HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	いか食中毒の生化学的研究：第1報 貯蔵中に於けるアミン類の変化
Author(s)	村田, 喜一; 大石, 圭一; 飯田, 優
Citation	北海道大學水産學部研究彙報, 8(1), 74-80
Issue Date	1957-05
Doc URL	http://hdl.handle.net/2115/22989
Type	bulletin (article)
File Information	8(1)_P74-80.pdf

Instructions for use

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

いか食中毒の生化学的研究

第1報　貯蔵中に於けるアミン類の変化

村田喜一・大石圭一・飯田　優
（北海道大学水産学部水産食品化学教室）

Biochemical Studies on Squid Meat Food Poisoning

I. Identification of amines in squid meat during the period of preservation.

Kiichi MURATA, Keiichi ÔISHI and Atsushi IIDA

Abstract

In this paper, the authors intend to report investigation on the biochemical changes connected with food poisoning, and to obtain knowledge on the amines which play an important part in food poisoning.

Three kinds of samples were prepared —— all were kept at 11.5°C, 18.5°C and 27.0°C. During preservation the changes on the surface of meat, pH value and volatile basic nitrogen of trichloroacetic acid extractives were observed. The produced amines of the samples were also determined every day by chromatography. The following amines are detected; putrescine, cadaverine, ammonia, monomethylamine, trimethylamine, isoamylamine, β-phenethylamine, histamine, tyramine, octopine, agmatine, arcaine, creatinine and methylguanidine.

従来食物中毒の原因究明に当つては，発症後当時と状態を異にする原因食に就いて検索が行われているが，其の性質上之等に対して充分なる基礎研究が行われているものでなければ，早急に原因把握が出来ないものである。

特に食物中毒の大部分が水産食品であり，軟体動物に依る中毒例が著しいこと，更にイカの如き全國的に漁獲の大にして，又蛋白資源として重要な役割をなしているものに就いては，一層其の感を深めるものである。依つて玆に中毒に関係の多いアミンに就いて試験を行い，其の一端を明らかにして，今後の研究の一助にせんとして此の試験を行つたのである。

実　験　の　部

1. 試料

函館沖にて漁獲したスルメイカ *Ommastrephes sloani pacificus* (STEENSTRUP) を用いた。其の一般組成は水分 77.85%，粗蛋白 17.94%，灰分 2.93%，脂肪 1.24% で此の18尾を次の3群に分け，夫々下記の処理を施した。

第1群：試料6尾を採り，外套膜切開，内臓除去後水洗し，表面に付着せる水分を濾紙で拭き取つて屋外に吊し乾燥した。平均気温は11.5°C (8.5°～12.5°C)，相対湿度の変域は50～58%であつた。

第2群：試料6尾を上記同様処理した後バット上に展延し，屋内に乾燥した。平均温度は18.5°C (15.5°～21.5°C) で相対湿度は55～70%の変域を示した。

第3群：試料6尾を上記同様処理し，バット上に展延し，27°Cの恒温器内に放置乾燥した。相対湿度の変域は43～59%であつた。

2．実験方法

上記各群より毎日一定時刻に1尾宛同時に採り出し，感能試験後頭脚部を除去し，刻細均質とし，pH及び揮発性塩基窒素量を測定し，尚アミン類の定性試験を行つた。

1）感能試験

各試料の貯蔵中の状態を連日試料採取の際に色，匂，肉表面の状態，食品価値等に就いて観察した。

2）pHの測定

厚生省衛生検査指針[1]に依り試料を調製し，Beckman Model H. 2 Glass Electric pH Meter を用いて測定を行つた。

3）揮発性塩基窒素量の測定

上記厚生省衛生検査指針[2]に依り行い，蛋白沈澱剤には三塩化醋酸を供試した。

4）アミン類の定性試験

佐竹[3]氏の方法に準拠して行つた。

i）揮発性アミン

刻細試料3g宛を採取し，100ccの水と共に15分間ホモゲナイザー処理，30ccの水を添加攪拌後10%NaOH 5ccを加え直ちに水蒸気蒸溜を行う。溜分はIN HCl 5ccに捕集し，約100ccに達すれば蒸溜を止めて之を湯浴上に蒸発乾涸する。残渣を水0.5ccに溶解して0.05cc宛6枚のペーパークロマト濾紙に塗沫し，一次元上昇法に依り20°±2°Cでペーパークロマトグラフイーを行つた。展開溶媒はブタノール(5)：醋酸(2)：水(2)（容積比）を用い，展開乾燥後1枚をネスラー試薬，1枚を芥子油反応で夫々アンモニア，一級二級アミンを検出し，残りの4枚をニンヒドリン法で呈色せしめ，各スポットのRfを決定後各アミンの純品と試料を混和展開して同定確認を行つた。

