

産地別シナモン中のクマリンおよび シナムアルデヒド同時定量分析法

岩田 奈津紀

ユーザーベネフィット

- ◆ クマリン、シナムアルデヒド、夾雑成分との分離が迅速に得られます。
- ◆ コンディショニング不要な固相抽出法を利用したプロトコールにより前処理を簡単に行えます。
- ◆ 一度の分析で最適な検出波長での定量分析が可能です。

■はじめに

シナモンはクスノキ科に属する常緑樹の樹皮を乾燥させたもので、古くから香辛料や漢方薬として用いられています。香辛料としては、お菓子や紅茶、カレー、肉料理などに利用されます。シナモンの摂取には、消化促進、健胃、整腸、解毒、鎮痛などの作用があり、糖尿病の予防または改善効果も報告されています^{1),2)}。

シナモンには、主にセイロンシナモンとカシアシナモンがあります。クマリンやシナムアルデヒドなどの成分が含まれていますが、産地によって含有量が大きく異なります。また、クマリンには肝毒性があることから、2006年にドイツ連邦リスクアセスメント研究所は、クマリンの耐容1日摂取量を0.1 mg/kg体重/日と設定しました³⁾。一方、シナムアルデヒドは動物実験において、胎児に悪影響を及ぼすことが示されています³⁾。したがって、シナモン中のこれらの成分含有量を把握することが重要であると考えられます。

ここでは、高速液体クロマトグラフを用いた産地別シナモン中のクマリンおよびシナムアルデヒドを同時に定量する分析法をご紹介します。

■混合標準溶液の分析

図1にクマリンとシナムアルデヒドの混合標準溶液（各500 µg/L）のクロマトグラムを、表1に分析条件を示します。クマリンは極大吸収波長付近の280 nmで検出しました。また、シナムアルデヒドの極大吸収波長は287 nmですが、感度やシナモンサンプル中の夾雑成分との分離を考慮し、320 nmで検出しました。

表1 分析条件

System	: Nexera lite
Column	: Shim-pack™ GIST-HP C18*1 (150 mm×3.0 mm I.D., 3 µm)
Flow rate	: 0.8 mL/min
Mobile phase	: A) Water B) Acetonitrile
Time Program	: 50%B (0.00-2.00 min)→60%B (4.00 min)→ 100%B (4.01-5.00 min)→50%B (5.01-10.00 min)
Mixer	: 180 µL
Column temp.	: 25 °C
Injection volume	: 5 µL
Vial	: SHIMADZU LabTotal™ for LC 1.5 mL, Glass*2
Detection (PDA)	: Ch1 (Coumarin): 280 nm, Ch2 (Cinnamaldehyde): 320 nm (SPD-M40)

*1 P/N: 227-30040-05 *2 P/N: 227-34001-01

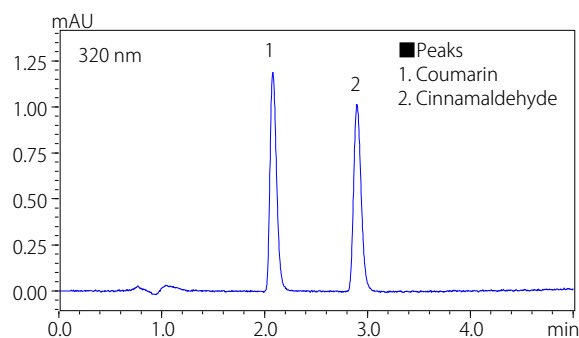
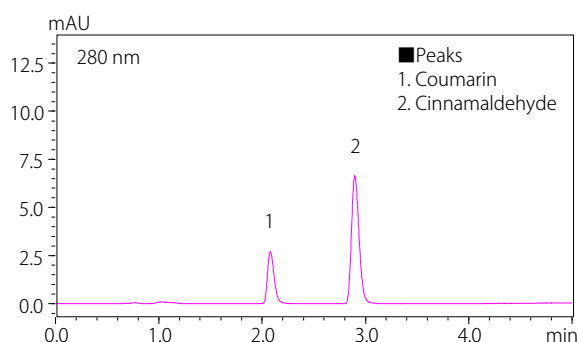


図1 クマリンおよびシナムアルデヒド混合標準溶液（各500 µg/L）のクロマトグラム

■再現性

表2に、各500 µg/Lの混合標準溶液について、6回繰り返し分析における保持時間と面積の再現性(%RSD)を示します。

表2 6回繰り返し分析における再現性(%RSD)

Compound	Retention time	Peak area
Coumarin	0.00	0.22
Cinnamaldehyde	0.07	0.49

■検量線

図2にクマリンおよびシナムアルデヒドの検量線を示します。濃度範囲は、クマリン: 12.5~1,000 µg/L、シナムアルデヒド: 500~40,000 µg/Lです。いずれも寄与率 $r^2=0.9999$ 以上と良好な直線性が得られました。

