

へしこ中のヒスタミン生成に関する研究（その2） ～不揮発性アミン類含有量実態調査～

六戸部真里・土屋小百合・柴田祐子・田中宏和

Contents of Non-Volatile Amines in the Fermented Food “HESHIKO”

Mari MUTOBE, Sayuri TSUCHIYA, Yuko SHIBATA, Hirokazu TANAKA

1. はじめに

ヒスタミンは、食品中に含まれるアミノ酸であるヒスチジンから生成される化学物質で、ヒスタミンによる食中毒は例年全国で10件程度（患者数200人程度）報告されている。食品に含まれるヒスタミンの基準値は、日本では設定されていないが、Codexでは衛生および取扱基準としてヒスチジンを多く含む魚種の加工品を対象に20mg/100g、発酵食品である魚醬には40mg/100gを定めている。ヒスチジンは、サバやイワシ等の赤身魚に多く含まれ、これらの魚を常温に放置する等、不適切な温度管理が行われると、細菌（ヒスタミン生成菌）が増殖し、この細菌が持つヒスチジン脱炭酸酵素によってヒスタミンが生成される。ヒスタミンは熱に安定であることから、一度生成されると加熱調理によっても分解されず、多量に摂取した際には、アレルギー様症状を発症する。またヒスタミンと共存する不揮発性アミン類を同時に摂取することによりヒスタミンの代謝酵素が阻害され、毒性が強くなると言われている。¹⁾そこで、福井県の特産品である「へしこ」は、サバを塩漬けにし、さらに糠漬けにする発酵食品であり、細菌の生育に好条件の環境で作られていることから、今回、へしこ中のヒスタミン生成に関する研究（その1）の検討で得られた分析法を用いて、県内産へしこ製品について不揮発性アミン類の含有量実態調査を行ったので、その結果を報告する。

2. 方法

2.1 試料

県内産へしこ10製品A～Jを選定し、ロットによる違いも調査するため同製品を令和3年度および令和4年度に1検体ずつ購入した。よって10製品計20検体の実態調査を行った。

また不揮発性アミン類の含有量に影響が出ないよう、すべての検体は入手してから検査まで-20度の冷凍庫で保管していた。

2.2 測定対象不揮発性アミン類

アグマチン(Agm)、カダベリン(Cad)、ヒスタミン(Him)、フェネチルアミン(Phm)、プトレシン(Put)、スペルミジン(Spd)、トリプタミン(Tpm)、チラミン(Tym)

2.3 試薬および器具

標準品は、アグマチン硫酸塩はTrc Canada製、カダベ

リン二塩酸塩、ヒスタミン二塩酸塩、2-フェネチルアミン、プトレシン二塩酸塩、スペルミジンおよびチラミン塩酸塩は富士フィルム和光純薬(株)製、トリプタミンはSigma-Aldrich製を用いた。

アセトニトリル、メタノール、ギ酸、1mol/Lギ酸アンモニウム溶液、塩酸は富士フィルム和光純薬(株)製、超純水はメルク(株)製の超純水製造装置MILLIPORE Advantage3&Referenceにより精製したものをを用いた。

固相カラムはWaters製のSep-Pak Vac 6cc(500mg) C18 Cartridges、メンブレンフィルターはアドバンテック東洋(株)製のDISMIC 13HP 0.20μmを使用した。

2.4 分析方法

2.4.1 試料の採取および前処理

図1のとおり。

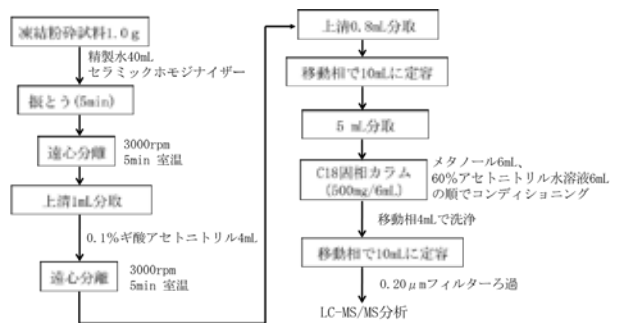


図1 分析方法のフローチャート

2.4.2 測定条件

表1のとおり。

表1 LC-MS/MS 測定条件

装置	LC部：Prominence 20A（株島津製作所製） MS部：3200Q TRAP（SCIEX社製）
カラム	Xbridge BEH HILIC (Waters社製, 2.1×150mm, 5μm) カラム温度：40℃
イオン化法	エレクトロスプレー法
流速	0.4mL/min
注入量	10μL
移動相	500mM ギ酸アンモニウム (pH4.0) : アセトニトリル : 水 : メタノール = 10 : 60 : 10 : 20

