

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）  
総括研究報告書

自然毒等のリスク管理のための研究

研究代表者 鈴木 敏之 水産技術研究所 環境・応用部門長

研究要旨：「雑種ふぐの発生状況およびふぐの流通状況の把握」では、2023年に神奈川県横須賀市、宮城県気仙沼市、福島県相馬市で行われたフグの現地調査において、各地で釣獲されたフグの中に雑種フグが混在していることが確認された。雑種フグの混獲率は地域により異なり、神奈川県横須賀市では7.96%、宮城県気仙沼市では8.79%、福島県相馬市では3.13%（漁業者による雑種フグの排除後）と推計された。雑種フグの流通状況は地域により異なるものの、多くの場合、混獲された雑種フグは、市場において純粋なフグに混じって選別されずに販売され、水産加工業者等に購入されていた。水産加工業者等では、ふぐ処理者の監督下で雑種フグが排除されていたことから、調査した範囲では、雑種フグが処理された状態で食品として流通することは無いと思われる。DNAマーカーによる雑種判別と毒の抽出試験の結果、雑種フグの組織ごとにテトロドトキシン（TTX）類の蓄積特性が明らかになった。特に皮、卵巣、肝臓には高濃度のTTXが検出され、これらの部位は喫食不可と判断された。また、雑種フグの毒力は交雑相手の部位の有毒性が強く継承されることが示唆された。

「国際的に妥当性が評価されたLC/MS/MS法による国内貝毒検査法の確立」では、LC/MS/MS法による国内貝毒検査法の確立について、麻痺性貝毒11成分の検出下限および定量下限が明らかにされ、その妥当性が評価された。また、添加回収試験の結果、真度と精度がCODEXの性能評価規準を満たしていることが明らかになった。フグ毒TTXは、LC/MS/MS測定時にホタテガイ中のマトリックスによるイオン化抑制の影響を受けていることが示唆された。そのため、二枚貝中のTTXを分析する際には、マトリックス検量線を用いることが望ましいと考えられた。M-toxinsの分析法検証と部位別の蓄積については、毒化ホタテガイにおいて、M-toxinsは中腸腺と腎臓が主な蓄積部位である一方、貝柱と鰓には蓄積していないことが確認された。また、M-toxinsは体外に排出されていく一方で、ある程度体内に蓄積していることが明らかになった。

「汎用性の高い植物性自然毒の分析法の確立」では、有毒きのこの毒成分一斉分析法のためのLC-MS/MS測定条件が最適化された。分析カラムは高極性の成分の保持に優れたものを選択し、ムスカリンとAQC誘導体化物のピーク形状は良好であった。また、各AQC試薬誘導体化物のプロダクトイオンスキンの結果、誘導体化試薬由来の特定のイオンが共通して検出され、これらのプロダクトイオンについて最適化が行われた。試験溶液の調製では、AQC誘導体化物の安定性を確認した上で、テングタケを用いて、イボテン酸とムシモールを定量することにより、AQC試薬濃度の最適化、抽出回数の検討、除タンパクに用いたTCAの有無による誘導体化効率の検証などが行われた。7種の市販きのこを用いた添加回収試験の結果、選択性と定量限界は良好であり、1 mg/kgにおける添加回収率は50-150%の範囲内、相対標準偏差は5%以内と概ね良好であったことから、本分析法は食中毒の対応に有用な分析法であることが示唆された。有毒植物の模擬調理試料を用いた試験室間共同

試験では、アトロピンとスコポラミンの含有量を標準添加法により不確かさとともに推定し、これらの値に対する定量値の百分率を算出することで回収率を求めた。結果は、アトロピン、スコポラミンともに 80%以上となり、併行精度、室間精度は農水省のガイドラインに適合した。また、HorRat 値も全て 2 以下となった。本分析法は、食中毒時に適用可能な分析法として迅速性を重視し、あえて 1 回のみ抽出とした。そのため、水分が少なく抽出が難しい実試料においては、抽出率が低下する可能性がある。しかし、本分析法は食中毒の対応には十分な真度と精度を有する汎用性の高い分析法であることが示された。

「植物性自然毒の食中毒の発生動向調査及び「自然毒のリスクプロファイル」更新」では、高等植物による食中毒の傾向について、30 年間のデータを調査した。その結果、食中毒事件は年間の件数は少ないものの、死亡事例も報告され、食品安全行政上の重要課題の一つとなっていることが確認された。高等植物を原因とする食中毒の発生は、一般的に 4、5 月が多いが、チョウセンアサガオ（根）のように他の季節に食中毒の原因となりやすい高等植物も存在する。食中毒の原因となる高等植物の種類は時代とともに変化しており、昔はバイケイソウ類、チョウセンアサガオ類、トリカブトなどの野生種の報告が比較的多かったが、近年はスイセン及びイヌサフランなどの園芸種の報告が多い傾向が見られた。特に、イヌサフランはグロリオサとともに毒性の強いコルヒチンを含み、近年は死亡事例がほぼ毎年報告されており、特に注意すべき高等植物と考えられる。「自然毒のリスクプロファイル」の更新作業を行い、キノコ及び高等植物について暫定的な更新版を作成した。これらの情報は将来的に厚生労働省 HP に掲載予定である。また、キノコによる食中毒の注意喚起パンフレットを作成し、国立医薬品食品衛生研究所安全情報部のウェブサイト上に公開する予定である。このパンフレットは、さまざまな視点でキノコの特徴を確認できる鮮明な写真を掲載し、間違いやすい複数のキノコについて見分け方のポイントを詳細に記載する。これにより、食中毒予防に非常に有効に活用できる内容となった。

#### 研究分担者氏名・所属研究機関名及び

##### 所属研究機関における職名

松嶋 良次・水産技術研究所・グループ長  
渡邊 龍一・水産技術研究所・主任研究員  
内田 肇・水産技術研究所・研究員  
小澤 眞由・水産技術研究所・研究員  
工藤由起子・国立医薬品食品衛生研究所・  
衛生微生物部長  
高橋 洋・水産大学校・生物生産学科教授  
辰野 竜平・水産大学校・食品科学科講師  
刀禰 一幸・水産大学校・水産流通経営学科  
助教  
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  
登田 美桜・国立医薬品食品衛生研究所・安  
全情報部第三室長

#### A. 研究目的

本研究では、ふぐ毒をはじめとした動物性自然毒やきのこを含む有毒植物など植物性自然毒に係る知見を収集・整理し、関係事業者に効果的な対策を提供するとともに、消費者に対して正確な情報提供を行うことを目的とする。

動物性自然毒においては、天然ふぐの主要な水揚げ地において、漁獲および流通状況の調査を行う。雑種ふぐの出現状況については、提案者の先行研究により、山口県や島根県の海域に出現したふぐについて、分子マーカーを用いて種・雑種の割合を明らかにするとともに、雑種ふぐに含有されるテトロドトキシン (TTX) を部位別に HPLC

法により調べた1)。本研究では、調査対象海域を広げ、主要な水揚げ地を調査対象として、先の研究で開発した分子マーカーを用いて種・雑種の割合を明らかにする。また、雑種ふぐの部位別毒性については、LC/MS/MS法を用いることにより、TTXに加えて主要な類縁体についても把握することにより、正確な毒性評価を行う。麻痺性貝毒については、国際的に妥当性が評価されているLC/MS/MS法2)を国内で効果的に利用するために、主要生産海域のホタテガイなどの主要二枚貝種の毒組成をこのLC/MS/MS法により明らかにし、現在の貝毒検査の公定法であるマウス毒性試験との相関について検証するとともに、国内麻痺性貝毒検査において、検査対象とすべき麻痺性貝毒群を絞り込む。

植物性自然毒については、中毒発生時に保健所と協力して原因究明にあたる地方衛生研究所(地研)にとって有用な分析法を開発する。先の厚生労働科学研究(H30-食品-一般-008)において高等植物及びキノコの毒成分を対象とした分析法を検討し、高等植物については国内の中毒事例全般に対応することが可能な、迅速かつ簡易な一斉分析法を構築した。一方、キノコの毒成分の有用な分析法は未だに確立されていないため、国内での中毒事例が多いキノコ、致死性の高いキノコの毒成分の分析法を優先的に確立する。

自然毒による食中毒の予防策を効果的かつ効率的に講じるために、本研究では、主に植物性自然毒(キノコ・高等植物)を原因とする食中毒を対象に、その発生の実態や原因等を調査して傾向を解析する。また、厚生労働省ホームページ(以下、HP)に掲載されている「自然毒のリスクプロファイル」について、全般的な更新を行う。更に、消費者に向けた自然毒に関する情報提供の方法について検討し、効果的だと期待される方法を提案する。

文献

- 1) Fisheries Science (2019) 85:237–245, <https://doi.org/10.1007/s12562-018-1265-7>
- 2) J. Chromatogr. A (2015) 1387:1-12, <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2015.01.086>

## B. 研究方法

### B-1. 雑種ふぐの発生状況及びふぐの流通状況の把握

調査地において水揚げされた選別前の天然フグについて外部形態に基づき種・雑種鑑別を行い、種組成および雑種と思われる種類不明フグの個体数を数える。種類不明フグの一部については、生鮮状態で毒性試験用に皮、筋肉、肝臓、および生殖腺に腑分けし、各組織の重量を測定した後、冷凍で実験室まで持ち帰る。また、水揚げ地市場からふぐを購入した水産加工業者等において聞き取り調査を行い、また購入したふぐの鑑別が可能であれば鑑別を行い、雑種フグの流通状況を調査する。

実験室において、雑種と思われる種類不明フグのDNA試料(右胸鰭のエタノール固定試料)よりゲノムDNAを磁性ビーズまたはアルカリ法を用いた精製法により抽出する。抽出したゲノムDNAを鋳型として、日本産トラフグ属魚類11種の種特異的遺伝マーカーの一塩基多型(SNPs)をTaqManアッセイにより遺伝子型決定し、種・雑種判別を行う。また、雑種の多く出現する組み合わせについては、ddRAD-seq法によりゲノムワイドの検出された多数のSNPsに基づく種・雑種判別を行う。種・雑種判別結果に基づき、現地調査における種類不明フグの個体数などから雑種の混獲率を推計する。また、各雑種個体から腑分けされた4部位(皮、筋肉、肝臓、生殖腺)の冷凍試料から、食品衛生検査指針理化学編(2015)に準じた方法で毒の抽出を行い、

得られた抽出液を毒性評価用に水産技術研究所に送付する。

北海道、青森県、宮城県、千葉県、神奈川県、石川県、愛媛県、長崎県で採取され、遺伝子解析によって種同定されたフグおよび雑種フグ計 107 検体のうち、69 検体について各個体を組織ごと（皮、筋肉、肝臓、卵巣もしくは精巣）に腑分けした。本事業で分析した雑種フグの種類については、第一世代の雑種（F1 世代）として、トラフグ×マフグ、ゴマフグ×ショウサイフグ、ゴマフグ×マフグ、コモンフグ×ショウサイフグ、雑種と純種との雑種（戻し交雑個体、Backcross）として、（トラフグ×マフグの雑種）×トラフグ、（ゴマフグ×マフグの雑種）×マフグ、（ゴマフグ×ショウサイフグの雑種）×ショウサイフグであった。

各組織からの毒抽出方法は、前年度までに実施した添加回収試験を基に確立した方法を用いた。すなわち、フグおよび雑種フグの皮、筋肉、精巣、肝臓については、組織 2.0 g に対し、0.1 % 酢酸溶液 8 ml を添加し、ホモジナイズした。それを沸騰湯浴中で加温し、放冷して室温程度まで冷却後、遠心分離して上清を回収し、適宜希釈して、機器分析に供した。卵巣組織については、組織 2.0 g に対し、0.1 % 酢酸溶液 9 ml を添加し、ホモジナイズした。それを 95 °C 以上の湯浴中で加温し、氷冷して室温程度まで冷却後、遠心分離して上清を 20 ml メスフラスコに回収した。遠心分離で生じた残渣に 0.1 % 酢酸溶液 9 ml をもう一度添加し、懸濁後、遠心分離して上清を先ほどと同様のメスフラスコに回収し、20 ml に定容した。それらを希釈して、HILIC-MS/MS 分析に供した。

得られた分析結果から TTX 群の含量を算出した。TTX の定量には、先の事業で調製し、定量 NMR にて値付けした TTX 標準物質を用いた。そのほかの 5,6,11-trideoxyTTX や 5-deoxyTTX、5,11-

dideoxyTTX などの TTX 類縁体は、東北大学山下まり教授より恵与いただいたコモンフグ卵巣の活性炭処理液に含まれる成分を指標として定量した。

## B-2. 国際的に妥当性が評価された LC-MS/MS 法による国内貝毒検査法の確立

### (1) 妥当性評価試験

A.D. Turnerらの報告や、下痢性貝毒に関する通知\*1および妥当性評価ガイドライン\*2を参考として、枝分かれ試験（分析者 1 名、2 併行、5 日間）の添加回収試験を実施した。

試料は、市場に流通した青森県産ホタテガイを入手し、中腸腺を含む可食部全体を用いた。ホタテガイむき身 5 個体、200g 以上をミキサーで均一化した。試験に際して、試料としたホタテガイは麻痺性貝毒を含有していないことや、定量に妨害するピークが検出されないことを確認した。LC/MS/MS 分析に供する検体は、*J. Chromatogr. A* 1387 (2015) p1-12 に従い、抽出・前処理を行った。分析に用いた標準物質は、カナダの NRC 製認証標準物質 12 成分（C1/2, GTX1-6, dcGTX2/3, dcSTX, TTX）を用いた。組成標準物質は、CRM-Zero-Mus (Mussel tissue matrix for negative control、イガイペースト) は NRC 製を用いた。また、検量線は、溶媒検量線 (0.25 % 酢酸含有 80 % アセトニトリルによる希釈)、マトリックス検量線 (ホタテガイペーストの抽出液もしくはムラサキイガイペーストの抽出液による希釈) を用いた。本試験では、選択性、検量線の直線性、検出下限、定量下限、真度、併行精度、室内精度について検証した。CODEX の性能規準に定められている項目について、適合しているか判断した。

\*1 下痢性貝毒 (オカダ酸群) の検査について (平成 27 年 3 月 6 日 厚生労働省 医薬食品局食品安全部長通知 食安発

0306号第4号)

\*2 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(平成22年12月24日厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知 食安発第1224第1号)

\*3 FAO / WHO, CODEX STAN 292-2008

(2) M-toxinsの分析法検証、部位別の蓄積毒化ホタテガイより単離したM1, M3, M5-HAおよび、化学誘導で得られたM2, M4を定性用標準品として用いて、分析法の検証を行った。また、麻痺性貝毒により毒化したホタテガイを入手し、産地から届いてすぐに部位別(貝柱、中腸腺、腎臓、鰓、外套膜、生殖腺)に切り出した。これは、冷凍および解凍を行うと、毒成分が他部位を汚染する可能性があったためである。

毒抽出は、沼野らの方法およびTurnerらの方法を組み合わせて行った。すなわち、希塩酸による加熱抽出し、ヘキササン脱脂をした後、固相カートリッジ(Waters社 Oasis HLB)に通し、限外ろ過(Merck社 Amicon Ultra)で得られた検液を、ENVI-Carbでクリーンアップした。

### B-3. 汎用性の高い植物性自然毒の分析法の確立

#### 1. 有毒きのこの毒成分一斉分析法 2

##### 1.1 試料

添加回収試験用に、シイタケ、ブナシメジ、ナメコ、ヒラタケ、マイタケ、エノキタケ及びツクリタケ(生、市販品)の7種のきのこを用いた。

##### 1.2 試薬・試液

(+)-ムスカリン塩酸塩、イボテン酸はSigma-Aldrich社製の標準試薬を用いた。ムシモールはTronto Research Chemicals社製の標準試薬を用いた。L-プロパルギルグリシン及びL-アシルグリシンはCombi-

Blocks社製の標準試薬を用いた。内部標準は東京化成工業(株)製の*O*-Methyl-D-tyrosine (MTY)を用いた。それぞれ、メタノール・水(1:1)混液に溶解し100 µg/mLの標準原液を調製した。このうち、ムスカリン塩酸塩、イボテン酸、ムシモール、L-プロパルギルグリシン及びL-アシルグリシンの5つの標準原液を混合し、メタノール・水(1:1)混液で希釈して10 µg/mLの5種きのこ毒混合標準溶液を調製した。

抽出に用いた10%(w/v)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。標準溶液の希釈に用いた2%TCA、80%メタノール溶液は、10%TCA溶液20 mLにメタノールを加えて100 mLに定容して調製した。

精製カートリッジは、Agilent Technologies社製のCaptiva EMR-Lipid(3 mL、300 mg)を使用した。誘導體化に用いたほう酸緩衝液は、富士フィルム和光純薬(株)製のAPDSタグワコー用ほう酸緩衝液を用いた。誘導體化試薬溶液は、Waters社製のAccQ-Tag™ Ultra Derivatization Kit付属のカルバミン酸6-アミノキノリル-N-スクシイミジル(AQC)3 mgを、同キット付属の脱水アセトニトリル1 mLに溶解して、3 mg/mLの溶液を調製して用いた。

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。

##### 1.3 装置

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-51(ジェネレーターシャフトNS-10P(10.5 mm φ×140 mm))を用いた。アルミブロックヒーターは、Thermo Fisher Scientific社製のReacti-Thermo™ Heating Moduleを用いた。LC-MS/MS装置は、Sciex社製のExion LC AD -5500+ QTRAP Activatedを用いた。

##### 1.4 LC-MS/MS 測定条件

きのこ毒 5 成分及び内部標準 1 成分の測定条件を B3 表 1-1 及び B3 表 1-2 に示した。

### 1.5 試験溶液の調製

きのこの分析法 2 の試験溶液調製法の概略を、B3 Scheme-1 に示した。

#### 1.5.1 抽出

試料 5.0 g を 50 mL のポリプロピレン (PP) 製遠心沈殿管に量り採り、10 µg/mL の内部標準 (MTY) 溶液 0.5 mL を添加し、混和後 30 分間静置した。10%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、ホモジナイザーの刃をメタノールで洗い、さらにメタノールを PP 製遠心沈殿管の 35 mL の標線まで加えた。常温、2,000×g で 5 分間遠心分離し、上清を 50 mL メスフラスコに採った。遠心沈殿管の残渣にメタノールを 15 mL 加えて混和後、常温、2,000×g で 5 分間遠心分離して、上清を採り、先のメスフラスコに合わせ、メタノールを加えて正確に 50 mL とした。

#### 1.5.2 精製

抽出液を 2 mL 採り、遠心沈殿管 (10-15 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×g で 1 分間遠心分離し、溶出液を捨てた。このカートリッジを別の遠心沈殿管にセットして、さらに抽出液 1 mL を負荷し、溶出液を採取した。

#### 1.5.3 誘導体化

2 mL の不活性処理済みガラス製スクリーバイアルに、**B.1.5.2 精製** で得られた溶出液 100 µL を量り採り、ほう酸緩衝液 300 µL を加えて混和後、さらに AQC 試薬溶液 (3 mg/mL) 100 µL を加えて混和した。スクリーキャップを閉めて密閉後、アルミブロックヒーターで 55°C、10 分間加熱した。室温に戻した後、水 500 µL を入れて混和したものを試験溶液とした (0.01 g sample/mL)。

### 1.6 定量

検量線用標準溶液の調製のため、以下の溶液をまず調製した。

- ① 1 µg/mL 5 種きのこ毒混合標準溶液 (2%TCA、75%メタノール溶液)

10 µg/mL 5 種きのこ毒混合標準溶液 (50%メタノール溶液) 1 mL 及び 10%TCA 溶液 2 mL に、メタノールを加えて 10 mL に定容した。

- ② 0.1 µg/mL 5 種きのこ毒混合標準溶液 (2%TCA、80%メタノール溶液)

1 µg/mL 5 種きのこ毒混合標準溶液を 2%TCA、80%メタノール溶液で 10 倍希釈した。

- ③ 1 µg/mL 内部標準 (MTY) 溶液 (2%TCA、80%メタノール溶液)

100 µg/mL 内部標準 (MTY) 溶液 (50%メタノール溶液) を 2%TCA、80%メタノール溶液で 100 倍希釈した。

①、②及び③を混合し、2%TCA、80%メタノール溶液で希釈することにより、内部標準 (MTY) 100 ng/mL を含有する、0、10、20、50、100、200 ng/mL の 5 種きのこ毒混合標準溶液を調製した。これらの 6 溶液 100 µL を 2 mL の不活性処理済みガラス製スクリーバイアルに量り採り、**B-3.1.5.3 誘導体化** に従って誘導体化したものを検量線用標準溶液とした (0、1、2、5、10、20 ng/mL)。それぞれ 5 µL を LC-MS/MS に注入し、ムスカリン塩酸塩は絶対検量線により、その他の 4 成分は内部標準との面積比を求めて検量線を作成して濃度を求めた。

