

## シナモン含有食品のクマリン分析法及び実態調査

岩崎由美子, 田端節子, 飯田憲司, 伊藤弘一,  
佐々木英子, 根岸潤, 井部明広

## シナモン含有食品のクマリン分析法及び実態調査

岩崎由美子\*, 田端節子\*, 飯田憲司\*, 伊藤弘一\*\*,  
佐々木英子\*\*\*, 根岸潤\*\*\*, 井部明広\*\*\*\*

シナモン含有食品中のクマリン分析法を検討した。試料を90%アセトニトリルで抽出後、その上澄液をBOND ELUT MEGA-BE-C18 500MGで精製し試験溶液とし、試験溶液を逆相系高速液体クロマトグラフ (HPLC) で定量し、高速液体クロマトグラフ/タンデム質量分析装置 (LC/MS/MS) で確認した。本試験法での定量限界はシナモンパウダーで2 µg/g, ビスケットで1 µg/g, 回収率は92%, 97%及びCV%は2.1%, 0.4%であった。本試験法を用いてシナモン含有食品30製品について調査した結果、クマリン含量はシナモンパウダー, シナモンスティックでは11~6,700 µg/g, 菓子類では10製品中9製品から2~81 µg/g及びサプリメントでは2,300~2,900 µg/gであった。

キーワード: クマリン, シナモン, セイロン, カシア, シナモン含有食品, HPLC, LC/MS/MS

### はじめに

シナモンは香辛料として、菓子、料理に使用されるほか、芳香性健胃薬原料として胃腸薬にも処方されている。

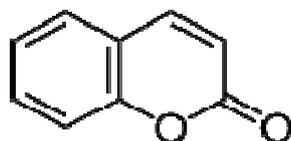


図1. クマリン

シナモンには芳香成分としてクマリンを含むことが知られている。シナモンには大きく分けてセイロン (*Cinnamomum zeylanicum* Nees) とカシア (*C. cassia* Blume) の2種類があり、後者の方がクマリンの含有量が高いと言われている。

クマリンには肝毒性があり、ドイツ連邦リスクアセスメント研究所 (BfR: Bundesinstitut für Risikobewertung) は、2006年にクマリンの耐容1日摂取量 (TDI) を0.1 mg/kg体重/日と設定した<sup>1)</sup>。

日本人の通常の食習慣ではクマリンの多量摂取はないものと思われる。現在まで、我が国でシナモンによる被害報告はないが、近年健康食品として「シナモンカプセル」が市販されるようになったため、TDI以上のクマリンを摂取した場合の健康被害を否定できない。そこで、国内に流通するシナモン含有食品のクマリンの含有量実態を調査するため、食品中のクマリンの試験法を開発した<sup>2)</sup>。

本試験法を用いて、スパイス15製品、菓子類10製品及びシナモンサプリメント (シナモンが主原料) 5製品についてクマリン含有量を調査したので報告する。

### 実験方法

#### 1. 試料

市販のシナモンパウダー, シナモンスティック, シナモンサプリメント (以下シナモン製品と略す), ビスケット類, 焼八ッ橋, 生八ッ橋, ニッキ飴及びシナモンベーグルを用いた。

#### 2. 試薬

標準品: 和光純薬製のクマリン (試薬特級) を用いた。

標準溶液: クマリン500 mgをアセトニトリル50mLに溶解したものを標準原液 (10,000 µg/mL) とし、適宜アセトニトリル-水 (9:1) で希釈したものを標準溶液とした。

固相抽出カラム: BOND ELUT MEGA-BE-C18 500MG (パリアン社製)

その他の試薬, 溶媒は市販の特級, 液体クロマト用を用いた。

#### 3. 装置および測定条件

高速液体クロマトグラフ: LC-1500シリーズ (日本分光製)

高速液体クロマトグラフ/タンデム質量分析装置:

Waters 2695 (Waters社製),

Quatro Ultima Pt (MICROMASS社製)

#### 4. 試験溶液の調製

シナモンパウダーはそのまま, シナモンスティック, ビスケット類及び焼八ッ橋は, ミキサーで粉砕し, 生八ッ橋はハサミで細切して試料とした。シナモンサプリメントは内容物の粉末をそのまま試料とした。ニッキ飴は水で溶解して, シナモンベーグルはクッキングカッターで粉砕して

