

〈資料〉

シークワーサー (*Citrus depressa* Hayata) ～機能性と香り

和田 浩二

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

1. はじめに

沖縄県は日本で唯一亜熱帯地域に位置し、気候的または地理的、歴史のおよび人為的な要因から、他府県にない特徴をもつ在来柑橘類が多く残っており、今でも栽培されている。その代表がシークワーサー (*Citrus depressa* Hayata : 国際柑橘学会日本支部編のキャンキツ用語集ではシークワシャーであるが、ここでは沖縄地域の慣用語に従った) である。シークワーサーは古

くは南西諸島から台湾にかけて自生していたとされ、沖縄で経済的な栽培が始まったのは1960年代とされる。現在の商業的な栽培地域は沖縄本島北部の大宜味村や名護市周辺の勝山、伊豆味地区であり、主な用途には酸味料、加工用、生食があげられるが、ほとんどが果汁飲料の原料として用いられている (Fig. 1)。しかしながら、原料果汁の糖酸比は4～8と低く、温州ミカン果汁 (糖酸比が12内外) と比較すると嗜好性はかなり劣っており、2000年頃までは沖縄の

琉球大学 農学部 亜熱帯生物資源科学科
〒903-0213 沖縄県中頭郡西原町千原1
E-mail: kojiwada@agr.u-ryukyuu.ac.jp

Department of Bioscience and Biotechnology, Faculty
of Agriculture, University of the Ryukyus, 1 Senbaru,
Nishihara, Okinawa 903-0213, Japan
E-mail: kojiwada@agr.u-ryukyuu.ac.jp

農産物資源としての価値は非常に低かった。一方、カンキツ類の機能性成分の研究や疫学的な研究が多くなされた結果、カンキツ類由来の新たな発ガン抑制成分としてポリメトキシフラボン（PMF）の一つであるノビレチンが見いだされ、さらにシークワサーに多く含まれることが明らかにされた¹⁾。ノビレチンの生理的機能性についてはその他にも、抗炎症作用^{2),3)}、認知症予防⁴⁾⁻⁶⁾等、最近も多くの研究がなされている（Fig. 2）。

そのような背景から著者らは、沖縄の生産地

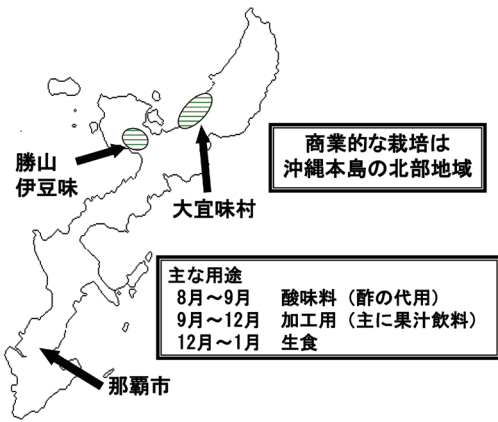


Fig. 1 シークワサーの栽培地域と用途

域や産業が必要としているシークワサー果実やその系統と機能性成分との関連、すなわち遺伝資源的な機能性成分の分析・解析とともに、果汁の品質特性の分析・評価や品質改善の検討といった加工利用の点から研究を行ってきた⁷⁾⁻¹³⁾。一方、ブームの経過やそれに伴う価格の下落、さらに天候の悪影響もあり、近年の生産意欲は低下傾向にある。そこで、現在、著者らはシークワサーの独特な香り、すなわち精油成分に着目し、食品香料やアロマオイルとしての利用の可能性を検討している¹⁴⁾⁻¹⁸⁾。ここでは、これまでの研究の中からシークワサー果汁飲料製造工程でのノビレチンの動向、種々のシークワサー系統のポリメトキシフラボンの分析、さらにシークワサー果皮精油成分やその組成の特徴についての研究成果を紹介する^{7),15)}。なお、著者らのシークワサーを対象とした一連の研究の詳細については学術論文として公表しているため、それらの文献⁷⁾⁻¹⁸⁾を参照していただきたい。

