

# キウイフルーツ果実に含まれるソラレン類（フロクマリン）濃度の測定

駒沢女子大学人間健康学部健康栄養学科 西山一朗

## 要約

キウイフルーツの主要な商業栽培品種であるグリーンキウイ（‘ヘイワード’種）ならびにサンゴールドキウイ（‘ZESY002’種）果実に含まれる各種フロクマリンの濃度を、高速液体クロマトグラフィーによって測定した。その結果、いずれの品種においても可食部からフロクマリン類は検出されなかった。剥皮せずに試料調製を行った場合にも、同様にフロクマリン類は検出されなかった。本測定法における各フロクマリン標品の回収率は84.8～95.6%であり、また、検出限界はいずれの標品においても0.025 µg/mLであった。これらの結果より、キウイフルーツ果実に含まれるそれぞれのフロクマリン濃度は、可食部100 g当たり2.36 µg (0.00000236 g)未満と算出された。経口摂取によって皮膚に影響が生じる可能性があるフロクマリン用量を10 mgとすると、キウイフルーツを423.7キログラム食べたとしても皮膚への影響は生じないことになる。本研究の結果より、キウイフルーツの果肉にも皮（外果皮）にも、実質的にはソラレン等のフロクマリンは含まれていないことが示された。

## 1. 緒言

植物性食品の中には、フロクマリン（フラノクマリン）と呼ばれる光毒性を有する物質を含むものがあることが知られている。ソラレンや5-メトキシソラレン、8-メトキシソラレンなどのフロクマリンは、皮膚に付着したり経口摂取したりすると光増感物質として作用し、日焼けを促進し、ひどい場合には日光性皮膚炎を生じ、皮膚や粘膜に紅斑や腫脹、水疱などを生じる例も知られている<sup>1,2)</sup>。

フロクマリンを含む代表的な食品としては、パセリやセロリなどの野菜、グレープフルーツなどの果物が挙げられる<sup>3)</sup>。そのため、これらの食品を極端に多く摂取した後に、日焼けサロンなどで故意に紫外線を浴びる行為は、日光性皮膚炎を招く危険性があることが知られている<sup>4)</sup>。その他、オレンジやライムなどの外果皮や、イチジクの葉などにも多量のフロクマリンが含まれており、柑橘類の果皮から圧搾法で製造されたアロマオイルが皮膚に付着した場合<sup>5,6)</sup>や、果樹としてのイチジクの管理に携わる場合<sup>7)</sup>には、日光性皮膚炎に注意が必要である。一方、食品としてのオレンジ果肉やイチジク果肉にはほとんどフロクマリンが含まれていないことが示されている<sup>3)</sup>が、皮や葉と混同され、可食部にフロクマリンが多く含まれるとの誤解が多い。

これらの食品のほかにも、ネット上には「キウイフルーツにはソラレンが多く含まれるため、朝食べてから日光を浴びると日焼けやシミが増す」とする記載が非常に多く見られる。しかし、そのいずれのサイトにも、根拠となる文献が全く引用されておらず、また、実際の含有量についての記載も皆無である。文献検索を行っても、キウイフルーツ果実にソラレンが含まれるとする先行研究は皆無であるため、このネット上の記載は極めて疑わしい。本研究では、この記述の真偽を明らかにすることを目的として、キウイフルーツ果実に含まれるソラレンならびにその関連物質である5-メトキシソラレン、8-メトキシソラレンおよびアンゲリシンなどのフロクマリンの定量を行った。

