

平成 30 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

研究分担報告書

「植物性自然毒の多成分同時分析法の開発」

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

研究要旨

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、地方衛生研究所（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。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。その中で試験法の改良や分析精度の向上が図られてきたが、植物種や調理形態が多様な植物性自然毒中毒全般に対応する上で未だ課題が残されている。

本研究では、植物性自然毒の中毒における病因植物種を網羅的に同定するため、わが国において過去に発生した中毒事例の傾向をもとに、中毒事例の発生頻度や症状の重篤度などから、分析対象化合物とすべき毒成分を選定し、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。

平成 30 年度は、わが国における中毒事例の傾向及び市販の標準品の入手可能性をもとに分析対象化合物として高等植物の 44 成分と毒キノコの 12 成分を選定した。さらにこれら成分の定量分析法として、逆相クロマトグラフィー（RPLC）と親水性相互作用クロマトグラフィー（HILIC）の 2 モードのコアシェルカラムを用いて 4 種の分離条件を設定し、液体クロマトグラフ-タンデム質量分析計（LC-MS/MS）により対象化合物を系統的に多成分同時分析する方法を開発した。いずれの条件も分析時間は 20 分/1 検体であり、全ての対象化合物で定量限界が 10 ng/mL 以下となった。本法は、迅速かつ正確な分析結果が求められる中毒の原因究明の現場にとって有効であると考えられる。

研究協力者

谷口 賢 名古屋市衛生研究所食品部

友澤潤子 滋賀県衛生科学センター理化学係

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、高等植物や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 25～29 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 6 名、スイセン、トリカブトで各 1 名であった。また、平成 30 年はイ

ヌサフランで2名、ニセクロハツで1名が亡くなっており、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。また、毒成分の標準品の供給体制について検討することとした。

平成30年度は、わが国において過去に発生した中毒事例の傾向をもとに中毒事例の発生頻度や症状の重篤度などから、分析対象化合物とすべき毒成分を選定した。このうち、LC-MS/MSにより分析可能な毒成分として、高等植物で45、キノコで30の成分を対象として市販の標準品の入手可能性を調査した。その結果、入手可能であった高等植物の44成分と毒キノコの12成分を対象としてLC-MS/MSの分析条件を検討した。中毒時の迅速な原因究明につなげるため、1検体あたりの分析時間を20分に設定し、毒性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10 ng/mLとなるように、液体クロマトグラフィーの分離条件と質量分析のイオン化及び選択反応モニタリング（SRM）条件を最適化した。

## B. 研究方法

### 1. 分析対象化合物の選定

植物性自然毒による食中毒事例に関する学術文献、厚生労働省 Web ページ「自然毒によるリスクプロファイル」、及び高等植物やキノコに関する図鑑や事典を参考に、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やオオシロカラカサタケのモリブドフィリシンなどのタンパク質は分析対象化合物から除外した。

## 2. 標準溶液の調製

高等植物の毒成分については、市販の標準品をメタノールあるいはアセトニトリルに溶解したものを標準原液とした。トリカブト類の毒成分のジェサコニチンは山形県衛生研究所から供与を受けたものをアセトニトリルに溶解して使用した。キノコの毒成分は、市販の標準品をメタノール・水(1:1)混液に溶解して標準原液とした。

## 3. LC-MS/MS の分析条件の検討

### 3.1 使用機器

#### 3.1.1 液体クロマトグラフ

- 1) AQUITY UPLC System (Waters)
- 2) Nexera XR (島津製作所)
- 3) 1200 Series (Agilent Technologies)

#### 3.1.2 質量分析計

- 1) API4000 (Sciex)
- 2) 4000QTRAP (Sciex)
- 3) QTRAP4500 (Sciex)

### 3.2 分析カラム

逆相クロマトグラフィー (RPLC) で3種、親水性相互作用クロマトグラフィー (HILIC) で1種のコアシェルカラムを検討した。

#### 1) RPLC

- ・Ascentis Express C18 (2.1 mm  $\phi$   $\times$  150 mm, 2.7  $\mu$ m (SUPELCO))
- ・Raptor C18 (2.1 mm  $\phi$   $\times$  150 mm, 2.7  $\mu$ m (RESTEK))
- ・CAPCELL CORE AQ (2.1 mm  $\phi$   $\times$  150 mm, 2.7  $\mu$ m (大阪ソーダ))

#### 2) HILIC

- ・InfinityLab Poroshell 120 HILIC-Z, P (2.1 mm  $\phi$   $\times$  100 mm, 2.7  $\mu$ m (Agilent Technologies))

### 3.3 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 (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。高等植物の毒成分は、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 mmol/L 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。キノコの毒成分は、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。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。

### 3.4 分離条件の最適化

高等植物の毒成分の分離は、5 mmol/L ギ酸アンモニウムとアセトニトリルの2液グラジエントによる RPLC により実施した。キノコの毒成分の分離

は、ギ酸などの酸とアセトニトリル、又はギ酸アンモニウムとアセトニトリルの2液グラジエントによるHILICを検討した。

高等植物は、分析対象とした44の毒成分のうち極性や化学構造の異なる20成分(表1-1でNo.を塗りつぶした成分)について、移動相の初期溶媒で希釈した10 ng/mLの標準溶液を調製し、3.2の1)に示した3種のRPLCカラムで繰り返し3回測定し、クロマトグラムを以下の4つの指標により評価した。

- 1) 保持時間
- 2) ピーク高さ
- 3) 半値幅
- 4) テーリング係数

キノコは、コリンとムスカリンが10 ng/mL、その他の10成分は100 ng/mLとなるように標準溶液を調製し、3.2の2)に示したHILICカラムで、酸の種類(ギ酸、酢酸、トリフルオロ酢酸(TFA))を検討した。選択されたギ酸の濃度と、移動相添加剤として加えたギ酸アンモニウムの濃度を段階的に変えてアセトニトリルとのグラジエント分析を行い、上記4項目の分離性能の指標を比較し、最適な分離条件を検討した。

### 3.5 定量限界の推定

標準原液を移動相の初期溶媒により希釈して、1、10、100 ng/mLの3濃度の標準溶液を調製した。これを、各成分について最適化された条件で分析し、定量トランジションのクロマトグラムについてS/Nを算出し、S/N>10となる濃

度を求めた。各標準溶液の注入量は5 µL(5、50、500 pg)とした。

## C. 研究結果及び考察

### 1. 分析対象化合物

#### 1.1 高等植物：44成分

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高等植物(スイセン、バイケイソウ類、イヌサフラン、トリカブト類など)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。慢性毒性の可能性がある物質として、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。分析対象とした高等植物と毒成分を表1-1に示した。

ヨウシュヤマゴボウは食中毒の発生件数が多いが、毒成分のフィトラックトキシン類が市販の標準品として入手できなかったため、今回は分析対象化合物に選定しなかった。

#### 1.2 キノコ：12成分

過去の食中毒事例の発生件数が多いテングダケ属のキノコに含まれるイボテン酸、ムシモール、致死性のアマニタトキシン類などの成分を選定した。また、過去の食中毒事例で最も発生件数が多いとされるツキヨタケの毒成分のイルジンS、致死性のキノコとして知られるシャグマアミガサタケのジロミトリン、

ハラタケ属ツクリタケ（マッシュルーム）に含まれる発がん物質のアガリチンも分析対象化合物とした。分析対象としたキノコと毒成分を表 1-2 に示した。

これ以外に中毒発生件数が多い毒キノコとしてカキシメジやドクササコ、死亡事例のあるキノコとしてカエンタケが知られるが、これらの毒成分であるウスタル酸類、アクロメリン酸類、サトラトキシシン H 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。今回、B.1 に示した選定基準により分析対象とすべきキノコ毒は 30 成分にのぼったが、そのうち国内で標準品として入手可能なものは 12 成分であった。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。

