通気法による揮発性塩基定量に関する研究—Ⅱ. 魚肉抽出液について定量条件の検討

河 端 俊 治・照 井 博

(国立予防衛生研究所)

Fundamental Studies on the Determination of Volatile Basic Nitrogen by Aeration Method—Ⅱ.

Studies on Some Determinative Factors Influencing the Volatile Bases Obtainable from Fish Meat

Toshiharu KAWABATA and Hiroshi TERUI

The experiments were carried out on the trichloroacetic acid extracts of fresh and spoiled mackerel meat. The results obtained on some determinative factors were not in complete agreement with those obtained from the equations described in our previous report, especially on the aeration temperature. The curves of the amount of volatile basic nitrogen obtained when plotted by temperature, showed two irregular increases at the temperature of 45° and 70°C, which seemed to have no direct relation to the freshness of the material examined.

第1報では $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ について定量条件を検討し、実験式を導くことが出来たので、之等が魚肉についても適用出来るかどうかを検討した。

1. 実験方法

材料は新鮮及腐敗サバ肉を細碎し(860 g)之に水(4 l)を加え、約30分間攪拌浸出後、12% Trichloroacetic acid (TCA) (1 l)を加え、攪拌し、濾過し、この際蛋白濾液を供試液とし、氷室中にて保存した。測定には濾液10 ccを用い、Methyl red 指示薬1滴を加え、10% K_2CO_3 液にて予備中和し、更に水を加えて全量を20 ccとし、之に20% K_2CO_3 液5 ccを加えて通気を行つた。結果は、第1報に於けると同様供試液10 cc中の窒素のmg数にて表わした。

尚供試サバ肉の鮮度は常法の如く、揮発性塩基窒素で示すと、新鮮肉が21.5 mg%, 腐敗肉が89 mg%に相当した。

実験は最初に腐敗サバ肉濾液について、 $T=45^\circ\text{C}$, $v=50$ l/hr. における時間と溜出量の関係を調べた。 t は5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 80, 100, 120分間とし、結果は第1図中にて示した。次の実験は、腐敗及新鮮サバ肉濾液について温度と溜出量の関係を求めた。 $v=50$ l/hr. の一定とし、 T は 20° より 80°C までを 5°C 間隔で t は30, 60, 90, 120分として測定し、その結果は第1図中に示した。

2. 実験結果及考察

1) 通気時間と溜出量: 魚肉濾液においても $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ と同様、一次反応に従うことが予想されるが、濾液は単一の成分でないことより、 N_0 (塩基総量)は勿論、 k の値も共に不明である。そこで一次反応に従う

と云う前提で N_0 の算出を試みた (この N_0 より k を求め、之が t に対し一定であればこの仮定は正しいことになる)。同一 T 及 v の下で t_1 及 t_2 時間における溜出量を夫々 N_1, N_2 とすれば第1報¹⁾(i') 式より

$$\frac{1}{t_1} \log \frac{N_0}{N_0 - N_1} = k \dots\dots\dots (vi) \quad \text{及} \quad \frac{1}{t_2} \log \frac{N_0}{N_0 - N_2} = k \dots\dots\dots (vii)$$

(vi) (vii) を等しいと置けば

$$\left(\frac{N_0}{N_0 - N_1} \right)^{t_1} = \left(\frac{N_0}{N_0 - N_2} \right)^{t_2} \dots\dots\dots (viii)$$

こゝで $2t_1 = t_2$ とおけば

$$\left(\frac{N_0}{N_0 - N_1} \right)^2 = \left(\frac{N_0}{N_0 - N_2} \right) \dots\dots\dots (viii) \quad \therefore N_0 = \frac{N_1^2}{2N_1 - N_2} \dots\dots\dots (ix)$$

