

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 I －しまあじ(鮮魚)の保存温度とヒスタミン生成の関係－

中嶋昌徳¹・江頭 勝¹・柳沼瑞江²

Causal Substance of Allergic Food Poisoning by Histamine in Fish

1) Relationship between Temperature and Histamine in Striped jack(Fresh Fish)

Masanori NAKASHIMA, Masaru EGASHIRA and Mizue YAGINUMA

要　旨

主に赤身の魚が原因となって起こるアレルギー様食中毒の原因物質であるヒスタミンの発生メカニズムを明らかにするため、シマアジを用いて再現調査した。

ミンチにしたシマアジを 5, 10, 15, 20 ℃で 4 日間保存したとき、ヒスタミンの生成及び鮮度低下の状況から 5 及び 10 ℃では食中毒が起こる可能性はなく、15 ℃では 2 ~ 3 日目、20 ℃では 1 ~ 2 日目に食中毒が発生する可能性があると考えられた。

シマアジを三枚におろして保存した場合、ミンチにしたときよりも鮮度の低下、ヒスタミンの増加は遅くなり、5 ℃, 10 ℃, 15 ℃では食中毒が起こる可能性はなく、食中毒が起こる可能性があるのは 20 ℃の場合だけであった。

ヒスタミンが生成された後 5 ℃で冷蔵保存したとき、時間の経過によるヒスタミンの顕著な増加はみられなかった。

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, シマアジ Striped jack, キャピラリー電気泳動 Capillary electrophoresis,

I は　じ　め　に

平成 11 年 3 月に福岡市内の病院内給食で、乳児及び幼児 19 名が調理したシマアジを摂食し、8 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。

食中毒の原因を明らかにするため、所轄の保健所において食中毒の発生状況と原因物質の調査を行うとともに、当所において食中毒再発の防止を目的としてシマアジ(鮮魚)の保存温度、保存期間、鮮度とヒスタミン生成濃度との関係を調査し、若干の知見を得たので結果を報告する。

II 方　法

1 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

2 CE測定条件

カラム：フューズドシリカ(75 μm 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

1. 福岡市保健環境研究所 理化学課

2. 福岡市中央区 衛生課

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

3 検査方法

試料 5g に 5% トリクロル酢酸 (TCA) を加えホモジナイズし⁵⁾、全量を 50ml に定容し、遠心分離後、50ml の蒸留水で水洗した 5C ろ紙でろ過し、ろ液を CE 試験溶液とした。

1) ヒスタミン及びヒスチジン

試験溶液を 0.2 μm ディスボーザブルフィルターでろ過し、ろ液を CE 法⁶⁾ で測定した。

2) アンモニア性窒素

試験溶液の適量をとり、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⁷⁾ で測定した。

3) VBN

コンウェイ拡散器を用いた微量拡散法⁸⁾ で測定した。

4 試料

1) 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シマアジを部位別、個体別のばらつきをなくすためにミニチにして遠沈管に 5g ずつ分取し、5, 10, 15, 20 ℃ に保存して当日～4 日後までの経日変化の調査用試料とした。

2) 冷蔵後のヒスタミンの挙動調査用試料

1) のシマアジを三枚におろして、キムタオルで水分を除去した後、ポリラップに包んでヒスタミンが検出されるまで 5, 10, 15, 20 ℃ に保存し、ヒスタミン検出後は 5 ℃ で冷蔵保存し、ヒスタミンの挙動調査に用いた。

コルクボーラーで背中側の筋肉に孔を開け、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 3 月 20 日 18 時 10 分～19 時

2) 発生場所 : 福岡市内 K 病院

3) 摂食者数 : 19 名 (0～12 歳)

4) 患者数 : 8 名 (男 6 名、女 2 名)

5) 死者数 : 0 名

6) 原因食品 : シマアジ切り身、煮付け、そぼろ

7) 原因物質 : ヒスタミン (推定)

8) 発生及び回復状況 : 20 日 18 時頃副食としてシマアジが含まれていた夕食を食べた 19 名の内 8 名が食後 10 分～1 時間で顔面紅潮、口の周りの発赤、じんまし

