

# みかん缶詰への組織崩壊酵素の応用

みかんの剥皮とその廃水の性状

富永 哲彦・奥 正和・宮廻 和代  
加藤 育代・下田 吉夫・大塚 滋

## An Application of "Macerating Enzyme" to Canning of Mandarin Orange Orange Peeling and the Nature of Waste Water

Tetsuhiko Tominaga, Masakazu Oku, Kazuyo Miyamawari,  
Ikuyo Kato, Yoshio Shimoda and Shigeru Otsuka

An application of "macerating enzyme" for peeling mandarin orange segments is reported together with the nature of the waste water and chemical removal of soluble organic matter.

The present method consists of the treatment with 0.5% sodium hydroxide at room temperature for 10—15 minutes followed by the treatment with 0.2% "macerating enzyme" at 37°C for 40 minutes. The peeled segments were washed with about three times the amount of water, and was finally immersed in 0.2% sodium hydroxide for 1—2 minutes for the purpose of the inactivation of the enzyme.

The present method was superior to the conventional method in the following points.

1) The whole procedure takes about two to three hours, and the enzyme solution is capable of at least seven runs of peeling.

2) Quality of canned mandarins manufactured with the present method is identical to or superior than those either with the conventional method or other enzymatic methods in which ordinary pectinase preparations are used.

3) The large portion of the waste substances exists in the form of high molecular rather than low molecular substances, the former can be easily removed by the treatment with chemical coagulants.

### 1. 緒 言

従来、みかん内皮の剥皮には酸およびアルカリ併用による従来法がすぐれた方法として広く採用されていた。しかしこの併用法は塩酸や水酸化ナトリウムを使用するため、設備の腐食、破損などの原因となり、また処理の条件によっては缶詰製品の風味が損なわれるなど、欠点もある。しかも最近では水質汚染が大きな問題となって濃厚なBODを排出するこの方法に代わる新しい剥皮方法が望まれるにいたった。

代用法としては、みかん内皮の溶離にペクチナーゼ、セルラーゼ等を用いる方法の可能性について、いくつかの報告がみられ<sup>2~6)</sup>、最近では中谷らによって<sup>7,8)</sup>、“ひいろたけ”を起源とするペクチナーゼ標品を用いて缶詰製造の実用的検討が行なわれ、良好なみかん缶詰がえられたと報告されている。

現在までに報告されている酵素剤による剥皮は<sup>9~12)</sup>、みかん内果をかなり長時間酵素液に浸漬しなければならないこと、酵素剤を多量に使用しなければならないこと、また製品が軟弱になることなどの多くの問題があるし、しかも水質汚染問題の点からみた場合、酵素のみによる剥皮ではCOD値が異常に高くなることが認められ、酵素剥皮法はまだ実用の域には達していない。

著者らは、これらの難点を克服するため酵素標品と剥皮操作の2点から検索をおこなって、アルカリと植物組織崩壊酵素を併用することによって比較的短時間に剥皮操作が完了し、かつ満足すべき製品がえられることを見出し、またこの方法によると、可溶性有機物濃度が比較的low、かつ薬剤凝集処理が効果的である廃水がえられることを認めたので報告する。

## 2. 実験と考察

### 2.1 実験材料

2.1.1 組織崩壊酵素のいわゆるマセレーション酵素：近畿ヤクルト株式会社製造の“マセロチーム”(“Macerozym”)を用いた。

2.1.2 セルラーゼ：近畿ヤクルト株式会社製造の酵素剤(“セルラーゼ・オノズカ”)を用いた。

剥皮には“マセロチーム”を0.2%になるように水に溶解し、水抽出を行ない不溶物(ケイソウ土)を除いた上清を用いた。1部の実験ではこれに0.1%セルラーゼを添加した。

2.1.3 みかん：市販の生食用温州みかんを用いた。内果の剥皮試験は従来法(酸・アルカリ併用法)を対照として、本法(アルカリ・酵素併用法)について行なった。前者は200~400gの内果に0.7%塩酸を3対4の割合で添加し、室温で45分間浸漬して水洗後、塩酸と同量の0.5%水酸化ナトリウムを添加して15分間浸漬後、水洗して剥皮した果粒をえた。