ii）不揮発性アミン：イミダゾール・オルトフエノール化合物

刻細試料5g宛を秤取し，之を10ccの水と共にホモゲナイザー処理を行い，IN HClでpH2.5とし，95%アルコール50ccを加えて良く攪拌した後30分間遠心する。上澄を湯浴上に濃縮して得た残部を水4ccに溶解し，其の0.05cc宛をペーパークロマト法で展開した。展開溶媒はINアンモニア水を飽和したブタノールを用い，展開後風乾し15分間50°～60°Cに加温してアンモニアを除いてからヂアゾ法で発色した。各スポットのRfは各試料共5枚のペーパーストリップの平均値で表わし，各アミンの純品と試料を混和展開して同定確認を行つた。

iii）不揮発性アミン：グアニヂン化合物

試料はイミダゾール化合物検索に用いたものを供試し，前回同様の方法でペーパークロマトグラフイーを行つた。展開溶媒はブタノール(4)：醋酸(1)：ピリヂン(1)：水(2)容量比で，発色は牧[4]氏の坂口反応に依つて行つた。Rfはペーパーストリップ4枚宛の平均値として表わし，前回同様に同定確認を行つた。

実験結果

第1表はスルメイカ肉放乾中の状態変化を，第2表はpHの変化を第3表は揮発性塩基窒素量の変化を示したものであり，尚第4表はペーパークロマトグラフイーに依り確認したアミン類の発現を表示し，第2図，第3図及び第4図，2，3は之等を図示したものである。

即ち第1表から明らかな如く，スルメイカを外套膜切開，内臓除去して27°Cに展延放乾した試料は，平均気温11.5°Cの屋外に乾燥した試料が実験期間中終始可食の状態を持続したのに比べ，48時間以後は口にすること不可能となり，乾燥終了後も外観悪く悪臭を放ち，スルメとして最下級品であつた。

又放乾中のpHの変化は第2表，第1図に示す如く，27°Cに放乾したものは他に比べて常にアルカリ側に

Table 1. Changes of appearance of spuid meat

Time elasped (in hrs.) / Sample No. (Mean temp. of preservation)	0	24	48	72	96	120
Group 1 (11.5°C)	eatable	eatable	eatable	eatable	eatable	eatable
	light red	white	light red	light red	light reddish gray	light reddish gray
	semitransparent	semitransparent	opapue	semitransparent	semitransparent	semitransparent
			fragrant	fragrant	special fragrant as Surume	special fragrant as Surume
	soft and elastic meat	soft and elastic meat	elastic meat	tight and elastic meat	tight meat	tight meat
Group 2 (18.5°C)	same as group 1	eatable	eatable by heating	eatable by heating	eatable by heating	eatable by heating
		light red	light turbid red	white	turbid white	turbid light gray
		opaque	opaque	opaque	opaque	opaque
		light fishy	fishy	fishy	very fishy	very fishy
		soft and elastic meat	soft and elastic meat	soft and elastic meat	soft meat	very soft meat
Group 3 (27.0°C)	same as group 1	eatable by heating	eatable by heating	eatable by heating	no eatable even by heating	no eatable even by heating
		turbid white	turbid white	light yellowish white	reddish gray	reddish gray
				opaque	opaque	opaque
		ill-smell like ammonia	ill-smell like ammonia	very ill-smell like amines	ill-smell like amines	ill-smell like amines
		very soft meat	soft meat	soft and adhesive meat	hard, thin and flat meat	hard, thin and flat meat

Table 2. Changes of pH of squid meat

Sample No. (Mean temp. of preservation) \ Time elasped (in hrs.)	0	24	48	72	96	120
Group 1 (11.5°C)	5.90	6.31	6.01	6.09	6.01	6.30
Group 2 (18.5°C)	5.90	6.50	6.73	6.41	6.88	7.57
Group 3 (27.0°C)	5.90	6.80	7.53	7.38	7.27	7.58

