

食品ハイドロコロイドの熱分析

西成勝好, 渡瀬峰男*

(昭和63年7月5日受理)

Thermal Analysis of Food Hydrocolloids

Katsuyoshi Nishinari, Mineo Watase*

Thermal Analysis of polysaccharides and proteins which are used to improve the functional properties of food has been carried out. DSC studies on gelatinization and retrogradation of starch, gel-sol transition of thermo-reversible gels such as gelatin, agarose and carrageenan, heat-gelation of egg white and some acidic proteins, denaturation of soy-bean protein, properties of water in starch and agarose are described.

食品には栄養性, 安全性のような基本的特性のほかに嗜好性, 保存性, 簡便性のような機能的特性も要求される。特に今日のようにいわゆる「飽食の時代」にあって, 国民の食嗜好が多様化しているとき, 機能的特性の改善が基本的特性の改善と密接に関連しているためにきわめて重要となっている。

多糖類や蛋白質などのハイドロコロイド, 水溶性高分子は少量の添加で食品の口あたりや歯ごたえ, 舌ざわりなどを改善するテクスチャー・モディファイヤー (texture modifier) として粘弾性や熱特性を調節するよう用いられている。また, これらのハイドロコロイドは液状食品の分散性, 乳化性, 安定性を改善するためにも広く用いられている。このような状況のなかで, 1986年秋, 新しい国際学術誌 "Food Hydrocolloids" が創刊された。食品ハイドロコロイドの熱特性は食品の製造, 加工, 調理において力学的特性と並んで特に重要であるため多数の研究がなされてきた。本稿ではアガロースとカラゲナンについての著者らの研究を中心として, 多糖類と蛋白質について最近のトピックスを紹介する。

1. 多 糖 類

1.1 澱 粉

澱粉の主成分はアミロースとアミロペクチンであるが, 天然の澱粉粒には僅かに脂質, 蛋白質や無機塩類が混在している。澱粉粒は結晶領域と非結晶領域とからなると考えられている。冷水には溶解しないが, 水を加えて加熱すると60℃付近で水を吸収し, 膨潤して糊状になる。この現象は糊化 gelatinization と呼ばれている。この糊状になった澱粉を低温に放置すると, 失われた結晶性は回復し, 生澱粉に近い状態に戻る。この現象は老化 retrogradation と呼ばれている。

澱粉に水を加えて昇温すると, 糊化に伴いDSCの吸熱ピークが観測されるので, ここ数年多数の報告が出された。澱粉の糊化や老化については熱分析法のほかにも光学的方法 (一定速度で昇温するときのフォトペーストグラフィーによる澱粉懸濁液の光の透過率の変化の測定, 偏光顕微鏡による複屈折の消失の観察など), レオロジー的方法 (一定速度で昇温するときの粘度変化の測定), アミロースに特異的に反応するヨウ素の結合量を測定する電流滴定法, X線回折による結晶構造の変化の観察, 酵素を用いる方法などにより研究されてきたが, 試料も現象も複雑であるため, いくつかの方法の併用が望ましい。

最初に澱粉の老化についてDSC, 剛性率測定, X線回折によって測定した結果を比較した研究を紹介する²⁾。小麦粉澱粉ゲルをハラフロン中に20℃で浸漬する。一方

食品総合研究所: つくば市観音台2-1-2 〒305

* 静岡大学: 静岡市大谷836 〒422

Instrumentation Research Laboratory, National Food Research Institute, Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries, Tsukuba 305, Japan
*Chemical Research Laboratory, Faculty of Liberal Arts, Shizuoka University, Ohya, Shizuoka 422, Japan

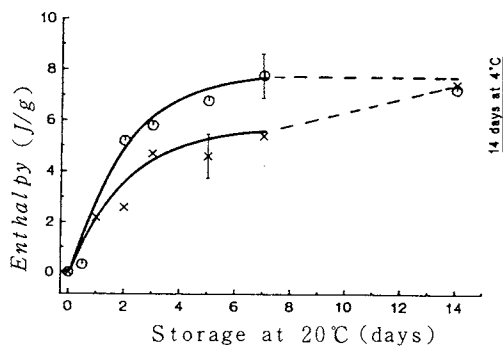


Fig. 1 Retrogradation kinetics by DSC of wheat starch gels stored at 20°C; 50% (w/w) (○) and 40% (w/w) (×). Limiting value: 14 days at 4°C. Heating rate: 10°C/min²).

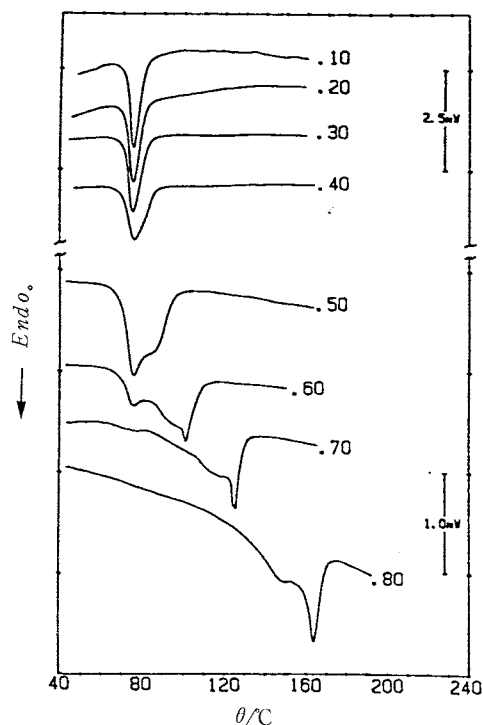


Fig. 2 DSC curves of a waxy rice starch at various water contents. Numbers designate weight fraction of starch. Weight of starch from top to bottom (mg): 1.10, 1.96, 3.07, 4.02, 4.99, 5.27, 4.85, 4.57. Heating rate: 10°C/min. All data files were normalized to a constant sample weight of 5.00 mg³).

これを4°Cで14日保存したものが最終平衡値に到達するものと仮定する。DSCの発熱エンタルピー (Fig. 1) とX線回折における $2\theta = 16.9^\circ$ における回折ピーク値とは20°Cでは7日間くらいではほぼ最終平衡値に近い値に到達するが、剛性率は到達しないことが示された。このような実験をするとき、DSC法は多数のセルに同時に試料を入れて保管できるので、他の方法と比較して容易であろう。剛性率測定に際して、歪を与えることが老化に影響を及ぼすと考えられるので、やはり多数のセルに同時に試料を入れて保管する必要があるが、DSCの場合よりかなり面倒となる。

澱粉に比較して水が十分存在するときは、昇温時の糊化に伴うDSCの吸熱ピークは唯一つ観測されるが、水分量を減らしていくと、第一のピークより高温側に第二の吸熱ピークが観測される (Fig. 2)³。このことについて、(i) Donovan⁴)は澱粉粒の結晶相に着目し、澱粉粒の非晶部の水和、膨潤と同時に結晶部分も水分量が多い場合には融解すると考えた。これが第一のピークとして現われる。しかし、水分量が少ないときはこの過程は完了せず、残った結晶部分はより高温で融解する。これが第二のピークである。それ故、第二のピークの温度は水分含量と融解せずに残っている結晶部分の熱的安定性によって変わる。

(ii) EvansとHaisman⁵)は澱粉粒全体に着目し、最初に最も不安定な結晶部分が融解する (第一のピーク) と考えた。この融解に際して澱粉を構成する高分子鎖が水を吸収し、残っている糊化していない澱粉粒にとって水が十分でなくなる。そのためこの未糊化の澱粉粒はもっと高温で融解する。これが第二のピークを与える。

(iii) Biliaderis⁶)らはこれらの考えを次のように批判した。(i)も(ii)も半結晶性の澱粉粒がDSCで昇温中に再組織化されることを考慮していない。MarchantとBlanshard⁷)は小角光散乱により部分的に糊化した澱粉粒中で非晶部分と残っている結晶部分の中の高分子鎖が再組織化される可能性があることを示した。実際、DSCの走査中に再組織化が起こっていることは次の実験事実から明らかであると考えられる⁶)。

