

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 382 909**

51 Int. Cl.:  
**G01N 33/497** (2006.01)  
**G01N 33/15** (2006.01)  
**C11B 9/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 96 Número de solicitud europea: **03748731 .1**  
96 Fecha de presentación: **06.10.2003**  
97 Número de publicación de la solicitud: **1553411**  
97 Fecha de publicación de la solicitud: **13.07.2005**

54 Título: **Procedimiento de evaluación de olor corporal**

30 Prioridad:  
**04.10.2002 JP 2002293104**  
**25.03.2003 JP 2003083801**  
**22.04.2003 JP 2003116582**  
**04.06.2003 JP 2003160082**  
**06.10.2003 JP 2003346586**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:  
**14.06.2012**

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:  
**14.06.2012**

73 Titular/es:  
**KAO CORPORATION**  
**14-10, NIHONBASHI KAYABA-CHO 1-CHOME,**  
**CHUO-KU**  
**TOKYO 103-8210, JP**

72 Inventor/es:  
**Yabuki, Masayuki;**  
**Hasegawa, Yoshihiro;**  
**Matsukane, Masamoto y**  
**Yabe, Emi**

74 Agente/Representante:  
**Carpintero López, Mario**

ES 2 382 909 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

## DESCRIPCIÓN

Procedimiento de evaluación de olor corporal

**Campo técnico**

La presente invención se refiere a un procedimiento para evaluar un nivel de un olor corporal.

- 5 También se describen, aunque no forman parte de la presente invención, un kit de evaluación y un procedimiento de evaluación que incluye un reactivo de coloración, que hace reaccionar ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico o similares originado en la transpiración de un ser humano con el reactivo de coloración, así como un material indicador para evaluar un olor corporal, y un procedimiento para evaluar la efectividad de un desodorante.

**Técnica anterior**

- 10 Recientemente, el número de personas que están preocupados por su olor corporal está aumentando de acuerdo con el deseo creciente de higiene. El olor corporal es un término colectivo para un olor generado desde cualquier parte del cuerpo, principalmente una cabeza, una boca, axilas, un área genital, pies y similares. En particular, ya que la propia persona o las personas alrededor perciben fácilmente un olor axilar (olor de las axilas), un cierto nivel del mismo, por ejemplo, algunos factores que incluyen la presencia, fuerza, la diferencia en calidad o similares del olor  
15 corporal tiende a dominar el nivel de olor corporal en términos de todo un cuerpo. Además, la propia persona o las personas alrededor a menudo sienten que el propio olor axilar es más desagradable que el olor corporal.

- En la región axilar de un ser humano, no hay solamente glándulas ecrinas distribuidas casi a lo largo de todo el cuerpo sino también glándulas sudoríparas peculiares denominadas glándulas apocrinas. La región axilar de un ser humano es una parte en la que la transpiración tiene menos posibilidades de vaporizarse y es probable que crezcan bacterias. Por ello, es probable que la transpiración segregada desde dos tipos de glándulas sudoríparas (sudoríparas ecrinas y sudoríparas apocrinas), el sebo, la caspa o similares se metabolicen por la acción de las bacterias sobre la piel para producir un olor.  
20

- Un olor debido a una transpiración ecrina se denomina olor ácido graso inferior o simplemente olor ácido, que está provocado por un ácido carboxílico inferior que tiene de 2 a 5 carbonos y huele agrio y a aire viciado (de aquí en adelante denominado olor ácido graso inferior u olor ácido). También, dicho olor no solamente se produce en la axila sino también en todas las superficies cutáneas de todo el cuerpo. Por otro lado, un olor derivado de la glándula sudorípara apocrina se produce en una región axilar de un ser humano que tiene la llamada tragomasalia y denominado un olor apocrino o simplemente un "olor axilar" para distinguir. El olor apocrino es un olor picante peculiar de la región axilar y una misma persona o las personas alrededor lo perciben de manera particularmente fácil. Hay diferencias individuales en los olores axilares reales, que pueden clasificarse en términos generales en un olor ácido, un olor apocrino y el olor mezclado de los mismos.  
25  
30

- Las personas con tragomasalia tiende a tener más glándulas apocrinas en la región axilar en la que un olor ácido debido a una transpiración ecrina y un olor apocrino se mezclan para producir un olor fuerte peculiar. De este modo, si una persona está preocupada por su propio olor axilar, la persona intenta reducir el olor usando un desodorante que tiene un efecto desodorante o un efecto germicida, o extrayendo las glándulas apocrinas de la región axilar de manera quirúrgica si el olor apocrino es particularmente fuerte.  
35

- Por ello, las personas que están preocupadas por su propio olor corporal u olor axial, personas a las que se les señala su olor corporal en casa, el colegio, la oficina o similares, o personas que pueden colocar sus axilas en frente de la cara de alguien tales como peluqueros o dentistas, incluso si sus olores están en un nivel imperceptible por ellos mismos, tienen un gran interés en cuánto olor apocrino tienen originalmente en sus regiones axilares, y además si el uso de desodorantes o el esfuerzo para reducir un olor corporal tal como una operación para extraer las glándulas apocrinas es actualmente efectivo.  
40

- Convencionalmente, como procedimientos para evaluar de un olor corporal, particularmente un olor apocrino, hay: (1) un ensayo organoléptico en el que un tercero parte huele para determinar un olor de transpiración de regiones axilares con la nariz; (2) un procedimiento de evaluación empírica que supone los hechos que son considerados que están relacionados con un olor apocrino tales como la información genética, por ejemplo, si hay un miembro familiar que tiene tragomasalia, un cerumen húmedo, la coloración de ropa interior en las regiones axilares o similares; (3) un procedimiento que supone un número y un tamaño de glándulas apocrinas, o similares.  
45

- El procedimiento (1) necesita miembros de un panel de expertos tales como dermatólogos cualificados, por lo tanto no puede realizarse fácilmente. También, el procedimiento (1) evalúa el nivel de olor apocrino oliendo un olor del algodón que limpió las axilas de un sujeto de ensayo, que permite mezclar un juicio con un alto grado de subjetividad del evaluador y tiene dificultad en una evaluación cuantitativa. Además, cuando la evaluación se realiza de manera consecutiva, el sentido del olor se cansa y se consigue una menor objetividad.  
50

- El procedimiento (2) juzga a partir del potencial genético o juzga indirectamente a partir de una relación entre un cerumen húmedo y un olor apocrino. La evaluación al colorear la ropa interior se centra en el asunto de la coloración  
55

contenida en sudoración de glándulas apocrinas, que no evalúa directamente el olor apocrino de las regiones axilares, por lo tanto, es un procedimiento indirecto de evaluación.

5 Por consiguiente, hay un riesgo de falsa valoración con puntos limitados de evaluación y hay una posibilidad de ignorar el olor axial que no se hace realidad. También, dichos estudios pueden ser indicaciones aproximadas para evaluar la tragomascalia, aunque, ya que no son cuantitativos y son difíciles de evaluar, pueden carecer de precisión y no ser prácticos para evaluar la mejora en el olor axilar después de la operación de extraer las glándulas apocrinas, la presencia y el nivel de recurrencia de olor apocrino debido a la regeneración de glándulas apocrinas después de la operación, la efectividad de desodorizar o enmascarar de un desodorante o similares.

10 El procedimiento (3) estima un nivel de un olor corporal de tal manera que un médico realiza una incisión quirúrgica en las regiones axilares y después observa el número y tamaño de las glándulas apocrinas. Un sujeto de ensayo necesita aceptar el sufrimiento mental y físico, por lo tanto, el procedimiento no puede realizarse fácilmente. También, el coste de la operación es generalmente alto.

15 El ácido trans-3-metil-2-hexenoico, ácido 7-octenoico o similares contenidos en la transpiración de las axilas como componentes del olor que son distintivos de las axilas se desvelan en "Molecular Recognition of Taste and Smell", Kagaku Sosetsu N° 40, 205-211 (1999).

Un uso de cierto ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico o la sal del mismo como un material de perfume para animales se desvela en la Solicitud de Patente Japonesa Abierta a Inspección Pública (JP-A) N° Hei. 10-25265.

20 Por otro lado, un compuesto que tiene un grupo tiol en la posición 3 que tiene un efecto de proporcionar un olor del tipo de la planta *Salvia Sclarea* significativamente fuerte como un componente aromatizante se desvela en el documento JP-A N° 2000-95753.

25 En el documento JP-A N° 2001-2634 se desvelan, 3-mecapto-3-metil-hexano-1-ol y 3-mercapto-2-metil-butano-1-ol como compuestos de alcohol que tienen un grupo mercapto en la posición 3. Se desvelan como componentes aromatizantes que tienen características, en los que un isómero S de 3-mecapto-3-metil-hexano-1-ol tiene un olor agreste o de tipo hierba, y un isómero R de 3-mecapto-3-metil-hexano-1-ol tiene un olor de tipo pomelo/fruta de la pasión, de tipo grosella o de tipo cebolla, y 3-mercapto-2-metil-butano-1-ol tiene un olor de tipo hierba, de tipo puerro o de tipo gas.

30 El alcohol 3-mercapto y los ésteres fórmicos y acéticos del mismo se desvelan en la Solicitud de Patente Abierta a Inspección Pública N° 2.316.456 como agentes de fragancia y saborizantes efectivos para la preparación y modificación de una amplia variedad de componentes de sabor, en los que dicho alcohol 3-mercapto y los ésteres fórmicos y acéticos del mismo tienen un olor de tipo cebolla, de tipo azufre o de tipo sudor.

Un derivado tio como un componente de sabor y/o un potenciador de sabor se desvela en el documento JP-A N° 2003-12637, en el que el derivado tio recuerda al olor de una grosella negra, cebolla o pomelo.

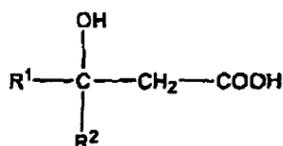
35 Sin embargo, ni el ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico ni/o un derivado del mismo ni los compuestos de alcohol que tienen un grupo mercapto en la posición 3 y/o derivados de los mismos se reconocieron por tener una relación con un olor corporal de un ser humano particularmente en términos de un agente causante de un olor corporal o constituyente de un olor axilar de un ser humano. Por ello, no se ha sido capaz de evaluar objetivamente y cuantitativamente la presencia o fuerza de un olor corporal de un ser humano, particularmente, un olor apocrino de regiones axilares.

40 También, como un componente característico del olor apocrino en las regiones axilares de un ser humano, convencionalmente no hubo solamente ácido carboxílico no saturado que tenía de 6 a 10 carbonos como los tipificados por ácido trans-3-metil-2-hexenoico y ácido 7-octenoico sino también ácido carboxílico inferior que tenía 5 o menos carbonos que provoca un olor ácido y un ácido carboxílico superior originado del sebo en la mezcla. Ha sido difícil separar selectivamente el ácido carboxílico no saturado que es un componente característico de un olor apocrino entre los varios componentes ácidos.

45 Se desvela, aunque no es parte de la presente invención, un material indicador para evaluar el olor corporal que comprende al menos un miembro seleccionado del grupo que consiste en:

una sustancia (A) es un compuesto de ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico representado por la siguiente fórmula (1):

Fórmula (1)

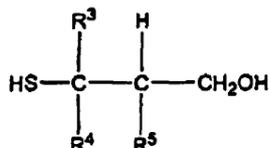


en la que R<sup>1</sup> es un alquilo que tiene de 1 a 4 carbonos; R<sup>2</sup> es un átomo de hidrógeno o un alquilo que tiene de 1 a 4 carbonos, y el número total de carbonos en la fórmula (1) es 10 o menos;

5 una sustancia (B) que es un derivado de ácido β -hidroxicarboxílico, en la que un átomo o átomos de un grupo atómico o grupos atómicos se introducen en un grupo hidroxilo y/o grupo carboxílico de un compuesto de ácido β -hidroxicarboxílico representado por la fórmula (1);

una sustancia (C) que es un compuesto de alcohol que tiene un grupo mercapto en la posición 3 representada por la siguiente fórmula (2):

Fórmula (2)



10 en la que R<sup>3</sup> es un átomo de hidrógeno o grupo metilo; R<sup>4</sup> es un grupo alquilo que tiene de 1 a 3 carbonos; y R<sup>5</sup> es un átomo de hidrógeno o un grupo metilo, el número total de carbonos en la fórmula (2) es 8 o menos, y

15 una sustancia (D) que es un derivado de un compuesto de alcohol que tiene un grupo mercapto en la posición 3, en la que un átomo o átomos de un grupo atómico o grupos atómicos se introducen en un grupo mercapto y/o grupo hidroxilo de un compuesto de alcohol que tiene un grupo mercapto en la posición 3 representado por la fórmula (2).

20 Se desvela un material indicador capaz de evaluar la presencia y fuerza de un olor apocrino de regiones axilares por las que muchas personas están particularmente preocupadas entre los olores corporales objetivamente y cuantitativamente, y un procedimiento que usa el material indicador para evaluar un nivel de un olor corporal o la efectividad de un desodorante. También se desvela un procedimiento para producir el material indicador para una evaluación simple y precisa de un olor corporal. Además, se desvela un kit capaz de evaluar de manera segura, rápida y fácil el tipo y nivel de olor corporal de un ser humano, y un procedimiento para evaluar el olor ser humano usando el kit.

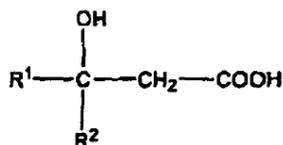
25 Como resultado de minuciosos estudios sobre componentes que provocan el olor apocrino contenido en la transpiración de las axilas, los inventores descubrieron y develan en el presente documento que las sustancias que existen en la transpiración que tienen un olor significativamente similar al olor apocrino y que existen característicamente en la transpiración de personas que tiene el olor apocrino, tienen una concentración suficiente para determinar de manera precisa la cantidad que son o mediante incubación, y pueden separarse mediante una simple operación química. Además, se desvela que los inventores hicieron que las sustancias fueran capaces de usarse como índice objetivos para evaluar cuantitativamente un nivel del olor apocrino de regiones axilares.

30 También se desvela que varios materiales marcadores pueden introducirse a dichas sustancias con el fin de aumentar la sensibilidad analítica y/o precisión de evaluación, y los derivados obtenidos de materiales indicadores pueden usarse adecuadamente para evaluar el olor corporal y la efectividad de un desodorante.

Se desvela un material indicador para evaluar olor corporal que está compuesto de al menos un miembro seleccionado del grupo que consiste en:

35 una sustancia (A) que es un compuesto de ácido β -hidroxicarboxílico representado por la siguiente fórmula (1):

Fórmula (1)

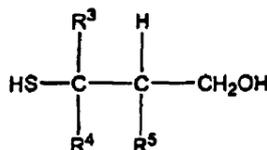


40 en la que R<sup>1</sup> es un alquilo que tiene de 1 a 4 carbonos; R<sup>2</sup> es un átomo de hidrógeno o un alquilo que tiene de 1 a 4 carbonos, y el número total de carbonos en la fórmula (1) es 10 o menos;

una sustancia (B) que es un derivado de ácido β -hidroxicarboxílico, en la que un átomo o átomos de un grupo atómico o grupos atómicos se introducen en un grupo hidroxilo y/o grupo carboxílico de un compuesto de ácido β -hidroxicarboxílico representado por la fórmula (1);

una sustancia (C) que es un compuesto de alcohol que tiene un grupo mercapto en la posición 3 representada por la siguiente fórmula (2):

Fórmula (2)



5 en la que R<sup>3</sup> es un átomo de hidrógeno o grupo metilo; R<sup>4</sup> es un grupo alquilo que tiene de 1 a 3 carbonos; y R<sup>5</sup> es un átomo de hidrógeno o un grupo metilo, siempre y cuando el número total de carbonos en la fórmula (2) sea 8 o menos, y

10 una sustancia (D) que es un derivado de un compuesto de alcohol que tiene un grupo mercapto en la posición 3, en la que un átomo o átomos de un grupo atómico o grupos atómicos se introducen en un grupo mercapto y/o grupo hidroxilo de un compuesto de alcohol que tiene un grupo mercapto en la posición 3 representado por la fórmula (2). Sin embargo, ninguna de las sustancias desveladas en el presente documento es por sí misma parte de la presente invención.

15 También, un procedimiento para evaluar el olor corporal y un procedimiento para evaluar la efectividad de un desodorante desvelados en el presente documento son procedimientos para evaluar el nivel de olor corporal y efectividad de un desodorante usando como un material indicador al menos un miembro seleccionado del grupo que consiste en las sustancias (A), (B), (C) y (D) anteriormente mencionadas. En el caso de seleccionar dos o más sustancias indicadoras entre las sustancias (A), (B), (C) y (D) para su uso, se desvela que puede usarse un material indicador que contiene todas las sustancias seleccionadas o puede usarse cada una de las sustancias indicadoras seleccionadas por separado en el curso del proceso de evaluación. También, se desvela que en un conjunto de  
20 procesos de evaluación, una parte de las sustancias indicadoras seleccionadas puede mezclarse para su uso y cada una de las sustancias que no está mezclada puede usarse por separado como una sola sustancia.

Se desvela que puede seleccionarse un tipo entre las sustancias (A), (B), (C) y (D) mencionadas anteriormente para su uso, o pueden seleccionarse arbitrariamente dos o más tipos de las sustancias indicadoras para su uso en combinación. Se desvela, por ejemplo, que las sustancias indicadoras pueden usarse por separado o en combinación  
25 del siguiente modo:

(1) Una sustancia indicadora que comprende al menos un miembro seleccionado del grupo que consiste en la sustancia (A) y/o la sustancia (B).

30 La sustancia (A), es decir, un compuesto del ácido β-hidroxicarboxílico representado por la fórmula (1), es particularmente efectivo para evaluar un olor apocrino de tipo aceite de comino. La sustancia (B) es un derivado de la sustancia (A) y se usa adecuadamente en lugar de la sustancia (A) con el fin de aumentar la sensibilidad analítica y/o precisión de la evaluación, en la que la sustancia (B) puede usarse en combinación con la sustancia (A).

(2) Una sustancia indicadora que comprende al menos un miembro seleccionado del grupo que consiste en la sustancia (C) y/o la sustancia (D).

35 La sustancia (C), es decir, un compuesto de alcohol que tiene un grupo mercapto en la posición 3 representado por la fórmula (2), es particularmente efectiva para evaluar el olor apocrino de tipo azufre. La sustancia (D) es un derivado de la sustancia (C) y se usa adecuadamente en lugar de la sustancia (C) con el fin de aumentar la sensibilidad analítica y/o precisión de la evaluación, en la que la sustancia (D) puede usarse en combinación con la sustancia (C).

40 (3) Una combinación de una sustancia indicadora que comprende al menos un miembro seleccionado del grupo que consiste en la sustancia (A) y/o la sustancia (B) y una sustancia indicadora que comprende al menos un miembro seleccionado del grupo que consiste en la sustancia (C) y/o la sustancia (D).

45 Al usar la sustancia indicadora que comprende el grupo que consiste en la sustancia (A) y/o la sustancia (B) en combinación con la sustancia indicadora que comprende el grupo que consiste en la sustancia (C) y/o la sustancia (D), pueden evaluarse tanto el olor apocrino de tipo aceite de comino como el olor apocrino de tipo azufre, así, puede realizarse una evaluación precisa de acuerdo con un olor apocrino real.

(4) Una combinación de una sustancia indicadora que comprende al menos un miembro seleccionado del grupo que consiste en la sustancia (A) y una sustancia indicadora que comprende al menos un miembro seleccionado del grupo que consiste en la sustancia (C).

50 Esta es una combinación de sustancias indicadoras que no se derivatizan, que pueden ser más adecuadas que usar derivados dependiendo del procedimiento de análisis o evaluación.

(5) Una combinación de una sustancia indicadora que comprende al menos un miembro seleccionado del grupo que consiste en la sustancia (B) y una sustancia indicadora que comprende al menos un miembro seleccionado del grupo que consiste en la sustancia (D).

Esta es una combinación de sustancias indicadoras que se derivatizan, que pueden analizar o evaluar un nivel de olor mediante procedimientos diferentes al de una evaluación directa usando un ensayo organoléptico y también pueden potenciar la sensibilidad analítica y/o precisión de la evaluación.

5 Además, se desvela un procedimiento para producir un material indicador que es un procedimiento para producir un compuesto de alcohol que tiene un grupo mercapto en la posición 3 representado por la fórmula (2) mediante incubación de la transpiración originada en un ser humano en un ambiente con 10% v/v o menos de una concentración de oxígeno.

10 Se desvela que la transpiración originada en un ser humano se incuba en un medio con atmósfera anaeróbica o microaerofílica para producir un compuesto de alcohol que tiene un grupo mercapto en la posición 3 en una gran cantidad, de ese modo es imposible hacer que la evaluación del olor corporal y la eficiencia de un desodorante sean más fáciles y más precisas.

15 Los inventores de la presente invención han centrado su atención en un punto en el que un nivel de olor apocrino puede evaluarse fácilmente a partir del color mostrado al separar ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico que incluye ácido 3-hidroxi-3-metilhexanoico que se acaba de descubrir como un componente principal que provoca olor apocrino de la transpiración de las regiones axilares, y a partir de entonces reacciona con un reactivo de coloración, y desvelan un kit capaz de evaluar de manera segura y fácil un nivel del propio olor apocrino o un olor corporal total con enfoque en el olor apocrino, y un procedimiento para evaluar el olor ser humano usando el kit.

