

# 卵白ゲルの力学特性と保水性を制御するナノ構造と水和状態の解析

日本原子力研究開発機構物質科学研究センター・研究主幹 中川 洋

## ■ 緒 言

卵白ゲルは、弾力性や保水性を利用して様々な加工食品に応用されているが、そのナノ構造や水和状態には不明な点が多い。本研究では、卵白ゲルの力学特性や保水性などのマクロ物性発現の分子機構を理解するため、中性子散乱、光散乱、熱分析などにより様々な物性を持つ卵白ゲルのナノ構造や水和状態を調べた。特に中性子散乱を基軸にし、中性子小角散乱によりゲルのナノスケールの網目構造を解析し、中性子準弾性散乱によりゲル中の水の分子運動性を解析した。水の分子運動性の解析ではゲル内部の水分状態が分かり、ナノ構造との関連性が議論できると期待した。これらの分子レベルでの知見を、力学特性や保水性などのマクロな物性発現のメカニズムの理解に結びつけ、卵白ゲルのマクロ物性をミクロな視点から解明することを目指した。本研究成果は、卵白ゲルの構造物性特性の基礎的な知見を得るだけでなく、優れた加工食品の開発指針を与えるため応用面への波及効果も期待できる。

## ■ 方 法

### (1) 試料調製

本研究では3種類の乾燥卵白(キューピータマゴ株式会社製：乾燥卵白Kタイプ、乾燥卵白KタイプNo.10、乾燥卵白MタイプNo.200)を用いた。本研究では、これら乾燥卵白をそれぞれ“卵白K”、“卵白K10”、“卵白M200”と呼ぶ。これら乾燥卵白に対して1:7の割合で水を試験管内で混合して、卵白溶液試料とした。さらに、卵白溶液試料が入った試験管を80°Cで40分間加熱することで、卵白ゲルを作製した<sup>1,2)</sup>。それぞれの卵白ゲルの写真を図1に示す。それぞれのゲルの特性は、卵白ゲルKはゲル強度が弱く、卵白ゲルK10はゲル強度が強いことが分かっている<sup>1,2)</sup>。卵白ゲルM200は、他の2つに比べてゲルに透明感がある。

### (2) 濁度測定

濁度を指標として加熱によるゲル化の様子を調べるため、卵白溶液試料の昇温過程を紫外可視分光で調べた。光路長1cmの石英セルを用いて、400nmおよび700nmの波長で測定を行った。測定では、1.0°C/分の昇温速度で、25°Cから100°Cまで測定した。紫外可視分光装置は島津製作所社製UV-2700、温調には電子冷熱式単一セルホルダS-1700を用いた。

### (3) 示差走査熱量測定

卵白ゲルに含まれる水の凍結・融解挙動を示差走査熱量測定(DSC)で調べた。測定は25°Cから-70°Cまで降温し、その後25°Cまで昇温した。温度変化速度は、いずれも5°C/分とした。DSC装置には、超高感度示差走査熱量計(ネッチ製、DSC 204 F1 Phoenix/ $\mu$ -Sensor)を用いた。

### (4) 中性子小角散乱測定

中性子小角散乱で、ゲル化過程におけるナノ構造解析を行った。実験は、茨城県東海村の日本原子力研究開発機構に設置してあるJRR-3原子炉のSANS-J装置を用いて行った。カメラ長は10mで測定を行った(測定のQ範囲は0.03-0.35nm<sup>-1</sup>)。厚み2mmの石英セルに卵白溶液試料を入れ、加熱ゲルは装置備え付けの温調で80°Cに加熱してゲル化させた。バックグラウンドを小さくするため溶媒にはD<sub>2</sub>Oを用いた。測定は25°C(溶液状態)と80°C(ゲル状態)で行った。

