

植物性自然毒の多成分一斉分析法の確立

衛生化学部 ○富山 裕規、高山 清子、木下 和昭
松川 浩子、黒木 麻衣、落合 克紀

1 はじめに

高等植物及びキノコに由来する自然毒（以下「植物性自然毒」という。）による食中毒は、平成 25 年から令和 4 年の 10 年間に全国で 466 件発生している。食中毒総件数に占める割合は約 5%とわずかであるものの、患者数は 1,501 名、死者数は 20 名となっており、死者数は全体の 47%¹⁾と半数近くを占めている。また、宮崎県では令和 4 年 4 月にグロリオサの根を食べたとみられる延岡市の男性が食中毒で死亡したとの報告があり、植物性自然毒による食中毒事故の防止は、本県でも十分に注意及び啓発が必要であると同時に、迅速・的確な分析手法の確立が求められている。

当所では平成 30 年から令和 2 年にかけて植物性自然毒 14 種類について一斉分析を可能とする技術基盤²⁾を開発してきた。しかしこれらはリコリンやガラントアミンなどの一部の自然毒には適用できないことや夾雑物の多い調理品に適用できるかどうかの検討がなされていないなどの課題があった。今回、リコリンやガラントアミンを含めた植物性自然毒 18 種類について LC-MS/MS による分析条件の検討を行い、食品を用いた添加回収試験及び実際の有毒植物を用いた含有量調査を実施したので報告する。

2 対象と方法

1) 分析対象成分

食中毒事故件数の多い有毒植物における有毒成分（計 18 成分、表 1）を分析対象成分とした。

2) 分析条件の検討

LC-MS/MS を使用して、表 2 の移動相の種類及び表 3 のグラジエント条件を組み合わせることで、各分析対象成分が良好に分析できる条件を検討した。

3) 添加回収試験

ごぼう、焼きそば、餃子などの夾雑物を多く含む食品 3 検体に対し、各成分の混合標準溶液 1ppm を 1ml 添加し、当所で開発した従来の方法により前処理し、添加回収試験（n = 3）を行った。検量線は 0.2~20ng/ml の範囲（5 点）でメタノール希釈を行い、評価目標値は回収率 70~120%、検量線の相関係数 0.99 以上とした。

4) 有毒植物中含有量調査

スイセンの葉及びイヌサフランの球根を検体として抽出操作を行い、含有量調査を実施した。

表 1 有毒植物と分析対象成分

| 有毒植物 | 成分 |
|----------------|---------------------------------|
| トリカブト | アコニチン ヒパコニチン ジェサコニチン メサコニチン |
| アンズ、ウメ、モモ | アミグダリン |
| チョウセンアサガオ | アトロピン スコポラミン |
| ジャガイモ | チャコニン ソラニン |
| イヌサフラン、グロリオサ | コルヒチン デメコルシン |
| バイケイソウ、コバイケイソウ | ペラトラミン ジェルピン シクロパミン プロトペラトリン |
| スイセン、ヒガンバナ | リコリン ガラントアミン |
| ユウガオ、ヒョウタン | ククルピタシンE |

表 2 移動相の種類

| | A液 | B液 |
|---------------------------|----|---------|
| ① 5 mMギ酸アンモニウム水溶液 | | メタノール |
| ② 0.1%ギ酸含有5 mMギ酸アンモニウム水溶液 | | アセトニトリル |
| ③ 0.1%ギ酸含有5 mMギ酸アンモニウム水溶液 | | メタノール |

表 3 グラジエント条件

| ①従来の条件 | | | | | | |
|------------|----|------|------|------|-----|------|
| 時間 (min) | 0 | 1.0 | 3.0 | 9.0 | 9.1 | 20.0 |
| A液 (%) | 95 | 95 | 30 | 30 | 95 | 95 |
| B液 (%) | 5 | 5 | 70 | 70 | 5 | 5 |
| ②新たに検討した条件 | | | | | | |
| 時間 (min) | 0 | 11.0 | 12.0 | 12.1 | 20 | |
| A液 (%) | 98 | 10 | 10 | 98 | 98 | |
| B液 (%) | 2 | 90 | 90 | 2 | 2 | |