20 El kit para evaluar descrito en el presente documento es un kit para evaluar el olor corporal de un ser humano que incluye un reactivo de coloración que reacciona con el ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico y/o el ácido graso que tiene 12 carbonos o menos, diferente a dicho ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico originado en la transpiración de un ser humano respectivamente. El kit permitió evaluar un tipo y fuerza de olor y un nivel de olor ser humano originado en la transpiración de un ser humano de manera segura, rápida y fácil a partir del color mostrado al hacer reaccionar ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico que es un material que provoca un olor apocrino y ácido graso que tiene 12 carbonos o menos diferente a dicho ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico que es un material que provoca un olor ácido con un reactivo de coloración.

### **Divulgación de la presente invención**

Un primer procedimiento para evaluar el olor corporal de acuerdo con la presente invención usa el kit desvelado en el presente documento y es un procedimiento para evaluar el olor corporal de un ser humano que comprende las etapas de:

30 una primera etapa de extracción de una mezcla de ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico y ácido graso que tiene 12 carbonos o menos diferente a dicho ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico de la transpiración de un ser humano; una segunda etapa de adición del reactivo a la mezcla para mostrar color; y una tercera etapa de evaluación del tipo y/o fuerza de olor corporal a partir del color mostrado en la segunda etapa.

35 También, un segundo procedimiento para evaluar el olor corporal de acuerdo con la presente invención usa el kit descrito en el presente documento y es un procedimiento para evaluar el olor corporal de un ser humano que comprende las etapas de:

40 una primera etapa de extracción de una mezcla de ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico y ácido graso que tiene 12 carbonos o menos diferente a dicho ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico de la transpiración de un ser humano; una segunda etapa de separación del ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico de la mezcla; una tercera etapa de reacción de dicho ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico separado en la segunda etapa con el reactivo para mostrar color; y una cuarta etapa para evaluar el tipo y/o fuerza de olor corporal a partir del color mostrado en la tercera etapa.

45 Además, un tercer procedimiento para evaluar el olor corporal de acuerdo con la presente invención usa el kit desvelado en la presente invención y es un procedimiento para evaluar el olor corporal de un ser humano que comprende las etapas de:

50 una primera etapa de extracción de una mezcla de ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico y ácido graso que tiene 12 carbonos o menos diferente a dicho ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico de la transpiración de un ser humano; una segunda etapa de separación de la mezcla en ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico y ácido graso que tiene 12 carbonos o menos diferente a dicho ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico respectivamente; una tercera etapa de reacción de dicho ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico separado en la segunda etapa con el reactivo para mostrar color; una cuarta etapa de reacción de dicho ácido graso que tiene 12 carbonos o menos diferente a dicho ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico separado en la segunda etapa con el reactivo para mostrar color; y una quinta etapa de evaluación del tipo y/o fuerza de olor corporal de cada uno de los colores mostrados en

la tercera y cuarta etapa.

### **Breve descripción de los dibujos**

En los dibujos adjuntos,

- 5 La FIG. 1 muestra los picos de elución como un resultado del análisis GC-MS de un extracto ácido de transpiración de una persona que tiene olor apocrino;  
 La FIG. 2 muestra los picos de elución como un resultado del análisis GC-MS de un extracto ácido de transpiración de una persona que no tiene olor apocrino;  
 La FIG. 3 es un gráfico que muestra la relación entre las cantidades de ácido 3-hidroxi-3-metilhexanoico contenido en la transpiración de regiones axilares y la fuerza de un olor apocrino,  
 10 La FIG. 4 muestra el resultado del análisis GC-MS de la transpiración de una persona que tiene un olor apocrino;  
 La FIG. 5 muestra el resultado del análisis GC-MS de la transpiración de una persona que no tiene olor apocrino;  
 La FIG. 6 muestra el resultado del análisis GC-MS de la transpiración de una persona que tiene olor apocrino después de la incubación;  
 La FIG. 7 muestra el resultado del análisis GC-MS de la transpiración de una persona que no tiene olor apocrino después de la incubación;  
 15 La FIG. 8 muestra el proceso de evaluación del nivel de olor corporal;  
 La FIG. 9 muestra el procedimiento de uso de un kit para evaluar el nivel de olor corporal con el uso de una cromatografía de adsorción en columna;  
 La FIG. 10 muestra el procedimiento de uso de un kit para evaluar el nivel de olor corporal con el uso de una cromatografía en capa fina en columna;  
 20 La FIG. 11 muestra la relación entre la fuerza del olor apocrino (ensayo organoléptico) y la diferencia de color de las soluciones de la prueba después de las reacciones de color; y  
 La FIG. 12 muestra la absorbencia de la fracción de metanol y fracción de éter después de la reacciones de color;

### **Mejor modo de realizar la invención**

- 25 De aquí en adelante, el procedimiento de la presente invención se explicará en detalle.

En el presente documento se desvela un material indicador para evaluar el olor corporal que es bastante similar a un olor apocrino real que se prepara seleccionando una o más sustancias entre un grupo de compuestos de ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico que incluyen ácido 3-hidroxi-3-metilhexanoico y compuestos que tienen una estructura química bastante similar a la de éste, o seleccionando una o más sustancias de un grupo de compuestos de alcohol 3-mercapto que incluyen 3-mercapto-3-metilhexanol y compuestos que tienen una estructura química bastante similar a la de éste, o preferentemente usando el compuesto del ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico y el compuesto de alcohol 3-mercapto en combinación, y de este modo puede obtenerse un resultado de una evaluación precisa con respecto al nivel (fuerza y calidad) de olor corporal que las personas realmente sienten y la efectividad de un desodorante frente al olor corporal.

- 35 Se considera que dicho ácido 3-hidroxi-3-metilhexanoico y los compuestos de alcohol 3-mercapto encontrados en la transpiración de regiones axilares de un ser humano por los inventores de la presente invención tienen las siguientes características, por lo que la cantidad presencial y el estado presencial del ácido 3-hidroxi-3-metilhexanoico y/o los compuestos de alcohol 3-mercapto en las regiones axilares forman el nivel y la diferencia individual del olor apocrino.

- 40 (Características de ácido 3-hidroxi-3-metilhexanoico y compuesto de alcohol 3-mercapto)

(1) Una persona a la que no se le detecta ácido 3-hidroxi-3-metilhexanoico y/o compuesto de alcohol 3-mercapto en la transpiración de sus regiones axilares no tiene el olor apocrino, pero una persona a la que se le detecta ácido 3-hidroxi-3-metilhexanoico y compuesto de alcohol 3-mercapto en la transpiración de sus regiones axilares tiene el olor apocrino. Es decir, el ácido 3-hidroxi-3-metilhexanoico y el compuesto de alcohol 3-mercapto están específicamente presentes en la persona que tiene el olor apocrino (FIGS. 1, 2, 4 y 5).

(2) El olor apocrino es más fuerte en una persona que tiene más ácido 3-hidroxi-3-metilhexanoico (FIG. 3) y/o compuesto de alcohol 3-mercapto contenido en la transpiración de las regiones axilares.

(3) Una persona a la que no se le detecta ácido 3-hidroxi-3-metilhexanoico y/o compuesto de alcohol 3-mercapto en la transpiración de sus regiones axilares incluso después de la incubación no tiene olor apocrino. Por otro lado, en lo relativo a una persona que tiene el olor apocrino, la cantidad de ácido 3-hidroxi-3-metilhexanoico y/o compuesto de alcohol 3-mercapto contenido en la transpiración de las regiones axilares aumenta mediante incubación. Es decir, el ácido 3-hidroxi-3-metilhexanoico y el compuesto de alcohol 3-mercapto aumentan específicamente mediante incubación la transpiración de la persona que tiene el olor apocrino (FIGS. 6 y 7).

(4) Como el compuesto de ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico no tiene solamente un grupo carboxilo sino también un grupo hidroxilo en la posición 3, puede realizarse una modificación química con el fin de tener una buena sensibilidad de detección en análisis instrumentales tales como una cromatografía de gases, una

cromatografía líquida o similares o para utilizar la reacción de coloración para evaluación mediante un espectrómetro o a simple vista. También, el ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico y/o el derivado del mismo puede separarse de otras sustancias que contribuyen poco al olor apocrino utilizando diferencias en polaridad, solubilidad o similares.

(5) Como el compuesto de alcohol 3-mercapto no tiene solamente un grupo hidroxilo sino también un grupo mercapto en la posición 3, puede realizarse una modificación química con el fin de tener una buena sensibilidad de detección en análisis instrumentales tales como una cromatografía de gases, una cromatografía líquida o similares o para utilizar la reacción de coloración para evaluación mediante un espectrómetro o a simple vista. También, el compuesto de alcohol 3-mercapto y/o el derivado del mismo puede separarse de otras sustancias que contribuyen poco al olor apocrino utilizando diferencias en polaridad, solubilidad o similares.

(6) Como el compuesto de ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico y el compuesto de alcohol 3-mercapto pueden aislarse mediante la cromatografía de adsorción o similares, la reacción de color, que es segura, rápida y fácil, puede utilizarse para evaluar cuantitativamente.

(7) También, hay un olor picante de tipo comino y un olor a pescado de tipo azufre como principales malos olores que comprenden el olor apocrino. El ácido 3-hidroxi-3-metilhexanoico se detecta relativamente en abundancia en una persona que tiene el olor fuerte picante de tipo comino. El compuesto de alcohol 3-mercapto se detecta relativamente en abundancia en una persona que tiene un olor a pescado de tipo azufre.

Además, el compuesto de ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico, que es un grupo de compuestos que tienen una estructura química bastante similar a la del ácido 3-hidroxi-3-metilhexanoico, es similar en características tales como características químicas o características organolépticas (particularmente olor) al ácido 3-hidroxi-3-metilhexanoico, por lo tanto, el compuesto de ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico puede usarse como un índice objetivo para evaluar el olor apocrino de manera similar al ácido 3-hidroxi-3-metilhexanoico.

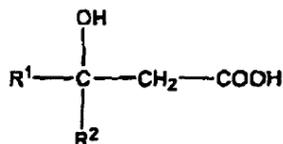
Por lo tanto, al medir la cantidad presencial y el estado presencial del ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico y/o el derivado del mismo (por ejemplo, sal o éster de ácido 3-hidroxi-3-metilhexanoico) en regiones axilares a través de medios apropiados que son químicos, físicos o similares, el olor apocrino en las regiones axilares puede medirse objetivamente y cuantitativamente con el uso del compuesto de ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico y/o el derivado del mismo como un índice.

También, al medir la cantidad presencial y el estado presencial del compuesto de alcohol 3-mercapto y/o el derivado del mismo (por ejemplo, sal o éster de alcohol 3-mercapto-3-metilhexanol) en regiones axilares a través de medios apropiados que son químicos, físicos o similares, el olor apocrino en las regiones axilares puede medirse objetivamente y cuantitativamente con el uso del compuesto de alcohol 3-mercapto y/o el derivado del mismo como un índice.

Particularmente se desvela que, mediante el uso del compuesto de ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico y/o el derivado del mismo y el compuesto de alcohol 3-mercapto y/o el derivado del mismo en combinación, pueden evaluarse tanto el olor apocrino de tipo comino como el olor apocrino de tipo azufre, por lo tanto, puede realizarse una evaluación precisa de acuerdo con un olor apocrino real. También, en el caso de usar tal combinación para la evaluación de olor corporal y la efectividad de un desodorante, el nivel de olor corporal de un ser humano o el olor axilar, que es una parte del olor corporal, puede evaluarse objetivamente y cuantitativamente no solamente a partir de la presencia y fuerza de olor apocrino en las regiones axilares sino también a partir de la diferencia en la calidad del mismo de manera que la precisión del resultado de la evaluación puede aumentar.

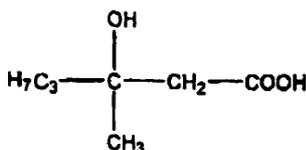
El compuesto de ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico de la sustancia (A) es un grupo de compuestos que incluyen el ácido 3-hidroxi-3-metilhexanoico y compuestos que tienen una estructura química similar al de éste, que tiene un olor bastante similar al olor apocrino y está representado por la siguiente fórmula (1). El ácido 3-hidroxi-3-metilhexanoico está representado por la siguiente fórmula (3):

Fórmula (1)



en la que  $\text{R}^1$  es un alquilo que tiene de 1 a 4 carbonos;  $\text{R}^2$  es un átomo de hidrógeno o un alquilo que tiene de 1 a 4 carbonos, y el número total de carbonos en la fórmula (1) es 10 o menos;

Fórmula (3)



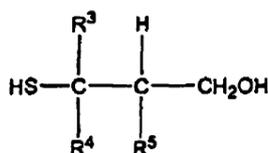
5 En la fórmula anterior (1), R<sup>1</sup> es un alquilo que tiene de 1 a 4 carbonos, que puede ser un alquilo lineal o ramificado. Por ejemplo, puede ser metilo, etilo, n-propilo, i-propilo, n-butilo, i-butilo y t-butilo. Puede considerarse que el compuesto de ácido β -hidroxicarboxílico es más fácil de usar como material indicador si la característica está más cerca del ácido 3-hidroxi-3-metilhexanoico. Por ello, con el fin de tener la estructura química cercana al ácido 3-hidroxi-3-metilhexanoico, es preferente que R<sup>1</sup> tenga 3 ó 4 carbonos, particularmente el caso de 3 carbonos es preferente, y es preferentemente un alquilo de cadena recta.

10 En la fórmula anterior (1), R<sup>2</sup> es un átomo de hidrógeno o un alquilo que tiene de 1 a 4 carbonos, que puede ser un alquilo lineal o ramificado. Como R<sup>2</sup>, por ejemplo, puede ser metilo, etilo, n-propilo, i-propilo, n-butilo, i-butilo y t-butilo. Con el fin de tener la estructura química del compuesto de ácido β -hidroxicarboxílico cerca del ácido 3-hidroxi-3-metilhexanoico, es preferente que R<sup>2</sup> tenga 1 ó 2 carbonos, particularmente el caso de 1 carbono es preferente.

15 Entre los compuestos de ácido β -hidroxicarboxílico, ácido 3-hidroxi-3-metilhexanoico, ácido 3-hidroxi-3-metilpentanoico, ácido 3-hidroxi-3-metilbutanoico, ácido 3-hidroxi-3-metilhexanoico y ácido 3-hidroxi-3-metilhexanoico son preferentes. Entre los anteriores, el ácido 3-hidroxi-3-metilhexanoico es particularmente adecuado como un material indicador ya que el propio ácido 3-hidroxi-3-metilhexanoico es una sustancia principal causante de olor apocrino presente en la transpiración de las regiones axilares como se ha mencionado anteriormente.

20 El alcohol 3-mercapto está contenido en una cantidad relativamente grande en la transpiración de una persona que tiene el olor apocrino, y es un grupo de compuestos que incluyen 3-mercapto-3-metilhexanol, 3-mercaptohexanol, 3-mercaptopentanol, 3-mercapto-2-metilpentanol, 3-mercapto-2-metilbutanol y compuestos que tienen una estructura química bastante similar a esos compuestos, que tiene un olor bastante similar al olor apocrino y está representado por la fórmula (2). 3-mercapto-3-metilhexanol, 3-mercaptohexanol, 3-mercaptopentanol, 3-mercapto-2-metilbutanol y 3-mercapto-2-metilpentanol están representados por las siguientes fórmulas (4a) a (4e).

25 Fórmula (2)



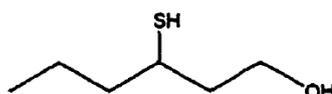
en la que R<sup>3</sup> es un átomo de hidrógeno o grupo metilo; R<sup>4</sup> es un grupo alquilo que tiene de 1 a 3 carbonos; y R<sup>5</sup> es un átomo de hidrógeno o un grupo metilo, el número total de carbonos en la fórmula (2) es 8 o menos.

Fórmula (4a): 3-mercapto-3-metilhexanol

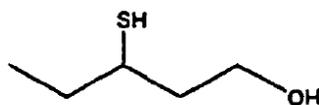


30

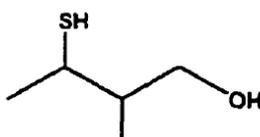
Fórmula (4b): 3-mercaptohexanol



Fórmula (4c): 3-mercaptopentanol

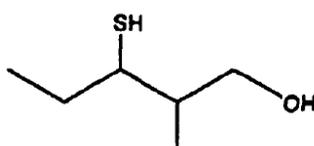


Fórmula (4d): 3-mercapto-2-metilbutanol



5

Fórmula (4e): 3-mercapto-2-metilpentanol



10

Puede considerarse que el compuesto de alcohol 3-mercapto es más fácil de usar como un material indicador si la característica está cerca de 3-mercapto-3-metilhexanol que está contenido en la transpiración en una cantidad relativamente grande entre esos compuestos. Por ello, es preferente tener la estructura química cercana a 3-mercapto-3-metilhexanol.

15

Desde el punto de vista,  $R^3$  en la fórmula anterior (2) es preferentemente un grupo metilo entre átomo de hidrógeno y grupo metilo.  $R^4$  es un grupo alquilo que tiene de 1 a 3 carbonos, que puede ser un alquilo lineal o ramificado, y ejemplos de ellos incluyen metilo, etilo, n-propilo e i-propilo. Particularmente, es preferente que  $R^4$  tenga de 2 a 3 carbonos, y más preferentemente 3 carbonos. También,  $R^5$  puede ser un átomo de hidrógeno o un grupo metilo. Entre ello, un átomo de hidrógeno es preferente.

20

Entre los compuestos de alcohol 3-mercapto, 3-mercapto-3-metilhexanol, 3-mercaptohexanol, 3-mercaptopentanol, 3-mercapto-2-metilpentanol y 3-mercapto-2-metilbutanol son preferentes. Entre ellos, 3-mercapto-3-metilhexanol es particularmente útil para un material indicador ya que 3-mercapto-3-metilhexanol está contenido en la transpiración de las regiones axilares en una cantidad relativamente grande.

25

La sustancia (A) desvelada en el presente documento puede estar sujeta a modificación química para que pueda usarse como la sustancia (B) con el fin de detectarse en una alta sensibilidad en la cromatografía de gases o cromatografía líquida o puede evaluarse mediante un espectrómetro o a simple vista utilizando la reacción de coloración a menos que no pierda la función de detección como un material indicador. Por ejemplo, un átomo o átomos o un grupo atómico o grupos atómicos pueden introducirse a uno o a ambos de un grupo carboxilo y/o un grupo hidroxilo en la posición  $\beta$  del compuesto de ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico y después usarse como derivados tales como sal, éster, amida, éter o similares.

30

Como un reactivo que puede usarse en el análisis de cromatografía líquida, análisis con espectrómetro o prueba de colorimetría, y reacciona con un grupo carboxilo del compuesto de ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico, pueden ser los reactivos que pueden conducir la hidrazida ácida tales como 2-nitrofenilhidrazina, hidrazida de ácido carboxílico 6,7-dimetoxi-1-metil-2(1H)-quinoxalina-3-propionil (DMEQ-H), p-(4,5-difenil-1H-imidazol-2-il)-benzohidrazida, p-(1-metil-1h-fenantro-[9,10-d]imidazol-2-il)-benzo hidrazida, p-(5,6-dimetoxi-2-benzotiazolil)-benzohidrazida o similares; los reactivos que pueden provocar un éster tales como 9-antrildiazometano, 1-naftildiazometano, 1-(2-naftil)diazoetano 1-pirenildiazometano, 4-diazometil-7-metoxicoumarina, 4-bromometil-7-metoxicoumarina (Br-MmC), 3-bromoetil-6,7-dimetoxi-1-metil-2(1H)-quinoxalinona, 9-bromoetilacridina, 4-bromoetil-6,7-metilenodioxycoumarina, N-(9-acridinil)-bromoacetamida, 2-(2,3-naftilimino)etiltrifluorometano sulfonato, 2-(ftalimino)etiltrifluorometano sulfonato, N-clorometilftalimida, N-clorometilo-4-nitroftalamida, N-clorometilisoestaño, o-(p-nitrobencil)-N,N'-diisopropilisourea (PNBDI) o similares; los regentes que pueden provocar amida tales como monodansilcaderina, 2-(p-aminometilfenil)-N,N-dimetil-2H-benzotriazol-5-amina o similares.

35

40

Como un reactivo que puede usarse en el análisis de cromatografía líquida, análisis con espectrómetro o ensayo de colorimetría, y reacciona con un grupo hidroxilo del compuesto de ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico, pueden ser los reactivos tales como cerio nitrato de amonio con el fin de conducir a un compuesto de coordinación, los reactivos

tales como cloruro de benzoilo 4-(2-ftalimidil) y el derivado del mismo con el fin de provocar un éster, los reactivos tales como 4-diazometil-7-metoxicoumarina con el fin de provocar un éster, o similar.

5 También, el compuesto de ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico puede conducirse a una sal inorgánica, ácido hidroxámico, cloruro ácido, un complejo de cobre, complejo de cobalto y similares, y después además ser inducido a un compuesto cromofórico. La sal inorgánica del compuesto de ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico puede inducirse a una sal metálica cromofórica, el cloruro ácido puede inducirse a una amida cromofórica, y un complejo de cobre o un complejo de cobalto de ácido hidroxicarboxílico puede inducirse a un compuesto quelato cromofórico respectivamente.

