

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 28 年 6 月 15 日現在

機関番号：30109

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25410231

研究課題名(和文) アガロースゲルを用いたゲル中の物質輸送現象に関する研究

研究課題名(英文) Study on the solvent transportation behavior from mechanically constrained agarose gels

研究代表者

金田 勇 (KANEDA, Isamu)

酪農学園大学・農食環境学群・教授

研究者番号：30458129

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,200,000円

研究成果の概要(和文)：アガロースゲルを圧縮拘束した際の圧縮荷重と体積変化を同時測定し、圧縮拘束時のゲルからの溶媒輸送挙動を解析した。圧縮荷重の緩和時間と溶媒輸送挙動を合わせて考察すると圧縮拘束されたアガロースゲルからは100 s程度の時定数で溶媒が絞り出されていると考えられた。アガロースゲルにグリセリンおよびショ糖を添加すると溶媒輸送速度は低下した。これは保水効果の高いこれらの物質がアガロース分子への水和挙動に影響し、ゲルネットワーク構造が変化したためと考えられた。

研究成果の概要(英文)：The solvent transportation behavior from mechanically constrained agarose gels was studied. The compression load and the volume of the agarose gels decreased with time during compressive restraint. The decrease in volume was induced by squeezing of the solvent from the gel by compressive restraint. Relaxation of the compression load and the decrease in volume of the gels could be analyzed using a stretched exponential function; moreover, interestingly, both time constants were coupled. The effect of glycerol and sucrose on the solvent transportation behavior of mechanically constrained agarose gels was also studied. Both time constants increased with an increase in glycerol and sucrose concentration. These results indicate that glycerol and sucrose changes the gel network structure, and this is confirmed by other experimental evidences which obtained by using electro-microscopy.

研究分野：食品物性学、レオロジー

キーワード：アガロース 溶媒輸送 圧縮変形 グリセリン ショ糖

## 1. 研究開始当初の背景

大部分の食品は多量の溶媒（水）を不動化させるマトリックスから成っており、広義のゲルであると言うことが出来る。また食品はそれを摂取する過程において口中で咀嚼によって破壊され一定のサイズの小塊になりそれらは唾液と混合して食塊となり嚥下される。食品はソフトマターの一つと捉える事ができるが、一般的な材料としてのソフトマターと大きく異なる点は、上述のように必ず破壊されるということである。

食品が咀嚼により破壊される際に着目すべき特性は食品からの溶媒輸送挙動である。これはフレーバーリリースとして取り上げられている現象であり、食品の美味しさに深く関連している。何故ならば食品の呈味成分のほとんどが溶媒である水に溶解しているために食品のから溶媒が流出しない限りその食品には「味が無い」ということになってしまうのである。食品からの溶媒輸送挙動を定量的かつ系統的に研究することは極めて重要な研究課題となっている。近年、食品製造に活用されている多糖類ゲルを食品のモデルとしてフレーバーリリースに関する研究が精力的になされている。これらの研究はもっぱらゲルマトリックス中のプローブ分子（例えばショ糖など）の受動拡散を観察したものがほとんどである<sup>1)</sup>。しかしながら、上述のように食品は咀嚼される際に一定の圧縮荷重が付加されるため、そのような圧縮条件下での溶媒輸送挙動の解析は極めて興味深い。また食品工学の視点からの興味のみならず基礎的科学としてもこの問題は興味深い。本課題で取り上げたアガロースはテングサ科やオゴノリ科などの紅藻の細胞壁成分を熱水抽出した D-ガラクトースと 3,6-アンヒドロ-L-ガラクトースを繰り返し単位とする中性多糖類である。アガロースは低温では水に不溶であるが、高温 (90℃) で水に溶解し、これを冷却することで二重らせんが凝集した三次元構造を形成し、その三次元構造（ゲル網目構造）に溶媒（水）が保持されているとされている。ここで重要な点はゲルを形成した状態ではアガロース分子は水に不溶な状態であるということである。すなわちアガロースゲルは固 / 液 2 相系すなわち、多孔性の固体に溶媒が浸潤したスポンジ様の物体と考えることが出来る。一方で化学的に架橋された、いわゆる化学ゲルにおける溶媒輸送挙動の研究からゲルネットワークの摩擦係数という概念が提示<sup>2)</sup>されているが、アガロースのような物理ゲルを材料にしたゲルネットワークの摩擦係数の評価に関する研究は稀である。

