

令和元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

本研究は、わが国において発生する植物性自然毒の中毒の原因食品と病因物質を網羅的に同定するための標準的な化学分析法の確立を目的とする。食中毒事件発生時の検査を担当する地方衛生研究所（地研）が広く利用でき、調理済み中毒残品にも適用可能な方法として、液体クロマトグラフ・タンデム質量分析計（LC-MS/MS）を用いた簡易・迅速な手法の開発を行った。平成 30 年度は、わが国において過去に発生した中毒事例から、発生頻度や症状の重篤度を考慮し、分析対象の毒成分として、高等植物で 44 成分、毒キノコで 12 成分を選定し、LC-MS/MS の分析条件を最適化した。

令和元年度は、調理済み食品中の毒成分を定量するための前処理法として、抽出時にトリクロロ酢酸（TCA）溶液を加えて除タンパク処理を行い、脂質除去機能を有する精製カートリッジを通液した後、希釈するという簡易な操作フローを検討した。

高等植物の 42 成分を対象とし、内部標準物質としてカフェイン- d_9 、レセルピン- d_9 を測定時のシリジスパイク、ジゴキシン- d_3 をサロゲートとして用い、ハウレンソウ、ギョウザ、カレーの 3 種類の食品を用いて 1 $\mu\text{g/g}$ の濃度で添加回収試験を実施したところ、ジギトキシン、ジオスシン、ジオスゲニンを除く 39 成分で、真度が 75~119%、併行精度（RSD%）が 21%以内と概ね良好な結果となった。本法は高等植物を原因とする調理済み中毒残品中の毒成分を同定、定量する試験法として有用であると考えられた。一方、キノコの 11 成分を対象として、シイタケ、グラタン、スキヤキを用いて 1 $\mu\text{g/g}$ の濃度で添加回収試験を実施したところ、0.5%ギ酸-アセトニトリルを移動相とする親水性相互作用クロマトグラフィー（HILIC）で分析する成分の真度が低く、一部の成分で溶媒標準溶液に対して保持時間が変動したため、分析が困難であった。毒キノコの分析法は、分離条件から再検討する必要があると考えられる。

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

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 26～30 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 8 名、スイセン、トリカブト、ニセクロハツで各 1 名であった。また、平成 31/令和元年は、イヌサフランで 2 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から、発生頻度や症状の重篤度を考慮して、分析対象化合物とすべき毒成分の中から、市販の標準物質が入手可能であった高等植物の 44 成分とキノコの 12 成分を選定し、LC-MS/MS の分析条件を最適化した。

令和元年度は、調理済み食品中の毒成分を定量するための前処理法を検討した。有毒植物が誤食される際には、簡単な汁物、おひたし、揚げ物といった料理から、各種調味料を加えて、他の食品と長時間煮たり焼いたりする料理に至るまで、多種多様な料理として喫食されることが想定される。調理済み食品に含まれる脂質やタンパク質といった分析対象化合物以外の試料マトリックスは、分析対象化合物の正確な定性と定量に大きく影響し、同定された毒成分が中毒量に達しているかどうかを判断することが求められる中毒事例の原因究明を困難にする。そのため、機器分析に先立ち、液-液分配や固相抽出などの前処理により分析を妨害する試料マトリックスを除去する必要があり、さらに中毒時には簡易、迅速な前処理も求められる。

今回、抽出時にトリクロロ酢酸 (TCA) 溶液を加えて除タンパク処理を行い、脂

質除去機能を有する精製カートリッジを通液した後、希釈するという簡易な操作フローを検討した。分析対象化合物は、添加回収試験に用いるのに十分な量の市販品が入手可能であった高等植物の 42 成分、コリンを除くキノコの 11 成分を対象とした。各分析対象化合物の精製カートリッジの溶出条件を検討の上、前処理フローを構築した。調理済み食品として、高等植物の毒成分については、ホウレンソウ、ギョウザ、カレーの 3 品、キノコの毒成分については、シイタケ、グルタン、スキヤキの 3 品を試料とした。各食品で添加回収試験を実施して、試験法の適用性を評価した。

B. 研究方法

1. 高等植物

1.1 試料

高等植物の毒成分の添加回収試験は以下の食品を検討した。

- 1) ホウレンソウ（生、市販品）
- 2) ギョウザ（冷凍、市販品（A 社製））
- 3) カレー（自家調理品。原材料：H 社のカレールー（中辛）20 g、牛肉 40 g、タマネギ 60 g、ニンジン 15 g、水 140 mL、牛乳 5 mL、油 2 g（ジャガイモ抜き））

1.2 試薬・試液

高等植物の毒成分は、昨年度（H30 年度）に機器分析条件を設定した 44 成分のうち、市販品がないトリカブト類のジェサコニチンと十分な量の市販品が入手できなかったドクウツギのツチンを除く 42 成分を用いた。表 1 の混合標準溶液 A

群に属する毒成分はメタノールにより溶解した後、混合してメタノールにより希釈し、5 $\mu\text{g/mL}$ の混合標準溶液を調製した。同様に B 群に属する毒成分はアセトニトリルにより溶解した後、混合してアセトニトリルにより希釈して 10 $\mu\text{g/mL}$ の混合標準溶液を調製した。

内部標準として、安定同位体標識化合物のカフェイン- d_9 （CDN Isotopes 社製）、レセルピン- d_9 （Sigma-Aldrich 社製）及びジゴキシン- d_3 （Tront Research Chemicals 社製）を用いた。それぞれメタノールに溶解し、カフェイン- d_9 とレセルピン- d_9 は混合し、ジゴキシン- d_3 は単一でメタノールにより希釈して 10 $\mu\text{g/mL}$ の溶液を調製した。

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

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。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

フードカッターは Retsch 社製グラインドミックス GM200、ホモジナイザーは（株）マイクロテック・ニチオン製のヒスコトロン NS-50 を用いた。遠心分離機は久保田商事（株）製の 6200 を用いた。LC-MS/MS 装置は Agilent 社製の 1200 シリーズ液体クロマトグラフに Sciex 社製の 4000QTRAP トリプル四重極タンデム質量分析計を接続して使用した。

1.4 LC-MS/MS 測定条件

高等植物の毒成分の測定条件を表 1、表 2 及び図 1 に示した。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 を用いた。

1.5 試験溶液の調製

高等植物の試験溶液調製法の概略を、Scheme1 に示した。

1.5.1 抽出

試料 5.0 g を 50 mL のポリプロピレン製遠心沈殿管に量り採り、ジゴキシン- d_3 溶液 (10 $\mu\text{g}/\text{mL}$) を 0.5 mL 添加して混合し、30 分間放置した。添加回収試験においても同様に、試料中の濃度が 1 $\mu\text{g}/\text{g}$ となるように試料にあらかじめ標準溶液を添加し、30 分間放置したものを試料とした。

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

1.5.2 精製

抽出液を 2 mL 採り、ガラス製の遠心沈殿管 (10 mL 容) にセットした Captiva EMR-Lipid カートリッジに負荷し、常温、 $1,000\times g$ で 1 分間遠心分離し、溶出液を捨てた。さらに抽出液 1 mL を負荷し、同様に遠心分離して得られた溶出液を採り、水を加えて 10 mL に定容したものを試験溶液とした (10 mg sample/g)。バイアルは不活性処理済みの透明ガラスバイアルを用いた。

1.6 定量

ジゴキシン- d_3 が 10 ng/mL となるように加えた上で、0.2%(w/v)TCA 含有 8%(v/v)メタノール溶液で 1.0、2.0、5.0、10、20、50 ng/mL の標準溶液を調製し、それぞれ 5 μL を LC-MS/MS に注入した。また、別途 0.2%(w/v)TCA 含有 8%(v/v)メタノール溶液で調製したカフェイン- d_9 及びレセルピン- d_9 の 10 ng/mL 混合標準溶液を 5 μL 共注入した。42 成分はそれぞれ表 1 に示す内部標準との面積比を求めて検量線を作成した。

1.7 精製カートリッジの負荷溶媒の検討

精製に使用する脂質除去機能付きカートリッジとして、Agilent 社製の Captiva ND Lipids 3 mL カートリッジ (以下、ND) と Captiva EMR Lipids 3 mL カートリッジ (以下、EMR) の 2 種類のカートリッジを検討した。負荷溶媒のメタノール濃度と TCA 濃度を最適化するため、高等植物、キノコの毒成分 200 ng を以下の組成の溶媒に溶解させ、カートリッジに負荷し、常温、 $1,000\times g$ 、1 分間遠心分離して得られた溶出液に含まれる毒成分の回収率を求めた。

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

1.8 試料マトリックスの測定への影響

ブランク試料を B.1.5 試験溶液の調製に従い調製し、添加回収試験における回収率 100%相当濃度となるように、試験溶液を 10 mL に定容する前に 100 ng/mL の標準溶液を 1 mL 加えて、マト

リックス標準溶液とした。10 ng/mL の溶媒標準溶液のピーク面積に対するマトリックスタンダード標準溶液のピーク面積の比（各2回測定の平均値）を求めて試料マトリックスの測定への影響を評価した。

2. キノコ

2.1 試料

キノコの毒成分の添加回収試験には、以下の食品を検討した。

- 1) シイタケ（生、市販品（菌床栽培品））
- 2) グラタン（自家調理品。原材料：マカロニ 25 g、チーズ 15 g、エビ 35 g、タマネギ 35 g、牛乳 200 mL、油 2 g、バター 3 g、小麦粉 8 g、塩コショウ少々）
- 3) スキヤキ（自家調理品。原材料：牛肉 100 g、ネギ 20 g、糸こんにゃく 50 g、シュンギク 15 g、豆腐 75 g、水 25 mL、しょうゆ 30 mL、みりん 30 mL、砂糖 10 g）

2.2 試薬・試液

H30 年度に機器分析条件を設定した 12 成分（ムシモール、ファロイジン、アリルグリシン、プロパルギルグリシン、 α -アマニチン、アガリチン、 β -アマニチン、イボテン酸（以上 8 成分：HILIC-A 群）、ジロミトリン、ムスカリン、コリン（以上 3 成分：HILIC-B 群）及びイルジン S）のうち、食品中に多量に含まれるコリンを除く 11 成分の市販品をメタノール・水(1:1)混液に溶解して混合し、10 $\mu\text{g/mL}$ の混合標準溶液を調製した。

精製に用いたカートリッジとその他の試薬及び試液は、**B.1.2** に示した高等植物と同じものを使用した。

2.3 装置

B.1.3 に示した高等植物と同じ装置を使用した。

2.4. LC-MS/MS 測定条件

キノコの毒成分の測定条件を表 3、図 2~4 に示した。

イルジン S は 5 mM ギ酸アンモニウム (pH 3) -メタノールを用いた逆相クロマトグラフィー (RPLC) により測定した (図 2)。その他の 10 成分は Agilent 社製の InfinityLab Poroshell 120 HILIC-Z, P (2.1 mm ϕ ×100 mm, 2.7 μm) を用いた親水性相互作用クロマトグラフィー (HILIC) により測定した。**B.2.2 試薬・試液**で HILIC-A 群とした 8 成分は移動相として 0.5%ギ酸-アセトニトリル (図 3) を、HILIC-B 群とした 3 成分は 20 mM ギ酸アンモニウム (pH 3) -アセトニトリル (図 4) をそれぞれ使い、グラジエント分析を行った。

2.5. 試験溶液の調製

キノコの試験溶液調製法の概略を、Scheme 2 に示した。イルジン S の試験溶液は高等植物と同様に Scheme 1 に従って調製した。

2.5.1 抽出

試料 5.0 g を 50 mL のポリプロピレン製遠心沈殿管に量り採り、添加回収試験においては、試料中の濃度が 1 $\mu\text{g/g}$ となるように試料にあらかじめ標準溶液を添加し、30 分間放置したものを試料とし

た。以下、**B.1.5.1**の高等植物と同じ操作フローにより抽出した。

2.5.2 精製

イルジン S は高等植物の場合と同じ操作フローで精製した。バイアルも不活性処理済みの透明ガラスバイアルを用いた (Scheme 1)。

イルジン S 以外のキノコの毒成分は、ポリプロピレン製の遠心沈殿管 (15 mL 容) を用いて高等植物と同様に操作し、得られた溶出液にアセトニトリルを加えて 10 mL に定容したものを試験溶液とした (10 mg sample /g)。バイアルはポリプロピレン製のものを用いた (Scheme 2)。

2.6. 定量

イルジン S は 0.2%(w/v)TCA 含有 8%(v/v)メタノール溶液で、その他の成分は 0.2%(w/v)TCA 含有 90%(v/v)アセトニトリル-2%(v/v)メタノール溶液で、1.0、2.0、5.0、10、20、50 ng/mL の標準溶液を調製し、絶対検量線で定量した。

2.7 精製カートリッジの負荷溶媒の検討

B.1.7の高等植物の検討と同様に行った。

2.8 真度低下の原因の検証

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、 α -アマニチン、 β -アマニチン、ファロイジンの 7 成分について、シイタケ、グラタン及びスキヤキの各食品の前処理操作フロー

(Scheme 2) において、抽出前、精製前及び測定前の各段階で、試料中 1 μ g/g の濃度に相当する量の標準溶液を加えて添加回収試験を実施し、操作フローのどの

段階で回収率が低下しているかを検証した。

C. D. 研究結果及び考察

1. 前処理操作フローの検討

脂質やタンパク質といった試料マトリックスを除去する操作として、抽出時に TCA による除タンパク、精製時に脂質除去機能を持つカートリッジによる処理の工程を入れることにした。抽出時の除タンパクに用いる有機溶媒の濃度と TCA 濃度によって、50 mL に定容後の抽出溶液の組成、すなわち精製カートリッジの負荷溶媒の組成が決まるため、抽出時の溶媒組成が精製カートリッジにおける毒成分の溶出挙動に影響を与えることになる。そこで、まずは ND と EMR の 2 種の脂質除去機能付き精製カートリッジの溶出条件について、メタノールと TCA 濃度を最適化した上で、抽出時のメタノールと TCA 濃度を決定した。

1.1 精製カートリッジの負荷溶媒の条件 検討—高等植物

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

2%(w/v)TCA 濃度でメタノール濃度を 50-80%(v/v)まで変化させたところ、ND と EMR のいずれのカートリッジにおいても、高極性のニコチンはメタノール濃度を上げると回収率が低下する傾向が見られたが、低極性の多くの成分の回収率が向

上したため、メタノール濃度は 80%(v/v)とした。

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

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

1.2 精製カートリッジの負荷溶媒の条件検討ーキノコ

80%(v/v)メタノール濃度で TCA 濃度を変えたところ、ND と EMR のいずれのカートリッジも TCA 濃度を上げるほど、アガリチンの回収率が低下したが、ムスカリンやイボテン酸の回収率が向上したため中毒事例の発生頻度が高い後者の成分を重視して TCA 濃度は 2%(w/v)とした。

2%(w/v)TCA 濃度でメタノール濃度を 50-80%(v/v)まで変化させたところ、ND と EMR のいずれも回収率の大きな差はなかった。したがって、ND では脂質除去能が最も高いと考えられた 50%(v/v)メタノール、EMR では抽出時の試料の分散性

が良かった 80%(v/v)メタノールを採用した。

以上の条件で、実際の食品を分析したところ、ND ではグラタンやスキヤキといった油の多い食品で、カートリッジが目詰まりして、遠心力を 2,000×g まで上げて、5 分以上遠心しなければ負荷液を全量回収できなかった。一方、EMR は常温、1,000×g、1 分間の遠心分離で負荷液を全量回収できたため、操作性の点から EMR を採用することとした (Scheme 2)。

1.3 毒成分の吸着

今回、測定対象とする成分は化学構造が多岐にわたるため、前処理に用いる器具や精製カートリッジ、試験溶液を入れるバイアルで毒成分の吸着を考慮する必要があった。四級アンモニウム系のムスカリンや酸性条件下のアルカロイドなど、正電荷を持つ成分がガラス表面に吸着する問題を回避するために、使用する器具は基本的にポリプロピレン製のものを使用することとした。

しかし、0.2%(w/v)TCA 含有 8%(v/v)メタノール溶液で調製した高等植物の毒成分の標準溶液のクロマトグラムのピーク強度は、RPLC で保持時間が大きい低極性成分ほど低下した。食品のマトリックスの存在化ではピーク強度の低下はみられなかったことから、低極性成分がポリプロピレン製容器に吸着したことが原因と考えられた。そのため、Scheme 1 で試験溶液を 10 mL に定容する際にガラス製のメスフラスコを使用し、試験溶液を入れるバイアルもガラス製のものに変更したところ、溶媒標準のピーク強度の低下は解消し、高

極性成分の回収率にも問題は生じなかった。一方、イルジン S 以外のキノコの毒成分は高極性成分が多いことや、試験溶液に有機溶媒が多く含まれるため吸着の影響はないと考え、ガラス製器具への吸着を回避するためポリプロピレン製の器具やバイアルを使用することとした (Scheme 2)。

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

高等植物の毒成分で精製カートリッジへの吸着の影響を確認するために、2%(w/v)TCA 含有 80%(v/v)メタノール溶液で調製した溶媒標準溶液を、EMR に 1 mL ずつ負荷して合計 4 mL まで分画したところ、最初の 1 mL で多くの成分で吸着による回収率の低下が起り、高極性のニコチンやアナバシンは 2 mL まで回収率が低かったため、精製の操作フローは、「抽出液を 2 mL 負荷して溶出液を捨てた後、抽出液を 1 mL を負荷して溶出液を採る」こととした (Scheme 1)。

2. 高等植物の添加回収試験

2.1 真度及び精度

中毒量に達しているかを判断するのに必要となる食品中の毒成分の最低濃度として、1 µg/g を想定し、ハウレンソウ、ギョウザ及びカレーの 3 種の食品を対象に、42 成分の毒成分について 5 併行の添加回

収試験を実施した。その結果を表 4 に示した。ジゴキシン及びジギトキシンはジゴキシン-d₃ をサロゲートとして試料の前処理を行う前に加えて内部標準補正を行った。その他の成分については、エレクトロスプレーイオン化法ポジティブモード (ESI (+)) で測定した成分はカフェイン-d₉ 及びレセルピン-d₉ を、ESI ネガティブモード (ESI (-)) の測定成分はレセルピン-d₉ を測定時に共注入し、シリンジスパイクとして用いることにより内部標準補正を行った。各成分に対応する内部標準は表 1 に示した。

真度は、検討したハウレンソウ、ギョウザ、カレーの 3 種の食品で、ジギトキシン、ジオスシン、ジオスゲニンを除く 39 成分が 75~119%、併行精度 (RSD%) は 2~21% となり概ね良好な結果となった (表 4)。

2.2 内部標準物質

表 1 で内部標準として ESI (+) でカフェイン-d₉ を使用した 34 成分と、ESI(-) の 2 成分の合計 36 成分は、内部標準を使用することなく絶対検量線による定量でも良好な真度となった。ESI (+) のカフェイン-d₉ と ESI (-) のレセルピン-d₉ は液体クロマトグラフの注入誤差と質量分析計の感度変動を補正するシリンジスパイクとして使用した。

ESI (+) でレセルピン-d₉ を内部標準として使用したニコチン、アナバシン、ジオスゲニン、ジオスシンの 4 成分は、後述する試料マトリックスの測定への影響の評価において、正のマトリックス効果が見られた (カレーのアナバシンを除く)。この

ため、これらの4成分に対しては、同じくESI(+)で正のマトリックス効果が見られたレセルピン-d₉を内部標準として、マトリックス効果を補正するシリンジスパイクとして使用した。この結果、いずれの成分も真度が向上した。しかし、ジオスゲニンとジオスシンは120%以内に収まることはなかった(表4)。

ジゴキシンとジギトキシンは、精製カートリッジの溶出条件の検討や試料マトリックスの測定への影響の評価において、良好な結果が得られたが、実際の食品試料への添加回収試験は70%を下回る結果となる場合があり、精度も不良であった。このため、ジゴキシン-d₃をサロゲートとして試料の前処理を行う前に加え、内部標準補正を行った。その結果、ジゴキシンは良好な結果が得られたが、ジギトキシンは逆に120%を超える結果となった(表4)。

2.3 試料マトリックスの測定への影響

各食品のマトリックス標準溶液とその濃度に相当する溶媒標準溶液の比(百分率)を表5に示した。ニコチン、ジオスゲニン、ジオスシン、ハウレンソウとギョウザのアナバシン、エキミジン、ハウレンソウのフェブリフジン、アコニチン、カレーのプルナシン以外は、100±10%以内となり、試料マトリックスの測定への影響は小さかった。前処理による試料マトリックスの効果的な除去と試験溶液の希釈率が100倍(0.01 mg sample/g)と高いことにより、色素が多いハウレンソウ、脂質やタンパク質が多いギョウザ、脂質やスパイスなどを多量に含むカレーといった食品に

おいても、マトリックス効果が低減されたと考えられる。

2.4 選択性

内部標準を添加したブランク試料の試験溶液のクロマトグラムにより、選択性を評価した。図5~46に、測定対象成分の42成分の定量イオンについて、成分ごとにハウレンソウ、ギョウザ、カレーのクロマトグラムを示した(上段:ブランク試料、中段:添加回収、下段:溶媒標準溶液)。

ニコチンのブランク試料のクロマトグラムにおいて、保持時間付近に夾雑ピークが見られたが(図5)、他の成分のクロマトグラムにおいては、保持時間付近の夾雑ピークの強度が溶媒標準溶液に比べて1/100以下となっており、選択性は高かった。

また、溶媒標準溶液と添加回収のクロマトグラムにおいて、複数回の測定において保持時間の変動はなく、かつ両者の保持時間の違いは1%以内と良好な結果となった。

以上により、本分析法は食中毒の病因物質を誤りなく同定する定性能力に優れた方法であると考えられる。

3. キノコの添加回収試験

3.1 真度

コリンを除くキノコの毒成分11成分について、1 µg/gの添加濃度で、シイタケ、グラタン及びスキヤキの3種の食品を対象に添加回収試験を実施した。その結果を図47に示した。

真度は、ムスカリンとイルジンSで69~107%と良好な結果となったが、0.5%ギ酸とアセトニトリルを移動相として使用するHILIC-A群の8成分と、ジロミトリ

ンは真度が 0~83%となり、多くの成分と食品の組み合わせで真度が 70%に達しなかった。

この原因を検証するため、精製カートリッジの回収率が不良であったアガリチンと夾雑ピークの影響で定量が困難であったジロミトリンを除く 7 成分について、シイタケ、グラタン及びスキヤキの各食品の前処理フローにおいて、抽出前、精製前及び測定前の各段階で添加回収試験を実施した。その結果、測定前添加、すなわちマトリックス標準溶液において、全ての成分でピーク強度の低下が見られた（図 48）。このことから、試料マトリックスの測定への影響が回収率低下の原因であることが示唆された。また、グラタンのアシルグリシンとプロパルギルグリシンにおいては、測定前添加、精製前添加、抽出前添加と前処理操作フローを遡るに従い、回収率の低下が見られたことから、抽出、精製の各段階でも成分の損失もあることが分かった。

3.2 選択性

HILIC-A 群の成分のうち、イボテン酸は添加回収試験におけるクロマトグラムで夾雑ピークが近接しており、特にグラタンやスキヤキでは正確な定量値を得ることが困難であった（図 49）。

また、同じく HILIC-A 群のムシモールは、添加回収試験のクロマトグラムで試料マトリックスの影響により保持時間が大きくなる現象が見られた（図 50）。他、アシルグリシンやプロパルギルグリシンでは直前に移動相にギ酸アンモニウムを使用した後に、0.5%ギ酸による平衡化を十

分に行わずに分析した場合に、保持時間が変動する現象が見られた。コアシェル型の HILIC カラムにより、ギ酸アンモニウムの代わりにギ酸を用いて、イボテン酸やムシモールなどギ酸アンモニウムによりイオン化抑制を強く受ける高極性成分を、迅速に高感度分析するというアプローチは、理にかなった魅力的なものであると考えられたが、食品由来の試料マトリックスの影響を回避することは困難であった。従って、毒キノコの分析法は分離条件から再検討が必要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(2), 71-77, 2019

2. 学会発表

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

F. 知的財産権の出願・登録状況

特になし

表 1. 高等植物の毒成分の SRM トランジション及び内部標準の割り当て
(保持時間順)

No.	和名	英名	CAS No.	標準溶液	(min)	(+/-)	イオン	Q1	Q3	内部標準
1	ニコチン	Nicotine	54-11-5	A	2.2	+	[M+H] ⁺	163.2 163.2	132.0 106.0	レセルピン-d9
2	サンギニン	Sanguinine	60755-80-8	A	2.6	+	[M+H] ⁺	274.2 274.2	199.2 184.1	カフェイン-d9
3	アナバシン	Anabasine	494-52-0	A	2.8	+	[M+H] ⁺	163.2 163.2	134.2 146.0	レセルピン-d9
4	リナマリ	Linamarin	554-35-8	A	2.9	+	[M+NH ₄] ⁺	265.1 265.1	180.0 163.1	カフェイン-d9
5	ギンコトキシ	Ginkgotoxin	1464-33-1	A	3.0	+	[M+H] ⁺	184.0 184.0	152.0 134.1	カフェイン-d9
6	リコリン	Lycorine	476-28-8	A	3.2	+	[M+H] ⁺	288.1 288.1	147.0 119.2	カフェイン-d9
7	ガラタミン	Galantamine	357-70-0	A	4.9	+	[M+H] ⁺	288.3 288.3	213.2 198.1	カフェイン-d9
8	リコラミン	Lycoramine	21133-52-8	A	5.0	+	[M+H] ⁺	290.2 290.2	233.1 215.1	カフェイン-d9
9	コニイ	Coniine	458-88-8	A	5.2	+	[M+H] ⁺	128.2 128.2	69.1 55.0	カフェイン-d9
10	フェブリフジン	Febrifugine	24159-07-7	A	5.5	+	[M+H] ⁺	302.1 302.1	100.1 120.1	カフェイン-d9
11	スコポラミン	Scopolamine	114-49-8	A	5.7	+	[M+H] ⁺	304.0 304.0	138.0 156.0	カフェイン-d9
12	アミグダリン	Amygdalin	29883-15-6	A	5.9	+	[M+NH ₄] ⁺	475.1 475.1	325.0 163.3	カフェイン-d9
13	ゲルセミン	Gelsemine	509-15-9	A	5.8	+	[M+H] ⁺	323.2 323.2	70.1 236.2	カフェイン-d9
14	アニサチン	Anisatin	5230-87-5	B	6.2	-	[M-H] ⁻	327.1 327.1	126.9 83.0	レセルピン-d9
15	ツチン*	Tutin	2571-22-4	B	6.2	-	[M+HCOO] ⁻	339.0 339.0	152.8 138.8	-
16	プルナシン	Prunacin	99-18-3	A	6.3	+	[M+NH ₄] ⁺	313.1 313.1	163.2 145.2	カフェイン-d9
17	アトロピン	Atropine	13269-35-7	A	6.3	+	[M+H] ⁺	290.2 290.2	124.2 93.0	カフェイン-d9
18	グラヤノトキシ I	Grayanotoxin I	4720-09-6	B	6.5	+	[M+NH ₄] ⁺	430.2 430.2	299.0 376.9	カフェイン-d9
19	センキルキン	Senkirkine	2318-18-5	B	6.7	+	[M+H] ⁺	366.2 366.2	168.3 94.0	カフェイン-d9
20	エキミジン	Echimidine	520-68-3	B	6.7	+	[M+H] ⁺	398.3 398.3	120.2 220.2	カフェイン-d9
21	デメコルシン	Demecolcine	477-30-5	A	6.8	+	[M+H] ⁺	372.2 372.2	340.1 310.1	カフェイン-d9
22	ヘレ布林	Hellebrine	13289-18-4	A	7.5	+	[M+NH ₄] ⁺	742.4 742.4	417.3 563.4	カフェイン-d9
23	コンバラトキシ	Convallatoxin	508-75-8	A	7.5	-	[M+HCOO] ⁻	595.3 595.3	549.1 385.3	レセルピン-d9
24	ストロファンチジン	Strophanthidine	66-28-4	A	7.8	+	[M+NH ₄] ⁺	422.3 422.3	341.2 323.2	カフェイン-d9
25	α-ソラニン	α-Solanine	20562-02-1	A	7.8	+	[M+H] ⁺	868.5 868.5	398.4 722.5	カフェイン-d9
26	α-チャコニン	α-Chaconine	20562-03-2	A	7.8	+	[M+H] ⁺	852.5 852.5	706.4 398.4	カフェイン-d9
27	コルヒチン	Colchicine	64-86-8	A	7.9	+	[M+H] ⁺	400.2 400.2	358.2 310.0	カフェイン-d9
28	ジェルピン	Jervine	469-59-0	B	7.8	+	[M+H] ⁺	426.2 426.2	67.1 313.2	カフェイン-d9
29	ベラトラミン	Veratramine	60-70-8	B	8.0	+	[M+H] ⁺	410.3 410.3	295.1 84.1	カフェイン-d9
30	プロトベラトリンB	Protoveratrine B	124-97-0	B	8.1	+	[M+H] ⁺	810.4 810.4	792.2 658.4	カフェイン-d9

