

杜仲葉を主原料とした健康食品中のゲニポシド酸及びカフェインの分析

誌名	食品衛生学雑誌
ISSN	00156426
著者	中里, 光男 小川, 仁志 牛山, 博文
巻/号	37巻6号
掲載ページ	p. 343-350
発行年月	1996年12月

報 文

杜仲葉を主原料とした健康食品中のゲニポシド酸 及びカフェインの分析

(平成8年4月24日受理)

中里光男* 小川仁志* 牛山博文*
小林千種* 只野敬子* 川合由華*
立石恭也* 田村行弘* 友松俊夫*

Analysis of Geniposidic Acid and Caffeine in Leaves of *Eucommia ulmoides* Used in Health Foods

Mitsuo NAKAZATO, Hitoshi OGAWA, Hirofumi USHIYAMA, Chigusa KOBAYASHI,
Keiko TADANO, Yuka KAWAI, Yukinari TATEISHI, Yukihiro TAMURA
and Toshio TOMOMATSU

(The Tokyo Metropolitan Research Laboratory of Public Health:
3-24-1, Hyakunin-cho, Shinjuku-ku, Tokyo 169, Japan)

An HPLC method was developed for the determination of geniposidic acid (GA) and caffeine (CF) in leaves of *Eucommia ulmoides* used in health foods. GA and CF in dried leaves were simultaneously extracted with water under reflux by heating. The extract was cleaned up with a C18 and ion-exchange type cartridge, then GA and CF were separated on an ODS column, with a UV detector (GA, 240 nm; CF, 275 nm). The recoveries of GA and CF added to samples were 94.2~94.7% and 90.4~96.7%, respectively. The determination limits of GA and CF in dried leaves were 10 µg/g, and those in beverage samples were 1 µg/g.

The GA and CF contents of 15 commercial samples were surveyed. The contents of GA in dried leaves of only *Eucommia ulmoides*, in mixtures of dried leaves of *Eucommia ulmoides* and others, and in beverage samples, were 290~1,500, 160~1,300 and 3.6~19 µg/g, respectively, while CF was only detected in the mixtures with leaves of green tea or oolong tea, at 2,100~9,800 µg/g.

(Received April 24, 1996)

Key words: 杜仲 *Eucommia ulmoides*; 杜仲茶 tea of leaves of *Eucommia ulmoides*; 緑茶 green tea; ウーロン茶 oolong tea; ゲニポシド酸 geniposidic acid; イリドイド iridoid; カフェイン caffeine; 高速液体クロマトグラフィー HPLC; 固相抽出 solid phase extraction; 健康食品 health food

緒 言

杜仲 (*Eucommia ulmoides*) はその樹皮が生薬として用いられ、その薬効は、主に降圧、利尿、鎮静作用といわれている¹⁾。また、近年、杜仲葉についても、降圧、利尿等の作用があることが報告され^{2), 3)}、その効果が注目されている。また、中国や韓国では古来より杜仲葉の

若葉を煎じて飲む風習があり、我が国においても10年ほど前から杜仲葉を乾燥加工した健康茶が商品化されている⁴⁾。

一方、近年の健康志向の高まりとともに種々の健康食品が登場しているが、その中で喫茶という行為の手軽さから、健康茶が一大ブームとなっている。特に平成5年にはこの杜仲茶がにわか人気商品となり、杜仲葉の供給が間に合わないほどの人気を呼んだ。そのため品質

* 東京都立衛生研究所: 〒169 東京都新宿区百人町 3-24-1

が劣るとされる落葉あるいは他の葉を代用しているのではないかという疑義が多数寄せられた。また、杜仲茶にはノンカフェインをうたった商品が多い一方、杜仲茶と称しながらウーロン茶や緑茶などの茶葉とブレンドしたのも多数販売されている。そのため、これら杜仲葉加工品の杜仲葉使用の真偽あるいは茶葉混合品との判別等について調査を行う必要が生じた。しかしながら、加工品から原料を判別することは非常に難しいので、著者らは杜仲葉中の代表的な成分を分析することによって、ある程度その評価ができるのではないかと考えた。また、それらの中の生理活性成分の含有量を把握する必要もある。

杜仲葉の成分については、Biancoら^{5),6)}、Hattoriら⁷⁾により、既に数種のイリドイド類、その他が確認されているが、近年、下山ら⁸⁾により新たにリグナン類の syringaresinol diglucoside 及び杜仲樹皮に含まれる主要生理活性成分であり、抗ストレス作用があるとの報告⁹⁾があるイリドイド類の geniposidic acid (GA) が確認された。また、杜仲葉に含まれるイリドイド類の主体は GA であることも確認されている⁹⁾。そこで、著者らは主要生理活性成分である GA と、ブレンド品では茶葉が副材料に使用されることが多いことに着目し、その代表成分であるカフェイン (CF) を分析対象に選んだ。CF には覚醒、強心、利尿作用があることはよく知られており、FDA はその摂取量の規制を行おうとしている¹⁰⁾。したがって、各種食品中の CF の含有量を把握することは食品衛生上意義のあることであると思われる。

