

令和 2 年 7 月 9 日現在

機関番号：82110

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2016～2019

課題番号：16H04928

研究課題名(和文)食品の水和構造の可視化と分子運動性の解析による、水分活性が意味する水和状態の解明

研究課題名(英文) Visualization of food hydration structure and analysis of molecular mobility to elucidate the hydration state implied by water activity

研究代表者

中川 洋(Nakagawa, Hiroshi)

国立研究開発法人日本原子力研究開発機構・原子力科学研究部門 原子力科学研究所 物質科学研究センター・研究副主幹

研究者番号：20379598

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,500,000円

研究成果の概要(和文)：中性子準弾性散乱による分子運動性の解析や水和構造の可視化により、食品中の水の物理化学的状态や食品と水との相互作用を調べ、水分活性が意味する水和状態の一端を解明した。具体的には、これまで水分活性は自由水や結合水といった定性的な用語で説明されていたが、それぞれの状態が水素結合を介した水和水のネットワーク構造の違いとして区別できることを示した。またそれぞれの状態を水の拡散係数や水素結合寿命で定量的に説明した。さらに、水和状態の変化が食品分子のガラス転移の有無と連動することを見出した。一方で、多様な分子構造を持つ食品の水分活性の統一的理解には、ミクロ構造との関連性が重要であることが分かってきた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

水分活性は食品の保存性や品質を評価する実用的な指標であり、その有効性は広く認められており、食品加工などの現場で既に利用されている。しかしながら、水分活性がなぜそのように食品の状態をうまく指標化できているのかなどについての学術的な観点からの研究は不十分な点が多い。本研究で解明した水分活性が意味する食品の水和状態を参照することによって、これまでと違った観点から水分活性の利用ができたり、食品の品質についてこれまで以上情報が引き出せたりできるようになる可能性を秘めている。

研究成果の概要(英文)：By analyzing the molecular mobility of water molecule and visualizing the hydration structure using quasi-elastic neutron scattering, we investigated the physicochemical state of water in food and the interaction between food and water, and elucidated a part of the hydration state implied by water activity. Specifically, although water activity has been described in qualitative terms such as free water and bound water, it was shown that each state can be distinguished as a difference in the network structure of hydration water via hydrogen bonding. Each state was also quantitatively explained by the diffusion coefficient of water and the hydrogen bonding lifetime. Furthermore, we found that the change in hydration state was closely related to the presence or absence of a glass transition in the food molecules. On the other hand, the relationship with the food microstructure was also found to be important for a unified understanding of the water activity of foods.

研究分野：食品物理学

キーワード：水分活性 食品物理学 ガラス転移 中性子散乱 水和

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

水分活性は1950年代にW.J.Scottによって導入され、食品と純水の水蒸気圧の比として厳密に定義された、食品の保存性や品質を評価する熱力学量である。一方、水分活性が意味する食品中の水の状態は、水分収着等温特性で分類された結合水や自由水などによる定性的な説明にとどまっており、水の物理化学特性と水分活性との関係性はあいまいな点が多い。中性子非弾性散乱実験は、このような食品の水の状態を調べるのに有効な研究手法であると考えられる。

2. 研究の目的

水分活性が意味する水の状態は、自由水、結合水などの用語で説明されている一方で、BETの吸着式からは単分子層吸着水や多分子層吸着水という異なる描像で説明され、統一的には理解されていない。本研究では、このようなあいまいだった水分活性の物理化学的な意味を明確にすることが目的である。そのため、分子運動性の解析や水和構造の可視化ができる中性子非弾性散乱と分子シミュレーションの融合解析により、食品中の水の物理化学的状态や食品と水との相互作用を調べ、水分活性が意味する食品の水の状態を解明する。そして、水分活性から保存性や食感といった食品機能物性を予測するための分子論的基礎を確立する。

3. 研究の方法

本研究では、熱分析や各種分光学的手法の他、中性子非弾性散乱実験や分子シミュレーションにより食品の水の状態を解析した。水分量・温度などのパラメーターを変えることで、食品の水の状態やガラス転移の研究を系統的に行った。本研究では、蛋白質や糖類(澱粉)等について、分子構造・形態の異なる試料を用いて研究を行った。食品分析のオーソドックスな手法(水分収着等温線測定、水分活性測定等)と、申請者独自の手法(中性子非弾性散乱と分子シミュレーション等)を組み合わせることで研究を行った。

