

令和2年度厚生労働科学研究費補助金 食品の安全確保推進研究事業
植物性自然毒による食中毒対策の基盤整備のための研究
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。

有毒植物 令和元年度までに28植物群の44成分を対象とする多成分同時分析法を確立した。令和2年度は、ホウレンソウ、ギョウザ、カレーの3種類の食品の添加試料を用いた試験室間バリデーションにより、標準法としての適用性を評価した。また、中毒事例や死亡事例が多い代表的な中毒原因植物であるバイケイソウ、スイセン、チョウセンアサガオ、トリカブト、ジャガイモ、イヌサフランの6試料に含まれる毒成分の濃度を、標準添加法により推定し、絶対検量線法により求めた定量値と比較することにより、実際の有毒植物への適用性も評価した。いずれの評価でも良好な結果が得られた。

有毒キノコ 中毒事例や死亡事例が多い5キノコ群（ツキヨタケ、ドクツルタケ、カエンタケ、カキシメジ、ニセクロハツ）の9成分を対象として、逆相クロマトグラフィー（RPLC）によるLC-MS/MS分析条件を検討した。成分の分離度や感度を考慮して、分離条件とSRM条件を最適化することにより、定量限界を10 ng/mL以下に設定することが可能であった。

研究協力者	吉岡直樹	兵庫県立健康科学研究所	
谷口 賢	名古屋市衛生研究所	野村千枝	大阪健康安全基盤研究所
友澤潤子	滋賀県衛生科学センター	山口瑞香	大阪健康安全基盤研究所
太田康介	山形県衛生研究所	竹内 浩	三重県保健環境研究所
高橋正幸	北海道立衛生研究所	吉村英基	三重県保健環境研究所
木村圭介	東京都健康安全研究センター	神藤正則	堺市衛生研究所

A. 研究目的

自然毒食中毒は、発生頻度や患者数の割合は低いものの症状が重篤化しやすく死

に至る事例もあるため、食品衛生上の重要な課題とされてきた。特に近年、有毒植物や有毒キノコに含まれる植物性自然毒に

については、誤食による死亡事例が毎年発生している。厚生労働省の食中毒統計によると、平成27年～令和元年の5年間の植物性自然毒による死者数は、イヌサフランで9名、スイセン、トリカブト、ニセクロハツで各1名であった。また、令和2年は、グロリオサの球根と野生のキノコ(種類不明)を原因として各1名ずつが亡くなっており、近年植物性自然毒による死者数は大きく増加している。このことから、中毒発生時の迅速な原因究明とその予防対策が地方衛生研究所(地研)や保健所等の地方自治体衛生部局にとって重要な課題となっている。

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

中毒事例の対応を通して開発された種々の試験法は、これまで地研のネットワークにより情報共有されてきた。その中で改良や分析精度の向上が図られてきたが、未だ課題が残されている。化学的分析においては、毒成分の標準品を確保することが困難であるなどの理由により、同定可能な植物種が限られていることや、調理済み中毒残品の定量試験法が未整備であることなどが課題として挙げられる。

本研究では、植物性自然毒の中毒事例において病因植物種を網羅的に同定するた

めに、地研が広く利用でき、調理済み中毒残品にも適用可能な標準的化学分析手法の確立を目指した。分析機器は、農薬のポジティブリスト制度導入により地研において汎用されている液体クロマトグラフ・タンデム質量分析計(LC-MS/MS)を用いることとした。

有毒植物についてはこれまでに、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、分析対象とすべき28植物群の44成分を選定し(表1)、調理済み食品中でも定量可能なLC-MS/MSによる簡易、迅速な一斉試験法を確立した。

令和2年度は、本法が複数の機関で実施可能な試験法であることを検証するために、ホウレンソウ、ギョウザ、カレーの3種類の食品の添加試料を用いた試験室間バリデーションを行った。また、標準添加法により毒成分の含有量を推定した代表的な中毒原因植物6試料(バイケイソウ、スイセン、チョウセンアサガオ、トリカブト、ジャガイモ、イヌサフラン)について、本法による定量分析を行い、実際の有毒植物への適用性も評価した。

有毒キノコについてはこれまでに、アミノ酸や四級アミンなどの高極性の毒成分を、中毒事例の多いツキヨタケのイルジンSや致死性の高いドクツルタケのアマニタトキシンなどの低極性の毒成分と同時に親水性相互作用クロマトグラフィー(HILIC)-MS/MSにより分析する方法を検討したが、夾雑成分の影響のため、正確な同定、定量は困難であった。

そこで令和2年度は、対象となるキノコの毒成分や指標成分を化学的な性質により分類した上で、まずは中毒事例や死亡事例が多い4キノコ群（ツキヨタケ、ドクツルタケ、カエンタケ、カキシメジ）に含まれる低極性のキノコ毒8成分とニセクロハツの指標成分であるシクロプロピルアセチル-(R)-カルニチンの9成分を対象とした逆相クロマトグラフィー（RPLC）によるLC-MS/MS測定条件を検討した。

B. 研究方法

1. 有毒植物

1.1 試料

有毒植物の毒成分の添加回収試験は以下の3種類の食品を用いた。

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

実際の中毒原因植物として、以下の6種類の試料を用いた。

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

1.2 試薬・試液

分析対象とした植物毒44成分（表1）の標準品は市販品を用いた。表2-1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、5µg/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10µg/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-d9（CDN Isotopes社製）、レセルピン-d9（Sigma-Aldrich社製）及びジゴキシン-d3（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-d9とレセルピン-d9は混合し、ジゴキシン-d3は単一でメタノールにより希釈して10µg/mLの溶液を調製した。

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

10%(w/v)トリクロロ酢酸（TCA）溶液はナカライテスク（株）製の特級試薬を用いて調製した。その他試験溶液の調製及びLC-MS/MS測定に用いた有機溶媒は、市販の残留農薬試験用又はLC-MS用を用いた。

1.3 装置

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

いた。遠心分離機は久保田商事（株）製の 6200 などの高速遠心機を用いた。

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

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

1.4 LC-MS/MS 測定条件

植物毒 44 成分及び内部標準 3 成分の測定条件を表 2-1、表 2-2、表 3 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測定する 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、Scheme 1 に示した。

1.5.1 抽出

試料 5.0 g を 50 mL のポリプロピレン製遠心沈殿管に量り採り、ジゴキシン-d3 溶液 (10 µg/mL) を 0.5 mL 添加して混合し、30 分間放置した。添加回収試験においても同様に、試料中の濃度が 0.1 及び 1 µg/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×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×g で 1 分間遠心分離し、溶出液を捨てた。さらに抽出液 1 mL を負荷し、同様に遠心分離して得られた溶出液を採り、水を加えて 10 mL に定容したものを試験溶液とした (0.01 g sample/mL)。バイアルは不活性処理済みの透明ガラスバイアルを用いた。

1.6 定量

ジゴキシン-d3 が 10 ng/mL となるように加えた上で、0.2%(w/v)TCA 含有 8%(v/v)メタノール溶液で 0.1、0.2、0.5、1、2、5、10、20、50 ng/mL の標準溶液を調製し、それぞれ 5 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レセルピン-d9 の 10 ng/mL 混合標準溶液を 5 µL 共注入した。(共注入機能がない液体クロマトグラフの場合は、試験溶液の調製の最後に水を加えて 10 mL に定容する前に、0.2%(w/v)TCA 含有 8%(v/v)メタノール溶液で調製したレセルピン-d9 の 100 ng/mL 溶液をあらかじめ 1 mL 加えた。また、標準溶液の調製においても、ジゴキシン-d3 と同時にレセルピン-d9 を 10 ng/mL となるように加えた。) 表 2-1 で内部標準が示されている 8 成分は、内部標準との面積比を求めて検量線を作成し、それ以外の成分は絶対検量線を作成して濃度を求めた。いずれの場合も標準溶液の濃度 x に対して、1/x の重み付けを行った。

1.7 添加回収試験

ホウレンソウ、ギョウザ及びカレーの3種類の食品に、植物毒44成分を2濃度(0.1 µg/g及び1 µg/g)で添加した試料を用いて、5回併行の添加回収試験を行い、真度と併行精度を求めた。

