

2 抽出溶媒の検討

キノコ試材は、多くの炭水化物を含んでいるため、抽出溶媒に含水溶媒を用いると抽出物の量が倍増し、形状から多くの糖類が抽出されたと考えられた。そのため、極性の高い agaritine の抽出においても、メタノールなどの有機溶媒のみが望ましいと考えられた。そこで、抽出にメタノールおよびアセトニトリル、試材にアカリクスキノコ1製品を用いて分析までの一連の操作での回収率を検討した。その結果、メタノール抽出ではほぼ100%回収されるのに対し、アセトニトリル抽出では50%未満であった。

3 前処理の検討

agaritine は、グルタミン酸と HMPH が縮合した両イオン性化合物である。また、酸、アルカリ条件では容易に分解される。はじめに、agaritine 標準液を用い、以下の検討を行った。

- 1) 選択性の高い陽イオン交換カラム SCX を用いる方法。—— 本法では agaritine を保持させるために、塩酸酸性 (pH1) に調整しカラムに負荷。1M アンモニア水で溶出を行った。その結果、agaritine の約10%しか回収されず、ほとんどが分解されたものと考えられた。また、キノコ特有の黄色色素も全く除去できなかった。
- 2) 逆相系カラム C₁₈ を用いる方法。—— 0.01% 酢酸 メタノール (9:1) に溶解した試料溶液を Bond Elut C₁₈ (500 mg) に負荷することにより agaritine は保持されないものの、黄色色素をほぼ完全に吸着除去できた。
- 3) その他の逆相系カラムであるポリマー系カラム SDB とも2)と同様の検討を行った。2)と同様 agaritine はほとんど保持されないが、agaritine の完全な溶出に多くの溶媒が必要であり、最終検液が希釈されるのみであった。

4 agaritine の熱安定性

1) agaritine 標準品水溶液 (10 µg/ml) を調整し、4°C、25°C、60°C、100°C での安定性を検討した。その結果、60°C までは24時間以内にほとんど分解されないが、100°C では、1時間後から分解が始まり、その後急速に分解が進行することになった (図4)。また、agaritine の分解に比例して、HMPH が生成してくることも分かった (図5)。なお、図5では agaritine 分解前および5時間後の HMPH 生成量を100とした。

2) アカリクスキノコ乾燥品について、80°C 放置では、agaritine 標準品同様急速に分解し、8時間後では大部分が分解された (図6)。しかし、実際の摂取条件により近い条件である急須に熱湯注ぎ、その後室温放置の条件では、8時間後でもほとんど agaritine は分解されなかった (図7)。15分から4時間では、agaritine は分解されないが、抽出されてくるため、agaritine 濃度は最も高かった。

5 agaritine 分析に用いる HPLC 用カラムの検討

両イオン性で高極性である agaritine の保持時間、ピークの挙動を、逆相系 ODS 2 種および水系順相 HILIC カラムで検討した。その結果、ODS-3 カラムでは agaritine の保持時間は61分 (移動相 0.01% 酢酸 メタノール=99:1) であるが、移動相をいったん止めた後、分析を開始すると保持時間が早くなった。移動相に99%水系溶媒を用いているため、典型的なカラム上の炭素鎖の巻き込み、細孔からの移動相の抜けによる現象が見られた。また、ODS-3 を用いて実試料を分析すると同一試料においても測定値の変動が大きく (40%) 問題があった。一方、100%水系移動相での使用ができる Capcellpak AQ は保持時間の変動、測定値の変動もなく良好であった。また、agaritine の保持時間は (移動相 0.01% 酢酸 メタノール=99:1)、炭素率が少ないためか少し早くなり52分であった。

次に、agaritine と夾雑物との分離をできるかきりよくすることを考え、強い保持が期待されるカラムとして水系順相 HILIC カラムを検討した。しかし、2本に割れたフロートなピークが得られ、agaritine の分析には不適當と考えられた(図8)。

6 アガリクスキノコ製品中の agaritine 含量
アガリクスキノコ9製品について、agaritine 含量の実態調査を行った(表1)。乾燥品試料中の agaritine 含量は、1,437~2,017 µg/g dry、製品中 agaritine 含量は、一部 279 µg/g dry と高いものがあったか、その他の製品5種には ND~128 µg/g dry と agaritine 含量は低かった。検出下限は、0.05 µg/g dry であった。図9、10には、代表的なクロマトグラムを示した。

6 *Agaricus* 属以外のキノコ中の agaritine 含量
マッシュルームには、198 µg/g wet の agaritine が検出されたか、それ以外のキノコ中には agaritine は検出されなかった。agaritine は *Agaricus* 属キノコに特有のヒトラシン化合物を考えられた(表2)。検出下限は、0.05 µg/g wet であった。図11には、代表的なクロマトグラムを示した。

D 考察

LC/MS/MS 法で m/z 122, 248 を用いた agaritine 定量か、アガリクスキノコ製品中など夾雑物が多い試料においても、妨害を受けず正確に行えることかてきた。アガリクスキノコ製品中 agaritine 含量は、乾燥品が無添加でキノコ成分のみを含むため、2,000 µg/g dry と高濃度に検出された。栄養補助成分を添加したアガリクスキノコ製品中では、一つ 279 µg/g dry 検出されたものがあつた他は、ND~128 µg/g dry と低濃度であった。これは、キノコ本来の含量比率が低いことと、加工段階で分解されるためと考えられる。

