

平成21年3月31日現在

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2007 ～ 2008

課題番号：19700576

研究課題名（和文）赤身魚によるアレルギー食中毒予防のための基礎的研究

研究課題名（英文） Evaluation of a histamine detection method for processed fish

研究代表者

新田 陽子（NITTA YOKO）

奈良女子大学・生活環境学部・助教

研究者番号：70403318

研究成果の概要：アレルギー様食中毒はヒスタミン食中毒とも呼ばれ、主に赤身魚の内在菌が産生するヒスタミンを多量に摂取することが原因とされている。アレルギー様食中毒予防並びにヒスタミンの摂取を減らすうえで、赤身魚中のヒスタミン量を家庭や給食施設、飲食店で把握できることが望ましい。そこで平成19年度では、今後期待できる検査法の一つである、酵素反応によるヒスタミン定量法について、将来的に一般での利用が実現可能であるかどうかを検討した。その結果調理済みの赤身魚と酸化防止剤添加済みの赤身魚について、酵素反応法によって食中毒レベルのヒスタミンの定量が正確に行えることがわかった。また、調理後の成分には発色試薬に影響を及ぼす成分が存在することを確認し、ヒスタミン定量に影響を及ぼすアスコルビン酸とイソアスコルビン酸ナトリウムの濃度を確認した。これらの成果は日本家政学会誌に掲載された。平成20年度では、ヒスタミン合成酵素であるヒスチジンデカルボキシラーゼの阻害物質を天然物から探索した。生薬・ハーブとして用いられている薬用植物をスクリーニングしたところ、阻害活性を示す植物を確認した。それらの植物を科で分類すると、バラ科が多く、阻害活性を示した全植物の約7割がバラ科であった（日本家政学会誌に掲載）。また、香辛料として用いられているオールスパイスについても阻害活性がみられたことから、成分の同定を試み、ケルセチンの配糖体に強い阻害を示すものが認められた。この成果については学術雑誌 Food Chemistry に掲載された。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	700,000	0	700,000
2008年度	500,000	150,000	650,000
年度			
年度			
年度			
総計	1,200,000	150,000	1,350,000

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：生活科学・食生活学

キーワード：食素材

## 1. 研究開始当初の背景

アレルギー様食中毒はヒスタミン食中

毒とも呼ばれ、食品内在菌が産生するヒス

タミンを多量に摂取することが原因とされている。ヒスタミン食中毒は国内で年間数件報告される程度であるが、症状が比較的軽いことから、かなり大規模な集団で症状が現れない限り報告されないままであり、実際には高い頻度で発生していると考えられている。アレルギーが深刻化するなか、アレルギー誘発物質であるヒスタミンの摂取を少しでも減らすことは重要である。ヒスタミンは通常の加熱では分解されないため、ヒスタミン摂取を減らすためには、食する前に量を把握し、多量に検出されれば食さないこと、魚中に蓄積される前に産生を防ぐことが必要になる。アレルギー様食中毒予防並びにアレルギー誘発物質の摂取を減らすうえで、赤身魚中のヒスタミン量を家庭や給食施設、飲食店で把握できることが望ましい。そのためには、家庭などでヒスタミンを簡便に定量できる方法を確立することが必要である。

## 2. 研究の目的

酵素反応によるヒスタミン検査法は比較的新しいため検討例が少ないが、今後期待できる検査法の一つである。この酵素反応によるヒスタミン定量法について、将来的に一般での利用が実現可能であるかどうかを検討する。具体的には、食品中のヒスタミンを定量する際に問題となると思われる、ヒスタミン脱水素酵素の活性阻害因子、促進因子の解明に取り組む。

またヒスタミン産生を抑制したまま赤身魚を保存できる方法を提示することも、アレルギー様食中毒予防、アレルギー誘発物質の摂取削減に有効であると考えられる、これは、赤身魚内でヒスタミンの生成反応を触媒する酵素であるヒスチジンデ