*標準品が入手できなかったため、添加回収試験を実施することができなかった。

上段：定量トランジション
下段：確認トランジション

表 1. つづき

No.	和名	英名	CAS No.	混合標準溶液	保持時間 (min)	ESI (+/-)	プリカーサーイオン	Q1	Q3	内部標準
31	ジゴキシン	Digoxin	20830-75-5	A	8.5	+	[M+NH ₄] ⁺	798.6 798.6	97.1 651.2	ジゴキシン-d3
32	メサコニチン	Mesaconitine	2752-64-9	B	8.5	+	[M+H] ⁺	632.2 632.2	572.4 354.2	カフェイン-d9
33	シマリン	Cymarine	508-77-0	A	8.7	+	[M+NH ₄] ⁺	566.3 566.3	405.2 517.3	カフェイン-d9
34	プロトベラトリンA	Protoveratrine A	143-57-7	B	8.7	+	[M+H] ⁺	794.5 794.5	776.5 658.4	カフェイン-d9
35	アコニチン	Aconitine	302-27-2	B	8.9	+	[M+H] ⁺	646.2 646.2	586.4 526.3	カフェイン-d9
36	ヒバコニチン	Hypaconitine	6900-87-4	B	8.9	+	[M+H] ⁺	616.3 616.3	556.1 524.2	カフェイン-d9
37	ジェサコニチン*	Jesaconitine	16298-90-1	B	9.0	+	[M+H] ⁺	676.3 676.3	616.2 134.9	-
38	アリストロキア酸 II	Aristrochic acid II	475-80-9	A	10.2	+	[M+NH ₄] ⁺	329.2 329.2	268.0 294.0	カフェイン-d9
39	オレアンドリン	Oleandrine	465-16-7	A	10.3	+	[M+NH ₄] ⁺	594.4 594.4	577.6 433.3	カフェイン-d9
40	ジギトキシン	Digitoxin	71-63-6	A	10.3	+	[M+NH ₄] ⁺	782.3 782.3	96.9 635.3	ジゴキシン-d3
41	ククルピタシン B	Cucurbitacin B	6199-67-3	B	10.4	+	[M+NH ₄] ⁺	576.3 576.3	499.2 481.3	カフェイン-d9
42	アリストロキア酸 I	Aristrochic acid I	313-67-7	A	10.5	+	[M+NH ₄] ⁺	359.0 359.0	296.0 323.9	カフェイン-d9
43	ジオスゲニン	Diosgenin	512-04-9	A	11.5	+	[M+H] ⁺	415.3 415.3	271.3 253.1	レセルピン-d9
44	ジオスシン	Dioscin	19057-60-4	A	11.5	+	[M+NH ₄] ⁺	886.5 886.5	415.4 397.3	レセルピン-d9

*標準品が入手できなかったため、添加回収試験を実施することができなかった。

上段：定量トランジション
下段：確認トランジション

表 2. 高等植物の内部標準の SRM トランジション条件

No.	和名	英名	CAS No.	保持時間 (min)	ESI (+/-)	プリカーサーイオン	Q1	Q3	DP (V)	CE (V)	CXP (V)
IS1	カフェイン-d ₉	Caffeine-d ₉	シリンジスパイク	5.8	+	[M+H] ⁺	204.2	144.2	76	31	24
IS2	レセルピン-d ₉	Reserpine-d ₉	シリンジスパイク	9.2	-	[M-H] ⁻	618.4	174.1	176	59	30
IS3	ジゴキシン-d ₃	Digoxin-d ₃	サロゲート	11.5	+	[M+NH ₄] ⁺	616.4	598.3	-135	-38	-13
							801.5	97.0	71	57	14

表 3. キノコの毒成分の SRM トランジション

No.	和名	英名	保持時間 (min)	ESI (+/-)	プリカーサー イオン	Q1	Q3
1	イルジンS	Illudin S	8.1	+	[M+H] ⁺	265.0 265.0	247.0 217.0
HILIC-A							
1	ムシモール	Muscimol	5.9	+	[M+H] ⁺	115.0 115.0	98.0 68.0
2	ファロイジン	Phalloidin	7.5	+	[M+H] ⁺	789.3 789.3	753.3 86.0
3	アリルグリシン	L-Allylglycine	7.3	+	[M+H] ⁺	116.0 116.0	70.0 74.0
4	プロパルギルグリシン	L-Propargylglycine	8.0	+	[M+H] ⁺	114.0 114.0	68.0 74.0
5	α-アマニチン	α-Amanitin	8.8	+	[M+H] ⁺	919.4 919.4	86.0 259.0
6	アガリチン	Agaritin	9.0	+	[M+H] ⁺	268.0 268.0	250.0 121.0
7	β-アマニチン	β-Amanitin	9.6	+	[M+H] ⁺	920.3 920.3	86.0 259.0
8	イボテン酸	L-Ibotenic acid	9.8	+	[M+H] ⁺	159.0 159.0	113.0 115.0
HILIC-B							
1	ジロミトリン	Gyromitrin	0.9	+	[M+H] ⁺	101.0 101.0	73.0 42.0
2	ムスカリン	Muscarin	3.5	+	M ⁺	174.0 174.0	57.0 43.0
3	コリン	Cholin	4.8	+	M ⁺	104.0 104.0	60.0 58.0

上段：定量トランジション

下段：確認トランジション

カラム	Raptor C18, 2.1 × 150 mm, 2.7 mm		
移動相	(A) 5 mMギ酸アンモニウム (pH 3) (B) アセトニトリル		
グラジエント	Time/min	A (%)	B (%)
	0	98	2
	11	10	90
	12	10	90
	12.1	98	2
	20	98	2
流速	0.3 mL/min		
カラム温度	40°C		
注入量	5 μL		
イオンソース	Parameter \ Porarity	ESI(+)	ESI(-)
	Curtain gas (psi)	20	20
	Collision gas (psi)	7	7
	Ion Spray Voltage (V)	5000	-4500
	Temperature (°C)	300	300
	Ion Source Gas1 (psi)	60	60
	Ion Source Gas2 (psi)	60	60

* SCIEX社製 Turbo-Vソースの設定例

図 1. 高等植物の毒成分一斉試験の機器分析条件

カラム	Raptor C18, 2.1 × 150 mm, 2.7 mm																		
移動相	(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
Time/min	A (%)	B (%)																	
0	98	2																	
11	10	90																	
12	10	90																	
12.1	98	2																	
20	98	2																	
流速	0.3 mL/min																		
カラム温度	40°C																		
注入量	5 μL																		
イオンソース	<table border="1"> <thead> <tr> <th>Parameter \ Porarity</th> <th>ESI(+)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Curtain gas (psi)</td> <td>20</td> </tr> <tr> <td>Collision gas (psi)</td> <td>7</td> </tr> <tr> <td>Ion Spray Voltage (V)</td> <td>5000</td> </tr> <tr> <td>Temperature (°C)</td> <td>300</td> </tr> <tr> <td>Ion Source Gas1 (psi)</td> <td>60</td> </tr> <tr> <td>Ion Source Gas2 (psi)</td> <td>60</td> </tr> </tbody> </table>	Parameter \ Porarity	ESI(+)	Curtain gas (psi)	20	Collision gas (psi)	7	Ion Spray Voltage (V)	5000	Temperature (°C)	300	Ion Source Gas1 (psi)	60	Ion Source Gas2 (psi)	60				
Parameter \ Porarity	ESI(+)																		
Curtain gas (psi)	20																		
Collision gas (psi)	7																		
Ion Spray Voltage (V)	5000																		
Temperature (°C)	300																		
Ion Source Gas1 (psi)	60																		
Ion Source Gas2 (psi)	60																		

* SCIEX社製 Turbo-Vソースの設定例

図 2. イルジン S の機器分析条件

カラム	InfinityLab Poroshell 120, HILIC-Z, P 2.1 × 100 mm, 2.7 mm		
移動相	(A) 0.5%ギ酸 (B) アセトニトリル		
グラジエント	Time/min	A (%)	B (%)
	0	0	100
	10	40	60
	12	40	60
	12.1	0	100
	20	0	100
流速	0.3 mL/min		
カラム温度	40°C		
注入量	5 μL		
イオンソース	Parameter \ Porarity	ESI(+)	
	Curtain gas (psi)	20	
	Collision gas (psi)	7	
	Ion Spray Voltage (V)	5000	
	Temperature (°C)	300	
	Ion Source Gas1 (psi)	60	
	Ion Source Gas2 (psi)	60	

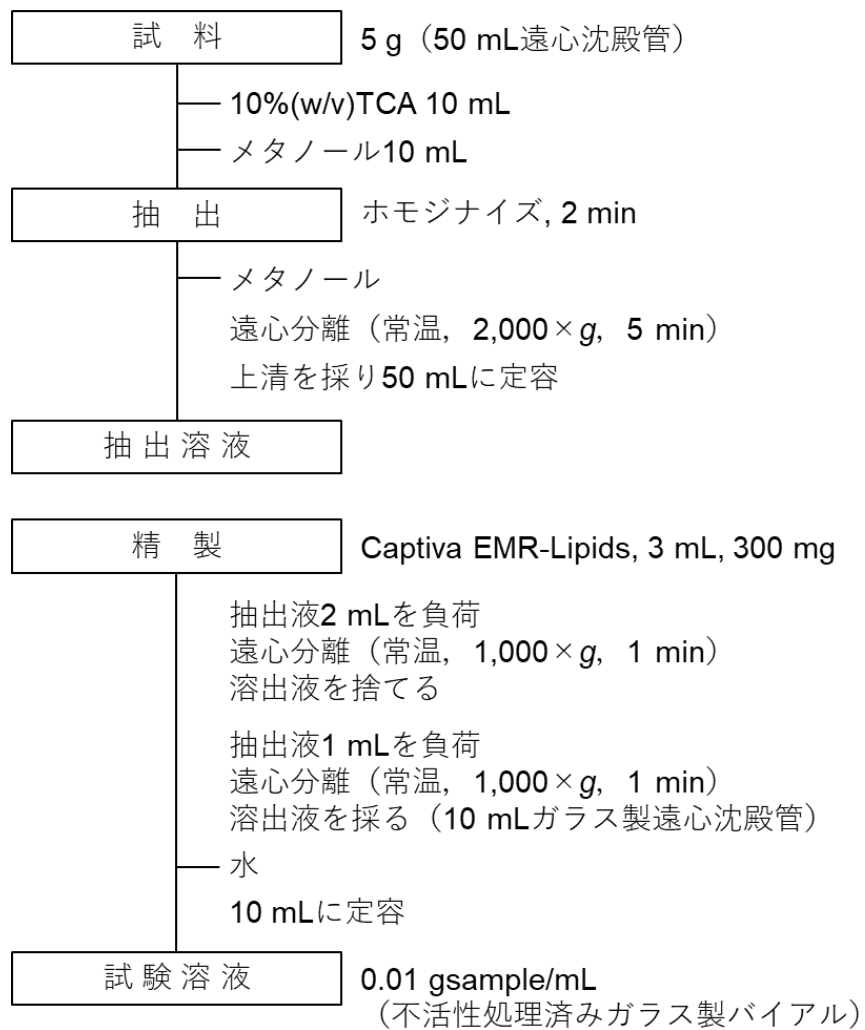
* SCIEX社製 Turbo-Vソースの設定例

図 3. 毒キノコ 8 成分 (HILIC-A 群) の機器分析条件

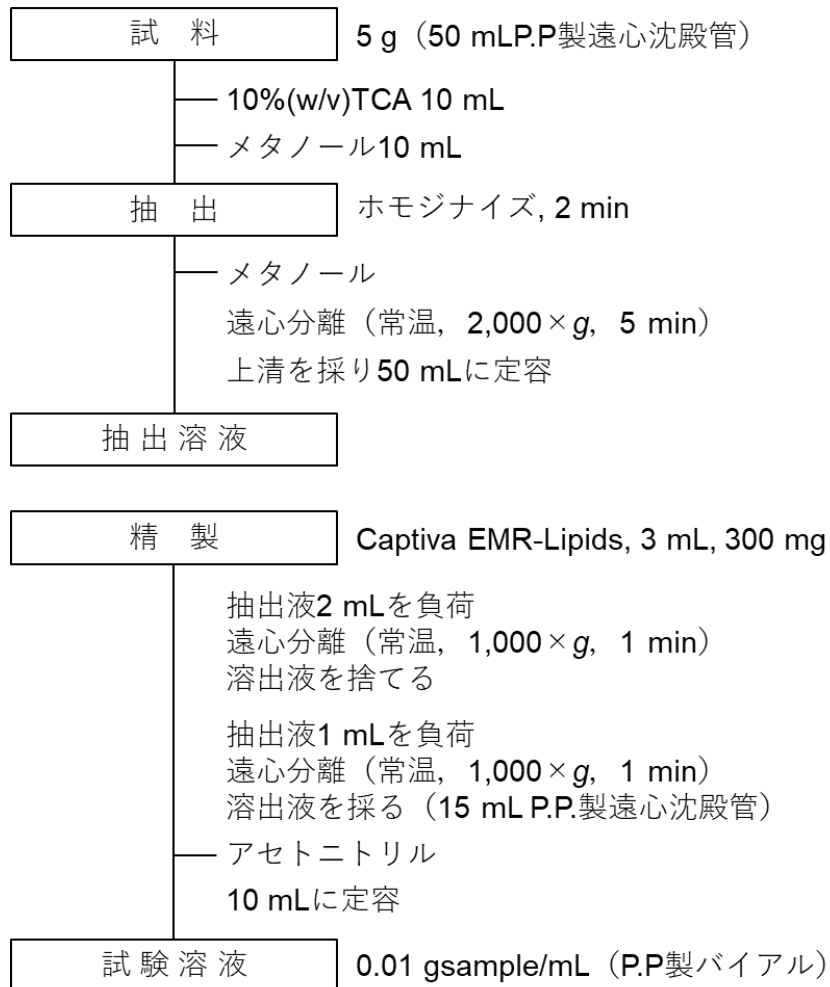
カラム	InfinityLab Poroshell 120, HILIC-Z, P 2.1 × 100 mm, 2.7 mm		
移動相	(A) 20 mMギ酸アンモニウム (pH 3) (B) アセトニトリル		
グラジエント	Time/min	A (%)	B (%)
	0	5	95
	10	40	60
	12	40	60
	12.1	5	95
	20	5	95
流速	0.3 mL/min		
カラム温度	40°C		
注入量	5 μL		
イオンソース	Parameter \ Porarity	ESI(+)	
	Curtain gas (psi)	20	
	Collision gas (psi)	7	
	Ion Spray Voltage (V)	5000	
	Temperature (°C)	300	
	Ion Source Gas1 (psi)	60	
	Ion Source Gas2 (psi)	60	

* SCIEX社製 Turbo-Vソースの設定例

図 4. 毒キノコ 3 成分 (HILIC-B 群) の機器分析条件



Scheme 1. 高等植物及びビルジン S の毒成分一斉試験の前処理操作フロー



Scheme 2. キノコ (イルジン S を除く) の毒成分一斉試験の前処理操作フロー

表 4. 高等植物の毒成分の添加回収試験の結果

No.	和名	英名	真度 (n=5, 併行)					
			ホウレンソウ		ギョウザ		カレー	
			平均(%)	RSD(%)	平均(%)	RSD(%)	平均(%)	RSD(%)
1	ニコチン	Nicotine	108	5	98	5	107	13
2	サンギニン	Sanguinine	96	8	85	3	95	10
3	アナバシン	Anabasine	101	4	85	8	93	14
4	リナマリン	Linamarin	102	16	85	13	88	11
5	ギンコトキシソ	Ginkgotoxin	107	10	92	5	98	10
6	リコリン	Lycorine	99	10	91	4	93	10
7	ガラタミン	Galantamine	99	12	85	5	90	11
8	リコラミン	Lycoramine	103	10	89	6	93	10
9	コニイソ	Coniine	100	8	92	5	96	9
10	フェブリフジソ	Febrifugine	112	10	92	4	105	11
11	スコポラミン	Scopolamine	101	9	89	4	98	10
12	アミグダリン	Amygdalin	103	13	103	4	87	17
13	ゲルセミン	Gelsemine	96	12	85	5	98	10
14	アニサチソ	Anisatin	101	4	86	9	94	7
15	ツチソ*	Tutin	-	-	-	-	-	-
16	プルナチソ	Prunacin	107	13	90	11	86	14
17	アトロピン	Atropine	113	8	87	2	99	10
18	グラヤノトキシソ I	Grayanotoxin I	83	21	78	10	80	15
19	センキルクイソ	Senkirkine	97	14	93	4	97	7
20	エキミジソ	Echimidine	119	12	92	3	97	9
21	デメコルチソ	Demecolcine	112	14	85	8	86	14
22	ヘレブリソ	Hellebrine	90	11	84	8	90	15

*標準品が入手できなかったため、添加回収試験を実施することができなかった。

表 4. つづき

No.	和名	英名	真度 (n=5, 併行)					
			ホウレンソウ		ギョウザ		カレー	
			平均(%)	RSD(%)	平均(%)	RSD(%)	平均(%)	RSD(%)
23	コンバラトキシシ	Convallatoxin	92	7	81	5	90	8
24	ストロファンチジン	Strophanthidine	114	6	94	5	108	15
25	α-ソラニン	α-Solanine	97	9	83	8	92	10
26	α-チャコニン	α-Chaconine	95	8	87	6	91	13
27	コルヒチン	Colchicine	111	10	96	6	92	18
28	ジェルピン	Jervine	101	14	81	7	89	11
29	ベラトラミン	Veratramine	91	8	82	4	91	11
30	プロトベラトリンB	Protoveratrine B	103	13	80	3	91	10
31	ジゴキシシ	Digoxin	112	10	101	10	116	11
32	メサコニチン	Mesaconitine	109	8	87	8	94	9
33	シマリン	Cymarine	75	11	81	14	79	16
34	プロトベラトリンA	Protoveratrine A	100	12	78	5	88	10
35	アコニチン	Aconitine	104	13	85	4	90	14
36	ヒパコニチン	Hypaconitine	104	10	85	5	88	18
37	ジェサコニチン*	Jesaconitine	—	—	—	—	—	—
38	アリストロキア酸II	Aristrochic acid II	89	7	82	9	92	7
39	オレアンドリン	Oleandrine	92	12	83	5	86	11
40	ジギトキシシ	Digitoxin	157	14	120	13	137	7
41	ククルビタシンB	Cucurbitacin B	85	10	83	3	89	9
42	アリストロキア酸I	Aristrochic acid I	89	12	81	2	80	6
43	ジオスゲニン	Diosgenin	120	28	135	20	162	27
44	ジオスシン	Dioscin	128	25	148	15	157	22

*標準品が入手できなかったため、添加回収試験nを実施することができなかった。

表 5. 高等植物の試料マトリックスの影響の測定結果

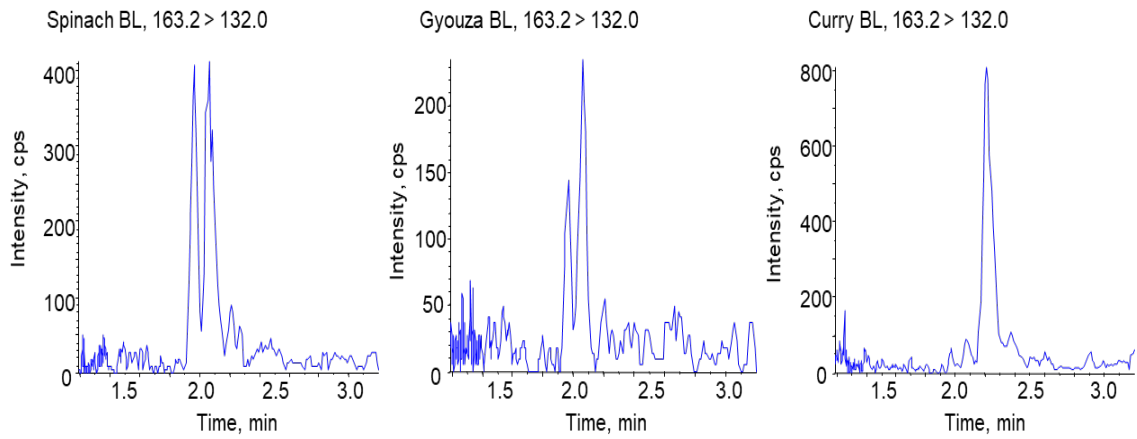
No.	和名	英名	マトリックスの影響 (n=2, 併行)		
			ホウレンソウ マトリックス標準	ギョウザ 溶媒標準	カレー 面積比 (%)
1	ニコチン	Nicotine	128	138	117
2	サンギニン	Sanguinine	99	103	103
3	アナバシン	Anabasine	111	111	90
4	リナマリン	Linamarin	110	108	105
5	ギンコトキシシ	Ginkgotoxin	106	107	99
6	リコリン	Lycorine	106	102	100
7	ガラントアミン	Galantamine	103	98	98
8	リコラミン	Lycoramine	103	101	99
9	コニイン	Coniine	96	101	101
10	フェブリフジン	Febrifugine	111	106	107
11	スコポラミン	Scopolamine	107	94	99
12	アミグダリン	Amygdalin	119	107	91
13	ゲルセミン	Gelsemine	103	99	99
14	アニサチン	Anisatin	108	105	101
15	ツチン*	Tutin	-	-	-
16	プルナシン	Prunacin	110	104	127
17	アトロピン	Atropine	104	103	98
18	グラヤノトキシシ I	Grayanotoxin I	94	98	90
19	センキルキン	Senkirkine	105	101	97
20	エキミジン	Echimidine	114	111	96
21	デメコルシン	Demecolcine	104	108	81
22	ヘレブリン	Hellebrine	103	94	107

*標準品が入手できなかったため、添加回収試験を実施することができなかった。

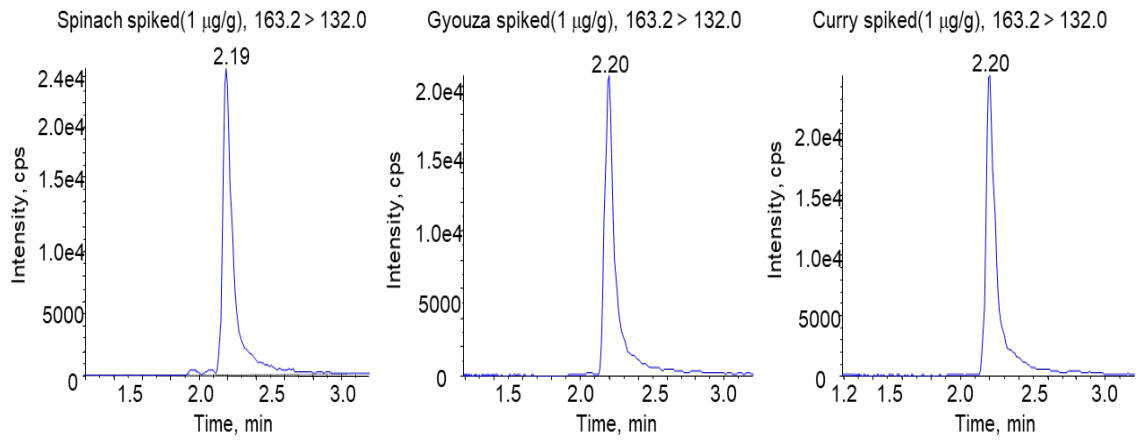
表 5. つづき

No.	和名	英名	マトリックスの影響 (n=2, 併行)		
			ホウレンソウ マトリックス標準	ギョウザ 溶媒標準	カレー 面積比 (%)
23	コンバラトキシシ	Convallatoxin	94	99	100
24	ストロファンチジン	Strophanthidine	92	100	97
25	α -ソラニン	α -Solanine	109	97	100
26	α -チャコニン	α -Chaconine	90	100	99
27	コルヒチン	Colchicine	101	97	103
28	ジェルビン	Jervine	93	99	95
29	ベラトラミン	Veratramine	85	86	96
30	プロトベラトリンB	Protoveratrine B	109	94	95
31	ジゴキシシ	Digoxin	81	95	82
32	メサコニチン	Mesaconitine	98	87	94
33	シマリン	Cymarine	91	91	92
34	プロトベラトリンA	Protoveratrine A	101	92	101
35	アコニチン	Aconitine	115	86	97
36	ヒパコニチン	Hypaconitine	105	93	94
37	ジェサコニチン*	Jesaconitine	-	-	-
38	アリストロキア酸II	Aristrochic acid II	98	93	96
39	オレアンドリン	Oleandrine	84	92	102
40	ジギトキシシ	Digitoxin	105	88	95
41	ククルビタシンB	Cucurbitacin B	98	94	95
42	アリストロキア酸I	Aristrochic acid I	93	92	87
43	ジオスゲニン	Diosgenin	148	138	147
44	ジオスシシ	Dioscin	148	137	137

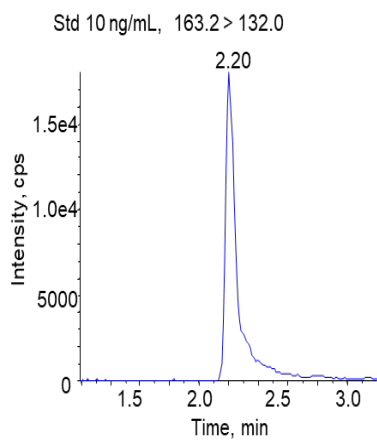
*標準品が入手できなかったため、添加回収試験nを実施することができなかった。



ブランク試料

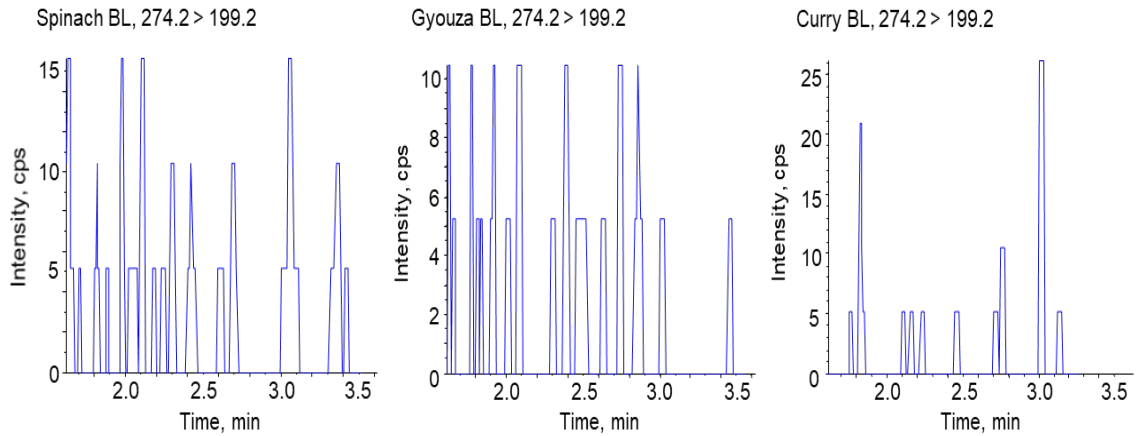


添加回収 (添加濃度 1 $\mu\text{g/g}$)

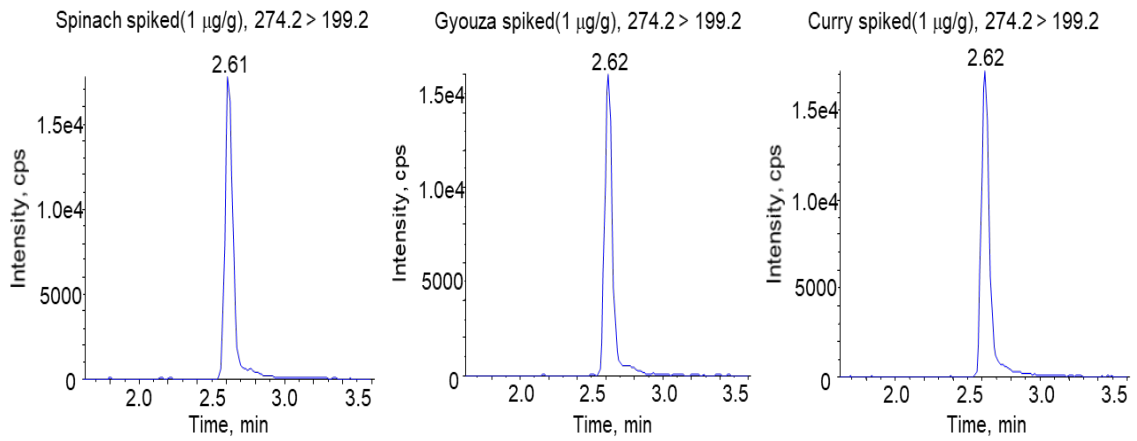


標準溶液 10 ng/mL

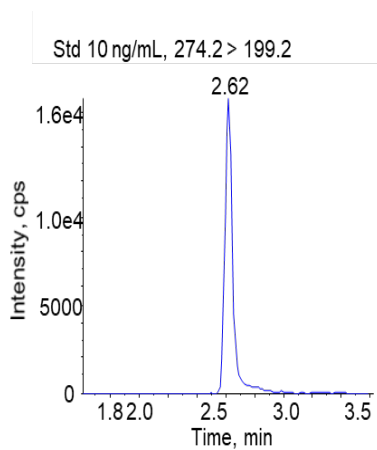
図 5. ニコチンの LC-MS/MS クロマトグラム
SRM トランジション 定量 m/z 163.2 > 132.0



