

助成番号 0808

## にがりを用いた食品廃液処理のための高機能凝集沈殿剤の開発

豊原 治彦

京都大学大学院農学研究科

**概要** 近年、生活排水や産業排水による水質汚染がヒトの健康への直接的な影響ばかりでなく、水圏生物への地球レベルでの生態的な影響を引き起こし、大きな社会問題となっている。この問題に対応するため、現在、関係省庁において排水基準の引き上げ、総量規制の設定が検討されている。しかし、現状の水処理システムでは、窒素やリン、重金属、タンパク質、脂質、糖質などの除去といった高次水処理に対応するには膜フィルターによる処理に頼るしかない。しかし、膜フィルターを用いた処理法では、高コスト・大規模化してしまうために、これらの汚染物質の処理は困難なものとなっており、高機能かつ低コストの高次水処理システムの開発が必須課題となっている。

申請者は貝殻の形成メカニズムを分子レベルで明らかにする過程で、1)クモ糸と類似したアミノ酸配列をもつタンパク質が重要な機能を果たしていること見出し、2)貝殻を特殊な条件下で焼成することによりこのタンパク質を断片化させることで、焼成貝殻を高機能凝集沈殿剤として利用可能なことを見出した。この凝集沈殿剤については、土木建築現場で生じる濁水処理剤としてすでに特許申請を行っているが、予備実験の結果、マグネシウムイオンで前処理することによって、高分子有機物の凝集沈殿剤としても利用可能なことが明らかとなった。そこで、本研究においては、海水由来の「にがり」中のミネラル成分に注目し、食品廃液由来沈殿物の再利用を目的としたすべてが食品利用可能成分で構成された凝集沈殿システムの開発を目的とした。

にがりがタンパク廃液からのタンパク成分除去に及ぼす効果を、大豆タンパク、乳タンパク、魚肉タンパク、卵タンパクを用いて検討した結果、大豆タンパク質液に対しては酸性域、乳タンパク質液と魚肉タンパク質液に対しては中性から酸性域、卵タンパク質液に対しては中性からアルカリ性域において、にがりは凝集効果を示した。対象タンパクによって効果的なpHが異なるのは、それぞれの廃液の主成分となるタンパク質の等電点の影響によるものと推察された。にがり添加によって生じたこのようなコロイド状の凝集物は、我々が開発した貝殻由来の無機系沈殿剤を用いることによって沈殿させることができた。なお、今回の研究では当初予定していた脂質成分、デンプン成分を主体とする廃液について詳細な検討に至らなかったが、予備的な実験結果から脂質成分を主体とする廃液に対する有効性が確認されており、今後、デンプン成分に対する検討と合わせて研究を進めていく所存である。

にがりは食品利用可能な素材であることから、またすでに我々が開発したハイドロトラッパーも貝殻を主成分とすることから、今後、にがりとハイドロトラッパーを組み合わせた凝集沈殿システムを開発することにより、食品製造工程で生じる廃液からの食品成分の再回収が可能となることが期待される。

### 1. 研究目的

近年、生活排水や産業排水による水質汚染がヒトの健康への直接的な影響ばかりでなく、水圏生物への地球レベルでの生態的な影響を引き起こし、大きな社会問題となっている。この問題に対応するため、現在、関係省庁にお

いて排水基準の引き上げ、総量規制の設定が検討されている。

しかし、現状の水処理システムでは、窒素やリン、重金属、タンパク質、脂質、糖質などの除去といった高次水処理に対応するには膜フィルターによる処理に頼るしかない。

しかし、膜フィルターを用いた処理法では、高コスト・大規模化してしまうために、これらの汚染物質の処理は困難なものとなっており、高機能かつ低コストの高次水処理システムの開発が必須課題となっている。<sup>1,2)</sup>

申請者は貝殻の形成メカニズムを分子レベルで明らかにする過程で、1)クモ糸と類似したアミノ酸配列をもつタンパク質が重要な機能を果たしていること見出し、2)貝殻を特殊な条件下で焼成することによりこのタンパク質を断片化させることで、焼成貝殻を高機能凝集沈殿剤として利用可能なことを見出した。この凝集沈殿剤については、土木建築現場で生じる濁水処理剤としてすでに特許申請を行っているが、予備実験の結果、マグネシウムイオンで前処理することによって、高分子有機物の凝集沈殿剤としても利用可能なことが明らかとなった。

そこで、本研究においては、海水由来の「にがり」中のミネラル成分に注目し、食品廃液由来沈殿物の再利用を目的としたすべてが食品利用可能成分で構成された凝集沈殿システムの開発を目的とした。

