

スイセン鱗茎中の自然毒成分（リコリン）

検査にかかる精度管理について

中西 淳治・吉田 理恵・堤 泰造・湯谷 亜衣^{*1}・竹本 光義^{*2}・赤木 正章^{*3}・仙代 真知子^{*4}
氏家 あけみ^{*5}・大西 美知代^{*6}・影山 温子^{*7}・平松 佐穂^{*7}・高宮 真美^{*8}・馬部 文恵^{*9}

Quality control of the analysis of lycorine included in the narcissus bulbs

Junji NAKANISHI, Rie YOSHIDA, Taizou TSUTSUMI, Ai YUTANI, Mitsuyoshi TAKEMOTO, Masaaki AKAKI
Machiko SENDAI, Akemi UJIKE, Michiyo OONISHI, Atsuko KAGEYAMA, Saho HIRAMATSU, Masami TAKAMIYA and
Fumie BABE

要 旨

中国・四国ブロック内の地方衛生研究所 8 機関を対象に、スイセン鱗茎中に含まれるリコリンの検査にかかる精度管理を実施した。その結果、全ての機関で問題なくリコリンの定性を行うことができた。また、定量面でも概ね良好な結果が得られた。

Key words：スイセン Narcissus, リコリン Lycorine, 精度管理 Quality control

I はじめに

平成 26 年度から平成 28 年度までの 3 年間、地域保健総合推進事業「地域における健康危機管理体制確保のための地方衛生研究所の連絡協力の推進並びに検査精度の向上及び疫学情報機能の強化」が、地方衛生研究所全国協議会で実施されることになった。

当該事業のうち、検査精度管理の向上を目指すための精度管理事業は、地域ブロックごとに実施することになっており、平成 26 年度中国・四国ブロックでは当センターが事務局となって担当し、「スイセン鱗茎中の自然毒成分（リコリン）検査にかかる精度管理について」のテーマで 9 月 1 日から 10 月 31 日までの 2 ヶ月間の期間を設定して精度管理を実施した。

リコリンは、ヒガンバナ、スイセンなどのヒガンバナ科の植物に含まれる有毒成分で、喫食後 30 分以内の短い潜伏期間の後に悪心、嘔吐、下痢、流涎、発汗、頭痛、昏睡、低体温

などの中毒症状が見られる¹⁾。スイセンの食中毒事例は毎年全国各地で発生しており、その原因は葉をニラと、鱗茎をたまねぎと間違えて調理することによるものが多い¹⁾。徳島県でも平成 23 年度に、スイセンの葉をニラと間違えて餃子に使用し喫食したことによる食中毒が発生している²⁾。

リコリンの検査方法は、公定法として示されていないが、TLC を使用した定性方法や HPLC、LC/MS/MS を使用した定量方法が報告されている^{3),4),5),6)}。

今回の精度管理事業では検査方法等の指定は行わず、各参加機関が決定した。その結果、検査方法等を統一していないにもかかわらず、定性・定量両面で良好な結果が得られたので、実施内容、実施結果等について報告する。

II 実施内容

1 目的

中国・四国ブロック内の地方衛生研究所における検査技術の強化及び研究所間の連携を図る。

^{*1}鳥取県衛生環境研究所 ^{*2}広島県立総合技術研究所保健環境センター ^{*3}岡山県環境保健センター ^{*4}山口県環境保健センター ^{*5}香川県環境保健研究センター ^{*6}愛媛県立衛生環境研究所 ^{*7}高知県衛生研究所 ^{*8}現 高知県環境対策課 ^{*9}広島市衛生研究所

2 参加機関

鳥取県衛生環境研究所，広島県立総合技術研究所保健環境センター，岡山県環境保健センター，山口県環境保健センター，香川県環境保健研究センター，愛媛県立衛生環境研究所，高知県衛生研究所，広島市衛生研究所の中国・四国ブロック内の地方衛生研究所8機関。

当センターは，試料の作成及び結果の集計を担当した。

3 実施期間

平成26年9月1日（月）から10月31日（金）

4 検査対象

自然毒成分リコリン

5 試料の作成及び配布

陽性試料には標準品を添加したものではなく，実植物部位であるスイセンの鱗茎を用いた。また，陰性試料には，たまねぎを用いた。試料は内容物を明示せずに試料A及び試料Bとし，標準品のリコリン塩酸塩と合わせて参加機関に宅急便（冷蔵）で配布した。試料の作成方法等は以下のとおりである。