以上のような研究背景を鑑みて、本課題では圧縮拘束されたアガロースゲルの力学特性（圧縮荷重の時間発展）と体積変化を同時測定することにより体積変化、すなわち溶媒の流出挙動と力学特性、すなわちゲルネットワーク構造を特徴づけるパラメータ、の関連

からアガロースゲルのゲルネットワークの摩擦係数に関する直接的な特性値を得ることを考えた。

## 2. 研究の目的

(1) ゲル圧縮時のゲルの力学物性と溶媒透過性の同時測定系の構築：アガロースゲルに一定の歪を印加した際の圧縮荷重の時間発展とゲルの体積変化を同時に記録できる測定系の構築を行う。アガロースゲルの微細構造はその調製条件により大きく変化するためにゲルサンプルの調製条件は慎重に進める必要がある。検討項目としてはアガロース濃度、アガロース溶解条件、ゲル化の条件（冷却速度および温度）およびゲルの幾何学的なサイズの影響などである。圧縮荷重の時間発展挙動は適当な力学的モデルでの解析が可能であると考えられるが、溶媒の移動・流出を伴う場合は問題が複雑になる。溶媒の透過性も加味したデータ解析法として固液 2 相潤滑理論<sup>3)</sup>を応用することも考慮に入れる。

(2) 溶媒輸送挙動から見た添加物によるアガロースゲルの物性変化の観察：アガロースは食品用のゲル化剤として汎用されている。食品には多くの成分が含まれる。特に呈味成分（ショ糖や食塩など）は必須成分であるし、製品の安定性・安全性を保つためにアルコール類なども添加される。アガロースゲルの力学および熱的性質への影響が良く調べられている、ポリオール類および糖類に着目して、グリセリンおよびショ糖の添加効果について(1)において構築した実験系を用いて系統的に調べる。

上述の現象論的観察結果を分子論的に考察するためにアガロースゲルの微細構造観察も同時に行う。具体的には小角光散乱測定装置を自作で構築する。また実空間観察として走査型電子顕微鏡によるアガロースゲルネットワーク構造の観察も試みる。

## 3. 研究の方法

(1) アガロースゲルの調製

アガロースは Sigma-Aldrich 社の agarose type IV をそのまま用いた。アガロースを所定の濃度で蒸留水に分散させた後に室温で 24 時間十分に膨潤させて 95℃ のオイルバスでアガロースを完全に溶解させた。アガロース熱水溶液を直径 20mm のポリカーボネート製チューブに密閉し、所定の温度に設定された恒温水槽内で 24 時間冷却ゲル化させた。出来あがったゲルは高さ約 20mm、直径 20mm の円筒形に成形し、溶媒中で少なくとも 3 日間保存した後に測定に供した。

(2) 圧縮荷重・体積変化同時測定

測定は万能試験機（インストロン mini55 : Instron 社）とデジタルカメラを用いて図 1 のような構成の測定装置を自作した。サンプルは 30℃ に保持された溶媒中に浸漬し、クロスヘッドスピード 1mm/s で圧縮歪みが 0.03 になるまで圧縮し、その後圧縮拘束状態を維

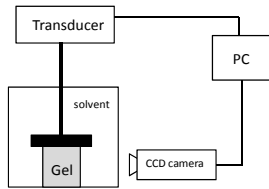


図1 圧縮荷重・体積変化同時測定システム

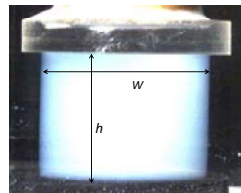


図2 圧縮拘束時のアガロース

持したまま 20 時間圧縮荷重を記録した。同時にサンプルの横方向からの静止画像を一定時間毎に撮影し、その画像からサンプルの高さ(h)と直径(w)を求めて体積を算出した(図2)。

### (3) 小角光散乱測定

デジタルカメラ (Nikon) を受光装置とした小角光散乱測定装置を自作した。サンプルはガラスセル (10mm×10mm) 中でゲル化させたものを用いた。デジタルカメラで撮影された散乱プロファイルは画像解析ソフトを用いて小角領域の散乱強度を円環平均して求めた。