そこでまず、著者らはこれら 2 成分の同時抽出法及び HPLC による定量法を確立し、次いで市販品の含有量調査を行い、杜仲葉使用の真偽及び茶葉等の混合使用の判別について検討した。その結果、いくつかの知見を得たので報告する。

実験方法

1. 試料

試料は平成 5 年 10 月から平成 6 年 2 月の間に東京都内で購入したものをを用いた。内訳は杜仲葉 100% 使用の表示のあるもの 5 社 5 製品、杜仲茶と称するがウーロン茶や緑茶あるいはその他の健康茶類とのブレンド品という表示のあるもの 5 社 5 製品 (以上はいずれも乾燥葉でティーバッグタイプ)、杜仲葉のエキスを顆粒状にしたもの 1 社 1 製品及び清涼飲料水タイプ 4 社 4 製品の計 15 検体である。

なお、分析条件を決定するために用いる杜仲茶の乾燥葉タイプの試料は、(株)中村カイロ協会販売の杜仲茶 (原産国: 中国, 杜仲葉 100% 使用) を、清涼飲料水タイプの試料としては、日立造船(株)販売のものをそれぞれ購入して使用した。また、茶葉は(株)伊藤園販売の緑茶 (煎茶) をを用いた。

2. 試薬

GA 標準溶液: ゲニポシド酸 (和光純薬工業(株)製、生薬試験用) 10 mg を正確に量り、水に溶解して 10 ml としたものを標準原液とし、これを段階的に希釈して標準溶液とした。

CF 標準溶液: カフェイン一水和物 (和光純薬工業(株)製、和光特級) 109 mg を水に溶解して 100 ml としたものを標準原液 (CF として 1.0 mg/ml) とし、これを段階的に希釈して標準溶液とした。

0.02 M 及び 0.05 M トリス-塩酸緩衝液: トリス(ヒドロキシメチル)アミノメタン 12.1 g を水 500 ml に溶解し、0.2 M 塩酸で pH 8.5 に調整した後、水で 1,000 ml としたものを原液 (0.1 M) とし、用時、水で 5 倍及び 2 倍に希釈した。

0.02 M リン酸緩衝液: リン酸一カリウム 13.6 g を水 500 ml に溶解し、0.2 M リン酸で pH 3.0 に調整した後、水で 1,000 ml としたものを原液 (0.1 M) とし、用時、水で 5 倍に希釈した。

前処理用カートリッジ: Varian 社製の Mega Bond Elut C18 (充てん量 5 g)、Mega Bond Elut SAX (充てん量 1 g) 及び SCX (充てん量 2 g) を用いた。これらのカートリッジは使用前にメタノール 10 ml、水 10 ml で洗浄し、更に、Mega Bond Elut C18 は 0.01% リン酸 10 ml、SAX は 0.02 M トリス-塩酸緩衝液 5 ml で洗浄して用いた。

メタノール及びアセトニトリルは HPLC 用を用いた。

その他の試薬は試薬特級を用いた。

3. 装置

高速液体クロマトグラフ: 日本分光工業(株)製 PU-980 型ポンプ、同 UV-970 型紫外外部吸収検出器、同 AS-950 型オートサンプラー、同 DG-980-50 型デガッサー、(株)島津製作所製 CTO-10AC 型恒温槽及び同 C-R6A 型データ処理装置により構成したものをを用いた。

