

寒天と魚鱗由来コラーゲンペプチド混合ゲルから調製したゲルの物性

| | |
|-------|--|
| 誌名 | 日本食品科学工学会誌 |
| ISSN | 1341027X |
| 著者 | 小野寺, 允 深江, 亮平 江口, 智美 西成, 勝好 吉村, 美紀 |
| 巻/号 | 59巻1号 |
| 掲載ページ | p. 22-33 |
| 発行年月 | 2012年1月 |

寒天と魚鱗由来コラーゲンペプチド混合ゲルから調製したゲルの物性

小野寺允¹, 深江亮平¹, 江口智美¹, 西成勝好², 吉村美紀^{1*}¹ 兵庫県立大学大学院環境人間学研究科² 大阪市立大学大学院生活科学研究科

Rheological Properties of Mixed Agar Gels and Collagen-Peptide from Tilapia Scales

Makoto Onodera¹, Ryohei Fukae¹, Satomi Eguchi¹, Katsuyoshi Nishinari² and Miki Yoshimura^{1*}¹ School of Human Science and Environment, University of Hyogo, 1-1-12 Honcho, Shinzaike, Himeji, Hyogo 670-0092² Graduate School of Human Life Science, Osaka City University, 3-3-138 Sugimoto, Sumiyoshi, Osaka 558-8585

The effects of the concentration and molecular weight (M_w) of collagen-peptide (CP) from tilapia scales on the rheological and thermal properties of agar gel (AG) were examined by gel permeation chromatography, dynamic viscoelasticity, rupture properties, syneresis and differential scanning calorimetry. Three kinds of CP from tilapia scales (CP1000, CP5000 and CP10000) with $M_w = 7.4 \times 10^2$, 4.5×10^3 and 1.0×10^4 , respectively, were investigated. The results showed that CP1000 had the highest rupture stress, Young's modulus and syneresis of the AGs tested. For CP5000 and CP10000, rupture stress and Young's modulus were lower, syneresis was repressed and enthalpy was decreased. Therefore, it was suggested that higher molecular weight CP hindered cross-linking formation in AGs. Also, a comparison of CP from porcine skin and tilapia scales suggested that viscosity and enthalpy of CP solutions and gel strength were influenced by molecular weight and amino acids composition.

(Received Mar. 30, 2011; Accepted Oct. 21, 2011)

Keywords : collagen-peptide, tilapia scale, average molecular weight, agar gel, rheological and thermal properties

キーワード : コラーゲンペプチド, テラピア, 平均分子量, 寒天, 力学的熱的特性

コラーゲンは動物の真皮, 骨, 腱などを構成するタンパク質であり, その加水分解物であるゼラチンはゲル化性, 乳化性, 保水性などの優れた特性を有しており¹⁾, 古くから多くの食品に利用されてきた. 最近では, ゼラチンをさらに酵素分解により低分子化したコラーゲンペプチドは骨密度の改善²⁾, 関節炎の軽減³⁾, 皮膚角層水分の改善³⁾, 血圧上昇抑制⁴⁾などの生理機能が注目されることより, コラーゲンペプチドを添加した飲料やゼリー, 健康補助食品などの利用が増えている. また, ゼラチンおよびコラーゲンペプチドはBSE問題以降, ウシなどの動物由来の代替品としてテラピア鱗などの水生生物由来のものが増えている. ゼラチンについては, そのゲル強度とゲル融解点は, 架橋領域となるヘリックス構造体の量やその安定性に大きく左右され, 平均分子量, アミノ酸組成, α 鎖と β 鎖の存在比によって影響を受けることが知られている⁵⁾⁶⁾. ゼラチンは, 部分的加水分解によって分子サイズが不均一になり, γ 鎖 (α 鎖の三量体) 以上の高分子成分から α 鎖 (重量平均分子量約10万) 以下の低分子ペプチドまで幅広い分子

量分布を持つ⁷⁾. さらに, α 鎖よりも分子量が小さいコラーゲンペプチドの場合, その物理化学的特性は平均分子量に著しく依存すると言われ⁸⁾, その分子量分布には複数のピークが見られる. これまで, 平均分子量および分布状態が異なる豚皮由来コラーゲンペプチドを用いて, その力学的および熱的特性および寒天との混合ゲルの物性についての報告を行った⁹⁾. しかし近年, 食品として哺乳類由来だけでなく水生生物由来のコラーゲンペプチドの需要が高まっている. 水生生物由来のゼラチンについては理化学的, 力学的, 熱的特性についての研究は盛んに行われている. コラーゲンに含まれるアミノ酸である, プロリンとヒドロキシプロリンは熱安定性に寄与しており¹⁰⁾, トリプルヘリックス構造を安定化させる働きがあり¹¹⁾, 水生生物由来は哺乳類由来と比べてそのアミノ酸の含量が低く, 水生生物の中でも生息水温によって異なり, 特に冷水に生息する魚は著しく低いという報告がある⁵⁾¹²⁾. また, プロリンとヒドロキシプロリンの含量が少ない魚由来ゼラチンは弾性率が低く, 融解および凝固温度が低いことが報告されている⁵⁾¹³⁾. テラピア由来ゼラチンでは, 疎水性アミノ酸含量が高い方がBloom値は高いという報告もある⁵⁾¹⁴⁾. このように, 水生生物由来ゼラチンの特性について報告している論文は多数存

¹ 〒670-0092 兵庫県姫路市新在家本町 1-1-12² 〒558-8585 大阪府大阪市住吉区杉本 3-3-138

* 連絡先 (Corresponding author), miki@shse.u-hyogo.ac.jp

在する。しかし、ゼラチンより平均分子量が小さい水生生物由来コラーゲンペプチドの特性とそれを食品に添加したときの影響についての報告はほとんどない。

そこで、本研究では、平均分子量および分布状態の異なる3種類のテラピア鱗由来コラーゲンペプチドを用いてそのゾルの特性とコラーゲンペプチドを寒天に添加したときの寒天ゲルの力学的および熱的特性に及ぼす影響について検討を行った。またテラピア鱗由来コラーゲンペプチドと豚皮由来コラーゲンペプチド添加の影響⁹⁾との比較・検討を行った。

実験方法

1. 試料の調製

(1) 材料配合

i) コラーゲンペプチド

コラーゲンペプチドは、テラピア (Nile tilapia, 学名 *Oreochromis niloticus*) の鱗由来コラーゲンペプチド (旭陽化学工業製, CP と示す。) を用いた。アミノ酸組成は日本食品分析センターに分析依頼をした。トリプトファンは高速液体クロマトグラフ法, その他はアミノ酸自動分析法である。Table 1 に、テラピア鱗由来 CP と豚皮由来 CP⁹⁾ のアミノ酸組成の測定結果を示す。テラピア鱗由来 CP は、主にグリシン 25.8%, プロリン 13.1%, アラニン 12.0%, ヒドロキシプロリン 11.2%, グルタミン酸 9.90%, アルギニン 7.76%, アスパラギン酸 5.27%, リシン 3.68%, セリン 3.13% を含む。ここで、イミノ酸 (プロリン, ヒドロキシプロリン) の含有量は、テラピア鱗由来 CP が 24.3% で、豚皮由来 CP が 26.1% であり、テラピア鱗由来 CP の方が豚皮由来 CP より 1.8% 少なかった。Muyonga⁵⁾¹²⁾ らは、哺乳類由来ゼラチンのイミノ酸含有量は約 30%, 暖水魚由来は 22~25% と述べており、その結果と比べて、著者らが用いた豚皮由来 CP のイミノ酸含有量はやや少なかった。また、暖水魚由来ゼラチンは、イミノ酸の他に、ロイシンやバリンの含有量も哺乳類と比べて低いと言われており¹⁵⁾、本研究においてもテラピア鱗由来 CP の方が豚皮由来 CP より低い値を示していた。テラピア鱗由来 CP は、1次処理として酸処理、水洗い、乾燥させ、2次処理として、酵素分解、酵素失活、濾過、乾燥を行い、製造されている。本研究では、製造過程で酵素分解処理時間を変えて調製された3種類のテラピア鱗由来 CP を用いた。3種の CP 1% ゾルの pH はそれぞれ 5.9, 6.1, 5.8 の弱酸性を示した。

ii) 寒天

寒天 (SIGMA 製, AG と示す。) は、硫酸基 1.40%, 灰分 2~4%, Ca 0.30%, Mg 0.10%, K 0.01%, P 0.01%, Na 0.50% を含む。寒天 1% ゾルの pH は 6.9 を示した。

