

TLC 法及び HPLC 法による, いわゆる健康食品に含有されるアロエ種の判別

塩田 寛子*, 瀬戸 隆子*, 浜野 朋子*,
中嶋 順一*, 上村 尚*, 安田 一郎*

Identification of Aloe Species in Health Foods by TLC and HPLC Analysis

Hiroko SHIODA*, Takako SETO*, Tomoko HAMANO*,
Junichi NAKAJIMA*, Hisashi KAMIMURA* and Ichirou YASUDA*

The juice and the integument of leaves of 3 Aloe species, *Aloe vera*, *A. ferox*, and *A. africana*, are not allowed for use as food according to the Pharmaceutical Affairs Law in Japan. On the other hand, whole leaves of *A. arborescens* can be used as food. The present study was designed to distinguish Aloe species by TLC and HPLC analysis. By comparison of the characteristic TLC spots or HPLC peaks, it was possible to distinguish the 4 species. Thus, the botanical species of Aloe in commercial health food products can be identified by TLC and HPLC analysis.

Keywords : アロエ Aloe, TLC, HPLC, アロエベラ *Aloe vera*, アロエフェロックス *Aloe ferox*, アロエアフリカーナ *Aloe africana*, キダチアロエ *Aloe arborescens*, 健康食品 health foods

緒 言

昨今, 健康の維持・増進や不足しがちな栄養の補給, 疲労・体力の回復を目的とした, いわゆる健康食品や栄養補助食品(サプリメント)が人気を集めている。そうした中, 体に良い物というイメージでアロエを含む製品も多く存在する。従来, アロエ属植物は, 医薬品・民間薬に用いられてきた。そして現在, 食品と医薬品とで使用してよい植物種が異なるため, 薬事法¹⁻³⁾上, 食品原料種の判別が必要になっている。

食品として利用してはいけないアロエは, *Aloe vera*, *A. ferox*, 及び *A. africana* の葉汁及び外皮である。これら 3 種も果肉部分は, 食品として利用できる。一方, アロエの茶剤や全葉の粉末他として日本で市販されているものは, 主にキダチアロエ *A. arborescens* を原料としたものである。アロエの加工品の成分については, 様々な報告があり^{4,5)} キダチアロエの指標成分として, アロエニンが報告されている⁶⁾。しかしアロエニンのみの確認では, 他のアロエが混合されているか否か確認できず, 前述 3 種のアロエの存在を確認できる指標が必要となる。アロエの成分についての分析は広く行われているが, 食品に使用してはいけない *A. vera*, *A. ferox*, 及び *A. africana* の外皮と *A. arborescens* とを識別する報告がない。そこで, 改めて薄層クロマトグラフィー(TLC 法)及び高速液体クロマトグラフィー(HPLC 法)による 4 種アロエの判別法を検討したところ, 有用な知見を得たので報告する。

実験の部

1. 実験方法

1) 試料: 当センター薬用植物園で栽培している(1)~(4)のアロエ 4 種を標準植物とし, 2000 年に採取した葉の乾燥物を試料とした。試料(1)については, 市販鉢植え品, 都立夢の島熱帯植物園及び新宿御苑で採取し, 乾燥した葉も用いた。いわゆる健康食品では, アロエの含有を表示してある茶剤(6)-a,b 及びタブレット錠加工品(6)-c,d 各々 2 種を試料とした。

