

キャピラリー電気泳動による食品に添加された亜ヒ酸 Na, アジ化 Na, シアン化 Na の一斉分析法について

中嶋昌徳¹・江頭 勝¹

Simultaneous Determination of Sodium arsenite, Sodium azide and Sodium cyanide added in Food by Capillary Electrophoresis

Masanori NAKASHIMA, Masaru EGASHIRA

要 旨

最近, 日本国内で多発している食品への毒物混入事件に迅速に対応するため, 食品に添加された毒物 (亜ヒ酸 Na, アジ化 Na, シアン化 Na) の一斉分析法をキャピラリー電気泳動 (CE) を用いて検討した. 各毒物の標準溶液は 20ppm ~ 500ppm で良好な直線性を示し, また, 移動時間の相対標準偏差 (RSD) は 0.2% 以下で, 再現性は良好であった. 4 種類の食品に毒物を 1000ppm になるように添加したときの回収率は亜ヒ酸 Na で 31 ~ 97%, アジ化 Na で 95 ~ 97%, シアン化 Na で 0 ~ 80% であった. 本法は 30 分程度で再現性よく, 同時分析することができ, 毒物混入の際には有用なスクリーニング法であると考えられた.

Key Words : 毒物 Poison, 亜ヒ酸 Na Sodium arsenite, アジ化 Na Sodium azide, シアン化 Na Sodium cyanide, 牛乳 Milk, コーヒー Coffee, ウーロン茶 Oolong tea, カレー Curry, キャピラリー電気泳動 Capillary electrophoresis

I はじめに

平成 10 年 7 月に和歌山県で起きたカレー毒物混入事件以来, 全国で毒物混入事件が発生している. 和歌山県の事件では当初, 細菌性食中毒が疑われ, 次にシアン化合物が疑われたが, 最終的には亜ヒ酸が混入されることが判明した. 毒物混入事件は, その性質上, 迅速に毒物の特定を行う必要がある. そこで著者らは毒物のうち, 亜ヒ酸 Na, アジ化 Na, シアン化 Na の迅速分析法を検討した. 迅速な検査法として, 亜ヒ酸 Na はグツツアイト法¹⁾, アジ化 Na は塩化第 2 鉄と反応させる比色法²⁾, シアン化 Na は 4 ピリジンカルボン酸ピラゾロン法 (4pp 法)³⁾ が知られている. しかしながら, これらの検査は個別分析法であり, また, 前処理に若干, 手間がかかる.

近年, 食品や医薬品分析分野で迅速で簡便な分析が可能であるキャピラリー電気泳動 (CE) が注目を浴びている⁴⁾. CE は水溶性のものでイオン化する物質の分析を得意としており, また, 分離能が優れているため, 簡

単な前処理だけで分析が可能である. 今回, 毒物のスクリーニング検査を CE を用いて検討を行ったので報告する.

II 材料および方法

1. 試薬

亜ヒ酸 Na, アジ化 Na, シアン化 Na の 1000ppm 準原液を作成し, 適宜, 0.1N NaOH 溶液で希釈して標準溶液を調製した.

2. 装置

CE 装置はヒューレット・パッカード社製 HP3DCE システム G1600 を使用した.

3. 測定条件

Capillary : フューズド[®]シリカ製 内径 50 μ m 有効長 104cm 全長 112.5cm, 泳動液 : H P 社毒物用泳動液 (pH12.1), 電圧 : 25kV (Negative), Capillary 温度 : 30 $^{\circ}$ C, 試料注入量 : 300mbar \cdot s (加圧), 検出波長 : Sig.350/20