また、agaritine は 80~100°C 恒温放置では1時間後から急速に分解されるか、熱湯を急須に入れ

室温放置した場合は、8時間後でもほとんど agaritine が分解されず残っていた。このことから、実際の摂取の仕方である、熱湯で煎して飲む、というやり方では agaritine はかなりの量摂取している可能性が示唆された。

Agaricus 属以外のキノコ中には agaritine は今回検出されなかった。agaritine は、*Agaricus* 属に特有のヒトラシン化合物と考えられた。

agaritine は変異原性が報告されているか、アガリクスキノコ全体では変異原性がないとされている。今回、アガリクスキノコ乾燥品中には2,000 µg/g dry と高濃度検出された。実際の摂取においても、キノコ全体では毒性が全くないかはさらに検討が必要であると考えられる。

E 結論

agaritine は、 m/z 122, 248 をモニターイオンとする LC/MS/MS 法で、複雑なマトリックス中においても妨害を受けず正確に定量可能であった。

アガリクスキノコ乾燥品中には 2,000 µg/g dry と高濃度検出された。その他の製品中には、ND~279 µg/g dry 検出された。

Agaricus 属以外のキノコ中には agaritine は今回検出されなかった。

F 参考文献

- 1 Bela, T, Donald, N, Kashmath, P, James, E, Kenneth A Tumor induction with the N'-acetyl derivative of 4-hydrozylmethylphenylhydrazine, a metabolite of agaritine of *Agaricus bisporous* Cancer Res 38, 177-180 (1978)
- 2 Bela, T, Ksmath, P, Hwan-Soo, J Carcinogenesis of 4-hydrozylmethylbenzenediazonium ion (tetrafluoroborate) of *Agaricus bisporous* Cancer Res, 41, 2444-2449 (1981)
- 3 Kum, W, Maurice, M C, Ron, W Costas, I Bioactivation of mushroom hydrazines to mutagenic products by mammalian and fungal enzyme Mutat Res, 381, 131-139 (1997)

- 4 K Walton, M M Coombs, F S Catterall, Bioactivation of the mushroom hydrazine, agaritine, to intermediates that bind covalently to proteins and induce mutations in the Ames test *Carcinogenesis*, 18, 1603-1608 (1997)
- 5 K Walton, R Walker, C Ioannides Effect of baking and freeze-drying on the direct and indirect mutagenicity of extracts from the edible mushroom *Agaricus bisporus* *Food Chem Toxicol*, 36, 315-320 (1998)
- 6 H C Anderson, J Hajslova, V Shulzova, Z Panovska, L Hajkova, J Gry Agaritine content in processed foods containing the cultivated mushroom on the Nordic and the Czech market *Food Additives Contam* 16 439-446 (1999)
- 7 Kim, W, Maurice, M C, Laurie, J K, Ron, W, Costas, I Fate of the mushroom hydrazine agaritine in the rat and mouse *Nutr Cancer*, 37, 55-64 (2000)
- 8 Roberta, D D, Patricia, L A de L, Marina, M S, Augusto F da E, Daisy M F S, Gunter, S, Lucia, R R Antimutagenic effect of *Agaricus blazei* Murill mushroom on the genotoxicity induced by cyclophosphamide *Mutat Res*, 496, 15-21 (2000)
- 9 J M de Oliveira, B Q Jordão L R Ribeiro A F da Eira M S Mantovani Anti-genotoxic effect of aqueous extracts of sun mushroom (*Agaricus blazei* Murill lineage 99/26) in mammalian cells in vitro *Food Chem Toxicol* 40, 1775-1780 (2002)

G 研究業績

1 学会発表

近藤一成, 阿部 郁朗, 田中秀弥, 長岡 (兵野) 恵, 穂山 浩, 米谷民雄 LC/MS を用いたアガリクス中 agaritine の分析 第83回日本食品衛生学会 (2003.10)

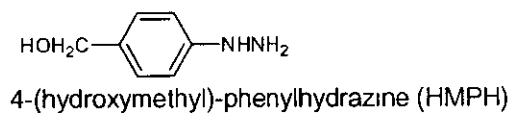
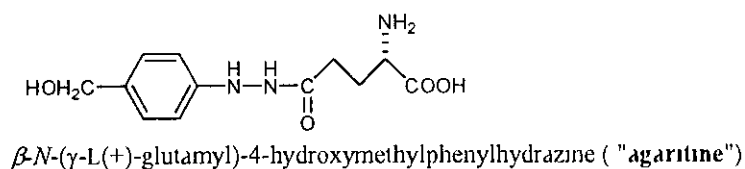