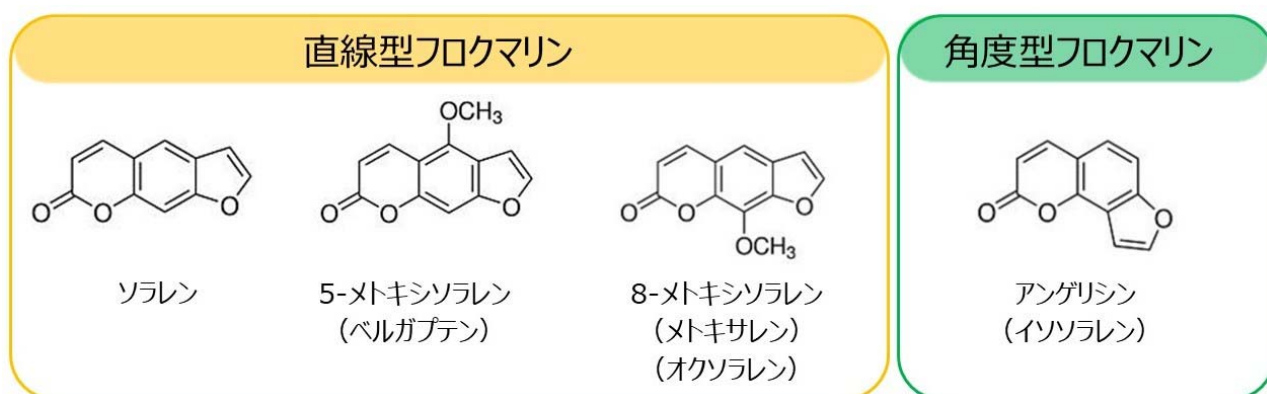
## 2. 材料と方法

### (1) 材料

キウイフルーツ果実試料としては、緑肉種ならびに黄肉種それぞれの最も一般的な商業栽培品種であ

るグリーンキウイ（‘ヘイワード’種）およびサンゴールドキウイ（‘ZESY002’種）を用いた。いずれも、東京都内の青果店で市販されているニュージーランド産の適熟期果実を購入し、実験に供した。一果重は、グリーンキウイが  $118.1 \pm 2.65$  g、サンゴールドキウイが  $118.1 \pm 2.63$  g であった。一方、陽性対照（ポジティブコントロール）試験の試料としては、イチジク（‘ドーフィン’種）の葉および市販のライムの皮（外果皮）を用いた。イチジクの葉は東京都内の農家より供与を受けた。また、ライムは市販のメキシコ産果実を用いた。

高速液体クロマトグラフィー（HPLC）分析用の標品として、ソラレンおよびアンゲリシン（イソソラレン）は富士フィルム和光純薬から、また、5-メトキシソラレン（ベルガプテン）および8-メトキシソラレンはシグマ-アルドリッチから購入して使用した。それぞれの構造を下図に示す。HPLC 用のアセトニトリルは、富士フィルム和光純薬から購入して実験に供した。エタノールおよびメタノールは特級試薬を用いた。



## (2) 標準溶液の作製

それぞれの標品は、 $250 \mu\text{g/mL}$  となるようエタノールに溶解し、保存溶液とした。実験に際しては、これをメタノールで  $0.025 \sim 4.0 \mu\text{g/mL}$  に希釈して、HPLC 分析の標準溶液とした。

## (3) キウイフルーツ果実抽出液の作製

グリーンキウイならびにサンゴールドキウイをそれぞれ 30 果ずつ実験に供した。果実を 2 群に分け、15 果は剥皮し、残りの 15 果は剥皮せずに皮ごと用いた。それぞれにつき 5 果ずつ 3 反復の実験を行った。

果実を適当な大きさに切った後、フードプロセッサーでピューレ状に破碎した。作製したピューレ  $2.50$  g を計り取り、ポリプロピレン製の遠心管中で凍結した後、凍結乾燥機（FDU-2200 型、東京理化）により 24 時間凍結乾燥処理を行った。ここに氷冷したメタノール  $10$  mL を加え、ミキサー型ホモジナイザー（ウルトラタラックス T25 型、IKE）によりホモジナイズした。これを遠心分離（ $10,000 \times g$ 、 $4^\circ\text{C}$ 、10 分間）した後、上清を分取した。沈殿に再び冷メタノール  $10$  mL を加え、同様にホモジナイズし遠心分離を行い、上清を回収した。同様の操作をもう 1 回行い、得られた 3 回分の上清を合して、ロータリーエバポレーター（N-1100 型、東京理化）で濃縮乾固した。ここに冷メタノールを加えて  $2.0$  mL に定容し、試料の一部をディスクフィルター（ $0.22 \mu\text{m}$ ）でろ過し、ソラレン定量用の試料とした。

