

## 健康食品中の医薬品等成分一斉分析及び実態調査

大西美知代 曾我部翔多\*1 豊嶋華子 大塚有加 滝山広志 四宮博人

Keywords : Dietary Supplement, Simultaneous determination, HPLC, TLC, LC / MS / MS

いわゆる健康食品等は、大人だけでなく、子供や幼児においても、日常的に摂取している人が年々増えており、その中には医薬品成分等を含む製品があり、健康被害事例も多数報告されている。

そこで、県内の健康被害発生時に迅速に対応するため、過去の健康食品による健康被害報告をもとに、分析対象とする医薬品等成分を選別し、これらについてより多くの成分の一斉分析が可能な方法を検討した。その結果、HPLC/PDAにて58成分、およびGC/MSにて39成分、LC/MS/MSにて9成分、TLCにて1成分の定性分析が可能になった。また、県民向けに健康食品に関する注意喚起をするうえでの一助とするために、市販の健康食品34製品について医薬品成分等の含有量の実態調査を実施した。違法な医薬品等成分は検出されなかったが、2製品からカフェインが検出されたので、その含有量とばらつきを試験したが、人体に悪影響のない含量であり、含量のばらつきもほとんどないことが確認された。

### はじめに

いわゆる健康食品等は、健康維持、栄養補給、疲労回復、ダイエット、病気予防そして少数ではあるが病気治療のためなど様々な効果を期待して、大人だけでなく、子供や幼児までも日常的に摂取している人が年々増えている。

しかし、これら製品はあくまでも分類上は食品であり、医薬品のように効能効果の標ぼうは認められていない。

また、含有成分の成分名の表示はあっても、含有量については不明なものがほとんどであるため、原材料に含まれている含有成分については、想定外の成分が含有されている可能性があり、人体に対して悪影響を与える危険性もある。実際に、全国で医薬品成分等を含む製品が流通し健康被害事例も多数報告されている<sup>1,2)</sup>。

当所における健康食品の違法成分分析は、強壮系・瘦身系の6成分の分析法しか確立していない<sup>3)</sup>。また、日常的にこれらの成分を分析する機会がないため、技術の継承が困難になってきている。昨今の健康食品による健康被害の原因となる物質が多様化している状況を鑑みると、当所の検査体制では、県内の健康被害発生時に十分な対応ができない恐れがある。

対応ができない恐れがある。そこで、過去の健康食品による健康被害報告をもとに、分析対象とする医薬品等成分を選別し、これらについてより多くの成分の一斉分析が可能な方法を検討した<sup>4,7)</sup>。また、県民に健康食品との付き合い方について注意喚起するための一助とするために、県内で流通している健康食品中の医薬品成分等の含有量の実態調査を行ったので報告する。

### 材料と方法

#### 1 標準品・試薬・試液等

塩酸プロプラノロール、シルデナフィルくえん酸塩、ステビオシド、(E)-カプサイシン、ベルベリン塩化物水和物、 $\alpha$ -リポ酸標準品、N-ニトロソフェンフルラミン、シブトラミン塩酸塩一水和物、脱N-ジメチルシブトラミンくえん酸塩、グリンベングラミド、フェンフルラミン塩酸塩、デキサメタゾン、(E)-イソフェルラ酸、コプチシン塩化物、ホルスコリン、イカリイン、クワクリン、センノシドA、センノシドB、テオフィリン、テオブロミン、リドカイン、フェノバルビタールナトリウム、ヒドロコルチゾン、ヨヒンビン塩酸塩、ヒドロクロロチアジド、フェノールフタレイン、イブプロフェン、エストロン、プロピオン酸テストステロン、テストステロン、メチルテストステロン、酢酸メドロキシプロゲステロン、アスパルテーム、ブレドニゾロン、ジアゼパム、デヒドロイソアンドロステロン、

$\beta$ -エストラジオール, L(+)-オルニチン塩酸塩, フルオキシセチン塩酸塩(以上, 富士フィルム和光純薬(株)製), 5-ヒドロキシ-L-トリプトファン(以上, ナカライテスク(株)製,)オリスタット(フナコシ(株)製), カフェイン, クロルフェニラミンマレイン酸塩, アセトアミノフェン(以上, レギュラトリーサイエンス財団製,)マグノフロリン(Cayman社製), バルデナフィール, フロセミド(以上, LKT社製), キサントアントラフィル, タダラフィル(以上, TRC社製), ドクサートナトリウム(ジオクチルソジウムスルホサクシネート), マジンドール(以上, シグマアルドリッチジャパン合同会社製), フェンテルミン, メフェナム酸, ビサコジル, エストリオール,  $\Delta$ 4-アンドロステン-3,17-ジオンエチニルエストラジオール, スタノロン, メステロン, エピアンドロステロン(以上, 東京化成工業(株)製)を使用した。メタノール及びアセトニトリルはLC/MS用(富士フィルム和光純薬(株)製)を用い, その他の試薬, 試液は特級以上のものを使用した。

## 2 試料

令和4年度に県内(ネット購入も含む)で試買した34製品である。(錠剤13, 液剤2, ゼリー剤1, ハードカプセル剤8, ソフトカプセル剤7, 粉・顆粒剤2, お茶1)

## 3 標準溶液の調製

標準品は正確に秤量し, センノシドA及びBは1%炭酸水素ナトリウム水溶液に, カフェイン, テオフィリン及びテオブロミン(テオブロミンは加温しながら溶解)は超純水に, その他の成分はメタノールに, 1000 mg/L(センノシドA及びBは500 mg/L)になるよう溶解し標準原液とした。これを, 適宜希釈し, 0.25~50 mg/Lの混合標準液を調製した。

