

高圧処理した温州ミカン果汁保存中における揮発性成分の変化

隅谷 栄伸, 末兼 幸子, 中谷 文, 達家 清明

Concentration Changes of Volatile Compounds in Pressurized Satsuma Mandarin Juice during Storage

Hidenobu Sumitani, Sachiko Suekane,
Aya Nakatani and Kiyooki Tatsuka

To examine the influence of high pressure treatment (pasteurization) on the flavor quality of Satsuma mandarin juice, the fresh juice in plastic bottles was treated at 400 MPa for 10 min. The bottles with pressurized juice were placed in the storage at 0, 25 and 40°C for various periods within 8 weeks, and submitted to GC-MS analysis following to the volatile sample preparations. The heat-pasteurized bottled juice stored at 40°C for various periods was used as a control. Two methods, simultaneous steam distillation-extraction method (SDE) and dynamic headspace sampling method (DHS), were applied to the sample preparation for the GC-MS analysis.

The volatiles obtained by SDE were separated into two fractions of hydrocarbon and oxygenated compound by silicagel column chromatography. The volatiles of the two fractions were analyzed by the capillary GC-MS method. On the other hand, the headspace volatiles absorbed on Tenax TA by the DHS were introduced to the GC-MS capillary column by the heat desorption method and analyzed.

Hexanal and *p*-cymene extremely increased in pressurized juices immediately after pressuring in comparison with that of the heat pasteurized juice. Hexanal is a volatile produced by enzyme-induced oxidation of unsaturated fatty acids, and may contribute to green note or fresh scent of the pressurized juice. But, *p*-cymene is a compound with unfavourable odor. No significant differences in other volatiles were observed between the pressurized juice and the heat pasteurized one.

Key Words : volatile compounds, Satsuma mandarin juice, high pressure treatment, simultaneous steam distillation-extraction, dynamic headspace sampling, capillary GC-MS

温州ミカンは生食だけではなく、果汁飲料としても親しまれ、日本でその利用が最も研究されている果実の一つである。しかし、果汁製造工程時の加熱により風味の劣化がある。温州ミカン果汁はS-メチルメチオニンスルフォニウム (MMS) 含有量が多く、加熱によってMMSの分解生成物であるジメチルスルフィド (DMS) による異臭が生成するため、加熱殺菌を伴う製品の製造には十分に注意しなければならない。その点高圧処理は加熱を伴わないので最適の処理法と言える。柑橘類果汁の高圧殺菌条件については既に報告されており、10分間の加圧では、

200~400 MPa 程度の加圧で商業的な殺菌ができる^{1,2,3)}。温州ミカンの揮発性成分に及ぼす高圧処理の影響について、若干の記述はあるが⁴⁾、詳細な報告は見あたらない。

本研究は高圧処理が温州ミカン果汁の揮発性成分に与える影響を調べることを目的とした。搾汁直後の果汁をフッ素樹脂製ボトルに充填後高圧処理（400 MPa, 10分）したものと、比較のため加熱充填したものを一定条件下に保存し、一定期間毎に分析に供した。連続蒸留抽出（SDE）法により揮発性成分を捕集し、シリカゲルカラムクロマトグラフにより炭化水素成分と含酸素成分に分画濃縮後、ガスクロマトグラフィー質量分析計（GC-MS）で分析すると共に、ダイナミックヘッドスペース（DHS）法によって揮発性成分を捕集後 GC-MS 分析し、各揮発性成分の経時変化を調べた。

実験方法

1. 実験材料及び試薬等

- 1) 早生温州ミカンは卸売り市場で購入した。
- 2) シクロヘキサノール, トリデカン (C₁₃) 及び各種有機溶剤
和光純薬工業(株), 特級.
- 3) GC-MS 同定用標準試薬
和光純薬工業(株), 東京化成工業(株), 及び Aldrich Chemical Co. Ltd.
- 4) 超純水
エルガスタット UHQ 超純水製造装置.
- 5) 窒素ガス
住友精化(株), ZERO-U (99.999%).
- 6) 揮発性成分捕集用吸着剤
Enka nv Arnhem (オランダ), Tenax TA (60~80メッシュ).
- 7) 充填容器
ユニバーサル(株), フッ素樹脂製ボトル (材質: Tetrafluoroethylene-perfluoroalkylvinylether 共重合樹脂)
満注充填量: 146 mL.
- 8) シリカゲル
Merck & Co., Inc., Kiesel Gel 60 (70-230 メッシュ).

2. 試料の調製と保存条件

1) 高圧試料の調製と高圧処理条件

(1) 高圧試料の調製

温州ミカンを搾汁し、20メッシュのふるいでろ過を行い、フッ素樹脂製ボトルに満注充填後栓をし、高圧処理装置 MFP-7000 (三菱重工業(株)製)⁵⁾ を用いて高圧処理した。

(2) 高圧処理条件

高圧処理槽の温度設定を20℃とし、水で充填した槽内に試料の入ったフッ素樹脂製ボトルを入れ、約1分で400 MPaに達するように加圧後10分間そのまま保ち、その後常圧にする。この間の処理槽内の温度は断熱圧縮に伴う温度上昇により20℃から約2.2分で28℃となり、その後約8.8分で22℃まで下がる。

(3) 保存条件と揮発性成分の経時変化の測定

高圧試料は0, 25, 40℃に保存した。

試料の測定は温州ミカン搾汁直後と高圧処理後すぐに行い、その後の経時的変化追跡のため、0℃保存試料は、2週、4週、8週に、25及び40℃保存試料は、1週、2週、4週、6週、8週にそれぞれ分析を行った。

2) 加熱試料の調製

(1) 加熱試料の調製

95～96℃に温度制御したオイルバス中にコイル状に巻いたステンレス製パイプ（内径2mm、長さ10m）を入れ、そのパイプ中に定流量ローラーポンプを用いてミカン果汁を毎分100mLの流速（パイプ内通過時間約20秒）で送液し、フッ素樹脂製ボトルに加熱充填し、満注状態になった時スクリーキャップした。その後ボトルを逆さにして2分間放置することによって蓋内部を殺菌後、ボトルを流水中で急冷した。