本法の剥皮試験は200~400gの内果3量に対して0.5%水酸化ナトリウム4量を添加して室温に10~15分間浸漬後、水洗したのち、酵素液をアルカリと同量添加して35~40°Cに40分間動揺(65回転/分)、水洗後、再度酵素を失活せしめるために0.2%水酸化ナトリウムに1~2分間浸漬して水洗した。

比較的大規模な剥皮試験と缶詰試験には1バッチにつき10~15kgの生食用温州みかんを用いた。

2.1.4 缶詰製造：剥皮したみかん粒235gを無塗装5号缶に充填し、0.2%のクエン酸を添加してpH3.7に調整した糖液(36%)を80g加えて真空巻締し80°Cで10分間殺菌した。

2.1.5 貯蔵：みかん缶詰は37°Cの恒温室に保存して品質の経時変化の検討に供した。試験は1ヶ月、3ヶ月、6ヶ月の3区について行なった。

2.1.6 開缶試験：従来法で製造したみかん缶詰を対照として、1回の開缶に2~3缶ずつを

用いて品質の判定を行なった。試験項目は固形量、糖度、pH、香味、肉質などとした。

## 2・2 剥皮効果の評定

2・2・1 みかん内果の剥皮効果を調べる場合、内果を酵素液で処理した後、軽く水洗して第1表に示す基準で評価し、剥皮程度を4段階（一～卅）の評点で示した。缶詰に用いられうるみかん果粒は評点が卅～卅のものである。

2・2・2 開缶後の評定：透明度は肉眼的に、対照と比較して行なったが常法によって製造されたみかん缶詰と大差なかった。肉質はテクスチロメーターで行なった。ほぼ同様の結果がえられた。

## 2・3 定 量

2・3・1 全ウロン酸：カルバゾール硫酸法<sup>13)</sup>に従った。この方法によれば全ウロン酸が定量される。

2・3・2 少糖類、全糖：アンスロン硫酸法<sup>14)</sup>およびシステイン-硫酸法<sup>14)</sup>によった。

2・3・3 COD：JIS 所載の重クロム酸カリ法を用いた<sup>15)</sup>。

2・4 廃液の透析：各処理によって得た廃液を20/30のシームレス・セルローズ・チュービングにつめ水に対して1昼夜 5°Cで透析した。

## 3. 実験結果と考察

### 3・1 みかん剥皮の操作

従来の化学的剥皮（薬剤処理）、単純酵素的剥皮および本法（アルカリ・酵素併用法）の操作を

第1図に示した。剥皮時間は従来法では酸処理に40～50分、アルカリ処理に15～20分に対し本法ではアルカリ処理に5～15分、酵素処理に30～45分とほぼ同じで差はみとめられない。しかし剥皮処理中の内果皮の状態は従来法や単独酵素法ではぬめりが生じ、浸漬液はカユ状で粘性が高くなる。凝集剤を添加しても良好なフロックは形成されず、可溶性有機物量が多くなる。

一方本法ではアルカリ処理により内果皮が膨潤し、酵素処理により内果皮のうすい部分（背部）が溶け、稜部の厚い部分は、はずれやすい状態に残る。内果皮は1部が固形物として取り除かれるため、使用後の廃液は処理性に富む。

### 3・2 アルカリによる前処理の条件

酵素反応条件を一定にして、アルカリ処理条件を変化させ、剥皮効果について小規模（みか

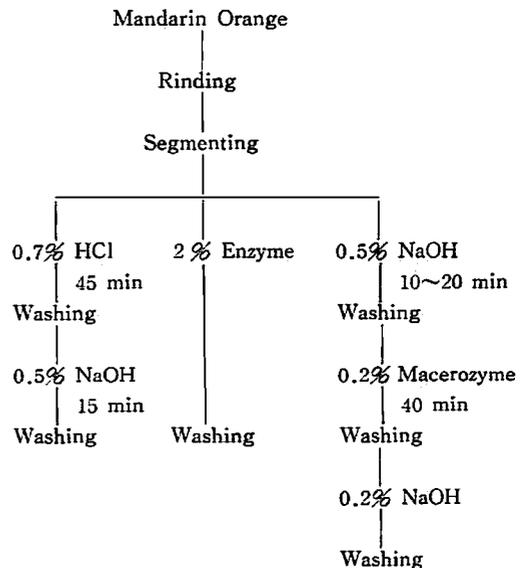


Fig. 1 Comparison of procedures for mandarine segments.