ブランク試料

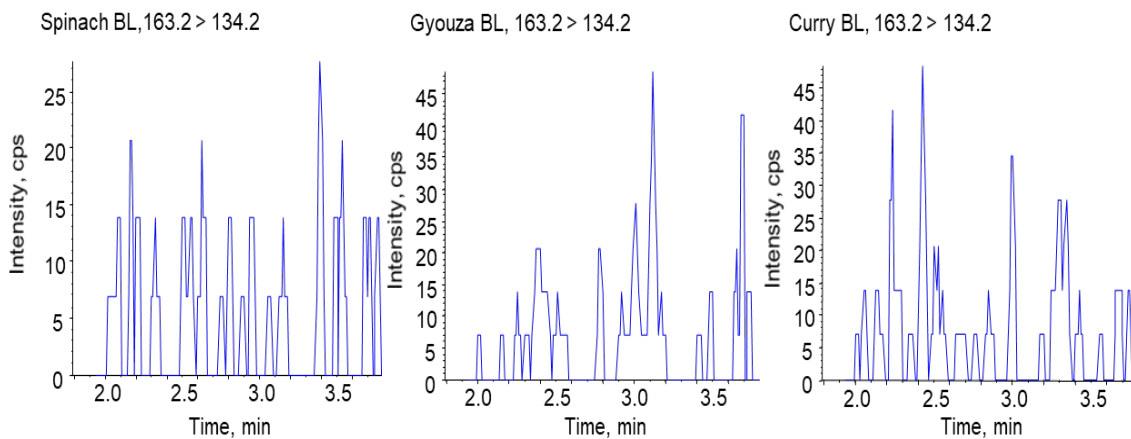


添加回収 (添加濃度 1 µg/g)

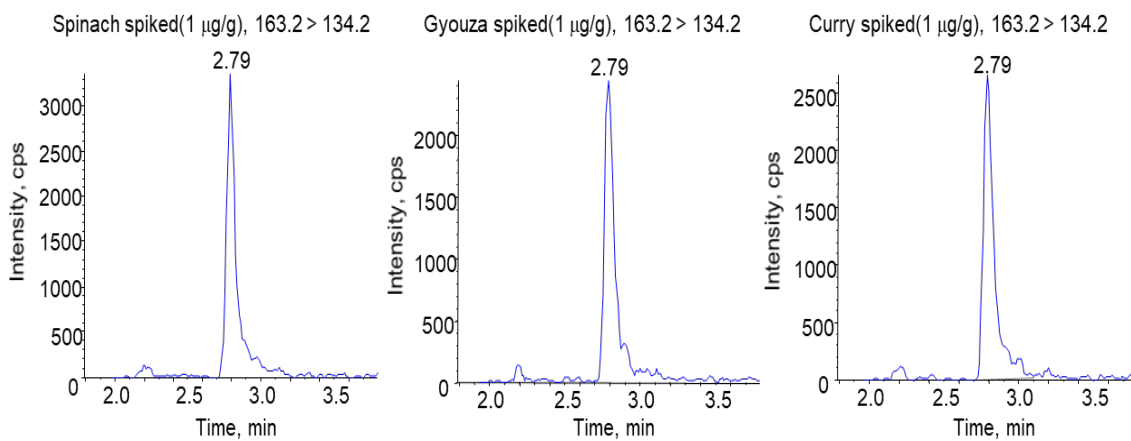


標準溶液 10 ng/mL

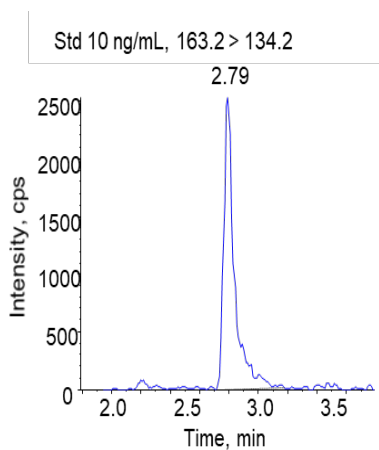
図 6. サングニンの LC-MS/MS クロマトグラム
SRM トランジション 定量 m/z 274.2 > 199.2



ブランク試料

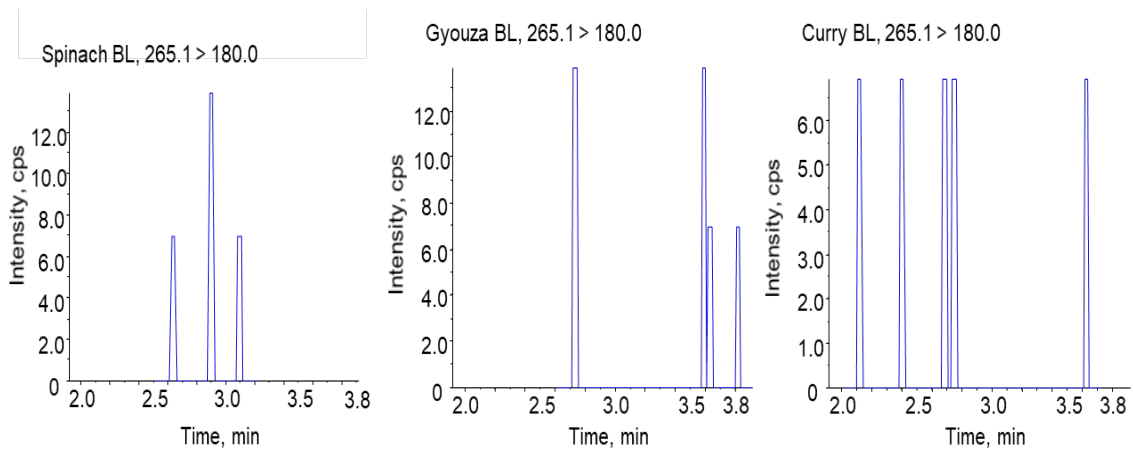


添加回収 (添加濃度 1 µg/g)

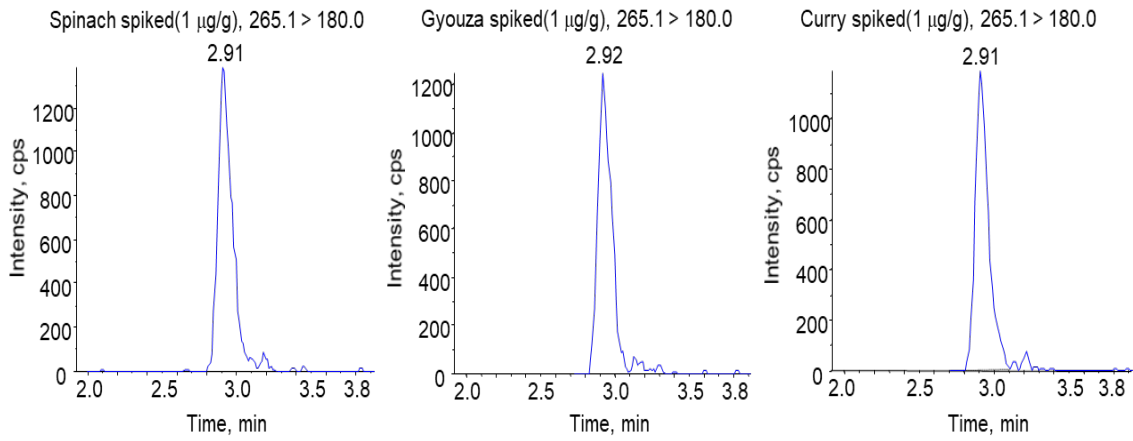


標準溶液 10 ng/mL

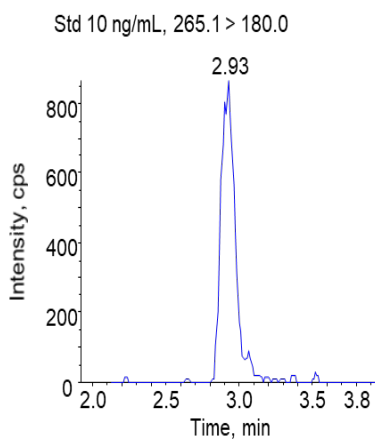
図 7. アナバシンの LC-MS/MS クロマトグラム
SRM トランジション 定量 m/z 163.2 > 134.2



ブランク試料

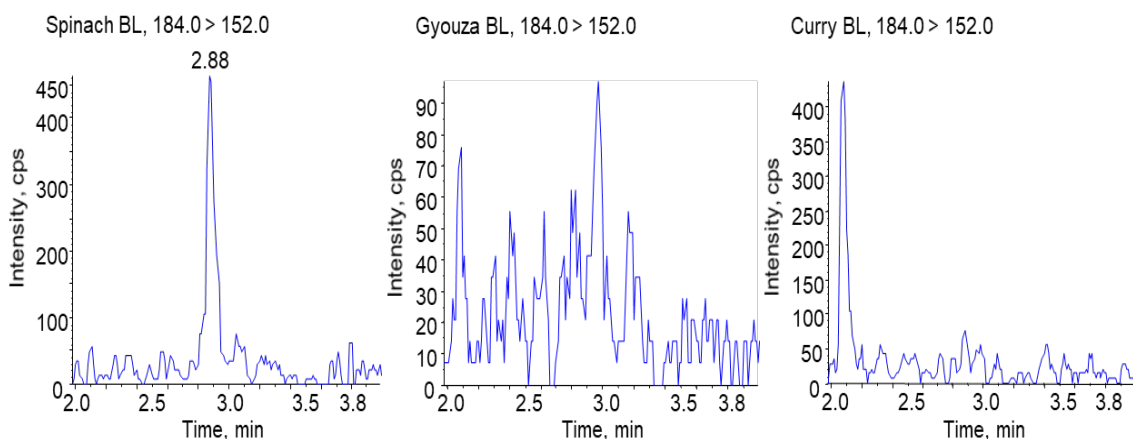


添加回収 (添加濃度 1 $\mu\text{g/g}$)

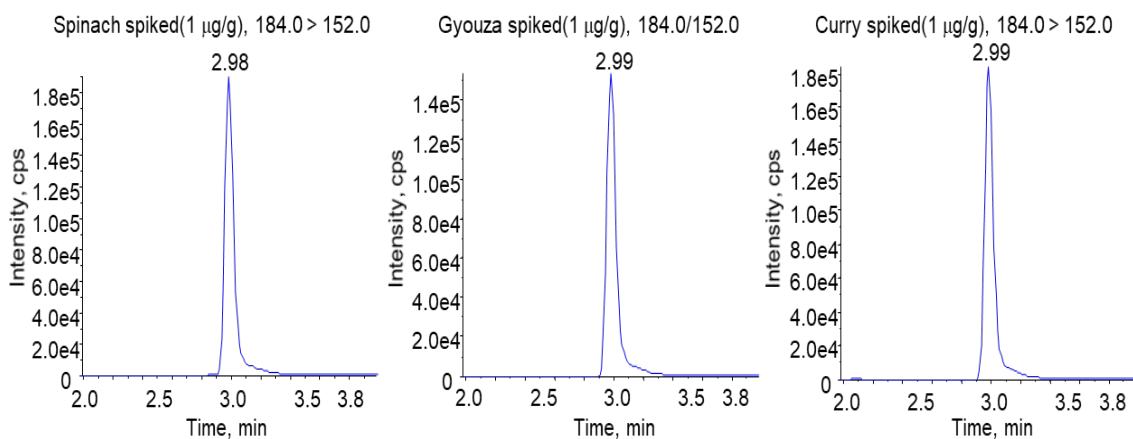


標準溶液 10 ng/mL

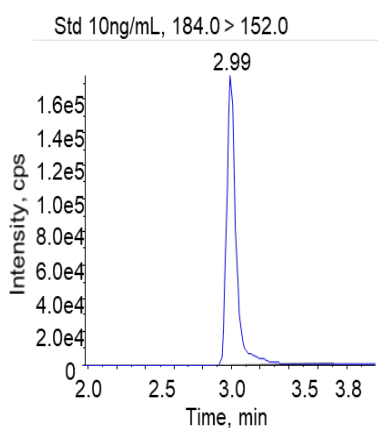
図 8. リナマリンの LC-MS/MS クロマトグラム
SRM トランジション 定量 m/z 265.1 > 180.0



ブランク試料

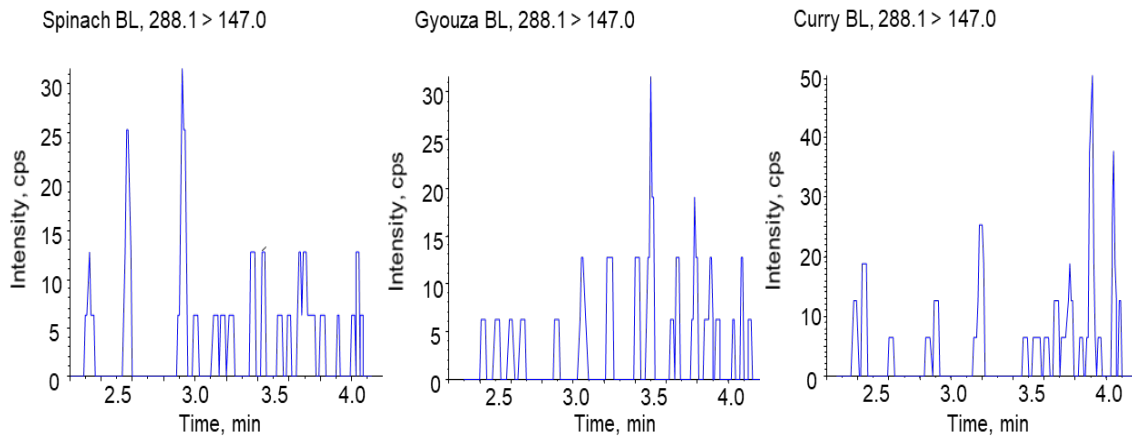


添加回収 (添加濃度 1 µg/g)

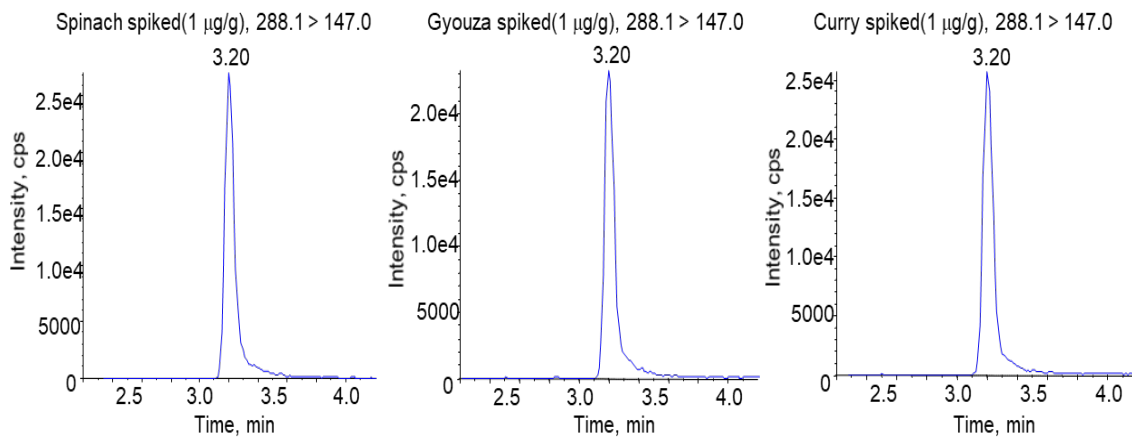


標準溶液 10 ng/mL

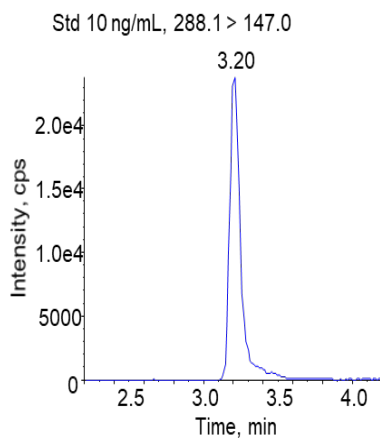
図 9. ギンコトキシンの LC-MS/MS クロマトグラム
SRM トランジション 定量 m/z 184.0 > 152.0



ブランク試料

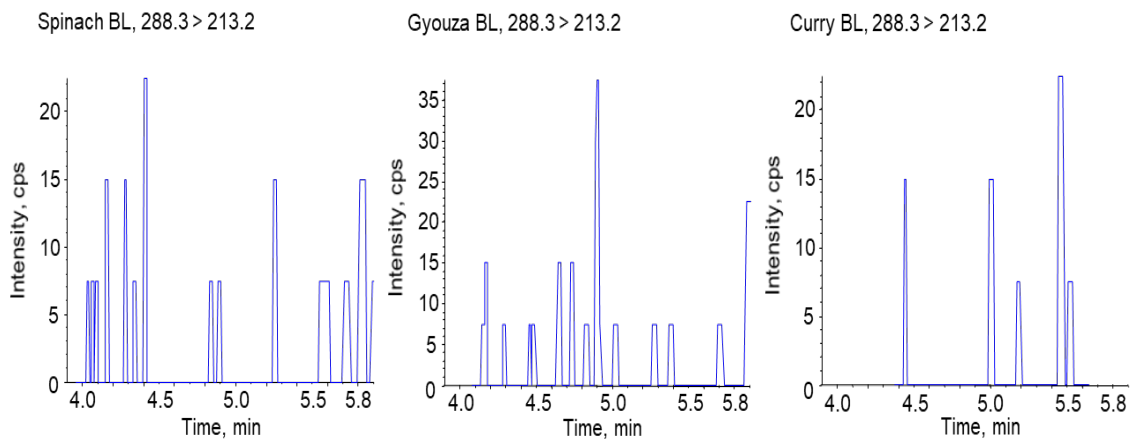


添加回収 (添加濃度 1 µg/g)

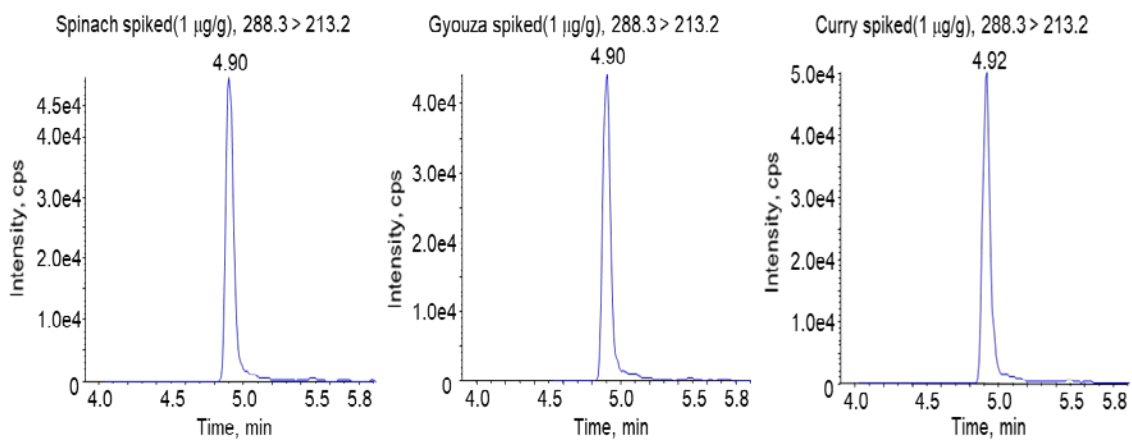


標準溶液 10 ng/mL

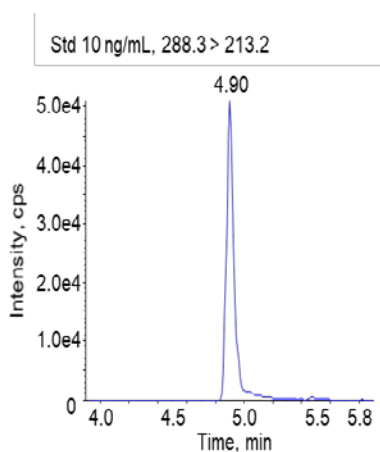
図 10. リコリンの LC-MS/MS クロマトグラム
SRM トランジション 定量 m/z 288.1 > 147.0



ブランク試料

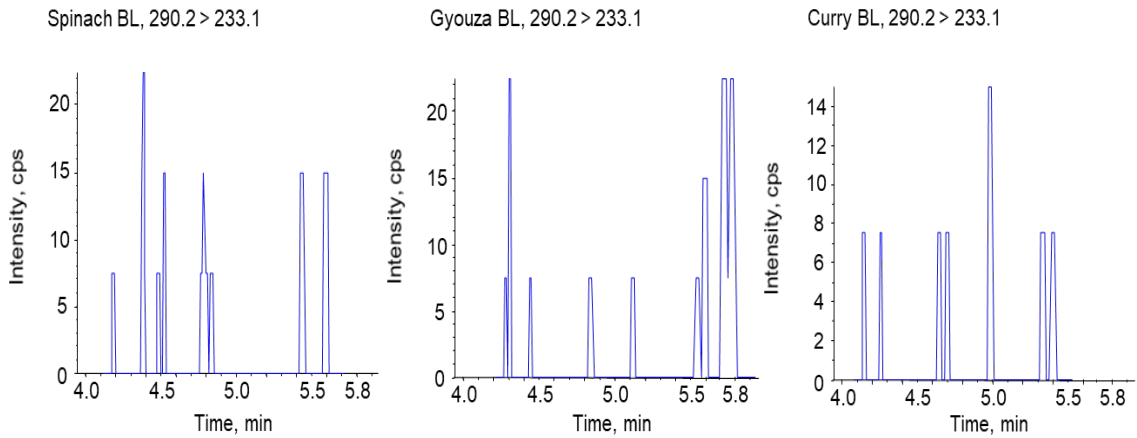


添加回収 (添加濃度 1 µg/g)

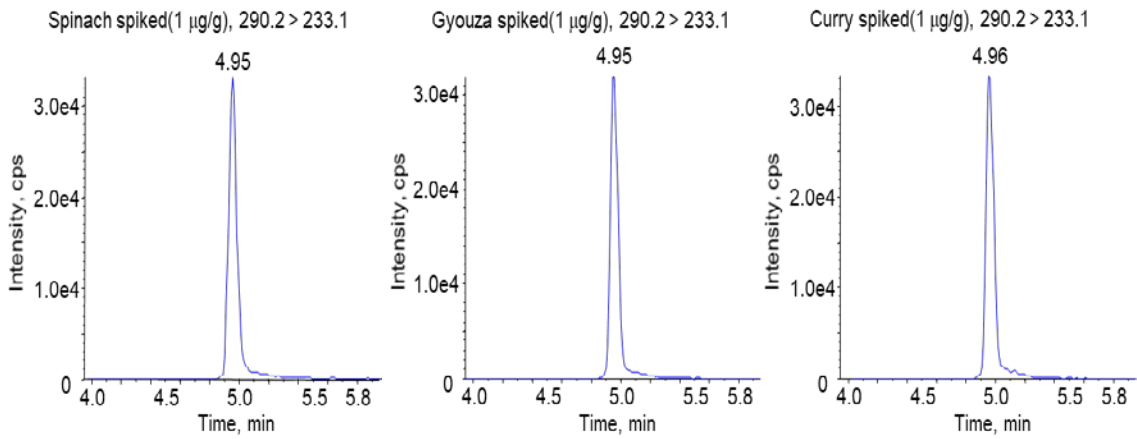


標準溶液 10 ng/mL

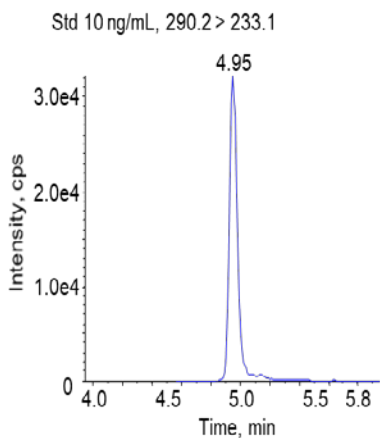
図 11. ガランタミンの LC-MS/MS クロマトグラム
SRM トランジション 定量 m/z 288.3 > 213.2



ブランク試料

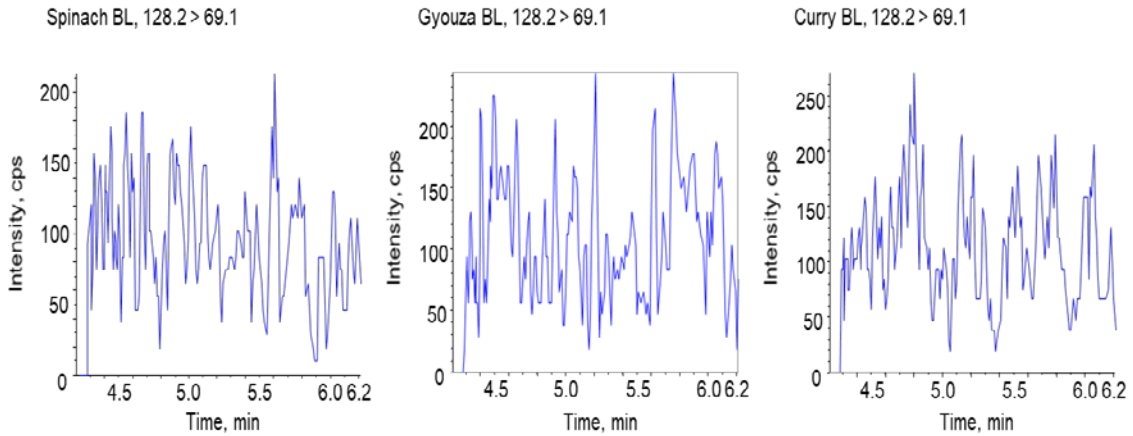


添加回収 (添加濃度 1 µg/g)

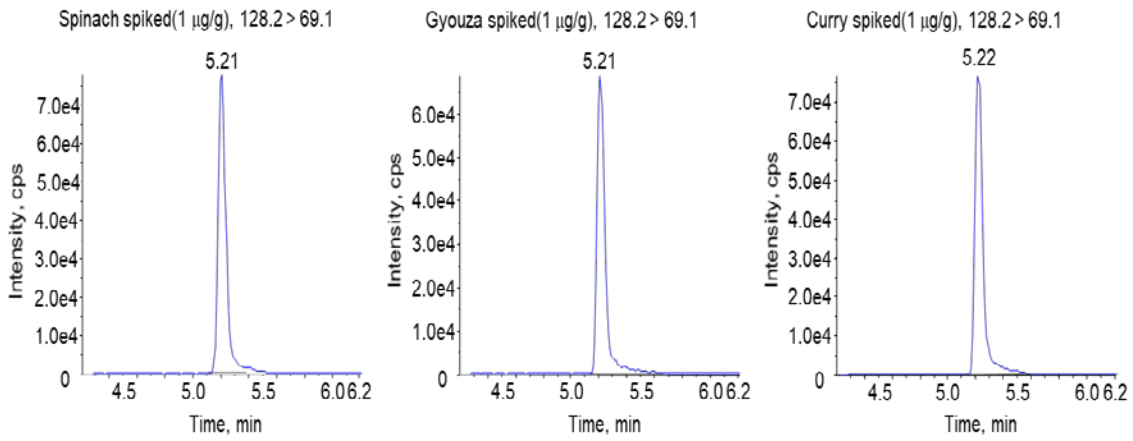


標準溶液 10 ng/mL

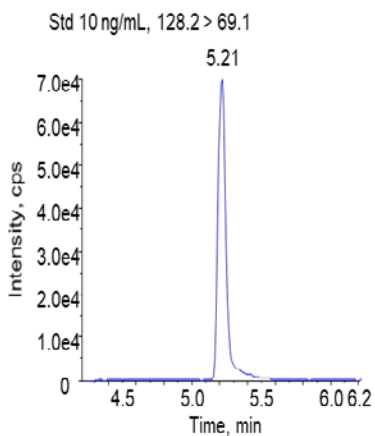
図 12. リコラミンの LC-MS/MS クロマトグラム
SRM トランジション 定量 m/z 290.2 > 233.1



