

みかん缶詰への組織崩壊酵素の応用—II

剥皮条件の検討と実缶製造試験

下田 吉夫, 奥 正和, 宮廻 和代,
富永 哲彦, 大塚 滋

An Application of "Macerating Enzyme" to Canning of Mandarin Orange—II Examination of the Peeling Conditions and Test Canning

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

Single enzyme methods and the alkali-enzyme method¹⁾ for peeling of mandarin segments were studied to replace the conventional chemical method for the purpose of simplifying the procedure as well as improving the nature of the waste liquids.

1) Single enzyme methods with various pectinase or cellulase preparations were examined and it was found that all these methods are not satisfactory both in the peeling effects and in view of the waste water control.

2) With the alkali-enzyme method, peeling is accomplished quickly with low concentration of both sodium hydroxide and "macerating enzyme". The quality of the segments peeled was as good as those with the conventional chemical method.

3) The enzyme used in the alkali-enzyme method is rather stable and is not inactivated during the repeated use (6—7 times).

4) The alkali-enzyme method gave favorable canned mandarins if suitable measure for inactivating the enzyme is employed before packing.

5) Organic matter content (COD) of the waste liquid from the alkali-enzyme method is lower than that from the conventional chemical method. Most of COD is removed as precipitate by the simple treatment with calcium hydroxide, because the method gives waste liquid of higher concentration of high molecular substances (pectic colloids).

近年みかん内皮の酵素剥皮法が各所で研究, 報告^{1,2)} されている。われわれも数年前より数種の市販酵素剤を用いて試験して来たが, 未だ完全に企業化可能のものは見当たらないのが現状である。

このみかんの酵素剥皮法の検討中に見出したのが前報³⁾で報告したアルカリ—酵素法である。すなわち低濃度のアルカリで短時間処理した後, 組織崩壊酵素で処理すれば, 十分な剥皮効果が得られるだけでなく, 廃水処理性の面でもすぐれていることが認められた。

本報ではこの方法のみかん缶詰工場への応用の可能性を調べる目的で剥皮条件, 酵素液の安定性と反復利用の限界, 剥皮後の酵素失活処理条件を検討し, さらに実缶の製造, 貯蔵試験を行なったのでその結果を報告する。

1. 実験方法

1) 酵素剤

組織崩壊酵素は近畿ヤクルトKK製造のマセロチーム、セルラーゼは同社製のセルラーゼ・オノヅカを使用した。他の酵素剤は市販品を使用した。

2) みかん

市販のみかんのSサイズを購入使用した。

3) 剥皮方法

1ℓのナス型フラスコに常法通りホロ割したみかん 400g を入れ、アルカリ液、酵素液のそれぞれ 500ml を加え、宮本式ロータリーエバポレーターの回転軸に直結し (96rpm) 所定温度の恒温水槽中で所定時間回転反応させた。

剥皮後はナス型フラスコのまま流水中で30分水晒しを行なった後、剥皮状態を調べた。

実缶試験用のみかんの剥皮には塩化ビニル樹脂製のドラム (内径 35cm, 長さ 45cm) を使用した。ドラムの内側に径 5mm のガラス棒16本を張り付け攪拌効果を出した。このドラムに 10kg のみかんと 15kg のアルカリまたは酵素液を入れ、所定時間 10rpm で回転反応させた。

4) 酵素活性の失活処理

実缶製造用のみかんは剥皮後、酵素活性を失活させるため1.2倍量の0.2% NaOH (水温、約10°C) 中に3~5分間浸漬した後水晒しを行なった。

5) 缶詰製造法

缶詰の製造は常法通り行ない、2~3月産のpHの高いみかんはクエン酸を添加し最終pHが3.6以下になるよう調節した。殺菌は20rpmの低温殺菌機を使用し、80°Cで10分間行なった。

6) 缶詰貯蔵試験

製品の貯蔵は37°Cの恒温室で行なった。開缶試験は常法通り行い、特に固形量の変化、果肉の軟化、異味異臭の発生の有無を検討した。

7) 廃水の分析法

前報に準じて行なった。CODは固形物を除去した液 (原廃液) と、その液 200ml に2gの水酸化カルシウムを加えて生じた沈でん物を除去した後のCOD (水酸化カルシウム処理後のCOD) について測定した。

2. 実験結果

1) 酵素単独剥皮法の検討

9種類の市販酵素剤を用いてみかん内皮の剥皮試験を行った。剥皮条件は従来の酸-アルカリ併用法の設備への適用を考慮して、40°Cで2時間処理した。結果を表1に示した。

