

食品中の健康機能性成分の分析法マニュアル

平成22年3月作成

四国地域イノベーション創出協議会
地域食品・健康分科会 編

s-food@m.aist.go.jp

柑橘の精油

作成者：愛媛県産業技術研究所

食品産業技術センター主任研究員 大野一仁

主任研究員 明賀久弥

徳島県立工業技術センター

主任研究員 市川亮一

1. 柑橘について

1. 1 概要

四国は全国有数の柑橘生産地域である。柑橘栽培に適した温暖な気候風土を背景に、多くの種類の柑橘が栽培されている。

愛媛県においては、温州ミカンが戦後特に昭和 30 年代～40 年代にかけて需要の拡大に適応して、栽培面積・生産量が急増し、昭和 43 年には、全国 1 位の生産量を誇った。その後、需要の低迷もあり生産量は減少したが、現在でも和歌山について全国 2 位の生産量を有する。その他、イヨカン（全国 1 位）、夏ミカン（全国 2 位）、ハッサク（全国 3 位）、ネーブル（全国 4 位）、ポンカン、清見、不知火、河内晩柑等種々の柑橘が栽培されている。また、徳島県ではスダチ（全国 1 位）、高知県ではユズ（全国 1 位）が生産されそれぞれ地域の重要な特産果実となっている。

これらの柑橘は生果として販売されているだけではなく、加工品としても利用されている。地元の加工業者が、特産柑橘類を原料として、果汁、シラップ漬、果皮加工品、菓子素材、ジャム類等多品種の加工品を製造している。これまでは、製品の品質（外観や食味、香りがよいこと、つまり、収穫直後の生果実に近い製品開発）に力が注がれてきた。しかし、消費者の健康志向を背景に、柑橘類に含まれている健康維持に役立つ成分（たとえば、 β -クリプトキサンチン、ノビレチンやヘスペリジン等）の機能性や作用機構が解明され、これらの成分を生かした商品が開発され、柑橘加工品製造業者も柑橘の機能性成分を生かした商品作りへの関心が高まってきている。

1. 2 食品あるいは含有成分の機能性

柑橘を特徴づける香りの成分は、「精油（エッセンシャルオイル）」という脂溶性の化合物群である。精油はその大部分が果皮表面にある「油胞」という粒状の組織の中に含有されている。柑橘を食べる場合、果皮を剥いて果肉を食べ味（甘味、酸味、苦味等）を感じるが、剥皮時に飛散する精油の香りを併せて楽しんでいる。

精油の量は、柑橘の種類、収穫時期によって異なるが、果実に対して0.2～5%位で、平均的には0.3%前後の含有量である。

精油成分の90%以上は、不飽和のテルペン系炭化水素で、そのうちのほとんどがD-リモネンである。D-リモネンは爽快な芳香を有しているものの、不安定な物質で、酸素や光によって着色、樹脂化（重合化）、香りの変化（松脂臭）が起こり、柑橘加工品を長期間貯蔵する際の問題となっている。精油としての利用に当たっては、D-リモネン等の炭化水素を除去する方法がとられている（脱テルペン化処理）。

柑橘精油のほとんどはテルペン系炭化水素であるが、柑橘の芳香を決定づけるのは、数%含まれている含酸素化合物（アルコール、アルデヒド、ケトン類）であると言われている。

最近の研究で、リモネンには、発がん抑制効果、中枢神経の興奮を鎮静化する作用、肝臓強壮作用、腎臓機能促進作用、など機能性に関する成果が報告がされている。

これまで、精油は、加工品の品質に大きく影響する成分として、加工方法・貯蔵方法等について研究されてきたが、今後は機能性に着目した食品の開発が期待される。

また、愛媛県産業技術研究所では、県産柑橘の果皮（レモン、ユズ、イヨカン等）から精油を効率的に抽出する方法について検討している。



写真 果皮精油（コールドプレス法）
（左：レモン、右：ユズ）

搾汁後のユズ

写真 1 - 1 柑橘加工残渣と抽出した精油

1. 2. 1 精油を含む食品

精油は、植物の花、葉、果実に広く含有されている。微量成分を含めて 100 種類以上の成分から構成されており、それらの成分の組合せ（含有量）によって、特有の香りが決定づけていると言われてている。

今回は、柑橘類精油の主成分である、D-リモネン、比較的含有量の高い α -ピネン、 β -ピネン、リナロールについて分析を行うこととする。

<引用・参考文献>

1. 濱田雅文，上江洲香代子，松下純子，山本茂，岸野泰雄：日本栄養・食糧学会誌，55(3)202（2002）.

