

好氣的及び半嫌氣的腐敗魚肉に於ける 揮発性塩基について

柏田 研一・小西 進演
(長崎水産高等学校)

On the Volatile Base in the Fish Muscle Putrefied under Aerobic and Semi-anaerobic Condition

Ken'ichi KASHIWADA and Yukihiro KONISHI

緒 言

蛋白質が腐敗すれば加水分解によつてアミノ酸を生じ、アミノ酸は更に漸次低級の物質に分解されて行く。この腐敗の際に於けるアミノ酸の分解については、これまで数種の反応形式が考えられているが、脱アミノ反応が起れば塩基としてアンモニアを生じ、脱カルボキシル反応が起ればアミンを生ずる。これが筋肉の場合になると更にエキス成分たる種々の有機塩基類の腐敗或は自己消化によつてもアンモニアやアミンが生成される。斯く筋肉の腐敗に際しては常にアンモニア、アミン等の揮発性塩基を生ずるので、これを定量して肉の鮮度をほど判定し得るのであるが、アミノ酸の分解は種々の条件により影響されて、その生産物は量的及び質的に変化することが知られている。例えば温度との関係について行つた木俣氏等の研究によれば、アンモニア及びアミノ酸の生成は6—35°の範囲では温度の高いほど旺盛であるが、ヒスタミンの生成は20°前後に於て最も旺盛で、35°のような高温では殆んど生成されない。従つて鮮魚が腐敗する場合には貯蔵条件の如何によつて、揮発性塩基として主としてアンモニアが生ずる場合もあり、或はアミンが比較的少量に生ずる場合も起り得るわけであり、又培地のpHの高低も著しく影響し、塩基性に於てはアミノ酸の脱アミノが行われてアンモニアが生成せられるに反し、アミンの生成条件としてはpHが酸性であることが絶対的必要条件とせられている。従つてアンモニア或はアミンの量を以て魚肉の鮮度を判定しようとする場合にも、魚の貯蔵条件或は肉のpH等を考慮する必要があると思われる。アミンには著明な生理作用があり、猛毒物もあるので、食品中に斯かる性質をもつたものが生成すると言うことは等閑視出来ない。筆者は魚肉を好氣的状態に放置した場合と、半嫌氣的状态に放置した場合のアンモニア及びアミンの生成量を比較し、此の貯蔵条件が魚肉腐敗の際の揮発性塩基の生成と如何なる関係があるかを実験した。

なお此の実験は昭和27年夏季に行つたもので、著者の一人、小西は当時、産業教育振興法に基づき第1回内地留学生として本学に派遣されていてこの実験を行つた。

実 験

アンモニア及びアミンの定量方法：試料魚肉の全揮発性塩基窒素を減圧法（厚生省：水産食品衛生検査法）によつて定量し、次にアミン態窒素を酸化水銀法⁽¹⁾によつて定量し両者の差をアンモニア態窒素とした。なお本実験を行うに当り、アミンの定量法について

は少しく吟味し、実施上便利なように二三の改変を加えたので、その点を簡単に記述する。

酸化水銀を用うるアミンの定量は Weber 及び Wilson 両氏によつて詳しく研究せられ、その結果最も適當とする実施方法が発表せられている。その後 Pugh 及び Quastel 氏等⁽²⁾も同じく黄色酸化水銀を用うるアミン定量法を発表しているが、著者は Weber 氏等の方法によつてした。

(1) まずアンモニアを吸着せしめる黄色酸化水銀の使用量について、Weber 氏等の原法では全揮發性塩基窒素 1.4 mg (0.1 N のアルカリ 1 cc 相当量) に対し 0.1 g を使用しており、天野氏は NH₄Cl の量として 0.5 mg に相当するアンモニアを吸着せしめるには、酸化水銀最少 0.5 g を要するとしているが、この点につき実験した結果、酸化水銀が新しい場合には Weber 氏等の原法記載の使用量で足ることを知つたので、この実験では原法そのままを採用した。

(2) 次に黄色酸化水銀は使用の都度新たに調製しなければ吸着能が劣るとされており、それが事実であれば実施上甚だ不便であるので此の点について実験した。即ち新たに調製した黄色酸化水銀を褐色瓶に入れ、更に之れを褐色デシケーター内に置いて時日の経過によるアンモニア吸着能を実験した結果は次表の通りであつた。

Table 1. Change of adsorption capacity of NH₃ by HgO with the lapse of time after preparation