内部標準として試験溶液の調製の最初に加えたジゴキシン-d3と試験溶液の最終段階で加えたカフェイン-d9及びレセルピン-d9について、補正の有無による定量値への影響を評価した。また、内部標準のピーク面積のバラツキを求めるため、溶媒標準溶液を10回繰り返し5日間測定し、相対標準偏差の平均を算出した。

それぞれの食品のクロマトグラムのS/Nが10以上となることを確認した上で、真度が70-120%以内、併行精度が20%以内となった添加濃度を定量限界の推定値とした。

1.8 試験室間妥当性評価

ホウレンソウ、ギョウザ及びカレーの3種類の食品に、植物毒44成分を2濃度(0.1 µg/g及び1 µg/g)で添加した試料を用いて、3機関において、それぞれ添加試料を1日1回(2併行)、2日間分析する枝分かれ実験計画により、真度、併行精度及び室間精度の3つのパラメーターを求めた(Scheme 2)。選択性の評価は、3種類の食品の無添加試料(ブランク試料)を用いて、妨害ピークの有無を求めた。

以上のパラメーターを、「食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドライン」(厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知「食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドラインの一部改正について」(食安発 1224 第

1号、平成22年12月24日、以下「ガイドライン」)に準じて評価した。ガイドラインの「基準値」は、中毒量に達しているかを判断するのに必要となる食品中の毒成分の最低濃度として1 µg/gを仮定した。室間精度の目標値は、ガイドラインにおける「室内精度」と同じ値を用いた。定量限界は、**B.1.7 添加回収試験**において推定した定量限界濃度における、真度、併行精度、室間精度がガイドラインの目標値を満たしていることを確認することにより評価した。

1.9 実際の有毒植物の定量分析

B.1.5.1 抽出に従い、6種類の有毒植物の抽出液を調製した。あらかじめ絶対検量線法により求められた抽出液中の毒成分の濃度(x µg/mL)をもとに、抽出液中の添加濃度が0、0.5x、x、1.5x、2x、2.5x、3xと7濃度になるように毒成分を添加した抽出液を5 mLずつ調製した後、**B.1.5.2 精製**に従いそれぞれの標準添加抽出溶液を精製し、LC-MS/MSにより分析した。毒成分の添加量に対するピーク面積をプロットしたデータを最小二乗法により直線回帰し、そのx切片から抽出液中の毒成分の濃度を求めた。また、x切片の標準偏差に係数として2.571を乗じることにより、95%信頼限界を求めた。絶対検量線から得られた定量値と標準添加法により得られた定量値を比較することにより、試験法の性能を評価した。

2. 有毒キノコ

2.1 試料

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

2.2 試薬・試液

分析対象としたキノコ毒(又は指標成分)9成分(表4)のうち、 α -アマニチン、 β -アマニチン、 γ -アマニチン、ファロイジンの4成分の標準品は、市販品をメタノールに溶解し100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の標準溶液を調製した。イルジン S は林純薬工業(株)製の1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ メタノール溶液を用いた。カエンタケのサトラトキシシン H 及びサトラトキシシン H 12', 13'-ジアセテートはAgilent technologies社の滝埜博士から提供された100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ のアセトニトリル溶液を用いた。カキシメジのウスタル酸は、日本大学の早川教授から提供された合成品(Hayakawa et al. (2008))から調製した33 $\mu\text{g}/\text{mL}$ のメタノール溶液を用いた。ニセクロハツの指標成分であるシクロプロピルアセチル-(R)-カルニチンは、松浦らの報告(Matsuura et al. (2016))に基づき、シクロプロピル酢酸とL-カルニチン(いずれも東京化成工業(株)製)から脱水縮合反応により合成したものを分取HPLCにより精製し、200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ のメタノール溶液として用いた。

安定同位体標識化合物の内部標準として、プロピオニル-(R)-カルニチン-d3塩酸塩、ブチリル-(R)-カルニチン-d3塩酸塩及びイソバレリル-(R)-カルニチン-d9塩酸塩(いずれもCambridge Isotope Laboratories社製)を用いた。その他、バージニアマイシン B (Santa Cruz Biotechnology社製)、2, 2'-ビフェニルジカルボン酸(東京化成工業(株)製)、ジ

アセトキシシルペノール(富士フィルム和光純薬(株)製)を用いた。ジアセトキシシルペノールはアセトニトリルに、その他の化合物はメタノールに溶解して200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の標準原液を調製した。

2.3 装置

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

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

2.4 LC-MS/MS 測定条件

キノコの毒9成分及び内部標準4成分の測定条件を表3、表5-1、表5-2及び図2に示した。

2.4.1 分離条件の最適化

Waters社製のXBridge Shield RP18 (2.1 mm ϕ \times 150 mm, 3.5 μm)を用い、ギ酸溶液とメタノールの2液グラジエントによる逆相分配クロマトグラフィー(RPLC)により実施した。ギ酸濃度を0.02、0.05、0.1%(v/v)として、 α 及び β -アマニチンの分離度とウスタル酸の半値幅及びテーリング係数を比較して最適化した。

2.4.2 試験溶液の溶媒組成の最適化

試験溶液のメタノール濃度を有毒植物の試験溶液の組成と同じ8%(v/v)とした場合と50%(v/v)とした場合の定量トランジションのピーク面積を比較した(いずれもTCA濃度は0.2%(w/v))。また、保持時間が最大であったサトラトキシシン H 12', 13'-ジアセテートについて、メタノール濃度を30、40、50、60、70%(v/v)として定量トランジションのピーク面積を比較した(TCAは無添加)。

同様に、保持時間が最小のシクロプロピルアセチル-(R)-カルニチン及び S/N が最小のβ-アマニチンについて、TCA 濃度を 0、0.2、0.4%(w/v)として定量トランジションのピーク形状とピーク強度を比較した(いずれもメタノール濃度は 60%(v/v))。

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

C. D. 研究結果及び考察

1. 有毒植物

1.1 内部標準補正の有無による定量値への影響

令和元年度に実施した試料マトリックスの測定への影響の評価において、ESI(+)
のニコチン、アナバシン、ジオスシンの 3

成分は、正のマトリックス効果が見られたため、ESI(+)
で同様に正のマトリックス効果が見られたレセルピン-d9
を内部標準として使用した。ESI(-)
のアニサチン、ツチン、コンバラトキシンの 3 成分もレセル
ピン-d9
を内部標準とした。レセルピン-d9
は測定前の試験溶液の調製の最終段階で
定容の前に添加する(又は液体クロマトグ
ラフで共注入することによりシリンジス
パイクとして用いた。同じく、令和元年度
の検討結果により、ジゴキシンとジギトキ
シンの 2 成分は試料前処理の過程で損失
することが分かったため、ジゴキシン-d3
をサロゲートとして試料前処理を行う前
に加えた。その他、ESI(+)
の 36 成分はカフェイン-d9
をシリンジスパイクとして
検討した。ハウレンソウ、ギョウザ、カレ
ーの 3 種の食品で、0.1 µg/g
及び 1 µg/g
の 2 濃度で 5 回併行の添加回収試験を
実施した結果を表 8-1~表 8-3
に示した。

レセルピン-d9
とジゴキシン-d3
を内部標準として用いた 8 成分は、補正を行う
ことにより、多くの場合で真度の改善が見
られた。特に、ジゴキシン-d3
で補正したジゴキシンとジギトキシ
ンは、内部標準補正を行わない場合、真
度が 70%
を下回る場合が多かったが、補正により
真度が上昇した。ただし、前処理にお
けるジゴキシンとジギトキシンの挙動
は異なるため、ジギトキシンでは補
正後の真度がハウレンソウとギョウザ
で 120%
を上回った。

内部標準の溶媒標準溶液の測定値のバ
ラツキは、レセルピン-d9
の ESI(+)
で 4.0 RSD%
、ESI(-)
で 4.4 RSD%
と小さい値となり内部標準として適
していると考えら

れた (表 8-4)。ジゴキシン-d3 は 11.1 RSD%となりやや大きくなったが、サロゲートとして真値を補正することにより併行精度が改善したデータが多く見られた。

