〔農化 第 52 巻, 第 4 号, R39~R47, 1978〕

食 品 の 水 和[†]

野 口 肇

(名古屋大学農学部食品工業化学科)

I. は じ め に

食肉や魚肉ではその重量の 70% 以上が水分であるし、ホウレン草などの野菜では 90% ぐらいが水分である。また穀物の中にも 15% ぐらいの水分が含まれていて、食品の構成成分の中で水の占める比重は大きく、したがってその役割もきわめて重要なものであることがうかがわれるのである。これらの水分の中には氷点下になっても凍結しないもののあることがしだいに確認されてきており、食品の中の水には、普通の水と同じく氷結点まで温度が下がると、水溶液部分から氷結晶になって析出する、いわゆる自由水と、よほど低温にならないと氷結しない結合水、すなわち水和水との 2 種類の水が存在することが明らかになった。この不凍水の存在は冷凍食品の保蔵や変質にとって重大な影響を与えるであろうことは容易に予想されることで、この面からの食品の水和水についての研究の意義が新たに見直されるべきであるという印象を著者は強くもつようになった。1974 年スコットランドのグラスゴウで開催された第 1 回の International Symposium on the Properties of Water in Relations to Food Quality and Stability においても氷点下における水和水の挙動に関する多くの研究発表がなされた⁽¹⁾。筆者は室温における生体高分子の水溶液中における水和水の研究にたずさわってきたので、この面から食品の水和水の研究の現状の検討を行い、常温と氷点下の水和水の差異、溶解状態にある食品構成高分子と、固体性の食品における水和水の状態の差異といった面に着目しながら解説を行いたい。さらに食品の水和水の研究の将来の展望についても筆者なりの見解を述べて、わが国における食品水和研究発展のささやかな一つの指標とし

たいと願ってここに筆をとった次第である。

II. 水 の 構 造

水の構造については長い間多くの人により研究されてきており、すぐれた解説も多い⁽²⁾。主として混合モデル (mixture model)、空孔モデル (interstitial model)、連続モデル (continuum model or distorted hydrogen-bonded model) の 3 つのモデルに分類され世界的規模で広く検討されているが、今日でもなお水の物性を完全に証明できる理論は確立されていない。最近では computer experiment 法も考えられ理論的研究が進んでいるが、最終的な統一見解はえられていない。現時点では、水は水分子が歪んだ水素結合で互いにむすばれたいくらかの構造をもつ連続液体であるという解釈がもっとも有力であって、よくいわれるように“クラスター (cluster)”と無秩序な水分子の部分との混合体であるという混合モデル (第 1 図参照) は水の実相を示すもので

第 1 図 クラスターの模式図⁽³⁾
水分子が水素結合で会合して生じたクラスターと単独の水分子が混合していると考えた水の構造図

[†] Hydration of Foods.

Hajime NOGUCHI (Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Nagoya University).

第2図 イオンのまわりの水

第1表 種々の方法で求められたイオンの水和数⁽⁶⁾

イオン	圧縮率	エントロピー	移動度	密度	NMR
Li ⁺	4.5	5	3.5	2.5	4
Na ⁺	4.5	4	2.0	4.8	3.1
K ⁺	3.8	3		1.0	2.1
Cs ⁺	2.5				1.0
Cl ⁻	2.2	3			0
Br ⁻	1.8	2			0
Ca ²⁺	9.0	10	7.5		
Mg ²⁺	10.0	13	10.5		

はないと考えられている。われわれは、Tanfordも述べているように⁽⁴⁾、水はある程度規則的構造をもつ連続液体と考え、この中に溶質を溶かせば、その溶質の入った部分の水が排除されて穴があくので、溶質のまわりの水の構造にはなんらかの変化が生ずるものと考え、この立場から水と溶質との相互作用を考察してゆくのが正しいことと思う。

III. 溶液中における生体高分子の水和

食品の水和について考察する前に、まず溶液中の生体高分子の水和現象について簡単に説明しておこう。このことは氷点下の食品の水和について研究するときの予備知識としても是非とも必要なことである。

1) 水和の種類

(i) イオンの水和 (electrostrictional hydration) 水分子は双極子をもつのでイオンの近くでは静電力によって強い引力をうけて、イオンのまわりに吸着され水和層を形成する。イオンのまわりの水分子の状態は第2図に示してある⁽⁵⁾。H層の水分子は強力な静電力でイオンに吸引され圧縮されている。この層の水を水和水と呼んでいる。F層は普通の水—自由水—であり、D層はH、Fの中間にあって、弱い静電力の作用をうけて構造がこわ

