冷凍解凍寒天ゲルの力学特性に及ぼすトレハロース・グリセリンの添加効果

石原三妃[§], 森高初恵^{*}

長野県短期大学

^{*} 昭和女子大学

Effects of Addition on Rheological Properties of Agar Gels Treated with Freezing - Thawing —Trehalose and Glycerin—

Miki Ishihara[§] and Hatsue Moritaka^{*}

Nagano Prefectural College, 8-49-7 Miwa Nagano-city 380-8525

^{*} Showa Women's University, 1-7 Taishido, Setagaya-ku Tokyo 154-8533

The effects of trehalose and glycerin on the rheological properties of 1.0% agar gels treated with freezing-thawing were studied by measurement of breaking properties, storage modulus and cooling curves, and observation of syneresis. Although the values of rupture properties of thawing gels with 30-40% trehalose were larger than those of thawing agar gel alone ($p < 0.05$), those of the thawing gels with 40% glycerin were larger than those of pre-freezing agar gel alone ($p < 0.05$). The storage modulus of thawing agar gel alone decreased remarkably with an increase in temperature. By addition of trehalose and glycerin, the decrease rate of storage modulus of thawing gels along with a decline in temperature became slowly. Addition of glycerol inhibited the syneresis of the thawing gels. The freezing temperature lowered with increasing concentration of glycerin.

From the above results, it is suggested that damage to the agar gel associated with freezing-thawing could be reduced by hydration properties of trehalose and glycerin, and by antifreeze activity of glycerin.

(Received Sep. 25, 2003 ; Accepted May 11, 2004)

寒天ゲルは冷凍解凍により著しく性状が変化する。ゲルの保存性を高める食材としては古くから砂糖が利用されており、砂糖を多く添加して寒天とともに作られる羊羹は、他の生菓子よりも保存性が高い。これは砂糖により自由水が減少するためであると考えられている。グリセリン、グルコース、スクロース、トレハロース等は、生体組織の冷凍保存に効果があることが報告されている^{1)~3)}。西成ら⁴⁾はアガーゲルについて、各種糖類を添加したときの低温下での影響を検討しており、添加量の増加により、可塑剤として働く水分量は増加すると報告している。また、高圧下で急速凍結した寒天ゲルの性状について、淵上ら⁵⁾は糖類添加の影響を検討し良好な性状を示すことを報告している。前報⁶⁾において、著者らは、ホームフリージングのような、緩慢冷凍による食品ゲルの力学特性の変化に及ぼす添加物、特に増粘剤の影響について検討し、ローカストビー

ンガム、 ι -カラギーナンで有効性が認められることを報告した。これら増粘剤の直接的な効果は、主に寒天ゲルとの架橋形成および増粘剤自体のゲル化能であると考えられた。しかし冷凍保存について検討する場合、特に水分含量の高い寒天ゲルでは、親水性の高い添加物の影響を知ることが重要であると考えられた。そこで本研究では、添加剤として、水和性が高く、凍結防止剤として用いられる添加物のうち、摂食可能であり、使用量が制限されていないグリセリンとトレハロースを用い、冷凍解凍処理による力学特性の変化について検討した。トレハロースは、冷凍での保存に際し、菓子の品質劣化を抑制する効果があると報告されている⁷⁾。一方、グリセリンは、食品への添加が認められており、工業的には凍結防止剤として用いられている⁸⁾。

実験方法

1. 試料

寒天は、前報⁶⁾と同様に伊那食品工業株式会社製の平均分子量 600 000~700 000、硫酸基 2.0~2.5% (伊那食品工業

〒380-8525 長野県長野市三輪 8-49-7

^{*} 〒154-8533 東京都世田谷区大子堂 1-7

[§] 連絡先 (Corresponding author),

株式会社による測定)の粉末寒天⁹⁾を用いた。グリセリンは、和光純薬工業株式会社製の特級を、トレハロースは林原商事株式会社製を使用した。脱塩水に寒天を入れ、室温で1晩膨潤し、1時間攪拌後、還流冷却管を付けたナス型フラスコに移し98℃で1時間加熱した。加熱した寒天ゾルに、少量の熱水に溶解したトレハロースあるいは加熱したグリセリンを添加し、10分間攪拌加熱した。トレハロース溶解用の脱塩水は、あらかじめ寒天を溶解する脱塩水より差し引き、調製終了時に規定の濃度になるようにした。円柱状ガラスリングを並べたステンレス製の容器に、溶解したゾルを流し入れ、室温で1時間放置した後、10℃の恒温器で24時間保持した。この試料を冷凍前ゲルとして用いた。さらに-25℃のフリーザーで24時間放置後、10℃、6時間で解凍した試料を冷凍解凍ゲル（以下解凍ゲルと称す）とした。

