

ダイエット茶中のセンノシド類の調査

吉田明美・西岡千鶴・藤田久雄・毛利孝明・塚本武・黒田弘之

A Study of total sennosides in diet teas

AKEMI YOSHIDA, CHIZURU NISHIOKA, HISAO FUJITA, TAKAAKI MOURI,
TAKESHI TUKAMOTO, HIROYUKI KURODA

I 緒 言

近年国民の健康に対する関心が高まり、健康食品産業が発展し、利用する機会が増加している。我々は、ドラッグストア等の店頭はもちろん、通信販売により様々な健康食品を手軽に入手することが可能となっている。中でも、ダイエット茶は美容や肥満に起因する生活習慣病の予防といった目的で若年層から高齢者まで幅広い世代に渡り利用されている。一方でこれらのダイエット茶に対して、消費者からの苦情や相談が寄せられているのも事実であり、過去には瘦身の効果を上げるために食欲抑制薬のフェンフルラミンが添加された中国のダイエット茶、医薬品である生薬センナが添加されたダイエット茶が発見されたと言う事例があった。海外では法的規制が日本と異なるために、輸入品や外国みやげでは起こり得る事例である。

また、有効成分センノシドを含有していないとされているセンナ茎を使用しているダイエット茶が多く市

販されており、小島らの報告¹⁾によるとセンナ茎を原料としているダイエット茶から生薬センナに近いセンノシドが検出されたとのことである。

そこで、県内で入手したダイエット茶6件についてセンノシド含量を調査するとともに分析方法の検討を行った。

II 実験方法

1. 試験品

香川県内の店頭・通信販売により、瘦身目的として販売されているダイエット茶6検体について検査した。そのうち1検体は当県の輸入業者が取り扱っていた製品で医薬品であるセンナ葉が混入しているという通報に対応したものである。各検体の表示内容については表1に示す。分析条件の検討には生薬センナ葉(榊本天海堂製)を使用した。

表1 試験品の原材料、内容量、使用方法

No.	表 示	内容量	使用方法
1	麦茶、センナの茎、プーアル茶、ハトムギ、ハブ茶、ガルシニア、みかんの皮、カラタチ、シソの葉	2g×12包	①1袋に湯200ml注ぎ、ほどよい色・香りが出たら取り出す。
2	プーアル茶、センナの茎、ハブ茶、杜仲葉、ガルシニア、ギムネマシルベスタ葉	3g×84包	①1lの熱湯に入れ、2~3分間弱火で(好みの色、香りになるまで)煮出す。ティーバッグは取り出す。
3	ハトムギ、ハブ茶、大麦、玄米、ガルシニア・カンボジア、キトサン、杜仲茶、ギムネマ・シルベスタ、ウーロン茶、冬葵の実、どくだみ、精製シルク粉末、オオバコの種皮、月見草、プーアル茶	15g×12パック	①沸騰した湯1000ccに1パック入れ、5分以上煮出す。パックは取り出す。 ②水700ccに1パック入れ、冷蔵庫に保管15~30分で冷水ダイエット茶になる。 ③急須に1袋入れ、好みの量の湯を入れる。
4	はぶ茶、ジャスミン茶、はと麦、プーアル茶、ギムネマ・シルベスタ、杜仲葉、ハスの葉	100g(33包入)	①1lの水に1袋入れ煮出す。 ②急須に1袋入れ、色が出なくなるまで飲用できる。
5	試供品	1包	①1袋を1~2lの水で煮出す。 ②急須に1袋入れ、色が出なくなるまで飲用できる。
6	高麗人參、枸杞子、決明子、カワ、蓬蘽、山梔子、陳皮、山楂、甘草、大麥(タイソウ)、赤小豆、茶叶	3g×30パック	①500~600mlのお湯に1包を入れ、2~3分間程度煮立てる。 ②急須に1包を入れ、熱湯を注ぎほどよく出たら飲用。

2. 標準品及び試薬

標準品

センノシドA及びB(生薬標準品：和光純薬㈱)

