

シリカゲルカラムカートリッジを用いた 豚肉調製品中のピペリンの定量分析法（第 2 報）

菅野 達朗*, 小笠原 信*, 片山 貴之**

Quantitative analysis method using silica gel column cartridge for piperine content in pork products (the second report)

Tatsuro KANNO*, Makoto OGASAWARA*, Takayuki KATAYAMA**

*Hakodate Customs Laboratory 24-4, Kaigan-cho, Hakodate, Hokkaido 040-8561 Japan

**Central Customs Laboratory, Ministry of Finance 6-3-5, Kashiwanoha, Kashiwa, Chiba 277-0882 Japan

We examined a way to reduce the volume of organic solvent used for the Customs Analysis Method (CAM) “Quantitative Analysis Method for Piperine Content in Pork Products”, by replacing the silica gel column chromatograph by a silica gel column cartridge. In the range of assumed pepper contents in analysis requests, quantifications were almost equivalent in both the present CAM and the improved CAM. Furthermore, when we analyzed imported seasoning pork products by the two types of CAM, quantifications were almost equivalent.

1. 緒 言

2. 実 験

関税分類において、塩及びこしょうのみを添加することにより調味された豚肉は、その調味の度合いにより第 2 類または第 16 類に分類されるが、両者の税率格差は非常に大きいことから、正確な分類が求められる。

関税分類上の基準としては、国内分類例規「2 類 1. 肉の調製品の分類基準について」において、“こしょうそのものの含有量 0.3%をもって目安とする”とされており、“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”こととされていることから、ピペリンの含有量を正確に定量する必要がある。

前回の研究では、税関分析法「豚肉調製品中のピペリンの定量分析法」^{1,2)}（以下、現行法という。）において使用する有機溶媒の使用量を削減するため、脂肪除去工程に用いるシリカゲルカラムを小型化したシリカゲルカラムカートリッジに変更し、溶媒使用量を抑えた方法（以下、改良法という。）について検証を行った。その結果、改良法における濃度既知のピペリン溶液から得られたピペリンの回収率は 97%と良好であり、模擬試料を用いて改良法の定量性を確認したところ、現行法と同程度の定量性が確認できた³⁾。

これまでの研究結果を踏まえ、税関分析において実施するためには、輸入された豚肉調製品による検証実験や、こしょう含有量による定量性への影響について詳細な検証を行う必要があった。

そこで、本研究ではこしょう含有量が定量性に影響を及ぼすか否かの確認を行うとともに、輸入された豚肉調製品を試料として現行法及び改良法で定量分析を行い、得られたピペリンの定量値を比較することにより、改良法を税関分析に用いることが可能か検証を行った。

2.1 試料及び試薬

2.1.1 試料

- ・こしょう 2 種類（市販品）
こしょう A：ホールのもの
こしょう B：粉末のもの
- ・豚挽き肉（市販品）
- ・輸入された豚肉調製品 4 種類

2.1.2 試薬

クロロホルム（和光純薬工業）
トルエン（和光純薬工業）
メタノール（和光純薬工業）
シリカゲル（Wakogel C-200, サイズ：100-200 mesh）
エンブティエーリザーバー（GL Sciences, 容量：6 mL）

2.2 分析装置及び条件

紫外可視分光光度計：V-600（日本分光），測定波長：343 nm，
光路長：1 cm

2.3 検証した試験法

・現行法

税関分析法「豚肉調製品中のピペリンの定量分析法」第 3 改正版（カラムクロマト管を用いた処理手順は Fig.2(B)のとおりであり、吸光度測定用の検液は吸光度が 1 付近もしくはそれ以下となるようメタノールによる定容量を調節した。）

* 函館税関業務部 〒040-8561 北海道函館市海岸町 24-4

** 財務省関税中央分析所 〒272-0882 千葉県柏市柏の葉 6-3-5

・改良法

現行法におけるカラムクロマトグラフィ処理工程に、シリカゲル1gをエンブティリーザーバーに充填したシリカゲルカラムカートリッジを使用した（シリカゲル柱の長さ約1.5cm）（Fig.1 参照）。シリカゲルカラムカートリッジを用いた処理手順はFig.2 (A)のとおりであり、吸光度測定用の検液は吸光度が1付近もしくはそれ以下となるようメタノールによる定容量を調節した。また、シリカゲルカラムカートリッジはアルミホイルで遮光して使用し、通液については、カートリッジ上部から圧力をかけず、自然落下による方法を採用した。