## 4 装置・測定条件

HPLC / PDA法(定性・定量), GC/MS法(定性), LC / MS / MS法(定性), TLC法(定性)の装置及び測定条件は, 表1のとおり。

表1 装置及び測定条件

HPLC/PDA法	
装置	:Waters製 alliance e2695 /PDA2998
カラム	:CAPCELL CORE C18 2.7 $\mu$ m 2.1 $\times$ 150mm (株大阪ソーダ製)
カラム温度	:40 $^{\circ}$ C
流速	:0.3mL/min
注入量	:5 $\mu$ L
移動相	:A:0.1%リン酸水溶液 B 0.1%リン酸アセトニトリル溶液
グラジエント条件(A:B)	:0-10min(98:2) $\rightarrow$ 45min(20:80) $\rightarrow$ 45.5-65min(98:2)
測定波長範囲	:190~400nm

GC/MS法				
装置	:(GC)Agilent製 7890GC (MS)日本電子製 JMS-Q1500			
カラム	:DB-1MS 30m $\times$ 0.25mm i.d. 膜厚 0.25 $\mu$ m (Agilent製)			
カラム温度	:80 $^{\circ}$ C(2min hold) $\rightarrow$ 5 $^{\circ}$ C/min $\rightarrow$ 190 $^{\circ}$ C(15min hold) $\rightarrow$ 10 $^{\circ}$ C/min $\rightarrow$ 310 $^{\circ}$ C(5min hold)			
キャリアガス	:He	注入口温度	:200 $^{\circ}$ C	
流速	:0.7mL/min	注入量	:1 $\mu$ L(Splitless)	
トランスファーライン温度	:280 $^{\circ}$ C	測定モード	:Scan(m/z 41~510)	
成分	保持時間(分)	標準液濃度( $\mu$ g/ml)	モニターイオン	参照イオン
フェンテルミン	7:30	10	72.0	91.0
フェンフルラミン塩酸塩	9:33	10	72.0	159.0
オルニチン	9:54	50	69.0	56.0
N-ニトロソフェニフルラミン	16:39	10	43.0	69.0
イブプロフェン	18:35	50	159.0	56.0
アセトアミノフェン	19:29	50	109.0	151.0
カフェイン	22:20	10	194.0	109.0
$\alpha$ -リポ酸標準品	22:54	50	81.0	95.0
(E)-イソフェルラ酸	23:46	50	194.0	179.0
シトラン塩酸塩一水和物	24:01	10	114.0	72.0
フルオキシセチン塩酸塩	24:04	10	44.0	104.0
リドカイン	24:14	10	86.0	58.0
テオフィリン	25:37	25	180.0	95.0
フェノバルビタールナトリウム	26:04	50	204.0	117.0
クロルフェニラミンマレイン酸塩	27:56	10	203.0	58.0
メフェナム酸	32:41	50	223.0	241.0
塩酸プロプラノロール	33:51	20	72.0	115.0
マジンドール	41:48	25	266.0	268.0
ジアゼパム	43:49	25	256.0	283.0
デヒドロイソアンドロステロン	44:32	25	91.0	105.0
エピアンドロステロン	44:42	25	290.0	107.0
(E)-カブサイシン	45:01	25	137.0	138.0
スタノロン	45:17	25	231.0	55.0
エストロン	45:40	25	270.0	146.0
$\beta$ -エストラジオール	45:56	25	272.0	160.0
$\Delta$ 4-アンドロステン-3,17-ジオン	45:57	25	124.0	91.0
メステロン	46:06	25	218.0	304.0
テストステロン	46:14	25	124.0	91.0
メチルテストステロン	46:36	25	302.0	124.0
エチニルエストラジオール	46:49	20	213.0	160.0
ホルスコリン	47:47	25	43.0	55.0
エストリオール	48:09	50	288.0	160.0
プレドニゾン	48:19	50	122.0	121.0
ビスコジル	48:30	25	361.0	276.0
プロピオン酸テストステロン	48:37	25	57.0	124.0
デキサメタゾン	48:46	50	122.0	121.0
酢酸ドロキシプロゲステロン	50:27	25	43.0	283.0
ヒドロコルチゾン	51:17	50	227.0	285.0
ヨヒンビン塩酸塩	51:22	25	353.0	354.0

LC/MS/MS法	
装置	:Waters製 ACQUITY UPLC/XevoTQSMicro
カラム	:CAPCELL CORE C18 2.7 $\mu$ m 2.1 $\times$ 150mm (株大阪ソーダ製)
カラム温度	:40 $^{\circ}$ C
流速	:0.5ml/min
注入量	:1 $\mu$ L
移動相	:A 0.1%ギ酸水溶液 B 0.1%ギ酸アセトニトリル溶液
グラジエント条件(A:B)	:0min(90:10) $\rightarrow$ 19-22min(25:75) $\rightarrow$ 24min(0:100) $\rightarrow$ 25-28min(90:10)
イオン化法	:ESI(+/-)
キャピラリー電圧	:3.00kV
コーン電圧/ガス	:40V / 20L/Hr
Desolvation Temperature/Gas	:400 $^{\circ}$ C / 800L/Hr
測定モード	:MRM
ESI+モード測定イオン(m/z)	:ピサコジル:361.972>183.964, 361.972>225.983 :フェンフルラミン:232.028>158.902 :フルオキシセチン塩酸塩:309.975>43.945, 309.975>147.972 :クロルフェニラミンマレイン酸塩:241.059>167.163, 241.059>117.824 :フェノールフタレイン:318.93>224.941, 318.93>114.939 :シトラン塩酸塩一水和物:280.08>124.896, 280.08>138.94 :オリスタット:496.297>319.24, 496.297>113.954 ESI-モード測定イオン(m/z):フロセミド:326.784>204.88, 326.784>125.82 :ヒドロコルチゾン:295.805>204.866, 295.805>268.843

