スケトウダラ冷凍すり身から調製した生分解性フィルムの性状に及ぼす NaCl および各種有機酸塩添加の影響

鈴木 遼,¹ 牧 広樹,¹ AKASITH PORNPATDETAUDOM,¹
古川 麻美,² 岡崎恵美子,¹ 大迫 一史^{1*}

(2012 年 12 月 27 日受付, 2013 年 4 月 7 日受理)

¹東京海洋大学, ²味の素冷凍食品株式会社

Effect of NaCl and organic salts on the properties of surimi-based
films prepared from Alaska pollack frozen *surimi*

RYO SUZUKI,¹ HIROKI MAKI,¹ AKASITH PORNPATDETAUDOM,¹
MAMI FURUKAWA,² EMIKO OKAZAKI¹ AND KAZUFUMI OSAKO^{1*}

¹Department of Food Science and Technology, Tokyo University of Marine Science and Technology, Minato,
Tokyo 108-8477, ²Research Institute, AJINOMOTO Corporation, Oizumimati 370-0523, Japan

The effect of NaCl and organic salts (Na-citrate, Na-acetate, Na-benzoate and Na-tartrate) on the properties of *surimi*-based films prepared from Alaska pollack frozen *surimi* was investigated. The solubility of the *surimi* protein increased upon addition of the salts. Na-citrate and NaCl appeared to have the highest ability to dissolve the protein among the salts. The *surimi* were dissolved into salt solutions at neutral pH and dried ($25 \pm 0.5^\circ\text{C}$ and $50 \pm 2\%$ RH) to form the film. Physical properties and SDS-PAGE of the resultant films were determined. The films with Na-tartrate and NaCl were crystallized during the drying process. By adding the salts, tensile strength (TS), elongation at break (EAB), and water vapor permeability (WVP) of the film were increased while transparency of the film was decreased (became transparent) compared to those of the control (no salts added). SDS-PAGE indicated that the protein patterns of the film were not significantly different among the salt types used as a solubilizer. Na-citrate showed the highest effects on increasing TS and decreasing transparency of the film among the salts used in the study.

キーワード : NaCl, 可溶化剤, すり身, フィルム, 有機酸塩

現在, 食品の包装材料として安価で軽く丈夫であることから合成高分子(プラスチック)が広く用いられている。しかし, プラスチックの中にはこれの焼却時にダイオキシン等の有害物質が発生するものがあること, また, 自然界で分解されにくいものがほとんどであるため, 使用後のこれらの処分が環境負荷の要因の一つとなっている。この問題を解決する方法の一つとして, 生分解性の原料を用いた包装材の開発が挙げられる。生分解性原料を用いて調製された包装材料は, プラスチックとは異なり生分解性であることから使用後の処分が容易であり, プラスチックフィルムと比較して環境に与える負荷は小さいと考えられる。

現在までに, デンプン, アルギン酸, キトサン, アミ

ロースおよびカラゲラン等の糖類やコラーゲン, 大豆タンパク質, 魚肉タンパク質, 小麦グルテンおよびトウモロコシタンパク質等のタンパク質を原料とした生分解性フィルムの開発が行われている。³⁾

既往の研究として, 翁らによるスケトウダラ冷凍すり身を原料とした生分解性フィルムに関する研究があり, pH を酸性あるいはアルカリ性にするにより原料中のタンパク質を可溶化させて懸濁液(フィルム形成懸濁液)を調製し, これを一定の条件下で乾燥することによりフィルムの調製を行っている。⁴⁾ また, Leerahawong らはイカ肉を原料とした生分解性フィルムに関する研究を行っており, その際に有機酸塩を用いてタンパク質を可溶化させることによってフィルムの調製を行ってい

る。⁵⁾ また、タンパク質可溶化剤として用いる塩の違いにより、得られたフィルムの性状も異なることが報告されている。

そこで、本研究では Leerahawong らの方法⁵⁾を参考にして、フィルム形成懸濁液に有機酸塩を添加し、タンパク質を可溶化させる方法に関して検討を行った。また、用いる有機酸塩の違いが、得られるフィルムの性状に及ぼす影響について検討した。

試料および方法

試料 スケトウダラ冷凍すり身 (FA 級, American-Seafoods 社製, 原材料にソルビトールおよびスクロースを含む) を用いた。また、タンパク質可溶化剤として、クエン酸三ナトリウム二水和物、酢酸ナトリウム、酒石酸ナトリウム二水和物 (いずれも特級, 和光純薬工業株式会社製), 安息香酸ナトリウム (特級, 国産化学株式会社製) および塩化ナトリウム (特級, 国産化学株式会社製) を、フィルムの可塑剤としてグリセロール (特級, 国産化学株式会社製) を用いた。タンパク質溶解度の測定に過塩素酸 (特級, キシダ化学社製, PCA) を用いた。

