

下痢性貝毒マウス毒性試験の代替検査法としての液体クロマトグラフィー/質量分析 (LC-MS) 法の評価

○鈴木敏之（水総研セ東北区水研）・神 毅統（青森県環保セ）・城田由里（（財）日本冷凍食品検査協会）・奥村 裕・神山孝史（水総研セ東北区水研）
キーワード：下痢性貝毒・LC-MS・マウス毒性試験

【目的】

下痢性貝毒はオカダ酸 (OA) 群, ペクテノトキシン (PTX) 群, エッソトキシン (YTX) 群の3群に分類される。近年, 液体クロマトグラフィー/質量分析 (LC-MS) の進歩により, 下痢性貝毒成分の高精度かつ高感度な分析が可能になっている。しかし, LC-MS による高精度かつ高感度な定量分析のためには, 煩雑な試料の前処理が必要であり, また, 3 群の主要毒成分を分析する際には, 複数の LC 分離条件で測定する必要があり, 多数検体を迅速に分析することが困難であった。最近, 著者らは, 前処理を一切必要としない簡便かつ迅速な LC-MS による下痢性貝毒 3 群の一斉定量分析法を報告した。本研究では, LC-MS により国内主要生産海域の二枚貝 (ホタテガイ, ムラサキイガイ) を 196 検体収集し, LC-MS で得られた毒力をマウス毒性試験で得られた毒力と比較したので報告する。

【材料および方法】

マウス毒性試験は公定法に従い実施した。下痢性貝毒は中腸腺に偏在するため, 試料は中腸腺を用いた。当該可食部における中腸腺の重量比を求めておき, この比を基に中腸腺 1g あたりの毒力を可食部 1g あたりの毒力に換算した。マウス毒性試験に用いた二枚貝中腸腺の一部は, 9 倍量の 90%メタノールで抽出し, その上澄み液 (5 μ L) を直接, LC-MS に注入した。LC-MS は電子スプレーイオン化法 (ESI) の陰イオンモードで, カラムは C8 カラムを用い, 移動相はギ酸, ギ酸アンモニウムを含む蒸留水 A 及びアセトニトリル/蒸留水 (95 : 5) B のグラジエント分析で行った。LC-MS により定量した中腸腺 1g あたりの各毒成分含量は, マウス腹腔内投与による比毒性 (OA=4, DTX1=3.2, DTX3=5, PTX1=5, PTX2=4.6, PTX6=5, YTX=2, 45-OHYTX=10 μ g/MU) を基にマウス毒性 (MU) に換算した。各成分の毒力の総和を中腸腺 1g あたりの毒力とし, 試料の中腸腺率を基に可食部 1g あたりの毒力を算出した。マウス毒性試験は限度試験であり, 結果は毒力の範囲で表わされるため, LC-MS の測定結果との比較には, 毒力範囲の中間値を用いた。例えば, マウス毒性試験の結果が 0.025-0.05 MU/g の場合には, その中間値である 0.0375 MU/g をその試料の毒力とした。

【結果および考察】

同一試料 196 検体を用いて, LC-MS で定量した毒力とマウス毒性試験で測定した毒力を比較した結果 (図 1), 96 検体は LC-MS とマウス毒性試験で自主規制基準値 (0.05 MU/g 可食部) を越えず, 33 検体は LC-MS とマウス毒性試験で基準値を越えた。6 検体については, マウス毒性試験では基準値を越えたが, LC-MS では基準値未満であった。これら 6 検体のマウス毒性試験の毒力は, 検出限界である 0.05-0.1 MU/g であったことから, 遊離脂肪酸等による検査結果のかく乱 (偽陽性) が疑われた。一方, マウス毒性試験では基準値を越えなかった 61 検体が LC-MS では基準値を越えた。この違いは, マウス毒性試験では検出されにくい YTX が原因であることが推察された。国内産二枚貝のように YTX を多く含む試料の検査法として, LC-MS はマウス毒性試験よりも検出感度と精度の観点から優れていると判断された。

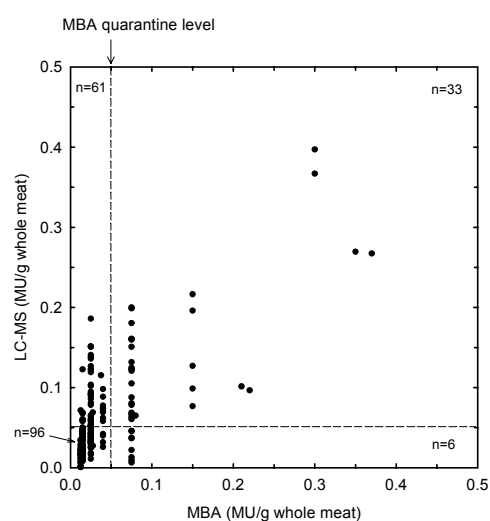


図1 LC-MS とマウス毒性試験結果の比較