魚類血合肉中のトリメチルアミンオキサイド ならびにその分解—II.

貯蔵中における DMA, TMA の生成*

徳 永 俊 夫

(1970 年 1 月 21 日受理)

Trimethylamine Oxide and Its Decomposition in the Bloody Muscle of Fish—II.

Formation of DMA and TMA during Storage

Toshio TOKUNAGA**

In a previous report, it was observed that the bloody muscle of 16 species of fish contained DMA as well as TMA.

In this experiment, the bloody and ordinary muscles of different species of fish were kept separately but under similar conditions with the intention to examine changes in the amount of TMA, DMA and formaldehyde during storage. The results obtained are as follows:

1) No measurable increase of TMA and DMA was observed in the ordinary muscle during storage for up to 25 days at 0°C, but a fairly rapid increase of these amines was observed in the bloody muscle of all samples.

2) At -6°C, TMA amount was somewhat smaller than that produced at 0°C, however, a rather slow but continuous increase of DMA was observed.

3) The rate of formation of TMA and DMA during storage seemed to differ according to the species of fish. The fish forming more TMA also formed more DMA and a correlation was assumed to exist between the amounts of TMA and DMA produced.

4) Since the formation of these amines in the bloody muscle was considered to be caused by enzymic action, the amount of the amines may be used for practical purposes as an index of freshness of fish before they get spoiled by bacterial growth.

前報¹⁾では、10 数種の魚類の筋肉を普通肉と血合肉に分け、それぞれに含まれるトリメチルアミンオキサイド (TMAO) およびその分解物であるトリメチルアミン (TMA)、ジメチルアミン (DMA) 含量の比較を行なった。この両アミンの量は、普通肉にくらべ血合肉の方がはるかに多く、貯蔵期間の長い試料では、その差がいつそう顕著になる傾向がうかがわれた。回游性魚類の血合肉で、TMA が酵素的に生成することについては、すでに河端²⁾、須山³⁾らによつて報告されている。しかし DMA が同じ血合肉中で、同時に生成する現象については全く研究が行なわれていない。

ここでは、数種類の魚の筋肉を、普通肉と血合肉に分けて貯蔵し、DMA, TMA および一部の試料についてはホルムアルデヒド (FA) 含量の経時的变化を調べた。

実験方法

試料 前報¹⁾の研究で用いた試料のうち比較的の血合肉が多く採取できた魚類、マサバ *Scomber japoni-*

* 東海区水産研究所業績 B 第 525 号

本研究の要は昭和 44 年 10 月日本水産学会秋季大会で発表した。

** 東海区水産研究所 (Tokai Reg. Fish. Res. Lab., Kachidoki, Chuo-ku, Tokyo)

cus, イサキ *Parapristipoma trilineatum*, マイワシ *Sardinops melanosticta*, イナダ *Seriola quinqueradiata*, メバチ *Thunnus obesus*, カツオ *Katsuwonus pelamis*, マアジ *Trachurus japonicus*, コノシロ *Konosirus punctatus*, サンマ *Cololabis saira* の 8 種を貯蔵試験に供した。普通肉, 血合肉ともに 2 分し, 一方はポリエチレン袋に密封して碎氷中に貯蔵し, 他方はアルミ箔で包装して凍結貯蔵 ($-6 \pm 1^\circ\text{C}$) した。

分析法 DMA, TMA は過塩素酸抽出液について前報¹⁾と同様に定量した。FA は Nash 法⁴⁾によつた。血合肉では抽出液がわずかに着色する場合がありますが, このような試料は, あらかじめ活性炭の少量を用いて脱色した。この処理で FA が損失することはなかった。

結 果

碎氷中に貯蔵した場合の変化 サンマ, イサキなど 5 種類の魚については, 碎氷中に 7 日間貯蔵し, 貯蔵後の DMA, TMA 含量の測定を行なつた。魚種別, 個体別に得られた結果を Fig. 1 に示した。サンマ, イサキ, マサバなどでは普通肉中にも微量の DMA, TMA が検出されているが, 貯蔵中の増加はほとんどみられなかった。一方血合肉中のアミン類は明らかな増加を示した。その量は魚種によつてかなりの相異があり, サンマで少なくイサキ, イナダで多かつた。マサバは DMA 量のみについて示したが, 貯蔵前の含