表1にみられるように、酵素濃度2%でこの条件ではC社のセルラーゼ剤が最良で次いでG社のヘミセルラーゼが良好であった。今回の試験ではペクチナ

Table 1 Peeling of mandarin segments with commercial enzyme products. (Stationary tests)

	Enzymes		Results
1	Pectinase	(A)	Poor
2	"	(B)	Poor
3	Cellulase	(C)	Satisfactory
4	"	(D)	Poor
5	"	(E)	Poor
6	"	(E)	Poor
7	"	(F)	Poor
8	"	(G)	Poor
9	Hemicellulase	(H)	Considerable

Mandarin segments were soaked in 2% enzyme solution and allowed to stand for 2 hrs. at 40°C.

ーゼ系統は剥皮不良であった。

その後より強力な酵素剤の入手が可能になり、酵素濃度も次第に低くて十分な効果が得られるようになって来た。そこで試験したのが表2の結果である。

40°C 2時間処理では表2の如く酵素濃度 0.5~1%で十分剥皮可能であった。特にJ社の組織崩壊酵素と同社のセルラーゼを併用したものは良好な結果を示した。

2) 各種剥皮法の比較検討

表3に3種の剥皮方法を比較した結果を示したが、アルカリ一酵素法は酵素単独法に比べ酵素濃度、剥皮効果及び時間の点ですぐれており、ほとんど従来

法と同程度の良好な結果が得られた。さらにこれらの廃水の性状を比べると、アルカリ一酵素法では総CODが低だけでなく、高分子のCODが75%を占めていた。一方酵素単独法では総CODが32,700ppmと高いだけでなく、その80%以上が低分子で占められていた。

3) アルカリ一酵素法に対する各酵素剤の適応性

以上述べたようにみかん内皮の剥皮にアルカリ一酵素法が有効であることがわかったが、この方法に適した酵素剤を選択する目的で行ったのが表4の結果である。

マセロチーム、セルラーゼオノズカ併用区以外は剥皮効果も若干劣るばかりでなく、廃水の原CODも高いだけでなく水酸化カルシウム処理後のCODが高い(低分子のCODが多い)ことから不適当と判断した。このことからアルカリ一酵素法は全ての酵素剤に適応はせず、特定のタイプの酵素剤にだけ有効であることが認められた。

4) 酵素液の反復使用試験

Table 3 Peeling of mandarin segments with the alkali-enzyme method, simple pectinase method and conventional chemical method, and analysis of the waste liquids.

	Alkali-enzyme method		Simple pectinase method	Conventional chemical method	
	Alkali treatment	Enzyme treatment		Acid treatment	Alkali treatment
Weight of segments before peeling	6 kg		6 kg	6 kg	
Weight of segments after peeling	5.3 kg		5.1 kg	5.4 kg	
Results	Good		Considerable	Good	
Liquid used	10 ℓ	10 ℓ	10 ℓ	10 ℓ	10 ℓ
Waste liquid pH	11.85	4.50	4.49	1.55	11.81
BOD (ppm)	18580	2710	2020
COD (ppm)	4320	3370	32700	4100	4160
COD of dialyzate (ppm)	1080	860	26710	3440	1830
COD of dialyzed solution (ppm)	3180	2410	5400	530	1960

Table 2 Peeling of mandarin segments with commercial enzyme products. (Agitation tests)

Enzymes	Concn.	Results
Pectinase (H)	0.5%	Considerable
Cellulase (I)	1.0	"
" (C)	0.5	"
Macerating enzyme (J)	0.5	"
" (J)		
" + cellulase (J)	0.4 0.1	Good

Mandarin segments were added to the enzyme solution contained in a 1000 ml flask. The flask was turned at 96 rpm for 2 hrs. in a water bath at 40°C.

