

## 野草茶からのスコポラミン検出事例について

細木伸泰 滝川香織 小金澤望 牧 里江 宮本啓二 宮田 淳

### 要 旨

2012年12月、札幌市内において、植物性食品が原因と疑われる食中毒(疑い)事例が発生した。有症者の症状及び喫食状況等から、当所では自然毒スコポラミン及びアトロピンに着目して検査体制を整備し、有症者が喫飲した野草茶について検査を実施したところ、野草茶1gあたり1mgを超える高濃度のスコポラミンを検出した。本事例は、当所で野草茶からスコポラミンを検出した初めての事例であり、検査成績及びその後の調査等から得られた知見について報告する。

### 1. 緒 言

2012年12月、札幌市内の病院より、食後まもなく意識障害や精神錯乱等の中毒症状を呈し、救急搬送された患者がいる旨札幌市保健所に届出があった。有症者の症状から、スコポラミン、アトロピンによる中毒が疑われた<sup>1)</sup>。保健所による聞き取り調査の結果、有症者が当日喫飲した、ボタンボウフウ *Peucedanum japonicum*(セリ科、別名 長命草)を原料とする野草茶へのキダチチョウセンアサガオ *Brugmansia suaveolens*等のチョウセンアサガオ類(ナス科)の混入が疑われた。しかし、目視による鑑定で原因を特定することは困難であった。

本事例を受け、当所では他地方衛生研究所の報告<sup>2)3)4)</sup>を参考に、HPLC及びLC-MS/MSを用いたスコポラミン及びアトロピンの分析法を検討し、良好な結果を得た。この分析法を用いて、当該野草茶の分析を行った。

### 2. 方 法

#### 2-1 試 料

以下に示す試料をブレンダーで粉碎し、必要に応じてフィンガーマッシャー(手もみ式簡易破碎チューブ)で更に粉碎したものを試料とした。試料の乾燥条件及び粉碎量を表1に示す。

試料X: 野草茶①(苦情品)、中毒発症当日喫飲した包装(2012年10月末、沖縄県石垣島にて購入)

試料Y: 野草茶②、中毒を起こさなかった包装(試料Xと同じ日に同一店舗にて購入)

試料A: ボタンボウフウ、薬用植物資源研究センター種子島研究部栽培品(2013年1月7日採取、1月10日から北海道立衛生研究所にて温風乾燥)

試料B: キダチチョウセンアサガオ(黄花)、薬用植物資源研究センター種子島研究部栽培品(2013年1月7日採取、直ちに種子島研究部にて温風乾燥)

試料C: キダチチョウセンアサガオ(白花)、同上

試料D: キダチチョウセンアサガオ(未鑑定)、札幌市保健所市場検査係室内栽培品(2013年1月採取)

#### 2-2 試薬及び試液

(1) スコポラミン標準液: 臭化水素酸スコポラミン(TOCRIS社製)13.3mgをメタノール10mLに溶解した(スコポラミンとして1000µg/mL)。

(2) アトロピン標準液: 硫酸アトロピン(和光純薬(株)製、HPLC用)12.0mgをメタノール10mLに溶解した(アトロピンとして1000µg/mL)。



図 1 : 試料 X の外観及び内容物



図 2 : 試料 Y の外観及び内容物

- (3) メタノール(和光純薬(株)製、LC/MS 用)
  - (4) 1-オクタンスルホン酸ナトリウム(和光純薬(株)製、イオンペアクロマトグラフ用)
- その他の試薬は和光純薬(株)製特級試薬を用いた。

表 1 : 試料の乾燥条件及び粉碎量

試料名	乾燥条件	粉碎量(g)
X	不明	約 20
Y	不明	約 20
A	50°C、20.5h	1.11
B	50°C、24h	1.13
C	50°C、24h	0.98
D	37°C、20h	0.77

