

水ようかんの変敗、離水の防止に関する研究（第3報）

各種保存料の抗菌効果

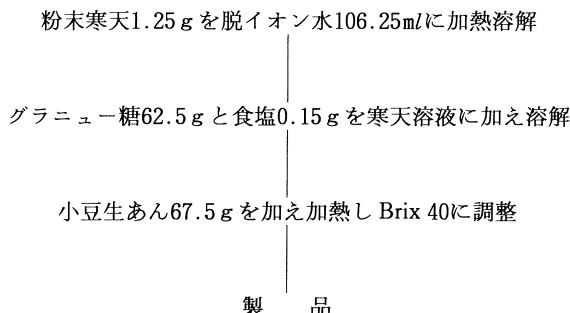
南場 豪・井上靖也*・鈴木峰夫**

前報^{1, 2)}までに、水ようかんの変敗、離水の原因菌を分離し、*Bacillus subtilis* と同定し、さらに変敗、離水の性状について生化学的な検討を加えた。本報では、市販水ようかんの成分および菌学的調査を行うと共に、加熱殺菌時に種々の保存料を添加して水ようかんの殺菌および保存方法を検討したので報告する。

実験方 法

1. 市販水ようかんの分析および保存試験

1. 1. 分析 市販品のうち、No. 1 はレトルト殺菌製品と思われる大手メーカー品、No. 2, No. 3 は蒸気殺菌製品 (90~100°C, 約30分)、No. 4 は熱湯殺菌製品 (85°C, 40分) である。対照として試作した水ようかんは第1図に従って調製した。一般成分、色調、微生物菌数およびゼリー強度は既報¹⁾により、水分活性は前報²⁾に準じて測定した。官能審査には、上述のNo. 1, No. 2 およびNo. 3 の水ようかんを試料とし、パネル18名（当所職員）で Kramer の順序法³⁾に従って実施した。



第1図 水ようかん試作品の調製法

*三共毛織株 **農林水産省名古屋農林規格検査所

1. 2. 保存試験 分析に供したNo.1～No.4の試料の他に市販品11点（No.5～No.15）を加え、計15試料を30℃、2週間保存し、保存後のBrix, pHおよび生菌数を測定した。

2. 使用した保存料

2. 1. エタノール 試薬特級をV/W%で添加した。

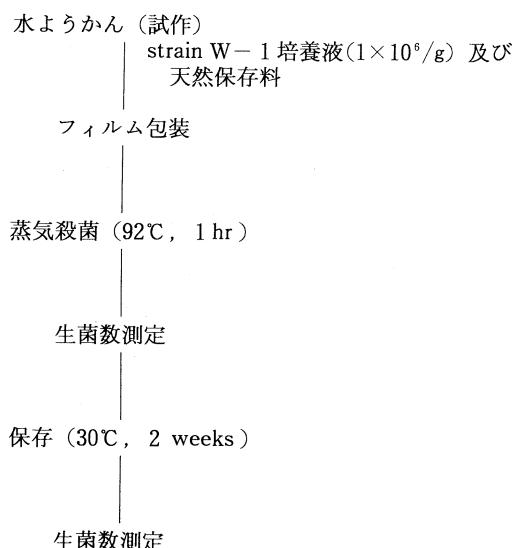
2. 2. 水酢酸 試薬特級を用い、水ようかんに添加後、pHメーターでpHを測定した。

2. 3. リゾチーム製剤 エーザイ株製のリゾチームおよびアミカノン（天然物10%+グリシン90%）を使用した。

2. 4. プロタミン アサマ化成株のインパクトーN（鮭白子分解物、デキストリン他）を使用した。

3. 各種保存料を添加した殺菌および保存試験

殺菌および保存方法を第2図に示した。



第2図 水ようかんの殺菌試験法

*B. subtilis*と同定したstrain W-1をM-3培地²⁾で3日間液体培養した培養液と共に、実験方法2.に記載した各種保存料を試作した水ようかんに添加し、塩化ビニリデン製のチューブ袋に充填し、東邦ガス角型万能むし器D20Cを用い、1時間加熱した。殺菌直後の生菌数と2週間30℃保存後の生菌数を測定し、殺菌および保存性に対する効果を判定した。

実験結果および考察

1. 市販水ようかんの分析および保存試験

市販品と試作品の成分分析値は第1表の通りである。水分とBrix(糖度)にかなり差がみられ、水分ではNo.1, No.2は51.5%, 50%と低く, No.3, No.4は58.8%, 60.6%と高かった。BrixではNo.1, No.2は44.0, 46.0と高く, No.3, No.4は37.0, 34.0と低い値を示し、試作品(末殺菌)は中間の数値を示した。色調では、レトルト製品と思われるNo.1のY%が3.52とかなり低い値を示し、生アン使用量が多かったのか、あるいは高温殺菌のため、着色が進んだのではないかと考えられる。逆にNo.2のY%は5.06と高い値を示した。水分活性はいずれの試料とも0.90以上で細菌の増殖が可能な数値であった。

