

山梨県内で採取されたスイセンとその調理品に含まれる リコリン及びガランタミン測定法の検討と含有量の特徴

山本 敬男 小泉 美樹 小林 浩

Examination of Lycorine and Galantamine Measurement Methods Contained in Narcissus and Their Cooked Products Collected in Yamanashi Prefecture and Characteristics of Their Contents

Takao YAMAMOTO, Miki KOIZUMI and Hiroshi KOBAYASHI

キーワード：リコリン、ガランタミン、スイセン

有毒植物の誤食による食中毒は、以前から県内でもしばしば発生している。平成 30 年 4 月には、家庭菜園で栽培していたニラと、同じ敷地内に植えられていた有毒植物のスイセンを誤認したことによる食中毒が続けて 3 件発生している。

スイセンは、ユリ目ヒガンバナ科の多年草の園芸植物¹⁾で、ヒガンバナアルカロイドの一種であるリコリン²⁾とガランタミン³⁾を含有しているため、摂取した場合は、悪心、嘔吐、下痢などの食中毒症状を生じる。

スイセンとニラの葉は、形状が酷似しているため見分けることが難しく、原因植物が残っていても形状や匂いで鑑別するためには習熟を要すること、また、調理品しか残っていない場合には鑑別すること自体が非常に難しく、スイセンをニラと誤認して発生した食中毒原因調査は困難を伴うことが多い。

このため、スイセン類に含まれる有毒成分であるリコリン及びガランタミンを測定することができれば、原因植物の残品がなく、形状による鑑別が不可能であっても原因調査を行えるようになる。そこで、植物中及び調理品中のリコリン及びガランタミンの分析法について検討し、妥当性評価を行った。また、県内各地の家庭で栽培されているスイセンについて、品種や葉の部位、採取時期によるリコリン及びガランタミンの含有量を調査するとともに、スイセン調理品中のリコリン及びガランタミン分析の有効性について検討したところ一定の知見が得られたので報告する。

調査方法

1 リコリン及びガランタミン分析法の妥当性評価

(1) 検討に使用した試料

リコリン（リコリン塩酸塩）の標準品はシグマアルドリッチ製を、ガランタミン（ガランタミン臭化水素酸塩）の標準品は東京化成製を使用した。

妥当性評価及び調理品の回収試験には、市販のニラを使用した。

(2) 妥当性評価試験及び調理品からの回収試験

ニラにリコリン及びガランタミンの標準品を 5 μg/g、10 μg/g となるようにそれぞれ添加し、2 濃度 5 併行試験による妥当性評価を行った。その後、ニラにリコリン及びガランタミンの標準品を 5 μg/g となるよう添加後、ニラ玉、ニラ玉スープ、ゆでこぼしの 3 品を調理して調理品の測定を行った。

2 スイセン中のリコリン・ガランタミン含有量

(1) 試料の採取及び品種同定

試料は、県内各所に生育しているスイセンの葉を採取して細切したものを使用した。スイセンの品種同定は、開花時に生育状況の写真を撮影し、山梨県森林総合研究所に鑑定を依頼した。

(2) 調理方法

スイセンをニラと誤用した場合を想定し、採取したスイセンを使用した玉子とじ、玉子スープ、ゆでスイセンの調理品を作成した。

3 装置及び測定条件

LC/MS/MS の高速液体クロマトグラフはウォーターズ社製 Alliance2695 を、質量分析装置は同じくウォーターズ社製の QuattroMicroTMAPI を使用した。測定条件は以下のとおりである。

分析カラム：関東化学製 Mightysil RP-18 GP (φ2.0mm ×150mm, 3μm) カラム温度：40°C

溶離液A：0.1%ギ酸 0.25mM 酢酸アンモニウム含有水

溶離液B：0.1%ギ酸 0.25mM 酢酸アンモニウム含有メタノール

流量：0.2mL/min グラジエント条件(A:B)：0min(100:0) → 1.0min(100:0) → 1.1min(85:15) → 10min(0:100) → 15min(0:100) → 15.1min(100:0) → 25min(100:0) 注入量：5μL