第3図 水和数の温度依存性

されている水和層である。Na⁺, Li⁺ イオンのような半径の小さいイオンではH層が大きい、Cs⁺ イオンのような半径の大きいイオンではH層は小さくD層が大きく、結果として水の構造が破壊されることになる。H層では水分子はより構造性を増している、Na⁺, Li⁺ イオンなどは structure maker ion, Cs⁺ イオンなどは structure breaker ion と呼ばれている。イオンの水和数は測定法によって相当の幅があることは第1表から分る。またこの表から Na⁺ イオンについては水和水の数はただか5個であるからこの水和水が第2図のようにきれいな球殻層を形成することはあり得ず、水和層というのはあくまでも概念的な便宜的表現であることに留意されたい。なお水和数は測定法によって相当の幅があるので水和量について考察するときは同じ測定法によるものでないと比較することは意味がないことになる。

(ii) 水素結合による水和 (hydrogen-bonded hydration) 単糖類、多糖類いずれも分子内に OH 基をもつが、これは水素結合によって水分子を結合し水和する。ポリペプチドの CO や NH 基も同様に水和することが知られている。Shiio は超音波干渉計によって糖類の水和水を、功妙な方法で測定し、OH 基 1 モルに結合する水和数を決定した⁽⁷⁾ (第2表参照)。Shiio はまたスクロースなどの水和数の温度依存性を測定している。

第2表 糖類の水和水

糖	cc/g	mole/OH
キシロース	0.28	0.58
アラビノース	0.42	0.89
フルクトース	0.38	0.76
グルコース	0.35	0.70
スクロース	0.20	0.48
マルトース	0.22	0.53
セロビオース	0.25	0.60

Goto と Isemura⁽⁸⁾ はスクロースとマンニットについてより広い温度範囲で水和数を決定している (第3図参照). いずれの場合も 15°C における水和数は 40°C のその5倍になっており, グリシンのようなイオン性水和にくらべて (この場合約 1.5 倍) 温度効果ははるかに大きい. OH 基に水素結合によって生じた水和水の間に別の水分子がまた水素結合で結ばれて水和水に組み入れられるという協同現象によって, 低温では多数の水分子が糖, 糖アルコールに水和されるのであるが, 温度上昇による水分子の熱運動の増大によって弱い水素結合は容易に破壊されて水和数は急速に減少するものと考えられる.

われわれは各種の分子量をもつデキストランについて精密な超音波法⁽⁹⁾で測定を行い, デキストランの分子量と水和水の関係の関係を明らかにした⁽¹⁰⁾. 第4図から分るように, 分子量 2000 以上の高分子領域では水和水は一定であり, 2000 以下の低分子領域では分子量の低下とともに水和水が増大している.

(iii) 疎水基の水和 (hydrophobic hydration) 1959 年 Kauzmann によってタンパク質分子の形態保持に疎水結合がきわめて重要な役割を果すこと, さらに疎水基のまわりに “icebergs” (氷殻) が形成されることが提案, 解説されて以来⁽¹¹⁾, この icebergs についての研究が広く取り上げられ, この言葉 (cluster も同じもの) が世界的に流布された. そして疎水基のまわりの水分子が氷状の準結晶構造を作り, その構成された icebergs のため水の体積変化がひきおこされ, その値は -20 ml/疎水基モル, という提案が十数年間にわたって信用され, 使用されてきた. 現在この現象は疎水的水和と呼ばれ, 水和現象の一つとして考えられている.

筆者らはこの疎水的水和についてデキストラン誘導体を使って研究し, プロピル基による疎水的水和による体積変化は -7.5 ml/mole であることを導いた⁽¹²⁾. これ

第4図 デキストランの結合水の分子量依存性 (25°C)

はメチレン基では -2.5 ml/mole であり, 従来信じられていた値より 1 桁小さい値である. また界面活性剤の比容測定の結果の解析から, 筆者はメチレン基では疎水的水和による体積変化は -1 ml/mole のオーダーであることを導いた⁽¹³⁾. Suzuki らはカルボン酸の 2 量体と単量体の間の解離定数 K_0 の圧力依存性から, 2 量体形成に伴う体積変化を求めて, その解析から, メチル基, エチル基, プロピル基の疎水的水和による体積変化はモル当り, -1, -5, -8 ml であることを証明した⁽¹⁴⁾. これらの値は筆者らの導いた値ときわめてよく一致し, われわれの値の正しいことが承認されるものと思う. 筆者らは疎水的水和層は icebergs といわれるような塊ではなく単分子層的な水和水であると提案した⁽¹²⁾. 将来疎水的水和現象を考えるときには, われわれの結論をもとにして議論をすすめる必要がある.