Days lapsed after preparation	NH ₃ -N in sample	Non-adsorpted NH ₃ -N		Adsorption capacity	
		mg	mg	%	%
0	6.91	0.04	0.00	99.4	100.0
3	"	0.00	0.04	100.0	99.4
7	"	0.00	0.00	100.0	100.0
10	"	0.09	0.05	98.7	99.3
15	"	0.15	0.23	97.8	96.7
20	"	0.24	0.30	96.5	95.7

即ち光線を避けて密封貯蔵する場合には相当の貯蔵性を有し、必ずしも使用の都度調製する必要はない。上表によれば調製後 7—10 日間は充分使用に堪えるが、それ以上長く経過したものはアンモニア吸着能が次第に低下して来ることが解る。

(3) 次に Weber 氏等の原法によればアンモニアを酸化水銀に吸着せしめるため、1 時間暗所に振盪した後一夜放置し濾過しているが、この放置時間の短縮について実験した結果、一夜放置の代りに 1 時間暗所に振盪後直ちに遠心器にかけ、然る後濾過しても同一

Table 2. Adsorption capacity of NH₃ by HgO in both case: filter after standing for a night and filter immediately after centrifuging

NH ₃ -N in sample	Filter after standing for a night		Filter immediately after centrifuging	
	Non-adsorpted NH ₃ -N	Adsorption capacity	Non-adsorpted NH ₃ -N	Adsorption capacity
mg 6.91	mg 0.00	% 100.0	mg 0.00	% 100.0
"	0.09	98.7	0.05	99.3
6.69	---	---	0.09	98.7
"	---	---	0.03	99.6

結果が得られ、従つて長時間放置する必要のないことが解つた。第2表は之れに関する実験成績である。

なお酸化水銀の濾過は東洋濾紙 No. 5c を適當とする。

原法の通りに操作すれば振盪 1 時間でアンモニアは完全に酸化水銀に吸着せられ、必ずしも長時間放置する必要はない。酸化水銀の粒子は極めて細かいので、原法で一夜放置しているのは結局この微粒子を沈降せしめるための操作と思われるから、遠心分離操作を以て之れに代用し得るのは当然である。遠心分離を利用することによつて定量に要する時間を著しく短縮することが出来る。遠心分離を行わずに直ちに濾過すれば応々にして酸化水銀が濾紙の目を通過する計りでなく、濾過に長時間を要するので、遠心分離は是非とも必要である。

Weber 氏等の原法に以上のような改良を加えてアミン態窒素を定量した。

実験 魚肉を好氣的及び半嫌氣的状態に貯蔵した場合の揮発性塩基の生成。

方法 市販のサバ、ウルメイワシの肉質部のみを採り、之れをミンチにかけ更に乳鉢でよく混和して均一な碎肉としたものを試料とした。この一定量宛を秤取した 1 組の試料は全く開放し、他の 1 組は密栓を施し、共に 20° 前後の室内に放置し、一定時間置きに全揮発性塩基窒素、アミン態窒素、アンモニア態窒素（前二者の差）を定量し、同時に試料水浸液につきガラス電極 pH 計によつて pH を測定した。

成 績

実験 I. サバ肉を試料とした場合

サバの碎肉を試料とした実験結果は第3、4表の通りで、之れを図示すれば第1、2図の如くなる。

Table 3. Volatile base produced from mackerel muscle stored under aerobic condition at 20±2°C

Time of storage (hrs.)	pH of meat	Total volatile base [N]	Amine N [n ₁]	$\frac{n_1}{N} \times 100$	Ammonia N [n ₂]	$\frac{n_2}{N} \times 100$
		mg%	mg%		mg%	
0	5.90	10.70	1.72	16.08	8.98	83.92
6	5.95	19.18	3.19	16.64	15.99	83.36
16	6.25	28.66	5.27	18.39	23.39	81.61
24	6.63	31.98	9.07	28.36	22.91	71.64
36	7.15	34.39	9.54	27.74	24.85	72.26
48	7.70	41.44	10.78	26.01	30.66	73.99
61	7.80	75.21	11.68	15.53	63.53	84.47
72	7.90	209.06	12.03	5.75	197.03	94.25
90	8.10	390.45	17.04	4.36	373.41	95.64

Table 4. Volatile base produced from mackerel muscle stored under semi-anaerobic condition at 20±2°C

