

透明パウチ詰パイナップルの褐変原因調査

井上 竜一, 高橋 英史

Study on the Browning Factor of Pineapple in the Transparent Pouch

Ryuuichi Inoue and Hidehito Takahashi

The browning of pineapple in transparent pouch is very important problem for storage. It is suspected that the browning is affected by the enzyme reaction or the Maillard reaction using ascorbic acid and sugar. In order to determine the cause of the browning, it was studied a relationship between the browning and deterioration of the ingredient.

The activity of the polyphenoloxidase and the protease were measured. The polyphenoloxidase activity was not detected in the raw flesh. The maximum reaction temperature of the protease is 40°C, and that activity is stable until 50°C. The protease in pouched pineapple was inactivated by the pasteurization ($F_{85} = 12.6$). It seemed that these enzymes are not concerned in the browning.

The concentration of intermediate of the Maillard reaction was measured. The furfural which is an intermediate of the Maillard reaction derived from ascorbic acid was a low concentration, so ascorbic acid is not main substance for this browning. The concentration of hydroxymethylfurfural which is derived from hexose was linearly-related the Δa^* and correlation coefficient was 0.97. It is suggested that the Maillard reaction using hexose was a cause of the browning of the pouched pineapple flesh during storage.

Key words: pineapple, browning, pouched food, polyphenoloxidase, protease, furfural, hydroxymethylfurfural, Maillard reaction

食品は、保存中の劣化が大きな問題である。古くから劣化抑制法の研究が盛んだが、未解決の問題がある。包装形態の多様化により、缶と共にプラスチック容器が用いられるようになり、缶では問題とならなかった果実類の褐変等の劣化現象が発生するようになった。

褐変には酵素的褐変と非酵素的褐変があり、前者ではポリフェノールオキシダーゼ (PPO) による反応がよく知ら

れており、後者は糖を基質として 100°C 以上の加熱時に進行するカラメル化反応と糖とアミノ酸などを基質とするメイラード反応によるものがある (図 1)。高酸性果実加工品では 100°C 以下の低温殺菌が一般的であり、カラメル化反応が起こる可能性は低い。そこで、パイナップルの褐変原因を、PPO やメイラード反応の基質を生成するプロテアーゼ、メイラード反応に関連する成分から調べた。

