報 文

LC/MS/MS によるツキヨタケおよび
食中毒原因食品中の illudin S の分析

(平成 21 年 2 月 26 日受理)

笠原義正* 伊藤 健

Determination of Illudin S in *Omphalotus guepiniformis* and Foods that Caused Food Poisoning
by Liquid Chromatography with Tandem Mass Spectrometry

Yoshimasa KASAHARA* and Takeshi ITOU

The Yamagata Prefectural Institute of Public Health: 1-6-6 Tokamachi, Yamagata-shi,
Yamagata 990-0031, Japan; *Corresponding author

A simple method was developed for determination of illudin S in fungi (*Omphalotus guepiniformis*: poisonous mushroom) and a food that caused food poisoning, using liquid chromatography tandem mass spectrometry (LC/MS/MS). Illudin S in fungi and the food that caused food poisoning was extracted with methanol and then cleaned up with an Oasis HLB cartridge. LC separation was performed with an octadecylated silica column (Inertsil ODS-3, 2.1 mm i.d.×150 mm) and a mobile phase of 0.1% formic acid-methanol (7:3) at a flow rate 0.2 mL/min. Mass spectral acquisition was performed in the positive mode and illudin S was targeted using multiple reaction monitoring (MRM) with electrospray ionization (ESI).

The recoveries of illudin S were 84–94% from edible fungi (*Lentinula edodes*, *Pleurotus ostreatus* and *Panellus serotinus*). The detection limits of illudin S in the fungi (*L. edodes*, *P. ostreatus* and *P. serotinus*) were 0.08–0.10 µg/g respectively. Illudin S was detected in the food that caused food poisoning at the level of 2.0 and 15.1 µg/g in the soup and fungi, respectively. The recovery of illudin S from a mushroom soup (cooked at 100°C for 10 min) sample which simulated food poisoning was 74.8%. These results indicate that the developed method is suitable for the determination of illudin S in fungi (*O. guepiniformis*) and foods that caused food poisoning.

(Received February 26, 2009)

Key words: ツキヨタケ *Omphalotus guepiniformis*; 食中毒 food poisoning; 液体クロマトグラフィー/タンデム質量分析法 LC/MS/MS; イルジン S illudin S

緒 言

ツキヨタケ (*Omphalotus guepiniformis*) は、キシメジ科 (Tricholomataceae) のキノコで、ブナ、ミズナラなどの倒木や朽木などに発生し、その形態はシイタケ、ヒラタケ、ムキタケなどと誤認されやすい。山形県および全国で最も食中毒件数の多いキノコである。摂食すると 30 分から 3 時間で嘔吐、腹痛、下痢などの症状を呈する。筆者らはすでに、毒性を指標にツキヨタケのエキスを繰り返し分画精製し、得られた物質の構造解析を行ってイルダン骨格を持つ illudin S が食中毒原因物質であること報告した¹⁾。さらに、illudin S の HPLC-UV による分析を検討したが²⁾、抽出法や検出感度が不十分であるなど夾雑物質などにより特定が難しい場合があったので LC/MS で同定・確認を行っている。また、Kanamori-Kataoka ら³⁾は

GC/MS を用いてツキヨタケの食中毒原因物質として illudin S の特定を行っており、Kirchmair ら⁴⁾は LC/MS を用いて illudin S の構造確認を行っている。一般的に GC-MS の分析では分析目的物質が気化しやすいことが必要であり、illudin S のようにメタノールに溶けやすい極性物質の分析では HPLC-UV や LC/MS がより適していると考え、本報では LC/MS に比べて選択性および相対感度が高い LC/MS/MS を用いた illudin S の分析法および定量法を検討した。さらに、この方法を用いてツキヨタケの illudin S 含量や食中毒事例の原因と推定された食品の分析などを行ったので報告する。

