

# 扁实柠檬 (*Citrus depressa* Hayata) 的功能性成分和香气

作者: 和田浩二 翻译: 陈健民

## 1. 前言

冲绳县位于日本唯一的亚热带地区, 由于气候、地理、历史及人为因素, 保留了许多具有其他府县所没有特征的原生柑橘类水果, 至今仍有栽培。其代表是扁实柠檬(*Citrus depressa* Hayata, 国际柑橘学会日本支部编的柑橘用语集中称为扁实柠檬, 但这里采用冲绳地区的惯用语)。扁实柠檬最早生长于西南诸岛至台湾一带, 冲绳的经济栽培始于1960年代。现在的商业栽培地区是冲绳本岛北部的大宜

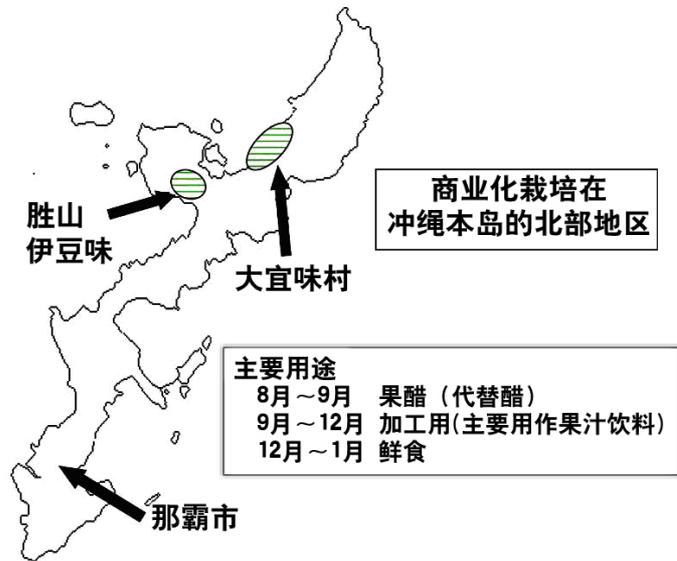


Fig.1 扁实柠檬的栽培地区和用途

味村和名护市周边的胜山、伊豆味地区, 主要用途有果醋、加工用、生食, 但几乎都被用作果汁饮料的原料(Fig. 1)。但是, 原料果汁的糖酸比只有4~8, 与温州蜜柑果汁(糖酸比12左右)相比消费者对其的喜好性要差很多, 2000年以前作为冲绳农产品资源的价值非常低。另一方面, 对柑橘类的功能性成分的研究和流行病学研究的结果, 发现了来自柑橘类的新的致癌抑制成分—聚甲氧黄酮(PMF, Polymethoxylated Flavones)之一的川陈皮素(nobiletin), 而且有研究表明在扁实柠檬中含量较高<sup>1)</sup>。关于川陈皮素的生理机能性, 最近也有很多如抗炎作用<sup>2)3)</sup>, 痴呆症预防<sup>4)6)</sup>等其他的研究, (Fig. 2)。

在这样的背景下, 作者对冲绳的生产地区和产业所需要的扁实柠檬果实及其品种与功能性成分的关联, 即遗传资源的功能性成分进行分析和解析, 同时对果汁的品质特性进行分析、评价和探讨品质改善等的加工利用方面进行了研究<sup>7)~13)</sup>。另一方面, 扁实柠檬由于在经过热潮之后, 随之而来的价格下跌, 再加上天气的恶劣影响, 近年来出现生产意欲呈下降的倾向。因此, 现在作者们着眼于扁实柠

檬独特的香气，即精油成分，研究作为食品香料和香精油利用的可能性<sup>14-18</sup>。这里，我们将从至今为止的研究中，分析扁实柠檬果汁饮料制造工序中的川陈皮素的动向以及各种扁实柠檬品系的聚甲氧黄酮，介绍扁实柠檬果皮精油成分及其组成特征的相关研究成果<sup>7),15)</sup>。另外，作者以扁实柠檬为对象的一系列研究的详细内容已作为学术论文发表，请参考文献<sup>7)-18)</sup>。