10 Como un reactivo que conduce la sal inorgánica del compuesto de ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico a un éster cromofórico, puede ser bromuro de p-nitrobencilo, bromuro de fenacilo, bromuro de p-clorofenacilo, bromuro de p-bromofenacilo (PBPB), bromuro de p-yodofenacilo, bromuro de p-nitrofenacilo, bromuro de p-fenilfenacilo, bromuro de p-fenilazofenacilo, cloruro de N,N-dimetil-p-aminobencenoazofenacilo y similares. Como un reactivo que conduce el ácido hidroxámico a una sal compleja cromofórica, puede ser cloruro férrico, vanadio y similares. Como un reactivo que conduce el cloruro ácido a una amida cromofórica, puede ser 9-aminofenantreno o similares. Como un reactivo que conduce el complejo de cobre o complejo de cobalto de un compuesto de ácido hidroxicarboxílico a un compuesto quelato cromofórico, puede ser ditiocarbamato de dietilo, bis (ciclohexanona) oxalildihidrazona, vasocupreína o similares. Pueden usarse mediante elección opcional como sea necesario.

20 Como un reactivo que puede usarse en el análisis de cromatografía de gases, y reacciona con un grupo carboxilo y/o un grupo hidroxilo del compuesto de ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico, puede ser un reactivo de siliación tal como N-trimetilsilimidazola (TMSI), N, O-bis (trimetilsilil) acetamida (BSA) o similares, un reactivo de acilación tal como anhídrido trifluoroacético, trifluoroacetilimidazol o similares.

25 El componente (C) desvelado en el presente documento puede someterse a modificación química para usarse como una sustancia (D) con el fin de detectarse en una alta sensibilidad en la cromatografía de gases o cromatografía líquida o puede evaluarse mediante un espectrofotómetro o a simple vista utilizando la reacción de coloración a menos que no pierda la función de detección como un material indicador. Por ejemplo, un átomo o átomos o un grupo atómico o grupos atómicos pueden introducirse a uno o a ambos de un grupo mercapto y/o un grupo hidroxilo en la posición 3 de un compuesto de alcohol 3-mercapto y después usarse como derivados tales como sal, éster, amida, éter o similares.

30 Como un reactivo y procedimiento que pueden usarse en el análisis de cromatografía líquida, el análisis con espectrofotómetro y el ensayo de colorimetría y pueden usarse para reaccionar con el grupo mercapto del compuesto de alcohol 3-mercapto, puede ser un procedimiento de fluorescencia que usa N-(9-acridinil)maleimida (NAM), sal de amonio de 4-cloro-7-sulfobenzofurazano (SBDC1), sal de amonio de 4-fluoro-7-sulfobenzofurazano (SBD-F), 4-fluoro-7-sulfamoiilbenzofrazano (ABD-F), N-[4-(5,6-metilenodioxo-2-benzofuranil)fenil]maleimida (MBPM), N-[4-(6-dimetilamino-2-benzofuranil)fenil]maleimida (DBPM), N-[p-(2-bencimidazolil)fenil]maleimida, monobromobimano, 5,5-ditiobis (2-ácido nitrobenzoico), metosulfato de fenacina, aldehído o-ftal, junto con 2-aminoetanol, que pueden usarse mediante elección libre como sea necesario.

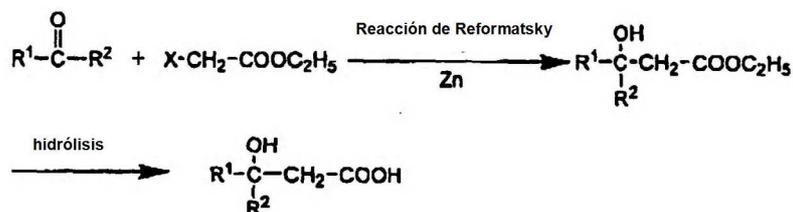
40 Como un reactivo que puede usarse en el análisis de cromatografía líquida, el análisis con espectrofotómetro y el ensayo de colorimetría y puede usarse para hacer reaccionar con un grupo hidroxilo del compuesto de alcohol 3-mercapto, pueden ser 3-clorocarbonil-6,7-dimetoxi-1-metil-2 (1H)-quinoxalinona (DMEQ-COCl), 2-5(clorocarbonil-2-oxazoil)-5,6-metilenodioxibenzofurano, cloruro de 3,4-dihidro-6,7-dimetoxi-4-metil-3-oxoquinoxalina-2-carbonil, cloruro de ftalimidilbenzoilo, 1-antróilnitrilo, 9-antróilnitrilo, 7-metoxicoumarina-3-carbonilazida, cloruro de p-fenilazobenzoilo, cloruro de 4-dialquilamino-3,5-dinitrobenzoilo, cloruro de p-nitrobenzoilo, cloruro de 3,5-dinitrobenzoilo o similares.

45 Como un reactivo que puede usarse en el análisis de cromatografía de gases y puede usarse para hacer reaccionar con un grupo mercapto y/o un grupo hidroxilo de un compuesto de alcohol 3-mercapto, puede ser un reactivo de siliación tal como hexametildisilazano (HMDS), N-trimetilsilil imidazol o similares, un reactivo de acilación tal como anhídrido trifluoroacético, trifluoroacetilimidazol o similares.

50 En el caso de usar un compuesto que tiene un cromóforo de una región visible se introduce como un compuesto etiquetado del compuesto de ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico y/o el compuesto de alcohol 3-mercapto, el nivel de olor apocrino puede evaluarse visualmente comparando la concentración de color de la muestra convencional que se ha preparado preliminarmente en relación con la concentración del compuesto etiquetado con la coloración generada en la transpiración de un ser humano usando el mismo reactivo.

55 El compuesto de ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico y el derivado del mismo son adecuados para el material indicador en términos de capacidad en evaluación objetiva y valoración del olor apocrino en cualquier momento y en cualquier lugar ya que pueden sintetizarse y el producto sintetizado puede suministrarse con una cierta calidad. El compuesto de ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico puede sintetizarse, por ejemplo, de acuerdo con la siguiente fórmula (5), en la que el éster que tiene un grupo hidroxilo en la posición  $\beta$  se sintetiza mediante la Reacción de Reformatsky desvelada en Reformatsky Reaction: Ber. 20, 1210 (1887) y J. Russ. Phys. Chem. Soc., 22, 44 (1890), y el éster se hidroliza.

Fórmula (5)

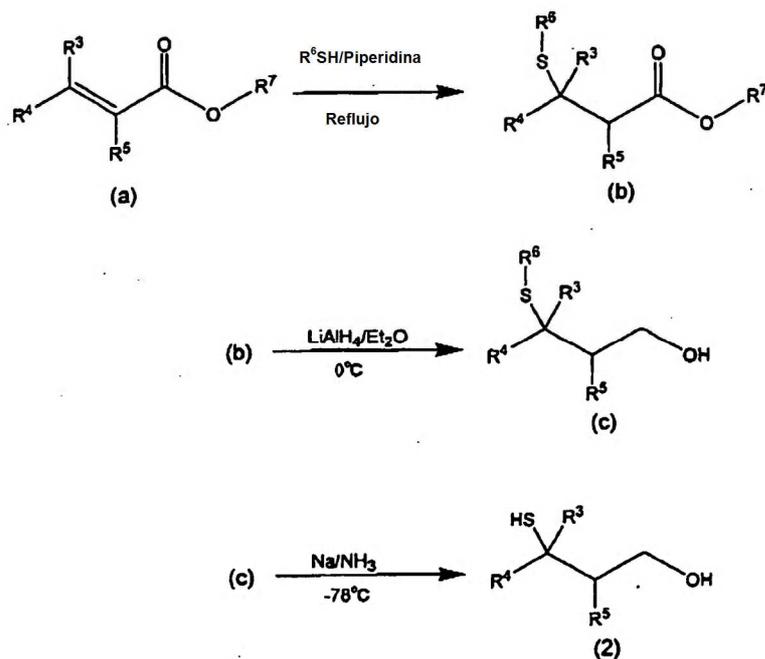


en la que  $\text{R}^1$  y  $\text{R}^2$  son los mismos que los mencionados anteriormente, y "X" es un átomo de halógeno.

- 5 También, el compuesto de alcohol 3-mercapto y el derivado del mismo son adecuados para el material indicador en términos de capacidad en evaluación objetiva y valoración del olor apocrino en cualquier momento y en cualquier lugar ya que pueden sintetizarse y el producto sintetizado puede suministrarse con una cierta calidad de manera estable.

- 10 El compuesto de alcohol 3-mercapto puede sintetizarse, por ejemplo, de acuerdo con la fórmula (6). Es decir, el compuesto de alcohol 3-mercapto se sintetiza preparando un derivado (a) de éster graso que tiene una estructura no saturada en la posición  $\beta$ , introduciendo bencilmercaptano o similares como un grupo tio éter en la posición 3 del carbono carbonilo del derivado (a) para obtener un derivado (b) mediante la reacción de adición, reduciendo el derivado (b) con el uso de un agente reductor tal como hidruro de litio y aluminio o similares para convertir el grupo éster a un grupo alcohol para obtener un derivado (c), y continuamente llevar al grupo tio éter a un grupo mercapto mediante la reducción Birch.

- 15 Fórmula (6)



en la que  $\text{R}^3$ ,  $\text{R}^4$  y  $\text{R}^5$  son los mismos que en la fórmula (2),  $\text{R}^6$  es un grupo bencilo y  $\text{R}^7$  es un grupo alquilo.

El compuesto de ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico y compuesto de alcohol 3-mercapto sintetizado pueden convertirse cuando sea necesario a la sal, éster o el otro derivado a través de medios conocidos.

- 20 El compuesto de ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico y el compuesto de alcohol 3-mercapto, que tiene un átomo de carbono asimétrico, pueden sintetizarse como una mezcla racémica, o cada enantiómero puede formarse por separado mediante síntesis asimétrica. También, la mezcla racémica puede someterse a la resolución óptica y usarse a partir de entonces.

- 25 En el material indicador para evaluar el olor corporal desvelado en el presente documento definitivamente la sustancia (A) y/o la sustancia (C) por sí misma puede usarse como un componente indicador, derivados de las sustancias indicadoras anteriormente mencionadas tales como la sustancia (B) y/o la sustancia (D) también puede

usarse. También, una sustancia no derivada y una sustancia derivada pueden usarse en combinación. Por ejemplo, combinaciones de: las sustancias (A) y (D); las sustancias (C) y (B); y las sustancias (A), (C) y (D) pueden usarse como un material indicador. También, uno o más tipos de cada grupo de sustancias (A) a (D) pueden usarse en combinación. Además, pueden seleccionarse uno o más tipos de los reactivos causantes conocidos del olor corporal de olor apocrino, olor ácido o similares tales como ácido acético, ácido butírico, ácido isovalérico, ácido 3-metil-2-hexenoico, ácido 4-etilheptanoico, ácido 7-octenoico, 1-octeno-3-uno, cis-1,5-octadieno-3-uno, 3 $\alpha$ -androsteno, 3 $\alpha$ -androsteno para añadirse al material indicador para evaluar el olor corporal.

De acuerdo con el material indicador para evaluar el olor corporal desvelado en el presente documento, es posible preparar un material indicador que corresponde a varios olores del olor apocrino diferentes en percepción entre el tipo comino y el tipo sulfuro cambiando la proporción de peso de la sustancia (A) y la sustancia (C) si es necesario. Particularmente, desde el punto de vista de tener la proporción de presencia similar a la transpiración en las regiones axilares reales, es preferente que la proporción del peso en términos de "la sustancia (C): las sustancia (A)" sea de 1:10 a 1:1.000 (proporción del peso), más preferentemente de 1:10 a 1:500, y más preferentemente de 1:50 a 1:200.

En el presente documento se desvela que un olor corporal puede evaluarse con el uso de un material indicador desvelado en el presente documento.

Es decir, con el fin de acceder al nivel de olor corporal de un ser humano u olor axilar que es parte del olor corporal objetivamente y cuantitativamente en términos de presencia o fuerza de olor apocrino de las regiones axilares, el compuesto de ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico sintetizado y/o el derivado del mismo puede usarse para determinar la cantidad y observar el contenido del compuesto de ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico y/o el derivado de mismo contenido en la transpiración de las regiones axilares. También, el compuesto de alcohol 3-mercapto sintetizado y/o el derivado del mismo puede usarse para determinar la cantidad y observar el contenido del compuesto de alcohol 3-mercapto sintetizado y/o el derivado del mismo contenido en la transpiración de las regiones axilares. Además, el compuesto de ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico sintetizado y/o el derivado del mismo y el compuesto de alcohol 3-mercapto sintetizado y/o el derivado del mismo pueden usarse para determinar la cantidad y observar el contenido del compuesto de ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico y/o el derivado del mismo y el compuesto de alcohol 3-mercapto y/o el derivado del mismo contenido en la transpiración de las regiones axilares.

Cada uno de los materiales indicadores seleccionados puede usarse por separado como un material indicador o puede usarse como un material indicador que contiene una mezcla de sustancias plurales en el proceso de las etapas de evaluación.

También en el presente documento se desvela que el olor corporal puede evaluarse usando uno o más tipos de compuesto de ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico y el derivado del mismo y/o uno o más tipos de compuesto de alcohol 3-mercapto y el derivado del mismo como un índice. Es decir, "usar un índice" significa medir y evaluar las sustancias (A), (B), (C) y/o (D) contenidas en la transpiración. Típicamente, significa el caso de usar un material indicador preliminarmente preparado mediante síntesis o similares, aunque puede ser un procedimiento que no use un material indicador. Por ejemplo, puede ser un procedimiento para medir las sustancias (A), (B), (C) y/o (D) contenidas en la transpiración en un cierto procedimiento y evaluar el nivel de olor corporal y efectividad de un desodorante en base a unos datos convencionales tales como una curva de calibración o similares preliminarmente obtenidos.

Con el fin de medir la cantidad presencial y el estado presencial del compuesto de ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico y/o el compuesto de alcohol 3-mercapto o el derivado del mismo, pueden adaptarse algunos procedimientos para obtener transpiración originada de un ser humano, tal como un procedimiento en el que se hace que los sujetos de ensayo entren a una habitación bajo un ambiente con alta temperatura y se les somete a sudoración térmica y después la transpiración de las regiones axilares se recoge en un tubo de ensayo o similar, un procedimiento en el que una almohadilla de algodón se adjunta a las regiones axilares durante un cierto tiempo, un procedimiento en el que la transpiración en las regiones axilares se limpia con un algodón o similares.

El compuesto de alcohol 3-mercapto se produce de 10 a 100 veces o más al incubar la transpiración originada en un ser humano que tiene el olor apocrino bajo la atmósfera anaeróbica. Por otro lado, no se produce incluso al incubar la transpiración originada en un ser humano que no tiene un olor apocrino.

Al utilizar esta característica, el análisis después de la incubación de la transpiración obtenida facilita la detección del compuesto de alcohol 3-mercapto, la utilidad de la sustancia (C) como material indicador mejora, y la precisión del resultado del análisis puede mejorar al mismo tiempo. Además, al utilizar esta característica, el compuesto de alcohol 3-mercapto puede producirse de manera industrial como un material indicador.

También, si un sudor apocrino no está segregando en las regiones axilares pero los microorganismos no descomponen la transpiración y el olor no aparece, significa que hay un estado latente de olor apocrino. En tal estado, no puede realizarse una evaluación precisa incluso si se realiza un ensayo organoléptico o una investigación sobre la relación con el olor axilar.

Por el contrario, al evaluar el olor corporal usando un material indicador después de incubar la transpiración originada en un ser humano bajo una atmósfera anaeróbica, es posible evaluar si un sujeto de ensayo tiene una constitución que puede producir un olor apocrino, es decir, es posible realizar una evaluación potencial.

5 Como un procedimiento para preparar una atmósfera anaeróbica o microaerofílica para producir el compuesto de alcohol 3-mercapto en gran cantidad a partir de la transpiración recogida, no está particularmente limitado siempre y cuando el procedimiento pueda eliminar el oxígeno en la atmósfera de incubación y sustituirlo por dióxido de carbono. Puede haber procedimientos tales como rellenar con gas mezclado (nitrógeno y dióxido de carbono) artificialmente preparado, usar un agente que genera dióxido de carbono vaciando el gas de oxígeno o similares. 10 También, en lugar del gas mezclado binario (nitrógeno y dióxido de carbono), puede usarse un gas mezclado triple (nitrógeno, dióxido de carbono e hidrógeno). Como un procedimiento para reducir la concentración de oxígeno restante, puede ser un procedimiento en el que una lana de acero de reducción absorbe el resto del oxígeno, y un procedimiento que convierte el oxígeno en agua usando un catalizador.

15 La concentración de gas de oxígeno bajo una atmósfera anaeróbica o microaerofílica puede estar en el intervalo comprendido entre 0 y 10 v/v% (volumen en volumen porcentual, en lo sucesivo simplemente referido como "%"), preferentemente entre 0 y 5%, más preferentemente entre 0 y 1%. También, la concentración de dióxido de carbono puede estar en el intervalo comprendido entre 5,0 y 22,0%, preferentemente entre 10,0 y 22,0%, más preferentemente entre 20,0 y 22,0%.

20 La temperatura de incubación de la transpiración originada en un ser humano para producir el compuesto de alcohol 3-mercapto en gran cantidad puede estar en el intervalo comprendido entre 15 y 45 °C, preferentemente entre 20 y 40 °C, más preferentemente entre 25 y 38 °C. También, el tiempo de incubación de la transpiración puede estar en el intervalo comprendido entre 6 y 336 horas, preferentemente entre 12 y 240 horas, más preferentemente entre 24 y 168 horas.

25 Como un procedimiento para evaluar el olor corporal desvelado en el presente documento que usa un material indicador para evaluar el olor corporal desvelado en el presente documento o que usa uno o más tipos entre las sustancias (A), (B), (C) y (D) como un índice, puede ser un ensayo organoléptico directa mediante olfato humano y una evaluación cuantitativa basada en el análisis químico, que puede usarse adaptando a varios sistemas conocidos de evaluación.

30 En el caso de realizar un ensayo organoléptico mediante olfato, un material indicador desvelado en el presente documento en el que el ácido 3-hidroxi-3-metilhexanoico o el derivado del mismo y/o el compuesto de alcohol 3-mercapto o el derivado del mismo se diluye en varios grados para preparar muestras convencionales de olor de cada concentración. Después, el olor de cada muestra preparada usando la transpiración recogida de las regiones axilares y las muestras convencionales se comparan para evaluar la cantidad de ácido 3-hidroxi-3-metilhexanoico y/o compuesto de alcohol 3-mercapto contenido en la transpiración por el ensayo organoléptico.

35 En el caso de medir el contenido de la sustancia (A) y la sustancia (C) contenidas en la transpiración de la regiones axilares mediante GC-MS, el ácido 3-hidroxi-3-metilhexanoico o el derivado del mismo y el compuesto de alcohol 3-mercapto o el derivado del mismo se usan preferentemente como un material convencional (estándar) para formar cada curva de calibración. Usando la curva de calibración, un pico de ácido 3-hidroxi-3-metilhexanoico y el compuesto de alcohol 3-mercapto se identifican respectivamente, y se mide la cantidad.

40 En el caso de usar tal análisis instrumental, un material indicador que contiene la sustancia (B) y la sustancia (D) que respectivamente son derivados obtenidos al hacer reaccionar la sustancia (A) y la sustancia (C) con el material etiquetado, puede usarse un reactivo fluorescente o similar que es fácilmente detectable. También, como un procedimiento para detectar la sustancia (C) y/o la sustancia (D) que es una derivada de la misma, hay un procedimiento para introducir un extracto de la transpiración obtenida de un ser humano como un espécimen usando un disolvente orgánico o similar directamente en la cromatografía de gases provista de un detector de azufre muy sensible. 45

También, como un procedimiento de medición para evaluar el olor corporal, puede añadirse un reactivo de coloración a la sustancia (A) y/o la sustancia (C) separado de la transpiración para medir el color mostrado por el espectrómetro o realizar una evaluación de colorimetría a simple vista.

50 En el caso de utilizar la reacción de coloración, puede realizarse un ensayo organoléptico preparando preliminarmente muestras convencionales de coloración de varias concentraciones en forma de tubos colométricos llenos de una solución acuosa o en forma de papeles de prueba que impregnan el compuesto etiquetado con el uso de un material indicador que contiene la sustancia (A) y la sustancia (C) que reaccionan con el reactivo de coloración o similar, y comparando el cambio de color obtenido al hacer reaccionar la transpiración recogida con el reactivo de coloración con las muestras convencionales de coloración.

55 De esta manera, el nivel de olor corporal u olor axial, que es una parte del olor corporal, puede evaluarse evaluando cuantitativamente la fuerza del olor debido a la sustancia (A) y la fuerza del olor debido a la sustancia (C) con el uso de olor o un parámetro diferente al olor y después evaluando exhaustivamente.

También, si hay una cantidad de producción de ácido 3-hidroxi-3-metilhexanoico y/o el compuesto de alcohol 3-mercapto en una gran cantidad en las regiones axilares pero se cambian a un derivado de los mismos que no tiene olor o que tiene un olor débil tal como una sal o similar, significa que hay un estado latente del olor apocrino. En tal estado, no puede realizarse una evaluación precisa incluso si se realiza un ensayo organoléptico o una investigación sobre la relación con un olor axilar. Por el contrario, debido a que los derivados que tienen olor latente de ácido 3-hidroxi-3-metilhexanoico y/o el compuesto de alcohol 3-mercapto pueden analizarse y convertirse a la cantidad de la sustancia (A) y la sustancia (C) desveladas en el presente documento, es posible evaluar si un sujeto de ensayo tiene una constitución que puede producir olor axilar, es decir, es posible realizar una evaluación potencial.