ブランク試料

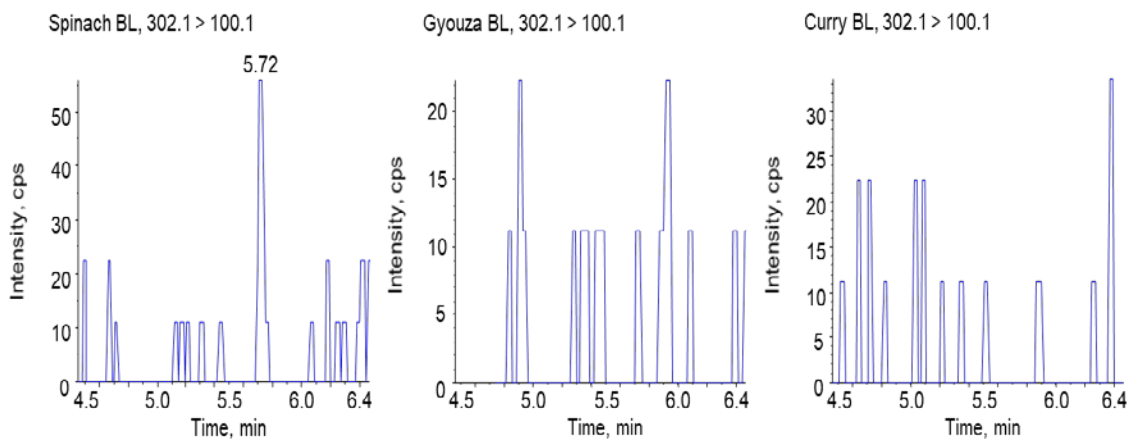


添加回収 (添加濃度 1 $\mu\text{g/g}$)

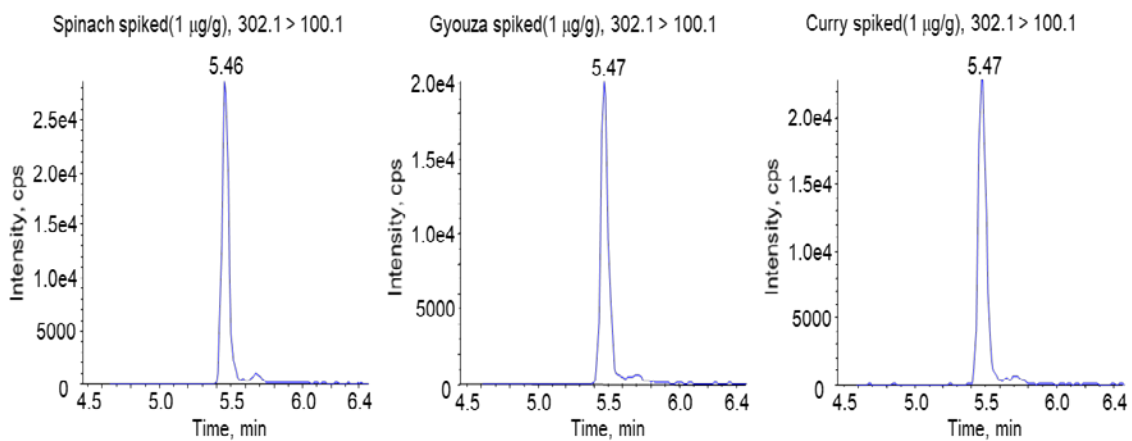


標準溶液 10 ng/mL

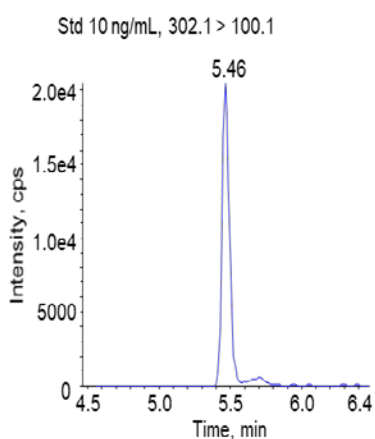
図 13. コニインの LC-MS/MS クロマトグラム
SRM トランジション 定量 m/z 128.2 > 69.1



ブランク試料

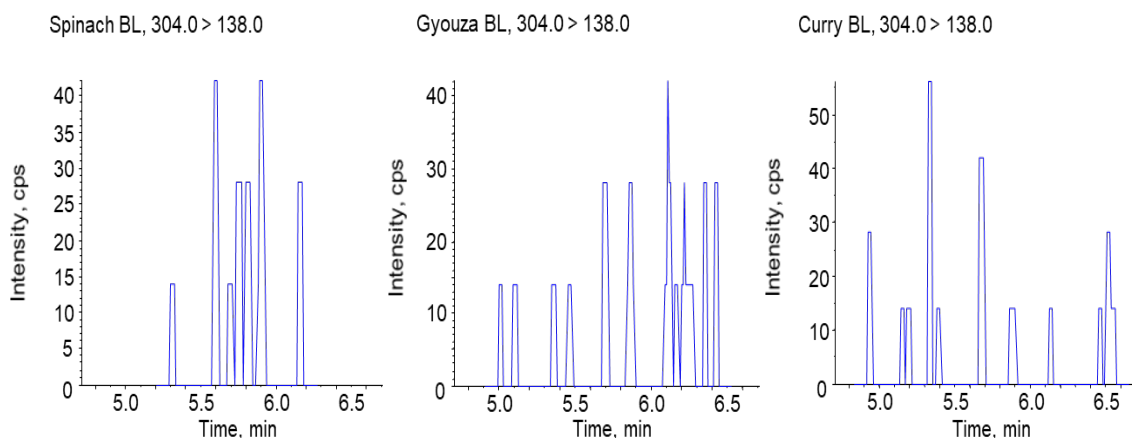


添加回収 (添加濃度 1 µg/g)

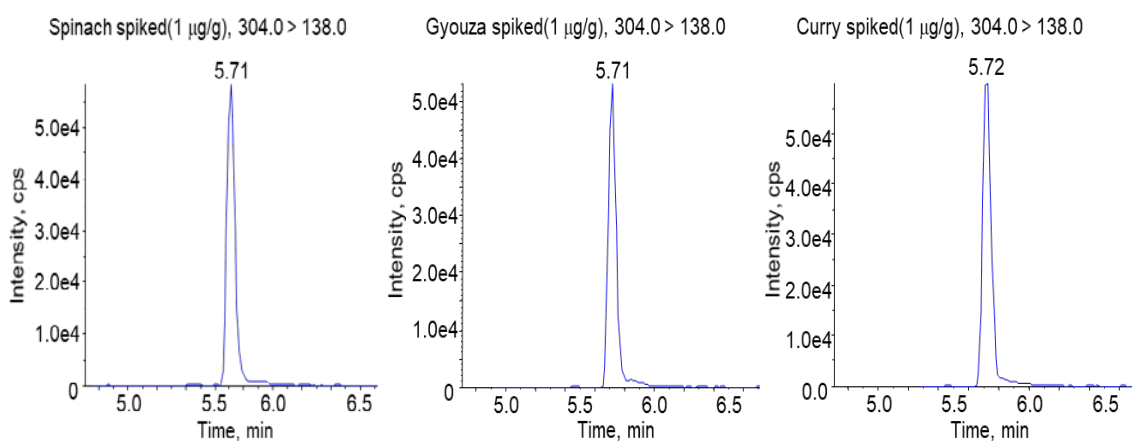


標準溶液 10 ng/mL

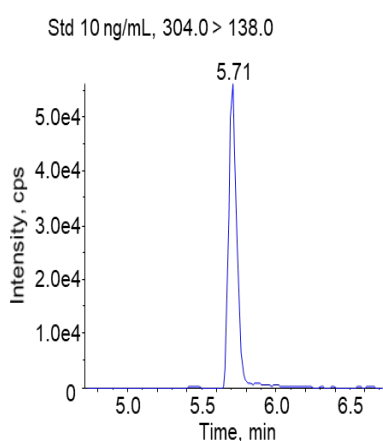
図 14. フェブリフジンの LC-MS/MS クロマトグラム
SRM トランジション 定量 m/z 302.1 > 100.1



ブランク試料

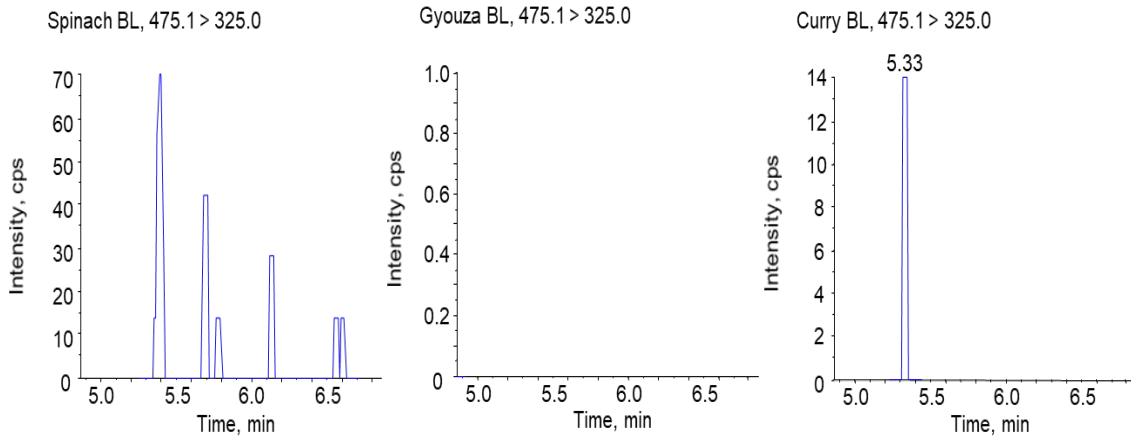


添加回収 (添加濃度 1 $\mu\text{g/g}$)

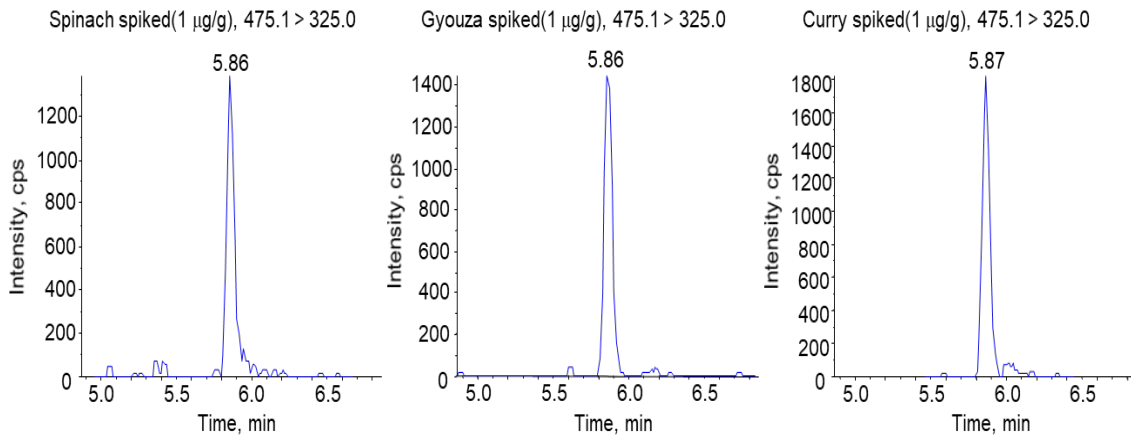


標準溶液 10 ng/mL

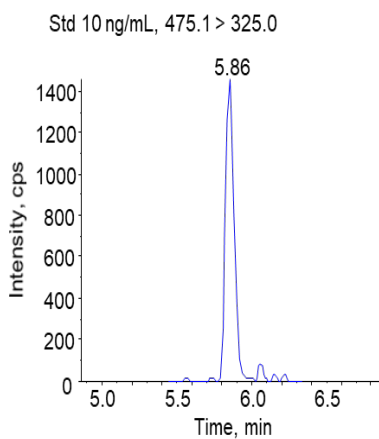
図 15. スコポラミンの LC-MS/MS クロマトグラム
SRM トランジション 定量 m/z 304.0 > 138.0



ブランク試料

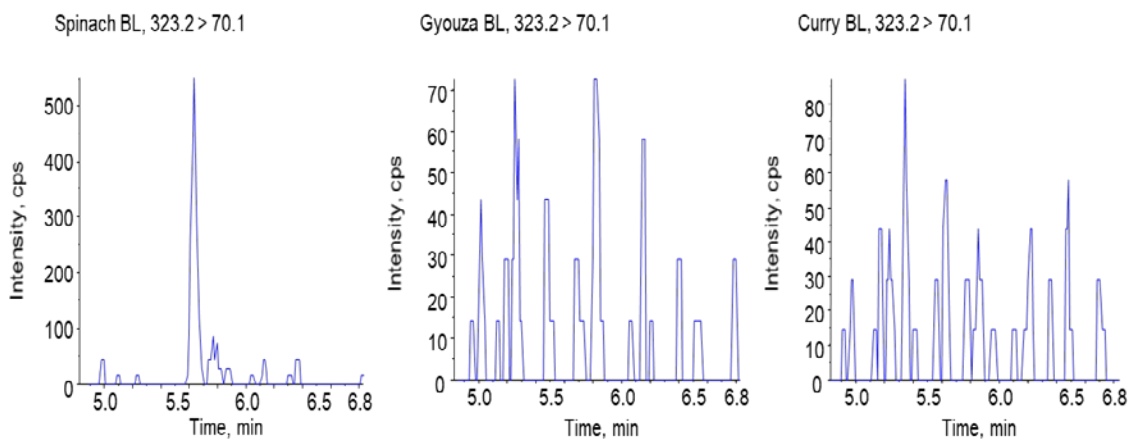


添加回収 (添加濃度 1 $\mu\text{g/g}$)

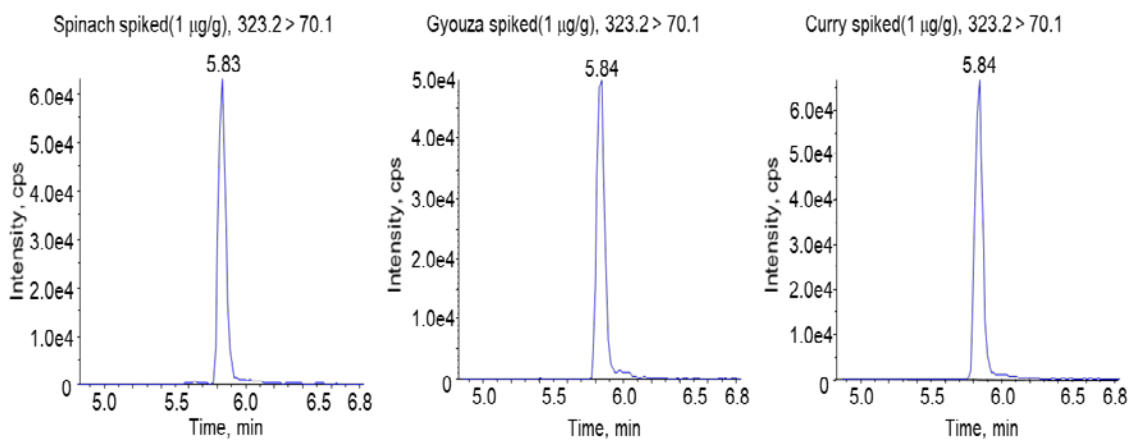


標準溶液 10 ng/mL

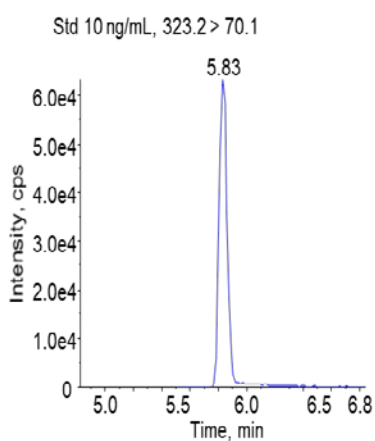
図 16. アミグダリンの LC-MS/MS クロマトグラム
SRM トランジション 定量 m/z 475.1 > 325.0



ブランク試料

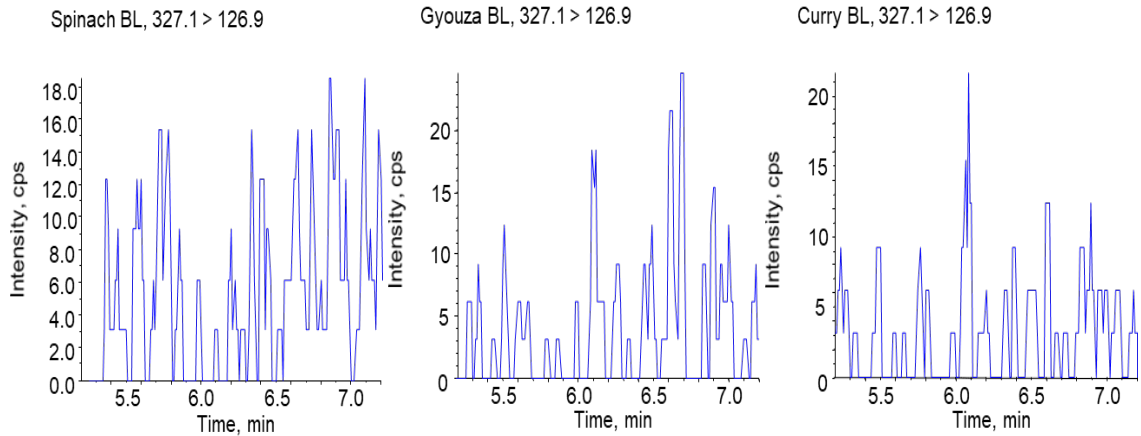


添加回収 (添加濃度 1 µg/g)

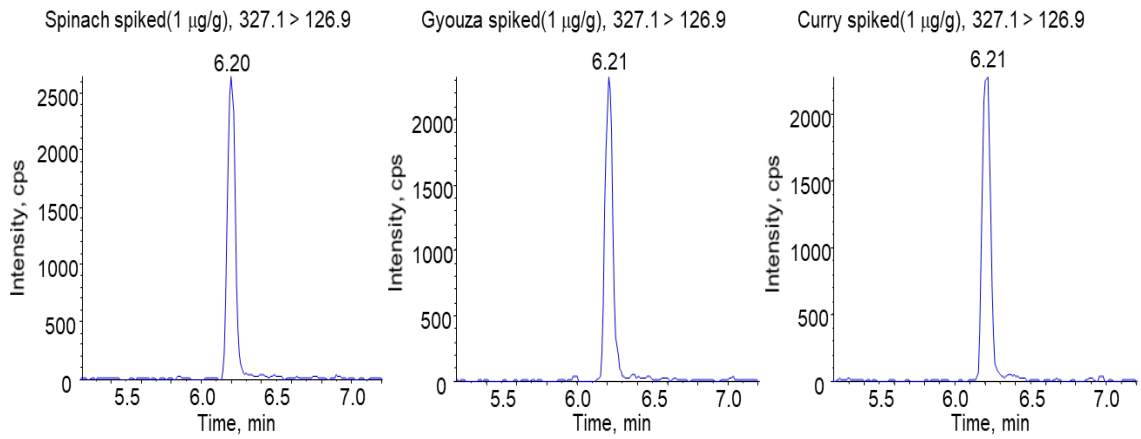


標準溶液 10 ng/mL

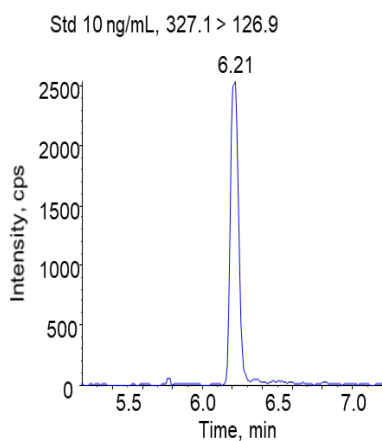
図 17. ゲルセミンの LC-MS/MS クロマトグラム
SRM トランジション 定量 m/z 323.2 > 70.1



ブランク試料

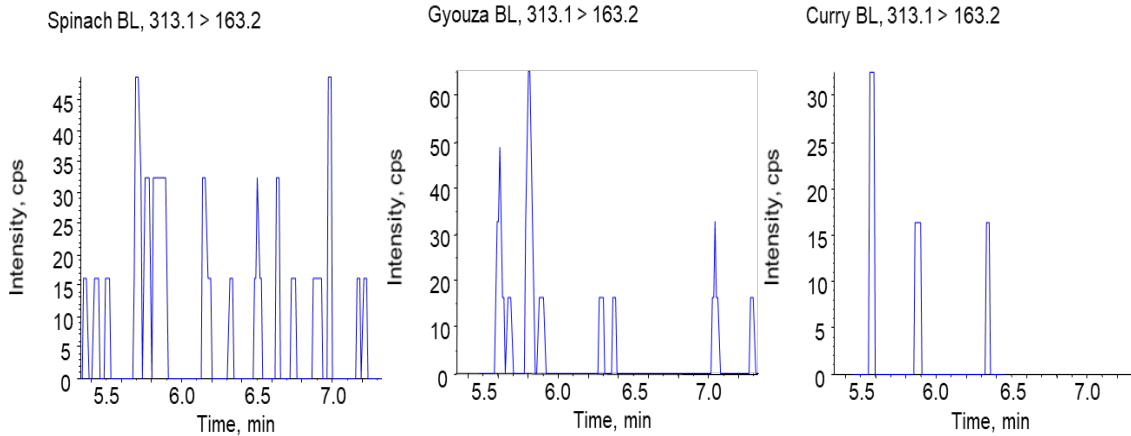


添加回収 (添加濃度 1 μg/g)

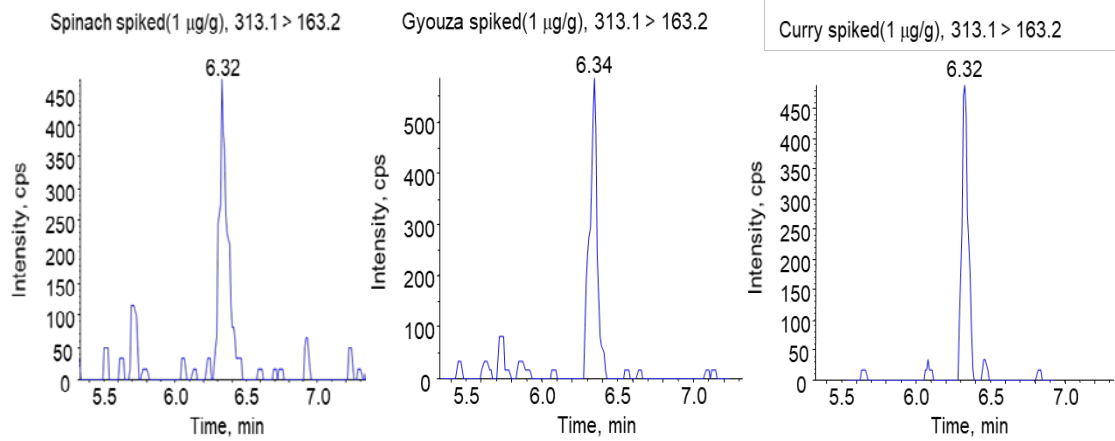


標準溶液 10 ng/mL

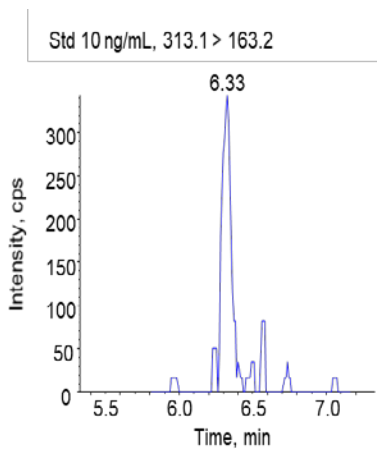
図 18. アニサチンの LC-MS/MS クロマトグラム
SRM トランジション 定量 m/z 327.1 > 126.9



ブランク試料

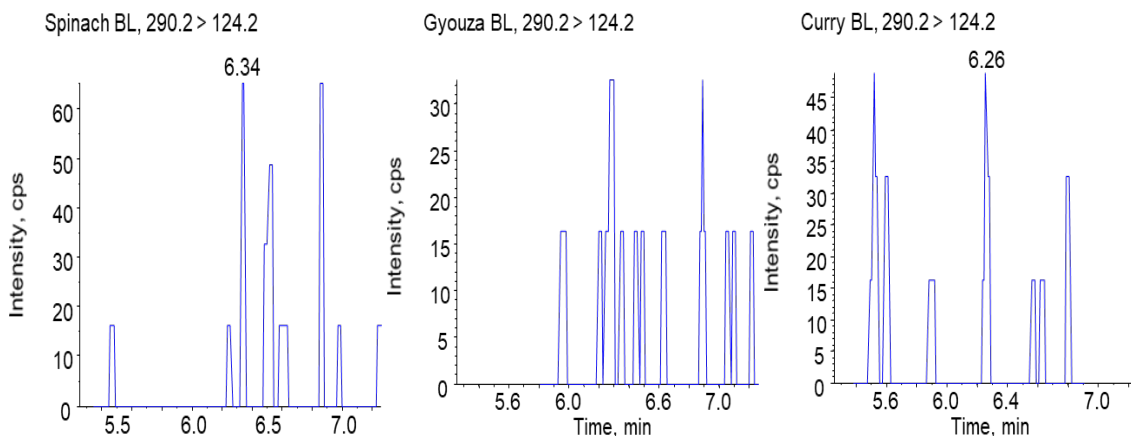


添加回収 (添加濃度 1 µg/g)

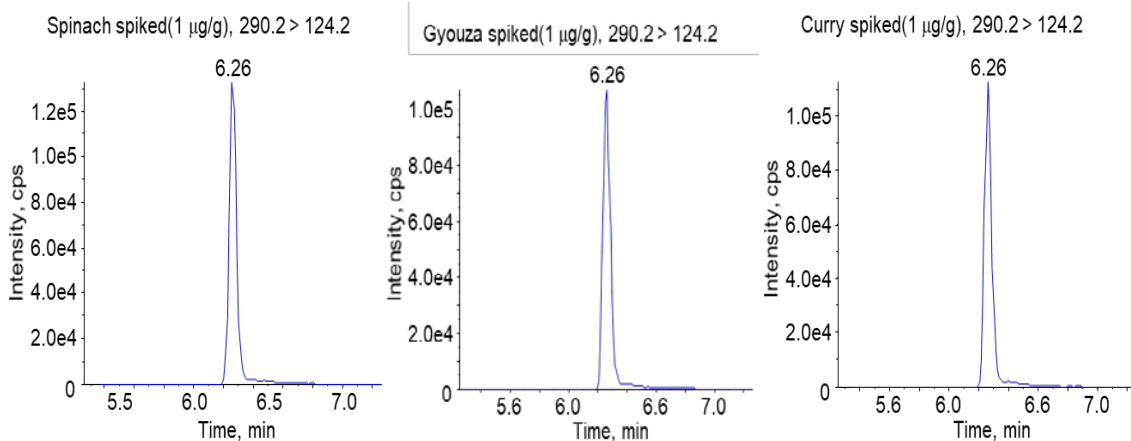


標準溶液 10 ng/mL

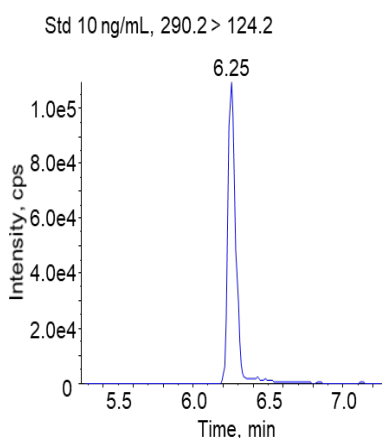
図 19. プルナシンの LC-MS/MS クロマトグラム
SRM トランジション 定量 m/z 313.1 > 163.2



ブランク試料

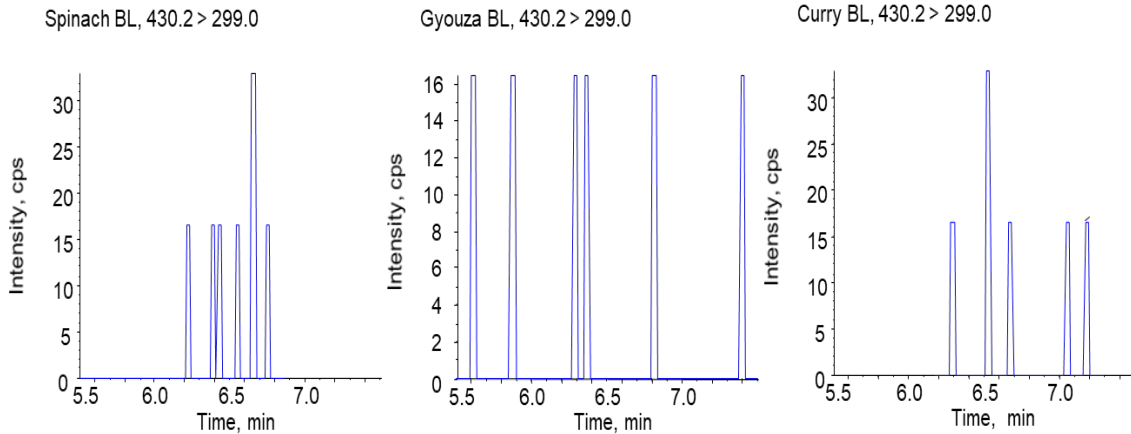


添加回収 (添加濃度 1 $\mu\text{g/g}$)

