水ようかんの変敗、離水の防止に関する研究（第4報）
あんの色調に及ぼすシロ糖、エタノール、pHおよび加熱処理の影響

南場 毅・鈴木峰夫

今までに水ようかんの変敗防止について報告し、水ようかんの加熱殺菌の際にエタノール添加やpH調整及び両者の併用により変敗、離水を引き起こすBacillus属細菌の増殖が抑制され、水ようかんの変敗、離水の防止が可能なることを報告した。しかしながら、エタノールを添加して加熱すると無添加に比較して水ようかんの塩濃化が進む傾向がみられた。本報では、水ようかんの主原料で着色に関係すると考えられる小豆あん（以下あん）の色調に及ぼすシロ糖、エタノールの添加、pH調整および加熱処理の影響について検討したので報告する。

実験方法

1．試料および測定方法

1-1 試料、加熱方法およびあん抽出液の調製法　試料のあんは市内の製あん所から購入した生あんを使用した。あん懸濁液はシロ糖添加の場合は生あん500g、シロ糖500g、脱イオン水500gの割合で、無添加の場合は生あん500g、脱イオン水1000gの割合で混合後、加温溶解し、10mlずつ18×180mmの試験管に分注した。エタノールは5％、10％（V/V）の2試験区、pHも4.0、5.0、無調整（pH6.6～6.8）の3試験区、オートクレープによる加熱試験は無加熱区以外は150℃で加熱時間を15分、30分、60分と変えて供試サンプルを調整した。生あんからの抽出液及び白色沈殿物質は第1図に示す方法で分離した。

1-2 色調および吸光度測定　あんの色調は色差計（日本電気工業製色差直読デジタル測色色差計 ND-504型）により測定した。生あんからの抽出液の吸光度は、分光光度計（島津電子制御型光度計）を用いて測定した。

1-3 ゲル濁度による色素の分離　シロ糖無添加（実験結果の2でも述べるが、シロ糖添加と無添加では、吸光度曲線のパターンに大きな差はなかったので、粘性が低く取扱い易いシロ糖無添加の生あんを用いた）、エタノール無添加および5%添加でオートクレープ15分処理した生あんからの抽出液を減圧濃縮し、強アルカリ性にして強く赤色に着色させたものを試料とした。セファデックスG-15カ

※農林水産省　名古屋消費技術センター

－9－
実験結果および考察

1. エタノール添加と加熱時間のあんの色調に及ぼす影響

エタノールの添加量とオートクレープでの加熱条件が生あんの色調に及ぼす影響について検討した。ショ糖無添加の場合を第1表に示した。エタノール無添加区と同様、エタノール添加区もオートクレープ（加熱温度120℃）の時間が長いほどY％が低下する傾向を示したが、X、Y値はほとんど変動しなかった。ショ糖添加の場合は（第2表）、エタノール無添加区のY％の低下は弱く、X値はやや高まった。エタノール添加区は5％、10％のいずれの添加区ともオートクレープでの加熱時間を60分にするとY％は著しく低下し、前報1の水ようかんの場合と同様な傾向を示し、水ようかんの着色促進がショ糖存在下での生あんとエタノールとの同時加熱に起因すると考えられた。

次に、生あんからの抽出液の色調を比較検討した。エタノール添加と無添加の場合を比較すると、添加区の方が510nm付近で吸収が強いことが認められた（第2図）。しかし、両者とも吸光度に差が認められたが、吸収パターンには大きな差異はみられなかった。紫外部吸収についてはショ糖無添加、無加熱の例を第3図に示すようにエタノール添加区、無添加区とも195、265および320nm付近に吸収がみられた。また、無加熱区では第2図にみられるような510nm付近での吸収はみられず、510nmの吸収極大は加熱により生ずると考えられた。
第1表 加熱条件とエタノールのあなたの色調に及ぼす影響（シロ糖無添加）

