

## 小麦タンパク質水和体の超小角 X 線散乱法による集合構造解析 Structural Analysis by Ultra-Small-Angle X-ray Scattering on Assembly of Hydrated Wheat Protein

佐藤 信浩<sup>a</sup>, 東野 ゆうき<sup>b</sup>, 松崎 元紀<sup>b</sup>, 奥田 綾<sup>b</sup>,  
岩村 紗季<sup>b</sup>, 杉山 正明<sup>a</sup>, 裏出 令子<sup>b</sup>  
Nobuhiro Sato<sup>a</sup>, Yuki Higashino<sup>b</sup>, Motonori Matsusaki<sup>b</sup>, Aya Okuda<sup>b</sup>,  
Saki Iwamura<sup>b</sup>, Masaaki Sugiyama<sup>a</sup>, Reiko Urade<sup>b</sup>

<sup>a</sup>京都大学原子炉実験所, <sup>b</sup>京都大学大学院農学研究科

<sup>a</sup>Research Reactor Institute, Kyoto University, <sup>b</sup>Graduate School of Agriculture, Kyoto University

蒸留水中に抽出した小麦タンパク質グリアジンの水和凝集体について広範囲の濃度領域にわたって超小角 X 線散乱測定を行い、sub- $\mu\text{m}$  スケールにおける凝集構造の変化を調べた。グリアジン濃度の上昇とともに、20 wt%において観測されていた  $q = 0.13 \text{ nm}^{-1}$  付近の粒子間干渉ピークが消失し、 $q \leq 0.1 \text{ nm}^{-1}$  の領域で大きな立ち上がりが増大して行くことがわかった。このことから、ドメイン間の干渉を生じる程度の距離で分散していたグリアジン凝集ドメインが濃度上昇とともに融合し、高濃度域で巨大な凝集体が形成されていくことがわかった。

**キーワード：** 小麦タンパク質、グリアジン、超小角 X 線散乱

### 背景と研究目的：

小麦粉食品の食感や加工性は小麦粉生地中に含まれるグルテンの物性の影響を大きく受ける。グルテンは 2 種のタンパク質グリアジンとグルテニンの複合体であり前者が粘性に後者が弾性に寄与することが知られている。小麦粉食品の物性改善や新機能の付与を図るためには、これらのタンパク質成分のナノ構造を明らかにし物性への影響を解明することが不可欠である。古くより、グリアジンは 60–70%のエタノール水溶液や希酸にのみ溶解し蒸留水中には不溶であるとされてきたが、我々はグリアジンを蒸留水中に抽出し水溶化する方法を見いだした[1]。実際の生地中においてタンパク質は水和状態にあるため、この手法によって抽出されたグリアジンは、小麦粉生地中の環境をより忠実に反映しているものと考えられる。そこで、我々は、蒸留水中に抽出したグリアジンの構造を調べる手法として X 線小角散乱法(SAXS)を用い、濃度変化に伴うグリアジン水溶液および水和凝集体の集合構造の変化について明らかにしてきた[2]。その結果、 $q = 0.06 - 2.5 \text{ nm}^{-1}$  の範囲において、希薄水溶液で大部分がモノマーとして存在していたグリアジンは濃度上昇とともに凝集し、凝集ドメイン間の干渉ピークが観測されること、また、高濃度域の水和凝集体領域において、濃度上昇に伴い干渉ピークが消失し、凝集構造の成長に伴う小角域の立ち上がりの増大と凝集体内部の密度ゆらぎに起因する広角域のブロードなピークの出現が見られることを明らかにした。しかし、小角領域の変化は測定範囲を超えた  $q$  値まで延長しており、より大きな構造の成長が示唆された。そこで本課題では、より小さい  $q$  値の測定が可能な超小角 X 線散乱法(USAXS)を利用して、高濃度のグリアジン水和凝集体の sub- $\mu\text{m}$  領域における構造変化を追跡した。

### 実験：

測定試料は既報[1]に従い以下の方法で調製した。小麦粉生地は、小麦粉(日清製粉 SuperKing<sup>TM</sup>)100 g に 0.5 M の食塩水 67 mL を加え 20 分間捏ねることにより得た。この生地を 500 mL の蒸留水中で 15 分間揉み洗いを繰り返し、3 回目から 6 回目までの洗液を回収した後、食塩を添加し凝集したグリアジンを遠心沈降によって回収した。回収したグリアジンは蒸留水に対する透析で食塩を除いた後、凍結乾燥した。目的濃度となるようグリアジンと水を混和し調製後 4 日経過した試料を USAXS 測定に用いた。試料は膜厚 7  $\mu\text{m}$  の Kapton フィルムを窓として持つテフロン製のセルに充填して測定した。典型的な試料厚さは 0.5 mm であった。

USAXS 測定は SPring-8 の産業利用ビームライン I BL19B2 の極小角 X 線小角散乱装置を利用し

た。検出器として PILATUS 2M を用い、入射 X 線のエネルギー 18 keV, カメラ長 41.52 m(コラーゲンにより校正)、露光時間は主に 300 秒で測定を行った。