図1 agaritine および 4-(hydroxymethyl phenylhydrazine) の構造式

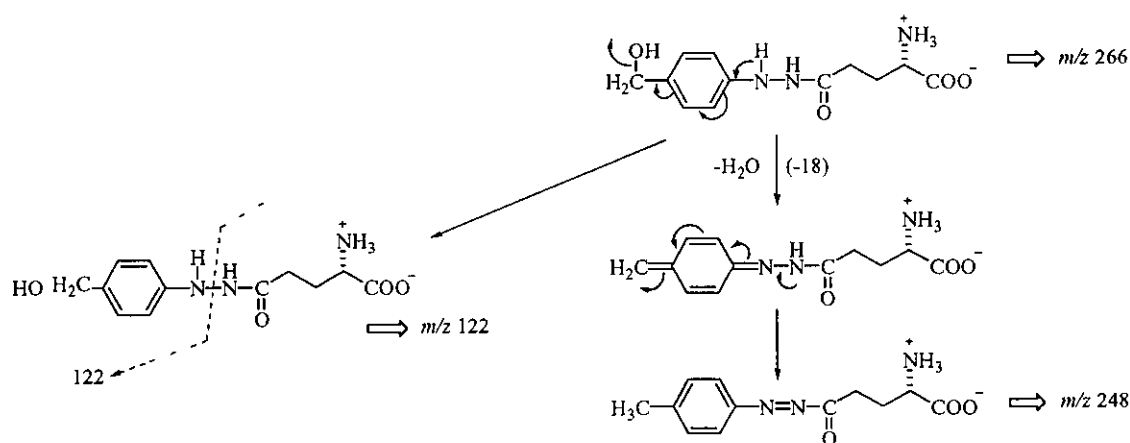


図2 agaritine から fragment peak m/z 122, 248 の生成機構

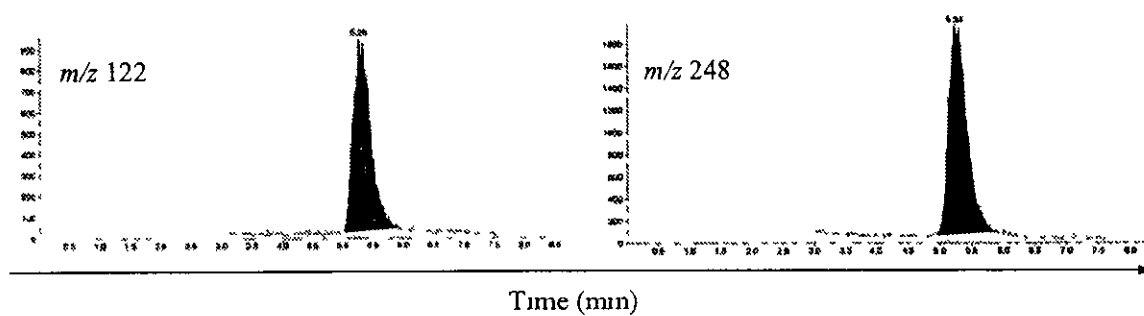


図3 agaritine 0.05 μ g/ml 標準品のピーク

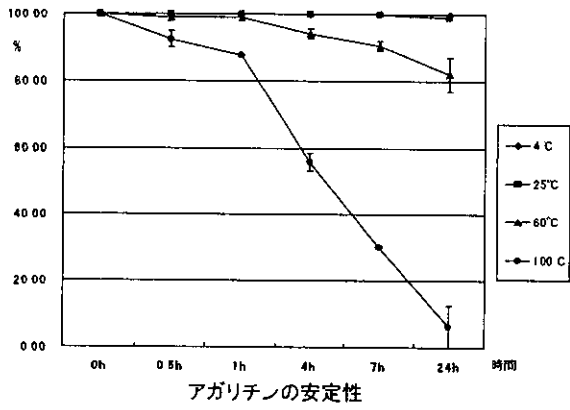


図4 agaritine の安定性

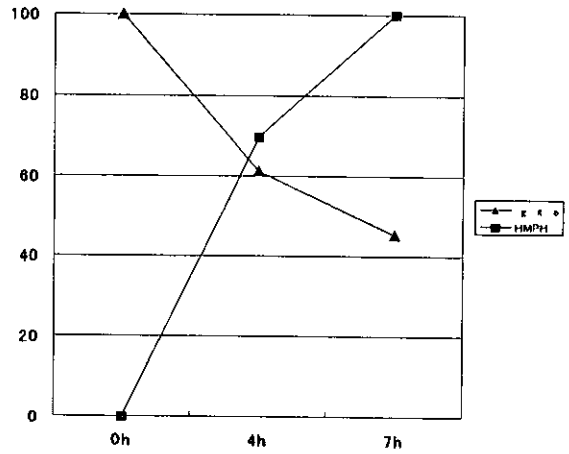


図5 agaritine の分解と HMPH 生成

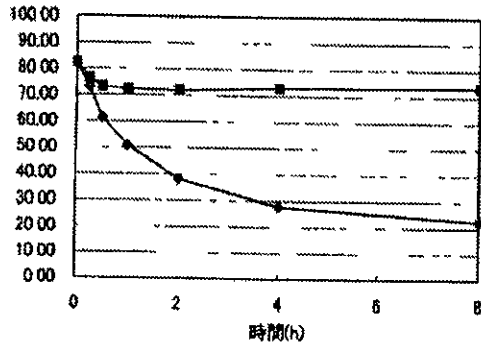


図6 アカリクスキノコ乾燥品中 agaritine の 23°C, 80°C 放置での熱分解

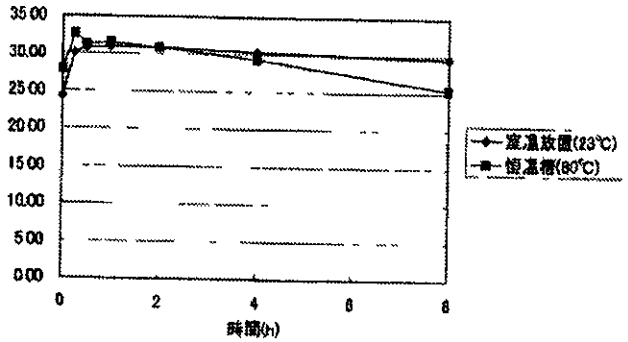


図7 アカリクスキノコ乾燥品中 agaritine の熱湯抽出での分解

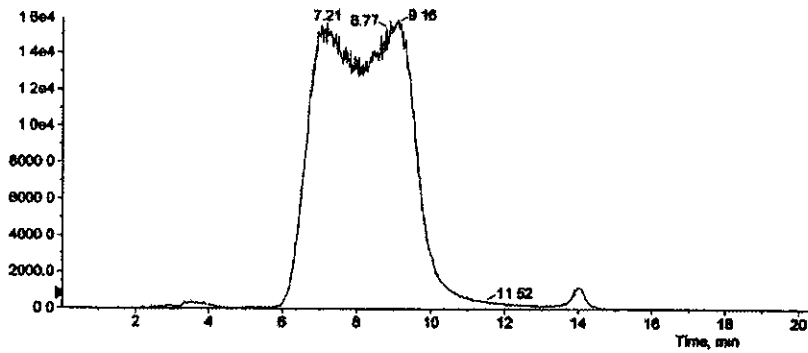


図8 HILIC カラムでの agaritine ピーク

表1 アカリクスキノコ (*Agaricus blazei* Murill) 製品中の agaritine 含量

| 製品 | 実測値 (μg/g dry) | 回収率 |
|------------------|----------------|----------|
| A 乾燥品, 粉末 | 1866 ± 179 | - |
| B 乾燥品, 粉末 | 1437 ± 221 | - |
| C 乾燥品, 粉末 | 2017 ± 41 | - |
| D 菌糸体培養物, 顆粒 | ND | 104 ± 24 |