#### 1.7 イオン化及び SRM 条件の最適化

質量分析のイオン化は、エレクトロスプレーイオン化法ポジティブモード (ESI(+)) で行った。ムスカリンの SRM 条件の最適化は、標準原液をメタノール・水 (1:1) 混液により適宜希釈して、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。その他の成分は、プロダク

トイオンスキャン測定を行い、共通して得られた  $m/z$  171、116 のイオンについて、

**B.1.6 定量**で調製した 10 ng/mL の誘導体化後の溶液を用い、以下の手順で最適化を行った。

- ① DP を 80 V に固定し、CE を 10-70 V まで 10 V 刻みで、SRM 測定。 $(m/z$  116 は 30-90 V)
  - ② 面積値が最大となった CE を選択。
  - ③ ②で選択した CE を固定し、DP を 30-110 V として SRM 測定。
  - ④ 面積値が最大となった DP を選択。
- なお、EP と CXP は 10 V に設定した。

### 1.8 添加回収試験

**B-3.1.1 試料**で示したきのこ 5 g に、5 種類のきのこ毒混合標準溶液 (10  $\mu\text{g/mL}$ ) 及び内部標準 (MTY) 溶液 (10  $\mu\text{g/mL}$ ) をそれぞれ 0.5 mL ずつ添加し、混和後 30 分間静置したものを添加試料とした (添加濃度: 1 mg/kg)。各きのこで 3 回併行の添加回収試験を行い、**B-3.1.6 定量**で作成した検量線で定量した。同時にブランク試験溶液とマトリックス標準溶液 (試料中 1 mg/kg 相当) を調製し、定量を妨害するピークの有無と測定におけるマトリックスの影響を評価した。

## 2. 有毒植物の模擬調理試料を用いた試験室間共同試験 (アトロピン、スコポラミン)

### 2.1 試料

試験室間共同試験の模擬調理試料として、ハシリドコロの地下部を含むきんぴらごぼう (模擬試料①) とハシリドコロの地上部を含むナスのミートソース (模擬試料②) を調製した (調製方法は **B-3.2.7 模擬試料の調製**)。ハシリドコロは、2021 年 4 月 18 日に岐阜県内の山林で採取後、 $-20^{\circ}\text{C}$  以下で冷凍してあったものを使用した。また、きんぴらごぼうとナスのミートソースは以下のとおり調理して用いた。

- ① きんぴらごぼう:

(原材料) ゴボウ 700 g、ニンジン 300 g、いりごま 大さじ $\times$ 2 (9 g $\times$ 2)、ごま油 大さじ 3 (12 g $\times$ 3)、しょうゆ 大さじ 5 (18 g $\times$ 5)、砂糖 大さじ 4 (9 g $\times$ 4)、みりん 大さじ 6 (18 g $\times$ 6)

(調理法) ゴボウとニンジンは細切りにした。ゴボウは水に浸してあく抜きした。フライパンにごま油を入れ、水気を切ったゴボウを加えて炒め、色が変わってきたらニンジンも加えて炒めた。全体がしんなりしてきたら、調味料を加え、汁気がなくなるまで煮た後、いりごまを加えた。

- ② ナスのミートソース:

(原材料) ミートソース (N 社のレトルト商品) 260 g $\times$ 3 袋、ナス 400 g、オリーブ油大さじ $\times$ 3 (12 g $\times$ 3)

(調理法) ナスを半月切りにした。フライパンにオリーブ油を入れ、ナスを炒めた後、ミートソースを入れて温めた。

### 2.2 試薬・試液

標準試薬は、富士フィルム和光純薬 (株) 製のアトロピン硫酸塩水和物及びスコポラミン臭化水素酸塩水和物を用いた。内部標準として、安定同位体標識化合物のスコポラミン-d3 臭化水素酸塩 (Tront Research Chemicals 社製) を用いた。塩と水和物の重量を換算した上で秤量し、メタノールに溶解して、アトロピン、スコポラミン、スコポラミン-d3 として 100  $\mu\text{g/mL}$  の濃度になるように調製した。

10%(w/v)トリクロロ酢酸 (TCA) は、ナカライテスク (株) 製の特級試薬などを用いて調製した。精製カートリッジは、Agilent Technologies 社製の Captiva EMR-Lipid (3 mL、300 mg) を用いた。

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。

### 2.3 装置

試験室間共同試験の模擬試料の調製は、Retsch 社製グラインドミックス GM200 及び(株)中部コーポレーション製フードプロセッサ PS-3000S を用いた。LC-MS/MS 測定の質量分析計は、いずれの機関もトリプル四重極型の装置を用いた。

#### 2.4 LC-MS/MS 測定条件

機関 A の測定条件を B3 表 2-1 及び B3 表 2-2 に示した。試験室間共同試験の各機関の測定条件を B3 表 2-3 及び B3 表 2-4 に示した。

#### 2.5 試験溶液の調製

有毒植物の試験溶液調製法の概略を、B3 Scheme-2 に示した。

##### 2.5.1 抽出

試料 5.0 g を 50 mL の PP 製遠心沈殿管に量り採り、10%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、ホモジナイザーの刃をメタノールで洗い、さらにメタノールを PP 製遠心沈殿管の 50 mL の標線まで加えた。転倒混和後、常温、2,000×g で 5 分間遠心分離し、上清をメスフラスコに採り、メタノールを加えて正確に 50 mL とした。

##### 2.5.2 精製

抽出液を 2 mL 採り、遠心沈殿管 (10-15 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×g で 1 分間遠心分離し、溶出液を捨てた。このカートリッジを別のガラス製の遠心沈殿管 (10 mL 容) にセットして、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 (0.01 g sample/mL)。この溶液を 0.2% (w/v)TCA、8% (v/v)メタノールにより適宜希釈したものを試験溶液とした。バイアルは不活性処理済みのガラスバイアルを用いた。

##### 2.6 定量

0.2%TCA、8%メタノール溶液で 1、2、5、10、20、50 ng/mL の標準溶液を調製し、

それぞれ 5 µL を LC-MS/MS に注入し、絶対検量線を作成して濃度を求めた。内部標準法の場合は、別途 0.2%TCA、8%メタノール溶液で調製した 10 ng/mL のスコポラミン-d3 内部標準溶液を、HPLC のオートサンプラーで 5 µL 共注入し、アトロピン、スコポラミンと内部標準との面積比を求めて検量線を作成して濃度を求めた。

#### 2.7 模擬試料の調製

模擬試料①：

ハシリドコロの地下部 (地下茎と根) を凍結後、ドライアイス存在下フードプロセッサを用いて凍結粉碎し、アトロピンとスコポラミンの含有量を **B-3.2.5 試験溶液の調製**に従い抽出・精製し、LC-MS/MS により測定した (アトロピン: 245 mg/kg、スコポラミン: 7.0 mg/kg)。これを 300 g 量り採り、別途粉碎したきんぴらごぼう 435 g と混和した後、上記と同様に凍結粉碎したものを均一化試料とした。

模擬試料②：

上記のハシリドコロの地上部 (葉と茎) を凍結後、フードプロセッサで粉碎し、アトロピンとスコポラミンの含有量を **B-3.2.5 試験溶液の調製**に従い抽出・精製し、LC-MS/MS により測定した (アトロピン: 225 mg/kg、スコポラミン: 27.6 mg/kg)。これを 200 g 量り採り、別途粉碎したナスのミートソース 700 g と混和した後、常温でフードプロセッサを用いて粉碎したものを均一化試料とした。

#### 2.8 標準添加法による模擬試料の値付け

あらかじめ絶対検量線法により求められた模擬試料中のアトロピンとスコポラミンの濃度 (x mg/kg) をもとに、試料中の添加濃度が 0、0.5x、x、1.5x、2x、2.5x、3x と 7 濃度になるようにアトロピンとスコポラミンを模擬試料に添加した。**B-3.2.5 試験溶液の調製**に従い抽出・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%信頼限界を求めて不確かさとした。

### 2.9 均一性試験、安定性試験

模擬試料①及び②をそれぞれ 25 g ずつ量り採り、24 個のポリエチレン製容器に取り分けた。このうち 6 個の容器をランダムに選択し、1 容器につき 2 本ずつ分析用試料を定量した。Thompson らの報告<sup>1)</sup>に従い、ANOVA により求めた容器間の標準偏差  $s_s$  と Horwitz の式から求めた  $\sigma_p$  をもとに均一性を評価した。

機関 A において、実施期間(令和 5 年 10 月 2 日~12 月 28 日)の前後において、模擬試料①及び②のアトロピン、スコポラミンを 2 併行で定量し、模擬試料に含まれる測定対象化合物の実施期間中の安定性を評価した。

1) Thompson, M. and Wood, R. J. *AOAC Int.* 76, 924-940 (1993)

### 2.10 ブランク試験

機関 A において、模擬試料①の調製に用いたきんぴらごぼうと模擬試料②の調製に用いたナスのミートソースを、**B-3.2.5 試験溶液の調製**により抽出・精製し、LC-MS/MS により分析して、妨害ピークの有無を確かめた。

### 2.11 試験室間共同試験

実施期間は令和 5 年 10 月 2 日~12 月 28 日の約 3 か月間とした。10 月 2 日に模擬試料①及び②を 10 機関に配布して、12 月 28 日までにアトロピンとスコポラミンを 2 併行で定量したデータを収集した。前処理操作フローが同一であった 10 機関と、さらに LC-MS/MS の機種以外の分析条件まで同一の 6 機関のデータについて、Cochran 検定と Grubbs 検定により外れ値を棄却した上で、回収率 (%)、併行精度

( $RSD_r\%$ ) 及び室間精度 ( $RSD_R\%$ ) を求めた。回収率は **B-3.2.8 標準添加法による模擬試料の値付け**で求めた真の値の推定値に対する定量値の平均値の百分率とした。HorRat 値は室間精度 ( $RSD_R\%$ ) と Horwitz の式から予測される室間精度の ( $PRSD_R\%$ ) の比とした。これらの 4 つのパラメーターを **B-3.2.10 ブランク試験**により求めた選択性とともに、農林水産省の分析法の妥当性確認に関するガイドライン<sup>2)</sup>(以下、農水省のガイドライン)に従って評価した。

LC-MS/MS の機種以外の分析条件が同一であった 6 機関のうち 3 機関は、内部標準補正を行った結果についても報告があったため、内部標準補正の有無による定量値の比較も行った。

2) 分析法の妥当性確認に関するガイドライン、農林水産省、令和元年 10 月

## B-4. 植物性自然毒の食中毒の発生動向調査及び「自然毒のリスクプロファイル」更新

(1) 高等植物による食中毒の傾向について

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」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:令和 5 年 9 月)にて公表された食中毒事件のうち、植物性自然毒(高等植物)を原因とする事件を抽出して本研究の調査対象とした。また、下記を補足資料として参考にした。

食中毒の傾向解析にあたり、発生地域については厚生労働省へ食中毒事件の報告を行った自治体が属する都道府県とした。食中毒の原因となった高等植物については、「推定」と報告された事件も含めた。

- ・ 食品衛生学雑誌(平成 4 年 34 巻~令和 4 年 64 巻)に掲載された「食中毒等事件例」
- ・ 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
- (2) キノコによる食中毒の注意喚起パンフレット

食中毒の原因となる主な毒キノコと、それらと外観がよく似た食用キノコと誤認しないよう注意を喚起する内容のパンフレットの作成を目指した。特に、キノコは傘、ひだ、柄、つば、つぼ、肉といったさまざまな部位を丁寧に観察して種類を見分ける必要があることから、毒キノコと食用キノコの各部位の特長を比較して違いを知ることができるように留意した。

作成にあたり、毒キノコと食用キノコともに写真を多く掲載して読者に興味を持たせるようなデザインにすること、各部位の相違が分かりやすく、特徴的な見分け方を記載することにした。

パンフレットに掲載したキノコは、食中毒の発生件数が多い毒キノコと、それらと誤認しやすい食用キノコを選択した。

作成作業は、キノコの専門家（大作晃一先生、吹春俊光博士、吹春公子先生）の研究協力のもと、主に下記資料を参考に行った<sup>1-8)</sup>。

- 1) 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\\_iryuu/shokuhin/syokuchu/poison/index.html](https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/kenkou_iryuu/shokuhin/syokuchu/poison/index.html)

- 2) 厚生労働省「毒キノコによる食中毒に注意しましょう」

[https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/kenkou\\_iryuu/shokuhin/kinoko/index.html](https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/kenkou_iryuu/shokuhin/kinoko/index.html)

- 3) おいしいきのこ毒きのこハンディ図鑑, 主婦の友社 (2017)
- 4) 増補改訂新版 山溪カラー名鑑 日本きのこ, 山と溪谷社 (2017)
- 5) くらべてわかるきのこ, 山と溪谷社 (2015)
- 6) 原色日本新菌類図鑑 I・II, 保育社

(1987・1989)

- 7) 増補改訂フィールドベスト図鑑 日本きのこ, (株) 学習研究社 (2010)

- 8) Index Fungorum  
<https://www.indexfungorum.org/names/names.asp>

- (3) 「自然毒のリスクプロファイル」の更新  
「自然毒のリスクプロファイル」は厚生労働省 HP に掲載予定のため、1 年目（令和 3 年度）に厚生労働省の食中毒担当部署（医薬・生活衛生局食品監視安全課）と協議して決定した掲載項目等に従って更新作業を実施した。

更新は、次のキノコ及び高等植物の専門家の研究協力のもと作業を行った。

- ・キノコの特徴・写真：大作晃一先生、吹春俊光博士、吹春公子先生
- ・キノコの毒成分：橋本貴美子博士
- ・高等植物の特徴：酒井英二博士
- ・分析法：南谷臣昭先生

#### (倫理面への配慮)

特になし。

## C. 研究結果と考察

### C-1. 雑種ふぐの発生状況及びふぐの流通状況の把握

(研究結果)

神奈川県横須賀市における現地調査においては、2023 年 3 月~4 月に東京湾口の浦賀水道において釣獲された計 402 個体を鑑別した。その結果、各個体は 3 種（トラフグ、マフグ、シマフグ）370 個体と雑種と思われる種類不明フグ 32 個体に分けられた。種類不明フグについて、TaqMan アッセイによる種・雑種判別を行ったところ、16 個体がトラフグ×マフグの雑種第一世代 (F1)、16 個体がトラフグ×マフグのトラフグ方向への戻し交雑 (BC) と判別された。これらの結果から、神奈川県横須賀市における雑種の混獲率は 7.96%と推計された。

宮城県気仙沼市における現地調査においては、2023年7月5日および6日に定置網で漁獲された計6198個体を鑑別した。その結果、各個体は8種（ショウサイフグ、コモンフグ、ゴマフグ、マフグ、ヒガンフグ、クサフグ、シマフグ、トラフグ）5653個体と雑種と思われる種類不明フグ545個体に分けられた。種類不明フグについてTaqMan アッセイによる種・雑種判別を行ったところ、282個体がゴマフグ×ショウサイフグのF1、257個体がゴマフグ×ショウサイフグのショウサイフグ方向へのBC、4個体がコモンフグ×ショウサイフグのF1、1個体がマフグ×ゴマフグのF1、1個体がクサフグ×ショウサイフグのF1に分けられた。これらの結果から、宮城県気仙沼市における雑種の混獲率は8.79%と推計された。また、前年度の調査において雑種が多く出現したショウサイフグとゴマフグの組み合わせについて、前年度得られた4551個体について、ddRAD-seq法により検出されたゲノムワイドなSNPsによる種・雑種判別を行ったところ、3395個体が遺伝的に純粋なショウサイフグ、675個体がゴマフグ×ショウサイフグのF1、347個体が遺伝的に純粋なゴマフグ、132個体がゴマフグ×ショウサイフグのショウサイフグ方向へのBC、2個体がゴマフグ×ショウサイフグの雑種第二世代（F2）と判別された。

福島県相馬市における現地調査においては、2023年11月16日にフグ延縄漁で漁獲された計96個体を鑑別した。なお、同市の相馬双葉漁業協同組合では漁獲時に雑種フグの排除が漁業者によって行われており、正確な混獲率の推定はできなかったが、漁獲日誌等により1割前後の雑種混獲率が推測された。漁業者により雑種フグが排除されたあと水揚げされ、競りにトラフグとして供された96個体についてTaqMan アッセイによる種・雑種判別を行ったところ、1個体がトラフグ×マフグのF1、2個体がト

ラフグ×マフグのトラフグ方向へのBCと判別された。これらの結果から、福島県相馬市においてトラフグとして競りに供された個体における雑種混獲率は3.13%と推計されるが、上述のとおり、これらは漁業者による雑種フグの排除後の割合であり、過小評価の可能性が高い。

神奈川県横須賀市、宮城県気仙沼市、および福島県相馬市における雑種の流通状況の調査では、それぞれ流通状況が異なっていた。まず、横須賀市においては、遊漁船による釣獲物であり、遊漁船業者により雑種フグが排除されていた。つぎに、気仙沼市においては、市場において雑種フグは選別されることなく水産加工業者等に購入され、加工施設内でふぐ処理者の監督下で選別・排除されていた。最後に、相馬市においては、雑種フグは漁業者によってある程度排除されたあと、一部がトラフグとして競りにかけられていた。購入業者等の調査はできなかった。

各地点で採集された個体、水産加工会社などから提供された個体、および国立医薬品食品衛生研究所より提供された豊洲卸売市場に搬入時に雑種疑いで除外された個体のうち、DNAマーカーにより雑種と判別された計82個体の腑分け試料（皮、筋肉、肝臓、生殖腺）より、食品衛生検査指針理化学編（2015）に準じた方法で毒の抽出を行い、得られた抽出液を毒性評価用に水産技術研究所に送付した。

（考察）

今年度実施された3地点および昨年度までに実施された6地点における調査結果から、漁獲された天然フグの種構成や雑種の混獲状況は地域によって大きく異なることが明らかになった。雑種の混獲率は宮城県気仙沼市において高く（8.79～16.50%）、天然フグの漁獲量の多い石川県や北海道においては低かった（0～0.15%）。また、石川県と北海道の中間的な位置にある秋田県では

雑種の混獲率は 0.15%だった。石川県と北海道ではほぼマフグのみの漁獲であり、そのような場所では雑種は極めて少ない傾向があった。一方、ショウサイフグとゴマフグの雑種が多い宮城県では雑種の混獲率が突出して高く、また R3~5 年度の 3 年間の調査で、それぞれ 13.35%、16.50%、8.79%と、同じ地域においても年度ごとに混獲率が大きく変動することが明らかになった。また、石川県、秋田県、および神奈川県水産技術センターより試料の提供があった神奈川県（浦賀水道）などにおいて、トラフグを主な対象とする漁業の漁獲物に、トラフグとマフグの雑種が多く含まれており、さらにその中にはトラフグ方向の BC が含まれていることが明らかになった。以上のように、R3~5 年度の調査により、天然フグの主な水揚げ地における雑種フグの混獲率が明らかになった。

今回、宮城県気仙沼市におけるゴマフグとショウサイフグの詳細な調査結果から、両種間の雑種の中に、F1 よりもさらに進んだ雑種（F2 や BC）個体が相当数混じっていることが明らかになった。このことは、2012 年から 2014 年にかけて、茨城県や福島県沖で両種の雑種が大量発生した際の、雑種のほとんどは F1 であるという結果とは大きく異なり、交雑現象が二世代目以降まで進んでいることが示唆された。一方、近年新たに漁場が形成されつつある東京湾口においては、トラフグ×マフグの F1 とトラフグ×マフグのトラフグ方向への BC が 16 個体ずつ判別され、ここでも交雑現象が二世代目以降まで進んでいることが示唆された。

雑種フグの流通状況の調査では、多くの場合において、混獲された雑種フグは、市場において純粋なフグに混じって選別されずに販売され、水産加工業者等に購入されていた。水産加工業者等では、ふぐ処理者の監督下で雑種フグが排除されていたことから、