実験方法

1. 試料

1998 年 9 月に山形県小国町、2006 年および 2007 年の 9 月～10 月に山形県鶴岡市羽黒、西川町志津に自生し

* 連絡先

山形県衛生研究所: 〒990-0031 山形県山形市十日町 1-6-6

ていたツキヨタケ (*Omphalotus guepiniformis*) を採取したもの、および 2006 年 10 月に発生した食中毒の原因食品とされた煮物を用いた。試料は -20°C で凍結保存したものをを用いた。

シイタケ、ヒラタケ、ムキタケは産地直売所から購入したものをを用いた。

2. 試薬

標準品: 採取したツキヨタケから分離精製した illudin S を用いた。Illudin S は黄色不定形物質であり、分子量 (TOF-MS): m/z 265.14401 ($\text{M} + \text{H}^+$), 分子式 $\text{C}_{15}\text{H}_{20}\text{O}_4$, UV: λ_{max} (MeOH) 235 nm, 320 nm, メタノールに溶けやすく、ヘキサンに溶けない。水、酢酸エチルに溶けにくい。Illudin S の ^1H -NMR, ^{13}C -NMR および純度 (95~96%) については結果および考察の **2. Illudin S の分離精製** の項に示した。また, illudin S の構造を Fig. 1 に示した。

その他の試薬: 酢酸および酢酸アンモニウムは和光純薬工業(株)製の特級を用いた。ギ酸, ギ酸アンモニウム, n -ヘキサン, クロロホルム, 酢酸エチルは関東化学(株)製の特級, メタノールは関東化学(株)製の高速液体クロマトグラフィー用を使用した。

固相カートリッジ: Waters 社製の Oasis HLB 6 cc (500 mg) を用いた。使用前にメタノールおよび水でコン

Fig. 1. Structure of illudin S

ディショニングした。

標準溶液: illudin S を 10.0 mg 秤量し, 50 mL のメタノールに溶解したものを適宜希釈して標準溶液とした。

3. 装置

LC/MS/MS: 高速液体クロマトグラフは Agilent 社製 Agilent 1100 シリーズを用いた。質量分析計は Applied Biosystems 社製の API 2000 を用いた。

HPLC-UV: 日本分光(株)社製 Gulliver 900 シリーズを用いた。カラムオーブンは MODEL556 ジェールサイエンス(株)製を用いた。

核磁気共鳴スペクトル(NMR): 日本電子(株)製 JEOL ECA600 NMR (600 MHz, CDCl_3) を用いた。

高速液体クロマトグラフ/飛行時間型質量分析計 (LC/TOF-MS): 高速液体クロマトグラフは Agilent 社製 Agilent 1200 シリーズを用いた。質量分析計は Agilent 社製 6220 を用いた。

4. 測定条件

LC/MS/MS および HPLC-UV の条件をそれぞれ Table 1, 2 に示した。

5. Illudin S の分離精製および同定

ツキヨタケのメタノールエキスを作製し, 前報¹⁾に従い illudin S を分離精製し, 各種機器データをもとに化学構造および純度の確認を行った。

6. 試料溶液の調製

ツキヨタケおよび食中毒原因食品を細切し, おのおの 5 g を量り採り, メタノール 50 mL を加えてホモジナイズした。これをろ紙を用いてろ過後減圧濃縮して, メタノール 2 mL に溶解し, 水を加えて 20 mL とし Oasis HLB に負荷した。20%メタノール 5 mL で洗浄後, メタノール 5 mL で保持された illudin S を溶出した。これを減圧濃縮し, 1 mL のメタノールに溶解して孔径 $0.45\ \mu\text{m}$ のメンブレンフィルターを通し試料溶液とした。

Table 1. LC/MS/MS conditions for determination of illudin S

Column	Inertsil ODS-3 (2.1 mm i.d.×150 mm), $5\ \mu\text{m}$
Column temperature	40°C
Flow rate	0.2 mL/min
Mobile phase	0.1% Formic acid-methanol (7:3)
Injection volume	$5\ \mu\text{L}$
Ionization	ESI, positive
Analysis mode	Multiple reaction monitoring (MRM)
Ion-spray voltage	5,500 V
Turbo gas temperature	450°C
Nebulizer gas	N_2 , 70 psi
Monitor ion	$265 \rightarrow 95, 247\ (m/z)$

