可食性すり身フィルムの性状に及ぼすアルギン酸 プロピレングリコールエステルの影響

翁 武銀, Patricia Yuca Hamaguchi, 田中宗彦[§]

東京海洋大学食品生産科学科

Effect of Propylene Glycol Alginate on the Properties of Edible Film Prepared from Alaska Pollack *Surimi*

WuYin Weng, Patricia Yuca Hamaguchi and Munehiko Tanaka[§]

Department of Food Science and Technology, Tokyo University of Marine
Science and Technology, 4-5-7 Konan, Minato, Tokyo 108-8477

Propylene glycol alginate (PGA) was incorporated into Alaska pollack-*surimi* films to improve their mechanical properties. The tensile strength of PGA-*surimi* films prepared at pH 11 was twice as high compared to *surimi* films prepared at pH 7. Elongation at break was not affected by the incorporation of PGA. The water vapor permeability, film and protein solubility, and protease digestibility of PGA-*surimi* films were not markedly influenced by pH. The film-forming mechanism of PGA-*surimi* films was investigated on the basis of the changes in SDS-PAGE patterns and the available lysine content. The results revealed that the formation of cross-linkages between ϵ -amino groups of lysine residues in *surimi* proteins and mannuronic acid esters of the PGA above pH 10 was responsible for the increased tensile strength of films.
(Received Feb. 14, 2006 ; Accepted Jun. 30, 2006)

近年、環境保全における食品包装材の廃棄方法が大きな問題となっており¹⁾²⁾、ポリ乳酸フィルム³⁾、ゼラチンフィルム⁴⁾、プルランフィルム⁵⁾をはじめとした生分解性・可食性フィルムの開発・利用が注目されている。我々の研究室では、水産加工残滓の有効利用や冷凍すり身の新規利用の一環として、また環境に優しい包材の開発を目的として、可食性魚肉水溶性タンパク質フィルム⁶⁾、筋原繊維タンパク質フィルム⁷⁾の調製方法とフィルムの形成メカニズムについて検討している。前報⁸⁾では、pH 5~6以外のフィルム形成溶液からすり身フィルムを調製する方法について報告した。また、アルカリ性側のすり身フィルム形成溶液中で生じるミオシン重鎖の交差結合による重合化が、すり身フィルムの引っ張り強度と密接に関連していることを明らかにした。すり身フィルムの実用化を実現させるには、まず本フィルムの強度を合成プラスチックフィルムの中でもTSが比較小さい低密度ポリエチレン(LDPE)フィルム⁷⁾のレベル近くまで上げる必要がある。

タンパク質フィルムの強度改善は、物理化学的にタンパク質分子内、分子間の結合や相互作用を強化する方法によることが多い。一方、可食性フィルムの原料としては、タ

ンパク質以外に、多糖類や脂質も利用されている⁹⁾。海藻多糖類の一種であるアルギン酸から調製されるアルギン酸プロピレングリコールエステル(PGA)は、それ自体がフィルムを形成する能力を持つことに加えて、タンパク質と架橋結合することが知られている¹⁰⁾。PGAは安全な物質で、日本においては1%以下の使用基準があるものの食品添加物として認められている¹¹⁾。Stainsby¹⁰⁾はPGAとタンパク質から調製した可食性ゲルについて研究し、pH 8以上でタンパク質とPGA間に生じる架橋結合の形成によりゲル強度が向上することを明らかにした。さらに、Rhimら¹²⁾はこの架橋反応を利用して、アルカリ性側でPGA添加による大豆タンパク質フィルムの強度改善に成功している。

本研究では、まずPGA添加による生分解性・可食性すり身フィルムの強度向上を試みた。さらにPGA添加すり身フィルムの性状に及ぼすpHの影響、並びにフィルム形成におけるすり身タンパク質とPGA間の相互作用について検討した。