### (4) 走査型電子顕微鏡観察

アガロースゲルを液体窒素で急速凍結した後凍結乾燥して得られた乾燥ゲルサンプルの切断面に白金蒸着して走査型電子顕微鏡で観察した。

## 4. 研究成果

### (1) ゲル化温度の異なるアガロースゲルからの溶媒輸送挙動

1.5wt%のアガロース熱水溶液をこの濃度のゾルーゲル転移温度である40℃の近傍である37℃から10℃の範囲で冷却しゲル化したサンプルの圧縮荷重と体積変化の時間発展を観察した。図3に10℃でゲル化させたサンプルの結果を示す。図中の○が圧縮応力、●が体積変化率を示している。図から明らかなようにこれらの二つのパラメータはいずれも指数関数的に減衰しており、それぞれの時定数はほぼ一致している。この結果は以下のように説明ができる。アガロースゲルを一定のスピードで圧縮変形させると付加した荷重にตอบสนองする内部荷重が発生する。このとき溶媒である水は非圧縮性であるので体積は一定に保たれる。もしゲルの体積が維持されるのであれば圧縮荷重も一定に保たれると予想できるが図2の結果から圧縮荷重は緩和し、かつ同一のタイミングで体積が減少している。これは圧縮拘束によりゲル中の溶媒が流出し、それに伴い圧縮応力が緩和していると考えられる。

圧縮荷重緩和および体積変化率の時定数を定量的に評価するために伸長型指数関数で解析することを試みた。圧縮荷重緩和は(1)式で、また体積変化率は(2)式で解析した。

$$L(t) = L_0 \exp\left(-\left(\frac{t}{\tau_M}\right)^a\right) + L_r \quad (1)$$

$$V(t) = V_0 \exp\left(-\left(\frac{t}{\tau_V}\right)^b\right) + V_r \quad (2)$$

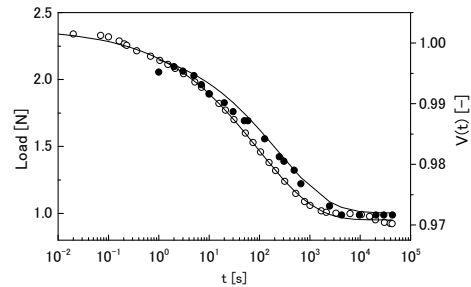


図3 1.5 wt%アガロースゲルの圧縮荷重および体積変化の時間変化解析の結果それぞれの時定数は100 sのオーダーであることがわかった。

アガロースのゲル化をゾルーゲル転移温度の近傍で行うとスピノーダル分解によるマイクロ相分離が生じ、高分子濃厚相がゲルに希薄相が溶媒を含んだボイド空間になると考えられている<sup>4)</sup>。この現象を利用して、ゲル化温度を変えることで微細構造のことなるアガロースゲルが調製することを試みた。10℃から37℃の温度範囲でゲル化させたサンプルについて圧縮荷重と体積変化を測定し、図3に示すようなプロットを作成し式(1)および(2)

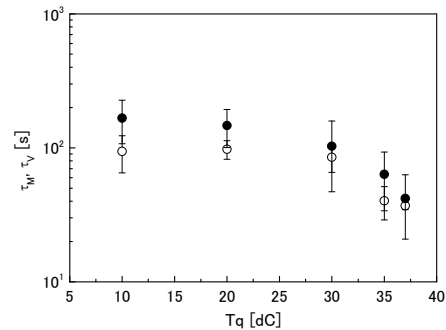


図4 圧縮荷重緩和( $\tau_M$  ○)および体積変化( $\tau_V$  ●)の時定数の時間変化に対するゲル化温度の影響

で解析した。図4に圧縮荷重緩和および体積変化率の時定数、それぞれ $\tau_M$ および $\tau_V$ のゲル化温度依存性の結果を示す。ゲル化温度が30℃以上になると温度依存的に二つの時定数が同期しながら低下していることが見て取れる。これは現象としてはゾルーゲル転移温度付近でゲル化させたアガロースゲルからの圧縮拘束時の溶媒輸送速度が上昇したということである。もしスピノーダル分解によるマイクロ相分離によりゲル内に生じたボイド空間が溶媒の流路となっているとすれば比較的サイズの大きな濃厚相(ゲル相)が存在すると考えられる。そこで小角光散乱により確認を行った。