試薬

メタノール(高速液体クロマトグラフィー用：和光純薬㈱)

アセトニトリル(高速液体クロマトグラフィー用：和光純薬㈱)

テトラヒドロフラン(高速液体クロマトグラフィー用：和光純薬㈱)

炭酸水素ナトリウム(特級：和光純薬㈱)

酢酸(特級：和光純薬㈱)

リン酸(特級：和光純薬㈱)

酢酸エチル(特級：和光純薬㈱)

Sep-Pak ® Cartridges Silica(690mg)(Waters製)

Sep-Pak ® Cartridges C18(360mg)(Waters製)

Sep-Pak ® Vac 6cc(500mg)Accell™ Plus QMA Cartridges (Waters製)

0.45µmメンブランフィルター(ゲルマン製)

3. 分析装置

高速液体クロマトグラフ：島津LC-10AVP

紫外可視検出器：島津製 SPD-10AVP

フォトダイオードアレイ検出器：島津製SPD-M10AVP

4. 試料溶液の調製

試験品を粉末とし2.0g秤量し、メタノール・0.1%炭酸水素ナトリウム混液(7:3)30mlを加え、30分間振とうする。遠心分離(4,000rpm×5分)し、上澄液を50mlメスフラスコにとる。残留物にメタノール・0.1%炭酸水素ナトリウム(7:3)15mlを加え、10分間超音波抽出する。遠心分離後、上澄液を先のメスフラスコに合わせ50.0mlとする。

5. 高速液体クロマトグラフィー測定条件

試験品の分析には試験溶液、標準溶液2µlにつき下記の条件で測定した。

カラム：CAPCELL PAK C18 MG 3µmφ2.0mm×50mm(㈱資生堂ファインケミカル製)

カラム温度：40℃

移動相：0.1%リン酸・アセトニトリル(85:15)

流量：0.3ml/min

測定波長：366nm

III 結果及び考察

1. 分析条件の検討

センナ葉を粉末にし、抽出したものを試料溶液とし、表2の3通りのミニカラム処理を行った(①、②瀬戸らの方法⁹⁾、③大住らの方法⁹⁾)。センナ葉抽出液を各ミニカラム処理で得られる試験溶液と同倍率に希釈し、0.45µmフィルターでろ過したものを対照とした。HPLC条件(1)により測定したところ、回収率はセンノシドA、Bともに95%以上の回収率であり、大きな差は認められなかった。しかし逆相系カラムで、より分析時間の短いHPLC条件(2)で測定すると①Silica②C18処理の試験溶液ではセンノシドBが妨害ピークと重なり定量することが出来なかった。QMA処理の試験溶液ではセンノシドB付近の妨害ピークも小さくなり定量可能であった。

HPLC条件について検討を行った。表2のHPLC条件(2)をもとにCAPCELL PAK C18 MG 3µmφ2.0mm×50mmを使用して0.1%リン酸・アセトニトリル混液の最適の組成比を検討した。組成比については0.1%リン酸・アセトニトリル(80:20)、(85:15)、(90:10)で検討した結果、標準溶液を組成比(80:20)で測定するとセンノシドA2.5分、センノシドB1.6分の保持時間で出現し、センノシドA、Bのピークが接近していた。また、センナ葉の試験溶液ではセンノシドB付近の妨害ピークと重なる。ベースラインが上がるという問題があり、ピークの分離が悪かった。組成比(90:10)については、ピークの形状も良く、妨害ピークとの分離もできていたが、センノシドA39.5分、センノシドB15.7分の保持時間に出現し、測定時間が40分と長くかかる。組成比(85:15)についてはセンノシドA10.1分、センノシドB4.6分に出現し、ピークの形状も問題なく、妨害ピークとの分離も良かった。測定時間も12分で終了した。移動相のpHは2.2であり、このカラムのpH使用可能範囲となっており問題なかった。0.1%リン酸・アセトニトリル(85:15)の組成比を移動相とすることにし