<table>
<thead>
<tr>
<th>加熱条件</th>
<th></th>
<th>x</th>
<th></th>
<th>y</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td>無加熱</td>
<td>無添加区</td>
<td>9.90</td>
<td>0.322</td>
<td>0.335</td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td>エタノール5％区</td>
<td>10.00</td>
<td>0.322</td>
<td>0.335</td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td>エタノール10％区</td>
<td>10.61</td>
<td>0.322</td>
<td>0.335</td>
</tr>
<tr>
<td>オートクレープ15分</td>
<td>無添加区</td>
<td>9.83</td>
<td>0.322</td>
<td>0.335</td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td>エタノール5％区</td>
<td>9.84</td>
<td>0.322</td>
<td>0.335</td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td>エタノール10％区</td>
<td>9.71</td>
<td>0.322</td>
<td>0.335</td>
</tr>
<tr>
<td>オートクレープ30分</td>
<td>無添加区</td>
<td>9.57</td>
<td>0.322</td>
<td>0.335</td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td>エタノール5％区</td>
<td>9.79</td>
<td>0.322</td>
<td>0.335</td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td>エタノール10％区</td>
<td>10.33</td>
<td>0.322</td>
<td>0.335</td>
</tr>
<tr>
<td>オートクレープ60分</td>
<td>無添加区</td>
<td>9.23</td>
<td>0.322</td>
<td>0.335</td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td>エタノール5％区</td>
<td>9.50</td>
<td>0.322</td>
<td>0.335</td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td>エタノール10％区</td>
<td>10.27</td>
<td>0.322</td>
<td>0.335</td>
</tr>
</tbody>
</table>

オートクレープでの加熱温度は全て120℃。

第2表 加熱条件とエタノールのあなたの色調に及ぼす影響（シロ糖添加）

<table>
<thead>
<tr>
<th>加熱条件</th>
<th></th>
<th>x</th>
<th></th>
<th>y</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td>無添加</td>
<td>無添加区</td>
<td>6.17</td>
<td>0.354</td>
<td>0.326</td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td>エタノール5％区</td>
<td>6.12</td>
<td>0.354</td>
<td>0.326</td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td>エタノール10％区</td>
<td>6.21</td>
<td>0.354</td>
<td>0.326</td>
</tr>
<tr>
<td>オートクレープ15分</td>
<td>無添加区</td>
<td>6.21</td>
<td>0.354</td>
<td>0.326</td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td>エタノール5％区</td>
<td>6.13</td>
<td>0.359</td>
<td>0.327</td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td>エタノール10％区</td>
<td>5.96</td>
<td>0.359</td>
<td>0.327</td>
</tr>
<tr>
<td>オートクレープ30分</td>
<td>無添加区</td>
<td>6.36</td>
<td>0.364</td>
<td>0.328</td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td>エタノール5％区</td>
<td>6.17</td>
<td>0.364</td>
<td>0.328</td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td>エタノール10％区</td>
<td>6.05</td>
<td>0.364</td>
<td>0.328</td>
</tr>
<tr>
<td>オートクレープ60分</td>
<td>無添加区</td>
<td>5.98</td>
<td>0.364</td>
<td>0.328</td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td>エタノール5％区</td>
<td>5.55</td>
<td>0.364</td>
<td>0.328</td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td>エタノール10％区</td>
<td>5.15</td>
<td>0.364</td>
<td>0.328</td>
</tr>
</tbody>
</table>

オートクレープでの加熱温度は全て120℃。
第2図 生あんからの抽出液の吸収スペクトル
（ショ糖添加，オートクレーブ60分加熱）
1. エタノール10%添加，2. エタノール無添加

第3図 生あんからの抽出液の吸収スペクトル
（ショ糖無添加，無加熱，20倍希釈）
1. エタノール10%添加，2. エタノール無添加

第4図 生あんからの抽出液の吸収スペクトル
（ショ糖無添加，オートクレーブ15分加熱）
1. エタノール10%添加，2. エタノール5%添加，3. エタノール無添加
シュ糖無添加でエタノール濃度を変えて試験した結果は第4図に示すように、シュ糖無添加でも加熱すれば生あんからの抽出液は着色し、510nm付近での吸収を生ずることが判明した。これらのことから、加熱により生成したあん抽出液の着色は510nmの吸収極大と関係があり、また、あん抽出液の着色促進は、糖と生あんとの褐変反応が主な要因ではなく、加熱やエタノール添加によって、生あんからの色素の溶出が促進されたことによるとと思われる。また、あん抽出液を冷蔵庫内に放置しておくと、しばらく白色沈殿がみられ、特に、エタノールを添加した場合やオートクレープ加熱による処理を60分と長くした場合に多く生じることが認められた。

