



# HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	軟体動物特にイカ、タコの食中毒に関する研究：第2報 イカ肉腐敗過程に於けるアミン類の消長について
Author(s)	元廣, 輝重; MOTOHIRO, Terushige; 谷川, 英一 他
Citation	北海道大學水産學部研究彙報, 3(2), 154-174
Issue Date	1952-08
Doc URL	<a href="https://hdl.handle.net/2115/22749">https://hdl.handle.net/2115/22749</a>
Type	departmental bulletin paper
File Information	3(2)_P154-174.pdf



# 軟体動物特にイカ、タコの食中毒に関する研究

第 2 報 イカ肉腐敗過程中に於けるアミン類の消長について

元 廣 輝 重 ・ 谷 川 英 一 (水産食品製造學教室)

## STUDIES ON FOOD POISONING OF MOLLUSC ESPECIALLY OF SQUID AND OCTOPUS MEAT.

### II. Prosperity and Decline of Amines during Putrefaction of Squid Meat.

Terushige MOTOHIRO and Eiichi TANIKAWA

(Laboratory of Marine Foods Technology, Faculty of Fisheries, Hokkaido University)

When the samples prepared, raw, roasted, boiled and vinegarized were left under aerobic or anaerobic conditions, the increase and decline of ptomaines produced were detected by paper chromatography where determining the volatile basic nitrogen is employed as the standardized freshness test. On the other hand, in order to investigate the poisonous properties and symptoms of poisoned animals, an examination of the animal test by feeding with those samples was made parallel to above stated experiments.

The results obtained were summarized as follows:

(1) When the samples were putrefied under either aerobic or anaerobic conditions, the course of decomposition of protein which was gained by the authors was different from Yamada's result.<sup>(1)</sup> Under aerobic condition, the samples were rather more rapidly putrefied than those under anaerobic. Reversely the degree of decomposition of protein under anaerobic putrefaction was much greater than that under aerobic.

Comparing the kinds of samples, volatile basic nitrogen from raw squid meat has more rapidly increased than was the case with other samples. For roasted squid meat, the amounts of volatile basic nitrogen have not so rapidly increased as in raw meat, and in boiled squid meat, most slowly. These facts are due to some such reason as the differences in the respective processings. That is to say, for processed squid meat, putrefactive bacteria were sterilized and autodigestible enzymes were decomposed by the roasting or boiling. Further, long periods are needed to decompose the tissues through growth of bacteria.

(2) In determining the relation between the amounts of volatile basic nitrogen and the increase and decline of ptomaines, for all samples except those prepared with vinegar, it was found that before rapid increasing of volatile basic nitrogen, histamine and arcaine have appeared. Other ptomaines have appeared at about the time of in connection with incipient putrefaction. Ptomaines recognized by paper chromatography were histamine, arcaine, tryptamine, tyramine, agmatine, ornithine, cadaverine, putrescine, indol and skatol. In the anaerobic putrefaction of raw squid meat, indol was recognized. It was immediately before incipient putrefaction that indol appeared. This is quite in agreement with Clough's results reported on salmon<sup>(2)</sup>.

(3) As to the results of determination by animal assay of cause of poisoning and physiological effects of produced ptomaine, it was found that the animals have died after having presented symptoms through vomiting, diarrhoea, clonic and tonic cramp

successively. This fact was in agreement with Takase's description.<sup>(3)</sup> From this fact the authors have considered that some of the cause of death of tested animals were due to the toxic substances (e. g. enterotoxine) produced by bacteria. For squid with vinegar the rate of increase of the amounts of volatile basic nitrogen showed very low. However, ptomaine has been produced after leaving 48 hours in summer. It is difficult and dangerous to decide the degree of putrefaction by organoleptic tests. When the samples containing above 50mg% of the amounts of volatile basic nitrogen, were given to animals, their intestines were swollen with replete gas.

魚介肉を放置する際、その構成成分たる肉蛋白は腐敗細菌の作用を受け時日の経過に伴つて漸次低分子の物質に分解せられ、遂にメタン、硫化水素等を發生するに至るのであるが、この分解過程中細菌の脱炭酸酵素によりアミノ酸のカルボキシル基脱離によつてそのアミノ酸に相當するアミンが生成することは現在迄に多數報告されている。曩に著者等はイカ肉を放置し鮮度を低下せしめた場合の各種形態の窒素量を測定し、同時に腐敗進行の程度を察知し、更に腐敗初期の限度を判別する目的を以て種々の試験を実施した結果、揮發性塩基窒素量を測定するのが最も安全であるとし、且つその量が 30mg/100gm 附近に於いて初期の腐敗に達する事を再認した<sup>(4)</sup>。本實驗ではイカ肉(生イカ、焼イカ、煮イカ、酢イカ)を試料とし、之を放置した場合の揮發性塩基窒素量を測定すると共に、腐敗進行に伴つて生成し或いは消滅すると思われる腐敗アミンを検出し、兩者の關係を追究し一方同一試料を用いて動物試験を実施してその存在を確認せんとした(就中、腐敗初期附近に於けるアミン類の舉動については、各試料共に綿密な觀察を行つた)。因みに近時宮木、林兩氏<sup>(1)</sup>は生鮮ハマグリを原料として好氣的に腐敗させた場合のアミン類の消長をペーパークロマトグラフ法に依り檢し、和田、富士川兩氏<sup>(2)</sup>はイワシを試料とし動物試験により腐敗毒の作用を檢している。

## 實 験 の 部

**試料の調製：** 第1報に記した如き方法により處理したものを供試料とした。實驗の都合上之を好氣的腐敗及び嫌氣的腐敗の二種に大別した。

好氣的試料では酢イカを除く他の試料にあつては、之を 50gm 宛滅菌せるペトリー皿に分取したもの數個を用意し、室温 ( $23^{\circ}\pm 3^{\circ}\text{C}$ ) に放置し、實驗の都度一個宛使用した。酢イカでは前報酢ダコと同様に處理した後、酢の中より取出し、液分を流去せしめペトリー皿に分取し、恒温器内 ( $30^{\circ}\text{C}$ ) 中に放置した。

嫌氣的試料では上記と同様に處理した後、滅菌せる細菌用大型試験管中に 50gm 宛分取し流動パラフィンで以つて外氣と遮斷し、更にゴム栓を施し、パラフィンで封じたもの數本を準備し、各實驗毎に一本宛試料に供した。

**實驗方法：** アミン類の檢出法： 試料 1~2gm を採り同量の蒸溜水を加え、更に 10% NaOH を數滴注加してアルカリ性となし、30分間振盪して塩基性物質を抽出した後、全量と等量の n-ブタノールを加え再び振盪してブタノール層に移行せしめ、このものを一次元ペーパークロマトグラフ法により展開した。負溶媒としては 10%  $\text{NH}_4\text{OH}$  飽和ブタノールを用い、常法により上昇せしめた後、Ninhydrine 反應、Dithiocarbamate 反應、Diazo 反應<sup>(3)</sup>を併用してアミン類を検

出した。又同一試料を用い上記と同様の操作法によりブタノール浸出液を展開し、インドール反應によつて、Pyrole 環を有する化合物の検出を行つた。尙予め對照としてアミン類の純粹化學藥品を用いて上記同様の操作法によりアミン類の顯色位置を確定しておいた。

揮發性塩基窒素量の測定法：前報と同様 Weber and Wilson 法によつた。

動物試験：被験動物は、予防衛生研究所より分與を受けた Mouse を使用した。經口的に投餌する場合は、前日より食物を與えず空腹の状態に保ち之に試料 2gm を小麥粉 1gm とよく混和し、塊状とした餌料を投與し翌日殘量を秤り、攝取量を逆算する。又注射による場合は<sup>(4)</sup>試料 30gm を取り同量の蒸溜水を加え、蛋白、albmoose, pepton 等を除去する爲硫酸アンモンを飽和せしめ、濾過後、濾液を酸性となし飽和磷タングステン酸溶液を注加し再び濾過する。沈澱を洗滌後アルカリ性となし、過剰の磷タングステン酸を除去する爲飽和 Ba(OH)<sub>2</sub> 溶液を注加し、濾過する。濾液に CO<sub>2</sub> を通じ濾過し Ba(OH)<sub>2</sub> を除いた後濾液の減壓濃縮液を前記同様一次元ペーパークロマトグラフ法により展開し、アミン類を確認した。

## 實 験 結 果

### 1. Paperchromatography による腐敗アミンの檢索

上記の如き方法により得られた實驗結果は次の如くである。

#### (1) 生イカの場合

生イカを試料としたものにあつては第 1 表の如き揮發性塩基窒素量を測定し、夫々の段階に於

Table I. Amount of volatile basic nitrogen during putrefaction of raw squid meat.

