pH の移動による赤身魚筋形質 タンパク質の 不溶化 (その 2)*1,2

田川昭治

Insolubilization of Sarcoplasmic Proteins of Red-Muscle Fishes by pH-Shifting (2)

By Shōji Tagawa

Insolubilization of sarcoplasmic protein caused by shifting the pH of extract was investigated with 0.5% sodium hydrogen carbonate extract of sardine and mackerel muscles. This shifting of pH was carried out by mixing two portions of the extract, one of which was previously acidified with sulfuric acid and the other portion alkalified with sodium hydroxide. The insolubilization greatly depended on the pH of the extract before and after the mixing. The percent insolubilization was higher when a extract of pH 2 was mixed with that of pH 12 than when a extract of pH 3 or 4 was mixed with that of pH 11 or 10, respectively. Insolubilization was remarkable as acidified and alkalified extracts were mixed so that the resultant mixture may give a pH value ranging from 5 to 8. The percent insolubilization hardly depended on protein-nitrogen concentration of the extract when the pH of resultant mixture was 6 to 7, however, it decreased with decrease in protein-nitrogen concentration when the pH after mixing was below 5. This procedure reduces the amount of acid and base required in the earlier method of pH-shifting.

1. 緒 言

筆者は前報"において、マイワシの筋肉抽出液の pH を移動させることによって起こる筋形質タンパク質の不溶化を検討した。その結果、あらかじめ pH を $2 \sim 3$ に調整した抽出液ではその pH が $5 \sim 6$ より大きくなるように、あるいは pH を $11 \sim 12$ に調整した抽出液では $8 \sim 9$ より小さくなるように、それぞれの pH を再調整すれば、筋形質タンパ

ク質の顕著な不溶化が起こることを明らかにした。

今回は、酸性側の一定 pH に調整した抽出液と、アルカリ性側の一定 pH に調整した抽出液とを、それらの pH が 5 \sim 8 になるように混合することによっても、前報¹¹ の場合と同様に、筋形質タンパク質の不溶化が起こることを明らかにし、この方法では、pH の調整に必要な薬剤の量を、前報¹¹ の場合の半分に節減できることを報告する。

^{* 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—III (Experiments on Protein Recovery from the Fluid Discharged in the Leaching Process of "kamaboko" Processing—III)

^{* 2} 水産大学校研究業績 第 932 号, 1981 年 11 月 26 日受理. Contribution from Shimonoseki University of Fisheries, No. 932. Received Nov. 26, 1981.

2. 試料および実験方法

2.1 試料

市販のマイワシ Sardinops melanosticta およびマサバ Scomber japonicus から、常法によって落し身を調製し、さらに 3 mm 目の肉挽機に通したあと、ポリエチレンの袋に入れて -20° C に貯蔵した。使用にあたっては、この挽肉を室温で解凍し、5 倍量の0.5 %炭酸水素ナトリウム溶液に、 10° C 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ガーゼで濾過し、濾液をさらに遠沈 $(7.500\times g,5^{\circ}C,20$ 分)した。この上澄液(ほぼ pH 7)あるいは適当に水で希釈した上澄液を、一定の pH に調整し、試料として用いた。

2.2 実験方法

3 N硫酸または 3N塩酸(とくに断らないかぎり硫酸を使用した)で酸性側の一定 pH に調整した試料と,3N水酸化ナトリウム溶液を加えてアルカリ性側の一定 pH に調整した試料とを,いろいろの割合に混合する。この混合によって不溶化したタンパク質を遠沈(7,500×g,20分)によって分取し、常法にしたがって分解したあと、セミミクロケルダール法によって窒素を定量してタンパク質の不溶化率を算出する。

3. 結果ならびに考察

3·1 不溶化率におよぼす試料の pH の影響

マイワシからの上澄液の一部を pH 2, 3, 4 および 5 に, 別の一部を pH 9, 10, 11 および12に調整した。これらを, pH 2 の試料と pH 12 の試料, pH 3 の試料と pH 11 の試料, ……という組合せで, いろいろの割合に混合して, 不溶化率におよぼす試料の pH の影響を検討した。結果は Fig. 1 に示すとおりである。