ん等の症状を呈した。

何れも症状は軽く、21 日 6 時までに全員が治癒した。

9) 流通状況

シマアジは 19 日に鮮魚店が仲卸業者から 4 尾を仕入れ、切り身にして冷蔵保管し、20 日に 2 尾分を当該病院に納入した。

病院は購入後調理するまで冷蔵保管した。

また、気温は 18 日は 13.4 ～ 22.8 ℃、19 日は 8.4 ～ 18.9 ℃、食中毒発生当日の 20 日は 6.3 ～ 9.9 ℃ であった。

2 原因食品(シマアジ)中のヒスタミン濃度

原因と考えられた食品残品のヒスタミン、原材料のシマアジ切り身のヒスタミン及び VBN を測定した。

結果を表 1 に示す。

表 1 原因食品と考えられた食品残品のヒスタミン濃度と原材料のヒスタミン濃度及び VBN

食 品	ヒスタミン (ppm)	VBN (ppm)
シマアジ切り身(原材料)	5100	550
シマアジ煮付け(食品残品)	6100	
シマアジそぼろ(食品残品)	6600～9900	

食品残品のヒスタミン濃度は 6100 ～ 9900 ppm であった。一般にヒスタミンが 4000 ppm 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ので⁹⁾、食品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。

また原材料の切り身はヒスタミン濃度が 5100 ppm で、鮮度の指標である VBN が 550 ppm であった。

食品残品の方が原材料よりもヒスタミン濃度が高いのは、ヒスタミンは調理程度の加熱によって分解されず、調理時の加熱により水分含量が低下したことが原因と思われた。

VBN はアンモニア性窒素やジメチルアミンやトリメチルアミンなどの揮発性の塩基性窒素をさしており、一般に新鮮な魚では 100 ppm 以下、300 ～ 400 ppm で初期腐敗、500 ppm 以上では腐敗しているといわれている¹⁰⁾。

したがって原材料はすでに腐敗しており、保管状態に問題があったのではないかと考えられた。

3 ミンチにしたシマアジの保存温度別の経日変化調査

そこで、試験室内で幾つかの温度下で、シマアジのヒスタミン、ヒスチジン及びアンモニア性窒素濃度と鮮度指標として VBN の経日変化を調査した。

結果を表2に示す。

5℃では4日間保存してもヒスチジン濃度は変わらず、ヒスタミンは生成されなかった。またVBNは140ppmであり、鮮度も良好な状態が維持された。

10℃に保存した場合はヒスチジン濃度は3日目までは変わらなかつたが4日目には4300ppmに減少した。ヒスタミンは最大で210ppmであり、4日間では食中毒が発生する濃度には至らなかつた。VBNは3日目に260ppm、4日目に600ppmまで増加し、4日目ではすでに腐敗した。したがつて10℃で保存した場合はヒスタミンが著しく増加する前に腐敗してしまうので、ヒスタミンによる食中毒は起つりにくいと思われた。

15℃に保存した場合は1日目まではヒスチジン濃度は変わらなかつたが、2日目で1400ppmまで減少し、3,4日目は検出されなかつた。一方ヒスタミンは1日目は100ppmであったが、2日目以後は食中毒を起こす可能性のある濃度にまで増加した。VBNは1日目及び2日目は200ppmで鮮度は良好であったが、3日目は440ppmで初期腐敗、4日目は1400ppmで腐敗した。

20℃に保存した場合は1日目からヒスチジンは2700ppmまで減少し、ヒスタミンは3700ppmまで増加した。一方VBNは1日目、2日目は400ppmで初期腐敗、3日目は1900ppmで腐敗した。

以上の結果からヒスタミンによる食中毒が発生する可能性があったのはヒスタミンが食中毒を起つうる濃度まで著しく増加し、しかも鮮度が良好あるいは初期腐敗程度である時期、即ち15℃で2~3日間及び20℃で1~2日間保存した時であった。