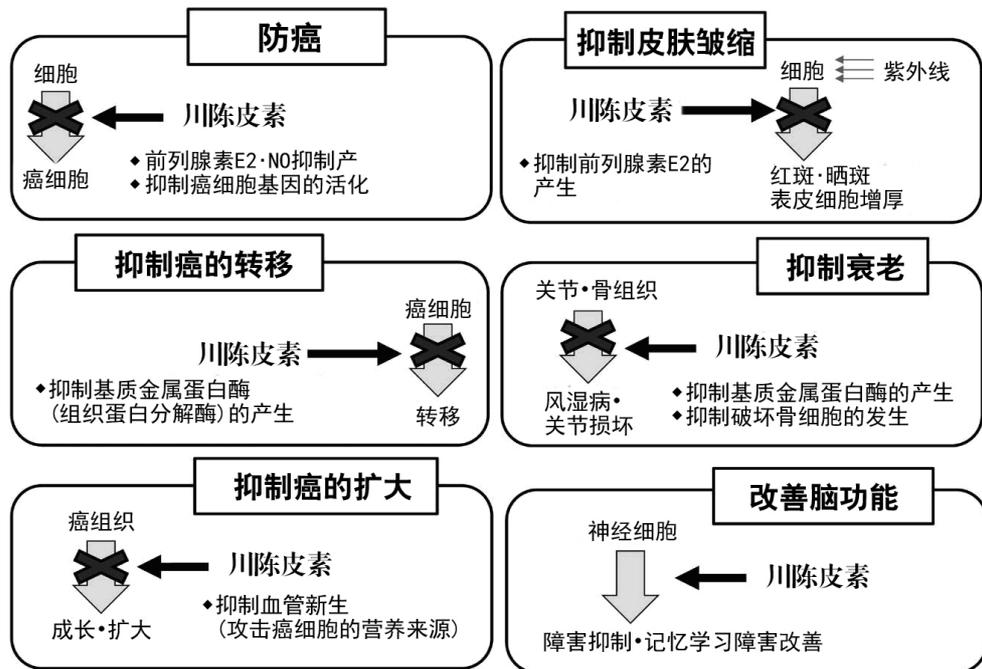
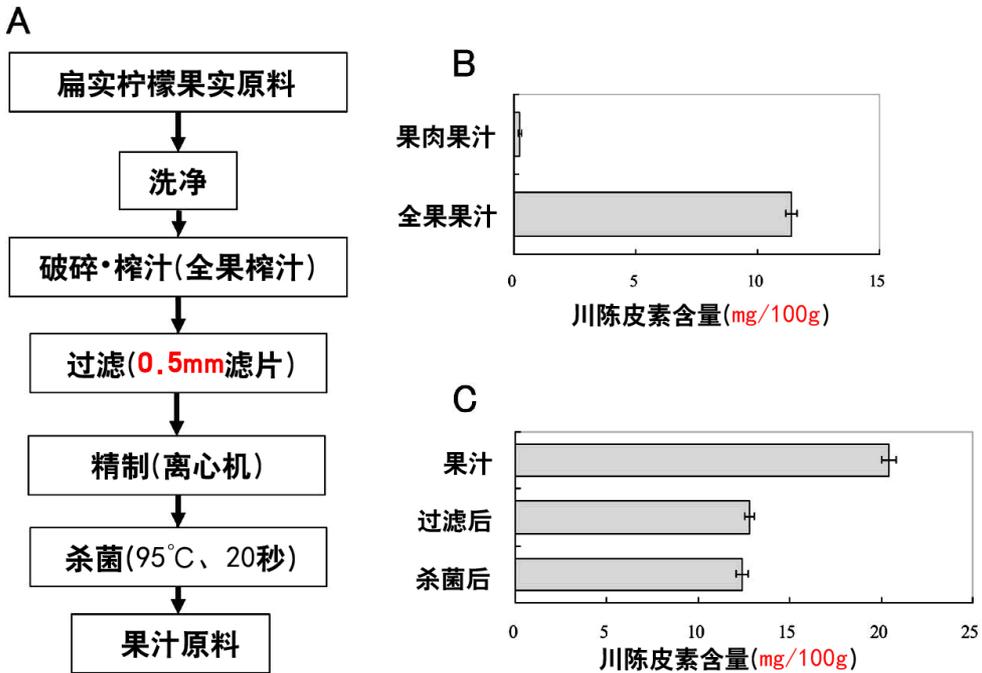


Fig.2 川陈皮素的生理功能

## 2. 扁实柠檬果汁饮料制造过程中川陈皮素的变化

由于扁实柠檬具有果实小，果皮薄有果实特性，从而对病虫害耐性好，农药散布少，所以可以用全果榨汁方式(离心分离式榨汁机或压带式榨汁机)将整个果实加工成果汁。因此，同以温州蜜柑为代表的切碎榨汁方式的果汁相比，香檬果汁的果皮成分和浆状物含量较多也是其特征之一。因此，本研究分析了果汁生产过程中川陈皮素含量的变化。

果实和果汁样品使用了冲绳县经济农业协同组合联合会农产加工厂(现冲绳综合农产加工株式会社)果汁制造工序中的原料果实和果汁(Fig. 3-A)。首先，比较了从原料果实中通过全果榨汁得到的果汁和通过手工去除果皮、手工挤压果肉得到的果汁的川陈皮素的含量,结果发现果肉果汁中川陈皮素含量仅约为0.2 mg/100 mg(Fig. 3-B)。因此，川陈皮素是大部分含在果皮中的成分，通过全果榨汁从果皮转移到果汁中。随后，分别测量果汁生产过程的榨汁后、过滤、离心分离处理和杀菌后果汁样品的川陈皮素含量，并进行比较(Fig.3-C)。对0.5 mm滤片过滤后的果汁进行离心分离处理后，发现其川陈皮素含量降低了约8mg/100g。