(2) 試料の調製

i) CP ゾル

既報⁹⁾と同様に、CP とイオン交換水を混合し、マグネッ

Table 1 Amino acids composition

| | Amino acids | Tilapia scale | Porcine skin ⁹⁾ |
|-------------------------|-------------|---------------|----------------------------|
| Hydrophilic amino acids | Gly | 25.8 | 24.3 |
| | Glu | 9.90 | 10.2 |
| | Arg | 7.76 | 6.73 |
| | Asp | 5.27 | 5.92 |
| | Ser | 3.13 | 3.58 |
| | Lys | 3.68 | 3.49 |
| | Thr | 2.73 | 1.83 |
| | His | 0.53 | 0.67 |
| | Tyr | 0.19 | 0.63 |
| Hydrophobic amino acids | Cys | 0.01 | 0.07 |
| | Pro | 13.1 | 13.7 |
| | Hyp | 11.2 | 12.4 |
| | Ala | 12.0 | 8.93 |
| | Leu | 2.19 | 2.84 |
| | Val | 2.34 | 2.43 |
| | Phe | 1.90 | 1.86 |
| Ile | 1.07 | 1.28 | |
| Met | 1.62 | 0.98 | |
| Trp | 0.02 | 0.02 | |

unit : % (w/w)

トスターラー (IKA JAPAN COLTD 製: IKATRON ETS-D 4 fuzzy) を用いて、90°C, 400 rpm/分で 30 分間加熱攪拌した。その後、予め加熱しておいたイオン交換水で蒸発量を補い 30mL に調節し、25°C で 2 時間静置した後、10°C で 18 時間冷却し CP ゾルを得た。CP 濃度は 10, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60% (w/w) で調製を行い、CP ゾルは動的粘弾性、示差走査熱量測定 (DSC) に用いた。

ii) AG-CP ゲル

既報⁹⁾と同様に、イオン交換水に AG を 1% (w/w) 攪拌混合し、室温 (約 24°C), 400 rpm で 30 分間攪拌膨潤させた後、90°C で 30 分間加熱攪拌した。次に、CP を添加し 90°C で 30 分間加熱攪拌した。その後、蒸発量を予め加熱しておいたイオン交換水で補い、300mL の AG-CP ゾルを得た。これを直径 3.0cm, 高さ 2.0cm のガラスリングを並べたステンレス製容器に流し込み、25°C で 2 時間静置した後、10°C で 18 時間冷却し、AG-CP ゲルを得た。CP 濃度は 0, 5, 10, 15, 20% (w/w) で調製を行い、破断特性、離水量、DSC 測定に用いた。破断特性、離水量の測定では AG 濃度を 1% (w/w) としたが、DSC 測定で観察された AG のピークが非常に小さかったため、DSC 測定では AG 濃度を 3% (w/w) とした。

2. 測定方法

(1) CP の平均分子量および分子量分布

CP の平均分子量と分子量分布を、ゲルろ過クロマトグラフィ法 (GPC) により測定した。検出は UV-8020 (東ソー製) を用い、波長 220 nm で行った。カラムは TSEK gel G2000SWXL 7.8mmL D×30cm を使用し、40°C で測定

を行った。溶出液には0.1% (w/w) trifluoroacetic acid を含む45% (w/w) acetonitrile 水溶液を用い、流量は0.5 mL/min とし測定を行った。リファレンスには、Bovine serum albumin, Angiotensin II (SIGMA 製), Aprotinin (ペーリンガーマーハイム山之内製), Bacitracin (Serva 製), Gly-Gly-Tyr-Arg (ペプチド研究所製) を用い、試料の溶出曲線とリファレンスから作った較正曲線から、常法⁶⁾により重量平均分子量 M_w と数平均分子量 M_n を算出した。

(2) CP ゼルの動的粘弾性

動的粘弾性は、レオメータ (HAAKE RS600, Thermo ELECTRON CORPORATION 製) を用いて、測定を行った。センサーにはチタン製、直径35mmの平板プランジャーを用いた。平板プランジャーをφラジアン回転させたとき、プランジャーの中心から距離 r の位置にある試料は $\phi \cdot r$ だけ変形する。そして、その試料の高さを l としたとき、 $\phi \cdot r$ を l で割ったものを歪 γ とする。測定温度10°C、周波数1Hz、 γ を0.001から1.0まで変化させて、貯蔵剛性率 G' と損失剛性率 G'' の歪依存性測定を行った。さらに、応力と歪の間に線形性が認められた歪の範囲の中ほどの歪0.05において、周波数 ω を0.1 rad/s から100 rad/s まで変化させて、周波数依存性測定を行った。

(3) AG-CP ゼルの破断特性

圧縮試験機 (レオナー RE-3305, 山電製) を用い、破断特性値として破断応力、破断歪、応力-歪曲線の線形性領域から (1) 式により初期弾性率 E_0 を求めた¹⁷⁾。測定には直径4.0cmのアクリル樹脂性プランジャーを用いて、圧縮速度1.0mm/sで行い、試料の高さの70%を圧縮した。1つの試料につき、それぞれ2回以上調製し、サンプル数は10個以上とした。試料温度は10°Cとした。PASW Statistics 17 (エス・ピー・エス・エス製) を用いて、一元配置の分散分析により、有意差の認められたものについてDunnnettの多重比較を行い、AG単独ゲルとの間に有意差 ($\alpha = 0.01, 0.05$) の認められた試料を示した。

$$E_0 (\text{Pa}) = \frac{\sigma_t}{\varepsilon_t} \quad (1)$$

(σ_t : 応力, ε_t : 歪)

(4) AG-CP ゼルの離水量

測定はMyung-Woo Byunらの方法¹⁸⁾¹⁹⁾に従い、濾紙法により行った。濾紙法は、ゲル中の水が濾紙を浸透する速さに影響を受ける。濾紙 (Whatman No. 4, 直径24.0cm) 上に試料をのせ離水してきた水の広がり面積を求め、離水量 (cm^2) とした。測定は3~30分まで3分ごとに行った。水は楕円状に広がったため、楕円の長径 a (cm) と短径 b (cm) の長さを測り、(2) 式より離水量を得た。 r (cm) は試料の最初の半径である。10°Cの恒温器中で、試料が蒸発、乾燥するのを防ぐためガラス製容器で蓋をし測定を行った。試料温度は10°Cとした。1つの試料につき、それぞれ

2回以上調製し、サンプル数は2個以上とした。30分後の離水量については、PASW Statistics 17 (エス・ピー・エス・エス製) を用いて、一元配置の分散分析により、有意差の認められたものについてDunnettの多重比較を行い、AG単独ゲルとの間に有意差 ($\alpha = 0.01, 0.05$) の認められた試料を示した。

離水量 (cm^2)

= 楕円面積 - 試料断面積

= $\pi ab - \pi r^2$

= $\pi (ab - r^2)$

(2)

(5) 示差走査熱量測定 (DSC)

示差走査熱量測定には、DSC-6100型 (セイコーインスツルメンツ製) を用いた。測定範囲は5~120°C、昇温および降温速度は2°C/minとし、リファレンスにはイオン交換水を用いた。CPゼルまたはAG-CPゲルを約50mg量りとり、銀製密閉容器 (容量70μL) に入れて密封し、サンプルとした。昇温・降温測定を連続して行い、得られた2つのDSC曲線より、ピーク開始温度 (T_0)、ピーク温度 (T_p)、ピーク終了温度 (T_c) を求め、($T_c - T_0$) からピーク温度幅を算出した。また、 T_0 と T_c を直線で結び、この直線とDSC曲線に囲まれた部分の面積からエンタルピー (ΔH) を算出した。

実験結果

(1) CPの平均分子量分布

GPCの溶出曲線をFig. 1, これより求めた数平均分子量 (M_n)、重量平均分子量 (M_w)、多分散性指数 (M_w/M_n) をTable 2に示した。Fig. 1には比較のため、豚皮由来コラーゲンペプチドの結果も示した。セラピア鱗由来コラーゲンペプチドの M_w の値は、それぞれ 7.4×10^3 , 4.5×10^3 , 1.0×10^4 を示した。以下、これら平均分子量ならびに分子量分布の異なる3種のCPについて、この M_w の値を用いて、CP1000, CP5000, CP10000と略した。いずれのCPも多分散性を示し、CP1000は 7.6×10^3 付近と 2.3×10^2 付近に2つの大きなピークが出現した。CP5000は、 5.0×10^3 付近に最も大きなピークが観察され、 2.0×10^3 , 1.0×10^3 付近にも小さなピークが観察された。CP10000は、 1.3×10^4 付近に大きなピークが観察され、それ以下の低分子量画分の含有量は比較的少なかった。

(2) CPゼルの動的粘弾性

動的粘弾性の歪依存性測定の結果、CP5000ゼルは45% (w/w) 以下、CP10000ゼルは20% (w/w) 以下の濃度では、線形性領域が確認できなかったため、応力と歪の間に線形性が確認された50, 55, 60% (w/w) CP5000ゼル、25, 30, 35, 40, 45% (w/w) CP10000ゼルにおいて、周波数依存性測定を行った。Fig. 2にCP5000ゼル、Fig. 3にCP10000ゼルの周波数依存性測定の結果を示した。Fig. 3

