揮発酸の溜出比による鮮度判定法の研究—IX*

判定規準のカキへの適用性について

浅 川 末 三

(広島大学水産学科)

Studies on Freshness Determination of Fish Meat by the
Distillation Ratio of Volatile Acids—IX.On the Applicability of D. R. Value to the Determination
of the Freshness of Oyster

Suezo ASAKAWA

D. R. value was measured on the Japanese oyster, *Ostrea (Crassostrea) gigas* THUNBERG, during the course of the deterioration of its freshness by the method described in the preceding papers of this series. The results indicated that (1) the D. R. value of very fresh oyster is smaller than that of fish flesh, (2) the value decreases rapidly as the freshness lowers, and (3) there is no relationship between D. R. value and the freshness (Tables 1~3).

The foregoing statement on the results is based on the following facts: (1) D. R. value was decreased by the presence of such a large amount of glycogen as is found in oyster (Tables 4 and 5), (2) there exists much differences between the composition of lower volatile acids produced during spoilage of oyster and that of ordinary fish flesh (Table 6), (3) in the case of oyster, higher volatile acids precipitated in the distillate, causing the D. R. value to decrease rapidly with the deterioration of freshness. Thus, D. R. value and freshness showed no correlation in oyster on account of the high glycogen content of the body and the various kinds of acids distilled out.

From the above, it was concluded that the "D. R. standard scale" previously proposed for fish flesh can not be applied to oyster, and no substitute standard scale was proposed for oyster.

揮発酸の溜出比 (D. R.) による硬骨魚類肉の鮮度判定規準を第 VII 報¹⁾に提案し、これが又軟骨魚類肉及びイカ肉にも適用できることを述べた。今回、同じ水産動物であるカキにも適用可能か否かを検討したところそれが困難なことを知りその原因について若干の考察を行つたので報告する。

実 験 の 部

実 験 I

材料と方法: 地蒔の養殖マガキ *Ostrea (Crassostrea) gigas* THUNBERG をむき身とし水道水にて洗滌後竹簀上で少時間水切をしたもの約 600 g を蓋付きアルミ箱に入れ、室温 (約 10°C) に放置して自然に鮮度を低下させた。この間約 100 g (15~16 個体) ずつを分取してミキサーで細砕し、水分・pH・揮発性塩基態窒素 (以下 V-N と略す。微量拡散による硼酸吸収法²⁾にて定量)・グリコーゲン (GOOD ら³⁾の法によりグルコースを定量し、0.927 を乗じてグリコーゲン量とした) 及び乳酸 (FRIEDEMANN ら⁴⁾の法を改変した微量拡散法⁵⁾にて定量) を測定し、同時に先に設定した装置・条件^{6), 7)}に従つて D. R. を求め、更に官能判定を記

1958 年 9 月 22 日受理

* 1958 年 4 月 2 日 日本水産学会年会 (東京) にて概要を発表した。

録した。

実験結果： 実験開始日を0日とし、以降1・2・3及び5日目に上記事項を観測した結果をTable 1に示す。

Table 1. Deterioration of freshness of round oyster stored at room temperature (ca. 10°C.)

Days of storage		0		1		2		3		5	
Sensory test		Good		Good		Good		Faded		Spoilage	
Moisture %		74.3		74.6		75.3		75.0		75.2	
pH		6.6		6.2		6.1		6.0		5.0	
Volatile-N mg·%		9.1		10.9		18.6		25.1		57.1	
D. R.		102		69		66		68		63	
Fract. of distillate	cc. cc.	*cc.	cc.	cc.	cc.	cc.	cc.	cc.	cc.	cc.	cc.
	0~50	1.515	1.060	2.720	2.800	5.060	5.470	7.615	7.155	11.65	11.80
	50~100	1.525	1.080	1.870	1.945	3.310	3.630	5.145	4.905	7.40	7.55
	100~150	0.930	0.705	1.630	1.740	2.290	2.540	3.585	3.605	5.00	5.25
	150~200	0.985	0.535	1.505	1.670	1.875	1.995	2.635	2.795	3.65	3.85
Glycogen mg·% wet		7188		7188		6509		6688		6089	
g·% dry		28.72		28.28		26.26		25.97		24.56	
Lactic acid mg·% wet		35.1		49.7		77.8		101.3		234.5	
g·% dry		0.14		0.20		0.31		0.33		0.95	

* Figures represent the volumes of N/50 NaOH sol. required to obtain the D. R. values above.