4. 研究成果

様々な水分活性に対応する水分量で行った蛋白質の分子シミュレーション結果から、水分活性の増加に伴って変化する水和水の動態を解析した。その結果、水分活性の増加に伴って水素結合を介した水和水クラスターが蛋白質表面で大きくなり、そのような水素結合状態の変化が水素結合の寿命に関係していることが分かった。この結果はさらに詳細な解析を行い、水分子が関与する水素結合のネットワーク状態によってそのダイナミクスが変化することが分かった。そして、そのような水分子の水素結合のつながりが本質的となる水和構造の状態が、水和水ダイナミクスの物性発現に重要であることが分かってきた。またこのような水素結合状態によって、水和水の並進拡散運動や回転拡散運動が変化することも明らかにした。また、中性子準弾性散乱により水和水やバルク水のスペクトルの解析を行った(図1)。その結果、分子シミュレーションで解析したような水和水ダイナミクスの変化を中性子準弾性散乱で確認することができた。さらにこのような変化はバルク水では見られないことを確認し、蛋白質表面で束縛されることで発現する水に特徴的な動態の存在を示唆する結果が得られた。このような食品分子との相互作用で変化する水素結合ダイナミクスの不均一性が、水分活性の解釈に重要と示唆される。一連の解析から、蛋白質水和水の水素結合ネットワーク形成が水和水ダイナミクスに関係し、それが水分活性と相関があることを見出した。すなわち、これまで水分活性は自由水や結合水といった定性的な用語で説明されていたが、それぞれの状態が水素結合を介した水和水のネットワーク構造の違いとして区別できることを示した。またそれぞれの状態を水の拡散係数や水素結合寿命で定量的に示すことに成功した。さらに、水和状態の変化が食品分子のガラス転移の有無と連動することを明らかにした。中性子準弾性散乱による分子運動性の解析や水和構造の可視化により、食品中の水の物理化学的状态や食品と水との相互作用を調べ、水分活性が意味する水和水状態の一端を解明したと言える。

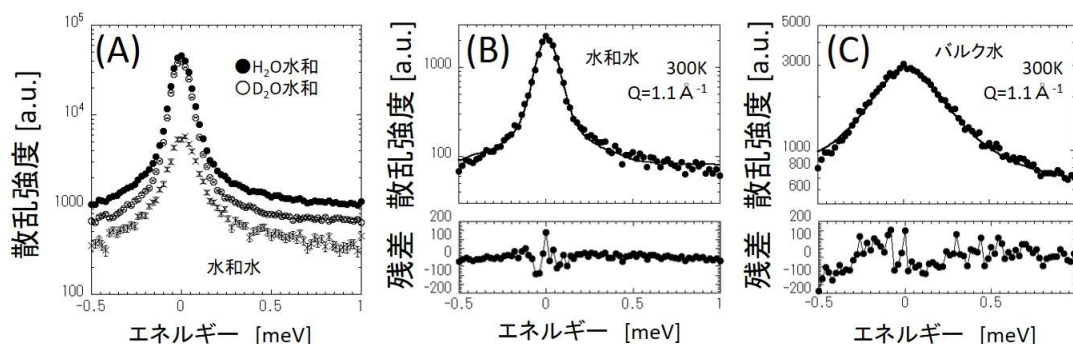


図1. (A)H₂O 水和蛋白質と D₂O 水和蛋白質、及び水和水の中性子準弾性散乱スペクトル。(B) 水和水と(C)バルク水の中性子準弾性散乱スペクトルと拡散モデルによるフィッティング解析結果

