HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	イカ食中毒の生化学的研究：第4報 イカ肉並びに牛、豚等の獣肉のアミン類が人血清アセチルコリンエステラーゼに及ぼす阻害作用
Author(s)	村田, 喜一; 飯田, 優
Citation	北海道大學水産學部研究彙報, 10(2), 167-172
Issue Date	1959-08
Doc URL	http://hdl.handle.net/2115/23071
Type	bulletin (article)
File Information	10(2)_P167-172.pdf

Instructions for use

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

イカ食中毒の生化学的研究

第4報　イカ肉並びに牛、豚等の獣肉のアミン類が人血清アセチルコリンエステラーゼに及ぼす阻害作用

村田喜一・飯田　優
（北海道大学水産学部食品化学教室）

Biochemical Studies on Squid Meat Food Poisoning

IV. The inhibition of human serum acetylcholinesterase by the amines of squid meat, beef and hog-flesh

Kiichi MURATA and Atsushi IIDA

Abstract

In this report, the amines of squid meat were compared with the amines of flesh in respect to thier human serum acetylcholinesterase inhibition.

Beef and hog-flesh, which previously had been aged, and squid meat were kept at 25°C ; from them amines were obtained in three forms : total, volatile and non-volatile. Those amines were added into acetylcholinesterase reaction medium respectively.

Under described condition, while spuid meat was eatable the flesh seemed to be non-eatable. But inhibition per cent by the amines of squid meat was higher than by the amines of flesh ; actually, serum acetylcholinesterase may be inhibited by the former more probablly than by the latter in the human body.

著者等はさきに市販のスルメイカ肉を一定温度（27°C）に貯蔵した場合，肉の腐敗程度が進行するに伴つて，生成するアミン部を分離定量し，其の生成量と之れが人血清コリンエステラーゼ活性に及ぼす阻害作用を見て，其の間の相関々係を述べたが[1]，本報では広く食用に供せられている獣肉を対照として，イカ肉と同様に生成アミンと人血清コリンエステラーゼ阻害後の関係を知らんとし，比較検討したものである。

実験方法

1　試料

試料は市販の品で，スルメイカは外套筋肉を分離し，其の表皮を剝離して供試し，牛肉及び豚肉は市販品としての屠殺後成熟期間を経過せしめた，極上品と認められるもので脂肪部は除去して使用した。

各々供試料は短柵型に切り，滅菌ペトリシャーレ各4個に入れ，25°Cの恒温器に貯蔵して24時間毎に必要量を採り出し試験に供した。

2　アミン類の分離と分別

アミン類の分離分別は前報[1]の方法によつた。即ち検体は刻細して10gを秤取，厚生省衛生検査指針による，トリクロール醋酸抽出法でエキスを調製した。之れを予めpH5.0に調製したイオン交換樹脂 Amberlite 1RC-50のカラムに通し，カラムは水洗し，2N HCl で溶出，水洗を行ひ，溶出液及び洗液を合して湯浴上にて蒸発乾固を繰り返えして遊離塩酸を除去した後，水で50ccとし，之れを全アミン区とした。

全アミン区溶液の25ccをN NaOHでpH 9〜10とし直ちに水蒸気蒸溜を行い，溜分を稀塩酸液中に捕集す

る。捕集液は前と同様にして遊離塩酸を除去したる後，水を加えて25ccとする。之れを揮発性アミン区とした。

水溜残液は塩酸で中和した後，25ccとする。之れを不揮発性アミン区とした。

以上の分別法による揮発，不揮発性アミン区の窒素量再現率は第1表に併記した通りである。尚全アミン区，不揮発性アミン区には NaCl が混溶していることを確めたので之れが補正を行つた。

