

# サバを用いた腐敗要因の究明

黒野 駿 森 智子 吉川 真代  
名古屋市立向陽高等学校 SS クラス

## 要旨

高温多湿なわが国において、食品が腐敗するのを防ぐことは、重要な課題である。特に鮮魚や生肉は腐敗が起りやすく、腐敗することにより様々な気体が発生することが知られている。本研究ではこの事実に着目し、サバを様々な条件下で腐敗させ、その際に発生する気体の種類・量を比較することにより、腐敗に影響する要因が特定できるのではないかと考え、研究を進めていった。実験の結果、サバの腐敗により発生する主な気体はトリメチルアミン、メタンチオール、ジメチルジスルフィドの3種類であり、腐敗環境を変えることにより、これらの気体の発生量に大きな変化が見られることが分かった。

## 1 序論

近年、身近な食品の安全や、様々な食品添加物の使用に関する議論が広く行われるようになってきた。その中でも私たちは保存料、特に合成保存料について興味を持ち、研究していくことにした。しかし、保存料について研究するにあたって、食品を保存する、つまり食品の腐敗を防ぐということは、一体どういうことなのかということに疑問に思い始めた。そこで、保存料の腐敗抑制効果を調べるとともに、腐敗のメカニズムを解明していくことにした。

始めに、今回の実験で保存料として用いた、ソルビン酸カリウムの特徴を示す。ソルビン酸カリウムは、カビ、酵母、好気性細菌等の発育を阻害する効果を持つ、日本で最もポピュラーな合成保存料であり、主に魚肉練り製品、食肉製品、魚介乾製品などに対して添加される。また、よく食品に表記されている、ソルビン酸と今回用いるソルビン酸カリウムは、水溶性がソルビン酸カリウムのほうが高いという違いはあるものの、保存効果は全く変わらない。

次に腐敗の定義であるが、腐敗とは微生物の増殖の結果、その代謝作用によって食品の成分が変化することである。また、腐敗によって食品本来の持つ形、色、香り、味、栄養分などが損なわれたり、有毒物質が生産されたりするが、それらの程度は環境条件（酸素・温度・水分など）やその食品の化学成分によって異なる。

タンパク質は主に微生物の酵素反応によりポリペプチドに分解され、更にそれらのポリペプチドは個々のアミノ酸へと分解される。その後、各種のアミノ酸は主にアミンと二酸化炭素に分解されるが、この反応を脱炭酸反応という。

私たちは腐敗の進行とともにアミン類の発生量が増えるという事実に着目し、アミン類の発生量が腐敗の度合いを示すパラメータに成りうると考え、以下のように実験を進めていった。

また、今回の実験において、私たちはサバを普段口にする形に近づけるため、敢えてすり潰さず切り身のまま使用した。

## 2 実験方法

### 2.1 サバの部位による違い

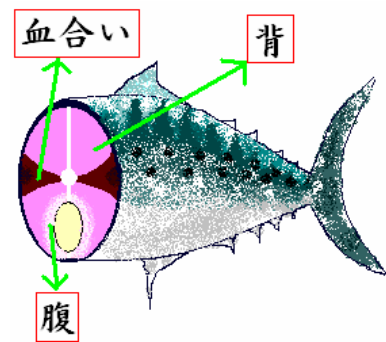


図1 サバの部位

私たちは、全ての実験において三重県産のゴマサバの切り身を使用した。図1のように内臓等を除いたサバには大きく分けて、腹・血合い・背の3つの部位がある。そこで、部位の違いが腐敗状況を変化させる要因になるのではないかと予測し、次のような実験を行なった。

まず、部位ごとにサバを5gずつに切り分ける。内臓に近く白桃色である部位を腹、筋肉質で血赤色である部位を血合い、それ以外の薄赤色である部位を背とした。その際、区別の曖昧な部分は極力除いて使用した。

次に、その切り身を一切れずつ200mL三角フラスコに入れ、パラフィルムで四重に密閉し、常温で48時間置いておいた。その後GASTECアミン類検知管を用いて、発生したアミン類の量を測定した。