TLC法	
薄層板	:HPTLC Kieselgel 60 F <sub>254</sub> (MERCK社製)
展開溶媒	:クロロホルム/メタノール混液(9:1)
スポット量	:①6 $\mu$ L ②0.5 $\mu$ L ③2 $\mu$ L ④6 $\mu$ L
展開方法	:約6cm展開した後に薄層板を風乾 ①紫外線254nm照射 ②紫外線365nm照射
検出条件	:③50%硫酸エタノール溶液を噴霧後, 105 $^{\circ}$ C5分間加熱し, 紫外線365nmを照射 ①ドラーゲンドルフ試薬噴霧

## 5 試験溶液の調製

### (1) 試料前処理

液剤・ゼリー剤は混和し、そのまま供した。粉・顆粒剤・錠剤は、ミルサー(岩谷産業(株)製 IFM-7C)にて均一に粉碎混和し粉末にした。ハードカプセル剤は、カプセル基剤と内容物に分け、内容物は混和し、基剤は鋏で細切した。ソフトカプセルはそのまま供した。また、お茶は製品に記載されている方法で熱湯抽出した。

### (2) 試料抽出方法

メタノールのみで抽出した場合、固着して溶解しない製品があったため、図1のとおり、まず初めに水のみで試料を超音波抽出し、その後さらに有機溶媒を加え、70%メタノールまたは70%アセトニトリル水溶液とし再度超音波抽出した。

ソフトカプセル以外の試料は、前処理した試料100mgを採取し、水3 mLを加えて混和し10分間超音波抽出を行った後、ハードカプセル基剤はアセトニトリルを、それ以外の試料はメタノールを7 mL加え混和し、15分間超音波抽出を行った。

ソフトカプセルについては、1粒の重量を正確に量り、10 mg / 10mL 70%メタノール水溶液となるよう調製した。その際、適量の水を加えて手で振り混ぜながら10分間超音波抽出を行った後、適量のメタノールを加え混和し15分間超音波抽出を行った。溶けにくい製品については、超音波抽出時の水浴温度を40 °C程度にして抽出した。

それぞれの方法で調製した抽出液を3500 rpm, 15分で遠心分離し、上澄液を0.2μm PTFEメンブランフィルターでろ過し、試験溶液とした。手動でろ過できない試料については、Ultrafree - CL (PTFE 0.2μm メルク(株)製) で17800 rpm, 5分間で遠心ろ過したものを試験溶液とした。

### (3) 固相抽出による精製

健康食品には様々なものが含まれているため、上記方法で抽出した試験溶液中には、多くの夾雑物が含まれているものもあり、その夾雑物ピークが目的成分のピークの測定を妨害する場合がある。特にHPLC / PDA法による分析では、リテンションタイムとスペクトラムが同じであれば、目的成分として検出されてしまうため、夾雑物の多い健康食品では成分誤検出の可能性がある。そこで、目的成分の分析が妨害された検体については、夾雑物を除去し、目的成分を選択的に抽出するために、図2のとおり、コンディショニング操作が不要なHLB固相カラム (Oasis PRiME HLB 3cc (60mg) waters社製) で精製したものを試験溶液とした。

