

熟成梅酒が琥珀色になる理由

玉川学園高等部
松井了子・長谷川楓果

動機

- ・梅の色は緑色なのに、梅酒の色が琥珀色になる現象を疑問に感じた
- ・梅酒の変色は野菜切断面の変色と同じ原理なのか気になった



図1 梅酒の変色

目的

梅酒が熟成すると琥珀色になる原理を解明する

背景

いくつかの研究では、梅酒が琥珀色になる理由はアミノカルボニル反応⁽¹⁾や糖の褐変と推測されている。しかし、実証はされておらず、詳細は不明。

結論

梅酒は**3段階**の反応によって琥珀色に変化した

研究の意義

ワインなどの果実酒の色は、その熟成度や品質を評価する上で重要な要素であり、本研究の成果は、熟成梅酒をはじめとする果実酒類の品質保持に貢献することができる。

これまでの研究【野菜切断面の変色理由を探る】

＜目的＞ 野菜中のポリフェノール(PP)と酸化酵素(PPO)の有無を確認した。

＜方法＞ 野菜のすりつぶし液にフェノール試薬を加えた。呈色の有無で、PPが含まれているかを確認した。カテコール水溶液に野菜のすりつぶし液を2-3滴加えて、変色するかを確認した。

＜結果＞ 表1 PPの確認(フェノール試薬を添加直後の様子)

レタス	サツマイモ	ナス	ジャガイモ	レンコン	水(control)
青色呈色					×

＜考察・結論＞

フェノール試薬はフェノール性水酸基により還元されて青色に呈色する。どの野菜も呈色したことから野菜にはPPが含まれている。

表2 PPOの確認(カテコール水溶液に入れた直後の様子)

レタス	サツマイモ	ナス	ジャガイモ	レンコン	水(control)
すぐに変色した					×

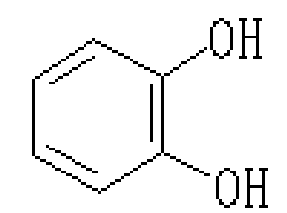


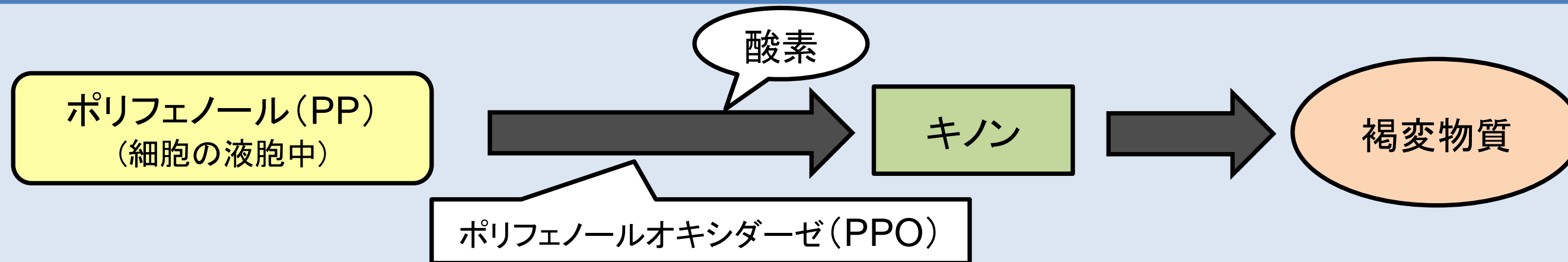
図2 カテコール

＜考察・結論＞

カテコールがすぐに変色したことから、野菜にはPPOが含まれている。

野菜の変色メカニズム

野菜にはPPとPPOが含まれる
⇒ 切断面の変色の原因はPPの酸化だと考えられる



＜梅酒変色への仮説＞

梅酒の変色にも、梅に含まれるPPが関与しているのではないかと

事前実験

＜目的＞ 梅酒の変色にPPが関与しているか調べる

＜方法＞ 梅酒の『PP濃度』と『褐変度(琥珀色の濃さ)』の相関関係を調べた。

PP濃度は分光光度計を使用し、フォーリンチオカルト法で測定した。褐変度は分光光度計を用いて450nmの吸光度を測定した⁽²⁾。

＜結果＞

表3 経過日数による梅酒の様子

時間	1日後	5日後	20日後	41日後	59日後	11か月後	4年後
写真							
PP濃度 (×10 ⁻⁴ mol/L)	0.913	1.81	3.57	3.41	3.45	3.74	3.06
吸光度 (ABS)	0.0186	0.0331	0.0775	0.1200	0.1259	0.1456	0.2249

(ただし、11か月後と4年後の梅酒はそれぞれ別で漬けたもの)

