

[J. Ferment. Technol., Vol. 46, No. 7, p. 583~593, 1968]

## 清 酒 の 褐 変

岡 智

(広島大学工学部醸酵工学科)

## Browning of Sake

Satoru Oka

(Department of Fermentation Technology, Faculty of Engineering,  
Hiroshima University, Sendamachi 3, Hiroshima)

An analysis of the mode of the browning of Sake indicated that it involves at least three kinds of browning reactions; (1) the interaction between glucose and amino compounds, i. e. the aminocarbonyl reaction, (2) the browning reaction of glucose, i. e. the caramelization, and (3) the browning reaction of Sake components other than glucose.

In order to evaluate the browning capacity of Sake the reciprocal of the reaction time,  $1/T_{0.5}$ , was used as the rate index.  $T_{0.5}$  means the reaction time (day) required to obtain an optical extinction of 0.5 at 430 m $\mu$  with 50 mm light path in Sake under given conditions. Then, the rate index of Sake was generally expressed in the following equation as a function of concentrations of glucose,  $G(M)$ , and amino compounds,  $A(N)$ , and of deviations of temperature and pH value from standard condition. Just for convenience of calculation, 100°C and pH 4.22 were employed as the standard conditions just for convenience of calculation.

$$1/T_{0.5} = (1.11)^{4t} (1.55)^{4pH} \cdot \{h + (0.13 + 9.6A)G\}$$

In this equation, the constant  $h$  expressed the contribution of the reaction (3) to the browning of Sake and it was the only value which had to be determined by an experiment with each sample of Sake, though it gave a constant value of approximately 0.4 in all the samples employed.

Thus, the contribution of the three kinds of reactions to various types of Sake was estimated and it was concluded that the reaction (3) was the major factor while the other two reactions were minor ones for the browning of Sake.

## 緒 言

清酒を長期間にわたって貯蔵するとき、「熟成」と呼ばれるある種の香味変化が、清酒自身の褐変をとともなっておこることが知られている。このため漠然とはあるが、清酒の熟成はその褐変と密接な関係にあると考えられてきた。

清酒の褐変にはいくつかの型が知られているが、そのうち熟成と関係があるのは、酸素や鉄イオンの存在、あるいは光照射などには関係なく、ただ貯蔵するだけで、暗所でも、すべての清酒に共通して観察される種類の褐変である。そこで今回は問題を、清酒にもつとも一般的でしかも基本的に重要な、この型の褐変に限定し、その内容ならびに熟成との関係について考察を行なうことにする。

Table 1. Sakes stored at 0° and 30°C for 400 days<sup>2)</sup>.

	Temperature of storage (°C)	Sake A	Sake B	Sake C
Optical extinction (430 m $\mu$ , 50 mm)	0	0.185	0.182	0.144
	30	0.642	0.610	0.432
Flavor	0	fresh	fresh	fresh
	30	very old	very old	very old
Reducing sugar as glucose (mM)	0	177	157	347
	30	172	154	343
3-Deoxyglucosone (mM)	0	0.080	0.071	0.192
	30	3.885	0.787	1.14
Volatile carbonyls	0	±	±	±
	30	+++	+++	+++
Acidity (mN)	0	17.0	16.9	19.6
	30	16.4	16.2	18.3
Amino compounds as -NH <sub>2</sub> (mN)	0	19.6	20.2	11.5
	30	19.7	20.2	11.3
Ethanol (M)	0	3.52	3.52	3.41
	30	3.52	3.52	3.41
pH	0	4.50	4.54	4.50
	30	4.49	4.54	4.49
Specific gravity (15°/15°)	0	0.9924	0.9943	1.0066
	30	0.9923	0.9945	1.0066

Sakes A and B were produced by the normol process of the Sake brewing; Sake C was produced by the modified process, "Sanbai-zojo" including supplementation of two parts of a synthetic Sake per one part of mash at the final stage of the brewing.

**貯蔵による清酒の変質** 清酒の褐変性は貯蔵温度で大きく変る。例えば Table 1 に示すように、0°C では1年以上貯蔵してもほとんど褐変しないが、30°C では430 m $\mu$  の吸光度で示されるように、明らかに褐変し、同時に香味も過熟状態になる。このとき、比重、pH、アルコール、アミノ化合物、酸度など主要な成分や性状にはほとんど変化がないが、アミノ・カーボニル反応の重要な中間体とされている3-デオキシグルコソン (3-D-G) と、過熟臭の主成分と考えられる揮発性カーボニルが顕著に増加する。また、還元性糖に3~5 mM の減少がある。

このような糖の減少やカーボニルの増加は、いづれもアミノ・カーボニル反応による褐変に特徴的なもので、清酒における褐変と熟成とが、このアミノ・カー

Table 2. Sake samples<sup>4)</sup>.

	Sake D	Sake E
Reducing sugar as glucose (mM)	130	365
Amino compounds as -NH <sub>2</sub> (mN)	29.8	14.7
Acidity (mN)	21.9	17.3
Ethanol (M)	3.54	3.71
pH	4.22	4.08
Specific gravity (15°/15°)	0.9967	1.0143

Sake D was produced by the normal process of the Sake brewing; Sake E was produced by the modified process, "Sanbai-zojo", including supplementation of two parts of a synthetic Sake per one part of mash at the final stage of the brewing.