## 2. LC-MS/MS の分析条件

### 2.1 高等植物

最適化した分離条件を図 1 の分離条件①に示した。最適化したイオン化条件を表 2 に示した。また、各成分の SRM トランジション条件を表 3-1 に示した。

#### 2.1.1 分離条件

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、他の 2 カラムでは保持が弱く、半値幅やテーリング係数が大きいいためピーク形状が悪かつ

たニコチンが良好であった。しかし、ギンコトキシ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 $\alpha$ -ソラニン、コンバラトキシシン、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。

#### 2.1.2 イオン化条件及び SRM トランジション条件

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 ( $[M+NH_4]^+$ ) 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  $[M+NH_4]^+$  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  $[M+NH_4]^+$  として検出することとした。

この他 ESI(+)  
では、シアン配糖体にストロファンチジンやジギトキシシンなどのステロイドやステロイド配糖体、アリストロキア酸類及びグラヤノトキシ

ン I を加えた 14 成分で  $[M+NH_4]^+$  をプリカーサーイオンとし、アルカロイド 26 成分にジオスゲニンを加えた 27 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 3-1)。

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 3-1)。

脱溶媒ガス温度を 300、400、500、600°C として、ジギトキシンの  $[M+NH_4]^+$  の生成強度を比較したところ、300°C で最も強度が高く、600°C ではイオン強度が 0 となった (図 2)。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°C とした (表 2 の Temperature)。

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 3-1)。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。

## 2.2 キノコ

最適化した分離条件を図 1 の分離条件②~④に示す。また、各成分の SRM

トランジション条件を表 3-2 に示す。イオン化条件は表 2 の ESI(+)と同一とした。

### 2.2.1 分離条件

HILIC で一般的に用いられるギ酸アンモニウムを 20 mmol/L の濃度で添加し、アセトニトリルとの 2 液グラジエント条件で 100 ng/mL のイボテン酸を分析したところ、クロマトグラム上にピークが確認できなかった。ムシモールのピークは検出されたが、定量限界の目標とした 10 ng/mL で  $S/N > 10$  を達成することはできなかった。

この原因を明らかにするため、ギ酸アンモニウムを 0、10、20、30、40 mmol/L として、分析対象の 12 成分のピーク面積を求めた (図 3)。どの成分もギ酸アンモニウムを添加することでピーク面積は低下したが、特にイボテン酸はギ酸アンモニウムの添加によりピーク面積が急激に低下し、ギ酸アンモニウムがイボテン酸のイオン化を強く抑制していることが示唆された。その他、ムシモール、アシルグリシン、プロパルギルグリシンといったアミノ酸や、アガリチンでもギ酸アンモニウムの添加によりピーク面積が大きく低下したため、移動相にギ酸アンモニウムを添加せず、酸のみを添加する分離条件を検討した。

まず、0.05%のギ酸、酢酸及び TFA を比較し、ピーク形状及び  $\alpha$ -アマニチンと  $\beta$ -アマニチンの分離が良好であったギ酸を選択した。ギ酸濃度を最適化するため、0.05、0.1、0.5、1%の濃度で B.3.4 に示した 4 項目の分離性能を比較した

ところ、イボテン酸、ムシモール、アリルグリシン、プロパルギルグリシンの4成分は0.5%と1%のギ酸濃度でピークの半値幅が低下し、ピーク強度も最大となった。一方で、アガリチンのピークの半値幅は0.1%で最小となり、さらにギ酸濃度を上げると半値幅が増大する傾向が見られた。また、アマトキシン類の3成分( $\alpha$ -アマニチン、 $\beta$ -アマニチン、ファロイジン)はギ酸の濃度の上昇に伴い、ピーク強度が減少した。以上により、イボテン酸などのアミノ酸のピーク形状が良好な最小のギ酸濃度として、0.5%を選択した(分離条件②)。

0.5%のギ酸とアセトニトリルによるグラジエントにより、4級アンモニウムのコリンとムスカリンはカラムに保持されず、多峰性のピークとなった。これらの2成分はギ酸アンモニウムの添加によりイオン化が大きく抑制されることはなかったため、移動相にギ酸アンモニウムを添加することとした。ギ酸アンモニウム濃度を2、5、10、20 mmol/L (pH 3)として、B.3.4に示した4項目の分離性能を比較したところ、コリン、ムスカリンの両方とも10、20 mmol/Lで良好な保持を示し、ギ酸アンモニウム濃度が大きいほどピークの半値幅が小さくなった。また、ムスカリンのテーリング係数はギ酸アンモニウムが高いほど小さくなる傾向が見られた。以上により、ギ酸アンモニウム濃度を20 mmol/Lとした(分離条件③)。

ジロミトリンは、分離条件②、③ともに保持が弱く、保持時間は両条件とも

0.9 minと小さかった。また、イルジンSは分離条件②、③ともにピークが確認できなかった。また、高等植物の毒成分の分析に用いた5 mmol/Lギ酸アンモニウムとアセトニトリルの2液グラジエントでRPLC(分離条件①)により分析したが、ジロミトリンはピーク強度が小さく、半値幅の大きなピークとなった。イルジンSはピークが確認できなかった。

そこで、5 mmol/Lギ酸アンモニウムとメタノールによる2液グラジエントでRPLCにより分析したところ、イルジンSは良好なピーク形状となった(分離条件④)。一方、ジロミトリンのピークに改善は見られなかったため、分離条件②と③でよりピーク強度が大きかった分離条件③を選択することとした。

### 2.2.2 イオン化条件及びSRMトランジション条件

12成分は全てESI(+)により、コリンとムスカリンはM<sup>+</sup>、それ以外の10成分は[M+H]<sup>+</sup>をプリカーサーイオンとして分析した。最適化したSRMトランジション条件を表3-2に示した。

## 3. 機器分析の定量限界

最適化した4分離条件で10 ng/mLの標準溶液5  $\mu$ L (50 pg)を分析した結果を図4-1-1、4-1-2、4-2、4-3、4-4に示した。

高等植物の毒成分はニコチン、アナバシン、リナマリン、アミグダリン、ツチン、プルナシン、ジオスゲニン及びジオスシンの8成分で定量限界がやや高か

ったが、10 ng/mL で S/N>10 を満たしていた。その他の 35 成分（標準品の濃度が不明であったジェサコニチンを除く）は 1 ng/mL で S/N>10 を満たしていた（表 3-1、図 4-1-1、4-1-2）。

キノコの毒成分は、分離条件②で分析した 8 成分のうち、イボテン酸、 $\alpha$ -アマニチン、 $\beta$ -アマニチン、ファロイジンの 4 成分の定量限界が高かったが、10 ng/mL で S/N>10 を満たしていた。分離条件②のその他 4 成分は、1 ng/mL で S/N>10 を満たしていた（表 3-2、図 4-2）。分離条件③で分析した 3 成分は、ジロミトリンの定量限界が高かったが、10 ng/mL で S/N>10 を満たしていた。その他、コリンとムスカリンは 1 ng/mL で S/N>10 を大きく上回っていた（表 3-2、図 4-3）。分離条件④で分析したイルジン S は、定量限界が高く 10 ng/mL で S/N=10 であった（表 3-2、図 4-4）。

以上、高等植物の 43 成分、毒キノコの 12 成分の計 55 成分で、S/N が 10 ng/mL（50 pg）以下となり、毒性量に達しているかどうかを判断する上で実用的な感度を得ることができた。

## D. 結論

わが国において過去に発生した中毒事例の傾向をもとに、中毒事例の発生頻度や症状の重篤度などから、分析対象化合物として選択した 75 の毒成分（高等植物 45 成分、毒キノコ 30 成分）のうち、入手可能であった 56 成分（高等植物 44 成分、毒キノコ 12 成分）の LC-MS/MS 条件を最適化した。

逆相クロマトグラフィー（RPLC）と親水性相互作用クロマトグラフィー（HILIC）の 2 モードのコアシェルカラムを用い、4 種の分離条件を設定し、別途最適化した質量分析計のイオン化と SRM による検出により、対象化合物を系統的に多成分同時分析する方法を開発した。各条件の分析時間は 20 分/1 検体であり、全ての対象化合物で定量限界が 10 ng/mL 以下となった。

