

公募型試験研究事業 - (有害化学物質リスク管理基礎調査委託事業*)

保聖子, 和田和彦

【目的】

水産加工品中のヒスタミンによる食中毒を未然に防止するために、水産加工品の中でも特にヒスチジン含有量が高くヒスタミンの生成が懸念されるイワシ丸干品について、製造段階におけるリスク管理措置等の検討に資するよう加工工程中のヒスタミン生成機構に関する科学的な知見を収集することを目的とする。また、得られた知見を元に、ヒスタミン濃度が上昇するリスクの高い加工工程・条件等の重点管理点を特定し、リスク低減措置を検討するための基礎情報を収集する。

【材料及び方法】

1. イワシ丸干製造工程における重点リスク管理箇所の特定

平成23年12月13日に鹿児島県阿久根市阿久根漁港に水揚げされたウルメイワシを試験に供し、図1に示す製法に準じて丸干を製造した。イワシ丸干製造における各工程について、10尾ずつを採取した。そのうち5尾ずつ各工程ごとにポリエチレン製の保存袋に入れ、分析に供するまで-40℃で冷凍保管した。残り5尾は、各工程での高温リスクを確認するために25℃のインキュベータに16時間保存し、分析に供した。なお、分析に供するまで-40℃で冷凍保管した。分析項目は、ヒスタミン(以下 Hm という)、水分および一般生菌数とした。冷凍試料は保存袋のまま流水中に10分間浸漬し、完全に解凍されない状態で1尾ずつ細切りしたものを使用した。

2. 内臓除去した原料での製造実験(内臓の有無がHm生成に与える影響の確認)

平成24年1月13日に鹿児島県阿久根市阿久根漁港に水揚げされたマイワシ(平均体長 60.52 ± 11.82 cm, 平均体重 17.74 ± 1.22 g)を急速凍結後、-30℃10日間冷凍保管したものを試験に供した。流水解凍後、原料魚の半数はそのまま、残り半数は頭及び内臓を除去した状態にし、図1に示す製法に準じて丸干を製造した。製造したそれぞれの丸干のうち、約半数を製造直後のサンプルとして、残りの半数は、高温環境下でのリスクを確認するためにポリエチレン製の保存袋に入れ25℃のインキュベータに16時間保存した後分析に供した。なお、試料はすべて分析に供するまで-40℃で冷凍保管した。分析項目は、Hm、水分および一般生菌数とした。冷凍試料は保存袋のまま流水中に10分間浸漬し、完全に解凍されない状態で頭を除去し、1尾ずつ細切りしたものを使用した。

3. 市販丸干製品の部位別Hm濃度調査

平成23年12月鹿児島県内で購入した市販のウルメイワシ丸干品を7℃冷蔵庫内で1週間保管したのち、1尾ずつ頭を除去し、背側と腹側に二分割したものをそれぞれ分析に供した。分析に供するまで-40℃で冷凍保管した。分析項目は、Hm および水分とした。

* 農林水産省消費安全局委託事業「有害化学物質リスク管理基礎調査事業」による

4. 分析方法

Hm分析

サンプル約2g を正確に量り取り，8倍量のイオン交換水を加えポリトロンホモジナイザーで（18,000rpm × 1min）ホモジネートし，遠心分離（5，1,0000 g × 5min）後，濾紙で濾過し上清を得た。得られた上清を EIA Histamarine kit（Beckman Coulter 製）を用いて反応後，マイクロプレートリーダー（東ソー MPR-A4i）にて400nm における吸光度を求めた後，Hm 標準品の吸光度と濃度の検量線から Hm 濃度を求めた。

一般生菌数

サンプル10g を採取し，滅菌希釈水でホモジネートして得られた希釈液を必要に応じて，滅菌希釈水で100～100,000倍に希釈したものを試料として，1ml をペトリフィルム（3M）に滴下し，35℃で48時間培養した。