(2) 保存条件と揮発性成分の経時変化の測定

加熱試料を40℃に保存し、揮発性成分の非酵素的変化の比較試料とした。

試料の測定は加熱充填後すぐに行い、その後の経時的変化追跡のため、1週、2週、4週、6週、8週にそれぞれ分析を行った。

3. 揮発性成分の捕集、GC-MSによる同定及び定量

1) SDE法及びシリカゲルカラムクロマトグラフィーによる揮発性成分の分析

(1) SDE法による揮発性成分の捕集

約145gの試料（フッ素樹脂製ボトル1本分）を精秤し、抽出溶媒として50mLのジクロロメタンを用いて1時間連続蒸留を行った。抽出液に内部標準溶液（トリデカンとシクロヘキサノールを含むジクロロメタン溶液：各1μg/μL）100μLを添加後、無水硫酸ナトリウムを加え30分間振とう脱水し、グデルナーダニッシュ濃縮装置を用いて約0.5mLまで濃縮した。

(2) シリカゲルカラムによる分画とGC-MSへの導入

120～130℃で4時間活性化したシリカゲルをカラム（内径1cm、長さ15cm）に充填した。そのカラムにSDE濃縮物全量をロードし、炭化水素成分をペンタン100mLで溶出し、次にエーテル100mLでもって含酸素成分を溶出した。あらかじめ添加しておいた内部標準物質であるトリデカン及びシクロヘキサノールは両画分に完全に分離する。各画分を約100μLまで濃縮し、2μLをGC-MSに注入した。

2) DHS法による揮発性成分の分析

(1) DHS法による揮発性成分の捕集

25±2℃の恒温室において、約145gの試料（フッ素樹脂製ボトル1本分）を精秤し、内径4.5cm、内容量約200mLのヘッドスペースガス捕集ビンに入れマグネチックスターラーで攪拌しながら、不純物除去用のTenax TA管（内径5mm、長さ90mm、Tenax TA 0.5g充填）を通った窒素ガスを、テフロンチューブでもってヘッドスペースビンの底まで導入する。他方の口に揮発性成分捕集用のTenax TA管（内径等上記に同じ）を連結し、毎分約200mLの流速で、通過窒素量が常圧で6Lに達するまで通気を続ける。捕集用Tenax TA管にはあらかじめ導入口からマイクロシリンジを用いて内部標準（シクロヘキサノールのメタノール溶液：1μg/μL）を10μL注入しておいた。

(2) 捕集成分のGC-MSへの導入

揮発性成分を吸着させたTenax TA管からメタノールと水分を除去するため、清浄にした高純度窒素を毎分50mLの流速で30分間流した後、Tenax TA管をGC-MSに装着した加熱導入装置に接続し、窒素が全てヘリウムに置換されたことを確認後、GC-MSのスタートと同時に

加熱炉の温度を1分間で200℃に昇温し吸着成分をGCに導入した。

3) GC-MSによる同定及び定量

GC-MS測定条件を、Table 1に示した。揮発性成分の同定は、研究室で標準物質を用いて実際の測定と同一条件で作成したデータベース（プライベートデータベース）とのマススペクトル及びKovátsの保持指標⁶⁾の一致でもって行った。また、プライベートデータベースにないものは、ライブラリサーチシステムNBSRBASE（島津製作所、53,994化合物）を用いた検索及びThe Wiley/NBS Registry of Mass Spectral Data（約112,300化合物）⁷⁾によって化合物を推定し、標準物質とのマススペクトル及びKovátsの保持指標⁶⁾と一致することによって同定した。

揮発性成分の量は、各成分の経時変化を知ることが主たる目的であるので、内部標準に対する面積強度比から補正係数を1として、試料100g当たりの μg 量として求めた。

Table 1. Apparatus and conditions for analysis of volatiles from Satsuma mandarin juice by GC-MS.

GC-MS	GC-MS-QP1000 (Shimadzu)
Data processor	GC-MS-PAC200S (Shimadzu)
Flush sampler	FLS-3 (Shimadzu)
Silica capillary column	DB-WAX (J&W Scientific, 60m×0.25mm i.d.)
Carrier gas	He (Linear velocity 29 cm/sec)
Split ratio	20 : 1
Injector temp.	260 °C
Ion source temp.	250 °C
Column oven temp.	40 °C (5 min) ↓ 3°C/min 200 °C
Ionization voltage (EI)	70 eV
Scan mass range	m/z 20-300
Scan interval	2 sec

結果及び考察

常圧SDE法は蒸留中に特定の揮発性成分が顕著に増加したり、また、アーティファクトが生成するなどして、本来含まれている揮発性成分かどうか判定しがたい場合がある。その点を考慮して、本実験では同一試料についてSDE法とDHS法の両方法での測定を行った。すなわち高圧処理及び加熱処理した温州ミカン果汁の保存試料から、SDE法により揮発性成分を捕集し、シリカゲルカラムクロマトグラフにより炭化水素成分（SDE/ペンタン成分）と含酸素成分（SDE/エーテル成分）に分画後、それぞれ濃縮した成分をGC-MSで分析し、また別にDHS法によって捕集した成分を熱脱着によりGC-MSに導入し分析した。保存4週目の高圧試料のSDE/ペンタン、SDE/エーテル成分及びDHS法によるヘッドスペース揮発性成分の全イオンクロマトグラムをそれぞれFig. 1, Fig. 2及びFig. 3に示す。得られた揮発性成分の3つの定量データをTable 2にまとめるとともに、特に重要な揮発性成分にはその変動をグラフ化して表した（Fig. 4～Fig. 9）。なお、40℃に8週目保存した高圧試料のSDE/ペンタン成分のデータは、人為的ミスで欠落している。

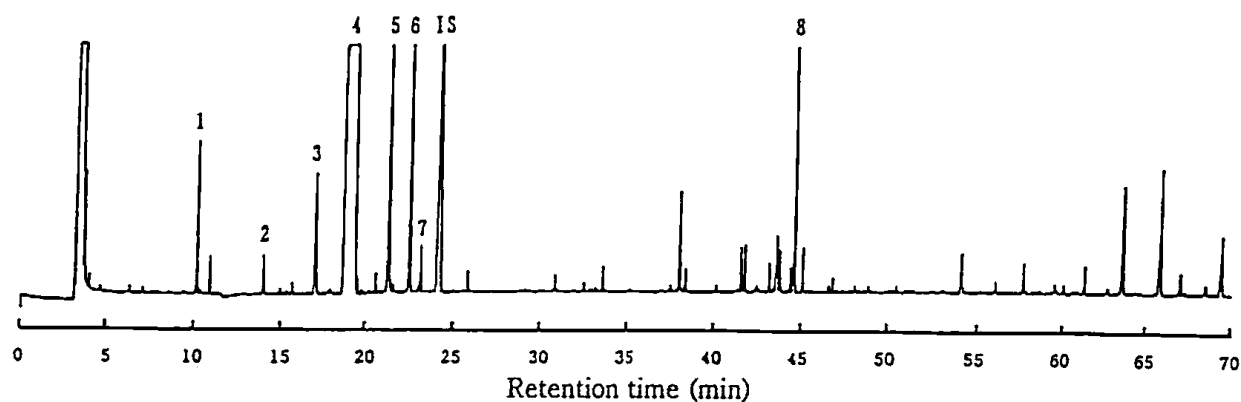


Fig. 1 Total ion chromatograms of SDE volatiles (pentane fraction) from pressurized Satsuma mandarin juice stored at 25°C for 4 weeks.

