

# ガスクロマトグラフィーによる魚肉中揮発性アミン類の分別定量法

誌名	日本水産学会誌
ISSN	00215392
巻/号	432
掲載ページ	p. 219-227
発行年月	1977年2月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター  
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council  
Secretariat



## ガスクロマトグラフィーによる魚肉中揮発性 アミン類の分別定量法<sup>\*1,3</sup>

徳永俊夫・飯田 遙・三輪勝利

(1976年8月4日受理)

### The Gas Chromatographic Analysis of Amines in Fish

Toshio TOKUNAGA, Haruka IDA, and Katsutoshi MIWA<sup>\*2</sup>

A simple method for gas chromatographic analysis of volatile amines in fish muscle has been devised. The amines such as monomethylamine, dimethylamine, trimethylamine, *iso*-propylamine, *sec*-butylamine, *iso*-butylamine, *n*-butylamine, pyrrolidine and *iso*-amylamine can be separated by this method.

The sample solution subjected to gas chromatography was prepared by the following procedure. Two ml of perchloric acid extract of fish muscle was put into a small centrifugal tube with a stopper. To this were added one ml of *n*-amyl alcohol and 2 ml of 65% KOH, and the mixture was kept for 2-3 min at 50°C. After shaking for one min, the mixture was centrifuged for 10 min at 2000 rpm. An aliquot of the supernatant (*n*-amyl alcohol layer) was applied to the gas chromatographic analysis.

Using this method, changes in the concentrations of amines formed in carp mackerel and squid muscle during storage at room temperature were examined. Considerable amounts of monomethylamine, dimethylamine, trimethylamine, *iso*-butylamine, *n*-propylamine and *iso*-amylamine were detected in putrid fish.

The formation of dimethylamine and trimethylamine was distinctly observed in putrid carp muscle free of trimethylamine oxide. The addition of betaine to the carp muscle promoted the formation of trimethylamine. On the other hand, the addition of choline resulted in a remarkable increase in not only trimethylamine but dimethylamine levels, depending on the concentration of the choline added.

魚介類の鮮度低下の過程で生成するアミン類のうち、比色法で容易に定量できるのはトリメチルアミン (TMA)<sup>1,2</sup> とジメチルアミン (DMA)<sup>3</sup> にすぎない。しかもこれらの比色定量法は必ずしもそれらのアミンに対してのみ特異的でない。すなわちピクレート法による TMA の測定値に対しては DMA<sup>4</sup> のみならず、多くの揮発性あるいは不揮発性のアミンが影響を与えること<sup>5,6,7</sup>、また2級アミン定量法としての銅・ジチオカルバメート法<sup>8</sup> は1級アミンに対しても不安定な呈色を示すなどの報告<sup>9</sup> がある。このような相互の影響をさけ、それぞれのいわゆる“真の値”を測定するためにはガスクロマトグラフィー (GLC) による方法が有効である。近年 GLC 法により水産製品のアミン類の検索をした結果がいくつか報告<sup>9,10,11</sup> されているが、定量法としての精度からみるといづれも若干問題がありそうである。野中ら<sup>9</sup> は GLC 法による TMA の簡易定量法を報告している。この方法によれば、特殊な場合を除き精度よく“真の TMA”の測定は可能であるが他のアミン類を同時に分析することはできない。著者らはこの点に留意し、各種のアミン類を同時に分析できる方法の開発を試みた。本報では揮発性アミン類の分別定量法について述べるとともに、

\*1 東海区水産研究所業績B第627号。

\*2 東海区水産研究所 (Tokai Reg. Fish. Res. Lab. Kachidoki, Chuo-ku, Tokyo)。

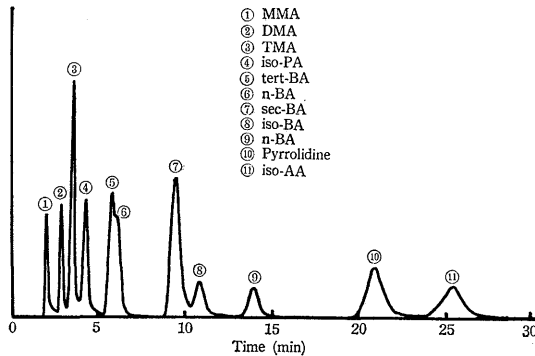
\*3 本研究の概要は昭和50年度日本水産学会秋季大会(長崎)で発表した。

**Table 1.** Volatile amines examined in this study

Amines	Abbreviations
*Monomethylamine	MMA
*Dimethylamine	DMA
*Trimethylamine	TMA
iso-Propylamine	iso-PA
tert-Butylamine	tert-BA
*n-Propylamine	n-PA
sec-Butylamine	sec-BA
*iso-Butylamine	iso-BA
*n-Butylamine	n-BA
Pyrrolidine	
*iso-Amylamine	iso-AA

Amines with asterisk were determined quantitatively by gas chromatography.

