

# ガスクロマトグラフィー分析によるキョウオウの分類

玉村隆子、照屋正映

沖縄県内外から収集したキョウオウ（春ウコン）について、エタノールエキスのガスクロマトグラフィー（GC）分析を行い、クロマトグラムパターンに基づくグループ分けを目標に研究を行った。キョウオウはウコンに比べて低沸点成分の存在が示唆されたことから、最初にGC分析条件を検討したところ、分離カラムとして無極性カラムを用いて昇温分析を行うことにより良好なピークの分離が得られることが明らかとなった。13サンプルを分析して得られたガスクロマトグラムを用いて、任意のピーク高さによるグループ分けを試みた結果、シネオールのピークが見られる県内産よりなるグループ（Ⅰ）と、シネオールのピークが見られない県内産、県外産からなるグループ（Ⅱ）に分類できた。また、海外産2サンプルはこれらグループとはそれぞれ異なるパターンを示した。

## 1 はじめに

ウコンは世界に約50種あるとされるショウガ科の植物で主に熱帯から亜熱帯地域に生育し、沖縄県内ではウコン（秋ウコン：*Curcuma longa* L.）、キョウオウ（春ウコン：*Curcuma aromatica* Salisb）、ガジュツ（紫ウコン：*Curcuma zedaria* Roscoe）が主に栽培されている。古くから利胆作用や抗菌作用などの薬理活性が知られている<sup>1)</sup>ことから、生薬としてだけでなく健康食品原料としても広く利用されている。沖縄県の健康食品原料としても主要なアイテムであり<sup>2)</sup>、県内産以外にも県外産や海外産の原料も利用されている。これらウコン類は品種間でクルクミン類や精油含量に違いがあることが明らかとなっているが、製品としてのウコン末においては、産地や系統による成分特性の違いも示唆されている<sup>3)</sup>。

一方、健康食品に用いられる原料植物は、複数の成分の関与による生理作用を有すると考えられる。例えばウコン類には、肝機能強化作用があるとされるクルクミン類以外にも、精油成分のカンファーやシネオール、アズレンなど多数の成分が含まれており<sup>1)</sup>、強心作用や抗菌作用、潰瘍への効果などもあるとされる。このように多成分が関与する効果を期待する製品において、原料品質を評価する場合には、一成分のみを指標とするだけでなく、多くの成分を対象とした評価が必要であると考えられる。

本研究では、クロマトグラフィー分析による原料ウコン類の分類と、総合的な評価基準の確立を目的として、クロマトグラムパターンの統計的解析を試みている。本報では沖縄県内外から収集したキョウオウを用い、エタノールエキスのガスクロマトグラフィー（GC）分析を行い、クロマトグラムパターンに基づいたグループ分けを試みた結果について報告する。

## 2 実験方法

### 2-1 試料及び試薬

本研究で用いた試料を表1に示した。抽出溶媒としてエタノール（関東化学、特級）を使用した。

表1 本研究で用いたキョウオウ試料

サンプルNo.	産地	入手先
KY-01	県内	県内企業A
KY-02	県内	県内企業B
KY-03	県内	園芸支場
KY-04	県内	県内企業C
KY-05	県内	県内企業D
KY-06	県内	県内企業E
KY-07	ミャンマー	県内企業F
KY-08	中国	県内企業G
KY-09	県内	県内企業H
KY-10	県外	県外企業A
KY-11	県内	琉球大学農学部
KY-12	県内	県内企業I
KY-13	県外	県外企業B

### 2-2 試料の前処理

生根茎は、洗浄後、スライスし60℃で温風乾燥した後、カッター式粉砕器（IKA MF10ベーシック、1mmメッシュ）で粉砕し、乾燥粉末とした。また、スライス乾燥物として入手したのもカッター式粉砕器で粉砕した。乾燥粉末として提供を受けたものは必要に応じてカッター式粉砕器で粉砕するか、そのまま用いた。各試料はガラス製の密封瓶に保管した。