混合後の pH が同じであれば、pH 2 と pH 12 の両試料を混合したときに不溶化率がもっとも高く、pH 5 と pH 9 の両試料を混合したときにもっとも低かった。

pH 2 の試料と pH 12 の試料とを混合したときには、混合後の広い pH 領域で高い不溶化率がえられた。一方、混合前の両試料の pH の差が小さくなるにしたがい、高い不溶化率のえられる混合後の pH の領域が狭くなった。

しかしながら、混合後の pH が $5\sim6$ の範囲であれば、pH 4 の試料と pH 10 の試料とを混合したときの不溶化率は、pH 2 の試料と pH 12 の試料とを混合したときの不溶化率よりわずかに低い程度であった。これは注目すべき結

果である。なぜならば、前報"でも述べたように、試料のpHを7から4に、あるいは7から10に移動するのに要する薬剤の量は、pHを7から2に、または7から12に移動するのに要する量の、それぞれ半分以下ですむからである。

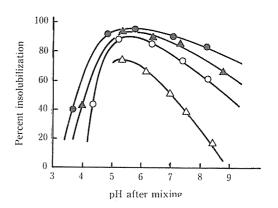


Fig. 1. Effect of pH before mixing on insolubilization of sarcoplasmic protein in extract. An 0.5%-NaHCO₃ extract (protein-nitrogen concentration:490 mg dm⁻³) from sardine was divided into 8 portions. Four portions of them were acidified to pH 2, 3, 4 and 5, and the remaining alkalified to pH 9, 10,11 and 12. Each plot shows the percent insolubilization obtained after mixing of the extracts of pH 2 and pH 12(♠), of pH 3 and pH 11(♠), of pH 4 and pH 10(○), of pH 5 and pH 9(△).

3·2 不溶化率におよぼす混合後の pH の影響

マイワシおよびマサバからの上澄液をそれぞれ二つに分け、一方を pH 2 に、残りを pH 12 に調整した。この両者を、pH が $3\sim10$ になるようにいろいろの割合に混合して、そのときの不溶化率がどのように変わるかを調べた。

Fig. 2 に示すように、マイワシおよびマサバのいずれでも、混合後の pH が $5\sim8$ の領域で高い不溶化率がえられ、5 未満あるいは 8 より大きくなると不溶化率が顕著に低下した。

Fig. 1 および Fig. 2 から、pH を 4 以下に調整した試料と10以上に調整した試料とを、それらの pH が $5\sim8$ になるように混合することによって、前報 11 の場合におとらない不溶化の起こることが明らかになった。

したがって、この方法では、前報いの方法にくらべて、薬剤の所要量をほぼ半分に節減できる。

3・3 不溶化率におよぼす試料のタンパク質窒素濃度の影響

適当に希釈したマイワシおよびマサバからの上澄液をそれぞれ二つに分け、一方を pH 2 に、他方を pH 12 に調整した。この両方を、pH 5 が 4 、5 、6 および 7 になるように混合して、試料のタンパク質窒素濃度が不溶化率にどのように影響するかを調べた。その結果は Fig. 3 に示すとおりである。

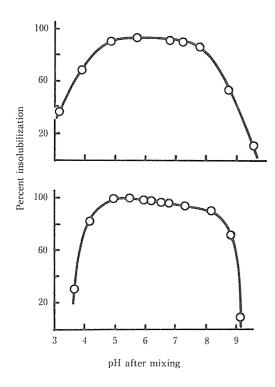


Fig. 2. Effect of pH after mixing on insolubilization of sarcoplasmic protein in extract. Both 0.5%-NaHCO₃ extracts from sardine (upper, proteinnitrogen concentration: 530 mg dm⁻³) and mackerel (lower, proteinnitrogen concentration: 1210 mg dm⁻³) were divided into two portions. After one portion was acidified to pH 2 and the other alkalified to pH 12, these two were mixed in different proportions so that the resultant mixture may give a pH on the abscissa.