それらのうち数種のものにつき比較検討の結果、最もよい分離能をもつと思われる下記組成の充てん剤<sup>12)</sup>を使用した。ガスクロマトグラフ装置：日立 K23 型，カラム：ステンレス  $\phi 3\text{ mm} \times 2\text{ m}$ ，充てん剤：squalane (20%) + glycerine (2.5%) + KOH (2.5%) Diasolid L 80~100 mesh，注入口温度 85°C，カラム温度 75°C，検知機：FID，キャリアーガス：N<sub>2</sub> 12 ml/min，記録紙送り：5 mm/min，Attenuation：5 である。なお充てん剤の mesh は原報<sup>12)</sup>では 60~80 であつたがこれを 80~100 にすることにより，分離能の改善がみられた。



**Fig. 1.** Separation of volatile amines by gas chromatography.

The chromatographic system is as follows. Apparatus and column: Hitachi K 23 gas chromatograph, equipped with a stainless steel column (3 mm  $\times$  2 m) and a flame ionization detector, was used. The column was packed with squalane (20%), glycerol (2.5%) and KOH (2.5%) on Diasolid L (80-100 mesh). Chromatography condition: Column temperature, 65°C. Injection port temperature, 85°C. Carrier gas, nitrogen. Flow rate, 12 ml/min. Chart speed, 5 mm/min. Attenuation, 5.

本法を用いて，数種の魚介類の腐敗過程で生成する揮発性アミン類の定量的検索を行なつた結果について報告する。

### 実験方法

**試薬** 分別の対象としたアミン類は Table 1 に示した 11 種であるが，これらのうち魚肉に存在が確認されている DMA, TMA のほかに，モノメチルアミン (MMA), *n*-プロピルアミン (*n*-PA), イソブチルアミン (*iso*-BA), *n*-ブチルアミン (*n*-BA) およびイソアミルアミン (*iso*-AA) の 7 種については定量分析の対象とした。いずれも東京化成工業のアミン類を標準品として用いた。

**GLC の分析条件** アミン類分析のための固定相液体および担体については多数の使用例がある。

### 実験結果および考察

**揮発性アミン類の分別** 各揮発性アミン類のヘッドスペースガス混合物を上記の条件で分析した結果のガスクロマトグラムを Fig. 1 に示した。この分析条件では，MMA から *iso*-AA までの各アミンの Retention time (tR) はそれぞれの沸点の順とよく一致して、低沸点のものほど早く現われる。比較的新鮮な魚肉中に生成するので，鮮度判定の指標としてよく定量の対象とされているアミン類は DMA と TMA であるが，TMA の方が多量に生成する場合は多い。本条件による場合，含量の比較的少ない MMA や DMA が TMA に先行して現われるので分析上好都合である。各アミンのピークは，*tert*-BA と *n*-BA の分離が不十分である以外はすべてよく分離され，またテーリングがきわめて少ないので定量法として適用し得る分析条件と考えられる。

**抽出溶媒の選択** 揮発性アミン類を試料から捕集する方法は 2 つに大別できる。1 つ

は水蒸気蒸留あるいは減圧蒸留して塩酸塩として集める方法、他は先ず過塩素酸などでアミン類を抽出し、次いで強アルカリ性下で有機溶媒中に遊離のアミンとして転溶させる方法である。この2つの方法を比べると、前者では試料の処理に加熱を伴った長時間の操作を必要とすること、また GLC 分析時には、カラムに導入する前にアルカリ試薬を充てんした特殊なアミン気化装置を通じなければならないなど、操作が非常に複雑である。後者の方は溶媒とともに直接 GLC 分析に供することができるので簡便法として適当である。このような理由で本報告では有機溶媒転溶法を検討することにした。

