=原 著=

ヒスタミン産生菌が誘発する食中毒の予防を目的とした コロナ放電の効果について

新田 陽子^{*1,†}・熊谷 孝則^{*2}

(^{*1}岡山県立大学, ^{*2}広島大学)

(受付: 令和元年9月18日)

(受理: 令和2年3月18日)

Effects of Corona Discharge on Histamine-Producing Bacteria, Histamine Synthase and Histamine

Yoko NITTA^{*1} and Takanori KUMAGAI^{*2}

(^{*1} Okayama Prefectural University, Kuboki, Soja, Okayama 719-1197; [†]Corresponding author)

(^{*2} Hiroshima University, Kasumi, Minami-ku, Hiroshima 734-8553)

Effects of corona discharge on growth of *Morganella morganii* and *Photobacterium phosphoreum*, well-known histamine-producing bacteria in foods, and on the activity of histidine decarboxylase that catalyzes histamine production were investigated. Effects of corona discharge on histamine itself were also investigated. Corona discharge generated at about 9 kV decreased the number of viable *M. morganii* and *P. phosphoreum* cells significantly at a distance of 11–14.5 cm for 18 hr discharge, and inhibited the activity of 0.7 µg purified histidine decarboxylase at a distance of 13 cm for 3 hr discharge. Notably corona discharge reduced the amount of histamine from 556 to 435 ng at a distance of 13 cm for 24 hr discharge. Corona discharge might be a promising method to prevent food poisoning caused by histamine accumulation through preventing the growth of histamine producing bacteria, inhibiting the activity of histamine synthase and reducing the amount of histamine.

Key words: food poisoning, *Morganella morganii*, *Photobacterium phosphoreum*, enzyme, bio active amine

緒 言

ヒスタミンは生理活性アミンの一つで、アレルギー反応の介在物質として働くほか、さまざまな生理作用に関与する。一方、食品中に蓄積した多量のヒスタミンを摂取すると顔面紅潮などのアレルギー様の症状を呈することがあり、これはアレルギー様食中毒と呼ばれている^{4, 5, 24)}。食品中にヒスタミン産生菌が増殖すると、菌が有する酵素作用によってヒスチジンからヒスタミンが生成され、食中毒レベルとされる100 mg/kg以上²¹⁾のヒスタミンが蓄積する場合がある。日本ではヒスチジンを多く含むサバなど赤身魚での食中毒が多い²⁴⁾。

厚生労働省食中毒統計資料には毎年ヒスタミンによる食中毒が報告されており、予防対策が求められている。症状が30分程度でおさまることなどから、報告されていないものの、ヒスタミン汚染された食品を摂取している場合も多いと思われる^{2, 6)}。ヒスタミンは生体内で作られ、食品からの摂取は必要なく、摂取されたヒスタミンは分解される¹¹⁾。分解が追いつかないほどの量を摂取したときに症状が現れるとされている⁹⁾。そのため、食品からのヒスタミン摂取はできるだけ減らすほうが良いが、ヒスタミンは通常の加熱では分解されないため、加熱による対策ができない¹⁷⁾。また、無色・無臭、一般に無味とされており、ヒスタミン汚染を食する前に気づくことは困難である¹⁷⁾。日本にはヒスタミンに対する規制はなく、食中毒予防として、低温での保管を徹底してヒスタミン産生菌が増殖しないようにして、ヒスタミンを増やさないことが提唱されている⁵⁾。

[†] 連絡先

^{*1} ☎ 719-1197 岡山県総社市窪木111

^{*2} ☎ 734-8553 広島市南区霞1-2-3

しかし、衛生管理を徹底したとしても低温で増殖するヒスタミン産生菌が存在し、低温でヒスタミンが蓄積する報告があることから^{1, 4, 8)}、その他の対策も必要であると考えられる。食中毒は、ヒスタミンを生成する腐敗菌などによる汚染が主たる原因と考えられ、食品中のヒスタミン量はヒスタミン産生菌の増殖とともに増えることが知られている^{5, 23)}。しかし、培養可能なヒスタミン産生菌を検出しているに過ぎず、食品から検出された菌数とヒスタミン量が比例しない場合がある⁸⁾。食品から検出された菌数とヒスタミン量が比例しない別の理由として、凍結融解などで生じる菌の溶解による、ヒスタミン生成を触媒するヒスチジン脱炭酸酵素(HDC: histidine decarboxylase)の食材への溶出が考えられている⁷⁾。ヒスタミン食中毒対策には、ヒスタミン産生菌への対策、HDCへの対策およびヒスタミンそのものへの対策が有効であると考えられる。

