

平成 21 年 6 月 14 日現在

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2006～2008

課題番号：18500232

研究課題名（和文） 計算化学と官能評価によるヒトが感じる匂い情報の解析

研究課題名（英文） Analysis of odor information for human by computational chemistry and by olfactory evaluation

研究代表者

吉井 文子 (YOSHII FUMIKO)

木更津工業高等専門学校・基礎学系・准教授

研究者番号：80413748

研究成果の概要：ヒトが感じる匂いの情報とその伝達機構の解明のため、香料についての情報収集と集積、コンピュータを利用した香料分子の化学的特徴の計算、ヒトが感じる複合臭の測定方法の検討等を行い、匂いを有する分子の特徴とヒトが感じる匂いとの関係を調べた。その結果、計算で求めたスペクトルを含む分子の化学的特徴は、匂いの実験に用いる分子の選択、匂いの快・不快度の違いの説明、匂いの質の判別等に利用できる可能性を示した。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2006年度	1,600,000	0	1,600,000
2007年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2008年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
総計	3,600,000	600,000	4,200,000

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：情報学・生体生命情報学

キーワード：(1)生体生命情報学 (2) 計算化学 (3)匂い分子 (4)混合臭 (5)官能評価

1. 研究開始当初の背景

匂い受容機構は、2004年にノーベル賞を受賞した Buck らの画期的論文 (Cell 65, 175-187 (1991) Buck, L. and Axel, R.) 以来、分子生物学的手法を用いて匂い物質の受容蛋白質での受容の詳細が解明されてきた。しかし、研究代表者は、受容蛋白質がどのように匂い分子を認識するのか、なぜ受容したという情報がG蛋白質を介して伝達されるのか、いまだ明確な要因は明らかになっていないと考える。そこで、この解明のひとつの方向性として、匂い分子の詳細な特徴解析と

実際にヒトに引起される匂いの感覚を測定することは、ヒトが感じる匂いの情報およびその伝達機構に、これまでになく有用な知見が得られると期待し研究に着手した。

2. 研究の目的

(1) 日本で流通し利用されており入手が比較的容易な香料を対象に、文献調査と計算による推算から匂い物質の物性データを収集・集積する。

(2) 計算化学的手法を用い匂い分子の化学

的特徴を解析する。特に、量子化学的に分子の特徴を計算し、電子構造などを明らかにする。

(3) 官能評価において被験者に混合臭を提示する際の簡便な方法（液体での提示、気体での提示）を検討し、匂いの混合により生じる匂いの変化を測定する。

以上のことから、匂い物質に関する化学的データと匂い混合時の官能評価データを蓄積し、嗅覚関連の基礎および応用研究に用いる匂い物質の選定の指針に役立てる。さらに、得られた計算および官能評価データから、これまでに明らかになっている嗅覚研究の知見の検討を行い、匂い受容機構の初期段階や脳における匂いの認知機構解明に貢献する。

3. 研究の方法

(1) 対象分子の物性データ収集および推算

対象分子に関する物性データについて、文献値（蒸気圧など）の実測値を検索する。入手できないものについてはコンピュータを利用して ChemOffice2006 の ChemPropPro による推算を行った。

(2) 匂い分子の化学的特徴の計算

日本で香料添加物として使用される 89 物質を検討し、このうち 86 分子を計算対象とした。ChemOffice2006 を利用し Mobile Workstation (Dell, Precision M20) 内で分子構造を構築した。得られた構造について、Conflex (ver. 6) を利用して MMFF94S 力場を用い、真空および水中の条件下で配座異性体解析を行った。

さらに、この最安定構造は、Gaussian03W (ver. 6.1) を利用し、MP2/6-31G+(d, p) または B3LYP/6-31G+(d, p) による真空または水中での構造最適化・静電ポテンシャルを反映する CHelpG 電荷・IR および Raman スペクトルを計算した。また、分子形状と化学的性質による重ね合わせ、静電ポテンシャル比較に、Rocs (ver. 2.2) と Eon (ver. 1.1) の利用も検討した。