### 結果および考察：

図 1 に、濃度 20, 40, 70 wt% のグリアジン水和凝集体の散乱曲線を示す。破線は高エネルギー加速器研究機構 Photon Factory で測定した同サンプルの中広角領域の散乱曲線であり今回の測定データをそれらに連続するように表示した。20 wt% において  $0.13 \text{ nm}^{-1}$  付近にピークが観測される。これは、凝集したグリアジンの形成するドメイン間の干渉ピークである。中広角領域の測定ではショルダーとして現れていた屈曲点が、USAXS との連続により、より明瞭なピークとして観測されている。 $q < 0.04 \text{ nm}^{-1}$  の領域で立ち上がりが見られるが、その傾きは  $-4$  より小さく、フラクタル的な構造を有する大きな凝集体が存在していることを示している。

次に 40 wt% の散乱曲線を見ると、濃度上昇とともに  $0.13 \text{ nm}^{-1}$  付近のピークは消失し、 $q < 0.1 \text{ nm}^{-1}$  以下の領域において、大きく立ち上がり成長して行くことが観測された。このことから、当初、干渉する距離に分散していたグリアジンドメインが濃度上昇とともに融合し、数百 nm 以上の大きさを有する大きな凝集体を形成していくことを示している。直線部分の傾きはおよそ  $-4$  となっており、フラクタル的な構造からより明瞭に境界の分かれた凝集構造へと移行していることがわかる。一方、広角領域のブロードなピークは、凝集したグリアジン内部の密度ゆらぎを表しており、凝集体内部の構造ゆらぎを示唆している。

70 wt% の散乱曲線においては、もはやピークは観測されず、 $q = 0.2 \text{ nm}^{-1}$  付近から  $0.005 \text{ nm}^{-1}$  以下の領域にかけて傾き  $-4$  の直線的な立ち上がりが見られる。この領域では保水量の減少にともなって凝集体内部の密度ゆらぎをもたらす空間が減少し、緻密な凝集構造へと移行していることが示唆される。また、系全体が数百 nm 以上のサイズの大きな凝集体となっていることがうかがわれる。

一方、グリアジン 40 wt% の水和凝集体に食塩が共存した場合の散乱曲線の変化を図 2 に示す。超小角領域においては大きな散乱曲線の変化は見られなかったが、中角領域のピーク強度は食塩濃度とともに減少しており、グリアジン単独で濃度が上昇した場合の散乱曲線の変化と類似している。このことから、食塩を添加することにより、グリアジン濃度が上昇したときに見られるような緻密な構造が誘起されることが示唆される。

以上のように、グリアジン濃度や食塩濃度といったパラメーターが  $10\text{--}1000 \text{ nm}$  程度の凝集構造を大きく変化させることが明らかとなった。これらの成果は、望ましい物性の小麦粉生地を得るのに必要なパラメーター制御の指針に関して基礎的な知見となるものである。

### 参考文献：

- [1] T. Ukai et al., *J. Agric. Food Chem.*, **56**, 1122 (2008).
- [2] N. Sato et al., *J. Agric. Food Chem.*, in press.

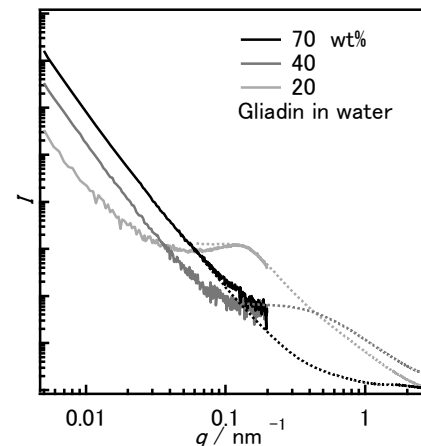


図 1. グリアジン水和凝集体の SAXS 曲線。他の放射光施設で測定した中広角領域の散乱曲線(破線)とスムーズに連続するようにシフトして表示している。

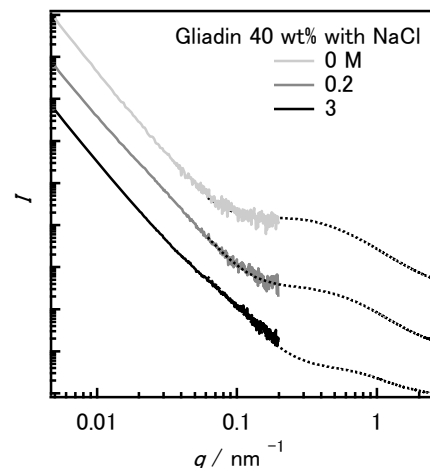


図 2. グリアジン 40 wt% に食塩水 0, 0.2, 3 M を加えた場合の SAXS 曲線。各曲線は縦方向にずらして表示している。