Sample No.	Aerobic			Sample No.	Anaerobic		
	Time elapsed (hrs.)	pH	NH <sub>3</sub> -N (mg%)		Time elapsed (hrs.)	pH	NH <sub>3</sub> -N (mg%)
A <sub>1</sub>	4	6.0	3.51	B <sub>1</sub>	5	6.0	3.00
A <sub>2</sub>	12	6.0	5.49	B <sub>2</sub>	14	6.0	4.91
A <sub>3</sub>	22	6.0	19.80	B <sub>3</sub>	24	6.0	9.78
A <sub>4</sub>	28	6.2	33.75	B <sub>4</sub>	26	6.2	20.52
A <sub>5</sub>	30	6.6	49.95	B <sub>5</sub>	29	6.6	30.32
A <sub>6</sub>	32	7.2	60.63	B <sub>6</sub>	31	7.0	61.42

いてPaperchromatography により生成アミンを検出した結果は第 1 圖～第 8 圖に示す如くである即ち第 1 圖より第 4 圖までは好氣的腐敗によるアミン類の消長であり、又顯色試薬により呈色せる Rf を以て表わした。第 1 圖は Ninhydrine を以て顯色した故、各種アミ

ノ酸及び塩基性物質も勿論同時に檢出される。4 時間目に於いて、0~0.1 の band は taurine, proline, ornithine, lysine, 等の混合帯であり、0.41~0.50 は tryptophane と思われ、0.58~0.65 は tyrosine、1.0 附近のものは phenylalanine である。12 時間目に於いては、tyrosine, phenylalanine は消失している。22 時間目に至り 0.7~0.8 の band は histamine であり、0~0.1 及び 0.4~0.5 附近のものは前出と同一物質であろう。28 時間目に於いては、0.4~0.5 附近の band が稍々上方に移行し、0.45~0.55 の範圍の band に就いても前出の物質以外に cadaverine, agmatine 等 Rf の低い物質が考慮されるが、確認出来なかつた。30 時間では 1.0 附近に新たな物質が出現したが確認出来なかつた。而して此の物質は 32 時間目に消失した。32 時間目に於ける 0.7~0.93 のものは histamine 及 tyramine の混合帯である。第 2 圖は dithiocarbamate 反應による呈色物質の Rf であるが、此の試薬では α-アミノ基を有する化合物が檢出される。従つて 4 時

Fig. 1. Amines recognized by ninhydrine reaction of raw squid meat under aerobic putrefaction.

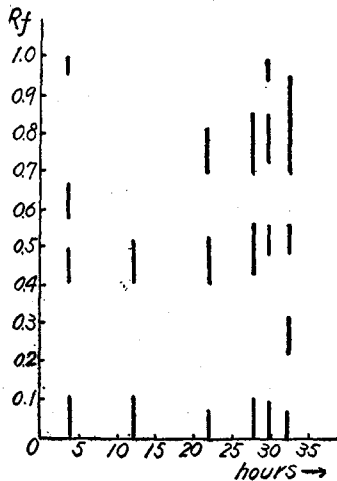


Fig. 2. Amines recognized by dithiocarbamate reaction of raw squid meat under aerobic putrefaction.

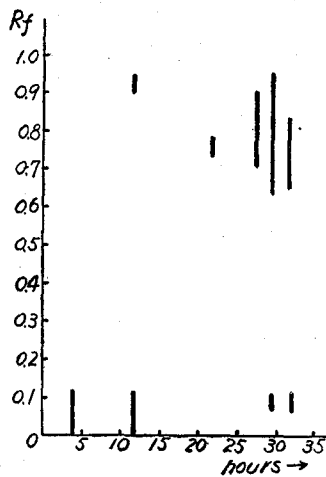


Fig. 3. Amines recognized by diazo reaction of raw squid meat under aerobic putrefaction.

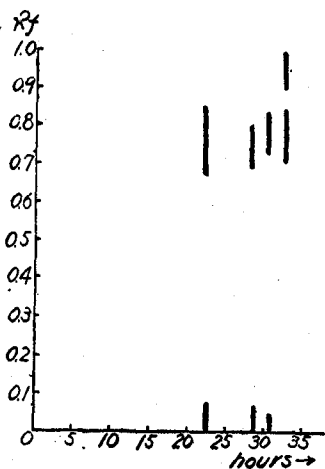
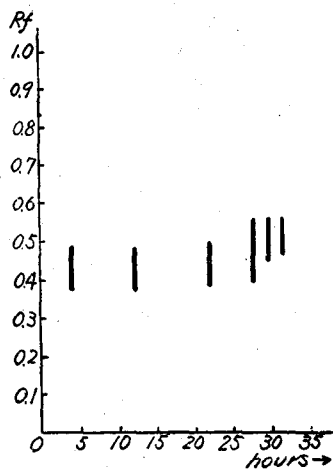


Fig. 4. Amines recognized by indol reaction of raw squid meat under aerobic putrefaction.





間目に於ける 0.01~0.1 附近の物質は taurine,  $\beta$ -alanine, lysine 等の混合帯である。12時間目の 0.01~0.1 のものも同一物質である。又 0.9~0.95 附近に現われた物質は arcaine である。22 時間目に至り 0~0.1 附近には何等認められなかつた。28 時間目の 0.7~0.9 附近の band 及び 30 時間目の 0.65~0.95 の band は histamine と arcaine の混合帯である。30 時間目及び 32 時間目の 0.1 附近のものは、agmatine であり、arcaine は 32 時間目には消失している。第 3 圖に於ては 22, 28, 30, 32 時間目に夫々 0.7~0.85 附近に現われた band は histamine であり、又 32 時間目の 0.9~0.95 のものは tyramine である。22, 28, 30 時間に Rf の低い物質が認められたが判定出来なかつた。第 4 圖の 4 時間目に於ける 0.38~0.47 の band, 12 時間目の 0.36~0.45, 22 時間目の 0.4~0.5 の band は夫々 tryptophane であるが、28 時間目、30 時間目、32 時間目の 0.4~0.55 の範圍に亘る band は tryptophane 及び tryptamine の混合帯の如くである。第 5 圖は嫌氣腐敗試料の ninhydrine 呈色物質の Rf であるが、5 時間目に認められた spot は何れも第 1 圖の 4 時間目のものと同一である。14 時間目の 0.36~0.67 の範圍の band は tyrosine, tryptophane の混合帯である。24 時間目に至り、1.0 附近の物質は消失するが、0.75 附近のものは histamine であり、之は 26, 29, 31 時間目にも認められた。又 26 時間目に至り 0.6 附近の band も消失している。29 時間目の 0.5 附近の band は tryptamine である。第 6 圖に於いて、5 時間目の 0.01~0.13 の band は第 2 圖のものと同じく taurine,  $\beta$ -alanine, lysine の混合帯である。又 5, 14 時間目に 0.5 附近に認められる spot は確認出来なかつた。14, 24, 26 時間目に於ける 0.9~0.95 に亘る Rf は arcaine であり、24, 26, 29, 31 時間目に 0.7~0.85 附近に認められる band は histamine である。尙 29, 31 時間目の 0.1 附近のものは agmatine であろう。第 7 圖も第 3 圖と略々同様な傾向を示した。24, 26, 29, 31 時間目に 0.7~0.85 附近に認められる band は夫々 histamine であり、31 時間目には 0.9~0.95 の範圍に tyramine が出現した。又上記と同時間に低い Rf を有する物質が認められた。第 8 圖に於いて 5 及び 14 時間目の 0.4 附近の spot は tryptophane であるが 24, 26 及び 31 時間目の 0.38~0.53 の範圍の band は tryptophane, tryptamine の混合帯である。29 時間目の 0.5 附近のものは tryptamine であり、0.4 附近のものは tryptophane である。又 26, 29, 31 時間目に 0.9 附近に認められる物質は indol である。

## (2) 焼イカの場合

焼イカを供試料となし、その揮發性塩基窒素量を測定した結果は第 2 表に示す如くであり、又第 9 圖~第 12 圖は好氣的に放置した際生成する amine と時間との關係を示している。同様に第 13 圖~第 16 圖は嫌氣的腐敗による amine の消長を示したものである。第 9 圖に於ては 5 時間目

Table 2. Amount of volatile basic nitrogen during putrefaction of roasted squid meat.

Sample No.	Aerobic			Sample No.	Anaerobic		
	Time elapsed (hrs.)	pH	NH <sub>3</sub> -N (mg%)		Time elapsed (hrs.)	pH	NH <sub>3</sub> -N (mg%)
C <sub>1</sub>	5	6.0	1.85	D <sub>1</sub>	5	—	2.00
C <sub>2</sub>	26	6.0	2.25	D <sub>2</sub>	24	—	4.74
C <sub>3</sub>	37	6.2	16.36	D <sub>3</sub>	48	—	31.25
C <sub>4</sub>	42	6.4	27.98	D <sub>4</sub>	50	—	41.50
C <sub>5</sub>	43	7.0	43.63	D <sub>5</sub>	59	—	90.07
C <sub>6</sub>	48	7.4	77.00				

に 0~0.11 に至る band は生イカの場合と同じく taurine, proline, ornithine, lysine 等の混合帯であり、0.4 附近のものは tryptophane である。又 0.56~0.60 附近に不明瞭な band が認められたが之は tyrosine の如くである。0.95 附近のものは

Fig. 9. Amines recognized by ninhydrine reaction of roasted squid meat under aerobic putrefaction.

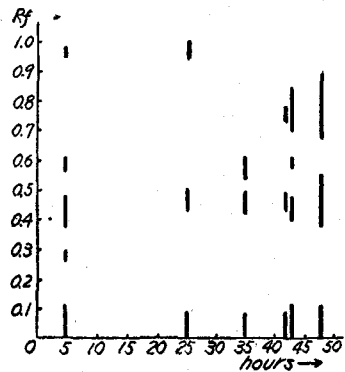


Fig. 10. Amines recognized by dithiocarbamate reaction of roasted squid meat under aerobic putrefaction.

