グレープフルーツ果実の苦味成分の分布と加工特性

三宅正起・金子真紀子

(九州女子大学家政学部)

(平成29年1月16日受付, 平成29年3月13日受理)

The distribution of bitter principles, and its processing properties, in grapefruit

Masaki Miyake, Makiko Kaneko

Faculty of Home Economics, Kyushu Women's University,

1-1, Jiyugaoka, Yahatanishi-ku, Kitakyushu-shi, Fukuoka, 807-8586

〒807-8586 福岡県北九州市八幡西区自由ヶ丘1-1

Naringin and limonin are some of major bitter principles in grapefruit (*Citrus paradisi*). In order to clarify the distribution of naringin and limonin in grapefruit, their concentrations in each part of the grapefruit were measured. Fruits imported from the USA and South Africa were used. Domestic fruits were also used for comparison. The fruits were separated into four parts and each part was analyzed by HPLC. The distribution of naringin and limonin in the four grapefruit was not very different among all the fruits. Naringin was significantly contained in the albedo, and limonin was significantly contained in the segment membrane. The juice vesicles contained both naringin and limonin, at an average of 178 mg/100 g and 9.05 mg/1,000 g, respectively. This showed that naringin and limonin were the primary cause of the bitterness in grapefruit and its juice. Also, in the juice vesicles, the naringin concentration in the solution was very low. This suggested that naringin was significantly present in the membranes of the juice vesicles. Furthermore, it was determined that the limonin concentration of the fresh grapefruit juice using a household mixer was significantly increased within a few hours after juicing.

1. 緒 言

カンキツ果実に含まれるフラボノイドとリモノイドは、苦味成分および機能成分として知られている。フラボノイドはフラボン類, フラバノン類, フラボノール類, イソフラボン類などに分類され, 植物界に広く分布している。リモノイドはミカン科とセンダン科植物から単離されているトリテルペン誘導体の一群である。カンキツ果実には, フラボノイドとして主にヘスペリジンやナリンジンなどのフラバノン類が含有されている^{1, 2)}。一方, カンキツ果実に含まれる主要なリモノイドはリモニンであり, 次いでノミリンが含まれている。

また, ナリンジンには抗酸化作用³⁻⁵⁾をはじめ, 肥満予防⁶⁾, 高血圧予防⁷⁾など種々の機能性について報告さ

れている。リモニンには腫瘍増殖抑制作用^{8, 9)}や昆虫に対する摂食阻害活性^{8, 9)}などの生理活性を有することが報告されており, カンキツ果実からの抽出・回収に関する研究¹⁰⁾も行われている。

ナリンジンとリモニンはカンキツ果実の主要な苦味成分であるが, それぞれの果実部位濃度について同時に分析した文献は見当たらない。本研究では, 爽やかな苦味を有することで知られているグレープフルーツを対象とし, 国内で市販されている果実について, 部位別にナリンジンとリモニンを分析した。また, その過程で果肉のナリンジン濃度分布を調べた。さらに, グレープフルーツからフレッシュジュースを加工するプロセスにおいて, 留意すべき苦味成分の挙動について実験を行ったので報告する。

2. 実験方法

(1) 供試果実

供試グレープフルーツとしてルビー種（以下、ピンクグレープフルーツ）とマーシュ種（以下、ホワイトグレープフルーツ）を選び、2015年から2016年にかけて北九州市内のスーパーマーケットで購入し分析した。なお、国内で流通する輸入グレープフルーツは、12月から6月の間はアメリカ産が多く、7月から11月の間は南アフリカ産が多い。供試果実の苦味成分を分析する際、両者の差異を確認するために、アメリカ産と南アフリカ産を区別して試料調製した。さらに、5月から7月にかけて国内で流通する国産グレープフルーツ（マーシュ種）についても分析を行って比較した。

(2) ナリンジンの分析

1) 標準溶液の調製

ナリンジンは標準物質（和光純薬工業製）を用い、アセトニトリルで50.0 mg/100 mLに調製したものを段階的に希釈してナリンジン標準溶液とした。

2) HPLC 分析

ナリンジンの分析は、野方らの方法¹¹⁾ に準じて高速液

体クロマトグラフ SCL-10Avp（島津製作所製）、C-18逆相 カラム Shim-pack CLC-ODS（φ4.6 mm×250 mm）を用いた。カラム温度は40℃、移動相は水：アセトニトリル（80：20）とし、0.9 mL/minの流速で溶出した。なお、検出波長は280 nm で測定した。