酵素剤で剥皮する場合の大きな問題は酵素液が何回位の反復使用に耐えるかということである。前報にも一部報告したが、さらに検討を加えたので一例を表5に示す。

アルカリ—酵素法で剥皮した場合のへそ残りの状態は、従来の酸—アルカリ法に類似しており、水晒し工程で十分除けると判定した。表5の結果からみてこの酵素剤はかなり安定であり pH 調節を行えば6~7回の反復使用は可能であることが認められた。なおこの試験は3日間にわたり行なったもので酵素液は夜間のみ冷蔵庫に保管した。

反復使用時の COD の増加は表5、図1の如くである。

原 COD は6~7回目迄は直線的に増加するが、水酸化カルシウム処理後の COD (低分子の COD) は4回以後は殆んど増加を示さない。一方剥皮効果は6~7回迄認められることから、みかん内皮は水酸化カルシウム処理で除ける程度の分子量(500~1,000以上)迄分解すれば十分剥皮出来、それ以上細く分解する必要はないとも考えられる。この点については現在更に検討中である。

5) 酵素活性の失活処理条件の検討

みかん缶詰に限らず桃缶詰などでも酵素剥皮を行なった製品を貯蔵して置くと6ヶ月以後果肉が著しく軟化することがある。この点を検討するために試験を行ない、結果を図2に示す。

対照区には酸—アルカリ剥皮を用い、アルカリ—酵素法で剥皮したみかんを、無処理区はそのまま、失活処理区は剥皮後0.2%水酸化ナトリウム溶液(水温、10°C)に5分間浸漬した後水洗して

Table 4 Suitability of enzymes for the alkali-enzyme method.

Enzymes	Concn.	COD	COD (After the treatment with Ca(OH) ₂)	COD Removed
Pectinase (H)	0.2%	10050 ^{ppm}	7110 ^{ppm}	29%
Cellulase (C)	0.3	7660	4450	42
" (I)	0.3	10030	3534	65
"Macerozyme" + "Cellulase Onozuka"	0.2 0.1	4370	730	83
Other macerating enzyme	0.5	8640	3650	58

Alkaline pretreatment.....0.5% NaOH, at 35°C for 20 min.

Enzymatic treatment.....At 35°C for 50 min. at 96 rpm.

Table 5 Repeated use of the enzyme solution. ("Macerozyme" + "Cellulase Onozuka")

	1	2	3	4	5*	6	7	8*	9	10
Segment with bundle and "center albedo" %	2.7	0	3.9	24.0	6.4	10.7	12.0	12.0	36.5	16.0
Segment with bundle %	1.4	5.4	10.4	9.3	5.1	9.3	10.7	5.3	13.5	12.0
Segment with "center albedo" %	28.4	23.0	26.0	28.0	21.8	20.0	34.7	30.7	28.4	42.7
Peeled segments %	67.6	71.6	59.7	38.7	66.7	60.0	42.7	52.0	21.6	29.3
Segments with "center albedo" and peeled %	95.9	94.6	85.7	66.7	88.5	80.0	77.3	82.7	50.0	72.0
COD ppm	3159	5522	7884	9890	11936	13342	14790	15190	15640	16231
COD increased ppm	—	2363	2362	2006	2046	1406	1448	400	450	591

Alkali pretreatment.....0.5% NaOH, at 35°C for 20 min.

Enzymatic treatment.....0.2% "Macerozyme" + 0.1% "Cellulase Onozuka", at 40°C for 50 min. at 96 rpm.

* Before the start of 5th and 8th runs pH was adjusted to 5.0 by adding sodium bicarbonate.

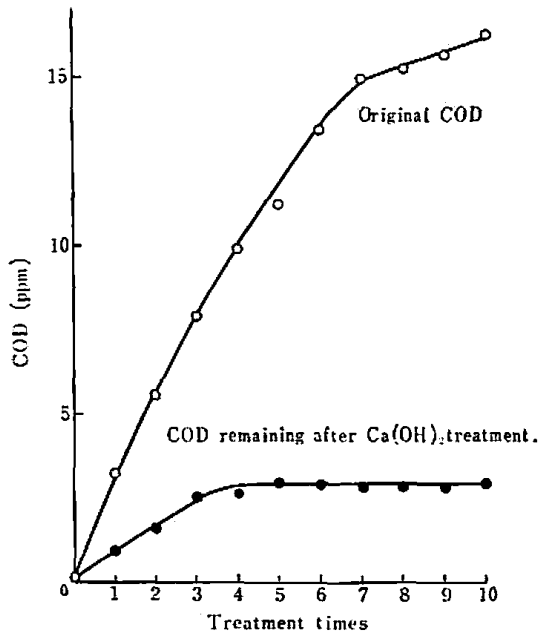


Fig. 1 Repeated use of the enzyme solution ("Macerozyme" + "Cellulase Onozuka")
 —COD of the waste liquid and its calcium hydroxide treatment.