2. 精油についての説明

柑橘の精油成分としては、テルペン系炭化水素の D-リモネン、 α -ピネン、 β -ピネン、含水素系のリナロール等が含まれている。

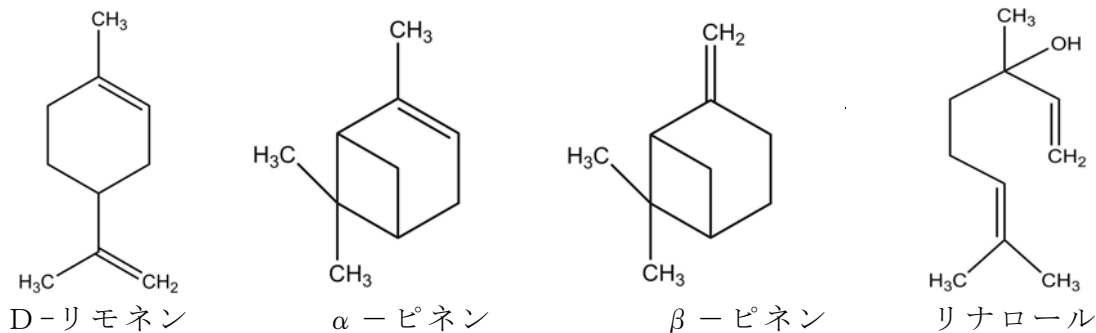


図 2-1 柑橘の主要精油成分の構造式

3. 定量分析の方法について

柑橘や柑橘加工品の 4 種類の精油（ α -ピネン、 β -ピネン、リモネン、リナロール）を、ヘッドスペースガスクロマトグラフィーにより定量する方法を述べる。

3. 1 準備する器具など

1. マイクロシリンジ、または、マイクロピペット
2. サンプル瓶（20ml 容）及びキャップ（ヘッドスペース分析用）
3. キャッパー、デキャッパー
4. ガスクロマトグラフ用キャピラリーカラム
(例：InertCap WAX 30m、0.32mm I.D.、df=0.50 μ m（GLサイエンス(株)製）、
Thermo TR-5ms SQC、15m、0.25mm I.D.、df=0.25 μ m（サーモフィッシャーサイエンティフィック(株)製）、他同等品)
5. ヘッドスペースサンプラー付ガスクロマトグラフ、検出器として四重極型質量分析計を有する。

[試薬]

1. 超純水
2. メチルアルコール(試薬特級)
3. 精油成分標品(試薬)

精油成分 α -ピネン、 β -ピネン、リモネン、リモネンを混合した 100~10,000ppm の混合標準溶液(メタノール溶液)を調製する。

その方法は、以下のとおりである。

先ず、精油成分各々 2.5g をメタノールに溶解して 50ml に定容しそれぞれの原液を調製する(5%溶液)。この原液を各々 10ml 取って混合し、メタノールで 50ml に定容する(10,000ppm 混合溶液)。調製した 10,000ppm 混合溶液を 10ml 取ってメタノールで 50ml に定容する(2,000ppm 混合溶液)。さらに、2,000ppm 混合溶液を 1、2、5、10ml 取ってメタノールで定容し、100、200、500、1,000ppm の混合溶液を調製する。調製した標品溶液は、ネジ付き褐色サンプルビンに入れ、 -20°C 以下で冷凍保存する。

3. 2 分析用試料の前処理・調製方法

1. サンプル瓶は、予め 100°C の恒温機で 3 時間以上加熱した後、室温まで冷却したものをを用いる。
2. 果汁等の液体食品については、超純水 10ml を入れたサンプル瓶(20ml 容)に 10~数 $100\mu\text{l}$ 添加してよく混合し、密封したものをを用いる。
標準品は、超純水 10ml を入れたサンプル瓶(20ml 容)に 1~数 μl 添加してよく混合し、密封したものをを用いる。
3. 陳皮(果皮乾燥粉末)やマーマレド等の固形食品については、試料を均質化後、10~数 $100\mu\text{g}$ サンプル瓶の底に精秤し、密封したものをを用いる。
標準品は、空のサンプル瓶(20ml 容)に 1~数 μl 添加してよく混合し、密封したものをを用いる。

3. 3 ヘッドスペース GC-MS による分析方法

(1) 分析条件例

装置：揮発成分解析用ヘッドスペース GC-MS

(Focus DSQ II 四重極型 GC/MS システム(サーモフィッシャーサイエンティフィック(株)製))

ヘッドスペースサンプラー (TriPlus HS)

シリンジ容量：2.5 mL

注入容量：2.0 mL

試料瓶加熱温度、時間： 80°C 、30分間

シリンジニードル温度： 120°C

ガスクロマトグラフ (Focus GC)

キャピラリーカラム：InertCap WAX 30 mE0.32 mm I.D. df=0.50 μm

オープン条件： 35°C (5 min)- $5^{\circ}\text{C}/\text{min}$ - 220°C (5 min)

