

# イカ類における ホルムアルデヒドとジメチルアミンの生成\*

原田 勝彦・山田 金次郎

Studies on the Production of Formaldehyde and Dimethylamine in  
Decapodan Mollusca

By

Katsuhiko HARADA and Kinjiro YAMADA

The production of formaldehyde and dimethylamine from trimethylamine oxide by a certain enzyme system is one of characteristic biochemical features of gadoid and its analogous fishes<sup>1)</sup>. There is, however, no obvious evidence concerning the production in other aquatic animals.

In this connection, an attempt was made to elucidate whether those two substances are produced in species of Decapodan Mollusca in the manner like gadoid and its akin fishes. The result obtained are as follows:

1) The production of formaldehyde and dimethylamine was admitted in homogenates of the tissues, *i.e.*, mantle and mid-gut gland of *Sepia esculenta*, *Stenoteuthis bartrami* and *Chiroteuthis imperator* which were stored at refrigerating temperatures.

2) The production was also found in the mid-gut gland homogenate of *Todarodes pacificus* which had been antiseptitized. Additionally, it remarkably increased when trimethylamine oxide was added to the homogenate antiseptitized.

3) The production discontinued by the addition of ammonium sulfate of which the amount is roughly equivalent to about a half saturation of the salt.

4) It was found that, among the materials examined separately from the above experiments covering four families of Decapodan Mollusca, the majority of which displayed a lack of the ability to produce formaldehyde and dimethylamine from trimethylamine oxide.

---

\*水産大学校研究業績 第595号 1970年2月4日 受理。  
Contribution from the Shimonoseki University of Fisheries, No. 595.  
Received Feb. 4, 1970.

## 1. 結 言

生鮮魚介類に FA と DMA が存在する一因として、TMO からこれらの物質を生成する酵素系の関与が考えられる<sup>1)</sup>。

イカ類における FA の存在については、古く島崎ら<sup>2)</sup>、衣笠ら<sup>3)</sup>および服部ら<sup>4)</sup>の報告がある。島崎らは蒸留法を用いてヤリイカ、ホタルイカ、コウイカおよびスルメイカ筋肉から FA を検出した。しかし、スルメイカの肝臓その他筋肉以外の組織では FA を検出していない。一方、衣笠らおよび服部らはヤリイカについて蒸留方法の相違により検出結果が異なることを報告している。

最近、徳永<sup>5)</sup>は蒸留法によらない比色定量法で、冷凍スルメイカに FA と DMA が存在することを明らかにした。イカ類筋肉に DMA が存在することは、カラムクロマトグラフィーによる宮原<sup>6)</sup>および日下部ら<sup>7)</sup>の結晶からも明らかである。また、八坂ら<sup>8)</sup>もポーラログラフィーによる DMA の定量でイカ類筋肉にこのアミンが存在することを確かめている。

これら既往の研究から、イカ類においてもタラ類と同様、TMO から FA と DMA を生成する酵素系の存在が考えられる。これを確かめるため一連の実験を行なったので、その結果をここに報告する。

## 2. 実 験 方 法

### 2-1 FA の定量

FA の定量は NASH のアセチルアセトン法<sup>9)</sup>によった。

### 2-2 DMA の定量

DMA の定量は DYER らによるジチオカルバメート銅複塩法<sup>10)</sup>によった。

### 2-3 TMA の定量

CONWAY の微量拡散法<sup>11)</sup>を用いた。

### 2-4 TMO の定量

BYSTEDT らの方法<sup>12)</sup>で TMO を還元し、生成 TMA を CONWAY の微量拡散法で定量した。

### 2-5 FA ならびに DMA 生成能の測定

イカ類組織の FA ならびに DMA 生成能の測定は山田らの方法<sup>13)</sup>を用いた。すなわち、0.1M TMO 0.5ml、0.001M メチレン青 0.25ml および MCILVAINE 磷酸緩衝液 (pH 6.1) 3.75ml をツンベルグ管の主室にとり、検液 0.5ml を副室にとって減圧脱気後両液を混合した。混合後、ツンベルグ管を 26°C で 2 時間保温した。保温後、20% トリクロル酢酸 5ml を加えてろ過した。ろ液について FA と DMA の定量、またはタンパクの定量を行なった。