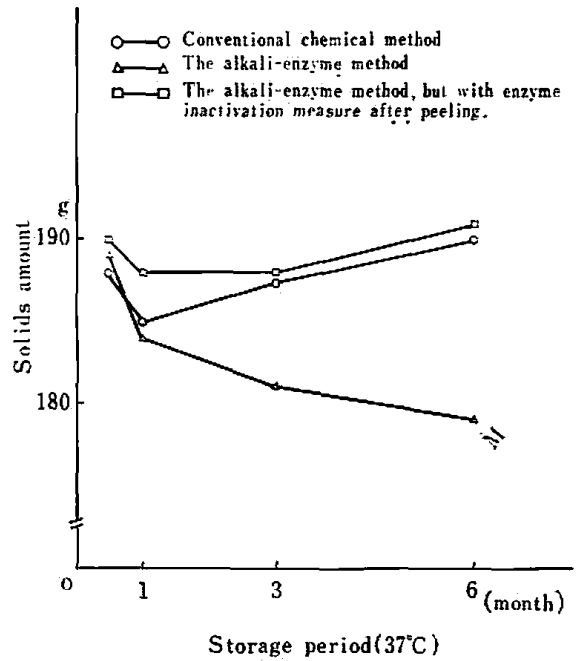
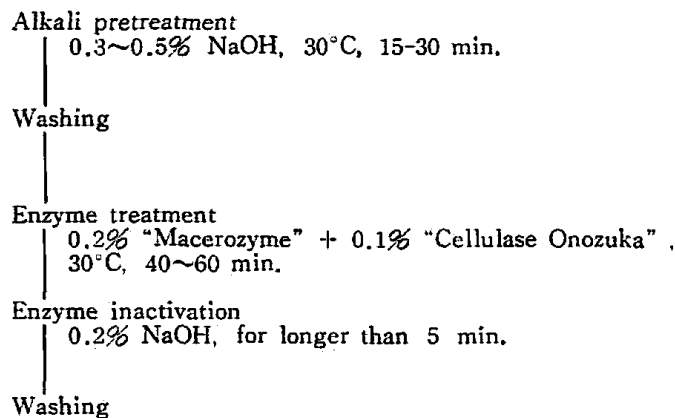


Fig. 2 Changes in solids amount of canned mandarins peeled with various methods.

常法通り缶詰を製造した。製品を 37°C 恒温室に貯蔵すると図 2 の如く無処理区では 3~6 ヶ月後に著しい固形量の減少を示し、同時に果肉の軟化が起り商品価値を失なうことが確認された。

そこで種々検討を加えた結果 0.2% 水酸化ナトリウム溶液中 (水温で) に 3~5 分浸漬すれば残存酵素が失活することを認めた。

以上現在迄に行なった検討結果をまとめると、アルカリ-酵素法の条件としては



Procedure for peeling of mandarin segments with the present method.

が適当と考えられた。

6) 缶詰の貯蔵試験

以上の方法で剥皮したみかん缶詰の貯蔵試験結果を表 6, 図 3 に示した。

表 6 にみられるように、アルカリ-酵素法で剥皮し、失活処理を行なった製品は十分対照の酸-アルカリ剥皮に匹敵する良好な結果がえられた。

Table 6 Examination data of canned mandarins peeled with various method after storage.

	Control (chemical method)				Alkali-enzyme method*				Alkali-enzyme method			
	2 days	1 month	3 months	6 months	2 days	1 month	3 months	6 months	2 days	1 month	3 months	6 months
Solid g	182	185	186	189	195	195	189	192	194	189	185	186
Brix %	20.7	17.2	17.0	17.0	20.0	16.9	16.7	16.8	19.6	16.8	16.8	16.9
pH	3.2	3.5	3.5	3.5	3.5	3.7	3.7	3.7	3.5	3.7	3.6	3.7
Hardness	—	.860	.850	.679	—	.664	.696	.606	—	.503	.550	.276
Hue	.030	.098	.151	.212	.040	.101	.158	.208	.043	.102	.143	.224

* After peeling treated with 0.2% NaOH for 5 min. to inactivate the enzymes.