今回行なった全ての実験では、全く同じ条件のフラスコを3本ずつ用意した。そのため、全ての実験データの値は3本のフラスコでの平均値を示してある。また、それぞれの実験において、全てのフラスコを一斉にセットすることで、腐敗環境を統一した。

### 2.2 温度による違い

腐敗要因として真っ先に考えられる、温度を変化させた場合のサバの腐敗状況の違いを調べた。2.1の

ようにしてサバを封じ込めたフラスコを、室温（約25℃）と冷蔵庫内（約5℃）にそれぞれ3本ずつ置き、48時間後にアミン類検知管を用いてアミン類の量を測定した。

### 2. 3 溶液の調整

ソルビン酸カリウムの結晶0.75gを100mLメスフラスコに入れ、純水を加えて0.05mol/Lソルビン酸溶液を調整した。

### 2. 4 アミン類検知管を用いた腐敗要因の特定

|   |                         |
|---|-------------------------|
| ① | サバのみ                    |
| ② | サバ+純水                   |
| ③ | サバ+窒素ガス充満               |
| ④ | サバ+酸素ガス充満               |
| ⑤ | サバ+光無し                  |
| ⑥ | サバ+0.1mol/L ソルビン酸カリウム溶液 |

- #1 2.1の結果より、サバは背のみを使用した。  
 #2 サバの切り身全体が浸るよう、溶液は20mL加えた。  
 #3 ③の酸素濃度は2~3%、④は計測不可であった。

表1 フラスコ内の条件

サバの背肉を5gずつに切り分けて三角フラスコに入れた後、様々な予備実験をもとに定めた（表1）のような条件をフラスコごとに設定した。そして、24、48、72時間常温で放置した後、発生したアミン類の量をGASTECアミン類検知管で測定した。

③のフラスコではN<sub>2</sub>を十分にに入れて、O<sub>2</sub>を追い出し、④のフラスコではO<sub>2</sub>を十分に入れ、酸素濃度を増加させた。また、酸素量を変化させた場合の比較をする際、①の条件をO<sub>2</sub>(普)、③をO<sub>2</sub>(少)、④をO<sub>2</sub>(多)と呼ぶことにする。

⑤はアルミホイルで全体を包み、光を遮断した。また、光の有無を比較する際は①を光(有)、⑤を光(無)と呼ぶ。

### 2. 5 GC-MSを用いた発生気体の特定

アミン類は水溶性が非常に高いため、2.4の実験において、水溶液を加えたフラスコでは発生気体が溶液に溶けてしまい、正確なアミン類の発生量を測定できなかった。そこで、名古屋工業大学のご協力の下、サバが腐敗する際に発生し、かつ難溶性な気体を発見するためにGC-MSを用いた。その際、カラムは30m・内径0.25mm・膜圧1.0μmを使用した。

### 2. 6 GC-MSを用いた腐敗要因の特定

2.4の(表1)と同条件でサバを腐敗させ、2.5の実験結果をもとに、それぞれのフラスコ内でのメタンチオール(CH<sub>4</sub>S)、ジメチルジスルフィド(C<sub>2</sub>H<sub>6</sub>S<sub>2</sub>)の発生量をGC-MSで測定した。今回は全てのフラスコを設置72時間後に測定した。また今後、メタンチオールをCH<sub>4</sub>S、ジメチルジスルフィドをC<sub>2</sub>H<sub>6</sub>S<sub>2</sub>と呼ぶことにする。

## 3 結果と考察

### 3. 1 サバの部位による違い

部位によって発生する気体の量が変わることが分かった。これは部位によって、タンパク質の含有量やアミノ酸の種類、量が異なるからだと考えられる。また、発生するアミンの量が最も多く、腐敗しやすかったのが腹部であった。また、腐りやすい内臓に接している腹部が最もアミン類の発生量が多いことも分かった。

### 3. 2 温度による違い

冷蔵庫に入れて48時間後に測定したアミン類の発生量は、ほぼ0ppmであったのに対し、25℃の室温では32ppmであった。低温環境にフラスコおくことで微生物の活動が抑制され、微生物の生み出す分解酵素の量も減少したため、分解が抑制されたのだと考えられる。

