

卵白の熱変性にもなう構造変化と力学物性

中村 忠嗣¹⁾・原 一広²⁾・杉山 正明³⁾・平松 信康¹⁾

(平成19年11月30日受理)

Change of Structure and Mechanical Properties Associated with Thermal Denaturation of Egg White

Atsushi NAKAMURA¹, Kazuhiro HARA², Masaaki SUGIYAMA³, and Nobuyasu HIRAMATSU¹

(Received November 30, 2007)

Abstract

The denaturation process of egg white solution was studied by small angle neutron scattering (SANS), viscoelastic and differential scanning calorimetry (DSC) measurements. The DSC measurements gave the double endothermic peaks at 62°C and 80°C. The low temperature side endothermic peak is caused by denaturation of the constituent except albumin, while the high temperature side endothermic peak is caused by denaturation of albumin. The temperature dependence of the dynamic viscoelastic measurements gave a sudden increase of the the storage modulus(G') and the loss modulus(G'') at 65°C with increasing temperature. The morphology was confirmed by the SANS measurement, showing a broad peak at the scattering vector $q=0.0575\text{\AA}^{-1}$ at 25°C; this broad peak disappears at 80°C and then shoulder appears at lower scattering vector range $q=0.025-0.045\text{\AA}^{-1}$ with increasing temperature. The results indicate that the network structure is formed by the thermal denaturation of albumin around 80°C.

1. はじめに

我々が日常的に口にする加熱加工食品の中で最も身近なゲルの一つとして卵白ゲルがあげられるが、この卵白の変性過程における基本的

な構造変化についてはまだ不明の点が多く、この変性過程のミクロ内部構造を観察することは大変興味深いことである。卵白のゲル化の方法は、加熱、加圧、酸・アルカリ処理などがある¹⁻⁵⁾。

¹⁾ 福岡大学理学部応用物理学科, 〒814-0180 福岡市城南区七隈 8-19-1
Department of Applied Physics, Faculty of Science, Fukuoka University, Jonan-ku, Fukuoka 814-0180, Japan

E-mail: nakamura@cis.fukuoka-u.ac.jp

²⁾ 九州大学大学院工学研究院エネルギー量子工学部門, 〒819-0395 福岡市西区元岡744
Department of Applied Quantum Physics and Nuclear Engineering, Graduate School of Engineering, Kyushu University, Motoooka, Fukuoka 819-0395, Japan

³⁾ 京都大学原子炉実験所, 〒590-0494 大阪府泉南郡熊取町朝代西 2 丁目
Research Reactor Institute, Kyoto University Kumatori, Sennan-gun, Osaka 590-0494 JAPAN

加熱法としては、加熱体によって試料の外部から熱伝導によって加熱する方法が一般的であるが、試料に直接電流を流してジュール熱によって加熱する通電加熱と呼ばれる方法もある。この通電加熱の特徴は、ジュール熱によるために、外部から加熱する方法に比べて均一の加熱が可能であり、さらに交流の電流を使用した場合には周波数を変えることができるため、この周波数が新しい変数として利用できる可能性がある。これにより、加熱加工食品の物性を変化させることも期待される。また、加熱速度、加熱温度などの加熱条件をコントロールする事が容易である。加熱の均一性は、食品加工の分野においては、食品のテクスチャーに大きく影響を及ぼすと古くから言われており、現在この方法は製パンをはじめ他の食品加工工程の中にも取り入れられ、注目されている。

通電加熱法によって得られた卵白ゲルは見かけが、外部加熱法のものとは違って、「てり」があり、崩れにくいことなどが知られている。これらの違いは加熱の均一性が大きく影響しており、マイクロ、サブマイクロの分子凝集構造に違いが生じていると考えられる。

ゲルの物性に变化を与える要因の一つとして、ゲル内部の水分量も重要である。一般的なハイドロゲルは、分子鎖ネットワークの隙間に水が溶媒として入り込んだ構造を持っている。この水は、ネットワーク分子鎖に近いところにある水分子と、ネットワークから比較的離れた空間にある水分子とでは、分子鎖との相互作用の点で違った環境下にある。この相互作用環境の違いによって、ネットワーク分子鎖の近くにある水を「束縛水」、ネットワークから離れて比較的自由に振る舞う水を「自由水」とよぶ。十分に水を含んだゲルを大気雰囲気中に長時間放置し、脱水にともなう重量減少の様子を観察してみると、はじめに急激な重量減少が観察され、そのあとでゆっくりとした重量減少へと変化する⁶⁾。この現象は、まず自由水の脱離がおこり、それが蒸発した後、ゆっくりと束縛水が蒸発すると考えられる。重量変化速度が変わる点はゲル-ガラス様転移と名付けられ⁶⁾、この点を境にして、固さが大きく変化する事が知られている。