(3) 匂いの官能評価

複合臭の官能評価を行うために、簡易的な市販芳香器（アロマジュール）およびスライズボトルを利用した混合臭の調製法、匂い物質の強度や提示法等を検討し、官能評価を実施した。

被験者は、パネル選定試験を実施し選択した。主に謝礼を支払った大学生 20 名と一部

ボランティアである。「ヒトを対象とする医学研究の倫理的原則」（ヘルシンキ宣言）を遵守した。

評価法は、A. 快・不快度評価（匂いの快・不快度を 10cm の矢印上に記入させる）、B. 類似度評価（匂いの類似度を 10cm の矢印上に記入させる）、C. Harper の匂い記述子を用いた評価（匂いの質を表す用語を選択させる）、D. 強度評価（基準臭と対比し、強度が近いと感じられる匂いを選択させる、または、匂いの強度を 10cm の矢印上に記入させる）を用いた。

4. 研究成果

(1) 計算結果

86 分子の配座異性体解析では、真空条件下で最安定配座異性体より 10 kcal/mol までエネルギーの高い異性体を選択したところ、得られた配座異性体が 1 個のみのものは 8 分子、配座異性体数が 10 までのものは 39 分子で全体の 45% を占めた（図 1）。

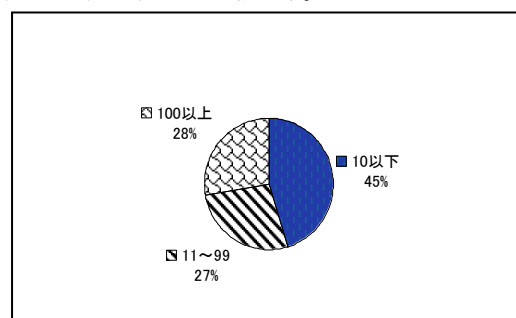


図 1 86 分子の配座異性体数の内訳

86 分子中 3 分子は、配座異性体数が 1 万を超え、ethyl decanoate (F52、今回作成しているデータベース内での通し番号) は、配座異性体数が最も多く、真空中で計算された配座異性体数は 15,346 個であった

得られた最安定配座異性体における最も離れた距離にある 2 原子間の距離を測定し、分子の大きさと考えると、大きさが最小の分子は、acetaldehyde (F1) で 3.1 オングストローム、最大の分子は ethyl decanoate (F52) で 17 オングストロームであった。解析条件（真空中、水中）の違いにより、得られた最安定配座異性体の大きさは、同一分子でも 1 割以上異なるものが 11 個あり、11 個中 8 個は真空条件より水条件の解析でより大きい配座異性体が検出された。真空中と水中での解析は、異なる配座異性体が最安定配座として選択される可能性があるが、非常に柔軟性が低い場合では、ほぼ同じ配座が得られた。

配座異性体数が 10 以下の比較的柔軟性の低い構造をもつ分子では、エネルギーから配座異性体の存在確率を求めると、1 個の配座

異性体の存在確率がほぼ 100%となるものは、真空でも水中条件でも同じ 8 分子であった。さらに、真空条件で 1 配座異性体の存在確率が 90%を超え、水中条件でも 2 つの配座異性体を合わせた存在確率が 100%になるものに加え、安全性等の点で官能評価に用いることができない化合物を除くと、計 12 分子(表 1、ID はデータベース内の通し番号)となった。

表 1 分子構造の柔軟性が低い化合物

ID	Compound (CAS Registry No.)
F3	acetophenone (98-86-2)
F47	1,8-cineol (470-82-6)
F53	2,3,5,6-tetramethylpyrazine(1124-11-4)
F58	<i>p</i> -methyl acetophenone (122-00-9)
F76	benzaldehyde (100-52-7)
F80	5-methylquinoxaline (13708-12-8)
F7	methyl anthranilate (134-20-3)
F42	methyl salicylate (109-94-4)
F49	cinnamic aldehyde (14371-10-9)
F57	vanillin (121-33-5)
F78	maltol (118-71-8)
F79	methyl <i>n</i> -methylantranilate (85-91-6)