(1) 昇温速度を変えて、澱粉に対し50%の水分でDSC測定を行うと、遅い昇温では二つ目のショルダーが見られたのが、速い昇温では一つのピークになってしまう。

(2) 水分率60%、70%の場合、第二の鋭いピークが現われるが、これはannealされ再組織化された物質部分の融解と考えられる。

(3) 糊化の途中でアミロース-脂質のヘリックスが半結晶性構造へと組織化されるという事実はさておき、これらの物質がDSC走査中に再結晶化するという証拠が

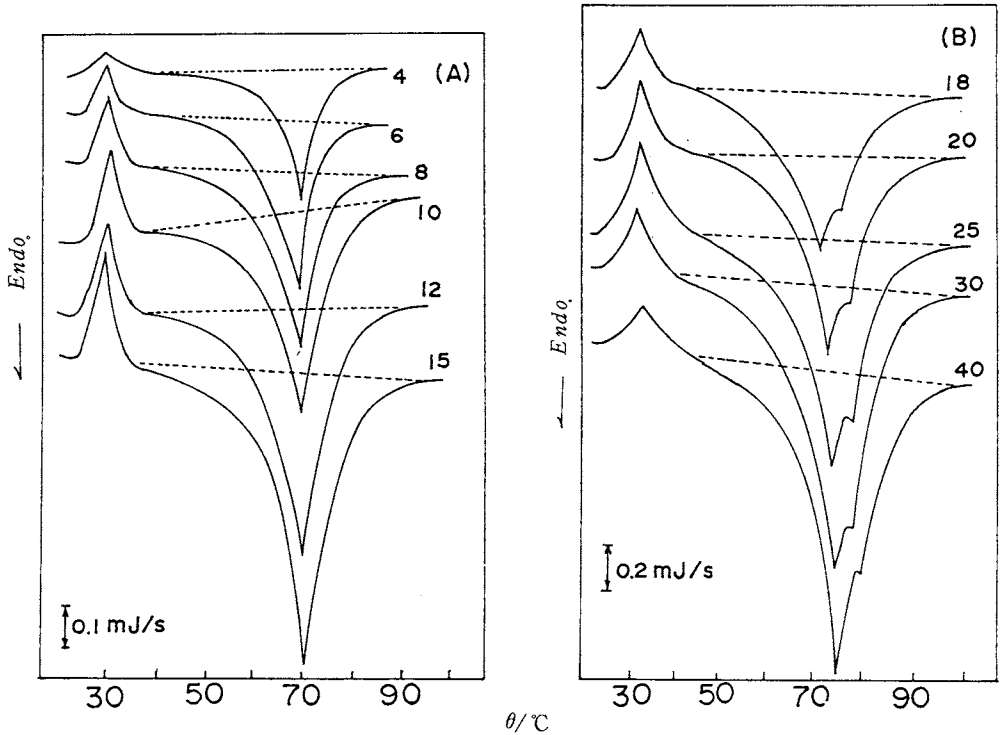


Fig. 3 Heating DSC curves of concentrated agarose gels. Numbers designate concentration of agarose gels in % (w/w). Heating rate: 2°C/min¹⁷⁾.

ある。さらに、単離したアミロース-脂質複合体において多重融解転移が起こることについてBiliaderisら³⁾は部分的な融解に続いて再結晶化、さらに終局的な融解が起こるためであると考えている。

要するにDSC昇温中にはいろいろな反対向きの過程が起こって複合的な効果をひき起こしている。それ故、特に水分量が少ないときにはDSC曲線は最初の澱粉粒構造を直接反映したものではない³⁾。

澱粉の結晶領域の融解温度に対する水の影響をFlory-Hugginsの熱力学的取扱いにより解釈する試みがなされたが^{8, 9)}, Slade & Levine¹⁰⁾はこの現象が非平衡融解であるからFlory-Huggins理論は使えず、WLF型自由体積理論により解析するべきであると考えた。

澱粉の糊化、老化についてはこの他にも多数興味深い報告があるが、ここではいくつか総説をあげておく¹¹⁻¹³⁾。

1.2 寒天

寒天は紅藻類に属する海藻多糖類である。寒天はアガロースおよびアガロペクチンからなっており、寒天の力

学的性質は主としてアガロースにより支配されている¹⁴⁻¹⁶⁾。アガロースはD-ガラクトースと3, 6-アンヒドロラーガラクトースからなり、ほとんど硫酸基を含まない。

アガロースゲルでは、Fig. 3¹⁷⁾に見られるように、約30°Cに発熱ピークが出現したが、この発熱ピークの原因は今のところよくわからない。また、ゲルの融点 T_m はゲル濃度の増加につれてわずかに高温側へ移動した。Eldridge-Ferryの式¹⁸⁾から網目構造形成に対する反応熱 $-\Delta H_m$ を求めると、 1.4×10^3 kJ/molであった^{19, 20)}。この値はアガロースの分子量が変わってもほとんど変化しなかった。また、吸熱ピーク面積から求めた吸熱エンタルピー ΔH はアガロース濃度にほぼ比例した。アガロースゲルの ΔH_m はカラゲナンおよびゼラチンゲルのそれよりはるかに大きい値を示した。これは、アガロースが分子中に多くの水酸基を含むために、2重らせん構造の分子が凝集して安定な架橋領域を形成しているからであると推察される。アガロースゲルの架橋領域は主として水素結合からなるものと考えられるが、架橋領域

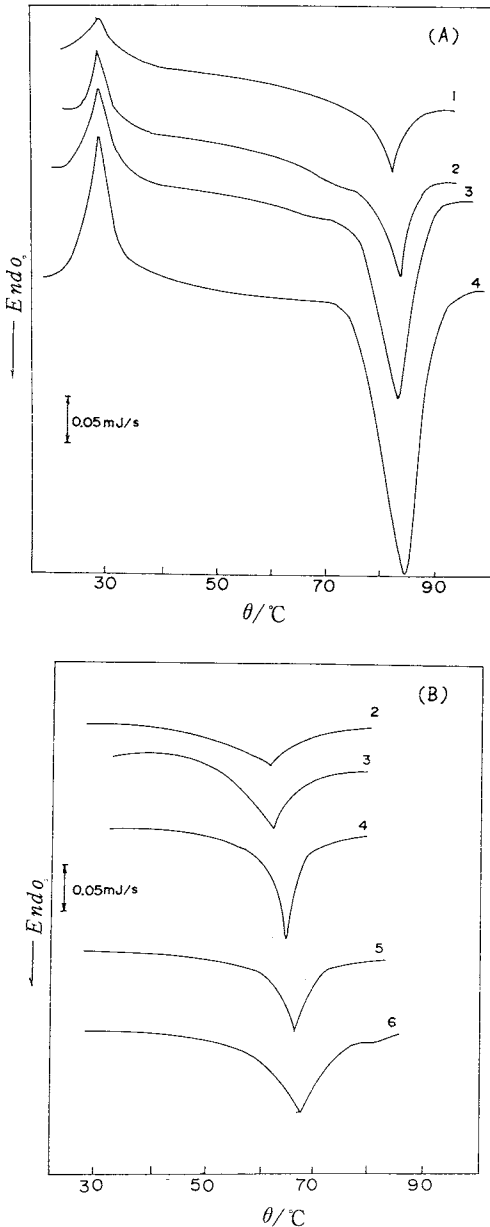


Fig. 4 Heating DSC curves of polysaccharide gels, extracted from *Gracillariopsis chorda*, of various concentrations (shown beside each curve in % (w/w)) pretreated by 4% NaOH (A) and by 0.7% NaOH (B). Heating rate: $2^{\circ}\text{C}/\text{min}$ ²³⁾.