| E 健康食品(栄養補助成分添加) | 0.13 ± 0.04 | 56 ± 0 |
| F 健康食品(栄養補助成分添加) | 279 ± 79 | 92 ± 6 |
| G 健康食品(栄養補助成分添加) | 1.13 ± 0.73 | 54 ± 15 |
| H 健康食品(栄養補助成分添加) | 1.28 ± 0.50 | 41 ± 12 |
| I 健康食品(栄養補助成分添加) | 0.20 ± 0.30 | 20 ± 7.9 |

ND 検出下限以下

Data are expressed as the means ± SD (n = 3~5)

表2 *Agaricus* 属以外のキノコ中の agaritine 含量

| 和名 | 学名 | 分類 | 定量値 (μg/g wet) |
|----------------|--|----------------------|----------------|
| カワリハラタケ(アカリクス) | <i>Agaricus blazei</i> Murill | ハラタケ目ハラタケ科ハラタケ属 | 表1 |
| ソクリタケ(マノユルーム) | <i>Agaricus bisporus</i> Platt | ハラタケ目ハラタケ科ハラタケ属 | 198 |
| ノイタケ | <i>Lentinus edodes</i> | ハラタケ目キノメノ科ノイタケ属 *1 | ND |
| マイタケ | <i>Grifola frondosa</i> | ヒタナンタケ目サルノコシカケ科マイタケ属 | ND |
| エリンギ | <i>Pleurotus eryngii</i> (DC Fr) Quel *2 | ハラタケ目ヒラタケ科ヒラタケ属 | ND |
| ブナノメジ | <i>Hypsizygus marmoreus</i> | ハラタケ目キノメノ科ノロタモギタケ属 | ND |

*1 ヒラタケ科をハラタケ目に含め ヒラタケ科にする分類もある。

*2 DC De Candolle Fr ??