### 2-3 エタノールエキスの調製

試料乾燥粉末の重量に対して10倍量のエタノールを加え、室温で30分間、超音波浴槽で抽出を行った。抽出後、室温で20分間、1,600rpmで遠心分離を行い、上清を0.45  $\mu$ mフィルターで濾過してエタノールエキスとした。

### 2-4 装置

GC分析装置にGC-17A（島津製作所製）を、質量分析計としてQP5000（島津製作所製）を用いた。

### 2-5 GC分析条件の検討

#### 2-5-1 分析温度の検討

表2に示す条件で行った。

表2 GC分析温度条件

検出器	水素炎イオン検出器
カラム	DB-1(長さ30m×内径0.32mm、膜厚0.25 $\mu$ m、J&W SCIENTIFIC社製)
キャリアーガス	ヘリウム
カラム流量	1.0mL/分
線速度	25cm/秒
スプリット比	1 : 10
検出器温度	300°C
カラムオープン温度	I : 150°C、10°C/分昇温 II : 50°C、5°C/分昇温

#### 2-5-2 分析カラムの検討

長さが同じで極性の異なるDB-1（無極性）、HP-5（微極性）およびZB-WAX（高極性）を分析に用いた。その他の条件は表2に準じた。

### 2-6 統計処理

統計処理にはEXCEL（マイクロソフト社）およびEXCEL統計およびEXCEL多変量解析（エスミ社）を使用した。

## 3 実験結果及び考察

### 3-1 GC分析条件の検討

#### 3-1-1 分析温度の検討

表2に示した条件下でのキョウオウエタノールエキス分析例を図1に示した。ウコンのエタノールエキスでは、

無極性カラムであるDB-1を用い、初期温度150°Cからの昇温分析で十分な分離が得られる<sup>4)</sup>。しかしながら図1（I）に示したように、キョウオウエタノールエキスでは、抽出溶媒であるエタノールと重なるピークが確認されたため、温度条件を検討する必要があると考えられた。そこで、初期温度を50°Cとし、さらに昇温速度を5°C/分とした結果、図1（II）に示すように、低沸点部分のピークを分離することができた。また、昇温条件を変更することでより多くのピークが分離されることが示された。

#### 3-1-2 分析カラムの検討

極性の異なるカラムを用いた場合、図2に示すように、極性の低いカラムに比べ高極性カラムでピーク数が多く確認された。しかしながら、高極性カラムではより高温部分でピークが分離されず、分析した後カラム内に成分が残ることが確認されたことから、キョウオウエタノールエキスの分析には極性の低いカラムが適していると判断した。さらに、極性が低いほど高温分析が可能であることから、今回は無極性カラム（DB-1）を用いることとした。

以上の結果より、キョウオウエタノールエキスを分析した際にもっともピーク数の確認できる条件を決定し、表3に示した。

表3 キョウオウエタノールエキスGC分析条件

検出器	水素炎イオン検出器
カラム	DB-1(長さ30m×内径0.32mm、膜厚0.25 $\mu$ m、J&W SCIENTIFIC社製)
キャリアーガス	ヘリウム
カラム流量	1.0mL/分
線速度	25cm/秒
スプリット比	1 : 10
検出器温度	300°C
カラムオープン温度	80°C (2分保持) ↓ (10°C/分) 150°C ↓ (5°C/分) 300°C (6分保持)