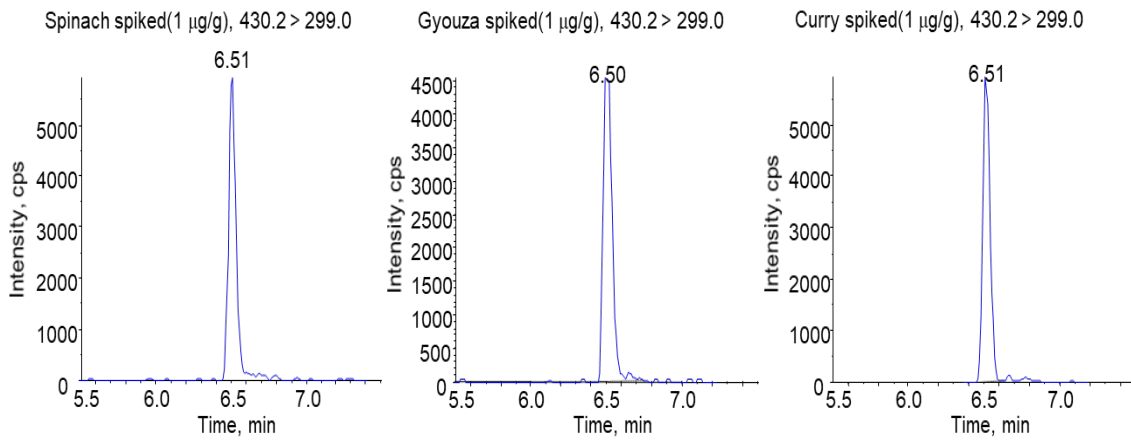


標準溶液 10 ng/mL

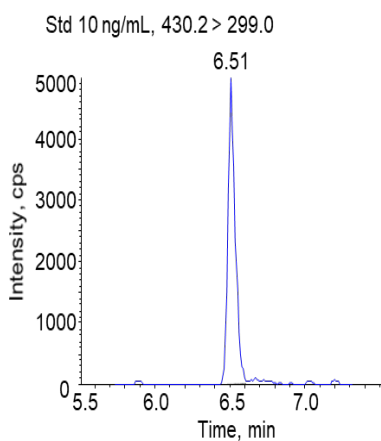
図 20. アトロピンの LC-MS/MS クロマトグラム
SRM トランジション 定量 m/z 290.2 > 124.2



ブランク試料

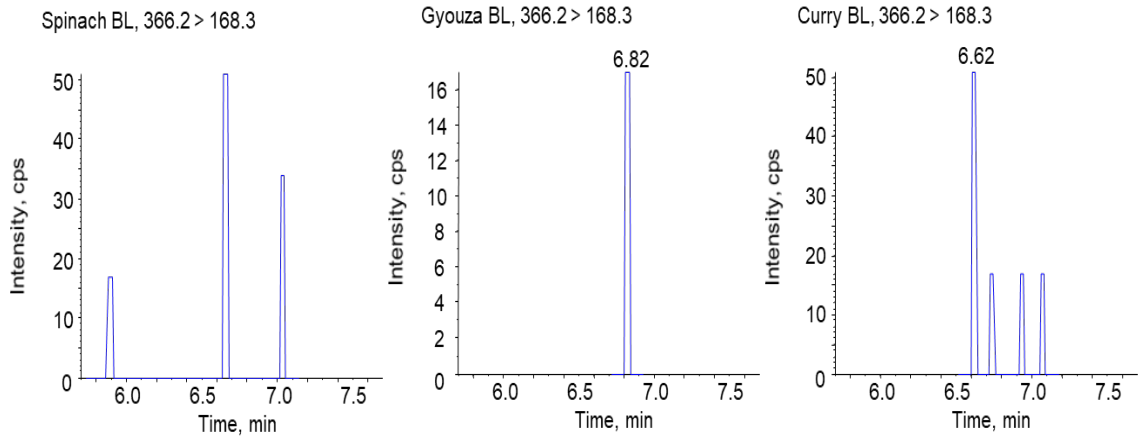


添加回収 (添加濃度 1 μg/g)

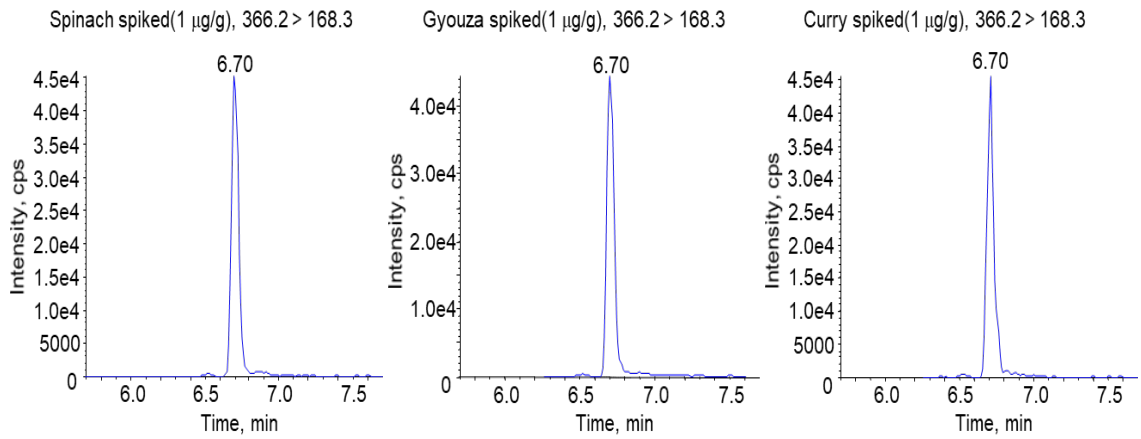


標準溶液 10 ng/mL

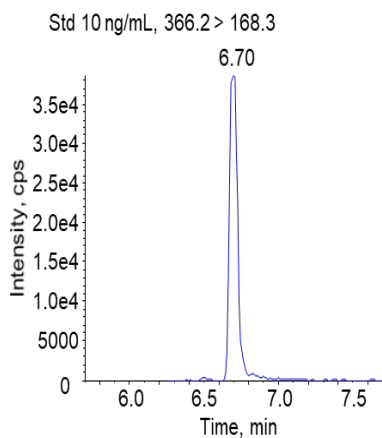
図 21. グラヤノトキシシン I の LC-MS/MS クロマトグラム
SRM トランジション 定量 m/z 430.2 > 299.0



ブランク試料

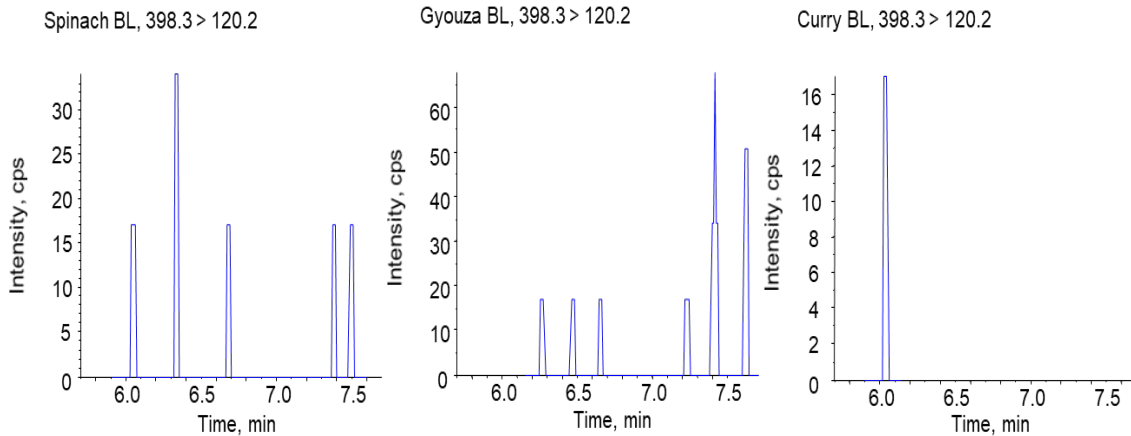


添加回収 (添加濃度 1 µg/g)

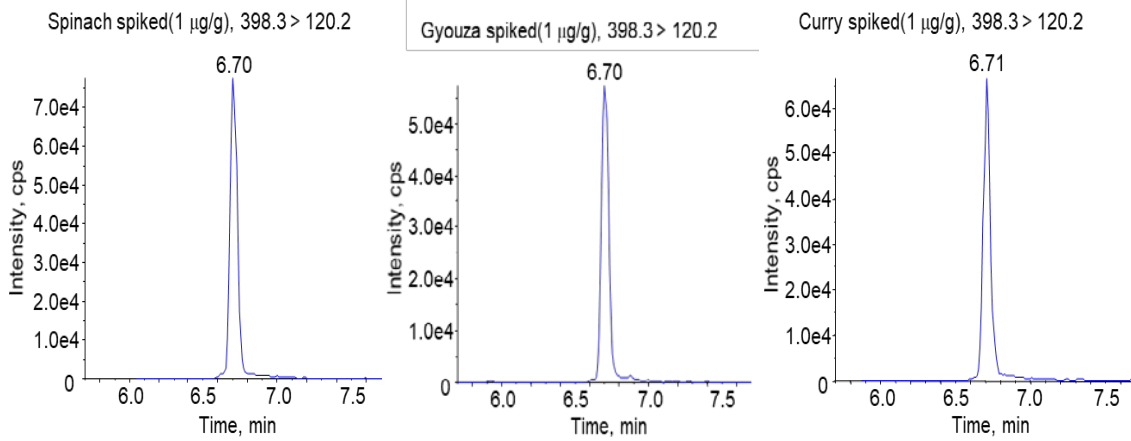


標準溶液 10 ng/mL

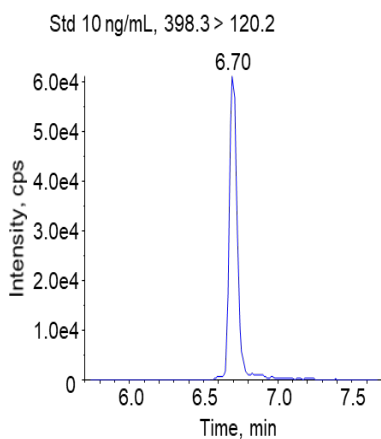
図 22. センキルキンの LC-MS/MS クロマトグラム
SRM トランジション 定量 m/z 366.2 > 168.3



ブランク試料

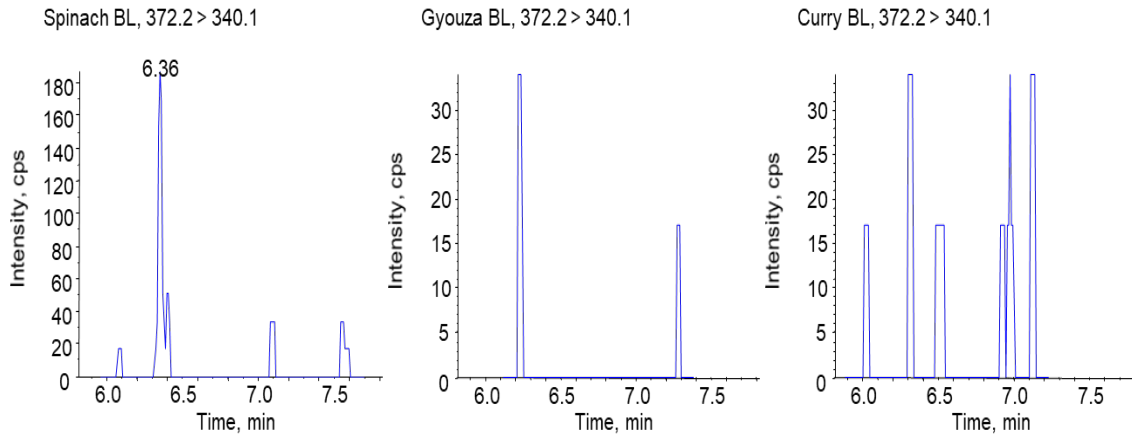


添加回収 (添加濃度 1 µg/g)

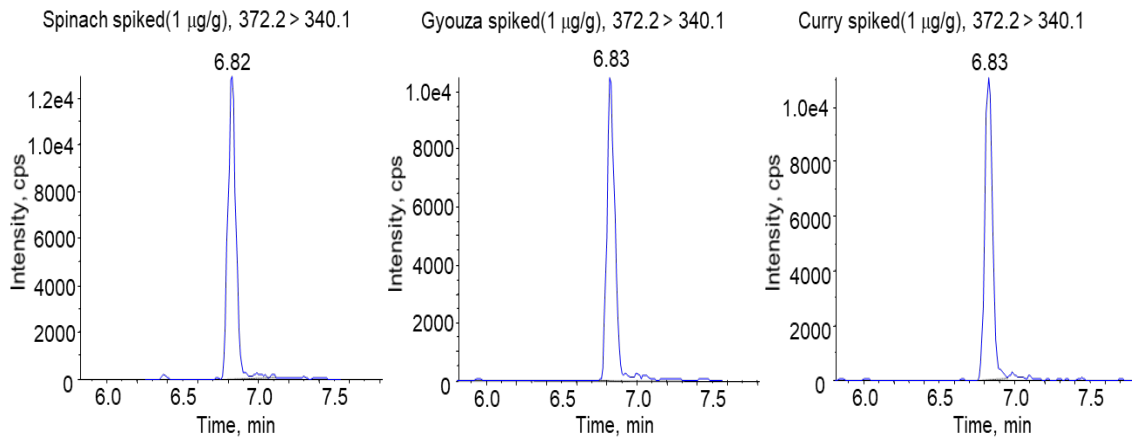


標準溶液 10 ng/mL

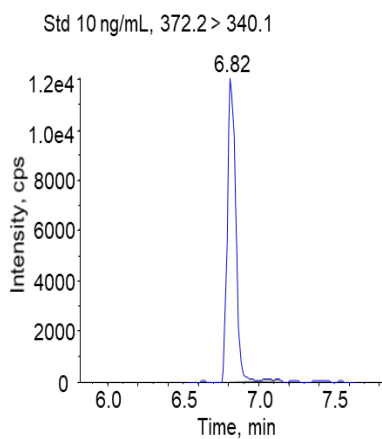
図 23. エキミジンの LC-MS/MS クロマトグラム
SRM トランジション 定量 m/z 398.3 > 120.2



ブランク試料

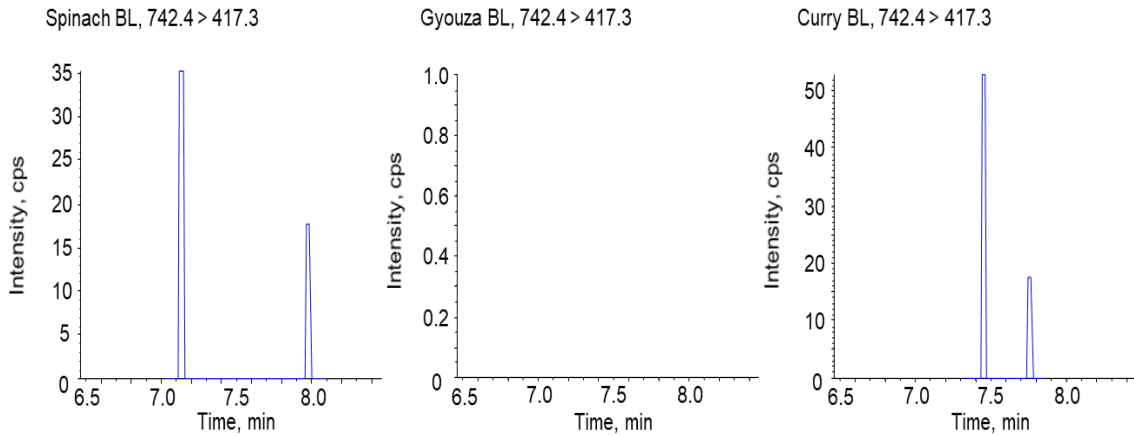


添加回収 (添加濃度 1 µg/g)

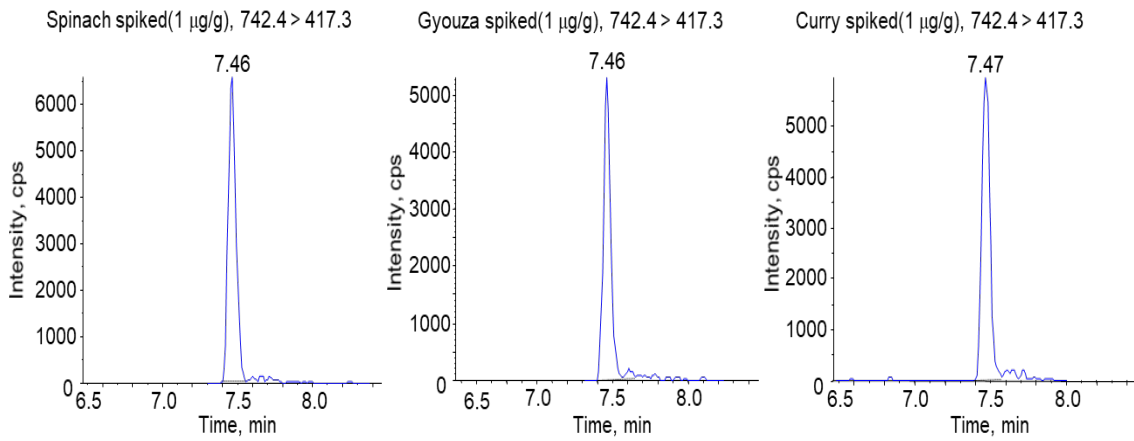


標準溶液 10 ng/mL

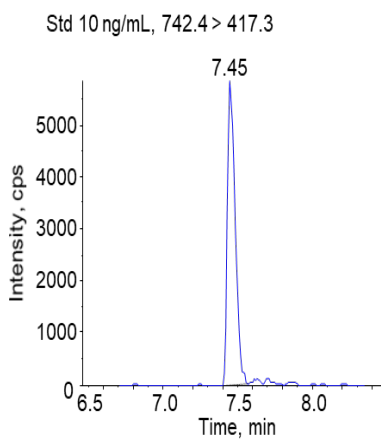
図 24. デメコルシンの LC-MS/MS クロマトグラム
SRM トランジション 定量 m/z 372.2 > 340.1



ブランク試料

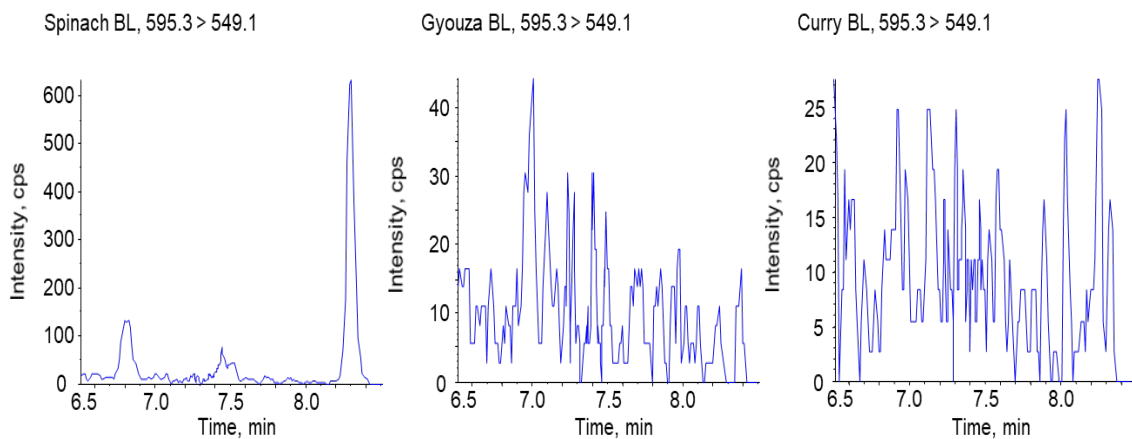


添加回収 (添加濃度 1 µg/g)

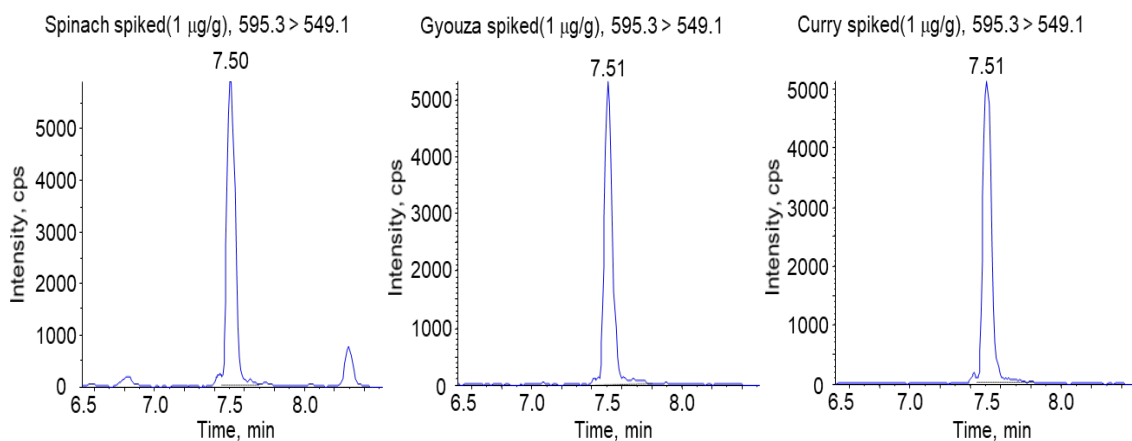


標準溶液 10 ng/mL

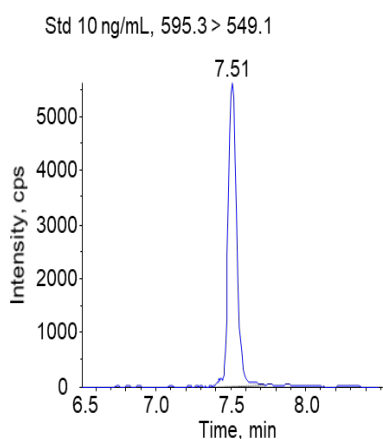
図 25. ヘレブリンの LC-MS/MS クロマトグラム
SRM トランジション 定量 m/z 742.4 > 417.3



ブランク試料

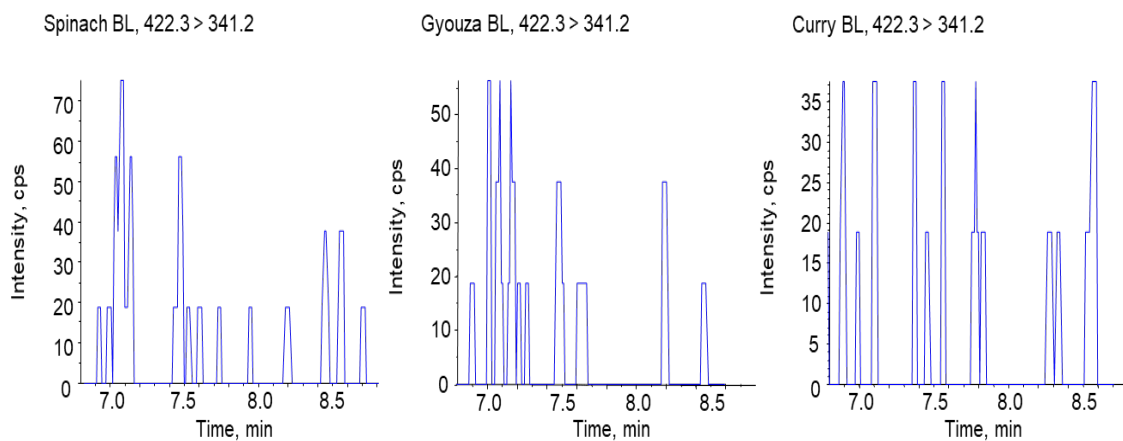


添加回収 (添加濃度 1 $\mu\text{g/g}$)

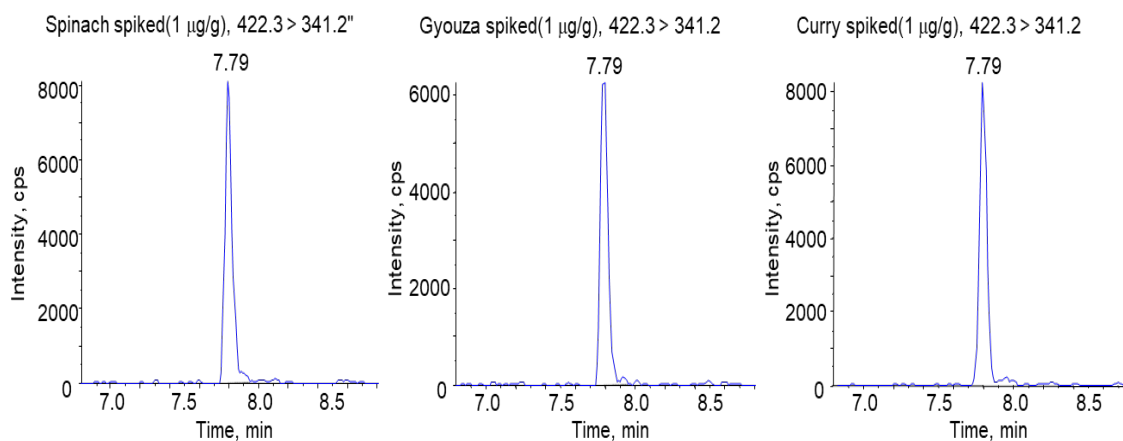


標準溶液 10 ng/mL

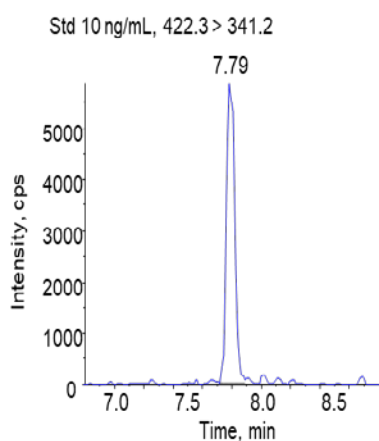
図 26. コンバラトキシシンの LC-MS/MS クロマトグラム
SRM トランジション 定量 m/z 595.3 > 549.1



ブランク試料

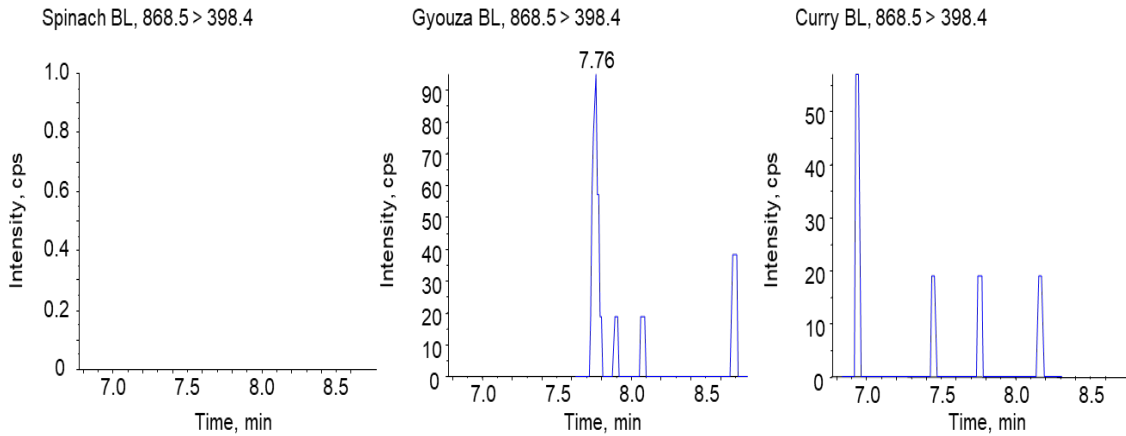


添加回収 (添加濃度 1 µg/g)

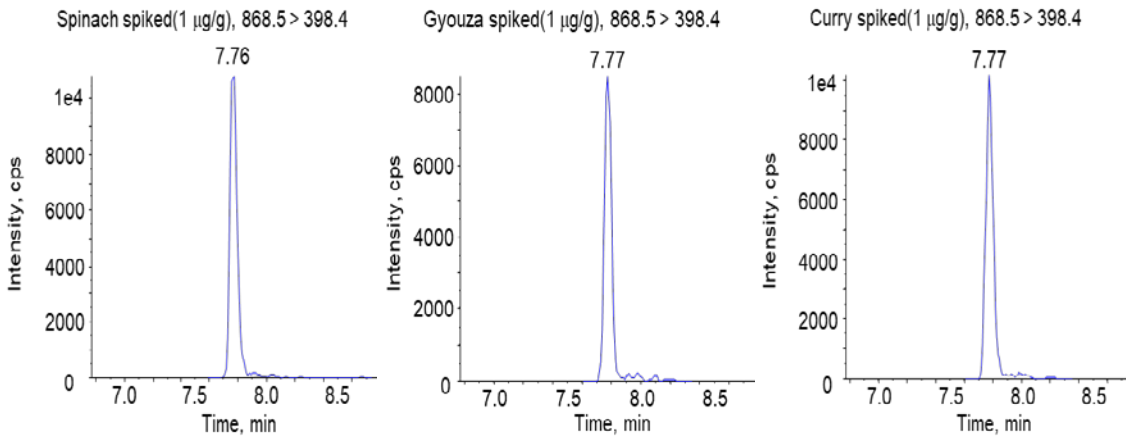


標準溶液 10 ng/mL

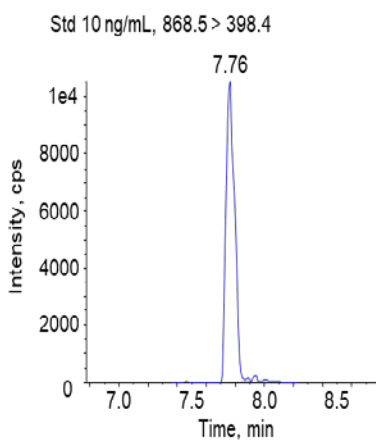
図 27. ストロファンチジンの LC-MS/MS クロマトグラム
SRM トランジション 定量 m/z 422.3 > 341.2



