電解凝集による魚肉水溶性タンパク質の回収法

長谷川 浩・渡辺 尚彦・高井 陸雄

(1981 年 7 月 1 日受理)

Methods of Recovery of Fish Muscle Water-soluble Protein by Electrocoagulation

Hiroshi HASEGAWA*, Hisahiko WATANABE*, and Rikuo TAKAI*

Two methods were examined. In one method, the anolyte was first adjusted to the pH value for maximum coagulation by mixing of a part of the catholyte. The resulting coagulum was recovered. Then the mixture without the coagulum was mixed with the remainder of the catholyte; the coagulum which was produced at that time was also recovered. The anolyte was finally mixed with the catholyte in 1:1 volume ratio. The final mixture was almost neutral. The over-all coagulation was 71-81%, regardless of the concentration of protein. In the other method, the anolyte and catholyte obtained were electrolyzed again after the inversion of electrodes until the electrolytes were almost neutral. The coagulation in the method was about 35%. This coagulation is less than the coagulation obtained in mixing the anolyte directly with the catholyte in 1:1 volume ratio. The recovery seems to be due to dissolution of the coagulum in the strong alkali layer produced near the cathode.

著者らは先に、魚肉水溶性タンパク質水溶液を電解することによって水溶性タンパク質を凝集する方法について報告した。¹⁻⁵⁾ 電解による凝集は主として陽極液中で起り、陰極液中での凝集は極く僅かである。従って、そのまま凝集タンパク質を回収すると後に酸性の水溶液が残り、実用的見地からは望ましくなく、何等かの方法で中和する処理が必要である。一方、著者らは、相当程度電解を行って得た陰陽両電解液を混合し、種々な pH 値の混合物を調製すると、pH 値に応じた凝集率で水溶性タンパク質の凝集が起り、pH 値 7 附近でも相当な凝集率を示すことを報告した。^{6,7)}

本報告は陰陽両電解液を等容量混合してほぼ中性の混合物を調製し、生成する水溶性タンパク質凝集物を回収する方法と、水溶性タンパク質溶液を電解し、そのままの状態で電極を反転させて再びほぼ中性になるまで電解して水溶性タンパク質凝集物を回収する方法とを検討した結果である。

実験方法

水溶性タンパク質 供試液 スケトウダラ *Theragra chalcogramma* の魚肉水溶性タンパク質溶液で、その調製法は前報⁹⁾ の通りである。供試液中のタンパク質濃度は、特に記載のない限り 1.0~1.1 N-mg/ml、供試液の pH 値は 6.8~6.9 であった。

電解槽および電解の手順 電解槽は厚さ 1 mm の板ガラスで作製され、その寸法は 5×12×6 cm である。それに白金板電極 (3.0×3.4 cm) を 12 cm 隔てた両壁に接して 2 個挿入する。両電極の間の中央には、焼結ガラス板 (G-3) (3×3 cm) をつけた隔膜を設ける。その隔膜は実験毎に装着し、実験終了後は、取り外して洗浄することができる。

電解は供試液を隔膜の両側に 140 ml ずつ入れて行い、電解中電解槽は氷水で外部冷却により冷却し、電解液は陰陽両電極別々に絶えず攪拌する。その結果、両電解液の温度は 8°C 以上にはならなかった。電解中は電解電流を 120 mA に保持するよう電圧を変えて調節した。供試液の電導性を変えるには電解前に KCl を供試液に添加した。電解は陰極液の pH 値が 11.0~11.5 になるまで行うことを目標とした。

電極を反転しての電解は、初めの電解終了後直ちに電源の極を交換し、他はそのまま供試液の電解と同様に行い、電解液の pH 値がほぼ供試液のそれと同じになるまで行った。

電解所要時間は、供試液の場合は大体 60 min であり、電極反転後のそれは 30~40 min であった。

陰陽両電解液の混合 陰陽両電解液を混合する場合は、両電解液とも凝集物存在のまま攪拌しつつ秤取して混合した。すなわち、1:1 容量比での直接混合には、両

* 東京水産大学食品工学科 (Department of Food Engineering, Tokyo University of Fisheries, Konan-4, Minato, Tokyo 108).