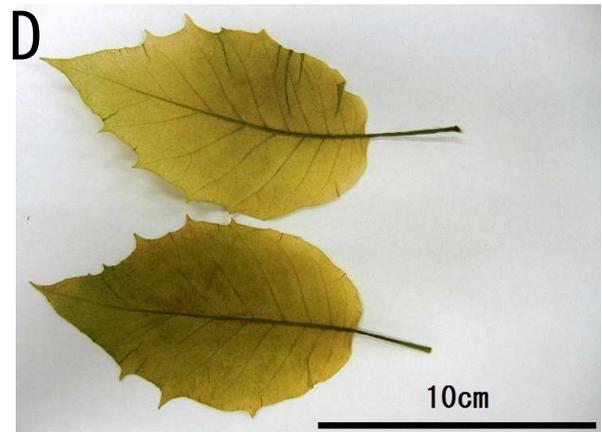


図 3 : 試料 A~D の外観

### 2-3 装置及び分析条件

#### (1) LC-MS/MS 条件

##### ① LC 条件

装置 : Waters Acquity UPLC

カラム : L-Column2 ODS (2.1×150mm、5µm)

移動相 : A…5mM 酢酸アンモニウム、B…5mM 酢酸アンモニウム含有メタノール

流速 : 0.2mL/分

グラジエント条件 : (A : B) = (80 : 20) → 15 分 → (5 : 95) → 5 分 → (5 : 95) → 0.1 分 → (80 : 20)

ポストラン 10 分

カラム温度 : 40°C      注入量 : 5µL

##### ② MS/MS 条件

装置 : Waters Quattro Premier XE

イオン化法 : ESI(+)

キャピラリー電圧 : 3.5kV      ソース温度 : 120°C

脱溶媒温度 : 450°C      脱溶媒ガス流量 : 900L/時

コーンガス流量 : 50L/時

MRM 条件 : フローインジェクション分析により、表 2 及び表 3 のように決定した。

表 2 : スコポラミン MRM 条件

プリカーサー イオン (m/z)	コーン 電圧 (V)	プロダクト イオン (m/z)	コリジョン 電圧 (V)
304.2	33	138.0 (定量)	22
		156.0 (定性 1)	18
		102.9 (定性 2)	38

表 3 : アトロピン MRM 条件

プリカーサー イオン (m/z)	コーン 電圧 (V)	プロダクト イオン (m/z)	コリジョン 電圧 (V)
290.2	42	124.0 (定量)	30
		102.9 (定性 1)	44
		92.9 (定性 2)	30

## (2) HPLC 条件

装置：Agilent 1100 series

カラム：Mightysil RP-18GP(4.6×150mm、5 $\mu$ m)

移動相：水(640mL)・メタノール(360mL)・リン

酸(1mL)・オクタンスルホン酸ナトリウム(1g)

混液

流速：1.0mL/分      カラム温度：40℃

注入量：10 $\mu$ L

検出器：PDA 検出器      検出波長：210nm

## 2-4 試験溶液の調製

図4に従って試験溶液を調製した。

## 2-5 確認試験

スコポラミンを検出した試料Xについて、衛生試験法・注解に基づき、薄層クロマトグラフィー(TLC)による定性試験<sup>5)</sup>を実施した。薄層板は、HPTLC

