

低温生物工学会誌 [Cryobiology and Cryotechnology], Vol. 56, No. 1, 13~17, 2010

## モデル凍結乾燥食品のガラス転移温度と保存性

<sup>1</sup>広島大学大学院生物圏科学研究科生物機能開発学専攻<sup>2</sup>東京海洋大学海洋科学部食品生産科学科川井 清司<sup>1</sup>, 辻 香麻里<sup>2</sup>, Paveena Srirangsan<sup>2</sup>, 鈴木 徹<sup>2</sup>

## Glass Transition Temperature and Preservation of Model Freeze-dried Foods

Kiyoshi KAWAI<sup>1</sup>, Kaori TSUJI<sup>2</sup>, Paveena SRIRANGSAN<sup>2</sup> and Toru SUZUKI<sup>2</sup><sup>1</sup>*Department of Biofunctional Science and Technology, Graduate School of Biosphere Science, Hiroshima University, 1-4-4 Kagamiyama, Higashi-Hiroshima, Hiroshima 739-8528 Japan.*<sup>2</sup>*Department of Food Science and Technology, Faculty of Marine Science, Tokyo University of Marine Science and Technology, 4-5-7 Konan, Minato-ku, Tokyo 108-8477 Japan.*

Model freeze-dried foods which consist of polymer (polyvinylpyrrolidone), reducing sugar (arabinose, xylose, fructose, glucose, and lactose), and amino acid (lysine, glycine, glutamine, and glutamic acid) were prepared, and their glass transition temperature ( $T_g$ ) was investigated. Furthermore, the samples were held at a temperature below the  $T_g$ , and the progress of non-enzymatic browning reaction (NEB) was investigated. There was a little effect of the types of reducing sugar and amino acid on the  $T_g$  of the freeze-dried solids. The NEB rate, however, was affected strongly on the types of reducing sugar and amino acid. The NEB rate of the samples of varying reducing sugar was higher in order of arabinose  $\approx$  xylose > fructose > glucose > lactose. The NEB rate of the samples of varying amino acid was higher in order of lysine > glycine > glutamine > glutamic acid.

(Received Oct. 6, 2009; Accepted Dec. 16, 2009)

## 緒 言

多くの固体食品は非晶質（アモルファス）状態にあり、温度や水分含量の変化によってガラス転移する。ガラス転移によって食品の分子運動性は大きく変化するため、その加工性、貯蔵性、食感などに多

大な影響を及ぼす。したがって、食品のガラス転移温度（ $T_g$ ）を理解することは実用的に重要であると理解されている<sup>1-3)</sup>。

非酵素的褐変反応はアミノ化合物とカルボニル化合物との間で起こる反応であり、糖質やアミノ酸を豊富に含む固体食品において、しばしば認められる。この反応の進行により、食品の色、香り、栄養成分などが変化するため、反応速度の予測・制御が求められている。ガラス状態（ $T < T_g$ ）の固体食品では分子運動性が制限されており、化学反応速度も停滞すると期待されることから、ガラス転移と非酵素的

第46回国際低温生物学会(CRYO2009)研究報告1.

[Key words: Glass transition temperature, Non-enzymatic browning reaction, Freeze-dry; ガラス転移温度, 非酵素的褐変反応, 凍結乾燥]

(14)

