



Title	いか食中毒の生化学的研究：第2報 生成アミン類の消長に就いて
Author(s)	村田, 喜一; MURATA, Kiichi; 大石, 圭一 他
Citation	北海道大學水産學部研究彙報, 8(1), 81-86
Issue Date	1957-05
Doc URL	<a href="https://hdl.handle.net/2115/22990">https://hdl.handle.net/2115/22990</a>
Type	departmental bulletin paper
File Information	8(1)_P81-86.pdf



# いか食中毒の生化学的研究

## 第2報 生成アミン類の消長に就いて

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

#### II. Increase and decline of amines of squid meat during preservation.

Kiichi MURATA, Keiichi ÔISHI and Atsushi IIDA

#### Abstract

The authors have previously identified many amines accumulated during the period of preservation of squid meat. In this paper, are reported quantitative analyses of three amines: trimethylamine, histamine and tyramine, comparing samples with the pure reagents chromatographically.

General speaking, the inclination was observed for trimethylamine to increase in accordance with the increase of the volatile basic nitrogen, and the higher the temperature at which the samples were preserved, the larger became the quantity of trimethylamine determined. A slight amount of histamine was detectable after 96 hours from the catching time for all the samples, therefore it seems not to play any important part in the food poisoning caused by the squid meat. Tyramine content was slight and increased gradually.

著者等は各種条件下にスルメイカを乾燥した場合の、其の筋肉中のアミン類の消長をペーパークロマトグラフィーに依つて定性的に認めたが、之等の中で最も中毒機構に關聯を有し且つ定量可能なトリメチールアミン、ヒスタミン及びチラミンに就いて各々其の生成変化を観察した。

#### 実験の部

##### 1. 試料

供試スルメイカ *Ommastrephes sloani pacificus* (STEMENSTRUP) は函館沖にて、漁獲せるもので、水分 77.85%、粗蛋白 17.94%、灰分 2.93%、粗脂肪 1.24% の一般組成を有する 18尾を 3群に分け、夫々下記の処理を施した。

第1群：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) で相対湿度の変域は 55~58% であつた。

第2群：上記同様処理したもの 6尾をバット上に展延し室内に放置乾燥した。平均気温は 18.5°C (15.5°C~21.5°C) で相対湿度の変域は 55~70% であつた。

第3群：上記同様処理したもの 6尾をバット上に展延し、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に 1尾宛採取、刻細し、其の一部を採つて先に推知し得たアミン類の中で定量法の確立しているトリメチールアミン、ヒスタミン並びにヒスタミン同様デアゾ反応を呈するチラミンに就い

て比色定量を行つた。

### 1) 定量用試料の調製

厚生省衛生検査指針<sup>1)</sup>に依り各試料の抽出液を調製し、之を佐竹<sup>2)</sup>氏のクロマト吸着法で処理して得た塩基部を水蒸気蒸溜法及び溶媒分別法で、トリメチールアミン区、ヒスタミン区及びチラミン区に分別した。此の分離並びに分別法に依る回収率はトリメチールアミン 93±2%、ヒスタミン 86±3%、チラミン 88±3% である。操作は次の如く行つた。

Amberlite IRC-50 の 100~120mesh のものを径 1 cm のビュレットに高さ 15cm に充填し、50cc の 2N NaOH で毎分 1.5cc の流速で洗滌する。次に IN 醋酸緩衝液 (pH 5.0) 80cc を毎分 1.5cc の流速で通し、最後に水 100cc で洗滌してカラムを pH 5.0 とする。

此のカラムに先に調製した抽出液 100cc を毎分 1.5cc の流速で通し、水 50cc で洗滌、流下液、洗液を棄てる。次に IN HCl 30cc を毎分 1.5cc の流速で通じた後水 20cc で洗滌する。此の流下液、洗液を合して採る。カラム洗滌時の流速は毎分 3.5cc とした。得られた流下液、洗液の混液は IN NaOH で pH 9~10 として水蒸気蒸溜を行い、溜分を 20cc の IN HCl で捕集し溜液、捕集液合して約 300cc に成れば蒸溜を止める。之を湯浴上に濃縮し、水を加えて一定量とし、トリメチールアミンの定量に供した。水溜後の残液は完全に回収して湯浴上に蒸発乾涸、水に溶解して 20cc とし 50cc 容分液漏斗に移し、n-アミールアルコール 10cc 宛で 3 回、1 回につき 200 回宛振盪して抽出してアミールアルコール層と水層に分つ。アミールアルコール層はヒスタミン含有区で、水層はチラミン含有区である。アミールアルコール層は合して 10% HCl 10cc 宛で 3 回抽出を行い水層を合し濃縮後又はそのまゝ水を加えて一定量とし、ヒスタミンの定量に供した。チラミン含有の水層は IN HCl で中和し、10cc アミールアルコールを添加、Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> アルカリ性下 (pH 9~10) 前回同様 3 回宛抽出を行う。アルコール層を合して 10% HCl 10cc 宛 3 回抽出後、水層を合してチラミン含有区とする。之をヒスタミン区の場合同様一定量とし供試した。