2. pH変動、エタノール添加、シュ糖の有無および加熱時間があんの色調に及ぼす影響
エタノール、シュ糖添加の有無、pHおよびオートクレープ加熱での処理時間を変えてあんの色調変化を測定した（第3～6表）。x、y値はどの試験区も変動は認められなかった。無加熱区ではシュ糖（+）、エタノール5％の場合以外はpHを下げるとY％（明度）はやや高くなった。オートクレープ加熱15分および30分の場合も無加熱区とほぼ同様な傾向であった。オートクレープ加熱60分では、シュ糖（+）、エタノール（-）やシュ糖（-）、エタノール（-）ではpHを4.0にしてもY％はやや高くなり、特に、シュ糖（-）、エタノール5％ではpHが酸性になるに従い、Y％がかなり高くなる傾向を示した。しかし、シュ糖（+）、エタノール5％添加での条件では、pHの低下とともにあんのY％の低下が認められ、特にpH4.0に下げるとき著しいY％の低下が認められ、水ようかんでの着色促進の結果が再現された。第3表の結果からあんの濃色化は生あんにシュ糖およびエタノールの添加だけでなくpHを酸性に調整して加熱することがあんの着色をさらに大きく促進する要因であると考えられた。

第3表 pH変化、エタノール添加、シュ糖の有無および加熱時間があんの色調に及ぼす影響（無加熱）

<table>
<thead>
<tr>
<th>シュ糖（+）、エタノール（-）</th>
<th>シュ糖（-）、エタノール（-）</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td>Y％</td>
<td>x</td>
</tr>
<tr>
<td>pH6.6</td>
<td>5.30</td>
</tr>
<tr>
<td>pH5.0</td>
<td>5.64</td>
</tr>
<tr>
<td>pH4.0</td>
<td>6.00</td>
</tr>
</tbody>
</table>

<table>
<thead>
<tr>
<th>シュ糖（+）、エタノール5％</th>
<th>シュ糖（-）、エタノール5％</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td>Y％</td>
<td>x</td>
</tr>
<tr>
<td>pH6.6</td>
<td>5.29</td>
</tr>
<tr>
<td>pH5.0</td>
<td>6.14</td>
</tr>
<tr>
<td>pH4.0</td>
<td>5.59</td>
</tr>
</tbody>
</table>
第4表  pH変化、エタノール添加、ショ糖の有無および加熱時間が
あんの色調に及ぼす影響（オートクレープ処理120℃、15分）

<table>
<thead>
<tr>
<th>pH</th>
<th>ショ糖 (+)、エタノール (−)</th>
<th>ショ糖 (−)、エタノール (−)</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td>6.6</td>
<td>4.96 0.370 0.330</td>
<td>10.53 0.370 0.330</td>
</tr>
<tr>
<td>5.0</td>
<td>6.32 0.370 0.330</td>
<td>12.08 0.370 0.330</td>
</tr>
<tr>
<td>4.0</td>
<td>6.64 0.370 0.330</td>
<td>12.98 0.370 0.330</td>
</tr>
</tbody>
</table>

<table>
<thead>
<tr>
<th>pH</th>
<th>ショ糖 (+)、エタノール 5%</th>
<th>ショ糖 (−)、エタノール 5%</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td>6.6</td>
<td>4.75 0.370 0.330</td>
<td>10.94 0.370 0.330</td>
</tr>
<tr>
<td>5.0</td>
<td>5.91 0.370 0.330</td>
<td>12.58 0.370 0.330</td>
</tr>
<tr>
<td>4.0</td>
<td>6.27 0.370 0.330</td>
<td>12.98 0.370 0.330</td>
</tr>
</tbody>
</table>

第5表  pH変化、エタノール添加、ショ糖の有無および加熱時間が
あんの色調に及ぼす影響（オートクレープ処理120℃、30分）

<table>
<thead>
<tr>
<th>pH</th>
<th>ショ糖 (+)、エタノール (−)</th>
<th>ショ糖 (−)、エタノール (−)</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td>6.6</td>
<td>5.40 0.379 0.334</td>
<td>11.05 0.379 0.334</td>
</tr>
<tr>
<td>5.0</td>
<td>6.33 0.379 0.334</td>
<td>12.72 0.379 0.334</td>
</tr>
<tr>
<td>4.0</td>
<td>6.36 0.379 0.334</td>
<td>13.73 0.379 0.334</td>
</tr>
</tbody>
</table>