3) HPLC 分析試料溶液の調製

供試果実をフラベド（外果皮）、アルベド（中果皮）、内皮（じょうのう膜）および果肉（砂じょう）の各部位に分け（Fig.1）、それぞれ採取量（フラベド約6 g、アルベド約1.5 g、内皮約3 g、果肉約15 g）の5倍、20倍、10倍および2倍量の水を加え、ホモジナイザー（KINEMATICA製 POLYTRON）で2分間抽出を行った後、遠心分離処理（12,074 g, 10 min）した。この上清液を定容とし、その一部をそれぞれ0.2 μm フィルタで濾過して HPLC 分析試料とした。

また、砂じょう中の溶液について、可溶性固形物（Brix）とナリンジンを分析した。すなわち、Brix 値は、アタゴ製屈折計を用いて砂じょう1粒ずつ測定した。ナリンジンは、砂じょう1粒ずつからマイクロシリンジで溶液を吸い上げ、長く大きい砂じょう（ラージ）と短く小さい砂じょう（スモール）をそれぞれ20粒分集めて1回の HPLC 分析試料とした。なお、砂じょうは、長さが0.6 cm

Fig.1 Preparation of the fruit sampled for HPLC analysis

Fig.2 Location of large juice vesicles and small juice vesicles
Size of juice vesicles; large ≥ 1.2 cm, small ≤ 0.6 cm

以下をスモール, 1.2 cm 以上をラージとして試料調製を行った (Fig.2)。

(3) リモニンの分析

1) 標準溶液の調製

リモニンは標準物質 (米国農務省果実野菜化学研究所にて単離され, NMR で構造確認済み) および和光純薬工業製試薬 (グレープフルーツ種子由来) を用い, アセトニトリルで 50.0 mg/100 mL に調製したものを段階的に希釈してリモニン標準溶液とした。

2) HPLC 分析

リモニンの分析は, 既報¹²⁾ に準じて行った (ナリンジンの分析と同じ装置)。カラム温度は 40℃, 移動相は水: アセトニトリル (50:50) とし, 0.9 mL/min の流速で溶出した。なお, 検出波長は 210 nm で測定した。

3) HPLC 分析試料溶液の調製

供試果実をナリンジンの分析と同様に 4 部位に分け, フラベドを除き, それぞれ採取量 (アルベド約 10 g, 内皮約 3 g, 果肉約 30 g) に対して 2~3 倍量の酢酸エチルを加え, ホモジナイザー (KINEMATICA 製 POLYTRON) で 2 分間抽出を行った後, 遠心分離処理 (12,074 g, 10 min) した。この上清液をエバポレーターで濃縮乾固させ, 5.00 mL のアセトニトリルで再溶解させ, その一部をそれぞれ 0.2 μm フィルタで濾過して HPLC 分析試料とした。フラベドについては, まず n-ヘキサンによる脱脂処理を行ってから, 同様に試料の調製を行った。

4) グレープフルーツジュース中のリモニン濃度の経時変化

グレープフルーツ果実からフレッシュジュースを作る際, リモニンに起因する苦味がその品質に影響を及ぼすことが予想される。そこで, アメリカ産ホワイトグレープフルーツを供試し, 調製直後のリモニン濃度と, その経時変化について調べた。本実験では, 苦味の強さの異なる 2 種類のジュースを調製した。家庭や店頭販売で作られるフレッシュジュースを想定し, 果実を手で剥き, 内皮をできるだけ除去した果肉を家庭用ミキサーで 1 分間ミキシング処理を行い, フレッシュジュースを得た。また, 苦味の強いジュースを想定し, 果肉 100 g に対し

て内皮 1.5 g 加えて同様に処理を行い, モデルジュースを得た。これらのジュースを室温 (20℃) に置いたときのリモニン濃度について, 経時変化 (直後, 3 時間後, 6 時間後, 24 時間後) を調べた。