カフェイン-d9 を内部標準とした 36 成分は、真度にやや改善が見られた成分が多かったものの、内部標準補正しなくても真度は 70-120%の範囲内にあった。内部標準補正を行うことにより、かえって併行精度が大きくなるデータが多かった。これは、溶媒標準溶液に含まれるカフェイン-d9 の測定値の標準偏差が 12.2 RSD%と大きく、対象成分の定量値の精度に影響を与えることが原因であると考えられた (表 8-4)。よって 36 成分については、内部標準補正を行わずに定量することとした。

1.2 検量線

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

1.3 試験室間妥当性評価

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

参加した 3 機関ともこのピークが検出されたが、試料中 0.1 $\mu\text{g/g}$ に相当する 1 ng/mL の標準溶液のピーク面積に対する

比は、ホウレンソウで 0.18~0.74、カレーで 0.47~0.84 と 1 を下回った (表 7)。定量限界を 0.1 $\mu\text{g/g}$ 、基準値 (中毒量に達しているかを判断するのに必要となる食品中の最低濃度) を 1 $\mu\text{g/g}$ とすると、ガイドラインの選択性の目標値は「基準値濃度に相当するピークの 1/10」となり、いずれの食品でも選択性の目標値を満たしていた。その他 43 成分はいずれの食品においても定量を妨害するピークはなかった。

真度及び精度の結果を表 9-1~表 9-3 に示した。Scheme 2 の実験計画で求められる室間精度は、併行及び日間の変動が加味されたものとなっている。3 機関と通常の試験室間共同試験よりも機関数が少ないため室間精度としては信頼性が劣るが、一般に室間精度は単一試験室の室内精度より大きくなることが予想される。よって本実験計画で求めた室間精度をガイドラインの室内精度の目標値を満足していれば、試験法は妥当であると判断できる。

中毒量に達しているかを判断するのに必要となる食品中の最低濃度として仮定した 1 $\mu\text{g/g}$ の添加濃度における評価の結果、真度、併行精度、室間精度がガイドラインの目標値を満たした成分は対象とした植物毒 44 成分中、ホウレンソウで 38 成分、ギョウザで 38 成分、カレーで 39 成分と良好な結果が得られた。添加濃度 0.1 $\mu\text{g/g}$ 及び 1 $\mu\text{g/g}$ の両方で目標値を満たさなかった成分数は、ホウレンソウとカレーが 4 成分、ギョウザが 3 成分で、ニコチン、ツチン、プルナシン、ジゴキシン、ジギトキシン、ジオスシンの 6 成分であった (表 9-4)。

1.4 定量限界の推定と評価

単一試験室における 0.1 µg/g 及び 1 µg/g の添加回収試験 ($n=5$) の結果、真度が 70-120%以内かつ併行精度が 20%以内となった添加濃度のうち、低い方の濃度（両濃度とも範囲外となった成分は 1 µg/g）を定量限界の推定値とした（表 8-1～表 8-3）。

定量限界の推定値に相当する濃度の溶媒標準、添加回収及びマトリックス添加標準はいずれも S/N が 10 以上であることを確認した。その上で、定量限界の推定値における真度、併行精度、室間精度が 3 種全ての食品でガイドラインの目標値を満たす濃度を本試験法の定量限界として設定することとした（表 10）。対象とした植物毒 44 成分のうち、26 成分が 0.1 µg/g、12 成分が 1 µg/g に定量限界を設定することが可能であったが、添加濃度 0.1 µg/g 及び 1 µg/g のいずれにおいてもガイドラインの目標値を満たさなかった 6 成分については、定量限界を設定できなかった。これらの 6 成分はいずれも添加濃度 1 µg/g における真度が 70%を下回るものはなかったことから、スクリーニング試験法としては十分な信頼性があるものと考えられた。

1.5 実際の有毒植物の定量分析結果

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

有毒植物に含まれる毒成分の真の値を標準添加法により誤差範囲と併せて推定し、絶対検量線による定量結果との比較を試みた。しかし標準品は高価であり、植物中の濃度に相当する量を確保することはできなかつたため、**B.1.5.1 抽出**で得られた抽出液に対して標準添加を行った。代表的な中毒原因植物 6 試料の結果を表 11 に示した。

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

なおこの検討の過程で、ジェルビンの確認トランジションを $426.2 > 67.1$ から $426.2 > 84.0$ に、ヒパコニチンの定量トランジションを $616.3 > 556.1$ から $616.3 > 338.1$ 、確認トランジションを $616.3 > 524.2$ から $616.3 > 584.4$ にそれぞれ変更した。元のトランジションでは、定量トランジションと確認トランジションの定量値が一致しなかった。この原因を明らかにするために、グラジエント条件を緩やかにして分離を試みたところ、夾雑ピークが分離された。そこで、ジェルビンとヒパコニチンは標準と夾雑ピークのプロダクトイオンスペクトルを比較することにより、夾雑ピークにはなく標準のピークのみが存在するプロダクトイオンを選択して測定イオンを設定しなおすことで夾雑ピークによる定量の妨害を回避することができた。

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

2 有毒キノコ

2.1 分離条件の最適化

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

α 及び β -アマニチンの分離度はギ酸の濃度を下げるほど大きくなったが、ウスタル酸のピークの半値幅とテーリング係数はともに大きくなり、ピーク形状が悪化した

(図3)。正確な定量に必要な分離度は1.5以上とされることから、ギ酸濃度を0.05%(v/v)として分析を行うこととした。

2.2 試験溶液の溶媒組成の最適化

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

試験溶液中にTCAがない場合、極性の高いシクロプロピルアセチル-(R)-カルニチンはカラムに保持せず、ピークが2つに分かれた。TCAを加えることにより、シクロプロピルアセチル-(R)-カルニチンのピークは1つになり、ピーク形状も良好となった。一方、TCAを加えることで、ピーク強度が低下する成分が見られた。S/Nが最小であった β -アマニチンにおいては、TCAの添加によりピーク強度が約1/2に低下したが、TCA濃度を0.2%から0.4%(w/v)に上げてピーク強度はほとんど変わらなかった(図5)。

TCAは前処理操作フローにおいて抽出の際の除タンパクの目的で使用される。精製

後の試験溶液を 10 mL に定容した場合は TCA 濃度が 0.2%(w/v)、5 mL に定容した場合は 0.4%(w/v)となるが、以上の知見から、定容量を 5 mL にして試験溶液を濃縮しても問題ないと考えられた。

2.3 イオン化及び SRM 条件の最適化

α 、 β 、 γ -アマニチン、ファロイジン及びウスタル酸の 5 成分は、ESI(+)及び(-)の両極性でイオン化することが可能であったため、両極性で最適化された SRM トランジションのクロマトグラム の S/N を比較した (表 12)。いずれの成分も、ESI(-)の方が S/N は大きくなったため、定量は ESI(-)で行うこととした。

最適化された有毒キノコの成分の定量トランジションについて、溶媒標準溶液、シイタケの添加回収試験の溶液及びシイタケのマトリックス添加標準溶液のそれぞれの S/N を求めた(シイタケのマトリックス濃度は 0.02 g sample/mL)。溶媒標準、添加回収及びマトリックス添加標準のいずれの試験溶液についても、10 ng/mL 相当濃度に換算した S/N が 10 以上となることが確認された (表 12)。

2.4 内部標準の選択

内部標準は主に既報で使用されているものを用いた (表 5-2)。

α 、 β 、 γ -アマニチン及びファロイジンの内部標準は野村ら (Nomura et al. (2012)) が使用したバージニアマイシン B を、ウスタル酸の内部標準は吉岡ら (Yoshioka et al.(2020)) が使用した 2, 2'-ビフェニルカルボン酸を、サトラトキシシン H 及びサトラトキシシン H 12', 13'-ジアセテートの内部標準は太田ら (Ohta et al.(2021)) が