ゼリー強度(第2表)は既報¹⁾の場合よりもかなり低い値を示し、試作品とNo.1, No.4がほぼ同等の値を示し、ヤング率はNo.1が最も低い値を示した。水分含量の多少とゼリー強度の間に明らかな傾向が認められないのは、ゲル化剤の多少など水分以外の要因が関係しているものと考えられた。No.1, No.2およびNo.3の試料について官能審査を実施した結果、味、かたさについては有意差は認められなかつたが、色ではNo.2が5%有意で良くない評価をうけた。No.2は3試料のうちで最もY%が高く、やや淡色なことがこの結果になったものと思われる(第3表)。

第1表 水ようかんの成分分析

	No.1	No.2	No.3	No.4	試作品
水 分 (%)	51.5	50.0	58.8	60.6	53.4
灰 分 (%)	0.2	0.1	0.1	0.3	0.2
脂 質 (%)	0.1	0.1	0.1	0.1	0.2
タンパク質 (%)	3.5	2.7	3.0	2.4	3.6
纖 維 (%)	0.3	0.5	0.4	0.5	0.9
糖 質* (%)	44.4	46.6	37.6	36.1	41.7
Brix	44.0	46.0	37.0	34.0	40.0
pH	6.6	6.6	6.5	6.1	6.7
色 調 Y%	3.52	5.06	4.40	4.25	4.34
x	0.378	0.348	0.361	0.352	0.321
y	0.378	0.323	0.361	0.314	0.299
生 菌 数 (1 g 中)	<10	<10	<10	<10	<10
水 分 活 性	0.93	0.93	0.95	0.95	0.94

*100-(水分+灰分+脂質+タンパク質+纖維の各%)により算出。

第2表 水ようかんのゼリー強度およびヤング率

	No. 1	No. 2	No. 3	No. 4	試作品
ゼリー強度 (g/cm ²)	162	273	250	177	153
ヤング率 (g/cm ²)	559	1,276	1,667	805	900

測定条件：圧縮条件 100mm/min, GAGE 25 (フルスケール 1 kg)

チャート速度 100mm/min, ブランジャー直径 10mm

ロードセレクター 100

万能引張圧縮試験機 DCS-100

第3表 官能審査結果

	色	味	かたさ	総合
No. 1	32	40	35	39
No. 2	44*	31	38	34
No. 3	32	40	35	39

* kramer の検定 (<29, >43で 5 %有意)

水ようかん中の生菌数については、既報¹⁾でも一部報告したが、今回は市販水ようかんを30℃、2週間保存後、生菌数、Brix および pH を測定した（第4表）。Brix 40以下でも生菌数が10以下/gの場合もあるが、No. 4, No. 11およびNo.13の場合は、生菌数が10⁵/g レベル以上になり、変敗、離水が認められた。No. 5, No. 6 からはカビ、生酸菌、No. 8 からは生酸菌が検出された。生菌数10⁴/g レベル以上のNo. 4, No.11, No.12およびNo.13からは *Bacillus* 属細菌が検出され、*Bacillus* 属細菌が変敗、離水に関与していることが再確認された。

第4表 市販水ようかんの生菌数測定結果 (30°C, 2週間保存後)

試料	生菌数 (cells/g)	Brix	pH	容器など
No. 1	<10	44.0	6.6	アルミカップ (レトルト)
No. 2	<10	46.2	6.6	アルミカップ
No. 3	<10	37.0	6.5	アルミカップ
No. 4	1×10^5	34.0	6.1	プラスチックカップ (深絞り容器)
No. 5	2×10^3	37.4	6.1	アルミカップ
No. 6	10	34.0	6.2	アルミカップ
No. 7	<10	34.6	6.0	プラスチックカップ (深絞り容器)
No. 8	4×10^2	43.8	6.3	プラスチックカップ (深絞り容器)
No. 9	10	47.4	6.1	プラスチックカップ (深絞り容器)
No. 10	<10	39.9	6.1	プラスチックカップ (深絞り容器)
No. 11	2×10^6	39.3	6.0	プラスチックカップ (深絞り容器)
No. 12	7×10^4	47.7	6.4	プラスチックカップ (深絞り容器)
No. 13	1×10^5	42.6	6.2	プラスチックカップ (深絞り容器)
No. 14	<10	46.5	6.1	アルミカップ
No. 15	<10	34.4	6.5	シャーレ内
未殺菌 5°Cで1週間保存後				