実 験 方 法

1. 試料および試薬

SA級スケトウダラ冷凍すり身(水分含量75%, ソルビトール4%, ショ糖4%, ポリリン酸0.3%)は、ニチモウ株

〒108-8477 東京都港区港南4-5-7

[§] 連絡先 (Corresponding author), mune@s.kaiyodai.ac.jp

式会社より入手した。PGA (100 ± 20 cP (20°C), 1 w/v%) は和光純薬工業株式会社から購入して使用した。

2. フィルム形成溶液の調製

フィルム形成溶液は前報⁸⁾に従って作成した。すなわち、タンパク質濃度が2%, グリセリン (可塑剤) とPGA がタンパク質のそれぞれ50%と30%となるようにスケトウダラ冷凍すり身懸濁溶液を調製し、さらに 1 mol/l NaOH を用いて pH 7~11 に調整した。なお、PGA の添加量は予備実験 (0~50%) の結果を基に決定した。本溶液をガラスホモジナイザー (柴田科学株式会社製) で十分に均質化させ、次いで Hybrid Mixer (HM-500, 株式会社キーエンス製) により脱泡してフィルム形成溶液を調製した。

3. フィルムの調製

作成したフィルム形成溶液4gをシリコン樹脂製の枠 ($5\text{ cm} \times 5\text{ cm}$) 内に流し込み、恒温恒湿器 (H110K; 星和理工株式会社製) を用いて、 $25 \pm 0.5^\circ\text{C}$ 、相対湿度 $50 \pm 5\%$ で24時間乾燥させてフィルムを調製した。シリコン樹脂から丁寧に剥がしたフィルムを、 $25 \pm 0.5^\circ\text{C}$ 、相対湿度 $50 \pm 5\%$ の恒温恒湿器内で、さらに48時間コンディショニングした後、以下の実験に供した。

4. 機械的性質の測定

幅20 mm, 長さ45 mmに切断したフィルムの厚さをシクネスゲージ (シリーズ No. 7360, Mitutoyo 社製) で6点測定した後、テンシプレッサー (TTP-508X II, タケトモ電機) を用い、間隔30 mm, 引っ張り速度 $0.5\text{ mm} \cdot \text{sec}^{-1}$ で引っ張り試験を行った。引っ張り強度 (TS) および引っ張り伸び率 (EAB) は前報⁸⁾に従って計算した。

5. 水蒸気透過性 (WVP) の測定

ASTM 法¹³⁾により WVP の測定を行った。瓶口の内径2.6 mm, 高さ7.8 mm のガラス製バイアル瓶に完全に乾燥させたシリカゲル40gを充填した後、 $5\text{ cm} \times 5\text{ cm}$ のフィルムで瓶口を覆った。この際、フィルムと瓶口の間に隙間がないように固定した。次に、蒸留水により飽和状態 (RH 100%) に調整したデシケーター内に準備したバイアル瓶を置き、デシケーターを 30°C の恒温器中に放置し、1時間間隔でバイアル瓶の重量を測った。フィルムの WVP は、前報⁸⁾の方法により算出した。

6. 水に対するフィルム溶解性の測定

Gennadios らの方法¹⁴⁾に従って測定した。コンディショニングしたフィルムをアジ化ナトリウムを0.02%含有する 0.1 mol/l リン酸緩衝溶液 (pH 7.0) に浸漬し、 30°C で24時間振盪した。振盪後、フィルムの不溶部を取り出し、フィルムから溶出したタンパク質を Lowry 法¹⁵⁾で測定した。取り出したフィルムの不溶部を 105°C で24時間常圧加熱乾燥して、固形分重量を測定した。フィルムのタンパク質溶出率および固形分溶出率を前報⁸⁾に従って求めた。

7. フィルムタンパク質の消化性

フィルム粉末約100 mg に 40 mmol/l Tris 緩衝液 (pH

7.6) を用いて調製した α -キモトリプシン溶液 ($400\text{ }\mu\text{g/ml}$) を20 ml 加え、 37°C で2時間振盪した後、50%トリクロロ酢酸を添加して酵素反応を停止した。30分放置後、遠心分離 ($9620 \times g$, 30分間) を行った。沈殿部を 2 mol/l NaOH で溶解させた後、Lowry 法¹⁵⁾により α -キモトリプシンで消化されなかったタンパク質を測定し、酵素消化性を算出した⁸⁾。

