唐辛子辛味成分の定量法

森 一雄*・澤田玄道*・西浦康雄*

Determination of Pungent Principles in Capsicum Pepper

KAZUO MORI*, HARUMICHI SAWADA* and YASUO NISHIURA*

Capsaicin was isolated from capsicum fruits by *n*-hexane-60% acetic acid extraction system. UV absorption maxima were found at 281 nm ($E_{1\text{cm}}^{1\%}=98.8$) and 231 nm ($E_{1\text{cm}}^{1\%}=246$) in ethanol, and at 246 nm ($E_{1\text{cm}}^{1\%}=330$) and 295 nm ($E_{1\text{cm}}^{1\%}=139$) in 0.5 *N* NaOH. Modified UV method and standard addition method gave the same determined values. UV method, however, gave the 10% higher capsaicin content than the former two methods. While colorimetric method gave 2 to 3% lower content. The reason why UV method gave higher value was revealed that lower extracting ratio of capsaicin in the process of preparation was employed for the determination.

The correlation coefficient between scoville heat units (S) and the values determined by modified UV method (D) was 0.991. The relation was shown by $S=10^4 \times (21.79D+0.50)$.

Threshold level of pungency of capsaicin in 5% sugar solution was 0.04 to 0.05 ppm.

(Received Oct. 25, 1975)

食品用香辛料ならびに医薬用として、唐辛子およびその抽出エキ스는、国の内外を問わず多用されている。この唐辛子の品質評価には、その辛味と外観色調の二点をとりあげるのが一般的であるが、辛味については官能検査を基盤とした方法¹⁻³⁾と、化学的に辛味成分を定量する方法がある。辛味成分を化学的に定量して辛味度の比較をする試みがなされてきてはいるが、まだ確立された方法はなく、官能検査法である Scoville heat unit という単位が、官能検査にはパネル間の個人差⁴⁾などの欠点があるにもかかわらず、広く使われているのが実情である。

化学的な定量法の骨子は、試料より辛味成分をできるだけ純粋な形に分離した後、ジアゾベンゼンスルホン酸^{5,6)}、三塩化オキシバナジウム⁷⁻⁹⁾、燐モリブデン酸・燐タングステン酸¹⁰⁻¹⁴⁾によって呈色させ比色する方法、紫外吸収光度の測定による方法¹⁵⁻¹⁷⁾ならびにガスクロマトグラフィーによる方法¹⁸⁻²²⁾などである。著者らはこの化学的定量法の検討および官能検査による辛味度との相関性を検討した過程で、いくつかの興味ある知見を得たので報告する。

実験方法

1. 辛味成分の抽出分離

Fig. 1 に示した方法により m.p. 65°C の純白リン片状結晶を得た。

2. カプサイシンのガスクロマトグラフィー

(1) 試料の調製

単離カプサイシンおよび標準カプサイシン(メルク社)各々 319 mg をエーテル 1 ml に溶解し、その 5 μ l を用いた。

(2) 装置

柳本 GCG 550F 型ガスクロマトグラフ(水素炎イオン化検出器)、5% シリコン SF 96/60~80 mesh クロモソルブ W (Acid washed) 150 cm カラム使用。

3. カプサイシンの定量

(1) モリブデンブルー比色法(以下比色法という)

i) 発色試薬の調製

燐モリブデン酸・燐タングステン酸溶液: タングステン酸ナトリウム $\text{Na}_2\text{WO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 20 g, モリブデン酸ナトリウム $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 5 g, 85% 燐酸 10 ml, 濃塩酸(比重 1.18) 20 ml および水 160 ml をフラスコに入

* 日本新薬株式会社食品技術研究所(京都市南区西大路通り八条下ル)

Nippon Shinyaku Co., Ltd., Food Research Institute (Kyoto, Japan)

