通気法による揮発性塩基定量に関する研究—Ⅳ. 溜出速度恒数を左右する特殊因子（其の2）

河 端 俊 治

（国立予防衛生研究所）

Fundamental Studies on the Determination of Volatile Basic Nitrogen by Aeration Method—Ⅳ. Special Factors Affecting the Velocity Constant in Removing the Volatile Base (2)

Toshiharu KAWABATA

Continuing from the previous paper, this paper deals with a study of some factors affecting the velocity constant in removing the volatile base by aeration method, with special reference to the freshness of the fish meat examined. Results obtained are as follows:

1. The fresh meat of several species of fish, showed no difference in the velocity constant, while some of them showed a considerable difference in the velocity constant when spoiled. The curves of volatile base obtained were not of complete agreement with the first order reaction. The cause of this error was found to be due to the high content of trimethylaminoxide in the muscle.

On the other hand, the curves obtained from the samples of spoiled fish meat which have relatively small amount or no oxide, such as albacore, mackerel, carp and whale meat, were found to present the curves nearly or completely in agreement with the theoretical curves.

2. A shortened procedure was presented, which is based on obtaining a 50 per cent removal of total volatile base and is able to determine within a short period of 15 minutes aerating at 45°C, 50 l/hr..

ま え が き

通気法は減圧法に較べ装置や操作は簡易ではあるが著しく測定に時間がかかる。之を短縮するには、温度を高めるのが最も効率がよいが、著者等¹⁾が既に報告したようにサバ肉では 45°C 以上では二次的に揮発性塩基の増加が見られるので不都合である。クジラ肉では 80°C でも二次的塩基の生成が認められない²⁾との報告もあるが、著者が測定した範囲でも、70°C でイカ、ブリ、ヒラメ等では明かに増加が起るので³⁾このような高温で測定を行うことは普遍的方法としては好適とは思われない。次に通気量を増すことも考えられるが、之亦既に報告した通り速度恒数 (K) と一次式の関係にあり、之に余り多くの期待をかけることは効率の点から良法ではない。更に通気量を増加すれば発泡の度がひどくなつたり、Aeration tube 中の試料や、受器の酸液が飛散するおそれも生じ、且一定に保持することが困難になる。著者は、既に報告した塩基の溜出が一次反応に従うことに著目し、中断測定殊に 50%溜出量を以てする方法の検討を試みた。そのためには魚種及鮮度と K との関係を明かにすることが必要になり、前報に引續いて K を左右する特殊因子

について研究を行った。

実験及考察

1. 新鮮魚肉の塩基の溜出速度

市販の新鮮なサバ、マグロ、ブリ（之は正肉と血合肉に分けて測定）、クジラ、イカ、コイ、ヒラメについて前報同様検査指針の簡易法に従って Trichloroacetic acid 除蛋白濾液（TCA 抽出液）を作り、定量に用いた。装置は前報と同一で⁴⁾、測定条件も全く同一で 45°C、50 l/hr. で通気時間は 15、30、45、60、90、120 分間とし、1 回の測定に抽出液 20 cc と 5 cc の 20%炭酸ナトリウム液を加えた。結果は、すべて同一条件で 3 回繰返した値の平均値で表わした。各魚種別の塩基の溜出曲線は Fig. 1 に、之より算出した N_0 （終局量）と K は Table 1 に示した。

Table 1. The velocity constant in removing volatile base
(1. Fresh and spoiled fish meat extract)

Specis	Fresh meat		Spoiled meat	
	N_0 mg N/20 cc	K	N_0 mg N/20 cc	K
<i>Scomber japonicus</i> Houttuyn—mackerel	0.764	2.36	2.78	2.61
<i>Thunnus orientalis</i> —albacore	0.768	2.40	0.632	2.63
<i>Seriola quinqueradiata</i> Temminck & Schlegel	0.622	2.26	0.659	2.53
" " (dark muscle)	0.634	2.34	—	—
Whale (species name unknown)	0.584	2.55	1.14	2.69
<i>Loligo edulis</i> Hoyle—cuttlefish	0.474	2.59	2.84	2.69
<i>Paralichthys olivaceus</i> (T. & S.) flatfish	0.264	2.51	1.92	2.68
<i>Cyprinus carpio</i> Linnk—carp	0.384	2.25	1.46	2.31

