

鮮魚中のヒスタミン産生菌に与える温度管理の影響について

上原直美 保田和里¹⁾ 前田智子²⁾ 野口辰美³⁾

Effect of Temperature Control on Histamine Producing Bacteria in Fresh Fish

Uehara Naomi, Yasuda Asato, Maeda Tomoko, Noguchi Tatsumi

要旨

本県では2017年から3年連続で鮮魚の温度管理の不備が原因と考えられるヒスタミン食中毒が発生している。そこで、ヒスタミン産生菌 *Raoultella planticola* をシイラに接種し、温度管理と時間経過がヒスタミン産生に与える影響について調査した。また併せてエラ・内臓の有無と温度管理がヒスタミン産生に与える影響、さらに調味液と温度管理がヒスタミン産生に与える影響について調査した。その結果、5℃以下で6日間保存した場合、*R. planticola* 存在下であってもヒスタミンが産生されないこと、また、エラ・内臓の処理の有無と温度管理で、産生されるヒスタミン濃度に大きな差が出る事が確認できた。さらに調味液中の塩分濃度がヒスタミン産生の抑制に関与する可能性も示唆された。

キーワード：ヒスタミン，ヒスタミン産生菌，鮮魚，LC/MS/MS

はじめに

ヒスタミン食中毒は、ヒスタミンを高濃度を含む食品、特に魚類及びその加工品を摂取することで発症し、発疹、悪心、頭痛などのアレルギー様症状を引き起こす。ヒスタミンはアミノ酸の一種であるヒスチジンを多く含む食品を常温で放置するなど、不適切な管理により食品中のヒスタミン産生菌が増殖し、ヒスチジンを代謝することで生成される。主なヒスタミン産生菌として腸内細菌科細菌の *Morganella morganii*, *Raoultella planticola*, ビブリオ科細菌の *Photobacterium damsela*, *Photobacterium phosphoreum* 等が知られている¹⁾。

本県では2017年から3年連続で赤身魚のシイラを原因食品とするヒスタミン食中毒が発生しており、原因菌としてそれぞれ2017年に *R. planticola*, 2018年、2019年に *P. damsela* が検出された。いずれもシイラの加工段階での温度管理の不備が原因と推定されたことから、今回温度管理がヒスタミン生成に与える影響について調査したので報告する。

方法

- 1 菌液
腸内細菌科細菌 *R. planticola* (2017年8月の食中毒検体由来) を使用した。
- 2 *R. planticola* 接種後のヒスタミン量の推移
宮崎市内のスーパーで購入したシイラの切り身から2gを無菌的に採取した。これに菌液を 1×10^3 CFU/g となるように接種した後、-20, 5, 10, 20, 30℃で保存した。それらを接種から0, 6時間, 1, 2, 3日, -20, 5, 10℃のみ6日が経過した時点でのヒスタミン生成量を測定した。
- 3 エラ・内臓の有無によるヒスタミン量の推移
宮崎市内のスーパーで購入したウルメイワシを頭、内臓を除去し水洗いしたものと、処理を施さないものに分け、ビニル袋に入れ、5, 25℃で保存した。それらを24, 48及び72時間が経過した時点(25℃は24時間のみ)でのヒスタミン生成量を測定した。

衛生化学部 ¹⁾ 微生物部 ²⁾ 元衛生環境研究所 ³⁾ 現環境管理課

4 *R. planticola* 接種後，調味液に漬け込んだ時のヒスタミン量の推移

宮崎市内のスーパーで購入したブリの切り身から 10 g を無菌的に採取した．これに菌液を 1×10^3 CFU/g となるように接種した後，調味液（醤油 30 mL，酒 35 mL，砂糖 21 g）を 10 mL 加え，5，10℃で保存した．それらを 11 日が経過した時点でのヒスタミン生成量を測定した．

5 ヒスタミンの測定

1) 試料溶液の調製

図 1 にフローを示す．

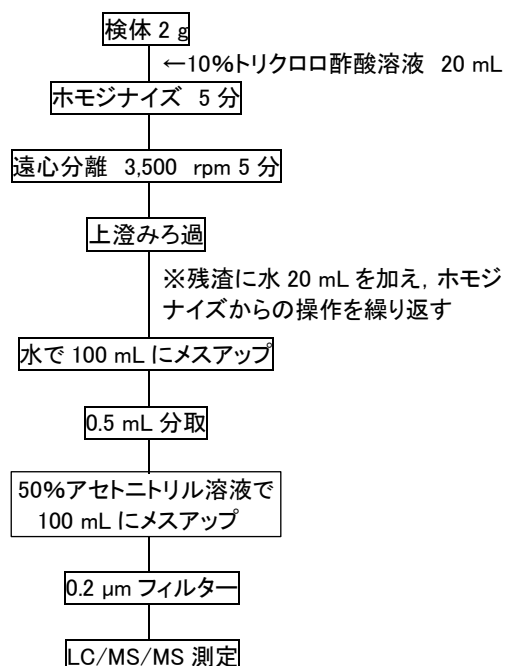


図 1 測定フロー

2) 試薬

標準試薬はヒスタミン二塩酸塩 1 g（和光特級）を用いた．

3) LC/MS/MS 装置及び測定条件

LC/MS/MS の条件を表 1 に示す．

表 1 LC/MS/MS 装置及び測定条件

装置	AB SCIEX 3200 QTRAP
HPLC 条件	
分析カラム	TSKgel Amide-80 5 μm 2.0×150 mm
移動相 A 液	30 mM ギ酸アンモニウム水溶液(pH=4)
移動相 B 液	アセトニトリル
グラジエント条件 (B 液)	70% (0 min) → 10% (12~20 min) → 70% (20.1~28 min)
流速	0.2 mL/min
カラム温度	50℃
注入量	5 μL
MS/MS 条件	
イオン化	ESI positive
Ion Spray Voltage	5500 V
MRM パラメータ	CUR : 40.00, CAD : 3.00, GS1 : 30.00, GS2 : 80.00, ihe : off, DP : 36.00,31.00, EP :5.00,8.50, CE : 19.00,29.00 CXP : 4.00
Precursor ions (m/z)	
Histamine 1	112
Histamine 2	112
Product ions (m/z)	
Histamine 1	95.1
Histamine 2	68.2