**Fig.3 果汁生产过程(离心榨汁)中川陈皮素含量的变化**

据推测，这是因为存在于浆状物中的川陈皮素在离心分离处理的同时被除去了。在果汁生产过程中，通过离心分离处理去除一部分浆状物，其目的是防止在随后的杀菌过程中通过热处理产生焦臭味，并减少产品中的固体沉淀物，但果汁中具有功能性成分的川陈皮素含量不高。很明显，这也是一个有很大影响的处理。虽然成分不同，但温州蜜柑汁制作时的离心分离处理的浆状物中也含有大量的脂溶性的β-隐黄素等类胡萝卜素，这是一种功能性成分。另一方面，在加热杀菌工序中，川陈皮素含量没有变化，表明川陈皮素对热处理是稳定的。

上述结果表明，果汁中的许多川陈皮素是从果实转移而来的成分，果汁中的川陈皮素含量受果汁生产工艺的影响，特别是在浆状去除时。果汁产品的川陈皮素含量还受果汁加工中原料水果的川陈皮素含量降低的季节变化的影响和加工方法的不同影响等，因此，在果汁中的功能性成分的品质管理上需要提供有用的信息。

### 3. 各种扁实柠檬品第的功能性成分(PMF)分析

在冲绳，原产的味酸，香气浓郁，成熟后变成橙色的小型柑橘类都被称为扁实柠檬。参照田中所作的分类 20)，扁实柠檬大致可分为三种，即果皮浓橙色，减酸慢，晚熟，稍矮化的野生品种イシクニブ、大果良种的栽培种库加尼类、山野自生或其实生的小果型类。其中优良系的栽培种库加尼类在冲绳本岛北部地区有经济栽培。作者等人的研究使用了作为代表性栽培种的大宜味库加尼、胜山库加

尼、伊豆味库加尼以及卡阿奇等 4 个品系的适熟果实(用于果汁加工)(Photo 1)。果实均为横径大的扁球形，果顶部较宽，中心部浅凹陷。虽然未成熟果实的果皮呈深绿色，但随着果实成熟逐渐变成橙黄色至橙色。另外，种子多，果皮薄也是各品系的共同特征。本研究分析了以各种扁实柠檬系列的果实中所含的川陈皮素为首的 PMF 的遗传资源。

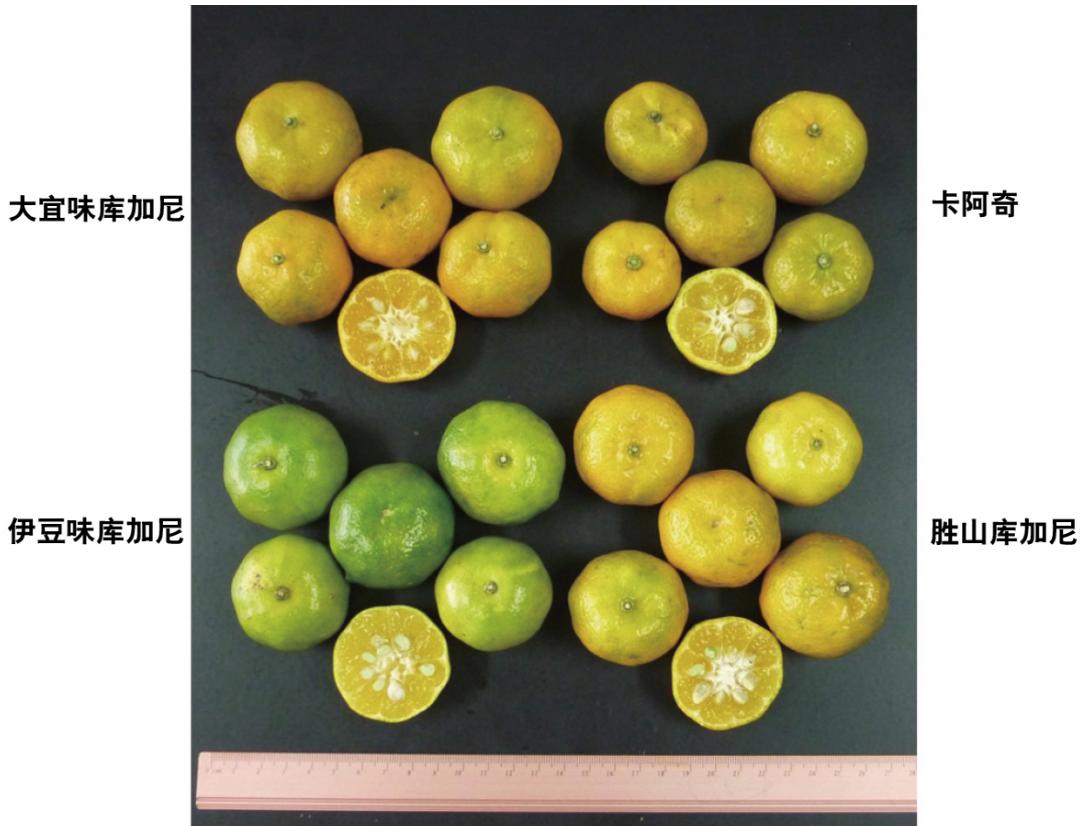


Photo 1 扁实柠檬 (Citrus depressa Hayata)

