魚介類鮮度の新簡易測定法について (第一報)

(昭和 24 年 1 月 14 日受理)

森 高 次 郎 ・ 秦 満 夫

(東京大学農学部水産化学教室)

The new, simplified Method of Determination for
Freshness of Fishes (I)

T. MORI and M. HATA

SYNOPSIS

We examined the periodical variation of reducing power of the 11 fish meats by the Anson-Mirsky's Ferrieyanide method, and obtained the following results.

- (1) The reducing power increases in proportion to the lowering of the freshness.
- (2) The increasing rate of reducing power of various fishes are nearly equal, as far as we examined.
- (3) The reducing power at the beginning point of the putrefaction is approximately definite among various fishes.
- (4) The increase of reducing power runs nearly parallel with that of volatile basic nitrogen. From the above results we believe that it is probably possible to use this method as the standard for the determination of freshness of fishes.

〔緒 言〕

肉類鮮度の測定については従来種々の方法が行はれて居る。之を大別すると、肉眼の方法、細菌数を測定する方法、物理的方法、化学的方法、とすることが出来る。肉眼の方法は古来一般に使用せられて居る方法であるが、十分科学的ではないから省略して他の方法について略述する。

1. 細菌数を測定する方法

肉類の細菌数を測定して鮮度の指標とする方法で、相当の精度を有するが、設備、時間、熟練を要し今の処一般の実用化には適しない。種々の研究者によれば肉一瓦中の細菌数 $10^5 \sim 10^8$ の時が腐敗初期であるといふ。この方法については自己消化を考慮する見地から反対の立場を取つて居る人々もある。

2. 物理的方法

之には、電気抵抗を測定する方法と硬度を測定する方法がある。前者は魚体の電気抵抗が鮮度の低下に伴つて低下することを利用したものであり、後者は古来手によつて行つて來たものを機械的に精密に測定する様工夫したものであるが魚種や個体による差がある様に思はれる。

3. 化学的方法

以上のべた方法よりも精度も高く報文も多い。肉類の鮮度による種々の化学的变化を測定して鮮度の指標とするもので、この爲に選ばれた成分として、非蛋白態窒素, Amino 態窒素, Ammonia 態窒

素, 揮発性塩基窒素, 硫化水素, indol. Amin 類, 等があり, 又其の他, 還元力, Tyrosine 反應, 螢光現象, pH. 等の変化の測定も行はれる。この内 Ammonia 態窒素では周知の如く 30 mg/100 g, Trimethyl amin では 4~6 mg/100 g, pH では鮮肉に於て 7 附近のものが一たん 6 附近まで下り再び上昇し始めて, 6.2 乃至 6.5 附近となる時をもつて, 夫々腐敗初期として居る。

以上の中揮発性塩基 N の定量及び pH の測定等は信頼すべき方法として一般に使用せられて居るが之を実用化せんとするには設備を要し測定に熟練を要する等の点で未だ難点がある。

以上の如く肉類鮮度の測定については從來種々の方法が行はれて居るが何れも一長一短があり特に水産物の如く腐敗が迅速で又一度に大量の漁獲を見るものではその鮮度を迅速且つ正確に知ることはその利用上甚だ重要なことであるにも関わらず未だ適当な方法がない。著者等は魚類鮮度の低下が当然蛋白質の伴ふべきことに着目して, 近時特に進歩を見て居る蛋白質変性の測定法を鮮度測定に應用せんとした。蛋白質の変性の測定法には種々あるが, 蛋白質が変性を起すとその結果として SH-Group が遊離することが Hopkins¹⁾ により発見せられて以來, 之が変性蛋白質の研究に大きな地歩を占める様になりその定量法も種々考案せられた。即ち Greenstein²⁻⁷⁾ Todrick, Walker⁸⁾, Kuhn, Desnuelle⁹⁾ Onson, Mirsky¹⁰⁻¹⁸⁾ 等の研究が之であり, 何れも遊離して Active となつた SH-Group の還元力を種々の試薬により測定するもので此の試薬としては 2,6-Dichlorophenol-indophenol, Porphyrindin, Ferricyanide, Tetrathionate, p-Chloromercuribenzoate, o-Iodosobenzoic acid, 等が用ひられる。この中最も多く用ひられるのは, Porphyrindin, と Ferricyanide, とであり, 著者等は試薬の得易い点, 又結果の比較的正確である点等を考へて先づ Ferricyanide 法によることとした。

之は Anson Mirsky の用ひた方法であつてその骨子は変性蛋白質より遊離した SH-Group を以て, Ferricyanide, を還元して Ferrocyanide となし之と Ferric sulfate と反應せしめて Prussian blue を生ぜしめ, 之を比色により定量するのである。著者等は此の Anson Mirsky¹⁷⁾ の方法に準據し実用的價值を考へて之を簡易化し実験を行つた。

