

ラマン分光法による 植物性タンパク質の最適化

重要事項

- 植物性タンパク質は、食品、飲料、栄養補助食品における新たなタンパク質源として注目されています。
- 植物性タンパク質の分子特性は、栄養価、機能性、風味、官能特性に影響します。
- ラマン分光法は、植物性タンパク質の迅速で非破壊的な分析を実現し、製品品質の把握からインラインでのプロセスモニタリングおよび制御アプリケーションまで、幅広い用途に対応します。

概要

植物性タンパク質は、持続可能で栄養価の高いタンパク質の新たな供給源であり、食品、飲料、栄養補助食品などに使用されます。植物性タンパク質の分子特性（組成、分子構造、粘弾性、溶解性など）は、動物性タンパク質とは異なります。これらの違いは、異なる感覚体験をもたらし、消費者が植物由来の製品を拒絶する原因となる可能性があります。そのため、植物性タンパク質では、その栄養価と官能特性を最適化するために、特殊な抽出、機能化、調製処理が必要になることが少なくありません。こうしたプロセスの1つが、タンパク質を素早く酸性化し、風味をコントロールして、乳化を改善するための発酵処理です。植物性タンパク質の製造過程においては、タンパク質の特性を厳密に管理し、プロセスに起因する変質を監視するために、組成と分子構造に関する詳細な情報が必要です。そのため、多くの植物性タンパク質の製造者は、ラマン分光法など、新しいプロセス分析手法を採用しています。

ラマンの利点

ラマン分光法は近赤外（NIR）測定と同様に容易ですが、より化学特異性があります。この特異性により、ラマン分光法は1回の測定で複数の成分や特徴を同時に分析することが可能です。近年、ラマン分光法により、植物性タンパク質とその製造プロセスを把握、監視、制御するための分析方法に新たな道が開かれました。このアプリケーションノートでは、植物性タンパク質製造に関連する事例として、発酵モニタリングとタンパク質構造分析を紹介します。これらの研究により、ラマン分光法によるプロセスモニタリングと製品品質測定の可能性が示されました。

材料と方法

関連する2つの研究は植物性タンパク質に対するラマン分光法の実現可能性を示しています。1) 発酵プロセスの監視、2) タンパク質の組成と分子構造の測定。発酵モニタリングの実験では、ラマンプローブを発酵プロセスに直接浸漬させ、*in situ* で糖とアルコールを定量化しました。ラマン信号はラマン分光計で収集されました。タンパク質組成の実験では、植物性タンパク質サプリメントの消費者サンプルが、非接触式の広範囲測定プローブを用いてラボで測定されました。タンパク質のバンドの帰属は、生体分子のラマン分光法に関する文献に基づいて行われました。^{1,2}

結果および考察

図1は、糖がアルコールに変換される発酵の代表的な時間経過を示しています。糖のラマンバンドはアルコールのバンドと明確に分解されており、この2つの重要な成分を同時に測定することが可能です。ラマン分光法の特異性により、発酵槽からサンプルを採取することなく、複数の発酵成分を同時に測定することができます。この特徴により、単一属性のプロセスセンサと比べて、ラマン分光法では操作の複雑さが軽減されます。他の研究では、ラマン分光法が細菌や酵母の発酵の監視にも同様に適していることが示されました（データの記載なし）。

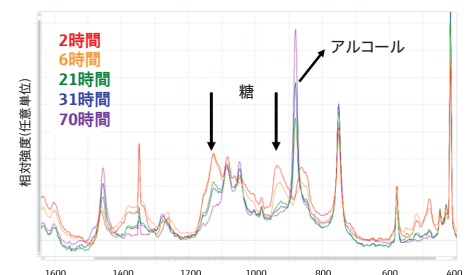


図1：ラマン分光法では、複数の成分の同時測定が可能です。この発酵事例では、糖とアルコールの定量化が同じ *in situ* 測定で行われました。

① このアプリケーションノートに記載されているラマン分光計とプローブはすべて、Kaiserラマンテクノロジーを搭載したEndress+Hauser製品です。

図2は、市販されている栄養補助食品に含まれる植物性タンパク質の代表的なラマンスペクトルを示しています。分解されたピークは、タンパク質の主鎖と側鎖基を表しています。これらのバンドは、タンパク性アミノ酸の化学的環境を特性化し（図2の*マーク）、 α ヘリックス、 β シート、ランダムコイル構造の存在など（図2の‡マーク）、高次構造を評価するために使用できます。さらに、タンパク質のラマン測定は、水系環境、固体、最終調製製品の状態でも行うことができます。生物物理学において実証された技術として、ラマンは構造変化を理解するために用いられ、同位体交換研究にも応用可能です。

