

植物性自然毒の一斉分析法

衛生化学部 ○竹原 瑛梨奈、松川 浩子、黒木 俊幸

1 はじめに

高等植物に由来する自然毒（以下「植物性自然毒」という。）による食中毒は、平成 22 年から令和元年の 10 年間に 578 件発生している。食中毒総件数の約 5%であるが、患者数は 1,855 名、死亡者は 16 名であり、死者数は全体の 29%¹⁾を占め、近年増加傾向にある。植物性自然毒による食中毒は、摂取状況によっては重篤な症状を引き起こす場合があるため、発生した場合には原因物質特定に対して早急な対応が必要となる。

鹿児島県では令和 2 年に 10 年ぶりに植物性自然毒が原因の食中毒が発生している。宮崎県では平成 22 年から令和元年までの 10 年間でクワズイモを除いた植物性自然毒を原因とする食中毒は発生していないが、平成 29 年度及び 30 年度で一部の植物性自然毒について検査体制を構築してきた。しかしこれらは 1 種類及び 3 種類の植物性自然毒に特化した分析法であり、多成分一斉分析法は確立されていなかった。今回植物性自然毒 14 種類について迅速一斉分析法の検討を行ったので報告する。

2 対象と方法

1) 分析対象成分

本県において、食中毒の原因となる可能性のある植物に含有されている成分（計 14 成分、表 1 参照）を分析対象とした。

2) 一斉分析法の検討

LC/MS/MS を使用して表 1 の分析対象成分での一斉分析法の検討を行った。前処理操作検討用試料として、植物の根、茎及び葉と誤食しやすいゴボウ及びニラ、またジャガイモと似た成分のサトイモを使用し、混合標準溶液を添加した検体を前処理操作し、添加回収試験（n = 3）を行った。前処理操作の最適化は、回収率、作業時間、操作の煩雑さ及びマトリックスの除去効果の 4 点で評価した。総合評価の高い方法を元に、抽出方法及び精製方法の検討を行った。

表 1 分析対象成分と有毒植物

成分名	有毒植物
アコニチン	トリカブト
ヒパコニチン	
ジェサコニチン	
メサコニチン	
アミグダリン	アンズ、ウメ、モモ
アトロピン	チョウセンアサガオ
スコポラミン	
チャコニン	ジャガイモ
ソラニン	
コルヒチン	イヌサフラン、グロリオサ
デメコルシン	
ガランタミン	スイセン、ヒガンバナ
リコリン	
ベラトラミン	バイケイソウ、コバイケイソウ

3 結果

1) LC/MS/MS の測定条件

上記 14 種の化合物に対して LC/MS/MS で測定条件の最適化を行った。その結果、ポジティブモードにおいて全成分のプリカーサーイオン及びプロダクトイオンが各複数個検出された。このうち感度及び選択性が高いイオンの組み合わせを 2 つ選択し、定量イオンと定性イオンとした。検出下限値は測定溶液中濃度 0.05~5 ng/mL であった。

2) 前処理方法の検討

続いて前処理方法の検討を行った。前処理方法は文献^{2)~5)}を参考に 6 種に分類し、前処理操作検討用試料に標準溶液を添加して添加回収試験を行った。6 種の前処理法から、総合評価の高い希釈法及び QuEChERS EN 法（以下、QuEChERS 法とする。）を選択し、

抽出法及び精製法について詳細な検討を行った。

抽出方法についてはメタノールによる抽出とメタノールに塩を添加した **QuEChERS** 法による抽出を検討し回収率を比較したところ、メタノールのみの抽出での回収率が良好であったため、これを採用した。

精製方法については、抽出液を希釈する方法と分散型固相 (dSPE) 法を検討した。分散型固相に加える試薬の種類や添加量を検討したところ、PSA (第1級・第2級アミン) 及び硫酸マグネシウムを添加した分散型固相法による精製が最適であったことから、これを採用した。

抽出方法と精製方法の最適化により、植物性自然毒12種の一斉分析フローは図1のとおりとなり、最短で抽出から定性まで最短90分、定量まで150分で結果判定が可能となった。

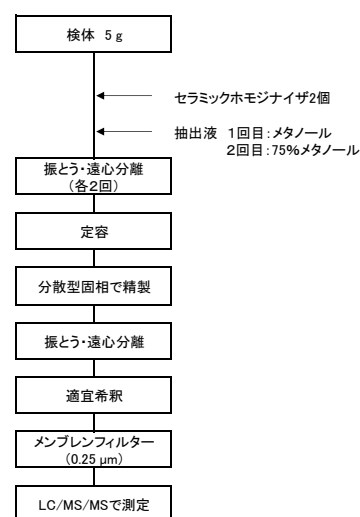


図1 一斉分析フロー

4 考察

今回対象成分の抽出液への溶解性の観点から、抽出液はメタノール系溶媒を選択した。本来、**QuEChERS** 法では抽出液にアセトニトリルを使用しており、塩の添加はアセトニトリル中で抽出する際、塩析と脱水も同時に行うことにより夾雑物を沈殿させ、抽出を効果的にするためであった。**QuEChERS** 法で期待された効果が発揮できなかった原因としては、今回の一斉分析では抽出液をメタノール系溶液としたことで期待された効果が発揮されず、十分な抽出及び塩析が行えなかったためと考えられる。

精製方法の検討では、分散型固相法で用いる試薬や添加量及び振とう時間を検討した。色素除去に効果があることが知られている **GCB** (グラファイトカーボンブラック) を用いた場合には、試験溶液は無色に変化し、多くの測定成分で回収率に大きな変化がなかった。一方でソラニンやチャコニンといった特定成分の回収率が著しく低下した。これは **GCB** 自体が平面構造を持ち、似たような平面構造を持つ色素を吸着する一方、ソラニンやチャコニンも平面にやや近い構造を持っていたため、**GCB** に吸着され回収率低下を招いたと考えられる。また、**PSA** についても有機酸等の除去に効果がある一方、分散型固相の振とう時間によっては一部の目的成分の回収率低下が確認された。しかし振とう時間の検討を行うことで、目的成分の十分な回収率を維持しながら試験溶液の精製することが可能であると確認できた。今後は、油脂や色素など夾雑物が多い調理品を検体とした場合に本試験法が適用可能か検討をしていきたい。

参考文献

- 1) 厚生労働省. 食中毒統計資料. https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/kenkou_iryoku/shokuhin/syokuchu/04.html (2021年2月15日アクセス可能) .
- 2) 山口奈穂, 富永純司, 松本理世, 他. LC/MS/MS による植物性自然毒の迅速一斉分析法の開発. 熊本県保健科学研究所報 2017 ; 47 : 48-55.
- 3) 設楽紘史, 永山矩美子, 山田恭平. 機器分析による自然毒の試験法に関する研究. さいたま市健康科学研究センター年報 2019 ; 13 : 114-117.
- 4) 笠原翔悟, 笠原義正. 中毒原因となる有毒植物の多成分一斉分析法の開発. 山形県衛生研究所報 2015 ; 48 : 1-4.
- 5) 永井雄太郎. **QuEChERS** を見直してみよう. 日本農薬学会誌 2012 ; 37(4) : 362-371.