

塩蔵魚の品質に関する研究—Ⅲ*

防腐性薬剤による魚肉中のヒスタミン 生成抑制効果 (その1)

稲 益 猷 二

Studies on Quality Improvement of Salted Fish-III.
Inhibitory Effect of Some Preservative Substances upon
the Formation of Histamine in Raw Fish (Part 1)

By

Yūji INAMASU

The edible fish meat containing more than 10 mg % of histamine causes some allergy-like poisoning to us and tastes pungent. Accordingly, in the present work, applications of nitrofuryl acrylic amide (NFA) and ethanol to the fish meat were investigated to prevent the formation of histamine less than the permitted limit.

Results obtained may be summarized as follows:

1. Addition of NFA at a concentration of 0.002 % was ineffective to prevent the histamine formation as well as putrefaction in the suspension of raw mackerel meat at 25°C.
2. Addition of ethanol at a concentration of 3.75~22.5 % in the suspension was effective to inhibit the putrefaction, but was ineffective to prevent the histamine formation.
3. Using combined 10~20 % ethanol and 0.002 % of NFA was the most effective to inhibit the histamine formation and putrefaction.
4. The histamine formation from anchovy which was dipped in 15 % ethanol solution containing 0.002 % of NFA for 2 days at 2.5°C was inhibited under allowable concentration in the incubation of 3 days at 25°C.

* 水産大学校研究業績 第468号, 1966年1月28日 受理
Contribution from the Shimonoseki University of Fisheries, No. 468
Received Jan. 28, 1966
1965年8月28日日本水産学会中国四国支部例会 (於広島大学水畜産学部) にて発表

結 言

ヒスタミンは腐敗細菌 *Proteus morganii* によって肉質中のヒスチジンが脱炭酸されて生成されるもので、アレルギー様食中毒の原因物質として認められ、刺戟性の辛味を呈する。清水ら¹⁾はその中毒限界濃度を 100 mg% (ヒスタミン-2 塩酸塩として)、また、五十嵐²⁾はその刺戟性辛味の知覚限界濃度を 10 mg % とそれぞれ推定している。一般にヒスチジン含量の多い赤身魚種では、ヒスタミンが鮮度低下に伴って多量に生成される。この場合、魚肉は特殊な鮮度低下方式をとり、アンモニヤ態窒素が正常値で、臭気などにも異常が認められないこともある³⁾。このように、ヒスタミンを含有する魚肉は、たとえ中毒限界推定濃度以下でも、その刺戟性辛味のために食品価値を低下し、また、それを保存すると、当然食中毒の危険を生ずる。とくに大量漁獲される赤身魚種は乾燥または塩蔵品の原料となるので、そのヒスタミン含量は食品衛生上重要な意味がある。

ところで、魚肉のヒスタミンの生成抑制については、すでに太田⁴⁾が凍結、興津⁵⁾が防腐剤によって、その効果を認めているが、その抑制量については詳細な検討が行なわれていない。このような見地から、魚肉のヒスタミン生成量を五十嵐²⁾の知覚限界濃度以下におさえる目的でニトロフリルアクリル酸アミドおよびエタノールを用いて実験を行なった。

実 験

実 験 I . 防腐性薬剤による魚肉懸濁液のヒスタミン生成抑制効果

I-1. 供 試 菌 株

Proteus morganii, D 14 : S FU, 京大農学部より分株された 33 · d · AKU を本校微生物学教室で継代培養した。

I-2. 供試防腐性薬剤

ニトロフリルアクリル酸アミド (NFA)* および 99.5 % エタノール。

I-3. 実 験 方 法

1) 試料：凍結マサバをまず解凍してから、内臓、皮、骨および血合肉を除き、肉部だけを採取し、細切した。次にそれを 100 g ごとに分け、同量の水または I-2 の防腐性薬剤溶液を加え、ホモジナイザーにかけて肉懸濁液を作った。続いて、それに *Proteus morganii* 培養液を生理的食塩水で 100 倍に希釈した液または水を 100 ml を加えた溶液を、一定時間 25°C に放置後、試料 10 g ずつを採って実験に供した。