8. 各種タンパク質変性剤溶液に対するフィルムタンパク質の溶解性

Perez-Mateos らの方法¹⁶⁾に従って、4種類のタンパク質変性剤溶液すなわち 0.6 mol/l NaCl (S1), 0.6 mol/l NaCl + 1.5 mol/l 尿素 (S2), 0.6 mol/l NaCl + 8.0 mol/l 尿素 (S3), 0.6 mol/l NaCl + 8.0 mol/l 尿素 + 0.5 mol/l 2-メルカプトエタノール (S4) を調製した。フィルム粉末100 mg に S1, S2, S3, S4 溶液を各10 ml 加え、 30°C で24時間振盪攪拌した後、遠心分離 ($9620 \times g$, 30分間) した。タンパク質変性剤溶液 (S1~S3) に溶解したフィルムタンパク質を Lowry 法¹⁵⁾により測定した。タンパク質変性剤溶液 S4 に溶解したタンパク質は透析してから求めた。

9. ポリアクリルアミドゲル電気泳動 (SDS-PAGE)

フィルム形成溶液および調製したフィルムを2% SDS + 8.0 mol/l 尿素 + 20 mmol/l Tris-HCl (pH 8.8) + 2% 2-メルカプトエタノール溶液 (可溶化溶液) に溶解した。SDS-PAGE は Laemmli の方法¹⁷⁾に従い、市販のアクリルアミドゲル (7.5%, パジエル NPU-7.5 L, アトー株式会社) を用いて行った。染色は0.1% クーマシーブリリアントブルー R-250 + 5% メタノール + 10% 酢酸溶液に浸漬して行った。脱色は30% メタノール + 10% 酢酸溶液でゲルの背景が完全に透明になるまで行った。

10. フィルムの可溶化率の測定

フィルム粉末に SDS-PAGE 用サンプルを調製する際に使用した可溶化液を加え、室温で24時間振盪した後、遠心分離 ($9620 \times g$, 30分間) により沈殿を得た。沈殿を 2 mol/l NaOH に溶解してからタンパク質を Lowry 法¹⁵⁾により測定し、PGA 添加すり身フィルムの可溶化率を求めた。

11. フィルムの有効性リジン量の測定

トリニトロベンゼンスルホン酸 (TNBS) を用いる Bubnis らの方法¹⁸⁾に従い、フィルムタンパク質の有効性リジン量を測定した。すなわち、フィルム粉末約8 mg に4% 炭酸水素ナトリウムと0.5% TNBS を各0.5 ml 加え、 40°C で4時間反応させた。6 mol/l 塩酸を1.5 ml 加えた後、 120°C で1時間加熱した。冷却後、蒸留水を2.5 ml 加え、ジエチルエーテルを用いて未反応の TNBS とトリニトロフェニル- α -アミノ基を抽出除去した。ジエチルエーテルを加熱除去した後、希釈液の吸光度を346 nm で測定した。PGA 無添加すり身フィルムの有効性リジン量を100として、PGA 添加すり身フィルムの有効性リジンの相対