### 3. 3 アミン類検知管を用いた腐敗要因の特定

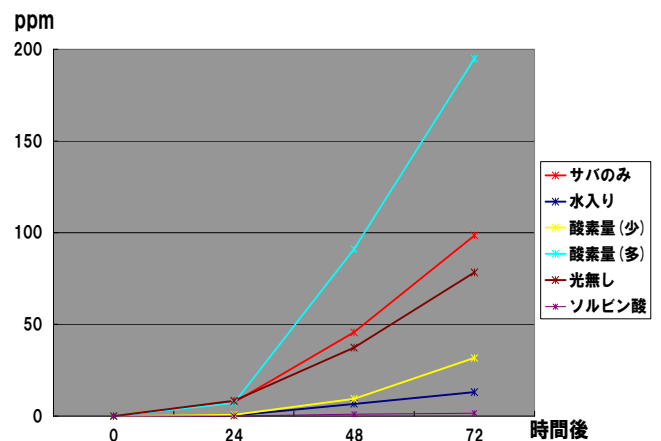


図2 アミン類濃度のグラフ

発生したアミン類の濃度[ppm]を縦軸、時間を横軸として、グラフ(図2)を作成した。グラフを見て分かるように、どの条件下でもアミン類の発生量は増加し続けている。また、時間が経つにつれ、グラフの傾きは大きくなっている。

この原因として二つの理由が考えられる。一つ目に時間の経過とともに微生物の量が増加すること、二つ目にアミン類等の物質が発生するには、ある程度の時間が必要であること、という二つが考えられる。

#### 3. 3. 1 酸素量の変化とアミン類発生量の関係

フラスコ内の72時間後のアミン類濃度はO<sub>2</sub>(少)が195ppm、O<sub>2</sub>(普)が98ppm、O<sub>2</sub>(多)が31ppmであった。このことから、酸素量は腐敗に大きく関与しており、酸素量が少ないほど腐敗が抑制されることが分かった。

#### 3. 3. 2 光の有無とアミン類発生量の関係

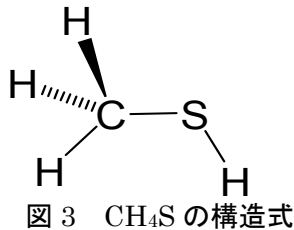
アミン類濃度は、光(有)が98ppm、光(無)が78ppmであった。これより、光を遮るとアミン類の発生量

がわずかに減少することが分かった。また、それぞれのフラスコ内の温度を測定した結果、アルミホイルで覆い光を遮断したフラスコの方が 1.0°Cほど温度が低かった。

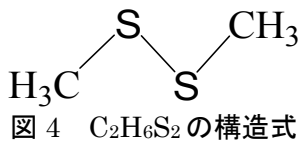
よって光(無)の方が、アミン類発生量が少なかった理由は、光を遮断することで三角フラスコ内の温度が下がったため、微生物の活動が抑制されたからだと考えられる。

### 3. 4 GC-MS により検出された気体

GC-MS での測定の結果、サバが腐敗すると、主に CH<sub>4</sub>S と C<sub>2</sub>H<sub>6</sub>S<sub>2</sub> という 2 種類の気体が発生することが分かった。



CH<sub>4</sub>S は、分子量 48.11、難溶性で腐ったキャベツの匂いがする無色の気体である。また、微生物は好気条件及び嫌気条件において、CH<sub>4</sub>S から C<sub>2</sub>H<sub>6</sub>S<sub>2</sub> への変換も行う。



C<sub>2</sub>H<sub>6</sub>S<sub>2</sub> は分子量 94.19、難溶性で、刺激が強くニンニクに似た特有の硫黄臭を持ち、特定悪臭物質に指定されている。コチなどの一部の魚、アブラナ科の植物、ニンニクなどに含まれ、特に腐敗すると誘導体の分解により発生する。

