

厚生労働科学研究費補助金
食品の安全確保推進研究事業

植物性自然毒による食中毒対策の
基盤整備のための研究

平成30年度～令和2年度 総合研究報告書

研究代表者

国立医薬品食品衛生研究所安全情報部

登田美桜

研究分担者

国立医薬品食品衛生研究所生化学部

近藤一成

岐阜県保健環境研究所 食品安全検査センター

南谷臣昭

令和3年(2021年)5月

目 次

I. 総合研究報告	
植物性自然毒による食中毒対策の基盤整備のための研究	1
研究代表者 登田美桜 (国立医薬品食品衛生研究所安全情報部)	
研究課題1：植物性自然毒の多成分同時分析法の開発	6
研究分担者 南谷臣昭 (岐阜県保健環境研究所 食品安全検査センター)	
研究課題2：食中毒の病因植物種の遺伝子解析による同定法の開発、食中毒データベースの改訂および簡易試験法としての有毒植物LAMP法の開発	41
研究分担者 近藤一成 (国立医薬品食品衛生研究所生化学部)	
研究課題3：植物性自然毒による食中毒事件に関する情報研究	49
研究分担者 登田美桜 (国立医薬品食品衛生研究所安全情報部)	
II. 研究成果の刊行に関する一覧表	70

厚生労働科学研究費補助金 食品の安全確保推進研究事業
平成30年度～平成2年度 総合研究報告書

植物性自然毒による食中毒対策の基盤整備のための研究

研究代表・分担者 登田美桜 国立医薬品食品衛生研究所安全情報部 室長
研究分担者 近藤一成 国立医薬品食品衛生研究所生化学部 部長
研究分担者 南谷臣昭 岐阜県保健環境研究所 食品安全検査センター
専門研究員

研究概要

厚生労働省に届出された食中毒事件において、全体の発生件数及び患者数に占める割合は数%と少ないが、重篤化しやすく死亡事例の主な原因とされるのが「自然毒」である。本厚生労働科学研究では、自然毒のうち「植物性自然毒」による食中毒に焦点をあて、その発生予防と、発生時の原因究明に役立つ研究成果を出すことを目的とした。

研究課題1及び2は、食中毒の発生時に植物性自然毒が原因として疑われた場合に、中毒残品に含まれる植物種/毒成分を迅速に同定するための分析法の開発に関する研究である。研究課題3は、国内でこれまでに発生した食中毒事件に関する詳細情報を調査し、今後の食中毒発生の予防策と食中毒調査の改善について検討した研究である。

研究課題1：植物性自然毒の多成分同時分析法の開発

わが国において発生する植物性自然毒の中毒の原因食品と病因物質を網羅的に同定するための標準的な化学分析法の確立を目的として、食中毒事件発生時の検査を担当する地方衛生研究所（地研）が広く利用でき、調理済み中毒残品にも適用可能な方法として、液体クロマトグラフ-タンデム質量分析計（LC-MS/MS）を用いた簡易・迅速な手法の開発を行った。

1) 有毒植物種及び毒成分の分析法開発

わが国において過去に発生した中毒事例から、発生頻度や症状の重篤度を考慮して、28植物群の44成分を分析対象化合物として選定し、LC-MS/MSによる新たな一斉試験法を開発した。添加試料を用いた試験室間の妥当性確認により複雑なマトリックスを含む調理済み食品にも適用可能な定量分析法であること

が示され、中毒事例や死亡事例が多い代表的な中毒原因植物 6 種（バイケイソウ、スイセン、チョウセンアサガオ、トリカブト、ジャガイモ、イヌサフラン）の実試料に対しても正確な定量値が得られた。試験法の定量限界は 26 成分で 0.1 $\mu\text{g/g}$ 、12 成分で 1 $\mu\text{g/g}$ を設定することが可能であり、他 6 成分についてもスクリーニングが可能であることが示されたことから、食中毒事件の発生時に原因究明にあたる地方衛生研究所が広く利用することが可能な試験法であると考えられた。

1) 有毒キノコ種及び毒成分の分析法開発

中毒事例や死亡事例が多い 5 キノコ群（ツキヨタケ、ドクツルタケ、カエンタケ、カキシメジ、ニセクロハツ）の 9 成分を対象として、逆相クロマトグラフィー (RPLC) による LC-MS/MS 分析条件を確立した。分離条件と SRM 条件を最適化することにより、試験溶液の定量限界を 10 ng/mL 以下に設定することが可能であった。有毒植物の前処理操作フローを一部改変して組み合わせることにより、簡易、迅速な試験法の開発が期待される。

研究課題 2：食中毒の病因植物種の遺伝子解析による同定法の開発、食中毒データベースの改訂および簡易試験法としての有毒植物 LAMP 法の開発

植物性自然毒においては、簡便な分析法での喫食前検査による中毒防止、および中毒発生時の原因特定が重要であり、原因植物種同定のための、微量食品残渣から分析可能な鑑別法が検査現場から強く求められている。そのようなことから、本研究課題では、次の研究を実施した。

1) 有毒植物リアルタイム PCR 法の外部機関による妥当性確認試験

平成 29 年度までに食中毒時における原因植物の迅速な特定を目的として、スイセン、バイケイソウ、イヌサフラン、チョウセンアサガオ、トリカブトに対して、特異性の高いリアルタイム PCR 法を開発したので、一年目は本検知法の妥当性確認を行った。外部機関として東京都健康安全研究センター、北海道立衛生研究所、大阪健康安全基盤研究所、兵庫県立健康科学研究所の 4 機関で実施した結果、良好な結果が得られたことから、本法は有毒植物同定に優れた方法として活用可能と考えられた。

2) 迅速試験法としての有毒植物 LAMP 法の開発

迅速試験法としての有毒植物 LAMP 法を開発を行った。各有毒植物を選択的に検出可能な LAMP プライマーの設計のため、データベースが充実している植物の DNA バーコーディング領域を標的として遺伝子解析を行った。設計した LAMP プライマ

一の選択性を確認するため、標的有毒植物を含む合計 20 種類の植物を対象に LAMP を実施し、非特異的な増幅を起こさないプライマーを得た。実際の食中毒を想定し、加熱・消化処理した植物試料を対象に LAMP を行い、60 分の反応時間で標的有毒植物のみ十分に増幅を示すことを確認した。本 LAMP 法により、試料の DNA 抽出から判定まで 2 時間以内に有毒植物の特定が可能となった。

3) 植物性自然毒データベースの整備

中毒事例が多いきのこ 2 種、植物 5 種について遺伝子配列に基づく特異的な検出同定法が確立されたので、試験法プロトコル、プライマー情報、関連する遺伝子配列情報、中毒統計情報をまとめて整理した自然毒データベース MushPlant を作製して公開した。さらに検出法を広く使用してもらうために改良を加え、自然毒データベース MushPlant の更新を目的とした作業を行った。

研究課題 3 : 植物性自然毒による食中毒事件に関する情報研究

有毒植物を原因とする食中毒の実態をより正確に把握し、今後の食中毒調査の改善と発生予防に資するものとして、次の研究を行った。対象は、厚生労働省監修（平成 10 年以前は厚生省監修）の「全国食中毒事件録（昭和 30 年～平成 11 年版）」及び厚生労働省ホームページの食中毒統計資料（最終確認：2021 年 3 月中旬）で公表された食中毒事件のうち、「有毒植物」を原因とする事件とした。

1) 食中毒の原因となりやすい有毒植物の傾向解析

近年の傾向として、スイセンを原因とする食中毒事件が急増し、イヌサフランやクワズイモといった園芸植物が原因として浮上していた。このうちイヌサフランは致命的になるほど重篤な食中毒を呈することが多く、実際に、ここ数年はほぼ毎年死亡例が報告されていることから、特に注意を向けるべき有毒植物である。

2) 食中毒の発生原因の解析

有毒植物による食中毒の大部分は、それらと外観が酷似している食べられる植物（山菜など）との誤認が主原因であった。その他に、見た目だけで「やわらかくて美味しそうだった」「食べられると思った」という安易な動機で採取、喫食している事件が複数あり、自然に生えている植物には有毒な成分を含むものが多くあることや、食べられるものであると確実に同定できない植物を摂取することのリスクの高さが、必ずしも理解されてはいないと推測された。たとえプロの料理人でも、有毒植物と誤認しやすい食材があることを認識していない、見た目が酷似している場合には有毒植物の可能性を疑うことがない可能性が示唆された。

3) 有毒植物毎の食中毒症状の傾向解析と食中毒調査における問題点の検討

スイセン、ジャガイモ、バイケイソウ類（バイケイソウ又はコバイケイソウ）、チヨウセンアサガオ、ハシリドコロ、トリカブト、ヨウシュヤマゴボウ、イヌサフランの摂取が原因となった食中毒事件の報告をもとに、植物毎の症状の傾向を解析した。さらに、有毒植物による食中毒の症状が多様であるために的確な症状の聞き取りができていない可能性が指摘されたことから、問題を解決するために「食中毒症状調査票（植物性自然毒）」を作成した。

4) 国及び全国自治体による消費者向けの情報提供の実態調査

食中毒の原因となる有毒植物について、国及び全国自治体による消費者向け情報の提供状況について調査した。国及び全国自治体の中には、知識普及や注意喚起のためのリーフレットやパンフレット等を作成して公開しているところも多く、掲載する植物及び内容が充実しているものも複数あった。しかし、自治体が異なると配布等がしにくいといった意見があり、所属に関係なく広く利用可能なパンフレット等が必要であると考えられた。

5) 食用植物と有毒植物の誤認に関する注意喚起のためのパンフレット及びポスター作成

有毒植物と食用植物との誤認について市民に注意喚起するためのパンフレットとポスターを作成し、ウェブサイト上に公開することで、誰でもダウンロードして自由に利用できるようにした。

6) 情報共有ネットワークの検討

植物性自然毒による食中毒が発生した場合の迅速な解明に必要とされる関係情報の集約と全国の地研や関連分野の専門家をつなぐネットワークのシステム構築について地方衛生研究所全国協議会衛生化学分野に働きかけ、実現に向けて取り組むこととなった。

以上の通り、本研究で開発した病因植物種/毒成分の同定のための化学分析及び遺伝子解析による分析法は、全国地研に設置されている分析機器で利用可能であり、今後、有毒植物が原因と疑われる食中毒が発生した際に利用することで迅速に原因究明を行えることが期待される。そのことは、効率的な食中毒事件処理だけでなく、的確な診断及び治療にもつながるという臨床的な意義もある。特に遺伝子解析での検査法は、ウェブ上に公開したことで全国地研がいつでも検査法の情報を容易に入手し、利用できる体制が構築された。

さらに、作成した「食中毒症状調査票（植物性自然毒）」を従来の食中毒調査に追加して利用することにより、有毒植物に特有の多彩な中毒症状を調査担当者が聞き逃すことなく正しく把握できるようになる。有毒植物の誤認について注意喚起する市民向けパンフレット及びポスターは、広く普及させることで今後の食中毒の発生予防の一助になると期待される。

研究協力者

坂田こずえ	国立医薬品食品衛生研究所
田口 千恵	国立医薬品食品衛生研究所
畝山智香子	国立医薬品食品衛生研究所
井上 依子	国立医薬品食品衛生研究所
與那覇ひとみ	国立医薬品食品衛生研究所
酒井英二	岐阜薬科大学薬草園研究室
谷口 賢	名古屋市衛生研究所
友澤潤子	滋賀県衛生科学センター
太田康介	山形県衛生研究所
高橋正幸	北海道立衛生研究所
菅野陽平	北海道立衛生研究所
鈴木智宏	北海道立衛生研究所
青塚圭二	北海道立衛生研究所
木村圭介	東京都健康安全研究センター
吉岡直樹	兵庫県立健康科学研究所
野村千枝	大阪健康安全基盤研究所
山口瑞香	大阪健康安全基盤研究所
竹内 浩	三重県保健環境研究所
吉村英基	三重県保健環境研究所
神藤正則	堺市衛生研究所

研究課題 1 「植物性自然毒の多成分同時分析法の開発」

A. 研究目的

自然毒食中毒は、発生頻度や患者数の割合は低いものの症状が重篤化しやすく死に至る事例もあるため、食品衛生上の重要な課題とされてきた。特に近年、有毒植物や有毒キノコに含まれる植物性自然毒については、誤食による死亡事例が毎年発生している。厚生労働省の食中毒統計によると、平成 27 年～令和元年の 5 年間の植物性自然毒による死者数は、イヌサフランで 9 名、スイセン、トリカブト、ニセクロハツで各 1 名であった。また、令和 2 年は、グロリオサの球根と野生のキノコ(種類不明)を原因として各 1 名ずつが亡くなっており、近年植物性自然毒による死者数は大きく増加している。このことから、中毒発生時の迅速な原因究明とその予防対策が地方衛生研究所(地研)や保健所等の地方自治体衛生部局にとって重要な課題となっている。

食中毒事件の発生時に、植物性自然毒が原因と疑われる場合は、地研が中毒残品(患者が喫食したものの残品)の化学的分析や遺伝子解析を行い、病因植物種や毒成分の同定を行っている。このため、地研の分析結果は、正確な食中毒統計に欠かすことができない上に、患者の治療や中毒の予防対策にとっても重要な科学的知見を提供するものであり、極めて重要である。

中毒事例の対応を通して開発された種々の試験法は、これまで地研のネットワークにより情報共有されてきた。その中で改良や分析精度の向上が図られてきたが、

未だ課題が残されている。化学的分析においては、毒成分の標準品を確保することが困難であるなどの理由により、同定可能な植物種が限られていることや、調理済み中毒残品の定量試験法が未整備であることなどが課題として挙げられる。

本研究では、植物性自然毒の中毒事例において病因植物種を網羅的に同定するために、地研が広く利用でき、調理済み中毒残品にも適用可能な標準的的化学分析手法の確立を目指した。分析機器は、農薬のポジティブリスト制度導入により地研において汎用されている液体クロマトグラフ-タンデム質量分析計(LC-MS/MS)を用いることとした。中毒時の迅速な原因究明を可能とするため、1 検体あたりの分析時間を 20 分に設定し、中毒量に達しているかどうかを判断することが可能な定量限界として全成分で 1 $\mu\text{g/g}$ が設定可能となるように試験法を開発した。

有毒植物

平成 30 年度は、わが国において過去に発生した中毒事例から、発生頻度や症状の重篤度を考慮して、分析対象化合物とすべき毒成分を選定し、LC-MS/MS 分析条件を検討した。

令和元年度は、調理済み食品中の毒成分を定量するための前処理法を検討し、添加回収試験により試験法の適用性を評価した。

令和 2 年度は、確立された試験法の試験室間妥当性評価と実際の植物試料への適用性を評価した。

有毒キノコ

令和 2 年度は、分析対象化合物とすべき毒成分の中から、市販品として、もしくは単離、化学合成により入手可能な成分かつ逆相クロマトグラフィー(RPLC)により分析可能な成分を選択して、LC-MS/MS 分析条件を検討した。

B. 研究方法

1. 有毒植物

対象とした 28 植物群、44 化合物を表 1 に示した。

1.1 分析対象化合物の選定

有毒植物の食中毒事例に関する学術文献(登田ら(2012)、(2014))、厚生労働省 Web ページ「自然毒によるリスクプロファイル」、及び有毒植物に関する図鑑を参考に、分析対象化合物の選定を行った。選定基準は、

- 1) わが国で過去に食中毒の事例がある。
- 2) 慢性毒性の可能性がある。
- 3) 食中毒の病因物質として今後詳細な調査が必要である。

の 3 つとした。このうち、市販の標準品として入手可能であった物質を分析対象化合物とした。また、LC-MS/MS により分析が困難であるドクゼリのシクトキシン、クワズイモのシュウ酸カルシウム、及びベニバナインゲンのレクチン類などのタンパク質は分析対象化合物から除外した。

1.2 試料

有毒植物の毒成分の添加回収試験は以下の 3 種類の食品を用いた。

- 1) ホウレンソウ(生)
- 2) ギョウザ(冷凍、A 社市販品)

- 3) カレー(自家調理品。原材料：H 社のカレールー(中辛) 20 g、牛肉 40 g、タマネギ 60 g、ニンジン 15 g、水 140 mL、牛乳 5 mL、油 2 g(ジャガイモ抜き))

実際の中毒原因植物として、以下の 6 種類の試料を用いた。

- 1) ミカワバイケイソウの葉
- 2) ラップスイセンの葉
- 3) キダチチョウセンアサガオの根茎
- 4) トリカブト(種は不明)の葉
- 5) ジャガイモの塊茎
- 6) イヌサフランの葉

1.3 試薬・試液

分析対象とした植物毒 44 成分の標準品は市販品を用いた。混合標準溶液は A 群と B 群の 2 つに分けて調製し、A 群に属する毒成分はメタノールにより溶解した後、混合してメタノールにより希釈し、5 $\mu\text{g/mL}$ の混合標準溶液を調製した。B 群に属する毒成分は同様にアセトニトリルにより溶解した後、混合してアセトニトリルにより希釈して 10 $\mu\text{g/mL}$ の混合標準溶液を調製した。

内部標準として、安定同位体標識化合物のレセルピン- d9 (Sigma-Aldrich 社製) 及びジゴキシン- d3 (Tront Research Chemicals 社製) 2 種類を用いた。それぞれメタノールに溶解し、メタノールにより希釈して 10 $\mu\text{g/mL}$ の溶液を調製した。

精製に用いたカートリッジは Agilent Technologies 社製の Captiva EMR-Lipid (3 mL、300 mg) を使用した。

10%(w/v)トリクロロ酢酸(TCA)溶液はナカライテスク(株)製の特級試薬を用いて調製した。その他試験溶液の調製及び

LC-MS/MS 測定に用いた有機溶媒は、市販の残留農薬試験用又は LC-MS 用を用いた。

1.4 装置

添加回収試験に用いた食品試料は Retsch 社製グランドミックス GM200 を用いて粉碎均質化した。有毒植物の実際の試料の粉碎は、(株)アイスティサイエンス製 SC-4010-101 により製造したスノー状ドライアイスを加えてタイガー魔法瓶 (株) 製のフードプロセッサにより粉碎均質化した。ホモジナイザーは (株) マイクロテック・ニチオン製のヒスコトロン NS-50 などのシャフト型ホモジナイザーを用いた。遠心分離機は久保田商事 (株) 製の 6200 などの高速遠心機を用いた。

LC-MS/MS 装置は以下の高速液体クロマトグラフトリプル四重極タンデム質量分析計を用いた。

- 1) 1200 Series (Agilent Technologies 社製) -4000QTRAP (Sciex 社製)
- 2) Nexera XR ((株) 島津製作所製) - QTRAP4500 (Sciex 社製)
- 3) ExionLC AC (Sciex 社製) - QTRAP4500 (Sciex 社製)

1.5 LC-MS/MS 分析条件

液体クロマトグラフの測定条件を図 1 に示した。分析カラムは、Raptor C18 (2.1 mm ϕ \times 150 mm, 2.7 μ m) (RESTEK 社製) を用いた。移動相は 0.1%ギ酸含有 5 mM ギ酸アンモニウムとアセトニトリルの 2 液を用いた。

質量分析計の測定条件を表 2-1、表 2-2 及び表 3 に示した。イオン化は、エレクトロスプレーイオン化 (ESI) 法で行った。

SRM 条件の最適化は標準原液を希釈してシリンジポンプによるインフュージョンにより質量分析計に導入して行った。標準原液をメタノール、アセトニトリル、0.1%ギ酸含有メタノール又は 5 mM ギ酸アンモニウム含有メタノールの各種溶媒で適宜希釈した。また、有毒植物の実際の試料を用いた分析において、定量を妨害する夾雑ピークの影響を受けない SRM トランジションを選択した (表 2-1)。内部標準についてはインフュージョンによる最適化の結果、最も強度が高かったトランジションを 1 つ選択した (表 2-2)。測定には各成分の予想される溶出時間帯のみを測定する Scheduled MRM を用いた。

1.6 試験溶液の調製

有毒植物の試験溶液調製法の概略を、Scheme 1 に示した。

1.6.1 抽出

試料 5.0 g を 50 mL のポリプロピレン製遠心沈殿管に量り採り、ジゴキシン-d3 溶液 (10 μ g/mL) を 0.5 mL 添加して混合し、30 分間放置した。添加回収試験においても同様に、試料中の濃度が 0.1 及び 1 μ g/g となるように試料にあらかじめ標準溶液を添加し、30 分間放置したものを試料とした。

試料に 10%(w/v)TCA 溶液 10 mL 及びメタノール 10 mL を加えて 2 分間ホモジナイズした後、常温、2,000 \times g で 5 分間遠心分離し、上清を採り、さらにメタノールを加えて正確に 50 mL とした。

1.6.2 精製

抽出液を 2 mL 採り、ガラス製の遠心沈殿管 (10 mL 容) にセットした Captiva

EMR-Lipid カートリッジに負荷し、常温、 $1,000\times g$ で 1 分間遠心分離し、溶出液を捨てた。さらに抽出液 1 mL を負荷し、同様に遠心分離して得られた溶出液を採り、水を加えて 10 mL に定容したものを試験溶液とした (0.01 g sample/mL)。バイアルは不活性処理済みの透明ガラスバイアルを用いた。

1.7 定量

ジゴキシン- d_3 が 10 ng/mL となるように加えた上で、 $0.2\%(w/v)$ TCA 含有 $8\%(v/v)$ メタノール溶液で 0.1 、 0.2 、 0.5 、 1 、 2 、 5 、 10 、 20 、 50 ng/mL の標準溶液を調製し、それぞれ $5\text{ }\mu\text{L}$ を LC-MS/MS に注入した。また、別途 $0.2\%(w/v)$ TCA 含有 $8\%(v/v)$ メタノール溶液で調製したレセルピン- d_9 の 10 ng/mL 混合標準溶液を $5\text{ }\mu\text{L}$ 共注入した。(共注入機能がない液体クロマトグラフの場合は、試験溶液の調製において水を加えて 10 mL に定容する前にあらかじめ、 $0.2\%(w/v)$ TCA 含有 $8\%(v/v)$ メタノール溶液で調製したレセルピン- d_9 の 100 ng/mL 溶液を 1 mL 加えた。また、標準溶液の調製においても、ジゴキシン- d_3 と同時にレセルピン- d_9 を 10 ng/mL となるように加えた。) 表 2-1 で内部標準が示されている 8 成分は、内部標準との面積比を求めて検量線を作成し、それ以外の成分は絶対検量線を作成して濃度を求めた。いずれの場合も標準溶液の濃度 x に対して、 $1/x$ の重み付けを行った。

1.8 試験室間妥当性評価

ハウレンソウ、ギョウザ及びカレーの 3 種類の食品に、植物毒 44 成分を 2 濃度 ($0.1\text{ }\mu\text{g/g}$ 及び $1\text{ }\mu\text{g/g}$) で添加した試料を

用いて、3 機関において、それぞれ添加試料を 1 日 1 回 (2 併行)、2 日間分析する枝分かれ実験計画により、真度、併行精度及び室間精度の 3 つのパラメーターを求めた (Scheme 2)。選択性の評価は、3 種類の食品の無添加試料 (ブランク試料) を用いて、妨害ピークの有無を求めた。

以上のパラメーターを、「食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドライン」(厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知「食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドラインの一部改正について」(食安発 1224 第 1 号、平成 22 年 12 月 24 日、以下「ガイドライン」) に準じて評価した。ガイドラインの「基準値」は、中毒量に達しているかを判断するのに必要となる食品中の毒成分の最低濃度として $1\text{ }\mu\text{g/g}$ を仮定した。室間精度の目標値は、ガイドラインにおける「室内精度」と同じ値を用いた。また、定量限界濃度における、真度、併行精度、室間精度がガイドラインの目標値を満たしていることを確認した。

1.9 実際の有毒植物の定量分析

B.1.6.1 抽出に従い、6 種類の有毒植物の抽出液を調製した。あらかじめ絶対検量線法により求められた抽出液中の毒成分の濃度 ($x\text{ }\mu\text{g/mL}$) をもとに、抽出液中濃度が 0 、 $0.5x$ 、 x 、 $1.5x$ 、 $2x$ 、 $2.5x$ 、 $3x$ と 7 濃度になるように毒成分を添加した抽出液を 5 mL ずつ調製した後、**B.1.6.2 精製**に従いそれぞれの標準添加抽出溶液を精製し、LC-MS/MS により分析した。毒成分の添加量に対するピーク面積をプロットしたデータを最小二乗法により直線