またこのような水分活性と水和水ダイナミクスの関係性について、近赤外分光法による解析にも着手した。近赤外分光はポータブルな計測も容易であるため、この分析により食品の水分状態を解明できれば、応用研究としての波及効果も大きい。予備的な近赤外分光測定においては、水和水由来と思われるシグナルを検出することができた。この近赤外分光実験では、測定試料環境として拡散反射法を利用することでより高品質なシグナルを検出できることが分かった。この近赤外分光スペクトルには水の水素結合状態の違いなどに関する情報が含まれている可能性があるが、水素結合ダイナミクスの不均一性由来して、様々な状態の水和水由来のスペクトルが重なり合っていると見えていられる。現在のところスペクトルの解析方法やデータ解釈については考察中であるが、今後、水分活性の変化に伴うスペクトル変化を総合的に解釈することで水和水の不均一状態の解析につなげていくことが重要である。

グリセロールと水の2成分系混合物は、その混合割合を変えることで水分活性を制御できる。そこで、水分活性が意味するグリセロール水溶液中の水の状態を明らかにするために、この混合物を用いて、水分収着等温線を基軸に、示差走査熱分析法、赤外分光法、中性子準弾性散乱法で水分状態を調べた。その結果、水分子の拡散ダイナミクスが水素結合の分子振動と相関があることを見出した。さらに重要なことに、グリセロール水溶液の水分活性は、溶液中の水の水素結合状態と水のダイナミクスで説明できることを見出した。一連の研究では、水分収着等温線で分類される領域が、中性子準弾性散乱で解析される水のダイナミクスを指標として分類される領域に対応することが分かり、熱力学量である水分活性と水の分子運動性との相関を見出すことができた(図2)。これらの結果は、食品に含まれる水の研究に中性子準弾性散乱が有効であることを示した結果であるとも言える。また興味深いことに、図2の領域bでは、示差走査熱量計(DSC)測定において-100 程度までの冷却過程では水の凍結は見られないが、一旦冷却後に昇温過程において水の凍結が見られた。領域bでの水分状態にある食品は、中間水分食品と呼ばれることもあり、食品中の水の解析において、今後の研究において重要な視点となる。

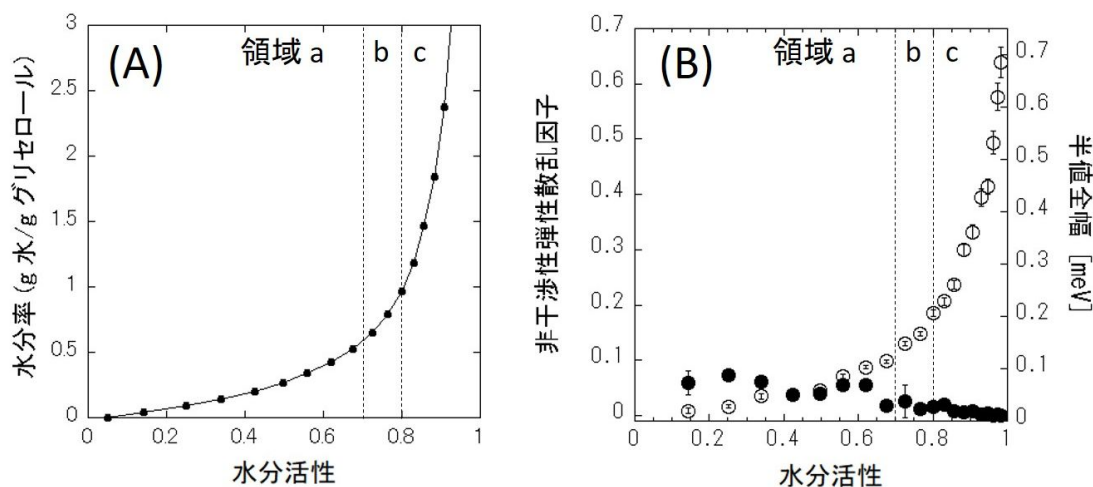


図2. (A) グリセロールと水の2成分系混合物の水分収着等温線。(B) 中性子準弾性散乱で求めたグリセロール水溶液中の水の非干渉性散乱因子と準弾性散乱の半値全幅の水分活性依存性。半値全幅の大きさは、水の拡散係数の大きさに対応する。