3 窒素の定量

各アミン区の窒素の定量は前報[1]の方法によつて行つたもので第1表は其の成績を示したものである。

Table 1. Changes in the amount of amines of squid meat, beaf and pork

Fraction of amines	Meat	Time elasped (hrs.) 0	24	48	72
Total (N mg%)	squid meat	47.79	93.73	320.18	385.70
	beaf	35.34	72.78	266.12	322.59
	pork	29.01	74.88	246.11	321.38
Volatile (N mg%)	squid meat	20.28	40.28	245.06	306.76
	beaf	17.32	24.64	201.51	254.39
	pork	10.46	26.41	178.46	249.02
Non-volatile (N mg%)	squid meat	27.53	53.47	75.18	78.94
	beaf	18.08	48.20	64.67	68.26
	pork	18.65	48.55	67.71	73.36
Volatile (N mg%)	squid meat	20.22	39.65	232.43	292.49
	beaf	17.23	23.47	196.09	242.49
	pork	10.36	25.43	176.69	235.11
Recovery (%)	squid meat	99.70	98.44	94.85	95.56
	beaf	99.48	99.31	97.31	95.24
	pork	99.04	96.29	99.00	94.41
Non-volatile (N mg%)	squid meat	27.52	53.46	75.15	78.94
	beaf	18.05	48.17	64.64	68.23
	pork	18.60	48.51	67.68	72.96
Recovery (%)	squid meat	99.96	99.98	99.96	100
	beaf	99.83	99.94	99.95	99.96
	pork	99.73	99.92	99.96	99.45

Recovery …… N mg% of volatile and non-volatile fraction was reduced with them respectively in total fraction.

4 各アミン区溶液の人血清アセチルコリンエステラーゼに対する阻害度の測定

阻害度の測定は前報[1]の方法によつた。即ちアセチルコリン，アセチルコリンエステラーゼ反応系内に各アミン溶液0.5cc宛を添加して，其の阻害作用をみたのであるが，各溶液0.5ccは生筋肉に換算して0.2gに相当する。尚基質はアセチルコリン・クロライドを，酵素液として用いた血清は28才の健康なる男子の血液よ

り分離したもので，そのエステラーゼ活性は81.7±0.5%であり，之れを水で5倍稀釈して用いた。

反応液は常法で着色せしめ，AKA型光電比色計を用い，セル5mμ，波長530mμに於ける吸光値を読み，血清を添加しないもの（A），供試液を添加しないもの（B_0），血清アセチルコリン及び供試液を加えたもの（B_n）とした。又全アミン区と不揮発アミン区溶液に混溶している NaCl のエステラーゼ阻害作用を除くために，NaCl 0～5%の各溶液 0.5cc を上記の酵素反応系に添加して同様に比色操作を行い，NaCl を加えたものの吸光値（C_m），加えないものの吸光値（C_0）とし，C_mとC_0の差C_nと食塩濃度との関係を求めて，第1図に示す結果を得た。一方該当アミン区溶液中の NaCl 濃度を知り，第1図より相当するC_nを求めた。

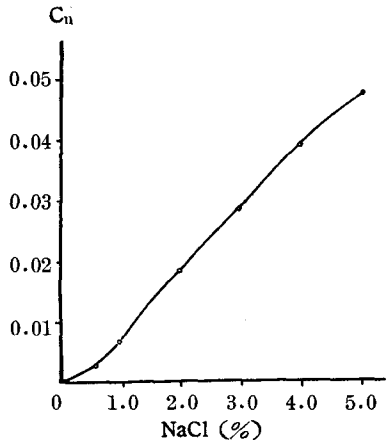

Fig. 1. Relation between the concentration of NaCl and the defference of optical density $C_m - C_0 (= C_n)$

以上の吸光値を用いて，エステラーゼ活性度及び阻害度を下式の如く現わしたが之れは各アミン区溶液0.5cc存在下に於ける血清0.1cc当りの値で求められている。

アセチルコリンエステラーゼ活性度＝

$$\frac{A-(B_n-C_n)}{A}\times 100$$

活性阻害度＝$\left\{1-\frac{A-(B_n-B_0-C_n)}{A}\right\}\times 100$

結果と考察

前記の条件でイカ肉，牛肉，豚肉を処理し，24時間経過すると，イカ肉はスルメ様の芳香を呈して充分食用に供し得る状態であつたが，牛肉及び豚肉は酸えた臭を放つて，すでに食用の対象となり得なかつた。又48時間後に於いては，イカ肉はアンモニア臭は強かつたが，加熱処理によつてなお食用可能の状態にあつた。

而して各アミン区の窒素量と血清アセチルコリンエステラーゼに対する阻害作用を第2表（第2—4図）に示したが，いずれも肉の腐敗程度の進行に伴つて窒素量と阻害度が平行して増加し，獣肉もイカ肉と同じ様な傾向を示したが，窒素量はイカ肉が獣肉に比べて常に多く，阻害度も同様であるが，之れを全アミン区の値についてみると，市販品入手直後イカ肉2.06%，牛肉0.36%，豚肉0.42%で，獣肉が既に食用の限界を超えた24時間後には，イカ肉8.5%，牛肉2.8%，豚肉3.9%で，更にイカ肉は48時間後に21.3%を示している。此の様に獣肉が食用不能になる条件下で，イカ肉は尚食用可能であり，しかも其の際の阻害度はイカ肉に於いて大である。之等のことからイカ肉を摂取した場合に，そのアミン類が血清アセチルコリンエステラーゼを阻害する可能性は獣肉に較べて相当大であるものの様に推察される。