回帰し、その x 切片から抽出液中の毒成分の濃度を求めた。また、 x 切片の標準偏差に係数として 2.571 を乗じることにより、95%信頼限界を求めた。絶対検量線から得られた定量値と標準添加法により得られた定量値を比較することにより、試験法の性能を評価した。

2. 有毒キノコ

中毒事例や死亡事例が多い 4 キノコ群（ツキヨタケ、ドクツルタケ、カエントケ、カキシメジ）に含まれる低極性のキノコ毒 8 成分とニセクロハツの指標成分であるシクロプロピルアセチル-(*R*)-カルニチンの 9 成分を対象とした（表 4）。

2.1 試料

定量限界濃度を推定するために、シイタケ（生、市販品（菌床栽培品））を用いた。

2.2 試薬・試液

分析対象としたキノコ毒（又は指標成分）9 成分（表 4）のうち、 α -アマニチン、 β -アマニチン、 γ -アマニチン、ファロイジンの 4 成分の標準品は、市販品をメタノールに溶解し 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の標準溶液を調製した。イルジン S は林純薬工業（株）製の 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ メタノール溶液を用いた。カエントケのサトラトキシシン H 及びサトラトキシシン H 12', 13'-ジアセテートは Agilent technologies 社の滝埜博士から提供された 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ のアセトニトリル溶液を用いた。カキシメジのウスタル酸は、日本大学の早川教授から提供された合成品（Hayakawa et al. (2008)）から調製した 33 $\mu\text{g}/\text{mL}$ のメタノール溶液を用いた。ニセクロハツの指標成分であるシクロプロ

ピルアセチル-(*R*)-カルニチンは、松浦らの報告（Matsuura et al. (2016)）に基づき、シクロプロピル酢酸と L-カルニチン（いずれも東京化成工業（株）製）から脱水縮合反応により合成したものを分取 HPLC により精製し、200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ のメタノール溶液として用いた。

安定同位体標識化合物の内部標準として、プロピオニル-(*R*)-カルニチン-d3 塩酸塩、ブチリル-(*R*)-カルニチン-d3 塩酸塩及びイソバレリル-(*R*)-カルニチン-d9 塩酸塩（いずれも Cambridge Isotope Laboratories 社製）を用いた。その他、バージニアマイシン B（Santa Cruz Biotechnology 社製）、2, 2'-ビフェニルジカルボン酸（東京化成工業（株）製）、ジアセトキシシルペノール（富士フィルム和光純薬（株）製）を用いた。ジアセトキシシルペノールはアセトニトリルに、その他の化合物はメタノールに溶解して 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の標準原液を調製した。

2.3 装置

LC-MS/MS 装置は以下の高速液体クロマトグラフトリプル四重極タンデム質量分析計を用いた。

1) ACQUITY UPLC System（Waters 社製）-API4000（Sciex 社製）

2.4 LC-MS/MS 分析条件

液体クロマトグラフィーの測定条件を図 2 に示した。分析カラムは、XBridge Shield RP18 (2.1 mm ϕ \times 150 mm, 3.5 μm)（Waters 社製）を用いた。移動相は 0.05%ギ酸とメタノールの 2 液を用いた。

質量分析計の測定条件を表 3、表 5-1 及び表 5-2 に示した。イオン化は、エレクト

ロスプレーイオン化 (ESI) 法で行った。SRM 条件の最適化は標準原液を希釈してシリンジポンプによるインフュージョンにより質量分析計に導入して行った。標準原液をメタノール又はメタノール・水 (1:1) 混液で適宜希釈した。 α -アマニチン、 β -アマニチン、 γ -アマニチン、ファロイジン及びウスタル酸の 5 成分はポジティブモード (ESI(+)) とネガティブモード (ESI(-)) のいずれにおいてもイオン化することが可能であったため、クロマトグラフィーで分離した上で S/N を求めて両極性のイオン化条件を比較した。検討結果をもとに、各毒成分で定量用と確認用の 2 つのトランジションを設定した (表 5-1)。また、内部標準についてはインフュージョンの結果と文献の情報を参考に、内部標準として十分な強度を持つトランジションを 1 つ選択した (表 5-2)。

最適化された定量トランジションについて、溶媒標準溶液、シイタケの添加回収試験の溶液及びシイタケのマトリックス添加標準溶液のそれぞれについて、試験溶液中の対象成分が 10 ng/mL に相当する濃度での S/N を求めた (シイタケのマトリックス濃度は 0.02 g sample/mL)。

C. D. 研究結果及び考察

1. 有毒植物

1.1 分析対象化合物の選定

分析対象とした有毒植物と毒成分を表 1 に示した。過去の食中毒事例の発生件数が多い、もしくは重篤な症状を示す有毒植物 (スイセン、バイケイソウ類、トリカブト類) は、病因物質となる化合物を可能な

限り多く選定することとした。慢性毒性の可能性のある物質として、コンフリーやフキに含まれるピロリジジナルカロイドのエキミジンやセンキルキン、ウマノスズクサに含まれるアリストロキア酸類を選定した。食中毒の病因物質として今後詳細な調査が必要である成分として、アジサイやアマチャに含まれるフェブリフジンを選定した。

表 1 に示したイヌサフラン、ジャガイモ、スイセン類、チョウセンアサガオ類、トリカブト類、バイケイソウ類及びヨウシュヤマゴボウの 7 つの植物群で、登田らの報告 (2012) における平成元年～平成 22 年までの有毒植物による食中毒発生件数の 9 割以上をカバーしており、LC-MS/MS により毒成分の分析が困難であるために分析対象から除外したドクゼリ、クワズイモ及びベニバナインゲンといった植物群を除く多くの食中毒事例に適用可能であると考えられた。

1.2 LC-MS/MS 分析条件の最適化

1.2.1 分離条件

移動相に 0.1%ギ酸含有 5 mM ギ酸アンモニウムとアセトニトリルの 2 液を用いて、市販の 3 種のコアシェル型 RPLC 分析カラム (Ascentis Express C18 (2.1 mm ϕ × 150 mm, 2.7 μ m) (SUPELCO 社製)、Raptor C18 (2.1 mm ϕ × 150 mm, 2.7 μ m) (RESTEK 社製) 及び CAPCELL CORE AQ (2.1 mm ϕ × 150 mm, 2.7 μ m) ((株) 大阪ソーダ製)) のクロマトグラムを、以下 4 つの分離性能の指標により比較した。

1) 保持時間の再現性

2) ピーク高さ

3) 半値幅

4) テーリング係数

検討した3種のコアシェルカラムは、いずれも良好な保持時間の再現性を示した。

CAPCELL CORE AQは、ギンコトキシンのテーリング係数が5.7と他の2カラムが2以下であったのと比べて著しく大きな値となった。Ascentis Express C18とRaptor C18を比較したところ、Raptor C18は高極性成分であるアナバシンや、低～中極性成分の α -ソラニン、コンバラトキシン、アコニチン、メサコニチンといった広い極性範囲の成分で、半値幅がAscentis Express C18より0.5 sec以上小さく分離性能が優れていた。よって、分析カラムとしてRaptor C18を選択することとした(図1)。

今回のグラジエント条件は、B液のアセトニトリルを11分で2%から90%にする条件である(図1)。実際の有毒植物に含まれる毒成分の異性体や類縁体をはじめとする二次代謝物の分離条件としては十分とは言えない。今回検討しなかった有毒植物において、定量の妨害となる異性体や類縁体が検出される可能性もある。この点は一斉分析と迅速性を優先した結果であり、本試験法の限界であると考えられ、グラジエント条件を緩やかにして再分析することが必要となる。

1.2.2 イオン化条件及びSRM トランジション条件

植物毒44成分のうち、ESIのポジティブモード(ESI(+))は41成分、ネガティブモード(ESI(-))は、アニサチン、ツチ

ン及びコンバラトキシンの3成分とした。

シアン配糖体の3成分のうち、アミグダリンとプルナシンの2成分はESI(+のアンモニウム付加イオン([M+NH₄]⁺)とESI(-)のギ酸付加イオン([M+HCOO]⁻)が同程度の強度となったが、リナマリンはESI(-)で[M+HCOO]⁻は生成せず、ESI(+で[M+NH₄]⁺が生成した。シアン配糖体として同一モードで測定するため3成分ともESI(+で[M+NH₄]⁺として検出することとした。

この他ESI(+では、シアン配糖体に加え、ストロファンチジンやジギトキシンなどのステロイドやステロイド配糖体、クルビタシンBやフィトラッカサポニンEなどのトリテルペンやトリテルペン配糖体、さらにはアリストロキア酸類及びグラヤノトキシンIを加えた15成分で[M+NH₄]⁺をプリカーサーイオンとし、アルカロイド26成分は、プロトン付加イオン[M+H]⁺をプリカーサーイオンとした(表2-1)。

ESI(-)では、アニサチンはプロトン脱離イオン([M-H]⁻)、ツチンとコンバラトキシンは[M+HCOO]⁻がプリカーサーイオンとして適していた(表2-1)。

脱溶媒ガス温度を300、400、500、600℃として、ジギトキシンの[M+NH₄]⁺の生成強度を比較したところ、300℃で最も強度が高く、600℃ではイオン強度が0となった(図3)。これは、ステロイド配糖体のインソース分解と考えられ、オレアンドリンやシマリンといった他のステロイド配糖体でも同様の現象が起こり得る。よって、脱溶媒ガスの温度を300℃とした(表3)。

SRM は、強度が最も高かったトランジションを定量用として、2 番目に高かったトランジションを確認用として設定した。

ニコチンとアナバシンは分子式が同一で、生成するプロダクトイオンの多くが共通していた。両者のプロダクトイオンスペクトルを比較して、一方のみに高い強度で存在するプロダクトイオンを選択した(表 2-1)。

また、有毒植物の実試料の分析結果により、ジェルビンの確認トランジションを 426.2 > 67.1 から 426.2 > 84.0 に、ヒパコニチンの定量トランジションを 616.3 > 556.1 から 616.3 > 338.1、確認トランジションを 616.3 > 524.2 から 616.3 > 584.4 にそれぞれ変更した。元のトランジションにおいては、夾雑ピークが確認され、正確な定量と定性に支障があったためである。ジェルビンとヒパコニチンは標準品と夾雑ピークのプロダクトイオンスペクトルを比較することにより、夾雑ピークにはなく標準品にはあるプロダクトイオンを選択して測定イオンを設定した(表 2-1)。

測定には各成分の予想される溶出時間帯のみをモニターする Scheduled MRM を用いることとした。

1.3 前処理操作フローの検討

1.3.1 精製カートリッジの検討

脂質やタンパク質といった試料マトリックスを除去する操作として、抽出時に TCA による除タンパク、精製時に脂質除去機能を持つカートリッジによる処理の工程を入れることにした。精製に使用する脂質除去機能付きカートリッジは、

Agilent 社製の Captiva ND Lipids 3 mL カートリッジ(以下、ND)と Captiva EMR Lipids 3 mL カートリッジ(以下、EMR)の 2 種類のカートリッジを検討した。

抽出時の除タンパクに用いる有機溶媒の濃度と TCA 濃度によって、50 mL に定容後の抽出溶液の組成、すなわち精製カートリッジの負荷溶媒の組成が決まるため、抽出時の溶媒組成が精製カートリッジにおける毒成分の溶出挙動に影響を与えることになる。そこで、まずは ND と EMR の 2 種の脂質除去機能付き精製カートリッジの溶出条件について、メタノール濃度と TCA 濃度を最適化した上で、抽出時のメタノールと TCA 濃度を決定した。

負荷溶媒のメタノール濃度と TCA 濃度を最適化するため、有毒植物の毒成分 200 ng を以下の組成の溶媒に溶解させ、カートリッジに負荷し、常温、1,000×g、1 分間遠心分離して得られた溶出液に含まれる毒成分の回収率を求めた。

- 1) メタノール濃度 80%(v/v)で TCA 含有濃度を 0、0.1、2%(w/v)とした 3 組成。
- 2) TCA 濃度 2%(w/v)でメタノール濃度を 50、60、70、80%(v/v)とした 4 組成。

80%(v/v)メタノール濃度で TCA 濃度を変えたところ、ND と EMR のいずれのカートリッジも TCA 濃度を上げるほど毒成分の回収率が向上する結果となったため、TCA 濃度は 2%(w/v)とした。

2%(w/v)TCA 濃度でメタノール濃度を 50-80%(v/v)まで変化させたところ、ND と EMR のいずれのカートリッジにおいても、高極性のニコチンはメタノール濃度

を上げると回収率が低下する傾向が見られたが、低極性の多くの成分の回収率が向上したため、メタノール濃度は 80%(v/v)とした。

以上により、精製カートリッジの最適な溶媒組成として「2%(w/v)TCA 含有 80%(v/v)メタノール」を採用することとした。この溶媒組成で ND と EMR の比較したところ、ニコチンとアナバシンの回収率に差が見られ、ND はニコチン 17%、アナバシン 55%であったのに対し、EMR はニコチン 59%、アナバシン 91%と良好であったことから、精製カートリッジとして EMR を採用することとした。

この結果、抽出時に 10%(w/v)TCA 溶液 10 mL とメタノール 10 mL を加えてホモジナイズし、さらにメタノールを加えて 50 mL に定容することで、抽出溶液の溶媒組成が 2%(w/v)TCA 含有 80%(v/v)メタノール溶液となるようにして、EMR による精製を行うこととした (Scheme 1)。

1.3.2 精製カートリッジへの毒成分の吸着

今回採用した精製カートリッジの EMR は、使用する溶媒でのコンディショニングを必要としない。そのため、精製カートリッジでありながらメンブレンフィルターによるろ過のような簡易な操作で使用できるというメリットがある。しかし、メンブレンフィルターと同様に、負荷した溶媒に含まれる成分が精製カートリッジに吸着することがある。

有毒植物の毒成分で精製カートリッジへの吸着の影響を確認するために、2%(w/v)TCA 含有 80%(v/v)メタノール溶

液で調製した溶媒標準溶液を、EMR に 1 mL ずつ負荷して合計 4 mL まで分画したところ、最初の 1 mL で多くの成分で吸着による回収率の低下が起こり、高極性のニコチンやアナバシンは 2 mL まで回収率が低かったため、精製の操作フローは、「抽出液を 2 mL 負荷して抽出液を捨てた後、抽出液を 1 mL を負荷して抽出液を採ることとした (Scheme 1)。

1.3.3 試験溶液の組成とバイアル

0.2%(w/v)TCA 含有 8%(v/v)メタノール溶液で調製した有毒植物の毒成分の標準溶液を、ポリプロピレン製バイアルに入れて測定を行ったところ、クロマトグラムのピーク強度は、保持時間が大きい低極性成分ほど低下した。食品のマトリックスの存在化ではピーク強度の低下はみられなかったことから、低極性成分がポリプロピレン製容器に吸着したことが原因と考えられた。そのため、Scheme 1 で試験溶液を 10 mL に定容する際にガラス製の遠心沈殿管 (又はメスフラスコ) を使用し、試験溶液を入れるバイアルもガラス製のものに変更したところ、溶媒標準のピーク強度の低下は解消し、高極性成分の回収率にも問題は生じなかった。

1.4 内部標準物質の選択

試料マトリックスの測定への影響の評価において、ESI(+)のニコチン、アナバシン、ジオスシンの 3 成分は、正のマトリックス効果が見られたため、ESI(+)で同様に正のマトリックス効果が見られたレセルピン-d9 を内部標準として使用した。ESI(-)のアニサチン、ツチン、コンバラトキシンの 3 成分もレセルピン-d9 を内部標

準とした。レセルピン-d9 は測定前の試験溶液の調製の最終段階で定容の前に添加する(又は液体クロマトグラフで共注入する)ことによりシリンジスパイクとして用いた。ジゴキシンとジギトキシンの 2 成分は試料前処理の過程で損失することが分かったため、ジゴキシン-d3 をサロゲートとして試料前処理を行う前に加えた。その他の 36 成分は内部標準補正を行わなかった。

レセルピン-d9 とジゴキシン-d3 を内部標準として用いた 8 成分は、補正を行うことにより、多くの場合で真度の改善が見られた。特に、ジゴキシン-d3 で補正したジゴキシンとジギトキシンは、内部標準補正を行わない場合、真度が 70%を下回る場合が多かったが、補正により真度が上昇した。

1.5 検量線

検量線の相関係数 (R) は、対象とした植物毒 44 成分のうちアミグダリン、ツチン、プルナシン及びジオスシンの 4 成分を除く 40 成分で 0.995 以上となった。上記 4 成分は、ESI 法による測定感度が不良で検出下限も大きく、測定のパラッキが大きかった (表 6)。

1.6 試験室間妥当性評価

1.6.1 選択性

ハウレンソウとカレーで、定量と確認の両トランジションでニコチンの保持時間にピークが検出された。定量トランジションと確認トランジションの比が標準と一致していたことから、ニコチンの可能性があったが、夾雑ピークとして選択性の評価を行った。

参加した 3 機関とも本ピークが検出されたが、試料中 0.1 $\mu\text{g/g}$ に相当する 1 ng/mL の標準溶液のピーク面積に対する比は、ハウレンソウで 0.18~0.74、カレーで 0.47~0.84 と 1 を下回った (表 7)。定量限界を 0.1 $\mu\text{g/g}$ 、基準値 (中毒量に達しているかを判断するのに必要となる食品中の最低濃度) を 1 $\mu\text{g/g}$ とすると、ガイドラインの選択性の目標値は「基準値濃度に相当するピークの 1/10」となり、いずれの食品でも選択性の目標値を満たしていた。その他 43 成分はいずれの食品においても定量を妨害するピークはなかった。

1.6.2 真度及び精度

真度及び精度の結果を表 8-1~表 8-3 に示した。Scheme 2 の実験計画で求められる室間精度は、併行及び日間の変動が加味されたものとなっている。3 機関と通常の試験室間共同試験よりも機関数が少ないため室間精度としては信頼性が劣るが、一般に室間精度は単一試験室の室内精度より大きくなることが予想される。よって本実験計画で求めた室間精度をガイドラインの室内精度の目標値を満足していれば、試験法は妥当であると判断できる。

中毒量に達しているかを判断するのに必要となる食品中の最低濃度として仮定した 1 $\mu\text{g/g}$ の添加濃度における評価の結果、真度、併行精度、室間精度がガイドラインの目標値を満たした成分は対象とした植物毒 44 成分中、ハウレンソウで 38 成分、ギョウザで 38 成分、カレーで 39 成分と良好な結果が得られた (表 8-1~表 8-4)。また、添加濃度 0.1 $\mu\text{g/g}$ 及び 1 $\mu\text{g/g}$

の両方で目標値を満たさなかった成分数は、ハウレンソウとカレーが4成分、ギョウザが3成分で、ニコチン、ツチン、プルナシン、ジゴキシン、ジギトキシン、ジオスシンの6成分であった(表8-1~表8-4)。

1.6.3 定量限界の推定と評価

試験室間妥当性評価の結果、真度、併行精度、室間精度が3種類全ての食品でガイドラインの目標値を満たす濃度を本試験法の定量限界として設定することとした(表9)。対象とした植物毒44成分のうち、26成分が0.1 µg/g、12成分が1 µg/gに定量限界を設定することが可能であったが、上述した添加濃度0.1 µg/g及び1 µg/gのいずれにおいてもガイドラインの目標値を満たさなかった6成分については、定量限界を設定できなかった。これらの成分は、1 µg/gにおける真度が70%を下回るものはなかったことから、スクリーニング試験法としては十分な信頼性があるものと考えられた。

1.7 実際の有毒植物の定量分析結果

中毒の原因となる実際の有毒植物には、対象とする毒成分の異性体や類縁体が含まれているなど、植物固有の二次代謝物が定量を妨害する可能性が考えられる。そこで、実際の有毒植物を用いて本試験法の適用性を評価した。

有毒植物に含まれる毒成分の真の値を標準添加法により誤差範囲と併せて推定し、絶対検量線による定量結果との比較を試みた。しかし標準品は高価であり、植物中の濃度に相当する量を確保することはできなかったため、**B.1.6.1 抽出**で得

られた抽出液に対して標準添加を行った。代表的な中毒原因植物6試料の結果を表10に示した。

絶対検量線による定量値は、ミカワバイケイソウのプロトベラトリンAを除き、標準添加法による定量値の95%信頼限界の範囲内であり良好な結果が得られた。プロトベラトリンAの定量トランジションにおける絶対検量線による定量値は、標準添加法の1.36倍となり正のマトリックス効果が見られた。

検討した6種類の植物は中毒事例や死亡事例が多い代表的な植物であり、これらの実試料で良好な結果が得られたことから、本試験法は多くの中毒事例に対して適用可能であることが示された。

2 有毒キノコ

2.1 分析対象化合物の選定

有毒キノコについては、テングタケ属のキノコに含まれるイボテン酸やムシモールなどのアミノ酸やムスカリンなどの四級アミンといった高極性の毒成分を、中毒事例の多いツキヨタケのイルジンSや致死性の高いドクツルタケのアマニタトキシンなどの低極性の毒成分と同時に親水性相互作用クロマトグラフィー(HILIC)-MS/MSにより分析する方法を検討したが、夾雑成分の影響のため、正確な同定、定量は困難であった。

また、中毒発生件数が多い毒キノコであるカキシメジのウスタル酸類やドクササコのアクロメリン酸類は現在のところ標準品が市販されていない。また、致死性のキノコであるニセクロハツの毒成分の2-

シクロプロペンカルボン酸は不安定化合物であるためそもそも標準品としての供給が難しい化合物である。その他、キノコは毒成分が不明なものも多く、標準品の確保に課題があった。

こうした状況を踏まえ、過去の食中毒事例の発生件数や症状の重篤度から、対象とすべきキノコの毒成分や指標成分を化学的な性質により分類した上で、市販品として、もしくは単離、化学合成により入手可能な成分かつ RPLC により分析可能な成分として、4キノコ群(ツキヨタケ、ドクツルタケ、カエンタケ、カキシメジ)に含まれる低極性のキノコ毒 8 成分とニセクロハツの指標成分であるシクロプロピルアセチル-(*R*)-カルニチンの 9 成分を分析対象化合物とした(表 4)。

2.2 LC-MS/MS 分析条件の最適化

2.2.1 分離条件の最適化

β -アマニチンは α -アマニチンの分子内のアスパラギンがアスパラギン酸となった構造を持ち、モノアイソトピック質量は α -アマニチンよりも 0.984 大きい(表 5-1)。その結果、トリプル四重極における β -アマニチンの SRM 測定においては、 α -アマニチンの第一同位体に由来するピークが出現し、両者をクロマトグラフィーにより分離しなければ、 β -アマニチンの正確な定量ができない。通常逆相カラムで酸性条件において分析した場合、 α 及び β -アマニチンは分離が困難である。そこで、野村らの報告(Nomura et al. (2012))に基づき、酸性条件下での両者の分離に優れた Waters 社製の Shield カラムを採用した。

α 及び β -アマニチンの分離度はギ酸の濃度を下げるほど大きくなったが、ウスタル酸のピークの半値幅とテーリング係数はともに大きくなり、ピーク形状が悪化した(図 4)。正確な定量に必要な分離度は 1.5 以上とされることから、ギ酸濃度を 0.05%(v/v)として分析を行うこととした。

2.2.2 試験溶液の溶媒組成の最適化

クロマトグラムの後半の成分であるファロイジン、ウスタル酸、サトラトキシシン H 及びサトラトキシシン H 12', 13'-ジアセテートの 4 成分は、不活性処理済みのガラスバイアルを用いた場合でも、試験溶液のメタノール濃度が低いほど、ピーク面積が低下する傾向が見られた(図 5-1)。特に保持時間が最大のサトラトキシシン H 12', 13'-ジアセテートはその傾向が顕著であった。メタノール濃度に対するサトラトキシシン H 12', 13'-ジアセテートの定量トランジションのピーク面積を図 5-2 に示した。試験溶液中のメタノール濃度を 60%(v/v)以上にすることでピーク面積が飽和したため、試験溶液のメタノール濃度は 60%(v/v)とした。

