

自然毒を原因とした食中毒事例を想定した 有毒成分の機器分析法に関する研究

小泉美樹 小澤敦士 望月映希 山本敬男

An instrumental analysis of plant poison for food poisoning

Miki KOIZUMI, Atsushi OZAWA, Eiki MOCHIDZUKI and Takao YAMAMOTO

キーワード：自然毒、有毒植物、機器分析、LC/MS/MS

自然毒は動植物中に含まれる有毒成分であり、フグ毒に代表される動物性自然毒の他、有毒植物、毒きのこ類等その種類は多岐にわたり、有毒成分の組成や生理活性が判明していないものも多い。

自然毒は有毒部位の除去不足、または外見の似た動植物と誤って喫食することで食中毒の原因となる。自然毒が原因の食中毒の発生割合は、食中毒全体の10%程度である。個人が山菜や可食きのこ類と誤って採取した場合が多く、発生の殆どは家庭内である。また、微生物が原因の食中毒と異なり、調理従事者からの伝播や、原因物質が調理後の保存状態によって増加することもないため患者数も少ない。しかし、毒性が強く重篤な症状を引き起こすものも多いため、近年の食中毒による死亡例の大半は自然毒によるものである。

自然毒食中毒において、原因究明の調査は再発防止の観点から重要であると考える。とくに植物やきのこは採取可能期間がごく限られているためその期間中に注意喚起を行う上で調査に迅速性も求められる。上述のように自然毒の種類は多岐にわたり、公定試験法が定められているものはごく一部であることから、近年、各地衛研において自然毒の研究、分析法の開発が活発に行われている¹⁾⁻³⁾。自然毒食中毒の原因究明調査法としては、残物の外観観察、動物実験、機器分析、遺伝子分析等があげられる。それぞれに利点や課題点があるため、複数の方法を選択できることが望ましい。ただし、動物実験は当所では対応出来ない。また、当県では平成27、28年に自然毒食中毒が発生し、その際には患者への聞き取りと外観観察による調査が行われたが、残物の外観観察は残物の状況や担当職員の熟練度や主観に左右されやすく、原因動植物の同定ではなく推定となる。自然毒食中毒が数年に1回程度の発生頻度であるため、技術継承も難しい。

今回は、自然毒食中毒における原因究明調査の幅を広げること、技術継承の難易度を下げる目的とし、有毒成分が判明している有毒植物に関して、当所の現有機材を用いた機器分析法を開発することとした。

調査方法

1 品目・項目の選定

自然毒は多岐にわたり、すべての品目を検討することは難しい。また、今回は機器分析が目的であるので、有毒成分が判明しており、かつ試薬として販売されているものに限られる。そのため、以下の3条件で対象品目を選定した。

- ① 食中毒発生件数が多い
- ② 死亡例がある
- ③ 県内で該当動植物を容易に入手できる

その結果、スイセン、バイケイソウ類、トリカブト類、イヌサフラン、ハシリドコロ、チョウセンアサガオ類、ジャガイモ、ウリ科の8品目の有毒成分を検討対象とした。平成30年に検討を行っているスイセン⁴⁾及び毒化しているか外観等から判断が困難であるジャガイモ、ウリ科については標準品の添加回収試験のみ実施しバイケイソウ類は櫛形山産バイケイソウを、チョウセンアサガオ類は甲府市街地で採取したケナシチョウセンアサガオを用いた。トリカブト類、ハシリドコロは瑞牆山で採取したものを用いた。トリカブト類は外観観察では種まで特定出来なかった。イヌサフランは山梨県森林総合研究所の附属施設シミック八ヶ岳薬用植物園で栽培されていたものである。いずれも試料として葉部分を用いた。

検討項目は、検討対象8品目の有毒成分を少なくとも1項目含み、かつ添加回収試験分の標準品が確保できた次の10項目とした。ガランタミン(富士フィルム和光純薬)、ジェルビン(富士フィルム和光純薬)、ベラトラミン(富士フィルム和光純薬)、プロトベラトラリンA(関東化学)、アコニチン(富士フィルム和光純薬)、コルヒチン(富士フィルム和光純薬)、アトロピン硫酸塩水和物(富士フィルム和光純薬)、スコポラミン臭化物水素酸塩(富士フィルム和光純薬)、 α -チャコニン(富士フィルム和光純薬)、ククルビタシンB(富士フィルム和光純薬)。