即ち $2t_1 = t_2$ なる任意の t_1 とその倍の時間である t_2 の溜出量 N_1 及 N_2 より容易に N_0 が求められる。

第1図にて示した測定値より N_0 を算出すると第1表の如くなる。

即ち、30分以前の測定値では過少値を与えるが〔30, 60〕, 〔40, 80〕, 〔50, 100〕, 〔60, 120〕分による N_0 は一致したと考えて差支えないことが判つた。こゝで $N_0 = 1.37$ mg とした場合の N 及 t の測定値より k を算出すれば第1図中の点線の如くなり、30分以降の k の値は一定と見做して差支えないことから魚肉濾液 (腐敗肉) でも30分以降では N は一次反応に従うと見てよいであろう。又初期の k の値の大きいことは、腐敗肉中の Trimethylamine にも関係がある様に思われる。何となれば $(\text{CH}_3)_3\text{N}$ は NH_3 よりも遙かに k の値が大きく、 45°C 、 50 l/hr. においては前者が 14.4 であるのに後者は 3.28 と云う実測値であつた。 $(\text{CH}_3)_3\text{N}$ は従つて30分以内に略々溜出し終るものであろう。更に $(\text{CH}_3)_3\text{N}$ を殆ど含まない新鮮肉濾液ではこの様な傾向は余り見られず、始

Fig. 1 Mutual relation of aeration time, amount of nitrogen obtainable and change in velocity constant
Material examined; TCA extract of spoiled mackerel meat.
Smooth line indicates the N values obtained (amount of nitrogen found in 10 cc. extract).
Broken line indicates the k values calculated (velocity constant).

Table 1. N_0 (theoretical) values calculated with t and N which were obtained from the extract of spoiled mackerel meat at 45°C , 50 l/hr.

Aeration time	t_1	5	10	20	30	40	50	60
	t_2	10	20	40	60	80	100	120
Nitrogen found (mg/10 cc)	N_1	0.29	0.48	0.73	0.92	1.05	1.14	1.21
	N_2	0.48	1.00	1.05	1.21	1.29	1.33	1.35
N_0		0.84	0.73	1.27	1.34	1.37	1.37	1.37

めより近似的に一次反応と見做すことが出来た。

2) 通気温度と溜出量: 第2図の溜出曲線は, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ のように一様でなく 45°C 附近で小さな, そして 70°C において著しい反曲点が認められた。次に (ix) 式により, 各温度毎に t が 60 及 120 分の N より算出した N_0 は第2図中の点線で示してある。

それによると 45°C までと, 70°C までの N_0 には若干の差が見られた。 $v=50$ l/hr. において 45°C 及 70°C の新鮮肉及腐敗肉の N 及び N_0 を示すと次表の如くになった。

即ち 45° と 70°C における N と N_0 の差は鮮肉では 0.07 mg (原肉に対し 4.6 mg%に当る), 腐敗肉では 0.06 mg (原肉では 4 mg%に当る) で共に誤差範囲よりは大きいように思われた。この N_0 の差は k の差をも意味し, 45°C を境として溜出速度の異つた成分の溜出が始まるとも考えられる。現段階では之が高温により, 揮発性塩基が二次的に生成されるのか, 或は初めより含まれた成分で k の小さいものがこゝで始めて測定されるようになるのかは明かではないが, 新鮮肉と腐敗肉で, その絶対量が略々等しいことは, 一応鮮度に無関係な成分に基づくと考えられる。唯之が

TCA の如き除蛋白剤を用いた時にも現われることは注目される。何れにせよ, この 45°C における小反曲点は測定温度を 45°C 又は 70°C にすべきかを決定する鍵となり, 更に詳細検討を行う必要があろう。70

Fig. 2 Relation of the amount of nitrogen found from the filtrates of fresh and spoiled mackerel meat to varying aeration temperature and time (Aeration rate: 50 l/hr.)

Smooth lines indicate the N values (amount of nitrogen obtained)

Broken lines indicate the N_0 values (theoretical values, calculated on the N values obtained after 60 and 120 minutes aerating)

Table 2. N (experimental) and N_0 (theoretical) values obtained at the temperature of 45° and 70°C (50 l/hr.)