澱粉のDSC測定では、水分量が増加すると、転移温度が低下する傾向にあることを確認した。また食品中の水について近赤外領域で透過法による測定を行い、試料の自由水と結合水のピークの高さの比による解析から、試料の水分量の低下に伴い水分子のクラスターが減少することを示唆する結果が得られた。水分量の変化と水分子のクラスター形成とが関係していることを示唆する結果と言える。これらの結果から、水分量変化に伴う食品中の水のダイナミクスの計測の重要性が確認された。また中赤外領域には、水の 3350cm^{-1} 付近のOH基の吸収が確認され、今後、この領域でも食品中の水の分析が進められることを確認した。澱粉の糊化に伴う分子運動性の変化を中性子準弾性散乱により測定した(図3)。1回目の加熱では糊化に伴う中性子スペクトルの変化を330K辺りに確認できたが、2回目の加熱では変化が見られなかった。DSCの測定でも、2回目の加熱では糊化は観測されなかったため、ここで観測されたスペクトル変化は、糊化に伴う分子運動変化を検出していると考えられた。今後は、DSC測定や赤外分光測定の結果と合わせて、澱粉中の水の分子運動状態が澱粉の糊化にどのように関与するかの解析を進めていく。

以上のように、様々な実験手法や分子シミュレーションによる解析結果などと総合して水和水状態を解析していくという研究から、水分活性変化に伴う各研究手法の解析データに食品中の水の物理化学的状態についての相関性が見えてきており、今後もこのような解析が重要であると考えられる。さらにこれら研究を通じて、多様な分子構造を持つ食品の水分活性を統一的に理

解するためには、ナノからメゾスコピック領域の空間スケールの分子構造との関連性を調べる必要が見えてきた。今後は、食品のミクロ構造動態の解析から、水分状態を分子構造と結びつけ、水和状態も含めた食品の分子構造の全貌を水との相互作用から解明したいと考えている。

本研究では、農業関係の研究機関等からの問い合わせもあり、研究会などでの依頼講演なども行った。本テーマは食品科学の基礎研究であると言えるが、応用研究への展開が大きく期待できる成果である。