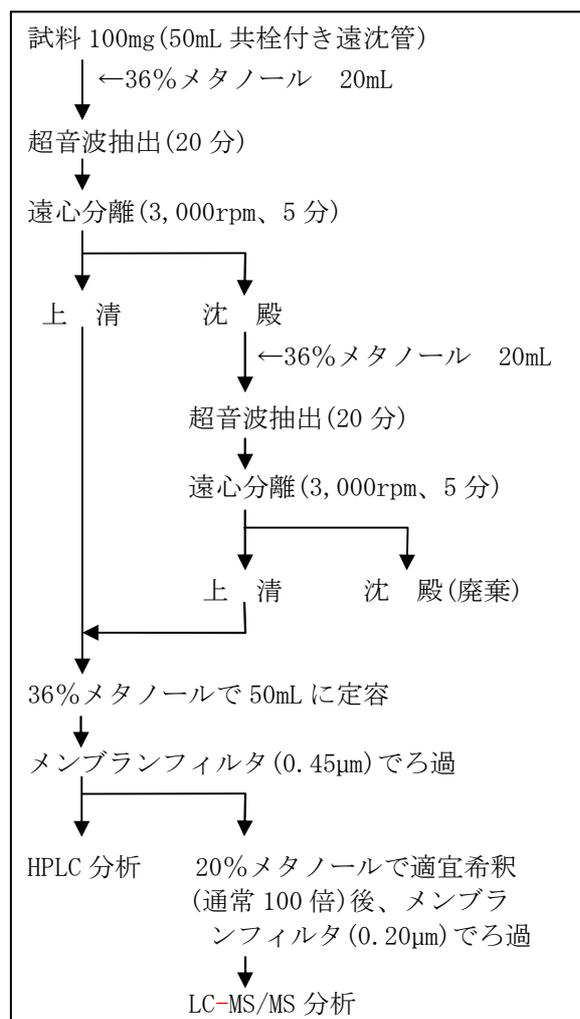


図4：試験溶液調製フロー図

Kieselgel 60 F<sub>254</sub> 10×10cm(Merck 社製)、展開溶媒はメタノール・アンモニア水(200:3)、発色剤はドラゲンドルフ試薬を用いた。

## 3. 結果

### 3-1 LC-MS/MS による分析結果

#### (1) 分析法の検討

市販のパック入りほうじ茶 100mg にスコポラミン及びアトロピン 5 $\mu$ g を添加し、図4に従って添加回収試験( $n=5$ )を実施したところ、スコポラミンについては平均回収率 94.0% (CV%=6.4)、アトロピンについては平均回収率 93.5% (CV%=7.3) と良好な結果が得られた。また、いずれの物質についても、クロマトグラム上 2.5~50ng/mL の範囲で相関係数 0.99 以上の良好な直線性が得られた。

#### (2) 試料の分析結果

試料の分析結果を表4に示す。有症者が当日喫飲した試料X(野草茶①)から 1.20mg/g のスコポラミンを検出した。一方、発症日以前に喫飲していた試料Y(野草茶②)については、スコポラミン、アトロピン共に定量下限(0.05mg/g)未満であった。試料A(ボタンボウフウ、野草茶の原料)からはいずれの物質も検出されなかった。図5に標準品及び試験溶液(試料X、Y、A)のMRMクロマトグラムを示す。

表4：LC-MS/MS 測定による試料中スコポラミン及びアトロピン含有量

	試料分類	スコポラミン (mg/g) <sup>※3</sup>	アトロピン (mg/g) <sup>※3</sup>
X	野草茶①(苦情品)	1.20	<0.05
Y	野草茶②	<0.05	<0.05
A	ボタンボウフウ	<0.05	<0.05
B	キタチョウセンカガオ	1.25	0.30
C	キタチョウセンカガオ	2.53	0.40
D	キタチョウセンカガオ	4.67	0.20