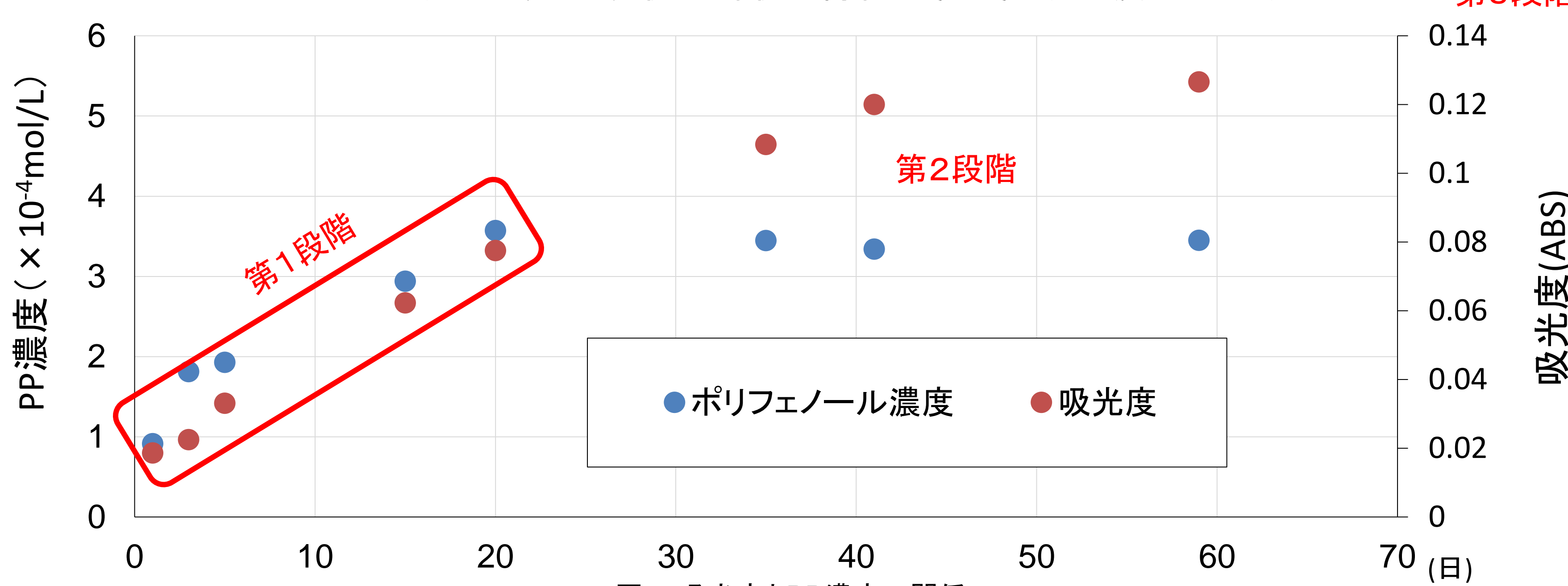


図4 吸光度とPP濃度の関係

波長(nm)	色	補色
435-480	青	黄

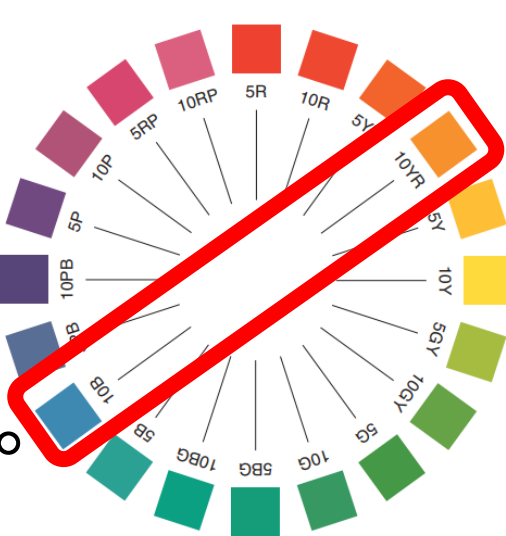


図3 色相環

＜考察＞

【0～20日後】

梅酒中のPP濃度と吸光度の上昇度が一致した。このことから、初期段階では、梅のPPがホワイトリカーに抽出されることで梅酒の色が変化すると考えられる = 第1段階

【20日後～11か月後】

PP濃度の上昇は停滞したが、梅酒の吸光度はなだらかに上昇し続けた。このことから、梅からPPが抽出される以外の別反応が起こり、梅酒がさらに変色していくと考えられる = 第2段階