使用したジアセトキシシシルペノールを選択した。

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

2.5 最適化した LC-MS/MS 測定条件の適用について

以上により最適化されたキノコの毒 9 成分及び内部標準 4 成分の LC-MS/MS 測定条件 (表 3、表 5-1、表 5-2 及び図 2) は、表 4 に示した代表的な有毒キノコの鑑別法として適用可能であると考えられる。また、試験溶液の溶媒組成と量を変更した上で、有毒植物の前処理操作フローと組み合わせることにより、簡易、迅速な毒成分の定量試験法の開発が可能であると考えられる。今後、実際の有毒キノコや添加回収試験による検証が必要である。

E. 研究発表

1. 論文発表

特になし

2. 学会発表

- 1) 南谷臣昭、谷口賢、友澤潤子、登田美桜：植物性自然毒の多成分同時分析法の開発：高等植物（第2報）、第57回全国衛生化学技術協議会年会、紙上・Web開催／宮崎県、2020年11月
- 4) Yoshioka, N., Hayakawa, I., Minatani, T., Tomozawa, J., Akiyama, H. and Yomo, H. *Forensic Sci. Int.* **317**, 110554 (2020)
- 5) Ohta, H., Watanabe, D., Nomura, C., Saito, D., Inoue, K., Miyaguchi, H., Harada, S. and Aita, Y. *Forensic Toxicol.* **39**, 101-113 (2021)

3. 行政関係者向け説明会

- 1) 南谷臣昭：植物性自然毒の多成分同時分析について、令和2年度地域保健総合推進事業地方衛生研究所東海北陸ブロック専門家会議、Web開催／三重県、2020年10月

4. 市民向け発表会

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

F. 知的財産権の出願・登録状況

特になし

G. 参考文献

- 1) Hayakawa, I., Watanabe, H. and Kigoshi, H. *Tetrahedron* **64**, 5873-5877 (2008)
- 2) Matsuura, M., Kato, S., Saikawa, Y., Nakata, M. and Hashimoto, K. *Chem Pharm. Bull.* **64**, 602-608 (2016)
- 3) Nomura, M., Suzuki, Y., Kaneko, R., Ogawa, T., Hattori, H., Seno, H. and Ishii, A. *Forensic Toxicol.* **30**, 185-192 (2012)

表 1 対象とした有毒植物 28 群と 44 化合物

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

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

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

上段: 定量トランジション、下段: 確認トランジション

表 2-1 つづき

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

上段：定量トランジション、下段：確認トランジション

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

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

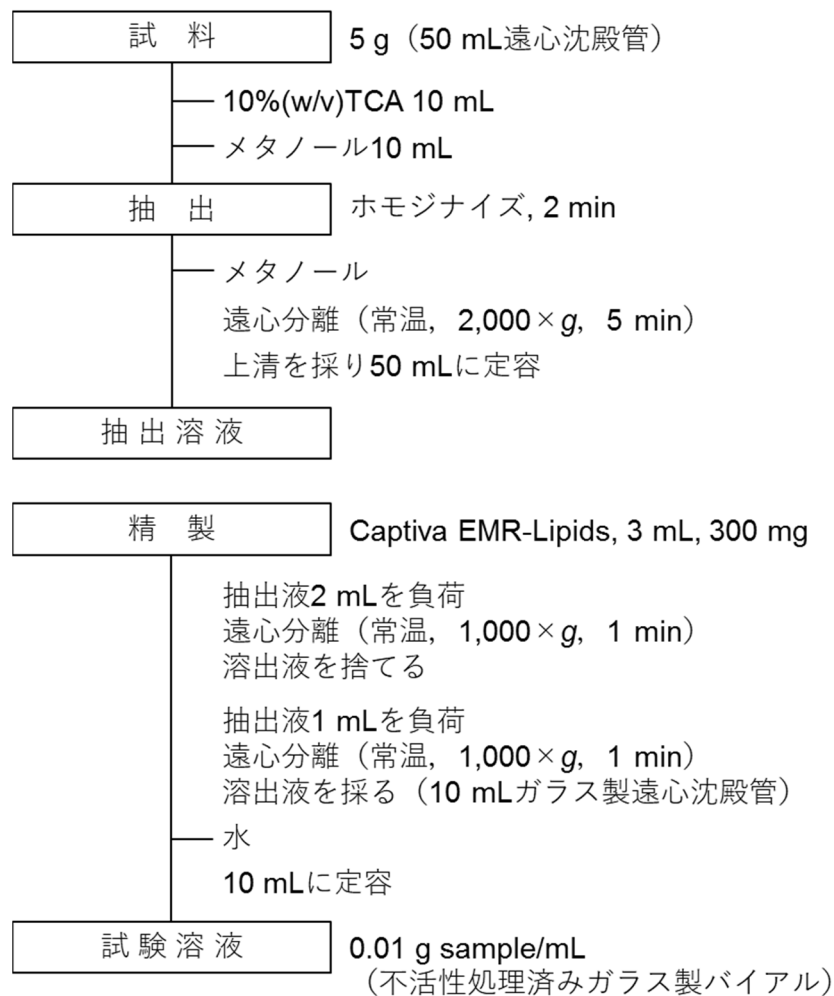
表 3 質量分析計のイオン化条件

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

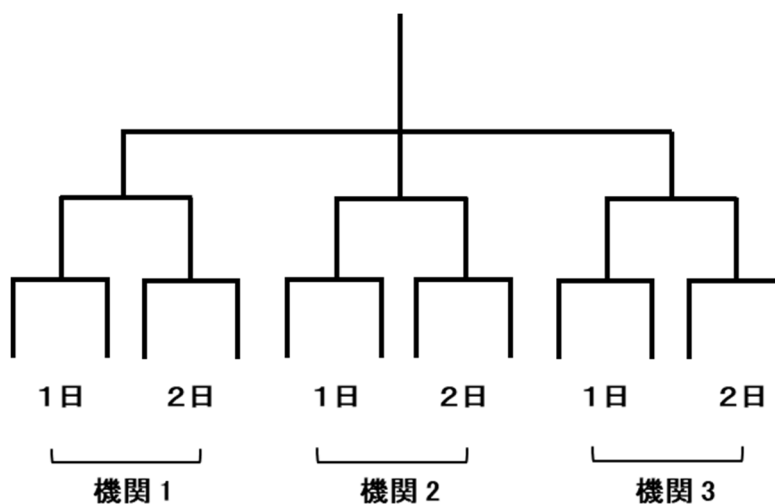
* SCIEX 社製 Turbo-V ソースの設定例

カラム	Raptor C18, 2.1 × 150 mm, 2.7 μm		
移動相	(A) 0.1%ギ酸含有5 mMギ酸アンモニウム (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		

図 1 有毒植物の毒成分一斉試験の液体クロマトグラフの条件



Scheme 1 有毒植物の毒成分一斉試験の前処理操作フロー



Scheme 2 3機関による妥当性評価の実験計画

表 4 対象とした有毒キノコ 5 群と 9 化合物

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

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

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

上段：定量トランジション、下段：確認トランジション

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

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

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

図 2 有毒キノコの毒成分一斉試験の液体クロマトグラフ条件

表 6 有毒植物の毒成分の検量線（検量線範囲、相関係数及び決定係数）

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

* レセルビン-d9により内部標準補正 **ジゴキシシン-d31により内部標準補正

表 7 選択性の評価

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

表 8-1 有毒植物の毒成分の添加回収試験試験における内部標準補正の影響及び
定量限界の推定—ホウレンソウ、添加濃度 0.1 µg/g 及び 1 µg/g、n=5 (併行)