Peaks:(1) α -Pinene (2) β -Pinene (3) Myrcene (4) Limonene (5) γ -Terpinene (6) *p*-Cymene (7) Terpinolene (8) α -Farnesene (IS, internal standard) Tridecane

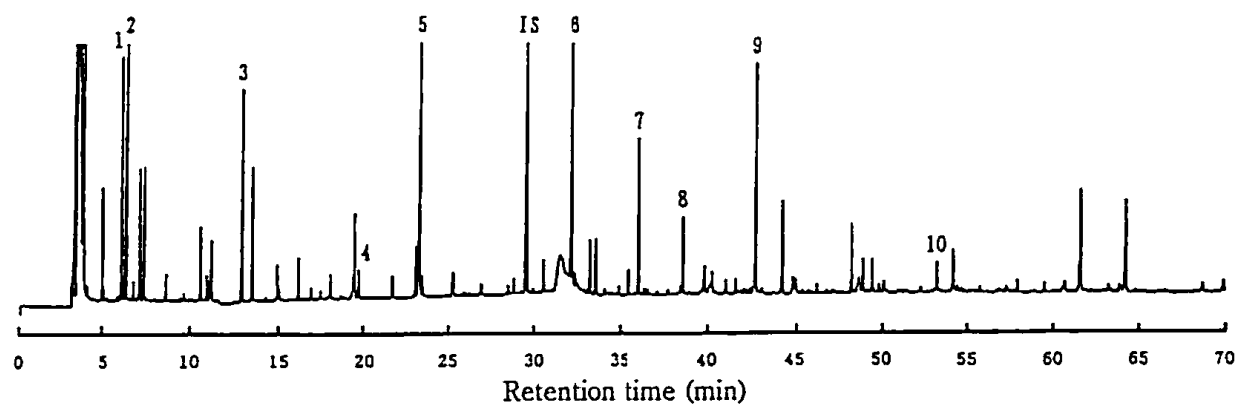


Fig. 2 Total ion chromatograms of SDE volatiles (ether fraction) from pressurized Satsuma mandarin juice stored at 25°C for 4 weeks.

Peaks:(1) Ethyl acetate (2) 2-Butanone (3) Hexanal (4) (*E*)-2-Hexenal (5) 3-Hydroxy-2-butanone (6) Furfural (7) Linalool (8) Terpinen-4-ol (9) α -Terpineol (10) Dodecanol (IS, internal standard) Cyclohexanol

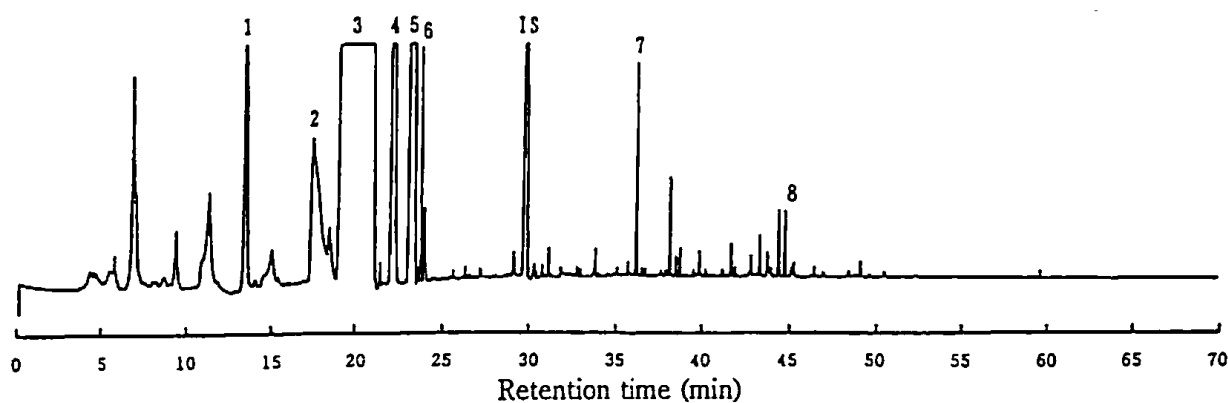


Fig. 3 Total ion chromatograms of headspace volatiles from pressurized Satsuma mandarin juice stored at 25°C for 4 weeks.

Peaks:(1) Hexanal (2) Myrcene (3) Limonene (4) γ -Terpinene (5) *p*-Cymene (6) Terpinolene (7) Linalool (8) α -Farnesene (IS, internal standard) Cyclohexanol

Table 2. Concentrations of volatile compounds in Satuma mandarin juice during storage at 0, 25 and 40 °C for 8 weeks, respectively.