\* 東京都健康安全研究センター食品化学部食品成分研究科 169-0073 東京都新宿区百人町 3-24-1

\*\* 東京都健康安全研究センター医薬品部微量分析研究科

\*\*\* 東京都健康安全研究センター広域監視部食品監視指導課 163-8001 東京都西新宿区 2-8-1

\*\*\*\* 東京都健康安全研究センター精度管理室

試料とした。

シナモンパウダー、シナモンスティック、シナモンサブ  
リメント、ビスケット、シナモンペーグル：試料4 gを50 mL  
遠沈管に秤取し、アセトニトリル-水 (9:1) 20 mLで15分  
振とう抽出後、遠心分離 (3,000 rpm, 15分) し、その上澄  
液を抽出溶液とした。

シナモン製品は、抽出溶液2 mLを水で8 mL (4倍希釈)  
とし、その2 mLをアセトニトリル3 mL及びアセトニトリル  
-水 (1:3) 3 mLでコンディショニングしたBOND ELUT  
MEGA-BE-C18 500MGに負荷した。アセトニトリル-水  
(1:3) 2 mLで洗浄後、アセトニトリル-水 (7:3) 2 mLで  
溶出し、0.45 µmフィルターでろ過したものを試験溶液とし  
た。

油脂の多いビスケット類については、抽出溶液5 mLとア  
セトニトリル飽和n-ヘキサン1 mLを分液ロートにとり、緩  
やかに約20回振とうし、下層を試験溶液とした。

シナモンペーグルは抽出溶液を0.45 µmフィルターでろ  
過したものを試験溶液とした。

焼ハッ橋：試料1 gを50 mL遠沈管に秤取し、メタノール-  
水 (7:3) 25 mLで20分振とう抽出後、遠心分離 (3000 rpm,  
15分) し、その上澄液を0.45 µmフィルターでろ過し、試験  
溶液とした。

生ハッ橋：試料5 gを100 mLブレンダーカップに秤取し、  
メタノール-水 (7:3) 50 mLで5分ホモジナイズ (10,000 rpm)  
し、抽出液を50 mL遠沈管に移し、遠心分離 (3,000 rpm,  
15分) し、その上澄液を0.45 µmフィルターでろ過し、試験  
溶液とした。

ニッキ飴：1粒 (約4.3 g) を水50 mLに溶解し、食塩5 gを  
加えて、酢酸エチル50 mLで2回振とう抽出し、液相分離ろ  
紙でろ過し、溶媒を留去した。残渣をアセトニトリル-水 (7  
:3) 2 mLで溶解し、0.45 µmフィルターでろ過したものを  
試験溶液とした。

## 5. 測定条件

### 1) HPLC条件

カラム：Discovery HS C18 (5 µm, 4.6 mm i.d.×250 mm  
SUPELCO社製)、カラム温度：45°C  
移動相：水 (A), 60%アセトニトリル (B) A:B= 58:42 (38  
min) → (5 min) → 20:80 (10 min) → (5 min) → 58:42 (7min),  
流速：0.5 mL/min, 検出波長：280 nm, 注入量：10 µL

### 2) LC/MS/MS条件

測定モード：ESI(+), モニターイオン(m/z)：147,103,91,  
イオンソース温度：130°C, デソルベーション温度：450°C,  
キャピラリー電圧：3.00 kV, コーン電圧：45 V, コリジ  
オンエネルギー電圧：18 eV, カラム：TSK GEL ODS-100V (3  
µm, 3.0 mm i.d.×150 mm) 東ソー製,  
移動相：1.0%ギ酸(C), 60%アセトニトリル(D), C:D=  
50:50 (25 min) → (1 min) → 10:90 (15 min) → (1 min) →  
50:50 (20 min), 流速：0.2 mL/min, 注入量：2 µL, カラム

