

夏橙果実の利用に関する研究 (第3報)

苦味除去に対する界面活性剤の効果

長坂啓助[※]・原奈美子[※]

Keisuke NAGASAKA and Namiko HARA
Studies on the Utilization of Citrus Natsudaidai
Part 3. Effect of Surface Active Agent
on the Enzymatic Hydrolysis of Naringin

緒 言

夏橙果実のシラップ漬缶詰は、夏橙果実が持つ特有の苦味のためにその生産は極めて微々たるものであった。しかし最近になって、この苦味の主成分である Naringin を分解する酵素 Naringinase の工業的生産の途が開け、種々の Naringinase が開発され夏橙果実のシラップ漬缶詰の製造に盛んに応用されるようになった。

一方 Naringinase の酵素作用を利用した夏橙果実の苦味除去に関する研究成果も数多く報告されるようになった。(1)(2)(3)(4)(5)(6)(7)(8)(9)(10) 現在酵素による苦味除去の方法は大別して2通りある。すなわち、野村らが報告している浸漬法と、服部ら、および下田らによって報告されている添加法とである。浸漬法というのは常法により剥皮した果肉を酵素液に浸漬し、苦味を除去した後缶詰製品とするものであり、添加法は缶詰製造時注入液(シラップ液)中に酵素液を添加し、そのまま缶詰製品とするものである。

しかし、何れの方法を採用するとしても、現在の段階では完全にその苦味を除去できるまでには至っていない。筆者らはその問題点がどこにあるかを追求し、基質 Naringin と酵素 Naringinase の接触に原因のあることを知った。すなわち、酵素剤が果肉の内部にまで浸透していくためにはかなりの時間を必要とし、そのため現行の方法では酵素剤が果肉内部にまで十分浸透せず、Naringinase に接触できなかった一部の Naringin は未分解のまま製品中に残存するのである。そこでこの点を解決するため酵素液中に界面活性剤を添加し、その浸透作用を利用して酵素剤の果肉内部への浸透を計ったので

あるが、その結果ある程度の効果を得ることができたのでここにまとめて報告する次第である。

実験材料並びに方法

1. 実験材料

果実：本実験に供試した果実は第1表に示した園より適宜採取したものである。

第1表 供試果実採取園

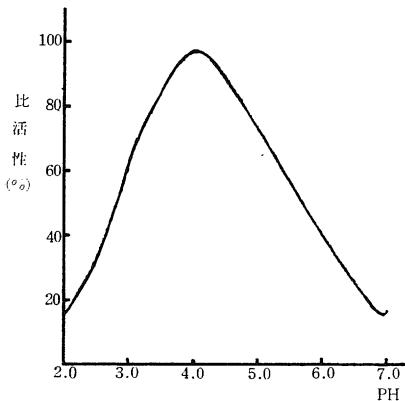
	地 形	土 質	樹 令
出雲市北浜町 神田氏園	平 坦 地	砂 土	推定30年
出雲市北浜町 広戸氏園	平 坦 地	砂 土	〃 12年
大 田 市 大峠氏園	傾 斜 地	壤 土	〃 12年

果肉中の Naringin 含量は果実間でかなり個体差があり、また熟度によってもかなり異なるので、一つの実験には必ず同一樹より大きさのそろったもので熟度もほぼ同程度のものを選んで採取し実験に供した。

酵素剤：田辺製薬(株)製の耐熱性、耐酸性の Naringinase (商品名クミタナーゼ)を使用した。本酵素の作用適温は40~50°C、最適 pH は4.0である。

界面活性剤：Polyoxyethylene (20) Sorbitan Monooleate (商品名 Tween 80) HLB 値15のものを使用した。これは現在我国では食品添加物としては許可されていないが、英国および米国では食品添加物として許可されているものである。その毒性については、人体に対してもほとんど影響がないといわれているので、食品工業面での利用価値が認められれば我国でも使用を認められ

※ 食品化学研究室



第1図 Naringinase の pH と活性の関係

る可能性は十分あるものとする。現在すでに我国で食品添加物として使用を認められている界面活性剤はすべて油脂の乳化剤で親水性の低いものが多く HLB 15 のものでも pH の低い場合には酵素液中に溶解せず本実験に使用することはできなかった。

2. 実験方法

Naringin の定量: 果汁中の溶存 Naringin 量および果肉中の全 Naringin 量の定量は DAVIS 変法にしたがって行なった。抽出方法等は前報において述べたと全く同様に行なった。