は 48 時間経過した検体から，30℃で保存した場合には 24 時間経過した検体からそれぞれヒスタミンが検出された（図 2）．

結果

1 *R. planticola* 接種後のヒスタミン量の推移

-20，5℃で保存した場合、いずれの検体からもヒスタミンは検出されなかった．10℃で保存した場合には 72 時間経過した検体からはヒスタミンは検出されなかったが，6 日経過した検体からはヒスタミンが検出された．20℃で保存した場合で

2 エラ・内臓の有無と温度がヒスタミン濃度に与える影響

5℃で保存した場合，エラ・内臓有り，無しいずれの検体でもヒスタミンは検出されなかった．

25℃で 24 時間保存した場合，エラ・内臓有り，無しどちらの検体からもヒスタミンが検出されたが，エラ・内臓有りの検体の濃度は無しの検体の約 20 倍と高濃度であった（図 3）．

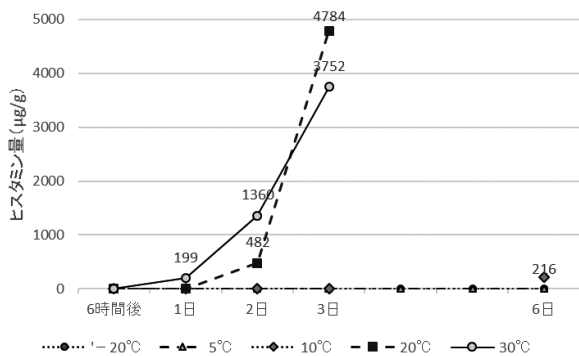


図2 *R. planticola* 接種後のヒスタミン量の推移

なお、このウルメイワシからは腸内細菌科細菌の *M. morgani* が検出された。

3 *R. planticola* 接種後、調味料に漬け込んだ時のヒスタミン量の推移

5, 10°Cで11日間保存したところ、いずれの検体からもヒスタミンは検出されなかった。

考察

菌液接種後に各温度下で経時的にヒスタミン生成量を測定した結果、30°C保存では24時間、20°C保存では48時間経過した検体からヒスタミンが検出され、時間の経過と共に値が上昇することを確認した。保存温度が高いほど、より短時間でヒスタミンが検出され、最短で24時間が経過した検体でFAO/WHO 合同専門家会議が提唱する食品中のヒスタミン最大許容濃度 200 mg/kg に近い値が検出された。一方で-20°C, 5°C保存では菌液接種から6日が経過した検体からもヒスタミンは検出されなかった。これは今回用いた *R. planticola* が腸内細菌科細菌で、至適増殖温度が中温域であることから、低温では増殖できず、ヒスタミンも生成されなかったと考えられる。

また、エラや内臓の影響を調査した結果でも5°C保存ではエラ、内臓の有無に関わらず、72時間経過してもヒスタミンは検出されなかった。

25°C保存では24時間が経過したエラ、内臓有りの検体で、無しの検体の約20倍のヒスタミンが検出されたことから、漁獲後速やかにエラ、内臓を除去することで、その後のヒスタミン生成を

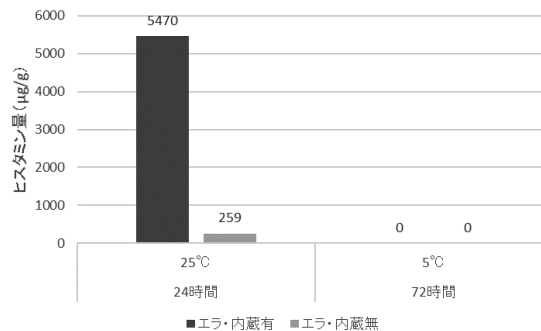


図3 エラ、内臓の有無によるヒスタミン量の推移

抑えることができると示唆された。しかしながら、24時間が経過したエラ、内臓無しの検体からも200 mg/kg を超えるヒスタミンが検出されており、鮮魚でかつエラ、内臓を取り除く処理をしたとしても、高温保管等の条件次第ではヒスタミンが生成され食中毒が発生することもあり得る。

調味液を加えた検体では10°C保存で11日経過してもヒスタミンは検出されなかった。塩分濃度が7.5%でヒスタミン生成を抑制するとの報告があることから²⁾、調味液中の醤油(今回の調査では塩分濃度約8%)によりヒスタミン生成が抑制されたと考えられる。

今回調査を行ったいずれの検体でも、5°C以下で保存した場合には、ヒスタミン産生菌存在下であってもヒスタミンの生成は確認できなかった。このことから、今回菌液として用いた *R. planticola* によるヒスタミン食中毒を予防するためには、冷凍あるいは5°C以下での保存を維持することが望ましいと考えられる。しかしながら、ビブリオ科細菌の *P. phosphoreum* がヒスタミン産生に関与する場合、5°Cで保管しても5日以内にヒスタミンを検出したとの報告¹⁾ もあること、また今年度の食中毒原因菌である *P. damsela* について今回調査ができなかったため、今後はこれらについても検討していきたい。

文献

- 1) 藤井建夫：ヒスタミン食中毒の現状と対策 (2009)
- 2) 山本雄三 他：食品と微生物, 7, 3, (1991)