褐変反応速度との関連性について明らかにするため、これまでに様々な研究が行われてきた<sup>4-11)</sup>。

この様な背景の下、筆者らは様々なガラス形成物質（マトリクス）に非酵素的褐変反応の反応物となる還元糖とアミノ酸とを加えた凍結乾燥物をモデル食品とし、その  $T_g$  と非酵素的褐変反応速度との関連性について調べてきた<sup>12-15)</sup>。様々なマトリクスにグルコースとリジンとを加えた試料を調製し、マトリクスが  $T_g$  及び非酵素的褐変反応速度に及ぼす影響について調べたところ、凍結乾燥物の  $T_g$  が高いほど、またマトリクスが水素結合形成能に優れるほど、非酵素的褐変反応速度が低下する結果が得られた<sup>12-14)</sup>。更にマトリクスとしてトレハロースを、反応物として様々な還元糖とリジンを用い、還元糖が  $T_g$  及び非酵素的褐変反応速度に及ぼす影響について調べた。その結果、還元糖の種類によって  $T_g$  は殆ど変化しないが、還元糖が水素結合形成能に優れるほど、反応速度が低下することが明らかとなった<sup>14,15)</sup>。以上の結果より、ガラス状固体中での非酵素的褐変反応は系の分子運動性だけでなく、反応物の構造的要因に影響されることが示唆された。しかし、もう一方の反応物であるアミノ酸が  $T_g$  及び非酵素的褐変反応速度に及ぼす影響については、筆者らを含め、これまでに殆ど調べられていなかった。また、実在する固体食品を想定すると、トレハロースのような二糖類よりも高分子の方がモデル食品のマトリクスとして適していると考えられた。そこで本研究では新たに水溶性高分子であるポリビニルピロリドン（PVP）をマトリクスとし、還元糖及びアミノ酸が非酵素的褐変反応速度に及ぼす影響を調べた。

## 材料および方法

### 1. 実験材料

ガラスマトリクスとして PVPk30 を、還元糖としてアラビノース、キシロース、フルクトース、グルコース、ラクトースを、アミノ酸としてリジン、グリシン、グルタミン、グルタミン酸を、それぞれ用いた。PVPk30 (98g)、還元糖 (1g)、アミノ酸 (1g) の混合物から 10%(w/w)水溶液を調製後、2ml をガラスバイアルに採り、約-40°C の冷凍庫内で凍結した。予め約-40°C にまで冷却した凍結乾燥器にセット後、 $5 \times 10^{-3}$ Torr にて-40°C から 25°C まで 72h か

けて昇温した。更に残存水分を取り除くため、室温にて 1 週間、減圧乾燥した。乾燥室素雰囲気下で復圧後、試料の入ったバイアル瓶はゴム栓付きのスクリーキャップを用いて蓋をした。得られた凍結乾燥物の残存水分は 1%(w/w)以下であることをカールフィッシャー法によって確認した。

### 2. ガラス転移温度

示差走査熱量計（島津 DSC50）によって試料の  $T_g$  を決定した。試料約 20mg を乾燥室素雰囲気下でアルミニウム製耐圧パンに封入し、25°C から 180°C の範囲を 5°C/min で昇温走査した。得られた DSC 昇温曲線の吸熱シフトのオンセットを  $T_g$  とした。

### 3. 非酵素的褐変反応

試料を 50°C で数時間～数日間保持した。その間、凍結乾燥物を適宜復水し、非酵素的褐変反応の初期生成物に由来する 280nm での吸光度 ( $ABS_{280}$ ) を測定した。保持前の  $ABS_{280}$  を差し引いた値 ( $\Delta ABS_{280}$ ) の経時変化を調べた。

## 結 果

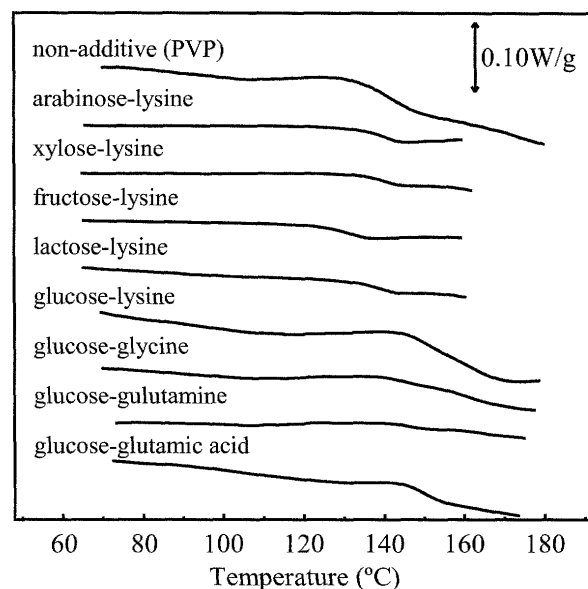


Fig. 1. DSC thermograms for the freeze-dried PVP-reducing sugar-amino acid systems.

