

過酢酸製剤による水産物のヒスタミン食中毒制御法構築に関する研究

北海道大学 大学院水産科学研究院 水産食品科学分野 食品衛生学研究室

助教 山木将悟 (代表), 教授 川合祐史, 准教授 山崎浩司

1. 背景と目的

ヒスタミン食中毒は、食品に蓄積したヒスタミンの摂取により引き起こされる化学性食中毒である。ヒスタミンは、ヒスタミン生成菌の酵素の働きにより魚肉に存在する遊離ヒスチジンから変換される。すなわち、ブリやマグロ、アジ、サンマ、サバなどの遊離ヒスチジン含量の高い魚種が主な原因食品となる。水産物の安全・安心な消費のためには、ヒスタミン食中毒の制御は極めて重要である。

ヒスタミンは加熱や凍結に安定であり、一度食品に蓄積されるとその除去は困難である。したがって、ヒスタミンが魚肉に蓄積する前に、ヒスタミン生成菌の殺菌または発育の抑制が必要である。本研究では、過酢酸製剤によるヒスタミン生成菌の殺菌効果の検証を目的に研究を行なった。過酢酸は強力な酸化作用により細菌を殺菌する。水産物への過酢酸製剤の利用は我が国では未だ認可されていないが、ヒスタミン食中毒制御における過酢酸製剤の効果を調べることは今後の水産業の振興に寄与するものと期待される。

2. 試料および方法

2.1. 供試菌株

実験には、ヒスタミン生成菌 4 種 (*Photobacterium damsela* subsp. *damsela* JCM 8968, *P. phosphoreum* NBRC 13896, *Morganella morganii* subsp. *morganii* NBRC 3848^T, *M. psychrotolerans* JCM 16473^T) を使用した。*Morganella* 属は tryptic soy broth で、*Photobacterium* 属は 2.0% NaCl 含有 tryptic soy broth で培養し実験に供した。培地は BD 社のものを使用した。

2.2. *P. damsela* に対する過酢酸製剤の殺菌メカニズムの検討

P. damsela を用いて過酢酸製剤の殺菌メカニズムを検討した。80 または 500 ppm 過酢酸を含む過酢酸製剤 (テック P-10, ADEKA クリーンエイド) で 5 分間処理した *P. damsela* の細胞を用いて、走査型電子顕微鏡 (SEM) 観察, Live/Dead 染色 (Molecular Probes) による細胞膜の損傷観察, アガロースゲル電気泳動による DNA の断片化解析を行なった。

2.3. ヒスタミン生成菌を付着させた魚体の殺菌洗浄試験

冷凍のサンマを 10°C で解凍後、滅菌蒸留水 1 L で 3 回洗浄した。ヒスタミン生成菌 4 種の各新鮮培養菌液 1 L にサンマを 5 分間浸漬し魚体の表面に菌を付着させた。12 分間乾燥後、200 ppm 過酢酸を含む過酢酸製剤 1 L にサンマを 5 分間浸漬し、滅菌蒸留水 1 L で洗浄した。過酢酸製剤処理の前後にサンマの体表面 20 cm² より菌を拭き取り、段階希釈後、1.5% NaCl 含有改変 Niven's agar²⁾ (5 g/L Tryptone, 5 g/L Yeast extract, 1 g/L CaCO₃, 25 g/L L-histidine hydrochloride monohydrate, 15 g/L NaCl, 0.06 g/L Bromocresol purple, 20 g/L Agar, pH 5.1) を用いた表面塗抹法により各ヒスタミン生成菌数を測定した。

3. 結果および考察

3.1. 過酢酸製剤の殺菌メカニズム

P. damsela に対する過酢酸製剤の殺菌メカニズムを検討した。本菌は魚体の汚染率が高く、ヒスタミン生成能の高いヒスタミン生成菌である³⁾。SEM 観察の結果、過酢酸製剤処理により *P. damsela* の細胞表面に凸凹や孔の形成など著しい損傷が観察された。また、Live/Dead 染色の結果、過酢酸処理後の細胞には細胞膜の損傷が確認された。一方、アガロースゲル電気泳動では、DNA の断片化は確認されなかった。したがって、過酢酸製剤は外部より浸透し細胞膜を傷害すると推察され、ヒスタミン生成菌に対する過酢酸製剤の主要な殺菌機構は細胞膜の傷害であることが示唆された。

3.2. 過酢酸製剤の殺菌洗浄効果

4 種のヒスタミン生成菌をサンマに付着させ、過酢酸製剤の殺菌洗浄効果を検証した。滅菌蒸留水 (0 ppm 過酢酸) による洗浄では、各ヒスタミン生成菌の生菌数は $0.1\text{--}0.6 \log \text{CFU}/\text{cm}^2$ 減少した。一方、200 ppm 過酢酸の洗浄では、*M. morgani* NBRC 3848^T は $1.8 \pm 0.6 \log \text{CFU}/\text{cm}^2$ 、*M. psychrotolerans* JCM 16473^T は $2.9 \pm 0.1 \log \text{CFU}/\text{cm}^2$ 、*P. damsela* JCM 8968 は $2.0 \pm 0.8 \log \text{CFU}/\text{cm}^2$ 、*P. phosphoreum* NBRC 13896 は $2.3 \pm 0.6 \log \text{CFU}/\text{cm}^2$ の生菌数が減少し、魚体表面のヒスタミン生成菌数を大きく低減できた。特に、4°C 以下の冷蔵温度でも発育可能な *M. psychrotolerans* および *P. phosphoreum* に対する効果が高く、過酢酸製剤による魚体の洗浄は低温貯蔵と組み合わせることで水産物のヒスタミン食中毒のリスクを大きく低減できる手法となることが示唆された。

4. 総括

本研究では、赤身魚のヒスタミン食中毒の原因となるヒスタミン生成菌に対する過酢酸製剤の殺菌効果を検証した。実験の結果、過酢酸製剤は細菌細胞膜の傷害により殺菌作用を引き起こすことが推察され、サンマ表面に付着させた 4 種のヒスタミン生成菌を殺菌することができた。したがって、過酢酸製剤の利用は水産物のヒスタミン生成菌制御に有効な手法となることが示唆された。

5. 謝辞

本研究を遂行するにあたり、多大なご支援を賜りました公益財団法人 南北海道学術振興財団に厚く御礼申し上げます。また、本研究に使用した過酢酸製剤を提供頂きました ADEKA クリーンエイド株式会社に厚く御礼申し上げます。

6. 参考文献

- 1) 山木将悟, 山崎浩司 (2019). 水産物におけるヒスタミン食中毒とヒスタミン生成菌. *日本食品微生物学会雑誌*, **36**, 75–83.
- 2) Niven, C.F., Jeffrey, M.B., Corlett, D.A. (1981). Differential plating medium for quantitative detection of histamine-producing bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.*, **41**, 321–322.
- 3) Torido, Y., Ohshima, C., Takahashi, H., Miya, S., Iwakawa, A., Kuda, T., Kimura, B. (2014). Distribution of psychrophilic and mesophilic histamine-producing bacteria in retailed fish in Japan. *Food Cont.*, **46**, 338–342.