

# 苦みを有するユウガオ中のククルビタシンの分析事例と 部位による含有量の偏り

鎌田光貴<sup>1</sup>・宮川あし子<sup>1</sup>・小山和志<sup>1</sup>・高橋佳代子<sup>1,2</sup>・土屋としみ<sup>1</sup>

令和元年度及び令和2年度に長野県内で苦味の強いユウガオによる食中毒事例が相次いで発生した<sup>1),2),3)</sup>。事例については行政において事例整理が進められている。当研究所では苦味の強いユウガオ及びその調理品中のククルビタシンB及びDの分析を検討したので内容について報告する。

残っていた未調理のユウガオ（果実）及び喫食残渣の調理品からはククルビタシンBが検出され、未調理のユウガオ（果実）からはククルビタシンDの微量ピークも認められた。

また、食中毒事例の際に入手した苦味の強いユウガオ（果実）及び試験栽培したユウガオ（全草）を用いて、ククルビタシン類の分析を行ったところ、ユウガオの部位によってククルビタシン類の含有量に顕著な偏りが認められた。

**キーワード：**ユウガオ，ククルビタシン，HPLC

## 1 はじめに

きゅうりやユウガオなどのウリ科植物は広く食用として栽培されているが、ウリ科植物のなかには苦味成分であるククルビタシン類が含まれていることが知られている<sup>4),5)</sup>。ククルビタシン類はククルビタシンB、ククルビタシンD、ククルビタシンEなどが知られているが、このククルビタシン類を多量に含むウリ科植物を喫食することで腹痛、下痢、嘔吐などの症状を引き起こすケースがあり<sup>6)</sup>、全国で食中毒事例が報告されている<sup>7),8),9),10)</sup>。

長野県においても、苦味の強いユウガオが原因の食中毒事例が令和元年度に2例、令和2年度に1例発生した。この食中毒事例の際に入手した苦味の強いユウガオ及びその調理品について、ククルビタシンB及びDの定量検査を行った結果を報告する。

通常はユウガオの果実に強く苦みを感じるほどククルビタシン類が多量に含まれていることはなく、苦味が強まるメカニズムなどは不明な点が多い。ウリ科植物は一般的に根など様々な部位にククルビタシン類を含んでいるとの報告<sup>4),5)</sup>があることから、ユウガオにおけるククルビタシン類含有量の偏在性について知見を得ることを目的として、当研究所敷地内にある薬草園においてユウガオを試験栽培し、収穫されたユウガオ（全草）について果実・葉・茎

及び根についてククルビタシンB、ククルビタシンD及びククルビタシンEの分析を行った。さらに、食中毒事例の際に入手した苦味の強いユウガオの果実について皮、皮～果肉、果肉、胎座（わた）、種子に分けて分析したので報告する。

## 2 方法

### 2.1 試薬

#### 2.1.1 標準品

標準品として、ククルビタシンBは東京化成工業(株)製、ククルビタシンD及びククルビタシンEはChromaDex製のものを用いた。

それぞれの標準品2.5 mgをメタノールに溶解し、5 mLに定容したものを標準溶液(500 µg/mL)とした。標準溶液を適宜50%メタノールで希釈し、検量線用混合標準液(0.5 µg/mL～40 µg/mL)とした。

#### 2.1.2 その他の試薬

メタノール及びアセトニトリルは関東化学(株)製高速液体クロマトグラフィー用を使用した。

シリンジフィルターはジーエルサイエンス(株)製GLクロマトディスク(PTFE製、孔径0.45 µm)を使用した。

1 長野県環境保全研究所 食品・生活衛生部  
2 現：長野県長野保健福祉事務所 検査課

〒380-0944 長野市安茂里米村 1978  
〒380-0936 長野市中御所岡田 98-1

## 2.2 試料の調製方法

### 2.2.1 検体

- ①令和元年度及び令和2年度の食中毒事例に際して搬入された検体（以下事例品）  
 ユウガオ-1 から 3（令和元年度検体）  
 ユウガオ-4 から 6（令和2年度検体）
- ②令和元年度に搬入された喫食残渣(以下調理品)
- ③当所で試験栽培したユウガオ（全草）（以下試験栽培品）の根、茎、葉、果実
- ④陰性対照  
 県内で栽培された苦味のないユウガオ（果実）

