

非食品素材としての大豆たん白質：SPI フィルムでの可塑剤と力学物性

相合谷修平・山内 清*

大阪市立大学工学部

Industrial Applications of Soy Protein Isolate : Effects of Plasticizers on Mechanical Properties

Shuhei SOGOYA and Kiyoshi YAMAUCHI

Faculty of Engineering, Osaka City University, Osaka 558-8585

ABSTRACT

Various compounds were examined as plasticizers in the preparation of the films made of soy protein isolate (SPI). Glycerol, sulfolane, tetramethylene sulfoxide and 2, 2'-sulfonyldiethanol were effective to afford flexible films with maximum elongation strength of 80-220 kg/cm² and elongation of 4-50% in a relative humidity of about 65%. Upon treating with an aqueous formaldehyde, the films were fortified against biodegradation in soil for 2-3 weeks. *Soy Protein Research, Japan* 2, 44-48, 1999.

Key words : biodegradation, film, plasticizer, mechanical property, soy protein isolate

「地球にやさしい」という言葉がもてはやされる現在であるが、確かにこの言葉は材料研究者の 21 世紀でのキーワードの一つであろう。なかでも大豆たん白質は大量入手が可能で安価に供給されるばかりでなく、分子量も大きく、化学修飾により機械的性質の向上の可能性があるので、非食品分野においてもこれから注目される素材である。

本報告では、大豆たん白質を原料とし、生化学的に準安定で機械的強さも持ったフィルムの作製について述べる。まず、SPI を水溶液にし、CAST 法によりフィルムを作製する過程と、加熱によるフィルムの機械的性質の向上を目指した。SPI 溶液のみで CAST 法によってフィルムを作成した場合の問題点として大きく次の 2 つが挙げられる。フィルムに柔軟性がない、水

に容易に溶解する。

そこでフィルムに柔軟性を与えるため、可塑剤を SPI に配合することにした。可塑剤として数 10 種を検索したがここでは glycerol, sulfolane, tetramethylene sulfoxide, 2, 2'-sulfonyldiethanol を使った例を述べる。また、本研究ではフィルムの強化を計るためホルマリンによる架橋を試みた。ホルマリンとはホルムアルデヒドの水溶液のことをいい、殺菌防腐剤として用いられる。ホルムアルデヒドはゼラチン、にかわ等のようなたん白質と結合してこれを凝固させ、水に不溶な物質とするので、皮革製造や写真乾板を作る際にも用いられている。こうして架橋によってフィルムの機械的強度を高めた後、さらなる強度の増大と共に柔軟性を高めるため、フィルムを 10% methanol/glycerol 溶液に浸漬させる。これにより、フィルムとして必要な 10% 以上の伸度（この値以上からパリパリ感がなくなる）

*〒 558-8585 大阪市住吉区杉本 3-3-138

を得ることを目的とした。

こうして作製した SPI フィルムは天然高分子由来であるので生分解性が興味もたれるところであろう。生分解性は「生きた微生物による分裂または機械的強度の劣化、あるいは、微生物の体内または体外に分泌される酵素による分解」と定義されるが、自然環境下において各種の物質はその組成と構造特有の速度で分解している。そこで SPI フィルムを土壌に埋め、その分解性についても調べることにした。

方 法

材料と SPI 水溶液の調製

SPI (フジプロ-R, 10 g) を水 (114 mL) に均一に分散してから、1.5 M NaOH 水溶液 (4 mL) を加え、pH を 9.0 に調節し、セロファン膜で 1 昼夜、水道水に対して透析した。内容物から少量の不溶部を除くために室温、900 × g で 15 分間遠心し、上澄みの淡黄色溶液を SPI 水溶液として用いた (pH 約 8)。溶液のたん白質濃度は凍結乾燥後の重量測定より 8.8 重量% と推定された。可塑剤として、glycerol (和光純薬) と含イオウ化合物 (1 級品) の sulfolane (和光純薬), tetramethylene sulfoxide (東京化成), および 2, 2'-sulfonyldiethanol (和光純薬) を用いた。