試料としたマガキは、水揚げ後4時間内に処理したもので、肉眼観察では2日間何らの変化も感ぜられなかった。3日後は色沢がややあせたが未だ食用にさしつかえない状態、4日後に所謂初期腐敗の程度となり5日後には異臭を感じ明らかに腐敗した。この間 pH 及び V-N 等は Table 1 の如くに変化した。従来魚肉において得た成績と異なる傾向を示したのは D. R. で、極く新鮮時より小さい値をとり、しかも1日後には70以下に急減した。

大量に含有されるグリコーゲンは漸減し、これに反し乳酸は増加した。これらは表中乾物に対する%で明らかに認められる。

実験 II

材料と方法： 市販のカキむき身を約500gずつ2組に分け、1組は実験Iと同様にアルミ箱に入れ（以下むき身試料という）他はミキサーで細砕後大型シャーレに入れ（以下細砕試料という）いずれも20±1°Cの恒温器内に放置して鮮度を低下させた。この両試料につき実験Iと同じく経日的に諸事項を観測した。ただし、むき身試料は約100g（17~18個体）を、細砕試料は先ず全体を均一に攪拌混合後その約100gを分取し毎回の供試料とした。

実験結果： 所定日毎の成績を、むき身試料はTable 2に、細砕試料はTable 3に示す。

肉眼観察によれば、両試料ともに2日後に初期腐敗と判定された。なおむき身試料は3日後に緑色を、5日後に淡桃色を呈する個体がかかり出現した。細砕試料は初め褐色均一の半流動状態であつたが、1日及び3日目（1日後の供試料分取の為に攪拌混合してよりは2日目）の放置肉は水分が分離してその上に肉質が浮ぶ状態であつた。その後5日目には水分の分離が見られなくなつたが、上面が一様に淡緑色となり腐敗臭よりも酸敗臭が強く感ぜられた。

Table 2 及び 3 に見る如く、いずれも鮮度低下に伴つて pH は酸性に移るが、細砕試料5日後には4.2にまでなつた。又 V-N は増加を示し、これらの傾向は実験Iと同じだが放置温度が高いのでより大きい変化を示している。

D. R. は両試料間で少し異なつた点が見られる。即ち、むき身試料では1日後に急減しその後5日まで漸減したのに対し、細砕試料では1日後の減少度もやや緩く5日後には増大の傾向さえ示した。

グリコーゲンの減少・乳酸の増大傾向は実験Iと同じだが、細砕試料では特に変化が著しかつた。

Table 2. Deterioration of freshness of round oyster stored at $20 \pm 1^\circ\text{C}$.

Days of storage		0		1		3		5	
Sensory test		Good		Faded		Spoilage		Complete spoilage	
Moisture %		76.5		76.7		76.9		78.5	
pH		6.2		6.0		4.7		4.6	
Volatile-N mg. %		9.2		16.8		65.5		165.8	
D. R.		98 97		61 —		58 59		55 56	
Fract. of distillate	cc. cc.	*cc. cc.		cc. cc.		cc. cc.		cc. cc.	
	0~50	1.680 1.285		5.600 —		20.80 20.75		55.75 56.15	
	50~100	1.640 1.245		3.400 —		12.10 12.30		30.90 31.35	
	100~150	1.535 1.125		2.390 —		7.80 8.00		18.60 19.05	
	150~200	1.455 1.055		1.860 —		5.30 5.50		11.90 12.20	
Glycogen mg. % wet		6836		6685		5882		4427	
g. % dry		29.13		28.65		25.45		19.71	
Lactic acid mg. % wet		38.2		52.4		276.1		478.4	
g. % dry		0.16		0.22		1.20		2.13	

* See foot-note in Table 1.

