

魚肉水溶性たん白質と大豆たん白質を併用した 可食性フィルムの調製に関する研究

田中 宗彦*

東京水産大学水産学部

Preparation and Characterization of Edible Films from Fish Water Soluble Proteins and Soybean Proteins

Munehiko TANAKA

Faculty of Fisheries, Tokyo University of Fisheries, Tokyo 108-8477

ABSTRACT

As a means of effective utilization of fish water soluble proteins (FWSP) which are mostly discarded into waste water of seafood processing plants, the development and characterization of edible films from FWSP of blue marlin meat were investigated. In order to improve the functional properties of FWSP films, the co-use of soybean proteins (SPI) was also studied. The film-forming solutions were prepared from 3% FWSP or SPI solutions at pH 10 with 1.5% glycerol, followed by heating at 70°C for 15 min. Transparent edible films were successfully prepared by drying the film-forming solutions at 25°C for 20 h. Tensile strength (TS) of FWSP films and elongation at break (EAB) of SPI films were larger. Larger amount of glycerol caused the decrease of TS and the increase of EAB. FWSP films possessed lower water vapor permeability than SPI films. It was also revealed that FWSP and SPI had to be denatured somehow to unfold the protein structure and the interaction of protein molecules particularly through disulfide linkages was attributed to the formation of films. *Soy Protein Research, Japan* 2, 38-43, 1999.

Key words : edible film, water soluble proteins, soybean proteins, plasticizer, water vapor permeability

冷凍すり身製造の水晒し工程をはじめとして各種水産加工現場では、多量の魚肉水溶性たん白質が廃棄され、それらたん白質資源量は年間乾物換算で5,000トン以上と試算されている¹⁾。これら水溶性たん白質は排

水として処理されるため、海水汚染のような重大な環境問題をもたらす原因となる可能性がある。そこで排水処理の負荷を軽減するとともに、貴重なたん白質資源を回収して有効利用する研究や取り組みが進んでいる^{2,3)}。しかし回収したたん白質は現在のところ、ほとんどが飼料や肥料のように付加価値の低い形でしか利

*〒108-8477 東京都港区港南4-5-7

用されていない。

そこで当研究室では、魚肉水溶性たん白質の有効利用及び現代社会で注目されている包装材の廃棄問題を解決する一つの方策として、可食性フィルムの調製を検討している。本研究では、魚肉水溶性たん白質と大豆たん白質から可食性フィルムを調製し、それらの性状を比較した。

方 法

試料

魚肉水溶性たん白質 (FWSP) は常法に従ってクロカジキ (*Makaira mazara*) 肉から調製し、凍結乾燥により粉末とした⁴⁾。大豆たん白質 (SPI) 粉末は不二製油株式会社から提供されたフジプロ-Rを使用した。

可食性フィルムの調製

FWSP あるいは SPI を蒸留水で溶解し pH 10 に調整した後、可塑剤としてグリセリンをたん白質に対して 50% 添加して攪拌した。この溶液を 70℃ で 15 分間加熱し、冷却後脱気してフィルム溶液とした。たん白質濃度はビウレット法で求めた⁵⁾。フィルムは、ポリ塩化ビニリデンで覆ったガラス板上に、厚さ 5 mm のシリコン製枠 (5 cm × 5 cm) を密着させ、この枠内に調製したフィルム溶液を 4 mL 流し込み、送風機付き恒温機中で、25℃ で 20 時間乾燥させて調製した。出来上がったフィルムは、ガラス板から剥した後、送風機付き恒温恒湿機内で、25℃、相対湿度 50% で 48 時間保持してから以後の実験に供した。

引っ張り試験

2 cm × 4.5 cm の大きさに調整したフィルムの厚さを Dial Pipe Gauge (Peacock 社製) で 5 点測定した後、Texture Analyzer (TA. XT2, Texture Technologies 社製) の Tensile Grip で、間隔 30 mm、引っ張り速度 0.5 mm・sec⁻¹ において引っ張り試験を行った⁶⁾。

水分透過性 (WVP) の測定

ASTM 法⁷⁾ により WVP の測定を行った。WVP (g・m⁻¹・s⁻¹・Pa⁻¹) は以下の計算式から算出した。

$$WVP = w \cdot x \cdot A^{-1} \cdot t^{-1} \cdot (p_2 - p_1)^{-1}$$

但し、w, 重量変化量 (g); x, フィルムの厚さ (m); t, 時間 (s); A, バイアル瓶の口の面積 (m²); (p₂-p₁), (デシケータ内- バイアル瓶内) の大気圧 (Pa)。

