

豚肉調製品中のピペリンの定量分析の実験結果報告

山岡 裕貴*, 森 賢一郎**, 菅野 達朗*, 池田 啓久*, 中山 清貴*

A method for quantitatively analyzing piperine in pork products

Yuki YAMAOKA*, Kenichiro MORI**, Tatsuro KANNO*, Yoshihisa IKEDA*, Kiyotaka NAKAYAMA*

*Central Customs Laboratory, Ministry of Finance

6-3-5, Kashiwanoha, Kashiwa, Chiba 277-0882 Japan

**Present address: Higashimikawa Agriculture, Forestry and Fisheries Office

11-40, Takayama, Imure-cho, Toyohashi, Aichi 440-0833 Japan

In "Analysis Method for Piperine in Pork Products" of the Customs Analysis Methods, benzene is used in the analysis process, which might be harmful to analysts' health. Last year, Saito and others reported that there was no significant difference between the current method and the improved one using toluene as solvent instead of benzene. To verify the report, we conducted test measurements on two kinds of sample: simulated samples (pork containing coarsely ground pepper) and imported samples (declared as "peppered pork"). We compared the analysis results by the two methods for the two groups of samples. As a result, differences in piperine content measured by the two methods are lower than 0.001%. In a t-test between the two methods, both t-scores were lower than the t-critical score ($p = 0.05$).

1. 緒 言

肉類の調製品には、加熱処理されたものやこしょうなどの香辛料又は調味料を添加したもの等がある。特に塩及びこしょうのみで調味された豚肉は、ソーセージの原料のほか、ハンバーグやぎょうざ等のひき肉加工製品に幅広く使用されている。調味料として重宝されるこしょうには、辛味成分であるピペリン、こしょう特有の香気成分（精油）である α -ピネン、 β -ピネン及びp-シメン並びにポリフェノール類のオイゲノール、ケンペロール及びミリセチンなどの成分が含まれている^{1,2)}。

関税率表上、調製していない肉類は第2類、調製した肉類は第16類と分類が異なり、また税率格差も大きいことから、両者を識別することが必要とされる。分類基準については国内分類例規2類「1. 肉類の調製品の分類基準について」に規定されている³⁾。同基準中に、「こしょうの含有量の分析は、こしょう中に含ま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とから、ピペリンを正確に定量することが必要とされる。

現在、ピペリンの定量は、税関分析法「豚肉調製品中のピペリンの定量分析法」（以下、ベンゼン法という。）に定められた方法により行っている⁴⁾。昨年、ベンゼン法で使用するベンゼンよりも有害性が低いトルエンを代替として使用する分析法（以下、トルエン法という。）の研究が関税中央分析所報第54号において斎

藤らによって報告され（以下、斎藤らの報告という。）、二法は統計学的に有意な差を与えない方法であることが示された⁵⁾。なお、斎藤らの報告では、二法の比較を市販の豚ひき肉に粉末黒こしょうを添加した模擬試料のみを用いて実施された。

そこで本研究では、ベンゼン法と斎藤らの報告によるトルエン法の比較実験を、検証試料として、測定値のばらつきが大きく現れると予想される粗びきこしょうを添加した模擬試料及び過去に申告のあった輸入品（こしょうで調味した豚肉）を用い、統計学的に検討した結果について報告する。

2. 実 験

2.1 試料及び試薬

2.1.1 試料

模擬試料（市販の豚ひき肉に粗びきこしょうを添加したもの）
輸入品（税番 1602.24-290 で申告されたこしょうが添加された豚ひき肉）

2.1.2 試薬

ピペリン（Merck Millipore、>98%）
ベンゼン（和光純薬、試薬特級）

トルエン（和光純薬、試薬特級）
クロロホルム（和光純薬、試薬特級）

* 財務省関税中央分析所

〒277-0882 千葉県柏市柏の葉 6-3-5

** 現在所属 東三河農林水産事務所 〒440-0833 愛知県豊橋市飯村町高山 11-40

メタノール（和光純薬、試薬特級）
ワコーゲル Q-23（和光純薬、カラムクロマトグラフ用）

2.2 分析装置

紫外可視分光光度計：UV-2550（島津製作所）

2.3 試験方法

ベンゼン法：税関分析法「豚肉調製品中のピペリンの定量分析法」に規定された方法

トルエン法：ベンゼン法において、ベンゼンをトルエンと読み替えた方法⁵⁾

2.4 ベンゼン法とトルエン法の定量結果の比較試験

2.4.1 試料調製

模擬試料は各フラスコ内で、粗びきこし約 64 mg とホモジナイズされた豚ひき肉約 10 g を混和した。輸入品は約 200 g ホモジナイズしたものから約 10 g ずつ分取した。