### (5) 中性子準弾性散乱測定

中性子準弾性散乱で、ゲル化過程における水のダイナミクスの解析を行った。実験は、茨城県東海村の日本原子力研究開発機構に設置してある大強度陽子加速器J-PARCの物質・生命科学研究施設(MLF)のBL02(DNA装置)を用いて行った。エネルギー分解能は約12 $\mu$ eVで、30°Cから90°Cまでの弾性散乱強度の温度変化(昇温速度：1°C/分)を測定した。試料には、3種類の卵白溶液試料とリファ

レンズとして H<sub>2</sub>O を測定した。

## ■ 結果

### (1)濁度測定

400nm と 700nm の波長で加熱過程における濁度測定を行った結果を図 2 に示す。波長 400nm での測定では、卵白 K と卵白 K10 は、約 50°C で濁度が急激に上昇した。これはゲル化により、試料の光散乱により透過光が減少したものと考えられる。一方、卵白 M200 も約 50°C 付近で濁度の上昇が見られたが、卵白 K や卵白 K10 ほどの上昇は見られなかった。卵白 M200 でもゲル化は生じるが、ゲルの網目構造が異なることが推察される。波長 700nm での測定では、卵白 K では波長 400nm と同様に濁度の急激な上昇が見られたが、卵白 K10 ではゲル化による濁度の上昇が生じたものの、70-80°C くらいで濁度上昇が緩やかになった。また、卵白 M200 では、加熱による濁度の変化はほとんど見られなかった。

### (2)示差走査熱量測定

3 種類の卵白ゲルについて、示差走査熱量測定により卵白ゲルに含まれる水の凍結・融解挙動を測定した。いずれの卵白ゲルも降温過程で凍結ピーク、および昇温過程で融解ピークが見られた。各卵白ゲルの凍結融解温度を表 1 に示す。凍結温度は、卵白 K が最も低く、次いで卵白 K10 が若干高温側にシフトした。卵白ゲル M200 は凍結温度が、他の 2 つの卵白ゲルに比べて凍結温度が約 10°C 程度上昇した。これは卵白ゲル M200 の内部の水の状態が、他の卵白ゲルとは異なることが示唆される。卵白ゲル内で凍結した水の融解温度は 3 つの卵白ゲルでいずれも約 1°C 程度であり、ほとんど違いが見られなかった。

### (3)中性子小角散乱測定

3 種類の卵白ゲルについて、加熱ゲル化前の水溶液状態と加熱後の卵白ゲルの中性子小角散乱測定を行った。散乱プロファイルを図 3 に示す。卵白水溶液では、3 種類のいずれの卵白もゲル化により小角散乱強度の上昇が見られた。卵白ゲル K では、小角領域の散乱強度の立ち上がりが著しく、ゲル内部で蛋白質の凝集が生じていることが示唆される。それに比べて、卵白ゲル K10 は小角領域の散乱強度の立ち上がりは緩やかであり、卵白ゲル M200 ではさらに強度が減少し、ゲル内部で蛋白質があまり凝集せず、蛋白質分子が比較的均一に分布していることが示唆された。

### (4)中性子準弾性散乱測定

3 種類の卵白ゲルと H<sub>2</sub>O について、加熱過程における中性子準弾性散乱測定を行った。水分を含んだ卵白ゲルからの散乱強度は、H<sub>2</sub>O の非干渉性散乱が著しく大きいため卵白自体からの散乱はほとんど無視でき、ゲル内部の水に由来すると考えられる。図 4 は非干渉性弾性散乱強度の温度依存性である。温度上昇に伴い、水分子の熱揺らぎの影響で非干渉性弾性散乱強度は減少する。卵白 K と卵白 K10 の非干渉性弾性散乱強度は、測定した全温度領域で H<sub>2</sub>O のそれとほぼ同じであった。これは、ゲル化によりゲル内部の水分子の分子運動性がほとんど変化しないことを示唆する。一方で、卵白 M200 では、約 50°C 付近で温度変化に対する散乱強度の減少量が小さくなることが分かり、他の卵白ゲルに比べて卵白ゲル M200 の内部の水の分子運動性は抑制される傾向にあることが示唆された。