以上から、日本で使用頻度が高い食品香料の約半数近くは、非常に配座異性体数が多いものではないこと、官能評価等の実験には、柔軟性が低い表 1 に示した 12 分子が適当であることがわかった。

非経験的分子軌道法 MP2/6-31G+(d, p) 計算は、20 分子で実施できず、メモリの増加や他の手法の利用が必要なことがわかった。密度汎関数法 B3LYP/6-31G+(d, p)では、最安定構造・IR および Raman スペクトルの計算をすべて終了できた。

(2) データベース作成

文献等、4 種類の情報(香料と調香の基礎知識、香料の化学、Standardized Human Olfactory Thresholds、Aldrich 2007-2008 カタログ)を利用し、記載されているデータを、データベースに集積した。また、ChemPropPro を利用し推算できるものはそれを加えた。

現在のデータベース記載内容は、図 2 に示した形式である。図 2 上部が 1 ページ目で(化合物名)(CAS 番号)(化学式)(示性式)(分子量)(沸点)(融点)(引火点)(水溶性)(親油性)(フレーバー匂い、味)(フレーバ強度)(室温での性状)(蒸気圧)(分子の大きさ)(2 次元構造)(3 次元構造)を示し、図 2 下部は 2 ページ目で(配座異性体解析結果)(ダイポールモーメントと電荷を書き込んだ最安定構造)(計算した IR スペクトル)(計算した Raman スペクトル)を示す。デ

ータベース作成が予定通り進行しなかったため、入力・確認後、今年度 9 月に、Web に載せに公開することを予定している。

(URL : <http://homepage2.nifty.com/odour/>)

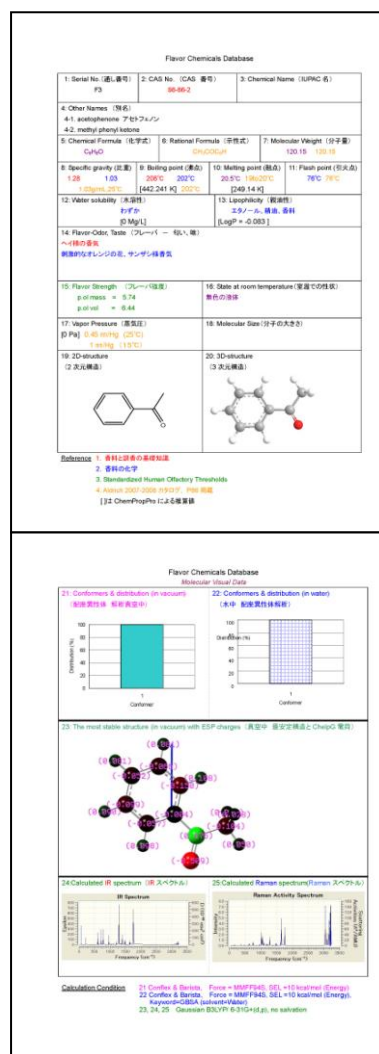


図 2 データベース記載例 acetophenone (F3)

(3) 官能評価

計算結果を検討し、官能評価には表 1 から化合物を選択した。

市販芳香器による混合臭の提示を検討した。30cm の導入チューブを機器に接続し、提示時間は 20 秒間連続で自由に匂いを嗅いでもらい、1 容器に入れる溶液量は原液は 100 μ l とし、強度調整し流動パラフィンに溶解または分散させた場合は 1ml とした。希釈による匂いの強度調整は、酢酸イソアミル(濃度 8.7 g/L)を基準とし、スクーズボトルを用い 5 名の被験者の結果により決定した。

