

魚肉変質の生化学的研究 (1)

防腐剤を添加した魚肉中に生ずる揮発性塩基
—アンモニア及びトリメチルアミン—に就て*

藤 井 実・富 田 輝 雄

Biochemical Studies on the Degeneration and Putrefaction of Fish Meat. (1)
On Volatile Base-Ammonia and Trimethylamine from Fish Meat immersed
in Solution of an Antiseptics as Toluene, Toluene-Chloroform Mixture.

By

Minoru FUJII and Teruo TOMITA.

Volatile basic-nitrogen, ammonia-nitrogen ($\text{NH}_3\text{-N}$) and trimethylamine-nitrogen (T.M.A. -N) in meat of the sardine were determined without bacillus contamination by immersion in solution of an antiseptic such as toluene or toluene-chloroform mixture. The results run as follows: —

- (1) The amounts of $\text{NH}_3\text{-N}$ and T.M.A. -N were dependent on kinds of antiseptics and degrees of temperatures at which storage was done. In the meat immerse in toluene $\text{NH}_3\text{-N}$ rapidly at a high temperature (25°C) than at a low temperature ($5^\circ\sim 6^\circ\text{C}$). T.M.A. -N increased under the same experimental conditions; viz., more at a higher than at a lower temperature but the process took place slowly.
- (2) Toluene-chloroform immersion, on the other hand, caused to increase $\text{NH}_3\text{-N}$ very slowly in the fish meat whereas it did not bring about T.M.A. -N detectable.

緒 言

魚肉の変質並びに腐敗の進行と共にアンモニア (NH_3) は著しく増加し同時にトリメチルアミン ($(\text{CH}_3)_3\text{N}$) が増して臭気を強め蛋白質の分解に伴いアミノ酸の消長¹⁾ が見られ更に腐敗毒も生成される。清水、大石氏²⁾ 等に依るとホシザメの生肉を貯蔵中生成される NH_3 の基質は尿素で其の分解は筋肉中のウレアーゼに依るものでなく細菌のウレアーゼに依り発生せしめられるという。然るに山田、新聞³⁾ 氏等はサメ肉の鮮度低下に伴い発生する乳酸と NH_3 を測定し NH_3 の基質は尿素でないと述べている。一方試料調製の方法を見るに殆ど魚肉を海砂で播砕したものを自然放置するか或は之に防腐剤を添加して後実験に供している。従つて実験の条件に依つては播砕の際に混入する雑多の細菌により複雑な影響を受けて細菌以外の因子に依る影響は判然としない恐れも多分に有る。従つて又 $\text{NH}_3\text{-N}$ に基礎を置く腐敗時期の決定に関してもその見解が一致しないのも当然と考えられる。魚肉の腐敗初期に於ける $\text{NH}_3\text{-N}$ は通常 $30\sim 40\text{mg}\%$ とせられているが、 $50\text{mg}\%$ を限度とする報告も⁴⁾ ある。

* 水産講習所研究業績 第112号

又板鰓類では新鮮なものでも 100mg% を越えることも度々である⁴⁾。著者等は魚肉の変質腐敗の過程に於いて生産される物質の生産機構を生化学的に研究せんとするものであるが先づ防腐剤添加に依る除菌条件下に肉中に発生する揮発性塩基窒素及び温度の影響に就き二・三の実験結果を得たので報告をする。

実験の部

測定方法

揮発性塩基窒素 (V. B. N.) : 水銀柱 30 mm, 湯浴温度 45 度の減圧下で蒸溜し初溜が出初めてから 30 分間溜出を行い N/28 の H_2SO_4 及び NaOH を用いて滴定する。

$(CH_3)_3N$ (T. M. A.) 及び NH_3 : マイヤー⁵⁾ (Mayer) の試薬即ち HgI_2 と KI の混液を被検液に添加し T. M. A. の黄色沈澱を生ぜしめ上澄液を減圧溜蒸して之より得た値を NH_3-N として V. B. N.-N より NH_3-N を差引いた値を以て T. M. A.-N とする。

(1) 予備試験—無頭無内臓魚体と非処理魚体の鮮度の比較

無頭無内臓魚体の鮮度保持の良好なことは旧くから大島氏⁶⁾ が立証している。変質腐敗の生化学的変化の経過を知る予備実験として頭部内臓部を除去した後水洗した肉部(A)と魚体表面を水洗した魚体(B), 二群を 5~6°C の氷蔵庫に貯蔵し時日の経過に伴う NH_3-N , T. M. A.-N 及び水分を測定し第 1・2 表の如き結果を得た。用いた魚種は大羽うるめ鰻である。