对大宜味库加尼、胜山库加尼、伊豆味库加尼及卡阿奇 4 个种的不同部位(果肉及果皮)的 PMF 含量分别进行 HPLC 分析，结果检测出了甜橙黄酮、川陈皮素、柚皮黄素、去甲基川陈皮素、橘皮素 5 种成分，并对除了去甲基川陈皮素外的 4 种成分进行了定量(Fig. 4)。另外，由于果肉的 PMF 含量非常低，所以在此仅列出了果皮 PMF 含量的分析值。各品统的 PMF 含量最高的都是川陈皮素(129~170mg / 100g 鲜果皮)，其次是橘皮素(60~102mg / 100g 生果皮)和甜橙黄酮(15~26mg / 100g 鲜果皮)、柚皮黄素(3~5mg / 100g 鲜果皮)的顺序，表明了品统间的不同(Fig. 5)。此外，果皮的 PMF 含量在未成熟的果实中较高，并随着成熟度的提高而减少<sup>21)-22)</sup>，今后值得进一步了解对高含量功能性成分的果汁饮料的开发和果汁加工副产品的利用。

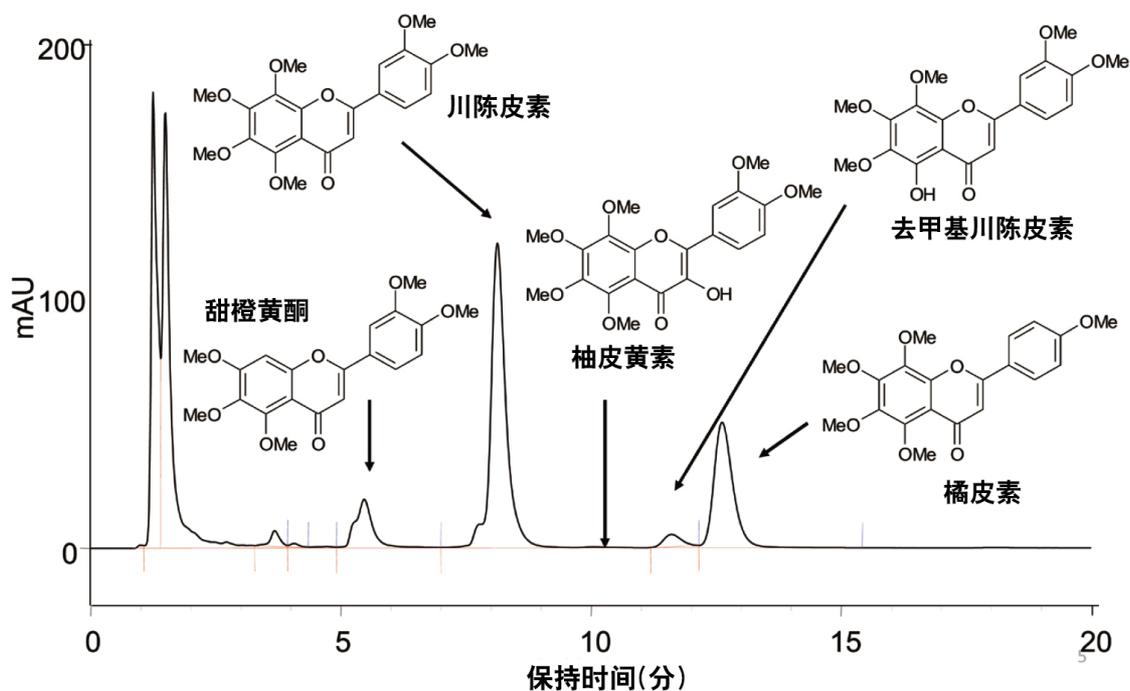
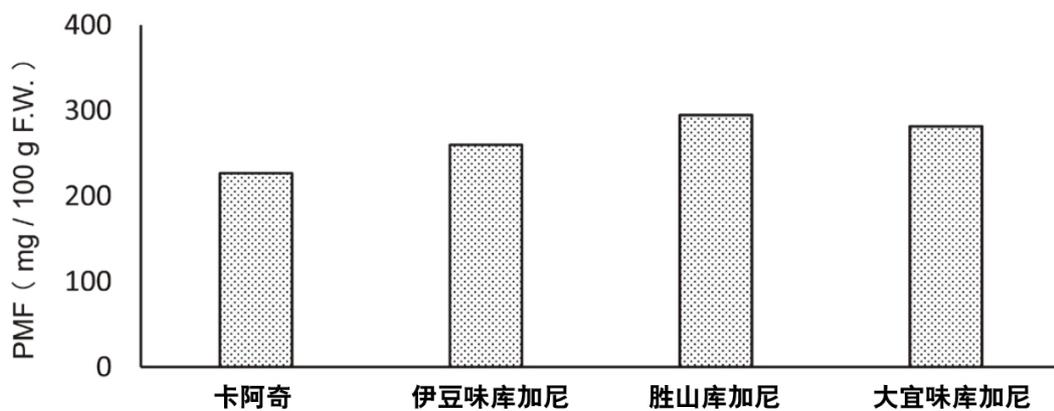