（1）スイセンの鱗茎（試料A）

採取した自生のスイセンの鱗茎をホモジナイズ後，凍結乾燥させ高速ミルで粉碎したものを試料とし，遠沈管に分取して発送まで冷凍保存した。

（2）たまねぎ（試料B）

スイセンの鱗茎と同様の方法で試料を作成し，発送まで冷凍保存した。

（3）リコリン塩酸塩標準品

リコリン塩酸塩はLatoxan社製（純度98%）を使用した。それをサンプル管に秤取し（約4.5-4.8mg），キャップとサンプル管のつなぎ目部分をテフロンシールで巻き，サンプル管全体をアルミホイルで遮光し，発送まで冷蔵保存した。

6 実施方法

（1）検査方法

① 参加機関は，配布したリコリン塩酸塩標準品を用いて試料A及び試料Bを実施期間内に分析（定性・定量）した。

② 試行回数，検体秤取量，試験溶液調製法（前処理方法），測定機器（条件）等は，統一せず参加機関が決定した。

（2）検査結果の集計

① 参加機関は検査結果を試料と同時に送付した「検査状況調査票」に記入し，当センターの集計担当に返送した。

② 実施期間終了後，集計担当は参加機関名を伏せて，集計結果を各機関にフィードバックした。また，当センターで試料作成時に実施した事前確認検査の結果（検査状況調査票に準じて記載）を併せて参加機関に送付した。

III 結果

1 事前確認検査（当センターで実施）

参加機関に配布用の試料Aについて，リコリン含有量の事前確認を行った。

（1）試薬等

リコリン塩酸塩標準品は，シグマアルドリッチ社製（純度98%）を使用した（配布した標準品とはメーカーが異なる）。

メタノールは，関東化学（株）製（HPLC用）を使用した。

（2）標準溶液

リコリン塩酸塩5mgをメタノール5mLに溶解し，標準原液とした（標準原液1mLはリコリン887.39μgを含む）。標準溶液は，標準原液をメタノールで希釈して調製した（リコリンとして0.1ng/mL，0.5ng/mL，1ng/mL，2ng/mL，5ng/mL，10ng/mL，20ng/mL，50ng/mL，100ng/mL）。そのうち検量線には，5ng/mL，10ng/mL，20ng/mL，50ng/mLの4つを使用した。

（3）装置及び測定条件

① 装置

高速液体クロマトグラフ：SHISEIDO SI-2（資生堂社製）

質量分析装置：Thermo Quantum Ultra（サーモフィッ

シャーサイエンティフィック社製）

② 測定条件

カラム：Scherzo SM-C18 2mm×150mm，3μm（Intact）

移動相：A液 10mmol/L 酢酸アンモニウム

B液 メタノール

A/B = 70/30(0-2min)→30/70(22min)→5/95(27-30min)

流速：0.2mL/min，カラム温度：40℃，注入量：5μL

イオン化：ESI法 positive，測定モード：MRM

スプレー電圧：5000V，イオン源温度：300℃

定量イオン（コリジョンエネルギー）：

m/z 288.1>146.9（27eV）

確認イオン（コリジョンエネルギー）：

m/z 288.1>119.0（31eV）

③ 試験溶液の調製

抽出方法は上田らの方法⁵⁾を参考にした。また，試験は試料1～5までの5併行で行った。

試料0.5gにメタノール25mLを加え3分間ホモジナイズし，遠心分離後（4℃，3000rpm，5分），上清を分取した。ろ過残渣にメタノール25mLを加え同様の操作を2回繰り返した。ろ液を合わせ，メタノールを加えて100mLとし抽出原液とした。抽出原液をメタノールで100倍希釈後，0.20μmのメンブランフィルターでろ過し，試験溶液とした。

