

キャピラリー電気泳動によるクワズイモ中のシュウ酸分析

森岡浩文・樺山恭子・小玉義和

Oxalic Acid Analysis by Capillary Electrophoresis in *Alocasia macrorrhiza*

Hirofumi MORIOKA, Kyoko KABAYAMA Yoshikazu KODAMA

Abstract

A food poisoning incident due to ingestion of *Alocasia macrorrhiza* occurred in Miyazaki prefecture in November 2008. Though analysis of Oxalic acid reported by HPLC and ion chromatograph, there is no report by capillary electrophoresis (CE) in oxalic acid analysis of the *Alocasia macrorrhiza*. Oxalic acid in *Alocasia macrorrhiza* was measured by CE. In the recovery examination by this method, an excellent result of 96.1% was obtained. The leftover foods were analyzed by this method. The contents of oxalic acid were 5,110 $\mu\text{g/g}$ in the stalk, 1,700 $\mu\text{g/g}$ in the skin of the stalk, and 3,980 $\mu\text{g/g}$ in the vinegared dish.

Key words : *Alocasia macrorrhiza*, oxalic acid, capillary electrophoresis

はじめに

平成 20 年 11 月, 食料品店で購入した「はすがら」を酢の物にして摂食し, 口腔内のしびれ等の症状を呈する食中毒が発生した. 保健所の調査から「はすがら」の中にクワズイモの茎が混入していたことが判明した.

クワズイモはサトイモ科の植物であり, 四国南部から台湾, 東南アジア, オーストラリアの亜熱帯, 熱帯に分布し, 主に常緑樹林の湿った樹陰に生える多年草である. 茎の部分が, サトイモに似ているが, 食べられる「いも」がないことからクワズイモと名づけられた¹⁾. 膝丈ほどのものから大きいものでは背丈をこえるものもあり, 観葉植物として親しまれている. 摂食した場合, 成分として含まれるシュウ酸カルシウムにより, 口唇のしびれ等の症状を呈する. 一般的にサトイモ科の葉柄や球茎には, シュウ酸カルシウムの結晶が存在する.

一方, 「はすがら」は, サトイモ科の蓮芋の茎(葉柄)で「はすがら」として栽培, 販売されている. 葉柄の断面にレンコンのような小さな穴があることからハスイモとも呼ばれており, イモの部分は食べず, 葉柄を食用とする(Fig.1).

クワズイモのシュウ酸カルシウムの分析は, 滴定法, 高速液体クロマトグラフ法, イオンクロマトグラフ法などがすでに報告されているが, 使用するカラムが高価なことや測定において妨害成分の影響を受けるなどの問題点がある.

今回, イオン性物質の測定に用いられるキャピラリー電気泳動装置を使った迅速なシュウ酸分析とシュウ酸カルシウム結晶の顕微鏡観察を行ったので報告する.

方 法

1 試料

クワズイモの調理残品である「水洗した茎」, 「茎の部分の皮」, 「酢の物」を試料として試験に供した. 添加回収試験は, サトイモの茎を用いた.

2 試薬

シュウ酸ナトリウム: ナカライテスク(株)製試薬特級を蒸留水で溶解し標準液を作成した.

サフランニン: 日水製薬(株)製フェイバーGリン酸 2 水素ナトリウム, リン酸水素 2 ナトリウム, 塩酸: 和光純薬製試薬特級

3 装置

1) 位相差顕微鏡

OLYMPUS BX-51

2) キャピラリー電気泳動装置

Hewlett-Packard 社製 G1600A

4 分析操作

1) シュウ酸カルシウム結晶の顕微鏡観察

「水洗した茎」の横断面をカミソリで薄切した後、サフラン染色を行い位相差顕微鏡で鏡検した。

2) 総シュウ酸

小坂²⁾らの報告をもとに、総シュウ酸を定量した。各試験品をハサミで細切し、試料 5g を遠沈管にとり、10%塩酸 40mL を加え 3 分間ホモジナイズした。さらに、80℃の温水中で、30 分間超音波処理を行い抽出した。放冷後、抽出液をろ過し蒸留水で 100mL に定容した。蒸留水で適宜希釈したものを検液としてキャピラリー電気泳動装置 (CE) で分析した。CE の分析条件は、Table1 に示す。