Fig. 1. Extraction of capsaicin from capsicum fruits

Fig. 2. Procedure of modified UV method and colorimetric method

れ冷却管を付してわずかに沸騰溶解した後、硫酸リチウム $\text{Li}_2\text{SO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 1g, 臭素数滴を加え 4 時間沸騰水浴中で加熱し過剰の臭素を除去し冷後、水を加え 200 ml とした。

ii) 比色定量

小菅らの方法¹⁴⁾に準じて、Fig. 2 に示した方法により行なった。

(2) 紫外外部吸光度法 (以下 UV 法という) 小菅らの方法¹⁷⁾によった。

(3) 修正紫外外部吸光度法 (以下修正 UV 法という) Fig. 2 に示した方法により測定した。

(4) 標準物質添加法

唐辛子の抽出エキスのカプサイシンを定量するときに、試料エキスを二分割し一方にカプサイシン結晶一定量を添加溶解し、カプサイシン無添加エキスと並行して定量したときに生じる吸光度の差は、添加カプサイシンに由来するものとし、その差より試料エキス中のカプサイシン含量を求めた。

4. 官能検査による辛味と定量値の相関性

唐辛子オレオレジンを試料に、辛味の官能検査を ASTA 法⁸⁾で行ない修正 UV 法の定量値との相関性の検討を行なった。

実験結果および考察

1. カプサイシンの単離

唐辛子の辛味成分はカプサイシンを主成分にその近縁化合物であるジハイドロカプサイシン、ノルジハイドロカプサイシン、ホモジハイドロカプサイシン、ホ

1) Capsaicin

2) Dihydrocapsaicin

3) Nordihydrocapsaicin

4) Homodihydrocapsaicin

5) Homocapsaicin

モカプサイシンの混融結晶であると推定²⁰⁾²⁶⁾されているので本報告においては、このものと思われる唐辛子よりの単離結晶をもってカプサイシンとした。この単離カプサイシンとメルク社の標準品のガスクロマトグラムの比較を行ないほぼ同程度の純度であることを確かめた (Fig. 3)。

カプサイシンは、唐辛子中に比較的高含量存在するにもかかわらず磷脂質などのため抽出、結晶生成が妨害²³⁾され、さらにカプサイシンそのものが結晶化しにくいいため、従来の報告⁵⁾¹¹⁾¹⁶⁾²⁰⁾²¹⁾²³⁾では複雑な操作を経て単離している。著者らは *n*-ヘキサン-含水酢酸系液々抽出によって、カプサイシン結晶生成妨害物質の大部分を除去でき、さらに結晶中に含まれる微量の不純物を含水酢酸による再結晶で除去できることを見出し比較的容易に単離した。

Fig. 1 により得た結晶をエタノール (99.5%) および 2% 塩化ナトリウムを含む 0.5 *N* 水酸化ナトリウムを溶媒として UV スペクトルを測定し (それぞれ 20.22

$\mu\text{g/ml}$, 12.00 $\mu\text{g/ml}$), Fig. 4 の結果を得たが、エタノール中で 231, 281 nm, 水酸化ナトリウム溶液中で、246, 295 nm にそれぞれ吸収極大を有し、また吸光度 *E* と濃度 *C* の関係および $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ は Table 1 に示した通りで、この結果は小菅ら¹⁷⁾, GONZALEZ¹⁶⁾, MATHEW²⁴⁾ の報告と一致している。

2. カプサイシンの定量

Fig. 2 の操作で得られた試験溶液 (タカノツメ) をモリブデンブルー法で発色させた時の吸収スペクトルは

Fig. 4. UV spectra of capsaicin in EtOH (A) and 0.5 *N* NaOH (B)

Fig. 3. Gas chromatograms of pungent principles from capsicum pepper and standard capsaicin. Column, 150 cm 5% SF-96 on chromosorb W; temperature, 210°C.; carrier gas, He 12 ml./min. (0.7 kg/cm²)
A, ethyl ether; F, capsaicin; B to E and G are not confirmed.