Table 3. Deterioration of freshness of minced oyster stored at $20 \pm 1^\circ\text{C}$.

Days of storage		0		1		3		5	
Sensory test		Good		Changed color		Spoilage		Complete spoilage	
Moisture %		76.5		77.6		80.7		78.5	
pH		6.2		6.1		4.6		4.2	
Volatile-N mg. %		9.2		52.4		120.9		169.1	
D. R.		98 97		69 70		67 68		74 73	
Fract. of distillate	cc. cc.	*cc. cc.		cc. cc.		cc. cc.		cc. cc.	
	0~50	1.680 1.285		14.96 14.96		28.70 29.00		33.65 33.25	
	50~100	1.640 1.245		10.51 10.29		19.10 19.70		25.05 24.10	
	100~150	1.535 1.125		7.67 7.42		13.40 13.85		18.75 17.55	
	150~200	1.455 1.055		5.71 5.65		9.80 10.05		13.90 13.95	
Glycogen mg. % wet		6836		2448		1050		1129	
g. % dry		29.13		11.04		5.44		5.26	
Lactic acid mg. % wet		38.2		127.8		1517		2303	
g. % dry		0.16		0.57		7.86		10.74	

* See foot-note in Table 1.

結果に対する考察

実験Ⅰでは4日後、実験Ⅱでは両試料とも2日後に初期腐敗状態と官能検査で判定されたが、これを V-N よりみると 30~40mg % を初期腐敗とする一般魚肉への規準がむき身には適用できそうに思える (Table 1 及び 2)。しかし細碎肉では1日後既にこれ以上に増加しており適用でき難いようである (Table 3)。

pH については、BALDWIN ら⁸⁾ がカキにおいて pH 5.8 を初期腐敗それより酸性を腐敗状態と報告している。本実験の結果も大体それに一致していた。

さて D. R. については、前項で指摘した如く極く新鮮時よりその値が魚肉に比べ小さく、更に鮮度低下に伴う減少度も著しく大であった。今0日目の D. R. 値について、実験Ⅰの 102 は著者提案の規準¹⁾に従って鮮度を判定すると「普通」となり、実験Ⅱの 98~97 は「不良」となる。又両実験とも放置1日後既に「後期腐敗」と判定しなければならない。官能判定と比較してこれらは明らかに不都合で、魚肉への規準がカキには適用できないことを示す例である。それならば、カキ独自の規準が設定できるであろうか。カキではその鮮度と D. R. 間に一定の相関が見出し難く、従って規準を設定することはできないと考える。例えば、鮮度低下に伴って D. R. 値が減少する傾向は魚肉と同じであるが、Table 1 の3日後・Table 3 の5日後

の如く増大する場合も見られ、又 Table 1 と 2 の D. R. 値についてみても後者の 1 日以降の値は前者の 5 日以降の鮮度状態を示す数値であつて、実際の鮮度状態を示すとはいえない。

Table 4. Steam distillation of glycogen solution

Glycogen mg.		3	30	60	150	300
D. R.		?	83	67	56	38
Fract. of distillate	cc. 0~50	*cc. 0.005	cc. 0.030	cc. 0.045	cc. 0.125	cc. 0.210
	cc. 50~100	0.000	0.025	0.030	0.070	0.080
	cc. 100~150		0.000	0.005	0.005	0.060
	cc. 150~200			0.000	0.000	0.010
	cc. 200~250					0.000

* See foot-note in Table 1.