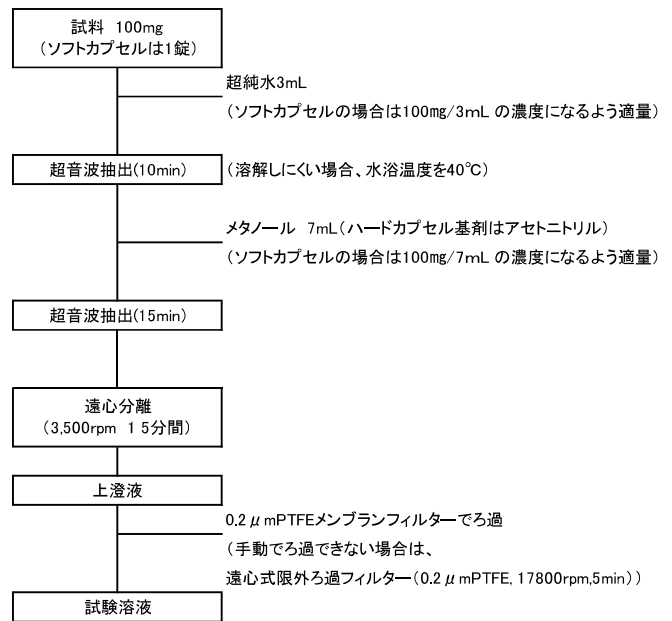


図1 試料抽出方法

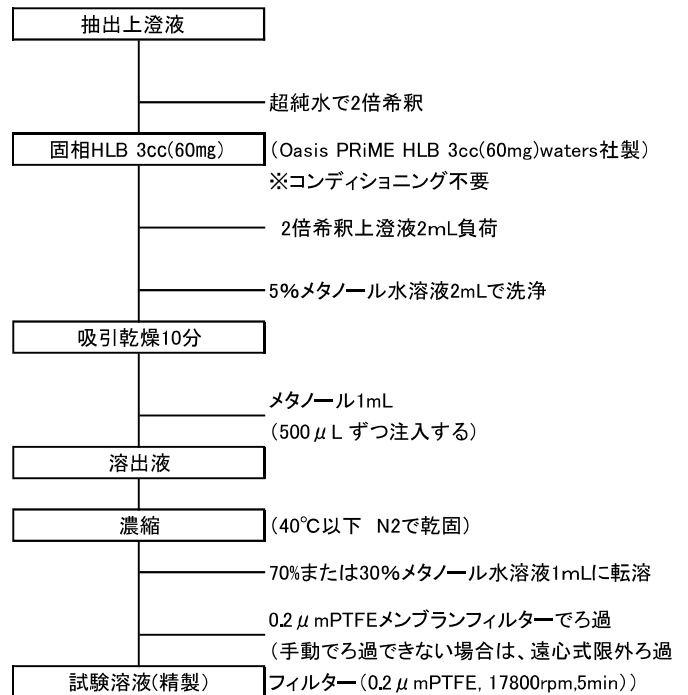


図2 夾雑物の多い抽出液の固相抽出による精製方法

## 結果及び考察

### 1 分析対象成分の選定

厚生労働省や各都道府県のHP等に掲載のあった健康食品による健康被害事例において検出された医薬品等成分のうち、痩身、強壮、美容、筋肉増強等を目的に販売された健康食品から検出された成分を中心に、国内外から入手可能であった医薬品等成分61品目を選別し、分析対象成分とした(表2)。

## 2 HPLC/PDA法等の測定条件の検討

表1の装置条件等で、今回分析対象とした61成分(各100 mg / L)を単品で分析したところ、ドクサートナトリウム、オリスタット(オルリスタット)、L (+) - オルニチン塩酸塩を除く58成分についてHPLC / PDA法による測定が可能であった。このことから、各成分の保持時間の重なり等を考慮して、7つの系列(1系列8 ~ 10成分)に分けて、混合標準液を調製し測定することとした。系列内で、いくつかの成分については保持時間が近接しており、一部ピークの重なるものがあったので、ピークの重なりの影響を避けるために、系列ごとに複数の測定単波長も設定し、各々の設定波長にて解析することで、ピークを分離し、ピークが重なる成分についても、波形処理等の解析ができるようにした。さらに、この58成分についてPDAスペクトルライブラリを登録し、スクリーニングを効率的に行えるようにした。58成分のスペクトルが確認可能である条件における検出限界濃度は成分により異なるが、0.25~10 mg / Lであった。また、すべての成分において100 mg / L(エピアンドロステロンは500 mg / L)まで良好なピークを得ることができたので、検量線範囲は、各成分の検出限界に併せて0.25~100 mg / L(感度が低いエピアンドロステロンは10~500 mg / L)の間で適切な範囲を設定した。各成分の標準液5濃度以上の検量線は、決定係数が0.999以上であり良好な直線性を示した。また、標準液は試験溶液に合わせて最終定容溶媒がメタノール又は、70%メタノール水溶液になるように調製したが、5-ヒドロキシトリプトファン、ヒドロクロロチアジド、アセトアミノフェンについては、メタノール濃度が高い場合ピーク形状が不良になるため、これら成分を含む混合標準液については、最終定容溶媒を30%メタノール水溶液にして分析を行った。

GC/MS法は、メタノールに不溶であるテオブロミン、センノシドAを除いた59成分について、上記装置条件のとおりScan測定のみ  $m/z$  範囲を41~510に設定し、10~50mg / Lの濃度範囲で分析したところ、39成分についてスクリーニングが可能であった。LC / MS / MS法は、検討途中での機器の不具合のため、表1の9成分についてのみでの確認となったが、200  $\mu$ g / Lでスクリーニング(定性)が可能であった。今後あらためて、61成分について定性・定量が可能であるか確認していきたい。

## 3 健康食品剤形別添加回収試験

様々な健康食品剤形のうち、粉・顆粒、錠剤、液・ゼリー剤、ハードカプセル内容物、ハードカプセル基材、ソフトカプセル、お茶について、試料抽出法が有効なもので

あるか確認するために、HPLC / PDA法で分析可能な医薬品等58成分の添加回収試験(n = 3)を行った。医薬品等成分添加濃度については、検討する成分のうち、1日の服用量が少ないマジンドールについて1日1回0.5 mgであることから、試験溶液濃度を0.05 mg / Lと設定し、この1 / 10量の0.005 mg / mL (5  $\mu$ g / mL)を定量した。但し、感度の低い一部の成分については、検量線範囲に則した濃度を添加した。また、HPLC / PDA法で測定する系統7の成分については、測定溶液を30 %メタノール水溶液とする場合に良好なピークが得られるため、抽出液を2.3倍に希釈したものを試験溶液とし、0.0022 mg / mL(2.2  $\mu$ g / mL)を定量することとした。

試験の結果、58成分のうち、液・ゼリー剤で2成分、カプセル内容物で10成分、カプセル基剤で10成分、ソフトカプセル剤で3成分については、70 ~ 120 %の回収率が得られなかったが、各剤形の48 ~ 58成分において、各医薬品等成分の回収率は良好な結果を示したので、本抽出法は有効なものと考えられる。