(4) 結果

① クロマトグラムと検量線

図1にリコリン標準溶液 (20 ng/mL) 及び試料1のクロマトグラムを、図2に検量線を示す。試料1の定量イオン、確認イオン共にリコリン標準溶液 (20 ng/mL) のリテンションタイムと一致した。試料2～5についても同様であり、試料Aからリコリンを検出できた。また、検量線は5-50 ng/mLの範囲で $r^2 = 0.9998$ の良好な直線が得られた。

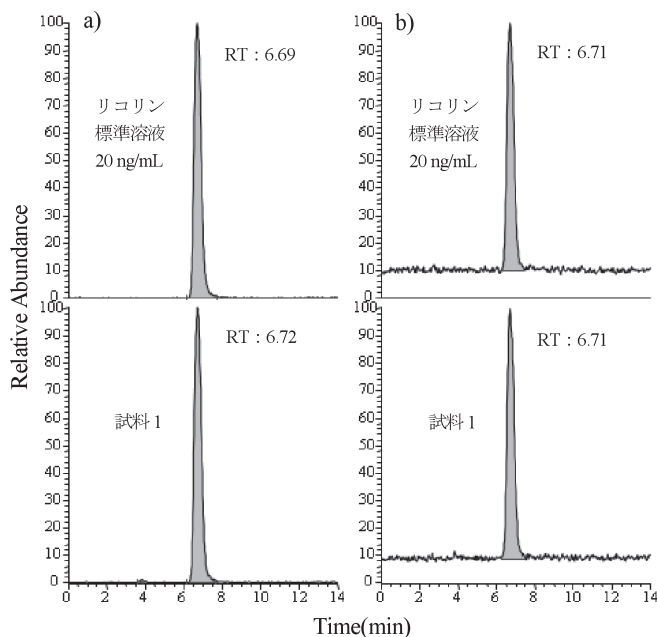


図1 リコリン標準溶液 20 ng/mL 及び試料1のクロマトグラム
a) m/z 288.1 > 146.9, b) m/z 288.1 > 119.0

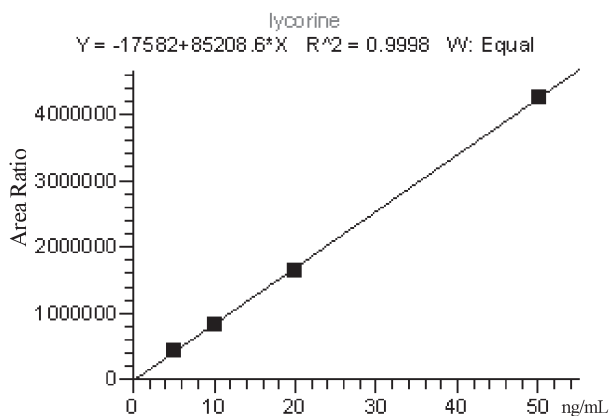


図2 リコリン標準溶液の検量線

② 定量結果

試料1～5について、リコリンの定量結果を表1に示す。平均値は417.1 $\mu\text{g/g}$ で、相対標準偏差 (RSD) は3.9 %であった。浦山らの調査研究⁶⁾ではスイセン鱗茎中のリコリンの平均濃度は222 $\mu\text{g/g}$ であり、植物の個体差、今回の試料が凍結乾燥品だったことを考慮に入ると良好な結果だと考えられる。また、厚生労働省の妥当性評価ガイドライ

ン⁷⁾で目標とされる併行精度 (相対標準偏差) 10%以下を満たしていた。

表1 リコリンの定量結果

	試料 1	試料 2	試料 3	試料 4	試料 5	平均値 (RSD)
濃度 ($\mu\text{g/g}$)	410.5	413.7	443.4	399.3	418.6	417.1 (3.9%)

2 精度管理事業実施結果

全ての機関の結果を検査状況調査票集計表として表2に示す。

(1) 実施期間

検査の所要日数は2日から4日であり迅速に検査できていた。

(2) 装置及び測定条件

全ての機関がLC/MS/MSのESI positive MRMで測定するという共通点があった。また、使用カラムはODS系カラムが5機関、HILIC系カラムが2機関、ODS系多機能カラムが1機関であった。移動相は酢酸アンモニウム水溶液/メタノールが5機関、ギ酸/アセトニトリルが2機関、ギ酸アンモニウム/メタノールが1機関であり、1機関以外はグラジエント法であった。