**註** 以下の考察に用いた清酒に関するデータは、すべて広島県食品工業試験場清酒醸造支場で醸造された原酒を試料とした実験結果である<sup>2-4)</sup>。試料はいづれも60°C、30分間の熱処理ののち、急冷し、0°C に保存して実験に供された。これら清酒試料の組成と性状を Table 1 と Table 2 に示した。このほかに、モデル褐変系として、4倍稀釈の McIlvaine 緩衝液にブドウ糖とグリシンを添加した水溶液を用いた。

褐変度は50 mm 液層、430 m $\mu$  の吸光度<sup>1)</sup>であらわしたが、モデル系の実験では、一部10 mm 液層で測定した値が用いられている。

3-デオキシグルコソン (3-D-G) の定量は、これをまずそのビス-2,4-ジニトロフェニルヒドラゾンに導き、さらに酸処理アルミナのマイクロカラム (6×13 mm) を用いてクロマトグラフ的に分離したのち、エタノール-酢酸エチル (3:7) による溶出液を比色する方法<sup>2,3)</sup>で行なった。

ポニル反応を介して, かなり密接な関係にあることが考えられる。

**温度による褐変性の変化** Fig. 1 は貯蔵温度による褐変経過の変化を示すもので, 褐変性が温度と密接な関係にあることがわかる。また, この褐変度曲線が上曲りの形をとることから, 温度が一定でも, 褐変の進行とともに褐変速度が増加していることもわかる。褐変初期には一種の誘導期があり, 褐変速度は比較的小さいが, 次第に加速されて一定の最大速度に近づき, 後期にはこの最大速度で直線的に褐変が進行するようになる。

このような経過をとる反応の反応速度を相対的に比較するには, 一定の褐変度(例えば吸光度0.5)に達するに必要な反応時間  $T$  の逆数値をとるのがもつとも適当と思われるので, 以後この逆数値  $1/T$  を褐変性と呼ぶことにする。

Fig. 2 は, Fig. 1 の褐変度曲線から, いろいろな吸光度を用いて求めた褐変性の対数を, 温度にたいしてプロットしたもので, 30~100°C の間で, 互いにはほぼ平行な直線が与えられている。しかも, この直線の勾配は, 用いた吸光度だけでなく, 清酒の種類が変わっても変化せずほとんど一定の値を示している。この結果は, この範囲の温度変化は, ただ各段階の反応速度を一定の割合で変化させるだけで, 反応の様式に本質的な変化を与えるものではないことを示すものと思われる。すなわち, 清酒の褐変反応の温度係数が, 反応の全過程にわたって, しかも清酒の種類に関係なく一定であるということが出来る。勾配から見積られる温度係数  $Q_{10}$  値は 2.8~3 の範囲にある。したがって, 基準になるある温度から  $41^\circ$  だけ温度が変化した場合の褐変性  $1/T$  は, もとの褐変性  $1/T_0$  にたいして(1)式の関係にある。

$$1/T = (1.11)^{41} \cdot (1/T_0) \dots\dots(1)$$

**pH による褐変性の変化** Fig. 3 に示すように, 温度が一定でも pH が変化すると, 清酒の褐変性は, 温度の場合と同様に变化する。100°C の褐変温度で求めた清酒 D, E の褐変性の対数と pH とは直線関係を示し, 清酒の種類に関係なく同じ勾配を与えている。したがって, pH もまた, 温度と同様に, 反応速度を変化させるだけで, 反応様式に本質的な変化を与えるものではないと考えられる。この勾配の値から, 基準のある pH から  $4pH$  の pH 変化があった場合の褐変性  $1/T$  は, もとの pH における褐変性  $1/T_0$  と(2)式の関係にあるといえる。

$$1/T = (1.55)^{4pH} \cdot (1/T_0) \dots\dots(2)$$

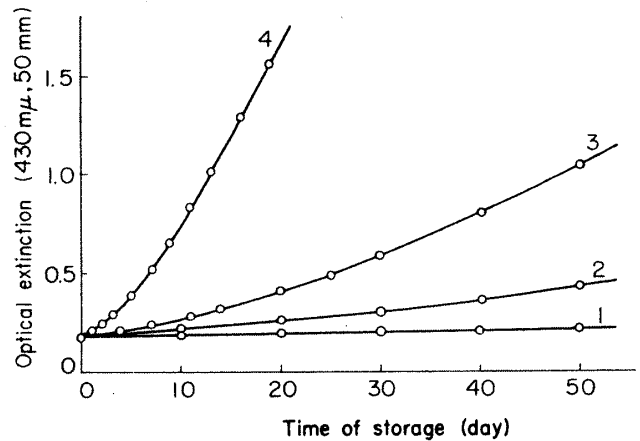


Fig. 1. Browning in Sake A at various temperatures of storage<sup>3)</sup>.

Temperatures of storage 1: 30°C, 2: 42°C, 3: 50°C, 4: 60°C.

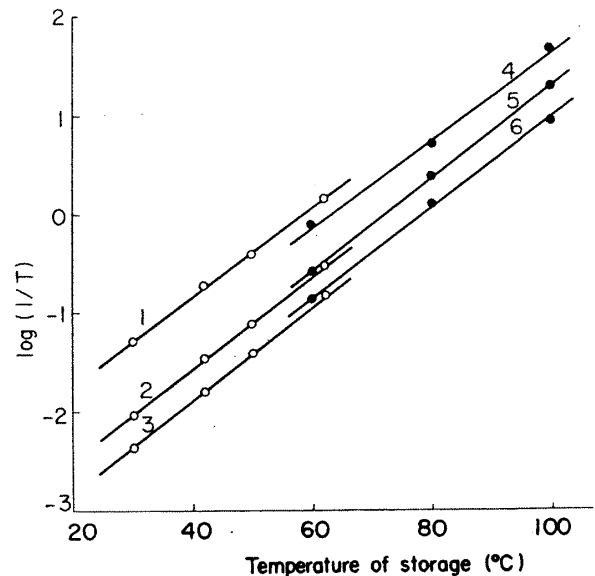


Fig. 2. Temperature dependence of browning in Sakes<sup>3,4)</sup>.

The time of storage,  $T_t$  (day), required to obtain optical extinction,  $e$ , was calculated from the browning curve of Sakes shown in Fig. 1, and the reciprocal of the time,  $1/T_t$ , was used as a rate index of browning.

1:  $T_{0.5}$ (Sake A), 2:  $T_{0.5}$ (Sake A), 3:  $T_{0.5}$ (Sake A), 4:  $T_{0.5}$ (Sake D), 5:  $T_{0.5}$ (Sake E), 6:  $T_{0.5}$ (Sake E).