MS/MS 条件 イオン化法：ESI(positive)、分析モード：MRM、イオン源温度：110°C、脱溶媒温度：350°C、コーンガス流量：50L/hr、脱溶媒ガス流量：500L/hr

表 1 測定物質のイオン化条件

| | サンプリングイオン | コーン電圧 | コリジョン電圧 |
|----------------------|-----------|-------|---------|
| リコリン | 288>119 | 30eV | 37eV |
| | 288>147 | 30eV | 29eV |
| ガラントミン | 288>198 | 25eV | 33eV |
| | 288>213 | 25eV | 21eV |
| カルバマゼピンd10 (内部標準) | 247>204 | 33eV | 25eV |

4 試料溶液の調製

試料の前処理は、植物性自然毒の一斉分析法⁴⁾に準拠した。試料となるニラ及びスイセンは、約 5mm 幅によく刻み、均一に混ぜ合わせる。そのうちの 1g を秤取り、メタノール 20mL を加えてホモジナイザーで 1 分間ホモジナイズする。吸引濾過後、濾液をメタノールで 50mL に定容したものを抽出液とした。この抽出液を 500 倍に希釈し、内部標準物質としてカルバマゼピン d10 を 0.1 μg/mL とするように加えて試験溶液とした。

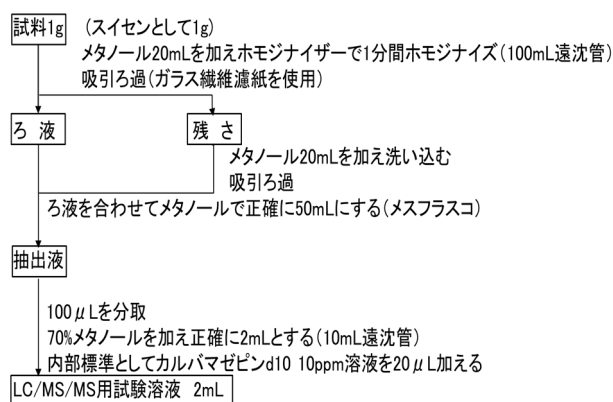


図 1 試料溶液の調製法

調理品については、ニラまたはスイセンが 1g となるように秤取り、以下に示したレシピにより調理後、その全量を分析した。

模擬調理試料 (ニラ玉(スイセンの玉子とじ))

- 1) ホットプレート上にアルミカップを乗せて予熱する。
 - 2) 約 5mm 幅に刻んだスイセンを 50mL ビーカーに 1g 秤取る。
 - 3) アルミカップにごま油を 100 μL 入れる。
 - 4) 秤取ったスイセンをアルミカップに入れて軽く炒める。
 - 5) スイセンに火が通ったら、溶き卵を 1.5mL 加えて軽く混ぜ合わせ、混合調味液を 350 μL 加えてよく混ぜ合わせる。
 - 6) 卵が軽く固まったら出来上がり。
- ※混合調味液は醤油 10mL、味りん 10mL、酒 5mL を混合し、顆粒鶏ガラスープの素を少量混合したもの。

模擬調理試料 (ニラ玉スープ(スイセンの玉子スープ))

- 1) 50mL ビーカーに蒸留水を 6mL 入れ、調味液を 50 μL 加えてホットプレートで加熱する。
 - 2) 約 5mm 幅に刻んだニラまたはスイセンを別の 50mL ビーカーに 1g 秤取る。
 - 3) ビーカー内の水が沸騰したら、秤取ったニラまたはスイセンを入れる。
 - 4) 再び沸騰したら溶き卵を 600 μL 加える。
 - 5) 卵が緩く固まったら出来上がり。
- ※調味液は醤油 5mL に顆粒中華スープの素を小さじ 1 杯混合したもの。



スイセンの玉子とじ



スイセンの玉子スープ

模擬調理試料 (ゆでこぼし(ゆでスイセン))

- 1) 50mL ビーカーに約 5mm 幅に刻んだニラまたはスイセンを 1g 秤取る。
- 2) 蒸留水を 10mL 加えてホットプレートで加熱し、沸騰させる。
- 3) 1 分間沸騰させた後、ゆでニラ(ゆでスイセン)とゆで汁に分離する。