試験溶液中に TCA がいない場合、極性の高いシクロプロピルアセチル-(*R*)-カルニチンはカラムに保持せず、ピークが 2 つに分かれた。TCA を加えることにより、シクロプロピルアセチル-(*R*)-カルニチンのピークは 1 つになり、ピーク形状も良好となった。一方、TCA を加えることで、ピーク強度が低下する成分が見られた。S/N が最小であった β -アマニチンにおいては、TCA の添加によりピーク強度が約 1/2 に低下したが、TCA 濃度を 0.2%から

0.4%(w/v)に上げててもピーク強度はほとんど変わらなかった (図 6)。

TCA は前処理操作フローにおいて抽出の際の除タンパクの目的で使用される。精製後の試験溶液を 10 mL に定容した場合は TCA 濃度が 0.2%(w/v)、5 mL に定容した場合は 0.4%(w/v)となるが、以上の知見から、定容量を 5 mL にして試験溶液を濃縮しても問題ないと考えられた。

2.2.3 イオン化及び SRM 条件の最適化

α 、 β 、 γ -アマニチン、ファロイジン及びウスタル酸の 5 成分は、ESI(+)及び(-)の両極性でイオン化することが可能であったため、両極性で最適化された SRM トランジションのクロマトグラムの S/N を比較した (表 11)。いずれの成分も、ESI(-)の方が S/N は大きくなったため、定量は ESI(-)で行うこととした。

最適化された有毒キノコの成分の定量トランジションについて、溶媒標準溶液、シイタケの添加回収試験の溶液及びシイタケのマトリックス添加標準溶液のそれぞれの S/N を求めた(シイタケのマトリックス濃度は 0.02 g sample/mL)。溶媒標準、添加回収及びマトリックス添加標準のいずれの試験溶液についても、10 ng/mL 相当濃度に換算した S/N が 10 以上となることが確認された (表 11)。

2.3 内部標準の選択

内部標準は主に既報で使用されているものを用いた (表 5-2)。

α 、 β 、 γ -アマニチン及びファロイジンの内部標準は野村ら (Nomura et al. (2012)) が使用したバージニアマイシン B を、ウスタル酸の内部標準は吉岡ら (Yoshioka

et al.(2020)) が使用した 2, 2'-ビフェニルカルボン酸を、サトラトキシシン H 及びサトラトキシシン H 12', 13'-ジアセテートの内部標準は太田ら (Ohta et al.(2021)) が使用したジアセトキシシスシルペノールを選択した。

シクロプロピルアセチル-(R)-カルニチンの内部標準として、プロピオニル-(R)-カルニチン-d3、ブチリル-(R)-カルニチン-d3 及びイソバレリル-(R)-カルニチン-d9 の 3 種類の内部標準物質を検討した。プロピオニル-(R)-カルニチン-d3 は TCA を加えても今回採用した分離条件 (図 2) では保持されず、ピークが 2 つに分かれた。ブチリル-(R)-カルニチン-d3 は試料マトリックスの存在下で保持時間が安定しない傾向が見られた。一方、イソバレリル-(R)-カルニチン-d9 は保持が良好で、保持時間が試料マトリックスに影響されることもなかったため、内部標準として採用した。

2.4 最適化した LC-MS/MS 測定条件の適用について

以上により最適化されたキノコ毒 9 成分及び内部標準 4 成分の LC-MS/MS クロマトグラムを図 7 に示した。最適化された LC-MS/MS 測定条件は、表 4 に示した代表的な有毒キノコの鑑別法として適用可能であると考えられる。また、試験溶液の溶媒組成と量を変更した上で、有毒植物の前処理操作フローと組み合わせることにより、簡易、迅速な毒成分の定量試験法の開発が可能であると考えられる。今後、実際の有毒キノコや添加回収試験による検証が必要である。

E. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 南谷臣昭、登田美桜、大城直雅：質量分析による自然毒食中毒の理解
課題と展望, *質量分析*, **67**, 71-77 (2019)

2. 学会発表

- 1) 南谷臣昭、谷口賢、登田美桜：高等植物による食中毒事例に対応するための一斉試験法の検討、平成 30 年度地方衛生研究所全国協議会東海・北陸支部衛生化学部会、岐阜市、2019 年 1 月
- 2) 谷口賢、南谷臣昭、友澤潤子、登田美桜：植物性自然毒の多成分同時分析法の開発：高等植物、第 56 回全国衛生化学技術協議会年会、広島市、2019 年 12 月
- 3) 友澤潤子、谷口賢、南谷臣昭、登田美桜：植物性自然毒の多成分同時分析法の開発：キノコ、第 56 回全国衛生化学技術協議会年会、広島市、2019 年 12 月
- 4) 南谷臣昭、谷口賢、友澤潤子、登田美桜：植物性自然毒の多成分同時分析法の開発：高等植物（第 2 報）、第 57 回全国衛生化学技術協議会年会、紙上・Web 開催／宮崎県、2020 年 11 月

3. 行政関係者向け説明会

- 1) 南谷臣昭：植物性自然毒の多成分同時分析について、令和 2 年度地域保健総

合推進事業地方衛生研究所東海北陸ブロック専門家会議、Web 開催／三重県、2020 年 10 月

4. 市民向け発表会

- 1) 南谷臣昭、登田美桜：「野草や山菜などの自然毒について」、平成 31 年 3 月食品安全セミナー、2019 年 3 月東海農政局消費・安全部消費生活課
- 2) 南谷臣昭：「野草や山菜などの自然毒について」、令和 3 年 3 月食品安全セミナーWeb、2021 年 3 月東海農政局消費・安全部消費生活課

F. 知的財産権の出願・登録状況

特になし

G. 参考文献

- 1) 登田美桜、畝山智香子、豊福肇、森川馨、*食品衛生学雑誌*, **53**, 105-120 (2012)
- 2) 登田美桜、畝山智香子、春日文子、*食品衛生学雑誌*, **55**, 55-63 (2014)
- 3) Hayakawa, I., Watanabe, H. and Kigoshi, H. *Tetrahedron* **64**, 5873-5877 (2008)
- 4) Matsuura, M., Kato, S., Saikawa, Y., Nakata, M. and Hashimoto, K. *Chem Pharm. Bull.* **64**, 602-608 (2016)
- 5) Nomura, M., Suzuki, Y., Kaneko, R., Ogawa, T., Hattori, H., Seno, H. and Ishii, A. *Forensic Toxicol.* **30**, 185-192 (2012)

- 6) Yoshioka, N., Hayakawa, I.,
Minatani, T., Tomozawa, J., Akiyama,
H. and Yomo, H. *Forensic Sci. Int.* **317**,
110554 (2020)
- 7) Ohta, H., Watanabe, D., Nomura, C.,
Saito, D., Inoue, K., Miyaguchi, H.,
Harada, S. and Aita, Y. *Forensic
Toxicol.* **39**, 101-113 (2021)

表 1 対象とした有毒植物 28 群と 44 化合物

Group	No.	植物種	化合物名	CAS No.
1	1	アーモンド、ピワ	アミグダリン	29883-15-6
	2		プルナシン	99-18-3
2	3	アジサイ、アマチャ	フェブリフジン	24159-07-7
3	4	イヌサフラン、グロリオサ	コルヒチン	64-86-8
	5		デメコルシン	477-30-5
4	6	ウマノスズクサ	アリストロキア酸 I	313-67-7
	7		アリストロキア酸 II	475-80-9
5	8	オニドコロ、カエデドコロ	ジオスシン	19057-60-4
6	9	カロライナジャスミン	ゲルセミン	509-15-9
7	10	キダチタバコ	アナバシン	494-52-0
8	11	キャッサバ	リナマリン	554-35-8
9	12	キョウチクトウ	オレアンドリン	465-16-7
10	13	ギンナン	ギンコトキシソ	1464-33-1
11	14	クリスマスローズ	ヘレ布林	13289-18-4
12	15	コンフリー、フキ	エキミジン	520-68-3
	16		センキルキン	2318-18-5
13	17	ジギタリス	ジギトキシソ	71-63-6
	18		ジゴキシソ	20830-75-5
14	19	シキミ	アニサチン	5230-87-5
15	20	ジャガイモ	α -ソラニン	20562-02-1
	21		α -チャコニン	20562-03-2
16	22	スイセン、ヒガンバナ、 スノーフレーク、タマスダレ	リコリン	476-28-8
	23		ガランタミン	357-70-0
	24		サンギニン	60755-80-8
	25		リコラミン	21133-52-8
17	26	スズラン	コンバラトキシソ	508-75-8
18	27	タバコ	ニコチン	54-11-5
19	28	ツツジ類	グラヤノトキシソ I	4720-09-6
20	29	チョウセンアサガオ類、ハシリドコロ	アトロピン	51-55-8
	30		スコポラミン	51-34-3
21	31	ドクウツギ	ツチン	2571-22-4
22	32	ドクニンジン	コニイン	458-88-8
23	33	トリカブト類	アコニチン	302-27-2
	34		ヒパコニチン	6900-87-4
	35		メサコニチン	2752-64-9
	36		ジェサコニチン	16298-90-1
24	37	バイケイソウ類	ベラトラミン	60-70-8
	38		ジェルビン	469-59-0
	39		プロトベラトリン A	143-57-7
	40		プロトベラトリン B	124-97-0
25	41	フクジュソウ	シマリン	508-77-0
26	42	モロヘイヤ	ストロファンチジン	66-28-4
27	43	ヨウシュヤマゴボウ	フィトラッカサポニン E	65497-07-6
28	44	ユウガオ、ヒョウタン	ククルビタシン B	6199-67-3

表 2-1 有毒植物の毒成分の混合標準の分類、保持時間、SRM トランジション条件及び内部標準の割り当て (保持時間順)

No.	化合物名 (和名)	化合物名 (英名)	分子式	分子量	モノアイソトピック 質量	混合標準溶液 (A/B)	保持時間 (min)	ESI (+/-)	プリカーサー イオン	Q1	Q3	DP (V)	CE (V)	CXP (V)	内部標準
1	ニコチン	Nicotine	C ₁₀ H ₁₄ N ₂	162.23	162.1157	A	2.2	+	[M+H] ⁺	163.2	132.0	50	19	11	レセルピン-d9
										163.2	106.0	50	19	10	
2	サンギニン	Sanguinine	C ₁₆ H ₁₉ NO ₃	273.33	273.1365	A	2.6	+	[M+H] ⁺	274.2	199.2	75	30	7	
										274.2	184.1	75	46	12	
3	アナバシン	Anabasine	C ₁₀ H ₁₄ N ₂	162.23	162.1157	A	2.8	+	[M+H] ⁺	163.2	134.2	53	30	6	レセルピン-d9
										163.2	146.0	53	20	12	
4	リナマリン	Linamarin	C ₁₀ H ₁₇ NO ₆	247.25	247.1056	A	2.9	+	[M+NH ₄] ⁺	265.1	180.0	40	12	6	
										265.1	163.1	40	13	6	
5	ギンコトキシシ	Ginkgotoxin	C ₉ H ₁₃ NO ₃	183.20	183.0895	A	3.0	+	[M+H] ⁺	184.0	152.0	45	17	6	
										184.0	134.1	45	27	9	
6	リコリン	Lycorine	C ₁₆ H ₁₇ NO ₄	287.31	287.1158	A	3.2	+	[M+H] ⁺	288.1	147.0	89	36	10	
										288.1	119.2	89	43	10	
7	ガラタミシ	Galantamine	C ₁₇ H ₂₁ NO ₃	287.35	287.1521	A	4.9	+	[M+H] ⁺	288.3	213.2	83	30	7	
										288.3	198.1	83	41	7	
8	リコラミン	Lycoramine	C ₁₇ H ₂₃ NO ₃	289.37	289.1678	A	5.0	+	[M+H] ⁺	290.2	233.1	72	23	7	
										290.2	215.1	72	32	7	
9	コニイン	Coniine	C ₈ H ₁₇ N	127.23	127.2276	A	5.2	+	[M+H] ⁺	128.2	69.1	60	21	7	
										128.2	55.0	60	27	8	
10	フェブリフジン	Febrifugine	C ₁₆ H ₁₉ N ₃ O ₃	301.34	301.1426	A/B	5.5	+	[M+H] ⁺	302.1	120.1	50	23	8	
										302.1	100.1	50	23	7	
11	スコボラミン	Scopolamine	C ₁₇ H ₂₁ NO ₄	303.35	303.1471	A	5.7	+	[M+H] ⁺	304.0	138.0	67	26	10	
										304.0	156.0	67	21	10	
12	ゲルセミン	Gelsemine	C ₂₀ H ₂₂ N ₂ O ₂	322.40	322.1681	A	5.8	+	[M+H] ⁺	323.2	70.1	68	65	10	
										323.2	236.2	68	36	8	
13	アミグダリン	Amygdalin	C ₂₀ H ₂₇ NO ₁₁	457.43	457.4293	A	5.9	+	[M+NH ₄] ⁺	475.1	325.0	40	15	10	
										475.1	163.3	40	20	5	
14	アニサチン	Anisatin	C ₁₅ H ₂₀ O ₈	328.32	328.1158	B	6.2	-	[M-H] ⁻	327.1	126.9	-68	-17	-11	レセルピン-d9
										327.1	83.0	-68	-31	-5	
15	ツチン	Tutin	C ₁₅ H ₁₈ O ₆	294.30	294.1103	B	6.2	-	[M+HCOO] ⁻	339.0	152.8	-10	-19	-9	レセルピン-d9
										339.0	138.8	-10	-14	-13	
16	アトロピン	Atropine	C ₁₇ H ₂₃ NO ₃	289.37	289.1678	A	6.3	+	[M+H] ⁺	290.2	124.2	90	30	5	
										290.2	93.0	90	35	7	
17	プルナシン	Prunacin	C ₁₄ H ₁₇ NO ₆	295.29	295.1056	A	6.3	+	[M+NH ₄] ⁺	313.1	163.2	40	14	5	
										313.1	145.2	40	17	10	
18	グラヤノトキシシ I	Grayanotoxin I	C ₂₂ H ₃₆ O ₇	412.52	412.2461	B	6.5	+	[M+NH ₄] ⁺	430.2	299.0	24	20	6	
										430.2	376.9	24	12	12	
19	センキルクキン	Senkirkine	C ₁₉ H ₂₇ NO ₆	365.42	365.1838	B	6.7	+	[M+H] ⁺	366.2	168.3	21	39	13	
										366.2	94.0	21	84	14	
20	エキミジン	Echimidine	C ₂₀ H ₃₁ NO ₇	397.46	397.2101	B	6.7	+	[M+H] ⁺	398.3	120.2	14	30	16	
										398.3	220.2	14	23	4	
21	デメコルシン	Demecolcine	C ₂₁ H ₂₅ NO ₅	371.43	371.1733	A	6.8	+	[M+H] ⁺	372.2	310.1	60	25	11	
										372.2	340.1	60	24	12	
22	ヘレ布林	Hellebrine	C ₃₆ H ₅₂ O ₁₅	724.79	724.3306	A	7.5	+	[M+NH ₄] ⁺	742.4	417.3	28	24	12	
										742.4	563.4	28	17	14	

上段: 定量トランジション、下段: 確認トランジション

表 2-1 つづき

No.	化合物名 (和名)	化合物名 (英名)	分子式	分子量	モノアイソトピック 質量	混合標準溶液 (A/B)	保持時間 (min)	ESI (+/-)	プリカーサー イオン	Q1	Q3	DP (V)	CE (V)	CXP (V)	内部標準
23	コンバラトキシ	Convallatoxin	C ₂₉ H ₄₂ O ₁₀	550.64	550.2778	A	7.5	-	[M+HCOO] ⁻	595.3 595.3	549.1 385.3	-80 -80	-22 -33	-19 -12	レセルピン-d9
24	α-ソラニン	α-Solanine	C ₄₅ H ₇₃ NO ₁₅	868.06	867.4980	A	7.8	+	[M+H] ⁺	868.5 868.5	398.4 722.5	180 180	96 92	13 21	
25	ストロファンチジン	Strophanthidine	C ₂₃ H ₃₂ O ₆	404.50	404.2199	A	7.8	+	[M+NH ₄] ⁺	422.3 422.3	341.2 323.2	11 11	22 27	6 11	
26	α-チャコニン	α-Chaconine	C ₄₅ H ₇₃ NO ₁₄	852.06	851.5031	A	7.8	+	[M+H] ⁺	852.5 852.5	706.4 398.4	160 160	91 94	21 13	
27	ジェルビン	Jervine	C ₂₇ H ₃₉ NO ₃	425.60	425.2930	B	7.8	+	[M+H] ⁺	426.2 426.2	313.2 84.0	128 128	38 67	10 13	
28	コルヒチン	Colchicine	C ₂₂ H ₂₅ NO ₆	399.44	399.1682	A	7.9	+	[M+H] ⁺	400.2 400.2	358.2 310.0	88 88	29 34	12 10	
29	ベラトラミン	Veratramine	C ₂₇ H ₃₉ NO ₂	409.61	409.2981	B	8.0	+	[M+H] ⁺	410.3 410.3	295.1 84.1	129 129	37 68	10 7	
30	プロトベラトリン B	Protoveratrine B	C ₄₁ H ₆₃ NO ₁₅	809.94	809.4198	B	8.1	+	[M+H] ⁺	810.4 810.4	792.2 658.4	160 160	55 72	27 20	
31	ジゴキシン	Digoxin	C ₄₁ H ₆₄ O ₁₄	780.94	780.4296	A	8.5	+	[M+NH ₄] ⁺	798.6 798.6	97.1 651.2	23 23	69 19	9 12	ジゴキシン-d3
32	メサコニチン	Mesaconitine	C ₃₃ H ₄₅ NO ₁₁	631.71	631.2993	B	8.5	+	[M+H] ⁺	632.2 632.2	572.4 354.2	20 20	45 56	17 11	
33	シマリン	Cymarine	C ₃₀ H ₄₄ O ₉	548.67	548.2985	A	8.7	+	[M+NH ₄] ⁺	566.3 566.3	405.2 517.3	11 11	17 9	12 13	
34	プロトベラトリン A	Protoveratrine A	C ₄₁ H ₆₃ NO ₁₄	793.94	793.4249	B	8.7	+	[M+H] ⁺	794.5 794.5	776.5 658.4	150 150	55 70	22 19	
35	フィトラッカサポニン E	Phytolaccasaponine E	C ₄₂ H ₆₆ O ₁₆	826.96	826.4351	A	8.8	+	[M+NH ₄] ⁺	844.6 844.6	515.3 533.5	29 29	30 24	16 10	
36	アコニチン	Aconitine	C ₃₄ H ₄₇ NO ₁₁	645.74	645.3149	B	8.9	+	[M+H] ⁺	646.2 646.2	586.4 526.3	22 22	44 52	9 15	
37	ヒバコニチン	Hypaconitine	C ₃₃ H ₄₅ NO ₁₀	615.71	615.3043	B	8.9	+	[M+H] ⁺	616.3 616.3	584.4 338.1	15 15	45 53	18 10	
38	ジェサコニチン	Jesaconitine	C ₃₅ H ₄₉ NO ₁₂	675.76	675.3255	B	8.9	+	[M+H] ⁺	676.3 676.3	616.2 556.2	121 121	47 55	10 10	
39	アリストロキア酸 II	Aristrochic acid II	C ₁₆ H ₉ NO ₆	311.25	311.0430	A	10.2	+	[M+NH ₄] ⁺	329.2 329.2	268.0 294.0	28 28	13 13	8 14	
40	オレアンドリン	Oleandrine	C ₃₂ H ₄₆ O ₉	576.72	576.3298	A	10.2	+	[M+NH ₄] ⁺	594.4 594.4	577.6 433.3	12 12	13 16	9 9	
41	ジギトキシ	Digitoxin	C ₄₁ H ₆₄ O ₁₃	764.94	764.4347	A	10.3	+	[M+NH ₄] ⁺	782.3 782.3	96.9 635.3	28 28	68 16	9 13	ジゴキシン-d3
42	ククルビタシン B	Cucurbitacin B	C ₃₂ H ₄₆ O ₈	558.70	558.3193	B	10.4	+	[M+NH ₄] ⁺	576.3 576.3	499.2 481.3	40 40	16 25	13 12	
43	アリストロキア酸 I	Aristrochic acid I	C ₁₇ H ₁₁ NO ₇	341.27	341.0536	A	10.4	+	[M+NH ₄] ⁺	359.0 359.0	296.0 323.9	30 30	14 15	10 11	
44	ジオスシン	Dioscin	C ₄₅ H ₇₂ O ₁₆	869.05	868.4820	A	11.5	+	[M+NH ₄] ⁺	886.5 886.5	415.4 397.3	20 20	19 24	8 13	レセルピン-d9

上段：定量トランジション、下段：確認トランジション

表 2-2 有毒植物の内部標準の SRM トランジション条件 (保持時間順)

No.	化合物名 (和名)	化合物名 (英名)	保持時間 (min)	ESI (+/-)	プリカーサー イオン	Q1	Q3	DP (V)	CE (V)	CXP (V)	備考
IS1	カフェイン-d9	Caffeine-d9	5.8	+	[M+H] ⁺	204.2	144.2	76	31	24	シリンジスパイク 不採用
IS2	ジゴキシン-d3	Digoxin-d3	8.5	+	[M+NH ₄] ⁺	801.5	97.0	71	57	14	サロゲート
IS3	レセルピン-d9	Reserpine-d9	9.2	+	[M+H] ⁺	618.4	204.1	176	57	34	シリンジスパイク
				-	[M-H] ⁻	616.4	598.3	-135	-38	-13	

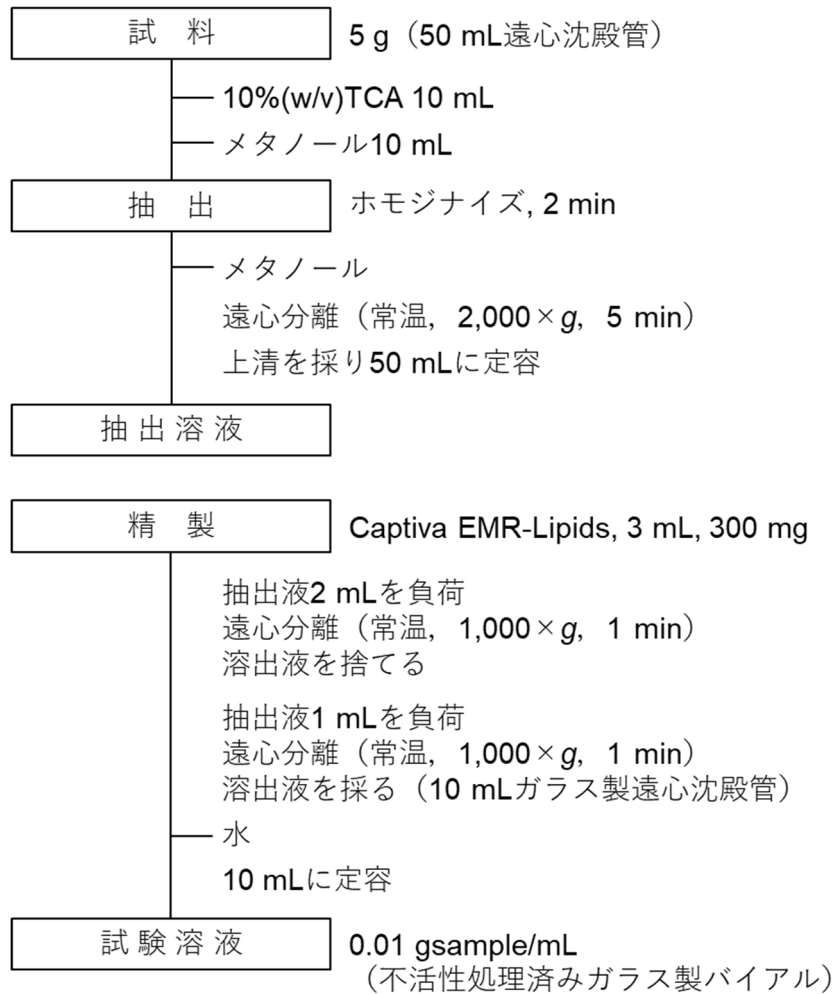
表 3 質量分析計のイオン化条件

Parameter \ Porarity	ESI(+)	ESI(-)
Curtain gas (psi)	20	20
Collision gas (psi)	7	7
Ion Spray Voltage (V)	5000	-4500
Temperature (°C)	300	300
Ion Source Gas1 (psi)	60	60
Ion Source Gas2 (psi)	60	60