この図から明らかなように、マイワシおよびマサバのいずれでも、混合後のpHが6または7であれば不溶化率が85~95%と高く、タンパク質窒素濃度は不溶化率にほとんど影響しなかった。しかし、pHが5,さらに4に低下すると、タンパク質窒素濃度が小さくなるにしたがい、不溶化率が顕著に低下した。

3·4 pH 調整に用いる酸の種類が不溶化率におよぼす影響

pH を調整するのに硫酸を用いるときと塩酸を用いると きとで、不溶化率に差が生じるかどうかを調べた。その結 果を Fig. 4 に示す。

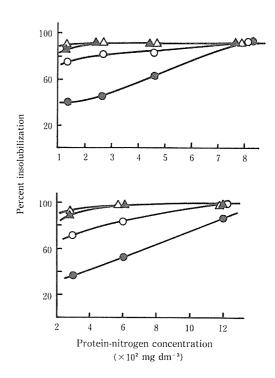


Fig. 3. Effect of protein-nitorgen concentration on insolubilization of sarcoplasmic protein in 0.5%-NaHCO₃ extracts from sardine (upper) and mackerel (lower). After each extract was divided into two portions, one was adjusted to pH 2 and the other to pH 12. These two portions were mixed so that the pH of resultant mixture became 4(♠), 5(○), 6(♠) and 7(△).

混合後の pH が $6 \sim 7$ 付近であれば、硫酸を用いても塩酸を用いても不溶化率は同程度であった。しかし、pH が $6 \sim 7$ より酸性側あるいはアルカリ性側にずれるにしたがい、塩酸を用いたときの不溶化率は硫酸を用いたときのそれより低くなった。

別に、同一規定度の塩酸および硫酸を用いて、上澄液のpHを7から4に移動するのに必要な酸の量を調べた。その結果、マイワシおよびマサバのどちらでも、タンパク質窒素濃度の大小にかかわらず、硫酸の所要量は塩酸のそれの1.2倍であった。この所要量と、これらの酸の価格とを考

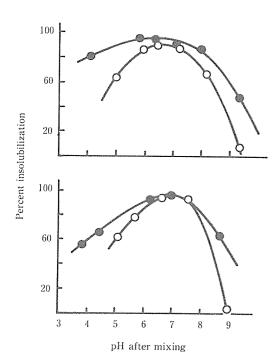


Fig. 4. Effect of kind of acid used for pHadjustment on insolubilization of sarcoplasmic protein in 0.5%-NaHCO3 extracts from sardine (upper, protein-nitrogen concentration: 550 mg dm⁻³), and mackerel (lower, protein-nitrogen concentration:890 mg dm⁻³), A part of each extract was acidified to pH 2 with either HCl (\bigcirc) or $H_2SO_4(\bigcirc)$, and the other part alkalified to pH 12 with NaOH. Each acidified extract was mixed with the alkalified one so that the resultant mixture may give a pH on the abscissa.

慮すると、上澄液の pH を 7 から 4 に移動するのに要する 経費は、硫酸を用いる場合には塩酸を用いる場合のほぼ半 分ですむことになる。

4. 結 言

それぞれ酸性側およびアルカリ性側の一定 pH に調整した抽出液同士を、それらの pH が $5\sim8$ になるように混合することによって、筋形質タンパク質の顕著な不溶化が起こることを明らかにした。この方法では、薬剤の所要量を前報 11 の場合の半分に節減することができる。

終わりに,この実験に協力された本校卒論研究学生 林 恭司君に感謝する。なお,この研究は「水産加工廃棄物等 利用技術開発研究費」(水産庁)によったことを付記する。

文 献

1) 田川昭治:水産大研報, 30, 25~29 (1981). ,