2) 水和の果たす役割

生体高分子のまわりの水和の果たす役割は, 機能と構造への効果の両面から考えられる. よく知られているように, リゾチームの Glu 35 の pK の値は 6 であって, 通常の値より 2 も大きく, 中性付近でも解離しない COOH が存在することになり, このことがリゾチームの酵素活性の発現の主因と考えられている. リゾチームの Glu 35 は疎水性アミノ酸にかこまれており, 疎水的环境に存在するカルボキシル基はその解離が抑えられていることになる. われわれはカルボキシルメチルデキストランにベンジル基を適当量導入した試料について pH 滴定によって pK_0 の値を求め, この値とベンジル基置換度との関係を調べた⁽¹⁵⁾. 第5図にその様子が示されている. あきらかにベンジル基がカルボキシル基のまわりに存在しはじめるとカルボキシル基の pK_0 は大きくなる. すなわち

第 5 図 カルボキシメチル-ベンジル-デキストランの置換度と pK_0 の関係 (0.02M NaCl, 25°C)

COOH は解離しにくくなるのである。これはベンジル基のまわりの疎水的水和現象のため水の構造が変化し、自由水が無くなり H^+ イオンは水分子を水和することが妨害されることとなり、COOH 基よりの H^+ の解離が抑えられることになるからである。このモデル実験によって上に述べた Glu 35 の特異性の原因の一つに水和現象が関与していることが証明されたのである。

最近の結晶タンパク質についての X 線構造解析によってタンパク分子に局在している水分子の配列状態が明らかにされつつある。Tosyl- α -chymotrypsin では 50 個の水分子がタンパク分子に結合しており、その中の 13 個が分子内に存在しアミノ酸との水素結合によってタンパク質の構造を安定化していることが分った。また残りの 37 個の水分子は外側に存在し、水素結合でタンパク分子に結合してそれぞれの役割を果たしていることも明らかにしたが、興味あることは、疎水基のまわりに、かつての icebergs のような多数の水分子の存在が認められないことである⁽¹⁶⁾。このほか ConA⁽¹⁷⁾ や Carbonic anhydrase C⁽¹⁸⁾ についてもタンパク質分子の構造の要素となっている水分子が発見されている。これらタンパク分子内に存在してその構造の一部となっている水は構造水 (structure water) とよばれていて、前に述べた水和水とは本質的に異なっているが、結晶タンパク質分子の外側に存在する結合水と溶液中でのタンパク質の水和水との関係を明らかにすることは、タンパク質の水和現象を解明する上できわめて重要な残された問題であることを強調しておきたい。

IV. 食品の水和

食品中の水の挙動に関する研究においては、古くより蒸気圧法による乾燥食品への吸着水の研究が行われている。ある温度において食品のおかれている容器中の水の平衡蒸気圧を p 、同一温度における純水の平衡蒸気圧を p_0 とすると、近似的に食品中の水の活量 a (しばしば水分活性 A_w と表わされる) との間に $a (\equiv A_w) = p/p_0$ の関係がある。

この a あるいは p/p_0 を横軸にとり、縦軸に食品の含む水分量をとった吸着等温線 (adsorption isotherm) を求め、この曲線からいろいろの理論的考察を行い、食品に吸着された水分子 (水和水) についての検討がなされ、食品に含まれる水についての有用な情報がえられてきた。こうした研究は 1978 年大阪において行われる第 2 回 International Symposium on the Properties of Water においても数編の発表が予定されており、古くて新しい食品の水和の研究分野の一つになっている。ここでは紙数の関係でこの問題にはふれず、他のすぐれた解説にゆずる⁽¹⁹⁾。ただ一つ注意しておきたいことは、乾燥タンパク質への水の吸着をこの方法で調べるときは、タンパク質には脱水変性がおきているということを考慮する必要があることである。したがって吸着等温線を理論的に解析する際には、変性によるエントロピー変化、エンタルピー変化についても考慮しなければならず、さらにその変性程度は吸湿度で変化するので、これらの点を組み入れた理論的發展が期待されるのである。