2. シークワサー果汁飲料製造工程でのノビレチンの動向

シークワサーは果実が小さく果皮が薄いと、いう果実特性や耐病害虫性に優れ農薬散布が少

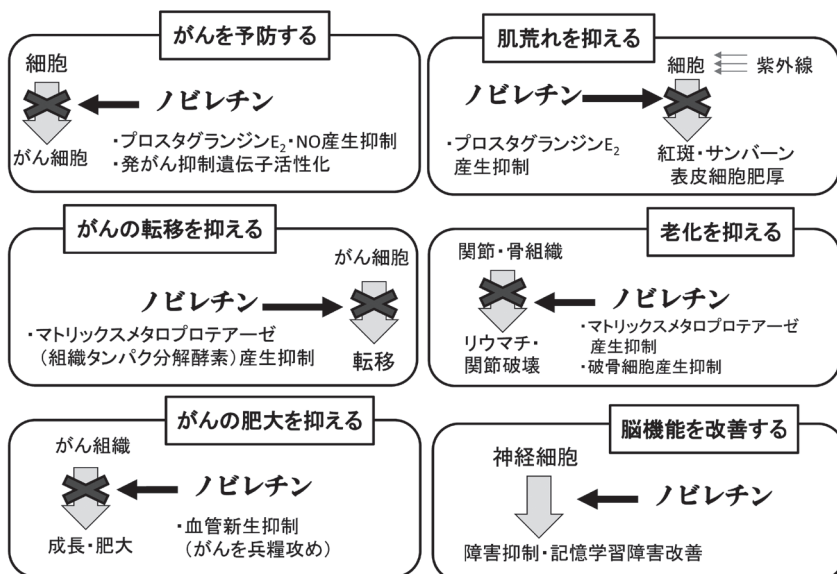


Fig. 2 ノビレチンの生理機能

ないことから、果実を丸ごと搾汁する全果搾汁方式（遠心分離式搾汁機やベルトプレス式搾汁機）により果汁へと加工されている。このため温州ミカンに代表されるチョッパーパルパー搾汁方式の果汁に比べ、シークワサー果汁には果皮の成分やパルプなどが多く含まれることも特徴のひとつである。そこで本研究では、果汁製造工程におけるノビレチン含量の変化について分析した。

シークワサー果実および果汁試料は沖縄県経済農業協同組合連合会農産加工場（現沖縄総合農産加工株式会社）での果汁製造工程での原料果実および果汁を用いた（Fig. 3-A）。まず、原料果実から全果搾汁で得られた果汁と、果皮を手作業で除去し、果肉をハンドプレスして得られた果汁のノビレチン含量を比較した結果、果肉果汁にはノビレチンは約0.2 mg/100 gしか含まれていなかった（Fig. 3-B）。したがって、ノビレチンは大部分が果皮に含まれる成分であり、全果搾汁により果皮から果汁へ移行したことが確認された。次に果汁製造工程での搾汁直後、ろ過・遠心分離処理後および殺菌後の果汁試料のノビレチン含量を測定し、比較した（Fig. 3-C）。0.5 mmスクリーンでろ過した果汁に遠心分離処理を行うことで、約8 mg/100 gのノビレチン含量の低下が認められた。これはパルプ

に存在したノビレチンが遠心分離処理で同時に除去されたためと推察された。シークワサー果汁製造での遠心分離処理による一部のパルプ除去は、続く殺菌工程での熱処理による焦げ臭の発生の防御や製品での固形沈殿物の低減などを目的として行うが、果汁中の機能性成分であるノビレチン含量にも大きな影響を及ぼす処理であることが明らかとなった。成分としては異なるが、温州ミカンの果汁製造の遠心分離処理でのパルプにも機能性成分である脂溶性のβ-クリプトキサンチンをはじめとするカロテノイドが多く含まれていることが報告されている¹⁹⁾。一方、加熱による殺菌工程ではノビレチン含量に変化は認められず、熱処理に対してノビレチンは安定であることが判明した。

