

経常研究

生姜辛味成分の簡易分析法の開発

阿久津 知宏* 金井 悠輔*

Development of Simplified Analysis Method for Pungent Components in Ginger
AKUTSU Tomohiro and KANAI Yusuke

生姜の辛味は多すぎるとクレームにつながることもあるため、原料の辛味成分把握は重要である。本研究では、薄層クロマトグラフィー (TLC) 法を活用し、辛味の程度をすぐに判断できる簡易分析法の検討を行った。辛味成分である 6-ジンゲロールの簡易抽出は乳鉢粉碎による抽出が最も抽出効率がよく、ばらつきが小さい方法であった。TLC 分析条件は濃縮ゾーン付の TLC プレートを使用し、スポット量を 2 μ L とする条件が最適であった。確立した条件により、TLC プレート上でクレームとなる可能性がある生姜を判別することができた。

Key words: 生姜, 辛味, 6-ジンゲロール, TLC

1 はじめに

生姜の辛味成分は抗酸化作用などの機能性が知られている一方、多すぎると辛味が増してクレームにつながることもあるため、原料の辛味成分把握は重要である。辛味の評価を官能評価で行う場合、基準合わせも難しく人によるバラツキも大きい。高速液体クロマトグラフィー (HPLC) 法により辛味成分である 6-ジンゲロールの含有量を分析できるが、機器が高価であるため、保有していない企業がほとんどである。さらに、HPLC は操作が煩雑である上、結果が得られるまで時間がかかり、現場ですぐに判断できないという問題がある。

一方、HPLC 法のように高い精度の分析値は得られないものの、おおまかな比較ができる簡易分析の手法として薄層クロマトグラフィー (TLC) 法がある。TLC 法は高価な機器を必要とせず、迅速に分析することが可能である。また、分析結果は呈色することにより目視で容易に確認できる。

本研究では、TLC 法を活用し、辛味の程度を迅速に判断できる簡易分析法の開発を行った。

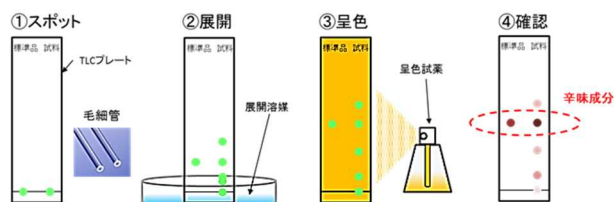


図1 TLC法の概略図

2 研究の方法

2.1 辛味成分の抽出

2.1.1 ミル粉碎による抽出

フードプロセッサーにより粗粉碎した生姜をミル (三洋電機製, SM-KM36 型) により 1 分間粉碎し、エタノールで抽出した。抽出濃度は、生姜 20 g に対して添加エタノール 80 mL (1:4), 20 mL (1:1), 添加なしとし抽出した。

2.1.2 乳鉢粉碎による抽出

フードプロセッサーにより粗粉碎した生姜を乳鉢 (ϕ 130 mm) により 5 分間粉碎し、前項同様にエタノール抽出した。

2.1.3 おろし器粉碎による抽出

生姜をおろし器により粉碎し、同様にエタノール抽出した。

2.1.4 従来法による抽出

フードプロセッサーにより粉碎した生姜 2 g にメタノール 25 mL を加え、氷冷下で 3 分間ホモジナイズした。10 分間振とう抽出した後、遠心分離 (10,000 rpm, 10 分間) して上澄みを得た。残留物にメタノール 25 mL を加え、同様の操作を 2 回繰り返した後すべての上澄みを合わせ、100 mL に定容した。

2.2 TLC 法による辛味成分分析

TLC 法による 6-ジンゲロールの分析は薬用植物データベースの方法¹⁾を参考にした。TLC 法の概略図を図 1 に示す。TLC プレートへ 6-ジンゲロール標準溶液及び試料溶液を毛細管によりスポットし、展開溶媒を約 5 cm 展開した後、TLC プレートを風乾した。これに噴霧用 4-

* 栃木県産業技術センター 食品技術部

ジメチルアミノベンズアルデヒド試液を均等に噴霧し、105℃で5分間加熱した後、放冷した。このとき試料溶液から得たスポットのうち、6-ジングロール標準と等しい位置のスポットについて色の濃淡を確認した。

TLCプレートはTLCシリカゲル60F₂₅₄（メルク製）及びTLCシリカゲル60F₂₅₄濃縮ゾーン付（メルク製）の2種類を使用した。スポット量は10 μL, 5 μL, 2 μLとした。

