

研究者 (所属・氏名) : 保健衛生部 六戸部真里

|                 |  |                   |
|-----------------|--|-------------------|
| 研究課題名<br>(終了)   | へしこ中のヒスタミンに関する研究   | コードNO.<br>III-B-2 |
| 共同研究者<br>(担当分野) | 土屋 小百合 (令和 2~3 年度)<br>柴田 祐子 (令和元年度)<br>田中 宏和 (調整)  |                   |
| 研究期間            | 令和元年度から令和 4 年度まで (4 年間)  |                   |
| 研究成果<br>の概要     | <p>1. 背景と目的</p> <p>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。日本では食品に含まれるヒスタミンの基準値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。</p> <p>一方、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。実際、過去に県内で流通する魚が主原料の糠発酵食品のヒスタミン含有量を調査したところ、高濃度のヒスタミンが検出されている。しかし、この調査は単年度で終結しており、同時に喫食するとリスクが増加する不揮発性アミン類に関する情報は無い。</p> <p>今回、ヒスタミンを含む不揮発性アミン類の一斉分析法を確立し、県内産へしこ製品について含有量実態調査を行ったので、その概要を報告する。</p> <p>2. 不揮発性アミン類の一斉分析法の検討</p> <p>LC-MS/MS を用いたヒスタミンを含む 8 種類の不揮発性アミン類の一斉分析法を以下のとおり確立した。</p> <p>1) 対象化合物</p> <p>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)</p> |                   |

## 2) LC-MS/MS 測定条件

|       |  |
|-------|--|
| 装置    | LC部：Prominence 20A（株式会社島津製作所製）<br>MS部：3200Q TRAP（SCIEX社製）  |
| カラム   | Xbridge BEH HILIC<br>（Waters社製，2.1×150mm，5μm）<br>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) 検量線の範囲・直線性および機器定量限界

Agm、Cad、Him、Tpmは0.1～50ng/mL、Phmは0.3～50ng/mL、Put、Spd、Tymは5～50ng/mLの範囲で相関係数が0.9997以上の良好な直線性が得られた。その結果を表1に示す。

また、すべての不揮発性アミン類の検量線の下限値のS/N比は10以上を満たしており、検量線の範囲内で定量が可能であることを確認できた。

表1 検量線範囲・直線性

|     | 保持時間<br>(min) | 相関係数   | 定量下限濃度の<br>S/N比 | 範囲<br>(ng/mL) |
|-----|---------------|--------|-----------------|---------------|
| Agm | 2.04          | 1.0000 | 30.9            | 0.1-50        |
| Cad | 2.13          | 0.9999 | 20.8            | 0.1-50        |
| Him | 1.82          | 0.9997 | 150             | 0.1-50        |
| Phm | 1.33          | 0.9997 | 10.7            | 0.3-50        |
| Put | 2.16          | 1.0000 | 25.5            | 5-50          |
| Spd | 3.85          | 0.9997 | 81.0            | 5-50          |
| Tpm | 1.31          | 0.9999 | 11.6            | 0.1-50        |
| Tym | 1.30          | 0.9999 | 17.8            | 5-50          |

## 4) 前処理法

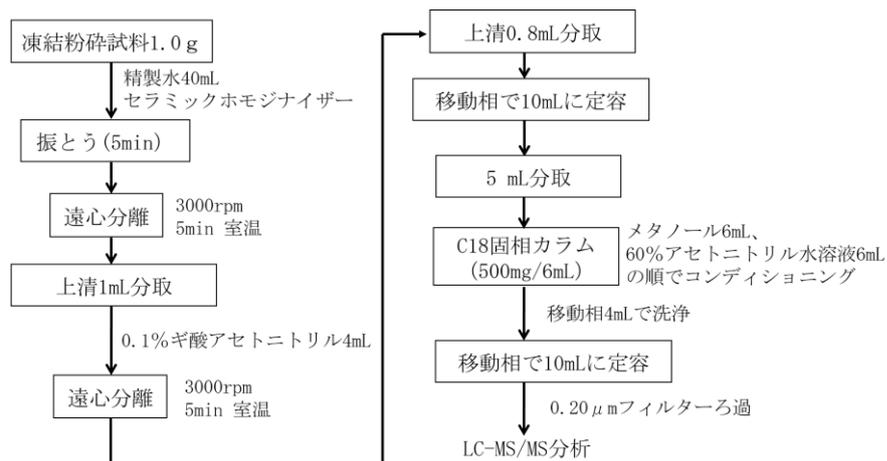


図1 前処理フロー

マトリックス効果を軽減させる対策としてC18固相カラムを使用した精製工程を含む前処理フローを図1に示す。また、ヒスタミンについては、他の対象不揮発性アミン類に比べ、マトリックス効果の影響を強く受けていることが分かったためヒスタミンのみ最終試料溶液を移動相を用いて2倍希釈して測定する。

