

## 強塩基性イオン交換樹脂によるヒスミン の分離定量法

琉球衛生研究所 大城善昇

魚肉食品の分解産物としてのヒスタミンがアレルギー様食中毒と密接な関係を有することは宮木等<sup>1)</sup>の報告によつて明らかにされた。この種の食中毒の発生頻度は少ないが、沖縄でも最近マグロの刺身で発生している例がある。ところが、このヒスタミンの分離定量法も種々あつて、例えば、宮木、ルッター<sup>2)</sup>の円形ペークロ法、宮木・林<sup>3)</sup>のペーパーで分離して呈色帯の大きさで定量する方法、弱酸性イオン交換樹脂<sup>4)</sup>による方法、Cotton acid Succinate<sup>5)</sup>で分離する方法、動物実験による方法等であるが、いずれも数時間から十数時間を要したり、又精度が好ましくない場合が多い。私は衛生検査上簡便にして、短時間に多数の試料を消化し得る精度の高い定量法の必要性を痛感し、強塩基性樹脂(IRA-410)を用いて、挟雑アミノ酸とヒスタミンを分離定量出来ることを知つたので報告する。

### 試験方法

#### b. 試薬

1. イオン交換樹脂(IRA-410)12~15ccを13×170mmのクロマト管に  
つめ、10% NaOH, 10% HCl で交互に洗い、最後にNaOHでOH型とし、中性  
になるまで水洗して使用する。
2. 20%トリクロル酢酸
3. 15%炭酸ナトリウム液
4. ジアゾ試薬  
0.5%スルファニル酸のN/10塩酸溶液と1%亜硝酸ナトリウム液を同容量時混和  
して使用する。
5. 30%トリエタノールアミン溶液
6. ヒスタミン標準液：関東化学のヒスタミン2HCl 100mgをN/10-HClで100  
mlとする。本液1mlはヒスタミン2HCl 1mgを含有する。

### 操作法

#### a. 分離法

試料1~2gをとり、乳針で粉細して水5~7ccでうるおし、30%トリクロル酢酸  
0.5ccを加えて遠心分離し、残渣を1%トリクロル酢酸液5ccで2回洗つて遠心分離  
して、上澄と洗液を合し検液とする。この溶液をIRA-410の層を蒸留水で通す。  
流速は5分間で80~90ccを得る様にする。これに1.0% HCl 3ccを加え、全量  
を100ccとし、これを試験溶液とする。

#### b. 測定法

測定は次の要領でヒスタミンをPaulyのDiazo試液で呈色させ、5分後に吸光度を  
490m $\mu$ で測定し、標準液で求めた検量線より算出する。

試験溶液	a ml
N/10塩酸	5-a ml

30%トリエタノールアミン液	0.2 ml
15%炭酸ナトリウム液	1.0 ml
Diazo 試液	1.0 ml

#### 実験成績

PaulyのDiazo試液でヒスタミンを定量する際に、ヒスタミンと同様に呈色するものとしてヒスタジン・チロジン・チラミンが考えられるが、それ等はIRA-410で完全に除去されるので、ヒスタミンを定量的に分離出来る。

第一表は上記の手順で測定した結果である。

第一表 ヒスタミンの回収率（吸光度、502=ヒスタミン100mg相当）

	理論値(mg)	吸光度	Blank	補正值	測定値(mg)	回収率
ヒスタミン 1mg	1.00	、509	0.02	、489	、972	97.2%
ヒスタミン ヒスタジン各1mg チロジン	1.00	、502	0.02	、482	、968	96.8
マグロ 2g ヒスタミン 1mg	1.00	、530	0.06	、470	、936	93.6