※3 含有量は、Xについては  $n=10$ 、Yについては  $n=5$ 、A~Dについては  $n=3$  で測定した平均値

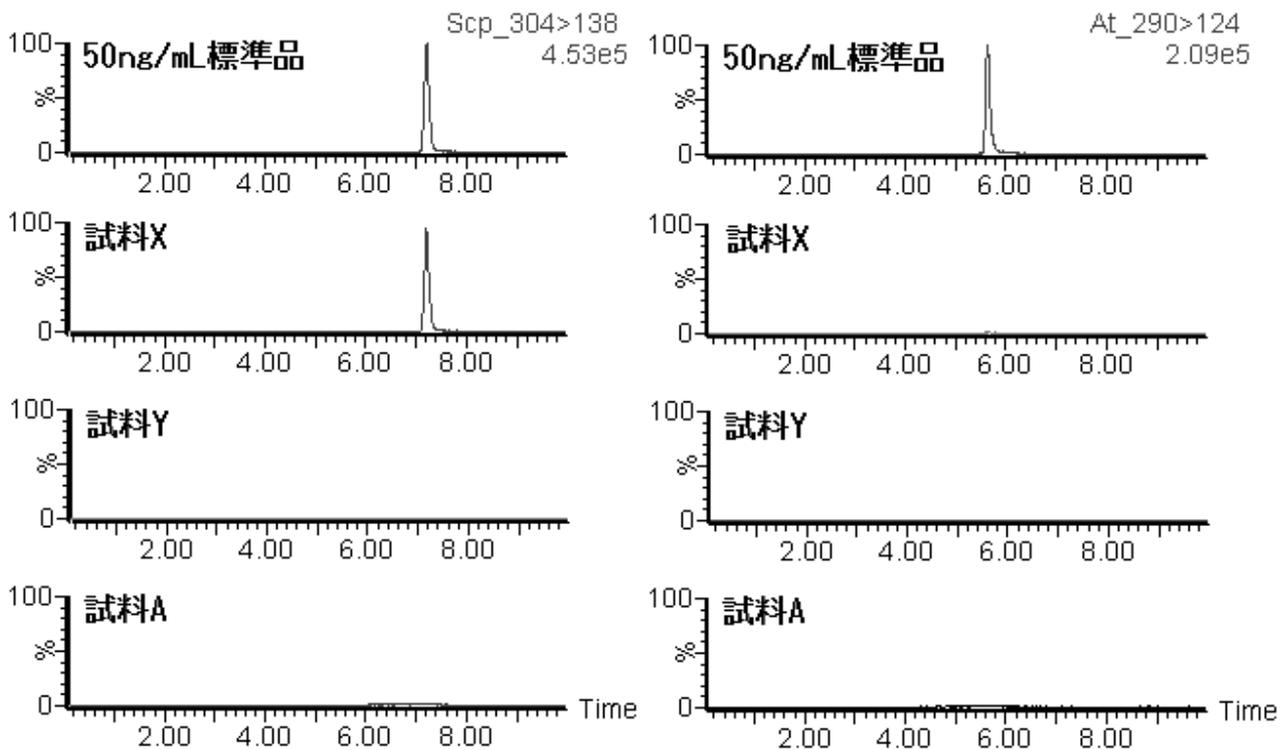


図 5 : 各標準品 (50ng/mL) 及び試験溶液 (試料 X、Y、A) のMRM クロマトグラム  
(左 : スコポラミン 右 : アトロピン、各物質の縦軸スケールは同一)

### 3-2 HPLC による分析結果

#### (1) 分析法の検討

市販のパック入りほうじ茶 100mg にスコポラミン及びアトロピン 50 $\mu$ g を添加し、図 4 に従って添加回収試験を実施したところ、スコポラミンについては平均回収率 87.8% (CV%=4.3)、アトロピンについては平均回収率 95.0% (CV%=2.5) と良好な結果が得られた。また、いずれの物質についても、クロマトグラム上 0.5 $\mu$ g/mL~50 $\mu$ g/mL の範囲で相関係数 0.99 以上の良好な直線性が得られた。また、標準品のピークから、本分析条件におけるスコポラミン及びアトロピンの紫外吸収スペクトルが得られた。

#### (2) 試料の分析結果

LC-MS/MS 分析によりスコポラミンを検出した試料 X (野草茶①) の分析結果を表 5 に示す。LC-MS/MS での測定結果とほぼ同等の結果が得られた。アトロピンについては定量下限 (0.5mg/g) 未満であった。スコポラミン及びアトロピン標準品のクロマトグラムを図 6 に、試験溶液 (試料 X) のクロマトグラム

を図 7 に示す。各物質の紫外吸収スペクトルを図 8 に示す。

表 5: HPLC 測定による試料 X 中スコポラミン及びアトロピン含有量

	試料分類	スコポラミン (mg/g) <sup>※4</sup>	アトロピン (mg/g) <sup>※4</sup>
X	野草茶①(苦情品)	1.26	<0.5

※4 含有量については、 $n=10$  で測定した平均値

### 3-3 TLC による確認試験結果

試料 X 1g について実施した TLC による定性試験の結果を図 9 に示す。試料 X からは TLC によってもスコポラミンの含有が確認できた。

### 3-4 分析実施後の経過

野草茶からのスコポラミン検出を受け、札幌市保健所では、有症者の症状がスコポラミンの中毒症状と一致すること等から、本件を野草茶を原因食品、スコポラミンを病因物質とする患者 2 名の食中毒