中性子準弾性散乱スペクトル

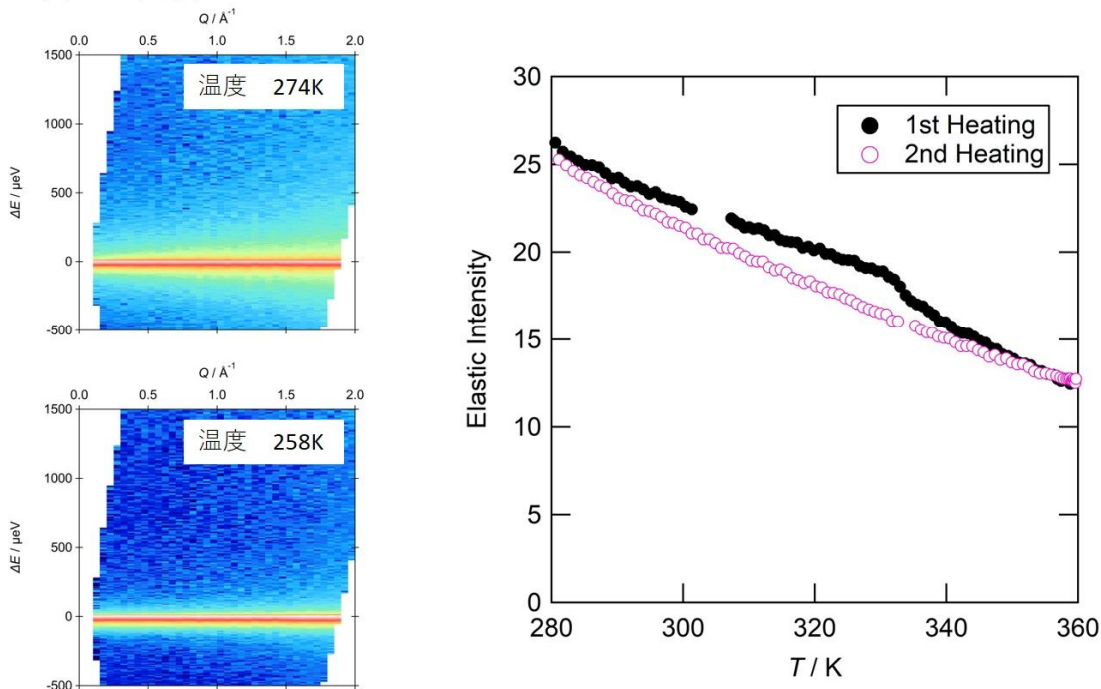


図3. (左)澱粉水溶液の中性子準弾性散乱スペクトルと、(右)1回目及び2回目の加熱に伴う弾性散乱強度の温度変化。1回目の加熱では、330K(57℃)辺りに糊化に伴う分子運動の変化が見られるが、2回目の加熱では見られない。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計12件（うち査読付論文 12件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 中川洋	4. 巻 7・8
2. 論文標題 食品の水分活性～中性子散乱による食品のミクロ構造解析と干し芋サイエンス～	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 明日の食品産業	6. 最初と最後の頁 23-30
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 H. Seto, S. Itoh, T. Yokoo, H. Endo, K. Nakajima, K. Shibata, R. Kajimoto, S. Ohira-Kawamura, M. Nakamura, Y. Kawakita, H. Nakagawa, T. Yamada	4. 巻 1861
2. 論文標題 Inelastic and quasi-elastic neutron scattering spectrometers in J-PARC	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Biochimica et Biophysica Acta	6. 最初と最後の頁 3651-3660
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.bbagen.2016.04.025	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 中川洋、片岡幹雄	4. 巻 13
2. 論文標題 中性子で展開される生命科学研究とその周辺のサイエンス	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 日本加速器学会誌「加速器」	6. 最初と最後の頁 214-219
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Nakagawa Hiroshi, Joti Yasumasa, Kitao Akio, Yamamuro Osamu, Kataoka Mikio	4. 巻 117
2. 論文標題 Universality and Structural Implications of the Boson Peak in Proteins	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Biophysical Journal	6. 最初と最後の頁 229～238
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.bpj.2019.06.007	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Nakagawa Hiroshi、Oyama Taiji	4. 巻 7
2. 論文標題 Molecular Basis of Water Activity in Glycerol?Water Mixtures	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Frontiers in Chemistry	6. 最初と最後の頁 731
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fchem.2019.00731	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Nakagawa Hiroshi、Kataoka Mikio	4. 巻 16
2. 論文標題 How can we derive hydration water dynamics with incoherent neutron scattering and molecular dynamics simulation?	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Biophysics and Physicobiology	6. 最初と最後の頁 213 ~ 219
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2142/biophysico.16.0_213	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Nakagawa Hiroshi、Kataoka Mikio	4. 巻 1864
2. 論文標題 Rigidity of protein structure revealed by incoherent neutron scattering	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects	6. 最初と最後の頁 129536 ~ 129536
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbagen.2020.129536	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 H. Nakagawa, Y. Yonetani, K. Nakajima, S. Ohira-Kawamura, T. Kikuchi, Y. Inamura, M. Kataoka and H. Kono	4. 巻 -
2. 論文標題 Sequence-dependent hydration water dynamics of dodecameric DNA	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 the Proceedings of the 3rd J-PARC Symposium (J-PARC2019)	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yonetani Yoshiteru, Nakagawa Hiroshi	4. 巻 749
2. 論文標題 Understanding water-mediated DNA damage production by molecular dynamics calculation of solvent accessibility	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Chemical Physics Letters	6. 最初と最後の頁 137441 ~ 137441
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.cpllett.2020.137441	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 杉山正明、井上倫太郎、中川洋、齊尾智英	4. 巻 30
2. 論文標題 中性子溶液散乱-現在・過去・未来	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 波紋	6. 最初と最後の頁 16-25
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計23件 (うち招待講演 9件 / うち国際学会 6件)

