魚 肉 鮮 度 簡 易 測 定 法*

第 3 報 昇汞による Hexon base 沈澱の有無に就て

(昭和 23 年 12 月 9 日受理)

天野慶之・内山 均・富谷章子

(水 産 試 験 場)

Simplified Test on the Freshness of Fish Meat

III. Non-Precipitability of Hexon Base

with Mercuric Chloride

K. AMANO, H. UCHIYAMA and F. TOMIYA

SYNOPSIS

As a delicate and characteristic method for detecting the early stages of decomposition of fish flesh, we reported the coagulation test of soluble protein-like substances with mercuric chloride solution. In the previous paper, it was described that the coagulum probably contains soluble protein, and also mercuric-amino-chloride but in lesser amount**. However, some questions have been yet left whether the coagulum contains hexon bases. To solve this problem, the precipitability of mercuric chloride with hexon bases was examined in aqueous extracts of fish muscle.

In the first experiment, 10 gms of putrid flesh of skipjack were ground and mixed with 100 c.c. of distilled water, filtered off after 60 minutes. To 10 c.c. of the filtrates added 1 c.c. of 20% trichloroacetic acid and the precipitates were removed; filtrates were heated on water bath for about 10 minutes to drive out CCl_3COOH as chloroform, and then cooled off. To this added 5 c.c. of 1% HgCl_2 . No precipitate was obtained in this treatment. (See Table 1)

In the second experiment, we tried to estimate the amount of hexon bases in the filtrates which was obtained either by removing the precipitates of CCl_3COOH or by giving off that of HgCl_2 of the aqueous extracts of fish flesh. The marlin flesh, in this case, stored at room temperature, was observed for determining the hexon bases during the decomposition. To each 10 c.c. of the filtrates prepared as noted above, added 0.5 c.c. of conc. sulfuric acid as well as 2 c.c. of 5% phosphotungstic acid in order to precipitate hexon bases in the solution. Nitrogen content

* 水産試験場業績 第 108 号 (1948), 昭和 23 年 9 月 15 日, 日本水産学会大会 (上田市) に於て講演。

** K. Amano & H. Uchiyama; Bull. Japan. Soc. Sci. Fish., 14, 1, 48-50, 1948.

K. Amano & H. Uchiyama; Ditto, 14, 4, 165-172, 1948.

of the precipitates was determined by Kjeldahl method; the results are summarized in Table 2. It is apparent that the amount of hexon base nitrogen is not much different in the filtrates of two kinds as far as the primary cleavage of the muscle protein goes. (Table 2).

In the light of these experiments, it may be assumed that the mercuric chloride does not react with the hexon bases in the aqueous extracts of fish meat, further the water soluble protein is the major constituent in the coagulum as already suggested by us**.

It is added: copper salts, such as copper sulfate and copper chloride, though reaction is not so delicate, may be also used for the same purpose in stead of mercuric chloride. (Table 3).

さきに¹⁻²⁾昇汞沈澱反應が魚肉の鮮度簡易判定に利用できることを述べ、その沈澱内容が沈澱形成の当初に於ては、おもに水溶性蛋白部分であらうことを二三の実験結果から推定した。然しながら、水銀塩によつて固定せられる窒素形態には、アンモニア、蛋白質以外に、Hexon base に属する塩基性アミノ酸群が考へられる。これらの base の分離に用ひられる水銀塩は普通硫酸水銀であるが、若し昇汞の場合でもこの種の base を沈澱せしめる能力がありとすれば、この沈澱内容には水溶性蛋白以外のものをも包含することを認めねばならない。本報では、この点に就てしらべた結果を述べ、併せて本法を実施する場合昇汞以外の金属塩の使用如何に就て検討した成績をも記載する。

I. 魚肉水浸出液に三塩化醋酸を加えて除蛋白した濾液中の昇汞沈澱物

昇汞に Hexon base の沈澱能力があるとすれば、この base を沈澱せしめない除蛋白剤、例へば三塩化醋酸を用ひて除蛋白した濾液中に昇汞を加へ、その反應の有無によつて沈澱能力の有無を判定し得る筈であらう。

これを確めるために、かなり変敗に達したカツヲ肉(揮発性窒素 119 mg/100 g 昭和 23 年 9 月 2 日実施)を使用し、このものを 10 g を既述の方法に従ひ、100 c.c. の蒸留水で浸出 1 時間 (22°C) を行ひ、この濾液 10 c.c. に 20% 三塩化醋酸 1.0 c.c. を加へて約 18 時間放置後、濾過し、濾液を沸騰溫浴中で 10 分間加温し、残余の三塩化醋酸を Chloroform として除き、冷却後この液に 1% HgCl_2 液を 5.0 c.c. 加へた結果、沈澱の形成を認め得なかつた。この全溶液を HCl 酸性にした場合も沈澱を生じないので、恐らく昇汞に Hexon base の沈澱能力はないという事の一資料と考へる。第 1 表は分析結果を示す。