【11か月後～4年後】

4年後のPP濃度は減少し、吸光度は11か月後の1.5倍になった。このことから、第2段階とは別の反応も起こっていると考えられる = 第3段階

＜結論＞

梅のPPがホワイトリカーに抽出されることで、梅酒の色が変化する = 梅酒の変色の第1段階

＜新たな仮説＞

梅酒の変色は3段階の反応に分かれているのではないかと。第2段階では、野菜切断面の変色と同様に、梅酒中に抽出されたPPが酸化されるのではないかと。

第2段階 PPの酸化

2-1 梅のPPの変色の検討

＜目的＞ 梅酒(梅)のPPは酸化されて変色するのか検証する

＜方法＞ 蓋つき試験管に梅のすりつぶし液を入れた
各気体を蓋つき試験管を封入して室温で放置した

表4 各気体による色の変化

放置前				24日後			
空気	O ₂	N ₂	CO ₂	空気	O ₂	N ₂	CO ₂
				褐色△	褐色○	褐色×	褐色×

＜考察＞ 24日後、酸素を吹き込んだ梅のすりつぶし液が褐変した。
⇒ 梅のPPは24日程度かけて酸化され、褐色になる。

2-2 PPOの有無の確認

＜目的＞ 梅の実もしくは梅酒中にPPOが存在するか調べる

＜方法＞ カテコールに梅のすりつぶし液または梅酒(または水)を加えた

表5 時間経過によるカテコールの色の変化

放置前		18日後	
水	梅	水	梅
		赤	微赤

＜考察＞

・カテコールに梅・梅酒を添加したものは水を添加したものより変色しなかった。このことから、梅の成分がカテコールよりも先に酸化されたと考えられる。
・カテコールが変色するまで18日かかった。このことから、梅にPPOがあるかは分からなかった。梅のPPが酸化されるのは、時間がかかると考えられる。

＜結論＞ 梅のPPは時間をかけて酸化され褐変する(24日程度)

20日以降 梅酒の吸光度が上昇したのは、梅酒中のPPが酸化されたため = 第2段階

第3段階の候補1 アミノ-カルボニル反応

<仮説> 第1段階と第2段階では、梅酒の変色にPPが関与していた。
PP以外の成分も梅酒の変色に関係しているのではないかと
梅酒の材料である「氷砂糖(スクロース)」が関係しているのではないかと

<目的> アミノ-カルボニル反応が梅酒中で起こるかを調べる
<アミノ-カルボニル反応とは?>
アミノ基とカルボニル基により褐変物質を生成する反応
主に還元糖とアミノ酸による反応が一般的 (高温かつアルカリ性下で促進)