4. 試料の調製

ティーバッグ中の乾燥葉及び顆粒はミキサーで粉末としたものを、また、清涼飲料水はそのままを試料として用いた。

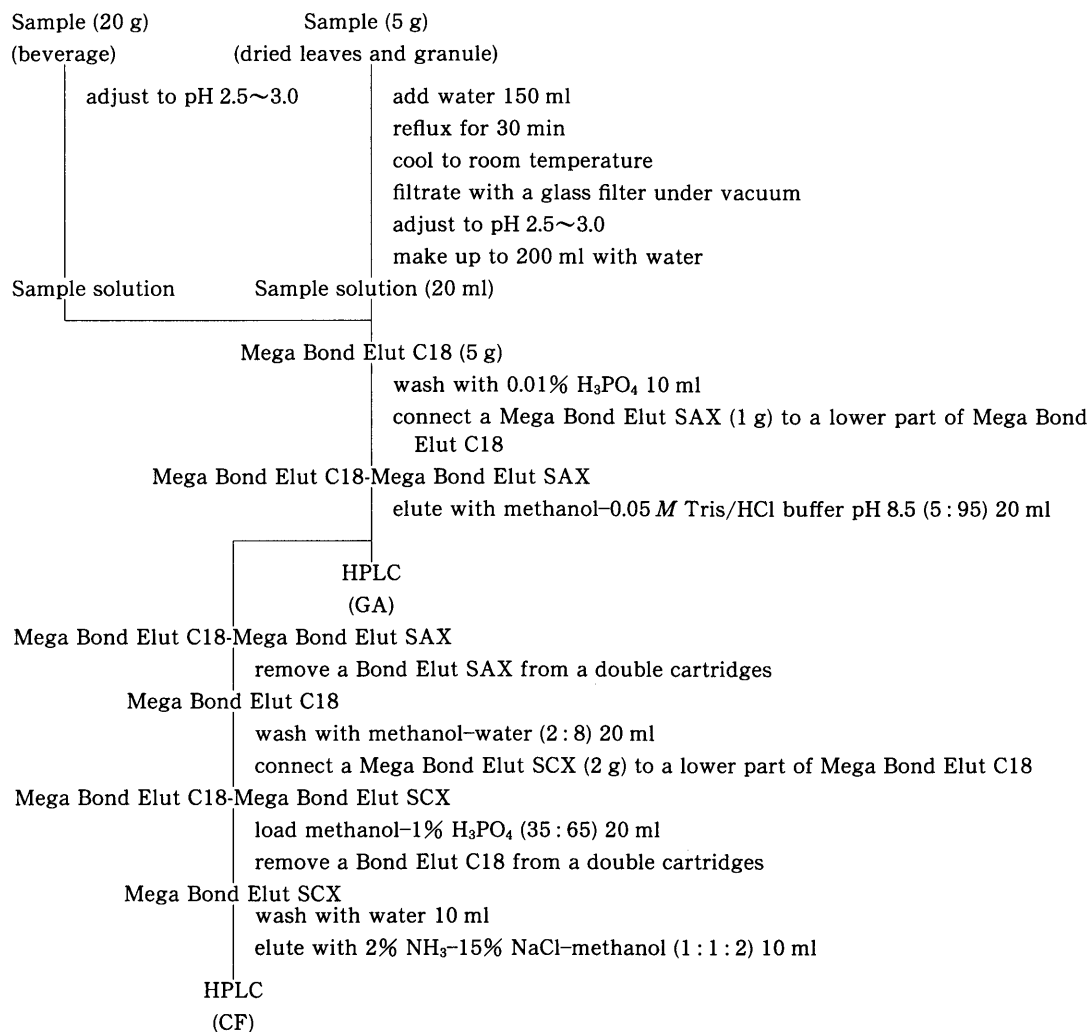
5. 試験溶液の調製

操作手順を Scheme 1 に示した。

1) 抽出及びクリーンアップ用試料の調製

乾燥葉及び顆粒: 試料 5 g をナス型フラスコに取り、これに水 150 ml 及び沸石を加え、直火にて 30 分間還流した。冷後、吸引ろ過し、更に残さを少量の水で洗い、ろ液を合わせた。得られたろ液はリン酸で pH を 2.5~3.0 の間に調整した後、水を加えて 200 ml にメスアップした。これをクリーンアップ用の試料溶液とした。

清涼飲料水: 試料 20 g を取り、リン酸で pH を 2.5~3.0 の間に調整したものをクリーンアップ用の試料溶



Scheme 1. Analytical procedure for GA and CF in sample

液とした。

2) クリーンアップ

乾燥葉及び顆粒のクリーンアップ用試料の場合はその20 mlを、清涼飲料水の場合は試料溶液の全量を Mega Bond Elut C18 カートリッジに負荷した後、0.01% リン酸 10 ml を用いてカートリッジを洗浄した。次いでこのカートリッジの溶出口に Mega Bond Elut SAX カートリッジを接続して二段カートリッジとした後、メタノール-0.05 M トリス-塩酸緩衝液 (pH 8.5) (5 : 95) 混液を負荷し、この溶出画分 20 ml を分取して GA 分析のための HPLC 用試験溶液とした。

次に、二段カートリッジから SAX カートリッジを取り去り、残った C18 カートリッジにメタノール-水 (2 : 8) 混液 20 ml を負荷して洗浄した後、この C18 カートリッジの溶出口に Mega Bond Elut SCX カートリッジ

を接続した。これにメタノール-1% リン酸 (35 : 65) 混液 20 ml を負荷した後、上部の C18 カートリッジを取り去った。次いで残った SCX カートリッジに水 10 ml を負荷して洗浄した後、2% アンモニア水-15% 塩化ナトリウム溶液-メタノール (1 : 1 : 2) 混液を負荷し、溶出液の全量を 10 ml としたものを CF 分析のための HPLC 用試験溶液とした。

6. HPLC 条件

GA: カラム, Inertsil ODS-2 (ジューエルサイエンス (株) 製, 5 μ m, 4.6 mm i.d. \times 250 mm); 移動相, アセトニトリル-0.1% リン酸 (7 : 93) 混液; 流速, 1.0 ml/min; 検出, UV 240 nm; カラム温度, 40°C; 注入量, 10 μ l.