温度：45°C

スパイス (セイロン) のHPLCクロマトグラムを図2に示  
した。

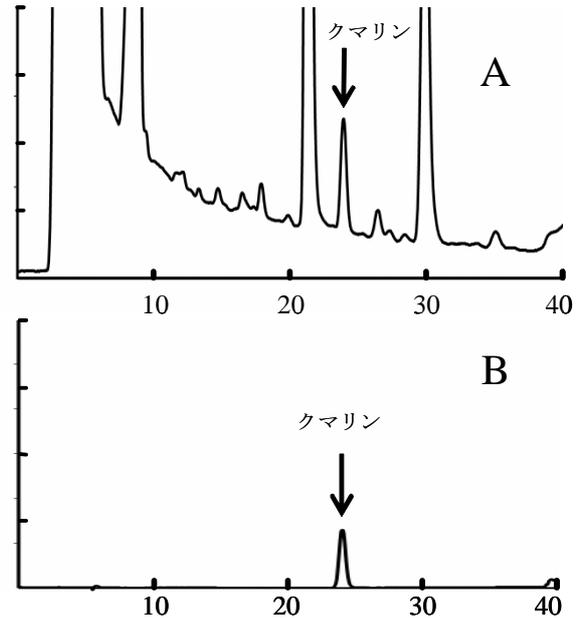


図2. クマリンのHPLCクロマトグラム

A: スパイス B: クマリン標準品

## 結果及び考察

### 1. 抽出溶液の精製

シナモン製品の抽出溶液にはシナモン由来の物質が含ま  
れ、HPLCクロマトグラム上の妨害物質となったため、精製  
法の検討を行った。BOND ELUT-C18, Oasis MCX, MAX,  
WAX, HLB (ウォーターズ社製) の5種類の固相抽出カラム  
について検討した。

抽出溶液2 mLをそのままアセトニトリル-水 (9:1) 5 mL  
でコンディショニングした各固相抽出カラムに負荷し、続  
いてアセトニトリル-水 (9:1) 2 mLを流下したところ、使  
用したすべての固相抽出カラムで、負荷したクマリンの99  
%以上が溶出された。しかし、妨害物質も同時に溶出され、  
除去が不十分であった。

そこで抽出溶媒を水で希釈してカラムに保持させ、洗浄  
後、溶出させる方法を検討した。抽出溶媒を水で4倍及び10  
倍に希釈して、それぞれの2 mLをアセトニトリル3 mL及び  
アセトニトリル-水 (1:3) 3 mLでコンディショニングした  
BOND ELUT-C18カラムに負荷した。それぞれをアセトニ  
トリル-水 (1:3) 2 mLで洗浄した後、アセトニトリル-水 (7:3)  
又はアセトニトリル-水 (1:1) 2 mLで溶出した。カラム負  
荷時の水での希釈率は4倍の方がHPLC上の妨害ピークが少  
なかった。また溶出溶媒は、アセトニトリル-水 (7:3) で  
は2 mLで溶出が完了したが、アセトニトリル-水 (1:1) で  
は4 mLの溶出液が必要であったため、溶出はアセトニ  
トリル-水 (7:3) とした。

また、ビスケット類には多量の油脂が含まれるため、C18  
カートリッジ及びアセトニトリル飽和n-ヘキサン洗浄によ

る油脂の除去法について検討した結果、油脂の除去効果が高いアセトニトリル飽和n-ヘキサンによる洗浄法を選択した。

焼八ッ橋については試料4 gを50 mL遠沈管に秤取し、アセトニトリル-水 (9:1) 20 mLで15分振とう抽出したところ、試料粉末が固まって、抽出溶媒に分散しなかった。アセトニトリル-水 (7:3) も同様であった。そこで、採取量を1 gとし、メタノール-水で抽出したところ、試料粉末が分散し、88%以上の回収率が得られたためメタノール-水 (7:3) を抽出溶媒とした。

生八ッ橋も同様にアセトニトリル-水では抽出溶媒に分散しなかったため、メタノール-水 (7:3) を抽出溶媒とした。

ニッキ飴は水で溶解し、食塩5 gを加えて、酢酸エチル、クロロホルム、n-ヘキサンで抽出した。酢酸エチル、クロロホルムでは90%以上の抽出率であったため、酢酸エチルを抽出溶媒とした。

シナモンペーグル、焼八ッ橋、生八ッ橋及びニッキ飴については、クマリン付近にHPLC上の夾雑ピークがなかったため、抽出溶液を0.45 µmフィルターでろ過したものを試験溶液とした。