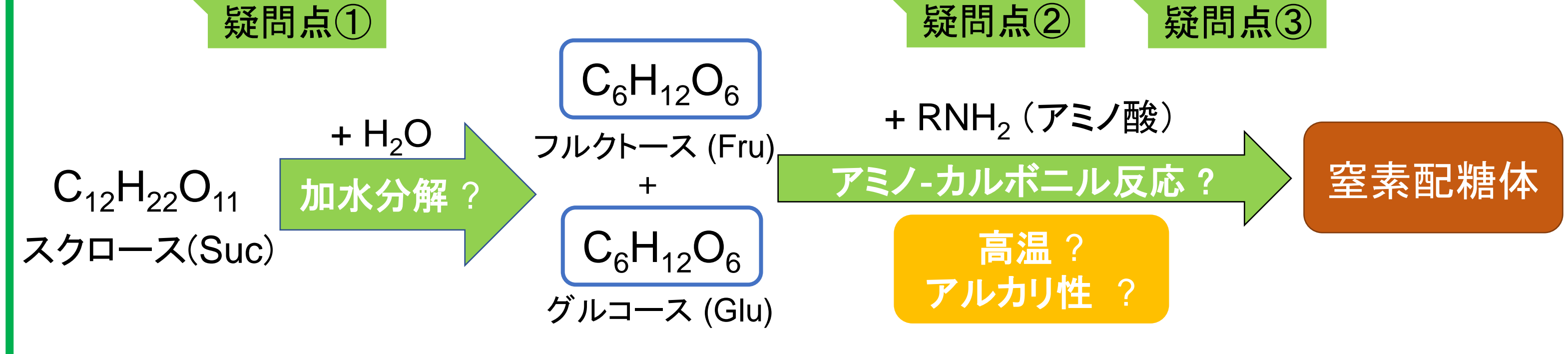


図5 梅酒中でアミノ-カルボニル反応が起こる場合の流れ

疑問点① <目的> 梅酒中に還元糖があるか調べる

<方法> 梅酒(氷砂糖ありで作製)にフェーリング試薬を加えて加熱し呈色するかを
<結果> 観察した梅酒のフェーリング反応

水	加熱前		加熱後	
	梅酒	糖あり	梅酒	糖なし
	無色	無色	褐色	無色

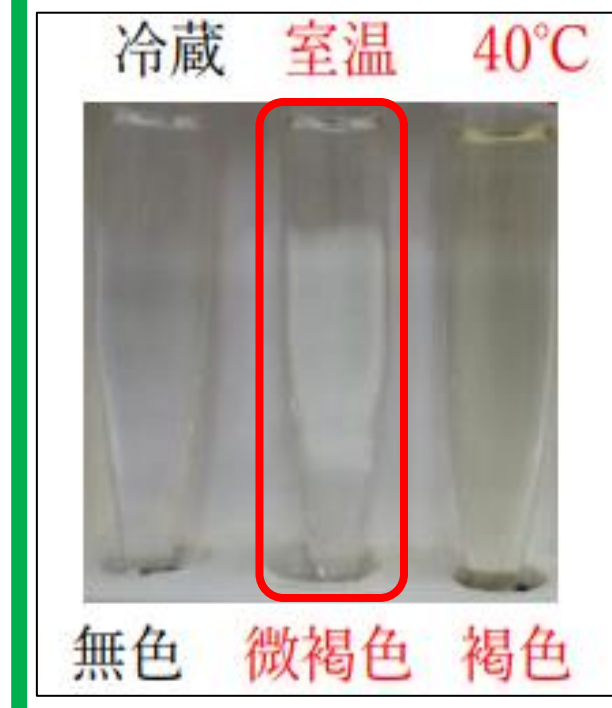
【参考】
糖の還元性
Suc: なし
Fru: あり
Glu: あり

<考察> 梅酒がフェーリング反応を示したことから、梅酒中には還元性のある物質が存在しているといえる。つまり氷砂糖(Scu)は、梅から抽出された有機酸により加水分解されて、還元糖(FruとGlu)が生成したと考えられる。

<結論> 梅酒中に還元糖はある

疑問点② <目的> 室温でアミノ-カルボニル反応が起きるかを調べる

<方法> Fruとグリシン(アミノ酸)の混合液に、 Na_2CO_3 水溶液を加えてアルカリ性にして温度を変えて放置した
<結果> 混合水溶液がわずかに変色するのに、室温では13週間かかった。梅酒は室温で放置するため、梅酒中ではアミノ-カルボニル反応は起きにくいと考えられる。

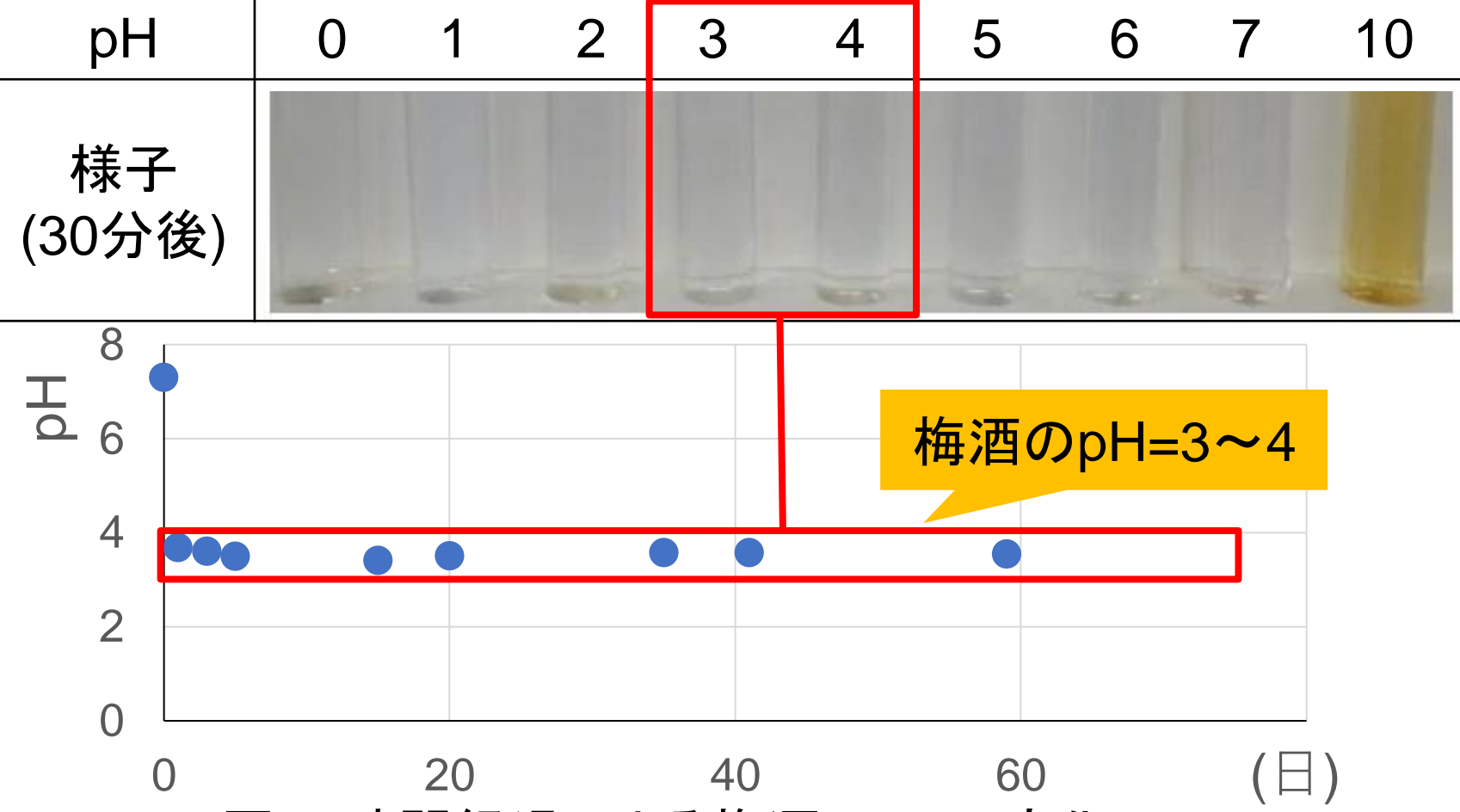


<結論> アミノ-カルボニル反応は室温では起きにくい

図6 温度検討(13週間後)