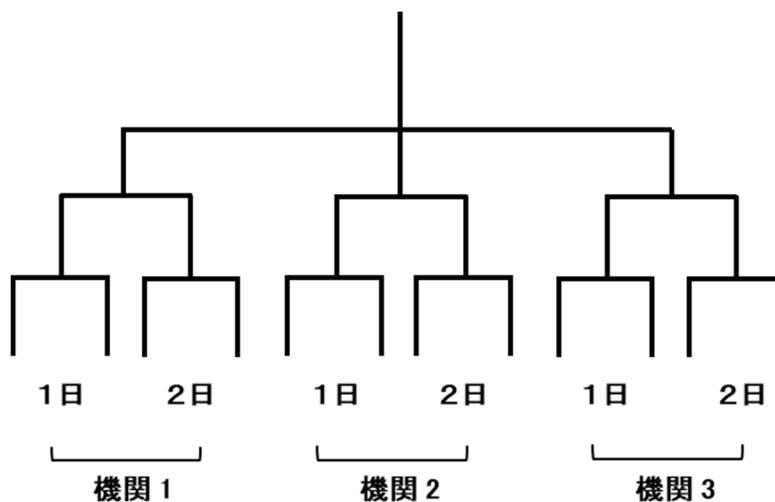
* SCIEX 社製 Turbo-V ソースの設定例

カラム	Raptor C18, 2.1 × 150 mm, 2.7 μm																		
移動相	(A) 0.1%ギ酸含有5 μMギ酸アンモニウム (B) アセトニトリル																		
グラジエント	<table border="1"> <thead> <tr> <th>Time/min</th> <th>A (%)</th> <th>B (%)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>0</td> <td>98</td> <td>2</td> </tr> <tr> <td>11</td> <td>10</td> <td>90</td> </tr> <tr> <td>12</td> <td>10</td> <td>90</td> </tr> <tr> <td>12.1</td> <td>98</td> <td>2</td> </tr> <tr> <td>20</td> <td>98</td> <td>2</td> </tr> </tbody> </table>	Time/min	A (%)	B (%)	0	98	2	11	10	90	12	10	90	12.1	98	2	20	98	2
Time/min	A (%)	B (%)																	
0	98	2																	
11	10	90																	
12	10	90																	
12.1	98	2																	
20	98	2																	
流速	0.3 mL/min																		
カラム温度	40°C																		
注入量	5 μL																		

図 1 有毒植物の毒成分一斉試験の液体クロマトグラフの条件



Scheme 1 有毒植物の毒成分一斉試験の前処理操作フロー



Scheme 2 3機関による妥当性評価の実験計画

表 4 対象とした有毒キノコ 5 群と 9 化合物

Group	No.	キノコ種	化合物名	CAS No.
1	1	カエントケ	サトラトキシニンH	53126-64-0
	2		サトラトキシニンH 12', 13'-ジアセテート	60538-74-1
2	3	カキシメジ	ウスタル酸	470699-70-8
3	4	ツキヨタケ	イルジンS	1149-99-1
4	5	シロタマゴテングタケ	α -アマニチン	23109-05-09
	6		β -アマニチン	21150-22-1
	7		γ -アマニチン	21150-23-2
	8		ファロイジン	17466-45-4
5	9	ニセクロハツ	シクロプロピルアセチル-(R)-カルニチン	

表 5-1 有毒キノコの毒成分の保持時間、SRM トランジション条件及び内部標準の割り当て（保持時間順）

No.	化合物名 (和名)	化合物名 (英名)	分子式	分子量	モノアイソトピッ ク質量	保持時間 (min)	ESI (+/-)	プリカーサー イオン	Q1	Q3	DP (V)	CE (V)	CXP (V)	内部標準
1	シクロプロピルアセチル- (R)-カルニチン	Cyclopropylacetyl-(R)- carnitine	C ₁₂ H ₂₁ NO ₄	243.30	243.1471	3.4	+	[M+H] ⁺	244.3	85.1	46	29	14	イソバレルルカルニチン-d9
									244.3	185.0	46	19	10	
2	α-アマニチン	α-Amanitin	C ₃₉ H ₅₄ N ₁₀ O ₁₄ S	918.97	918.3542	4.7	-	[M-H] ⁻	917.3	899.4	-125	-38	-21	バージニアマイシンB
									917.3	917.5	-125	-8	-19	
3	β-アマニチン	β-Amanitin	C ₃₉ H ₅₃ N ₉ O ₁₅ S	919.96	919.3382	5.0	-	[M-H] ⁻	918.3	900.5	-135	-42	-21	バージニアマイシンB
									918.3	918.5	-135	-10	-23	
4	γ-アマニチン	γ-Amanitin	C ₃₉ H ₅₄ N ₁₀ O ₁₃ S	902.97	902.3593	5.1	-	[M-H] ⁻	901.4	883.5	-140	-38	-15	バージニアマイシンB
									901.4	901.5	-140	-8	-19	
5	イルジンS	Illudin S	C ₁₅ H ₂₀ O ₄	264.32	264.1362	5.1	+	[M+H] ⁺	265.1	217.2	31	13	14	
									265.1	247.2	31	11	14	
6	ファロイジン	Phalloidin	C ₃₅ H ₄₈ N ₈ O ₁₁ S	788.87	788.3163	6.1	-	[M-H] ⁻	787.3	743.4	-145	-44	-11	バージニアマイシンB
									787.3	787.5	-145	-10	-13	
7	ウスタル酸	Ustalic acid	C ₁₉ H ₁₄ O ₆	338.32	338.0790	7.5	-	[M-H] ⁻	337.3	219.0	-35	-12	-15	2, 2'-ビフェニルカルボン酸
									337.3	117.0	-35	-32	-9	
8	サトラトキシ H	Satratoxin H	C ₂₉ H ₃₆ O ₉	528.59	528.2359	7.6	+	[M+H] ⁺	529.4	231.3	81	25	12	ジアセトキシスシルベノール
									529.4	245.2	81	23	14	
9	サトラトキシ H 12', 13'-ジアセテート	Satratoxin H 12', 13'-diacetate	C ₃₃ H ₄₀ O ₁₁	612.66	612.2571	8.7	+	[M+H] ⁺	613.3	245.3	61	25	14	ジアセトキシスシルベノール
									613.3	217.3	61	43	12	

上段：定量トランジション、下段：確認トランジション

表 5-2 有毒キノコの内部標準の SRM トランジション条件（保持時間順）

No.	化合物名 (和名)	化合物名 (英名)	保持時間 (min)	ESI (+/-)	プリカーサー イオン	Q1	Q3	DP (V)	CE (V)	CXP (V)	備考
IS1	イソバレルルアセチル-(R)- カルニチン-d9	Isovalerylacetyl- carnitine-d9	3.9	+	[M+H] ⁺	255.3	85.1	51	31	14	シリンジスパイク
IS2	ジアセトキシ スシルベノール	Diacetoxy- scirpenol	6.6	+	[M+NH ₄] ⁺	384.2	307.2	56	17	18	シリンジスパイク
IS3	2,2'-ビフェニル ジカルボン酸	2,2'-Biphenyl- carboxylic acid	7.1	-	[M-H] ⁻	240.9	153.2	-45	-22	-1	シリンジスパイク
IS4	バージニアマイシン B	Virginiamycin B	8.1	-	[M-H] ⁻	865.3	177.2	-120	-58	-3	シリンジスパイク

カラム	XBridge Shield RP18 2.1 × 150 mm, 3.5 μm		
移動相	(A) 0.05%ギ酸 (B) メタノール		
グラジエント	Time/min	A (%)	B (%)
	0	90	10
	8	0	100
	12	0	100
	12.1	90	10
	20	90	10
流速	0.2 mL/min		
カラム温度	40°C		
注入量	5 μL		

図 2 有毒キノコの毒成分一斉試験の液体クロマトグラフ条件

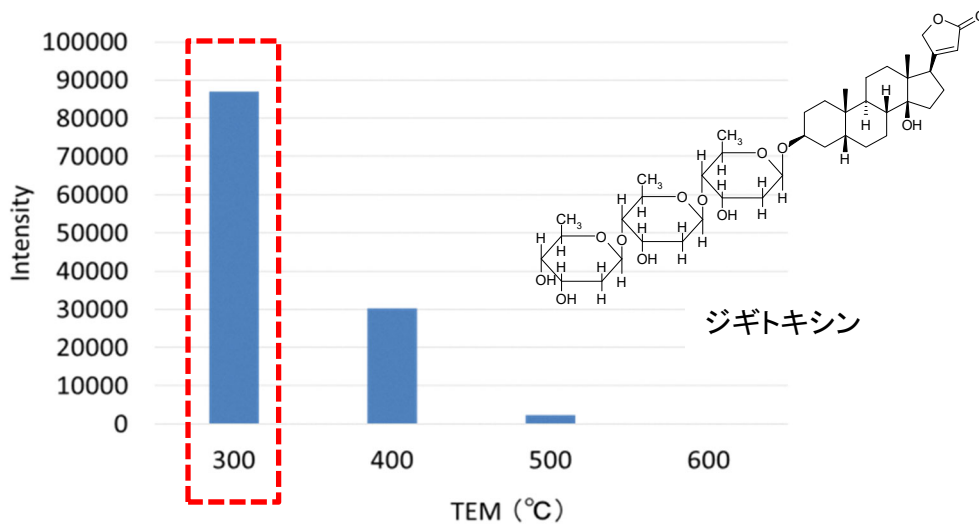


図 3 ジギトキシンの化学構造と脱溶媒ガス温度によるアンモニウム付加イオン[M+NH₄]⁺の強度の変化

表 6 有毒植物の毒成分の検量線（検量線範囲、相関係数及び決定係数）

No.	化合物名	検量線範囲 (ng/mL)	相関係数 (R)	決定係数 (R ²)	No.	化合物名	検量線範囲 (ng/mL)	相関係数 (R)	決定係数 (R ²)
1	ニコチン*	0.2-50	0.9952	0.9904	23	コンバトキシチン*	0.1-50	0.9954	0.9908
2	サンギニン	0.1-50	0.9997	0.9994	24	α-ソラニン	0.1-50	0.9990	0.9980
3	アナバシン*	1-50	0.9968	0.9936	25	ストロファンチジン	0.2-50	0.9984	0.9968
4	リナマリ	0.2-50	0.9997	0.9994	26	α-チャコニン	0.1-50	0.9994	0.9988
5	ギンコトキシチン	0.1-50	0.9991	0.9982	27	ジェルビン	0.2-50	0.9964	0.9928
6	リコリン	0.1-50	0.9992	0.9984	28	コルヒチン	0.1-50	0.9989	0.9978
7	ガラタミン	0.1-50	0.9994	0.9988	29	ベラトラミン	0.1-50	0.9992	0.9984
8	リコラミン	0.1-50	0.9993	0.9986	30	プロトベラトリン B	0.1-50	0.9990	0.9980
9	コニイン	0.1-50	0.9995	0.9990	31	ジゴキシチン**	0.1-50	0.9957	0.9914
10	フェブリフジン	0.1-50	0.9978	0.9956	32	メサコニチン	0.1-50	0.9993	0.9986
11	スコボラミン	0.1-50	0.9997	0.9994	33	シマリン	0.1-50	0.9983	0.9966
12	ゲルセミン	0.1-50	0.9992	0.9984	34	プロトベラトリン A	0.1-50	0.9994	0.9988
13	アミグダリン	0.5-50	0.9925	0.9851	35	フィトラッカサポニン E	0.5-50	0.9993	0.9986
14	アニサチン*	0.2-50	0.9968	0.9936	36	アコニチン	0.1-50	0.9984	0.9968
15	ツチン*	2-50	0.9866	0.9734	37	ヒバコニチン	0.2-50	0.9987	0.9974
16	アトロピン	0.1-50	0.9987	0.9974	38	ジェサコニチン	0.1-50	0.9990	0.9980
17	プルナシン	2-50	0.9914	0.9829	39	アリストロキア酸 II	0.5-50	0.9967	0.9934
18	グラヤマトキシチン I	0.5-50	0.9976	0.9952	40	オレアンドリン	0.1-50	0.9990	0.9980
19	センギルキン	0.1-50	0.9986	0.9972	41	ジギトキシチン**	0.1-50	0.9977	0.9954
20	エキミジン	0.1-50	0.9965	0.9930	42	ククルビタシン B	0.5-50	0.9998	0.9996
21	デメコルシン	0.1-50	0.9993	0.9986	43	アリストロキア酸 I	0.5-50	0.9985	0.9970
22	ヘレブリン	0.1-50	0.9995	0.9990	44	ジオスチン*	0.2-50	0.9929	0.9859

* レセルビン-d9により内部標準補正 **ジゴキシチン-d3により内部標準補正

表 7 選択性の評価

	ニコチン 163.2 > 132.0 ピーク面積 (cps)			B/A	C/A
	A 0.1 μg/g相当 溶媒標準溶液	B ホウレンソウ ブランク試験溶液	C カレー ブランク試験溶液		
機関1	5090	3760	3550	0.74	0.70
機関2	55000	9840	26100	0.18	0.47
機関3	12600	5440	10600	0.43	0.84

表 8-1 有毒植物の毒成分一斉試験法の試験室間妥当性評価

ハウレンソウ、添加濃度 0.1 µg/g 及び 1 µg/g、n=2 (併行) ×2 日間×3 機関

No.	化合物名	0.1 µg/g添加					1 µg/g添加						
		真度 (%)	評価 (70-120%)	併行精度 (RSD%)	評価 (<15%)	室間精度 (RSD%)	評価 (<20%)	真度 (%)	評価 (70-120%)	併行精度 (RSD%)	評価 (<10%)	室間精度 (RSD%)	評価 (<15%)
1	ニコチン*	147.0	×	6.5	○	17.5	○	110.7	○	7.4	○	9.3	○
2	サンギニン	76.8	○	5.4	○	19.8	○	80.7	○	4.2	○	17.9	×
3	アナバシン*	127.1	×	11.6	○	18.4	○	92.0	○	9.4	○	12.3	○
4	リナマリ	82.0	○	17.5	×	25.7	×	79.2	○	4.5	○	6.9	○
5	ギンコトキシ	91.1	○	4.8	○	8.2	○	90.5	○	1.1	○	4.1	○
6	リコリン	89.6	○	3.7	○	14.7	○	87.6	○	3.0	○	6.1	○
7	ガラタミン	89.8	○	4.6	○	5.6	○	89.6	○	1.8	○	4.1	○
8	リコラミン	92.3	○	5.7	○	7.5	○	90.2	○	2.2	○	2.2	○
9	コニイ	90.3	○	4.5	○	4.5	○	92.7	○	2.9	○	3.3	○
10	フェブリフジン	95.6	○	8.0	○	20.0	×	91.8	○	4.7	○	6.8	○
11	スコボラミン	89.8	○	1.5	○	10.8	○	87.8	○	2.8	○	5.6	○
12	ゲルセミン	90.1	○	6.2	○	10.4	○	86.8	○	2.4	○	4.7	○
13	アミグダリン	78.6	○	20.7	×	28.4	×	90.7	○	7.3	○	8.7	○
14	アニサチン*	93.3	○	2.8	○	17.4	○	100.6	○	3.9	○	11.3	○
15	ツチン*	32.0	×	73.3	×	116.6	×	82.8	○	13.6	×	16.2	×
16	アトロピン	89.6	○	3.3	○	6.8	○	89.2	○	4.1	○	4.9	○
17	ブルナシ	94.3	○	26.2	×	26.2	×	92.8	○	3.7	○	10.1	○
18	グラヤノトキシ I	93.8	○	9.1	○	11.4	○	91.5	○	3.8	○	13.2	○
19	センキルキン	86.3	○	2.6	○	4.9	○	92.6	○	2.6	○	4.6	○
20	エキミジン	104.4	○	5.9	○	8.8	○	120.8	×	3.5	○	14.4	○
21	デメコルシン	101.4	○	8.4	○	9.4	○	105.2	○	5.1	○	9.2	○
22	ヘレ布林	90.2	○	4.3	○	11.3	○	84.5	○	2.7	○	4.6	○
23	コンバトキシ*	94.8	○	11.2	○	11.7	○	93.9	○	4.3	○	5.4	○
24	α-ソラニン	90.8	○	8.8	○	11.2	○	86.5	○	4.0	○	4.7	○
25	ストロファンチジン	93.1	○	15.3	×	18.9	○	86.8	○	7.2	○	7.2	○
26	α-チャコニン	89.0	○	9.5	○	10.0	○	85.4	○	7.6	○	7.6	○
27	ジェルビン	85.1	○	12.6	○	15.5	○	85.6	○	4.6	○	9.6	○
28	コルヒチン	88.8	○	6.6	○	14.9	○	88.5	○	4.3	○	12.0	○
29	ベトラミン	82.8	○	4.5	○	8.8	○	82.8	○	4.6	○	7.5	○
30	プロトベラトリン B	97.5	○	7.2	○	14.6	○	98.3	○	2.5	○	5.2	○
31	ジゴキシ**	101.4	○	25.2	×	25.2	×	80.5	○	4.9	○	45.3	×
32	メサコニチン	87.1	○	7.0	○	11.3	○	84.4	○	9.1	○	11.8	○
33	シマリン	81.3	○	4.4	○	6.8	○	79.5	○	4.0	○	9.6	○
34	プロトベラトリン A	94.3	○	2.7	○	10.1	○	89.2	○	3.4	○	7.3	○
35	フィラッカサポニン E	79.2	○	12.9	○	29.6	×	83.2	○	2.9	○	7.9	○
36	アコニチン	86.3	○	4.7	○	11.1	○	86.2	○	3.9	○	9.4	○
37	ヒバコニチン	93.1	○	8.4	○	10.4	○	89.1	○	7.8	○	7.8	○
38	ジェサコニチン	87.4	○	5.6	○	9.0	○	87.2	○	1.5	○	5.1	○
39	アリストロキア酸 II	86.0	○	11.8	○	14.6	○	83.2	○	4.1	○	6.3	○
40	オレアンドリン	90.1	○	3.2	○	5.8	○	88.8	○	1.6	○	6.0	○
41	ジギトキシ**	127.0	×	11.0	○	18.9	○	126.2	×	5.6	○	20.7	×
42	ククルビタシン B	79.8	○	11.9	○	11.9	○	80.2	○	6.3	○	6.6	○
43	アリストロキア酸 I	85.0	○	3.7	○	8.8	○	81.0	○	3.8	○	7.2	○
44	ジオスシン*	88.4	○	22.4	×	37.1	×	102.2	○	11.4	×	16.4	×

*レセルビン-d9Iにより内部標準補正 **ジゴキシ-d3Iにより内部標準補正

0.1 µg/gで目標値を全て満たした化合物は緑色で塗りつぶして示した。

1 µg/gで目標値を全て満たした化合物は黄色で塗りつぶして示した。

0.1 µg/g及び1 µg/gの両方とも目標値を全たさなかった化合物は赤色で塗りつぶして示した。

表 8-2 有毒植物の毒成分一斉試験法の試験室間妥当性評価

ギョウザ、添加濃度 0.1 µg/g 及び 1 µg/g、n=2 (併行) ×2 日間×3 機関

No.	化合物名	0.1 µg/g添加					1 µg/g添加						
		真度 (%)	評価 (70-120%)	併行精度 (RSD%)	評価 (<15%)	室間精度 (RSD%)	評価 (<20%)	真度 (%)	評価 (70-120%)	併行精度 (RSD%)	評価 (<10%)	室間精度 (RSD%)	評価 (<15%)
1	ニコチン*	124.5	×	5.4	○	14.4	○	104.0	○	6.5	○	9.9	○
2	サンギニン	93.1	○	4.7	○	5.3	○	94.1	○	3.2	○	3.7	○
3	アナバシン*	127.0	×	6.8	○	17.7	○	92.7	○	7.5	○	11.6	○
4	リナマリ	92.0	○	10.8	○	20.5	×	83.7	○	3.8	○	7.0	○
5	ギンコトキシ	94.4	○	3.4	○	7.2	○	94.2	○	3.5	○	5.8	○
6	リコリン	93.6	○	4.3	○	9.8	○	91.2	○	4.2	○	5.1	○
7	ガラントシン	90.4	○	3.6	○	4.0	○	93.7	○	4.2	○	4.2	○
8	リコラミン	94.4	○	6.2	○	8.5	○	92.5	○	5.3	○	5.3	○
9	コニン	96.2	○	4.8	○	7.3	○	95.2	○	3.6	○	4.4	○
10	フェブリファジン	100.8	○	7.0	○	15.4	○	96.5	○	2.0	○	4.5	○
11	スコボラミン	94.7	○	2.1	○	11.2	○	91.4	○	7.4	○	7.4	○
12	ゲルセミン	88.9	○	2.6	○	4.9	○	90.9	○	3.5	○	6.6	○
13	アミグダリン	80.3	○	13.0	○	20.1	×	96.4	○	6.1	○	8.5	○
14	アニサチン*	87.8	○	8.4	○	10.2	○	83.9	○	6.5	○	6.7	○
15	ツチン*	19.8	×	98.7	×	186.8	×	81.9	○	9.9	○	11.8	○
16	アトロピン	92.8	○	3.3	○	7.0	○	94.0	○	4.0	○	5.3	○
17	ブルナシン	98.5	○	23.7	×	25.6	×	88.1	○	12.6	×	12.6	○
18	グラヤノトキシ I	96.3	○	9.0	○	11.5	○	85.7	○	5.5	○	8.7	○
19	センキルキン	93.3	○	2.5	○	8.3	○	97.1	○	3.5	○	6.9	○
20	エキミジン	102.4	○	6.8	○	6.8	○	119.0	○	4.3	○	16.3	×
21	デメコルシン	87.6	○	4.6	○	10.8	○	94.0	○	6.1	○	6.6	○
22	ヘレ布林	86.1	○	11.3	○	11.3	○	86.6	○	2.1	○	6.1	○
23	コンバトキシ	88.5	○	8.7	○	8.7	○	88.6	○	5.2	○	8.6	○
24	α-ソラニン	91.8	○	11.2	○	11.2	○	89.6	○	8.0	○	8.0	○
25	ストロファンチジン	80.2	○	12.2	○	19.9	○	87.1	○	7.3	○	9.8	○
26	α-チャコニン	87.5	○	9.1	○	9.1	○	85.8	○	4.0	○	7.9	○
27	ジェルピン	73.1	○	32.4	×	45.3	×	78.2	○	8.9	○	13.2	○
28	コルヒチン	86.4	○	5.6	○	14.2	○	84.4	○	5.1	○	12.4	○
29	ペラトラミン	80.8	○	3.9	○	10.1	○	81.6	○	2.7	○	8.3	○
30	プロトベラトリン B	83.6	○	5.2	○	7.5	○	87.5	○	5.9	○	9.9	○
31	ジゴキシン**	98.1	○	9.8	○	12.2	○	98.9	○	5.5	○	16.6	×
32	メサコニチン	78.8	○	7.9	○	14.5	○	77.2	○	6.2	○	15.9	×
33	シマリ	79.4	○	10.8	○	14.1	○	78.2	○	0.9	○	12.1	○
34	プロトベラトリン A	82.1	○	6.3	○	10.0	○	80.2	○	3.2	○	7.3	○
35	フィラツカサポニン E	88.7	○	11.4	○	25.9	×	94.0	○	7.8	○	11.9	○
36	アコニチン	82.8	○	7.9	○	12.3	○	82.9	○	5.3	○	10.1	○
37	ヒバコニチン	85.1	○	12.1	○	18.2	○	83.2	○	6.6	○	7.6	○
38	ジェサコニチン	80.4	○	7.4	○	8.2	○	82.1	○	2.7	○	7.6	○
39	アリストロキア酸 II	79.3	○	19.0	×	24.7	×	86.6	○	3.2	○	8.1	○
40	オレアンドリン	87.6	○	5.8	○	11.4	○	85.2	○	2.1	○	7.0	○
41	ジギトキシ**	121.4	×	8.5	○	15.3	○	123.3	×	8.0	○	19.2	×
42	ククルピタシン B	82.1	○	10.6	○	10.6	○	79.2	○	1.3	○	5.8	○
43	アリストロキア酸 I	82.6	○	3.7	○	8.1	○	83.7	○	3.0	○	10.7	○
44	ジオスシン*	105.3	○	13.8	○	27.1	×	122.6	×	5.4	○	13.9	○