Fig.4 扁实柠檬果皮中的的聚甲氧基黄酮



| PMF  | 系統       |          |          |          |
|------|----------|----------|----------|----------|
|      | 卡阿奇      | 伊豆味库加尼   | 胜山库加尼    | 大宜味库加尼   |
| 甜橙黄酮 | 15.24 c  | 26.29 a  | 19.17 b  | 19.29 b  |
| 川陈皮素 | 128.63 b | 168.37 a | 169.53 a | 163.65 a |
| 柚皮黄素 | 5.30 a   | 5.07 a   | 3.67 b   | 3.24 c   |
| 橘皮素  | 77.52 b  | 60.22 c  | 102.22 a | 95.33 a  |

Fig. 5 扁实柠檬 4 个品系的果皮中聚甲氧基黄酮 (PMF) 的含量

#### 4. 扁实柠檬的果皮精油成分及其组成特征

作为栽培品系的库加尼类也有许多品系,但它们的遗传资源方面的信息尽管有关于果实形态特征和功能成分的报告<sup>22)</sup>,但很少涉及有关独特的香气(精油)方面的信息。因此,在本研究中,从大宜味库加尼、胜山库加尼、伊豆味库加尼以及香橙的成熟果实的果皮中制备压榨精油,并进行了GC及GC-MS分析。分析结果有39个成分被识别、定量,代表性精油成分的组成比在Table 1中列示。Table 1中还列出了与相同样作为香酸柑橘的香橙的冷压精油的文献值<sup>23)</sup>的比较。

|               | 卡阿奇   | 伊豆味库加尼 | 胜山库加尼 | 大宜味库加尼 | 香橙*  |
|---------------|-------|--------|-------|--------|------|
| <b>碳氢化合物</b>  |       |        |       |        |      |
| $\alpha$ -蒎烯  | 1.23  | 1.74   | 2.36  | 2.09   | 2.7  |
| $\alpha$ -侧柏烯 | 1.07  | 1.38   | 1.90  | 1.81   | nd   |
| $\beta$ -松油烯  | 1.44  | 1.89   | 2.64  | 2.61   | 1.1  |
| 桉烯            | 0.21  | 0.94   | 0.35  | 0.34   | 0.5  |
| 月桂烯           | 1.71  | 1.86   | 1.74  | 1.68   | 3.2  |
| 柠檬烯           | 68.26 | 60.97  | 48.47 | 46.52  | 63.1 |
| $\gamma$ -蒎烯  | 21.48 | 21.91  | 30.52 | 30.51  | 12.5 |
| p-异丙基甲苯       | 0.57  | 1.01   | 5.98  | 8.98   | 0.6  |
| 蒎品油烯          | 1.02  | 1.14   | 1.88  | 1.51   | 0.7  |
| 大牛儿烯D         | 0.03  | 0.04   | 0.08  | 0.09   | 0.4  |
| <b>醇类</b>     |       |        |       |        |      |
| 1,8-桉油醇       | 0.01  | 0.94   | 0.01  | 0.01   | nd   |
| 芳樟醇           | 0.62  | 1.15   | 0.33  | 0.20   | 2.8  |
| 麝香草酚          | nd    | 1.15   | nd    | nd     | nd   |
| <b>酯类</b>     |       |        |       |        |      |
| 乙酸松油酯         | 0.05  | 0.55   | 0.06  | 0.05   | nd   |
| <b>醛类</b>     |       |        |       |        |      |
| 正壬醛           | 0.05  | 0.04   | 0.01  | 0.01   | tr   |
| 癸醛            | 0.22  | 0.20   | 0.05  | 0.04   | tr   |

