

夏橙果実の利用に関する研究(第1報)

果汁中への Naringin 溶出に対する Pectin 質物の阻止作用について

長 坂 啓 助

Keisuke NAGASAKA

Studies on the Utilization of Citrus Natsudaidai

Part 1. Inhibition of Pectic Substances for Dissolution of Naringin into Juice

緒 言

夏橙果実の利用加工を考える際に、まず問題になるのは夏橙の持つ特有の苦味である。柑橘類の果実の苦味についてはこれまでに多くの研究があり、苦味成分として flavanon の配糖体である Naringin⁽³⁾、Neohesperidose の誘導体である Poncirin⁽²⁾あるいは Limonin⁽⁴⁾といったようなものが報告されている。しかし夏橙果実では Poncirin は検出されておらず、また Limonin は夏橙果実の苦味の20%程度を支配するに過ぎない、といわれているので、夏橙果実の苦味を問題にする場合にはまず Naringin を主体に考えてよいであろう。

夏橙果実の可食部に含まれる Naringin 量についてみると、熟度によって勿論異なるが、完熟果では果肉(じょうのう内部)中に含まれる全 Naringin 量は大体70~80mg%、果汁中に溶存する Naringin 量は30mg%前後である。我々の味覚に影響するのは主としてこの果汁中の溶存 Naringin 濃度であって、30mg%位であれば果汁中に共存する他の呈味物質、即ち糖類あるいは有機酸の影響もあって僅に苦味を感じる程度で、むしろ適当な酸味とあいまって新鮮味を助長して夏橙特有の味覚を構成するものである。

しかし加工に際して殺菌その他の目的で夏橙果肉に熱が加えられた場合には果汁中の Naringin 濃度は70mg%以上にまで増加し、その苦味は極めて強く感じられるようになり、もはや食用には不適となる。このように加熱によって苦味の増大するということが隘路となって、夏橙は加工利用の面で伸びなやんでいるのである。ところが近年 Naringin を分解する酵素の工業的生産の途が開け、この酵素作用を利用して夏橙果実の脱苦味を行なう方法が盛に研究されているが、これも現在のところい

いと問題が残されており、充分満足できるまでには至っていないようである。

そこでこの脱苦味対策を考える前に、夏橙果実中において Naringin が果汁中に溶出移行する機構を追求して、苦味除去への手がかりを得ようとして2、3の実験調査を行ない、Pectin 質物が Naringin の果汁中への溶出に大きな影響を持つことを知った。

実験方法

1. 果汁中の Naringin の定量

果実を手で剥皮してじょうのう部を取出し、これを二重のガーゼに包んで搾汁する。この搾汁液を10倍に稀釈し濾紙(No. 2)で濾過した後濾液1mlをとり、Diethylene Glycolを10ml加え、さらに1N-水酸化ナトリウム1mlを加えて発色させ、30°Cにおいて30分後に420m μ で吸光度を測定した。(Davis変法)⁽⁵⁾

2. 果肉中の全 Naringin の定量

手で剥皮したじょうのう部10gを秤取し、乳鉢中で磨砕後約100mlの水でピーカに洗い込み、これを沸騰浴中で30分加熱、冷却後200mlのメスフラスコに移して定容とし、この濾液1mlをとってDavis変法によって Naringin 量を測定した。

3. Ca⁺⁺が共存する場合の Naringin の定量

Naringin を Davis 法によって測定する場合に、検液中に Ca⁺⁺ が多量に存在するときは水酸化ナトリウム液を加えた際白濁して比色が困難となる。そこで、Naringin が 285 m μ の紫外部において吸収の Peak を示すのを利用する Ultraviolet method を本実験では必要に応じて採用した。まず検液に c.HCl 1~2滴を加えて pH=3.5に調整した後検液中の Naringin 濃度が1~3mg%になるように水で稀釈し、自記分光光度計にかけて紫外部の吸収曲線を得る。この曲線の波長 290 m μ と

295 m μ の所の吸光度の差から (予め描いておいた標準曲線に照らして) Naringin 量を求める。HENDRICKSON⁽¹⁾等は検液の稀釈に当って Peak が鋭敏に出るという理由で isopropanol (99%) の使用を提唱しているが、本実験の場合水で稀釈してもかなり鋭敏な Peak が得られたので敢えて isopropanol は使用しなかった。