図5には10~37℃でゲル化させたアガロースゲルの散乱プロファイルを示す。30, 35および37℃でゲル化させたサンプルでは低q側に

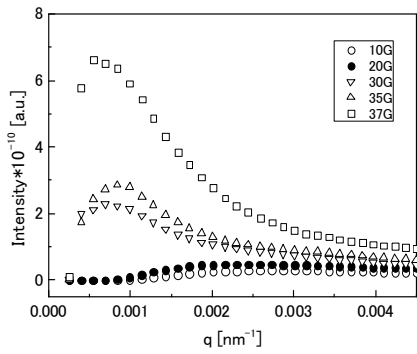


図5 様々な温度でゲル化したアガロースゲルの光散乱プロファイル

大きなピークが観察された。これはいわゆるスピノダルリングであり、ピークの $q$ の値から数100 nmオーダーの構造が存在することを示している。またゾルーゲル転移温度から遠く離れた温度でゲル化させたサンプルでは低 $q$ 側のピークは消滅し、高 $q$ 側にブロードなピークが出現している。これはランダムな核生成からゲルネットワークが成長した結果と考えられる。

この系で観察されている応力緩和は主に溶媒が絞り出されることに起因すると考えられるが、アガロースゲルの構造が圧縮拘束によって変化している可能性もあると考えられる。変形を受けたアガロースゲルのネットワーク構造を形成する水素結合が100秒程度のスケールで組み換わることありうる。但し本研究で得られた実験結果からは溶媒の絞り出しと構造の緩和を分離して評価することは困難であり、今後の課題である。ゲルからの溶媒輸送は食品のフレーバーリリースと直接関連がある。温度と言う物理的刺激のみでこのようにゲル内からの溶媒輸送速度を調節できるということは実用面からも興味深い。

### (2) 水/グリセリン混合溶媒で調製されたアガロースゲルからの溶媒輸送挙動

ポリオール類はその極めて高い保水効果によりアガロースへの水和状態を変化させてアガロースゲルの物性を変化させることが知られている。そこで水/グリセリン混合溶

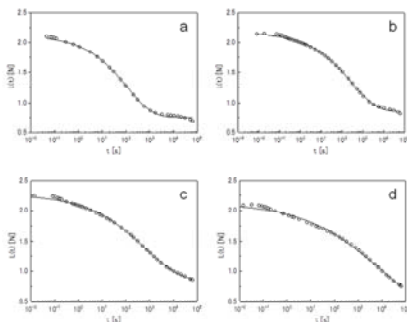


図6 溶媒にグリセリンを添加した際の圧縮荷重緩和挙動  
グリセリン濃度 a: 20 wt%, b: 40 wt%, c: 60 wt% および d: 80 wt%

媒で調製したアガロースゲルの圧縮拘束時の溶媒輸送挙動を調べた。

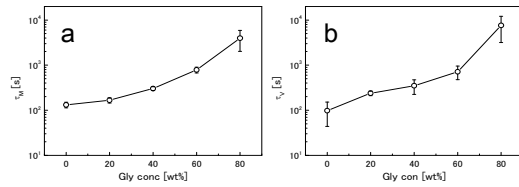


図7 圧縮荷重緩和時間( $\tau_M$ : a)および体積変化の時定数( $\tau_V$ : b)へのグリセリン濃度の影響

グリセリン水溶液(グリセリン濃度 10~80wt%)を溶媒としてアガロースゲルを10°Cで調製して測定を行った。図6に水/グリセリン混合溶媒で調製されたゲルの圧縮荷重の時間発展の結果を示す。ここでaはグリセリン20wt%, bは40wt%, cは60wt%およびdは80wt%の結果である。データは示さないが、体積変化率はそれぞれの圧縮荷重の緩和と同期していた。図6よりグリセリン濃度が上昇するとともに時定数が大きくなるのがわかる。

図7に圧縮荷重の緩和時間(a)と体積変化の時定数(b)のグリセリン濃度依存性の結果を示す。この結果はグリセリン添加によりアガ

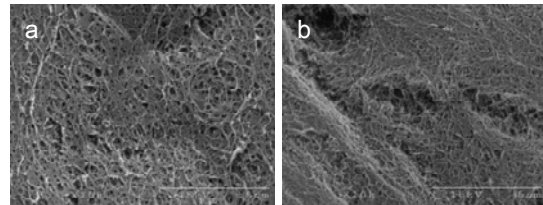


図8 アガロースゲルの走査型電子顕微鏡観察像 a: グリセリンなし b: グリセリン80wt%

ロースゲルからの溶媒輸送速度が低下していることを示している。一方でグリセロール添加により破断強度の上昇や微小変形下でのヤング率の上昇も確認された。これらの結果よりグリセリン添加によりゲルネットワークの構造が変化して、その結果として溶媒輸送速度が低下したと考えられる。