以上の結果は、果汁のノビレチンの多くは果実から移行した成分であること、果汁のノビレチン含量は果汁製造工程、特にパルプ除去に影響されることを明らかにしたもので、果汁加工における原料果実のノビレチン含量の季節的な変動の影響や加工法の違いによる果汁製品のノビレチン含量の影響など、果汁の機能性成分の品質管理を行う上で有用な情報になれば幸いである。

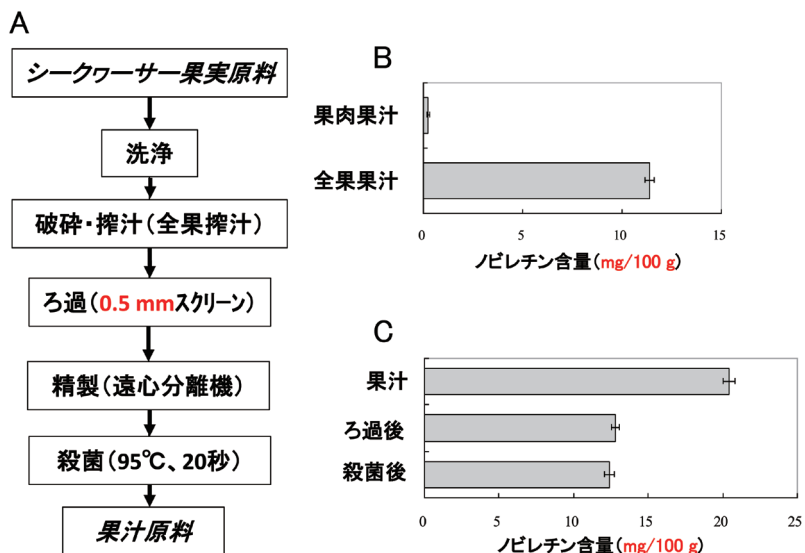


Fig. 3 果汁製造工程（遠心搾汁）でのノビレチン含量の変化

3. 種々のシークワサー系統の機能性成分 (PMF) の分析

沖縄では元来酸味があり、香りが強く、熟すると橙色になる小型カンキツ類をすべてシークワサーと呼んでいるが、田中による分類²⁰⁾を参照すると、果皮が濃橙色で減酸が遅く、晩生でやや矮性である野生種のイシクニブ、大果優良系の栽培種であるクガニー類、山野に自生またはそれらの実生であるやや小果なシークワサー類の大きく三つに分けることができる。その中で優良系の栽培種であるクガニー類が沖縄本島北部地域において経済的に栽培されている。著者らの研究では代表的な栽培種である大宜味クガニー、勝山クガニー、伊豆味クガニーおよびカーアチーの4系統の適熟果（果汁加工用）を用いた（Photo 1）。果実はいずれも横径が大きな扁球形で、果頂部は広く、中心部は浅く窪んでいる。果皮色は未熟果では濃緑色であるが、熟するにつれて黄橙色～橙色になる。また、種子が多く、果皮の厚さが薄いのも各系統の共通の特徴である。本研究では種々のシークワサー系統の果実に含まれるノビレチンをはじめとするPMFの遺伝資源的な分析を行った。

大宜味クガニー、勝山クガニー、伊豆味クガニーおよびカーアチーの4系統の部位別（果肉および果皮）のPMF含量をHPLC分析した結果、シネンセチン、ノビレチン、ナツダイダイン、デメチルノビレチン、タンゲレチンの5成分が