### 2) 定量方法

定量方法は次の如くであるが、定量値は試料乾燥中の水分減量を算出し、元重量に対する値として計算した。

#### i) トリメチールアミンの定量

Dyer<sup>3),4)</sup> のトリメチールアミン・ピクラート法に準じて行つたが、吾々の得たトリメチールアミン区は過剰の遊離塩酸を含むから、トルオール抽出に際し、過剰の固型 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> を用いた。比色は Beckman 型 Spectrophotometer に依り波長 410m $\mu$  の filter を用いて行い、定量値はトリメチールアミン mg% として示した。

#### ii) ヒスタミンの定量

供試々葉の調製及び定量時の呈色法は木俣・河合<sup>5)</sup> 両氏のジアゾ法に依り行つた。両氏は比色に際しデュボスク比色計を用いているが、著者等は AKA 型 Electrophotometer を用いた新たな方法で、其の filter No. 3 (波長 470m $\mu$ ) を使用してヒスタミン二塩酸塩の標準曲線を作製し、之を用いて定量値を算出した。此の標準曲線の定量範囲は 0~80 $\gamma$  である。定量値はヒスタミン mg% で示した。

#### iii) チラミンの定量

ヒスタミン同様ジアゾ反応で呈色せしめ、AKA 型 Electrophotometer の filter No. 3 を用いて定量を行つた。得られた標準曲線のチラミン塩酸塩の定量範囲は 0~100 $\gamma$  である。定量値はチラミン mg% で示した。

## 実験結果及び考察

第 1 図はトリメチールアミン・ピクラートの標準曲線を示したものであり、第 1 表、第 2 図は検体中のトリメチールアミン含量を、又第 3 図はヒスタミン二塩酸塩の標準曲線、第 2 表、第 4 図は同じく検体中のヒスタミン含量を示し、第 5 図はチラミン塩酸塩の標準曲線で、第 3 表第 6 図は同様検体中のチラミン含量の変化を求めたものである。

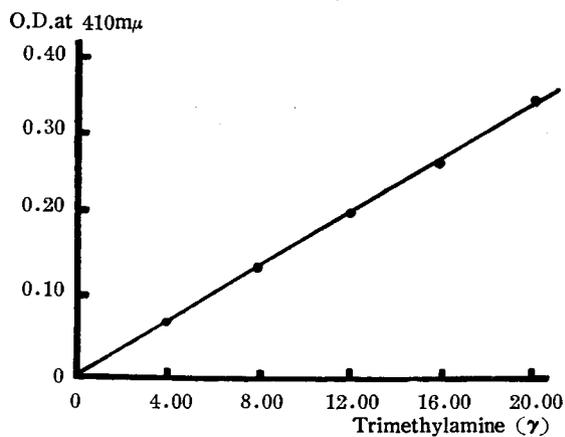


Fig. 1. Relation between the concentration of trimethylamine-N and optical density

Table 1. Changes in the amount of trimethylamine of squid meat (mg%)

Time elapsed (in hrs.)	0	24	48	72	96	120
Sample No. (Mean temp. of preservation)						
Group 1 (11.5°C)	4.09	4.50	4.71	3.60	3.34	6.76
Group 2 (18.5°C)	4.09	5.94	14.27	21.11	24.09	27.59
Group 3 (27.0°C)	4.09	5.41	32.68	42.41	56.41	63.70

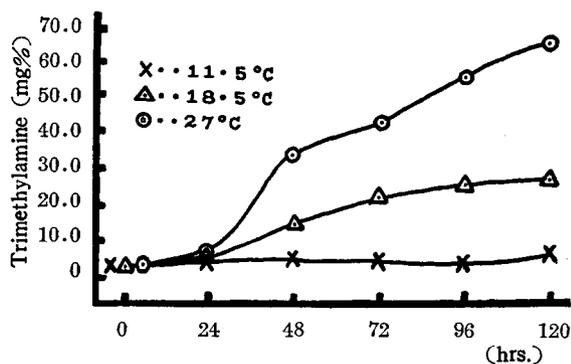


Fig. 2. Changes in the amount of trimethylamine of squid meat

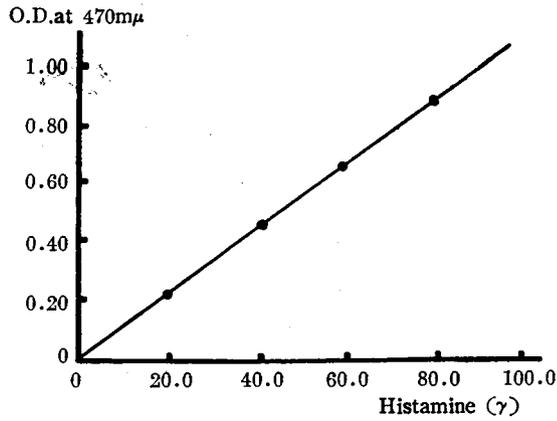


Fig. 3. Relation between the concentration of histamine-dihydrochloride and optical density