(3) 試験溶液の調製

抽出回数が1回、抽出方法が超音波抽出でもリコリンは十分に抽出され、他機関との定量結果に大きな差はなかった。

(4) 定量方法

定量法は1機関が標準添加法で、残りの機関は絶対検量線法を使用していた。また、定量イオンは小数点以下の違いはあるが、全ての機関が m/z 288 > 147を使用していた。

(5) 定性・定量結果

全ての機関において陽性試料 (試料A) からリコリンを検出、陰性試料 (試料B) からリコリンは不検出と正しく検査できていた。

参加機関のリコリンの定量結果は375.3 - 520 $\mu\text{g/g}$ の範囲にあり、総平均値は421.3 $\mu\text{g/g}$ で、事前検討の結果と近い値であった。また、総平均値を仮の真値と仮定すると、定量結果は89.1 - 123.4%の範囲にあり、厚生労働省の妥当性評価ガイドライン⁷⁾で目標とされる真度70 - 120%と比較すると、概ね満たしていた。

V 参加機関の意見・感想等

他機関のデータと比較しての意見・感想等が多かった。また、前向きな内容が多く、今回の精度管理事業は有意義な

のであったことがうかがえた。以下に参加機関の意見・感想等を示す。

- 自然毒の外部精度管理に参加するのは初めてであったが、他機関の分析方法や、条件等が確認でき、大変有意義であった。自然毒検査は、定性目的での使用が予想されるが、定性については全機関の一致、定量についても概ね良好であることがわかり参考となった。
- 他の機関に比べるとシンメトリー係数の数値が大きかった。ピーク形状を改善するために、カラム、移動相等の検討を行いたい。
- 今回は、食中毒事例を想定し、文献等を参考にして検量線の濃度範囲(0.1 - 100 ppb)を設定した。最少濃度の 0.1 ppb (S/N 比 $\geq$ 10)を検出限界とし、その 10 倍量の 1 ppb を定量限界とした。当所では、抽出原液を 1000 倍希釈し、試験溶液としたが、今後対応事例によりリコリン含有量が少ない場合には希釈倍率を変更することで適宜対応可能と考えている。
- 1 回のみの検査実施となったため、今後は採取量等検討して併行数を増やしたい。
- リコリン塩酸塩からリコリンへの換算など、他の機関がどのような方法で定量値を算出したかを計算例等で分かるようにしてほしい。
- 今回の検体は凍結乾燥品であったため、水を添加してなじませてから抽出操作を行った。生鮮品であれば、水の添加は行わない。

VI まとめ

自然毒分析においては、原因物質の同定(定性)が非常に重要であると考え、定性・定量両面での精度管理を実施した。その結果、全ての機関において問題なくリコリンの定性を行うことができ、定量についても概ね良好な結果が得られた。分析法は参加機関ごとに独自の方法を採用したが、各分析法にはメタノール抽出し、LC/MS/MS 測定という共通点があった。また、検査は迅速かつ高精度で実施でき、さらに分析条件の細部が異なっても同様の結果が得られたことから、各参加機関において非常に堅牢性の高い分析法を採用できたことが明らかとなった。

検査実施後「検査状況調査票」を集計し情報共有した結果、他参加機関の検査状況の詳細が把握でき、分析法の修正や操作の改善が必要な場合に、有効に活用できることが明らかとなった。

VII 今後の課題

今回の精度管理事業では、自然毒を含有する実植物試料に

スイセンの鱗茎を用いたが、葉部等の他部位は実施できていない。また、食材を想定した検査以外に、摂食物(食事残渣)を対象とすることも重要である。今後は様々な状況を想定し、多様な部位や摂食物を対象とした精度管理の実施が必要であると考えられる。

自然毒食中毒は微生物食中毒に比べて発生頻度が低く、検査担当者が未経験の場合も多いと推測される。各地方衛生研究所の課題である若手研究員等への技術継承の観点からも、自然毒食中毒のうち発生頻度の高い原因物質検査の精度管理等を継続して実施していくことが重要と考えられる。

