

短 報

自然毒および化学物質による食中毒事例（2017年）

太田康介, 佐田厚史

Food Poisoning Incidents Caused by Natural Toxins and Chemical Materials
in Yamagata Prefecture (2017)By Kosuke OTA and Atsushi SADA

2017年に山形県で発生した食中毒のうち、2件が自然毒（クサウラベニタケ、ツキヨタケ）、1件が化学物質（ヒスタミン）によるものであった。このうち、化学物質（ヒスタミン）による食中毒事例では山形県衛生研究所において理化学的検査を行ったところ、高濃度のヒスタミンが検出された。

Key Word：食中毒，クサウラベニタケ，ツキヨタケ，ヒスタミン

I はじめに

山形県衛生研究所（以下、当所）では、自然毒や化学物質などが原因として疑われる食中毒が発生した場合に、山形県環境エネルギー部危機管理・くらし安全局食品安全衛生課あるいは管轄保健所からの依頼により理化学的検査を実施している。

自然毒および化学物質による食中毒は2017年に合計3件発生した（表1）。このうち、化学物質（ヒスタミン）による食中毒事例においては当所で理化学検査を実施した。本稿は2017年に山形県内で発生した自然毒および化学物質による食中毒に関する記録として、その概要をまとめた。

II 食中毒の概要

事例1:クサウラベニタケのお吸い物¹⁾

南陽市在住の70代男性が2017年9月14日に山林で採取したキノコを翌15日午前6時30分頃自宅でお吸い物に調理して家族で食べたところ、同日午前8時頃からおう気、おう吐の症状を呈し、医療機関を受診した。摂食者7名のうち患者数6名（男性：小学生1名、40代1名、70代1名、女性：小学生1名、40代1名、70代1名）、入院患者0名、死亡者0名であった。症状はおう気、おう吐の他に、腹痛、下痢、手指の麻痺であった。置賜保健所では、診察した医師の判断、患者の症状およびお吸い物残品の

表1 2017年に発生した自然毒による食中毒事例の概要

発生	潜伏時間	患者数	摂食者数	死亡者数	原因食品	症状	原因物質
9月	90分後	6	7	0	クサウラベニタケのお吸い物	おう気、おう吐、腹痛、下痢、手指の麻痺	植物性自然毒
9月	60分後	2	2	0	ツキヨタケの炒め物	おう気、おう吐、腹痛、下痢	植物性自然毒
10月	15分以内 ～75分	22	118	0	ブリの照り焼き	口のかゆみ、発赤、発疹、目の充血、口唇浮腫等のアレルギー様症状	ヒスタミン

有識者による鑑定結果からクサウラベニタケによる食中毒と断定した。採取した男性は、ハタケシメジだと思い込んでいた²⁾。

本件に関して、理化学的検査は実施していない。

事例 2: ツキヨタケの炒め物³⁾

置賜保健所の調査によると、長井市在住の70代男性が2017年9月23日に山林で採取したキノコを同日午後7時頃自宅で炒め物に調理して家族で食べたところ、同日午後8時頃からおう気、おう吐、下痢、腹痛の症状を呈し、医療機関を受診した。摂食者2名のうち患者数2名（男性：70代1名、女性：60代1名）、入院患者0名、死亡者0名であった。置賜保健所では、患者の症状および当該キノコ残品の外観的特徴や診察した医師の診断からツキヨタケによる食中毒と断定した。食用のムキタケと間違えて採取した⁴⁾。

本件に関して、理化学的検査は実施していない。

事例 3: ブリの照り焼き（ヒスタミン）⁵⁻⁶⁾

2017年12月20日、寒河江市役所から村山保健所に「保育所の園児と職員が、給食を食べたあと発疹等の症状を呈した」旨の連絡があった。

村山保健所の調査によると、同日午前11時45分頃に寒河江市内の保育所（保育実施年齢1歳から5歳⁷⁾）で調理された給食を食べた118名（園児：98名、職員：20名）のうち、22名（男性：幼児13名、女性：幼児7名、20代1名、30代1名）が口のかゆみ、発赤、発疹、目の充血、口唇浮腫等のアレルギー様症状を呈し、そのうち8名が医療機関を受診した。

