

令和8年度輸入小麦中のカビ毒（麦角アルカロイド）の濃度分析業務仕様書

1 業務の目的

本業務は、農林水産省農産局農産政策部貿易業務課（以下「貿易業務課」という。）が輸入小麦中の麦角アルカロイド（以下「EA」という。）類の含有実態を把握するものである。EA類のうち標準物質が入手可能な12分子種について、令和5年度に貿易業務課が複数の分析機関で実施した室間共同試験（以下「共同試験」という。）により妥当性確認を行った分析法を用いて、輸入小麦玄麦試料中のEA類12分子種の濃度を測定し、含有実態データを蓄積することを目的とする。

2 背景及び業務の概要

農林水産省は、国家貿易により小麦及び大麦（以下「麦類」という。）を輸入しており、消費者に安全な麦類を安定的に供給するという責務を果たす上で、麦類穀粒に存在する汚染物質や天然毒素の濃度データ等を取得する必要がある。

EA類は、麦角菌（Claviceps属）が産生するカビ毒であり、エルゴティズム（Ergotism）といわれる麦角中毒（痙攣・壊疽）を引き起こすと言われている。毒性の強い天然毒素であることから、Codex委員会が参照して勧告しているIUPAC/ISO/AOACの国際ハーモナイズドプロトコルに基づいた「室間共同試験による妥当性確認」を行った分析法を用いて濃度分析をする。取得したEA類の濃度データは、Codex委員会が我が国の汚染実態を反映した基準値を設定するようGEMS/Foodデータベースに提供するとともに、国内基準値検討の基礎として必要であると判断すれば、消費者庁にサンプリングデータを解析結果とともに提供する。

また、得られた濃度データは解析した上で、国内輸入麦関係者（輸入商社団体及び実需者団体等）に説明しつつ、必要に応じて解析結果を関係機関や関係省庁、輸出国政府、生産者団体、麦類産地、穀物輸出関係者などと共有する。統計学的に処理可能なデータが得られれば、輸入小麦から摂取するEA類の暴露評価を実施する。

3 業務の実施期間

契約の期間は、契約締結日から令和9年3月19日（金）までとする。

4 業務内容

（1）分析対象物質

対象分析種とするEA類は、以下の12種の分子種とする。下表では、番号2n-1と2nに示す分子種はそれぞれエピマーの関係にある。以下判別のためには分子種名または番号を使用する。

異性体セット	番号	分子種名	CAS登録番号
A	1	Ergocornine エルゴコルニン	564-36-3
	2	Ergocorninine エルゴコルニニン	564-37-4

異性体 セット	番号	分子種名	CAS 登録番号
B	3	Ergocristine エルゴクリスチン	511-08-0
	4	Ergocristinine エルゴクリスチニン	511-07-9
C	5	α -Ergocryptine α -エルゴクリプチン	511-09-1
	6	α -Ergocryptinine α -エルゴクリプチニン	511-10-4
D	7	Ergometrine エルゴメトリン	60-79-7
	8	Ergometrinine エルゴメトリニン	479-00-5
E	9	Ergosine エルゴシン	561-94-4
	10	Ergosinine エルゴシニン	596-88-3
F	11	Ergotamine エルゴタミン	113-15-5
	12	Ergotaminine エルゴタミニン	639-81-6

(2) 分析試料（小麦玄麦試料）の受領と保管

請負者は、農林水産省農産局長（以下「農産局長」という。）又は農産局長が指定する者から送付された試料を送料着払いで受領する。試料は数回に分けて送付され、少なくとも令和9年2月末までに送付が完了する。試料は、貿易業務課が指示するまで冷凍保管し、試料の受領後から保管期間中の実測保管温度を記録する。

受領した試料の情報（試料番号、試料名、試料重量及び受領日）を「令和8年度輸入小麦中のカビ毒（麦角アルカロイド）の濃度分析業務請負契約書」（以下「契約書」という。）の「分析試料整理簿」（様式2）に記入し、予定する全試料点数を受領した時点で貿易業務課に電子メール等で報告する（下記6の（2）参照）。

(3) 実施手順

請負者は、分析を開始する前に、別添の標準作業手順書（以下「SOP」という。）を十分に理解し、指示された試薬、器具及び測定機器等を所有していることを確認したうえで、厳密にSOPの条件で操作できるように分析法に習熟する。

試料は、SOPの4－6項に準拠した調製済みの粉碎試料1kg程度を送付する。

分析に先立ち、(4)に示す分析の習熟のための確認を行い、結果がA及びUからオまでに示す項目の要件に適合することを確認できたら、試料の分析を開始する。

(4) 分析の習熟度の検証

請負者は、試料の分析に先立って当該分析法を用いて、習熟度を検証する。

使用する機器等の最適化後に厳密にSOPに従って以下を行う。ただし、LC-MS/MSの操作条件の最適化の結果として使用する測定イオン（定量イオン及び確認イオン）は、SOPの4－9(2)項に記載の測定イオンから選定すること。

ア ブランク試料の選定

請負者は、自ら入手した小麦玄麦（国産玄麦も可）を用いて、厳密にSOPに従って粉碎・均質化・分析する。それらの中から、EA 汚染のないもの（すべての分析種

で検出下限相当の標準溶液から得られるピーク面積の 20%以下もしくはピーク検出されないことが望ましい) をブランク試料とする。

イ 標準物質の入手

請負者は、EA 標準物質の入手先、純度、保存方法、保存期間等を記録する。

ウ 標準溶液と検量線

請負者は、厳密に SOP の 4 - 5 項に従って標準溶液を調製する。クロマトグラム上の検量線用混合標準溶液のピーク面積を用いて検量線を作成し、決定係数が 0.990 以上となることを確認する。

エ 検出下限及び定量下限

請負者は、SOP の 4 - 5 項に従って調製した標準溶液を用いて、すべての分子種で検出下限値 (S/N 比 3 以上) 及び定量下限値 (S/N 比 10 以上) が達成可能かどうかを確認する。

検量線用混合標準溶液 0.2 ng/mL 及び 0.4 ng/mL が、検出下限相当濃度及び定量下限相当濃度であり、それぞれ試料中濃度として 1 µg/kg (検出下限値) 及び 2 µg/kg (定量下限値) に相当する。

オ 添加回収試験

請負者は、SOP に従ってブランク試料を用いて添加回収試験を実施し、分析種ごとに回収率を求める。

添加回収試験は、2 種類の濃度 (定量下限値相当濃度及び定量下限値の 20 倍相当濃度) でそれぞれ 5 回以上繰り返し、回収率、平均回収率及び併行相対標準偏差 (RSD_r) を算出し、下記の要件を満たすことを確認する。

添加濃度	平均回収率	RSD _r
定量下限相当濃度	40%から 120%	15%以下
定量下限の 20 倍相当濃度	60%から 115%	15%以下

(5) 分析試料の濃度分析

請負者は、上記 (4) において分析に習熟していることを確認した後、厳密に SOP に従って受領した試料の濃度分析を開始する。なお、分析バッチ*ごとに下記 (6) の内部精度管理をする。なお、本分析法における主な留意事項は以下に示す。

※分析バッチ：1 回に分析操作される分析試料のまとまり。

- ・標準溶液を調製する際は、器具への吸着等が起きないように留意し、LC-MS/MS 用バイアルは不活性処理済みのガラス製もしくは PP 製を用いること。
- ・標準溶液は不安定なため、室温に戻した後は再保管を避ける必要がある。調製時に 1 回使用量ごとに分注して保管し、必要数だけ室温に戻すなどの工夫をすること。
- ・試験溶液も不安定であるため、調製後 24 時間以上経過した場合に濃度が変化してしまう可能性がある。よって 24 時間以上経過した試験溶液は廃棄する。希釈・再測定などの必要がある場合は、再度、SOP の 4 - 8 項の「分析操作」の初めから実施し直すこと。
- ・一度に測定可能な分析試料数は 10 試料前後であること、試験溶液は調製後 24 時間

以内に測定することに留意して分析計画を立てること。

- ・ 10 試験溶液以上を引き続き測定する場合は、装置のコンデショニング等などによって系内を洗浄するようにシークエンスを組むこと。

(6) 内部精度管理 (Procedural recovery test)

請負者は、内部精度管理として分析試料の分析バッチ毎に SOP の 4 - 1 3 項に従って Procedural recovery test を実施する。これにより、同一分析バッチが適切に分析できたことを検証する。

ブランク試料 (選択性) の許容範囲は (4) のア、回収率の許容範囲は (4) のオを参照する。許容範囲内であった場合に、その分析バッチのデータを採用する。

(7) 業務実施中の報告

請負者は、業務に関する疑義又は不測の事態が生じた場合は、操作に何らかの変更を加える前に、速やかに貿易業務課に内容やデータとともに協議した上で、その結果に基づいて操作の修正等を進めること。