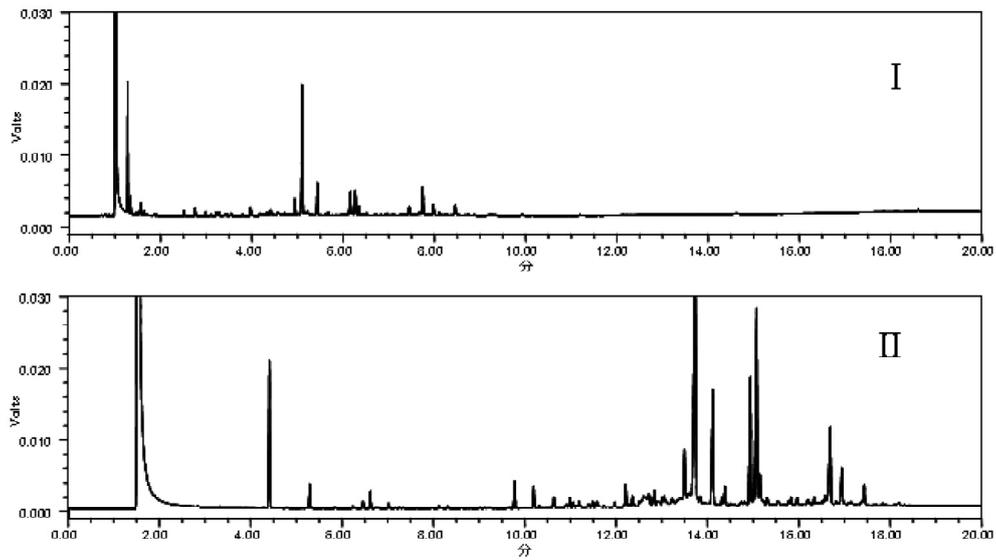


図1 異なるGC温度でのガスクロマトグラム

I : 150°C (2分) - (10°C/分) - 300°C、II : カラム温度0°C (2分) - (5°C/分) - 300°C

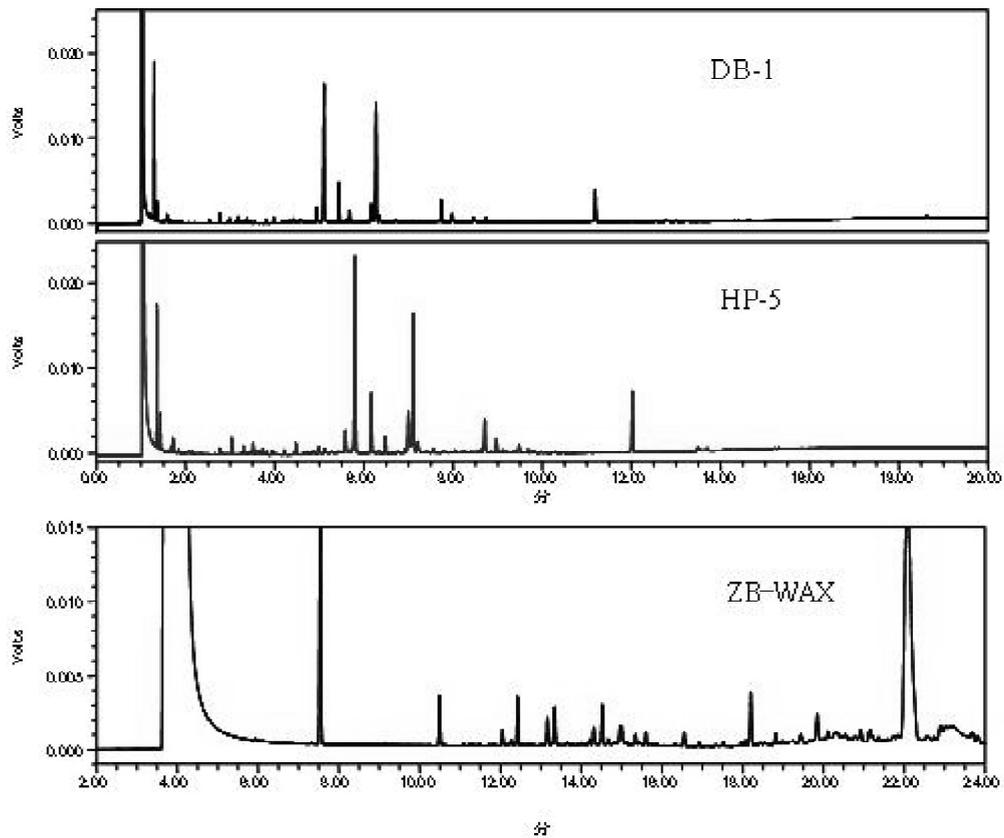


図2 極性が異なるカラムでのガスクロマトグラム

DB-1 : 無極性カラム、HP-5 : 微極性カラム、ZB-WAX : 高極性カラム

### 3-2 エタノールエキスの分析およびGCクロマトグラムパターンの解析

表2の条件でキョウオウエタノールエキスをGC分析した結果、図3に示すように良好なピークの分離が得られた。そこで、クロマトグラムを各ピーク高さの集合として考え、ピーク高さ値の主成分分析によるクロマトグラムパターンの解析を行った。主成分分析には任意のピークを選択した。すなわち、各クロマトグラムで高さが最大のピーク（エタノールを除く）を1としたときの各ピーク高さ比を求め、全サンプルでピーク比が1%以上の15ピークと、GC-MSおよび標準試薬でシネオールと確認されたピーク1の計16ピークを選択した。その結果、8ピークは主成分軸への寄与率が低く、固有ベクトル絶対値が0.05以下であった。そこで、これらを除いた8ピークについて再度主成分分析を行ったところ、16ピーク

の場合と同様のプロットが得られ、主成分1の寄与率は40.84%、主成分2の寄与率が28.44%であり、累計69.28%であった。図3にクロマトグラムの例と選択した8ピークを示した。また、各ピークの高さを表3に示した。表には示さないが、ピーク1～8の各クロマトグラムにおける高さの合計は、それぞれのクロマトグラムにおけるピーク高さ合計（エタノールを除く）に対し、40.3～66.9%であった。8ピークの高さ値を主に主成分分析を行った結果を図4に、固有ベクトル値を表4に示した。

図4より、各サンプルは主成分1の軸でKY-03、KY-09、KY-11の第Iグループと、KY-01、KY-02、KY-04、KY-05、KY-06、KY-10、KY-12、KY-13の第IIグループに分けられた。図5に各グループの代表的なクロマトグラムを、表5にそれぞれのクロマトグラムの特徴を示した。