## 2. HPLC条件の検討

TSK GEL ODS-80TS (5 µm, 4.6 mm i.d.×150 mm) 東ソー製 (以下カラム①と略す)、TSK GEL ODS-100V (5 µm, 4.6 mm i.d.×250 mm) 東ソー製 (以下カラム②と略す)、Discovery HS C18 (5 µm, 4.6 mm i.d.×250 mm) SUPELCO社製 (以下カラム③と略す) について、水-アセトニトリル系の移動相の条件を検討した。カラム①では水-アセトニトリル (75:25) でクマリンの保持時間は8.5分であったが、クマリン付近の夾雑ピークとの分離がよくなかった。カラム②、③では水-アセトニトリル (70:30) のクマリンの保持時間はそれぞれ26分、19分で、夾雑ピークと分離も良好であった。

カラム③について、移動相を水-60%アセトニトリル (58:42) にしたところ、クマリンの保持時間は25分で、夾雑ピークとの分離がさらに良好になった。しかし、長時間に渡って夾雑ピークが溶出してきた。そこで測定時間の短縮を図るため、上記移動相の条件で分析後、グラジエントを行い、夾雑物を除去することとした。

決定した条件での検量線は0.1~100 µg/gの範囲で直線性が得られた。各食品の定量限界は表1のとおりで、シナモン製品で2 µg/g、菓子類 (ビスケット、焼八ッ橋、生八ッ橋、ニッキ飴、ペーグル) で1 µg/gであった。

## 3. 添加回収試験

各試料にクマリンが試料中で10~100 µg/gとなるように添加し、回収試験 (n=3) を行った結果は表1のとおりであった。6食品の回収率は88.7~97.4%、CV%は4%以下と良好な結果であった。

表1. クマリンの回収率及び検出限界

食品	添加量 (µg/g)	回収率 (%)	CV (%)	定量限界 (µg/g)
シナモン製品	100	91.9	2.1	2
ビスケット	10	96.6	0.4	1
焼八ッ橋	100	88.7	3.2	1
生八ッ橋	20	97.4	1.6	1
ニッキ飴	20	90.6	0.8	1
ペーグル	40	97.0	3.9	1

## 4. 食品中のクマリン含有量実態調査の結果

本法を用いてシナモンパウダー及びシナモンスティック (以下スパイスと略す) 15製品、菓子類10製品及びシナモンサプリメント5製品の合計30製品について測定したクマリン含有量を表2に示した。

表2. 食品中のクマリン含有量

食品	産地	検体数	検出数	クマリン含有量 (µg/g)	平均 (µg/g)	
ス パ イ ス	セイロン	スリランカ	7	7	11-17	14
		ベトナム	4	4	4,500-6,700	5,400
	カシア	インドネシア	1	1	1,900	
		マレーシア	1	1	1,300	
		中国	2	2	310, 850	580
	計		8	8	310-6,700	3,300
	計		15		11-6,700	1,700
菓 子 類	ビスケット		4	4	2-5	3.5
	焼八ッ橋		2	2	40, 81	61
	生八ッ橋		2	1	25	13
	ニッキ飴		1	1	4	
	ペーグル		1	1	13	
サ メ	セイロン		1	1	2,900	
ブ ン	カシア		3	3	2,300-2,900	2,500
リ ト	未表示		1	1	2,700	
	計		5		2,300-2,900	2,600

### 1) スパイス

スパイス15製品のクマリン含有量は11~6,700 µg/g、種別では、セイロンは平均で14 µg/g、カシアは平均で3,300 µg/gであり、カシアがセイロンより200倍以上高い値であった。

カシアについて産地別にクマリン含有量を比較すると、ベトナム産は平均5,400 µg/gで最も高く、次いでインドネシア産が1,900 µg/g、マレーシア産が1,300 µg/g、中国産が最も低く平均で580 µg/gであった。生薬のケイヒ (カシア) でも、産地によってクマリン含有量に同様の差があることが報告

されている<sup>3,4)</sup>。

食品のシナモンは本来セイロン (*C. zeylanicum*) が使用され、味は甘く辛味は弱いとされ、本調査のシナモンもセイロンは辛味が弱く、カシアでは辛味が強かった。