一般成分の分析 冷凍すり身の一般成分は以下の方法で測定した。すなわち、水分含量は常圧加熱乾燥法で、粗灰分含量は試料を 600℃ で灰化後、それぞれ恒量にして測定した。粗タンパク質含量は Kjeldahl 法⁶⁾を用いて求めた全窒素量に 6.25 を乗じて算出し、粗脂肪含量は Folch ら⁷⁾の方法で測定した。粗炭水化物含量は、全量 100 (%) から水分含量, 粗タンパク質含量, 粗灰分含量および粗脂肪含量を差し引くことにより算出した。

フィルム形成懸濁液の調製 フィルム形成懸濁液は Leerahawong らの方法⁵⁾をもとに、以下のように行った。すなわち、タンパク質濃度 2% (w/w), グリセロール濃度 0.6% (w/w), NaCl, 各種有機酸塩の濃度が 0% (対照), 0.5% および 1.0% (w/w) となるように調製した。全量を 100 g に調製後, 1 N NaOH または 1 N HCl を用いて pH を 7.0 に調整した。マグネティックスターラー (240 rpm) で 30 分冷却・攪拌後, ガラスホモジナイザー (スリーワンモータ HEIDON 600G 型, 新東科学株式会社製) を用いて 5 分間攪拌し, ハイブリッドミキサー (HM-500 型, キーエンス社製) を用いて脱泡を行い, フィルム形成懸濁液とした。なお, 脱泡までの操作は全て 4℃ 以下で行った。

フィルム形成懸濁液中のタンパク質溶解度の測定 塩化ナトリウム (NaCl) あるいは各種有機酸塩を用いた際の, すり身タンパク質の塩可溶性については竹下らの方法⁸⁾に準じて検討した。すなわち, 上記の方法と同様に調製したフィルム形成懸濁液に終濃度が 5% となるように PCA を添加後, スーパーテルを用いて混合し, 30

分放置した。これをスーパーテルで攪拌し, 遠心分離 (4℃, 10000×g, 20 分) を行った。これの上清をデキャンティングにより取り除き, 沈殿物に対して 5% PCA を用いて同様の操作を 3 回行った。得られた沈殿物は風乾後, 1N NaOH を加えて一晩振とうして溶解後, Lowry 法⁹⁾でタンパク質濃度を測定し, フィルム形成懸濁液中の全タンパク質量とした (A)。また, フィルム形成懸濁液を遠心分離 (4℃, 20000×g, 30 分) して得られた上清に終濃度が 5% となるように PCA を添加し, 得られた沈殿物を同様に風乾したのち, このタンパク質濃度を測定してこれを溶解したタンパク質量とした (B)。フィルム形成懸濁液の全タンパク質量に対する遠心分離後の上清の溶解したタンパク質量をタンパク質溶解度とし, 以下の式で算出した。

$$\text{溶解度 (\%)} = (B/A) \times 100 \quad (1)$$

A = フィルム形成懸濁液のタンパク質濃度 (mg/mL)

B = 遠心分離後の上清のタンパク質濃度 (mg/mL)

フィルムの調製 上記の方法と同様に調製したフィルム形成懸濁液 4 g をシリコン樹脂製の枠 (5 cm×5 cm) 内に流し込み, 恒温恒湿機 (KCL-2000A 型, 東京理化学器械株式会社製) を用いて, 25±0.5℃, 相対湿度 50±2% で 48 時間乾燥させてフィルムを調製した。フィルムをシリコン樹脂から丁寧に剥がし, 25±0.5℃, 相対湿度 50±2% の恒温恒湿機内で, さらに 24 時間コンデューショニングを行い, これの諸性状を検討した。

フィルムの機械的性質の測定 フィルムを幅 20 mm, 長さ 45 mm に切断し, フィルムの厚さをシックネスゲージ (No. 2046F Shock Proof, 株式会社ミットヨ製) により 6 点測定後, ASTM 標準法である ASTM. D. 882-97¹⁰⁾に従って, テンシプレッサー (TTP-50BX II 型, 有限会社タケトモ電機製) を用いて引っ張り試験を行った。両端のグリップの間隔およびクロスヘッドスピードはそれぞれ 30 mm および 0.5 mm/s とした。引っ張り強度 (Tensile strength, TS) および引っ張り伸び率 (Elongation at break, EAB) は以下の式から算出した。

$$TS(\text{MPa}) = F/S \quad (2)$$

F = 引っ張り強度 (N), S = フィルムの断面積 (m²)

$$EAB(\%) = (E/30) \times 100 \quad (3)$$

E = フィルムの伸び (mm)