2 分析条件

(1) 分析機器条件

分析には高速液体クロマトグラフ質量分析計(LC/MS/MS)を用いた。機器は島津製作所製 LCMS-8050 である。

〈LC 条件〉

分析カラム：Mightysil RP-18GP (2.0mm×150mm, 3 μm)
(関東化学製)

カラムオーブン温度：40°C

移動相：

A(0.1%ギ酸 0.25mM 酢酸アンモニウム水溶液)

B(0.1%ギ酸 0.25mM 酢酸アンモニウム/メタノール)

グラジェント条件

A:B=100:0 (0~1.0min) - A:B=85:15 (1.1min) -

A:B=0:100 (10~15min) - A:B=100:0 (15.1~20min) -

流量：0.2mL/min

注入量：5 μL

〈MS/MS 条件〉

イオン化法：ESI(+)

分析モード：MRM

イオン源温度：110°C

脱溶媒温度：350°C

コーンガス流量：50L/hr

脱溶媒ガス流量：50L/hr

イオン化条件は表1に示した。

内部標準物質にはカルバマゼピン d10 を用い、定量下限値は 1 μg/g とした。

(2) 前処理法

今回の前処理フローを図1に示した。

試料は各 500 g 以上用意し、そこからランダムに 40 g 分取したものを用いた。調理法は有毒植物と誤食し易い山菜の食べ方としてインターネット上等で紹介されている、ゆで(おひたし)、酢味噌和え、天ぷらとした。酢味噌和え用の酢味噌は味噌：砂糖：穀物酢=2:1:1 とし、ゆでた試料に対して 30g 混ぜ込んだ。天ぷらには市販の天ぷら粉を用い、記載された調理法に準拠して調理を行った(図2)。調理後、フードプロセッサーを用いて細切・均一化し、1 g 分取した。添加回収試験のブランク試料はほうれんそうを用いた。標準品添加は分取した試料 1g に対して実施したため、添加回収試験では調理による加熱の影響を考慮していない。

今回選定した品目に共通の中毒症状として吐き気やおう吐があげられる⁵⁾。そのため、人工胃液を用いて模擬吐瀉物を作製し、有毒成分の分析の可否について調査した。人工胃液の組成は塩化ナトリウム 2 g、塩酸 7mL、タンパク質分解酵素のペプシン 1 g を精製水 1 L に溶解したものである。模擬吐瀉物は人工胃液に試料を浸漬し、攪拌後、40°C の恒温槽内で 1 時間加温して作成した。模

擬吐瀉物は消化・分解は認められなかつたが試料が黄茶色に変色し、天ぷらに関しては衣部分の完全剥離が認められた(図3)。

試料中の夾雜物の除去方法として液-液分配を検討していたが、有毒植物中の有毒成分濃度が高く、LC/MS/MS で分析するには希釈が必要であり、希釈することで夾雜物の影響も軽減できることから希釈法とした。最終的に 1000 倍希釈とした。

表1 測定物質のイオン化条件

	確認イオン(m/z)	Q1(V)	CE(V)	Q3(V)
ガランタミン	288.25>213.00	18	22	20
	288.25>198.05	15	31	22
ジェルビン	426.50>114.05	10	31	22
	426.50>109.15	17	33	21
ベラトラミン	410.50>295.10	20	30	20
	410.50>84.15	16	31	16
プロトベラトラリンA	795.05>777.20	24	41	30
	795.05>659.20	24	54	34
アコニチン	646.65>586.20	24	34	30
	646.65>104.95	24	55	21
コルヒチン	400.35>358.10	15	22	27
	400.35>310.10	15	26	23
アトロビン	290.30>124.00	20	25	20
	290.30>93.05	17	32	21
スコポラミン	304.25>138.00	18	20	20
	304.25>156.00	17	16	21
α-チャコニン	853.05>707.30	20	55	36
	853.05>98.10	20	55	19
ククルビタシンB	576.65>499.25	22	14	19
	576.65>481.20	22	21	24

結果と考察

1 添加回収試験結果

ブランク試料(ほうれんそう)における調理品と模擬吐瀉物の添加回収試験結果を表2に示した。未調理品、調理品とともに回収率は 70~120% の範囲であり、結果は夾雜ピークの出現や機器の汚染も認められず、良好であった。しかし、模擬吐瀉物の一部で回収率の増大がみられた。とくに調理後が顕著であり、これは塩酸や夾雜物の変化の影響が考えられた。このことから模擬吐瀉物においては当方法では定量試験として用いるには不十分であった。しかし、有毒成分の不検出はなく、保持時間・検出ピーク形状にも問題がないため、定性試験として用いることは可能であると考えられた。