調査した範囲では、雑種フグが処理された状態で食品として流通することは無いと思われる。一方、今回調査したのは底曳網や定置網の漁獲物であり、高級魚であるトラフグを除くマフグ等のフグが中心であったことから、トラフグを主な対象とする延縄漁などで、雑種がどれだけ混獲されているかは不明である。なお、今年度の調査では、少なくとも石川県や北海道では、トラフグとマフグの雑種が水産加工業者などに搬入され、排除されていることが明らかになっている。トラフグを主な対象とする延縄漁では、福島県相馬市のように、市場等に水揚げする前に漁業者が雑種を排除する場合も多く、またトラフグは高価なため定量的に買い取って調査する事はできない。そのため、雑種の漁獲・流通状況を把握するためには、鑑別能力の優れた延縄漁の漁業者の協力を得て混獲率を調査するなど、何らかの手立てを講じる必要がある。

雑種フグの毒分析（研究結果と考察）

HILIC-MS/MS による分析の結果、フグおよび雑種フグの組織ごとに TTX 類の蓄積特性が明らかになった（C1-Table.1）。

皮については、ほぼ全ての種で、10 MU/g を上回る個体が複数認められた。全検体での最大毒力は、コモンフグ×ショウサイウフグで 231 MU/g であった。

通知において、トラフグの皮は喫食可能、マフグの皮は喫食不可とされているが、トラフグ×マフグの交雑で 10 MU/g を超える個体が認められた。このことは、既に望塚（2017）、辰野（2019）、長島（2023）らが既に報告しており、一方の有毒部位の性質が雑種フグに継承されていることを示唆するものである。1 検体のみの入手となり、判断が保留となったが、マフグ×シマフグでは 6 MU/g であった。通知においてシマフグの皮は喫食可能、マフグの皮は喫食不可となっているため、マフグ×トラフグのように、10 MU/g を上回る個体の出現が危惧

される。個体差を考慮し、今後もマフグ×シマフグにおけるデータ拡充が望まれる。

筋肉については、全ての個体で 10 MU/g を下回った。前年度の検体および既報において、筋肉から 10 MU/g を超過する結果を得られた場合があるが、データを精査すると腑分け前に冷凍していることに起因して、解凍時に毒の移行が起きているものと推察された。大城ら（2017）は、コモンフグの凍結融解前後を比較し、筋肉の皮側で TTX 含量が上昇することを確認している。したがって、フグ分析においては、検体の取り扱いによる汚染を防ぐことが、正しい結果を得るために重要と考えられる。通知においても、解凍時に有毒部位の毒が筋肉部に移行することがないように流水等を用いて迅速に行うことが記載されており、通知を支持する結果となっている。

精巢については、全ての個体で 10 MU/g を超える検体は認められなかった。

ただし、前年度の本事業において 1 検体のみの分析となっていたコモンフグ×ショウサイフグの雑種フグは、今年度入手した個体がすべて雌であったため、可食の判断が保留となった。コモンフグの精巢は喫食不可と定められており、皮のように有毒部位の性質が雑種フグに継承される可能性があるため、今後も精査が必要である。

卵巣については、ほぼ全ての種で 10 MU/g を上回る個体を認めた。全検体での最大値は、ゴマフグ×ショウサイフグで 575 MU/g であった。既報において、三陸沿岸のフグで高い毒値を持つ個体がいることが報告されているが、（ゴマ×ショウサイ）×ショウサイフグで、三陸産の個体よりも関東近辺で採取された個体のほうで毒値が上回っていた。（ゴマフグ×マフグ）×マフグは、1 検体の分析となったが、9.3 MU/g となり、10 MU/g を下回っていた。同地域で採取されたゴマフグ×マフグで 253 MU/g であったため、別個体で 10 MU/g を

上回る可能性もある。

肝臓については、（トラフグ×マフグ）×トラフグ、（ゴマフグ×ショウサイフグ）×ゴマフグ、コモンフグ×ショウサイフグを除く雑種フグで、10 MU/g をはるかに上回る毒力が検出されたため、従前の通知どおり喫食不可と判断するのが適切と考えられる。

TTX の類縁体については、個体差や種差があるものの、各サンプルから検出された。TTX のほか、検出された類縁体は、4-epiTTX、4,9-anhydroTTX、11-nor-TTX-6(S)-ol、5-deoxyTTX、11-deoxyTTX、5,6,11-trideoxyTTX、4-epi-5,6,11-trideoxy

TTX、5,11-dideoxyTTX、6,11-dideoxyTTX、4,9-anhydro-5,6,11-trideoxyTTX、4,4a-anhydro-5,6,11-trideoxyTTX であった。各類縁体は、TTX の毒性を 1 とした時の毒性等価係数（TEF, Toxicity equivalency factor）が 0.01~0.17 と考えられる。よって、定量した各類縁体に対して、TEF を乗じ、毒力組成に換算すると、TTX が全体の 8 割以上を占めていた。このことから、毒力を把握する際には、TTX のみで十分にモニタリングできることが示唆された。

また、戻し交雑種については、本年度分析した 69 検体に加えて、前年度分析個体を加えた計 129 検体を解析したところ、交雑の第一世代と毒力が大きく変わることはなく、交雑相手における部位の有毒性が強く継承されることが示唆された。

## C-2. 国際的に妥当性が評価された LC/MS/MS 法による国内貝毒検査法の確立

### (1) 妥当性評価試験

麻痺性貝毒 11 成分の検出下限および定量下限について、C2-Table.1 に示す。

添加回収試験は、2 濃度により実施した。結果を、C2-Table.2 に示す。溶媒検量線に

よる定量では、真度 78.3~105.3%、併行精度 15.0%以下、室内精度 24.1%以下であった。また、マトリックス検量線（ホタテガイ抽出液）では、真度 69.4~101.8%、併行精度 13.1%以下、室内精度 24.7%以下であった。さらに、マトリックス検量線（ムラサキイガイ抽出液）を用いた際には、真度 65.6~93.2%、併行精度 13.1%以下、室内精度 30.2%以下であった。これらの結果、CODEX の性能評価規準に定められている検出下限、定量下限、真度（回収率）、室内精度の基準を満たしていた。

一方で、ホタテガイ中のフグ毒 TTX は、溶媒検量線を用いた定量において、27.3~38.2%の回収率であった。同検液をマトリックス検量線（ムラサキイガイ抽出液）で定量したところ 34.7~49.7%の回収率であったが、マトリックス検量線（ホタテガイ抽出液）で定量したところ、57.8~74.0%の回収率が得られた。TTX 標準液を溶媒もしくはマトリックスで希釈し、同一濃度におけるピークエリアを比較したところ、マトリックス希釈でエリア値が小さいことが分かった。このことより、TTX は、LC/MS/MS 測定時において、ホタテガイ中のマトリックスによるイオン化抑制の影響を受けていることが考えられた。

マトリックス検量線を用いる際は、ムラサキイガイとホタテガイのマトリックスの影響が異なることを考慮し、適切なマトリックスを選択することが望ましいと考えられる。

また、本試験では *J. Chromatogr. A* 1387 (2015) p1-12 に従って Supelco 社の ENVI-Carb 固相カートリッジを用いたが、Agilent 社の Bond Elut Carbon 固相カートリッジを使用した場合においても同様の結果が得られることを確認した。

## (2) M-toxins の分析法検証、部位別の蓄積

入手した毒化ホタテガイ（2023 年 6 月~9 月採取）において、M-toxins は中腸腺

と腎臓が主な蓄積部位であったが、貝柱と鰓には蓄積していないことが確認できた。一方で、C トキシンや GTX 群、STX 類等の主要成分は、中腸腺、腎臓、鰓、生殖腺、外套膜のいずれの部位から検出された。このことは、呼吸および海水中のプランクトンをろ過する機能を有する鰓においては、M-toxins への変換がなされていないと示唆された。また、部位によって代謝物の蓄積能が異なることが考えられた。M-toxins の構造上の特徴は、水酸基 (-OH 基) が多いことであり、極性は代謝される前の毒と比較して高くなる。貝体内の解毒メカニズムとして、M-toxins へと変換することで、海水に溶けやすくなり、体外への放出が促進されると考えられる。今回の部位別分析により、M-toxins は体外に排出されていく一方で、ある程度体内に蓄積していることが明らかになった。

また、今回の試験液からは、他の M-toxins と思われるピークが多数検出された。これらの M-toxins は前年度にマウス毒性試験と LC-MS/MS との毒力が乖離した要因となっている可能性がある。

## C-3. 汎用性の高い植物性自然毒の分析法の確立

### 1. 有毒きのこの毒成分一斉分析法 2

#### 1.1 LC-MS/MS 測定条件の最適化

##### 1.1.1 分離条件

四級アミンのムスカリンと AQC 誘導体化物 4 成分を同時に分析するため、分析カラムは高極性の成分の保持に優れた Phenomenex 社の Luna Omega Polar C18 を選択した。標準溶液のクロマトグラムにおいて、ムスカリンとその他の AQC 誘導体化物のピーク形状は良好であった (C3 図 1)。

各種きのこの添加回収試験のクロマトグラムにおいて、イボテン酸、ムシモール、プロパルギルグリシンの 3 成分は、いずれのきのこにおいても夾雑ピークのパターン

が類似していた。夾雑成分は測定対象の 3 成分に近接しており、定量を妨害するおそれがあったため、分離度が 1.5 以上になるようにグラジエント条件を最適化した (B3 表 1-1 及び C3 図 2)。

### 1.1.2 質量分析条件

各 AQC 試薬誘導体化物のプロダクトイオンスキャンの結果、誘導体化試薬由来の  $m/z$  171、116 のイオンが共通して検出された。これらのプロダクトイオンについて、**B-3.1.7 イオン化及び SRM 条件の最適化**に示した手順を実行した結果、いずれの誘導体化物も DP は 90 V となり、CE は  $m/z$  171 で 30 V、 $m/z$  116 で 70 V となった。通常トリプル四重極の MS/MS 測定においては、SRM 条件を測定対象化合物ごとに最適化する必要があるが、本分析法においては、共通するプロダクトイオンで同一のパラメーターを設定できたため、他の機関に導入する際の条件設定の労力を大幅に削減することが可能である。

### 1.1.3 機器分析の測定感度

測定対象とした 5 成分の検量線を C3 図 3 に示した。相関係数 ( $r$ ) はいずれの化合物も 0.995 以上となり、直線性は良好であった。

検出限界付近の測定対象化合物を繰り返し測定して、その標準偏差と検量線の傾きから機器の定量限界を求めたところ、ムスカリンは 7  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、イボテン酸は 3  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、ムシモール、プロパルギルグリシン及びアリアルグリシンは 2  $\mu\text{g}/\text{kg}$  となり、十分な測定感度を有していることが確認できた。

### 1.2 試験溶液の調製

試験溶液の調製においては、AQC 誘導体化物の安定性を確認した上で、テングタケ (*Amanita pantherina*) を用いて、イボテン酸とムシモールを定量することにより、AQC 試薬濃度の最適化、抽出回数の検討、除タンパクに用いた TCA の有無による誘

導体化効率の検証などを行い、B3 Scheme 1 の前処理操作フローを構築した。

### 1.3 内部標準の選択

本分析法は、抽出・精製・誘導体化及び LC-MS/MS 測定と定量に影響を及ぼす要因が数多くあるため、適切な内部標準を選択した上で、補正を行うことが重要となる。

当初、安定同位体標識されたアミノ酸類を内部標準として検討したが、シイタケを用いた添加回収試験において、回収率の低下や回収率の変動が見られた。この原因として、シイタケに多量に含まれるアミノ酸が影響している可能性が考えられた。

安定同位体標識されたアミノ酸は確かに天然には存在しないが、非標識体のアミノ酸がきのこに多量に含まれている場合、これらも AQC 試薬により誘導体化され、LC-MS/MS 測定において同じ保持時間に出現し、強いイオン化抑制を引き起こす原因となると考えられた。そのため、特にきのこを試料とする際は、多量に含まれるアミノ酸の安定同位体標識体を用いると、その非標識体の影響により、強いイオン化抑制を受けて回収率が低下あるいは変動すると考えられた。

今回内部標準として採用した *O*-Methyl-D-tyrosine (MTY) は、非天然型のアミノ酸であること、クロマトグラムで保持時間が大きく、他のアミノ酸とピークが重ならないという 2 つの理由で採用した。試料前処理の最初に加えて、誘導体化まで含めた前処理操作における回収率の変動を補正することができるほか、クロマトグラフィーにおける保持時間の変動の指標ともなるため有効であった。

### 1.4 添加回収試験

7 種の市販きのこを用いた添加回収試験 (添加濃度 : 1  $\text{mg}/\text{kg}$ 、 $n=3$ ) の結果を C3 表 3-1 に示した。ブナシメジのイボテン酸、エノキタケのムシモール、ツクリタケのムシモール及びアリアルグリシンを除き、70-

120%の範囲内であった。全てのきのこ毒成分で回収率は50-150%の範囲内であり、相対標準偏差は5%以内であったことから、きのこ中に1 mg/kgの濃度で含まれる毒成分を誤りなく識別することが可能であった。

回収率低下の要因を検証するため、誘導体化直後のブランク試料の溶液に、100 ng/mLの誘導体化溶媒標準溶液を100 µL加えて、10 ng/mLのマトリックス標準溶液を調製して定量した(C3表3-2)。マトリックス標準の溶媒標準に対する比は、回収率と同様の値となったことから、回収率低下の要因は主にLC-MS/MS測定におけるイオン化抑制であることが分かった。ツクリタケのアリルグリシンについては、マトリックス標準の溶媒標準に対する比が81.7%であったのに対して、回収率は54.4%となった。LC-MS/MS測定以外にも回収率低下の要因があると考えられたが、原因は特定できなかった。

## 2. 有毒植物の模擬調理試料を用いた試験室間共同試験（アトロピン、スコポラミン）

### 2.1 試験に用いた模擬試料

チョウセンアサガオ類（キダチチョウセンアサガオ類を含む）はナス科の植物で、観賞用として栽培されることも多く、葉は食用のモロヘイヤ、つぼみや未成熟果はオクラ、種子はゴマ、根はゴボウと間違われやすいため、一年を通して食中毒が報告されている。その中でも、わが国で食中毒の頻度が最も多いのは、家庭の庭で栽培していたチョウセンアサガオ類の根をゴボウと誤認して発生する「きんぴらごぼう」を原因とする事例である。また、特殊な事例としては、チョウセンアサガオに接木したナスを用いた「ミートソース」を喫食した事例も報告されている。今回、これらの事例を参考に、きんぴらごぼうをマトリックスとする模擬試料①と、ナスのミートソースをマトリック

スとする模擬試料②を調製して試験室間共同試験を実施した。

過去のチョウセンアサガオ類の食中毒事例において、残品から検出されるアトロピン及びスコポラミンの濃度は数10～数100 mg/kgに達することもあるが、この濃度を反映した模擬試料を、標準試薬の添加によって調製するには莫大な費用がかかる。そこで今回は、アトロピン、スコポラミンを多量に含むハシリドコロを使用して模擬試料を調製した（B-3.2.7 模擬試料の調製）。

有毒植物の実試料を用いたことで、模擬試料の値付けが問題となった。今回は模擬試料に含まれるアトロピンとスコポラミンの含有量を、標準添加法により不確かさとともに推定する方法で値付けを行った（B-3.2.8 標準添加法による模擬試料の値付け）。その結果、模擬試料①のアトロピンは107±13 mg/kg、スコポラミンは2.76±0.38 mg/kgとなった。模擬試料②のアトロピンは58.7±11.4 mg/kg、スコポラミンは6.27±0.77 mg/kgとなった。妥当性確認のパラメーターである回収率は、これらの値に対する定量値の百分率を算出することで求めた。

### 2.2 模擬試料の均一性と安定性

模擬試料①、②に含まれる、アトロピン、スコポラミンの容器間の標準偏差  $s_s$  をANOVAにより算出し、C-3.2.1 試験に用いた模擬試料で求めた各試料の真値の推定値を、Horwitzの式に代入して $\sigma_p$ を算出して比較した。いずれの試料も、アトロピン、スコポラミンの両方で $s_s < 0.3 \sigma_p$ となり、十分に均一であることが確かめられた。

安定性試験の結果、模擬試料①の実施期間前後の比は、アトロピンが91.2%、スコポラミンが96.2%となった。同様に模擬試料②の比は、アトロピンが94.6%、スコポラミンが101.1%となった。模擬試料①、②ともに、アトロピンで実施期間中に値が下がる傾向が見られたため、以降の考察にお



いてその影響を加味することとした。

### 2.3 有毒植物毒成分の妥当性確認

機関 A において実施したブランク試験は、模擬試料①、②ともに、アトロピン、スコポラミンのクロマトグラムに定量を妨害するピークは検出されず、選択性は良好であった。

#### 2.3.1 10 機関による試験室間共同試験

前処理操作フローが同一であった 10 機関の LC-MS/MS 測定条件を B3 表 2-3 に示した。使用した LC-MS/MS はメーカーやスペックが異なり、イオン化や測定感度に大きな違いがあると推測された。分析カラムは、いずれの機関も C18 のカラムを使用しているが、メーカーや長さ、粒子径などに違いが見られる。移動相については、A 液の添加剤にギ酸アンモニウムではなく酢酸アンモニウム、B 液にアセトニトリルではなくメタノールを使用した機関（機関 G）や UPLC カラムを使用してグラジエント条件を変更した機関（機関 C）があった。

10機関による試験室間共同試験の結果を C3表4-1及びC3表4-2に示した。Cochran検定とGrubbs検定による外れ値検定で棄却されたデータはなかった。回収率は2つの模擬試料において、アトロピン、スコポラミンともに80%以上となった。併行精度、室間精度は農水省のガイドラインに適合していた。HorRat値も全て2以下となった。

模擬試料①のアトロピンは83.2%で、農水省のガイドラインのクライテリア90%を下回った。安定性試験で見られたアトロピンの減少の影響とも考えられるが、模擬試料②のアトロピンの回収率の結果と比較して6.1%低くなったことから、ゴボウとハシリドコロの根茎からの抽出効率が低いことが影響した可能性が考えられた。

その他、併行精度、室間精度ともに農水省のガイドラインに適合していた。ただし、模擬試料①のアトロピンのHorRat値

は1.6となり、分析法の再現性はあるものの、分析値のばらつきは通常予想されるより大きい結果となった<sup>2)</sup>。

以上、前処理操作フローが同一であった10機関の結果は、模擬試料①のアトロピンの回収率がやや小さく、HorRat値がやや大きい結果となったが、その他の結果は良好で、本分析法の前処理操作の汎用性が示唆される結果となった。

#### 2.3.2 6 機関による試験室間共同試験

LC-MS/MS の機種以外の分析条件まで同一の 6 機関の LC-MS/MS 測定条件を B3 表 2-4 に示した。使用した LC-MS/MS はメーカーやスペックが異なるものの、分析カラムは、参考法として示した Restek 社製の Raptor C18, 2.1×150 mm, 2.7 μm を用い、移動相、グラジエント条件とも同じであったことから、各機関のクロマトグラフィーにおける分離は同等であると考えられた。

6 機関による試験室間共同試験の結果を C3 表 5-1 及び C3 表 5-2 に示した。Cochran 検定と Grubbs 検定による外れ値検定で棄却されたデータはなかった。回収率は 2 つの模擬試料において、アトロピン、スコポラミンともに 80%以上となった。併行精度、室間精度は農水省のガイドラインに適合していた。また、HorRat 値も全て 2 以下となった。

模擬試料①のアトロピンの回収率は 88.0%となり、農水省のガイドラインのクライテリア 90%をわずかに下回った。一方で、別途実施した模擬試料①のブランク試料への添加回収率（添加濃度：10 mg/kg）やマトリックス標準溶液（試料中 10 mg/kg 相当）の溶媒標準に対する比は、それぞれ 97.9%、99.4%と良好であった。

この結果についても、10 機関の試験室間共同試験の結果と同様に、安定性試験で見られたアトロピンの減少の影響とも考えられたが、模擬試料②のアトロピンの回収率の結果と比較して 5.2%低かったことから、

抽出時の損失が原因と考えられた。

本分析法は、食中毒時に適用可能な分析法として迅速性を重視し、あえて1回だけの抽出としているため、ゴボウやハシリドコロの根茎など、水分が少なく抽出が難しい実試料においては、抽出率が低下する可能性がある。そのため、試料の性状によっては、B3 Scheme-1に示す有毒きのこの分析法2の抽出法を参考に、2回抽出を行うことで成分の回収率を向上させることが必要となるかもしれない。しかし今回の結果から、本分析法は食中毒の対応には十分な真度と精度を有する汎用性の高い分析法であることが示された。