近年になって核磁気共鳴 (NMR) の測定技術が進歩し、生体内における水の挙動をプロトンを直接の目じるしとして研究することが可能となり広く行われてきた。定常波 NMR (広幅 NMR と高分解能 NMR) が固体状態の物質に吸着された水和水の研究に応用され、そうとうの成果がえられている。とくに氷点以下でも食肉や濃厚タンパク溶液中において凍結しない水の存在を確認したことは高く評価されなければならない。一方においてパルス NMR も 1970 年以来装置が進歩改善され、市販されるにつれて生体細胞内の水、食品中の水の存在状態を動的に解析する研究が盛んになり、水和水の分子運動の様相もしだいに明らかになりつつある。

他方、熱量計法による水和水の研究も、信頼度の高い装置が市販されるようになったこともあってここ 10 年來ひろく行われるようになり、主として氷点下における

食品中の不凍水の定量が試みられ、いくつかの興味ある現象が見出されている。以下順を追って説明してゆく。

1) NMR による食品の水和の研究

広幅 NMR, 高分解能 NMR, パルス NMR の原理, 装置, 測定法などについては多くの入門書, 教科書があるのでそれらを参照されたい⁽²⁰⁾。

(i) 定常波 NMR 法による不凍水の研究 NMR 測定によれば, 固体中に存在するプロトンは液体中におけるプロトンよりもその運動が制限されているので幅広い吸収カーブを与え, 後者は鋭いピークを与える。したがって適当に装置を調節すると固体 (たとえばタンパク分子や水) 中のプロトンからの信号を無視して, 液体中のプロトンからの信号のみを読みとることができる。さて食品中の水は主に2種類に分類される。すなわち普通の水と同じ挙動を示す自由水と, 食品の構成成分とのかたく結合して自由水とは異なった挙動を示す結合水 (これは水和水と同じものと考えてよい) とであって, 氷点以下では前者は凍結するが, 後者は凍結せず液体としての性質を残している水分子の集合であり unfreezable water (不凍水と訳す) となっている。したがって NMR によればこの不凍水からの信号を適当な測定法で読みとって解析し, その量や動的状態を知ることが可能になるわけである。

Sussman と Chin⁽²¹⁾ は NMR によってタラ肉中の不凍水の研究を行った。おそらくこれが食品中の不凍水の NMR による最初の研究である。タラ肉中の不凍水の定

第6図 タラ筋肉中の未凍水の重量%と温度の関係

第3表 種々の方法で求めたタンパク質の水和量 (g H₂O/g protein)

タンパク質	NMR 法	熱量計法	蒸気圧法	沈降法
オヴァルブミン	0.33	0.32	0.30	
血清アルブミン	0.40	0.32, 0.49	0.32	0.52
ヘモグロビン	0.42	0.32	0.37	0.75
ミオグロビン	0.42		0.32	0.42
リゾチーム	0.34	0.3	0.25	0.52
キモトリプシノーゲン	0.34		0.29	0.44

量は NaCl の濃厚溶液を用い, NaCl-氷相図によって不凍水量を求め, これからの信号を基準にとって行っている。第6図にその結果を示す。-20°C でも10%の水は不凍水として残っているが, -70°C ではすべての水は凍結する。Toledo ら⁽²²⁾ は低タンパク含量 (6.7%) の小麦粒 (10~59% 水分を含む) について不凍水 (結合水) 測定を -50°C まで行っている。その結果によれば, 乾燥小麦粉単位重量当りの結合水の量は水分含有量によらず一定であると結論している。

一方 Kuntz ら⁽²³⁾ は5~10%のタンパク質水溶液を -35°C に保ち高分解能 NMR で吸収曲線を求め, -35°C でも凍結されないで動いている水分子の存在を証明し, この不凍水の量は熱量測定法から求めた値とだいたい一致することを示した。また NMR 法で求めたこの不凍水の量すなわち水和量は他の方法で求めた常温におけるタンパク質の水和量とだいたい一致している (第3表⁽²⁴⁾参照)。