## 2. にがり処理の効果

### 実験材料と方法

ダイズタンパク質(和光純薬製)を 1,000 ppm となるように水に溶解し、300 mLをビーカーにとった。この溶液に 300 mg のにがり(味の素製)を加え 5 分間攪拌後、100 ppmとなるように沈殿剤ハイドロトラッパーを加えた。対照と

しては、にがり処理を行わないものを用いた。pHは塩酸で 4.0 に調整した。

### 結果

図 1 に示すように、ハイドロトラッパーのみによる処理でもフロック形成し、濁度もかなり低減されたが、コロイド状の白濁が残存した。しかし、あらかじめにがり処理することにより、コロイド状の濁りは完全に除去された。この結果から、タンパク廃液をあらかじめにがり処理することにより、ハイドロトラッパーによるフロック形成が効果的に進行することが示された。なお、大豆タンパクの場合は、生じるフロックが軽いため 図 1 に示すようにかなりの部分が浮上した。このフロックを沈殿させるためには、ハイドロトラッパーの組成を変える(たとえば石粉など比重の大きな成分を加えるなど)ことで対応可能である。また、現場のプラントによっては浮上回収可能なものもあることから、このままの組成でも対応可能な場合もあると考えられる。

## 3. タンパク除去に与える pH の影響

### 実験材料と方法

サンプルタンパク質溶液としては、ダイズタンパク質(和光純薬製)、カゼイン(ナカライテスク製)、卵(市販のもの)、魚肉タンパク質(市販にぼし粉)を、それぞれの 5,000 ppm となるように水に溶解したものを用いた。50 mL 容量のプラスチックチューブにそれぞれの溶液を 40 mL 入れ、この溶液に、にがり(味の素製)を 50 mg 加え 5 分間攪拌

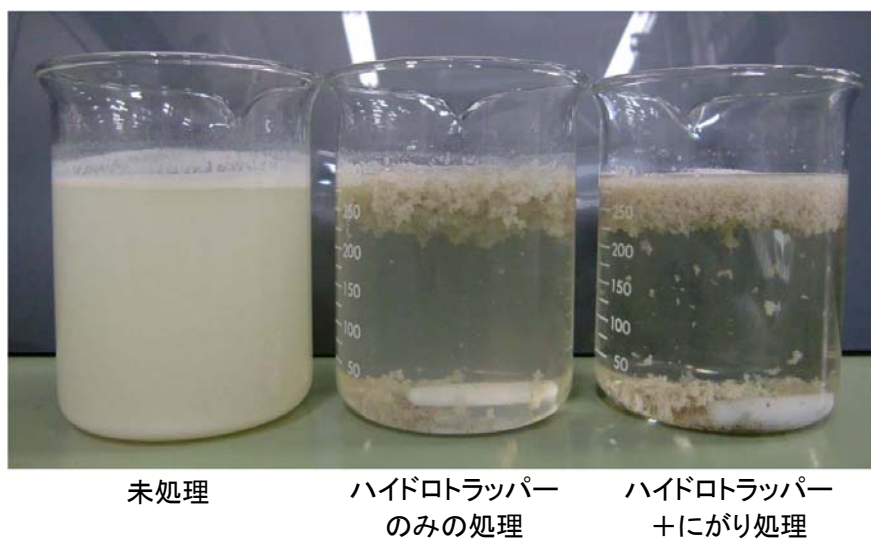


図 1. 大豆タンパク処理に及ぼすにがり処理の効果

溶解した。使用沈殿剤ハイドロトラッパーはムラサキイガイ焼成物を主成分とするものを用いた。pHの調整には塩酸と水酸化ナトリウムを使用した。

タンパク質濃度はブラッドフォード法によって測定した。たんぱく質の除去率(%)は、次式に従って算出した。

$$\text{除去率} = (\text{未処理溶液のタンパク質濃度} - \text{処理後の上澄みのタンパク質濃度}) / \text{未処理溶液のタンパク質濃度} \times 100$$

## 結果

図2-5に、それぞれ大豆タンパク、ミルクタンパク(カゼイン)、魚肉タンパク、卵タンパクの除去に及ぼすにがり処理のpHの効果を示した。興味深いことに、にがり処理の効果は溶液のpHによって大きく異なり、大豆タンパクでは酸性域でのみ効果が認められた。にがり無の場合でも酸性域ではかなりの効果が認められたが、にがり存在下では効果は増大した。ここにはデータは示さないが、にがり非存在下では薄い白濁が残存した。しかし、にがり処理によりこの白濁は完全に除去された。したがって、にがり