フィルムの作成

SPI 溶液に適当量の可塑剤を加えて攪拌し、SIGMACOTE (Sigma, LOT107H4353) を塗って疎水性表面にしたシャーレ (深型 90 mm × 20 mm) に流し、室温で 3, 4 日静置した。その後、フィルムを 80℃ にて 15 分間加熱した。

架橋処理

上記で作成した SPI フィルムを 5 重量 (wt) % ホルマリン溶液 (Na₂SO₄ 20 wt%, H₂SO₄ 10 wt%) に浸すことによりホルマル化した。SPI 溶液に架橋剤を添加した場合は、SPI 溶液 (20 mL) に 50% glycerol (0.88 mL) と 5% ホルマリン (6.7, 10, 13, 16.5, 20 mL) を加え、よく攪拌した後、上述の方法でフィルムを作成した。

MeOH/glycerol 浸漬処理

上記で作成したフィルムを、80℃ で 15 分間加熱、つづいて methanol-glycerol (9:1 v/v) 溶液に 10, 30, 60, 120 分間浸した。ついで、フィルムから余分のアルコール溶液をろ紙に挟んで除いた後、風乾した。

破断引張強度、破断伸度、ヤング率、膨潤度の測定法

測定するフィルムを長方形 (5 mm × 6 cm) の短冊に切り、両端 (約 0.5 cm 長) をセロファンテープで固定し引張張力計 (今田製作所, 型式 SV-55) の固定手

および引手調具にとめる。引張速度 (20 mm/s), 相対湿度 (65-70%) にて 3 回記録しその平均値を求めた。膨潤度は 1 cm 四方のフィルムを常温の水に浸し、その伸びより求めた。

生分解性

SPI フィルムを約 2 cm 四方 (厚さ約 0.25 mm) に裁断し、それぞれの質量を測り、後に質量を測りやすくするためにナイロン網 (100 メッシュ) で包み、プランターの土壌 (大阪市立大学工学部 F 棟西側で採取) に埋め 3, 7, 11, 15, 22, 35 日後に質量を測定した (試験時期, 98 年 11 月 ~ 99 年 2 月)。水分は適時補給し、常に湿っている状態に保った。

結 果

SPI フィルムの作成

本研究で使用した SPI (酸性沈澱大豆たん白質, 不二製油製) はたん白質分子または会合体の粒子外側に位置するアミノ酸が -OH, -COOH, -NH₂ などの親水性残基で覆われているため水に対する溶解性を潜在している。われわれは SPI を pH 10 程度の水酸化ナトリウム水溶液に溶かし、つづいて透析することにより最終的に 8.8 重量%, pH 8 程度で比較的粘度の高い淡黄色の水溶液として利用することとした。本 SPI 溶液は冷蔵庫にて保管したが、1 か月以上置くと分離するのでフィルム調製までに日をあけないほうが好ましい。

SDS-PAGE 電気泳動によれば溶液中の SPI は複数の成分から成っているが、分子量の大きな 7S および 11S が主成分であり、また、粘度がかなり大きなことから (pH 8 での側鎖の静電反発により分子が広がっていると予想される) フィルムの調製に適しているたん白質と思われる。しかし、このままでは膜にキャストしても、たん白分子同士はイオンおよび疎水相互作用で接近しているだけであるので、水中では 2 ~ 4 倍長にも白濁をともなって膨潤し、沸騰水中では碎片化した。

本研究では可塑剤と架橋剤を使用する SPI フィルムの調製について述べるが、フィルムの物性は形成後の熱処理 (80℃, 15 分) によっても大きく改善される。これは加熱によってたん白質分子間で脱水反応が起こり、アミド共有結合などが形成されるためである。したがって、本稿で述べる SPI フィルムは、断らない限り、加熱処理してある。

可塑剤の効果

可塑剤の比較: 可塑剤の SPI に対する重量比が 25% であるフィルムの物性を Table 1 に例示している。Glycerol を可塑剤とした場合は強度が低く, sulfolane,