Kuntz はさらに凍結ポリペプチド水溶液 (-20~-60°C) についての NMR の研究から各アミノ酸の水和量を決定した⁽²⁵⁾。その結果によればアミノ酸残基1モル当りの水回数, イオン性アミノ酸で4~7モル, 極性アミノ酸で2~4モル, 疎水性アミノ酸で1モル, である。これは他の測定結果とも一致しているという。いずれの場合も常温でのそれぞれの水和量と一致するという点に筆者は大きな疑問をもつものであり, これは将来充分検討すべき問題である。しかしながらタンパク質溶液で行った Kuntz らの結果の報告は有名になり, -35°C でも凍結しない水の存在が多く研究者の注目を集めた。Kuntz はさらにこうして求めたアミノ酸の水和量を加算して球状タンパク質の水和量を求めると, この値はそれぞれのタンパク質の水和量の実測値に一致することを示したが, もしこれが正しければタンパク質分子の高次構造は水和量に影響を与えないこととなり Warner ら⁽²⁶⁾ の提案とは矛盾することになる。この点の検討は

タンパク質の水の研究にとってはきわめて重大な意義をもつものと思う。

Shanbhag ら⁽²⁷⁾は小麦粉が結合することのできる大量の水を bound water capacity と定義し、この値を NMR の読み取り操作によって決定することを試み、つづいて Mousseri ら⁽²⁸⁾も同様の試みをしているが、室温における NMR 法による水和量の決定はいまのところ信用できる段階にない。

定常波 NMR 法でえられた最大の成果は氷点下数十度でも食品中に存在する水の一部は unfrozen state にあるということである。−80°C になればすべての水が凍結するという現象の発見は食品の冷凍保存に有意義な示唆を与える。すなわち −20〜−30°C の魚の冷凍保存では半年ぐらいで変色がおこるが、−80°C ぐらいの保存だと2年ほどはそうした変化がみとめられないという現象は、この不凍水の存在条件ともよく一致しており、興味もたれるのである。

(ii) パルス NMR による水の水の研究 核磁気の緩和現象にはスピン-スピン緩和現象 (特性時間 T_2) とスピン-格子緩和現象 (特性時間 T_1) の2つがあって、これについて考察すると、観測される NMR の吸収線が物質の物理的状態でどのような影響をうけるかについての解析が可能となる。とくに T_1 , T_2 の測定をすれば、水分子の存在状態、とくにプロトンの回転の相関時間 τ_c (分子が1ラジアン回転するのに必要な時間) が求められる。

Daszkiewicz ら⁽²⁹⁾, Koenig ら⁽³⁰⁾, Blicharska ら⁽³¹⁾は室温においてオヴァルブミンその他のタンパク質水溶液についての T_1 , T_2 の測定を精力的に行い、タンパク質に結合 (水和) している水の τ_c は純水中のプロトンの $\tau_c \approx 10^{-12}$ sec より著しく大きいことを明らかにした。

第7図 タンパク質の水和

また一方においてはパルス NMR 法による細胞のような生体組織内の水の挙動の研究も広く行われており、すぐれた総説もある⁽³²⁾。また上平による解説⁽³³⁾は新しい文献もありよくまとめられている。上平はこれら多くの研究結果を総括して、タンパク質分子の水和について第7図のようなモデルを提案している。

A層の水はタンパク質に直接結合して、極性基または解離基に配向している。そのため熱運動は強く束縛され、タンパク質分子と一緒に運動するので τ_c は $10^{-5} \sim 10^{-7}$ sec であり、B層の水分子との交換には十分長い時間が必要である。このA層の水は −70°C では凍らない。B層の水はタンパク質に水和した水分子の中で第二層以下の水分子で、その熱運動はタンパク分子のそれとは独立であり $\tau_c \approx 10^{-9}$ sec のオーダーであり −25°C くらいまで凍結しない。C層は自由水であって $\tau_c \approx 10^{-12}$ sec である。

一方において Kuntz も彼の総説の中で⁽²⁴⁾、タンパク質分子の水和状態について次のように述べている。(a) タンパク質分子当り 10~20 個の水分子は特別の結合位置に強く結合されており、これはX線回折で見出された“構造水”である。(b) タンパク質分子の表面を直接カパーしている水分子が 200~2000 個存在し、この水分子の相関時間は 10^{-9} sec のオーダーである。これはおそらく凍らない水である。(c) (b) より外側にある水は自由水である。

タンパク質の水和水についてのイメージは、以上説明したようにだいたい同じところに収斂してきているように思われる。このタンパク質分子の水和の状態はタンパク食品の水和を考えるとときに重要な目やすになるものである。

