

## 多変量解析を用いたトウキ根の成分に関する修治方法の比較

奈良県薬事研究センター  
抜井啓二

## 目的

日本書紀には、611年に推古天皇による奈良の宇陀地方での日本最古の薬草採取の記録がある。

長い歴史を持つ奈良の薬草は、生薬として今も「大和もの」と呼ばれ、高い評価を受けている。

その一つである奈良県産の大和当帰について、分析を行い、他のトウキとの判別評価を検討する。

● Nara Prefectural Pharmaceutical Research Center  
2

## 判別評価のための比較調査 検討の経緯①

- 植物種や修治加工方法の差を比較するための市場品の調査  
(H26~H27実施)
  - 水溶性成分についての多変量解析
  - 揮発性成分についての多変量解析

● Nara Prefectural Pharmaceutical Research Center  
3

## 判別評価のための比較調査 検討の経緯②

大和当帰は北海当帰と比較してGABA、ロイシンが多いことが判明した。

大和当帰と北海当帰は、修治加工方法が異なる。→成分の差が植物種の差によるか修治加工の差によるかは不明。→同種植物(大和当帰)を同一圃場で栽培し、修治加工の違いによる成分の差を確認することとした。

● Nara Prefectural Pharmaceutical Research Center  
4

## 判別評価のための比較調査 検討の経緯③

- 異なる修治加工処理試料を用いた  
修治加工比較調査  
☆水溶性成分についての多変量解析  
揮発性成分についての多変量解析  
☆エキス含量の測定

● Nara Prefectural Pharmaceutical Research Center  
5

## 一般的な修治加工工程

- 1 1～1 2月頃 堀上  
| 寒ざらし（はさ掛け）・・・修治加工 1
- 2月頃 湯揉み……………修治加工 2  
| 天日干し（はさ掛け）・・・修治加工 3
- 4月 修治加工終了

● Nara Prefectural Pharmaceutical Research Center  
6

## 修治加工の方法（寒ざらし、湯揉み）

果樹・薬草研究センターの同一圃場で栽培された大和トウキについて、次の通り修治加工を行った。

- 寒ざらし（修治加工 1）  
堀上後あらかた土を落とし、平成 27 年  
1 2月 25日～平成 28 年 2月 23日まで  
無加温ビニールハウス内（サイド開放）にて  
はさ掛けして保管。
- 湯揉み（修治加工 2）  
60℃の温湯に 5分間漬け、40℃の温湯で  
30秒間揉む。

● Nara Prefectural Pharmaceutical Research Center  
7

## 修治加工の方法（天日乾燥、機械乾燥）

- （修治加工 3）
- 天日乾燥  
平成 28 年 2月 24日～4月 7日まで  
無加温ビニールハウス内（サイド開放）  
にてはさ掛けして保管。
- 機械乾燥  
平成 28 年 2月 24日～5月 23日  
まで、乾燥機で乾燥（30℃送風）。

● Nara Prefectural Pharmaceutical Research Center  
8

## 試験検体

検体名	検体数	修治加工1 (寒ざらしの有無)	修治加工2 (湯揉みの有無)	修治加工3 (乾燥)
A	3	寒ざらし	なし	天日乾燥
B	3	寒ざらし	湯揉み	天日乾燥
B1	6	寒ざらし	なし	天日乾燥
B2	6	寒ざらし	湯揉み	天日乾燥
C	3	寒ざらし	なし	機械乾燥
D	3	寒ざらし	湯揉み	機械乾燥
D1	6	寒ざらし	なし	機械乾燥
D2	6	寒ざらし	湯揉み	機械乾燥
E	6	なし	湯揉み	機械乾燥
F	6	なし	なし	機械乾燥
G	6	なし	なし	なし (冷凍保存)
H	6	寒ざらし	なし	なし (冷凍保存)

Nara Prefectural Pharmaceutical Research Center

9

## 試験方法

- 試料は、図1前処理方法により、前処理（TMS誘導体化）を行い、図2試験条件により、GC-MSを用いて測定した。GC-MSから得られたデータについて、ピークアライメント及び化合物同定を「GCMSsolution」及び「GC/MS代謝成分データベースVer. 2」により行った。
- 得られた、化合物の内標準物質に対するピーク面積比について「SIMCA13」により多変量解析を行った。