Table 1. Percentage of volatile basic-nitrogen, ammonia-nitrogen and trimethylamine-nitrogen in round herring meat stored in ice box at 5~6°C

Days stored	A group			B group		
	V. B. N.-N (mg%)	NH_3-N (mg%)	$(CH_3)_3N-N$ (mg%)	V. B. N.-N (mg%)	NH_3-N (mg%)	$(CH_3)_3N-N$ (mg%)
0	12.30	12.30	—	12.30	12.30	—
2	18.55	15.26	3.29	39.90	34.78	5.12
4	45.99	42.12	3.87	77.84	63.35	14.49
6	86.60	72.18	14.42	—	—	—

Table 2. Change of moisture in round herring meat stored in ice box at 5~6°C.

Days stored	0	2	4	5	6
Moisture (%)	72.17	71.88	72.26	70.55	70.85

尙此の実験を行うに先だち V. B. N. は 30 mm. 水銀柱減圧, 湯浴温度 45°C 前後で初溜の溜出より 30 分間の蒸溜により完全に溜出せしめ得ることを確めた。測定方法は一定量の魚肉に約 1N- H_2SO_4 液 10 cc 及び少量の海砂を加えて搗碎し其の水抽出液を除蛋白し液部を一定量として其の一部を蒸溜に附し魚肉重量に換算した。第 1 表に依れば B 群では NH_3-N が 30 mg% を越えると肉質にやや変化が見られ所謂刺戟臭が感じられる。T. M. A.-N は 5 mg% 位検出された。

NH_3-N が 60 mg% 以上になると悪臭鼻を突く様になる。この程度になると T. M. A.-N は 14 mg% 以上になつている。然るにかかる悪臭を発生する魚体より頭部内臓を除去水洗す

魚肉変質の生化学的研究

ると臭気は相当改善される。このことは当然のことながら内臓腐敗が肉質部の夫に先行していることを示すもので内臓の存否は肉質鮮度の官能的鑑定に大きな影響を与えることを示すものである。一方A群に於ては $\text{NH}_3\text{-N}$ が 40 mg% (この時 T.M.A.-N は約 4 mg%) を越えても尙臭気を感じず 70 mg% 程度になり T.M.A.-N が 14 mg% 位になると悪臭甚しくなる。即ち T.M.A.-N に対する $\text{NH}_3\text{-N}$ の割合は A 群の方が B 群の夫より常に大である。このことは T.M.A.-N と $\text{NH}_3\text{-N}$ の増加は直接相関連したものでなく附着細菌の種類及び其の多寡による作用力の差異と魚肉の有する酵素作用並びに之等を支配する環境条件により種々変化することを示すものであろう。尙この研究発表と同時に河端氏⁷⁾ が鯖の血合肉にトリメチルアミノオキサイド ($(\text{CH}_3)_3\text{NO}$) を T.M.A. に還元する酵素の存在することを発表した。又第 2 表の結果から 6 日間の氷蔵中の水分変化は殆ど無いものと考えられるので爾後の同種類の実験に於ける分析値はすべて生肉に対するパーセントで示した。

(2) 防腐剤添加の影響

上記実験結果は変質腐敗が細菌作用と魚体酵素作用による協同的現象であることを示している。従つて細菌作用を排除した魚肉に就いて実験を行うため防腐剤を添加し温度を変化せしめて薬剤の効果と温度の関連性を検討した。

(A) トルオール浸漬の影響に就いて

体長 10 cm 前後の真鯮の頭部内臓を除去水洗し体表面を濾紙で軽く圧しながら水分を除去した後、トルオールに浸漬 5~6°C 及び 25°C に放置夫々分析に供した。その結果は第 3 表の如くである。

Table 3. Change of volatile base in sardine meat immersed in toluene at 25°C and 5~6°C.