表 1 PGA 添加すり身フィルムの性状*

	すり身フィルム		PGA 添加すり身フィルム				
	pH	7	7	8	9	10	11
引っ張り強度 (MPa)		5.0±0.9 ^a	7.0±0.9 ^b	5.6±0.7 ^a	5.8±0.7 ^a	8.6±0.7 ^c	10.2±0.5 ^d
引っ張り伸び率 (%)		118.9±11.7 ^a	64.7±7.8 ^b	57.8±6.9 ^b	51.1±4.9 ^b	67.3±7.1 ^b	91.8±9.2 ^c
水蒸気透過性×10 ⁻¹⁰ (g・m ⁻¹ ・s ⁻¹ ・Pa ⁻¹)		0.79±0.06 ^a	1.26±0.02 ^b	1.27±0.02 ^b	1.25±0.02 ^b	1.11±0.07 ^c	0.97±0.05 ^d
固形分溶出率 (%)		29.3±1.3 ^a	29.1±1.2 ^a	30.9±0.9 ^a	29.0±1.2 ^a	26.2±1.2 ^b	27.0±0.8 ^b
タンパク質溶出率 (%)		7.6±0.4 ^a	7.1±0.6 ^a	7.1±0.3 ^a	6.9±0.5 ^{ab}	6.3±0.6 ^b	4.9±0.2 ^c
酵素消化率 (%)		82.7±2.0 ^a	81.2±1.5 ^a	80.8±1.7 ^a	80.3±1.3 ^a	80.1±1.4 ^a	76.0±2.0 ^b
可溶化率 (%)		86.8±1.9 ^a	87.7±1.6 ^a	86.4±1.9 ^a	84.1±2.1 ^{ab}	80.9±1.4 ^b	61.1±1.7 ^c
有効性リジン量 (%)		100 ^a	100 ^a	97.1±1.0 ^a	95.7±1.2 ^a	89.9±1.0 ^b	84.1±1.3 ^c

*平均値±標準偏差. 同一性状内で, 同じアルファベット間には有意差が認められない (p>0.05).

量を算出した.

12. 統計処理

マイクロソフト社の Excel を使用して標準偏差を算出した後, SPSS (Statistical Software, USA) の Duncan's multiple-range test¹⁹⁾ を用いて, 有意差 (p<0.05) の検定を行った.

実験結果および考察

1. PGA 添加すり身フィルムの性状

予備実験の結果, PGA は酸性側で起泡性に富むため酸性側で調製したフィルム形成溶液から泡を取り除くのが難しく, 酸性側の PGA 添加すり身フィルムは実用化に向いていないことが分かった. また, Stainsby¹⁰⁾ と Shih ら²⁰⁾ は, タンパク質と PGA 間の架橋結合がアルカリ性側で形成されることを報告している. そこで本研究では, PGA を添加したすり身フィルム形成溶液の pH を 7~11 に調整し, それらから作成したフィルムの性状について検討した.

フィルム形成溶液の pH が PGA 添加すり身フィルムの各種性状に及ぼす影響を表 1 に示す. 中性のフィルム形成溶液 (pH 7) に PGA をタンパク質の 30% 相当量添加すると, 調製されたフィルムの TS は 5.0 MPa から 7.0 MPa までに向上した. 次に同一のタンパク質濃度と PGA 濃度の下で pH をアルカリ性にする, TS は一旦低下 (pH 8~9) した後に増加した. 特に pH 10, 11 で調製したフィルム形成溶液に PGA を添加すると, TS が未添加フィルムの 1.7~2.0 倍に増加した. 前報⁸⁾において, 中性付近で調製したすり身フィルム形成溶液中に筋原繊維タンパク質はほとんど溶解せず, 懸濁した状態でフィルムに取り込まれるためにフィルム強度が低いこと, さらにフィルム形成溶液の pH を上げると筋原繊維タンパク質の溶解性が向上し, すり身タンパク質間相互作用が促進されてフィルムの TS がある程度大きくなることを明らかにした. Shih ら²⁰⁾ は, アルカリ性側で調製した PGA 添加大豆タンパク質フィルムの TS の増加は, 大豆タンパク質と PGA 間に架橋結合が

生じたためと報告している. 本研究においても, pH 10, 11 で調製した PGA 添加すり身フィルムの TS が大幅に増加した (表 1) ことは, すり身タンパク質と PGA 間に架橋反応が進んでいる可能性を示唆している.

一方, すり身フィルムの EAB に PGA 添加による減少傾向が見られたが, pH の変化による大きな影響は認められなかった (表 1). pH 11 のフィルム形成溶液から調製した PGA 添加すり身フィルムは, かなりの柔軟性 (EAB=91.8%) と強度 (TS=10.2 MPa) を併せ持っていた. 以上のことより, PGA 添加と pH 調整の処理がすり身フィルムの性状改善に有効であることが示唆された.