1) 現 延岡保健所

3 結果及び考察

1) 分析条件の検討

移動相の種類及びグラジエント条件の組み合わせ計6パターンについて検討を行った結果、表2③及び表3②の組み合わせで良好な分析結果が得られたため、これを一斉分析法の分析条件とした。

2) 添加回収試験

従来の前処理方法により一斉分析を実施したところ、多くの成分で回収率が120%を超え、一部では200%を超えるものも確認された。このことから、マトリックス効果の影響を受けていることが示

唆されたため、前処理方法において、山田らが報告しているフィルターを2つ連結させてろ過を行うことで、マトリックスの影響を低減させるDF法³⁾(図1)を用いるとともに、マトリックス検量線により一斉分析を実施したところ、3検体全ての分析対象成分において、評価基準を満たした(表4)。

3) 有毒植物中含有量調査

含有量調査を実施した結果を表5に示す。他自治体⁴⁾⁻⁷⁾が報告している含有量と概ね同じ結果となった。

4 まとめ

今回、計18種類の有毒成分において添加回収試験を実施し、夾雑物を多く含む食品に対して適用可能な多成分一斉分析法を確立することができた。また、含有量調査も併せて実施することで、実際の有毒植物に対しても本試験法が適用可能であることが確認できた。

今後は、加工食品のみならず吐瀉物や血液及び尿などといった生体試料においても本試験法が適用可能であるかどうか検討を進め、様々なケースの食中毒事故事例に対応できる技術基盤の構築を図っていく。

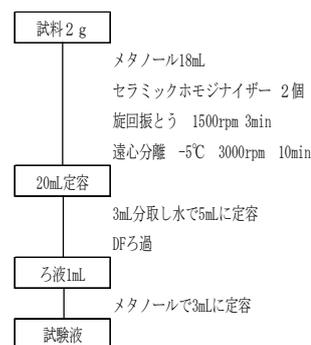


図1 DF法

表4 添加回収試験結果 (n = 3)

| 試料 | 回収率 (%) | 相関係数 |
|------|------------|-------|
| ごぼう | 76.1~119.7 | ≥0.99 |
| 焼きそば | 84.5~114.6 | ≥0.99 |
| 餃子 | 70.7~113.8 | ≥0.99 |
| 評価基準 | 70~120 | ≥0.99 |

表5 含有量調査結果

| 植物名 | 有毒成分 | 当所 (μg/g) | 他自治体 (μg/g) |
|--------|--------|-----------|--------------|
| スイセン | リコリン | 109.0 | 51.8 ~ 116.6 |
| | ガラタミン | 11.7 | ND ~ 14 |
| イヌサフラン | コルヒチン | 343.5 | 428.2 |
| | デメコルシン | 408.6 | 230 ~ 953.5 |

参考文献

- 厚生労働省. 食中毒統計資料.
https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/kenkou_iryuu/shokuhin/syokuchu/04.html#j4-3 (2024年1月5日アクセス可能).
- 竹原瑛梨奈, 高山清子, 松川浩子 他. 植物性自然毒の一斉分析法の検討. 宮崎県衛生環境研究年報 2020; 32: 57-60.
- 山田恭平, 加藤永莉, 竹中志保. 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 2022; 16: 101-104.
- 藤井愛実, 松渕亜希子, 古井真理子 他. LC-MS/MSによる有毒植物イヌサフラン調理品に含まれるコルヒチン等の分析. 秋田県健康環境センター年報 2021; 17: 51-52.
- 茂木修一, 関慎太郎, 坪井公志 他. 【事例】イヌサフランによる食中毒事例について. 群馬県食品安全検査センター業務報告 2020; 8: 41-45.
- 茶屋真弓, 原田卓也, 吉田純一. LC/MS/MSによる植物性自然毒の迅速一斉分析法の検討. 鹿児島県環境保健センター所報 2018; 19: 67-71.
- 坂本智徳, 赤城広一. HILIC-MS/MSによるヒガンバナ科植物中のリコリンおよびガラタミンの分析. 福岡市保険環境研究所報 2009; 35: 89-92.