Table 1. Plasticizers and physical constants of SPI films

Plasticizer	Swelling degree (%)	Maximum strength (kg/cm ²)	Young's modulus (kg/cm ²)	Maximum elongation (%)
Glycerol	100	80	3,600	50
Sulfolane	50	100	8,700	3
Tetramethylene sulfoxide	100	220	8,000	6
2, 2'-Sulfonyl-diethanol	100	130	8,500	4

Film thickness, 0.25mm ; Relative humidity, 40%.

tetramethylene sulfoxide, 2, 2'-sulfonyldiethanol は強度は高いが伸度が低いことがわかる。

可塑剤の SPI に対する割合を変えた場合：フィルムの引っ張り強度と伸度への影響を示すと Fig. 1 のようになる。Glycerol の場合、比率が、15% にて強度が高いが、伸度が低く柔軟性が低い。適正な比率は 20～25% と考えられる。Sulfolane では、SPI に対して 20～35% でも伸度が低い。40% ほど加えても伸度が 10% であるため、可塑剤としての機能は大きくない。Tetramethylene sulfoxide の場合、比率が 25～30% で高い強度を示したが、伸度が 10% 以下となってしまう。伸度が 10% 以上である 30～35% の組成比率が良いと考えられる。2, 2'-sulfonyldiethanol では、30～

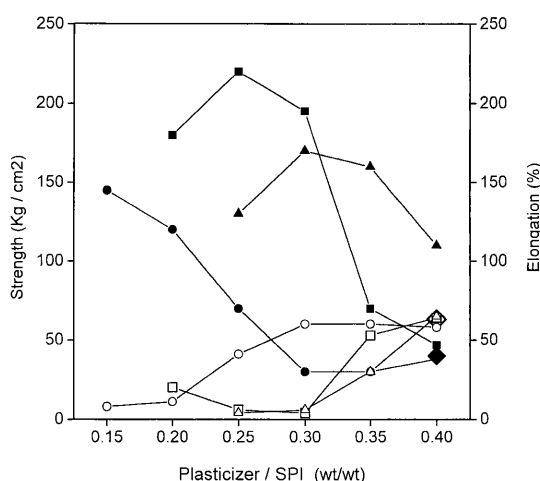


Fig. 1. Effect of plasticizers on maximum strength (solid marks) and elongation (open marks) of SPI films. ● and ○, glycerol (control); ◆ and ◇, sulfolane; ■ and □, tetramethylene sulfoxide; ▲ and △, 2, 2'-sulfonyldiethanol.

35% で高い強度を示し、しかも伸度が 20% 前後とかなり良い結果であることを示した。

上記の可塑剤を 2 種混合した場合（可塑剤の SPI に対する重量比は 25% と統一）：Fig. 2 に示すように、sulfolane + 50% glycerol の場合、可塑剤の重量比が 7～6:3～4 で強度が強く、伸度が大きいという結果を得た。Tetramethylene sulfoxide + glycerol では、重量比が 7～9:3～1, 2, 2'-sulfonyldiethanol + glycerol を使った場合、重量比が 8～9:2～1 で強度と伸度がともに大きいことがわかった。

架橋の効果

ホルムアルデヒドによる架橋反応はポリビニルアルコールのビニロンへの変換などでよく知られている。架橋浴での H₂SO₄ は酸触媒でありホルマル化を促進させ、Na₂SO₄ は SPI の可溶化を防ぐために加えている。架橋は 20 ± 2℃ で行ったが、Table 2 に示すように膨潤度が低下し耐水性が向上することがわかる。引張強度への効果も大きい。架橋時間は 30 分で十分である。

MeOH/glycerol 浸漬の効果

Methanol への浸漬は脱水と脱グリセロールの効果があり、本実験でその効果が見られた。しかし、それだけでは、強度は高くなるが、柔軟性が下がってしまい、フィルムとして有効ではなくなる。そこで、グリセロールを入れることによって失われたグリセロールを