謝辞

本分析事例を執筆するにあたり、分析データのご提供及びご助言を頂きました各参加機関御担当者の皆様に感謝申し上げます。

参考文献

- 1) 自然毒のリスクプロファイル：高等植物：スイセン，厚生労働省ホームページ
<http://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/0000075843.html>：平成27年9月30日現在
- 2) 吉田 理恵 他：スイセン中の有毒成分であるリコリンの分析について，徳島県立保健製薬環境センター年報，**2**，15-17(2012)
- 3) 南谷 臣昭 他：誤食中毒における原因物質究明マニュアルに関する研究～食用ユリ近縁植物のアルカロイド(リコリン、ガラントミン、コルヒチン)分析～，第56回東海公衆衛生学会学術大会抄録集，**42**(2010)
- 4) 後藤 智美 他：食中毒の原因物質となる植物性自然毒(リコリン、コンバトキシン)の同時分析法，愛知県衛生研究所年報，**65**，31-38(2015)
- 5) 上田 泰人 他：スイセンのLC/MS/MS分析について，神戸市環境保健研究所報，**36**，60-61(2008)
- 6) 浦山 豊弘 他：LC/MS/MSを用いた自然毒の迅速分析法の検討(1)植物毒リコリンの迅速分析，岡山県環境保健センター年報，**37**，125-128(2013)
- 7) 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について，食安発第1115001号，平成19年11月15日

表2 検査状況調査票集計表

報告機関名		A	B	C	D	E	F	G	H
検査機関名	試験受領日	平成26年9月2日	平成26年9月2日	平成26年9月2日	平成26年9月2日	平成26年9月2日	平成26年9月2日	平成26年9月1日	平成26年9月2日
	検査開始日	平成26年9月9日	平成26年9月11日	平成26年9月24日	平成26年9月18日	平成26年10月8日	平成26年10月6日	平成26年9月5日	平成26年10月21日
	検査終了日	平成26年9月10日	平成26年9月12日	平成26年9月26日	平成26年9月19日	平成26年10月10日	平成26年10月9日	平成26年9月18日	平成26年10月22日
	所要日数	2日	2日	2日	2日	3日	4日	4日	2日
	検査試行回数	5回	2回	3回(標準添加法による試行回数)	2回	2回	2回	3回	1回

徳島県立保健環境健康センター
2日
5回

検査結果

定性結果	試験A	検出	検出	検出	検出	検出	検出	検出	検出
	試験B	不検出	不検出	不検出	不検出	不検出	不検出	不検出	不検出
定量値	試験A	412 µg/g (1回目:425 µg/g、2回目:410 µg/g、3回目:434 µg/g、4回目:411 µg/g、5回目:382 µg/g)	520 µg/g (1回目:528 µg/g、2回目:510 µg/g)	380 µg/g (標準添加法)	410 µg/g (1回目:410 µg/g、2回目:410 µg/g)	418.9 µg/g (1回目:418.7 µg/g、2回目:418.1 µg/g)	458 µg/g (1回目:456 µg/g、2回目:460 µg/g)	396 µg/g (1回目:383 µg/g、2回目:403 µg/g、3回目:403 µg/g)	375.3 µg/g
	試験B	不検出 (検出限界濃度:0.001 µg/g)	不検出 (検出限界濃度:2 µg/g)	不検出 (検出限界濃度:0.015 µg/g)	不検出 (検出限界濃度:0.1 µg/g)	不検出 (検出限界濃度:2 µg/g)	不検出 (検出限界濃度:10 µg/g)	不検出 (検出限界濃度:16.7 µg/g)	不検出 (検出限界濃度:10 µg/g)

検出	検出
不検出	不検出
417.0 µg/g (1回目:410.5 µg/g、2回目:413.7 µg/g、3回目:443.4 µg/g、4回目:399.3 µg/g、5回目:418.6 µg/g)	

参考文献	福岡市保健健康研究所報, 35, 89-92(2009)	岡山県環境保健センター年報, 37, 125-128(2013)	岡山県環境保健センター年報, 37, 125-128(2013)	神戸市環境保健研究所報, 36, 60-61(2008)	岡山県環境保健センター年報, 37, 125-128(2013)	山口県環境センター所報, 54, 52-54(2011)	徳島県立保健環境健康センター年報, 2, 15-17(2012)
------	------------------------------	----------------------------------	----------------------------------	------------------------------	----------------------------------	------------------------------	----------------------------------