Un material indicador desvelado en el presente documento puede utilizarse para el análisis químico, el análisis instrumental, el ensayo organoléptico o similar como se ha descrito anteriormente y es capaz de una evaluación cuantitativa con alta objetividad. Particularmente, al expresar el valor medido como la cantidad del compuesto de ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico y/o el derivado del mismo y el compuesto de alcohol 3-mercapto y/o el derivado del mismo con el uso del análisis químico, análisis instrumental o similares, la subjetividad puede excluirse del resultado de la evaluación y el olor corporal puede evaluarse objetivamente y cuantitativamente.

Además se desvela que la efectividad de un desodorante dirigido al olor apocrino puede evaluarse objetivamente y cuantitativamente con el uso de un material indicador o las sustancias que constituyen tal material indicador como el índice.

Como un procedimiento para evaluar la efectividad de un desodorante desvelado en el presente documento, el material indicador puede usarse como una sustancia simple pero también puede usarse como una composición preparada combinando otras sustancias, por ejemplo, un disolvente para disolución o dilución, o un aditivo tal como un estabilizador, desodorante, bactericida, agente antibacteriano, surfactante, antioxidante, perfume, extractos de plantas o similares para adaptarse al uso práctico tal como conservación, uso en la prueba de evaluación o similares.

El desodorante dirigido al olor apocrino puede tener cualquier tipo de mecanismo de función tal como un tipo que previene la descomposición de la transpiración desinfectando bacterias sobre la piel, un tipo que descompone o cambia una sustancia con olor a un derivado sin olor, un tipo que tapa el olor o similar. Un procedimiento para usar el compuesto de ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico y/o el derivado del mismo, el compuesto de alcohol 3-mercapto y/o el derivado del mismo, o ambos en combinación como un material indicador para evaluar la efectividad de un desodorante no está particularmente limitado y puede usarse de acuerdo con el mecanismo de función de un desodorante y el sistema de evaluación.

Por ejemplo, la efectividad de una muestra de desodorante puede evaluarse objetivamente y cuantitativamente añadiendo una cantidad predeterminada de la muestra de desodorante a un material indicador que contiene compuesto de ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico y/o el derivado del mismo, preferentemente ácido 3-hidroxi-3-metilhexanoico o el derivado del mismo, y el compuesto de alcohol 3-mercapto o el derivado del mismo, preferentemente 3-mercapto-3-metilhexanol, 3-mercaptohexanol, 3-mercaptopentanol, 3-mercapto-2-metilpentanol, 3-mercapto-2-metilbutanol o los derivados de los mismos en una concentración predeterminada como la sustancia indicadora, y determinando cuantitativamente el estado cambiado del material indicador en un procedimiento apropiado.

Como un procedimiento para determinar cuantitativamente el estado cambiado del material indicador, si la muestra de desodorante es un tipo que descompone o lleva al ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico y/o el compuesto de alcohol 3-mercapto a otro compuesto para reducir el olor, puede realizarse un análisis instrumental usando una curva de calibración del material indicador que se forma preliminarmente o puede realizarse un análisis químico tal como titulación o extracción de un producto cambiado o un estado no cambiado del material indicador para determinar la cantidad. Si la muestra de desodorante es un tipo que tapa el olor apocrino, el efecto de enmascaramiento puede evaluarse mediante el ensayo organoléptico en la que el material indicador se diluye en varios niveles para preparar muestras convencionales de olor de cada concentración y el olor del material indicador que se añade a la muestra del desodorante se compara con las muestras convencionales.

También, la medición cuantitativa puede realizarse usando un compuesto etiquetado del ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico y/o el compuesto de alcohol 3-mercapto tal como un compuesto fluorescente etiquetado, de tal manera que se añada una cantidad predeterminada de la muestra de desodorante a un material indicador que contiene tal compuesto etiquetado en una concentración predeterminada y después se realiza el análisis instrumental para determinar el estado cambiado del material indicador con el uso de la curva de calibración del mismo material indicador. También, una parte etiquetada del compuesto etiquetado se detecta cuando una cantidad predeterminada de muestra de desodorante se añade a un material indicador que contiene un compuesto etiquetado en una concentración predeterminada y a partir de entonces la cantidad de un producto cambiado o un estado no cambiado del material indicador se determina mediante el análisis químico tal como titulación, extracción o similares.

Además, también es posible aplicar una muestra de desodorante realmente sobre las regiones axilares de un ser humano para evaluar y comparar cada transpiración de las regiones axilares obtenida antes y después de la aplicación con el uso de un material indicador como el descrito en el presente documento.

De esta manera, la efectividad de un desodorante puede evaluarse objetivamente y cuantitativamente, evaluando la fuerza del olor debido a la sustancia (A) y la fuerza del olor debido a la sustancia (C) contenidas en el olor apocrino de un material indicador desvelado en el presente documento en el que se hace un desodorante con el uso del olor o un parámetro diferente al olor y después se evalúa exhaustivamente.

5 Como se ha mencionado anteriormente, el nivel de olor corporal de un ser humano u olor axilar, que es una parte del olor corporal, puede evaluarse objetivamente y cuantitativamente desde el punto de vista de presencia, fuerza y diferencia en calidad del olor apocrino en las regiones axilares usando un material indicador para evaluar el olor corporal que contiene al menos un miembro seleccionado del grupo que consiste en el compuesto de ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico representado por la fórmula (1) (sustancia (A)), el derivado de la sustancia (A) (sustancia (B)), el  
10 compuesto de alcohol que tiene un grupo mercapto en la posición 3 representado por la fórmula (2) (sustancia (C)), y el derivado de la sustancia (C) (sustancia (D)), o usando al menos un miembro seleccionado del grupo que consiste en las sustancias (A), (B), (C) y (D) anteriormente mencionadas como un índice.

Particularmente, el olor debido a la sustancia (A) y el olor debido a la sustancia (C) pueden evaluarse exhaustivamente usando un material indicador para evaluar olor corporal que contiene al menos un miembro  
15 seleccionado del grupo que consiste en la sustancia (A) y/o la sustancia (B) y al menos un miembro seleccionado del grupo que consiste en la sustancia (C) y/o la sustancia (D), o usando la sustancia (A) y/o (B) y la sustancia (C) y/o (D) en combinación como un índice. Por lo tanto, el olor apocrino que los seres humanos realmente huelen puede evaluarse de manera más precisa.

Un material indicador para evaluar el olor corporal desvelado en el presente documento puede evaluar  
20 objetivamente y cuantitativamente el olor corporal particularmente expresando el valor medido como contenido de la sustancia (A) y/o (B) o la sustancia (C) y/o (D) a través del análisis químico, análisis instrumental o similar.

Incluso si la transpiración en las regiones axilares se cambia a derivados que no tienen olor o que tienen olor débil tal como una sal, éster o similar del compuesto de ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico y/o la sal, éster o similar del compuesto de alcohol 3-mercapto, el compuesto de ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico y/o el compuesto de alcohol 3-mercapto es una  
25 muestra que puede detectarse o cuantificarse mediante un material indicador como el desvelado en el presente documento. Por lo tanto, el estado latente de olor axilar, concretamente, el estado sin olor o con olor débil puede también evaluarse de manera objetiva y precisa.

También, si un sudor apocrino se está segregando en las regiones axilares pero los microorganismos no descomponen la transpiración y no se genera olor, significa que hay un estado latente del olor apocrino. Incluso en  
30 tal caso, es posible evaluar si un sujeto de ensayo tiene una constitución que puede producir un olor apocrino, es decir, es posible realizar una evaluación potencial incubando la transpiración originada en un ser humano.

Además se desvela que puede obtenerse de manera precisa un resultado de la evaluación correspondiente al efecto de desodorización y enmascaramiento frente al olor apocrino de un desodorante usando un material indicador que contiene una sustancia seleccionada de las sustancias (A) y (B) y/o una sustancia seleccionada de las sustancias  
35 (C) y (D), o usando una sustancia seleccionada de las sustancias (A) y (B) y/o una sustancia seleccionada de las sustancias (C) y (D) como un índice. Por lo tanto, la efectividad de un desodorante dirigido al olor apocrino puede evaluarse objetivamente y cuantitativamente.

Además se desvela que también es posible producir un material indicador desvelado en el presente documento utilizando la característica de que el contenido del compuesto de alcohol 3-mercapto aumenta mediante la  
40 incubación de la transpiración en las regiones axilares de una persona que tiene olor apocrino.

Un kit para evaluar olor corporal desvelado en el presente documento es un producto que es una combinación de al menos un reactivo de coloración que reacciona con ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico originado en la transpiración de un ser humano y accesorios que ayudan a una reacción del ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico y/u otras sustancia que provocan el  
45 olor corporal originado en la transpiración con el reactivo de coloración y una evaluación basada en la coloración. En los accesorios para ayuda, hay accesorios esenciales tales como medios de extracción usados para pretratamiento que siempre se realiza antes de la reacción de coloración o evaluación, y accesorios que mejoran la conveniencia tales como facilitación, simplificación o similares de la reacción de coloración o evaluación.

Un kit para evaluar olor corporal incluye, por ejemplo, equipos y reactivos para extraer o separar el ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico y/o ácido graso que tiene 12 carbonos o menos diferente a dicho ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico de la  
50 transpiración en las regiones axilares, y uno o más reactivos que muestran color reaccionando con el ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico y/o ácido graso que tiene 12 carbonos o menos diferente a dicho ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico originado en la transpiración de un ser humano. Además, el kit puede incluir ácido 3-hidroxi-3-metilhexanoico como una sustancia indicadora.

La FIG. 8 muestra un diagrama esquemático de un proceso de evaluación del olor corporal originado en la transpiración de un ser humano, particularmente olor apocrino, que utiliza la reacción de coloración del ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico y ácido graso que tiene 12 carbonos o menos diferente a dicho ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico. También, las FIGS. 9 y 10 muestran el equipo típico incluido en el kit para evaluar el olor corporal y ejemplos de la

utilidad del mismo.

5 Como un procedimiento de recogida de transpiración de las regiones axilares, puede ser el procedimiento que directamente recoge la transpiración generada por la sudoración térmica en tubos de ensayo o similares, el procedimiento en el que los sujetos de ensayo llevan puesta una camiseta con almohadillas de algodón cosidas en una posición correspondiente a la axila durante un cierto tiempo, o el procedimiento que directamente limpia la transpiración en la axila con una gasa o similar.

10 Como un procedimiento de extracción de material ácido contenido en la transpiración, no está limitado siempre y cuando el procedimiento pueda extraer el material ácido. Generalmente, se usa la extracción con base ácida mediante solución acuosa de álcali. Como la solución acuosa alcalina, puede ser una solución acuosa de hidrogenocarbonato de sodio, solución acuosa de carbonato de sodio, solución acuosa de hidróxido de sodio, solución acuosa de hidróxido de potasio o similares. También es posible extraer el material ácido usando la resina de intercambio de ión.

15 Como un procedimiento para evaluar un nivel del olor apocrino, puede ser un procedimiento en el que el material ácido extraído en el proceso anterior se separa en el ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico y ácido graso que tiene 12 carbonos o menos diferente a dicho ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico respectivamente, y a partir de entonces se añade un reactivo de coloración al ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico separado para observar un color mostrado.

20 Un procedimiento para separar ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico y el ácido graso que tiene 12 carbonos o menos diferente a dicho ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico en el material ácido no está particularmente limitado siempre y cuando el procedimiento pueda separar usando la polaridad de molécula. Puede utilizarse la cromatografía de adsorción en la que un tubo de cristal o un tubo de plástico se llena con un adsorbente apropiado tal como un polvo de gel de sílice o similar, la cromatografía en capa fina en columna en la que una placa de cristal o de plástico o similar se cubre con un adsorbente apropiado tal como gel de sílice o similar.

25 La cromatografía de adsorción en columna puede descargar en orden ascendente de adsorbabilidad para ocupar por separado cuando componentes que tienen una alta adsorbabilidad se quedan en la parte superior y los componentes que tienen una baja adsorbabilidad corren más rápido cuando la solución del material ácido anterior fluye desde la parte superior del tubo de cristal. En el caso de usar el material ácido originado en la transpiración de un ser humano como una muestra, por ejemplo, como se muestra en la FIG. 9, después de eluir el ácido graso que tiene 12 carbonos o menos diferente a dicho ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico con el uso de un disolvente polar medio tal como éter dietílico, el ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico puede juntarse con el uso de un disolvente polar alto tal como metanol. Por ello, cuando un reactivo de coloración se añade a una fracción de metanol y la fracción de metanol para generar coloración, la presencia del ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico puede confirmarse. También, el color de la solución de la prueba puede cuantificarse mediante medición usando equipos tales como un espectrofotómetro o un medidor de diferencia de color así como el ensayo organoléptico a simple vista.

35 La cromatografía en capa fina en columna es un procedimiento que separa moléculas diferentes en polaridad sobre una placa, por ejemplo como se muestra en la FIG. 10, si el material ácido originado en la transpiración de un ser humano se coloca en la posición predeterminada de una placa y después se desarrolla con el uso del disolvente polar medio tal como éter dietílico, el ácido graso que tiene 12 carbonos o menos diferente a dicho ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico se extiende alrededor junto con el disolvente, aunque el ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico se queda en la posición colocada. Por ello, si un reactivo de coloración se coloca en el centro del lugar colocado para generar coloración, la presencia del ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico originado en la transpiración puede confirmarse. De esta manera, el procedimiento de cromatografía en capa fina en columna puede pulverizar directamente el reactivo de coloración sobre la placa, por lo tanto, la prueba de coloración cualitativa y cuantitativa puede realizarse rápidamente.

45 Como un procedimiento que evalúa la presencia o cantidad de ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico que usa la reacción de coloración, puede ser: (1) un procedimiento que directamente introduce un cromóforo en un grupo hidroxilo o un grupo carboxilo de ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico; (2) un procedimiento que convierte ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico al derivado del mismo e introduce un cromóforo en el derivado; (3) un procedimiento que descompone ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico e introduce un cromóforo en el producto descompuesto; o similares.

50 (1) Como un reactivo de coloración que se usa en un procedimiento que introduce directamente un cromóforo en un grupo hidroxilo o un grupo carboxilo del ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico y reacciona con un grupo carboxilo del ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico para mostrar color, puede ser un reactivo que lleva el ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico a una hidrazida ácida cromofórica en presencia de un agente condensador para generar coloración, un reactivo que lleva el ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico a un éster cromofórico para generar coloración, un reactivo que lleva el ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico a una amida cromofórica para generar coloración o similares.

55 Como un agente de coloración que lleva el ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico a la hidrazida ácida cromofórica, puede ser 2-nitrofenilhidrazina, hidrazida de ácido carboxílico 6,7-dimetoxi-1-metil-2(1H)-quinoxalina-3-propionil (DMEQ-H), p-(4,5-difenil-1H-imidazol-2-il)-benzohidrazida, p-(1-metil-1h-fenantro-[9,10-d]imidazol-2-il)-benzo hidrazida, p-(5,6-

dimetoxi-2-benzotiazolil)-benzohidrazida o similares.

5 Como un reactivo que lleva el ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico al éster cromofórico para generar coloración, puede ser 9-antrildiazometano, 1-naftildiazometano, 1-(2-naftil)diazometano, 1-pirenildiazometano, 4-diazometil-7-metoxicoumarina, 4-bromometil-7-metoxicoumarina, 3-bromoetil-6,7-dimetoxi-1-metil-2(1H)-quinoxalinona, 9-bromoetilacridina, 4-bromoetil-6,7-metilenodioxycoumarina, N-(9-acridinil)-bromoacetamida, 2-(2,3-naftilimino)etiltrifluorometano sulfonato, 2-(ftalimino)etiltrifluorometano sulfonato, imida N-clorometilftálica, imida N-clorometil-4-nitroftálica, N-clorometilestaño o-(p-nitrobencil)-N,N'-diisopropilisourea o similares;

Como un reactivo que lleva el ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico a la amida cromofórica para generar coloración, puede ser monodansilcadaverina, 2-(p-aminometilfenil)-N,N-dimetil-2H-benzotriazol-5-amina o similares.

10 Como un reactivo de coloración que reacciona con un grupo hidroxilo del ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico para generar coloración, puede ser un reactivo que conduce a un compuesto de coordinación cromofórico a generar coloración, un reactivo que conduce a un éster cromofórico a generar coloración, un reactivo que conduce a un éter cromofórico a generar coloración o similares. Como un reactivo que conduce al compuesto de coordinación cromofórico a generar coloración, puede ser cerio, nitrato de amonio o similares. Como un reactivo que conduce al éster cromofórico a generar coloración, puede ser cloruro de benzoilo 4-(2-ftalimidil), el isómero del mismo, el derivado del mismo o similares. Como un reactivo que conduce al éter cromofórico a generar coloración, puede ser 4-diazometil-7-metoxicoumarina o similares.

20 (2) Como un derivado del ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico que puede utilizares para la reacción de coloración en el procedimiento que convierte ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico al derivado del mismo y después introduce un cromóforo en el derivado, puede ser una sal inorgánica, ácido hidroxámico, cloruro ácido, un complejo de cobre, complejo de cobalto o similares.

25 La sal inorgánica del compuesto de ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico reacciona con un halógeno aromático para ser inducida a un éter cromofórico, el ácido hidroxámico es inducido a la sal metálica cromofórica, el cloruro ácido es inducido a la amida cromofórica, un complejo de cobre y un complejo de cobalto del ácido hidroxicarboxílico son inducidos a un compuesto quelato que reacciona con cobre y cobalto respectivamente para generar coloración.

30 Como un procedimiento para convertir ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico a sal inorgánica, puede ser un procedimiento que mezcla el ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico con el material alcalino tal como solución de carbonato de hidróxido de sodio, solución de carbonato de sodio, solución de hidróxido de sodio, solución de hidróxido de potasio o similares para neutralizar. Como un halógeno aromático que reacciona con la sal inorgánica del ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico que será inducido al éster cromofórico, puede ser bromuro de p-nitrobencilo, bromuro de fenacilo, bromuro de p-clorofenacilo, bromuro de p-bromofenacilo, bromuro de p-yodofenacilo, bromuro de p-nitrofenacilo, bromuro de p-fenilfenacilo, bromuro de p-fenilazofenacilo, cloruro de N,N-dimetil-p-aminobencenoazofenacilo y similares.

35 Como un procedimiento para convertir ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico a ácido hidroxámico, puede ser un procedimiento que hace reaccionar ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico con hidroxilamina en presencia de un agente condensador, un procedimiento que hacer reaccionar ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico con hidrocloreuro de hidroxilamina usando níquel como catalizador o similares. Como un reactivo metal que forma la sal del complejo cromofórico con el ácido hidroxámico, puede ser un cloruro férrico, vanadio o similares.

40 Como un procedimiento para convertir ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico en cloruro ácido, puede ser un procedimiento que hace reaccionar ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico con oxalilcloruro o similares. Como un procedimiento para llevar el cloruro ácido a la amida cromofórica, puede ser un procedimiento que hace reaccionarlo con 9-aminofenantreno en presencia de trietilamina o similares.

Como un reactivo que forma el compuesto de quelato cromofórico (complejo) con cobre o cobalto, puede ser ácido dietilditiocarbámico, biciclohexanoneoxalildihidrazona, batocuproína o similares.

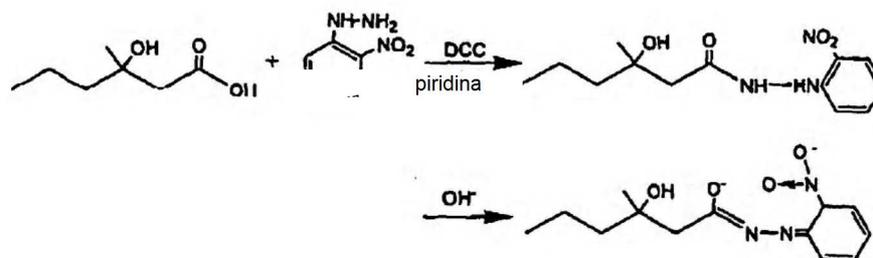
45 (3) Como un procedimiento que descompone ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico y hace que el producto descompuesto muestre color, puede ser un procedimiento en el que se hace la sintetasa de acil-CoA para el ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico en presencia de ácido trifosfórico de adenosina (ATP y coenzima CoA para producir acil-CoA, que después se procesa con oxidasa acil-CoA para producir enoil-CoA y peróxido de hidrógeno, el peróxido de hidrógeno se procesa después con catalasa para obtener formaldehído, y el formaldehído obtenido reacciona con 4-amino-3-hidrazino-5-mercapto-1,2,3-triazol (AHMT), que es un reactivo de coloración, para mostrar color púrpura que se usa para el ensayo de colorimetría.

55 De esta manera, el reactivo usado para la reacción de coloración de ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico en el procedimiento de la presente invención no está particularmente limitado siempre y cuando el reactivo actúe con el ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico, el derivado del ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico o el producto descompuesto del ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico. Un compuesto que tiene un grupo hidrazino tal como 2-nitrofenilhidrazina (2-NPH) o similares, tiene una alta sensibilidad en la detección de ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico originado en la transpiración de un ser humano y la prueba de colorimetría es fácil de realizar a simple vista, o un compuesto que tiene un grupo

diazometilo tal como 9-antridiazometano (ADAM) o similares, que tiene una alta sensibilidad en la detección y reacciona bajo una condición suave, se usan adecuadamente.

