

令和 3 年 6 月 22 日現在

機関番号：23303

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K05491

研究課題名(和文) 魚醤油からの有害成分除去に関する研究

研究課題名(英文) Study on removal of harmful substances from fish sauce

研究代表者

榎本 俊樹 (ENOMNOTO, TOSHIKI)

石川県立大学・生物資源環境学部・教授

研究者番号：70203643

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：魚醤油に含まれるヒ素とヒスタミンの除去方法について検討した。魚醤油中のヒ素は、タンニン処理とキレート樹脂処理を併用により、ほぼ100%除去できることが明らかとなった。一方、魚醤油中のヒスタミンは、タンニン処理と強酸性イオン交換樹脂の併用により、80%程度の除去が可能であった。さらに、石川県の伝統発酵食品から単離した好塩性微生物40種のヒスタミン資化性について検討したが、ヒスタミンを資化できる微生物は見いだせなかった。また、魚醤油中のヒスタミン産生耐塩乳酸菌の初期増殖を抑える条件について調べたところ、初期発酵温度を20℃前後に保つことで増殖を制御できることが示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

魚醤油は、東南アジアにおいて主たる調味料として利用されている。また、日本においても、魚醤油の生産が全国各地で広がっている。ところで、近年、海洋汚染が深刻な問題となっており、魚介類へのカドミウムやヒ素の蓄積が懸念されている。また、日本や東南アジアにおいて、魚醤油に含まれるヒスタミン濃度がCODEXの基準である400ppmを超えているものが多々存在し、安全面から大きな問題となっている。本研究は、これら魚醤油に含まれる有害成分の除去方法の確立が目的であり、魚醤油を調味料として利用する世界の人々の食の安全にかかわる重要な研究である。従って、本研究は、学術的のみならず社会的にも意義ある取組みと言える。

研究成果の概要(英文)：We investigated how to remove arsenic and histamine contained in fish sauce.

It was clarified that arsenic in fish sauce can be removed almost 100% by the combined use of tannin and chelate resin treatments. On the other hand, about 80% of histamine in fish soy sauce could be removed by the combined use of tannin and strong acid ion exchange resin treatments. Furthermore, we examined the histamine assimilation properties of 40 halophilic microorganisms isolated from traditional fermented foods in Ishikawa Prefecture, but could not find any microorganisms that could assimilate histamine. In addition, when the conditions for suppressing the initial growth of histamine-producing halophilic lactic acid bacteria in fish sauce were investigated, it was shown that the growth can be controlled by keeping the initial fermentation temperature around 20℃.

研究分野：食品化学

キーワード：魚醤油 ヒ素 ヒスタミン 有害成分 除去方法 好塩性微生物 好塩性乳酸菌 資化性

## 1. 研究開始当初の背景

魚醤油はアジア、特に東南アジアでは主たる調味料として大量に使用されている。魚醤油の大量消費国の一つであるベトナムでは、一人当たりの魚醤油の消費量は年間 4L を超えるという。魚醤油に被害をもたらす濃度の重金属やヒスタミンが存在すれば、特に消費量の多い東南アジアでは、その被害は甚大になる可能性がある。このようなリスク軽減のため、魚醤油からの有害成分の除去は早急に取組むべき課題であり、これが本研究を開始した背景である。

## 2. 研究の目的

魚醤油中に残存する重金属においては、原料である魚介類の内臓もすべて製造に利用することが原因であり、また、ヒスタミンにおいては、原材料由来の他、発酵時のヒスタミン産生菌の関与が報告されている。重金属は人体にとって必須であるものと、現時点では有害もしくは必須性が証明されていないものがある。イカ内臓を原料とする魚醤油にはカドミウムが多く含まれていることが報告されている。これは、原料であるイカ内臓にはカドミウムが多く蓄積されていることに由来する。我々は、イカ内臓より製造された魚醤油に残存するカドミウムをタンニン酸処理とキレート樹脂処理を併用することで除去する方法を確立、すでに報告している。しかし、魚醤油に含まれる他の重金属についての除去技術に関する報告は、我々も含めほとんどなされていない。