試験溶液調製方法

検体採取量	0.50 g	1.00 g	0.1 g	5 g	5 g	1 g	3 g	5 g	0.5 g
操作概略等	①試料0.50 gに1%ギ酸メタノール溶液10 mLを加え、15分間超音波で抽出する。 ②3000 rpmで15分遠心分離する。 ③上澄液を0.1%ギ酸メタノール溶液で1000倍希釈する。 ④0.2 µmのメンブランフィルターでろ過し、LC/MS/MSで測定する。	①試料1.00 gに本10 mLを加えて15分間放置する。 ②メタノール20 mLを加え、氷冷しながら2分間ホモジナイズし、遠心分離後、吸引を過す。 ③ろ過残渣にメタノール20 mLを加え、同様の操作を2回繰り返す。 ④ろ液を合わせ、メタノールを加えて100 mLとし抽出原液とする。 ⑤抽出原液をメタノールで1000倍希釈し、メンブランフィルターでろ過したもの、試験溶液とした。	①試料0.1 gにメタノール20 mLを加え、3分間ホモジナイズし、GFPで滅菌を過す。 ②ろ液を合わせ、メタノールを加えて100 mLとし抽出原液とする。 ③ろ液を合わせ、メタノールを加えて100 mLとし抽出原液とする。	①試料5 gにメタノール25 mLを加え、3分間ホモジナイズし、3000 rpmで5分遠心分離後、上清をろ過する。 ②ろ過残渣にメタノール25 mLを加え、同様の操作を2回繰り返す。 ③ろ液を合わせ、メタノールを加えて100 mLとし抽出原液とする。 ④抽出原液をメタノールで1000倍希釈し、試験溶液とした。	①試料5 gにメタノール25 mLを加え、3分間ホモジナイズし、ろ過する。 ②ろ過残渣にメタノール25 mLを加え、同様の操作を2回繰り返す。 ③ろ液を合わせ、メタノールを加えて100 mLとし抽出原液とする。 ④抽出原液をメタノールで1000倍希釈し、試験溶液とした。	①試料1 gにメタノール20 mLを加え、ホモジナイズし、遠心分離後、上清をろ過する。 ②ろ過残渣にメタノール20 mLを加え、同様の操作を3回繰り返す。 ③ろ液を合わせ、メタノールを加えて100 mLとし抽出原液とする。 ④抽出原液をメタノールで1000倍希釈し、試験溶液とした。	①試料3 gにメタノール25 mLを加え、3分間ホモジナイズし、ろ過する。 ②ろ過残渣にメタノール20 mLを加え、同様の操作を2回繰り返す。 ③ろ液を合わせ、メタノールを加えて100 mLとし抽出原液とする。 ④抽出原液をメタノールで1000倍希釈し、試験溶液とした。	①試料5 gにメタノール25 mLを加え、3分間ホモジナイズし、ろ過する。 ②ろ過残渣にメタノール20 mLを加え、同様の操作を2回繰り返す。 ③ろ液を合わせ、メタノールを加えて100 mLとし抽出原液とする。 ④抽出原液をメタノールで1000倍希釈し、試験溶液とした。	①試料5 gにメタノール25 mLを加え、3分間ホモジナイズし、遠心分離後、上清をろ過する。 ②ろ過残渣にメタノール25 mLを加え、同様の操作を2回繰り返す。 ③ろ液を合わせ、メタノールを加えて100 mLとし抽出原液とする。 ④抽出原液をメタノールで1000倍希釈し、試験溶液とした。