Volatile Compounds	Isolation method	Storage Weeks	Concentration ($\mu\text{g}\%$)				
			Pressurized ^{a)}			Heated ^{b)}	
			0°C	25°C	40°C	40°C	
α -pinene	SDE/Pentane ^{e)}	Fresh ^{c)}	11.25	11.25	11.25	11.25	
		0 ^{d)}	10.62	10.62	10.62	10.16	
		1	—	6.44	9.36	7.12	
		2	11.58	10.05	6.79	5.01	
		4	6.75	9.39	3.68	1.77	
		6	—	9.04	3.14	2.49	
		8	11.51	10.56	NM ^{c)}	1.50	
		Headspace ⁱ⁾	Peak overlapped with 2-butanol and 2-methyl-3-buten-2-ol				
		β -pinene	SDE/Pentane	Fresh	5.46	5.46	5.46
	0			3.78	3.78	3.78	3.77
1	—			1.52	0.60	0.68	
2	4.04			3.04	ND ^{f)}	0.31	
4	1.54			2.93	ND	0.12	
6	—			2.62	ND	ND	
8	3.96			1.37	ND	ND	
Headspace	Peak overlapped with 2-butanol and 2-methyl-3-buten-2-ol						
limonene	SDE/Pentane			Fresh	27.09	27.09	27.09
			0	14.37	14.37	14.37	23.64
		1	—	7.14	14.87	15.71	
		2	16.54	15.80	12.70	12.83	
		4	13.46	13.60	9.94	6.06	
		6	—	13.98	12.17	10.71	
		8	13.93	14.18	NM	7.40	
		Headspace	Peak overlapped with butanol				
		γ -terpinene	SDE/Pentane	Fresh	1040.95	1040.95	1040.95
	0			833.74	833.74	833.74	981.96
1	—			552.31	1119.06	687.53	
2	34.39			638.80	547.86	436.18	
4	77.69			792.64	573.45	411.72	
6	—			1026.90	776.90	646.54	
8	25.54			1133.20	NM	524.75	
Headspace	Peak overlapped with butanol						
γ -terpinene	SDE/Pentane			Fresh	247.30	247.30	247.30
			0	183.86	183.86	183.86	206.68
		1	—	128.62	123.28	168.63	
		2	61.59	182.25	133.33	128.57	
		4	57.80	126.76	95.38	113.81	
		6	—	114.92	124.04	116.98	
		8	59.16	142.54	79.79	94.95	
		Headspace	Peak overlapped with butanol				
		γ -terpinene	SDE/Pentane	Fresh	76.14	76.14	76.14
	0			29.61	29.61	29.61	68.84
1	—			21.00	33.56	49.09	
2	34.59			35.52	28.02	37.28	
4	28.22			34.14	17.89	16.75	
6	—			31.65	19.36	22.19	
8	29.28			27.55	NM	14.44	
Headspace	Peak overlapped with butanol						
γ -terpinene	SDE/Pentane			Fresh	25.72	25.72	25.72
			0	12.72	12.72	12.72	22.52
		1	—	7.46	7.12	19.30	
		2	8.58	8.46	6.78	13.18	
		4	11.11	8.01	3.54	10.92	
		6	—	7.55	2.33	5.48	
		8	10.46	10.56	2.31	4.55	
		Headspace	Peak overlapped with butanol				

Table 2. (Continued)

Volatile Compounds	Isolation method	Storage Weeks	Concentration ($\mu\text{g}\%$)				
			Pressurized		Heated		
			0°C	25°C	40°C	40°C	
<i>p</i> -cymene	SDE/Pentane	Fresh	4.84	4.84	4.84	4.84	
		0	48.05	48.05	48.05	4.47	
		1	—	29.35	35.51	5.52	
		2	38.62	33.03	29.60	6.72	
		4	36.29	40.21	30.76	8.47	
		6	—	37.67	37.59	28.28	
		8	44.38	47.17	NM	25.00	
	Headspace	Fresh	2.82	2.82	2.82	2.82	
		0	16.86	16.86	16.86	2.15	
		1	—	11.25	10.48	3.38	
		2	13.76	14.60	11.97	2.96	
		4	14.90	10.58	10.21	8.11	
		6	—	9.28	12.33	8.92	
		8	14.74	13.20	10.06	8.93	
terpinolene	SDE/Pentane	Fresh	4.01	4.01	4.01	4.01	
		0	2.87	2.87	2.87	3.93	
		1	—	2.13	3.18	3.34	
		2	2.70	3.05	3.67	3.21	
		4	3.67	2.59	2.72	1.77	
		6	—	2.56	3.01	2.82	
		8	2.43	2.94	NM	2.52	
	Headspace	Fresh	1.38	1.38	1.38	1.38	
		0	1.09	1.09	1.09	1.49	
		1	—	0.39	0.69	1.58	
		2	0.45	0.44	0.65	1.17	
		4	0.77	0.50	0.63	1.19	
		6	—	0.53	0.45	0.73	
		8	0.38	0.73	0.66	0.83	
α -farnesene	SDE/Pentane	Fresh	22.91	22.91	22.91	22.91	
		0	15.36	15.36	15.36	23.11	
		1	—	12.03	11.72	19.97	
		2	14.67	17.30	16.51	18.31	
		4	10.82	16.60	9.68	13.44	
		6	—	17.83	7.80	8.05	
		8	15.91	12.55	NM	5.83	
	Headspace	Fresh	0.52	0.52	0.52	0.52	
		0	0.56	0.56	0.56	0.46	
		1	—	0.23	0.27	0.39	
		2	0.31	0.17	0.18	0.26	
		4	0.34	0.17	0.22	0.24	
		6	—	0.21	0.07	0.08	
		8	0.39	0.28	0.09	<0.01	
ethyl acetate	SDE/Ether ^{h)}	Fresh	15.37	15.37	15.37	15.37	
		0	20.00	20.00	20.00	17.78	
		1	—	16.95	16.62	18.82	
		2	16.68	10.76	16.52	22.12	
		4	23.13	22.90	30.14	26.51	
		6	—	26.62	17.19	23.61	
		8	32.35	4.54	24.72	18.69	
	Headspace	Peak overlapped with 2-butanone					
	2-butanone	SDE/Ether	Fresh	45.04	45.04	45.04	45.04
			0	43.30	43.30	43.30	40.67
			1	—	52.57	32.32	61.00
			2	29.60	29.80	34.86	38.84
			4	37.80	36.78	34.19	32.50
			6	—	28.65	46.28	36.42
8			53.94	39.15	36.06	39.17	
Headspace	Peak overlapped with ethyl acetate						

Table 2. (Continued)