2. 破断特性

直径26 mm、高さ18 mmの円柱状試料を、クリーブメーター(RE-3305：山電製)で前報⁶⁾と同様に測定し、破断応力、破断歪み、破断エネルギーを求めた。

3. 動的粘弾性

直径20 mm、高さ30 mmの円柱状試料を、測定温度10℃で、レオログラフゲル(東洋精機株式会社製)により前報⁶⁾と同様に測定した。また、10~60℃まで測定温度を変化させて貯蔵弾性率の温度依存性を測定した。

4. 離漿

冷凍前ゲルおよび解凍ゲルの24時間後までの離漿水量を、前報⁶⁾と同様に測定した。離漿測定開始時間のゲル重量との比を離漿率とした。

5. 冷凍曲線

直径30 mm、高さ20 mmの円柱状試料の-25℃での冷

凍曲線を、前報⁶⁾と同様にデジタル温度計(SCT-131：株式会社三商製)を用いて測定した。

6. データ解析

データの解析にはSPSS 10.0J for Windowsを用い、分散分析およびTukeyの検定を行った。

実験結果および考察

1. 破断特性

Fig. 1に、冷凍前ゲルおよび解凍ゲルの破断特性値とトレハロースおよびグリセリン添加量との関係を示す。トレハロース添加ゲルは、冷凍前では、トレハロース添加による破断応力、破断歪み、破断エネルギーの変化は小さく、冷凍解凍処理を施すと、寒天単独ゲルの破断応力、破断歪み、破断エネルギーは冷凍前ゲルより低くなった。寒天ゲルの破断曲線は、通常ははっきりとした破断点のある脆性破断を示す。図には示していないが、寒天単独解凍ゲル、トレハロース10%および20%添加解凍ゲルは破断点が明確に観察されない延性破断を示した。30%以上トレハロースを添加すると、解凍ゲルの破断応力、破断歪み、破断エネルギーは寒天単独解凍ゲルの各破断特性値より有意に高くなった($p < 0.05$)。トレハロースは、他の糖類と比較して、エカトリアル(e-OH基)数が多く、水和性に富むことは知られている¹⁰⁾。本研究の寒天ゲルにおいてもトレハロースの水和力により水分子の運動性が抑制され、寒天のゲル構造の損傷が低下したと推察された。トレハロースを40%以上添加すると、解凍ゲルの表面に結晶化したトレハロースが析出したため、これ以上のトレハロースの添加は行わなかった。これはトレハロースの溶解度が低温側では低下するためと考えられる。グリセリン添加冷凍前ゲルの破断

Fig. 1 Effects of trehalose or glycerin on rupture properties of 1.0% agar gels

(a) Rupture stress, (b) Rupture strain, (c) Rupture energy. △: Gels before freezing with trehalose, ◇: Gels after thawing with trehalose, ○: Gels before freezing with glycerin, □: Gels after thawing with glycerin.

応力および破断エネルギーは、グリセリンを 10% 以上添加すると寒天単独冷凍前ゲルより有意に高くなり ($p < 0.05$)、破断歪みはグリセリン 30% 以上の添加で寒天単独冷凍前ゲルより有意に高くなった ($p < 0.05$)。これはグリセリンの存在により寒天濃度が高くなり、また寒天ゲルの網目の間に存在する水溶液の粘度が高くなったためと考えられた。グリセリン添加解凍ゲルでも、破断応力、破断歪み、破断エネルギーは、グリセリン添加量の増加に伴い高くなり、グリセリンを 40% 添加すると、いずれの破断特性値も、寒天単独冷凍前ゲルより有意に高くなった ($p < 0.05$)。また、グリセリン 40% 添加ゲルは、冷凍前、解凍後の破断応力では有意差が認められず、冷凍解凍によるゲルの構造の損傷はほとんどないと考えられた。これはグリセリンの不凍性によるものであると推察された。解凍ゲルにおいて、トレハロースとグリセリンの濃度が同量の場合、添加量 10% では両添加ゲルの間に有意差 ($p > 0.05$) は認められなかったが、20% 以上添加すると、いずれの濃度でもグリセリン添加ゲルのほうがトレハロース添加ゲルより有意に破断応力が高くなった ($p < 0.05$)。