の構造は次項で述べるカラゲナンと比較すると安定しているため、ゲルの T_m も高く、また、アルカリ金属塩およびアルカリ土類金属塩を添加してもゲルの熱的およびレオロジー的性質はほとんど変化しない¹⁵⁾。

アルカリ前処理の影響²¹⁻²³⁾。

オゴノリ (*Gracillariopsis chorda*) 粘質物はアルカリ前処理をしないとゲルを形成することができないが、アルカリ前処理をするとゲルを形成するようになる。これは同じ紅藻類であるマクサ粘質物から抽出した寒天がアルカリ処理をしなくてもゲル化するのとは著しく異なる。Fig. 4(A)はアルカリ前処理濃度4%の場合のゲルについてのDSC昇温曲線を示す。アルカリ前処理濃度が0.7%の場合には約30℃の発熱ピークは出現しなかった。また、同じ濃度のゲルでは、アルカリ前処理濃度が高くなるに従って T_m は高温側に移動した。しかし、アルカリ前処理濃度が同じ場合は、 T_m はゲル濃度の増加とともにわずかに高温側に移動した。前処理濃度2% NaOH (試料中の3,6-アンヒドロ-L-ガラクトースの含量約34%)付近でゲル形成能が急激に変化することが明らかになった。すなわち、アルカリ前処理濃度を増加させていくとき、 T_m および ΔH はNaOH濃度が2%付近で急激に増加した。これは、ゲルの構造を安定化するとみられる水酸基、逆に溶解性を増大させる硫酸基の配位する位置、3,6-アンヒドロ-L-ガラクトース含量などがNaOHの濃度が2%付近になると著しく変わり、ゲルの架橋領域の構造が著しく変化するからであると考えられる。 T_m および ΔH を比較すると、オゴノリゲルとアガロースゲルは類似している。オゴノリはアガロースと同様マクサ属に属することから、カラゲナンとかなりゲル化機構が異なると考えられる。すなわち、オゴノリのアルカリ前処理によるゲル形成能の増加は主として硫酸基含量に関係しているものとみられ、さらにこれらの配位する位置によって、3,6-アンヒドロ-L-ガラクトースの形成の度合いが異なるが、これも重要な影響を与えるものとみられる。

糖および多価アルコール添加による影響²⁴⁾

アガロース水溶液にグルコースおよびシュクロースを添加した場合とエチレングリコールおよびグリセリンを添加した場合は、アガロースゲルの熱的およびレオロジー的性質にかなりの差異がみられる。グルコースおよびシュクロースなどの糖の添加濃度の増加とともに T_m は高温側へ移動するのに対して、エチレングリコールおよびグリセリンなどの多価アルコール添加濃度の増加とともに T_m は低温側へ移動する。糖も多価アルコールも分子中に多くの水酸基を含んでおり、アガロース分子の構造に直接影響を及ぼし、また、溶媒としての水分子の構造を変えることにより、アガロースのゲル形成能を変化させる。アガロース水溶液に糖を添加していくと、糖の濃度の増加とともに、アガロースの溶解度は低下したが、多価アルコールを添加すると、多価アルコールの濃度の増

加とともにアガロースの溶解度は増加した。アガロース水溶液は常温でゲルを形成するが、アガロースのエチレングリコール溶液およびグリセリン溶液は長期間室温においてもゲルを形成しない。

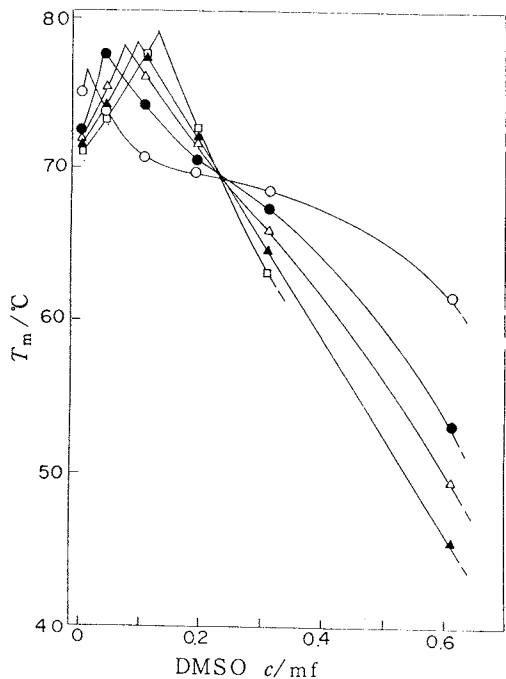


Fig. 5 Dependence of the melting temperature of agarose-DMSO-water gels on DMSO concentration. Agarose concentration, □: 2%, ▲: 4%, △: 7%, ●: 10%, ○: 15%

ジメチルスルホキシド添加の影響²⁵⁾

アガロースはジメチルスルホキシド(DMSO)によく溶けるが、ゲルを形成しない。DMSOと水は強い相互作用を示すので、両者の混合物は特異な性質を示す。アガロースを溶解する他の有機物と水の混合系では、アガロースゲルの T_m および ΔH は極大値を示さないが、DMSO-水系ゲルでは、 T_m および ΔH とも極大値を示した (Fig. 5)。DMSO-水系における水和物の構造については、熱力学、NMRなどの研究から $(CH_3)_2SO \cdot 2H_2O$ とする見解²⁶⁾と $(CH_3)_2SO \cdot 3H_2O$ とするもの、さらに、中性子散乱などの実験からDMSO分子周囲の水分子の協同現象的配向を考える説があり、また、粘度および超音波など多くの研究がなされている²⁷⁻³⁰⁾。アガロース-DMSO-水系ゲルの T_m および ΔH はDMSOの濃度範囲が0.04-0.15モル分率で極大値を示した。

T_m および ΔH の極大値はアガロース濃度の減少につれてDMSO濃度が増加する方向に移動した。これらのことから、以下のように推察される。アガロース-DMSO-水系ゲルの T_m および ΔH は“自由な”水およびDMSO分子の量的比率によって説明される。すなわち、0.277モル分率までは、自由な水分子の減少により、ゲル濃度は高められる。しかし、それ以上にDMSOが増加すると、“自由な”DMSO分子が増加し、二重らせん構造の凝集によって安定な架橋領域を形成していたゲルが不安定な構造に変わるため、 T_m および ΔH が減少し始めるものと考えられる。

1.3 カラゲenan

カラゲenanはゲル形成能の強いものからカップ、イオタ、ラムダの三つの部分に分けられる。カップカラゲenanはD-ガラクトース、3,6-アンヒドロD-ガラクトースおよび硫酸基からなっている。カラゲenanは寒天と異なり硫酸基を多量に含有するため、蛋白質との反応性に富んでいる。また、アルカリ金属塩およびアルカリ土類金属塩に対して特異な熱的およびレオロジー的挙動を示す。

カラゲenanは紅藻類、主としてヤハズツノマタ (*Chondrus Crispus*) から抽出されるが、*Euचेuma Cottonii* や *Euचेuma Spinosum* 粘質物も使用されている。*E. Spinosum* からはイオタカラゲenanが抽出される。カラゲenanにおいてはD-ガラクトースおよびアンヒドロD-ガラクトースの交互繰返し構造の規則性がアガロースよりも良いために、アガロースにない特異性がみられる。従って、ゲル化機構を研究するためのモデルとして、アガロースとともに使用されている。カップおよびイオタカラゲenanゲルの熱的性質³¹⁾

フィリピン産 *E. Cottonii* 粘質物からKOHを使用してアルカリ前処理した場合、アルカリ無処理の場合のカップカラゲenanと *E. Spinosum* 粘質物から抽出したイオタカラゲenanの3種の試料についてDSC測定を行った。これらの試料のイオウ含量をTable 1に示す。3種の試料について、1-15%ゲルのDSC昇温曲線をFig. 6に示す。30°Cあたりにみられる発熱ピークがカップカラゲenan(アルカリ処理および無処理とも)には出現するのに対して、イオタカラゲenanにはほとんどみられない。試料中の水酸基が増加すると、発熱ピークは高温側へ移動したのでこの発熱ピークは試料中の水酸基含量に関係していると考えられる。これは、ゲルの融解過程に入る前の分子間の凝集に伴う分子の再配列によるものと考えられる。ゲルの T_m はカラゲenan濃度の増加につれて著しく高温側に移動した。この傾向は試料