## ■ 考察

### (1)卵白ゲルのナノ構造

濁度測定からは、卵白ゲル K の濁度が非常に大きく、蛋白質が数百ナノメートル以上の大きな凝集体として存在していることが示唆される。卵白 K10 は、400nm ではゲル化に伴う濁度の上昇が卵白 K10 とあまり変わらないが、700nm の光では透過性がゲル化による濁度上昇が抑制された。このことから、卵白ゲル K10 の蛋白質凝集体のサイズは、卵白ゲル K より小さいと考えられる。卵白ゲル M200 では、見た目の透明感からも推察されるように、ゲル化に伴う濁度上昇が小さかった。これは、ゲル化に伴う凝集体のサイズが小さく、比較的均一な分子配置をしていることが示唆される。

中性子小角散乱では、このような 3 種類の卵白ゲルのナノ構造の違いをより定量的に調べることができる。中性子小角散乱からは、ゲル化に伴う小角領域の散乱強度の立ち上がりの程度が濁度測定と相関があることを確認できた。卵白ゲル K と卵白ゲル K10 のゲルの内部構造は、数百ナノメートル以上の大きな蛋白質の凝集体が形成されており、不均一なナノ構造をしていることが分かり、卵白

ゲル Kの方がその程度はより著しいことが分かる。一方、卵白ゲル M200 は、小角領域の散乱強度の立ち上がりが小さく、ゲルのナノ構造は蛋白質分子間が比較的均一であることが分かり、見た目のゲルの透明感もこのようなナノ構造の特徴に由来すると考えられる。

### (2)卵白ゲルの水和状態

DSC 結果からはゲル内部の水の凍結温度が卵白の種類によって異なることが分かり、卵白ゲル M200 に比べ、卵白ゲル K と卵白ゲル K10 は過冷却になる傾向にあることが分かった。ナノ空間の水の凍結挙動は、その空間サイズなどに依存することが知られている<sup>3)</sup>。中性子準弾性散乱の結果からは、卵白ゲル K と卵白ゲル K10 のゲル内部の水のダイナミクスはバルク水とあまり変わらないことが分かる。一方、卵白ゲル M200 では、ゲル化により水の分子運動性が制限を受けている傾向が見れた。これらの結果は、卵白ゲル内部のナノ構造の違いを反映していて、水和状態が異なることを示唆する。今後は、中性子準弾性散乱のより定量的な解析や、その解析結果と DSC 結果との対応関係等、より詳細な解析が必要である。

### (3)今後の展望や期待される波及効果

中性子散乱は、蛋白質の分子構造のみならず、その集合状態や水和状態の解析に有効である。また、水素原子の非干渉性散乱が非常に強いことを利用することにより、水分子のダイナミクスの計測ができることは中性子散乱の強みの一つである。卵白ゲルは、その弾力性や保水性を利用して様々な加工食品への応用があるが、ナノスケールの分子構造の観点からは不明な点が多いため、上記技術は有効である。卵白のゲル化機構の解明は、優れた加工食品の開発指針を与えるため応用面への波及効果も期待できる。卵白ゲルの力学特性や保水性は、加工食品の食感や冷凍保存性等にも関わるため、卵白ゲルの食品機能物性を予測するための分子論的基礎になると期待できる。本研究では、3種類の卵白ゲルに着目したが、それにとどまらず分子組成や分子構造・形態が互いに異なる食品について、そのナノ構造や食品と食品中の水の物理化学的状態の解析にも応用できるであろう。

## ■ 要 約

マクロな物性が異なる3種類の卵白ゲルのナノ構造や水和状態を中性子散乱などにより調べた結果、ナノ構造や水和状態の違いを確認することに成功した。ゲル内部の構造状態は、蛋白質の凝集状態や分子配置の不均一性に違いがあり、このようなナノ構造の違いが、ゲルの光透過性などのマクロな物性発現の原因になっていることが示唆された。