良好な回収率が得られなかった検体については、HLB固相カラムによる精製を行い測定したところ、ハードカプセル基剤の系列1の成分のほとんどで、回収率が改善し、良好な回収率を得られた成分が48成分から55成分まで増加した。(表2)

## 4 流通健康食品の医薬品等成分一斉分析実態調査

試買した健康食品34製品について、HPLC / PDA法による医薬品等成分一斉分析を行った結果、製品に成分等の記載表示がないヨヒンビン塩酸塩が検出されたものが1製品、製品に成分等の記載表示があるカフェインが検出されたものが2製品確認された。

## 5 ヨヒンビン塩酸塩が検出された製品の確認検査

ヨヒンビン塩酸塩が検出された製品については、PDA及び3つの単波長で測定し、 $\lambda = 250$  nmの波長でのみピークが検出され、ほかでは検出されなかったことから、試料抽出液に夾雑物が多く含まれていることが原因で、スペクトラムが同じ他の成分を誤検出した可能性も考えられた。そこで、図2のとおり HLB固相抽出で精製し、あらためてHPLC / PDA法にて確認した。また、HPLC / PDA法とは別の方法で成分の定性確認を行うために、表1の条件でTLC法による定性確認を行った<sup>8,9)</sup>。その結果、ヨヒンビン塩酸塩は誤検出であり、当該製品に医薬品等成分は含まれていないことが確認された。

表2 HPLC/PDA 法による健康食品剤形別添加回収試験(%) (n=3)