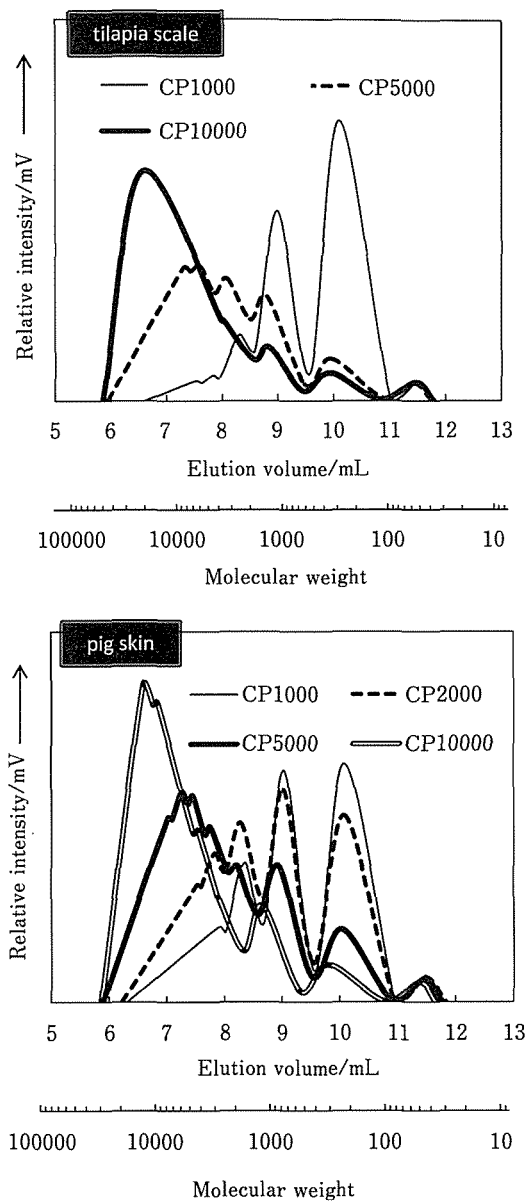


Fig. 1 GPC profiles of CP measuring with Tosoh UV-8200 in 0.1% solution of trifluoroacetic acid in 45% acetonitrile

は比較のため、豚皮由来コラーゲンペプチドの結果も示した。35% (w/w) CP10000ゾルは、40% (w/w) CP10000ゾルの結果とほぼ同じ傾向を示したので省略した。全てのCPゾルが、測定周波数範囲内で G' が G'' より高い値を示し、周波数に従って増加することが確認された。

(3) AG-CPゲルの破断特性

Fig. 4にAG-CPゲルの破断特性の測定結果を示した。比較のため、豚皮由来コラーゲンペプチドの結果も示した。AG-CP1000ゲルでは、AG単独ゲルより、破断応力、初期弾性率が10% (w/w)以上のCP添加で増加した ($P < 0.01$)。破断歪は有意差がみられなかった。AG-CP5000ゲルでは、破断応力は5, 10% (w/w)添加で減少し ($P < 0.$

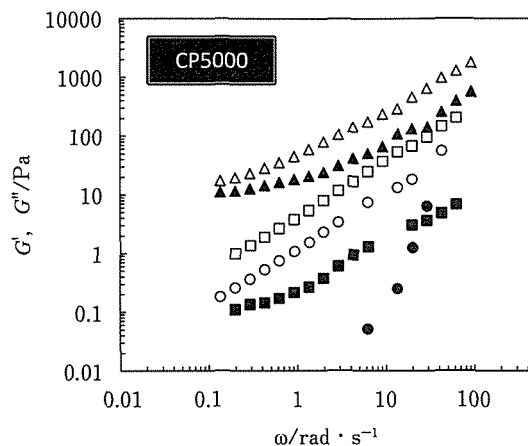


Fig. 2 Frequency dependence of G' and G'' for CP5000 solutions

Measurement temperature : 10°C, Strain : 5%.

●, G' for 50% (w/w); ○, G'' for 50% (w/w);
■, G' for 55% (w/w); □, G'' for 55% (w/w);
▲, G' for 60% (w/w); △, G'' for 60% (w/w).

Table 2 Molecular weight of CP samples

| | | M_n | M_w | M_w/M_n |
|----------------------------|---------|-------------------|-------------------|-----------|
| Tilapia scale | CP1000 | 2.7×10^2 | 7.4×10^2 | 2.7 |
| | CP5000 | 8.7×10^2 | 4.5×10^3 | 5.1 |
| | CP10000 | 1.3×10^3 | 1.0×10^4 | 8.2 |
| Porcine skin ⁹⁾ | CP1000 | 2.5×10^2 | 1.1×10^3 | 4.6 |
| | CP5000 | 8.2×10^2 | 5.4×10^3 | 6.6 |
| | CP10000 | 1.6×10^3 | 1.0×10^4 | 6.5 |

Determined by GPC.

01), 15% (w/w)以上ではCP濃度の増加に伴い、顕著に減少した ($P < 0.01$)。破断歪は15% (w/w)以上の添加で減少した ($P < 0.01$)。初期弾性率は15% (w/w)以上のCP添加で減少した ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。AG-CP10000ゲルでは、破断応力は、5% (w/w)以上のCP濃度の増加に伴い、顕著に減少した ($P < 0.01$)。破断歪は5% (w/w)以上の添加で減少し ($P < 0.01$)、初期弾性率は5% (w/w)のCP添加で減少した ($P < 0.01$)。AG-15% (w/w) CP10000, AG-20% (w/w) CP10000ゲルは、自重で形状を保持できなく崩れるため、除外した。

(4) AG-CPゲルの離水量

Fig. 5に離水量の測定結果を示した。比較のため、豚皮由来コラーゲンペプチドの結果も示した。破断特性と同様に、AG-15% (w/w) CP10000, AG-20% (w/w) CP10000ゲルは自重で形状を保持できなく測定対象から除外した。AG-CP1000ゲルは15% (w/w)添加まではAG単独ゲルよりも離水量が増加し ($P < 0.05$)、20% (w/w)添加でもほぼ同じ結果を示し、CP1000添加による離水抑制効果は認められなかった。AG-CP5000ゲルでは、5% (w/w)添

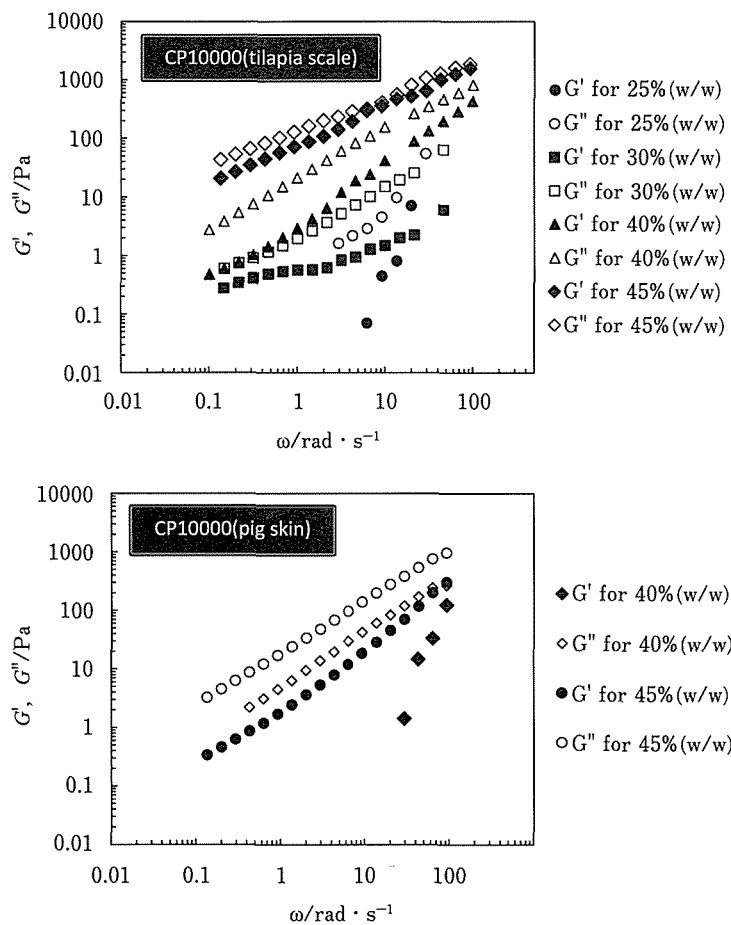


Fig. 3 Frequency dependence of G' and G'' for CP10000 solutions (tilapia scale and pig skin⁹⁾)

Measurement temperature : 10°C, Strain : 5%.