Table 3. Changes in the amount of volatile basic nitrogens of squid meat

Sample No. (Mean temp. of preservation) \ Time elasped (in hrs.)	0	24	48	72	96	120
Group 1 (11.5°C)	8.91	7.44	5.06	10.13	15.74	55.97
Group 2 (18.5°C)	8.91	12.14	18.88	27.07	61.45	121.70
Group 3 (27.0°C)	8.91	174.95	227.49	242.70	303.97	356.57

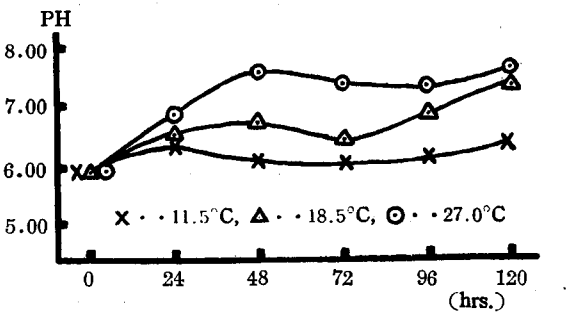


Fig. 1. Changes of pH values of squid meat

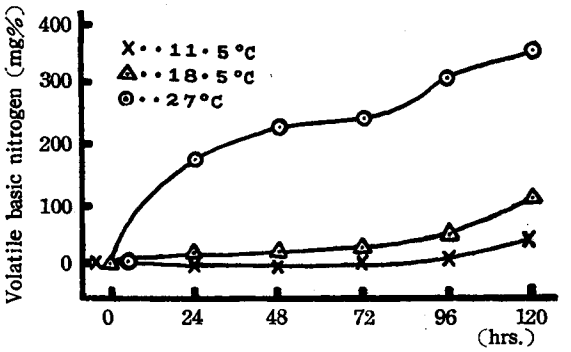


Fig 2. Changes in the amount of volatile basic nitrogens (mg%)

Table 4. Increase and decline of amines of squid meat

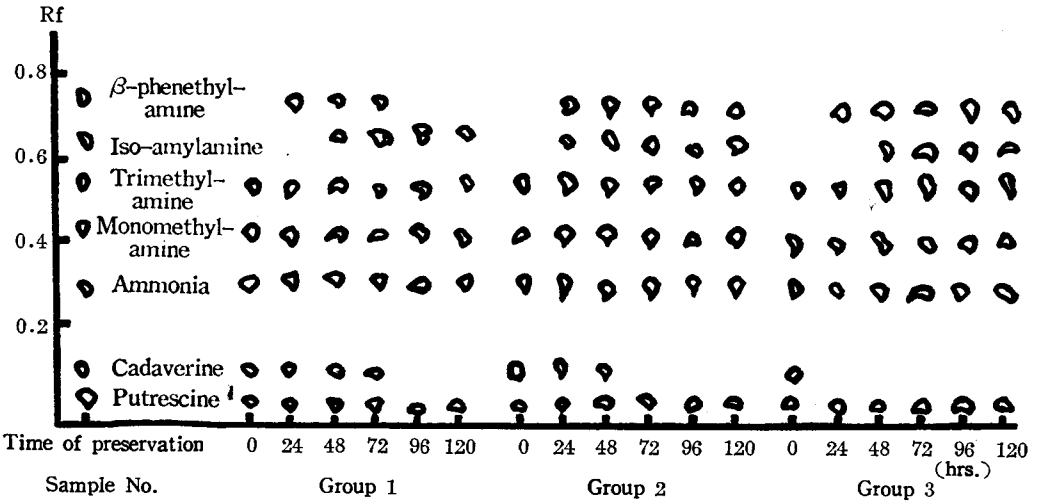
Fraction of amines	Sample No. (Mean temp. of preservation) / Time elasped (in hrs.)	Group 1 (11.5°C) 0	24	48	72	96	120	Group 2 (18.5°C) 0	24	48	72	96	120	Group 3 (27.0°C) 0	24	48	72	96	120
Volatile amines	putrescine	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	cadaverine	+	+	+	−	−	−	+	+	+	−	−	−	+	−	−	−	−	−
	ammonia	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	monomethyl-amine	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	trimethyl-amine	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	isoamyl-amine	−	−	+	+	+	+	−	+	+	+	+	+	−	−	+	+	+	+
	β-phenethyl-amine	−	+	+	+	−	−	−	−	+	+	+	+	−	+	+	+	+	+
	number of unknown substances	0	2	2	3	1	1	0	3	5	5	4	3	0	1	1	1	1	1
Imidazol and ortho-phenol compds.	histamine	−	−	+	+	+	+	−	−	+	+	+	+	−	−	+	+	+	+
	tyramine	−	−	+	+	+	+	−	−	+	+	+	+	−	−	+	+	+	+
	number of unknown substances	1	1	2	2	2	1	0	1	4	4	4	5	1	1	2	2	3	2
Guanidine compds.	octopine	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	agmatine	−	−	+	+	+	+	−	+	+	+	+	+	−	+	+	+	+	+
	arcaine	−	−	+	+	+	+	−	−	+	+	+	+	−	+	+	+	+	+
	creatinine	−	−	+	+	+	+	−	−	+	+	+	+	−	+	+	+	+	+
	methyl-guanine	−	−	−	−	+	+	−	+	+	+	+	+	−	+	+	+	+	+
	number of unknown substances	0	0	0	2	0	0	0	0	1	2	3	3	0	2	2	0	1	1