DYER<sup>1)</sup>によると、水溶液からのアミンの抽出溶媒としてトルエン、石油エーテル、ベンゼンおよびキシレンがよく、とくにトルエンが好適であると報告している。野中ら<sup>2)</sup>は *n*-ヘプタン、佐藤ら<sup>3)</sup>は蒸留アミン類の受液として冷却した *n*-ブタノールを使用している。アミン類の抽出溶媒の条件として、できるだけ抽出能の高いこと、水に対して溶解し難いこと、さらにアミン類のピークと重なるようなガスクロの不純物の除去が容易であることなどが要求される。適当な抽出溶剤を選ぶため、ベンゼン、トルエンなど10種類の DMA と TMA に対する抽出効果を比較した。TMA-N (100  $\gamma$ /ml) と DMA-N (100  $\gamma$ /ml) を含む2% 過塩素酸溶液を各 1 ml 宛小型共栓遠心管にとり、これに溶媒 1 ml, 50% KOH 2 ml を加え、加温振とう後遠心分離し、透明となつた溶媒部分から一定量を取り、DMA は銅-ジチオカルバメート法、TMA はピクレート法によつて測定した。結果は Table 2 に示した。一般に TMA はいづれの溶媒に対しても移行し易く、とくに *n*-アミルアルコールに対しては 100% に近い移行性を示した。DMA は TMA に比べて移行し難いが、クロロホルム、エーテル、および *n*-アミルアルコールに対する移行性は比較的高かつた。分析の目的物質を溶媒に移行させて GLC 分析をする場合には、溶媒を目的物質の前に分離する方法と後に分離する方法がある。低級の揮発性アミン類はきわめて沸点が低いので、クロロホルム、エーテルなどの低沸点の溶媒ではピークが重なり合うおそれがあるので、特定のアミン類 (DMA, TMA はエーテルの主ピークの前に現われる) を分析の対象とした場合以外は使用し難い。その点 *n*-アミルアルコールは沸点が高い (B.P. 136°C) のでかなり広範囲の揮発性アミン類の分離定量が可能となる。また水に対する溶解度も低く、とくに高濃度のアルカリ溶液への溶出はほとんどない点も好都合である。このような多くの利点をもつ *n*-アミルアルコールをアミン類の抽出溶媒として用いることにした。もちろん使用前に蒸留によつて不純物をできるだけ除去する必要がある。通常は精留塔を付した装置で蒸留し、まず後半の 1/3 をとり、ついでこれを再留し、再び後半に留出する区分をとつた。この処理によつてかなり効果的に改善された。しかし *n*-アミルアルコールの主ピークが現われる前に、蒸留によつてはどうしても除去し難い不純物による小さなピークがみられるので、結果の解析にはブランクとの対比が必要である。

アミンの *n*-アミルアルコールへの移行性に及ぼすアルカリ濃度の影響 DMA-N (100  $\gamma$ /ml) を含む2% 過塩素酸溶液 5 ml に、KOH を5% から40% 濃度になるように5% きざみで加え、DMA の *n*-アミルアルコールへの抽出量に及ぼすアルカリ濃度の影響を調べた。結果は Fig. 2 に示したように、アルカリの添加量の増大につれて抽出率が高まるが、30% 以上になるとほぼ一定 (80%) となつた。従つて以下の実験では、65% KOH を

Table 2. Extractability of DMA and TMA with various organic solvents

Solvent	Rate of extraction (%)	
	DMA	TMA
<i>n</i> -Heptane	17.1	62.0
<i>n</i> -Hexane	20.3	64.3
Xylene	25.4	69.6
Carbon Tetrachloride	27.2	73.1
Toluene	30.3	69.3
Dichloromethane	35.4	57.5
Benzene	40.6	66.0
Chloroform	74.0	87.0
Ethyl Ether	74.0	96.5
<i>n</i> -Amyl alcohol	79.5	98.0

Diluted perchloric acid solutions (1 ml) containing DMA or TMA were mixed with solvent (1 ml) and 50% of KOH solution (2 ml). After shaking, the mixture was centrifuged. The amounts of DMA and TMA transferred into the supernatant (solvent) were determined by Cu-dithiocarbamate and picrate method respectively.

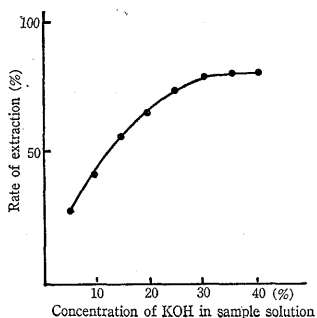


Fig. 2. Effect of KOH concentration on the rate of extraction of DMA. Solvent: Amyl alcohol.

