

62

助成番号 0062

漬物における、色の安定化や変化におよぼす塩の影響

助成研究者：吉田 久美 (名古屋大学大学院人間情報学研究所)

共同研究者：近藤 忠雄 (名古屋大学大学院生命農学研究科)

亀田 清 (相山女学園大学 生活科学部)

1. 目的

日本の伝統的な漬物のひとつに梅干し漬けがある。この赤色は、紫シソ葉の色素アントシアニンで着色されたもので、塩と梅の有機酸の効果により長期間安定となる。本研究では、梅干し漬けにおける赤色発色と安定化の機構解明を目指し、塩やアルコール濃度の違い、ならびに着色方法の違いによる梅酢の性状、色素の化学的变化、梅干しの色を調べた。

2. 方法

市場で購入した紀州産の南高梅を用い、常法の20% NaCl 添加条件の他、その10～20%をニガリ成分である MgCl₂ または減塩目的に使用されるエタノールに交換して漬けた。得られた梅干しを常法の塩揉みした紫シソ葉の他、凍結粉碎物や、単離したシソ色素混合物により着色した。白梅酢、赤梅酢の pH、塩分濃度、赤色と組成、さらに梅干しの色について経時的に分析した。

3. 結果と考察

MgCl₂ で漬けることにより白梅酢の pH 低下と溶出量増加が認められた。エタノール添加では、逆に pH 上昇と溶出量の減少が認められた。赤梅酢の性状は、漬け条件や着色方法により異なっていた。常法の塩揉み葉による着色では、着色後一週間まで梅酢の赤色は濃くなり続けその後減少した。20% MgCl₂ で最も安定化され、エタノール添加で退色は速やかだった (Fig. 1)。凍結粉碎シソ葉では開始1日後で赤梅酢の色は最も濃くなりその後漸減した。シソ葉主色素マロニルシソニン含有量は、塩だけで漬けた赤梅酢中の方が、エタノール含有梅酢よりも多かった (Fig. 2)。シソニンは30日ごろまで緩やかに増加しその後一定値を保ったことから、梅酢中でマロニルシソニンはシソニンに分解することがわかった。梅干しの赤色も、常法で漬け、着色したものが最も鮮やかで、エタノール添加では黄色味を帯びた。梅の組織への色素吸着過程の化学的解明が今後の課題である。

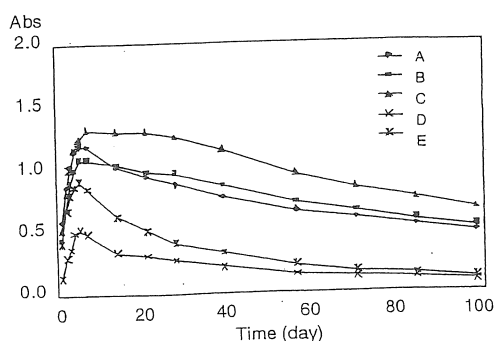


Fig. 1 Stability of red color of ume- vinegar by aging. Coloring method: 1.

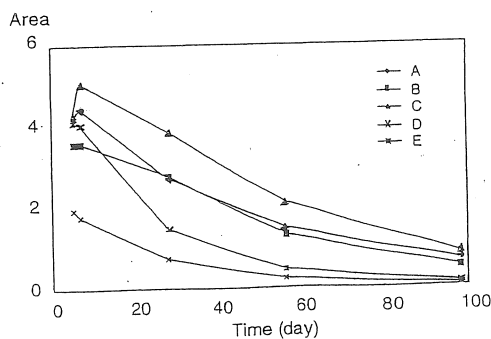


Fig. 2 Analysis of malonylshisonin in red ume- vinegar. Coloring method: 1.

27

助成番号 0062

漬物における、色の安定化や変化におよぼす塩の影響

助成研究者：吉田 久美 (名古屋大学大学院人間情報学研究科)

共同研究者：近藤 忠雄 (名古屋大学大学院生命農学研究科)

亀田 清 (椛山女学園大学 生活科学部)

1. 目的

漬物における食塩の役割は、高浸透圧による植物組織からの脱水、水分活性を下げることによる腐敗菌の増殖阻止、保存性の向上である。塩分濃度が2%以下の場合、種々の雑菌も繁殖が容易であるが、5%以上で抑制され、10%以上ではほとんど防止できる。しかし、現在流通する漬物類は、世の中の減塩の風潮の影響で、かなり塩分濃度を下げており、常温で長期保存可能な食品というよりはむしろ、食物繊維とビタミンCを期待する生鮮食料品として認識され、冷蔵保存が指示される。一方、減塩の一手法として、食塩をアルコールで代替することも行われる。浸透圧の調整剤として見ると、1%の食塩はほぼ1.1%のアルコールで置き換えることができると言われている。粕漬けは、塩分は10%以下と少ないが、糠床に含まれるアルコールが保存性を高める役割を担う。

