

昆虫食に含まれる不揮発性アミン類の分析

Analysis of Nonvolatile Amines in Insect Food

上田友紀子 藤井 良昭 大前 詩穂
青柳 直樹 西村 一彦

Yukiko UEDA, Yoshiaki FUJII, Shiho OMAE,
Naoki AOYANAGI and Kazuhiko NISHIMURA

Key words : nonvolatile amines (不揮発性アミン類) ; insect food (昆虫食) ;
LC-MS/MS (液体クロマトグラフィータンデム型質量分析計)

緒 言

昆虫は先史時代から食べられており、アジア、中南米、アフリカを中心に多くの地域で現在も 20 億人の人々の食生活の一部となっている¹⁾。日本においては、江戸時代以降には庶民が昆虫を食べていた記録があり、現在もイナゴの甘露煮や佃煮は一般にも知られており、また、蜂の子は高級食材として人気があるなど昆虫を食べる文化が残っている。昆虫食は、タンパク質が豊富で栄養価が高く、多くの家畜に比べて飼育に必要な水や飼料などの資源使用量や温室効果ガスの排出量が少なく環境負荷が小さいことから、飢餓や気候変動への解決策として SDGs に貢献すると期待されている²⁾。そこで、農林水産省では「みどりの食料システム戦略」を策定し、新たなタンパク資源として昆虫の利用拡大に力を入れている³⁾。このような状況においてここ数年、輸入昆虫食が販売されてきており、以前より一層身近な存在になりつつある。そのため、昆虫食の安全性についての関心が高まっており、重金属や残留農薬の実態調査が報告されている⁴⁾。一方、昆虫食が盛んなタイにおいてバッタやカイコの蛹のフライなどの昆虫食によるヒスタミン食中毒事例が報告されている⁵⁾。ヒスタミンは、アレルギー様食中毒の原因物質であり、高濃度蓄積された食品を摂取すると顔面紅潮や頭痛、嘔吐を引き起こす可能性がある⁶⁾。そのため、昆虫食の安全性を評価するには、ヒスタミン含量の実態調査も重要だと考えられるが、国内で購入可能な昆虫食のヒスタミン含量に関する情報や報告例は見当たらない。そこで今回、市販の昆虫食中のヒスタミン含有量分析を実施した。さらに公衆衛生学的リスクが指摘されている不揮発性アミン類、すなわち血圧上昇や片頭痛の原因物質として知られるチラミン、アレルギー様症状を

助長するといわれているプトレシン及びカダベリン⁶⁾ も合わせて分析したので、報告する。

方 法

1. 試料

試料は札幌市内で購入した昆虫食 (13 試料) を用いた。試料は素揚げや加熱調理により乾燥させたものであり、ミルミキサーを用いて均質化し、-30℃で保存した。

2. 試薬及び試液

標準試薬は、富士フイルム和光純薬 (株) 製のヒスタミン二塩酸塩、関東化学 (株) 製のカダベリン二塩酸塩及びチラミン塩酸塩、Merck 社製のプトレシン二塩酸塩を用いた。各標準試薬をそれぞれアミンとして 5,000 mg/mL 溶液になるよう 0.1 mol/L 塩酸に溶解し、標準原液を調製した。各標準原液を混合し、0.1 mol/L 塩酸を加え、1,000 mg/mL の混合標準溶液を調製した。

試薬は関東化学 (株) 製の LC/MS 用アセトニトリル、蒸留水、残留農薬・PCB 試験用 *n*-ヘキサン (以下、ヘキサン)、HPLC 用メタノール、特級トリクロロ酢酸 (TCA)、富士フイルム和光純薬 (株) 製の LC/MS 用ギ酸、試薬特級リン酸二水素ナトリウム 2 水和物、リン酸二水素ナトリウム 12 水和物、水酸化ナトリウム及び Honeywell International 社製の LC-MS 用ギ酸アンモニウムを用いた。100 mmol/L リン酸緩衝液 (pH6.8) は、リン酸二水素ナトリウム 2 水和物 7.8 g、リン酸二水素ナトリウム 12 水和物 17.9 g を水に溶解し、全量を 1,000 mL とした。20 mmol/L リン酸緩衝液 (pH6.8) は、100 mmol/L リン酸緩衝液を水で希釈して調製した。溶出溶媒はメタノール 30 mL と水 70 mL 及びギ酸 1 mL を混合した。希釈溶媒は、10 mmol/L ギ酸アンモニウム及び 0.1% ギ酸含有水溶液とアセトニト

リルを4:6に混合した。

弱陽イオン交換カラムは Waters 社製 Oasis WCX (60 mg、3 mL) (以下 WCX)、ろ紙は GE Healthcare Technologies 社製ワットマン定量ろ紙 No.41 (直径 125 mm) を用いた。