4. Pectin 分解酵素による Naringin の抽出

果肉中の Pectin 質物が Naringin の溶出を阻止しているという前提に立って、Pectin 質を酵素的に分解して Naringin の溶出を試みた。

まず果肉 20 g を乳鉢内で磨砕し、これに 0.5% の EDTA の 4 ナトリウム塩を 100 ml 加えて金属イオンを封鎖し、次に 1 N-NaOH を加えて pH=11.5 に調整して 30°C、30分 で Pectin 質を鹼化させる。次いで酢酸を加えて pH=5.0 に調整した後 Pectin 分解酵素剤スクラーゼを 0.5 g 加えて 35°C に 2 時間おく。その後常温まで放冷した後 200 ml のメスフラスコに移して定容とし、この濾液をとって Davis 変法によって Naringin 量を測定した。酵素を作用させる時間についてはもう少し長い方がいいようにも思われるが、これが長時間にわたると (スクラーゼが多少とも Naringinase 活性を有しているため)⁽⁴⁾ かえって結果的には Naringin 量が少く出るので、予備実験の結果から 2 時間という作用時間を決定した。

実験結果並びに考察

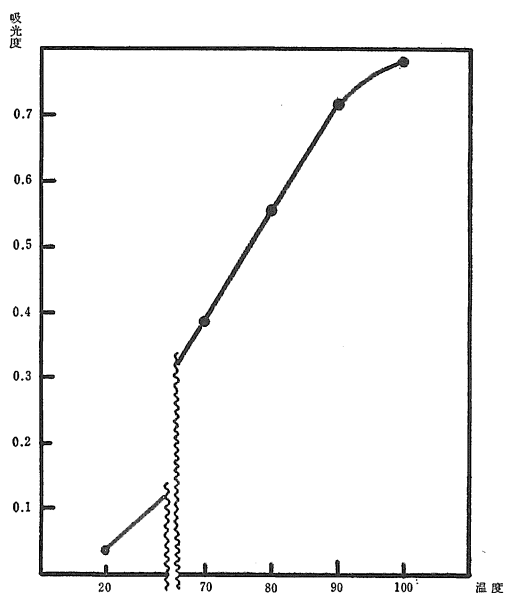
夏橙果実の果肉を加熱することによって果汁中の Naringin 濃度が增大するのは、果肉中に非可溶型の Naringin と可溶型の Naringin があって、非可溶型というのは全 Naringin の 40~70% を占めていて、繊維質等と結合していて普通に搾汁した程度では溶出してこないが、加熱することによって可溶型となって果汁中に溶出するのだというように説明されている。⁽⁵⁾

そこで夏橙果汁中の Naringin 濃度が增大する条件、すなわち、どのような場合に苦味が增大するかを検討した。その結果次のような場合何れも果汁中の Naringin 濃度の増加がみられた。

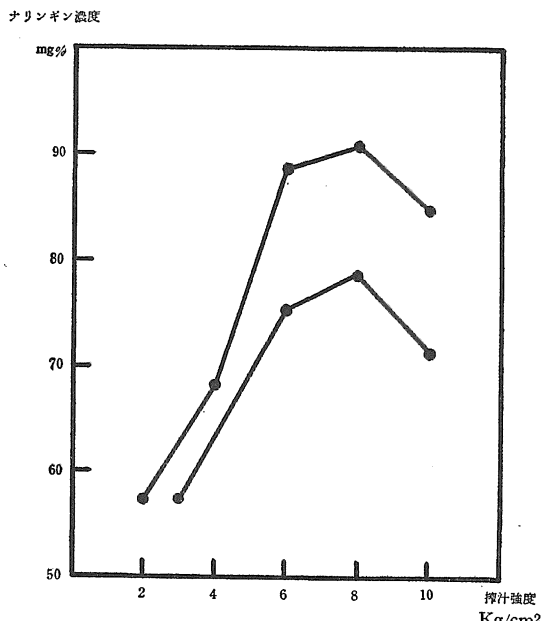
第 1 表 果肉の加熱による果汁中のナリンギン濃度の増加
加熱温度 80°C
加熱時間 30 分

		無 処 理 区	加 熱 区
完 熟 果	1	31.6 mg%	71.6 mg%
	2	30.4	71.0
	3	29.8	68.9
未 熟 果	1	27.5	130.1
	2	24.6	122.6
	3	30.0	140.2

- (1) 果肉を加熱した場合 (第 1 表, 第 1 図)
- (2) 搾汁の際に搾汁圧力を増した場合 (第 2 図)
- (3) 乳鉢あるいはホモゲナイザー等で果肉を磨砕後搾汁した場合 (第 2 表)
- (4) 果肉が凍結した場合 (第 3 表)
- (5) 過熟あるいは腐敗等のため果実が軟化した場合 (第 4 表)



