

21. 化学性食中毒の原因究明における分析の迅速化とその予防への取り組み

関戸晴子（神奈川県衛生研究所 理化学部）

【目的】

ジャガイモ中に含有しているポテトグリコアルカロイドであるソラニン類が化学性食中毒の原因となることは知られている。しかし、その分析法には問題点が多く、検査を実施する機関では苦慮している。そこで、迅速かつ正確に検査結果が出せる分析法を開発し、その手法を用いてジャガイモの部位別濃度を把握し、地域や学校等で食中毒予防のための啓発活動を行うことにより、食の安心・安全に寄与していくことを目的とする。

【方法】

1. 試料

ジャガイモはかながわ農業アカデミーで生産されたもの3品種(男爵・アンデスレッド・キタアカリ)を使用した。

2. 試薬

-ソラニンおよび -チャコニン標準品：SIGMA 社製 純度 95%

-ソラニンおよび -チャコニン標準溶液：各標準品 10mg を正確に秤量し、各々メタノールで溶解し 10mL とした。この標準原液を各々1mL あわせ、メタノールで 10mL に調製したものを 100 μ g/mL 混合標準液とした。これを 40%メタノール溶液で希釈し、0.01 ~ 10 μ g/mL 混合標準液を調製し、検量線作成に使用した。

Oasis HLB(60mg)：Waters 社製 あらかじめメタノール 5mL、水 5mL でコンディショニングを行い、使用した。

水は水道水を超純粋製造装置で処理したものを使用した。

その他の試薬は特級品または LC/MS 用を用いた。

3. 試験溶液の調製

ジャガイモは各 5 個を 皮(2mm 程度の厚さにむいたもの)と可食部(皮をむいた残り)に分け、フードカッターで細切均一化したものを試料とし、図 1 に従い試験溶液を調製した。

4. 装置 LC:Waters 社製 Acquity UPLC、

TOF-MS:Waters 社製 LCT Premier XE

5. LC 条件

カラム：Acquity UPLC BEH Shield RP18 2.1mmi.d. \times 100mm、

カラム温度：40、流速：0.25mL/min、注入量：5 μ L

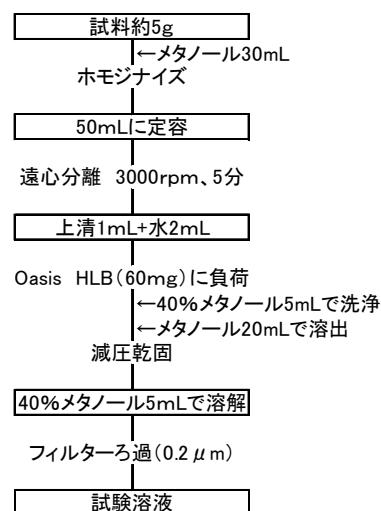


図 1 . 試料溶液の調製法

移動相 A : 0.1%ギ酸 移動相 B : アセトニトリル

A:B = 75:25 (0~3min) 75:25(4~6min) 25:75(7~9min)

6 . TOF-MS 条件

イオン化法 : ESI ポジティブモード、キャピラリー電圧 : 1400V、ソース温度 : 120 、
脱溶媒温度 : 350 、脱溶媒ガス : 800L/Hr、測定質量範囲 : 80 ~ 1000m/z、
モニターイオン : -ソラニン m/z 868.5058 -チャコニン m/z 852.5109

【結果および考察】

1 . 分析条件の検討

通常 HPLC 分析においてはアミノプロピル化学結合型シリカゲルカラムが汎用されているが、保持時間が前後に変動し、近傍にある妨害ピークと重なる現象がみられる場合がある。そこで ODS カラムを使用し、移動相は

0.1%ギ酸溶液およびアセトニトリルを用いたグラジエント分析を検討したところ、他の成分の妨害を受けることなく良好なクロマトグラムが得られた (図 2)。

イオン化には ESI ポジティブモードを使用して定量した。 -ソラニンおよび -チャコニンともに 0.01 ~ 10 μg/mL の濃度範囲で良好な直線性 (相関係数 0.996 以上) が得られた。