3. 装置及び分析条件

ミルミキサーは、大阪ケミカル(株)製フォースミル Y-308B を用いた。ボルテックスミキサーは、Scientific Industries 社製 VORTEX-GENIE 2 を用いた。遠心分離機は (株)久保田製作所製ユニバーサル冷却遠心機 5930 を用い、固相抽出操作はジューエルサイエンス(株)製 GL-SPE 吸引マニホールドキットを用いた。

LC は Agilent Technologies 社製 1260 Infinity II LC を用い、MS/MS は Agilent Technologies 社製 6495C Triple Quad LC/MS を用いた。LC 分析カラムは Merck 社製 Discovery HS F5-3 (3 μ m、2.1 $\times$ 100 mm) を用いた。カラム温度は 40℃、移動相は A 液 10 mmol/L ギ酸アンモニウム及び 0.1% ギ酸含有水溶液 : B 液 アセトニトリル = 40 : 60 のイソクラティック溶出条件とした。流量は 0.25 mL/min、試験溶液の注入量は 3 μ L、イオン化モードは ESI (+)、測定モードは多重反応モニタリング (MRM) とした。表 1 に化合物ごとの MRM 分析条件を示した。

4. 試験溶液の調製

当所で開発した試験法⁷⁾を参考とした。均質化した試料 1.0 g を 50 mL 容 PP 製遠沈管に量りとり、メタノール 12.5 mL を加え、10 分間静置した。2 分間ボルテックスミキサーでかくはんした後、5% TCA 12.5 mL を加え、さらに 2 分間かくはんした。3,300 rpm、5 分間、4℃で遠心分離し、ろ紙でろ過した。残さにメタノール 7.5 mL、5% TCA 7.5 mL を加え、2 分間かくはんした後、上記と同様に遠心分離し、上清をろ過した。得られたろ液を合わせ、5% TCA で 50 mL に定容し、抽出溶液とした。この抽出溶液から 0.15 mL 分取し、1 mol/L 水酸化ナトリウム溶液 0.045 mL、20 mmol/L リン酸緩衝液 2.8 mL を加えた。この溶液をメタノール 3 mL、蒸留水 3 mL、20 mmol/L リン酸緩衝液 3 mL でコンディショニングした弱陽イオン交換カラム WCX に全量負荷した。20 mmol/L リン酸緩衝液 3 mL、蒸留水 3 mL、50%メタノール溶液 3 mL で順次洗浄した後、溶出溶媒 3 mL で溶出した。これを希釈溶媒で 50 倍希釈し、試験溶液とした。

5. 検量線

混合標準溶液 (各 1,000 μ g/mL) を希釈溶媒で希釈し、0.1~20 ng/mL の範囲で検量線用の標準溶液を 4 点調製した。

結 果

1. 試験法の適用確認

当所で開発した試験法⁷⁾は、昆虫食試料と同様に水分の少ない高野豆腐において良好な回収率が得られており、この試験法を昆虫食に適用することを試みた。すなわち、スーパーワームを用いて添加回収試験を行い、試験法の適用を確認した。添加濃度は 100 ppm、試行回数は 1 回、ブランク試料に添加し、室温で 30 分程度静置した後、「4. 試験溶液の調製」に従い試験溶液を調製した。その結果、ヒスタミンは 88%、チラミンは 85%、プトレシンは 82% 及びカダベリンは 83% と良好な回収率であり、本試験法は適用可能であると判断した。

2. 試料分析結果

昆虫食 13 試料を分析した結果を表 2 に示す。ヒスタミンは 13 試料中 7 試料から検出されたが、濃度は最大で 14.4 μ g/g と低かった。チラミンは、9 試料から検出され、スーパーワームとセミの幼虫に各々 124.0 μ g/g 及び 1236.7 μ g/g と高濃度で含まれていた。プトレシンはすべての試料から検出され、アカアシトビバッタ、イナゴ、カイコの蛹 (2 種)、スーパーワーム、スズメバチ、セミの幼虫、セミの成虫に 100 μ g/g 以上の高濃度で含まれていた。カダベリンは 9 試料から検出され、スーパーワームに 162.8 μ g/g と高濃度で含まれていた。

考 察

Chomchai ら (2018)⁵⁾によるアレルギー様食中毒発生時の昆虫食調査では、ヒスタミンはカイコの蛹に 28.8~875 μ g/g、バッタに 97.3 μ g/g 含まれていた。一方、今回の調査ではカイコの蛹に 5.3~7.6 μ g/g、アカアシトビバッタは定量下限値未満の低い濃度であり、国内で市販されている昆虫食の中にはヒスタミンを含有しているものはあるが、濃度は低いことが示唆された。チラミンは、セミの幼虫に 1,000 μ g/g を超える高濃度で含まれており、チラミンを多く含む食品として知られるチーズの最大含有報告値と同程度であった⁸⁾。抗うつ剤やパーキンソン病治療薬として使用される