### 2.3.3 3機関による試験室間共同試験

本分析法は、内部標準補正を行わなくても、絶対検量線で良好な結果が得られるが、分析法の品質を保証する観点から適切な内部標準が求められていた。

今回、3機関のデータについて内部標準補正の有無による定量値の比較を行ったところ、スコポラミン-d3をLC-MS/MS測定時の内部標準として用いて補正した定量値は、アトロピン、スコポラミンともに内部標準補正なしの結果と比較して差はなかった(C3表6-1及びC3表6-2)。以前検討したカフェイン-d9は、繰り返し測定の標準偏差が大きく、内部標準補正した測定対象化合物の定量値もばらつくという欠点があったが、今回用いたスコポラミン-d3は、繰り返し測定の標準偏差も小さく、一斉分析の他の成分の内部標準としても使用可能であることが示唆された。

スコポラミン-d3のプロダクトイオンは最も測定感度が高い $m/z$  141ではなく $m/z$  159を選択した。 $m/z$  141を用いると、ハシリドコロの地下部を定量すると、夾雑成分の影響を受けて内部標準のピーク面積が20%ほど大きくなり、結果として内部標準補正した定量値が20%ほど低くなったため $m/z$  159を選択した。

## C-4. 植物性自然毒の食中毒の発生動向調査及び「自然毒のリスクプロファイル」更新

### (1) 高等植物による食中毒の傾向について

#### 1. 高等植物を原因とする食中毒

##### 1-1. 経年変化

平成4年から令和3年(30年間)に全国自治体から厚生労働省へ報告された高等植物を原因とする食中毒事件について調査した。当該期間の食中毒事件の報告は、合計で発生件数が479件、患者数が2,258名(うち死者数23名)であった。その発生件数と患者数の経年変化をC4図1に示した。東日本大震災が発生した平成23年に発生件数が他年より少なく、その後一旦増加傾向が見られたものの、ここ数年は減少傾向である。ただし、東日本大震災との因果関係は不明である。

C4図1に示した経年変化において患者数が突出して多い年があるが、それらの年はジャガイモを原因とする集団食中毒が患者数に影響していた。ジャガイモを原因とする食中毒は、主に小学校の授業などで栽培されたイモを生徒が食して発生していた。ジャガイモは栽培時に何らかのストレス(例:日光が当たる、傷が付く)がかかると有毒成分のグリコアルカロイド( $\alpha$ -ソラニン、 $\alpha$ -チャコニン)を産生する性質があることから、校内での栽培が適切に行われていなかったために高濃度にグリコアルカロイドが蓄積したイモを生徒が食したことが原因と考えられている。

##### 1-2. 月別の発生件数

平成4年から令和3年(30年間)に地方自治体から厚生労働省へ報告された高等植物による食中毒事件について月別の発生件数をC4図2に示した。高等植物を原因とする食中毒事件は、有毒な高等植物の新芽や若葉を食べられる植物との誤認によるこ

とが多いことから、山菜採りが行われる4-5月の発生件数が多い傾向が見られた。ただし、原因となる植物によっては、他の季節でも発生しており、その代表的な例がチョウセンアサガオであった。有毒なチョウセンアサガオの根を食用のゴボウと間違えた例が多く、開花時期が終了して地中に根が残る10月から4月までに主に発生していた。地方自治体による、有毒植物と食べられる植物の誤認について注意を喚起するリスクは春先に実施されることが多いが、有毒植物の種類によっては春以外の季節でも注意を喚起する必要があるだろう。

### 1-3. 原因の高等植物

平成4年から令和3年(30年間)に地方自治体から厚生労働省へ報告された高等植物による食中毒事件について、食中毒の原因として報告された高等植物のうち発生件数の上位10種を抽出し、10年毎の発生件数の経年変化をC4図3に示した。その結果、平成4年～平成13年ではバイケイソウ類(バイケイソウ及びコバイケイソウ)が最多で、次いでチョウセンアサガオ類(チョウセンアサガオ、キダチチョウセンアサガオ)、トリカブト類、ハシリドコロが食中毒の原因として多かった。一方、直近の平成24年～令和3年ではスイセンが圧倒的に多く、次いでイヌサフラン、クワズイモ、バイケイソウ類であった。このように、時代とともに原因となる高等植物の種類に変化が見られた。何故スイセンが急増しているのかは不明である。また、比較的近年に食中毒の原因として報告されるようになったのがイヌサフランであった。イヌサフランは、葉をギョウジャニンニク、オオアマドコロ、球根をニンニク、タマネギ、ジャガイモ、ユリ根などと誤認して食中毒になった事例が報告されていた。

また、食中毒の原因として報告され上位10種に入らなかったその他の高等植物をC4表1に示した。有毒成分を含むことは知

られていても、国内で過去に食中毒としての報告が希な植物としては、キダチタバコ、ウルシ、キャッサバイモなどであった。

有毒な高等植物による食中毒では死亡事例も報告されている。対象の30年間ではイヌサフランが13名と最多で、次いでトリカブト6名、グロリオサ3名、スイセン1名であった。イヌサフランとグロリオサはともに有毒成分としてコルヒチン含有しており、症状の重篤度の観点からすると、近年ではコルヒチン含有植物が最も注意すべき高等植物である。そのため、本研究課題においてコルヒチン含有植物を原因とする食中毒の詳細についてより詳細に調査を行うこととした。

### 1-4. 発生地域と主な原因植物

平成4年から令和3年(30年間)に地方自治体から厚生労働省へ報告された高等植物による食中毒事件について、地域別の発生件数と主な原因植物をC4図4に示した。平成4年からの30年間における発生件数が最多だったのは北海道の50件であり、次いで多かったのは山形県の37件、新潟県の24件、東京都の21件であった。C4図4の地域別の原因植物については、主な原因植物が類似している地域をグループにして示した。それらグループのうち東京都、神奈川県、愛知県については他県で採取している例も多く、さまざまな高等植物が原因となっていた。また、東北・北海道地方ではトリカブト類、東北部から東海地方あたりまではバイケイソウ類、瀬戸内ではチョウセンアサガオ類、宮崎県ではクワズイモが原因として多かった。スイセンを原因とする食中毒に地域性はなく全国で発生していた。

## 2. コルヒチン含有植物を原因とする食中毒

### 2-1. 経年変化

平成14年から令和4年に全国自治体から厚生労働省へ報告された、イヌサフランが原因とされた(推定含む)食中毒の発生件

数の経年変化を C4 図 5 に示した。我が国において、イヌサフランによる食中毒事件が厚生労働省へ報告されたのは平成 15 年からであり、その後はしばらく散発的であったが、平成 25 年以降は毎年発生が報告されている。その件数は年に 1~2 件程度であるが、多い年（平成 28 年）では 5 件が報告されていた。

また、患者数の経年変化を棒グラフで C4 図 6 に示し、患者数のうち死者数を赤色で、生存者を灰色で示した。その結果、平成 26 年以降は、令和 2 年を除いて死亡事例が毎年報告されている。イヌサフランに含まれる有毒成分のコルヒチンは、細胞内のチューブリンに結合することにより微小管の形成を阻害する。これにより紡錘体の形成が妨げられ、細胞の有糸分裂が阻害されることから、骨髄、消化管、毛包などのターンオーバーが盛んな器官が影響を受けやすく、中毒症状が重篤化して致死的になる例が多いことが理由として考えられる<sup>9,10)</sup>。

コルヒチン中毒の臨床症状は 3 段階の経過をたどると報告されており、重症だと死に至ることがある<sup>9,10)</sup>。

- ・ 第Ⅰ期 消化器症状(0-24時間):吐き気、嘔吐、激しい下痢、腹痛を主症状とし、血液量減少、白血球増加がみられる。
- ・ 第Ⅱ期 多臓器障害(1-7日):呼吸困難、骨髄抑制、白血球・血小板減少、腎・肝障害などの多臓器不全などを生じ、死に至ることもある。
- ・ 第Ⅲ期 回復期(7-10日):臓器障害の回復、白血球増加、脱毛症

他のコルヒチン含有植物として、グロリオサを原因とする食中毒が、平成 18 年から令和 4 年の間に 6 件発生し、患者数 7 名、うち 4 名が亡くなっている。

9) Finkelstein, Y. et al., *Clinical Toxicology*. 48, 407-414 (2010)

10) 上條吉人, 臨床中毒学第 2 版, 医学書院, 2023 (ISBN-10 :

4260052209)

## 2-2. 月別の発生件数と喫食部位

イヌサフランを原因とする食中毒事件の月別の発生件数を C4 図 7 に示した。過去の食中毒事件の発生月と喫食部位を確認すると、発生の報告数が多いのは 4, 5 月であり、若葉をギョウジャニンニクと誤認していた。他に、オオアマドコロ、ギボウシと誤認した事例も報告されていた。また、5-7 月には球根を、9 月には蕾を誤って喫食した事例が報告されていた。

イヌサフランは春になると光沢のある若葉を出し、6 月になると葉は枯れて休眠し、9~10 月頃に長い花筒のみを地上に伸ばして花を咲かせる。食中毒事件で誤認した喫食部位も、このイヌサフランの生育にともなっている。

グロリオサを原因とする食中毒事件の患者の多くは、その根をヤマイモと誤認して採取・喫食していた。これまでに厚生労働省へ報告された発生件数の合計が 6 件のみであるため発生の時期を解析することは出来なかったが、グロリオサは非常に特徴的な花を咲かせるため他の植物と判別が容易な夏の開花時期には発生しにくいと推測される。

## 2-3. 発生地域

イヌサフランとグロリオサを原因とする食中毒事件の発生地域の分布(都道府県)を C4 図 8 に示した。C4 図 8 では、イヌサフランを緑色、グロリオサを赤色で示した。イヌサフランはヨーロッパ中南部から北アフリカ原産の多年生の球根植物である。耐寒性が強く、我が国では園芸植物として栽培されている。食中毒事件の発生は、北海道が最多で、次いで東北地方から中部地方にかけて報告されていた。一方、グロリオサはアジア、アフリカの熱帯地域原産の多年生のつる草であり、花が独特な形状をしている。近年、我が国では商業栽培が増加しており、切花が花束やロビー等の装花に用いられて

いるのをよく目にするようになった。国内でも比較的温暖な地域で栽培されているため、グロリオサを原因とする食中毒事件は、静岡県、高知県、鹿児島県、宮崎県が発生地域として報告されていた。

#### 2-4. コルヒチン濃度

イヌサフランを原因とする食中毒事件の症例報告をもとに、残品あるいは参考検体として原因植物の生育場所の付近で採集された植物について測定されたコルヒチン濃度を C4 表 2 にまとめた。症例報告の書誌事項は表の欄外に記した。

症例数が少ないため一つの目安と言わざるをえないが、蕾/花びらでは 1.4~2.4 mg/g、球根では 0.4~0.7 mg/g、葉では 0.3~0.7 mg/g のコルヒチンが測定されていた。

臨床研究でのコルヒチン投与による急性影響として、0.5 mg/kg 体重未満で消化器症状と血液凝固障害、0.5-0.8 mg/kg 体重で骨髄形成不全と患者の致死率 10%、致死量は 0.8 mg/kg 体重以上との報告がある<sup>11)</sup>。致死率が高くなるとされるコルヒチン投与量 0.5 mg/kg は、体重 50 kg のヒトであれば 25 mg に相当する。従って、C4 表 2 にまとめたイヌサフランの各部位のコルヒチン濃度をもとに換算すると、蕾/花びら 10 g ではコルヒチン量が 14~24 mg、球根 40 g で 16~28 mg、葉 40 g で 12~28 mg に相当し、その程度の少量の摂取で致死率が高くなるコルヒチン量に達することがわかるだろう。実際に、C4 表 2 に示した蕾を誤食した事例では 5 本を喫食、葉を誤食した事例では数株程度の喫食で致死的になっていた。その他、C4 表 2 には含めていないが、球根 1/4 の喫食で肝機能障害を呈した事例が報告されている。ただし、臨床研究はコルヒチンのみを投与しているのに対し、植物イヌサフランにはコルヒチン以外の成分も多数含まれており、それら他の成分が中毒症状に寄与している可能性があることから、臨床研究での作用量と単純比較してはならない点

には留意しておく必要がある。

11) *Clinical Toxicology*, 48, 407-414 (2010)

食衛誌 50(5) J328-J329 (2009)

以上の通り、本研究課題では、国内における高等植物による食中毒事件の傾向の解析結果をまとめた。その結果、重要と考えられた点は以下の通りである。

- ▶ 高等植物による食中毒は年間の件数は少ないものの、死亡事例も報告され食品安全行政上の重要課題の一つと言える。
- ▶ 高等植物を原因とする食中毒の発生は、一般的に 4、5 月が多い。しかしチョウセンアサガオ(根)のように他の季節に食中毒の原因となりやすい高等植物があるうえ、植生に応じて地域ごとに食中毒の原因となりやすい植物の種類も異なることから、高等植物の種類、部位、食中毒の発生時期に合わせた注意喚起が有効だと考えられる。一例として、フランス食品・環境・労働衛生安全庁 (ANSES) は、有毒植物と誤認しやすい食用植物をシーズン毎にまとめたパンフレットを公開して注意を喚起している<sup>12)</sup>。
- ▶ 食中毒の原因となる高等植物の種類は時代とともに変化していた。昔はバイケイソウ類、チョウセンアサガオ類、トリカブトなどの野生種の報告が比較的多かったが、近年はスイセン及びイヌサフランなどの園芸種の報告が多い傾向が見られた。
- ▶ 特に、イヌサフランはグロリオサとともに毒性の強いコルヒチンを含み、近年は死亡事例がほぼ毎年報告されており、特に注意すべき高等植物と考えられた。
- ▶ イヌサフランは、葉を食用植物(ギョウジャニンニク等)と誤食した報告が最多だが、他に蕾や球根を誤食した報告

もあることから、若葉が出る春のみならず、秋にかけて長期にわたり継続的に注意を喚起することが必要であると考えられた。

▶ 12) ANSES; Plantes toxiques et plantes comestibles : attention aux confusions !

▶ [https://www.anses.fr/en/system/files/2020-02\\_aide\\_memoire-plantes\\_toxiques.pdf](https://www.anses.fr/en/system/files/2020-02_aide_memoire-plantes_toxiques.pdf)

## (2) キノコによる食中毒の注意喚起パンフレット

パンフレットのタイトルを「毒きのこに気をつけて!」とした。掲載内容は次の通りとした。

- ・ 厚生労働省の発表をもとにした食中毒事件の発生状況
- ・ キノコを観察する時の基本
- ・ キノコの見分け方のポイント
- ・ 食中毒の原因となる代表的な毒キノコと、それらとよく似て誤認しやすい食用キノコの特長と見分け方
- ・ 注意すべき迷信
- ・ キノコによる食中毒予防の注意点

作成したパンフレットの一部抜粋(全16ページのうち、1-3ページと16ページのみ)をC4別添1に示した。本パンフレットは、さまざまな視点でキノコの特徴を確認できる鮮明な写真を掲載し、間違いやすい複数のキノコについて見分け方のポイントを詳細に記載した。このように、食用キノコと毒キノコの誤認予防に着目して作成された詳細なパンフレットは他に例がなく、食中毒予防に非常に有効に活用できる内容となっている。

本パンフレットは、国立医薬品食品衛生研究所安全情報部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する予定である。

## (3) 「自然毒のリスクプロファイル」の更新

自然毒のリスクプロファイルの更新にあたり、1、2年度の分担研究において、現行版の問題点を洗い出した上で厚生労働省担当部署と協議し、更新作業の優先課題として、様式や記載項目の統一、より鮮明で特徴を捉えた写真の掲載、現行版で写真が未掲載のものについての入手・掲載、新しい知見の反映、引用・参考資料の記載、が挙げられた。それらの優先課題を踏まえて更新作業を実施し、キノコ及び高等植物について暫定的な更新版を作成した。更新版では全般的に内容を見直したが、現行版の内容をそのまま残している部分もある。本研究報告では例として次のキノコの暫定的な更新版の例を別添2、高等植物の暫定的な更新版の例を別添3に示した。今後、他のキノコ及び高等植物と合わせて、さらに内容を確認し、写真及び化学構造式を追加のうえ、将来的には厚生労働省HPに掲載予定である。

▶ キノコ：カエンタケ、ツキヨタケ、テングタケ、ドクササコ、ドクヤマドリ、ニセクロハツ

▶ 高等植物：イヌサフラン、キダチチョウセンアサガオ、グロリオサ、スイセン類、チョウセンアサガオ、ハシリドコロ

一方、動物性自然毒については更新作業を行っていたが、近年、新規情報が頻繁に発表されることから引き続き更新作業を行う必要があると考えられ、今後継続する課題となった。

## E. 結論

### E-1. 雑種ふぐの発生状況及びふぐの流通状況の把握

雑種フグの発生状況には地域差があり、その原因として主な漁獲対象種や漁法の違いがあげられる。さらに、同じ地域でも、雑種の発生状況には年変動がある。漁獲物の大半をマフグが占める日本海沿岸の天然フグの主な水揚げ地では雑種の混獲率が低く、それ以外の種を対象とする太平洋沿岸の水

揚げ地での雑種の発生が高い傾向がある。ゴマフグ×ショウサイフグやトラフグ×マフグなど、雑種が多く発生する組み合わせにおいては、また、二世目以降の雑種 (F2 や BC) の増加が示唆された。これらについては、F2 や BC の割合や毒性をより詳細に明らかにしていく必要がある。(高橋)

HILIC-MS/MS を用いて、フグおよび雑種フグの TTX 群の部位別分布を調査した結果、昭和 58 年の通知別表を支持する結果が得られた。トラフグ×マフグの交雑では、本研究でも先行研究と同じように皮部位で 10 MU/g を超える個体が認められた。このことは、雑種フグでは交雑相手の有毒部位の性質が継承され、可食に適さなくなること示しており、食中毒防止のために注意が必要である。

交雑フグの毒性調査については、これまで特定の種や TTX のみを対象として行われてきたが、本研究で様々な組み合わせの雑種フグ、類縁体を含めた TTX 分析を行った。雑種フグの出現については、フグを食文化として取り入れている我が国において、食品衛生上で注視すべきことであり、本事業で対象としなかった地域や別種も含めて、継続的に調査していく必要があると考えられた。

## E-2. 国際的に妥当性が評価された LC-MS/MS 法による国内貝毒検査法の確立

国際的に妥当性が評価された麻痺性貝毒の機器分析法について、我が国における単一試験室の妥当性評価を実施した。麻痺性貝毒 11 成分については、概ね良好な結果が得られたが、TTX については溶媒検量線よりもマトリックス検量線を用いて定量することにより良好な結果が得られた。

また、麻痺性貝毒の代謝物 M-toxins について、分析法の検証およびホタテガイにおける部位別蓄積を検証した。主な蓄積部位は、中腸腺や腎臓であったが、他部位にも

M-toxins が蓄積していることが明らかになった。現時点において、M-toxins の毒性は明らかになっておらず、毒力にどの程度寄与しているか不明である。

未知ピークの同定および各 M-toxins の毒性を明らかにすることで、機器分析法で標準物質が必要な麻痺性貝毒代謝物を選定することも今後の検討課題である。

## E-3. 汎用性の高い植物性自然毒の分析法の確立

AQC プレカラム誘導体化 LC-MS/MS 法による有毒きのこの毒成分一斉分析法 2 により、7 種の市販きのこを用いて、高極性のきのこ毒 5 成分の 1 mg/kg の濃度における添加回収試験を行った結果、回収率は 50-150% の範囲内、相対標準偏差は 5% 以内であった。本分析法は 1 mg/kg の毒成分を誤りなく識別することが可能な分析法であることが確かめられた。また本分析法は、LC-MS/MS の SRM 条件の設定が容易な上、市販の誘導体化試薬を用いているため汎用性が高い。今後、添加回収試験による妥当性確認を行った上で、クサウラベニタケやテングタケを用いた模擬試料を調製して試験室間共同試験を実施することで分析法の汎用性を検証する予定である。

有毒植物の実試料としてハシリドコロを用い、きんぴらごぼうとナスのミートソースの 2 つの模擬調理試料を調製して、試験室間共同試験による有毒植物の毒成分一斉分析法の妥当性確認を行った。前処理操作フローが同一であった 10 機関と、さらに LC-MS/MS の機種以外の分析条件まで同一の 6 機関の結果は、2 つの模擬試料のアトロピン、スコポラミンともに回収率が 80% 以上と良好な結果となった。併行精度及び室間精度は農水省のガイドラインに適合していた。HorRat 値も全て 2 以下となり、分析法の再現性が実証された。