疑問点③ <目的> 酸性条件下(梅酒のpH)でもアミノ-カルボニル反応が起きるかを調べる

<方法> 梅酒のpHをpHメーターで測定した。Fruとグリシンの混合液を塩酸でpHを調整し、湯浴で加熱して、色の変化を観察した。
<結果> 表7 pHの違いによるアミノ-カルボニル反応



<考察> 梅酒は作製1日後にpH=3.5になった。これは梅から有機酸が抽出されたためだと考えられる。pH=3.5で混合液(Fruとグリシン)を30分加熱しても変色しなかったため、梅酒のpHではアミノ-カルボニル反応は起きにくいと考えられる。

<結論> 梅酒中(酸性)ではアミノ-カルボニル反応は起きにくい

<まとめ> 梅酒変色の第3段階はアミノ-カルボニル反応ではない

第3段階の候補2 フルクトースの褐変

<仮説> 酸性条件で促進される糖の反応で梅酒が変色するのは?

<目的> 梅酒中でフルクトースの褐変反応が起こっているかを調べる
<フルクトース(ケトース)の褐変とは?>
ケトースが不安定になり、分解され、褐変物質が生成する反応
高温、酸性条件で促進される(報告例: レモンシロップの褐変⁽³⁾)

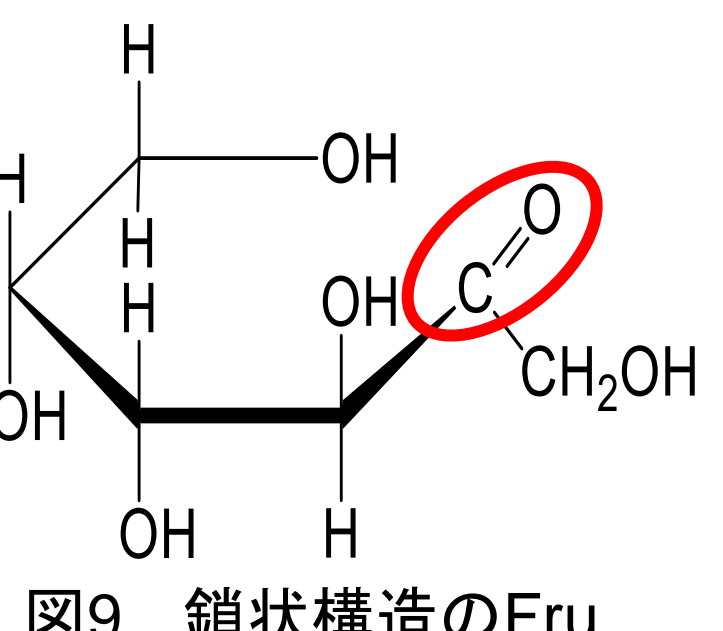
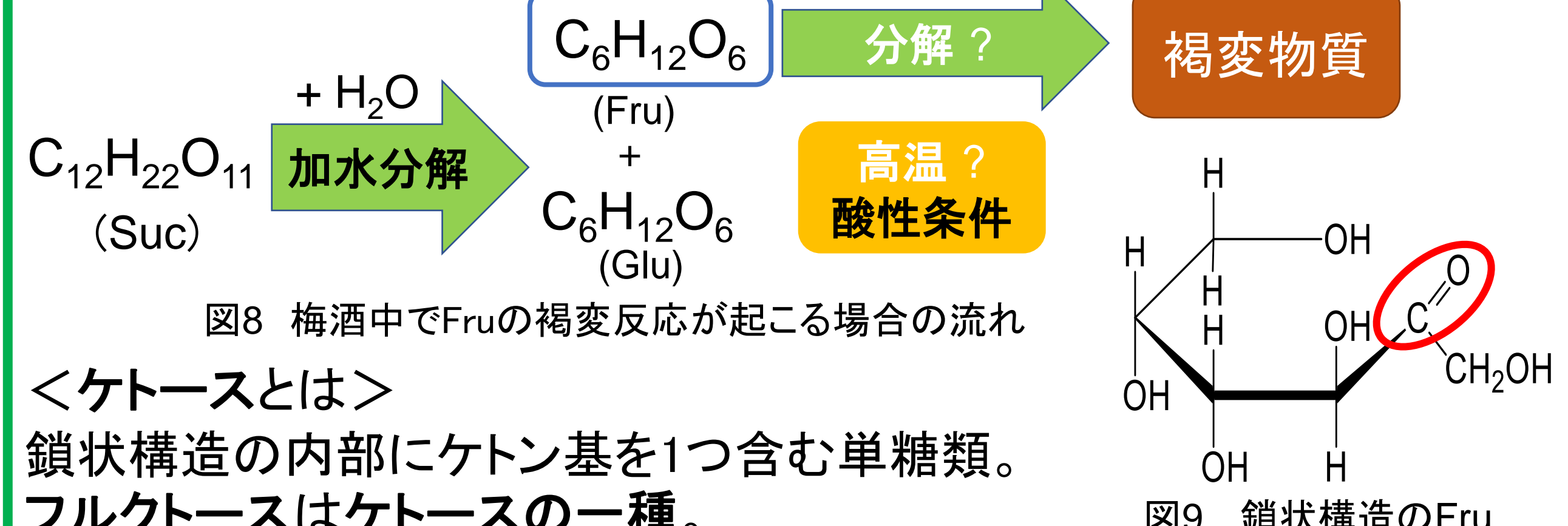