電解液を 10 ml ずつビレットで秤取し、一度に混合した。分割混合の場合は、両電解液をそれぞれ 30 ml ずつ秤取し、まず陽極液中に陰極液を混合して所定の pH 値の混合物を調製し、そこで生成している凝集物を遠心分離 (約 $2 \times 10^4 \times g$, 15 min) する。その後この上澄液に残りの陰極液全量を混合した。

タンパク質濃度の測定 前報³⁾と同様ビュレット法によった。

水溶性タンパク質の凝集率の計算 前報³⁾と同じであるが、凝集物存在のままの試料中の全タンパク質量が計算のために必要な場合は、凝集物がすべて溶解していた凝集物生成前の試料のタンパク質濃度を用いて計算した。

結果と考察

分割混合法 著者らは既にスケトウダラ水溶性タンパク質溶液を電解して得た陰陽両電解液を混合すると酸性側に凝集率最高を示すことを報告³⁾した。本法は始め陽極液に陰極液を混合して凝集率最高の pH 値に調節し、そこで生成した凝集物を分離回収し、つづいて、凝集物を除去した混合液に陰極液を加えて pH 値をほぼ中性とし、再び生成する凝集物を分離回収しようとする試みである。両電解液は凝集物存在のまま混合に用い、混合比は最終的には 1:1 容量比である。

西岡ら⁶⁾は既にマアジの筋形質タンパク質の水溶液に NaCl を加え、HCl の添加によって水溶液の pH 値を変えて等電沈殿に対する NaCl の影響を調べ、水溶液中の NaCl 濃度の上昇と共に等電点が酸性側に移ると同時に、等電点における凝固率が上昇する傾向があることを指摘している。本法においては、電解の際に電導性を増すために KCl を添加する場合があるので、凝集率最高

Fig. 1. Relationship between coagulation of water-soluble protein and pH value in mixture of anolyte and catholyte. ○, mixture of anolyte (pH 4.3) and catholyte (pH 11.2) without addition of KCl; △, mixture of anolyte (pH 4.0) and catholyte (pH 11.3) with addition of KCl (KCl conc. 1%). The pH value of the mixture was adjusted by mixing of anolyte and catholyte in various proportions.

を示す pH 値がどう変わるかを調べておく必要がある。そのために、水溶性タンパク質供試液をそのまま用いて得た電解液と、供試液に KCl を 1% 添加した溶液を用いて得た電解液とについて、前報³⁾と同様に陰陽両電解液を種々の割合で混合して混合物の pH 値を変え、混合物におけるタンパク質凝集率と pH 値との関係を調べた。その結果を Fig. 1 に示す。

Table 1. Coagulation of water-soluble protein by mixing of anolyte and catholyte

Exp. no.	KCl conc. (%)	pH value of electrolyte		Divided mixing*1							Direct mixing*2	
		Anolyte	Catholyte	Partial mixture			Final mixture		Over-all coag. (%)	pH	Coag. (%)	Coag. (%)
				Catholyte (ml/30 ml anolyte)	pH	Coag. (%)	pH	Coag. (%)				
1	0	4.3	11.2	14.1	5.8	75	7.0	36	71	6.9	64	
2	0.7	3.9	11.3	14.1	5.5	80	6.8	37	74	6.8	61	
3	1.0	4.0	11.3	4.8	4.7	85	7.1	44	72	6.8	59	
4	1.0	4.3	11.1	3.1	4.7	78	7.0	64	80	6.8	52	
5*3	1.0	4.4	11.1	1.7	4.7	77	7.3	55	73	7.1	44	

*1 At first, anolyte was mixed with a part of catholyte and the coagulum resulted was separated by centrifuge. Then the supernatant was mixed with the remainder of the catholyte. Anolyte was finally mixed with catholyte in 1:1 volume ratio.

*2 Anolyte was directly mixed with catholyte in 1:1 volume ratio.

