

# 魚のヒスタミンによるアレルギー様食中毒に関する研究Ⅱ —うるめいわし丸干しの塩分濃度及び保存温度とヒスタミン生成の関係—

江頭 勝<sup>1</sup>・中嶋昌徳<sup>1</sup>・西田政司<sup>1</sup>

## Causal Substance of Allergic Food Poisoning by Histamine in Fish 2) Relationship between Salinity, Temperature and Histamine in Cured Fish

Masaru EGASHIRA, Masanori NAKASHIMA and Seiji NISHIDA

### 要 旨

魚介類加工品のヒスタミンが原因となって起こるアレルギー様食中毒の原因を究明するため「うるめいわし丸干し」を用いて再現調査を行った。

1.4 ~ 3.8%の異なる塩分濃度のうるめいわし丸干しを作成し、5℃及び15℃で8日間保存したときのヒスタミン濃度は、塩分濃度が高く保存温度が低いものほど低かった。うるめいわし丸干しを15℃で保存した場合はヒスタミンが食中毒を起こす恐れがある濃度になる前に腐敗してしまい食用に供する機会は少ないが、5℃で保存したときは鮮度の低下が遅いためヒスタミンが増加した後に食用に供され、ヒスタミンによる食中毒が発生する可能性があることが判明した。

また、ヒスタミンが生成した丸干しを-30℃で30日間冷凍保存したところ、ヒスタミンは増加したがアンモニアは増加しなかった。つまりうるめいわし丸干しでは、ヒスタミン生成後長期間冷凍すると、鮮度の低下はないがヒスタミン濃度が増加する状況となりアレルギー様食中毒が発生する可能性があることが判明した。

**Key Words :** アレルギー性食中毒 Allergic food poisoning, ヒスタミン Histamine, ヒスチジン Histidine, うるめいわし Big-eye sardine, 塩干魚 Cured fish, キャピラリー電気泳動 Capillary electrophoresis

### I はじめに

前報で鮮魚(シマアジ)を用いて保存温度とヒスタミン蓄積の関係を調査したが、平成11年11月に福岡市内でうるめいわし丸干し(塩蔵品)を摂食し、成人2名がアレルギー症状を呈するという食中毒事件が発生した。塩蔵魚は鮮魚に比べて鮮度の低下が遅いため長期間食用に供されるし、保存温度の管理も不備になりがちである。

今回は、塩蔵魚による食中毒再発の防止を目的として、塩蔵魚の塩分濃度がヒスタミンの生成に及ぼす影響及び冷蔵冷凍保存時のヒスタミンの挙動を調査し、若干の知見を得たので結果を報告する。

### II 方法

#### 1 試 薬

ヒスタミン標準品：和光純薬工業(株)製特級

ヒスチジン標準品：和光純薬工業(株)製特級

ヒスタミン、ヒスチジン標準溶液：ヒスタミン及びヒスチジン標準品50mgを3%トリクロル酢酸で50mlに定容して標準原液とし、適宜、3%トリクロル酢酸で希釈して標準溶液とした。

アンモニア性窒素標準液：塩化アンモニウム0.3819gを水に溶かして1lとし、標準溶液とした。

トリクロル酢酸、ほう酸、炭酸カリウム、硫酸、フェノール、クエン酸三ナトリウム、水酸化ナトリウム、プロパノール、エチルアルコール、ニトロプルシドナトリウム：市販の特級試薬を使用した。

1. 福岡市保健環境研究所 理化学課

## 2 装置

キャピラリー電気泳動(CE)装置：ヒューレット・パッカード社製，HP-3DCE システム G1600(フォトダイオードアレイ検出器付)

分光光度計：島津製作所製，UV-240

## 3 CE測定条件

カラム：フューズドシリカ(75  $\mu\text{m}$  i.d.×有効長 56cm, 全長 64.5cm),

泳動液：0.05mol/l リン酸緩衝液 pH2.5,

電圧 30KV(Positive),

キャピラリー温度：20℃,

試料注入量：20000Pa·s(加圧),

分離モード：キャピラリーゾーン電気泳動

検出波長：210nm

キャピラリーのコンディショニング：試料注入ごとに泳動液で5分間フラッシング

## 4 検査方法

試料 5g に 3%トリクロル酢酸(TCA)を加えホモジナイズし<sup>1)</sup>，全量を 3%TCA で 50ml に定容し，遠心分離後 50ml の蒸留水で水洗した 5A ろ紙でろ過し，ろ液を試料とした。