これまでに我々は、卵白ゲルおよびそのモデル物質としての合成高分子ゲルについて、ゲル-ガラス様転移前後の低含水率領域における熱的性質や力学的物性などについて各種の測定手法を用いて調べ、含水率、温度、湿度、固さなどの関係を明らかにしてきた⁷⁻¹¹⁾。

このように、加熱条件を変えたり、水分量を変化させた試料を用いて、中性子やX線の小角散乱などによって、水を含む生体由来物の変性過程における分子凝集構造を明らかにし、ゲルのレオロジカルな性質との関連性を明らかにすることは大変興味深い。

本論文では試料として卵白を用い、温度上昇に伴うタンパク質変性による卵白ゾル溶液のゲル化の様子を、中性子小角散乱測定を中心として、動的粘弾性測定および示差走査熱量測定(DSC)などから詳しく調べた結果を報告する。

2. 実験

試料は、乾燥卵白を重水に溶かし、濃度を16.7wt%に調整したものをを用いた。測定試料として、乾燥卵白粉末(SIGMA社製, Chicken Dried Egg White)を用いた。アルブミン試料は和光純薬工業(株)のAlbumin(Chicken egg)を用いた。

通電加熱セルは、アクリル板を使用しており変性過程が直接目視によって観察できるようになっている。中性子ビームの通る窓部分は石英ガラスを使用した。セルのサイズは40mm(V)×70mm(H)×3mm(t)で、電極は(ステンレス棒, 直径3mm)セルの短辺側に平行にセットされる。

加熱用電源にはスライダックを用い、80V(60Hz)の電圧を加えることにより卵白溶液の変性を行った。通電加熱は黙視によりサンプルの白濁度の変化を観察しながら行い、変性が進行したところで通電を止めて、そのときの温度を熱電対により測定した。

小角中性子散乱による実験は、京都大学原子炉実験所(KUR)で、冷中性子源(CNS)を用いた小角中性子散乱装置¹²⁾(SANS)を使用し、中性子線波長 $\lambda = 5.6 \text{ \AA}$ 、ビームサイズ4mm(V)×4mm(H)、ディテクターは2次元位

置感応型検出器 (2-D PSD) を用いた。

粘弾性測定はAnton Paar社製の粘弾性測定装置 (MCR-301, ペルチェ型温度制御システムの平行平板型, parallel plate 50mmφ, gap 1mm, 測定周波数10Hz, 昇温速度3°C/min) で測定した。DSC測定はセイコー電子工業社製のDSC120を用い, 昇温速度3°C/minで行った。

3. 結果と考察

通電加熱前の卵白ゾルの小角中性子線散乱プロファイルを図1に示す。図から分かるように, ゾルの状態では $q = 0.0575 \text{ \AA}^{-1}$ の位置にブロードなピークが確認される。このピーク位置からBraggの式を用いて得られる構造のサイズは約109Åである。このピークは, 卵白の主成分であるオボアルブミンによるものと思われるが, 他の成分との相互作用も考慮に入れる必要がある。どの様な構造に起因しているのかはまだ不明である。図2は, 卵白ゾルの通電加熱ゲル化過程における散乱プロファイルの温度変化を示している。温度の上昇とともに, 低角度領域において散乱強度が強くなっている。67°Cでは, ゾルの状態で確認されるブロードなピークが, 散乱強度をほとんど変化させることなく残っている。このピークは80°C付近で

消失する (図3)。80°C以上の温度では, 新たに $q = 0.025 \sim 0.045 \text{ \AA}^{-1}$ の領域にショルダーが観察されるようになる。89°C以降, 散乱プロファイルにはほとんど変化が見られなかった。卵白タンパク質は, オボアルブミン (54%), オボトランスフェリン (12%), オボムコイド (11%) など40種から構成されており, これらの主成分の熱変性温度もそれぞれ, 60~65°C, 58°C, 100°C以上ということが分かっている¹³⁾。このことを考慮に入れて考えると, 67°Cと80°Cの間において, ブロードな散乱ピークが消失していることから, このピークはオボアルブミンの構造に関するものと考えられる。変性が進行し構造が変化することによってピークは消失する。

