

柑橘果皮の有用成分の高度利用,農産副産物の有効活用

誌名	高知県工業技術センター研究報告 = Reports of Kochi Prefectural Industrial Technology Center
ISSN	09168729
著者名	杉本,篤史 上東,治彦
発行元	高知県工業技術センター
巻/号	35号
掲載ページ	p. 7-12
発行年月	2004年11月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



柑橘果皮の有用成分の高度利用、農産副産物の有効活用

減圧蒸留によるユズ精油の製造法の開発およびその機能性

杉本篤史 上東治彦

Effective Use of Agricultural Processing By-products

*Process Development of Yuzu Essential Oil by Vacuum Distillation,
and its Functionality*

Atushi SUGIMOTO Haruhiko UEHIGASHI

ユズの精油は、食品・化粧品・入浴剤・芳香製品等の香料原料に利用可能と言われながら、低コストで効率的な精油の製造方法は確立されていない。そこで、減圧水蒸気蒸留による、ユズの搾汁後の果皮から精油の回収を検討した結果、アルベドを除かないユズ果皮1kgから、1.83mlの精油を回収した。得られた精油は、果汁から分離した精油とは品質が異なった。また、この精油のDDPHラジカルの消去能、チロシナーゼ阻害能、抗菌性を検討したが、強い活性は認められなかった。

1. はじめに

四国では、各地で様々な香酸柑橘すなわち独特の香気と酸味をもつ柑橘が栽培されており¹⁾、ユズ、スタチは商業作物として集団栽培が取り組まれている。特にユズは、高知県および徳島県が国内の主産地である。

ユズは独特の香気を有し、料理や加工食品、化粧品、入浴剤等に利用されており、この香気成分については、これまで多くの報告がされている²⁾。

ユズの香気成分を含む精油の回収は、一部、果汁の遠心分離や、有機溶媒による果皮からの抽出が行われているが、一般的ではない。柑橘からの精油の回収は、インライン搾汁の様に搾汁時に飛散する精油を水のスプレーで回収したり、果汁を加熱濃縮する際の蒸気から回収を行うといった方法が一般的である。しかし、ユズは、ベルト式もしくはキャタピラー式の連続搾汁機で搾汁を行うため、構造上、インライン搾汁の様に搾汁時の精油の回収は困難である。また、ユズ果汁は、加熱濃縮を行わず、搾汁液をろ過・冷凍して製品としている。このため、現行の果汁製法工程で、効率的に品質のよい精油の回収は困難である。

そこで久武らは、搾汁後のユズ果皮から、遠心分

離法（ユズ果皮を摩砕・加水・加塩し遠心分離を行う方法）、超臨界ガス抽出法、有機溶媒抽出法（ヘキサン抽出）³⁾、コールドプレス法（搾汁後のユズ果皮のプレス抽出）、減圧水蒸気蒸留法（ユズ摩砕物に加水したものに、低温の水蒸気を吹き込み、精油を含んだ蒸気を回収する方法）⁴⁾による精油の回収を検討している。結果は、有機溶媒抽出法、減圧水蒸気蒸留法で精油の回収が可能で、品質については、有機溶媒抽出法で得られた精油は、褐色で、果汁中から回収した精油に比べて香りが少なく品質が劣り、減圧水蒸気蒸留で得られた精油は無色透明で、多少軽い感じのユズ芳香を有するとしている。ただし、この減圧水蒸気蒸留は、ガラス器具を用いた試験室レベルであり、大型の実用機的设计は難しいと思われる。

一方、山崎らは、スピニングコーンカラム（Flavourtech製）を用いて、搾汁後の果皮を摩砕後加水したスラリーを連続蒸留する方法で精油の回収を検討し、カラム温度が55℃で良好な品質の精油を回収したとしている⁵⁾。この方法は、連続運転が可能であり、回収した精油の品質も良好なため、搾汁後の果皮から精油を回収するには、最も良い方法と思われるが、導入の際には、そのコストや廃液処理を考慮する必要がある。

