

## 魚肉の鮮度低下に伴う遊離チロシン量の変化について

太田冬雄・鰐坂比呂志

(大分水産高等学校)

### Variation in Free-tyrosine Content of Fish Meat in the Course of Decrease of its Freshness

Fuyuo Ota and Hiroshi Aisaka

先に筆者等は魚介肉の鮮度を簡単に判定する方法として、魚介肉中のアンモニアをネスラー比色法で測定する方法を報告し<sup>(1)</sup>、その後諸種の機会にこれを実際に適用し、殆んど支障なく実用出来る事を認めているのであるが、広く実際の場合について検討してみると、例えばアンモニア量が同一であり乍ら、時に外観的な判定に於て特に魚体の硬度に明らかに差が認められる場合等があり、魚肉を食品として考える為の品質の判定に対して必ずしもアンモニア量のみをその尺度とする事の困難が考えられる。この事はアンモニアの生成が細菌類の脱アミノ作用即ち腐敗分解による事を主とするに對し実はそれに先行して主として自己消化等に依る蛋白質の分解の行われている事から考えれば当然あり得る事なのであつて、アンモニア量に依ればたしかに食用に對する適否或は鮮度の程度もかなり明らかに判定し得られる事は、揮発性塩基が従来より長い間鮮度判定の目安として、広く利用されて来た事からも云い得るのであるが、上の様な事実に對しては更に別の立場から明確な判定が望まれるわけである。その意味に於て魚肉中遊離チロシンを対象にする事は、本来チロシンは蛋白質の比較的初期の分解に由来するものであるから、アンモニアとは異つた意味で興味ある事で、すでにBRADLEY等<sup>(2)</sup>及びSIGURDSON<sup>(3)</sup>はこのチロシン量が鮮度低下と共にかなり規則正しく増加する事を認めているし、又天野等<sup>(4)</sup>は魚種に依らず鮮度低下と共に遊離チロシンがペーパークロマトグラフで検出される事を報じている。

そこで本実験では、このチロシンの定量法について若干の吟味を加えると共に、チロシン量の変化がアンモニア量の変化と如何なる差異或は関連をもつものであるか、そして又品質判定の根拠とする為には、その判定基準の絶対値が普遍性をもたねばならないがこの点は如何であるか、等を目的として試験したのであるが、その結果は殆んど満足すべき傾向が認められたので茲にその大要を報告し様と思うのである。

### 実 験 の 部

#### 〔I〕 チロシンの定量法

チロシンがデアゾ試薬、ミロン試薬に依つて呈色し、又隣タングステン酸塩及び隣モリブデン酸塩の混合液を還元して呈色する事は古くから知られている反応で、特に後者に依る反応はその定量にも広く利用されている反応であるが、之に用いる試薬としては所謂チロシン試薬<sup>(5)</sup>、或は尿酸試薬と云われる調製の簡易なものと、之をリチウム塩としたフェニール試薬<sup>(6)</sup>とがある。そこで先づ前者のチロシン試薬について定性的な試験をしたので

あるがこの試薬では HITCHING<sup>(7)</sup>も報じている如く実際の場合呈色後混濁を呈するので、試薬としてはフェノール試薬を用いる事とした。

然し乍らフェノール試薬はチロシンと同様にトリプトファン、システイン等に依つても呈色するから、厳密にはチロシンのみを定量する事にはならないので、予めトリプトファンを分離除去する目的で、普通に用いられる硫酸水銀処理をなすとすれば、更にその影響を除く為にシアン化アルカリの添加処理をなさねばならないのであるが、念の為に一応呈色度に対するシアン化ソーダの影響をみたところ、第1表の如くその比色値は不定でシアン化アルカリが呈色度に著しく影響する事を知つた。勿論これはシアン化物そのものの純度等にも依る事であろうがすでに FOLIN 等<sup>(6)</sup>も認めている事であつたので、方法を簡易にする為にも茲では直接トリプトファン、システイン等をも含めてチロシン値として定量する事とした。尤も実際の魚肉中に見出される遊離のトリプトファン等は甚だ少いと云われるから、大部分はチロシンと考えてよいであろう。

次に実際の比色に際し、先ず浸出液より除蛋白すべきは当然であるので、茲で除蛋白剤の適否について試験した所、第2表の如く普通に用いられる三塩化醋酸、スルホサリチル酸及び硫酸酸性タンゲステン酸塩即ち FOLIN-WU 除蛋白剤の中スルホサリチル酸ではその添加によつて対照値より高い値を示すばかりでなく、添加量の多少に依つて明かに比色値は増減されるが、他では殆んどその影響なく、殊に FOLIN-WU 除蛋白剤ではチロシン量の異なる場合についても、第3表に見られる様に何れも対照値と差がなく、然も添加量の如何にかかわらず殆んど一定の

第1表 比色値に対する NaCN の影響 (吸光値)