Table 5. Steam distillation of fish flesh containing added glycogen

mg. of glycogen added to fish flesh 20g.		0	50	100	150
D. R.		121	119	119	117
Fract. of distillate	cc. 0~50	*cc. 0.338	cc. 0.365	cc. 0.383	cc. 0.395
	cc. 50~100	0.410	0.433	0.455	0.460
	cc. 100~150	0.430	0.450	0.493	0.495
	cc. 150~200	0.410	0.420	0.450	0.475

* See foot-note in Table 1.

さて Table 5 で 150mg のグリコーゲンを添加したことは、魚肉のグリコーゲン量を 785mg % に増加したことになる。今もし実験 I・II の試料カキの如く 7188mg % 或は 6836mg % もの多量に増加するならば、初めの D. R. 121 は 80~90 (外挿法にて概算) にまで減少するであろう。

以上により、先に指摘したカキの D. R. 値が魚肉に較べ新鮮時より小さく、又同一鮮度で異なる値を取る要因にグリコーゲン含有量の多少が関係していることが考えられる。

次に D. R. 減少度の大なる理由を検討する為に、実験 II の 3 日及び 5 日後の溜出液中の酸組成をヒドロオキザム酸のペーパークロマト法¹⁾で調べ Table 6 を得た。これを D. R. 値と対照すると、D. R. の減少に従つてより高級酸が検出されてくる。この傾向は魚肉による同様実験、第 VII 報¹⁾の Table 2 或は第 VIII¹⁰⁾

Table 6. Spot color intensity of various acids on the paper chromatogram prepared by the hydroxamate method

Sample	Round oyster (see Table 2)								Minced oyster (see Table 3)							
	3				5				3				5			
Days of storage D. R.	58 & 59				55 & 56				67 & 68				74 & 73			
Fract. of dist. (cc.)	-50	-100	-150	-200	-50	-100	-150	-200	-50	-100	-150	-200	-50	-100	-150	-200
Valeric acid	±	-	-	-	+	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Butyric acid	±	+	±	±	±	±	+	±	+	±	±	±	+	+	±	-
Propionic acid	±	±	+	+	±	±	+	+	+	+	+	+	+	+	+	±
Acetic acid	±	±	+	+	±	±	±	+	±	±	±	±	±	±	±	±
Formic acid	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

-: negative, ±: doubtful, +~±: positive.

では何故にカキは極く新鮮時より D. R. が小さく、放置して急減し、又同じ鮮度でも異なる値を取るか。著者はその要因として、多量に含有されるグリコーゲン及び生成酸の影響ではないかと考えた。

先ずグリコーゲンの影響を調べるため、アカエイ肝臓よりグリコーゲンをアルコール沈澱法⁹⁾にて採取精製し、その水溶液を常法通り水蒸気蒸溜に付して Table 4 の成績を得た。即ち、グリコーゲンは硫酸性下の水蒸気蒸溜で酸を溜出し、しかもグリコーゲン量に比例して多くなり第 2 溜出比 (D. R. に相当) を減少することを見た。

更に新鮮なボラ肉 (グリコーゲン含有量 35 mg %) に種々の量のグリコーゲンを添加し同様水蒸気蒸溜を行い Table 5 を得た。これによると、魚肉へのグリコーゲン添加量が多くなるほど D. R. は減少をしたが、Table 4 で得た結果よりみてその原因はまったくグリコーゲンにあることが推定出来る。

の Table 2 に示すものと似ている。しかしカキでは腐敗が進んでいるにも拘らず吉草酸又は酪酸の検出が悪く、酢酸が多い。このことは Table 3 にみられた 5 日後の D. R. 増大傾向の一原因とは考えられるが、D. R. 減少の要因とは認めがたい。この様な酸組成は一般魚肉では腐敗前に見られるもので、この点カキと魚肉との腐敗過程が大いに相違している。この相違は炭水化物を多く含有するカキでは所謂 Protein sparing action の効果が魚肉より顕著に現われるので当然であろう。