Table 2. HPLC-UV conditions for determination of illudin S

Column	Inertsil ODS-3 (4.6 mm i.d.×150 mm), $5\ \mu\text{m}$
Column temperature	40°C
Flow rate	0.8 mL/min
Mobile phase	Water-methanol (7:3)
Injection volume	$10\ \mu\text{L}$

7. 検量線および定量

LC/MS/MS では illudin S をメタノールで希釈し 0.5, 1, 2, 5, 10 $\mu\text{g/mL}$ になるように調製し, その 5 μL を LC/MS/MS に注入した. LC/MS/MS の測定で得られたクロマトグラムよりピーク面積を求め, 絶対検量線法により検量線を作成した. 試料中の illudin S は試料溶液 5 μL を LC/MS/MS に注入し, 得られたクロマトグラムのピーク面積から検量線を用いて定量した.

HPLC-UV では illudin S をメタノールで希釈して 0.5, 1, 2, 5, 10 $\mu\text{g/mL}$ になるように調製し, その 10 μL を HPLC-UV に注入した. HPLC-UV 測定で得られたクロマトグラムによりピーク面積を求め, 絶対検量線法により検量線を作成した. 試料中の illudin S は試料溶液 10 μL を HPLC-UV に注入し, 得られたクロマトグラムのピーク面積から検量線を用いて定量した.

結果および考察

1. LC/MS/MS 条件の検討

1.1 MS/MS 条件の検討

インターフェイスには極性化合物のイオン化に適した ESI を選択した. また, 測定は選択的にイオンをモニタリングする Multiple Reaction Monitoring (MRM) モードで行った. その結果, 良好な感度を得られたポジティブモードを選択した. プロトンが付加した分子をプレカーサーイオンとし, これにエネルギーを与えて衝突解離し生成したプロダクトイオンをモニターした. その際 m/z 265 $\rightarrow$ 95, 247 の特徴的なフラグメントイオンが認められたので, 感度が強く得られたプロダクトイオン (m/z 247) を定量用に, もう一方を確認用イオンとして設定した (Table 1).

1.2 LC 条件の検討

カラムについては ODS 系のカラム (Inertsil ODS-3 (ジエールサイエンス(株)製), Atlantis T3 (Waters 社製), Develosil ODS-HG-5 (野村科学(株)製) について感度やピーク形状, カラム圧などを比較検討したところ, Inertsil ODS-3 が最も良好であったのでこれを使用した.

移動相については, はじめに前報²⁾の HPLC-UV の条件である水-メタノール (7:3) を適用した. その結果, MS のフラグメントイオンは, m/z 287, 265, 247, 217 が観察された. Illudin S の分子量は 264 なのでプロトンが付加した $[\text{M}+\text{H}]^+$ の 265 が分子イオンピークになると推測されたが, この条件では m/z 287 が基準ピークとなっている. このことを TOF-MS で確認すると m/z 287.12577 は illudin S に Na が付加したものと考えられた (Fig. 2). したがって LC/MS/MS の m/z 287 は Na が付加したものと推定した. そこで m/z 265 のプロトン化した分子を効率的に生成させるために, 水-メタノール (7:3) の溶離液にギ酸または酢酸を添加し検討した. その結果, 両添加ともに m/z 265 が基準ピークとなったが, ギ酸を用いたほうが感度が良かったので 0.1% ギ酸-メタノール (7:3)

Fig. 2. LC/TOF-MS spectrum of illudin S

Fig. 3. MRM chromatograms of illudin S

(A): Standard solution (10 $\mu\text{g/mL}$), (B): *Lentinula edodes*, (C): *Lentinula edodes* spiked with illudin S (10 $\mu\text{g/mL}$), (D): food that caused food poisoning. Arrow indicates the retention time of illudin S.