すり身フィルム (pH 7) の WVP は, PGA 添加により有意に増加し, また pH 8, 9 ではほとんど一定であったが, pH 10, 11 では有意に減少した (表 1). 親水性多糖類である PGA の添加は, 形成されるフィルムの親水性を高め, その結果としてフィルムの WVP が大きくなったと思われる. 一方, Rhim ら¹²⁾ は, 大豆タンパク質と PGA 間の架橋反応によりフィルムの WVP が減少し, その傾向は PGA 添加量に比例することを明らかにしている. 従って, より適切な PGA 添加量を検討し, TS と WVP を同時に改善できる濃度を明らかにする必要がある.

PGA 添加すり身フィルムの固形分溶出率とタンパク質溶出率に及ぼす pH の影響を表 1 に示す. pH 7~9 で調製したすり身フィルム形成溶液に PGA を添加しても, 形成されたフィルムの固形分並びにタンパク質溶出率はほとんど一定で, pH 10, 11 ではいくらか減少した. pH 10, 11 で得られた PGA 添加すり身フィルムの固形分溶出率は, PGA を添加した大豆タンパク質フィルム¹²⁾ と類似していた. このことから pH 10, 11 ですり身タンパク質と PGA 間の架橋結合の形成が伺われる.

すり身フィルムタンパク質の α -キモトリプシン消化性に対する PGA 添加の影響を表 1 に示す. PGA 添加すり身フィルム形成溶液の pH を 7~10 にした場合, フィルムのタンパク質消化性はほとんど一定で, pH 11 ではいくらか

図 1 各種タンパク質変性剤溶液に対する PGA 添加すり身フィルムのタンパク質溶解率

- S1 : 0.6 mol/l NaCl
 □ S2 : 0.6 mol/l NaCl + 1.5 mol/l 尿素
 ▨ S3 : 0.6 mol/l NaCl + 8.0 mol/l 尿素
 ▩ S4 : 0.6 mol/l NaCl + 8.0 mol/l 尿素 + 0.5 mol/l 2-メルカプトエタノール
 ■ : 不溶性画分

減少した。Ou ら²¹⁾ は大豆タンパク質フィルムの有効性リジン量が減少すると、タンパク質の消化率が低下すると報告している。pH 11 ですり身タンパク質と PGA 間に架橋反応が生じ、結果としてタンパク質消化性がいくらか減少したのであろう。しかしながら、いずれの pH で調製しても PGA 添加すり身フィルムの酵素消化性は 70% 以上なので、可食性フィルムとして十分利用できると思われる。

2. PGA 添加すり身フィルムの形成メカニズム

前報⁸⁾ で、すり身フィルム形成溶液の pH をアルカリ性にする、タンパク質分子の内部に存在する疎水性アミノ酸残基が表面に露出し、その結果として増加する疎水結合がすり身フィルムの形成に主として関与することを明らかにした。本研究では、フィルム形成に関与するタンパク質間相互作用に及ぼす PGA 添加の影響を解明するために、各種タンパク質変性剤溶液に対するフィルムタンパク質の溶解率を測定した (図 1)。PGA 添加すり身フィルム形成溶液の pH を中性からアルカリ性側になると、イオン結合と水素結合の関与する比率はいくらか減少する傾向であったが、疎水結合に大きな変化は認められなかった。一方、pH 11 でフィルムを調製すると、いずれのタンパク質変性剤溶液にも溶解されない不溶性画分が顕著に増加した (図 1)。このことは、pH 11 ではすり身タンパク質が PGA と重合反応を起し、その結果不溶性画分が増加することを示唆している。

PGA 添加すり身フィルム形成溶液と形成されたフィルム (図 2) のタンパク質組成を SDS-PAGE を用いて分析した。すり身フィルム形成溶液 (pH 7) に PGA を添加しても SDS-PAGE パターンに変化は見られず (図 2)、さらに pH 10 まで上昇させても同様であった。ただし、pH 11 の

図 2 pH 7~11 で調製した PGA 添加すり身フィルム形成溶液とフィルムの SDS-PAGE パターン

M : 分子量マーカー (30~200 kDa)