以上の結果より、トレハロースでは 30%、グリセリンでは 20% 以上の添加によって冷凍耐性は寒天単独ゲルより高くなり、その効果が認められる添加濃度はトレハロースよりグリセリンの方が低かった。

2. 動的粘弾性

Fig. 2 に、冷凍前ゲルおよび解凍ゲルの貯蔵弾性率とトレハロースおよびグリセリン添加量との関係を示す。冷凍前ゲルにおいて、トレハロースを添加すると、20% 以上の添加で寒天単独ゲルより有意 ($p < 0.05$) に貯蔵弾性率は高くなり、トレハロース添加量の増加に伴い、徐々に上昇した。グリセリン添加ゲルも 20% 以上添加すると寒天単独

Fig. 2 Effects of trehalose or glycerin on the storage modulus E' of 1.0% agar gels

Symbols : refer to Fig. 1.

ゲルより有意に貯蔵弾性率は高くなった ($p < 0.05$)。これは、トレハロース、グリセリンいずれの添加においても添加量が増加すると、西成らが述べているように⁴⁾、水分含量が減少し、寒天濃度は高くなり、ゲルの網目構造の架橋数は多くなること、さらに、グリセリンおよびトレハロースの OH 基の存在により、水素結合が行われるためであると考えられた。グリセリン添加解凍ゲルでは、10% 添加ゲルと 20% 添加ゲルの間に有意差は認められなかった ($p > 0.05$)。また、20% と 30%、30% と 40% 添加ゲルの各試料間にも有意差は認められなかった ($p > 0.05$) が、10% と 30%、20% と 40%、10% と 40% 添加ゲルの各試料間には有意差が認められた ($p < 0.05$)。

寒天単独解凍ゲルの貯蔵弾性率は冷凍前より高くなった。これは冷凍解凍処理により含水量が大幅に減少したためと考えられる。解凍ゲルの貯蔵弾性率は、各添加物の増加により冷凍前の貯蔵弾性率に近くなり、トレハロースおよびグリセリンを 40% 添加した解凍ゲルは、冷凍前の寒天単独ゲルとの間に有意な差はみられなかった ($p > 0.05$)。これは、冷凍解凍によるゲル構造の損傷の減少および後に示すように冷凍解凍処理による水分の流失が抑制されたことが一因と考えられる。解凍ゲルの貯蔵弾性率については添加物の種類による差はみられず、いずれも同程度の効果を示した。なお、前報⁶⁾では、増粘剤添加解凍ゲルの損失弾性率が高く、液体的な挙動を示す試料となったことを報告したが、本研究においては、損失弾性率が小さすぎて測定できない試料が多かったため、損失弾性率は示さなかった。

3. 貯蔵弾性率の温度依存性

Fig. 3 に冷凍前ゲルおよび解凍ゲルの貯蔵弾性率と測定温度の関係を示す。冷凍前ゲルについては、寒天単独ゲル、トレハロース添加ゲル、グリセリン添加ゲルいずれも測定温度が高くなるに従い貯蔵弾性率は減少した。このことから、トレハロースあるいはグリセリン添加により増加した架橋は、熱に対して安定ではないことが推測された。これは、西成ら⁴⁾が、糖とポリオールをそれぞれ添加したアガーゲルの低温 DSC による測定結果より、糖の添加によりアガロースゲルは熱的に安定な構造になるが、ポリオールの添加では、架橋領域の数は増加するが熱的には不安定になると報告している結果を支持するものであった。