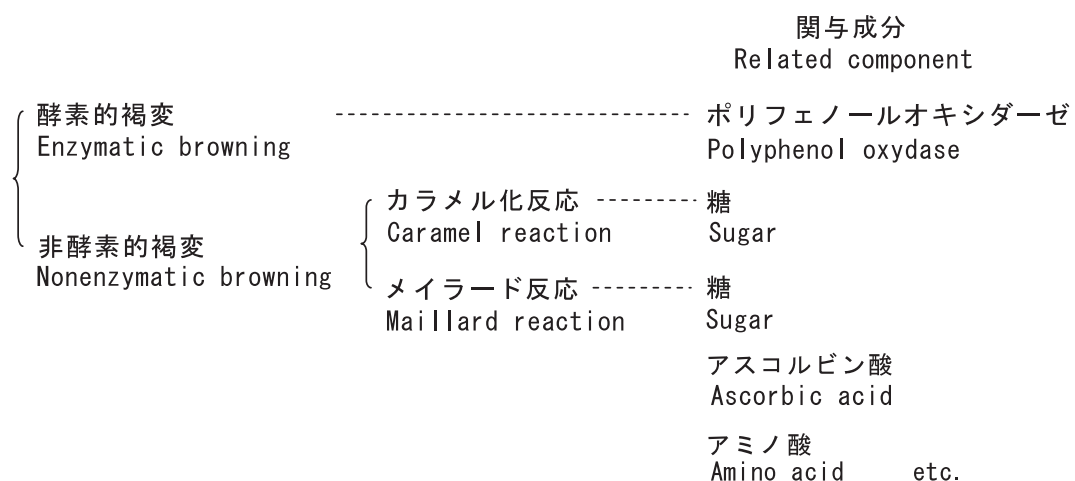


図 1 食品の褐変反応

Fig. 1 Browning reaction of food

実験材料と方法

1. 実験材料

パイナップルはフィリピン産、スモースカイエン種 (Dole 社: 商品名スウィーティオ) を用いた。葉を除く果実部の大きさは、重量: 1.1 ± 0.3 kg、直径: 8.5 ± 1.5 cm、高さ: 11.0 ± 2 cm である。これをパイナップルカッターで外皮と芯を落とした後、円柱状の可食部を、15 mm 厚でカットして、さらにくさび型に 8 等分したものをを用いた。

果糖ぶどう糖液糖 (日本コーンスターチ製: フラクト M 75 C) 9.2 kg にクエン酸 24 g、アスコルビン酸 20 g を加え、イオン交換水にて 40 kg としたものをシラップとして用いた。

2. パイナップルパウチ詰の製法

パイナップル 100 g とシラップ 100 g をパウチ (110 × 160 × 31 mm、25 μ m ナイロン / 60 μ m ポリプロピレン、酸素透過速度: 30 cc/m² · day · atm) に詰め、空気が残らないようにシールした。

3. 殺菌条件

パウチ詰はレトルト装置を用い、シャワー等圧殺菌・シャワー冷却式で雰囲気温度が殺菌温度に到達するまでの時間は 10 分間とし、殺菌温度 85℃ で 20 分間殺菌を行った ($F_{85}=12.6$)。

4. 粗酵素液の調製

生のパイナップル果肉の凍結乾燥粉末 1 g に水 20 ml を加えてホモジナイザーで 5000 rpm、1 分間ホモジナイズした後、濾過したものを粗酵素液とした。

5. ポリフェノールオキシダーゼ (PPO) 活性測定

パイナップル果肉の pH が 3 ~ 3.2 であったため、酵素活性は pH 3 で測定した。測定には分光光度計 U-2000 (日立製) を用いた。

1% カテコール溶液 1 ml、150 mM クエン酸緩衝液 (pH 3) 1.5 ml、MilliQ 水 0.2 ml を混合した水溶液をガラスセルに入れ、37℃ に加温した恒温セルホルダ内で 10 分間プレインキュベートした。粗酵素液 300 μ l を加えた後、420 nm の吸光度を 30 分間経時的に測定し、その傾きから活性を求めた。

6. プロテアーゼ活性用試薬の調製

カゼイン (和光純薬製) 1.2 g を 0.05 N 乳酸 100 ml に加え、加温しながら溶解した後、水酸化ナトリウムで pH 3 に調整し、MilliQ 水を加え 100 ml に調整したものを 1.2 % カゼイン溶液とした。

トリクロロ酢酸 1.8 g、無水酢酸ナトリウム 1.8 g に 6 M 酢酸 5.5 ml 及び MilliQ 水を加え 100 ml に調整したものを 0.4 N トリクロロ酢酸溶液とした。

7. プロテアーゼ活性測定

1.2% カゼイン溶液 1 ml を試験管に取り、37℃ で 5 分間プレインキュベートした。粗酵素液 100 μ l を加え、各温度で 1 時間反応させた。反応終了後、1.1 ml の 0.4 N トリクロロ酢酸溶液を加えて未反応基質の不溶化を行った。No.2 の濾紙にて濾過した濾液 0.5 ml に 0.4N 炭酸ナトリウム溶液 2.5 ml、2 倍希釈したフェノール試薬 0.5 ml を加えて 37℃ で 20 分間インキュベートした後、660 nm の吸光度を測定した ($n=3$)。

プロテアーゼ活性と温度の関係は酵素反応を 4、20、30、40、50、60、70、80℃ で行った。耐熱性は 4、40、50、60、70、80℃ で 10 分間保持した粗酵素液を用いて、37℃ で活性を測定した。