図8 梅酒中でFruの褐変反応が起こる場合の流れ

図9 鎖状構造のFru

3-1 フルクトースの褐変反応の確認

<目的> 梅酒に近い条件(酸性、室温)でフルクトースが褐変するか調べる
<方法> Scu, Glc, Fruに10%クエン酸水溶液を加えて50°C/室温で放置した。
<結果> 表8 50°Cでの糖の褐変 表9 常温での糖の褐変

表8 50°Cでの糖の褐変			表9 常温での糖の褐変		
0日目	43日目		4か月後		
Scu	Glc	Fru	Scu	Glc	Fru
無色	無色	無色	褐色○	無色	褐色○
			褐色△	無色	無色

<考察> Scu水溶液にクエン酸を添加して50°C及び室温で放置すると褐変したことから、Scuが酸で加水分解されて生成されたFruが褐変したと考えられる。

<結論> 室温でもフルクトースの褐変反応が起きた
梅酒中でもフルクトースの褐変反応が起きる可能性がある

3-2 梅酒内のHMF含量の経時変化

<目的> 梅酒中でフルクトースの褐変が起こっているのかを調べる
<方法> フルクトースの褐変では中間体としてHMF(5-ヒドロキシメチルフural)が生成する。紫外吸光度法⁽⁴⁾によって、梅酒中のHMF濃度を求めた。

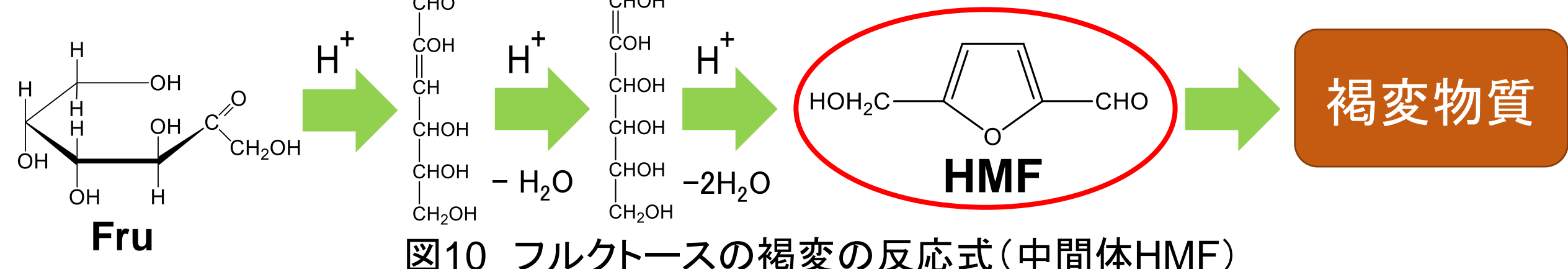


図10 フルクトースの褐変の反応式(中間体HMF)