SDS-PAGE

フィルム溶液及びフィルムの SDS-PAGE は Laemmli⁸⁾ の方法に従い、泳動用試料をゲル濃度 5 ~ 15% のグラジエントゲルに付した。ゲルは 0.05% クマシブルーで染色した。

結果と考察

たん白質濃度の影響

フィルム溶液のたん白質濃度を 2% から 4% まで変化させて調製した可食性フィルムの引っ張り強度 (TS, Pa) 及び引っ張り伸び率 (EAB, %) を Fig. 1 及び Fig. 2 に示す。たん白質濃度 4.5% 以上では、フィルム溶液の粘度が高くなりすぎてフィルムの調製が困難となった。2.5% ~ 3% で SPI フィルムの TS は FWSP より高くなったが、高濃度では FWSP のフィルムの方が強いことが判明した。また、EAB はいずれのたん白質濃度でも SPI フィルムの方が大きく、3% 以上では 2 倍以上に伸びることが分かった。全体的に見ると、FWSP フィルムは強度に、SPI フィルムは伸びに富むことが明かである。球状たん白質である FWSP, SPI の構造が加熱により崩れた結果、疎水性基や SH 基が表面に露出し、さらに SS 結合や疎水結合などが生成してフィルムが形成されると考えられる。

次に FWSP と SPI を 1:0, 2:1, 1:1, 1:2, 0:1 で混合し、最終たん白質濃度が 3% となるフィルム溶液からフィルムを調製した。グリセリンはたん白質に

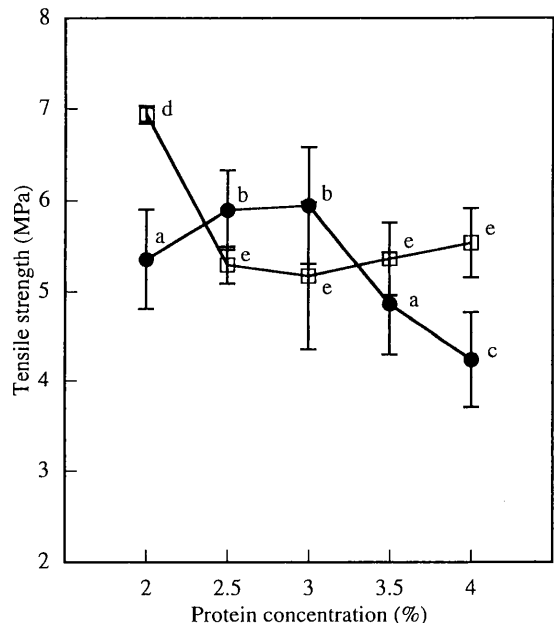


Fig. 1. Effect of protein concentration on tensile strength of SPI and FWSP films. ●, SPI film; □, FWSP film. TS means with different superscript letters are significantly different at $P < 0.05$ using Student t -test.

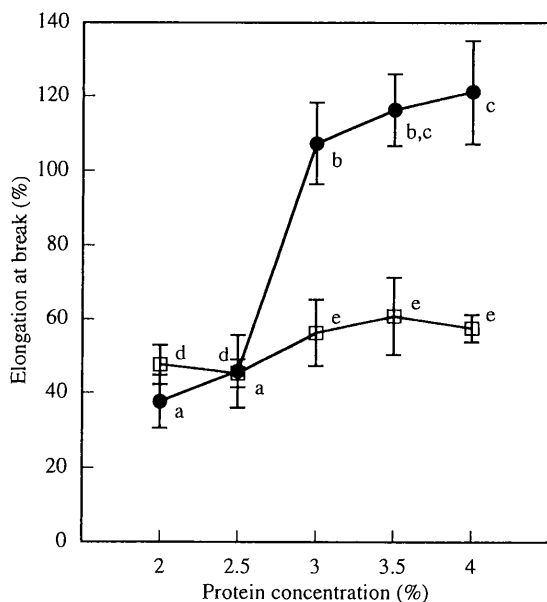


Fig. 2. Effect of protein concentration on elongation at break of SPI and FWSP films. ●, SPI film; □, FWSP film. Means with different superscript letters are significantly different at $P < 0.05$ using Student t -test.