(1) *Aloe arborescens*

(2) *A. vera*

(3) *A. ferox*

(4) *A. africana*

(5) 日本薬局方(JP 品)アロエ末; 森川久薬品(株)製

(6) 茶剤; a, 1996 年に都内薬店にて購入。

b, 2000 年に都内デパートにて購入。

タブレット; c, d とともに 2000 年に都内薬店にて購入。

2) 試薬

(1) バルバロイン標準品 和光純薬(株)製

(2) アロエエモジン EXTRASYNTHESSE S.A. 製

(3) アロエシン アロイン(ナカライテスク(株)製)より分離・精製したもの

(4) TLC 板 Merck 社製, Kieselgel 60 F₂₅₄

(5) FAST BLUE B 和光純薬(株)製

上記以外の溶媒等は特級品を用いた。

* 東京都健康安全研究センター 169-0073 東京都新宿区百人町 3-24-1

* Tokyo Metropolitan Institute of Public Health

3-24-1, Hyakunin-cho, Shinjuku-ku, Tokyo 169-0073 Japan

3) 装置

- (1) 粉砕器 HEIKO SAMPLE MILL (平工製作所製)
 (2) HPLC Millennium 32 HPLC System(Waters社製)

4) 試料の調製

TLC 試料: 粉砕機を用いて粉末にした乾燥試料あるいは加工品にメタノールを加え, 超音波抽出を 30 分間行った。抽出液を遠心分離 (3000rpm, 5 分間) した後, その上澄み液を取り, 減圧下濃縮したものを TLC 試料とした。

HPLC 法: 粉末にした乾燥試料あるいは加工品にメタノール 45mL を加え, 超音波抽出を 30 分間行った後, メタノールで正確に 50mL とした。その溶液の一部を取り, 0.45 μm のフィルターに通して HPLC 試料とした。

5) TLC 条件

TLC 板: Kieselgel 60 F₂₅₄

展開相: 1-ブタノール / 水/酢酸 (7:2:1)

検出: UV(254nm,366nm),Fast Blue B 試薬

アニスアルデヒド・硫酸試薬, 希硫酸

6) HPLC 条件

カラム: TSKgel ODS-120T 4.6mm i.d. x 250mm,

移動相: 15%-50% アセトニトリル/水(グラジエント)

カラム温度: 42

流速: 1mL/min

検出: Photodiode Array (210-400nm)

結果及び考察

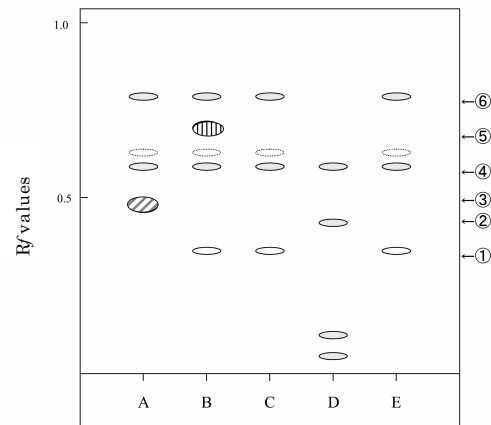


Fig.1 TLC of the Extracts from Leaves of Various Aloe and JP Grade Aloe

Samples: A; *Aloe arborescens*, B; *A. vera*, C; *A. ferox*, D; *A. africana*, E; JP grade, Spots: ① ○; pale white fluorescence (at 366nm), ② ○; orange fluorescence (at 366 nm), ③ ○; red (sprayed anisaldehyde reagent and heating), ④ ○; orange fluorescence (at 366 nm), ⑤ □; red (sprayed Fast Blue B reagent), ⑥ ○; orange fluorescence (at 366 nm) aloe-emodin, ○; darkness (at 254 nm)
 Operating conditions: TLC plate; Kieselgel 60 F₂₅₄ (Merck), developing solvent; n-butanol / H₂O / acetic acid (7:2:1), long; 10 cm