供試液と等量用いることにした。

供試液とアミルアルコールとの容量の比が抽出率におよぼす影響 定量を目的とした7種のアミン類の *n*-アミルアルコールへの抽出性が、供試液と溶媒との量的な関係でどう変化するか調べた。MMA, DMA, TMA の抽出率はガスクロマトグラム上のピークの高さから、その他のアミンについてはピーク面積から比較した。なお前記の結果にもとづき、供試液量と等量の 65% KOH を用い、アルカリ濃度は常に一定となるようにした。結果は Table 3 に示した。供試液 (ml) と溶媒 (ml) の比を 2:1 から 16:1 まで順次増大させると、アミン類の抽

Table 3. Changes in the extractability of amines when the ratio of *n*-amyl alcohol to sample solution is varied

Volume of		Percentages* of amines extracted						
<i>n</i> -amyl alc. (ml)	sample (ml)	MMA	DMA	TMA	<i>n</i> -PA	<i>iso</i> -BA	<i>n</i> -BA	<i>iso</i> -AA
1.0	2.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
1.0	6.0	50.4	90.9	102.5	100.4	101.8	102.5	99.7
1.0	11.0	29.4	69.0	94.1	86.8	96.5	93.7	99.7
1.0	16.0	21.0	58.1	84.0	78.2	89.0	88.0	94.4

\* The amounts of amines were calculated from the peak height (MMA, DMA, TMA) and area (*n*-PA, *iso*-BA, *n*-BA, *iso*-AA) of gas chromatograms. The analytical conditions of gas chromatography are the same as shown in Fig. 1.

出率は一般に低下した。その低下割合は MMA で最も大きく、供試液と溶媒の比が 2:1 で得られた値を 100% とすれば、6:1 では 50% まで低下した。一方 DMA は 6:1 で約 10% の低下を示したが、TMA から *iso*-AA までの 5 種類のアミンでは全く変化がみられなかつた。さらにこれらのアミンでは、その比が 16:1 の場合でも 10~20% が低下するに過ぎなかつた。このようにアミン類の *n*-アミルアルコールへの移行性には大きな相異があるが、各アミンはそれぞれ個有の値をもつので、実際の操作に当つて、供試液と溶媒の量比を常に一定に保てば定量上問題はない。また、MMA 以外のアミン類は非常に効率よく抽出されてくるので、大量の供試液を比較的少量の *n*-アミルアルコールで反復抽出する方法をとれば、アミン含量がきわめて稀薄な試料の場合でも分析が可能となると思われる。このような方法によつた場合は、たとえば Table 3 に示したようなデータから係数を求め補正する必要がある。

魚肉中の揮発性アミン類の抽出と分析法 背肉の普通肉 5.0 g を乳鉢にとり、10 ml の蒸留水を加え、十分に磨砕したのち 10% 過塩素酸 15 ml を混合し、暫時放置後に濾過する。沈殿はさらに 2% 過塩素酸で洗い、濾液と洗浄を合せて 50 ml 定容として供試液とする。通常は、供試液 2 ml, *n*-アミルアルコール 1 ml, 65% KOH 2 ml を順次に 10 ml 容の共栓遠沈管にとり、40~50°C に 2, 3 分おいたのち約 1 分間激しく振とう抽出する。魚肉の抽出物では、多くの場合 *n*-アミルアルコール層が混濁するので遠沈 (2000 rpm, 10 分間) して清澄にする。この *n*-アミルアルコール層から 2  $\mu$ l をとつて前記の条件に従い GLC 分析に供した。

検量線と回収率 MMA, DMA, TMA, *iso*-PA, *n*-PA, *n*-BA, および *iso*-AA の各アミンを 1000  $\gamma$ -N/ml になるように 2% 過塩素酸で溶解し原液とした。これらを 4 段階の濃度になるように適当に稀釈

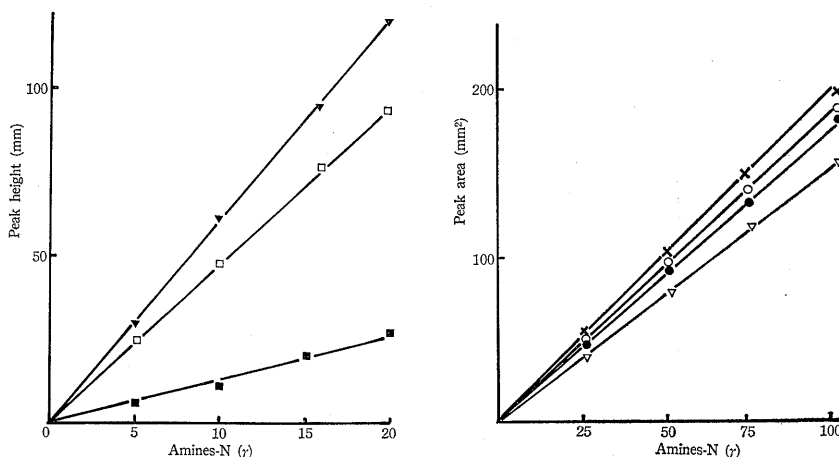


Fig. 3. Calibration curves for the estimation of amines.