これらのことより、スピニングコーンカラム以外で比較的安価な装置を検討した結果、焼酎の蒸留装置として一般的に利用されている、減圧蒸留が適当と考えられた。

そこで、著者らは、減圧蒸留による搾汁後のユズ果皮から精油を回収する方法を検討した。まず、果皮を摩砕・加水した蒸留原料を用いて蒸留試験を行った。次に、蒸留原料の酵素処理を検討した。これは、蒸留原料中のペクチン等の多糖類に精油が吸着され、精油回収率の低下が懸念されるためである。

得られた製油は、外観・嗅香評価、揮発成分のGC-MS分析を行った。さらに、抗酸化能 (DPPHラジカル消去能)、メラニン生合成に参与するチロシナーゼの阻害能、皮膚疾患の原因となる *Staphylococcus aureus* に対する抗菌性について検討した。

2. 実験方法

2.1 試料

本実験で用いた、ユズ搾汁残さ、果汁より分離したオイルは、高知県馬路村農業協同組合より入手した。

2.2 蒸留原料の調整

ユズ搾汁残さを解凍後、じょうのう膜・種子等を取り除いて果皮のみに調整し (アルベドは除かない)、鉄うす式粉碎機 (増幸産業、SUP-ER MASUKOROYDER MKZA-10-10型) で粉碎して果皮摩砕物とし、これに2倍量 (W) の水道水を加え蒸留原料とした。

2.3 減圧蒸留

蒸留は、20L蒸留装置 (ケーアイ製 V-20S、加熱部はジャケット式) で行った。なお、蒸気凝縮器には、設定4℃の冷却水を利用した (チラー、3.75kw、冷却能力10,400 kcal/h・冷水1℃、第一工業製を使用)。

1回の蒸留には、蒸留原料を18kg用いた。なお流出時間は1時間とし、1時間経過後、留液および残留液を取り出し、新たな原料を蒸留した。蒸留は3回行い、精油の回収量はその合計とした。

2.4 酵素処理

2.4.1 各種酵素の活性試験

ユズ搾汁残さを解凍後、じょうのう膜・種子等を取り除いて果皮のみに調整し、同量の蒸留水と共に、ホモジナイザー (Nissei MS-11) を用いて、9,000rpm、

5分間、粉碎し、さらに、果皮と同重量の蒸留水を加え、9,000rpm、3分間粉碎した。次に、パルパー (FMI robot coup C80) を用いて漉したものを、果皮スラリーとした。

この果皮スラリー170gに酵素液30mlを加え、30℃で、15分おきに攪拌しながら作用させた。酵素は、スクラーゼ (ペクチナーゼ、三共)、セルラーゼY-NC (セルラーゼ、ヤクルト薬品工業)、ユニアーゼBM-8 (アミラーゼ、ヤクルト薬品工業)、プロテアーゼYP-SS (プロテアーゼ、ヤクルト薬品工業) の市販酵素剤を用いた。

酵素活性は、粘度の低下で評価した。粘度の測定には、粘度カップ (アネスト岩田、NK-2) を用い、カップからの流出時間を測定した。

2.4.2 酵素処理試験

果皮摩砕物に、2倍量 (W) の水道水、酵素液を加え、攪拌しながら室温で、一晚、酵素を作用させた。なお、この処理には20L容器を用い、攪拌は、プロペラ型4枚羽根 (径65mm) の攪拌翼で、3,500rpm、15分間運転、5分間休止の繰り返しの間欠運転の条件で行った。

酵素作用による果皮の分解の程度の評価は、振動ふるい (ニッター電動ふるい ANF-30) によるふるい分けによった。また、この酵素処理した果皮摩砕物を遠心分離し、油性浮上物の分離の可否を検討した。