ん内果10~15個)の剥皮試験を行なった。

### 3・2・1 アルカリ濃度の影響

水酸化ナトリウム濃度を0.1%~3%の範囲で剥皮効果を調べた(第2図)。アルカリ濃度は0.1%以上ではほとんど満足な剥皮効果を与えた。しかし1%以上の濃度で処理するとみかん内皮は短時間に剥皮されるが、廃液は可溶性有機物が高濃度になり、またアルカ

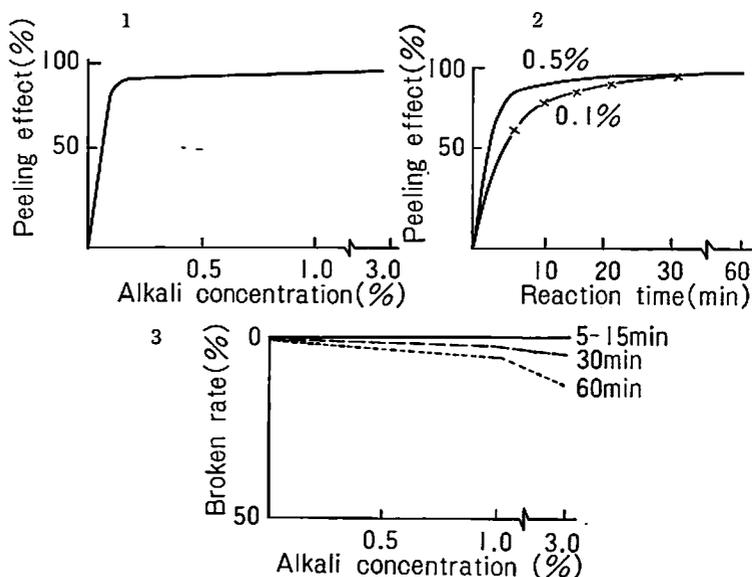


Fig. 2 Effect of alkali concentration and reaction time for alkali treatment of the chemical method and appearance of broken for peeling segment.

リ廃液の中和に多量の酸を要するなど実際的でないことから以下の実験は水酸ナトリウム濃度を0.5%に規定して行なった。

### 3・2・2 アルカリ浸漬時間の影響

水酸ナトリウム濃度0.5%と0.1%についての浸漬時間の影響を調べた(2-2図)。図2-2のようにナトリウム濃度0.5%で短時間に良好な剥皮効果を示したが0.1%では若干おそくなる。2-3図に示したように濃度にかかわらず浸漬時間を30分以上行なうと、ブロークンを生じやすく、かつ剥皮した内果の表面はぬめりを生じ、水洗に長時間を要するようになる。以下の実験は10~20分の処理時間で行なった。

### 3・3 組織崩壊酵素による内果剥皮条件

アルカリ処理条件を0.5%濃度水酸化ナトリウムに、30~40°Cで10~20分間浸漬処理後、酵素反応の条件を変化させた際の剥皮効果について検討を行なった。セルラーゼ濃度は一定(0.1%)で実験を行なった。剥皮状態の評点の方法を第1表に示す。

Table 1 Remarks on peeling effect of the section membrane of mandarin oranges.

Remark	Observation
-	Poor
+	50% peeling
++	Satisfactory
+++	Perfect
++++	Excess (tends to break)

#### 3・3・1 酵素濃度と反応時間の関係

種々の濃度の酵素の酵素液にみかん内果を処理して、その剥皮効果を調べた(第2表)。

第2表のように酵素濃度、反応時間及び剥皮効果の関係は酵素濃度が低いと満足な剥皮状態となるまでに時間がかかり、その結果、場合によ

ては“ブロークン”になりやすい。また酵素濃度1%以上になると短時間に剥皮されるが、実際には反応時間の制御が困難となろう。また果肉は軟化しやすい。0.1%~0.3%の酵素濃度では反応時間は45~60分で良好な剥皮効果を示した。酵素濃度の0.1%~0.3%、反応時間50分を妥当な条件と考え以後の実験をおこなった。みかん剥皮から缶詰までに要する時間は2~3時間であった。

### 3・3・2 pHの影響

この条件でpHを変化させ35°~40°Cで酵素を作用させた結果を第3表に示す。pHにはほとんど関係なく良好な剥皮効果を示した。ただしpH 3.0およびpH 5.5では剥皮効果は若干おとるようである。以後の実験には単に水道水を用い、pHの調整は特に行なわない。