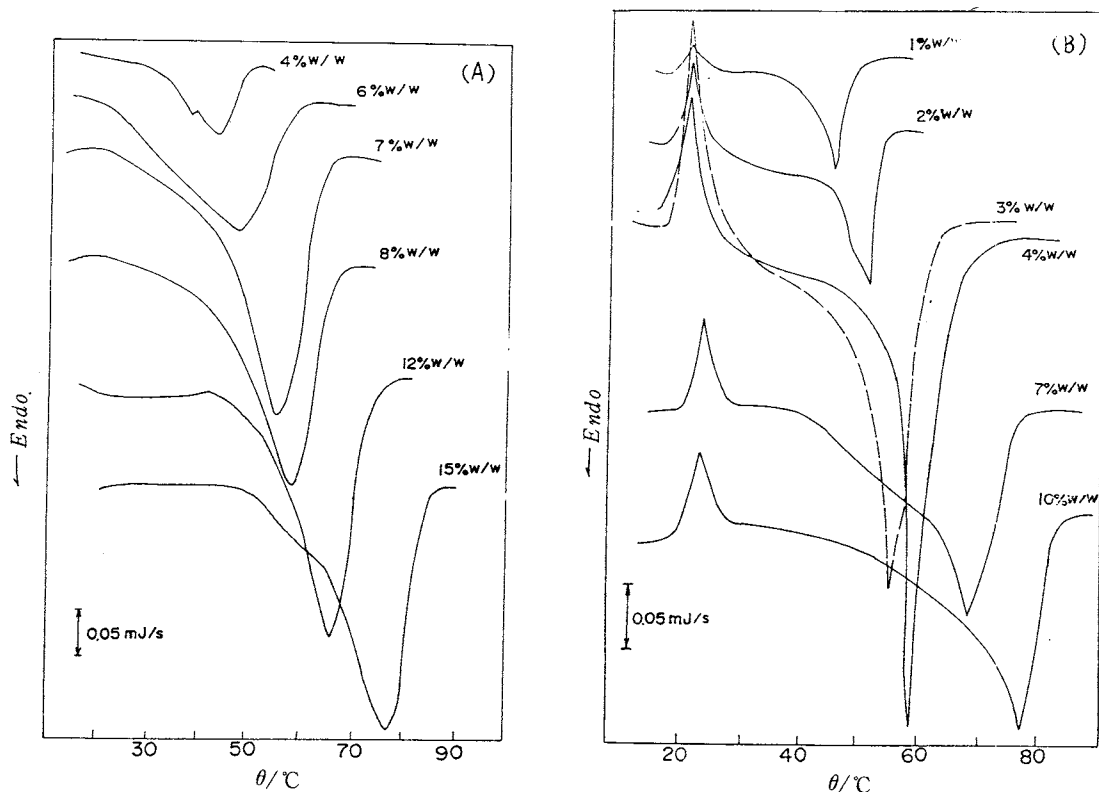


Fig. 6 DSC heating curves of iota- and kappa-carrageenan gels of various concentrations. (A): iota-carrageenan, (B): alkaline treated kappa-carrageenan. Heating rate: $2^{\circ}\text{C}/\text{min}$ ³¹⁾.

Table 1 Sulfur content and enthalpy, $-\Delta H_m$, of formation of network junctions of carrageenan samples.

	Sulfur content %	$-\Delta H_m/\text{KJ}\cdot\text{mol}^{-1}$
alkali pre-treated kappa-carrageenan	5.10	60
kappa-carrageenan without pre-treatment	6.32	53
iota-carrageenan	9.60	33

中の水酸基含量に関係しており、この点でアガロースとかなりの差異が見られる。Eldridge-Ferry プロットから求めた ΔH_m を、Table 1 に示す。

アルカリ金属塩およびアルカリ土類金属塩添加の影響
—陽イオンの影響—^{15, 32-35)}

カッパカラゲenan水溶液に少量のアルカリ金属塩を添加すると、カッパカラゲenanゲルの弾性率 E' および T_m は著しく増大した (Fig. 7)。これは、1価陽イオンがカッパカラゲenan分子中に入ることによって硫酸基間の静電的反発を遮蔽したため、ゲルの E' および T_m が

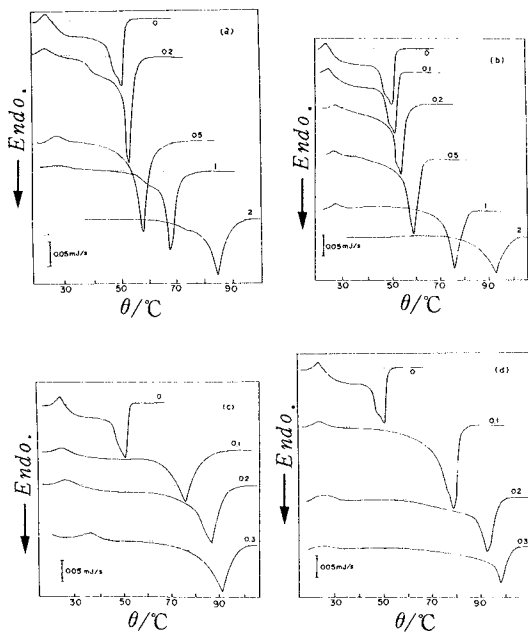


Fig. 7 DSC heating curves of 2% kappa-carrageenan gels containing alkali metal salts, (a): LiCl, (b): NaCl, (c): KCl, (d): CsCl. Heating rate: 2°C/min. Numbers designate concentration of alkali metal salt in mol/l.

増加したものと考えられる。E'およびT_mの増加する傾向がLi, Naイオングループと, Cs, Kイオングループではかなり異なった。LiおよびNaイオンは水の構造に対してstructure ordering ionsであるが, CsおよびKイオンはstructure disordering ionsであるためと考えられる。それ故, LiおよびNaイオンはカッパカラゲナン分子の硫酸基間の反発効果をより直接的に遮蔽するが, CsおよびKイオンは硫酸基間とイオンとの間に水分子が介在するため遮蔽効果が弱められたものと考えられる。また, アルカリ土類金属塩を添加した場合にも, E'およびT_mは著しく増加した³⁶⁾。アルカリ土類金属塩の添加によるE'およびT_mの増大傾向はMg²⁺≃Ca²⁺>Sr²⁺>Ba²⁺の順になった。この傾向はイオン半径の大きさの順に対応している。

—陰イオンの影響—^{37),38)}

陽イオンはカッパカラゲナン分子中の硫酸基の静電的反発を遮蔽することにより, ヘリックスの形成およびその凝集を促進すると考えられるが, 陰イオンはその反対に硫酸基の静電的反発を助長すると考えられる。

尿素および塩酸グアニジン添加の影響³⁹⁾

尿素および塩酸グアニジン(GuHCl)を添加したカッ

パカラゲナンおよびアガロースゲルについてDSCおよび動的粘弾性測定を行った(Fig. 8)。両者の水溶液に尿素を添加すると, ゲルのE'およびT_mは両者のゲルとも低下した。しかし, GuHClを添加した場合はアガロースゲルのE'およびT_mは低下したが, カッパカラゲナンゲルの場合はE'の極大値(0.5mol/lGuHCl)がみられた。また, GuHClを添加したカッパカラゲナンゲルのT_mはGuHCl濃度の増加につれて高温側に移動した。尿素およびGuHClは溶液中の蛋白質分子のコンホメーションを著しく変化させること, 尿素およびGuHClは水のいわゆるopen-packed structureを破壊することがよく知られている。アガロース, カッパカラゲナンゲルの熱的およびレオロジー的性質が, これらの物質の添加により上述の変化を示したことからGuHClの場合, 水素結合切断効果よりカラゲナン中の硫酸基の静電的反発抑制効果の方が重要であることが推察される。