2 化合物または 3 化合物を用い、混合割合

を変化させ、被験者の感じる快・不快度の変化、強度の変化を測定した結果、個人の再現性、パネル全体の平均値の再現性を定量的に得ることが難しかった。PC で流量のみをコントロールし匂いの放出量を変化させているが、化合物の室温での揮発性に差異があり、放出される匂い分子の量が十分に制御できていないこと等が原因と考えられる。

ただし、単独でやや不快と感じられる 5-methylquinoxaline (F80) を他の 3 種の匂い (F3、F47、F58) 各々に混合した場合、不快度が増加する傾向は認められた。また、これら 4 化合物から 3 化合物を選択して混合した場合、F80 を含まないと不快度が低くなった。さらに、単独で匂いの類似度および記述子評価を実施したところ、F80 の匂いは他のどの化合物とも似ていないこと、F3 と F58 の匂いは比較的似ていることがわかった。

芳香器ではなく、スクイーズボトルを利用して 2 種の匂いを混合する実験も行った。この場合、事前に行った強度評価をもとに決定した強度 1 種を用いたが、個人差・当日の体調により、成分強度を一定に感じられず、2 種の匂いの質というより 2 種の匂いの強度に左右される傾向を認めた。スクイーズボトルを利用した 2 種の匂い成分混合でも、混合により感じる変化を測定することは難しかった。

芳香器やスクイーズボトルの利用では期待するような結果が得られなかったこと、両方とも空気刺激が加わる提示法の問題点も考えられることから、単独臭を非常に単純にサンプルビンに入れ、自然に揮発する匂いを評価する方法も検討した。その結果、サンプルビンを用いても、芳香器を用いた 4 化合物の官能評価と同様に、F3 と F58 間にある程度の匂いの類似性を認め、方法が異なっても結果が一致することがわかった。また、F53、F57、F78 間にある程度の匂いの類似性を認めた。

混合臭のように微妙な感覚の変化を捉えることは簡易的な機器では難しく、精密な制御が行える機器や脳での変化の測定と組み合わせた解析が必要である。ただし、ヒトが感じる各化合物の匂いの差異または類似性は、今後の匂いと分子との関連や認知機構の解明に向けて必要な情報である。これは簡易的な方法を用い、複数の評価法と組み合わせ、被験者数を増加させることで傾向がつかめる可能性があり、継続の有効性を認める。

(4) 計算と官能評価の関連性検討から

計算で得られた結果、他の研究者の嗅覚関連実験の結果、官能評価の結果から、以下の 3 点①～③を認めることができた。

- ① 嗅覚実験に利用する分子選択の指針に、計算で求められる分子の化学的特徴が役立つ

Zou と Buck (Science vol. 311, 1477-1481, 2006) の実験から提出した嗅上皮から嗅皮質に至る匂い情報の伝達モデルを、実験で使用された混合臭 3 種を構成する匂い物質 6 種 (2,3-dimethylpyrazine, eugenol, methylamine, *p*-menth-1-en-8-yl methyl ether, vanillin, ethyl butyrate) に着目し検討し、等電子密度面に静電ポテンシャルの値を図示した画像から、各成分分子同士の静電的特徴の差異、複数の官能基がある場合には受容体による認識に重要と考えられる部位を確認できた。また、Zou と Buck の実験に用いられた各混合臭を構成する化合物は、匂いの質が異なるだけでなく分子構造・静電的特徴もある程度異なるものを組み合わせた匂いの混合実験であることが確認できた。しかし、用いられた *p*-menth-1-en-8-yl methyl ether は鏡像異性体が存在し、入手も困難で、嗅覚実験に用いる化合物としては不適切と考えられる。