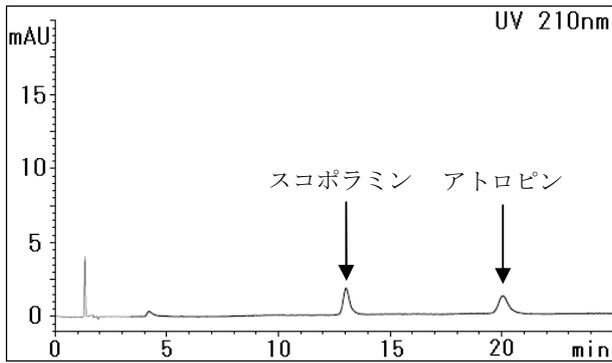


図 6 : スコポラミン及びアトロピン標準品 (5µg/mL) のクロマトグラム

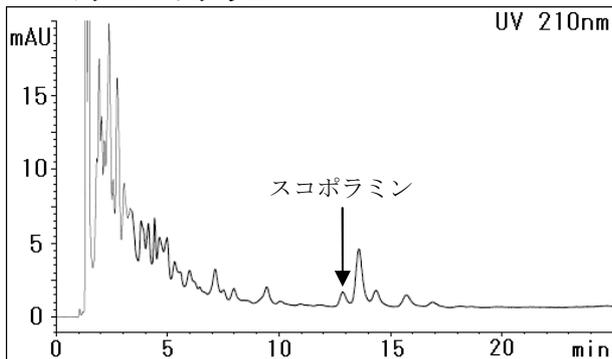


図 7 : 試験溶液 (試料 X) のクロマトグラム

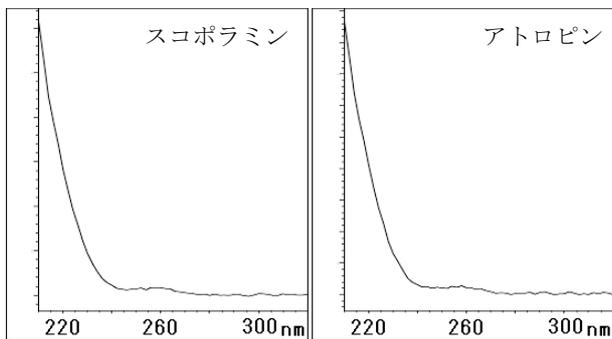
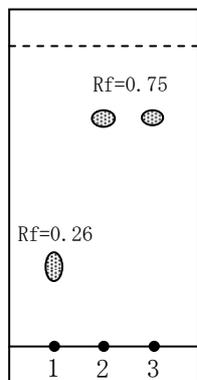


図 8 : スコポラミン及びアトロピン標準品の紫外吸収スペクトル



1. アトロピン標準品
2. スコポラミン標準品
3. 試料 X

図 9 : TLC による確認試験結果

と取扱うこととし、販売者等を管轄する沖縄県に情報提供を行った。沖縄県による調査の結果、原料のボタンボウフウを栽培している畑でキダチチョウセンアサガオの混植を確認したことから、食品衛生法第 6 条違反として当該野草茶の回収命令等の処分が行われた。

## 4. 考 察

### 4-1 分析法について

本分析は、食中毒(疑い)事例に対する緊急的な検査であり、検査成績書発行までの迅速性及び検査値の確実性が求められる。そのため、本分析法の検討にあたっては、以下の点を重視した。

- (1) 選択性に優れること
- (2) 特殊な試薬、器具等を用いないこと
- (3) 試験操作が簡便であること
- (4) 2 種類以上の分析機器で確認できること

スコポラミン及びアトロピンの抽出については、姉帯ら<sup>2)</sup>により報告されている水・メタノール混液による超音波抽出を採用した。分析機器は選択性に優れる LC-MS/MS 及び汎用性のある HPLC を用いることとした。当所で検討した HPLC 条件では、抽出液のメタノールの割合が移動相のメタノールの割合 (36%) より多くなると標準品のピーク形状の悪化が見られたため、抽出は 36% メタノールで 20 分間、2 回実施することとした。また、固相抽出カラムによる精製は行わず、抽出液をそのまま、または適宜希釈して分析機器に導入することで、抽出操作の簡便化と時間の短縮を図った。本抽出方法を用いることで、1 回の抽出操作で得られた試験溶液を HPLC と LC-MS/MS で同時に測定できた。また、汎用的な分析用カラム及び試薬を用いていることから、本食中毒のような緊急時にも対応が容易である。LC-MS/MS 及び HPLC の両条件について、定量下限値相当での添加回収試験では、いずれの方法についても回収率 85% 以上、CV%10 未満と良好な成績が得られ、検査値の確実性も確保できた。