DSC 昇温測定結果を Fig.1 に示す。各試料の  $T_g$  は 132~145°C の範囲にあり、還元糖やアミノ酸が  $T_g$  に及ぼす影響は少なかった。一般に、ガラス状高分子への低分子の添加は  $T_g$  を引き下げる効果がある

1<sup>3</sup>). しかし、本研究で調製した試料は、還元糖やアミノ酸の添加量が少なかったため、PVPの $T_g$ に大きな影響はなかった。

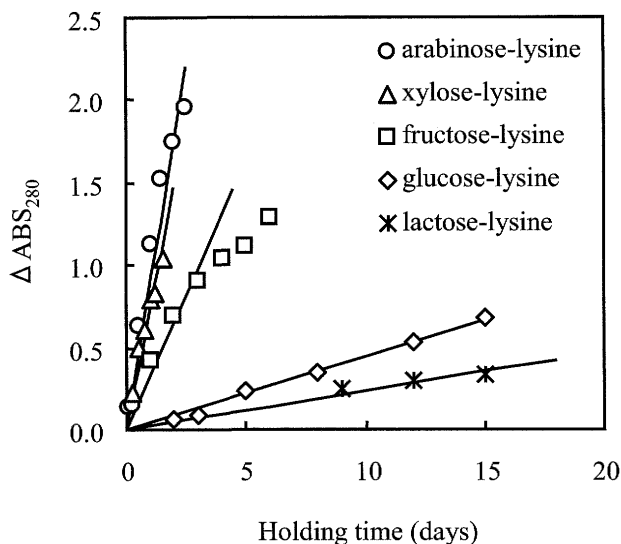


Fig. 2. Time courses of  $\Delta\text{ABS}_{280}$  for freeze-dried samples varying of reducing sugar. The samples were held at 50°C.

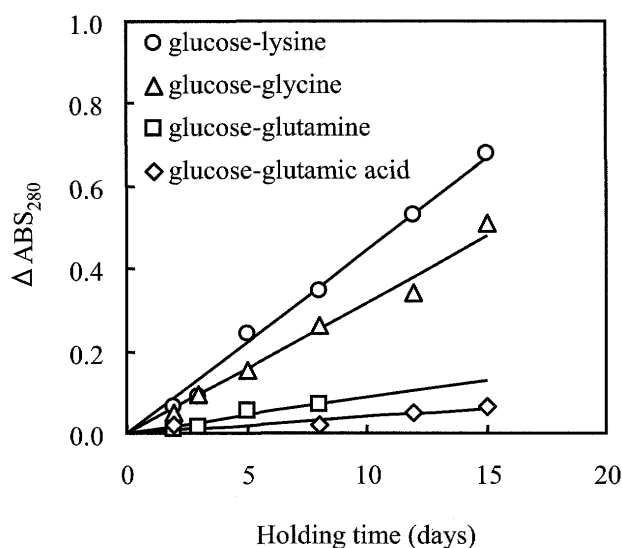


Fig. 3. Time courses of  $\Delta\text{ABS}_{280}$  for freeze-dried samples varying of amino acid. The samples were held at 50°C.

還元糖が異なる試料の $\Delta\text{ABS}_{280}$ の経時変化をFig.2に示す。いずれの試料も時間と共に $\Delta\text{ABS}_{280}$ は増加し、50°Cにおける非酵素的褐変反応速度は、アラビノース及びキシロース、フルクトース、グルコース、ラクトースの順に高いことが分かった。一方、アミノ酸が異なる試料の $\Delta\text{ABS}_{280}$ の経時変化を