Table 1. Non-precipitability of HgCl_2 with the filtrates by adding of CCl_3COOH to the aqueous extracts of skipjack flesh
Figures expressed in mg/100 g

Total soluble nitrogen	1586
N precipitated by HgCl_2	906
N precipitated by CCl_3COOH	792
N precipitated by HgCl_2 after the treatment of CCl_3COOH	none
Volatile nitrogen in original sample	119

1) 天野麗之・内山 均: 日本水産学会誌, 14, 1, 48—50, 1948.

2) ———: 全誌, 14, 4, 165—172, 1948.

II. 魚肉水浸出液中の昇汞沈澱物を除いた濾液中の磷タングステン酸沈澱物

Hexon base は磷タングステン酸 (P. T. A. と略称する) で沈澱させることが出来るから、昇汞及び三塩化醋酸で夫々生じた沈澱を除いた濾液中に P. T. A. で固定せしめられる窒素量がどの程度あるかを比較すれば、昇汞が Hexon base をも沈澱させてゐるかどうかを推定出来ると思う。

試料はクロカハカジキを用ひ、脊肉の部分の比較的均一な肉組織を各々約 50 g を大型試験管に収め、水分の損失を防ぐために軽く栓を施し、各経過日数に應じて、同時に 2 個の試料を開き、肉を均等に細碎混和して、その中より、一定量 (冷水浸出の場合は 10.0 g につき水 100 c.c.) を採取して分析を行つた。実験は昭和 23 年 6 月 9 日より 11 日間室温に放置し、その間、既述の¹⁻²⁾方法に従つて調製した水浸出濾液について、その全窒素、三塩化醋酸沈澱態窒素、昇汞沈澱態窒素、並にこれら三塩化醋酸及び昇汞の沈澱を除いた各濾液中の P. T. A. 沈澱態窒素を測定した。即ち、各濾液 10.0 c.c. を 5 % H_2SO_4 酸性に於て、磷タングステン酸 5 % 液 2 c.c. を加へて、その沈澱物中の窒素を定量した。(第 2 表) 試料 100 g 中の水分 68.5 %, 全窒素 3.57 % である。

Table 2. Nitrogen precipitated by phosphotungstic acid
in the filtrates treated either by CCl_3COOH
or by HgCl_2 in the marlin flesh extracts during
the course of natural decomposition
Figures expressed in mg/100 g、

Days elapsed	0	1	2	4	5	6	7	8	9	11
Total soluble nitrogen	1848	1571	1439	1673	1239	1408	1813	2051	2255	2285
Nitrogen precipitated by CCl_3COOH	1163	836	558	821	537	625	1159	1016	1173	1054
N precipitated by P. T. A. after the treatment of CCl_3COOH	422	380	434	435	265	350	500	387	370	405
N precipitated by HgCl_2	none	none	700	957	666	751	1301	1141	1220	1223
N precipitated by P. T. A. after the treatment of HgCl_2	—	—	422	422	255	372	380	280	280	255
Volatile nitrogen in original sample	12	24	32	58	130	81	182	226	390	361
pH of the filtrates	5.6	5.6	6.0	6.4	6.6	6.0	6.8	7.0	6.6	7.0
Room temperature C	22~24	22~23.5	22.5	21.5~25	23	26	23	26	25	24.5~29.5

Remark: P. T. A. indicates phosphotungstic acid

これで明かなやうに、昇汞沈澱態窒素も、三塩化醋酸沈澱態窒素も略々同様な数量的変化を示し、これに平行して P. T. A. 沈澱態窒素も、夫々の濾液中で殆ど相似た増減を見せてゐる。即ち、蛋白質以外で P. T. A. に落ちる物質——これを仮に、主として Hexon base から成るとすれば——は昇汞沈澱濾液中にも残存し、しかもその量は三塩化醋酸沈澱の濾液中の量と殆ど相違がないと云う事である。

云ひ換へれば、この場合昇汞は三塩化醋酸と同様、蛋白沈澱剤として反応してゐるに過ぎず、Hexon base に類する物質にはその反応が及ばないと云うことなのである。この結果と、上に掲げた三塩化醋酸沈澱濾液中に、直接昇汞を加へて沈澱を生じなかつた成績とを対比して、昇汞に Hexon base 様物質の沈澱能力がないものと解しても差支へなからうと考える。