Ref.275/10nm

4. 定性・定量

1. 福岡市保健環境研究所 理化学課

試験溶液の移動時間から判定し、ピーク面積から検量線を作成して濃度を求めた。

5. 試験溶液の調製

試料 1g (mL) を水で 10mL にメスアップし、遠心分離後、上清をメンブランフィルター (孔径 0.20 μm) でろ過して CE 用試験溶液とした。

III 結果及び考察

(1) 分離状況

亜ヒ酸イオン、アジ化物イオン、シアンイオンは UV 吸収が弱いので、UV 吸収の強い泳動液を用いてマイナスピークを検出する間接吸光法で測定を行った。

亜ヒ酸 Na, アジ化 Na, シアン化 Na の混合標準溶液 (100ppm) は図 1 に示すとおり本法で良好に分離した。

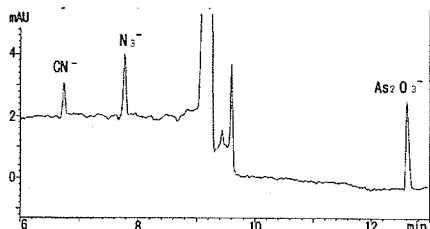


図 1 毒物標準溶液 (各 100ppm) のエレクトロフェログラム

また、ウーロン茶に毒物を添加したときのエレクトロフェログラムを図 2 に示す。各毒物はマトリックスの影響を受けずに良好に分離した。さらに牛乳に毒物を添加したエレクトロフェログラムを図 3 に示す。牛乳を水で希釈して、直接、4pp 法で測定すると、青く発色して CN の測定を妨害するが、本法では図 2 B に示すとおり妨害がないことが確認できた。

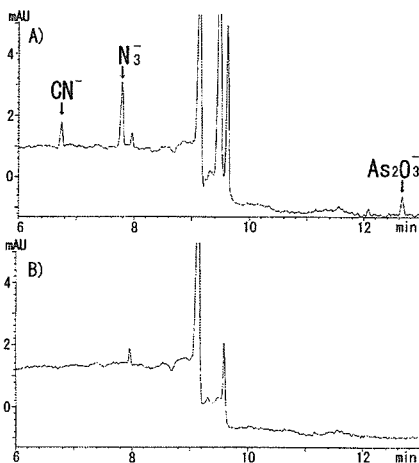


図 2 ウーロン茶のエレクトロフェログラム

- A) ウーロン茶 1mL に各毒物 1mg 添加
- B) 無添加のウーロン茶

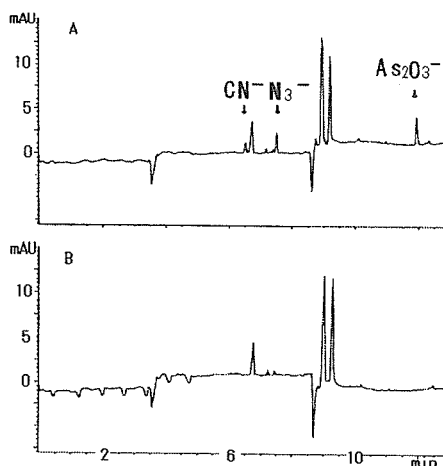


図 3 牛乳のエレクトロフェログラム

- A: 牛乳 1 mL に各毒物 1mg を添加
- B: 無添加の牛乳

(2) 再現性および検量線

① 移動時間及びピーク面積の再現性

標準溶液 (各 50ppm) の相対標準偏差 (RSD) を表 1 に示す。移動時間の再現性は良好であった。また、ピーク面積の再現性は若干悪かったが、毒物混入が疑われる場合のスクリーニング検査としては十分であると考えられる。

表 1 移動時間とピーク面積の再現性 (RSD, n=5)