食品中に蓄積されたヒスタミンを摂取するとアレルギー様症状を発症する。ヒスタミンによって引き起こさせる食中毒はヒスタミンが高濃度に蓄積された食品、特に魚類及びその加工品を食べることにより発症する。食中毒の原因となるヒスタミンは、食品中のヒスチジンが、ヒスタミン産生菌の酵素により変換されて生じるもので、食品の中でもサバやマグロなどヒスチジンを大量の含む赤身魚が原因食品となることが多い。国内では、魚醤油のヒスタミンの基準値は定められていないが、Codex 規格では、400 ppm 未満と定められている。魚醤油は塩分濃度が 20%前後と高いため、魚醤油から一度に多量のヒスタミンを摂取する可能性は低い。しかし、ヒスタミンの大量摂取は人体に悪影響を及ぼす可能性があることから、魚醤油中のヒスタミンの蓄積を抑えることは食品衛生上重要となる。

本研究では、容易に使用できる食品添加物の利用あるいは発酵時の微生物制御による、魚醤油からの有害物質（ヒ素及びヒスタミン）の除去技術の確立を目的とした。

## 3. 研究の方法

### 3.1 魚醤油に含まれるヒ素の除去

#### 試料

ベトナム現地で購入および製造工場より直接入手した 12 種類のニョクナム（A~L）を使用した。なお、これらの魚醤油に含まれるヒ素は微量だったため、ヒ素添加魚醤油（20 mg/L）を作成し実験に供した。

#### 魚醤油中のヒ素濃度の測定

ヒ素の測定は、水素化物発生付属装置（HFS-4、日立ハイテクサイエンス）付き原子吸光光度計（Z-2000、日立ハイテクサイエンス）を用いて測定した。

#### 魚醤油中のヒ素除去方法の検討

測定に用いた魚醤油にヒ素はほとんど含まれていなかった。そこで、魚醤油にヒ素標準液を添加してヒ素添加魚醤油 20 mg/L を調製し、これを未処理原液とした。ヒ素添

加魚醤油にキレート樹脂 (CR11、CR20、CRB03 (三菱ケミカル)) あるいはタンニン酸 (関東化学) を 0.5 g 添加して、6 時間振盪した。その後、ろ紙を使用してろ過したものを処理試料とした。

#### タンニン酸によるヒ素除去の検討

魚醤油にヒ素標準液を添加してヒ素添加魚醤油 20 mg/L を調製した。これを未処理原液とした。ヒ素添加魚醤油にタンニン酸を 0.2 g 添加して 1 時間振盪した。その後、遠心分離 (3,000 rpm、15 min、25°C) し、上清を採取し、これをタンニン酸処理原液とした。

#### 遊離アミノ酸含量の測定

遊離アミノ酸量の測定は、アミノ酸自動分析装置 (L-8500、日立製作所) を用いて行った。

### **3.2 魚醤油に含まれるヒスタミンの除去**

#### 試料

国内外の魚醤油 17 種類 (A~Q) の魚醤油を用いた。

#### ヒスタミン濃度の測定

ヒスタミンの測定はヒスタミン測定キット (キッコーマン) 及び HPLC により行った。

#### キレート樹脂等の吸着剤によるヒスタミン除去

実験試料は、表 2 の魚醤油から抜粋したヒスタミン濃度の高い 9 種類 (A、B、C、I、J、K、L、N、Q) の魚醤油を使用した。また、キレート樹脂等の吸着剤は以下のものを使用した。

CR11 (三菱ケミカル)、CR20 (三菱ケミカル)、CRB3 (三菱ケミカル)、SP850 (三菱ケミカル)、SK1B (三菱ケミカル)、ポリビニルポリピロリドン (ナカライテスク)、活性炭 (和光純薬工業)、タンニン酸 (関東化学)、セライト (SIGMA)、ベントナイト (ホージュン)、酸洗浄けいそう土 (和光純薬工業)、READ (日本海水)

#### 樹脂等及びタンニン酸による処理

15 mL コニカルチューブに魚醤油原液 5 mL と樹脂及びタンニン 0.5 g を入れ、ボルトテックスミキサーでよく混合した。その後、20 時間振とうさせ、遠心分離 (3,500 rpm、5 min) を行い、上清を試料とした。

#### 微生物を用いたヒスタミンの低減化

魚の糠漬け、イシル、アジナレズシから単離した微生物を MRS (乳酸菌用)、GAM (一般嫌気性用)、TSA (一般好気性用)、0.01 % クロラムフェニコール含有 PDA (真菌用) の 4 種の選択培地または、それぞれに 10 % の NaCl 及び 10,000 ppm のヒスタミンを加えた選択培地において培養し、培地中のヒスタミン量の増減について検討した。また、イシルを研究室で製造し、その際、ヒスタミン産生乳酸菌をスターターとして添加し、熟成温度が及ぼすヒスタミン産生への影響について検討した。