La reacción de coloración que usa 2-nitrofenilhidrazina es una reacción (Fórmula (7)) en la que el ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico reacciona con 2-nitrofenilhidrazina en agua o solución de alcohol en presencia de un agente condensador para producir hidrazida ácida que muestra un color magenta bajo la condición alcali:

Fórmula (7)



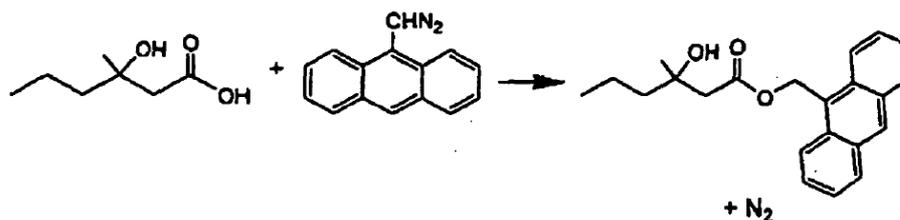
Como un agente condensador, puede utilizarse diciclohexilcarbodiimida (DCC), 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil) carbodiimida (EDC) o similares. Como un agente alcalino, puede utilizarse una solución de hidróxido de potasio o similares.

Cuando 0,5 ml solución de agua o de alcohol que contiene 0,02 M de hidrocloreuro de 2-nitrofenilhidrazina se añaden a 0,5 ml de solución de agua o de alcohol que contiene de 0,01 a 0,05  $\mu$ M de ácido 3-hidroxi-3-metilhexanoico, la solución de la prueba muestra un color amarillo ligeramente parduzco. También, cuando 0,5 ml de solución de agua o de alcohol que contiene 0,2M de 2-nitrofenilhidrazina se añaden a 0,5 ml de solución de agua o de alcohol que contiene de 0,05 a 1  $\mu$ M de ácido 3-hidroxi-3-metilhexanoico, la solución de la prueba muestra un color siena a magenta oscuro. Por el contrario, la solución de agua o de alcohol que contiene 2-nitrofenilhidrazina se añade a la solución de agua o de alcohol que no contiene ácido hidroxicarboxílico, no se produce la hidrazida ácida y la solución de la prueba permanece amarilla, que es el color original de 2-nitrofenilhidrazina sin reaccionar.

Como se ha mencionado anteriormente, la fuerza del olor apocrino es proporcional al contenido de ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico en la transpiración. Por ello, un nivel de olor apocrino puede evaluarse de manera segura, rápida y sencilla observando el color desarrollado de una solución de ensayo a simple vista.

La reacción de coloración que usa 9-antridiazometano es un procedimiento que lleva al ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico al éter 9-antrilmetilo que tiene una fuerte fluorescencia (Fórmula (8)):

Fórmula 8



La reacción no necesita un catalizador o calor y finaliza aproximadamente en 10 a 60 minutos a temperatura ambiente. El éter 9-antrilmetilo es un metanol que tiene una longitud de onda de excitación de 365 nm y la longitud de onda fluorescente de 412 nm.

Cuando 9-antridiazometano al 1,0% en solución de metanol o acetona se añade a una solución de metanol que contiene de 0,01 a 0,05  $\mu$ M de ácido 3-hidroxi-3-metilhexanoico seguido de una radiación con luz de 365 nm, la solución de ensayo muestra un color blanco ligeramente azulado.

Además, cuando 9-antridiazometano al 1,0% en solución de metanol o acetona se añade a una solución de metanol que contiene de 0,05 a 1  $\mu$ M de ácido 3-hidroxi-3-metilhexanoico seguido de una radiación con luz de 365 nm, la solución de ensayo muestra una fuerte fluorescencia azul. Por el contrario, aunque 9-antridiazometano al 1,0% en solución de alcohol metanol se añade a una solución que no contiene ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico, no se produce un éster que tiene fuerte fluorescencia.

Como se ha mencionado anteriormente, la fuerza del olor apocrino es proporcional al contenido de ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico en la transpiración. Por ello, un nivel de olor apocrino puede evaluarse de manera segura, rápida y sencilla observando el color desarrollado de una solución de ensayo a simple vista.

5 Cuando el ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico contenido en la transpiración se separa de la transpiración de las regiones axilares y a partir de entonces se realiza la evaluación cuantitativa usando un reactivo de coloración, el ácido 3-hidroxi-3-metilhexanoico sintetizado puede usarse como un material convencional (estándar).

Es decir, la cantidad de ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico contenido en la transpiración puede determinarse de manera más precisa usando el color mostrado del ácido 3-hidroxi-3-metilhexanoico que se sintetiza y pesa y un reactivo como estándar. Al mismo tiempo, la cantidad de ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico es proporcional a la fuerza del olor apocrino, por lo tanto, un nivel del olor apocrino puede evaluarse de manera precisa.

10 El material convencional, el ácido 3-hidroxi-3-metilhexanoico, usado en el presente documento puede diluirse en la concentración deseada en un laboratorio, aunque es conveniente si el material convencional se diluye en un disolvente tal como metanol, acetona o similar para facilitar que ocupe una cantidad adecuada para la comparación. Particularmente, es preferente usar una solución convencional diluida hasta el grado de ser capaz de poder medirse, tal como una solución diluida de aproximadamente 1 a 1.000  $\mu\text{g}$  de ácido 3-hidroxi-3-metilhexanoico en 100  $\mu\text{L}$  de diluyente.

Como se ha mencionado anteriormente, el compuesto del ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico y el derivado del mismo tal como el ácido 3-hidroxi-3-metilhexanoico o similar pueden sintetizarse utilizando la reacción de Reformatsky.

20 También, en la presente invención, si la diferencia en color entra las muestras a comparar es sutil o cuando se evalúa un nivel de olor apocrino reducido después del uso de un desodorante o de una operación para extraer las glándulas apocrinas, es posible excluir la objetividad del resultado de la evaluación cuantificando el color de la solución de ensayo con el uso de un instrumento analítico.

25 El instrumento analítico usado en el presente documento no está particularmente limitado siempre y cuando el instrumento pueda medir el grado de color mostrado de la solución de ensayo. Puede usarse un colorímetro, un espectrofotómetro visible de ultravioleta o similar para la hidrazida ácida producida por la reacción de coloración usando 2-nitrofenilhirazina. También, puede utilizarse un fluoroespectrofotómetro o similar para el éster 9-antrilmetilo producido por la reacción de coloración usando 9-antrildiazometano.

30 Además, no solamente un nivel de olor apocrino específicamente generado en las regiones axilares de una persona que tiene tragomasalia sino también un nivel de olor ácido (olor de transpiración) generado en las regiones axilares de personas que no dependen de tener tragomasalia puede evaluarse de manera rápida y fácil.

35 Como un procedimiento para evaluar un nivel de contribución de olor apocrino y olor ácido, puede ser un procedimiento en el que después de separar un material ácido extraído de la transpiración a ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico, que provoca olor apocrino, y ácido graso que tiene 12 carbonos o menos diferente a dicho ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico, se añade un reactivo de coloración a los mismos respectivamente para observar los colores mostrados, o un procedimiento en el que se añade un reactivo de coloración al material ácido extraído de la transpiración y el ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico se separa del material ácido respectivamente para observar los colores mostrados.

40 Como un procedimiento para evaluar un nivel de olor apocrino, puede añadirse un reactivo de coloración al ácido graso que tiene 12 carbonos o menos diferente a dicho ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico, que provoca olor apocrino. Por ejemplo, como se muestra en la FIG. 9, en la cromatografía de adsorción en columna, un nivel de contribución de olor apocrino y olor ácido puede evaluarse de manera rápida y fácil eluyendo el componente ácido originado en la transpiración, que es principalmente ácido graso que tiene 12 carbonos o menos diferente a dicho ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico con el uso del éter de dieteilo como un disolvente de desarrollo, a partir de entonces eluyendo el ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico con el uso de metanol, y después añadiendo un reactivo de coloración a la fracción de éter y la fracción de metanol obtenidas respectivamente para observar el color mostrado.

45 También, en la cromatografía en capa fina, el material ácido extraído de la transpiración de un ser humano se coloca sobre una placa para la cromatografía en capa fina a la que se coloca un reactivo de coloración para dejar que el material ácido completo muestre color. El color que el material ácido completo muestra tiene una correlación con respecto a la cantidad total de ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico, que es un componente que provoca el olor apocrino, y el ácido graso que tiene 12 carbonos o menos diferente a dicho ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico, que es un componente que provoca el olor ácido.

50 Por otro lado, después de colocar el material extraído sobre una placa similar para la cromatografía en capa fina preparada por separado y de separar el ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico y el ácido graso diferente de dicho ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico con el uso del disolvente de desarrollo, el reactivo de coloración se coloca sobre el ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico que queda en el centro del lugar colocado para mostrar color. El color mostrado sobre esta placa tiene una correlación positiva con respecto a la cantidad de ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico, que es un componente

55

principal que provoca el olor apocrino. De este modo, al observar ambos colores mostrados, puede evaluarse un nivel de contribución de olor apocrino y olor ácido.

Por lo tanto, es posible evaluar un nivel de contribución de olor apocrino y olor ácido de cada sujeto de ensayo de manera rápida y fácil con el uso de un kit para evaluar el olor corporal como el desvelado en el presente documento.

- 5 Como un reactivo de coloración que reacciona con el ácido carboxílico contenido en la transpiración para generar coloración, que no está particularmente limitado siempre y cuando el reactivo de coloración reaccione con un grupo carboxilo de un ácido graso que tiene 12 carbonos o menos, que tiene principal contribución al olor ácido, puede utilizarse el reactivo de coloración anteriormente mencionado que reacciona con un grupo carboxilo del ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico para generar coloración.
- 10 Con el fin de evaluar el tipo y fuerza de olor corporal de manera precisa, es decir, para una evaluación precisa del grado de cada contribución de olor apocrino y olor ácido con respecto al material ácido originado en la transpiración, es preferente que la reactividad del reactivo de coloración sea altamente específico para el ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico y el ácido graso que tiene 12 carbonos o menos diferente a dicho ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico y la reacción de coloración con respecto al otro material ácido sea débil.
- 15 Como se ha mencionado anteriormente, un kit para evaluar el olor corporal como el descrito en el presente documento puede evaluar de manera segura, rápida y fácil el nivel de olor corporal, centrándose en la presencia y fuerza de olor apocrino de las regiones axilares y además teniendo en cuenta la presencia y fuerza del olor ácido sin usar instrumentos analíticos caros tales como cromatografía de gases, cromatografía líquida o demás. Por lo tanto, el kit puede utilizarse cuando se realiza un diagnóstico sobre un nivel de olor apocrino de una persona que está preocupada por su olor axilar, o cuando se evalúa la efectividad de un desodorante, una operación para extraer glándulas apocrinas o similares en institutos de inspección tales como hospitales (dermatología o similar), un centro de salud o similares.

25 En el caso de evaluar si un esfuerzo para reducir el olor corporal tal como el uso de un desodorante o una operación para extraer las glándulas apocrinas es realmente efectivo, por ejemplo, la cantidad de ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico y/o ácido graso que tiene 12 carbonos o menos diferente al dicho ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico en la transpiración antes y después del uso de un desodorante puede determinarse y evaluarse usando un kit para evaluar olor corporal como el desvelado en el presente documento para comparar. Por ejemplo, si el momento de recogida de cada muestra es diferente, la primera muestra de transpiración recogida puede almacenarse en un lugar apropiado tal como un frigorífico para que la muestra no provoque un cambio químico y la prueba de evaluación puede realizarse en el mismo momento. Cuando la cantidad de ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico y ácido graso que tiene 12 carbonos o menos diferente a dicho ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico en la transpiración se determina y evalúa, si los colores de la solución de la prueba se cuantifican con un instrumento analítico, la comparación y evaluación pueden realizarse aunque el momento en el que se realiza la prueba de evaluación sea diferente.

35 También, puede utilizarse un kit para evaluar el olor corporal como el descrito en el presente documento para evaluar la efectividad de una muestra de desodorante o para someter a una revisión a personas que tienen tragomascalia en investigación de desarrollo de desodorante dirigidos a olor apocrino.

40 Como un procedimiento para evaluar la efectividad de un desodorante dirigido a olor apocrino, por ejemplo, la efectividad de una muestra de desodorante puede evaluarse de manera precisa, rápida y fácil añadiendo una cantidad predeterminada de un amuestra de desodorante a una muestra que contiene ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico de una concentración predeterminada, y evaluando la cantidad de ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico, preferentemente la cantidad de ácido 3-hidroxi-3-metilhexanoico, con el uso de un kit para evaluar olor corporal como el descrito en el presente documento.

45 También es posible aplicar una muestra de desodorante realmente sobre las regiones axilares de un ser humano y evaluar el ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico, preferentemente la cantidad de ácido 3-hidroxi-3-metilhexanoico, contenido en la transpiración de las regiones axilares recogido respectivamente antes y después de la aplicación con el uso de un kit para evaluar olor corporal como el descrito en el presente documento para comparar.

Como ejemplo de la constitución del kit anteriormente mencionado, por ejemplo, puede ser los siguientes, pero no se limitan a los mismos.

- 50 (1) Un paquete que incluye un algodón, una taza de plástico o similar para recoger la transpiración de un ser humano, preferentemente procesada para poder usarse sin modificación, y envuelta con un paquete exterior cuando sea necesario;
- (2) Un paquete que incluye reactivos, disolventes y equipos tales como una solución acuosa de un alcali, disolvente orgánico, embudo separador o similar para extraer material ácido de la transpiración de un ser humano en combinación con los componentes anteriores;
- 55 (3) Un paquete que incluye equipos tales como columnas para la cromatografía de adsorción, placas para la cromatografía en capa fina o similares para separar el ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico y el ácido graso que tiene 12 carbonos o menos diferente a dicho ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico originado en la transpiración de un ser humano en combinación con componentes de cualquiera de los paquetes anteriores;

(4) Un paquete que incluye disolventes polares medios usados para eluir ácido graso que tiene 12 carbonos o menos diferente al ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico del material ácido en la cromatografía de adsorción o la cromatografía en capa fina en combinación con componentes de cualquiera de los paquetes anteriores;

(5) Un paquete que incluye disolventes polares altos usados para eluir ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico de una columna en la cromatografía de adsorción en combinación con componentes de cualquiera de los paquetes anteriores;

(6) Un paquete que incluye un reactivo de coloración que reacciona con ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico originado en la transpiración de un ser humano, preferentemente lleno en un recipiente en el que el reactivo de coloración se prepara en la condición de composición o concentración que puede usarse sin modificación en combinación con componentes de cualquiera de los paquetes anteriores y envuelto con un paquete exterior cuando sea necesario;

(7) Un paquete que incluye un reactivo de coloración que reacciona con ácido graso que tiene 12 carbonos o menos diferente al ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico, preferentemente lleno en un recipiente en el que el reactivo de coloración se prepara en la condición de composición o concentración que puede usarse sin modificación en combinación con componentes de cualquiera de los paquetes anteriores y envuelto con un paquete exterior cuando sea necesario;

(8) Un paquete que incluye reactivos de coloración que reaccionan con ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico y ácido graso que tiene 12 carbonos o menos diferente al ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico originado en la transpiración de un ser humano, preferentemente llenos en un recipiente en el que los reactivos de coloración se preparan en la condición de composición o concentración que puede usarse sin modificación en combinación con componentes de cualquiera de los paquetes anteriores y envueltos con un paquete exterior cuando sea necesario;

(9) Un paquete que incluye reactivos auxiliares usados para preparaciones preliminares antes de la reacción de coloración cuando la cantidad de ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico se determina y evalúa usando un reactivo de coloración después de que el ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico se haya separado de la transpiración de las regiones axilares, por ejemplo, una separación preliminar para llevar al ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico al derivado, en combinación con componentes de cualquiera de los paquetes anteriores;

(10) Un paquete que incluye equipos tales como lámparas ultravioletas usadas para confirmar un nivel de coloración de una solución de ensayo cuando la cantidad de ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico se determina y evalúa usando un reactivo de coloración después de que el ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico se haya separado de la transpiración de las regiones axilares en combinación con componentes de cualquiera de los paquetes anteriores;

(11) Un paquete que incluye una solución diluida de ácido 3-hidroxi-3-metilhexanoico o ácido 3-hidroxi-3-metilhexanoico que son productos preferentemente sintetizados y se usan como materiales convencionales (estándar) cuando la cantidad de ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico contenida en la transpiración se determina y evalúa usando un reagente de coloración después de que el ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico se haya separado de la transpiración de las regiones axilares en combinación con componentes de los paquetes anteriores;

(12) Un paquete que incluye láminas de muestra de color para evaluar un nivel de coloración de soluciones de prueba cuando la cantidad de ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico contenido es la transpiración se determina y evalúa usando un reactivo de coloración después de que el ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico se haya separado de la transpiración de las regiones axilares en combinación con componentes de cualquiera de los paquetes anteriores;

(13) Un paquete que incluye medios para colocación tales como una pipeta o similares que es fácil de ocupar y colocar una única dosis de un reactivo de coloración en combinación con componentes de cualquiera de los paquetes anteriores; y

(14) Un paquete que incluye un instrumento analítico tal como el colorímetro, espectrómetro o similar usados para cuantificar un nivel de color mostrado de las soluciones de prueba en combinación con componentes de cualquiera de los paquetes anteriores.

Un kit para evaluar olor corporal como el descrito en el presente documento puede evaluar de manera segura, rápida y fácil el nivel de olor corporal u olor axilar, que es parte del olor corporal, centrándose en la presencia y fuerza de olor apocrino en las regiones axilares y además teniendo en cuenta la presencia y fuerza de olor ácido, utilizando la reacción de coloración de ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico, que está peculiarmente presente en la transpiración de una persona que tiene olor apocrino, y/o ácido graso que tiene 12 carbonos o menos diferente al ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico, que es un material que provoca olor ácido o el derivado del mismo o el producto descompuesto del mismo.

También, un procedimiento para evaluar olor corporal de la presente invención puede excluir objetividad del resultado de la evaluación cuantificando el color mostrado como el resultado de la reacción de coloración de la solución de ensayo con el uso de un instrumento analítico tal como un colorímetro o similar.

Además, un procedimiento para evaluar olor corporal de la presente invención puede utilizarse como un procedimiento seguro, rápido y fácil para evaluar olor corporal cuando se realiza un diagnóstico sobre un nivel de olor apocrino de una persona que está preocupada por su propio olor axilar, evaluar la efectividad de una operación para extraer glándulas apocrinas o similares, evaluar la efectividad de una muestra de desodorante dirigida al olor

apocrino o similar en un hospital, centro de salud, instituto de investigación o similar.

**Ejemplo**

Los siguientes ejemplos describen y demuestran además realizaciones de la presente invención. Los ejemplos solamente se dan con el fin de ilustración y no deben interpretarse como limitaciones de la presente invención.

5 **(Ejemplo A)**

1. Exploración de sujetos de ensayo

Cada uno de los 65 varones japoneses sanos seleccionados arbitrariamente como sujetos de ensayo llevó puesta una camiseta blanca nueva hecha de algodón durante 24 horas consecutivamente y las camisetas se recogieron. 7 miembros del panel de expertos realizaron un ensayo organoléptico sobre las regiones axilares de las camisetas recogidas en relación a los tipos y la fuerza del olor axilar,

<Los puntos de evaluación para el olor>

Olor ácido: olor agrio y putrefacto

Olor apocrino de tipo comino: olor picante, a leña, de tipo animal

Olor apocrino de tipo azufre: olor a pescado y salsa de soja y de tipo pomelo

15 <Los criterios de evaluación para la fuerza del olor>

0: Inodoro

1: Olor ligero

2: Olor débil

3: Olor fácilmente perceptible

20 4: Olor fuerte

5: Olor muy fuerte

25 Como resultado, se reconoció que 28 personas tenían poco olor axilar (la fuerza de olor de estas personas fue 1 o menos) (en lo sucesivo referido como Grupo A), se reconoció que 21 personas tenían olor axilar débil (la fuerza más alta de olor de estas personas fue 2 ó 3) (en lo sucesivo referido como Grupo B), y se reconoció que 16 personas tenían olor axilar fuerte (la mayor fuerza de olor de estas personas fue 4 ó 5) (en lo sucesivo referido como Grupo C).

30 El resultado de evaluación del Grupo C, que se reconoció por tener el olor axilar fuerte, se muestra en la Tabla 1. Como se muestra en la Tabla 1, los sujetos de ensayo que tienen olor apocrino pueden clasificarse en un grupo que se mueve al olor de tipo comino (Sujetos de identificación N° 1 al 3) y un grupo que se mueve al olor de tipo azufre (Sujetos de Identificación N° 4 al 9)

Tabla 1 Resultado de evaluación organoléptica del Grupo C

Sujeto de Identificación N°	Resultado de evaluación organoléptica		
	Olor ácido graso bajo	Olor apocrino	
		Olor de tipo comino	Olor de tipo azufre
1	3	5	4
2	3	5	3
3	2	5	4
4	4	4	5
5	4	4	5
6	3	3	5
7	3	3	4
8	2	3	4
9	3	3	4
10	4	2	2

(continuación)

Sujeto de Identificación N°	Resultado de evaluación organoléptica		
	Olor ácido graso bajo	Olor apocrino	
		Olor de tipo comino	Olor de tipo azufre
11	4	2	1
12	4	2	1
13	4	1	2
14	5	0	0
15	4	0	0
16	4	0	0

## 2. Análisis del componente correspondiente al olor de tipo comino

5 Los sujetos de ensayo fueron 13 personas que se reconocieron por tener un olor apocrino de tipo comino en el Grupo C (Sujetos de identificación N° 1 al 13). Una almohadilla de algodón se cosió sobre una parte de una camiseta correspondiente a la región axilar. Después de que los sujetos de ensayo llevaran puesta la camiseta durante 24 horas, las camisetas se recogieron y la almohadilla de algodón de las regiones axilares se sometió a extracción en éter dietílico. El extracto se dividió en una fracción ácida, una fracción neutral y una fracción básica mediante un procedimiento de extracción con base ácida, y los componentes volátiles se analizaron con el uso de una Cromatografía de Gases-Espectrómetro de Masas (GC-MS). Los componentes importantes que generan olores típicos de transpiración de una región axilar se especificaron mediante una Cromatografía de Gases por olfateo (GC por olfateo).