又実験結果から明らかなる如く，何れの場合に於いても，その阻害度は不揮発性アミン区が揮発性アミン区より大であるが，全アミン区の値は之等両者の加算値より更に大であつた。これより見て，アミン類のエステラーゼ阻害作用は揮発性及び不揮発性アミン類のいずれかが特異的に作用すると云うよりも，両アミン類が協同的に作用する結果と考えることがより妥当であることは，イカ肉について前報[1]に述べた処であるが，牛豚肉についても同じ傾向を示すと云うことが出来ると考えられる。

なお今回阻害度の測定に用いた血清は，前報[1]で用いた血清と同一濃度の NaCl による阻害度が多少異なり，エステラーゼ活性に対する同一阻害剤の影響も血清の個体差によつて異なることを知つた。

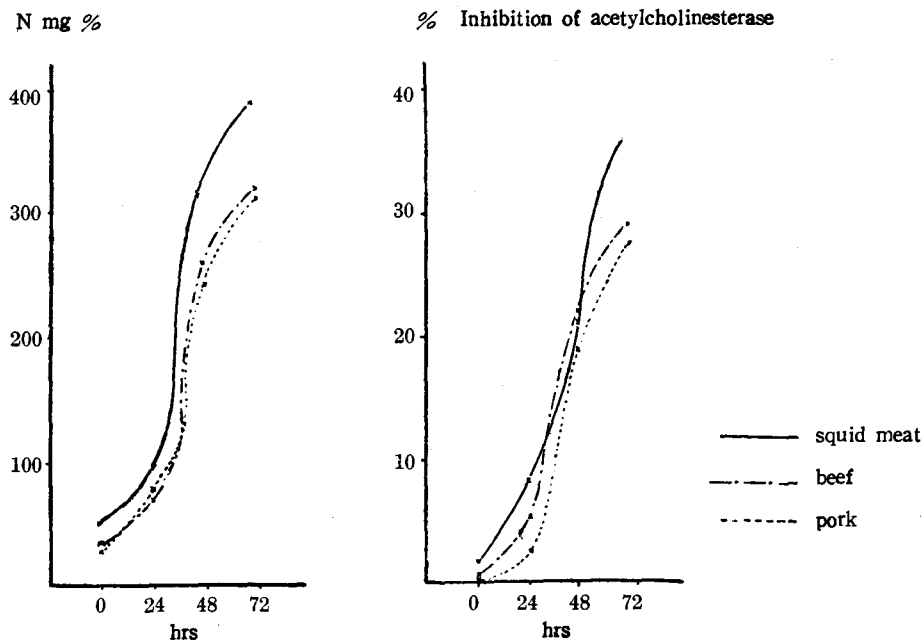

Fig. 2. Total amines

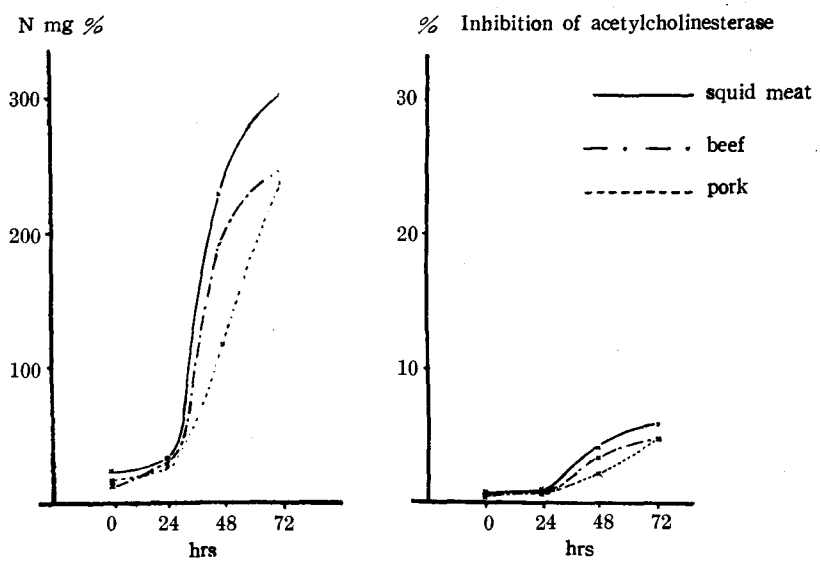

Fig. 3. Volatile amines

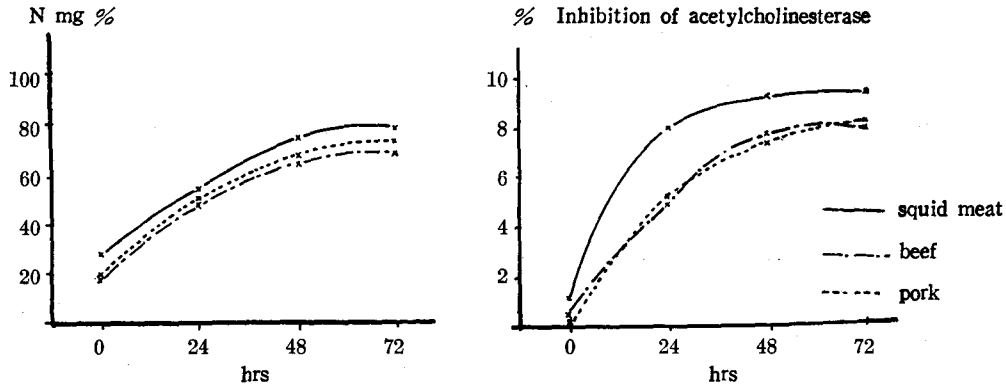

Fig. 4. Non-volatile amines

Table 2. The activity* and inhibition* of acetylcholinesterase of human serum† in the presence of amines of squid meat, beaf and pork

	Fraction of amines	Meat	Time elasped (hrs.) 0	24	48	72
Acetylcholinesterase activity (%) in the presence of	total	squid meat	80.11	71.53	60.90	46.19
		beaf	81.48	78.38	60.04	53.46
		pork	81.74	76.64	63.34	55.05
	Volatile	squid meat	81.41	81.23	77.34	76.13
		beaf	81.49	81.32	78.20	76.99
		pork	80.91	80.57	78.92	76.33
	Non-volatile	squid meat	80.62	73.88	72.66	72.15
