

食品に混入したストリキニーネ硝酸塩の キャピラリー電気泳動による迅速分析法の検討について

佐野由紀子¹

Application for Rapid Determination Method on the Analysis of Strychnine Nitrate in Food Products by Capillary Electrophoresis

Yukiko SANO¹

要 旨

1998 年 7 月に発生したヒ素混入カレー事件を皮切りに、全国各地で数々の有毒物混入事件が発生したため、福岡県では健康危機管理連絡会議を設置し、関係諸機関が相互に連携することにより、人命の救助及び被害の拡大の防止を図っているところである。当所においては平成 10 年にキャピラリー電気泳動による食品中に混入したパラコート及びジクワットの迅速分析法¹⁾並びに亜ヒ酸 Na、アジ化 Na、シアン化 Na の一斉分析法²⁾を開発した。今回殺鼠剤として使用されているストリキニーネ硝酸塩についてキャピラリー電気泳動(以下 C E とする)による分析法を検討した。標準溶液は 10 ~ 1000ppm で良好な直線性を示し、100ppm の標準溶液を繰り返し測定した時の移動時間の RSD は 0.02%以下で、再現性は良好であった。7 種類の食品にストリキニーネ硝酸塩を 1000ppm になるように添加したときの回収率は 60.1 ~ 99.7 %で毒物を迅速に検出するためには十分な回収率が得られた。本法は食品に水を加えホモジナイズした後、限外ろ過フィルターで遠心ろ過するという簡単な前処理により、食品に混入したストリキニーネ硝酸塩を 60 分程度で分析でき、毒物混入の際には有用な分析方法であると考えられる。

Key Words : ストリキニーネ硝酸塩 Strychnine Nitrate, キャピラリー電気泳動 Capillary Electrophoresis

は じ め に

1998 年 7 月に発生したヒ素混入カレー事件を皮切りに、全国各地で数々の毒物混入事件が発生したため、福岡県では健康危機管理連絡会議を設置し、関係諸機関が相互に連携することにより、人命の救助及び被害の拡大の防止を図っているところである。これまで当所においては平成 10 年に C E による食品中に混入したパラコート及びジクワットの迅速分析法、亜ヒ酸 Na、アジ化 Na、シアン化 Na の一斉分析法を開発した。今回殺鼠剤として使用され、殺人事件や毒エサによる飼い犬等の殺害事件にも使用されたストリキニーネ硝酸塩について C E による迅速分析法を検討した。

実 験 方 法

ストリキニーネの人に対する致死量は 0.12 ~ 0.36g³⁾とされている。仮に食品を 200g 摂食した場合には、600 ~ 1800ppm で致死量に達する。そこで 100 ~ 10,000ppm 程度まで混入した場合を想定し、数種類の食品について検討を行った。

1 標準品 及び 試薬

ストリキニーネ硝酸塩：和光純薬工業(株)特級 99.0 %以上

四ホウ酸ナトリウム：片山化学(株)特級

リン酸：和光純薬工業(株)特級 85.0 %以上

1. 福岡市保健環境研究所 衛生化学部門

2 装 置

装置：アジレント社製 HP^{3D}-G1600 キャピラリー - 電気泳動システム(フォトダイオードアレイ検出器)

3 測定条件

キャピラリー - : フュ - ズドシリカ ,50 μ m i.d. $\times$ 64.5cm
 泳動液：四ホウ酸ナトリウム緩衝液
 電圧：25KV
 キャピラリー - 温度：25
 注入量(加圧量)：300mbar $\cdot$ s
 分離モード：キャピラリー - ゴ - ン電気泳動(CZE)
 検出波長：255nm / 20nm

4 方 法

食品 10g を共栓試験管に計り取り，コーラ等液体状のものについては精製水で 100mL に定容した後，限外ろ過フィルターユニット（分画分子量 5,000）で遠心ろ過（12,000rpm 10 分間）し，カレー - 等固形分の多いものについては精製水で 100mL に定容し，ホモジナイズした後遠心分離し，上澄み液を限外ろ過フィルターユニット（分画分子量 5,000）で遠心ろ過（12,000rpm 10 分間）し，各々のろ液を試験溶液として C E にて測定した．

5 対象食品

小麦粉団子，肉，ごはん，コーラ，カレー，トマトジュース，牛乳について検討した．

結 果

1 C E 条件の検討

1) 泳動液の pH

30mM 四ホウ酸ナトリウム泳動液をリン酸にて pH8.0 ~ 9.5 に調整し，100ppm の標準液を測定した時の検出感度及び移動時間を比較した結果を表 1 に示す．pH9.0 以上では妨害ピークとの分離ができなかった．pH8.0 及び 8.5 でピークの高さは変わらなかったが，ピーク形状を比較すると pH8.5 の方が良好であったので泳動液の pH は 8.5 とした．