2. 各種保存料の添加による殺菌、保存性の検討

現在、使用されている100°C以下の殺菌方法で添加したstrain W-1に対する殺菌効果を試験した(第5表)。熱湯殺菌区は殺菌直後 $10^2/g$ レベルまで減少したが、保存中に耐熱性のあるstrain W-1は $10^6/g$ レベルまで増殖し、85°C、40分程度の殺菌条件では増殖を阻止しえなかった。蒸気殺菌は熱湯殺菌よりも高温で加熱時間も長いが、さほど有効でなく、24時間ごとに3回加熱を繰り返すことによっても完全ではなく、 $10^4/g$ レベル以上に止まった。砂糖の添加量を増加させると、Brix47区で保存中に減少する傾向がみられた(第6表)。

リゾチームの効果は第7表に示すように、無添加区で保存中に菌数増加がほとんどみられないで、抑制効果の判定は判然としないが、リゾチーム、リゾチーム+グリシン添加区とも保存中に菌数の増減はみられなかった。*B. subtilis*は卵白リゾチームに対する感受性が強いとの報告⁴⁾もあり、さらに検討を要する。プロタミンの効果を第8表に示した。無添加区で保存中に菌数増加がほとんどなかったが、P

第5表 殺菌法を変えた場合の効果*

	生菌数 殺菌直後 (cells/g)	生菌数 保存後 (cells/g)
熱湯殺菌区 ¹⁾	9×10^2	2×10^6
蒸気殺菌 ²⁾ 1回区	8×10^2	5×10^5
蒸気殺菌 ²⁾ 2回区	4×10^2	2×10^5
蒸気殺菌 ²⁾ 3回区	2×10^2	7×10^4

*無加熱区：調整時 $1 \times 10^4/g$, 保存後 $2 \times 10^6/g$

¹⁾ 85°C, 40分

²⁾ 92°C, 60分

第6表 砂糖の濃度を変えた場合の効果*

	生菌数 殺菌直後 (cells/g)	生菌数 保存後 (cells/g)
Brix 40区	6×10^3	8×10^3
Brix 47区	4×10^3	2×10^2
Brix 53区	3×10^3	1×10^2

*無加熱区 (Brix 40) : 調製時 $1 \times 10^4/g$

第7表 リゾチームの添加効果

	生菌数 殺菌直後 (cells/g)	生菌数 保存後 (cells/g)
無添加区*	9×10^3	2×10^4
アミカノン 0.5%区	6×10^3	6×10^3
アミカノン 1.0%区	6×10^3	4×10^3
リゾチーム 0.5%区	6×10^3	9×10^3

*無加熱区：調製時 $7 \times 10^3/g$, 保存後 $5 \times 10^4/g$

第8表 プロタミンの添加効果

	殺菌直後 (cells/g)	生菌数 保存後 (cells/g)
無添加区	1×10^4	4×10^3
0.2%添加区	2×10^4	7×10^3
0.5%添加区	2×10^4	5×10^3
1.0%添加区	3×10^4	3×10^3

第9表 エタノールの添加効果

	殺菌直後 (cells/g)	生菌数 保存後 (cells/g)
無添加区*	5.0×10^4	1.2×10^5
エタノール 2 %添加区	1.5×10^4	1.5×10^4
エタノール 3 %添加区	4.1×10^3	2.0×10^3
エタノール 5 %添加区	1.1×10^2	5.5×10^2

*無添加、無加熱区：調製時 $7.6 \times 10^4/g$ 、保存後 $2.0 \times 10^5/g$

プロタミン添加区はいずれも保存後やや菌数の減少が認められた。プロタミンは中世域の pH で細菌、産膜酵母に対して抗微生物効果が報告されている。

エタノールの効果を第9表に示した。エタノールの添加量を増す程、加熱殺菌直後で著しい生菌数の減少が認められ、保存中にもそれ以上の増加はなく、顕著な殺菌ならびに保存効果が認められた。エタノールの微生物に対する殺菌効果については山下ら⁶⁾、山本ら⁷⁾、加熱処理併用の効果については棚田ら⁸⁾、堤ら⁹⁾の報告があるが、水ようかん中の *Bacillus* 属細菌の殺菌効果についての報告はない。

冰酢酸による pH 調整の効果を第10表に示した。pH を 5.0 に調整すると殺菌直後に $4.3 \times 10^4/g$ と菌数は激減し、保存中にも菌数の増加は認められなかった。有機酸の効果については山本ら¹⁰⁾ の報告があり、pH 5.0 では冰酢酸に強い効果を認めている。しかしながら、水ようかんの pH を 5.0 に下げることは、呈味上または色調などの品質劣化の上で好ましくないと考えられた。