Fig. 5. Absorption curves of Takantsume extract (A) and capsaicin (B) by molybdenum blue

Table 1. Equation and absorptivity of capsaicin concentration in EtOH and 0.5 *N* NaOH

Used solvents	Wave length	$E = AC \pm B$	$C = AE \pm B$	$E_{1\text{cm}}^{1\%}$
Et OH	231 nm	$E = 0.0246C + 0.0009$	$C = 40.65E - 0.04$	2.46×10^3
	281	$E = 0.00988C$	$C = 101.21E$	9.88×10
0.5 <i>N</i> NaOH	246	$E = 0.0330C + 0.0008$	$C = 30.30E - 0.02$	3.30×10^3
	295	$E = 0.0139C - 0.0004$	$C = 71.94E + 0.03$	1.39×10^3

E: Absorbance C: Concentration ($\mu\text{g/ml}$)

Fig. 5 に示したように、カプサイシン結晶の発色液のそれとよく一致している。この吸光度より定量値を求める場合 Fig. 2 中の四塩化炭素溶液から 0.5 N 水酸化ナトリウム溶液へのカプサイシン転溶率を測定する必要がある。試験溶液中にはカプサイシンのほか微量の四塩化炭素も溶解しており、これが呈色を妨害する可能性がある。純四塩化炭素を試料とし Fig. 2 に従って操作し得られる 0.5 N 水酸化ナトリウムと無処理の 0.5 N 水酸化ナトリウムにカプサイシンを溶解し呈色させたところ、Table 2 の I, II 式を得た。この結果から四塩化炭素により呈色が妨害されていると推定された。次にカプサイシンを四塩化炭素に溶解し Fig. 2 に従って得られる試験溶液を呈色させた時の吸光度を、転溶率 100% と仮定して示すと Table 2 の III 式を得た。これを回帰式(II)と比較すると転溶率は 95.15% になる。小菅ら¹⁴⁾は回帰式(I)に該当する方程式と比較し転溶率を出しており実際より低い値を得ている。この結果、著者らは比色法での定量値計算式を Fig. 2 により操作するとき次式とした。

$$\text{Capsaicin determined (\%)} = \frac{(221.7E - 1.55) \times 10}{W}$$

ただし E は 750 nm の吸光度、W は試料採取量(mg)

修正 UV 法は UV 法を改良したものである。Fig. 2 におけるソックスレー抽出は使用する溶媒によって抽出効果が異なり、アセトン、エーテル、メチレンクロライドで同一条件のもとに 24 時間抽出し修正 UV 法で定量

Table 2. Relation between capsaicin concentration and absorbance of molybdenum blue in 0.5 N. NaOH (I), 0.5N NaOH washed with CCl₄ (II) and experimental solution (III)

	E=aC±b	C=aE±b
I	E=0.00503C+0.009	C=198.8E-1.79
II	E=0.00474C+0.014	C=211.0E-2.95
III	E=0.00451C+0.007	C=221.7E-1.55

E: Absorbance at 750 nm

C: Capsaicin concentration (10-80 µg/5 ml)

した時、Table 3 を得た。エーテル、メチレンクロライドの抽出残渣には辛味が残っていたがアセトンのそれにはほとんど感じられず、定量結果からも抽出効果はアセトンがもっとも高くこれを採用した。

ヤツフサ、タカノツメより得た試験溶液の UV スペクトルは Fig. 6 に示したが全波長域にわたってカプサイシンのそれとよく一致し、一方カプサイシンをほとんど含まないパプリカ (*Capsicum frutescens* var. *Grosum*) のそれは吸収がほとんどないところから、この試験溶液中にはカプサイシン定量妨害物質は極めて少ないと判断できる。またこの試験溶液は、Table 4 に示すように室内散乱光下で安定であった。この修正 UV 法も比色法と同様カプサイシン転溶率を測定しなければ定量できないので、同様に転溶率を測定し Table 5 の結果を得た。この結果、転溶率測定値は 5% 危険率において母平均推定値として 95.47±0.31% となり比色法での値とほぼ一致した。四塩化炭素溶液中のカプサイシン濃度が 12.65~75.90 µg/ml のとき処理して得られた試験溶液がさきの 1/5 濃度 (2.53~15.18 µg/ml) に対して Table 5 の吸光度が転溶率 100% で得られたものであると仮定すれば、検量回帰方程式は E=0.0317C-0.0008 となり、従って C=31.55E+0.03 となる。この式によれば転溶率を計算に入れずに試験溶液の吸光度から直接