<table>
<thead>
<tr>
<th>pH</th>
<th>ショ糖 (+)、エタノール 5%</th>
<th>ショ糖 (−)、エタノール 5%</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td>6.6</td>
<td>4.76 0.379 0.334</td>
<td>11.45 0.379 0.334</td>
</tr>
<tr>
<td>5.0</td>
<td>6.13 0.379 0.334</td>
<td>12.90 0.379 0.334</td>
</tr>
<tr>
<td>4.0</td>
<td>5.70 0.379 0.334</td>
<td>13.43 0.379 0.334</td>
</tr>
</tbody>
</table>
第6表 pH変化、エタノール添加、ショ糖の有無および加熱時間による
あんの色調に及ぼす影響（オートクレープ処理120℃、60分）

<table>
<thead>
<tr>
<th>ショ糖 (+)、エタノール (-)</th>
<th>ショ糖 (-), エタノール (-)</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td>Y % x y</td>
<td>Y % x y</td>
</tr>
<tr>
<td>pH6.6 5.40 0.379 0.334</td>
<td>11.05 0.379 0.334</td>
</tr>
<tr>
<td>pH5.0 6.33 0.379 0.334</td>
<td>12.72 0.379 0.334</td>
</tr>
<tr>
<td>pH4.0 6.36 0.379 0.334</td>
<td>13.73 0.379 0.334</td>
</tr>
</tbody>
</table>

<table>
<thead>
<tr>
<th>ショ糖 (+), エタノール 5%</th>
<th>ショ糖 (-), エタノール 5%</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td>Y % x y</td>
<td>Y % x y</td>
</tr>
<tr>
<td>pH6.6 4.76 0.379 0.334</td>
<td>12.10 0.379 0.334</td>
</tr>
<tr>
<td>pH5.0 4.77 0.379 0.334</td>
<td>14.15 0.379 0.334</td>
</tr>
<tr>
<td>pH4.0 4.10 0.379 0.334</td>
<td>17.16 0.379 0.334</td>
</tr>
</tbody>
</table>

第5図 生あんからの抽出液のpH変化による
吸光度変化
1. pH6.8 エタノール無添加
2. pH6.8 エタノール 5%添加
3. pH10.0 エタノール無添加
4. pH10.0 エタノール 5%添加
5. pH11.0 エタノール無添加
6. pH11.0 エタノール 5%添加
7. pH5.0 エタノール無添加
8. pH5.0 エタノール 5%添加

第6図 生あんからの抽出液の時間経過による
吸光度変化
(ショ糖無添加、オートクレープ15分加熱、pH11)
1. エタノール無添加15分後
2. エタノール 5%添加15分後
3. エタノール無添加30分後
4. エタノール 5%添加30分後
5. エタノール無添加75分後
6. エタノール 5%添加75分後

-15-
水ようかんの変敗、離水の防止に関する研究（第4報）

次に、あんのpHが抽出液に及ぼす影響について検討した。第5図に示すように、pH低下により抽出液は着色せず、470nm付近に小さな吸収がみられた。pH無調整のあんから得られた抽出液も大きな吸収極大はみられなかった。しかし、あんのpHを10以上に調整後、抽出液を得た場合は520nm付近に大きい吸収極大がみられ、また、pH無調整のサンプルからでは生じなかった430nmの2つの吸収極大がみられたと共に沈黙赤色に着色した。しかも第6図に示すように、時間の経過によって吸収極大は高くなり、着色の度合も強くなる傾向がみられ、約5時間後に最大吸収を示した。

あんからの抽出液のpH変化による吸光度の復調の有無を調べた。抽出液のpHを下げると、pH4〜5で白色沈殿を生じ、その沈殿を除去すると溶液の色は淡黄色〜橙色を呈した。この白色沈殿を除去し、再びpHをアルカリ側に戻しても液の色は戻らず、吸収もみられなかった（第7図）。pHを1〜2に調整した場合、白色沈殿は溶解したが、溶液の色は淡黄色のままであった。しかし、抽出液のpHを中性→強アルカリ性→中性としても、pH調整の前後の中性域での吸収パターンは変わらなかったので着色の強弱は色素物質の不可逆的な構造変化のために生じるのではないかと考えられた。