3. 結果および考察

(1) 果実部位別ナリンジン濃度

ピンクグレープフルーツおよびホワイトグレープフルーツの部位別ナリンジン濃度をそれぞれ Table1 に示した。市販品であり, 購入 (分析) 時期も広範囲に及ぶので, 大きなばらつきがみられるが, 両品種ともアルベドのナリンジン濃度が最も高く, 平均値はアメリカ産で 39,701 mg/100 g, 南アフリカ産で 45,063 mg/100 g であった。次いで内皮のナリンジン濃度が高く, アメリカ産で 7,272 mg/100 g, 南アフリカ産で 9,286 mg/100 g であった。フラベドのナリンジン濃度は, アメリカ産で 1,404 mg/100 g, 南アフリカ産で 1,257 mg/100 g であった。このように, グレープフルーツの部位において, ナリンジン濃度はアルベド, 内皮, フラベドの順に高く, この分布傾向は野方ら²⁾ および Shaw ら¹³⁾ の報告と同様であった。主な可食部である果肉のナリンジン濃度は 4 つの部位の中で最も低く, 平均値はアメリカ産で 198 mg/100 g, 南アフリカ産で 159 mg/100 g, 国産 (マーシュ種) で 178 mg/100 g であり (全体として 178 mg/100 g), 産地による差異はほとんどなかった。

一般に, ナリンジン水溶液の閾値は 20~100 ppm 程度であるといわれており^{14, 15)}, 一方で, 高濃度 (500 ppm) においてはナリンジンに由来する収斂性があり飲用には適さない¹⁶⁾。家庭用ミキサーなどでグレープフルーツジュースを作成する際, ナリンジンが局在するアルベドや内皮を利用することで, 嗜好に合わせた苦味の強弱を調節することができる。例えば, Table1 に示した南アフリカ産ピンクグレープフルーツを使用する場合, コップ 1 杯 (約 200 g) のジュースを作るときに, 果肉 200 g (ナリンジン 166 mg/100 g) に対して内皮を 1 g 混ぜることで, 計算上ではナリンジン濃度は 216 mg/100 g となる。このように, 家庭用ミキサーで作成するジュースのナリンジン濃度は, 飲用者の嗜好に合わせて容易に調整する

Table1 Concentration of naringin in each part of grapefruit

countries of origin		mg/100 g of fresh weight							
		Juice vesicles		Segment membrane		Albedo		Flavedo	
PGF* ¹	U.S.A.	209	± 69	7,706	± 2,400	35,515	± 12,254	1,516	± 119
	South Africa	166	± 7	10,333	± 1,470	55,335	± 8,226	1,816	± 672
WGF* ²	U.S.A.	187	± 50	6,837	± 2,455	43,887	± 3,805	1,292	± 935
	South Africa	151	± 35	8,239	± 1,047	34,791	± 18,111	698	± 53
	Japan	178	± 35	5,868	± 3,191	23,743	± 13,219	641	± 179

Data are shown as mean ± SD (n = 8).

* 1 PGF; Pink grapefruit

* 2 WGF; White grapefruit

ことができる。

グレープフルーツと比較する意味で、市販されているネーブルオレンジと夏ミカンについてもナリンジンを分析したが、果実の部位別濃度の分布傾向はグレープフルーツと同様であった。

(2) 果実部位別リモニン濃度

ピンクグレープフルーツおよびホワイトグレープフルーツの部位別リモニン濃度を Table2 に示した。分布の傾向は、両品種ともアメリカ産と南アフリカ産で顕著な差はなく、リモニンは内皮に局在し、次いでフラベド、アルベドの順であり、果肉の濃度は最も低かった。なお、リモニンはカンキツ果実部位の中では種子に高濃度で含まれているが^{12, 17, 18)}、供試グレープフルーツにはほとんど種子が含まれていなかったため、分析対象外とした。

果肉にはおおむね10 mg/1,000 g 前後の範囲でリモニンが含まれていた(平均9.05 mg/1,000 g)。ジュース中のリモニンの閾値は6 ppm との報告があるが^{19, 20)}、グレープフルーツ果実を食べるときにリモニンの苦味を知覚できるかどうかは明確ではない。リモニンの苦味は口内に長く残ることが特徴であるのに対し、ナリンジンの苦味は爽快感を有する¹⁵⁾。このことから、通常、グレープフルーツ果実を食べるときに知覚する苦味はナリンジンに起因するものと考ええる。このことは、本実験データ(Table1, Table2)からも強く推察される。なお、リモ

ニンの部位別分布は、国産グレープフルーツについても同様の傾向であったが、内皮に含まれる濃度が平均167 mg/1,000 g であり、輸入果実と比べると低かった(Table2)。

