

令和 6 年 5 月 9 日現在

機関番号：17601

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K05785

研究課題名（和文）水産物の品質に関わる生体アミン類の新たな生成機構の解明

研究課題名（英文）Elucidation of a new production mechanism of biogenic amines related to the quality of marine products

研究代表者

田中 竜介（Tanaka, Ryusuke）

宮崎大学・農学部・教授

研究者番号：30399654

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では水産物の品質に関わる生体アミン類の生成において脂質酸化物が関与するかどうかについて検討を行った。脂質酸化物としては様々なアルデヒド類に着目した。生体アミン類の一つであるヒスタミンの生成を確認するためにアルデヒド類とヒスタミンの前駆物質であるヒスチジンの反応性について検討を行った結果、反応性が高いアルデヒドは分鎖構造、二重結合を持つ炭素数6または7の2,4-アルカジエナル類であった。また、他の生体アミン類の生成にも着目した場合、前述の2,4-アルカジエナル類の存在下でアルギニンからアグマチン、チロシンからチラミン、オルニチンからプトレシン、リジンからカダベリンの生成が確認された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ヒスタミンに代表される生体アミン類は食品の品質劣化に伴い増殖する微生物の脱炭酸酵素によってアミノ酸から生成されると言われている。しかし、生体アミン類の生成はこの生成菌によるものだけではなく、他の要因も提唱されている。本研究は生体アミン類の新たな生成機構を解明するものであり、その要因として脂質酸化物に由来するアルデヒド類の関与を示した。生体アミン類の生成は品質劣化に伴い増殖する微生物の作用に限らず、畜肉・魚類に多く含まれるアミノ酸類とアルデヒド類との熱反応によっても生じる事を明らかにした。

研究成果の概要（英文）：In this study, we investigated the involvement of lipid oxidation in the production of biogenic amines, which are related to seafood quality. In this study, we focused on various aldehydes as lipid-oxidizing agents. To confirm the production of histamine, one of the biogenic amines, the reactivity of histidine, a precursor of histamine, with aldehydes was investigated. Furthermore, focusing on the production of other biogenic amines, it was confirmed that in the presence of 2,4-alkadienal, agmatine was produced from arginine, tyramine from tyrosine, putrescine from ornithine, and cadaverine from lysine.

研究分野：食品品質

キーワード：生体アミン アルデヒド アミノ酸 ヒスタミン

### 1. 研究開始当初の背景

水産物に含まれるヒスタミン(生体アミン類の一つ)による食中毒発生状況は、厚生労働省の調査によると、年平均 100~200 名が発症し、そのうち 14 才以下の乳幼児・児童の割合が約 60% を占めている。水産物は若年層の成長に必要な栄養成分を多く含むため摂取が推奨されているが、食中毒に対する懸念によって購買意欲を後退させる危険がある。そのため、ヒスタミン中毒の発生を抑制させることは水産物の消費向上を目指す上で重要な課題である。

ヒスタミンに代表される生体アミン類は、アミノ酸に微生物が持つ脱炭酸酵素が作用し生成される。そのため、アミノ酸を多く含む水産物が不適切に管理された場合、脱炭酸酵素を持つ微生物が増殖し生体アミン類が生成される。従って、生体アミン類の生成抑制は、これら微生物の増殖と酵素作用を抑えることを念頭に置き、原材料から最終製品の喫食までの一貫した品質管理が重要である。

ところで、生体アミン類の生成は微生物による脱炭酸酵素によるものだけが原因なのか?食品中の成分の変化は、酵素による変化と非酵素(化学反応)による変化も考えられる。非酵素による変化は食品の加工(加熱など)によって起こることから、非酵素的反応による生体アミン類の生成も予測され、酵素作用を抑えるための品質管理だけでは生体アミン類の抑制は難しいと考えられる。

Hidalgo et al (2013) はアミノ酸の一つである asparagine に脂質酸化物を反応させることにより、5-oxazolidinone が生成され、脱炭酸、azomethine ylide を経て、3-aminopropionamide が生成されることを示し、この時の脂質酸化物として、アルデヒドの一つである 2,4-alkadienals が、反応性が高く 3-aminopropionamide の生成を示した。

本研究では、これらの研究背景をもとに、アミノ酸と脂質酸化物(特にアルデヒド類)の反応に着目して、水産物の品質に関わる生体アミン類の生成の可能性を検証し、その反応機構を解明する。水産物の品質に関与する生体アミン類としてヒスタミンが挙げられるが、その他にチロシンからチラミン、リジンからカダベリン、オルニチンからプトレシンがそれぞれ生成される。これらチラミン、カダベリン、およびプトレシンは腐敗臭を伴うだけではなく、ヒスタミンの解毒作用を阻害するため、ヒスタミンの作用が持続・増強される。従って、食品の品質・衛生の観点からヒスタミンと同様にチラミン、カダベリン、およびプトレシンの生成についても着目すべきである。

### 2. 研究の目的

本研究ではアミノ酸と脂質関連物質によるヒスタミン等の生体アミン類の生成機構の解明を行う。特に、食中毒に直接関わるヒスタジンとアルデヒド類の反応によるヒスタミンの生成に着目し、さらにヒスタミンの作用を持続・増強させるチラミン、カダベリン、およびプトレシンの生成についても着目する。

ヒスタミンをはじめとする生体アミン類に関する研究は、前述の様に、脱炭酸酵素を持つ微生物の増殖と酵素作用に関する研究報告が多い。また、水産物の品質劣化に伴うヒスタミンならびに脂質酸化物の個々の生成量の変化に関する報告も多く見られる。特に、アルデヒドに着目した場合、還元糖由来のアルデヒドとアミノ酸の反応性については、アミノ-カルボニル反応に代表される食品の褐変反応に関する研究報告は多く見られる。しかし、その最終産物に生体アミン類が生成される事象については報告されていない。