フィルムの水蒸気透過性 (Water vapor permeability, WVP) の測定 フィルムを 5 cm×5 cm に切断し, フィルムの厚さをシックネスゲージにより 6 点測定後, 実験に供した。WVP は, ASTM 法を用いた Gontard らの方法¹¹⁾に準じて測定を行った。すなわち, 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を充填した後, 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, 瓶口に真空グリスを塗布し, プラスチックリングで固定した。次に, 蒸留水により飽和状態 (RH100%) に調整したデシケーター内にバイアル瓶を置き, デシケーターを 30℃ の恒温器中に放置し, 8 時間経過まで 1 時間毎にバイアル瓶の重量を測定した。WVP ($\text{g} \cdot \text{m}^{-1} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{Pa}^{-1}$) は以下の式により算出した。

$$\text{WVP} (\text{g} \cdot \text{m}^{-1} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{Pa}^{-1}) = w \cdot x \cdot A^{-1} \cdot t^{-1} \cdot (P_2 - P_1) \quad (4)$$

w = 重量変化量 (g), x = フィルム厚さ (m), t = 時間 (s), A = バイアル瓶の口の面積 (m^2), $(P_2 - P_1)$ = デシケーター内とバイアル瓶内の圧力差 (Pa)

フィルムの光透過性および吸光度の測定 フィルムの厚さをシクネスゲージにより 6 点測定後, ASTM 法 D.1746-92 (ASTM.1987)¹²⁾ に従って紫外可視分光光度計 (UV-160 型, 島津製作所株式会社製) を用いて 200 nm から 800 nm までの光透過度を測定し, 吸光度は以下の式で算出した。

$$\text{吸光度} = (-\log T) / a \quad (5)$$

T = 600 nm における光透過度, a = フィルムの厚さ (mm)

フィルムの色調および白色度の測定 フィルムの色調は, カラーリーダー (CR-13 型, コニカミノルタセンシング株式会社製) を用いて 1 枚につき 3 点測定し, L^* , a^* , b^* で表した。その際, フィルムの下に, 本研究で使用したカラーリーダーの色調校正版を敷き測定を行った。また, 白色度は以下の式から算出した。

$$\text{白色度} = 100 - [(100 - L^*)^2 + a^{*2} + b^{*2}]^{1/2} \quad (6)$$

ポリアクリルアミド電気泳動 (SDS-PAGE) すり身フィルムに液体窒素を加えて乳棒を用いてすり潰し, 粉末状にした。得られた粉末 80 mg に 2% メルカプトエタノール - 2% SDS - 8M 尿素 - 20 mM Tris-HCl 溶液 (pH 8.8) を 10 mL 加え, 100℃ で 2 分加熱後, 氷冷し, 一晚振とうした。2% SDS - 8M 尿素 - 20 mM Tris-HCl 溶液 (pH 8.8) により透析を行い, 遠心分離 (25℃, 10000 × g , 20 分) 後, 上清のタンパク質濃度を Lowry 法により測定し SDS-PAGE サンプルを調製した。

SDS-PAGE は Laemmli の方法¹³⁾ に従い, 市販のアクリルアミドゲル (7.5%, パジエル NPU-7.5L, アトー社製) を用いて行った。分子量マーカーとして, Page Ruler™ Unstained Protein Ladder (Fermentas Life Sciences 社製) を用い, 染色は 0.025% Coomassie Brilliant Blue R-250 - 5% メタノール - 10% 酢酸溶液で行い, 脱色は 30% メタノール - 10% 酢酸溶液を用いて行った。

結 果

試料の一般成分 試料として用いたスケトウダラ冷凍すり身の一般成分を Table 1 に示した。試料の一般成分は水分含量 76%, 粗タンパク質含量 15.8%, 灰分含量 0.58%, 粗脂肪含量 0.11% および粗炭水化物含量 7.5% であった。

タンパク質溶解度 タンパク質溶解度を Table 2 に示した。本研究では, 有機酸塩の濃度として 0.5% および 1.0% のみを用いたが, これは 1.0% 以上の濃度の有機酸塩を添加してフィルムにした際に, 有機酸塩の種類に関わらずこれの析出が見られ, 均質なフィルムが得られなかったためである。Table 2 に示すように, NaCl あるいは各種有機酸塩を添加した場合, タンパク質溶解度は対照と比較して上昇した。フィルム形成懸濁液に 0.5% の NaCl あるいは各種有機酸塩を添加した場合, クエン酸 Na および NaCl において特に高い値 (12.2-12.7%) を示し, 酢酸 Na および安息香酸 Na において低い値 (8.5-8.9%) を示した。有機酸塩類の添加量を 1.0% にした場合, 有機酸塩類を 0.5% 添加した場合と比較してタンパク質溶解度は上昇し, クエン酸 Na および酒石酸 Na において特に高い値 (14.2-14.8%) を示した。

Table 1 Proximate components of Alaska pollack frozen surimi*

Proximate components (%)				
Moisture	Crude protein	Crude ash	Crude lipids	Crude carbohydrate
76.0 ± 0.1	15.8 ± 0.19	0.59 ± 0.06	0.11 ± 0.02	7.5

* Data are shown as mean ± S.D. ($n=3$).