カルボキシラーゼ(HDC)の活性を阻害することによって実現可能である。そこでHDCの阻害物質を天然物から探索する。

## 3. 研究の方法

酵素反応によるヒスタミン定量の原理は、ヒスタミンと1-Methoxy PMSの存在下でヒスタミン脱水素酵素を作用させ、その生成物がテトラゾリウム塩 WST-8 を還元型にすることで発色し、その程度を470nm付近で定量するというものである。そのため、発色の際の酸化還元反応が他の因子によって阻害もしくは促進されることによっても正確な定量ができなくなる。そこで赤身魚の調理・加工が発色に影響を及ぼし、その結果食中毒レベルのヒスタミンの定量に影響を及ぼすかどうかを確認する実験を行った。加工済み赤身魚中のヒスタミンを酵素反応法で定量し、従来のHPLC法で定量した値と比較することで評価した。

HDCの阻害物質を天然物から探索する実験では、内在菌からHDCを得ることが望ましいが、何種類も存在することや、スクリーニングの段階であることから、所属研究室で既に大量の酵素を獲得する系を確立していたヒト由来の組み換えHDCを用いた、香辛料・ハーブ・薬用植物として用いられている百種類以上の植物の抽出エキスについてHDC活性阻害効果を検討した。

## 4. 研究成果

調理済みの赤身魚と酸化防止剤添加済みの赤身魚について、酵素反応法によって食中毒レベルのヒスタミンの定量が行えることを示した。調理後の成分には発色試薬に影響を及ぼす成分が存在することを確認した。ま

た、アスコルビン酸およびイソアスコルビン酸ナトリウムが発色に影響を及ぼすこと、それらの濃度と発色との関係を示した。今回は発色に影響を及ぼす因子についてのみの結果となったが、酵素反応に影響を及ぼす因子が食品中に存在することも考えられる。酵素反応を阻害または促進する因子については現在検討中であり、この成果は日本家政学会誌（59巻、923-927頁、2008年）に掲載された。

香辛料・ハーブ・薬用植物の50%EtOH抽出エキスについてHDC活性阻害効果を検討し、高い阻害率を示す植物を同定した。それらの植物を科名で分類したところ、バラ科植物抽出エキスがHDC活性阻害を示す確率は70%であり、他の科よりも倍以上高かった。部位で分類したところ、根・根茎よりは全草・葉・果実・種子のほうがHDC活性阻害に有効な抽出エキスが得られる傾向がみられた。この成果は日本家政学会誌（59巻、1011-1016頁、2008年）に掲載された。香辛料として用いられるオールスパイスについて阻害活性がみられたことから、成分の同定を試み、ケルセチンの配糖体に強い阻害を示すものが認められた。この成果についてはFood Chemistry（113, 445-449, (2009)）に掲載された。

## 5. 主な発表論文等

（研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線）

〔雑誌論文〕（計 3件）

- ① Y. Nitta, H. Kikuzaki, H. Ueno Inhibitory activity of *Pimenta dioica* extracts and constituents on recombinant human histidine decarboxylase Food Chemistry 113, 445-449, (2009) 査読有

- ② 新田陽子、伊藤賢一、植野洋志、ヒト由来ヒスチジンデカルボキシラーゼ活性を阻害する薬用植物のスクリーニング 日本家政学会誌、59巻、1011-1016頁、(2008) 査読有

- ③ 新田陽子、神原麻里子、植野洋志、加工済み赤身魚中に含まれるヒスタミンの検出法の検討 日本家政学会誌、59巻、923-927頁、(2008) 査読有

〔学会発表〕（計 1件）

- ① 新田陽子、菊崎泰枝、植野洋志 ヒト由来ヒスチジンデカルボキシラーゼ活性を阻害する香辛料成分 日本農芸化学会関西支部例会 2008年7月12日大阪府立大学

## 6. 研究組織

### (1)研究代表者

新田 陽子 (NITTA YOKO)

奈良女子大学・生活環境学部・助教

研究者番号：70403318