本法における定量下限値は -ソラニンおよび -チャコニンともに 0.5mg/kg であった。

2 . 前処理法の検討

Sep-Pac Vac(1g)、Sep-Pak Plus C18(360mg)、Oasis HLB(60mg) を用いた精製を検討したところ、どのカラムも良好に保持されたため、操作が簡便な Oasis HLB(60mg)を採用した。ジャガイモ(男爵・可食部)5g に 1250 μg の -ソラニンおよび -チャコニンを添加し、図 1 に示した試料溶液の調製法を用いて回収試験を実施したところ良好な回収率が得られた。添加回収試験結果を表 1 に示した。

3 . TOF-MS によるスペクトル測定

-ソラニンおよび -チャコニンの構造を図 3 に示した。

ESI ポジティブモードで、 -ソラニンおよび -チャコニン[M]にプロトン[H]⁺が付加した[M+H]⁺型(-ソラニン m/z 868.5、 -チャコニン m/z 862.5)や、これらからグルコースやラムノースが脱離したイオン(m/z 706.5) ソラニジンにグルコースのみが結合したイオン(m/z 560.4)、ソラニジンにプロトン[H]⁺が付加したイオン(m/z 398.3)が確認された。得られたピークのスペクトルデータから化学構造式を予測し、データベースを検索したところ、m/z 868.5060 は -ソラニン、m/z 862.5118 は -チャコニンが同一の組成を有する候補として挙がった。

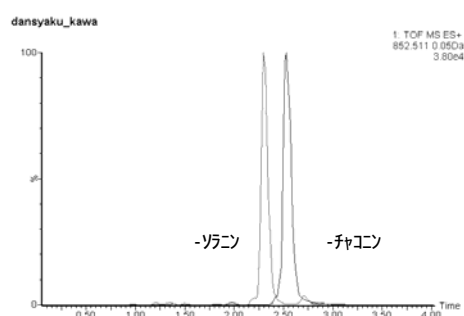


図 2 男爵 (皮) の SIM クロマトグラム

表 1 添加回収試験結果

成分	回収率(%)*
-ソラニン	81.7±4.8
-チャコニン	86.3±6.3

* 平均値±S.D.(n=3)

このことから、急な食中毒事件の際標準物質が手元にない場合でも精密質量を測定することにより原因物質が検出・同定できることが示唆された。

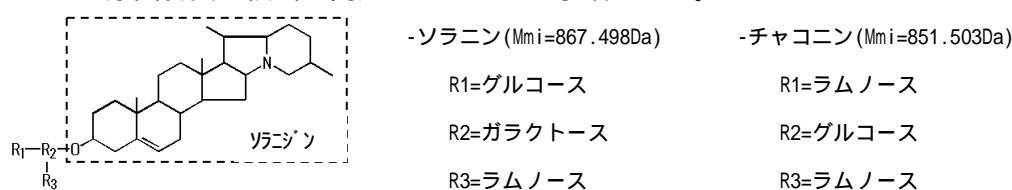


図3 -ソラニンおよび -チャコニン

4. ジャガイモ中の -ソラニンおよび -チャコニン含有量

男爵、アンデスレッド、キタアカリの3品種(重量100~150gのイモ)について、部位別(皮、可食部、芽)の -ソラニンおよび -チャコニン含有量を調査した。芽については、収穫直後は発芽していないため3ヶ月間室温暗所(ダンボール中)に保存し、発芽した部分を使用した。また、通常ジャガイモを保存する前に処理する方法と同様に、収穫後1週間程度風通しの良いところで乾燥させた後、室温暗所(ダンボール中)に保存した。なお、未熟イモは、通常の収穫時期になる前の未成熟状態のものを収穫し、収穫後1週間乾燥させたものの -ソラニンおよび -チャコニン含有量を測定した。結果を表2に示した。

皮からは -ソラニンおよび -チャコニンは全ての品種から検出された。その含有量は、3品種とも -ソラニンより -チャコニンのほうが多く、収穫後1週間で比較すると男爵では2.4倍、アンデスレッドでは2.1倍、キタアカリでは1.8倍、多く含有していた。経時変化をみると、 -ソラニンおよび -チャコニンとも収穫後1週間が最も多く、3ヶ月保存すると減少する傾向が認められた。