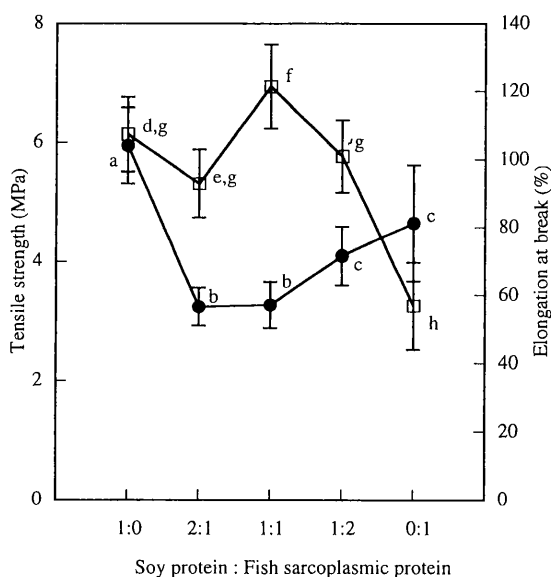


Fig. 3. Effect of the ratio of SPI and FWSP on the mechanical properties of films. ●, tensile strength (MPa); □, elongation at break (%). Means with different superscript letters within each property are significantly different at $P < 0.05$ using Student t -test.

対して 50%添加した。Fig. 3 に両たん白質を併用して調製したフィルムの TS 及び EAB を示す。予想したように、SPI に対して FWSP の割合を多くすると、フィルムの強度がやや大きくなり、伸び率が低下する傾向が観察された。

可塑剤添加量の影響

たん白質を素材とした可食性フィルムの調製に当たって、可塑剤の種類と添加量はフィルムの機械的性質及び水分透過性に大きな影響を及ぼすことが既に知られている。本研究では可塑剤としてグリセリンを使用し、その添加量がフィルムに及ぼす影響を検討した。Fig. 4 及び Fig. 5 にその結果を示す。FWSP, SPI フィルムともグリセロール添加量の増加に伴って、TS が減少し、EAB が増大した。また、たん白質濃度 3% のフィルム溶液から調製したフィルムは、いずれのグリセリン濃度でも SPI フィルムの方が FWSP フィルムより強く伸びる性質を有することが判明した。

水分透過性 (WVP)

グリセリンをフィルム溶液のたん白質に対して 40, 50, 70% 添加して調製した FWSP 及び SPI フィルムの WVP を Table 1 にまとめる。グリセリン添加量を 40% から 50% にすると、SPI フィルムの WVP は顕著に増

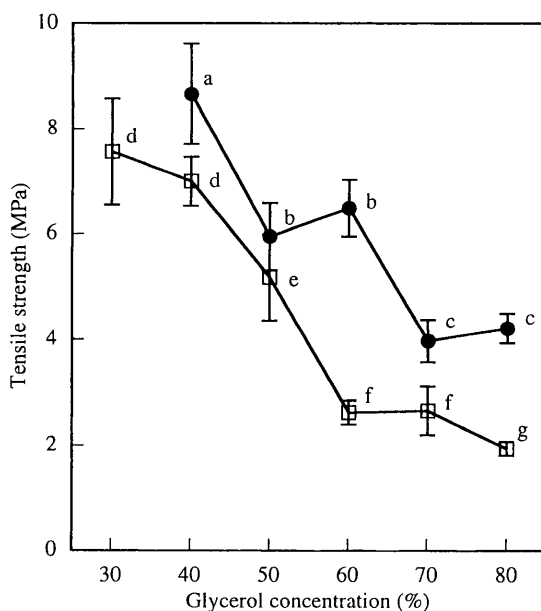


Fig. 4. Effect of glycerol concentration on tensile strength of SPI and FWSP films. ●, SPI film; □, FWSP film. Means with different superscript letters are significantly different at $P < 0.05$ using Student t -test.

大したが、50%と70%では有意な差は認められなかった。同様の傾向がFWSPフィルムでも観察された。また、全体的にFWSPフィルムの方がWVPの値は小さく、グリセリン添加量40%のSPIフィルムのWVPがグリセリン添加量70%のFWSPフィルムよりも大きくなったことから、FWSPフィルムはSPIフィルムよりもかなり水蒸気を通しにくいことが分かった。可食性フィルムにとって、水蒸気をどれだけ遮断できるかは重要な要因である。これまでに報告されているたん白質フィルムのWVPと比較してみると、FWSPフィルムは大豆たん白質フィルム、米ぬかフィルム⁶⁾、カゼ