を用いることとした.

1.3 検量線

Table 1 の条件をもとに illudin S のイオンピーク面積を用いて絶対検量線法で検量線を作成した. 0.5~10 $\mu\text{g/mL}$ の範囲で直線性を調べたところ相関係数が 0.998 であった. また, 1, 2, 5, 10 $\mu\text{g/mL}$ の 4 点における測定を 5 回繰り返して, ピーク面積の変動係数を求めたところ, いずれも 8% 以内であった.

また, illudin S を分析する際に, 抽出液によるマトリックスの影響を確認するため, ツキヨタケと誤認されやすいシイタケ, ヒラタケおよびムキタケの試料溶液に 10 $\mu\text{g/mL}$ となるように標準溶液を添加し検討したところ,

Table 3. ^1H -(600 MHz) and ^{13}C -NMR (150 MHz) data of illudin S in CDCl_3

Position	δ_{H} in ppm	δ_{C} in ppm
1	—	200.6
2	—	74.9
3	—	24.7
4	—	138.4
5	—	135.1
6	4.72 (1H, s)	55.0
7	—	31.8
8	6.46 (1H, s)	141.4
9	—	136.0
10	1.38 (3H, s)	24.7
11a	0.43 (1H, m)	6.0
11b	0.84 (1H, m)	—
12a	0.97 (1H, m)	8.7
12b	1.12 (1H, m)	—
13	1.69 (3H, s)	14.2
14	1.21 (3H, s)	15.8
15a	3.56 (1H, d, $J=11$ Hz)	69.0
15b	3.48 (1H, d, $J=11$ Hz)	—

シイタケ、ヒラタケ、ムキタケの抽出液などにより illudin S のピークがイオン化阻害を受けることはなかった。この条件で測定した illudin S の標準溶液、シイタケ、シイタケに illudin S を添加したものおよび食中毒原因食品の分析チャートを Fig. 3 に示した。

2. Illudin S の分離精製

ツキヨタケを大量に採取してメタノールで抽出し、そのエキスを前報¹⁾と同様にシリカゲルカラムクロマトグラフィーにて繰り返し分離し illudin S を精製した。これを確認するために、 ^1H -NMR, ^{13}C -NMR を測定し、前報¹⁾および Nakanishi ら⁵⁾, Hara ら⁶⁾の NMR スペクトルデータと比較し同定した (Table 3)。さらに、LC/TOF-MS (Fig. 2) により分子量の確認を行った。また、HPLC-UV (190 ~ 400 nm) および LC/MS の TIC (m/z : 100 ~ 800) のピーク面積から illudin S の純度を推定したところ 95 ~ 96% であった。

3. 前処理の検討

筆者らはツキヨタケの食中毒原因が illudin S であることを報告した¹⁾。その際、ツキヨタケのメタノールエキスを水と酢酸エチルで分配して毒性を確認したが、酢酸エチル層だけでなく水層にも毒性のあることが示唆された。ツキヨタケには水溶性の毒成分の存在を予測している文献⁷⁾もあったので、酢酸エチル層の毒性を指標に illudin S を単離したが、今回、水層についても分析したところ、illudin S が移行していることが明らかとなった。そこで、これを確かめるため、illudin S の標準品 (10 μg) を酢酸エチル 50 mL と水 50 mL で分配し、その結果を HPLC-UV で調べたところ、水層に illudin S が 4.4 μg 、酢酸エチル層に 5.5 μg 移行することが分かった。同様に、クロロホルム 50 mL と水 50 mL ではクロロホルム層に 3.7 μg 、水層に 6.3 μg 移行し、*n*-ヘキサンと水ではほとんどが水層に移行した。このことから、illudin S は水層にも存在

