

■UHPLCによるウコン含有食品中クルクミンの測定例

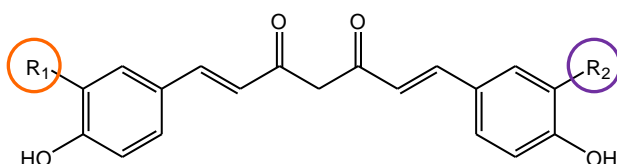
AS/LC-041

ウコンはショウガ科ウコン属の植物で、ショウガ属のショウガやバンウコン属の黒ショウガなどの仲間です。主な種類としてウコン（秋ウコン）、キョウオウ（春ウコン）、ガジュツ（紫ウコン）などが知られています。薬局方には「ウコン」および「ウコン末」として収載されており、また健康食品としての利用も活発です。それらウコンには黄色色素のクルクミン類が含まれており、抗酸化、抗炎症、肝保護などの作用が報告されています。クルクミン類にはクルクミンとその類縁物質であるデメトキシクルクミン、ビスデメトキシクルクミンがあり、合わせてクルクミノイドと呼ばれています。これらクルクミノイドの含有量やその含有割合は、ウコンの種類によって異なった傾向を持つため、健康食品などにおけるウコンの種類の判別や品質の評価には、クルクミノイドの分析が重要です。

そこで今回は、日立超高速液体クロマトグラフ ChromasterUltra Rsを用いて、クルクミノイドを測定しました。各種カラムを用いた高分離分析例、高速分析例などをご紹介します。あわせてウコンエキスやウコン茶も測定しました。



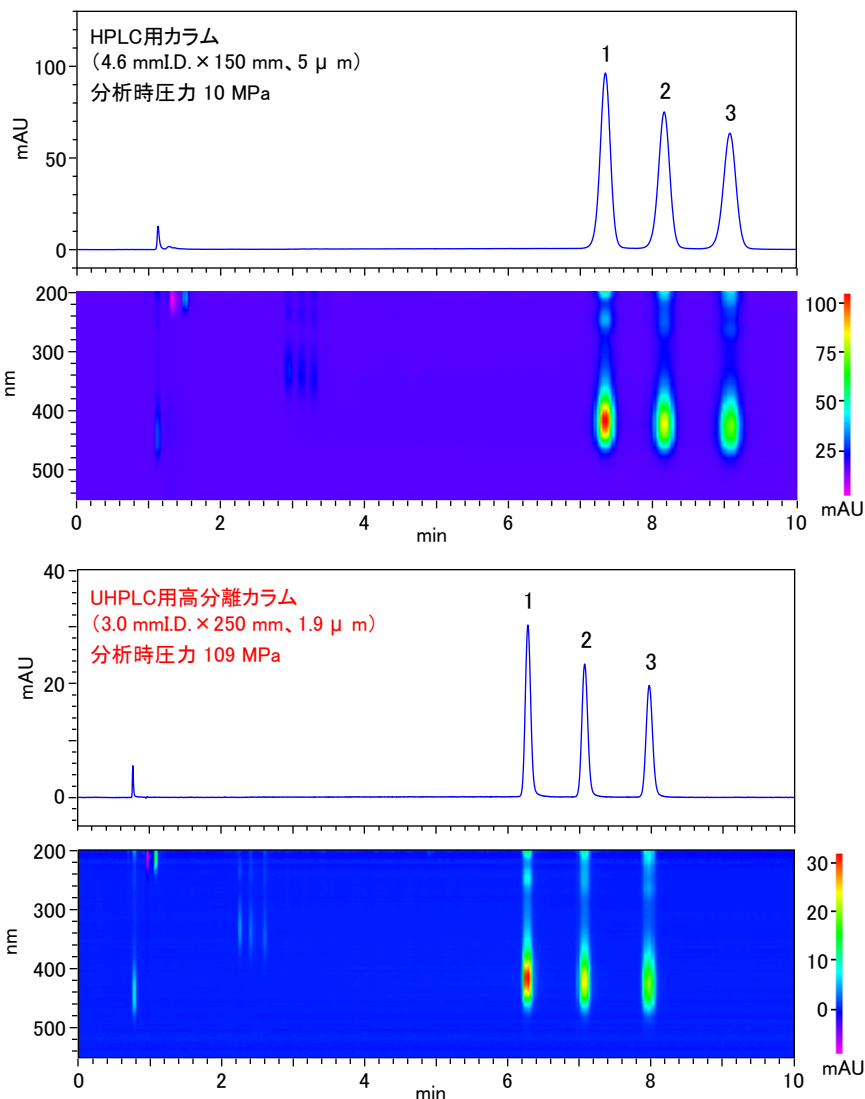
ChromasterUltraRs
(DADを接続した例です。)
(オプション、お客様準備品が含まれています。)



