

# pHの移動による赤身魚筋形質 タンパク質の不溶化 (その1)\*1,2

田川 昭 治

Insolubilization of Sarcoplasmic Proteins of Red-Muscle Fishes  
by pH-Shifting (1)

By  
Shōji TAGAWA

Insolubilization of sarcoplasmic protein caused by shifting the pH of the extract from red-muscle fish was examined by using the 0.5 % NaHCO<sub>3</sub> extract (about pH 7) of sardine muscle. This pH-shifting consists of primary acidification of the extract to pH below 4 or alkalization to pH over 10 and successive neutralization to the pH 6.5 to 8 range. This pH-shifting caused a much greater insolubilization than a precipitation method in which the pH was adjusted to the isoelectric point. Insolubilization increased with a decrease in pH in the acidification or an increase in pH in the alkalization. A greatest insolubilization was attained by the final shifting of pH to the region of 6.5 to 8 in both cases of acidification and alkalization, regardless of the protein-nitrogen concentration of the extract. Insolubilization, however, decreased remarkably when the extract of a lower protein-nitrogen concentration was finally shifted either to pH below 6 after the acidification or pH 9 after the alkalization. It seemed that this pH-shifting is effectively applicable not only to the recovery of sarcoplasmic protein in the wastewater from fish-processing plant, but also to the pre-treatment for the biological purification of the wastewater.

## 1. 結 言

近年、わが国におけるイワシ類およびサバ類の漁獲高はきわめて高水準を続けており、昭和53年度にはマイワシ・ウルメイワシの漁獲高は168万トン、サバ類のそれは163万トンにも及んでい

る<sup>1)</sup>。しかしながら、食用向け配分量比率はマイワシ・ウルメイワシで30%弱、サバ類で50%弱にすぎない<sup>2)</sup>。

このような実情が背景となって、水産庁では昭和52年度から「多獲性赤身魚高度利用技術開発」、  
「水産加工廃棄物等利用技術開発」という二つの

\*1 水産ねり製品工場における水晒し廃液からタンパク質の回収に関する試験—II  
(Experiments on Protein Recovery from the Fluid Discharged in the Leaching Process of  
“kamaboko” Processing—II)

\*2 水産大学校研究業績 第916号, 1981年8月10日受理。  
Contribution from Shimonoseki University of Fisheries, No. 916. Received Aug. 10, 1981.

プロジェクト研究を実施している。前者では赤身魚の原料魚処理装置の開発研究と、冷凍すり身、冷凍フィッシュブロック、マリニビーフなどの食品中間素材の製造技術の研究とが行なわれている。後者では加工廃水からの油の回収、水溶性タンパク質の凝集と回収、さらに回収スクムの飼料化や食品素材化などの研究が行なわれている。

本研究は「水産加工廃棄物等利用技術開発研究」の一環として、pH 移動法<sup>3,4)</sup>による赤身魚筋形質タンパク質の不溶化を検討したものである。

## 2. 試料および実験方法

### 2.1 試料

市販の生鮮マイワシ (*Sardinops melanosticta*) を三枚におろし、その筋肉部 (血合肉を含む) を 3 mm 目の肉挽機に 3 回通した。この挽肉を、5 倍量の 0.5% 炭酸水素ナトリウム溶液に 10℃ 以下でときどきかきまぜながら 20 分間浸漬した。この懸濁液を二重に重ねたカーゼで濾過し、濾液をさらに遠沈 (7,500×g, 5℃, 20分) して得た上澄液 (ほぼ pH 7) を、水で適当に希釈して試料とした。

### 2.2 実験方法

**2.2.1 pH 移動法** 次の二つの方法によって pH を移動した。酸シフト法：試料に 3N または 0.1N の塩酸を加えて、その pH を 2~4 の一定値 (一次調整 pH 値と仮称) に移動する。次いで、これに 3N または 0.1N の水酸化ナトリウム溶液を加えて、pH を 5~9 の一定値 (二次調整 pH 値と仮称) に移動する。アルカリシフト法：試料に 3N または 0.1N の水酸化ナトリウム溶液を加えて、その pH を 10~12 の一定値 (一次調整 pH 値と仮称) に移動する。これに 3N または 0.1N の塩酸を加えて、その pH を 5~9 の一定値 (二次調整 pH 値と仮称) に移動する。