プロテアーゼと温度の関係は 40℃ での活性を、耐熱性は 4℃ で保持したサンプルの活性を 100% として相対比で結果を示した。

8. 色調測定

パインアップル表面の色調は色彩色差計 CR 200 (MINOLTA 製) を用いて測定した ($n=10$)。測定値は $L^*a^*b^*$ 表色系における a^* の変化量 (Δa^*) にて表した。

9. ビタミン C の測定

あらかじめ凍結乾燥させておいたパインアップル果肉粉末 1 g に 4% メタリン酸溶液を加えて 25 ml にメスアップし、濾紙で濾過した物を 20 倍希釈して測定した ($n=2$)。

測定は LC (LC-10A: 島津製) で行った。条件は、カラム: Chemcosorb 5-ODS-H 4.6 × 150 mm (ケムコ製)、移動相: 0.5% メタリン酸溶液、流速: 1 ml、カラム温度: 40℃、吸光度: 242 nm、注入量: 10 μ l で行った。

10. フルフラール (FR)、ヒドロキシメチルフルフラール (HMF) の測定

果実の凍結乾燥粉末 0.5 g に 50% エタノール 20 ml を加え、3 時間振とう後、濾過したものをサンプルとした。

LC-MS (1100 series: Agilent 製) を用い、カラム: Discovery HS-F5 4.6 × 150 mm (SUPELCO 製)、移動相: 0.3% THF 水溶液、流速: 1 ml、カラム温度: 40℃、測定波長: 280nm、注入量: 10 μ l の条件で測定した。

結果

1. 酵素活性

(1) ポリフェノールオキシダーゼ

30 分間の測定中、吸光度の増加が見られないため、生の果実に PPO は全く含まれていないか、含まれていても極微量と考えられる。そのため、保存中の褐変に PPO が関与しているとは考えにくい。

