マイワシ・フィッシュミールの品質評価にその水抽出液の β -緩衝能を用いる試み

渡辺悦生, 最上和江, 林 哲仁, 外山健三

(1990年10月22日受付)

A Trial of Quality Evaluation of Fish Meal Manufactured from Sardine by Measuring β -Buffer Capacity of the Water Extract

Etsuo Watanabe,* Kazue Mogami,* Tetsuhito Hayashi,*
and Kenzo Toyama*

An evaluation of fish meal quality by measuring β -buffer capacity was attempted. The results obtained were summarized as follows:

- 1) β -Buffer capacity in the vicinity of pH 3.5 and 9.3 increased with the progress of spoilage for more than 2 days, while that in the vicinity of pH 6.5 disappeared for more than one day when the raw sardines were left at 25°C.
- 2) β -Buffer capacity in the vicinity of pH 3.5 and 9.3 decreased by heating at 200°C.
- 3) A good relationship was obtained between the β -buffer capacity of fish meal and standing time (day) of raw sardine.

フィッシュミールの品質は、従来全窒素量から求められた粗タンパク質量により評価されているが、原料の魚種、漁獲時期、漁場の違いによる成分的差異、原料魚の鮮度による栄養価の違い、水溶性区分に含まれる成分の栄養価^{1,2)}、脂質の酸化度^{3,4)}、ミール加工工程での乾燥温度⁵⁾など多くの要素によって規定されるものと考えられる。従って、これらの要素を反映する迅速かつ簡便な品質評価法の開発が依然として関連業界において要望されている。

著者らは、これまでに「魚肉の性状変化は各種化学変化の総合された結果である」との考えから、魚介類の鮮度も特定の化合物量の増減だけではなく、総合的に評価すべきであると考え、その方法として腐敗菌を用いた微生物センサー⁶⁾による評価法を考案した。また、 β -緩衝能による魚介類の品質評価についても検討中である。前者は鮮度低下にともなって増加する低分子化合物量を腐敗菌の呼吸活性から測定する原理に基づいている。後者は魚肉の緩衝作用がトリメチルアミノオキシド、遊離アミノ酸、有機酸、核酸関連化合物などのいわゆる弱酸、弱塩基に依存するという考え方に基づいている。

本研究では、室温に放置した原料魚（マイワシ）、それらの原料から調製したオーディナリーミール、それらに魚体浸出液（通称血水）を添加したミールおよびソリュ

ブルを添加したホールミールの β -緩衝能測定結果から、 β -緩衝能によるフィッシュミールの品質評価の可能性について検討した。

実験方法

試料 凍結マイワシ *Sardinops malanosticta*（平均体重 70 g）を購入し、実験室に搬入し、流水解凍後、鮮度の異なる原料を得るため、室温（25°C）下で7日間放置した。0日、1日、4日、7日の試料魚をフィッシュミール調製用の原料とした。

フィッシュミールの調製法 各原料 40 kg から煮熟温度 95°C、煮熟時間 45 分、乾燥温度 100°C、乾燥時間 100 分の条件下で、オーディナリーミールを調製した。 β -緩衝能におよぼす乾燥温度の影響については、特に、4日放置期間の原料で、乾燥条件を 200°C、50 分としたものについても検討した。一方、ホールミールの調製は圧搾工程で得られた液汁分を遠心分離し、(11,000 G, 20分)、油分を除去後、約 1/10（重量比）になるまで減圧濃縮して得られたフィッシュソリュブルを乾燥前圧搾粕に添加混合する方法によった。 β -緩衝能におよぼす血水の影響は、4日放置期間の原料について、得られた血水の 1/2 量を乾燥前圧搾粕に添加混合して調製したフィッシュミールについて行った。これらフィッシュミールの調製に

* 東京水産大学食品生産学科 (Department of Food Science and Technology, Tokyo University of Fisheries, Konan, Minato, Tokyo 108, Japan).