その結果 $K=2.41 \pm 0.121$ となつたが、ここで、この標準標準偏差が測定値に与える誤差について検討した。即ち、特に初期腐敗前後を対象とし、 N_0 が 20、30、40 mg%であつた時、 t が 1.5 (90 分) 及 2 (120 分) における溜出量 (N) を計算により求めた。ここで K の上限 $K_1=2.41+0.121=2.53$ 、下限 $K_2=2.41-0.121=2.29$ とし、第 1 報にて記載した式に代入して、 N を算出した結果が Table 2 にて示してある。

Table 2 Influence of the variance in K upon the recovery of volatile base (Fresh fish meat)
 $K_{av}=2.41 \pm 0.121$

$k_1=2.41+0.121=2.53$ (upper range)
 $k_2=2.41-0.121=2.29$ (lower range)

N_0 (Total volatile base) mg. N in 100 g meat	Calculated Nitrogen content (mg%) and recovery (%)			
	$t_1=1.5$ (90 min.)		$t_2=2$ (120 min.)	
	$k_1=2.53$	$k_2=2.29$	$k_1=2.53$	$k_2=2.29$
20	19.6 mg% (98 %)	19.4 mg% (97 %)	19.9 mg% (99.7 %)	19.8 mg% (99 %)
30	29.3 (97.7)	29.0 (96.7)	29.8 (99.4)	29.7 (99.1)
40	39.1 (98)	38.7 (97)	39.4 (99.3)	39.6 (99)

Fig. 1. Rate in removing the volatile base of fresh fish meat

上記の結果は何れも実験誤差の範囲に入るべきものと考えられるので、結局魚種別の K の差は認められないことになる、言い換えれば、新鮮魚では同じ溜出速度を有し、而も一次反応が成立つので、50%溜出量による中断測定が一応可能と云うことになる。

2. 腐敗魚の塩基の溜出速度

前の実験で試料調製をしたときに約半量の細碎肉を密閉容器に入れ1夜 30°C の恒温器中で放置し、腐敗させたものについて、上と同様 TCA 抽出液を作り、全く同じ条件下で実験を進めた。その結果、魚種別の溜出曲線は Fig. 2 に記載し、又之より算出した N_0 と K の値は新鮮魚と同じ Table 1 にのせた。

既に、第2報で報告したように、腐敗魚では40分以前の通気では K の値が大きく出ることがあるので、今回腐敗肉について求めた K も45分以降の N より計算しその平均値で表わした。このようにして求めた各種の腐敗肉の K の値にも、新鮮肉と同じく、殆ど等しいことが判つた。ただここで注目されるのは、魚種によつてはその溜出が必ずしも一次反応に従わないものもあることで、之を確めるために、Table 1 の右欄の K 及 N_0 の値より、各時間について理論的な溜出量（一次反応としての）を求めた。その値は Fig. 2 の各曲線中に点線で図示しておいた。点線の画かれていない曲線は理論値と実測値が一致した場合で、このようなものは正しく一次反応に従っていることを意味する。著者の調べた範囲で、大きな不一致を示したものにはイカ、ヒラメがあり、サバ、ブリでは極く僅かな差があつたが、コイ、マグロ、クジラでは、一次反応の曲線には極めて良く一致した。

3. Ammonia と Trimethylamine の共存時の溜出速度

第2報において腐敗肉では、溜出初期の K の値の大きいことは Trimethylamine によることを示唆した。イカ、ヒラメ等一次反応に従わない魚種では筋肉中に多量の Trimethylamine oxide が含まれ、腐敗に伴い還元されて Trimethylamine の生成が見られる。その関係は後出 Table 4 を見れば更に明かになることと思う。ここでは Ammonia と Trimethylamine が共存する時の溜出速度を調べるために、Ammonium chloride 液、Trimethylamine 液を作り、その両者を 9:1 及び 7:3 になるよう混合した液を作り、前と全く同一条件で測定を行つた。このようにして求めた溜出曲線は Fig. 3 に更に算出した K と t の関係は図中に点線で表わした。そして N_0 と K の値は Table 3 中に示してある。