## **4. 研究成果**

### **4.1 ヒ素添加魚醤油からのヒ素の除去**

ヒ素水溶液中でヒ素除去に有効 (ほぼ 100 %) であったキレート樹脂 CRB03 を使用して、本研究の目的である魚醤油中のヒ素を除去することが可能かを検討した。その結果、ヒ素の除去率は平均して 33.5% であった。魚醤油にヒ素を添加する際には遊

離型であったヒ素が、魚醤油中では、含まれる他の成分とヒ素が結合することにより、有機ヒ素に変換されている可能性がある

次いで、ヒ素添加魚醤油のヒ素濃度に及ぼすタンニン酸処理の影響について検討した。その結果、ヒ素添加魚醤油のヒ素除去率は平均して 86.8%であった。さらに、12 種類 (A~L) 魚醤油の、キレート処理のみ、タンニン酸処理のみ、タンニン+キレート処理を行った後のヒ素濃度に一例を図。12 種類の魚醤油 (A~L) において、タンニン+キレート処理後のヒ素濃度が最も低かった。これらの評価の一例を図 1 に示す。

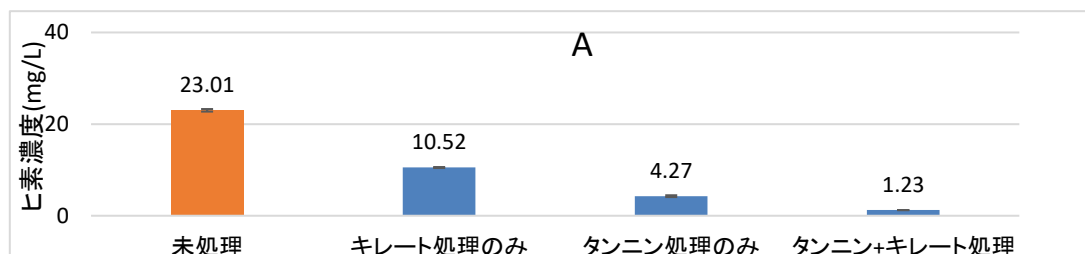


図 1 魚醤油 (A) 各処理後のヒ素濃度  
値は平均±標準偏差で示した

この結果より、タンニンとキレート処理を併用した場合、魚醤油中のヒ素をほぼ 100%除去することが可能であり、添加されたヒ素の多くを除去することが明らかとなった。また、タンニン酸処理のみでもヒ素濃度は大幅に減少しており、魚醤油の種類によっては併用せずとも除去することが可能と思われる。

#### 4. 2 魚醤油に含まれるヒスタミン除去

チェックカラーヒスタミン及び HPLC を用いてヒスタミンを測定した結果、魚醤油によって差はあるが、27~916 mg/mL のヒスタミンが含まれていた。魚醤油 K (国産サバ) と魚醤油 N (国産イカ内臓) ではヒスタミン含有量が高い値を示した。

キレート樹脂等の吸着剤を用いてヒスタミン除去を行った結果、魚醤油や吸着剤によって差はあるが、ヒスタミンを除去することができた。このなかで、タンニン酸、SK1B、ベントナイト、活性炭による処理を行った魚醤油サンプルで高いヒスタミン除去率を示した。各魚醤油のヒスタミン除去率の一例 (魚醤油 N) を図 2 に示した。図の縦軸は、魚醤油原液に対してのヒスタミン除去率である。