## (4) HPLC 分析

ソラレン等の分析は、LiChroCART 250-4 LiChrospher 100 RP-18e ( $5 \mu\text{m}$ ) カラム（ $4$  mm  $\times$   $125$  mm、メ

ルク社)を用いた HPLC 法により行った。カラム温度は 30°C にセットした。移動相はアセトニトリル-水 (35 : 65, v/v) を用い、流速 1.0 mL/分のイソクラティック溶出を行った。注入する試料の体積は 10  $\mu$ L とした。検出器は L-2455 PDA (日立) を用い、またクロマトグラムの解析には D-2500 型データ処理装置 (日立) を用いた。検出波長は 310 nm とした。

### (5) 回収率の確認

直線形フロクマリンの回収率の確認のためには、上記(2)の方法により作製したピュール 2.50 g を遠心管に入れた後、これにソラレン、5-メトキシソラレン、8-メトキシソラレンをそれぞれ 25  $\mu$ g 加え攪拌した。これを上記と同様に凍結乾燥し、抽出液を作製した。得られた試料をメタノールで 5 倍に希釈して、HPLC 分析に供した。角度形フロクマリンであるアンゲリシンは、HPLC 分析で 8-メトキシソラレンとピークが重なるため、直線形フロクマリンとは別に、上記と同様の方法で試料に混和し同様に分析を行った。

### (6) 陽性対照

イチジクの葉ならびにライムの皮を試料として、上記と同様にフロクマリンの抽出を行った。得られた抽出液は、適切に希釈した後に上記と同様の HPLC 分析に供した。

## 3. 結果と考察

### (1) フロクマリン標準物質の検出とその定量性

直線形フロクマリンを HPLC で分析したところ、ソラレン、8-メトキシソラレンおよび 5-メトキシソラレンは、保持時間 5.76 分、6.24 分および 8.52 分にそれぞれ認められた (図 1)。各クロマトパターンより、この分析法によって、相互の分離が可能であることが確かめられた。一方、角度型フロクマリンであるアンゲリシンの保持時間は 6.26 分であり、8-メトキシソラレンと近似することが確かめられた (図 1)。そのため、もしもキウイフルーツ抽出液を試料として分析を行ったときに、6.25 分前後にピークが認められた場合は、この実験系では判別ができないため、実験系の改善が必要となる。しかし後述するように、キウイフルーツ抽出液の HPLC 分析ではこれらのフロクマリンが溶出する時間帯に一切ピークが認められなかったため、本実験系で定量操作を行うこととした。

それぞれの標品について、その濃度とピーク面積とをプロットしたところ、いずれの場合も少なくとも 1~4  $\mu$ g/mL の範囲内では直線性を示すことが示された (図 2)。回収率を求める実験や陽性対照試験では、この範囲内に収まるように抽出液を希釈して、定量を行った。