No.	化合物名	0.1 µg/g添加				1 µg/g添加				定量限界 の推定値 (µg/g)
		内部標準補正なし		内部標準補正あり		内部標準補正なし		内部標準補正あり		
		真度 (%)	併行精度 (RSD%)	真度 (%)	併行精度 (RSD%)	真度 (%)	併行精度 (RSD%)	真度 (%)	併行精度 (RSD%)	
1	ニコチン*	149.4	7.4	122.9	13.9	127.6	1.8	109.0	4.1	1
2	サンギニン	92.4	6.2	94.0	14.3	95.5	5.3	110.4	5.7	0.1
3	アナバシン*	153.0	12.9	128.8	14.2	108.8	2.8	93.5	5.0	1
4	リナマリ	84.0	39.3	81.8	23.6	84.4	1.7	98.1	7.4	1
5	ギンコトキシ	94.1	2.9	96.2	16.7	94.9	0.8	109.5	6.4	0.1
6	リコリン	94.0	10.1	95.2	9.9	90.7	2.4	105.0	7.5	0.1
7	ガラタミ	89.0	7.6	89.7	12.2	85.3	1.5	98.9	6.8	0.1
8	リコラミ	87.9	8.8	89.4	11.5	88.1	4.7	101.9	4.5	0.1
9	コニ	92.7	4.7	95.5	18.4	92.6	3.1	107.2	3.8	0.1
10	フェプリジン	95.0	19.7	94.6	7.4	91.3	5.3	106.4	4.2	0.1
11	スコボラミ	88.4	9.3	89.6	9.4	91.4	4.4	105.4	3.4	0.1
12	ゲルセミ	94.2	5.3	95.6	11.3	89.8	2.5	103.8	6.7	0.1
13	アミグダリ	59.1	36.8	59.1	49.1	85.1	5.5	99.2	10.9	1
14	アニサチン*	96.6	10.8	108.2	11.7	93.2	6.1	101.0	7.1	0.1
15	ツチン*	50.2	115.6	63.5	121.9	69.9	11.2	75.2	14.5	1
16	アトロピ	91.1	2.0	93.2	16.9	92.4	3.0	106.7	6.9	0.1
17	プルナシ	82.3	41.6	79.1	42.9	82.1	4.9	94.9	8.6	1
18	グラヤノトキシ I	80.8	16.5	82.4	17.2	76.1	8.9	88.0	8.0	0.1
19	センキルキ	87.5	8.0	89.4	19.4	89.5	3.9	103.3	8.3	0.1
20	エキミジ	94.7	8.3	96.7	14.6	95.3	4.6	110.0	2.9	0.1
21	デメコルシ	97.9	13.6	100.1	20.8	93.5	6.0	108.5	10.1	0.1
22	ヘレプリ	85.4	18.1	85.0	22.4	85.3	3.5	98.8	7.9	0.1
23	コンバトキシ*	99.7	15.6	107.3	8.3	88.5	2.4	95.1	6.5	0.1
24	α-ソラニ	93.5	11.8	96.9	25.3	86.9	4.4	100.4	3.6	0.1
25	ストロファンチジ	90.4	20.0	90.1	15.4	87.4	3.0	101.2	7.5	1
26	α-チャコニ	87.4	10.6	89.0	18.2	87.9	8.7	101.9	12.8	0.1
27	ジェルピ	76.4	20.9	76.0	6.0	87.9	4.7	101.9	10.2	1
28	コルヒチ	79.8	12.9	78.5	17.7	78.3	4.7	90.5	6.0	0.1
29	ベラトラミ	83.4	5.6	85.4	15.0	87.8	1.9	101.5	7.4	0.1
30	プロトベラトリ B	95.2	10.2	99.6	22.5	97.8	4.0	113.3	8.9	0.1
31	ジゴキシ**	37.0	41.9	91.6	29.8	47.7	21.4	102.5	7.9	1
32	メサコニチ	93.8	11.9	93.5	24.2	91.6	6.3	105.0	6.8	0.1
33	シマリ	84.3	16.7	86.1	20.6	73.0	7.3	84.5	1.1	0.1
34	プロトベラトリ A	92.5	4.8	94.9	17.5	93.1	2.6	107.9	7.6	0.1
35	フィトラッカサポニ E	89.3	29.0	90.0	37.0	79.8	9.8	92.6	11.2	1
36	アコニチ	89.7	7.0	93.2	21.0	88.7	5.2	103.2	11.2	0.1
37	ヒパコニチ	96.9	20.4	99.0	24.8	83.8	7.1	97.4	8.3	1
38	ジェサコニチ	94.4	8.0	95.4	10.7	91.3	1.6	106.0	7.9	0.1
39	アリストロキア酸 II	84.0	18.2	87.0	29.5	81.6	16.3	94.8	16.4	0.1
40	オレアンドリ	89.8	8.8	91.5	12.0	88.7	9.5	102.0	5.7	0.1
41	ジギトキシ**	67.9	24.5	136.6	12.3	66.6	12.7	141.4	6.6	1
42	ククルビタシ B	71.4	10.2	75.0	16.3	80.1	5.4	92.6	8.1	0.1
43	アリストロキア酸 I	86.4	8.6	87.6	8.2	76.1	4.3	88.0	3.8	0.1
44	ジオスシ*	120.1	28.1	97.4	22.1	128.6	5.8	109.6	9.0	1

内部標準補正なしの結果について、真度が70-120%の範囲外、併行精度が20RSD%以上となった結果のセルを塗りつぶした。

ただし、化合物名の肩に「*」があるものはレセルピン-d9、「**」があるものはジゴキシ-d3Iにより、それぞれ内部標準補正した結果について評価し、同様に真度が70-120%の範囲外、併行精度が20RSD%以上となった結果のセルを塗りつぶした。

表 8-2 有毒植物の毒成分の添加回収試験試験における内部標準補正の影響及び
定量限界の推定—ギョウザ、添加濃度 0.1 µg/g 及び 1 µg/g、n=5 (併行)

No.	化合物名	0.1 µg/g添加				1 µg/g添加				定量限界 の推定値 (µg/g)
		内部標準補正なし		内部標準補正あり		内部標準補正なし		内部標準補正あり		
		真度 (%)	併行精度 (RSD%)	真度 (%)	併行精度 (RSD%)	真度 (%)	併行精度 (RSD%)	真度 (%)	併行精度 (RSD%)	
1	ニコチン*	147.4	5.7	133.0	4.8	125.4	3.3	101.9	5.1	1
2	サンギニン	98.9	6.0	88.3	14.3	94.6	3.6	91.4	10.6	0.1
3	アナバシン*	160.4	5.1	148.8	4.4	111.6	2.8	86.7	5.6	1
4	リナマリ	97.7	24.1	86.9	7.2	88.8	6.6	85.9	8.2	1
5	ギンコトキシ	100.4	4.3	89.1	11.1	98.5	2.5	95.5	9.6	0.1
6	リコリン	104.5	6.8	92.5	10.6	96.6	4.6	93.3	9.7	0.1
7	ガラントミン	95.9	4.9	85.9	16.2	94.5	0.9	91.5	8.9	0.1
8	リコラミン	101.4	8.8	90.0	11.1	94.3	4.1	90.9	6.7	0.1
9	コニイン	105.4	3.2	90.8	17.3	98.7	2.4	95.5	9.5	0.1
10	フェプリフジン	105.6	21.6	92.2	7.9	102.0	6.3	98.8	12.7	1
11	スコボラミン	106.8	6.4	94.9	11.7	98.3	3.9	95.1	8.1	0.1
12	ゲルセミン	96.5	5.1	86.6	15.8	97.0	4.2	93.9	7.3	0.1
13	アミグダリン	90.7	23.8	86.5	31.1	98.3	20.3	93.8	11.8	1
14	アニサチン*	92.1	11.6	92.7	9.5	90.9	7.8	91.0	7.4	0.1
15	ツチン*	3.2	223.6	3.8	223.6	74.8	19.7	75.5	18.6	1
16	アトロピン	97.7	3.1	87.2	12.1	95.7	2.6	92.7	10.1	0.1
17	プルナシン	124.8	45.4	126.1	30.0	99.6	10.8	96.3	10.0	1
18	グラヤノトキシ I	105.2	8.0	103.3	11.5	85.6	10.5	82.7	8.3	0.1
19	センキルキン	96.8	3.4	86.5	14.6	93.7	3.7	90.5	8.7	0.1
20	エキミジン	103.7	9.7	92.6	15.9	100.2	6.7	97.8	15.0	0.1
21	デメコルシン	89.3	4.7	84.1	16.2	93.6	6.2	90.5	12.1	0.1
22	ヘレプリン	86.2	9.0	77.8	15.2	89.6	5.6	86.7	12.0	0.1
23	コンバトキシ*	92.0	3.5	91.9	4.2	94.7	5.4	95.1	8.3	0.1
24	α-ソラニン	94.4	13.7	85.1	19.3	93.3	10.1	90.1	13.1	0.1
25	ストロファンチジン	91.4	34.8	91.4	34.8	94.5	9.2	94.5	9.2	1
26	α-チャコニン	96.7	13.7	87.6	22.9	93.1	5.1	89.8	8.4	0.1
27	ジェルビン	30.3	97.7	56.8	106.9	77.7	11.4	79.5	19.1	1
28	コルヒチン	102.4	8.2	90.9	17.0	95.7	6.1	92.6	11.3	0.1
29	ベラトラミン	89.3	5.8	80.0	11.2	84.1	3.0	81.3	7.7	0.1
30	プロトベラトリン B	88.1	6.5	79.5	14.7	83.5	3.5	80.9	11.4	0.1
31	ジゴキシ**	58.9	32.5	107.0	36.8	48.1	7.3	119.0	4.5	1
32	メサコニチン	81.1	12.4	72.7	11.2	76.0	6.7	73.1	6.1	0.1
33	シマリン	89.3	13.9	79.9	17.0	75.1	9.7	73.1	17.3	0.1
34	プロトベラトリン A	90.9	7.3	81.8	15.8	87.1	2.9	84.3	7.5	0.1
35	フィトラッカサポニン E	105.1	16.8	120.5	15.7	105.0	6.5	102.3	13.8	0.1
36	アコニチン	94.8	10.8	85.5	18.6	85.7	4.4	82.9	10.3	0.1
37	ヒパコニチン	93.4	19.0	90.4	17.6	79.8	8.1	77.2	9.8	0.1
38	ジェサコニチン	82.3	12.2	74.2	17.6	85.6	2.9	82.6	8.2	0.1
39	アリストロキア酸 II	59.4	24.3	59.4	31.9	77.7	7.6	79.3	11.0	1
40	オレアンドリン	98.6	8.8	87.4	12.0	82.4	3.3	79.4	7.5	0.1
41	ジギトキシ**	80.9	18.6	150.2	9.4	62.9	6.6	154.0	10.9	1
42	ククルビタシン B	84.7	25.6	87.0	26.3	74.7	5.1	71.8	6.3	1
43	アリストロキア酸 I	84.3	7.0	75.6	9.2	81.1	2.8	78.6	7.7	0.1
44	ジオスシン*	150.4	4.9	120.8	5.5	164.2	3.8	132.2	7.9	1