表 1 泳動液の各 pH における感度 (n = 5)

pH	8.0	8.5	9.0	9.5
ピークの高さ (mAU)	40.6	39.9	45.8	52.5
移動時間の RSD%	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
ピーク形状		○	×	×
妨害ピークとの分離	○	○		×

2) 泳動液のモル濃度

四ホウ酸ナトリウム緩衝液 (pH8.5) のモル濃度を 20 ~ 40mM と変化させて測定した．いずれの場合もピークの高さ及び移動時間の RSD は 0.03 % 以下と良好であった (表 2) ．40mM のときピークの高さは 36.6mAU と高かったがピーク形状は良くなかった．また，20mM においてはピークの高さが 25.4mAU と 30mM で測定したときの方が 34.4mAU と感度が高かった．このため，泳動液のモル濃度は 30mM とした．

表 2 泳動液の各モル濃度における感度 (n = 5)

モル濃度 (mM)	20	30	40
ピークの高さ (mAU)	25.4	34.4	36.6
移動時間の RSD%	<0.01	<0.01	<0.01
ピーク形状		○	×
妨害ピークとの分離	○	○	

2 測定波長

100ppm ストリキニーネ硝酸塩を 30mM 四ホウ酸ナトリウム pH8.5 を泳動液として測定したときのエレクトロフェログラムを図 1 に吸収スペクトルを図 2 に示す．極大吸収は 210 及び 255nm であったが，他物質の吸収の影響が少ない 255nm を測定波長とした．

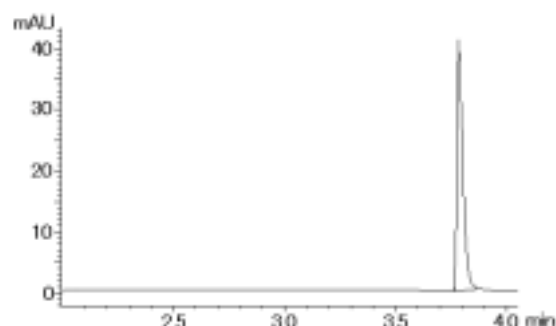


図 1 100ppm ストリキニーネ硝酸塩標準溶液のエレクトロフェログラム (検出波長：255nm / 20nm)

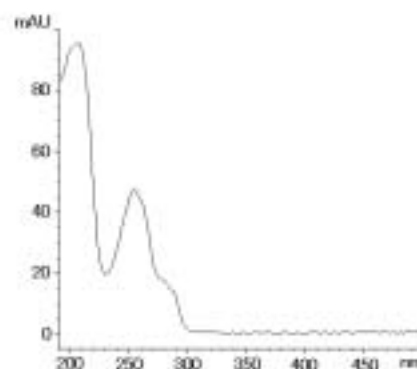


図 2 100ppm ストリキニーネ硝酸塩の吸収スペクトル

3 標準液の直線性

ストリキニーネ硝酸塩の 10 ~ 1000ppm 標準溶液の濃度とピーク面積との関係は図 3 に示すとおり相関係数 1.0000 と良好な直線性を示した。

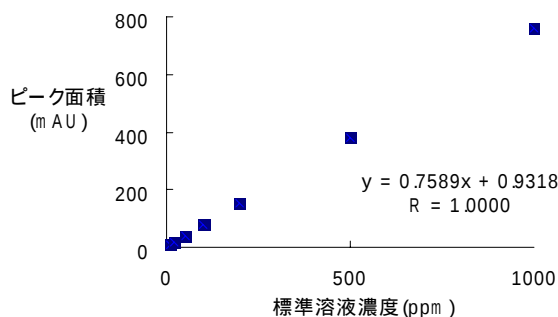


図 3 10 ~ 1000ppm 標準溶液の濃度とピーク面積との関係

4 繰り返し測定精度

100ppm の標準液を繰り返し測定した時のピーク面積と移動時間の RSD は各々 0.02 % , <0.01 % と繰り返し測定精度は良好であった (表 3) 。

表 3 100ppm 標準溶液を繰り返し測定した時のピーク面積及び移動時間の RSD (n = 10)