インフィルム⁹⁾より水蒸気を通しにくく、魚肉筋線維たん白質フィルム¹⁰⁾より通しやすいようである。

先の実験と同様にFWSPとSPIを混合したフィルム溶液から可食性フィルムを調製し、それらのWVPを測定した (Fig. 6)。SPIのみで調製したフィルムのWVPが最大となり、SPI:FWSPが1:0と2:1、また1:2と0:1では有意な差は確認されなかったものの ($P > 0.05$)、全体としてはFWSPの割合が増えるとともにWVPは減少する傾向を示した。

可食性フィルムの形成機構

たん白質を混合したフィルムのTS、EAB及びWVP

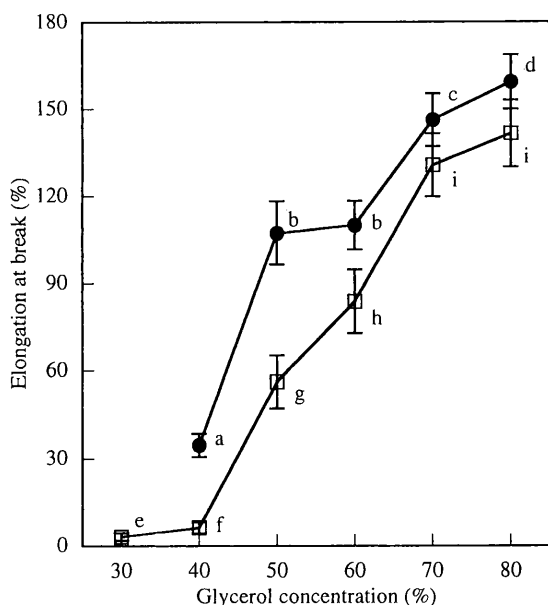


Fig. 5. Effect of glycerol concentration on elongation at break of SPI and FWSP films. ●, SPI film; □, FWSP film. Means with different superscript letters are significantly different at $P < 0.05$ using Student *t*-test.

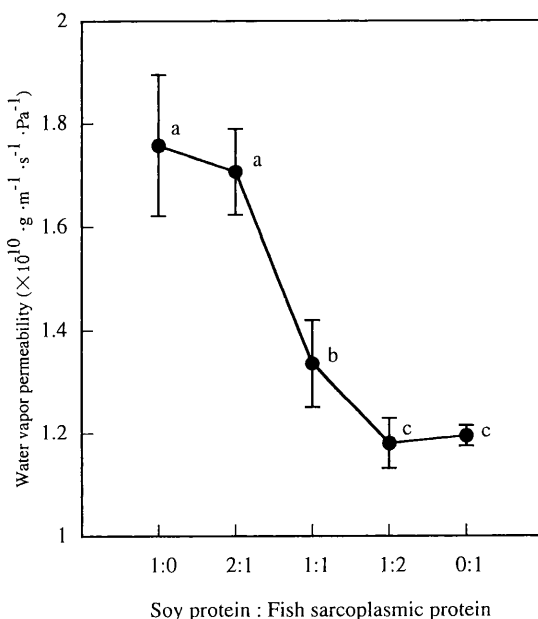


Fig. 6. Effect of the ratio of SPI and FWSP on water vapor permeability of films. Means with different superscript letters are significantly different at $P < 0.05$ using Student *t*-test.

Table 1. Effect of glycerol concentration on water vapor permeability (WVP)¹ of soy protein films or fish water soluble protein films

Glycerol (%) ²	SPI films	FWSP films
40%	1.18×10^{-10} a	0.95×10^{-10} c
50%	1.67×10^{-10} b	1.20×10^{-10} d
70%	1.77×10^{-10} b	1.16×10^{-10} d

¹ $\text{g} \cdot \text{m}^{-1} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{Pa}^{-1}$

Means with different superscript letters are significantly different at $P < 0.05$ using Student *t*-test.

² Glycerol concentration was expressed as the percentage (w/w) of glycerol against proteins.