Fig.3に示す。本結果より、50°Cにおける非酵素的褐変反応速度は、リジン、グリシン、グルタミン、グルタミン酸の順に高いことが分かった。

## 考 察

いずれの物質においても $T_g$ での分子緩和時間は約100secに相当することが知られている<sup>16)</sup>。したがって、 $T_g$ 以下のある温度で比較すると、 $T_g$ が高いほど分子運動性が低く、非酵素的褐変反応速度は低いものと期待される。しかし、非酵素的褐変反応速度はガラスマトリクスの分子運動性だけでなく、マトリクス及び反応物の水素結合形成能にも影響されることが示唆されており<sup>12-15)</sup>、その作用機構は以下のように考えられている。水素結合を形成する複数の溶質を含んだ水溶液を乾燥すると、溶質間で水素結合が形成される。ガラスマトリクスが水素結合形成能に優れている場合、還元糖及びアミノ酸はガラスマトリクスと水素結合した状態で包埋される。このような状態で非酵素的褐変反応が進行するには、還元糖やアミノ酸がガラスマトリクスとの水素結合を断ち切りながら拡散して反応に至る必要がある。逆に、ガラスマトリクスの水素結合形成能が乏しければ、マトリクスとの水素結合による束縛が緩くなり、反応は容易となる。同様に、還元糖及びアミノ酸が水素結合形成能に優れていれば、マトリクスとの水素結合形成による束縛がより強くなり、反応速度は停滞する。逆にそれが乏しければ、束縛は緩くなり、反応は容易となる。

各種還元糖の化学構造の相違を考慮してFig.2に示す結果について考察すると、アラビノース、キシロースはペントース、フルクトース、グルコースはヘキソース、ラクトースは二糖類であり、還元糖の水酸基の増加、即ち水素結合形成能の増加と共に非酵素的褐変反応速度が低下する傾向が伺える。フルクトースとグルコースは共にヘキソースであるが、フルクトースの非酵素的褐変反応速度はグルコースよりも顕著に高かった。同様の傾向はLievonenら<sup>9)</sup>によっても報告されている。これは、水溶液中においてフルクトースの開環率が高いことに起因すると考えられる。しかし、水溶液系における非酵素的褐変反応速度の比較によるとグルコースの方が高い反応速度を示すといった報告<sup>17)</sup>もあることから、こ

(16)

れについては更なる検討が必要とされる。

アミノ酸は両性電解質であり、その性質は pH によって様々に変化する。例えば、水溶液系での非酵素的褐変反応速度は、pH によって異なることが知られている<sup>17,18)</sup>。一方、pH が凍結乾燥固体での非酵素的褐変反応に及ぼす影響については知見が乏しい。これについては今後の課題とし、ここではアミノ酸の性質を支配する側鎖の相違に着目し、アミノ酸が凍結乾燥固体での非酵素的褐変反応速度に及ぼす影響についての一考察を展開する。リジンは側鎖に反応性の高い  $\epsilon$ -アミノ基を有しているため、調べた 4 種類のアミノ酸の中で最も反応速度が高かったといえる。グリシンは側鎖を持たないため、他のアミノ酸よりも水素結合形成能は乏しいといえる。したがって、反応速度はリジンに次いで高かったのであろう。一方、グルタミンは側鎖に水素結合の水素受容体にも供与体にもなり得るアミド基を有していることから、水素結合形成能に優れるといえる。したがって、グリシンよりも反応速度は低かったと考えられる。同様に、グルタミン酸は側鎖に水素結合の水素受容体にも供与体にもなり得るカルボキシル基を有している。更にそのカルボキシル基は、特に中性近傍 pH において、大部分が電離して負の電荷を有しており、極性が高い状態にある。したがって、グルタミン酸はグルタミンよりも反応速度が抑えられたと考えられる。

## ま と め

本結果より、ガラス状高分子内に存在する還元糖とアミノ酸との反応速度は、水素結合形成能や反応基の数によって影響されることが示唆され、既往の解釈を支持する結果が得られた。これら基礎データの集積が乾燥食品の非酵素的褐変反応の予測・制御に役立つものと期待される。