ND 検出下限以下

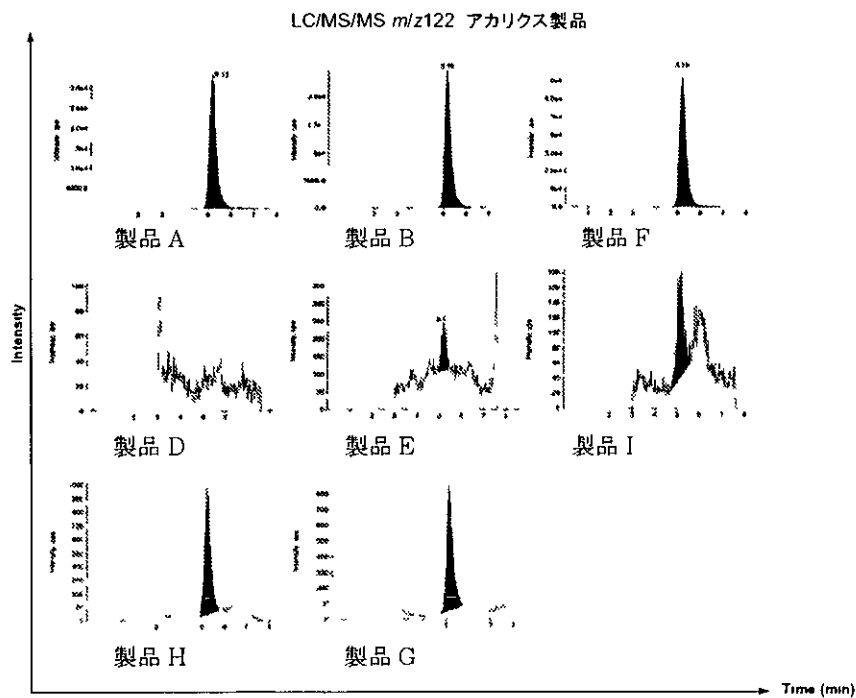


図9 アカリクスキノコ製品中の agaritine 含量 (m/z 122 で定量時)

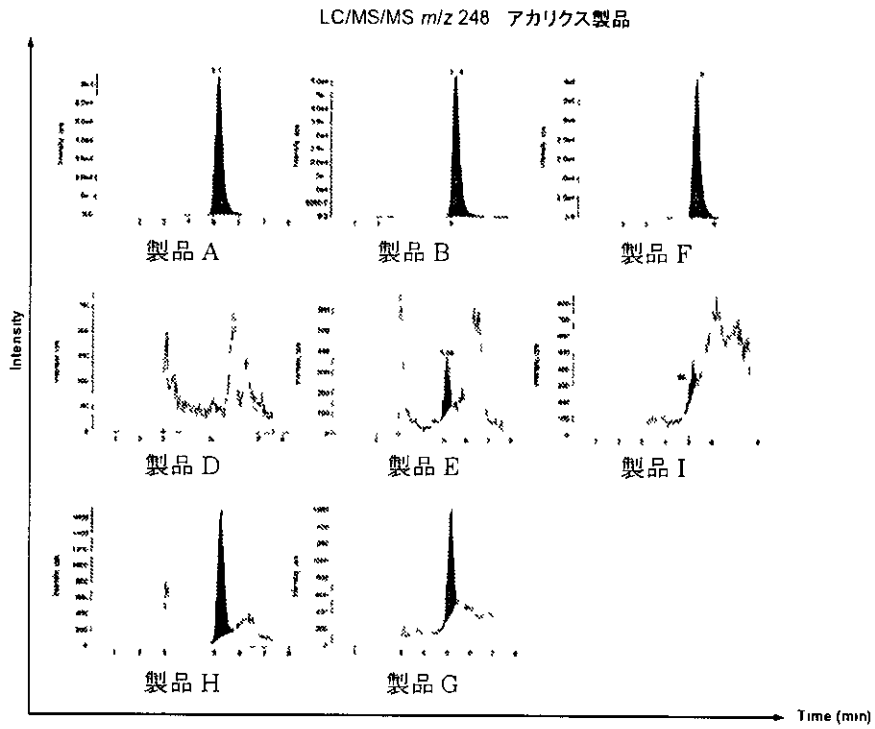


図 10 アカリクスキノコ製品中の agaritine 含量 (m/z 248 で定量時)

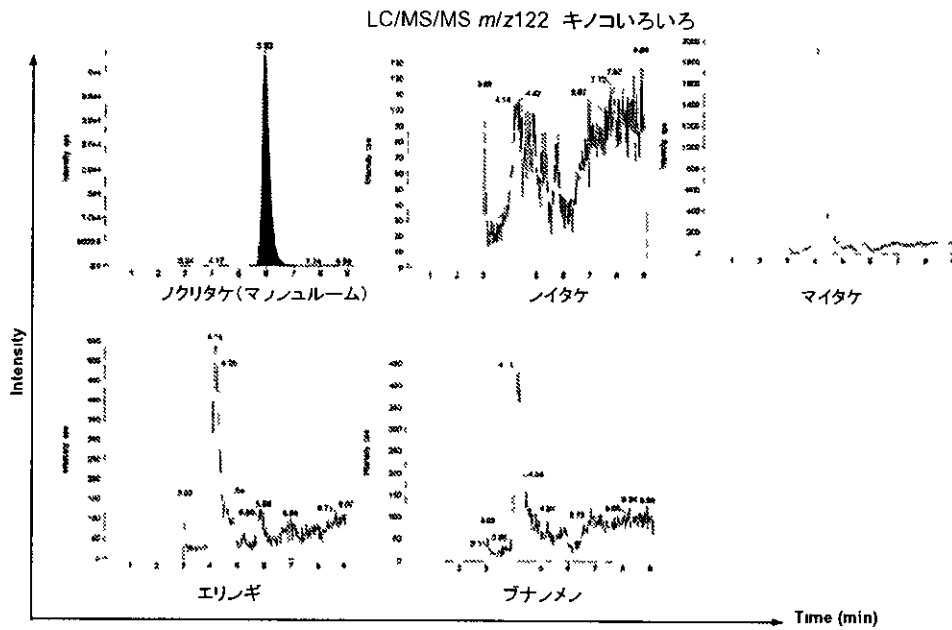


図 11 Agaricus 属以外のキノコ製品中 agaritine 含量 (m/z 122 で定量時)