微生物の殺菌技術として、近年放電技術を用いた手法が注目されている¹⁰⁾。放電現象によって生じる荷電粒子、すなわち電子や正イオン、負イオンなどが微生物細胞表層に衝突し、殺菌に関与すると考えられている²⁰⁾。原理的には、これらの荷電粒子が酵素表面や低分子物質にも影響を及ぼすことが十分考えられる。そこで本研究では低温大気圧プラズマ発生方法の一種であり、比較的簡便な放電法のコロナ放電を用いて、ヒスタミン産生菌数、HDC活性およびヒスタミン量への効果を調べた。コロナ放電の大腸菌数に対する影響を調べた先行研究はあるが^{3, 18)}、ヒスタミン産生菌数に対しての研究は本研究が初めてである。また、コロナ放電発生下に酵素そのものを放置し、酵素活性に対するコロナ放電の影響を調べる研究は本研究が初めてである。さらに、コロナ放電発生下に低分子化合物そのものを放置し、ヒスタミンのような低分子化合物の量に対するコロナ放電の影響を調べる研究は本研究が初めてである。

材料および方法

1. 試験装置 (Fig. 1)

横型デシケータ (内寸: 幅48.5 cm, 奥行き27.5 cm, 高さ28.5 cm, アズワン) の天井にコロナ放電発生装置 (外形寸法: 幅19.5 cm, 奥行き9.5 cm, 高さ3.5 cm, 試作品) を取り付け付けた。この装置は針電極 (根本から先端までの長さ1.5 cm, 太さ0.1 cm, 材質はインコネル) を用いており、印加電圧は約9 kVで正極性コロナ放電、および負極性コロナ放電を同時に発生させる。放電中に発生するオゾンの蓄積を抑止するため、デシケータは完全密閉ではなく、下部に隙間がある状態で実験を行った。

2. 生菌数測定

NITE Biological Resource Centerより分譲を受けた *Morganella morganii* NBRC3848 および *Photobacterium phosphoreum* NBRC13896 の2株を供試した。

コロナ放電装置上面図

Fig. 1. Schematic diagram of a device for corona discharge

*M. morganii*をHYM液体培地 (1%ハイポリペプトン, 0.2%酵母エキス, 0.1%硫酸マグネシウム七水和物, pH 7.0) にて, 28°C, 200 rpmの条件下, OD₆₀₀=0.76 (8.3 log₁₀ CFU/mL, CFU: Colony forming unit)まで培養した。また, *P. phosphoreum*をMarine broth (Becton Dickinson)にて, 22°C, 200 rpmの条件下, OD₆₀₀=0.56 (8.2 log₁₀ CFU/mL)まで培養した。

3,600×g, 4°C, 10 minの遠心により菌体を集め, phosphate-buffered saline (PBS, 8.1 mMリン酸水素二ナトリウム, 1.47 mMリン酸二水素カリウム, 2.68 mM塩化カリウム, 137 mM塩化ナトリウム, pH 7.4) 5 mLに懸濁することにより菌体を洗浄し, 再び3,600×g, 4°C, 10 minの遠心により菌体を集めた後, *M. morganii*は用いた培養液量から2倍濃縮となるようにPBS, *P. phosphoreum*は用いた培養液量から5倍濃縮となるように25%グリセロール含有PBSに懸濁した。各懸濁液25 μLをセルロースアセテート膜 (φ25 mm, 型番C020A025A, アドバンテック東洋) に載せ, コロナ放電を発生させたデシケータ内(25°C)に設置した (*n*=3)。なお, コロナ放電の発生を行わないものを対照とした (*n*=3)。 *M. morganii*は膜単独, *P. phosphoreum*は2%塩化ナトリウムを含有する固体寒天(1.5%)上で行った。放電装置との距離は *M. morganii*で14.5 cm, *P. phosphoreum*で11 cmとした。所定の時間経過後, 膜を菌体回収溶液 (0.1%