\*参考文献23

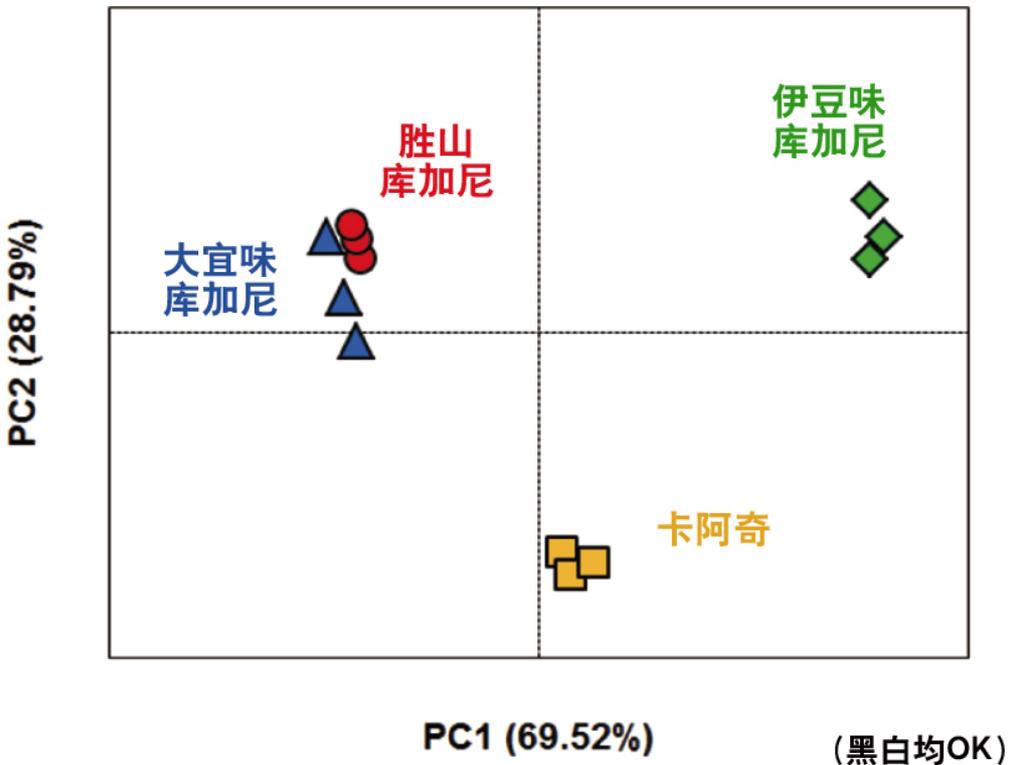
单位:%

Table 1 扁实柠檬 4 个品系冷压精油的成分组成

各品系共同的主要成分都是碳氢化合物(94%~98%),其次是醇类(0.4~1.7%)、酯类和酮类(0.4~1.3%)和醛类(0.1~0.3%)。碳氢化合物整体的组成比的差异在各品系间几乎没有被观察到,但是在单蒎(C10)类中表现出最大组成比的柠檬烯(limonene)(47~68%)的各品系中的组成比的值卡阿奇>伊豆味库加尼>胜山库加尼 $\geq$ 大宜味库加尼,与前者完全相反,列示的较大组成比的 $\gamma$ -蒎烯( $\gamma$ -terpinene)(22~31%)和p-异丙基甲苯(p-cymene)(0.6~9%)的顺序是大宜味库加尼 $\square$ 胜山库加尼>伊豆味库加尼 $\geq$ 卡阿奇,碳氢化合物的各个成分相对于大宜味库加尼和胜山库加尼,伊豆味库加尼和卡阿奇的明显不同。并且还表明,即使是低浓度也对香气特性有很大贡献的含氧化化合物的构成成分,相对于大宜味库加尼和胜

山库加尼, 伊豆味库加尼和卡亚奇也表现出不同的特征。例如, 麝香草酚(Methyl thymol)仅在伊豆味库加尼(1.2%)的冷压精油中被检测到。有报道<sup>24)-25)</sup>麝香草酚是杜松果(*Juniperus drupacea* L.)或海茴香(*Crithmummaritimum* L.)的主要成分之一, 但在柑橘中并不常见。作为庞提纳克(Pontianak)橙(*Citrus nobilis* Lour.var. *microcarpa* Hassk.)的重要香气成分<sup>26)</sup>, 具有薄荷味的香气特性的桉叶油醇(1,8-cineol), 伊豆味库加尼(0.9%)的含量比其它品系高约 90 倍。此外, 柑橘味(citrusy), 花香味(floral), 清新味(fresh), 甜味(sweet)具有芳香(aroma)的气味特性, 芳樟醇(linalool)是柑橘类香气的重要贡献成分<sup>27)</sup>, 被确认伊豆味库加尼(1.2%)和卡亚奇(0.6%)的芳樟醇的组成比, 比大宜味库加尼(0.2%)和胜山库加尼(0.3%)的高 2~6 倍。还列示了醛类的正壬醛(nonanal)、癸醛(decanal)的含量, 伊豆味库加尼和卡阿奇的组成比比其它品系高一些, 但总体上含量不高。

此外, 为了客观评价 4 个品系冷压精油的香气特征, 通过主成分分析法分析了构成成分群的定量数据(Fig. 6)。列示了 69.5%的第一主要成分、28.8%的第二主



**Fig.6 主成分分析评价扁实柠檬 4 个品系冷压精油的香气特性**

要成分的概况, 大宜味库加尼和胜山库加尼的香气特征相似, 伊豆味库加尼和卡阿奇的香气特征不同于其它两个品系。第一主要成分与醇类、过氧化物类呈高度正相关, 与碳氢化合物、酯类及酮类呈高度负相关。由此表明此它们的组成比是