内部標準補正なしの結果について、真度が70-120%の範囲外、併行精度が20RSD%以上となった結果のセルを塗りつぶした。

ただし、化合物名の肩に「*」があるものはレセルピン-d9、「**」があるものはジゴキシ-d3により、それぞれ内部標準補正した結果について評価し、同様に真度が70-120%の範囲外、併行精度が20RSD%以上となった結果のセルを塗りつぶした。

表 8-3 有毒植物の毒成分の添加回収試験試験における内部標準補正の影響及び
定量限界の推定—カレー、添加濃度 0.1 µg/g 及び 1 µg/g、n=5 (併行)

No.	化合物名	0.1 µg/g添加				1 µg/g添加				定量限界 の推定値 (µg/g)
		内部標準補正なし		内部標準補正あり		内部標準補正なし		内部標準補正あり		
		真度 (%)	併行精度 (RSD%)	真度 (%)	併行精度 (RSD%)	真度 (%)	併行精度 (RSD%)	真度 (%)	併行精度 (RSD%)	
1	ニコチン*	193.4	6.1	200.4	8.6	145.0	2.0	150.0	4.2	1
2	サンギニン	91.4	6.3	81.3	7.8	92.8	3.4	92.5	2.3	0.1
3	アナバシン*	146.4	10.1	140.4	1.1	128.0	4.0	132.4	4.9	1
4	リナマリ	103.9	14.0	91.3	7.2	90.2	7.0	90.9	4.2	0.1
5	ギンコトキシ	94.2	3.3	85.2	9.3	94.4	3.0	94.1	3.8	0.1
6	リコリン	99.2	6.7	88.5	3.6	93.4	1.5	93.1	2.9	0.1
7	ガラタミン	88.1	6.3	80.5	11.6	93.6	1.6	93.4	4.1	0.1
8	リコラミン	90.3	6.5	80.8	12.0	91.1	2.5	90.9	5.0	0.1
9	コニン	95.0	11.1	86.0	16.5	94.2	0.6	93.9	3.2	0.1
10	フェプリフジン	113.0	6.9	99.3	8.4	108.4	3.7	107.7	5.7	0.1
11	スコボラミン	96.1	6.3	85.7	12.1	91.3	4.2	91.1	5.0	0.1
12	ゲルセミン	94.0	1.7	83.5	7.3	90.3	4.0	91.2	2.3	0.1
13	アミグダリン	69.3	30.0	64.3	23.2	85.2	9.1	85.3	11.5	1
14	アニサチン*	88.2	9.3	91.8	9.4	92.7	5.4	94.7	11.0	0.1
15	ツチン*	113.8	34.1	130.8	21.6	92.0	24.0	98.7	30.2	1
16	アトロピン	90.1	6.8	80.2	8.0	94.4	1.9	94.1	3.7	0.1
17	ブルナシン	205.4	17.0	192.4	15.0	100.8	7.9	100.6	8.3	1
18	グラヤノトキシ I	88.6	21.5	81.0	16.2	73.8	6.9	74.3	10.3	1
19	センキルギン	90.7	5.0	80.9	7.0	91.6	3.1	91.3	4.7	0.1
20	エキミジン	90.8	9.5	81.3	15.5	99.4	3.9	98.9	5.6	0.1
21	デメコルシン	93.1	7.6	83.2	11.3	101.6	4.7	101.3	4.4	0.1
22	ヘレ布林	81.5	16.9	73.1	20.0	90.7	6.0	90.5	5.5	0.1
23	コンバラトキシ*	90.7	6.0	91.8	7.4	87.9	1.9	89.7	7.3	0.1
24	α-ソラニン	95.7	11.0	86.4	13.0	93.4	6.8	92.9	5.1	0.1
25	ストロファンチジン	123.2	14.3	108.6	7.8	96.4	6.5	96.5	8.9	1
26	α-チャコニン	93.6	8.2	83.3	11.5	87.5	6.2	87.3	6.1	0.1
27	ジェルピン	96.1	22.5	81.1	17.2	93.1	3.9	88.8	5.1	1
28	コルヒチン	102.1	15.6	91.0	20.7	92.3	8.2	91.9	7.7	0.1
29	ペラトラミン	87.9	10.1	78.8	12.5	88.8	2.6	88.5	4.3	0.1
30	プロトペラトリン B	88.7	3.7	79.0	9.3	88.8	8.5	88.5	10.9	0.1
31	ジゴキシ**	66.7	20.3	109.4	7.0	63.6	10.2	103.2	6.8	0.1
32	メサコニチン	98.5	8.5	87.7	14.9	88.7	5.7	88.4	5.1	0.1
33	シマリ	85.6	18.1	76.7	16.1	79.8	7.7	79.6	6.2	0.1
34	プロトペラトリン A	90.5	5.8	80.8	11.8	92.7	2.9	92.5	2.6	0.1
35	フィトラッカサポニン E	103.2	11.8	99.7	16.6	87.1	12.3	86.6	10.3	0.1
36	アコニチン	94.3	3.0	83.7	9.4	95.8	3.8	95.5	1.9	0.1
37	ヒパコニチン	102.0	10.2	97.1	13.1	90.8	7.7	92.2	7.9	0.1
38	ジェサコニチン	95.3	9.7	84.9	14.8	90.1	3.0	90.9	5.4	0.1
39	アリストロキア酸 II	76.5	31.0	71.9	33.5	79.9	5.9	79.9	6.4	1
40	オレアンドリン	92.2	6.6	82.6	7.7	89.9	3.8	89.7	5.3	0.1
41	ジギトキシ**	63.7	17.2	108.8	15.0	70.8	9.3	113.2	6.4	0.1
42	ククルビタシン B	58.5	8.8	51.4	14.1	74.6	2.8	74.5	5.3	1
43	アリストロキア酸 I	85.7	7.8	76.7	11.4	89.1	3.3	88.9	5.5	0.1
44	ジオスシン*	148.0	24.7	131.0	30.6	132.8	2.6	137.2	4.3	1