検出され、デメチルノビレチンを除く4成分を定量できた（Fig. 4）。なお、果肉のPMF含量は非常に低いため、ここでは果皮のPMF含量の分析値を示した。PMF含量は各系統ともノビレチン（129～170 mg/100 g生果皮）が最も高く、続いてタンゲレチン（60～102 mg/100 g生果皮）、シネンセチン（15～26 mg/100 g生果皮）、ナツダイダイン（3～5 mg/100 g生果皮）の順であり、系統間で異なることが明らかとなった（Fig. 5）。また、果皮のPMF含量は未熟果で高く、生育するにつれて減少することがわかっており^{21)–22)}、機能性成分を高含有する果汁飲料の開発や果汁副産物の利用への知見となれば幸いである。

4. シークワサー果皮精油成分と組成の特徴

栽培系統として選抜されてきたクガニー類にも多くの系統が存在するが、これらの遺伝資源的な情報は果実の形態特性や機能性成分についての報告²²⁾はあるものの、独特の香り（精油）に関してはほとんど見られない。そこで本研究では、大宜味クガニー、勝山クガニー、伊豆味クガニーおよびカーアチーの適熟果の果皮から圧搾（コールドプレス）精油を調製し、GCおよびGC-MS分析を行った。その結果、39成分が同定・定量され、代表的な精油成分の組成比をTable 1に示した。Table 1には、同じ香酸柑橘

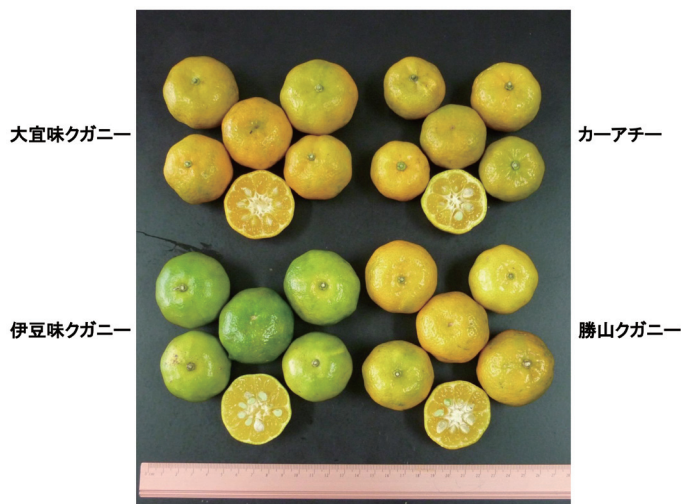


Photo 1 シークワサー (*Citrus depressa* Hayata)

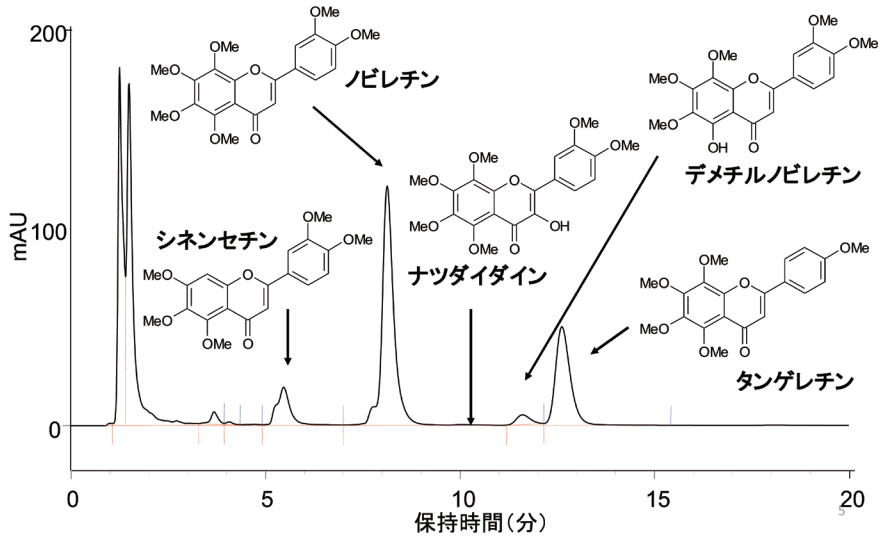
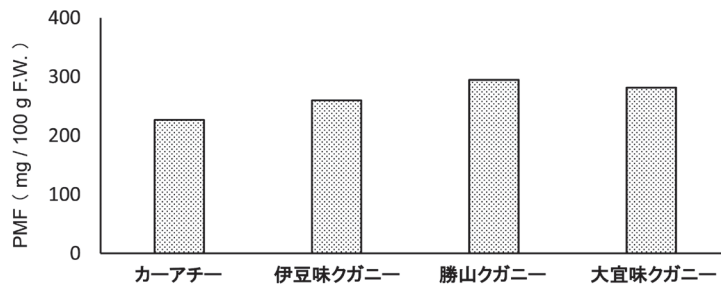