他の蛋白変性度用試薬を用ひて肉類鮮度の測定も今後行ふ予定である。

〔実験方法〕

魚肉は可及的皮骨等を除き均一な部分のみを取り乳鉢で可及的細くすりつぶす。この中 1.5 g を正確に約 60 cc 容の着色すり合せの廣口瓶に取り蒸溜水 15 cc を加へて懸濁せしめ, 之に 0.1 モルの第一

第一圖

及び第二磷酸ツードの等量混液 10 cc を加へて pH 6.8 に調整し 0.1 モルのフェリシアン加里 1 cc を加へてよく振盪し, 20 分間 40°C に定温, 後之に 10 cc の蒸溜水と 10 cc の 0.1 N 三塩化醋酸とを加へ 10 分間放置せる後濾過し, 濾液の中 10 cc 宛を予め径を揃へて準備した試験管の二本に取り, 中一本に硫酸第二鉄液 2 cc を加へ 20 分間放置した後比色に供する。この場合の硫酸第二鉄液は, 無水硫酸鉄 5 g を 85 %, 磷酸 100 cc に溶解し蒸溜水を以て一立としたものである。

比色の標準液としてはフェロシアン加里の 0.01 ミリモルより 0.01 ミリモルおきの水溶液を調製し之を 10 cc 宛前述の径を揃へた試験管に取り之に各々 2 cc 宛の前述の硫酸第二鉄液を加へて Prussian blue を生ぜしめ, 之を密栓したものを用ひる。

比色は Anson Mirsky によれば Spectrophotometer により行ふのであるが、こゝでは実用化を考慮して簡易な方法を取ることをし第一図の様な比色箱を用いた。

即ち a に検液の呈色せしめないもの b に標準液 c に蒸留水 d に検液の呈色せしめたものを入れ、a の標準液の方を適当に取りかへて、色調と同一の標準液を求めその標準液のミリモル数を以て検液の還元力を現すこととした。なほ a に検液の呈色せしめない試験管を立てるのは、過剰のフェリシアン加里の黄色の影響と検液の固有な色調の影響を除く爲である。

〔実験結果及考察〕

以上の実験方法により魚肉の鮮度を測定したのであるが、魚肉の鮮度低下を促進し実験の能率を増進する爲に、すりつぶした魚肉を 37°C の恒温器中に貯へ 2 時間置きに一部を取り出してその還元力を測定し、鮮度低下に伴ふ還元力の変化を求めた。

実験に供した魚種は、サンマ、ブリ、マイワシ、ホツケ、カヂキ、マアヂ、ゴマサバ、鯉、鮒、鰻、メイタガレイ、マダイ、等であるが、魚の入手が困難で、特に淡水魚を除いては新鮮なものが得難く、又産地、死後の時間等も概ね不明で従つて実験結果を相互に比較するのが困難であることは遺憾であつた。以上の魚種の実験の結果は第一表に示された如くである。表中の数字は標準液のフェロシアン加里の濃度を示し、アンダーラインは腐敗初期を現す。なほ同一欄中上下二段の数字のあるものは、時間の都合上夜間冷蔵庫に貯へたもので、上段が前日の最後の値、下段が翌日の最初の値である。

Table 1. Reducing power of various fish meats preserved at 37°C (mM. conc. of standard ferrocyanide solution.)

hours Fishes	0	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20	22
鯉 Cyprinus carpio	0.08	0.10	0.12	0.15 0.16	0.18	0.23	<u>0.28</u>	0.35	0.40			
鮒 Carassius auratus	0.10	0.11	0.13	0.15	0.17	0.23	<u>0.30</u>	0.34	0.38	0.40		
鰻 Anguilla japonica	0.12	0.14	0.16	0.19	0.22	0.24 <u>0.27</u>	0.32	0.38				
ホツケ Pleurogrammus azonus	0.08	0.10	0.12	0.16 0.16	0.20	0.23	<u>0.28</u>	0.36	0.42			
マダイ Pagrosomus major	0.18	0.22	0.25	<u>0.27</u>	0.37	0.45						
メイタガレイ Pleuronichthys cornutus	0.11	0.13	0.15	0.18	0.20	0.24	<u>0.27</u>	0.33				
マイワシ Sardinia melanosticta	0.16	0.18	0.21	0.23 0.23	<u>0.27</u>	0.32	0.37					
マアヂ Trachurus japonicus	0.17	0.19	0.20	0.21	0.23 <u>0.29</u>	0.33	0.45	0.49				
ゴマサバ Scomber tapeinocephalus	0.16	0.18	0.18	0.19	0.20 0.21	0.23	<u>0.26</u>	0.29	0.41			
マカヂキ Makaira mitsukurii	0.18	0.21	0.23	<u>0.25</u>	0.34	0.39						

hours	0	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20	22
Fishes												
サンマ Cololabis saira	0.14	0.17	0.19	0.21	0.24	<u>0.26</u>	0.31	0.36	0.38	0.43	0.48	0.54
ブリ 血合 Seriola quiqueradiata	0.06	0.10	0.12	0.13	0.15		0.20	0.22	<u>0.27</u>			
ブリ 普通肉 Seriola quiqueradiata	0.09	0.15	0.17	0.19	0.20		0.23	<u>0.26</u>	0.31			