(3) 砂じょうのナリンジン分布

ナリンジンはアルベドと内皮に多く含まれており、砂じょうへの物質輸送はじょうのう膜(維管束)を通して行われる。砂じょうは、Fig.2 に示すとおり、果肉全体の外側(アルベド側)は小さい形状が多くあり、内側(果芯側)に向かって長い形状のものが存在している。温州ミカンでは、アルベド側にある小さな形状の砂じょうの方が甘いことが知られており²¹⁾、グレープフルーツについて確認実験を行った。すなわち、アルベド側の小さな砂じょうと果芯側の大きな砂じょうについて、それぞれ砂じょう内の溶液の Brix を10回測定したところ、すべて小さな形状の砂じょうのほうが Brix は高かった。このことから、果肉に存在するナリンジン濃度も砂じょうの形状によって異なるのではないかと推察し、果実の外側(アルベド側)の小さい砂じょう(スモール)と内側(果芯側)の長い砂じょう(ラージ)に含まれるナリンジン濃度を比較分析した。結果は Table3 に示すとおり、ピンクグレープフルーツ、ホワイトグレープフルーツともに、ナリンジン濃度はラージよりスモールの方が高い傾向がみられた。確認の意味で、果肉の外側(アルベド

Table2 Concentration of limonin in each part of grapefruit

countries of origin		mg/1,000 g of fresh weight							
		Juice vesicles		Segment membrane		Albedo		Flavedo	
PGF* ¹	U.S.A.	10.4	± 3.18	920	± 190	18.6	± 16.9	125	± 5.04
	South Africa	10.7	± 2.24	1,408	± 404	42.3	± 33.6	69.1	± 27.2
WGF* ²	U.S.A.	8.52	± 3.43	1208	± 354	27.5	± 12.3	150	± 51.7
	South Africa	6.57	± 4.88	474	± 95.3	15.1	± 2.73	123	± 61.6
	Japan	3.99	± 0.90	167	± 57.8	46.6	± 18.4	80.3	± 18.8

Data are shown as mean ± SD (*n* = 8).

* 1 PGF; Pink grapefruit

* 2 WGF; White grapefruit

Table3 Soluble solid (Brix) and naringin concentration in the solution of grapefruit juice vesicles

	Soluble solid (Brix)		Naringin concentration (mg/100 mL)	
	small* ³	large* ⁴	small* ³	large* ⁴
PGF* ¹ Juice vesicles	small* ³	7.8 ± 0.4	7.18	
	large* ⁴	7.0 ± 0.4	5.05	
WGF* ² Juice vesicles	small* ³	6.4 ± 0.2	13.84	
	large* ⁴	6.2 ± 0.2	9.25	

Data (Brix) are shown as mean ± SD (*n* = 10).

Data (naringin) are shown as mean for 60 juice vesicles.

* 1 PGF; Pink grapefruit (South Africa)

* 2 WGF; White grapefruit (South Africa)

* 3 small; size of juice vesicles ≤ 0.6 cm

* 4 large; size of juice vesicles ≥ 1.2 cm

側)と内側(果芯側)に分けて、苦味の強さについて官能評価を行ったが、酸味や甘味の影響が大きく、苦味の強弱を判別できる有意な結果は得られなかった。また、本実験によって砂じょうの中にある溶液のナリンジン濃度がおおむね5~14 mg/100 gであることがわかった。砂じょうの集合体である果肉のナリンジン濃度が200 mg/100 g前後であることを考えれば、果肉において、ナリンジンは砂じょう膜に局在していることが示唆された。

果肉を構成する砂じょうによって、なぜナリンジン濃度が異なる傾向を示すのかは明らかではない。一つひとつの砂じょうは1本の維管束を通して水分や栄養成分が輸送され、細胞内の液胞に蓄積される²²⁾。Table 3で得られたデータは、この液胞中の果実成分が小さい砂じょうのほうが濃縮された状態になっているのではないかと推察されるが、その詳細については今後の検討課題である。

(4) グレープフルーツの加工特性

フラベドとアルベドを合わせた果皮には、ナリンジンとリモニンがともに多く含まれることから、苦味を付与する食材として使用できる。ただし、国内において、グレープフルーツは輸入果実が主流であり、果皮を加工利用する場合は特にポストハーベスト農薬が課題となる。一方、国産グレープフルーツの苦味成分は輸入果実と同じ分布傾向を示しており、果皮の利用が期待できる。

また、Table1とTable2で示した果実部位別苦味成分の濃度を考慮すると、家庭用ミキサーでグレープフルーツフレッシュジュースを作るとき、原料の調製方法によってジュース中の苦味成分の濃度が異なることが予想できる。すなわち、手剥きで果肉を調製するとき、ナリンジンとリモニンを高い濃度で含んでいる内皮を完全に除去することは困難であり、果肉に対する内皮の比率(内皮率)によってフレッシュジュースの苦味に強弱が生じる。先述したように、果汁中のリモニンの閾値は6 ppmとの報告もあり、特にリモニンによる苦味が強くなりす