(2) プロテアーゼ

生の果実のプロテアーゼは反応温度が 30 ~ 50℃ で高い

活性を示し、60℃で急激に活性が低下した（図2）。耐熱性を測定した結果、50℃では10分間の加熱処理後の残存

活性が約90%と安定だが、60℃では加熱処理後の残存活性が10%程度まで低下した（図3）。

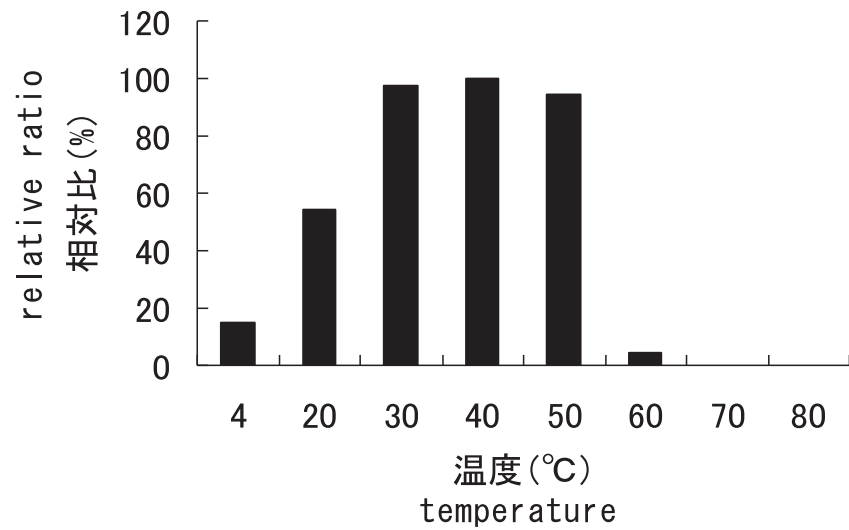


図2 プロテアーゼ活性と温度の関係

Fig. 2 Relationship of protease activity and temperature

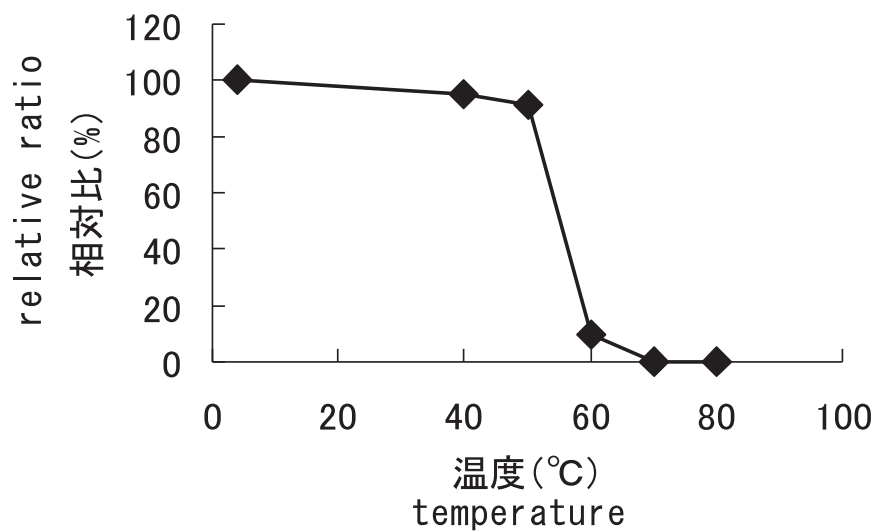


図3 プロテアーゼ活性の耐熱性

Fig. 3 Thermostability of protease activity

2. パイナップルパウチ詰の褐変と各種成分の関係

30℃で保存したパウチ詰パイナップルの経時的褐変を図4に示す。

1.5ヶ月後まで直線的に褐変が進行するが、それ以降大きな変化は見られなかった。保存中の褐変は Δa^* =8～9

でプラトーに達すると考えられる。

褐変関与成分を明らかにするため、褐変への関与が報告されているアスコルビン酸、FR、HMFの濃度を測定し、褐変との関係を調べた。

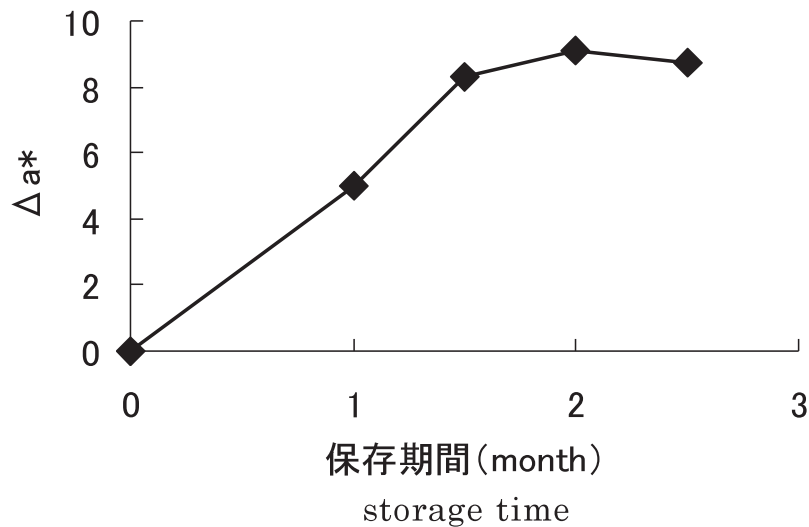


図4 保存による果肉の色調の変化

Fig. 4 Change of color of the fruit during

(1) アスコルビン酸とFR

アスコルビン酸は酸化防止剤として褐変を防止するが、一方で酸性条件においてメイラード反応によりFRを経由して最終的に褐変物質となることも知られている¹⁾。

パイナップルシラップ漬への関与の有無を調べるため、保存中のアスコルビン酸濃度を測定した(図5)。アスコルビン酸は保存後直線的に減少し、保存1.5ヶ月後にはゼロとなった。褐変との関係は、相関係数 $R^2=0.9$ と高い相関が見られた(図6)。