加で離水量が増加したが、10% (w/w) 以上の添加で抑制効果が認められた ($P < 0.01$). AG-CP10000 ゲルでは、5% (w/w) 添加でも離水が減少し抑制効果が認められ、10% (w/w) 添加ではさらに強い抑制効果が見られた ($P < 0.01$). 既報⁹⁾ の豚皮由来 CP と同様、平均分子量の低い CP を添加しても、離水抑制効果は乏しく、ある程度平均分子量が高い CP を添加すると、離水抑制効果が得られ、平均分子量および濃度が高くなるにつれて、その効果は増大することが確認された。

(5) 示差走査熱量測定 (DSC)

CP ゼルの昇温 DSC 曲線と降温 DSC 曲線を Fig. 6, CP 1 mg あたりのエンタルピーの値を Table 3 に示した。30~60% (w/w) CP1000 ゲル (Fig. 6 ①~④) では吸熱ピーク、発熱ピークともに観察されなかった。30% (w/w) CP5000 ゼル (Fig. 6 ⑤) において、40~60% (w/w) CP5000 ゼルと 30, 40% (w/w) CP10000 ゼル (Fig. 6 ⑥~⑩) においては、昇温 DSC 曲線では 25°C 付近に吸熱ピーク、降温 DSC 曲線では 10°C 付近に発熱ピークが観察された。 M_w が 1.0×10^3 から 1.0×10^4 の間にある CP1000, CP5000 と CP10000 では、平均分子量の違いによるピーク温度の差は見られな

かった。また、CP5000 ゼルと CP10000 ゼルは、CP 濃度の増加に伴って CP 1mg あたりのエンタルピーが増大した。 Fig. 6 ⑩は、比較のため、豚皮由来の 40% (w/w) CP ゼル ($M_w = 1.0 \times 10^4$) の測定結果⁹⁾ を示した。 M_w の値が近いテラピア鱗由来 40% (w/w) CP10000 ゼル (Fig. 6 ⑩) と比較すると、両者とも吸熱ピークと発熱ピーク温度は約 25°C と約 10°C を示し、ほぼ同じであった。テラピア鱗由来 CP のピーク温度幅は 23.9°C、CP 1mg あたりのエンタルピーは 4.39mJ を示し、温度幅が狭く、鋭角な吸熱ピークであり、エンタルピーが小さかった。一方、豚皮由来 CP のピーク温度幅は 34.3°C を示し、ブロードな吸熱ピークであり、CP 1mg あたりのエンタルピーは 6.03mJ を示した。また、豚皮由来 CP ($M_w = 1.0 \times 10^4$) ゼルでは、40% (w/w) のとき、シヨルダー (第 2 吸熱ピーク) が観察されたが、テラピア鱗由来 CP には観察されなかった。

AG-CP ゲルの昇温 DSC 曲線と降温 DSC 曲線を Fig. 7 に示した。AG 単独ゲル (Fig. 7 ①) では、昇温 DSC 曲線に 90°C 付近に吸熱ピーク、降温 DSC 曲線に 30°C 付近に発熱ピークが観察された。AG-10% (w/w) CP1000 ゲルと AG-20% (w/w) CP1000 ゲル (Fig. 7 ②③) では、90°C 付

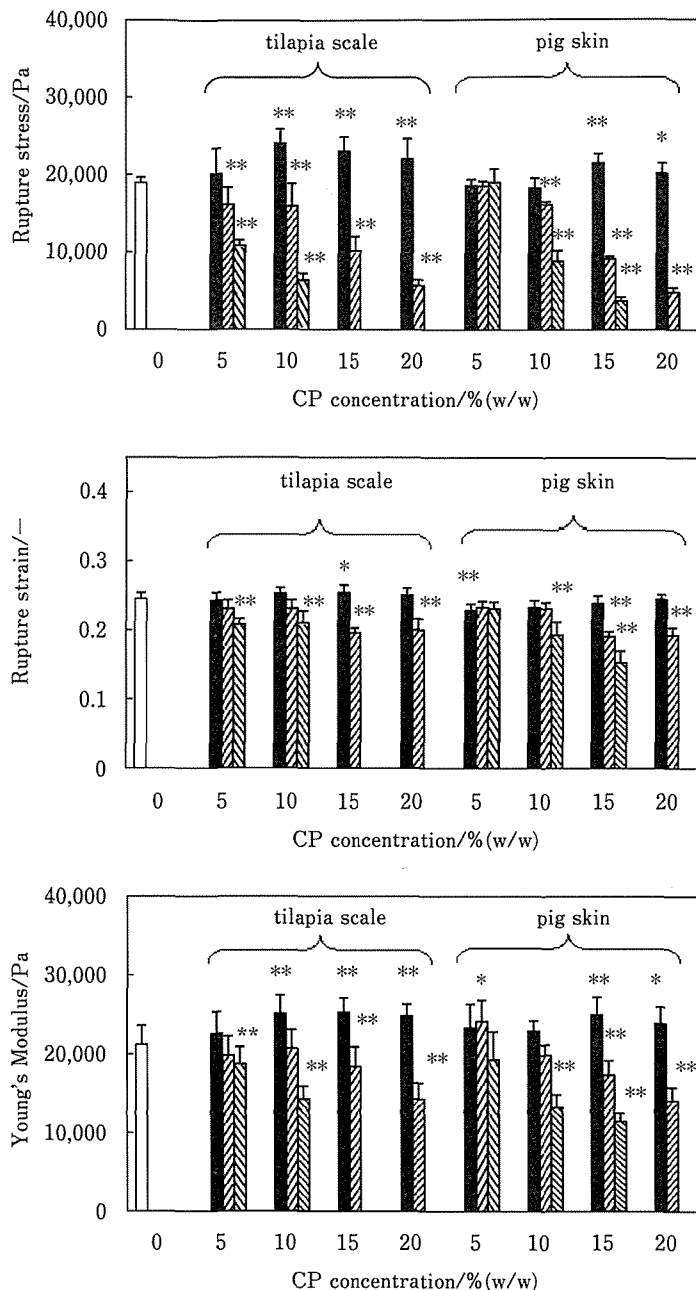


Fig. 4 Rupture properties of AG-CP gels (tilapia scale and pig skin[®]).

AG concentration : 1% (w/w), Measurement temperature : 10°C. Crosshead speed : 1.0mm/s.
 □, AG alone ; ■, AG-CP1000 ; ▨, AG-CP5000 ; ▩, AG-CP10000 (Unmeasurement : AG-15% (w/w) CP10000, AG-20% (w/w) CP10000).
 Significant difference from AG (**P < 0.01, *P < 0.05).

次に吸熱ピーク、35°C付近に発熱ピークが観察された。次に、AG-10% (w/w) CP5000ゲルとAG-20% (w/w) CP5000ゲル (Fig. 7 ⑤⑥) では、昇温 DSC 曲線では 85°C 付近に吸熱ピーク、降温 DSC 曲線では 35°C 付近に発熱ピークが観察された。AG-30% (w/w) CP5000ゲル (Fig. 7 ⑦) では、昇温 DSC 曲線では 25°C 付近と 85°C 付近に 2 つの吸熱ピーク、降温 DSC 曲線では 35°C 付近と 10°C 付近に小さな発熱ピークが観察された。AG-10% (w/w) CP10000ゲル、AG-20% (w/w) CP10000ゲルとAG-30% (w/w) CP10000ゲ

ル (Fig. 7 ⑧⑨⑩) では、昇温 DSC 曲線では 25°C 付近と 85°C 付近に吸熱ピーク、降温 DSC 曲線では 10°C 付近と 35°C 付近に発熱ピークが観察された。昇温 DSC 曲線における 85°C ~ 90°C 付近の吸熱ピークは AG の融解に伴うエンタルピーであるが、AG 単独ゲルでは AG 1mg あたり 0.91 mJ (Fig. 7 ①) であったのが、CP1000 添加により 0.69 ~ 0.32 mJ (Fig. 7 ②③④), CP5000 添加により 0.50 ~ 0.21 mJ (Fig. 7 ⑤⑥⑦), CP10000 添加により 0.47 ~ 0.17 mJ (Fig. 7 ⑧⑨⑩) を示した。降温 DSC 曲線における 35°C 付近の吸