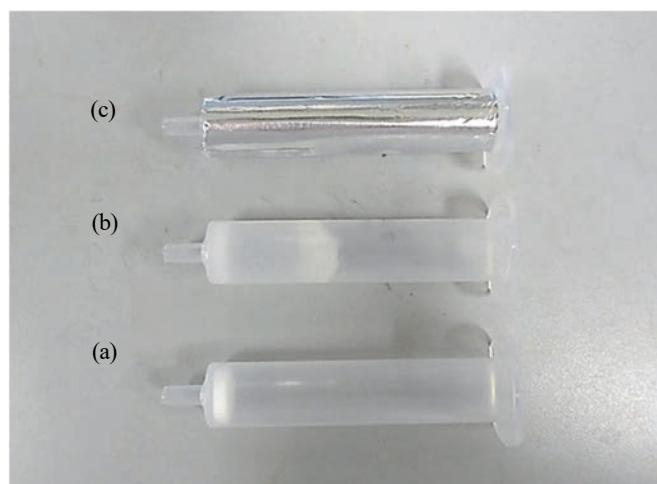


Fig. 1 Photo of silica-gel column cartridge
(a) empty reservoir (cartridge), (b) silica-gel column cartridge (filled with silica-gel), and
(c) aluminum-foil covered silica-gel column cartridge

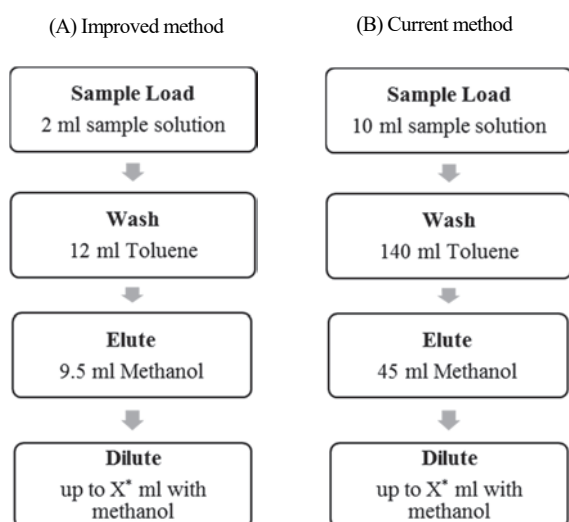


Fig. 2 Flows of column processing of improved method and current method. Improved method (A) is the Silica Gel Column Cartridge Method in this study. In this method, solvent passage is performed by the freefall method. Current method (B) is the Customs Analytical Method “Quantitative Analysis Method for Piperine Content in Pork Products”.

*X: This constant volume is changed at the final concentration.

2.4 こしょう含有量が定量性に及ぼす影響の検証

改良法において使用するシリカゲルカラムカートリッジではシリカゲルの充填量が現行法の5分の1であり、シリカゲル柱の高さや径が現行法におけるカラムクロマト管を用いた場合とは異なる。これを考慮して、脂肪除去工程において処理するピペリン抽出液の量を調整しているものの、当該ピペリン抽出液に含まれるピペリンの含有量によって、ピペリンの溶出挙動に差が出てくる可能性があると考えられた。そこで、豚肉調製品中のこしょう含有量により、現行法と改良法でピペリンの定量値に差が生じるかを確認するため、ピペリンの含有量が異なる検液（以下、模擬ピペリン抽出液という。）を調製し、これを定量性の検証に用いることとした。

2.4.1 模擬ピペリン抽出液の調製

模擬ピペリン抽出液は、豚挽き肉から脂肪分を抽出した豚肉抽出液及びこしょうからピペリンを抽出したこしょう抽出液を混合することで調製した。

豚肉抽出液は、豚挽き肉40gに対してクロロホルム100mLを加えて2時間振とう抽出したものである。また、こしょう抽出液は、市販のこしょうA及びBからそれぞれ0.05g、0.3g、1.0g及び1.5g採取し、それぞれにクロロホルムを40mL程度加えて2時間振とう抽出した後、クロロホルムで50mLに定容したものである。この豚肉抽出液25mLとこしょう抽出液5.0mLを混合し、トルエンで50mLに定容したものが模擬ピペリン抽出液である。

なお、この模擬ピペリン抽出液は、こしょう含有量が0.05%、0.3%、1.0%及び1.5%の豚肉調製品から得たピペリン抽出液に相当する。

2.4.2 現行法及び改良法による模擬ピペリン抽出液の測定

2.4.1において調製した模擬ピペリン抽出液を検液として、現行法及び改良法による脂肪除去を行いピペリンの定量を行った。

2.5 輸入された豚肉調製品を用いた二法の定量性の比較

シリカゲルカラムカートリッジが税関分析で用いることが可能か検証するため、輸入された豚肉調製品4種類について現行法及び改良法により分析を行い、二法間でピペリンの定量値に差が生じるかの確認を行った。

3. 結果及び考察

3.1 こしょう含有量が定量性に及ぼす影響の検証結果

2.4における結果をTable 1に示す。現行法で得られたピペリンの定量値（n=1）と改良法で得られたピペリンの定量値の平均値（n=7）を比較すると、こしょうA、こしょうBともにピペリン含有量の差が0.0003%以下であった。このピペリン含有量の差をこしょう含有量に換算（ピペリンの定量値（%）/0.05）すると0.006%以下であり、関税分類上の基準値であるこしょう含有量0.3%に対して2%程度であった。以上の結果から、こしょう含有量0.05%から1.5%の分析試料においては、定量性への影響はほとんどないと考えられる。