**2.2.2 不溶化率の測定** pH の移動によって不溶化・凝集したタンパク質を遠沈 (7,500×g, 20分) によって分離した。これを常法により硫酸を加えて加熱分解後、セミマイクロケルダール法によって窒素を定量し、不溶化率を算出した。

## 3. 結果ならびに考察

### 3.1 不溶化率に対する一次調整 pH 値の影響

一次調整 pH 値をいろいろと変えたときの酸シフト法の結果を Fig. 1 に、アルカリシフト法の結果を Fig. 2 に示す。

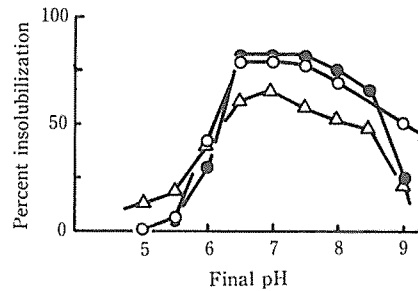


Fig. 1. Insolubilization of sarcoplasmic protein from sardine by pH-shifting. Each plot shows the percent insolubilization when the extract (protein-nitrogen conc.: 152 mg dm<sup>-3</sup>) was primarily acidified to pH 2 (●), 3 (○), 4 (△), and then shifted finally to a definite pH on the abscissa.

酸シフト法では、二次調整 pH 値が 6.5~8.5 の範囲では一次調整 pH 値が低いほど高い不溶化率が得られた。しかし、二次調整 pH 値が 6.5 未満あるいは 9 では、一次調整 pH 値と無関係に不溶化率が顕著に低下した。また、一次調整 pH 値が 2 または 3 で二次調整 pH 値が 6.5~7.5 のときに最高の不溶化率が得られた。

イワシ<sup>5)</sup>、サバ<sup>6)</sup>のどちらについても、試料の pH を 7 から 2 に移動するのに必要な酸の量は、7 から 3 に移動するのに要する量のほぼ 2 倍である。したがって、一次調整 pH 値の設定にあたっては、不溶化率と pH 調整用薬剤の所要量との両者を考慮すべきであろう。

アルカリシフト法では二次調整 pH 値が 5~8.5 の範囲で一次調整 pH 値が高いときほど高い不溶化率が得られた。

等電点沈殿法は、ある特定の pH (等電点) においてタンパク質の溶解度が最小となる性質を利用するものであるが、Fig. 2 に見られるように、その不溶化率は pH 移動法によるそれにくらべて著

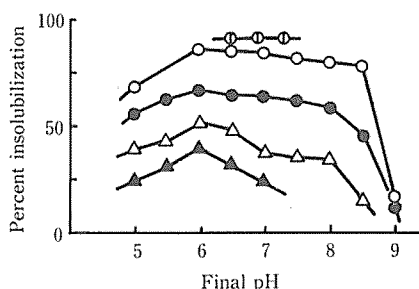


Fig. 2. Insolubilization of sarcoplasmic protein from sardine by pH-shifting. Each plot shows the percent insolubilization when the extract (protein-nitrogen conc.  $341 \text{ mg dm}^{-3}$ ) was primarily alkalinized to pH 10 ( $\Delta$ ), 11 ( $\bullet$ ), 12 ( $\circ$ ), and then shifted finally to a definite pH on the abscissa. Percent insolubilization when the extract was either acidified to pH 2 and thereafter shifted to a definite pH ( $\odot$ ), or directly acidified to a definite pH ( $\blacktriangle$ ), was also indicated in the figure.

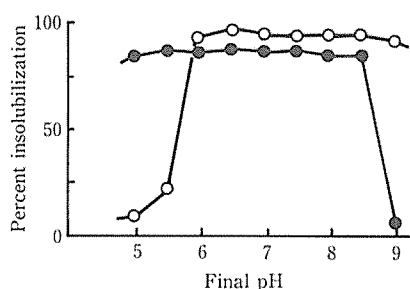


Fig. 3. Effect of final pH value on insolubilization of sarcoplasmic protein from sardine. Each plot shows the percent insolubilization when the extract (protein-nitrogen conc.:  $764 \text{ mg dm}^{-3}$ ) was primarily either acidified to pH 2 ( $\circ$ ) or alkalinized to pH 12 ( $\bullet$ ), and then shifted to a final pH on the abscissa.