た。流量については使用カラムの最適圧力の値8.3M Pa付近を示す0.3ml/minとした。

検量線についてはセンノシドA, センノシドB各

々0.001mg/ml~0.1mg/mlの範囲でピーク高法により検量線を作成したところ、原点を通る直線性を示した。

表2 分析条件

抽出方法			
試料(粉末にしたもの)2.0g メタノール・0.1%炭酸水素ナトリウム(7:3)30ml 30分振とう 遠心分離(4000rpm×5分) 上澄液を分離、残留物にメタノール・0.1%炭酸水素ナトリウム(7:3)15ml 10分間超音波抽出 遠心分離(4000rpm×5分) 上澄液50.0mlとする。			
ミニカラム前処理			
①Sep-Pak Sillica	②Sep Pak C18	③Sep-Pak Accell QMA	0.45μmフィルター
抽出液0.2ml負荷 酢酸エチル・MeOH(9:1)20ml洗浄 MeOH・水・アセトニトリル・酢酸(50:42.5:7.5:0.5)5ml溶出 減圧留去 水・アセトニトリル・酢酸(70:30:1)1.0ml溶解 0.45μmフィルターろ過	MeOH5ml、水5mlで予備洗浄 抽出液0.5ml負荷 水・アセトニトリル・酢酸(70:30:1)溶出し、5.0mlにメスアップ	MeOH2ml、水5mlで予備洗浄 抽出液5.0ml負荷 酢酸・MeOH溶液(5.8→1000)10ml洗浄 水10ml洗浄 0.07Mリン酸・MeOH(1:1)で溶出し、10.0mlにメスアップ	溶出液を各ミニカラム精製で得られる試験溶液と同倍率に希釈し、フィルターを通す。
HPLC測定条件			
(1)カラム: Senshu Pak N(CH ₃) ₂ -1151-N φ4.6×150mm カラム温度: 40℃ 移動層: テトラヒドロフラン・水・酢酸(180:40:9) 流量: 1.0ml/min 測定波長: 340nm 注入量: 10μl			
回収率			
センノシド A	96.9%	104.9%	98.8%
B	98.1%	106.1%	98.1%
(2)カラム: ODS-3 φ4.6×150mm カラム温度: 40℃ 移動層: 0.1%リン酸溶液・アセトニトリル(4:1) 流量: 1.0ml/min 測定波長: 366nm 注入量: 10μl			

2. 添加回収試験

ダイエット茶(センナ, センナ茎を含まない製品)にセンノシドA, センノシドB各0.2mg/g添加し回収率を求めた。平均回収率はセンノシドAで96.1%, センノシドBで99.7%であった。

また, センナ葉を添加したダイエット茶(10%含有)についても回収率を求めた。平均回収率はセンノシドAで98.1%, センノシドBで108.4%であった。

3. 調査結果

各ダイエット茶の性状及びセンノシド含有量調査結果は表3のとおりである。図1にセンノシド標準溶液, 図2に試験溶液(No. 1)のクロマトグラムを示した。試験溶液を高速液体クロマトグラフィーで測定したところセンナ茎の認められたNo. 1~No. 3についてはセンノシドが検出されていた。No. 1が0.75mg/g, No. 2が0.44mg/g, No. 3が0.15mg/gであ

った。これを1包あたりに換算すると1.36~2.37mg/包の範囲であった。しかし、1日にダイエット茶を1ℓ飲用すると仮定すればNo.1では1日に5包分

を飲用することになり7.65mg/日となりNo.2 (1.36mg/日), No.3 (2.37mg/日)に比較して多くのセンノシドの摂取になる。

表3 試験品の性状及びセンノシドの含有量

No.	性状	1包の重量(g)	SA(mg/g)	SB(mg/g)	総センノシド量(mg/g)	総センノシド量(mg/包)
1	黒褐色細片 黄褐色細片褐色の実	2.07	0.34	0.41	0.75	1.53
2	黒褐色細片 黄褐色細切片 褐色の実	3.10	0.22	0.22	0.44	1.36
3	褐色細片や実 黄褐色細切片	15.79	0.07	0.08	0.15	2.37
4	褐色の細切や実 緑色葉片	3.04	—	—	—	—
5	黒褐色細片	3.23	—	—	—	—
6	褐色細片 淡緑色葉片や枝	3.29	1.68	1.76	3.44	11.33