日本の伝統的な漬物のひとつに梅干し漬けがある。梅干しは、抗菌性や整腸作用など様々な食品機能が宣伝され、塩濃度の比較的高い漬物であるにもかかわらず、生産、消費とも伸びている。しかし、そのような状況の中でも、消費者の減塩梅干しへの要求は高く、伝統的な梅干しが約20%の食塩を用いるのに対して、8~15%のものが流通している。その際に問題になることのひとつが、梅干しの赤色をどうやって出すかという点である。色は梅干しの大きな特徴のひとつである。これは、紫色のシソ葉に含まれるアントシアニンを巧みに葉から抽出し、梅干しに定着させたもので、食塩で食品の色が安定化されている好例といえる。

通常アントシアニンは中性付近では色が不安定で、調理や食品加工の過程で容易に分解、退色する (Fig.1)。しかし、梅干し漬けの赤色はシソのアントシアニン (Fig.2) によるにもかかわらず、長期間安定に色を保つ。ただし、減塩梅干しやアルコール添加梅干しでは、着色は大変悪くなる。少し前までは、タール系の合成着色料を使った鮮やかな赤色の梅干しが売られていたが、現在食品添加物は悪者扱いされ、消費者も天然志向である。そこで、一切の着色を行わない茶褐色の梅干しや紫キャベツやブドウ果皮色素といった、別の植物から抽出したアントシアニンで着色したのものも出回っている。

しかし、実は天然の品質の良い紫シソで漬けた梅干しは、合成着色料による、あるいはそれ以上に鮮やかな赤色となる。それほどに、植物色素アントシアニンは多彩で美しい色を発色する。本研究では、なぜ、梅干しでアントシアニンが安定になるのか、食塩で漬けた食品組織に、どのようにアントシアニンが吸着するのか、そ

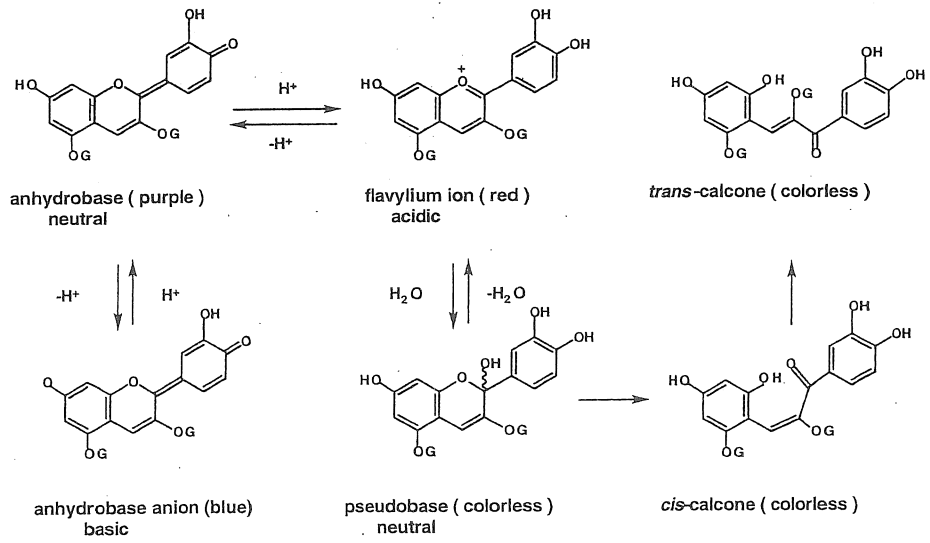


Fig. 1 Structural change , color variation and stability of anthocyanin depending on pH.