### 2-6 タンパクの定量

OLIVER の FOLIN 比色法<sup>14)</sup>を用いた。

\*本報告では次の略号を用いる：トリメチルアミンオキシド、TMO；トリメチルアミン、TMA；ジメチルアミン、DMA；ホルムアルデヒド、FA。

### 3. 実験結果

#### 3-1 貯蔵中における FA ならびに DMA の生成

貯蔵中におけるイカ筋肉その他の組織での FA と DMA の生成を調べた。すなわち、バカイカ *Stenoteuthis bartrami* の外とう筋肉または中腸腺 300 g に等量の冷水を加えてブレンダーにかけホモジェネートを作製した。このホモジェネートを 0~1°C に貯蔵し、一定日数ごとに 40 g あてとり出し、これに 20% トリクロル酢酸 10 ml を加えてろ過した。このろ液につき FA と DMA を定量すると同時に、TMO および TMA 量も合わせ求めた。

第 1 図は外とう筋肉、第 2 図は中腸腺ホモジェネートについて得られた結果である。これらの図から、い

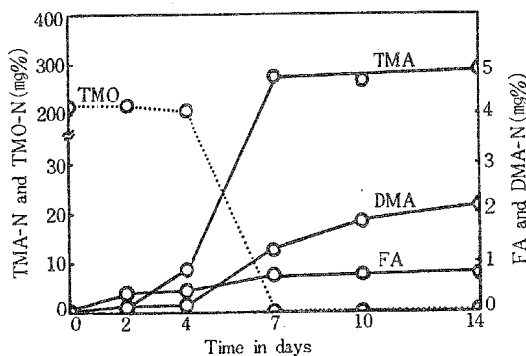


Fig. 1. Changes in amount of FA, DMA, TMA and TMO in the mantle homogenate of a squid, *Stenoteuthis bartrami* at refrigerating temperatures (0-1°C). The symptom of spoilage in odor was noticed after seven days' storage.

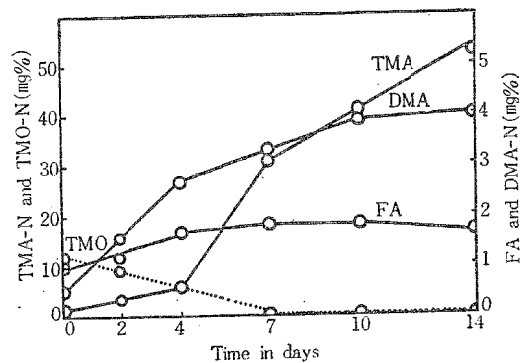


Fig. 2. Changes in amount of FA, DMA, TMA and TMO in the mid-gut gland homogenate of a squid, *Stenoteuthis bartrami* at refrigerating temperatures (0-1°C). The symptom of spoilage in odor was noticed after seven days' storage.

づれも日数の経過と共に FA, DMA および TMA が増大し、一方 TMO が減少することがわかる。しかし、FA と DMA の増加では外とう筋肉より中腸腺の方が大きく、TMA の増加では逆に外とう筋肉の方が大きい。

同様の実験をコウイカ *Sepia esculenta* およびミズイカ *Chiroteuthis imperator* について行ない、バカイカの場合と同様の結果を得た。なお、本研究の 3-1~3 で使用した試料はすべて生活反応を示したものであった。

#### 3-2 防腐剤処理ホモジェネートの FA ならびに DMA の生成

防腐剤を加えた場合のイカ中腸腺ホモジェネートの FA と DMA の生成と、合わせて TMA と TMO の変化を調べた。被検ホモジェネートは次の 3 種である<sup>15)</sup>。使用した試料はスルメイカ *Todarodes pacificus* であった。

ホモジェネート A: 中腸腺 100 g に水 300 ml を加えて作製した。

ホモジェネート B: ホモジェネート A にトルエン 10 ml およびクロロホルム 5 ml を加えて作製した。

ホモジェネート C: 中腸腺 100 g に水 250 ml と 0.15 M TMO 50 ml を加えて作製したホモジェネートにトルエン 10 ml とクロロホルム 5 ml を添加した。

ホモジェネート A~C を 20°C に保温し、10 時間ごとに 20 g あてとり出し、これに 20% トリクロル酢酸 20 ml を加え、ろ過した。ろ液について FA, DMA, TMA と TMO を定量した。実験結果は第 3~