Ⅱ 分担研究報告書

3 担子菌類中の必須・有害金属の分析

分担研究者 米谷 民雄

厚生労働科学研究費補助金（食品安全確保研究事業）

平成15年度分担研究報告書

分担研究課題 担子菌類中の必須・有害金属の分析

分担研究者 米谷民雄 国立医薬品食品衛生研究所食品部長

研究要旨 アガリクスを含めたキノコ類中の金属を、化学形態も含めて解析することにより、キノコ類を評価することを目的とした。対象元素を選択するために、きのこ類中の金属について文献調査を行い、有害金属と必須金属の両方に関する情報を収集することかてきた。また、その金属の化学形態についての情報も得られた。一方、別の評価項目として、きのこ中の有害成分とされるヒトランシ誘導体類について、ヒトランシノ基に着目し、DMEQ COCl を用いた蛍光ラヘル化法による選択的かつ高感度な分析法を確立した。Ex 393 nm, Em 448 nm の波長で分析可能であり、現在食品中のヒトランシ誘導体の分析を検討中である。

協力研究者

長岡（浜野）恵 国立医薬品食品衛生研究所
食品部主任研究官

A 研究目的

アガリクス茸を含むキノコ類は、有害重金属、特にカドミウムを蓄積しやすいことか、以前から知られている。逆にその性質は、類似の必須金属も吸収しやすいことを示唆している。一方、いわゆる健康食品として販売されているアガリクス製品には、菌糸体を培養した製品も多い。その場合には、有害金属の混入はなくなるか、逆に必須金属も減少している可能性かある。また、特定の重金属を培養液に添加し、金属含量を操作している可能性もある。そこで、アガリクス茸を含むキノコ類の有害物質評価項目の1つとして、有害・必須金属含量について検討することとした。

今年度はまず、対象金属を絞り込むため、アガリクス茸を含めたキノコ類の含有金属について、金属の総量及びそれかどのような成分と結合し

ているかについて、文献調査を実施した。また、実試料について金属を分析する必要かあるため、原子吸光分光光度計を導入し、また、金属測定のための試料分解装置の導入を行った。

また、別の評価項目として、アガリクス茸中の毒性物質として確認されているフェニルヒトランシ類について、高感度かつ選択的な蛍光ラヘル化法による一斉分析法の確立を目的とした。

B 研究方法

1) 文献調査

データベースとしてMEDLINEおよびSTNを用いて、キノコに含まれる金属に関する文献調査を行った。また、国内外における学会発表要旨についても調査した。

2) 試料

ヒトランシ類として、hydrazinobenzoic acid (HBA)は、合成したものを使用した。その他のphenylhydrazine類であるphenylhydrazine (PH)、4 methylphenylhydrazine (MPH)、4 hydroxymethylphenylhydrazine (HMPH)お

4 hydroxymethylphenylhydrazine (HMPH) および他の用いた試薬は、すべて市販特級品を用いた。

3) 装置

高速液体クロマトグラフィー (HPLC) Shimadzu LC-10Avp system (島津製作所(株)製)

質量分析装置 (MS) API 3000 MS system (Applied Biosystems 社), ion source, electrospray ionization (ESI), PhotoSpray™, positive mode

核磁気共鳴スペクトル (NMR) JEOL alpha-500 (日本電子(株)製)。homonuclear shift correlation spectroscopy (COSY)、heteronuclear multiple quantum coherence (HMQC) 及び heteronuclear multiple bonds correlation (HMBC)、nuclear overhauser effect (NOE)には磁場勾配システムを用いた。NMR のケミカルシフト値は、TMS (tetramethylsilane) を基準とした。

4) HPLC 条件

Analytical conditions column, TSK GEL ODS 80Ts (4.6 mm I.D. x 150 mm, TOSO), column temp, at room temp, solvent A, MeOH 0.2 M phosphate buffer (pH 6.7)= 30/70, solvent B, MeOH 0.2 M phosphate buffer (pH 6.7)= 70/30, Gradient condition, solvent B (0%, 0-25 min)→(0-50%, 25-26 min)→(50%, 26-50 min)→(50-100%, 50-51 min)→(100%, 51-75 min), inject, 20 µL, flow rate, 1.0 mL/min, detect, Ex 393 nm, Em 448 nm。

5) 蛍光ラヘル化反応

ヒトラシノ基に着目し、DMEQ-COCl (3-chlorocarbonyl 6,7 dimethoxy 1 methyl 2 (1H)-quinoxaline)により、ヒトラシノ類を蛍光誘導体化した。すなわち試料(100 µL)に 5 mM DMEQ-COCl のNメチルホルムアミド溶液(100 µL)を加え、この混液を一般には 37°Cで 60 min 反応させた。反応終了後、HPLC 移動相 (800 µL)