大宜味库加尼、胜山库加尼和伊豆味库加尼的第一主成分。被认为对 a 的差异有贡献。另一方面, 由于第二主成分与单萜烯类和醛类呈高度负相关, 因此其组成比反映在卡亚奇的第二主成分分数上, 根据主成分分析, 针对各品系香气特征的精油组成成分群的贡献也可以明确。

以上结果不仅提供了扁实柠檬的果皮精油的基础知识, 还提供了利用精油作为食品香料和香精油的规格标准和品质管理, 以及与其他香酸柑橘类精油的区别等有用的信息。

## 5. 结语

冲绳特产柑橘扁实柠檬, 在 2000 年初被发现含有高含量的功能性成分川陈皮素后受到关注, 需求急剧增加, 但随着果汁饮料以外的用途不足和生产量的增大, 果汁加工残渣带来了处理成本上升等新问题。另一方面, 在冲绳县的项目研究中, 对扁实柠檬所具有的各种功能性成分、独特香气以及发酵果汁副产品的高附加值利用等进行了验证, 期待今后发展成有效的产业。希望通过本文能加深读者对的功能性和香气的兴趣。

### Shiikuwasha (*Citrus depressa* Hayata) :

#### Biological function and aroma

Koji Wada

**Summary** Shiikuwasha (*Citrus depressa* Hayata) is cultivated in the northern areas of Okinawa island and has valuable bioactive substances and strong characteristic aroma. Firstly, nobiletin concentration in Shiikuwasha juice samples was quantitatively determined by high-performance liquid chromatography (HPLC), and the change in nobiletin concentration in Shiikuwasha juice processing was analyzed. Secondly, the composition of polymethoxylated flavones (PMFs) and volatile aroma components in four Shiikuwasha cultivation lines was examined. The composition of PMFs was determined using HPLC methods. The composition of volatile aroma components in cold-pressed extracts of Shiikuwasha peels was analyzed using gas chromatography—flame ionization detection and gas chromatography—mass spectrophotometry. These results obtained might provide a basis for the utilization of Shiikuwasha fruits including their peels from different cultivation lines in foods, nutraceuticals, and other related areas.

**Key words:** Shiikuwasha, *Citrus depressa* Hayata, nobiletin, polymethoxylated flavones, volatile aroma components

## 文献

- 1) Kawaii S, Tomono Y, Katase E, Ogawa K and Yano M: Quantification of flavonoid constituents in Citrus fruit. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47:3565-3571, 1999.
- 2) Malik S, Bhatia J, Suchal K, Gamad N, Dinda AK, Gupta YK and Arya DS: Nobiletin ameliorates cisplatin-induced acute kidney injury due to its anti-oxidant, anti-inflammatory and anti-apoptotic effects. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 67: 427-433, 2015.
- 3) Yasunaga S, Domen M, Nishi K, Kadota A and Sugahara T: Nobiletin suppresses monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) expression by regulating MAPK signaling in 3T3-L1 cells. *Journal of Functional Foods*, 27: 406-415, 2016.
- 4) Nakajima A, Ohizumi Y and Yamada K: Anti-dementia activity of nobiletin, a citrus flavonoid: A review of animal studies. *Clinical Psychopharmacology and Neuroscience*, 12: 75-82, 2014.
- 5) Nakajima A, Aoyama Y, Shin EJ, Nam Y, Kim HC, Nagai T, Yokosuka A, Mimaki Y, Yokoi and Ohizumi Y: Nobiletin, a citrus flavonoid, improves cognitive impairment and reduces soluble A beta levels in a triple transgenic mouse model of Alzheimer's disease (3XTg-AD). *Behavioural Brain Research*, 289: 69-77, 2015.
- 6) Braidy N, Behzad S, Habtemariam S, Ahmed T, Daglia M, Nabavi SM, Sobarzo-Sanchez, E and Nabavi, SF: Neuroprotective effects of citrus fruit-derived flavonoids, nobiletin and tangeretin in Alzheimer's and Parkinson's disease. *CNS & Neurological Disorders - Drug Targets*, 16: 387-397, 2017.
- 7) 和田浩二、上原真希子、高良健作、當銘由博、矢野昌充、石井利直、太田英明：シークワーサー果汁中のノビレチンの定量的分析。日本食品保蔵科学会誌, 32: 29-33, 2006.
- 8) 和田浩二、上原真希子、高良健作、當銘由博、矢野昌充、石井利直、太田英明：無核シークワーサーの果実特性とポリメトキシフラボノイド。日本食品保蔵科学会誌, 33: 15-20, 2007.
- 9) Miyagi K, Fujise T, Koga N, Wada K, Yano M and Ohta H: Synephrine in shiikuwasha (*Citrus depressa* Hayata): Change during fruit development, and its distribution in citrus varieties. *Food Science and Technology Research*, 15: 389-394, 2009.
- 10) 宮城一菜、藤瀬朋子、古賀信幸、和田浩二、矢野昌充、太田英明：数種の搾汁方式と保温温度がシークワシャー果汁の品質安定性に及ぼす影響—ポリメトキシフラボン類およびシネフリンの安定性—。日本食品保蔵科学会誌, 35: 3-9, 2009.
- 11) 宮城一菜、和田昌子、藤瀬朋子、古賀信幸、和田浩二、矢野昌充、太田英明：イオン交換樹脂処理と不溶性パルプ添加の併用効果によるシークワシャー (*Citrus depressa* Hayata) 果汁の品質改善。日本食品科学工学会誌, 56: 193-199, 2009.
- 12) 宮城一菜、古賀信幸、和田浩二、矢野昌充、太田英明：季節変化がシークワシャー果汁の品質特性に及ぼす影響。日本食品保蔵科学会誌, 36:17-21, 2010.
- 13) 和田浩二：沖縄県特産物の機能性成分と加工利用に関する食品化学的研究。日本食品保蔵科学会誌, 37: 17-27, 2011
- 14) Asikin Y, Taira I, Inafuku S, Sumi H, Sawamura M, Takara K and Wada K: Volatile aroma components and antioxidant activities of the flavedo peel extract of unripe Shiikuwasha (*Citrus depressa* Hayata). *Journal of Food Science*, 77: C469-475, 2012.
- 15) Asikin Y, Taira I, Inafuku-Teramoto S, Sumi H, Ohta , Takara K and Wada K: The composition of volatile aroma components, flavanones, and polymethoxylated flavones in Shiikuwasha (*Citrus depressa* Hayata) peels of different cultivation lines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60: 7973-7980, 2012.
- 16) Asikin Y, Fukunaga H, Yamano Y, Hou DX, Maeda G and Wada K: Effect of cultivation line and peeling on food composition, taste characteristic, aroma profile, and antioxidant activity of Shiikuwasha (*Citrus depressa* Hayata) juice, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 94: 2384-2392, 2014.