Fig. 6. UV spectra of experimental solution of Takanotsume (A), Yatsufusa (B) and paprika (C)

Table 3. Extractive efficiency of solvents for capsaicin determination

(Soxhlet's method)

	Sample	Solvents					
		Me ₂ CO		Et ₂ O		CH ₂ Cl ₂	
Capsaicin determined %	Takanotsume	0.41	0.42	0.36	0.36	0.38	0.38
	Yatsufusa	0.64	0.63	0.58	0.56	0.61	0.62

試料四塩化炭素溶液中のカプサイシン濃度を計算することができる。以上の検討結果に基づいて Fig. 2 に従って定量するとき、試料中のカプサイシン含量は次式で表わされる。

$$\text{Capsaicin determined (\%)} = \frac{(31.55E + 0.03) \times 50}{W}$$

Table 4. Stability of experimental solution

Minutes	15	30	60	90	120	150
Absorbance	0.245	0.245	0.244	0.246	0.246	0.245

W は試料採取量 (mg), E は 246 nm での吸光度。

修正 UV 法によって唐辛子果実 およびエキス 4 種について試料の秤量より 5 回繰り返し定量し Table 6 の結果を得たが、この表にみられるように実験のバラツキが少ない。さらに、市販の唐辛子チンキ、エキス、オレオレジンについても修正 UV 法で定量可能で、その結果を Table 7 に示した。

唐辛子のアセトン抽出エキスを試料に標準物質添加法、修正 UV 法、UV 法および比色法で定量を行なった結果 Table 8 を得た。試料エキスは 100 ml の四塩化炭素に溶解し定量、表中の 246 nm の吸光度は試験溶液の、750 nm の吸光度はその試験溶液 5 ml に発色液

Table 5. Extraction of capsaicin from its CCl₄ solution into 0.5 N NaOH

Capsaicin in CCl ₄				Capsaicin in 0.5 N NaOH		
Concentration $\mu\text{g/ml}$	Used ml	Quantity μg	Absorbance	Concentration*1 $\mu\text{g/ml}$	Quantity*2 μg	Extracting ratio*3 %
12.65	10	126.5	0.080	2.40	120.0	94.86
			0.079	2.37	118.5	93.68
			0.080	2.40	120.0	94.86
25.30	10	253.0	0.160	4.83	241.5	95.45
			0.161	4.86	243.0	96.05
			0.159	4.80	240.0	94.86
37.95	10	379.5	0.239	7.22	361.0	95.13
			0.240	7.25	362.5	95.52
			0.241	7.28	364.0	95.92
50.60	10	506.0	0.319	9.65	482.5	95.36
			0.319	9.65	482.5	95.36
			0.321	9.71	485.5	95.95
63.25	10	632.5	0.401	12.13	606.5	95.89
			0.402	12.16	608.0	96.13
			0.401	12.13	606.5	95.89
75.90	10	759.0	0.479	14.49	724.5	95.45
			0.482	14.58	729.0	96.05
			0.482	14.58	729.0	96.05

*1 Calculated by $C=30.30E-0.02$ *2 Calculated by $\mu\text{g/ml} \times 25 \times 10/5$ *3 $\bar{x}=95.47$ $s=0.61$ $CV=0.64\%$ $mo.05=95.47 \pm 0.31$

Table 6. The diversity of determined values

	$\bar{x}$ (%)	s ($\times 10^{-2}$)	C.V (%)	mo.05
Ground capsicum	0.596	± 1.02	± 1.71	$\bar{x} \pm 0.014$
Extract I	1.070	± 0.63	± 0.59	$\bar{x} \pm 0.014$
Extract II	2.024	± 1.02	± 0.50	$\bar{x} \pm 0.014$
Extract III	3.258	± 1.47	± 0.45	$\bar{x} \pm 0.020$
Extract IV	4.282	± 1.33	± 0.31	$\bar{x} \pm 0.018$

$\bar{x}$: Mean of five times; s: Standard deviation; C.V.: Coefficient of variation; mo.05: Confidence interval.