なお、対照は、酵素処理を行わず、果皮粉砕物に水道水を加えたものを用い、室温での1晩放置は、行わなかった。

2.5 精油の品質調査

2.5.1 外観・嗅香評価

外観評価は、精油を透明なガラスビンに入れ観察した。嗅香評価は、精油をエタノールで10% (V/V) に希釈し、匂い紙につけ、匂いを嗅いだ。また、この希釈液を水道水で100倍に希釈し試飲した。

2.5.2 揮発成分のGC-MS分析

GC部のHP6890GC (Hewlett-Packard製) に、MS部のHP5973MSD (シメダカ製) を直結し、試料注入はヘッドスペースサンプラーHP7694 (シメダカ製) を用いた。カラムはDB624 (内径0.32mm、長さ60m、膜厚1.8 μ m、J&W社製)、カラム温度は45℃ (5分) \rightarrow (5℃/分) \rightarrow 180℃ \rightarrow (10℃/分) \rightarrow 220℃ (3分)、キャリアーガスはヘリウム2.0ml/分、スプリット比15:1、線速度は

36cm/秒とした。なお、イオン化はEI法、イオン源およびインターフェース温度230℃、イオン化電圧70eVとした。成分の同定は、WILEY275ライブラリおよび後記の文献⁷⁾を参考に行った。

2. 6 精油の機能性調査

2. 6. 1 DPPHラジカル消去能

須田の方法⁶⁾を改変して行った。すなわち、200 μ M DPPH-EtOH溶液300 μ lに、サンプル液の精油エタノール溶液を900 μ l加え、2分後に520nmで吸光度を測定した。なお、反応系内の精油の濃度は5% (V/V)になる。対照は、精油エタノール溶液に換えてエタノールを用い、精油のブランクはDPPH-EtOH溶液に換えてエタノールを用いた。

得られたデータは、それぞれの吸光度を、サンプル液 (S)、サンプル液のブランク (B)、サンプル液を加えない対照 (C) とし、以下の式に従いDPPHラジカルの消去率とした。

$$\text{DPPHラジカル消去率(\%)} = (C - (S - B)) / C \times 100$$

2. 6. 2 チロシナーゼ阻害能

サンプル液は、精油330 μ lに、Tween80溶液 (Tween 80:EtOH=1g: 1 ml) 660 μ lを加え攪拌後、蒸留水を加えて100mlに調整した精油エマルジョンとした。対照は、サンプル液の精油を、蒸留水に換えて用いた。

0.2Mリン酸buffer (pH6.8) 0.9ml、0.3mg/mlチロシン溶液 (0.1Mリン酸buffer (pH6.8)) 1mlを試験管に入れ、試験液0.9mlを加え攪拌し、25℃10分間インキュベートした。次に、0.5mg/mlのチロシナーゼ溶液 (0.1Mリン酸buffer溶液 (pH6.8)) 0.2ml加え、37℃で10分間インキュベートし、475nmで測定した。精油のブランクは、チロシナーゼ溶液の代わりに0.1Mリン酸buffer溶液 (pH6.8) を用いた。なお、この反応液中の精油濃度は0.1%となる。

得られたデータは、それぞれの吸光度を、サンプル液 (S)、サンプル液のブランク (B)、サンプル液を加えない対照 (C) とし、以下の式に従いチロシナーゼ阻害率とした。

$$\text{チロシナーゼ阻害率(\%)} = (C - (S - B)) / C \times 100$$

2. 6. 3 抗菌性

サンプル液は、精油100 μ lに10% (W/V) Tween80-EtOH溶液500 μ lを加え攪拌後、蒸留水を加えて全体を10mlに調整し精油エマルジョンとした。対照は、サンプル液の精油を蒸留水に換えて用いた。試験培

地は、このサンプル液10mlにBHI液体培地 (DIFCO製) 90mlを加え、0.45 μ mフィルターでろ過滅菌したものをを用いた。

Staphylococcus aureus IAM12082、*Escherichia coli* IAM12119を、それぞれBHI培地 5 mlに接種し、36℃で18時間震とう培養し、この20 μ lをそれぞれ試験培地 5 mlに加え、36℃で震とう培養し24時間ごとに660nmで吸光度を測定した。