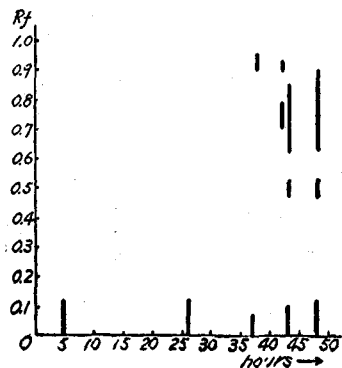


Fig. 11. Amines recognized by diazo reaction of roasted squid meat under aerobic putrefaction.

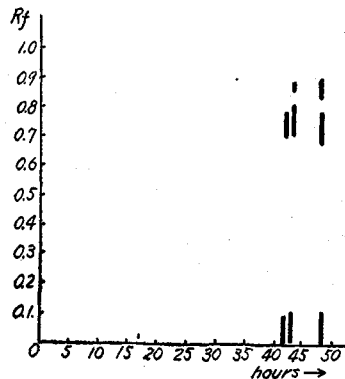


Fig. 12. Amines recognized by indol reaction of roasted squid meat under aerobic putrefaction.

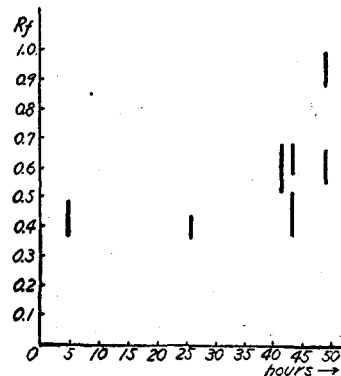


Fig. 13. Amines recognized by ninhydrine reaction of roasted squid meat under anaerobic putrefaction.

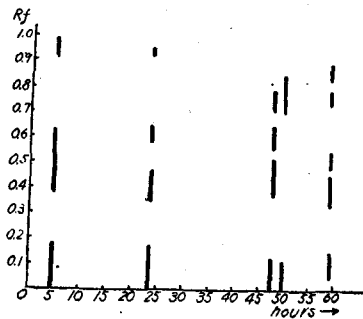


Fig. 14. Amines recognized by dithiocarbamate reaction of roasted squid meat under anaerobic putrefaction.

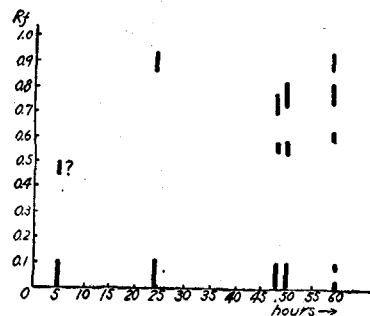


Fig. 15. Amines recognized by diazo reaction of roasted squid meat under anaerobic putrefaction.

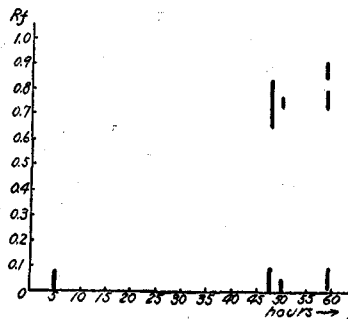
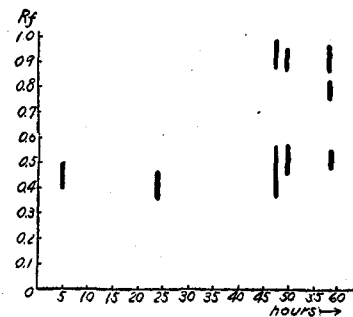


Fig. 16. Amines recognized by indol reaction of roasted squid meat under anaerobic putrefaction.



phenylalanine である。而して0.26~0.28の範圍の band も未確認である。26時間目では此の未確認の spot は消失し、又 tyrosine と思われる band も認められなかつた。其の他 phenylalanine, tryptophane 及び低い Rf を有するもの等は5時間目の如く認められた。36時間目に至り再び tyrosine を認めたが、phenylalanine は消失せるもの、如くであつた。42時間目では0.75附近の spot は histamine である。0.02~0.1の band は之迄同位置に認められた物質とは異なり、agmatine, 又は cadaverine の如く思われる。48時間目の0.66~0.90の band は histamine, tyramine の混合帯であり、0.37~0.55の band は tryptophane, tryptamine の混合帯である。又低い Rf を有する物質は之迄のものと同じであり agmatine, cadaverine の混合帯である。第10圖では5時間目の0~0.11の band は taurine,  $\beta$ -alanine, lysine 等であり、26, 37時間目のものは  $\beta$ -alanine, lysine の混合帯であろう。43時間目, 48時間目に現われる band は agmatine, putrescine の混合帯である。又43時間目, 48時間目に0.5附近に認められる spot は tryptamine であり、42時間目にみられる0.61~0.85の band は histamine である。48時間目の0.62~0.90の band は histamine 及び tyramine の混合帯である。37時間目に於ける0.90~0.95, 42時間目の0.90~0.93の band は arcaine である。第11圖に於ては42時間目の0.01~0.09, 43時間目の0.01~0.11及び48時間目の0~0.11の band は cadaverine, agmatine, putrescine の混合帯である。42, 43, 48時間目にみられる0.7~0.8附近の band は histamine であり、43, 48時間目に於いて0.85附近の spot は tyramine である。第12圖にみられる如く5時間目, 26時間目, 43時間目の0.4附近の band は tryptophane であり、42時間目の0.51~0.69の band, 43時間目の0.58~0.69の band, 48時間目に現われる0.55~0.66の band は tryptamine である。更に48時間目に於て0.9~1.0附近に見られる band は indol である。第13圖に於て5時間目及び24時間目に見られる0~0.18に至る band は proline, lysine 等であり、5時間目の0.38~0.63に互る band は tyrosine, tryptophane の混合帯である。又0.95附近の spot は phenylalanine である。24時間目にも同様な物質が認められた。48時間目に於て0~0.11の band は agmatine, putrescine の混合帯であり、0.37~0.52は tryptophane である。0.6附近のものは tryptamine であり又0.7~0.8に互る band は histamine である。50時間目には histamine の spot 及び agmatine, putrescine の混合帯が認められた。更に60時間目に至り0.1附近の spot は agmatine である。0.4及び0.5附近の spot は夫々 tryptophane 及び tryptamine であり0.74~0.8の band は histamine である。0.83~0.90附近に認められる band は tyramine である。第14圖に於いて5時間目には0.01~0.1の band が認められるが、之は taurine,  $\beta$ -alanine, lysine 等である。尙0.45~0.5附近にも spot が現われたが未明である。24時間目に0.01~0.11附近にみられる物質は5時間目のものと同様であり、0.9附近の spot は arcaine である。48時間目及び50時間目に於て0.02~1.0に互る band は従來のものと同じであり、0.55附近の spot は夫々 tryptamine であろう。更に0.7~0.8の band は histamine である。59時間目では原點附近には agmatine が現われ0.6のものは tryptamine である。0.7~0.8の band は之も histamine である。0.9附近に認められる spot は arcaine とは異なり tyramine である。第15圖に於ては5時間目に原點附近に band が現われ、又48時間目, 50時間目, 59時間目にも0~0.1に互る band が認められたが何れも未明である。而して5時間目に認められたものは48時間目以降に現われた物質とは異なるもの、如くである。又48時間目, 50時間目, 59時間目に0.65~0.83の範圍に互る band は histamine である。第16圖では5時間目及び24時間目に0.4~0.5附近に見られる band は tryptophane であり、0.9附近の band は indol である。同様に59時間目に於ても0.5附近の band は tryptamine であ

り、0.9 附近のものは indol である。尙 0.75~0.80 の band は skatol である。

(3) 煮イカの場合

煮イカを供試料とした場合に於ては、その揮発性塩基窒素量は第 3 表に示す如くであり、第 17 圖~第 20 圖は試料を好氣的に腐敗せしめた際のアミンの消長を示し、第 21 圖~第 24 圖は同じく試料を嫌氣的条件下に放置した場合のアミンの舉動である。即ち第 17 圖に於ては展開後、ninhydrine を以て顯色したものであるが、5 時間目の 0~0.17 附近の band は lysine, taurine, proline, ornithine, arginine, histidine 等主として Rf の低い amino acid 類である。0.4, 0.6, 0.95 附近の spot は夫々 tryptophane, tyrosine, phenylalanine である。12 時間目に於ても 5 時間と同一のものが認められた。又 24 時間目では tyrosine が消失した外に變化をみなかつた。36 時間目に於ては再び tyrosine を認めたが phenylalanine は消失せるもの、如くである。48 時間目に至り 0~0.7 附近の band は上記物質のそれと稍々異なつて居り agmatine, putrescine, cadaverine 等の混合帯の如く見受けられた。0.35~0.55 の band は tryptophane 及び tryptamine 混合帯である。又 0.68~0.82 のものは histamine である。60 時間目に於ては tryptophane は消失しているが、0.85~0.9 附近に tyramine の出現が認められた。

第 18 圖に於て 5 時間目、24 時間目、36 時間目に 0~0.1 の band 等では Rf の低い amino acids あるが、48 時間目及び 60 時間目の 0~0.1 の band は agmatine putrescine である。48 時間目の 0.38~0.55 の band 及び 60 時間目の 0.5~0.55 の band は tryptamine の如くである。又 48 時間目の 0.73~0.82 の band は histamine であり、48 時間目の 0.9 附近の spot は arcaine である。60 時間目の 0.87~0.93 の band は tyramine 及び arcaine の混合帯である。

第 19 圖に於て 5 時間目及び 12 時間目に 0~0.05 附近の band が見られるが、之は histamine の如くである。又 48 時間目及び 60 時間目に 0.7~0.8 の band は histamine であり、尙 60 時間目の 0.9 附近の spot は tyramine である。

Table 3. Amount of volatile basic nitrogen during putrefaction of boiled squid meat.

