

LC-MS/MS による魚粉中のヒスタミンの分析法

(2018年3月26日受付)

(2018年7月2日受理)

朝倉敬行、北村真理子、寶龍久枝、中里光男、安田和男

一般財団法人 東京顕微鏡院 食と環境の科学センター

Analytical method for histamine in fish meal by LC-MS/MS

(Received March 26, 2018)

(Accepted July 2, 2018)

Takayuki Asakura, Mariko Kitamura, Hisae Horyu, Mitsuo Nakazato, Kazuo Yasuda

Institute for Food and Environment Sciences, Incorporated Foundation Tokyo Kenbikyoin

Abstract

An analytical method for the determination of histamine in fish meal by LC-MS/MS was developed. Histamine was extracted with 5% trichloroacetic acid. The extract was neutralized and cleaned up with a weak cation ion exchange cartridge (WCX) column. The cartridge was washed with water and methanol, and histamine was eluted with methanol-water (1:1) solution containing 2% formic acid. Histamine in the eluate was measured by LC-MS/MS. The LC separation was carried out on a Triart Diol-HILIC plus column with a linear gradient of 0.1% formic acid and acetonitrile. MS was carried out in the positive ion electrospray ionization mode. Recovery tests of histamine from seven kinds of fish meal and four kinds of assorted feed were 79.6 to 116%, and the relative standard deviation were 1.9 to 10.3%. The limits of quantitation of the developed method was 5 mg/kg.

Keywords: ヒスタミン、不揮発性アミン、魚粉、飼料、液体クロマトグラフ-タンデム質量分析計
histamine, non-volatile amine, fish meal, feed, LC-MS/MS

I 諸言

ヒスタミンはタンパク性食品の腐敗の指標となる不揮発性アミンの一つであり、タンパク質を構成するアミノ酸の一つヒスチジンが細菌の持つ代謝系の酵素の作用によって脱炭酸されて生じる。このヒスタミンを多量に含む魚介類等の食品を食べることにより、人に対して、摂食後数時間で顔面紅潮、腹痛、じんま疹といったアレルギー様症状を引き起こすことが知られている¹⁾。特に魚の加工品による食中毒は毎年のように報告されており²⁾、食品衛生上、リスク管理が必要な物質とされている。そのため、EU やアメリカでは魚介類に対して規制値が定められているが、我が国では魚介類についてヒスタミンの規制値は定められていない³⁾。

また、魚は人のタンパク源として重要であると同時に、養鶏や養殖水産業等においても、飼料として重要なタンパク源となっている。動物に対するヒスタミンの影響については詳細な機序は解明されていないが、これまでに鮮度の低い魚粉を与えたブロイラーに胃びらんや潰瘍が発生した例⁴⁻⁶⁾ やサバの胃や腸管に著しい病変を起こした例⁷⁾ が報告されている。

このようなことから、健全な養鶏や養殖を行うためには飼料の安全を担保する必要があり、わが国では飼料の安全性の確保及び品質の改善を図ることを目的に飼料安全法が定められている。飼料中のヒスタミンについては基準値の設定はされていないが、魚粉の鮮度を示す指標として位置付けられており、公定法として飼料分析基準にヒスタミンの分析法が示されている⁸⁾。飼料分析基準では魚粉を対象にキャピラリー電気泳動法と比色法によるヒスタミン分析法が記載されているが、前者は使用機器の普遍性にやや乏しく、後者は操作が煩雑であるなど問題点がある。このようなことから新たな分析法の開発が求められている。

一方、現在の食品中からのヒスタミンの分析は、一般的には食品から抽出したヒスタミンをダンシルクロライド⁹⁻¹¹⁾ やフルオレスカミン^{9, 12, 13)}、オルトフタルアルデヒド^{14, 15)} 等で蛍光誘導体化したのち、蛍光検出器付き HPLC で測定する方法によって行われるが、これらの方法は誘導体化操作が煩雑で操作に長時間を要する。そこで今回、飼料分析基準の魚粉中のヒスタミン分析法の新たな開発を行うに当たり、近年、誘導体化を行わず操作の簡略化が期待される直接 LC-