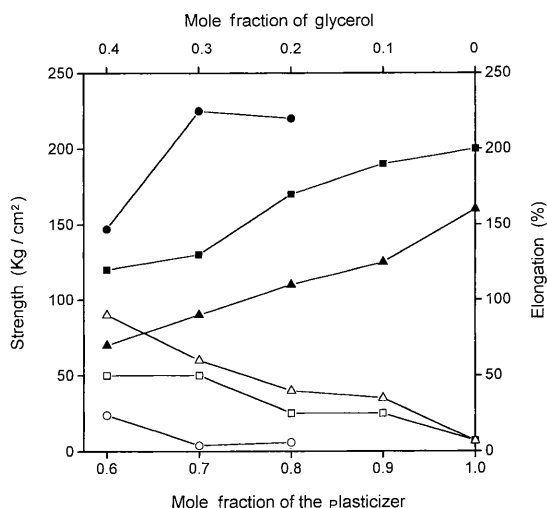


Fig. 2. Effect of a mixed plasticizer on maximum strength (solid marks) and elongation (open marks) of SPI films; a weight ratio of a combined amount of plasticizers to SPI is 0.25. ● and ○, glycerol and sulfolane; ■ and □, glycerol and tetramethylene sulfoxide; ▲ and △, glycerol and 2, 2'-sulfonyldiethanol.

Table 2. Cross-linking of SPI films and physical constants^a

Reaction time (h)	Swelling degree (%)	Maximum strength (kg/cm ²)	Young's modulus (kg/cm ²)	Maximum elongation (%)
0	100	80	3,500	50
0.5	10	260	10,500	3
1.0	10	220	15,000	5
1.5	15	260	17,000	5
2.0	10	310	20,500	5

^aThe films were immersed in an aqueous mixture of 5 wt% formaldehyde, 20 wt% sodium sulfate and 10 wt% sulfuric acid at 20 ± 2°C.

Table 3. Effect of immersion of SPI films into a methanol/glycerol (9 : 1 v/v)-bath at room temperature^a

Time (min)	Swelling degree (%)	Maximum strength (kg/cm ²)	Young's modulus (kg/cm ²)	Maximum elongation (%)
0	100	80	3,600	50
10	200	200	11,000	27
30	200	195	9,300	28
60	200	230	11,000	10

^aThe film was prepared from a 75 : 25 w/w mixture of SPI and glycerol.

Table 4. Effects of plasticizers on the MeOH/glycerol-treated films

Plasticizer	Swelling degree (%)	Maximum strength (kg/cm ²)	Young's modulus (kg/cm ²)	Maximum elongation (%)
50% Glycerol	120	140	8,000	50
Sulfolane	100	137	8,000	5
Tetramethylene sulfoxide	100	200	15,000	4
2, 2'-Sufonyldiethanol	100	110	6,300	16

補っている。

本研究ではまず、methanol/glycerol 溶液への最適な浸漬時間を調べたが、10 分で大きな強度の増加が見られた。さらに時間を延ばしてもそれ以上の増加はなかった。従って、処理時間を 10 分と決めた (Table 3)。

しかし、フィルム作成に使用した可塑剤によっては浸漬効果が現れない場合があった。たとえば、Table

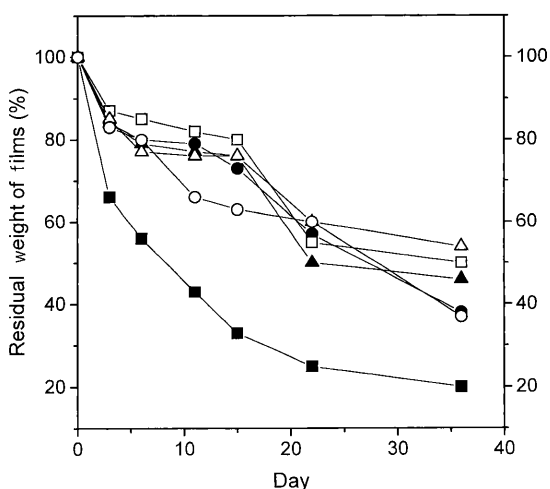


Fig. 3. Degradation of various SPI films in soil (outdoor environments, January-February, 1999 in Osaka). The films were mixed with the following plasticizers and cross-linked with formaldehyde: ●, glycerol (25 wt% to SPI); ▲, tetramethylene sulfoxide (25 wt%); ○, 2, 2'-sulfonyldiethanol (30 wt%); □, a 2 : 1 mixture of sulfolane and glycerol (a total amount, 30% of SPI); △, a 4 : 1 mixture of tetramethylenesulfoxide and glycerol (a total amount, 30% of SPI); ■, a control film (glycerol, 25 wt%), the film was not processed with formaldehyde.

