

平成 26 年 5 月 30 日現在

機関番号：82110

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2011～2013

課題番号：23650469

研究課題名(和文)食品の保存性と食感を決める水の物理化学

研究課題名(英文)Chemical physics of water detemining food preservation and texture

研究代表者

中川 洋(NAKAGAWA, Hiroshi)

独立行政法人日本原子力研究開発機構・原子力科学研究部門 量子ビーム応用研究センター・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) 2,900,000円、(間接経費) 870,000円

研究成果の概要(和文)：軽水と重水のコントラストを活用した中性子非弾性散乱法により、食品タンパク質の水和水ダイナミクスを調べた。その結果、水分活性値は水和水のダイナミクスや水和構造と相関があることが分かった。また食品の食感とも関わるタンパク質のガラス転移は、水和水ネットワークの形成度合いと相関があることが分かった。これらの結果から、食品の保存性や食感は、食品に含まれる水の水和構造や水和水ダイナミクスと密接に関係することを示した。また中性子非弾性散乱実験法が水和やガラス転移に関連した食品分析の新たな分析手法として有効であることを示した。

研究成果の概要(英文)：We examined the hydration water dynamics of food protein by H/D contrast inelastic neutron scattering experiment. We found that the water activity is correlated with the hydration water dynamics and hydration structure in food. And the glass transition of protein, which is relevant to the texture of food, is correlated with the hydration water network. These results indicate that the food preservation and texture is highly relevant to hydration structure and hydration water dynamics in food, and inelastic neutron scattering is effective experimental method in food analysis, hydration and glass transition.

研究分野：食生活学

科研費の分科・細目：生活科学・食生活学

キーワード：食品と貯蔵 テクスチャー 中性子 水和 ガラス

1. 研究開始当初の背景

乾燥食品は、水分活性値を下げることで腐敗の原因となる微生物の増殖を抑えるとともに、ガラス状態にすることで食品の安定性を向上させている。食品のガラス化は食感とも関わり、食品の品質を決める重要な要因となる。しかし、食品中の水の物理化学的状態が、水分活性値やガラス転移とどのように関連しているかは不明な点が多い。

2. 研究の目的

本研究では、中性子散乱実験で得られる食品タンパク質中の水の動的挙動の情報から、水が食品の水分活性やガラス転移に与える影響を明らかにすることを目的とした。研究を通じて、中性子散乱による新たな食品分析法を確立するとともに、水が食品と相互作用することによって発現する食品機能特性(保存性と食感)の分子論的基礎を確立することを目指した。

3. 研究の方法

本研究では、タンパク質の水和研究のモデルタンパク質であるスタフィロコッカス・ノザンゼ(SNase)と食品タンパク質のモデルタンパク質としてニワトリ卵白リゾチーム(Lys)を用いて研究を行った。タンパク質中の水の動的挙動を調べるための中性子散乱実験は日本原子力機構保有の装置を利用した。水分活性測定には、ノバシーナ社製 LabSwift-aw の水分活性計を用いた。またタンパク質の水分量は、熱天秤によって決定した。

中性子散乱実験および水分活性測定に用いたタンパク質は、凍結乾燥後に適当な水蒸気圧にさらすことでタンパク質の水和量を制御したものを準備した。水和タンパク質は密閉容器の中に、塩飽和水溶液と凍結乾燥後の粉末タンパク質を入れて静置することで作成した。塩の種類によって決まる水蒸気圧

に応じてタンパク質の水和量を制御することができる。

4. 研究成果

本研究では、タンパク質表面に吸着する水の動的挙動と水分活性値との関連性を調べるとともに、タンパク質の水和とガラス転移の関係性の解明を目的として研究を進めた。

一般的に食品に含まれる水は、その存在状態によって結合水と自由水の2つに分類される。結合水は食品と水素結合により結びつき、分子運動が束縛されている。一方、自由水はタンパク質表面である程度自由に動くことができる水と考えられており、食品の腐敗などで増殖する微生物はこの自由水を使っていると考えられている。

水分活性は、食品中における微生物の育成に影響を及ぼす指標として、食品科学分野に導入されている。水分活性値は、食品中の水がどの程度束縛されているかを示すため、食品中の水の分子運動がその値に関わるとされている。しかしながら、実際の食品中の水分子の動的挙動と水分活性値の対応関係は不明な点が多い。そこで、水分量を段階的に変えたときのタンパク質の水和状態や水分活性値の変化を測定し、タンパク質に吸着した水分子の分子運動と水分活性値の関係性を調べた。

図1は、様々な湿度下でのタンパク質の水分量の変化を示した図である。この図から、湿度が約80%以上になると、水和量が急激に増加することが分かる。これは、化学ポテンシャルの高い水が急激に増加することを示している。一方でこれまでの研究で、水分量が0.37の閾値を越えるとタンパク質表面の水分子の動きが活発になることを中性子非弾性散乱実験から示してきた。また同時にこの閾値以下では水分子は孤立している傾向にあるのに対して、閾値を越えて水分量が増えると、水素結合を介した水和水ネットワーク