次に、ミンチにした場合と切り身にした場合ではヒスタミンの生成速度に違いがあることが予想される。またヒスタミンが冷蔵庫の中で保管中に増加した可能性もあることから、以下の実験を行つた。

表2 シマアジ(ミンチ)を5, 10, 15, 20℃で保存したときのヒスタミン、ヒスチジン、アンモニア性窒素及びVBNの経日変化

保存温度	項目	0日	1日	2日	3日	4日
5℃	Hsm(ppm)	0	0	0	0	0
	Hst(ppm)	7000	6900	7000	7300	7000
	NH4-N(ppm)	20	60	120	150	130
	VBN(ppm)	90	140	140	140	140
10℃	Hsm(ppm)	0	0	0	210	100
	Hst(ppm)	7000	7200	6900	6900	4300
	NH4-N(ppm)	20	60	120	140	170
	VBN(ppm)	90	140	140	260	600
15℃	Hsm(ppm)	0	100	4200	5200	3700
	Hst(ppm)	7000	6900	1400	0	0
	NH4-N(ppm)	20	80	130	380	360
	VBN(ppm)	90	200	200	440	1400
20℃	Hsm(ppm)	0	3700	5000	3800	3300
	Hst(ppm)	7000	2700	130	0	0
	NH4-N(ppm)	20	130	360	2400	920
	VBN(ppm)	90	400	400	1900	2800

4 三枚におろしたシマアジの保存温度別の経日変化調査とヒスタミン生成後に冷蔵したときのヒスタミンの挙動調査

今回の食中毒ではシマアジを調理するまでは切り身の状態で保存されていたので三枚におろしたシマアジの保存温度別の経日変化調査とヒスタミン生成後に冷蔵したときのヒスタミン濃度の変化を調査した。

結果を表3に示す。

5℃では11日目にヒスチジンは減少したが、ヒスタミンは生成しなかつた。またVBNは200ppm以下であり、鮮度の著しい低下はみられず、ミンチにしたときと同様ヒスタミンによる食中毒が起こることはないと考えられた。

10℃では9日目にヒスチジンが減少し始め、11日目にヒスタミンがわずかに生成した。VBNは7日目で300ppmになり、初期腐敗、11日目で510ppmで腐敗に達した。したがつて10℃で保存した場合はヒスタミンが生成するときはすでに鮮度が低下しているため、食中毒が発生する可能性はないと考えられた。

15℃では5日目にヒスタミンが生成した。一方5日のVBNは890ppmで腐敗していることから、15℃でもヒスタミンによる食中毒が発生する可能性はないと考えられた。

20℃では2日目にヒスタミンが生成し、VBNは290ppmとあまり鮮度が低下していないことから、ヒスタミンによる食中毒が発生する可能性があると考えられた。

このように三枚におろした場合はミンチにした場合に比べ部位別、個体別のばらつきがあるため数値が前後する場合があるものの、概ねミンチの場合と同様の傾向がみられた。

またヒスタミンの生成速度、VBNの増加速度は著しく遅くなつた。これは、ミンチにした場合は組織が破壊され、細菌が増殖しやすくなつたことが原因と考えられる。

鮮魚店から病院へは切り身の状態で納品されており、ヒスタミンの生成速度は三枚におろした場合に近いと推測されるので、鮮魚店での保存温度は20℃あるいはそれ以上だったのではないかと考えられる。

食中毒が発生した平成11年3月20日は福岡市の気温は最高でも9.9℃と低かつたが、前日は18.9℃、前々日は22.8℃まで気温が上がっており、室温に放置すればヒスタミンによる食中毒が最も起つりやすい状況であった。

つぎに、ヒスタミンの生成が確認された15℃の5日目以降と20℃の2日目以降に5℃で冷蔵保存したところ

ろ、ヒスタミンは緩やかに増加していくのが確認された。

しかし増加速度は遅いので、よほど長期間冷蔵保管しないかぎり、冷蔵中にヒスタミンが食中毒を起こす濃度に増加することはないとと思われた。

したがって、病院の冷蔵庫の中に保管された約半日の間にヒスタミンが増加したとは考えられず、鮮魚店あるいは仲卸業者で少なくとも2~3日間、20°C近くの室温で放置されている間に、ヒスタミンが食中毒を起こす濃度まで増えたものと推察された。