Sample No.	Aerobic		Sample No.	Anaerobic	
	Time elapsed (hrs.)	NH <sub>3</sub> -N (mg%)		Time elapsed	NH <sub>3</sub> -N (mg%)
E <sub>1</sub>	5	1.21	F <sub>1</sub>	5	1.77
E <sub>2</sub>	12	2.00	F <sub>2</sub>	12	1.85
E <sub>3</sub>	24	2.23	F <sub>3</sub>	24	1.99
E <sub>4</sub>	36	7.24	F <sub>4</sub>	36	3.28
E <sub>5</sub>	48	26.59	F <sub>5</sub>	52	6.71
E <sub>6</sub>	60	78.34	F <sub>6</sub>	56	29.62
			F <sub>7</sub>	60	101.97

第 20 圖に於ては 5 時間目、12 時間目、24 時間目、36 時間目に 0.4~0.5 に認められる band は夫々 tryptophane であり、48 時間目、60 時間目の 0.4~0.65 の band は tryptophane と tryptamine の混合帯である。又 60 時間目の 1.0 附近の spot は indol である。

第 21 圖に於ては他の試料と略々同様に 5 時間目の 0~0.1 の band は histidine, lysine, taurine, proline, arginine, ornithine の混合帯であり、12 時間目、24 時間目、36 時間目及び 52 時間目の 1 部のものも同一物質である。而して 56 時間目及び 60 時間目の band は agmatine, putrescine の混合帯である。5 時間目より 52 時間目までの 0.4 附近の band は tryptophane である。56 時間目の 0.38~0.54 の band は tryptophane と tryptamine の混合帯であり、60 時間目の 0.5~0.55 の band は tryptamine である。又 5 時間目より 52 時間目までに現われる 0.6~0.7 の band は tyrosine である。52 時間目、56 時間目の 0.75~0.8 の band は histamine であり、60 時間目の 0.7~0.93 の band は histamine, tyramine の混合帯である。又 5 時間目より 36 時間目までに 1.0 附近に現われる band は phenyla-

Fig. 17. Amines recognized by ninhydrine reaction of boiled squid meat under aerobic putrefaction.

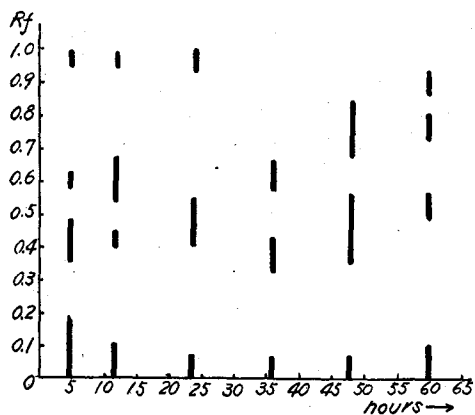


Fig. 18. Amines recognized by dithiocarbamate reaction of boiled squid meat under aerobic putrefaction.

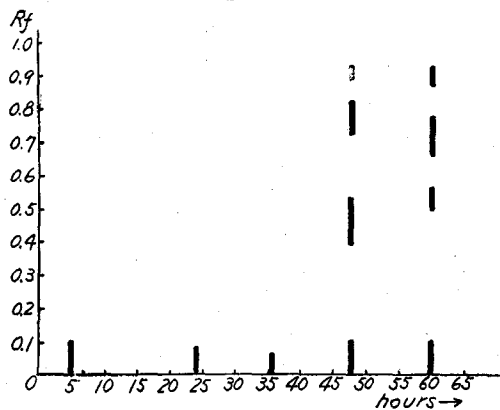


Fig. 19. Amines recognized by diazo reaction of boiled squid meat under aerobic putrefaction.

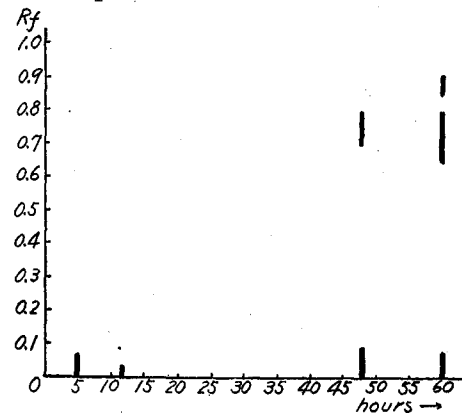


Fig. 20. Amines recognized by indol reaction of boiled squid meat under aerobic putrefaction.

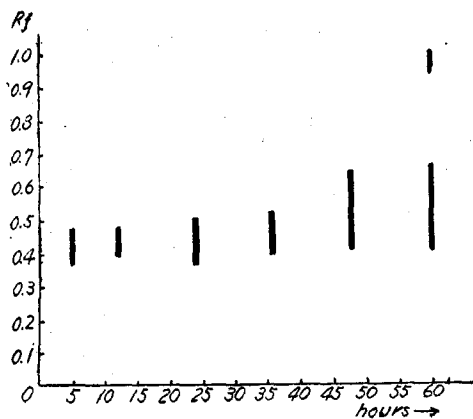


Fig. 21. Amines recognized by ninhydrine reaction of boiled squid meat under anaerobic putrefaction.

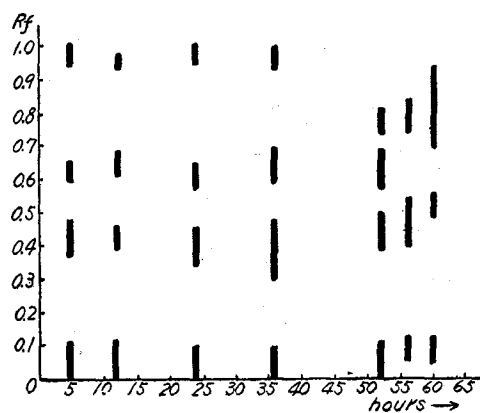


Fig. 22. Amines recognized by dithiocarbamate reaction of boiled squid meat under anaerobic putrefaction.

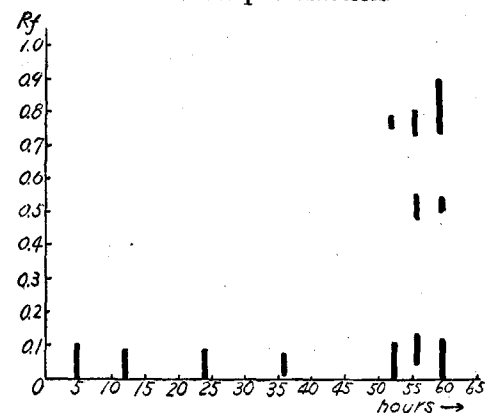


Fig. 23. Amines recognized by diazo reaction of boiled squid meat under anaerobic putrefaction.

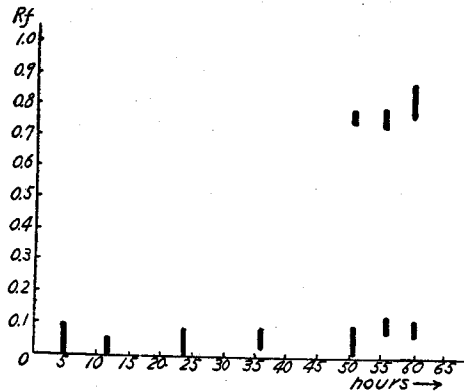
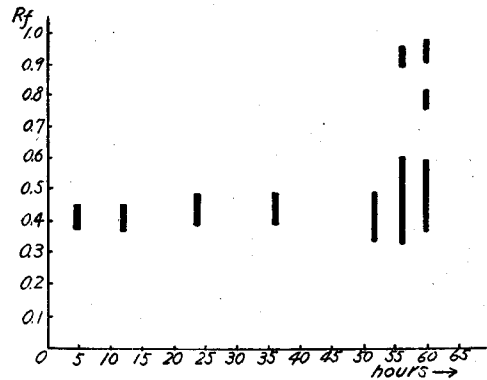


Fig. 24. Amines recognized by indol reaction of boiled squid meat under anaerobic putrefaction.



lanine である。

第22圖に於ては5時間目、12時間目、24時間目に現われる 0~0.1の band は taurine,  $\beta$ -alanine, lysine である。36時間目の 0.5 附近の spot は lysine である。52時間目、56時間目、60時間目の 0~0.12の band は agmatine, putrescine の混合帯である。56時間目、60時間目に現われる 0.5 附近の band は tryptophane の如くである。25時間目、56時間目の 0.75 附近の spot は histamine であり、60時間目の 0.72~0.85 の band は histamine, tyramine の混合帯である。

第23圖にあつても他の試料と同じ結果が得られた。即ち5時間目より36時間目までの 0~0.1 の band は histamine, arginine の如くであり、51時間目より60時間目までに現われる 0.1 附近の spot は agmatine である。又51時間目及び55時間目の 0.7~0.8 附近の band は histamine である。60時間目の 0.7~0.88 の band は histamine, tyramine の混合帯である。