	対 照	NaCN 添加の場合
1	0.195	0.300
2	0.200	0.250
3	0.200	0.268
4	0.190	0.270

第2表 比色値に対する除蛋白剤の影響 (吸光値)

種類	添加量(cc.)			
	0.1	0.2	0.3	0.4
スルホサリチル酸	0.162	0.180	0.207	0.222
三塩化醋酸	0.134	0.138	0.140	0.141
硫酸酸性タンゲステン酸ソーダ	0.133	0.137	0.135	0.135
対 照	0.135			

第3表 比色値に対する FOLIN-WU 除蛋白剤の影響 (吸光値)

硫酸	チロシン量 (mg)				
	0	0.02	0.06	0.10	
0	0	0.011	0.068	0.192	0.338
1	1	0.009	0.068	0.189	0.330
2	1	0.010	0.068	0.190	0.333

第4表 比色値に対する浸出時間の影響 I (吸光値)

魚 種	アンモニア量 (mg%)	時間(分)			
		5 (手動)	15 (攪拌器)	30 (同左)	60 (同左)
マイワシ	20	0.078	0.070	0.062	0.075
ウルメイソシ	21	0.188	0.207	0.200	0.200
ゴマサバ	29	0.227	0.198	0.200	0.219

第5表 比色値に対する浸出時間の影響 II (吸光値)

魚種	アンモニア量 (mg%)	時間(分)			
		2.5	5	7.5	10
ゴマサバ	19	0.062	0.068	0.068	0.070
マイワシ	30	0.220	0.218	0.220	0.220

値を示す。故に本実験の為の除蛋白剤としては FOLIN-WU 除蛋白剤を用いる事とした。

次に実際の試料からのチロシンの浸出条件として、先づ浸出時間が問題になるので、之をたしかめる目的で試験したが、その結果第4表、第5表の如く、手動で上下に激しく5分間振盪すれば機械的振盪60分の場合と同様な浸出率が得られ、然も試料魚の種類及び鮮度に関係なく殆ど完全に浸出されることが認められたので、本実験での浸出は、方法を簡易化する意味でも手動で5分間振盪する方法に依ることとした。

又チロシンの溶解度を考慮して浸出用液としての水と稀薄酸の場合について試験したが、その結果は第1図の如く特に両者の傾向に於て得失を見出せなかつたので、浸出用液としては水を用いる事とした。尙この場合に用いた稀酸は N/7.5 硫酸であるが、之は次の処理の除蛋白時に於ける所要硫酸量から算出したものである。

以上の結果よりチロシンの定量操作を要約すると次の如くである。

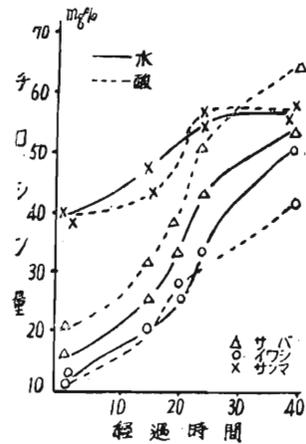
細碎魚肉の10倍容水浸出液の10cc.に10%タンゲステン酸ソーダ1cc., 2/3N硫酸2cc.を順次に加え、混和後乾燥濾紙で濾過、濾液の2cc.に25%炭酸ソーダ2cc., 水約10cc.を加え混和後フェノール試薬0.5cc.を加え、全容を正確に15cc.として10分の後比色する。

尙本実験に於けるチロシンについての比色はすべて日立製光電比色計に依つたものである。

〔2〕 魚肉の鮮度低下とチロシン量の変化

魚介類の鮮度低下によつてチロシン量の増加する事は既にのべた通りであるが、之を従来より広く鮮度の目安とされているアンモニア量の変化の傾向と如何なる関係にあるかを確める為、各種魚介類の細碎肉を室温(23~28°C)に開放