Tween 20含有PBS) 5 mLに浸し、ボルテックスにて激しく攪拌した。懸濁液をPBSで適当に希釈した後、*M. morganii*についてはHYM寒天培地(agar 1.5%), *P. phosphoreum*についてはMarine agar (Becton Dickinson)に100 μ L塗布し、*M. morganii*は28°Cにて24 hr、*P. phosphoreum*は22°Cにて40 hr培養した。培養後、出現したコロニー数をカウントし、生菌数(CFU)を算出した。なお、2試験区の統計処理はWelchの*t*検定により行い、 $p < 0.05$ をもって有意差があると判断した。

3. HDC活性測定

*M. morganii*が有するHDCを、大腸菌に組換えタンパク質として発現させた後、精製した酵素¹⁴⁾を用いた。酵素の調製について、以下にその概要を示す。公開されているゲノム情報に基づき*M. morganii*のHDC由来の核酸配列を増幅するようにプライマーを設計した。このとき、精製を容易にするためにグルタチオンS-トランスフェラーゼ(GST)の融合タンパク質として発現させた。プライマーは、5'-ACGCGGATCCATGACTCTGTC-TATCAATG-3' (下線部は制限酵素*Bam*HIの認識部位) と5'-ACGCGAATTCTTATGCCGCGTGTAAG-3' (下線部は制限酵素*Eco*RIの認識部位)を用意した。NucleoSpin® Tissue (タカラバイオ)を用いて*M. morganii*の菌体からゲノムを抽出して鋳型とし、Prime STAR® Max DNA Polymerase (タカラバイオ)と上記のプライマーを用いて*M. morganii*のHDC由来の核酸配列を増幅した。制限酵素の*Bam*HIと*Eco*RIで処理後、*Bam*HIと*Eco*RIで処理したGST融合タンパク質発現用のプラスミドpGEX-6p-1 (GEヘルスケア)と混合しライゲーションを行った。プラスミド内に挿入した*M. morganii*のHDC由来の核酸配列をDNAシーケンス解析で確認した後、そのプラスミドを大腸菌BL21 (DE3)に導入し、形質転換後の大腸菌をLB液体培地(1%ポリペプトン、0.5%酵母エキス、1%塩化ナトリウム)で培養した。37°Cで対数増殖期まで培養後、イソプロピル- β -チオガラクトピラノシドを0.1 mMになるように添加した。その後25°Cで20 hr培養・誘導し、GST融合タンパク質を菌体内で発現させた。

25°Cで20 hr培養した菌体を集菌し、プロテアーゼ阻害剤カクテル(Roche)を添加した緩衝液A (50 mM 塩化ナトリウムを含む50 mMリン酸カリウム(pH 6.8))に再懸濁し、超音波破碎を行った。遠心分離後、Glutathione Sepharose 4B担体 (GEヘルスケア)を詰めたカラムに上清を添加し、GST融合タンパク質を担体に結合させた。緩衝液Aで担体を洗浄後、10 mMグルタチオンを含む緩衝液Aで担体に吸着したGST融合タンパク質を溶出させた。溶出液にPreScission protease (GEヘルスケア)を添加し、GSTと目的タンパク質の間のPreScission Protease認識配列での切断反応を4°Cで20 hr行った。RESOURCE Q (1 mL, GEヘルスケア)とGSTrap HP (1 mL, GEヘルスケア)のそれぞれのカ

ラムを連結させてAKTAprime plus (GEヘルスケア)を用いてイオン交換クロマトグラフィーを行った。10 mM 塩化ナトリウムを含む10 mM HEPES (pH 7.0)でカラムを平衡化した後、5倍に希釈したPreScission protease処理後の溶液をカラムに添加し、1 mL/minの流速で塩化ナトリウムの濃度を10 から250 mMまで高めて(グラジエントを利用)、目的のタンパク質を溶出させた。溶出過程における各フラクションの溶液に含まれるタンパク質のサイズをSDS-PAGEにて確認し、目的タンパク質のサイズ(約43 kDa)と一致するほぼ単一のバンドが現れたフラクションについて、酵素活性の有無を確認した。酵素活性が確認できたフラクションの溶液を、精製した酵素とした。なお、酵素活性は1 mgのタンパク質が1分あたりに生成するヒスタミン量で示し、精製した酵素の反応の最大速度 V_{max} はpH 6.0で73 μ mol/mg/min、pH 6.5で43 μ mol/mg/minであった。精製した酵素のミカエリス定数 K_m は、pH 6.0で2.6 mM、pH 6.5で1.4 mMであった。これらの V_{max} および K_m の値は、*M. morganii*から抽出、精製された酵素¹⁹⁾の活性と近い値(文献19のFig. 5のグラフから読み取った値は、 V_{max} はpH 6.0で75 μ mol/mg/min、pH 6.5で65 μ mol/mg/min、 K_m は、pH 6.0で1.9 mM、pH 6.5で1.4 mM)であったことから、精製した酵素は、*M. morganii*のHDCと同様の酵素学的性質を有していると判断した。