Fig. 4 シークワーサー果皮のポリメトキシフラボン



PMF	系統			
	カーアチー	伊豆味クガニー	勝山クガニー	大宜味クガニー
シネンセチン	15.24 c	26.29 a	19.17 b	19.29 b
ノビレチン	128.63 b	168.37 a	169.53 a	163.65 a
ナツダイダイン	5.30 a	5.07 a	3.67 b	3.24 c
タンゲレチン	77.52 b	60.22 c	102.22 a	95.33 a

Fig. 5 シークワーサー 4系統の果皮のポリメトキシフラボン (PMF) 含量

であるユズのコールドプレス精油の文献値²³⁾も比較として示した。各系統とも共通して主要な構成成分群は炭化水素化合物 (94 ~ 98%)、続いてアルコール類 (0.4 ~ 1.7%)、エステルおよびケトン類 (0.4 ~ 1.3%)、アルデヒド類 (0.1 ~ 0.3%) であった。炭化水素化合物全体の組成比の違いは各系統間でほとんど認められなかったが、モノテルペン (C10) 類において最も大きな組成比を示したlimonene (47 ~ 68%) の各系統における組成比の値は、カーアチー >

伊豆味クガニー > 勝山クガニー > 大宜味クガニー、続いて大きな組成比を示した γ -terpinene (22 ~ 31%) と *p*-cymene (0.6 ~ 9%) は、大宜味クガニー > 勝山クガニー > 伊豆味クガニー > カーアチーと全く逆の順となり、炭化水素化合物の個々の成分では大宜味クガニーと勝山クガニーに対して、伊豆味クガニーやカーアチーの組成比は異なることが明らかとなった。さらに、低濃度でも香気特性に大きな寄与を果たす含酸素化合物の構成成分でも、大宜味クガニー

Table 1 シークワサー 4 系統のコールドプレス精油の成分組成

	カーアチー	伊豆味クガニー	勝山クガニー	大宜味クガニー	ユズ*
炭化水素類					
α-pinene	1.23	1.74	2.36	2.09	2.7
α-thujene	1.07	1.38	1.90	1.81	nd
β-pinene	1.44	1.89	2.64	2.61	1.1
sabinene	0.21	0.94	0.35	0.34	0.5
myrcene	1.71	1.86	1.74	1.68	3.2
limonene	68.26	60.97	48.47	46.52	63.1
γ-terpinene	21.48	21.91	30.52	30.51	12.5
p-cymene	0.57	1.01	5.98	8.98	0.6
terpinolene	1.02	1.14	1.88	1.51	0.7
germacrene D	0.03	0.04	0.08	0.09	0.4
アルコール類					
1,8-cineol	0.01	0.94	0.01	0.01	nd
linalool	0.62	1.15	0.33	0.20	2.8
methyl thymol	nd	1.15	nd	nd	nd
エステル類					
terpinyl acetate	0.05	0.55	0.06	0.05	nd
アルデヒド類					
nonanal	0.05	0.04	0.01	0.01	tr
decanal	0.22	0.20	0.05	0.04	tr