内部標準補正なしの結果について、真度が70-120%の範囲外、併行精度が20RSD%以上となった結果のセルを塗りつぶした。

ただし、化合物名の肩に「*」があるものはレセルピン-d9、「**」があるものはジゴキシ-d3Iにより、それぞれ内部標準補正した結果について評価し、同様に真度が70-120%の範囲外、併行精度が20RSD%以上となった結果のセルを塗りつぶした。

表 8-4 有毒植物の毒成分の一斉試験に用いた内部標準溶液の測定値の相対標準偏差

N	溶媒標準溶液のピーク面積の相対標準偏差 (RSD%, n=10)			
	カフェイン-d9 ESI(+)	レセルピン-d9 ESI(+)	レセルピン-d9 ESI(-)	ジゴキシン-d3 ESI(+)
1	12.7	4.1	4.5	12.5
2	9.2	5.4	4.6	11.8
3	13.9	4.1	3.2	9.0
4	15.6	2.6	3.2	9.1
5	7.6	3.3	5.8	12.7
Mean*	12.2	4.0	4.4	11.1

*N=5のRSD%を2乗和した平均の平方根

表 9-1 有毒植物の毒成分一斉試験法の試験室間妥当性評価

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

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

* レセルピン-d9により内部標準補正

**ジゴキシン-d3により内部標準補正

表8-1の定量限界の推定値における評価結果を黄色塗りつぶして示した。

表8-1の定量限界の推定値が0.1 µg/gで目標値を満足しなかった化合物は、1 µg/gでの評価結果を赤色塗りつぶして示した。

表8-1の定量限界の推定値が1 µg/gで目標値を満足し、かつ0.1 µg/gで目標値を満足した化合物は青色で塗りつぶして示した。

表 9-2 有毒植物の毒成分一斉試験法の試験室間妥当性評価

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

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

* レセルピン-d9により内部標準補正

**ジゴキシン-d3により内部標準補正

表8-2の定量限界の推定値における評価結果を黄色塗りつぶして示した。

表8-2の定量限界の推定値が0.1 µg/gで目標値を満足しなかった化合物は、1 µg/gでの評価結果を赤色塗りつぶして示した。

表8-2の定量限界の推定値が1 µg/gで目標値を満足し、かつ0.1 µg/gで目標値を満足した化合物は青色で塗りつぶして示した。

表 9-3 有毒植物の毒成分一斉試験法の試験室間妥当性評価

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

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

*レセルピン-d9により内部標準補正

**ジゴキシン-d3により内部標準補正

表8-3の定量限界の推定値における評価結果を黄色塗りつぶして示した。

表8-3の定量限界の推定値が0.1 µg/gで目標値を満足しなかった化合物は、1 µg/gでの評価結果を赤色塗りつぶして示した。

表8-3の定量限界の推定値が1 µg/gで目標値を満足し、かつ0.1 µg/gで目標値を満足した化合物は青色で塗りつぶして示した。

表 9-4 有毒植物の毒成分一斉試験法の試験室間妥当性評価まとめ

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

表 10 有毒植物の毒成分一斉試験法の定量限界

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

* レセルピン-d9により内部標準補正

**ジゴキシシ-d3により内部標準補正

表 11 代表的な中毒原因植物 6 試料に含まれる毒成分定量結果（絶対検量線法と標準添加法の比較）

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

ギ酸

α, β -アマニチン

ウスタル酸

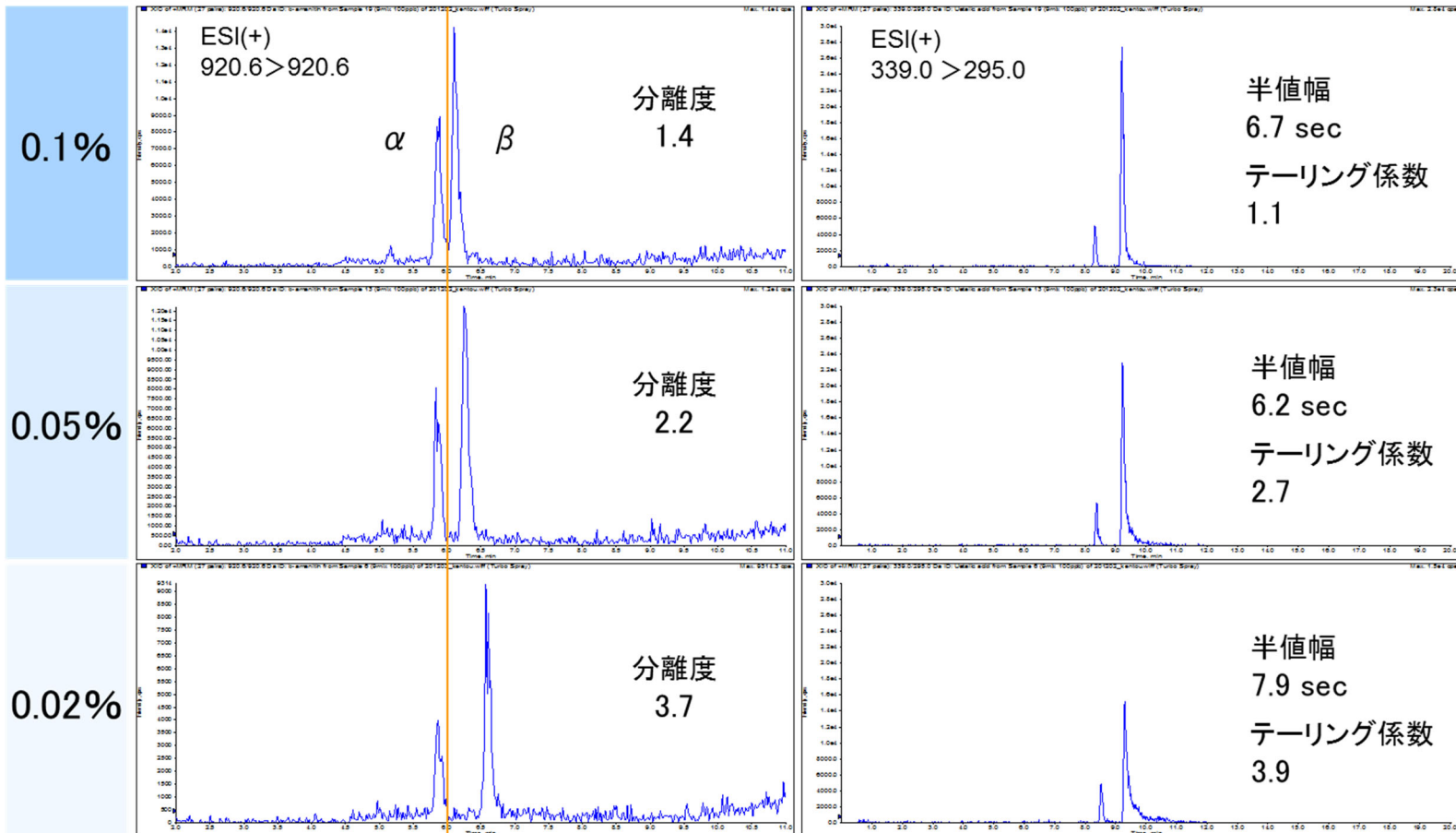


図3 ギ酸濃度による α 、 β -アマニチンの分離度とウスタル酸のピーク形状の変化
グラジエント条件：B 2%(0 min)→B 95%(10-12 min)
標準溶液 100 ng/mL (0.2%TCA 含有 50%メタノール溶液)