注入口温度： 200°C

注入口モード : スプリット (スプリット比 1/10)

キャリアガス : 1.0 mL/min

インターフェイス温度 : 200 °C

検出器 (DSQ II)

イオン化モード : EI

イオン源温度 : 220 °C

イオン化エネルギー : 70 eV

イオン化電流 : 100 μ A

測定範囲 : m/z 50-250 (5.000 scan per seconds, 2252.1 amu/s)



写真 3. 3 - 1 揮発成分解析用ヘッドスペース GC-MS

(2) 定性及び定量

- ① 分離された物質の定性は保持時間及び質量スペクトルにより行う。
- ② 定量は標準試料を用いた、内標を用いない絶対検量線法による。クロマトグラムの面積から計算する。

4. 分析例

4. 1 ヘッドスペース GC-MS による分析例と定量分析結果

分離された物質は保持時間及びそのマススペクトルから(標準物質と比べ)特定する。定量には標準試料を用い、精油成分ごとに最適な質量数のクロマトグラムを選択し、ピーク面積から濃度を算出する。以下に標準混合品のトータルイオンクロマトグラムを図に示す。

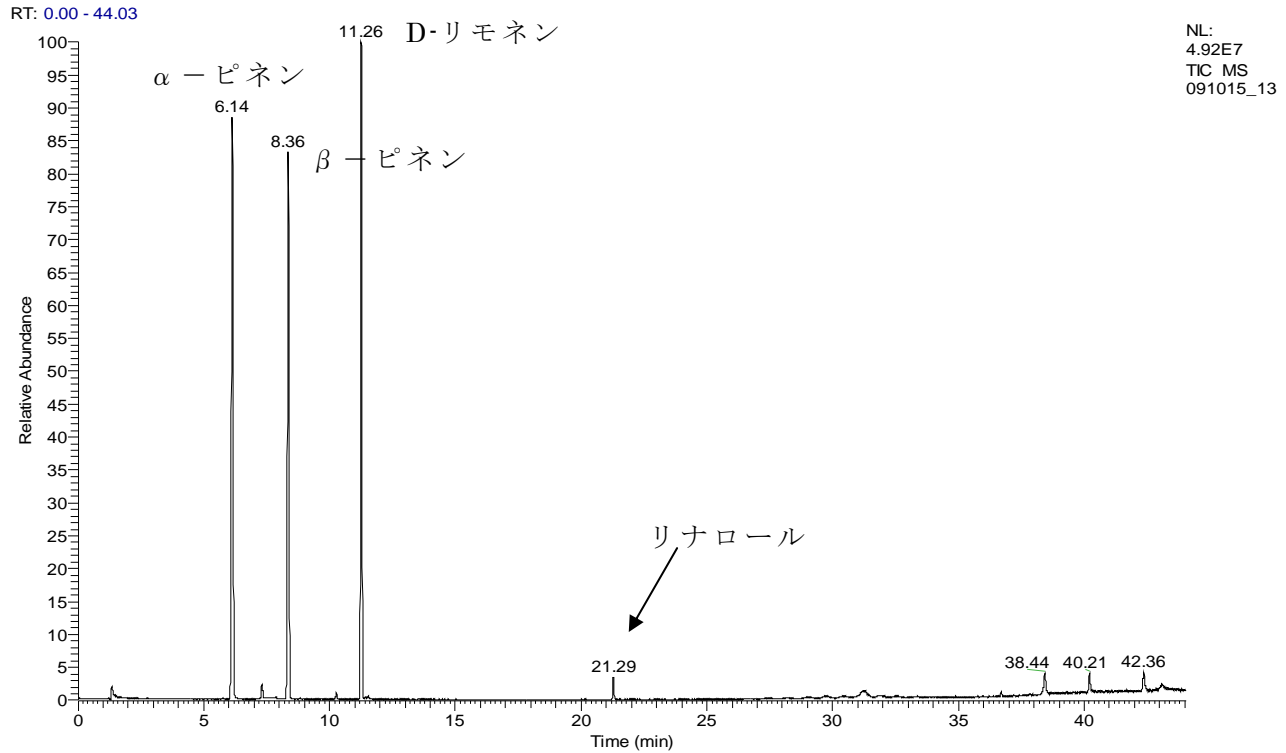


図 4. 1 - 1 精油標準混合品の分析チャート (T I C (St Mix. 100ppm))