5図のとおりである。

ホモジェネートA (第3図) では, TMAが時間の経過と共に増大する。しかし, 急増は実験開始から10

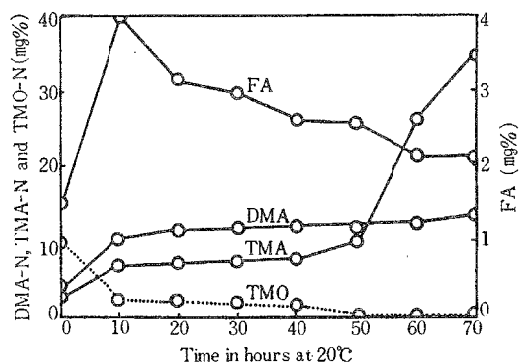


Fig. 3. Changes in amount of FA, DMA, TMA and TMO in the mid-gut gland homogenate of a squid, *Todarodes pacificus*.

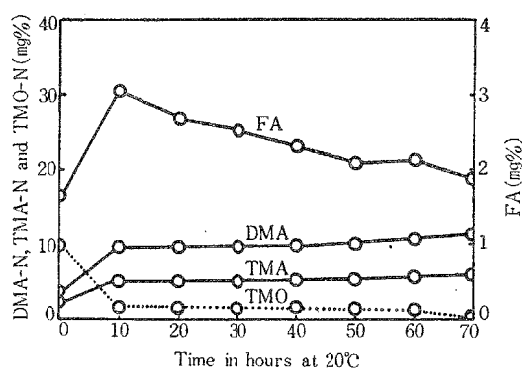


Fig. 4. Changes in amount of FA, DMA, TMA and TMO in the mid-gut gland homogenate of a squid, *Todarodes pacificus* added with antiseptics.

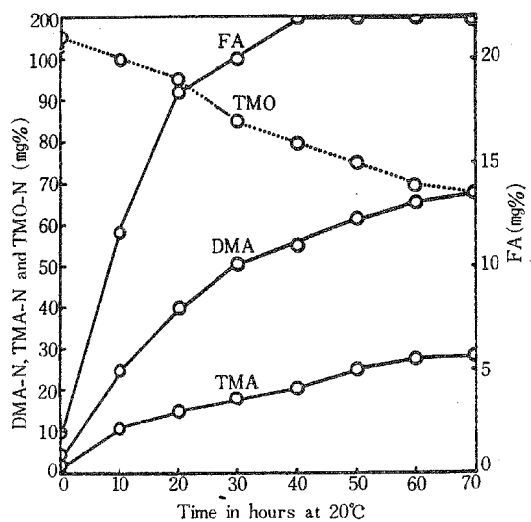


Fig. 5. Changes in amount of FA, DMA, TMA and TMO in the mid-gut gland homogenate of a squid, *Todarodes pacificus* added with antiseptics and TMO.

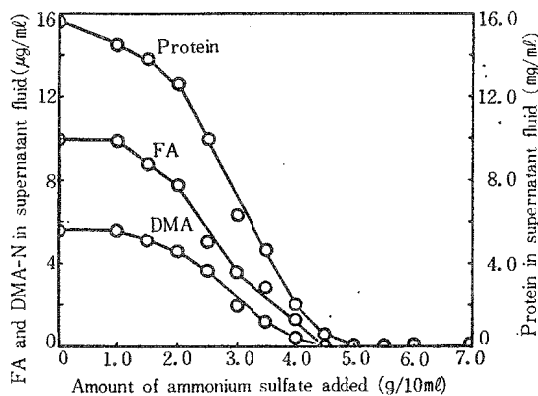


Fig. 6. Salting-out of the enzyme participating in the production of FA and DMA from TMO in the mid-gut gland homogenate of a cuttlefish, *Sepia esculenta*.

