

【短報】

LC-MS/MS による加工食品中のリコリン分析法の検討

徳島県立保健製薬環境センター

中村 哲也・富永 智子*・岩城 達也・長谷 良子

Analytical Method for Lycorine in Processed Foods by LC-MS/MS

Tetsuya NAKAMURA, Tomoko TOMINAGA, Tatsuya IWAKI and Ryoko HASE

Tokushima Prefectural Public Health, Pharmaceutical and Environmental Sciences Center

要 旨

加工食品のカレーを対象として、スイセンの自然毒成分であるリコリンの分析法について検討した。精製用カラムを用いた前処理を行い、高速液体クロマトグラフ質量分析計（以下「LC-MS/MS」という。）により測定したところ、添加回収試験における回収率は93.5%と良好な結果が得られた。加工食品を対象としたリコリンの分析法として、自然毒による食中毒発生時での適用が期待される。

Key words : スイセン Narcissus, リコリン Lycorine

I はじめに

リコリンは、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、頭痛などの中毒症状を呈する¹⁾。スイセンの食中毒事例は、平成25年から令和4年の10年間に全国で65件発生している²⁾。徳島県では、平成23年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た³⁾。また、平成26年度には当センターが事務局となって、中国・四国ブロック内の地方衛生研究所を対象に、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事業を実施したことがある⁴⁾。しかし、いずれも加工されていないスイセンの分析事例であった。

今回、より広い食中毒事例に対応することを目的として、加工食品を対象としたリコリンの分析法について検討したので報告する。

II 方法

1 試料

添加回収試験用の加工食品には、油脂や香辛料を含み複雑なマトリックスを含むとされるカレーを選定し、市販のレトルトカレーを用いた。

2 試薬

(1) 標準品

リコリン塩酸塩標準品は、Med Chem Express 社製（純度99.89%）を使用した。

(2) 試薬等

メタノール、蒸留水は、HPLC用を使用した。

精製用カラムはWaters社製 Oasis HLB（60 mg/3 cc, 粒径30 μm）を使用した。

3 標準溶液

リコリン塩酸塩5.63 mg（リコリン5 mg相当）をメタノール10 mLに溶解し、標準原液（500 μg/mL）とした。リコリン標準原液をメタノールで希釈し、5 ng/mL, 10 ng/mL, 20

*現 東部保健福祉局 徳島保健所

ng/mL, 50 ng/mL の検量線溶液を調製した。

4 装置及び測定条件

(1) 装置

LC-MS/MS

ExionLC AC/QTRAP4500 (SCIEX 社製)

(2) 測定条件

(HPLC 部)

カラム : Scherzo SM-C18 (2.0 mm I.D. × 150 mm,
粒子径 3 µm, Imtakt 社製)

カラム温度 : 40°C

移動相 : A 液 10 mM ギ酸アンモニウム水溶液

B 液 メタノール

グラジエント条件 : A/B = 90/10 (0-1 min) → 20/80 (15.6 min)

→ 5/95 (16-26 min) → 90/10 (26.1-30 min)

流速 : 0.2 mL/min

注入量 : 1 µL

(MS 部)

イオン化法 : エレクトロスプレーイオン化法 positive

スプレー電圧 : 5500 V

イオン源温度 : 300 °C

測定イオン (コリジョンエネルギー)

(定量) 288 > 147 (40)

(確認) 288 > 119 (54) , 288 > 91 (73)

5 試験溶液の調製

当所で開催したアトロピン、スコポラミンの迅速分析法⁵⁾に準じて、次のとおり精製用カラムを用いた前処理を行った。

試料 1 g にメタノール 20 mL を加え、30 分間振とう抽出後、遠心分離 (7,000 rpm, 10 分間) を行い、上清 10 mL を 0.20 µm メンブレンフィルターでろ過したものを抽出原液とした。Oasis HLB をメタノール 5 mL, 蒸留水 5 mL でコンディショニング後、抽出原液 250 µL を蒸留水で 5 mL に定容したものを負荷し、10%メタノール 5 mL で洗浄後、メタノール 3 mL で溶出した。これをメタノールで 5 mL に定容し、試験溶液 (400 倍希釈液) とした。この試験溶液 250 µL をメタノールで 1 mL に定容 (1600 倍希釈液) し、LC-MS/MS で測定した。