解凍ゲルでは、寒天単独の場合、測定温度の上昇と共に著しい貯蔵弾性率の減少を示した。10~20℃ までの貯蔵弾性率は、先に考察したように冷凍解凍による含水率の低下により寒天濃度が高くなったことで、グリセリンおよびトレハロースを添加したゲルより貯蔵弾性率は高くなったが、冷凍解凍処理により与えられたゲル構造への損傷により架橋の結合点がさらに熱に対して崩壊されやすい状態へと変化したのではないかと推察された。測定温度上昇による貯蔵弾性率の低下割合は、グリセリン、トレハロース添

Fig. 3 Effects of temperature on the storage modulus E' of 1.0% agar gels with trehalose or glycerin

(a) Gels before freezing. (b) Gels after thawing. $\diamond$: 1% agar gels; $\square$: gels with 10% trehalose; $\circ$: gels with 20% trehalose; $\triangle$: gels with 40% trehalose; $\blacksquare$: gels with 10% glycerin; $\bullet$: gels with 20% glycerin; $\blacktriangle$: gels with 40% glycerin.

Fig. 4 Effects of trehalose or glycerin on syneresis of 1.0% agar gels

(a) Gels before freezing, (b) Gels after thawing

$\blacklozenge$: Gels without trehalose or glycerin; $\bullet$: gels with 10% trehalose; $\blacksquare$: gels with 20% trehalose; $\circ$: gels with 10% glycerin; $\square$: gels with 20% glycerin.

加解凍ゲルで寒天単独解凍ゲルより小さくなった。冷凍前ゲルの結果より、トレハロースおよびグリセリン添加による貯蔵弾性率の熱安定性は低いと考えられた。しかし、トレハロースの場合は水の構造化により、そしてグリセリンの場合はその不凍性のために冷凍解凍処理による架橋損傷が抑制され、結果として架橋結合の熱安定性は改善されたと考えられた。また両添加物を40%添加した場合、冷凍前ゲルでは10 $^\circ\text{C}$ では両添加ゲルの貯蔵弾性率は高かったが、測定温度の上昇による貯蔵弾性率の減少割合はグリセリン添加ゲルの方が大きかった。解凍後ゲルでも、10 $^\circ\text{C}$ での貯蔵弾性率はグリセリン40%添加ゲルの方がトレハロース添加ゲルよりも高かったが、測定温度の上昇と共に減少す

る割合はトレハロース添加ゲルよりもグリセリン添加ゲルで大きく、60 $^\circ\text{C}$ では、両添加ゲルとも同程度の貯蔵弾性率を示した。このことから10 $^\circ\text{C}$ 程度ではグリセリン添加により貯蔵弾性率を高める効果は促進されるが、形成されたゲル構造の熱に対する安定性は、トレハロースの方がグリセリンより高いことが示された。

4. 離漿

Fig. 4に、冷凍前ゲルおよび解凍ゲルの離漿率と放置時間の関係を示した。冷凍前ゲルでは、寒天単独ゲルの離漿率が最も高く、各添加物の添加量が多くなるほど離漿率は低下し、冷凍前の寒天ゲルにおいて、トレハロース、グリセリンには離漿を抑制する効果が認められた。また、時間

Fig. 5 Cooling curves of 1.0% agar gels with trehalose or glycerin

(A) Gels with trehalose ; (B) Gels with glycerin.

a : Gels without trehalose or glycerin ; b : Gels with 10% trehalose ; c : gels with 20% trehalose ; d : gels with 30% trehalose ; e : 30% trehalose solution ; f : gels with 10% glycerin ; g : gels with 20% glycerin ; h : gels with 30% glycerin ; i : gels with 40% glycerin ; j : glycerin (undiluted).