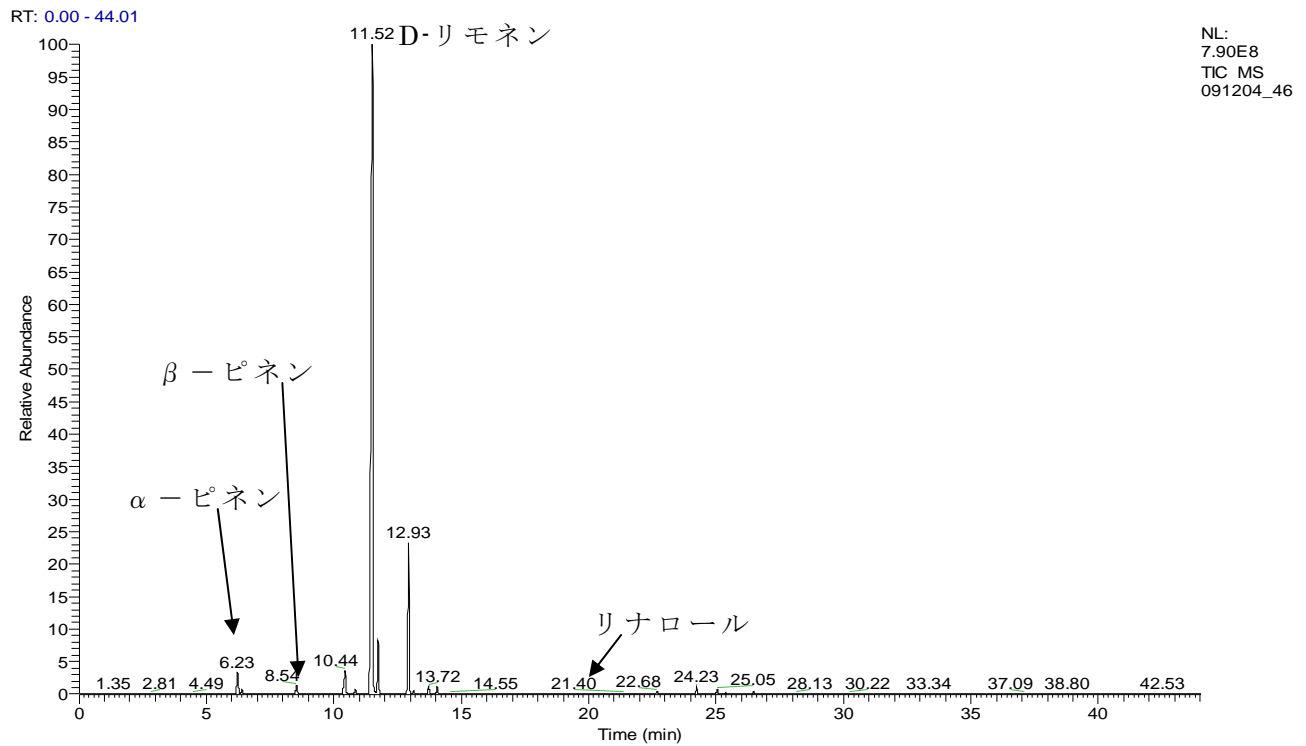


図 4. 1 - 2 ユズ果汁の分析チャート (T I C)

5. 食品の分析結果例

上記手法を用いて、県産柑橘果汁及びその乾燥粉末中の精油成分（ α -ピネン、 β -ピネン、リモネン、リナロール）の定量分析を行った。その結果を下記表に示す。

なお、スダチ果汁については、徳島県から提供を受けた試料について分析を実施した。

表 5 - 1 果汁及び柑橘加工品の分析結果

供 試 品	α -ピネン (ppm)	β -ピネン (ppm)	リ モ ネ ン (ppm)	リ ナ ロ ー ル (ppm)
温州ミカン果汁	2.9	0.9	370	1.9
清見果汁	1.9	0.2	630	1.0
清見果汁	2.3	0.6	560	1.6
サンフルーツ果汁	2.5	0.2	480	0.8
ユズ果汁	150	50	6,000	170
スダチ果汁(徳島県産)	13	1.9	1,700	2.2
スダチ果汁(徳島県産)	18	3.1	1,200	4.3
温州ミカン果皮粉末	7.7	4.1	660	6.1
イヨカンマーマレード ^o	1.1	0.5	470	0.3

(※注意) なおこの測定結果は数多くの果汁や果実加工品のうちの一例であり、製品一般の分析結果ではない。

6. 分析上の留意、注意点

柑橘の精油成分のうち、D-リモネンがほとんど(90%前後)を占めているため、定量するためには、D-リモネンとそれ以外の成分濃度に適した2段階以上の試料量を採取して分析する必要がある。

また、精油成分は、安定性が悪いので、試料調製・分析にあたっては、長時間光に当てたり、品温が高くならないように注意し、標品や分析試料については抽出試料を褐色ビンに入れて、できれば冷凍貯蔵することが望ましい。

7. その他

特になし。

8. 定量法に関する引用・参考文献

1. 日本薬学会編：衛生試験法・注解、金原出版(株)、P749-751(2000)。

—以上—

[トップページに戻る](#)