At 45°C				
Materials examined	N (Nitrogen found)			N_0
	60 min., Compared with N_0	90 min., Compared with N_0	120 min., Compared with N_0	
Fresh meat	0.286 mg (87.3 %)	0.312 mg (95.2 %)	0.329 mg (101 %)	0.328 mg
Spoiled meat	1.21 mg (89 %)	1.31 mg (96.4 %)	1.35 mg (99.3 %)	1.36 mg
At 70°C				
Fresh meat	0.374 mg (92.5 %)	0.392 mg (97.5 %)	0.409 mg (102 %)	0.402 mg
Spoiled meat	1.40 mg (99 %)	1.41 mg (99.5 %)	1.43 mg (101 %)	1.42 mg

°C 以上の急激な増加は明かに高温とアルカリによる二次的分解に基くものであらうが、その生成物質と母体並に生成機構については引き続き研究中である。従来水蒸気蒸溜法が過大値を与えると言われる^{2) 3) 4)}一面の裏付けとなろう。但しこの場合も前と同様 TCA 濾液についても認められたことは注目さるべきであらう。

3) 魚肉 TCA 濾液について指針の条件の意味：第2表より判る如く、既に述べた指針の条件²⁾では時間が稍不足するように思われ、120 分間とすべきであらう。もし測定温度が 45°C 以上でも差支ないことになれば（その決定は今後の問題で、それまでは 45°C で行うべきである。）当然 $T=70^{\circ}\text{C}$ で行うが、 $v=50 \text{ l/hr.}$ であれば $t=60$ 分（出来れば 90 分）とすべきであらう。70°C 以上では明かに過大値を与えるので避けねばならない。尙之に関連したことであるが、第2図より判るように 60°C, 30 分間 ($v=50 \text{ l/hr.}$ でも 70°C, 60 分間と等しい値を得るが、この曲線は一次反応に従わないので、溜出物中には鮮度に無関係の二次的生産物が相当量含まれ殊に時間が長い程この傾向が大きい。それ故たとえ、近似値が得られるとしても、このような条件で測定することは不合理である。

尙第1報にて示唆した、中断測定は、一般に魚肉では k が未知であることや、鮮度や成分等によつても変る様に思われるので、魚肉抽出液では更に検討を要する（之等の詳細は、次に報告する予定でいる）。

3. 総 括

サバ肉・TCA 除蛋白濾液について、定量条件の検討を行つたが、吾々が既に、 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ について得たことは必ずしも一致しなかつた。特に温度の影響が著しく、溜出状態は稍異り 45°C と 70°C にて反曲点が見出された。その原因は未だ明かではないが、測定温度を決定すべき鍵となることは疑いない。特に 70°C 以上では高温とアルカリの作用により塩基の二次的生成が起るらしい、之は TCA 濾液でも起ることが注目される。

尙濾液を対象とした時の指針の条件では稍低い値を与えるので、時間を 120 分間とする必要があらう。前報にて示した中断測定も、魚肉濾液では一般に k の値が未知であるために更に検討を要しよう。

終りに御指導を賜つた遠山祐三博士、御助言を載いた天野慶之氏に感謝の意を表わすと共に、御討議御鞭撻を賜つた水産食品検査指針専門委員会主査森教授他 委員各位に謝意を表わす。尙本研究の一部は昭和 23 年度厚生科学研究費の補助を受けたことに感謝する。

文 献

1. 河端、照井；日本水産学会誌（印刷中）
2. 衣笠、服部、須藤；衛試報，39，233，（1931）.
3. 今井；国民衛生，12，2，（1934）.
4. 栗本、赤羽、中根、小島；愛知衛研報，2，1，（1950）.
5. 衛生検査指針Ⅲ，食品衛生検査指針（増補及一部改訂）1951，厚生省編