## ■ 文 献

- 1) Akihiro Handa, Keiko Takahashi, Namio Kuroda and Glenn W. Froning(1998)Heat-induced Egg White Gels as Affected by pH, *J. Food Sci.* 63, 403-407.
- 2) Akihiro Handa, Kenji Hayashi, Hiroyuki Shidara and Naomi Kuroda(2001)Correlation of the Protein Structure and Gelling Properties in Dried Egg White Products, *J. Agric. Food Chem.* 49, 3957-3964.
- 3) Andreas Schreiber, Ingke Ketelsen and Gerhard H. Findenegg(2001)Melting and freezing of water in ordered mesoporous silica materials, *Phys. Chem. Chem. Phys.* 3, 1185-1195.

表 1. 示差走査熱量測定 (DSC) で決定した卵白ゲルの凍結・融解温度

	凍結温度	融解温度
卵白K	-26.0°C	0.9°C
卵白K10	-24.6°C	0.7°C
卵白M200	-15.1°C	1.0°C

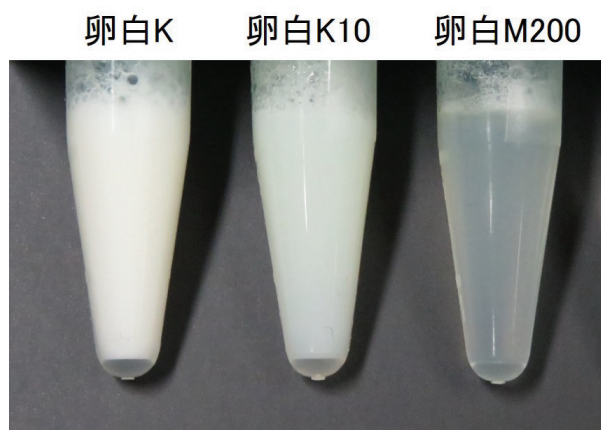


図 1. 乾燥卵白ゲル。左から、卵白 K、卵白 K10、卵白 M200 の加熱による乾燥卵白ゲルの写真を示す。

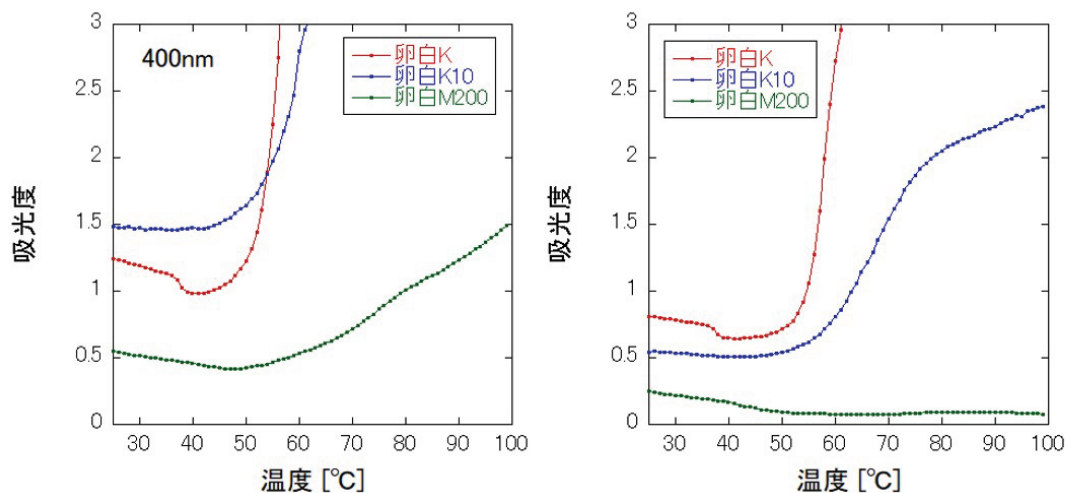


図 2. 卵白水溶液の加熱過程における濁度測定。400nm と 700nm の 2 つの波長で、吸光度の温度変化を測定した。

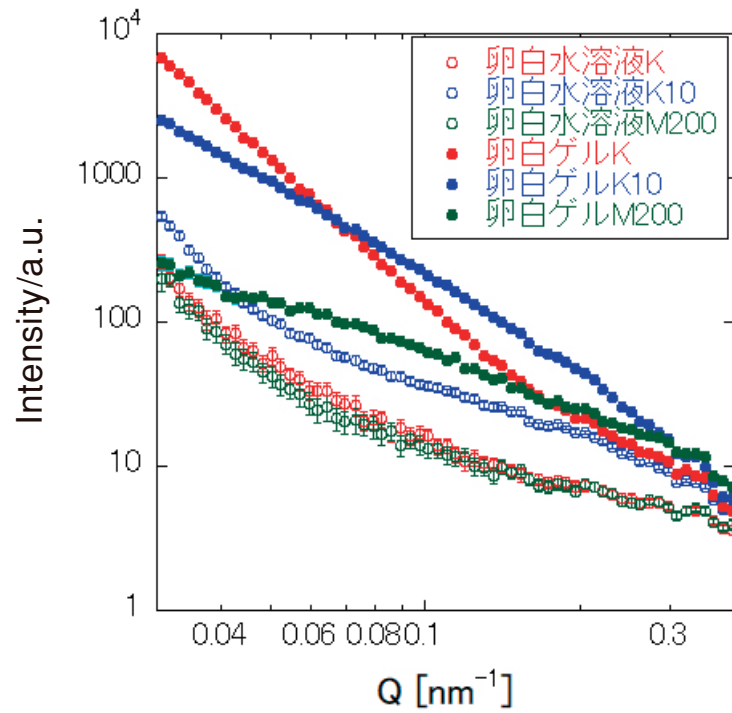


図 3. 卵白水溶液と卵白ゲルの中性子小角散乱プロファイル。

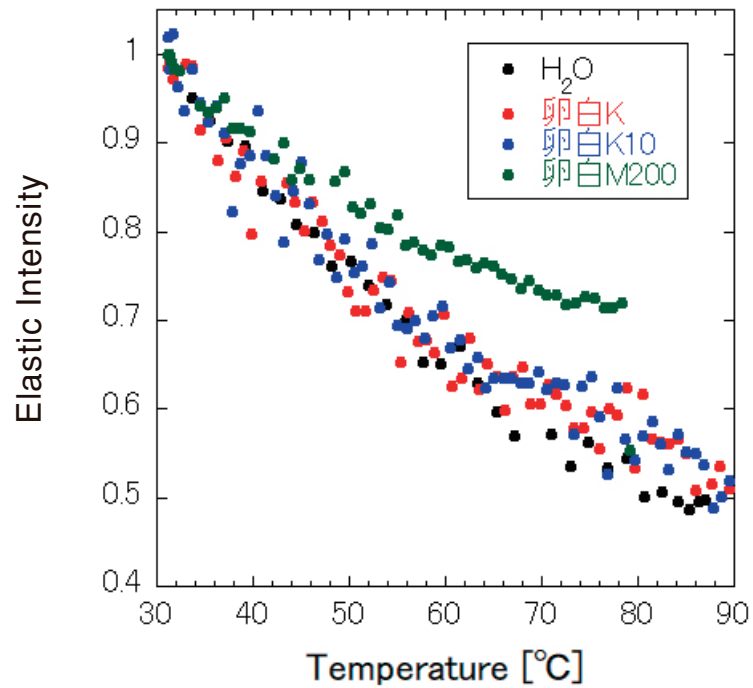


図 4. 卵白水溶液と H<sub>2</sub>O の加熱に伴う非干渉性弾性散乱強度の変化。