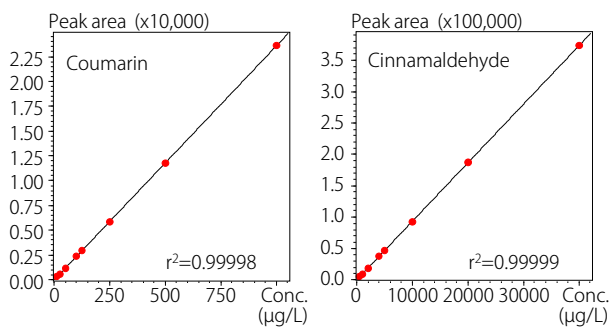


図2 検量線

■産地別シナモンの分析

サンプルは市販のベトナム産カシアシナモンおよびスリランカ産セイロンシナモンを用いました。図3に前処理プロトコルを示します。抽出溶媒はアセトニトリルを用いました。脂質除去には、分散型固相抽出 (dSPE) カートリッジ (Merck製Supel™ QuE Z-Sep+) を用いました。このカートリッジは試料負荷前のコンディショニングが不要であり、操作が簡便です。上清を0.2 µmのメンブランフィルターでろ過後、アセトニトリルで希釈し、HPLCに供しました。

図4、5にカシアシナモンおよびセイロンシナモンのクロマトグラムを示します。シンナムアルデヒドについては検出波長を最適化することで、夾雑成分との分離が良好でした。表3、4に定量結果と含有量を示します。

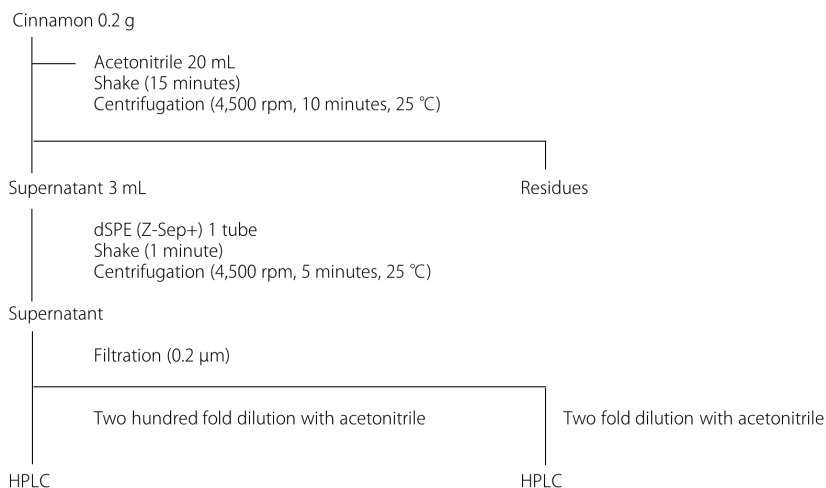


図3 前処理プロトコル

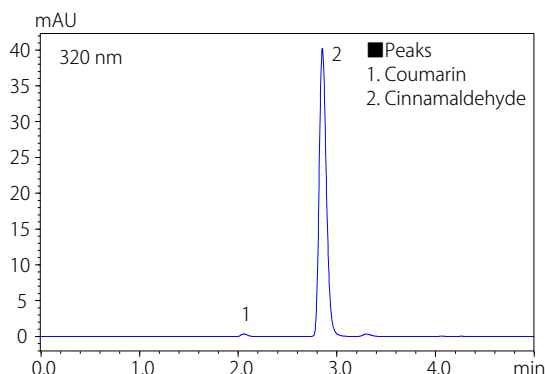
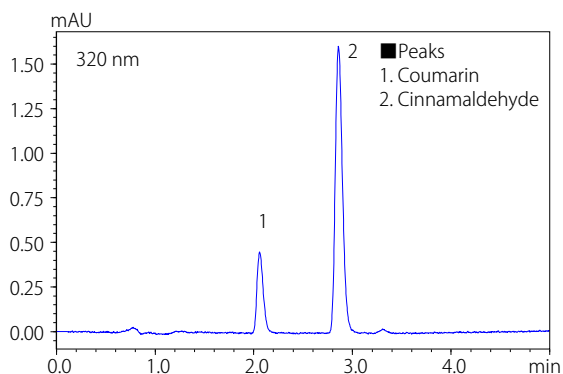
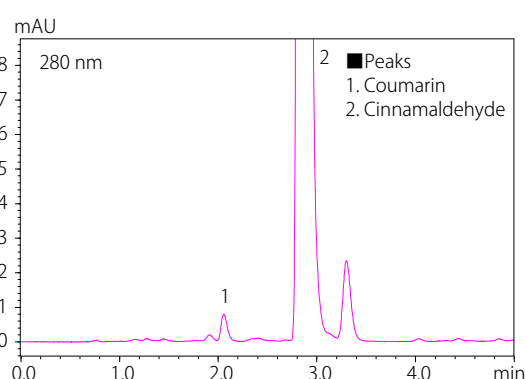
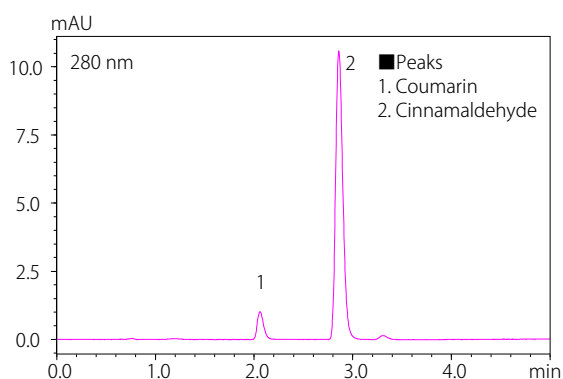