Table 1. Proximate composition of raw sardine, and ordinary and whole meals manufactured

Stanging time (days)*	Moisture (%)	Ash (%)	Crude fat (%)	Crude protein (%)	Total nitrogen (mg/g)	Water soluble nitrogen (mg/100 g)	VBN (mg/100 g)	POV (meq/kg)
SARDINE								
0	74.0	2.4	8.3	15.3	24.6	—	11.2	100
1	64.3	3.1	16.7	15.7	25.2	—	27.3	100
2	66.0	3.3	14.4	16.4	26.3	—	138	100
4	77.3	3.4	4.4	16.8	26.8	—	284	102
7	73.1	4.3	8.3	18.6	30.0	—	587	104
ORDINARY MEAL								
0	8.7	14.4	10.7	60.1	96.2	454	18.7	—
1	7.3	15.8	10.7	56.9	91.0	586	40.1	—
4	10.3	17.9	10.3	60.4	96.6	862	188	—
7	10.8	17.7	19.7	53.0	84.8	1219	865	—
WHOLE MEAL								
0	9.6	14.2	10.4	65.3	105	1005	25.9	—
1	9.3	11.9	8.5	67.9	109	1803	180	—
4	10.5	16.8	10.0	62.3	100	1816	235	—
7	11.7	17.0	20.9	54.4	87.0	1946	618	—

* Standing period of raw sardine used for the manufacture of ordinary and whole meals at 25°C. The drying condition for meal was at 100°C for 100 min.

は大野化学機械(株)製実験用ミニプラントを使用した。

β-緩衝能の測定法 原料魚のマイワシおよびフィッシュミールに4倍量の水を加えてホモジナイズし、各ホモジネートを14,000 Gで15分遠心分離した。各上澄液のpHを塩酸で2に調整し、β-緩衝能測定用試料とした。β-緩衝能の測定には東亜電波工業株式会社製のβ-タイトレーター BATA-1を用いた。

水溶性窒素の測定 約1gの原料魚、フィッシュミールの試料を適当量の水と共にマイクロホモジナイザー(RADNOTI Glass, Calif., U.S.A.)を用いてホモジナイズし、その遠心分離(4,500 G, 10分間)後の上澄液を試料液としてAOAC法⁷⁾により窒素量を測定した。

水分、灰分、粗脂肪、過酸化価(POV)の測定もAOAC法⁷⁾に従った。揮発性塩基窒素(VBN)の測定は拡散法⁸⁾によった。

ヒスタミンの定量 原料魚、フィッシュミール試料中のヒスタミン含量は、コットンアシドサクシネート法⁹⁾に従って測定した。

結果および考察

原料魚およびフィッシュミールの一般組成 原料魚およびフィッシュミールの一般組成をTable 1に示す。原料魚の粗脂肪含量をみると、4.4~16.7%の間でばらつきが目立つ。これは解凍後の放置日数の異なる原料40 kgを用いて各フィッシュミールを調製するにあたり、フィッシュミールの調製は何回にもわけて行ったので、同一ロットの原料をそろえることが難しく、このことが原料魚の粗脂肪含量のバラツキの原因であると考えられ

る。原料魚のVBNの増加からみて、放置2日目以後明らかに原料魚の腐敗が始まっていた。フィッシュミールの一般組成にみられる傾向として、放置日数4および7日目の原料から作られた試料では、水分、粗脂肪量ともに高い。このことは、原料魚の粗脂肪含量が高い程フィッシュミールの脂肪量も高くなることを示すものであろう。さらに別の理由として、フィッシュミール中の粗タンパク質の減少、水溶性窒素およびVBNの増加がみられることから、一部タンパク質が低分子化し、その熱凝固がさまたげられることにより充分な圧搾が難しくなることを示していると考えられる。