3. 結果と考察

表2 不揮発性アミン類含有量

($\mu\text{g}/\text{g}$)

製品	Agm	Cad	Him	Phm	Put	Spd	Tpm	Tym
A (R3)	10	ND	1,554	98	42	ND	ND	926
A (R4)	21	ND	268	22	38	87	ND	346
B (R3)	6	ND	2,010	15	91	ND	34	161
B (R4)	16	ND	1,118	35	ND	ND	ND	165
C (R3)	4	2	1,347	ND	37	ND	ND	ND
C (R4)	13	ND	547	10	ND	ND	1	205
D (R3)	7	ND	78	ND	ND	ND	ND	ND
D (R4)	5	ND	532	12	ND	30	13	200
E (R3)	5	86	2,752	118	553	ND	25	202
E (R4)	24	ND	25	ND	ND	51	ND	ND
F (R3)	8	ND	ND	ND	40	ND	ND	ND
F (R4)	17	ND	ND	ND	48	31	ND	ND
G (R3)	4	ND	123	ND	35	ND	ND	ND
G (R4)	11	5	544	ND	ND	30	ND	ND
H (R3)	3	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
H (R4)	7	ND	ND	ND	25	ND	ND	ND
I (R3)	5	ND	71	ND	46	ND	ND	ND
I (R4)	10	ND	5	ND	ND	ND	ND	ND
J (R3)	3	ND	102	ND	ND	29	ND	ND
J (R4)	10	ND	ND	ND	ND	44	ND	ND
ND<	0.5	0.5	1	1.5	25	25	0.5	25

20 検体について、不揮発性アミン類の含有量を調査した結果を表2に示した。

Himの検出率は75%、含有量はND~2,752 $\mu\text{g}/\text{g}$ とその他不揮発性アミン類に比べ高く検出され、製品間およびロット間において含有量に差が生じた。特にロット間で差が大きく生じたのはEの製品であり、E(R3)の検出量は2,752 $\mu\text{g}/\text{g}$ と20検体のうち最高値を示したが、E(R4)の検出量は25 $\mu\text{g}/\text{g}$ と低い値を示した。一方、F、H、I、Jの製品については、両ロットも不検出またはわずかな検出であり、その他不揮発性アミン類の含有量も低かった。

このことから、へしこの加工段階において、ヒスタミン生成菌が増殖するかどうかにより含有量に差が生じると考えられる。

また、Him量の多い検体は、その他不揮発性アミン類の含有量も高い傾向を示した。ただし、A(R3)とC(R3)のようにHim量が同程度の検体であっても、その他不揮発性アミン類の含有量を比較すると差があることがわかる。これら不揮発性アミン類を同時に摂取することによりHimの代謝酵素が阻害され、毒性が強くなると言われていることから、C(R3)に比べてA(R3)の製品を摂取した場合に、健康被害のリスクが高くなると考えられる。

4. まとめ

今回、へしこ中のヒスタミン生成に関する研究(その1)の検討で得られた分析法を用いて、県内産へしこ製品について不揮発性アミン類の含有量実態調査を行った。

お酒のアテやお茶漬けに使用されるへしこは、塩分を多く含むことから、一度に喫食する量は少ないとみられ、仮に一度の喫食量を10g程度と想定した場合、今回調査した

検体の中にはHimの無毒性量50mgに達する含有量の検体はなかった。しかし、検体ごとのばらつきが大きいことや、Codexの魚醤の基準を超えるHim量の検体もあったことから、へしこによる健康被害のリスクは無視できないと考える。さらに、Himに対する感受性は個人差が大きいことや、その他不揮発性アミン類による影響も考慮しなければならない。

HimについてはCodexにおいて基準値が設定されているが、その他不揮発性アミン類については基準値が設定されておらず、その含有量実態はほとんど明らかにされていない。そのため、Himと不揮発性アミン類を同時に分析し、これらの含有量を把握することも重要と考える。

へしこの製造において、Himの生成は危害要因の一つであり、不揮発性アミン類のモニタリングと併せて加工段階での衛生管理のあり方について検証する必要があると考える。

今後は、得られた結果を保健所等と共有し、県内製造業者のHACCP管理の向上に繋げていきたい。

参考文献

- 1) 井部明弘：発酵食品に含まれるアミノ類，東京都健康安全研究センター研究年報，55，13~22（2004）
- 2) 国際連合食糧農業機関(FAO)/世界保健機関(WHO)：Joint FAO/WHO Expert Meeting on the Public Health Risks of Histamine and other Biogenic Amines from Fish and Fishery Products, Joint FAO/WHO Expert Meeting Report；(2013)
http://www.fao.org/fileadmin/user_upload/agns/pdf/Histamine/Histamine_AdHocfinal.pdf