し、*n*-ヘキサンには移行しないことが明らかとなった。そこで、illudin S 標準品 10 mg に水、メタノール、酢酸エチル、*n*-ヘキサンのおおのを 0.1, 1.0, 10.0 mL 加え、大まかな溶解性を目視で検討したところメタノールには完全に溶解し、酢酸エチルと水には完全には溶解しなかった。*n*-ヘキサンには全く溶解しなかった。したがって、illudin S は有機溶媒でも比較的極性の高いものに溶解するため、液-液分配による前処理ではなく、固相カートリッジを用いた前処理を検討した。

はじめに固相カートリッジに試料溶液を充填する方法を検討した。標準溶液を濃縮乾固したもの (10 μg) を 2 mL のメタノールに溶解して水を加えて 20 mL としたもの、4 mL および 6 mL のメタノールに溶解して水を加えて 20 mL としたものを各種固相カートリッジ (Sep-Pak Vac 6 cc (500 mg) C18, Sep-Pak Plus PS2, Oasis HLB 6 cc (500 mg)) に負荷した。溶出した溶媒を HPLC-UV で分析したところ、2 mL のメタノールに溶解して水を加えて 20 mL としたものでは逆相系の Sep-Pak Vac 6 cc (500 mg) C18 を用いた場合に illudin S が保持されず添加量の 8.6% が流出した。ポリマー系固相カートリッジの Sep-Pak Plus PS2 および Oasis HLB 6 cc (500 mg) を用いた場合は 2 mL または 4 mL のメタノールに溶解して水を加えて 20 mL としたものでは負荷の段階で illudin S は流出せず、6 mL のメタノールに溶解して水を加えて 20 mL としたものでは両カートリッジともに一部流出した。また、固相カートリッジの性質から、ジビニルベンゼン-*N*-ビニルピロリドン共重合体で、親水性と親油性の両方を併せ持つ Oasis HLB は、水および酢酸エチルに一部溶解するという illudin S の性質に適していると考えた。

以上のことから、固相カートリッジは Oasis HLB 6 cc (500 mg) を用い、試料の充填溶媒としてはメタノール 2 mL に溶解して水を加えて 20 mL としたものをを用いることにした。

さらに、illudin S を Oasis HLB に保持させた後、洗浄する際に最適な溶媒濃度を決定するために 20, 30, 40% メタノールについて検討した。20% メタノール 5 mL では illudin S は溶出せず、30% メタノール 5 mL では 9.5%、40% メタノールでは 39% の illudin S が溶出した。この結果から 20% メタノール 5 mL を用いて洗浄することが適切と判断した。

以上の前処理を行い、Oasis HLB に保持された illudin S を 5 mL のメタノールで溶出することにした。

4. 添加回収試験

ツキヨタケ中毒は、シイタケ、ヒラタケ、ムキタケなどの食用キノコと誤認されることによる場合が多い。そこで、これらのキノコにツキヨタケが混入したことを想定して、夾雑物やマトリックスおよびその他の要因などが添加回収に影響がないか LC/MS/MS を用いて検討した。すなわち、試料中の illudin S 含量が 2 $\mu\text{g/g}$ となるように標準溶液を試料のキノコに添加し、ホモジナイズして直後

Table 4. Recoveries of illudin S from fungi

Sample	Recovery (%) ^{a)}
<i>Lentinula edodes</i>	91.0 ± 3.4
<i>Pleurotus ostreatus</i>	94.2 ± 1.7
<i>Panellus serotinus</i>	84.2 ± 3.1

Samples were spiked with 2 µg/g.

^{a)}Values are the mean ± S.D. (n=3).

Table 5. Illudin S contents of various *Omphalotus* fungi in Yamagata

Sample (year) ^{a)}	Concentration (µg/g)
A (1998)	1.9
B (2006)	133.1
B (2007)	140.0
C (2006)	163.4
C (2007)	318.2

A: Oguni-machi, B: Tsuruoka-shi Haguro, C: Nishikawa-machi Shizu.