しく低い。

なお、酸シフト法では一次調整 pH 値が低いときほど、またアルカリシフト法では高いときほど、高い不溶化率が得られる二次調整 pH 値の範囲が広くなる傾向が見られた。

### 3.2 不溶化率に対する二次調整 pH 値の影響

Fig. 3 に示すように、酸シフト法では二次調整 pH 値が 5.5 以下では不溶化はきわめておこりにくい。しかし、5.5 をこえると不溶化が顕著におこり、6~9 の範囲で 90% 以上の不溶化率が得られた。

これに対し、アルカリシフト法で、塩酸を添加して pH を 12 から次第に下げていくと、二次調整 pH 値が 9 付近まではタンパク質の不溶化はきわめてわずかであるが、8.5 以下になると顕著な不溶化がおこった。しかし、不溶化率は 90% 未満で酸シフト法のそれには及ばなかった。

このように、マイワシでは、酸シフト法によると二次調整 pH 値 5.5~6 に、アルカリシフト法によると 8.5~9 に、筋形質タンパク質の不溶化をお

こす pH の閾値が見られた。酸シフト法およびアルカリシフト法におけるこの閾値を今迄の報告から読取ると、グチ<sup>2)</sup>ではそれぞれ pH 4.5~5 および pH 8~10、ワニエソ<sup>3)</sup>では pH 5~6 および pH 8~9、マアジ<sup>7)</sup>では pH 4~5 および pH 8~10 となって、魚種によりこの閾値が多少異なっているようである。しかしながら、pH 4~6 および pH 8~10 という値は、タンパク質に存在する酸性基の  $pK_a$  値および塩基性基の  $pK_b$  値にそれぞれ類似していることから、pH の移動によるこの不溶化が、これらの基の電離状態の変化に基づくタンパク質の立体構造の変化に起因する<sup>7)</sup>ことは確かであろう。したがって、酸シフト法では二次調整 pH 値が 4~6 より大きくなれば、またアルカリシフト法では 8~10 より小さくなれば、どの魚種でも筋形質タンパク質の顕著な不溶化がおこると考えられる。

なお、二次調整 pH 値が 6~7.5 の範囲では、不溶化したタンパク質が凝集して大きな粒子となり、沈降がすみやかで、上澄液の透明度もきわめて良好であった。一方、二次調整 pH 値が 6 未満および 8 以上では、凝集した粒子が小さくて、沈降も遅く、上澄液がわずかに白濁した。

### 3.3 不溶化率に対する試料のタンパク質窒素濃度の影響

酸シフト法では一次調整 pH 値を 2 とし、アルカリシフト法では 12 とし、二次調整 pH 値 5 ~ 9 の範囲で、タンパク質窒素濃度の異なる試料について不溶化率を調べた。その結果は Fig. 4 に示すとおりである。

二次調整 pH 値が 6 以下 {Fig. 4 の (A) ~ (C)} および 8.5 以上 {Fig. 4 の (H) と (I)} のとき、不溶化

率にタンパク質窒素濃度が影響した。すなわち、pH 6 以下ではタンパク質窒素濃度が小さくなるほど酸シフト法における不溶化率が著しく低下した。また、pH 5 および 5.5 {Fig. 4 の (A) と (B)} ではアルカリシフト法における不溶化率にもほぼ同様の傾向が見られた。これに対し、pH 9 {Fig. 4 の (I)} では、タンパク質窒素濃度が小さいときにアルカリシフト法における不溶化率の低下が顕著であった。