原料魚のβ-緩衝能 β-緩衝能曲線は、溶液が各pHにおいて示す緩衝能βの大きさを関数として表すものであるが、同時に溶液中の各種プロトン解離基のpKa値ごとの分布パターンとも見なすことができる。実際には緩衝能曲線記録装置により下式に示すような単位時間当りのpHの変化量の逆数として表現される。ただし、Bは滴定に要したアルカリ量であって、これは時間に比例する。

$$\beta = dB/dpH = 1/dpH/dB = 1/dpH/dt$$

須山ら¹⁰⁻¹³⁾は各種水産動物筋肉において、pH 3~5, pH 5~7, pH 7~9に強い緩衝能を認めている。

25°Cに放置した原料マイワシ筋肉の水抽出液のβ-緩衝能曲線をFig. 1に示す。放置0日目のマイワシ筋肉にはpH 3.5, 6.5, 9.5付近に緩衝能が認められたが、中性付近の緩衝能は1日以内に消滅した。また、放置日数が2日、7日と増加するにしたがい酸性側およびアルカリ性側緩衝能は著しく増加した。これらの緩衝作用が何

Fig. 1. Effect of standing time of raw sardine on β -buffer capacity of the water extract. Raw sardine was left at 25°C.

Fig. 2. Effect of standing time of raw sardine on β -buffer capacity of the water extract from the ordinary meal.

Standing time of raw sardines at 25°C: 1, 0 day (1.8); 2, 1 day (1.6); 3, 4 days (74.2); 4, 7 days (96.0). Figures in parentheses represent histamine mg/100 g fish meal.

に由来するかは検討していないが、中性付近の緩衝能の消失は、中性付近に緩衝作用を示す物質が温度あるいは酵素作用により分解、消失したためと考えられる。

ちなみに、標準物質を用いた予備実験では、ATP は pH 4.0, pH 6.8 に、イノシンは pH 8.0 にそれぞれ緩衝作用を示した。またヒスタミンは pH 6.0, pH 8.0 に、トリメチルアミノオキシド (TMAO) は pH 4.5 に、ト

Fig. 3. Relationship between β -buffer capacity of the water extract of the whole meal and standing time of raw sardine at 25°C.

○—, β -Buffer capacity in the vicinity of pH 3.5; ●—, β -buffer capacity in the vicinity of pH 9.3.

Fig. 4. Effect of drying temperature on the β -buffer capacity of the water extract from the ordinary meal.

—, Dried at 100°C for 100 min; ---, dried at 200°C for 50 min.

リメチルアミンは pH 9.0 に、クレアチンは pH 4.7 に、それぞれ緩衝作用を示した。一方、クレアチンは緩衝能を示さなかった。

酸性あるいはアルカリ性側の緩衝作用には、原料が腐敗し、タンパク質の低分子化が起きていることを考えると、アミノ酸、乳酸、アンモニアが大きく関与してい

Fig. 5. Effect of the soluble matter on the β -buffer capacity of the water extract from the ordinary meal.

—, Whole meal; ---, ordinary meal.

Standing time of raw sardines at 25°C: A, 0 day; B, 4 days; C, 7 days.

るものと考えられる。そこで、次に原料魚の β -緩衝能と製品であるフィッシュミールのそれとの関係について検討した。

オーディナリーミールの β -緩衝能 上述したマイワシをそれぞれ原料としてオーディナリーミールを調製した。Fig. 2 はそれらの水抽出液の β -緩衝能曲線を示している。25°C 放置で 0 日目および 1 日目の原料より調製したフィッシュミールの β -緩衝能にほとんど差違は認められなかったが、原料魚に存在した中性付近の β -緩衝能はほぼ消滅していた。これは緩衝作用を示す物質が煮熟または乾燥工程 (100°C で 100 分) で熱分解したものと考えられる。また、25°C 放置 4 日目および 7 日目の原料より調製されたフィッシュミールの緩衝作用は、アルカリ性側の鋭いピークの存在を除くと原料魚のそれと全く同様のパターンを示した。鋭敏なピークは何に由来するかについては今後検討したいと考えている。