処理はタンパク定量から示される以上の効果を有するものと推察される。今後、CODやBODを評価することで、にがりの効果をさらに定量的に明らかにしていく必要があると考えられる。

カゼインと魚肉タンパクに対してもやはり酸性域で高い効果が示されたが、これらのタンパクに対しては大豆タンパクとはことなり、中性域でも一定の効果が認められた(図3, 4)。

それに対し、卵タンパクでは酸性域ではまったく効果は認められず、反対にアルカリ性域で高い効果が示された(図5)。このように対象タンパク質によって、凝集沈殿の効果がpHにより大きく影響されるのは、対象タンパク質の等電点が大きく影響していることが大きく原因していると考えられる。おそらく等電点付近ではタンパクの電離がほとんど起こっていないため、にがり中のマグネシウムイオンとの反応性が低く、マグネシウムイオンによる凝集効果が十分に発揮されないものと推察される。

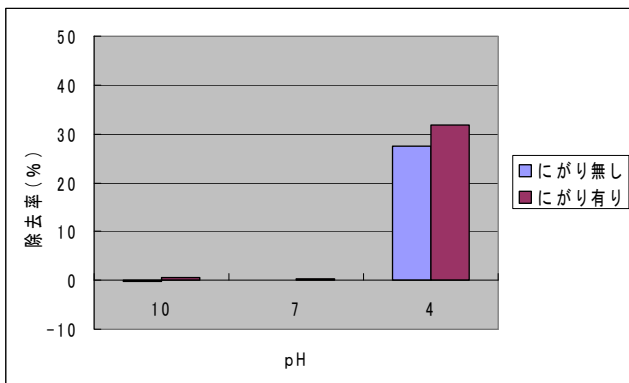


図2. 大豆タンパク除去に及ぼす pH の影響

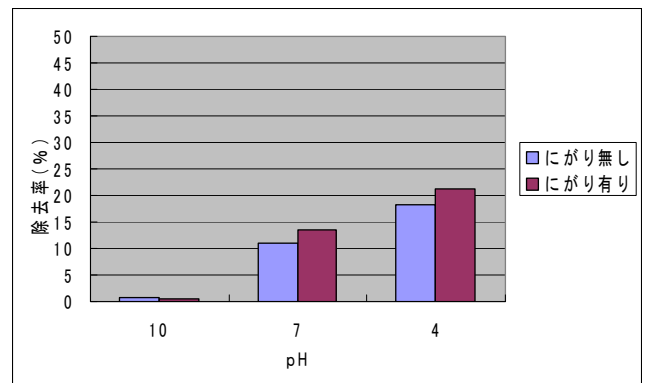


図3. カゼイン除去に及ぼす pH の影響

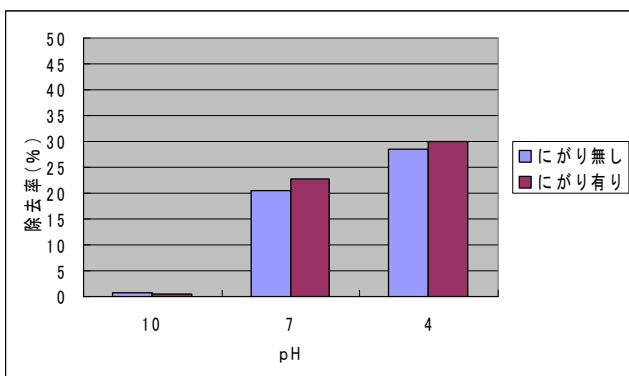


図4. 魚肉タンパク除去に及ぼす pH の影響

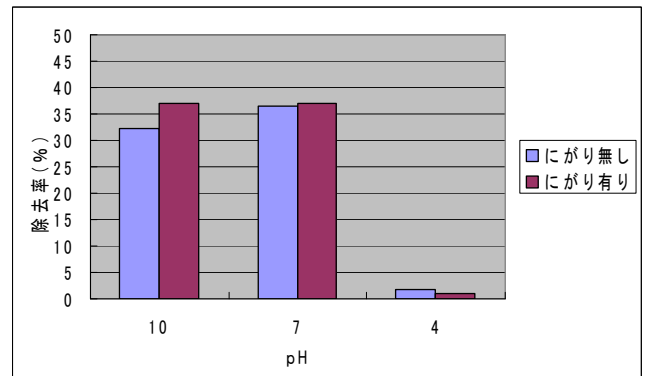


図5. 卵タンパク除去に及ぼす pH の影響

#### 4. たんぱく質除去に与えるにがり量の影響

##### 実験材料と方法

基本的な実験方法は前項と同様におこなったが、添加にがり量を 0 - 500 mg に変えて実験を行った。

##### 結果

図 6 - 9 に、それぞれ大豆タンパク、ミルクタンパク(カゼイン)、魚肉タンパク、卵タンパクの除去に及ぼすにがり量の影響を示した。いずれのタンパクに対しても 50 - 100 mg でもっとも高い除去率を示したが、0 mg においてもタンパク量で評価する限りかなりの除去効果が示された。これは、今回使用したハイドロトラッパーが、ムラサキイガイを原料としたもっとも有機成分に効果的なものを用いているためである。データは示さないが、にがりを全く加えない場合はタンパクは除去できても、うすいコロイド成分(タンパク質の分解物を主成分とすると考えられる)が残るのが

通例だが、50 mg 程度のにがりを入れることで図1に示したように、この白濁は完全に除去された。

#### 5. たんぱく質除去に及ぼすにがり反応時間の影響

##### 実験材料と方法

基本的な実験方法は前項と同様におこなったが、にがりの反応時間を 5 - 120 分に変えて実験を行った。

##### 結果

図10 - 13 に、それぞれ大豆タンパク、ミルクタンパク(カゼイン)、魚肉タンパク、卵タンパクの除去に及ぼすにがり処理時間の影響を示した。最短 5 分から最長120 分まで反応時間を検討したが、これらの図に示すように処理時間は 5 分で十分であることが示された。この結果は、にがりタンパク成分との反応はきわめて短時間におこっていることを示唆するものであった。