第 1 図 果肉を熱水に浸漬した場合のナリンギンの熱水中への溶出状況
(果肉 50 g—熱水 100 ml)
浸漬時間 10 分



第 2 図 搾汁強度と果汁中のナリンギン濃度

第2表 果肉を磨砕加熱した場合のナリンギンの溶出状況

磨砕：乳鉢
加熱：湯浴上30分

		磨 砕 区	磨砕加熱区	果汁中(無処理)
完熟果	1	60.0mg%	80.5mg%	30.8mg%
	2	54.5	61.7	27.3
	3	71.0	87.5	31.6
未熟果	1	115.0	121.0	26.3
	2	129.0	154.3	30.1
	3	113.0	120.0	28.8

第3表 果肉の凍結による果汁中のナリンギン濃度の増加

凍結：氷+食塩
5時間

		無 処 理 区	凍 結 区
1		39.0 mg%	96.1 mg%
2		27.1	82.3
3		31.1	90.5
4		24.3	78.8
5		25.3	76.0

以上の結果のうち加熱による場合を別にしても、搾汁強度の変化、果肉の凍結といった物理的な変化によって果汁中に溶出してくる Naringin 量に変化があるということは、これまで非可溶型といわれていたものも本質的には可溶型と異なるものではなく、ただ物理的に溶出しにくい状態におかれているだけのようと思われる。そしてそれが搾汁強度の変化、凍結といった物理的な変化が加えられることによってそれまで溶出を阻止していた力が弱くなったのだというように考えてよいであろう。普通ガーゼ等で搾汁した際には果汁中に溶出してこない Naringin の大部分が压榨あるいは磨砕というような手段で容易に溶出してくるということはそれらの Naringin が前述のような結合型ではないことを示しているように思われる。

そこでこの Naringin の溶出を物理的に阻止すると考えられるものにまず繊維質あるいは Pectin 質物がある。

第4表をみると完熟果に比して未熟果の全 Naringin 量は圧倒的に多いにもかかわらず果汁中に溶存している Naringin 量には余り差はみられない。果肉中の全 Naringin 量と果汁中の溶存 Naringin 量の比率から考えて、むしろ相対的には未熟果の果汁中には Naringin 量が少ないといえる。また果実が過熟状態になって変質軟化したものはさらに果汁中の Naringin 濃度が増加している。一方果実が未熟状態から完熟期を経てさらに過熟状

態に移る間に果実内の可溶性 Pectin の量も次第に増加していくことを考え合わせると、Naringin と Pectin 質との間に密接な関係のあることがうかがえる。

Pectin 質はそのコロイド的性質からも、また容易に Gel 化する性質の強いこと等から考えて、これが Naringin を包含してその溶出を阻止するであろうことは推察できる。

第4表 果実の熟度別による果汁中のナリンギン濃度

	果汁中のナリンギン濃度	果肉中の全ナリンギン
未熟果	28.0 mg%	132.0 mg%
完熟果	32.1	66.3
軟化果	52.0	65.7

各区5回測定の平均

ところで、Pectin 質が Naringin の溶出を阻止しているとするれば、夏橙果肉中の Pectin 質を分解してやれば当然果汁中への Naringin の溶出量が増加する筈である。そこで果肉に Pectin 分解酵素を作用させて Naringin の溶出の状態を調べた結果が第5表に示してある。

第5表 ナリンギン抽出に対するペクチン分解酵素の効果

	対 称 区	加 熱 区	酵素処理区
1	143 mg%	163 mg%	158 mg%
2	151	187	201
3	115	121	121

対称区：

果肉 20g—磨砕—200 ml に稀釈—35°C 2h.

加熱区：

果肉 20g—磨砕—加熱(湯煎上30分)—200 ml に稀釈
酵素処理区：

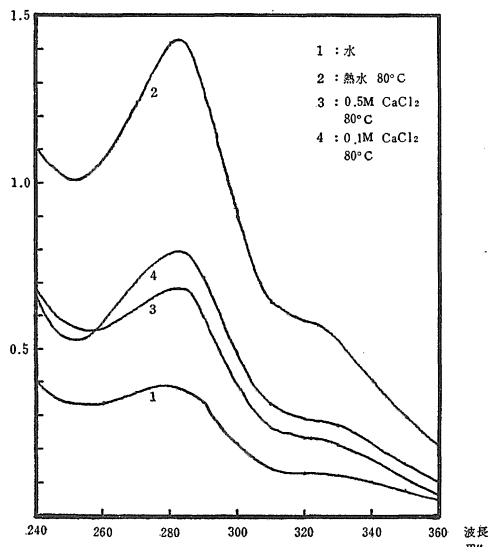
果肉 20g—磨砕—
EDTA (0.5%) 100 ml ↑
IN NaOH (pH=11.5 に調整) ↑
—30°C 30分—
酢酸 (pH=5.0 に調整) ↑
スクラーゼ 0.5g ↑
—200 ml に稀釈—35°C 2h.