■, MMA; □, DMA; ▼, TMA; ×, *n*-BA; ○, *iso*-BA; ●, *iso*-AA; ▽, *n*-PA.

して標準液とした。その 2 ml をとり、前述した方法に従って *n*-アミルアルコール抽出し、その 2  $\mu$ l を GLC 分析した。得られたガスクロマトグラムから、MMA, DMA および TMA についてはピークの高さから、その他のアミン類についてはピーク面積を求め、各アミンの濃度と対比して検量線を作成し、Fig. 3 に示した。MMA, DMA, TMA に対する感度はそれぞれ著しく異っていた。MMA に対しては最も低感度であり、同モル DMA の約 1/3, TMA の約 1/4 であった。MMA は *n*-アミルアルコールへの転溶性が低く、ピークも比較的小さいので、きわめて微量しか存在しない場合の分析は慎重を要する。一方 *iso*-PA, *n*-BA, *iso*-AA などは同モルでほぼ同じピーク面積を示した。カラム温度、キャリアーガス流量などの条件がわずかでも変動すると、ピークの高さや面積に違いの生ずることがあるので、分析のつど標準液の混合物を用いて検量線の標定をすることが望ましい。

ついで、即殺コイの背部普通肉に一定量のアミン類を同時に混合磨砕したものを試料とし、前記の方法で抽出・分離定量を行なった。得られた結果は Table 4 に示したがすべて 93% 以上の回収率で定量が可能であった。なお本法による定量限界は MMA-N で約 5 $\gamma$ , DMA-N と TMA-N ではそれぞれ 2 $\gamma$  と 1 $\gamma$ , その他のアミン-N は約 5 $\gamma$  であった。

サバ、コイ、スルメイカの腐敗過程で生成する揮発性アミン類  
サバ (*Scomber japonicus*) は市販の鮮魚 (体長 35 cm, 体重 950 g), コイ (*Cyprinus carpio*) は市販の活魚 (体長 37 cm, 体重 1350 g) を即殺して供試した。各々の背肉の普通肉を細切してシャーレにとり、22~30°C の室温に放置した。スルメイカ (*Todarodes pacificus*) は胴肉を用い、同じ条件においた。またコイ肉の 1 部は -40°C に 5 日間凍結貯蔵後に解凍し、同じ条件において生肉放置の場合と比較した。得られた結果は Fig. 4 に示した。サバ肉の場合では、官能的に非常に新鮮と思われたが貯蔵開始時すでに少量の DMA と TMA が検出されたが、これらの大部分は恐らく筋肉中の酵素作用<sup>18)</sup>に由来する産物と思われる。24 時間後には DMA と TMA が急速に増大するとともに微

Table 4. Recovery (%) of amines added to carp muscle

Amines	Amine-N added (mg/100 g)	Amine-N found* (mg/100 g)	Recovery (%)
MMA	20.0	19.4	97.0
DMA	15.0	14.7	98.0
TMA	15.0	14.5	96.7
<i>n</i> -PA	15.0	14.3	95.3
<i>iso</i> -BA	15.0	14.5	96.7
<i>n</i> -BA	15.0	14.1	94.0
<i>iso</i> -AA	15.0	14.0	93.3

\* Values represent the mean of duplicate analyses.