* レセルピン-d9により内部標準補正 **ジゴキシン-d3により内部標準補正

0.1 µg/gで目標値を全て満たした化合物は緑色で塗りつぶして示した。

1 µg/gで目標値を全て満たした化合物は黄色で塗りつぶして示した。

0.1 µg/g及び1 µg/gの両方とも目標値を全たさなかった化合物は赤色で塗りつぶして示した。

表 8-3 有毒植物の毒成分一斉試験法の試験室間妥当性評価
 カレー、添加濃度 0.1 µg/g 及び 1 µg/g、n=2 (併行) ×2 日間×3 機関

No.	化合物名	0.1 µg/g 添加					1 µg/g 添加						
		真度 (%)	評価 (70-120%)	併行精度 (RSD%)	評価 (<15%)	室間精度 (RSD%)	評価 (<20%)	真度 (%)	評価 (70-120%)	併行精度 (RSD%)	評価 (<10%)	室間精度 (RSD%)	評価 (<15%)
1	ニコチン*	187.4	×	5.6	○	13.3	○	127.3	×	5.6	○	14.4	○
2	サンギニン	92.2	○	5.1	○	5.1	○	94.5	○	2.2	○	3.2	○
3	アナバシン*	132.7	×	4.0	○	15.3	○	109.5	○	6.2	○	14.4	○
4	リナマリン	91.9	○	10.9	○	20.0	○	86.0	○	5.6	○	9.5	○
5	ギンコトキシ	92.6	○	2.0	○	6.2	○	92.6	○	3.0	○	4.7	○
6	リコリン	92.9	○	3.2	○	7.3	○	90.4	○	2.7	○	3.8	○
7	ガラタミン	86.6	○	8.5	○	8.5	○	90.5	○	2.5	○	4.0	○
8	リコラミン	87.6	○	2.0	○	4.2	○	89.1	○	2.3	○	3.9	○
9	コニイ	91.0	○	7.0	○	9.2	○	93.0	○	1.7	○	2.8	○
10	フェプリフジン	97.8	○	6.4	○	14.5	○	97.9	○	2.3	○	8.9	○
11	スコボラミン	86.9	○	5.2	○	6.8	○	89.1	○	3.5	○	4.4	○
12	ゲルセミン	89.6	○	5.7	○	8.6	○	88.8	○	2.1	○	3.9	○
13	アミグダリン	97.1	○	20.4	×	24.7	×	90.0	○	5.3	○	6.8	○
14	アニサチン*	87.9	○	6.1	○	10.4	○	93.5	○	3.9	○	9.6	○
15	ツチン*	69.6	×	50.0	×	103.3	×	86.7	○	12.4	×	18.4	×
16	アトロピン	89.3	○	4.8	○	6.1	○	92.3	○	2.5	○	3.7	○
17	ブルナシン	106.9	○	26.7	×	56.8	×	94.3	○	3.0	○	9.3	○
18	グラヤノトキシ I	83.2	○	12.3	○	26.4	×	83.6	○	4.6	○	11.9	○
19	センキルキン	90.7	○	2.2	○	4.3	○	96.1	○	2.9	○	6.8	○
20	エキミジン	95.5	○	5.2	○	6.1	○	114.0	○	2.3	○	14.7	○
21	デメコルシン	92.2	○	5.9	○	5.9	○	93.0	○	3.6	○	6.1	○
22	ヘレプリン	84.3	○	12.6	○	13.1	○	86.7	○	2.3	○	8.7	○
23	コンバトキシ*	88.4	○	6.0	○	7.1	○	90.7	○	3.4	○	9.1	○
24	α-ソラニン	91.8	○	10.0	○	14.8	○	91.9	○	6.0	○	7.2	○
25	ストロファンチジン	94.1	○	9.8	○	25.4	×	90.3	○	2.4	○	7.1	○
26	α-チャコニン	90.9	○	15.5	×	17.0	○	89.6	○	4.5	○	6.3	○
27	ジェルピン	88.4	○	10.4	○	19.7	○	88.9	○	6.0	○	8.7	○
28	コルヒチン	90.6	○	6.6	○	13.6	○	85.3	○	3.4	○	8.6	○
29	ペラトラミン	86.2	○	4.3	○	8.5	○	87.6	○	3.9	○	6.6	○
30	プロトベラトリン B	86.5	○	7.7	○	8.8	○	91.9	○	4.7	○	9.1	○
31	ジゴキシ**	105.5	○	18.6	×	18.6	○	97.8	○	5.6	○	17.2	×
32	メサコニチン	84.9	○	3.4	○	9.6	○	85.2	○	4.9	○	10.7	○
33	シマリン	82.5	○	10.6	○	11.5	○	80.5	○	4.8	○	11.1	○
34	プロトベラトリン A	87.7	○	5.2	○	5.2	○	88.2	○	4.0	○	6.1	○
35	フィラッカサポニン E	89.0	○	7.7	○	17.7	○	91.4	○	6.0	○	8.7	○
36	アコニチン	86.1	○	4.1	○	9.4	○	88.8	○	2.2	○	9.3	○
37	ヒバコニチン	87.8	○	10.2	○	13.8	○	90.3	○	5.2	○	8.5	○
38	ジェサコニチン	87.3	○	10.9	○	10.9	○	87.9	○	1.9	○	5.4	○
39	アリストロキア酸 II	79.7	○	10.4	○	11.0	○	83.5	○	4.3	○	7.5	○
40	オレアンドリン	89.4	○	5.4	○	6.9	○	90.2	○	3.4	○	5.8	○
41	ジギトキシ**	103.1	○	14.7	○	18.4	○	103.3	○	9.4	○	20.5	×
42	ククルピタシン B	67.3	×	9.6	○	17.1	○	74.6	○	3.6	○	5.7	○
43	アリストロキア酸 I	80.9	○	4.2	○	8.7	○	84.7	○	1.6	○	8.0	○
44	ジオスシン*	134.6	×	17.8	×	25.9	×	136.9	×	7.3	○	13.3	○

*レセルピン-d9lにより内部標準補正 **ジゴキシ-d3lにより内部標準補正

0.1 µg/gで目標値を全て満たした化合物は緑色で塗りつぶして示した。

1 µg/gで目標値を全て満たした化合物は黄色で塗りつぶして示した。

0.1 µg/g及び1 µg/gの両方とも目標値を全たさなかった化合物は赤色で塗りつぶして示した。

表 8-4 有毒植物の毒成分一斉試験法の試験室間妥当性評価まとめ

	ハウレンソウ	ギョウザ	カレー
添加濃度0.1 µg/gで目標値を満たした成分数	32	33	33
添加濃度1 µg/gで目標値を満たした成分数	38	38	39
	4	3	4
添加濃度0.1及び1 µg/gの2濃度ともに目標値を満たさなかった成分数と化合物名	ツチン ジゴキシシン ジギトキシシン ジオスシン	プルナシン ジギトキシシン ジオスシン	ニコチン ツチン ジゴキシシン ジオスシン

表 9 有毒植物の毒成分一斉試験法の定量限界

No.	化合物名	定量限界 ($\mu\text{g/g}$)
1	ニコチン*	1(参考値)
2	サンギニン	0.1
3	アナバシン*	1
4	リナマリ	1
5	ギンコトキシ	0.1
6	リコリン	0.1
7	ガラントミン	0.1
8	リコラミン	0.1
9	コニイン	0.1
10	フェブリフジン	1
11	スコポラミン	0.1
12	ゲルセミン	0.1
13	アミグダリン	1
14	アニサチン*	0.1
15	ツチン*	1(参考値)
16	アトロピン	0.1
17	プルナシン	1(参考値)
18	グラヤノトキシ I	1
19	センキルキン	0.1
20	エキミジン	0.1
21	デメコルシン	0.1
22	ヘレブリン	0.1
23	コンバラトキシ*	0.1
24	α -ソラニン	0.1
25	ストロファンチジン	1
26	α -チャコニン	1
27	ジェルビン	1
28	コルヒチン	0.1
29	ベラトラミン	0.1
30	プロトベラトリン B	0.1
31	ジゴキシ**	1(参考値)
32	メサコニチン	0.1
33	シマリ	0.1
34	プロトベラトリン A	0.1
35	フィトラッカサポニン E	1
36	アコニチン	1
37	ヒパコニチン	0.1
38	ジェサコニチン	0.1
39	アリストロキア酸 II	1
40	オレアンドリン	0.1
41	ジギトキシ**	1(参考値)
42	ククルビタシン B	1
43	アリストロキア酸 I	0.1
44	ジオスチン*	1(参考値)

* レセルピン-d9により内部標準補正

**ジゴキシ-d3により内部標準補正

表 10 有毒植物の実試料の定量結果（絶対検量線法と標準添加法の比較）

植物名	部位	化合物名	SRM トランジション	試験溶液中サンプル濃度 (mg sample/mL)	抽出液中濃度 (µg/mL)	
					絶対検量線法	標準添加法
ラッパスイセン	葉	ガラントミン	288.3 > 213.2	1	1.57	1.58±0.336
			288.3 > 198.1	1	1.49	1.41±0.219
		サンギニン	274.2 > 199.2	0.2	16.8	14.8±4.08
			274.2 > 184.1	0.2	17.9	15.8±4.62
イヌサフラン	葉	コルヒチン	400.2 > 358.2	0.1	25.2	27.6±8.60
			400.2 > 310.0	0.1	23.8	23.0±6.73
		デメコルシン	372.2 > 310.1	0.1	20.2	20.1±5.70
			372.2 > 340.1	0.1	20.8	16.0±9.30
ミカワバイケイソウ	葉	プロトベラトリン A	794.5 > 776.5	10	0.174	0.128±0.0189
			794.5 > 658.4	10	0.156	0.106±0.0241
		プロトベラトリン B	810.4 > 792.2	1	2.76	2.40±1.46
			810.4 > 658.4	1	2.16	2.24±1.30
トリカブト	葉	アコニチン	646.2 > 586.4	1	1.17	1.21±0.172
			646.2 > 526.3	1	1.18	1.17±0.377
		ヒパコニチン	616.3 > 584.4	10	0.241	0.209±0.0454
			616.3 > 338.1	10	0.232	0.225±0.0310
		メサコニチン	632.2 > 572.4	0.4	7.53	9.37±2.76
			632.2 > 354.2	0.4	6.80	8.67±2.26
キダチチョウセンアサガオ	根茎	アトロピン	290.2 > 124.2	0.1	17.8	19.5±3.99
			290.2 > 93.0	0.1	18.8	19.0±1.97
		スコポラミン	304.0 > 138.0	0.1	26.4	35.5±12.8
			304.0 > 156.0	0.1	26.1	33.0±9.45
ジャガイモ	塊茎	α-ソラニン	868.5 > 398.4	1	0.608	0.609±0.126
			868.5 > 722.5	1	0.615	0.555±0.173
		α-チャコニン	852.5 > 706.4	1	1.38	1.46±0.301
			852.5 > 398.4	1	1.53	1.71±0.507

ギ酸

α, β -アマニチン

ウスタル酸

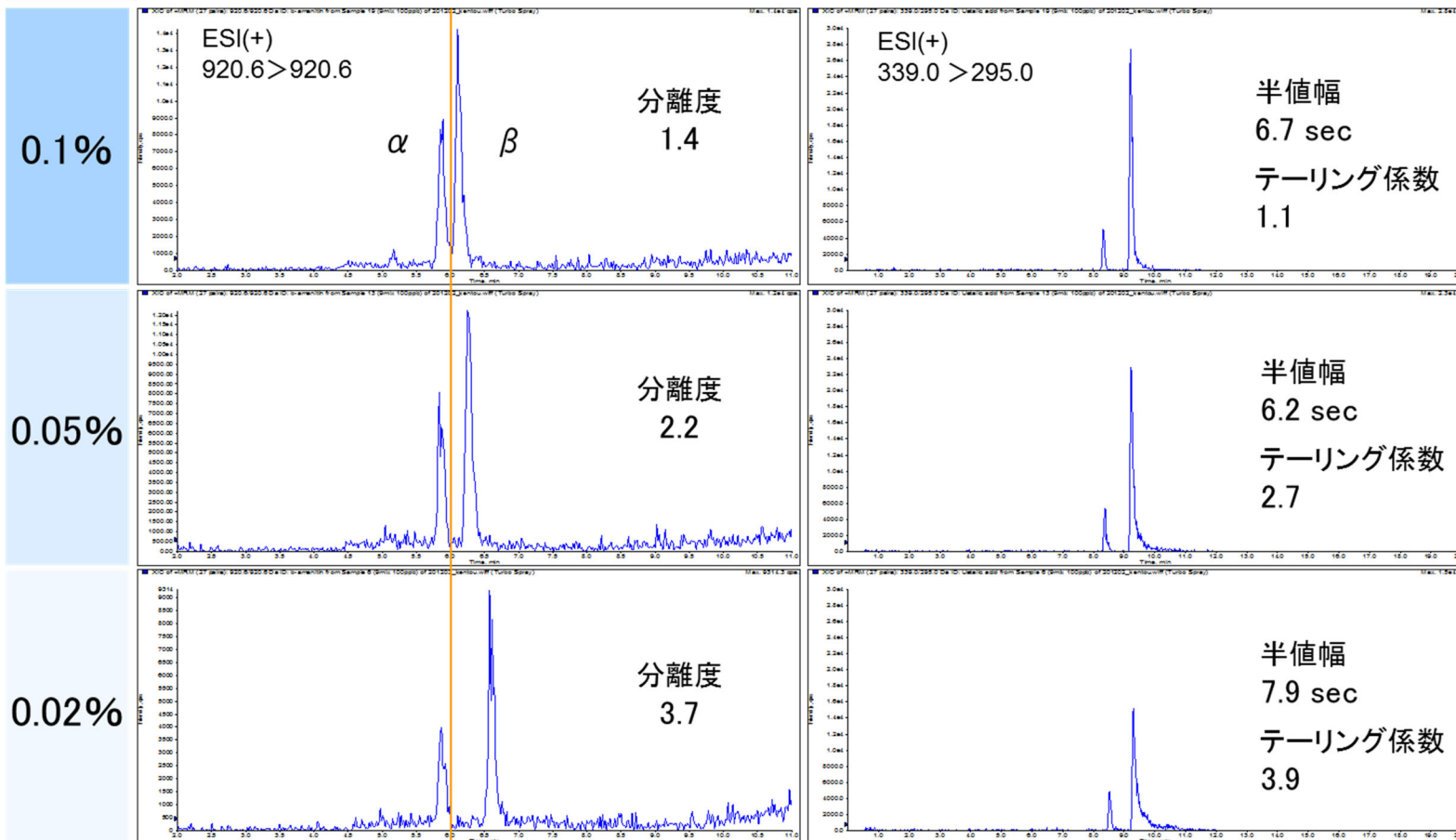


図4 ギ酸濃度による α, β -アマニチンの分離度とウスタル酸のピーク形状の変化
グラジエント条件 : B 2%(0 min)→B 95%(10-12 min)
標準溶液 100 ng/mL (0.2%TCA 含有 50%メタノール溶液)

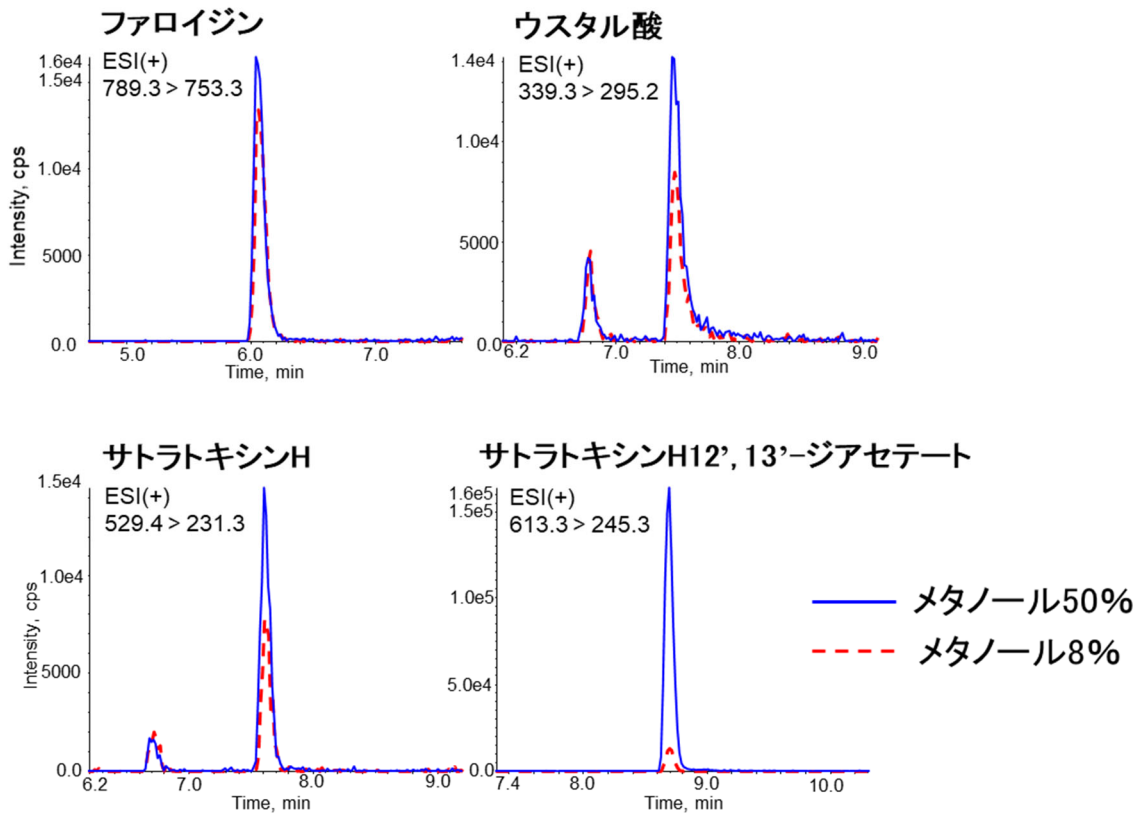


図 5-1 メタノール濃度がピーク強度に及ぼす影響
 グラジエント条件 : B 10%(0 min)→B 100%(8-12 min)
 標準溶液 100 ng/mL (0.2%TCA 含有)
 ただし、ウスタル酸は 50 ng/mL (0.2%TCA 含有)

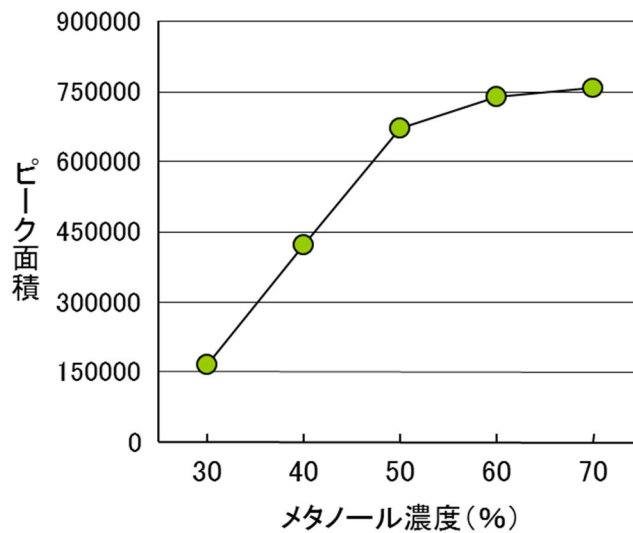


図 5-2 サトラトキシシン H 12', 13'-ジアセテートの
 ピーク面積に及ぼすメタノール濃度の影響
 標準溶液 100 ng/mL (TCA を含まない)

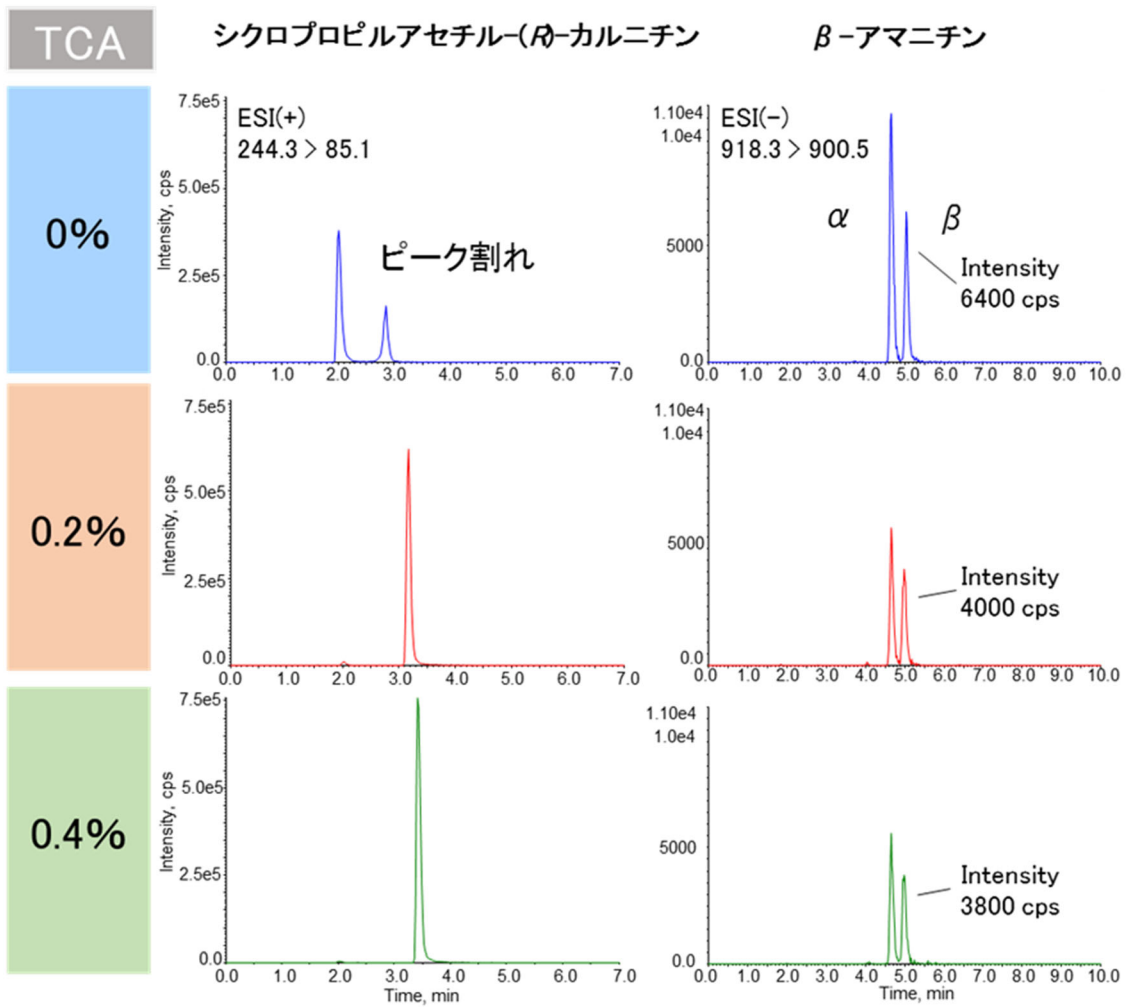


図 6 TCA 濃度によるシクロプロピルアセチル-(*R*)-カルニチンのピーク形状と β -アマニチンのピーク強度の変化

グラジエント条件： B 10%(0 min)→B 100%(8-12 min)

標準溶液： 50 ng/mL (60%メタノール溶液)

表 11 有毒キノコ毒成分の 10 ng/mL 相当濃度における S/N

No.	化合物名	保持時間 (min)	ESI	SRM トランジション	10 ng/mL相当濃度の試験溶液*におけるS/N		
					標準溶液	添加試料**	マトリックス標準溶液**
1	シクロプロピルアセチル-(R)-カルニチン	3.4	+	244.3 > 85.1	2615	1515	1310
2	α-アマニチン	4.7	+	919.6 > 919.6	13	5	7
			-	917.3 > 899.4	728	75	149
3	β-アマニチン	5.0	+	920.6 > 920.6	8	2	4
			-	918.3 > 900.5	75	24	22
4	γ-アマニチン	5.1	+	903.5 > 903.5	26	6	10
			-	901.4 > 883.5	333	65	76
5	イルジン S	5.1	+	265.1 > 217.2	380	75	93
6	ファロイジン	6.1	+	789.3 > 753.3	227	129	123
			-	787.3 > 743.4	448	141	216
7	ウスタル酸	7.5	+	339.3 > 295.2	57	56	70
			-	337.3 > 219.0	675	1350	665
8	サトラトキシシン H	7.6	+	529.4 > 231.3	134	80	46
9	サトラトキシシン H 12', 13'-ジアセテート	8.7	+	613.3 > 245.3	1269	1138	1631