CF: カラム, Cosmosil 5C18-AR (ナカライテスク (株) 製, 5 μ m, 4.6 mm i.d. \times 250 mm); 移動相, アセ

トニトリル-0.02 M リン酸緩衝液 (1:9) 混液; 流速, 1.0 ml/min; 検出, UV 275 nm; カラム温度, 40°C; 注入量, 10 μ l.

結果及び考察

1. 抽出

下山ら⁸⁾は杜仲葉中の GA をメタノールによる加熱還流によって抽出しているが、著者らは加工品中の CF の分析も同時に行う必要があるため両者を効率よく抽出するための最適条件について検討した。抽出溶媒としては水、メタノールの他に GA は酸性物質、CF は塩基性物質であるので塩酸、リン酸及び水酸化ナトリウムの各溶液を用いて検討した。すなわち、杜仲葉と茶葉の混合物の粉末各 5 g に水、メタノール、0.1 及び 1 N 塩酸、1% リン酸、0.1 及び 1 N 水酸化ナトリウム溶液を加えて各々 30 分間加熱還流し、抽出量を比較した。

その結果、GA の抽出量は水、メタノール、0.1 N 及び 1 N 水酸化ナトリウム溶液ともほぼ同程度であったが、1% リン酸を用いた場合は前 4 者の 85% 程度、0.1 N 塩酸では 60% 程度であり、1 N 塩酸では全く抽出されなかった。これは GA が塩酸酸性下で分解されたためと思われる。

一方、CF は、水、メタノール、0.1 N 及び 1 N 塩酸とも同程度の抽出量であったが、0.1 N 及び 1 N 水酸化ナトリウム溶液での抽出量は前 4 者の 10~20% 程度であった。これは強アルカリ条件下で CF が分解したものであると思われる。したがって、両者を効率よく抽出するための溶媒は水あるいはメタノールが適当であることが分かった。そこで、この両者を比較した場合、水抽出したものの方が以後の固相抽出によるクリーンアップ操作が比較的簡便に行えるので、抽出溶媒は水とすることにした。

なお、GA 及び CF は水による 1 時間の加熱還流では分解、揮散などの現象は認められず安定であった。

還流時間については杜仲葉及び茶葉の粉末試料について 5 分~3 時間加熱還流して検討した。その結果、GA 及び CF の抽出量は Fig. 1 に示したようにすでに 10 分ではほぼ最高値に達しており、以後もほぼ同程度であったので還流時間は個体間のばらつきを考慮し、30 分とした。

2. クリーンアップ

杜仲葉と茶葉等のブレンド品、特に多種の健康茶類とのブレンド品からの抽出液は GA 及び CF 以外の夾雑物が極めて多く、逆相系の Bond Elut C18 カートリッジのみのクリーンアップではほとんど定量することができなかった。そこで、クリーンアップ効果を高めるために逆相系とイオン交換系のカートリッジを組み合わせで検討した。

(1) C18 カートリッジによるクリーンアップ

C18 カートリッジは試料溶液中のエキス含量が多い

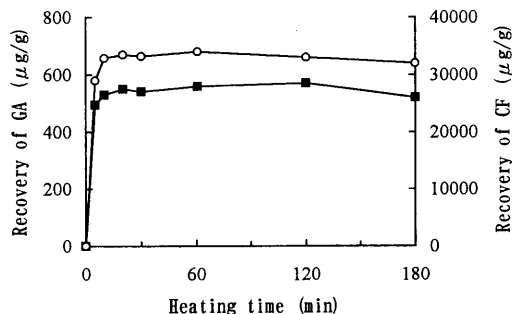


Fig. 1. Effect of heating time on the recoveries of geniposidic acid and caffeine under reflux

—■—: geniposidic acid, —○—: caffeine

ために 5 g のものを使用した。

まず、C18 カートリッジに試料溶液を負荷するに際し、GA 及び CF を効率良く保持させるための試料溶液の pH 条件について検討した。その結果、酸性物質である GA は pH 4 以下でカートリッジに完全に保持され、また、塩基性物質である CF も pH 2.5~4 の間でも保持されたことから C18 カートリッジに負荷する前に試料溶液の pH をリン酸で 2.5~3.0 の間に調整することとした。

