

ナリンギナーゼによる夏ミカン脱苦味の研究* -II

一段殺菌法による夏ミカン缶詰の脱苦味試験

下田吉夫・奥正和
沢山善二郎・松本熊市

STUDIES ON DEBITTERING OF NATSUDAIDAI (CITRUS NATSUDAIDAI HAYATA) WITH NARINGINASE ENZYMES.-II

DEBITTERING OF CANNED NATSUDAIDAI (CITRUS NATSUDAIDAI HAYATA) WITH A ONE-STEP PROCESSING.

Yoshio Shimoda, Masakazu Oku, Zenjiro Sawayama and
Kumaichi Matsumoto.

Debittering of segment of canned natsudaikai were attempted and following results were obtained.

1) The bittering of natsudaikai segment in syrup was more convenient and effective than that in soaking solution before filling when acid-tolerant and heat-stable naringinase samples were used in one-step process.

2) With one-step processing, naringin in product decreases to 1/3 or less of the original amount and debittering was almost complete when kept at 30°C for 2 weeks after processing, while at room temperature for 2 to 3 months.

3) When applied to natsudaikai juice the acid-tolerant naringinase enzymes were found to be readily effective, even with short incubation (2 hours).

4) For material for marmalade, neutral enzymes could be used quite effectively.

近年ナリンギナーゼ剤を用いての夏ミカン、グレープフルーツ等の脱苦味に関する研究が盛んになり多数の報告が出されている¹⁻⁶⁾。

われわれも数年前よりナリンギナーゼ剤を用いて夏ミカン缶詰の脱苦味試験を行って来たが、主として浸漬法を行って来た。ところが昨年まで使用して来た酵素剤は pH 活性その他の点で十分有効なものではなく、またナリンギンとプルニンの分離定量を行わなかったことが原因ではっきりした脱苦味効果は得られなかった。

しかし本年は前報⁷⁾において報告したごとく pH 活性、耐熱性等の点で優れた酵素剤が開発されたので、これらの酵素剤を用いて主として一段殺菌法による夏ミカンシラップづけ缶詰の脱苦味試験を行い良好な結果が得られたので以下報告する。

* 缶詰時報 44 No. 1, 100, 1965. 投稿論文

I 実験材料および方法

1. ナリンギナーゼ剤

前報⁷⁾に用いたのと同じく大阪市立工研および田辺製菓で新しく開発中の耐酸、耐熱性の酵素剤 No.1 と No.2, それに対照として中性酵素剤 No.3 を用いた。

2. 夏ミカン

主として和歌山産の夏ミカンで、1～3月の原料を用いた。

3. ナリンギンおよびナリンギン、プルニン分離定量法

いずれも前報⁷⁾に従って行った。すなわちナリンギンは Davis 法に準じて測定。分離定量は酢酸エチル分配法を用いた。

4. 糖度、pH および酸度

糖度は携帯用屈折糖度計を用いて、pH は堀場製の M-3 型 pH メーターで測定。酸度は島津製の自動電位滴定装置を用いて N/10 NaOH で滴定、クエン酸量として表わした。

5. 夏ミカンの脱苦味法

a) 浸漬法

常法どおり酸、アルカリ剥皮し、種子抜きした果肉を約 60°C の温湯に 5 分間浸漬後、果肉量に対して 1.5 倍の 0.5% 酵素液に浸漬し 40°C で 2 時間保った後、一晚 20°C の室に放置する。翌朝酵素液を除去、水洗後 5 号缶に肉詰しバキュームパック、80°C で 10 分間殺菌する。

なお、酵素剤は No.3 を使用した。

b) 2 回加熱法

剥皮種子抜きした果肉を 5 号缶に肉詰し 1 缶当たり 500mg の酵素を加えバキュームパック後 40°C で 2 時間、その後 20°C に一夜保った後 80°C で 10 分間殺菌する。この場合も No.3 酵素剤を使用した。

c) 一段殺菌法

剥皮種子抜きした果肉を 5 号缶に詰め、1 缶当たり 500mg になるように酵素を加えバキュームパック後 75°C で 10 分間 20rpm の回転殺菌機で殺菌（缶中心の最高温度 71.5°C）した。この場合は耐熱性の酵素剤 No.1, No.2 を使用した。