Table 3. The velocity constant in removing the volatile base (Mixed solution of ammonium chloride and trimethylamine)

	N_0 mg N/20 cc	K
Ammonium chloride	1.34	3.28
Ammonium chloride + trimethylamine (9:1)	1.30	3.54
" + " (7:3)	1.33	3.78
Trimethylamine	1.25	14.4

Fig. 2 Rate in removing the volatile base of spoiled fish meat

図より判るように Ammonium chloride に Trimethylamine を加えたものでは初めに K の大きな Amine が溜出されるので大きな K として表われる、特にこの傾向は Amine の量が増すにつれ益々著しくなることも確められた。

4. 中断測定の可能性の検討

Fig. 3 Rate in removing the volatile base of the mixed solution of ammonium chloride and trimethylamine. Smooth line indicated the curves plotted against nitrogen found, and broken line indicated the curves plotted against the velocity constant calculated.

Table 4. 50 per cent removal of volatile base and trimethylamine and trimethylamine oxide contents in the fresh and spoiled fish meat of various species of fish

Species	N_0 Total vol. basic N content mg%	$N_0/2$ Theoret. 50% re- moval of vol. base mg%	t_1 Time requi- red for 50 % removal of vol. base min.	50% remo- val of vol- atile base (found aft- er 15 min. aerating) mg%	Compared with the- oretical $N_0/2$ val- ues %	$(\text{CH}_3)_3\text{N}$ content mg%	$(\text{CH}_3)_3\text{NO}$ content mg%
Fresh fish							
carp	10.0	5.0	15	5.1	102	0.61	1.26
albacore	20.0	10.0	15	10.1	101	0.34	4.3
cuttle fish	12.3	6.15	15	5.98	97.3	1.70	94
yellowfish (white muscle)	14.6	7.3	15	7.25	99.5	0.28	18.0
(dark muscle)	14.0	7.45	15	7.30	98	1.61	24.0
whale	30.1	15.0	15	14.9	99.3	0.12	0.3
flatfish	12.8	6.4	15	6.6	103	0.15	70~106
mackerel	20.8	10.4	15	10.4	100	0.27	10~22
Spoiled fish							
carp	59.5	29.3	15	29.5	100.8	0.83	
albacore	29.7	14.9	15	14.9	100	2.38	
cuttlefish	119.3	59.7	11	81.5	136.5	57.9	
yellowfish	30.9	15.5	14.5	16.4	113	2.83	
whale	118	59	15	59	100	1.23	
flatfish	186	93	10.5	107	115	60.7	
mackerel	287	143.5	16	132	92.6	22.6	

1) 新鮮時に含まれる揮発性塩基の大部分は Ammonia 化合物であることは周知の事実である今回の実験でもその溜出が一次反応に従い、且魚種別の K の差は殆どないことが明かにされた。従つて、このような場合には 50%溜出に要する時間も当然一定になる筈である。そこで Fig. 1, 2 に示した結果より $N_0/2$ (理論的 50%溜出量) を求め、且 $N_0/2$ に要する時間 (t_1) を求めた結果が Table 4 に示してある。その結果 鮮魚では $t_1=15$ となり一定であつた。次に $t=15$ 分における実測値 (N) と $N_0/2$ とを比較して見ると、Table 4 に示したように良く一致することが確かめられた。それ故新鮮魚を対象とした場合には、50%溜出量を求める所謂中断測定が可能であることが明かになった訳で、15 分 (t_1) の測定値を 2 倍すれば所望の N_0 が得られる筈である。従つて、従来の指針に示された装置及条件 (45°C, 50 l/hr.) で僅に 15 分間で揮発性塩基の定量を実施することが出来るようになった。