### 2.2.2 試料調製

#### (1) 食中毒事例

ユウガオ-1 からユウガオ-6 及び陰性対照は果実を縦方向に切断し半分を均一化して試料とした。  
 調理品は全量を均一化し試料とした。

#### (2) 試験栽培品

ユウガオの種子（長野市内で購入）を当研究所薬草園（図1）に直播して栽培し、収穫した果実・葉・茎・根をそれぞれ分析に用いた（図2）（以下試験栽培品とする）。茎については全長を測定した後、3等分にして根から遠い方から茎（上部）・茎（中部）・茎（下部）とした。各部位を均一化し試料とした。



図1 当研究所の薬草園（2区画）

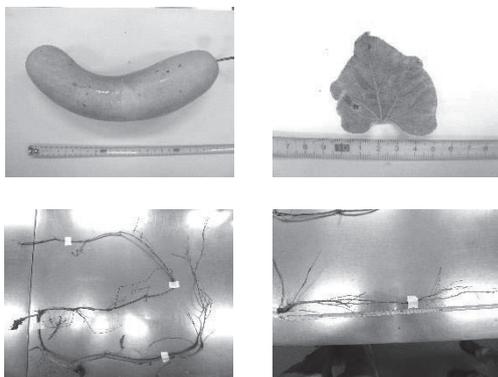


図2 栽培ユウガオの果実（左上）、葉（右上）、茎（左下）、根（右下）

#### (3) ユウガオ果実におけるククルピタシン類偏在性

ユウガオ-6の果実を目視により、図3のとおり皮、皮～果肉、果肉、種子、胎座（わた）に分け、それぞれを均一化し試料とした。

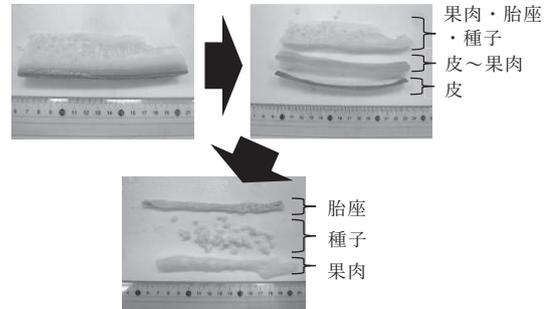


図3 ユウガオ-6 と採取部位

### 2.2.3 抽出方法

試験溶液の調製法は、吉岡らの報告<sup>7)</sup>を参考とし、図4に示すフローで調製した試料から抽出した。

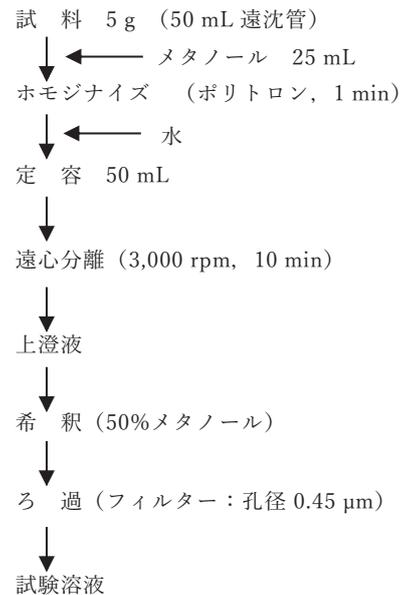


図4 試料の分析フロー

### 2.3 測定条件

調製した試験溶液を用いてククルピタシンB、D及びEを高速液体クロマトグラフィー（HPLC）で測定し、測定条件は以下に示すとおりである。

装置：(株)島津製作所 LC-20AD XR

カラム：ジューエルサイエンス(株)製

- ①Inertsil ODS-3 (4.6×150 mm, 5 μm)

又は

- ②InertSustain C18 (4.6×150 mm, 5 μm)  
 カラム温度：40°C  
 移動相：アセトニトリル/水混液 (1:1)  
 移動相流量：1.0 mL/min  
 注入量：20 μL  
 検出器：PDA (200-400 nm)  
 測定波長：230 nm

事例品及び調理品のククルビタシンB及びDの分析はジールサイエンス(株)製 Inertsil ODS-3 (4.6×150 mm, 5 μm)で行った。しかし、Inertsil ODS-3ではククルビタシンEのピーク形状が不良であったため、InertSustain C18に変更したところ、より良好なピークが得られた。このため、試験栽培品及び事例品の部位ごとの分析については上に示す②のカラムに変更して分析を行った。