6. 試験缶詰の分析法

夏ミカンの場合、各果肉間の個体差がかなり大きいゆえ、各区とも果肉 1 kg 程度のサンプリングは必要と考えられたので次のような方法で行った。すなわち各試験区とも 5 缶ずつを 85°C で 30 分加熱、ナリンギンを十分可溶化させてから、1 分間ホモキサーで摩砕する。よく攪拌しつつ肉詰前の果肉 100g に相当する量を各区 3 点ずつサンプリングする（残りの液で pH, 糖度を測定した）。サンプリングした液に蒸留水約 750ml を加え更に 1 分間ミキサーにかける。晒布で濾別し濾液を蒸留水で 1 l にする。滴定酸度はこの液を直接使用し、ナリンギンおよび分離定量用の試料はこの液を遠心分離、または No.5 C の濾紙で濾過して透明液として使用した。

II 実験結果

1. 浸漬法による夏ミカンシラップづけ缶詰の脱苦味 (38年3月18日)

前年まで使用して来た酵素剤は耐熱性も弱く、また耐酸性においても比較的弱い欠点があったため夏ミカンの脱苦味法としては浸漬法または2回加熱法によらねばならず、しかも pH 調節のため重炭酸ソーダまたはクエン酸ソーダ等を使用する必要があった。

表 I、表 II に 38 年 3 月に行った浸漬法による夏ミカンの脱苦味試験の結果を示す。

Table I. Soaking solutions for debittering Natsudaidai.

Exp. No.	Composition of soaking solutions	Change in pH of soaking solution		
		Initial	After 2 hrs.	After 18 hrs.
1	Water	6.0	3.2	3.0
2	0.5% NaHCO ₃	8.0	7.8	6.2
3	0.25% NaHCO ₃ + 0.5% enzyme*	8.0	7.5	5.2
4	0.5% Na-citrate	7.2	5.2	4.3
5	0.25% Na-citrate + 0.5% enzyme*	7.1	4.7	3.8
6	0.3% NaOH	12.0	10.0	4.8

* Naringinase sample No. 3 was used.

Table II. Analyses of segment treated by "soaking method."

Exp. No. *	pH	Sugar	Acid as citric	Naringin contents
0**	2.70	10.4%	3.60%	87.6 mg %
1	2.75	8.8	3.31	79.3
2	2.83	8.0	2.45	72.0
3	2.98	7.8	2.42	66.0
4	2.90	8.0	2.59	76.5
5	2.98	8.0	2.52	76.5
6	2.94	7.9	2.34	64.4

* See Table I.

** Analyzed before treatment.

表 I に浸漬液の組成および処理時の pH の変化を示す。この表に見られるように緩衝剤としての重炭酸ソーダの効果はクエン酸ソーダよりもかなり強く 0.1% 程度でも十分効果があるものと考えられる。

表 II に処理後の果肉の分析結果を示す。なお、Exp. No. 0 は剥皮種子抜きしたままの果肉である。約 16 時間の浸漬により各区とも糖度はかなり低下し pH は増加している。ナリンギン量も処理前の対照 (No. 0) に比べればかなりの減少が見られるが、温水処理した対照 (No. 1) と比較すると有意差が認められがたい。

特に酵素剤添加の効果は 0.25% 重炭酸ソーダを併用した場合 (No. 3) にはやや認められたが、クエン酸ソーダ併用 (No. 5) では全然認められなかった。なおこの試験で最も成績の良かったのは従来から行われている NaOH 中和法⁸⁾ (No. 6) であった。

またこの試験は昨年行ったものでナリンギン、プルニンの分離定量は行っておらず、また、分析に用いた果肉量も各区、100g ずつであったため個体差による影響が大きく、従って少々の差異は有効とは考えられなかった。いずれにしろこの実験結果では酵素剤の添加によるナリンギン量の減少は微少で十分な効果は認めにくかった。