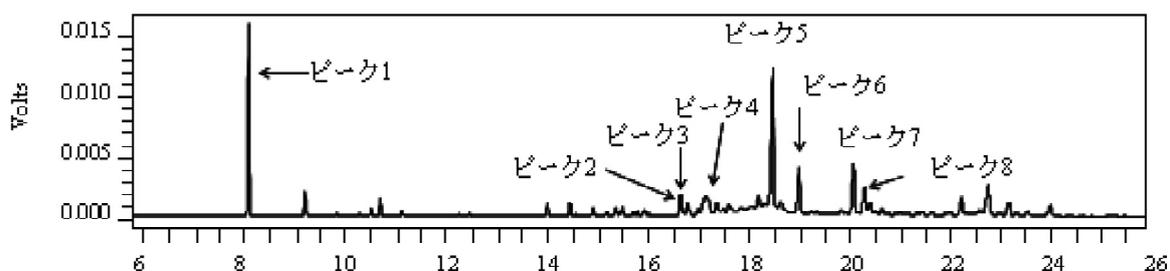


図3 キョウオウエタノールエキスのGCクロマトグラム

表3 キョウオウエタノールエキスのピーク高さ

	ピーク 1	ピーク 2	ピーク 3	ピーク 4	ピーク 5	ピーク 6	ピーク 7	ピーク 8
KY-01	267.13	400.09	220.35	1557.14	12963.19	4454.10	3348.64	1470.92
KY-02	0.00	181.59	237.94	1328.32	9451.58	3501.98	2672.06	496.13
KY-03	31187.70	1888.17	942.39	2850.86	23496.74	7513.61	8239.97	1949.01
KY-04	307.92	1624.38	633.12	2770.13	22288.26	8047.72	8788.26	3618.04
KY-05	388.08	1295.87	526.63	2597.42	20899.73	7204.61	8777.08	11455.48
KY-06	248.51	1125.37	432.27	2253.19	18701.94	6373.59	5772.83	13686.75
KY-07	0.00	5336.86	2817.81	374.39	2747.18	11132.52	2625.11	808.26
KY-08	4690.30	2028.12	2135.40	2634.39	15450.21	2123.73	3559.79	1211.06
KY-09	18427.08	1085.89	577.57	2485.07	19502.09	6070.54	3753.75	2850.76
KY-10	146.07	1017.18	436.22	2644.70	19681.15	5859.75	8037.70	3779.78
KY-11	22067.04	1729.38	603.82	2037.15	18036.22	5954.81	3672.58	21198.96
KY-12	123.08	1336.87	529.85	3461.81	17388.10	5606.90	8362.51	1418.15
KY-13	1325.82	1704.79	761.83	2224.05	18981.74	6645.36	4883.76	22711.99

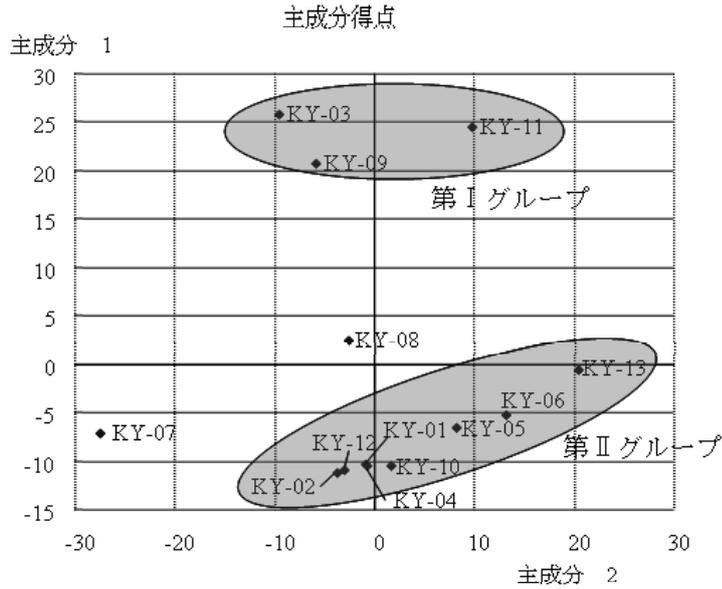


表4 各主成分の固有ベクトル値

ピーク No.	主成分 1	主成分 2
1	0.9010	-0.1217
2	-0.0426	-0.2491
3	-0.0217	-0.1442
4	-0.0522	0.0232
5	-0.2772	0.3096
6	-0.2166	-0.4287
7	-0.2065	-0.0096
8	0.1065	0.7858