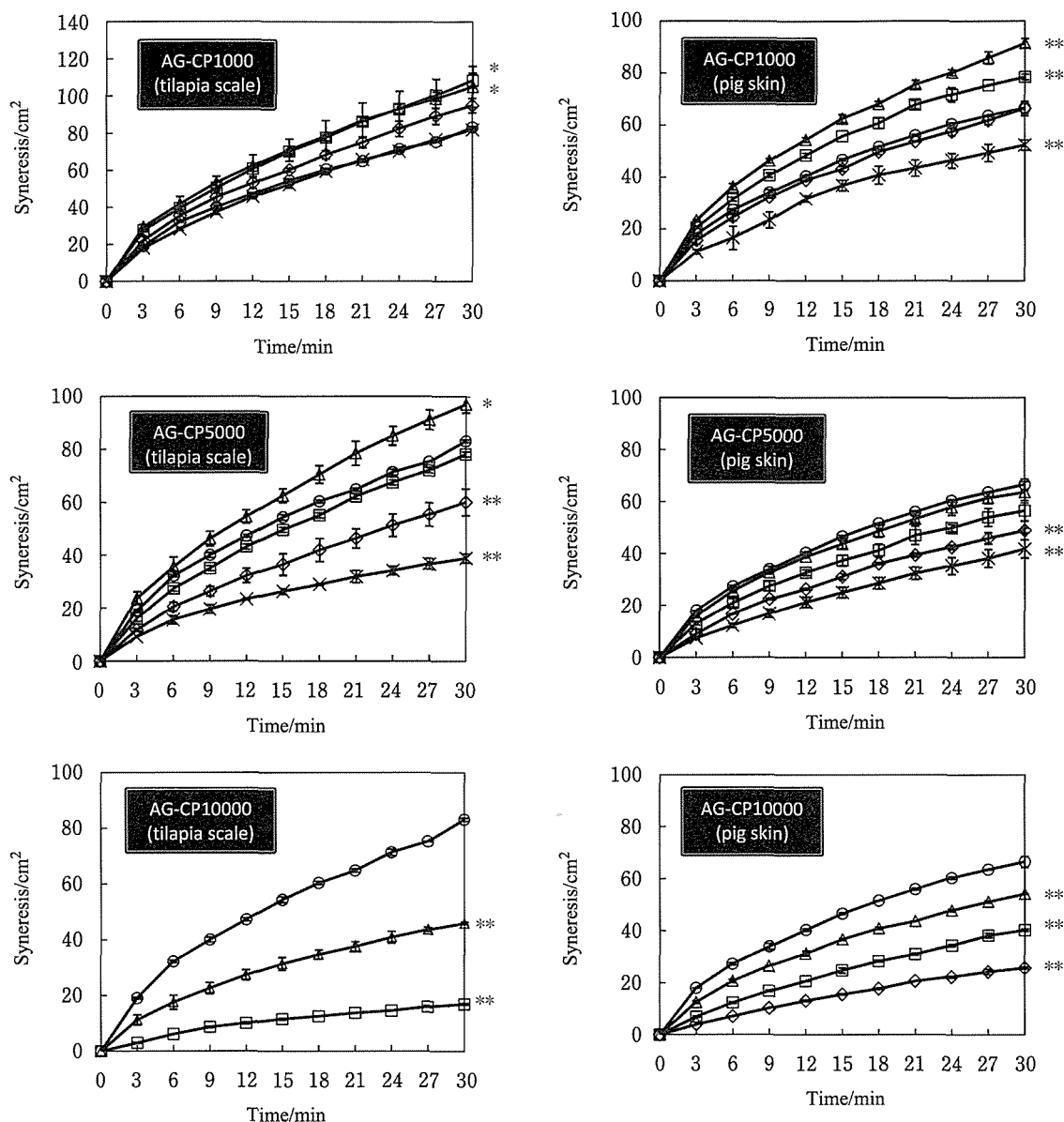


Fig. 5 Syneresis of AG-CP gels (tilapia scales and pig skin⁹⁾)

AG concentration : 1% (w/w), Measurement temperature : 10°C (tilapia scales),

Sample temperature : 10°C, Humidity : 60%.

○, AG alone ; △, AG-5% (w/w) CP ; □, AG-10% (w/w) CP ;

◇, AG-15% (w/w) CP ; ×, AG-20% (w/w) CP (Unmeasurement : AG-15% (w/w) CP10000, AG-20% (w/w) CP10000).

Significant difference from AG (** $P < 0.01$, * $P < 0.05$).

熱ピークはAGのゲル化に伴うエンタルピーであるが、AG単独ゲルではAG 1mgあたり -0.94 mJであったのが、CP1000添加により $-0.55 \sim -0.56$ mJ, CP5000添加により $-0.54 \sim -0.31$ mJ, CP10000添加により $-0.49 \sim -0.25$ mJを示した。既報⁹⁾と同様、CPの平均分子量および濃度の増加に伴って、AG 1mgあたりのエンタルピーが減少する傾向があることが確認された。

考 察

1. コラーゲンペプチドゾルの特性

Leuenberger⁵⁾²²⁾は、哺乳類由来ゼラチンと魚由来ゼラチンを比べると、魚由来ゼラチンはゲル化温度、融解温度が低い、比較的粘度が高いと述べている。本研究においても、10°Cにおける動的粘弾性の周波数依存性測定より、CP10000と豚皮由来CP ($M_w = 1.0 \times 10^4$)の結果⁹⁾を比較すると、同濃度においてテラピア鱗由来CPの方が G' 、 G'' ともに高い値を示し、剛性率が高いことが示唆される。テラ

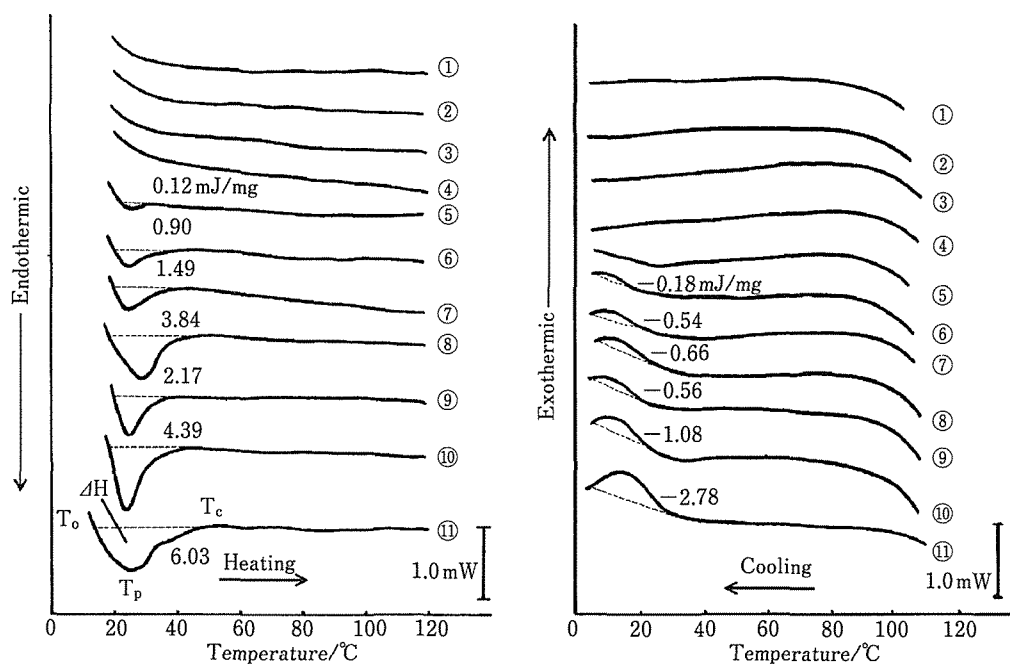


Fig. 6 DSC curves of CP solutions

Heating and cooling rate : 2°C /min

Values in figure are enthalpies of CP solutions.

① 30% (w/w) CP1000, ② 40% (w/w) CP1000, ③ 50% (w/w) CP1000, ④ 60% (w/w) CP1000,

⑤ 30% (w/w) CP5000, ⑥ 40% (w/w) CP5000, ⑦ 50% (w/w) CP5000, ⑧ 60% (w/w) CP5000,

⑨ 30% (w/w) CP10000, ⑩ 40% (w/w) CP10000, ⑪ 40% (w/w) CP solution from porcine skin with $M_w = 1.0 \times 10^4$ ⁹⁾

Table 3 Enthalpy of CP solutions

| samples | heating enthalpy mJ/mg CP | cooling enthalpy mJ/mg CP |
|-------------------|------------------------------|------------------------------|
| ① 30%(w/w)CP1000 | — | — |
| ② 40%(w/w)CP1000 | — | — |
| ③ 50%(w/w)CP1000 | — | — |
| ④ 60%(w/w)CP1000 | — | — |
| ⑤ 30%(w/w)CP5000 | 0.12 | — |
| ⑥ 40%(w/w)CP5000 | 0.90 | -0.18 |
| ⑦ 50%(w/w)CP5000 | 1.49 | -0.54 |
| ⑧ 60%(w/w)CP5000 | 3.84 | -0.66 |
| ⑨ 30%(w/w)CP10000 | 2.17 | -0.56 |
| ⑩ 40%(w/w)CP10000 | 4.39 | -1.08 |
| ⑪ 40%(w/w)CP10000 | 6.03 | -2.78 |

ピア鱗由来 50% (w/w) CP5000 ゾルと 25% (w/w) CP10000 ゾルでは、低周波数側で G' の傾きは 2, G'' の傾きは 1 に近づき、希薄溶液の挙動²¹⁾ が見られる。60% (w/w) CP5000 ゾルと 45% (w/w) CP10000 ゾルは、 G' , G'' ともに傾きは 1 に近づき、高周波側に向かうにつれて、傾きが急になっていることから、低周波側では $G' < G''$ 、高周波側では $G' > G''$ となる濃厚溶液に近い挙動である²¹⁾ と推察される。これらの結果から、 $M_w = 1.0 \times 10^4$ の比較的高い平