Table 2 The effect of organic salts on the solubility of surimi protein^{1,2}

Salts	Conc. (%)	Solubility of surimi protein (%)
Control	—	7.3 ± 0.9 ^f
Na-citrate	0.5	12.7 ± 1.1 ^c
	1	14.2 ± 0.3 ^{ab}
Na-acetate	0.5	8.5 ± 0.3 ^e
	1	9.7 ± 0.6 ^d
Na-benzoate	0.5	8.9 ± 0.3 ^{de}
	1	11.9 ± 0.8 ^c
Na-tartrate	0.5	9.5 ± 0.4 ^d
	1	14.8 ± 0.6 ^a
NaCl	0.5	12.2 ± 0.1 ^c
	1	13.7 ± 0.6 ^b

¹ Data are shown as mean ± S.D.

² Different letters indicate significant differences ($p < 0.05$, $n=3$). Protein solubility (%) = $(B/A) \times 100$. “A” and “B” mean protein concentration before centrifugation (mg/mL) and protein concentration of supernatant after centrifugation, respectively (mg/mL).

フィルムの機械的性質および SDS-PAGE NaCl および各種有機酸塩をフィルム形成懸濁液に 0.5% および 1.0% 添加して調製したフィルムの写真をそれぞれ Fig. 1a および Fig. 1b に示した。塩化ナトリウムおよび用いた有機酸塩の種類にかかわらずフィルムは得られた。酒石酸 Na および NaCl を添加して調製したフィルムでは塩の析出が見られたが、それ以外のものは市販のオブラートに近い、ほぼ均質なものであった。

また、フィルムの厚さを Table 3 に示した。調製したフィルムの厚さは、安息香酸 Na を 1.0% 添加したフィルムにおいて高い値 ($42.9\ \mu\text{m}$) を示し、NaCl を 1.0% 添加したフィルムにおいて低い値 ($32.9\ \mu\text{m}$) を示した。有機酸塩の添加量を 0.5% から 1.0% にした場合、酢酸 Na では有意差は見られず、クエン酸 Na および安息香酸 Na において増加する傾向を示し、酒石酸 Na および

NaCl において減少する傾向を示した。

フィルムの TS を Fig. 2 に示した。NaCl あるいは各種有機酸塩を添加することにより、対照と比較して高い値を示した。フィルム形成懸濁液に 0.5% の NaCl あるいは有機酸塩を添加したものでは、フィルムの TS はクエン酸 Na、酒石酸 Na および NaCl において高い値 ($4.6\text{--}5.1\ \text{MPa}$) を示し、酢酸 Na および安息香酸 Na を添加して調製したフィルムはこれらと比較して有意に低い値 ($3.3\text{--}3.6\ \text{MPa}$) を示した。有機酸塩の添加量を 1.0% にした場合は、酢酸 Na を除いて TS は減少し、安息香酸 Na を添加したものは特に低い値 ($2.3\ \text{MPa}$) を示した。NaCl では添加濃度の違いによる有意差は見られなかった。

各種塩類を 0.5% および 1.0% 添加した際の SDS-PAGE の結果をそれぞれ Fig. 3a および Fig. 3b に示した。NaCl および各種有機酸塩の添加は、フィルムタンパク質の分子量分布に影響を及ぼさなかった。また、各種塩類の添加量の違いによる影響も見られなかった。一方、スルメイカの外套膜筋肉から調製したフィルムにおいては、可溶化剤として用いる塩の違いがフィルムの TS に影響を及ぼし、NaCl および酢酸 Na を添加したものは低く、クエン酸 Na を添加したものは高いことが報告されている。さらに、フィルムのタンパク質中のミオシンヘビーチェーンの残存量と物性との間にも高い相関が見られている。⁵⁾ Fig. 4 に示すように、EAB は NaCl および各種有機酸塩類の添加により対照と比較して高い値 ($139\text{--}201\%$) を示した。フィルム形成懸濁液に 0.5% の NaCl あるいは各種有機酸塩を添加したものでは、EAB の値は安息香酸 Na および NaCl において高い値 ($172\text{--}175\%$) を示した。また、有機酸塩類の添加量を 1.0% にした場合、安息香酸 Na において特に高い値

Fig. 1 *Surimi*-based films prepared by addition of organic salts with different salt types: (a) salt concentration is 0.5% in film forming solution; (b) salt concentration is 1.0%.