時間までの間と50時間以後とに認められる。一方, DMAは10時間までの間で急増して以後ほぼ一定の値を示し, FAは急増後漸減する。TMOは10時間までに急減し, 以後ゆるやかに減少する。ホモジェネートB (第4図) では, TMAが10時間以後ほとんど増大しない点を除いては, ホモジェネートAの結果とほぼ同様である。ホモジェネートC (第5図) ではホモジェネートBに比べFA, DMAおよびTMAの増加が大きい。

### 3-3 塩析によるFAとDMA生成能の変化

塩析によるイカ中腸腺ホモジェネートのFAとDMA生成能の変化を山田ら<sup>16)</sup>と同じ方法を用いて調べ

た。すなわち、コウイカの中腸腺ホモジェネートに2倍量の冷水を加えてホモジェネートを作製した。このホモジェネートを16,000 $\phi$ で30分間冷却器中で遠心して不溶成分を沈降させ、得られた上澄液10mlあてに硫酸アンモニウムを1~7g加え、2時間氷冷・攪拌しつつ塩析を行なった。塩析後12,000 $\phi$ で冷却器中で遠心し、その上澄液をとって検液とし、FAとDMAの生成能とタンパク濃度を調べた。結果は第6図のとおりである。この図から、上澄液のFAとDMAの生成能が上澄液のタンパク濃度の減少とほぼ比例して低下することがわかる。

### 3-4 イカ中腸腺のFAとDMA生成能

上記3-1~3の実験で、FAとDMA生成能を全く欠く個体をしばしば認めた。したがって、イカ類がFAとDMAの生成酵素の研究素材として適当であるかを確かめるため、イカ類中腸腺でFAとDMA生成能の恒常性を調べた。使用した試料は4種29個体であった。

被検試料の中腸腺に2倍量の冷水を加えて得たホモジェネートを検液とし、この液についてFAとDMAの生成能を測定した。結果は第1表のとおりである。この表から、コウイカ、スルメイカおよびソデイカ

Table 1. Individual differences of the production of FA and DMA from TMO in species of Decapodan Mollusca\*.

Species	weight (g)	Sex	Season	Freshness score**	Production	
					FA ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )	DMA ( $\mu\text{gN}/\text{ml}$ )
Order Sepioidea						
Family Sepiidae						
<i>Sepia esculenta</i> -kōika	472	♂	Jan.	1	49.6	17.3
"	555	♂	Jan.	2	0.0	0.0
"	495	♂	Feb.	1	0.7	1.0
"	360	♂ & ♀	Mar.	1	9.2	7.2
"	333	♂ & ♀	Jun.	1	0.0	0.0
<i>Sepia pardalis</i> -hyōmonkōika	395	♂	Jan.	1	0.0	0.0
Order Teuthodea						
Family Loliginidae						
<i>Doryteuthis bleekeri</i> -yariika	139	♀	Feb.	1	0.0	0.0
<i>Loligo budo</i> -budōika	180	Obscure	Jun.	2	0.0	0.0
"	70	Obscure	Jun.	2	0.0	0.0
"	175	Obscure	Jul.	1	0.0	0.0
"	271	Obscure	Jul.	2	0.0	0.0
Family Todarodidae						
<i>Tobarodes pacificus</i> -surumeika	271	♀	Jan.	2	4.3	—
"	372	♂ & ♀	Jan.	2	0.0	0.0
"	367	♂ & ♀	Jan.	2	0.0	0.0
"	502	♀	Jan.	1	0.0	0.0
"	362	♂	Feb.	1	0.0	0.0
"	396	♂ & ♀	Jan.	1	0.0	0.0
"	153	Obscure	Jul.	1	0.0	0.0
"	179	Obscure	Jul.	1	0.0	0.0
"	633	♀	Oct.	2	0.0	0.0
"	404	Obscure	Dec.	1	0.0	0.0

〃	348	Obsecure	Dec.	2	20.3	5.5
〃	350	Obsecure	Dec.	2	0.0	0.0
〃	218	Obsecure	Dec.	2	0.0	0.0
〃	409	Obsecure	Dec.	2	0.0	0.0
〃	363	Obsecure	Dec.	2	0.0	0.0
〃	310	Obsecure	Dec.	2	0.0	0.0
Family <i>Thysanoteuthidae</i>						
<i>Thysanoteuthis rhombus</i> — <i>sodeika</i>	—	♂	Dec.	1	70.4	32.6
〃	5000	♂	Dec.	1	7.4	6.1