第24圖の5時間目より52時間目に現われる 0.4~0.5 の band は tryptophane, 56時間目、60時間目の 0.34~0.6 の band は tryptophane, tryptamine の混合帯である。又56時間目、60時間目の 0.8~1.0 の band は indol であり、又60時間目の 0.8 附近の spot は skatol である。

#### (4) 酢イカの場合

酢イカを試料となした場合の揮発性塩基窒素量の變化は第4表に示す如くである。而して第25圖~第28圖は試料を酢の中より移し取り、液分を流去した後、放置したものに就いて認められた amine を示した。即ち第25圖に於ては12時間目より72時間目に現われた 0~0.1 の band は lysine, prolin 等の amino acids である。又96時間目、120時間目の原點附近の spot は ornithine であり、0.1 附近の spot は夫々 agmatine である。尙 0.25 附近のものは cadaverline の如く見受けられた。12時間目より48時間目に至る 0.4~0.5 の band は tryptophane であり、72時間目の 0.43~0.59 の band は tryptophane, tyramine の混合帯である。更に96時間目及び120時間目の 0.5~0.6 の band は夫々 tryptamine である。12時間目より48時間目に至る 0.6~0.65 のものは tyrosine である。0.73~0.8 の Rf を有する histamine は48時間目より出現し120時間目に至るも消失しない。96時間目及び120時間目の 0.72~0.9 の band は histamine, tyramine の混合帯を示している。48時間目の 0.9~0.95 の spot は arcaine である。

第26圖に於て12時間目より72時間に 0~0.8 の附近に現われる spot は lysine, taurine 等の混合

Table 4. Amount of volatile basic nitrogens of squid with vinegar.

Sample No.	Time elapsed (hrs.)	pH	NH <sub>3</sub> -N (mg%)
G <sub>1</sub>	12	6.0	1.83
G <sub>2</sub>	24	6.0	1.85
G <sub>3</sub>	48	6.0	1.92
G <sub>4</sub>	72	6.2	2.03
G <sub>5</sub>	96	6.2	2.45
G <sub>6</sub>	120	6.2	2.79

帯であるが96時間目及び120時間目に0.1のRfを有するspotはagmatineであろう。48時間目より120時間目に至るまで0.7~0.8附近に見られるbandはhistamineであり、96時間目及び120時間目に認められる0.8~0.85のbandはtyramineである。

第27圖では72時間目より120時間目までに認められるbandは未明であるが、既述せる如き物質の混合帯と推定される。48時間目より120時間目に至る0.7

~0.8のbandはhistamineであり、0.8~0.88のbandはtyramineである。

第28圖に於ては、12時間目より72時間目までに tryptophane が認められ、72時間目以後は tryptamine が検出された。

以上の如く放置時間の推移に伴つて分解生産物が漸次出現し、或は消滅するのであるが paper chromatograph上に於て展開物質の顯色反應は diazo 反應、dithiocarbamate 反應、indol 反應等を組合せたものである。即ち diazo 反應は pauly 反應によつたものであり、histamine 及びその誘導體の imidazol 核又は tyrosine 及びその誘導體の benzen 核に diazobenzol sulphonie acid に

Fig. 25. Amines recognized by ninhydrine reaction of squid with vinegar during putrefaction.

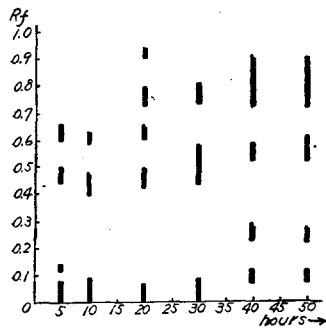


Fig. 27. Amines recognized by diazo reaction of squid with vinegar during putrefaction

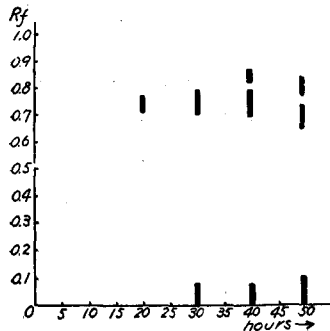


Fig. 26. Amines recognized by dithiocarbamate reaction of squid with vinegar during putrefaction

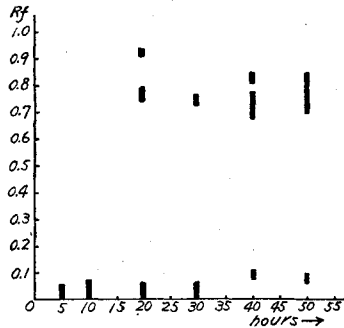
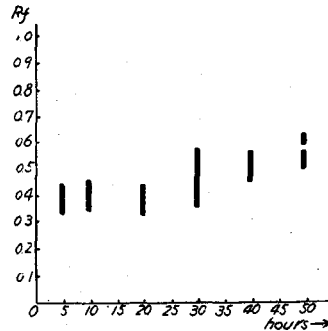


Fig. 28. Amines recognized by indol reaction of squid with vinegar during putrefaction



よつて azo 色素を形成せしめ呈色させる。ninhydrine 反應は ninhydrine が amino acids に対して酸化的作用により diketo hydrindyliden diketo hydroindamine を生じて呈色するものであり従つて  $\alpha$ -amino acid 以外に容易に酸化される amino 基を有する化合物であれば總て呈色する。又 dithiocarbamate 反應は ninhydrine 反應とは逆に  $\alpha$ -amino acids 以外の amino compounds が呈色する。従つて之等を組合すことにより殆ど凡ての amino compounds が認められるわけである。

## 2. 動物試験による食中毒の確認

以上の如き實驗と併行し経過時間毎に腐敗アミン

の検索と同一の試料を用いて動物試験を実施し、食中毒を惹起するものなりや否やを検した。又初期腐敗近邊に於ける觀察には特に留意した。

(1) 生イカの場合

生イカを試料とする動物試験にあつては、好氣的腐敗の試料はA<sub>3</sub>, A<sub>4</sub>, A<sub>5</sub>, A<sub>6</sub>の試料番號を有するものを用いた。一方嫌氣的腐敗の試料はB<sub>3</sub>, B<sub>4</sub>, B<sub>5</sub>, B<sub>6</sub>の試料番號を有するものを使用した。その結果は第5表及び第6表に示す如くである。

(2) 焼イカの場合

焼イカを試料とする動物試験では好氣的腐敗による試料はC<sub>2</sub>, C<sub>3</sub>, C<sub>4</sub>, C<sub>5</sub>, C<sub>6</sub>の試料番號のものを用い、又嫌氣的腐敗の試料はD<sub>2</sub>, D<sub>3</sub>, D<sub>4</sub>, D<sub>5</sub>のものを用いた。之等につき得られた結果は第7表及び第8表に要約した如くである。

(3) 煮イカの場合

煮イカを試料とした動物試験に於ては好氣的腐敗による試料はE<sub>3</sub>, E<sub>4</sub>, E<sub>5</sub>, E<sub>6</sub>の試料番號のものを用いた。又嫌氣的腐敗の試料はF<sub>3</sub>, F<sub>4</sub>, F<sub>5</sub>, F<sub>6</sub>, F<sub>7</sub>を用いた。第9表及び第10表は之等による試験結果を示している。

(4) 酢イカの場合

酢イカにあつてはG<sub>4</sub>, G<sub>5</sub>, G<sub>6</sub>の試料番號を有するものを用いて動物試験を実施した。その結果は第11表及び第12表に示した如くである。

## 考 察

### 1. 生イカ肉、焼イカ肉、煮イカ肉及び酢イカの腐敗過程中に於ける揮發性鹽基窒素量と經過時間との關係

各種處理を施せる試料を好氣的及び嫌氣的條件下に放置せる際の揮發性鹽基窒素量は第29圖に示す如き結果を得た。即ち好氣的及び嫌氣的兩條件下に於ては生イカ肉が最も迅速に揮發性鹽基窒素量が増加し、焼イカ肉がこれに次いで居り、煮イカ肉は最も緩慢である。換言すれば生鮮の

Table 5. Results of animal test by feeding with raw squid meat.<sup>(1)</sup>

Sample No.	Mouse No.	Weight of mouse (gm.)	Feed		Conditions	Decision of alive or dead <sup>(2)</sup>	Results of postmortem examination
			Amount of intake (gm.)	Amount of remnant (gm.)			
A <sub>3</sub>	1	19	3.0	0.0	Normal	Live	—
A <sub>4</sub>	2	26	3.0	0.0	Vomiting, Diarrhoea, Spasm.	Death	Liver atrophy, Lungs congestion.
A <sub>5</sub>	3	20	3.0	0.0	"	Death	Hæmorrhage of the intestines.
A <sub>6</sub>	4	16	2.5	0.5	Vomiting, Diarrhoea, Poor appetit.	Death	Congestion of the intestines. Expanded by intestinal gas.
B <sub>3</sub>	5	17	3.0	0.0	Normal	Live	—
B <sub>4</sub>	6	21	3.0	0.0	Normal	Live	—
B <sub>5</sub>	7	20	3.0	0.0	Vomiting, Spasm, Dyspnoea.	Death	Lungs congestion, Hæmorrhage of the intestines.
B <sub>6</sub>	8	18	3.0	0.0	Vomiting, Diarrhoea	Death	Hæmorrhage of the lungs. Expanded by intestinal gas.