均分子量の CP10000 でも、可溶範囲内ではゲル化しないことが示唆される。コラーゲンペプチドより高分子であるゼラチンは熱可逆性の物理ゲルであり²³⁾、低温下でランダムコイルがヘリックス転移を起こし、3次元ネットワークを形成して流動性を失いゲルとなる⁵⁾²⁴⁾²⁵⁾。一方、コラーゲンペプチドでは動的粘弾性測定において、CP ゾルが希薄溶液または濃厚溶液の挙動を示したことから、コイル-ヘリックス転移温度以上の高温下ではランダムコイル構造をもち、それ以下の低温下でも 3次元ネットワークを形成せずゲル化しないが、部分的にヘリックス構造を形成していることが推察される。このことは DSC 測定結果から推察される。DSC 測定において 30~60% (w/w) CP1000 ゾルは吸熱・発熱ピークが観察されないが、40~60% (w/w) CP5000 ゾルと 30, 40% (w/w) CP10000 ゾルで吸熱・発熱ピークが観察されている。これらの結果から、CP がコイル-ヘリックス転移を起こすかどうかは、CP の平均分子量および分布状態に依存しており、CP5000 や CP10000 の高分子量画分が深く関与したと推察される。また DSC により観察される吸熱ピーク温度について、Yoshimura ら¹⁾²⁶⁾ はヨシキリザメ由来とブタ由来のゼラチンゲルを用いた測定において、ヨシキリザメ由来ゼラチン (ブタ: 28.5°C, ヨシキリザメ: 21.8°C) の方が低温側に吸熱ピークが見

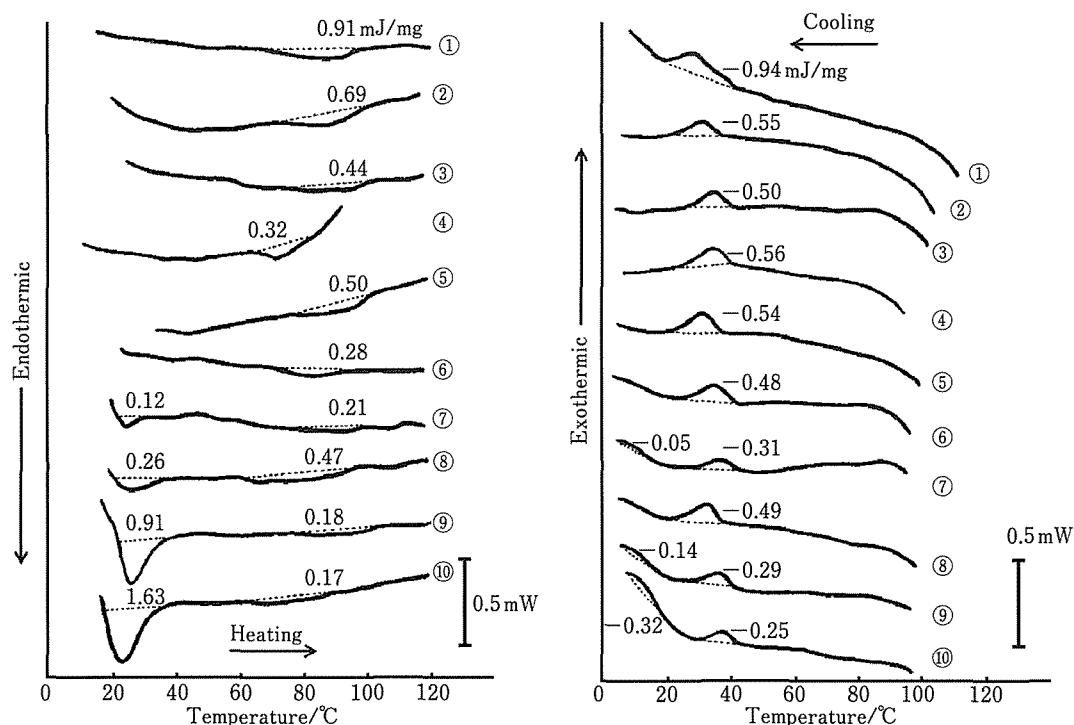


Fig. 7 DSC curves of AG-CP gels

AG concentration : 3% (w/w)

Heating and cooling rate : 2°C /min

Values in figure are enthalpies of CP and AG.

① AG alone, ② AG-10% (w/w) CP1000,

③ AG-20% (w/w) CP1000, ④ AG-30% (w/w) CP1000,

⑤ AG-10% (w/w) CP5000, ⑥ AG-20% (w/w) CP5000,

⑦ AG-30% (w/w) CP5000, ⑧ AG-10% (w/w) CP10000,

⑨ AG-20% (w/w) CP10000, ⑩ AG-30% (w/w) CP10000.

られ、低い温度で融解し構造安定性が低いこと、この結果の要因として棲息領域、アミノ酸組成の相違、サメゼラチンの分子間相互作用がブタゼラチンよりも低いことを推察している。セラピアでは棲息温度は20~32°Cが最適であり、低水温に弱く、14°C以下で死ぬという報告がある²⁷⁾が、ヨシキリザメは14~21°Cに最も多く棲息していると報告がある²⁸⁾。本研究では、これらの生息温度の違いやコラーゲンペプチドの平均分子量が極めて低いこと、豚皮由来CP⁹⁾のイミノ酸含有量が一般的な豚由来のものよりも低かったことなどの理由により、セラピア鱗由来CPと豚皮由来CP⁹⁾の吸熱ピーク温度ともにほぼ同じ25°C付近であり、由来原料によらなかったことと推察する。また、平均分子量と融点の関係について、Heidemannら⁸⁾²⁹⁾は、 $\alpha 1$ 鎖のフラグメントペプチドについて調べており、平均分子量の増大によって融点は上昇し、平均分子量20000程度までの上昇が著しいと述べている。Takahashiら⁸⁾³⁰⁾は、コラーゲンサブユニット鎖である $\alpha 1$ 、 $\alpha 2$ のゲルのDSC測定において、 $\alpha 2$ ゲルは $\alpha 1$ ゲルよりも9°C低い温度で融解し始め、熱安定性は著しく低く、その不安定さは $\alpha 2$ 自身の特異的なアミノ酸配列に起因していると述べている。し

かし、本研究のCPの製造過程では α 鎖の分画を行っていないこと、酵素分解処理時間によりCPの平均分子量を小さくしたこと、Table 1に示したアミノ酸組成の違いなどがあることなどが、ピーク温度の差が見られなかった原因であると推察する。また、Joly-Duhamelら³¹⁾は、ウシ、マグロ、シタピラメ、タラのゼラチンを用いた実験において、ウシに比べてその他の魚類のイミノ酸含有量は少なく、魚類の中でもイミノ酸含有量が少ない方が、ヘリックスの量も少ないと報告している。本研究においてもセラピア鱗由来CPの方がイミノ酸含有量は少なかったため、熱安定性に寄与するヘリックスの量が少ないので、CP 1mgあたりのエンタルピーの値が小さくなったと推察する。また、一般的に、DSCでのブロードなピークは、構造の不均一性が高いときに観察される²⁶⁾ので、本研究に用いたCP10000は、豚皮由来CP⁹⁾と比べると、ピーク温度幅が小さい、鋭角なピークが観察されたことより構造の均一性が高いことが考えられる。GPC曲線においてもCP10000と豚皮由来CP ($M_w = 1.0 \times 10^5$)の比較をすると、CP10000の方が 1.0×10^3 から 2.0×10^3 の間の分子画分が少ないことも均一な構造の形成に関与していると推察される。動的粘弾性の周波数

依存性測定において、豚皮由来 CP よりもテラピア鱗由来 CP10000 ゴルの方が、損失剛性率が高くなったという結果も同様に構造の均一さが起因していることが推察される。