Volatile Compounds	Isolation method	Storage Weeks	Concentration ($\mu\text{g}\%$)			
			Pressurized		Heated	
			0°C	25°C	40°C	40°C
ethanol	SDE/Ether	Fresh	30.16	30.16	30.16	30.16
		0	26.74	26.74	26.74	22.62
		1	—	45.00	27.79	40.18
		2	21.70	17.61	21.58	22.17
		4	19.82	15.86	18.57	21.81
		6	—	11.89	20.46	15.10
		8	21.38	14.62	15.39	14.48
	Headspace	Fresh	0.12	0.12	0.12	0.12
		0	0.06	0.06	0.06	0.05
		1	—	0.04	0.08	0.03
		2	0.03	0.02	0.03	0.06
		4	0.09	0.05	0.06	0.07
		6	—	0.07	0.11	0.07
		8	0.13	0.06	0.11	0.08
2-butanol	SDE/Ether	Fresh	13.94	13.94	13.94	13.94
		0	17.21	17.21	17.21	14.14
		1	—	12.76	11.82	15.17
		2	8.30	11.42	18.60	19.54
		4	13.70	7.24	3.58	8.42
		6	—	15.17	11.05	11.23
		8	23.10	18.28	11.82	19.68
	Headspace		Peak overlapped with α -pinene			
	SDE/Ether	Fresh	2.98	2.98	2.98	2.98
		0	3.71	3.71	3.71	4.17
		1	—	4.33	4.20	4.99
		2	3.59	3.88	3.50	9.94
		4	2.54	8.58	7.16	8.73
		6	—	6.39	7.71	9.00
8		11.30	4.22	2.38	8.40	
Headspace		Peak overlapped with α -pinene				
hexanal	SDE/Ether	Fresh	2.72	2.72	2.72	2.72
		0	38.15	38.15	38.15	2.06
		1	—	32.11	27.66	2.24
		2	32.93	30.10	22.54	2.70
		4	31.40	23.75	17.18	2.62
		6	—	21.60	11.15	3.99
		8	30.22	24.07	16.03	5.71
	Headspace	Fresh	0.46	0.46	0.46	0.46
		0	4.30	4.30	4.30	0.25
		1	—	3.22	5.97	0.25
		2	4.30	2.68	4.08	0.33
		4	4.35	3.13	4.21	0.74
		6	—	2.84	3.00	0.64
		8	5.38	4.51	5.03	1.24
2-methylpropanol	SDE/Ether	Fresh	16.97	16.97	16.97	16.97
		0	19.29	19.29	19.29	16.17
		1	—	19.26	17.33	16.62
		2	17.52	18.72	20.45	20.85
		4	17.81	12.65	12.02	15.50
		6	—	18.45	15.42	14.43
		8	24.65	21.20	13.79	21.32
	Headspace	Fresh	0.10	0.10	0.10	0.10
		0	0.04	0.04	0.04	0.08
		1	—	0.04	0.09	0.07
		2	0.04	0.02	0.06	0.08
		4	0.06	0.02	0.10	0.11
		6	—	0.04	0.08	0.06
		8	0.07	0.07	0.14	0.12

Table 2. (Continued)

Volatile Compounds	Isolation method	Storage Weeks	Concentration ($\mu\text{g}\%$)			
			Pressurized		Heated	
			0°C	25°C	40°C	40°C
butanol	SDE/Ether	Fresh	9.50	9.50	9.50	9.50
		0	11.71	11.71	11.71	10.11
		1	—	12.59	7.76	7.30
		2	8.70	7.32	10.60	10.81
		4	6.37	3.98	3.75	4.59
		6	—	8.05	9.34	11.12
		8	9.16	10.82	5.76	15.68
		Headspace	Peak overlapped with myrcene			
3-methylbutanol	SDE/Ether	Fresh	12.37	12.37	12.37	12.37
		0	13.89	13.89	13.89	11.41
		1	—	13.76	13.25	11.09
		2	15.27	14.28	12.21	11.25
		4	13.56	10.97	9.90	7.74
		6	—	10.81	10.02	10.41
		8	12.46	11.72	9.93	11.70
		Headspace	Peak overlapped with limonene			
<i>(E)</i> -2-hexenal	SDE/Ether	Fresh	2.60	2.60	2.60	2.60
		0	3.98	3.98	3.98	1.08
		1	—	4.24	2.68	1.15
		2	4.34	4.22	1.96	0.94
		4	4.40	3.29	0.93	0.55
		6	—	3.00	0.80	0.68
		8	4.06	2.72	0.64	0.52
		Headspace	Peak overlapped with limonene			
3-hydroxy-2-butanone	SDE/Ether	Fresh	48.67	48.67	48.67	48.67
		0	46.48	46.48	46.48	67.41
		1	—	53.04	40.16	51.52
		2	30.92	39.15	38.57	50.09
		4	42.49	49.64	45.74	51.12
		6	—	39.77	49.36	46.11
		8	59.00	33.41	33.54	34.31
		Headspace	ND in all samples.			
furfural	SDE/Ether	Fresh	30.33	30.33	30.33	30.33
		0	49.00	49.00	49.00	43.17
		1	—	45.95	56.02	53.18
		2	28.94	49.11	60.49	61.72
		4	13.43	43.96	76.50	66.95
		6	—	29.63	89.07	90.11
		8	13.03	43.14	95.77	89.06
		Headspace	ND in all samples.			
	Headspace	Fresh	ND	ND	ND	ND
		0	ND	ND	ND	<0.01
		1	—	ND	0.06	0.07
		2	ND	<0.01	0.12	0.12
		4	ND	ND	0.27	0.27
		6	—	<0.01	0.35	0.28
		8	ND	ND	0.67	0.50
		2-ethylhexanol	SDE/Ether	Fresh	7.80	7.80
0	10.18			10.18	10.18	7.75
1	—			12.50	8.17	7.12
2	10.05			9.61	11.97	11.92
4	8.50			7.44	7.63	8.29
6	—			11.90	11.51	9.93
8	10.55			9.47	10.96	12.85
Headspace	ND in all samples.					

Table 2. (Continued)

Volatile Compounds	Isolation method	Storage Weeks	Concentration ($\mu\text{g}\%$)			
			Pressurized			Heated
			0°C	25°C	40°C	40°C
linalool	SDE/Ether	Fresh	18.11	18.11	18.11	18.11
		0	19.39	19.39	19.39	14.50
		1	—	18.62	13.41	9.29
		2	20.10	19.72	9.35	8.23
		4	16.03	17.09	4.29	3.12
		6	—	21.51	2.74	1.92
		8	17.33	12.22	1.53	0.77
	Headspace	Fresh	0.66	0.66	0.66	0.66
		0	0.58	0.58	0.58	0.68
		1	—	0.58	0.61	0.46
		2	0.84	0.49	0.32	0.27
		4	0.80	0.44	0.17	<0.01
		6	—	0.48	0.08	0.06
		8	0.91	0.71	0.06	<0.01
terpinen-4-ol	SDE/Ether	Fresh	4.62	4.62	4.62	4.62
		0	6.21	6.21	6.21	4.89
		1	—	8.36	10.29	5.77
		2	8.35	9.77	11.22	8.77
		4	8.51	8.88	12.58	9.10
		6	—	11.90	17.82	12.88
		8	7.87	9.87	20.39	17.44
	Headspace	Fresh	0.11	0.11	0.11	0.11
		0	0.06	0.06	0.06	0.08
		1	—	0.08	0.15	0.11
		2	0.11	0.07	0.12	0.10
		4	0.11	0.08	0.13	0.12
		6	—	0.09	0.09	0.07
		8	0.14	0.11	0.14	0.08
α -terpinolene	SDE/Ether	Fresh	9.53	9.53	9.53	9.53
		0	30.69	30.69	30.69	15.98
		1	—	27.67	65.52	38.18
		2	25.69	35.75	80.14	64.56
		4	66.28	26.24	102.08	69.17
		6	—	34.76	126.32	84.80
		8	24.16	43.38	132.43	93.86
	Headspace	Fresh	0.02	0.02	0.02	0.02
		0	0.01	0.01	0.01	0.07
		1	—	0.03	0.26	0.23
		2	0.03	0.03	0.34	0.30
		4	0.04	0.04	0.58	0.60
		6	—	0.05	0.53	0.38
		8	0.05	0.07	0.79	0.50
dodecanol	SDE/Ether	Fresh	5.27	5.27	5.27	5.27
		0	7.29	7.29	7.29	4.97
		1	—	8.24	5.84	5.15
		2	7.89	7.35	8.61	10.46
		4	5.65	4.06	4.89	6.43
		6	—	9.89	8.73	6.47
		8	6.50	7.02	8.02	9.36
	Headspace	ND in all samples.				