^{a)}Collected year

に前処理を行い回収率を求めた。その結果、すべて 84% 以上の回収率であった (Table 4)。また、シイタケに illudin S を添加したものの検出限界は 0.08 µg/g ($S/N \geq 3$)、定量限界は 0.28 µg/g ($S/N \geq 10$) で、ヒラタケでは 0.08 µg/g ($S/N \geq 3$)、0.26 µg/g ($S/N \geq 10$)、ムキタケでは 0.10 µg/g ($S/N \geq 3$)、0.33 µg/g ($S/N \geq 10$) であった。いずれも妨害ピークやノイズがなく良好な結果が得られた。

5. 採取したツキヨタケに含まれる illudin S の定量

はじめに本法を用いて 1998 年、2006 年、2007 年に採取したツキヨタケに含まれる illudin S の定量を行った。シイタケやムキタケと間違いやすい大きさ (30 g 前後) のツキヨタケを選んで測定した (Table 5)。Illudin S 含量は、2007 年に西川町志津から採取した試料の 318.2 µg/g から 1998 年に小国から採取した 1.2 µg/g まで大きく異なっていた。

次に、2006 年の志津で採取したツキヨタケについて大きさの違いによる単位重量当たりの illudin S 含量を測定した (Table 6)。Illudin S 含量には個体差が見られ、ツキヨタケの重量との間に相関は認められなかった。

6. 食中毒原因食品およびキノコ汁に含まれる illudin S の定量

本法を用いて、2006 年 10 月に起きたツキヨタケ中毒の食中毒原因食品について illudin S の定量を試みた。その結果、ツキヨタケと考えられるキノコの illudin S 含量は 15.1 µg/g で、汁は 2.0 µg/g であった。中毒原因食品が中毒発生時のままの状態で保存されたものではなく、さらに中毒患者が中毒原因食品を食べた量に関する情報は記録されていないが、常識的に、煮物の汁を汁椀 1 杯 (180 g) およびツキヨタケ 1 個 (30 g) を食したと仮定して illudin S の量を算出した。その結果中毒患者は、汁椀から 360 µg、ツキヨタケから 453 µg の合計 813 µg の illudin

Table 6. Illudin S contents of various weights of *Omphalotus* fungi collected Nishikawa-machi Shizu in Yamagata

Sample (weight)	Concentration (µg/g) ^{a)}
Small (10 g)	259.3 ± 47.4
Medium (30 g)	130.5 ± 30.0
Large (150 g)	192.3 ± 47.3

^{a)}Values are the mean ± S.D. (n=3).

Table 7. Illudin S contents in mushroom soup prepared to simulate food poisoning-related material

Sample	Weight (g)	Concentration (µg/g) ^{a)}	Amount (mg)	Total recovery (%)
Fungi	285	10.8 ± 0.3	3.1	74.8
Soup	1,785	9.1 ± 0.7	16.2	

^{a)} Values are the mean ± S.D. (n=3).

Mushroom soup contained four mushrooms, *Omphalotus guepiniformis* (including 25.8 mg of illudin S), *Lentinula edodes*, *Pleurotus ostreatus* and *Panellus serotinus*.

S を摂取したことになる。筆者ら²⁾、および Kanamori-Kataoka ら³⁾の報告に中毒量の推測はあるものの、ツキヨタケに関しては中毒症状とそれを引き起こす illudin S の量の正確な知見はないが、本結果から約 1 mg 程度の illudin S を摂取すると中毒症状が現れる可能性が示唆された。

さらに、illudin S 含量が既知のツキヨタケを用いて、調理による illudin S の変化について検討した。ここでは中毒の起こる可能性の高い一般的なキノコ汁を想定して、生重量でシイタケ 50 g、シメジ 100 g、マイタケ 100 g にツキヨタケ 100 g (illudin S 含量: 258 µg/g) を混合し、水 2 L を加えて 10 分間沸騰させキノコの醤油汁 (醤油 200 mL と砂糖 6 g を含む) を作製した。これについてキノコの具を混合したものと、汁について illudin S の定量を行った (Table 7)。食用のキノコとツキヨタケを混合したもののキノコの菌体 (均一に混合: 285 g) の illudin S 含量は 10.8 µg/g で、汁では 9.1 µg/g であった。これをキノコ汁全体に換算すると、菌体全体の illudin S 量は 3.1 mg、汁中の illudin S 量は 16.2 mg となり合計 19.3 mg である。はじめの illudin S 総量は 25.8 mg なので、回収率は 74.8% になる。