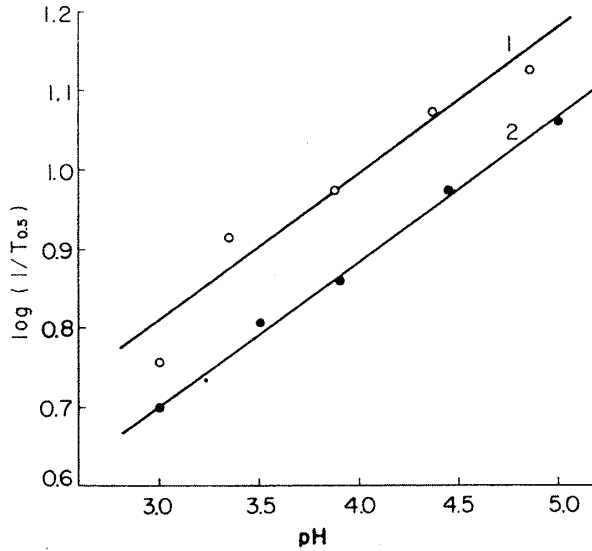


Fig. 3. pH dependence of browning in Sakes at 100°C<sup>1)</sup>.

$T_{0.5}$  means the reaction time required to obtain optical extinction of 0.5  $T_{0.5}$  (day). Sake was adjusted at various pH values with hydrochloric acid or sodium hydroxide and kept at 100°C.  
1: Sake E, 2: Sake D.

**褐変による清酒中の 3-D-G の蓄積** 清酒が褐変する際に検出できるもっとも顕著な組成上の変化は、3-D-G の生成蓄積である。Fig. 4 に要約されるように、3-D-G はブドウ糖の 1 分子脱水生成物である。これがさらにもう 2 分子脱水されればヒドロキシメチルフルフラル (HMF) になる。

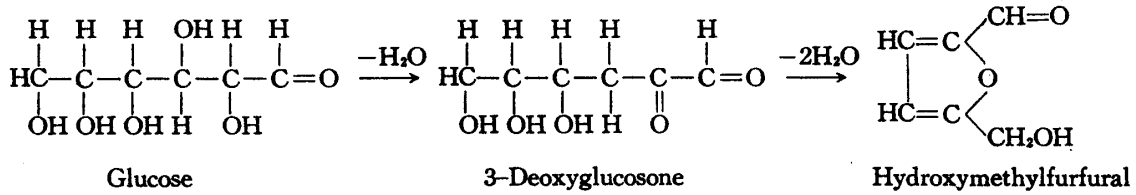


Fig. 4. Simplified scheme for dehydration reaction of glucose.

清酒の褐変において、この 3-D-G は Fig. 5 に示すような経過で増加する。貯蔵温度が変化すると、褐変度と同様に、3-D-G 生成の速度も大きく変化する。しかし、3-D-G 曲線は褐変度曲線と異り、下曲りの曲線を与える。すなわち、一定温度では、3-D-G 濃度の増加速度は褐変の初期に最大で、これが次第に減速されてゼロに近づき、後期には一定の限界濃度に達して定常状態に入る。この限界濃度は清酒によって多少異なるが、約 1.5 mM の水準にある。

3-D-G 曲線のこのような形は、清酒中における 3-D-G 濃度の変化をつぎのように考えることによって理解できる。すなわち、褐変の前後において、3-D-G の前駆物質であるブドウ糖の濃度、および反応系である清酒の性状にはともに大きな変化がないので、褐変の全経過を通じて、ブドウ糖からの 3-D-G 生成はゼロ次反応となり、一定速度  $V$  (m $\mu$ /day) で進行する。一方、生成した 3-D-G は、3-D-G 濃度  $C$  (mM) に関して 1次

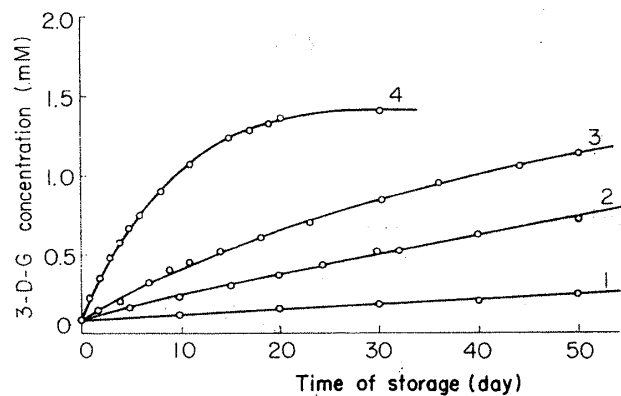


Fig. 5. Accumulation of 3-D-G in Sake A at various temperatures of storage<sup>3)</sup>.

The 3-D-G accumulated in the sample was determined colorimetrically after derivation to its bis-2,4-dinitrophenylhydrazone and chromatographic separation of the hydrazone on a small column of the acid treated alumina (6 $\times$ 13 mm). Temperatnres for the browning reaction; 1: 30°C, 2: 42°C, 3: 50°C, 4: 62°C.

の反応次数で清酒成分と反応し、褐変し、消費される。したがって、観測される 3-D-G 生成の速度  $dC/dt$  (mM/day) は(3)式の関係であらわされる。

$$dC/dt = V - KC \dots\dots\dots(3)$$

実際の 3-D-G 生成速度  $V$  は 3-D-G 曲線の初速度に相当し、3-D-G 濃度が限界濃度  $C_m$  に達したとき、 $V/C_m$  の値が 3-D-G 褐変消費の速度定数に等しくなる。このとき  $dC/dt$  の値がゼロとなり、3-D-G 曲線は定常状態に入るわけである。したがって、この  $V$  値はそのまま褐変によるブドウ糖消費の速度となる。Fig. 5 に示したような 3-D-G 曲線の初速度から見積られる  $V$  値は 30°C で約 0.007 mM/day で 400 日間では 2.8 mM のブドウ糖消費に相当する。この値は Table 1 に示した 400 日間 30°C で貯蔵した場合の還元性糖の減少量 3~5 mM とほぼ一致する。すなわち、清酒が褐変する際の還元性糖の消費は、その大部分が 3-D-G 経由で行われることを示すものと思われる。

