

ヒスタミン生成菌の簡易・迅速検出法

○陶志華・中野俊樹・山口敏康・阿部直樹・佐藤実（東北大院農）

キーワード：ヒスタミン生成菌・メンブレンフィルター濾過・選択培養・光学顕微鏡観察

【目的】

サバ科魚肉は様々な栄養成分や健康機能性成分を含んでいるが、鮮度低下や腐敗が早い欠点がある。サバ科魚肉において最も注意される化学的有害因子はヒスタミンである。ヒスタミンはヒスチジンが脱炭酸されて生成されるが、その主要原因は *Morganella morganii* や *Photobacterium phosphoreum* などのヒスタミン生成菌によるとされる。魚類および水産食品の予防的安全管理の上でヒスタミン生成菌の簡易・迅速検出法の開発が望まれる。本研究では、メンブレンフィルターろ過、B.T.B 含有ヒスチジン寒天培地（pH5.8）による選択培養、光学顕微鏡観察によるヒスタミン生成菌の簡易・迅速検出法を開発したので報告する。

【材料と方法】

海水は直接、魚肉は滅菌生理食塩水でホモジナイズした後その上清（必要により希釈）を吸引ろ過ホルダーにセットした 2 枚組みメンブレンフィルター（10 μ m および 0.2 μ m）でろ過した。下層の 0.2 μ m メンブレンフィルター（Advantec, K020A025A）を B.T.B 含有ヒスチジン寒天培地上に置き、35℃で 5 時間培養した後、光学顕微鏡（ $\times 100$ ）でコロニーを観察した。また、菌の状態は走査型電子顕微鏡で観察した。ヒスタミン生成能の確認はヒスチジンプイオン培地で培養後、ろ紙電気泳動法で行った。

【結果と考察】

5 時間培養後のメンブレンフィルターを顕微鏡観察すると周囲が青色を呈するコロニーが確認された。この変色は生成されたヒスタミンが原因で、コロニーの周囲がアルカリ性となり、B.T.B 培地が青色を呈することによって考えられた。このことを確認する為、周囲が青色を呈したコロニーをヒスチジンプイオン培地で培養したところ、培養液に多量のヒスタミンが検出された。一方、青色を呈しないコロニーではヒスタミンの生成は認められなかった。

また、この方法で、市販魚マサバ、サンマの表皮およびエラ、メバチ切身表面に、ヒスタミン生成菌を検出することができた。無菌的に採取したマサバおよびサンマ筋肉においてはヒスタミン生成菌を検出できなかった。

現在用いられているヒスタミン生成菌の検出方法は、菌をヒスチジンプイオン培地に接種しヒスタミン生成能を確認する方法が用いられている。この方法では培養時間、ヒスタミンの確認操作などに時間がかかり、加工処理現場での適用に難点がある。また、最近開発された PCR 分子生物学手法でヒスタミン生成菌を判定することできるが、この方法も培養および処理に時間がかかる。本法は抽出、培養を含め約 5 時間でヒスタミン生成菌の検出が可能で、簡易・迅速な方法として水産食品加工現場でのヒスタミンによる危害管理に広く応用できるものと考えられる。