No.	HPLC 系列	成分名	原料品類	保持時間 (min)	測定波長 (nm)	検出 限界 (ng/L)	検量線範 囲 (ng/mL)	添加 濃度 (μg/mL)	粉・顆粒	錠剤	液・ ゼリー剤	ハード カプセル 内容物	ハード カプセル 基材	ソフト カプセル	お茶 (熱湯抽出)
1		バルデナフィル	薬学成分	22.82	210 243 PDA	0.5	1-50	5	102.5	95.4	137.3	175.8	※91.6	115.2	104.4
2		ベルベリン塩化水和物	薬学成分	24.66		0.5	1-50	5	105.7	78.2	118.2	95.2	※37.4	116.4	107.0
3		β-N-シトルシプトラミンくえん酸塩	薬学成分	27.90		1.0	1-50	5	106.2	82.5	109.1	99.3	※74.3	103.7	106.7
4	1	シプトラミン塩酸塩一水和物	薬学成分	28.47		1.0	1-50	5	109.9	90.0	114.5	101.9	※98.6	115.1	106.9
5		シアゼパム	抗不安薬	29.90		0.5	1-50	5	109.1	95.7	117.2	115.2	※100.2	110.7	108.4
6		メチルテストステロン	ホルモン	32.80		0.5	1-50	5	95.9	92.5	108.8	109.3	※99.6	106.9	108.4
7		(E)-カプサイシン	香料成分	34.75		0.5	1-50	5	110.3	94.9	115.3	99.9	※108.1	108.3	106.9
8		酢酸メロキシプロゲステロン	ホルモン	38.19		0.5	1-50	5	107.8	94.6	111.6	114.3	※114.3	112.9	104.8
9		アスパルテーム	甘味料	19.30	200.1 220.2 PDA	1.0	1-50	5	103.6	99.9	105.9	110.8	108.2	101.7	97.8
10		コブチシン塩化物	栄養補助成分下 油剤	23.15		1.0	1-50	5	101.7	81.7	107.1	80.1	109.8	101.7	104.4
11		エネリオール	ホルモン	24.85		1.0	1-50	5	100.5	99.0	103.3	108.1	108.8	99.9	103.8
12	2	ステビオシド	甘味料	27.40		10.0	10-50	10	103.0	101.4	103.8	97.7	104.5	105.9	107.1
13		デキサメタゾン	ステロイド	28.49		1.0	1-50	5	100.3	99.4	102.7	110.4	107.1	101.0	103.1
14		タダラフィル	薬学成分	30.17		0.5	1-50	5	103.1	101.4	106.0	107.5	111.5	89.5	106.0
15		ホルスコリン	栄養補助成分コ レステロール	35.34		10.0	10-50	10	100.3	100.4	106.9	101.2	99.0	103.0	107.0
16		メフェナム酸	消炎鎮痛薬	38.13		1.0	1-50	5	103.3	101.6	105.9	104.4	111.7	99.0	106.3
17		マグフロリン	薬学成分	19.16	0.5	0.5-25	5	100.1	100.6	100.6	97.0	105.6	101.7	92.3	
18		マジンドール	薬学成分	22.93	1.0	1-50	5	100.2	98.9	105.3	61.0	85.4	101.4	80.1	
19		シルデナフィルくえん酸塩	薬学成分	25.95	1.0	1-50	5	100.3	101.9	100.1	89.0	105.9	99.6	90.0	
20	3	フルオキシセチン塩酸塩	抗アレルギー	28.46	0.5	1-50	5	100.8	98.9	100.0	101.0	103.6	106.2	97.7	
21		キサントアントラフィル	薬学成分	30.52	0.5	0.5-25	5	99.0	100.1	98.8	99.5	102.3	100.5	94.7	
22		Δ4-アンドロステン-3,17-ジオン	ホルモン	32.89	5.0	1-50	5	98.2	100.5	99.0	94.9	103.3	99.9	94.2	
23		スタンロン	ホルモン	34.26	1.0	1-50	10	102.4	99.4	98.3	94.1	100.7	66.4	92.2	
24		メステロロン	ホルモン	35.35	1.0	1-50	10	101.3	99.5	100.9	97.0	97.9	100.9	94.3	
25		フェンテルミン	薬学成分	17.52	210 234 PDA	1.0	1-50	5	105.1	95.5	98.7	101.4	104.2	97.6	97.1
26		クロルフェニラミンマレイン酸塩	抗アレルギー薬	19.64		1.0	1-50	10	108.5	91.9	102.3	103.1	102.6	100.1	110.1
27		(E)-インフェルラ酸	栄養補助成分ブ ラウシルシロ	22.07		1.0	1-50	5	109.1	105.8	0.0	98.2	107.7	0.0	101.8
28		フェンフルラミン塩酸塩	薬学成分	23.40		1.0	1-50	5	112.9	97.9	107.1	0.0	117.4	104.5	101.4
29	4	イカリリン	薬学成分	26.91		1.0	1-50	5	109.8	106.1	105.5	105.7	108.9	106.4	101.2
30		クワグリン	栄養補助成分ブ ェラジミル	28.88		1.0	1-50	5	107.8	104.9	102.7	104.8	108.0	104.4	100.1
31		β-エストラジオール	ホルモン	31.17		1.0	1-50	5	113.9	105.5	101.0	102.4	108.5	113.2	98.9
32		デヒドロイアンドロステロン	ホルモン	32.89		1.0	1-50	10	106.0	103.7	103.4	103.8	105.9	73.5	102.5
33		N-コロンフェンフルラミン	薬学成分	36.43	1.0	1-50	5	111.2	107.5	104.8	106.0	110.6	104.4	99.9	
34		プロピオン酸テストステロン	ホルモン	42.77	1.0	1-50	5	100.6	103.5	96.3	104.9	108.5	102.8	100.9	
35		ジカイン	鎮痛薬	18.36	1.0	1-50	5	100.7	101.9	99.1	37.9	101.4	102.5	102.6	
36		ヨヒンビン塩酸塩	薬学成分	21.99	0.5	1-50	5	95.6	91.1	95.9	95.3	110.7	101.2	101.8	
37		フェニバルビタールナトリウム	抗不安薬	24.04	0.5	1-50	5	100.3	99.8	100.2	0.0	95.8	100.1	99.0	
38	5	ピサコジル	下剤(薬効)	27.06	0.5	1-50	5	100.0	99.4	101.3	98.6	108.8	100.3	100.3	
39		α-リゾ酸	抗酸化物質	29.05	1.0	1-50	5	98.9	99.2	101.9	95.0	105.1	98.3	100.7	
40		テストステロン	ホルモン	31.62	1.0	1-50	5	98.9	100.0	104.2	108.8	108.3	100.1	102.8	
41		エピアンドロステロン	ホルモン	33.85	10.0	10-200	50	98.1	98.8	100.0	106.9	103.3	96.3	102.5	
42		イブプロフェン	消炎鎮痛薬	36.32	1.0	1-50	5	100.0	100.0	103.5	109.7	107.7	99.5	103.0	
43		塩酸プロプラノロール	抗不安薬	24.28	1.0	1-50	5	108.7	95.2	115.8	111.9	97.5	105.7	109.7	
44		ブレドニソロン	ステロイド	26.29	1.0	1-50	5	108.5	106.2	114.3	100.3	98.1	105.9	107.7	
45		βロコルチゾン	ステロイド	26.49	1.0	1-50	5	104.4	98.1	111.4	98.7	98.8	101.2	105.8	
46	6	フロセチド	利尿薬	27.59	1.0	1-50	5	107.2	103.7	114.6	102.5	97.6	100.8	107.4	
47		フェノールアタレイン	下剤(薬効)	29.06	1.0	1-50	5	101.0	98.0	110.1	112.9	98.1	98.7	102.9	
48		エチルエストラジオール	ホルモン	32.58	1.0	1-50	10	104.8	101.5	110.7	110.5	99.0	101.7	109.0	
49		エストロン	ホルモン	32.78	1.0	1-50	10	102.9	102.1	110.1	100.8	99.3	99.7	112.6	
50		グリベンガラミド	糖尿病治療薬	36.16	1.0	1-50	5	105.7	104.6	110.6	92.5	97.3	97.3	81.8	
51		5-βロキシトリプトファン	ホルモン	3.09	0.25	0.25-50	2.2	85.2	86.0	82.3	77.5	76.5	83.4	109.0	
52		アセトアミノフェン	消炎鎮痛薬	5.84	0.25	0.25-50	2.2	90.1	87.0	88.4	148.8	100.8	88.7	108.7	
53		テオプロミン	カフェイン代謝物	6.56	0.25	0.25-50	2.2	88.4	88.6	91.1	28.3	26.3	86.5	111.0	
54	7	βロコルチゾン	利尿薬	9.42	0.25	0.25-50	2.2	86.3	86.7	87.5	82.1	105.6	83.4	105.7	
55		テオフィリン	気管支拡張薬	11.60	0.25	0.25-50	2.2	103.9	96.5	92.3	0.0	0.0	0.0	111.9	
56		カフェイン	中枢神経興奮薬	17.98	0.25	0.25-50	2.2	82.0	81.8	85.6	85.8	97.9	81.8	94.9	
57		センバドB	下剤(薬効)	21.97	0.25	0.25-50	2.2	78.2	82.6	115.6	0.0	98.0	116.7	108.9	
58		センバドA	下剤(薬効)	23.07	0.25	0.25-50	2.2	90.3	86.7	89.5	0.0	104.3	74.9	105.9	
59	-	オリスタット	薬学成分	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
60	-	β-グルコシド	下剤(薬効)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
61	-	L(+)-オルニチン塩酸塩	アミノ酸	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	