Naringin と Prunin との分離定量: Naringinase によって Naringin を加水分解した際その分解生産物である Prunin (苦味を有しない) もまた Diethyleneglycol とアルカリ液によって Naringin 同様に発色するので、この場合は DAVIS 法による測定値と味覚による苦味とは一致しない。故に苦味の指標として Naringin 量を正確に定量するためには Prunin と Naringin を分離定量する必要がある。大橋、DUNLAP らはペーパークロマトグラフィーにより、また FISHER 等は薄層クロマトグラフィーを応用して Naringin と Prunin を分離した後 DAVIS 法によって Naringin を定量している。さらに福本らは Naringin と Prunin の酢酸エチルに対する分配率の差から Naringin の分離定量法を報告している。この方法は比較的簡便で、短時間に多くの試料を処理できるので、本実験においても酵素を作用させた後の Naringin の定量はすべてこの方法を採用して Naringin と Prunin の分離定量を行なった。

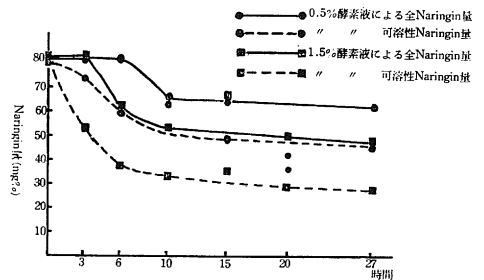
実験結果並びに考察

1. 酵素法による苦味除去効果

現在夏橙果実の苦味除去の手段としては、酵素作用を利用する方法が最も効果的だとされているが、しかしそ

れでも完全に苦味を除去することはできない。筆者らはその原因がどこにあるかを追求するために、現行の酵素による脱苦味を検討してみた。

まず常法にしたがって酸、アルカリ液でじょうのう剥皮した果肉を 0.5% の Naringinase 液中に 30°C に保って、20 時間浸漬した。この 20 時間という浸漬時間は、予備実験によって酵素作用が効果を発揮するに十分であることを確かめた後決定したものである。(第 2 図) 酵素液に浸漬した果肉を 20 時間後にとり出し含有 Naringin 量を測定した結果を第 2 表に示す。



第2図 酵素液の濃度差による脱苦味の時間的变化 (30°C)

第2表 浸漬法による脱苦味効果

(30°C 20時間浸漬)

浸 漬 液		果汁中の溶存 Naringin 量	果肉中の全 Naringin 量
Naringinase 量	Pectinase 量		
0%	0%	28.7 mg%	59.0 mg%
0.5	0	20.2	50.6
0.5	0.1	15.8	55.0
新鮮果肉		27.7	109.0

(7) 野村らは浸漬法によって苦味除去を行なう際、Pectinase の共存が脱苦味効果を助長することを認めているので、Pectinase 添加区も設けたが、本実験ではその効果はほとんど認められなかった。新鮮果肉中に 109 mg% あった果肉中の全 Naringin 量が酵素液浸漬後は 50 mg% となっているが、剥皮後水に浸漬しただけの区でも 59.0 mg% と減少しているのをみると Naringinase の効果はあまりなかったと考えてよい。しかし果汁中の溶存 Naringin 量に対しては Naringinase の効果はかなりあるようである。これは酵素剤が可溶性の Naringin には比較的接触しやすいが、果肉内部にまで浸透しにくいため、果肉内部の砂じょう膜中に存在する非可溶性の Naringin に対する接触が十分でなく、一部未分解の Naringin が

残留する結果ではなかろうか。Pectinase 添加の効果ははっきりしなかったのも全く同様の理由からであろうと考えられる。

つぎに酵素液が果肉中へ浸透しやすいように、じょうのう剥皮後の果肉をほぐして砂じょう単位に分離して、前と同様にして酵素液に浸漬した。結果は第3表にみるとおり、酵素液に浸漬した区と水のみ浸漬した区とは残留 Naringin 量に大きな差があり、Naringinase の効果は明瞭である。以上、酵素による苦味除去が完全に行なわれない原因の一つとして酵素剤の果肉中への浸透に問題があり、浸透が十分であれば脱苦味も容易に行なわれるのではないかと考える。

第3表 浸漬法による脱苦味効果
(果肉を砂じょう単位に分離した場合) (30°C 20時間浸漬)