<Condiciones del análisis GC-MS>

15 Dispositivo: 6890GC-5973MSD (Agilent Technology)  
 Columna: DB-WAX (60 m X 0,25 mm X 0,25 pm)  
 Condiciones de temperatura: 40 °C (1 minuto) → (6 °C/min.) → 60 °C → (2 °C/min.) → 300 °C (40 minutos)  
 Gas de carrera: He  
 Voltaje de ionización: 70 eV

20 Al analizar el extracto ácido, se mostró una nueva presencia de ácido 3-hidroxi-3-metilhexanoico junto con la presencia convencionalmente conocida de ácido graso saturado, ácido 3-metil-2-hexanoico, ácido 7-octenoico y  $\gamma$ -lactonas (FIG. 1). Este componente tenía un olor fuerte similar al olor apocrino en el momento de realizar la GC por olfateo. También, la cantidad de ácido 3-hidroxi-3-metilhexanoico contenido en el extracto ácido se calculó desde un área máxima y estuvo en el intervalo comprendido entre 0,1 y 64,3  $\mu$ g. Se descubrió que el ácido 3-hidroxi-3-metilhexanoico está presente en altas concentraciones capaces de ser cuantitativamente detectables. El ácido 3-hidroxi-3-metilhexanoico no ha aparecido como un componente de un olor axilar de un ser humano hasta ahora, aunque el ácido 3-hidroxi-3-metilhexanoico se detectó en todos los sujetos de ensayo.

30 Después, los sujetos de ensayo fueron 3 personas que se reconocieron por no tener olor apocrino en el Grupo C (Sujetos de Identificación N° 14 a 16). Una almohadilla de algodón se cosió sobre una parte de una camiseta correspondiente a la región axilar. Después de que los sujetos de ensayo llevaran puesta la camiseta durante 24 horas, las camisetas se recogieron y la almohadilla de algodón de la región axilar se sometió a extracción en éter dietílico. Una fracción ácida se extrajo mediante un procedimiento de extracción con base ácida, y se analizó con el uso de una Cromatografía de Gases-Espectrómetro de Masas (GC-MS).

Como resultado, como se muestra en la FIG. 2, el ácido 3-hidroxi-3-metilhexanoico no se detectó en ninguno de los sujetos de ensayo.

## 35 3. Determinar la cantidad de ácido 3-hidroxi-3-metilhexanoico

40 Los sujetos de ensayo fueron 5 personas que se reconocieron por tener olores apocriños fuertes en el Grupo C ((Sujetos de Identificación N° 1 a 5), 4 personas que se reconocieron por tener olores apocriños débiles en el grupo C (Sujetos de Identificación N° 10 a 13) y 3 personas que se reconocieron por no tener olor apocrino en el Grupo C (Sujetos de Identificación N° 14 a 16). Una almohadilla de algodón se cosió sobre una parte de una camiseta correspondiente a la región axilar. Después de que los sujetos de ensayo llevaran puesta la camiseta durante 24 horas, las camisetas se recogieron y la almohadilla de algodón de la región axilar se sometió a extracción en éter

dietílico. Una fracción ácida se extrajo mediante un procedimiento de extracción con base ácida. Después, un matraz de 1 ml de capacidad (fabricado por DRAN) preparó una solución diluida que usó éter del mismo volumen. Al usar la solución diluida, la cantidad de ácido 3-hidroxi-3-metilhexanoico se determinó con el uso de una Cromatografía de Gases-Espectrómetro de Masas (GC-MS). Un volumen cuantitativo se calculó desde un área máxima que se obtuvo inyectando ácido 3-hidroxi-3-metilhexanoico que tenía una concentración determinada en la GC-MS.

Se obtuvo la relación entre la presencia o nivel de olor apocrino y la cantidad detectada de ácido 3-hidroxi-3-metilhexanoico. Como resultado, como se muestra en la FIG. 3, la cantidad de ácido 3-hidroxi-3-metilhexanoico en la región axilar aumentó cuando el olor apocrino se volvió más fuerte.

#### 4. Análisis del componente correspondientes al olor de tipo azufre

Los sujetos de ensayo fueron 3 personas que se reconocieron por tener un olor apocrino de tipo sulfuro en el Grupo C (Sujetos de Identificación N° 4 a 6). Se recogió aproximadamente 1 ml de transpiración que fluía desde ambas regiones axilares de cada sujeto de ensayo en un tubo de ensayo en una habitación acondicionada a 40 °C y 80% de humedad. El tubo de ensayo en el que se añadió Twister (un agitador recubierto de 100% polidimetilsiloxano, alias Stir Bar Sorptive Extraction; fabricado por Gerstel) se agitó durante 30 minutos. Después, se realizó un análisis con el uso de una Cromatografía de Gases-Espectrómetro de Masas (GC-MS) equipada con un dispositivo de desorción térmica. Los componentes importantes que generaron olores típicos de transpiración de regiones axilares se especificaron mediante Cromatografía de Gases por olfateo (GC por olfateo) equipada con un dispositivo de desorción térmica.

<Condiciones del análisis GC-MS>

Dispositivo: 6890GC-5973MSD (Agilent Technology)  
 Columna: DB-1 (60 m X 0,25 mm X 0,25 µm)  
 Condiciones de temperatura: 40 °C (1 minuto) → (6 °C/min.) → 60 °C → (2 °C/min.) → 300 °C (40 minutos)  
 Gas de carrera: He  
 Voltaje de ionización: 70 eV

Al analizar los componentes del olor apocrino contenido en la transpiración, el análisis GC-MS mostró una nueva presencia de 3-mercapto-3-metilhexanol (FIG. 4). El componente eluido tenía un olor fuerte muy similar al olor apocrino en el momento de realizar la GS por olfateo. También, se calculó la cantidad de 3-mercapto-3-metilhexanol desde un área máxima en el intervalo entre 0,001 y 1,0 µg. Se descubrió que 3-mercapto-3-metilhexanol está presente en altas concentraciones capaces de ser cuantitativamente detectables.

3-mercapto-3-metilhexanol no ha aparecido como un componente de un olor axilar de un ser humano hasta ahora, aunque se detectó 3-mercapto-3-metilhexanol en los 3 sujetos de ensayo.

Después, los sujetos de ensayo fueron 3 personas que se reconocieron por no tener olor apocrino en el Grupo C (Sujetos de Identificación N° 14 a 16). Se recogió aproximadamente 1 ml de transpiración que fluía desde ambas regiones axilares de cada sujeto de ensayo en un tubo de ensayo en una habitación acondicionada a 40 °C y 80% de humedad. El tubo de ensayo en el que se añadió Twister se agitó durante 10 minutos. Después, se realizó un análisis con el uso de una Cromatografía de Gases-Espectrómetro de Masas (GC-MS). Como resultado, como se muestra en la FIG. 5, no se detectó 3-mercapto-3-metilhexano en ninguno de los sujetos de ensayo.

Los sujetos de ensayo fueron 3 personas que se reconocieron por tener un fuerte olor apocrino de tipo azufre en el Grupo C (Sujetos de Identificación N° 4 a 6) y 3 personas que se reconocieron por no tener olor apocrino en el Grupo C (Sujetos de Identificación N° 14 a 16). Se recogió aproximadamente 1 ml de transpiración que fluía desde ambas regiones axilares de cada sujeto de ensayo en un tubo de ensayo en una habitación acondicionada a 40 °C y 80% de humedad. Después de que la transpiración se incubara en un ambiente anaeróbico (una concentración de oxígeno de 0,1% o inferior y una concentración de dióxido de carbono del 21%) a 30 °C durante 48 horas, el tubo de ensayo en el que se añadió Twister se agitó durante 10 minutos. Después, se realizó un análisis con el uso de una Cromatografía de Gases-Espectrómetro de Masas (GC-MS) equipada con un dispositivo de desorción térmica. Los componentes importantes que generaron olores típicos de transpiración de una región axilar se especificaron mediante Cromatografía de Gases por olfateo (GC por olfateo) equipada con un dispositivo de desorción térmica.

Como resultado, como se muestra en la FIG. 6, 3-mercapto-3-metilhexanol, 3-mercaptohexanol, 3-mercaptopentanol, 3-mercapto-2-metilpentanol y 3-mercapto-2-metilbutanol se identificaron en la transpiración incubada de personas que tenían un olor apocrino. Cada uno de estos componentes eluidos tuvo un olor fuerte similar al olor apocrino en el momento de realizar la GC por olfateo, que se volvió más fuerte mediante la incubación.

Por el contrario, 3-mercapto-3-metilhexanol, 3-mercaptohexanol, 3-mercaptopentanol, 3-mercapto-2-metilpentanol y 3-mercapto-2-metilbutanol no se detectaron en la transpiración de ninguno de los sujetos de ensayo que no tenían olor apocrino incluso cuando se incubó (FIG. 7).

**(Ejemplo B) (Referencia)**

1. Preparación de un material indicador para evaluar olor corporal

La mezcla de ácido 3-hidroxi-3-metilhexanoico (Sustancia (A)) y 3-mercapto-3-metilhexanol (Sustancia (C)) se preparó en un concentración diluida 0,015% en etanol, en la que la Sustancia (A) : Sustancia (C) = 50:1, 100:1 y 200:1, como materiales indicadores para evaluar el olor corporal para el Ejemplo B-1, B-2 y B-3 respectivamente. También, se preparó una solución diluida 0,015% de ácido 3-metil-2-hexenoico en etanol como un material indicador para evaluar el olor corporal para el Ejemplo Comparativo B-2.

2. Evaluación de un efecto desodorante y de enmascaramiento de un material indicador para evaluar olor corporal frente a un olor apocrino.

Los sujetos de ensayo fueron 6 personas en el Grupo A (que se reconocieron por no tener olor axilar) del Ejemplo A. Cada uno de los materiales indicadores anteriormente mencionados para evaluar olor corporal (Ejemplos B-1 a B-3 en la Tabla 2) se pulverizaron en la región axilar de cada sujeto de ensayo una vez (aproximadamente 30 mg) para aplicar el material indicador para evaluar el olor corporal en las regiones axilares de los sujetos de ensayo que no tenían olor apocrino. Entonces, después de pulverizar cada uno de los productos desodorantes disponibles en el mercado A a E en la región axilar de cada uno de los sujetos de ensayo, a los que se aplicó el material indicador para evaluar olor corporal, durante aproximadamente 1 segundo, 10 miembros de un panel de expertos (5 hombres y 5 mujeres) realizaron un ensayo organoléptico con respecto a un efecto desodorante y de enmascaramiento de los desodorantes.

También, después de pulverizar cada uno de los productos desodorantes disponibles en el mercado A a E en la región axilar de cada uno de los sujetos de ensayo que se reconocieron por tener olor apocrino (6 personas que se reconocieron por tener un olor apocrino fuerte en el Grupo C del Ejemplo A (Sujetos de Identificación N° 1 a 6) durante aproximadamente 1 segundo, 10 miembros de un panel de expertos (5 hombres y 5 mujeres) realizaron un ensayo organoléptico con respecto al efecto desodorante y de enmascaramiento de los desodorantes (Ejemplo Comparativo B-1).

El ensayo organoléptico se realizó en una habitación que se mantuvo a 25 °C y 65% de humedad. La evaluación fue con respecto a 5 productos comerciales (productos desodorantes disponibles en el mercado A a E mostrados en la Tabla 2) en total de manera que se realizó un producto comercial por día. Un olor de la región axilar después de tratarla con cada producto comercial se evaluó de acuerdo con los siguientes criterios.

<Los criterios de evaluación para el olor>

- 0: El olor apocrino no disminuye
- 1: El olor apocrino disminuye ligeramente
- 2: El olor apocrino disminuye
- 3: El olor apocrino disminuye de manera significativa

El efecto desodorante y de enmascaramiento de los productos desodorantes disponibles en el mercado se evaluó usando los resultados del olor del ensayo organoléptico (valor medio) por parte de 10 miembros del panel de expertos, que se presentó en los siguientes 4 niveles:

<Los criterios de la evaluación de efectividad para desodorantes (las marcas en paréntesis se usan en la Tabla 2)>

- 0 o más y menos que 0,5: No efectivo (X)
  - 0,5 o más y menos de 1,5: Ligeramente efectivo (Δ)
  - 1,5 o más y menos de 2,5: Efectivo (O)
  - 2,5 o más y menos de 3,0: Significativamente efectivo (⊙)
3. Resultados de la evaluación

La precisión del olor apocrino reproducido por el material indicador para evaluar el olor corporal se prueba cuando el efecto desodorante de los desodorantes tratados en los sujetos de ensayo preliminarmente tratados con el material indicador para evaluar olor corporal es considerablemente consistente con el efecto desodorante de los desodorantes tratados en los sujetos de ensayo que no tenían olores apocrínicos reales.

En la Tabla 2, los efectos desodorantes de los desodorantes tratados en los sujetos de ensayo preliminarmente tratados con el material indicador para evaluar olor corporal del Ejemplo Comparativo B-2 y los Ejemplos B-1 a B-3 se comparan en base al efecto desodorante de los desodorantes tratados en los sujetos de ensayo que tenían olores apocrínicos reales (Ejemplo Comparativo B-1). Como resultado, el Ejemplo B-2 fue completamente consistente con el Ejemplo Comparativo B-1 y los Ejemplos B-1 a B-3 fueron en su mayor parte consistentes con el Ejemplo Comparativo B-1 y puede reproducir de manera precisa el olor apocrino, y el efecto desodorante y de enmascaramiento de un desodorante puede evaluarse de manera precisa mediante el material indicador descrito.

Por el contrario, el Ejemplo Comparativo B-2 no fue en absoluto consistente con el Comparativo B-1, y el Ejemplo Comparativo B-2 que usó ácido 3-metil-2-hexenoico no pudo evaluar el efecto desodorante y de enmascaramiento de desodorantes como una sustancia convencional, lo que probó que el Ejemplo Comparativo B-2 no puede reproducir de manera precisa el olor apocrino.

5 Tabla 2 Resultados de la evaluación de efectividad (desodorante y enmascaramiento) de desodorantes

	Ejemplo Comparativo		Ejemplo		
	B-1	B-2	B-1	B-2	B-3
Producto desodorante	Olor apocrino naturalmente generado en la axila	Ácido 3-metil-2-hexenoico	Mezcla de 50:1 (Componente A:Componente C)	Mezcla de 100:1 (Componente A:Componente C)	Mezcla de 200:1 (Componente A:Componente C)
Producto comercial A	Δ	X	Δ	Δ	Δ
Producto comercial B	⊙	Δ	○	⊙	⊙
Producto comercial C	X	○	X	X	Δ
Producto comercial D	Δ	X	Δ	Δ	○
Producto comercial E	○	Δ	Δ	○	○
Consistencia con el Ejemplo Comparativo B-1	-	No consistente	Ligeramente consistente	Completamente consistente	Ligeramente consistente

**(Ejemplo C)**

1. Exploración de sujetos de ensayo

10 65 varones japoneses sanos cooperaron como voluntarios. Cada uno de ellos llevó puesta una camiseta blanca nueva hecha de algodón durante 24 horas consecutivamente. Después de recoger las camisetas, 7 miembros del panel de expertos evaluaron la fuerza del olor apocrino y del olor ácido sobre las regiones axilares de las camisetas en base a los siguientes criterios.

<Los criterios del ensayo organoléptico>

- 15 Intensidad 0: Inodoro  
 Intensidad 1: Olor ligero  
 Intensidad 2: Olor débil  
 Intensidad 3: Olor fácilmente perceptible  
 Intensidad 4: Olor fuerte  
 Intensidad 5: Olor muy fuerte

20 Como resultado, 10 personas de los sujetos de ensayo se reconocieron por tener olor apocrino de intensidad 3 o más, 3 personas se reconocieron por tener olor apocrino de intensidad 1 ó 2, 52 personas se reconocieron por tener olor apocrino de intensidad 0.

2. Cuantificación de ácido 3-hidroxi-3-metilhexanoico

25 Se seleccionaron como sujetos de ensayo 4 personas que se reconocieron por tener olor apocrino de intensidad 3 o más (Sujetos de Identificación N° A a D), 3 personas que se reconocieron por tener olor apocrino de intensidad 1 ó 2 (Sujetos de Identificación E a G), 3 personas que se reconocieron por no tener olor apocrino (intensidad 0) (Sujetos de Identificación N° H a J).

Una almohadilla de algodón se cosió sobre una parte de una camiseta correspondiente a la región axilar del brazo derecho. Después de que los sujetos de ensayo llevaran puesta las camisetas durante 24 horas, las camisetas se

5 recogieron y la almohadilla de algodón de la región axilar se sometió a la extracción con base ácida para extraer el componente ácido originado en la transpiración. Después, usando la minicolumna de gel de sílice (Varian Bond Elute Jr), 10 ml de éter dietílico, y 10 ml de etanol, el extracto ácido se separó en una fracción de éter dietílico y en una fracción de metanol. Después de concentrar la fracción de metanol una vez, se preparó 1 ml de la solución diluida mediante un matraz de medición (fabricado por DURAN).

1 µL de la solución diluida se analizó mediante la cromatografía de gases-espectrómetro de masas (GC-MS). Usando un ácido 3-hidroxi-3-metilhexanoico sintetizado como un material convencional (estándar), se dibujó una curva de calibración, y se midió la cantidad de ácido 3-hidroxi-3-metilhexanoico contenida en la transpiración.

10 El resultado del ensayo organoléptico sobre el olor axilar y la cuantificación de ácido 3-hidroxi-3-metilhexanoico se muestran en la FIG. 3. El ácido 3-hidroxi-3-metilhexanoico se detectó en las fracciones de metanol de todos los sujetos de ensayo que se reconocieron por tener olor apocrino (Sujetos de Identificación N° A a G). Por el contrario, el ácido 3-hidroxi-3-metilhexanoico no se detectó en la fracción de éter dietílico.

Tabla 3

Sujeto de Identificación N°	Ensayo organoléptico		Cantidad detectada de ácido 3-hidroxi-3-metilhexanoico (µg)	
	Intensidad de olor apocrino	Intensidad de olor ácido	Fracción de metanol	Fracción de éter
A	4	4	33,93	No detectada
B	5	5	64,29	"
C	3	3	15,71	"
D	4	4	37,5	"
E	2	2	1,71	"
F	1	2	0,87	"
G	2	2	1,39	"
H	0	1	No detectada	"
I	0	2	"	"
J	0	1	"	"

15 <Los criterios del ensayo organoléptico>

Intensidad 0: Inodoro

Intensidad 1: Olor ligero

Intensidad 2: Olor débil

Intensidad 3: Olor fácilmente perceptible

20 Intensidad 4: Olor fuerte

Intensidad 5: Olor muy fuerte

25 En el grupo reconocido por tener olor apocrino de intensidad 3 o más (Sujetos de Identificación N° A a D), la cantidad detectada de ácido 3-hidroxi-3-metilhexanoico estuvo dentro del alcance de 15,71 a 64,29 µg. En el grupo reconocido por tener olor apocrino de intensidad 1 ó 2 (Sujetos de Identificación N° E a G), la cantidad detectada de ácido 3-hidroxi-3-metilhexanoico estuvo dentro del alcance de 0,87 a 1,71 µg. Por el contrario, en el grupo reconocido por no tener olor apocrino (intensidad 0) (Sujetos de Identificación N° H a J), el ácido 3-hidroxi-3-metilhexanoico no se detectó en ninguno de los sujetos de ensayo.

**(Ejemplo D)**

30 La fracción de metanol obtenida en el Ejemplo C (se usó 1 µl para el análisis GC-MS) se concentró a 0,5 ml y se transfirió a un tubo de ensayo equipado con una válvula de rosca (NR-10, fabricado por Maruemu). 100 µl de 20 mM de solución de 2-nitrofenilhidrazina preparada usando 40 mM de ácido hidroclicóric – etanol de ácido hidroclicóric (3:1, v/v), 100 µl de 3 v/v% piridina en solución de etanol y 100 µl de 250 mM EDC (1-etil-3-(3-dimetilaminopropil) carbodiimida) en solución de etanol se añadieron sucesivamente. Una muestra en blanco para comparar el color (se añadieron 0,5 ml de metanol) se preparó de manera similar. Después las mezclas se calentaron a 60 °C durante 20

minutos, se añadieron 50 µl de 15% (P/V) de solución de hidróxido de potasio preparada mediante la mezcla agua-metanol (1:4, v/v) y le siguió el calentamiento a 60 °C hasta que el color marrón desaparece del blanco (durante 15 minutos). Después de enfriar a temperatura ambiente, los colores de las soluciones reaccionadas se observaron a simple vista.