5 予定試料数

輸入小麦玄麦の粉碎試料 100 点

ただし、輸入本船の動向や寄港計画の直前変更等により、試料数が増減する場合がある。

6 結果報告

(1) 報告内容

請負者は、使用した試薬・器具・装置のリスト、分析試料保管期間中の実測保管温度、及び 4 の (4) から (6) までの結果を、契約書の「令和 8 年度輸入小麦中のカビ毒 (麦角アルカロイド) の濃度分析業務報告書」(様式 3) に記載する。なお、全 12 分子種について、分析に用いた検量線の一例及び代表的なクロマトグラム (ブランク試料、添加回収試験試料、分析試料等) を添付資料とすること。

請負者は、本請負業務実施中の報告を仕様書の定めにより行うほか、貿易業務課の求めに応じて中間報告を行うこと。

(2) 報告期限及び報告先

請負者は、前項の内容を下記宛てに、令和 9 年 3 月 19 日 (金) までに電子メールで報告する。

- ・ 住所：〒100-8950 東京都千代田区霞が関 1 - 2 - 1
農林水産省農産局農産政策部貿易業務課米麦品質保証室
- ・ 電話：03-6744-1388
- ・ 電子メールアドレスは、契約締結後に貿易業務課から請負者に対し通知する。

7 その他

- (1) 本仕様書に記載のない事項及び疑義が生じた事項は、貿易業務課と請負者が協議の上、処理する。また、請負者が行った分析操作（測定を含む）及び測定結果に、明らかな欠陥があり再実行の必要が認められる場合は、貿易業務課と協議の上、再実行することとする。なお、当該再実行にかかる費用は請負者の負担とする。
- (2) 請負者は、残余試料を他の目的に使用しないこと。ただし、貿易業務課の指示により他の目的に供する場合はこの限りでない。また、残余試料は、契約書の「廃棄計画書」（様式4）を令和9年3月19日（金）までに貿易業務課へ提出し、その了解を得た後に請負者の経費負担で適正かつ確実に廃棄する。
- (3) 請負者は、分析法、測定結果及び分析に関する記録（精度管理、試料の受領、調製、保管、廃棄等に関するものを含む。）を契約終了後5年間保管する。また、本業務の請負により知り得た情報は、契約期間はもとより、契約終了後においても他に漏らしてはならない。
- (4) 本請負業務の結果及びデータは、全て貿易業務課に帰属する。
- (5) 請負者は、本業務の遂行に当たり、廃棄物の処理及び清掃に関する法律（昭和45年法律第137号）やプラスチックに係る資源循環の促進等に関する法律（令和3年法律第60号）、水質汚濁防止法（昭和45年法律第138号）、労働安全衛生法（昭和47年法律第57号）、地球温暖化対策の推進に関する法律（平成10年法律第117号）等の関連する環境関係法令を遵守するものとする。
- (6) 請負者は、業務の遂行に当たり、新たな環境負荷を与えることにならないよう、6の報告時に別紙様式を用いて、以下の取組に努めたことを、環境負荷低減のクロスコンプライアンス実施状況報告書として提出すること。なお、全ての事項について「実施した／努めた」又は「左記非該当」のどちらかにチェックを入れるとともに、ア～エの各項目について、一つ以上「実施した／努めた」にチェックを入れること。
 - ア 環境負荷低減に配慮したものを調達するよう努める。
 - イ エネルギーの削減の観点から、オフィスや車両・機械などの電気、燃料の使用状況の記録・保存や、不必要・非効率なエネルギー消費を行わない取組（照明、空調のこまめな管理や、ウォームビズ・クールビズの励行、燃費効率の良い機械の利用等）の実施に努める。
 - ウ 臭気や害虫の発生源となるものについて適正な管理や処分に努める。
 - エ 廃棄物の発生抑制、適正な循環的な利用及び適正な処分に努める。

別添：令和8年度輸入小麦中のカビ毒（麦角アルカロイド）の濃度分析業務仕様書

標準作業手順書（Standard Operating Procedure: SOP）

小麦中の麦角アルカロイド12分子種のLC-MS/MSによる一斉分析法

1. 表題：

小麦中の麦角アルカロイド 12 分子種の LC-MS/MS による一斉分析法

2. 分析対象物質

入手した標準物質は、冷凍（-20℃以下）、遮光、気密下で保存する。取扱時はゴム手袋、マスク及び保護メガネを着用し、吸入、及び眼、皮膚、衣類等との接触を避ける。

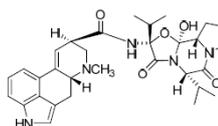
以下に分析対象物質とする麦角アルカロイドを示す。なお、本 SOP では、イン体のエピマーであるイニン体を「異性体」と表記する。

(1) エルゴコルニン(ergocornine)

CAS 番号 564-36-3

分子式 $C_{31}H_{39}N_5O_5$

分子量 561.2951

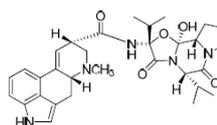


(2) エルゴコルニンニン(ergocorninine)：エルゴコルニン異性体

CAS 番号 564-37-4

分子式 $C_{31}H_{39}N_5O_5$

分子量 561.2951

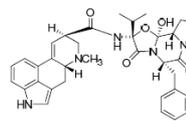


(3) エルゴクリスチン(ergocristine)

CAS 番号 511-08-0

分子式 $C_{35}H_{39}N_5O_5$

分子量 609.2951

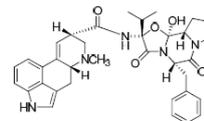


(4) エルゴクリスチニン(ergocristinine)：エルゴクリスチン異性体

CAS 番号 511-07-9

分子式 $C_{35}H_{39}N_5O_5$

分子量 609.2951

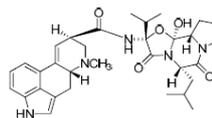


(5) α -エルゴクリプトチン(α -ergocryptine)

CAS 番号 511-09-1

分子式 $C_{32}H_{41}N_5O_5$

分子量 575.3108

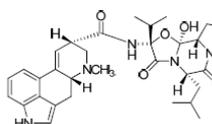


(6) α -エルゴクリプトチニン(α -ergocryptinine)： α -エルゴクリプトチン異性体

CAS 番号 511-10-4

分子式 $C_{32}H_{41}N_5O_5$

分子量 575.3108

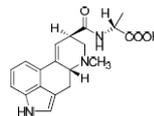


(7) エルゴメトリン(ergometrine)

CAS 番号 60-79-7

分子式 $C_{19}H_{23}N_3O_2$

分子量 325.1790

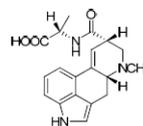


(8) エルゴメトリンニン(ergometrinine) : エルゴメトリン異性体

CAS 番号 479-00-5

分子式 $C_{19}H_{23}N_3O_2$

分子量 325.1790

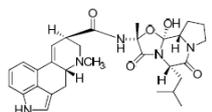


(9) エルゴシン(ergosine)

CAS 番号 561-94-4

分子式 $C_{30}H_{37}N_5O_5$

分子量 547.2795

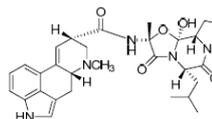


(10) エルゴシニン(ergosinine) : エルゴシン異性体

CAS 番号 596-88-3

分子式 $C_{30}H_{37}N_5O_5$

分子量 547.2795

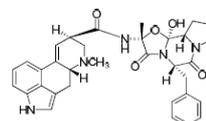


(11) エルゴタミン(ergotamine)

CAS 番号 113-15-5

分子式 $C_{33}H_{35}N_5O_5$

分子量 581.2638

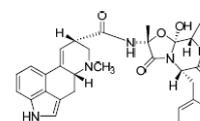


(12) エルゴタミンニン(ergotaminine) : エルゴタミン異性体

CAS 番号 639-81-6

分子式 $C_{33}H_{35}N_5O_5$

分子量 581.2638



3. 分析対象試料 (食品・飼料)

小麦 (玄麦) の穀粒または穀粒を粉砕したもの

4. 分析法

4-1. 検出下限値と定量下限値

すべての分析対象物質における検出下限値を 1.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、定量下限値を 2.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ とする。

4-2. 使用機器

(1) 高速液体クロマトグラフタンデム型質量分析計

各構成装置に求められる基本的な性能を記載する。なお、使用に適する装置の例を9項に示す。

- ① 送液ポンプ：0.1 mL～5 mL/分の範囲で定流量送液が可能なもの
- ② 脱気装置：使用する移動相の気泡等を生成することなく混合・送液可能にできること
- ③ カラム恒温槽：40 °C ± 0.5 °Cで設定可能なもの
- ④ オートサンプラー：注入量（1 μL～10 μL）及び4.0 °C ± 0.5 °Cで設定可能なもの
- ⑤ データ処理装置：使用する装置制御及びデータ収集・解析・管理が適切にできるソフトウェアであること
- ⑥ タンデム型質量分析計：十分な感度、定量性、再現性を有するように条件設定できるもの
- ⑦ 窒素ガス発生装置：装置に必要な発生量および純度を得られるもの
- ⑧ コリジョンガス：装置に規定された種類で必要な純度を得られるもの
- ⑨ ロータリーポンプ等：装置に必要な真空度を実現できる能力を有するもの