2) ヒスタミンの定量：河端ら⁶⁾のカラム (弱酸性イオン交換樹脂アンバーライト CG-50) 法によった。すなわち脱タンパク処理をした試料溶液 (pH 4.6) をカラムに通して、ヒスタミンを吸着させ、0.2 N 塩酸溶液で溶出した液中のヒスタミンを、ジアゾ試薬による発色法で比色定量した。なお、ヒスタミン量は試料生肉に対する mg % に換算して表わした。また、標準曲線の作製には和光純薬製のヒスタミン-2 塩酸塩を用いた。

3) 腐敗程度官能検査：試料の腐敗臭気によって官能判定を行なった。

4) pH の測定：堀場製ガラス電極 pH メーターにより行なった。

I-4. 実 験 結 果

1) NFA 添加効果：NFA 添加または供試菌 *Proteus morganii* を接種 (以下菌接種という) した試料のヒスタミン量測定結果を第 1 図に、また、その腐敗程度官能検査結果を第 1 表に示した。すなわち、

* 食品衛生法施行規則の一部改正 (昭和 40 年 7 月 5 日公布, 昭和 41 年 1 月 5 日) 施行で使用を禁止された。

NFA の菌接種試料におけるヒスタミン生成および腐敗抑制効果は供試濃度ではごくわずかしき認められなかったが、菌無接種試料では比較的大きいように見受けられた。この試料以外のヒスタミン量はいずれも

Table 1. The result of sensory test for putrid odor of the flesh suspension of mackerel added to NFA or inoculated *Proteus morganii* during incubation at 25°C.

No.	Sample		Incubated time (days)				
	NFA (%)	<i>Proteus morganii</i>	1	2	3	5	7
1	0	uninoculated	++	++	+++	+++	+++
2	0.002	uninoculated	—	—	±	+	++
3	0	inoculated	±	+	++	++	++
4	0.002	inoculated	—	±	+	++	++

3日目に中等限界推定濃度（100 mg %）以上となり、とくに、菌無接種試料では菌接種のものより多かった。

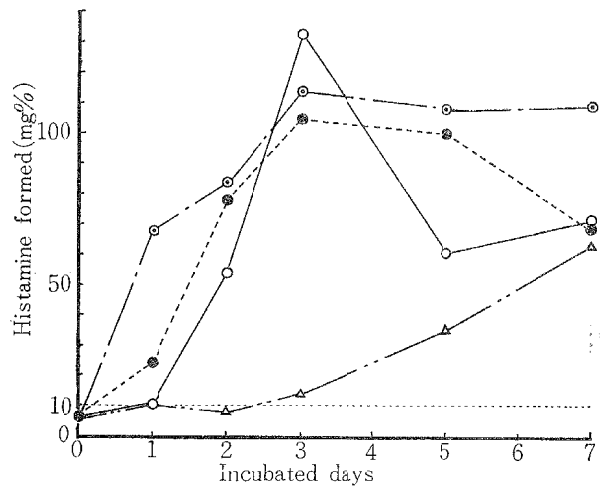


Fig. 1. Effect of NFA added to the flesh suspension of mackerel (inoculated or uninoculated *Proteus morganii*) on the formation of histamine during incubation at 25°C. The examined condition and division of samples are the same as shown in Table 1.

- ————— ○ sample No. 1
- △ — △ sample No. 2
- ⊙ — ⊙ sample No. 3
- ⊗ — ⊗ sample No. 4
- the sensibly critical concentration on pungent taste

2) エタノール添加効果：エタノールだけを添加した試料の腐敗程度官能検査結果を第2表に、ヒスタミン量測定結果を第2図（次頁参照）に示した。エタノールのヒスタミン生成抑制効果はその添加濃度が増すほど大きく、また、最少添加濃度（3.75%）の試料でも前記NFA添加試料に比べてその効果が大きいことが見られたが、ヒスタミン量はいずれも知覚限界濃度（10 mg %）以上となり、また、その生成曲線の

山が3日目に現われた。腐敗臭は最少添加濃度のものを除いて、ほとんど感じられず、腐敗はほぼ防止された。

Table 2. The result of sensory test for putrid odor of the flesh suspension of mackerel added to various concentrations of ethanol during incubation at 25°C.