図8には凍結乾燥したアガロースゲルの走査型電子顕微鏡観察像を示す。図8aはグリセリンを含まないサンプルをbはグリセリン80wt%の結果である。これらの画像からグリセリン添加によりゲルネットワーク構造に大きな変化が生じていることが確認された。

ポリオールの添加はアガロースゲルの物性に影響を及ぼすことが知られているが<sup>5)</sup>、溶媒輸送挙動についてはほとんど報告が見られなかった。本課題においてはポリオール類の一つであるグリセリンのゲル圧縮拘束時の溶媒輸送挙動について初めて詳細な検討を行い有益な知見が得られた。

### (3) ショ糖添加によるアガロースゲルからの溶媒輸送挙動

アガロースは日本において伝統的な和菓子のゲル化剤として汎用されているために高濃度のショ糖と共存して使用されるケースが多くみられる。物理ゲルであるアガロースの工業的応用での問題点の一つに離液(シネリシス)が挙げられるが、経験的にアガロ

ースゲルにシヨ糖を添加することで離液を防ぐことが知られている。しかしながらシヨ糖のこのような効果のメカニズムの詳細については明らかになっていない。本課題ではシヨ糖の添加によるアガロースゲルからの溶媒輸送挙動変化を調べた。

シヨ糖を 10wt%から 50wt%含む 1.5wt%アガ

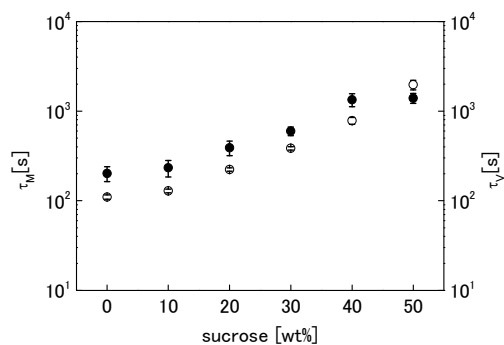


図9 圧縮荷重緩和時間( $\tau_M$ : a)および体積変化の時定数( $\tau_V$ : b)へのシヨ糖濃度の影響

ローズ熱水溶液を 10°Cでゲル化させて実験に供した。圧縮荷重および体積変化の時間発展の測定結果より、この系でも力学緩和と体積変化が同期していることが明らかになった。図9にはそれぞれの時定数のシヨ糖濃度依存性の結果を示す。グリセリンと同様にシヨ糖添加量の上昇と共に溶媒輸送速度が低下することが明らかになった。

一方で微小変形下での弾性係数に対応する式(1)の  $L_0$  と  $L_r$  を加えた値のシヨ糖濃度依存性の結果を図10に示す。シヨ糖濃度の上昇と共に弾性係数が上昇しており、この結果はすでに報告されているアガロースゲル物性に対するシヨ糖添加効果に関する研究結果と矛盾しない<sup>1)</sup>。図11にはシヨ糖を含まないサンプル(a)とシヨ糖 50wt%含んだサンプルの走査型電子顕微鏡観察像を示す。これらの画像からシヨ糖添加によりアガロースゲルのネットワーク構造に大きな変化が生じていることがわかる。