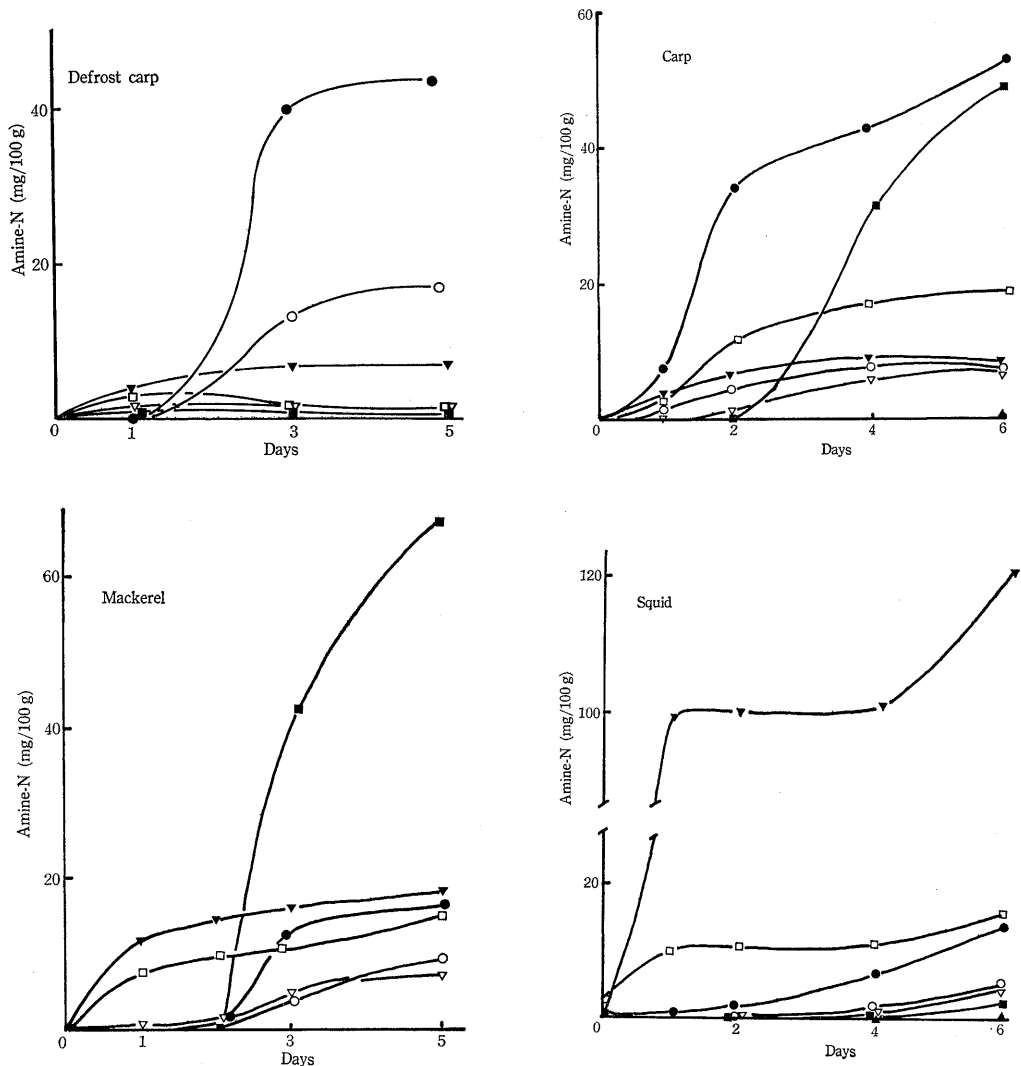


Fig. 4. Changes in the concentrations of volatile amines in the muscle of carp, defrost carp, mackerel and squid during process of spoilage at room temperature (22-30°C).

■, MMA; □, DMA; ▼, TMA; ▲, iso-PA; ▽, n-PA; ○, iso-BA; ●, iso-AA.

量の *n*-PA が生成した。その後 48 時間まではそれほど目立つた変化はみられなかったが、3 日目に至り多量の MMA が生成し、その他 iso-AA, iso-BA および微量の *n*-BA が検出されるようになった。イカ肉の場合は貯蔵後きわめて急速にかつ多量の DMA と TMA の生成があつたが、イカ肉は高濃度の TMAO を含むので当然である。それ以外のアミン類の生成はむしろ遅く、4 日目に至りようやく iso-AA などが検出されるようになったがその量はサバに比べて非常に少量であつた。コイ肉については先述のように、同一個体の生肉と解凍肉を試料として 2 回の試験を行なつたが、アミン類消長の様相は全く異なつていた。生肉の場合では MMA, DMA, TMA, *n*-BA および iso-AA はいづれも貯蔵中次第に増大したが、解凍肉

では TMA と *iso*-BA がやや増加し、DMA は僅かに増えたのちに減少する傾向があるなど複雑な変化を示した。MMA の変化はとくに対称的であり、生肉では 4 日後に 32.2 mg-N/100 g に達したが解凍肉では 5 日後でもほとんど検出されなかつた。これら 2 つの試料間で、*iso*-AA のみがほぼ似た変化を示し、4 日後の含量は生肉と解凍肉でそれぞれ 40.8 と 42.2 mg-N/100 g であつた。腐敗進行中における揮発性アミン類の消長が魚種によつて異なることは当然考えうるとしても、同一魚体 (コイ) からの試料であつても、凍結・解凍処理の有無によつて非常に大きく異つてくることは注目される。このような相違はおそらく凍結・解凍・放置の過程で、腐敗に関与する細菌の数および種類に変化が生じたためと思われるがこの点については更に検討したい。

**コリンおよびベタインからの DMA と TMA の生成** 通常コイ肉中には TMAO はほとんどこん跡程度しか含まれていないが、ここで用いたコイ肉も同様であり、三塩化チタンによる還元後にピクレート法<sup>9)</sup>による定量を試みたが TMAO は検出されなかつた。