	ピーク面積	移動時間
RSD(%)	0.02	<0.01

5 添加回収

7 種類の食品 10g にストリキニーネ硝酸塩 10mg を添加した時 (食品中濃度として 1000ppm) の回収試験を実施した。代表的なエレクトロフェログラムを図 4 , 5 に示す。妨害ピークは認められず良好に測定できた。

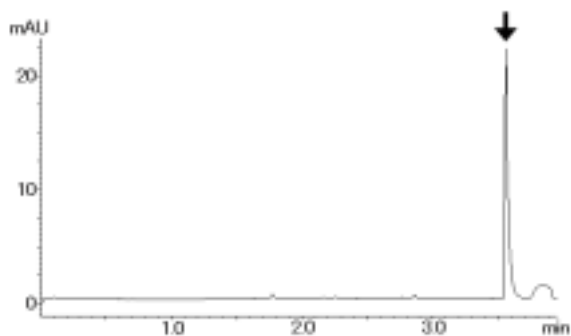


図 4 肉 10g にストリキニーネ硝酸塩 10mg を添加した時のエレクトロフェログラム

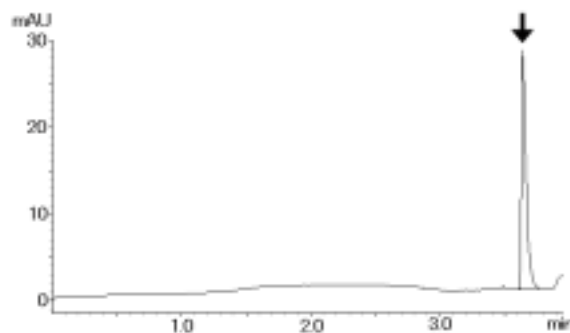


図 5 カレー 10g にストリキニーネ硝酸塩 10mg を添加した時のエレクトロフェログラム

また、回収率及び RSD を表 4 に示す。回収率については肉は 60% と他の食品に比較し低かったが、その他の食品では 80 ~ 100% と良好な結果が得られた。また、RSD は 0.06% 以下とバラツキも少なく良好な結果が得られた。

表 4 食品 10g にストリキニーネ硝酸塩 10mg を添加した時の回収率と RSD (n = 5)

食品名	回収率 (%)	RSD (%)
小麦粉団子	93.8	0.05
肉	60.1	0.04
ごはん	78.6	0.06
コーラ	92.4	0.05
カレー	93.9	0.01
トマトジュース	99.7	0.01
牛乳	89.3	0.01

考 察

ストリキニーネ硝酸塩は、30mM 四ホウ酸ナトリウム pH8.5 の条件及び UV 吸収があるので、直接吸光法で感度よく測定することができた。吸収スペクトルの特徴を見ると 255nm に極大吸収があるので 255nm で測定することで他物質の妨害を受けずに測定することができた。また、混入が疑われる食品とストリキニーネ硝酸塩の標準品とのスペクトルを比較することで同物質であるか否かの判断の材料になることが分かった。

ストリキニーネ硝酸塩の致死量は成人で 0.12 ~ 0.36g と言われており、200g の食品を摂取した場合は食品中の濃度が 600 ~ 1800ppm (試験溶液として 60 ~

180ppm) で致死量となる。

今回の測定法は 10 ～ 1000ppm 濃度範囲で直線性があり，100ppm 濃度の標準溶液を繰り返し測定した時のピーク面積及び移動時間の RSD は各々 0.02 %，<0.01 % と繰り返し測定精度は良好であった。

7 種類の食品への添加回収試験では，回収率が 60.1 ～ 99.7 % であり，毒物の迅速分析法としては十分な回収率が得られた。また，RSD は 0.06 % 以下とバラツキも少なく良好な結果が得られた。

本法は，固形試料については水を加えホモジナイズした後遠心分離し，その上澄を限外ろ過フィルターユニットで遠心ろ過し，液体試料については水で定容した後限外ろ過フィルターユニットで遠心ろ過するという簡易な前処理で迅速に測定できた。

C E で測定する場合の試験溶液量は 50 μ l と少量なので検体量が少ない時でも測定が可能である。また，検体が持ち込まれてから 60 分程度で分析が可能であるため，食品にストリキニーネ硝酸塩が混入した場合のスクリーニング法として有用と思われた。

文 献

- 1) 井手光・阿部圭子：福岡市保健環境研究所報 24 ,112 ～ 115，(1999)
- 2) 中嶋昌徳・江頭勝：福岡市保健環境研究所報 24 ,116 ～ 118，(1999)
- 3) 国民自衛研究会：毒物犯罪カタログ，117，118，データハウス，1995