流動パラフィンを用いた黒胡椒精油の
簡易定量法

柘植信昭*・大島祥幸*・山本正典*
杉澤 公*

A Simple Quantitative Method Using
Paraffin Oil for Determination of
Essential Oil in Black Pepper

Nobuaki TSUGE*, Yoshiyuki OSHIMA*
Masanori YAMAMOTO*, and Ko SUGISAWA*

* Research Institute, House Food Industrial Co.
Ltd., 5-7, 1-Chome, Mikuriyasakae-machi,
Higashiosaka-shi, Osaka, 577

The method using paraffin oil for extraction of essential oil in black pepper powder was developed as follows. Ten grams of ground sample were extracted with mixing for fifteen minutes in paraffin oil (50 ml) kept at 30°C in a water bath. After separation of paraffin oil from mixture by centrifugation (3 000 rpm, 10 min), essential oil was obtained from paraffin oil (35 ml) by steam distillation. Contents of essential oil were determined by gaschromatography. The proposed method was effective for the estimation of aroma strength, and the coefficient of variation of this method was found to be about 8.6%.

(Received Mar. 21, 1984)

香辛料から精油成分を抽出¹⁾²⁾するには、試料中のすべての精油成分を抽出するため、水蒸気蒸留法³⁾を用いるのが一般である。

一方、多くの香辛料は、精油成分を細胞内の油滴中に蓄積していることが知られている⁴⁾⁵⁾。この精油は、組織中にとじこめられて揮発しにくい状態にある。これが粉碎される時、組織が破壊され、精油は、組織の外へ出て揮発しやすい状態となり、はじめて香味を示すと考えられる。ゆえに、この易揮発状態にある精油を測定することが、粉末香辛料の香味を評価していく上で重要である。従来より、揮発しやすい状態にある精油の測定は、ヘ

ッドスペース法が検討されている。これは、測定時に揮発している精油を測定する方法であり、必ずしも揮発しやすい状態にある精油総量とは言えず、香味の保存性などの評価には不適当な場合がある。

本研究では、粉末香辛料から易揮発状態にある精油を分離定量する方法について、黒胡椒を用いて検討した。分離抽出溶媒には、流動パラフィン⁶⁾を用いた。流動パラフィンは無極性溶媒であって、精油成分を溶解する一方粘性が高いため、細胞内へ浸透しにくく、細胞外へ出た精油のみの分離抽出が可能で、抽出・分離操作における取扱いも容易である。以下にその方法について報告する。

1. 実験方法

(1) 試料及び試薬

黒胡椒は、インドネシア産 (ASTA 級) を用いた。流動パラフィンは、アミノ酸分析用 (半井化学) を使用し、内部標準試薬は、サフロール (東京化成) を用いた。

(2) ガスクロマトグラフィー (GC) 条件

島津 GC-4 BM を使用し、水素炎イオン化型検出器を用いた。カラムは、シリコーン OV-101, 直径 0.25 mm, 長さ 30 m のガラスキャピラリーカラムを用いキャリアガスは、窒素ガス (0.8 ml/min) を用いた。カラム温度は、100°C から 200°C まで 5°C/min で昇温した。

(3) 官能評価法

香りの強さに関して、パネラー 24 名により、シェッフエの一対比較法⁷⁾を用いて官能検査を行った。試料 4 種類について、2 種ずつの組み合わせを 6 通り作り、それぞれ 4 名のパネラーが一方を基準として、-2 から 2 までの 5 段階の評価を用いて比較し、平均嗜好度をもって官能評価点とした。

(4) 定量操作

100 ml 容ビーカーに、流動パラフィン 50 ml, 粉末試料 10.00 g を加え、30°C ウォーターバス中にて、15 分間攪拌抽出を行なう。

抽出後、3000 rpm で 10 分間遠心分離し、その上澄み 35 ml を採り、留出液が 200 ml になるまで常圧水蒸気蒸留を行なう。この時留出液はエチルエーテル 50 ml 中に捕集する。

留出液を 500 ml 容分液ロートに移し、塩化ナトリウム約 70 g を加えて激しく振盪した後、エーテル層を 200 ml 容三角フラスコに移す。水層には、さらにエチルエーテル 50 ml を加え、再び振盪抽出する操作を 2 回行なう。得られたエーテル区分を、無水硫酸ナトリウムで脱

* ハウス食品工業株式会社 研究所 (〒577 大阪府東大阪市御厨栄町 1-5-7)

水後、ロータリーエバポレーターを用いて 0.5 ml まで濃縮する。これに内部標準サフロール 20 μ l を加え、うち 0.5 μ l を GC に注入する。各成分のピーク面積を内部標準量に換算し、回収率を用いて、流動パラフィン抽出精油量を計算する。