表3 シマアジ(三枚おろし)を5, 10, 15, 20°Cで保存したときとヒスタミンが検出されてから5°Cで保存したときのヒスタミン、ヒスチジン、アンモニア性窒素、VBNの経日変化

保存温度	項目	0日	2日	5日	7日	9日	11日
	Temp. (°C)	5°C	5°C	5°C	5°C	5°C	5°C
5°C	Hsm(ppm)	0	0	0	0	0	0
	Hst(ppm)	7000	9000	8200	9900	9500	7500
	NH4-N(ppm)	20	130	190	150	150	190
	VBN(ppm)	90	140	140	180	170	170
	Temp. (°C)	10°C	10°C	10°C	10°C	10°C	10°C
10°C	Hsm(ppm)	0	0	0	0	0	320
	Hst(ppm)	7000	8300	9600	9400	8200	7800
	NH4-N(ppm)	20	140	220	250	280	500
	VBN(ppm)	90	150	170	300	300	510
	Temp. (°C)	15°C	15°C	5°C	5°C	5°C	5°C
15°C	Hsm(ppm)	0	0	260	110	340	1700
	Hst(ppm)	7000	8700	8100	8600	8100	6500
	NH4-N(ppm)	20	150	1300	810	570	1100
	VBN(ppm)	90	150	890	870	640	1000
	Temp. (°C)	20°C	5°C	5°C	5°C	5°C	5°C
20°C	Hsm(ppm)	0	190	140	240	750	2000
	Hst(ppm)	7000	8400	8900	8200	7700	4800
	NH4-N(ppm)	20	210	300	190	250	640
	VBN(ppm)	90	290	210	230	340	530

5 VBNとアンモニア性窒素との比較

鮮度の指標の一つであるVBNはコンウェイ拡散器を用いた微量拡散法でアンモニアやジメチルアミン、トリメチルアミンなどの揮発性アミン類をアンモニア性窒素として測定するが、測定に時間がかかる、また滴定量が微量であるため精度が低いという問題がある。そこでアンモニア性窒素の測定法として一般に用いられているインドフェノール青法でVBNの代用ができるかどうかを表2及び表3のVBNとアンモニア性窒素の結果を基に比較検討した。

表2,3の全ての結果を比較したところ、図1に示すようにVBNが500ppm以上になるとVBNとアンモニア性窒素の値に大きな差がみられた。これは腐敗が進むとアンモニアの他にトリメチルアミンなどの揮発性のアミン類や揮発性の有機酸が生成されるためであろうと考えられた。