当所において当該保育所に保存されていた保存食（未調理品、調理品）を検査⁸⁾したところ、検体100gあたり100mgを超える高濃度のヒスタミンが検出された。

村山保健所では、患者らに共通する食品が当該保育所で提供された食事のみであること、患者の発症状況および調理した食品からヒスタミンが検出されたこと等から、当該保育所で提供したブリ

の照り焼きを原因とする食中毒と断定した。

III まとめ

本稿では2017年に山形県内で発生した自然毒および化学物質による食中毒に関する記録として、その概要をまとめた。当所では今後も継続して自然毒および化学物質による食中毒に対応できるよう調査研究を進める。

IV 参考資料

- 1) 山形県環境エネルギー部危機管理・くらし安心局食品安全衛生課:平成29年9月15日報道発表資料 毒キノコによる食中毒事件の発生について、山形県ホームページ(<http://www.pref.yamagata.jp/>) (2018年2月現在)
- 2) 山形新聞:2017年9月16日 毒キノコで6人食中毒 県内今季初
- 3) 山形県環境エネルギー部危機管理・くらし安心局食品安全衛生課:平成29年9月24日報道発表資料 毒キノコによる食中毒事件の発生について、山形県ホームページ(<http://www.pref.yamagata.jp/>) (2018年2月現在)
- 4) 山形新聞:2017年9月25日 ツキヨタケ食べ2人が食中毒 今季2件目・長井
- 5) 山形県環境エネルギー部危機管理・くらし安心局食品安全衛生課:平成29年9月24日報道発表資料 食中毒事件の発生について、山形県庁ホームページ(<http://www.pref.yamagata.jp/>) (2018年2月現在)
- 6) 寒河江市子育て推進課:市立保育所における食中毒の発生について(更新日:2017年12月23日),寒河江市役所ホームページ(<https://www.city.sagae.yamagata.jp/>) (2018年2月現在)
- 7) 寒河江市子育て推進課:認可保育施設(更新日:2017年4月1日),寒河江市役所ホームページ(<https://www.city.sagae.yamagata.jp/>) (2018年2月現在)
- 8) 社団法人日本食品衛生協会:食品衛生検査指針 理化学編 2005,東京(2005),pp.625-630

短 報

残留農薬一斉試験で使用するマトリックス液の精製に関する検討

石田恵崇, 大滝麻井子, 伊藤育子, 佐田厚史

**A Concise Purification Method of Preparing Matrix Solution
for Multi-Residue Analysis of Pesticides in Agricultural Products**By Yoshitaka ISHIDA, Maiko OTAKI, Ikuko ITO and Atsushi SADA

ガスクロマトグラフ質量分析計を用いた分析において、マトリックス効果の制御は必須である。当所で実施している残留農薬一斉試験では、対象農産物のマトリックス添加標準液により定量を行っているが、その調製には人手と試薬等が必要となる。

筆者らは、固相カラムカートリッジの容量を大きくすることで作業効率が大幅に向上すると考え、検討を行ったところ、良好な結果が得られた。加えて、調製コストも安価になるため、経済的な効果も期待できる。

Key Words : 残留農薬一斉分析 Multi-residue analysis of pesticides in agricultural products,

マトリックス効果 Matrix effect, 固相カラムカートリッジ Solid-Phase column cartridge,

ガスクロマトグラフ質量分析計 Gas chromatography-Mass spectrometry

I はじめに

ガスクロマトグラフ質量分析計 (GC-MS) を用いて分析する際、測定試料由来の夾雑物 (以下、「マトリックス」) の影響により、ピーク形状やピーク面積、保持時間等に再現性が得られないことがある。この現象はマトリックス効果と呼ばれ、目的成分が GC-MS の注入口やカラム等の活性点へ吸着することや、途中で分解することが原因と考えられている。残留農薬分析においても、マトリックス効果により添加回収試験の回収率が 100 % を大きく上回ることがあり、正しい分析を行うためにはマトリックス効果の制御が必須である。マトリックス効果を制御する方法の一つに、試料由来のマトリックスを添加した標準溶液 (以下、「マトリックス添加標準液」) を用いて定量する方法が知られている。これにより、成分の吸着や分解が起こる活性点をあらかじめ被膜し、

目的成分を途中で損失することなく検出器へ導入することができる。

当所では、残留農薬一斉試験において対象農産物のマトリックス添加標準液を調製し、定量に用いることでより正確な測定値が得られるように努めている。しかしながら、マトリックスを含んだ溶液 (以下、「マトリックス液」) の調製には人手と試薬等が必要であり、煩雑な精製過程が全体の律速段階となっている。精製の効率を上げて所要時間を低減すること、加えて調製時に使用する消耗品類のコストを削減することが課題であった。