次いで C18 カートリッジからの GA の溶出条件について検討した。GA は溶出液の pH を中性付近として解離型とすることで、すなわち、pH 8.5 のトリス-塩酸緩衝液のみでも溶出可能であり、夾雑物との分離効果も大きかった。しかしながら、トリス-塩酸緩衝液のみでは溶出液量が 30 ml 程度となるため、溶出促進のために若干のメタノールを添加することとした。そこで、溶出液の組成をメタノール-0.05 M トリス-塩酸緩衝液 (pH 8.5) (5:95) 混液として GA を溶出したところ、ほぼ 12 ml で溶出した。しかし、本溶媒はそのまま次の SAX カートリッジからの溶出液ともなるので SAX カートリッジからの GA の溶出を完全に行うために溶出液量は 20 ml とした。

次に C18 カートリッジ中に残存する CF は、メタノール-水 (2:8) 混液 20 ml でカートリッジを洗浄した後、メタノール-1% リン酸 (35:65) 混液で溶出した。溶出液量は 16 ml までにはほぼ CF の全量が溶出したので 20 ml とした。

以上、C18 カートリッジによるクリーンアップによって GA と CF とを 2 分画に分けた結果、それぞれ夾雑物を大幅に除去することができたが、HPLC のクロマトグラム上には、なおそれぞれのピークの前後に夾雑ピークが出現し、定量の困難な場合があった。そこで、これら夾雑物を除去するために、更にイオン交換カートリッジで精製することとした。

(2) イオン交換カートリッジによるクリーンアップ

GA分画のさらなるクリーンアップには、Mega Bond Elut SAX カートリッジを、CF分画のクリーンアップには Mega Bond Elut SCX カートリッジを用いた。

C18 カートリッジから溶出した GA 分画の溶媒はメタノール-0.05 M トリス-塩酸緩衝液 (pH 8.5) (5:95) 混液であるので GA は陰イオン型になっていると考えられ、SAX カートリッジへの保持には最適であると考えられた。しかし、GA は本条件ではほとんど保持されず、そのまま溶出した。これはトリス-塩酸緩衝液中の塩化物イオンが競合するために、GA がほとんど保持されないためと考えられる。しかしながら、他の夾雑物の大部分は SAX カートリッジに保持され、結果的に GA がカートリッジを通過するだけでも極めてクリーンアップ効果が大きいことが分かった。そこで、C18 カートリッジから溶出した GA 分画はそのまま連続して SAX カートリッジに負荷することとした。すなわち、試料溶液を負荷し、更に 0.01% リン酸で洗浄した後の C18 カートリッジの溶出口に SAX カートリッジを連結して 2 段式とし、これに GA の溶出液であるメタノール-0.05 M トリス-塩酸緩衝液 (5:95) 混液 20 ml を負荷し、その溶出画分を GA 用の HPLC 試験溶液とすることとした。

一方、C18 カートリッジから溶出した CF 分画は溶媒がメタノール-1% リン酸 (35:65) 混液であるので CF

は陽イオン型となっていると考えられた。そこで、溶出液をそのまま SCX カートリッジに負荷したところ、CF は完全に保持されることが分かった。したがって、C18 カートリッジから溶出した CF 分画は連続して SCX カートリッジに負荷することとした。すなわち、GA を溶出させた後の C18 と SAX の二段カートリッジから SAX カートリッジを取り去り、残った C18 カートリッジをメタノール-水 (2:8) 混液で洗浄した後、C18 カートリッジの溶出口に新たに SCX カートリッジを接続して再び二段式とした。これにメタノール-1% リン酸 (35:65) 混液を負荷し、C18 カートリッジからの CF の溶出と SCX カートリッジへの CF の保持を連続で行うこととした。

SCX カートリッジからの CF の溶出は、守安らの方法¹¹⁾に従った。すなわち、SCX カートリッジを水 10 ml で洗浄した後、2% アンモニア水-15% 塩化ナトリウム溶液-メタノール (1:1:2) 混液で CF を溶出した。その結果、先に HPLC のクロマトグラム上に出現した夾雑ピークのほとんどを除去することができた。なお、SCX カートリッジは茶葉中の CF 含有量が多いのでイオン交換当量の多いものを使う必要があり、充てん量 2 g のものを使用した。