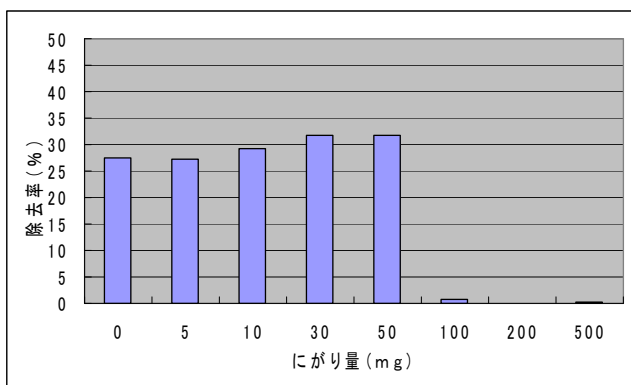


図 6. ダイズタンパク除去に及ぼすにがり量の影響

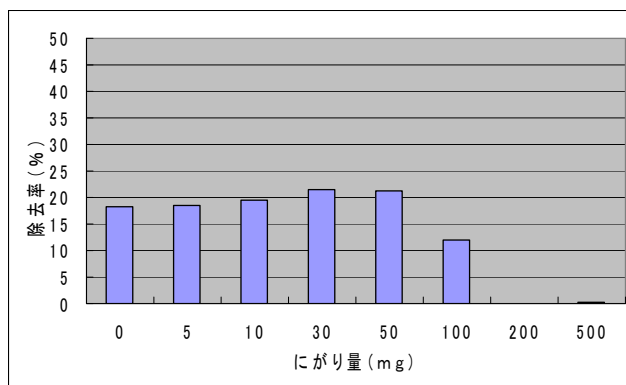


図 7. カゼイン除去に及ぼすにがり量の影響

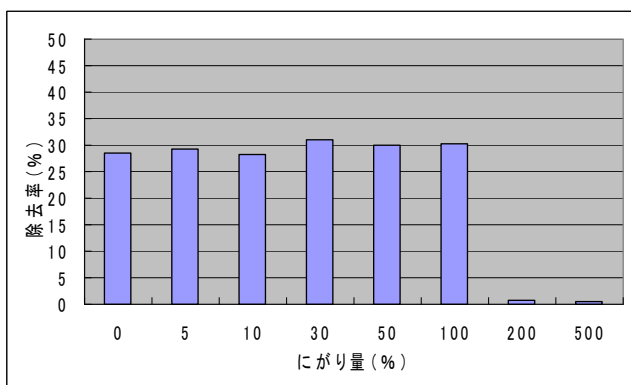


図 8. 魚肉タンパク除去に及ぼすにがり量の影響

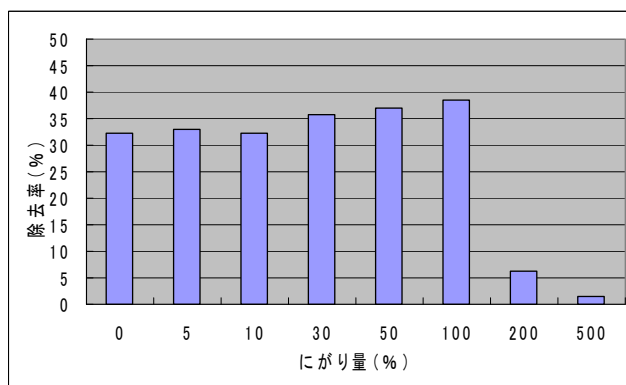


図 9. 卵タンパク除去に及ぼすにがり量の影響

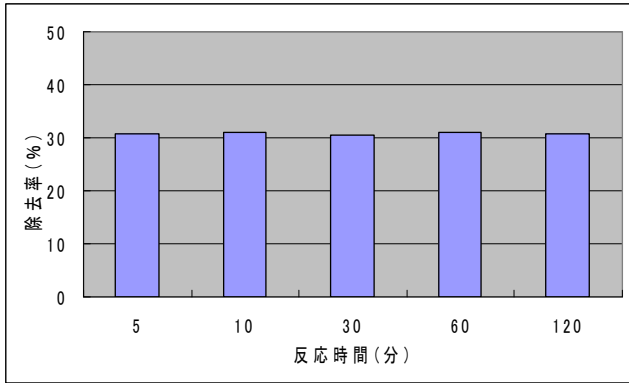


図10. ダイズタンパク除去に及ぼす反応時間の影響

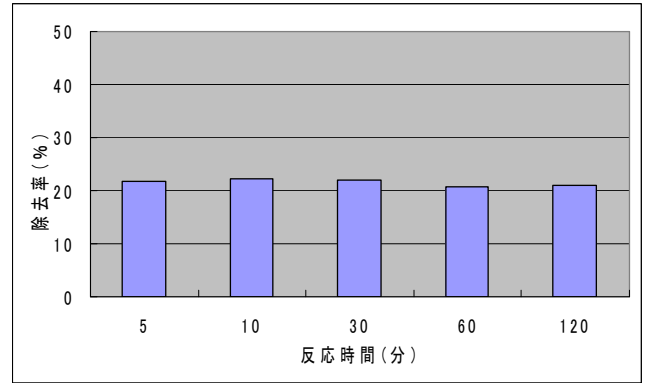


図11. カゼイン除去に及ぼす反応時間の影響

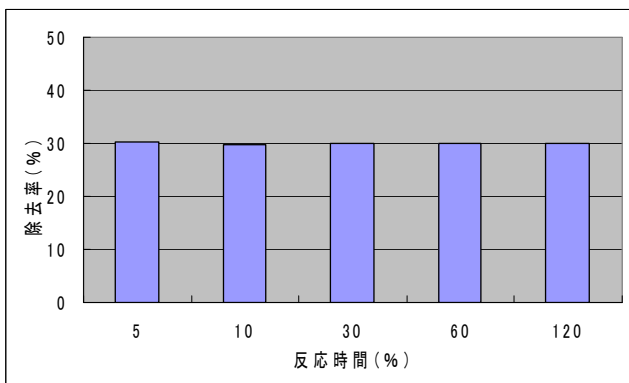


図12. 魚肉タンパク除去に及ぼす反応時間の影響

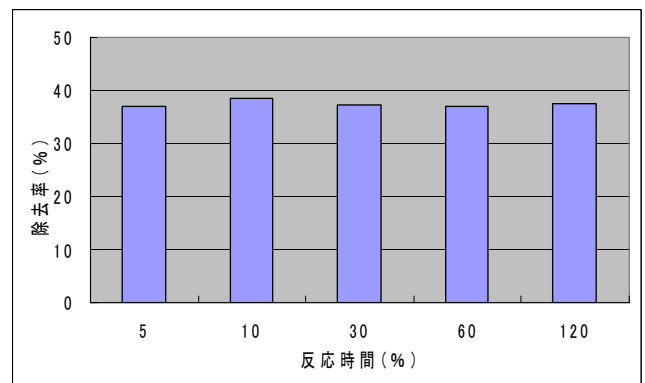


図13. 卵タンパク除去に及ぼす反応時間の影響

## 6. にがり処理効果の電気泳動分析による確認

### 実験材料と方法

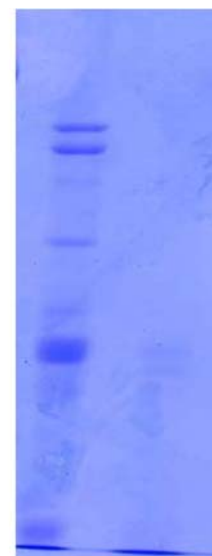
にがり及びハイドロトラッパー処理は、「3. タンパク除去に与える pH の影響」に示した方法と同様の方法で行った。電気泳動は通常のSDS-PAGE法による。ゲル濃度は10%で行った。

### 結果

図14に示すようににがり処理を行うことによって、ブラッドフォード法の結果を裏付けるようにタンパク質が廃液から除去されていることが示された。いずれのタンパクバンドも非選択的に除去されていたことから、にがり処理を大豆タンパクに対して酸性域で行う限り、効果的にタンパク除去が可能ながことが明らかとなった。

### まとめ

にがりがタンパク廃液からのタンパク成分除去に及ぼす効果を、大豆タンパク、乳タンパク、魚肉タンパク、卵タンパクを用いて検討した。その結果、大豆タンパク質液に対



未処理 にがり処理

図14. 大豆タンパク除去に及ぼすにがり処理の効果の電気泳動分析(pH 4.0)

しては酸性域、乳タンパク質液と魚肉タンパク質液に対しては中性から酸性域、卵タンパク質液に対しては中性からアルカリ性域において、にがりには凝集効果を示した。にがり添加によって生じたこのようなコロイド状の凝集物は、我々が開発した貝殻由来の無機系沈殿剤を用いることによって沈殿させることができた。なお、今回の研究では当初予定していた脂質成分、デンプン成分を主体とする廃液について詳細な検討に至らなかったが、予備的な実験結果から脂質成分を主体とする廃液に対する有効性が確認されており、今後、デンプン成分に対する検討と合わせて研究を進めていく所存である。