ブランク試料

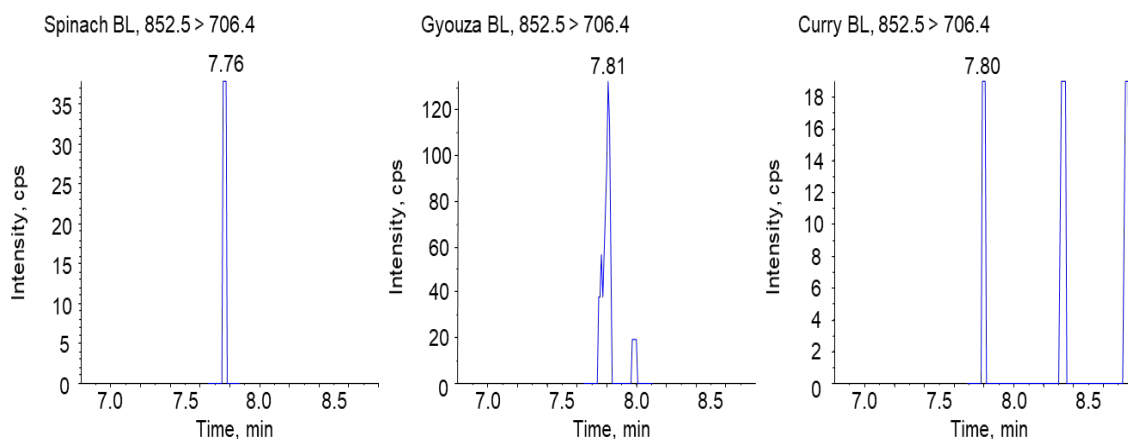


添加回収 (添加濃度 1 µg/g)

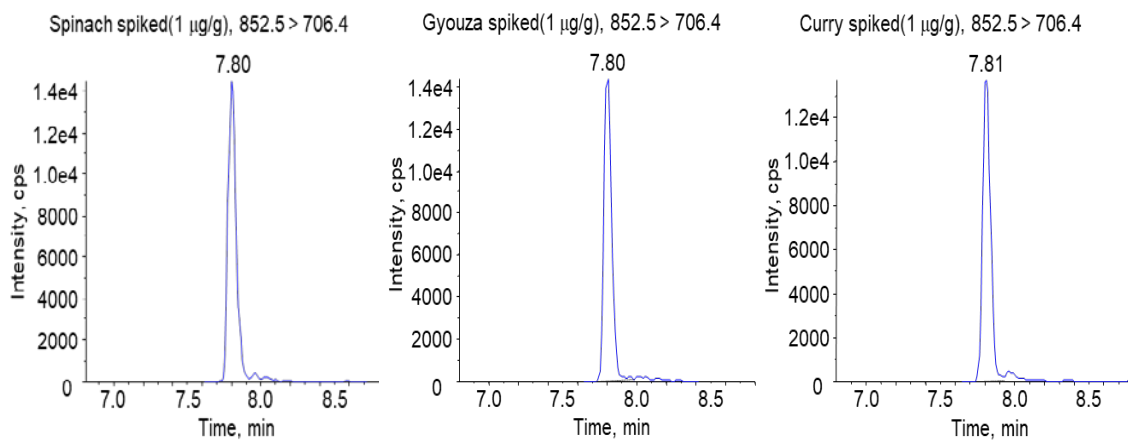


標準溶液 10 ng/mL

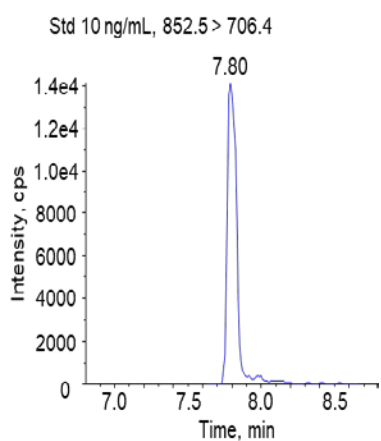
図 28. α-ソラニンの LC-MS/MS クロマトグラム
SRM トランジション 定量 m/z 868.5 > 398.4



ブランク試料

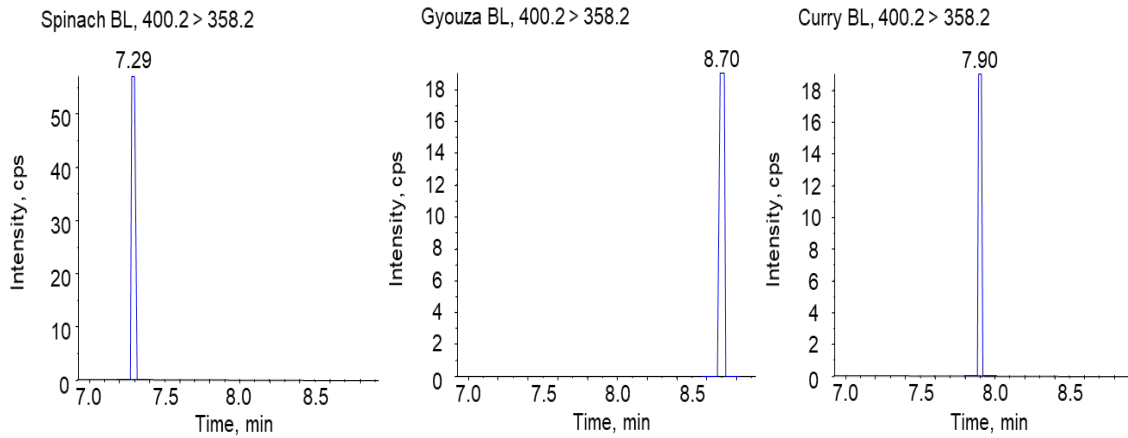


添加回収 (添加濃度 1 $\mu\text{g/g}$)

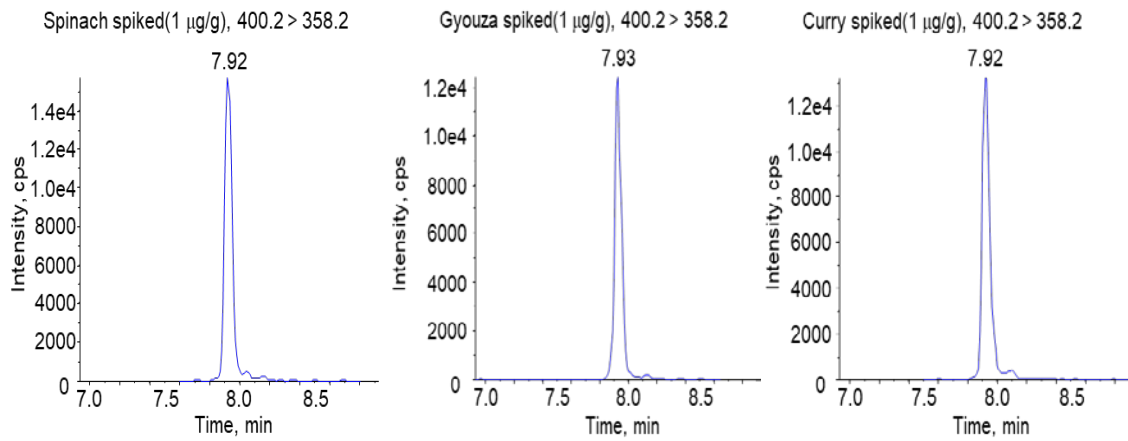


標準溶液 10 ng/mL

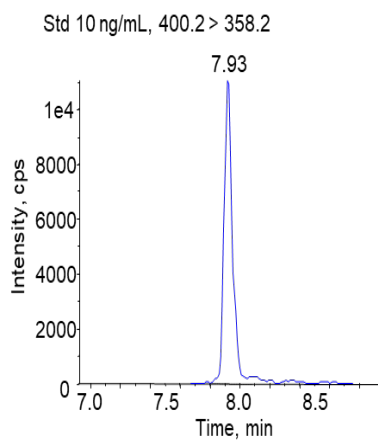
図 29. α -チャロニンの LC-MS/MS クロマトグラム
SRM トランジション 定量 m/z 852.5 > 706.4



ブランク試料

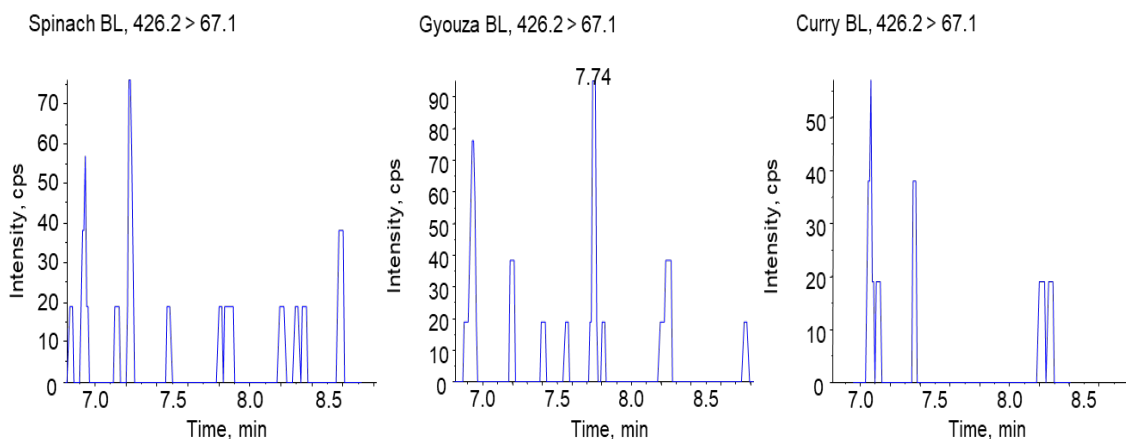


添加回収 (添加濃度 1 µg/g)

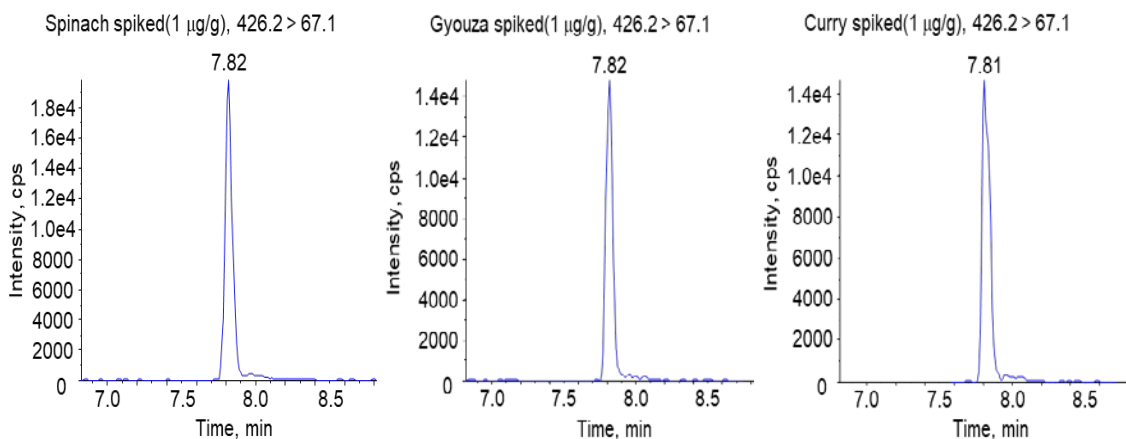


標準溶液 10 ng/mL

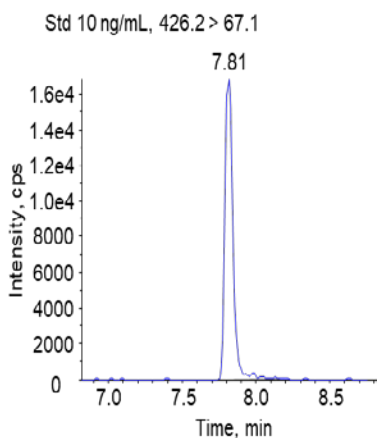
図 30. コルヒチンの LC-MS/MS クロマトグラム
SRM トランジション 定量 m/z 400.2 > 358.2



ブランク試料

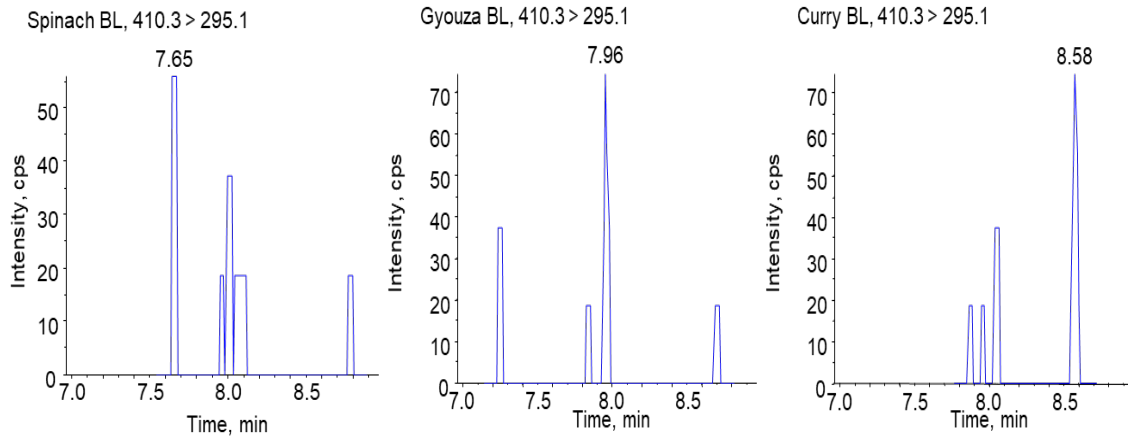


添加回収 (添加濃度 1 $\mu\text{g/g}$)

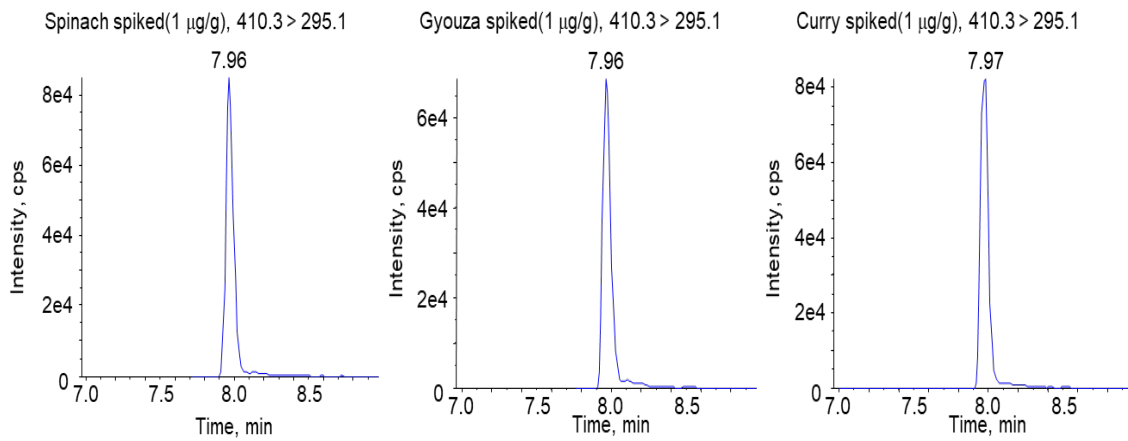


標準溶液 10 ng/mL

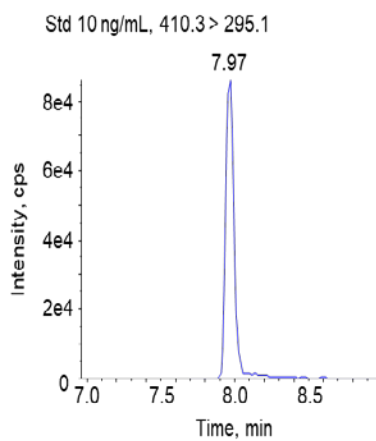
図 31. ジェルビンの LC-MS/MS クロマトグラム
SRM トランジション 定量 m/z 426.2 > 67.1



ブランク試料

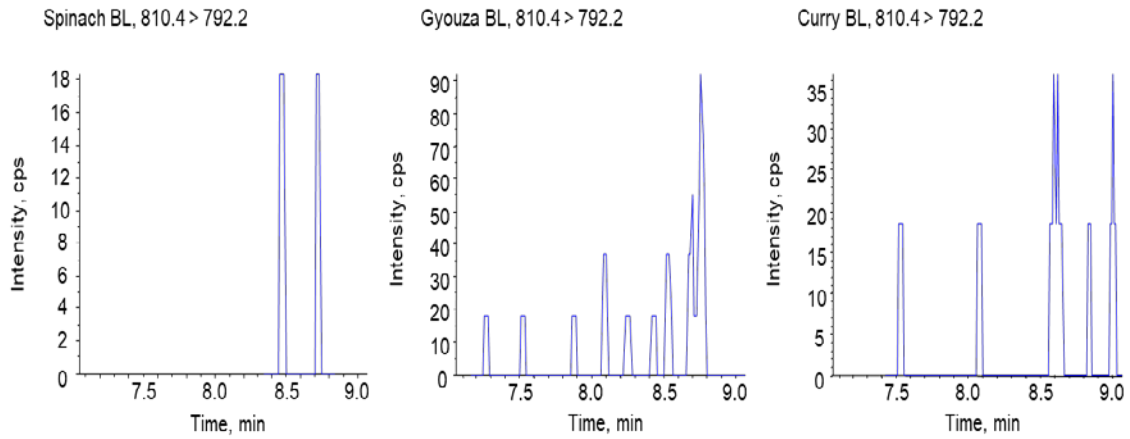


添加回収 (添加濃度 1 µg/g)

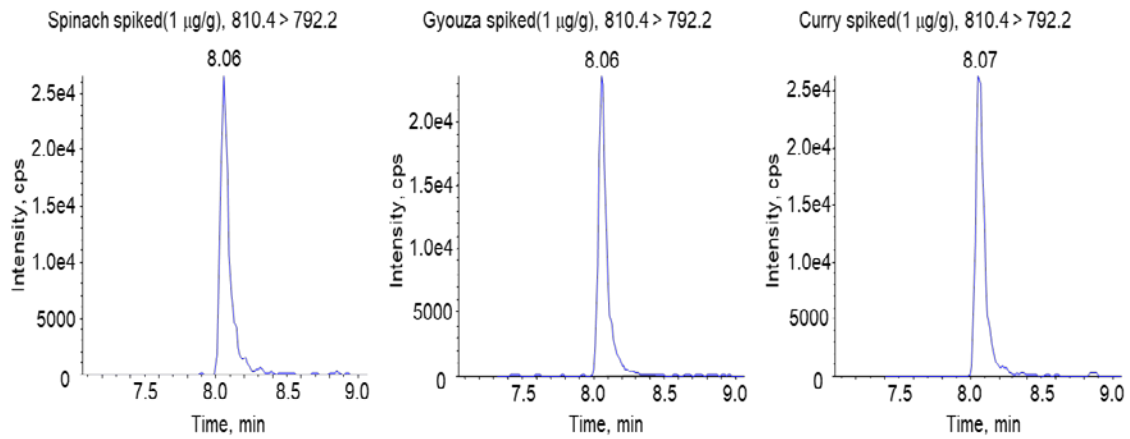


標準溶液 10 ng/mL

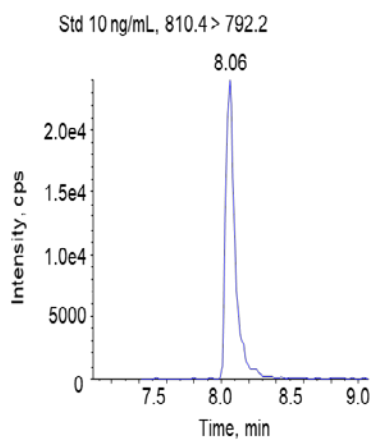
図 32. ベラトラミンの LC-MS/MS クロマトグラム
SRM トランジション 定量 m/z 410.3 > 295.1



ブランク試料

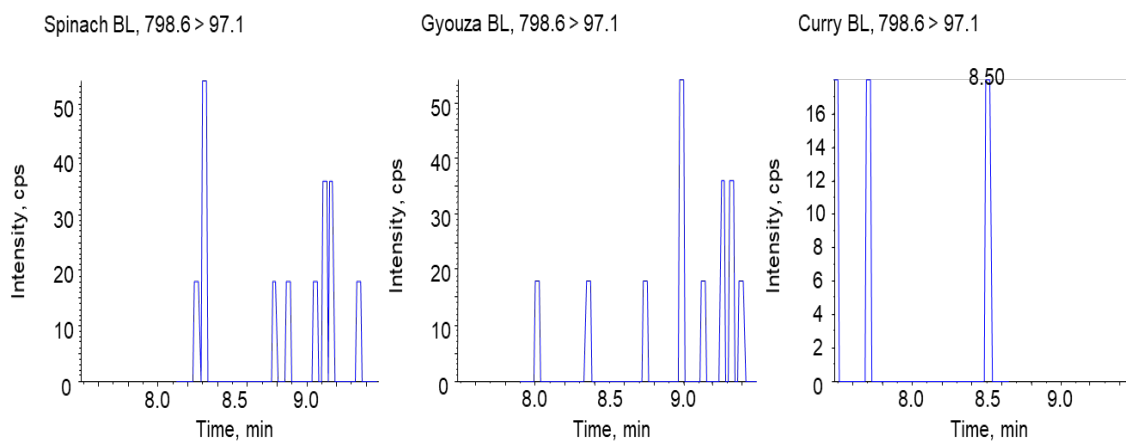


添加回収 (添加濃度 1 µg/g)

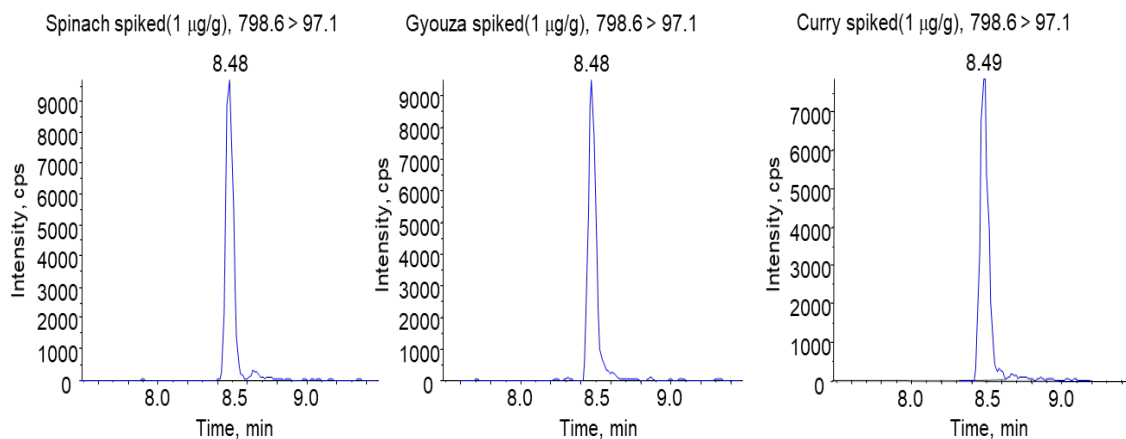


標準溶液 10 ng/mL

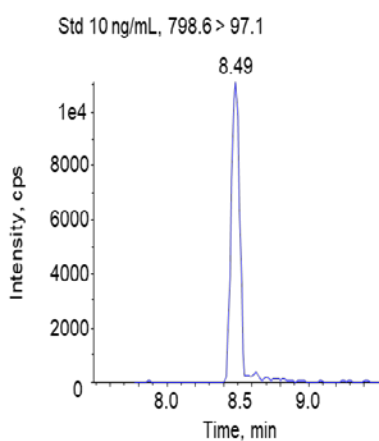
図 33. プロトベラトリン B の LC-MS/MS クロマトグラム
SRM トランジション 定量 m/z 810.4 > 792.2



ブランク試料

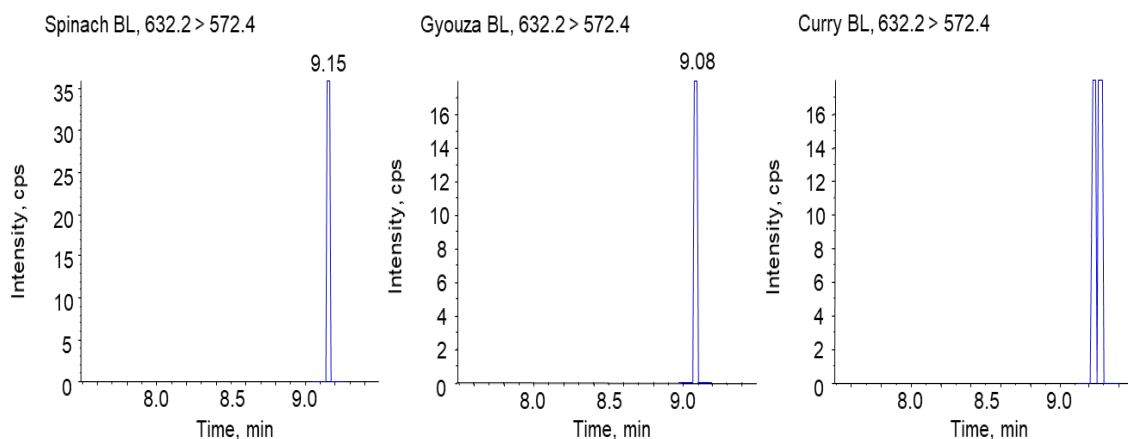


添加回収 (添加濃度 1 µg/g)

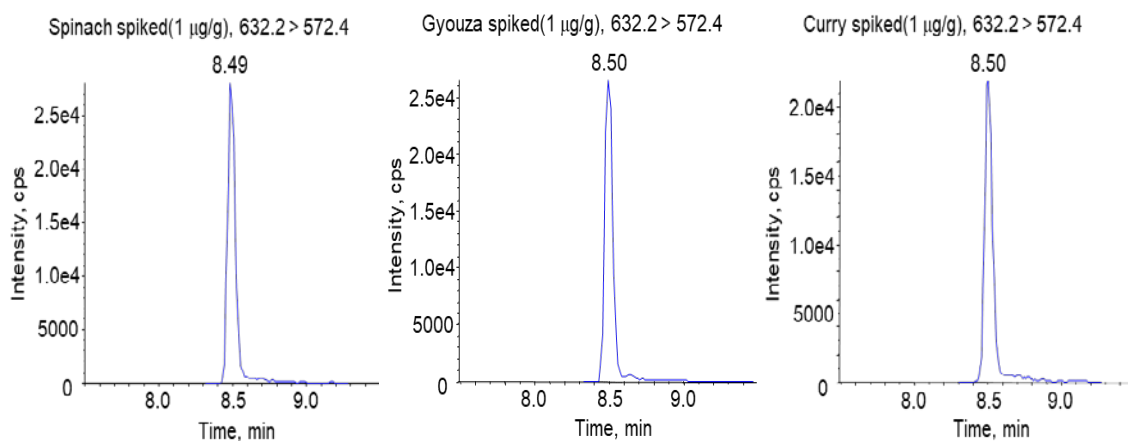


標準溶液 10 ng/mL

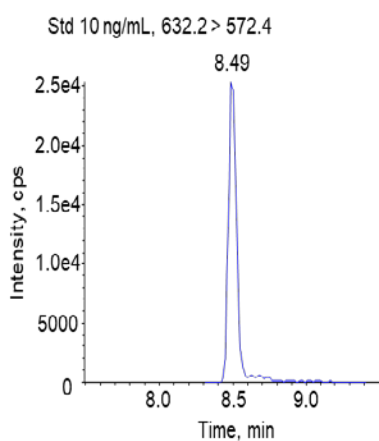
図 34. ジゴキシンの LC-MS/MS クロマトグラム
SRM トランジション 定量 m/z 798.6 > 97.1