#### E-4. 植物性自然毒の食中毒の発生動向調査及び「自然毒のリスクプロファイル」更新

平成4年から令和3年の30年間に全国自治体から厚生労働省へ報告された植物性自然毒の高等植物を原因とする食中毒事件について傾向をまとめた。今回、30年間という長期間の食中毒事件を総合的に解析したことにより、原因とされた高等植物ごとに食中毒の発生地域や時期について一定の傾向を見ることができた。これは、経験から何となく理解していた食中毒の傾向を裏付けるデータとして利用できるものである。また、近年の発生動向と重症度の観点から、イヌサフランの誤食の予防が重要な課題であることが示唆された。本研究報告ではイヌサフランを含むコルヒチン含有植物に着目して傾向を解析した。その結果を今後の行政機関による注意喚起に反映させることが、食中毒予防に有効だと考えられる。

さらに、食中毒の主な発生原因である食用キノコと毒キノコの誤認について市民に注意を呼び掛けることを目的に、パンフレット「毒きのこに気をつけて！」を作成した。食用キノコと毒キノコの誤認予防に着目して作成された詳細なパンフレットは他に例がなく、食中毒予防に非常に有効な内容となっている。今後、ウェブサイト上で公開することで広く利用可能となり、知識普及と食中毒の発生予防の一助になると期待される。

「自然毒のリスクプロファイル」のうち、キノコと高等植物について暫定的な更新版を作成した。今後さらに内容を確認のうえ、将来的には厚生労働省HPに掲載予定である。

#### F. 健康危険情報

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) Takahashi H, R Kakioka, A Nagano. 2023. Development and validation of novel SNP markers for the rapid identification of natural hybrids of the 11 closely related pufferfish species (*Takifugu* spp.) distributed in Japan. *Aquaculture Reports*, 31:101650. DOI: 10.1016/j.aqrep.2023.101650
- 2) 辰野竜平・山崎 亮・溝上 魁・林 源基・福田 翼・古下 学・高橋 洋・園山貴之・堀 成夫. 2023. 海産小型巻貝ヨフバイのテトロドトキシン含量. *食品衛生学雑誌*. 64:236-239.
- 3) Naito T, Nakayama K, Takeshima H, Hashiguchi Y, Akita T, Yamasaki YY, Mishina T, Takeshita N, Takahashi H. 2023. The detailed population genetic structure of the rare endangered latid fish akame *Lates japonicus* with extremely low genetic diversity revealed from single-nucleotide polymorphisms. *Conservation Genetics*, 24:523-535.
- 4) Kitanishi S, Kondou T, Takahashi H, Takeshita N, Nagata S, Edo K. 2023. Recent reduction of genetic diversity in markless form of the red-spotted masu salmon *Oncorhynchus masou ishikawae* in the Ono River, Kyushu, Japan. *Conservation Genetics*, 24:489-499.
- 5) Muto N, Kawasaki T, Kakioka R, Nagano AJ, Shimizu Y, Inose S, Shimizu Y, Takahashi H. 2023. Genetic architectures of postmating isolation and morphology of two highly diverged rockfishes (genus *Sebastes*). *Journal of Heredity*, 114:231-245.
- 6) 沼野 聡, 渡邊龍一, 小澤眞由, 内田 肇, 松嶋良次, 鈴木敏之. ホタテガイ中の麻痺性貝毒およびテトロドトキシンを対象とした液体クロマトグラフィータンデム型質量分析法の妥当性評価, *食品衛生学雑誌* (2024.05 現在, 投稿中)



## 2. 学会発表

- 1) 沼野 聡・糸田将太・渡邊龍一・内田肇・小澤眞由・松嶋良次・辰野竜平・刀禰一幸・高橋 洋・山下まり・鈴木敏之. 雑種フグにおける TTX および TTX 類縁体の分析. 令和 6 年度日本水産学会春季大会. 東京海洋大学品川キャンパス, 2024 年 3 月.
- 2) 高橋 洋・伊藤結花・菅原舞人・沖村未和子・永野 惇・柿岡 諒. 自然下でのゴマフグとショウサイフグの 2 世代目以降の雑種の出現. 日本魚類学会年会. 長崎大学文教キャンパス, 2023 年 9 月.
- 3) 菅原舞人・梁田椋也・吉川廣幸・永野惇・柿岡 諒・高橋 洋. トラフグ属魚類種間の模様の違いを生み出す遺伝基盤の解明. 日本魚類学会年会. 長崎大学文教キャンパス, 2023 年 9 月.
- 4) 沼野 聡, 渡邊龍一, 小澤眞由, 松嶋良次, 工藤雄大, 山下まり, 鈴木敏之, 二枚貝が含有する麻痺性貝毒の代謝物に関する研究, 第 119 回日本食品衛生学会学術講演会 (2023, 東京, 優秀演題賞受賞)
- 5) 南谷臣昭、谷口賢、友澤潤子、太田康介、高橋正幸、登田美桜：LC-MS/MS による有毒植物の毒成分一斉分析法、第 119 回日本食品衛生学会学術講演会、東京、2023 年 10 月
- 6) 登田美桜：自然毒による食中毒の発生動向について、第 41 回日本獣医師会獣医学術学会年次大会シンポジウム、神戸、2023 年 12 月

## 3. 行政関係者向け説明会

- 1) 登田美桜：動物性自然毒による食中毒の発生動向について、令和 5 年度地方衛生研究所全国協議会近畿支部自然毒部会・教育講演、京都、2023 年 11 月

- 2) 竹内 浩、友澤潤子、野村千枝、山口瑞香、南谷臣昭、岩附綾子、谷口 賢、吉岡直樹、吉村英基、阿部尚仁、鈴木敏之、登田美桜：わが国の主な有毒キノコの多成分分析法（第 2 報）、第 60 回全国衛生化学技術協議会年会、福島、2023 年 11 月
- 3) 登田美桜：自然毒による食中毒の発生動向について、令和 5 年度地方衛生研究所東海・北陸ブロック会議、岐阜、2023 年 12 月
- 4) 南谷臣昭、遠藤利加：食中毒残品を想定した模擬調理試料中のアトロピン、スコポラミンの定量、令和 5 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、金沢、2024 年 2 月

## 4. その他

- 1) 沼野 聡, 渡邊龍一, 小澤眞由, 内田肇, 松嶋良次, 加賀新之助, 工藤雄大, 山下まり, 鈴木敏之, 二枚貝類における麻痺性貝毒の代謝物 (M トキシン) 蓄積について、漁場環境保全関係研究開発推進会議 赤潮貝毒部会 東日本貝毒分科会 (2023.11, 仙台)

## H. 知的財産権の出願・登録状況

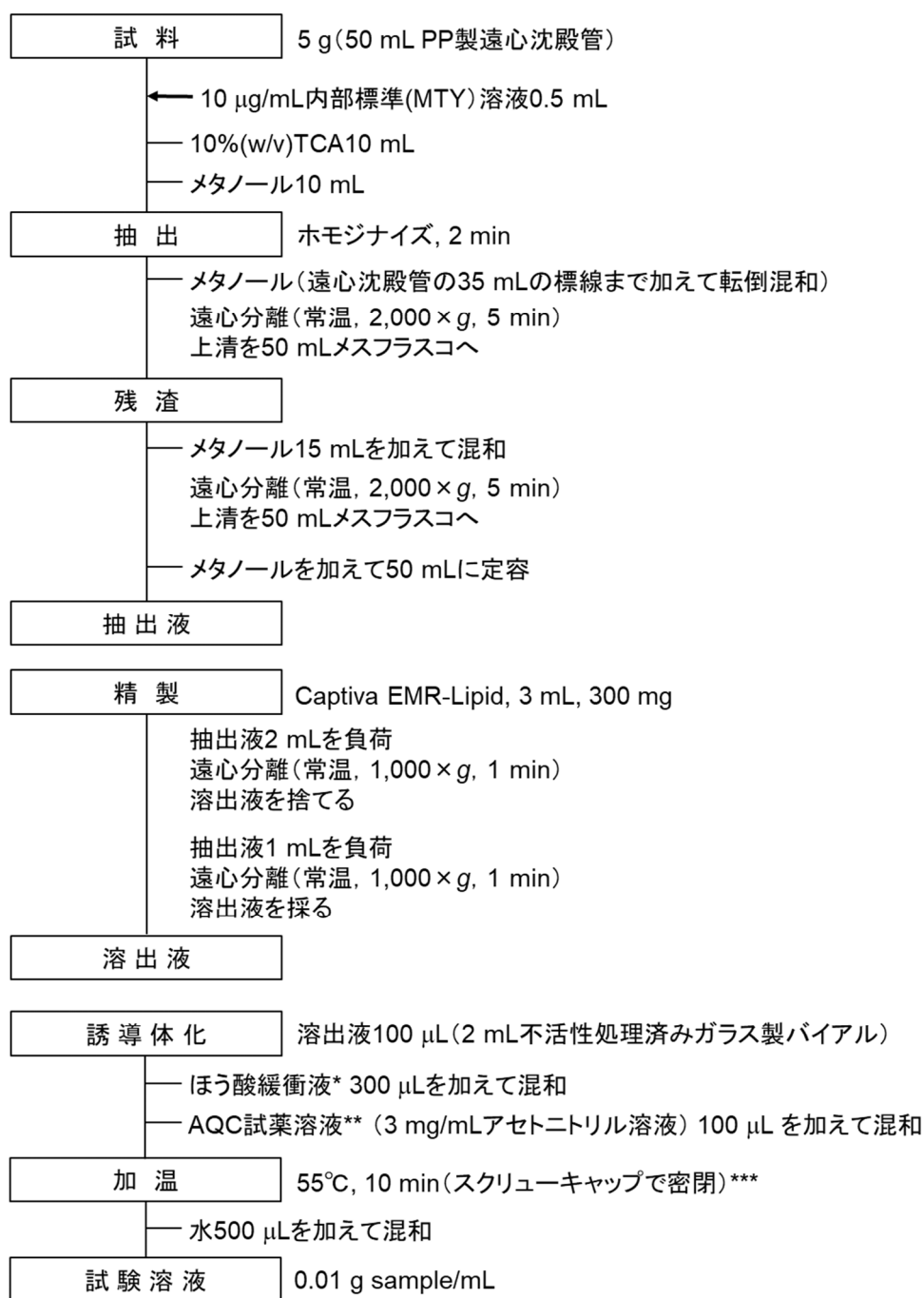
1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 なし

B3 表 1-1 きのご毒の LC-MS/MS 測定条件 (分析条件 2)

LC		Exion LC AD (Sciex)
MS/MS		Triple Quad 5500+ · QTRAP Activated (Sciex)
Column		Luna Omega Polar C18 (2.1×150 mm, 1.6 μm) (Phenomenex)
Mobile phase	Solvent A	0.1% Formic acid
	Solvent B	0.1% Formic acid in acetonitrile
Gradient method	% of solvent B	2%(0 min)→10%(1 min) →30%(11 min)→95%(11.1-13 min) →2%(13.1-18 min)
Flow rate (mL/min)		0.4
Column temperature (°C)		35
Injection volume (μL)		5
Parameter \ Porarity		ESI(+)
Curtain gas (psi)		30
Collision gas (psi)		9
Ion Spray Voltage(V)		5000
Temperature (°C)		600
Ion Source Gas1 (psi)		60
Ion Source Gas2 (psi)		60

B3 表 1-2 きのご毒の SRM トランジション (分析条件 2)

No.	Compound name	RT (min)	Q1	Q3	DP (V)	CE (V)	CXP (V)
1	Muscarin	2.2	174	57	51	31	6
			174	43	51	49	10
2	Ibotenic acid	3.4	329	171	90	30	10
			329	116	90	70	10
3	Muscimol	4.1	285	171	90	30	10
			285	116	90	70	10
4	Propargylglycine	4.9	284	171	90	30	10
			284	116	90	70	10
5	Allylglycine	5.8	286	171	90	30	10
			286	116	90	70	10
IS	MTY (Internal standard)	9.2	366.1	171	90	30	10
			366.1	116	90	70	10



\*APDSタグワコー用ほう酸緩衝液(富士フィルム和光純薬, 019-23151)を使用

\*\*AccQ・Tag™ Ultra Derivatization Kit (Waters, Part#. 186003836)を使用

AccQTag™ Ultra-2A (Reagent powder, 3 mg)にAccQTag™ Ultra-2B アセトニトリル100%を1 mL入れて1分間超音波で溶解

\*\*\*バイアルをアルミブロックに入れて加熱

### B3 Scheme-1 有毒きのこの毒成分一斉分析法 2 前処理操作フロー

B3 表 2-1 有毒植物の LC-MS/MS 測定条件 (機関 A)

LC		Exion LC AD (Sciex)
MS/MS		Triple Quad 5500+ · QTRAP Activated (Sciex)
Column		Raptor C18 (2.1×150 mm, 2.7 μm) (Restek)
Mobile phase	Solvent A	5 mM aqueous ammonium formate solution containing 0.1% formic acid
	Solvent B	Acetonitrile
Gradient method	% of solvent B	2%(0 min)→90%(11 min, 1 min hold) →2%(12.1 min) →2%(20 min)
Flow rate (mL/min)		0.3
Column temperature (°C)		40
Injection volume (μL)		5
Parameter \ Porarity		ESI(+)
Curtain gas (psi)		30
Collission gas (psi)		9
Ion Spray Voltage(V)		5000
Temperature (°C)		300
Ion Source Gas1 (psi)		60
Ion Source Gas2 (psi)		60

B3 表 2-2 有毒植物 (トロパンアルカロイド) の SRM トランジション条件 (機関 A)

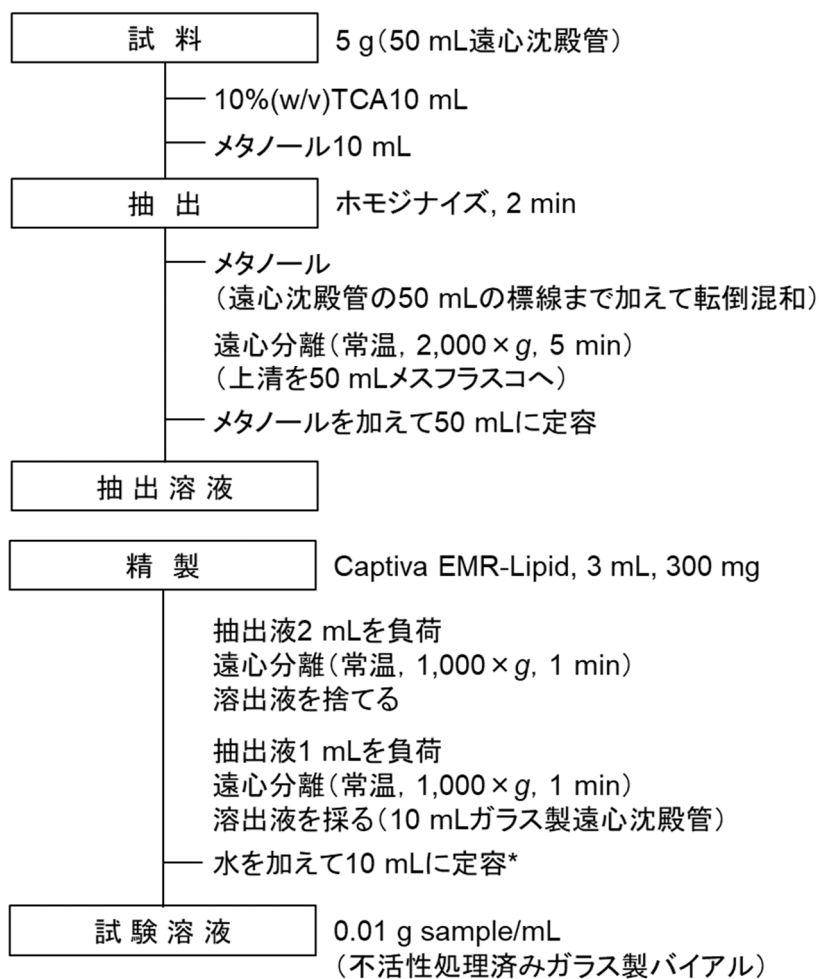
No.	Compound name	RT (min)	Q1	Q3	DP (V)	CE (V)	CXP (V)
1	Scopolamine	3.4	304.0	138.0	87	26	10
			304.0	156.0	87	21	10
2	Atropine	3.9	290.2	124.2	110	30	5
			290.2	93.0	110	35	7
IS	Scopolamine-d3 (Internal standard)	3.4	307.2	159.1	94	23	14

B3 表 2-3 10 機関による試験室間共同試験の LC-MS/MS 測定条件

Laboratory		A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
LC	Manufacturer	Sciex	Shimadzu	Agilent	Shimadzu	Waters	Waters	Agilent	Shimadzu	Sciex	Shimadzu
	Instrument	Exion LC AD	Nexera X2	1260 Infinity II	Prominence 20A	ACQUITY UPLC H-Class	ACQUITY UPLC H-Class	1260 Infinity	LC-40D XR	Exion LC AD	Prominence 20A
MS/MS	Manufacturer	Sciex	Shimadzu	Agilent	Sciex	Waters	Waters	Agilent	Shimadzu	Sciex	Sciex
	Instrument	Triple Quad 5500+	8050	6470 Triple Quad	3200QTRAP	Xevo TQ-XS	Xevo TQ-S micro	6460 Triple Quad	8045	Triple Quad 5500+	3200QTRAP
Column		Raptor C18	Raptor C18	ZORBAX Eclipse Plus C18	Raptor C18	Inertsil ODS-3	Raptor C18	Poroshell 120 EC-C18	Shim-pack Arata C18	Raptor C18	Raptor C18
		2.1×150 mm, 2.7 μm	2.1×150 mm, 2.7 μm	2.1×100 mm, 1.8 μm	2.1×150 mm, 2.7 μm	2.1×100 mm, 3 μm	2.1×150 mm, 2.7 μm	2.1×100 mm, 2.7 μm	2.0×100 mm, 2.2 μm	2.1×150 mm, 2.7 μm	2.1×150 mm, 2.7 μm
Mobile phase	Solvent A	5 mM aqueous ammonium formate solution containing 0.1% formic acid	5 mM aqueous ammonium formate solution containing 0.1% formic acid	5 mM aqueous ammonium formate solution containing 0.1% formic acid	5 mM aqueous ammonium formate solution containing 0.1% formic acid	5 mM aqueous ammonium formate solution containing 0.1% formic acid	5 mM aqueous ammonium formate solution containing 0.1% formic acid	5 mM aqueous ammonium acetate solution containing 0.1% formic acid	10 mM aqueous ammonium formate solution containing 0.1% formic acid	5 mM aqueous ammonium formate solution containing 0.1% formic acid	5 mM aqueous ammonium formate solution containing 0.1% formic acid
	Solvent B	Acetonitrile	Acetonitrile	Acetonitrile	Acetonitrile	Acetonitrile	Acetonitrile	Methanol	1% Formic acid in acetonitrile	Acetonitrile	Acetonitrile
Gradient method	% of solvent B	2%(0 min)→90%(11 min, 1 min hold) →2%(12.1 min) →2%(20 min)	2%(0 min)→90%(11 min, 1 min hold) →2%(12.1 min) →2%(20 min)	5%(0 min)→90%(10 min, 3 min hold) →5%(15 min) →5%(25 min)	2%(0 min)→90%(11 min, 1 min hold) →2%(12.1 min) →2%(20 min)	2%(0 min)→90%(11 min, 1 min hold) →2%(12.1 min) →2%(20 min)	2%(0 min)→90%(11 min, 1 min hold) →2%(12.1 min) →2%(20 min)	2%(0 min)→60%(5 min)→90%(11 min, 1 min hold) →2%(12.1 min) →2%(20 min)	2%(0 min)→90%(11 min, 1 min hold) →2%(12.1 min) →2%(20 min)	2%(0 min)→90%(11 min, 1 min hold) →2%(12.1 min) →2%(20 min)	2%(0 min)→90%(11 min, 1 min hold) →2%(12.1 min) →2%(20 min)
Flow rate (mL/min)		0.3									
Column temperature (°C)		40									
Injection volume (μL)		5									
Precursor ion (m/z)	Atropine	290									
	Scopolamine	304									
Quantifier ion (m/z)	Atropine	124									
	Scopolamine	138									

B3 表 2-4 6 機関による試験室間共同試験の LC-MS/MS 測定条件

Laboratory		A	B	D	F	I	J
LC	Manufacturer	Sciex	Shimadzu	Shimadzu	Waters	Sciex	Shimadzu
	Instrument	Exion LC AD	Nexera X2	Prominence 20A	ACQUITY UPLC H-Class	Exion LC AD	Prominence 20A
MS/MS	Manufacturer	Sciex	Shimadzu	Sciex	Waters	Sciex	Sciex
	Instrument	Triple Quad 5500+	8050	3200QTRAP	Xevo TQ-S micro	Triple Quad 5500+	3200QTRAP
Column		Raptor C18					
		2.1×150 mm, 2.7 μm					
Mobile phase	Solvent A	5 mM aqueous ammonium formate solution containing 0.1% formic acid					
	Solvent B	Acetonitrile					
Gradient method	% of solvent B	2%(0 min)→90%(11 min, 1 min hold) →2%(12.1 min) →2%(20 min)					
Flow rate (mL/min)		0.3					
Column temperature (°C)		40					
Injection volume (μL)		5					
Precursor ion (m/z)	Atropine	290					
	Scopolamine	304					
Quantifier ion (m/z)	Atropine	124					
	Scopolamine	138					



