

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

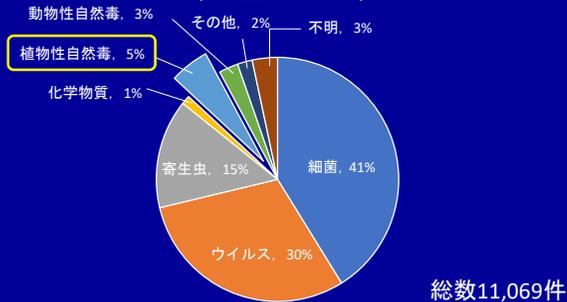
植物性自然毒

- ・ 植物自身が持つ毒成分
- ・ 多量に摂取することで健康被害が発生する可能性
- ・ 食用植物と誤食して発生した事例多数



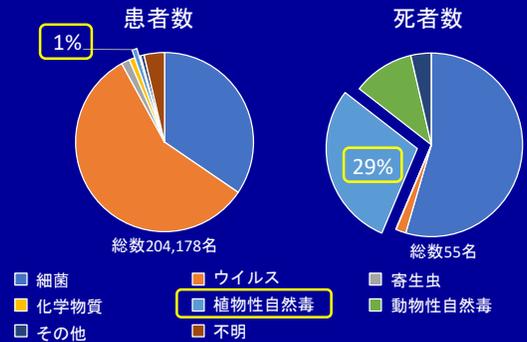
ニラ スイセン

食中毒事例の病因物質別内訳 (H22～R1)



厚生労働省食中毒統計資料
https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/kenkou_iryuu/shokuhin/syokucu/04.html

患者数及び死者数 (H22～R1)



当所における分析法検討の現状

平成29年度 HPLCによるコルヒチン分析法
平成30年度 アコニチン系アルカロイド3種の分析法

問題点

- ・ 多成分一斉分析法が確立されていないため、スクリーニング検査ができない
- ⇒ 結果判明までに時間を要する (定性でも半日以上)

迅速な多成分一斉分析法が必要

対象と方法

対象成分

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

対象試料

今回の一斉分析法の検討のポイント

- ・ 目的成分の効率的な抽出
- ・ 夾雑物を低減

検討用試料

- ・ ゴボウ（チョウセンアサガオの根と類似）
- ・ ニラ（スイセンの葉や茎と類似）
- ・ サトイモ（ジャガイモと類似）

方法

- 1) 文献を参考に6つの前処理法に分類
(ここでいう前処理法とは、抽出と精製を含めた分析するための検体処理とする)
- 2) 前処理検討用検体 (n=3) に対し標準溶液を添加し、各方法で前処理操作を行い、LC/MS/MSにて測定
- 3) 前処理法を4項目で評価し、総合評価の高い前処理法を選択
- 4) 更に前処理操作（抽出・精製）の最適化を行い、前処理法の確立

検討した前処理法

前処理法	抽出	精製
1 (熊本県方式)	メタノール	希釈によって精製
2 (さいたま市方式)	抽出溶液と塩の添加	固相カラム
3 (山形県方式)	メタノール	固相カラム
4 (山形県方式)	塩酸	固相カラム
5 (さいたま市方式)	メタノール	ダブルフィルター (DF)
6 (QuEChERS法)	アセトニトリルと塩の添加	分散型固相法

QuEChERS: Quick(迅速)、Easy(簡単)、Cheap(安価)、Effective(効率的)、Rugged(高い耐久性)、Safe(安全)の造語

評価方法

以下4項目を評価基準を元に評価した。

評価項目	◎	○	△
回収率	・90~110%	・70~120%	・70%未満 ・120%以上
作業時間 (12検体、 作業員1人)	・2時間以内	・2~3時間程度	・3時間以上
操作の煩雑さ	・濃縮が不要 ・検体の移し替え が最小限 等	・濃縮が不要	・濃縮が必要 ・固相カラムの詰まり 等
色素、タンパク 質の除去効果	・色素の除去 ・夾雑物の影響が 小さい 等	・夾雑物の影響 が小さい	・色素の除去が不十分 ・夾雑物の影響が大き い 等