そこで魚が腐敗したと判断されるVBN500ppmまでのVBNとアンモニア性窒素の値を比較したところ、図2に示すように両者の間には

$$NH_3-N = 0.89 \times VBN - 24 \quad r=0.73$$

という関係が得られた。

したがって魚が腐敗に達するVBN500ppmまではVBNは概ねアンモニア性窒素で評価することができると判断した。

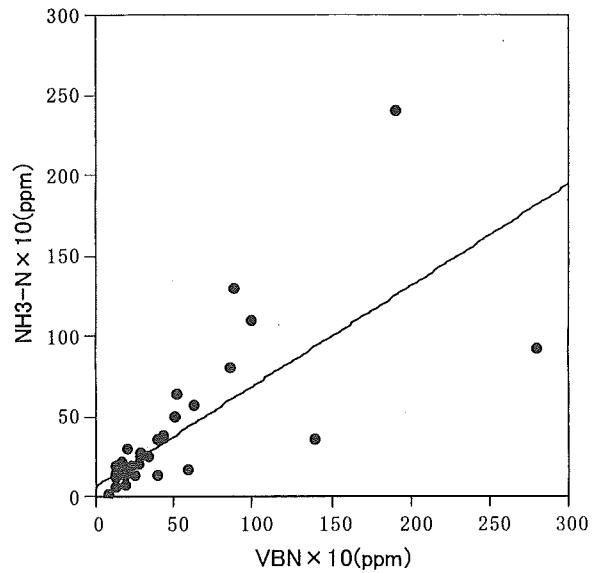


図1 しまあじのアンモニア性窒素とVBNの関係

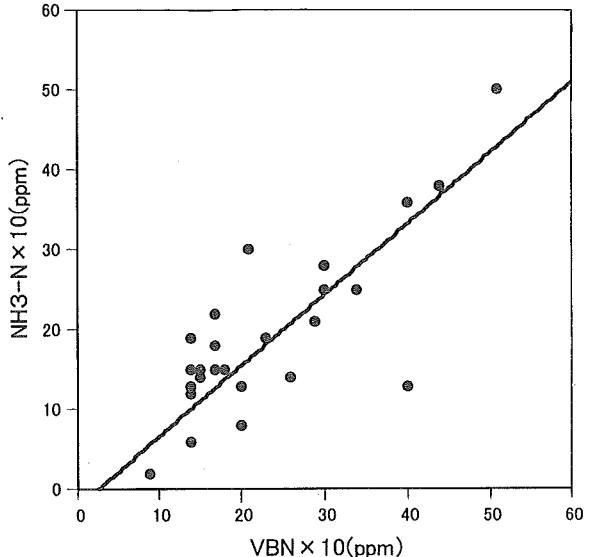


図2 しまあじのVBNが50mg%以下のときのアンモニア性窒素とVBNの関係

IV まとめ

シマアジによって引き起こされたアレルギー様食中毒の発生メカニズムを明らかにするため再現調査を行い、以下の知見を得た。

- 1) ミンチにしたときは15°Cで2~3日あるいは20°Cで1~2日保存した場合、鮮度はあまり低下しないが、ヒス

タミンは食中毒を起こしうる濃度まで増加することから注意が必要であることがわかった。

- 2) 三枚におろして保存した場合はミンチにした場合よりも鮮度の低下、ヒスタミンの増加は遅くなり、20℃で2日以上保存すると食中毒が起こる可能性があることがわかった。
- 3) ヒスタミンが生成された後冷蔵庫に5℃で保存した場合、時間の経過によるヒスタミンの顕著な増加はみられなかった。
- 4) 最高気温は事件の前日は18.9℃、前々日は22.8℃であった。

以上のことから、今回の食中毒は当該品のシマアジが2~3日間は常温に放置されたことが原因であると推測された。

今回ヒスタミン及びヒスチジンの定量をCE法で行ったが、CEは高速液体クロマトグラフに比べ分離能が高いため煩雑な前処理を必要としないのでヒスタミンの分析を著しく短縮することができ、ヒスタミンによる食中毒調査には非常に有効であった。

またVBNとアンモニア性窒素を比較したところ腐敗するまでの魚の鮮度を判定する基準としてアンモニア性窒素が有効な基準となりうることが示唆された。

最後に、本調査を実施するに当たり、魚介類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職員の皆様に深謝いたします。

文 献

- 1) 佐々木広治：食衛誌, 30, 454~455(1989)
- 2) 山中英明、松本美鈴：食衛誌, 30, 396~400 (1989)
- 3) 浮島美之：食衛誌, 26, 531~532 (1985)
- 4) 吉田綾子、中村彰夫：食衛誌, 23, 339~343 (1982)
- 5) 玉瀬喜久雄、北田善三、溝渕健彦、佐々木美智子：食衛誌, 25, 525~529 (1984)
- 6) 中嶋昌徳、杉山明子：食衛誌, 40, 285~290 (1999)
- 7) 日本薬学会編：衛生試験法・注解, 954~955(1990) 金原出版
- 8) 日本薬学会編：衛生試験法・注解, 284~285(1990) 金原出版
- 9) 日本薬学会編：衛生試験法・注解, 287(1990) 金原出版
- 10) 太田静行：水産物の鮮度保持, 36~37(1991) 筑波書房