Note: (1) Feeds are as described under "experimental method" in this paper.

(2) Decision of alive or dead was made 24 hours after feeding.

Table 6. Results of animal test by injection<sup>(1)</sup> with raw squid meat.

Sample No.	Mouse No.	Weight of mouse (gm)	Injected volume (c.c)	Conditions						Results of postmortem examination
				After. 5 mins.	After. 10 mins.	After. 20 mins.	After. 30 mins.	After. 40 mins.	After. 60 mins.	
A <sub>3</sub>	9	19	1c.c	Crouch	live					—
A <sub>4</sub>	10	20	1c.c	Crouch	Diarrhoea Vomiting	Spasm	Spasm	Death		—
A <sub>5</sub>	11	23	1c.c	Crouch Vomiting	—	Spasm	Spasm	Spasm	Death	—
A <sub>6</sub>	12	18	1c.c	Vomiting	Vomiting Diarrhoea	Spasm	Spasm	Death		—
B <sub>3</sub>	13	17	1c.c	Crouch	Vomiting Diarrhoea	Live				—
B <sub>4</sub>	14	20	1c.c	Crouch	Lie	Crouch	Live			—
B <sub>5</sub>	15	15	1c.c	Crouch Vomiting	Vomiting Diarrhoea	Spasm	Spasm	Spasm	Death	—
B <sub>6</sub>	16	19	1c.c	Crouch Vomiting	Spasm	Death				—

Note: (1) Preparation of injected liquid was as described under "experimental method" in this paper.

Table 7. Results of animal test by feeding with roasted squid meat,

Sample No.	Mouse No.	Weight of mouse (gm)	Feed		Conditions	Decision of alive or dead	Result of postmortem examination
			Amount of intake (gm)	Amount of remnant(gm)			
C <sub>2</sub>	1	17	3.0	0.0	Normal.	Live	—
C <sub>3</sub>	2	19	3.0	0.0	Normal.	Live	—
C <sub>4</sub>	3	21	3.0	0.0	Vomiting after lying recover.	Live	—
C <sub>5</sub>	4	21	2.5	0.5	Dyspnoea. Vomiting. Diarrhoea. Spasm.	Death	—
C <sub>6</sub>	5	20	3.0	0.0	Vomiting. Diarrhoea Spasm. dyspnoea	Death	—
D <sub>2</sub>	6	18	3.0	0.0	Normal.	Live	—
D <sub>3</sub>	7	21	3.0	0.0	Vomiting after lying recover	Live	—
D <sub>4</sub>	8	19	3.0	0.0	Vomiting. Dyspnoea. Spasm.	Death	—
D <sub>5</sub>	9	18	3.0	0.0	Vomiting. Dyspnoea. Spasm	Death	—

Table 8. Results of animal test by injection with roasted squid meats

Samp'e No.	Mouse No.	Weight of mouse (gm.)	Injected volume	Conditions						Results of postmortem examination
				After 5 mins.	After 10mins.	After 20mins.	After 30mins.	After 45mins	After 60mins	
C <sub>2</sub>	10	21	1c.c.	Crouch	Crouch	Live				—
C <sub>3</sub>	11	19	1c.c.	Crouch	Live					—
C <sub>4</sub>	12	20	1c.c.	Crouch	Vomiting	Vomiting	Dispnoea	Crouch	Live	—
C <sub>5</sub>	13	19	1c.c.	Vomiting Diarrhoea	Vomiting Diarrhoea	Dispnoea	Spasm	Death		Hoemorrhage of the lungs.
C <sub>6</sub>	14	17	1c.c.	Vomiting Diarrhoea	Dispnoea	Spasm	Death			Hoemorrhage of kidney and liver. Congestion of intestines
D <sub>2</sub>	15	18	1c.c.	Crouch	Crouch	Live				—
D <sub>3</sub>	16	23	1c.c.	Crouch	Lie	Vomiting Dispnoea	Spasm	Death		Hoemorrhage of the intestines. Congestion of the lungs.
D <sub>4</sub>	17	22	1c.c.	Crouch	Vomiting Diarrhoea	Spasm	Death			Hoemorrhage of the intestines. Atrophy of lungs and liver.
D <sub>5</sub>	18	20	1c.c.	Crouch	Vomiting	Dispnoea	Spasm	Spasm	Death	Hoemorrhage of liver and intestines.

Table 9. Results of animal test by feeding with boiled squid meat

Sample No.	Mouse No.	Weight of mouse (gm)	Feed		Conditions	Decision of alive or dead	Result of postmortem examination
			Amount of intake (gm)	Amount of remnant (gm)			
E <sub>3</sub>	1	20	3.0	0.0	Normal	Live	—
E <sub>4</sub>	2	22	3.0	0.0	Normal	Live	—
E <sub>5</sub>	3	20	3.0	0.0	Vomiting, Diarrhoea, Spasm.	Death	Congestion of liver and lungs. Hoemorrhage of the intestines.
E <sub>6</sub>	4	18	3.0	0.0	Vomiting, Spasm, Dyspnoea.	Death	Expanded by intestinal gas. Hoemorrhage of the intestines and lungs.
F <sub>3</sub>	5	19	2.5	0.0	Normal	Live	—
F <sub>4</sub>	6	17	3.0	0.0	Normal	Live	—
F <sub>5</sub>	7	20	2.5	0.0	Normal	Live	—
F <sub>6</sub>	8	18	3.0	0.0	Diarrhoea, Vomiting, Spasm.	Death	Hoemorrhage of the kidney and lungs.
F <sub>7</sub>	9	17	3.0	0.0	Diarrhoea, Dyspnoea, Spasm.	Death	Expanded by intestinal gas Hoemorrhage of the lungs.

Table 10. Results of animal test by injection with boiled squid meat.

Sample No.	Moues No.	Weight of mouse(gm.)	Injected volume (c.c.)	Conditions						Results of postmortem examination
				After 5 mins.	After 10mins.	After 20mins.	After 30mins.	After 45mins.	After 60mins.	
E <sub>3</sub>	10	19	1c.c.	Crouch	Crouch	Live				
E <sub>4</sub>	11	21	1c.c.	Crouch	Crouch	Crouch	Live			
E <sub>5</sub>	12	23	1c.c.	Crouch	Vomiting Diarrhoea	Vomiting Diarrhoea	Dispnoea	Spasm	Death	Hæmorrhage of the lungs, and the kidney.
E <sub>6</sub>	13	18	1c.c.	Crouch	Vomiting Diarrhoea	Dispnoea	Spasm	Death		Hæmorrhage of the lungs, kidney and the intestines.
F <sub>3</sub>	14	17	1c.c.	Crouch	Live					
F <sub>4</sub>	15	18	1c.c.	Crouch	Crouch	Crouch	Live			
F <sub>5</sub>	16	20	1c.c.	Crouch	Vomiting	Crouch	Live			
F <sub>6</sub>	17	21	1c.c.	Crouch	Crouch	Dispnoea	Spasm	Death		Congestion of the lungs. Hæmorrhage of the intestines.
F <sub>7</sub>	18	18	1c.c.	Crouch	Vomiting	Dispnoea	Spasm	Death		Hæmorrhage of the intestines. Atrophy of the liver.

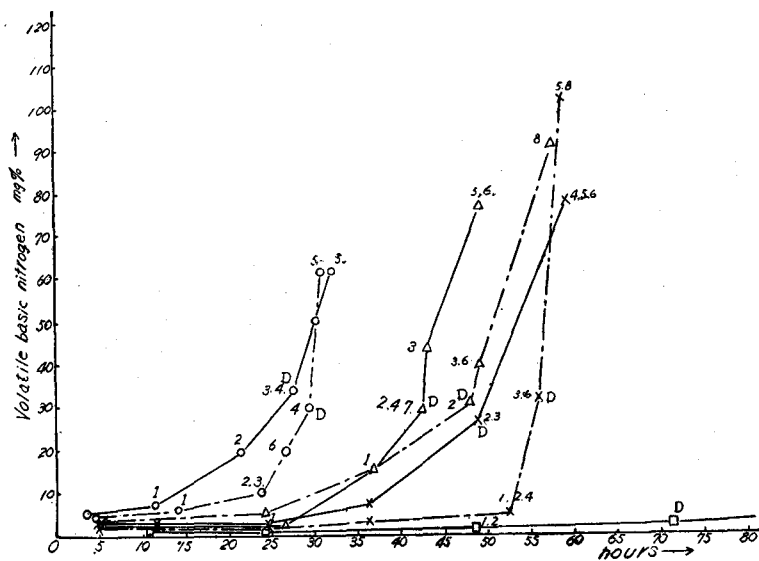
Table 11. Results of animal test by feeding with squid with vinegar.

Sample No.	Mouse No.	Weight of mouse(gm.)	feeds		Conditions	Decision of alive or dead	Results of postmortem examination
			Amounts of intake(gm.)	Amounts of remnant(gm.)			
G <sub>3</sub>	1	20	3.0	0.0	Normal	Live	
G <sub>4</sub>	2	20	3.0	0.0	Crouch, vomiting and diarrhoea	Live	
G <sub>5</sub>	3	21	3.0	0.0	Vomiting, diarrhoea, dispnoea and spasm.	Death	Congestion of the lungs,liver and kidney. Hæmorrhage of the intestines.
G <sub>6</sub>	4	18	3.0	0.0	Vomiting, diarrhoea, dispnoea and spasm.	Death	Hæmorrhage of the liver.