第1図 魚肉中チロシンの水及び酸による浸出率

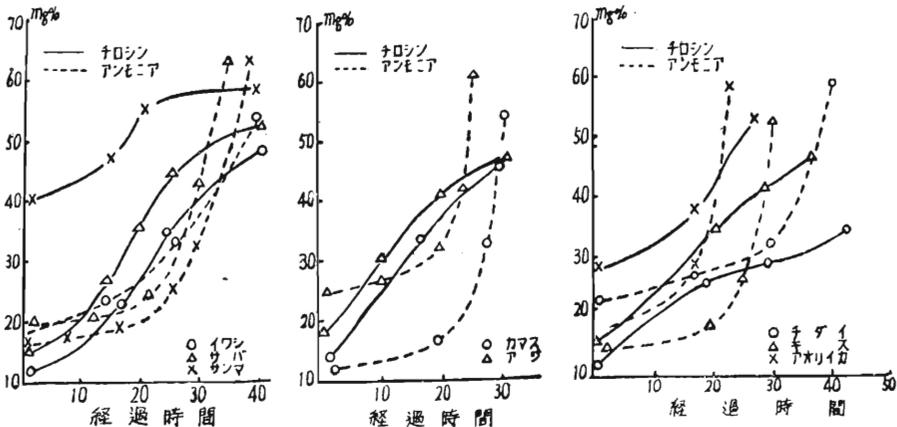


第2図 魚類の鮮度低下とチロシン量の関係

a サンマ, サバ, イワシの場合

b カマス, アジ, の場合

c ブオリイカ, キス, フダイの場合



状態で放置し、随時その中より一部を採取してそのアンモニア量を比色法<sup>(1)</sup>、チロシン量を前述の方法によつて夫々測定した。即ちイワシ、サバ、サンマについての結果は第2図aの如くで、之によつてみると明かにアンモニアとチロシンとは異つた傾向が見出される。即ちアンモニア量は従来云われている如く初期腐敗までは緩やかな増加をなして腐敗期に至つて急激に増加するに反し、チロシン量は腐敗期以前の場合でも時間の経過と共に比較的急激な増加傾向を示し腐敗期に至つても特に著しい変化はなく、それ以前と同様の傾向を続け而もその増加率は前後を通じてかなり規則正しく段階的である。そして又量的にみると、サバ、イワシでは新鮮時では約 15 mg %、アンモニア量 30 mg % の初期腐敗時には約 40 mg % に達している。之等の傾向はチダイ、キス、アネリイカ及びカマス、アヂについての場合（第2図b. c.）でも殆んど同様に云い得る事であつて、ただ特に著しく異つた傾向としてみられるのが第2図aのサンマの場合であるが、之は試料魚が遠隔の他県から移入されたものである事が明かであるから恐らく所謂腐敗分解は殆んどされていないが、自己消化の如きがかなり進んでいた為であると思われる。

要するにチロシン量の測定は腐敗分解の程度を示すアンモニアとは異なるからその意味での新鮮の度合或は食用の適否を求める等の為には困難はあるにしても魚類肉質の状態特に自己分解の程度を知る上の目安としてかなり有力な対象となり得るものであると考えられる。換言すれば魚肉を食品としての品質の立場から判定する上には、アンモニアと同時に併せてチロシン量を測定する事が必要であらうと思われるのである。尤も実際にはチロシンの定量法についてはより簡易迅速なる方法が望まれるし、又判定の基準とする為の絶対値を求める為には更に多くの統計的な結果の集録を要する事は云うまでもない。

### 〔3〕 要 約

1. チロシンを定量する為の呈色試薬としてフェノール試薬、除蛋白剤として FOLIN-WU 試薬の適當なる事、更にチロシンの浸出が水による短時間の手動振盪で充分なる事等を明かにし、魚肉中チロシン定量法の簡易化を計つた。

2. 魚肉中チロシンは鮮度の低下と共に増加するが、その増加傾向は新鮮時より不鮮時に至るまで殆んど直線的で段階的に増加し、腐敗時までの傾向は明かにアンモニアのそれよりも急激で、その差は大きく新鮮時、不鮮時の数値も種類によらずほぼ一定なる事等から、魚肉の品質判定に際しアンモニアと共に定量する必要のある事を推論した。

尙本実験に要した費用の一部は厚生省の科学研究費（主任 東海区水産研究所 天野慶之技官）に仰いだ。記して謝意を表する。

附記：筆者の一人鯨坂は大部分水高より産業教育振興法に依る昭和 27 年度、内地留学生として本学に派遣された期間の一部に於て、本研究を分担したものである。

### Résumé

The variation in free tyrosine (and other chromogens) of fish-meat in the depression course of its freshness, was examined by the colorimetric method with phenol reagent.

As a result, it was ascertained that tyrosine values increased fairly regul-

arly during its storage at room temperature, and the increasing rate of it was greater than that of ammonia, and further more, tyrosine values at both fresh and decayed stage of fish was approximately definite in various fishes used for the test.

Therefore, it was inferred that more reliable measurement of fish-quality might be achieved by the estimation of tyrosine values in addition to the ammonia determination.

文 献

- (1) 太田冬雄：日水誌., 17, 309~312 (1952)
- (2) H. C. BRADLEY and B. E. BAILEY : Food Research, 5, 487~493 (1940)
- (3) G. J. SIGURDSON : Ind. Eng. Chem., Anal. Ed., 19, 892~902 (1947)
- (4) 天野慶之, 尾藤方通：日水誌., 16, 526~532 (1951)
- (5) O. FOLIN and J. M. LOONEY : J. Biol. Chem., 51, 421~434 (1922)
- (6) O. FOLIN and V. CIOCALTEU : J. Biol. Chem., 73, 627~650 (1927)
- (7) G. H. HITCHING : J. Biol. Chem., 139, 843~854 (1941)