以下の機器を使用すること。それ以外の機種を用いる場合は、同等の性能を有することを確認すること。

(2) 試験管ミキサー：

TUBE MIXER TRIO TM-1N、TUBE MIXER TRIO HM-1N（AS ONE 社製）
VORTEX GENIE2（Scientific Industries 社製）

(3) 窒素吹付濃縮装置：窒素気流及び約 50 °Cの加温 [温度制御] により濃縮が可能なもの

TurboVap LV Evaporation System（Biotage 社製）
Dry Thermo Unit DTU-1C（TAITEC 社製）
EYELA MGS-2200E（東京理化学器械社製）

(4) 化学天秤：感量が 0.01 g 以下のもの

PL602-S、PL802-S（METTLER TOLEDO 社製）
GX-400、GH-300（A&D 社製）

(5) 遠心分離機：15 mL 容プラスチック遠心チューブを 3000 回転/分で遠心可能なもの

Model 5911、S700FR（久保田商事社製）
LCX-100（トミー工業社製）

(6) 遠心粉碎機：小麦玄麦を粒子径 0.5 mm まで破碎可能なもの

ZM-200（Retsch 社製）

(7) 混合機：小麦玄麦の粉碎試料 10 kg までを均一に混合可能なもの

HPi-30M（関東混合機工業社製）
攪拌子：ピーター（羽根形状）

- (8) 純水製造装置：比抵抗値 18.0 M Ω (25 °C) 以上、TOC (Total Organic Carbon) 値 5 ppb 以下の水が採水可能なもの
Milli-Q Integral MT10、Milli-Q IQ7000、Milli-Q Integral5 (MERCK 社製)
うるぴゅあ (小松電子社製)
- (9) 冷凍庫：-30 °C~-20 °Cに設定可能なもの
MDF-U537D、MDF-235 (SANYO 社製)
DGF-1A (大同工業社製)、GS-5210HC (日本フリーザー社製)
- (10) 振盪機：200 mL 容三角フラスコを設置でき、縦往復振盪速度 250 回/分が設定可能なもの
SR-2DW (TAITEC 社製)、EYELA MMV-1000W (東京理化学器械社製)
- (11) 超音波洗浄機：UT-205S (SHARP 社製)、ASU-6M、MCS-3 (AS ONE 社製)

4-3. 試薬及び分析資材

試薬及び分析資材は、記載されたグレード、素材のものを使用すること。その他の試薬及び分析資材を用いる場合は、同等の性能を有することを確認すること。

- (1) アセトニトリル：特級、LC/MS 用、もしくは HPLC 用
(富士フィルム和光純薬社製、関東化学社製)
- (2) メタノール：LC/MS 用、もしくは HPLC 用
(富士フィルム和光純薬社製、関東化学社製)
- (3) L(+)-アスコルビン酸：特級 (富士フィルム和光純薬社製)
- (4) 炭酸アンモニウム：特級 (富士フィルム和光純薬社製、関東化学社製)
- (5) 窒素吹付濃縮装置用窒素ガス：純度 99.9 vol%以上
- (6) 純水：純水製造装置から採水された超純水、もしくは市販品 (LC-MS 用等)
- (7) 計量用ピペット
マイクロピペット：Pipetman (GILSON 社製)、Nichipet EX II (ニチリョー社製)、Eppendorf Research plus (Eppendorf 社製)
全量ピペット：2 mL、1.5 mL、1 mL、0.5 mL、ガラス製 (IWAKI 社製)
- (8) 共栓付三角フラスコ：200 mL 容、ガラス製 (IWAKI 社製)
- (9) メスシリンダー：100 mL 容、200 mL 容、1,000 mL 容、ガラス製 (IWAKI 社製)
- (10) パスツールピペット：ガラス製 (IWAKI 社製)
- (11) 丸底遠沈管：10 mL 容、ガラス製もしくは PP 製 (IWAKI 社製、AS ONE 社製、DURAN WHEATON KIMBLE 社製)
- (12) 全量フラスコ：1,000 mL 容、100 mL 容、50 mL 容、25 mL 容、20 mL 容、10 mL 容、5 mL 容、ガラス製 (IWAKI 社製)
- (13) 遠心チューブ：15 mL 容、PP 製、
ECK-15ML (AS ONE 社製)、188271-013 (グライナー社製)
1332-015S (ワトソン社製)
- (14) 多機能カラム：MycoSep #150 Ergot (ROMER 社製)

- (15) ディスク型メンブランフィルター：
 細孔径 0.45 μm 、直径 13 mm、GL Filter PTFE Hydrophilic (GL Sciences 社製)
 細孔径 0.22 μm 、直径 13 mm、Millex-LG Philic PTFE (Merck 社製)
 細孔径 0.45 μm 、直径 13 mm、DISMIC-13HP (ADVANTEC 社製)
- (16) ディスポーザブルシリンジ：2 mL 容、PP 製 (AS ONE 社製、テルモ社製)
- (17) LC-MS/MS 用バイアル：ガラス製、シラン化処理済のもの、もしくは PP 製
 (Agilent Technology 社製、GL Sciences 社製、Thermo SCIENTIFIC 社製)
- (18) LC-MS/MS 用バイアルキャップ：キャップは PP 製、セプタムは PTFE/シリコン製
 (Agilent Technology 社製、GL Sciences 社製)
- (19) ピペットチップ：PP 製、
 (GILSON 社製、ニチリョー社製、AS ONE 社製、Eppendorf 社製、ワトソン社製)
- (20) HPLC 用プレカラム：Phenomenex SecurityGuard Cartridge C18、
 内径 2 mm、長さ 4 mm (P/N：AJ0-4286、島津ジーエルシー社扱)
- (21) HPLC 用分離カラム：Phenomenex Luna C18(2)、内径 2 mm、長さ 150 mm、
 粒径 3 μm (P/N：00F-4251-B0、島津ジーエルシー社扱)

4-4. 試薬の調製

本項に従って調製した試薬は、記載された保管条件下で調製後 6 か月を使用期限とする。

なお、調製量は、混合比率が同じであれば変更しても良い。

- (1) 0.02 w/v% 炭酸アンモニウム溶液 化学天秤を用いて炭酸アンモニウム 0.2 g を 1,000 mL 全量フラスコに採取し、純水で定容する。調製後は室温(5 $^{\circ}\text{C}$ ~35 $^{\circ}\text{C}$)で保存する。
- (2) 0.1 w/v% L(+)-アスコルビン酸含有メタノール 化学天秤を用いて L(+)-アスコルビン酸 0.1 g を 100 mL 全量フラスコに採取し、メタノールで定容する。調製後は室温(5 $^{\circ}\text{C}$ ~35 $^{\circ}\text{C}$)で保存する。
- (3) 抽出溶媒 特級アセトニトリル 840 mL、0.02 w/v%炭酸アンモニウム溶液 160 mL をそれぞれメスシリンダーで採取し、混合する。調製後は室温(5 $^{\circ}\text{C}$ ~35 $^{\circ}\text{C}$)で保存する。
- (4) メタノール／純水(1:1)混液 メタノール 100 mL、純水 100 mL をそれぞれメスシリンダーで採取し、混合する。調製後は室温(5 $^{\circ}\text{C}$ ~35 $^{\circ}\text{C}$)で保存する。

4-5. 標準溶液の調製

以下の(1)および(2)の標準原液は、それぞれ調製後、密栓して保管する。(3)から(6)までの混合標準溶液は、調製後、1回の使用量ごとに分注して保管し、室温に戻した後は使い切りとして再保管しない。保管期限は、(1)および(2)が調製後1年、(3)から(6)までは調製後3か月とする。いずれも冷凍下(-20℃以下)にて保管する。なお、(7)および(8)は用事調製とし、保管はしない。