Curcumin ($R_1 = R_2 = \text{OCH}_3$)
Demethoxycurcumin ($R_1 = \text{OCH}_3, R_2 = \text{H}$)
Bisdemethoxycurcumin ($R_1 = R_2 = \text{H}$)

【クルクミノイド構造式】

■クルクミノイド3成分の高分離測定例(各10 $\mu\text{g/mL}$)



<標準試料>

No.	成分名
1	ビスデメトキシクルクミン (Bisdemethoxycurcumin)
2	デメトキシクルクミン (Demethoxycurcumin)
3	クルクミン (Curcumin)

<測定条件>

HPLC用カラム : LaChrom II C18 (5 μm)
4.6 mm I.D. \times 150 mm
UHPLC用カラム : LaChromUltra II C18 (1.9 μm)
3.0 mm I.D. \times 250 mm
溶離液 : アセトニトリル/水/ギ酸
=50/50/0.1 (v/v)
流量 : 1.0 mL/min
カラム温度 : 40 $^{\circ}\text{C}$
検出波長 : VIS425 nm (DAD)
注入量 : 10 μL (HPLC用カラム)
2 μL (UHPLC用カラム)

<理論段数と分離度の比較>

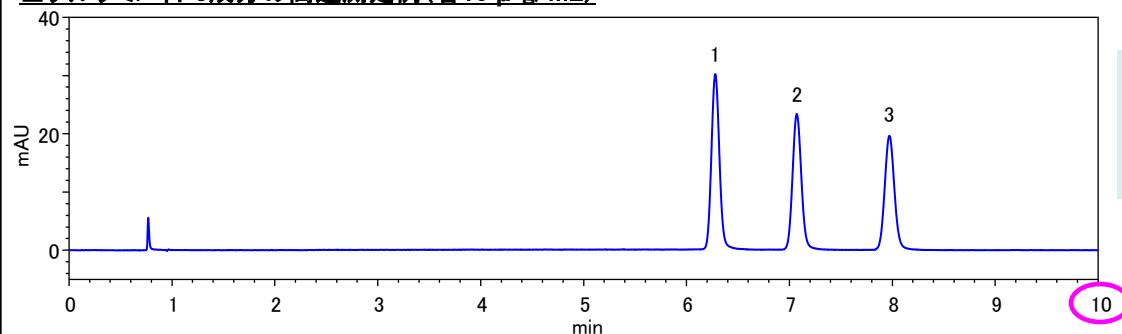
ピーク	HPLC用カラム	UHPLC用カラム
理論段数		
1	12300	31900
2	12200	33200
3	12100	34800
分離度		
1-2	2.9	5.4
2-3	2.9	5.5

UHPLC用高分離カラム (1.9 μm , 3.0 mm I.D. \times 250 mm) は、HPLC用カラム (5 μm , 4.6 mm I.D. \times 150 mm) に比べ、理論段数と分離度を大幅に向上することができました。なお、ここでは分離に着目したため、分析時間はどちらも9~10分程度です。