*文献²³参照

単位: %

と勝山クガニーに対して、伊豆味クガニーやカーアチーでは異なる特徴を示した。例えば、methyl thymolは伊豆味クガニー（1.2%）のコールドプレス精油にのみ検出された。methyl thymolは、ジュニパーベリー（*Juniperus drupacea* L.）やシーフェンネル（*Crithmum maritimum* L.）の主要成分のひとつとして報告^{24)–25)}されているが、柑橘ではあまり一般的ではない。Pontianakオレンジ（*Citrus nobilis* Lour. var. *microcarpa* Hassk.）の重要な香り成分²⁶⁾で、minty aromaのにおい特性をもつ1,8-cineolも伊豆味クガニー（0.9%）は他の系統の約90倍高い組成比を示した。また、citrusy、floral、fresh、sweet aromaといったにおい特性をもち、柑橘類の香りの重要な寄与成分²⁷⁾であるlinaloolは伊豆味クガニー（1.2%）とカーアチー（0.6%）で、大宜味クガニー（0.2%）や勝山クガニー（0.3%）の2～6倍高い組成比であることが確認された。一方、アルデヒド類であるnonanal、decanalは伊豆味クガニーとカーアチーが他の系統より若干高い組成比を示したが、全体的には多くは含まれていなかった。

さらに、4系統のコールドプレス精油の香りプロファイルを客観的に評価するために構成成分群の定量データを主成分分析法により解析した（Fig. 6）。第1主成分には69.5%、第2主成分には28.8%の情報が要約され、大宜味クガニーと勝山クガニーは類似した香りプロファイル、

伊豆味クガニーとカーアチーは他の2系統とは異なる香りプロファイルを示した。第1主成分はアルコール類、オキサイド類と高い正の相関、炭化水素化合物、エステルおよびケトン類と高い負の相関を示したことから、それらの組成比が大宜味クガニー、勝山クガニーと伊豆味クガニーの第1主成分スコアの違いに寄与していることが示唆された。一方、第2主成分はモノテルペン類やアルデヒド類と高い負の相関を示したことから、その組成比がカーアチーの第2主成分スコアに反映されており、主成分分析により各系統の香りプロファイルに対する精油の構成成分群の寄与についても明らかにすることができた。

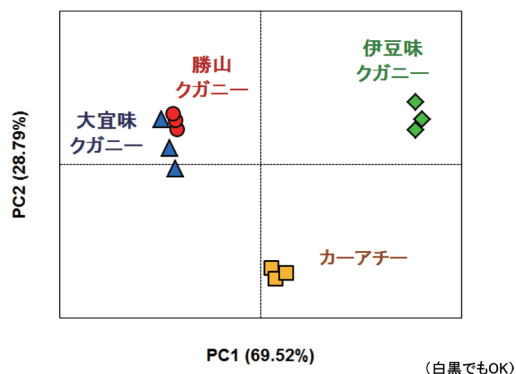


Fig. 6 主成分分析によるシークワサー 4 系統コールドプレス精油の香り特性の評価

以上の結果は、シークワサーの果皮精油の基礎的な知見にとどまらず、食品香料やアロマオイルとして精油を利用するための規格基準や品質管理、他の香酸柑橘類の精油との差別化などに有用な情報を与えるものと考えられる。

5. おわりに

沖縄特産柑橘であるシークワサーは、2000年初めに機能性成分であるノビレチンを高含有することがわかってから注目を集め、急激に需要を伸ばしたが、果汁飲料以外での用途不足や生産量の増大に伴う果汁加工残渣の処理コストの高騰などの新たな問題を抱えている。一方、沖縄県のプロジェクト研究では、シークワサーのもつ様々な機能性成分、独特の香り、さらには発酵による果汁副産物の高付加価値利用などに関する検証が行われており、今後の有効な産業につながる事が期待される。本稿を通してシークワサーの機能性や香りについて、読者の皆様にさらに興味を深めていただければ幸いである。

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) Braidly 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サ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サー (*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サ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.