## 2) 菓子類

ビスケットのクマリン含有量は2~5 µg/g、焼八ツ橋は40、81 µg/g、生八ツ橋2製品中1製品が25 µg/g、もう1製品からは検出されなかった。ニッキ飴は4µg/g、シナモンベーグルで13 µg/gであった。

## 3) シナモンサプリメント

個人輸入代行及び都内で購入したシナモンサプリメント5製品（セイロン：1製品、カシア：3製品、種類未記載：1製品）のクマリン含有量の平均は2,600 µg/gであった。原料の種類別に見ると、セイロンと表示された製品は2,900 µg/g、カシアと表示された製品は平均2,500 µg/g、種類未記載の製品は2,700 µg/gであった。クマリン含有量が低いとされているセイロン表示製品からは2,900 µg/gの高い値のクマリンが検出された。これらの製品の原材料は、カプセルの原料となる「ゼラチン」等と「シナモン」のみであり、クマリンの含有量から、主原料が「セイロン」と表示された製品、未表示の製品のいずれも、カシアが使用されている可能性が否定できない。

## 5. クマリン含有量からのリスク推定

成人の体重を 50 kg と仮定すると、BfR のクマリンの耐容 1 日摂取量 (TDI) 0.1 mg/kg 体重/日から、成人のクマリン耐容 1 日摂取量は 5.0 mg となる。

クマリンの耐容 1 日摂取量と今回検査したクマリン含有量から、食品毎に TDI 相当量を算出した。

### 1) スパイス

平成17年「国民健康・栄養調査報告」の食品群別栄養素等摂取量によると、「香辛料・その他」の1日当たり摂取量は0.2 gであった。一日に摂取するスパイス0.2 gをすべてシナモンで摂取した場合でも、各スパイスのクマリン摂取量はセイロンで0.0028 mg/day、カシア平均で0.66 mg/day、もっとも濃度の高かったベトナム産カシアでも1.1 mg/dayで

表3. スパイスのTDI相当量

スパイス	クマリン	TDI
	含有量 (µg/g)	相当量 (g)
セイロン (スリランカ) 平均	14	360
カシア	ベトナム	5,400
	中国	580
	インドネシア	1,900
	マレーシア	1,300
	平均	3,300

あった。また、スパイスのTDI相当量はセイロンで平均360 g、カシアで平均1.5 gであった。これらのことから、香辛料として通常の食事をする限りでは、TDIを超えることはないと考えられる。(表3)

## 2) 菓子類

菓子類のTDI相当量は表4のとおりであった。TDI相当量はビスケットでは1,100~3,100 g、焼八ツ橋で62~130 g、生八ツ橋は200 g、ニッキ飴で1,200 g、シナモンベーグルで390 gであった。菓子毎の1日許容量はビスケットで130~970枚、焼八ツ橋は14~29枚、生八ツ橋は29枚、ニッキ飴で284粒、シナモンベーグルは4個で、通常の量ではTDIを超えることはないと考えられる。(表4)

表4.菓子類のTDI相当量

菓子類	クマリン	TDI
	含有量 (µg/g)	相当量 (g)
ビスケット	3.5	1,100-3,100
焼八ツ橋	61	62-130
生八ツ橋	(-)	
	25	200
ニッキ飴	4	1,200
ベーグル	13	390

## 3) シナモンサプリメント

製品に表示されている1日摂取目安量 (2カプセル/日) のサプリメントを摂取したときのクマリン1日摂取量は表5のとおりであった。その結果、5製品のいずれもTDIを超えなかった。

表5. シナモンサプリメントのクマリン1日摂取量

種別	クマリン	2カプセル	クマリン
	含有量 (µg/g)	内容量 (g)	1日摂取量 (mg)
セイロン	2,900	1.26	3.65
	2,400	1.02	2.45
カシア	2,900	1.04	3.02
	2,300	0.96	2.21
カシア平均	2,500		
未記載	2,700	0.86	2.32
平均	2,600		