2. 2回加熱法と一段殺菌法の比較 (39年1月22日)

先に述べたように本年は耐酸性に優れるとともに耐熱性をも有している酵素剤 (No. 1, No. 2) が得られ一段殺菌法による夏ミカン缶詰の脱苦味試験が十分可能になった。そこでまず2回加熱法との比較を試みた。

夏ミカンは和歌山県の南部の1月の原料を用い、酵素剤は2回加熱法には非耐熱性の No. 3 を、一段殺菌法には耐熱性の No. 1 を使用した。なお、この試験では結果を早く得るために缶詰製品を 30°C の恒温室中で貯蔵した。結果を表 III に示す。

Table III. Analyses of canned natsudaidai after debittering treatment with naringinase enzymes. (Filling method)

	After 1 day			After 21 days at 30°C		
	Control	Two-step processing	One-step processing	Control	Two-step processing	One-step processing
pH	2.98	3.05	3.05	3.00	3.05	3.05
Sugar %	24.8	24.0	25.8	24.5	24.5	26.2
Acid as citric %	2.38	2.23	2.28	2.20	2.43	2.12
Naringin + prunin mg %	70.5	52.8	61.2	66.9	55.2	45.6
Naringin mg %	68.4	39.8	58.1	64.6	38.1	21.4

開缶は翌日、7日目、14日目、21日目の4回行った。表 III には翌日および21日目の結果を示した。この表より明らかなように酵素剤の添加によって製品の pH、糖度、クエン酸量には変化が見られず、ナリンギン量のみ減少していることが認められた。このナリンギン量の経時変化を図示したものが図 1 である。

図 1 に見られるように一段殺菌法による脱苦味効果は2回加熱のそれよりもかなり強く 30°C で製品を貯蔵した場合には 1~2 週間ですでに 1/3 くらいまでナリンギン量が減少していることが認められた。

次にこの試験で製造した缶詰の食味試験結果を表 IV に示す。(製造後 30°C 貯蔵 3 週間目のもの)

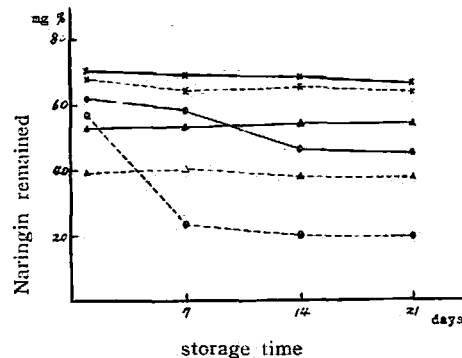


Fig. 1 Change of naringin contents in one and two-step processed canned natsudaidai during storage time at 30°C.

- ×—× Control (Davis value)
- △—△ Two-step processing (" ")
- One-step processing (" ")
- ×.....× Control (Naringin)
- △.....△ Two-step processing (")
-○ One-step processing (")

表IVに見られるように一番苦味の少ないものは一段殺菌法の製品でついで2回加熱のもの、最も苦いのが対照品であるという結果が得られ、これは表III および図1の分離定量後のナリンギン量と良く一致していた。

Table IV. Panel score for bitterness of enzyme treated samples.

Samples	Number of "more bitter" *	χ^2_0	Analysis
Control	16	5.76	Differences above 5% level of significance
Two-step processing	5		
Control	19	13.76	Differences above 0.1% level of significance
One-step processing	2		
Two-step processing	17	8.04	Differences above 1% level of significance
One-step processing	4		

* Number of panel who marked "more bitter".