散乱プロファイルのGuinierプロットを図4に示す。この図の 0.025 \AA^{-1} 以下での傾きから慣性半径 R_g を算出してみた。その結果, 慣性半径は60°Cにおいて73.6Å, その後は86.5Å (67°C), 88.5Å (80°C), 88.4Å (89°C) となり, 温度が上昇しても値はほぼ一定となっている。

図5は散乱プロファイルをKratkyプロットにより示したものである。このプロットで現れるピークは, 球状のコンパクトな構造を表し, ピークの位置はサイズに依存している¹⁴⁾。図から分かるように, 25°C, 89°Cのプロファイルにおいてピークが確認される。これは, 変性前

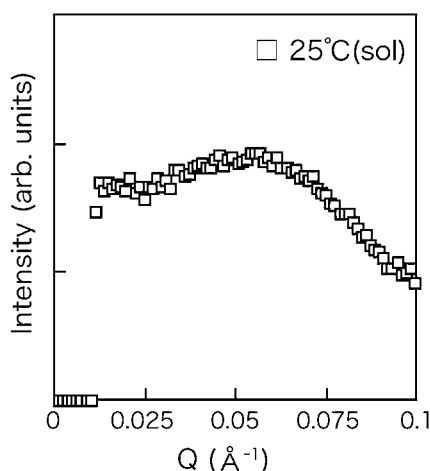


図1. 加熱前卵白ゾル溶液の小角中性子散乱プロファイル。

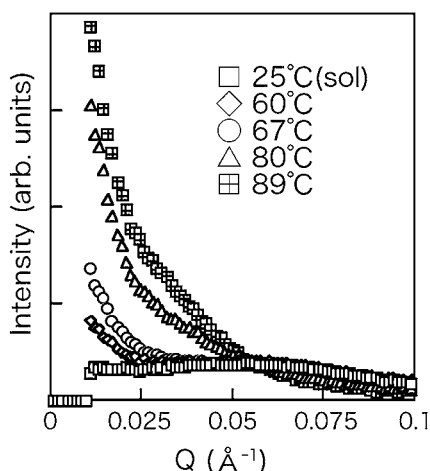


図2. 昇温過程における卵白ゾル溶液の小角中性子散乱プロファイルの変化。

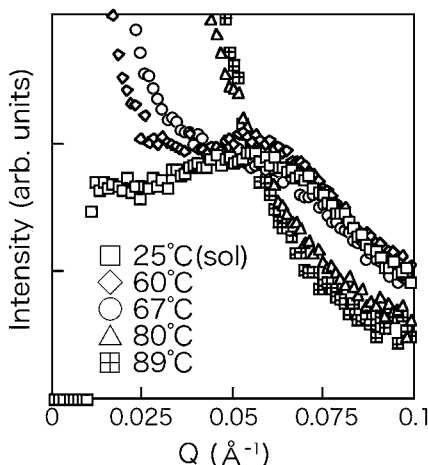


図3. ブロードなピークの小角中性子散乱プロファイルの変化.

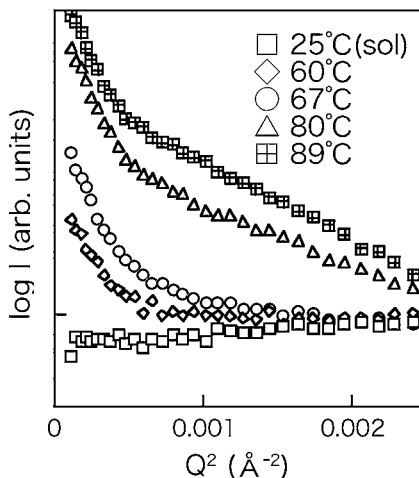


図4. 小角中性子散乱プロファイルのGuinierプロット.

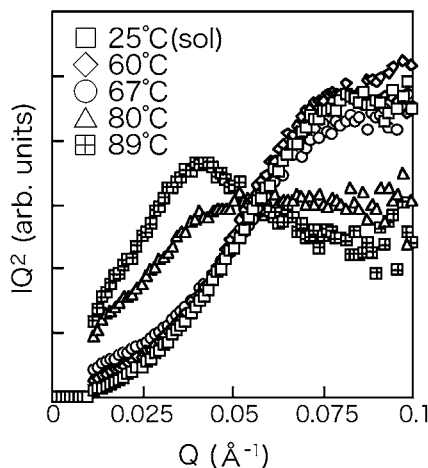


図5. 小角中性子散乱プロファイルのKratkyプロット.

