



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	<a href="http://hdl.handle.net/2115/22989">http://hdl.handle.net/2115/22989</a>
Type	bulletin (article)
File Information	8(1)_P74-80.pdf



[Instructions for use](#)

# 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,  $\beta$ -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、更にイカの如き全国的に漁獲の大にして、又蛋白質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。依つて茲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* (STERNSTRUP) 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°C~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°C~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%であった。

## 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、尙アミン類の定性試験を行った。

### 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<sup>1)</sup>に依り試料を調製し、Beckman Model H. 2 Glass Electric pH Meter を用いて測定を行った。

### 3) 揮発性塩基窒素量の測定

上記厚生省衛生検査指針<sup>2)</sup>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<sup>3)</sup>氏の方法に準拠して行った。

#### 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抹し、一次元上昇法に依り20°±2°Cでペーパークロマトグラフィーを行った。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った。

#### ii) 不揮発性アミン：イミダゾール・オルトフェノール化合物

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に加熱してアンモニアを除いてからギアゾ法で発色した。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った。

#### iii) 不揮発性アミン：ゲアニジン化合物

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ィーを行った。展開溶媒はブタノール(4)：醋酸(1)：ピリジン(1)：水(2)容量比で、発色は牧<sup>4)</sup>氏の坂口反応に依って行った。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った。

## 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、尙第4表はペーパークロマトグラフィ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、スルメイカを外殻膜切開、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った。

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

Table 2. Changes of pH of squid meat

Sample No. (Mean temp. of preservation)	Time elapsed (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 elapsed (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

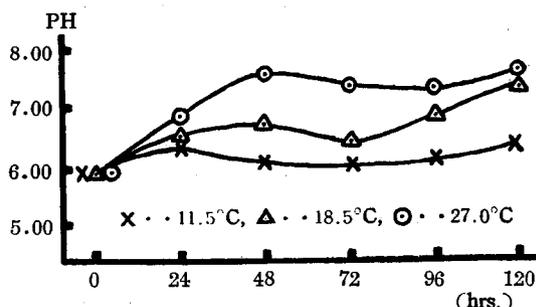


Fig. 1. Changes of pH values of squid meat

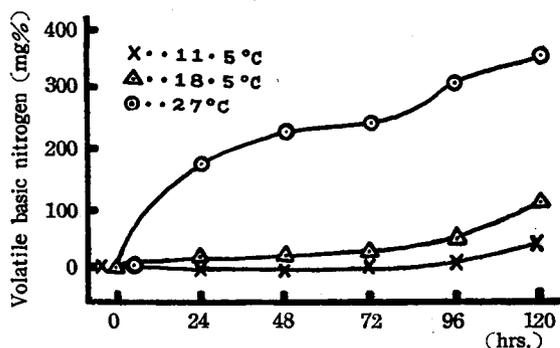


Fig. 2. Changes in the amount of volatile basic nitrogens (mg%)

Table 4. Increase and decline of amines of squid meat

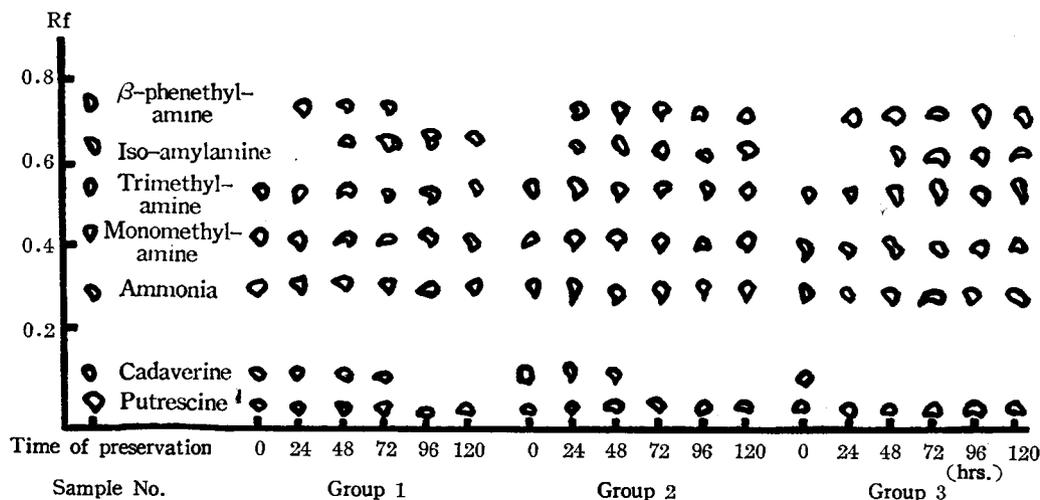
Fraction of amines	Sample No. (Mean temp. of preservation)	Group 1 (11.5°C)						Group 2 (18.5°C)						Group 3 (27.0°C)					
	Time elapsed (in hrs.)	0	24	48	72	96	120	0	24	48	72	96	120	0	24	48	72	96	120
Volatile amines	putrescine	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	cadaverine	+	+	+	-	-	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-
	ammonia	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	monomethyl-amine	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	trimethyl-amine	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	isoamyl-amine	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+
	$\beta$ -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	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+
	araine	-	-	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+
	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放乾試料は常に兩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。

