

## ノート

## 調製肉中のピペリンの定量分析法に関する一考察

加藤 康 紀\*, 佐藤 里 子\*, 富田 健 次\*, 関川 義 明\*\*, 氏原 寛\*\*

## Consideration on quantitative analysis of piperine in seasoned meat with pepper

Yasunori KATO\*, Satoko SATO\*, Kenji TOMITA\*,  
Yoshiaki SEKIKAWA\*\*, and Satoru UJIHARA\*\*

\*Yokohama Customs Laboratory

1 - 1, Kaigandori, Naka - ku, Yokohama - shi, 231 Japan

\*\*Central Customs Laboratory, Ministry of Finance

531 Iwase, Matsudo - shi, Chiba - ken, 271 Japan

The analytical method for the determination of small amount of piperine in seasoned meat with pepper was investigated.

Until now the customs laboratory method No.25 has been the only method to measure it.

But in this method, there were some problems, for example, using much benzene and chloroform, which are harmful to human beings, and taking more than 4 hours to analyze one sample. So, we tried to improve this method.

It was found that ethyl acetate which is less harmful than benzene and chloroform was able to use as solvent, the time to analyze one sample was reduced to a quarter of previous method, and the recovery of added piperine in fresh meat was in the range of 97.1 ~ 98.5%.

## 1. 緒 言

近年、ソーセージ等の加工原料として豚肉にこしょうなどの香辛料が添加された調製肉の輸入事例が増加している。この関税分類は第 2 類の肉と第 16 類の調製肉のいずれかに分類されるが、2 類と 16 類の税率格差は 170%程度ある。こしょうに關しての関税分類の基準は、関税分類例規集 2 類の「肉類の調製品の分類基準」及び 1602.50 項の「牛肉の調製品」により、「こしょう等...を添加したものにあっては、添加物が分析の結果から明らかに確認でき、塩及びこしょうのみの場合にあっては、こしょうそのものの含有量 0.3%をもって目安とする。)...(注)こしょうの含有量の分析は、こしょう中に含有されるピペリンの平均含有量 5%を基準に判定する。」と規定されている。

この規定により、現在は関税中央分析所・参考分析法 No.25「調製肉中のピペリン定量分析法」に基き、ピペリンを定量し、こしょう含有量を算出している。

この方法は、ピペリンを抽出するために、健康上有害な有機

溶剤であるクロロホルム及びベンゼンを多量に消費することや、一検体当たり 4 時間強の長時間を要する等、改善の余地があると考えられる。

そこで、今回はピペリンの抽出法について検討し、食品に添加された酸化防止剤の抽出に利用されている酢酸エチルが比較的毒性が弱く、ピペリンの抽出にも利用できることを見いだしたので報告する。

## 2. 実 験

## 2.1 試料

白こしょう、豚挽き肉（市販のもの）

Ground seasoned pork（横浜税関管内で申告されたもの）

## 2.2 装置

ホモジナイザー（井内盛栄堂(株)）

遠心分離器（コクサン(株)）

ダブルビーム分光光度計 UV - 160（島津製作所(株)）

\*横浜税関業務部分析部門 〒231 横浜市中区海岸通 1 - 1

\*\*大蔵省関税中央分析所 〒271 千葉県松戸市岩瀬 531

測定波長：343nm

### 2.3 酢酸エチル抽出法

こしょうを含有する試料約 5g をホモジナイズ用カップに採取し、無水酢酸ナトリウム 5g を加え、酢酸エチル 40ml でホモジナイズ抽出を行い、抽出液をデカンテーションにより遠沈管に移す。再び酢酸エチル 40ml 加え、抽出後、全量を遠沈管に移し、ホモジナイズ用カップを約 5ml の酢酸エチルで洗浄し、洗液を遠沈管を合わせる。3000rpm で 5 分間遠心分離し、上澄み液を減圧濃縮用受器に移す。1 - プロパノール 1ml を加え、50 で 1~2ml まで減圧濃縮する。濃縮液を 25ml 容メスフラスコに移し、濃縮用受器を酢酸エチル 3ml 以下で洗浄し、洗液をメスフラスコに移す。メタノールを約 20ml を加え 25ml に定容する。この液を 2000rpm で 5 分間遠心分離後、上澄み液を更にメタノールで 10 倍に希釈し検液とする（対照液：メタノール、吸光係数：126878）。

