

容器詰食品における加熱後の果肉の褐変

— 第2報 褐変発現実験 —

朝賀 昌志, 中尾 浩*, 稲田有美子, 遠田 昌人, 森 大蔵**

**Browning Discoloration due to Reheating of Canned Food – II
Reappearance of Brownish Discoloration in Agricultural Products**

Masashi Asaka, Hiroshi Nakao, Yumiko Inada, Atsuhito Enda and Daizou Mori

In canned agricultural products such as *natsudaidai*, pericarp of *natsudaidai* in marmalade, radishes, corn, and bamboo shoots, browning discoloration sometimes occurs. For this reason, browning discoloration in agricultural products due to reheating was studied.

The materials of their agricultural products were inoculated with *Gluconobacter oxydans* or *Enterobacter intermedius* isolated from *natsudaidai*, and then incubated. After reheating these products, browning discoloration similar to that which occurs in commercial canned foods was observed.

To prevent discoloration on reheating, it was important that the growth of bacteria was prevented and sanitation, time, and temperature must be controlled during processing from receipt to sterilization.

Key words : browning discoloration, reheating, agricultural products, canned food, *Gluconobacter oxydans*, *Enterobacter intermedius*, *natsudaidai*, marmalade, radishes, corn, bamboo shoots

食品の褐変現象は、大きく分けて酵素的褐変と非酵素的褐変があるが、その原因は多種多様であり、多くの文献もある。容器詰食品の場合、褐変したものは色調が悪くなるだけにとどまらず香味の劣化等を伴うことが多く、その防止は食品加工上の重要な問題点になっている。

肉詰時に正常な色調をしている原料を充填し、密封・殺菌した缶詰を開缶すると、内容物が部分的に通常品では考えられない程極端に褐変する事例がある。この様に殺菌など加工段階での加熱による極端な褐変（以下加熱後褐変）は、製造段階では正常な色調をしているため、工程上で褐変する原料を除去できず、消費者が開缶した時に初めて明らかとなるため特に問題となる。

この加熱後の褐変現象は水産加工品ではかまぼこ等水産練り製品¹⁻⁷⁾、農産加工品ではパインアップルのピンク病^{8, 9)}がよく知られている。しかし最近、これら以外に夏みかんシラップ漬缶詰において製造後に缶詰を開缶すると褐変した果肉が混入している場合があり、大きな問題になっている。この加熱後褐変に関しては第1報で夏ミカンから2菌株（*Gluconobacter oxydans*と*Enterobacter intermedius*）の褐変原因菌を分離し、それら分離した菌が夏

ミカンを加熱後褐変させることを報告した。一方、数年前からダイコン水煮缶詰、タケノコ水煮缶詰、マーマレードびん詰の果皮、コーン水煮缶詰のような農産加工品についても原因不明の褐変が生じクレームになっている。

そこで、夏みかんから分離した褐変原因菌をこれら食品に接種し、事例と同様な褐変が生じることを確認したので報告する。

材料及び方法

1. 接種した褐変原因菌の調製

夏ミカンから分離した褐変原因菌*Gluconobacter oxydans* (MBRC14819[†]) 及び*Enterobacter intermedius* (a1-1) を標準寒天 (SMA) 培地に塗抹し、30℃にて3日間培養した。培養後、菌苔を掻き取り、滅菌生理食塩水に懸濁した。その菌数は*G. oxydans*が 2.1×10^8 CFU/ml、*E. intermedius*が 1.8×10^8 CFU/mlであった。

2. 過去にクレームがあった農産加工品の加熱後褐変の再現

1) 夏ミカンシラップ漬の果肉の加熱後褐変再現試験

夏ミカンを剥皮、身割したものに分離菌 (*G. oxydans*)

* : 元東洋食品研究所

** : 元東洋食品工業短期大学

の懸濁液を1 ml (2.1×10^8 CFU) 接種, 30℃で2日培養した。そのじょうのう膜を剥皮して袋に詰め、ブリックスが18になるように調製した注液を注入、シール後、夏ミカンシラップ漬缶詰の一般的な殺菌条件である85℃で15分殺菌した。