Sample		Incubated time (days)				
No.	Ethanol concn. (%)	1	2	3	5	7
5	3.75	—	±	±	±	±
6	7.5	—	—	—	—	—
7	15.0	—	—	—	—	—
8	22.5	—	—	—	—	—

3) NFA およびエタノールの併用効果：菌を接種し、NFA を0.002%，および、エタノールを10～20%添加した試料の pH 測定結果を第3表に、ヒスタミン量測定結果を第3図に示した。NFA および

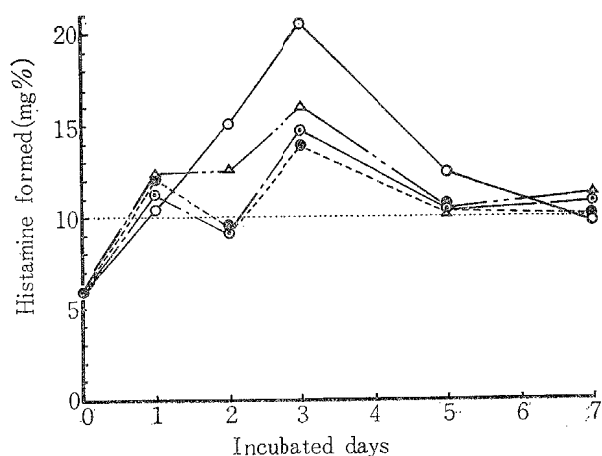


Fig. 2. Effect of ethanol added to the flesh suspension of mackerel on the formation of histamine during incubation at 25°C. The examined condition and division of samples are the same as shown in Table 2.

- ————— ○ sample No. 5
- △ — △ sample No. 6
- ⊙ — ⊙ sample No. 7
- — — — — — ● sample No. 8
- the sensibly critical concentration on pungent taste

エタノール併用による試料のヒスタミン生成抑制効果はエタノール濃度が増すほど、第1図における NFA だけを添加した試料に比べて著しく大きい。その試料のヒスタミン量はエタノール10%添加試料が3日目に10 mg %近くに達したが、その濃度以外の試料ではすべて知覚限界濃度よりも少なかった。腐敗臭は全試料ともまったく感じられず、また、pH 値はいずれも5.4から6.0まで徐々に上昇したが、腐敗は防止さ

れた。しかし、第2および3表に示したエタノールを20%以上添加した試料は14日貯蔵後、いずれも強い油焼臭を発生し褐変した。

Table 3. Change of pH of the flesh suspension of mackerel added to the various concentrations of ethanol containing 0.002% of NFA, and inoculated *Proteus morganii* during incubation at 25°C.

Sample*		Incubated time (days)				
No.	Ethanol (%)	1	2	3	5	7
9	10.0	5.6	5.6	5.8	5.8	6.0
10	15.0	5.4	5.6	5.8	5.8	6.0
11	20.0	5.4	5.6	5.8	5.8	6.0

* All samples were not sensible to putrid odor.

実験Ⅱ. 防腐性薬剤液に浸漬した魚体のヒスタミン量

Ⅱ-1. 供試菌株

実験Ⅰと同じ。

Ⅱ-2. 供試防腐性薬剤およびその濃度

0.002% NFA 溶液および15%エタノール。

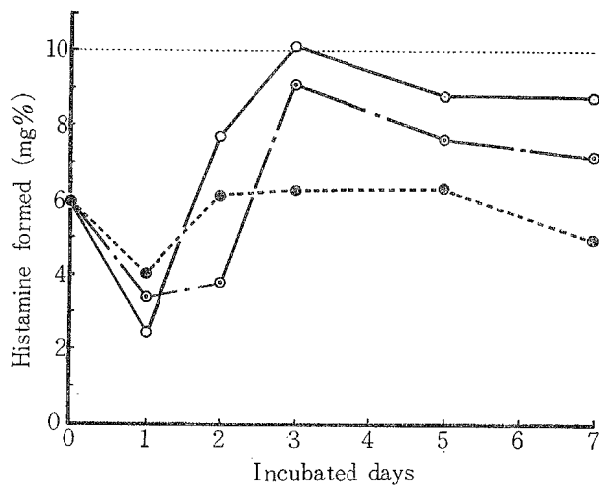


Fig. 3. Multiplicative effect of both 0.002% NFA and various concentrations of ethanol added to the flesh suspension of mackerel on the formation of histamine during incubation at 25°C. The examined condition and division of samples are the same as shown in Table 3.