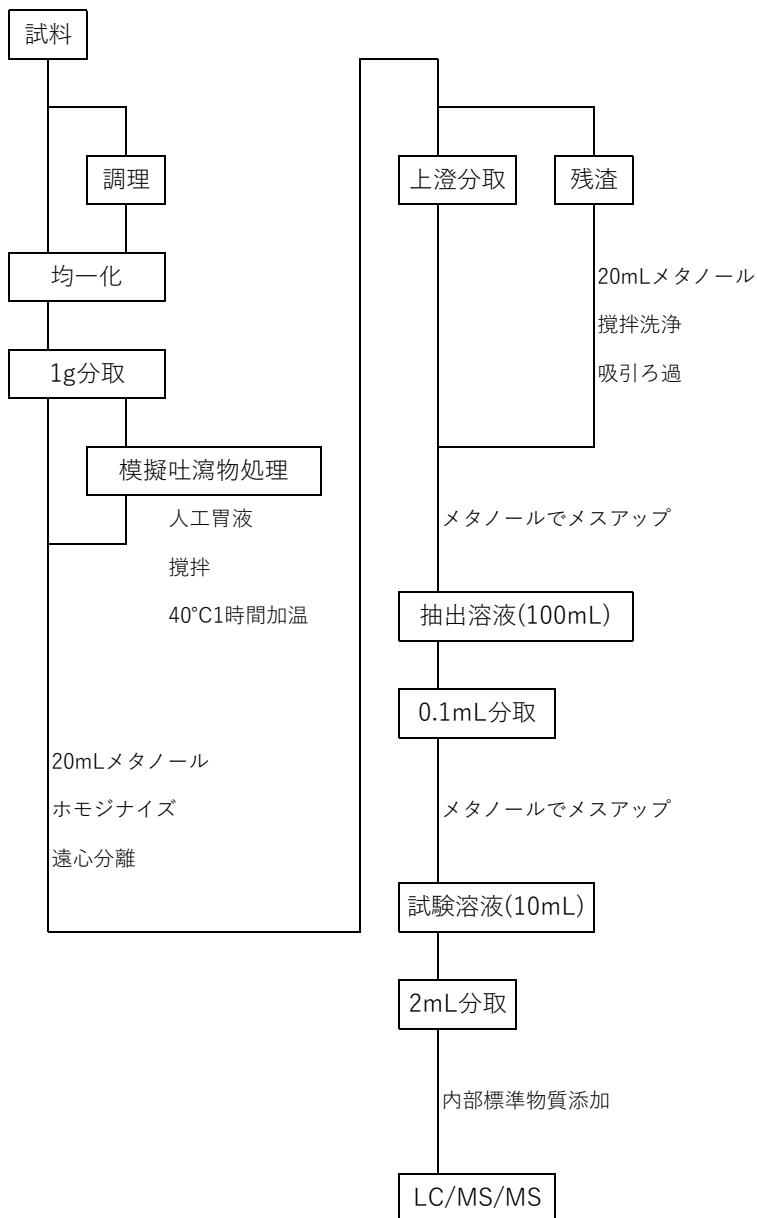


図1 前処理フロー



図2 調理例(コバイケイソウ)

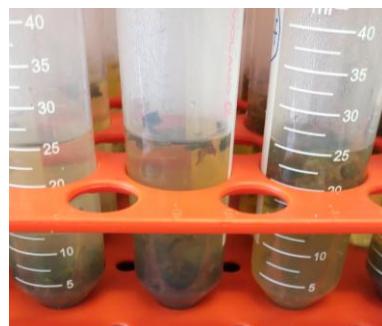


図3 模擬吐瀉物(加温後)

表2 添加回収試験結果

項目(有毒成分)	生	調理品回収率			模擬吐瀉物回収率			
		ゆで	酢味噌和え	天ぷら	生	ゆで	酢味噌和え	天ぷら
ガランタミン	99.0	82.1	102.8	84.7	108.5	119.8	110.1	132.4
ジェルビン	98.2	87.3	95.0	90.6	81.2	99.5	92.5	99.5
ベラトラミン	77.9	73.6	82.6	76.4	81.0	97.8	92.9	103.7
プロトベラトラリンA	92.4	84.8	99.0	89.8	91.1	109.2	98.6	113.9
アコニチン	94.7	85.4	93.9	86.0	103.8	120.1	106.3	128.3
コルヒチン	105.8	100.4	105.1	94.6	105.0	118.3	107.5	110.1
アトロピン	97.9	80.9	115.8	90.6	129.0	154.0	151.8	171.3
スコポラミン	97.3	89.1	102.0	91.9	113.6	130.5	131.7	144.2
α -チャコニン	96.4	80.1	93.3	86.0	99.6	112.8	106.4	125.5
ククルビタシンB	98.8	89.5	93.5	88.1	92.1	109.1	105.9	120.4