上記のとおり精製した酵素のタンパク質濃度は、公開されている解析ツールのProtParam (<https://web.expasy.org/cgi-bin/protparam/protparam>)を用いて、*M. morganii*由来HDCのアミノ酸配列378残基から計算された分子量42875.48と、波長280 nmのモル吸光係数63830から導かれた1 mg/mLでの波長280 nmの吸光度1.5を用いて、試料の波長280 nmの吸光度から1.4 mg/mLと算出した。その酵素を400 μ L容量96穴プレート(イムノプレート、平底、透明、型番442404 (Nunc))に0.7 μ gになるようにウェル底に10 μ Lピペットチップで塗り広げた。すなわち、酵素液0.5 μ Lを塗布した。その際、ウェル底全体に塗布されるよう、緩衝液B (50 mMリン酸カリウム(pH 6.5))を4.5 μ L加え、全体量が5 μ Lとなるようにした。そのプレートを試料として、コロナ放電を発生させたデシケータ内に設置した。放電装置との距離は13 cmとした。なお、コロナ放電の発生を行わないものを対照とした。

3, 5あるいは24 hr後にプレートを取り出し、酵素活性測定用の緩衝液Bを190 μ L加えた後、基質(100 mM L-ヒスチジン)を10 μ L添加して反応を開始した(25°C)。5分後反応停止液の60%過塩素酸水溶液を10 μ L添加して反応を停止し、生成したヒスタミンをHPLC (High Performance Liquid Chromatography)にてOPA (o-phthalaldehyde)を誘導体化試薬としたポストカラム誘導体化法で定量し、酵素活性を測定した。

HPLC測定は送液ポンプ (LC-10ADvp, 島津), オートサンプラー (AS7720, GLサイエンス), 蛍光検出器 (FP-920, JASCO) を用いて, 以下のとおり行った. データはクロマトデータロガー (ADL-2020, LCサイエンス) に記録した. 10%メタノール含有150 mM リン酸二水素ナトリウム (pH 5.5) を流速0.3 mL/minで送液し, ヒスタミン分析用カラム Histaminepak (直径4.0 mm, 長さ6 cm, 東ソー) にサンプル注入後, OPA液 (25 g/L ホウ酸, 0.8 g/L OPA, 0.2 vol% 2-メルカプトエタノール, 0.09 vol% Brij, pH 10.4) を流速0.3 mL/minで送液・混合して反応させ, 蛍光 (励起波長355 nm, 蛍光波長440 nm) で検出されるピーク面積を分析した. 既知の濃度のヒスタミン標準液を注入したときに検出されるピーク面積を用いて検量線を作成し, サンプルで検出されるピーク面積からヒスタミン濃度を算出した. 反応5分間の試料のヒスタミン濃度から反応0分間の試料のヒスタミン濃度を引き, 5で除することで1分間あたりのヒスタミン生成量を算出し, 酵素活性とした.

4. ヒスタミン量測定

ヒスタミン量が556 ng (1 mMヒスタミン水溶液を5 μ L) または55.6 ng (0.1 mMヒスタミン水溶液を5 μ L) になるように400 μ L容量96穴プレートのウェル底にヒスタミンを10 μ L用ピペットマンチップで塗り広げ, コロナ放電を発生させたデシケータ内に設置した. 放電装置との距離は13 cmとした. なお, コロナ放電の発生を行わないものを対照とした. ウェル底全体にヒスタミン溶液が広がるように, ヒスタミン水溶液に Tween 20を混合し, 0.05% Tween 20水溶液とした. 24あるいは48 hr後にプレートを取り出し, 各ウェルに3%過塩素酸水溶液200 μ Lを加えてヒスタミンを回収した. 回収したヒスタミンを上記のHPLC測定で検出し, 検量線と試料のピーク面積からヒスタミン量を定量した.