今回、筆者らはマトリックス液調製時の精製過程を簡略化するために、精製に用いるカラム容量について種々検討を行ったので、その詳細について報告する。

II 実施方法

1 試料および試薬

試料：ほうれんそう（あらかじめ検査対象農薬が含まれていないことを確認した）

標準品：農薬混合標準液 PL-1-2, 2-1, 3-3, 4-2, 5-1 および 6-3（全て和光純薬工業(株)製）

対象農薬：Table 1 に示した農薬 128 項目

試薬：各種溶媒は残留農薬検査用濃縮 300 グレード（和光純薬工業(株)製）を使用した。また、精製用の固相カラムカートリッジはジールサイエンス社製 InertSep® GC/NH2（500 mg/500 mg/6 mL）および（1 g/1 g/20 mL）の 2 種類を用いた。その他の試薬類は全て和光純薬工業(株)製のものを使用した。

Table 1 対象農薬（128 項目）

XMC	ジクロロフメチル	ビヘロホス	フルリドン
アクリナトリン	ジクロラン	ヒラゾホス	フレチラクロー
アトラジン	シハロホフブチル	ヒラフルフェンエチル	フロシドン
アミノホス	ジフェナミド	ヒリタフェンチオン	フロチオホス
アラクロー	ジフェノコナゾール	ヒリタベン	フロハジン
イソキサチオン	シプロコナゾール	ヒリフチカルブ	フロハニル
イソプロカルブ	シマシシ	ヒリフロキシフェン	フロビザミド
イソプロチオラン	ジメタメリン	(E)-ヒリミ/バックメチル	フロフェノホス
イフロベンホス	ジメチナミド	(Z)-ヒリミ/バックメチル	フロホキシル
エスプロカルブ	シメトリン	ヒリミホスメチル	フロマシル
エタルフルラン	ジメヒレレート	ヒリメタニル	フロマトリン
エチオン	ダイアジノン	ヒロキロン	フロモフロレレート
エチフェンホス	チオベンカルブ	ヒンクロゾリン	フロホホス
エトキサゾール	テトラクロロピホス	フェナリモル	ヘキサコナゾール
エトフェンロックス	テトラコナゾール	フェニトロチオン	ヘナラキシル
オキサジアゾン	テトラジホ	フェノチオカルブ	ベノキサコール
オキシフルオルフェン	ニールクロー	フェンシルホチオン	cis-ヘルマトリン
キナルホス	テフコナゾール	フェントエート	trans-ヘルマトリン
キノキシフェン	テフフェヒラド	フェンコナゾール	ベンコナゾール
キノラミン	テフルトリン	フェンプロハドリン	ベンディメタリン
クレシキシムメチル	テフルトリン	フェンプロモル	ベンプレセート
クロルタルジメチル	トリアジメホ	フサライド	ホサロン
クロルピリホス	トリアレート	フタクロー	ホスチアセート
クロルピリホスメチル	トリフホス	フタホス	ホスファミン
クロルフェナビル	トリフルラン	フビリメート	マラチオン
クロルプロファム	トリフロキシトロン	フプロフェジン	ミクプロタニル
クロルベンシレート	トルククロホスメチル	フルアクリピリム	ホキシクロー
シアナジン	ナフロハミド	フルキンコナゾール	トラクロー
シアノホス	ハラチオン	フルシトリン	メフェナセト
ジエトフェンカルブ	ハラチオンメチル	フルドニル	メフェノキサム
ジクロシメット	ハルフェンロックス	フルハリネート	メフェンビルシエチル
ジクロフェンチオン	ヒフェトリン	フルミオキサジン	メフロニル

2 装置および測定条件

分析装置：ガスクロマトグラフ質量分析計 GC6890/MSD5975（Agilent Technologies 社製），カラム：HP-5MSUI（Agilent Technologies 社製，内径 0.25 mm，長さ 30 m，膜厚 0.25 μm），カラム温度：70 °C（1 min）-25 °C/min-150 °C（0 min）-3 °C/min-200 °C-8 °C/min-280 °C（6 min），注入口温度：250 °C，インターフェース温度：280 °C，キャリアーガス：ヘリウム，カラムモード：低圧力モード（リ