- 5 Los resultados se muestran en la Tabla 4. La muestra en blanco mostró un color amarillo vivo originado en el reactivo no reaccionado. Por otro lado, las fracciones de metanol de los sujetos de ensayo en los que se detectó ácido 3-hidroxi-3-metilhexanoico mostraron un color magenta debido a la producción de hidrazida ácida. El color cambió proporcionalmente a la cantidad detectada de amarillo parduzco a magenta oscuro.

Tabla 4

Sujeto de Identificación N°	Intensidad de olor apocrino	Cantidad detectada de ácido 3-hidroxi-3-metilhexanoico (µg)	Cambio de color	Color de la solución de la prueba
A	4	33,93	O	Magenta oscuro
B	5	64,29	O	Magenta muy oscuro
C	3	15,71	O	Siena ligeramente oscuro
D	4	37,5	O	Magenta oscuro
E	2	1,71	O	Amarillo ligeramente parduzco
F	1	0,87	O	Amarillo ligeramente parduzco
G	2	1,39	O	Amarillo ligeramente parduzco
H	0	No detectada	x	Amarillo claro (sobre un nivel con el blanco)
I	0	"	x	
J	0	"	x	

10

<Los criterios de evaluación>

O: El cambio de color se reconoció adecuadamente

Δ: El cambio de color se reconoció

X: El cambio de color no se reconoció (sobre un nivel con el blanco).

- 15 En grupo reconocido por tener olor apocrino de intensidad 3 o más, el color de la solución reaccionada estuvo dentro del alcance del rojo al magenta. En el grupo reconocido por tener olor apocrino de intensidad 1 ó 2, el color de la solución de la reacción fue amarillo parduzco. Por el contrario, en el grupo reconocido por no tener olor apocrino (intensidad 0), la solución de la prueba de todos los sujetos de ensayo no tuvo color y el color estuvo sobre un nivel con el blanco.

- 20 Después, el color de las soluciones de la prueba se cuantificó usando el colorímetro. El color se representó en un gráfico seleccionando la diferencia de color ( $\Delta E^*b$ ) sobre el eje vertical, y el resultado del ensayo organoléptico de olor apocrino en el Ejemplo C sobre el eje horizontal. El resultado fue, como se muestra en la FIG. 11, que la diferencia de color ( $\Delta E^*b$ ) aumentó proporcional a la intensidad de olor apocrino.

<Condiciones para la medición mediante colorímetro>

- 25 Equipo: Colorímetro CT-310 (fabricado por Minolta Co., Ltd.)

Longitud óptica celular: 2 mm

Temperatura: 23 °C

La diferencia de color se obtuvo a partir de la siguiente expresión usando los datos medidos de la muestra en blanco como el color convencional de diferencia de color ( $L^*_t, a^*_t, b^*_t$ ) y los datos medios como ( $L^*, a^*, b^*$ ):

Expresión 1

$$\Delta E^*_{ab} = \sqrt{((\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2)}$$

donde

$$\Delta L^* = L^* - L_t$$

$$\Delta a^* = a^* - a_t$$

$$\Delta b^* = b^* - b_t$$

**5 (Ejemplo E)**

1 ml de la fracción de éter dietílico obtenido en el Ejemplo C se transfirió a un tubo de ensayo equipado con una válvula de rosca (fabricado por Maruemu). Después el disolvente se extrajo en un baño de agua de 45 °C y se añadieron 0,5 ml de metanol, las soluciones de la prueba así como una muestra en blanco para comparar el color (se añadieron 0,5 ml de metanol) se sometieron a la prueba de coloración de manera similar al Ejemplo D usando un reactivo de coloración. Junto con la fracción de metanol obtenida en el Ejemplo D, el color se cuantificó por medio de un espectrómetro ultravioleta-visible. Los datos se representaron en un gráfico seleccionando la absorbancia de la fracción de metanol sobre el eje vertical, y la absorbancia de la fracción de éter sobre el eje horizontal para evaluar un nivel de contribución de olor apocrino y olor ácido para cada sujeto de ensayo.

El resultado fue, como se muestra en la FIG. 12, que una persona cuya fracción de metanol del extracto ácido mostró un color fuerte, es decir, una persona reconocida por tener olor apocrino, tiende a tener la fracción de éter dietílico que muestra una coloración fuerte (absorción). Por el contrario, una persona reconocida por no tener olor apocrino, es decir, una persona cuya fracción de metanol no muestra color tiende a tener la fracción de éter dietílico que muestra una coloración débil (absorción).

<Condiciones para medición mediante espectrómetro ultravioleta-visible>

Equipo: BECHMAN DU-600

Longitud óptica celular: 10 mm

Temperatura: 23 °C

Procedimiento de medición de datos: El área máxima se midió descontando el espectro de absorción de la muestra en blanco del espectro de absorción de una muestra a 530 nm.

**25 (Ejemplo F)**

10 sujetos de ensayo del Ejemplo C fueron los sujetos de ensayo para el Ejemplo F. La fracción de metanol del extracto ácido de la transpiración separada de manera similar al Ejemplo C se concentró a 0,5 ml, y a partir de entonces se transfirió a un tubo de ensayo. Junto con una muestra en blanco (se añadieron 0,5 ml de metanol) para comparar el color, se añadieron 25 µl de 9-antrildiazometano al 1,0% en solución de acetona a cada muestra. Cada muestra se selló y se dejó durante aproximadamente 1 hora a temperatura ambiente. Después, usando una lámpara ultravioleta (fabricada por Ultraviolet Corporation, tipo de longitud de onda larga de 365 nm), la fluorescencia emitida se observó a simple vista. Un resultado se muestra en la Tabla 5.

Tabla 5

Sujeto de Identificación N°	Intensidad de olor apocrino	Cambio de color	Fluorescencia de la solución de ensayo
A	4	O	Muy fuerte
B	5	O	Muy fuerte
C	3	O	Ligeramente fuerte
D	4	O	Muy fuerte
E	2	O	Fuerte
F	1	O	Fuerte

G	2	O	Fuerte
H	0	x	Débil (sobre un nivel con el blanco)
I	0	x	
J	0	x	

Como un resultado mostrado en la Tabla 5, las muestras de los sujetos de ensayo reconocidos por tener olor apocrino en el Ejemplo C emitieron fluorescencia más fuerte proporcional a la intensidad del olor apocrino. Por el contrario, no se observó una fuerte fluorescencia con respecto a la muestra en blanco.

**REIVINDICACIONES**

1. Un procedimiento para evaluar olor corporal de un ser humano que comprende las etapas de:

5 una primera etapa de extracción de una mezcla de ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico y ácido graso que tiene 12 carbonos o menos diferente de dicho ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico de la transpiración de un ser humano;  
una segunda etapa de adición de un reactivo a la mezcla para mostrar color; y  
una tercera etapa de evaluación del tipo y/o fuerza de olor corporal a partir del color mostrado en la segunda etapa.

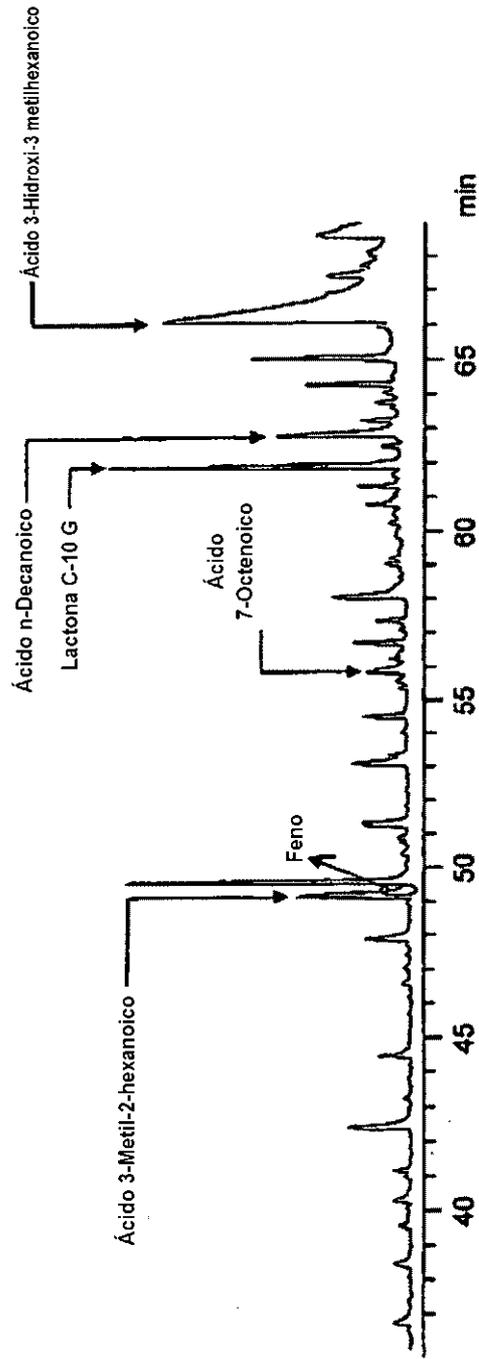
2. Un procedimiento para evaluar olor corporal de un ser humano que comprende las etapas de:

10 una primera etapa de extracción de una mezcla de ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico y ácido graso que tiene 12 carbonos o menos diferente de dicho ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico de la transpiración de un ser humano;  
una segunda etapa de separación del ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico de la mezcla;  
una tercera etapa de reacción de dicho ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico separado en la segunda etapa con un reactivo para mostrar color; y  
15 una cuarta etapa para evaluar el tipo y/o fuerza de olor corporal a partir del color mostrado en la tercera etapa.

3. Un procedimiento para evaluar olor corporal de un ser humano que comprende las etapas de:

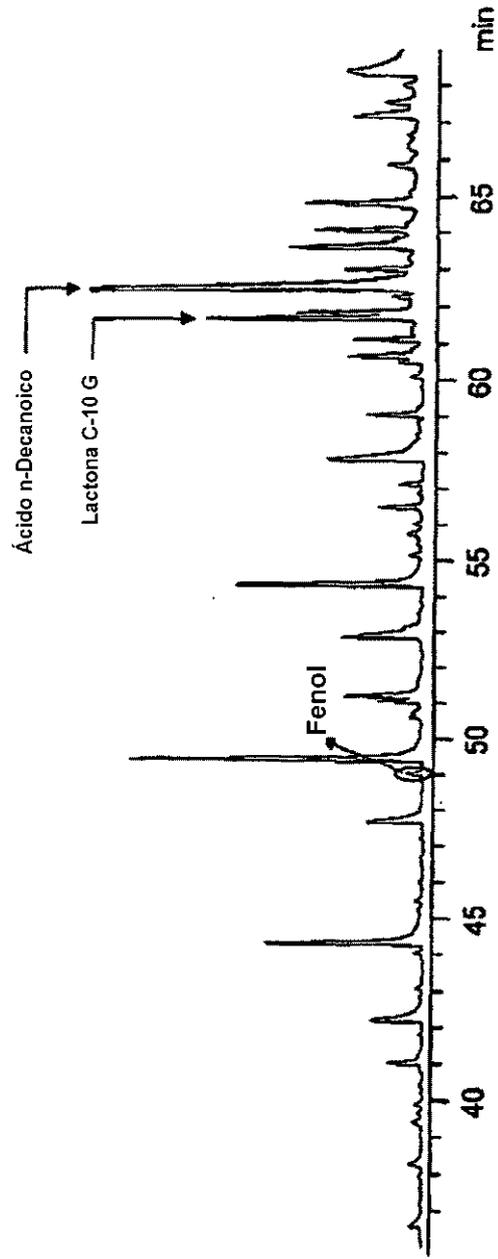
20 una primera etapa de extracción de una mezcla de ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico y ácido graso que tiene 12 carbonos o menos diferente de dicho ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico de la transpiración de un ser humano;  
una segunda etapa de separación de la mezcla en ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico y ácido graso que tiene 12 carbonos o menos diferente de dicho ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico respectivamente;  
una tercera etapa de reacción de dicho ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico separado en la segunda etapa con un reactivo para mostrar color;  
una cuarta etapa de reacción de dicho ácido graso que tiene 12 carbonos o menos diferente de dicho ácido  $\beta$ -hidroxicarboxílico separado en la segunda etapa con el reactivo para mostrar color;  
25 una quinta etapa de evaluación del tipo y/o fuerza de olor corporal de cada uno de los colores mostrados en la tercera y cuarta etapa.

FIG. 1



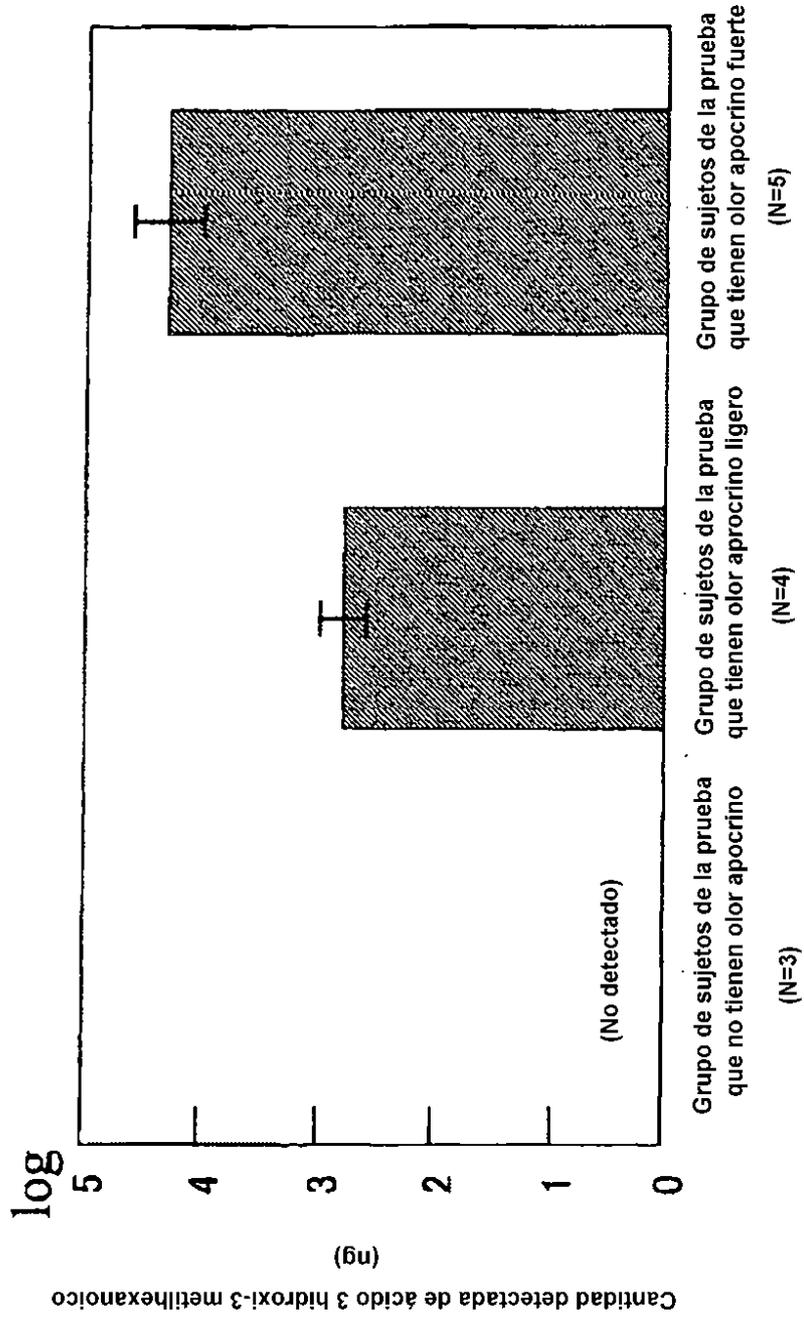
Cromatograma iónico total de un extracto ácido de transpiración de una persona que tiene un olor apocrino

FIG. 2



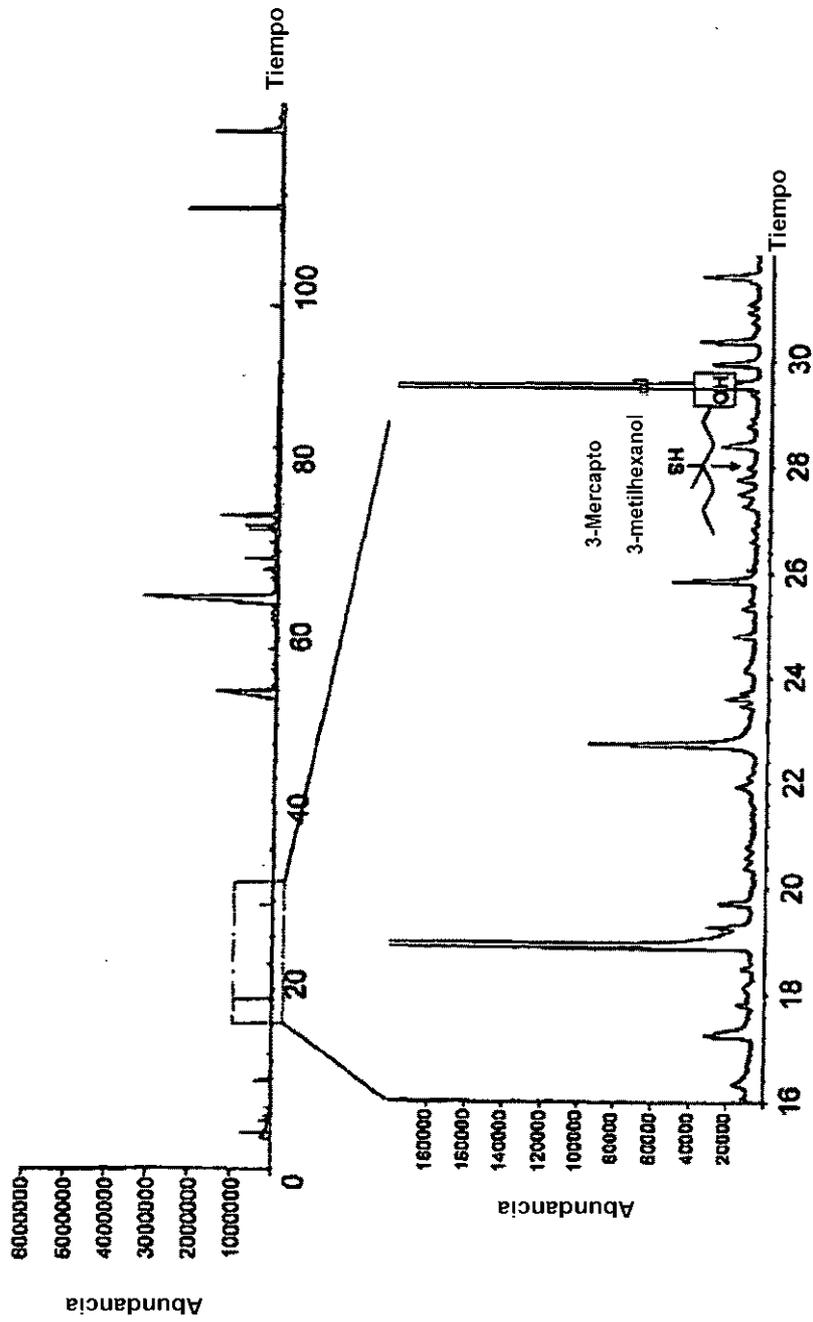
Cromatograma iónico total de un extracto ácido de transpiración  
de una persona que no tiene olor apocrino

FIG. 3



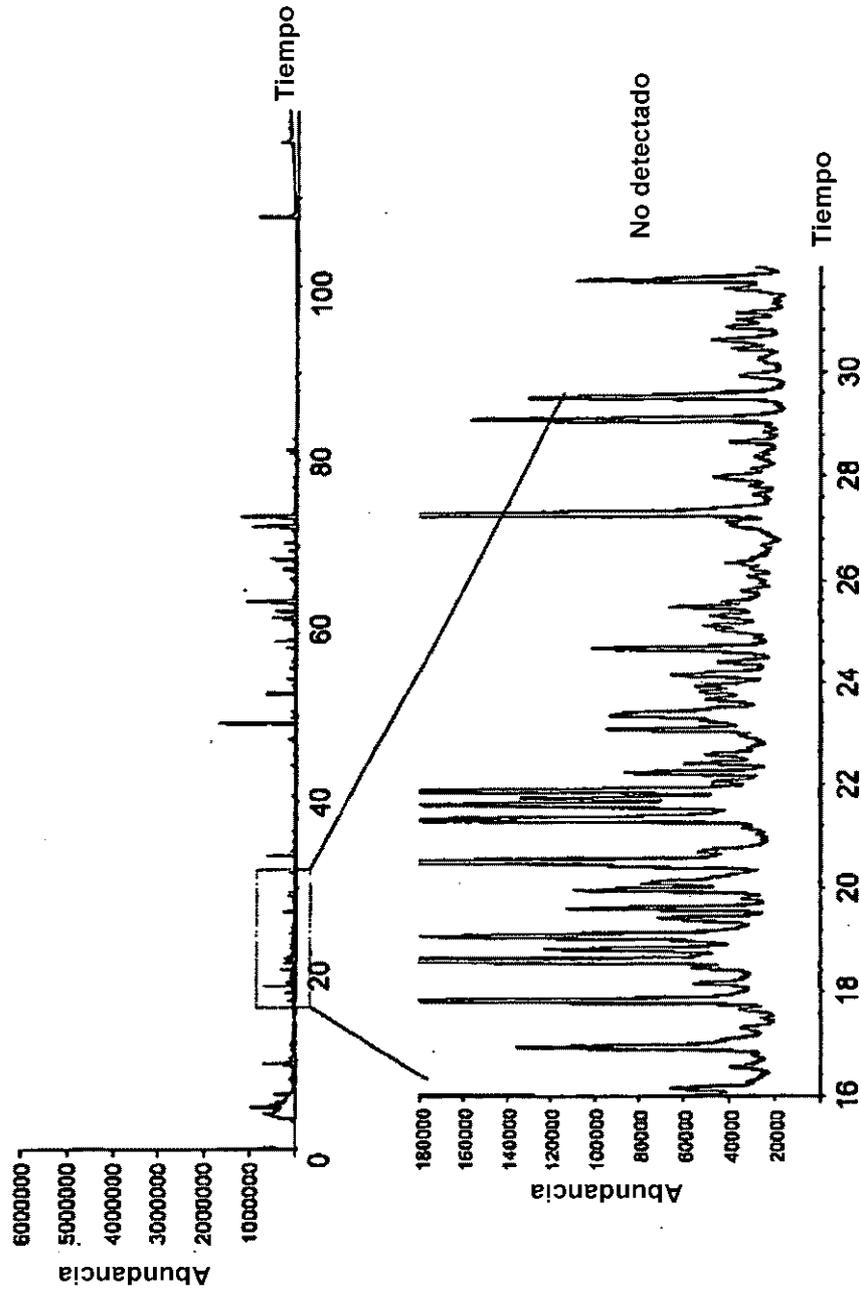
Relación entre ácido 3-hidroxí-3-metilhexanoico y un olor apocrino