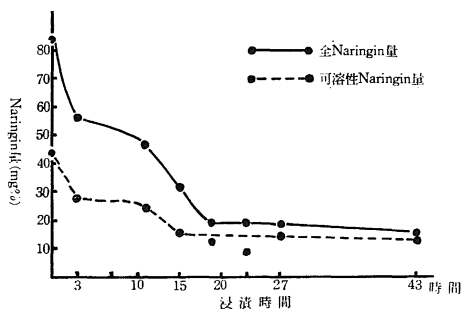
浸 漬 液		果汁中の溶存 Naringin 量	果肉中の全 Naringin 量
Naringinase 量	Pectinase 量		
0%	0%	36.6 mg%	45.4 mg%
0.5	0	12.0	18.2
0.5	0.1	15.4	8.9
新 鮮 果 肉		39.0	151.8
じょうのう剥皮後直		48.3	87.4

2. 酵素法による苦味除去に対する界面活性剤の効果

前述のように、酵素的脱苦味の問題点の一つとして、酵素液の果肉中への浸透性が考えられたので、この浸透性をよくするために、酵素液中に界面活性剤を添加してその効果を試験した。

(1) 浸漬法における界面活性剤の効果

酵素液中に種々の濃度の界面活性剤を添加して、その中に定法によりじょうのう剥皮した果肉を浸漬して、脱苦味に対する界面活性剤の効果を調べた結果を第4表に



第3図 Tween 80添加による脱苦味の時間的変化 (30°C)

第4表 脱苦味に対する界面活性剤添加の効果

浸 漬 液		果汁中の溶存 Naringin 量	果肉中の全 Naringin 量
Naringinase 量	Tween 80量		
0%	0.5%	33.9 mg%	36.4 mg%
0.5	0	14.6	22.4
0.5	0.3	5.9	9.9
0.5	0.5	8.7	9.6
0.5	0.8	8.9	9.1
新 鮮 果 肉		32.7	90.0
じょうのう剥皮後浸漬前		34.2	81.4

示した。界面活性剤を添加した際にも浸漬時間は20時間が適当であることを予備実験により確かめた。浸漬液の温度は30°Cとした。(第3図)

界面活性剤そのものは Naringinase 活性を有しないが、浸漬液の果肉中への浸透がよくなるためか水晒し効果が強く表われ、Naringinase 無添加の区でもかなり Naringin 量が減少している。酵素液の場合、界面活性剤を添加した区と無添加の区とは残留 Naringin 量に大きな差が認められ、明らかに界面活性剤の脱苦味に対する効果が表われている。また添加する界面活性剤の濃度は0.3%以下で十分で、それ以上添加してもその効果に大きな差異はなかった。一方界面活性剤の添加量が多くなると果肉が崩壊しやすくなる傾向がみられ、この点か

第5表 界面活性剤の濃度差による脱苦味効果の相異
(Naringinase 濃度=0.5%)

(30°C 20時間浸漬)			
Tween 80 濃度	果汁中の溶存 Naringin 量	果肉中の全 Naringin 量	果肉の崩壊
0%	19.5 mg%	31.8 mg%	±
0.03	18.0	30.4	±
0.05	11.9	24.5	+
0.1	12.9	29.5	++
0.3	11.7	27.1	≡
0.5	10.4	22.4	≡
じょうのう剥皮後浸漬前	45.3	67.4	-

- : 崩壊率 0
± : " 5%以内
+ : " 約10%
++ : " 約30%
≡ : " 約50%

第6表 果肉の崩壊に対する Ca⁺⁺ 添加の効果
(30°C 20時間浸漬)

	浸 漬 液			崩 壊 率
	Naringinase 量	Tween 80 量	Ca ⁺⁺ 量 (CaCl ₂)	
1	0%	0%	0%	—
2	0.5	0	0	±
3	0.5	0.005	0.8	+
4	0.5	0.01	0.8	++
5	0.5	0.02	0.8	++
6	0.5	0.03	2.0	++