3. 結果および考察

3. 1 ユズ果皮の酵素処理の検討

(1) 各種酵素の果皮スラリーに対する活性

スクラーゼSでは、粘度の低下がみられたが、セルラーゼY-NCでは、わずかな粘度の低下しかみられなかった。スクラーゼSとセルラーゼY-NCを併用すると、スクラーゼ単用より粘度が低下したが、その差はあまり大きくなく、5%程度であった (表1)。

次に、スクラーゼS、セルラーゼY-NC併用下で、ユニアーゼBM-8、プロテアーゼYP-SSを作用させたが、粘度の低下はみられないか、またはわずかであった (表1)。

これらの結果より、果皮の酵素処理には、スクラーゼSとセルラーゼY-NCの併用か、スクラーゼSの単用がよいと考えられた。

(2) 酵素処理試験

果皮摩砕物の酵素処理の酵素液は、スクラーゼS、セルラーゼY-NCを、それぞれ反応系中の濃度が0.1%になるように併用した。両酵素とも、果皮摩砕物に加える水道水の一部を用いて、酵素液を調整した。

酵素処理した果皮摩砕物は、外観がもとの形状とは異なり液化しており、これを振動ふるい機によるふるい分けを行うと、酵素処理前は有効径1

表1 各種酵素の果皮スラリーに対する活性

供 試 酵 素	流出時間 (S)	相対粘度
スクラーゼS	8.10	0.74
セルラーゼY-NC	10.67	0.97
スクラーゼS+セルラーゼY-NC	7.63	0.69
スクラーゼS+セルラーゼY-NC+ユニアーゼBM-8	7.50	0.68
スクラーゼS+セルラーゼY-NC+プロテアーゼYP-SS	7.54	0.69
酵素未添加	10.98	1

注) 各種酵素の濃度は0.1%。

mmのふるいを通過しないものが36.1% (W) あったものが、酵素作用後は2.0% (W) と著しく減少した (図1)。このことより、酵素処理で果皮中の多糖類が低分子化されるのが確認された (図1)。なお、酵素処理後のpHは3.5、水分97.1%であった。

酵素を作用させた果皮粉砕物の遠心分離を、3,000、6,000、9,000rpm (1,200、4,700、10,600g) で3分間行ったが、油性浮上物 (精油を含んだパルプ) や油層の分離は見られなかった。

これらの結果より、ユズ果皮粉砕物を攪拌プロペラで攪拌・剪断しながら、酵素を作用させると、効率よく果皮中の多糖類が低分子化されるのが明らかになった。一方、この酵素処理したユズ果皮粉砕物は、遠心分離しても油性浮上物や油層の分離はできないため、油性浮上物を集めて蒸留効率を向上させるのは不可能と考えられた。

3. 2 蒸留試験

精油の回収量は、酵素処理を行った方法では果皮1kgから1.83ml、酵素処理を行わない方法が1.26mlであり、酵素処理を行うと精油回収率が45%向上した。なお、蒸留開始後の安定した状態の蒸発缶中の

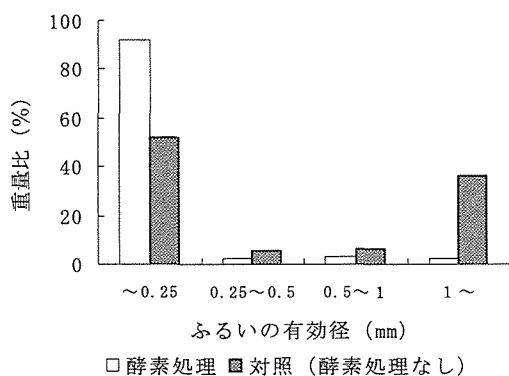


図1 ふるい分け試験の結果

表2 精油回収効率

試験区分		蒸留量	平均流出速度	精油回収量	平均精油回収効率
原料	回数	(l)	(l/h)	(ml)	(精油ml/果皮kg)
酵素処理	1	6.96		9.3	
	2	7.06	6.94	13.5	1.83 (145)
	3	6.79		10.1	
対照 (酵素処理なし)	1	6.91		6.0	
	2	7.06	6.95	10.0	1.26 (100)
	3	6.89		6.6	