また、(3)から(8)までは、混合比率が同じであれば調製量を変更しても良い。

なお、溶液中では、エピマー化だけでなく、容器への吸着や分解も懸念される。溶液の保管温度及び容器素材には特に留意が必要である(8の(2)、(4)参照)。

- | | | |
|-----|----------------------------|---------------------------------|
| (1) | エルゴコルニン標準原液 | 各麦角アルカロイド標準品 0.5 mg 全量を 0.1 |
| | エルゴクリスチン標準原液 | w/v% L(+)-アスコルビン酸含有メタノールでパ |
| | α -エルゴクリプチン標準原液 | スツールピペットを用いて数回にわたって溶かし |
| | エルゴメトリン標準原液 | 込む。溶解した溶液を全量フラスコに移した後 5 |
| | エルゴシン標準原液 | mL に定容し、これを各標準原液とする。 |
| | エルゴタミン標準原液 | |
| | (各 100 μ g/mL) | |
| (2) | エルゴコルニニン標準原液 | 各麦角アルカロイド異性体標準品 0.125 mg 全量 |
| | エルゴクリスチニン標準原液 | を 0.1 w/v% L(+)-アスコルビン酸含有メタノー |
| | α -エルゴクリプチニン標準原液 | ールでパスツールピペットを用いて数回にわたって |
| | エルゴメトリン標準原液 | 溶かし込む。溶解した溶液を全量フラスコに移し |
| | エルゴシニン標準原液 | た後 5 mL に定容し、これを各標準原液とする。 |
| | エルゴタミニン標準原液 | |
| | (各 25 μ g/mL) | |
| (3) | 麦角アルカロイド混合標準溶液(mix1-1) | エルゴコルニン標準原液、エルゴクリスチン標準 |
| | (各 1 μ g/mL) | 原液、 α -エルゴクリプチン標準原液、エルゴメ |
| | | トリン標準原液、エルゴシン標準原液、エルゴタ |
| | | ミン標準原液を全量ピペットまたはマイクロピペ |
| | | ットを用いて各 0.5 mL ずつ全量フラスコに採取 |
| | | し、0.1 w/v% L(+)-アスコルビン酸含有メタノ |
| | | ールで 50 mL に定容し、これを混合標準溶液(以 |
| | | 下「mix1-1」という)とする。 |
| (4) | 麦角アルカロイド異性体混合標準溶液 (mix2-1) | エルゴコルニニン標準原液、エルゴクリスチニン |
| | (各 1 μ g/mL) | 標準原液、 α -エルゴクリプチニン標準原液、エ |
| | | ルゴメトリン標準原液、エルゴシニン標準原 |
| | | 液、エルゴタミニン標準原液を全量ピペットまた |
| | | はマイクロピペットを用いて各 1 mL ずつ全量フ |
| | | ラスコに採取し、0.1 w/v% L(+)-アスコルビン |

酸含有メタノールで 25 mL に定容し、これを異性体混合標準溶液(以下「mix2-1」という)とする。

- (5) 麦角アルカロイド混合標準溶液(mix1-2)
(各 0.05 μ g/mL)
- 麦角アルカロイド混合標準溶液 (mix1-1)を全量ピペットまたはマイクロピペットを用いて 1 mL を全量フラスコに採取し、0.1 w/v% L(+)-アスコルビン酸含有メタノールで 20 mL に定容し、これを混合標準溶液(以下「mix1-2」という)とする。
- (6) 麦角アルカロイド異性体混合標準溶液 (mix2-2)
(各 0.05 μ g/mL)
- 麦角アルカロイド異性体混合標準溶液 (mix2-1) を全量ピペットまたはマイクロピペットを用いて 1 mL を全量フラスコに採取し、0.1 w/v% L(+)-アスコルビン酸含有メタノールで 20 mL に定容し、これを異性体混合標準溶液(以下「mix2-2」という)とする。
- (7) LC-MS/MS 測定用麦角アルカロイド混合標準溶液
(検量線用標準溶液)
- Lv.1 (各 0.2 ng/mL)
Lv.2 (各 0.4 ng/mL)
Lv.3 (各 1 ng/mL)
Lv.4 (各 2 ng/mL)
Lv.5 (各 2.5 ng/mL)
Lv.6 (各 5 ng/mL)
- 麦角アルカロイド混合標準溶液 (mix1-2)1 mL を全量ピペットまたはマイクロピペットを用いて全量フラスコに採取し、0.1 w/v% L(+)-アスコルビン酸含有メタノールで 10 mL に定容する (Lv.6)。以下同様に全量ピペットまたはマイクロピペットを用いて、Lv.6 を 1 mL 丸底遠沈管に採取し、0.1 w/v% L(+)-アスコルビン酸含有メタノール 1 mL を加えたもの (Lv.5) と 1.5 mL 加えたもの (Lv.4) を、それぞれ試験管ミキサーで混合する。Lv.4 を 1 mL 丸底遠沈管に採取し、0.1 w/v% L(+)-アスコルビン酸含有メタノール 1 mL を加えて試験管ミキサーで混合する (Lv.3)。Lv.3 を 1 mL 丸底遠沈管に採取し、0.1 w/v% L(+)-アスコルビン酸含有メタノール 1.5 mL を加えて試験管ミキサーで混合する (Lv.2)。Lv.2 を 1 mL 丸底遠沈管に採取し、0.1 w/v% L(+)-アスコルビン酸含有メタノール 1 mL を加えて試験管ミキサーで混合する (Lv.1)。
- ※Lv.1 は検出下限値相当濃度、Lv.2 は定量下限値相当濃度となる。

- (8) LC-MS/MS 測定用麦角アルカロイド異性体混合標準溶液 (検量線用標準溶液)
- Lv.1e (各 0.2 ng/mL)
Lv.2e (各 0.4 ng/mL)
Lv.3e (各 1 ng/mL)
Lv.4e (各 2 ng/mL)
Lv.5e (各 2.5 ng/mL)
Lv.6e (各 5 ng/mL)
- 麦角アルカロイド異性体混合標準溶液 (mix2-2) 1 mL を全量ピペットまたはマイクロピペットを用いて全量フラスコに採取し、0.1 w/v% L(+)-アスコルビン酸含有メタノールで 10 mL に定容する (Lv.6e)。以下同様に全量ピペットまたはマイクロピペットを用いて、Lv.6e を 1 mL 丸底遠沈管に採取し、0.1 w/v% L(+)-アスコルビン酸含有メタノール 1 mL を加えたもの (Lv.5e) と 1.5 mL 加えたもの (Lv.4e) を、それぞれ試験管ミキサーで混合する。Lv.4e を 1 mL 丸底遠沈管に採取し、0.1 w/v% L(+)-アスコルビン酸含有メタノール 1 mL を加えて試験管ミキサーで混合する (Lv.3e)。Lv.3e を 1 mL 丸底遠沈管に採取し、0.1 w/v% L(+)-アスコルビン酸含有メタノール 1.5 mL を加えて試験管ミキサーで混合する (Lv.2e)。Lv.2e を 1 mL 丸底遠沈管に採取し、0.1 w/v% L(+)-アスコルビン酸含有メタノール 1 mL を加えて試験管ミキサーで混合する (Lv.1e)。
※Lv.1e は検出下限値相当濃度、Lv.2e は定量下限値相当濃度となる。

4-6. 試料調製

適切なサンプリング方法で各ロットから採取された小麦玄麦（穀粒）試料は、以下のように調製してから分析に供する。他の粉碎方法、混合方法を用いる場合は、試料の均一性に関するデータを取り、均一性が担保できる試料調製法であることを検証すること。検証する方法の一例としては、4-7(3)項または(4)項で調製した試料を用いても良い。

なお、下記の調製法と同等に粉碎、混合、均質化された試料を受領した場合は、そのまま分析に供する。

- (1) 粉碎量
試料重量が 10 kg 以下の場合は全量を粉碎し、10 kg 超の場合は 10 kg を適切に採取して粉碎してもよい。
- (2) 粉碎方法
粒径 0.5 mm 以下まで粉碎する。
例示した遠心粉碎機（又は同等品）を用いた場合は、0.5 mm サイズのスクリーンを取り付け粉碎する。（刃数 24 本のロータを取り付けて 16000 回転/分で粉碎することを推奨）
穀粒から粉碎する場合、2段階の粉碎方法としても良い。すなわち、まず全量を

粗粉碎（粒径 1.0 mm～2.0 mm 程度）し、次に粗粉碎試料の 4 kg 以上を分取して、さらに 0.5 mm 以下まで粉碎する。

(3) 均質化（混合）方法

粒径を 0.5 mm 以下まで粉碎した試料は、混合機を用いて全量を混合することで均質化する。

例示した混合機を用いる場合は、粉碎試料をスピードセレクト 2（246 回転/分）にセットして 5 分以上作動させる。

他の混合機を用いる場合は、装置特性を考慮して混合条件設定し、攪拌混合されていることを確認すること。

(4) 保存方法

二重にしたポリエチレン製袋またはチャック付きアルミ袋等に密封包装し、外装に内容物を表示し、冷凍（-20℃以下）にて保管する。

4-7. 分析法への習熟度検証

実試料の分析に先立って分析法の習熟度を検証する。基本的には、ブランク試料、添加回収試験用試料を用いる。ただし、試料調製を含む分析法の再現性（精度）の検証には、自然汚染試料を用いることが望ましい。