結 果

1. 生菌数測定

Fig. 2に *M. morganii* の生菌数に及ぼすコロナ放電の影響を調査した結果を示した. 膜1枚あたり $\log_{10}$ CFU 値7.0の初期菌体を用いたが, 菌体を載せた膜をデシケータ内に静置してから18および24 hr後の生菌数の $\log_{10}$ CFU 値は, 対照群 (自然減衰群) ではそれぞれ5.7および5.5, コロナ放電群ではそれぞれ4.9および3.5となり, いずれの時間においても, コロナ放電群では有意 (18 hr後, $p < 0.05$; 24 hr後, $p < 0.01$) に生菌数が減少していた. コロナ放電群における生菌数の初期菌体に対する割合は, 18および24 hr後において, それぞれ15および1%であった. なお, 対照群における自然減衰は, 乾燥による菌体の死滅に起因するものと考えられた.

一方, *P. phosphoreum* については, 膜1枚あたり $\log_{10}$ CFU 値7.3の初期菌体を用いたが, 18 hr後の生菌

Fig. 2. Effect of corona discharge on growth of *Morganella morganii*

数の $\log_{10}$ CFU 値は, 対照群では6.0, コロナ放電群では3.7となり, コロナ放電群では有意 ($p < 0.05$) に生菌数が減少していた. コロナ放電群において, 18 hr後の生菌数の初期菌体に対する割合は0.5%であった. また, 24 hr後において, 対照群の生菌数の $\log_{10}$ CFU 値は5.6であったのに対し, コロナ放電群ではコロニーは観測されず, 1.7未満となった. すなわち, 24 hr後のコロナ放電群において, 生菌数の初期菌体に対する割合は0.1%未満であった.

以上の結果から, コロナ放電は, 上記2種のヒスタミン産生菌の殺菌に有効であることが明らかになった.

2. HDC活性測定

HDC活性に対するコロナ放電の影響は, コロナ放電発生開始直前のHDC活性を100%としたときの, 放電時間経過に伴う酵素活性の変化をみることで調べた. 放電時間経過とともに活性が低下し, 放電時間3 hr後には残存活性は35%となり, 5 hr後は21%, 24 hr後は6.2%となった. 対照群は3 hr後, 5 hr後での残存活性の低下はみられず, 24 hr後は79%であった. コロナ放電群の残存活性は試験した全ての時間において対照群よりも有意 ($p < 0.05$) に小さかった (Fig. 3). コロナ放電はHDCの活性を低下させることが確認された.

3. ヒスタミン量測定

ヒスタミンに対するコロナ放電の影響は, 放電時間経過に伴うヒスタミン量の変化をみることで調べた. 放電時間経過とともに量が減少し, 放電時間24 hr後には556 ngが435 ngとなり, 48 hr後は333 ngとなった. また, 55.6 ngのヒスタミンは放電時間24 hr後には14.4 ngとなり, 48 hr後は0.65 ngとなった. 556 ngヒスタミンの対照群は, 24 hr後は535 ng, 48 hr後は517 ngであり, 55.6 ngヒスタミンの対照群は, 24 hr後は51.3 ng, 48 hr後は34.0 ngであった. コロナ放電群のヒスタミン量は, 試験した全ての時間と全ての時間において対照群よりも有意 (556 ng, 24 hr後, $p < 0.05$; 556 ng, 48 hr後, 55.6

Fig. 3. Effect of corona discharge on enzyme activity of 0.7 µg histidine decarboxylase at different discharge times

(a)

(b)

Fig. 4. Effect of corona discharge on (a) 556 ng and (b) 55.6 ng histamine at different discharge times

ng, 24 hr 後, 55.6 ng, 48 hr 後, $p < 0.01$) に小さかった (Fig. 4). コロナ放電はヒスタミン量を減じる効果があることが確認された。

考 察

放電により生じるイオンやラジカルによって引き起こされる酸化等を介した殺菌が、コロナ放電による殺菌のメカニズムとして考察されており^{3, 12)}、本研究においてもコロナ放電により生じたイオン等が、*M. morganii*と*P. phosphoreum*の生育に影響を及ぼし、殺菌されたと考えられる。