これをみると酵素処理を行なった場合は加熱した場合と殆ど同程度に Naringin が溶出している。このことから果肉を加熱した場合と加熱しない場合との Naringin の溶出量の差は Pectin 質に起因すると考えられる。

次に剥皮した夏橙のじょうのう部を熱水に浸漬して Naringin を溶出させる場合、Pectin 質が熱によって可溶化し包含されていた Naringin が溶出してくるわけであるが、もしこの浸漬液中に Ca⁺⁺が存在すれば Pectin 質の一部は Ca-Pectate の形となり熱水にも不溶となる

ため溶出してくる Naringin 量は減少する筈である。このことを確認するために、熱水、0.5 M—塩化カルシウム液、0.1 M—塩化カルシウム液中にそれぞれ剥皮した果肉を浸漬した。浸漬液の量は 200 ml、浸漬果肉量は 10 g で何れの区も 80°C に 30 分間保った後冷却濾過し、濾液の 5 倍稀釈液を自記分光光度計にかけて紫外部の吸収曲線を描き、HENDRICKSON 等の方法に従って解析を行なった。

吸光度



第3図 ナリンギンの溶出に対する Ca^{++} の影響 (浸漬時間 30分)

この結果は第3図に示す通りで、熱水中の Naringin 量が最も多く、次いで 0.1 M—塩化カルシウム液区、0.5 M—塩化カルシウム液区の順に少なくなっている。これは始めに予期した通りの結果であって Ca^{++} のために不溶化した Pectin 質が Naringin の溶出を阻止したためと考えられる。もっとも塩化カルシウムには収斂作用があるので必ずしてすべてが Pectin 質の非可溶化には帰しにくいかもしれないが、 Ca^{++} を作用させた果肉を観察すると、砂じょう内部は殆ど Gel 化していることからやはり Pectin 質の変化によるところが大きいと思われた。

以上から夏橙果実内では、Pectin 質が Naringin を包含して果汁中への溶出を阻止している大きな原因であることが推察できる。そこでこの観点に立って始めに述べた加熱、搾汁圧の強弱、果肉の磨砕、果肉の凍結等によって Naringin の果汁中への溶出量の異なる点あるいは果肉中の全 Naringin の定量法等について若干の考察を加えてみよう。

果肉を加熱した場合は常温では溶出しにくい熱水可溶の

Pectin が溶出することによって、それに包含されていた Naringin が一緒に出てくると考えられる。久保等⁽⁴⁾が夏橙果肉を熱することによって搾汁液中の可溶性 Pectin 量の増加を認めていることから充分説明できる。ところで、果肉中の全 Naringin の抽出を考える場合、熱水によってすべての Pectin 質が可溶化するものではないので、加熱によって果肉中のすべての Naringin が溶出するとは限らない。塩酸溶液中で加熱すればより多くの Pectin 質が可溶化するが、溶出 Naringin 量を測定してみると必ずしも熱水時に比べて増加していない。これは夏橙中に既にある程度量の有機酸が含まれていて Protopectin の酸分解がおこっていることと、塩酸添加の場合は僅かではあるが Naringin の分解があるために両者の差が表われてこないのであろう。また、酵素による Pectin 分解の場合も前述の通り、作用時間が短い場合は十分に Pectin を分解することができず、また長時間作用させると Pectinase 製剤は多少とも Naringinase 活性を有するため Naringin の分解がおこって真の意味での果肉内の全 Naringin の定量には問題があるようである。

次に搾汁の際搾汁圧を増した場合、その極端な例として果肉を磨砕した場合は、Gel 状の Pectin 質が微細な小片となって果汁中に混入し、その際包含していた Naringin を放出するものと考えられる。しかし如何に搾汁圧を増しても、また如何に果肉を乳鉢中で丁寧に磨砕しても、Pectin Gel を完全にコロイド溶液にまでもって行くことは不可能なため、一般に磨砕の場合は加熱した場合に比べて Naringin の果汁中への溶出量は少なく、その90%位のものである。

果肉が凍結した場合は Pectin Gel の膠質構造は脱水破壊されて、解凍後 Gel 状がスポンジ状になり保水力を失って Naringin の包含力を失うために、解凍後に搾汁した場合は容易に Naringin が溶出して果汁中の濃度が高くなると考えられる。