4 に示すように、sulfolane と tetramethylene sulfoxide においては、柔軟性が増大していない。Glycerol と 2, 2'-sulfonyldiethanol では有効であった。メタノール処理で抜け出たグリセロールと同じような構造の可塑剤を使ったときに効果が見られたとみなせよう。

生分解性

以上の結果を参考にし、それぞれの SPI に対する可塑剤比率が最適であると思われるものを選び、架橋処理、methanol/glycerol 溶液への浸漬処理を行なった後、土壌に埋め、生分解性を調べた。主な結果を Fig. 3 に示す。8.8 wt% SPI 溶液量は 20 mL とした。使用したフィルムは次のようである。

(フィルム記号) 可塑剤とその量, SPI に対する重量比率. (■) コントロールフィルム (架橋処理無しの SPI フィルム) glycerol 0.44 mL, 25%; (●) glycerol 0.44 mL, 25%; (▲) tetramethylene sulfoxide 0.44 mL, 25%; (○) 2, 2'-sufonyldiethanol 0.88 mL, 30%; (□) sulfolane 0.4 mL + glycerol 0.20 mL, 合計 30%; (△) tetramethylene sulfoxide 0.42 mL + glycerol 0.11 mL, 合計 30%.

コントロールフィルムは速やかに分解され、数日で分解強度、形態を失う。しかし、架橋処理を施した試料フィルムは2～3週間は形態を保持した。40日後の残存量もコントロールフィルムに比べると多い。SPI分子の架橋点での非消化性に因ると考えられよう。

考 察

本報告で述べた可塑剤は、グリセロールを除けば、実験に供した化合物のうち3種にすぎないが、差異はあるもののいずれもグリセロールよりも優れた効果を示し、引張強度、伸度などで石油系ポリマーフィルムに並ぶ物性を引き出すことができた。これらの可塑剤の組み合わせも大変有効であり、それぞれの可塑剤の特長を重ねることができていることを述べておく。例示した可塑剤の他にも可塑機能をもつものがあると期待される。現在、より安全で優れた可塑剤の新たな検索実験を行っている。また、大豆たん白質フィルムの物性には膜調製後に行う架橋とメタノール浸漬処理が大き

な効果を示した。今回の実験では柔軟性を保つために架橋の度合いは浅くとどめているので十分な吟味ではないが、室温10分の条件でも生分解性において2～3週間の遅延効果を認めた。すなわち、コントロールフィルム（グリセロール使用、架橋処理なし）は速やかに分解され、数日で分解強度、形態を失う。しかし、架橋処理を施した試料フィルムは2～3週間は形態を保持した。Fig. 3で埋め込み初期の10～30%の重量減少は可塑剤の溶出によるもの、そのあとの2～3週間にわたる遅い重量減少は架橋による生分解性の遅延効果と解釈される。この第1段階の生分解の後、やや速い第2段階の分解が見られる。この現象は、第1段階での架橋構造の破壊によって消化が起こりやすくなったためと思われる。しかし、フィルムが水分や湿気に触れた場合の膨潤防止と強度の維持については、依然として満足する結果が得られず、大豆たん白質フィルムを屋外で用いる場合等には問題が残る。フィルムの耐水性と生分解性のさらなる遅延をめざしてフィルムの構造に観点をのいた検討を行っている。

要 約

(1) 酸性沈澱分離大豆たん白質 (SPI) のフィルム調製における可塑剤 (glycerol, sulfolane, tetramethylene sulfoxide, 2,2'-sulfonyldiethanol) の効果について調べた。含イオウ可塑剤はフィルムの引張強度に関してグリセロールに勝る効果を有する。(2) SPIフィルムはホルムアルデヒドによる架橋処理により引張強度と耐水性に有効である。(3) フィルムは架橋処理によって生分解が抑制され、形態と物性は土壌中でも2～3週間続いた。