- 17) Asikin Y, Maeda G, Tamaki H, Mizu M, Oku H and Wada K: Cultivation line and fruit ripening discriminations of Shiikuwasha (*Citrus depressa* Hayata) peel oils using aroma compositional, electronic nose, and antioxidant analyses. *Food Research International*, 67: 102-110, 2015.
- 18) Asikin Y, Tomimura A, Yamakawa Y, Maeda G, Hirose N, Oku H and Wada K: Extraction method influenced physical, aroma, and antioxidant profiles of Shiikuwasha (*Citrus depressa* Hayata) pulp essential oil. *Acta Horticulturae*, 1135: 61-71, 2016.
- 19) 隅田孝司、東誠広、濱田智、小川浩史、多田幹郎、温州ミカン果汁からの高カロテルノイド含有パルプの調製. *日本食品科学工学会誌*, 46: 404-409, 1999.
- 20) 田中愉一郎: *日本柑橘図譜*、養賢堂、東京 (1948)
- 21) Wada K, Tome Y, Takara K, Yano M, Ishii T and Ohta H: Determination of polymethoxylated flavones from shiikuwasha (*Citrus depressa* HAYATA) during growth period. 22th International Conference on Polyphenols, Finland, 2004.
- 22) 寺本 (稲福) さゆり、山本雅史、金城秀安、北島宣、和田浩二、川満芳信 : 沖縄本島北部のカンキツ遺伝資源およびそのポリメトキシフラボン含量. *園芸学研究*, 9: 263-271, 2010.
- 23) Lan-Phi NT, Simamura T, Ukeda H and Sawamura, M: Chemical and aroma profiles of yuzu (*Citrus junos*) peel oils of different cultivars. *Food Chemistry*, 115: 1042-1047, 2009.
- 24) Senatore F, Napolitano F and Ozcan M: Composition and antibacterial activity of the essential oil from *Crithmum maritimum* L. (Apiaceae) growing wild in Turkey. *Flavour and Fragrance Journal*, 15: 186-189, 2000.
- 25) El-Ghorab A, Shaaban HA, El-Massry KF and Shibamoto T: Chemical composition of volatile extract and biological activities of volatile and less-volatile extracts of juniper berry (*Juniperus drupacea* L.) fruit. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56: 5021-5025, 2008.
- 26) Fischer A, Grab W and Schieberle P: Characterisation of the most odour-active compounds in a peel oil extract from Pontianak oranges (*Citrus nobilis* var. Lour. microcarpa Hassk.): *European Food Research and Technology*, 227: 735-744, 2008.
- 27) Choi HS, Sawamura M and Kondo Y: Characterization of the key aroma compounds of *Citrus flaviculpus* Hort. ex Tanaka by aroma extraction dilution analysis, *Journal of Food Science*, 67: 1713-1718, 2002.