2. 寒天ゲルの物性に及ぼすコラーゲンペプチドの平均分子量の影響

破断測定において、AG-CP1000 ゲルの場合、10% (w/w) 以上の CP 添加で破断応力・初期弾性率が増加したことより、強いゲルになることが示唆される。コラーゲンは疎水性アミノ酸の比率が他のたんぱく質と比較して非常に低い³⁹⁾ことや、コラーゲン分子の外側には、カルボキシル基、水酸基、アミノ基、その他の極性基が存在し、表面は全体として親水性となり、分子周辺に水分子を引きつけ水和する傾向が強いことが知られている⁴⁰⁾。そのため、CP1000 分子が AG の自由水を奪い、AG の実質的濃度が増加し、架橋構造を補強するような細かい網目構造が形成され⁹⁾、ゲル強度が増加したと推察される。一方、AG-CP5000 ゲルと AG-CP10000 ゲルの場合、破断応力と初期弾性率は CP の添加量の増加に伴って減少したことより、CP5000、CP10000 分子が AG の架橋構造の形成を著しく阻害したと推察され、破断応力・初期弾性率が減少し弱いゲルになったことが示唆される。寒天とゼラチンの混合ゲルの力学的・熱的特性に関しては多くの研究があるが、渡瀬ら⁴⁰⁾の、ゼラチンと寒天の混合系の実験において、ゼラチンをアガロースと混合した場合、混合ゲルの弾性率の実験値が、分散系についての理論式から計算した値より小さいことから、両分子はゲル化に際して互いに阻害作用をすると報告している。また、Shiinoki ら⁴¹⁾も、寒天とゼラチンを混ぜ合わせたとき、寒天単独ゲルよりも弾性率の値が著しく低下したことを報告している。また、渡瀬ら⁴²⁾はアシル化ゼラチンとアガロースの混合ゲルを用いた実験において、アガロースはゼラチンよりゲル化開始温度が高いため、ゼラチン水溶液中でゲル化していくとき、混合ゲルの弾性率がゼラチンの分子鎖に影響されると述べている。本研究において、CP5000、CP10000 を添加することにより、AG ゲルの破断応力と初期弾性率が減少したのは、AG 分子が 2 重らせんを形成し、会合していく過程で、CP 分子の存在や溶液の粘度が高くなったことにより、AG 分子のマクロブラウン運動が抑制され、強固なネットワークを形成できなくなったことに起因すると推察される。CP は、低温下でもヘリックス構造を形成しにくいいため、CP は AG の架橋構造の形成にはあまり関与せず、遊離状態で存在すると推察される。これらより、寒天ゲルの架橋構造の形成を阻害するかどうかは CP の平均分子量が関与しており、平均分子量が高いほど阻害作用が大きくなり、濃度の増加に伴いさらに大きくなることが示唆される。本研究のテラピア鱗由来 CP と豚皮由来 CP の結果⁹⁾を比較すると、テラピア鱗由来 CP の添加による影響の方が AG ゲルの破断特性に及ぼす影響が大きいことが示唆される。特に、CP10000 を

添加した場合、5% (w/w) の低い濃度でも破断応力に著しい減少が見られており、これは M_w の値が近く、同濃度の豚皮由来 CP ゴル ($M_w = 1.0 \times 10^4$) と CP10000 ゴルの動的粘弾性の周波数依存性測定の結果を比較したとき、CP10000 ゴルの方が低周波数領域内での損失剛性率が高くなったことに起因し、そのため、AG 分子のマクロブラウン運動がより強く抑制されたと推察される。

また、濾紙法による離水量の測定では、AG-CP ゲルは時間の経過に伴い、濾紙の水の広がり面積が増加する²⁰⁾。AG-CP1000 ゲルでは、離水抑制効果は認められなかったが、AG-CP5000 ゲルは CP の 10% (w/w) 以上の添加で明らかな水の広がり面積が減少し離水の抑制効果が推察される。寒天ゲルは、三次元構造の中で、網目構造の架橋点と架橋点の間に水が満たしている状態であるが、網目構造が徐々に収縮することにより、表面からミセル間隙の水が出てくる³⁵⁾⁴³⁾。コラーゲン分子は全体として親水基となり分子周辺に水分子を引きつけ水和する傾向が強いと言われており⁴⁰⁾、豚皮由来 CP の結果⁹⁾と同様に、本研究でも、ある程度高い分子量になると離水抑制効果を発揮することが推察される。CP1000 と M_w の値が近い豚皮由来 CP ($M_w = 1.0 \times 10^3$) では、20% (w/w) の添加で離水抑制効果が見られた⁹⁾が、CP1000 は 20% (w/w) でも離水抑制効果が見られなかったことは、CP1000 の方がわずかに M_w の値が低く、低分子量側の分布に比べて高分子量側の分布が少なかったことに起因していると推察される。また、CP5000 と M_w の値が近い豚皮由来 CP ($M_w = 5.4 \times 10^3$) では 5% (w/w) でもわずかに離水抑制効果が見られ⁹⁾、CP5000 では 5% (w/w) では離水抑制効果が見られなかったことも、分子の分布状態に起因していると推察される。既報⁹⁾において、離水が増加した豚皮由来 CP ($M_w = 1.0 \times 10^3$) を 5% (w/w) 添加した AG ゲルと、離水が抑制された豚皮由来 CP ($M_w = 1.0 \times 10^3$) を 20% (w/w) 添加した AG ゲルの離水中に含まれるアミノ酸について液体クロマトグラフ質量分析を用いて濃度を測定した結果、20% (w/w) CP 添加ゲルの方がプロリン、アラニンのみ約 1.3 倍の増加が認められたが、その他のアミノ酸量には違いがみられなかったことより、20% (w/w) CP 添加ゲルでは、分子鎖や断片、遊離アミノ酸の流出が著しく抑制され、ゲル内で保水効果を発揮した結果、離水が抑制されたと推察している。本研究においても、CP が低分子量側に多く分布している場合、遊離状態で存在し、AG ゲルの網目の収縮により CP 分子が水を蓄えたまま自由水とともに流出してしまい、結果として離水量が AG ゲルよりも多くなるが、CP 濃度の増加に伴い、濃厚溶液の状態になり CP の分子鎖は互いの領域に貫通し合い絡み合っ、運動が妨げられる⁴⁴⁾ ことにより CP 分子の流出が抑えられ、離水量が減少したこともひとつの要因として推察される。すなわち、離水量の抑制効果には平均分子量が高い分子鎖の分布状態が関与している

と推察される。AG-CP5000, AG-CP10000 ゲルでは、CPの添加によりAGの架橋構造の形成が著しく阻害され、架橋密度が下がるが、CP5000, CP10000に含まれる分子鎖がヘリックス構造を形成することにより、運動が妨げられるため、離水量が抑制されたと推察される。寒天・ゼラチン混合ゲルについての Fujii ら⁴⁵⁾の報告では、ゼラチンの連続相と寒天の分散相で構成されており、その力学特性は内部の二相分散構造に依存しており、ゼラチンの連続相が小さく、寒天の分散相が大きいゲルは破断応力が大きく、反対にゼラチンの連続相が大きく、寒天の分散相が小さいゲルは破断応力が小さいことを示している。

本研究のDSCの測定結果から、CP5000とCP10000を添加したAGゲルではCPとAGの別々のピークが見られたことより、CP5000とAGはミクロ相分離を起こしており、ゲル強度が減少した理由もミクロ相分離によって、ゲル内構造が不均一になったことによると推察される。AG 1mgあたりの融解やゲル化に伴うエンタルピーは、CP1000よりも平均分子量が大きいCP5000, CP10000を添加した方が、また濃度の増加に伴い減少している。Singh ら⁴⁶⁾は、ゲルは間隙の量や自由水の存在の決定により、熱的および経時的な安定性をより深く理解することが出来ると述べている。より高い分子量の成分の方がAGの架橋構造の形成を強く阻害し、架橋密度が減少し、その結果、熱安定性が低下したと推察される。

要 約

本研究では、平均分子量および分布状態の異なる3種類のテラピア鱗由来コラーゲンペプチドを用いてそのゾルの特性とコラーゲンペプチドを寒天に添加したときの寒天ゲルの力学および熱的特性に及ぼす影響について検討を行った。またテラピア鱗由来コラーゲンペプチドと豚皮由来コラーゲンペプチド添加の影響⁹⁾との比較・検討を行った。

CPは多分散性を示した。CP1000は 7.6×10^2 付近と 2.3×10^3 付近に2つの大きなピーク、CP5000は 5.0×10^3 付近に最も大きなピーク、 2.0×10^3 と 1.0×10^3 付近に小さなピークが観察された。CP10000は、 1.3×10^4 付近に大きなピークが観察され、それ以下の低分子量画分は少なかった。

$M_w = 7.4 \times 10^2$ のCPを寒天に添加した場合、10% (w/w)以上濃度で破断応力・初期弾性率が増加し、離水が促進された。 $M_w = 4.5 \times 10^3$ と $M_w = 1.0 \times 10^4$ のCP添加では、平均分子量と濃度の増加に伴い破断応力・初期弾性率は減少し、離水が抑制され、寒天 1mgあたりの融解やゲル化に伴うエンタルピーが減少し、CPが寒天の架橋構造の形成を著しく阻害したと推察される。これらの結果から、CPが寒天ゲルの特性に影響を及ぼすかどうかは平均分子量および分布状態に影響し、 $M_w = 4.5 \times 10^3$ や $M_w = 1.0 \times 10^4$ のCPの中でも高分子量側に分布している分子画分が影響を及ぼし

たと推察された。

テラピア鱗由来CPと豚皮由来CPとの結果を比較すると、CPゾルの損失剛性率と構造変化に伴うエンタルピーの大きさやAGゲルの破断応力に及ぼす影響は、平均分子量および分布状態とアミノ酸組成に影響を受けたことが推察された。