- ————— ○ sample No. 9
- ⊙ ———— ⊙ sample No. 10
- ⊗ ———— ⊗ sample No. 11
- the sensibly critical concentration on pungent taste

II-3. 実験方法

1) 試料：凍結カタクチイワシを解凍後、頭および内臓を除いた魚体、および *Proteus morgani* 懸濁液の100倍稀釈液を塗布した魚体をII-2の防腐性薬剤水溶液に2.5°Cで2日間浸漬した。その後、これを引上げて、シャーレーに入れ25°Cの恒温器に移して、3日間放置した。

2) ヒスタミンの定量：実験Iと同じ。

3) 揮発性塩基窒素の定量：コンウエー微量ガス拡散検測器により行なった。

4) 水分含有量の測定：赤外線迅速含水率計により行なった。

II-4. 実験結果

防腐液に浸漬前、浸漬2日後および放置3日後の魚体のヒスタミン量、揮発性塩基窒素量および水分含有量の測定結果を第4表に示した。すなわち、放置3日後(通算5日)のヒスタミン量はエタノールおよび

Table 4. The analytical data for histamine, moisture and volatile basic nitrogen contents of anchovy dipped in antiseptic solution.

Sign of sample	Composition of antiseptic solution (%)		Inoculation with <i>Proteus morgani</i>	Standing in antiseptic solution at 2.5°C (days)	Incubation at 25°C (days)	Analyses of meat (wet basis)		
	Ethanol	NFA				Moisture (%)	Histamine (mg %)	Volatile basic nitrogen (mg %)
O	—	—	non	—	—	78.96	1.02	4.8
A	—	—	non	2*	—	69.55	6.46	3.0
A	—	—	non	2*	3	69.73	44.41	24.0
B	—	—	does	2	—	78.51	5.70	29.7
B	—	—	does	2	3	68.15	76.83	38.8
C	—	0.002	non	2	—	82.78	2.58	5.7
C	—	0.002	non	2	3	65.34	3.65	10.7
D	—	0.002	does	2	—	74.23	6.78	3.5
D	—	0.002	does	2	3	70.85	8.51	22.9
E	15	0.002	non	2	—	69.52	1.96	4.0
E	15	0.002	non	2	3	61.16	3.24	7.6
F	15	0.002	does	2	—	70.24	2.35	7.2
F	15	0.002	does	2	3	65.64	3.02	19.7

* Exposed to air at 2.5°C.

NFAを併用した試料区では最少で、知覚限界濃度以下であり、薬剤無処理試料区ではそれをはるかに超過して最大であった。なお、ヒスタミン量は全試料とも菌接種の方が多く、揮発性塩基窒素もそれとほぼ同様の傾向が見られた。水分含有量はエタノール処理試料区においてやや減少する傾向があった。

考 察

マサバ肉懸濁液(滅菌してない)のヒスタミン生成量を測定したところ、第1図の菌接種試料は接種直後からヒスタミンを急激に生成して、菌無接種試料との差が大きかったので、供試菌はヒスタミン生成能を有するものと考えられる。また、菌無接種試料のヒスタミン量が3日目に菌接種試料よりわずかに多くなったのは、供試菌が酵素力価の低下する発育静止期に入った⁷⁾⁸⁾のに対し、魚肉中に存在していた他の細菌のヒスチジン脱炭酸酵素作用がなお持続し、引続きヒスタミンが生産されたためであろうと思われる。この外、第1図において、NFAのヒスタミン生成抑制効果は菌接種試料区の方が小さく、また、第1表のNFA