Time of storage (hrs.)	pH of meat	Total volatile base N [N] mg%	Amine N [n ₁] mg%	$\frac{n_1}{N} \times 100$	Ammonia N [n ₂] mg%	$\frac{n_2}{N} \times 100$
0	5.90	10.69	1.74	16.28	8.95	83.72
6	5.90	19.59	7.52	38.39	12.07	61.61
13	6.00	27.16	14.63	53.76	12.54	46.24
18	6.18	35.73	18.87	52.81	16.86	47.14
24	6.54	32.64	19.64	60.17	13.00	39.83
30	6.85	40.12	23.97	59.75	16.15	40.25
36	6.90	44.20	26.61	60.20	17.59	39.80
42	7.00	48.76	26.75	54.86	22.01	45.14
48	7.15	50.83	27.18	53.47	23.65	46.53
54	6.98	—	—	—	—	—
63	7.08	53.72	28.05	52.21	25.67	47.79
72	7.45	75.48	30.29	40.13	45.19	59.87
96	8.12	226.98	30.97	13.64	196.01	86.36

Fig 1,

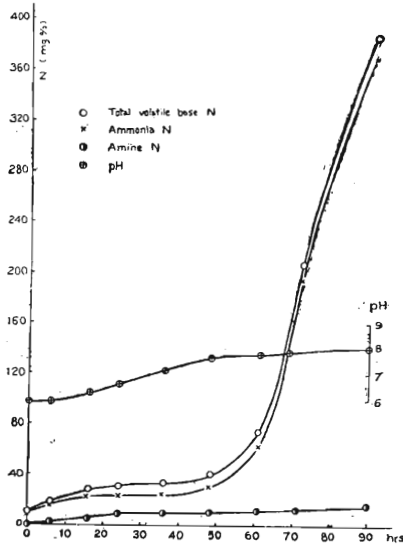
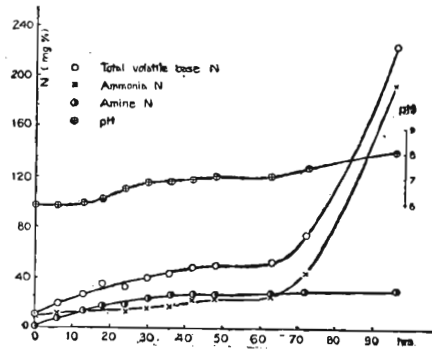


Fig 2.



The formation of volatile base and the change of pH in the course of putrefaction of the muscle of mackerel (*Scomber japonicus*) under aerobic (Fig1.) and semi-anaerobic condition (Fig2.) at 20±2°C

考 察

此等の図表から次のことが言える。

好氣的状態に貯蔵した場合、最初 10 mg % 強であつた揮発性塩基窒素は約 20 時間後に腐敗限界点 (30 mg %) に達し、更に 50 時間後 (此の時の揮発性塩基窒素約 40 mg %)

附近から急激に増加し始める。アンモニア態窒素の増加する状態もこれと殆んど並行的であり、アミン態窒素の増加は極めて緩徐且つ少量である。即ちアミン態窒素の全揮発性塩基窒素に対する割合は最高 30% に達しない。

半嫌気の状態に貯蔵した場合は之れとは可成り状況が異り、全揮発性塩基窒素の生成は前の場合よりも速かで、約 15 時間で腐敗限界点に達し、その後やや長時間に亘つて 40—50 mg% の状態を維持し、60 時間後（此の時の揮発性塩基窒素約 55 mg%）附近から飛躍的な増加過程に入る。併しこの飛躍的な増加過程に入つてからの揮発性塩基の生成量は、好気の状態の場合よりも遙かに少い。このことも両貯蔵条件の著しい相異点である。次にアンモニアとアミンの相対的割合も亦極めて特異的である。即ちアンモニア生成の経過は大體に於て全揮発性塩基のそれに似ているが、好気の場合とは逆にアミン態窒素よりも量的に少い。アミンの生成は好気の状態の場合よりも盛んで、全揮発性塩基窒素 30 mg% に於ては既にアンモニアを凌駕し、その後約 65 時間目までは常にアンモニア態窒素より多い。この時期より全揮発性塩基及びアンモニアは飛躍的な増加過程に入るが、その場合アミンはそれまでの生成過程を変ずることなく、極めて徐々にしか増加して行かない。即ち貯蔵状態が好気的か半嫌气的かによつて分解の緩慢な期間の長さ及びその期間の全揮発性塩基、アンモニア及びアミンの生成量そのものは異なるが、この期間を過ぎて飛躍的に揮発性塩基の増加するのは、何れの場合もアンモニアの生成によるものであつて、この変化に対してアミンは関与しない。