可食部からは -ソラニンおよび -チャコニンは全ての品種から検出された。しかし、その含有量は3品種とも4.0mg/kg以下と微量であった。また、3ヶ月保存しても増加は認められず、アンデスレッドの -チャコニンは検出されなかった。

芽については、室温暗所(ダンボール中)に保存開始後約2.5ヶ月を過ぎた頃から発芽が始まり、3ヶ月では、男爵で平均1cm、アンデスレッド平均2cm、キタアカリ平均1cm、程度の芽の長さとなった。 -ソラニンおよび -チャコニンは全ての品種から検出され、その含有量は3品種とも300mg/kgを超える高い値を示した。従来から言われているように芽部分には非常に多くの -ソラニンおよび -チャコニンが含まれることが改めて確認された。

未熟イモは3品種ともピンポン玉程度の大きさで平均重量は約20gであった。 -ソラニンおよび -チャコニンは全ての品種から検出された。男爵、キタアカリについては成熟した通常のイモと、皮・可食部ともに -ソラニンおよび -チャコニン含有量に差はあまり認められなかった。アンデスレッドは、皮・可食部ともに成熟した通常のイモよりも高い値を示し、可食部については -ソラニン43mg/kg、 -チャコニン27mg/kgと3品種の中で、最も高い値を示した。

皮と可食部を比較すると、どの品種でも α -ソラニンおよび α -チャコニン含有量は皮が高い値を示した。

表2 ジャガイモ中の α -ソラニンおよび α -チャコニン含有量(mg/kg)

品種	採取部位	α -ソラニン				α -チャコニン			
		収穫後 1週間	1ヶ月 保存	3ヶ月 保存	未熟 いも	収穫後 1週間	1ヶ月 保存	3ヶ月 保存	未熟 いも
男爵	皮	85	77	61	97	200	170	100	200
	可食部	2.0	3.5	0.5	2.0	3.0	4.0	0.5	2.0
	芽			350				470	
アンデス レッド	皮	100	110	45	200	210	180	65	280
	可食部	1.5	3.0	0.5	43	1.5	2.5	N.D.	27
	芽			830				850	
キタアカリ	皮	85	60	63	60	150	97	100	110
	可食部	2.0	1.5	1.0	0.5	2.0	1.5	1.0	0.5
	芽			360				520	

N.D.<0.5mg/kg

一般にジャガイモに含まれるポテトアルカロイドの約 95%は α -ソラニンおよび α -チャコニンであり、中毒量は200~400mgといわれている。今回調査したジャガイモ3品種では、可食部に限り、アンデスレッドの未熟イモを除き 4.0mg/kg 以下であり、これを中毒量に換算するとジャガイモ 50kg に相当し、食中毒を起こす可能性はほとんどないものと考えられる。しかし、これまでに発生した食中毒事例のうち福岡市の小学校での推定発症量は 16.5mg、兵庫県の幼稚園では 26.8mg と示されている。このように子供の場合は大人に比べて1桁少ない量で発症する可能性があるため、子供がジャガイモを食べる場合は、皮をむき多量に食べない様に注意する必要があると思われる。また、芽の部分はアルカロイドの含有量が多いため適切に取り除き、未熟なジャガイモも品種によりアルカロイド含有量が多いものがあるので十分注意する必要があるといえる。

5. ジャガイモの貯蔵における α -ソラニンおよび α -チャコニン含有量の変化

貯蔵温度が、ジャガイモ中の α -ソラニンおよび α -チャコニン含有量にどのような影響を及ぼすか調査した。前述の室温暗所(ダンボール中)の保存と並行して低温暗所(4℃冷蔵庫、ダンボール中)で3ヶ月間保存を実施し、同様に α -ソラニンおよび α -チャコニン含有量を調査した。結果を図4, 5, 6に示した。

皮の α -ソラニンおよび α -チャコニン含有量は、3品種とも室温暗所保存では減少する傾向が認められた。低温暗所保存では1ヶ月でかなり減少するが、その後また徐々に増加する傾向が認められた。これは、低温保存時に皮の表面が徐々に乾燥して皮の水分含量変化したためではないかと考えられた。

