

# Application News

## No. L463

高速液体クロマトグラフィー  
High Performance Liquid Chromatography

### Prominence アミノ酸分析システムによる ヒスタミンとチラミンの分析

Analysis of Histamine and Tyramine by the Prominence Amino Acid Analysis System

不揮発性腐敗アミンであるヒスタミンやチラミンは、アミノ酸であるヒスチジン及びチロシンから微生物の作用によって分解されて生成します。マグロ類、カツオ類、サバ類等の赤身魚やその加工品などのヒスタミンを多く含む食品を摂取すると、じんましんや発熱、動悸などの食中毒症状が現れます。ワインやチーズなどの発酵食品でも食中毒の報告例があります。また、チラミンはヒスタミンの毒性を強めたり、食品による片頭痛の原因物質として報告されています。

ヒスタミンに関しては、日本では規制が行われていませんが、アメリカ、EUなどの諸外国および Codex（食品の国際規格）では、魚及びその加工食品に対して規制値が定められています。

ヒスタミンやチラミンは、アミノ酸と同様にアミノ基を含むので、オルトフタルアルデヒド（OPA）による誘導体化を用いた蛍光検出が可能です。ここでは、ポストカラム蛍光誘導体化法で検出する Prominence アミノ酸分析システムでヒスタミンとチラミンを分析した例をご紹介します。キット化された移動相および反応液を用いることにより、移動相調製の煩わしい手間を省くことが可能です。また、ここでの試料の前処理はろ過と希釈のみですので、複雑な処理を行うことなく分析することができます。

A. Uchida

#### ■ 標準試料の分析

##### Analysis of Standard Solution

Table 1 に分析条件、Fig. 1 にヒスタミン、チラミン混合標準溶液（各 10 mg/L）のクロマトグラムを示します。標準溶液は、pH 2.2 くえん酸（ナトリウム）緩衝液に溶解させ調製しました。移動相には、アミノ酸分析システム用アミノ酸移動相キット Na 型の B 液と C 液の 2 液を用い、グラジエント溶離を用いて分析しました。また、移動相の pH によって溶出位置が変化するため、分析の際には炭酸ガストラップ（P/N：228-17909-91）のご利用を推奨します。

Table 1 分析条件  
Analytical Conditions

Column	: Shim-pack Amino-Na (100 mm L. × 6.0 mm I.D.)	
Ammonia Trap	: Shim-pack ISC-30 / S0504Na (50 mm L. × 4.0 mm I.D.)	
Mobile Phase	: Amino Acid Mobile Phase Kits (Na type, Mobile phase B and C)	
Time Program	Time (min)	B. Conc. (%)
	0	80
	15.00	65
	15.01	0
	20.00	0
	20.01	80
	25.00	Stop
Flow Rate	: 0.6 mL/min	
Column Temp.	: 60 °C	
Reagent	: Amino Acid Reagent Kits	
Flow Rate of Reagent	: 0.2 mL/min	
Reaction Temp.	: 60 °C	
Detection	: RF-20Axs, Ex at 350 nm, Em at 450 nm	
Injection Vol.	: 10 µL	

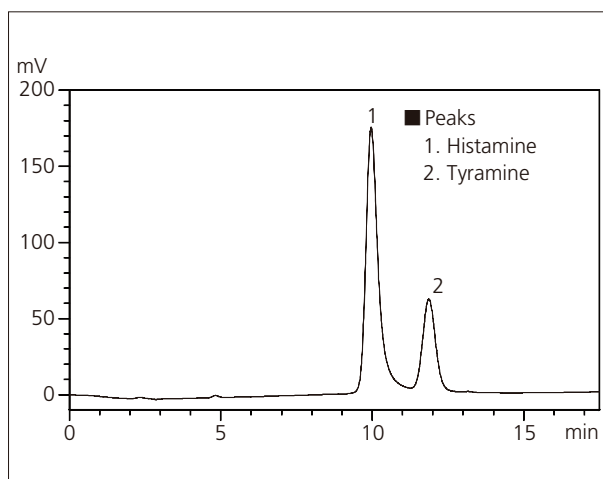


Fig. 1 ヒスタミン、チラミン混合標準溶液（各 10 mg/L）のクロマトグラム  
Chromatogram of Histamine and Tyramine Standard Solution (Each 10 mg/L)

#### ■ 直線性

##### Linearity

Fig. 2 に、0.1 mg/L から 100 mg/L の濃度で、ヒスタミンとチラミンの直線性を示します。寄与率 ( $R^2$ ) は 0.9998 以上と良好な直線性が得られました。