単位: %

表3 有毒植物分析結果

品目(有毒植物)	項目(有毒成分)	生	調理品			模擬吐瀉物		
			ゆで	酢味噌和え	天ぷら	生	ゆで	酢味噌和え
コバイケイソウ	ジェルビン	—	—	—	—	—	—	—
	ペラトラミン	—	—	—	—	—	—	—
	プロトベラトラリンA	2800	68	94	84	2300	520	490
トリカブト類	アコニチン	4.3	2.6	2.4	3.6	2.2	5.8	3.6
イヌサフラン	コルヒチン	1500	190	120	650	330	1300	150
ハシリドコロ	アトロビン	700	660	230	3000	1600	580	360
	スコポラミン	210	150	75	220	320	110	88
ケナシチョウセンアサガオ	アトロビン	3300	900	1500	490	3200	1300	1700
	スコポラミン	1800	830	1400	1100	1700	1100	1400

単位: $\mu\text{g/g}$

2 有毒植物の調理等処理後試験結果

県内で採取したコバイケイソウ、トリカブト類、イヌサフラン、ハシリドコロ、ケナシチョウセンアサガオの分析結果を表3に示した。値は有効数字2桁で四捨五入したものである。

個体差があるため、必ずしも未調理品が調理品よりも高濃度とはならなかった。また、すべての成分が通常の調理過程では消失しなかった。

コバイケイソウはジェルビン、ペラトラミン、プロトベラトラリンAの分析を行ったが、ジェルビン、ペラトラミンは不検出となった。これは、今回使用したコバイケイソウにおける特色と考えられた。

ハシリドコロ、チョウセンアサガオ類は有毒成分が類似するが、検出濃度域は異なり、ハシリドコロはアトロビンに対してスコポラミンの検出濃度が低くなつたが、ケナシチョウセンアサガオではアトロビン、スコポラミンは同程度の検出となつた。ハシリドコロ、チョウセンアサガオ類の有毒成分として他に、今回は対象としなかつたヒヨスチアミンがあり、これら3成分の検出割合について今後も調査を継続し、成分割合から種の推測が可能かを検討したい。

まとめ

- 1) 毒成分の添加回収試験では、未調理品、調理品とも添加したすべての成分が検出され、回収率も70~120%と良好な結果であった。しかし、模擬吐瀉物では複数の成分で回収率が120%を超える過大となつた。
- 2) 採取した有毒植物の試験では、調理による毒成分の消失は認められなかつた。また、類似の毒成分を持つ異なる種の有毒植物では、毒成分の検出濃度域に違いがあつた。

今回検討した分析方法は、食中毒原因調査において定量試験法としては不十分であるが、定性試験については概ね対応可能と考えられた。また、当所の現有機材を使用するため、費用を抑えた上で迅速に対応できると考えられた。

謝 辞

有毒植物発生地の情報及び一部試料の提供にご協力いただきました山梨県森林総合研究所の職員に深謝いたします。

参考文献

- 1) 高橋正幸ら: 食中毒の原因となる植物性自然毒の化学的分析法に関する研究—植物性自然毒の多成分一斉分析法の検討、道衛研所報、74、37-42(2024)
- 2) 吉富秀亮ら: LC-MS/MSによる植物性自然毒37成分の迅速一斉分析法の妥当性確認、福岡県保健環境研究所年報、50、89-93(2023)
- 3) 佐藤秀樹ら: LC-TOF-MSによる植物性自然毒の迅速一斉分析法の確立、食品衛生学雑誌、65、7-14(2024)
- 4) 山本敬男ら: 山梨県内で採取されたスイセンとその調理品に含まれるリコリン及びガランタミン測定法の検討と含有量の特徴、山梨衛環研年報、63、31-35(2019)
- 5) 日本、厚生労働省、「自然毒のリスクプロファイル」[https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/kenkou_iryou/shokuhin/syokuchu/poison/index.html] (最終検索日: 2025年9月10日)