申請者はこれまで水産物の品質指標の観点から、脂質酸化由来のアルデヒドの生成に着目して来た。水産物は EPA や DHA などの機能性の高い n-3 系高度不飽和脂肪酸 (n-3 PUFA) を多く含む一方で、その化学構造に起因し酸化し易い特徴を有している。従って、この脂質酸化物を指標とした水産物の品質評価法を見出し、特に、4-hydroxy-2-hexenal (HHE)ならびに 1-propanal が指標となることを示した。ここで HHE はアミノ化合物との反応性が高く n-3 PUFA 由来であるため、水産物の生体アミン類の生成に大きく関わることが予測される。

本申請研究は、これまでの水産物中のアルデヒドに関する研究成果を発展させ、脂質酸化物の一つであるアルデヒドとアミノ酸の非酵素的反応による生体アミン類の生成について着目する。

### 3. 研究の方法

アミノ酸とアルデヒド類の反応による生体アミン類の生成を確認し、水産物における脂質酸化物を原因とした生体アミン類の生成条件を把握するために以下の研究 1~3 を行う。

#### 研究 1. アミノ酸と 2,4-alkadienals の反応による生体アミン類の生成の確認

Hidalgo et al (2013)の報告を参考にアミノ酸と 2,4-alkadienals の反応による生体アミン類の生成を確認する。生成反応において、至適温度、時間、pH、を確認し、反応によって生成される生体アミン類は HPLC/MS 等によって同定する。なお、2,4-alkadienals については、食品中に含まれる脂質が酸化することによって生じる、2,4-hexadienals、2,4-heptadienals、2,4-octadienals に着目する。

#### 研究2. アミノ酸と n-3 PUFA 由来のアルデヒドの反応による生体アミン類の生成の確認

研究1での反応条件からアミノ酸と n-3 PUFA の酸化由来のアルデヒド (HHE, 1-propanal) との反応により、生体アミン類が生成されるか否かを確認する。

#### 研究3. アルデヒド類と様々なアミノ化合物の反応による新たな生体アミン類の生成の確認

研究1・2の結果から、生体アミン類を生成しやすいアルデヒドを選択し、基質として様々なアミノ化合物との反応性を検討する。これにより、既知の生体アミン類以外の新たなアミン類の生成が予測される。

### 4. 研究成果

#### 研究1. アミノ酸と 2,4-alkadienals の反応による生体アミン類の生成の確認

Hidalgo et al (2013)の報告を参考にアミノ酸と 2,4-alkadienals の反応による生体アミン類の生成を確認した結果、ヒスチジンからヒスタミンの生成に限らず、アルギニンからアグマチン、チロシンからチラミン、オルニチンからプトレシン、リジンからカダベリンの生成が確認された。なお、これらの反応において各種条件を検討した結果、至適温度においては 100 よりも 180 の方が生成量が多かった。また反応時間においては、0、15、30、60、120 分で反応させた結果、60 分で全ての生体アミンにおいて生成量が最大であった。pH においては中性域が最大量を示した。これらの反応におけるアルデヒド類を検討した結果、2,4-alkadienals 類が高い反応性を示し、特に 2,4-heptadienals ならびに 2,4-nonadienals が高い生成量を示した。

#### 研究2. アミノ酸と n-3 PUFA 由来のアルデヒドの反応による生体アミン類の生成の確認

研究1での反応条件を参考に生体アミン類が生成されたアミノ酸と n-3 PUFA の酸化由来のアルデヒド (HHE, 1-propanal) との反応を検討した結果、研究1の 2,4-alkadienals 類と比較すると生成量は著しく低かった。

#### 研究3. アルデヒド類と様々なアミノ化合物の反応による新たな生体アミン類の生成の確認

研究1・2の結果から、生体アミン類を生成しやすいアルデヒドを選択し、基質として様々なアミノ化合物の反応性を検討した結果、アミノ酸の場合は脱炭酸反応によりアミン類に変換された。しかし、単にアミノ基のみを持つアンモニア、ジメチルアミン、トリメチルアミン等は反応性を示さなかった。

#### < 考察 >

本研究を通して、アミノ酸は 2,4-alkadienals 類と反応させることにより生体に存在するアミン類を生成することを明らかにした。これは微生物の酵素反応によらない新しい反応である。しかし、本研究の反応条件は 180 と高温条件であることから、実際の食品保蔵の観点からは乖離されているものの、油調理などの加熱を伴う食品加工では予想される温度である。従って品質劣化に伴い生成されるアルデヒド類が存在すれば、本研究で明らかにしたアミン類の生成が予測される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Kido Shuhei, Chosa Etsuo, Tanaka Ryusuke	4. 巻 398
2. 論文標題 The effect of six dried and UV-C-irradiated mushrooms powder on lipid oxidation and vitamin D contents of fish meat	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Food Chemistry	6. 最初と最後の頁 133917 ~ 133917
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.foodchem.2022.133917	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Jongsawatsataporn Nichawee, Tanaka Ryusuke	4. 巻 15
2. 論文標題 The Simultaneous Analysis of 14 Antioxidant Compounds Using HPLC with UV Detection and Their Application to Edible Plants from Asia	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Food Analytical Methods	6. 最初と最後の頁 1331 ~ 1340
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s12161-021-02199-7	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔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
---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------