抽出溶媒	抽出溶媒	1%ギ酸メタノール溶液	メタノール	メタノール	メタノール	メタノール	メタノール	メタノール	メタノール
	抽出回数(使用量)	1回 (10 mL)	3回 (20 mL × 3)	2回 (20 mL × 2)	2回 (25 mL, 20 mL)	4回 (25 mL × 4)	4回 (20 mL × 4)	3回 (25 mL, 20 mL × 2)	4回 (25 mL × 4)
	抽出方法	超音波 (15分)	ホモジナイズ (20000 rpm, 1分+25000 rpm, 1分)	ホモジナイズ (5000 rpm, 3分)	ホモジナイズ (3分)	ホモジナイズ (8000 rpm, 3分)	ホモジナイズ (3400 rpm, 3分)	ホモジナイズ (7500 rpm, 3分)	ホモジナイズ (6000 rpm, 3分)
	分離方法	遠心 (3000 rpm, 15分)	遠心 (5℃, 2500 rpm, 5分)	遠心 (25℃, 3000 rpm, 5分)	遠心 (3000 rpm, 5分)	実施せず	遠心 (3000 rpm, 5分)	遠心 (3000 rpm, 5分)	遠心 (4℃, 3000 rpm, 5分)
	精製方法	実施せず	実施せず	実施せず	実施せず	実施せず	実施せず	実施せず	実施せず

標準溶液調製方法

標準原液	濃度	メタノール:400 µg/mL	メタノール:100 µg/mL	メタノール:200 µg/mL	メタノール:100 µg/mL	メタノール:333 µg/mL	メタノール:1000 µg/mL	メタノール:887.39 µg/mL
標準溶液	溶媒濃度	0.1%ギ酸メタノール溶液:0.1, 0.5, 1, 5, 10, 20, 30, 50, 100 (ng/mL)	メタノール:0.1, 0.5, 1, 2, 5, 10, 20, 1000 (ng/mL)	メタノール:2, 5, 10, 20, 50, 100, 300, 500, 2000 (ng/mL)	メタノール:1, 2, 5, 10, 20, 50, 100, 200 (ng/mL)	メタノール:0.1, 0.2, 0.5, 1, 2, 5, 10, 20, 50, 100, 5000 (ng/mL)	メタノール:5, 10, 20, 50, 100, 200 (ng/mL)	メタノール:1, 5, 25, 50, 100, 1000, 10000 (ng/mL)

定性・定量方法

使用機器		LCMSMS	LCMSMS	LCMSMS	LCMSMS	LCMSMS	LCMSMS
定量方法		絶対検量線法	絶対検量線法	絶対検量線法	絶対検量線法	絶対検量線法	絶対検量線法
検査線 標準溶液	定量イオン	Q1/Q3:288.1/147.0	Q1/Q3:288.1/147.1	Q1/Q3:288.1/146.9	Q1/Q3:288.0/147.1	Q1/Q3:288.1/147.1	Q1/Q3:288.1/146.85
	濃度列	0.1, 0.5, 1, 5, 10, 20, 30 (ng/mL)	試料A 0.1, 0.1, 0.2, 0.2, 0.40 μg (リコリンとして) を添加し、試料と同様の抽出操作を行い、それぞれの試料溶液を用いた	0.1, 1, 2.5, 5, 10, 25 (ng/mL)	5, 10, 20, 50, 100 (ng/mL)	0.1, 0.2, 0.5, 1, 2, 5, 10 (ng/mL)	1, 5, 25, 50, 100 (ng/mL)
	保持時間	3.28-3.30 (min)	5.99-6.01 (min)	7.37-7.39 (min)	2.94-2.95 (min)	5.73-5.76 (min)	7.83-7.90 (min)
	希釈倍数	20,000倍	100,000倍	10,000倍	20,000倍	100,000倍	10,000倍
測定溶液	保持時間	3.23-3.24 (min)	8.68 min	7.36 min	2.95 min	5.75 min	7.88 min
	溶媒	0.1%ギ酸メタノール溶液	メタノール	メタノール	メタノール	メタノール	メタノール
システム性能	測定濃度	20 ng/mL	10 ng/mL	25 ng/mL	25 ng/mL	10 ng/mL	25 ng/mL
	理論段数	5,008	16,029	10,128	2,280	2,648	4,606
	シグマトリー係数	0.909	1.5	1.04	1.18	0.93	1.06