液温は約30℃、装置中のゲージ圧は約-95kPaであり、チラーの設定は2℃とした。

このことより、精油の回収率を向上させるために、酵素処理を行う方法は効果が高いと考えられた。

3. 3 精油の品質

(1) 外観・嗅香評価

減圧蒸留で得られた精油は、酵素処理を行った方法、行わなかった方法とも、透明油状であった。果汁より分離した精油は、黄色油状であった。

嗅香評価は、減圧蒸留で得られた精油は、酵素処理を行った方法、行わなかった方法とも、軽く酸っぱい柑橘様の匂いであった。果汁から分離した精油は、重く、やや甘い柑橘様の匂いであった。なお、どの精油も、ユズ独特の特徴は非常に弱かったが、果汁より分離した精油の方が、減圧蒸留で得られた精油より、ユズの特徴が感じられた。また、精油の希釈液を試飲した結果も同様であった。

(2) 揮発成分のGC-MS分析

ピーク面積比が0.1%以上の揮発成分は、表3の様になった。蒸留法で回収した精油は、酵素処理を行った方法、行わなかった方法とも、果汁より分離した精油には、ごく微量または含まれない *n*-hexanal、*trans*-2-hexenalが含まれていた。また、sabineneのピーク面積比は、果汁より分離した精油より、蒸留で得られた精油の方が多かった。ただし、これらの成分はユズに特徴的な芳香活性成分としては報告されていない。果汁より分離した精油と減圧蒸留で回収した精油の嗅香評価の差は、本報では同定できなかった、精油にごく微量に含まれるユズに特徴的な芳香活性成分の含有量の差ではないかと考えられた。

表3 ユズ精油の揮発成分

ピークNo	物質名	ピーク面積比 (%)			保持時間 (m)
		酵素処理果皮の蒸留	蒸留対照 (酵素処理なし)	果汁より回収	
12	ethanol	0.30	0.50	0.68	5.0
46	<i>n</i> -hexanal	0.55	0.15	tr	18.6
54	<i>trans</i> -2-hexenal	0.13	0.03	-	21.4
59	β -thujene	5.68	5.73	5.89	22.8
60	α -pinene	9.71	9.86	10.40	23.2
64	camphene	0.24	0.23	0.22	23.9
66	sabinene	2.46	3.59	1.84	24.8
67	β -pinene	11.52	11.44	11.75	25.1
69	α -phellandrene	4.35	4.35	4.51	25.9
70	α -terpinene	2.52	2.37	2.48	26.4
71	limonene	29.45	28.86	29.58	26.8
72	<i>p</i> -cymene	4.96	5.51	5.01	27.1
73	β -pinene	7.91	7.82	7.87	27.2
75	γ -terpinene	11.26	11.00	11.22	27.8
78	terpinolene	1.83	1.74	1.77	28.8
84	linalool	3.82	3.39	3.27	29.9
98	terpinen-4-ol	tr	0.12	0.30	32.7

注) trは0.01%未満、-は未検出

3.4 機能性の調査

3.4.1 DPPHラジカル消去能

ユズ精油のDPPHラジカル消去率は、酵素処理した果皮を蒸留して得られた精油が3.9%、果汁より分離したオイルが58.9%であった。

他の方法による抗酸化性評価を行っていないので明確ではないが、酵素処理した果皮を蒸留して得られた精油の抗酸化能は低いと思われた。また、果汁より分離した精油は、ラジカル消去能を示したものの、反応系中の精油濃度は5%であり、香料原料として実用的な濃度ではなかった。