Days stored	Temperature (C°)					
	25			5~6		
	V.B.N.-N (mg%)	$\text{NH}_3\text{-N}$ (mg%)	$(\text{CH}_3)_3\text{N-N}$ (mg%)	V.B.N.-N (mg%)	$\text{NH}_3\text{-N}$ (mg%)	$(\text{CH}_3)_3\text{N-N}$ (mg%)
0	18.27	18.27	—	18.27	18.27	—
4	112.89	112.89	—	54.74	54.74	—
6	172.47	168.37	4.1	70.00	70.00	—
12	224.62	218.26	6.36	69.12	68.82	0.3

(B) トルオール・クロロホルム混液 (9:1) 浸漬の影響に就いて

魚種及び実験条件は上記と全然同一にしてトルオール・クロロホルムの混液に浸漬した試料に就いて得た結果は第 4 表の通りである。

Table 4. Change of volatile base in sardine meat immersed in toluene-chloroform mixture (9:1) at 25°C and 5~6°C.

Days stored	Temperature (C°)					
	25			5~6		
	V.B.N.-N (mg%)	$\text{NH}_3\text{-N}$ (mg%)	$(\text{CH}_3)_3\text{N-N}$ (mg%)	V.B.N.-N (mg%)	$\text{NH}_3\text{-N}$ (mg%)	$(\text{CH}_3)_3\text{N-N}$ (mg%)
0	13.5	13.5	—	13.5	13.5	—
21	26.25	26.25	—	17.5	17.5	—

第3表の結果より高温 (25°C) の場合 V. B. N.—N の増加は極めて急激で 12 日目には 200 mg% を越えた。併し尚腥臭不快臭は感知されなかつた。此の時 T. M. A.—N は 6 mg% であつた。低温 (5~6°C) に於ては V. B. N.—N の増加する割合は極めて遅々としていて 12 日目に於て V. B. N.—N 69 mg% で T. M. A.—N に至つては僅かに 0.3 mg% に過ぎない。然るにトルオール・クロロホルム混液浸漬の場合に於ては第4表の示す如く低温にては V. B. N.—N の増加は極めて小さいが、高温になるとトルオール単用の場合に比しその絶対量は小であるが低温の夫に比し多くなる。而も V. B. N.—N の大部分が NH₃—N であつて T. M. A.—N は検出出来なかつた。以上の結果からトルオール単用の場合試料の除菌が完全に出来なかつた為に緩慢な腐敗現象が進行したのではないかと考えられるが、分析の都度細菌の検出を並行して行つた結果何らの細菌をも検出出来なかつた事より魚体酵素作用に基く生産物であつてその作用は低温で阻止されるが高温で活潑な作用力を示したものと考えることが出来る。少くとも T. M. A.—N の検出前の NH₃—N の増加は細菌の関与したものと考えすることは出来ない。又 NH₃—N に対する T. M. A.—N の比は第1表の夫を比較して益々大となつていて両者発生の間には何ら関連性の無いことも明である。又クロロホルム添加の場合にはトルオール単用に比して NH₃—N の量少く T. M. A.—N は殆ど検出出来ない。この事はクロロホルムがトルオールより T. M. A.—N 生成に関係する酵素作用を阻害することが強いために生ずる差異と考えられるのである。

総 括

トルオール、トルオール・クロロホルム混液に浸漬して無菌的にした魚肉中に生成される揮発性塩基の分析を行つて次の結果を得た。

(1) NH₃—N, T. M. A.—N の量は防腐剤の種類や温度の影響により異なる。

(2) トルオールで防腐された場合 25°C に於て 12 日目に NH₃—N 218 mg%, T. M. A.—N 6 mg% を生じたのに 5~6°C に於ては NH₃—N 69 mg%; T. M. A.—N 0.3 mg% を生じたに過ぎない。併し何れの場合にも腐敗臭を感じなかつた。

(3) トルオール・クロロホルム混液 (9:1) の場合に比べて 21 日目に於ても 26 mg% (25°C) 及び 18 mg% (5~6°C) で T. M. A.—N は検出出来なかつた。

尚此報告の大要は昭和 28 年 4 月の水産学会 (於東京大学) にて講演した。

文 献

- 1) 天野慶之・尾藤方通：1951. 日水誌, 16.
- 2) 清水 亘・大石圭一：1951. 日水誌, 16, 423—427.
- 3) 山田紀作・新聞彌一郎：1948. 日水誌, 14, 23—26.
- 4) 森高次郎：水産利用学.
- 5) GUGGENHEIM M. : 1940. Die biogenen Amine, 62.
- 6) 大島幸吉：1952. 水産時報, 4, 17.
- 7) 河端俊治：1953. 日水誌, 19, 505—512.