* 試験溶液の溶媒組成は0.4%(w/v)TCA含有60%(v/v)メタノール溶液

** シイタケのマトリックス濃度は0.02 g sample/mL

は不採用のトランジション。

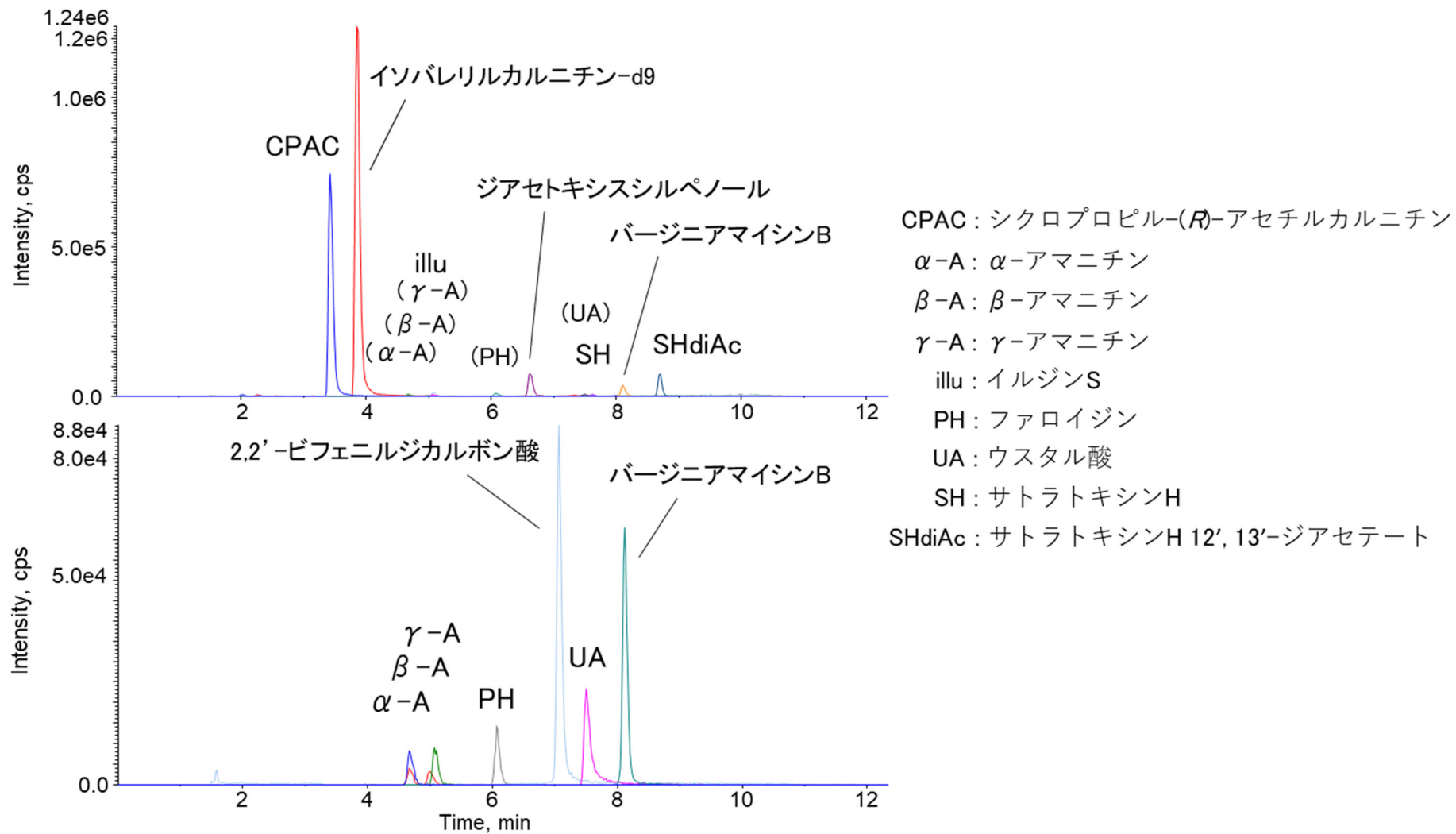


図7 キノコ毒9成分及び内部標準4成分のLC-MS/MSクロマトグラム(定量トランジション)
 標準溶液: 50 ng/mL (0.4%(w/v)TCA含有60%(v/v)メタノール溶液)、上: ESI(+), 下: ESI(-)

研究課題 2 「食中毒の病因植物種の遺伝子解析による同定法の開発

食中毒データベースの改訂および

簡易試験法としての有毒植物 LAMP 法の開発」

A. 研究目的

日本国内において、自然毒が原因となる食中毒事例は毎年報告されている。植物性自然毒による食中毒は、細菌ウイルスなどを含めた食中毒全体では 10%に満たないが、イヌサフランやニセクロハツ摂取など死に至るケースも報告されており、有毒植物の誤食は重篤な健康被害を引き起こすことが知られている。山菜採り、家庭菜園での採取や採取した植物の譲渡などによる「家庭」での中毒発生が多くを占めており、食中毒発生時には、簡便迅速な原因植物同定が重要となる。

原因植物の同定には、形態学的鑑別および LC-MS/MS による有毒成分の検出等が行われてきた。我々はこれまでに簡便法としての PCR- RFLP 法を開発してきたが、中毒原因植物種の同定に用いる確定検査法の整備も不可欠であることから、H29 年度に確定検査としてリアルタイム PCR 法を開発して報告した。また、遺伝子増幅法のひとつである LAMP 法は、PCR 法に比べて増幅の確認が簡易であり、ループプライマーを用いることにより短時間に検査結果を得ることが可能となるため、野外での検査も可能な簡易試験法として有用であると考えられる。

本研究では、食中毒事例が多い 5 種の有毒植物の *matK* 領域を標的としたリアルタイム PCR 検査法の妥当性確認を外部 4 機関で行った。並行して、有毒植物による食中毒事例の 6 割を占めるスイセン、バイケイソウ、

イヌサフラン、チョウセンアサガオ、トリカブトを検出する LAMP 法の開発を目指した。

また、開発したこれらの手法が広く活用され、場合により改良されると同時に、新たな標的植物あるいはきのこについての検査法開発を自ら行える環境を作成して提供することが重要と考えられる。

自然毒のリスクに関する情報提供による健康被害防止を目的として、平成 22 年厚生労働科学研究「自然毒のリスクプロファイル作成を目指した調査研究」の成果として公開されている自然毒のリスクプロファイル情報をもとに、本研究の遺伝子検査法に関する詳細情報を加えて、植物性自然毒のデータベースを国立医薬品食品衛生研究所生化学部内に植物性自然毒データベース (MushPlant) として整備することとした。

B. 研究方法

1. 有毒植物リアルタイム PCR 法の外部機関による妥当性確認試験

(1) 試料

イヌサフラン葉は岐阜県保健環境研究所から分与された。残りの対象 4 種の有毒植物は国内各地より採集した。

(2) DNA 抽出法

メタルコーン (MC-0316、安井器械) と粉碎用チューブ (ST-0350F-O、安井器械) を用いて、 -80°C で 20 分間冷却した試料を粉碎機 (MULTI-BEADS SHOCKER® MB701、安井

器械)で粉碎した。DNA 抽出は DNeasy Plant Mini Kit (QIAGEN) を用い、キットのプロトコールに従って行った。

(3) 検知用プライマー

H29 年度に開発したスイセン、バイケイソウ、イヌサフラン、チョウセンアサガオ、トリカブトおよびそれと誤認しやすい食用植物の各バーコーディング領域のアライメント解析から、変異箇所が多い領域で設計された有毒植物を検出するプライマー・プローブ対を使用した。

(4) 妥当性確認試験用サンプル

pEX-K4J1 vector 骨格に、対象 5 種の有毒植物の *matK* 領域を含む PCR 増幅領域に前後数 10 bp を連結した配列を挿入して作製した陽性コントロールプラスミド、および、6 種のブラインドサンプル、そして抽出操作から試行する試料 2 種を配布試料一式とした。内訳は、希釈 2 濃度の有毒植物抽出 DNA 溶液 (1 pg/ μ L、10 pg/ μ L)、希釈 2 濃度の陽性コントロールプラスミド溶液 (100 copies/ μ L、1,000 copies/ μ L)、陰性コントロールとしてトウモロコシ DNA 抽出液と水である。

(5) 妥当性確認試験

妥当性確認試験は東京都健康安全研究センター、北海道立衛生研究所、大阪健康安全基盤研究所、兵庫県立健康科学研究所の 4 機関で実施した。参加各機関には各サンプル 2 ウェル併行、2 試行分のデータファイルを返送してもらい国立衛研にて解析を行った。

2. 迅速試験法としての有毒植物 LAMP 法の開発

(1) 試料

本研究で用いた有毒植物 (スイセン、バイケイソウイヌサフラン、スズラン 2 種、チョウセン

アサガオ 3 種、トリカブト 4 種) および食用植物 (ニラ、ギボウシ 2 種、ギョウジャニンニク、ニリンソウ) は北海道立衛生研究所の薬用植物園で採取したものを使用した。その他の食用植物 (モロヘイヤ、オクラ、ゴボウ) は国内産 (北海道、沖縄県、群馬県) の市販品を試料として用いた。

(2) DNA 抽出

各試料からの DNA 抽出は、DNeasy plant mini kit (QIAGEN) または PrepMan Ultra Sample Preparation Reagent (Thermo Fisher Scientific) を用いた。抽出した DNA 溶液の濃度は、超微量分光光度計 NanoDrop One (Thermo Fisher Scientific) を用いて定量した。

(3) 遺伝子解析

本 LAMP 法の標的遺伝子として、植物の DNA バーコーディング領域である ITS 領域、*rbcl* 領域、*matK* 領域および *psbA-trnH* 領域の遺伝子解析を行った。それぞれに対応したユニバーサルプライマーを用いて PCR を行い、得られた PCR 産物をもとにシーケンス解析を行った。得られた塩基配列は、GENETYX Ver.13 (ゼネティックス社製) および BLAST を用いて解析した。

(4) LAMP 法

Loopamp DNA 増幅試薬キット (栄研化学) を用い、必要に応じて Loopamp 蛍光・目視検出試薬 (栄研化学) を反応液に添加し、LAMP 法を実施した。増幅は、63°C で 1 時間もしくは 2 時間保持することで行った。その後、酵素を失活させるため 80°C で 5 分間処理した。増幅反応には、リアルタイム濁度測定装置 LA-320C (栄研化学) を用いた。

3. 植物性自然毒データベースの整備

国立医薬品食品衛生研究所生化学部内の植物性自然毒データベースに掲載する情報、必要な資料を作成した。

(1) 厚労省・自然毒リスクプロファイルのホームページの各項目内にある食中毒統計からきのこを原因とする食中毒と有毒植物を原因とする食中毒情報を抜粋し、2000年から2018年まで、さらに更新作業として2020年までを追加して、年次ごとに整理集計、その年に報告された原因食物とその発生件数、摂食者総数、患者数、死者数を表にまとめた独立したページを作成した。年次推移もグラフで表示した。

(2) 厚労省・自然毒リスクプロファイルホームページの植物性自然毒項 個別データを整理した。まず、食中毒原因植物およびきのこのデータについて個別ファイルに分け情報を整理し見やすく改訂、関連する遺伝子配列情報を充実(きのこ)するとともに、中毒統計情報は厚生労働省食中毒情報にて公開される前年度事例一覧から自然毒(植物) およびきのこを原因とする項目を抜粋、整理して追加の作業などを行った。きのこの項においては、最近の知見により、クサウラベニタケをクサウラベニタケ近縁種とし、3種があることを記載した。そして、それまですべての品種が一つのファイルにまとめられていた情報をもとに、1品種ごとに統一書式を用いた個別ファイルに整理した。

(3) 有毒きのこではツキヨタケおよびクサウラベニタケ近縁3種について、また、有毒植物ではイヌサフラン、スイセン、バイケイソウ、チョウセンアサガオ、トリカブトの5種について、検査・同定法として遺伝子検査法(PCR-RFLP法およびリアルタイムPCR法)に関する情報を記載した。【有毒きのこ】ツキヨタケおよびクサウラベニタケ近縁3種の遺伝子検

査法について I.PCR-RFLP 法と II.Real-time PCR を用いた方法の二章からなる実験手順書を作成し、詳細に示した。それぞれの試験に使用するプライマー・プローブの配列情報も記載した。【有毒植物】イヌサフラン、スイセン、バイケイソウ、チョウセンアサガオ、トリカブトの5種の遺伝子検査法に関する有毒きのこ同様に示した。標的植物あるいはきのこの配列に関する情報も別表に一覧した。次いで、きのこの配列情報について、個別データを記載している残り17種(ニガクリタケ、カキシメジ、シロタマゴテングタケ、テングタケ、ドクササコ、ドクツルタケ、ベニテングタケ、タマゴタケモドキ、ニセクロハツ、ドクヤマドリ、ニセショウロ、ヒメアジロガサ、ネズミシメジ、ハイイロシメジ、ヒガシシビレタケ、スギヒラタケ、カエントケ)についても調査して加えることで配列に関する情報量を大幅に増強した。

(4) (3) 以外の標的きのこ、あるいは植物についての遺伝子検査法を自ら作成可能にするための手順概要を記載し、分析スキームを作成した。分析スキームは、行うべき実験手順をフローチャートで示し、検査方法を選択するフローをわかりやすく示した。これらの食中毒情報を一元化して植物性自然毒データベースとして整理し、生化学部ホームページ内に新しく設けることで、年次変化や中毒発生傾向などを把握しやすくなることが期待される。

C. 研究結果と考察

1. 食中毒事例が多い5種の有毒植物の *matK* 領域を標的としたリアルタイムPCR検査法の妥当性確認

外部機関として東京都健康安全研究センター、北海道立衛生研究所、大阪健康安全基

盤研究所、兵庫県立健康科学研究所の4機関で実施した結果、配布したいずれの試料においても誤判定はなく良好な結果が得られたことから、本法は有毒植物同定に優れた方法として活用可能と考えられた。

2. 迅速試験法としての有毒植物 LAMP 法の開発

各有毒植物検出に用いる LAMP 用プライマーを設計するため、ITS 領域、*rbcL* 領域、*matK* 領域および *psbA-trnH* 領域の配列情報を解析した。その結果、ITS 領域や *matK* 領域は、同属である有毒植物の間では共通配列が多い一方、属が異なる有毒植物や食用植物との間では特徴的な差異が認められたことから、バイケイソウとトリカブトでは ITS 領域を、スイセン、イヌサフランおよびチョウセンアサガオでは *matK* 領域を標的とするプライマーを設計した。これらのプライマーを用いて LAMP を行ったところ、標的有毒植物でのみ DNA の増幅が確認された。しかし、DNA 増幅の立ち上がりに 30 分から 50 分ほど要したことから、反応時間の短縮および検出感度の向上を目的にループプライマーの追加設計を検討した。本来ループプライマーは 2 本まで設計可能であるが、イヌサフランについては配列情報から 1 本とした。ループプライマーを含む各有毒植物検出用プライマーセットを用いて有毒植物および食用植物 20 種に対する LAMP を行ったところ、いずれも標的有毒植物でのみ 20 分から 30 分程度で DNA 増幅の立ち上がりを確認され、その他の植物では非特異的な増幅は認められなかった。また、60 分間の反応時間で有毒植

物の有無を判定するのに十分な量の DNA 増幅が可能であった (図 1)。

次に、有毒植物が疑われる実際の食中毒を想定して、加熱・消化処理した各有毒植物に対する本 LAMP 法の有用性を検討した。各植物の加熱・消化処理は、純水中で 100℃30 分加熱後に人工消化液に 60 分間浸漬して行い、DNA の抽出は、短時間で操作可能な簡易 DNA キットで行った。その結果、それぞれ標的有毒植物の DNA 増幅が認められたことから、本法が適用可能と考えられた。

3. 植物性自然毒データベース (MushPlant) の整備

すでに方法が確立している有毒きのこ (ツキヨタケ、クサウラベニタケ近縁 3 種) と有毒植物 5 種の分析の場合は、検査・同定法欄の簡易検査法 (PCR-RFLP) または確定検査法 (Real-time PCR) の項に示された実施手順概要、配列情報、プライマー・プローブ情報、標準プラスミド配列を参考にして検査を実施することができる。

食用/有毒含めて開発過程で解析した配列は NCBI に登録をして Accession # を取得している。これらの配列情報 (採取サンプルの解析を含む) は一覧表に整理してあるため、入手したい配列は表の Accession # をクリックすることで NCBI の該当するホームページから必要な配列情報を得ることができ、方法の改良を行うことも可能となった。きのこの配列情報については特に事例の多いツキヨタケとクサウラベニタケ類の 2 種のみを先行公開とし、次いで 17 種 (ニガクリタケ、カキシメジ、シロタマゴテングタケ、テングタケ、ドクササコ、ドクツルタケ、ベニテングタケ、タマゴタケモド

キ、ニセクロハツ、ドクヤマドリ、ニセショウロ、ヒメアジログサ、ネズミシメジ、ハイイロシメジ、ヒガシシビレタケ、スギヒラタケ、カエンタケ)についても調査して加えた。これにより、国内で食中毒が報告されている多くのきのこのこについて検査法を開発できると期待される。

この時に、新たに分析法を確立する場合は、分析法開発スキームに従って行う。

原因種の個別データも整理して掲載した。データベース上からダウンロードしたひとまとめのファイルを用いて知りたい情報を各々が検索する方法とともに、個別のファイルから目的の情報を参照することもできるようにした。これによって利用者は、品種横断的な検索のほかに目的品種の知りたい情報にすばやくアクセスできるようになった。個々のファイルは、統一書式を用いることで情報の見やすさや探しやすさを向上させた。

各項目に分散していた食中毒情報を一元化して、食中毒統計情報として新たなページを作成して整理するとともに、厚生労働省発表の食中毒統計資料(2000年～2020年)から有毒植物およびきのこのこによる発生事例を集計して、年次推移を示した。

過去20年の統計情報から、同定された原因きのこのこに関しては、ツキヨタケまたはクサウラベニタケ類が主要な原因きのこのこであった。事例発生件数総数は、きのこのこの生育状況や採取数が天候や社会情勢の影響を受けることを考慮する必要があるが、年16件から86件までの幅があった。死者数は少ないが数年ごとに発生し、合計14名であった。ドクツルタケやニセクロ

ハツ、カエンタケが原因と判明した例もあったが、原因種不明の場合も多く存在し、注意する必要がある。有毒植物の中でイヌサフランは2014年から2019年にかけて6年連続して中毒死亡例があり、今後も注意する必要がある。

D. 結論

中毒発生時確定法として有毒植物5種(スイセン、バイケイソウ、イヌサフラン、チョウセンアサガオ、トリカブト)に対するリアルタイムPCR検査法は、十分な感度、特異性、精度を持ったすぐれた方法であると確認された。

また、スイセン、バイケイソウ、イヌサフラン、チョウセンアサガオ、トリカブトをそれぞれ検出可能なLAMP法を開発した。本LAMP法は、食品残差にも適用でき、短時間で野外での検査も可能であると考えられた。

そして、植物性自然毒に関する食中毒統計情報、検査法分析手順、新たな分析法開発スキーム、遺伝子配列情報のほか、分類を行うための分子系統樹解析例を示した新たな植物性自然毒データベースMushPlantを構築し、さらに改良を行った。本データベースを活用することにより、各試験機関は既法の遺伝子検査法の実行や改良を行えるだけでなく、新たな標的に対する試験法の開発が可能となる。

E. 健康危険情報

なし

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Takabatake, R., Kagiya, Y., Minegishi, Y., Futo, S., Soga, K., Nakamura, K., Kondo, K., Mano, J., Kitta, K. Rapid screening

- detection of genetically modified crops by loop-mediated isothermal amplification with a lateral flow dipstick. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 66, 7839-7845, 2018.
- 2) Soga, K., Nakamura, K., Kishine, M., Takashima, Y., Miyahara, T., Kimata, S., Mano, J., Takabatake, R., Ozeki, Y., Kitta, K., Kondo, K. Studies on the detection of maize genomic DNAs in cornflakes using real-time PCR. *Bulletin of National Institute of Health Sciences*, 136, 31-39, 2018 邦文 (リアルタイム PCR を用いたコーンフレーク中のトウモロコシゲノム DNA 検出について: 曾我慶介、中村公亮、岸根雅宏、高嶋康晴、宮原平、木俣真弥、真野潤一、高嶋令王奈、小関良宏、橘田和美、近藤一成)
 - 3) 近藤一成、坂田こずえ、加藤怜子、菅野陽平、武内伸治、佐藤正幸: 有毒クサウラベニタケ近縁種のリアルタイム PCR 法による同定. *食衛誌* 60 (5)、144-150、2019
 - 4) Narushima, J., Kimata, S., Soga, K., Sugano, Y., Kishine, M., Takabatake, R., Mano, J., Kitta, K., Kanamaru, S., Shirakawa, N., Kondo, K., Nakamura, K.: Rapid DNA template preparation directly from a rice sample without purification for loop-mediated isothermal amplification (LAMP) of rice genes. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 84, 670-677, 2020
 - 5) 曾我慶介、中村公亮、岸根雅宏、高嶋康晴、宮原平、木俣真弥、真野潤一、高嶋令王奈、小関良宏、橘田和美、近藤一成: リアルタイム PCR を用いたコーンフレーク中のトウモロコシゲノム DNA 検出法の検討、第 54 回全国衛生化学技術協議会年会、神奈川、2018 年 11 月
 - 6) 菅野陽平、青塚圭二、坂田こずえ、中村公亮、鈴木智宏、近藤一成: LAMP 法を用いた有毒キノコ迅速判別法の構築-ツキヨタケとクサウラベニタケの同時検出に関する検討-、日本食品化学学会 第 24 回 総会・学術大会、東京、2018 年 5 月
 - 7) 木俣真弥、中村公亮、石垣拓実、曾我慶介、岸根雅宏、高嶋令王奈、橘田和美、近藤一成: ダイズにおけるゲノム DNA の位置に依存した DNA 分解度の違い、日本食品化学学会 第 24 回 総会・学術大会、東京、2018 年 5 月
 - 8) 坂田こずえ、木村圭介、後藤操、菅野陽平、野村千枝、加藤怜子、近藤一成: リアルタイム PCR を用いた有毒植物検査法の妥当性確認、日本食品衛生学会 第 114 回学術講演会、広島、2018 年 11 月
- regulate gene expressions related to cell differentiation and proliferation, 2018 ASCB EMBO Meeting, San Diego, CA, USA, 2018 年 12 月