結果と考察

1-1 リコリン・ガラントミン分析法の妥当性評価

ニラに、リコリンとガラントミンをそれぞれ 5 μg/g 及び 10 μg/g となるように添加して、2 濃度 5 併行試験による妥当性評価を行い、真度と併行精度を求めた。結果を

表 2 に示した。ニラに添加した状態ではリコリン、ガラ
ンタミンともに良好な評価結果が得られた。

本来であれば、スイセンで妥当性評価を行うべきである
が、リコリン、ガラタミンともにスイセン中には高
濃度に含有されていると考えられるため、今回行った低
い添加濃度での妥当性評価では、正確な回収率を得るこ
とが困難となるため、スイセンを用いた妥当性評価は行
わなかった。

表 2 リコリン・ガラタミンの妥当性評価結果

| | 真度 (%) | 判定 70<n<12 | 併行精度 (%) | 判定 <10 |
|------------|-----------|---------------|-------------|-----------|
| 添加量5 μg/g | | | | |
| リコリン | 92.9 | ○ | 7.5 | ○ |
| ガラタミン | 109.4 | ○ | 6.5 | ○ |
| 添加量10 μg/g | | | | |
| リコリン | 107.3 | ○ | 3.9 | ○ |
| ガラタミン | 114.1 | ○ | 3.8 | ○ |

1-2 調理品の回収率

ニラにリコリン及びガラタミンを5 μg/gになるよう
に添加後、ニラ玉、ニラ玉スープ、ニラのゆでこぼしを
調製した。調製後 LC/MS/MS による分析を行い、添加量に
対する回収率を測定した。なお、ゆでこぼしについては、
ゆで汁とゆでニラに分けてそれぞれで回収率を測定し
た。結果を表 3 に示した。

表 3 調理品のリコリン・ガラタミンの回収率 (%)

| | ニラ玉 | ニラ玉スープ | ゆで汁 | ゆでニラ |
|-------|------|--------|------|------|
| リコリン | 96.5 | 108.1 | 65.7 | 35.1 |
| ガラタミン | 96.7 | 113.1 | 49.5 | 25.9 |

ニラ玉及びニラ玉スープは、リコリン、ガラタミン
ともに約 100%の回収率が得られた。ゆでこぼしについ
ては、ゆで汁とゆでニラそれぞれの回収率を合算したと
ころ、リコリンの回収率が 100.8%、ガラタミンの回収
率が 75.4%であった。この結果から、今回使用した前
処理法は調理品に対しても十分適用可能であった。

また、リコリン、ガラタミンともに、添加量の約 65%
がゆで汁に移行し、約 35%がゆでニラに残留している
結果が得られた。リコリン及びガラタミンは、加熱調
理を行ってもほぼ全量が回収できること、ゆでこぼし
でも、およそ 1/3 は植物中に残留することから、ニラと
誤認してスイセンを採取した場合、加熱調理によって
有毒成分を除去することは不可能であることが改めて
示された。

2-1 スイセン中のリコリン・ガラタミン含有量

県内各所で採取した 24 検体のスイセンについて、リコ

リン及びガラタミンの含有量を分析した。その結果を
表 4 に示した。3 月中旬に採取したが、採取地によっ
て開花が始まっていたものもあったが、葉が伸び出し
たばかりのものもあり、生育状況がかなり異なってい
た。分析した 24 検体中、リコリンの最大含有量は 350
μg/g、最小は 0.5 μg/g 未満であった。ガラタミンの
最大含有量は 250 μg/g、最小は 0.5 μg/g 未満と大
きなばらつきがあった。このばらつきの原因について、
スイセンの品種とリコリンとガラタミンの含有量の
関連を検討した。ニホンスイセンは 8 検体で、リコ
リンが 44~250 μg/g、ガラタミンは 5.4~38 μg/g
であった。キズイセンは (疑い