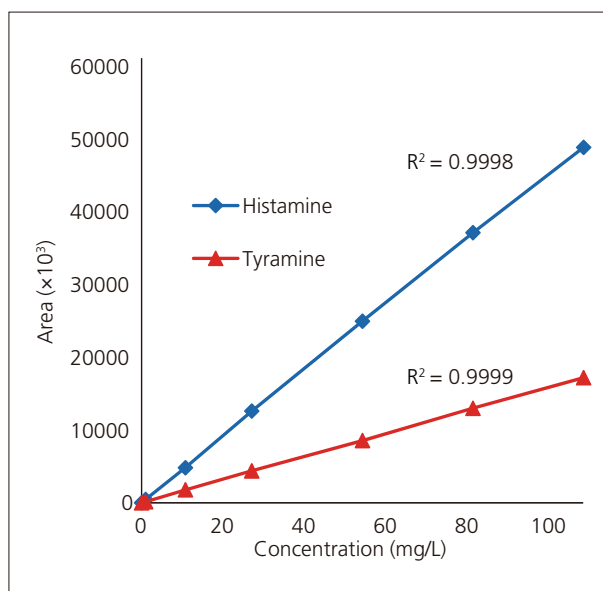


Fig. 2 ヒスタミンとチラミンの直線性 (0.1 ~ 100 mg/L)  
Linearity of Histamine and Tyramine (0.1 ~ 100 mg/L)

## ■再現性

### Repeatability

Table 2, 3 にヒスタミン, チラミン混合標準溶液(各 1 mg/L) を繰り返し分析した際のピーク面積および保持時間の相対標準偏差 (n=6) を示します。ヒスタミンの規制値は諸国等で異なりますが、例えば Codex では魚類の缶詰やその加工品に対する腐敗基準として 100 mg/kg となっています。規制値の約 1/100 の濃度でも良好な再現性が得られています。

Table 2 ヒスタミンのピーク面積値及び保持時間の再現性  
Repeatability of Peak Area and Retention Time of Histamine

	R.t (min)	Peak Area
1st	9.962	433,724
2nd	9.983	431,874
3rd	9.967	441,528
4th	9.962	429,887
5th	9.972	439,560
6th	9.993	434,818
Ave	9.973	435,232
%RSD	0.12	1.03

Table 3 チラミンのピーク面積値及び保持時間の再現性  
Repeatability of Peak Area and Retention Time of Tyramine

	R.t (min)	Peak Area
1st	11.844	153,458
2nd	11.871	155,582
3rd	11.858	155,848
4th	11.855	154,509
5th	11.882	151,206
6th	11.911	153,960
Ave	11.87	154,094
%RSD	0.20	1.09

## ■食品の分析

### Analysis of Food

Fig. 3 ~ 8 に市販の魚醤, ワイン, 醤油の分析例を示します。前処理は, pH 2.2 くえん酸 (ナトリウム) 緩衝液で 10 倍希釈し, 孔径 0.2 μm のメンブランフィルタでろ過しました。なお, 赤ワインと白ワインはヒスタミン, チラミン各 50 mg/L を標準添加しています。