アスコルビン酸が褐変前駆物質であるFRにどの程度変化しているかを調べた結果、FRは保存1ヶ月後では検出

限界以下であった。保存1.5ヶ月以降検出されたが、低濃度であった(図7)。

(2) HMF

糖は、アミノ酸とのメイラード反応(アミノカルボニル反応)により、褐変を引き起こす。糖の褐変への関与を調べるため、酸性における六炭糖由来の褐変中間物質であるHMFの濃度を測定した。HMFは殺菌直後以降、2ヶ月後まで経時的に増加したが3ヶ月後では大きな変化は見られなかった(図8)。褐変との相関は $R^2=0.97$ と高い(図9)。

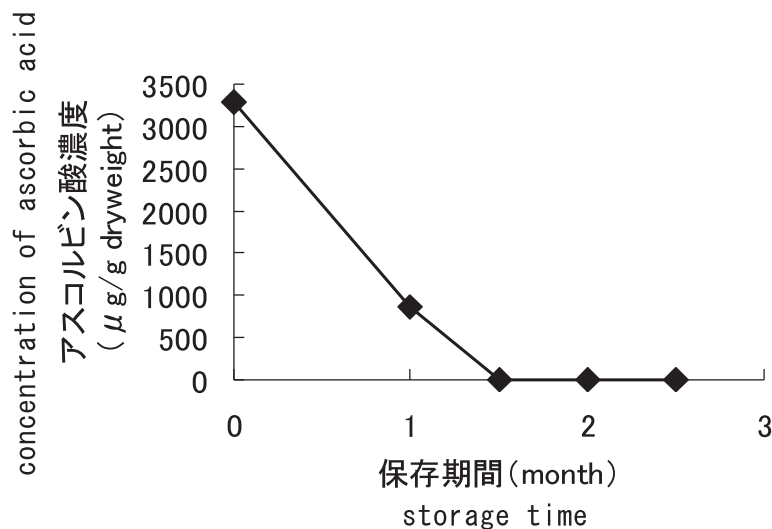


図5 保存による果肉のアスコルビン酸濃度の変化

Fig. 5 Change of concentration of the ascorbic acid in the fruit during storage

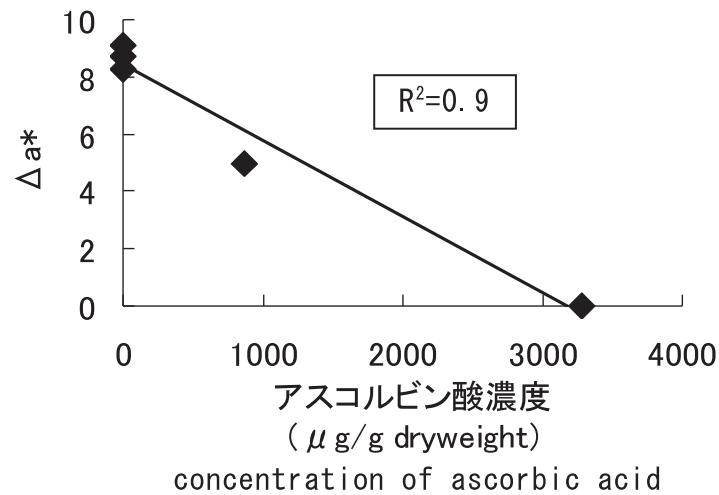


図6 果肉におけるアスコルビン酸濃度と色調の関係