6 添加回収試験

市販のレトルトカレー 1 g にリコリンの濃度が 50 µg/g となるよう標準原液を添加したものを試料とした。リコリンの濃度は、カレーの調理の際、たまねぎとスイセンの鱗茎を誤用し、食中毒が発生したと仮定して設定した。試料は 3 併行で抽出し、添加した濃度に対する回収率の平均値と相対標準偏差 (以下「RSD」という。) を評価した。

本分析は、食中毒事例が起こった際に迅速に植物毒を検出

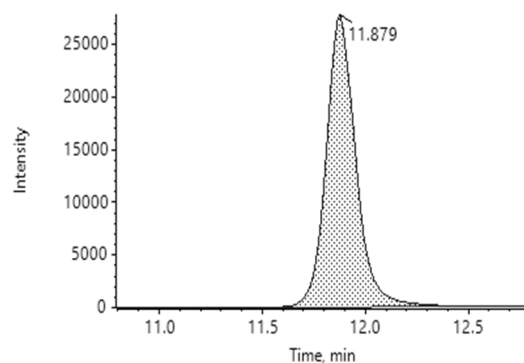


図1 リコリン標準溶液 20 ng/mL のクロマトグラム
定量用 m/z 288>147

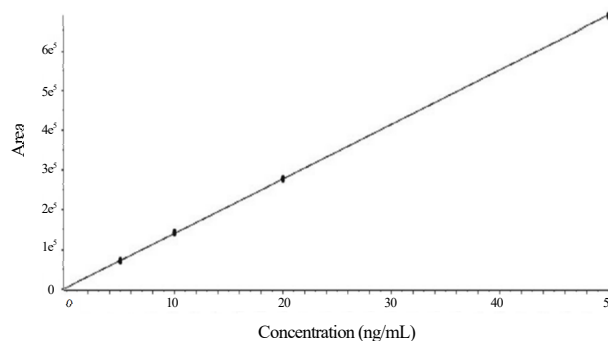


図2 リコリンの検量線 (5~50 ng/mL)

することを目的とするため、加工食品中に高濃度に含まれる農薬等の迅速検出法の性能評価基準を参考に回収率の目標値を 50-200%, 併行精度の目標値を RSD として 30%未満にそれぞれ設定した⁶⁾。

III 結果及び考察

1 クロマトグラムと検量線

リコリン標準溶液のクロマトグラムを図1に、検量線を図2に示した。5~50 ng/mL の範囲で良好な直線性 ($r^2=0.999$ 以上) が得られた。

2 添加回収試験結果

リコリンの平均回収率は 93.5%, RSD は 17.5%であり、ともに目標値を満たした。複雑なマトリックスを含むとされる加工食品に対しても、本報で用いた前処理法を適用できることが示唆された。

植物性自然毒の分析については、先に検討したアトロピン及びスコポラミン⁵⁾に加えて、リコリンの分析が可能であることを確認した。今後は、より多くの自然毒成分を対象とした一斉分析法について検討したい。

IV まとめ

加工食品中のリコリンについて、精製用カラムを用いて前処理し、LC-MS/MS により分析したところ、添加回収試験に

おける回収率は 93.5%と良好な結果が得られた。加工食品を対象としたリコリンの分析法として、自然毒による食中毒発生時での適用が期待される。

参考文献

- 1) 厚生労働省ホームページ：自然毒のリスクプロファイル：高等植物：スイセン類,
<https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/0000075843.html> (2023年7月26日現在)
- 2) 厚生労働省ホームページ：有毒植物による食中毒に注意しましょう,
https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/kenkou_iryou/shokuhin/yuudoku/index.html (2023年7月26日現在)
- 3) 吉田理恵, 湯浅智子, 津田京子, 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)
- 4) 中西淳治, 吉田理恵, 堤泰造, 他：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, 徳島県立保健製薬環境センター年報, **5**, 34-39 (2015)
- 5) 富永智子, 中村哲也, 長谷良子, 他：LC-MS/MSによる食品中のアトロピン, スコポラミンの迅速分析法の検討について, 徳島県立保健製薬環境センター年報, **11**, 15-18 (2021)
- 6) 厚生労働省医薬食品局食品安全部基準審査課：加工食品中に高濃度に含まれる農薬等の迅速検出法について, 平成 25 年 3 月 26 日, 事務連絡 (2013)