

魚類の腐敗検定法に関する研究〔1〕

ヒスタミンの定量による検定について

太 田 馨*
 八 木 由 紀 子**
 中 村 佳 子

ま え が き

魚肉の腐敗度の判定特に腐敗の初期を知ることは食生活において極めて必要なことであるが、現在外観的にも科学的にも正確にこれを判定することは困難である。

今までに研究された主な検定法としては、化学的にはアンモニア¹⁾²⁾、アミノ酸²⁾、硫化水素³⁾、コハク酸⁴⁾、乳酸⁴⁾等の定量または酸素の吸収力の測定、硝酸塩の還元、あるいはメチレンブルー色素の還元、pH の測定等⁵⁾があり、物理的には硬度計による硬度の測定がある。

さらに細菌検査による法、直接肉片を顕微鏡的に観察する方法もある⁶⁾。

化学的検定法の根拠となっているものは、主として腐敗により生成する成分の定量により行なうものである。腐敗により生成する特異な成分としてヒスタジンから生成されるヒスタミンがあり、ヒスタミン定量によっても腐敗度を判定することが可能と思われるが、この点に関しては明らかでない。よって著者等は腐敗過程におけるヒスタミン生成量を定量し、pH 法による判定と比較してヒスタミン量による腐敗初期の検定を試みた。またヒスタミンは食中毒の一原因ともなっているので、市販の乾性、半乾性の魚類中のヒスタミン量を定量し、食中毒とヒスタミン量との関係についても考察した。

実 験 の 部

実験材料および検液の調整

ヒスタジンは運動活発な赤味の魚類に多く、ヒスタミンを生成し易く中毒をおこし易いので鯖肉を実験材料に用いた。新鮮な生鯖肉と冷凍鯖肉とを粗砕し、10g ずつシャーレにとり、水10ml を加えて30~32°C の

恒温器中に保って腐敗せしめ、一定時間後10g をとりだし、磨碎して氷酢酸で pH 3 以下とする。これに90%エタノールを 100ml 加えて混和し、遠心分離後上澄液を減圧濃縮、乾固し残渣を水にとかして 5ml とし、これをヒスタミン定量の検液とした。

実験方法

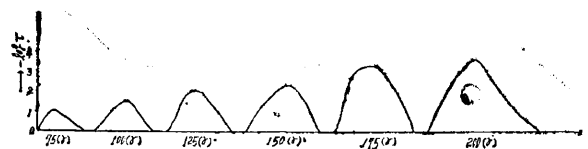
ヒスタミンの分離はペーパークロマトグラフィーにより行ない、定量は濾紙光電光度計により発色の強度を測定し、これより得た曲線面積を測定して標準曲線よりヒスタミン量を求めた。

前項にて調整した検液をマイクロピペットにて 0.04 ml とり、東洋濾紙 No. 50 の 2×40 に線状につけ、常法により展開液アンモニア性ブタノールにて温度 25°C で約 14 時間上昇法により展開し、ジアゾ反応にて発色せしめ、これを 80°C の溶融パラフィンにつけ、小林式濾紙光電光度計にて波長 590mμ で発色の強度を測定し、これより得た曲線面積に対応するヒスタミン量を標準曲線より求めた。