結果

前処理方法検討試験

前処理法	回収率	作業時間	操作煩雑さ	除去効果	総合評価
1 (熊本県方式)	○ 43.5%	○ 2.5時間程度	◎	○	◎
2 (さいたま市方式)	◎ 96.0%	△ 4時間程度	△	○	○
3 (山形県方式)	○ 72.0%	△ 4時間程度	△	○	○
4 (山形県方式)	△ 5.8%	△ 4時間程度	△	△	△
5 (さいたま市方式)	△ 125.1%	◎ 2時間程度	○	△	○
6 (QuEChERS法)	△ 37.5%	◎ 2時間程度	◎	◎	◎

前処理法の検討 (抽出)

1. 熊本県方式

6. QuEChERS法

抽出 メタノール アセトニトリルと塩の添加

精製 希釈によって精製 分散型固相

目的成分の溶解性から、抽出に使用する溶媒はメタノールとした。

抽出方法最適化

・ 抽出に使用する溶媒は、メタノール系溶媒に固定

抽出：メタノールのみ + 精製：希釈のみ
抽出：メタノールと塩を添加 + 精製：希釈のみ の
2通りで実施

抽出方法検討試験

検体	メタノール	メタノールと塩の添加
ゴボウ	96.1%	145.5%
ニラ	99.9%	97.2%
サトイモ	89.8%	110.0%

塩の添加に期待された効果が発揮されず、夾雑物による影響を受けた可能性がある。

⇒ 抽出方法はメタノールのみによる抽出とした。

前処理法の検討 (精製)

1. 熊本県方式

6. QuEChERS法

抽出 メタノール アセトニトリルと塩の添加

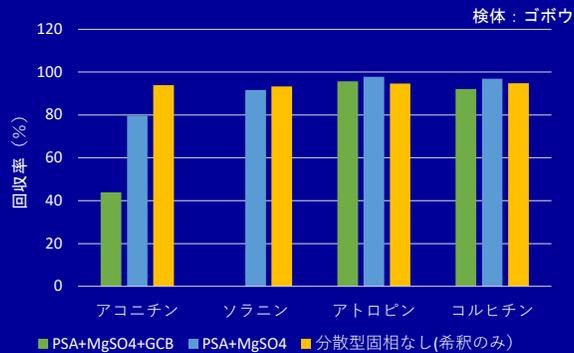
精製 希釈によって精製 分散型固相

精製方法最適化

抽出：メタノールのみ + 精製：希釈のみ
抽出：メタノールのみ + 精製：分散型固相 の
2通りで実施

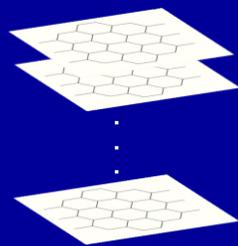
※分散型固相については、第一級第二級アミン (PSA)、硫酸マグネシウム (MgSO4) 及びグラファイトカーボンブラック (GCB) を使用し、その組み合わせも合わせて検討

精製方法検討試験



考 察

G C B

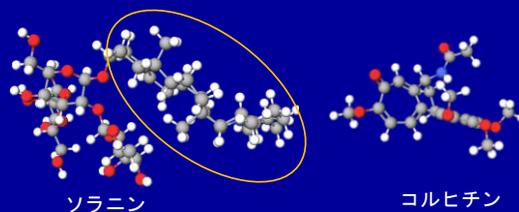


炭素同士が結合した平面構造物が層状に積み重なった構造。平面構造を持った色素などを吸着する。

※ ● : 炭素
● : 水素
● : 酸素
○ : 窒素



G C B 添加による影響



平面構造に近い構造の目的化合物がGCBに吸着されたため、回収率が低下した。

一斉分析法フロー

検体 (5 g) + メタノール溶液

振とう・遠心分離 (各2回)

抽出液定容

抽出液に分散型固相を添加

振とう・遠心分離

適宜希釈

LC/MS/MSで測定・解析

従来：定性 半日以上
定量 半日 + α

最短で定性は90分
定量は150分で
結果判定可能

今後の取組

- ・ 油脂や色素等の夾雑物が多い調理品を検体であった場合の本試験法の適用性検討
- ・ 測定成分数の増加
- ・ 有毒植物に含まれる自然毒成分の含有量調査