**3-D-G 濃度と褐変速度** Fig. 1 に示した褐変度曲線上の各段階で切線速度を求めると、これが Fig. 5 で観測される 3-D-G 濃度に対応して、褐変の進行とともに増加するように見える。しかし、この切線速度を対応する 3-D-G 濃度についてプロットすると、Fig. 6 に示すように、直線関係が得られるが、この直線は原点を

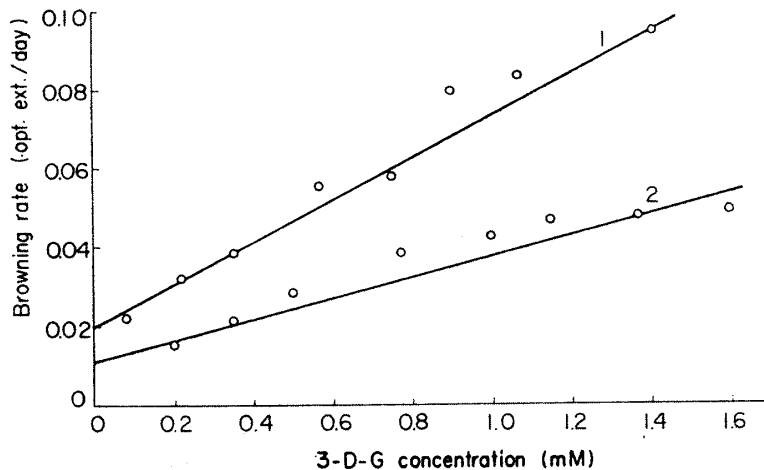


Fig. 6. Dependence of browning rate on 3-D-G concentration in Sakes kept at 62 °C<sup>3)</sup>.

The rate of browning (increment of optical extinction/day) of Sake A was calculated from the tangent slope on the browning curve in Fig. 1 and plotted versus the corresponding 3-D-G concentration indicated in Fig. 5. The same treatment was carried out with Sake C. 1: Sake A, 2: Sake C.

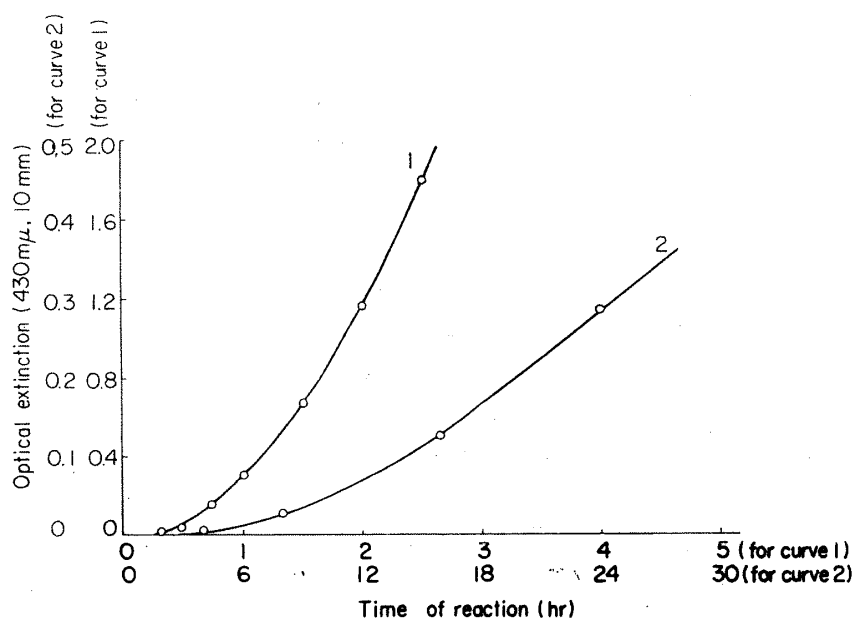


Fig. 7. Browning in glucose-glycine system at 100°C<sup>3)</sup>. In the McIlvaine buffer solution, 0.5 M glucose and 0.2 M glycine were heated at 100°C. 1: pH 6.9, 2: pH 3.9.

通らない。この事実は、3-D-G 濃度がゼロでも、清酒にはなおある程度の褐変性があることを示すものと思われる。

一方、Fig.7 はブドウ糖とグリシンからなるモデル系の褐変度曲線であるが、ここでは、清酒と異なり、誘導期がきわめて明瞭である。Fig.8 はこれに対応する 3-D-G 曲線である。Fig.7 の切線速度を Fig.8 から求めた対応する 3-D-G 濃度についてプロットすると、こんどは Fig.9 に示すように、ほぼ原点を通る直線となる。すなわち、このモデル系では、褐変速度は 3-D-G 濃度だけに依存していることになる。

このような、清酒とモデル系との、3-D-G 濃度について褐変速度の依存性の相異から、清酒における褐変には、モデル系にみられるような 3-D-G に依存する褐変のほか、3-D-G の関係しない褐変もかなりの程度に含まれているものと考えられる。

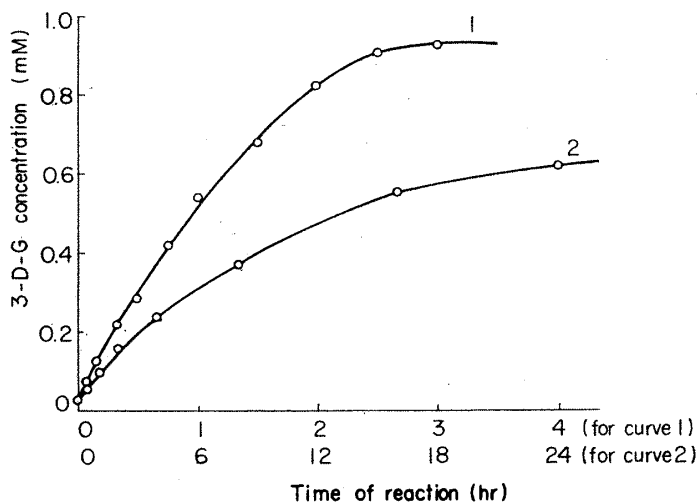


Fig. 8. Accumulation of 3-D-G in glucose-glycine system at 100°C<sup>2</sup>).