### 1) ヒスタミン及びヒスチジン

試料を 0.2  $\mu\text{m}$  ディスポーザブルフィルターでろ過し，ろ液を CE 法<sup>2)</sup> で測定した。

### 2) アンモニア性窒素

試料の適量を取り，1mol 水酸化ナトリウムで pH を中性に調整し，インドフェノール青法<sup>3)</sup> で測定した。

### 3) 塩分

硝酸銀滴定法<sup>4)</sup> で測定した。

## 5 試料

### 1) 冷蔵及び常温保存したときの経日変化調査用試料

福岡市中央卸売市場に入荷した直後の新鮮なうるめいわし(ヒスタミン 50ppm 未満，塩分 0.9%，体重 130～200g)を 5%，10%，15%，25%塩水に 3 時間浸漬し，塩抜きのため 10 分間水洗後内臓を除去し，22℃恒温室内で 15 時間送風乾燥し，5，15℃に保存して当日～8 日後までの経日変化の調査用試料とした。

### 2) 冷凍保存したときの経日変化調査用試料

1) で作成したうるめいわし丸干しのうち塩分濃度 3.3%及び 3.8%のものを 5℃で数日間保存してヒスタミンを 100～500ppm 程度生成させた後，-30℃で保存し

て冷凍保存時の経日変化調査用試料とした。

## III 結果と考察

### 1 食中毒の状況

1) 発生日時：平成 11 年 11 月 21 日 12 時 30 分

2) 発生場所：福岡市東区和白丘

3) 摂食者数：成人 2 名(男 1 名，女 1 名)

4) 患者数：成人 2 名(男 1 名，女 1 名)

5) 死者数：0 名

6) 原因食品：うるめいわし丸干し

7) 原因物質：ヒスタミン(推定)

8) 発生及び回復状況：21 日 12 時頃うるめいわし丸干しを焼いて食べた成人 1 名が食後 30 分以内に顔面及び上半身が紅潮し，発疹，頭痛，1 名は胸が紅潮し，水溶性下痢の症状を呈した。

### 9) 製造工程及び流通状況

うるめいわし丸干しは 10 月 8 日 7:00～10:00 に山口県仙崎港で購入。10%塩水で氷漬けにして，鹿児島県久根市の工場へ運搬。同日 16:00 に 10%の塩水にいわしを入れながら塩を加え，最終的に塩分濃度を 15%にして 15 時間塩漬けした。その後塩抜きを兼ねて真水で 10 分間洗浄し，乾燥庫内にて 22℃で 12 時間送風乾燥した後，トレイパックに包装して-20℃～-30℃で冷凍保管し，当該販売店に 11 月 16 日及び 19 日に出荷したもの。

販売店はこれを 10℃のショーケース内で販売した。

患者はこれを 19 日に購入後，フリーザーで保管した後，21 日 12:00 頃摂食した。

### 2 原因食品うるめいわし丸干し中のヒスタミン濃度

原因食品と考えられたうるめいわし丸干しの残品のヒスタミン・ヒスチジン・アンモニア及び塩分を測定した。結果を表 1 に示す。

表 1 うるめいわし丸干しの残品のヒスタミン・ヒスチジン・アンモニア及び塩分濃度

食品	ヒスタミン (ppm)	ヒスチジン (ppm)	アンモニア (ppm)	塩分 (%)
残品1	3,000	3,400	41	2.8
残品2	4,400	2,400	46	2.7

一般にヒスタミンが 4,000ppm 以上含まれているとアレルギー様食中毒が発生するといわれているが，カダバリンなどのアミノ酸共存下で 1,000ppm 程度でも食中毒を起こすことが報告されている<sup>5)</sup>。日本での発症例がほ

とんど 2,000ppm 程度以上であることから、2,000ppm をアレルギー様食中毒発生の恐れのある濃度とした。

残品のヒスタミン濃度は 3,000 及び 4,400ppm であり、残品中には食中毒を発生させるのに十分な濃度のヒスタミンが含有されていたことになる。またアンモニアは 41 及び 46ppm であり、鮮度は良好であると判断された。