70~120%の良好な回収率が得られた成分数

抽出のみ : 58成分 58成分 56成分 48成分 48成分 55成分 58成分  
HPLC固相抽出精製 : - - - 55成分 - -

※HPLC固相抽出精製後の回収率

(1) HLB固相抽出精製によるHPLC / PDA測定

当該製品について、図1, 2のとおりHLB固相抽出にて精製し測定した結果、ヨヒンビン塩酸塩はいずれの波長からも検出されなかった。また、当該製品サンプルにヨヒンビン塩酸塩標準液を加え、HLB固相抽出精製した試験溶液の添加回収試験を行ったところ、PDA及び220, 250, 291 nmの各波長で96.1 ~ 103.8%の良好な回収率を得た。以上のことから、一斉分析で検出されたピークは別のピークを誤認識したものである。(表3)

(2) TLC法によるヨヒンビン塩酸塩の確認(定性)

ヨヒンビン塩酸塩が検出された製品は、ハードカプセル剤の内容物であったため、内容物をカプセルから取り出し、全量を50mL遠沈管に入れ、メタノール25 mLを加えて20分間超音波抽出した後、3500 rpm, 15分で遠心分離し、

上澄液を採取した。上澄液を超純水で2倍希釈し、全量をOasis PRiME HLB 3cc (60mg) に負荷し、次いで5%メタノール水溶液2mLで洗浄した。次に、メタノール1.5mLで溶出(500 µLずつ3回に分けて溶出)し、溶出液を窒素で乾固し、メタノール100 µL を加えてよく振り混ぜTLC用試料溶液(Sa)とした。また、ヨヒンビン塩酸塩をメタノールに溶かし1000 mg / Lとした溶液を標準溶液(Std)とした。

さらに、標準溶液1 mLを試料溶液抽出時に加えて調製した標準品添加試料溶液 (Add) を作成した。これらの液を表1のTLC測定条件で試験を実施したところ、ヨヒンビン塩酸塩標準溶液、試料溶液、標準品添加試料溶液のスポット、およびRf値は、表4のとおりであり、試料溶液にはヨヒンビン塩酸塩は含まれないことが分かった。

表 3 固相抽出による試料溶液の精製及び HPLC/PDA 法による測定結果

測定波長	検量線範囲 (µg/mL)	決定係数 (r <sup>2</sup> )	抽出のみ			HLB固相抽出精製		
			強壮目的製品平均 (n=3) 【µg/mL】	添加回収試験平均 (n=3) 【µg/mL】	回収率 (%)	強壮目的製品平均 (n=3) 【µg/mL】	添加回収試験平均 (n=3) 【µg/mL】	回収率 (%)
220nm	0.5、1、2.5、5、10	0.9993	0.000	5.140	102.8	0.000	5.188	103.8
250nm	0.5、1、2.5、5、10	0.9994	1.596	4.784	63.8	0.000	4.895	97.9
291nm	0.5、1、2.5、5、10	0.9996	0.000	5.758	115.2	0.000	4.905	98.1
PDA	0.5、1、2.5、5、10	0.999	0.000	4.770	95.4	0.000	4.804	96.1

※添加回収サンプルは最終溶液が5 µg/mLになるよう標準溶液を添加

表 4 ヨヒンビン塩酸塩の TLC 分析結果

検体名	検出条件①		検出条件②		検出条件③		検出条件④	
	検出	Rf値	検出	Rf値	検出	Rf値	検出	Rf値
標準溶液(Std)	暗紫	0.43	青白	0.43	青白	0.43	橙	0.43
試料溶液(Sa)	-	-	-	-	-	-	-	-
標準添加溶液(Add)	暗紫	0.43	青白	0.43	青白	0.43	橙	0.43

薄層クロマトグラム

## 6 カフェインが検出された製品の成分含量及びばらつき

実態調査を行った健康食品のうち、強壮目的のドリンク剤及び美容目的ゼリー剤でカフェインが検出された。前者には、製品表示に成分表示および含量が記載されており、後者には、成分表示はないが、原材料表示に成分を含有することが示唆される原材料が表記されていた。そこで、製品中のカフェイン含量及び含量のばらつきを確認するために、表5の測定条件(n = 6)でカフェインの含有量をHPLCにて測定した。

測定の結果、成分表示があるドリンク剤については、カフェイン含量98.70~103.29 mg / 本(RSD%1.80), 含量平均100.33mg/本であり、製品のカフェイン含有量のばらつきはほとんどなく、含量もほぼ表示どおりであった。原材料カフェインの摂取量は、200 mg / 回, 400 mg / 日以下であれば健康リスクを生じないとされているので、いずれの製品も指示されている用量用法で摂取する限り健康被害の恐れはない量のカフェイン含有製品であることが分かった。

表示のみのゼリー剤(150 g / 袋)については、カフェイン含量17.59~18.27 mg / 袋(RSD%1.45), 含量平均が17.81mg / 袋であり、製品間のばらつきは少なかった。(表6)