Glucose glycine system was similar to that shown in Fig. 7, 1: pH 6.9, 2: pH 3.9.

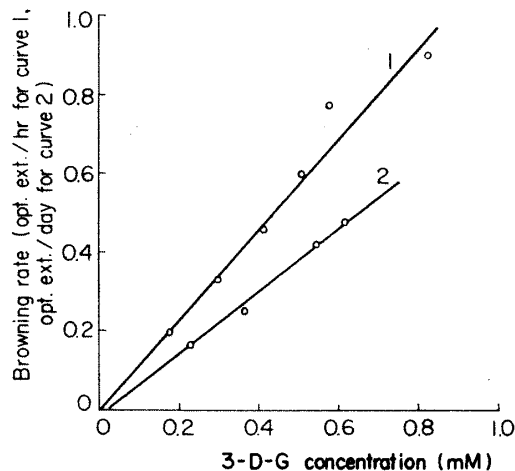


Fig. 9. Dependence of Browning rate on 3-D-G concentration in glucose-glycine system at 100°C<sup>2</sup>).

The rate of browning was calculated from the tangent slope on the browning curve in Fig. 7 and plotted versus the corresponding 3-D-G concentration in Fig. 8. The treatment was the same as in Fig. 6. 1: pH 6.9, 2: pH 3.9.

**ブドウ糖濃度による褐変性の変化** 酒の褐変性は、温度や pH だけでなく、清酒自身の組成によってもかなり変化する。清酒にブドウ糖を添加すると、その褐変性は明らかに増加する。Fig. 10 は、清酒 D, E にブドウ糖を添加し、その 100°C における褐変性を求め、これをブドウ糖添加量に対してプロットしたものである。両者の間に直線関係がみられる。

Fig. 10 において、この直線を褐変性ゼロまで外挿して横軸上に示される負のブドウ糖量から、用いた清酒に元来含まれていたブドウ糖量を推定すると、おのおの 1.1M および 1.9M となる。しかし、分析による還元性糖量はおのおの 0.13 および 0.37M であって、推定値の  $\frac{1}{2}$  および  $\frac{1}{3}$  でしかない。このことは、清酒の褐変において、ブドウ糖の関与する、したがって 3-D-G を経由する褐変反応は、むしろその一部であり、ブドウ糖や 3-D-G に関係のない、それ以外の清酒成分による褐変反応もかなりの程度含まれていることを示すものと思われる。これはまた、Fig. 6, 9 における褐変速度の 3-D-G 依存性についての検討からの所見と一致する。

したがって、Fig. 10 において横軸を、系内に実際に存在するブドウ糖濃度で目盛ることによって、清酒の褐変性をブドウ糖に依存する部分と、ブドウ糖に関係なく、それ以外の清酒成分に依存する褐変性の部分とに分けられる。すなわち、清酒 D, E の褐変性  $1/T_{0.5}$  (day<sup>-1</sup>) はそれぞれ(4), (5)式のようにブドウ糖濃度  $G$  (M) の 1 次関数としてあらわされる。

$$1/T_{0.5}(D) = 0.39 + 0.42G \quad \dots\dots\dots(4)$$

$$1/T_{0.5}(E) = 0.40 + 0.25G \quad \dots\dots\dots(5)$$

(4), (5)式のGにその清酒のブドウ糖分析値を入ると, Gを含む項の値は, 清酒 D, E についてそれぞれ 0.054, 0.091 となる. これは褐変性全体の 12 および 19%に相当する. すなわち, この清酒の褐変性のうち, ブドウ糖の関与する褐変性は 12~19% 程度であって, 残りの 88~81%は, これとは独立な, ブドウ糖以外の清酒成分による褐変性であるといえる.

#### アミノ酸濃度による褐変性の変化

清酒とアミノ酸を添加すると, ブドウ糖の場合と同様に, その褐変性が増加する. Fig. 11 は, グリシンを添加した清酒の褐変性を, 添加グリシン量にたいしてプロットした結果である. この場合にも, ブドウ糖と同様に, 褐変性と添加量は直線関係を示す. アミノ酸の種類を変えると, Fig. 12 のように, この直線の勾配が変化し, アミノ化合物の種類によって, その他の条件が一定でも, 褐変性がいちじるしく変化することがわかる. したがって, 複雑な組成の清酒中のアミノ化合物の褐変にたいする影響を, このような清酒に対する添加実験だけから見積ることは困難である.

一方, ブドウ糖-グリシンのモデル系において, ブドウ糖濃度は 0.312M に一定とし, グリシン濃度だけを変えて褐変性  $1/T_{0.5}$  を求め, これをグリシン濃度にたいしてプロットすると, Fig. 13 に示すように, 褐変性とグリシン濃度の間に直線関係が観察される. したがって, この褐変性は, (6)式のように, グリシン濃度  $A'$ (M) に関する 1 次関数としてあらわされる.

$$1/T_{0.5} = 0.037 + 1.16A' \quad \dots\dots(6)$$

(6)式中の定数 0.037 は, グリシン濃度ゼロのときの褐変性, すなわち, ブドウ糖単独の褐変性を示す値である. このブドウ糖単独の褐変は一種のカラメル化反応と考えられるが, ブドウ糖の関与する褐変のうちでは, このカラメル反応も無視できない大きさをもっていることがわか