#### 4-2 野草茶への毒草の混入率について

沖縄県による調査の結果、当該野草茶へのキダチチョウセンアサガオの葉の混入が疑われたため、当所ではボタンボウフウ(試料A)及びキダチチョウセンアサガオ(試料B~D)を入手し、分析を実施した。野草茶の原料であるボタンボウフウからはスコポラミンは検出されず、キダチチョウセンアサガオ葉の乾燥試料からは、1gあたり1.3~4.7mgのスコポラミンが検出された(表4)。スコポラミンの含有量から、試料Xには約20~100%の重量比でキダチチョウセンアサガオが混入していたと推定された。

#### 4-3 苦情品と同一店舗で購入した野草茶について

札幌市保健所の聞き取り調査によれば、有症者は中毒症状を発症する以前、苦情品と同一店舗で購入した野草茶(試料Y)を喫飲しており、その際には中毒を発症しなかったとのことであった。試料Yのスコポラミン含有量は定量下限(0.05mg/g)未満であり、そのため喫飲しても中毒を発症しなかったものと思われる。

#### 4-4 試料の外観について

試料Xと試料Yのスコポラミン含有量は有意に異なったため、毒草の混入率は野草茶の各包装間で不均一に起こったと考えられる。ただし、苦情品の試料Xには商品名が記載されたシールのみ、試料Yには商品名がマジック書きされているのみで、ロット等を示す記載がない。そのため、毒草の混入が試料X製造時又は製造日のみに起こったものか、恒常的に起こっていたのかについては不明である。

茶の原料であるボタンボウフウ(図3-A)と混入が疑われたキダチチョウセンアサガオ(図3-B及びC)は、前者は草本、後者は木本の形態をとり、葉の形状も大きく異なることから、葉を砕く前であればボタンボウフウを選別することはそれほど難しくないと考えられる。

### 5. 結 語

札幌市内で発生した食中毒(疑い)事例について、当所でスコポラミン及びアトロピンの検査体制を

整備し、原因食品と疑われた野草茶の分析を実施した結果、高濃度のスコポラミンを検出した。本事例は、当所で野草茶からスコポラミンを検出した初めての事例である。当所の分析結果が当該野草茶の回収等につながり、人体に有害な物質を含む食品の流通拡大を阻止できたことは、市民の食の安全・安心を守る上で意義深い。

### 6. 謝 辞

本分析を実施するにあたり、分析法等多岐にわたり有益なご助言を頂きました北海道立衛生研究所理化学部薬品保健グループの姉帯正樹博士、ボタンボウフウ及びキダチチョウセンアサガオの葉試料を提供して頂きました独立行政法人医薬基盤研究所薬用植物資源研究センター種子島研究部(現筑波研究部)の飯田修氏、札幌市保健所広域食品監視センターの皆様、写真を提供して頂きました札幌市保健所東衛生担当課の皆様及びご協力頂きました関係部局の皆様にご礼申し上げます。

### 7. 文 献

- 1) 札幌市：庭や野山の毒草ハンドブック，札幌市ホームページ (<https://www.city.sapporo.jp/hokenjo/shoku/pamph/dokuso/index.html>) (2013年8月現在)
- 2) 姉帯正樹，山岸喬：高速液体クロマトグラフィーによるナス科植物中のヒオスチアミンの定量，北海道立衛生研究所報，**35**，52-55，1985
- 3) 福田達男，高橋美佐子，荒金真佐子ら：植物系ドラッグダツラシードの鑑定に関する研究，東京健康安全研究センター年報，**55**，61-66，2004
- 4) 南谷臣昭，永井宏幸，中村昌司ら：有毒植物の誤食による最近の中毒事例について—コバイケイソウ，ハシリドコロによる中毒—，第49回全国衛生化学技術協議会年会講演集，132-133，2012
- 5) 日本薬学会編：衛生試験法・注解 2010，273-275，2010