図4 カシアシナモンのクロマトグラム

図5 セイロンシナモンのクロマトグラム

表3 定量結果

	Coumarin	Cinnamaldehyde
	μg/L	μg/L
カシアシナモン	190	871
セイロンシナモン	148	21,821

表4 含有量

	Coumarin	Cinnamaldehyde
	μg/g	μg/g
カシアシナモン	3,791	17,428
セイロンシナモン	30	4,364

■ 添加回収試験

カシアシナモンを用いて添加回収試験を行いました。カシアシナモン0.2 gにクマリンおよびシンナムアルデヒドをそれぞれ2 mg/g、20 mg/gになるように添加し、図3の前処理プロトコールに則って、6サンプルを同時に前処理しました。この時、HPLCに供した試料溶液中のクマリンおよびシンナムアルデヒドの濃度は、それぞれ100 μg/L、1000 μg/Lとなります。表5に添加回収試験結果を示します。

表5 添加回収試験 (n=6)

N	Recovery rates (%)	
	Coumarin	Cinnamaldehyde
1	103.0	91.7
2	100.2	91.5
3	106.9	95.5
4	110.4	95.7
5	110.6	95.6
6	105.1	91.4
Average (%RSD)	106.0 (3.9%)	93.5 (2.4%)

■ UVスペクトルの確認

フォトダイオードアレイ (PDA) 検出器を使用した場合、ピークの保持時間に加え、標準品のUVスペクトルとの一致から定性することが可能です。

図4、5で得られた各シナモンに含有される約2分のピークのUVスペクトルと、標準品のUVスペクトルの重ね書きを図6に示します。各UVスペクトルは比較のため、ノーマライズして表示しています。各シナモンおよび標準品のいずれも275 nmに極大吸収波長が検出されたため、各シナモンの約2分のピークは、クマリンであると同定できました。同様に、各シナモンに含有される約3分のUVスペクトルから、287 nmに極大吸収波長が検出されたため、シンナムアルデヒドであると同定できました (図7)。

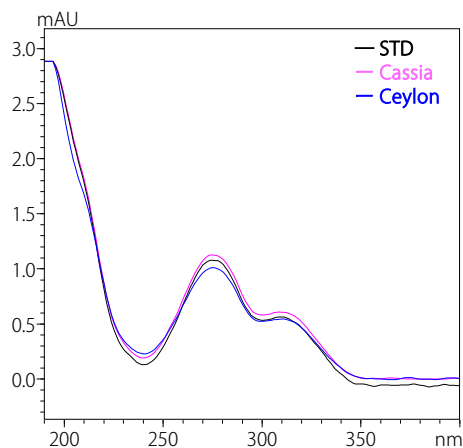


図6 UVスペクトルの比較 (クマリン)

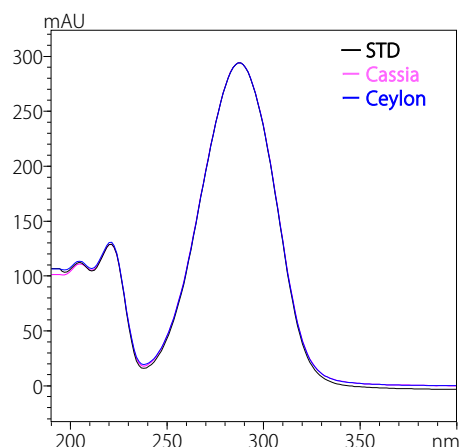


図7 UVスペクトルの比較 (シンナムアルデヒド)

■ まとめ

産地別シナモン中のクマリンおよびシンナムアルデヒドの前処理法と分析法を開発しました。検出波長を最適化することで適切な感度を確保でき、夾雑成分との良好な分離を達成できました。本稿の方法により定性定量分析を迅速に行えます。

[参考文献]

- 1) S. Kim, S. Hyun, S. Chung; *J. Ethnopharmacol.*, 104(1-2), 119-123 (2006).
- 2) R. Akilen, A. Tsiami, D. Devendra, N. Robinson; *Diabet. Med.*, 27(10), 1159-1167 (2010).
- 3) Hohe tagliche Aufnahmemengen von Zimt: Gesundheitsrisiko kann nicht ausgeschlossen werden (27.09.2006)

Nexera、Shim-packおよびSHIMADZU LabTotalは、株式会社 島津製作所の日本およびその他の国における商標です。