3.2 輸入された豚肉調製品を用いた二法の定量性の比較結果

2.5における結果をTable 2に示す。2.5と同様、現行法で得られたピペリンの定量値（n=1）と改良法で得られたピペリンの定量値の平均値（n=7）を比較すると、現行法と改良法とのピペリンの定量値の差

は 0.0002 % 以下であった。このピペリンの定量値の差をこしょう含有量に換算すると 0.004 % 以下であり、関税分類上の基準値であるこしょう含有量 0.3 % に対しては 1 % 程度の差であった。以上の結果から、改良法は現行法と同程度の定量性が得られるものと考えられる。

3.3 二法の定量性の比較結果にかかる考察

2.4 の結果から、豚肉調製品中のこしょう含有量が関税分類上の基準値の 5 倍に相当する 1.5 % であっても現行法と改良法の定量結果の差はごく僅かであった。検証したこしょう含有量の範囲においてはピ

ペリンの定量性への影響はほとんどなく、関税分類において、豚肉調製品のうちこしょう含有量が 1 % を超える検体は想定されないことから、改良法は現行法と比較して遜色ないものと考えられる。

また、当関における先行研究³⁾や本研究で得られた結果から、現行法のピペリンの定量値よりも改良法のピペリンの定量値の方がやや低くなる傾向が認められたが、二法間のピペリンの定量値の差はこしょう含有量として最大でも 0.006 % 程度であったことから、関税分類上の基準値であるこしょうの含有量 0.3 % 以上か否かの判定を行う上で、改良法は現行法と比較して同精度と考えられる。

Table 1 Quantitative results of piperine contents in simulated piperine extracts by the improved method and the current method

	Piperine contents in the simulated piperine extracts (%)							
	Pepper contents 0.05%		Pepper contents 0.3%		Pepper contents 1.0%		Pepper contents 1.5%	
	A	B	A	B	A	B	A	B
Current method	0.00178	0.00280	0.0109	0.0158	0.0349	0.0556	0.0541	0.0837
Improved method								
1 st	0.00180	0.00278	0.0108	0.0157	0.0346	0.0551	0.0539	0.0836
2 nd	0.00177	0.00279	0.0108	0.0156	0.0347	0.0550	0.0538	0.0836
3 rd	0.00178	0.00276	0.0108	0.0156	0.0347	0.0557	0.0539	0.0838
4 th	0.00180	0.00275	0.0107	0.0157	0.0349	0.0554	0.0538	0.0836
5 th	0.00177	0.00278	0.0108	0.0157	0.0349	0.0552	0.0538	0.0835
6 th	0.00176	0.00279	0.0107	0.0157	0.0349	0.0554	0.0537	0.0837
7 th	0.00177	0.00277	0.0108	0.0156	0.0346	0.0553	0.0538	0.0836
mean	0.00178	0.00278	0.0108	0.0157	0.0348	0.0553	0.0538	0.0836
S.D.	0.00001	0.00001	0.00006	0.00005	0.00012	0.00023	0.00006	0.00008

Table 2 Quantitative results of piperine contents in imported seasoning pork products by the improved method and the current method

	Piperine content in the imported seasoning pork products (%)			
	sample A	sample B	sample C	sample D
Current method	0.0161	0.0110	0.0197	0.0192
Improved method				
1 st	0.0161	0.0110	0.0197	0.0190
2 nd	0.0158	0.0109	0.0195	0.0190
3 rd	0.0159	0.0110	0.0197	0.0191
4 th	0.0160	0.0110	0.0196	0.0191
5 th	0.0160	0.0110	0.0197	0.0191
6 th	0.0159	0.0110	0.0196	0.0192
7 th	0.0160	0.0110	0.0196	0.0191
mean	0.0159	0.0110	0.0196	0.0191
S.D.	0.00009	0.00003	0.00008	0.00008

4. 要 約

税関分析法「豚肉調製品中のピペリンの定量分析法」の脂肪除去工程で用いるシリカゲルカラムをより小型のシリカゲルカラムカートリッジに変更し、カラム処理工程で使用する有機溶媒量を最適化した改良法は、同分析法と遜色のない定量性を示したことから、こしょう含有量が定量性に及ぼす影響の確認と実際に輸入される豚肉調製品を用いた定量性の比較を行い、税関分析に用いることが可能か検討した。

市販の2種類のこしょうを用いて異なるこしょう含有量の模擬ピペリン抽出液を作成し、現行法と改良法によりピペリンの定量分析を行ったところ、二法におけるピペリンの定量値の差はほとんどなく、改良法は豚肉調製品中のこしょう含有量に大きな影響を受けることなく、現行法と遜色のない定量性を示した。

また、輸入された豚肉調製品を用いて、現行法及び改良法によりピペリンの定量分析を行ったところ、二法におけるピペリンの定量値に差はほとんどなく、改良法は現行法と遜色のない定量性を示した。

文 献

- 1) 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)
- 2) 斎藤義和：関税中央分析所報，**55**，113（2015）
- 3) 菅野達朗，吉田昭彦，片山貴之：関税中央分析所報，**57**，37（2017）