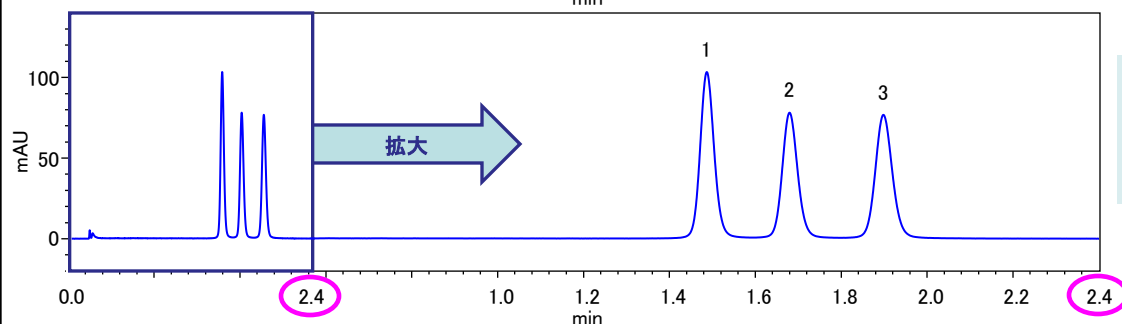
■UHPLCによるウコン含有食品中クルクミンの測定例

AS/LC-041

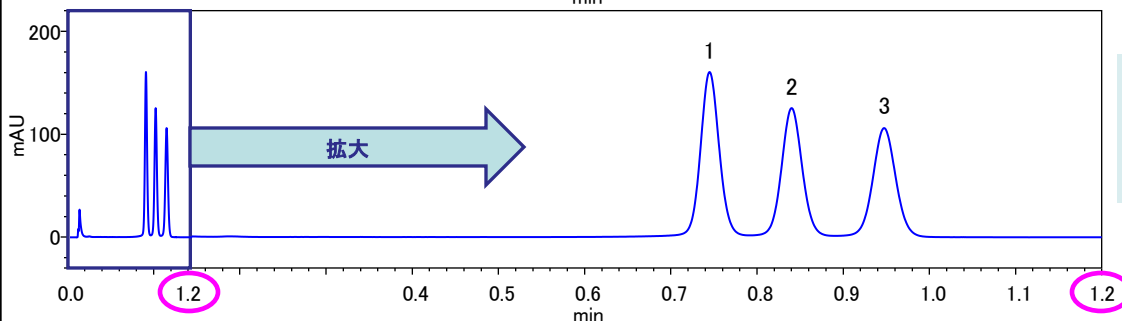
■クルクミノイド3成分の高速測定例(各10 μg/mL)



UHPLC用高分離カラム
(1.9 μm)
(3.0 mm I.D. × 250 mm)
流量 1.0 mL/min
分析時圧力 109 MPa



UHPLC用カラム
(1.9 μm)
(2.0 mm I.D. × 100 mm)
流量 0.8 mL/min
分析時圧力 97 MPa



UHPLC用カラム
(1.9 μm)
(2.0 mm I.D. × 50 mm)
流量 0.8 mL/min
分析時圧力 53 MPa

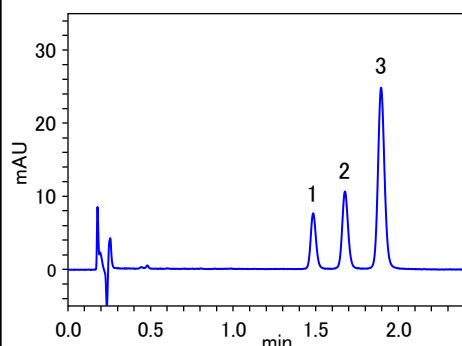
<UHPLC用各種カラム測定条件>

カラム : LaChromUltra II C18 (1.9 μm)
溶離液 : アセトニトリル/水/ギ酸
 = 50/50/0.1 (v/v/v)
流量 : クロマトグラムに記載

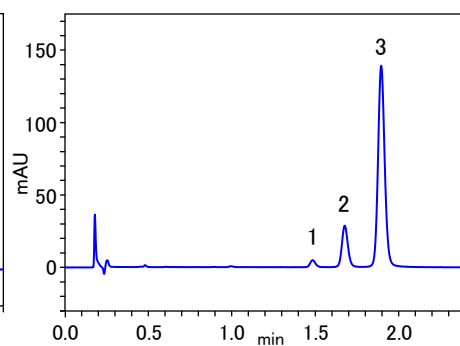
カラム温度 : 40 °C
検出波長 : VIS425 nm (DAD)
注入量 : 2 μL

上記3種類のカラムはいずれも、クルクミノイド3成分の分離が可能でした。
LaChromUltra II C18カラムは、各種カラムサイズを準備しています。
高分離分析や高速分析など目的に応じて選択ください。

■ウコンエキスとウコン茶の測定例 (UHPLC用カラム (2.0 mm I.D. × 100 mm, 1.9 μm))



【ウコンエキスの測定例】



【ウコン茶の測定例】

2種類の試料を測定した結果、クルクミノイド3成分は含まれていましたが、その量や割合が異なることがわかりました。ウコン利用食品の評価への応用が期待できます。
一方、香辛料のターメリックはウコン(秋ウコン)やキョウオウ(春ウコン)を原材料に加工されます。そこでその混合割合の評価に、3次元蛍光スペクトルを用いた『蛍光指紋』という手法を利用することが可能です。詳細はF-7000形日立分光蛍光光度計のデータシート(FL120007, FL130001)をご覧ください。

<試料の前処理>

試料 0.2 g秤量
← メタノール/酢酸 = 99/1 25 mL
超音波 3 min
遠心分離 1000 rpm、5 min
上清 残渣
← メタノール/酢酸 = 99/1 25 mL
超音波 3 min
遠心分離 1000 rpm、5 min
上清
← メタノールで 50 mLに定容
溶離液で10倍希釈
ろ過 Pore Size 0.45 μm
分析試料(2 μL 注入)

主な装置構成 : ChromasterUltra Rs DADシステム (6170 バイナリポンプ、6270 オートサンブラ、6310 カラムオープン、6430 ダイオードアレイ検出器、オーガナイザ) 6430 DAD用高感度フローセル

注意: 本資料に掲載のデータは測定例を示すもので、性能を保証するものではありません。