\* Mid-gut gland examined

\*\* 1, Still alive ; 2, Pre-rigor or during rigor

では FA と DMA の生成能が認められるが、酵素研究の素材として適するほどの生成量が認められたのはコウイカとソデイカ中のわずか2個体であることがわかる。

#### 4. 考 察

タラ類の筋肉において、貯蔵中 TMA の生成に先行して FA と DMA が生成することがわかっている<sup>17)</sup>。本研究のバカイカの場合(3-1)、FA と DMA の生成量が少ないためか、外とう筋肉ではこの関係がみられない。しかし、中腸腺では、タラ類の場合と同様、FA と DMA の生成が TMA のそれに先行する。外とう筋肉および中腸腺における TMA の増大は窒素含量として TMO 量をうわまわっている。これについては、TMA の定量法として採用した CONWAY 微量拡散法が TMA 以外に他の揮発性アミンをも捕捉することを考慮しなければならない。すなわち、TMA の前駆物質が TMO 以外にもあるかどうか、本研究の結果だけでは明らかでない。

防腐剤処理ホモジェネートにおける FA と DMA の生成を調べた実験(3-2)で、防腐剤処理をしないホモジェネートAの場合、TMA が実験開始から10時間の間と50時間以後で急増する。この急増が TMO から、または他の前駆物質からの TMA の生成に由来するかどうか、前と同様の理由で明らかでない。

タラ類幽門垂を用いた実験によると、防腐剤を加えても FA と DMA の生成が認められ、またさらに TMO を加えるとその生成量が著しく増大する<sup>15)</sup>。スルメイカ中腸腺での本研究(3-2)でも同様の結果が得られた。このことは、イカ類における FA と DMA の生成がタラ類と同様組織酵素の作用によることを示している。しかし、塩析による FA と DMA 生成能の変化を調べた結果(3-3)によると、イカ中腸腺では FA と DMA 生成酵素がタラ類幽門垂の場合よりも巾広い硫酸アンモニウム濃度で塩析された<sup>16)</sup>。

タラ類において、いままで調べた結果では、ほぼ恒常的に FA と DMA 生成能が認められるが、イカ類の場合全く生成能が認められない個体が多い(3-4)。このことは、イカ類が FA と DMA 生成酵素の研究素材として適当でないことを示すものである。イカ類で FA と DMA 生成能が恒常的でない理由は不明である。

#### 5. 要 約

イカ類における FA と DMA の生成を調べたことを明らかにした。

- 1) イカ類においては、タラ類と同様、FA と DMA 生成に関与する組織酵素が存在する。
- 2) この酵素は恒常的に存在しない。したがってイカ類は FA と DMA 生成酵素を調べる素材として適当でない。

本研究における試料の同定は本校網尾 勝助教授の援助によった。また、本研究の実験の一部は泉節雄、松崎克彦および松本信男の諸君の協力によった。ここに感謝の意を表する。

## 文 献

- 1) 山田金次郎, 1968 : 日水誌, **34**, 541.
- 2) 島崎米次郎・池田清二・高井仁八, 1930 : 日本衛生化学会誌, **2** (4), 1.
- 3) 衣笠 豊・服部安蔵・岩元 恒, 1932 : 衛試彙報, **39**, 177.
- 4) 服部安蔵・長谷部俊彦, 1934 : 日本衛生化学会誌, **6**, 326.
- 5) 徳永俊夫, 1964 : 北海道区水研報, **29**, 108.
- 6) 宮原昭二郎, 1960 : 日化, **81**, 1158.
- 7) 日下部寛男・小島喜久, 1962 : 理研報, **38**, 224.
- 8) 八坂 茂・宮原昭二郎・田端義明, 1959 : 長崎大水産研報, **8**, 275.
- 9) NASH, T., 1953 : *Biochem. J.*, **55**, 416.
- 10) DYER, W. J. and Y. A. MOUNSEY, 1945 : *J. Fish. Res. Bd. Canada*, **6**, 359.
- 11) CONWAY, E. J., 1950 : "Micro-diffusion Analysis and Volumetric Error", p. 176, Crosby Lockwood and Son Ltd., London.
- 12) BYSTEDT, J., L. SWENNE and H. W. ASS, 1959 : *J. Sci. Food Agric.*, **10**, 301.
- 13) YAMADA, K. and K. AMANO, 1964 : *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, **31**, 1030.
- 14) LOWRY, O. H., N. J. ROSEBROUGH, A. L. FARR and R. J. RANDALL, 1951 : *J. Biol. Chem.*, **193**, 265.
- 15) AMANO, K. and K. YAMADA, 1964 : *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, **30**, 639.
- 16) YAMADA, K., K. HARADA and K. AMANO, 1969 : *ibid.*, **35**, 227.
- 17) AMANO, K. and K. YAMADA, 1964 : *ibid.*, **30**, 430.