3. 一段殺菌法の殺菌温度の影響 (39年2月26日)

殺菌条件を75°C 10分と71°C 10分にして行ってみた。殺菌機はいずれも20rpmの回転殺菌機を使用した。なお、71°C 10分殺菌後の缶中心温度は68.5°Cであった。夏ミカンには和歌山県南部の原料で酵素剤はNo.1を使用した。今回も製品は30°Cの恒温室に貯蔵した。分析結果を表Vに示す。

Table V. Analyses of canned natsudaidai after debittering treatment with naringinase enzymes. (One-step processing method)

	After 1 day			After 21 days at 30°C		
	Control	75°C processing	71°C processing	Control	75°C processing	71°C processing
pH	2.95	3.05	3.05	3.00	3.05	3.05
Sugar %	19.4	19.6	19.6	19.4	19.6	19.4
Acid as citric %	1.90	1.97	1.97	1.89	1.92	1.92
Naringin + prunin mg %	60.9	61.2	57.3	63.3	51.9	30.0
Naringin mg %	58.0	42.8	40.1	60.1	14.8	10.0

表Vに見られるようにこの場合にも酵素添加によるpH、糖度、クエン酸量の変化は認められず、ナリンギン量のみが減少していた。図2にナリンギン量の経時変化を示す。

図2に見られるように75°C区、71°C区ともナリンギン量は1、2週間目ですでに1/3以下に減少し十分な脱苦味効果が認められた。また75°C区と71°C区の間には第二段の酵素フラボノイドグルコシダーゼ活性に若干差が認められたが、ナリンギナーゼ活性には大差がなく75°C殺菌でも十分脱苦味効果のあることが明らかになった。

4. 工場試験結果 (39年3月19日)

大量生産した場合の効果を調べることに長期間の保存試験用のサンプルを大量に製造することを目的に行った。なおこの試験は紀州食品株式会社のご好意で工場を拝借して行った。酵素剤はNo.2を使用し、今回の製品は室温で貯蔵した。製品の分析結果を表VIに示す。

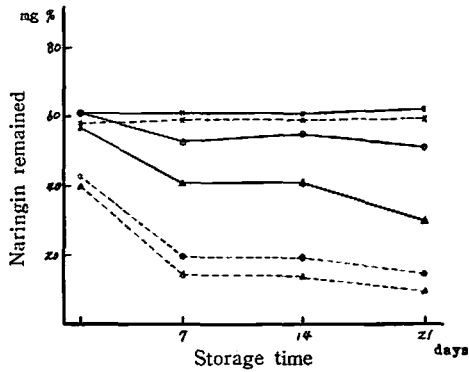


Fig. 2 Change of naringin contents in one-step processed canned natudaidai during storage time at 30°C.

×—× Control (Davis value)
 Δ—Δ Processed at 75°C (" ")
 ○—○ Processed at 71°C (" ")
 ×……× Control (Naringin)
 Δ……Δ Processed at 75°C (")
 ○……○ Processed at 71°C (")

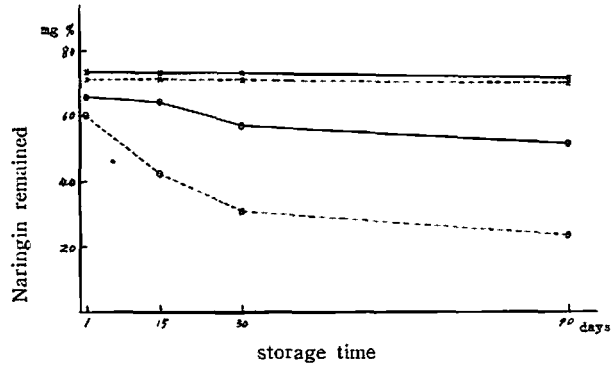


Fig. 3 Change of naringin contents in one-step processed canned natsudaidai during storage time at room temperature.

