

HILIC を用いた LC-MS/MS による食品中の生体アミンの同時直接分析

Simultaneous and Direct Analysis of Biogenic Amines in Food by LC-MS/MS using Hydrophilic Chromatography

食品中の動物性タンパク質の腐敗分解によっても生成される生体アミン類は、生鮮食品の腐敗進行の指標物質であると同時に、アレルギー様食中毒の原因物質とされています。その分析法としては、蛍光誘導体化を組み合わせた逆相クロマトグラフィーが用いられていますが、この方法は、蛍光誘導体化や溶媒抽出等の煩雑な前処理を必要とします。今回、これらの生体アミン類の簡易直接測定法について紹介します。分離カラムには HILIC カラムを使用し、トリクロロ酢酸(TCA)で抽出した試料溶液を誘導体化せずに注入測定しました。

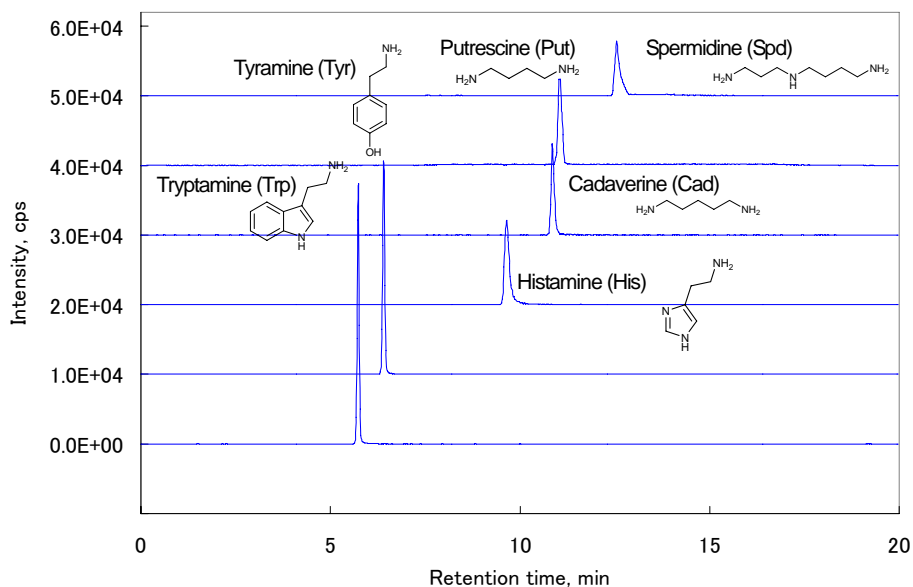


図1 標準物質のMRMクロマトグラム  
(Spd: 50, Put: 250, Cad: 250, His: 50, Tyr: 20, Trp: 50 μg/L)

表1 分析条件

LC;	Instrument	; Agilent 1200SL series		
	Column	; TSKgel Amide-80 3μm (2.0 mmI.D. x 15 cm)		
	Eluent	; A; 30mM ammonium formate in water (pH4.0) B; acetonitrile		
	Gradient	; 0 min (B 90%)→12 min(B 40%)→14 min(B 40%) →16 min(B 90%)		
	Flow rate	; 0.2 mL/min		
	Column temp.	; 50 °C		
	Injection volume	; 2 μL		
	MS;	Instrument	; QTrap (AB SCIEX)	
Ion source		; ESI	Polarity	; Positive
Mode		; MRM		
Precursor ion / Product ion		; Spd 146.3/72.1	Put 89.1/72.1	Cad 103.1/86.1
		His 112.0/95.0	Tyr 138.0/121.0	Trp 161.0/115.0

各測定対象の定量限界(LOQ)として、0.05 ~2.1  $\mu\text{g/L}$  の値が得られ、この濃度は、今回の前処理工程を用いた場合の試料中含有濃度として0.001~0.04 mg/100 g に相当します。鮮度確認を目的とした生体アミン類の定量法として十分な感度があることが確認されました。

冷凍保存と室温保存を行ったマグロ試料を用いて、TCA による抽出操作のみを行った溶液の直接測定を行いました。夾雑成分の影響を受けることなく良好なクロマトグラムが得られ、再現性も RSD 値で 2.1%以下の良好な結果となりました。また、従来法(誘導体化-ODS 分離-蛍光検出法)による測定結果とも相関が確認されています。