総精油定量操作は、粉末試料 7.00 g を用いて 留出液が 200 ml になるまで水蒸気蒸留を行なう。以下の操作は、流動パラフィン抽出の場合と同様である。

2. 結果と考察

(1) 回収率の測定

本方法の蒸留条件における黒胡椒精油の流動パラフィ

ンからの回収率を求めた。

黒胡椒のエーテル抽出物を、0.25 g から 1.00 g (粉末黒胡椒として約 1 g から 15 g の範囲) を、流動パラフィン 35 ml に溶解後、これを水蒸気蒸留して定量した。コントロールは、エーテル抽出物を直接水蒸気蒸留して定量し、これを 100% として流動パラフィンからの回収率を求めた。その結果 (Table 1) 今回添加した範囲で、回収率には差が認められず、一定と考えられるので、流動パラフィン抽出精油の定量計算に使用した。

GC における保持時間が大きくなる (高沸点成分) ほど回収率が低下する原因は、黒胡椒の精油の大部分が炭

Table 1 Recoveries of essential oil from ether extract added with different quantities

Peak No.	Retention time (min)	Recovery (%)				Ave.	c. v. (%)
		Added (0.25 g)	Added (0.50 g)	Added (0.75 g)	Added (1.00 g)		
1	3.75	94.6	88.8	95.8	91.9	92.8	2.90
2	3.88	88.4	87.4	90.3	89.5	88.9	1.23
3	4.33	90.4	85.9	89.4	90.5	89.1	2.10
4	4.45	88.6	84.2	89.3	90.2	88.1	2.62
5	4.78	87.5	86.8	92.2	90.3	89.5	2.24
6	4.97	88.2	83.5	90.1	90.4	88.1	3.13
7	5.21	88.4	83.9	87.6	89.2	87.3	2.32
8	6.27	85.6	87.8	88.5	87.7	87.3	1.22
9	12.34	52.0	52.1	52.5	50.9	51.9	1.14
10	13.34	57.8	50.0	58.8	57.8	56.1	6.31
11	14.58	44.6	38.1	44.0	47.3	43.5	7.72
12	15.33	40.2	35.5	46.0	37.3	39.8	10.00
13	16.88	32.2	27.4	34.6	31.7	31.5	8.25

Fig. 1 Changes in the yields of essential oil (—○—: 88 μ m through, —●—: 297 μ m on)

化水素系化合物であり、無極性の流動パラフィンによく溶け込むためと考えられる。

(2) 易揮発状態にある精油抽出の確認

流動パラフィンによる抽出によって、易揮発状態にある精油が分離抽出されることを、次の実験により確かめた。

黒胡椒の細胞の大きさは、平均 100 μ m 程度であるから、黒胡椒粉砕物のうち目開き 88 μ m のふるいを通して、細胞集塊をほとんど含まず、その精油の大部分が細胞外へ出た易揮発状態にある試料 (試料 I) と、目開き 297 μ m のふるいを通してなかった、細胞集塊を多く含み、易揮発状態、難揮発状態にある精油をそれぞれ含む試料 (試料 II) とを用いて、抽出時間と抽出精油量との関係を調べた。この結果を Fig. 1 に示す。

試料Ⅰの総精油量は、 $17.4 \mu\text{l/g}$ であり、流動パラフィン抽出では、抽出時間15分でその全量が抽出された。

一方、試料Ⅱの総精油量は、 $7.71 \mu\text{l/g}$ であり、抽出時間15分までは試料Ⅰと同様に抽出精油量は急激に増加し、総精油量の約1/2に達した。しかし、それ以後の増加はわずかであった。このことから、試料Ⅱの15分までの抽出量の増加は、細胞外へ出た易揮発状態の精油が抽出されたことによるもので、試料Ⅰと同様に15分で全量抽出されたと考えられる。この時点で、総精油量の約1/2の細胞内あるいは細胞集塊内にある難揮発状態にある精油が残っているにもかかわらず、その後抽出量が増加しないことは、これら難揮発状態にある精油は、流動パラフィンで抽出されにくいことを示している。

これらの結果から、流動パラフィン抽出法（抽出時間15分）で、黒胡椒粉末中の細胞外へ出た易揮発状態にある精油を分離抽出することが可能であると考ええる。

(3) 測定例

粉末黒胡椒を、常温開放下での精油成分が揮発しやすい状態に2日間保存し、本方法を用いて経時的に、易揮発状態の精油量の測定を行なった。この結果を Table 2 に示した。