の変化には、フィルムのたん白質組成の変化が関与している可能性がある。そこで SDS-PAGE により検討した (Fig. 7)。しかしながら、フィルム中の各たん白質の割合の変化に伴う FWSP フィルムまたは SPI フィルム由来の画分量が変化しただけで、両たん白質が結合した新たな画分は確認できなかった。従って、FWSP

と SPI の混合によりたん白質間に架橋結合などが生じることにはなさそうである。ただし、本研究で使用了 SDS-PAGE ではメルカプトエタノールの有無による SS 結合の確認しかできないため、この他に疎水結合をはじめとした結合が両たん白質間に生じて重合体を形成している可能性が推察される。

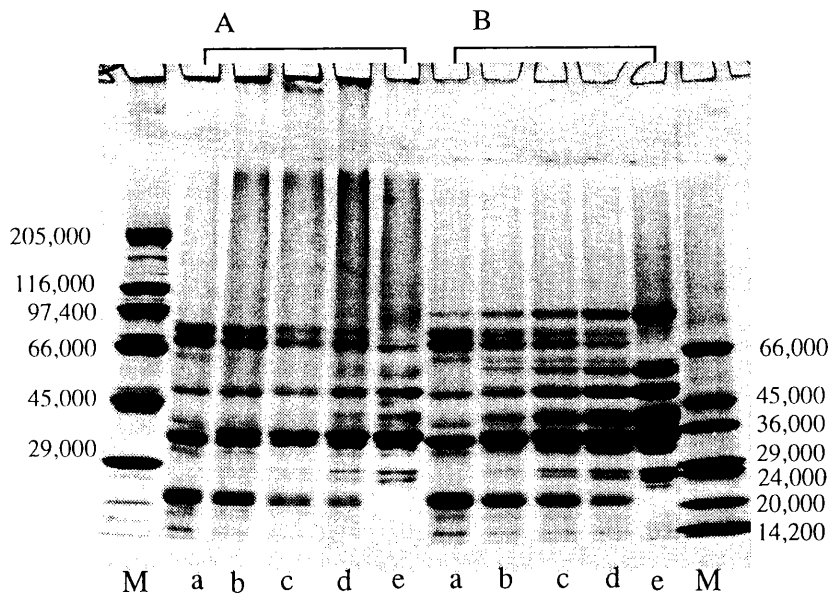


Fig. 7. SDS-PAGE patterns of edible films prepared from the mixture of FWSP and SPI. A, in the absence of mercaptoethanol ; B, in the presence of mercaptoethanol. FWSP : SPI=a(0 : 1), b(1 : 2), c(1 : 1), d(2 : 1), e(1 : 0). M : molecular weight standard.

要 約

クロカジキ肉の水溶性たん白質 (FWSP) と大豆たん白質 (SPI) から可食性フィルムの調製を試みるとともに、それらの性状について検討した。引っ張り強度 (TS) は FWSP フィルムの方が、引っ張り伸び率 (EAB) は SPI フィルムの方が大きいことが判明した。可塑剤として添加したグリセリン量が多いほど、TS が減少し、EAB が増大した。また、FWSP フィルムの方が水分透過性 (WVP) が低く、SPI を混合してフィルムを作成すると、水蒸気が透過しやすくなる傾向が観察された。

文 献

- 1) 岡崎恵美子 (1994) : すり身製造工程で排出される魚肉筋形質タンパク質の回収と利用に関する基礎的研究。中央水研報告, **6**, 82-160.
- 2) 西岡不二男, 清水 寛 (1983) : pH 移動法による魚肉晒し廃液からのタンパク質の回収。日水誌, **49**, 795-800.
- 3) 穂積 隼 (1988) : 水産加工排水の凝集処理に関する研究。水処理技術, **29**, 81-93.

- 4) Wahyuni M, Ishizaki S and Tanaka M (1998) : Improvement of thermal stability of fish water soluble proteins with G6P through the Maillard reaction. *Fisheries Sci*, **64**, 973-978.
- 5) Gornall AG, Bardawill CJ and David MM (1949) : Determination of serum proteins by means of the Biuret reaction. *J Biochem*, **47**, 985-994.
- 6) Gnanasambandam R, Hettiarachchy NS and Coleman M(1997) : Mechanical and barrier properties of rice bran films. *J Food Sci*, **62**, 395-398.
- 7) ASTM (1989) : Annual Book of ASTM Standards. ASTM, Philadelphia, USA.
- 8) Laemmli UK(1970) : Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, **227**, 680-685.
- 9) Frinault A, Gallant DJ, Bouchet B and Dumont JP (1997) : Preparation of casein films by a modified wet spinning process. *J Food Sci*, **62**, 744-747.
- 10) Cuq B, Gontard N, Cuq JL and Guilbert S(1996) : Functional properties of myofibrillar protein-based biopackaging as affected by film thickness. *J Food Sci*, **61**, 580-584.