量が多いのに反し, その後の増え方はむしろ少なかった。

マイワシとアジについては, 20 日間碎氷中に貯蔵した場合の結果を Fig. 2 に示した。ここでも普通肉中のアミン類の増大はみられなかったが, 血合肉では多量の DMA, TMA の生成が観察された。

次にマサバ, メバチおよびカツオを比較的長期にわたり氷蔵し, 経時的にアミン類と FA 含量の変化を調べた。それらの結果を Fig. 3, 4, 5 に示した。この試験に用いたマサバの血合肉中の DMA-N, TMA-N

Fig. 1. DMA-N and TMA-N contents in ordinary and bloody and bloody muscles of fish before and after iced storage (for 7 days at 0°C).

Dotted column: DMA-N content before storage.

Solid column: TMA-N content before storage.

Open column: Increase in DMA-N and TMA-N and TMA-N during storage.

Fig. 2. DMA-N and TMA-N content in ordinary and bloody muscles of fish before and after iced storage (20 days at 0°C).

Indication of columns are the same as in Fig. 1.

は、それぞれ 0.1~0.3, 0.7~0.9 mg% であつた。この値は死後比較的短い期間に形成される量とみられるので、きわめて新鮮なものと思われる。貯蔵中の DMA-N の変化をみると、48 時間で 0.8~1.2 mg%, 7 日後では、2.5~3.3 mg% となり、この時期まではほぼ直線的な増加を示した。しかしそれ以降では増え方が緩慢となり、一定の値を保つようになった。TMA-N も貯蔵の初期で急激に増え、7 日目で 6~9 mg% となつたが、DMA の場合と同様にそれ以後の変化はきわめて少なくなつた。普通肉では貯蔵の全期間を通じて、これらアミン類の増大の傾向はみられなかつた。メバチの血合肉は、最初から多量のアミン類を含み、この貯蔵中の変化は、TMA が貯蔵の初期にわずかに増加したのみで DMA はほとんど変化しなかつた。FA も微量検出されたが、その量は 1 mg% 前後で貯蔵中に増加することはなかつた。カツオの場合は、貯蔵開始時の TMA, DMA 含量が非常に多く、その後 28 日間の氷蔵で、これらアミン類の増大は全くみられなかつた。

Fig. 3. Changes in TMA-N and DMA-N contents in ordinary and bloody muscles of mackerel during iced storage.

Fig. 4. Changes in TMA-N, DMA-N and formaldehyde contents in ordinary and bloody muscles of bigeye tuna during iced storage.

Fig. 5. Changes in TMA-N, DMA-N and formaldehyde contents in ordinary and bloody muscles of skipjack during iced storage.

凍結貯蔵 ($-6 \pm 1^\circ\text{C}$) の場合の変化 貯蔵温

Fig. 6. DMA-N and TMA-N contents in ordinary and bloody muscles of fish before and after frozen storage (for 7 days at -6°C).

Indication of columns are the same as in Fig. 1.

Fig. 7. DMA-N and TMA-N contents in ordinary and bloody muscles of fish before and after frozen storage (for 20 days at -6°C).

Indication of columns are the same as in Fig. 1.

Fig. 9. Changes in TMA-N, DMA-N and formaldehyde contents in ordinary and bloody muscles of bigeye tuna during frozen storage at -6°C .

Fig. 8. Changes in TMA-N and DMA-N contents in ordinary and bloody muscles of mackerel during frozen storage at -6°C .

Fig. 10. Changes in TMA-N, DMA-N and formaldehyde contents in ordinary and bloody muscles of skipjack during frozen storage at -6°C .