\* 内部標準を入れる場合は 10 ng/mL の内部標準溶液をHPLCのオートサンプラーで5 μL共注入  
(共注入の機能がないHPLCの場合は定容前に100 ng/mLの内部標準溶液を1 mL添加)

### B3 Scheme-2 有毒植物毒成分一斉分析法 前処理操作フロー

C1-Table.1 雑種フグにおける各部位の毒力

皮 (MU/g)	検体数	北海道	秋田県	宮城県	茨城県	千葉県	神奈川県
トラフグ×マフグ	26	1.6-14.8	0.9-72.9			0.5	0.0-41.7
BC:(トラフグ×マフグ)×トラフグ	17		1.7			0.0-0.8	0.0-5.0
BC:(トラフグ×ゴマフグ)×トラフグ	1		57.6				
ゴマフグ×ショウサイフグ	41		2.9	2.1-125.5	0.2-5.0	9.4-45.6	
BC:(ゴマ×ショウサイ)×ショウサイ	9			0.1-85.2		14.3	
BC:(ゴマ×ショウサイ)×ゴマフグ	2			5.6-27.7			
ゴマフグ×マフグ	2	23.2	35.0				
BC:(ゴマ×マフグ)×マフグ	1	33.2					
コモンフグ×ショウサイフグ	4			3.8-231.6			
コモンフグ	2			9.4		320.8	
マフグ	10	1.0-21.4	9.0				14.4-31.6
ショウサイフグ	6		2.6	6.9-32.2			
ゴマフグ	3		0.7-0.9				
トラフグ	5			4.4		0.2-1.1	
筋肉 (MU/g)	検体数	北海道	秋田県	宮城県	茨城県	千葉県	神奈川県
トラフグ×マフグ	26	0.0-3.9	0.2-4.6			0.4	0.0-10.6
BC:(トラフグ×マフグ)×トラフグ	17		0.1			0.0-0.3	0.0-0.7
BC:(トラフグ×ゴマフグ)×トラフグ	1		1.1				
ゴマフグ×ショウサイフグ	41		2.0	0.0-6.6	0.2	2.2-12.7	
BC:(ゴマ×ショウサイ)×ショウサイ	9			0.0-6.9		2.6	
BC:(ゴマ×ショウサイ)×ゴマフグ	2			0.0			
ゴマフグ×マフグ	2	6.0	0.3				
BC:(ゴマ×マフグ)×マフグ	1	0.0					
コモンフグ×ショウサイフグ	4			0.0-0.9			
コモンフグ	2			0.0		71.7	
マフグ	10	0.0-3.0	0.7				1.8-7.8
ショウサイフグ	6		1.0	0.0-7.1			
ゴマフグ	3		0.0-0.2				
トラフグ	5			0.0		0.0-0.4	
精巢 (MU/g)	検体数	北海道	秋田県	宮城県	茨城県	千葉県	神奈川県
トラフグ×マフグ	19	0.0-2.7	0.2-3.6			1.7	0.0-5.3
BC:(トラフグ×マフグ)×トラフグ	10		0.1			0.0	0.0-2.1
BC:(トラフグ×ゴマフグ)×トラフグ	0						
ゴマフグ×ショウサイフグ	17			0.0-4.0	0.5	3.1	
BC:(ゴマ×ショウサイ)×ショウサイ	4			0.0-6.4		4.0	
BC:(ゴマ×ショウサイ)×ゴマフグ	2			0.0			
BC:(ゴマ×マフグ)×マフグ	1	0.1					
コモンフグ×ショウサイフグ	1			0.0			
マフグ	8	0.0-0.4					0.0-1.1
ショウサイフグ	3			0.0-0.2			
ゴマフグ	2		0.0-0.8				
トラフグ	3					0.0	
卵巣 (MU/g)	検体数	北海道	秋田県	宮城県	茨城県	千葉県	神奈川県
トラフグ×マフグ	7	914.9	459.5				143.7-674.6
BC:(トラフグ×マフグ)×トラフグ	7					0.3-4.8	7.2-372.6
BC:(トラフグ×ゴマフグ)×トラフグ	1		433.6				
ゴマフグ×ショウサイフグ	24		121.1	6.1-575.2	16.9	282.7-1119.2	
BC:(ゴマ×ショウサイ)×ショウサイ	5			24.1-176.5			
ゴマフグ×マフグ	2	252.8	146.7				
コモンフグ×ショウサイフグ	3			39.6-223.9			
コモンフグ	2			144.6		539.2	
マフグ	2		136.9				533.9
ショウサイフグ	3		93.6	0-76.5			
ゴマフグ	1		7.4				
トラフグ	1					175.9	
肝臓 (MU/g)	検体数	北海道	秋田県	宮城県	茨城県	千葉県	神奈川県
トラフグ×マフグ	26	1.2-921.8	0.3-1333.2			2.1	0.0-342.1
BC:(トラフグ×マフグ)×トラフグ	17		1.0			0.0-0.2	0.0-13.93
BC:(トラフグ×ゴマフグ)×トラフグ	1		3527.7				
ゴマフグ×ショウサイフグ	41		3.2	0.0-363.6	0.3-3.5	13.9-91.0	
BC:(ゴマ×ショウサイ)×ショウサイ	9			0.5-81.6		29.8	
BC:(ゴマ×ショウサイ)×ゴマフグ	2			8.3-41.1			
ゴマフグ×マフグ	2	20.7	81.9				
BC:(ゴマ×マフグ)×マフグ	1	9.3					
コモンフグ×ショウサイフグ	4			2.3-5.0			
コモンフグ	2			4.7		1538.8	
マフグ	10	0.1-10.8	61.0				8.9-196.1
ショウサイフグ	6		0.6	7.2-53.0			
ゴマフグ	3		0.1-2.2				
トラフグ	5			0.0		0.0-2.4	



C2-Table.1 妥当性評価の結果 (検出下限および定量下限)

dilution		Solvent		Matrix (scallop)		Matrix (mussel)		Criteria (Codex) *1		Criteria (Codex) *2	
Analyte (Molecular weight, g/mol)		LOQ (nmol/L)	LOD (nmol/L)	LOQ (nmol/L)	LOD (nmol/L)	LOQ (nmol/L)	LOD (nmol/L)	LOQ (nmol/L)	LOD (nmol/L)	LOQ (mg/kg)	LOD (mg/kg)
dcSTX	256.26	14.5	5.0	22.3	5.2	18.6	5.6	78.0	39.0	0.02	0.01
GTX1	411.4	7.7	2.5	7.4	1.9	9.9	3.0	48.6	24.3	0.02	0.01
GTX2	395.4	4.3	1.3	3.7	1.1	3.4	1.0	151.7	75.9	0.06	0.03
GTX3	395.4	9.9	3.2	9.7	3.2	12.7	2.9	151.7	75.9	0.06	0.03
GTX4	411.4	3.4	1.0	3.4	0.8	3.4	1.6	48.6	24.3	0.02	0.01
GTX5	379.35	3.6	1.4	4.8	1.2	4.4	0.9	158.2	79.1	0.06	0.03
GTX6	395.35	2.5	0.8	11.8	3.6	5.9	2.2	151.8	75.9	0.06	0.03
dcGTX2	352.3	17.1	2.6	25.8	6.4	27.8	8.3	170.3	85.2	0.06	0.03
dcGTX3	352.3	2.9	1.0	5.1	1.1	3.3	1.0	170.3	85.2	0.06	0.03
C1	475.4	4.3	1.3	6.4	1.9	10.4	3.1	126.2	63.1	0.06	0.03
C2	475.4	3.6	1.2	4.4	1.3	12.2	3.3	126.2	63.1	0.06	0.03
TTX	319.27	2.3	1.1	7.9	3.1	3.1	1.5	- (not set)	- (not set)	- (not set)	- (not set)

LOQ (Limit of quantification) : s/n = 10, LOD (Limit of detection) : s/n = 3

\*1 Codex の性能規準では、各毒成分の LOD 値および LOQ 値が mg/kg で記されている。参考として、\*2 に記した。よって、mg/kg から nmol/L への変換は、次の計算例のように行った。また、他の毒成分も同様に算出した。

例) dcSTX の LOD 値,  $0.01 \text{ (mg/kg)} \div 256.26 \text{ (g/mol)} \times 1,000,000 \div 39.0 \text{ (nmol/L)}$

各毒成分の Molecular weight 値 (g/mol) は、National Research Council Canada 標準品付属の添付文書による。

C2-Table.2 妥当性評価試験の結果 (回収率、併行精度)

## Result of validation study (Low concentration)

Analyte	Calibration curve (solvent)			Calibration curve (scallop)			Calibration curve (mussel)			Criteria (Codex)	
	Trueness (%)	RSDr (%)	RSD <sub>WR</sub> (%)	Trueness (%)	RSDr (%)	RSD <sub>WR</sub> (%)	Trueness (%)	RSDr (%)	RSD <sub>WR</sub> (%)	Trueness (%)	RSD <sub>WR</sub> (%)
dcSTX	90.1	12.2	12.3	69.4	7.3	8.9	90.3	5.9	7.9	50-130	≦ 44
GTX1	93.0	8.6	10.1	101.7	7.4	9.1	76.9	10.4	14.8	50-130	≦ 44
GTX2	105.1	7.2	9.5	95.0	4.9	8.6	88.0	4.4	6.3	50-130	≦ 38
GTX3	97.2	5.5	8.6	85.2	11.1	14.9	80.8	5.6	5.8	50-130	≦ 38
GTX4	105.3	12.2	15.0	99.5	8.7	12.7	80.0	7.7	12.9	50-130	≦ 44
GTX5	95.3	6.8	10.3	91.8	10.2	10.3	85.0	2.9	13.8	50-130	≦ 38
GTX6	88.7	5.5	14.0	101.8	11.7	15.3	83.4	13.1	15.2	50-130	≦ 38
dcGTX2	103.8	8.5	10.6	87.0	13.1	18.3	93.2	8.7	9.9	50-130	≦ 38
dcGTX3	91.4	7.9	18.5	96.6	8.8	10.4	84.9	3.4	12.5	50-130	≦ 38
C1	91.8	13.3	14.5	98.0	5.1	8.9	83.5	4.0	7.8	50-130	≦ 38
C2	79.2	10.6	11.4	100.1	9.6	16.9	69.2	10.8	11.0	50-130	≦ 38
TTX	38.2	9.3	22.1	74.0	13.2	17.9	49.7	11.6	16.5	-	-

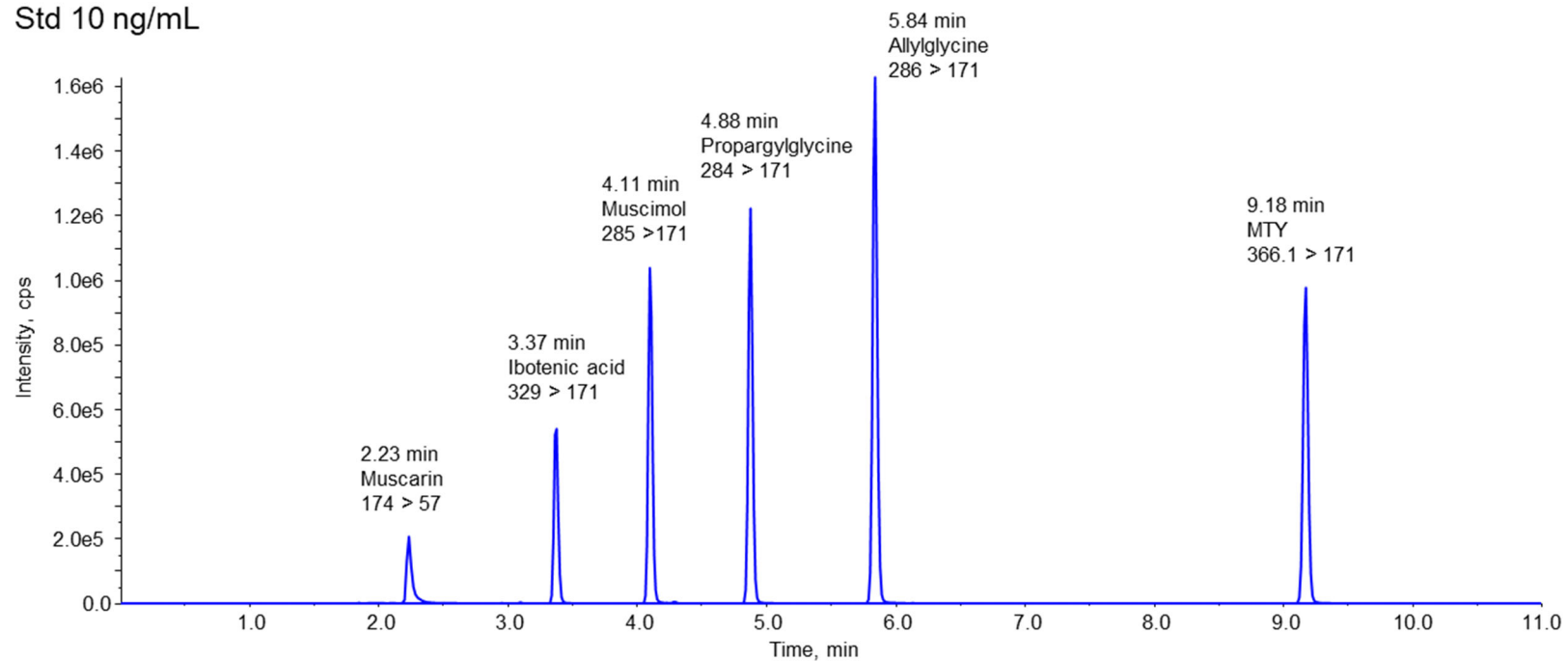
## Result of validation study (High concentration)

Analyte	Calibration curve (solvent)			Calibration curve (scallop)			Calibration curve (mussel)			Criteria (Codex)	
	Trueness (%)	RSDr (%)	RSD <sub>WR</sub> (%)	Trueness (%)	RSDr (%)	RSD <sub>WR</sub> (%)	Trueness (%)	RSDr (%)	RSD <sub>WR</sub> (%)	Trueness (%)	RSD <sub>WR</sub> (%)
dcSTX	81.9	9.3	12.6	81.7	10.0	21.0	73.8	9.2	10.7	50-130	≦ 44
GTX1	79.9	6.1	16.7	90.7	7.5	21.1	66.3	6.9	19.0	50-130	≦ 44
GTX2	95.3	4.2	13.6	101.8	3.5	6.6	81.3	3.7	22.8	50-130	≦ 38
GTX3	83.3	4.3	13.6	91.0	3.5	9.9	69.7	3.2	23.3	50-130	≦ 38
GTX4	86.0	6.1	13.8	98.8	12.5	14.8	72.9	12.1	25.4	50-130	≦ 44
GTX5	83.8	5.3	9.4	89.3	6.7	17.2	70.7	6.0	24.6	50-130	≦ 38
GTX6	78.4	9.0	14.3	95.6	6.4	11.1	65.6	6.6	30.2	50-130	≦ 38
dcGTX2	88.8	8.0	9.6	87.3	9.5	24.7	84.7	5.6	29.7	50-130	≦ 38
dcGTX3	78.7	3.6	4.6	90.5	6.4	16.7	69.4	3.2	25.0	50-130	≦ 38
C1	78.3	15.0	24.1	94.0	7.9	24.4	70.4	8.1	10.5	50-130	≦ 38
C2	80.4	7.1	14.6	95.0	9.9	18.0	66.1	7.9	22.6	50-130	≦ 38
TTX	27.3	19.4	21.4	57.8	26.7	30.7	34.7	21.8	28.7	-	-

RSDr : Relative standard deviation (Repeatability) , RSD<sub>WR</sub> : Relative standard deviation (Within-laboratory reproducibility)

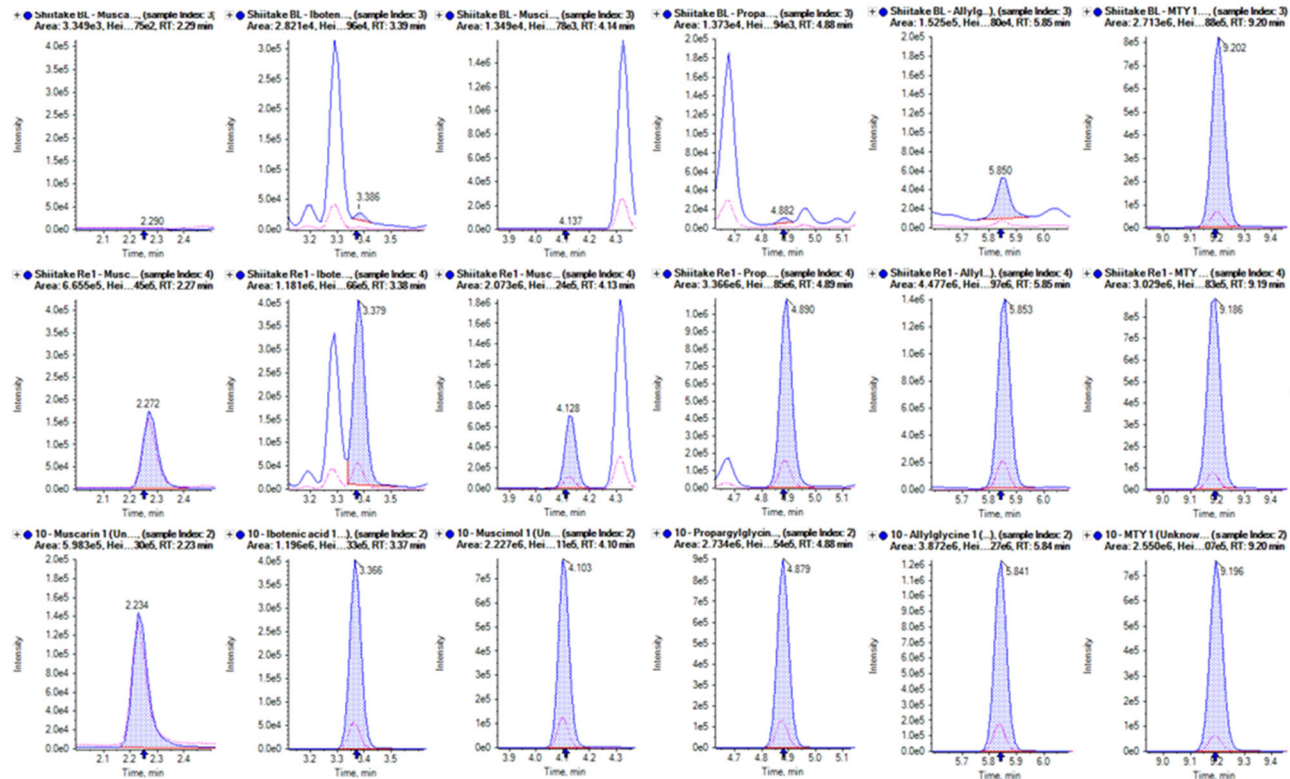
Shaded texts : Trueness (%) ≦ 50, - : Not set

Std 10 ng/mL



C3 図1 有毒きのこの毒成分一斉分析法2 Scheduled SRM クロマトグラム (定量トランジション)

Quantifier ——— blue line  
 Qualifier ——— pink line



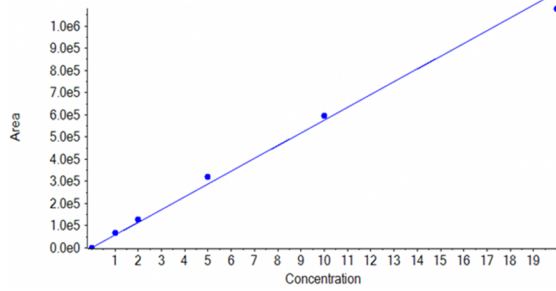
Muscarin                      Ibotenic acid                      Muscimol                      Propargylglycine                      Allylglycine                      MTY