### 2.4 こしょう中のピペリン抽出

ピペリン抽出は、酢酸エチル、メタノール、またはベンゼン・クロロホルム併用の 3 種類の溶剤で行った。

白こしょう約 0.5g を 100ml 容三角フラスコに正確にはかりとり、溶剤約 50ml を加え、2 時間加熱還流した。冷却後、100ml 容メスフラスコに全量をろ過し、メタノールで定容した。更

にメタノールで 50 倍に希釈し、分光光度計により 343nm での吸光度を測定した。（対照液：メタノール、吸光係数：126878）

### 2.5 こしょうの添加回収実験

市販の豚挽き肉に、白こしょうを添加し、参考分析法および酢酸エチル抽出法によりピペリンを抽出し、定量した。こしょうの添加量は、分類上の境界値 0.3%に近い混合割合に調製した。

### 2.6 輸入品の分析

実際に横浜税関に申告のあった A~E のサンプルを参考分析法、酢酸エチル抽出法で分析し、測定値を比較した。

## 3. 結果及び考察

### 3.1 こしょう中のピペリン抽出量の比較

酢酸エチル、メタノール、ベンゼン・クロロホルム併用による測定結果を、Table 1 に示す。酢酸エチルは、4.46%、メタノールは 4.54%、ベンゼン・クロロホルムは 4.42%とほぼ同様の数値を示し、こしょうから抽出する場合は抽出溶剤による顕著な差はみられなかったが、酢酸エチル抽出が、比較的変動が少ないという結果であった。

Table 1 Piperine content of white pepper

|       | Ethyl acetate | Methanol | Benzene-Chloroform |
|-------|---------------|----------|--------------------|
| ①     | 4.43          | 4.46     | 4.36               |
| ②     | 4.44          | 4.54     | 4.40               |
| ③     | 4.45          | 4.55     | 4.41               |
| ④     | 4.46          | 4.56     | 4.46               |
| ⑤     | 4.50          | 4.59     | 4.46               |
| Ave   | 4.46          | 4.54     | 4.42               |
| C. V. | 0.54          | 0.96     | 0.86               |

### 3.2 こしょうの添加回収実験

参考分析法による回収率を Table 2 に示す。平均回収率 80.9%と抽出効率はいずれも高くはないが、変動係数は 1%とばらつきはあまりみられない。

酢酸エチル抽出法による回収率を Table 3 に示す。平均回収率 97.6%と抽出効率は高く、変動係数も 0.5%と非常に良好な結果を得た。

注) 添加回収率は、こしょう中にピペリンを 4.54% (メタノール抽出値) 含有しているものとして計算した。

Table 2 Recoveries of white pepper in fresh meat by Customs Lab. Method

|      | Samples<br>(g) | Pepper<br>(mg) | Piperine<br>(mg) | Recovery<br>(mg) | Recovery<br>Ratio(%) |
|------|----------------|----------------|------------------|------------------|----------------------|
| ①    | 20.24          | 60.65          | 2.753            | 2.193            | 79.7                 |
| ②    | 20.74          | 62.16          | 2.822            | 2.270            | 80.4                 |
| ③    | 20.20          | 60.54          | 2.748            | 2.225            | 81.0                 |
| ④    | 20.34          | 60.96          | 2.768            | 2.244            | 81.1                 |
| ⑤    | 20.24          | 60.66          | 2.754            | 2.262            | 82.1                 |
| Ave  |                |                |                  |                  | 80.9                 |
| C. V |                |                |                  |                  | 1.0                  |

Table 3 Recoveries of white pepper in fresh meat by Proposed Method

|      | Samples<br>(g) | Pepper<br>(mg) | Piperine<br>(mg) | Recovery<br>(mg) | Recovery<br>Ratio(%) |
|------|----------------|----------------|------------------|------------------|----------------------|
| ①    | 5.25           | 16.00          | 0.7264           | 0.7054           | 97.1                 |
| ②    | 5.06           | 15.02          | 0.6819           | 0.6640           | 97.4                 |
| ③    | 5.19           | 15.95          | 0.7241           | 0.7054           | 97.4                 |
| ④    | 5.30           | 15.00          | 0.6810           | 0.6640           | 97.5                 |
| ⑤    | 5.28           | 15.24          | 0.6919           | 0.6818           | 98.5                 |
| Ave  |                |                |                  |                  | 97.6                 |
| C. V |                |                |                  |                  | 0.5                  |