### 3. 5 GC-MS を用いた腐敗要因の特定

電流量

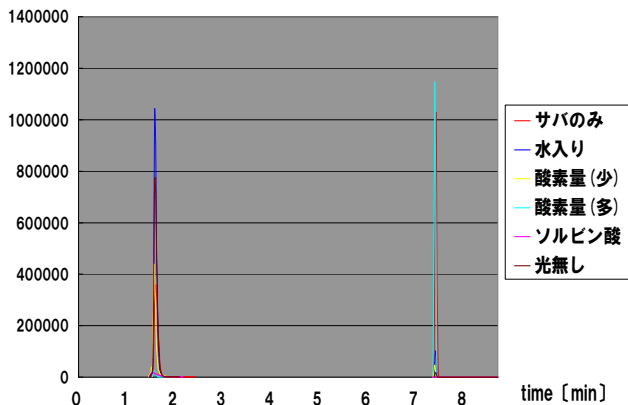


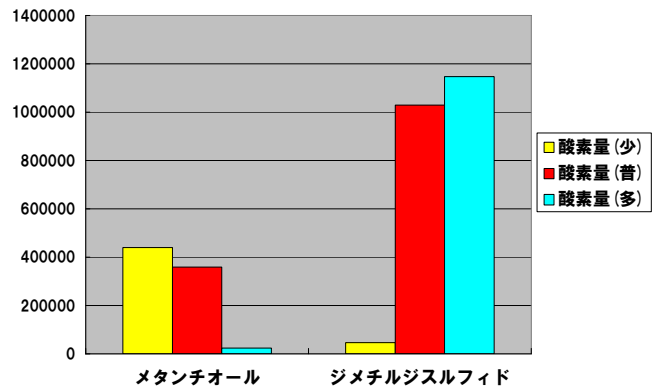
図 5 GC-MS を用いた条件による違い

図 5 において左のピークが CH<sub>4</sub>S 電流量、右のピークが C<sub>2</sub>H<sub>6</sub>S<sub>2</sub> を示している。しかし、このグラフでは個々のグラフの判別が困難であるため、これから条件ごとに 2 種類の発生気体の電流量、つまりピークの値を棒グラフにして示していく。また GC-MS

で測定した電流量と気体の発生量は比例関係にあるため、今後は電流量を腐敗の度合いを表すパラメータとみなし、考察していく。

### 3. 5. 1 サバの腐敗と酸素量の関係

電流量



|                    | CH <sub>4</sub> S | C <sub>2</sub> H <sub>6</sub> S <sub>2</sub> |
|--------------------|-------------------|--|
| O <sub>2</sub> (少) | 439,492           | 45,882                                       |
| O <sub>2</sub> (普) | 358,733           | 1,028,951                                    |
| O <sub>2</sub> (多) | 23,774            | 1,146,875                                    |

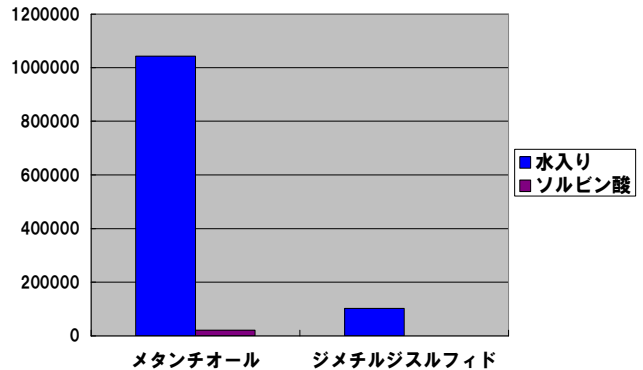
図 6 酸素量を変化させた結果

図 6 には、酸素量を変化させた場合の CH<sub>4</sub>S と C<sub>2</sub>H<sub>6</sub>S<sub>2</sub> の電流量を比較したグラフと、そのピーク値を示した。グラフのように CH<sub>4</sub>S 量は酸素量が少ないほど増加し、C<sub>2</sub>H<sub>6</sub>S<sub>2</sub> 量は酸素量が多いほど増加することが分かった。

このような結果になった理由は、酸素量の増減によって、好気性細菌と嫌気性細菌の繁殖状況が異なり、結果的に発生しやすい気体の種類が異なるからだと考えられる。また、今回の結果に 3.3.1 での結果を加味して考えるに、酸素量が少ない方が比較的腐敗を抑制できることが分かった。

### 3. 5. 2 サバの腐敗と光の有無の関係

電流量



|         | CH <sub>4</sub> S | C <sub>2</sub> H <sub>6</sub> S <sub>2</sub> |
|---------|-------------------|--|
| 水       | 1,043,393         | 101,705                                      |
| ソルビン酸溶液 | 21,083            | 0  |