図4 GCクロマトグラムの主成分分析プロット

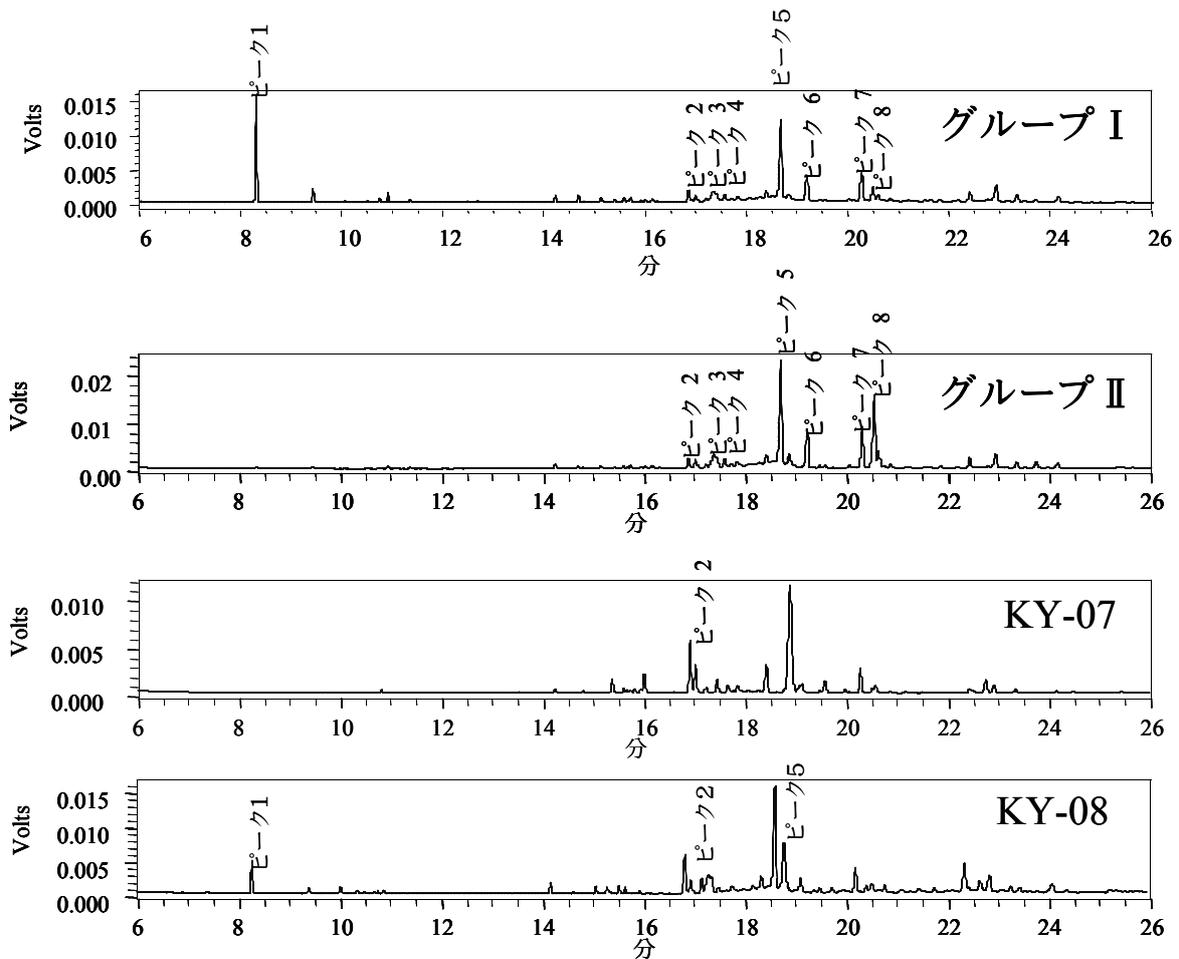


図5 各グループの代表的なクロマトグラム

表5 各グループの分類とクロマトグラムの特徴

グループ	サンプルNo.	特 徴
I	KY-03、KY-09、KY-11	ピーク1と5が大きく、ついでピーク6、7、8が確認される。ただし、ピーク構成は同じだが、ピーク1とピーク8が同程度の大きさを示すものがある。
II	KY-01、KY-02、KY-04 KY-05、KY-06、KY-10 KY-12、KY-13	主にピーク5とピーク8が大きく、ついでピーク6とピーク7が確認される。グループIに類似しているが、ピーク1が少ない。
	KY-08	ピーク5が最も大きく、ついでピーク1とピーク2が確認される。ピーク6はほとんど確認されない。
	KY-07	他のサンプルではほとんど確認されないピークが、クロマトグラム上最も大きなピークとなっている。