— : 崩壊率 0
 ± : " 5%以内
 + : " 10%
 ++ : " 30%

らはなるべく低濃度であることが望ましい。そこで苦味除去に対して有効な界面活性剤の最低濃度の限界がどのあたりにあるのかを求め、その濃度における果肉の崩壊の程度を調べてみた。第5表はその結果であるが、苦味除去に対する界面活性剤 (Tween 80) の最低有効濃度の限界は0.03~0.05%にあることがわかる。しかしこの濃度でもわずかではあるが果肉の崩壊が認められた。一般に果実の肉質の硬軟には Pectin 質物が関与しているのが普通なので、この場合も Pectin 質物の強化を計り果肉の崩壊を防ぐ目的で酵素液中に界面活性剤と同時に Ca イオン (CaCl₂) を添加してみたが、その効果は認められなかった。(第6表) 以上浸漬法による酵素的脱苦味の場合、界面活性剤の添加は、苦味除去に対してはかなりの効果を表わすが、一方に果肉の崩壊を随伴し、これを防止することはかなり困難なように思われた。

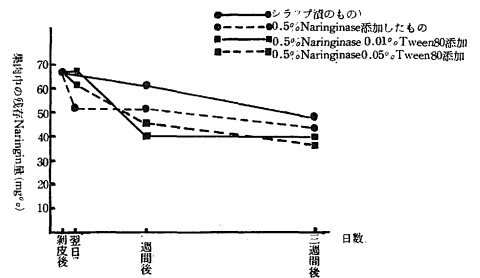
(2) 添加法による苦味除去に対する界面活性剤の効果

添加法は、定法にしたがってシラップ漬缶詰を製造する場合注入液中に Naringinase を添加し、製品となった後缶内で酵素作用を発揮させようとするものである。そのためには製造工程中殺菌によって Naringinase が不活性化しないような工夫が必要である。服部らはそのために2回殺菌法を提唱しており、下田らは福本らの開発した耐熱性の Naringinase を使用している。本実験に使用した Naringinase は耐熱性のものなので定法にしたがって殺菌を行なった。予備実験において使用酵素 (クミタナーゼ) の熱安定性を調べた結果、70°C、15分間の加熱では失活しないが、75°Cで15分間加熱した

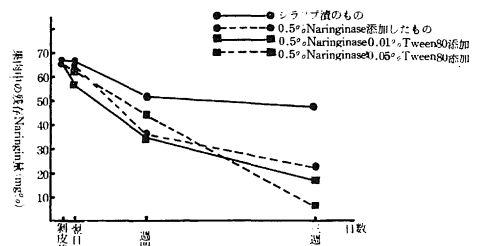
第7表 使用 Naringinase の熱安定性[※]

対称区	Naringinase 濃度	加熱温度	加熱時間	加熱後残存
				Naringin 量
	%	°C	分	mg%
対称区	1	—	—	24.0
	2	0.5	—	1.8
加熱区	1	0.5	50	4.2
	2	0.5	55	0
	3	0.5	60	2.3
	4	0.5	65	0
	5	0.5	70	0
	6	0.5	75	14.5

※ 24mg%の Naringin 溶液 (pH = 4.0) に0.5%量の Naringinase を添加し種々の温度下に15分間おいた後取り出して翌日それぞれの区の残存 Naringin 量を定量した。



第4図 添加法によるシラップ漬缶詰の全 Naringin 量 (室温貯蔵)



第5図 添加法によるシラップ漬缶詰の全 Naringin 量 (30°C貯蔵)

場合かなりの活性低下を示したので、本実験では殺菌条件を70°C、15分間とし、20 r.p.m.の回転殺菌を行なった。(第7表)

まず定法にしたがって剥皮した果肉を肉詰する。つぎに注入液中に Naringinase 濃度が0.5%になるように酵素剤を添加し、さらに種々の濃度になるように界面活性剤を添加してシラップ漬缶詰を製造し、これを室温および30°Cの温度下に貯蔵した。翌日、1週間後および3週間後に各試験区を開缶して果肉中の Naringin 量および

第8表 添加法における界面活性剤添加と果肉の崩壊

	注入液中の		果 肉 の 崩 壊		
	Naringinase量	Tween 80量	翌 日	1 週間後	3 週間後
室温貯蔵区	0%	0%	-	-	-
	0.5	0	-	-	±
	0.5	0.01	±	±	±
	0.5	0.05	±	+	+
30°C貯蔵区	0	0	-	-	±
	0.5	0	-	-	±
	0.5	0.01	±	+	±
	0.5	0.05	+	+	+