FIG. 4



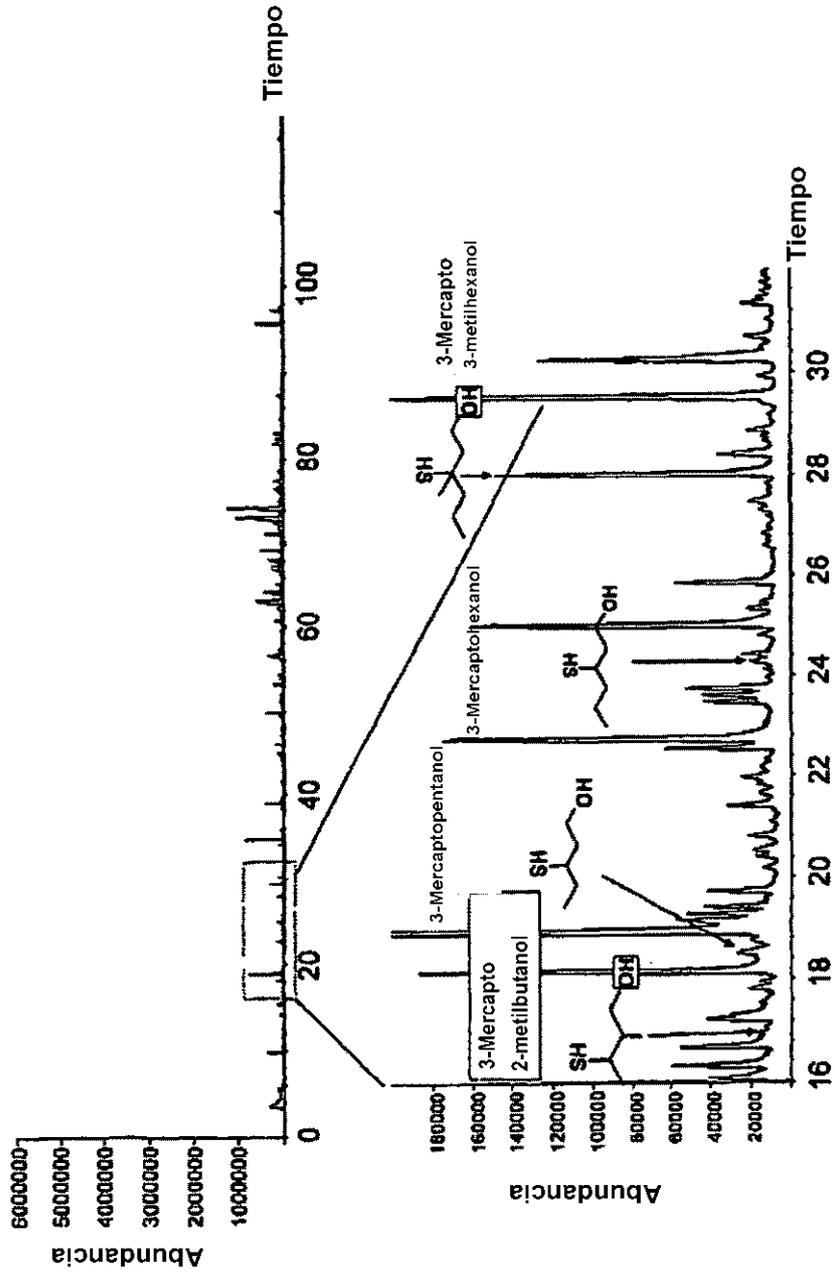
Cromatograma iónico total de componentes volátiles en la transpiración de una persona que tiene un olor apocriño

FIG. 5



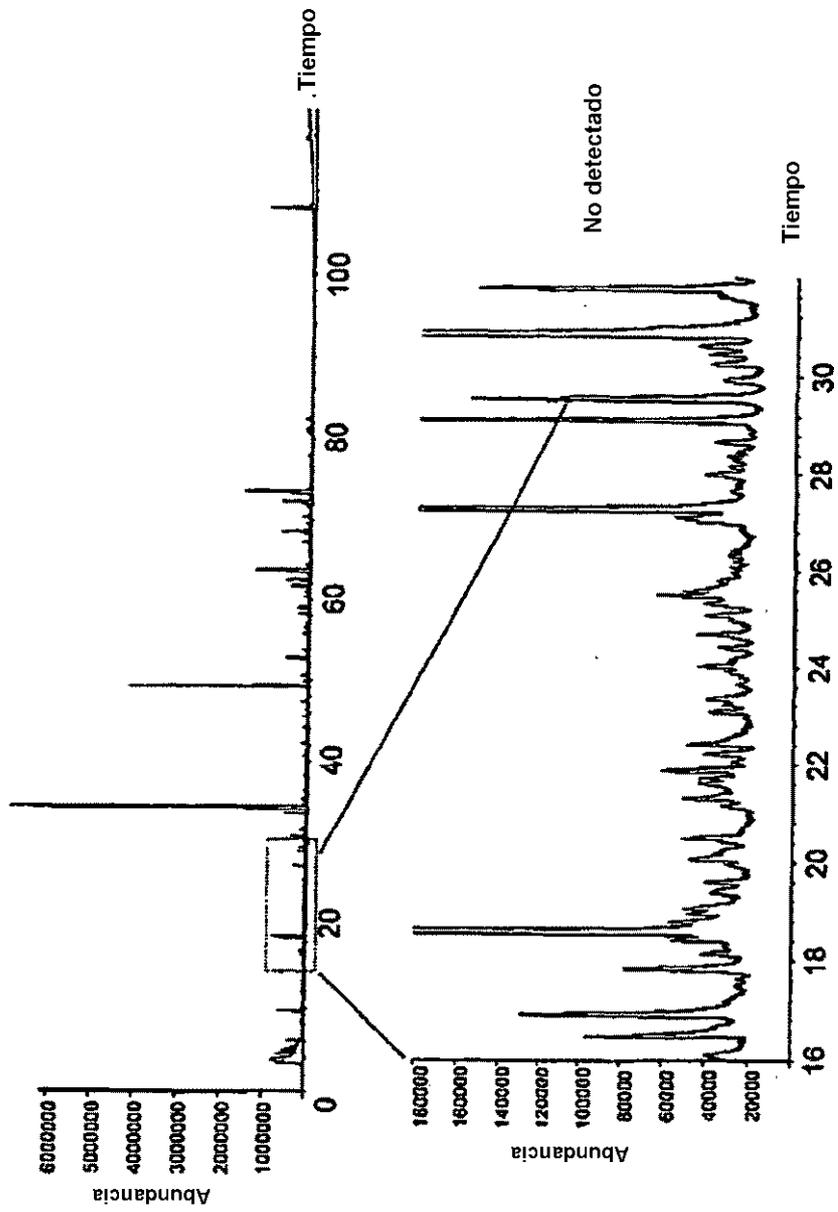
Cromatograma iónico total de componentes volátiles en la transpiración de una persona que no tiene olor apocrino

FIG. 6



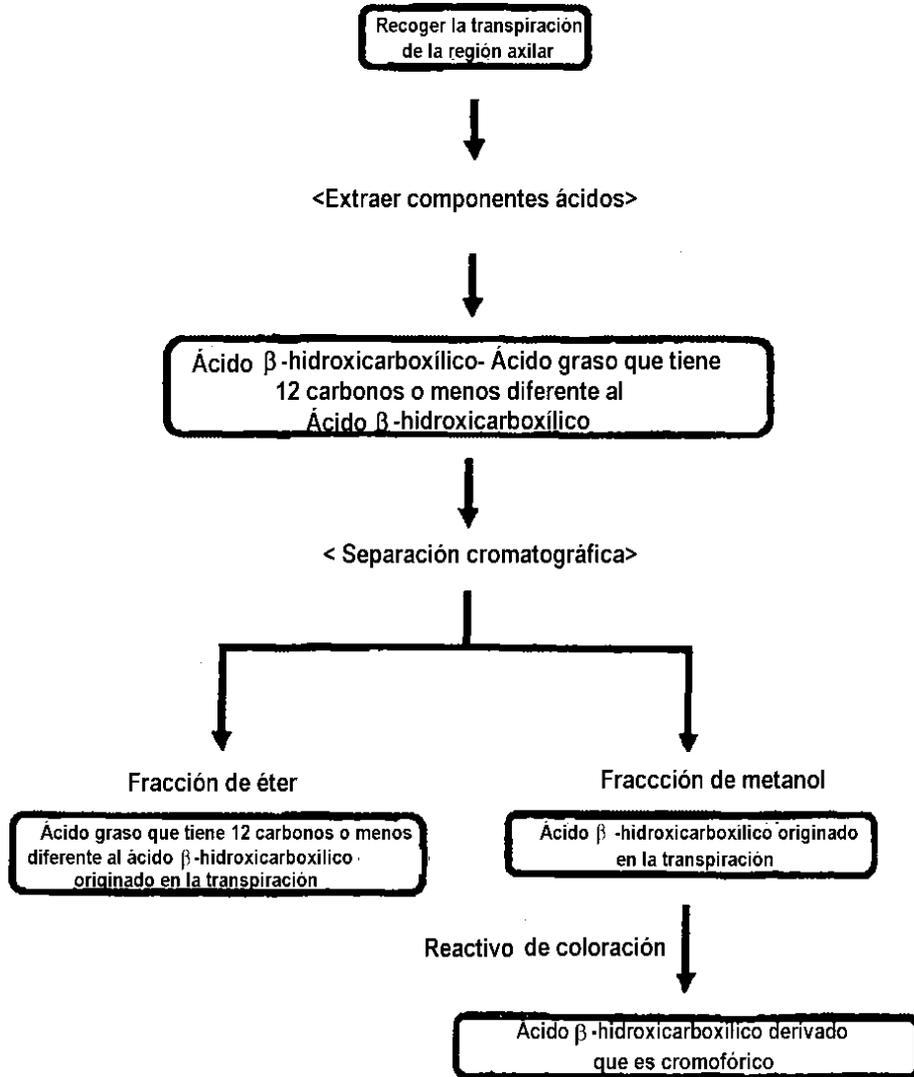
Cromatograma iónico total de componentes volátiles en la transpiración incubada de una persona que tiene un olor apocriño

FIG. 7



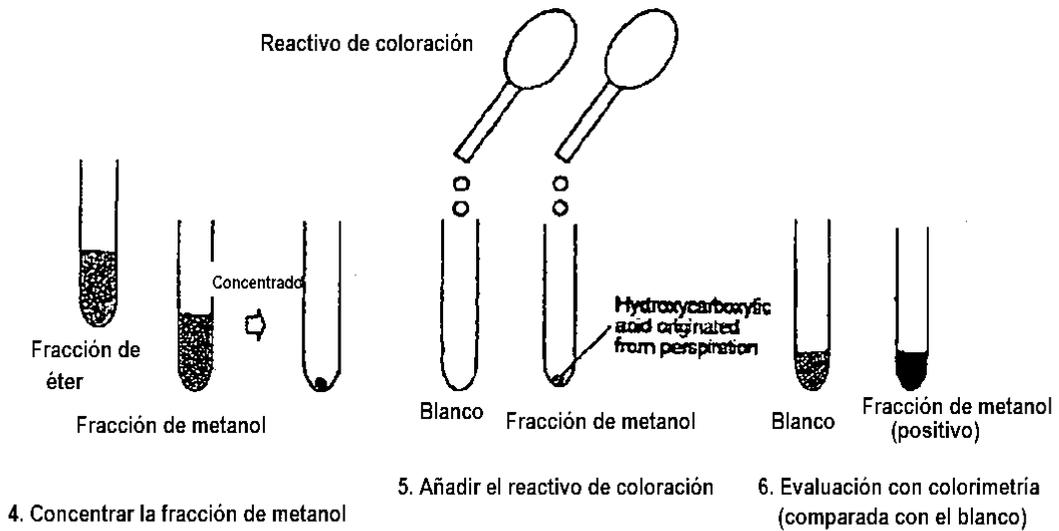
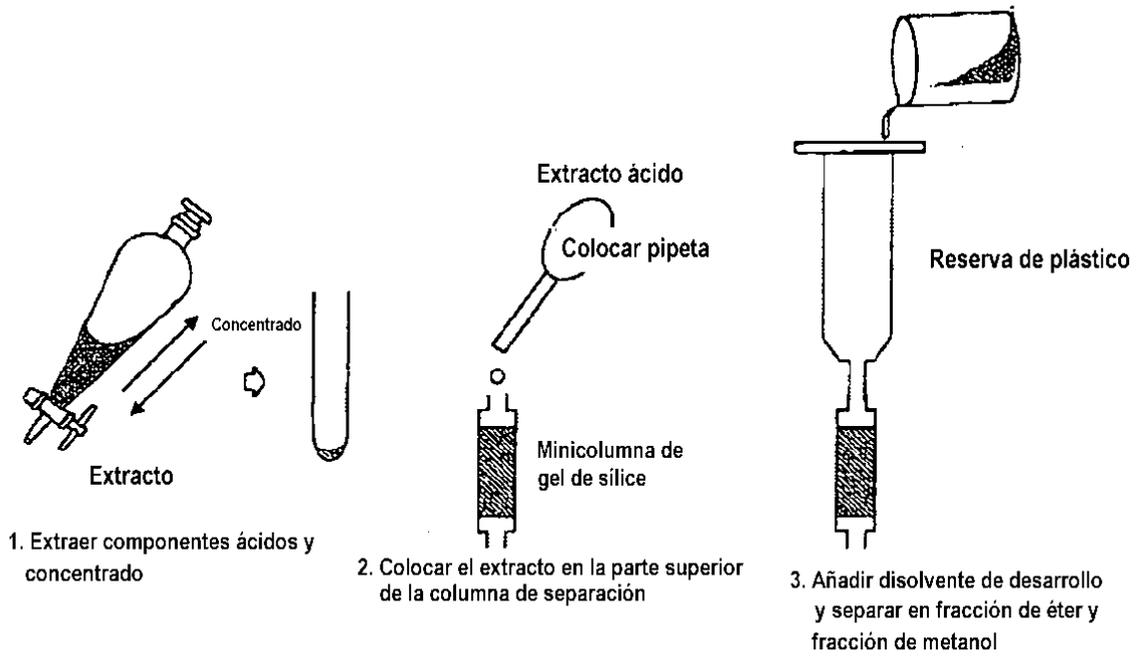
Cromatograma iónico total de componentes volátiles en la traspiración incubada de una persona que no tiene olor apocrino

FIG. 8



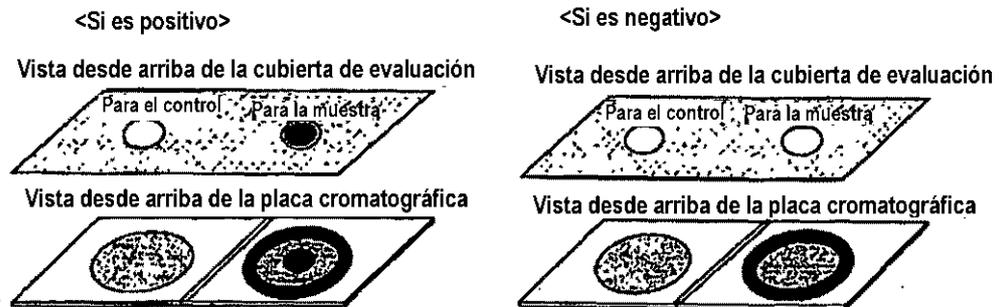
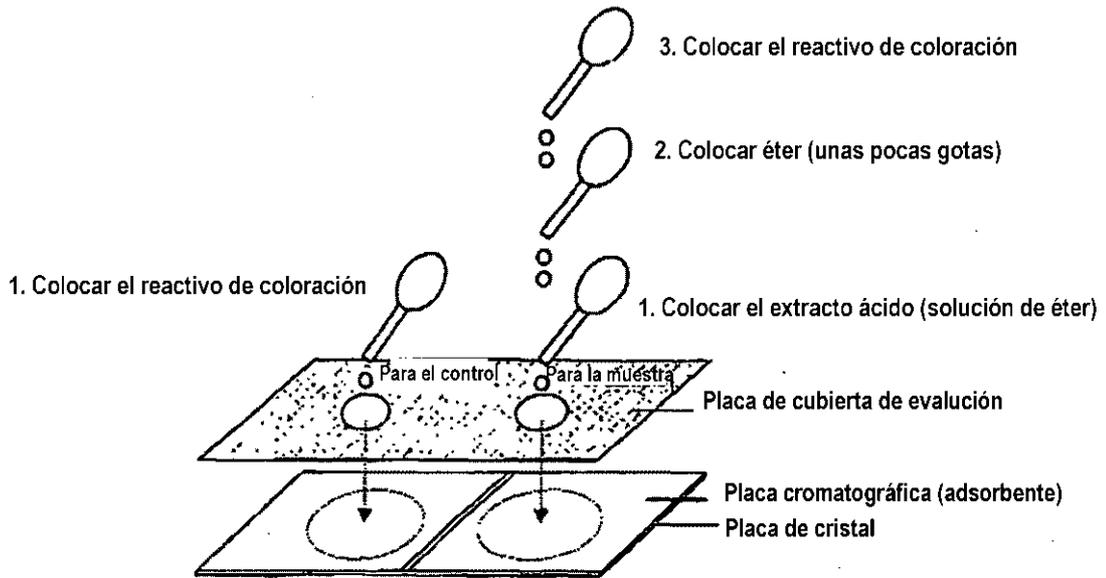
Procedimiento rápido y conveniente para examinar olor corporal  
utilizando la reacción de coloración

FIG. 9



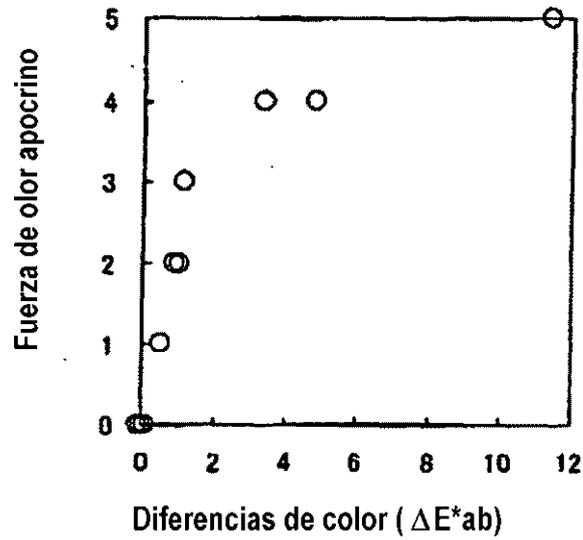
Ejemplo (1) de cómo se usa un kit para evaluar convenientemente el olor corporal

FIG. 10



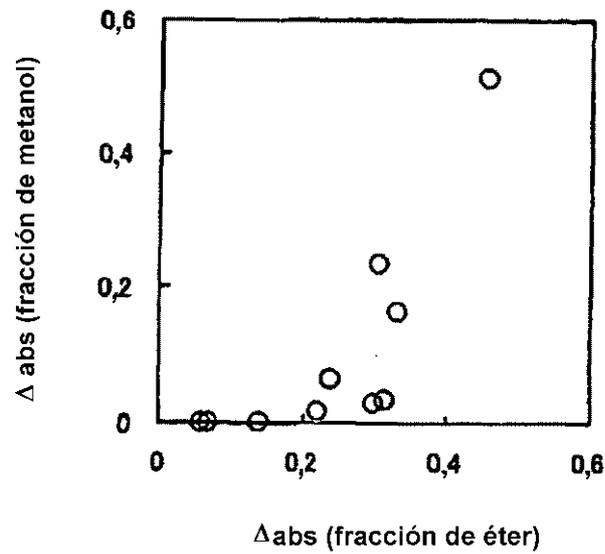
Ejemplo (2) de cómo se usa un kit para evaluar convenientemente el olor corporal

FIG. 11



Relación entre la fuerza de olor apocrino y las diferencias de color

FIG. 12



Absorbancia de fracción de metanol y fracción de éter