表 4 スイセンの品種とリコリン・ガラタミンの含有量

| 検体番号 | 採取市町村 | スイセン種類 | 有毒成分 | |
|--------|--------|--------------|------|-------|
| | | | リコリン | ガラタミン |
| 峡北-4 | 甲府市 | ニホンスイセン | 44 | 5.9 |
| 峡北-5 | 甲府市 | ニホンスイセン | 53 | 6.1 |
| 峡東-2 | 甲府市 | ニホンスイセン | 84 | 11 |
| 峡東-6 | 甲州市 | ニホンスイセン | 63 | 11 |
| 峡東-7 | 甲州市 | ニホンスイセン | 110 | 9.3 |
| 衛薬-1 | 甲府市 | ニホンスイセン | 140 | 8.6 |
| 衛薬-4 | 南アルプス市 | ニホンスイセン | 250 | 38 |
| 中北-1 | 甲斐市 | ニホンスイセン | 57 | 5.4 |
| 峡北-3 | 昭和町 | ラッパスイセン | nd | 12 |
| 峡北-6 | 甲府市 | ラッパスイセン | nd | 86 |
| 峡東-4 | 甲府市 | ラッパスイセン | nd | 6.0 |
| 峡東-5 | 南アルプス市 | ラッパスイセン | 1.2 | 3.7 |
| 衛薬-2 | 甲府市 | ラッパスイセン | nd | 15 |
| 中北-2 | 甲府市 | ラッパスイセン | 1.3 | 4.8 |
| 富士東部-1 | 都留市 | ラッパスイセン | nd | 43 |
| 富士東部-2 | 大月市 | ラッパスイセン | 120 | 42 |
| 峡南-1 | 富士川町 | 不明(ニホンスイセン?) | 3.0 | 12 |
| 中北-3 | 笛吹市 | 不明(ニホンスイセン?) | 1.3 | 47 |
| 富士東部-3 | 富士吉田市 | 不明(ニホンスイセン?) | 130 | 250 |
| 富士東部-4 | 西桂町 | 不明(ニホンスイセン?) | 13 | 9.6 |
| 峡北-1 | 甲府市 | 不明(キズイセン?) | 43 | 2.5 |
| 峡南-2 | 甲府市 | キズイセン | 20 | 6.9 |
| 衛薬-3 | 南アルプス市 | クチベニスイセン | 100 | 41 |
| 峡北-2 | 甲府市 | フサザキスイセン | 350 | nd |

単位: μg/g nd:0.5 μg/g未満



ニホンスイセン



ラッパスイセン



キズイセン



クチベニスイセン



フサザキスイセン

を含めて) 2 検体で、リコリンが 20~43 $\mu\text{g/g}$ 、ガラタミンは 2.5~6.9 $\mu\text{g/g}$ であった。クチベニスイセンは 1 検体で、リコリンが 100 $\mu\text{g/g}$ 、ガラタミンは 41 $\mu\text{g/g}$ であった。フサザキスイセンは 1 検体で、リコリンが 350 $\mu\text{g/g}$ 、ガラタミンは 0.5 $\mu\text{g/g}$ 未満であった。

ラップスイセンは 8 検体あったが、大月市内で採取された検体番号「富士東部-2」を除くと、リコリンが 0.5 $\mu\text{g/g}$ 未満~1.3 $\mu\text{g/g}$ 、ガラタミンは 3.7~86 $\mu\text{g/g}$ であった。ラップスイセンは他のスイセンと異なり、リコリンの含有量はわずかであった。しかし、大月市内で採取された検体番号「富士東部-2」はリコリンが 120 $\mu\text{g/g}$ 、ガラタミンは 42 $\mu\text{g/g}$ と、他のラップスイセンと比較してリコリン及びガラタミンの含有割合が大きく異なっていたため、ラップスイセンではない可能性も考えられた。今回は写真による品種鑑定を行ったため、実物を観察して行う鑑定よりも精度が劣るとのことであった。品種が判明しなかった 4 検体は、リコリンが 1.3~130 $\mu\text{g/g}$ 、ガラタミンは 9.6~250 $\mu\text{g/g}$ であった。検体番号「富士東部-4」を除いてリコリンよりもガラタミンの含有量の方が多かった。