第10表 氷酢酸による pH 調整の効果

	生菌数 殺菌直後 (cells/g)	生菌数 保 存 後 (cells/g)
pH 無調整, 加熱区*	4.9×10^3	3.1×10^6
pH 6.0調整区	1.9×10^3	4.8×10^6
pH 5.5調整区	7.7×10^3	1.7×10^5
pH 5.0調整区	4.3×10	2.2×10

*無加熱区：調整時 $1.9 \times 10^5/g$, 保存後 $2.0 \times 10^7/g$

第11表 エタノールと pH 調整による効果*

	生菌数 殺菌直後 (cells/g)	生菌数 保 存 後 (cells/g)
pH 無調整, エタノール無添加区**	7.1×10^3	1.0×10^5
pH 5.5. エタノール 2 %添加区	4.9×10^3	9.5×10
pH 5.5. エタノール 5 %添加区	<10	<10

*氷酢酸で pH を調整

**無加熱区：調製時 $1.8 \times 10^4/g$, 保存後 $3.6 \times 10^5/g$

エタノールと氷酢酸による pH 調整による効果を第11表に示した。エタノール 2 %添加で pH 5.5に調整した試験区は、殺菌直後 $10^3/g$ レベルであるが、保存中に減少の傾向にあり有効性が認められた。pH 5.5, エタノール 5 %添加区は殺菌直後10以下/gとなり、保存中にも増殖がみられず、菌学的にはほぼ完全な殺菌ならびに保存効果が得られた。エタノールおよび pH 調整した水ようかんの色調に及ぼす影響を調べるために、保存後の色調分析を行った（第12表）。エタノール 5 %添加により、著しいY%の低下、すなわち明度の低下が観察され、x, y 値も上昇し、エタノールの添加が色調に大きく影響を及ぼすことが判明した。この色調変化についてはさらに検討中である。

第12表 水ようかんの色調分析（蒸気殺菌後, 30℃, 2週間保存）

	Y%	x	y
エタノール無添加, 無加熱区	4.95	0.358	0.322
エタノール無添加, 加熱区	4.52	0.367	0.328
エタノール 2 %区	4.55	0.362	0.327
エタノール 5 %区	3.65	0.371	0.333
エタノール無添加, pH 5.5区	4.66	0.372	0.329
エタノール 2 %, pH 5.5区	4.53	0.374	0.331

以上、水ようかんの保存性向上のために、各種保存料を加熱殺菌時に添加してその効果を調べたが、エタノールの添加が殺菌効果の増大に著しく有効であった。しかし、エタノール 5 %添加は水ようかんの色調や香りに影響を及ぼし、官能的に 2 %程度が限界と考えられた。なお、加熱時におけるエタノールの逸散を調べたが、2 %添加で約 1 %、5 %添加で約 3.7%，水ようかんに残存していた。水ようかんの品質変化を考慮して、pH 5.5調整、エタノール 2 %添加が変敗、離水防止に実用的な方法と考えられた。本実験で有効であったエタノール添加加熱法は、水ようかん中の strain W-1 の殺菌以外にも応用可能と考えられ、現在各種微生物の殺菌実験を実施中である。

要 約

1. 市販の水ようかんを分析し、試作品と比較した。市販品のうち、水分、Brix にかなり差がみられたが、ゼリー強度は 153～273 g/cm³ でさほど大きな差は認められなかった。しかし、官能審査では Y% が高い、すなわち明度の高い水ようかんが色について低い評価となった。保存試験の結果、15 試料のうち 4 試料の生菌数が 10⁵/g レベル以上を示し、*Bacillus* 属細菌が検出された。

2. 試作した水ようかんに液体培養した strain W-1 と保存料を添加し、蒸気殺菌（約 92℃, 1 時間）後、30℃ で 2 週間保存し、殺菌ならびに保存効果を試験した。その結果、エタノールの添加と冰酢酸による pH 調整が有効で、水ようかんの pH を 5.5 に調整し、エタノールを 2 % 添加する方法は変敗、離水の防止に有効な一手段と考えられた。

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) 日科技連官能検査委員会編：新版 官能検査ハンドブック（日科技連出版社），P.305（1979）
- 4) 赤塚ら：New Food Industry，19（№12），17（1977）
- 5) 野崎：フードケミカル，2，15（1988）
- 6) 山下ら：愛知食品工試年報，12，105（1971）
- 7) 山本ら：日食工誌，31，531（1984）
- 8) 棚田ら：日食工誌，21，345（1974）
- 9) 堤ら：日食工誌，35，545（1988）
- 10) 山本ら：日食工誌，31，525（1984）