実験結果

ヒスタミンの標準発色状態は第1図のようであり、これより求めた発色帯面積は第1表の通りである。

第1図 ヒスタミンの発色状態



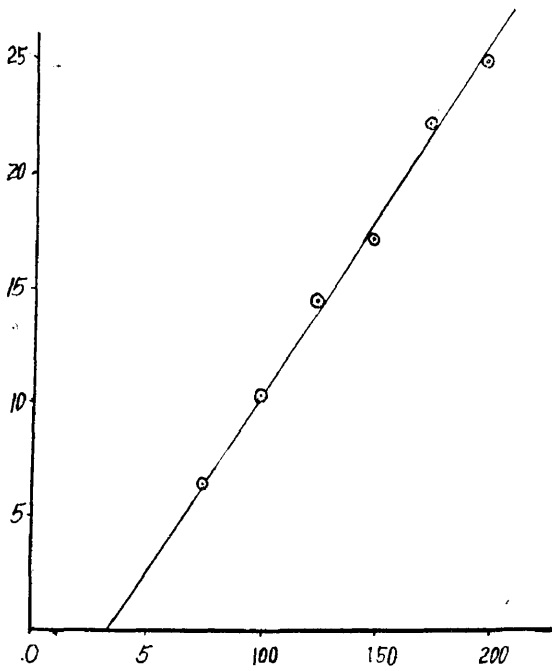
第1表 ヒスタミンの標準発色帯面積

ヒスタミン量(γ)	75	100	125	150	200
面 積	6.3	10.2	14.4	17.0	24.8

この結果作成した標準曲線は第2図のごとくである

* 本学教授 ** 本学副手

第2図 ヒスタミン標準曲線

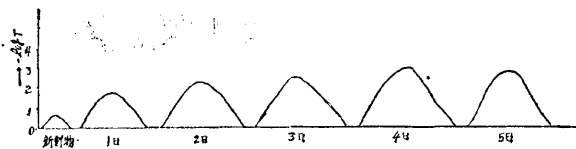


試料生鯖および冷凍鯖の腐敗肉のペーパークロマトグラフィーの結果は第2表のごとくであり、ヒスタミンの発色状態は第3図および第4図の通りである。

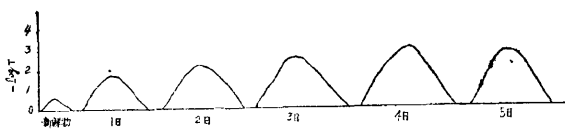
第2表 腐敗鯖肉 ppc のジアゾ反応発色による Rf 値

スポット	Rf 値	成分
1	0.03	?
2	0.15	ヒスタミン
3	0.23	?
4	0.30	チロシン
5	0.37	イミダゾール酢酸
6	0.63	ヒスタミン
7	0.65	チラミン

第3図 ヒスタミンの発色状態(生鯖)



第4図 ヒスタミンの発色状態(冷凍鯖)



第3図、第4図から求めた発色帯面積は第3表のごとくである。

第3表 腐敗鯖肉のヒスタミン発色帯面積

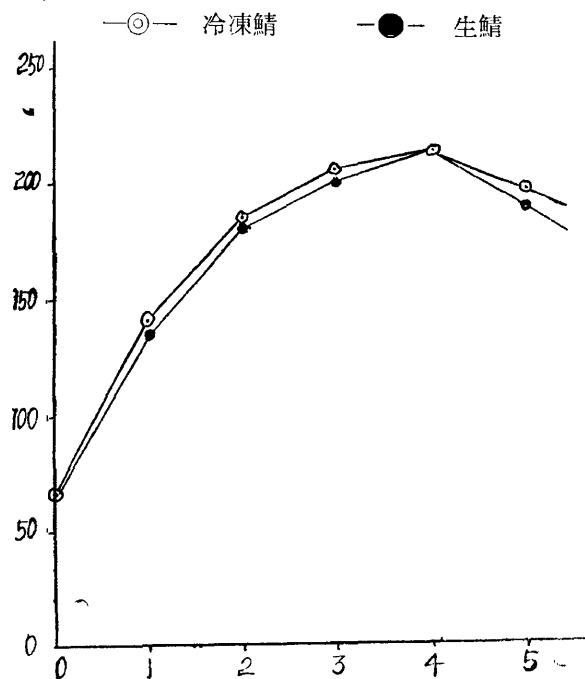
区分 \ 日数	0	1	2	3	4	5
冷凍鯖	3.0	12.0	17.3	19.8	20.9	18.9
生鯖	2.9	11.3	16.8	19.3	20.9	18.0

第3表の発色帯面積よりヒスタミン量を標準曲線から求めると第4表のごとくであり、これを図示すると第5図のようである。

第4表 腐敗鯖肉中のヒスタミン量 (mg/100g)

区分 \ 日数	0	1	2	3	4	5
冷凍鯖	65	140	184	205	214	198
生鯖	64	134	180	200	214	190

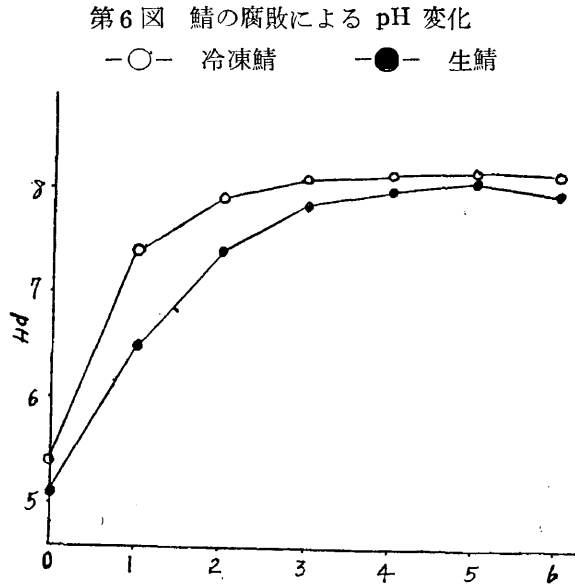
第5図 鯖の腐敗によるヒスタミン生成量



考 察

以上の実験結果を考察すると、腐敗によるヒスタミン生成量は第5図より日時の経過とともに増加し、また生鯖よりも冷凍鯖の方がやや多い。しかし両者とも本実験のような腐敗条件においては、4日目でヒスタミン量は最高値 210mg/100g に達し以後減少する。減少の原因については既に指摘されているように、生成したヒスタミンが細菌特に *Flavobacter* および *Achromo-bacter* などによって酸化的脱アミノ化作用を受け、イミダゾール酢酸に変化するためであり、ペーパークロマトグラフィーにおける発色状態からもこの事が認められる。