本法は、わが国で過去に発生した植物性自然毒による中毒の病因物質の多くを、迅速かつ正確に分析することができると考えられ、中毒の原因究明の現場にとって有効な機器分析法であると考えられる。

## 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) 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、2019 年 1 月

### 3. 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

**F. 知的財産権の出願・登録状況**

特になし

表 1-1 分析対象とした高等植物と毒成分

No.	植物種	化合物名
1	アーモンド, ビワ	アミグダリン
2		プルナシン
3	アジサイ, アマチャ	フェブリフジン
4	イヌサフラン, グロリオサ	コルヒチン
5		デメコルシン
6	ウマノスズクサ	アリストロキア酸 I
7		アリストロキア酸 II
8	カエデドコロ	ジオスシン
9		ジオスゲニン
10	カロライナジャスミン	ゲルセミン
11	キダチタバコ	アナバシン
12	キャッサバ	リナマリン
13	キョウチクトウ	オレアンドリン
14	ギンナン	ギンコトキシソ
15	クリスマスローズ	ヘレ布林
16	コンフリー, フキ	エキミジン
17		センキルキン
18	ジギタリス	ジギトキシソ
19		ジゴキシソ
20	シキミ	アニサチン
21	ジャガイモ	$\alpha$ -ソラニン
22		$\alpha$ -チャコニン
23	スイセン, スノーフレーク, タマスダレ	リコリン
24		ガランタミン
25		サンギニン
26		リコラミン
27	スズラン	コンバトキシソ
28	タバコ	ニコチン
29	ツツジ類	グラヤノトキシソ I
30	チョウセンアサガオ類, ハシリドコロ	アトロピン
31		スコポラミン
32	ドクウツギ	ツチン
33	ドクニンジン	コニン
34	トリカブト類	アコニチン
35		ヒパコニチン
36		メサコニチン
37		ジェサコニチン
38	パイケイソウ類	ベラトラミン
39		ジェルビン
40		プロトベラトリンA
41		プロトベラトリンB
42	フクジュソウ	シマリン
43	モロヘイヤ	ストロファンチジン
44	ユウガオ, ヒョウタン	ククルビタシンB

塗りつぶし：条件検討に用いた成分

表 1-2 分析対象としたキノコと毒成分

No.	代表的なキノコ種	代表的なキノコ属	化合物名
1	ベニテングタケ, テングタケ, クサウラベニタケ,	テングタケ属, イッポンシメジ属,	コリン
2	シロトマヤタケ, オオキヌハダトマヤタケ	アセタケ属, カヤタケ属	ムスカリン
3	イボテングタケ, テングタケ,	テングタケ属, キシメジ属	イボテン酸
4	ベニテングタケ, ハエトリシメジ		ムシモール
5	コテングタケモドキ, タマシロオニタケ, テングタケ	テングタケ属	アリルグリシン
6	タマシロオニタケ, テングタケモドキ	テングタケ属	プロパルギルグリシン
7	シャグマアミガサタケ, ノボリリュウタケ	シャグマアミガサタケ属, ノボリリュウタケ属	ジロミトリン
8	ツクリタケ	ハラタケ属	アガリチン
9	ドクツルタケ, シロタマゴテングタケ, タマゴタケモドキ,	テングタケ属, ケコガサタケ属,	$\alpha$ -アマニチン
10	テングタケ, コレラタケ, ヒメアジログサ, モリハラタケ,	キツネノカラカサタケ属, ハラタケ属,	$\beta$ -アマニチン
11	アンズタケ	アンズタケ属	ファロイジン
12	ツキヨタケ	ツキヨタケ属	イルジンS

表 2 質量分析計のイオン化の条件

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

	分離条件①	分離条件②	分離条件③	分離条件④																																																																								
カラム	Raptor C18, 2.1×150 mm, 2.7 μm	InfinityLab Poroshell 120 HILIC-Z, P 2.1×100 mm, 2.7 μm	InfinityLab Poroshell 120 HILIC-Z, P 2.1×100 mm, 2.7 μm	Raptor C18, 2.1×150 mm, 2.7 μm																																																																								
移動相	(A) 5 mMギ酸アンモニウム (pH 3) (B) アセトニトリル	(A) 0.5%ギ酸 (B) アセトニトリル	(A) 20mMギ酸アンモニウム (pH 3) (B) アセトニトリル	(A) 5 mMギ酸アンモニウム (pH 3) (B) メタノール																																																																								
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	<table border="1"> <thead> <tr> <th>Time/ min</th> <th>A (%)</th> <th>B (%)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>0</td><td>0</td><td>100</td></tr> <tr><td>10</td><td>40</td><td>60</td></tr> <tr><td>12</td><td>40</td><td>60</td></tr> <tr><td>12.1</td><td>0</td><td>100</td></tr> <tr><td>20</td><td>0</td><td>100</td></tr> </tbody> </table>	Time/ min	A (%)	B (%)	0	0	100	10	40	60	12	40	60	12.1	0	100	20	0	100	<table border="1"> <thead> <tr> <th>Time/ min</th> <th>A (%)</th> <th>B (%)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>0</td><td>5</td><td>95</td></tr> <tr><td>10</td><td>40</td><td>60</td></tr> <tr><td>12</td><td>40</td><td>60</td></tr> <tr><td>12.1</td><td>5</td><td>95</td></tr> <tr><td>20</td><td>5</td><td>95</td></tr> </tbody> </table>	Time/ min	A (%)	B (%)	0	5	95	10	40	60	12	40	60	12.1	5	95	20	5	95	<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																																																																										
Time/ min	A (%)	B (%)																																																																										
0	0	100																																																																										
10	40	60																																																																										
12	40	60																																																																										
12.1	0	100																																																																										
20	0	100																																																																										
Time/ min	A (%)	B (%)																																																																										
0	5	95																																																																										
10	40	60																																																																										
12	40	60																																																																										
12.1	5	95																																																																										
20	5	95																																																																										
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	0.3 mL/min	0.3 mL/min	0.3 mL/min																																																																								
カラム温度	40℃	40℃	40℃	40℃																																																																								
注入量	5 μL	5 μL	5 μL	5 μL																																																																								
分析対象 化合物	有毒植物 44成分	毒キノコ 8成分	毒キノコ 3成分	毒キノコ イルジンS																																																																								

図1 分離条件と対象化合物（対象化合物の詳細は表 3-1 及び 3-2 を参照）

表 3-1 高等植物の毒成分の SRM トランジション条件と S/N>10 となる標準溶液の濃度 (分離条件 1、保持時間順)