### 3 塩分濃度と保存温度がヒスタミン生成に及ぼす影響

食中毒の原因食品と考えられたうるめいわし丸干しの残物は鮮度が良好で、しかも比較的高い塩分濃度であったにもかかわらず、ヒスタミンが高濃度に含まれていたことに注目し、II 5 1)の方法で異なる塩分濃度のうるめいわし丸干しを製造し、塩分濃度別、保存温度別のヒスタミン・ヒスチジン・アンモニア濃度の経日変化を求めた。

試験に供したうるめいわし(130～200g)のヒスタミン濃度は 50ppm 以下、塩分は 0.9%であったが、製造後の塩分濃度はそれぞれ 1.4, 2.7, 3.3, 3.8%となり、ヒスタミンは 140, 160, 100, 120ppm であった。これを 15℃及び 5℃で保存したときの保存当日から 8 日目までのヒスタミン・ヒスチジン・アンモニア濃度の変化を表 2, 3 に示した。

表 2, 3 より塩分濃度が高いほどヒスタミン・アンモニアの生成速度は速くなり、保存温度が低いほどその生成速度は遅くなることがわかる。

15℃で保存した場合、塩分濃度が 1.4%ではヒスタミンは 4 日目まで約 1,000ppm/日ずつ増加したが、ヒスチジンがなくなったため 4 日目で増加は停止し、さらに代謝が進むにつれ逆にヒスタミンは分解され減少した。

アンモニアの生成も速く、アンモニア濃度を鮮度の指標である VBN として捉えると<sup>6)</sup>、4 日目で 550ppm と腐敗に達した。4 日目のヒスタミンは 4,000ppm に達しているが、アンモニア濃度を考慮すると食用に供する事はないと思われるので、ヒスタミンによる食中毒が発生する可能性はないと判断された。

塩分濃度が 2.8%以上でアンモニア濃度が 500ppm を超えた腐敗状態時のヒスタミン濃度は何れも 2,600ppm 以下であり、ヒスタミンによる食中毒が発生する可能性はないと判断された。

5℃で保存した場合、塩分濃度が 1.4%では 8 日目でヒスタミンが 2,500ppm、アンモニアが 310ppm で初期腐敗となった。塩分濃度 2.8%以上では 8 日目でもアンモニア濃度は 220～250ppm で鮮度は保たれており、ヒスタミンも 1,500ppm 以下で、1 週間程度ではヒスタミンによる食中毒が発生する可能性は低いと判断された。

表2 塩分濃度1.4, 2.7, 3.3, 3.8%のうるめいわし丸干しを15℃で保存したときのヒスタミン・ヒスチジン・アンモニア濃度の経日変化

塩分 (%)	保存期間 (日)	ヒスチジン (ppm)	ヒスタミン (ppm)	アンモニア (ppm)
1.4	0	4,800	140	52
	1	1,500	2,600	220
	2	440	3,100	280
	4	300	4,000	550
	6	0	3,900	1,100
	8	0	3,500	2,600
2.8	0	5,300	160	72
	1	2,600	1,500	200
	2	2,400	1,600	240
	4	1,700	2,400	540
	6	1,300	2,700	860
	8	1,200	3,000	1,900
3.3	0	4,800	100	70
	1	3,800	650	160
	2	3,600	910	180
	4	2,900	1,900	290
	6	2,700	1,800	380
	8	1,800	2,600	700
3.8	0	4,700	120	37
	1	4,200	390	140
	2	4,100	430	180
	4	3,300	1,300	270
	6	2,100	1,900	390
	8	2,400	2,200	560

表3 塩分濃度1.4, 2.7, 3.3, 3.8%のうるめいわし丸干しを5℃で保存したときのヒスタミン・ヒスチジン・アンモニア濃度の経日変化

塩分 (%)	保存期間 (日)	ヒスチジン (ppm)	ヒスタミン (ppm)	アンモニア (ppm)
1.4	0	4,800	140	52
	1	3,700	570	90
	2	2,700	1,500	130
	4	2,500	2,500	150
	6	1,700	2,600	190
	8	1,700	2,500	310
2.8	0	5,300	160	72
	1	4,500	320	92
	2	4,000	580	120
	4	3,900	1,100	150
	6	3,200	1,200	170
	8	3,000	1,500	250
3.3	0	4,800	100	70
	1	4,800	430	87
	2	4,800	670	130
	4	4,100	1,100	160
	6	3,600	1,300	190
	8	3,500	1,200	220
3.8	0	4,700	120	37
	1	4,400	150	110
	2	4,500	360	130
	4	4,000	430	190
	6	4,200	680	190
	8	3,800	790	230