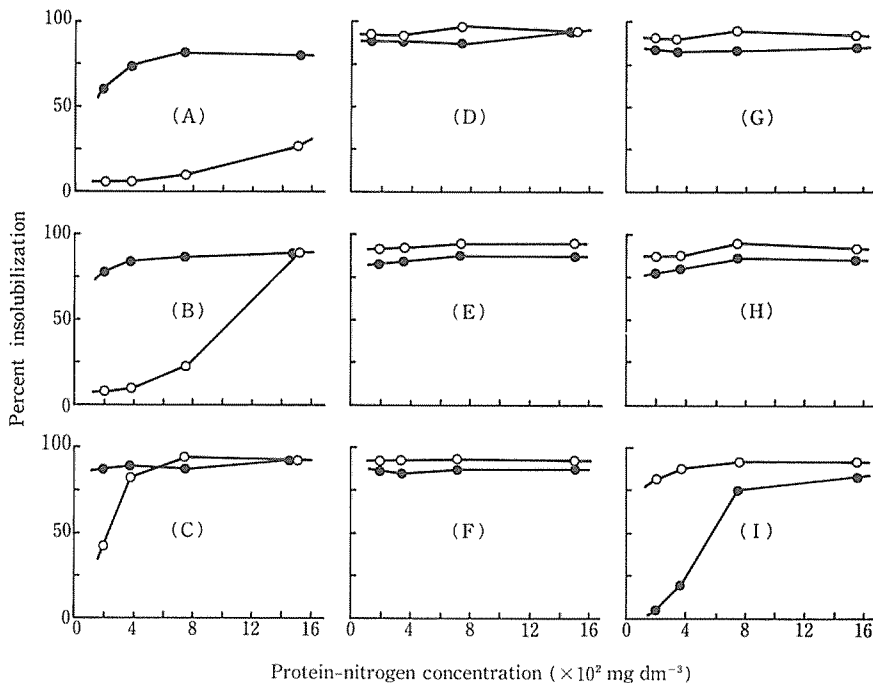


Fig. 4. Effect of protein-nitrogen concentration on insolubilization of sarcoplasmic protein from sardine. Each plot shows the percent insolubilization when the extract which was primarily either acidified to pH 2 (○) or alkalified to pH 12 (●) was shifted finally to pH 5 (A), 5.5 (B), 6 (C), 6.5 (D), 7 (E), 7.5 (F), 8 (G), 8.5 (H), and 9 (I).

二次調整 pH 値が 6.5 ~ 8 の範囲では不溶化率がきわめて高く、しかもタンパク質窒素濃度の影響を受けなかった。不溶化したタンパク質を分離したあとの廃水を生物学的に二次処理する場合でも、あるいは直接排出する場合でも、その pH が中性付近であれば pH を再調整する必要がない。pH の移動で高い不溶化率の得られる二次調整 pH 値が先に述べたように 6.5 ~ 8 であることは、上記

の点からきわめて好都合である。

また、二次調整 pH 値が 6.5 ~ 9 の範囲では、タンパク質窒素濃度と無関係に、酸シフト法における不溶化率がアルカリシフト法におけるそれよりも高かった。

## 4. 結 言

pH 移動法は等電点沈殿法にくらべて、筋形質

タンパク質の不溶化率が高いという点ですぐれている。したがって、本法は廃水から水溶性タンパク質を回収する技術として有用であるばかりでなく、廃水を生物学的に処理するときの前処理手段としても有用であると考えられる。

終わりに、本実験に協力された水産大学校卒論研究学生 松下範朗、山本博三の両君に感謝する。なお、本実験は「水産加工廃棄物等利用技術開発研究」(水産庁)の研究費によったことを付記する。

### 文 献

- 1) 農林水産省統計情報部編：第54次農林水産省統計表，昭和53年～54年，農林統計協会，東京，1979.
- 2) 中井 昭：魚—その資源・利用・経済（川崎 健・河端俊治・長谷川 彰編），初版，恒星社厚生閣，東京，1980，p. 7.
- 3) 小島良夫・山田金次郎・大庭安正・河内正通・田川昭治：水産大研報，20，265～277（1972）.
- 4) 田川昭治・河内正通・大庭安正・山田金次郎・小島良夫：水産大研報，24，37～46（1975）.
- 5) 田川昭治：未発表
- 6) 古宇田 恭・奥村 憲・佐々木繁司：昭和55年度水産加工廃棄物等利用技術開発研究実行検討委員会資料，1981年4月.
- 7) 西岡不二男・志水 寛：日水誌，45，1557～1561（1979）.