グループ I のKY-03およびKY-09とKY-11は主成分1の軸で分けられるが、ピーク構成が似通っており、ピーク8の増加に伴い主成分2の軸で正の方向に寄ると考えられた。グループ II も同様に分布が広がっているが、クロマトグラムの形状から同一グループと見なした。グループ I とグループ II でピーク高さが顕著に異なるピーク1は、シネオールである。シネオールはウコン類と同じショウガ科のゲットウや、その他ユーカリなど植物精油中には広く存在し、防腐効果が知られているほか、ウコン類では利胆、健胃などに有効と考えられる。したがってグループ I とグループ II では、これらに対する効果が異なる可能性も考えられる。

いずれのグループともそれぞれ異なったパターンを示したKY-07および KY-08は海外産である。サンプル数が少ないため、エタノールエキスのクロマトグラムパターンに基づくグループ分けが産地判別に利用可能かどうかは不明であった。

#### 4 まとめ

キョウオウエタノールエキスのクロマトグラムパターンによるグループ分けを試みた結果、13サンプルのうち、県内および県外産（計11サンプル）は2グループに分けられた。海外産の2サンプルはそれぞれいずれのグループにも属さなかった。前年度までの研究で、琉球大学医学部にてウコン類の種類や産地により抗酸化作用に差があることが確認されていたことから、抗酸化活性の指標であるDPPHラジカル消去能およびESRラジカル消去能について、グループ I およびグループ II の活性値の平均を比較したが、両活性ともグループ間に差は認められなかった。

生薬においては、基原植物が複数存在する場合に植物により指標成分以外の成分組成が異なる例が報告されて

おり<sup>5)6)</sup>、複数成分を分析対象とすることによる原料の判別や品質評価の試みがなされている。ウコン類のように、同一品種であっても系統や産地が様々な原料が利用されている場合には、製品の形態や期待する効果によっては、一定品質の製品を安定的に生産するために、原料の持つ多数の因子を考慮した総合的な評価基準が求められる。今後サンプル数を増やすと共に、他の数量データを含めた統計的解析を行いたい。

#### 謝辞

本研究は、平成16-18年度健康食品品質向上総合対策事業に採択された『健康食品原料の機能成分向上技術および安全生産技術の開発』の中のサブテーマとして行いました。本共同研究事業に参加できる機会を与えていただいたプロジェクトリーダーの安仁屋洋子琉球大学医学部教授をはじめとする共同研究者の方々および研究管理・コーディネートを行っていただいた財団法人南西地域産業活性化センターの方々に感謝いたします。

また、サンプルを提供いただいた関係者の方々に感謝いたします。

#### 参考文献

- 1) 中薬大辞典 (1998) 小学館
- 2) 沖縄県健康食品産業実態調査 (2003)
- 3) 佐藤誠、志村恭子、橋爪清、三重県保健環境研究部年報、第6号、p52-54 (2004)
- 4) 上原真一、安田一郎、竹谷孝一、糸川秀治 生薬学雑誌、46(1)、55-61(1992)
- 5) 橋爪崇、有本恵子、金谷友成、酒井英二、嶋田康男、高井義孝、十蔵佳代子、中島健一、野口衛、久田陽一、松浦秀和、守安正恭、山本豊、横倉胤夫 第35

回生薬分析シンポジウム講演要旨、P10-24(2006)

- 6) 山崎勝弘、川口正美、関田節子、佐竹元吉 第35回生  
薬分析シンポジウム講演要旨、P52-70(2006)

編 集 沖縄県工業技術センター

発 行 沖縄県工業技術センター

〒904-2234 沖縄県うるま市字州崎 12 番 2

T E L (098)929-0111

F A X (098)929-0115

U R L <https://www.pref.okinawa.lg.jp/site/shoko/kogyo/>

著作物の一部および全部を転載・翻訳される場合は、当センターに

ご連絡ください。