傾いて居り，最初pH5.9であつたのが48時間後にpH7.5と極大値を示し，後降下するが120時間後に再び上昇してpH7.6を示している。11.5°C放乾のものは24時間後にpH6.3となるが其の後降下し，96時間後から再び僅かに上昇するに至るも，おゝむねpH6.0を中心としている。尙18.5°C放乾試料は常に両者の中間に位して変化し，48時間後にはpH6.7を示すが72時間後にはpH6.4と成り，其の後は再び上昇して120時間後にはpH7.6を示す。然しながらいずれの試料も其のpHは乾燥初期24～48時間に極大値を示した後一度低下し，再び上昇の傾向を示している。

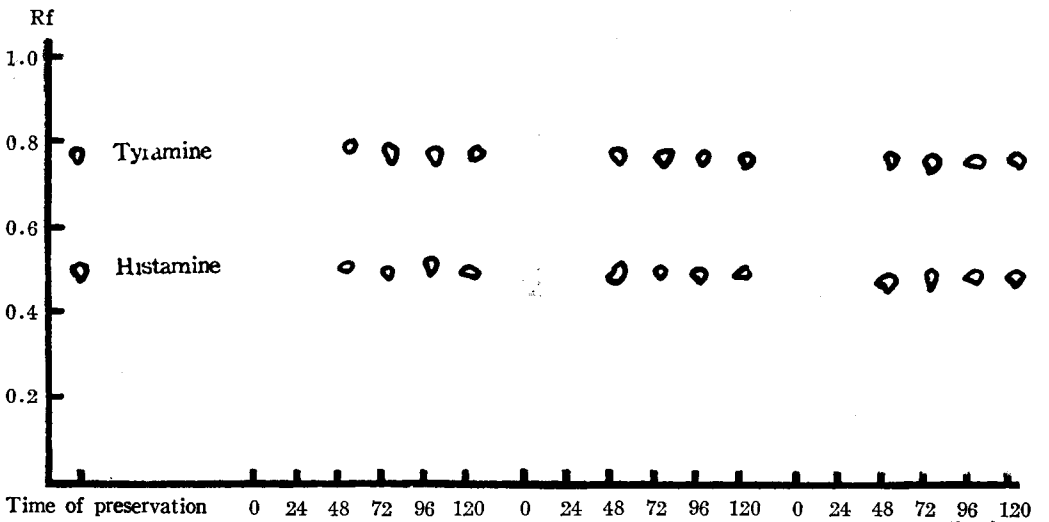
揮発性塩基窒素量の変化は第3表，第2図に示す如く，27°C放乾試料は他に比べて非常に多く，乾燥初期

に急激に増加し，其の後一時増加率は停滞するが再び増加して120時間後は360mg%に達する。11.5° C放乾試料は48時間以後増加を来たすが，120時間後に於いても約60mg%に達するに過ぎなく，18.5°C放乾試料は乾燥の進行と共に漸増し120時間後には約120mg%で前者の約2倍量に達する。