		beaf	81.49	76.82	74.05	73.88
		pork	80.90	75.99	73.74	72.88
Inhibition (%) of acetylcholinesterase per 1 mg% nitrogen of	total	squid meat	2.06	8.48	21.28	35.63
		beaf	0.36	2.77	18.80	28.37
		pork	0.42	3.88	18.86	27.12
	volatile	squid meat	0.33	0.61	4.50	5.71
		beaf	0.55	0.59	3.63	4.84
		pork	0.26	0.52	2.25	3.84
	Non-volatile	squid meat	1.27	7.96	9.17	9.52
		beaf	0.40	5.02	7.79	7.96
		pork	0.21	5.18	7.43	8.29

※ …… Activity and inhibition was exhibited on 0.1cc human serum in the presence of 0.5cc solution of amines.

† …… This serum gave 81.7±0.5% acetylcholinesterase activity.

要　　約

牛肉，豚肉及びイカ肉を同一条件で25°Cに貯蔵し，各肉のアミン類窒素量と夫等アミン類の人血清アセチルコリンエステラーゼに及ぼす影響について比較検討を行つた。

1) 獣肉は窒素量増加と共に之れに平行して阻害度も増加し，其の間にイカ肉と同じ様な傾向が見られた。この関係は殊に全アミン区に顕著にみられた。又アミン類の血清アセチルコリンエステラーゼ阻害作用はイカ肉に於けると同じく揮発性及び不揮発性区アミン類の協同作用によるものに非ざるやと思考せられる。

2) イカ肉は獣肉と較べ常に窒素量も多く，阻害度も大であつた。又一定時間経過後獣肉が食用不能の状態に変化しても，なおイカ肉は食用可能の状態を保ち乍ら，その窒素量の遙かに大なるは，イカ肉を摂取した場合，そのアミン類がエステラーゼ活性を阻害する可能性が獣肉よりも大きい事が推知せられる。

文　　献

1) 村田喜一・飯田優 (1959). 北大水産学部研究彙報.