3.4.2 チロシナーゼ阻害能

ユズ精油のチロシナーゼ阻害率は、酵素処理した果皮を蒸留して得られた精油で7.90%、果汁より分離した精油で1.57%であり、反応系中の精油の濃度が0.1%では、強い阻害活性は認められなかった。

これらの結果より、ユズ精油のチロシナーゼ阻害剤としての利用は、香料原料として実用的な濃度では困難と思われた。

3.4.3 抗菌性

酵素処理した果皮を蒸留して得られた精油の *Staphylococcus aureus* に対する抗菌性は、24時間までは増殖が抑えられたが、それ以後は逆に精油を加えない対照区より増殖した (図3)。このことより、ユズ

精油の *Staphylococcus aureus* に対する抗菌性は明確ではなかった

参考として行った *Escherichia coli* に対する抗菌性は、精油を加えない対照区より増殖が抑えられたものの、あまり強くはなかった (図3)。

これらの結果より、ユズ精油の抗菌剤としての利用は、香料原料として実用的な濃度では困難と思われた。

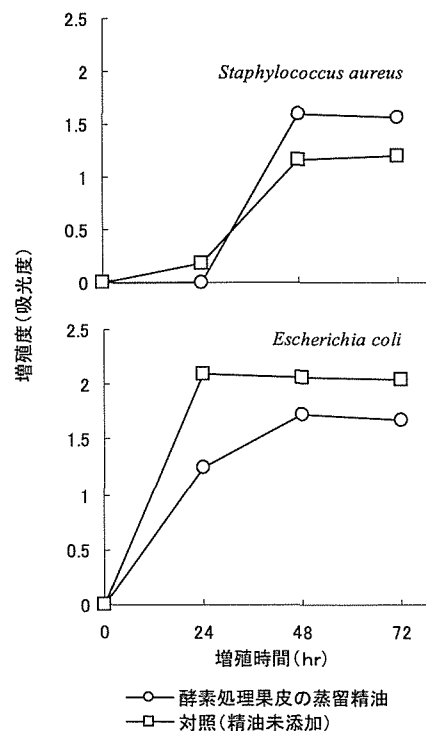


図2 ユズ精油の抗菌性

4. まとめ

減圧蒸留によるユズ果皮からの精油抽出法は、ユズ果皮を摩砕後加水し、ペクチナーゼおよびセルラーゼの酵素を作用させ、蒸留することにより、果皮1kg当たり1.83mlの精油が回収できた。これは、酵素を作用させない方法に比べ、45%の回収率の向上となった。

この減圧蒸留の方法で得られた精油は、軽く酸っぱい柑橘様の匂いであった。

また、この精油のラジカル消去能、チロシナーゼ阻害、抗菌性を検討したが、香料原料として実用的な濃度での活性は認められなかった。このため、これらの機能性については、いわゆる機能性食品・化粧品への利用は難しいと考えられた。

最後に本実験を行うに当たって、馬路村農業協同組合のご協力を得ました。ここに感謝の意を表します。

5. 文献

- 1) 木村勝太郎・谷中登希男：香酸柑橘 四国の酢みかんー1、原田印刷出版（1988）
- 2) 沢村正義：AROMA RESEARCH、1（1）（2000）14-19
- 3) ゆず芳香資源活用推進プロジェクトチーム（高知県農林水産部園芸流通課）：ゆず芳香資源活用推進事業報告書（1998）
- 4) 未発表（高知県工業技術センター：平成10年度試験研究実績報告書）
- 5) 未発表（高知県工業技術センター：平成11年度試験研究実績報告書）
- 6) 農林水産省農林技術会議事務局・食品総合研究所編発行：食品の機能性評価マニュアル、（1999）16-18
- 7) 楊栄華ら：日食工誌39（1）、（1992）16-24