×—× Control (Davis value)
 ○—○ Enzyme added (" ")
 ×……× Control (Naringin)
 ○……○ Enzyme added (")

Table VI. Analyses of canned natsudai after debittering treatment with naringinase enzymes. (One-step processing method)

	After 1 day		After 21 days at room temperature	
	Control	Enzyme	Control	Enzyme
pH	2.98	3.00	3.00	3.05
Sugar %	23.0	22.8	22.3	22.5
Acid as citric %	2.13	2.15	2.08	2.17
Naringin + prunin mg %	73.2	66.6	71.5	51.7
Naringin mg %	72.4	60.3	70.5	23.3

表VIのように今回の結果でも酵素剤の添加によりナリンギン量のみが減少し、他は変化が認められなかった。ナリンギン量の経時変化を図3に示す。

室温貯蔵の場合ナリンギン量は30日で1/2以下に、90日目に1/3以下まで減少する。これは30°C貯蔵に比べてかなり日数を要していることになるが、30日目のものでも食味上は明らかな脱苦味効果が認められていた。

なお、この試験は現在継続中ではあるが一応3カ月後の製品でも酵素添加による果肉の軟化、異味異臭の発生等の悪影響は全然認められず非常に良好な結果が得られている。

5. 夏ミカン果汁の脱苦味 (39年3月27日)

夏ミカン果汁は搾汁後一晩冷蔵したものを晒布で濾して使用したためか最初からナリンギン量はかなり低かった。酵素剤は耐酸性のNo.2および中性のNo.3を果汁に対して0.5%ずつ添加し温度は40°Cで行った。結果を図4に示す。

この図に見られるように耐酸性酵素剤No.2では2時間後にナリンギン量は10mg%以下となり十分な脱苦味効果が得られ、夏ミカンの果汁の場合このような耐酸性の酵素剤を使用すれば短時間に脱苦味出来ることが認められた。

6) マーマレード材料の脱苦味(38年4月5日)

昨年4月に行った結果を表Ⅶに示す。酵素剤はNo.3を用い、果皮に対して3倍量の0.1%溶液を使用した。処理法は細刻外皮、白心皮とも沸騰水中に3分間浸漬、水冷したものを3倍量の0.1%酵素液に浸け40°Cで2時間処理後水洗を1時間行った。

表Ⅶに見られるようにマーマレード材料は外皮、白心皮ともそれ自体のpHが酵素の最適pHに近く、またグルコース等による糖阻害もほとんど受けないため、中性ナリンギナーゼ剤で十分短時間で脱苦味出来ることがわかった。

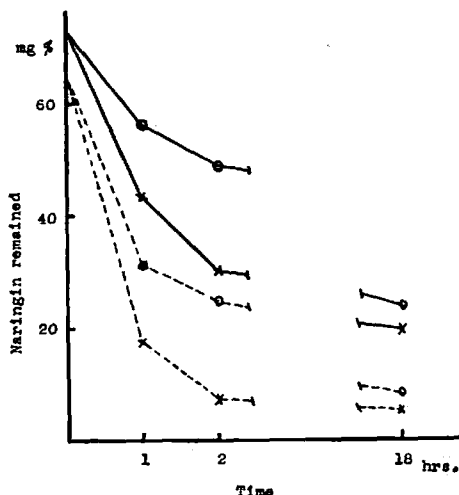


Fig. 4 Change of naringin contents in natsudaikai juice during treatment with naringinase enzymes.

- Enzyme sample No. 3 (Davis Value)
- ×—× Enzyme sample No. 2 (" ")
- Enzyme sample No. 3 (Naingin)
- ×·····× Enzyme sample No. 2 (" ")

Table VII. Results of enzymatic debittering of natsudaikai peel (materials for marmalade) with naringinase enzymes.

Samples	Change in pH of soaking solution	Naringin contents		
		Initial	After treated	% decrease
Thin cut peels	6.1 → 5.1	163.3 mg %	21.9 mg %	86.5 %
Cut albedo	5.6 → 5.85	315.0	34.5	89.1

〔Ⅲ〕 考 察

以上ナリンギナーゼ剤を使用して夏ミカンのシラップづけ、果汁、マーマレード材料の脱苦味試験を行なったが、いずれも良好な結果が得られた。

特に夏ミカンシラップづけ缶詰の脱苦味については数年来種々試験して来たが、昨年までは十分な結果が得られなかった。その理由としては処理法として浸漬法を主に用いたこと、使用酵素剤の性質、特に耐酸性に問題があったこと、ナリンギン、プルニンの分離定量を行なわなかったことが考えられる。