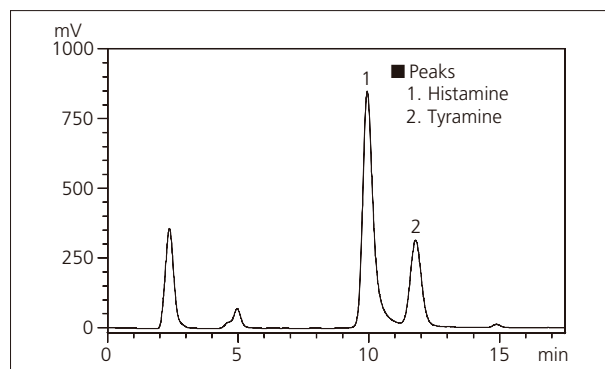


Fig. 5 赤ワインのクロマトグラム  
Chromatogram of Red Wine

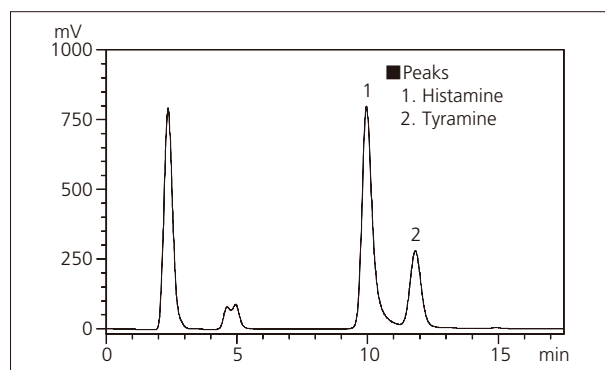


Fig. 6 白ワインのクロマトグラム  
Chromatogram of White Wine

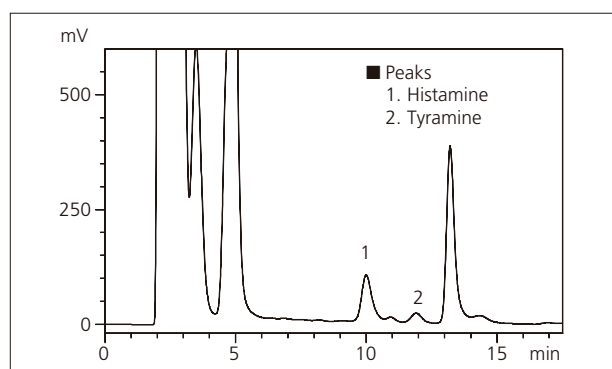


Fig. 3 魚醤 A のクロマトグラム  
Chromatogram of Fish Sauce A

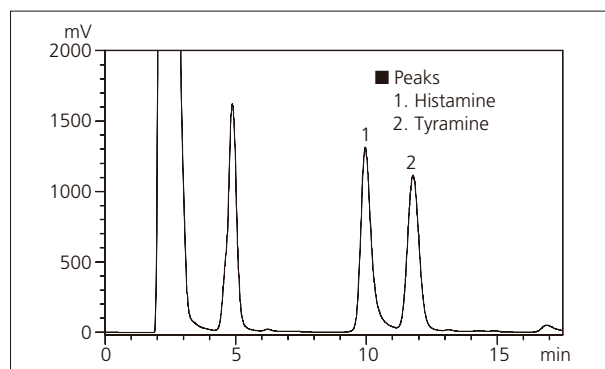


Fig. 7 醤油 A のクロマトグラム  
Chromatogram of Soy Sauce A

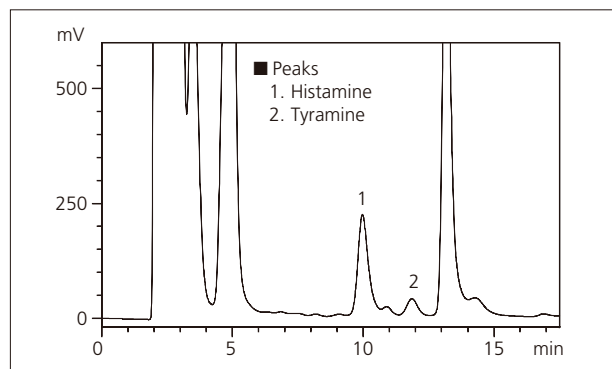


Fig. 4 魚醤 B のクロマトグラム  
Chromatogram of Fish Sauce B

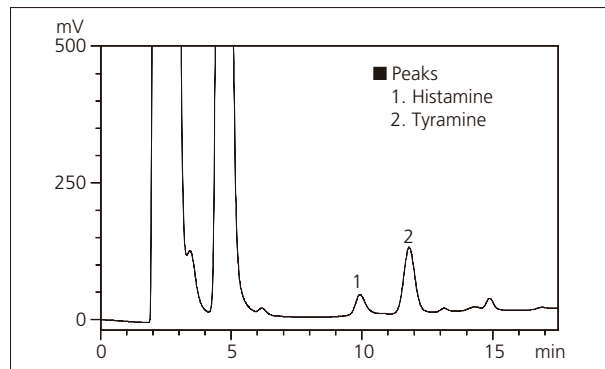


Fig. 8 醤油 B のクロマトグラム  
Chromatogram of Soy Sauce B

株式会社 島津製作所

分析計測事業部  
グローバルアプリケーション開発センター

初版発行：2014年6月

島津コールセンター ☎ 0120-131691  
(075)813-1691

※本資料は発行時の情報に基づいて作成されており、予告なく改訂することがあります。  
改訂版は下記の会員制 Web Solutions Navigator で閲覧できます。

<https://solutions.shimadzu.co.jp/solnavi/solnavi.htm>

会員制情報サービス「Shim-Solutions Club」にご登録ください。

<https://solutions.shimadzu.co.jp/>

会員制Webの閲覧だけでなく、いろいろな情報サービスが受けられます。

3100-06401-510-IK  
2014.6