テンションタイムロッキング機能使用，クロルピリホスメチルの保持時間（RT）= 16.593 min），注入方法：スプリットレス，注入量：2 μL，イオン化モード：EI モード，イオン化電圧：70 eV

III 実験操作

1 マトリックス液の調製

厚生労働省通知の「GC/MS による農薬等の一斉試験法（農産物）」に準じて調製した（Fig.1）. 精製過程では，従来使用してきた InertSep® GC/NH2（500 mg/500 mg/6 mL）（以下，「小カラム」）に加えて，GC/NH2（1 g/1 g/20 mL）（以下，「大カラム」）の 2 種類を用い，それぞれ 200 %マトリックス液を調製した。この時，小カラムで精製したものをマトリックス液①，大カラムで精製したものをマトリックス液②とした。カラム 1 本あたりの負荷量は，充填剤の比率を考慮し小カラムは試料 4 g 相当，大カラムは同 8 g 相当とした。

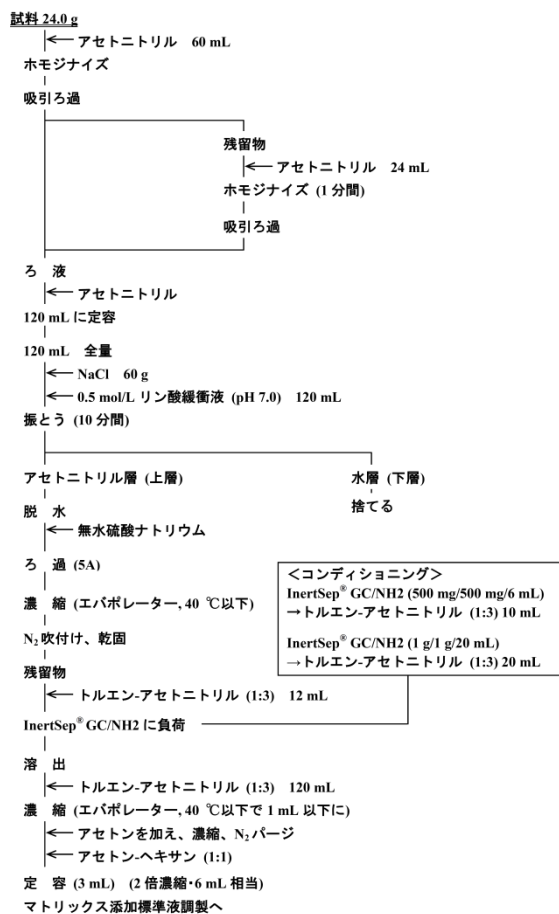


Fig. 1 マトリックス液調製フロー

2 マトリックス添加標準液調製および検量線作成

III-1 で得られた2種類のマトリックス液①および②を用い、それぞれマトリックス添加標準液を調製した。濃度はおのおの0.04, 0.08, 0.2 ppmの3点とし、これらをGC-MSを用いて測定後、それぞれ対応する検量線①および②を作成した。

3 マトリックス効果の評価方法

既報¹⁻³⁾に倣い、マトリックス液①および②について、それぞれマトリックス効果の評価した。すなわち、II-1で示した対象農薬128項目について、農薬混合標準液(各項目1000 ng)を試料20.0 gに添加して添加回収試験(n=4)を行い、平均回収率および変動係数(以下、「CV値」)を算出した。このとき、回収率が精度管理の一般ガイドラインで定められた目標範囲内(70% - 120%)かつばらつきを示すCV値が20%以内であれば十分にマトリックス効果を制御できていると判定した。

IV 結果および考察

1 マトリックス効果の評価

III-2で作成した検量線①および②は、いずれも良

好な直線性を示し($R^2 \geq 0.995$)、得られた検量線を用い定量を行った。定量値から算出した平均回収率(%)を横軸に、CV値(%)を縦軸にとりプロットしたところ、Fig.2に示すグラフが得られ、128項目すべてについて平均回収率、CV値ともに破線で囲った目標範囲内であることが確認された。このことから、GC-MSを用いた測定に関して、大カラムでマトリックス液を調製しても良好な結果が得られると示唆された。