Quantifier	<i>m/z</i> 174>57	<i>m/z</i> 329>171	<i>m/z</i> 285>171	<i>m/z</i> 284>171	<i>m/z</i> 286>171	<i>m/z</i> 366.1>171
Qualifier	<i>m/z</i> 174>43	<i>m/z</i> 329>116	<i>m/z</i> 285>116	<i>m/z</i> 284>116	<i>m/z</i> 286>116	<i>m/z</i> 366.1>116

C3 図2 有毒きのこの毒成分一斉分析法2 SRMクロマトグラム  
 (上段: シイタケ BL、中段: シイタケ添加 1 mg/kg、下段: 標準溶液 10 ng/mL)

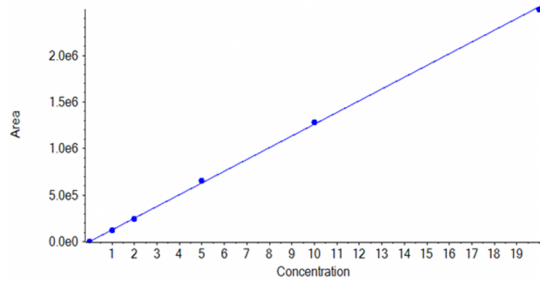
**Muscarin**

$y = 5.75571e4 x + 622.74822$  ( $r = 0.99728$ )



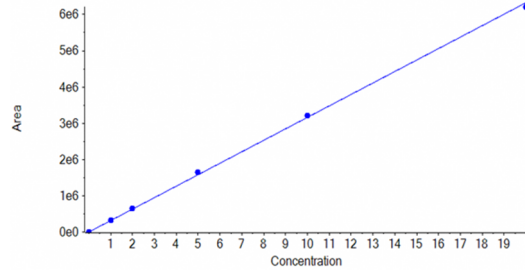
**Ibotenic acid**

$y = 1.26144e5 x + 286.12952$  ( $r = 0.99983$ )



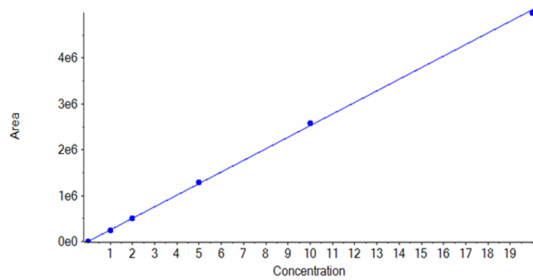
**Propargylglycine**

$y = 3.16179e5 x + 465.16286$  ( $r = 0.99975$ )



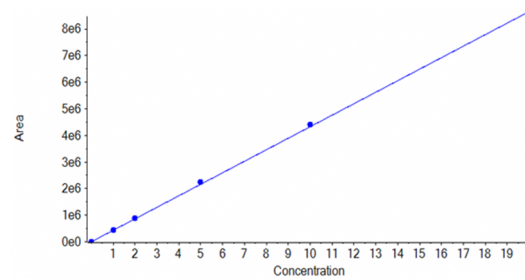
**Muscimol**

$y = 2.52687e5 x + 995.56784$  ( $r = 0.99984$ )



**Allylglycine**

$y = 4.32567e5 x + 886.26009$  ( $r = 0.99970$ )



C3 図3 有毒きのこの毒成分一斉分析法2 検量線 (内部標準補正なし)

C3 表 3-1 添加回収試験の結果（添加濃度：1 mg/kg、n=3）

Compound name	Shiitake		Bunashimeji		Nameko		Hiratake		Maitake		Enokitake		Tsukuritake	
	Mean(%)	RSD(%)	Mean(%)	RSD(%)	Mean(%)	RSD(%)	Mean(%)	RSD(%)	Mean(%)	RSD(%)	Mean(%)	RSD(%)	Mean(%)	RSD(%)
Muscarin	110	2.65	102	0.86	112	2.37	111	0.78	110	1.12	103	0.39	103	1.57
Ibotenic acid	80.8	0.52	65.5	1.41	90.6	2.39	95.6	2.52	86.4	3.86	91.4	1.12	73.9	2.88
Muscimol	77.8	0.36	92.8	2.17	84.4	2.53	85.7	1.04	85.8	3.83	54.3	0.37	54.7	1.97
Propargylglycine	104	0.90	106	1.36	102	1.92	104	1.84	85.8	2.74	103	1.89	83.4	2.20
Allylglycine	96.8	1.53	101	2.22	92.6	1.90	95.5	4.22	87.1	3.30	91.1	1.07	54.4	1.59

C3 表 3-2 マトリックス標準溶液の溶媒標準溶液に対する比（試料中 1 mg/k 相当、n=1）

(%)

Compound name	Shiitake	Bunashimeji	Nameko	Hiratake	Maitake	Enokitake	Tsukuritake
Muscarin	103	89.2	107	118	109	105	100
Ibotenic acid	101	70.0	95.3	101	97.1	91.3	49.5
Muscimol	84.7	97.0	89.5	96.6	94.5	52.2	59.4
Propargylglycine	116	111	105	114	96.9	101	94.9
Allylglycine	112	106	97.2	107	102	92.3	81.7

C3 表 4-1 10 機関による試験室間共同試験の結果-アトロピン

Laboratory	模擬試料① きんびらごぼう		模擬試料② ナスのミートソース	
	A	108	110	57.6
B	91.9	89.4	52.4	56.1
C	76.2	75.3	49.8	51.0
D	90.3	84.2	53.9	54.0
E	78.4	76.3	43.6	43.8
F	103	107	63.5	65.7
G	81.4	82.9	50.1	49.4
H	91.4	88.1	52.8	51.1
I	96.3	93.9	51.4	50.8
J	80.1	76.1	46.3	44.9
Mean (mg/kg)	89.0		52.4	
Mean recovery (%)	83.2		89.3	
Outlier (Cochran parameters)	0		0	
Outlier (single Grubbs parameters)	0		0	
Outlier (paired Grubbs parameters)	0		0	
Repeatability relative SD [RSDr, %]	2.5		2.4	
Reproducibility relative SD [RSDR, %]	12.9		11.7	
Predicted reproducibility relative SD [PRSDR, %]	8.1		8.8	
HorRat	1.6		1.3	

C3 表 4-2 10 機関による試験室間共同試験の結果-スコポラミン

Laboratory	模擬試料① きんびらごぼう		模擬試料② ナスのミートソース	
	A	2.68	2.51	5.65
B	2.28	2.23	5.17	5.11
C	1.97	1.96	5.53	5.53
D	2.16	1.94	4.82	4.52
E	2.15	2.23	5.11	5.49
F	2.49	2.38	5.54	5.55
G	1.83	1.87	4.80	4.77
H	2.27	2.27	5.58	5.44
I	2.54	2.48	5.43	5.57
J	2.09	1.97	4.94	4.75
Mean (mg/kg)	2.21		5.25	
Mean recovery (%)	80.2		83.8	
Outlier (Cochran parameters)	0		0	
Outlier (single Grubbs parameters)	0		0	
Outlier (paired Grubbs parameters)	0		0	
Repeatability relative SD [RSDr, %]	3.5		2.4	
Reproducibility relative SD [RSDR, %]	11.4		7.3	
Predicted reproducibility relative SD [PRSDR, %]	14.2		12.5	
HorRat	0.8		0.6	

C3 表 5-1 6 機関による試験室間共同試験の結果-アトロピン

Laboratory	模擬試料① きんびらごぼう		模擬試料② ナスのミートソース	
	A	108	110	57.6
B	91.9	89.4	52.4	56.1
D	90.3	84.2	53.9	54.0
F	103	107	63.5	65.7
I	96.3	93.9	51.4	50.8
J	80.1	76.1	46.3	44.9
Mean (mg/kg)	94.2		54.7	
Mean recovery (%)	88.0		93.2	
Outlier (Cochran parameters)	0		0	
Outlier (single Grubbs parameters)	0		0	
Outlier (paired Grubbs parameters)	0		0	
Repeatability relative SD [RSDr, %]	2.8		2.7	
Reproducibility relative SD [RSDR, %]	12.3		12.0	
Predicted reproducibility relative SD [PRSDR, %]	8.1		8.8	
HorRat	1.5		1.4	

C3 表 5-2 6 機関による試験室間共同試験の結果-スコポラミン

Laboratory	模擬試料① きんびらごぼう		模擬試料② ナスのミートソース	
	A	2.68	2.51	5.65
B	2.28	2.23	5.17	5.11
D	2.16	1.94	4.82	4.52
F	2.49	2.38	5.54	5.55
I	2.54	2.48	5.43	5.57
J	2.09	1.97	4.94	4.75
Mean (mg/kg)	2.31		5.24	
Mean recovery (%)	83.8		83.5	
Outlier (Cochran parameters)	0		0	
Outlier (single Grubbs parameters)	0		0	
Outlier (paired Grubbs parameters)	0		0	
Repeatability relative SD [RSDr, %]	4.2		2.2	
Reproducibility relative SD [RSDR, %]	10.7		8.1	
Predicted reproducibility relative SD [PRSDR, %]	14.1		12.5	
HorRat	0.8		0.7	

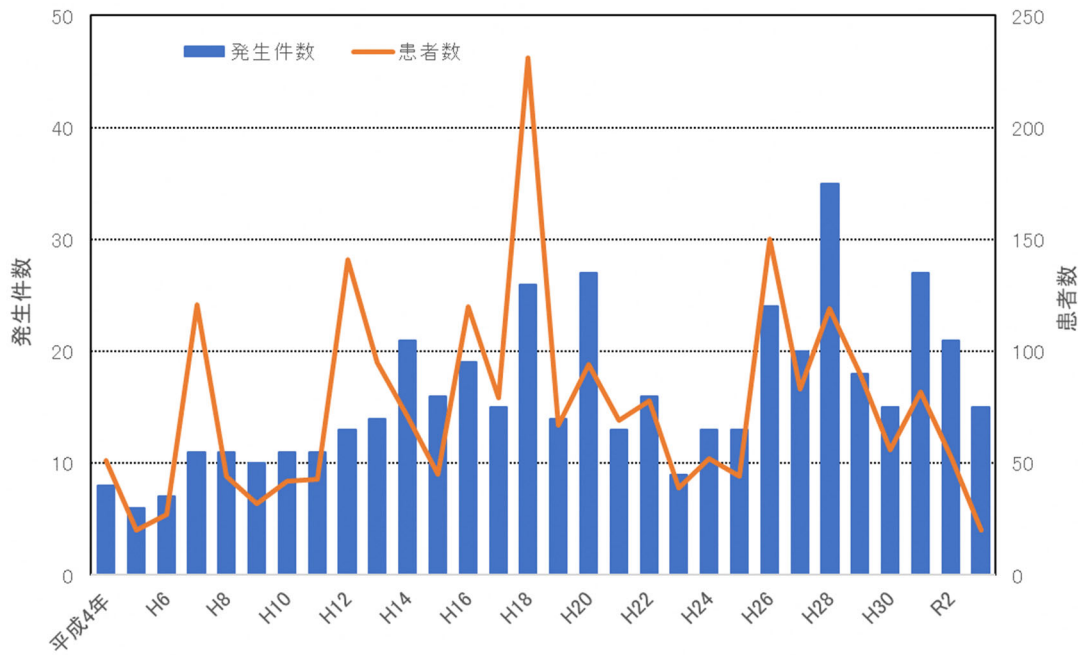


C3 表 6-1 3 機関による試験室間共同試験の結果-アトロピン/内標補正の有無の比較

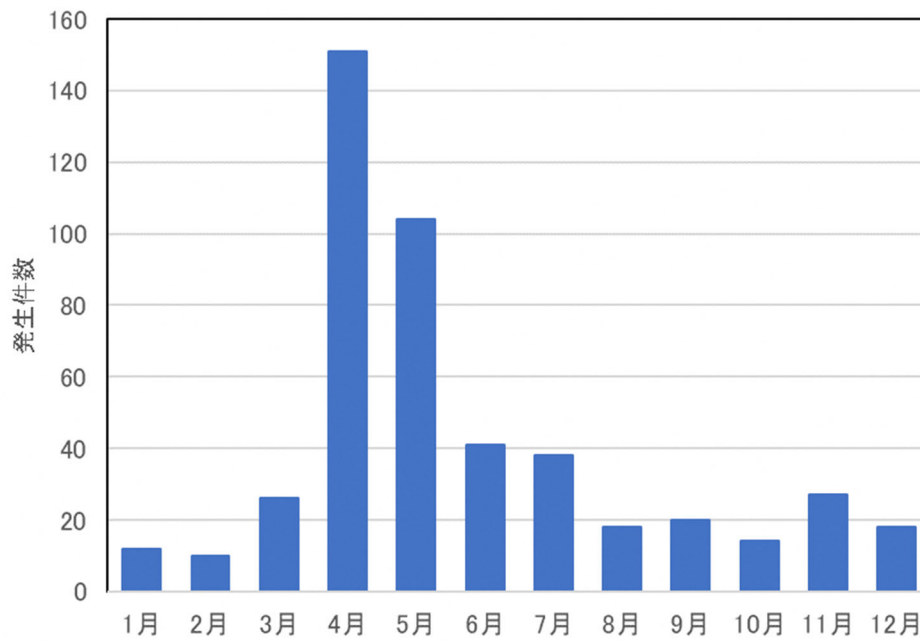
Laboratory	模擬試料① きんぴらごぼう				模擬試料② ナスのミートソース			
	IS(-)		IS(+)		IS(-)		IS(+)	
A	108	110	105	107	57.6	59.8	56.2	57.2
B	91.9	89.4	90.3	87.0	52.4	56.1	52.7	56.5
I	96.3	93.9	94.4	94.2	51.4	50.8	52.9	49.6
Mean (mg/kg)	98.2		96.3		54.7		54.2	
Mean recovery (%)	91.8		90.0		93.2		92.3	
Repeatability relative SD [RSDr, %]	1.6		1.6		3.2		3.9	
Reproducibility relative SD [RSDR, %]	9.7		9.3		7.4		5.8	
Predicted reproducibility relative SD [PRSDR, %]	8.0		8.0		8.8		8.8	
HorRat	1.2		1.2		0.8		0.7	

C3 表 6-2 3 機関による試験室間共同試験の結果-スコポラミン/内標補正の有無の比較

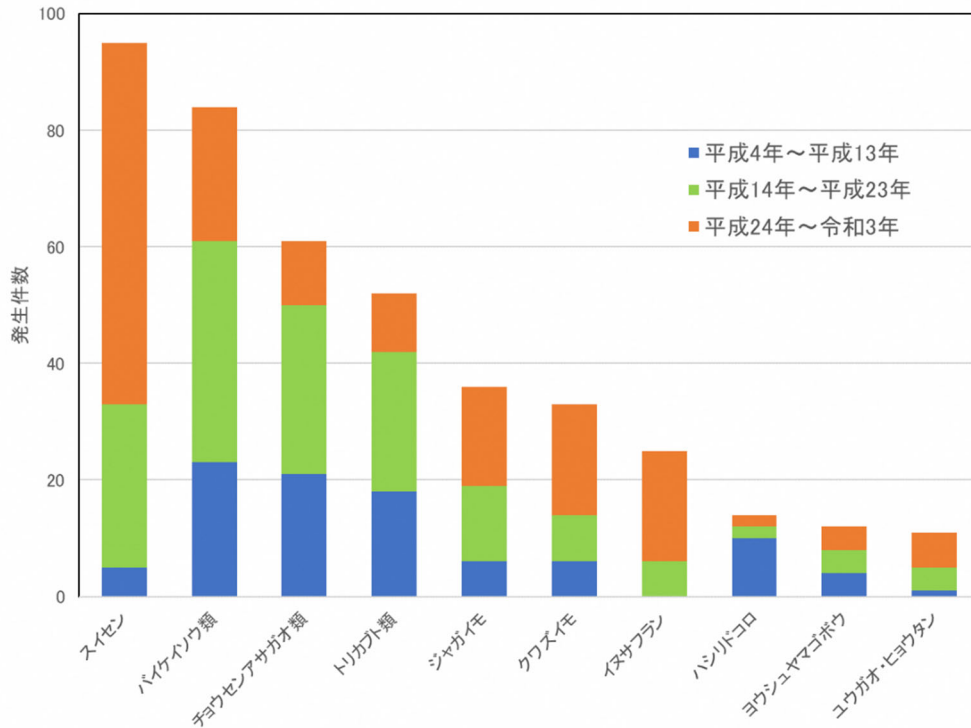
Laboratory	模擬試料① きんぴらごぼう				模擬試料② ナスのミートソース			
	IS(-)		IS(+)		IS(-)		IS(+)	
A	2.68	2.51	2.57	2.41	5.65	5.77	5.54	5.48
B	2.28	2.23	2.26	2.22	5.17	5.11	5.12	5.09
I	2.54	2.48	2.81	2.66	5.43	5.57	5.66	5.50
Mean (mg/kg)	2.45		2.49		5.45		5.40	
Mean recovery (%)	88.9		90.2		86.9		86.1	
Repeatability relative SD [RSDr, %]	3.2		3.7		1.5		1.3	
Reproducibility relative SD [RSDR, %]	7.5		10.3		5.4		4.8	
Predicted reproducibility relative SD [PRSDR, %]	14.0		13.9		12.4		12.4	
HorRat	0.5		0.7		0.4		0.4	



C4 図 1. 高等植物による食中毒の経年変化 (平成 4 年～令和 3 年)



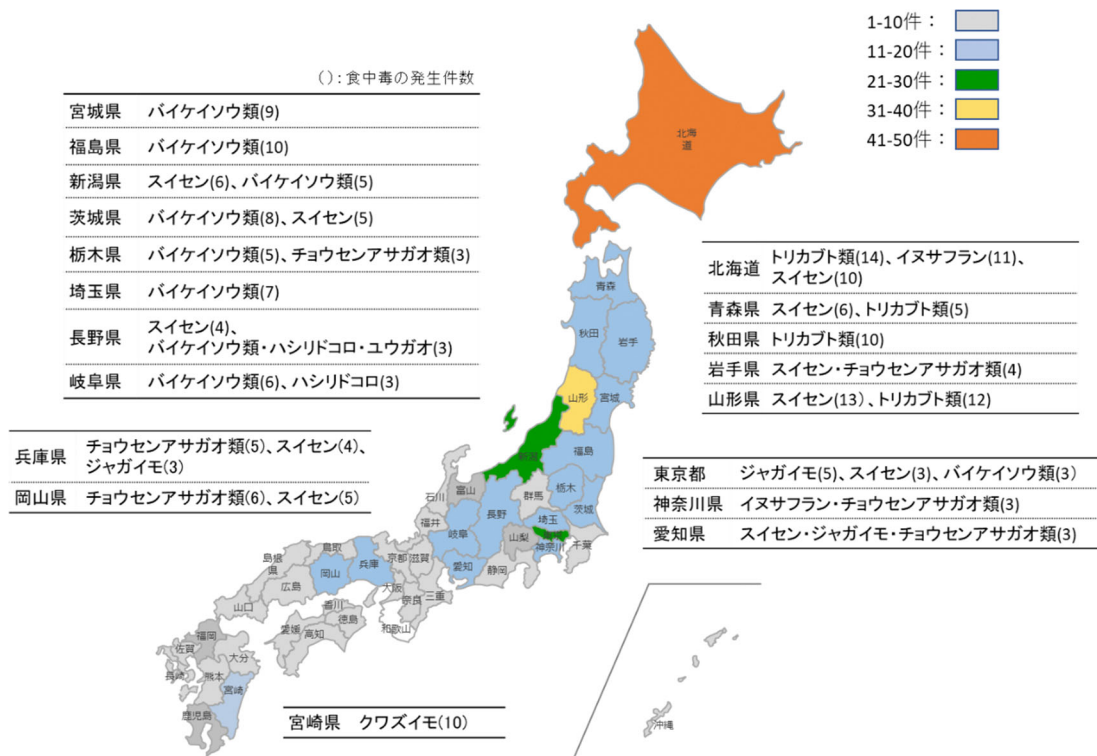
C4 図 2. 高等植物による食中毒の月別発生件数 (平成 4 年～令和 3 年)