さてパルス NMR 法による生体組織内の水の挙動、純粋タンパク質の水和の研究がきわめて活発に行われたことの影響もあって食品中の水の状態についての、この方法による研究も盛んになった。Pearson ら⁽³⁴⁾は豚肉中の水の緩和現象を硬直過程、氷結-解凍サイクルにおいて研究している。彼らによれば豚肉中の水は“結合水”と“自由水”の2種類しか存在しないという従来の単純なモデルでは測定結果の解析は不可能であって、豚肉中には2つの異なった相が存在し、各相の中に結合水と自由水が存在するという二相二成分系モデルによれば実験結果の解析ができると結論している。しかしながら具体的に2つの相とは何であるかについては全く分っていない。

い、

Hester と Quine⁽³⁵⁾ は小麦粉や飼料中の油と水分の急速な決定をパルス NMR 法で行った結果について報告している。油の分析は 10sec/sample, 水分分析は 1min/sample であり水分含量 13~15% の小麦粉については標準偏差 0.2% で、油 1~4%, 水 7~14% 含有の混合飼料については標準偏差 0.2~1.2% で決定可能である。

Leung ら⁽³⁶⁾ はセルロース、カゼイン、コーンスターチ、ペクチンなどの室温における水和状態を T_1 , T_2 の測定で追究して、この方法は食品の水和量と、水和の強さを決定するのに有力な方法であることを示した。しかしながらパルス法は水和水の動的状態を知るにはきわめて有効であるが、水和量の決定には今のところきめ手がなく、この点について将来の発展が切に望まれるところである。

2) 熱量計法による水和水の研究

食品中には氷点下に保っても凍結できない水が存在することはすでに述べた。この不凍水は食品中で食品の構成成分と強く相互作用をしており結晶化されない水のこと、これはいわゆる“結合水”と等しいものと考え、熱量計法はこの不凍水の量を決定することを目的として利用されている。食品を完全に凍結しておいてこれを徐々に温める(一定時間に一定熱量を与えてゆく)。温度上昇とともに凍結している氷はとけてゆく(この水は自由水である)。解凍するのに使用された全熱量から不凍水と試料の昇温に使用された熱量を差引けば、食品中の氷の融解熱が求められ、この時の融解熱は自由水の氷のそれと等しいと仮定すれば、食品中の氷の量が算出され、したがって不凍水の量も求められる。しかしながらこの算出操作にはいろいろ問題があって完全な方法は現段階ではないというのが一般の見方である。

熱量計法には示差走査熱量測定(DSC)と示差熱分析(DTA)の2つがあるが、これらの作動原理や解析方法を熟知して実験しないと、あやまった結論をうるので、実験に先だって適当な参考書⁽³⁷⁾を読むことが必要とされている。

DTA 法および DSC 法による不凍水の研究は相当量にのぼるが、ここでは代表的な二、三の論文について述べる。Duckworth 一門による研究は組織的であり、彼は熱量計法による不凍水研究の先駆者の一人であろう。彼は両法により-180°C までの測定をしている^(38,39)。結果によれば、-78°C までで食品中のすべての水は凍結

第4表 食品中における不凍水の量

材 料	-78°Cまで凍結しない水の量(g H ₂ O/100g 乾燥物)	他 の 研 究 者	
		不凍水量	測定温度(°C)
Celery	19.75~23.75	19.72~20.14	-60
Green bean		22.5 ~22.9	-60
Cod	24.02~24.80	25.7 ~27.0	-60
		39.0	-60
		36.8	-20
Cod(extracted)	24.1 ~25.41		
Egg white	26.76~29.32	32.5 ~40.0	-60
		32.9 ~38.4	-30
Egg white (desalted)	27.41~30.06	25.0	-30
Egg white (denatured)	22.36~25.57		

第5表 熱量計法(DSC)で求められた不凍水量(g H₂O/g protein)

	DNA	プロコラ ーゲン	血清アル ブミン	オヴァル ブミン	ヘモグ ロビン
生	0.61	0.47	0.32	0.32	0.32
変 性	0.65	0.51	0.33	0.33	0.34

してしまい、それ以下-180°C まで冷却しても食品中に新しい氷の出現は全く認められていない。第4表に測定結果を示しておく。

熱量計法による水和水量の測定値にはだいぶ幅があるののでいずれの値が正しいのか判断にまようが、これは前に述べたように測定のむずかしさによるものであろう。分離精製されたタンパク質を例にとるとカゼインに対して、0.24~0.30 g/g (Duckworth⁽³⁸⁾)、0.55 g/g (Berlin ら⁽⁴⁰⁾)、0.43 g/g (Ruegg ら⁽⁴¹⁾) である。