Table 12. Results of animal test by injection with squid with vinegar.

Sample No.	Mouse No.	Weight of mouse(gm.)	Injected Volume (c.c.)	Conditions						Results of postmortem examination.
				After 5 mins.	After 10mins.	After 20mins.	After 30mins.	After 45mins.	After 60mins.	
G <sub>3</sub>	5	19	1c.c.	Crouch	Crouch	Live				
G <sub>4</sub>	6	21	1c.c.	Crouch	Vomiting	Live Diarrhoea	Vomiting Dispnoea	Crouch	Live	
G <sub>5</sub>	7	22	1c.c.	Crouch	Vomiting Diarrhoea	Lie Diarrhoea	Dispnoea	Spasm	Death	Hæmorrhage and change of color of the liver and lungs.
G <sub>6</sub>	8	18	1c.c.	Crouch	Vomiting Diarrhoea	Dispnoea	Spasm	Death		Hæmorrhage of the intestines. Congestion of the kidney.

Fig. 29, Change of the amount of volatile basic nitrogen and amines appeared by various reactions for squid meat.



1. Arcaine, 2. Histamine, 3. Tryptamine, 4. Agmatine, 5. Tyramine, 6. Indol, 7. Putrescine, 8. Skatol, D. Death point of animal.

いては嫌氣的条件下に於けるものより速かに腐敗を開始するものゝ如くであるが、腐敗の程度は逆に嫌氣的條件によるものの方が好氣的條件によるものより勝る如く見受けられる。

## 2. 腐敗 amines の消長と揮發性塩基窒素量との比較。

上記の如く paper chromatography によつて認められた諸物質と揮發性塩基窒素量との關係を検討すれば次の如くである。

(1) 生イカ試料を好氣的に放置し腐敗せしめた場合に検索された ptomaine は histamine, tyramine, tryptamine, agmatine, arcaine の 5 種類である。而して arcaine は 12 時間目に出現し、30 時間目に至つて消失した。tyramine は 32 時間目に至つて出現した。histamine は 22 時間目に既に認められ 32 時間目に至るも消滅しなかつた。tryptamine は 28 時間以後出現し 33 時間目まで繼續して認められた。agmatine は 30 時間目以後に認められた。之等を概観するに最も早く出現した amine は 12 時間目の arcaine であり、次いで 22 時間目に histamine が認められ、28 時間目以後は他の 3 種の amines も漸次現はれた。一方揮發性塩基窒素量をみるに 22 時間目に於てはその増加率が急激になる直前であり、28 時間目は揮發性塩基窒素量は 33.75mg% であつて所謂初期腐敗の段階に到達したものである。30 時間目以後は完全な腐敗の徴候を示し、揮發性塩基窒素量も 49.95mg% と増加している。而して histamine が揮發性塩基窒素量が 19.80mg% より 33.75mg% に増加の直前に出現し、又初期腐敗以後に他の amines が出現したことも注目し値する。

試料を嫌氣的に腐敗せしめる際に、検索された ptomaine は好氣的条件下に於けるものと略々同一であつて histamine, tyramine, agmatine, tryptamine, arcaine, indol の 6 種類である。之等の出現する時間も亦好氣的腐敗の際と略々同様であり、arcaine は 15 時間以後、28 時間目に消失し、histamine 及び tryptamine は 24 時間以後に出現した。agmatine は 29 時間以後に現われ、tyramine も 31 時間目以後に認められた。之等の消長と揮發性塩基窒素量とを比較するに第 29 圖に

状態に放置したものが最も速かに腐敗し、焼イカが之に次ぎ、酢イカは最も腐敗し難いことになる。此の時間的差異を生ずる原因は処理方法によるものであつて、焼イカは焙焼により魚體に附着せる腐敗細菌が殺菌せられ、又筋肉中の自家消化酵素も加熱により破壊され、再び細菌が繁殖して組織を分解するまでには長時間を要するためであらう。酢イカの場合に就いても全く同様であつた。又好氣的及び嫌氣的兩條件に就いてみるに、一般に好氣的條件下に於

みられる如く histamine は揮發性塩基窒素量が 9.78mg% より 20.52mg% に増加の直前に出現し、又他の大多數の amines が初期腐敗前後に出現しているのは前記と同様に興味ある事實である。又特に嫌氣的腐敗の際には indol の存在が認められたのであるが此のものが出現した時間は初期腐敗の前後であり、鮭の腐敗初期の検出に肉眼的鑑定補助としてこの化合物を定量すればよいと Clough<sup>(6)</sup> により述べられた事實と極めてよく符合している。

(2) 焼イカ試料を好氣的に放置し腐敗せしめた場合に検索された ptomaine は arcaine, agmatine, tyramine, histamine, tryptamine, cadaverine の 6 種類である。而して生イカに於ける如く histamine が窒素量増加の直前に出現し、又他の amines は腐敗初期と前後して現われている。又 indol も 49 時間目に認められたことは生イカに比し稍々分解度が大きなるもの、如く解せられる。

更に嫌氣的に腐敗せしめる際に検索された ptomaine は好氣的分解生産物と略々同一であり、arcaine, agmatine, histamine, tyramine, putrescine, tryptamine, indol, skatol の 8 種類である。之等諸物質と揮發性塩基窒素量との關係は好氣的條件下に於ける場合と同様であり、概して histamine は揮發性塩基窒素量の激増直前より認められ又他の amines も初期腐敗前後に出現している。又 indol 反應により indol 及び 59 時間目に skatol の存在が認められたが、此の場合も好氣的分解に比し分解度が大きなる如く見受けられる。

(3) 煮イカ試料を好氣的に放置し腐敗せしめた場合に検索された ptomaine は arcaine, histamine, tyramine, tryptamine, agmatine, putrescine, indol の 7 種類であり之等の舉動は上記の 2 種類の試料と同様であり、又揮發性塩基窒素量との關係も上記の如くである。嫌氣的に腐敗せしめた場合の分解生産物も好氣的生産物と同様であるが indol の分解は更に進んで 60 時間目に skatol を生成する事が認められた。

(4) 酢イカ試料にあつては上記 3 種類の試料と異なり、揮發性塩基窒素量の増加率は極めて緩徐であつて 120 時間を經過した後でも僅かに 2.79mg% を示したに過ぎない。然るに一方 ptomaine の生成状況をみるに、48 時間目に於いて arcaine 及び histamine が認められ、72 時間目より tryptamine が出現した。96 時間よりは他のアミン類も繼て認められた。而して検出し得た ptomaine は arcaine, histamine, tyramine, tryptamine, cadaverine, agmatine の 6 種である。それ故酢イカ試料にあつては全く揮發性塩基窒素量とは無關係の如く解される。

以上より生イカ、焼イカ及び煮イカの何れの試料にあつても histamine が揮發性塩基窒素量激増の直前に出現し、残余の分解生産物が腐敗初期前後に認められたことは頗る興味ある事實であり、従つて amines の舉動を把握することにより新鮮度判定の目安とすることも可能であろう。又従來魚肉の腐敗初期の限度が揮發性塩基窒素量により 30mg% とされてきた意味を裏附ける一因ともなるであろう。更に又何故に arcaine 及び histamine のみが斯様に他の amines に比して稍々早期に出現するものであるか、その機構は今後に残された問題であるが、凡そ次の如く推定することが出来る。即ち ptomaine に就き paper chromatograph が確認し得る最小限量が略々同程度である故、amino acids より分解して生ずる amines は一定量に達した場合認められる筈である。それ故 histidine より histamine を生成する速度が他の amino acids に相當する amines を生成する速度より大であるとも考えられる。勿論五十嵐氏<sup>(7)</sup>によれば histamine は新鮮なる臓器及び筋肉中にも微量に存在すると述べて居り、このことより histamine が他の amines より早期に出現するものと勘考することも出来よう。又腐敗に關與する細菌相の推移も斯様な amines 生成の要因ともなるのであらう。

agmatine は arginine の炭酸分離によつて生成する塩基であり、本實驗に於ては初期腐敗を経過した後の試料中に認められたが、此の塩基は未だ細菌による分解生産物中には発見されていない故恐らく自家消化の進行に伴つて生成したものと考えられる。

好氣的腐敗及び嫌氣的腐敗による分解生産物の差異特にその毒性については山田<sup>(4)</sup>は鮮肉を好氣的に腐敗せしめる際にその蛋白の分解度は比較的緩慢であり、嫌氣的に腐敗せしめる時は初期に於て急速に分解し、且つ生成せる物質の毒性は前者に比して著しく劇しいと述べているが、本實驗に於ては幾分異つた結果を示し、既述せる如く嫌氣的腐敗は好氣的腐敗に比し、その分解度は緩徐であるが、分解の進行に伴い、その程度が著しく増大し、従つて分解生成物も更に低分子の物質が得られたのである。