2) マーマレード中の果皮の加熱後褐変再現試験

夏ミカンの果皮を5~6 mm角に細刻, 100℃で5分ブランチング後冷却したものに分離菌 (*G. oxydans*, *E. intermedius*) の懸濁液を1 ml (前者が 2.1×10^8 CFU, 後者が 1.8×10^8 CFU) 接種, 30℃で1日培養した。それを袋に詰め、水を加えてシール後, 100℃で15分加熱した。

3) ダイコン水煮の加熱後褐変の再現試験

ダイコンを剥皮, 約1 cm厚に輪切りにして, 100℃で60分ボイル, 冷却したものに分離菌 (*G. oxydans*, *E. intermedius*) の懸濁液を1 ml (前者が 2.1×10^8 CFU, 後者が 1.8×10^8 CFU) 接種, 30℃で1日培養したものを袋に詰め、水を加えてシール後, 100℃で15分加熱した。

4) コーン水煮の加熱後褐変の再現試験

冷凍コーンを解凍し, 分離菌 (*G. oxydans*, *E. intermedius*) の懸濁液を1 ml (前者が 2.1×10^8 CFU, 後者が 1.8×10^8 CFU) 接種, 30℃で1日培養した後, 袋に詰め、水を加えてシール後, 100℃で15分加熱した。

5) タケノコ水煮の加熱後褐変の再現試験

18 l 缶詰タケノコを切断したものに分離菌 (*G. oxydans*, *E. intermedius*) の懸濁液を1 ml (前者が 2.1×10^8 CFU, 後者が 1.8×10^8 CFU), ホールに*E. intermedius*の懸濁液を2 ml (3.6×10^8 CFU) 接種, 30℃で1日培養した後, 袋に詰め、水を加えてシール後, 100℃で15分加熱した。

3. 褐変事例の食品中の糖類及び遊離アミノ酸の測定

糖類及び遊離アミノ酸はHPLC法で測定した。

4. 褐変の判定

目視により褐変の有無を判定した。



Fig. 1 The browning of canned natsudaidai

結果及び考察

1. 過去にクレームがあった農産加工品の加熱後褐変の再現

1) 夏ミカンシラップ漬の果肉の加熱後褐変再現試験

一般的に夏ミカンは12月に収穫され, その後冷蔵庫に貯蔵, 3~6月頃まで缶詰にされている。5月までの製造では問題はないが, 6月に製造すると缶詰の殺菌後に褐変するものが現れることがある。Fig. 1にクレームがついた缶詰の内容物を示した。内容物全てが褐変するのではなく, いくつかは褐変していた。

6月の生原料を用いて, 外皮剥皮後直ちに, 薬品処理で内皮を除去して缶詰を製造した場合, 果肉に褐変は生じなかった。そこで, 身割りした生の夏みかん (じょうのう膜がついている状態) に, 分離した褐変原因菌 (*G. oxydans*) を接種, 培養後, 薬品処理で内皮を剥皮した試料を加熱した。その結果をFig. 2に示した。菌を接種した左側2つは明らかに褐変したが, 無接種の右側は褐変しなかった。

夏みかんシラップ漬缶詰の一般的な製造は, 原料をスコルダーにかけ, 外皮の剥皮と身割を外注に出し, 1~2日後に製造工場内で内皮を酸・アルカリ処理で剥皮して缶詰を製造している。

今回, 外皮を剥皮し身割りした直後に製造した場合は褐変しないが, 褐変原因菌を接種・培養した場合は加熱処理により褐変した。このことから, 気温が高くなった6月に製造した場合, 外注に出した剥皮・身割後から殺菌までの間に褐変原因菌が入り, 発育し, 褐変前駆物質が生成され, 缶詰の殺菌工程での加熱によって褐変前駆物質が反応して事例の果肉の褐変は発現したものと推定する。水産練り製品では褐変前駆物質として2,5ジケト-グルコン酸が示されている⁷⁾。

この褐変防止には, 褐変原因菌が増殖しないように, 外注に出すコンテナを洗浄・清潔にし, 外注先での衛生状態を管理するとともに, できるだけ速やかに衛生的に加工処理することが必要である。



Fig. 2 The symptom of natsudaidai inoculated with the isolated bacteria (*G. oxydans*).
Left and center : inoculated, right : uninoculated



Fig. 3 The browning of the pericarp in the marmalade.