またタンパク質が変性された場合の水和量の変化についても研究が行われている。Ruegg らはカゼインではレンニン処理したり、酸で沈殿させたりしても生のカゼインと結合水の量はほとんど変化しないと報告している⁽⁴¹⁾。熱量計法で求められた各種タンパク(生、変性)の水和量を Kuntz ら⁽²⁴⁾にしたがって第5表に示しておく。変性タンパク質の方がやや水和量が多いという結果は、水溶液中においても同様であって、この点については氷点下でも、室温でもその傾向は同じである。

V. 食品水和研究の問題点と展望

最後にこうした食品の水和に関する研究をふりかえってみて、その問題点についてまず簡単に述べてみたい。

糖やアミノ酸にみられるように水和量は温度依存性が非常に大きいので、当然食品についても同じ傾向があることは間違いない。この温度依存性を無視して、氷点下で実験的に算出した水和量と室温で求めたそれと比較して、よい一致を示すなどといっても何の意味もないので、この水和量の温度依存性を氷点下の温度をふくめて研究し、信頼度の高いデータを集積することが望まれるのである。また熱量計法による不凍水量の決定法そのものを検討し、統一性のあるデータが求められるような努力がなされなければならない。同一試料についての不凍水の算出量が研究者ごとにまちまちである間は、本質的な議論はできないのである。

以上のような問題点のほかに、将来食品の水和について研究をすすめるのにどのような点に留意すべきかという研究の方向、展望といったものを、筆者なりに述べてみたい。第一は、前に述べたように室温下の溶液中にあっては3種類の水和が存在するが、この水和状態が氷点下でどのような挙動を示すのかが問題であり、まずこの点についての研究が展開されなければならない。多糖類でも不凍水が存在するので、水素結合による水和水も不凍水となりうることは分るが、一番関心がもたれるのは凍水的水和水についての結果である。しかし、現在のところ何の報告もない。第二は、氷点下の食品では unfreezable water と free water の2種類だけを考えればよいのかということである。そしてこの不凍水は食品構成成分への結合水すなわち水和水であると簡単に結論してよいのか、またこの不凍水にも性質の差異がないのかという点の追究が必要である。第三には、かつて話題になった polywater⁽⁴²⁾ のような水が存在するのではないのかという疑問も生じる。2枚の石英板あるいはガラス板に水をはさみ、その間隔を 0.1μ にすると、この水は 0°C で凍結しなくなる⁽⁴³⁾。これも unfreezable water であるが、水和水とは考えられない。したがって不凍水がすべて結合水と単純に結論するには疑問が残って将来の研究の展開にまたねばならないのである。

第四に、すでに述べたようにタンパク質分子のもつ結晶構造水は、水溶液中でどのような挙動をするのかという点の研究もきわめて重要である。

紙数の関係と不勉強のため、食品の水和について内容のある解説とならなかったが、筆者の考えでは、食品の水和についてはいまだその物性面の研究は緒についたばかりで、本質的な問題の解明はすべて将来の研究の発展に