Table 3 Effect of organic salts on the thickness of *surimi*-based films

Salts	Conc. (%w/w)	Thickness (μm)
Control	—	40.5 ± 3.3^{bc}
Na-citrate	0.5	38.1 ± 1.8^{de}
Na-acetate	0.5	37.4 ± 2.0^e
Na-benzoate	0.5	39.7 ± 1.8^{cd}
Na-tartrate	0.5	40.0 ± 2.2^{bcd}
NaCl	0.5	34.3 ± 2.1^{fg}
Na-citrate	1	42.2 ± 1.3^{ab}
Na-acetate	1	38.1 ± 2.1^{de}
Na-benzoate	1	42.9 ± 1.6^a
Na-tartrate	1	36.1 ± 1.0^{ef}
NaCl	1	32.9 ± 0.7^g

*1 Data are shown as mean $\pm$ S.D.

*2 Different letters in the same column indicate significant differences ($p < 0.05$, $n = 3$).

Fig. 2 Effect of salt types and their concentration on tensile strength of *surimi*-based films. Bars represent standard deviation ($n = 6$). Different letters indicate significant differences ($p < 0.05$). * indicates crystallization of salt on the surface of the films. Tensile strength (MPa) = F/S . “ F ” is the maximum load (N) necessary to pull the sample apart and “ S ” is the cross-sectional area of the sample film (m^2).

Fig. 3 SDSPAGE patterns of frozen *surimi* and *surimi*-based films with different salt types: (a) salt concentration is 0.5% in film forming solution; (b) salt concentration is 1.0%. “MHC” is myosin heavy chain.

(201%)を示し、酒石酸 Na において低い値 (62%)を示した。クエン酸 Na はフィルム形成懸濁液に 0.5% 添加時と 1.0% 添加した際で有意差は無かったが、酢酸 Na, 安息香酸 Na および NaCl では添加量の増大に伴い EAB は上昇し、酒石酸 Na では減少した。酒石酸 Na 1.0% 添加により調製したフィルムは、他のフィルムと比較して EAB の値が著しく低く (62%), また、Fig. 1b に示したように塩の析出が見られ、固く脆く、

明らかに他のフィルムと異なる性状であった。

水蒸気透過性 (WVP) フィルムの WVP の結果を Fig. 5 に示した。NaCl および各種有機酸塩を添加することにより、WVP の値は対照と比較して増加した (0.96×10^{-10} – $1.5 \times 10^{-10} \text{ g} \cdot \text{m}^{-1} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{Pa}^{-1}$)。各種有機酸塩を 0.5% 添加した場合、WVP はクエン酸 Na, 酢酸 Na および NaCl において高い値 (1.20×10^{-10} – $1.24 \times 10^{-10} \text{ g} \cdot \text{m}^{-1} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{Pa}^{-1}$) を示した。有機酸塩の添加

Fig. 4 Effect of salt types and their concentration on elongation at break of *surimi*-based films. Different letters indicate significant differences ($p < 0.05$, $n = 6$). * indicates crystallization of salt on the surface of the films. Elongation at break (%) = $(E/30) \times 100$. “E” is the elongation at the moment of rupture (mm) and the “30” (mm) is the initial grip length.

Fig. 5 Water vapor permeability of *surimi* films from film forming solution (FFS) with different salt types and concentrations. Bars represent standard deviation ($n = 3$). Different letters indicate significant difference ($p < 0.05$). * indicates crystallization of salt on the surface of the films. Water vapor permeability ($\text{g} \cdot \text{m}^{-1} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{Pa}^{-1}$) = $w \cdot x \cdot A^{-1} \cdot t^{-1} \cdot (P_2 - P_1)$. “w” is the weight gain of the cup (g), “x” is the film thickness (m), “A” is the area of exposed film (m^2), “t” is the storage time (s), and “ $(P_2 - P_1)$ ” is the vapor pressure differential across the film (Pa).

量を1.0%にした場合、安息香酸Na ($9.6 \times 10^{-11} \text{ g} \cdot \text{m}^{-1} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{Pa}^{-1}$)を除き、0.5%添加フィルムと比較してWVPの値は増加し ($1.25 \times 10^{-10} - 1.5 \times 10^{-10} \text{ g} \cdot \text{m}^{-1} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{Pa}^{-1}$)、酢酸Naを添加したフィルムにおいて最も大きな値 ($1.5 \times 10^{-10} \text{ g} \cdot \text{m}^{-1} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{Pa}^{-1}$)を示した。NaClでは添加量の違いによる有意な差は見られなかった。

フィルムの光透過率および吸光度 フィルムの各波長における光透過率および吸光度の結果をTable 4に示した。塩の添加の有無、塩の種類および添加量に関わらず、すり身フィルムは200 nmおよび280 nmの紫外部