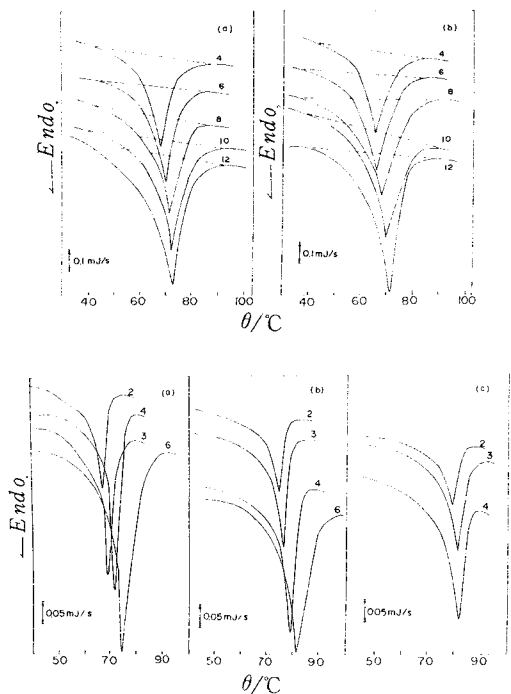


Fig. 8 DSC heating curves of agarose (upper) and kappa-carrageenan (lower) gels containing guanidine hydrochloride (GuHCl). Heating rate: 2°C/min. Numbers designate concentration of polymers in %(w/w). Concentration of GuHCl for upper figures: (a): 0.5 mol/l, (b): 1 mol/l. Concentration of GuHCl for lower figures: (a): 0.5 mol/l, (b): 1 mol/l, (c): 1.5 mol/l.

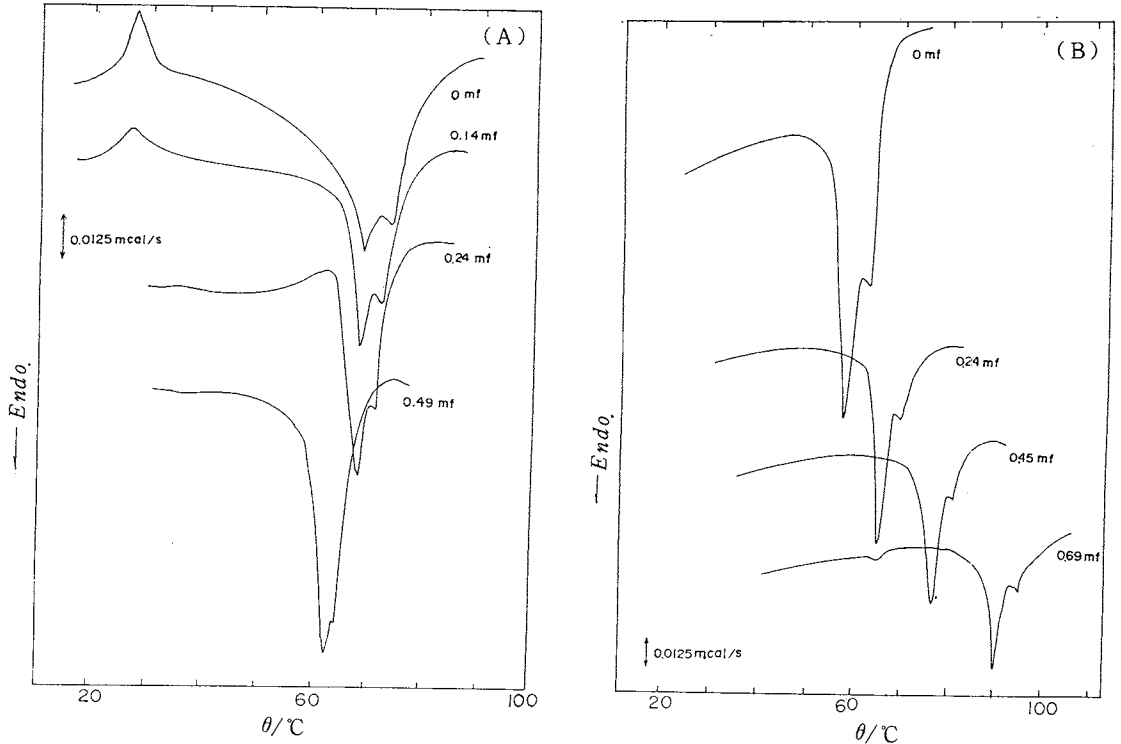


Fig. 9 DSC heating curves of 4% (w/w) agarose (A) and 4% (w/w) kappa-carrageenan (B) gels containing ethylene glycol. Ethylene glycol concentration is indicated by mf. Heating rate: 2°C/min.

糖および多価アルコール添加の影響²⁴⁾

グルコース、シュクロース、エチレングリコールおよびグリセリンを添加したゲルの動的ヤング率およびDSC測定を行った。多価アルコールを添加したカッパカラゲenanゲルはアガロースの場合と同様に、 E' は添加した多価アルコール濃度がある一定の値以下では、濃度の増加につれて増大したが、 E' の極大値以上では急激に減少した。また、添加した多価アルコールの増加につれて、昇温DSC曲線に現われるゲル-ゾル転移に伴う吸熱ピークは、アガロースでは低温側に、カッパカラゲenanでは高温側に移動した。その結果をFig. 9に示す。この結果について、架橋領域がLangevin鎖でつながれているゲルのモデルにより考察すると、カッパカラゲenanゲルでは多価アルコールの添加により(i)結合エネルギーが増大するか(ii)架橋領域間の距離が減少するかあるいは(iii)ゲル-ゾル転移が起こる直前までにほどけだすことのできるセグメントの数の上限が増大することが

推測されるが、アガロースゲルではこれと逆のことが起こっていると推測される。

2. 蛋白質

2.1 卵白

卵白を構成する蛋白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%)、グロブリン(4%)、リゾチーム(3.4%)などである⁴⁰⁾。卵白のDSC曲線においては、卵白中の各種蛋白質のDSC曲線の重ね合わせられたものが観測される。卵白から単離された各種蛋白質について、昇温速度10°C/minで測定したときの変性に伴う吸熱ピーク温度は、オボアルブミン84.0°C、リゾチーム75.0°C、コンアルブミン61.0°C、オボムコイド79.0°C、グロブリン92.5°Cである。オボムコイドとグロブリンは卵白中では他の蛋白質の変性によりかくされてしまい、DSCピークを示さない⁴¹⁾。

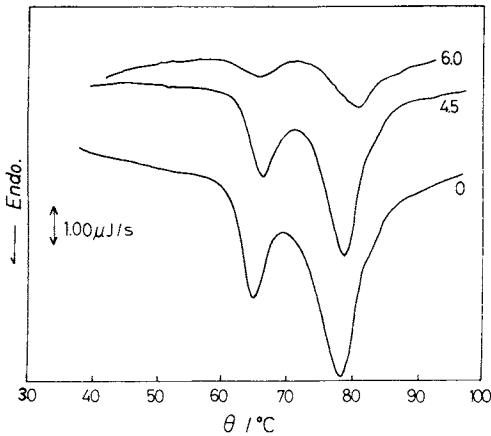


Fig. 10 DSC heating curves of egg white containing glycerin. Heating rate: 2°C/min. Numbers beside curves designate concentration of glycerin in mol/l. Normalized to a constant sample weight of 1.00 mg.