Table 2. Changes in the amount of histamine of squid meat (mg%)

Time elapsed (in hrs.)	0	24	48	72	96	120	144	168
Sample No. (Mean temp. of preservation)								
Group 1 (11.5°C)	0	0	0.25	0.31	0.29	0.33	0.48	0.47
Group 2 (18.5°C)	0	0	0.31	0.46	0.40	0.50	0.65	0.57
Group 3 (27.0°C)	0	0	0.59	1.04	3.67	1.85	1.59	0.76

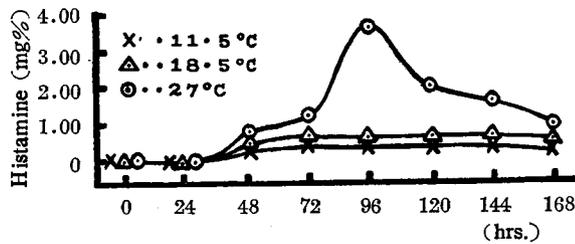


Fig. 4. Changes in the amount of histamine of squid meat

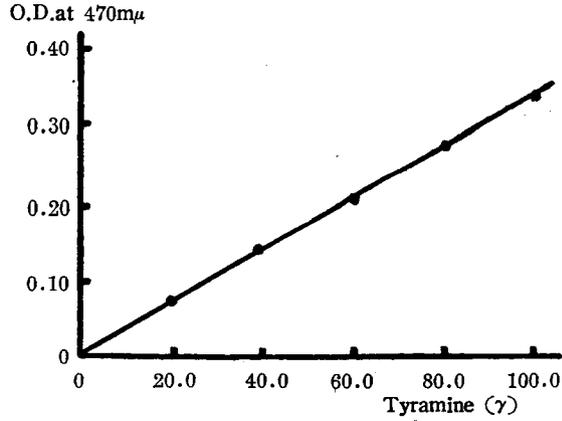


Fig. 5. Relation between the concentration of tyramine-hydrochloride and optical density

Table 3. Changes in the amount of tyramine of squid meat (mg%)

Sample No. (Mean temp. of preservation)	Time elapsed (in hrs.)					
	0	24	48	72	96	120
Group 1 (11.5°C)	0	0	1.69	1.09	1.05	1.08
Group 2 (18.5°C)	0	0	2.24	1.44	1.19	1.61
Group 3 (27.0°C)	0	0	3.46	1.72	2.39	2.69

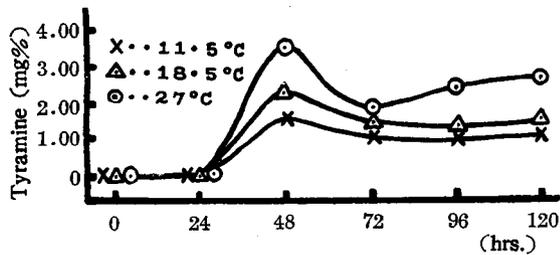


Fig. 6. Changes in the amount of tyramine of squid meat

即ち第1表より、トリメチールアミン生成量は24時間以内は温度の高低其の他の条件に依つて殆んど変化をみないが、48時間以後にあつては温度高きものは次第に上昇し、120時間後に、18°C放乾試料にあつては27.6mg%、27°C放乾のものは63.7mg%に達する。然るに11°C放乾試料は120時間の経過に依つても僅かに6.8mg%に達するに過ぎなく、殆んど其の生成に変化が見られない。

ヒスタミンにあつては、何れも其の生成は極めて少なく、11°C及び18°C放置試料にては168時間の経過に依つても僅かに0.5~0.6mg%以下に過ぎなく、僅かに27°C放乾のものが96時間前後に3.67mg%に達するも其の後減少して168時間に於いては0.76mg%と成る。

又チラミンにあつては次第に増加の傾向を示すが、各々の生成量も少なく、高温の27°C放乾のものにあつても120時間目で2~3mg%に達するに過ぎない。

### 要 約

- ① 内臓除去したスルメイカ筋肉を11.5°C、18.5°C及び27°Cの各温度に放乾し、トリメチールアミン、ヒスタミン及びチラミンの消長を定量的に求めた。
- ② トリメチールアミンは高温に放乾せられるものが急激に生成量を増加する。
- ③ ヒスタミンは高温のもの27°C放乾試料に於いては100時間前後の経過に依り3mg%に至るも、其の後減少し、凡て生成量は極めて少い。
- ④ チラミンは何れも漸増の傾向を示し、温度の変化に依り生成量に著しい差異は認められない。

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) 江上不二夫 (1953). 標準生化学実験. 625p. 東京; 文光堂.
- 3) Dyer, W. J. (1945). *J. Fish. Res. Bd. Can.* 6, 351.
- 4) Dyer, W. J. (1950). *J. Fish. Res. Bd. Can.* 7, 576.
- 5) 木俣正夫・河合 章 (1951). 京大食糧研究所報告 (2), 21.