	移動時間	ピーク面積
亜ヒ酸 Na	0.2 %	7.9 %
アジ化 Na	0.1 %	6.9 %
シアン化 Na	0.1 %	9.0 %

② 下限値, 直線性

標準溶液の濃度 20,50,100,200,500ppm で検量線を作成したところ、図 2 に示すとおり、相関係数 0.998 以上の直線が得られた。

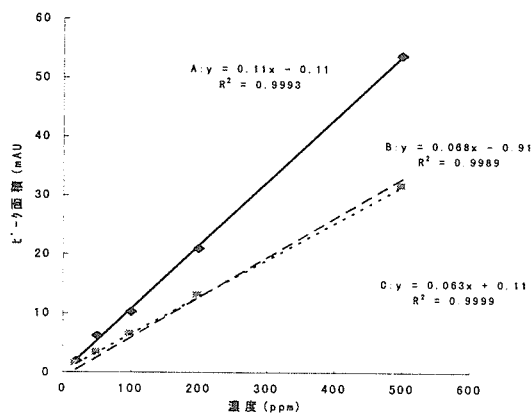


図 2 毒物の検量線

- A: 亜ヒ酸 Na B: シアン化 Na C: アジ化 Na

また、検量線の範囲から、スクリーニング下限値を試料濃度 200ppm とした。この下限値は食品 100g に致死量分の毒物が添加されたときの濃度の 1/5 から 1/35 である(表 2 参照)。

表 2 毒物の致死量^{5,6)}

毒物	経口致死量 /人
亜ヒ酸 Na	100 mg
アジ化 Na	700 mg
シアン化 Na	200 mg

(3) 添加回収実験

市販の牛乳、ウーロン茶、コーヒー、カレーに毒物の標準溶液を添加して、その回収率を求めた。結果は表 3 に示すとおり、添加する食品により、回収率の再現性が悪いものがあった。

亜ヒ酸 Na を牛乳に添加したときの回収率は 97%だったが、カレーでは 76%であった。また、コーヒーでは 40%、ウーロン茶では 31%と低かった。これはコーヒー、ウーロン茶中の成分が亜ヒ酸イオンと結合したためと思われる。

そこで、更に紅茶と麦茶で追試を行ったところ、紅茶は 30%の回収率であったが、麦茶は 98%の回収率であった。このことから、コーヒー、ウーロン茶、紅茶にあって、麦茶にない成分のタンニンやカフェインと亜ヒ酸イオンが結合したのではないかと推測された。

アジ化 Na は食品に関係なく良好な回収が得られ、再現性も良好であった。

シアン化 Na はウーロン茶で 80%だったが、牛乳、コーヒーの回収率が悪く、再現性も悪かった。カレーでは回収率 0%であった。これはカレー成分がシアンと反応して、CE での測定を妨害しているものと思われる。

表 3 毒物を様々な食品に添加したときの回収率(%)
(n=3)

食品名	亜ヒ酸 Na *		アジ化 Na *		シアン化 Na *	
	回収率	RSD	回収率	RSD	回収率	RSD
牛乳	97	3.5	97	1.0	65	15
ウーロン茶	31	3.0	95	0.8	80	7.9
コーヒー	40	13	95	3.5	44	18
カレー	76	2.9	97	5.5	0	***

*毒物標準品 1.0mg を食品 1g (mL) に添加

IV まとめ

毒物混入事件が発生した場合、正確な定量もさることながら、まずは早急な毒物の同定が求められる。今回、CE を使って、簡単な前処理だけで亜ヒ酸 Na、アジ化 Na、シアン化 Na を同時に迅速分析することを試みた。各化合物とも 20 ~ 500ppm で良好な直線性が得られ、移動時間、ピーク面積の再現性もスクリーニング検査としては良好であった。また、いくつかの食品に 1mg/g の割合で添加したときの回収率は、亜ヒ酸 Na で 31 ~ 97%、アジ化 Na で 95 ~ 97%、シアン化 Na で 0 ~ 80%であった。これは、毒物の反応性が高く非常に不安定なため、対象食品によっては毒物と食品成分が反応し、回収率が低下すると考えられた。なお、CE 法の分析時間は前処理時間も含め 30 分程度であった。

文 献

- 1) 日本薬学会編 衛生試験法注解 1990 追補, p93,1995.
- 2) 福田篤久ほか: *メテロカルテクトロジー* 27, 127 ~ 132, 1999.
- 3) 第 5 版食品添加物公定書解説書, B104 ~ B108, 1987.
- 4) 西 博行: *ぶんせき* 559, 1997.
- 5) 内藤裕史: *中毒百科*, 10 ~ 15, 南江堂, 1991.
- 6) 上村隆元, 後藤良三: *混入毒劇物の迅速測定法と人体中毒症状*, 54, 81, 86 サイエンスフォーラム社, 1999.