今回の食中毒を起こしたとされるうるめいわし丸干しの残品検査結果(表 1)と表 2, 3 の調査結果を比較すると、残品の塩分濃度は 2.7 及び 2.8%でアンモニア濃度は 41 及び 46ppm であるから、鮮度は極めて良好であり、温度管理に問題はなかったと判断された。

しかし、残品のヒスタミン濃度は 3,000 及び 4,400ppm と高いことから冷凍する前にうるめいわしにヒスタミンを生成しており、冷凍保存期間中にヒスタミンが増加したのではないかと推察された。

#### 4 冷凍保存したうるめいわし丸干しのヒスタミンの経日変化

そこでヒスタミン濃度 100 ~ 500ppm 程度のうるめいわし丸干しを -30℃で冷凍保存したときのヒスタミンの経日変化を調査し、その結果を表 4 に示す。

アンモニア濃度は 30 日目まではほとんど変化しなかったが、ヒスタミン濃度は 30 日目には 920 ~ 1,400ppm まで増加した。

したがって今回の食中毒の原因は製造前あるいは製造中に何らかの原因でヒスタミンが生成し、冷凍期間中に徐々にヒスタミンが増加したものと推察された。

表4 ヒスタミンが生成した状態のうるめいわし丸干しを-30℃で冷凍保存したときのヒスタミンの経日変化

検体	測定項目	0日	30日
試料1	ヒスタミン(ppm)	<50	<50
	ヒスチジン(ppm)	5,300	5,400
	アンモニア性窒素(ppm)	60	60
試料2	ヒスタミン(ppm)	110	920
	ヒスチジン(ppm)	4,000	3,100
	アンモニア性窒素(ppm)	180	180
試料3	ヒスタミン(ppm)	460	1,400
	ヒスチジン(ppm)	4,700	4,000
	アンモニア性窒素(ppm)	250	250

#### IV ま と め

うるめいわし丸干しのヒスタミンによって引き起こす

アレルギー様食中毒の原因を究明するために再現調査を行った。

1.4 ~ 3.8%の塩分濃度のうるめいわし丸干しを 5℃及び 15℃で 8 日間保存したときの経日変化を調べたところ、塩分濃度が高く保存温度が低いほどヒスタミン生成は少なかった。15℃で保存した場合はヒスタミンが 2,000ppm に達する前に腐敗してしまい食用に供する機会は少なくなるが、5℃で保存した場合は鮮度の低化が遅くなり、ヒスタミンが増加した後も食用に供され食中毒が発生する可能性があることが判明した。

また保存開始時にヒスタミンを生成していれば冷凍してもヒスタミンは増加するため、保存期間が長くなった場合はヒスタミンによる食中毒をおこす危険性があることが判明した。

福岡市中央卸売市場の水揚げ量は西日本有数であり、いわしを始め、あじ、さば等の水揚げ量も多く、それらの塩乾魚の取扱量も多い。したがって赤身魚の塩蔵品を製造する場合、保存開始時にヒスタミンが生成していないことを確認することや、必要以上に保存期間を長くしないことに注意することが必要であると考えられた。

最後に、本調査を実施するに当たり、うるめいわしの収集を行っていただきました福岡市食品衛生検査所の皆様に深謝いたします。

#### 文 献

- 1) 玉瀬喜久雄, 北田善三, 溝淵臈彦, 佐々木美智子: 食衛誌, 25, 525 ~ 529 (1984)
- 2) 中嶋昌徳, 杉山明子: 食衛誌, 40, 285 ~ 290 (1999)
- 3) 日本薬学会編: 衛生試験法・注解, 954 ~ 955(1990) 金原出版
- 4) 日本薬学会編: 衛生試験法・注解, 284 ~ 285(1990) 金原出版
- 5) 寺田安一: 腐敗中毒, 80(1971), 建帛社
- 6) 太田静行: 水産物の鮮度保持, 36 ~ 37(1991), 筑波書房