2) 鮮度低下した魚では魚種により溜出が必ずしも一次反応に従わないことがあることは既に述べたが、このようなものに対して中断測定を行うことは困難であらう。そこでその原因の基となる魚肉中の Trimethylamine oxide 量と新鮮時及び腐敗時の Trimethylamine の含有量を調べてみた。方法は Oxide は、Devarda 合金で還元し次で picrate 法で比色する Dyer 法⁵⁾で行い、又 Trimethylamine も同じく Dyer の picrate 法で行った。その結果は、Table 4 の右側の欄に記載してある。イカ、ヒラメのように多量の Trimethylamine oxide を含むものは腐敗に当り著しく Amine を形成するので、中断測定に支障があることは既に述べたが、この他タラやサメ類も著しく Oxide を含むので測定上困難があらう。之等魚種では、所謂初期腐敗でも極めて多量の塩基が生成されることは良く知られているが、殊に、この Trimethylamine 含量も他の魚種とは比較にならぬ位多く、タラの類では 30~60 mg%⁶⁾であり、ヒラメでも大体 30 mg%⁷⁾に当るので、恐らく、中断測定は不可能な魚種と云えよう。ブリ、サバの類も中等度の Oxide を含むが、腐敗初期に形成される Amine は 2~3 mg%⁷⁾ 止りで一応中断測定は可能であるように思われる。マグロ類は一般に Oxide は極めて少く⁶⁾⁷⁾、Amine が中断測定の支障となることは少いであらう。クジラ、コイのように殆ど Oxide を含まない魚種では、可成り進行した腐敗過程にあつても十分中断測定が可能である。

3) 以上のように、中断測定の適用範囲を知るには、魚種別の特徴殊に Trimethylamine oxide 含量と、初期腐敗における Amine の生成量が問題となり、今後検討の余地は残されているが、特別 oxide の多い魚種は別として一般の魚肉では、実際の鮮度検査の目標が“新しさ”(Freshness)や官能的に疑わしい程度の腐敗(所謂初期腐敗)の鑑別にあるのであつて、腐敗(Decomposition)の程度を対象とする研究や特別の場合を除いては、この中断測定は十分適用の可能性をもち且極めて有効な方法であるものと考えられる。

む す び

1. 揮発性塩基の溜出速度と鮮度との関係を研究した。サバ、マグロ、ブリ、クジラ、イカ、コイ、ヒラメについて調べた結果では新鮮時の K は一致し、その溜出は一次反応に良く従うことが判つた。腐敗肉の K は 45 分以降では一定であり且魚種別の差も少かつたが、それ以前の初期溜出時の K はイカ、ヒラメでは著しく大きかつた。之は腐敗に伴い生成される Trimethylamine に関係がある。Oxide 量の余り多くないブリ、サバでは、近似的に、極く少量が殆んど含まれていないマグロ、クジラ、コイ等では極めて良く一次反応に従つた。

2. 以上の事実に基づき著者は 50%溜出量に基礎をおく中断測定を提唱した。即ち、指針に示された基本条件(装置、温度、通気量)は何等変更することなく、僅に 15 分間の通気により得られた溜出量を 2 倍すれば良いのである。但し、その対象とする魚種は、極く新鮮時には殆んど総てに適用出来るようであるが、腐敗開始以後の魚肉では、イカ、タラ、ヒラメ、サメ等のように Trimethylamine oxide 含量の高いものには適用が困難であるように思われた。

本研究に御指導を賜つた遠山祐三博士に深謝する。

文 献

1. 河端俊治, 照井博 日水会誌, **19**, 741~745 (1953).
2. 富山哲夫, 原田悠三 日水会誌, **18**, 112~116 (1952).
3. 河端俊治, 照井博 日水会誌, **19**, 746~749 (1953).
4. 食品衛生検査指針(増補及改訂版) 1951 年厚生省編
5. W. J. DYER, F. E. DYER & J. M. SNOW, J. Fish. Res. Bd. Can., **8**, 309~314 (1952).
6. W. J. DYER, Ibid, **6**, 351~358 (1945).
7. W. J. DYER, Ibid, **8**, 314~324 (1952).
8. 河端俊治 昭和 27 年秋季日水会大会講演