^a Samples were pressurized at 400MPa for 10min, and were stored.

^b Samples were heated at 100°C for 30min, and were stored.

^c Fresh, immediately before pressurizing.

^d Immediately after pressurizing.

^e NM, not measured by experimental mistakes.

^f ND, not detected.

^g Column chromatograph (silicagel : pentane) followed by SDE.

^h Column chromatograph (silicagel : ether) followed by SDE.

ⁱ Dynamic headspace sampling method.

1. 炭化水素成分

生果汁中のテルペン系炭化水素ではリモネンが圧倒的に多く、次に多い成分は γ -テルピネンとミルセンである。これらの成分の経時変化の特徴は、高圧試料では処理直後に減少し、保存温度に関係なくその後の増減はないが、加熱試料では処理後徐々に減少する傾向がみられた。ヘッドスペース分析においても同様の傾向を示している。 p -シメンは生果汁では少量であるが、高圧処理直後に急激に増加し、その後増減がなかった (Fig. 4)。この変化はSDE法でもヘッドスペース法でも見られる。加熱試料は加熱処理前後でほとんど変化なく、保存中に徐々に増加し、8週後には高圧処理したものと近い値となる。この変化は後で述べるヘキサナールの高圧直後の変化と極めて類似している。しかし、 p -シメンは油臭のするモノテルペンでミカンの香気にとっては好まれない成分である点は問題である。

2. 含酸素成分

高圧前と高圧直後で特に顕著な差の見られた揮発性成分はヘキサナールである。SDE法でもヘッドスペース法でも同様の変化が見られる (Fig. 5)。加熱試料では殆ど変化していないので、酵素反応の介在している可能性が示唆される。植物における青葉アルデヒドで代表される緑の香りの発現機構については畑中の総説がある⁹⁾。また各種の野菜及び果実の脂肪酸由来の香りについては Buttery の詳細な記載があるが⁹⁾、柑橘類についての報告は極めて少ない。茶葉の研究ではリノレン酸及びリノール酸がリポキシゲナーゼの作用で酸化分解し、前者からはヘキサナールが、後者からはヘキサナールが生成すると考えられている¹⁰⁾。柑橘類では鳴門ミカンについてヘキサナールの生成量から上記2酵素の活性について調べている¹¹⁾。高圧処理で酵素が活性化されるという報告もあるので¹²⁾、今回の高圧処理によるヘキサナールの増加もそのようなことによるのかもしれない。今後の検討課題である。ヘキサナールの閾値は4.5 ppb¹⁴⁾と低く、高圧ミカン果汁の香気に新鮮さ(グリーンノート)を与える点において、いくらかは寄与しているかもしれない。その他の成分では特に高圧試料に特徴的と言える変化は認められなかった。

リナロールは0℃及び25℃保存試料では増減がなかったが、40℃保存試料では徐々に減少した (Fig. 6)。逆に40℃保存中に α -テルピネオールは顕著に増加する傾向がみられた (Fig. 7)。 α -テルピネオールはカビ臭のする物質であり、貯蔵臭として知られている成分である¹³⁾。下田らは幾つかのテルペンアルコールの生成反応がテルペン系炭化水素への酸触媒による水の付加反応であることを報告している¹⁵⁾。従って、40℃保存で増加する α -テルピネオールは40℃保存で減少

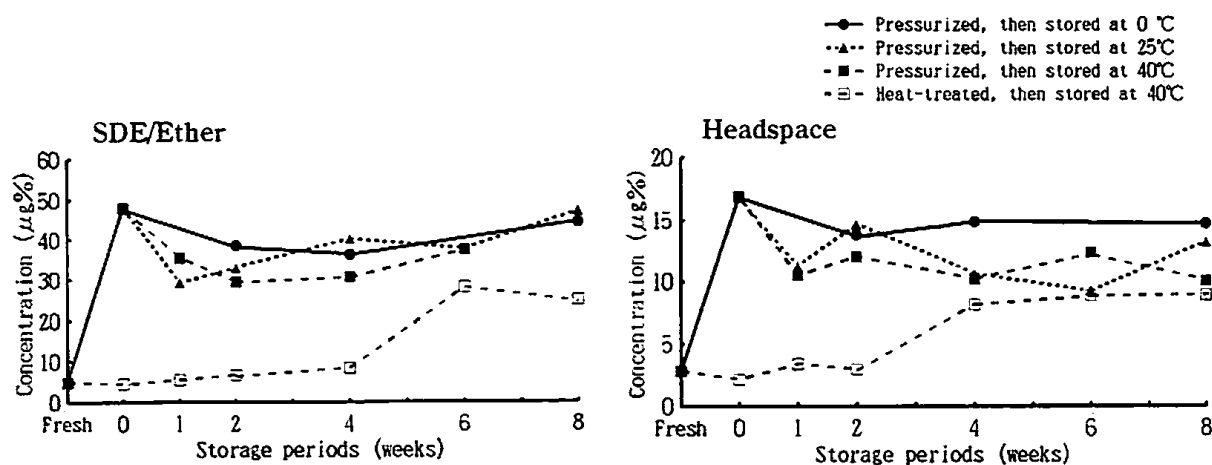


Fig. 4 Concentration changes of p -cymene during storage.