またねばならないであろう。そして水和水の研究方法としては NMR 法と熱量計法を併用するのが現段階では最善であると思う。

- (1) このシンポジウムの内容は“Water Relations of Foods” (R. B. Duckworth, ed.) Academic Press, 1975 として刊行されている。
- (2) 荒川 泓：化学の領域，増刊106号，15(1974)；D. Eisenberg and W. Kauzmann：“The Structure and Properties of Water”，Oxford, 1969 (邦訳あり)；“Water”，Vol.1 (F. Frank, ed.) Plenum Press, 1972 など。
- (3) G. Némethy and H. A. Scheraga：J. Chem. Phys., **36**, 3382 (1962)。
- (4) C. Tanford：“The Hydrophobic Effect”，Wiely, 1973, p.19。
- (5) H. S. Frank and W.-Y. Wen：Disc. Faraday Soc., **24**, 133 (1957)。
- (6) 宮嶋孝一郎：化学の領域，増刊106号，83(1974)。
- (7) H. Shioo：J. Am. Chem. Soc., **80**, 70 (1958)。
- (8) S. Goto and T. Isemura：Bull. Chem. Soc. Japan, **37**, 1697 (1964)。
- (9) 野口 肇：生化学実験講座1. タン白質の化学Ⅲ (日本生化学会編)，東京化学同人，1976, p.393。
- (10) K. Gekko and H. Noguchi：Biopolymers, **10**, 1513 (1971)。
- (11) W. Kauzmann：Adv. Protein Chem., **14**, 1 (1959)。
- (12) K. Gekko and H. Noguchi：Macromolecules, **7**, 224 (1974)。
- (13) H. Noguchi：Prog. Polymer Sci. Japan, **8**, 191 (1975)。
- (14) K. Suzuki et al.：J. Phys. Chem., **77**, 1918 (1973)。
- (15) K. Gekko and H. Noguchi：Biopolymers, **14**, 2555(1975)；野口 肇：蛋白質・核酸・酵素, **21**, 567 (1976)。
- (16) J. J. Birktoft and D. Blow：J. Mol. Biol. **68**, 187 (1971)。
- (17) J. W. Becker et al.：J. Biol. Chem., **250**, 1513 (1975)。
- (18) A. Liljas et al.：Nature, New Biol., **235**, 131 (1972)。
- (19) 柴崎一雄：水産学シリーズ3. 食品の水，恒星社厚生閣，1973, p.49；秋場 稔：同上，p. 101；T. P. Labuza：“Water Relations of Foods”，p.155。
- (20) 清水 博訳：核磁気共鳴 (Jackmann 著)，現代化学シリーズ **12**, 1962；広田 穰訳：NMR 入門 (Akitt 著)，同上，**57**, 1975；和田昭允編：NMR の生体高分子への応用，共立出版，1973；新実験化学講座 **3**, 基礎技術 **2**, 磁気，丸善，1976；赤坂他共編：NMR の生化学への

- 応用, 化学, 増刊 67 (1976); 赤坂, 井元訳; パルスおよびフーリエ変換 NMR (Farrar, Becker 著), 吉岡書店, 1976 など.
- (21) M. V. Sussman and L. Chin : *Science*, **151**, 324 (1966).
- (22) R. Toledo *et al.* : *J. Food Sci.*, **33**, 315 (1968).
- (23) I. D. Kuntz *et al.* : *Science*, **163**, 1329 (1969).
- (24) I. D. Kuntz and W. Kauzmann : *Adv. Protein Chem.*, **28**, 239 (1974).
- (25) I. D. Kuntz : *J. Am. Chem. Soc.*, **93**, 514 (1971).
- (26) D. T. Warner : *Nature*, **190**, 120 (1961).
- (27) S. Shanbhag *et al.* : *J. Food Sci.*, **35**, 612 (1970).
- (28) J. Mousseri *et al.* : *ibid.*, **39**, 114 (1974).
- (29) D. K. Daszkiewicz *et al.* : *Nature*, **200**, 1006 (1963).
- (30) S. H. Koenig and W. E. Schillinger : *J. Biol. Chem.*, **244**, 3283 (1969).
- (31) B. Blieharska *et al.* : *Biochim. Biophys. Acta*, **207**, 381 (1970).
- (32) J. A. Walter and A. B. Hope : *Prog. Biophys. Mol. Biol.*, **23**, 3 (1971).
- (33) 上平 恒 : 表面, **13**, 297 (1975); 蛋白質・核酸・酵素, **21**, 575 (1976).
- (34) R. T. Pearson *et al.* : *Biochim. Biophys. Acta*, **362**, 188 (1974).
- (35) R. E. Hester and D. E. C. Quine : *J. Sci. Food Agric.*, **28**, 624 (1977).
- (36) H. K. Leung *et al.* : *J. Food Sci*, **41**, 297 (1976).
- (37) 高橋克忠 : 蛋白質・核酸・酵素, **20**, 1169 (1975); 高橋克忠 : “食品の物性第 2 集”, 食品資材研究会, 1976, p. 173; 新実験化学講座 2. 基礎技術 3. 熱・圧力, 丸善, 1977.
- (38) R. B. Duckworth : *J. Food Technol.*, **6**, 317 (1971).
- (39) L. G. Parducci and R. B. Duckworth : *ibid.*, **7**, 423 (1972).
- (40) E. Berlin *et al.* : *J. Dairy Sci.*, **54**, 300 (1971).
- (41) M. Ruegg *et al.* : *ibid.*, **57**, 387 (1974).
- (42) 野口 肇 : 化学と生物, **13**, 588 (1975).
- (43) R. L. Beamer *et al.* : *J. Pharm. Sci.*, **56**, 1029 (1967); **58**, 1142, 1419 (1969).

(昭和 52 年 12 月 19 日受理)