに困難を覚えた。足底部（足心）のアンモニア放散フラックスには顕著な変化は見られなかったが、前腕部で 4.5 倍 ( $p = 0.013$ )、腋窩部では 2.1 倍 ( $p = 0.071$ ) の有意な増加が認められ、全身性の疲労を招いた。これらの結果から、歩行に伴うアンモニア放散量の変化は、同一被験者であっても靴の種類によって異なり、また歩行が全身性の運動であることから、足底部（足心）よりも前腕部や腋窩部において変化が起りやすいことがわかった。すなわち、普段から履きなれている運動靴の場合、30 分の歩行では身体的負荷が少なく、捕集部位におけるアンモニア放散を増大させるには至らなかった。一方、ハイヒールのように普段履き慣れていない靴の場合、体全体のバランスを保って歩行するために上半身にも筋肉疲労が生じ、前腕部や腋窩部において顕著なアンモニア放散フラックスの増加が認められたと考えられる。

しかしながら、歩行に伴い足底部には相当の負荷がかかっていると考えられ、今回の実験で足心におけるアンモニア放散フラックスがほとんど変化しなかったのは予想外であった。足心を捕集部位にしたのは、PFS の構造上の都合によるものであり、直径 3.3 cm の PFS を隙間が出来ないように設置できる部位は足心のみであった。そこで、直径 2.3 cm の簡易なアンモニアインジケータを用いて、足底部におけるアンモニア放散フラックスの詳細分布を調べた。

### 3.2 足底部におけるアンモニア放散量の分布

運動靴を着用して歩行した前後の母指球、土踏まず、足心部、足刀部および踵におけるアンモニア放散フラックスの測定結果を Fig. 6 a) に示す。試験 (1) と同様に足心では、アンモニア放散フラックスの増加はわずかであったが、踵や土踏まずでは顕著に増加し、母指球では歩行前から比較的高い放散フラックスを示した。Fig. 6 b) は運動靴着用時の足圧分布であり、踵、次いで母指球に高い圧力がかかっていることがわかる。すなわち、足底部にかかる圧力は部位によって異なり、足圧の高い部位ほどアンモニア放散フラックスが高い、または歩行後の変化が大きいことがわかった。また土踏まずは地面から伝わる衝撃を和らげる機能を司ることから、この部位の筋肉にも運動負荷がかかっていると考えられ、アンモニアの放散フラックスに反映されたものと考えられる。

糖尿病はインスリンの作用不足による高血糖を特徴とする代謝異常であり、特有の合併症を引き起こす。足潰瘍は糖尿病における下肢切断の原因の一つであり、足潰瘍のリスク因子として足圧異常が指摘されている [15]。糖尿病患者における下肢切断を予防するには、歩行時の足圧評価と歩行指導が重要と考えられる [16]。しかしながら、足圧の臨床評価に利用できる足圧計は高価であり、また土踏まずのような非接地面は測定対象外となる。本研究により、皮膚からのアンモニア放散量は、足底部にかかる局所的な運動負荷を反映するバイオマーカーとなる可能性があり、今後は足圧と放散量の関係について詳



**Fig. 6** Dermal emission flux of ammonia measured by the ammonia indicator at thenar, center, arch, edge and heel of the tested healthy female volunteer before and after walking in sneakers (a) and the distribution of plantar pressure when putting on the sneakers (b).

細に検討するとともに、足圧評価に有用な検知方法の開発を目指したい。

#### 4 まとめ

ヒト皮膚から放散されるアンモニアの挙動に及ぼす歩行の影響を明らかにするため、被験者試験を行った結果、以下のことが明らかになった。

- ①歩行に伴うアンモニア放散フラックスの変化は、同一被験者であっても靴の種類によって異なり、足底部（足心）よりも前腕部や腋窩部において起こりやすいことがわかった。
- ②足底部にかかる圧力は部位によって異なり、足圧の高い部位ほどアンモニア放散フラックスが高い、または歩行後の変化が大きいことがわかった。