Table1 Conditions of CE

Mode	Capillary zone electrophoresis
Capillary	Fused-silica 156cm L64.5cm id50µm
Temperature	30℃
Buffer	250mM phosphate buffer pH6.5
Voltage	-12kV negative
Detector	200nm
Injection	50mb, 2s

結果および考察

1) 針状結晶の観察

「水洗した茎」の横断面切片を鏡検したところ細胞内にシュウ酸カルシウムの針状結晶を認めた。対照としたサトイモの茎では、針状結晶を認めなかった。また、回収された同一ロットのクワズイモの茎では、細胞内にシュウ酸カルシウムの針状結晶とシュウ酸カルシウムを束状に包含した異型細胞を確認した (Fig. 2, 3)。

2) シュウ酸の分析

シュウ酸は、食物中で可溶性シュウ酸やカルシウムと結合した不溶性シュウ酸として存在する。CE によるシュウ酸分析では、ジュース類や

ホウレンソウなど様々な食品で、試料を直接あるいは水で抽出して可溶性シュウ酸を測定する方法が報告されている^{3),4),5)}。一方、クワズイモの不溶性シュウ酸分析では、強塩酸で抽出するため、HPLC やイオンクロマトグラフによる測定では、塩素イオンなどの妨害を受けるため定量に苦慮している。同様に、CE でも不溶性シュウ酸測定では塩素イオンの影響を強く受けたフェログラムとなる。このことから今回の分析では、シュウ酸とマイグレイションタイムが近い塩素イオンや、硝酸イオン、硫酸イオンの影響を受けにくい泳動液として高濃度リン酸緩衝液を用いた。^{6),7),8)} (Fig. 3)。

検量線は、0.05mM から 5mM で作成したところ寄与率 R²=0.999 以上の良好な直線が得られた。定量下限値は、1mM となった (Fig. 4)。

添加回収試験は試料中濃度が 80mM となるように添加して行った。回収率は、96.1%と良好な値が得られた。

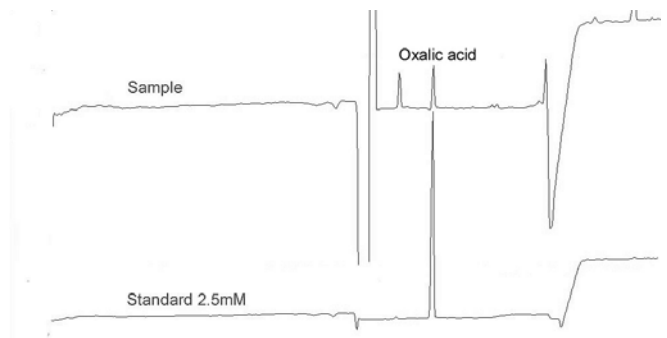
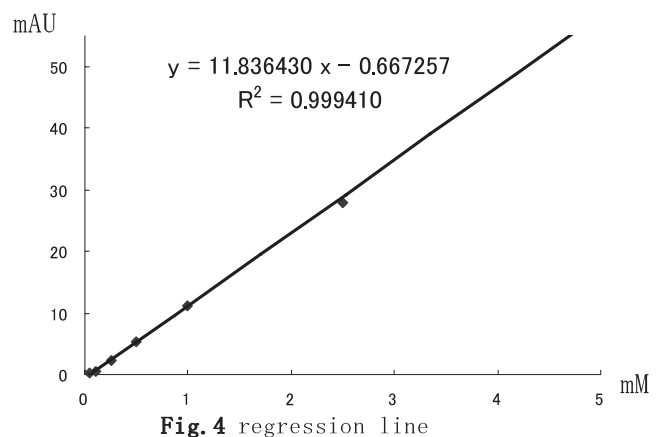