以上、逆相系 C18 カートリッジとイオン交換系のカートリッジの組み合わせは、極めてクリーンアップ効果が大きいことが分かった。

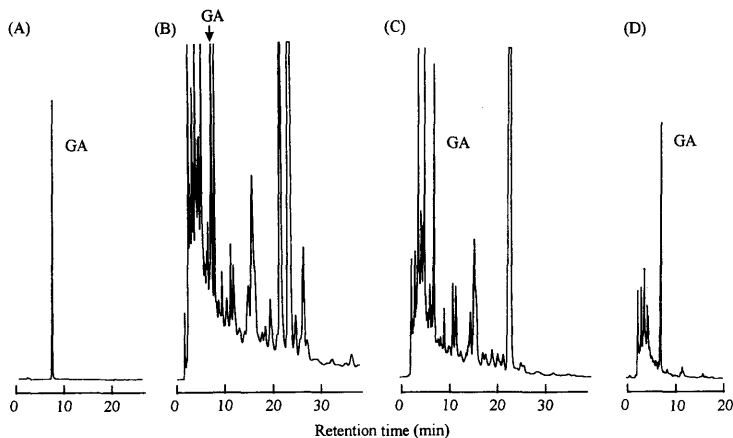


Fig. 2. Chromatograms of geniposidic acid in water extract without and with C18 and SAX cartridge treatment

(A): geniposidic acid standard (5 μ g/ml)

(B): water extract

(C): with C18 cartridge treatment

(D): with C18 and SAX cartridge treatment

Sample was mixture of dried leaves of *Eucommia ulmoides*, green tea and some wild grasses.

HPLC conditions, column: Inertsil ODS-2 (5 μ m, 4.6 mm i.d. \times 250 mm); mobile phase: acetonitrile-0.1% phosphoric acid (7:93); flow rate: 1.0 ml/min; detection: UV 240 nm; column temp.; 40°C

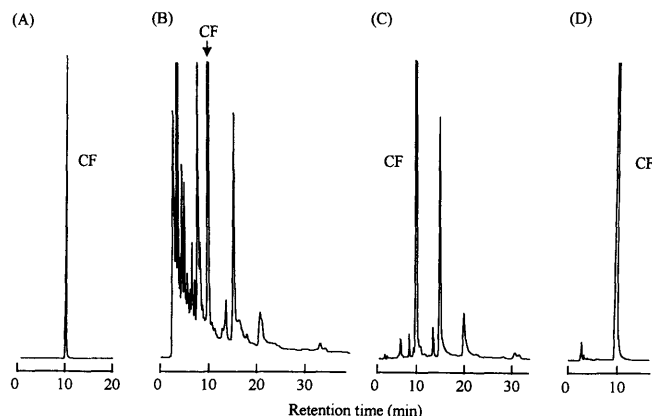


Fig. 3. Chromatograms of caffeine in water extract without and with C18 and SCX cartridge treatment

- (A): caffeine standard (100 µg/ml)
 (B): water extract
 (C): with C18 cartridge treatment
 (D): with C18 and SCX cartridge treatment

Sample was mixture of dried leaves of *Eucommia ulmoides*, green tea and some wild grasses.

HPLC conditions, column: Cosmosil 5C18-AR (5 µm, 4.6 mm i.d.×250 mm); mobile phase: acetonitrile-0.02 M phosphate buffer pH 3.0 (1:9); flow rate: 1.0 ml/min; detection: UV 275 nm; column temp.; 40°C

Fig. 2 に GA, Fig. 3 に CF について, ブレンド品の水抽出物(T-7)を C18 及びイオン交換カートリッジで処理した際のクリーンアップの効果をクロマトグラムで示した。

3. HPLC 条件

(1) GA

GA の HPLC による分析はカラムに逆相系の Inertsil ODS-2 を用い, イオン抑制法によって行った。そこでまず, 移動相の pH が GA のカラムへの保持に及ぼす影響について検討した。移動相組成としてはアセトニトリル-水(7:93)混液を用い, 混液の pH をリン酸と水酸化ナトリウム溶液を用いて 2~6 に調整したものについて比較検討した。

GA の保持時間は pH 6 で 3.0 分, pH 5 では 4.5 分であり, ピークの形状もややブロードであった。pH 4 以下では保持時間の変化はほとんどなく, pH 4 で 6.3 分であり, また, ピークの形状もシャープであり, 夾雑ピークの影響を受けなかった。そこで, 移動相の組成は pH 2.5 付近を示すアセトニトリル-0.1% リン酸(7:93)混液とすることにした。本条件による 1 試料の HPLC の分析時間は 15 分であった。

検出波長は GA の極大吸収波長である UV 240 nm とした。なお, 検量線は 1~100 µg/ml の範囲で原点を通る直線性が得られ, 検出限界は清涼飲料で 1 µg/g, 乾燥葉で 10 µg/g であった。