今回品種が判明した 5 品種のうち、ラップスイセン以外はリコリンの含有量の方がガラタミンの含有量を上回っていた。以上のことから、リコリン及びガラタミンの含有割合が、スイセンの品種によって異なっている可能性が示唆された。

2-2 採取時期・部位の違いによる有毒成分量

3 月に一斉に試料採取を行った際、生育状況がかなり異なっていた。生育状況の違いがリコリン及びガラタミン含有量に与える影響を確認するために、検体番号「峡東-2」「峡東-4」「衛葉-1」「衛葉-2」を 5 月に改めて採取した。これらはいずれも 3 月に採取した際は花が開花する前であったが、5 月には葉が一部枯れ始めた状態となっていた。採取した葉はおおよそ三等分にし、葉の先端方を上部、真ん中を中部、根元方を下部としてそれぞれ分析した。結果を表 5-1 (リコリン)、表 5-2 (ガラタミン) に示した。表中、3 月採取分は 3 月に採取直後に分析した値である。5 月採取分は、リコリンは葉の下部のみ検出され、検出濃度も 3 月採取時よりもかなり減少していた。一方、ガラタミンは、5 月採取分からも 3 月採取分とほぼ同等量が検出された。また、葉の全体からまんべんなく検出され、リコリンの検出状況と大きく異なっていた。

以上のことから、リコリンは生育が進むと含有量が減少し、ガラタミンの含有量に大きな変化がないこと、また、リコリンは葉の下部に集中して存在しているが、ガラタミンは葉の全体にほぼ均等に存在していることが示唆された。しかし、検体数が 4 検体と少ないため、

個体差や生育環境も含めてより詳細な調査が必要であろう。

表5-1 採取時期・部位の違いによるリコリン含有量

| 品種 | 3月採取分 | 5月採取分 | | | 計 |
|------|---------|-------|----|----|-----|
| | | 上部 | 中部 | 下部 | |
| 峡東-2 | ニホンスイセン | 84 | nd | nd | 51 |
| 峡東-4 | ラップスイセン | nd | nd | nd | nd |
| 衛葉-1 | ニホンスイセン | 140 | nd | nd | 6.6 |
| 衛葉-2 | ラップスイセン | nd | nd | nd | 0 |

単位: $\mu\text{g/g}$ nd:0.5 $\mu\text{g/g}$ 未満

表5-2 採取時期・部位の違いによるガラタミン含有量

| 品種 | 3月採取分 | 5月採取分 | | | 計 |
|------|---------|-------|-----|-----|-----|
| | | 上部 | 中部 | 下部 | |
| 峡東-2 | ニホンスイセン | 11 | 2.1 | 2.9 | 5.3 |
| 峡東-4 | ラップスイセン | 6.0 | 2.0 | 1.1 | 1.0 |
| 衛葉-1 | ニホンスイセン | 8.6 | 1.4 | 2.0 | 3.0 |
| 衛葉-2 | ラップスイセン | 15 | 11 | 6.7 | 11 |

単位: $\mu\text{g/g}$

2-3 調理による有毒成分量の変化

スイセンを食用のニラと誤認したことを想定して、スイセンを調理した場合のリコリン及びガラタミンの含有量の変化について検討した。図 2 に、県内で採取した 24 検体のスイセンの調理前のリコリン及びガラタミン含有量に対する、調理後の残留割合を示した。

リコリンは、玉子とじで 24%~101%、玉子スープは 49%~167%、ゆでこぼし (ゆでスイセン) は 18%~56% の残留率であった。残留率に多少のばらつきはあるものの、概ね 60%~80% の残留していた。一方ガラタミンは、玉子とじで 68%~166%、玉子スープは 58%~302%、ゆでこぼし (ゆでスイセン) は 22%~51% の残留率であった。ガラタミンもリコリン同様残留率にばらつきが見られたが、概ね 60%~120% の残留率であった。この結果からリコリン及びガラタミンは加熱調理しても分解されずに、ほぼ調理品に残留することが示された。