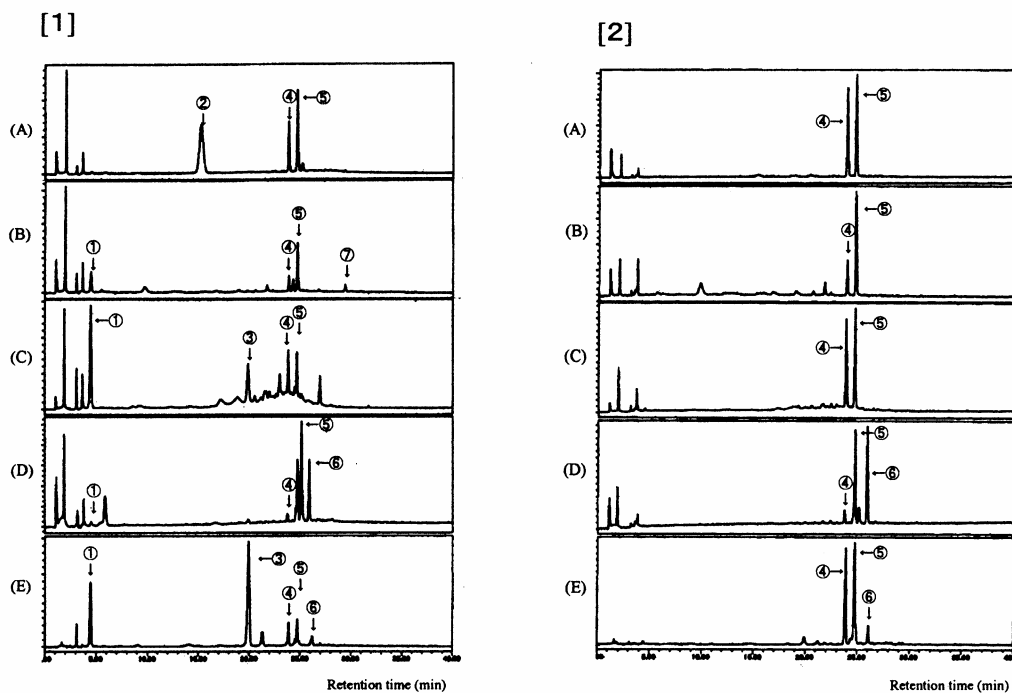


Fig.2 HPLC Chromatograms of the Extracts from Leaves of Various Aloe and JP Grade Aloe

[1]: chromatograms at 300nm, [2]: chromatograms at 360 nm

Samples: (A); *Aloe arborescens*, (B); *A. vera*, (C); *A. ferox*, (D); *A. africana*, (E); JP grade, Peaks: ①; aloesin, ②; aloenin, ③; unknown, ④; isobarbaloin, ⑤; barbaloin, ⑥, ⑦; unknown

TLC を行ったところ (Fig.1.) JP 品, *A. vera*, *A. ferox*, について R_f 値 0.4 付近に 366nm の紫外線を照射すると青白色の蛍光を, FAST BLUE B 試薬で橙色を示すスポットを確認したが, *A. arborescence* には検出されなかった. スポットはアロエシン⁷⁾と判明し, HPLC でも妨害なく確認できた (Fig.2. [1] ピーク). なお, HPLC クロマトグラム上では, *A. arborescence* についてアロエシンを確認しないか, あるいは確認してもわずかであった. *A. africana* のみ TLC 上, R_f 値 0.4 付近に, 366nm の紫外線を照射すると橙色となるスポットを確認した. (Fig.1.) また, *A. africana* は HPLC クロマトグラム上 26 分付近に, バルバロインに類似した UV 吸収パターンを示すピーク (Fig.2. [1][2] ピーク) を確認した. このピークは局方品にも認められた. *A. vera* のみ TLC 上 R_f 値 0.7 付近に 254nm の紫外線を照射すると暗色になり, FAST BLUE B 試薬で淡紅色, 希硫酸噴霧・加熱後 366nm の紫外線照射により青色を呈するスポット (Fig.1.) を確認した. このスポットは HPLC クロマトグラム (Fig.2. [1] ピーク) と一致し, 岡村ら⁷⁾の文献上の UV 吸収値から, これは Aloeresin E と推定した. *A. ferox* 及び JP 品には, HPLC クロマトグラム上 (Fig.2. [1]) ピーク を確認した.