(2) CF

CF の HPLC による分析は守安らの方法¹¹⁾に準じた。

検量線は 1~500 µg/ml の範囲で原点を通る直線性が得られ, 検出限界は清涼飲料で 1 µg/g, 乾燥葉で 10 µg/g であった。

4. 添加回収実験

杜仲葉及び煎茶の各粉末試料に GA を 1,000 µg/g, CF を 5,000 µg/g, 杜仲茶の清涼飲料水に GA を 50 µg/g, CF を 250 µg/g 添加し, 本法に従い添加回収実験を行った。結果を Table 1 に示した。

GA の回収率は杜仲葉で 94.7%, 煎茶で 94.5%, 清涼飲料水で 94.2% であり, CF は杜仲葉で 93.9%, 煎茶で 90.4%, 清涼飲料水で 96.7% であった。標準偏差は GA で 1.3~4.1, CF で 2.0~8.0 であった。

5. 市販品の含有量調査

本法に従って市販品の含有量調査を行い, 結果を Table 2 に示した。

GA はすべての試料から検出された。そのうち杜仲葉 100% 使用の表示のあるもの 5 検体からは 290~1,500 µg/g (平均 900 µg/g) 検出された。緑茶あるいはウーロン茶との混合茶では 500~1,300 µg/g (平均 840 µg/g) 検出され, 杜仲葉 100% 使用の表示のあるものと大差のない結果であった。茶葉及びその他複数の野草類とのブレンド茶では 160 及び 200 µg/g であり, 上記 2 者より低い傾向があった。また, 杜仲葉の抽出エ

Table 1. Recoveries of Geniposidic Acid and Caffeine Added to Samples

Sample	Recovery (%)	
	Geniposidic acid	Caffeine
Leaves of <i>Eucommia ulmoides</i>	94.7±4.1	93.9±2.0
Leaves of green tea	94.5±1.3	90.4±8.0
Beverage ¹⁾	94.2±2.2	96.7±2.9

Values are mean±SD (n=3)

Leaves of *Eucommia ulmoides* and leaves of green tea were spiked with 1,000 µg/g of geniposidic acid and 5,000 µg/g of caffeine.

Beverage was spiked with 50 µg/g of geniposidic acid and 250 µg/g of caffeine.

¹⁾ Beverage was tea exuded from leaves of *Eucommia ulmoides*

キスを顆粒にしたものでは 1,400 µg/g であり、清涼飲料水では 3.6~19 µg/g (平均 10 µg/g) であった。これらはいずれも杜仲葉のみ使用の表示があった。

下山ら⁸⁾は杜仲葉中の GA 含有量を産地、収穫時期、保存期間について検討している。その中で産地別含有量には大きな差はなく、むしろ収穫時期、保存期間による差の方が大きいと報告している。すなわち、GA 含有量は夏葉に最も多く、秋葉では 1/4 程度に低下する。更に、収穫後の含有量変化が極めて大きく、加熱処理を行わない場合、保存期間が長期にわたると GA が酵素によって分解され GA 含有量が極端に低下すると述べている。これらを本調査の結果と比較した場合、杜仲葉 100% のものの平均値は下山ら⁸⁾の秋収穫の産地別含有量の約 1/2 程度であった。また、本調査の中で杜仲葉 100% 使用と称するものの中で GA 含有量が他と比較してかなり低いもの (290 µg/g) があった。これは収穫時期が遅かったか、あるいは加熱処理が行われずに長期間経過した原料が用いられたためと思われるが、他の材料が混合されている可能性も否定できない。更に検討する必要がある。また、複数の野草とブレンドしたものの含有量は他と比較してかなり低かったが、これは原材料の配合種類が多いことから杜仲葉そのものの配合率が低いためと思われる。

CF は 5 検体から 2,100~9,800 µg/g (平均 8,000 µg/g) 検出されたが、この平均値は一般的な緑茶あるいはウーロン茶の CF 含有量の約 1/4~1/3 に相当する^{12)~14)}。従って、平均値前後検出されたものの茶葉混合割合は 25~35% 程度と推定される。また、CF が検出されたものはいずれも副原料に茶葉使用の表示があるブレンド品であった。このうち 3 検体はブレンド品と分かる商品名であったが、2 検体は杜仲茶という品名であった。このように杜仲葉 100% 使用の表示でノンカフェインをうたった商品がある一方で、同一名称であっても一部の商品が茶葉とのブレンド品であることが分かった。

なお、ブレンド品については茶葉以外で使用表示の

Table 2. Contents of Geniposidic Acid and Caffeine in Health Foods Using Leaves of *Eucommia ulmoides*