No.	和名	英名	CAS No.	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)	S/N>10 濃度 (ng/mL)
分離条件1															
1	ニコチン	Nicotine	54-11-5	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub> N <sub>2</sub>	162.23	162.1157	2.4	+	[M+H] <sup>+</sup>	163.2 163.2	130.1 117.1	50 50	27 33	10 11	10
2	サンギニン	Sanguinine	60755-80-8	C <sub>16</sub> H <sub>19</sub> NO <sub>3</sub>	273.33	273.1365	2.5	+	[M+H] <sup>+</sup>	274.2 274.2	199.2 184.1	75 75	30 46	7 12	1
3	アナバシン	Anabasine	494-52-0	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub> N <sub>2</sub>	162.23	162.1157	3.0	+	[M+H] <sup>+</sup>	163.2 163.2	120.0 146.0	53 53	21 20	10 13	10
4	リナマリン	Linamarin	554-35-8	C <sub>10</sub> H <sub>17</sub> NO <sub>6</sub>	247.25	247.1056	3.0	+	[M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	265.1 265.1	180.0 163.1	10 10	12 13	6 6	10
5	ギンゴトキシシ	Ginkgotoxin	1464-33-1	C <sub>9</sub> H <sub>13</sub> NO <sub>3</sub>	183.20	183.0895	3.0	+	[M+H] <sup>+</sup>	184.0 184.0	152.0 134.1	45 45	17 27	6 9	1
6	リコリン	Lycorine	476-28-8	C <sub>16</sub> H <sub>17</sub> NO <sub>4</sub>	287.31	287.1158	3.3	+	[M+H] <sup>+</sup>	288.1 288.1	147.0 119.2	89 89	36 43	10 10	1
7	ガラタミン	Galantamine	357-70-0	C <sub>17</sub> H <sub>21</sub> NO <sub>3</sub>	287.35	287.1521	5.0	+	[M+H] <sup>+</sup>	288.3 288.3	213.2 198.1	83 83	30 41	7 7	1
8	リコラミン	Lycoramine	21133-52-8	C <sub>17</sub> H <sub>23</sub> NO <sub>3</sub>	289.37	289.1678	5.0	+	[M+H] <sup>+</sup> x	290.2 290.2	233.1 215.1	72 72	23 32	7 7	1
9	コニイン	Coniine	458-88-8	C <sub>8</sub> H <sub>17</sub> N	127.23	127.2276	5.3	+	[M+H] <sup>+</sup>	128.2 128.2	69.1 55.0	60 60	21 27	7 8	1
10	フェブリフジシ	Febrifugine	24159-07-7	C <sub>16</sub> H <sub>19</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub>	301.34	301.1426	5.5	+	[M+H] <sup>+</sup>	302.1 302.1	100.1 120.1	50 50	23 23	7 8	1
11	スコポラミン	Scopolamine	114-49-8	C <sub>17</sub> H <sub>21</sub> NO <sub>4</sub>	303.35	303.1471	5.8	+	[M+H] <sup>+</sup>	304.0 304.0	138.0 156.0	67 67	26 21	10 10	1
12	アミグダリン	Amygdalin	29883-15-6	C <sub>20</sub> H <sub>27</sub> NO <sub>11</sub>	457.43	457.4293	5.8	+	[M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	475.1 475.1	325.0 163.3	10 10	15 20	10 5	10
13	ゲルセミン	Gelsemine	509-15-9	C <sub>20</sub> H <sub>22</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	322.40	322.1681	5.9	+	[M+H] <sup>+</sup>	323.2 323.2	70.1 236.2	68 68	65 36	10 8	1
14	アニサチン	Anisatin	5230-87-5	C <sub>15</sub> H <sub>20</sub> O <sub>8</sub>	328.32	328.1158	6.2	-	[M-H] <sup>-</sup>	327.1 327.1	126.9 83.0	-68 -68	-17 -31	-11 -5	1
15	ツチン	Tutin	2571-22-4	C <sub>15</sub> H <sub>18</sub> O <sub>6</sub>	294.30	294.1103	6.2	-	[M+HCOO] <sup>-</sup>	339.0 339.0	152.8 138.8	-10 -10	-19 -14	-9 -13	10
16	ブルナシ	Prunacin	99-18-3	C <sub>14</sub> H <sub>17</sub> NO <sub>6</sub>	295.29	295.1056	6.3	+	[M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	313.1 313.1	163.2 145.2	10 10	14 17	5 10	10
17	アトロピン	Atropine	13269-35-7	C <sub>17</sub> H <sub>23</sub> NO <sub>3</sub>	289.37	289.1678	6.3	+	[M+H] <sup>+</sup>	290.2 290.2	124.2 93.0	90 90	30 35	5 7	1
18	グライノトキシシ I	Grayanotoxin I	4720-09-6	C <sub>22</sub> H <sub>36</sub> O <sub>7</sub>	412.52	412.2461	6.4	+	[M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	430.2 430.2	299.0 376.9	24 24	20 12	6 12	1
19	センキルキン	Senkirkine	2318-18-5	C <sub>19</sub> H <sub>27</sub> NO <sub>6</sub>	365.42	365.1838	6.7	+	[M+H] <sup>+</sup>	366.2 366.2	168.3 94.0	21 21	39 84	13 14	1
20	エキミジシ	Echimidine	520-68-3	C <sub>20</sub> H <sub>31</sub> NO <sub>7</sub>	397.46	397.2101	6.7	+	[M+H] <sup>+</sup>	398.3 398.3	120.2 220.2	14 14	30 23	16 4	1
21	デメコルシシ	Demecolcine	477-30-5	C <sub>21</sub> H <sub>25</sub> NO <sub>5</sub>	371.43	371.1733	6.8	+	[M+H] <sup>+</sup>	372.2 372.2	340.1 310.1	60 60	24 25	12 11	1
22	ヘレブリン	Hellebrine	13289-18-4	C <sub>36</sub> H <sub>52</sub> O <sub>15</sub>	724.79	724.3306	7.3	+	[M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	742.4 742.4	417.3 563.4	28 28	24 17	12 14	1

上段：定量トランジション、下段：確認トランジション

表 3-1 つづき

No.	和名	英名	CAS No.	分子式	分子量	モノアイント 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)	S/N>10 濃度 (ng/mL)
分離条件1															
23	コンバラトキシン	Convallatoxin	508-75-8	C <sub>29</sub> H <sub>42</sub> O <sub>10</sub>	550.64	550.2778	7.4	-	[M+HCOO] <sup>-</sup>	595.3 595.3	549.1 385.3	-80 -80	-22 -33	-19 -12	1
24	ストロファンチジン	Strophanthidine	66-28-4	C <sub>23</sub> H <sub>32</sub> O <sub>6</sub>	404.50	404.2199	7.7	+	[M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	422.3 422.3	341.2 323.2	11 11	22 27	6 11	1
25	α-ソラニン	α-Solanine	20562-02-1	C <sub>45</sub> H <sub>73</sub> NO <sub>15</sub>	868.06	867.4980	7.8	+	[M+H] <sup>+</sup>	868.5 868.5	398.4 722.5	180 180	96 92	13 21	1
26	α-チャコニン	α-Chaconine	20562-03-2	C <sub>45</sub> H <sub>73</sub> NO <sub>14</sub>	852.06	851.5031	7.8	+	[M+H] <sup>+</sup>	852.5 852.5	706.4 398.4	160 160	91 94	21 13	1
27	コルヒチン	Colchicine	64-86-8	C <sub>22</sub> H <sub>25</sub> NO <sub>6</sub>	399.44	399.1682	7.8	+	[M+H] <sup>+</sup>	400.2 400.2	358.2 310.0	88 88	29 34	12 10	1
28	ジェルビン	Jervine	469-59-0	C <sub>27</sub> H <sub>39</sub> NO <sub>3</sub>	425.60	425.2930	7.8	+	[M+H] <sup>+</sup>	426.2 426.2	67.1 313.2	149 149	85 38	9 10	1
29	ベラトラミン	Veratramine	60-70-8	C <sub>27</sub> H <sub>39</sub> NO <sub>2</sub>	409.61	409.2981	8.0	+	[M+H] <sup>+</sup>	410.3 410.3	295.1 84.1	129 129	37 68	10 7	1
30	プロトベラトリンB	Protoveratrine B	124-97-0	C <sub>41</sub> H <sub>63</sub> NO <sub>15</sub>	809.94	809.4198	8.1	+	[M+H] <sup>+</sup>	810.4 810.4	792.2 658.4	160 160	55 72	27 20	1
31	ジゴキシン	digoxin	20830-75-5	C <sub>41</sub> H <sub>64</sub> O <sub>14</sub>	780.94	780.4296	8.4	+	[M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	798.6 798.6	97.1 651.2	23 23	69 19	9 12	1
32	メサコニチン	Mesaconitine	2752-64-9	C <sub>33</sub> H <sub>45</sub> NO <sub>11</sub>	631.71	631.2993	8.6	+	[M+H] <sup>+</sup>	632.2 632.2	572.4 354.2	20 20	45 56	17 11	1
33	シマリン	Cymarine	508-77-0	C <sub>30</sub> H <sub>44</sub> O <sub>9</sub>	548.67	548.2985	8.6	+	[M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	566.3 566.3	405.2 517.3	11 11	17 9	12 13	1
34	プロトベラトリンA	Protoveratrine A	143-57-7	C <sub>41</sub> H <sub>63</sub> NO <sub>14</sub>	793.94	793.4249	8.8	+	[M+H] <sup>+</sup>	794.5 794.5	776.5 658.4	150 150	55 70	22 19	1
35	アコニチン	Aconitine	302-27-2	C <sub>34</sub> H <sub>47</sub> NO <sub>11</sub>	645.74	645.3149	9.0	+	[M+H] <sup>+</sup>	646.2 646.2	586.4 526.3	22 22	44 52	9 15	1
36	ヒバコニチン	Hypaconitine	6900-87-4	C <sub>33</sub> H <sub>45</sub> NO <sub>10</sub>	615.71	615.3043	9.0	+	[M+H] <sup>+</sup>	616.3 616.3	556.1 524.2	13 13	43 48	17 17	1
37	ジェサコニチン	Jesaconitine	16298-90-1	C <sub>35</sub> H <sub>49</sub> NO <sub>12</sub>	675.76	675.3255	9.0	+	[M+H] <sup>+</sup>	676.3 676.3	616.2 134.9	60 60	30 30	22 13	— *
38	アリストロキア酸II	Aristrochic acid II	475-80-9	C <sub>16</sub> H <sub>9</sub> NO <sub>6</sub>	311.25	311.0430	10.1	+	[M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	329.2 329.2	268.0 294.0	28 28	13 13	8 14	1
39	オレアンドリン	Oleandrine	465-16-7	C <sub>32</sub> H <sub>48</sub> O <sub>9</sub>	576.72	576.3298	10.2	+	[M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	594.4 594.4	577.6 433.3	12 12	13 16	9 9	1
40	ジギトキシン	Digitoxin	71-63-6	C <sub>41</sub> H <sub>64</sub> O <sub>13</sub>	764.94	764.4347	10.2	+	[M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	782.3 782.3	96.9 635.3	28 28	68 16	9 13	1
41	ククルビタシンB	Cucurbitacin B	6199-67-3	C <sub>32</sub> H <sub>46</sub> O <sub>8</sub>	558.70	558.3193	10.3	+	[M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	576.3 576.3	499.2 481.3	40 40	16 25	13 12	1
42	アリストロキア酸I	Aristrochic acid I	313-67-7	C <sub>17</sub> H <sub>11</sub> NO <sub>7</sub>	341.27	341.0536	10.4	+	[M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	359.0 359.0	296.0 323.9	30 30	14 15	10 11	1
43	ジオスゲニン	Diosgenin	512-04-9	C <sub>27</sub> H <sub>42</sub> O <sub>3</sub>	414.62	414.3134	11.2	+	[M+H] <sup>+</sup>	415.3 415.3	271.3 253.1	103 103	23 31	8 8	10
44	ジオスシン	Dioscin	19057-60-4	C <sub>45</sub> H <sub>72</sub> O <sub>16</sub>	869.05	868.4820	11.4	+	[M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	886.5 886.5	415.4 397.3	20 20	19 24	8 13	10