度の影響をみるために、魚種別の貯蔵期間は 0°C 貯蔵の場合と同じにした。サンマ、イサキなど5種類の魚は7日間、イワシ、アジは20日間貯蔵した。それらの結果を Fig. 6, 7 に示した。 -6°C に凍結貯蔵しても、 0°C の場合とほとんど同じ変化がみられ、DMA, TMA はすべての試料の血合肉で顕著な増加を示した。また魚種による生成量の差異も、 0°C 貯蔵の結果とほぼ似ており、サンマで少なく、イサキ、イナダで多かった。1週間貯蔵した試料では、一般にアミン類の生成量は 0°C の場合に比較して少なかったが、20日間貯蔵のアジ、マイワシの DMA 量はむしろ多くなっていた。普通肉でアミン類の増大がみられないのは 0°C 貯蔵の時と同様であった。サバ、メバチおよびカツオについて得られた結果を Fig. 8, 9, 10 に示した。サバ血合肉における TMA の生成は、 -6°C に貯蔵すると、 0°C の場合よりかなり抑制された。しかし DMA は、貯蔵初期の生成速度がいくぶん低くなるのみで、後半に至つても継続的な上昇を示し、28日後には DMA-N として $4.0\sim 5.5\text{ mg \%}$ に達した。メバチとカツオの場合は TMA, DMA とともにわずかながら増大の傾向を示した。同じ試料を 0°C に貯蔵したときには、ほとんど変化しなかったのにくらべ目

立つた現象といえる。FA も DMA の増加に応じて明らかに平行的な変化を示した。

考 察

本実験は無菌的に行なっていないので、細菌の関与がなかったとはいえない。しかし普通肉と血合肉を、全く同じ条件に貯蔵した場合に、血合肉のみにアミン類の生成が認められ、普通肉ではほとんど変化の起きないこと、さらに細菌の代謝作用が著しく低下するといわれる -6°C における貯蔵でも、血合肉中では、アミン類の生成が観察されるなどのことから、本実験の場合細菌作用の関与はほとんどないか、少なくとも TMAO の分解に関しては酵素作用に比して無視できる程度のもと考えられる。したがって一定期間、同じ条件の貯蔵によつて生成するアミン類の量は、その魚のもつ TMA, DMA 生成酵素の活性の強さにほぼ対比するとみてよいであろう。ただサンマなどのように血合肉中の TMAO 量が低い魚¹⁾では、生成アミン量のみから活性の強さを比較することは十分でないおそれがある。

0°C 、7 日間貯蔵後の DMA, TMA の生成量は、魚種によつてかなり大きな差がみられる。DMA-N ではサンマで最も少なく 1 mg%, イナダで約 2 mg%, マサバで平均 3 mg% となつている。一方 TMA-N はサンマ、イナダ、マサバでそれぞれ 2 mg%, 4~5 mg%, 6~9 mg% ですべて DMA より多く検出されている。一般的には DMA を多量に生成する魚種は、TMA も多く生成する傾向がみられ、個体的にも両者の生成比はほぼ一定で、DMA-N : TMA-N = 1 : 2.5 の関係にある。

同じ期間 0°C と -6°C に貯蔵した時のアミン類の生成量を比較すると、TMA は -6°C で抑制される傾向にある。しかし DMA ではほとんど変りなく、むしろ増加が著しい場合もみられた。たとえば、カツオ、メバチの DMA は、 -6°C 貯蔵のときのみ明らかに生成するが、 0°C ではまったく増加しない。またアジ、イワシでは、20 日間の貯蔵で、 -6°C の方が多量の DMA を含んでいる。サバの場合も同様であつて、貯蔵期間の長いほどこの傾向は明らかになる。このことは TMAO の酵素的分解がこの程度の温度では防止できないことを示している。さきにスケトウダラ肉の DMA, FA 生成酵素の活性はきわめて不安定で、氷蔵中容易に失活するが、低温で凍結すると安定に保たれることを報告⁵⁾した。血合肉の DMA 生成が、凍結貯蔵によつて 0°C 貯蔵の場合より著しくなるのは、上記のような本酵素の安定性と関係がありそうである。 -6°C では TMA の生成が抑制されるのに対し、DMA はそれほど低下しないので、必然的に両者の生成比は 0°C の場合とことなつてくる。TMAO 還元酵素と DMA, FA 生成酵素はおそらく別個の酵素であろうが、同一貯蔵条件で生成する TMA, DMA の量比が比較的一定であることから、なんらかの相互関係をもつことも考えられる。