なお、本手順は本分析法が適切に構成され実施できているかを検証するものであり、妥当性確認試験の一部ではないことに留意する。

(1) ブランク試料

各麦角アルカロイド濃度が分析法の検出下限値未満となる、または含有濃度が極く低く分析・定量に影響しない玄麦試料をブランク試料とする。

ただし、麦角アルカロイドが検出された試料をブランク試料とせざるを得ない場合は、それが妨害成分ではなく麦角アルカロイド由来であることを確認し、さらに、その含有濃度が添加回収試験の定量に影響しないことを検証する。このようなブランク試料を添加回収試験で使用する際は、8(6)項を参照する。

(2) 添加回収試験用試料の調製

ブランク試料から試験試料として秤量した試料（4-8(2)①項参照）に対し定量下限値と同濃度及び 20 倍濃度（※）となるように標準溶液を添加・混合し、30 分間放置したものを添加回収試験用試料とする。

添加濃度及び添加量は下記に示す。

なお、mix1-1 と mix2-1 及び mix1-2 と mix2-2 は混合せず、それぞれ添加回収試験を行う。

標準溶液名	添加濃度 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	添加量 (mL)
mix1-2(各 0.05 $\mu\text{g}/\text{mL}$)	2.0	0.4 mL
mix2-2(各 0.05 $\mu\text{g}/\text{mL}$)	2.0	0.4 mL
mix1-1(各 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$)	40.0	0.4 mL
mix2-1(各 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$)	40.0	0.4 mL

※本 SOP では定量下限値の 20 倍濃度 (40.0 µg/kg) における添加回収試験は一例として示した。含有濃度が添加濃度より著しく高い場合は、その濃度をカバーできる濃度による添加回収試験をするなど、必要に応じて添加濃度を変更または追加すること。

(3) 自然汚染試料の選択

麦角アルカロイドが含有されている玄麦であり、かつ、本分析法と同様の粉碎、混合された玄麦試料ブランク試料を自然汚染試料として、本 SOP の手順に従って分析に供し、再現性（精度）の検証を行う。

(4) 自然汚染試料が入手できない場合（試料調製法変更時を含む。）の性能検証用試料の調製

ブランク試料（もしくは粗粉碎試料）の 4 kg 以上に対し、麦角アルカロイド標準溶液を添加し、30 分間放置する。全量を規定通りに粉碎・混合したものを、本 SOP の手順に従って分析に供し、再現性（精度）の検証を行う。

4 - 8. 分析操作

(1) 概要

試験試料から炭酸アンモニウム水溶液含有アセトニトリルで麦角アルカロイドを抽出し、多機能カラムにて精製、高速液体クロマトグラフタンデム型質量分析計で濃度測定する。

(2) 操作手順

- ① 化学天秤を用いて試験試料 10.0 g (10.00 g~10.04 g) を採取し、共栓付三角フラスコに入れる。(性能試験用試料は、4 - 7 (2) 項に従って操作し、分析ごとに確認する回収率 (Procedural recovery) の場合は 4 - 1 3 項に従って操作する。)
- ② 抽出溶媒 100 mL をメスシリンダーにより、試料の入った共栓付三角フラスコに添加し、共栓をした後に振盪機を用いて 250 回/分で 30 分間縦往復振盪抽出する。
- ③ 振盪後の試料と抽出溶媒の混合物のうち約 10 mL を遠心チューブに採取し、遠心分離機を用いて遠心分離 (3000 回転/分、5 分間) し、上清を抽出液とする。
- ④ 抽出液約 6 mL をデカンテーションで多機能カラムに付属するチューブに採取する。多機能カラムをチューブに押し込んだ後、丸底遠沈管に逆立ちさせ、最

初の通液から約 4 mL を採取し、これを溶出液とする。

- ⑤ 溶出液を試験管ミキサーでよく混合し、2 mL を全量ピペットまたはマイクロピペットで丸底遠沈管にとる。
- ⑥ この遠沈管を窒素吹付濃縮装置 (45 °C) に設置し、窒素気流で溶媒を除去する。
- ⑦ 残渣に 0.1 w/v% L(+)-アスコルビン酸含有メタノールを全量ピペットまたはマイクロピペットで 1 mL 添加し、試験管ミキサーで混合した後、さらに 2 分間超音波洗浄機にかけてよく溶解する。
- ⑧ ディスク型メンブランフィルターを接続したディスポーザブルシリンジのバレルに溶解液を採取し、LC-MS/MS 用バイアルにプランジャを用いて通液させる。
- ⑨ 得られた溶液を試験溶液とする。

なお、試験溶液中の分析対象物質濃度が検量線の範囲を超える可能性がある場合は、4 - 9 の濃度測定前に、試験溶液の一部を 0.1 w/v% L(+)-アスコルビン酸含有メタノールと混合した希釈試験溶液を調製してもよい。

ピークの採用条件は 4 - 1 1 (2) 項、希釈方法は 7 (2) 項及び測定条件は 8 (4) 項を参照。

4 - 9. 分離・測定条件

(1) LC による分離条件

分離用カラム	Phenomenex Luna C18(2) 内径 2 mm、長さ 150 mm、粒径 3 μm
ガードカラム	Phenomenex SecurityGuard Cartridge C18 内径 2 mm、長さ 4 mm
カラム槽温度	40 °C
移動相及びグラジエント 条件	A : 0.02 w/v% 炭酸アンモニウム溶液 B : LC/MS 用 (もしくは HPLC 用) アセトニトリル 0-30 min A:B(75:25) →(20:80) 30-30.01 min A:B(20:80) →(0:100) 30.01-35 min A:B(0:100) 35-35.01 min A:B(0:100) →(75:25) 35.01-48 min A:B(75:25)
注入量	2 μL
流速	0.2 mL/min
ランタイム	48 min
ニードル洗浄溶液	メタノール／純水(1:1)混液
オートサンプラー温度	4 °C

(2) 質量分析計による測定イオン

測定モード 多重反応モニタリング(dMRM)
イオン化モード エレクトロスプレーイオン化 (ESI) 法
イオン極性 Positive

測定イオン条件 以下の測定イオンから、定量イオン及び確認イオンを選定すること。

分子種名	プリカーサーイオン	プロダクトイオン				
エルゴ コルニン	562.2	544.3	223.1	305.1	208.1	277.2
エルゴ コルニニン	562.2	544.3	305.1	223.1	277.1	208.1
エルゴ クリスチン	610.2	592.3	223.1	305.1	208.1	325.2
エルゴ クリスチニン	610.2	592.3	305.1	223.1	325.2	348.2
α -エルゴ クリプト チン	576.2	558.3	223.1	305.1	208.1	268.1
α -エルゴ クリプト チニン	576.2	558.3	223.1	305.1	291.2	208.1
エルゴ メトリン	326.1	223.1	207.1	208.1	197.1	182.1
エルゴ メトリニン	326.1	208.1	223.1	180.1	191.1	153.0
エルゴ シン	548.2	530.3	223.1	208.1	268.1	192.1
エルゴ シニン	548.2	530.3	223.1	221.1	192.1	208.1
エルゴ タミン	582.2	564.3	223.1	208.1	192.1	221.1
エルゴ タミニン	582.2	564.3	223.1	297.1	221.1	192.1

ピーク検出条件

ピーク認識、スムージング及び最小検出値は機器上で設定する。

4-10. 検量線の作成及び試験溶液中濃度の測定

(1) 検量線の作成

4-5(7)項の手順で調製した LC-MS/MS 測定用麦角アルカロイド混合標準溶液及び4-5(8)項の手順で調製した LC-MS/MS 測定用麦角アルカロイド異性体混合標準溶液を4-9項の条件で測定する。4-10(2)項の順序で測定した Lv.1 から Lv.6 及び Lv.1e から Lv.6e の標準溶液から得られたクロマトグラムピーク面積を Y 軸、各標準溶液濃度を X 軸とした回帰直線(1次式)を Microsoft Excel などのソフトウェアを用いて最小二乗法で作成する。なお、検量線の作成は分析の都度実施し、重み付けは行わず、決定係数 0.990 以上を満たす必要がある。

(計算式)

$$[Y = aX + b] \text{ a)}$$

a) X : 検量線用標準溶液の表示濃度 ($\mu\text{g/mL}$)

Y : 検量線用標準溶液のピーク面積

a : 傾き

b : y 切片

(2) 試験溶液中濃度の測定

測定対象溶液種や測定本数などによって測定シーケンスなどを適切に組み合わせる。測定順などに関する一般的な一例を示す。

以下の測定前には、同一シーケンス上で少なくとも 1 回以上注入操作を行い、装置が安定していることを確認する（得られたデータは不採用とする）。LC-MS/MS 測定用麦角アルカロイド混合標準溶液を Lv.1 から Lv.6 及び mix1-1 もしくは mix1-2 を用いた内部精度管理を含む添加回収試験溶液（低濃度から高濃度の順）を測定する。次いで LC-MS/MS 測定用麦角アルカロイド異性体混合標準溶液 Lv.1e から Lv.6e 及び mix2-1 もしくは mix2-2 を用いた分析ごとに確認する回収率（Procedural recovery）を含む回収率確認用溶液（低濃度から高濃度の順）を測定後、濃度未知の分析試料がある場合は分析試料の試験溶液、ブランク試料の試験溶液の順に測定する。