\*標準品の濃度が不明であったため、定量限界を求めることはできなかった。

上段：定量トランジション、下段：確認トランジション

表 3-2 キノコの毒成分の SRM トランジション条件と S/N>10 となる標準溶液の濃度 (分離条件 2~3、保持時間順)

No.	和名	英名	CAS No.	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)	S/N>10 濃度 (ng/mL)
分離条件 2															
1	ムシモール	Muscimol	2763-96-4	C <sub>4</sub> H <sub>6</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	114.10	114.0429	6.3	+	[M+H] <sup>+</sup>	115.0	98.0	16	30	10	1
										115.0	68.0	16	31	12	
2	ファロイジン	Phalloidin	17466-45-4	C <sub>35</sub> H <sub>48</sub> N <sub>8</sub> O <sub>11</sub> S	788.87	788.3163	7.7	+	[M+H] <sup>+</sup>	789.3	753.3	91	29	24	10
										789.3	86.0	91	113	14	
3	アリルグリシン	L-Allylglycine	16338-48-0	C <sub>5</sub> H <sub>9</sub> NO <sub>2</sub>	115.13	115.0633	7.7	+	[M+H] <sup>+</sup>	116.0	70.0	31	19	12	1
										116.0	74.0	31	11	10	
4	プロパルギルグリシン	L-Propargylglycine	23235-01-0	C <sub>5</sub> H <sub>7</sub> NO <sub>2</sub>	113.11	113.0477	8.3	+	[M+H] <sup>+</sup>	114.0	68.0	36	13	12	1
										114.0	74.0	36	13	12	
5	α-アマニチン	α-Amanitin	23109-05-9	C <sub>39</sub> H <sub>54</sub> N <sub>10</sub> O <sub>14</sub> S	918.97	918.3542	8.9	+	[M+H] <sup>+</sup>	919.4	86.0	91	129	6	10
										919.4	259.0	91	55	14	
6	アガリチン	Agaritine	2757-90-6	C <sub>12</sub> H <sub>17</sub> N <sub>3</sub> O <sub>4</sub>	267.28	267.1219	9.3	+	[M+H] <sup>+</sup>	268.0	250.0	51	13	14	1
										268.0	121.0	51	21	12	
7	β-アマニチン	β-Amanitin	21150-22-1	C <sub>39</sub> H <sub>53</sub> N <sub>9</sub> O <sub>15</sub> S	919.96	919.3382	9.7	+	[M+H] <sup>+</sup>	920.3	86.0	106	113	6	10
										920.3	259.0	106	53	14	
8	イボテン酸	L-Ibotenic acid	25690-45-3	C <sub>5</sub> H <sub>6</sub> N <sub>2</sub> O <sub>4</sub>	158.11	158.0328	10.1	+	[M+H] <sup>+</sup>	159.0	113.0	41	17	6	10
										159.0	115.0	41	11	8	
分離条件 3															
9	ジロミトリン	Gyromitrin	16568-02-8	C <sub>4</sub> H <sub>8</sub> N <sub>2</sub> O	100.12	100.0637	0.9	+	[M+H] <sup>+</sup>	101.0	73.0	46	15	12	10
										101.0	42.0	46	29	10	
10	ムスカリン	Muscarin	300-54-9	C <sub>9</sub> H <sub>20</sub> NO <sub>2</sub> <sup>+</sup>	174.26	174.1494	3.8	+	M <sup>+</sup>	174.0	57.0	51	31	6	1
										174.0	43.0	51	49	10	
11	コリン	Cholin	62-49-7	C <sub>5</sub> H <sub>14</sub> O <sup>+</sup>	104.17	104.1075	5.0	+	M <sup>+</sup>	104.0	60.0	26	25	10	1
										104.0	58.0	26	41	10	
分離条件 4															
12	イルジンS	Illudin S	1149-99-1	C <sub>15</sub> H <sub>20</sub> O <sub>4</sub>	264.32	264.1362	7.9	+	[M+H] <sup>+</sup>	265.0	247.0	31	11	14	10
										265.0	217.0	31	13	14	