Fig. 6 Relationship of concentration of ascorbic acid and color in the fruit

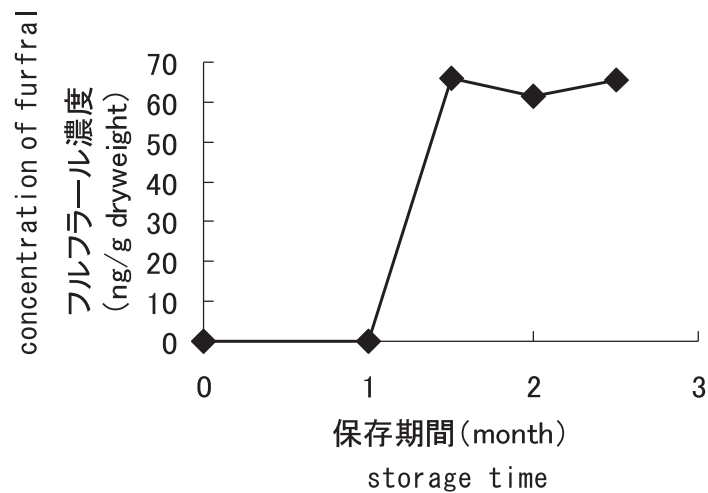


図7 保存による果肉のフルフラール濃度の変化

Fig. 7 Change of concentration of furfural in the fruit during storage

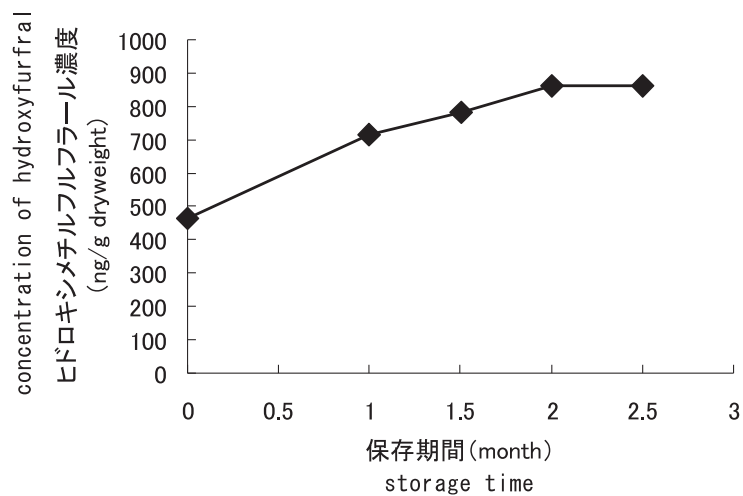


図8 保存による果肉のヒドロキシメチルフルフラール濃度の変化

Fig. 8 Change of concentration of hydroxymethylfurfural in the fruit during storage

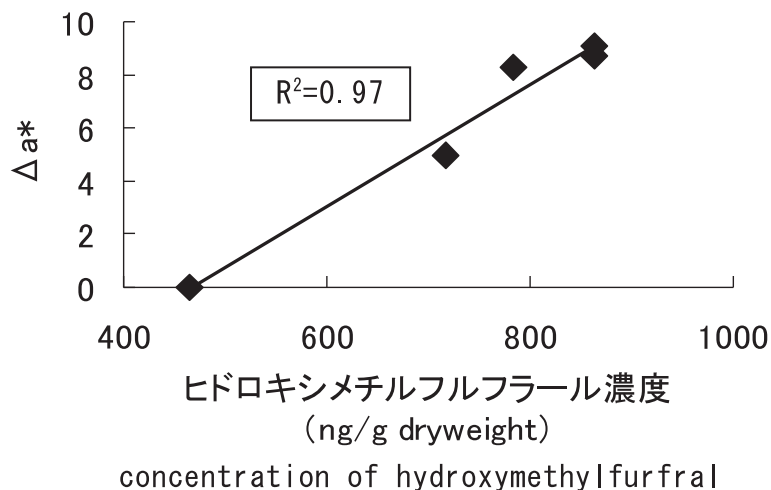


図9 パイナップル中のヒドロキシメチルフラルール濃度と色調の関係

Fig. 9 Relationship of concentration of hydroxymethylfurfural and color in the fruit