#### 参考文献

- [1] 関根嘉香, ヒト皮膚から放散する微量生体ガスと臨床環境, 臨床環境医学, **25** (2) (2017) 69–75.
- [2] M. Gallagher, C.J. Wysocki, J.J. Leyden, A.I. Spielman, X. Sun, and G. Preti, *Analyses of volatile organic compounds from human skin*, British J. Dermatol., **159** (2008) 780–791. DOI: 10.1111/j.1365-2133.2008.08748.x
- [3] M. E. T. Willems, M. Todaka, M. Banic, M. D. Cook and Y. Sekine, *Intake of New Zealand Black-currant Powder Affects Skin-Borne Volatile Organic Compounds in Middle-Aged and Older Adults*, J. Diet. Suppl., **19** (5) (2021) 603–620. DOI: 10.1080/19390211.2021.1908479
- [4] T. Akutsu, K. Sekiguchi, T. Ohmori, K. Sakurada, *Individual comparisons of the levels of (E)-3-methyl-2-hexenoic acid, an axillary odor-related compound, in Japanese*, Chem Senses, **31** (6) (2006) 557–63. DOI: 10.1093/chemse/bjj060
- [5] M. I. Mitova, C. Cluse, Catherine G. Goujon-Ginglinger, S. Kleinhans, M. Rotach, and M. Tharin, *Human chemical signature: Investigation on the influence of human presence and selected activities on concentrations of airborne constituents*, Environ. Pollut., **257** (2020) 113518. DOI:



10.1016/j.envpol.2019.113518

- [6] 池田馨, 山中俊夫, 竹村明久, 甲谷寿史, 桃井良尚, 相良和伸, 在室者から発生する汚染質の評価手法に関する研究 (その4) 三点比較式臭袋法を用いた体臭の弁別閾における CO<sub>2</sub> 濃度の同定, 平成27年度 (第45回) 空気調和・衛生工学会近畿支部学術研究発表会論文集 (2016).
- [7] 関根嘉香, 木村桂大, 梅澤和夫, 皮膚ガス測定は何に役立つか?, 空気清浄, **48** (6) (2017) 410-417.
- [8] K. Nose, T. Mizuno, N. Yamane, T. Kondo, H. Ohtani, S. Araki, and T. Tsuda, *Identification of ammonia in gas emanated from human skin and its correlation with that in blood*, Anal. Sci., **21** (2005) 1471-1474. DOI: 10.2116/analsci.21.1471
- [9] S. Furukawa, Y. Sekine, K. Kimura, K. Umezawa, S. Asai, and H. Miyachi, *Simultaneous and multi-point measurement of ammonia emanating from human skin surface for the estimation of whole-body dermal emission rate*, J. Chromatogr. B, **1053** (2017) 60-64. DOI: 10.1016/j.jchromb.2017.03.034
- [10] 関根嘉香, スポーツとアンモニア臭, 高砂香料時報 **184** (2019) 21-25.
- [11] 渡辺明治, 佐伯武頼編, “医科アンモニア学”, メディカルレビュー, pp.92-93 (1995).
- [12] S. Ikeda, S. Asai, K. Umezawa, H. Miyachi, A. Nakamura, Y. Kaifuku, and Y. Sekine, *Development of a wristband-type wearable device for the colorimetric detection of ammonia emanating from the human skin surface*, Results in Chem., **4** (2022), 100502. DOI: 10.1016/j.rechem.2022.100
- [13] 池田四郎, 関根嘉香, 梅澤和夫, 浅井さとみ, 白岩大, 高梨昇, 中村亜衣, 海福雄一郎, ヒト皮膚から放散するアンモニアを利用した交感神経指標の開発, 産業衛生学会誌, **60** (2018), 543.
- [14] 関根嘉香, 古川翔太, 二階堂直樹, 精神的ストレスがヒト皮膚から放散するアンモニアに及ぼす影響, クリーンテクノロジー, **27** (11) (2017), 47-50.
- [15] 日本糖尿病学会編著, “糖尿病診断ガイドライン”, 南江堂 (2016).
- [16] 吉田耕治, 國安勝司, 松本晋輔, 糖尿病患者の足底圧の再現と歩行様式別の歩行指導の検討, 川崎医療福祉学会誌, **29** (2019), 75-80.