精製した酵素そのものに対するコロナ放電の影響については、著者の知る限りでは調べられた例がなく、今回初めて酵素活性の増減を指標としてコロナ放電の酵素活性に対する影響を明らかにしたといえる。放電により生成したイオンによる殺菌の機構として、イオンが菌表面のタンパク質に結合し、タンパク質の変性に関与することが考えられており¹²⁾、このことからタンパク質である酵素に対してイオンが何らかの形で関与し、活性が低下したと考えられる。コロナ放電によるセルロースおよびリグニンの分解およびアルデヒド生成が報告されており^{16, 22)}、本研究で用いた*M. morganii*のHDCに対しても分解により失活したことや、アルデヒドが生成し失活したことが十分考えられる。セルロースの分解については、コロナ放電処理前よりも処理後の試料の固有粘度が低下したことから低分子化したことを確認しているが²²⁾、その分解の機構については調べられていない。リグニンの分解についても、コロナ放電処理後の試料から低分子のバニリンやシリングアルデヒドが検出され、リグニンの分解によりこれらの化合物が生成したとしているが¹⁶⁾、その分解の機構については仮説の段階である。セルロースとリグニンのいずれにおいても、炭素間の単結合またはセルロースのグリコシド結合などが切断されることにより分解されることが考えられる。酵素の場合には、ペプチド結合や炭素間の単結合などが切断されれば、分解され酵素は失活する可能性が高い。しかし、现阶段では推論にすぎず、今後はコロナ放電処理後の酵素が低分子化しているかを確認する必要がある。セルロースのアルデヒド生成については、赤外線吸収の結果とシッフ試薬の反応結果から、コロナ放電によりセルロースが酸化されてアルデヒドが生成すると報告された²²⁾。リグニンのアルデヒド生成は、上記のとおりバニリンやシリングアルデヒドの検出で確認された¹⁶⁾。もしコロナ放電により酵素にアルデヒドが生成されれば失活する可能性が高いが、これも推論にすぎず、検証のためにはコロナ放電処理後の酵素についてアルデヒド生成の有無を確認する必要がある。

ヒスタミンは通常の加熱では分解されずに食中毒の原因物質となっていることや¹⁷⁾、ヒスタミン塩酸塩の水溶液は20℃で1週間以上安定との報告があることか

ら¹³⁾, コロナ放電の影響は見られないと予想した。しかし、予想に反して対照よりもOPAで検出される量が有意に減少したことから、コロナ放電はヒスタミンに対しても何らかの影響を及ぼすことが示された。現時点でのヒスタミンに対する作用機序は不明であるが、OPAは2-メルカプトエタノールの存在下、ホウ酸塩緩衝液中でアミノ基と反応する¹⁵⁾, すなわち本研究で使ったOPA液内のOPAとアミノ基が反応することから、放電により発生したイオンのアミノ基への付加反応あるいは酸化による脱アミノ化等を含めた検討を今後していく予定である。

低温大気圧プラズマは、食品の保存における殺菌技術として注目されており¹⁰⁾, コロナ放電は低温大気圧プラズマ発生方法の一種である。さまざまなデバイス、気体、電圧等を用いて低温大気圧プラズマを発生させると、殺菌に寄与するとされるイオンやラジカルなどの種類や量も異なってくる。低温大気圧プラズマという括りでは多くの殺菌作用の報告があるが¹⁰⁾, コロナ放電を用いた殺菌作用の報告は数少なく^{3, 12, 18, 20)}, 本研究の結果がコロナ放電さらには低温大気圧プラズマの新たな知見として活用されることを期待したい。

要 約

コロナ放電はヒスタミン産生菌数を減少させること、HDC活性を低下させること、ヒスタミン量を減少させることが判明した。ヒスタミン食中毒対策にコロナ放電が有効である可能性がある。しかし、これらは実際の食材に対して検討した結果ではないため、応用にはさらなる検討が必要である。

謝 辞

本研究にご協力いただいた岡山県立大学保健福祉学部栄養学科の高橋早紀氏に深く感謝いたします。

文 献

- 1) Auerswald, L., Morren, C., Lopata, A. L.: Histamine levels in seventeen species of fresh and processed South African seafood. *Food Chem.*, **98**, 231-239 (2006).
- 2) 栗津 薫, 高取 聡, 柿本幸子, 野村千枝, 昌山 敦, 山口瑞香, 柿本 葉, 梶村計志: 大阪府におけるヒスタミン検査事例について. *食衛誌*, **58**, 43-48 (2017).
- 3) Dobrynin, D., Friedman, G., Friedman, A., Starikovskiy, A.: Inactivation of bacteria using dc corona discharge: role of ions and humidity. *New J. Phys.*, **13**, 103033 (2011).
- 4) 藤井建夫: アレルギー様食中毒. *日食微誌*, **23**, 61-71 (2006).
- 5) 藤井建夫: アレルギー様食中毒の現状と対策. *月刊フードケミカル*, **25**, 71-78 (2009).
- 6) 井部明広: 発酵食品に含まれるアミン類. *東京健安研七年報*, **55**, 13-22 (2004).
- 7) Kanki, M., Yoda, T., Tsukamoto, T., Baba, E.: Histidine