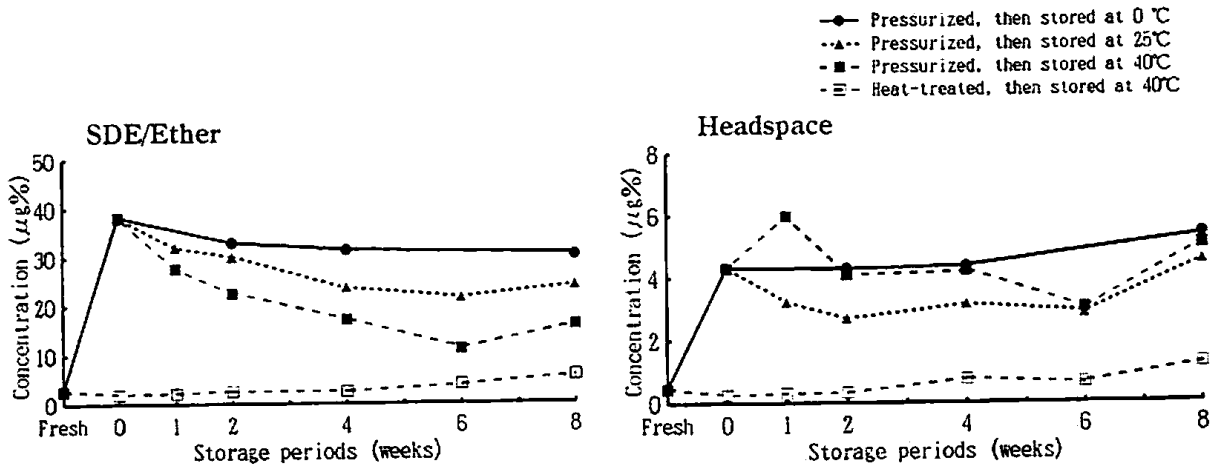


Fig. 5 Concentration changes of hexanal during storage.

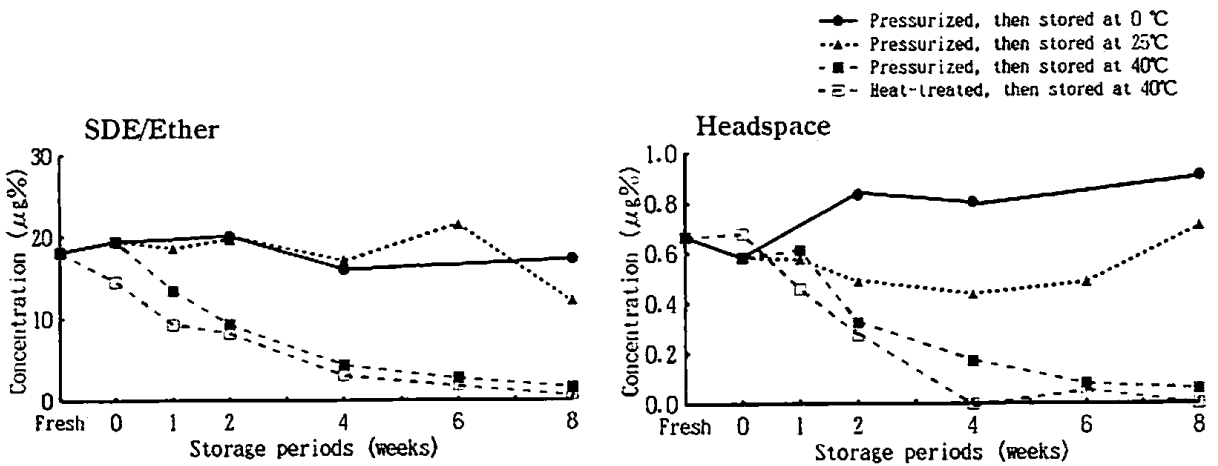
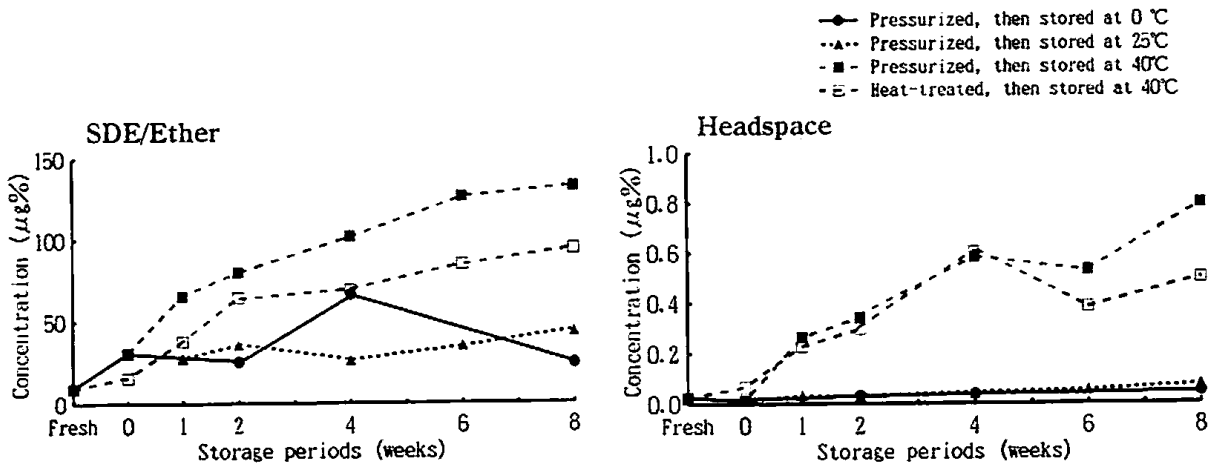


Fig. 6 Concentration changes of linalool during storage.

Fig. 7 Concentration changes of α -terpineol during storage.