水分

サンプル約2～3g をアルミ皿に正確に量り取り，105℃で7h 乾燥し定法により算出した。

統計処理

得られた値は，Bartlett's 検定を行い，等分散であることを確認し，等分散であった場合は一元配置分散分析または *t* 検定を行い，等分散が棄却された場合は Kruskal-Wallis 検定または Welch 検定を行った。

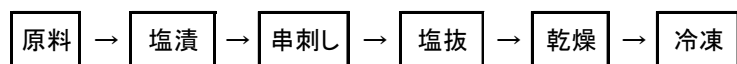


図1. イワシ丸干工程

【結果】

1. イワシ丸干製造工程における重点リスク管理箇所の特定

各製造工程における Hm 生成濃度を図 2 に示す。ウルメイワシ丸干の場合，原料魚及び塩漬から塩抜きに至る各工程においては，Hm 生成濃度は低く，いずれも平均で0.7～0.8ppm（乾物換算値；2.82～2.87ppm）であった。その後の製造工程である乾燥後では，83.86 ± 75.26ppm（乾物換算値；206.04 ± 185.86ppm）と他の工程と比べて有意に高くなった（*p*<0.01）。また，乾燥後の Hm 濃度は，個体によるバラツキが大きいことも明らかになった。

次に，25℃で16時間保存した試験の結果を図 3 に示す。原料魚の Hm 濃度は，0.77 ± 0.11ppm であったが，その原料魚を25℃で16時間保管すると，401.46 ± 198.56ppm と400倍以上高くなった。また，

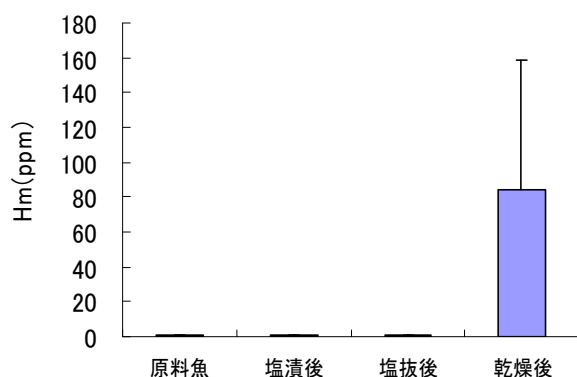


図2. 製造工程におけるヒスタミン(Hm)生成濃度

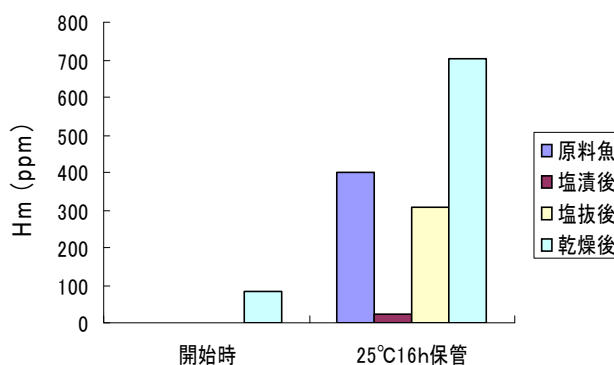


図3. 各製造工程における25℃処理後のヒスタミン(Hm)生成濃度

同様に塩抜工程においても $0.71 \pm 0.05\text{ppm}$ から $308.19 \pm 217.84\text{ppm}$ と300倍以上高くなった。

製造段階で Hm 濃度が最も高かった乾燥工程については、 $703.32 \pm 680.91\text{ppm}$ となり保存試験開始前と比べ約9倍増加した。

一方、25℃で16時間保存した場合の一般生菌数の変化について図4に示す。製造直後の一般生菌数は、原料魚及び塩漬までの工程で 10^3 cfu/g レベルであり、その後の工程である塩抜と乾燥においては 10^4 cfu/g レベルであった。ところが、25℃で16h保存すると、原料魚では 10^5 cfu/g レベルへ、乾燥工程では、 10^8 cfu/g レベルへ急激に増加した。一方、塩漬および塩抜における増加の程度は大きくはなかった。