### 3・3・3 温度の影響

各温度変化における剥皮の影響について第4表に示した。温度条件が30°C以下では剥皮に

長時間を要し、剥皮効果についても余り良好とは言えない。また50°C以上では短時間に剥皮されるが、果肉の軟弱化を招く。35~45°Cの範囲内では比較的短時間に良好な剥皮効果を示した。以後の実験では35°~40°Cで行なった。

## 3・4 酵素による内果剥皮効果

### 3・4・1 アルカリ・酵素併用による剥皮効果

以上の酵素反応に先立つ短時間浸漬のアルカリ処理条件を変化させつつ内果剥皮効果について詳細に調べた(第5表)。0.5%のアルカリ濃度に短時間浸漬を行なった後、酵素処理を行なったみかん内果の剥皮効果には大きな差は認められなかったし、廃液も良好な状態のものが得られた。この表で“Solids”は果粒稜線の中心点をとりまく比較的厚い皮の部分を示す。酵素反応を中性付近でおこなうと、手、あるいは水流で簡単に取り除くことが点来る程度であり、“完全剥皮”とみな

Table 2 Effect of enzyme concentration and reaction time of peeling.

Enzyme concentration (%)	Reaction Time (min)				
	15	30	45	60	75
0.01	-	-	-	+	+
0.05	-	+	+	++	++
0.10	+	++	+++	+++	+++
0.30	+	++	+++	+++	+++
0.50	++	+++	+++	+++	+++
1.00	++	+++	+++	+++	+++

Table 3 Effect of pH on the enzymatic peeling.

	Water	pH				
		6.7	5.5	4.5	3.5	3.0
Peeling effect	+++	+++	++	+++	+++	++

pH was adjusted by adding citric acid and sodium citrate. Segments were treated with 0.2% "Macerozyme" and 0.1% cellulase for 40 minutes at 35°-40°C.

Table 4 Peeling effect in various condition for reaction time and temperature and concentration of soluble organic matter in waste water.

Reaction temperature (°C)	Reaction time (minutes)	Peeling effect	COD (ppm)
-20	300-360	+	712
25-30	300-360	+	2340
35-40	45	+++	4980
40-45	40	+++	5200
50-	40	++	7600

Table 5 Effect of conditions of alkali and macerating enzyme treatments.

		1	2	3	4	5	6	7	8
Alkali treatment	Conc (%)	0.5	0.5	0.5	0.8	1.0	0.5	0.5	
	Minutes	5	10	15	10	10	15	15	
Enzyme treatment	Conc (%)	0.5	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	
	Minutes	15	40	40	40	40	40	40	
Perfect peeling (%)		35	72	74	67	71	63	68	87
Solids		64	20	19	23	20	30	22	7
Fiber		9	2	2	5	2	2	1	4
Solids+Fiber		10	6	5	1	6	5	9	2

(6) added, sodum carbonate (pH 8)

(7) added, citric acid-sodium citrat (pH 3.5)

(8) Chemical method

すことができる。従来法と本法とを比較すると剥皮効果の優劣の差は特に認められなかった。ただしクエン酸-クエン酸ナトリウムを添加して pH 3.5 に、または重炭酸ソーダを添加して pH 8 にして酵素反応を行なうと、“Solids” の剥離が困難になる傾向がみられた (図 3)。

### 3・4・2 酵素の反復利用

以上、得られた結果にもとづいて、アルカリ処理後の内果について、酵素液が何回反復使用に耐え得るかを調べた。酵素反応には最適と考えられる 37~40°C、40分間、0.2% “マセロチーム” と 0.1% セルラーゼの条件で行なった。結果を第 3 図に示すように 6 回目まで良好な剥皮状態の内果が 90% 以上得られ、“fiber”

などの雑物の残りは少ない。しかし 7 回目以上になると全体として剥皮効果は減少する傾向がみられた。2.5 日間にわたる 10 回の反復使用後も酵素は約 80% の活性を保っていた (実験中以外は酵素液を定温に放置した)。またこの間酸酵臭の発現、褐変などは認められなかった。