一方、各フィッシュミールにおけるヒスタミン含量は原料魚の 25°C 貯蔵 0 日目でフィッシュミール 100 g 中 1.8 mg, 1 日目で 1.6 mg, 4 日目および 7 日目でそれぞれ 74.2 mg, 96 mg と鮮度低下とともに急速に増加した。現在、ヒスタミンの増加と緩衝能の変化に関する直接的な関係は不明であるが、緩衝能の変化は原料魚の良し悪し、あるいはフィッシュミールの品質と密接な関連を有していると考えた。

ホールミールの β -緩衝能 圧搾工程で得られた液汁分を乾燥前圧搾粕に添加混合したホールミールを調製した。各々のホールミールの水抽出液の β -緩衝能の変化を Fig. 3 に示す。酸性側およびアルカリ性側の緩衝能は原料魚の放置日数によく比例して増加した。一方、ホールミールのヒスタミン量は原料魚の放置日数 0, 2, 4, 7 日目で、ホールミール 100 g 当たりそれぞれ、3.1, 41.8, 189, 174 mg を示し、4 日目以後横ばいの様相を示した。

従って、ホールミールの場合には、ヒスタミン量よりも β -緩衝能の増加量のほうが品質推定の指標として有用であると考えられる。オーディナリーミールの β -緩衝能に比べホールミールのそれは約 1.5 倍までの間で高い値を示したが、これは添加した圧搾液汁、すなわち水溶性区分の化合物群の緩衝能に起因するものと思われる。

β -緩衝能におよぼす乾燥温度の影響 原料魚の筋肉では中性付近に強い緩衝作用を示す物質の存在が示唆されたが、これは 25°C 放置、あるいは 100°C 加熱後には緩衝能がみられなくなったことから、その物質は分解によって消失するものと推察された。一方、酸性およびアルカリ性側に存在する緩衝能には 100°C 加熱の影響はほとんど認められなかった。そこで、 β -緩衝能におよぼす乾燥温度の影響を検討するために、乾燥温度を 200°C としてオーディナリーミールを調製した。この時の乾燥時間は積算温度を対象のオーディナリーミール (100°C で 100 分乾燥) のそれと同一とするために 50 分間とした。Fig. 4 に 100°C で 100 分および 200°C で 50 分乾燥したオーディナリーミールの水抽出液の β -緩衝能曲線を示す。緩衝作用を示す物質は 200°C で一部分解されることが観察された。この時、アルカリ性側の緩衝能はよりアルカリ性側へシフトし酸性側のそれは中性側へシフトすることが推察された。従って、強熱 (200°C) により乾燥されたオーディナリーミールは β -緩衝能の低下と同時に、緩衝能を示す pH 域が全体的にやや高 pH 側へ移動するという特徴を持つといえる。このことから、適正な加熱条件下で調製したフィッシュミールの緩衝能パターンと比較することにより、オーディナリーミールの加熱条件をチェックできるかもしれない。

β -緩衝能におよぼすソリュブルおよび血水の影響 Fig. 5 に同じ原料から調製したオーディナリーミールと

Fig. 6. Effect of the fish exudate on the β -buffer capacity of the water extract from the ordinary meal.
—, Addition of exudate; ---, no addition of exudate.