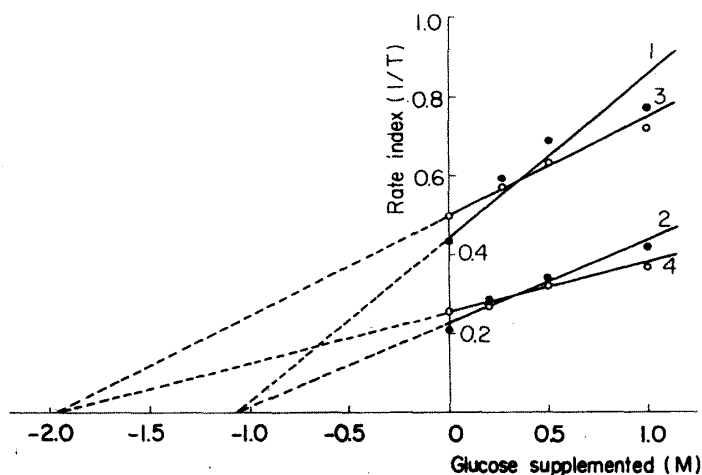


Fig. 10. Dependence of browning rate in Sakes on glucose concentration at 100°C<sup>(4)</sup>.

Sake samples, containing various amount of glucose were heated at 100°C. The reciprocal of the reaction time,  $T_{0.5}$  or  $T_{1.0}$ , calculated from the browning curve was used as a rate index of browning. The rate index was plotted versus the amount of glucose supplemented in the browning system. 1:  $1/T_{0.5}$  (Sake D), 2:  $1/T_{1.0}$  (Sake D), 3:  $1/T_{0.5}$  (Sake E), 4:  $1/T_{1.0}$  (Sake E).

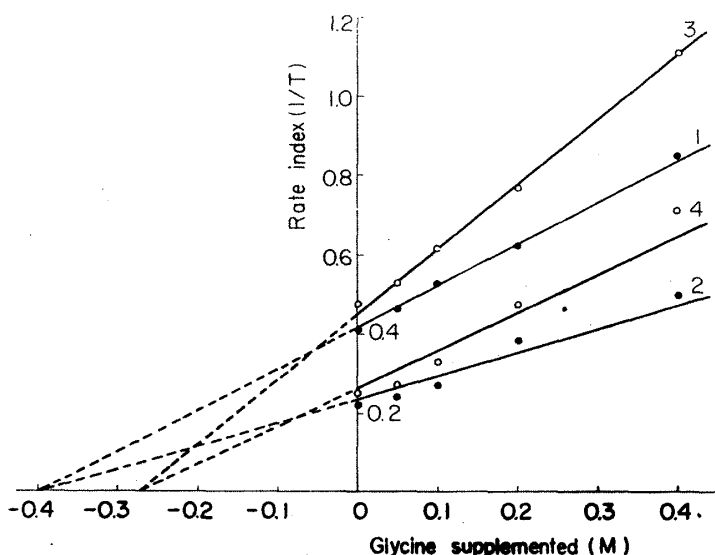


Fig. 11. Dependence of browning rate in Sakes on glycine supplemented at 100°C<sup>(4)</sup>.

The treatment was carried out as indicated in Fig. 10, but glycine was supplemented instead of glucose. 1:  $1/T_{0.5}$  (Sake D), 2:  $1/T_{1.0}$  (Sake D), 3:  $1/T_{0.5}$  (Sake E), 4:  $1/T_{1.0}$  (Sake E).

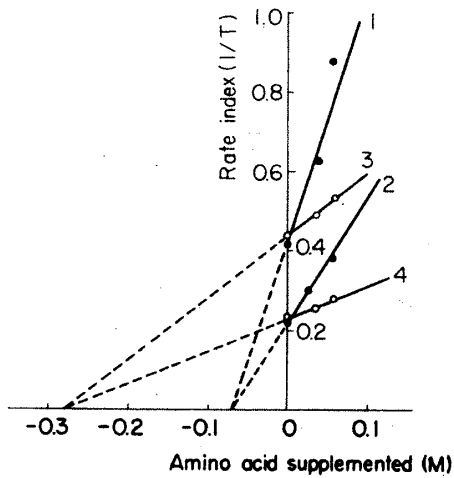


Fig. 12. Dependence of browning rate in Sake on lysine and serine supplemented at 100 °C<sup>(4)</sup>.

The treatment was carried out as indicated in Fig. 10, but lysine or serine was added instead of glucose.

1: 1/T<sub>0.5</sub> (Sake D, lysine), 2: 1/T<sub>1.0</sub> (Sake D, lysine), 3: 1/T<sub>0.5</sub> (Sake E, serine), 4: 1/T<sub>1.0</sub> (Sake E, serine).

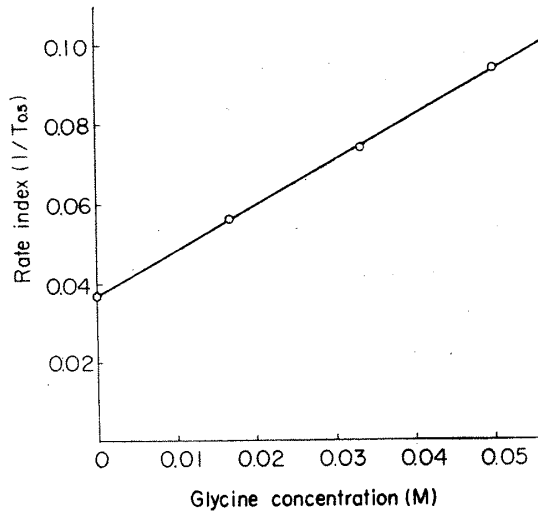


Fig. 13. Dependence of browning rate of glucose on glycine in buffer solution with pH 4.0 at 100 °C<sup>(5)</sup>.

Various amount of glycine was added to a 0.312 M glucose-McIlvaine buffer system adjusted to pH 4.0 and the mixture was heated at 100 °C.