- ② 匂いの快・不快度の違い、匂い混合による匂いの変化の説明に、計算で求めた分子スペクトル (IR と Raman) が利用できる可能性がある

官能評価では表 1 に示した F80 がやや不快な匂いであったが、分子中の電荷、分子の大きさ、親油性の特徴などからは、説明できなかった。匂いに類似性があると評価された F3 と F58 は、電荷、計算による IR および Raman スペクトルに類似性、相関性があつた。また、分子構造にも共通部分があつた。F3、F47、F58 のスペクトルの総和をとり、F80 のスペクトルと重ねて比較したところ、F80 には 3 化合物のスペクトルではカバーできない部分があり、F80 の匂いを反映する特徴に関連する可能性がある。

- ③ 匂いの質の判別にスペクトルを利用できる可能性がある

計算で求められる IR および Raman スペクトルに着目し、匂いに類似点のある 2 化合物で相関係数が高くなるようなデータ処理を検討した。表 1 から選んだ 10 化合物について、IR および Raman スペクトル、静電ポテンシャルを反映する電荷 4 種、最小の電荷を示す原子と最大の電荷を示す原子の距離、分子の大きさを利用し、クラスター分析を行った。この分類結果は、官能評価で求めたクラスター分析結果と完全には一致しなかったが、類似の傾向も認められた。計算で求めら

れる IR および Raman スペクトルは、匂いの質と相関性研究に活用可能なパラメータと考えられる。

計算した 2 種のスペクトルで十分か、今後とも官能評価の結果とつぎ合わせた検討が必要であるが、匂い分子の混合を表現し、匂いの質を分子の特徴から説明することには魅力があり、さらに検討すべきものとする。

嗅受容蛋白質が G 蛋白質を活性化する経路について、匂い分子そのものからの検討は未だ遠いものがあるが、生体内での物質の受容および情報伝達に、静電的な相互作用や生体内の電位変化が関与することを考えると、イオンおよび電子が大きく関わることは確かである。匂い分子の電子構造の解明を引き続き行い、匂い受容機構に関連する周辺の化学物質についても今後検討を加えたい。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 1 件)

- ① 吉井文子、米村恵一、萩原久大、鷹野景子、匂い分子の解析と官能評価による混合臭の研究、日本味と匂学会誌、15 巻 647-648、2008、査読有

[学会発表] (計 3 件)

- ① 吉井文子・米村恵一・萩原久大・鷹野景子、計算化学を用いた香料分子の特徴解析と IR・Raman スペクトルの分子-匂い相関性研究への適用、日本化学会第 89 春季年会、2009 年 3 月 27 日、日本大学・理工学部 (千葉)
- ② 吉井文子・米村恵一・萩原久大・鷹野景子、匂い分子の解析と官能評価による混合臭の研究、日本味と匂学会第 42 回大会、2008 年 9 月 18 日・19 日、富山市民プラザ (富山)
- ③ 吉井文子・鷹野景子、匂い分子の電子構造に着目した匂いの組み合わせ効果、日本化学会第 87 春季年会、2007 年 3 月 26 日、関西大学 (大阪)

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○ 出願状況 (計 0 件)

○ 取得状況 (計 0 件)

[その他]

6. 研究組織

(1) 研究代表者

吉井 文子 (YOSHII FUMIKO)
木更津工業高等専門学校・基礎学系・准教授
研究者番号：80413748

(2) 研究分担者

2006 年度-2007 年度

米村恵一 (YONUMURA KEIICHI)
木更津工業高等専門学校・情報工学科・講師
研究者番号：90369942

鷹野景子 (TAKANO KEIKO)
お茶の水女子大学・大学院人間文化創成科学研究科・教授
研究者番号：00143701

(3) 連携研究者

2008 年度

米村恵一 (YONUMURA KEIICHI)
木更津工業高等専門学校・情報工学科・講師
研究者番号：90369942

鷹野景子 (TAKANO KEIKO)
お茶の水女子大学・大学院人間文化創成科学研究科・教授
研究者番号：00143701