## 謝 辞

本研究は、文部科学省科学研究費補助金事業（課題番号 21780126）により行われた。

## 文 献

- 1) Levine, H. and Slade, L.: Principles of "cryostabilization" technology from structure/property relationships of carbohydrate/water systems a review. *Cryo-Lett.*, **9**, 21-63 (1988)
- 2) Roos, Y.H.: Food components and polymers, *In* "Phase transitions in foods", Y.H., Roos ed., Academic Press, London, p.109-156 (1995)
- 3) Le Meste, M., Champion, D., Roudaut, G., Blond, G. and Simatos, D.: Glass transition and food technology: A critical appraisal. *J. Food Sci.*, **67**, 2444-2458 (2002)
- 4) Bell, L.N.: Kinetics of nonenzymatic browning in amorphous solid systems: distinguishing the effects of water activity and the glass transition. *Food Res. Int.*, **28**, 591-597 (1996)
- 5) Bell, L.N., Touma, D.E., White, K.L., Chen, Y.H.: Glycine loss and Maillard browning as related to the glass transition in a model food system. *J. Food Sci.*, **63**, 625-628 (1998)
- 6) Buera, M.P., Karel, M.: Effect of physical changes on the rates of nonenzymic browning and related reactions. *Food Chem.*, **52**, 167-173 (1995)
- 7) Karmas, R., Buera, M.P., Karel, M.: Effect of glass transition on rates of nonenzymatic browning in food systems. *J. Agric. Food Chem.*, **40**, 873-879 (1992)
- 8) Lievonen, S.M., Laaksonen, T.J., Roos, Y.H.: Glass transition and reaction rates: Nonenzymatic browning in glassy and liquid systems. *J. Agric. Food Chem.*, **46**, 2778-2784 (1998)
- 9) Lievonen, S.M., Laaksonen, T.J., Roos, Y.H.: Nonenzymatic browning in food models in the vicinity of the glass transition: Effect of fructose, glucose, and xylose as reducing sugar. *J. Agric. Food Chem.*, **50**, 7034-7041 (2002)
- 10) Roos, Y.H., Himberg, M.J.: Nonenzymatic browning behavior, as related to glass transition, of a food model at chilling temperatures. *J. Agric. Food Chem.*, **42**, 893-898 (1994).
- 11) Schebor, C., Buera, M.P., Karel, M., Chirife, J. Color formation due to non-enzymatic browning in amorphous, glassy anhydrous, model systems. *Food Chem.*, **65**, 427-432 (1999)
- 12) Kawai, K., Hagiwara, T., Takai, R. and Suzuki, T.: Maillard reaction rate in various glassy matrices.

- Biosci., Biotechnol., Biochem., **68**, 338-342 (2004)
- 13) Kawai, K., Hagiwara, T., Takai, R. and Suzuki, T.: The rate of non-enzymatic browning reaction in model freeze-dried food system under the glassy state. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.*, **6**, 346-350 (2005)
- 14) 川井清司, 萩原知明, 高井陸雄, 鈴木 徹: ガラス状態にある凍結乾燥食品のメイラード反応速度に及ぼす還元糖の影響, *日本食品工学会誌*, **6**, 59-64 (2005)
- 15) 川井 清司: アモルファス凍結乾燥食品のメイラード反応, *低温生物工学会誌*, **51**, 51-56 (2005)
- 16) Angell, C.A.: Formation of glasses from liquids and biopolymers. *Science*, **297**, 1924-1935 (1995)
- 17) Buera, M.D., Chirife, J., Resnik, S.L. and Wetzler, G.: Nonenzymatic browning in liquid model systems of high water activity: kinetics of color change due to maillard's reaction between different single sugars and glycine and comparison with caramelization browning. *J. Food Sci.*, **52**, 1063-1067 (1987)
- 18) Buera, M.D., Chirife, J., Resnik, S.L. and Lozano, R. D.: Nonenzymatic browning in liquid model systems of high water activity: kinetics of color changes due to reaction between glucose and glycine peptides. *J. Food Sci.*, **52**, 1068-1070 (1987)