2.4.2 測定

模擬試料及び輸入品について、ベンゼン法とトルエン法で各 6 検体ずつ測定し、ベンゼン法に規定される等式を用いてそれぞれ試料中のピペリン含有量を求めた。

3. 結果及び考察

3.1 二法の測定値のばらつきについての検定

2.4 の測定結果は Table 1 の通りとなった。これらの結果から、各試料における二法の等分散性の確認を行うため、有意水準 5% における F 検定を実施したところ、結果は Table 2 の通りとなった⁶⁾。模擬試料については、F 値が F 臨界値を下回ったが、輸入品については、F 値が F 臨界値を上回り、トルエン法はベンゼン法に比べてばらつきが大きくなかった。

3.2 二法の測定値の平均についての検定

3.1 の F 検定の結果から、模擬試料については、二法は等分散であるとみなし Student の t 検定、輸入品については、二法が等分散であるとみなせないため Welch の t 検定を実施することとした。

模擬試料の測定結果から算出した t 値は 0.978 となり、自由度が 10 のときの有意水準 5% における t 臨界値 2.23 を下回った⁶⁾。

輸入品の測定結果から算出した t 値は 0.657、自由度は 6.84 となつた。Welch の t 検定では、算出した自由度に最も近い整数に

おける t 臨界値と比較を行うため、自由度が 7 における t 臨界値と比較した。自由度が 7 のときの有意水準 5% における t 臨界値は 2.36 であり、t 値は t 臨界値を下回った⁶⁾。

各試料の t 値はどちらも、t 臨界値よりも小さい値を示したことから、有意水準 5% において帰無仮説は棄却されないため、二法の測定値の平均に有意差があるとは言えない。

3.3 考察

3.1 において実施した F 検定では、トルエン法による輸入品の測定値がベンゼン法に比べ高くなり等分散と言えない結果となつた。一方、模擬試料の測定結果では、トルエン法の標準偏差はベンゼン法よりも低い値を示していることから、一概にトルエン法の方がばらつきの大きい測定法であるとは言えない。

そこで、トルエン法による輸入品の測定値のばらつきを評価するため、相対標準偏差を現在税関で行われている他の分析法の値で過去に関税中央分析所報に報告されているものと比較をしたところ Table 3 の通りとなった⁷⁻¹⁸⁾。Table 3 では、分析対象物の測定値が小さいほど相対標準偏差は大きくなる傾向があり、測定値が 1% 以下の分析における相対標準偏差は 4 ~ 5% 程度となつた。これらの値と比較すると、トルエン法による輸入品の測定値の相対標準偏差 2.75% が、税関で行われている分析法の水準と比較して高いとは言えない。

また、AOAC による栄養補助食品及び植物製剤の分析法の妥当性ガイドラインでは、相対標準偏差は、分析対象物の質量分率の -0.15 乗を基準とし、その 1/2 ~ 2 倍が許容範囲とされている¹⁹⁾。こしょの抽出物であるピペリンの定量法をこの基準に当てはめると、税関が分析対象とする 0.01% 程度の定量分析における許容範囲は 2 ~ 8% 程度であり、トルエン法による輸入品の測定結果はこれを満たした。

以上より、トルエン法のばらつきは十分実用に堪える範囲内にあると考えられる。

4. 要 約

豚肉調製品のピペリンの定量分析を従来法であるベンゼン法とベンゼンの代替にトルエンを用いたトルエン法で測定した。測定結果の平均値については、二法の間に有意差はみられなかった。ばらつきについては、トルエン法がベンゼン法よりも有意に大きくなる試料があったが、その相対標準偏差は、実用可能な範囲内にあると考えられた。

文 献

- 1) 難波恒雄：日本調理科学会誌, **33** (1), 100 (2000)
- 2) 松本睦子、河村フジ子：東京家政大学研究紀要, **24**, 145 (1984)
- 3) 関税中央分析所ホームページ：国内分類例規「第 2 類 肉及び食用のくず肉」
(<http://www.customs.go.jp/tariff/kaisetu/data2/02rd.pdf>)
- 4) 関税中央分析所ホームページ：税関分析法「豚肉調製品中のピペリンの定量分析法」
(http://www.customs.go.jp/ccl_search/analysis_search/a_111_j.pdf)