上段：定量トランジション、下段：確認トランジション

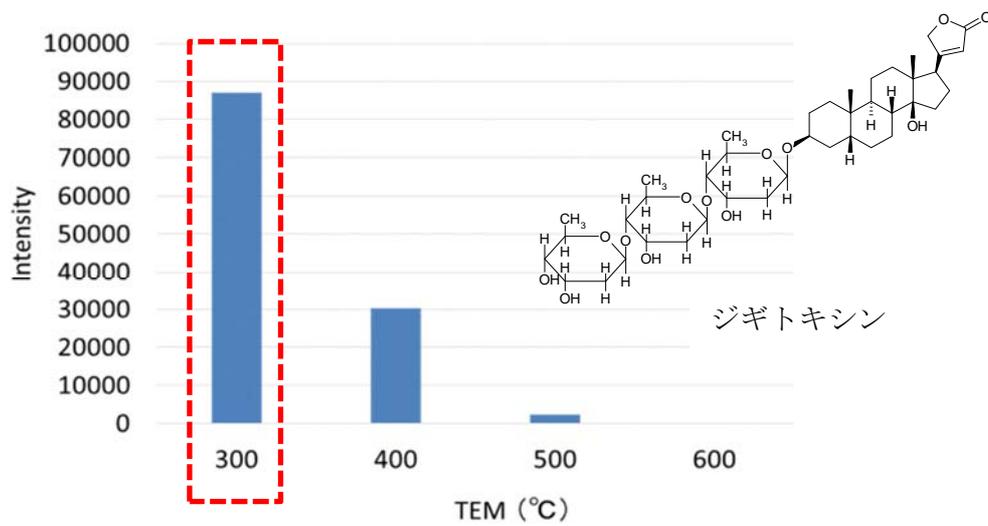


図2 ジギトキシンの化学構造と脱溶媒ガス温度によるアンモニウム付加イオン $[M+NH_4]^+$ の強度の変化

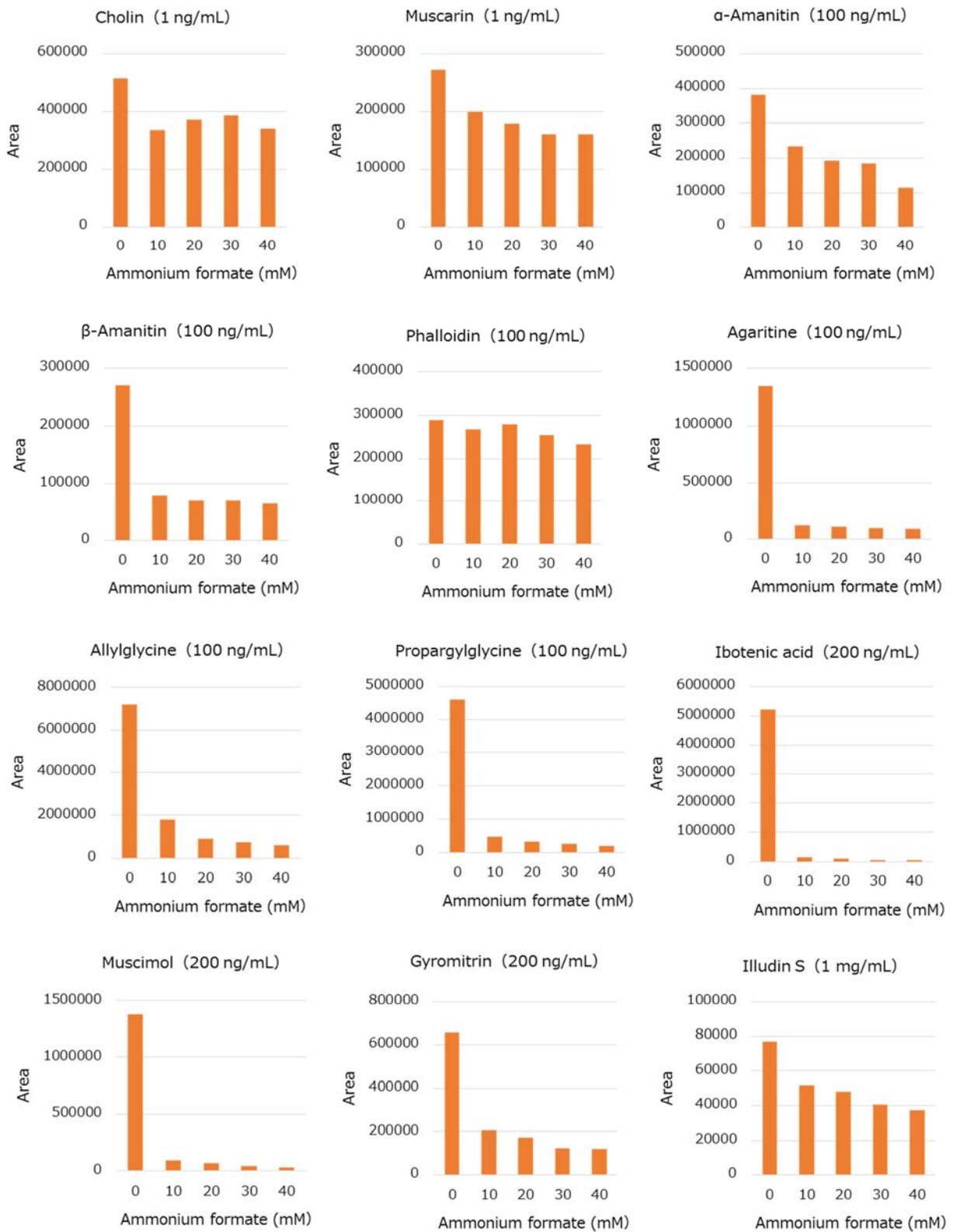


図3 ギ酸アンモニウム濃度によるキノコ毒12成分のピーク面積値の変化

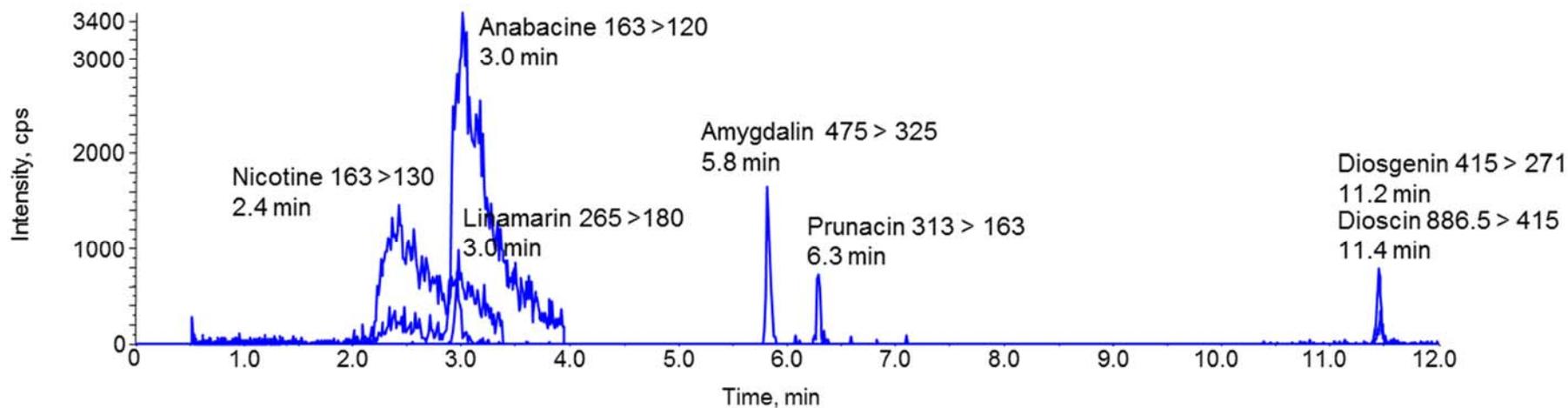
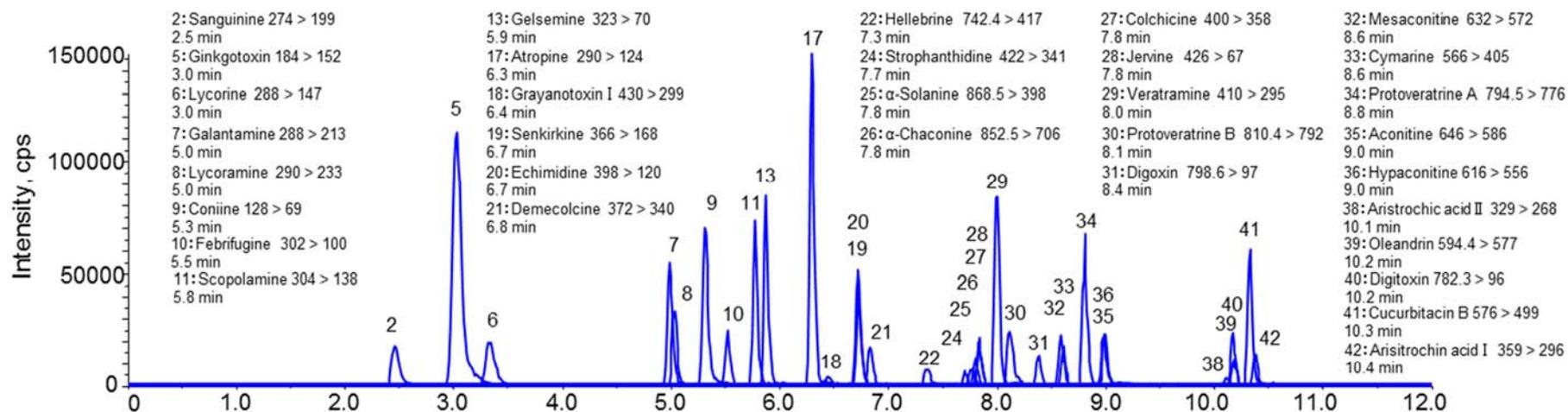