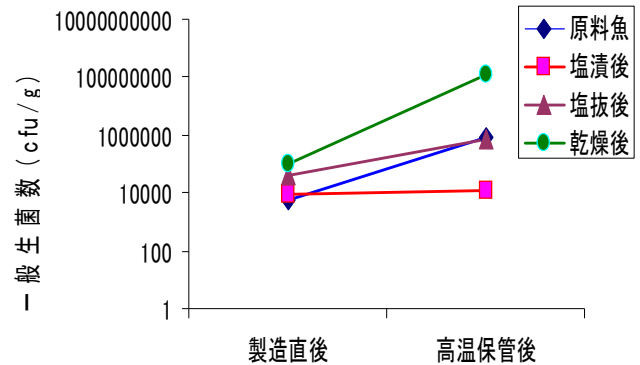


図4. 製造工程における25°C処理後の一般生菌数

2. 内臓除去した原料での製造実験(内臓の有無がHm生成に与える影響の確認)

内臓除去した原料で試作した丸干と対照実験として通常どおり試作した丸干について Hm 濃度を測定した結果を図5に示す。通常の丸干試作品の Hm 濃度は、 $66.71 \pm 47.51\text{ppm}$ (乾物換算値; 172.02 ± 123.94) であるのに対し、内臓を除去した原料で試作した丸干の Hm 濃度は、 $0.80 \pm 0.29\text{ppm}$ (乾物換算値; 1.75 ± 0.77) と有意に低かった ($p < 0.01$)。また、一般生菌数については、内臓を除去した丸干しと通常の丸干は、共に製造直後で、 10^3 cfu/g レベルであったが、25℃16h保存中に $10^5 \sim 10^6$ cfu/g レベルまで増加した。一般生菌数としては、内臓を除去した原料で試作した丸干の方が、少ない値ではあったが、有意差は確認できなかった。

3. 市販丸干製品の部位別Hm濃度調査

結果を図6に示す。購入した丸干しのうち、腹側の Hm 濃度は、 $120.66 \pm 90.31\text{ppm}$ (乾物換算値; $306.08 \pm 232.50\text{ppm}$) であった。一方、背側の Hm 濃度は、 $76.14 \pm 76.88\text{ppm}$ (乾物換算値; $191.24 \pm 193.85\text{ppm}$) であった。個体差が大きく、腹側と背側の Hm 濃度に有意差は確認できなかったが、1個体ずつ比較すると、すべての個体が腹側が背側より高い値であった。