の経過と共に離漿率は高くなった。寒天ゲルの離漿は、時間の経過と共にゲルの網目が収縮し、網目内部の水が押し出されるためであるといわれており¹¹⁾、本研究の結果と一致した。トレハロースおよびグリセリン添加による離漿率の減少は、トレハロースとグリセリンの親水性が高いことでゲル中の自由水が減少したためと推測された。

トレハロースを添加した解凍ゲルの離漿は、トレハロース 10% の添加で寒天単独解凍ゲルよりも低くなり、20% 添加すると、さらに低下して、冷凍前の寒天単独ゲルと同程度となり、濃度の増加により離漿抑制の効果は高くなった。グリセリンを添加したゲルでは、グリセリン 10% 添加で冷凍前の寒天単独ゲルと同程度の離漿率となり、離漿の抑制効果は著しく高かった。

5. 冷凍曲線

Fig. 5 に、トレハロースおよびグリセリンを添加したゲルの冷凍曲線を示す。水は溶質の濃度に依存して氷結率が低下する¹²⁾。Fig. 5 (A) に示したように、トレハロース添加ゲルでは、トレハロースの添加量が増加すると時間経過に伴い試料温度が一定となる氷結温度は低くなった。

グリセリンを添加するとトレハロースを添加したゲルよりさらに氷結温度が降下し、氷結率は少なくなった。グリセリンを 40% 添加すると -25°C に試料温度が低下してもほとんど氷結していないことが冷凍曲線 Fig. 5 (B-i) より観察でき、このことから、グリセリンを 40% 添加すると冷凍前後で破断応力が同程度であったことは、氷結が抑制されたためであることが確認された。

要 約

寒天ゲルの冷凍解凍処理による性状変化を抑制する目的

でトレハロース、グリセリンを用いて検討し、以下の結果を得た。

(1) 力学特性の変化に対して、トレハロース、グリセリンいずれの添加も抑制の効果が示された。特にグリセリンで効果が高かった。

(2) 冷凍解凍寒天ゲルの熱安定性に対して、トレハロース、グリセリンはいずれも熱安定性の低下を抑制する効果が認められた。トレハロースの方がグリセリンよりゲルの熱安定性に対して高い効果を示した。

(3) 冷凍解凍処理による寒天ゲルの離漿率増加に対して、トレハロース、グリセリンいずれも抑制効果が認められた。特に、グリセリンで効果が高かった。

(4) グリセリンは著しく氷結率を減少させ、氷結温度を低下させることが冷凍曲線より示された。このことがグリセリンによる氷結劣化抑制の大きな原因と推測された。

文 献

- 1) 松本行司, 新井健一, 魚類筋原繊維タンパク質の熱変性と冷凍変性に対する糖類の保護効果の比較, 日水誌, **52** (11), 2033-2038 (1986).
- 2) 飯島哲生, 糖溶液の熱的挙動と赤血球に対する凍害保護作用, 福岡工業大学研究論集, **32** (2), 285-291 (2000).
- 3) 泉本勝利, Zhu Y., ヘムタンパク質の凍結安定性に及ぼす糖類の影響, 食科工, **45** (9), 539-544 (1998).
- 4) 西成勝好, 渡瀬峰男, ゲル中の水の構造変化-アガロースゲル中の水に対する糖およびポリオールの影響, 熱測定, **28** (4), 236-239 (1991).
- 5) 淵上倫子, 寺本あい, 高圧冷凍寒天ゲルの物性と微細構造への糖の影響, 日本食品科学工学会大会第 45 回大会講演集, 168 (1998).
- 6) 石原三妃, 森高初恵, 福場博保, 冷凍解凍寒天ゲルの力学特性に及ぼす増粘剤の影響, 日科工, **50** (5), 218-223 (2003).

- 7) 片桐直彦, 製菓分野におけるトレハロースの利用技術と開発, *ジャパンフードサイエンス* **37** (11), 28-35 (1998).
 - 8) 化学大辞典編集委員会編, 化学大辞典 3, 第 2 版 (共立出版株式会社, 東京) p. 110 (1962).
 - 9) 田畑和広, 寒天の機能とその応用, *New Food Industry*, **41** (1), 14-20 (1999).
 - 10) 内田幸夫, トレハロースの離水抑制効果とその食品への利用, 月刊フードケミカル, 3, 50-54 (2003).
 - 11) 野口 駿, 食品と水の科学 (幸書房, 東京) p. 114, 137 (1992).
 - 12) 加藤舜郎, 食品冷凍の理論と応用, 第 7 版 (光琳, 東京) p. 314-315 (1979).
- (平成 15 年 9 月 25 日受付, 平成 16 年 5 月 11 日受理)
-