図 4-1-1 分析クロマトグラム (分離条件 1、ESI(+)、定量トランジション、10 ng/mL、5  $\mu$ L (50 pg))

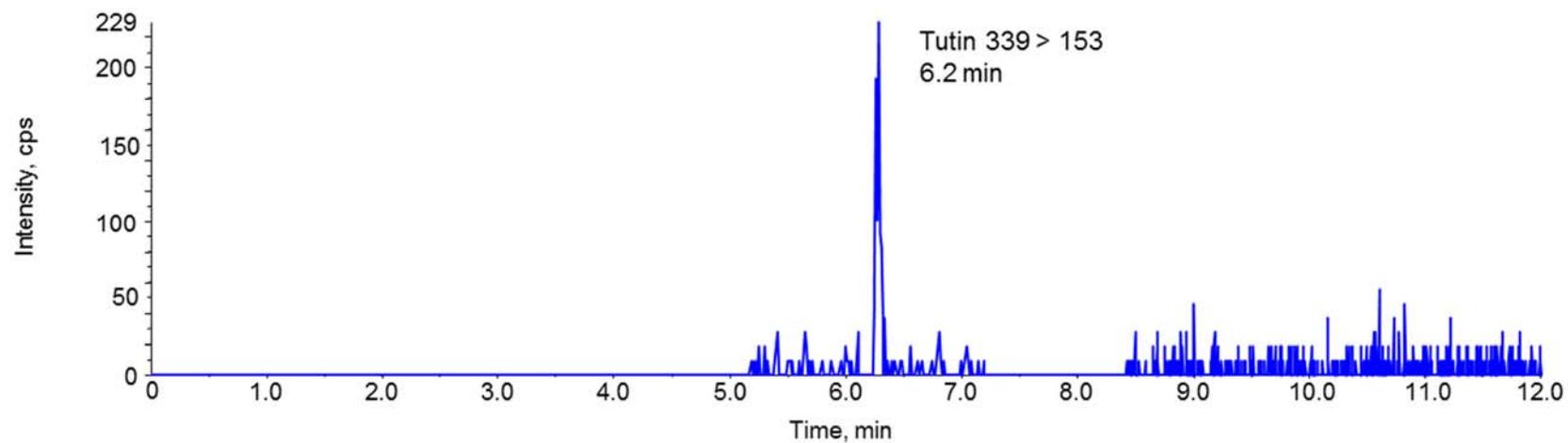
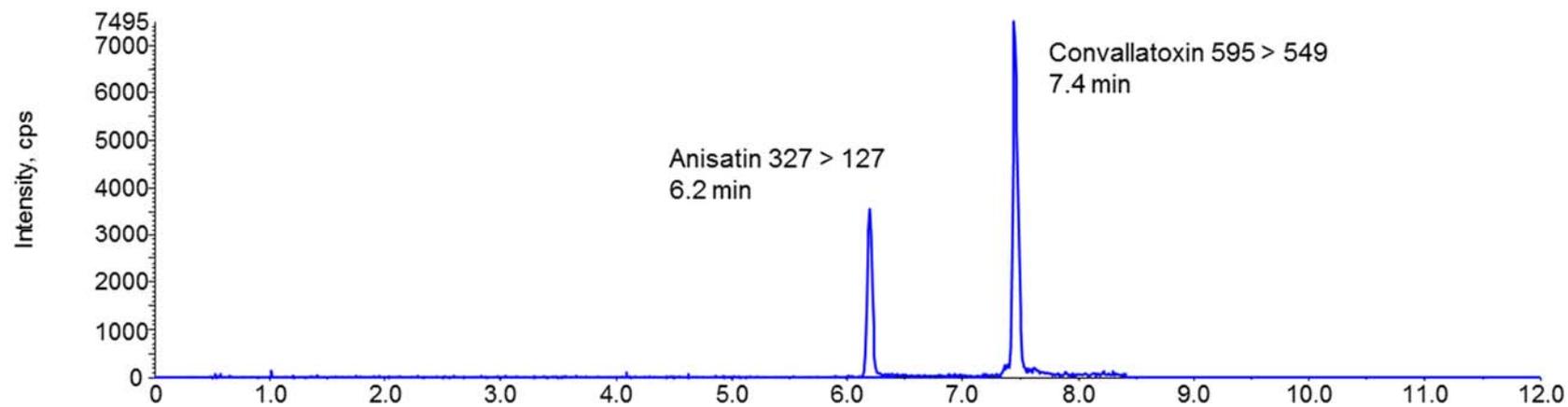


図 4-1-2 分析クロマトグラム (分離条件 1、ESI(-)、定量トランジション、10 ng/mL、5  $\mu$ L (50 pg))