ブランク試料

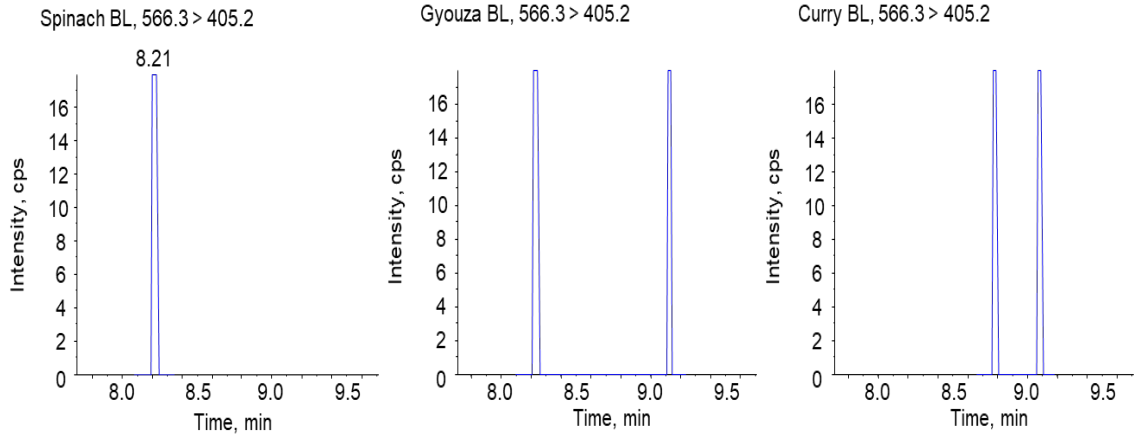


添加回収 (添加濃度 1 µg/g)

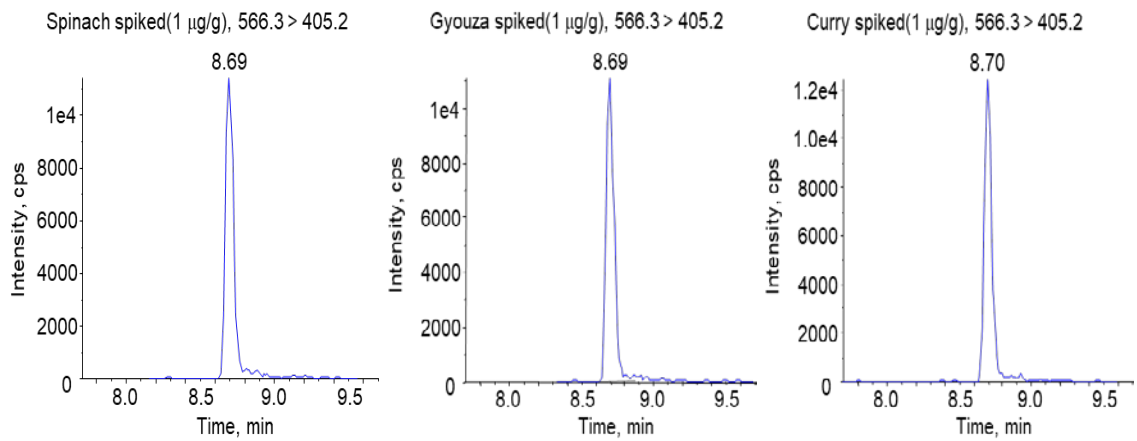


標準溶液 10 ng/mL

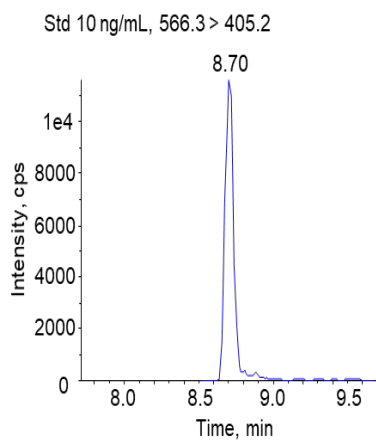
図 35. メサコニチンの LC-MS/MS クロマトグラム
SRM トランジション 定量 m/z 632.2 > 572.4



ブランク 試料

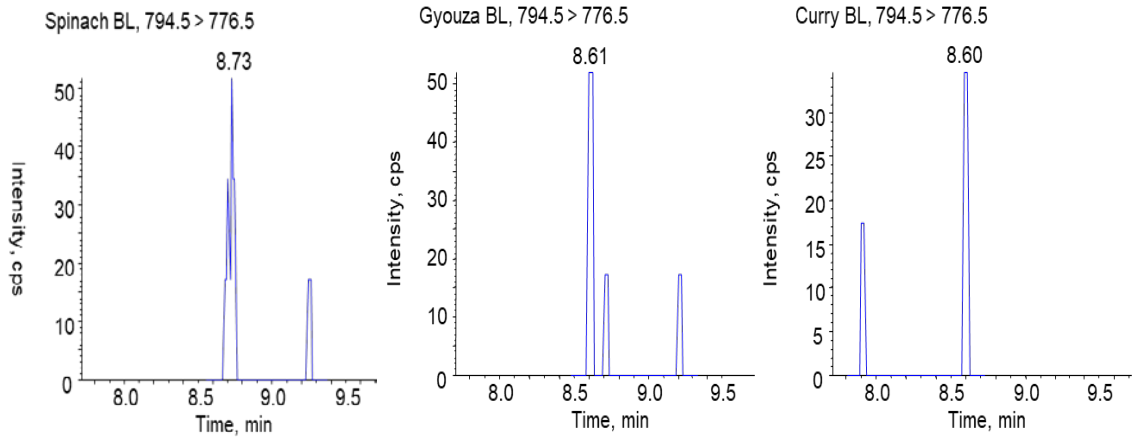


添加回収 (添加濃度 1 $\mu\text{g/g}$)

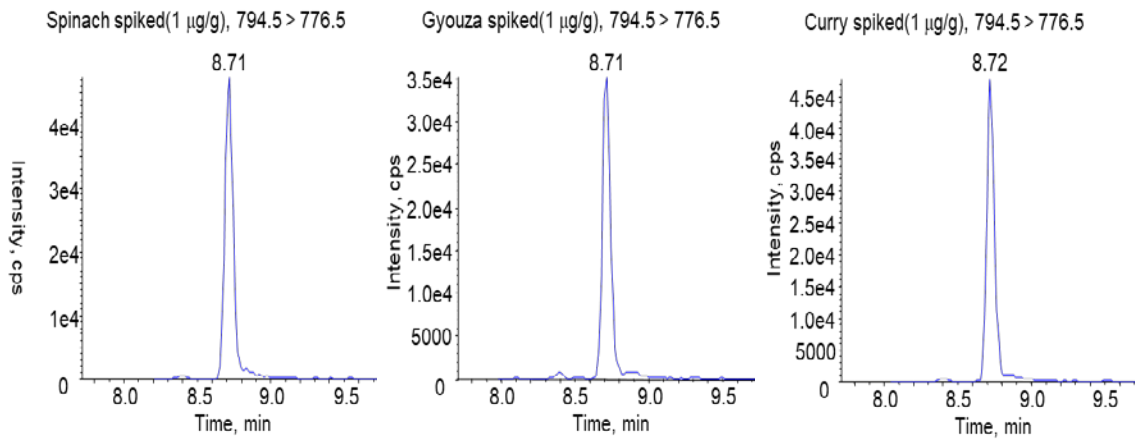


標準溶液 10 ng/mL

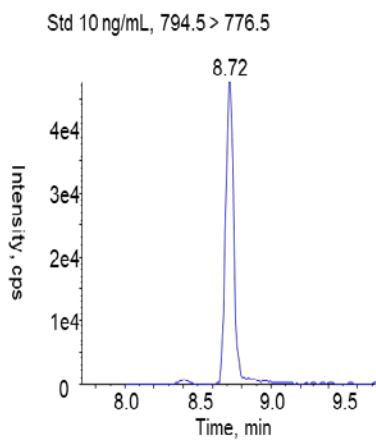
図 36. シマリンの LC-MS/MS クロマトグラム
SRM トランジション 定量 m/z 566.3 > 405.2



ブランク試料

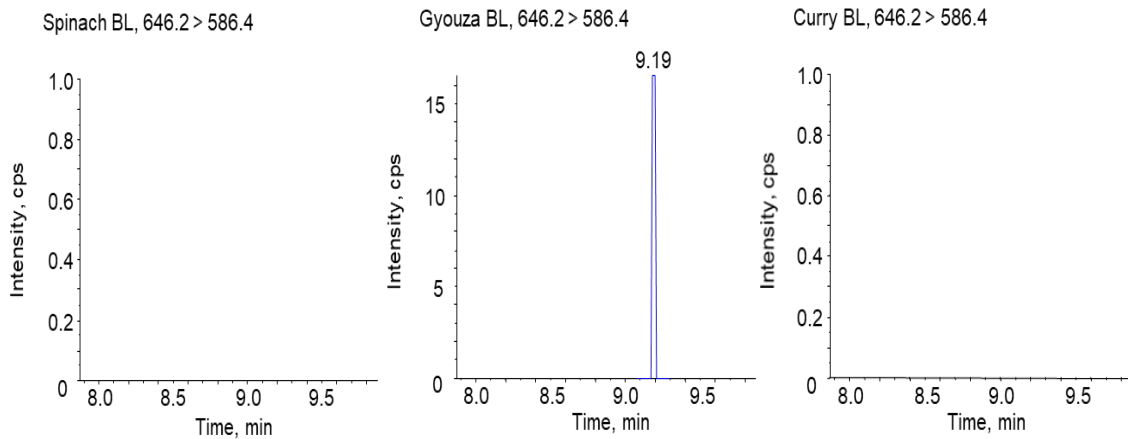


添加回収 (添加濃度 1 µg/g)

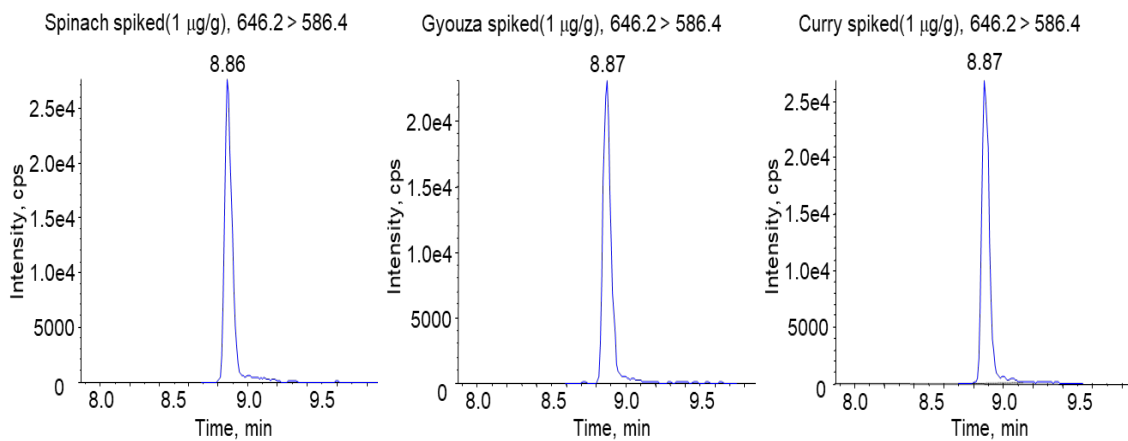


標準溶液 10 ng/mL

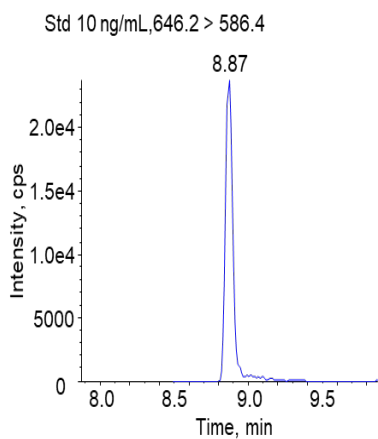
図 37. プロトベラトリン A の LC-MS/MS クロマトグラム
SRM トランジション 定量 m/z 794.5 > 776.5



ブランク試料

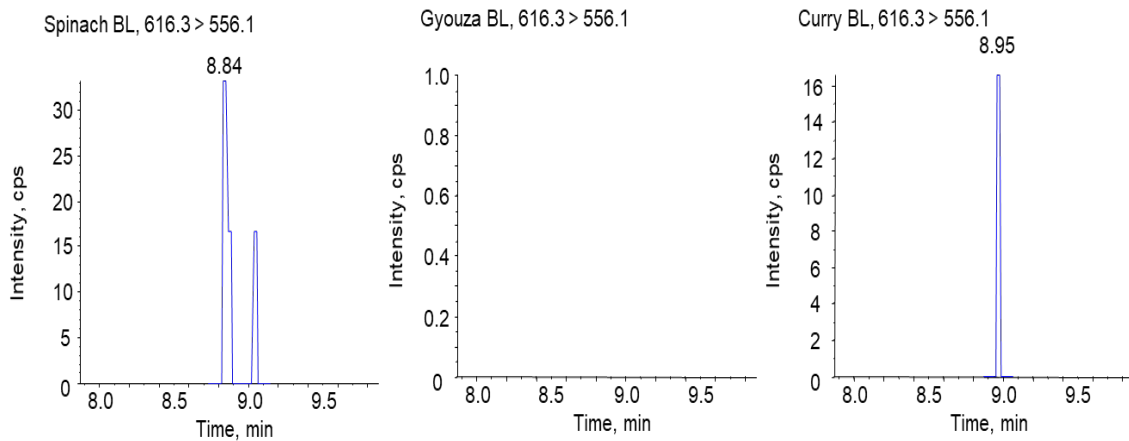


添加回収 (添加濃度 1 µg/g)

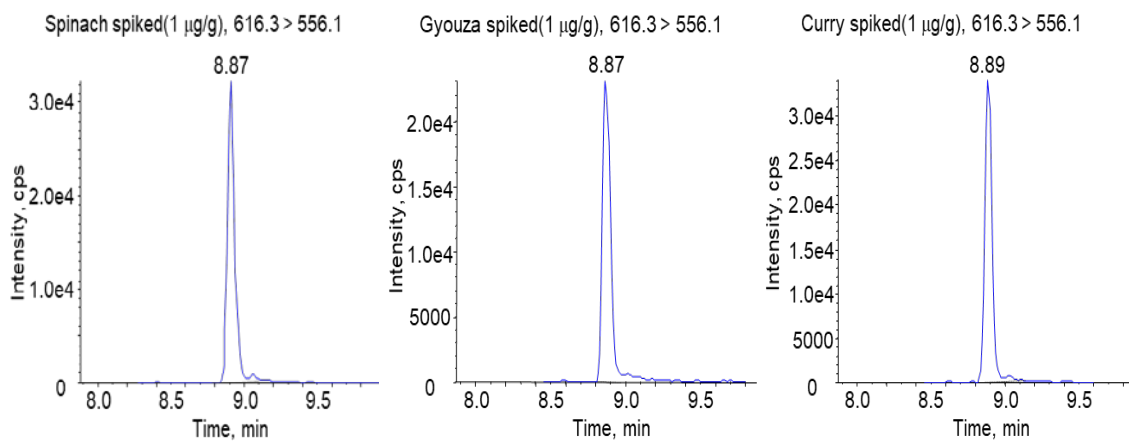


標準溶液 10 ng/mL

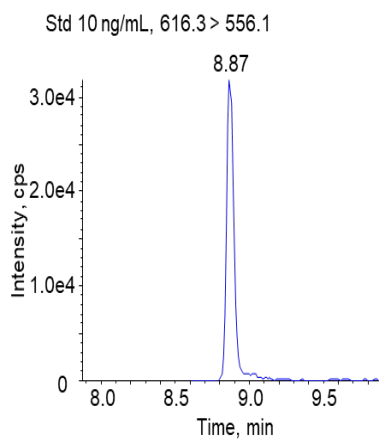
図 38. アコニチンの LC-MS/MS クロマトグラム
SRM トランジション 定量 m/z 646.2 > 586.4



ブランク試料

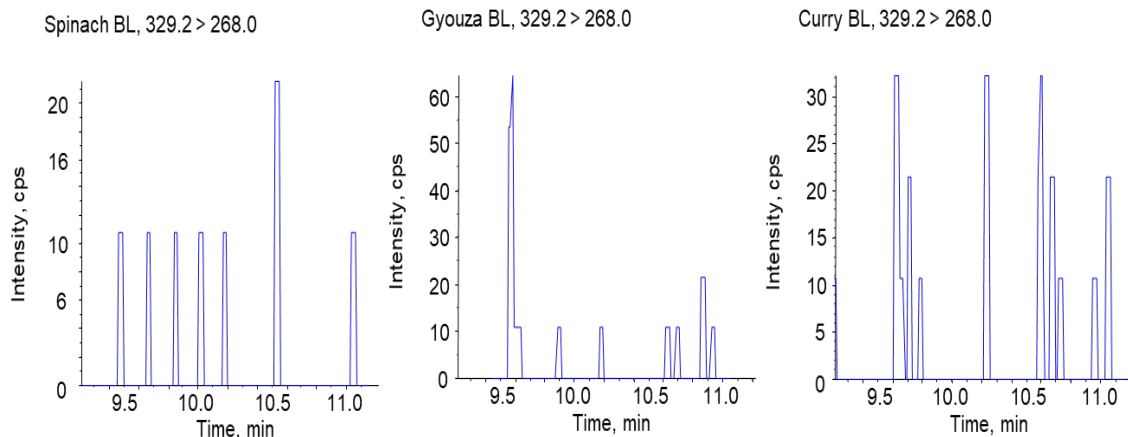


添加回収 (添加濃度 1 $\mu\text{g/g}$)

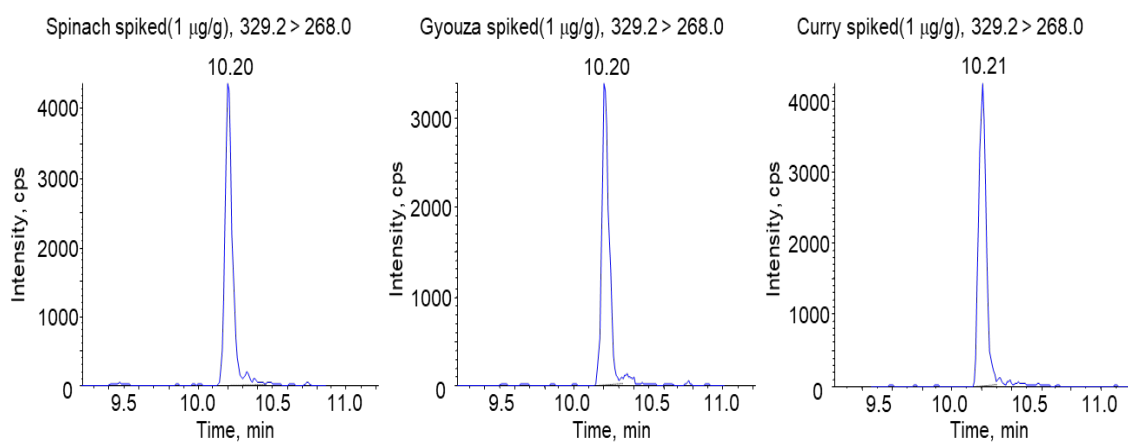


標準溶液 10 ng/mL

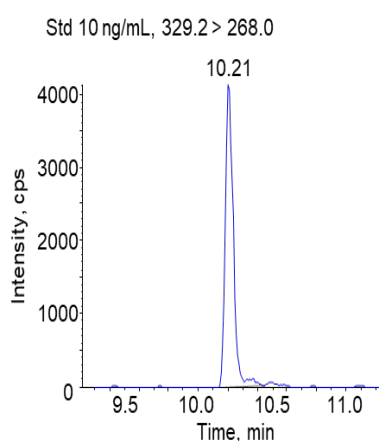
図 39. ヒパコニチンの LC-MS/MS クロマトグラム
SRM トランジション 定量 m/z 616.3 > 556.1



ブランク 試料

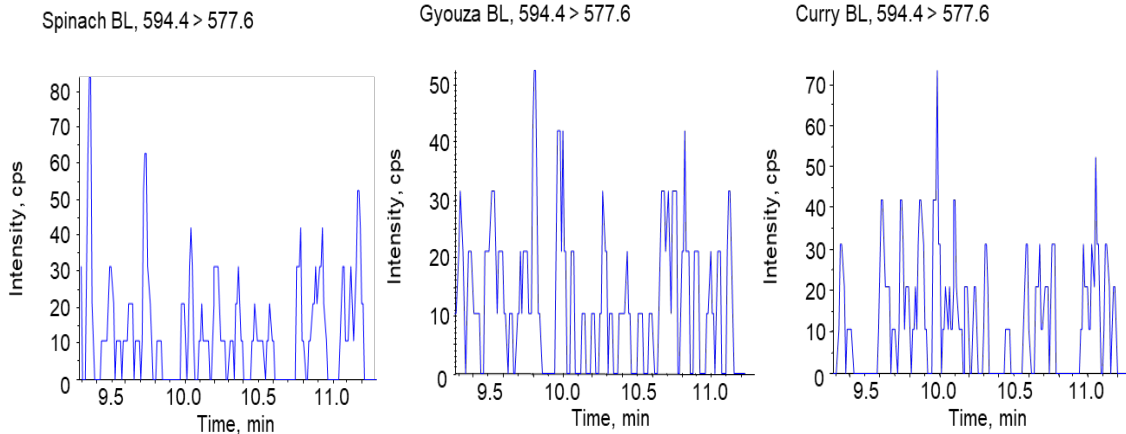


添加回収 (添加濃度 1 µg/g)

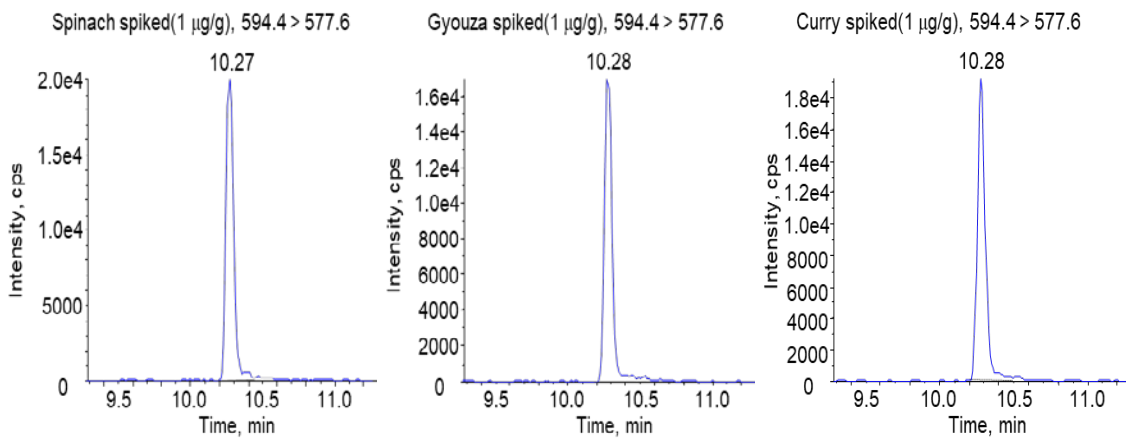


標準溶液 10 ng/mL

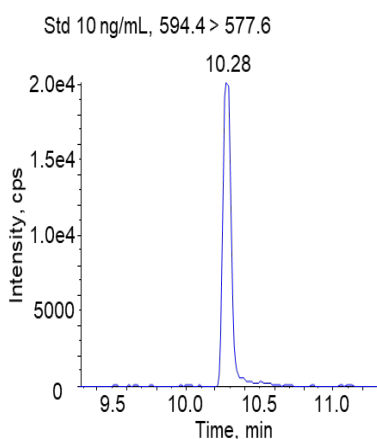
図 40. アリストロキア酸IIの LC-MS/MS クロマトグラム
SRM トランジション 定量 m/z 329.2 > 268.0



ブランク 試料

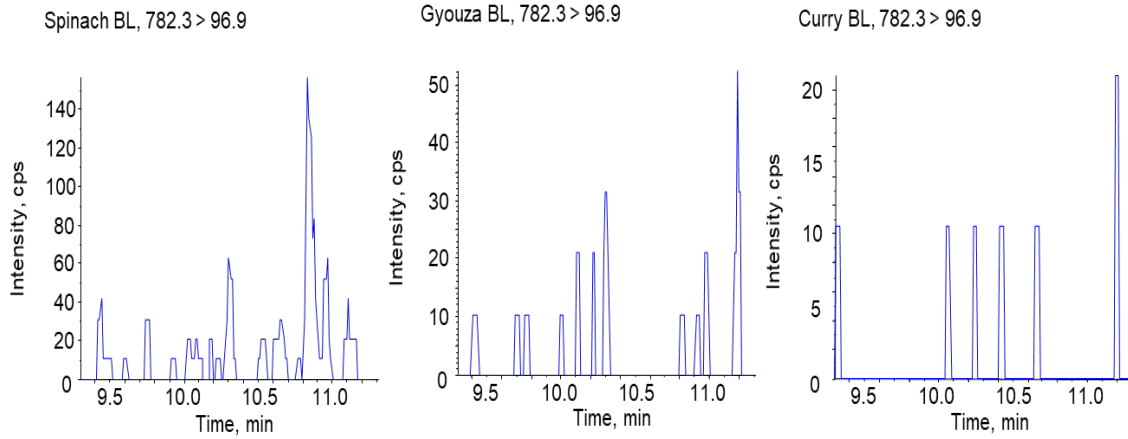


添加回収 (添加濃度 1 $\mu\text{g/g}$)

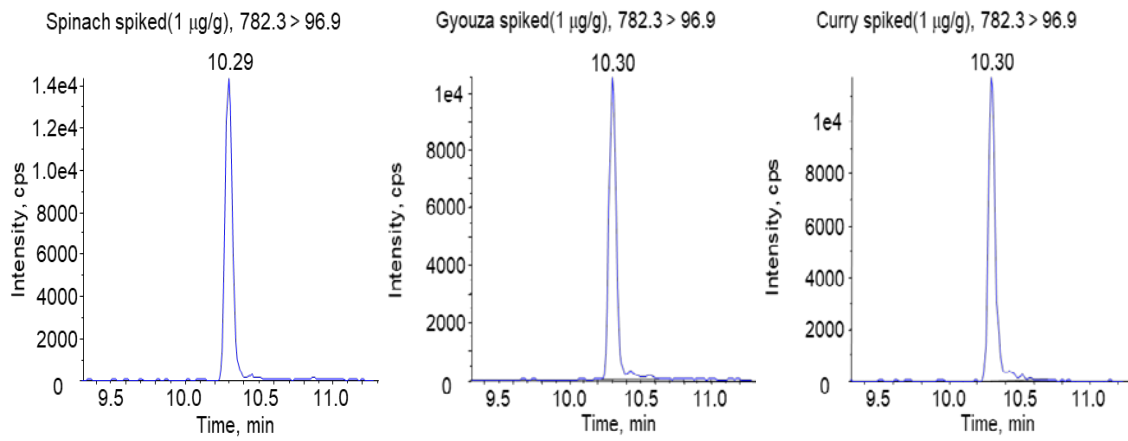


標準溶液 10 ng/mL

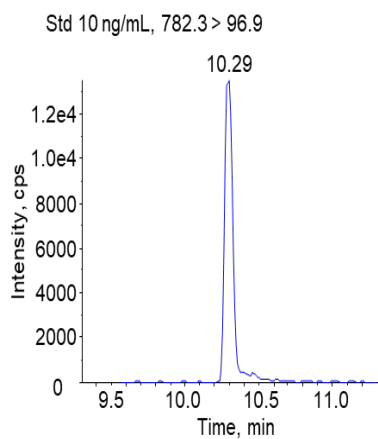
図 41. オレアンドリンの LC-MS/MS クロマトグラム
SRM トランジション 定量 m/z 594.4 > 577.6



ブランク試料

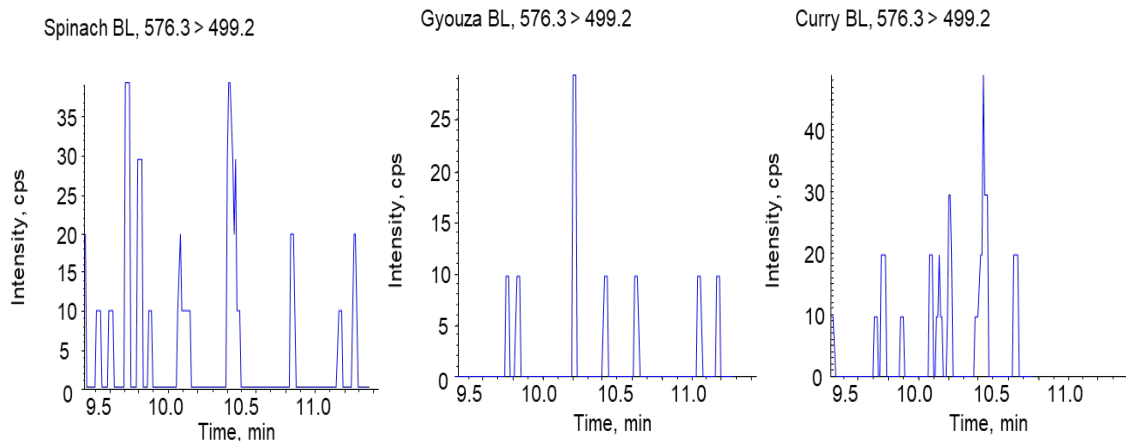


添加回収 (添加濃度 1 µg/g)