展開溶媒はヘキサン/酢酸エチル(1:1)、ヘキサン/アセトン(3:2)、ヘキサン/ジエチルエーテル(1:4)を使用した。

2.3 HPLC法による辛味成分分析

従来法により抽出した試料液5 mLを分取し、水で10 mLに定容し、HPLC用分析試料とした。

簡易的な抽出方法で抽出した試料は水・メタノール混液（水：メタノール=1：1）で希釈し、HPLC用分析試料とした。

HPLC条件は、装置：Nexera X2（島津製作所製）、検出器：フォトダイオードアレイ検出器、検出波長：280 nm、カラム：Kinetex C18 2.1 mm I.D.×50 mm（島津ジーエルシー製）、カラム温度：35℃、溶離液A：水（0.1%ギ酸含有）、溶離液B：アセトニトリル（0.1%ギ酸含有）、グラジエント条件：溶離液B30%→90%（5 min）、90%（5 min）、流速：0.3 ml/minとした。

2.4 官能評価

生姜は山生姜及び新生姜の2種類を使用した。辛味の評価はVAS（Visual Analog Scale）法（視覚的評価スケール）により、10 cmのスケール上であてはまる位置に印をつける方法で実施し、スケールの左端から印までの

長さを測定して評価値とした。スケールは左端を「辛くない」とし、右端を「非常に辛い」とした。

3 結果及び考察

3.1 辛味成分抽出方法の検討

従来法による6-ジングロールの抽出はホモジナイザー等の特別な機器を用い、煩雑な操作を伴う方法である

表1 抽出率及び相対標準偏差

抽出方法	従来法に対する抽出率 (%)	相対標準偏差 (%)
ミル	17	—
乳鉢	62	3.5
おろし器	44	9.9

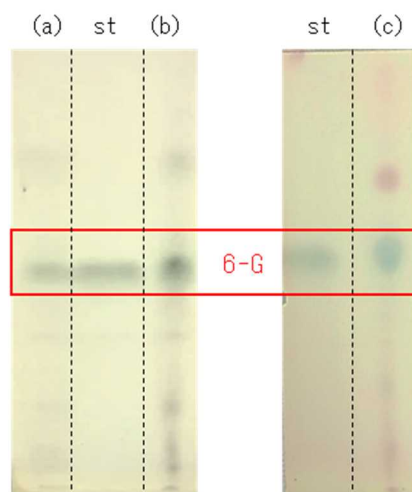


図2 添加エタノール量の違いによるTLC分析結果

(a) 1:4, (b) 1:1, (c) 添加なし, st: 6-ジングロール標準品 (800ppm), TLCプレート: TLCシリカゲル60F₂₅₄, 展開溶媒: ヘキサン/酢酸エチル(1:1)。 (a), (b): 乳鉢により粉碎した生姜を試料とした。 (c): 生姜をおろし器により粉碎し、ろ液を試料とした。(6-G: 6-ジングロール)