の光を透過しない性質を有していた(0.3%)。また、可視光である600 nmにおける吸光度においては、NaClおよび各種有機酸塩を0.5%添加した場合、安息香酸Na添加において最も低く(2.0)、NaCl添加においては最も高かった(7.2)。このことは、安息香酸Naを用いてフィルムを調製した場合、最も透明に近いフィルムが得られることを示している。各種塩類の添加量を1.0%にした場合、0.5%添加した場合と比較して吸光度の値は高くなる傾向を示し、NaCl添加において特に高い値(9.6)を示した。

また、各種有機酸塩添加フィルムは、添加量に関わら

Table 4 Effect of salt types and concentrations on light transmission (%) and transparency of *surimi*-based films^{1,2}

Salts	Conc. (%w/w)	Light transmission at different wavelengths (nm)							Transparency
		200	280	350	400	500	600	800	
Control	—	0.3	0.3	53.3±2.2	63.3±1.2	66.6±0.9	67.9±0.9	68.7±0.5	5.78±0.4 ^c
Na-citrate	0.5	0.3	0.3	68.5±1.4	75.5±0.5	78.7±0.4	80.1±0.4	80.9±0.5	2.72±0.1 ^g
Na-acetate	0.5	0.3	0.3	60.7±1.2	66.5±0.8	70.6±1.0	71.7±1.0	73.0±1.0	4.23±0.2 ^d
Na-benzoate	0.5	0.3	0.3	76.7±0.4	80.8±0.3	84.0±0.1	85.2±0.1	86.1±0.1	1.97±0.0 ^h
Na-tartrate	0.5	0.3	0.3	56.2±6.7	63.7±7.5	68.1±6.9	69.9±6.3	72.2±5.7	3.64±0.7 ^e
NaCl	0.5	0.3	0.3	44.9±3.7	54.3±2.8	58.6±3.2	60.9±3.2	63.9±4.0	7.15±1.1 ^b
Na-citrate	1.0	0.3	0.3	57.0±2.1	69.1±0.7	73.4±0.6	75.3±0.7	77.0±0.7	3.15±0.1 ^{efg}
Na-acetate	1.0	0.3	0.3	55.7±0.8	63.3±0.8	69.0±0.8	71.0±0.8	73.4±0.7	4.48±0.1 ^d
Na-benzoate	1.0	0.3	0.3	62.5±6.6	71.1±4.6	76.3±3.4	78.5±2.7	80.4±1.6	2.80±0.5 ^f
Na-tartrate	1.0	0.3	0.3	57.1±2.2	66.2±1.8	71.1±1.8	73.0±1.6	74.9±1.1	3.29±0.2 ^{efg}
NaCl	1.0	0.3	0.3	31.4±0.8	43.4±0.4	47.2±0.4	48.9±0.4	51.6±0.5	9.61±0.1 ^a

¹ Data are shown as mean±S.D.

² Different letters in the same column indicate significant differences ($p<0.05$, $n=3$).

Transparency = $(- \log T)/a$. “ T ” is light transmission at 600 nm. “ a ” is film thickness (mm).

ず対照と比較して低い吸光度を示し、対照のフィルムではやや白濁していた。

フィルムの色調および白色度 フィルム形成懸濁液に0.5%のNaClあるいは各種有機酸塩を添加した場合、白色度の値は酒石酸Naを添加したフィルムを除いて対照と比較して減少したが、大きな差は見られなかった(93.8–93.9)。添加量を1.0%にした場合、クエン酸Naでは白色度が増加したが、他の塩類では0.5%添加の場合と比較して有意な差は無かった。また、添加する塩の種類によってフィルムの色調および白色度に若干の差は見られたものの、大きな差は見られなかった。

考 察

本研究の結果から、スケトウダラ冷凍すり身から一定の品質を有する生分解性フィルムを調製することが可能であることが明らかとなった。よって、冷凍すり身がこれまで使用されていた水産練り製品の原料としてだけでなく、生分解性フィルムの原料として用いることができることが明らかになった。

各種有機酸塩類の添加によりタンパク質溶解度が増加したことから、これらがタンパク質可溶化剤として利用可能であることが明らかとなり、この結果は桑原ら¹⁴⁾および Leerahawong ら⁵⁾のスルメイカ筋肉を対象とした、これに含まれるタンパク質に対する有機酸塩類の及ぼす影響に関する研究結果と同様であった。塩の種類によるタンパク質溶解度の違いは、各種塩類のイオン強度の違いによるものであると考えられた。すなわち、筋原繊維を構成するミオシンフィラメントはイオン強度の増加によって溶解することが知られているが、¹³⁾ 各種塩類を0.5%添加した際のタンパク質溶解度はクエン酸Naが最も大きい値(12.7%)を示した。同濃度でのイオン