(3) 装置のコンディショニング [留意事項]

装置の連続運転は、検出感度の変動などの異常を引き起こす可能性があるため、連続して分析する試料数を制限（10 点程度）することが望ましい。また、塩類の析出や感度異常等を発見した際は、速やかに流路の洗浄ならびに装置に適したメンテナンスを行い、装置コンディショニングを適正にする。

なお、流路の洗浄例は以下に示す。

A : 純水

B : LC/MS 用（もしくは HPLC 用）アセトニトリル

0-60 min A:B(75:25)

60-60.01 min A:B(75:25) →(0:100)

60.01-90 min A:B(0:100)

4-1-1. 試験溶液濃度の算出方法

(1) 試料溶液濃度の算出方法

得られたクロマトグラムにおいて、麦角アルカロイドの保持時間と一致する各ピーク面積値と、4-1-0. (1) の項により得られた検量線から、試験溶液の各麦角アルカロイド濃度(μg/mL)及び各麦角アルカロイド異性体濃度(μg/mL)をそれぞれ求める。

(計算式)

$$[x = (y - b) / a]^{b)}$$

^{b)} x : 試験溶液濃度(μg/mL)

y : 試験溶液のピーク面積

a : 傾き

b : y 切片

(2) 希釈試料溶液を同時分析した場合に採用すべきピーク面積

希釈試験溶液も測定した場合、同一の麦角アルカロイドにおいて検量線範囲内で濃度算出可能なピーク面積が得られる場合がある。いずれのピークも異常がない場合は、より大きなピーク面積を示すクロマトグラムを採用して上記の算出をする。

4-12. 試料濃度の算出

(1) 試料濃度の算出方法

次式により試料中の各麦角アルカロイド濃度(μg/kg)及び各麦角アルカロイド異性体濃度(μg/kg)を算出する。なお、定量下限値未満の記載方法は6(2)項に準じる。

(計算式)

$$\text{試料濃度}(\mu\text{g}/\text{kg}) = \text{試験溶液濃度}(\text{ng}/\text{mL}) \times 1(\text{mL})^{*a} \div 2(\text{mL})^{*b} \\ \times 100(\text{mL})^{*c} \div 10(\text{g})^{*d} \times \text{希釈倍率}$$

*a:試験溶液の量、*b:分取量、*c:抽出溶媒量、*d:試料採取量、(μg/kg と ng/g は同単位)

※ 希釈倍率は7項(2)を参照

(2) 記載方法

試料濃度が検出下限値未満の場合は、<検出下限値>として記載する。

試料濃度が検出下限値以上かつ定量下限値未満の場合は、数値を()内に入れて記載する。

4-13. 分析ごとに確認する回収率 (Procedural recovery test) の実施

(1) 分析ごとの分析値の有効性確認方法

分析の都度、これと併行して次に示す添加回収試験を実施する。

- ① 供試する試料は、ブランク試料を使用する。
- ② 麦角アルカロイド混合標準溶液及び麦角アルカロイド異性体混合標準溶液をそれぞれ添加し、試行数は「1」とする。添加濃度は、2濃度とする。ひとつは定量下限濃度とする。もうひとつは基準値が設定された場合は基準値相当濃度とし、基準値が未設定の場合は定量下限濃度の10倍以上とし、4-7(2)項に示す濃度(40.0 μg/kg)を参照してもよい。
- ③ ブランク試料も同時に分析する。
- ④ 各麦角アルカロイド及び各麦角アルカロイド異性体の回収率をそれぞれ算出する。

なお、試験溶液濃度及び試料濃度の回収率補正は行わないものとするが、分析ごとに確認する回収率 (Procedural recovery) が、Codex Alimentarius Procedural Manual ([Procedural Manual | CODEXALIMENTARIUS FAO-WHO](#)) に規定された受容できる回収率の範囲内にあることを確認する必要がある。またこの Procedural recovery は分析結果とともに記録する。

5. データ処理

データ処理ソフト（若しくは Microsoft Excel）を使って行う。4-1-1 項及び 4-1-2 項で記載した計算式が反映されていることを確認する。

- (1) 秤量値は、秤量目標値の+0.4 %以内とする。なお、濃度算出には秤量目標値 10.0 g を用いる。
- (2) 下記項目はデータ処理装置（若しくは Microsoft Excel）の値を用いて求める。
 - 1) 検量線 ($Y = aX + b$)
 - 2) 標準物質のピーク面積及び保持時間
 - 3) 測定濃度（試験溶液濃度、試料濃度）
 - 4) 決定係数(r^2)
 - 5) 回収率(%) = (測定濃度平均値 / 理論濃度) × 100
 - 6) 相対標準偏差 (%) = (標準偏差 / 平均値) × 100

6. 数値の取扱い

- (1) 各データの算出方法

試料濃度の算出に用いる面積値、傾き、切片及び試験溶液濃度は、丸めた数値ではなく装置から出力された数値を用いる。

平均値、標準偏差、相対標準偏差の算出に用いる試料濃度も、装置から出力された数値を用いて算出し、最終算出結果のみ定量下限値の次の桁（小数点以下第 2 位）を四捨五入して丸める。

ただし、Procedural recovery の確認をはじめとする添加回収試験は下記に準ずる。

回収率の算出に用いる試料濃度の有効数字の桁数は、定量下限濃度添加の場合は 2 桁、高濃度（例えば定量下限値の 20 倍濃度添加）の場合は 3 桁とする。該当する有効数字の桁数の一つ下の桁を四捨五入し、それぞれ丸めた値を用いる。

平均回収率及びその相対標準偏差は、各々の回収率の小数点以下第 2 位を四捨五入して丸めた値を用いて算出する。

- (2) 各データの表示方法

傾き及び切片並びに決定係数(r^2)は、Microsoft Excel 等で得られた数値の小数点以下 3 位（小数点以下第 4 位を四捨五入して丸めた値）を表示値とする。

試料濃度は、小数点以下第 1 位（小数点以下第 2 位を四捨五入して丸めた値）を表示値とする。ただし、定量下限値を下回った場合は、4-1-2 (2) 項の項に準じて表示する。

添加回収試験の試料濃度は、定量下限濃度添加の場合は、小数点以下 3 位（小数点以下第 4 位を四捨五入して丸めた値）、高濃度（例えば定量下限値の 20 倍濃度添加）の場合は、小数点以下第 1 位（小数点以下第 2 位を四捨五入して丸めた値）を表示値とする。回収率及び平均回収率、標準偏差、相対標準偏差は小数点

以下第1位（小数点以下第2位を四捨五入して丸めた値）を表示値とする。
その他のデータは適宜、目的に合致した桁数（その一つ下の桁で四捨五入して丸めた値）で表記すること。なお2点のデータの四捨五入の結果、目的の一つ下の桁が0または5のいずれかにしかならない場合は、JIS(ISO)の数値の丸め方のルール※のうち、最も近い偶数に丸めるルールに従う（つまり、例えば1.25の場合は1.2に、1.15の場合は1.2に丸める）。

※：JIS Z 8000-1：2014

7. データ採用基準

(1) 再測定及び採用基準

データに異常があった場合は、その原因及び程度により以下のいずれかを実施し適切なデータを得る。ただし、再注入は試験溶液調製後の保存方法及び保存期間に留意すること。

- ① 再解析：得られたクロマトグラムの再測定はせずに再度解析を行う。
- ② 再注入：得られた試験溶液を再注入してそのデータを解析する。
- ③ 再分析：調製された試料から試験溶液の調製・測定までの一連の操作を再度行う。

以下の場合、データを不採用とし、再分析を実施する。

- ① 本 SOP に反した分析操作・測定条件における分析、明らかな人為的なミス（秤量ミス、希釈定容ミス、測定シーケンスとサンプル配置ミスなど）、試験溶液の異常な着色や沈殿物の発生の場合。
- ② 併行して実施した回収率（Procedural recovery）が Codex Alimentarius Procedural Manual に規定された受容できる回収率の範囲を外れた場合。

なお、データ不採用等が発生した場合は、発生の原因及び実施した改善策などの記録をする。

(2) 試験溶液の希釈測定

定量試験にて試験溶液が検量線の範囲(上限値)を超えて検出した場合には、望ましいことではないが、試験溶液を適宜希釈した後の測定もしくは再分析を行い、検量線の範囲内で定量する。

【希釈例；希釈倍率 10 倍】

試験溶液より 100 μ L を正確に分取し、容器（例えば「LC-MS/MS 用バイアル」）に入れ、0.1 w/v % アスコルビン酸含有メタノール 900 μ L を正確に加えたのち試験管ミキサー等を用いて混合し、測定用試験溶液とする。（希釈倍率：10 倍）なお、その際の試料濃度の算出は 4 - 1 2 項により行う。

8. その他、特記事項

(1) 分析法の出典

2008(平成 20)年 Anal.Bioanal.Chem.,391,563-576.