文 献

- 1) 吉村圭司, 高橋幸資, タンパク質ハイドロコロイド, 「食品ハイドロコロイドの開発と応用」, 第1版, 西成勝好監修, (シーエムシー出版, 東京), pp. 317-328 (2007).
- 2) 野村義宏, マリンコラーゲン, 「コラーゲンの製造と応用展開」, 第1刷, 谷原正夫監修, (シーエムシー出版, 東京), pp. 91-103 (2009).
- 3) 大原浩樹, 伊藤恭子, 飯田博之, 松本 均, コラーゲンペプチド経口摂取による皮膚角層水分量の改善効果, 日本食品科学工学会誌, **56**, 137-145 (2009).
- 4) 岩井浩二, 雑賀江草, 早川 徹, 清水宗茂, 高畑能久, 森松文毅, 高血圧自然発症ラットにおける鶏コラーゲン由来オクタペプチドの血圧降下作用, 日本食品科学工学会誌, **55**, 602-605 (2008).
- 5) Karim, A. A. and Rajeev B., Fish gelatin: properties, challenge and prospects as an alternative to mammalian gelatins. *Food Hydrocolloids*, **23**, 563-576 (2009).
- 6) Cho, S.M., Kwak, K.S., Park, D.C., Gu, Y. S., Ji, C.I. and Jang, D.H., Processing optimization and functional Properties of gelatin from shark (*Isurus oxyrinchus*) cartilage. *Food Hydrocolloids*, **18**, 573-579 (2004).
- 7) 高橋真哉, ゼラチン, 「21世紀の天然・生体高分子材料」, 宮本武明, 赤池敏宏, 西成勝好編, (シーエムシー出版, 東京), pp.179-191 (1998).
- 8) 高橋幸資, ゼラチンのゲル物性と機能, 皮革科学, **40**, 121-132 (1994).
- 9) 小野寺允, 深江亮平, 加藤陽二, 西成勝好, 吉村美紀, 寒天ゲルの物性に及ぼす豚皮由来コラーゲンペプチドの分子量の影響, 日本食品科学工学会誌, **58**, 150-158 (2011).
- 10) 野村義宏, コラーゲンの利用科学, 皮革科学, **43**, 1-12 (1997).
- 11) 奥山健二, コラーゲンの分子構造・高次構造, 「コラーゲンの製造と応用展開」, 第1刷, 谷原正夫監修, (シーエムシー出版, 東京), pp.5-29 (2009).
- 12) Muyonga, J.H., Cole, C.G.B. and Duodu, K.G., Extraction and physico-chemical characterization of Nile perch (*Lates niloticus*) skin and bone gelatin. *Food Hydrocolloids*, **18**, 581-592 (2004).
- 13) Haug, I.J., Draget, K.I. and Smidsrod, O., Physical and rheological properties of fish gelatin compared to mammalian gelatin. *Food hydrocolloids*, **18**, 203-213 (2004).
- 14) Badii, F., Howell, N.K., Fish gelatin: Structure, gelling properties and interaction with egg albumin proteins. *Food Hydrocolloids*, **20**, 630-640 (2006).
- 15) Avena-Bustills, R. J., Olsen, C.W., Chiou, B., Yee, E., Bechtel, P. J. and McHugh, T. H., Water vapor permeability of mammalian and fish gelatin films. *Journal of Food Science*, **71**, E202-E207 (2006).
- 16) 高分子学会編, 「高分子化学実験法」, (東京化学同人, 東京), pp. 203-210 (1981).
- 17) 中浜信子, 大越ひろ, 森高初恵, 「おいしさのレオロジー」, (弘学出版, 東京), pp. 30-74 (1997).
- 18) 吉村美紀, 深江亮平, 丸山尚子, 西成勝好, 豚皮由来コラーゲンペプチド添加寒天ゲルの力学的・熱的特性,

- 日本調理科学会誌, **42**, 174-182 (2009).
- 19) Byun, M.W. and Mori, T., Properties of soya milk and tofu. *J. Sci. Food Agric.*, **69**, 477-483 (1996).
- 20) 吉村美紀, 桑野稔子, 西成勝好, 寒天ゲルの物性に対するコラーゲンペプチド添加の影響, 日本調理科学会誌, **40**, 156-165 (2007).
- 21) 西成勝好, 食品加工における高分子のゾル-ゲル転移, FFIジャーナル, **191**, 15-21 (2001).
- 22) Leuenberger, B.H., Investigation of viscosity and gelatin properties of different mammalian and fish gelatins. *Food Hydrocolloids*, **5**, 353-361 (1991).
- 23) 西成勝好, ハイドロコロイドのレオロジーとDSC, FFIジャーナル, **212**, 4-15 (2007).
- 24) Kuijpers, A.J., Engbers, G.H.M., Feijen, J., De Smedt, S.C., Meyvis, T.K.L., Demeester, J., Krijgsveld, J., Zaat, S.A. and Dankert, J., Characterization of the network structure of carbodiimide cross-linked gelatin gels. *Macromolecules*, **32**, 3325-3333 (1999).
- 25) Mackie, A.R., Gunning, A.P., Ridout, M.J. and Morris, V.J., Gelation of gelatin, observation in the bulk and at the air-water interface. *Biopolymers*, **46**, 245-252 (1998).
- 26) Yoshimura, K., Terashima, M., Hozan, D., Ebato, T., Nomura, Y., Ishii, Y. and Shirai, K., Physical Properties of Shark Gelatin Compared with Pig Gelatin. *J. Agric. Food Chem.*, **48**, 2023-2027 (2000).
- 27) 江口 弘, 北海道の淡水魚(2), 魚と卵, **116**, 27-32 (1966).
- 28) 中野秀樹, 榎原 誠, 島崎健二, 北太平洋中緯度海域におけるヨシキリザメの分布と生物学的特性, 北大水産彙報, **36**, 99-113 (1985).
- 29) Heidemann, E., Peng, B., Neiss, H. and Moldehn, R., *Das Leder*, **40**, 87 (1989).
- 30) Takahashi, K., Shirai, K. and Wada, K., *J. Food Sci.*, **53**, 1920 (1988).
- 31) Duhamel, C. J., Hellio, D., Djabourov, M., All Gelatin Networks : 1. Biodiversity and Physical Chemistry., *Langmuir*, **18**, 7208-7217 (2002).
- 32) 山澤和子, 炭水化物, 「新食品学総論・各論」, 第4版, 青木正編著, (朝倉書店, 東京), pp. 27-38 (2005).
- 33) 國崎直道, 佐野征男, 海藻由来の食品多糖類, 「食品多糖類乳化・増粘・ゲル化の知識」, (幸書房, 東京), pp.94-140 (2001).
- 34) 西成勝好, 寒天のゲル形成のしくみ, 食品加工技術, 174-179.
- 35) Williams, P. A., Clegg, S. M., Langdon, M. J., Nishinari, K. and Piculell, L., *Macromolecules*, **26**, 5411 (1993).
- 36) Williams, P. A., Annable, P., Phillips, G. O. and Nishinari, K., eds. Nishinari, K. and Doi, E.: *Food Hydrocolloids; Structures, Properties, and Functions* (Plenum Press) p. 435 (1994).
- 37) Williams, P. A., Phillips, G. O., ed. Stephen, A. M.: *Food Polysaccharides and Their Applications* (Marcel Dekker, Inc.) (1995).
- 38) 埋橋祐二, 西成勝好, 寒天の物性と食品への応用, FFIジャーナル, **208**, 791-800 (2003).
- 39) 服部俊治, 化粧品とコラーゲン, 「コラーゲンの製造と応用展開」, 第1刷, 谷原正夫監修, (シーエムシー出版, 東京), pp. 156-181 (2009).
- 40) 渡瀬峰男, 西成勝好, アガロースのゲル化に対するゼラチン共存の影響, 日本食品工学会誌, **30**, 368-374 (1983).
- 41) Shiinoki, Y. and Yano, T., Viscoelastic behavior of an agar-gelatin mixture gel as a function of its composition., *Food Hydrocolloids*, **1**, 153-161 (1986).
- 42) 渡瀬峰男, 西成勝好, アシル化ゼラチン-アガロース混合ゲルのレオロジー的性質に与えるpHの影響, 日本食品工学会誌 **31**, 777-782 (1983).
- 43) 長坂慶子, 種谷真一, 寒天ゲルの離漿の速度解析, 日本食品工学会誌, **11**, 1176-1182 (1996).
- 44) 尾崎邦宏, 高分子レオロジー, 「レオロジーの世界」, (工業調査会, 東京), pp. 81-97 (2008).
- 45) Fujii, K., Kajita, R., Kurosawa, M. and Fujii, T., Mechanical properties of two-phase disperse agar/gelatin mixed gels., *Journal of Texture Studies*, **31**, 273-286 (2000).
- 46) Singh, S. S., Aswel, V. K. and Bohidar, H. B., Structural studies of agar-gelatin complex coacervates by small angle neutron scattering, rheology and differential scanning calorimetry., *International Journal of Biological Macromolecules*, **41**, 301-307 (2007).

(平成23年3月30日受付, 平成23年10月21日受理)