ぎないように、内皮率には注意が必要である。

グレープフルーツジュースのリモニン濃度の経時変化を確認するため、フレッシュジュースとモデルジュースについて、調製直後、3時間後、6時間後および24時間後のリモニンをそれぞれ分析した。なお、比較参考のため、リモニンを比較的多く含むことで知られているネーブルオレンジフレッシュジュースについても同様に処理し、分析を行った。

それぞれのリモニン濃度の変化はFig.3に示したとおりである。グレープフルーツモデルジュースは、調製直後を100%とすると、3時間後217%、6時間後228%、24時間後241%となった。フレッシュジュースのほうは、直後100%、3時間後167%、6時間後211%、24時間後234%となった。また、ネーブルオレンジフレッシュジュースは、直後100%、3時間後234%、6時間後259%、24時間後322%となった。このように、それぞれのリモニン濃度は調製直後のジュースが最も低く、3時間後にかけて顕著に増加し、その後は時間の経過とともに微増した。フレッシュジュースの店頭販売において、リモニンを含むカンキツ系果実をミキサー処理後に数時間放置した場合は、Fig.3に示したようにリモニン濃度が増え、苦味がより強く発現する可能性があるので注意が必要である。なお、ナリンジン濃度は時間の経時的な変化はなく、いずれも一定であった。また、調製直後のジュースをそれぞれ加熱(80℃, 1 min)すると、リモニン濃度はグレープフルーツモデルジュースでは44.9 mg/1,000 g、グレープフルーツフレッシュ11.1 mg/1,000 g、ネーブルオレンジジュースでは7.63 mg/1,000 gとなり、いずれも24時間後のジュースとほぼ同じ濃度となった。

これらの結果は、苦味のないリモニン前駆体(リモノエート A-ring ラクトン)が、酸性条件下あるいは加熱処理によってリモニンに変換することでリモニン濃度が高くなったと推察される²³⁾。

4. 要 約

カンキツ類の主要な苦味成分であるナリンジンとリモ

Fig.3 Changes in limonin concentration in grapefruit juice during preservation

ニンについて、それぞれ市販輸入グレープフルーツと国産グレープフルーツを対象に果実部位別に分析を行った。また、砂じょうのナリンジン分布についても調べた。さらに、リモニンに着目してグレープフルーツ果実からフレッシュジュースを作成する際の加工特性について検討した。

- (1) ナリンジン濃度は、すべての供試果実についてアルベド、内皮、フラベドの順に高く、主な可食部である果肉は最も低かった。また、果肉に含まれるナリンジンは、食したときにわずかに苦味を感じる濃度（おおむね200 mg/100 g）であった。
- (2) リモニン濃度は、すべての供試果実について内皮に局在し、次いでフラベドに概ね150 mg/1,000 g以下、アルベドにおおむね50 mg/1,000 g以下で分布していた。また、果肉に含まれるリモニン濃度は最も低く、おおむね10 mg/1,000 g前後であった。
- (3) 果肉に含まれるナリンジンは、果肉を構成する砂じょうのサイズによって異なる傾向がみられ、果芯側の大きな砂じょうよりアルベド側に位置する小さな砂じょうの方が高い濃度で分布していた。また、砂じょうの溶液中のナリンジン濃度は非常に低く、果肉のナリンジンの分布は砂じょう膜に局在することが示唆された。
- (4) フレッシュジュース中のリモニン濃度は、ジュース調製直後から3時間後にかけて顕著に増加し、その後は微増した。この結果から、苦味のないリモニン前駆体（リモノエート A-ring ラクトン）が、酸性条件下によってリモニンに変換することでリモニン濃度が高くなったと推察された。