それにもかかわらず腐敗の進んだ段階で、TMA と DMA がかなりのレベル (DMA-N 15~20 mg/100 g, TMA-N 7~8 mg/100 g) で生成した。またサバ肉の TMAO-N は 8.7 mg/100 g であつたが、貯蔵 24 時間後に生成した TMA-N と DMA-N の合計はすでにその値を超過した。TMA が TMAO 以外の物質から生成する可能性については高田らの報告<sup>14)</sup>があり、コリンをその母体と推定している。しかし DMA が TMAO 以外から生成することはまだ知られていない。構造的にメチルアミン類の母体となると思われるものにコリン、ベタインなどがある。そこで TMAO の影響のほとんどないコイ肉にこれらの物質を添加し、DMA, TMA の生成に対する影響を調べた。コリンおよびベタインはそれぞれ 100 mg-N/100 g の濃度になるように混合した。結果は Fig. 5 に示した。コリン添加肉の DMA-N, TMA-N は室温 24 時間後にそれぞれ 15.5 mg/100 g と 95.0 mg/100 g に達した。これらの和はすでに添加した全コリン N を上まわる程度であり、きわめて急速に分解することがわかつた。24 時間以降 TMA はほぼ一定となり、DMA は急速に減少する傾向を示したが、コリンもまた腐敗肉中に生成する DMA の母体となり得ることは明らかである。DMA, TMA がある種の細菌<sup>15)</sup>やカビ<sup>16)</sup>によつて消費されることが知られているが、ここでみられた DMA の減少も恐らく同じ理由によるものと思われる。ベタイン添加肉の場合では、DMA の生成は対照と大差なかつたが TMA は徐々に増大し 72 時間後に 45.2 mg-N/100 g に達した。このことはベタインも TMA の母体となり得ることを示している。

**薄層クロマトグラフ (TLC) による揮発性アミン類の同定** 本報では、各アミン類の種類の判定はクロマトグラムのピークの *tR* によつたが、それが妥当か否かを TLC によつて確かめた。3 日間室温に放置した腐敗コイ肉からの過塩素酸抽出物を試料とした。その 10 ml と *n*-アミルアルコール 5 ml, 65% KOH 10 ml を混合して振とう抽出し、遠沈後に上層の *n*-アミルアルコールをとり、稀塩酸で 2 回反復抽出してアミン類の塩酸塩溶液を得た。ついでこれを Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> アルカリ性下で水蒸気蒸留し、揮発性アミン類を塩酸塩として捕集した。TLC はアミン類を 3, 5 ジニトロベンゼンの誘導体としてシリカゲル G 上で展開した。展開剤はクロロホルム

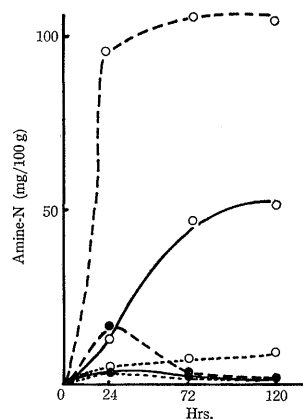


Fig. 5. Changes in concentrations of DMA and TMA in carp muscle to which choline and betaine were added during storage at room temperature (22-30°C). Concentrations of choline and betaine added were 100 mg-N/100 g muscle.  
●, DMA; ○, TMA; ·····, Controll; ----, Choline added; —, Betaine added.



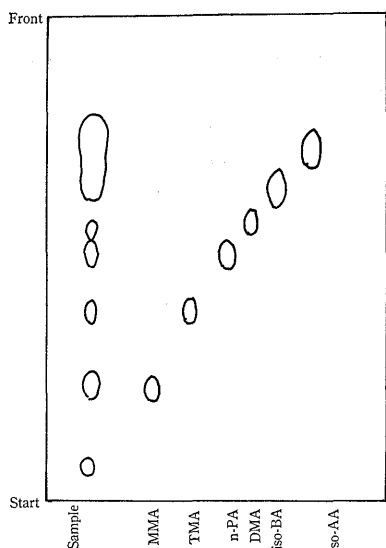


Fig. 6. Thin-layer chromatogram of 3, 5-dinitrobenzamides on silica gel G.

Absorbant, silica gel G buffered in 0.15 M sodium acetate. Solvent, chloroform-96% ethanol (99 : 1).