フィルム形成溶液ではミオシン重鎖 (MHC) バンドの減少が認められ、フィルム形成溶液の段階でも PGA と MHC との重合化が示唆された。一方、PGA 添加すり身フィルムでは、フィルム形成溶液の pH を高くするとともに MHC バンドの減少が観察された。特に pH 10 以上でその傾向は顕著であり、pH 11 で MHC のバンドはほとんど認められなかった (図 2)。また、100~150 kDa のバンドが現れたことから、アルカリ性側で MHC のアルカリ性プロテアーゼによる分解がある程度進行する可能性が考えられる。

PGA 添加すり身フィルムのタンパク質の可溶化率に及ぼす pH の影響を表 1 に示す。この表から明らかなように、pH を高くするとフィルムタンパク質の可溶化率が減少する傾向が認められた。特に pH 11 で顕著に低下し、架橋反応によって生じるすり身タンパク質の MHC と PGA の複合体は、可溶化液に溶解されないほどの高分子であることが判明した。

以上の結果は、PGA を添加したフィルム形成溶液から 25℃ でフィルムを作成している間に、すり身タンパク質の MHC と PGA 間の架橋反応が、アルカリ性側特に pH 11 で進行しやすいことを示している。

PGA 添加すり身フィルムにおけるタンパク質と PGA 間の架橋反応を明らかにするため、フィルムタンパク質の有効性リジン量を測定した (表 1)。なお、表 1 では、pH 7 で調製したフィルム中のタンパク質の ϵ -NH₂ 基量を 100% とした相対値で示している。中性付近から pH を高くすると、フィルムの有効性リジン量が減少したことから、アルカリ性側では PGA のエステル基が分解され²²⁾、すり身タンパク質の ϵ -NH₂ 基との反応が進行することが裏付けられた。また、アルカリ性になると、すり身タンパク質のポリペプ

図 3 PGA 添加すり身フィルムの引っ張り強度と有効性リジン減少量との関係

チド鎖のほどけ (unfolding) が起り, PGA との架橋反応がさらに促進されると考えられる。これらの結果から, アルカリ性側における PGA 添加すり身フィルムの機械的性質の向上 (表 1) は, すり身タンパク質と PGA 間の架橋反応と密接に関連していることが明らかである (図 3)。

要 約

pH 7~11 において, すり身フィルムの性状に及ぼす PGA 添加の影響とフィルム形成メカニズムを検討した。PGA 添加によりすり身フィルムの機械的性質が改善されたが, 合成プラスチックフィルムには及ばなかった。アルカリ性側特に pH 11 で作成したフィルムでは, フィルムタンパク質の有効性リジン量の減少 (表 1), 可溶性率の低下 (表 1), MHC の減少 (図 2), さらにいずれのタンパク質変性剤溶液にも溶解しない不溶性画分の増加 (図 1) が認められた。これらのことから, アルカリ性ですり身タンパク質 MHC のリジン残基の ϵ -NH₂ 基と PGA のマンヌロン酸エステル間の架橋反応によりフィルムの機械的性質の改善がもたらされることが示唆された。さらに, すり身フィルムの水に対する溶解性, α -キモトリプシンによるタンパク質消化性に, PGA の添加が特に顕著な影響をもたらさなかったことから, すり身タンパク質フィルムの特徴である生分解性・可食性は PGA 添加により失われないことが認められた。本研究で使用した PGA 添加量は, フィルム中の濃度が食品添加物としての 1% 以下という使用範囲を超えてしまう。今後はフィルム TS のさらなる向上のほか, PGA 添加量を抑えて同様の効果を得る方策を検討する必要がある。