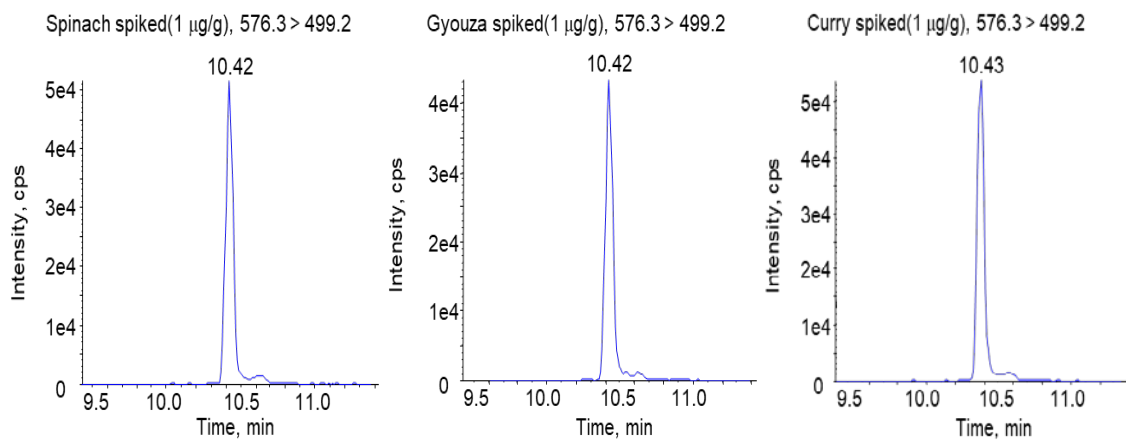


標準溶液 10 ng/mL

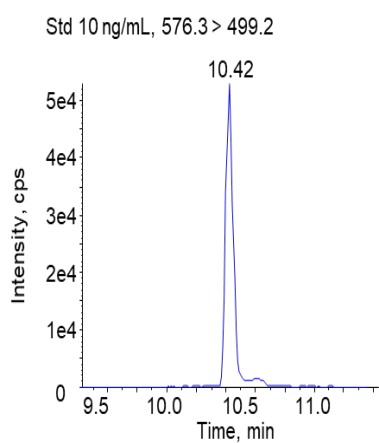
図 42. ジギトキシンの LC-MS/MS クロマトグラム
SRM トランジション 定量 m/z 782.3 > 96.9



ブランク試料

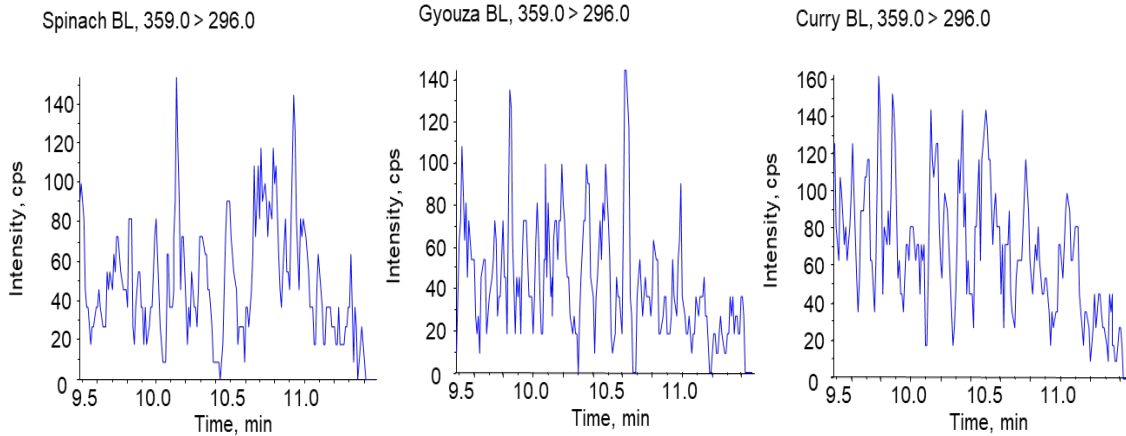


添加回収 (添加濃度 1 µg/g)

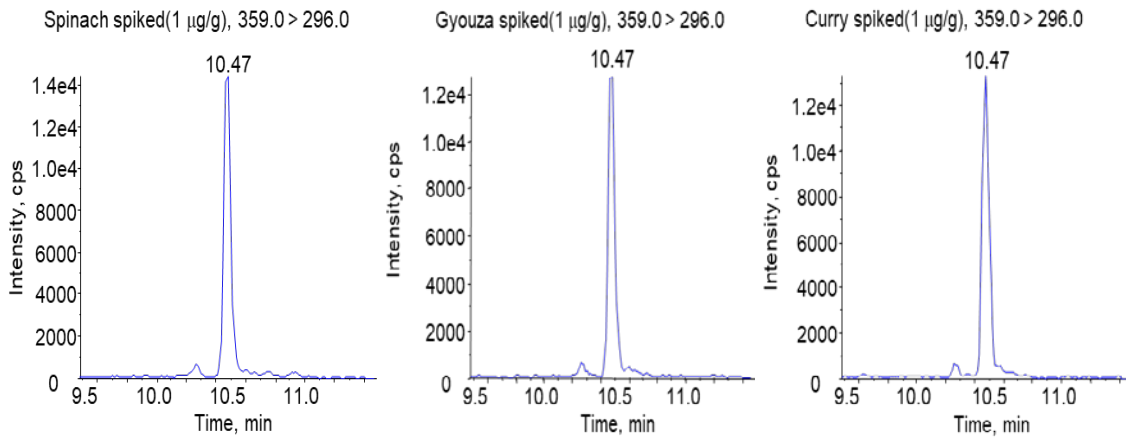


標準溶液 10 ng/mL

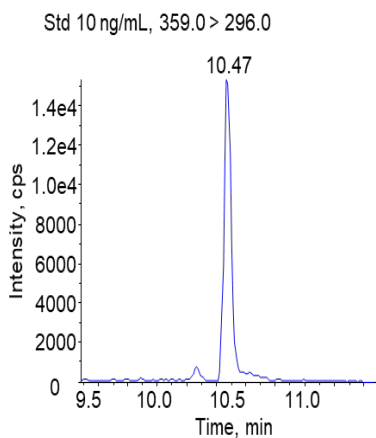
図 43. ククルピタシン B の LC-MS/MS クロマトグラム
SRM トランジション 定量 m/z 576.3 > 499.2



ブランク試料

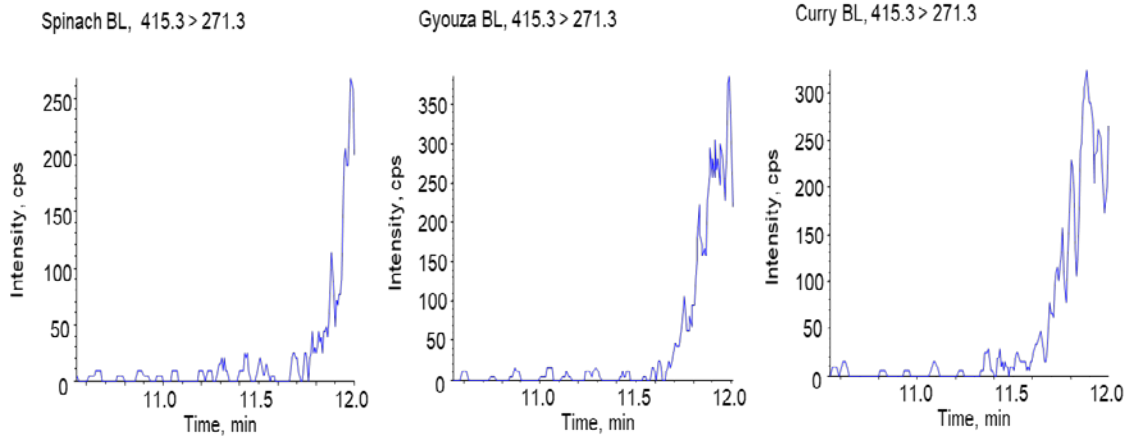


添加回収 (添加濃度 1 $\mu\text{g/g}$)

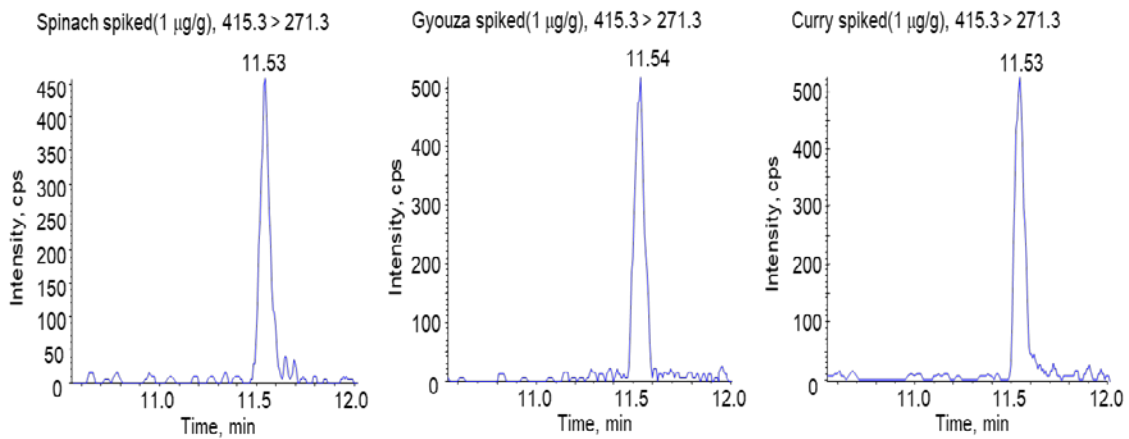


標準溶液 10 ng/mL

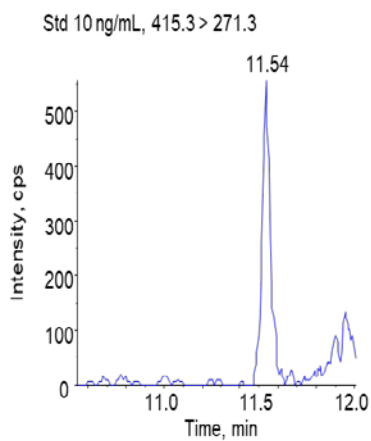
図 44. アリストロキア酸 I の LC-MS/MS クロマトグラム
SRM トランジション 定量 m/z 359.0 > 296.0



ブランク試料

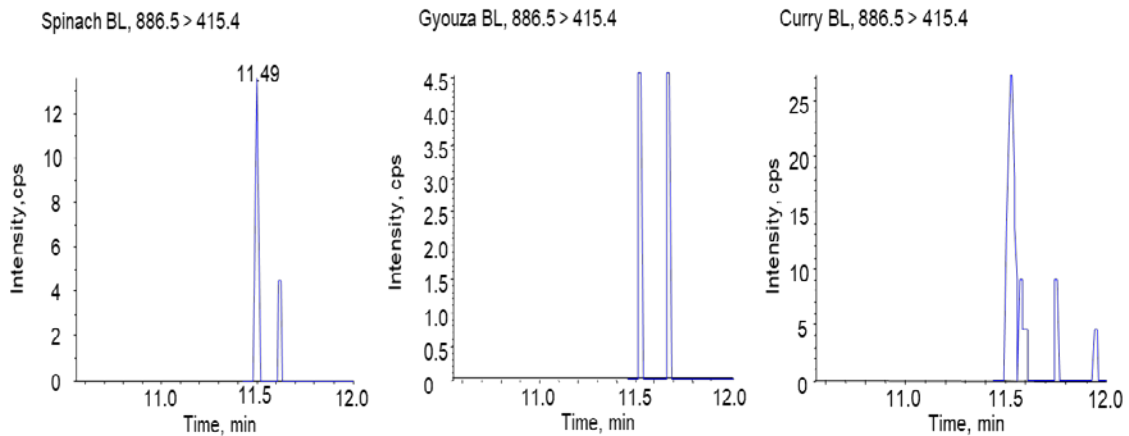


添加回収 (添加濃度 1 $\mu\text{g/g}$)

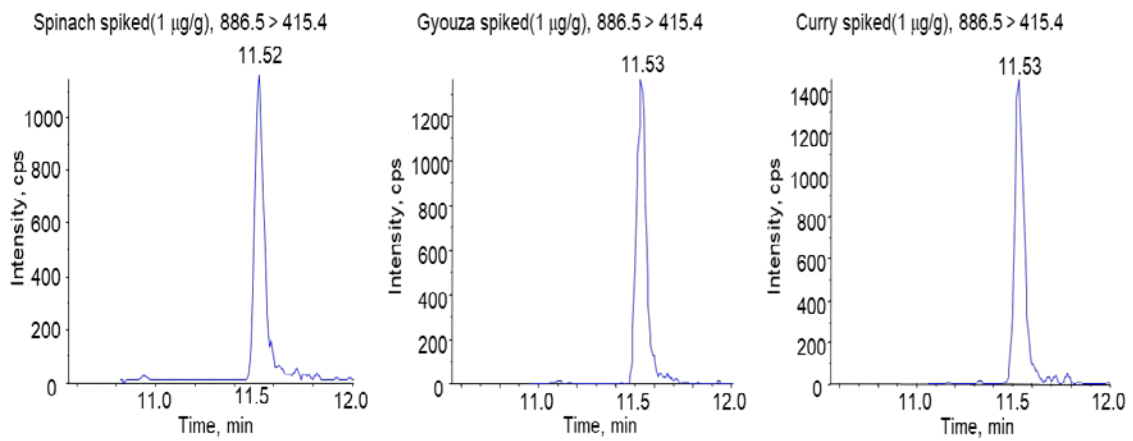


標準溶液 10 ng/mL

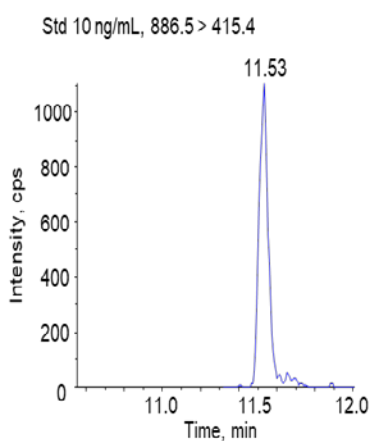
図 45. ジオスゲニンの LC-MS/MS クロマトグラム
SRM トランジション 定量 m/z 415.3 > 271.3



ブランク試料



添加回収 (添加濃度 1 µg/g)



標準溶液 10 ng/mL

図 46. ジオスシンの LC-MS/MS クロマトグラム
SRM トランジション 定量 m/z 886.5 > 415.4

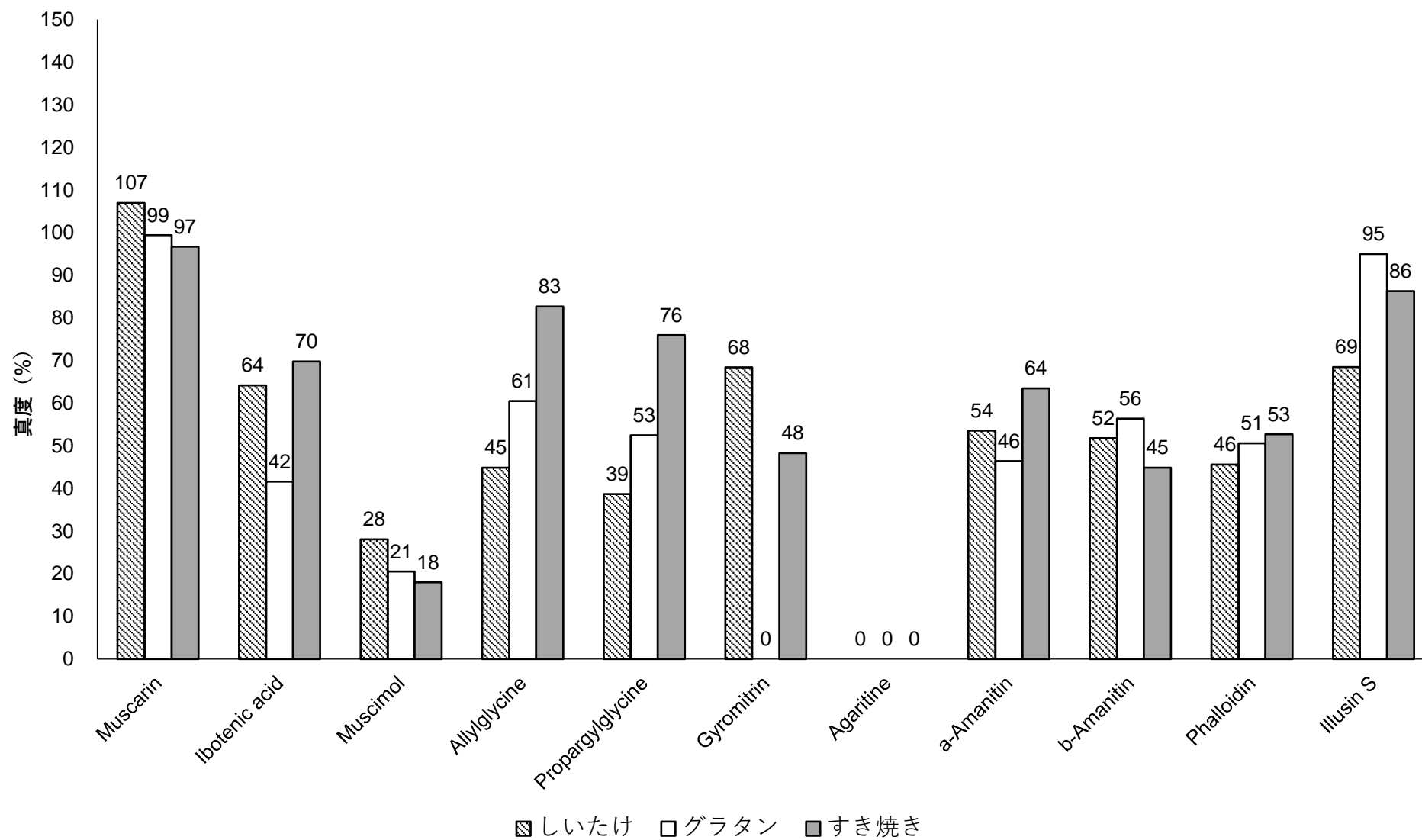


図 47. キノコの添加回収試験の結果 (コリンを除く 11 成分、添加濃度 1 μg/g (n=1))

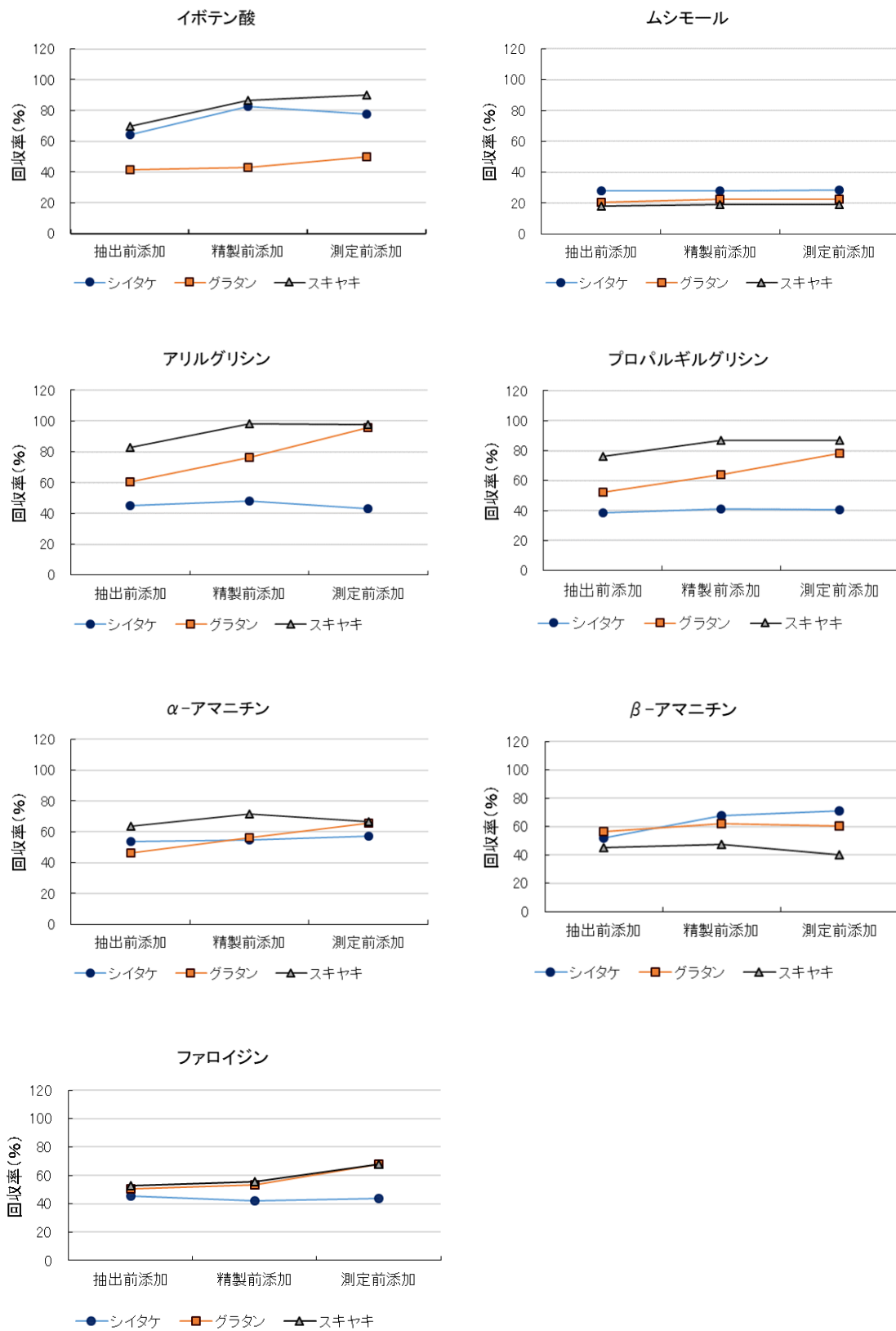


図 48. キノコの抽出前添加、精製前添加、測定前添加（添加濃度 1 μg/g (n=1)）

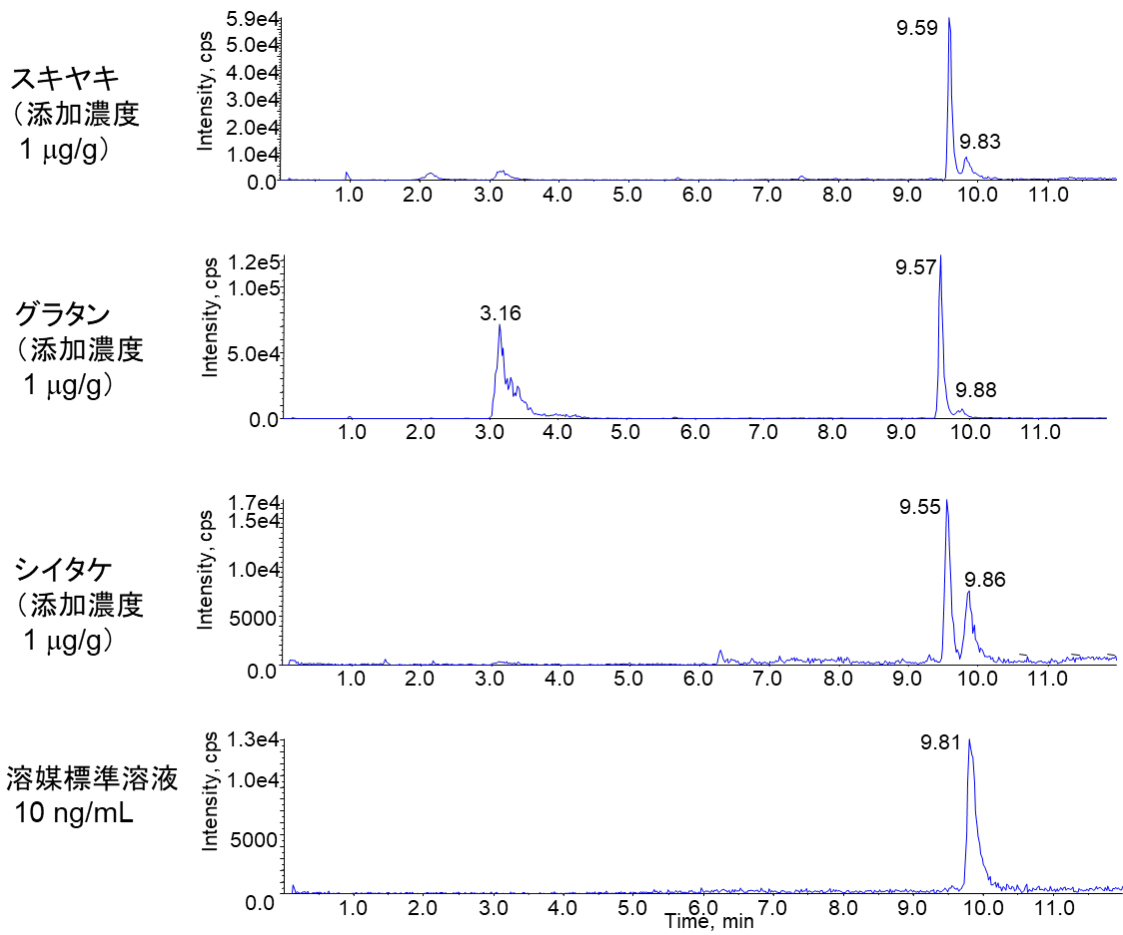


図 49. イブuprofen の LC-MS/MS クロマトグラム
SRM トランジション 定量 m/z 159.0 > 113.0

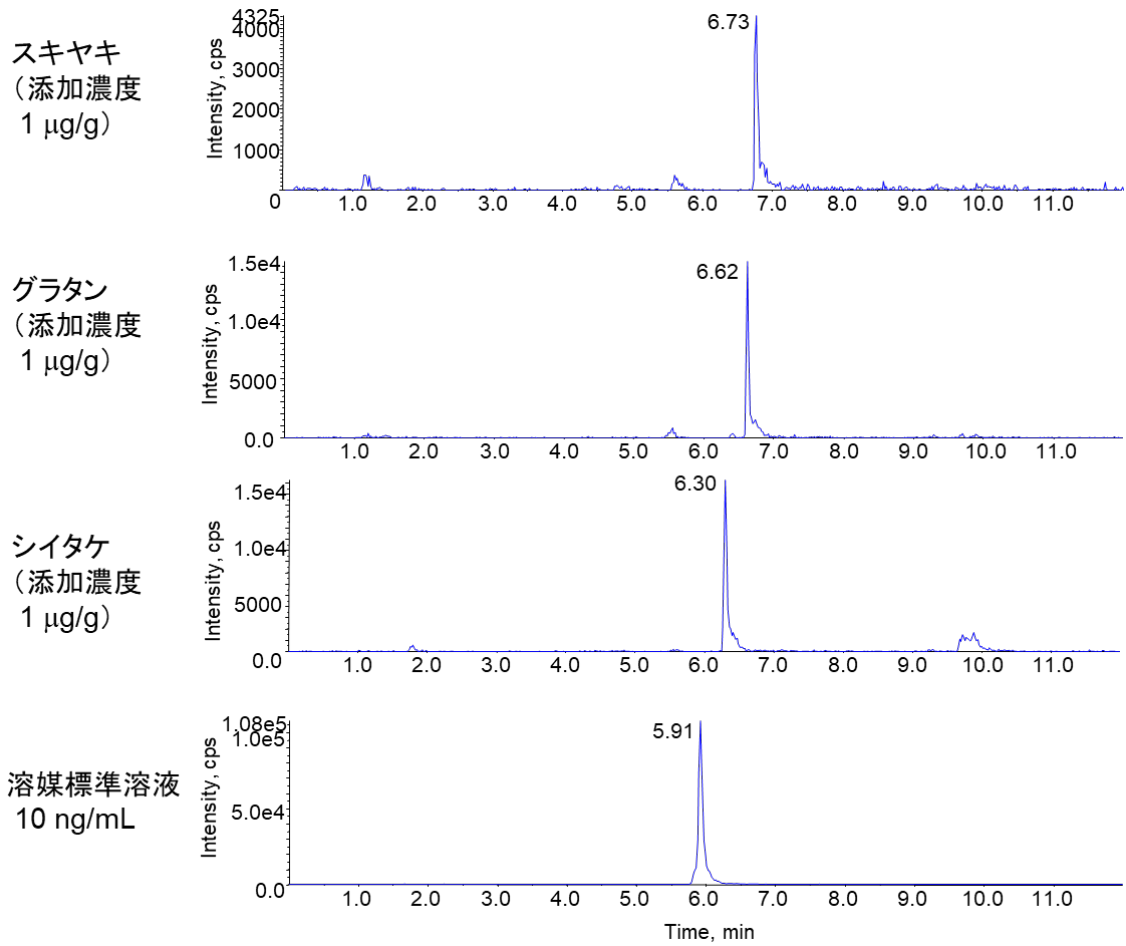


図 50. ムシモールの LC-MS/MS クロマトグラム
SRM トランジション 定量 m/z 115.0 > 98.0