図3の結果で無失活区の製品の硬度は、6ヶ月目で急激に低下が認められたが、固形量の減少はみられなかった。しかしこの硬度の低下は残存酵素活性による果肉の軟化が起きたことを示しており、貯蔵9ヶ月以降には明らかな固形量の減少をきたすものと考えられる。

3. 考 察

みかん内皮の剥皮法として酵素単独法およびアルカリ-酵素法についての結果を述べたが、酵素単独法の場合にはまだかなりの問題が残っている。第一の問題は酵素濃度を比較的高くし、しかも長時間かけないと十分な剥皮効果が得られないことで、これは直接製品価格の上昇につながる。第二は廃水の性状についてであるが、ペクチナーゼ系、セルラーゼ系の何れにおいてもCODが著しく高くなる。これはおそらくendo型よりもexo型の酵素活性が優性に働くためと考えられる⁹⁾。その結果高分子のCODは少なく、低分子のCODが数万ppmを示す。このような廃水は微生物により分解し易いものではあるが、かなりの規模の廃水処理設備が必要になる。

一方、アルカリ-酵素法では、酵素濃度も比較的低濃度でしかも短時間に剥皮できる。さらに、この場合にはendo型の酵素活性が優性に働くため、全CODも少く、しかも低分子CODが低い。廃水処理設備の面からもすぐれた方法といえよう。

アルカリ-酵素法でみかん内皮を剥皮する場合、特定の酵素剤（例えばマセロチームなど）のみが効果的であることが認められた。その原因については現在の所不明であるが、今後アルカリ前処理によるみかん内皮成分、特にペクチン質、セルロースなどの変化、酵素剤中の各酵素活性の分画などの面から検討を行いたいと考えている。

酵素剥皮を行なった場合、剥皮終了後の果肉中の残存酵素活性を十分失活させる必要のあることが実証試験成績より確認された。これは他の果実の場合にも認められているが⁹⁾、今後は剥皮用の酵素剤としては十分な剥皮効果を有するだけでなく、失活処理の容易なものが要求されるであろう。

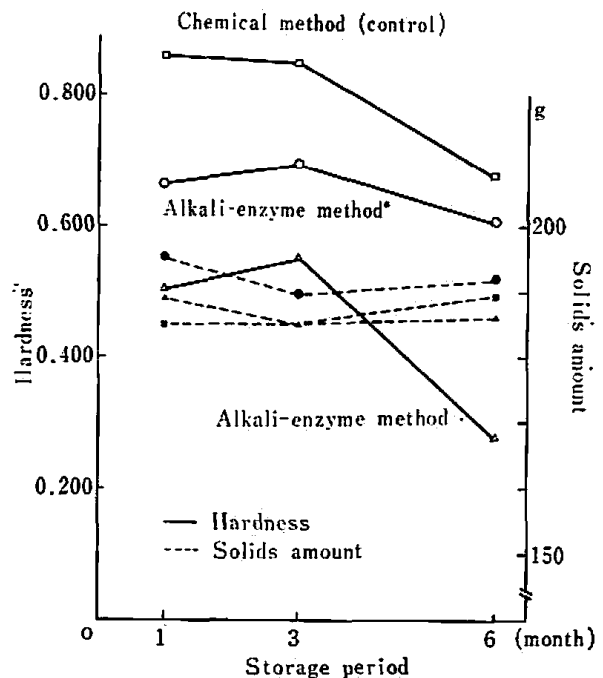


Fig. 3 Change of hardness and solids amount of canned mandarins peeled with various methods during storage.

* See Table 6.

4. 要 約

みかん内皮の剥皮に際して酸アルカリ法に代わるものとしての酵素単独法、アルカリ酵素法の検討を行った。その結果

- 1) 酵素単独法ではいまだ剥皮効果、廃水の性状の面から問題がある。
- 2) アルカリ酵素法では低濃度で、しかも短時間に剥皮できる。この剥皮みかんの品質は従来法に遜色のない良好な状態である。
- 3) 使用した酵素剤は十分な安定性を有し、6～7回の反復使用が可能である。
- 4) アルカリ酵素法により剥皮したみかんは、適当な失活処理により十分良好な品質の缶詰製品がえられる。
- 5) 本法による廃水は全 COD がいちじるしく低く、しかも高分子 COD が多いため、カルシウム塩などで凝集沈でん処理後は非常に COD が低くなり、処理性にもすぐれている。

文 献

- 1) 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).
- 2) 相沢孝亮: 昭和48年度みかん工業組合総会資料.
- 3) 富永哲彦, 奥正和, 宮廻和代, 加藤育代, 下田吉夫, 大塚滋: 本誌, 11, 14 (1974).
- 4) 遠藤章: New Food Industry, 17, No 3, 24 (1975).
- 5) 下田吉夫, 奥正和: 未発表.