無添加試料区の腐敗臭は菌無接種の方が早く発生した。興津⁵⁾も上記と同様の結果を得ている。前者は供試菌の NFA に対する感受性が一般の細菌より弱いためであり、後者は供試菌が他の細菌と拮抗的に作用して、揮発性塩基窒素その他腐敗臭生成物質の生産を抑制したためであろうと考えられる。要するに第 1 図および第 1 表の結果から、供試濃度の NFA 添加による腐敗ならびにヒスタミン生成抑制効果はほとんど期待できない。なお、第 1、2 および 3 図のヒスタミン量が 3 日目に最大となり、その後減少した。これは同様に興津⁵⁾の結果と一致し、同氏が述べているように、供試菌以外の細菌のヒスタミンナーゼの作用によるものと思われる。

第 2 表および第 2 図に示したように、エタノールの腐敗およびヒスタミン生成抑制効果は第 1 表および第 1 図の場合より比較的大きかった。これは畑・河内⁹⁾がウニ塩辛について見ているように、アルコールが静菌作用を有し、しかも、酵素作用を阻害する働きを有するためだろうと考えられる。しかし、ヒスタミン量は、菌無接種試料であるにもかかわらず、エタノールだけの添加ではそのいずれの濃度でも知覚限界濃度以下にならなかった。しかし菌接種試料に NFA を 0.002% およびエタノールを 10~20% 添加した結果、第 3 図のようにヒスタミンを知覚限界濃度以下の著しく少量におさえ、同時に第 3 表のように腐敗を完全に防止することができた。以上実験 I の結果からヒスタミン生成抑制には NFA を 0.002% およびエタノールを 15% 添加するのが有効であろうと思われる。

次に、実験 II において、一般に魚の乾燥製品は、原料を冷蔵庫に 2 日間貯蔵した後、3 日間乾燥して製造されることが多いので、この条件に適合するように、カタクチイワシ全魚体を 0.002% NFA または 15% エタノール溶液に 2.5°C で 2 日間浸漬後、実験 I で得たヒスタミン量最大生成条件である 25°C で 3 日間放置した。その結果、ヒスタミン量は薬剤無処理試料では知覚限界濃度ををはるかに超過したが、NFA・エタノール併用試料区では菌接種の有無にかかわらずごく少量 (3 mg % 前後) であった。この試料は揮発性塩基窒素量も微量であったが、水分含有量がやや減少していた。これはエタノールによる脱水現象と思われるが、乾燥または塩蔵品原料としての品質には直接影響がないように見受けられた。すなわち、製造原料魚のヒスタミンによる刺激性辛味生成防止には 0.002% NFA 含有 15% エタノール水溶液に 2.5°C で 2 日間魚体を浸漬すれば効果があると思われる。

要 約

赤身魚肉について、その刺激性辛味物質であるヒスタミンの生成量を知覚限界 (推定) 濃度 (10 mg %) 以下におさえる目的で実験を行なった。

1. マサバ肉懸濁液におけるヒスタミン生成量を知覚限界濃度以下に抑制することは NFA (0.002%) またはエタノールだけを添加した場合には不可能であったが、NFA を 0.002% およびエタノールを 15% 以上を添加した場合には可能で、しかも、腐敗を防止できた。

2. カタクチイワシ全魚体を 0.002% NFA 含有の 15% エタノール水溶液に 2.5°C で 2 日間浸漬後、25°C で 3 日間貯蔵した場合、そのヒスタミン生成量を知覚限界濃度よりもはるかに小さく抑制することができた。

終りに、貴重な試料菌を分与下された京都大学農学部水産学科畑 幸彦博士および御助言を賜った元本校講師菊川 満博士に深謝します。

文 献

- 1) 清水 亘・日引重幸, 1955: 日水産, **21**, 365.
- 2) 五十嵐彦仁, 1949: 魚のプトミンについて. p. 26, 函館市役所.

- 3) 河端俊治・石坂公成・三浦利之, 1956: 日水産, **22**, 44.
- 4) 太田冬雄・金子弘助, 1958: 日水産, **24**, 140.
- 5) 興津知明, 1960: 日水産, **26**, 843.
- 6) 河端俊治・内田 大・赤野多恵子, 1960: 日水産, **26**, 1183.
- 7) ———・鈴木 茂, 1959: 日水産, **25**, 473.
- 8) ———・———, ——: 日水産, **25**, 481.
- 9) 畑 幸彦・河内正通, 1960: 本報告, **9**, 53.