の球状タンパク質の構造と変性後に形成された球状の構造を示していると考えられる。温度が上昇するに従って変性が進行し、球状タンパク質の構造がいったん崩れ、その後さらに大きな球状構造へと変化していると考えられる。

図6に卵白溶液およびアルブミン溶液の一定昇温過程におけるDSC測定(図上部)と粘弾性測定(図下部)の測定結果を示す。DSC測定において卵白溶液では62°C、80°C付近

で明瞭な吸熱ピークが観察される。このほかに、70°C、85°C付近にショルダーが観察される。DSC測定の結果から卵白の変性は多段階に進行することが分かる。卵白の主成分であるアルブミンにおいては82°C付近に吸熱ピーク、86°C付近にショルダーが観察される。この結果から卵白の高温側に現れる吸熱ピークとショルダーはアルブミンの変性に関わっていると考えられる。卵白のショルダーがアルブミンに比べ明瞭でないのは、他の成分が含まれるために変性ゲル内部の構造形成に違いが出てくるためだと考えられる。

次に、粘弾性測定について述べる。一定昇温させていくと、卵白、アルブミン共に40°C付近で貯蔵弾性率(G')の減少と $\tan \delta$ のピークが観察された。卵白においては65°C付近から貯蔵弾性率(G')、損失弾性率(G'')が急激に上昇し始め $\tan \delta$ のピークが現れ、70°C付近で変化率が緩やかになった後、DSCのアルブミン変性ピークが立ち上がり始める温度付近からさらに上昇し、80°C付近で一定になっている。アルブミンではDSCのピーク温度である75°C付近から貯蔵弾性率(G')、損失弾性率(G'')が急激に上昇し始め $\tan \delta$ のピークが現れ、80°C付近で一定になっていることが分かる。このことから、卵白の中に含まれるアルブミン以外の成分も貯蔵