強度は、クエン酸Na、酢酸Na、安息香酸Na、酒石酸Na、およびNaClで、それぞれ0.13, 0.06, 0.03, 0.08および0.09であり、クエン酸Naが最も大きなイオン強度を有しているためであると考えられた。また、対照において、タンパク質溶解度は高かったが(7.3%)、この原因として、サンプルとして用いた冷凍すり身中に若干の水溶性タンパク質が含まれており、これが影響した可能性が示唆された。また、フィルムの厚さを測定した結果、安息香酸Naを1.0%添加したフィルムにおいて高い値(42.9 μm)を示し、NaClを1.0%添加したフィルムにおいて低い値(32.9 μm)を示した。本研究では乾燥条件を一定にし、水分活性が一定となるように乾燥を行ったため、結果としてフィルムの水分含量に差が生じ、これがフィルムの厚さに影響を与えている可能性が示唆された。Fig. 2に示すように、各種塩類の添加量の増加に伴いTSは減少した。これは、各種塩類を1.0%添加することにより、0.5%添加した場合と比較して乾燥後のフィルム中のタンパク質間に異物としての塩類が入り込み、フィルム中のタンパク質相互のネットワークが疎になったためと考えられた。クエン酸Naを添加したフィルムのTSが高い値を示したが、これはクエン酸Naが他の有機酸塩に比較して高いタンパク質溶解性(12.7%)を示したことが要因であると考えられる。すなわち、溶解したタンパク質同士の絡み合いが増加し、タンパク質分子間で疎水結合が多く形成されたためと考えられた。¹⁵⁾ また、クエン酸Naおよび酒石酸Naの添加により調製したフィルムのTSは、酢酸Na添加により調製したフィルムと比較して高かったが、この結果はコイのアクトミオシン溶液をゲル化させる際に、酢酸Naを添加したものと比較してクエン酸Naおよび酒石酸Naを添加すると強固なゲルが得られたという報告¹⁶⁾

と同様の傾向であった。

EAB は、NaCl または各種有機酸塩類の添加により対照と比較して高い値を示したが、このことからこれら各種塩類がタンパク質可溶化剤としてだけでなく、可塑剤としても作用していることが示唆された。本実験で使用した各種塩類およびグリセロールはいずれも低分子量であるため、タンパク質間に容易に入り込むことができる。そして、それらが有する親水基がタンパク質と水素結合を形成することでタンパク質間の水素結合の形成を妨げたため、EAB が増大したものの¹⁷⁾と考えられた。また、本実験で使用した冷凍すり身には冷凍変性防止剤としてソルビトールおよびショ糖が合わせて 8% 前後含まれているため、これらもフィルムの EAB に影響しているものと考えられる。Fig. 4 に見られるように、安息香酸 Na を 1.0% 添加して調製したフィルムの EAB は特に高い値 (201%) を示した。この理由に関しては各種有機酸塩の分子量や親水基の数では説明することはできず、本研究では明らかではなかった。一方で、酒石酸 Na を 1.0% 添加して調製したフィルムの EAB は低い値を示し (62%)、そのフィルムは固く脆い性状を有していた。この EAB の低下は、コンディショニングにおける塩の結晶化に伴うフィルムの脆弱化が関与していることも想定されるが、NaCl の添加によっても同様に塩の析出が見られたものの、EAB は高い値を示したため (190%)、塩の析出がフィルム性状に与える影響は明確ではなかった。

NaCl あるいは各種有機酸塩類の添加および添加量の増加に伴い WVP は増大した。これは、NaCl は高い吸湿性を示し、⁵⁾ また有機酸塩はこれが有するカルボキシル基およびヒドロキシル基などの親水基のため、WVP が上昇したものと推察された。^{17,18)} クエン酸 Na および酢酸 Na を添加したフィルムが高い WVP の値を示したが、これらが他の有機酸塩と比較して親水性が高いためかも知れない。

すり身フィルムは紫外部の光を透過しない性質を有しており、これはすり身フィルム中の芳香族アミノ酸が有する 280 nm 付近の紫外線を強く吸収する性質⁴⁾によるものであると考えられた。また、対照と比較して、各種有機酸塩を添加することにより吸光度は低い値を示した。これは、Table 2 に示すように、NaCl および各種有機酸塩の添加によりタンパク質溶解度は増加し (8.5–14.2%)、これによりタンパク質分子が溶解し、均一になった結果、吸光度が低くなったものと考えた。また、NaCl を 1.0% 添加して調製したフィルムでは最も吸光度が高く、Fig. 1b に示すように視覚的にも確認できる結晶化した塩の影響であると考えられた。一方、酒石酸 Na を添加したフィルムにおいても同様に塩の析出が見られたが、吸光度の値は低かった。NaCl を添加したフ

ィルムと酒石酸 Na を添加したフィルムとでは塩の析出の仕方が異なり、NaCl 添加のものは酒石酸 Na 添加のものに比較して細かい塩の析出であったことが原因であると考えられた。