今回の条件の保存により、精油量が急激に減少し、流動パラフィン抽出した精油が、全体の減少分の76%を占めた。また総精油では、2日後でも保持時間10分までの低沸点成分（モノテルペン類）が残っているのに対して、流動パラフィン抽出の方では、これらの揮発損失が著しい。以上のことから本方法で測定した精油は、粉末試料中の揮発しやすい状態にある精油を分離定量したことがわかる。代表的なガスクロマトグラムを Fig. 2 に示した。

精油量の違う4種類の試料について、官能評価点と精油量との関係を Fig. 3 に、総精油量が同等で流動パラ

Fig. 2 The Gaschromatogram of essential oil of black pepper

1~8: Mono terpenes, 11: β -Caryophyllene
IS: Internal standard

Fig. 3 The Relationship between sensory evaluation and contents of essential oil

—○—: total essential oil
—●—: essential oil of paraffin oil extracted

Table 2 Changes in the content of essential oil of black pepper

Time (h)	Total essential oil		Essential oil of paraffin oil extracted	
	Total contents ($\mu\text{l/g}$)	mono terpenes contents ($\mu\text{l/g}$)	Total contents ($\mu\text{l/g}$)	mono terpenes contents ($\mu\text{l/g}$)
0	23.3	15.7	14.7	10.2
48	6.07	1.54	1.51	0.08

フィン抽出精油に差のある試料2種と、その逆の試料2種について官能検査を行なった結果を Table 3 に示した。分散分析の結果、主効果（香りの強さ）のみが危険率1%で有意であった。

Fig. 3 の本方法の精油量ならびに総精油量と官能評価点との相関係数は、それぞれ $r=0.988$, $r=0.954$ で、本方法の方が相関が高かった。さらに Table 3 の結果を官

Table 3 Relations among total essential oil, essential oil extracted by paraffin oil and sensory evaluation

Sample	Essential oil contents		Sensory evaluation
	Total essential oil ($\mu\text{l/g}$)	Essential oil of paraffin oil extracted ($\mu\text{l/g}$)	
A	19.6	14.4	0.31
B	18.5	9.29	-0.63
C	23.3	14.7	0.88
D	11.4	9.14	-0.56

能評価点でグループ分けすると、プラス側にあるAとC、マイナス側にあるBとDに分けることが出来る。これは本方法で得られた精油量でのグループ分けと一致し、香りの強さを評価する場合、本方法がすぐれていることがわかる。

また同一試料を用いて分析した結果、本法の測定値の変動係数は、平均8.6% ($n=16$) であった。

3. 要約

粉末香辛料中の易揮発状態にある精油を定量する方法を、黒胡椒を試料として検討した。易揮発状態の精油の分離、抽出は、粉末試料を流動パラフィン中で攪拌抽出した。その後流動パラフィン層を水蒸気蒸留して精油を採取し、GC 分析を行なった。

この方法は、比較的簡易に粉末試料中の揮発しやすい状態にある精油を分離、定量でき、官能との相関も高いことが確かめられた。また同一試料を分析した際、測定値の変動係数は平均8.6% であった。

文 献

- 1) 次田隆志・加藤博通：食品工業，546，57(1983)。
- 2) WEURMAN, C: *J. Agric. Food Chem.*, 17, 370 (1969)。
- 3) ASTA Analytical method, 2nd ed. (American Spice Trade Association, New York) p. 8(1968)。
- 4) 奥田 治：香料化学総覧，1巻 (広川書店，東京)，p. 21 (1967)。
- 5) PARRY, J. W.: *Spices* (Chemical Pub., New York) p. 63 (1969)。
- 6) NELSON, P. E. and HOFF, J. E.: *Food Technol.* 22, 61 (1968)。
- 7) 三浦 新：官能検査ハンドブック (日料技連出版社，東京)，p. 356 (1979)。

(昭和59年3月21日受理)

新 刊 紹 介

Analysis of Food Carbohydrate

Birch, G. G 編

食品の炭水化物は、その品質を左右する最も重要な成分であり、分析法については常に関心が向けられている。本書は、食品の炭水化物の一般的特性や分析法について10人の専門家により書かれたもので、分析法の解説が主体となっている。分析法としてはほとんど全ての手法が述べられている。すなわち、物理的、生物的測定法、ポーラロメーター法、高速液体クロマトグラフ法、ガスクロマトグラフ法による測定法が中心となっている。

これらの他 NMR による構造解析、さらには配糖体の分析についてもかなりの記述がさかれている。特に近年進歩の著しい高速液体クロマトグラフ法とガスクロマトグラフ法については詳細に述べられている。また、新しい文献が多く引用されているのも本書の特徴であり、食品研究に従事する者には好書と言えよう。

150×228 ミリ，311 ページ

Elsevier Applied Science Publishers Ltd.

40 ポンド

23 Rippleside Commercial Estate

Ripple Road Barking Essex IG 11

0 SA England