考察

食品に含まれる酵素の中には、褐変や栄養成分減少などの品質劣化に関与するものがある。酵素は、ブランチングや高温での加熱殺菌を受けると、その間に失活するため、容器詰食品の保存中の品質に酵素は影響を与えないと考えられる。しかし、高酸性食品である果実容器詰ではブランチングを行わずに果肉を充填したり、低温で殺菌するため、酵素が失活せずに殺菌後も活性の残ることが懸念された。果実では、酵素的褐変でよく知られる PPO 以外に、糖、アミノ酸などが反応基質となるメイラード反応があり、プロテアーゼの影響も考えられた。パイナップルにはプロメラインと呼ばれるプロテアーゼが含まれており、このプロメラインを含むパイナップル中のプロテアーゼ類が、保存中だけでなく加工中にも働き、タンパク質を分解しアミノ酸を増加させて、果肉の褐変を促進させることも考えられた。

PPO とプロテアーゼ活性を測定したが、生の果実中に PPO 活性は検出されなかった。酸化酵素により褐変物質が生成、蓄積して、果肉の色調が変化する可能性は低いと考えられる。生の果実中のプロテアーゼ活性は 30～50℃ で高い活性を示したが、殺菌後のプロテアーゼ残存活性は検出限界以下であった。品温 85℃・10 分間以上の殺菌により、プロテアーゼは失活すると思われるので、メイラード反応の基質を生成する酵素の影響も少ない。以上より、酵素が褐変に関与する可能性は低い。

しかし、剥皮後、加熱前に室温で長時間放置すると、100 g 中に総アミノ酸 450 mg、タンパク質 600 mg を含有するパイナップル²⁾では、プロテアーゼによりアミノ酸が増加した結果、その後のメイラード反応が顕著になる可能性がある。プロテアーゼの影響を抑制するには、カットから加熱までの工程の短時間化が重要と思われる。

非酵素的褐変であるメイラード反応の影響を調べるた

め、殺菌後サンプルにおいて、アスコルビン酸濃度と酸性条件における 2 種類のメイラード反応中間体の濃度を測定した。アスコルビン酸濃度と褐変は相関が高いが、アスコルビン酸由来の FR は低濃度であったため、アスコルビン酸は褐変前駆物質ではないと予想される。容器内酵素はアスコルビン酸と糖由来メイラード反応前駆物質などにより消費される。この酵素をめぐる競合関係により、見かけ上アスコルビン酸と褐変に高い相関が見られたと考えられる。アスコルビン酸は、酸化によりデヒドロアスコルビン酸に不可逆的に変換され、加水分解により 2,3-ジケト-L-グルロン酸に分解したと考えられる。六炭糖由来の HMF 濃度と褐変には高い相関が見られたことから、透明パウチ詰パイナップルの保存中の果肉の褐変は、糖を基質としたメイラード反応が主原因であると示唆された。

その反応は、酸素濃度や温度に影響を受けるので^{3) 4)}、透明容器を用いたパイナップルの果肉のメイラード反応による褐変抑制には、初期封入酸素の低減、酸素透過量の低い容器の選択、ブランチングや加熱殺菌時の熱履歴の低減、より低い温度での保存が好ましい。

文献

- 1) LOESCHNER J, KROH L, VOGEL J : *Z Lebensm-Unters-Forsch* (1990) **191** (4/5) 302-305
- 2) 日本食品標準成分表 2010 準拠 アミノ酸成分表 (2010) 文部科学省科学技術学術審議会資源調査分科会報告
- 3) 並木満夫 : 食品の品質と成分間反応 (1990) 講談社
- 4) АВАКЯНЦ П, СТРУКОВА ВЕ : *Izv Vyssh Uchebn Zaved Pisch Tekhnol* (1982) (6) 126-128