#### 測定法

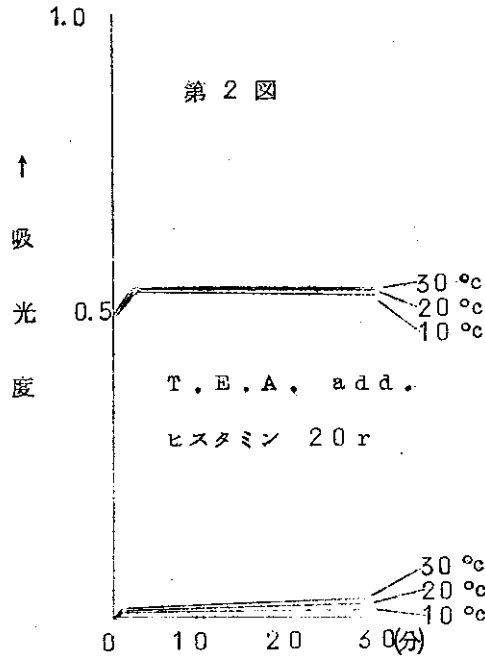
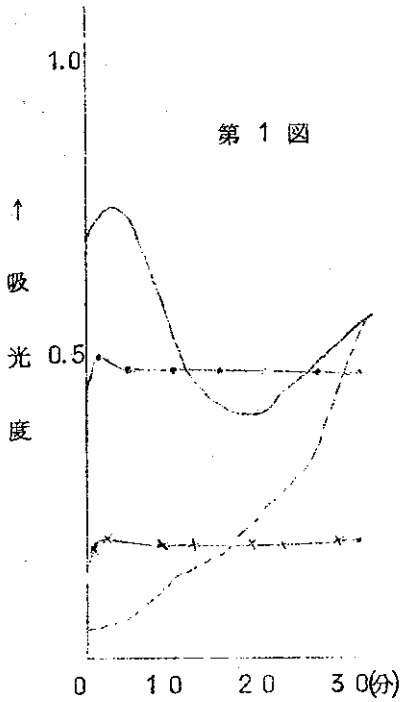
##### Triethanol amine 添加法

ジアゾ化スルファニル酸とカップリングさせたヒスタミンは5°C以下に保つても5~10分しか安定性は得られないが、アルコール添加によつて約1時間安定化させ得る。

しかしアルコール添加法は常温で反応させた場合に、ブランクの呈色が大きく、そのために感度が低下する。私は安定剤として30%トリエタノールアミン(T.E.A)が最も優れていることを知つた。このT.E.A添加法は常温で十数時間も安定で、しかもブランクが殆んど呈色しないために測定感度が優れ、再現性も良く、温度に左右されない利点をもっている。(第1図・第2図)

注意すべき点は塩酸濃度が低い場合にブランク自体が呈色するので、予め試験溶液をN/10塩酸濃度にしておく必要がある。

ヒスタミンの呈色度と安定性



- |       |       |               |          |
|-------|-------|---------------|----------|
| ————— | 20 °C | none addition | ヒスタミン20r |
| ..... | "     | " "           | Blank    |
| —●—●— | "     | EtOH          | ヒスタミン20r |
| —×—×— | "     | EtOH          | Blank    |

結 語

IRA-410を用いるヒスタミンの分離は、操作時間が1時間以内で終えること、又精度が良いこと等、従来の試験法に比してはるかに優れている。殊に多数の試験を同時に取扱わなければならない衛生検査では、大いに役立つものと思ふ。只、懸念される点は、樹脂層を通す速度が20cc1分以下になるとヒスタミンも同時に交換される点で、私の行つた実験では、1時間樹脂層に滞留させてから流出液を同量とつても、30%しか回収されなかつた。これをN/10塩酸で溶出すると、残りの70%が得られた。これは恐らくヒスタミンのイミダゾール環の>NHの水素によるものではないかと考えられる。更に強度の異なる樹脂を用いることによつて、分離がうまく行くものと思われる。又樹脂を通過したヒスタミン部分には、アンモニア、トリメチルアミン等の塩基を初め、酸性基を有しない物質が混入して来るので、そ

れ等の妨害も考慮しなければならぬので、今後の問題として追求中である。又測定にトリエタノールアミン添加を行うことによつて、反応温度に左右されぬで、長時間安定化することが出来たことは一段と便利になつた。

#### 文 献

- 1) 宮木・林： 薬 誌 74 1145 (1954)
- 2) 宮木・林： 薬 誌 74 478 (1954)
- 3) 宮木・林・佐竹： 薬 誌 71 249 (1951)
- 4) 宮木・安藤： 腐敗研 6 93 (1953)
- 5) McIntire, F. C., J. Biol. Chem. 170 537 (1947)  
食品衛生検査指針(I) 32 (1959)
- 6) 松井： 公衆衛生年報 Vol13の2 34 (1955)
- 7) 参考： Snell and Snell,  
Colorimetric Methods of Analysis  
Vol IV 3rd Ed. P. 43 (1953)