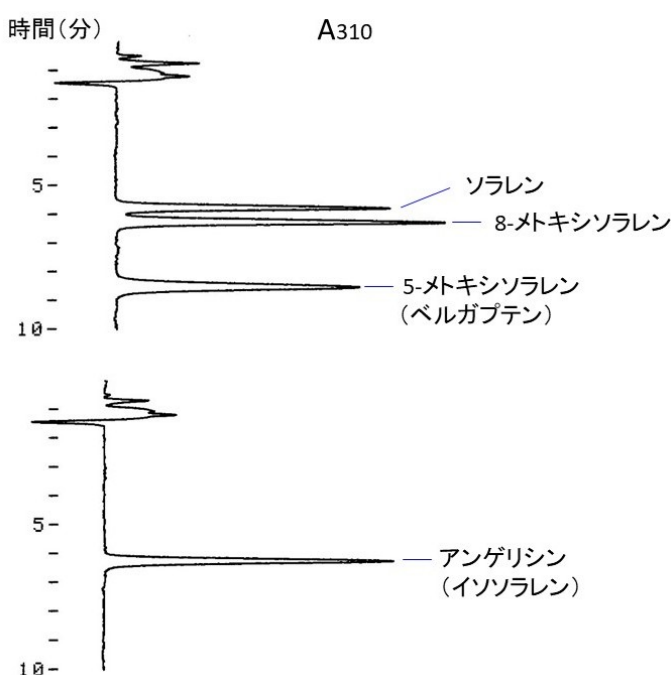


図 1 フロクマリン標品の HPLC 分析

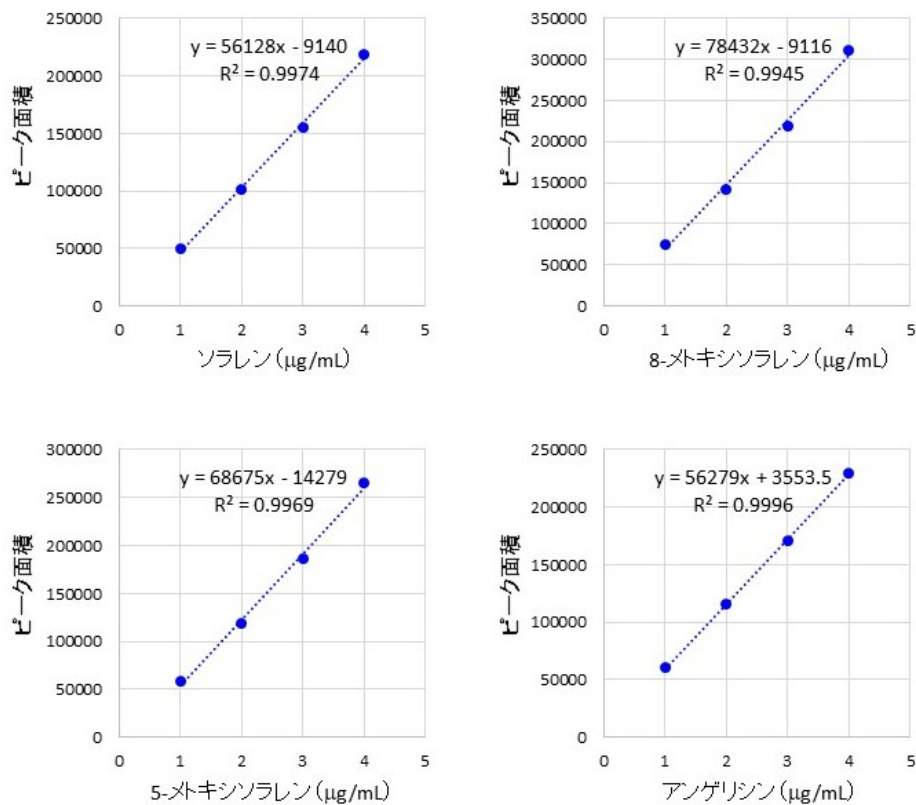


図2 HPLC分析におけるフロクマリン標品濃度とピーク面積との関係

### (2) 各標品の検出限界

S/N比を10に設定してHPLC分析を行ったところ、各標準溶液の濃度を0.025 μg/mLに希釈した場合でも、標品のピークの認識は可能であった。これをさらに2倍に希釈して分析したところ、S/N比10ではピークが検出できなくなった。この結果より、各物質の検出限界値は、0.025 μg/mLと判定した。