別法							
測定モードをEPI (トランプモード) によるMSMSスキャン) に変更し、スペクトルを表示して標準溶液との強度比を比較した。							

機器分析条件

分離部	カラム	ACQUITY UPLC BEH HILIC 1.7 μm 2.1 mm × 50 mm (Waters)	X Bridge C18 3.5 μm 2.1 mm × 150 mm (Waters)	Atlantis HILIC Silica 3 μm 2 mm × 150 mm (Waters)	XBridge C18 3.5 μm 2.1 mm × 150 mm (Waters)	ACQUITY UPLC BEH C18 1.7 μm 2.1 mm × 100 mm (Waters)	Kinetex 2.6u C18 2.6 μm 2.10 mm × 100 mm (Phenomenex)	Scherzo SM-C18 3 μm 3 mm × 150 mm (Intact)	Mightysil RP-18 GP 3 μm 2mm × 150mm (関東化学)
	カラム温度	40 °C	40 °C	40 °C	40 °C	40 °C	40 °C	40 °C	40 °C
	移動相	A:0.1%ギ酸水溶液 B:アセトニトリル	A:5 mmol/L酢酸アンモニウム水溶液 B:5 mmol/L酢酸アンモニウムメタノール溶液	A:0.1%ギ酸水溶液 B:0.1%ギ酸アセトニトリル溶液	A:5 mmol/L酢酸アンモニウム水溶液 B:5 mmol/L酢酸アンモニウムメタノール溶液	A:5 mmol/L酢酸アンモニウム水溶液 B:5 mmol/L酢酸アンモニウムメタノール溶液	A:5 mmol/L酢酸アンモニウム水溶液 B:5 mmol/L酢酸アンモニウムメタノール溶液	A:10 mmol/L酢酸アンモニウム水溶液 B:メタノール	A:10 mmol/Lギ酸アンモニウム水溶液 B:メタノール
	溶離条件	A/B=10/90(0 min) → 60/40(6-9 min) → 10/90(9.1-11 min)	A/B=85/15(0 min) → 15/85(10-20 min) → 85/15(20.1-30 min)	A/B=10/90(0 min) → 65/35(7-10 min) → 10/90(15 min)	A/B=85/15(0-0.1 min) → 15/85(10-20 min) → 85/15(20.1-35 min)	A/B=85/15(0.1 min) → 15/85(2-3.5 min) → 85/15(5-6 min)	A/B=85/15(0 min) → 10/90(8 min) → 10/90(20 min)	A/B=30/70	A/B=70/30(0-2 min) → 30/70(22 min) → 5/95(27-30 min)
検出部	流速	0.2 mL/min	0.2 mL/min	0.2 mL/min	0.2 mL/min	0.2 mL/min	0.15 mL/min	0.2 mL/min	0.2 mL/min
	注入量	5 μL	5 μL	5 μL	5 μL	5 μL	5 μL	5 μL	5 μL
	イオン化法	ESI, positive	ESI, positive	ESI, positive	ESI, positive	ESI, positive	ESI, positive	ESI, positive	ESI, positive
	測定モード	MRM	MRM	MRM	MRM	MRM	MRM	MRM	MRM
	測定イオン	定量イオン:288.1/147.0 確認イオン:①288.1/119.0 ②288.1/90.9	定量イオン:288.0/147.1 確認イオン:288.0/91.0	定量イオン:288.1/147.1 確認イオン:①288.1/119.3 ②288.1/91.1	定量イオン:288.1/146.9 確認イオン:288.1/119.0	定量イオン:288.0/147.2 確認イオン:①288.1/91.2 ②288.1/119.1	定量イオン:288.0/147.00 確認イオン:288.0/119.00	定量イオン:288.1/146.85 確認イオン:288.1/119.0	定量イオン:288.1/146.9 確認イオン:288.1/119.0
	コリジョンエネルギー	定量イオン:28 eV 確認イオン:36 eV	定量イオン:43 eV 確認イオン:75 eV	定量イオン:39 eV 確認イオン:①49 eV ②71 eV	20 eV	定量イオン:41 eV 確認イオン:①73 eV ②51 eV	定量イオン:37 eV 確認イオン:55 eV	定量イオン:100 eV 確認イオン:100 eV	定量イオン:27 eV 確認イオン:31 eV
	スプレー電圧	8000 V	5500 V	5500 V	2500 V	5500 V	5500 V	5000 V	5000 V
	イオン源温度	450 °C	600 °C	600 °C	150 °C	800 °C	600 °C	450 °C	300 °C
	その他条件				コーン電圧:55 V ディソルベーション温度:650 °C				