る。したがって、(4), (5)式において、ブドウ糖依存性の褐変性の大きさを示しているGを含む項の係数は、実際には(6)式のようなアミノ化合物濃度に関する1次関数の構造をもつことになる。

pH 4.0, 100 °C における 0.312 M ブドウ糖単独の褐変性 0.037 は、これを単位濃度のブドウ糖のそれに換算し、さらに (2)式の関係を用いて清酒 D の pH 4.22 における値に補正すると、 $(1.55)^{0.22} \times (0.037/0.312) = 0.130$  となり、また清酒 E については、 $(1.55)^{0.08} \times (0.037/0.3112) = 0.123$  となる。このブドウ糖単独の褐変性の値と、Table 2 に示した清酒中のアミノ化合物分析濃度を用いることによって、ブドウ糖に依存する褐変性をアミノ化合物濃度 A (M) の1次関数であらわした場合、Aを含む項の係数を計算することができる。その結果、(4), (5)式はGに加えてAの関数として、(7), (8)式のように書換えられる。

$$1/T_{0.5}(D) = 0.39 + (0.13 + 9.7A)G \dots\dots\dots(7)$$

$$1/T_{0.5}(E) = 0.40 + (0.123 + 8.85A)G \dots\dots\dots(8)$$

Table 2 に示した A, G の値をおのおの相当する (7), (8)式に代入することによって、上述の3種類の褐変反応、すなわち、(1)アミノ・カーボニル、(2)カラメル化反応、および(3)ブドウ糖以外の清酒成分による褐変反応のおおのが、全体としての清酒の褐変において、寄与している大きさを見積ることができる。Table 3 に、その見積を示したが、これから、褐変の主体はむしろ(3)のブドウ糖以外の清酒成分による褐変であり、アミノ・カーボニル反応やブドウ糖単独のカラメル化反応は、比較的小さな部分を占めているにすぎないことが認められる。

Table 3. Contribution of various type of reactions to browning in Sakes at 100 °C.<sup>(4)</sup>

	Rate index 1/T <sub>0.5</sub> (day <sup>-1</sup> )	
	Sake D	Sake E
Overall browning	0.44	0.49
Amino-carbonyl reaction	0.038	0.047
Caramelization	0.017	0.045
Other browning	0.39	0.40



**清酒の褐変性に関係のある諸因子の相互関係** 以上の考察から、清酒の褐変は通常少くとも、(1)アミノ・カーボニル反応、(2)カラメル化反応、(3)ブドウ糖以外の清酒成分の褐変反応の3種類の反応によって構成されていて、(1)と(2)の反応はブドウ糖濃度によって影響を受け、(1)の反応はさらにアミノ化合物濃度の影響を受けるが、(3)の反応は、これらの成分には全く無関係であることがわかる。このような反応は、さらに全体として、温度と pH の変化に応じて指数関数的にその反応性が変化することになる。清酒の褐変性のこのような構造をまとめたのが(9)式である。

$$1/T = (1.11)^{\Delta t} (1.55)^{\Delta pH} \cdot \{h + (i + jA)G\} \dots\dots\dots(9)$$

ここに  $i$  は(2)のブドウ糖のカラメル化反応による褐変性を示す値で、100°C, pH 4.22 の基準条件では、(7)式に示したように 0.13 の値をとる。 $j$  は(1)のアミノ・カーボニル反応において清酒中のアミノ化合物が寄与する程度を示す値で、(7)式では 9.7, (8)式では 8.85 である。しかし、(8)式の 8.85 の値はこれを清酒 D の pH 4.22 における値に補正すると 9.4 となり両者は近似した値となる。清酒中のアミノ化合物の組成には大きな差異はないと考えられ、また  $j$  を含む項の値が全体にたいして占める割合は小さいので、温度および pH が一定であれば、 $j$  の値は定数と考えて差支えない。そこで、100°C, pH 4.22 における  $j$  の値を 9.6 と見積ることとした。結局(3)のブドウ糖以外の清酒成分の褐変性を示す  $h$  の値だけが清酒ごとに異なる値ということになる。したがって、100°C, pH 4.22 を計算のための一つの基準状態とすると、清酒の褐変性は(10)式のように、近似的に一般化される。

$$1/T_{0.5} = (1.11)^{\Delta t} \cdot (1.55)^{\Delta pH} \cdot \{h + (0.13 + 9.6A)G\} \dots\dots\dots(10)$$

ブドウ糖濃度、アミノ化合物濃度および pH が測定されているある清酒を、例えば 100°C で褐変させ、その褐変性 ( $1/T_{0.5}$ ) を実測すれば、これらの値を(10)式に代入することによって、その清酒についての定数  $h$  の値が

Table 4. Increment in rate index of browning of Sake expected from equation (10) and change under browning conditions<sup>4)</sup>.

Change under browning condition	Percent increment expected in rate index of browning
$\Delta t$ : +5°C	68
$\Delta pH$ : +0.5 pH units	22
$\Delta G$ : +0.1 M (Sake D)	9.5
" (Sake E)	5.1
$\Delta A$ : +0.01 N (Sake D)	2.9
" (Sake E)	7.5

The capacity of browning of Sake was evaluated by the use of a rate index,  $1/T_{0.5}$ .  $T_{0.5}$  means the reaction time (day) required to obtain an optical extinction at 430 m $\mu$  with 50 mm light path. The rate index of Sake was generally expressed in equation (10) as a function of glucose,  $G$  (M), and amino compounds,  $A$  (N), and of deviations of temperature and pH value from standard condition. Just for convenience of calculation, 100°C and pH 4.22 were employed as standard conditions. In this equation, the constant  $h$  expressed the contribution of the browning reaction which was caused by other components than glucose and it was the only value which had to be determined by an experiment in each sample of Sake, though it gave a constant value of approximately 0.4 in all the samples employed.

$$1/T_{0.5} = (1.11)^{\Delta t} (1.55)^{\Delta pH} \{h + (0.13 + 9.6A)G\} \dots\dots\dots(10)$$

Thus, when one of the browning conditions such as temperature, pH and concentrations of glucose and amino compounds shifts  $\Delta t$ °C,  $\Delta pH$ ,  $\Delta G$  (M) or  $\Delta A$  (N) from a standard condition, the percent increment in the rate index  $\Delta(1/T)$ , from the value in the standard condition,  $1/T_s$ , is generally calculated by the use of both indices evaluated before and after the shift of the condition according to the following equation.