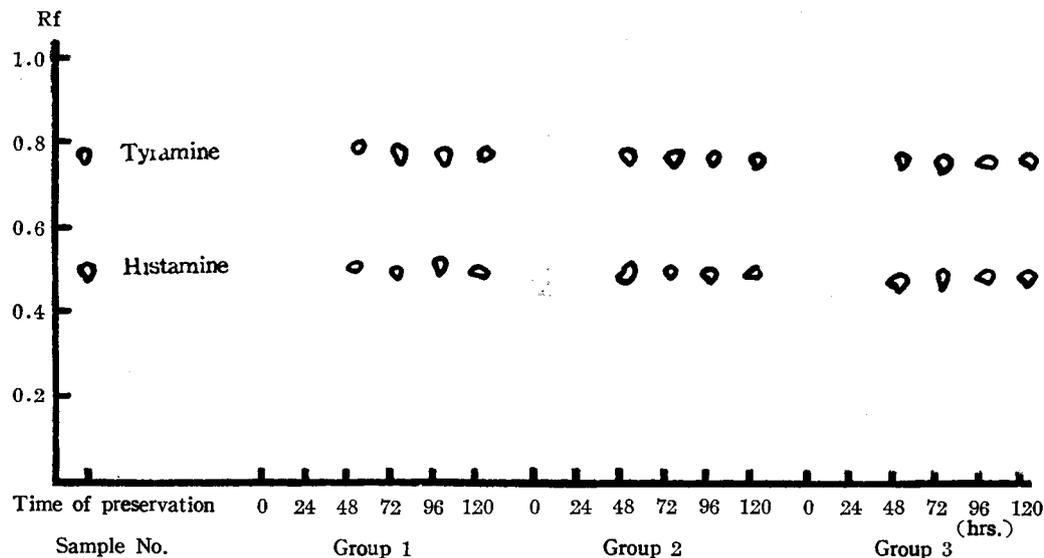
揮発性塩基窒素量の変化は第3表、第2図に示す如く、27°C放乾試料は他に比べて非常に多く、乾燥初期

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-フェネチルアミン、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ジンがあり、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, dithiocarbamate reaction and ninhydrin reaction



(2) Amines detected by diazo reaction

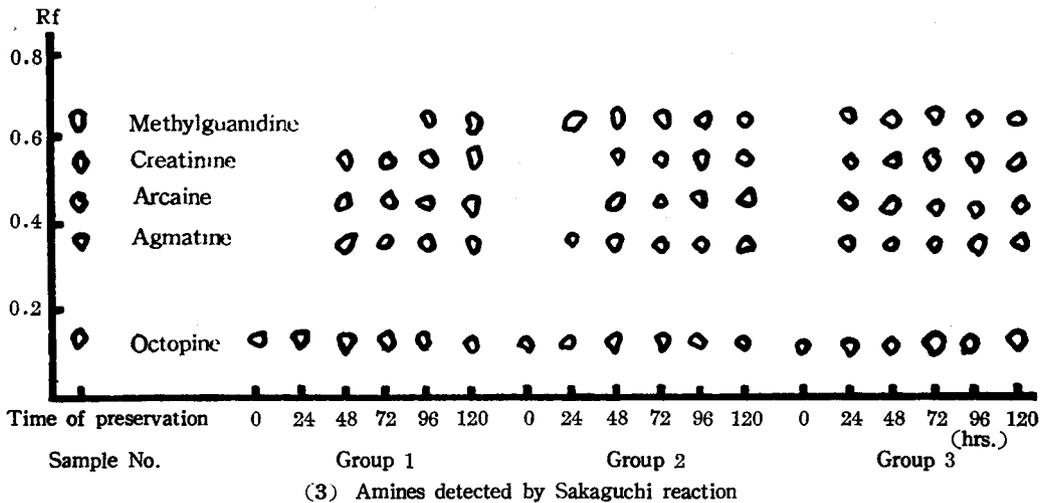


Fig. 3. Paper chromatography of amines of squid meat

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<sup>5)</sup>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、又胴内の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ィ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-フェネチルアミン、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ジンであった。

本研究は文部省科学研究費に依り遂行した。謝意を表す。

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; 協同医書出版社.
- 3) 江上不二夫 (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.