III. 魚肉水浸出液中に於ける硫酸銅及び塩化銅の沈澱形成

変敗魚肉の水溶性蛋白に対して、昇汞以外の金属塩にも類似反応の存在する事は既に述べたが、鮮度判定を実施する場合、昇汞試薬がその毒性のために、食品検査上望ましくないことも一應考へられるので、硫酸銅及び塩化銅を使用した場合について観察を試みたが、沈澱反応が少々昇汞に比べて鈍いことが認められた。

これを I と同じ変敗したカツヲ肉の水浸出液に就て、銅塩と沈澱する窒素量を定量した結果は第 3 表の如くであつて、昇汞の沈澱量よりも少いことがわかる。しかし沈澱形成の様相は判定に困難な程ではないから、昇汞溶液に代へて、比較的毒性の少いこれら銅塩の 1% 液を使用してもよいと思ふ。

Table 3. Nitrogen precipitated by two kinds of copper salts in the aqueous extracts of skipjack
Figures expressed in mg/100 g

Total soluble nitrogen	1586
N precipitated by HgCl_2	906
N precipitated by CuSO_4	679
N precipitated by CuCl_2	527
N precipitated by CCl_3COOH	792

Remark: sample used is same as in Table 1.

IV. 考 察

第 1 表に於て、揮発性窒素が 119 mg 存在し変敗の進んだ状態の魚肉の水浸出液を三塩化醋酸で除蛋白した濾液に昇汞を加へた場合、 $\text{Hg}(\text{NH}_2)\text{Cl}$ の沈澱の形成されなかつたのは、奇異に考へられる。これは、アルカリ性では当然沈澱すべきアンモニアが、溶液が稍酸性側にあるため沈澱形成を阻まれたのではないかと思はれる*。硫酸水銀でヒステジンなどを落す場合は勿論酸性領域で反応を進めるから、昇汞にこれら塩基性アミノ酸の沈澱能力が存在するとすれば、第 1 表の実験で三塩化醋酸の濾液中に、その沈澱が形成されなければならない。又、第 1 表で、昇汞に落ちる窒素量から、三塩化醋酸沈澱窒素量を差引いた残りが、略々揮発性窒素量に一致してゐる点は、昇汞が甚しい変敗肉の場合では蛋白以外のアンモニア等をも固定**してゐる例を示すものと解される。既報したところと、今回の実験から、昇汞沈澱物の内容は、アンモニアとかアミノ酸群の比較的單純なものではなくして、蛋白質が主要成分であることが略々推定出来るのであるが、この沈澱現象が水溶性蛋白のどのような性質に属するものかは今後明かにしたい。又、蛋白であるとしても、新鮮肉の水溶性部分では反応しない理由に就ては、なほ満足すべき説明に達してゐない。恐らくは、蛋白分子の水和力が、腐敗の前後で大きな相違をもたらすものではないかと想像する。勿論そのやうな考へ方——蛋白分子の物理化学的性質——ばかりでなく、蛋白の組成上の変化も腐敗の前後では、考慮に入れなければならないであらう。昇汞、硫酸銅、塩化銅

* これらの点に就ては、近く報告の予定。

** 但し $\text{Hg}(\text{NH}_2)\text{Cl}$ は過剰のアンモニアに可溶である。

その他の金属塩と、蛋白分子との間の分子化合物的な結合様式も想定し得ると思ふ。その場合、蛋白分子中のどのやうな group* が関與するかといふ事も興味ある問題である。

V. 摘 要

魚肉水浸出液と形成される昇汞沈澱物中に Hexon base 類似物質が存在するか否かに就て次の如き実験を試みた。

1. やゝ変敗したカツヲ肉の水浸出液を三塩化醋酸で除蛋白し、その濾液中に昇汞と沈澱を形成するものゝない事を認めた。
2. カジキ肉の腐敗過程に於て、その水浸出液中の水溶性全窒素、三塩化醋酸沈澱態窒素、昇汞沈澱態窒素及びこれら沈澱物を除いた濾液中の磷タングステン酸沈澱態窒素を定量して、昇汞沈澱濾液中にも、三塩化醋酸沈澱濾液中と略々同程度の Hexon base 様物質の残存することを明かにした。
3. 以上によつて、この沈澱物が腐敗の初期に於ては主として水溶性蛋白であらう事を推定し得る。
4. 昇汞に代る金属塩として、硫酸銅、塩化銅が簡易鮮度判定に使用し得ることを述べた。

実験に就て有益な御教示を賜つた右田正男博士、京大清水亘博士に衷心より感謝の意を表する。

* 北大小幡彌太郎教授は SH 基との結合を示唆された。同博士に厚く感謝の意を表する。