*3 The water-soluble protein solutions used in Exp. no. 1-4 (protein conc. 1.0-1.1 N-mg/ml) were prepared from different frozen Alaska pollack samples, but one used in Exp. no. 5 (protein conc. 0.54 N-mg/ml) was prepared by diluting one used in Exp. no. 4 (protein conc. 1.04 N-mg/ml) with 1% KCl solution.

Fig. 1 より、電解で変性されたと考えられる水溶性タンパク質においても、西岡ら⁹⁾の指摘したと同様の傾向が認められる。

⁸⁾ Fig. 1 の事実を基にして、凝集に最適の pH 値を選択し、等容量比に分割混合した場合と、直接一度に混合した場合との総括凝集率を比較したのが Table 1 中の実験番号 1~4 であり、供試液中のタンパク質濃度を希釈により変え、総括凝集率に対するタンパク質濃度の影響を調べたのが実験番号 4 と 5 である。Table 1 より、両電解液を最終的には 1:1 容量比に混合して凝集タンパク質を回収するにしても、分割混合法による総括凝集率は、始めから一度に混合する方法による凝集率より高いことが判る。また、含有する水溶性タンパク質濃度を 1/2 に減少させても、分割混合法によるタンパク質の総括凝集率にはそれに対応する程差が現れないといえる。

電極反転法 Table 1 でも判るように、陰陽両電解液を 1:1 容量比に混合すると、混合物の pH 値は供試液のそれとほぼ同一にも拘わらず、相当量の凝集物が得られる。そこで供試液の電解によって得られた電解液を、電極を反転させて再び電解し、電解液の pH をほぼ中性にする方法でタンパク質凝集率がどうなるかを調べた結果が Table 2, 3 である。

Table 2, 3 に示すように、電解電流 120 mA を保持するための電解電圧は、電極反転後のそれを含めて、KCl

の濃度が大きい場合を除き、電解の初めから徐々に上昇し、その傾向は KCl を添加しない場合は特に著しい。電解電圧が大きい場合は、前報⁹⁾で述べた電極近傍の境界層中におけるジュール熱の影響によるタンパク質の熱変性がそれだけ大きいと考えられる。

Table 2 に見られるように、陽極液中の凝集率は KCl 濃度増大と共に大きくなる。それは Fig. 1 で示した実験結果ならびに西岡ら⁹⁾が報告している実験結果を考慮すれば、等電凝集点が酸性側に移ると同時に凝集率も上昇する傾向が表れたものと考えられる。Table 2 で示される陽極液の pH 値で必ずしも最高凝集率を示すとは限らない。

Table 2 に示す混合物 (Mixture-I) 中の凝集率は KCl 濃度が大きくなる程小さくなっている。しかし、いずれの場合もその陰陽両電解液 (Anolyte-I, Catholyte-I) の単純な混合物として計算した凝集率よりも小さくはない。これに反し、Table 3 に示すように、電極反転の上電解してほぼ中性にした電解液 (Anolyte-II, Catholyte-II) の混合物 (Mixture-II) の凝集率は、いずれの場合も両電解液の単純な混合物として計算した凝集率と極めてよく一致し、しかも Table 2 に示す混合物 (Mixture-I) のそれより常に小さい。これは一挙に 1:1 容量比に混合して中性にするか、徐々に時間をかけて中性にするかの差異によるのではなく、前報⁹⁾で述べたように、電解中電

Table 2. Electrolysis of water-soluble protein solution

Exp. no.	KCl (%)	Electrolytic voltage (volt)	Anolyte-I		Catholyte-I		Mixture-I		
			pH	Coag. (%)	pH	Coag. (%)	pH	Coag. (%)	Coag. calcd. (%) ^{*1}
6	0	47-184	4.0	31	11.5	8	6.8	64	19
7	0.1	29- 45	4.5	40	11.2	5	6.8	52	22
8	0.5	23- 57	3.9	48	11.4	2	6.8	52	25
9	1.0	18- 24	4.1	58	10.8	4	6.7	58	31
10	1.5	9- 10	4.4	81	11.3	2	6.8	40	41

^{*1} Arithmetical mean of coagulation of Anolyte-I and Catholyte-I.