Fig. 5 The symptom of pericarp in the marmalade inoculated with the isolated bacteria (*E. intermedium*).
Left : before heating, right : after heating

2) マーマレード中の果皮の加熱後褐変再現試験

マーマレード製造では、ブランチングした冷凍果皮を原料として使用し、解凍した果皮に糖を加え加熱調理後、容器に充填して製造する。Fig. 3 にマーマレードのクリーム品を示した。マーマレード中の果皮全てが褐変しているのではなく、一部の果皮が褐変したものであった。

ブランチングした夏ミカンの細刻果皮に分離した褐変原因菌 (Fig. 4 が *G. oxydans*, Fig. 5 が *E. intermedium*) を接種、培養した。Fig. 4, Fig. 5 とともに菌を接種、培養後、加熱した右側のものは明らかに褐変したが、無加熱の左側は褐変しなかった。分離菌 *G. oxydans* と *E. intermedium* の褐変の程度は *G. oxydans* のほうが著しかった。

クリーム品の製造では、夏ミカンの冷凍果皮を解凍した時点で褐変は見つけられていないが、解凍して砂糖を加えて煮ると褐変が生じたことから、今回確認した褐変原因菌による加熱後褐変と同様な原因によると推察される。原料果皮は1次加工でブランチング後冷凍保存され、マーマレード製造時に解凍して製造していることから、夏ミカン果



Fig. 4 The symptom of pericarp in the marmalade inoculated with the isolated bacteria (*G. oxydans*).
Left : before heating, right : after heating

皮の1次加工でのブランチング後から冷凍まで或いはマーマレード製造時の解凍後に汚染されその後の状況によって、原因菌が増殖し褐変前駆物質を生成したためにこの褐変が発生したのではないかと推定する。

1次加工で原因菌の汚染・増殖を防止するための衛生管理とマーマレード製造時に夏みかん果皮を解凍後直ちに衛生的に加工処理することが褐変防止に必要である。

3) ダイコン水煮の加熱後褐変の再現試験

ダイコン水煮缶詰で肉詰め時には正常な色調をしていたが、殺菌後に開缶したところFig. 6 のように赤褐色に褐変したものがあつた。

輪切りして、ボイルしたダイコンに分離した褐変原因菌 (Fig. 7 が *G. oxydans*, Fig. 8 が *E. intermedium*) を接種、培養した。Fig. 7, Fig. 8 とともに菌を接種、培養後、加熱した右側のものは明らかに褐変し、その程度は夏みかん果皮と同様に分離菌 *G. oxydans* のほうが *E. intermedium* より褐変が著しかった。無加熱の左側では正常な色調であつた。

ダイコン水煮缶詰はダイコンを輪切り後ボイルして肉詰するので、生の原料が褐変原因菌に汚染されていた場合、ボイル時に褐変する。このため、クリームとなった缶詰では、ボイル後のダイコン原料が殺菌までの間に褐変原因菌に汚染され、菌が発育し、褐変前駆物質が生成した原料を缶に詰めたため、殺菌時の加熱によって褐変が起こったものと考えられる。

ダイコンをボイル後、直ちに衛生的に加工処理することが褐変防止には必要である。

4) コーン水煮缶詰の加熱後褐変事例と再現試験

コーン水煮缶詰で缶詰中の一部のコーンが褐変するとの情報があり、その原料と同一ロットの冷凍コーンを用いて1号缶詰を試作して褐変の再現試験をしたが一粒のコーンも褐変しなかった。