浸漬法による脱苦味作用を考えると次のようになる。浸漬液に果肉を浸けることにより、ナリンギンが液中に溶脱する。添加した酵素は浸漬液中に溶解して来たナリンギンを分解して濃度勾配を低下させてナリンギンの溶脱速度を促進することにより効果を挙げる。しかしこれだけの効果では酵素の有効な利用法とは言えない。ここで問題になるのは浸漬中に酵素が果肉中に浸入し

て内部のナリンギンを分解するかどうかということである。この点現在まだ詳しく解明されていないが、いずれにしても酵素の組織内浸入は容易でないことは事実で、そのためにも16~20時間程度の浸漬では十分な効果が得られないと考えられる。

浸漬法の場合もう一つの問題点は夏ミカン中の有効成分の溶脱（特に糖、酸）である。これによって夏ミカンの風味が劣化することは十分考えられる。

以上の点で夏ミカンの脱苦味法として浸漬法はかなり問題点があり十分有効な方法ではなかったとも考えられるが、幸い今年の酵素剤は耐熱性を有していたため、一段殺菌法が可能となりこの問題は解決された。

次に使用酵素の性質の点は前報⁷⁾に報告したように昨年までの酵素は夏ミカン果肉のpHである2.8~3.0付近ではほとんど活性を示さなかった。このことも昨年までの試験で有効な結果が得られなかった理由であろう。しかしこの点も新しい耐酸性酵素剤の開発により解決された。

ナリンギン、プルニンの分離定量が行なわれなかったことも十分な効果を認められなかった理由の一つである。この点は図1~図3に明らかなように本年度の酵素剤でもかなりの量のプルニンの存在が認められ、このような酵素剤を使用する限りは分離定量せずには脱苦味の明確な効果は認められないことが証明された。

今年の試験では以上のような問題を検討し解決する事により、十分な効果を挙げ得たのであるが、食品加工に酵素剤を利用する場合にはやはり目的に十分適応した酵素剤を撰抜し、しかも酵素の特性を十分理解した上で最も有効な使用法を考案することが必要であろう。

〔IV〕 要 約

ナリンギナーゼ剤を使用して夏ミカンの脱苦味試験を行い次の事実を認めた。

- 1) 夏ミカンラップづけ缶詰の脱苦味法としては、耐酸、耐熱性の酵素剤を使用して、一段殺菌法により行うことが最も簡便でしかも効果が大きい。
- 2) 一段殺菌法による脱苦味は製品を30°Cに貯蔵すれば約2週間で、室温貯蔵の場合でも2~3カ月でナリンギン量は $\frac{1}{2}$ 以下に減少し十分な効果が得られる。
- 3) 夏ミカンシラップづけの場合酵素処理により、やはりかなりの量のプルニンの蓄積が認められ分離定量の必要なことが明になった。
- 4) 夏ミカン果汁の場合耐酸性の酵素剤を使用すると短時間で十分効果がある。
- 5) マーマレード材料は中性の酵素剤でも十分有効である。

終りに本実験を行うに当り種々指導頂いた大阪市大福本教授、大阪市立工研岡田茂孝氏、酵素剤を提供して頂いた田辺製薬株式会社、原料夏ミカンの入手等種々のお世話になった南海加工株式会社、紀州食品株式会社に深謝します。

[文 献]

- 1) 原田：缶詰時報，40，No. 5，31 (1961)
- 2) 中林：食品工誌，9，141，(1962)
- 3) 野村：食品工業，5，No. 7，80 (1962)
- 4) "："，5，No. 9，92 (1962)
- 5) 中林・大橋：缶詰技術，4，51 (1963)
- 6) E. P. Griffiths・B. J. Lime：Food Technol.，13，430 (1959)
- 7) 下田・奥・沢山・松本：缶詰時報，44，No. 1，95 (1965)
- 8) 堀口：缶詰製造講義Ⅱ P242，日本缶詰協会 (1961)