Krska R, Stubbings G et al.,

Simultaneous determination of six major ergot alkaloids and their epimers in cereals and foodstuffs by LC-MS-MS. ([Simultaneous determination of six major ergot alkaloids and their epimers in cereals and foodstuffs by LC-MS-MS - PubMed](#))

2010(平成 22)年 2 月 11 日付ドイツ連邦リスク評価研究所(BfR)、
研究事業報告書「食品中の麦角アルカロイドの分析法」

([Analytik und Vorkommen von Mutterkornalkaloiden in ausgewählten Lebensmitteln](#)、食品安全総合情報システム：[食品安全関係情報詳細](#))

(2) 検量線用標準溶液の調製と保存

検量線用標準溶液において、使用する容器及び時間経過によってピーク面積が減少する可能性がある。調製に用いる容器は、同一素材の清浄で傷などが少ない未使用のものを推奨する。なお、調製後は可能な限り速やかに測定することが望まれる。

(3) 6 点濃度の検量線における直線性が得られない場合

6 点濃度の検量線において直線性（決定係数 0.990 以上）が得られない場合は、Lv.1（もしくは Lv.1e）、Lv.2（もしくは Lv.2e）を含む 4 濃度以上で検量線を作成することで直線性が得られた場合は、その検量線で定量しても良いこととする。ただしその定量においては、試験溶液から得られるピーク面積が検量線の最大濃度のピーク面積を超えることがないことを条件とする。

(4) 試験溶液の測定

溶液中では、エピマー化だけでなく、容器への吸着や分解も懸念される。溶液の保管温度及び容器素材には留意し、試験溶液調製後は速やかに測定する。冷却したオートサンプラー中であっても、調製してから一日程度経過した試験溶液は、エピマー化や分解の恐れがあるため再注入による定量は避けるべきである。

よって、検量線範囲を超えて希釈が必要であることが分かった試験溶液（試料）は、改めて再分析を行い、想定される濃度から算出して事前に希釈したものを測定することが望ましい。

なお、複数の希釈倍率の試験溶液を測定した場合で、いずれの希釈でも検量線範囲内で定量可能な場合は、特別な理由のない限りよりピーク面積が大きいほうのデータを用いて定量する。

(5) 添加回収試験におけるエピマーピークの定量

添加回収試験において異性体同士は別の添加試料を作製して分析することにより、LC-MS/MS では対応するエピマーが生成している場合、それらを分離・定量することができる。ただし、回収率の算出には、添加した標準物質のピークのみ

を用いることとする。対応するエピマーが検出できた場合は定量し、参考値として記録し、検討資料とする。

(6) 添加回収率算出における対応

定量イオン、確認イオンを含むイオン強度及びイオンスペクトラム、または、ピーク形状および保持時間から明らかに自然含有された分析対象物質が検出された場合は、そのピーク面積もしくは試験溶液濃度、試料濃度等の定量値はそれらのデータを差し引きして、添加量から得られる回収率を求める。

9. 参考（使用可能 LC-MS/MS と測定条件）

9-1 Agilent 6460 TripleQuad LC-MS/MS (Agilent Technology 社製)

(1) 装置構成

- 送液ポンプ：G1312B 1260 Bin Pump (Agilent Technology 社製)
- 脱気装置：G4225A 1260 HiP Degasser (Agilent Technology 社製)
- カラム恒温槽：G1316A 1260 HiP TCC (Agilent Technology 社製)
- オートサンプラー：G1367E 1260 HiP ALS (Agilent Technology 社製)
- データ処理装置：Mass Hunter (Agilent Technology 社製)
- タンデム型質量分析計：G6460C (Agilent Technology 社製)
- 窒素ガス発生装置：AT-30NP-CS (エアータック社製)
- 窒素ガスボンベ：純度 99.99995 vol%以上
- ロータリーポンプ：MS40+ (Agilent Technology 社製)

(2) 質量分析計による測定条件

測定モード	多重反応モニタリング(dMRM)
イオン化モード	エレクトロスプレーイオン化 (ESI) 法
Gas Temp	350 °C
Gas Flow	11 L/min
Nebulizer	345 kPa (50 psi)
Sheath Gas Temp	400 °C
Sheath Gas Flow	12 L/min
Capillary	3000 V
Nozzle Voltage	500 V
コリジョンガス供給源	窒素ガスボンベ

測定イオン条件

太字が定量イオン、その他は確認イオン

化合物名	プリカーサーイオン	プロダクトイオン	フラグメント電圧(V)	コリジョンエネルギー(V)	Cell Acc. (V)	Polarity
エルコ' コルニソ	562.2	544.3	154	12	4	Positive
	562.2	223.1	154	40	4	Positive
	562.2	305.1	154	24	4	Positive

	562.2	208.1	154	60	4	Positive
	562.2	277.2	154	28	4	Positive
エルゴ' コルニニ	562.2	544.3	154	12	4	Positive
	562.2	305.1	154	28	4	Positive
	562.2	223.1	154	40	4	Positive
	562.2	277.1	154	28	4	Positive
	562.2	208.1	154	56	4	Positive
エルゴ' クリスチン	610.2	592.3	154	12	4	Positive
	610.2	223.1	154	40	4	Positive
	610.2	305.1	154	24	4	Positive
	610.2	208.1	154	60	4	Positive
	610.2	325.2	154	28	4	Positive
エルゴ' クリスチニ	610.2	592.3	154	12	4	Positive
	610.2	305.1	154	28	4	Positive
	610.2	223.1	154	40	4	Positive
	610.2	325.2	154	24	4	Positive
	610.2	348.2	154	24	4	Positive
α-エルゴ' クリブ' チン	576.2	558.3	154	12	4	Positive
	576.2	223.1	154	40	4	Positive
	576.2	305.1	154	28	4	Positive
	576.2	208.1	154	52	4	Positive
	576.2	268.1	154	24	4	Positive
α-エルゴ' クリブ' チニ	576.2	558.3	154	12	4	Positive
	576.2	223.1	154	44	4	Positive
	576.2	305.1	154	28	4	Positive
	576.2	291.2	154	28	4	Positive
	576.2	208.1	154	60	4	Positive
エルゴ' メトリ	326.1	223.1	154	20	4	Positive
	326.1	207.1	154	48	4	Positive
	326.1	208.1	154	32	4	Positive
	326.1	197.1	154	24	4	Positive
	326.1	182.1	154	40	4	Positive
エルゴ' メトリニ	326.1	208.1	154	28	4	Positive
	326.1	223.1	154	24	4	Positive
	326.1	180.1	154	44	4	Positive
	326.1	191.1	154	48	4	Positive
	326.1	153.0	154	60	4	Positive
エルゴ' シ	548.2	530.3	154	12	4	Positive
	548.2	223.1	154	36	4	Positive
	548.2	208.1	154	56	4	Positive
	548.2	268.1	154	24	4	Positive
	548.2	192.1	154	60	4	Positive
エルゴ' シニ	548.2	530.3	154	12	4	Positive
	548.2	223.1	154	40	4	Positive
	548.2	221.1	154	56	4	Positive

	548.2	192.1	154	60	4	Positive
	548.2	208.1	154	56	4	Positive
エルゴタミン	582.2	564.3	154	12	4	Positive
	582.2	223.1	154	36	4	Positive
	582.2	208.1	154	56	4	Positive
	582.2	192.1	154	60	4	Positive
	582.2	221.1	154	56	4	Positive
エルゴタミン	582.2	564.3	154	12	4	Positive
	582.2	223.1	154	40	4	Positive
	582.2	297.1	154	28	4	Positive
	582.2	221.1	154	60	4	Positive
	582.2	192.1	154	60	4	Positive

ピーク検出条件

ピーク認識、スムージング及び最小検出値は機器上で設定する。

9-2 LCMS-8060 (島津製作所社製)

(1)

装置構成

送液ポンプ：Nexera X2 LC-30AD、島津製作所社製

脱気装置：DGU-20A5R、島津製作所社製

カラム恒温槽：CTO-20AC、島津製作所社製

オートサンプラー：NexeraX2 SIL-30AC、島津製作所社製

データ処理装置：LabSolutions LCMS、島津製作所社製

タンデム型質量分析計：LCMS-8060、島津製作所社製

窒素ガス発生装置：Genius 1061、PEAK Scientific 社製

アルゴンガスボンベ：純度 99.999 vol%以上

ロータリーポンプ：SOGEVAC SV40-65 BIFC、Leybold 社製

(2)