5 ml を加えて呈色させた液の吸光度である。なお標準物質添加法の定量値は 246 nm での吸光度差から算出した。

4 方法による定量結果を比較すると、修正 UV 法と標準物質添加法の値はほぼ一致するが、この両者に比して UV 法は約 10% 高く、比色法は 2~3% 低い。UV 法が高い値を与える原因は小菅ら¹⁴⁾による比色法でのカプサイシン転溶率の測定方法に問題があったため実際より低い転溶率測定値を得て、それを直接 UV 法に適用したため定量値は高くなったものと推定される。

Table 7. Amounts of capsaicin in several commercial products on the market

Maker	Products	Sampling (mg)	Dilution	Absorbance	Determined (%)
A	Tinctura capsici	5002.0	×250	0.367	0.058
B	Tinctura capsici	5015.1	×250	0.315	0.050
B	Extract	151.8	×500	0.241	2.51
B	Extract	155.6	×500	0.242	2.46
C	Oleoresin	159.2	×500	0.228	2.27
D	Oleoresin	151.6	×500	0.168	1.76

Table 8. Comparison of determined values among four methods

Extracts	Added capsaicin (%)	Sampling (mg)	Absorbance		Capsaicin determined (%)			
			246 nm	750 nm	Standard addition method	Modified method	Kosuge's method	Colorimetric method
Yatsufusa	1.172 (1.159*)	156.5	0.471	0.336	4.76	4.76	5.22	4.66
	None	153.3	0.353	0.252	3.64	3.64	4.00	3.54
Takanotsume	1.780 (1.749*)	157.9	0.438	0.311	4.37	4.39	4.81	4.27
	None	159.4	0.270	0.192	2.67	2.68	2.95	2.57
Indonesian chilli	2.043 (2.002*)	150.4	0.449	0.321	4.73	4.72	5.18	4.63
	None	150.8	0.265	0.189	2.78	2.78	3.06	2.68

* Concentration of added capsaicin in the total weight of extract and added capsaicin.

Table 9. Relation between determined capsaicin and Scovill heat units, and threshold levels of pungency

Exp. No.	Capsaicin determined (%)	Scovill heat unit (×10 ⁴)	Threshold level (ppm)
1	0.74	15	0.049
2	1.12	30	0.037
3	1.79	40	0.045
4	2.32	50	0.044
5	2.67	60	0.046
6	2.82	55	0.051
7	3.10	65	0.048
8	3.52	75	0.047
9	3.64	80	0.046
10	3.76	90	0.042
11	4.59	100	0.046
12	4.76	105	0.045

3. 辛味と定量値の相関性

市販されている Red pepper および Capsicum のオレオレジン 12 検体について Scoville heat unit を測定⁸⁾し、同時に修正 UV 法によるカプサイシンの定量を行ない、さらに双方の結果からカプサイシンの閾値を計算し Table 9 を得た。定量値と Scoville heat unit の

相関係数 r は、0.991 で有意水準 1% で高度に有意である。

また定量値を D 、Scoville heat unit を S とすると両者の関係は $S = (21.79D + 0.50) \times 10^4$ で表わすことができるが、これはオレオレジンでの値であり山本ら²⁰⁾による胡椒の場合と同様、エキスの剤型やカプサイシンの存

在状態が異なれば heat unit の値は変る可能性があり、さらにパネルメンバー間の個人差⁴⁾ および民族性⁴⁾ などによっても変り得る。この実験から閾値を計算すると Table 9 に示すごとく約 0.04~0.05 ppm であり、カプサイシン結晶の Scoville heat unit は約 21,800,000 unit となり MATHEW⁴⁾, SUZUKI¹⁵⁾ らの 15,000,000 unit, Todd²⁾ らの 17,000,000 unit と若干異なる。