シヨ糖添加によるアガロースゲルからの溶媒輸送速度の低下は②のグリセリンの効果と同様であると予想される。ポリオールであるグリセリン同様、シヨ糖も極めて高い保

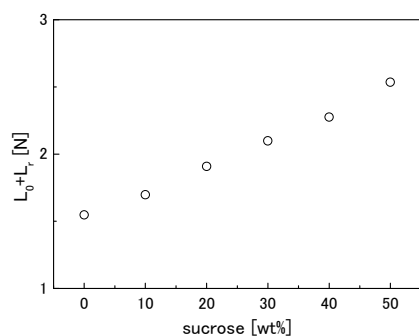


図10  $L_0 + L_r$  へのシヨ糖濃度の影響

水能があるためにアガロース分子への水和状態を変化させ、その結果としてゲルネットワーク構造が変化して、溶媒-ネットワーク構造間の摩擦を変化させていると考えられる。

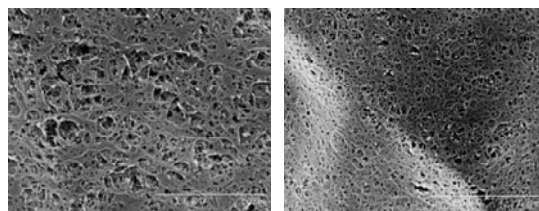


図11 アガロースゲルの走査型電子顕微鏡観察像 a: グリセリンなし b: シヨ糖 50 wt%

#### <引用文献>

- 1) Nishinari K, Fang Y. (2016) Food Hydrocolloids, View article online (DOI: 10.1039/c5fo01400j)
- 2) Tanaka T, Fillmore D (1979) J. Chem. Phys. 70:1214-1218.
- 3) Yamane T, Doi M (2005) J. Chem. Phys. 122, 084703.
- 4) Morita T, Narita T, Mukai S, Yanagisawa M, Tokita M (2013) AIP Advances 3: 042128.
- 5) Nishinari K, Watase M (1987) Agric Biol Chem. 51: 3231-3238.

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 3 件)

- 1) I. Kaneda and Y. Sakurai " Water/glycerol mixed solvent transportation behavior of mechanically constrained agarose gels" Food Hydrocolloids, 61, 148-154 (2016)
- 2) I. Kaneda and S. Iwasaki "Solvent transportation behavior of mechanically constrained agarose gels" *Rheologica Acta*, 54, 437-443 (2015)
- 3) S.Takahashi and I. Kaneda " A transient network structure in sucrose stearate/water system" *Nihon Reoroji Gakkaishi*, 42, 103-109 (2014)

[学会発表] (計 1 3 件)

- 1) I. Kaneda, " Solvent transportation behavior of mechanically constrained agarose gels", 2nd Food Structure and Functionality Forum Symposium 2016.3.1. Singapore
- 2) 金田 勇 " ヒト-マテリアルインターフェースにおけるレオロジー" 第16回レオロジーフォーラム, 2015.9.23, 神戸大学
- 3) 金田 勇, " 圧縮拘束されたアガロースゲルからの溶媒輸送挙動に対するグリセリン

の添加効果", 第63回レオロジー討論会, 2015.9.25, 神戸大学

4) I. Kaneda, " Solvent transportation behavior of mechanically constrained agarose gels", International Symposium on Food Rheology and Structure, 2015, 7,7-11, Zurich, Switzerland

5) 金田 勇, "人間の動作速度に同期した一時的ネットワーク構造を持つソフトマター", 第22回バイオレオロジーリサーチフォーラム, 2014,10,15, 福井市

6) 金田 勇, "ゲル化温度によるアガロースゲルの力学特性変化".第62回レオロジー討論会, 2014.10.17, 福井市

7) 金田 勇, " pH の異なる乾燥卵白より調製された卵白加熱ゲルの物性比較", 日本食品科学工学会第61回大会, 2014.8.30, 福岡市

8) I. Kaneda, "Rheological properties of transient network structure in sucrose stearate/water systems", 6th Pacific Rim Congress on Rheology, 2014.7.21, Melbourne, Australia

9) 金田 勇, "ショ糖ステアリン酸エステルが形成する一時的ネットワーク構造のレオロジー", 第37回日本バイオレオロジー学会年会, 2014.6.5, さいたま市

10) I. Kaneda, " The solvent transportation behavior from agarose gels under compression " The 4<sup>th</sup> Asian Symposium on Advanced Materials, 2013.10.24, Taipei

11) 茂垣 匠, 岩崎沙結里, 金田 勇"一軸圧縮時のアガロースゲルからの溶媒輸送挙動" 第61回レオロジー討論会, 2013.9.25, 山形大学

12) 金田 勇 "ソフトマター研究におけるレオロジーの使い方" ゲルワークショップ イン 加賀, 2013.9.14, 加賀温泉

13) 金田 勇, 茂垣 匠, 岩崎沙結里 "一軸圧縮時のアガロースゲルからの溶媒輸送挙動" 第62回高分子討論会, 2013.9.13, 金沢大学

〔図書〕(計 2 件)

1) 金田 勇, "懸濁液のレオロジー"食品ハイドロコロイドの開発と応用 II 監修 西成勝好, pp20-29, 株式会社シーエムシー出版 ISBN978-4-7813-1051-0 C3058, 2015

2) 金田 勇, (第8節 寒天ゲルのゲル構造形成メカニズム), 「ゲルの安定化と機能性付与・次世代への応用開発」,pp34-37, 株式会社技術情報協会,2013

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 0 件)

〔その他〕

<https://facebook.com/foodrheo/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

金田 勇 (Kaneda Isamu)

酪農学園大学 農食環境学群 教授

研究者番号 : 30458129