本研究の一部は, 日本学術振興会拠点方式学術交流事業並びに財団法人日本科学協会「笹川科学研究助成」の予算により実施されたものである。

文 献

- 1) 田中宗彦, 環境にやさしい容器包装材, 食品と容器, **46**, 12-18 (2005).
- 2) 横山理雄, 環境対応の容器包装リサイクルと機能性包装, 日食科工誌, **51**, 315-320 (2004).
- 3) 石川一史, 生分解性プラスチックのパッケージへの応用, 食品の包装, **35**, 42-50 (2004).
- 4) 森岡保夫, ゼラチンフィルムの特性と応用, コンバーテック, **19**, 32-35 (1991).
- 5) Diab, T., Biliaderis, C.G., Gerasopoulos, D. and Sfakiotakis, E., Physicochemical properties and application of pullulan edible films and coatings in fruit preservation. *J. Sci. Food Agric.*, **81**, 988-1000 (2001).
- 6) Iwata, K., Ishizaki, S., Handa, A. and Tanaka, M., Preparation and characterization of edible films from fish water-soluble proteins. *Fisheries Sci.*, **66**, 372-378 (2000).
- 7) Shiku, Y., Hamaguchi, P.Y. and Tanaka, M., Effect of pH on the preparation of edible films based on fish myofibrillar proteins. *Fisheries Sci.*, **69**, 1026-1032 (2003).
- 8) 翁 武銀, Patricia Yuca Hamaguchi, 珠玖裕介, 田中宗彦, 可食性スケトウダラすり身フィルムの調製と性状, 日食科工誌, **53**, 103-108 (2006).
- 9) John, M.K. and Catherine, D.M., Edible and biodegradable polymer films: challenges and opportunities. *Food Technol.*, **51**, 61-74 (1997).
- 10) Stainsby, G., Proteinaceous gelling systems and their complexes with polysaccharides. *Food Chem.*, **6**, 3-14 (1980).
- 11) 鈴木郁生, 野島庄七, 谷村顕雄, アルギン酸プロピレングリコールエステル, 食品添加物公定書解説書, (廣川書店, 東京), pp. D100-D106 (1999).
- 12) Rhim, J.W., Wu, Y., Weller, C.L. and Schnepf, M., Physical characteristics of a composite film of soy protein isolate and propylene glycol alginate. *J. Food Sci.*, **64**, 149-152 (1999).
- 13) American Society for Testing and Material, Annual Book of ASTM standards. ASTM, Philadelphia, PA, USA, (1989).
- 14) Gennadios, A., McHugh, T.H. and Weller, C.L., Edible coatings and films to improve food quality. Technomic, New York, pp. 201-303 (1994).
- 15) Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L. and Randall, R.J., Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, **193**, 265-275 (1951).
- 16) Perez-Mateos, M., Lorenzo, H., Montero, P. and Borderias, A. J., Rheological and biochemical characteristics of high-pressure and heat induced gels from blue whiting (*Micromesistius poutassou*) muscle proteins. *J. Agric. Food Chem.*, **45**, 44-49 (1997).
- 17) Laemmli, U.K., Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T₄. *Nature*, **227**, 680-685 (1970).
- 18) Bubnis, W.A. and Ofner, C.M., The determination of ϵ -amino groups in soluble and poorly soluble proteinaceous materials by a spectrophotometric method using trinitrobenzenesulfonic acid. *Anal. Biochem.*, **207**, 129-133 (1992).
- 19) Stell, R.D.D. and Torrie, J.H., Principles and procedure of statistics. A biometrical approach. Mc Graw-Hill, New York, pp. 862 (1980).

-
- 20) Shih, F.F., Interaction of soy isolate with polysaccharide and its effect on film properties. *J. Agric. Food Chem.*, **71**, 1281-1285 (1994).
- 21) Ou, S.Y., Kwok, K.C. and Kang, Y.J., Changes in *in vitro* digestibility and available lysine of soy protein isolate after formation of film. *J. Food Eng.*, **64**, 301-305 (2004).
- 22) Gray, C.J., Griffiths, A.J., Stevenson, D.L. and Kennedy, J.F., Studies on the chemical stability of propylene glycol alginate esters. *Carbohydrate Polymers*, **12**, 419-430 (1990).
- (平成 18 年 2 月 14 日受付, 平成 18 年 6 月 30 日受理)
-