質量分析計条件

測定モード	多重反応モニタリング(MRM)
イオン化モード	エレクトロスプレーイオン化 (ESI) 法
ネブライザーガス流量	3 L/min
ドライイングガス流量	10 L/min
ヒーティングガス流量	10 L/min
インターフェイス電圧	3 kV
インターフェイス温度	300 °C
脱溶媒温度	526 °C
DL 温度	250 °C
ヒートブロック温度	400 °C
CID ガス圧力	270 kPa
ループタイム	0.5 sec

測定イオン条件

太字が定量イオン、その他は確認イオン

化合物名	プリカーサーイオン	プロダクトイオン	コリジョンエネルギー(V)	Polarity
エルゴ ⁺ コルニン	562.2	544.3	12	Positive
	562.2	223.1	40	Positive
	562.2	305.1	24	Positive
	562.2	208.1	60	Positive
	562.2	277.2	28	Positive
エルゴ ⁺ コルニニン	562.2	544.3	12	Positive
	562.2	305.1	28	Positive
	562.2	223.1	40	Positive
	562.2	277.1	28	Positive
	562.2	208.1	56	Positive
エルゴ ⁺ クリスチン	610.2	592.3	12	Positive
	610.2	223.1	40	Positive
	610.2	305.1	24	Positive
	610.2	208.1	60	Positive
	610.2	325.2	28	Positive
エルゴ ⁺ クリスチニン	610.2	592.3	12	Positive
	610.2	305.1	28	Positive
	610.2	223.1	40	Positive
	610.2	325.2	24	Positive
	610.2	348.2	24	Positive
α -エルゴ ⁺ クリプトチン	576.2	558.3	12	Positive
	576.2	223.1	40	Positive
	576.2	305.1	28	Positive
	576.2	208.1	52	Positive
	576.2	268.1	24	Positive
α -エルゴ ⁺ クリプトチニン	576.2	558.3	12	Positive
	576.2	223.1	44	Positive
	576.2	305.1	28	Positive
	576.2	291.2	28	Positive
	576.2	208.1	60	Positive
エルゴ ⁺ メトリソ	326.1	223.1	20	Positive
	326.1	207.1	48	Positive
	326.1	208.1	32	Positive
	326.1	197.1	24	Positive
	326.1	182.1	40	Positive
エルゴ ⁺ メトリニン	326.1	208.1	28	Positive
	326.1	223.1	24	Positive
	326.1	180.1	44	Positive
	326.1	191.1	48	Positive
	326.1	153.0	60	Positive

エルゴ ⁺ シン	548.2	530.3	12	Positive
	548.2	223.1	36	Positive
	548.2	208.1	56	Positive
	548.2	268.1	24	Positive
	548.2	192.1	60	Positive
エルゴ ⁺ シニン	548.2	530.3	12	Positive
	548.2	223.1	40	Positive
	548.2	221.1	56	Positive
	548.2	192.1	60	Positive
	548.2	208.1	56	Positive
エルゴ ⁺ タミン	582.2	564.3	12	Positive
	582.2	223.1	36	Positive
	582.2	208.1	56	Positive
	582.2	192.1	60	Positive
	582.2	221.1	56	Positive
エルゴ ⁺ タミニン	582.2	564.3	12	Positive
	582.2	223.1	40	Positive
	582.2	297.1	28	Positive
	582.2	221.1	60	Positive
	582.2	192.1	60	Positive

ピーク検出条件

ピーク認識、スムージング及び最小検出値は機器上で設定する。

9-3 SCIEX Triple Quad 5500+ LC-MS/MS、(SCIEX 社製)

(1) 装置構成

送液ポンプ： Exion LC AD AD Pump、SCIEX 社製

脱気装置： Exion LC AD Degasser、SCIEX 社製

カラム恒温槽： Exion LC AD AC Column Oven、SCIEX 社製

オートサンプラー： Exion LC AD AD Autosampler、SCIEX 社製

データ処理装置： 測定ソフト： Analyst 1.7.2、SCIEX 社製

解析ソフト： MultiQuant 3.0.3、SCIEX 社製

タンデム型質量分析計： SCIEX Triple Quad 5500+ LC-MS/MS、SCIEX 社製

窒素ガス発生装置： Genius 1024、PEAK 社製

ロータリーポンプ： MS40+、Agilent Technology 社製

(2) 質量分析計条件

測定モード	多重反応モニタリング(MRM)
イオン化モード	エレクトロスプレーイオン化 (ESI) 法
Curtain Gas(CUR)	207 kPa (30 psi)
Collision Gas(CAD)	62.1 kPa (9 psi)
IonSpray Voltage(IS)	3000 V

Temperature(TEM) 400 °C
 Ion Source Gas 1(GS1) 345 kPa (50 psi)
 Ion Source Gas 2(GS2) 552 kPa (80 psi)
 コリジョンガス供給源 窒素発生装置

測定イオン条件 太字が定量イオン、その他は確認イオン

化合物名	プリカーサーイオン	プロダクトイオン	DP (volts)	EP (volts)	CE (volts)	CXP (volts)	Polarity
エルゴ ⁺ コルニン	562.2	544.3	55	10	25	10	Positive
	562.2	223.1	55	10	45	10	Positive
	562.2	305.1	55	10	40	10	Positive
	562.2	208.1	55	10	65	10	Positive
	562.2	277.2	55	10	40	10	Positive
エルゴ ⁺ コルニン	562.2	544.3	45	10	25	10	Positive
	562.2	305.1	45	10	35	10	Positive
	562.2	223.1	45	10	45	10	Positive
	562.2	277.1	45	10	40	10	Positive
	562.2	208.1	45	10	65	10	Positive
エルゴ ⁺ クリスチン	610.2	592.3	45	10	25	10	Positive
	610.2	223.1	45	10	40	10	Positive
	610.2	305.1	45	10	35	10	Positive
	610.2	208.1	45	10	65	10	Positive
	610.2	325.2	45	10	35	10	Positive
エルゴ ⁺ クリスチニン	610.2	592.3	40	10	25	10	Positive
	610.2	305.1	40	10	40	10	Positive
	610.2	223.1	40	10	45	10	Positive
	610.2	325.2	40	10	40	10	Positive
	610.2	348.2	40	10	35	10	Positive
α -エルゴ ⁺ クリプトニン	576.2	558.3	70	10	25	10	Positive
	576.2	223.1	70	10	45	10	Positive
	576.2	305.1	70	10	40	10	Positive
	576.2	208.1	70	10	65	10	Positive
	576.2	268.1	70	10	35	10	Positive
α -エルゴ ⁺ クリプトニン	576.2	558.3	60	10	25	10	Positive
	576.2	223.1	60	10	50	10	Positive
	576.2	305.1	60	10	40	10	Positive
	576.2	291.2	60	10	40	10	Positive
	576.2	208.1	60	10	65	10	Positive
エルゴ ⁺ メトリン	326.1	223.1	65	10	35	10	Positive
	326.1	207.1	65	10	55	10	Positive
	326.1	208.1	65	10	40	10	Positive
	326.1	197.1	65	10	30	10	Positive
	326.1	182.1	65	10	45	10	Positive
エルゴ ⁺ メトリニン	326.1	208.1	50	10	35	10	Positive

	326.1	223.1	50	10	35	10	Positive
	326.1	180.1	50	10	55	10	Positive
	326.1	191.1	50	10	60	10	Positive
	326.1	153.0	50	10	70	10	Positive
エルゴ` シン	548.2	530.3	45	10	25	10	Positive
	548.2	223.1	45	10	40	10	Positive
	548.2	208.1	45	10	60	10	Positive
	548.2	268.1	45	10	35	10	Positive
	548.2	192.1	45	10	70	10	Positive
エルゴ` シニン	548.2	530.3	60	10	25	10	Positive
	548.2	223.1	60	10	45	10	Positive
	548.2	221.1	60	10	60	10	Positive
	548.2	192.1	60	10	70	10	Positive
	548.2	208.1	60	10	65	10	Positive
エルゴ` タミン	582.2	564.3	60	10	25	10	Positive
	582.2	223.1	60	10	40	10	Positive
	582.2	208.1	60	10	55	10	Positive
	582.2	192.1	60	10	80	10	Positive
	582.2	221.1	60	10	55	10	Positive
エルゴ` タミニン	582.2	564.3	40	10	20	10	Positive
	582.2	223.1	40	10	40	10	Positive
	582.2	297.1	40	10	40	10	Positive
	582.2	221.1	40	10	65	10	Positive
	582.2	192.1	40	10	70	10	Positive

ピーク検出条件

ピーク認識、スムージング及び最小検出値は機器上で設定する。

10. 作成日

令和7年5月14日