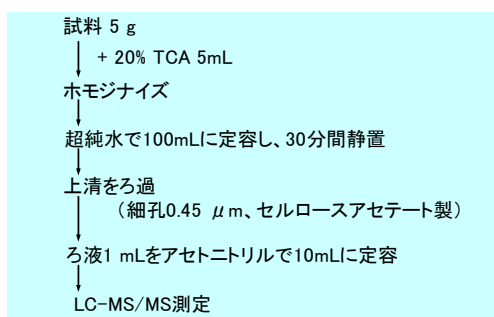


図2 魚肉の前処理

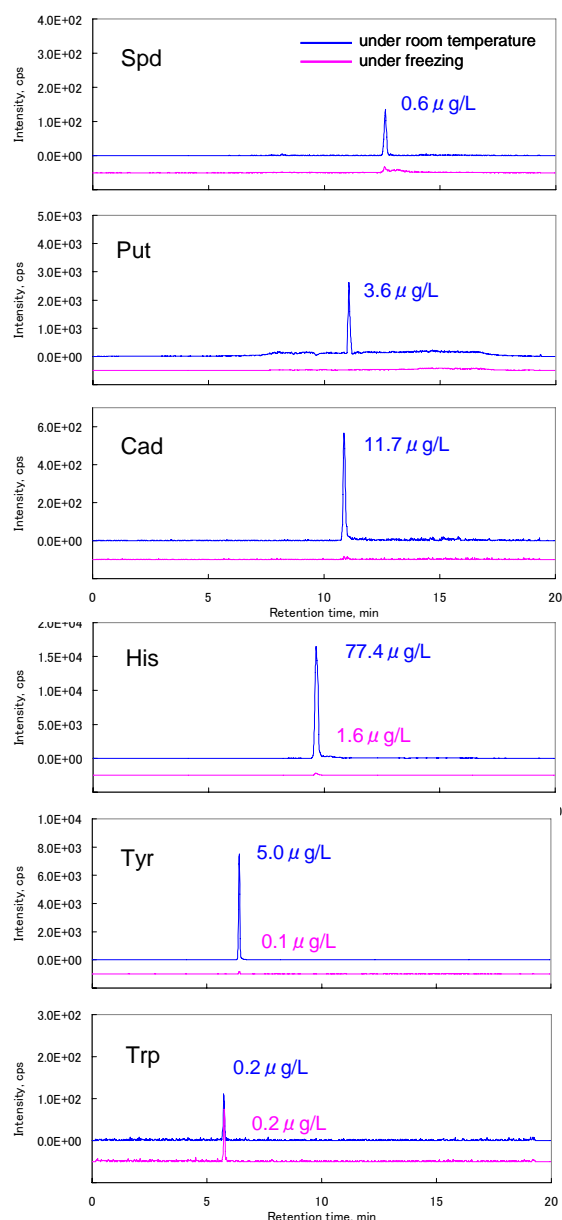


図3 魚肉試料中のアミン類の測定例

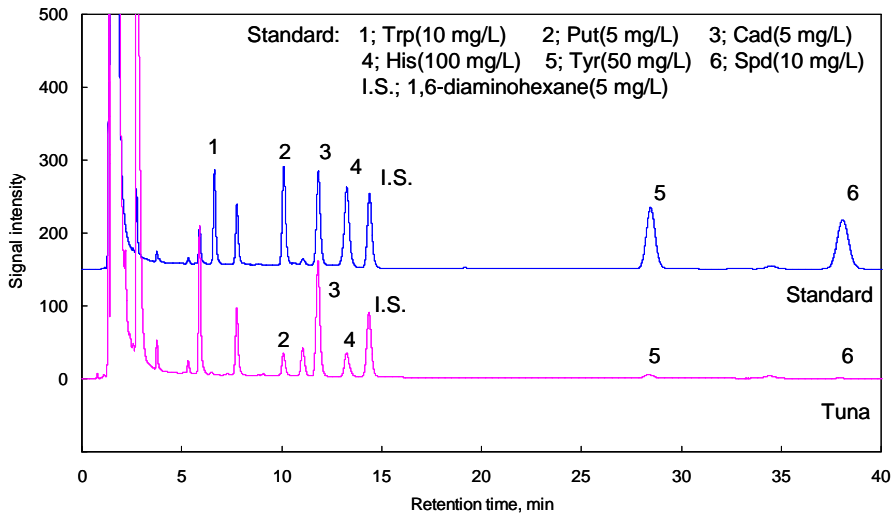
表2 魚肉試料中のアミン類の定量結果例

	Sample	Spd	Put	Cad	His	Tyr	Trp
MS method	tuna <sup>1)</sup>	N.D.	N.D.	N.D.	1.6	0.1	0.2
	(RSD(%): n=5)	-	-	-	(1.3)	(1.8)	(1.4)
	tuna <sup>2)</sup>	0.6	3.6	11.7	77.4	5.0	0.2
	(RSD(%): n=5)	(2.1)	(1.2)	(1.1)	(0.8)	(0.9)	(1.1)
	LOQ	0.004	0.04	0.02	0.004	0.001	0.002
Fluorescence method	tuna <sup>1)</sup>	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	tuna <sup>2)</sup>	N.D.	2.6	14.3	68.4	6.5	N.D.
	LOQ	0.36	0.08	0.1	2.2	1.4	0.18

(mg/100g in fish)

1) preserved for 2 days under freezing

2) preserved for 2 days under room temperature



Column ; TSKgel ODS-100Z 3 $\mu$ m (4.6mmI.D. x 15cm)  
 Eluent ; water / acetonitrile = 35/65  
 Detector ; FL (Ex; 325nm, Em; 525nm)  
 Flow rate ; 1.0 mL/min  
 Column temp. ; 40 °C  
 Injection volume ; 5  $\mu$ L

図4 魚肉試料の分析例(蛍光誘導体化法)

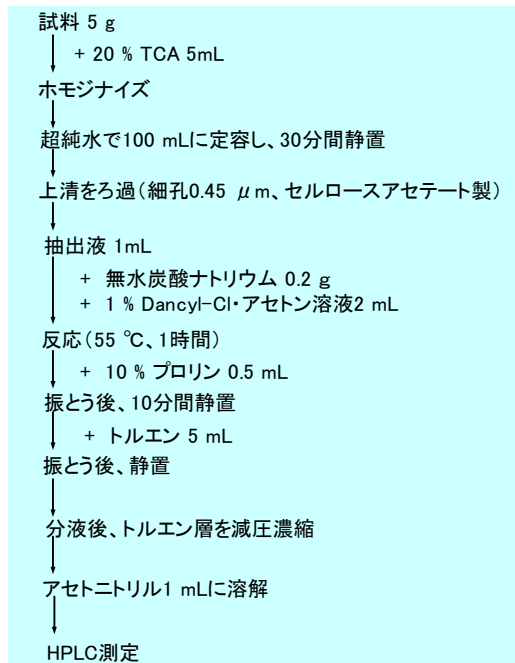


図5 魚肉の前処理(蛍光誘導体化法)