Sample No.	Geniposidic acid (µg/g)	Caffeine (µg/g)
T-1* ¹	1,200	ND
T-2* ¹	540	ND
T-3* ¹	1,500	ND
T-4* ¹	290	ND
T-5* ¹	970	ND
T-6* ²	720	9,700
T-7* ²	1,300	9,800
T-8* ³	500	9,000
T-9* ⁴	200	2,100
T-10* ⁴	160	9,200
T-11* ⁵	1,400	ND
T-12* ⁶	19	ND
T-13* ⁶	10	ND
T-14* ⁶	7.8	ND
T-15* ⁶	3.6	ND

ND: Not detected

*¹ Unitary sample

*² Mixture with leaves of green tea

*³ Mixture with leaves of oolong tea

*⁴ Mixture with leaves of green tea and some wild grasses

*⁵ Granule of extract and powder

*⁶ Canned beverage

あった紫蘇葉、柿の葉、はと麦、大麦などについて、別途、単品を購入して GA 及び CF の有無について検討し、いずれも含有されていないことを確認した。

以上のように GA は杜仲茶試料のすべてから検出され、少なくとも杜仲葉使用の真偽については確認することができた。しかし、使用割合についての判定は杜仲葉中の GA 含有量の季節変化が大きく、また、酵素による分解などの要素もあるため、GA のみの分析では限界があり、その他の指標成分を検索するか、形態的な判別手段を加味する必要があると思われる。しかしながら、

GA の分析は判定の際の一助にはなるものと考えられる。また、CF は茶葉混合の表示のあるもののみから検出されたが、CF は中枢興奮作用等があり、茶葉使用の有無についてはよく確認する必要があると思われる。

ま と め

1) 杜仲葉を主原料とする加工品中の GA 及び CF の分析法について検討するとともに、市販品の含有量調査を行った。

2) 試料中の GA 及び CF は熱水で抽出した。クリーンアップは、C18 カートリッジによって GA と CF を分別し、更に GA 分画については SAX, CF 分画は SCX カートリッジに連続して負荷する二段カートリッジ方式で行った。

3) GA 及び CF の定量は HPLC によって行った。

4) 市販品の含有量調査の結果、GA は杜仲葉使用の表示のあるすべての試料から検出された。また、CF は 5 検体から検出されたが、これらは副材料に茶葉が用いられているものであった。杜仲葉及び茶葉についての原料表示は、本調査の結果と一致した。

文 献

- 1) 上海科学技術出版社・小学館編：“中薬大辞典” Vol. 3, p. 1,964~1,966 (1985) 小学館。
- 2) 野村靖幸, 金子周司, 北村佳久, 栗田道久, 難破恒雄, 服部征雄, 葉 加南: 和漢医薬学会誌 3, 328~329 (1986).
- 3) 難破恒雄, 服部征雄, 葉 加南, 馬 永華, 野村靖幸, 金子周司, 北村佳久, 小泉 保, 片山和憲, Weo Lu: 同上 3, 89~97 (1986).
- 4) 吉積智司, 伊藤 汎, 太田明一, 田村 力: “新食品開発用素材便覧” p. 462~467 (1991) 光琳。
- 5) Bianco, A., Lavarone, C., Trogolo, C.: Tetrahedron 30, 4,117~4,121 (1974).
- 6) Bianco, A., Bonin, C. C., Lavarone, C., Trogolo, C.: Phytochemistry 21, 201~203 (1982).
- 7) Hattori, M., Che, Q-M., Gewali, M. B., Nomura, Y., Tezuka, Y., Kikuchi, T., Namba, T.: Shoyakugaku Zasshi 42, 76~80 (1988).
- 8) 下山明美, 山抱基純, 中沢慶久, 矢原正治, 野原稔弘: 生薬学雑誌 47, 56~59 (1993).
- 9) 今井孝司, 貴志豊和, 井上博之, 西山信好, 斉藤 洋: 薬誌. 108, 572~585 (1988).
- 10) Barone, J. J., Roberts, H. R.: Fd. Chem. Toxic. 34, 119~129 (1996).
- 11) 守安貴子, 斉藤和夫, 中里光男, 石川ふさ子, 藤沼賢司, 二島太一郎, 田村行弘: 食衛誌. 37, 14~19 (1996).
- 12) 科学技術庁資源調査会編: “四訂日本食品標準成分表” p. 272~277 (1982) 大蔵省印刷局。
- 13) 寺田久屋, 鈴木晃世, 田中治夫, 山本勝彦: 食衛誌. 33, 347~354 (1992).
- 14) 守安貴子, 斉藤和夫, 中里光男, 石川ふさ子, 藤沼賢司, 二島太一郎, 田村行弘: 同上 37, 59~63 (1996).