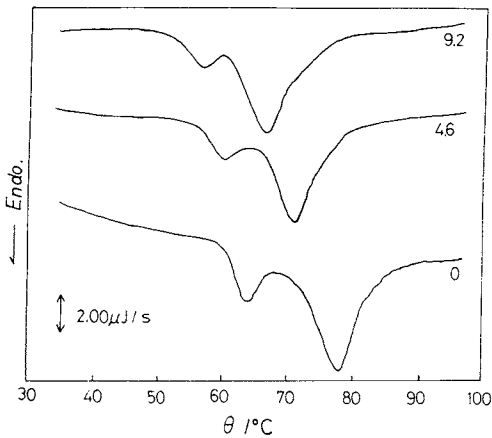


Fig. 11 DSC heating curves of egg white containing ethylene glycol. Heating rate: 2°C/min. Numbers beside curves designate concentration of ethylene glycol in mol/l. Normalized to a constant sample weight of 1.00 mg.

Fig. 10 および 11 に卵白およびそれにグリセリンあるいはエチレングリコールを添加した場合の DSC 曲線を示す。卵白だけの場合 64°C および 78°C にそれぞれコンアルブミンおよびオボアルブミンの変性に伴う吸熱ピークが見られる。上に述べた Donovan らのデータにおける変性温度の方が高温側に移動しているのは、我々の昇温速度が 2°C/min であるのに Donovan らの昇温速度が 10°C/min であるためである。卵白蛋白質に限らず、多数の蛋白質が糖や多価アルコールの存在下で安定化されることは良く知られている¹²⁾。しかし、Fig. 10 および 11 に示されるように、グリセリンの添加では変性温度は高温側に移

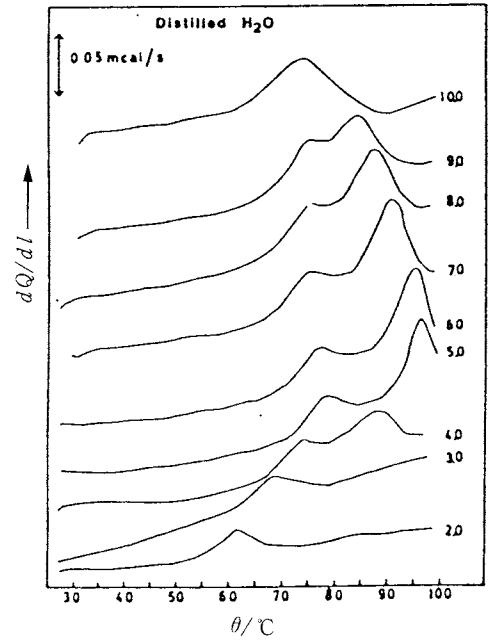


Fig. 12 DSC heating curves of 10% (w/w) soy protein dispersions in distilled water. Numbers beside curves designate pH. Heating rate: 10°C/min⁴⁵⁾.

動するのに対して、エチレングリコールでは逆に変性温度は低温側へ移動する。これらの結果は Oakenfull らの結果と一致する^{43),44)}。

月向⁴²⁾は糖あるいは多価アルコールの存在下で蛋白質が安定化されることについて、選択的溶媒相の考えにより説明している。多価アルコールの鎖長が長くなると疎水的相互作用が安定化されるようであるが、安定化させるか、むしろ逆の効果を示すかの境界は、ちょうどグリセリンのあたりにあるものと考えられている。

2.2 大豆蛋白質⁴⁵⁾

10%大豆蛋白質分散液のいろいろな pH における DSC 曲線を Fig. 12 に示す。極端な酸性 (pH = 2 と 3) およびアルカリ性 (pH = 10) 領域では、吸熱ピークが一つだけ見られたが、pH が 4 ~ 9 の間では、二つのピークが見られた。このピークは大豆蛋白質の変性によるものと考えられる。低温側のピークは 7S グロブリン、高温側のピークは 11S グロブリンに帰着されている。また、変性温度は塩化ナトリウムの添加により高温側へ移動したが、それは塩化ナトリウムが熱変性に対して構造を安定化させるためであると考えられる。塩化ナトリウムを添加した場合、pH 変化による変性温度のシフトはずっと小さくなった。

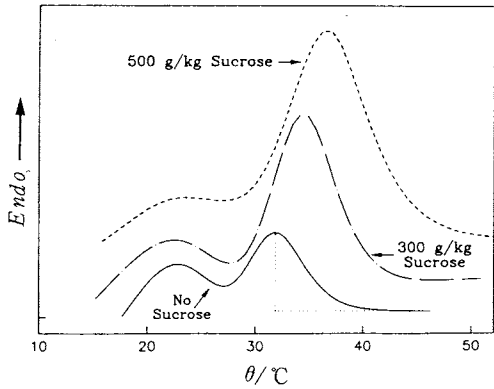


Fig. 13 DSC heating curves of gelatin gels (100 g/kg) with and without sucrose. Heating rate: $0.582^{\circ}\text{C}/\text{min}$ ⁴⁴).

2.3 ゼラチン

ゼラチンゲルのDSC曲線の典型例をFig.13に示す⁴⁴)。シュクロースの添加により変性温度は高温側へ移動している。また、エチレングリコールを500g/kg添加した場合、変性温度は34.1°Cとなったが、これはシュクロース添加の場合300g/kgに相当している。このことはシュクロース、グルコース、フラクトース、ソルビトール、グリセリンなどの添加によりゼラチンゲルの剛性率が著しく増加するのに対して、エチレングリコールの添加では剛性率が僅かにしか増加しないことと良く対応している。

最近、高橋らはコラーゲンからはほぼ純粋の α_1 , α_2 (分子量10万)および β_{11} , β_{22} (分子量20万)鎖ゼラチンを単離し、DSC測定を行った。その結果、 α_1 鎖ゲルの融点は28.0°C、 α_2 鎖ゲルは19.0°C、 β_{11} 鎖ゲルは28.2°C、 β_{12} 鎖ゲルは27.7°Cを示し、分子量の違いよりも分子鎖の種類の違いの方が熱物性に著しい影響を与えると報告している⁴⁶)。

2.4 酸性蛋白質の変性、熱凝固性に対する塩基性蛋白質の影響⁴⁷)

塩基性蛋白質(等電点pIが高い)を食品素材として用いるために、酸性蛋白質(pIが低い)との相互作用を調べるのが重要である。

pH9において5%メトミオグロビン(metMb)(pI=6.9)、これにクルペイン(pI=12)、アルギニン、塩化ナトリウムを加えた場合、DSC曲線は変性に伴う吸熱ピークを示す(Fig.14)。添加クルペインが0.1%では変性温度は変化せず、metMbと同じ変性温度69.9°Cを示す。0.2%以上のクルペインを添加すると変性開始温度 T_D は低温側にずれ、

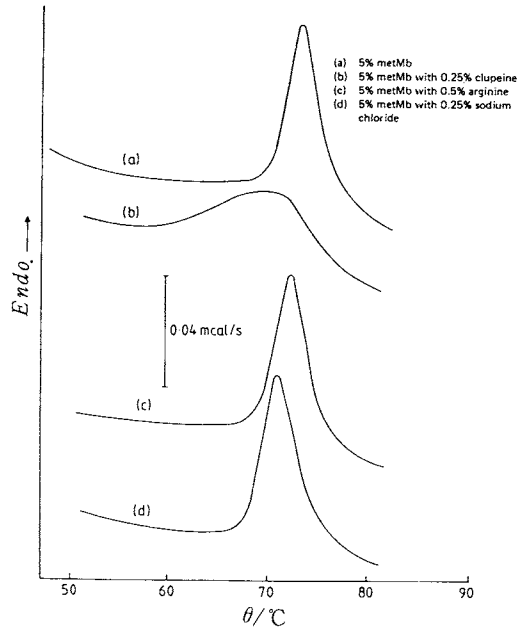


Fig. 14 DSC heating curves of metMb in water at pH 9. Heating rate: $5^{\circ}\text{C}/\text{min}$ ⁴⁷).

