

「いわゆる健康食品」中のデキサメタゾン分析法

保健科学課 食品化学担当

1 はじめに

令和5年4～5月に、国内で健康茶から抗炎症及び抗アレルギー作用をもつステロイドのデキサメタゾンが検出（3～29 µg/g）された事例があった^{1, 2)}。

デキサメタゾンの試験法については、畜産物を対象とした動物用医薬品としての試験法が定められている³⁾。しかし、健康危機事案が発生した際は、原因物質が不明であることが多く、様々な食品が対象になることが多い。そこで、今後、同様の事例に対応できるよう、福岡市保健環境研究所における健康危機事案発生時の検査法である、高速液体クロマトグラフ四重極飛行時間型質量分析計（以下、「LC-QTOFMS」とする。）を用いたスクリーニング分析法による、デキサメタゾン検出の可否を確認した。さらに、食品マトリックスによる機器への負担軽減を目的として、固相抽出による精製法を検討したので、合わせて報告する。

2 方法

2.1 試料

市販のほうじ茶粉末

2.2 標準品・試薬等

超純水：オルガノ社製 PURELAB flex-UV により製造したもの（比抵抗>18.2 MΩ・cm, TOC<2 ppb）。

HPLC 用メタノール：関東化学（株）社製高速液体クロマトグラフ用

LC-MS 用メタノール：Honeywell 社製 LC-MS 用

アセトニトリル：Honeywell 社製 LC-MS 用

10 mmol/L ギ酸アンモニウム水溶液：富士フイルム和光純薬（株）社製高速液体クロマトグラフ用 1 mol/L ギ酸アンモニウム溶液を超純水で希釈した。

デキサメタゾン標準品：Riedel-de Haen 社製

標準原液：デキサメタゾン標準品 10 mg を正確に量り、アセトニトリルに溶解して正確に 10 mL とした（1000 µg/mL）。

標準溶液：標準原液を HPLC 用メタノールで希釈し、100 µg/mL とした。

添加用標準溶液：標準溶液を HPLC 用メタノールで適

宜希釈し、3 µg/mL とした。

検量線用標準溶液：標準溶液を HPLC 用メタノールで適宜希釈し、0.002～0.1 µg/mL とした。

2.3 装置・器具等

遠心分離機：TOMY 社製 冷却遠心機 CAX-571

メンブレンフィルター：アドバンテック東洋（株）社製 13HP020AN（0.2 µm）

PP チューブ：コーニングインターナショナル社製 15 mL 容ポリプロピレン製コニカルチューブ

バイアル：ジーエルサイエンス社製 1.5 mL 容褐色ガラスバイアル

カラム：Imtakt 社製 Scherzo SM-C18（50 mm×2 mm, 3 µm）

LC-QTOFMS：LC 部：エービー・サイエックス社製 Exion LC AC, MS 部：エービー・サイエックス社製 X500R Q TOF システム

超純水製造装置：オルガノ社製 PURELAB flex-UV

2.4 測定条件

LC-QTOFMS の測定条件を表 1 及び表 2 に示す。

表 1 LC 条件

分析カラム	Scherzo SM-C18 50 mm×2 mm, 3 µm (Imtakt 社製)
カラム温度	40℃
移動相 A	10 mmol/L ギ酸アンモニウム水溶液
移動相 B	メタノール
グラジエント	B : 1% (0 min) - 99% (2.5 min)
条件	- 99% (5 min) - Post time 2 min
流速	0.4 mL/min
サンプル温度	4℃

表2 TOFMS 及び TOFMS/MS 条件

イオン化モード	ESI-Positive
データ取得モード	IDA
ヒーター温度	500℃
スプレー電圧	5500 V
TOFMS	
Declustering Potential	80 V
Collision Energy	5 V
スキャン範囲	m/z 50~2000
TOFMS/MS	
Declustering Potential	80 V
Collision Energy	35 V
スキャン範囲	m/z 30~1000

2.5 精製に用いる固相カラムの検討

固相抽出にはジーエルサイエンス社製 InertSep GC 1 g/12 mL (以下, 「GC カラム」とする.) 及びジーエルサイエンス社製 InertSep PSA 500 mg/3 mL (以下, 「PSA カラム」とする.) を用いた. 各カラムについて, HPLC 用メタノールでコンディショニングした後, 標準溶液約 2 mL を負荷し, 通過液を LC-QTOFMS で測定した.

2.6 試験溶液の調製

試料 1 g を PP チューブに量り, HPLC 用メタノール 4 mL を加えて 1 分間ホモジナイズ後, HPLC 用メタノールで 10 mL に定容した. これを 10000×g, 10 分間, 室温で遠心分離し, 上清を HPLC 用メタノールで 10 倍希釈及び 100 倍希釈し, メンブレンフィルターでろ過したものをそれぞれ試験溶液 (10 倍希釈) 及び試験溶液 (100 倍希釈) とした. 試験溶液 (10 倍希釈) を HPLC 用メタノールでコンディショニングした PSA カラムに負荷し, 通過液を試験溶液 (PSA) とした.