にがりには食品利用可能な素材であることから、またすでに我々が開発したハイドロトラッパーも貝殻を主成分とすることから、今後、にがりとハイドロトラッパーを組み合わせた凝集沈殿システムを開発することにより、食品製造工程で生じる廃液からの食品成分の再回収が可能となることが期待される。

#### 参考文献

- 1) 水質工学 基礎編 P.1-17 合田 健(1991)
- 2) 水処理工学 理論と応用 井出哲夫編 P.58-59 技報堂出版株式会社(2001)

No. 0808

## Development of Highly Efficient “Nigari” Based Precipitator for Wasted Waters

Haruhiko Toyohara

Graduate School of Agriculture, Kyoto University

### Summary

Water pollution due to the wasted water from usual human lives and industrial factories demonstrated the substantial effects on human health as well as the aquatic organisms especially from the ecological aspects. To solve the problems, increase in the levels of the regulated values of the waster waters and the regulation of total amount of the wasted waters are now being discussed. However, the available water cleaning system cannot cope with the high regulated values without using the membrane filtration system which requires an expensive plant system. Under these circumstances, a highly efficient water cleaning system with lower cost is now being required.

We have long studies about the biochemical mechanism of the synthesis of the shell which is made of calcium carbonate and the small amount of organic materials. The organic materials have been supposed to play important roles in the synthesis of the shell, but details have been remained unknown. Our recent studies newly suggested that the spider silk like proteins are involved in the formation of the shell and the artificial degradation of the spider silk proteins under moderate condition will lead the production of the highly efficient precipitator for the mud waters that is derived from the construction of the building and the digging of the soil. In the preliminary experiments, we found that our shell derived precipitator named “hydrotrapper” was also utilized for the separation of organic matters in the wasted waters in the presence of magnesium ions. This finding led me to use “Nigari” as the coagulator for the organic wasted waters mainly composed of protein.

As a result, Nigari was effective for the precipitation of soy bean proteins, milk proteins, fish muscle proteins and egg proteins, but the most effective pH ranges were different according to the proteins. For example, most effective precipitation was observed for soy bean proteins at acidic pH, while those for milk and fish muscle proteins were observed at acidic to neutral pH ranges. Interestingly, egg proteins were effectively precipitated at alkaline pH ranges. These difference attitudes against pH were probably due to the difference of isoelectric points of main components of the protein solutions. Our studies suggest the development of the specific precipitator including Nigari to recover the proteinous components for the wasted waters.