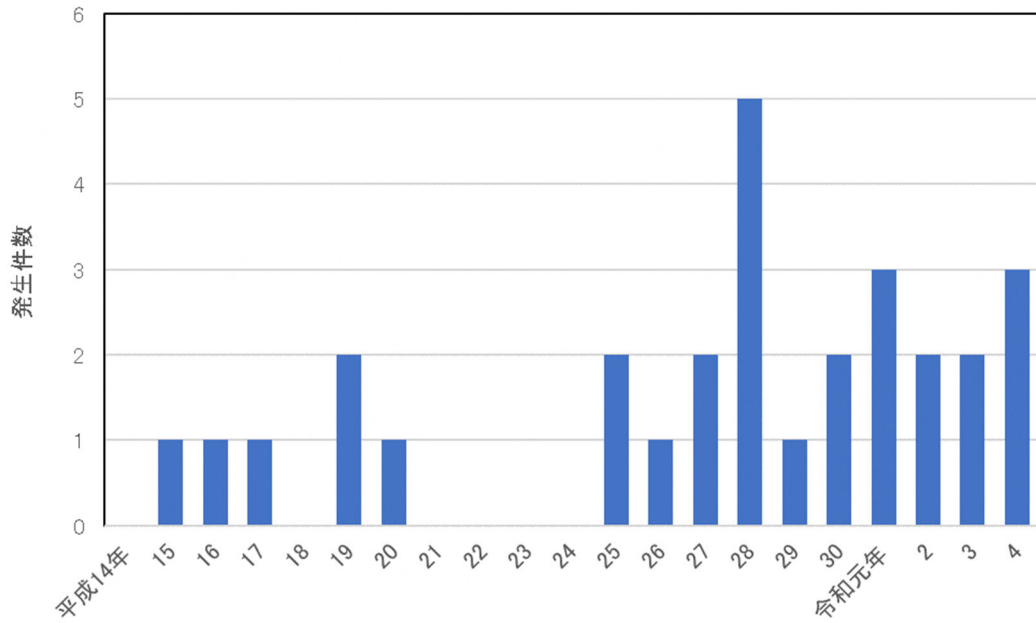
C4 図 3. 高等植物による食中毒発生件数の 10 年毎の変化（平成 4 年～令和 3 年の上位 10 種）

C4 表 1. 過去 30 年間に食中毒の原因となったその他の主な高等植物

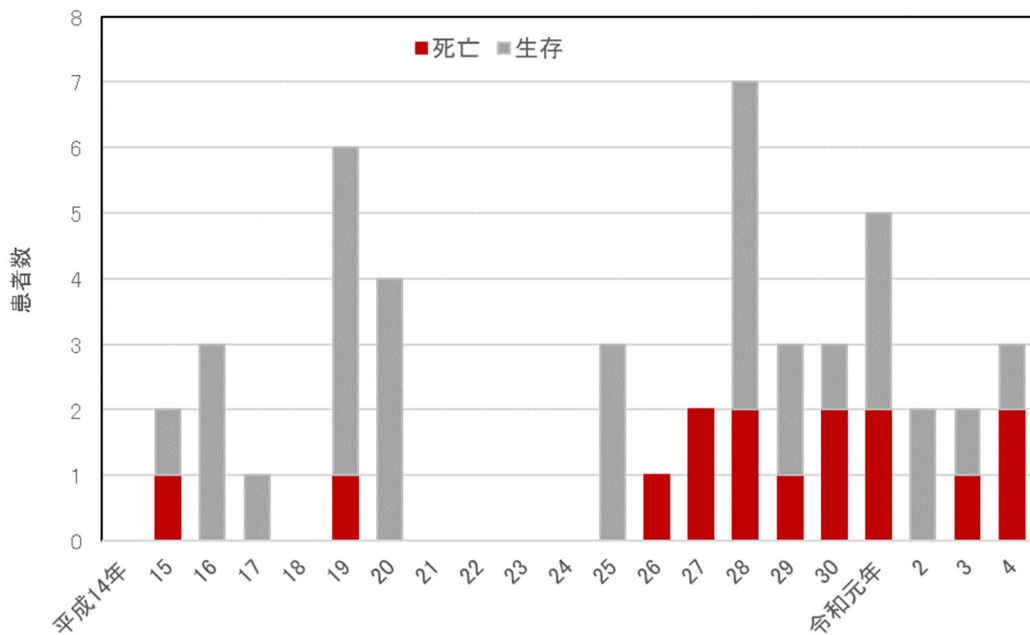
植物名	誤認した食用植物	毒成分
ドクゼリ	セリ、ワサビ	シクトキシソ
アジサイ	(料理の飾り葉)	フェブリフジソ?
シキミの実	八角、松の実、シイの実	アニサチソ
カラーの球根 テンナンショウ類 (マムシグサ) の実 ザゼンソウの若葉	イモ ギボウシ、ウバユリ	シュウ酸化合物
キダチタバコ (カラシダネ)	(譲り受けたもの)	ニコチソ類似化合物のアナバシソ
ジギタリス	コンフリー (現在は食用禁止)	ジギトキシソなどの強心配糖体
スノーフレーク ヒガンバナ	ニラ	リコリン・ガラソタミン
ドクニンジン	シャク	コニンソ
ウルシ	コシアブラ	ウルシオール
カロライナジャソミン	ジャソミン	ゲルセミウムアルカロイド
キャッサバイモ	(不適切な調理)	靑酸配糖体のリソナマリン
シャクナゲ、レンゲツツジ		グラヤソトキシソ



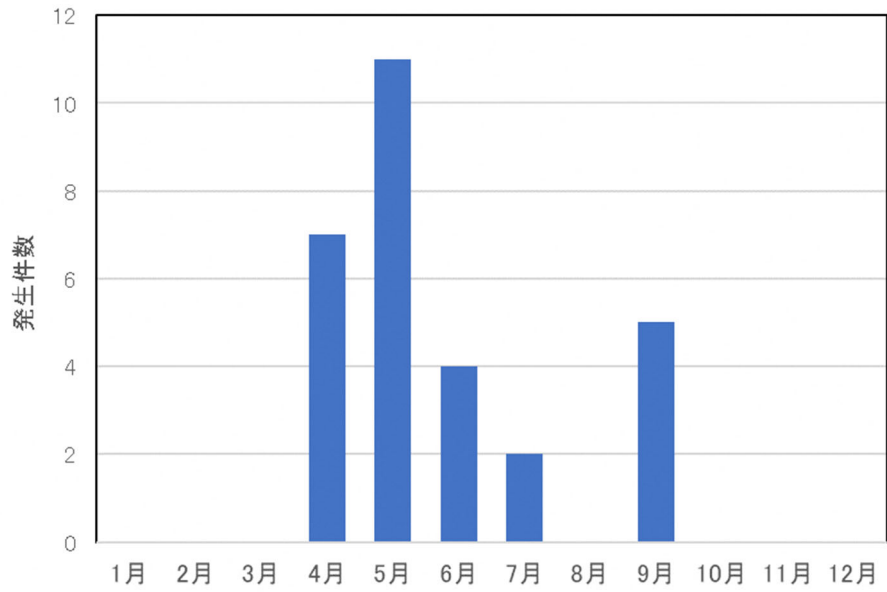
C4 図 4. 地域別の発生件数及び主な原因植物（平成 4 年～令和 3 年）



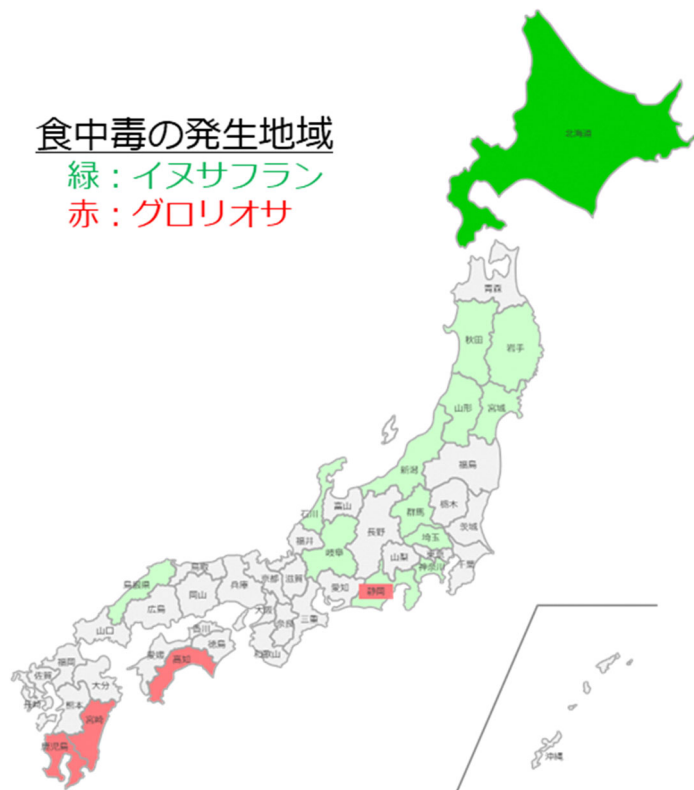
C4 図 5. イヌサフランによる食中毒の発生件数の経年変化（平成 14 年～令和 4 年）



C4 図 6. イヌサフランによる食中毒の患者数及び死者数（平成 14 年～令和 4 年）



C4 図 7. イヌサフランによる食中毒の月別発生件数（平成 14 年～令和 4 年）



C4 図 8. コルヒチン含有植物による食中毒の発生地域

C4 表 2. イヌサフランによる食中毒事件における残品等のコルヒチン濃度

喫食部位	食べ方	患者数	潜伏時間	測定部位	コルヒチン (mg/g)	参考資料
蕾	煮物	1	喫食から約6時間後に胃痛、吐気、嘔吐の症状を呈した。約21時間後に症状が悪化し救急搬送。その後、極度の脱水、肺炎、敗血症を呈し、喫食から5日後に多臓器不全により死亡	蕾	2.4	1)
				花びら	1.4	
				球根	0.73	
球根	茹でる	1	2時間40分で腹痛、嘔吐、その後に肝機能障害等	球根 (残品)	0.4	2) 3)
葉	炒め物	2	約2時間後で嘔吐 1名が2日後に救急搬送後死亡	根元と球根 *刈取の痕跡	0.5	4)
				全草	0.91	
	2名：1-2株 1名：5株	3	5株を摂食した男性は肝機能障害のためICUで治療	地上部	0.3; 0.7	5)
	茹でる	1	4時間後に下痢、嘔吐で受診 24時間以降に容体悪化で、白血球数減少、腎・肝機能障害。8日間入院後に退院	地上部	0.59; 0.71; 0.74	6)
炒め物 約10株を3名で	3	30分後に下痢、嘔吐 翌日午前、救急搬送され、うち1名は喫食から2日後に死亡	地上部	0.46; 0.51; 0.54; 0.61	7)	

1) 食衛誌56(5) J177-J178 2015; 2) 食衛誌55(2) J59-J60 2014; 3) 道衛研所報 64 75-76 2014; 4) 食衛誌60(2) J37-J38 2019;  
5) 道衛研所報 54 107-108 2004; 6) 道衛研所報 67 99-102 2017; 7) 食衛誌59(2) J46-J47 2018;

# 毒きのこに気をつけて!

食べられるきのこ確実に判断できないときは  
採らない! 食べない! 売らない! 人にあげない!

きのこ狩りを楽しむために気をつけたいことがあります。

例年、食べられるきのこ、見た目がよく似ている毒きのこを誤認して食べたことによる食中毒が多数発生しています。きのこ狩りに行ったら、きのこが生えている環境やきのこの特徴をよく観察して、確実に食べられるきのこであると判別できないときは、絶対に採ったり、食べたり、売ったり、人にあげないようにしましょう。

毒きのこによる食中毒発生状況 (平成 25 年～令和 4 年)

きのこの種類	間違えやすい食用きのこの例 〔自然毒のリスクプロファイル〕より	事件数	患者数	死者数	本誌掲載 ページ
ツキヨタケ	ヒラタケ、ムキタケ、シイタケ	118	362	0	3
クサウラベニタケ	ウラベニホテイシメジ、ホンシメジ、ハタケシメジ	38 <sup>※</sup>	116 <sup>※</sup>	0 <sup>※</sup>	10
イッポンシメジ	—	4 <sup>※</sup>	7 <sup>※</sup>	0 <sup>※</sup>	—
テングタケ	—	17	26	0	7
イボテングタケ	—	3	5	0	7
カキシメジ	ニセアブラシメジ、チャナメツムタケ、シイタケ	9	30	0	5
ドクササコ	ナラタケ、ホテイシメジ、アカハツ、チチタケ	7	14	0	4
オオシロカラカサタケ	カラカサタケ	6	11	0	9
ニセショウロ	ショウロ	3	6	0	—
タマゴタケモドキ	キタマゴタケ	3	3	0	7
ハイロシメジ	—	2	4	0	—
ドクツルタケ	シロフクロタケ、ハラタケ、ツクリタケ	1	1	0	8
ニセクロハツ	—	1	1	1	12
カブラアセタケ	—	1	1	0	—
ニガクリタケ	ナメコ、クリタケ、ナラタケ、ナラタケモドキ	0	0	0	11
ベニテングタケ	タマゴタケ	0	0	0	6
ドクヤマドリ	ヤマドリタケ、ヤマドリタケモドキ	0	0	0	13
カエントケ	ベニナギナタタケ	0	0	0	14
スギヒラタケ	ウスヒラタケ	0	0	0	15
その他	—	18	39	0	—
不明	—	23	55	2	—
合計	—	254	681	3	—

厚生労働省「毒キノコによる食中毒に注意しましょう」より食中毒発生状況を加工して作成  
[https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/kenkou\\_jyuu/shokuhin/kinoko/index.html](https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/kenkou_jyuu/shokuhin/kinoko/index.html)  
 ※イッポンシメジの項は、クサウラベニタケとの混同が疑われるので、イッポンシメジ、クサウラベニタケの両方に計上しています



## きのこを観察する時の基本

きのこを正確に見分けるためには、細部までしっかりと観察することが大切です。そのためには、きのこを採集したら1)きのこは壊さないよう全体を、2)幼菌から傘が開いた成菌までを採集し、3)種類ごとに分けて野外から持ち帰り、名前を調べましょう。専門家講師による観察会などを利用するのもよい方法です。

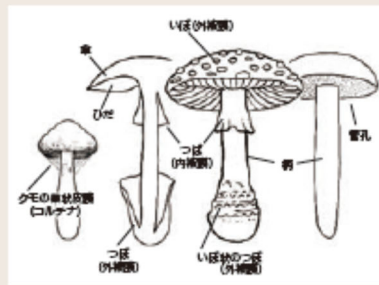
名前を調べるのに役立つのが図鑑やインターネットなどの情報です。食毒についての情報は日々更新されています。図鑑は信頼のおける出版社の、出版日の新しいものを参照しましょう。インターネットも更新日が新しく、専門家によるものを選びましょう。

日本のきのこは、半分以下しか名前がつけられていないことをご存知ですか？そのため、自分が調べたいきのこが、図鑑やインターネットに掲載しているどの分類にもあてはまらない場合もあります。そのときは不明なきのこだと判断しましょう。そして、よくわからないきのこは、絶対に食べないようにしましょう。

## きのこの見分けのポイント

☞ 傘→ひだ→柄→つば→つぼ→肉 (図参照) の順に観察しましょう。

- 1) **傘の表の色や模様** (粘性・鱗片・毛・いぼ・傘縁の溝線や糸線の有無) を調べましょう。
- 2) **傘の裏の特徴** (ひだ状・スポンジ状の管孔・針状など様々) も重要です。ひだの疎・密、管孔の穴の大きさや並び方、色、変色性等は、名前を調べる際のチェックポイント。
- 3) **柄の表面の特徴** (色や模様、つばとつぼの有無と形) はどうですか。つばはひだを被っていた膜 (内被膜) で、落ちやすいものもあり、また繊維状のものは消失しやすいため慎重に見極めましょう。つぼは幼菌のときにきのこ全体を被っていた膜 (外被膜) の名残です。種によって形 (膜質、いぼ状など) が異なるため、名前を調べる大きな手がかりとなります。
- 4) **肉の変色性や乳液の有無** なども重要です。また、なかには特徴のあるにおいをもつものもあります。図鑑には味の情報が書かれていることもありますが、生のきのこをむやみに口に入れることは、しないようにしましょう。



- ☞ 観察するときは、幼菌から傘の開いたものまで沢山並べて特徴を調べるようにしましょう。
- ☞ これら観察したことは、メモしたり写真を撮ったりして記録しておきましょう！

## きのこの環境と暮らしを観察する

きのこは、さまざまな環境に、それぞれ異なった暮らし方で生きています。

樹木ときのこが地面の中で栄養のやりとりをおこなって暮らしているものや (外生菌根菌)、倒木や切り株を分解して生きているもの (木材腐朽菌)、地面上の落ち葉や枯れ枝を分解して生えているもの (腐生菌)、昆虫など他の生き物に寄生しているきのこ (寄生菌) もいます。また、暮らしている場所、暮らしている森の種類 (針葉樹林、広葉樹林、マツ林、ブナ林など) によってもきのこの種類は異なります。きのこを探るときには、きのこが生えている環境や暮らしぶりをよく観察しましょう。

### ?パンフレットの見方

食毒について



食用きのこ



食用とされているが、食べ方に注意が必要なもの



毒きのこ



中毒が死に至る危険性のある、とくに注意したいきのこ



各ページのメインとなっている毒きのこを同定するときに役立つ観察点のまとめです

\*毒きのこの配列は、一般の図鑑と同じ順としました



# 食中毒の原因となる代表的な毒きのこ よく似た食べられるきのこ

## 毒 ツキヨタケ(ツキヨタケ科)

発生時期	夏～秋(とくに秋)
発生場所	木材腐朽菌、ブナなどの枯れ立木の樹幹や樹木
中毒症状	嘔吐、下痢、腹痛などの消化器系の症状を生じる

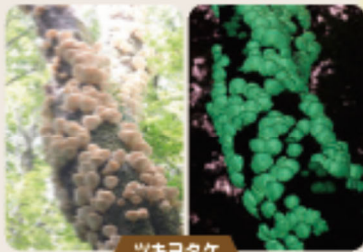


柄：太長く、筒状につく

柄：つば状の隆起がある  
隆起は、ヒラタケ、ムキタケ、シイタケにはない

傘：割ると基部に黒いしみがある(とさ不明瞭)  
黒いしみは、ヒラタケ、ムキタケ、シイタケにはない

傘：小鱗片があるがのち消失



ツキヨタケ



- Check
- ① 傘を割ると、基部に黒いしみがある
  - ② 柄につば状の隆起がある
  - ③ 暗いところでひだが光る

## 食 ヒラタケ



傘：平滑

柄：つば状の隆起はない

## 食 ムキタケ

傘：細毛に被われ、ビロード状で鱗片はない



傘：表皮ははがれやすい

## 食 シイタケ

傘：絨毛状の鱗片がある



柄：明らかな柄きもつ

食べられるきのこは確実に判断できないときは  
採らない! 食べない! 売らない! 人にあげない!

ここに気をつけよう!

- ❌ 食べられるきのこ、見た目がよく似ていて間違いやすい毒きのこがあることを知っておきましょう。
- ❌ 食べられるきのこも毒きのこも、それぞれの特徴を確実に覚えるようにしましょう。(迷信に注意しましょう! P.15 参照)
- ❌ きのこの種類を判断するときは、傘、ひだ、柄、つば、つぼ、肉質、におい、生育環境など、いろいろなことを観察しましょう。
- ❌ インターネットなどの画像検索の結果は参考程度にとどめ、きのこの鑑別には使わないようにしましょう。
- ❌ 傷ついたきのこや古くなったきのこは採らないようにしましょう。
- ❌ 誤って食中毒になった場合に備えて、採ったきのこの現物を残し、あわせて写真や特徴を記録しておきましょう。
- ❌ きのこを調理する前にもう一度確認しましょう。
- ❌ 食べられるきのこであっても、十分に加熱して、食べ過ぎないようにしましょう。
- ❌ 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。



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\\_iryuu/shokuhin/shokuchu/poison/index.html](https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/kenkou_iryuu/shokuhin/shokuchu/poison/index.html)
- 厚生労働省「毒キノコによる食中毒に注意しましょう」  
[https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/kenkou\\_iryuu/shokuhin/kinoko/index.html](https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/kenkou_iryuu/shokuhin/kinoko/index.html)
- 書籍：おいしいきのこ毒きのこハンディ図鑑(主婦の友社)、増補改訂新版 山溪カラー名鑑 日本のきのこ(山と溪谷社)、くらべてわかるきのこ(山と溪谷社)、原色日本新菌類図鑑Ⅰ・Ⅱ(保育社)、増補改訂フィールドベスト図鑑 日本の毒きのこ(学習研究社)
- 写真・資料提供者：大作晃一、下野義人、吹啓俊光、松本則行、南谷臣昭、森本繁雄
- 制作協力者：大作晃一、吹啓俊光、吹啓公子、南谷臣昭
- 監修：令和5年度厚生労働科学研究費補助金(食品の安全性確保推進事業)「自然毒等のリスク管理のための研究(21KA1005)」

