

真空紫外円二色性を利用したゼラチンのエイジングの観察

群馬大学理工学研究院 分子科学部門 榎 靖幸

ゼラチンはコラーゲンの変性により得られるタンパク質である。水溶液中のゼラチン分子は、高温ではランダムコイル状態であるが、低温ではコラーゲン様の三重らせんを部分的に形成し、それが架橋領域となって巨視的網目構造（ゲル）を形成する[1]。ゼラチンゲルは、ゲル化点以下で保存すると弾性率は時間とともに増加し続ける（エイジング）ことが知られており[2]、ゼラチンゲルは一種の非平衡状態にあると考えられる。本発表では、放射光真空紫外円二色性（VUVCD）を用いたゼラチンのエイジング過程の観察について報告する。

ゼラチン溶液の円二色性スペクトルを三重らせんコラーゲンのスペクトル[3]と比較することにより、ゼラチン溶液中に生成する三重らせん構造の定量が可能である[1]。全残基数に占める三重らせん構造に含まれる残基数をらせん分率 χ とすると、 χ はゲル化理論における架橋反応率に対応すると考えられる。円二色性測定と粘弾性測定によりらせん分率 χ と弾性率 G をそれぞれ測定し、その関係を調べることにより、ゼラチンのエイジング過程をゲル化理論の観点で考察することが可能となる。

広島大学放射光科学研究センターの VUVCD 分光装置[4]は、光源として放射光を利用している。実験光源と比較すると、放射光は波長 190 nm 以下の真空紫外領域での光量に優れているため、VUVCD の光源として適している。特定の発色団を持たなくても、ほとんどの分子が VUV 領域に吸収をもっているため、特に糖類等の生体分子構造の研究では VUVCD 測定が有効である。

異なる温度・濃度 c におけるゼラチンのエイジング過程を、VUVCD と動的粘弾性により測定した。動的弾性率 G' を $X = \chi c$ に対してプロットすると、温度・濃度によらないマスターカーブが得られ、ゲル化点付近では $G' \propto (X - X_c)^r$ で表現された。この普遍的な関係は、二段階で温度変化の履歴を与えられた場合でも同様に見出された。ゲル化点における c と χ の関係は、サイト・ボンド・パーコレーション理論で説明された。

ゼラチンを食品として利用する場合には、糖類を添加する場合が少なくない。糖をゼラチンに添加すると、ゲル化点の上昇や弾性率の増加など、ゲル化挙動が変化することが知られている。多くの糖はキラル分子であり、VUVCD を用いるとゼラチンのスペクトル ($\lambda \sim 200$ nm) と糖のスペクトル ($\lambda < 160$ nm) をそ

れぞれ測定可能である。これにより、糖の添加によるゼラチンのらせん構造形成への効果を正確に調べることが可能となる[5]。糖を添加すると、添加しない場合に比べゼラチンゲルのエイジングが加速することが示された。また、 G' を χ に対してプロットすると、糖の添加によりゲル化に必要ならせん分率 χ_c は増加した。しかし、糖を添加しない場合と同様に $G' \propto (\chi - \chi_c)^2$ の普遍的関係は成立しており、 G' を $\chi - \chi_c$ でプロットすると糖の添加の有無によらずマスターカーブとなることが示された[5]。

食品のゲル化剤として、寒天、カラギーナンなどの多糖類をゼラチンに混合する場合がある。ゼラチン+寒天混合ゲルの物性については多くの研究があるが、エイジングについて着目した研究はほとんどない。糖類の場合と同様、VUVCDはゼラチンと多糖類の混合系の測定に有効である。VUVCDを用いて、混合ゲルのエイジング過程を測定したところ、寒天の添加によりゼラチンのらせん構造形成が阻害されることがわかった。

[1] M. Djabourov, P. Papon, *Polymer* **24**, 537 (1983).

[2] K. te Nijenhuis, *Colloid Polym. Sci.* **259**, 522 (1981).

[3] R. S. Bhatnagar, C. A. Gough, in *Circular Dichroism and the Conformational Analysis of Biomolecules*, G. D. Fasman, eds., Plenum Press, New York (1996).

[4] K. Matsuo, K. Sakai, Y. Matsushima, T. Fukuyama, K. Gekko, *Anal. Sci.* **19**, 129 (2003).

[5] Y. Maki, S. Watabe, T. Dobashi, K. Matsuo, *J. Biorheol.*, in press.