Fig. 3 Electropherograms of the standard and extract sample



3) 定量結果

各試料を検討した分析法で測定したところ、「水洗した茎」5, 110 µg/g, 「茎の皮」1, 700 µg/g,

「酢の物」 $3,980\mu\text{g/g}$ の定量値が得られた。

まとめ

平成20年11月に発生したクワズイモによる食中毒で、CEを用いたシュウ酸分析法を検討した。CEの泳動バッファーを高濃度リン酸緩衝液にしたところ、抽出液由来の妨害を受けないフェログラムが得られた。この条件で、検量線を作成したところ、寄与率 $r^2=0.999410$ で、添加回収試験では、回収率は96.1%と良好な結果が得られた。検討した方法で試験品中の不溶性シュウ酸を分析したところ「水洗した茎」 $5,110\mu\text{g/g}$ 、「茎の皮」 $1,700\mu\text{g/g}$ 、「酢の物」 $3,980\mu\text{g/g}$ の定量値が得られた。



Fig.1 Left: *Colocasia gigantea*
Right: *Alocasia macrorrhiza*
(日向保健所提供)

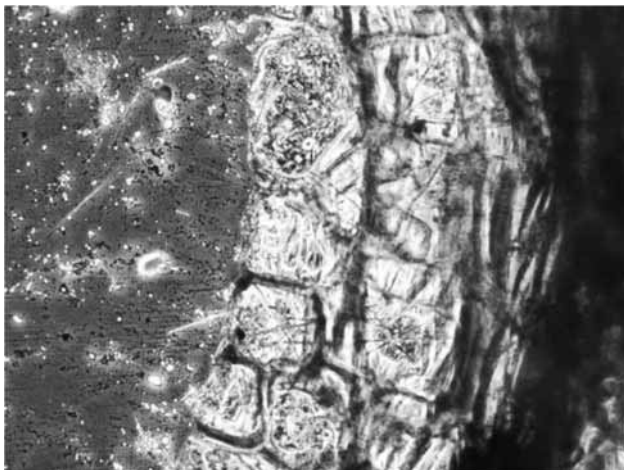


Fig.2 Needle Crystals of Calcium oxalate
in *Alocasia macrorrhiza*. $\times 100$

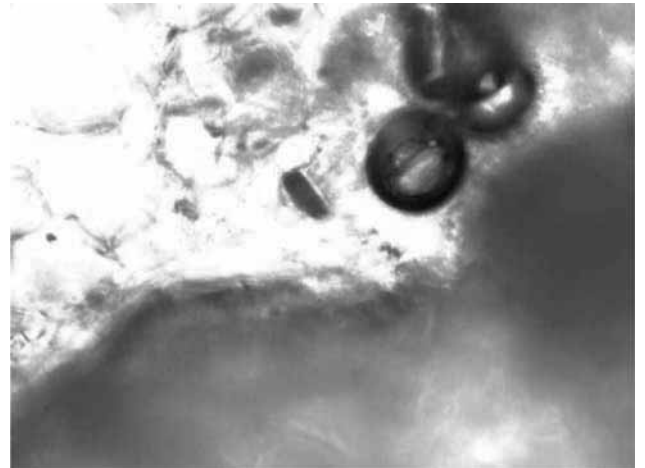


Fig.3 Bundle crystals in cells. $\times 100$

参考文献

- 1)岡田稔:新訂原色牧野和漢薬草大図鑑,北隆館,603,2002
- 2)小坂妙子:クワズイモによる食中毒事例について,宮崎県衛生環境研究所所報,11,77-80,1999
- 3)H. Horie, Hort. Res. Japan, 4(1), (2005), 95-98
- 4)T. Soga, J. Chromatogr A, 837(1999), 231-239
- 5)C. W. Klampfl, J. Chromatogr A, 881(2000), 357-364
- 6)V. Galli, J. Chromatogr A, 894(2000), 135-144
- 7)Jianming Xu, J. Chromatogr A, 942(2002), 289-294
- 8)V. Galli, J. Chromatogr A, 1032(2004), 299-304