## 3.3 輸入品の分析結果

実際の輸入品を測定した結果を Table 4 に示す。参考分析法

に比べ、酢酸エチル抽出法は 1.2 ~ 1.5 倍の常に高い値を示し、抽出効率は良好であった。

Table 4 Analytical results of pepper content in imported seasoned frozen meat by two methods

|   | ①Customs Lab. Method<br>(%) | ②Proposed Method<br>(%) | ②/① |
|---|-----------------------------|-------------------------|-----|
| A | 0.30                        | 0.35                    | 1.2 |
| B | 0.36                        | 0.44                    | 1.2 |
| C | 0.28                        | 0.36                    | 1.3 |
| D | 0.38                        | 0.50                    | 1.3 |
| E | 0.31                        | 0.45                    | 1.5 |

3.4 参考分析法と酢酸エチル抽出法の使用溶剤の比較  
両分析法で実際に使用した溶剤の種類、使用量を掲げたものを Table 5 に示す。

参考分析法では、クロロホルム、ベンゼン等の毒性の強い溶

剤を多量に使用するのに対し、酢酸エチル抽出法では、酢酸エチル、1-プロパノール等の比較的毒性の弱い溶剤であり、使用量も少量で済んだ。

Table 5 Comparison of solvents and the amount of solvents used by two methods

| Customs Lab. Method |        | Proposed Method |        |
|---------------------|--------|-----------------|--------|
| Chloroform          | 80 ml  | Ethyl acetate   | 90 ml  |
| Benzene             | 267 ml | 1-propanol      | 1 ml   |
| Methanol            | 50 ml  | Methanol        | 30 ml  |
| Total               | 397 ml | Total           | 121 ml |

3.5 参考分析法と酢酸エチル抽出法の 1 検体当たりの分析時間の比較

両分析法の 1 件当たりの分析時間を比較したものを Table 6 に示す。

酢酸エチル抽出法では 1 件当たりの分析時間は約 1/4 に短

縮され、1 日に 8 件体処理も可能であるが、参考分析法は、振とう、カラム分離の操作で複数のサンプルを平行処理できるので、平行処理件数が多い場合は、分析所要時間を単純に比較できない。

Table 6 Comparison of analytical time for one sample by two methods

| Customs Lab. Method   |         | Proposed Method   |        |
|-----------------------|---------|-------------------|--------|
| vibration             | 120 min | homogenization    | 20 min |
| evaporation           | 10 min  | centrifugation    | 10 min |
| column chromatography | 93 min  | evaporation       | 12 min |
| measurement by UV     | 3 min   | measuarment by UV | 3 min  |
| other                 | 22 min  | other             | 15 min |
| Total                 | 250 min | Total             | 60 min |

#### 4. 要 約

調製肉中のピペリンの定量分析に用いる抽出溶剤及び抽出法について検討を行った。新たに検討した酢酸エチル抽出法は、参考分析法の定量値を 1 とすれば、1.2~1.5 倍の値を示し、添加回収実験でもこしょう含有量に近い値が得られ、抽出効率はより良い結果を得た。また、クロロホルム、ベンゼン等の毒性の強い溶剤から、酢酸エチル、1-プロパノール等の毒性の

弱い溶剤に変更することができ、使用量も少なくて済む。更に、分析時間については、単純に比較は出来ないが、1 検体当たり約 1/4 と大幅に短縮され、調製肉中のピペリンの定量分析に有用な方法であることが分かった。

最後に、この実験に関する文献の提供及びご指導ご協力をいただいた日本缶詰検査協会若澤氏・広瀬氏の両氏に深く感謝いたします。

#### 文 献

- 1) 笹川 邦雄, 加藤 時信: 本誌, No.25, 19 (1985)
- 2) 笹川 邦雄, 川端 省三: 本誌, No.27, 173 (1987)