また、リコリン及びガラタミンは水溶性がある⁵⁾ため、スイセンをゆでた場合はゆで汁に移行し、ゆでたスイセン中には残留しないのではないかと考えられたが、

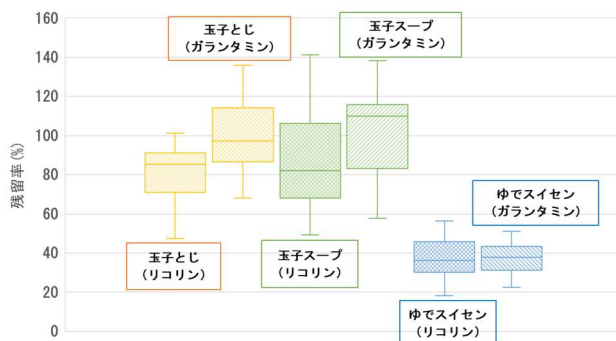


図2 調理によるリコリン・ガラタミンの残留率

リコリンはゆで汁に約 4 割から 8 割移行し、約 2 割から 6 割がゆでスイセンに残留した。ガランタミンも約 5 割から 8 割がゆで汁に移行したが、約 2 割から 5 割がゆでスイセンに残留した。このことから、リコリン及びガランタミンに水溶性があるとはいえ、おひたしを作る程度のゆで時間ではスイセン中のこれらの成分を完全に除去することは不可能であった。

以上の結果から、リコリン及びガランタミンは加熱調理をしても調理品に高い割合で残留することが示された。また、調理残品中の有毒成分の分析が、スイセンによる食中毒の判別に有効であると考えられた。

まとめ

スイセン中の有毒成分であるリコリン及びガランタミンの分析法について、有毒成分をニラに添加して妥当性評価を行ったところ良好な結果が得られた。また、調理品からの回収試験も良好な結果が得られた。

山梨県内各地に生育しているスイセン中のリコリン及びガランタミン含有量を測定した。その結果、リコリンは $0.5 \mu\text{g/g}$ 未満～ $350 \mu\text{g/g}$ 、ガランタミンは $0.5 \mu\text{g/g}$ 未満～ $250 \mu\text{g/g}$ が検出された。また、スイセンの品種によって、リコリンとガランタミンの含有割合に違いが見られた。

生育段階の違いによる、リコリン及びガランタミンの含有量の変化を 4 検体で確認したところ、生育が終わりに近づいた段階では、リコリンは含有量が減少するが、ガランタミンは含有量にほとんど変化がないことが確認された。

スイセンをニラと誤認したことを想定して玉子とじ、玉子スープ、ゆでこぼし（ゆで汁+ゆでスイセン）を模

して調理し、調理品中のリコリン及びガランタミン含有量を測定した。その結果、調理法にかかわらずリコリン、ガランタミンともに調理品から検出され、リコリンは最小で 24%、平均で約 80%、ガランタミンは最小で 56%、平均で約 100%が調理後のスイセン中に残留していた。また、ゆでこぼし（ゆで汁+ゆでスイセン）は、リコリン及びガランタミンに水溶性があるため、ゆで汁に両成分が移行したが、ゆでスイセン中に半分程度が残留していた。このため、通常の調理方ではリコリン及びガランタミンをスイセンから取り除くことは困難であることが示された。また、調理残品中の有毒成分の分析が、スイセンによる食中毒の判別に有効であると考えられた。

謝 辞

本研究を実施するに当たり検体の採取をして頂いた、平成 31 年度全国食品監視員研修会研究発表に関する調査研究班の班員の皆様、また、検体の品種鑑定をして頂いた、山梨県森林総合研究所の戸沢一宏研究管理幹に深謝致します。

参考文献

- 1) 林 弥栄、古里和夫：世界植物大図鑑、108、212、(1986)
- 2) 船山信次ら：世界毒草百科図鑑、142-143、(2018)
- 3) 船山信次ら：世界毒草百科図鑑、212-213、(2018)
- 4) 山口奈穂ら：LC/MS/MS による植物性自然毒の迅速一斉分析法の開発、第 55 回全国衛生化学技術協議会年会講演集、152-153 (2018)
- 5) 高本 進ら：化合物の辞典、784、788、(1997)