薬用植物園のアロエ種間で認められた差は, 市販鉢植え品, 都立夢の島熱帯植物園及び新宿御苑で採取した新鮮葉のアロエにも同様に認められた.

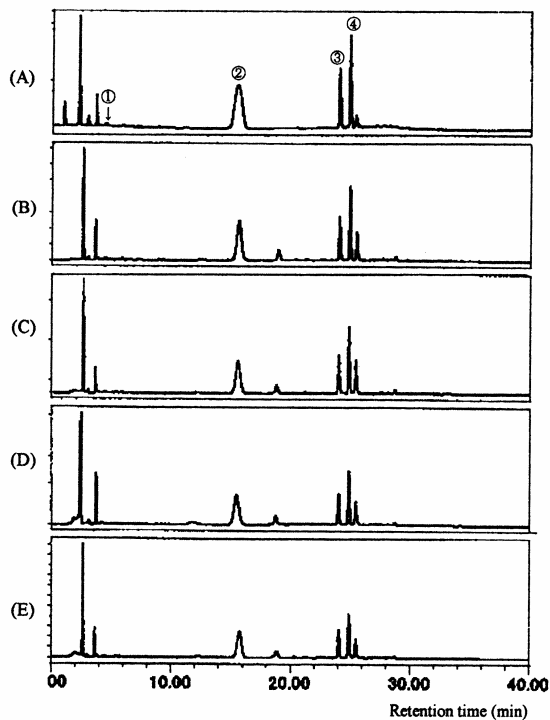


Fig.3 HPLC Chromatograms at 300nm of the Extracts from Commercial Products Containing Aloe

Samples : (A) ; Aloe arborescens, (B) ; tea-a, (C) ; tea-b, (D) ; tablet-c, (E) ; tablet-d
Peaks : ①; aloesin, ②; aloenin, ③; isobarbaloin, ④; barbaloin

以上より, *A. arborescence* のみで, 他のアロエ 3 種が混在しない場合は, アロエニン (Fig.1.及び 2.) が確認でき, かつ TLC 上でスポット, , 及び HPLC クロマトグラム上でピーク, を確認しないと考えられる.

更に, 本法をアロエ含有のいわゆる健康食品について試みたところ, TLC 法及び HPLC 法ともに *A. arborescence* と同様の結果が得られた. Fig.3. に HPLC 法の結果を示す. よって, 本法は, 市販品におけるアロエ種の検査にも適用できると考える.

ま と め

A. vera, *A. ferox*, 及び *A. africana*, の外皮とキダチアロエ *A. arborescens* との区別について TLC 法及び HPLC 法による判別法を検討したところ, 各々の方法でアロエ間に差が認められた. 本法をアロエ含有のいわゆる健康食品に応用したところ, その使用を薬用に制限されているアロエは認められず, キダチアロエが良好に確認できた. いわゆる健康食品の場合, その形状やアロエ以外の混合成分が多岐にわたるので, 検査する対象物の性質や量などに合わせて, 測定方法を選び, 組み合わせることで, より正確にアロエ種の判別をすることが可能になると考える.

文 献

- 1) 薬事法第 2 条第一項第 2 号又は第 3 号
- 2) 昭和 46 年 6 月 1 日付薬発第 476 号通知, 1997.
- 3) 平成 13 年 3 月 27 日付医薬発第 243 号, 2001
- 4) 山本正利, 前田有美恵, 増井俊夫, 他: 衛生化学, **35**, 140-146, 1989.
- 5) 安田和男, 横山敬子, 牛山博文, 他: 食衛誌, **38**, 335-340, 1997.
- 6) Suga T., Hirai T., Tori K.,: *Chemistry Letters*, 715-718, 1974.
- 7) Okamura N., Asai M., Hine N., et al.: *J. Chromatogr. A*, **746**, 225-231, 1996.