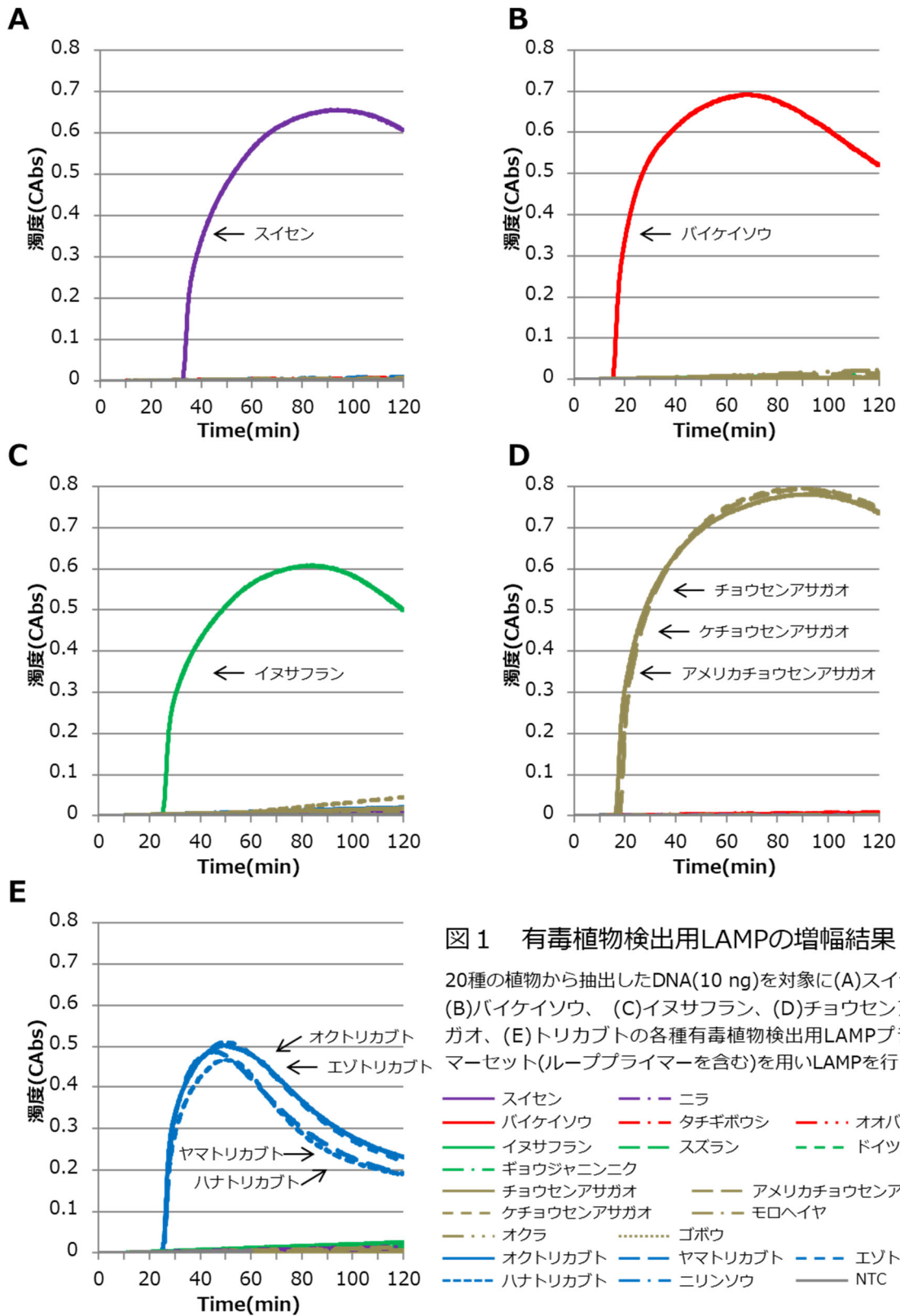
2. 学会発表

- 1) Kondo, K., Kato, R., Sakata, K., Nakamura, K. Mitochondria-resident non-releasable AIF mutant may

- 7) 加藤 怜子、坂田 こそえ、近藤 一成 : Apoptosis-inducing factor の L101/103G 変異体は細胞増殖と神経突起形成を阻害する、第 41 回日本分子生物学会年会、横浜、2018 年 11 月
- 8) 成島純平、中村公亮、木俣真弥、曾我慶介、菅野陽平、岸根雅宏、高島令王奈、真野潤一、橘田和美、金丸俊介、白川七海、近藤一成: コメ由来遺伝子の高精度検査を可能にする簡易法の開発. 日本食品衛生学会第 115 回学術講演会、東京、2019 年 10 月
- 9) 菅野陽平: LAMP 法 (ループ介在等温増幅法) による自然毒の遺伝子検査へのアプローチ. 第 56 回 全国衛生化学技術協議会年会 部門別研究会 食品部門、広島、2019 年 12 月
- 10) 坂田こそえ、加藤 怜子、近藤 一成 : 自然毒データベースの改定について. 第 56 回全国衛生化学技術協議会年会、広島、2019 年 12 月
- 11) Kondo, K., Sakata, K., Kato, R, Noguch, A.: Identification of toxic plants that cause severe food poisoning using real-time PCR. Recent Advances in Food Analysis Prague, Czech Republic, Nov.5-8 (2019)
- 12) 菅野 陽平、青塚 圭二、坂田 こそえ、中村 公亮、鈴木 智宏、近藤 一成: LAMP 法を用いた有毒植物の迅速判別法の構築、日本食品化学学会 第 26 回 総会・学術大会、誌上発表、2020 年 5 月
- 13) 菅野陽平、青塚圭二、上野健一、鈴木智宏: ウェスタンブロット法によるアレルギー物質検査の判定に関する画像解析、第 57 回全国衛生化学技術協議会年会、誌上発表、2020 年 11 月
- 14) 近藤一成、坂田こそえ、曾我慶介、菅野陽平、佐藤正幸、福多賢太郎、豊田敦、野口英樹: *Amanita virosa* のゲノム解析と遺伝子アノテーション、第 43 回日本分子生物学会年会、オンライン、2020 年 12 月
- 15) 曾我慶介、吉田光範、坂田こそえ、近藤一成: ナノポアシーケンス技術を用いた致死性有毒キノコ *Amanita virosa* のゲノムアセンブリの検討、第 43 回日本分子生物学会年会、2020 年 12 月

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし



研究課題3「植物性自然毒による食中毒事件に関する情報研究」

A. 研究目的

これまでの研究において、植物性自然毒による食中毒事件のうち有毒植物

(注：公式な分類名は「高等植物」であるが、一般的に理解しやすいよう本報告では「有毒植物」と呼ぶ)を原因とする事件の発生件数には近年増加の傾向が見られるとともに、死亡者の発生がほぼ毎年報告されており、我が国の食品安全上の問題の一つになっていることから、その発生予防と発生時の原因究明につながる研究が必要とされている。

本研究課題では、有毒植物を原因とする食中毒の実態をより正確に把握し、今後の食中毒調査の改善と発生予防に資するものとして、次の研究を行った。

- (1) 食中毒の原因となりやすい有毒植物の傾向解析
- (2) 食中毒の発生原因の解析
- (3) 有毒植物毎の食中毒症状の傾向解析と食中毒調査の問題点の検討
- (4) 国及び全国自治体による消費者向けの情報提供の実態調査
- (5) 食用植物と有毒植物の誤認に関する注意喚起のためのパンフレット及びポスター作成
- (6) 情報共有ネットワークの検討

B. 研究方法

厚生労働省監修（平成10年以前は厚生省監修）の「全国食中毒事件録（昭和30年～平成11年版）」及び厚生労働省ホームページの食中毒統計資料（最終確

認：2021年3月中旬）で公表された食中毒事件のうち、植物性自然毒（高等植物/有毒植物）を原因とする事件を抽出して本研究の調査対象とした。各食中毒事件の発生原因及び症状等の詳細情報については、補足資料として次のものを参考にした。引用した資料については本報告の各表の欄外に記した。

- ・ 食品衛生学雑誌（23巻1982年～61巻2020年）に掲載された「食中毒等事件例」
- ・ 国立衛生試験所報告
- ・ 全国地方衛生研究所等の年報
- ・ 全国地方自治体の報道発表資料

なお、全国食中毒事件録において病因物質が不明と記載されていた事件のうち、原因食品がシドケの1件、アメリカヤマゴボウの2件、シナアブラギリの実であった1件については、原因が有毒植物であると考えられたことから本研究では対象に入れた。また地域については、厚生労働省に報告した自治体が所属する都道府県名で記した。その際、政令指定都市等についても所在の都道府県に変更して記載した。

(1) 食中毒の原因となりやすい有毒植物の傾向解析

全国食中毒事件録及び食中毒統計資料をもとに、昭和34年～63年、平成元年～30年の各30年間に報告された食中毒事件について、原因となった有毒植物を調査して発生の傾向を比較した。

(2) 食中毒の発生原因の解析

全国食中毒事件録及び食中毒統計資料をもとに、原因施設別および原因となった有毒植物毎に発生原因の傾向を検討した。

(3) 有毒植物毎の食中毒症状の傾向解析と食中毒調査における問題点の検討

近年に食中毒事件の発生件数が多いスイセン、ジャガイモ、バイケイソウ類（バイケイソウ又はコバイケイソウ）、チョウセンアサガオ、ハシリドコロ、トリカブト、ヨウシュヤマゴボウ、イヌサフランを原因とする食中毒事件について、植物毎に食べ方、発症までの時間、症状分布をまとめた。

厚生労働省が毎年作成している食中毒統計資料は、「食中毒処理要領」(昭和 39 年 7 月 13 日付け環発第 214 号別添(最終改正：平成 31 年 3 月 29 日付け生食発 0329 第 17 号))に従い、食中毒の届出を受けた自治体の保健所による事件調査が終了し、その報告を受けた都道府県等から厚生労働省医薬・生活衛生局食品監視安全課食中毒被害情報管理室宛に提出された「食中毒事件調査結果報告書(食中毒事件票を添付)」及び「食中毒事件調査結果詳報」に基づいている。保健所長は、都道府県等へ提出するよう要請されている報告書類を作成するにあたり、食中毒の届出を受けた場合には、「食中毒統計の報告事務の取扱いについて(平成 6 年 12 月 28 日付け衛食第 218 号)」別添の食中毒統計作成要領に従って

「食中毒調査票」(様式第一：昭和 55 年 10 月 1 日厚生 1-1-3-11;以下、調査票とする)を作成することとされている。調査票には患者の症状に関する記録が求められており、提示されている症状は「下痢、発熱、嘔気、悪寒、嘔吐、倦怠感、裏急後重(りきゅうこうじゅう：しぶり腹)、麻痺、臥床、曖気(あいき：げっぷ)、頭痛、戦慄(せんりつ：全身のふるえ)、腹痛、脱力感、瘧れん、眼症状、その他の症状」である。しかしながら、有毒植物による食中毒の症状は多岐にわたり、上記の症状項目のうち「その他の症状」に該当する症状も多い。そのため、調査票に提示された代表的な食中毒症状と、過去の有毒植物による食中毒事件で報告された症状分布を比較し、有毒植物それぞれに特有の症状の傾向を解析するとともに、現在の食中毒調査における問題点を検討した。その上で、指摘された問題点を解決することを目指した「食中毒症状調査票(植物性自然毒)」を作成した。

(4) 国及び全国自治体による消費者向けの情報提供の実態調査

国(厚生労働省、農林水産省、消費者庁、内閣府食品安全委員会)、都道府県及び政令指定都市のウェブサイトを対象に次の項目について調査した。

- ① 食中毒の原因となる有毒植物に特化した注意喚起等のウェブサイトの有無
- ② 食中毒の原因となる有毒植物に関するリーフレット/パンフレットの有無
- ③ 公開している情報内容

(5) 食用植物と有毒植物の誤認に関する注意喚起のためのパンフレット及びポスター作成

食中毒の原因となる主な有毒植物について、それらと外観がよく似た食用の植物と誤認しないよう注意喚起するためのパンフレット及びポスターを作成した。

作成にあたり、写真を多く掲載して消費者に興味を持たせるようなデザインにすること、特徴的な見分け方を記載すること、各有毒植物の特徴とともに中毒症状と誤認しやすい食用の植物を記載することにした。パンフレット及びポスターに掲載した有毒植物の種類は、近年に食中毒の発生件数が多いイヌサフラン、グロリオサ、スイセン、ヨウシュヤマゴボウ、チョウセンアサガオ及びヨウシュチョウセンアサガオ、ハシリドコロ、バイケイソウ及びコバイケイソウ、トリカブトとした。

記載内容は、主に下記資料を参考にした。

- 1) 厚生労働省ホームページ：自然毒のリスクプロファイル
https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/kenkou_iryuu/shokuhin/syokuchu/poison/index.html
- 2) 農林水産省ホームページ：知らない野草、山菜は採らない、食べない！
https://www.maff.go.jp/j/syouan/nouan/rinsanbutsu/natural_toxins.html
- 3) 消費者庁：家庭菜園等における有毒植物による食中毒に御注意くだ

さい (2016)

https://www.caa.go.jp/policies/policy/consumer_safety/release/pdf/160413kouhyou_1.pdf

- 4) 学研フィールドベスト図鑑 16 日本の有毒植物, (株)学研プラス (2012)
- 5) 薬草ガイドブック 野外編, 公益社団法人日本植物園協会 (2020)
- 6) 毒草ハンドブック, 北海道 (2020)
- 7) 庭や野山の毒草ハンドブック, 札幌市 (2018)
- 8) 身近にある有毒植物, 東京都福祉保健局/東京都健康安全研究センター (2015)
- 9) 食品危害要因 その実態と検出法, 第II編第1章第4節 有毒な高等植物, (株)テクノシステム, pp.171-77 (2014)

(6) 情報共有ネットワークの検討

食中毒の原因特定の最前線に位置づけられる全国地方衛生研究所 (以下、全国地研) の研究者を対象にして、原因特定を行う上での問題点や現状について聞き取りを行った。さらに、それをもとに原因特定に役立つ情報を共有するためのネットワークの構造案をまとめ、さらに関係者の意見を聞くことにした。

C. 研究結果及び考察

(1) 食中毒の原因となりやすい有毒植物の傾向解析

全国食中毒事件録及び食中毒統計資料をもとに、有毒植物を原因とする食中毒事件について、昭和34年～63年 (以下、昭

和 30 年間)の発生件数の合計で上位 10 位の植物を表 1、平成元年～30 年(以下、平成 30 年間)の発生件数の合計で上位 10 位の植物を表 2 に示した。

近年の傾向として、スイセンを原因とする食中毒事件が急増し、イヌサフランやクワズイモといった園芸植物が原因として浮上している。イヌサフランは細胞の有糸分裂に影響を与えるコルヒチンを有毒成分として含み、ヒトが誤って摂取すると量によっては致死的になるほど重篤な食中毒症状を呈す。実際に、平成 30 年間にイヌサフランの誤食による食中毒事件は 19 件報告され、うち 10 件で死亡者が出ている。そのため、イヌサフランは今後特に注意を向けるべき有毒植物である。

(2) 食中毒の発生原因の解析

有毒植物による食中毒の大部分は、それらと外観が酷似している食べられる植物(山菜など)との誤認が主原因であった。その他に、見た目だけで「やわらかくて美味しそうだった」「食べられると思った」という安易な動機で採取、喫食している事件が複数あり、自然に生えている植物には有毒な成分を含むものが多くあることや、食べられるものであると確実に同定できない植物を摂取することのリスクの高さが、必ずしも理解されてはいないと推測された。

さらに、学校の休み時間に児童が校庭で採取したものを教師が受け取り調理して児童に食べさせた事件や、総合学習などの授業の一環で栽培や採取したものを教師が児童と一緒に調理、喫食した事件もあっ

た。このように教師がチェックできる状況下で児童に食中毒が発生したことは残念であり、そのチェック時に、より注意深くなって食べることをやめていれば食中毒には至らなかったと考えられる。そのため、食中毒の発生予防のためには学校関係者への注意喚起や情報提供が必須と言える。また、総合学習や自然学習の授業において児童への教育に自然毒を含む食中毒に関する内容を取り入れることも予防につながると考える。

原因施設が「飲食店」又は「旅館」と報告された事件では、原因植物としてクワズイモとバイケイソウが多く報告されていた。主な原因は、1) 見た目がよく似た食べられる植物(食材)との誤認、2) 庭や近隣に生えていた植物の料理の飾りとしての使用、であった。飲食店や旅館では、客が持参して調理を要望された事件もあったが、プロの調理人であっても有毒植物であることに気付かないまま調理・提供している点に留意する必要がある。このことは、料理人が有毒植物と誤認しやすい食材の存在を認識していない、見た目が酷似している場合には普段から食材を扱っている人でも疑うことがないという状況をよく示している。一方、食中毒事件のうち原因施設が「販売店」又は「製造所」と報告された事件では、その多くが農産物直売所で販売された品により発生しており、生産者が、食べられる植物と誤認して有毒植物を採取・納入したことによる。農産物直売所は、大規模スーパー等のように栽培から出荷までよく管理された多量の農産品が納品されるわけではなく、個人の生産者が

少量を自ら持ち込む形式であることが多い。通常は、購入者は食品として販売されているものの安全性を疑うことはないの
で、購入時に有毒植物が混入している品を避けることは難しいと考えられる。食品衛生法第六条では、有毒な、若しくは有害な物質が含まれる疑いがある食品の販売又は販売用に採取や陳列等をしてはならないとしている。つまり、生産者（採取者）と販売施設の運営者がともに、有毒植物と食用植物との誤認の可能性を認識して注意を怠らず、安全に販売するためのチェック体制の構築が望まれる。

(3) 有毒植物毎の食中毒症状の傾向解析と食中毒調査の問題点の検討

スイセン、ジャガイモ、バイケイソウ類（バイケイソウ又はコバイケイソウ）、チョウセンアサガオ、ハシリドコロ、トリカブト、ヨウシュヤマゴボウ、イヌサフランの摂取が原因となった食中毒事件について、患者の症状分布が記載された報告を調べ、植物毎に食べ方、発症までの時間、症状分布をまとめた。複数の食中毒事件で報告された症状を統合的に解析することにより、それぞれの有毒植物に特有の症状について傾向を確認することができた。しかし、食中毒調査において症状の聞き取りは調査担当者への依存度が大きく、担当者によって聞き取る症状の種類や症状名が異なる可能性が高い。そのため、本研究でまとめた症状分布についても、それぞれの有毒植物による食中毒症状の傾向をある程度は示しているものの、正確に捉えているとは言い切れない。

以上の問題点を解決するには、有毒植物に特有なものを含めたさまざまな症状を聞き取れるよう準備をしておくことが望ましい。そのようなことから、食中毒調査の経験者及び医師の助言のもと、食中毒の発生時に確認すべき症状を整理して、調査担当者が理解しやすい症状名でチェックしやすく工夫した「食中毒症状調査票（植物性自然毒）」（図1）を作成した。作成した食中毒症状調査票は、有毒キノコによる食中毒の症状も網羅しており、有毒キノコにも適用することも可能である。

その他、植物の有毒成分をはじめとする自然毒には、中毒を誘発することはわかっていても、どの程度の摂取量で発症するか毒性量が明確にされていないものも多い。有毒成分の毒性量はヒトの体重1kg当たりの摂取量で示されるため、導出するには「残品中の有毒成分の濃度」、「患者が食べた量」、「患者の体重」のデータが必要になるため、それらの記入欄も作成し、記録に残しやすいようにした。

病原性微生物やウイルスによる食中毒に比べると、有毒植物による食中毒の発生は非常に散発的で、調査担当者が経験する機会が少ない。そのため、このように有毒植物に特有の多彩な症状をチェックできるようにしておくことで、調査担当者にとっては、有毒植物による食中毒の調査経験がなくても患者の症状の聞き取りや記録が容易になる。さらに、統一された症状名でデータを蓄積していくことで、より正確な症状分布の解析が可能になる。

(4) 国及び全国自治体による消費者向けの情報提供の実態調査

食中毒の原因となる有毒植物について、国及び全国自治体による消費者向け情報の提供状況について調査し、その結果を解析した。国及び全国自治体の中には、知識普及や注意喚起のためのリーフレットやパンフレット等を作成して公開しているところも多く、東京都福祉保健局/東京都健康安全研究センターが作成した「身近にある有毒植物」、札幌市と北海道が協力して発行している「(庭や野山の) 毒草ハンドブック」が植物の種類及び内容ともに充実していた。しかし、自治体が異なると配布等がしにくいといった意見が聞かれた。そのため、自治体や利用者の所属に関係なく広く利用可能なパンフレット等を作成することが望ましいと考えられた。

(5) パンフレット及びポスター作成

有毒植物と食用植物との誤認について市民に注意喚起するためのパンフレット(図2)とポスター(図3)を作成して国立医薬品食品衛生研究所安全情報部第三室のウェブサイト上に公開し、誰でもダウンロードして自由に利用できるようにした。パンフレットについては、有毒植物による食中毒を注意喚起するための厚生労働省のウェブサイト及び農林水産省のFacebookサイトから参考資料としてリンクが貼られた。

食中毒の原因となる有毒植物や、それと誤認しやすい食用植物の種類は時代とともに変化することから、その変遷に合

わせて内容を更新していくことが望まれる。

(6) 情報共有ネットワークの検討

有毒植物が原因として疑われる食中毒の原因特定にあたり全国地研の現状と抱えている問題について、特に化学分析に係ることの聞き取りを行った。その結果、原因特定に時間がかかる理由として、食中毒発生時に分析対象の標準物質を所持していない、分析した経験がない、あるいは目的の分析法の知識を持ち合わせていない、という点が主な理由として挙げられた。これは有毒植物による食中毒が、全国で散発的に発生し、原因となる植物の種類も多岐にわたるといった特徴が影響している。標準物質を揃えたくても、対象となる標準物質の種類が多すぎるため、そして発生が散発的すぎて標準物質を準備しておいても使用しないまま長期間保存することにより品質が劣化する可能性や、全く使用しない可能性もあり、予算上の問題から購入できない地研も少なくない。また当該地域で過去に経験したことのない有毒植物による食中毒の場合には、新たに分析法を調べるところから作業を開始しなければならず、その作業に時間を要することもある。しかも近年は全国自治体における人事異動が以前よりも頻繁になり、長年に渡り食中毒の原因同定の経験を積んだ人材が地研に在席し続けることも難しくなっている。そのような場合の対処法として、地研の地域ブロックの中には協定を結びその地域ブロック内で協力できる体制を整えているところもあるが、地域ブロックを超

えての相談が手続き上難しいこともあり、最終的には個人的なつながりを頼りにしていることが多いのが現状である。

この問題の解決に向けて、必要とされる関係情報の集約と全国の地研や関連分野の専門家をつなぐネットワークのシステム構築について地方衛生研究所全国協議会衛生化学分野に働きかけ、実現に向けて取り組むこととなった。

D. 結論

厚生労働省監修の全国食中毒事件録及び食中毒統計資料をもとにした調査結果から、昭和30年間に比べて平成30年間では食中毒の原因植物としてイヌサフランやクワズイモが新たに報告されるようになり、スイセン、ハシリドコロの発生件数の増加がみられた。イヌサフランは中毒症状が重篤になりやすいため死亡者の発生率も高く、今後特に注意を要する。

過去に発生した有毒植物による食中毒事件の報告の解析から、食中毒調査における問題点の一つとして、有毒植物による食中毒の症状が多様であるための的確な症状の聞き取りができていない可能性が指摘された。そのため、有毒植物に特有の症状を把握して効率良く調査を行えて、解明されていない有毒成分の毒性量の導出に必要なデータも記録できるようにした食中毒症状調査票を作成した。

さらに、食中毒の主な発生原因が食用植物と有毒植物の誤認であったが、患者は身近に有毒植物があること、それらを食用植物と誤認する可能性があることを

認識していない場合も多かったことから、食中毒の発生予防には市民への徹底した正しい知識の普及と注意喚起が何よりも必要で、効果があると考えられた。

本研究で行った食中毒の実態を正確に把握するための取り組みとパンフレット等の作成・公開は、今後の有毒植物による食中毒の発生予防の一助となると期待される。

E. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 南谷臣昭、登田美桜、大城直雅：質量分析による自然毒食中毒の理解 課題と展望, *質量分析*, 67, 71-77, 2019

2. 学会発表

- 1) 登田美桜：自然毒食中毒に関する最近の話題、平成30年度地方衛生研究所全国協議会近畿支部自然毒部会、神戸市、2018年11月
- 2) 南谷臣昭、谷口賢、登田美桜：高等植物による食中毒事例に対応するための一斉試験法の検討、平成30年度地方衛生研究所全国協議会東海・北陸支部衛生化学部会、岐阜市、2019年1月
- 3) 谷口賢、南谷臣昭、友澤潤子、登田美桜：植物性自然毒の多成分同時分析法の開発：高等植物、令和元年度

地方衛生研究所全国協議会、広島市、2019年12月

- 4) 友澤潤子、谷口賢、南谷臣昭、登田美桜：植物性自然毒の多成分同時分析法の開発：キノコ、令和元年度地方衛生研究所全国協議会、広島市、2019年12月

- 5) 南谷臣昭、谷口賢、友澤潤子、登田美桜：植物性自然毒の多成分同時分析法の開発：高等植物（第2報）、令和2年度地方衛生研究所全国協議会、Web開催、2020年11月