クがタンパク質表面に広がることが分かっている。この大きなネットワークを形成した水は化学ポテンシャルが高く、動きの活発な水、すなわち自由水であると考えられる。

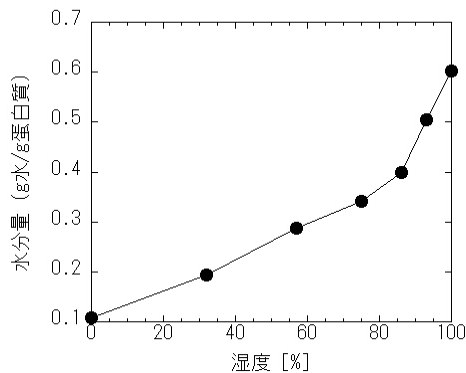


図 1.
SNase の湿度に対する水分量の関係

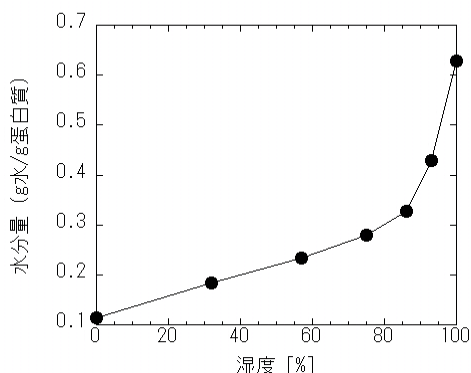


図 2.
Lys の湿度に対する水分量の関係

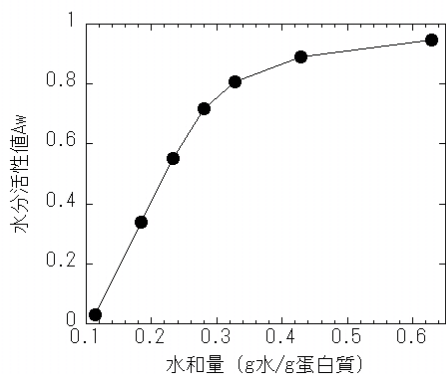


図 3.
ニワトリ卵白リゾチームの水分量と水分活性の関係

図 2 は、様々な湿度下でのニワトリ卵白リゾチームの水分量の変化を示した図である。結果は SNase と同様、湿度約 80%以上で急激に水分量が増加している。このことは、上記の議論より、湿度約 80%以上で自由水が現れることを意味する。リゾチームの場合も SNase とほぼ同じ水分量で自由水が現れることが分かった。これは、両者のタンパク質の分子量はほぼ同じであることが原因であるかもしれない。

図 3 は、リゾチームの水分活性値の水和量依存性を示した図である。水分量が高いときには水分活性値は 0.8 以上であるが、上述の閾値の水分量(0.37)を下回り、自由水がなくなると急激に水分活性値が小さくなることが分かる。これはタンパク質表面の水のネットワークが崩壊して、水の運動性が低くなると、水分活性値が急激に小さくなることを示している。また閾値以上の水分量でガラス転移が顕著に観測されることから、タンパク質のガラス転移が生じるには、自由水が必要であることが分かった。

次に、水和水の運動性と水分活性値の関係をより発展的に調べるために、塩添加に伴うタンパク質の水和水の動的挙動と水分活性値の変化の関係を調べた。

0-2 重量%で NaCl を添加したリゾチームを高湿度雰囲気下で静置し水和させた。図 4 に示すように、NaCl の量の増加に伴い水分量が増加した。一方で、これらの水分活性値は約 0.9 程度でほぼ同じであった。このことから、同じ水分活性値であっても、NaCl を添加したほうが、より多くの水分量を保持できるといえる。水分活性値が水の分子運動性と相関があるならば、水和量が変化しても、水分活性値が同じであれば、吸着している水の動的挙動はあまり変わらないはずである。そこで、リゾチームに NaCl を添加した際の水分子の動的挙動を中性子散乱実験によって調べた。

H₂O と D₂O で水和させたタンパク質の中性子散乱スペクトルのコントラストから、水和水だけの散乱を抽出することで、塩添加によるタンパク質水和水の運動性の変化を調べた。水和水からの散乱スペクトルをローレンツ関数を用いてフィッティングし、その半値幅()を求めた結果が、図5である。半値幅の NaCl 添加量の依存性は、解析誤差範囲内で同じである。半値幅は、拡散定数に関連付けられる。この結果から、保持している水の量が増加したとしても、NaCl が添加されることで、その水の拡散的な動的挙動はほとんど変わらず、またその結果として水分活性値もほとんど変化しないと考えられる。