### (3) 陽性対照試験

陽性対照としてのイチジク葉ならびにライム皮の抽出液を、上記と同様のHPLC分析に供した結果を、図3に示す。

イチジクの葉では、ソラレンならびに5-メトキシソラレンの明瞭なピークが観察された。このフロクマリン構成は、先行研究<sup>8)</sup>の結果と矛盾しないものであった。それぞれの濃度は、イチジク葉の湿重量100g当り27.5mgならびに10.7mgであった(図3)。

ライムの皮では、5-メトキシソラレンのピークが明瞭に検出された。その含量は、ライム皮の湿重量100g当り29.8mgであった。

これらの結果より、植物試料中のフロクマリンの検出が可能であることが示された。

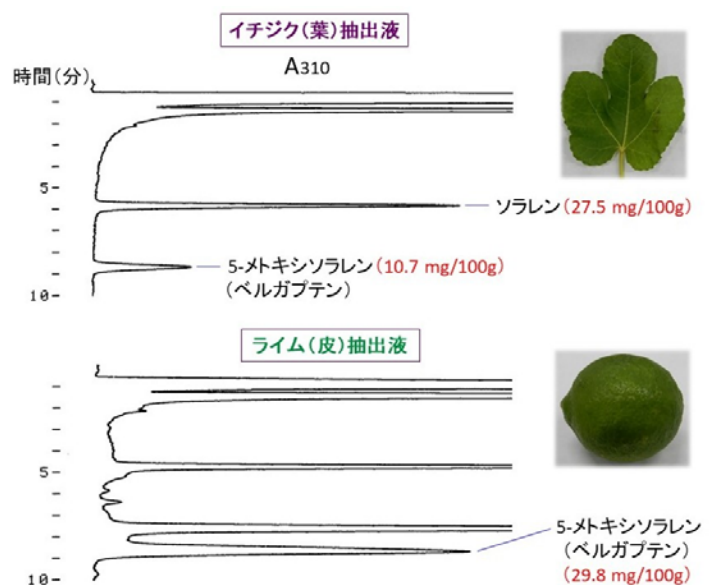


図3 陽性対照試験

#### (4) キウイフルーツ抽出液の HPLC 分析

キウイフルーツ抽出液を上記と同様の条件で HPLC 分析に供した結果を、図 4 に示す。グリーンキウイならびにサンゴールドキウイのいずれの抽出液においても、ソラレン等のフロクマリンが溶出する 5.76 分～8.52 分の範囲には、ピークが全く検出されなかった。また、剥皮せずに果実全体から試料調製を行った場合でも、やはりソラレン類は全く検出されなかった。この結果および上記(2)の結果から、これらのキウイフルーツ抽出液に含まれるソラレン等の濃度は、皮の有無にかかわらず 0.025  $\mu\text{g/mL}$  未満であることが確かめられた。