なお、室温暗所では保存開始後約2.5ヶ月を過ぎた頃から発芽が確認されたが、低温暗所では保存期間3ヶ月を過ぎても発芽は認められなかった。

可食部中の α -ソラニンおよび α -チャコニン含有量は、3品種とも保存場所、保存期間の違いによる影響はほとんどなく、大きな変化は認められなかった。

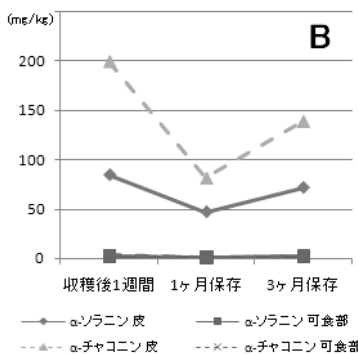
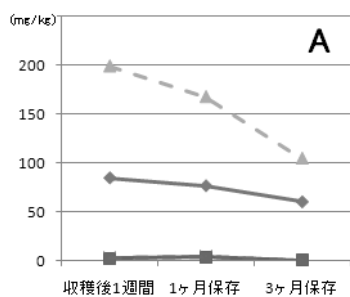


図4 男爵の経時変化

A: 室温暗所 B: 低温暗所

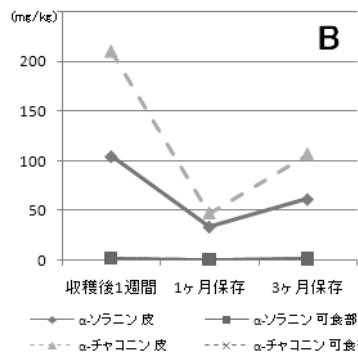
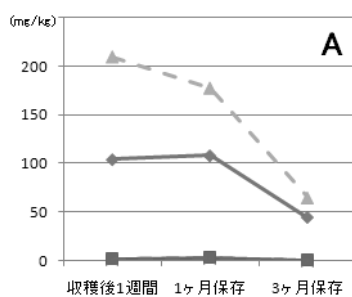


図5 アンジュ・スレッドの経時変化

A: 室温暗所 B: 低温暗所

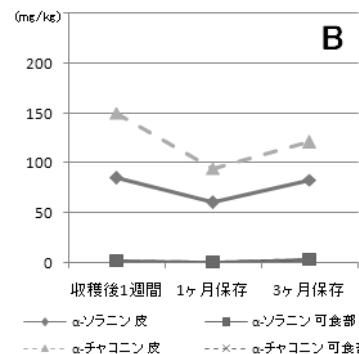
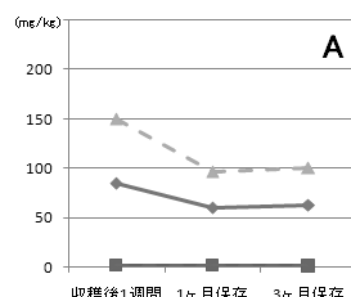


図6 カブカの経時変化

A: 室温暗所 B: 低温暗所

【まとめ】

超高速液体クロマトグラフを接続し、精密質量が測定できる高分解能の飛行時間型質量分析計(LC/TOF-MS)を用いてジャガイモ中 α-ソラニンおよび α-チャコニンを定量する方法を検討した。分析時間は従来の30分から9分に短縮され、測定した精密質量から原因物質を検出・同定できることから、今回検討した分析法はジャガイモが原因として疑われる化学性食中毒に迅速・正確に対応することができる有用な方法であると考えられた。また、この手法を用いてジャガイモ3品種における α-ソラニンおよび α-チャコニンの部位別含有量および貯蔵における含有量の変化を調査したところ、可食部中の α-ソラニンおよび α-チャコニン含有量は、3品種とも微量で、食中毒を起こす可能性はほとんどないと思われる。この調査結果を当所所内発表会で報告し、地域住民へ向けて食中毒予防のための啓発活動を実施する予定である。また、ホームページへの掲載により食の安心・安全における消費者への有益な情報提供を考えている。

【経費使途明細】

有機溶媒・試薬(標準品)	294,021	サンプル購入費	3,600
HPLC 用カラム	155,925	事務用品	984
旅費(打合せ・学会発表等)	50,570	合計	505,000

本研究の成果の一部は、平成21年10月9日第98回日本食品衛生学会学術講演会(函館)において発表した。