第7図 生あんからの抽出液のpH変化による吸光度の復調の有無
（エタノール5％添加抽出液）
1. pH無調整、2. pH11.0、3. pH6.5
4. pH酸性にして白色沈殿を除去後、pH11.0にしたもの

−16−
3. ゲル濾過による色素の分離

生あんにエタノールを添加又は無添加で得られた抽出液はゲル濾過によって2つの区分に分離され、最初に流出した区分（第1区分）は赤色、後に流出した区分（第2区分）は黄～橙色を呈した。流出液を濃縮し、不溶性物質を遠心分離（12000rpm, 10mm）で除去した溶液の吸光曲線は第8図のようになった。エタノール添加の有無により第1区分には大きな差異はないが第2区分ではエタノール添加の場合520nmの大きな吸収がみられた。

第8図 ゲル濾過液の吸収スペクトル

1. エタノール5％、ショ糖（－）、pH12の抽出液からの第一区分
2. エタノール5％、ショ糖（－）、pH12の抽出液からの第二区分
3. エタノール無添加、ショ糖（－）、pH12の抽出液からの第一区分
4. エタノール無添加、ショ糖（－）、pH12の抽出液からの第二区分

4. 白色沈殿とあんの色素成分との関係について

抽出液を低温（0℃）で遠心分離すると白色沈殿が生じ、これをアルカリ性にして加熱すると溶解放して赤色を呈することから、この白色沈殿と溶液の赤色色素成分とは何らかの関係があると考え検討した。白色沈殿ができたのは次のようの場合であった。

1) あんの加熱をオートクレープ60分のとき（特にあんのpHを4～5に下げたとき）
2) あん抽出液（特にエタノール添加のものから得られたサンプル）を低温で放置したとき
3）あん抽出液のpHを4～5に下げたとき

4）あん抽出液をクロロホルムと振り混ぜたとき

エタノール5％添加、ショ糖（一）、オートクレープ60分処理した抽出液から分離した白色沈殿をアルカリ性にして加熱溶解した液（濃い赤色に着色）から、不純物を遠心分離して除去した液の吸収曲線を第9図に示す。530nm付近に吸収があり、これは先に抽出液のpHを4～5に調整すると白色沈殿を多く生じ、この白色沈殿を除去すると溶液のpHを中性又は弱アルカリ性に調整しても赤色に着色しなかったことから、赤色の色素成分はこの白色沈殿物質と結合していると思われる。このことは、白色沈殿が多く生じると、土器が淡黄色～橙色を呈することからも分かる。そして、この色素物質はpHや温度変化によって溶解度が変動する水溶性たんぱく質のような高分子物質であり、アルカリ性になると包み込んでいた色素を放出し、溶液の着色を促進させるのではないかと思われるが、これらの点については今後詳細な検討が必要である。

第9図 白色沈殿のアルカリ溶解液の吸収スペクトル
（エタノール5％、pH中性、オートクレープ60分加熱からの
白色沈殿のアルカリ溶解液）
要約
あんの色調に及ぼすエタノール、ショ糖、pHおよび加熱処理の影響とあん抽出液の色調について試験した。
1. 生あんにショ糖とエタノールを添加した懸濁液を加熱すると、オートクレーブ（加熱温度120℃）による処理が30分ではpHを下げるにも、色調は明るくなる傾向を示したが、60分では著しいY%の低下がみられ、ショ糖存在下でエタノールと酸性pHの影響で濃色化し、水ようかんの着色促進と同様な結果を得た。
2. 生あんの懸濁液を加熱処理して得られた抽出液の吸収曲線は赤～赤褐色（520nm付近）、黄色～橙色（430nm付近）の2つに極大吸収を示した。あん抽出液を冷却したり、pHを4～5にすると白色沈殿を生じた。白色沈殿はアルカリ性にし加熱溶解すると赤色に変化すると共に520nm付近に吸収がみられることなどから、白色沈殿物質はあんの赤色色素成分と結合していると考えられた。
文 献
1）南場ら：愛知食品工試年報，28，48（1987）
2）南場ら：愛知食品工技年報，30，37（1989）
3）南場ら：愛知食品工技年報，31，19（1990）