2 精製効率と線速度

精製に用いた小カラム(6 mL, 内径12.8 mm)と大カラム(20 mL, 内径20.1 mm)では、カートリッジの容量が異なり、内径は約1.6倍、断面積は約2.5倍大カラムの方が大きい。そのため、理論上溶出速度を2.5倍にしても線速度(カラム内を物質が通過する速度)は変わらず、同等の精製効果があるとされる。今回精製を行う際、大カラムでは従来の2倍程度の流速で溶出したが、精製効果はほとんど変わらず、マトリックス液調製の所要時間短縮に寄与すると考えられた。

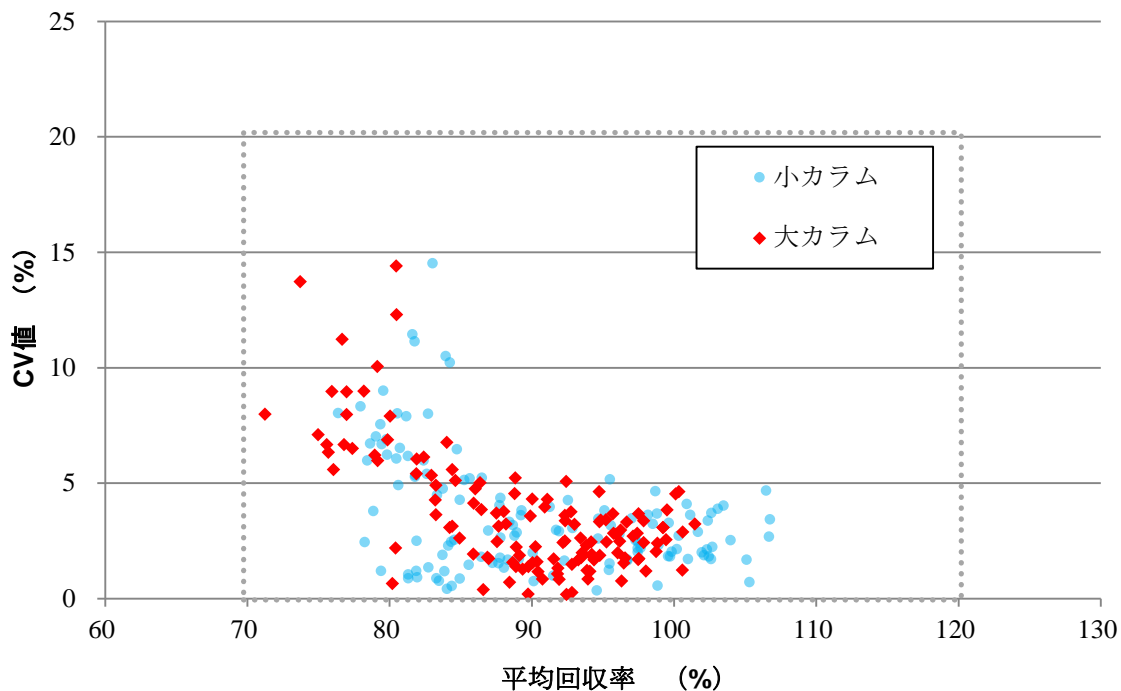


Fig.2 添加回収試験(n=4)結果
[破線内が目標範囲であり、範囲外の項目はなかった]

V まとめ

筆者らは、GC-MSによる残留農薬一斉試験で使用しているマトリックス液について、調製時の精製過程が簡略化できないかと考えた。大カラムは小カラムと比較して、カートリッジの容量および断面積が大きいことから操作性が高く、精製作業の簡略化と所要時間の削減が期待された。検討の結果、大カラムによりマトリックス液を調製しても、添加回収試験の定量結果は良好であることが確認された。すなわち、大カラムを使用すれば、小カラムと同等のマトリックス液が短時間で効率よく調製可能である。また、大カラムは小カラムに比べて調製1回あたり

にかかるコストが安価であることから、経済的な効果も期待できる。

以上のことから、マトリックス液調製に容量の大きいカラムを選択することで業務効率化およびコスト削減につながると考える。

VI 文献

- 1) 第113回 日本食品衛生学会学術講演会 技術セミナー 配布資料, 2017
- 2) 松本 苗緒, 吉川 真弓, 江田 邦章, 他: 食品衛生学雑誌, 49, 211-222, 2008
- 3) 福井 直樹, 高取 聡, 山口 聡子, 他: 食品衛生学雑誌, 56, 178-184, 2015