0°C に貯蔵したサバ血合肉のアミン類の経時的変化をみると、貯蔵初期において急速な増加を示すが、その後ほぼ一定となる。カツオ、メバチの場合に、貯蔵中のアミン類の増大がほとんどみられなかつたのは、これらの試料魚が、漁獲後かなり時間を経たものであるためと思われる。これらの結果から、酵素的に生成するアミン量には、魚種あるいは個体に特有な上限がありそうにみえる。

サバ、サンマ、アジなどでは、普通肉中にも微量の DMA, TMA の存在が認められるが、その量は氷蔵あるいは凍結貯蔵することによつてほとんど増加することはない。このことから、本来これらの魚では普通肉もきわめて微弱な酵素活性をもつが、なんらかの理由によつて容易に失活することも考えられる。従来これらの魚の筋肉中に DMA の存在が確認されなかつたのも、このような理由によるのであろう。また、カツオ、マグロ類の普通肉で、アミン類の生成がみられないのは、基質としての TMAO が少い¹⁾ことも考慮されねばならないが、相当量の TMAO を含む、イサキ、サバなどでも普通肉中の TMAO の分解はきわめて少いことから酵素系がほとんど存在しないと考えた方が妥当であろう。

DMA の生成機構の詳細についてはまだ不明であるが、タラ類の筋肉、内臓における研究^{6,7)}では、TMAO の分解によつて FA とともに生成することが明らかにされている。血合肉の場合でも、DMA を多量に含む試料では、FA がより多く検出されるので、基本的に同じ反応によるものと考えてよいであろう。

魚種のちがいによる、DMA, FA 生成酵素の分布状態はまだ十分明らかでないが、前報¹⁾および本研究の

結果から次のような3群に分けられるように思われる。すなわち、1) 血合肉中に集中的に含むもの、たとえばマダロ類、カツオ、マイワシなど、2) 普通肉にも微弱な活性のあるもの、たとえばマサバ、サンマ、イサキ、アジなど、3) 普通肉にもきわめて顕著な活性分布の認められるもの、たとえば、タラ類およびその近縁の魚種である。

従来から魚類の鮮度判定のひとつの規準として、TMA を測定する方法が広く利用されている。しかしこれは細菌の繁殖が先行し、その結果として生成するアミン類を測定することになるので、初期の鮮度判定に適さないといわれている。血合肉中の TMA, DMA は、ともに魚の死後間もなく増加するので、きわめて初期の生きのよさの判定に利用しうる可能性がある。このことについてはさらに検討したいと考える。

要 約

カツオ、マサバなど数種類の魚の筋肉を普通肉と血合肉に分けて貯蔵し、TMAO の分解の状態を観察した。

1. 0°C, 最高 28 日間の貯蔵によつても、普通肉中の TMAO はほとんど分解しないが、全く同じ条件においた血合肉では、急速に分解が進行し、DMA および TMA の生成がみられる。
2. 血合肉の TMAO の分解は -6°C でも認められる。とくに DMA は長期の貯蔵によつて、0°C の場合より多量に検出されるようになる。
3. アミン類の生成能は魚種によつて大きな差異があるが、DMA と TMA との生成比にはほぼ一定の関係がみられる。
4. 血合肉のアミン類の生成は、死後酵素的に生成するものと考えられるので、きわめて生鮮な魚の鮮度判定の指標としうる可能性を示した。

本研究を行うに当り、有益な御助言、示唆を賜わり、かつ原稿の校閲をしていただいた当水研天野慶之博士、三輪勝利技官、戸沢晴巳技官、また終始実験に協力いただいた山本潤子氏に深甚の謝意を表する。

文 献

- 1) 徳永俊夫: 本誌, **36**, 502~509 (1970).
- 2) 河端俊治: 本誌, **19**, 505~512 (1953).
- 3) 須山三千三: 東水大特別報告, **3**, p. 152 (1964).
- 4) T. NASH: *Biochem. J.*, **55**, 416 (1953).
- 5) 徳永俊夫: 昭和 44 年度日本水産学会(東京)講演.
- 6) K. AMANO and K. YAMADA: *This Bull.*, **30**, 639~645 (1964).
- 7) 徳永俊夫: 北海道区水研報, **29**, 108~122 (1964).