pH は最初 5.9 であつたものが次第に増加して何れの場合も終には約 8 になるが、その途中の経過は両者やや異つている。即ち最初の 30 時間は両者ほぼ等しい pH 値の上昇を見せ、その後も好気の場合には依然上昇を続け、50—60 時間後に 8 近くまで達して平衡状態に入るに反し、半嫌气的の場合は此の期間は pH 7 附近を維持し、65 時間目頃から再び上昇し始めて 90 時間目位で 8 近くに達している。此の pH 値の上昇は大體に於て全揮発性塩基の生成と並行し、この実験では揮発性塩基の激増する時期の pH は何れの場合も約 7.5 である。なお茲に注意すべきは試料肉の pH 値はその揮発性塩基の量そのものと直接的関係のないことで、例えば好气的貯蔵肉で pH 値が約 7 を示す時の全揮発性塩基窒素は約 35 mg% であるに対し、半嫌气的貯蔵肉では約 50 mg% であり、又腐敗限界点 (30 mg%) に於ける pH 値は好气的貯蔵肉では約 6.5 であるに対し、半嫌气的貯蔵肉では約 6 で、その間相当の開きがある。従つて肉の pH 値から揮発性塩基含量を推定し得ないのは勿論、腐敗の検出を試みることも危険と言わなければならぬ。次にこの pH の変化とアミン生成との関係を見よう。アミノ酸の炭酸脱離作用は酸性 (pH 5.5 以下) に於て行われ、至適 pH は 4.5 附近にあると言われ、従つてアミンは肉が酸性の時期に生産され、腐敗が進行してアルカリ性になつた後には生産されないと考えられている。本実験でもアミンの生成は pH 値の低い初期の間が速かで、pH が約 7 に近づくにつれて緩徐となり、7 以上になると殆んど生成しないか若しくは極めて緩徐となり、従来言われている所と大體合致している。

実験 II. ウルメイワシ肉を試料とした場合

ウルメイワシ肉を試料とし、同様に操作して得た実験結果は第 5, 6 表の通りで、之れを図示すれば第 3, 4 図の如くなる。

Table 5. Volatile base produced from round herring muscle stored under aerobic condition at 20±2°C

Time of storage (hrs.)	pH of meat	Total volatile base N [N]	Amine N [n ₁]	$\frac{n_1}{N} \times 100$	Ammonia N [n ₂]	$\frac{n_2}{N} \times 100$
		mg%	mg%		mg%	
0	5.68	20.30	2.21	10.89	18.09	89.11
16	5.80	34.62	8.59	24.81	26.03	75.19
29	7.30	40.21	13.31	33.10	26.90	66.90
45	8.30	232.90	10.28	4.41	222.63	95.59
63	8.50	480.25	11.79	2.43	468.47	97.55

Table 6. Volatile base produced from round herring muscle stored under semi-anaerobic condition at 20±2°C

Time of storage (hrs.)	pH of meat	Total volatile base N [N]	Amine N [n ₁]	$\frac{n_1}{N} \times 100$	Ammonia N [n ₂]	$\frac{n_2}{N} \times 100$
		mg%	mg%		mg%	
0	5.68	20.30	2.21	10.89	18.09	89.11
19	5.70	33.84	7.67	22.67	26.17	77.33
32	6.60	53.12	11.14	20.95	41.99	79.05
48	7.10	124.26	15.07	12.13	109.19	87.87
67	7.30	197.97	21.24	10.73	176.72	89.27

Fig 3.

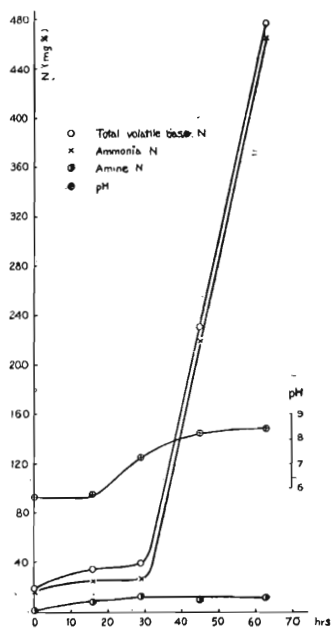
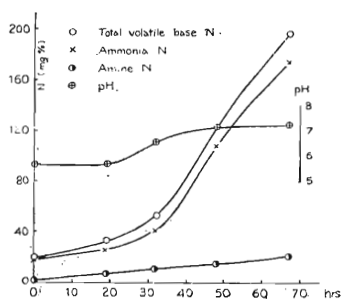


Fig 4.