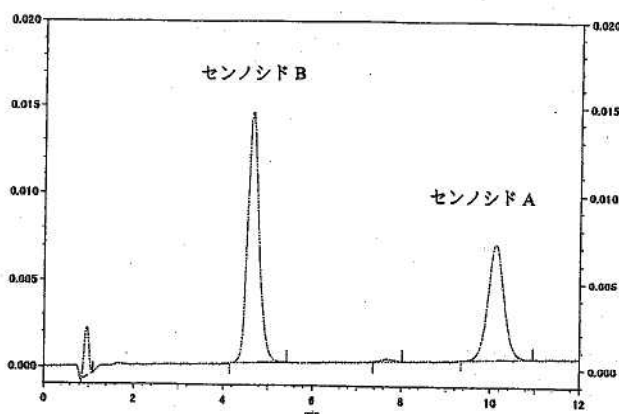


図1 標準溶液のクロマトグラム

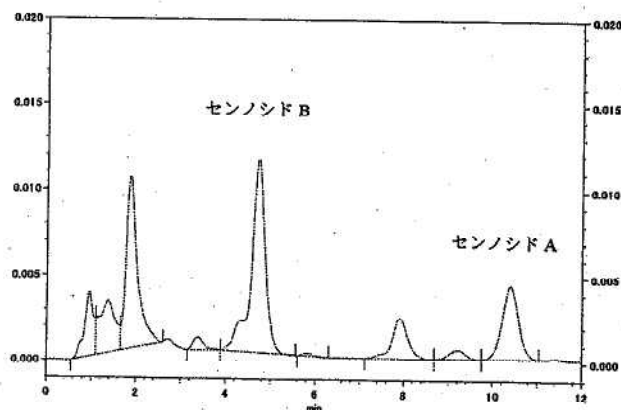


図2 試験溶液のクロマトグラム

IV まとめ

今回入手したダイエット茶6検体についてセンノシドの含有量を調査した。医薬品であるセンナ葉が混入しているという通報のあった製品では、センナ葉片が認められ総センノシド量は11.3mg/包であった。これはセンノシドの薬用量(12~24mg/回)相当を含有している。また、他の3検体についてはセンナ茎が認められ総センノシド量は1.36~2.37mg/包であった。これはセンノシドの薬用量から比べれば少ない量ではあるが1日の飲用の目安が記載されておらず、消費者が効果を期待するために大量に飲用した場合には薬用量相当又はそれ以上を摂取する可能性があり健康被害の発生も否定できないと思われた。

! HPLC測定条件においては逆相系スーパーカラムを使用することにより一部の検体でセンノシドBの直前に

妨害ピークが出現したため、改良の余地があるが比較的短時間でセンノシドを測定することができ、移動相の使用量も削減できた。

文 献

- 1) 小島尚, 土井佳代, 廣武豊, 岸美智子, 中岡正吉, 谷孝之(神奈川県衛生研究所):「ダイエット茶に含まれるセンナおよびダイオウの実態について」神奈川県衛生研究所研究報告No.28 (1998) PP61-65
- 2) 瀬戸隆子, 安田一郎, 浜野朋子, 秋山和幸(東京都立衛生研究所):「HPLCによるセンノシドA・Bの定量法-瀉下薬への応用について-」第21回全国衛生化学技術協議会年会講演集 PP96-97(1984)
- 3) 大住優子, 池田憲廣, 山本雅世, 城尚信, 井上雅成, 中澤裕之(奈良県薬事指導所):「医薬品製剤中のセンノシドA及びBの定量」第30回全国衛生化学技術協議会年会講演集 PP154-155(1992)