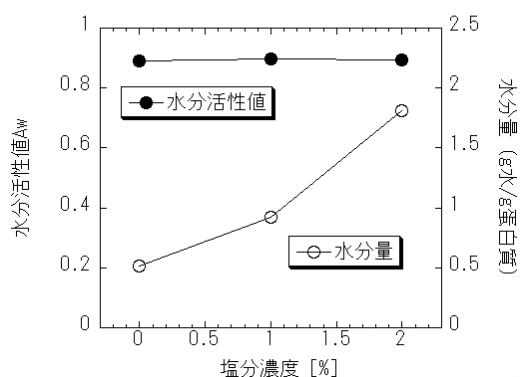


図4. ニワトリ卵白リゾチームの水分量と水分活性の関係

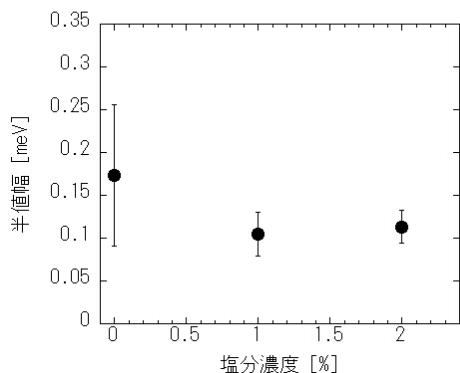


図5. ニワトリ卵白リゾチームの水分量と水分活性の関係

[今後の課題・展開]

本研究では、中性子非弾性散乱を活用することで、水分活性値と水分子の動的挙動との関係や、それに対する塩の影響を調べた。その結果、タンパク質表面の自由水の運動性の高さを示すことができ、これと水分活性値との相関性を示すことが出来た。中性子散乱実験を用いた食品タンパク質の水分活性値の分子メカニズムの解析は、これまで国内外とにもない。水の動的挙動と水分活性値に対する塩の影響についての研究では、タンパク質の水和状態に対して塩が影響し、水の動的挙動が抑制されることを示唆する結果を得ることができた。また本研究を通じて、タンパク質のガラス転移も水含量と深く関係していることを見出した。

本研究成果に基づき、今後、食品保存や食感などの食品の機能発現における水の役割をより詳細に明らかにしていくことは、食品の品質管理において重要な研究テーマになると考えており、このような研究に中性子非弾性散乱が有効な手法のひとつとなると考えられる。

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6件)

中川洋、片岡幹雄、中性子非弾性散乱による食品蛋白質の水和とガラス転移の解析、日本食品科学工学会総説、査読有、61巻、2014、in press

中川洋、片岡幹雄、中性子非弾性散乱による生体物質研究、日本接着学会誌、査読有、23巻、2013、72-80

Doster W., Nakagawa H. and M.S. Appavou, Scaling analysis of bio-molecules derived from elastic incoherent neutron scattering experiments, J.Chem.Phys., 査読有,

Vol.139, 2013, 45105

藤原悟、中川洋、中性子非弾性散乱による生体物質研究、波紋、査読有、2013、23 巻、72-80

中川洋、藤原悟、生体物質の中性子非弾性散乱の基礎、波紋、査読有、2012、22 巻、267-272

中川洋、背面散乱型分光器によるタンパク質ダイナミクス研究、波紋、査読有、22 巻、2011、46-47

〔学会発表〕(計 10 件)

中川洋、蛋白質ダイナミクス研究における中性子非弾性散乱と計算機シミュレーションの融合、第 2 回 Neutrons in Biology 研究会、2014 年 3 月、東海

Hiroshi Nakagawa and Mikio Kataoka, Protein and hydration water dynamics studied by inelastic neutron scattering and molecular dynamics simulation, Neutron in Biology and Biotechnology, 2014 年 2 月、Grenoble, France

Hiroshi Nakagawa and Mikio Kataoka, Translation diffusion dynamics of protein hydration water and its dynamical coupling with protein dynamics. 第 51 回日本生物物理学会年会、2013 年 10 月、京都

中川洋、カゼイン蛋白質のミセル化に伴う動的構造変化、第 1 回生物構造学研究会、2013 年 10 月、東京

中川洋、中性子非弾性散乱で観る食品蛋白質の水和とガラス転移、第 60 回日本食品科学工学会、2013 年 8 月、東京

中川洋、中性子非弾性散乱によるタンパク質の低振動ダイナミクスと水和、神戸大学先端融合科学シンポジウム「タンパク質の低振動ダイナミクス：水和と熱活性」、2013 年 3 月、神戸

中川洋、城地保昌、山室修、片岡幹雄、

蛋白質の低エネルギーダイナミクスに対する圧力効果、日本中性子科学会第 12 回年会、2012 年 12 月、京都

Hiroshi Nakagawa, Hydration and Dynamical Transition of Proteins by Inelastic Neutron Scattering, MLF 利用者懇談会液体・非晶質分科会、2012 年 12 月、京都

Hiroshi Nakagawa and Mikio Kataoka, Kinetics of hydrogen-bonding of protein hydration water and its dynamical coupling with protein, 日本生物物理学会第 50 回年会、2012 年 9 月、名古屋

Hiroshi Nakagawa and Mikio Kataoka, Coupled dynamics of protein and hydration water studied by inelastic neutron scattering and molecular dynamics simulation, 8th European Biophysics Congress, 2011 年 8 月、Budapest, Hungary

〔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〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

中川 洋 (NAKAGAWA Hiroshi)

独立行政法人日本原子力研究開発機構・原子力科学研究部門・量子ビーム応用研究センター・研究副主幹

研究者番号：20379598