本研究結果から、引っ張り強度が高かったこと、吸光度の値が低かったことから、クエン酸 Na を添加して調製したフィルムの性状が最も優れていると思われた。

また、クエン酸 Na を 0.5% 添加して調製したフィルムは、翁ら⁴⁾がフィルム形成懸濁液の pH を 3 に調整したすり身フィルム (7.4 MPa, 160.9% および $0.73 \times 10^{-10} \text{ g} \cdot \text{m}^{-1} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{Pa}^{-1}$) と比較すると、TS, EAB および WVP は劣っていた (5.1 MPa, 146.6% および $1.2 \times 10^{-10} \text{ g} \cdot \text{m}^{-1} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{Pa}^{-1}$)。本研究でのフィルムの TS は、翁らのものに比較して低い傾向を示したが、翁らは FFS 調製段階でのタンパク質の溶解を、pH を低くすることにより行っており、本研究のイオン強度を用いたタンパク質の溶解法と異なるが、これら調製法の違いによるものと考えられた。また、EAB に関しては、本研究ではグリセロール濃度がフィルム形成懸濁液に対して 0.6% (w/w) であったのに対し、翁らのフィルムでは 1.0% (w/w) であることから、可塑剤の絶対量の違いも一つの原因であると考えられた。WVP は添加した有機酸塩の有する親水基の影響により、有機酸塩を添加しない翁ら⁴⁾のフィルムと比較して大きくなったものと考えた。

以上のことから、有機酸塩類の添加によりフィルム諸性状の改善が可能であり、また、用いる有機酸塩の種類や添加量を変えることでフィルムの性質を用途に合わせて変えることが可能であることが明らかになった。しかし、各種性状に関して、既存のフィルムと比較してまだ劣っている点が多く、今後更なる性状改善が必要であることが示唆された。また、本研究ではフィルムの基礎研究であるため、生産性については検討を行わなかったが、今後は連続的にフィルムを調製する方法についても検討していく必要があると考えられる。

文 献

- 1) ニチモウ株式会社. 冷凍 2010; **85**: 23–25.
- 2) 黒川孝雄. 冷凍すり身の歴史. 冷凍 2010; **85**: 571–576.
- 3) Krochta JM, Baldwin EA, Carriedo MN. *Edible coatings and films to improve food quality*. Technomic Publishing, Lancaster. 1994; 279–303.
- 4) 翁武銀, Hamaguchi PY, 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. 食科工誌 2006; **53**: 103–108.
- 5) Leerahawong A, Arie R, Tanaka M, Osako K. Edible film from squid (*Todarodes pacificus*) mantle muscle. *Food Chemistry* 2011; **124**: 177–182.
- 6) 菅原 潔, 福島正美. Kjeldahl 法. 「蛋白質の定量法」(瓜谷郁三, 志村憲助, 中村道徳, 船津 勝編), 東京大学出版会, 東京. 1977; 23–73.

- 7) Folch J, Less M, Stanley GHS. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.* 1957; **226**: 497-509.
- 8) 竹下瑞恵, 大泉 徹, 赤羽義章, 竹縄誠之. コイ筋原繊維の熱変性と溶解に及ぼすグルコン酸ナトリウムの影響. *日本誌* 1999; **65**: 886-891.
- 9) Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the forin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 1951; **193**: 265-275.
- 10) ASTM. *Annual book of ASTM standards*. American society for testing and materials. Philadelphia PA. 1999.
- 11) Gontard N, Guilbert S, Cuq JL. Edible wheat gluten films: Influence of the main process variables on film properties using response surface methodology. *J. Food Sci.* 1992; **57**: 190-195.
- 12) ASTM. *Annual book of ASTM standards*. American society for testing and materials. Philadelphia PA. 1987.
- 13) Laemmli UK. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T₄. *Nature* 1970; **227**: 680-685.
- 14) 桑原浩一, 大迫一史. スルメイカ外套膜筋の加熱ゲル形成に及ぼすグルコン酸ナトリウムの影響. *日本誌* 2003; **69**: 637-642.
- 15) 珠玖裕介, Hamaguchi PY, 翁武銀, 田中宗彦. 魚類筋原繊維タンパク質由来の生分解性フィルム形成メカニズム. *食科工誌* 2005; **52**: 325-329.
- 16) Noguchi S, Matsumoto J. Modification of thermal and non-thermal gelation of carp actomyosin by additive compounds. *Nippon Suisan Gakkaishi* 1978; **44**: 273-278.
- 17) Cuq B, Gontard N, Coq JL, Gilbert S. Selected functional properties of fish myofibrillar protein-based films as affected by hydrophilic plasticizers. *J. Agric. Food Chem.* 1997; **45**: 622-626.
- 18) McHugh TH, Aujard JF, Krochta JM. Plasticized whey protein edible films: water vapor permeability properties. *J. Food Sci.* 1994; **59**: 416-419.