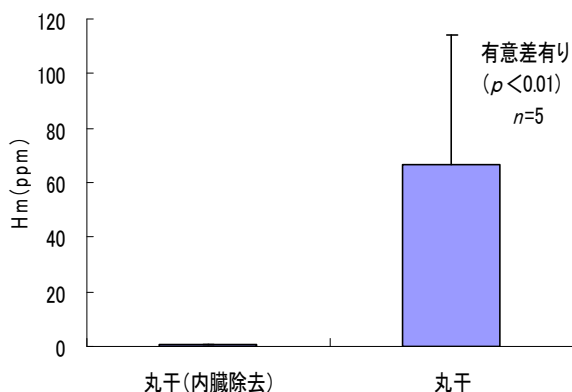


図5. 内臓の有無と製造後のヒスタミン濃度の関係

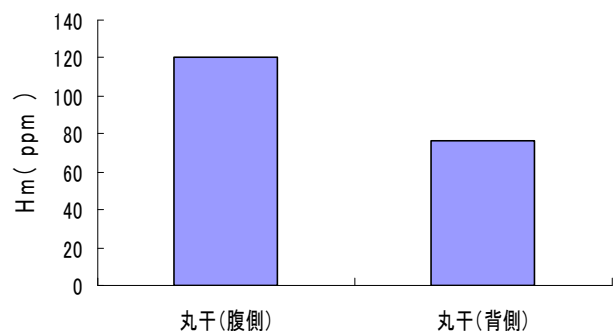


図6. 市販丸干の部位別ヒスタミン(Hm)生成濃度

【考 察】

1. イワシ丸干製造工程における重点リスク管理箇所の特定

イワシ丸干製造工程において、最もサンプルの Hm 濃度が高いのは、乾燥工程であった。鹿児島県におけるイワシ丸干は、上乾品及び「若干^{わかぼし}」と言われるやや乾燥を弱くしたものが製造されている。近年は、ほとんどの製造現場で冷風乾燥機が用いられるようになり、乾燥温度はやや低めの20 に設定されているが、乾燥時間は、若干で24時間、上乾品ではおよそ3日間にも及ぶ。乾燥工程中の Hm 濃度が他の工程より高い原因について、サンプル自体の水分量の違い、いわゆる乾燥による濃縮が影響している可能性が考えられる。そこで、各工程の Hm 濃度について、各サンプルの水分測定値を用いてそれぞれのサンプルについて水分値を 0 % に統一し換算した。その結果（図示しない）、換算前と同様に、他の工程より有意に高い ($p < 0.01$) 結果が得られた。このことから、乾燥工程で Hm 濃度が高い原因としては、乾燥濃縮の影響ではなく、長時間にわたる20 での乾燥によるものと示唆された。

また、25 保存試験の結果、原料と塩抜では通常の工程時には Hm の生成は認められないが、高温下に保存すると、急激に Hm 濃度が高まった。塩漬工程では、高温下でもほとんど Hm は生成されず、また一般生菌数の上昇もなかった。本試験では、Hm 生成菌の測定は実施していないが、塩漬工程では、Hm 生成菌の増殖を抑制するとの報告もある。これらのことから、塩漬工程では、魚肉に含まれている塩分の影響により Hm 生成菌の増殖が抑制され、その結果 Hm が生成・蓄積されないものと示唆された。古くから食品の保存のために食塩が利用されてきたように、塩分濃度と細菌増殖速度には密接な関係がある。塩漬の前工程である原料段階では、魚肉にはほとんど塩分が含まれておらず、また、塩漬の後工程である塩抜では、塩漬工程の魚肉の半分以下の塩分濃度になっており、これら塩分による Hm 生成菌等の増殖抑制が働かない原料段階と塩抜工程では、Hm の生成リスクが大きくなるものと推察された。

2. 内臓除去した原料での製造実験(内臓の有無がHm生成に与える影響の確認)

あらかじめ内臓を除去したイワシで製造した丸干試作品では、内臓を含んだ通常のイワシで製造した丸干の試作品と比べ有意 ($p < 0.01$) に Hm の生成が少なかった。内臓を除去したイワシ丸干試作品からは、ほとんど Hm は生成されておらず、1ppm 程度であった。これに対し、内臓を含んだまま製造した丸干からは、個体差はあるが、高いものでは製造直後で100ppm を超えていた。また、一般生菌数の結果から、製造直後から内臓除去した丸干の方が、細菌数が低かった。このことから、内臓を除去した丸干で Hm 濃度が低い値であったのは、Hm 生成菌を含む腸内細菌を物理的に取り除いたことに起因するものと示唆された。

3. 市販丸干し製品の部位別Hm濃度調査

市販丸干製品の Hm 生成濃度がやや高い値であったのは、サンプルを購入後、冷蔵庫で1週間保存していたためであると思われる。内臓を含まない背側でも平均値で約76ppm の Hm が生成されており、前述の試験 2 の結果と比べ高い数値であった。冷蔵保管後、部位別に切り出したため、加工及び冷蔵保管中は、Hm 生成菌を含む腸内細菌を含んだ状態であった。このように内臓を含んだ状態で製造され、その後冷蔵保管される場合では、内臓を含む腹側の Hm 生成濃度が高い値で検出されるものの、内臓とは接しない背側においても、やや高い値で Hm が生成されることが明らかとなった。このことから、Hm 生成菌を含む状態で加工製造された場合には、内臓周辺だけでなく魚体全体で Hm が生成蓄積されることが明らかになった。