を加えた後、カラムに負荷した。

6) phenylhydrazine 蛍光ラヘル化体の構造確認

PH の蛍光ラヘル化体を大量に分取するため、OASIS HLBを用い、粗精製を行った。すなわち、まず 5 mM DMEQ-COCl の DMF 溶液 7 ml と 10 mM PH 水溶液 7 ml を混合し、密閉、暗所にて 37°C、60 min 加温した。これに、5% MeOH 56 ml を加えた後、OASIS HLB (1 g/20 ml)に負荷し、50% MeOH で洗浄後、100% MeOH で phenylhydrazine の蛍光ラヘル化体を溶出し、溶出画分を濃縮後、分取用カラム(Inertsil ODS 3 (10.1 d x 250 mm)に負荷し、MeOH/水(65/35)を溶離液とし、流速 3 ml/min にて、phenylhydrazine の蛍光ラヘル化体のピークを分取し、濃縮した。これをまず ¹H-NMR および ¹³C NMR (DMSO, dimethylsulphoxide) で構造決定および精製度を確認した後、MS の分析を行った。

7) 反応時における WSC とピリシンの存在による影響

ピリシン共存下での蛍光ラヘル化反応の実験は、ピリシンの最終濃度 1.5%で実施した。WSC (water soluble carbodiimide, 別名 EDC, 1 ethyl 3 (3 dimethylaminopropyl)carbodiimide) は最終濃度 50, 100 mM になるように添加した。

C 研究結果

1) キノコ中の金属含量に関する文献調査

一般的に、土壌中の金属量とそこで生育した植物中の金属量との相関性は植物により様々な結果が報告されている。キノコはカトミウムを取り込みやすいことによく知られ、重金属汚染が懸念されるか、古い報告が多かった。さらに、放射性同位体のセシウム 137 を含むという報告も多くあった。実際に輸入食品についても、最近でも高いレベルのものか報告されている。

化学形を調べた報告の中で、シイタケにおいて、セレンかセレノメチオニンとして存在すること

か明らかにされていた。アガリクス属のキノコやシイタケに含まれるカトミウムか高分子タンパク質に結合しているとの報告があった。ヘニテングタケ中に含まれるアマハニンかハナシウムとカルシウムを含有する化合物であること、キノコ類には、ハナシウムを含むたんぱく質としてクロロペルオキシターゼが存在することか報告されていた。

2) ヒトラシン誘導体類の蛍光ラヘル化による一斉分析

2 1) 移動相緩衝液濃度の HPLC 上の分離に与える影響

DMEQ COCl 由来のピークと HBA の蛍光ラヘル化体(HBA-DMEQ)由来のピークを分離して検出するために、移動相の緩衝液濃度の影響を検討した。緩衝液濃度を高くすると、両者のピークを分離して検出できるようになった。

さらに、HPLC の移動相としては、0.2 M リン酸緩衝液 (pH 6.7) と MeOH によるグラシエント溶出が最適であることか明らかになった。

2 2) 蛍光ラヘル化体の Ex と Em

PH および MPH の蛍光ラヘル化体の蛍光スペクトルは、Ex 393 nm, Em 448 nm 付近に極大波長かみられた。一方、HBA では Ex 414 nm, Em 470 nm 付近に極大波長かシフトしたか、蛍光強度は前者の波長で測定した場合と大きく変わらないことから、ヒトラシン類の分析は Ex 393 nm, Em 448 nm の波長で行えるものと考えられた。

2 3) 蛍光ラヘル化反応における加熱温度および反応時間の検討

HBA においては、37°C よりも 100°C での加温の方が、蛍光ラヘル化反応が促進された。いずれの温度においても 60 min の加温により、ほぼ 100% 反応か進行することかわかった。HMPH、PH、MPH においては、100°C に比し 37°C の方が、蛍光ラヘル化反応か促進された。その場合、40 min の反応時間で反応か終了することかわかつ

た。

2 4) 蛍光ラヘル化反応における WSC およびピリシンの影響

DMEQ-COCl を用いる場合、緩和な条件で反応性を上げるために、WSC (water soluble carbodumide, 別名 EDC, 1-ethyl 3 (3 dimethyl aminopropyl)carbodumide) やピリシンの共存下で蛍光ラヘル化反応を行うことか多い。そこで、ヒトラシン誘導体の蛍光ラヘル化反応におけるこれらの影響を調べたところ、4つのヒトラシン類のいずれにおいても、WSC およびピリシンを加えない方が反応か進行した。

2-5) PH の蛍光ラヘル化体の構造確認

蛍光ラヘル化体の構造を確認するため、¹H-NMR、¹³C NMR および MS (API 3000, positive, ESI および PhotoSpray) の測定を行った。

2 5 1) ESI 法による結果

PH の蛍光ラヘル化体 (PH DMEQ) (MW 354.36) では、positive モードで PH の [M+H]⁺ に相当する *m/z* 109 のイオンか検出された。親イオンの [M+H]⁺ に相当する *m/z* 355 のイオンは、電圧などを変更しても、強度はあまり変わらなかった。

2-5-2) PhotoSpray 法による結果

蛍光ラヘル化体 (MW 354.36) では positive モードで、*m/z* 108 の M⁺イオンか検出されたか、*m/z* 109 の [M+H]⁺イオンは検出されなかった。親イオンの [M+H]⁺イオンの *m/z* 355 や M⁺イオンの *m/z* 354 の強度は小さく、電圧などを変更しても、あまり強度は変わらなかった。一方、PH (MW 108.14) では、positive モードで *m/z* 108 の M⁺イオンと *m/z* 109 の [M+H]⁺イオンの両方か検出された。