Nara Prefectural Pharmaceutical Research Center

10

## 試験方法

トウモロコシ試料 20 g
→メタノールがクロロホルム溶液 (0.2%) 1mL
→内蔵標準溶液 (0.4 mg/mL, リピトール水溶液) 60 μL
→かく拌 (37°C, 30分)
→遠心分離(12000rpm, 3分, 4°C)
抽出液 (上層液) 600 μL
→水 400 μL
→遠心分離(12000rpm, 3分, 4°C)
上層 400 μL
→遠心減圧濃縮
→凍結真空乾燥
試料
→10 μL/mL, メトキシアミンヒドリン溶液 50 μL
→かく拌(60°C, 30分)
→MSTFA 100 μL
→かく拌(70°C, 30分)
試料保存試料

図1 前処理方法

試験条件
カラム: CP-SIL8 CB low bleed (30m × 0.25mmID, dF=0.25 μm)
インジェクション温度: 230°C
カラム温度:
80°C (2min) (15°C/min) 330°C (6min)
インジェクションモード: Split
スプリット比: 25:1
キャリアガス: He
カラム流量: 1.12mL/min
パージ流量: 5mL/min
インジェクション量: 1 μL
イオン源: 200°C
インターフェース温度: 250°C
イオン化電圧: 70eV
検出器電圧: Auro (約1, 0 kV)
スクエニング: 1 m/0.05-500

図2 試験条件

Nara Prefectural Pharmaceutical Research Center

11

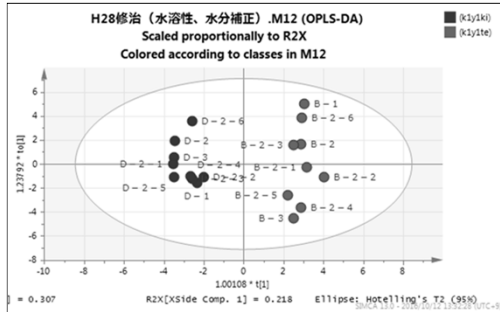
## 多変量解析

試料のグループ分けを行い、それぞれの成分のピーク面積比についてOPLS-D A法により解析し、S-Plotで寄与成分を選抜した。

Nara Prefectural Pharmaceutical Research Center

12

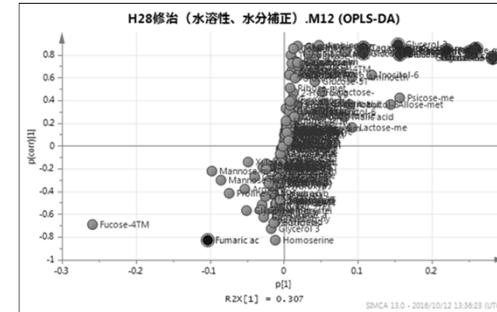
# OPLS-DAによる解析結果 (例)



天日干しと機械乾燥の比較 (赤: 機械乾燥, 青: 天日乾燥)  
(B、B2とD、D2)

Nara Prefectural Pharmaceutical Research Center  
13

# OPLS-DAによる解析結果 S-Plots (例)



天日干しと機械乾燥の比較 (赤: 天日乾燥に多い成分, 青: 機械乾燥に多い成分)  
(B、B2とD、D2)

Nara Prefectural Pharmaceutical Research Center  
14

# OPLS-DAによる解析結果 S-Plots (例)

Var. ID (Primary)	M12.p[1]	M12.p[corr][1]
Glycerol-3TMS	0.153728	0.888658
Phosphoric acid-3TMS	0.167186	0.831906
Tagatose-meto-5TMS(1)	0.107028	0.862102
Psicose-meto-5TMS(2)	0.25949	0.854896
Tagatose-meto-5TMS(2)	0.107037	0.862091
Sorbose-meto-5TMS(1)	0.251003	0.825227
Fructose-meto-5TMS(1)	0.257348	0.847246
Sorbose-meto-5TMS(2)	0.219624	0.840121
Fructose-meto-5TMS(2)	0.219482	0.840022
Tagatose-5TMS(5)	0.281765	0.776371
Psicose-5TMS(4)	0.281765	0.776371
Galactose-meto-5TMS(1)	0.281765	0.776371
Glucose-meto-5TMS(1)	0.281765	0.776371
Galactose-meto-5TMS(2)	0.156223	0.801554
Glucose-meto-5TMS(2)	0.156223	0.801554
Gluconic acid-6TMS	0.107817	0.812219
Var. ID (Primary)	M12.p[1]	M12.p[corr][1]
Fumaric acid-2TMS	-0.103231	-0.831904

天日干しと機械乾燥の比較 (+: 天日乾燥に多い成分, -: 機械乾燥に多い成分)  
(B、B2とD、D2)

Nara Prefectural Pharmaceutical Research Center  
15