### 3・5 本法で剥皮したみかん缶詰の貯蔵試験

従来法で剥皮したみかん缶詰を対照として本法で剥皮したみかん缶詰の貯蔵試験を行なった。その結果本法で剥皮製造したみかん缶詰は固形量、pH では常法による標品と異ならず、肉質でも大きな違いはなかった。香味については明確な差は認められなかったが、対照に比較してやや良好であった。糖液 (シラップ) の透明度では 6 ヶ月目には本法によるシラップの方が常法によるものにくらべてわずかに優れていた。またヘスベリジンの析出による白濁はみとめられなかった。

#### 3・5・1 化学的剥皮後の廃液の性状

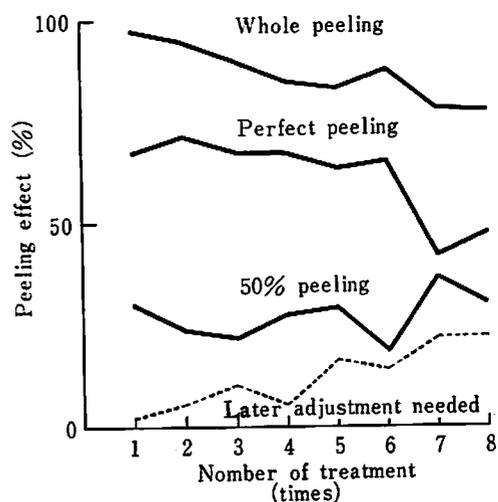


Fig. 3 Repeated use of enzyme solution for wamanderin peeling.

Table 6 Nature of waste liquid of chemical peeling of mandarin segments.

Waste water from treatment with	COD (ppm)					
	Original waste water (ppm)		Low molecular (ppm) (%)		High molecular (ppm) (%)	
Acid	6990		5880 (84)		910 (13)	
Alkali	3480		1540 (44)		1630 (47)	
Neutralized	—		2840 (67)		1390 (33)	
Ca (OH) <sub>2</sub> added	4300		3560 (83)		200 (5)	
Citric acid	r/ml as COD (ppm)		r/ml as COD (ppm)		r/ml as COD (ppm)	
Acid	59	42	52	39	0.5	0.4
Alkali	59	44	43	32	1.5	0.4
Neutralized	54	41	32	24	6.4	4.8
Reducing sugar						
Acid			2300	2450	0	0
Alkali			50	50	0	0
Neutralized			100	110	0	0

従来法における各剥皮処理後の廃液と中和廃液とを水に対して1昼夜透析して、廃液の性状を調べた(第6表)。酸処理廃液の場合は透析膜内に残存した高分子物質は13%のみである。外液中に透析された低分子物質が全CODの大部分を占めていた。アルカリ処理後の廃液でも44%以上の低分子物質が透析外液中に見出され、高分子物質の全COD中に占める割合は小さい。中和廃液の分子量パターンはほぼ両者の中間にあり高分子と低分子の比はほぼ1対2であった。また薬剤処理した中和廃液についても同様の実験を行なうと、透析内液中にはCODは極めて少なく、大部分が低分子として存在していた。このことからみかん剥皮廃液の場合、薬剤処理によってペクチンを主とする高分子可溶性物質が凝集沈降によってほとんど除去され、遊離ウロン酸、糖および少量の有機酸を含む低分子部はほとんど除去されていないことがわかる。

### 3・5・2 組織崩壊酵素処理廃液の透析

従来法で処理された廃液には低分子の可溶性有機物が多量透析外液中に存在することが認められた。次に本法を実施することによりえたアルカリおよび酵素処理後の廃液を水道水に対して1昼

Table 7 Dialysis from peeling of waste liquid.

	Present method						Chemical peeling		
	Waste liquid from						Waste liquid		
	Alkali treatment			Enzyme treatment			neutralized		
	Orig. soln.	Dialy zed soln.	Dialy zate	Orig. soln.	Dialy zed soln.	Dialy zate	Orig. soln.	Dialy zed soln.	Dialy zate
COD (ppm)	5421	3560	1947	7410	4650	2660	5076	1572	3440
(%)	100	60.2	36.0	100	63.0	34.7	100	31.0	67.8
Ca (OH) <sub>2</sub> added	1810	453	1414	2251	524	1517	3294	324	2924
Remaining COD (ppm)	33.3	12.7	72.6	30.4	11.3	57.0	64.9	20.6	85.0
(%)									