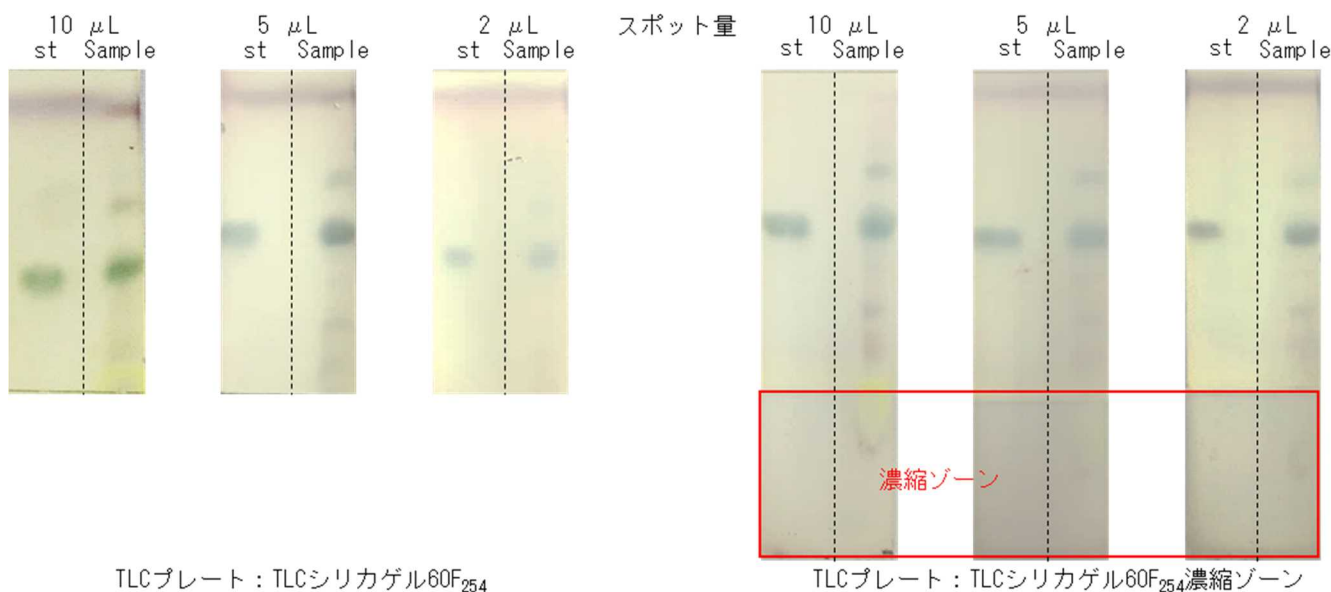


図3 2種類のTLCプレートによるTLC分析結果

展開溶媒: ヘキサン/酢酸エチル(1:1), st: 6-ジングロール標準品(800ppm), Sample: 1:1抽出。

ため、簡易的な抽出方法を検討した。ミル、乳鉢、おろし器により生姜 20 g に対しエタノール 80 mL (1:4) で抽出した試料を HPLC により分析し、得られた分析値から従来法の分析値に対する抽出率を算出した。その結果を表 1 に示す。乳鉢はミル及びおろし器に比べ抽出率が高く、相対標準偏差が小さかった。この結果より、抽出効率がよければつきの小さい乳鉢による抽出が最適な簡易抽出方法であると考えられる。

3. 2 辛味成分抽出濃度の検討

添加エタノール量の違いによる TLC 分析結果を図 2 に示す。生姜に対する添加エタノール量を少なくすると 6-ジンゲロールの色が濃くなった。一方、エタノール無添加においても 6-ジンゲロールを確認できたが、毛細管から試料溶液の吐出を十分に行うことができなかつた。よって、試料溶液を一定量スポットするためには溶媒を添加する必要があり、その割合は生姜に対して 1:1 が最適であると考えられる。

3. 3 TLC 法による辛味成分分析条件の検討

3. 3. 1 TLC プレートの検討

2 種類の TLC プレートによる TLC 分析結果を図 3 に示す。いずれの TLC プレートにおいてもスポット量を少なくするほど 6-ジンゲロールの色が薄くなる傾向がみられた。TLC シリカゲル 60F₂₅₄ では、2 μL で 6-ジンゲロールの確認が困難になった。一方、TLC シリカゲル 60F₂₅₄ 濃縮ゾーン付では 2 μL でも 6-ジンゲロールを確認することが可能であった。これは濃縮ゾーンにより成分の広がりが抑制されたためであると考えられる。この結果より、濃縮ゾーンの有効性が示唆された。作業性については、量が少ないほどスポットが容易であった。よって、濃縮ゾーン付の TLC プレートを、スポット量を 2 μL とする条件が最適であると考えられる。

3. 3. 2 展開溶媒の検討

薬用植物データベースの方法ではヘキサン/酢酸エチル (1:1) を展開溶媒としているが、酢酸エチルは劇物であるため管理が必要である。そこで、代替可能な溶媒について検討した。代替溶媒 (アセトン、ジエチルエーテル) を使用した TLC 分析結果を図 4 に示す。いずれの溶媒においても TLC プレート上で 6-ジンゲロールを確認可能であった。特にアセトンは酢酸エチルと同等の結果であることから、代替溶媒として最適であると考えられる。

3. 4 官能による辛さと成分含有量との関係

生姜の官能評価結果を表 2 に、HPLC 分析結果を表 3 に、官能による辛さと 6-ジンゲロール含有量の関係を図 5 に示す。図 5 より、官能による辛さと 6-ジンゲロール含有量の間に直線性が見られなかつたため、生姜の辛さは 6-ジンゲロール含有量だけではなく、繊維質等、他の要因

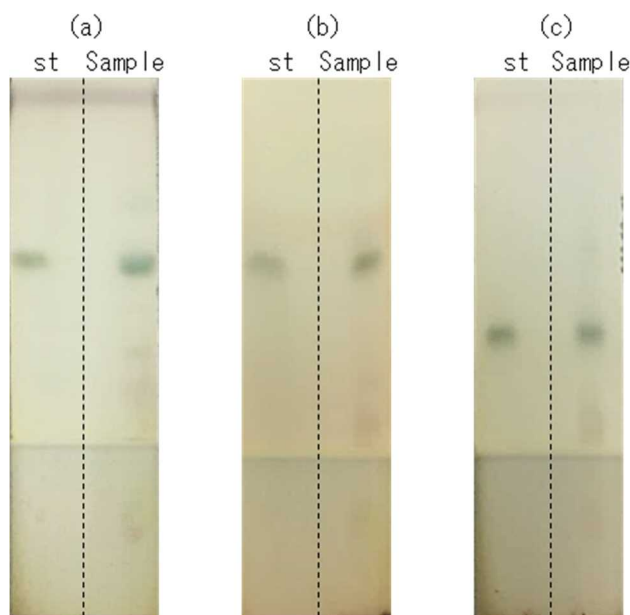


図 4 展開溶媒の違いによる TLC 分析結果

(a) ヘキサン/酢酸エチル (1:1) (b) ヘキサン/アセトン (3:2) (c) ヘキサン/ジエチルエーテル (1:4), st : 6-ジンゲロール標準品 (800ppm), Sample : 1:1 抽出, TLC プレート : TLC シリカゲル 60F₂₅₄ 濃縮ゾーン付。