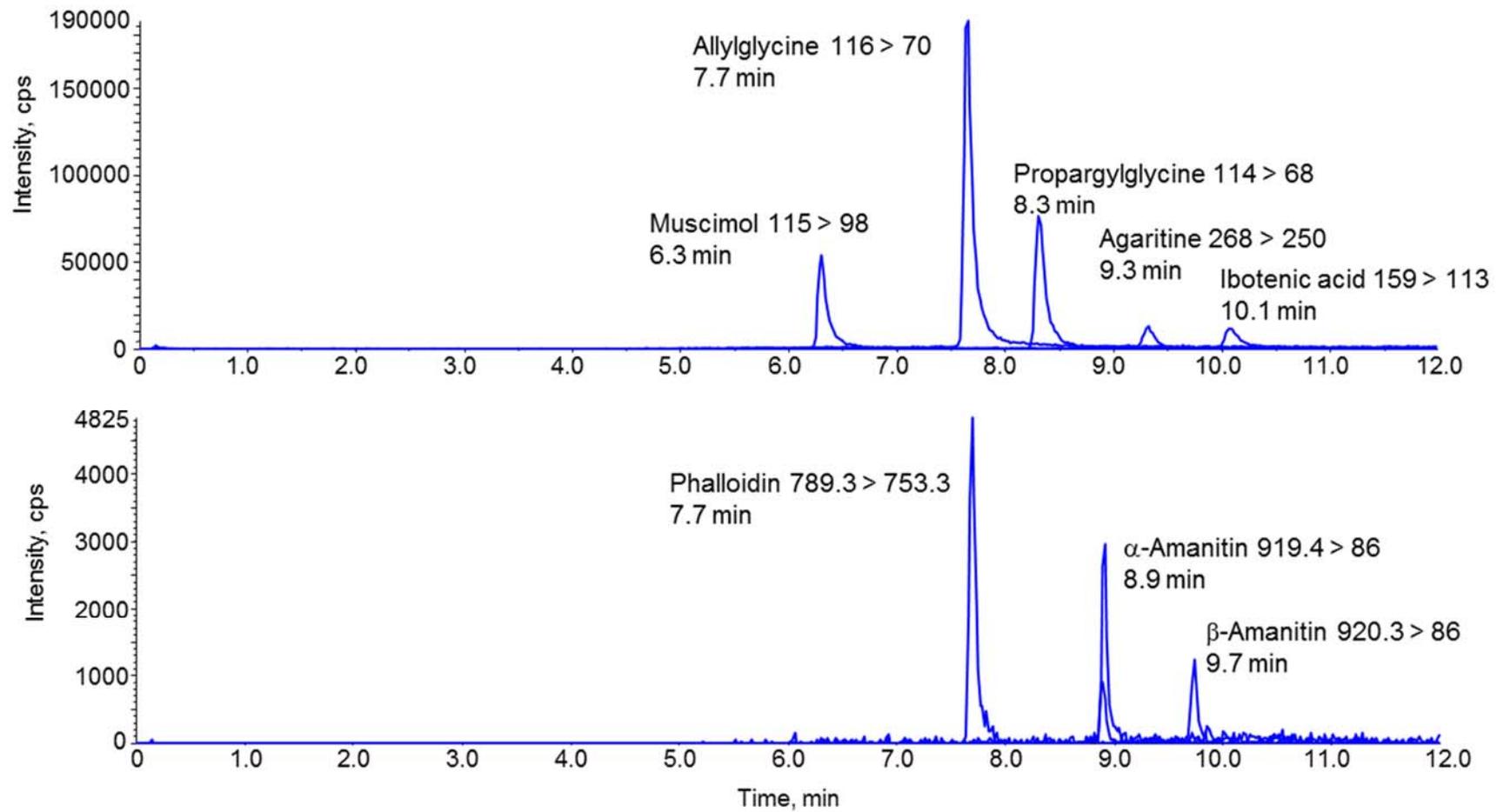


図 4-2 分析クロマトグラム (分離条件 2、定量トランジション、10 ng/mL、5  $\mu$ L (50 pg))

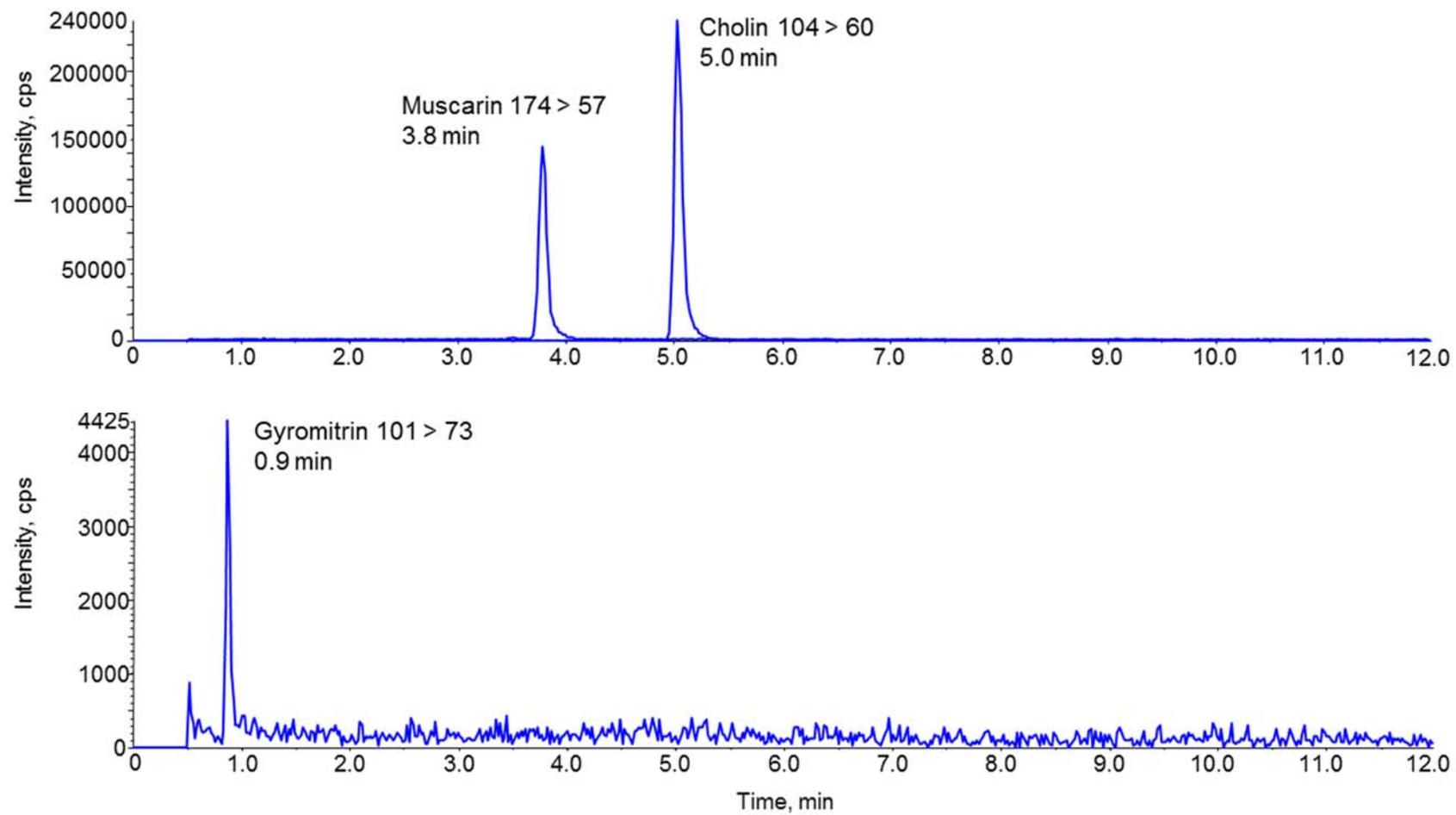


図 4-3 分析クロマトグラム (分離条件 3、定量トランジション、10 ng/mL、5  $\mu$ L (50 pg))

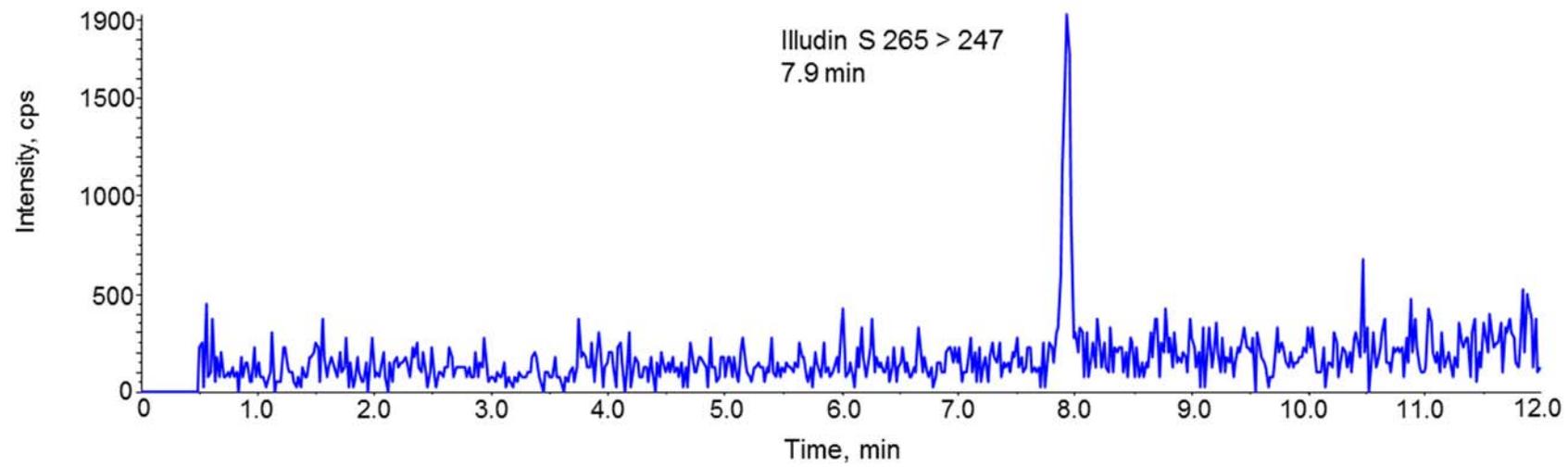


図 4-4 分析クロマトグラム (分離条件 4、定量トランジション 10 ng/mL、5  $\mu$ L (50 pg))