所で、検出された様な酸組成に拘らず D. R. が魚肉より小さいのは恐らく高級酸 (C_6 以上の) の混在によるものと思われる。即ち、カキの水蒸気蒸溜の場合には、鮮度低下初期より溜出液のクーラーに多量の附着物が生じ次第に受器へ落下した。この附着物は中村ら¹¹⁾がインシルカ脂油で検討した様に、水難溶性揮発酸を主体とするものでここに採用したペーパークロマト法では検出されない。しかし附着物をエーテルで溶解してアルカリで中和すると多量にアルカリを消費したことより高級酸であることが推定出来る。

又同じ (或は近似の) D. R. 値を与える溜出液の滴定酸度を魚肉、例えば第 VII 報¹⁾の Table 1 と比較するにカキが常に高値を取っている。これは低級酸の量が魚肉より多いことの外に上記により C_6 以上の水可溶性揮発酸の混在が疑える。即ち、カキでは鮮度低下初期より C_6 以上の高級揮発酸が溜出される為に、D. R. は急減すると考える。なお D. R. を変動させる乳酸量は魚肉に比し概して多くないので (Table 1~3) この影響は小さいものと思われる。

これを要するに、カキではグリコーゲンが多量に含有されている為に極く新鮮時より D. R. 値が小さく、鮮度低下により魚肉と異なる高級揮発酸が早期より溜出して D. R. を急減する。更に残存グリコーゲン量及び生成揮発酸組成が試料により相違する為に鮮度と D. R. とが一定の相関を示し難いものと推察した。

摘 要

1. 著者提案の D. R. による鮮度判定法がカキにも適用可能かどうかを検討する為にマガキで実測を行い、次の結果を得た。
 - a. 極く新鮮時より魚肉に比し過小の D. R. 値を与えた。
 - b. その D. R. は鮮度低下に従い魚肉と同様に減少傾向を示すが、魚肉より急激であつた。
 - c. 試料が相違すると、官能的には同じ鮮度状態でも異なつた D. R. を与えた。
2. これらの要因を次のように考察した。
 - a. カキの如くグリコーゲンを多量に含有する場合には D. R. を過小にする。
 - b. カキは鮮度低下により魚肉と異なつた低級揮発酸組成を示す一方、高級揮発酸を溜出する為に、D. R. は急減する。
 - c. グリコーゲン及び揮発酸の消長が試料により相違する為に、鮮度と D. R. とが一定の相関を示し難い。
3. 以上より魚肉の判定規準がカキには適用できないばかりか、独自の規準設定も困難であつた。

本報文作成に当り、当学科滝教授松本教授並びに小山助教授の御協力を得た。附記して謝意を表する次第である。

文 献

- 1) 浅川末三: 本誌, **20**, 158 (1954).
- 2) 石坂音治: “微量瓦斯拡散分析提要”, 柴田化学器械工業 KK 版, 東京 (1951), p. 9.
- 3) C. A. GOOD, H. KRAMER and M. SOMOGYI: *J. Biol. Chem.*, **100**, 485 (1933).
- 4) T. E. FRIEDEMANN and A. T. KENDALL: *J. Biol. Chem.*, **82**, 23 (1929).
- 5) 石坂音治: “微量瓦斯拡散分析提要”, 柴田化学器械工業 KK 版, 東京 (1951), p. 39.
- 6) 浅川末三: 本誌, **19**, 124 (1953).
- 7) ———: ———, **20**, 151 (1954).
- 8) W. H. BALDWIN et al.: U. S. Fish & Wildlife Serv., Bull. F. I. 2469-k (1941).
- 9) 東大農化編: “実験農芸化学” 下巻, 朝倉書店, 東京 (1952), p. 405.
- 10) 浅川末三: 本誌, **23**, 463 (1957).
- 11) 中村幸彦・辻野 勇: 農化, **26**, 642 (1952).