- : 崩壊率 0
 ± : " 5%以内
 + : " 約10%

び果肉の崩壊率を調べた。結果は第4図、第5図および第8表に示した。

貯蔵温度が30°Cの場合も室温貯蔵の場合もいずれも脱苦味に対して界面活性剤添加の効果が表われているが、30°C貯蔵区の方が効果が顕著なのは Naringinase の作用適温が40°Cにあるためこれは当然の結果であろう。官能検査の結果でも、30°C貯蔵区で界面活性剤を添加したものはほとんど苦味を感じなかった。

また、果肉の崩壊の程度も、浸漬法の場合よりはるかに軽微で、商品価値に影響するほどのものではなかった。浸漬法の場合、界面活性剤の添加によって崩壊した果肉を観察してみると、果肉の軟化は認められず反対に各砂じょうが膨潤して果肉そのものはむしろ硬化していた。それゆえこの場合の果肉の崩壊は Pectin 質の変化による軟化が原因ではなく、界面活性剤の作用で砂じょう内部にまで水分がよく浸透し、各砂じょうが膨潤して横圧を生じ、その結果果肉の崩壊が起こったと考えるべきである。その点添加法の場合は、果肉は高濃度の糖液中に浸漬されているためむしろ脱水される傾向にあり、砂じょうの膨潤は起らず、そのために果肉の崩壊も少ないのであろう。

以上添加法による酵素的脱苦味では界面活性剤の添加は0.05%で効果をあらわし、果肉の崩壊もほとんどなく実用化の可能性は十分にあると考える。

摘 要

夏橙果実のシラップ漬缶詰の苦味除去の方法として、現在 Naringin 分解酵素 Naringinase の使用が最も有望視されている。しかしまだ完全に苦味を除去できる段階にまでは至っていない。筆者らはその問題点が Naringinase の活性にあるのではなく、Naringinase と基質 Naringin との接触にあることを知り、酵素液を果肉中に十分浸透させることを計った。その手段として酵素液中に界面活性剤を添加し、その浸透作用を利用してみたところ苦味除去に対してかなりの効果が得られた。しかし浸漬法による場合は果肉の崩壊が随伴し、これを防止することはかなり困難のように思われた。添加法による場合は界面活性剤の添加は苦味除去に対して十分な効果をあらわすとともに果肉の崩壊もほとんどなく、実用化の可能性は十分にあるものと考えられた。

引用文献

1. DUNLAP, W. J., HAGEN, R. E. and WENDER, S. H.: J. Food Sci. 27(6): 597-601, 1962
2. FISHER, J. F., NORDBY, H. E., and KEW, T. J.: J. Food Sci. 31(6): 947-950, 1966
3. 服部孝雄・大橋晋・佐藤順子: 缶詰時報 43(7): 32-39, 1964
4. 長坂啓助・原奈美子: 島根農大研究報告 15(A-3): 29-33, 1967
5. 中林敏郎: 食品工誌 9(1): 24-25, 1962
6. ———: ——— 9(7): 284-289, 1962
7. 野村男次他: 食品工誌 10(4): 115-118, 1963
8. 岡田・矢野・福本: 醸酵協会誌 22: 371-374, 1964
9. 大橋晋: 食品工誌 11(9): 376-380, 1964
10. 下田吉夫他: 缶詰時報 44(1): 6-11, 1965
11. 津坂辰男: 食品工誌12(5): 167-172, 1965

Summary

Removal of the bitterness in Natsudaïdai fruits can be achieved to some extent by means of enzymatic hydrolysis of naringin which is principal ingredient of bitterness. At present, this method is appreciated as to be most effective for debittering but it leaves something to be studied still more and the bitterness of canned fruits has not been removed sufficiently as yet. According to pre-experiment, this defect of enzymatic debittering seemed to be caused by imperfection of contact between enzyme and substrate. So in this experiment, in order to promote the permeation of naringinase into fruits texture, surface active agent (Tween 80) was added in naringinase solution and the effect of it for debittering was studied. The results obtained are summarized as follows :

1. So far as the concentration of "Tween 80" was more than 0.03%, a good effect of surface active agent was recognized for debittering but when fruits were dipped in enzyme solution contained "Tween 80" before packing it was observed that fruits shape had tendency to be broken even if the concentration of "Tween 80" was lower limit of availability such as 0.03%.
2. When surface active agent was added in syrup together with thermostable naringinase on canning process "broken fruits" was scarcely recognized only but debittering effect.

From mentioned above, most effective employment of surface active agent for debittering of canned Natsudaïdai fruits seemed that it had to be added in syrup together with thermostable naringinase and the optimum concentration of it was 0.03—0.05%.