- decarboxylases and their role in accumulation of histamine in tuna and dried saury. *Appl. Environ. Microbiol.*, **73**, 1467-1473 (2007).
- 8) 加藤莉子, 王 迪, 山本将悟, 川合祐史, 山崎浩司: 低温性ヒスタミン生成菌 *Morganella psychrotolerans* の水産食品における分布とヒスタミン生成能. *日食微誌*, **34**, 158-165 (2017).
- 9) Kovacova-Hanusova, E., Buday, T., Gavliakova, S., Plevkova, J.: Histamine, histamine intoxication and intolerance. *Allergol. Immunopathol.*, **43**, 498-506 (2015).
- 10) López, M., Calvo, T., Prieto, M., Múgica-Vidal, R., Muro-Fraguas, I., Alba-Elias, F., Alvarez-Ordóñez, A.: A review on non-thermal atmospheric plasma for food preservation: mode of action, determinants of effectiveness, and applications. *Front. Microbiol.*, **10**, article 622 (2019).
- 11) Maintz, L., Novak, N.: Histamine and histamine intolerance. *Am. J. Clin. Nutr.*, **85**, 1185-1196 (2007).
- 12) 中村美咲, 西川和男: プラズマクラスターイオンによる除菌作用の原理と応用. *生活衛生*, **53**, 239-246 (2009).
- 13) Nielsen, N. H., Madsen, F., Frølund, L., Svendsen, U. G., Weeke, B.: Stability of histamine dihydrochloride in solution. *Allergy*, **43**, 454-457 (1988).
- 14) Nitta, Y., Yasukata, F., Kitamoto, N., Ito, M., Sakaue, M., Kikuzaki, H., Ueno, H.: Inhibition of *Morganella morganii* histidine decarboxylase activity and histamine accumulation in mackerel muscle derived from *Filipendula ulumaria* extracts. *J. Food Prot.*, **79**, 463-467 (2016).
- 15) 大倉洋甫, 甲斐雅亮, 能田 均: 蛍光及び化学発光法による生体成分の高感度分析. *分析化学*, **43**, 259-288 (1994).
- 16) Panorel, I., Kaijanen, L., Kornev, I., Preis, S., Louhi-Kultanen, M., Sirén, H.: Pulsed corona discharge oxidation of aqueous lignin: decomposition and aldehydes formation. *Environ. Technol.*, **35**, 171-176 (2013).
- 17) 里見正隆: ヒスタミン. *日食科工会誌*, **57**, 366 (2010).
- 18) Sekimoto, K., Gonda, R., Takayama, M.: Effects of H_3O^+ , OH^- , O_2^- , NO_x^- and NO_x for *Escherichia coli* inactivation in atmospheric pressure DC corona discharges. *J. Phys. D: Appl. Phys.*, **48**, 305401 (2015).
- 19) Tanase, S., Guirard, B. M., Snell, E. E.: Purification and properties of a pyridoxal 5'-phosphate-dependent histidine decarboxylase from *Morganella morganii* AM-15. *J. Biol. Chem.*, **260**, 6738-6746 (1985).
- 20) 谷野孝徳, 宮崎 中, 古橋拓也, 大嶋孝之: コロナ放電による気中浮遊菌の除菌と接地電極板上の殺菌メカニズム. *静電気学会誌*, **39**, 2-8 (2015).
- 21) 登田美桜, 山本 都, 畝山智香子, 森川 馨: 国内外におけるヒスタミン食中毒. *国立衛研報*, **127**, 31-38 (2009).
- 22) Uehara, T., Sakata I.: Effect of corona discharge treatment on cellulose prepared from beech wood. *J. Appl. Polym. Sci.*, **41**, 1695-1706 (1990).
- 23) U.S. Food and Drug Administration, Fish and fishery products hazards and controls guidance—Fourth edition. FDA, MD, USA (2011).
- 24) 山本将悟, 山崎浩司: 水産物におけるヒスタミン食中毒とヒスタミン産生菌. *日食微誌*, **36**, 75-83 (2019).