そこで冷凍コーンを解凍し、夏みかんから分離した褐変原因菌 (Fig. 9 が *G. oxydans*, Fig. 10 が *E. intermedium*) を

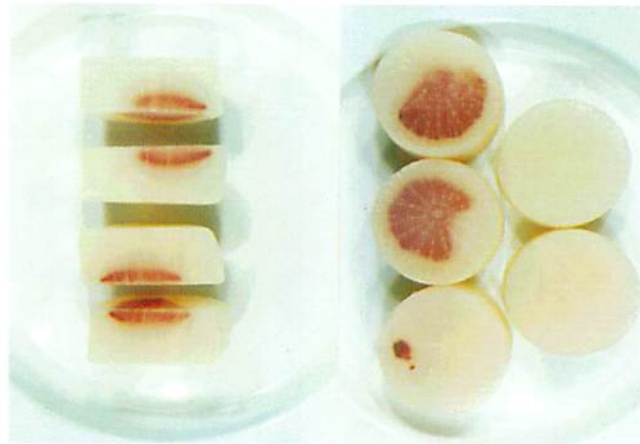


Fig.6 The browning of canned radish.

Fig.7 The symptom of radish inoculated with the isolated bacteria (*G. oxydans*).

Left : before heating, right : after heating

Fig.8 The symptom of radish inoculated with the isolated bacteria (*E. intermedius*).

Left : before heating, right : after heating

接種, 培養した. Fig.9, Fig.10とも菌を接種, 培養後, 加熱した右側のものは明らかに褐変していた. その程度は分離菌*G. oxydans*は1日後でほとんど全ての粒が褐変したが, 分離菌*E. intermedius*は加熱しても一部の粒しか褐変せず, 褐変能が弱かった. 無加熱の左側は正常な色調であった. 同一ロットの原料を加熱しても褐変せず, 菌接種した原料で褐変したことから, コーン水煮缶詰製造で解凍後の原料が褐変原因菌に汚染されたために褐変したと考える.

冷凍コーンを解凍後, 直ちに衛生的に加工処理することが褐変防止には必要である.

5) タケノコ水煮缶詰の加熱後褐変事例と再現試験

中国産のタケノコ18ℓ缶詰を開缶したところ同じ缶詰のタケノコ全てが褐変し (Fig.11の右), 切断するとFig.12のように内部まで褐変していた. 正常品 (Fig.11の左) は正常な色調をしていた.

そこで褐変していない正常な18ℓ缶詰のタケノコを切断し, その切片に夏ミカンから分離した褐変原因菌 (Fig.13が*G. oxydans*, Fig.14が*E. intermedius*) を接種, 培養した. Fig.13, Fig.14ともに菌を接種, 培養後, 加熱した

右側のものは褐変したが, 無加熱の左側は正常な色調であった. 菌株の差をみると, *E. intermedius*を接種したもののほうが褐変は弱かった.

ホールのタケノコに*E. intermedius*を接種, 培養したものは加熱によってタケノコの外側がクリーム品と同様な色調で褐変したが, 中心部はまだ褐変していなかった (Fig.15).

以上の結果から, この褐変原因は褐変原因菌によるものと推定した. 缶詰のどの段階で褐変したかについては, ①缶詰内全てのタケノコが褐変していること, ②中国で製造するとき原料をボイル, 冷却後, 18ℓ缶で水晒しを行なっている工程が判明したこと, これら2点から, 水晒しの段階で褐変原因菌が繁殖し, 新しい注液を加えて殺菌したときに褐変したものと推察される.

2. 再現試験を行った原料中に含まれる糖と遊離アミノ酸

褐変原因菌がどのような糖類やアミノ酸類を利用するか調査した藤田らの結果をTable 1にまとめた⁶⁾. 同氏らは褐変前駆物質の生成にはグルコースが最も強く関与し, それと反応して褐変物質を生成するにはグリシンが最も強く



Fig.9 The symptom of corn inoculated with the isolated bacteria (*G. oxydans*).
Left : before heating, right : after heating



Fig.10 The symptom of corn inoculated with the isolated bacteria (*E. intermedius*).
Left : before heating, right : after heating



Fig.11 The browning of canned bamboo shoot.
Left : Normal, right : Browning



Fig.12 The browning of canned bamboo shoot (half cut).