次にこの還元力の増加が従来鮮度測定法として一般に用ひられてゐる揮発性塩基窒素、(マグネシア法による)と如何なる関係にあるかを知るために比較試験を行つた。この結果は第二表に現す。

更に 37°C で得られた結果が室温に於ても適用出来るかどうかを試験した其の結果は第三表の如くである。

Table 2. Relation between reducing power and volatile basic nitrogen
presrvated at 37°C. (by Cololabis saira)

hours	0	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20	22
reducing power mM	0.14	0.17	0.19	0.21	0.24	<u>0.26</u>	0.31	0.36	0.38	0.43	0.48	0.54
Volatile basic nitrogen mg/100g	16.35	18.92	21.22	24.56	28.44	<u>30.19</u>	35.32	46.43	49.45	59.38	81.04	100.01

Table 3. Reducing power presrvated at various temperatures.
(by Carassius auratus)

hours	0	2	4	6	8	10	12	14	16	18		
37°C	0.10	0.11	0.13	0.15	0.17	0.23	<u>0.30</u>	0.34	0.38	0.40		
hours	0	5	10	15	20	25	30	35	40			
27°C	0.10	0.11	0.12	0.17	0.22	<u>0.29</u>	0.34	0.37	0.41			
days	0	1	2	3	4	5	6					
room. temp. (6~10°C)	0.10	0.11	0.12	0.16	0.20	<u>0.24</u>	<u>0.37</u>					

なほ以上の三表の腐敗初期は五感により檢した、

以上の結果より判断すると

(一) 還元力は時間の経過即ち鮮度の低下と共に増大する。

(二) 還元力の増加の傾斜は腐敗初期に達する迄は緩やかであり、腐敗初期に到つて俄に急となり増加速度は腐敗前の二倍以上にもなる。

(三) 還元力増加の傾斜の傾向はマアデ、マダイ、等の例外も見られるが魚種間に大きな差違は認められない。

(四) 腐敗初期の示す還元力の價は魚種に限らず略一定であり、若干の例外はあるが概ね 0.27 ミリモル附近を示す。

(五) ブリー種一回のみの実験例であるが、普通肉と血合肉とを比較すると普通肉は血合肉よりも概ね高い價を示すが腐敗初期の價は略同じである。尙この普通肉と血合肉との比較は更に検討を要すると思はれる。

(六) 魚肉の還元力と揮発性塩基窒素量とは鮮度の低下と共に増加し、増加速度は時間と共に増して居るが、増加の割合は腐敗前に於ては還元力の方が僅かに急であり、腐敗初期以後に於ては揮発性塩基窒素量の方が稍急となる。揮発性塩基窒素量 30 mg/100 g の点は還元力では 0.27 ミリモル附近に相当して居る。

(七) 貯藏温度の相違が増加速度の遲速をもたらすことは勿論であるが、その傾向及び腐敗初期の示す還元力の値には著しい差違は認められない様である。

実験例も多くないので以上の結果のみより結論を下すことは早計かも知れないが、還元力の増加が特別の場合を除き鮮度測定の標準となり得ることは明らかであり、又揮発性塩基窒素量の定量に比して設備も要せず、比較的簡単な比色法を用ひて定量を行ひ得る点より見て実用化し得るものと思はれる。目下簡易化に付実験中である。

なほ我々は蛋白質の変性による SH-Group の遊離と之の定量より出發してこの測定法を行つたのであるが、Ferricyanide-Ferrocyanide の反應に與る物質は SH-Group のみに限らず、他にも種々存在すべく之等の総和が測定結果として現れて來ると考へられる。而して如何なる物質が関與してゐるか今後更に研究を進めたい。

終りに臨んでこの実験には水産研究会より研究費の補助を受け、向山満春学士の多大な助力を得たことを附記して感謝の意を表する。

〔引用文献〕

1) Hopkins F. G.	Nature	126, 328, 363 (1930)
2) Greenstein	J. Biol. Chem.	125, 501 (1938)
3) "	"	128, 233 (1939)
4) "	"	130, 519 (1939)
5) "	"	136, 795 (1940)
6) "	"	133, 397 (1940)
7) "	"	142, 175 (1942)
8) Tordrick A. and Walker E.	Biochem. J.	31, 292 (1937)
9) Kuhn R. and Desnuelle P.	Z. Physiol. Chem.	251, 14 (1938)
10) Anson M. L. and Mirsky A. E.	J. Gen. Physiol.	19, 439 (1935)
11) Mirsky A. E.	"	19, 559 (1936)
12) Anson and Mirsky	"	19, 429 (1936)
13) "	"	19, 451 (1936)
14) Anson M. L.	Science	90, 256 (1939)
15) "	J. Gen. Physiol.	23, 247 (1940)
16) "	"	24, 399 (1941)
17) "	"	24, 679 (1941)
18) Mirsky A. E.	"	24, 709 (1941)