図 7 ソルビン酸カリウム溶液を加えた結果

図7にも図6と同様にグラフとピーク値を示した。ソルビン酸カリウム溶液を加えると、 $\text{CH}_4\text{S}$  量、 $\text{C}_2\text{H}_6\text{S}_2$  量、共に大幅に減少することが分かった。しかし、今回の実験の結果だけでは、ソルビン酸カリウムがどのように腐敗を抑制しているのかを考察するには至らなかった。そのため4.1にて、私たちがソルビン酸カリウムの効果を特定するために考えた実験方法を示すことにする。

### 3. 6 腐敗の抑制条件

これまでの結果より、腐敗に影響する要因には、温度、酸素量、光の有無、ソルビン酸カリウム溶液の有無という4つがあることが分かった。

また、腐敗を抑制するのに最も適した条件は、温度が低く、酸素が少なく、光が遮断されており、ソルビン酸カリウムを添加してある条件であると考えられる。

## 4 今後の課題

### 4. 1 今後のソルビン酸カリウムの研究について

3.5.2でも述べたように、今回の実験だけではソルビン酸カリウムの効果を特定するには至らなかったため、今後は次のような研究をしていきたいと考えている。

まず、より純粋に近いタンパク質に純水を加えたフラスコと、ソルビン酸カリウム溶液を加えたフラスコを、それぞれ約10本ずつ用意する。そして、1時間経過ごとにそれぞれのフラスコ内で発生した気体をGC-MSを用いて測定していく。その後、二つの結果を見比べて、最初にソルビン酸を加えたことによる変化が現れた部分を探して、そこで起きている反応を調べる。そうすれば、より具体的にソルビン酸カリウムが何に対して作用しているのかが、特定できるのではないかと考えている。

また、ソルビン酸カリウムに殺菌能力があるかどうかを調べることも必要だと考えている。殺菌能力の有無は、培地にソルビン酸カリウム溶液を加えたものと、水を加えたものをつくり、数日後の微生物の繁殖状況を見れば分かる。そのため、早急に行なっていきたいと考えている。

### 4. 2 研究成果と今後の課題

今回の研究成果の一つは、タンパク質の腐敗の進行と共に増加する、アミン類濃度、 $\text{CH}_4\text{S}$  量、 $\text{C}_2\text{H}_6\text{S}_2$  量という3種類の指標を発見したことである。これらの指標は、今後腐敗の研究を進める上で非常に有用であり、欠かすことができないと考えられる。

また、これまでの一連の実験によって、タンパク質の腐敗に影響を与える要因を、ある程度特定することが出来た。今後は、特に酸素量と腐敗の関係に注目していこうと思っている。現時点では、好気性細菌、嫌気性細菌の存在割合が変化することで、本当に $\text{CH}_4\text{S}$  量と $\text{C}_2\text{H}_6\text{S}_2$  量の発生割合が異なるのかどうかを検証していきたいと考えている。

一方で、サバのような一般食品ではなく、腐敗させる物質を単純化することで、より明確に腐敗のメカニズムを解明していきたいとも思っている。また今後は、それぞれの微生物がどのような酵素反応を行っているのか、という事についても研究を進め、多角的に腐敗に迫って行きたいと考えている。

### 〈謝辞〉

本研究でGC-MSをお貸しいただき、ご助言くださった、名古屋工業大学 生命物質工学科 北川慎也准教授、本当にありがとうございました。

### 〈参考文献〉

- 1) 松本昌雄、細貝祐太郎 監修：食品安全セミナー 2 食品添加物(2001) pp.183-185
- 2) 木村光編：食品微生物学(1988) pp.104-106、160-165
- 3) 食品添加物便覧 2005年度版(2005) pp.290
- 4) 谷村顕雄 監修 日本食品添加物協会編：改定新版 よくわかる暮らしのなかの食品添加物 pp.140
- 5) 谷村顕雄：食品添加物の実際知識第4版 pp.67
- 6) 西岡一 監修：すぐわかる食品添加物ガイド pp.77