要 約

唐辛子およびその抽出エキス中のカプサイシンの化学的定量法のうち、燐モリブデン酸-燐タングステン酸比色法、紫外吸光度法 (UV 法、修正 UV 法および標準物質添加法) について比較検討を行なうとともに官能的な辛味との関係を検討した。

標準品として用いた純カプサイシンは唐辛子から単離したがエタノール中で 231 nm ($E_{1\%}^{1\text{cm}}=246$), 281 nm (同 98.8) に、0.5 N 水酸化ナトリウム中で 246 nm ($E_{1\%}^{1\text{cm}}=330$), 295 nm (同 139) に極大吸収を認めた。

修正 UV 法と標準物質添加法はほぼ同じ定量値を与えたが UV 法では前 2 法より約 10% 高い値を、燐モリブデン酸-燐タングステン酸比色法では 2~3% 低い値を示した。UV 法の定量値が高くなった原因は試験溶液調製におけるカプサイシン転溶率のとり方にあると推定された。

修正 UV 法の定量値と Scoville heat unit の関係は相関係数 0.991 で明らかに有意性が認められ、カプサイシンの 5% 蔗糖液中での閾値は 0.04~0.05 ppm であった。

本報告の一部は昭和 50 年 7 月、日本農芸化学会大会において発表した。

文 献

- 1) SCOVILLE, W. L.: *J. Am. Pharm. Assoc.*, **1**, 453 (1912).
- 2) TODD, P. H.: *Food Technol.*, **12**, 468 (1958).

- 3) "Official Analytical Method," American Spice Trade Association: Method 21 (1968).
- 4) MATHEW, A. G., et al.: *Flavour Industry*, **2**, 23 (1971).
- 5) KARAWYA, M. S., et al.: *Analyst*, **92**, 581 (1967).
- 6) SCHULTE, K. E.: *Z. Anal. Chem.*, **147**, 266 (1955).
- 7) FODOR, K.: *Z. Unters. Lebensm.*, **61**, 94 (1931).
- 8) TICE, L. F.: *Am. J. Pharm.*, **105**, 325 (1933).
- 9) 大島康義・白川正治・松井俊規: 九大学芸, **13**, 159 (1951).
- 10) NORTH, H.: *Anal. Chem.*, **21**, 934 (1949).
- 11) 藤田路一・古谷 力・川名 明: 菓誌, **74**, 766 (1954).
- 12) BÜCHI, J. and HIPPENMEIER, F.: *Pharm. Acta Helv.*, **23**, 327, 353 (1948).
- 13) ADAMSKI, R., and SOCHA, A.: *Farmacja Pol.*, **23**, 603, (1967).
- 14) 小菅貞良・稲垣幸男: 農化誌, **33**, 470 (1959).
- 15) SUZUKI, J., TAUSIG, F. and MORSE, R.: *Food Technol.*, **11**, 100 (1957).
- 16) GONZALEZ, A. T. and ALTAMIRANO, C. W.: *J. Food Sci.*, **38**, 342 (1973).
- 17) 小菅貞良・稲垣幸男: 農化誌, **33**, 918 (1959).
- 18) MORRISON, J. I.: *Chem. & Ind.*, **21**, 1785 (1967).
- 19) TODD, P. H.: *Food Technol.*, **15**, 270 (1961).
- 20) MASADA, Y., et al.: *J. Food Sci.*, **36**, 858 (1971).
- 21) HARTMAN, K. T.: *J. Food Sci.*, **35**, 543 (1970).
- 22) 蔡 平里・上田博夫・辰己忠次: 食品工誌, **16**, 430 (1969).
- 23) 小菅貞良・稲垣幸男・上原 勤: 農化誌, **32**, 578 (1958).
- 24) MATHEW, A. G., et al.: *Flavour Industry*, **2**, 691 (1971).
- 25) 山本泰男: 食品工誌, **21**, 579 (1974).
- 26) 森 一雄・山本泰男・福田雄一: 魚肉ソーセージ, No. 169, 70 (1969).

(昭和 50 年 10 月 25 日受理)