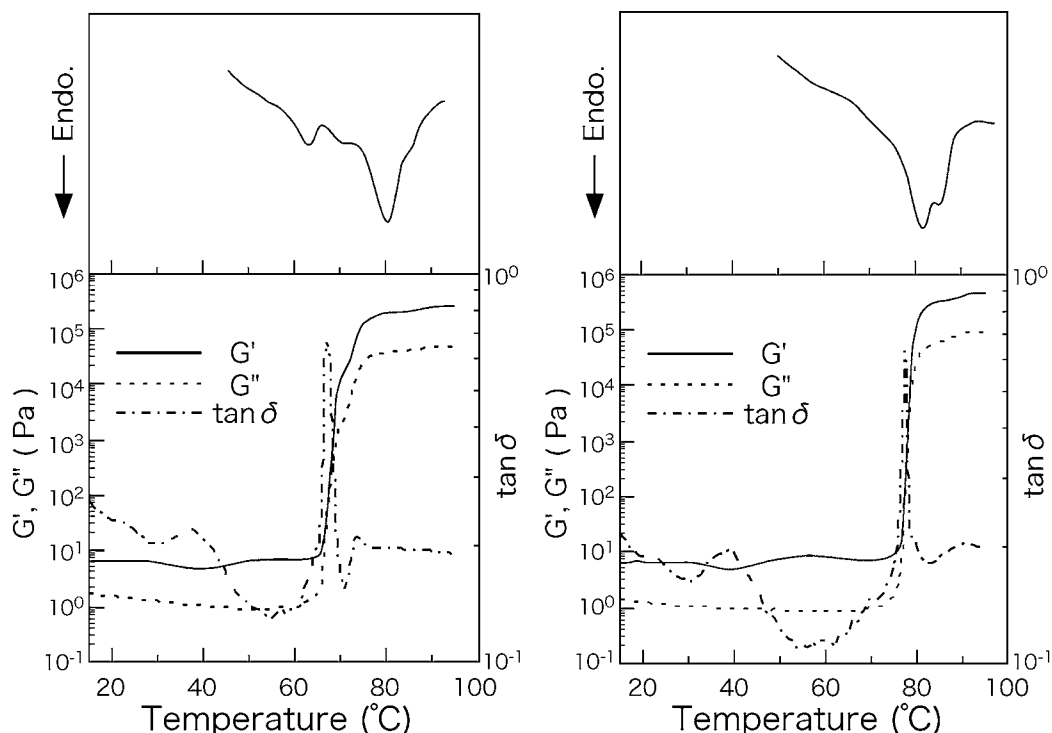


図6. DSC測定(上), 粘弾性測定(下)による卵白ゾル溶液(左)およびアルブミンゾル溶液(右)の熱変性過程

弾性率(G'), 損失弾性率(G'')の変化に大きく関わっており, ゲルの強度に影響を及ぼしていることが分かる. アルブミンの変性による吸熱反応が終了した後に, 卵白, アルブミン共に僅かだが, 貯蔵弾性率(G'), 損失弾性率(G'')の増加が見られる. 変性後の貯蔵弾性率(G'), 損失弾性率(G'')は共に卵白ゲルよりもアルブミンゲルの方が高いことが分かる.

SANS測定 (図2) の低角度領域において散乱強度が上昇し始める温度とDSC測定の低温側に現れるピーク温度 (62°C付近) および粘弾性測定において急激に貯蔵弾性率(G')の変化する温度が良く一致していることが分かる. このことから, この温度領域で形成されるゲル内部構造はアルブミン以外の成分によるものと考えられる. SANS測定で観察されたブロードなピークの消失 (図3), ショルダーの出現 (図2) の温度とDSC測定のアルブミン変性ピーク温度が良く一致することから, ブロードなピークはアルブミン変性前の構造に起因してお

り, ショルダーはアルブミンが変性することによって形成される構造に起因していることが明らかとなった.

今回, 通電加熱による変性過程においてサブミクロな構造の変化を小角中性子散乱プロファイルの変化としてとらえることができた. さらに, DSC測定および粘弾性測定により, 構造の変化と熱的挙動および力学的挙動の対応付けができた. 今後はさらに詳しい解析を行うとともに, 通電周波数や卵白濃度の影響, 外部加熱により作製したゲルとの比較などを行っていく予定である.

謝辞

小角中性子散乱実験を行うにあたり, 色々とお便宜をはかって下さった京大原子炉のスタッフの方々にお礼を申し上げます. 本研究の一部は, 平成18年度大学院整備重点化経費—研究化特別経費 (研究科分) によって行われた. ま

た、文部科学省科学研究費補助金（萌芽研究 No.17650228）により援助を受けた。

参考文献

- 1) H. Kanaya, K. Ishida, K. Hara, H. Okabe, S. Taki, K. Matsushige and E. Takushi: Jpn. J. Appl. Phys. 31 (1992) 3754.
- 2) H. Kanaya, K. Hara, E. Takushi and K. Matsushige: Jpn. J. Appl. Phys. 32 (1993) L1439.
- 3) P. W. Bridgman: J. Biol. Chem. 19 (1914) 511.
- 4) R. Hayashi, Y. Kawamura, T. Nakasa and O. Okinaka: Agric. Biol. Chem. 53 (1989) 2935.
- 5) F. E. Cunningham and O. J. Cotterill: Poultry Sci. 43 (1964) 53.
- 6) E. Takushi, L. Asato and T. Nakada: Nature, 345 (1990) 298.
- 7) K. Hara, M. Sugiyama, A. Nakamura, N. Hiramatsu and A. Suzuki: Trans. Mater. Res. Soc. Jpn. 24 (1999) 571.
- 8) N. Hiramatsu, D. Ryu, A. Nakamura and K. Hara: Trans. Mater. Res. Soc. Jpn. 26 (2001) 655.
- 9) A. Nakamura, M. Sugiyama, K. Hara and N. Hiramatsu: Trans. Mater. Res. Soc. Jpn. 27 (2002) 609.
- 10) A. Nakamura, M. Sugiyama, K. Hara and N. Hiramatsu: Trans. Mater. Res. Soc. Jpn. 28 (2003) 977.
- 11) A. Nakamura, K. Hara and N. Hiramatsu: Trans. Mater. Res. Soc. Jpn. 30 (2005) 843.
- 12) M. Sugiyama and Y. Maeda: Jpn. J. Appl. Phys. 33 (1994) 6396.
- 13) D. T. Osuga and R. E. Feeney: Egg Proteins In Food Proteins, J. R. Whitaker, S. R. Tannenbaum, (Ed.), AVI (1977)
- 14) M. Kataoka, J. M. Flanagan, F. Tokunaga and D. M. Engelman: Synchrotron Radiation in the Biosciences (B. Chance et al. eds.), Clarendon Press, (1994) 187.