本実験条件において腐敗の初期がいつであるかを明らかにするため、同一条件による腐敗過程における pH 変化を常法により測定した結果、第6図のごとくであった。



pH 変化による腐敗初期の判定にも諸説があるが、大谷は pH 6.2~6.3 を以って腐敗初期を定めている。この pH を腐敗初期の基準とすれば、本実験においては生鯖では大体一日、冷凍鯖では約半日位の腐敗

により pH 6.2~6.3 附近に達し、冷凍鯖の方が腐敗し易い。腐敗1日目のヒスタミン量は両者とも魚肉 100g 中 130~140 mg であり、ヒスタミン量により腐敗の初期を判定するには 130~140 mg をもって一指数とすることが出来る。

ヒスタミンの致死量、中毒量についても諸説があるが、千葉大学腐敗研究所の行った調査を見ると、昭和27年長野県下に発生したヒスタミン中毒例の結果は、中毒原因食品のさんまミリン干しより、検体 100g 当り 400~600 mg のヒスタミン量を検出したのに対し中毒性でない同種食品からは多くても 100 mg 以下であったことより、検体 100g 中のヒスタミン量が 130~140mg を腐敗の初期と見なすと同時に中毒最低量と認めることが妥当ではないかと思われる。しかしヒスタミンによる中毒はヒスタミンのみによるものではなく、通常共存するアグマチン、メチルグアニジン等により相乗的に作用するものであるから、これらの量についても考慮しなければならない。

以上のごとくヒスタミン量による腐敗の初期および中毒の最低量の判定は魚肉中 100g 中 130~140 mg と推定されるので、市販の各種乾性、半乾性魚類中のヒスタミンを同様に定性、定量した結果は第5表および第6表のごとくである。

第5表 乾性、半乾性魚類中の腐敗成分

名 称	状 態	乾燥度	pH値	塩分	spot 1	ヒスタミン	spot 3	チロシン	イタリク酸	ヒスタミン	チラミン
ミリン干しさんま	三枚卸し	半乾燥	6.11	弱		○			○	○	
ミリン干しふぐ	〃	全乾燥	6.05	〃		○	○		○		
ミリン干したい	〃	〃	5.95	〃		○	○	○	○		
サクラ干し	〃	〃	5.80	〃	○	○	○		○		
かれい	内臓付き	半乾燥	6.20	中		○	○		○		
はたはた	〃	〃	6.70	〃	○	○	○	○	○	○	
いわし	〃	〃	6.01	〃	○	○		○	○		
きす	〃	〃	6.80	〃	○	○	○	○	○	○	○
うるめ	三枚卸し	〃	6.30	〃		○	○		○		
たら	〃	塩漬	6.75	強		○			○		
たらい	〃	〃	6.60	〃	○	○			○		
すけそうだら	〃	全乾燥	6.60	〃	○	○		○	○		○
あじ	〃	半乾燥	6.60	中	○	○		○	○	○	○
かます	〃	〃	6.50	〃	○	○		○	○		
にしん	〃	〃	6.35	〃		○			○		
丸干しさんま	内臓付き	〃	6.10	〃		○		○	○	○	○

第6表 市販店頭魚の発色帯の面積, ヒスタミン量
(mg/100g)

魚名	発色帯面積	ヒスタミン量
ミリン干しさんま	3.8	70
丸干しさんま	2.9	40
はたはた	5.0	80
きす	4.7	80
あじ	4.0	70

この結果いずれの魚類中にもヒスチジン, イミダゾール酢酸が含まれているが, ヒスタミン, チラミンは特定のものだけに存在し, 半乾性魚類に多い傾向を示している。しかしヒスタミン量はいずれも100g中130~140mg以下であり, 中毒をおこす量に達していなかったのは幸である。

要 約

磨碎鯖肉を30~32°Cの恒温中で腐敗せしめ, 鯖肉の腐敗度をヒスタミン生成量により判定する新方法を検討した結果, 次のような諸点が明らかになった。

1) ヒスタミン量は腐敗の進行と共に増加するが,

4日目で最高量210mg(魚肉100g中)に達し, 以後次第に減少する。また冷凍鯖は生鯖より腐敗し易い。

2) pH測定法と伴用比較した結果, ヒスタミン量130~140mg(魚肉100g中)をもって腐敗初期と見なすことが出来る。

3) 市販の乾性および半乾性魚類食品中のヒスタミンは大体80mg(魚類100g中)以下であり, 腐敗初期の段階に至らず, 中毒をおこす量にも達していなかった。

参 考 文 献

- 1) 清水: 農化I, 730, 大13
- 2) Lücke. u. Gedel: Z. Unters. Lebens., 70, 441, (1935)
- 3) 足立, 田中: 京都女大食物誌, 5, 38, (1958)
- 4) Tillmans. u. Otto: Z. Nahr, Genussm.) 47, 25, (1924)
- 5) 木村: 水産製造学, 112, (昭7)
- 6) 木村: 水産界., 205, (大14)
- 7) 大谷: 水産学会報, 5, (1928)