表 1 不揮発性アミン類の MRM 条件

	Q1 (<i>m/z</i>)	Quant		Qual		極性
		Q3 (<i>m/z</i>)	CE (eV)	Q3 (<i>m/z</i>)	CE (eV)	
ヒスタミン	112	95	18	83	14	+
チラミン	138	121	10	77	30	+
プトレシン	89	72	10			+
カダベリン	103	86	10	69	18	+

Q1: プリカーサーイオン、Q3: プロダクトイオン
CE: コリジョンエナジー、Quant: 定量イオン、Qual: 確認イオン

表2 昆虫食における不揮発性アミン類含有濃度

試料	製法	ヒスタミン ($\mu\text{g/g}$)	チラミン ($\mu\text{g/g}$)	プトレシン ($\mu\text{g/g}$)	カダベリン ($\mu\text{g/g}$)
アカアシトビバッタ	素揚げ	—	20.5	403.2	54.7
イナゴ	素揚げ	5.3	10.9	831.4	76.3
サゴワーム	素揚げ	—	—	11.8	—
カイコ蛹	加熱調理による乾燥	7.6	10.4	588.3	—
カイコ蛹(2)	素揚げ	5.3	16.6	692.2	5.3
シロアリ	加熱調理による乾燥	—	—	37.8	—
スーパーワーム	加熱調理による乾燥	9.1	124.0	118.2	162.8
スズメバチ	素干し	—	—	922.0	64.4
セミ幼虫	素揚げ	14.1	1236.7	107.6	58.9
セミ成虫 ※1	素揚げ	11.5	23.7	105.7	12.0
ツムギアリ	加熱調理による乾燥	—	30.1	11.3	—
フタホシコオロギ	加熱調理による乾燥	14.4	36.1	25.5	27.0
ミミズ ※2	加熱調理による乾燥	—	—	6.0	9.8

定量下限値：1.0 $\mu\text{g/g}$

—：定量下限値未満

※1 ブラックペッパー、塩、ゴマ油で味付け

※2 ニンニク、ライム、酢、タマネギで味付け

MAOI（モノアミノオキシターゼ阻害薬）を服用する患者は、経口でチラミン 6 mg 以上を摂取すると頭痛や発熱を引き起こす恐れがある⁸⁾。今回分析したセミの幼虫は1袋3匹入り約 2 g であり、一度に3袋以上喫食すると発症する可能性があるため注意が必要である。プトレシンは半数以上が 100 $\mu\text{g/g}$ を超え、最大で 922.0 $\mu\text{g/g}$ 含まれ、カダベリンは定量下限値未満の試料もあれば、カイコの蛹で 100 $\mu\text{g/g}$ を超える含有も認められた。プトレシンやカダベリンを高濃度に含むこれらの昆虫食は、ヒスタミンを含む食品と共に喫食することで、アレルギー様症状を助長する可能性があり⁶⁾、注意が必要と考えられた。

今回の調査では、ヒスタミンを高濃度に含有する試料は認められなかったが、高濃度のチラミンを含有する試料があるなど、食品衛生上注意すべき点も認められた。今後も昆虫食の販売や流通品の変化に合わせて調査を継続していく予定である。

文 献

- 1) FAO: Edible insects future prospects for food and feed security, <https://www.fao.org/4/i3253e/i3253e.pdf> (確認:

2024 年 6 月 5 日)

- 2) 環境省ホームページ：平成 29 年版 環境・循環型社会・生物多様性白書, <https://www.env.go.jp/policy/hakusyo/h29/pdf.html> (確認：2024 年 7 月 17 日)
- 3) 農林水産省ホームページ：みどりの食料システム戦略トップページ, <https://www.maff.go.jp/j/kanbo/kankyo/seisaku/midori/> (確認：2024 年 6 月 5 日)
- 4) 北原悠吾, 野村洸司, 西原奈波, 上田琢也, 渡邊 悟, 斎藤 勲, 上山 純：食用昆虫におけるヒ素・重金属および農薬の残留調査. 食衛誌, **63**, 136-140 (2022)
- 5) Chomchai S, Chomchaib C: Histamine poisoning from insect consumption: an outbreak investigation from Thailand. Clinical Toxicology, **56**, 126-131 (2018)
- 6) FAO/WHO: Public Health Risks of Histamine and other Biogenic Amines from Fish and Fishery Products, https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/89216/9789240691919_eng.pdf?sequence=1 (確認：2024 年 6 月 5 日)
- 7) 上田友紀子, 藤井良昭, 大前詩穂, 青柳直樹, 西村一彦：LC-MS/MS を用いた農産食品及び農産加工食品を対象とした不揮発性アミン類の分析法の開発. 道衛研所報, **74**, 65-67
- 8) 井部明宏：発酵食品に含まれるアミン類. 東京健安研七年报, **55**, 13-22 (2004)