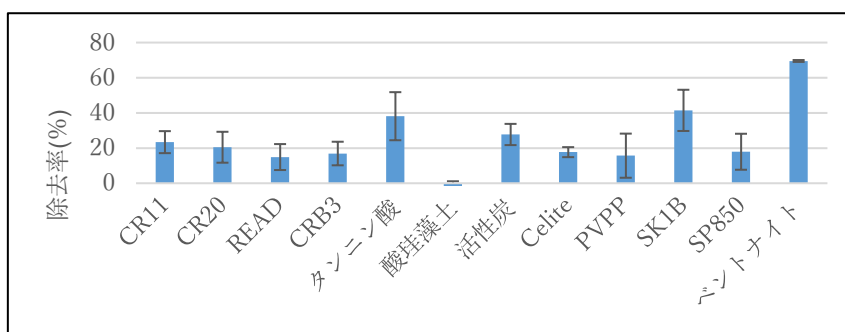


図 2 N の魚醤油におけるヒスタミン除去率  
値は平均±標準偏差で示した

魚醤油のペントナイト処理は、魚醤油中のヒスタミン低減化に効果があると報告がある。そのため、本研究では、図2の結果に基づき、報告されていないタンニン酸と強酸性陽イオン交換樹脂のSK1Bの両方を併用した方法により、ヒスタミン除去について検討を行った。その結果を図3に示す。タンニン酸処理とSK1Bの併用により80%弱のヒスタミンを除去できることが明らかとなった。また、この併用処理は、ペントナイト単独よりヒスタミンを多く除去できることを示していた。

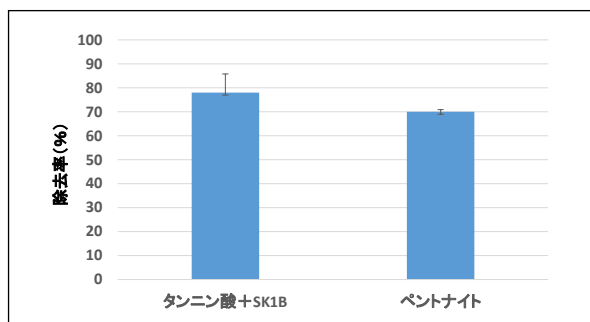


図3 Nの魚醤油におけるタンニン酸処理とSKIB処理を併用したヒスタミン除去率は平均±標準偏差で示した

次に、魚醤油(N)に含まれるアミノ酸含量についてタンニン酸処理及びSKIB処理併用の影響について検討を行った。その結果、Nの魚醤油はタンニン酸処理+SK1B処理後で遊離アミノ酸含量は、若干減少したが、遊離アミノ酸含量や組成に大きな差は見られなかった。また、他の魚醤油についても同様な検討をおこなったが、含まれるアミノ酸量や組成に大きな影響は認められなかった。これらの結果から、タンニン酸処理とSK1B処理の併用によるヒスタミン除去が、魚醤油の呈味性に与える影響は低いと考えられる。

さらに、魚醤油の発酵に関与する微生物を利用したヒスタミン除去についても検討した。その結果、石川県の伝統発酵食品から単離した好塩性微生物40種のヒスタミン資化性については、ヒスタミンを資化できる微生物は見いだせなかった。また、魚醤油中のヒスタミン産生好塩性乳酸菌の初期増殖を抑える条件について調べたところ、初期発酵温度を20℃前後に保つことで増殖を制御できることが示された。

以上より、魚醤油中に含まれるヒ素は、ヒ素添加魚醤油を用いた検討により、タンニン酸処理とCRB03処理の併用によりほとんどのヒ素を除去できることが明らかとなった。また、一方、魚醤油に含まれるヒスタミンの除去については、タンニン酸処理とSK1B処理の併用で80%近くのヒスタミンを除去することが可能であった。なお、タンニン酸処理単独でも40%程度のヒスタミンを除去することは可能であるため、CODEXの基準値400ppmを目安に、タンニン酸処理だけでヒスタミンを低減することも十分可能であると思われる。さらに、魚醤油の製造時に初期発酵温度を20℃前後に保つことでヒスタミン産生好塩性乳酸菌の増殖を制御することが明らかとなったため、製造時のヒスタミン産生抑制も可能であることが示唆された。本方法は、容易に使用できる食品添加物の利用あるいは発酵時の微生物制御により、魚醤油からのヒ素及びヒスタミンの除去できることから、小規模経営の企業においても利用可能であり、今後の有効活用が期待できる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 食品中のヒスタミンの除去方法	発明者 榎本俊樹、小柳 喬、道昌俊英、笹木 哲也	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、特願2021-052719	出願年 2021年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	笹木 哲也  (Sasaki Tetsuya)  (00504846)	石川県工業試験場・化学食品部・専門研究員   (83303)	
研究分担者	道昌 俊英  (Michihata Toshihide)  (10504855)	石川県工業試験場・管理部・次長   (83303)	
研究分担者	小柳 喬  (Koyanagi Takashi)  (20535041)	石川県立大学・生物資源環境学部・准教授   (23303)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------