### 3 生成 amines の毒性

試験動物に對し經口投餌並びに皮下注射を行い、その生死を檢した結果、生イカの好氣的腐敗の場合は28時間目の試料により斃死し、嫌氣的の場合では29時間目のものより斃死した。焼イカの好氣的腐敗の場合は56時間目に斃死した。此の際、之等の揮發性塩基窒素量は焼イカの好氣的腐敗の試料を除き約30mg%であつた。それ故、此の時期の近邊に於ては既述の如く ptomaine は急激に出現しており、又斃死した試験動物の中毒症狀を觀察するに何れも嘔吐、下痢、間代性痙攣より硬直性痙攣を経て死に至つて居り、高瀬<sup>(8)</sup>によれば ptomaine による中毒症狀は嘔吐、下痢、燕下困難、卒倒、痙攣及び虚脱等であると云われる點から兩者を比較すれば極めてよく一致する。

個々の分解生産物の毒性及び中毒症狀を檢すれば次の如くである。即ち高瀬<sup>(8)</sup>によれば cadaverine は0.5g/kg を試験動物に與えた場合に昏迷に陥り、間代性痙攣を起し、呼吸困難、血壓降下に次いで死を來すものであるが毒性の強いものではない如くである<sup>(9)(10)(11)</sup>。又 putrescine では0.2g/kg の投餌により高度の呼吸困難、不整脈、不全麻痺を來たし、又同量の靜脈注射により間代性痙攣を惹起し數時間内に死亡する如くである<sup>(12)(13)(14)</sup>。agmatine は血壓降下作用及び強い痙攣作用を有している<sup>(15)</sup>。indol は蛙に對して特有な麻痺的徴候を伴つた間代性痙攣を起さしめ、温血動物に對しては更にその作用が強く發現し、致死量は mouse に對し4mg/10g である<sup>(16)</sup>。skatol は indol に比しその毒性は少しく劣る如くである<sup>(17)</sup>。histamine は嘔吐、呼吸困難、間代性痙攣を経て硬直性痙攣を惹起せしめ、mouse に對し經口的に2.5g/kg を與えると2時間以内に死を來たし、皮下注射では15mg/kg で斃する<sup>(18)</sup>。Guggenheim<sup>(19)</sup>によれば histamine の毒性は tyramine により制限せられ、tyrmine は亦 histamine の重篤な循環系障礙を除去すると述べている。又 Jäger<sup>(20)</sup> は histamine の副作用中血壓降下作用による虚脱症狀は tyramine の配合によつて防止する事が出來ると報告しているが tyramine 自身の中毒作用は呼吸困難を招來する。

斃死せる mouse を直ちに解剖した結果は何れも肺臟に瀰漫性點狀出血を認め、更に小腸、腎臟等にも充血若くは出血を認めた。山田<sup>(4)</sup>は histamine の如き腐敗毒の一定量以上を動物に與えた場合腐敗毒は排泄器官即ち肺臟、腎臟、消化管等に排泄せられ、此處で毒作用が顯著となり、肺臟、腎臟、十二指腸部に出血する。このため試験動物は中毒初期より烈しい呼吸困難、嘔吐、下痢等の症狀を發現し、續いて痙攣、麻痺等の神經症狀を惹起すると報告した。それ故 ptomaine 中毒の一般症狀及び本實驗に於て檢出せる個々の物質の毒性及び中毒症狀、更に動物試験の際の症狀、中毒死した試験動物の解剖結果、及び中毒發生の時期等を勘考するに軟體動物特にイカを對象とする食中毒は極めて histamine によるものと類似した結果を示した。

又揮發性塩基窒素量が50mg%を超過した試料を試験動物に與えて、それが斃死した後、解剖した結果、腸管内に著しくガスが充満し膨化するのを認めた。此の事は、試験動物が細菌自身による毒物、例えば腸炎菌(eutero toxine)等の生理作用によつたものとも考えられる。<sup>(21)</sup> 尙此の問題は後日更に綿密なる實驗を必要とするものである。

本實驗に於て試料別にみれば生イカは最も腐敗の進行が速かであり、これは夏期等にあつて比較的高温度の場合放置時間が1晝夜を超過すれば amines 特に histamine 量が増加する故危険である。次いで焼イカは1晝夜半を經過すれば同様に危険な状態となり、煮イカは最も遅いが2晝夜を經過すれば食用に供するに不適と思われる。而して一般に感能的に魚介肉の鮮度を判定する際は、その腐敗臭によるものが多いのであり従つて上記の如き經過時間後に於ては明かに腐敗臭を感じる故食用に供することは先づ考えられない。然るに酢イカにあつては全く腐敗臭を感じる事が出来ず、肉質も殆んど變化しないにも拘らず2晝夜以上を經過したものにあつては多量の ptomaine を生成しており、鑑別が極めて困難であり、且つ危険である。従つて酢イカの場合は液分を流去した後は48時間以内に食用に供すべきである。

## 要 約

イカ肉を生鮮のまま、焙焼、湯煮又は酢漬け等の處理を施した試料を好氣的、嫌氣的條件下に放置した場合に、新鮮度判定の基準とすべき揮發性塩基窒素量を測定しつゝ生成 ptomaine の消長舉動を paper chromatography により檢索した。一方之と併行して動物試験により生成 ptomaine の毒性並びに中毒症狀を檢した。その結果を要約すれば次の如くである。

(1)好氣的條件及び嫌氣的條件下に試料を腐敗せしめた場合にその蛋白の分解度は山田氏によつて得られた結果と多少異なり、好氣的條件下に於ては嫌氣的條件下に於けるものより速やかに腐敗を開始するものゝ如くであるが、その程度は逆に嫌氣的條件によるものゝ方が好氣的條件によるものより勝る如く見受けられる。又試験別にみれば生イカ肉が最も迅速に揮發性塩基窒素量が増加し、焼イカ肉がこれに次いで居り、煮イカ肉は最も緩慢である。此の差異は處理方法によるものであつて焼イカ、煮イカは焙焼及び煮熟により魚體に附着した腐敗細菌が殺菌せられ、又筋肉中の自家消化酵素も加熱により分解され、再び細菌が繁殖して組織を分解するまでには長時間を要するためであらう。

(2)揮發性塩基窒素量と amines の消長の關係を檢するに酢イカを除き他の何れの試料にあつても、揮發性塩基窒素量が激増する直前に histamine, arcaine が出現し、初期腐敗前後に他の amines が檢索された。paper chromatograph により認められた ptomaine は histamine, arcaine, tryptamine, tyramine, agmatine, putrescine, cadaverine, indol, skatol 等である。生イカの嫌氣的腐敗の際には indol の存在が認められたが、此の化合物が出現した時期は初期腐敗の直前であり、鮭について報告した Clough の實驗結果とよく一致している。

(3)動物試験により生成した ptomaine の毒性を檢した結果、試験動物の中毒症狀は嘔吐、下痢、間代性痙攣より硬直性痙攣を経て死に至つた。此の結果は高瀬による實驗結果と一致して居た。又個々の ptomaine の毒性、中毒死した試験動物の解剖結果等を綜合し勘考するに、軟體動物特にイカを對象とする食中毒は極めて histamine によるものと類似した。酢イカにあつては揮發性塩基窒素量の増加率は極めて緩徐であるに拘らず、その ptomaine 生成時間は夏期温度に於て約48時間放置後に發現する故感能的に腐敗の程度を鑑別することは困難であり且つ危険である。揮

發性塩基窒素量が50mg%を超過した試料を試験動物に経口的に與えた場合、腸管内にガスが充満し、膨化することより細菌自身による毒物例えば enterotoxine 等の生理作用等も考えられる。

本實驗を遂行するに當り試験動物の提供に御便宜を賜つた予防衛生研究所遠山祐三博士に感謝の意を表す。

#### 文 献

- (1) 宮木、林：千葉大學腐敗研究所報告、第2卷、P.31 (昭24)
- (2) 和田、富士川：日水誌、Vol. 17, No. 4, P. 12 (1951)
- (3) 宮木：私信
- (4) 山田：國民衛生、Vol. 2 No. 2. P. 1 (大14)
- (5) 谷川、元廣：北海道大學水産學部研究彙報 Vol. 3 No. 2
- (6) Clough: Pub. Puget. sd. Biol. Sta. 3 (1922) 195
- (7) 五十嵐：魚のプトメインについて P. 11 (昭24)
- (8) 高瀬：化學構造と生理作用 P. 610
- (9) L. V, Udranski u. E. Baumann: Zeit. f. physiol. chem. 15, 77. (1891)
- (10) L. Hess, H. müller: Zeit. f. exp. path. u. Therap, 17. 59. (1914)
- (11) Behring: Deut. med. Woch, 14. 477: (1888)
- (12) J. Pohl: Arch. f. exp. Path. u. pharm. 41. 97. (1898)
- (13) L. V. Udranski u. E. Baumann: Zeit. f. physiol. chem. 15, 77, (1891).
- (14) L. Dreyfus: Compt. rend. de. lu. Soe. biol. 83. 481 (1920)
- (15) Fran. Nothmann. u. Wagner: Arch. f. exp, path, u. pharm. 53 (1926)
- (16) 矢内: Tohoku journ, of exp. med. 25. 385 (1935)
- (17) L. Brieger: Zeit. f. physiol. chem, 4, 414 (1880)
- (18) 高瀬: 日新醫學 24, 780 (昭10)
- (19) Guggenheim. m.: Therap; monat, 26, 795. (1912)
- (20) Jäger. F: münch med. Woch, 60. 1714. (1913)
- (21) 秋葉: 日本衛生化學會誌、8. 6. 434. (1936)

(水産科學研究所業績 第120號)