する α -ピネン (Fig. 8) 及び β -ピネン (Fig. 9) の水和により生成した可能性がある。

3. 温州ミカン果汁に対する高圧処理の意義

温州ミカン果汁を高圧処理する利点として、加熱を伴わないため、加熱充填時に問題となるイモ臭DMSの生成を抑制することができることは、温州ミカン果汁の品質向上に対して大きな意義があると考えられる。

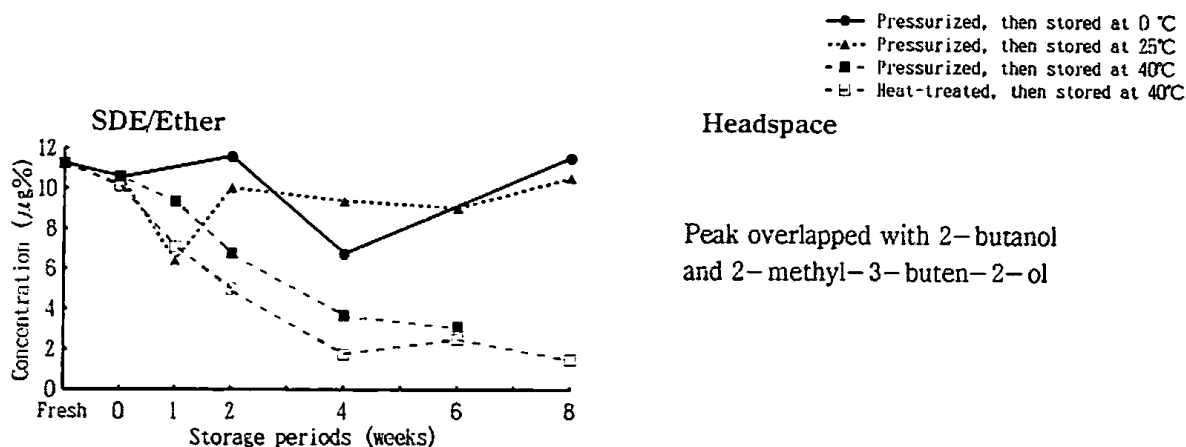


Fig. 8 Concentration changes of α -pinene during storage.

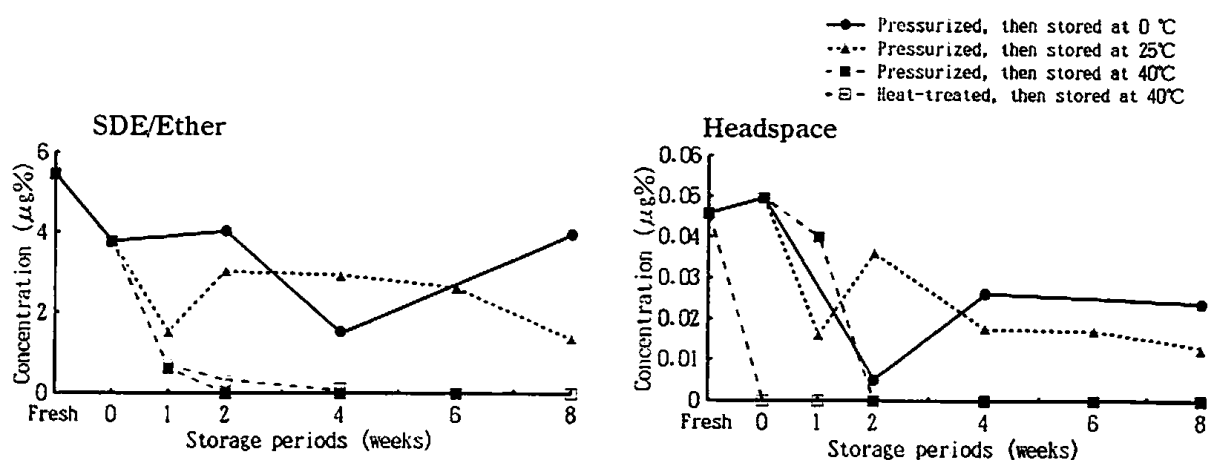


Fig. 9 Concentration changes of β -pinene during storage.

要 約

温州ミカン果汁の香気に対して、高圧処理直後あるいは処理後保存中にどのような影響を及ぼすかについて調べるため、高圧処理した果汁と加熱処理した果汁の揮発性成分を比較した。

温州ミカン果汁の高圧処理直後のヘキサナール及び α -シメンが加熱処理直後に較べて増加が顕著であった。ヘキサナールは酵素反応によって不飽和脂肪酸が酸化回裂して生成する成分で、高圧処理果汁の緑葉の香りあるいは新鮮さに寄与しているものと思われる。しかしながら、その他の揮発性成分には高圧処理及び加熱処理で大きな違いはなかった。

文 献

- 1) 高橋保男, 伊福 靖: 果汁協会報, 370, 6-13 (1988).
- 2) 小川浩史, 福久一馬, 福本治次, 堀 恵一, 林 力丸: 日食工誌, 63, 1109-1114 (1989).
- 3) Ogawa, H., Fukuhisa, K., Kubo, Y. and Fukumoto, H.: *Agric. Biol. Chem.*, 54, 1219-1225 (1990).
- 4) 福久一馬, 佐野和夫, 小川浩史, 福本治次: 生物と食品の高圧科学, 林 力丸編, さんえ

- い出版, 1993, p.336-342.
- 5) Hori, K., Manabe, Y., Kaneko, M., Sekimoto, T., Sugimoto, Y. and Yamane, T.: *High Pressure and Biotechnology*, ed. by Balny, C., Hayashi, R., Heremans, K. and Masson, P., Colloque INSERM/John Libbey Eurotext Ltd., 1992, 224, p.499-507.
 - 6) Kováts, E. sz.: *Adv. Chromatogr.*, 1, 229-247 (1965).
 - 7) *Wiley/NBS Registry of Mass Spectral Data*, John Wiley & Sons, New York, 1989.
 - 8) 畑中顯和: 農化, 65, 1781-1785 (1991).
 - 9) Buttery, R. G.: Vegetable and fruit flavors, in *Flavor Research-Recent Advances*, ed. by Teranishi, R., Flath, R. A. and Sugisawa, H., Marcel Dekker Inc., New York and Basel, 1981, p.180-184.
 - 10) Sekiya, J., Numa, S., Kajiwara, T. and Hatanaka, A.: *Agric. Biol. Chem.*, 40, 185-190 (1976).
 - 11) Ichii, T. and Hamada, K.: *J. Japan. Soc. Hort. Sci.*, 51, 493-501 (1983).
 - 12) Asaka, M. and Hayashi, R.: *Agric. Biol. Chem.*, 55, 2439-2440 (1991).
 - 13) 下田満哉, 古川 太, 三宅正起, 箆島 豊: 農化, 55, 23-30 (1981).
 - 14) Buttery, R. G., Seifert, R. M., Guadagni, D. G. and Ling, L. C.: *J. Agric. Food Chem.*, 17, 1322-1327 (1969).
 - 15) 下田満哉, 箆島 豊: 農化, 56, 27-29 (1982).