- 5) 斎藤義和、盛永誠：関税中央分析所報, **54**, 61(2014)
- 6) J.C.Miller, J.N.Miller：“宗森信訳. データのとり方とまとめ方 - 分析化学のための統計学”(1991), (共立出版)
- 7) 小川竜平、福岡翔平、市川智一、柴田正志、村上孝之、笹谷隆：関税中央分析所報, **52**, 13(2012)
- 8) 三浦誠、上野勝、三浦徹、渡邊裕之、三枝朋樹：関税中央分析所報, **48**, 21(2008)
- 9) 前田康宏、山田豊、松本啓嗣、中村文雄：関税中央分析所報, **47**, 91(2007)
- 10) 磯村要、三枝朋樹：関税中央分析所報, **49**, 41(2009)
- 11) 田中順喜、立川敦生、大嶽秀之、武藤辰雄：関税中央分析所報, **52**, 31(2012)
- 12) 岡本健、枠島紋子、大田朋楓、赤崎哲也：関税中央分析所報, **53**, 11(2013)
- 13) 安藤利典、赤崎哲也、長井哲也：関税中央分析所報, **52**, 21(2012)
- 14) 井川恵子、澤田敬明、長井哲也、三枝朋樹：関税中央分析所報, **49**, 11(2009)
- 15) 岩下信行、積田優一郎、樋野千寿、寺内豊、辻恵美、熊澤勉：関税中央分析所報, **47**, 25(2007)
- 16) 崎原卓、三浦徹、三枝朋樹：関税中央分析所報, **49**, 35(2009)
- 17) 能一訓久、枠島紋子、大田朋楓、中山清貴：関税中央分析所報, **54**, 13(2014)
- 18) 西村康彦、行本剛、大崎伸明、勅使川原尚行：関税中央分析所報, **53**, 89(2013)
- 19) AOAC Guidelines for Single Laboratory Validation of Chemical Methods for Dietary Supplements and Botanicals(2002)

Table 1 Results of toluene and benzene methods from simulated sample and imported sample

piperine content (%)					
simulated sample (pork contained coarsely ground pepper)			imported sample (peppered pork)		
toluene method (A)	benzene method (B)	defferences (A) - (B)	toluene method (C)	benzene method (D)	defferences (C) - (D)
0.0167	0.0151		0.0369	0.0361	
0.0182	0.0176		0.0375	0.0361	
0.0171	0.0170		0.0358	0.0358	
0.0161	0.0163		0.0361	0.0355	
0.0154	0.0192		0.0346	0.0358	
0.0162	0.0189		0.0366	0.0365	
Mean	0.0166	0.0173	-0.0007	0.0363	0.0360
SD	0.0010	0.0015	-0.0006	0.0010	0.0004
RSD	5.97	8.94		2.75	1.02

SD: Standard Deviation

RSD: Relative Standard Deviation

Table 2 Comparison of results of F-score and F-critical score (p = 0.05)

	F-score	F-critical score (p = 0.05)
simulated sample (pork contained coarsely ground pepper)	2.44	
imported sample (peppered pork)	7.47	7.15

Table 3 Results of quantitative analyses by customs methods

	Mean(%)	RSD(%)
Piperine content in imported pork by Benzene Method	0.0360	1.02
Piperine content in imported pork by Toluene Method	0.0363	2.75
Determination of degree of substitution of starch acetates ⁷⁾	0.0111	4.4
	0.0204	0.0
	0.0345	5.1
	0.0741	0.8
Quantitative analysis for lactose ⁸⁾	0.4	4.77
	0.4	4.75
	0.4	5.20
	0.4	5.79
	0.4	4.89
Determination of sulfur content in graphite ⁹⁾	1.0785	3.3826
Quantitative analysis for salinity of meats ¹⁰⁾	2.00	2.629
	2.06	1.182
	2.01	1.584
Quantitative analysis for 10-hydroxy-2-decenoic acid in royal jelly ¹¹⁾	1.25	20.7
	3.33	10.9
Quantitative analysis amino nitrogen value in caseins ¹²⁾	about 5	2.04
Quantitative analysis for salinity of meats ¹³⁾	about 5	0.36
Quantitative analysis for dextrin roasted starch's DE value ¹⁴⁾	9.37	3.43
	3.48	1.44
	8.83	0.57
	8.23	1.82
Determination of milk fat content in mixed fats ¹⁵⁾	69.27	0.267
	29.49	0.873
	14.50	0.51
	70.49	0.203
	30.05	1.228
	15.46	0.394
Sugar content analysis of honey ¹⁶⁾	59.10	1.03
	64.00	1.97
	51.65	2.58
	51.75	1.18
	55.29	1.39
	52.40	1.09
	53.37	2.75
	54.00	0.481
	53.10	2.32
	53.70	1.38
	53.30	0.77
	48.10	0.895
	53.70	1.58
	57.17	1.78
	53.16	2.07
	53.40	1.55
	56.41	1.13
	50.02	1.70
Determination of degree of alpha conversion of starch ¹⁷⁾	81.1	2.38
	34.1	3.08
Quantitative analysis for petroleum content in lubricants ¹⁸⁾	99.6	0.136
	99.5	0.158

RSD: Relative Standard Deviation