文 献

- 1) 三宅義明：国内地域特産の香酸カンキツ果実に含まれるフラボノイドの特徴，日本食生活学会誌，26，71-78（2015）
- 2) 野方洋一：近畿中国四国農業研究センター研究報告，第5号，19-84（2005）
- 3) Kanno S., Shouji A., Asou K., Ishikawa M.: Effects of naringin on hydrogen peroxide-induced cytotoxicity and apoptosis in P388 cells., *J Pharmacol Sci.*, 92, 166-170 (2003)
- 4) Gorinstein S., Leontowicz H., Leontowicz M., Krzeminski R., Gralak M., Delgado-Licon E., Martinez Ayala AL., Katrich E., Trakhtenberg S.: Changes in plasma lipid and antioxidant activity in rats as a result of naringin and red grapefruit supplementation., *J Agric Food Chem.*, 53, 3223-3228 (2005)
- 5) Benković V., Orsolić N., Knezević AH., Ramić S., Dikić D., Basić I., Kopjar N.: Evaluation of the radioprotective effects of propolis and flavonoids in gamma-irradiated mice, the alkaline comet assay study., *Biol Pharm Bull.*, 31, 167-172 (2008)
- 6) Chanet A., Milenkovic D., Deval C., Potier M., Constans J., Mazur A., Bennetau-Pelissero C., Morand C., Bérard AM.: Naringin, the major grapefruit flavonoid, specifically affects atherosclerosis development in diet-induced hypercholesterolemia in mice., *J Nutr Biochem.*, 23, 469-477 (2012)
- 7) Alam MA., Kauter K., Brown L.: Naringin improves diet-induced cardiovascular dysfunction and obesity in high carbohydrate, high fat diet-fed rats., *Nutrients*, 27, 637-50 (2013)
- 8) Hasegawa S., Miyake M., Ozaki Y.: Biochemistry of citrus limonoids and their anticarcinogenic activity. Food Phytochemicals for Cancer Prevention I, Fruits and Vegetable., *American Chemical Society*, Washington, D.C., 198-208 (1994)
- 9) Hasegawa S., Miyake M.: Biochemistry and Biological Function of Citrus Limonoids., *Food Reviews International*, 12, 413-435 (1996)
- 10) Miyake M., Shimoda M., Osajima Y., Inaba N., Ayano S., Ozaki Y., Hasegawa S.: Extraction and recovery of limonoids with the supercritical carbon dioxide micro-bubble method. Citrus Limonoids., *American Chemical Society*, Washington, D.C., 96-106 (2000)
- 11) 貴戸武利，矢吹直子，飯田純久，湯本隆：ナリンジン組成物，その製造方法及び用途，特開2007-284393（P2007-284393A）（2007.11.1）
- 12) Ozaki Y., Fong CH., Herman Z., Maeda H., Miyake M., Ifuku Y., Hasegawa S.: Limonoid Glucosides in Citrus Seeds., *Agric. Biol. Chem.*, 55, 137-141 (1991)
- 13) Shaw PE., Calkins CO., McDonald RE., Greany PD., Webb JC., Nisperos-Carriedo MO., Barros SM.: Changes in limonin and naringin levels in grapefruit albedo with maturity and the effects of gibberellic acid on these changes., *Phytochemistry*, 30, 3215-3219 (1991)
- 14) 福谷敬三，宮本等：柑橘果実の苦味物質の含量と時期別変化，日本食品工業学会誌，30，642-649（1983）
- 15) 三浦洋編：最新果汁・果実飲料事典，朝倉書店，東京，pp.27-28，p.76（1997）
- 16) 黒田新悟：ナリンジン含有飲料，特開2016-7205（P2016-7205A）（2016.1.18）
- 17) Miyake M., Ayano S., Ozaki Y., Herman Z., Hasegawa S.: Limonoid in Seeds of Sour Orange (*Citrus aurantium*)., *Nippon Nogeikagaku Kaishi*, 66, 31-34 (1992)
- 18) Miyake M., Inaba N., Ayano S., Ozaki Y., Maeda H., Ifuku Y., Hasegawa S.: Recovery of Seeds from Processing Waste of Natsudaikai (*Citrus natsudaikai Hayata*)., *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi*, 40, 807-813 (1993)
- 19) Guadagni DG., Maier VP.: Effect of some citrus juice constituents on taste thresholds for limonin and naringin bitterness., *J. Food Science*, 24, 1277-1288 (1973)
- 20) Rouseff RL., Matthew RF.: Nomilin taste threshold and relative bitterness., *J. Food Science*, 49, 770-777 (1984)
- 21) NHK ガッテン2013年1月16日放送，<http://www9.nhk.or.jp/gatten/articles/20130116/index.html>（2016.6.1閲覧）
- 22) 金山喜則，山木昭平：果実が甘くなるしくみ，化学と生物，31，578-586（1993）
- 23) Hasegawa S., Miyake M.: Biochemistry and biological functions of citrus limonoids., *Food Rev.Int.*, 12, 413-435 (1996)