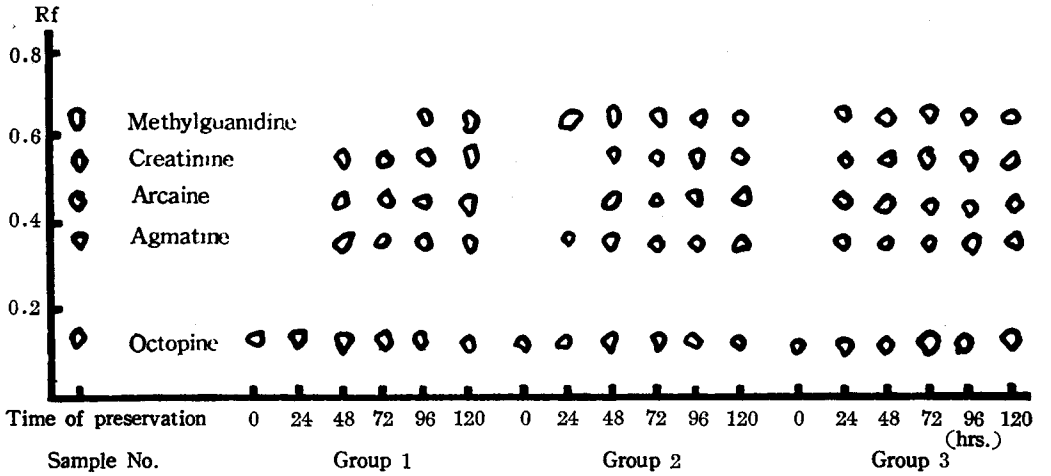
而して此の間に於けるアミン類の消長は第4表，第3図1，2，3に示す如く，全試料を通じて確認されたものとしてプトレスチン，カダベリン，アンモニア，モノメチルアミン，トリメチルアミン，イソアミルアミン，β-フエネチルアミン，ヒスタミン，チラミン，オクトピン，アグマチン，アルカイン，クレアチニン及びメチルグアニヂンがあり，猶此の外に未確認のスポットがあつた。而して此の中ヒスタミンの生成が



(1) Amines detected by Nessler's indicator, dithiccarbamate reaction and ninhydrin reaction



(2) Amines detected by diazo reaction



(3) Amines detected by Sakaguchi reaction

Fig. 3. Paper chromatography of amines of squid meat

微アルカリ乃至は弱アルカリ性下で認められたが，此の点に就いては先に木俣，河合[5]両氏のヒスタミンは必ず酸性側で行われると述べている点と幾分相違するも，而しイカ肉蛋白の如き各種酵素の混在する処ではヒスタミン生成の至適水素イオン濃度は上昇するものと考えられる。又此のヒスタミン生成がイカ肉中の酵素作用に依るものか，付着細菌の作用に依るものかは明らかでないが今後此の点に就いても究明の必要があると思われる。

要　　約

内臓を除去したスルメイカ筋肉を11.5°C，18.5°C及び27.0°Cの各温度に放乾し，其の状態変化を感能試験に依り，又胴肉のpH及び揮発性塩基窒素量の変化を定量的に検索し，同時に生成されるアミン類をペーパークロマトグラフイーに依り検索確認した。

検索し得たアミン類は全試料を通じてプトレスチン，カダベリン，アンモニア，モノメチルアミン，トリメチルアミン，イソアミルアミン，β-フエネチルアミン，ヒスタミン，チラミン，オクトピン，アグマチン，アルカイン，クレアチニン及びメチルグアニヂンであつた。

本研究は文部省科学研究費に依り遂行した。謝意を表する。

文　　献

1) 厚生省 (1951). 食品衛生検査指針 (II). 371p. 東京；協同医書出版社.
2) 厚生省 (1951). 食品衛生検査指針 (II). 371p. 東京；協同医書出社版.
3) 江上不二夫外 (1953). 標準生化学実験. 625p. 東京；文光堂.
4) 牧　角啓 (1952). 日化 73, 737.
5) 木俣正夫・河合　章 (1951). 京大食糧研究所報告 (2), 21.