Fig.13 The symptom of bamboo shoot inoculated with the isolated bacteria (*G. oxydans*).
Left : before heating, right : after heating



Fig.14 The symptom of bamboo shoot inoculated with the isolated bacteria (*E. intermedius*).
Left : before heating, right : after heating

関与することを明らかにした。

これら糖類やアミノ酸が再現試験を行った原料中に含まれているか調べた結果をTable 2に示した。その結果、いずれの原料にも褐変に関与する糖もアミノ酸も含まれていた。その量は夏みかんの果皮のように糖が少ないものでも、タ

ケノコのように糖もアミノ酸も少ないものでも褐変原因菌を接種、培養後、加熱すると褐変した。このことから褐変原因菌による加熱後褐変には微量の糖やアミノ酸で反応が進むことが示された。そのため、褐変事例以外の食品でも褐変原因菌が発育すれば加熱後褐変が生じうると考える。

Table 1 Effects of carbohydrates and amino acids on the browning of culture fluid by heating

Bacteria tested	Carbohydrates	Amino acids and Proteins
<i>Achromobacter brunificans</i>	Glucose, Sorbose, Glycerin	Glycine, Na-Glutamate,
<i>Serratia marcescens</i>	Glucose, Arabinose, Sorbose	Arginine, Histidine, Lysine
<i>Enterobacter cloacae</i>	Glucose, Saccharose	Casein, Gelatine

Table 2 Contents of carbohydrates and free amino acids in foods

Trial foods	Contents of carbohydrates (%)		Contents of free amino acids (mg/100g)				
	Glucose	Saccharose	Gly	Arg	His	Lys	Na-Glu
<i>Natsudaaidai</i>	2.5	6.8	1.0	68.4	1.6	2.4	17.7
Pericarp of natsudaaidai	0.3	0.4	0.5	13.8	1.9	0.9	13.8
Radish	0.9	0.1	1.0	5.0	0.9	0.8	10.7
Corn	0.4	8.3	2.4	4.9	0.8	3.7	29.4
Bamboo shoot	0.9	0.1	0.6	0.9	1.1	0.5	0.8



Fig.15 The symptom of whole bamboo shoot inoculated with the isolated bacteria (*E. intermedius*).

Left : before heating, right : after heating

まとめ

夏みかんから分離した*G. oxydans*及び*E. intermedius*を褐変事例の夏みかん、マーマレード用夏みかんの果皮、ダイコン、コーン並びにタケノコに接種して培養後、加熱することにより褐変することを再現した。その結果、これらの事例の褐変は褐変原因菌による可能性が大となった。

その褐変防止には、農産物の加工に際し、原料処理から殺菌までの衛生管理と放置時間並びに温度の管理が大切であり製造工程でこれら菌が繁殖しないようにすることが最も重要である。

文 献

- 1) 小川博望, 小名木正身, 福島 清: 食衛誌, 11, 352-355 (1970).
- 2) 小川博望, 小名木正身, 福島 清: 食衛誌, 11, 356-360 (1970).
- 3) 金山龍男, 藤田八東, 松田敏生: 日水誌, 39, 221-228 (1973).
- 4) 藤田八東, 金山龍男: 日水誌, 39, 229-235 (1973).
- 5) 藤田八東, 金山龍男: 日水誌, 39, 327-331 (1973).
- 6) 藤田八東, 宮本美和子: 日水誌, 41, 1263-1269 (1975).
- 7) 藤田八東, 松本寿子, 松田敏生: 日水誌, 44, 643-651 (1978).
- 8) 徳元正和, 金城清朗, 林 龍治: 南方資源利用技術研究会誌, 4, 29 (1988).
- 9) 徳元正和, 金城清朗: 日食工誌, 37, 758-764 (1990).