Table 3. Electrolysis of the electrolytes^{*1} after inversion of electrodes

Exp. no.	KCl conc. (%)	Electrolytic voltage (volt)	Anolyte-II ^{*2}		Catholyte-II ^{*2}		Mixture-II		
			pH	Coag. (%)	pH	Coag. (%)	pH	Coag. (%)	Coag. calcd. (%) ^{*3}
6	0	55-74	7.0	65	6.9	25	6.9	44	45
7	0.1	50-40	7.0	51	6.9	15	7.0	32	33
8	0.5	29-32	7.0	53	6.8	15	6.9	35	34
9	1.0	20	6.8	49	6.7	24	6.8	36	36
10	1.5	12	7.1	45	6.8	20	6.9	33	33

^{*1} Anolyte-I and Catholyte-I shown in Table 2.

^{*2} Anolyte-II was obtained by electrolyzing Anolyte-I in cathode side after inversion of electrodes. Catholyte-II was obtained by electrolyzing catholyte-I in anode side after inversion of electrodes.

^{*3} Arithmetical mean of coagulation of Anolyte-II and Catholyte-II.

極の極く近傍に生成する強い酸性またはアルカリ性の境界層またはその周辺で、生成している凝集物の一部が再溶解するためと考えられる。

また、KCl 無添加の場合の混合物 (Mixture-I, II) の凝集率は、KCl を添加した場合のそれより際立って大きい。これは前述のようにジュール熱の発生が大きく、pH 値が変わっても、アルカリ性液にも比較的再溶解し難い熱凝集物⁹⁾がより多く生成しているためで、特に Table 3 の混合物 (Mixture-II) においては、そのような熱凝集物が電極反転後の電解において、より多く再溶解をまぬかれて残存するためであると説明し得る。

要 約

水溶性タンパク質水溶液を電解してタンパク質を凝集し、他の試薬その他の添加物を添加することなく、ほぼ中性の液から凝集タンパク質を回収する方法として2つの方法を検討した。

1つは、先ずタンパク質水溶液の電解により得られる、凝集物が存在している陰陽両電解液を混合して最高の凝集率を示す pH 値の混合物を調製し、そこで生成しているタンパク質凝集物を分離回収し、凝集物のない残った液に更に電解液 (陰極液) を混合してほぼ中性とし、再び生成する凝集物を回収する。陰陽両電解液の所謂分割混合法である。この方法における両電解液の混合比は最終的には1:1 容量比である。

他の1つは、タンパク質水溶液を電解して得た電解液を、電解電極を反転させたうえ、そのままほぼ中性にな

るまで再び電解し、生成しているタンパク質凝集物を回収する、所謂電極反転法である。

これらの2つの方法をスケトウダラ水溶性タンパク質水溶液に適用した結果、総括凝集率は分割混合法においては71~80%、電極反転法においては35% 前後であった。分割混合法の総括凝集率は始め含有される水溶性タンパク質の濃度にはそれほど依らない。電極反転法による凝集率は陰陽両電解液を1:1 容量比で一度に混合物におけるそれよりも更に低い。これは電解中陰極近傍に生成すると考えられる強いアルカリ性境界層またはその周辺で凝集物が再溶解するという事で説明できる。

本研究の費用の一部は昭和 55 年度および昭和 56 年度文部省科学研究費補助金によった。

文 献

- 1) 渡辺尚彦・長谷川浩・高井陸雄・亀井明美：日水誌，**44**, 1381-1387 (1978).
- 2) 渡辺尚彦・長谷川浩・高井陸雄：日水誌，**45**, 1037-1040 (1979).
- 3) 長谷川浩・渡辺尚彦・高井陸雄：日水誌，**45**, 1041-1043 (1979).
- 4) 渡辺尚彦・長谷川浩・高井陸雄：日水誌，**45**, 1143-1146 (1979).
- 5) 長谷川浩・渡辺尚彦・高井陸雄：日水誌，**46**, 1381-1384 (1980).
- 6) 西岡不二男・志水 寛：日水誌，**45**, 1557-1561 (1979).