この調理モデル実験から、illudin S はツキヨタケから汁にかなり移行すること、ならびに 10 分間の沸騰加熱でも大幅には分解しないことがわかった。しかし、Table 4 に示したように、加熱しないときの添加回収実験では回収率が 84~94% であったことから、illudin S の加熱安定性について調べた。水 50 mL に illudin S 10 µg を添加して、3, 10, 15 分間 100℃ に加熱し (n=3) 前処理を行い定量した。その結果、illudin S 量は加熱 3 分後には 9.7 µg、10 分後に 9.1 µg、15 分後に 8.6 µg となり、illudin S は 100℃ 15 分間の加熱で 15% 程度分解するものの、加熱に対して比較的安定であることが確かめられた。

ま と め

LC/MS/MS を用いて食中毒原因食品および野生のツキヨタケの illudin S を定量する方法を開発した。前処理としては Oasis HLB を用いて精製し、MS/MS の条件は ESI ポジティブモードを用いた。移動相は 0.1% ギ酸-メタノール (7:3) によるアイソクラティックで良い分離が得られた。

今回測定したツキヨタケの illudin S 含量は 1.9~318 $\mu\text{g/g}$ であり、自然条件その他によって変動すると考えられた。また、本法を用いて食中毒原因食品を定量したところ illudin S が検出され、食中毒原因食品からでも illudin S は測定可能であった。illudin S は加熱に対して安定で、食中毒食品を想定したキノコ汁 (10 分加熱) から illudin S が 74.8% 回収された。

謝 辞

LC/TOF-MS を用いて illudin S を測定していただきましたアジレント・テクノロジー株式会社の諸氏に、また、illudin S の核磁気共鳴スペクトルを測定していただきました鹿児島大学大学院理工学研究科教授の門川淳一氏に深謝します。

文 献

1) Kasahara, Y., Itagaki, A., Kumaki, K., Katagiri, S. Gastro-

intestinal toxicity of *Lampteromyces japonicus* and its reduction by curing. *Shokuhin Eiseigaku Zasshi* (J. Food Hyg. Soc. Japan), **37**, 1-7 (1996).

- 2) Kasahara, Y. Quantitative analysis of toxic substance, illudin S in the fruit body of *Lampteromyces japonicus*. Yamagataken Eiseikenkyusho Ho (Annual Report of Yamagata Prefectural Institute of Public Health), **31**, 5-9 (1998).
- 3) Kanamori-Kataoka, M., Seto, Y., Kuramoto, M. Development of a method for determining illudin S in food by gas chromatography-mass spectrometry, *J. Health Sci.*, **52**, 237-242 (2006).
- 4) Kirchmair, M., Pöder, R., Huber, C. Identification of illudins in *Omphalotus nidiformis* and *Omphalotus olivascens* var. *indigo* by column liquid chromatography-atmospheric pressure chemical ionization tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. A*, **832**, 247-252 (1999).
- 5) Nakanishi, K., Ohashi, M., Tada, M., Yamada, Y. Illudin S (lampterol). *Tetrahedron*, **21**, 1231-1246 (1965).
- 6) Hara, M., Yoshida, M., Morimoto, M., Nakano, H. 6-Deoxyilludin M, A new antitumor antibiotic: fermentation, isolation and structural identification. *J. Antibiotics*, **11**, 1643-1646 (1987).
- 7) Fujimoto, H. New biologically active metabolites isolated from basidiomycetes. *Proc. Jpn. Assoc. Mycotoxicol.*, **25**, 5-8 (1987).