2.7 添加回収試験

試料 1 g にデキサメタゾンが 3 µg/g となるように添加用標準溶液 1 mL を添加し, 30 分間静置後, 2.6 に従い, 添加回収試験溶液 (100 倍希釈) 及び添加回収試験溶液 (PSA) を調製した. 回収率の算出にあたっては, 検量線用標準溶液及び各試験溶液 5 µL を 2.4 に従って分析し, ピーク面積値を用いた絶対検量線法でデキサメタゾンを定量した.

3 結果及び考察

3.1 MS 条件の検討

検量線用標準溶液を ESI の Positive mode 及び Negative

mode で測定した結果, Positive mode では水素イオン付加分子, Negative mode では, ギ酸イオン付加分子として矛盾しないイオンが検出された (図 1). Positive mode 及び Negative mode で検出感度には大きな差がなかった. そこで, 竹内ら⁴⁾に倣い, Positive mode で分析を行うこととした. なお, 検量線用標準溶液を測定した結果, 決定係数は 0.9999 と直線性は良好であった. 検量線を図 2 に示す.

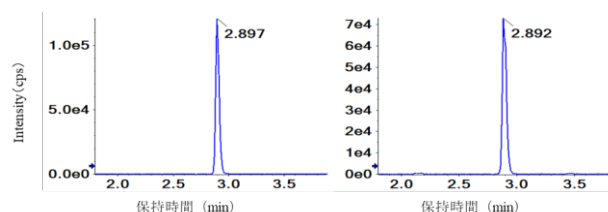


図1 検量線用標準溶液 (0.1 µg/mL) のクロマトグラム (左: Positive mode, 右: Negative mode)

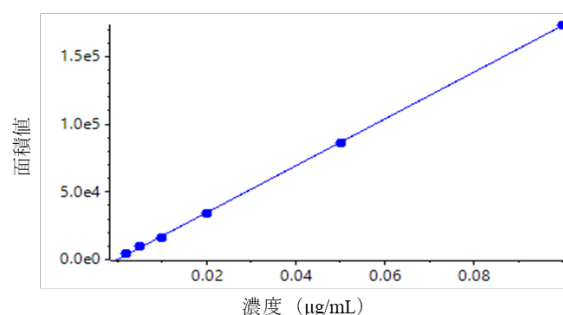


図2 検量線

3.2 精製に用いる固相カラムの検討

機器への負担軽減及びマトリックス効果低減を目的として, 固相カラムによる精製について検討した. 標準溶液並びに 2.5 に従って調製した GC カラム通過液及び PSA カラム通過液をそれぞれ 2.4 に示した条件で測定した結果を表 3 に示す. GC カラム通過液及び PSA カラム通過液の面積値と標準溶液の面積値の比はそれぞれ 0.3 %及び 77%であったことから, 精製方法として PSA カラムを採用した.

表3 精製方法検討結果

測定溶液	面積値	標準溶液との比 (%)
標準溶液 (100 µg/mL)	223,853	—
GC 通過液	642	0.3
PSA 通過液	172,722	77

3.3 添加回収試験

添加回収試験の結果を表4に示す。添加回収試験溶液（100倍希釈）及び添加回収試験溶液（PSA）は、いずれも回収率が70～120%の範囲内であった。また、添加回収試験溶液（100倍希釈）の結果から、PSAによる精製を行わない場合でも回収率は70～120%の範囲内であり、マトリックスによるイオン化阻害の影響は少ないと考えられた。機器への負担を考えると、PSAカラムによる精製も行うことが望ましいが、健康危機事案発生時には、迅速に結果を出すことが要求されることから、精製を行わず希釈のみで測定することも可能であると考えられた。

表4 添加回収試験結果（n=2）

測定溶液	回収率（%）
試験溶液（100倍希釈）	98
試験溶液（PSA）	76

4 まとめ

当所で健康危機事案発生時に通常用いている LC-QTOFMS を用いたスクリーニング分析法により、ppb（ng/mL）オーダーでデキサメタゾンを検出することが可能であった。また、ほうじ茶粉末に3 µg/g となるようデキサメタゾンを添加し、添加回収試験を行った結果、

希釈のみ又は希釈及び PSA カラムによる精製を行うことで、回収率は70～120%の範囲内であり、良好な結果であった。

文献

- 1) 独立行政法人国民生活センター：発表情報，花粉症への効果をほのめかした健康茶にステロイドが含有—飲用されている方は，医療機関にご相談を—，令和5年（2023年）4月12日，令和5年（2023年）4月17日更新，＜https://www.kokusen.go.jp/news/data/n-20230412_1.html＞（令和6年（2024年）3月4日閲覧）
- 2) 独立行政法人国民生活センター：発表情報，ステロイドが検出された健康茶の類似商品でも検出！—検出された銘柄を飲用されている方は，医療機関にご相談を—，令和5年（2023年）5月17日，＜https://www.kokusen.go.jp/news/data/n-20230517_2.html＞（令和6年（2024年）3月4日閲覧）
- 3) 厚生省告示第370号：食品，添加物等の規格基準（第1食品A），デキサメタゾン及びベタメタゾン試験法，昭和34年12月28日
- 4) 竹内浩，他：無承認無許可医薬品等の一斉分析法の検討，三重保環研年報，17，50～57，2015