結論として、これまで非可溶型あるいは結合型といわれていた夏橙果実中の Naringin の大部分のものは実は可溶型と考えられていたものと本質的には何等異なるものではなくて、ただ物理的に溶出しにくい状態におかれているだけであって、この溶出を阻止している原因の大部分が Pectin 質物であると推定されるのである。

このことは夏橙果実の苦味除去を行なうに当って現在最も有望視されている Naringinase の使用上大きな問題点となろう。酵素法によって脱苦味を行なう際、Naringinase の液中に果肉を浸漬するだけでは、酵素が果肉の内部にまで滲透して行ってすべての Naringin を分解してしまうことはむづかしいとされている。液中に溶出

してきた Naringin に対してのみ酵素の作用効果が期待できるとすれば、効果的に Naringinase を作用させるためにはまず果肉内の Naringin の溶出を計らねばならない。Naringin を溶出させるためにはそれを包含している Pectin 質物を分解可溶化させる必要がある。しかし一方 Pectin 質は果実の肉質と密接な関係を有していて、Pectin 質を分解可溶化させると果実の肉質の劣化は避け難い。即ち Naringin を溶出させることと果実の肉質を軟化させずに保持することは相拮抗して、ここに酵素法による夏橙果実の脱苦味技術上解決しなければならぬ問題が残されている。

摘 要

夏橙果実は熱を加えると果汁中の Naringin 濃度が増大して苦味を増す。この加熱によって苦味の増大することが、加工利用の面で夏橙が今一つ伸びて行かない大きな障害となっている。そしてこの脱苦味についてはこれまでに多くの研究があるが、何れも十分に目的を達しているとはいえない。そこで果汁中の Naringin 濃度の増大する機構を解明することによって、完全脱苦味への手がかりを得ようとして本実験を行なった。

1. 果実が未熟状態から完熟期を経て過熟軟化状態に移って行くに従って果汁中の Naringin 濃度が増加している。
2. 果肉に Pectin 分解酵素を作用させることによって果汁中の Naringin 濃度が増加している。

3. 果肉を熱水中に浸漬した場合、熱水中に Ca^{++} が存在する時は Naringin の溶出量が減少している。

以上のようなことから夏橙果実中では Naringin と Pectin 質との間には密接な関係があり、非可溶性の Pectin 質が Naringin の一部を包含していて、その溶出を物理的に阻止していると考えられる。

この観点に立って考察すれば、果肉を加熱した場合、搾汁圧を増した場合、あるいは果肉が凍結した場合に、何れも果汁中の Naringin 濃度の増加することを無理なく説明することができる。

引 用 文 献

1. HENDRICKSON, R., KESTERSON, J. W. and EDWARDS, G. J.: Proc. Florida Sta. Hort. Soc. 71: 194—198, 1958
2. HOROWITZ, R. M. and GENTILI, B.: Arch. Biochem. Biophys. 92: 191—192, 1961
3. KESTERSON, J. W. and HENDRICKSON, R.: Florida Agr. Expt. Sta. Tech. Bull. 511, 1953
4. 真部孝明・別所康守・児玉雅信・久保 進: 食品工誌 11: 389—394, 1964
5. 中林敏郎: 食品工誌 9: 24—27, 1962
6. 中林敏郎: 食品工誌 9: 28—38, 1962
7. 野村男次・秋山圭司・新本三郎・串山勇哲: 食品工誌 10: 115—118, 1963

Summary

It is well-known that the fruit of Citrus Natsudaidai tastes more bitter, being increased naringin content in its juice by heating and this fact is one of the greatest reason that manufacturing of Citrus Natsudaidai make not so rapid progress.

Many papers have been reported on removal of this bitterness but neither works accomplished sufficiently their purposes as yet. And this experiment was carried out to get a clue to perfect removal of this bitterness by finding out the mechanism of increasing of naringin content in juice.

- (1) Naringin content in juice increased with the progress of ripening stage.
- (2) By means of affecting pectinase on the fruit texture naringin was extracted more easily from the texture.
- (3) Dipping the fruit texture in hot water, naringin in the texture was almost extracted into dipping water but in the case of existence of Ca^{++} in dipping water, if it was hot, extraction of naringin from the texture was inhibited.

From mentioned above, close relation was recognized between naringin and pectic substances in the fruit texture and it is assumed that insoluble pectic substances masked a part of naringin and inhibit to dissolve it into juice. Considering from this aspect, the fact that naringin content in juice increase by treatments such as heating, freezing and crushing of the fruit texture is able to be explain reasonably.