結論

製品の一貫性を保証するためには、高度な食品製造プロセスに対応する分析技術の能力がますます重要になっていきます。ラマン分光法は、サンプルを調製、抽出、破壊することなく、サンプルの詳細な化学情報を提供します。こう

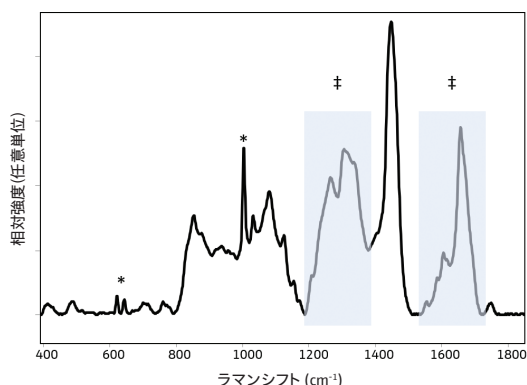


図2:植物性タンパク質のラマンスペクトルは、組成(*)と分子構造(‡の強調表示)に関する情報を提供します。

した特長により、生化学、製薬、食品産業において、ラボでの分析から品質保証、インラインの製品品質管理まで、ラマン分光法が幅広い用途で活用されるようになりました。タンパク質の測定技術として、ラマン分光法には長年にわたる測定の実績があり、水溶液中での直接測定、主鎖や側鎖基に関する極めて具体的な情報、ラボからプロセスモニタリングや製造アプリケーションへの測定の移設性など、多くの利点があります。ラマン分光法の特異性と既存のプロセスハードウェアとの適合性は、製品機能の最適化、バイオプロセスのフィードバック制御、加水分解、混合、凍結乾燥、造粒、押出成形などの単位操作の監視において成功をもたらしました。

ラマン分光法は、堅牢で拡張性があり、外因性ラベルを使用することなく水系環境で機能する技術です。ラボで開発されたラマンモデルは、プロセスへの移設が可能で、多成分に関する情報を提供し、リアルタイムのプロセス補正を実現します。これらのアプリケーションおよびバイオテクノロジーの関連事例は、研究、品質管理、プロセスモニタリングを目的とした食品のタンパク質分析におけるラマン分光法の価値を示しています。

ラマンシフト (cm ⁻¹)	帯域割当て	成分
620,640	二重	チロシン, フェニルアラニン
940	C-Cタンパク質主鎖	タンパク質
1001	環呼吸振動(Ring breathing)	フェニルアラニン
1080	C-N, C-C伸縮	タンパク質, 多糖類
1125	C-C, D-OH C-N伸縮 C-O-Cグリコシド結合	タンパク質, 多糖類
1235-1270	アミドN-H, α ヘリックス	タンパク質構造
1270	アミドN-H, ランダムコイル	タンパク質構造
1340	CH ₂ /CH ₃ 縦ゆれ振動	タンパク質
1446	CH ₂ /CH ₃ 変形	タンパク質, 脂質, 炭水化物
1655	アミドC=O, α ヘリックス	タンパク質構造
1670	アミドC=O, ランダムコイル	タンパク質構造
1687	アミドC=O, β シート	タンパク質構造

表1: 植物性タンパク質サプリメントのラマンバンドの割当てにより、タンパク質、脂質、炭水化物の寄与が示されます。これを利用して、マクロ栄養素の組成と分子構造を理解することが可能です。

参考資料

- Koenig JL (1972) Raman spectroscopy of biological molecules: A review. J Polym Sci Macromol Rev 6:59-177
- De Gelder J, De Gussem K, Vandenabeele P, Moens L (2007) Reference database of Raman spectra of biological molecules. J Raman Spectrosc 38:1133-1147