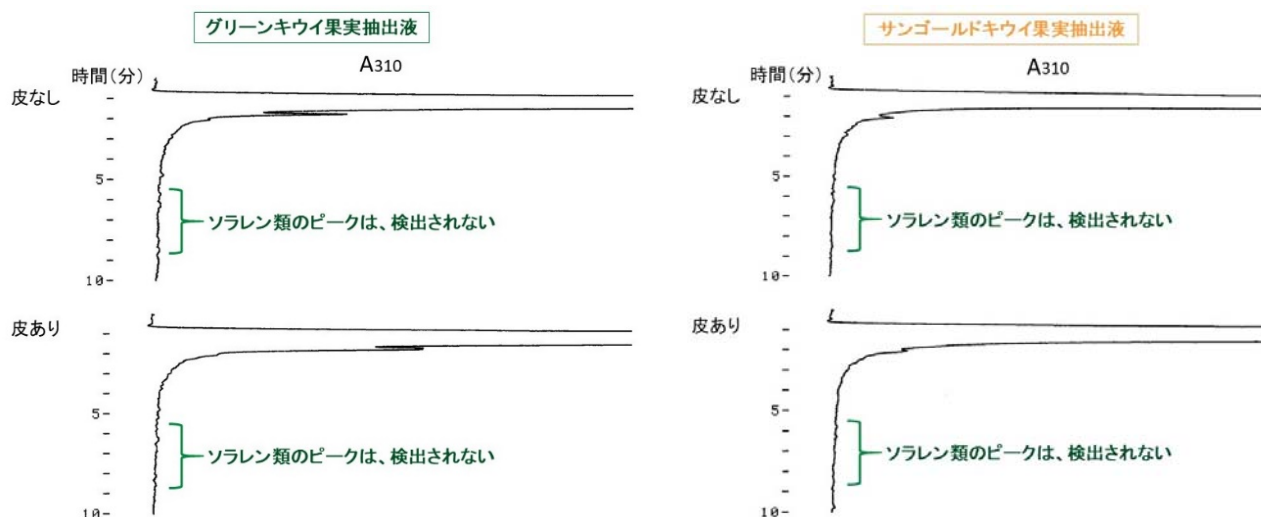


図 4 キウイフルーツ抽出液の HPLC 分析

#### (5) ソラレン等フロクマリン標品の回収率

キウイフルーツのピューレにあらかじめ一定量のフロクマリン標品を混合して、上記と同様に試料作製ならびに HPLC 分析を行った結果を、図 5 に示す。いずれの場合にも、それぞれの標品のピークが、明瞭に検出された。それぞれの検量線 (図 2) を用いて定量を行い、回収率を求めた結果を表 1 に示す。ソラレン、8-メトキシソラレン、5-メトキシソラレンおよびアンゲリシンの回収率は、それぞれ 86.2、84.8、95.6 および 86.2%であった。この中で最も小さな値である 84.8%を、以後の計算では用いることとする。

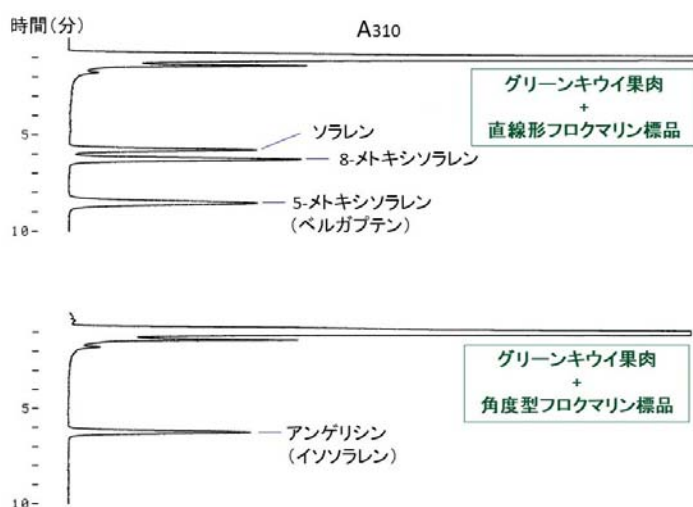


表 1 フロクマリン標品の回収率

標品	回収率(%)
ソラレン	86.2 $\pm$ 3.1 (n = 3)
8-メトキシソラレン	84.8 $\pm$ 3.0 (n = 3)
5-メトキシソラレン	95.6 $\pm$ 3.5 (n = 3)
アンゲリシン	86.2 $\pm$ 3.4 (n = 3)

図 5 HPLC 分析におけるフロクマリン標品の回収率



## (6) キウイフルーツ果実に含まれるソラレンの量

上記(4)において、キウイフルーツ抽出液に含まれるソラレン等の濃度は、0.025 µg/mL 未満であることが確かめられた。この値に抽出液の体積 2.0 (mL) を掛け、可食部 100 g 当りに換算するため  $100/2.5 = 40$  を掛けると、キウイフルーツ可食部 100 g 当たりのソラレン含量は、2.0 µg (0.0000020 g) 未満と計算される。回収率が 84.8%であることを考慮すると、可食部 100 g 当たり 2.36 µg 未満と算出される。