0.5%添加では $T_D=58.1^{\circ}\text{C}$ となる。クルペインは蛋白質のアンホールディングを促し、より低温で変性を始めさせると考えられた。さらにクルペインを多く添加しても(1%, 2%), T_D はあまり変わらないが、ピーク温度は低温側にずれた。これより、クルペインはmetMbの三次構造を乱し、内部の結合を切断するものと考えられた。これは、酸性蛋白質分子内の荷電関係をクルペインが変化させることによってひき起こされるものと考えられた。また、クルペインはある程度剛直な分子なので、metMbの三次構造に歪を及ぼすと考えられる。metMbに対してクルペイン量が少ないときは変性のエンタルピーは変化しないが、これは、三次構造が変性に先立って自然のままに保たれていることを示唆する。しかし、metMbに対しクルペイン量が多くなると変性エンタルピーは著しく減少し、加熱の前にある程度アンホールディングが起こっていることを示唆する。しかし、クルペインの主成分である自由なアルギニンを添加しても変性温度はあまり変化しない。塩化ナトリウムはアルギニンよりは変性温度を変化させるが、クルペインほどではない。それ故、アルギニンや塩化ナトリウムはクルペインと比較して蛋白質の構造を少ししか乱さないと考えられる。pH9において0.5%クルペインを含むmetMbに1%塩化ナトリウムを添加すると、 T_D は5.2°Cだけ高温側へずれる。これは静電的引力がイオンの静電シャへい効果に

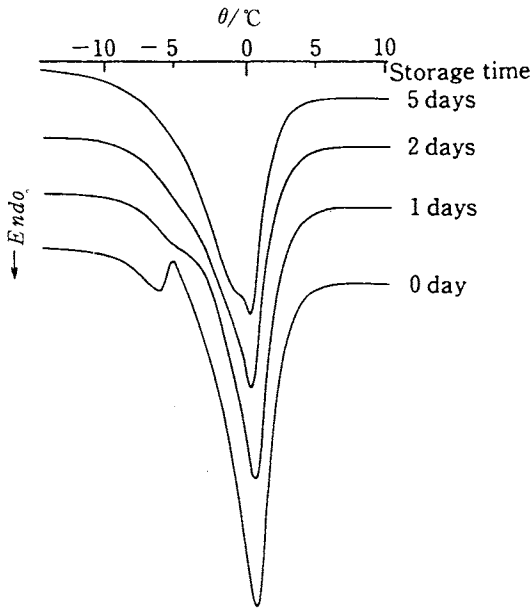


Fig. 15 DSC heating curves of potato starch gel with different storage times. Water content: 52.4%, treating temperature: 80°C. Heating rate: 2°C/min⁵⁰).

よって弱められたためと推察される。metMb の等電点 6.9 に近い pH 7 ではクルペインを添加しても T_D はあまり変化しない。これは metMb が荷電をもたずクルペインと相互作用をしても弱いものでしかないためである。pH 8 において牛の血清アルブミンにクルペインを添加すると T_D は低温側へずれるが、metMb の場合ほどではない。負に荷電した多糖類が等電点以下の pH, 低いイオン強度において、酸性蛋白質を不安定にしていることが示されている。このことは蛋白質の自然の構造が荷電した高分子量の対ポリイオンとの静電的相互作用によって乱されるという一般的仮説を支持するものである。

なお、metMb の熱分析については文献 48,49 を参照されたい。

3. ハイドロコロイド中の水の状態についての熱分析

3.1 澱粉中の水の状態^{10),50)}

最近、石田ら⁵⁰⁾はジャガイモおよびトウモロコシ澱粉について、水分を45~83%に調整し、80°Cおよび120°Cの二通りの加熱処理を行った試料を調製した。-50°Cまで降温した後、2°C/min で昇温してDSC曲線を観測した。凍結した自由水の融解にともない0°C付近に吸熱ピークが現われたほか、-5°C付近に別の吸熱ピークが出現した。また、このピークは5°Cで保存しておく、加

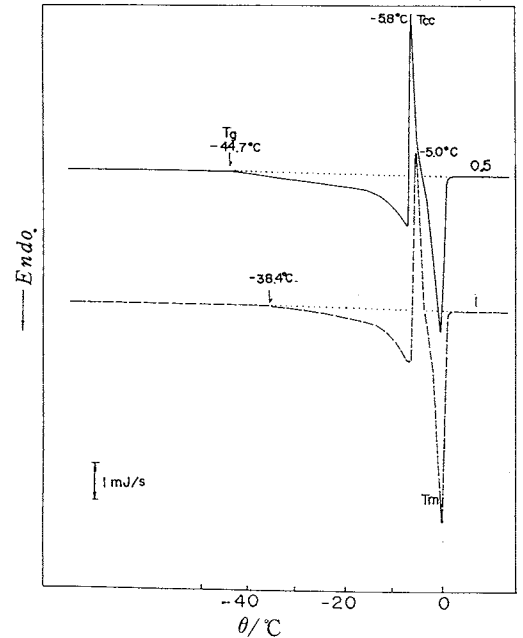


Fig. 16 DSC heating curves of 40% (w/w) agarose gels. Numbers beside curves designate the heating rate in °C/min⁵¹⁾.

熱処理温度や澱粉の種類により、異なる経時変化を示した (Fig. 15)。このピークは水分含量が60%以下の澱粉ゲルにのみ現われ、澱粉の網目構造中に閉じ込められた水によるものと考えられた。

3.2 アガロース中の水の状態⁵¹⁾

20%以上の低分子量アガロースゲルを凍結し、徐々に昇温すると、二つの吸熱ピークが出現する。3種の低分子量アガロースゲルについて、低温域におけるDSC測定を以下の方法で行った。15±0.1mgのゲル試料を15μlのアルミニウム密封容器にいれ、液体窒素により室温から-120°Cまで急速降温した。-120°Cで10分間温度を一定に保持した後、0.5-3°C/minで昇温した。標準物質としてアルファアルミナを用いた。Fig.16に見られるように、昇温速度を変化させると、DSC曲線がベースラインから吸熱側へずれ始める温度 T_g は昇温速度の増加にともない高温側へ移動した。最近、多糖類水溶液を凍結するとガラスを形成することが見出されており、この場合もガラス質が形成されたものと考えられる。0°C付近にみられる二つ目の鋭い吸熱ピークは昇温速度の変化によって、そのピーク温度があまり変わらないことから、凍結した自由水の融解によるものと考えられる。二つの吸熱ピーク間に鋭い発熱ピークが出現した。この発熱ピークは、

Cold Crystallizationであると考えられる。最初に現われる吸熱ピークはガラスあるいは無定形氷が融けることによって生じる。その後、融けたものが、再配列して結晶化する過程がCold Crystallizationである。濃厚アガロースゲルのX線回折において、結晶特有の回折ピークが観察されることから、無定形氷は主としてアガロースゲルの結晶領域に存在するものと推察される。また、DMSO-水系ゲルを-100℃まで冷却後、2℃/minの割合で昇温すると、凍結したゲルの融解に伴う吸熱ピーク温度はDMSO濃度が増加するとともに低温側に移動した。0.277モル分率DMSO濃度ではほとんど吸熱ピークは出現しなかった。DMSO濃度が約0.3モル分率以上になると、吸熱ピーク温度はDMSO濃度の増加に伴い高温側に移動した²⁵⁾。