表5 カフェイン分析装置及び測定条件

HPLC法	
装置	:Waters製 alliance e2695 /PDA2998
カラム	:AtlantisT3 2.1×150mm, 5µm, (Waters製)
カラム温度	:30℃
移動相	:A:0.1%りん酸水溶液 B:アセトニトリル
グラジエント条件(A:B)	:0min(92:8)→20min(60:40)→20.5min(92:8)
流速	:0.2mL/min
注入量	:2µL
測定波長	:210nm
検量線範囲	:1~50mg/L

表6 カフェイン含有製品の成分含有量及びばらつき

製品(用途)	製品1			製品2		
	本品採取量 【ml】	濃度 (µg/mL)	製品1個当 たりのカフェ イン含量 (mg)	本品採取量 【g】	濃度 (µg/mL)	製品1個当 たりのカフェ イン含量 (mg)
製品表示	製品1本あたり100mgの成分表示あり			製品に成分量表示には記載なし。原材料名に「烏龍茶、紅茶」の記載あり		
試料溶液	1	19.807	99.04	1.02342	12.465	18.27
	1	19.942	99.71	1.04002	12.193	17.59
	1	20.657	103.29	1.04138	12.459	17.95
	1	19.894	99.47	1.01895	12.044	17.73
	1	20.356	101.78	1.01306	11.893	17.61
	1	19.740	98.70	1.01862	12.040	17.73
	平均		100.33		平均	
	相対標準偏差(RSD%)	1.80		相対標準偏差(RSD%)	1.45	
添加回収 試験	本品採取量 【ml】	濃度 (µg/mL)	回収率(%)	本品採取量 【g】	濃度 (µg/mL)	回収率(%)
	1	24.862	101.100	1.02378	17.173	94.160

(n=6)

## まとめ

- 1 国内外の健康食品による被害事例をもとに選別した医薬品等を含む61成分のうち、58成分についてHPLC / PDA法によるスクリーニング(定性)・定量分析法を確立した。また、39成分についてGC / MS法を、9成分についてLC / MS / MS法によるスクリーニング(定性)分析法を確立した。さらに、医薬品成分であるヨヒンビン塩酸塩については、TLC法による定性法を確立した。
- 2 様々な剤形の種類がある健康食品に対応するために、粉・顆粒、錠剤、ハードカプセル、ソフトカプセル、液・ゼリー状、お茶など熱湯抽出タイプの製品等、各剤形に適応できる簡便な医薬品等成分抽出・精製法を確立した。
- 3 実際に県内で流通している健康食品34製品について、医薬品等成分実態調査を行ったところ、医薬品等の違法成分を含有する製品はなかった。34製品のうち、摂取量によっては人体に悪影響を及ぼす可能性のあるカフェインの含有が示唆される表示記載のある2製品のカフェイン含有量およびそのばらつきについて調査したところ、製品に含有量が記載されている製品は、表示どおりの含有量であった。また、含有量の記載はないが、原材料としてカフェインを含有すると思われる原材料が表示されている製品は、カフェインは検出されたものの、製品に表示されている方法で摂取する限り人体に悪影響を及ぼす恐れはない含有量であった。また両製品ともカフェインの含有量のばらつきは非常に少なかった。

本研究は、「衛生研究所特別研究調査事業費」によるものである。

## 文献

- 1) 厚生労働省:いわゆる「健康食品」のホームページ  
[https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/kenkou\\_iryuu/shokuhin/hokenkinou/index.html](https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/kenkou_iryuu/shokuhin/hokenkinou/index.html)
- 2) 厚生労働省:無承認無許可医薬品情報  
<https://www.mhlw.go.jp/stf/kinkyu/diet/musyounin.html>
- 3) 井上智ほか, 愛媛県衛環研年報, 6, 34-38 (2003)
- 4) 西條雅明ほか, 千葉県衛研年報, 55, 74-78(2006)
- 5) 竹内浩ほか, 三重県保環研年報, 60, 50-57(2015)
- 6) 山崎翠ほか, 千葉県衛研年報, 65, 77-81(2016)
- 7) 武田章弘ほか, 大阪健康安全基盤研究所研究年報, 4, 70-75(2020)
- 8) 熊坂謙一ほか, Chromatography, vol.28, No.1(2007)
- 9) 中村暁彦ほか, 大阪府立公衆衛生研究所報, 47, 37-41, (2009)

## Simultaneous Analysis of Pharmaceutical Ingredients in Health Foods and Fact-Finding Survey

Michiyo OHNISHI, Shota SOGABE, Hanako TOYOSHIMA, Yuka OOTSUKA,  
Hiroshi TAKIYAMA, Hiroto SHINOMIYA

The number of people who consume so-called health foods and the like on a daily basis is increasing every year, not only among adults but also among children and infants, and some of these products contain pharmaceutical ingredients, and many cases of health hazards have been reported. In order to respond promptly to health hazard outbreaks, we have selected the components of pharmaceuticals and other products to be analyzed based on past reports of health hazards caused by health foods, and examined methods that enable simultaneous analysis of a larger number of components. As a result, simultaneous analysis of 58 components by HPLC / PDA, and qualitative analysis of 39 components by GC / MS, 9 components by LC / MS / MS, and 1 component by TLC became possible. In addition, a survey was conducted on the actual content of pharmaceutical ingredients in 34 over-the-counter health food products to help raise awareness of health food products among prefectural residents. No illegal drug ingredients were detected, but caffeine was detected in two of the products, so the content and variation were tested, and it was confirmed that the content was not harmful to the human body and that there was almost no variation in content.