ホールミールの水抽出液の β -緩衝能の比較を示す。いずれの場合もソリュブルを添加したホールミールの β -緩衝能の方がオーディナリーミールのそれよりも大きいことを示している。しかしながら、両ミール間における β -緩衝能の強さの差はいずれの原料魚を用いた場合でもほぼ同程度であった。

一方、オーディナリーミールとホールミールの水溶性窒素量の間には、25°C 放置 0 日目および 4 日目のマイワシを原料とした場合、2 倍以上の差が認められたが、25°C 放置 7 日目のそれはおおよそ同程度であった (Table 1)。このことは、放置 7 日目の原料ではタンパク質の低分子化が進み、ソリュブルの添加の効果が顕著に現れなかったことを示していると考えられる。Fig. 6 は血水だけを乾燥前圧搾粕に添加して調製したフィッシュミールの β -緩衝能を無添加のオーディナリーミールのそれと比較したものである。結果はソリュブルを添加したミールと無添加のミールとの比較結果 (Fig. 5) と同様であった。血水添加ミールと無添加ミールの大きな違いは水溶性窒素量がミール 100 g 中前者で 2,338 mg あるのに対し後者では 861 mg であったことである。これは同じ原料から製造されたオーディナリーミールとホールミールの水溶性窒素量の差より大きい (Table 1)。以上の結果よりタンパク質の低分子化するなわち水溶性区分の増大はフィッシュミールの β -緩衝能の強さの増大となって現れるものと推察される。しかし、 β -緩衝能は水溶性窒素の量的差異のみでなく、質的差異も反映していると考えられることから、 β -緩衝能の測定はオーディナリー

ミールおよびホールミールの品質あるいはその原料魚の鮮度を総合的に判断するための一つの有力な手がかりになると考えられる。今後、実用化に向けてさらに詳細に検討するつもりである。

要 約

フィッシュミールの β -緩衝能の変化から、その品質評価を試みた。その結果、次の諸点が明らかとなった。

- 1) 原料魚の β -緩衝能はアルカリ性側、中性付近および酸性側に認められたが、中性付近のそれは 25°C で放置 1 日以内に消失した。一方、酸性側およびアルカリ性側に存在する β -緩衝能は放置日数 (腐敗の進行) とともに著しく増加した。
- 2) オーディナリーミールおよびホールミールの β -緩衝能の変化量と原料魚の放置日数との間には良い相関性が得られた。この相関性は放置日数とヒスタミン量との相関性よりも良い直線性を示した。
- 3) フィッシュミール製造工程における強熱は酸性およびアルカリ側の β -緩衝能を弱くするが、同時に、緩衝能を示す pH 域はそれより高い pH 側へシフトした。

以上の結果から、オーディナリーミールおよびホールミールの品質あるいはその原料魚の鮮度をフィッシュミールの水抽出液の β -緩衝能から推定できる可能性が示された。

文 献

- 1) 外山健三, 井手本貢, 中田 誠, 青江 弘: 日水誌, **46**, 563-570 (1980).
- 2) 外山健三, 東條直樹, 中田 誠, 青江 弘: 日水誌, **46**, 1345-1352 (1980).
- 3) 新聞弥一郎, 新聞脩子: 日水誌, **37**, 203-210 (1971).
- 4) 大谷武夫, 木村 稔: 日水誌, **6**, 277-281 (1938).
- 5) 大谷武夫, 木村 稔: 日水誌, **4**, 95-97 (1935).
- 6) E. Watanabe, A. Nagumo, M. Hoshi, S. Konagaya, and M. Tanaka: *J. Food Sci.*, **52**, 592-595 (1987).
- 7) Official Method of Analysis of AOAC, 12th ed. (ed. by W. Horwitz), Washington, D.C., 1975, p. 489.
- 8) 日本薬学会編: 衛生試験法注解, 南山堂, 東京, 1990, pp. 284-285.
- 9) 内田 元, 井上洋太郎: 日水誌, **19**, 916-920 (1953).
- 10) 須山三千三: 日水誌, **24**, 271-275 (1958).
- 11) 須山三千三: 日水誌, **24**, 276-279 (1958).
- 12) 須山三千三, 徳広 真: 日水誌, **24**, 267-270 (1958).
- 13) 須山三千三, 小池淳三, 鈴木和達: 日水誌, **24**, 281-284 (1958).