夜透析して可溶性有機物の分布と凝集沈澱剤添加の影響について調べた（第7表）。本法の実施によりえられたアルカリ処理および酵素処理の両廃液とも透析膜内液中に65%以上の可溶性有機物が検出され、両廃液とも高分子物質に富むことがわかる。透析内液に水酸化カルシウム処理を行なうと、いずれも90%に近いCODが沈降除去される。また酵素処理廃液の透析外液について水酸化カルシウム処理を行なった場合でも、相当量のCOD除去がなされた。透析膜を通過する物質の中にも、水酸化カルシウムによる凝集沈澱可能なものがあることがわかる。これに反し、従来法の中和廃液の大部分の可溶性有機物は透析膜を通過して外液に移行し、水酸化カルシウムを添加すると内液残存CODの約80%が沈降除去されるが外液については約15%の除去がみられるのみである。それぞれの原廃液に直接水酸化カルシウム処理を行なった場合、本法による各廃液では約70%、従来法の廃液では約35%のCODの除去がみられ、本法の廃液は薬剤凝集沈澱処理性に適していることがわかる。

#### 4. 要 約

組織崩壊酵素によるみかん内果の剥皮の可否とその際の廃液の組成について検討を行なった。

4・1 0.5%水酸化ナトリウムを40°Cで10~15分間浸漬して水洗を行ない、組織崩壊酵素の0.2%で35~40°Cに40分間動揺せしめ水洗後、再び酵素活性を失活せしめるために0.2%の水酸化ナトリウムに5~10分間浸漬し水洗した。

この方法で剥皮した果粒は従来法と同等の品質を有していた。

4・2 6ヶ月間貯蔵した缶詰みかんは固形量、pH、肉質の硬さなどの点は従来法の対照品に対してほとんど差は認められないが、香味、シラップの透明度およびみかんの色調などは従来法にくらべてやや優れている。また缶詰みかんまでに要する処理時間はおよそ2~4時間である。

4・3 酵素剤の使用は6回目まで連続反復使用が可能である。またこの酵素剤は室温で2.5日間放置しても相当の活性を有し、缶詰後もかなり活性を有しているようであったが、5~10分間の0.2%水酸化ナトリウム処理によって失活した。

4・4 従来法の処理によりえた廃液と本法によりえた各処理廃液を透析すると、前者は低分子と高分子の比がおよそ2.5対1に対し、本法による廃液ではほぼ1対2.5であった。また水酸化カルシウム処理によって、従来法ではCODの約35%、本法ではCODの約70%が沈降除去された。この結果から本法による廃液は従来法と比較して、高分子を多く含み凝集沈澱処理に適している。

4・5 薬剤処理後の本法の廃液は高分子がほとんど除去される際、残存する有機物質はウロン酸有機酸、糖類などと考えられ、必要ならば生物処理によって容易に除かれるものと考えられる。

#### 文 献

- 1) 日本缶詰協会編：「缶詰製造講義—II」P 251. (1969).
- 2) 外山信男：食品工業，9，43，(1966).
- 3) 外山信男，大渡久行：食品工業 44，830，(1966).
- 4) 大内昭：生物と化学，10，〔12〕，793.

- 5) 外山信男：特許公報，昭和39—2957
- 6) 堀四郎，畚野剛：特許公報，昭和40—6383
- 7) 富士繩昭平，小川浩三，中島宣郎，木村博，中谷弘美：日農化会誌，47，7—15，(1973).
- 8) 富士繩昭平，小川浩三，中島宣郎，中谷弘美，特許公報，昭和48—33049
- 9) 高橋慧：食品工業，9，57 (1966).
- 10) 黒田彰夫：醸酵工誌 45，73~85，(1967).
- 11) Hiroshi Suzuki, Takahashi Abe, Michiko Urade, and Kazutoshi Nishizawa：醸酵工誌，45 (2)，73，(1967).
- 12) 黒田彰夫：ジャパン・フード・サイエンス，6 [8]，27，(1967).
- 13) T. Bitter and H. M. Muir：Anal Biochem，4，330~334 (1962).
- 14) 福井作蔵：還元糖の定量法，(1969). p 8~75.
- 15) 日本規格協会：工場廃水試験方法 JIS K0102—p26~30 (1971).
- 16) Z. I. Kertesz：The Pectic Substances, Fifth Avenue, New York p 1~328, (1951)