### 3 結果及び考察

#### 3.1 事例品及び調理品の分析結果

ユウガオ-1から6及び調理品の果実全体を検査した結果、いずれもククルビタシンBの含有が認められ、その含有量は250 μg/g~960 μg/gであった(表1)。一方で、ククルビタシンDは調理品からは検出されなかったが、事例品のいずれからも分析時の検量線の範囲外(50 μg/g以下)ではあるが、保持時間及び吸収スペクトルが一致したピークが認められた。

また、牛山らの報告<sup>10)</sup>を参考として、薄層クロマトグラフィー(TLC)を実施し、事例品及び調理品

表1 苦味の強いユウガオ及び調理品中のククルビタシンB及びDの含有量

	含有量 (μg/g)	
	ククルビタシン B	ククルビタシン D
ユウガオ-1	300	N.D.
ユウガオ-2	930	N.D.
ユウガオ-3	540	N.D.
調理品	250	N.D.
ユウガオ-4	680	N.D.
ユウガオ-5	530	N.D.
ユウガオ-6	960	N.D.
ユウガオ(対照)	N.D.	N.D.

からククルビタシンBと同じ Rf 値のスポットが認められた。

これまで報告されているウリ科植物による食中毒事例<sup>7),8),9)</sup>でも、74 μg/g~468 μg/gのククルビタシンBが検出されている。今回の結果は同程度のククルビタシン類の含有が認められたことから、分析したユウガオには十分に食中毒を起こし得る量が含有されていたと考えられる。なお、対照品からはいずれも検出されなかった(表1)。

#### 3.2 分析法の検討

本分析法は、ククルビタシンB、D及びEの濃度として0.5 μg/mL~40 μg/mLの範囲で直線性が確認され、S/Nの確認により定量下限値(5 μg/g)未満を不検出(N.D.)とした。また、苦味のないユウガオを用いたククルビタシンB、D及びEの添加回収試験(各20 μg/g)の結果は、平均回収率103%~104%、CV(%)0.3~1.4(n=3)であった。

#### 3.3 試験栽培品中のククルビタシン類の分析結果

試験栽培品の果実・葉・茎(上部)・茎(中部)・茎(下部)及び根を分析したところ、果実・葉・茎(上部)・茎(中部)及び茎(下部)ではククルビタシンB、D及びEは検出されなかった。一方で、根においてはククルビタシンB、D及びEが検出され、その含有量はククルビタシンBが100 μg/g、ククルビタシンDが20 μg/g、ククルビタシンEが280 μg/gであった(表2)。

根ではククルビタシンB、D及びEが検出されたことから、他のククルビタシン類も含有している可能性も高いと推測された。

表2 当所で栽培したユウガオ中のククルビタシンB、D及びEの含有量

	含有量 (μg/g)		
	ククルビタシン B	ククルビタシン D	ククルビタシン E
果実	N.D.	N.D.	N.D.
葉	N.D.	N.D.	N.D.
茎(上部)	N.D.	N.D.	N.D.
茎(中部)	N.D.	N.D.	N.D.
茎(下部)	N.D.	N.D.	N.D.
根	100	20	280

### 3.4 ユウガオの果実における部位ごとのククルビタシン類分析結果

ユウガオ-6 の果実を皮、皮～果肉、果肉、種子、胎座（わた）の部位ごとに分け、分析を行ったところ、ククルビタシンB及びDが検出され、それぞれの含有量は皮で450 µg/g 及び19 µg/g、皮～果肉で280 µg/g 及び13 µg/g、果肉で250 µg/g 及び11 µg/g、種子で980 µg/g 及び56 µg/g、胎座（わた）で5750 µg/g 及び160 µg/g であった。いずれの含有量も果肉が最も低く、胎座（わた）が最も高い結果となり、その比はククルビタシンBで約23倍、ククルビタシンDで約15倍であった(図5)。一方で、ククルビタシンEは検出されなかった。

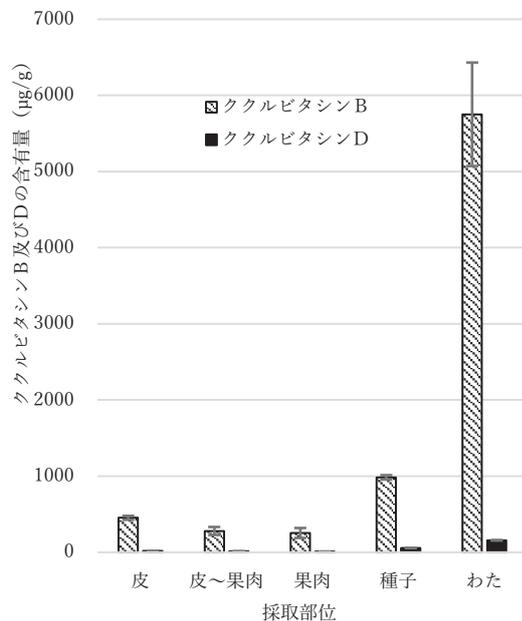


図5 部位別のククルビタシンB及びDの含有量 (n=3)