D 考察

1) キノコ中の金属量の文献調査

キノコ中金属含量の分析装置としては、原子

吸光分光光度計、ICP 発光分析装置や ICP 質量分析計（四重極型）が用いられている。

一方、金属の化学形態の分析は、その画分を分画して分析する方法と、分離手段と分析手段をオンラインで直結した方法、たとえば HPLC/ICP-MS 法が使用されていた。

ハナシウムは抗糖尿病作用が注目されている元素で、二重収束型 ICP 質量分析計を用いないと、生物試料中の精密な分析は難しい元素である。生体内では、超微量なレベルでしか存在せず、血中の存在形態は昨年明らかにされたばかりである。一方、環境中（水中）ハナシウム濃度が高い地域のタンポポにおいて、ハナシウム濃度が高いことが示されており、また、動物のホヤ中で含まれているという報告がある。このハナシウムについては、ヘニテングタケ中にハナシウム含有化合物の存在が知られており、興味深い。

健康食品のキノコを培養で生産する場合に、培地中に金属を添加することが考えられる。したがって、キノコ中の有害物質の評価項目の1つとして、ハナシウムを含めた有害・必須金属を二重収束型 ICP-質量分析計で一斉分析し、さらに、多量に含まれている場合にはその化学形態を調べることにより、キノコ類を評価することかできると考えられる。

2) ヒトラシン誘導体類の蛍光ラベル化法による一斉分析

DMEQ-COCl はアミノ基との反応性が、他のラベル化剤の FITC 試薬や NBC 試薬よりも非常に強いことが知られている。そこで今回、DMEQ-COCl を蛍光ラベル化剤として用い、ヒトラシン誘導体中のヒトラシノ基とアミト結合を形成させて蛍光ラベル化を行った。DMEQ-COCl は水が存在すると分解されやすいため、試料を添加しない場合においても、クロマトグラム上に多数のピークが見られた。この試薬の分解によるピークと HBA-DMEQ の保持時間が近かったため、これらを分離するために、HPLC 移動相の pH お

よひイオン強度を検討した。その結果、0.2 M リン酸緩衝液（pH 6.7）と MeOH によるクラシエント溶出か分離に最適であった。また、ヒトラシン類の分析は Ex 393 nm, Em 448 nm の波長で行えると考えられた。

蛍光ラベル化体の構造は、NMR と MS により確認された。PhotoSpray 法では、H との親和性が低いサンプルでは M⁺イオン、H との親和性が高いサンプルでは [M+H]⁺イオンが主に観測される。PH では M⁺と [M+H]⁺の両方が検出されたことから、H との親和性は高くないと考えられた。したがって PH よりも構造的に大きい蛍光ラベル化体は、さらに PhotoSpray 法ではイオン化されにくいものと考えられた。したがって、ESI 法においても PH-DMEQ の親イオンは検出されにくいことが明らかにされた。

食品中のヒトラシン類の分析にあたっては、食品中の蛍光ラベル化される化合物すなわちアミノ基を有する化合物の蛍光ラベル化体が、クロマトグラム上で、ヒトラシン誘導体の蛍光ラベル化体のピークと重なることが懸念される。しかし、食品中でアミノ基を有しかつ高濃度で存在するアミノ酸は、そのカルボキシル基の存在のため、保持時間はヒトラシン誘導体とは大きく異なることが予想される。したがってヒトラシン誘導体の分析には影響を与えないと考えられる。今後は、アミノ基を有する他の食品成分との分離定量的ための検討が必要と考えられる。

E 結論

- 1) アガリクス茸中の金属含量および化学形態について評価を行うにあたり、まず文献調査を実施し、情報を収集した。
- 2) ヒトラシン類の側定を、DMEQ COCl を用いた蛍光誘導体法により、迅速かつ高感度に行える方法を確立した。食品中のヒトラシン類分析への応用を検討中である。

F 健康危険情報

特になし

G 研究発表

1) 論文発表

M H Nagaoka, H Akiyama, and T Maitani
Binding patterns of vanadium to transferrin
in healthy human serum studied with
HPLC/high resolution ICP MS The Analyst,
129, 51-54 (2004)

2) 学会発表

蛍光誘導体化による食品中ヒトラシン類の分
析法の検討、長岡(兵野)恵, 長岡寛明, 武田健,
近藤一成, 穐山浩, 米谷民雄、日本薬学会第
124 年会(大阪) (講演要旨集 3, p 42)

H 知的財産権の登録

なし

Ⅲ 研究成果の刊行に関する一覧表

研究成果の刊行に関する一覧表

雑誌

| 発表者氏名 | 論文タイトル名 | 発表誌名 | 巻名 | ページ | 出版年 |
|---------------------------------------|---|-------------|-----|-------|------|
| Nagaoka M H Akizama H Maitani T | Binding patterns of vanadium to transferrin in healthy human serum studied with HPLC/high resolution ICP-MS | The Analyst | 129 | 51-54 | 2004 |

200301178

以降は雑誌/図書等に掲載された論文となりますので、
「研究成果の刊行に関する一覧表」をご参照ください。