1. 発表者名 Hiroshi Nakagawa
2. 発表標題 Protein dynamics and hydration by NIS
3. 学会等名 Dynamics of biomolecules and hydration water and neutron scattering (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 中川洋
2. 発表標題 中性子分光法による生体物質ダイナミクス研究
3. 学会等名 QST高崎研オープンセミナー (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 中川洋
2. 発表標題 でんぶんの構造物性研究と干し芋サイエンス
3. 学会等名 「生物の環境適応と分子科学」研究会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 中川洋
2. 発表標題 中性子散乱と計算機シミュレーションによる蛋白質の水和構造と分子運動性の解析
3. 学会等名 日本食品科学工学会第64回大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Hiroshi Nakagawa
2. 発表標題 Protein dynamics in viscosity solvent by neutron backscattering spectrometer
3. 学会等名 Frontier of Protein Dynamics Research
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Hiroshi Nakagawa
2. 発表標題 Analysis of protein domain dynamics by integrating of neutron scattering and computer science
3. 学会等名 第55回日本生物物理学会年会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 中川洋
2. 発表標題 食品タンパク質の水分活性と水和のミクロ構造
3. 学会等名 関東東海北陸農業試験研究推進会議（招待講演）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Hiroshi Nakagawa
2. 発表標題 Protein dynamics studied by quasi-elastic neutron scattering and molecular dynamics simulation
3. 学会等名 The 8th Taiwan-Japan Joint Meeting on Neutron and X-ray Scattering（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Hiroshi Nakagawa
2. 発表標題 Glass transition and hydration of food protein studied by inelastic neutron scattering
3. 学会等名 Neutrons and Food 2016（国際学会）
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 中川洋
2. 発表標題 蛋白質の水和と水素結合ダイナミクス
3. 学会等名 第61回低温生物工学会大会
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 中川洋
2. 発表標題 中性子非弾性散乱による食品タンパク質の水和とガラス転移の解析
3. 学会等名 日本食品科学工学会第63回年会（招待講演）
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 中川洋、 片岡幹雄
2. 発表標題 中性子散乱による生体分子の構造ダイナミクス研究
3. 学会等名 日本物理学会 第72回年次大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Hiroshi Nakagawa
2. 発表標題 Correlative dynamical analysis of bio-molecules - quasi-elastic neutron scattering and computational analysis
3. 学会等名 Neutron Biology for Next Generation - staring at future - (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 中川洋
2. 発表標題 非干渉性中性子準弾性散乱による生体物質の相転移と分子運動性の解析
3. 学会等名 第2回LLPS研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 H. Nakagawa
2. 発表標題 Water activity and glass transition of food protein studied by inelastic neutron scattering and molecular dynamics simulation
3. 学会等名 8th International Symposium on "Delivery of Functionality in Complex Food Systems (国際学会)"
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 中川洋、渡辺万里
2. 発表標題 干し芋の水和状態・ミクロ構造と保存性・食感の関係
3. 学会等名 つくばソフトマター研究会2019
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 中川洋
2. 発表標題 タンパク質構造の硬さ・柔らかさと水和水ダイナミクス
3. 学会等名 ATI水とナノ構造研究会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 中川洋
2. 発表標題 中性子準弾性散乱による蛋白質の拡散運動と構造揺らぎの解析
3. 学会等名 蛋白質研究所セミナー (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 中川洋
2. 発表標題 蛋白質ダイナミクスに対する水和・圧力・温度効果
3. 学会等名 生物の環境適応と分子科学
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 H. Nakagawa, T. Saio, T. Oda, M. Sato, R. Inoue, M. Sugiyama, T. Tominaga and Y. Kawakita
2. 発表標題 QENS of protein solutions measured by the TOF near Backscattering Spectrometer DNA
3. 学会等名 第3回J-PARCシンポジウム(国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 中川洋
2. 発表標題 中性子非弾性散乱・準弾性散乱と分子シミュレーションによる蛋白質ダイナミクスの解析
3. 学会等名 CBI学会2019年大会(招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 中川洋
2. 発表標題 中性子準弾性散乱で解析する食品中の水の物理化学
3. 学会等名 PF研究会「量子ビームを活用した食品科学」(招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 中川洋
2. 発表標題 中性子準弾性・非弾性散乱による生体物質の構造物性ダイナミクス研究
3. 学会等名 2019年度MLFシンポジウム
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----