### 5) 妥当性評価

試料 1.0 g に対して、対象不揮発性アミン類を 100ppm 添加し、分析者 1 名が 2 併行 5 日間で行った。その結果を表 2 に示す。

表 2 妥当性評価結果

|               | 選択性 | 真度 (%) | 併行精度 (RSD%) | 室内精度 (RSD%) |
|---------------|-----|--------|-------------|-------------|
| Agm           | ○   | 104.5  | 2.4         | 2.8         |
| Cad           | ○   | 88.1   | 5.7         | 6.7         |
| Him           | ○   | 71.3   | 2.6         | 2.9         |
| Phm           | ○   | 91.5   | 4.5         | 4.6         |
| Put           | ○   | 91.4   | 9.1         | 9.4         |
| Spd           | ○   | 105.7  | 6.6         | 11.8        |
| Tpm           | ○   | 75.3   | 4.8         | 5.5         |
| Tym           | ○   | 75.9   | 8.5         | 11.4        |
| ガイドライン<br>目標値 | —   | 70~120 | 10 未満       | 15 未満       |

全ての対象不揮発性アミン類において、選択性、真度、併行精度および室内精度について、「食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドライン」の評価項目の目標値を満たす良好な結果であった。

### 3. へしこ製品中のヒスタミン含有量実態調査

#### 1) 方法

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に、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) 結果・成績

20 検体のヒスタミン含有量の測定結果を図 2 に示す。

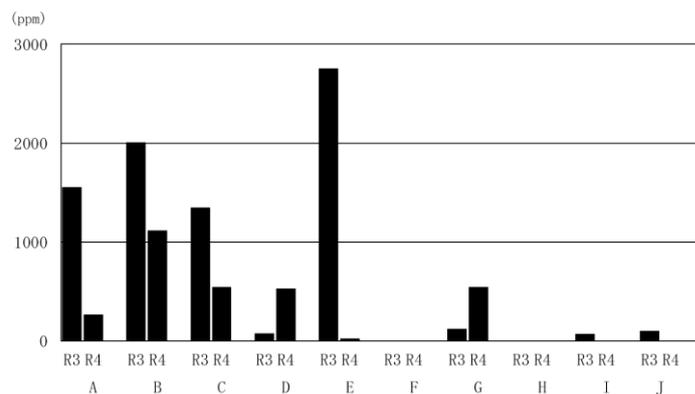


図 2 ヒスタミン含有量

ヒスタミンの検出率は 75%、含有量は ND~2,752ppm 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、R3 年度に購入した検体は 2,752ppm と 20 検体のうち最高値を示したが、R4 年度に購入した検体は 25ppm 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。

次に、ヒスタミンを含む不揮発性アミン類の測定結果を図3に示す。

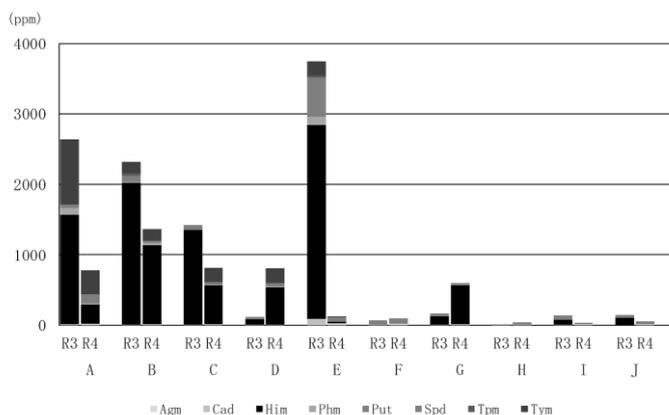


図3 不揮発性アミン類含有量

ヒスタミン量の多い検体は、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とCのR3年度に購入した検体を比較すると、ヒスタミン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には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ことから、Cに比べてA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。

### 3) まとめ

今回、ヒスタミンを含む不揮発性アミン類の一斉分析法を確立し、県内産へしこ製品について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ヒスタミンの無毒性量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ヒスタミン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、ヒスタミン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。

ヒスタミンについては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、ヒスタミン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、ヒスタミン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。

|                                    |  |                        |               |
|------------------------------------|--|------------------------|---------------|
| 実現した、<br>または期待さ<br>れる成果            | 1. 県民生活や産業社会への波及効果<br>食品の安心安全の確保やブランド力の向上                |                        |               |
|                                    | 2. 業務遂行のレベルアップへの寄与等<br>ヒスタミン検査体制の整備、分析技術の習得              |                        |               |
| 今後の対応<br>および計画                     | ヒスタミンを含む不揮発性アミン類の一斉分析法を確立したことで、ヒスタミン食中毒発生時に迅速な対応が可能となった。 |                        |               |
| 外部（県民等）<br>への効果的な<br>発信実績<br>（予定可） | 題名   | 発信媒体、方法等               | 発信年月          |
|                                    | サバを用いた糠発酵食品<br>「へしこ」中のヒスタミ<br>ンについて                      | 令和4年度東海・北陸支部衛生<br>化学部会 | 令和5年2月        |
|                                    | へしこ中のヒスタミンに<br>関する研究                                     | 福井県衛生環境研究センター所<br>報    | 令和5年度<br>（予定） |
| 備 考                                |  |                        |               |