$$\Delta(1/T) = 100(T_s - T)/T$$

決定される。こうして $h$ の値が決定されると、今度は(10)式の関係を用いて、その清酒については、温度やpHについての任意の貯蔵条件における褐変性を、容易に見積ることができるようになる。また、原酒の稀釈や、異なる清酒を混合する際におこる組成変化の褐変性にたいする影響も、同様に、容易に見積ることができる。Table 4 に、貯蔵条件および組成の変化による、清酒の褐変性の変化にたいする見積りの例を示した。

## 結 言

以上の考察から明らかなように、清酒の褐変は単純でなく、少くとも(1)アミノ・カーボニル反応(2)カラメル化反応、(3)ブドウ糖以外の清酒成分の褐変反応の3種類の反応で構成されている。このうちで、(1)と(2)の反応は合計しても20%以下であるが、(3)の反応は褐変全体の80%以上を占めていて、褐変の主体となっている。したがって、清酒の褐変において、アミノ・カーボニル反応(あるいはメイラード反応)が占めている割合は、従来漠然と考えられていたほどには大きくないといえる。しかし、(3)の反応については、これがブドウ糖が全く関与していないということ以外には、その内容は全く不明で、これが単一成分によるものか、あるいは多種の成分の関与するものかもわかっていない。

したがって、この(3)の反応と熟成との関連については、現状ではほとんど考察の手がかりがない。ただ過熱臭が揮発性カーボニルの生成と結びつく点で、(1)および(2)の3-D-G 経由のブドウ糖消費に関連する反応は、褐変自身にたいする寄与は大きくないが、依然として、熟成と密接な関係にある可能性が残っている。(3)の内容未知の反応とともに、(1)および(2)の反応の熟成との関係について、今後の検討が必要である。

## 文 献

- 1) 岡, 大津: 農化, **39**, 457 (1965).
- 2) 岡, 井出, 清水, 坂井: 農化, **39**, 415 (1965).
- 3) 岡, 昭和40年度農化大会講演.
- 4) 岡, 立石, 佐藤, 未発表.

(昭43. 2. 5 受付)

## 質 疑 応 答

### 山本 淳 (協和醸酵東研)

食品の褐変は糖およびアミノ基の関与するメラノイジン反応としてその反応の mechanism はかなり明らかにされている。すなわち、褐変反応の中間生成物として、3-D-G, K の生成については、糖とアミノ基の間で生成する schiffbase Amadori rearrangement を経て、glucose から、褐変中間生成物として生成することが知られており、清酒の褐変も一般の食品中に見られるこのような非酵素褐変反応が主要な factor として存在することが一連の解析で良く判った。一方清酒には明らかに酵素の存在が考えられるが、このような残存酵素が当然清酒の貯蔵中の変化に関与すると考えられ、褐変に対しても、当然清酒の貯蔵中の変化に関与すると考えられ、褐変に対しても、当然何らかの要因となって居るのではないだろうか。

### 岡

メラノイジン反応の機構は、まだ必ずしも明確ではありません。3-D-G はブドウ糖単独の褐変、つまりカラメル化の過程でも生成します。したがって、シツ

フ塩基—アマドリ転位経由の3-D-G 生成のほかに、少くとも、ブドウ糖の直接的脱水による3-D-G 生成も無視できません。さらに清酒の場合には、ブドウ糖には全く無関係な、しかも、具体的な内容が不明な褐変反応が、褐変全体のうちでかなりの部分を占めています。私の考察は、このような内容をもつ清酒の褐変性を、現象的な面から、貯蔵条件および清酒の主要成分の濃度の関数として整理しようとしたものであります。

実験に用いた試料は60°C30分の火入れ処理を行なった清酒です。これだけでは、酵素の全部が失活していることを保証することはできません。しかし、30~100°Cの温度範囲で行なった実験結果は、温度に関して連続的で、不連続点は認められません。したがって事実上、酵素の関与はないと考えました。

### 今安 聰 (大倉酒造)

御使用の清酒は生酒ですか、火入酒でしょうか、火入酒であれば、非酵素的と考えて良いでしょうか。

3-D-G は活性炭で除去できますか。

岡

酵素作用については前と同じです。

3-D-G は活性炭で除去できません。3-D-G の精製に、活性炭による不純物除去の処理が行なわれるほどです。

伊藤恭五郎 (岩手県醸造試験場)

清酒の着色,あるいは褐変の要因として glucose の量, glucose とアミノ酸, Fe, ferrichrome 化合物のほかに, 酸素の溶存性, 酸化還元電位の大小がこれにかなり関与するのではないかと思うが?

岡

酵素作用については前と同じです。

酸化還元電位は,系内にある酸化・還元性物質の質と量によって決まる総合的な結果で,重要なのは,単なる電位ではなくて,むしろ電位の原因になる物質の性質と量であると考えられます。電位を測定していませんので,褐変に関係があるかどうかについては確答できません。ただ,溶存酸素の有無は,清酒の褐変には無関係であることを実験的に確かめています。

山本 淳 (協和醸酵東研)

アミノ糖, 褐変反応は多段階反応の total sum として表現されたものである。この中褐変反応の first step で生成する schiffbase は熱に対してきわめて不安定であることも良く知られていた事実である。すなわち低温に於ける非酵素褐変反応と 100°C 等の高温における反応を全く同一操作に基くものとして論ずることの妥当性に疑問がある。

岡

検討した 30~100°C の温度範囲では,速度以外には,褐変度曲線にも, 3-D-G 曲線にも本質的な変化は認められません。また褐変性の温度に対するプロットが常に直線となり,しかもこれが一定の勾配を与える事実は,この褐変反応が total sum でありながら,なお全体として一定の温度係数に支配されていることを示すものと思われます。したがって褐変性に関しては,温度は主として速度だけに関係する因子と考えて差支えないと思います。