表 2 生姜の官能評価結果

種類		評価値 (mm)
山生姜 (n=4)	A	23±16
	B	42±25
	C	79±2
新生姜 (n=9)	A	38±26
	B	67±17
	C	70±24

表 3 生姜の HPLC 分析結果

種類		6-ジンゲロール (ppm)
山生姜	A	725
	B	575
	C	971
新生姜	A	767
	B	888
	C	1320

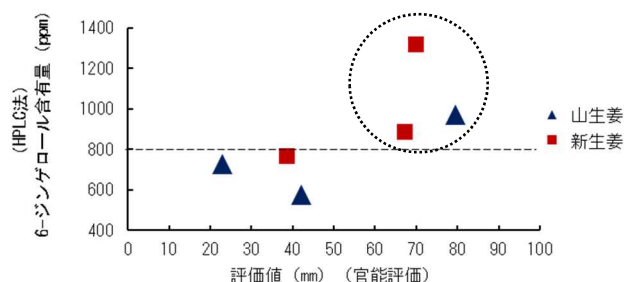


図 5 官能による辛さと 6-ジンゲロール含有量の関係

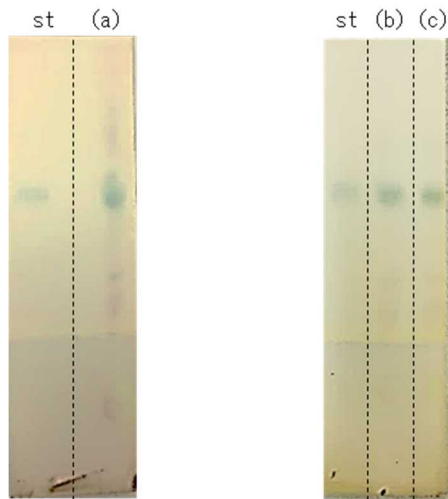


図6 クレームになる可能性がある生姜の TLC 分析結果
 (a) 山生姜 C (1:1 抽出), (b) 新生姜 C (1:1 抽出),
 (c) 新生姜 B (1:1 抽出), st: 6-ジンゲロール標準品
 (800ppm), TLC プレート: TLC シリカゲル 60F₂₅₄ 濃縮ゾーン
 付, 展開溶媒: ヘキサン/酢酸エチル (1:1)。

も関係すると考えられる。しかし、官能評価の評価値が高かった生姜(山生姜 C, 新生姜 B, 新生姜 C)は 6-p ジンゲロール含有量が多い傾向にあった。よって、6-ジンゲロールは生姜の辛味の程度を表す指標になると考えられる。

3. 5 クレームになる可能性がある生姜の判別

辛味が強い生姜はクレームになる可能性があることから、官能評価の評価値が高かった生姜を TLC プレート上で判別できるかどうかについて検討した。これらの生姜のうち最も 6-ジンゲロール含有量が少なかった新生姜 B

(888ppm) と、官能評価の評価値が低かった生姜のうち最も 6-ジンゲロール含有量が多かった新生姜 A

(767ppm) との間に判別基準 (800ppm) を設定した。6-ジンゲロール含有量が 800ppm に相当するように調製した 6-ジンゲロール標準品を使用し、色の濃淡を比較することにより判別を試みた。その結果を図 6 に示す。いずれの生姜も 6-ジンゲロール標準品よりも濃い色であった。この結果より、最適化した条件によりクレームになる可能性がある生姜を TLC プレート上で判別できることがわかった。

4 おわりに

生姜の辛味成分である 6-ジンゲロールについて、TLC 法を活用した簡易分析法を開発し、以下の知見を得た。

- (1) 簡易抽出法は抽出効率がよくばらつきの小さい乳鉢により粉碎し、生姜に対して 1:1 でエタノールを添加する条件が最適であった。
- (2) TLC 分析条件は濃縮ゾーン付 TLC プレートを使用し、2 μ L をスポットする条件が最適であった。
- (3) (1), (2) で確立した条件によりクレームになる可能性がある生姜を判別することができた。

今後は本研究の活用により、県内食品メーカーにおける生姜辛味成分の管理精度向上が期待される。

参考文献

- 1) “薬用植物総合情報データベース” (<http://mpdb.nibiohn.go.jp/>), 国立研究開発法人 医薬基盤・健康・栄養研究所薬用植物資源研究センター (2013-) (2022 年 2 月 17 日 (検索日))