分析は事例品を凍結保存したこと、さらには部位の境目の判断が難しいため、試料調製において部位が混在している可能性があり精度に欠けるところはあるが、部位ごとの含有量に偏在性があることは明らかであった。

## 4 まとめ

(1) 食中毒事例の苦味の強いユウガオ及び調理品について、ククルビタシンB及びDの含有量について定量検査を実施し、250 µg/g～960 µg/g のククルビタシンBを検出した。また、ククルビタ

シンDの微量ピークが認められた。

- (2) 試験栽培品を、果実・葉・茎（上部）・茎（中部）・茎（下部）及び根に分けて分析したところ、根からククルビタシンB（100 µg/g）、ククルビタシンD（20 µg/g）、ククルビタシンE（280 µg/g）が検出された。
- (3) 事例品の果実を皮、皮～果肉、果肉、胎座（わた）の部位に分け、ククルビタシンB及びDの各部位における含有量を分析したところ、いずれも果肉が最も低く、胎座（わた）が最も高い結果となった。その含有量の比は、ククルビタシンBが約23倍、ククルビタシンDが約15倍であった。

## 文献

- 1) 長野県（健康福祉部）プレスリリース（2019年7月18日付け）：大町保健所管内で「苦味の強いユウガオ」による食中毒が発生しました
- 2) 長野県（健康福祉部）プレスリリース（2019年9月22日付け）：諏訪保健所管内で「苦味の強いユウガオ」による食中毒が発生しました
- 3) 長野県（健康福祉部）プレスリリース（2020年7月11日付け）：松本保健所管内で販売されていた「苦味の強いユウガオ」による食中毒が発生しました
- 4) Rehm, S., Enslin, P.R., Meeuse, A.D.J. and Wessels, J.H. (1957) Bitter principles of the Cucurbitaceae. VII - The distribution of the bitter principles in this plant family. J. Sci. Food Agric., 8:679-686.
- 5) Rehm, S. and Wessels, J.H. (1957) Bitter principles of the Cucurbitaceae. VIII Cucurbitacins in seedlings - Occurrence, biochemistry and genetic aspects. J. Sci. Food Agric., 8:687-691.
- 6) 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：ユウガオ <https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/0000079844.html> (2020年12月確認)
- 7) 吉岡直樹・吉田昌史 (2017) 観賞用ヒョウタンによる中毒の原因物質と推定される苦味成分ククルビタシンBの分析, 兵庫県立健康生活科学研究センター健康科学研究センター研究報告, 8:26-29
- 8) 山口瑞香・野村千枝・清田恭平・梶村計志 (2014) ヒョウタンによる食中毒事例について, 大阪府立公衛研所報, 52:41-43

- 9) 田中佳代子・秋谷正人・渡邊和彦・辻亜由子・坂田実穂・山崎匠子 (2016) 苦情事例におけるへちま中のククルビタシンの検査について, 杉並区衛生試験所年報, 34 : 40-42
- 10) 牛山博文・観公子・新藤哲也・安田和男 (2000) 化学物質及び自然毒による食中毒等事件例 (第 17 報) —平成 11 年—, 東京衛研年報, 51 : 166-169

### **Analysis case of cucurbitacins in gourd plants and difference of concentration in the parts**

Koki KAMATA<sup>1</sup>, Ashiko MIYAGAWA<sup>1</sup>, Kazushi KOYAMA<sup>1</sup>, Kayoko TAKAHASHI<sup>1,2</sup> and  
Toshimi TSUCHIYA<sup>1</sup>

*1 Food and Pharmaceutical Sciences Division, Nagano Environmental Conservation  
Research Institute, 1978 Komemura, Amori, Nagano 380-0944, Japan*

*2 Present address: Inspection Division, Nagano Health and Welfare Office, 98-1 Okada Nakagoshi,  
Nagano 380-0936, Japan*