日本人の通常の食生活において、菓子類等の摂取ではTDIを超えることはほとんどないと考えられる。しかし、シナモンサプリメントは表示上の1日摂取目安量を摂取すると、1日のクマリン摂取量はTDIの44~74%であるため、他のシナモン含有食品をあわせて摂取した場合にはTDIを超える可能性があると考えられる。

### ま と め

1. シナモン製品、ビスケット及びシナモンベークはアセトニトリル-水 (9:1), ハツ橋はメタノール-水 (7:3), ニッキ飴は酢酸エチルで抽出した.
  2. シナモン製品の精製にはBOND ELUT MEGA-BE-C18を用いることにより, 回収率も高く, 高い精製能が得られた.
  3. HPLCはDiscovery HS C18を用いてグラジエント分析を行うことにより, 比較的短時間で良好なクロマトグラムが得られた.
  4. 本法によるクマリンの添加回収実験の結果は, 6食品の回収率は88.7~97.4%, CV%は4%以下と良好であった.
  5. シナモンスパイスのクマリン含有量はセイロンで平均14 µg/g, カシアで3,300 µg/gであり, カシアがセイロンより200倍以上高い値であった. 特にベトナム産カシアが平均では5,400 µg/gと高い含有量であった. スパイスのTDI相当量はセイロンでは平均360 g, カシアで平均1.5 gであった.
- 菓子類のクマリン含有量は, ビスケットで2~5 µg/g, 焼ハツ橋は40, 81 µg/g, 生ハツ橋2製品中1製品が25 µg/g, もう1製品からは検出されなかった. ニッキ飴は4 µg/g, シナモンベークで13 µg/gであった.

シナモンサプリメントのクマリン含有量は, 平均で2,600 µg/gであった. 1日摂取目安量の摂取では, TDIを超えなかった.

今回の調査の結果, 成人が平均的な食事をする限りでは, TDIを超えることはほとんどなかった. しかし, シナモンサプリメントと他のシナモン含有食品をあわせて摂取した場合にはTDIを超える可能性があると考えられる.

### 文 献

- 1) 国立医薬品食品研究所 安全情報部: 食品安全情報 33-34 No.21/2006 (Bundesinstitut für Risikobewertung : 27.09.2006), <http://www.nihs.go.jp/hse/food-info/foodinfonews/index.html> (2006年10月11日現在, なお本URLは変更または抹消の可能性はある)
- 2) 岩崎由美子, 田端節子, 飯田憲司, 他: 第20回地衛研協議会関東甲信静年会要旨, 28-30, 2008.
- 3) 日本薬局方解説書編集委員会編: 第15改正日本薬局方解説書, D199-209, 2006, 廣川書店, 東京.
- 4) Sagara K., Oshima T., Yoshida T.: *J. Chromatogr.*, **409**, 365-370, 1987.

**Determination of Coumarin in Cinnamon Foods**

Yumiko IWASAKI\*, Setsuko TABATA\*, Kenji IIDA\*, Kouichi ITOU\*,  
Eiko SASAKI\*\*, Jun NEGISHI\*\* and Akihiro IBE\*

A method for determining coumarin in cinnamon foods using HPLC was developed. Coumarin was extracted with 90% acetonitrile and refined with a BOND ELUT MEGA-BE-C18 cartridge. The LC separation was performed on the Discovery HS C18 column by using 60% acetonitrile and water as the mobile phase. Coumarin was confirmed by LC/MS/MS. The average recovery rates of coumarin from cinnamon powder and a cinnamon cookie were 92% and 97%, respectively, with variation coefficients of 2.1% and 0.4% and quantification limits of 2 µg/g and 1 µg/g respectively.

Thirty samples were examined using this method. Coumarin was found in spices in the range of 11~6,700 µg/g in sweets from ND~81 µg/g and in supplements from 2,300~2,900 µg/g.

**Keywords** : coumarin, cinnamon, ceylon, cassia, cinnamon foods, HPLC, LC/MS/MS

---

\* Tokyo Metropolitan Institute of Public Health  
3-24-1, Hyakunin-cho, Shinjuku-ku, Tokyo 169-0073 Japan

\*\* Department of Regional Food and Pharmaceutical Safety Control, Tokyo Metropolitan Institute of Public Health  
2-8-1, Nishishinjuk, Shinjuku-ku, Tokyo 163-8001 Japan