3.3 その他のハイドロコロイド中の水

デキストラン⁵²⁾、カゼイン⁵³⁾、卵白⁵⁴⁾、大豆蛋白質⁵⁵⁾中の水の状態についてDSCにより調べられている。

文 献

- 1) 中村道徳, 貝沼圭二編, 「澱粉・関連糖質実験法」, 学会出版センター (1986).
- 2) Ph. Roulet, A. Raemy, P. Wuersch, *Food Hydrocolloids* **1**, 575 (1987).
- 3) C.G. Biliaderis, C.M. Page, T.J. Maurice, B.O. Juliano, *J. Agric. Food Chem.* **34**, 6 (1986).
- 4) J.W. Donovan, *Biopolymers* **18**, 263 (1979).
- 5) I.D. Evans, D.R. Haisman, *Stärke*, **34**, 224 (1982).
- 6) C.G. Biliaderis, C.M. Page, L. Slade, R.R. Sirett, *Carbohydr. Polym.* **5**, 367 (1985).
- 7) J.L. Marchant, J.M.V. Blanshard, *Stärke*, **30**, 257 (1978).
- 8) J. Lelievre, *Polymer* **17**, 854 (1976).
- 9) J.W. Donovan, *Biopolymers* **18**, 263 (1979).
- 10) L. Slade, H. Levine, *Carbohydr. Polym.* **8**, 183 (1988).
- 11) 中沢文子, 食品の物性 第13集, 松本, 山野編, 食品資材研究会, p.169 (1987).
- 12) 高橋幸資, *熱測定* **14**, 33 (1987).
- 13) L. Slade, H. Levine, in "Recent Developments in Industrial Polysaccharides", (S.S. Stivala, V. Crescenzi, I.C.M. Dea eds.), New York, Gordon and Breach Sciences, p.387 (1987).
- 14) M. Watase, K. Nishinari, *Rheol. Acta* **19**, 220 (1980).
- 15) M. Watase, K. Nishinari, *Rheol. Acta* **21**, 318 (1982).
- 16) M. Watase, K. Nishinari, *Rheol. Acta* **22**, 580 (1983).
- 17) M. Watase, K. Nishinari, IUPAC 32 Macromol. Symp., Merseburg (GDR) (1987).
- 18) J.E. Eldridge, J.D. Ferry, *J. Phys. Chem.* **58**, 992 (1954).
- 19) M. Watase, K. Nishinari, *Polym. J.* **18**, 1017 (1986).
- 20) M. Watase, K. Nishinari, *Makromol. Chem.* **188**, 1177 (1987).
- 21) M. Watase, K. Nishinari, in "Gums and Stabilisers for the Food Industry 3," G.O. Phillips, D.J. Wedlock, P.A. Williams eds., Elsevier Applied Science Publishers, London P.535 (1986).
- 22) K. Nishinari, M. Watase, *Carbohydr. Polym.* **3**, 81 (1983).
- 23) 渡瀬峰男, 西成勝好, *日バイレオ誌* **2**, 81 (1988).
- 24) K. Nishinari, M. Watase, *Agric. Biol. Chem.* **51**, 3231 (1987).
- 25) M. Watase, K. Nishinari, *Polym. J.*, (印刷中).
- 26) J.M.G. Cowie, P.M. Toporowské, *Can. J. Chem.* **39**, 2240 (1961).
- 27) D.H. Rasmussen, A.P. MacKenzie, (*Nature* **220**, 1315 (1968); K.J. Packer, D.J. Tomlinson, *Trans. Faraday Soc.* **67**, 1302 (1971).
- 28) G.J. Safford, P.C. Schaffer, P.S. Leung, G.F. Doebbler, G.W. Brady, E.F.X. Lyden, *J. Chem. Phys.* **50**, 3140 (1969).
- 29) S.A. Schichman, R.L. Amey, *J. Phys. Chem.* **75**, 98 (1971).
- 30) D.E. Bowen, M.A. Priesand, M.P. Eastman, *J. Phys. Chem.* **78**, 2611 (1974).
- 31) M. Watase, K. Nishinari, *Makromol. Chem.* **188**, 2213 (1987).
- 32) M. Watase, K. Nishinari, *Colloid Polym. Sci.* **260**, 971 (1982).
- 33) M. Watase, K. Nishinari, *J. Texture Stud.* **12**, 427, 447 (1981).
- 34) M. Watase, K. Nishinari, *Makromol. Chem.* **186**, 1081 (1985).
- 35) M. Watase, K. Nishinari, *Colloid Polym. Sci.* **263**, 744 (1985).
- 36) M. Watase, K. Nishinari, in "Gums and Stabilisers for the Food Industry 3," G.O. Phillips, D.J. Wedlock, P.A. Williams eds., Elsevier Applied Science Publishers, London, p.185 (1986).
- 37) 渡瀬峰男, 西成勝好, *日食工誌* **32**, 630 (1985).
- 38) 渡瀬峰男, 西成勝好, *日バイレオ誌* **2**, 51 (1988).
- 39) M. Watase, K. Nishinari, *Food Hydrocolloids* **1**, 25 (1986).
- 40) 渡辺乾二, *ニューフードインダストリー* **24**, No. 1 85 (1982).
- 41) J.W. Donovan, C.J. Mapes, J.G. Davis, J.A. Garibaldi, *J. Sci. Fd. Agric.* **26**, 73 (1975).

- 42) 月向邦彦, 蛋白質核酸酵素 **30**, 1115 (1985).
 43) J.F. Back, D. Oakenfull, M.B. Smith, *Biochemistry* **18**, 5191 (1979).
 44) D. Oakenfull, A. Scott, *Food Hydrocolloids* **1**, 163 (1986).
 45) A.M. Hermansson, *J. Texture Stud.* **9**, 33, (1978).
 46) 高橋幸資, 白井邦郎, 和田敬三, 日本食品工業学会第34回大会講演集, p.38 (1987).
 47) S. Poole, S.I. West, J.C. Fry, *Food Hydrocolloids* **1**, 301 (1987).
 48) P.L. Privalov, Yu. V. Griko, Yu. S. Venyainov, *J. Mol. Biol.* **190**, 487 (1986).
 49) 上平初穂, 城所俊一, 和田昭充, 生物物理 **27**, 60 (1987).
 50) 石田信昭, 小林登史夫, 貝沼圭二, 日食工誌 **35**, 98 (1988).
 51) M. Watase, K. Nishinari, T. Hatakeyama *Food Hydrocolloids* (印刷中).
 52) 村勢則郎, 熱測定 **14**, 133 (1987).
 53) K.D. Ross, *J. Food Sci.* **43**, 1812 (1978).
 54) M. Wootton, N.T. Hong, H.L.P. Thi. *J. Food Sci.* **46**, 1336 (1981).
 55) D.J. Muffett, H.E. Snyder, *J. Agric. Food Chem.* **28**, 1303 (1980).

文献追補

ゼラチンの熱分析: J. P. Bunshel, S.M. Clegg, E.R. Morris, in "Gums and Stabilisers for the Food Industry IV", G.O. Phillips, D.J. Wedlock & P. A. Williams Eds., IRL Press, p.105 (1988)., M. Djabourov, J. Leblond, P. Papon, *J. Phys. (France)*, **49**, 319 (1988).
 ミクロカロリメトリーによる溶液状態における研究: 蛋白質(上平初穂, 熱測定 **15**, 130 (1988)., カラゲナン, アガロース (C. Rochas, *Food Hydrocolloids* **1**, 215 (1987)., ゼンサン(北村進一, 久下喬, 第24回熱測定討論会講演要旨集, p.28 (1988)).

熱測定関係国際会議ニュース

August 25 – 28, 1989, China

IUPAC Conference on Chemical Thermodynamics
 (詳細は Vol. 14, No. 4, p. 142 参照)

March or October, 1989, Lille, France

Journees de Calorimetric et d'Analyse Thermique
 (詳細は Vol. 14, No. 4, p. 142 参照)

August 27 – 31, 1990, Como, Italy

11th IUPAC Conference on Chemical Thermodynamics
 (詳細は本号会告)

August 26 – 30, 1991, Nice, France

5th ESTAC (European Symposium on Thermal Analysis and Calorimetry)

Contact:

Dr. J. Rouquerol

Thermodynamics and Microcalorimetry Center
 26 rue du 14^e eme R.I.A.

13003 Marseilles

France

主催者 フランス熱測定学会 (AFCAT) (菅 宏)

Sept. 1989, Basel, スイス

Thermal Analysis, Calorimetry and Chemical Thermodynamics Conference

主催者 スイス, フランスおよびイタリアの熱測定学会
 (STK, AFCAT, AICAT)

連絡先 Dr. Erwin Marti (小沢 丈夫)