ソラレン類を経口摂取した時に、皮膚に影響を及ぼす用量については、15 mg 程度がその閾値になるとされている<sup>9)</sup>。また、尋常性白斑治療剤として用いられるオクソラレン (8-メトキシソラレン) の医薬品添付文書情報<sup>10)</sup>によれば、成人では 1 日に 20 mg を服用することとされている。安全のため、これらの値よりも小さい 10 mg の摂取によって皮膚に影響が出る可能性があるものとして計算すると、423.7 キログラム (約 4,237 個) のキウイフルーツを一度に食べても、ソラレンによる日焼けを心配する必要はないことになる。標準的な体重の 7 倍以上の質量のキウイフルーツを摂取しても皮膚に影響が出ないとなれば、通常感覚では「キウイフルーツ果実にはソラレンは含まれていない」と言って差し支えないレベルだと言える。しかも、多くの柑橘類とは異なり、外果皮からも検出されないため、皮ごと食べた場合や剥皮せずに加工品を製造した場合であっても、ソラレン類の光毒性を気にする必要はない。

本実験の結果は、「キウイフルーツがソラレンを多く含む」という情報が完全な誤りであり、またメディアが作り上げたフードファディズムであることを示した。この誤情報は、キウイフルーツの生産・流通・販売に関わる者にとっても、また消費者にとっても有害な情報である。キウイフルーツは、可食部 100 g 当たりグリーンキウイで 85 mg、サンゴールドキウイで 161 mg ものビタミン C を含み<sup>11)</sup>、極めてすぐれたビタミン C の供給源である。ありもしないソラレンの害を恐れて、キウイフルーツの摂取をためらうようなことがあれば、健康や美容上の大きな損失ともいえる。今後はこの誤った情報を正し、確かな情報を周知することが必要であろう。

## 4. 引用文献

- 1) Abramowitz, A.I. *et al.*: Margarita photodermatitis. *New Engl. J. Med.*, **328**, 891 (1993)
- 2) Sams, W.M.: Photodynamic action of lime oil (*Citrus aurantifolia*). *Arch. Dermatol. Syphilol.*, **44**, 571-587 (1941)
- 3) Melough, M.M. *et al.*: Identification and quantitation of furocoumarins in popularly consumed foods in the U.S. using QuEChERS extraction coupled with UPLC-MS/MS analysis. *J. Agric. Food Chem.*, **65**, 5049-5055 (2017)
- 4) Liunggren, B.: Severe phototoxic burn following celery ingestion. *Arch. Dermatol.*, **126**, 1334-1336 (1990)
- 5) 上原康男 他: 香料の光毒性について 一天然柑橘精油についての例一. *日本化粧品技術連合会誌*, **9**, 31-35 (1974)
- 6) 沢村正義 他: 精油中のフロクマリン類分析. *アロマセラピー学雑誌*, **17**, 39-47 (2016)
- 7) Hussein, A. and Shugaev, I.: Phototoxic response to *Ficus carica* leaf and shoot saps. *Isr. Med. Assoc. J.*, **14**, 399-400 (2012)
- 8) Innocenti, G. *et al.*: Determination of the coumarinic constituents of *Ficus carica* leaves by HPLC. *Farmaco Sci.*, **37**, 475-485 (1982)
- 9) Schlatter, J. *et al.*: Dietary intake and risk assessment of phototoxic furocoumarins in humans. *Food Chem. Toxicol.*, **29**, 523-530 (1991)
- 10) 「医療用医薬品: オクソラレン」[https://www.kegg.jp/medicus-bin/japic\\_med?japic\\_code=00005874](https://www.kegg.jp/medicus-bin/japic_med?japic_code=00005874) (2020)

年 9 月 21 日)

11) New Zealand FOODfiles™ 2018 Version 01