<考察> 梅酒を作製してから11か月以降、梅酒中にHMFが生成されたことが確認できた。長期保存により梅酒中でFruの褐変が起きたと考えられる。

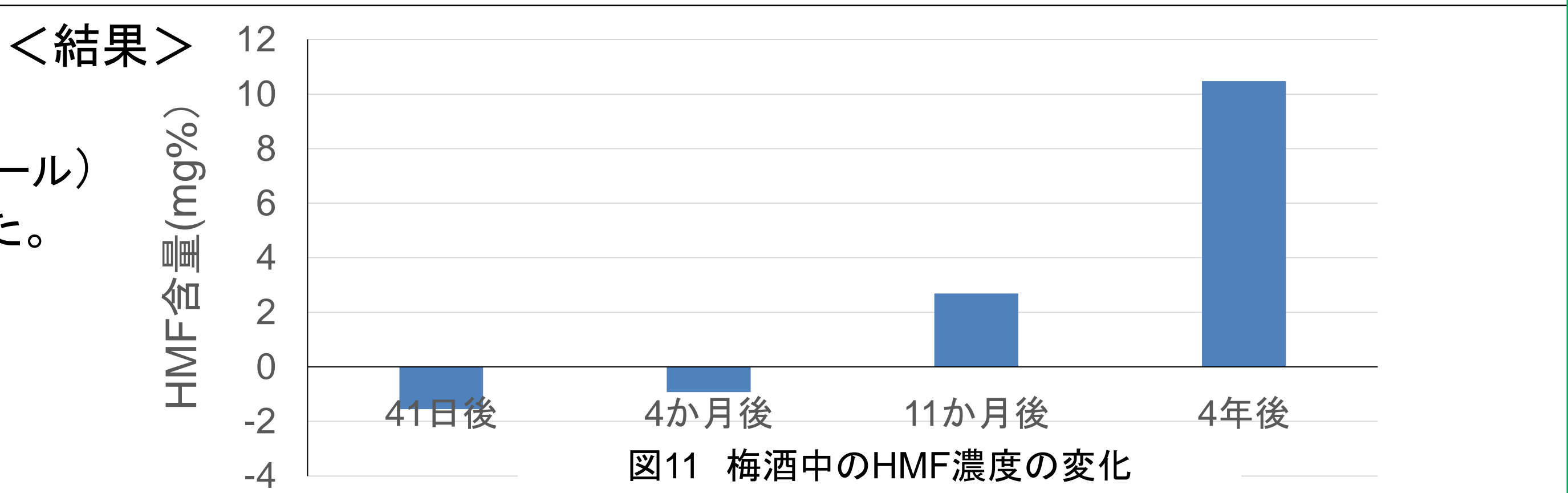


図11 梅酒中のHMF濃度の変化

<結論> 梅酒中では長期保存によりフルクトースの褐変反応が起こる = 第3段階の反応

糖ありと糖なしの梅酒の比較

<目的> 氷砂糖の有無が梅酒の色に及ぼす影響を調べる
<方法> 氷砂糖ありの梅酒となしの梅酒のHMF濃度を測定した
<結果> 氷砂糖なしで作製した梅酒ではHMFの存在が確認できなかった。このことから、氷砂糖がなければ第3段階(Fruの褐変)は起こらないと考えられる。