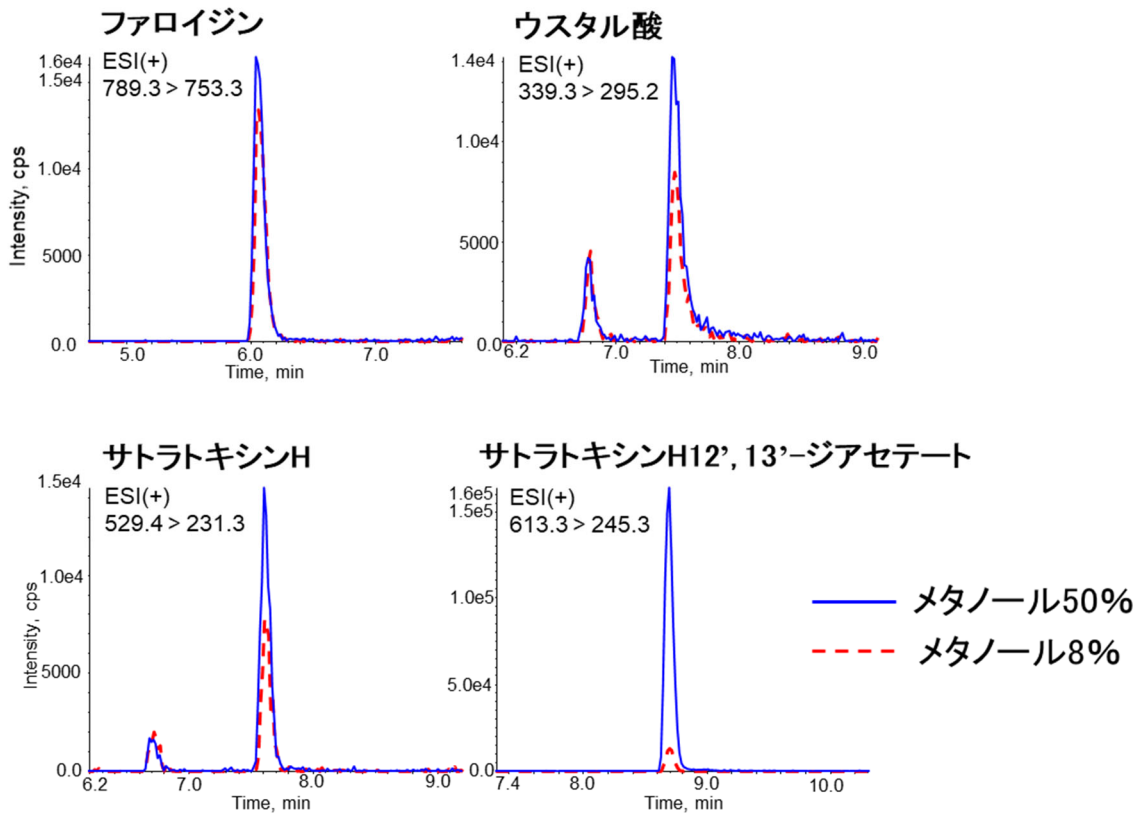


図 4-1 メタノール濃度がピーク強度に及ぼす影響
 グラジエント条件 : B 10%(0 min)→B 100%(8-12 min)
 標準溶液 100 ng/mL (0.2%TCA 含有)
 ただし、ウスタル酸は 50 ng/mL (0.2%TCA 含有)

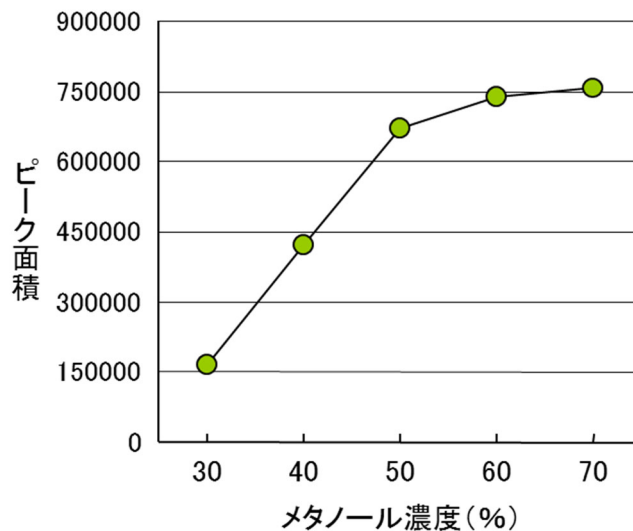


図 4-2 サトラトキシシン H 12', 13'-ジアセテートの
 ピーク面積に及ぼすメタノール濃度の影響
 標準溶液 100 ng/mL (TCA を含まない)

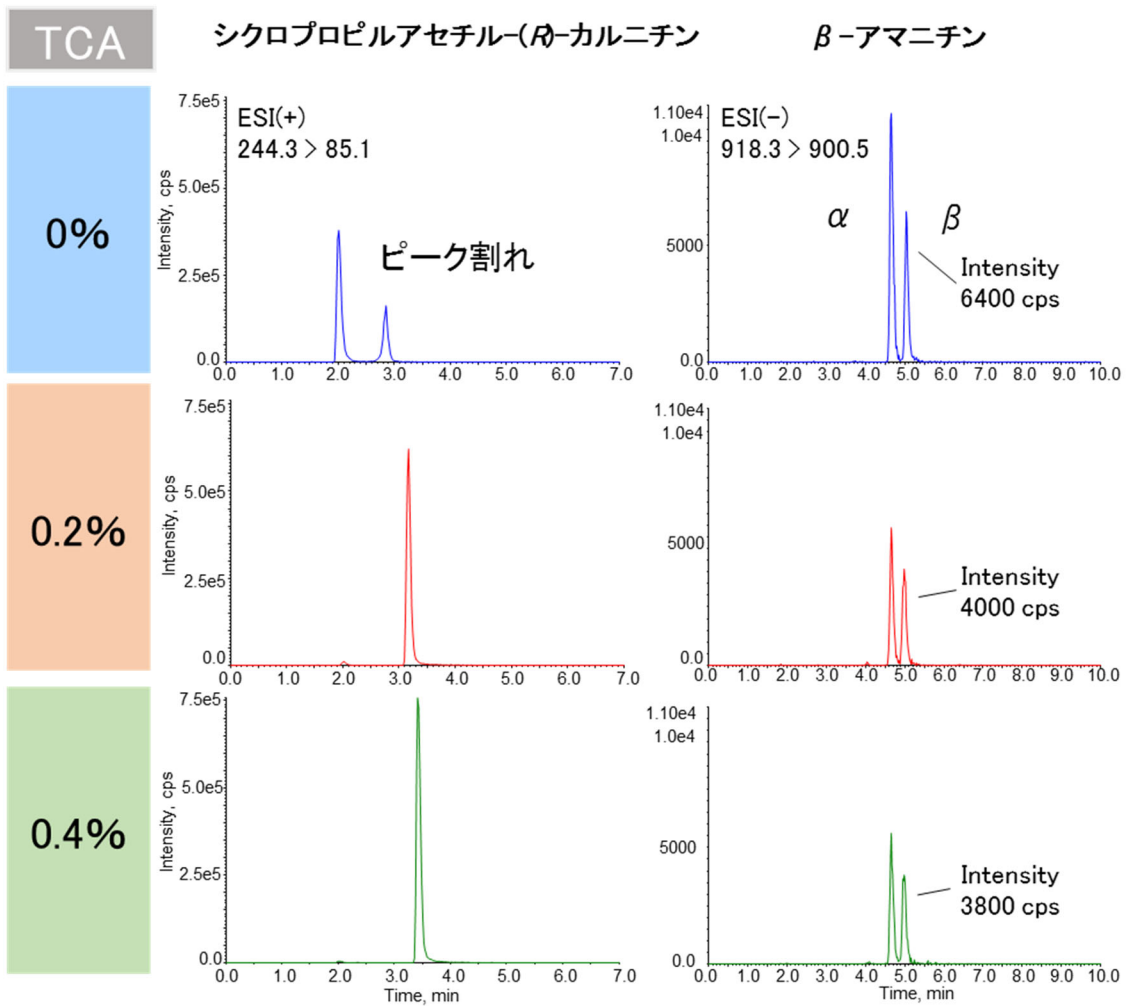


図 5 TCA 濃度によるシクロプロピルアセチル-(*R*)-カルニチンのピーク形状と β -アマニチンのピーク強度の変化

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

標準溶液： 50 ng/mL (60%メタノール溶液)

表 12 有毒キノコ毒成分の 10 ng/mL 相当濃度における S/N

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

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

** シイタケのマトリックス濃度は0.02 g sample/mL

は不採用のトランジション。