The formation of volatile base and the change of pH in the course of putrefaction of the muscle of round herring (*Etrumeus micropus*) under aerobic (Fig 3.) and semi-anaerobic condition (Fig 4.) at 20±2°C

考 察

実験の都合上測定の間隔をサバの場合より粗にしたのと、揮発性塩基量が最初から可成り多いため細部については多小の差異はあるが、大体の傾向としてはサバ肉の場合と同様で、全揮発性塩基及びアンモニア共に分解の緩慢な期間経過後の生成量は好氣的貯蔵肉の方が著しい。即ち上昇の曲線が遙かに急峻である。これに対しアミンの生成は終始変わらず甚だ緩徐である。又好氣的状態に於てはアミンの生成が早く頂点に達するが、半嫌氣的状態に於ては容易に生成が衰えず、アミンの量そのものも、全揮発性塩基に対するアミンの割合も好氣的状態の場合を凌駕するに至る。唯サバの場合との著しい相異点は好氣的の場合も半嫌氣的の場合も分解の緩慢な期間が等しいことと、後者の場合もアンモニアに比較してアミンが遙かに少いことである。アミンが著しく多量生成するのはサバ肉の特質なのか、或は他に原因があつたのか明らかでない。

pH もサバの場合とやや異り、ウルメイワシでは最初約 5.7 であつたものが揮発性塩基の飛躍的に増加し初める頃から急に増加するが、好氣的貯蔵に於ては 8.5 (この時の全揮発性塩基窒素 480 mg % 強) になるに反し、半嫌氣的貯蔵の場合は同じ時間で 7.3 (この時の全揮発性塩基窒素 198 mg % 弱) に達するに過ぎない。半嫌氣的貯蔵肉の方が pH 値の上昇が緩徐であることはサバの場合と全く同様である。又 pH 値と揮発性塩基の量の間に直接的な関係のないこともサバの場合と同じで、例えば本実験で pH が 7.3 を示した場合の揮発性塩基の量は、好氣的貯蔵肉では 40mg % であるに対し、半嫌氣的貯蔵肉では 198 mg % 弱で、5 倍近い開きがある。

総 括

サバ及びウルメイワシの碎肉を好氣的 (開放) 及び半嫌氣的 (密閉) 状態で常温に貯蔵し、pH の変化、揮発性塩基の生成状態を比較観察した所、次のような現象が見られた。

1. 従来考えられているようにアミンは肉の pH が 7 より小さい初期に主として生成し、而もその蓄積は終始漸進的である。
2. 之れに反しアンモニアの生成は初期のうちにはアミンと同様漸進的であるが、或る時期から飛躍的な増加過程に入る。之れが両揮発性塩基生成経過の著しい相異点である。
3. 貯蔵の初期に於けるアンモニアの生成量は、好氣的状態の場合よりも半嫌氣的の場合の方が多いが、飛躍的な増加過程に入つてからの生成量は逆に好氣的状態に貯蔵した肉の方が遙かに多量となる。
4. ウルメイワシではアミンの生成量は好氣的貯蔵肉でも半嫌氣的貯蔵肉でも大差なく、又アンモニアより少かつたが、サバを半嫌氣的に貯蔵した場合は初期に於てアンモニアよりもアミンの生成量の方が多かつた。或る時間経過後に於てはアンモニアが飛躍的に増加するので、勿論アミンを遙かに凌駕するに至る。
5. pH の変化は貯蔵条件によつて異り、好氣的状態に貯蔵した方が pH 値の増大が早く進行する。又 pH 値の増大は本来揮発性塩基の生成に基づくものであるが、両者は並行的な関係はなく、換言すれば揮発性塩基の量に著しい差異があつても肉の pH 値はあまり変らない場合が少くない。

Résumé

We studied on the volatile base generated in fish muscle in the course of putrefaction. Mackerel and round herring muscle were stored in room temperature under aerobic and semi-anaerobic condition, and the generation of ammonia and amine was determined. The results of these experiments on mackerel muscle are represented in Table 3, 4 and Fig. 1, 2, and that of round herring in Table 5, 6 and Fig. 3, 4. From these experiments, it was known that the decomposition products and the pH value of fish muscle differs according to the storing condition and to the species of fish.

文 献

- (1) F. C. Weber & J. B. Wilson : J. B. C. 35, 385 (1918)
- (2) C. E. M. Pugh & J. H. Quaste : B. J. 31, 282 (1937)