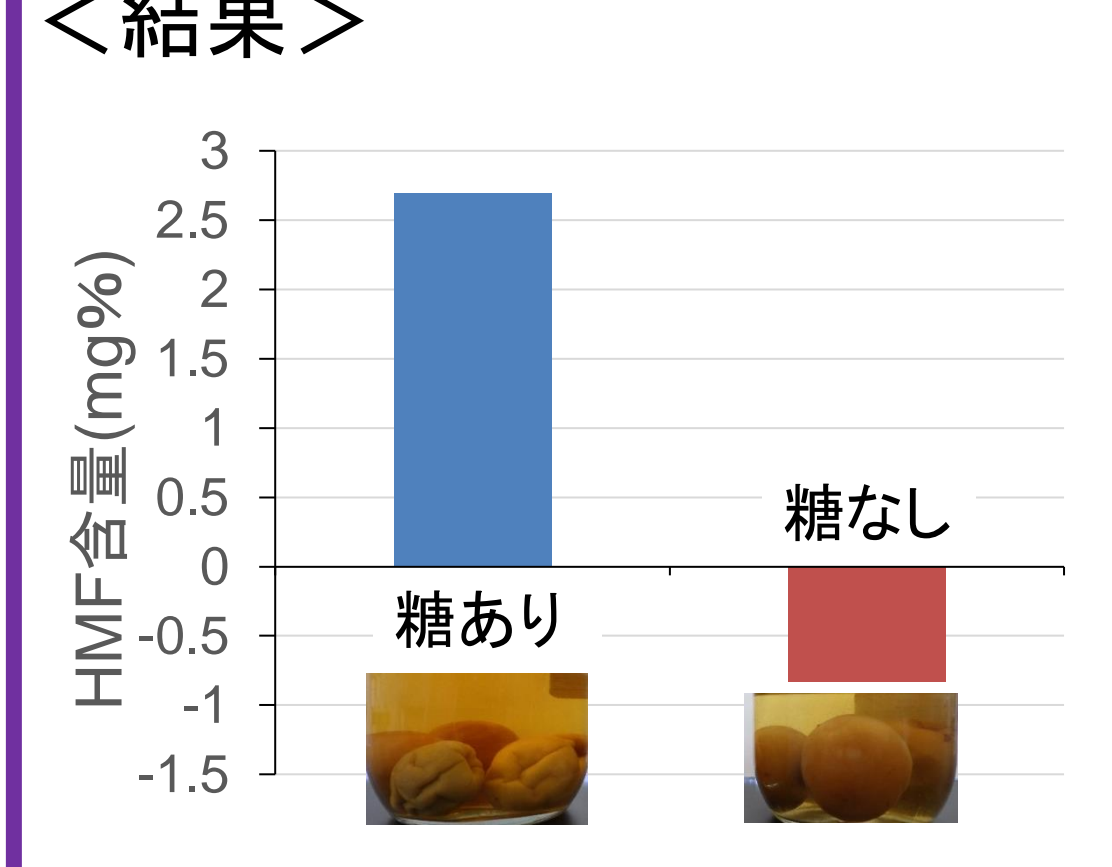
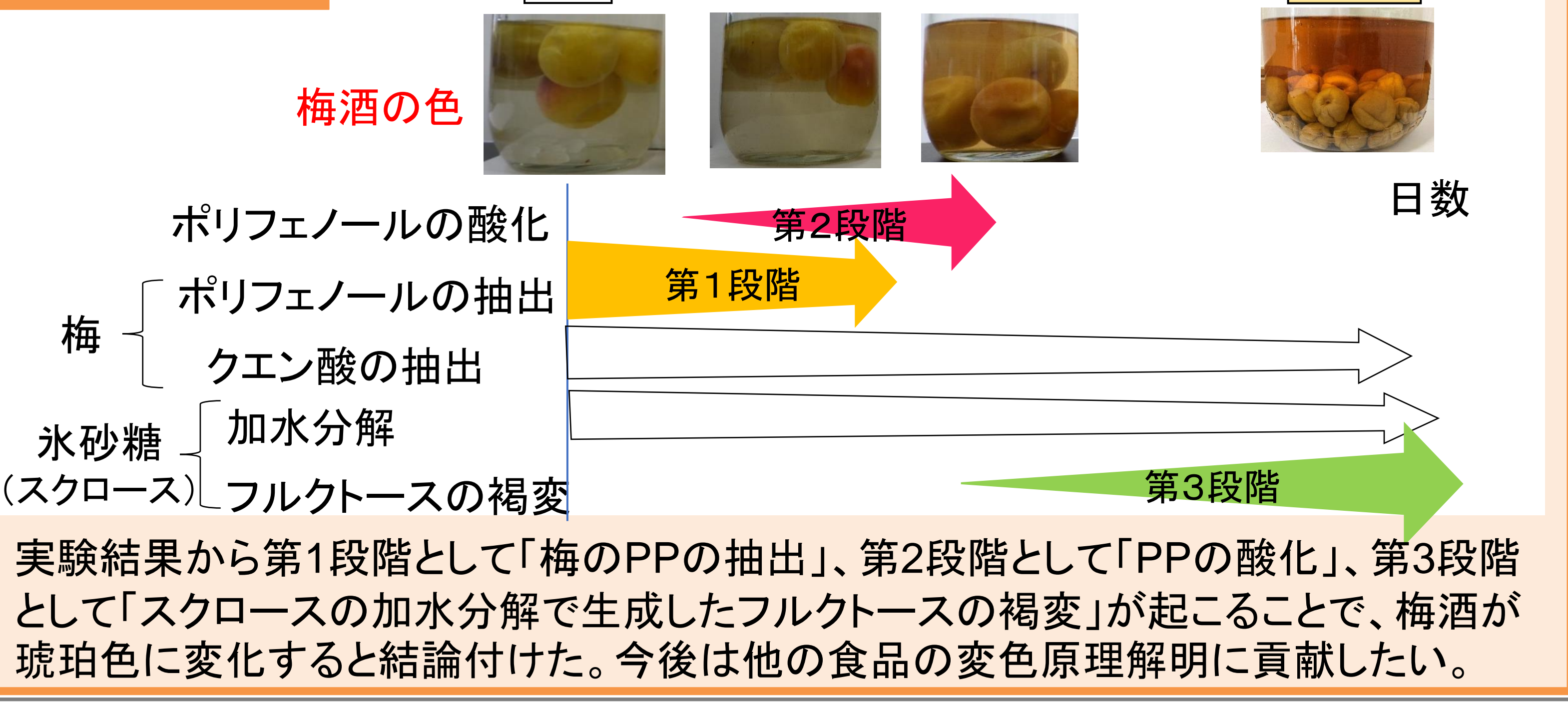


図12 糖の有無によるHMF含量の比較(11か月後の梅酒)

<結論> 氷砂糖がなければフルクトースの褐変反応は起きないため梅酒の色は薄くなる

研究のまとめ



実験結果から第1段階として「梅のPPの抽出」、第2段階として「PPの酸化」、第3段階として「スクロースの加水分解で生成したフルクトースの褐変」が起こることで、梅酒が琥珀色に変化すると結論付けた。今後は他の食品の変色原理解明に貢献したい。

参考文献 [1] 富永 暁子「梅酒熟成に関する研究(第3報) 梅酒貯蔵中の遊離アミノ酸・糖・酸・色の変化」2001年 52 巻 11 号 p. 1133-1138 [2] 大江 孝明「加工方法の違いが梅酒およびウメ糖抽出液の品質に及ぼす影響」『近畿中国四国農業研究』vol.14 p.118-122 [3] 加藤博通「果汁製品の褐変機構に関する研究(第3報) クエン酸-蔗糖系における褐変機構」『日本農芸化学会誌』p537-538 [4] 井上 哲男「紫外吸光度法によるはちま蜜中の添加糖の検出について」『食品衛生雑誌』1969年10巻 5号 p. 339-343_1