-96% エタノール (99 : 1) を用い  $\alpha$ -ナフチルアミンの 1% エタノールで発色させた。得られた結果を Fig. 6 に示した。MMA, TMA, *n*-BA などそれぞれ独立したスポットとして存在が確認されたが、*iso*-BA と *iso*-AA に相当する部分は分離できずにひとつの大きなスポットを形成した。しかしこれは、標品アミンについてのクロマトグラム, GLC の *t*R の比較から *iso*-BA と *iso*-AA であるとみてほぼ間違いないものと思われる。

***n*-アミルアルコールの代りにエーテルを用いる分析法** 腐敗産物としての各種の揮発性アミン類を同時に分析しようとする時は、*n*-アミルアルコール法は有用である。しかし *n*-アミルアルコールは沸点が高いのでカラムから駆出するのに長時間を要する欠点がある。分析目的を DMA と TMA のみに限った場合は、アミルアルコールの代りにエーテルを用いることにより、短時間に多数の試料の分析が可能にすることができる。エーテルは DMA と TMA の *t*R と重なる不純物を含むが、蒸留の初留をとることによりこの影響をかなり軽減できる。定量時にはエーテル不純物によるピークをブランクとして差

し引く必要がある。他の GLC の分析条件は *n*-アミルアルコールの場合と全く同様にして分析が可能であるが、エーテル抽出時の加熱操作は必要でない。なおこの場合も GLC による検出感度は分析条件の僅かな変化によっても影響を受けるので、試料の分析時には常に標準溶液による補正が必要である。

## 要 約

ガスクロマトグラフィーによる揮発性アミン類の簡便な分離定量法について検討した。さらに同法により、数種の魚介類の腐敗過程で生産されるアミン類の変化を追跡した。得られた結果の要約は次のとおりである。

1. ステンレスカラム: 3 mm × 2 m, 充てん剤: スクアララン (20%) + グリセリン (2.5%) + KOH (2.5%) Diasolid L (80~100 メッシュ), カラム温度: 65°C, キャリアーガス: N<sub>2</sub> 12 ml/min, の条件で, MMA, DMA, TMA, *iso*-PA, *tert*-BA, *n*-PA, *sec*-BA, *iso*-BA, *n*-BA, pyrrolidine, *iso*-AA の分別が可能である。
2. 魚肉の過塩素酸抽出物を試料として, *n*-アミルアルコールと高濃度の KOH を加え, 振とう抽出すると揮発性アミン類は定量的にアルコール層に移行するので, その一部を直接 GLC 分析に供し定量することができる。
3. 本法を用いてサバ, イカ, コイなどの腐敗進行中におけるアミン類を調べたところ, MMA, DMA, TMA, *n*-PA, *iso*-BA, *n*-BA および *iso*-AA が検出された。
4. 腐敗中に生成するアミンの種類と量は, 同じ魚体からとった生肉と凍結・解凍肉の間で大きな相違がみられた。
5. 腐敗が進むとコリンからの DMA と TMA, ベタインからの TMA の生成は無視できない量となる。
6. DMA と TMA のみを定量の対象とする場合は *n*-アミルアルコールの代りにエーテルを用いれば, 短時間に多数の試料の分析が可能である。

## 文 献

- 1) W. J. DYER: *J. Fish. Res. Bd. Canada*, **6**, 351-358 (1945).
- 2) 橋本芳郎・岡市友利: 本誌, **23**, 269-272 (1957).
- 3) W. J. DYER and Y. A. MOUNSEY: *J. Fish. Res. Bd. Canada* **6**, 359-367 (1945).
- 4) 戸沢晴己・榎原和子・天野慶之: 本誌, **36**, 606-611 (1970).
- 5) 高木光造・村山花子・遠藤繁子: 北大水産彙報, **18**, 267-270 (1967).
- 6) 野中順三九・三谷仁己・小泉千秋: 本誌, **33**, 353-357 (1967).
- 7) 斉藤 要・鮫島宗雄: 農化, **30**, 535-537 (1956).
- 8) 河端俊治・石橋 亨・中村昌道: 食衛誌, **14**, 31-36 (1973).
- 9) S. TESHIMA, A. KANAZAWA and K. KASHIWADA: *This Bull.*, **33**, 1147-1152 (1967).
- 10) S. TESHIMA, A. KANAZAWA and K. KASHIWADA: *This Bull.*, **34**, 163-167 (1968).
- 11) 佐藤和美・伊藤啓二・松本文夫: *J. Fish. Anim. Husb. Hiroshima Univ.*, **5**, 193-201 (1963).
- 12) 鎗木陽一・三上洋一: 分析機器, **8**, 381-390 (1970).
- 13) 徳永俊夫: 本誌, **36**, 510-515 (1970).
- 14) 高田幸二・西本淳一: 本誌, **24**, 236-239 (1958).
- 15) R. R. EADY and P. J. LARGE: *Biochem. J.*, **111**, 37 p-38 p (1969).
- 16) T. FUJII, Y. ISHIDA and H. KADOTA: *This Bull.*, **40**, 1309 (1974).