3. 市民向け発表会

- 1) 登田美桜：「有毒植物による食中毒について」、平成30年度長崎県食品の安全・安心リスクコミュニケーション、2018年10月、長崎県食品安全・消費生活課
- 2) 登田美桜：「有毒植物による食中毒について」、平成30年度長崎県食品の安全・安心リスクコミュニケーション、2018年11月、長崎県食品安全・消費生活課
- 3) 南谷臣昭、登田美桜：「野草や山菜などの自然毒について」、平成31年3月食品安全セミナー、2019年3月東海農政局消費・安全部消費生活課

4. 行政関係者向け説明会

- 1) 登田美桜：「有毒植物による食中毒の最近の傾向」、平成30年度食品安全にかかる科学セミナー、2018年10月、農林水産省消費・安全局

- 2) 登田美桜：「自然毒に関する最近の話題」令和元年度地方衛生研究所全国協議会近畿支部自然毒部会、2019年11月

- 3) 登田美桜：「国内における最近の自然毒による食中毒関連情報について」令和元年度地方衛生研究所全国協議会東海・北陸ブロック会議2019年12月

- 4) 登田美桜、「国内における有毒植物による食中毒について」令和元年度岐阜県食品衛生監視員研修会、2020年1月

- 5) 登田美桜、「食中毒の原因となる自然毒について」令和元年度地方衛生研究所全国協議会衛生理化学分野研修会、2020年2月

- 6) 登田美桜：「有毒植物による食中毒の最近の傾向」令和2年度地方衛生研究所全国協議会九州ブロック専門家会議、2020年11月

- 7) 登田美桜：「植物性自然毒による食中毒の最近の傾向」農林水産省令和2年度食品安全にかかる科学セミナー

一、2020年8月、農林水産省消費・安全局

F. 知的財産権の出願・登録状況

特になし

謝辞

食中毒症状調査票の作成にあたり、多くの専門的なご助言をいただきました福島県立医科大学の小野寺誠先生、岐阜県保健環境研究所の今尾幸穂氏、またパンフレット及びポスターの作成にあたり、写真のご提供とともに有毒植物の特徴や見分け方について多くの貴重なご助言をいただきました姉帯正樹氏、北海道立衛生研究所の皆様、東京都健康安全研究センターの木村圭介氏に、この場をかりて心から厚く御礼申し上げます。

表 1. 昭和 34 年～63 年の上位原因植物

原因植物	発生件数
チョウセンアサガオ類	35
トリカブト類 (蜂蜜含む)	34
ヤマゴボウ類	29
ドクウツギ	15
バイケイソウ類	14
ジャガイモ	7
ウメ ギンナン	6
アブラギリ	5
ジギタリス ドクゼリ	4
シキミ スイセン	3

表 2. 平成元年～30 年の上位原因植物

原因植物	発生件数
バイケイソウ類	83
スイセン	73
チョウセンアサガオ類	63
トリカブト類	50
ジャガイモ	35
クワズイモ	25
イヌサフラン	19
ハシリドコロ	17
ヤマゴボウ類	13
ヒョウタン	5

図 1. 食中毒症状調査票（表）

食中毒症状調査票（植物性自然毒）		調査日：	都道府県 市町村/整理番号			
原因食品			原因と疑われる有毒植物	(名前) <input type="checkbox"/> 推定 (部位)		
食べた量	(例：○○ g、△△ cmを×個)		間違えた食用植物	(名前)		
● 症状について	性別 <input type="checkbox"/> 男性、 <input type="checkbox"/> 女性	年齢 歳	体重 kg	潜伏時間		
消化器症状	<input type="checkbox"/> 嘔気	<input type="checkbox"/> 胃のむかつき (不快感)	<input type="checkbox"/> 嘔吐	<input type="checkbox"/> 腹痛	<input type="checkbox"/> 下痢 [<input type="checkbox"/> 水様、 <input type="checkbox"/> 混血]	
循環器症状	<input type="checkbox"/> 脈拍 [/ 回/分] [<input type="checkbox"/> 頻脈、 <input type="checkbox"/> 徐脈] ^{注)}	<input type="checkbox"/> 調律 [<input type="checkbox"/> 早い、 <input type="checkbox"/> 乱れる、 <input type="checkbox"/> 触れにくい]	<input type="checkbox"/> 血圧 [/ mmHg] [<input type="checkbox"/> 上昇、 <input type="checkbox"/> 低下]	<input type="checkbox"/> 手足が冷たい	注) 通常は、脈拍100以上を頻脈、脈拍50以下を徐脈、としている。	
神経症状	<input type="checkbox"/> 頭痛	<input type="checkbox"/> しびれ [<input type="checkbox"/> 口唇、 <input type="checkbox"/> 手足、 <input type="checkbox"/> その他]	<input type="checkbox"/> 麻痺	<input type="checkbox"/> けいれん	<input type="checkbox"/> めまい・たちくらみ	<input type="checkbox"/> 意識障害
	<input type="checkbox"/> 発語障害	<input type="checkbox"/> 瞳孔 [<input type="checkbox"/> 散瞳、 <input type="checkbox"/> 縮瞳] [又は、 <input type="checkbox"/> 視力障害]				
呼吸器症状	<input type="checkbox"/> 呼吸困難	<input type="checkbox"/> 喘鳴 (ゼーゼー、ヒューヒューなどの呼吸音)				
精神症状	<input type="checkbox"/> 異常行動	<input type="checkbox"/> 幻覚	<input type="checkbox"/> 興奮	<input type="checkbox"/> 傾眠		
アレルギー症状	<input type="checkbox"/> 皮膚のかゆみ	<input type="checkbox"/> じんましん	<input type="checkbox"/> 唇の腫れ	<input type="checkbox"/> 喉が締め付けられるような感じ		
その他	<input type="checkbox"/> 発熱 (°C)	<input type="checkbox"/> 悪寒 (寒気)	<input type="checkbox"/> 全身のふるえ	<input type="checkbox"/> 口渇	<input type="checkbox"/> 流涎 (よだれ)	<input type="checkbox"/> 顔面紅潮
	<input type="checkbox"/> 灼熱感 (ヒリヒリやけるような感覚)	<input type="checkbox"/> 倦怠感	<input type="checkbox"/> 脱力感	<input type="checkbox"/> 皮膚症状 (皮膚炎など)		
その他の特記事項 (例：上記以外の症状、既往症、入院の有無、有毒成分の定量結果 mg/kg、自ら採集したもの/知人から譲渡されたもの、強い苦みを感じた)						

図 1. 食中毒症状調査票（裏）

有毒植物が原因と疑われる食中毒の症状を聞き取る際は、嘔吐や下痢などの消化器症状に加えて、下記の症状がな
いか留意して下さい。

- ◆ **スイセン、スノーフレーク、ヒガンバナ**：神経症状（頭痛、めまいなど）
- ◆ **チョウセンアサガオ類、ハシリドコロ**：神経症状（散瞳、口渇、めまい・たちくらみ、意識障害など）、精神症状（異常行動、
幻覚、興奮、傾眠など）、その他（顔面紅潮など）
- ◆ **バイケイソウ類**：循環器症状（血圧低下、脈の変化など）、呼吸器症状（呼吸困難など）、神経症状（頭痛、しびれ、麻痺、
めまい・たちくらみ、視力障害など）、その他（悪寒、脱力感など）
- ◆ **トリカブト**：循環器症状（血圧低下、脈の変化など）、呼吸器症状（呼吸困難など）、神経症状（しびれ、めまい・たちくら
み、瞳孔の変化や視力障害など）、その他（灼熱感、脱力感など）
- ◆ **ジャガイモ**：神経症状（頭痛など）、その他（悪寒（寒気）、倦怠感、脱力感、のどの痛み/いがいがした感じ（えぐみ）な
ど）
- ◆ **ヨウシュヤマゴボウ**：神経症状（頭痛、めまい・たちくらみ、けいれん、視力障害など）、その他（灼熱感、悪寒など）
- ◆ **イヌサフラン**：消化器症状が落ち着いたように見えても、その後に臓器障害など重症化する場合がありますので注意が必要です。

図 2. 有毒植物による食中毒の注意喚起パンフレット

有毒な植物

食べられる植物

と

植物

間違えないように 気をつけて!



私たちの身の回りには有毒な成分を含むものがあります。それら有毒な植物の中には、山菜や野菜などの食べられる植物と見た目がそっくりなものがあり、区別するのが難しいものもたくさんあります。そのため、誤って有毒な植物を採って食べたことによる食中毒が毎年発生しています。

よくわからない植物は、絶対に採ったり食べたりしないようにしましょう。

有毒植物による食中毒の発生状況 (平成22年～令和元年)

植物名	間違えやすい植物の例 ^{*1)}	事件数	患者数	死亡数
スイセン	ニラ、ノビル、タマネギ	57	195	1
ジャガイモ ^{*2)}	—	21	327	0
バイケイソウ類 ^{*3)}	オオバギボウシ、ギョウジャニンニク	20	46	0
チョウセンアサガオ	ゴボウ、オクラ、モロヘイヤ、アシタバ、ゴマ	15	41	0
クワズイモ	サトイモ	15	30	0
イスサフラン	ギボウシ、ギョウジャニンニク、ジャガイモ、タマネギ	15	22	10
トリカブト	ニリンソウ、モミジガサ	9	17	3
ヨウシュヤマゴボウ	ヤマゴボウ	4	4	0
ヒョウタン (観賞用)	ヒョウタン	3	20	0
ハシリドコロ	フキノトウ、ギボウシ	3	8	0
その他 (キダチタバコ、ユウガオ、スノーフレーク等)		24	75	0
不 明		4	8	0
合 計		190	793	14

^{*1)} 「自然毒のリスクプロファイル」より。

^{*2)} 親芋で発芽しなかったイモ、光に当たって皮がうすい黄緑～緑色になったイモの表面の部分、芽が出てきたイモの芽及び付け根部分などは食べないこと。

^{*3)} バイケイソウ及びコバイケイソウ

参照：厚生労働省食中毒統計資料

毒 イヌサフラン



食 ギョウジャニンニク



ギョウジャニンニクは根もとに赤紫色の皮(ハカマ)があり、強いニンニク臭がする。



毒 イヌサフラン (イヌサフラン科イヌサフラン属)

別名：コルチカム

園芸植物として栽培され、春に20~30cmほどの葉を出す。6月頃に葉は枯れて、秋になると地上から花茎のみをつきだして可愛い花を咲かせる。誤って葉や球根を食べると吐き気、嘔吐、腹痛、下痢などを起こし、重症になると臓器障害をおこし、死亡することもある。4~6月頃に若葉をギョウジャニンニクと間違えることが多いため、家庭菜園や畑の近くでは栽培しないようにすること。他に、球根をタマネギやジャガイモと間違えた事例もある。



絶対に! 食べないでね。

毒 グロリオサ



グロリオサの根

毒 グロリオサ (イヌサフラン科グロリオサ属)

別名：ユリグルマ

園芸植物として栽培されるつる性の多年草で、最近では生花としても販売されている。イヌサフランと同じ有毒成分を含むため、誤って食べると似た症状を起こす。根をヤマイモと間違えることがあるが、ヤマイモのような粘りは無い。

毒 スイセン (ラッパズイセン)



地上部の葉だけになると区別がととても難しい。ニラには特有のニラ臭がする。



左：スイセン、右：ニラ

食 ニラ



毒 スイセン (ヒガンバナ科スイセン属)

園芸植物として栽培されることが多く、ニホンスイセンは冬に、ラッパズイセンやキズイセンは春に花を咲かせる。誤って食べると30分以内に吐き気、嘔吐、下痢、頭痛などの症状を起こす。また、植物の汁が皮膚に触れると接触性皮膚炎を起こす。3~5月頃に葉をニラと間違えることが多く、その誤食による食中毒の発生が近年急増している。そのため家庭菜園や畑でニラの近くには植えないこと。葉がスイセンに似ているオオマトユキソウ(別名:スノーフレーク)やヒガンバナも、ニラと間違えることがある。また、スイセンには大きな球根(鱗茎)があり、タマネギと間違えることもある。

毒 ヨウシュヤマゴボウ



食 ゴボウ



毒 ヨウシュヤマゴボウ (ヤマゴボウ科ヤマゴボウ属)

別名：アメリカヤマゴボウ

高さ1~2 mほどの多年草で、秋になると赤紫色の複数の果実(液果)をつける。誤って根を食べると2時間程度で吐き気、嘔吐、下痢などの症状を起こす。キク科のモリアザミの根の醤油漬けや味噌漬けの製品が「ヤマゴボウ」という商品名で販売されていることがあるため、名前が似ているヨウシュヤマゴボウの根も食べられると勘違いされることがある。

上：ヨウシュヤマゴボウの根
下：ゴボウ



毒 キダチチョウセンアサガオ



食 オクラ



オクラ果実には種がたくさん詰まっているが、チョウセンアサガオ、キダチチョウセンアサガオのつぼみに種はない。



キダチチョウセンアサガオのつぼみ

オクラの実

毒 チョウセンアサガオのつぼみ

食 オクラの実



並べてみると見分けがつかないね。



チョウセンアサガオの花



キダチチョウセンアサガオの根



ゴボウ



※チョウセンアサガオとキダチチョウセンアサガオは、根をゴボウと間違えた食中毒が多いよ。

毒 チョウセンアサガオ

(ナス科チョウセンアサガオ属)

別名：曼陀羅華 (マンダラゲ)

高さ1～1.5 mほどに成長し、夏から秋にかけてロート状の花を上向きに咲かせる。

毒 キダチチョウセンアサガオ

(ナス科ブルグマンシア属；以前はチョウセンアサガオ属に含まれていたが、現在は別属とされている)

別名：エンジェルストランペット

園芸植物として栽培されており、一般家庭でもよく見かける。高さ2m以上にもなる中高木であり、下向きに黄色や橙、白、桃色などのロート状の花を咲かせる。

誤ってチョウセンアサガオやキダチチョウセンアサガオの根やつぼみを食べると30分程度で瞳孔散大、口渇、倦怠感、ふらつきや麻痺、意識混濁などの症状を起こす。

根をゴボウと間違えることが多いため、同じ場所や近くで栽培しないようにすること。

他に、つぼみをオクラ、菓をモロヘイヤ、種子をゴマと間違えた事例もある。

毒 ハシリドコロ (ナス科ハシリドコロ属)

チョウセンアサガオ、キダチチョウセンアサガオと同じ有毒成分を含み、誤って食べると似た症状を起こす。4～5月の山菜採りで、新芽をフキノトウと間違えることが多い。

毒 ハシリドコロ



食 フキの花茎



似ているからよくわからない時は採らないでね。



フキノトウは花蕾のため、中にはつぼみがたくさん詰まっている。

毒 バイケイソウ



葉脈が平行



葉脈



バイケイソウは葉脈が並行だが、ギボウシ類は主脈から側脈が出ている。

食 タチギボウシ



主脈



側脈

毒 バイケイソウ、コバイケイソウ
(シュロソウ科シュロソウ属)

バイケイソウは日本各地の低地から高山帯の林内の湿地、コバイケイソウは本州中部以北の亜高山帯に生えている。
誤って食べると30分～1時間程度で吐き気、嘔吐、手足のしびれ、脱力感、血圧低下などの症状を起こす。
4～5月頃の山菜採りで、新芽をギボウシ類やギョウジャニンニクと間違えることが多い。

毒 バイケイソウ



食 ギョウジャニンニク

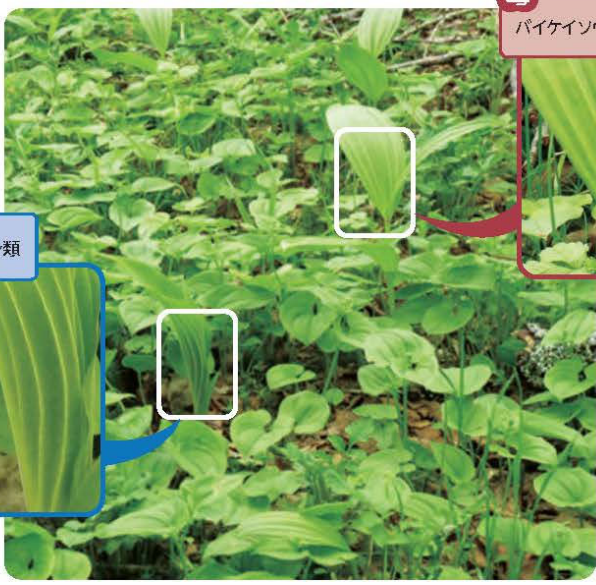
似ているけどよく見ると葉脈が違うよ。一つずつ確認してね。



食 ギボウシ類



毒 バイケイソウ



毒 オクトリカブト



食 ニリンソウ



ニリンソウは春に白い花を咲かせる。

毒 トリカブト (キンポウゲ科トリカブト属)

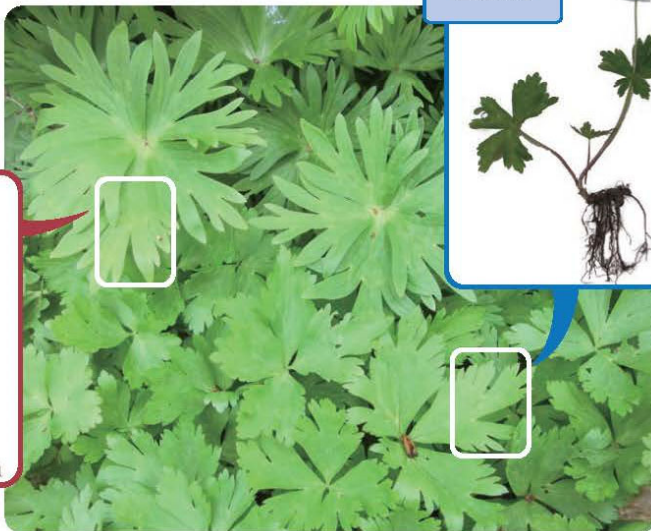
多くの野生種があり、夏から秋に紫色の兜状の花を咲かせる。誤って食べると30分以内に、特徴的な症状として口唇のしびれを感じ、次第に手足にも広がる。吐き気や嘔吐も起こす。重症になると呼吸不全で死亡することがある。4~5月の山菜採りで、若葉をニリンソウやモミジガサと間違えることが多い。



オクトリカブトの花



毒 トリカブト



食 ニリンソウ



＼気をつけて！／

有毒な植物に要注意

- ✔ 食べられる植物と間違いやすい有毒な植物があることを覚えておきましょう。
- ✔ 植物を採るときは食べられる種類のものか一つずつよく確認して、よくわからないときは、絶対に採らないようにしましょう。
- ✔ 確実に食べられる植物であると判断できないものは、人にあげないようにしましょう。
- ✔ 調理する前に、食べられる植物であるか、もう一度確認しましょう。
- ✔ 家庭菜園や畑で、園芸植物と野菜を近くで栽培しないようにしましょう。
- ✔ いつもと香りが違う、強い苦みやえぐみなど味がおかしいと感じた時は、すぐに食べるのをやめましょう。
- ✔ 食べて具合が悪くなった時は、すぐに医師の診察を受けましょう。
- ✔ 誤って食中毒になった場合に確認しやすくするために、採った植物の写真を撮っておきましょう。



参考資料

【厚生労働省】

自然毒のリスクプロフィール

https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/kenkou_jiryou/shokuhin/syokuchu/poison/index.html

【農林水産省】

知らない野草、山菜は採らない、食べない

https://www.maff.go.jp/j/syouan/nouan/ninsanbutsu/natural_toxins.html

【消費者庁】

家庭菜園等における有毒植物による食中毒に御注意ください

https://www.caa.go.jp/policies/policy/consumer_safety/release/pdf/160413kouhyou_1.pdf

写真提供者：酒井英二、北海道立衛生研究所、姉帯正樹、南谷臣昭、木村圭介、登田美桜

監修：令和2年度厚生労働科学研究費補助金（食品の安全確保推進研究事業）

「植物性自然毒による食中毒対策の基盤整備のための研究（H30-食品-一般-008）」



有毒な植物と食べられる植物 間違えないように 気をつけて!

私たちの身の回りには有毒な成分を含むものがあります。それら有毒な植物の中には、山菜や野菜などの食べられる植物と見た目がそっくりなものがあり、区別するのが難しいものもたくさんあります。そのため、誤って有毒な植物を採って食べたことによる食中毒が毎年発生しています。

よくわからない植物は絶対に採ったり食べたりしないようにしましょう。



毒 スイセン (フツバスイセン)

根を乾燥して食用されるものが多く、ニラやスイセンは、フツバスイセンやスイセンの根を乾燥させたもの。

誤って食べると30分以内には吐き気、嘔吐、下痢、腹痛などの症状を感ずる。また、腹痛の汁が皮膚に触れると強い刺激性を感ずる。

シロアリが好んで食うことが多く、その害から日本各地の山や川沿いに分布している。子供の誤食事故もよく見られる。また、スイセンの根はオオマツコケソウ(白蛇草)やニラ(オオマツコケソウ)とも似ていることがある。

食用 スイセンの根を乾燥させたものを、ママネキやママネキの根と区別する。



毒 イヌサフラン (イタリアンクロッカス)

別名：コルチカム

日本植物。花は、地中海沿岸からヨーロッパにかけて、5月頃に咲く。花は、地中海沿岸からヨーロッパにかけて、5月頃に咲く。花は、地中海沿岸からヨーロッパにかけて、5月頃に咲く。

誤って食べると吐き気、嘔吐、下痢、腹痛などを感ずる。また、腹痛の汁が皮膚に触れると強い刺激性を感ずる。

食用 イヌサフランの根を乾燥させたものを、ママネキやママネキの根と区別する。



毒 ネダチチョウセンアサガオ

オクラ果実には種子がたくさん含まれているが、チョウセンアサガオ、ネダチチョウセンアサガオのつぼみに含まれている。

食用



毒 チョウセンアサガオ

別名：臭地蔵草 (マンダラケ)

食用



毒 ネダチチョウセンアサガオ

食用



毒 バイケイソウ、コバイケイソウ

食用

よくわからない植物は絶対に採ったり食べたりしないようにしましょう。

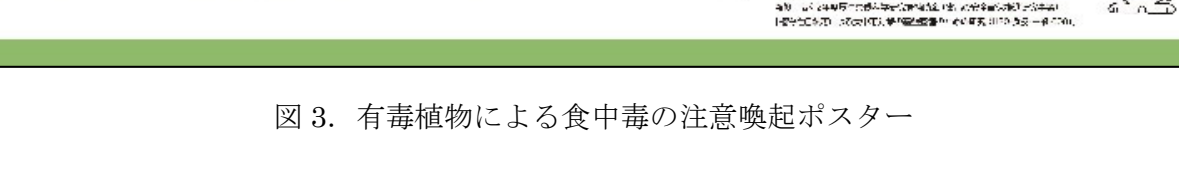


図 3. 有毒植物による食中毒の注意喚起ポスター

Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Takabatake, R., Kagiya, Y., Minegishi, Y., Futo, S., Soga, K., Nakamura, K., Kondo, K., Mano, J., Kitta, K.	Rapid screening detection of genetically modified crops by loop-mediated isothermal amplification with a lateral flow dipstick	Journal of Agricultural and Food Chemistry	66	7839-7845	2018
Soga, K., Nakamura, K., Kishine, M., Takahashi, Y., Miyahara, T., Kimata, S., Mano, J., Takabatake, R., Ozeki, Y., Kitta, K., Kondo, K.	Studies on the detection of maize genomic DNAs in cornflakes using real-time PCR	Bulletin of National Institute of Health Sciences	136	31-39	2018
近藤一成、坂田こずえ、加藤怜子、菅野陽平、武内伸治、佐藤正幸	有毒クサウラベニタケ近縁種のリアルタイムPCR法による同定	食品衛生学雑誌	60	144-150	2019
Narushima, J., Kimata, S., Soga, K., Sugano, Y., Kishine, M., Takabatake, R., Mano, J., Kitta, K., Kanamaru, S., Shirakawa, N., Kondo, K., Nakamura, K.	Rapid DNA template preparation directly from a rice sample without purification for loop-mediated isothermal amplification (LAMP) of rice genes.	Biosci. Biotechnol. Biochem.	84	670-677	2020
南谷臣昭、登田美桜、大城直雅	質量分析による自然毒食中毒の理解 課題と展望	質量分析	67	71-77	2019