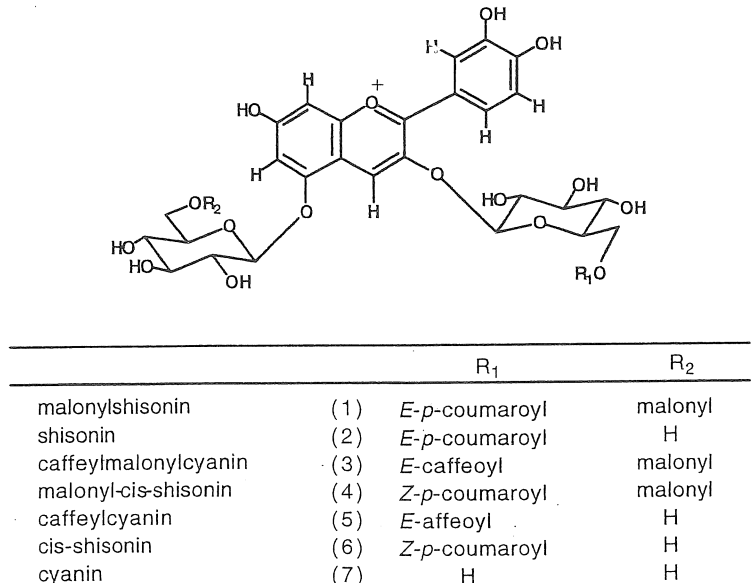


Fig. 2 Structure of anthocyanins from purple leaves of *Perilla ocsimoides*.

の際に食塩はいかなる働きをするのかを科学的に解明することを目的に行なった。従来の実験室レベルの小規模ではなく、中規模のスケールで梅干しを漬け、塩とアルコールの効果、ならびに着色方法の違いによる結果を、梅酢の性状分析と色素の化学的変化の観点から調べた。

2. 方法

(1) 梅漬け

市場で購入した紀州産の南高梅（等級：秀、大きさ：L）を黄色に熟すまで冷暗所で数日間保存した。水洗後70%エタノールに一分間浸漬し、風乾した。これを15～18 Kgを一単位として、ポリエチレンの袋で覆ったポリプロピレン容器に入れた。最も標準的な漬け方である20%塩化ナトリウム添加条件の他、その全部または10%をニガリ成分である塩化マグネシウムに交換したもの、その10～15%をエタノールに交換したものなどTable 1に示した5条件で漬けた。その際、梅と塩は約1/3づつ交互に加え、エタノールは最後に加えた。落とし蓋をし、梅重量の1.5倍の重石を載せ、室温で暗所に約2週間放置して塩漬け梅干しを得た。

Table 1. Concentration of various salts and ethnaol for pickling ume.

Entry	NaCl	MgCl ₂	EtOH
A	20%	—	—
B	—	20%	—
C	10%	10%	—
D	10%	—	10%
E	5%	—	15%

(2) 梅漬けの着色

各々の条件で得た試料を梅と白梅酢に分け秤量した。生重量として1～3 Kg分の梅漬けをホウロウ容器に入れ、Table 2に示した条件で前処理した紫シソ（市場から購入、梅の生重量の20%分を添加）または、単離したシソ色素混合物、ローズマリン酸（それぞれ生シソ葉含有量から換算した重量）を加え、さらに相当量の白梅酢を加え、室温で暗所に保存した。経時的に以下の項目について測定した。

(3) 白梅酢の性状分析

溶出した白梅酢は経時的にpHと塩濃度をそれぞれガラス電極pHメーター、および塩分濃度計で測定した。

Table 2. Procedure of coloring pickled ume by purple leaves of *Perilla occimoides*.

No.method	treatment of leaves
1 traditional method	Added 10% of NaCl to fresh perilla leaves, then crumpled hard till purple colored juice exude. The leaves squeezed hard to remove aku-juice, then the leaves was added to the pickled Ume.
2 with aku-juice	Added 10% of NaCl to fresh perilla leaves, then crumpled hard till purple colored juice exude. Both the leaves and aku-juice was added to the pickled ume.
3 powdered leaves	Freezed with liquid nitrogen, then pulverized in a blendblender. The powdered leaves was added on the pickled ume.
4 perilla anthocyanins	Mixture of perilla anthocyanins was dessolved into white ume-vinegar, then added to the pickled ume.
5 perilla anthocyanin with rosmarinic acid	Mixture of perilla anthocyanins and rosmarinic acid was dissolved into white ume-vinegar, then added to the pickled ume.
6 control	No coloring.

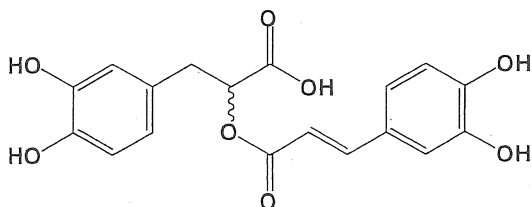


Fig. 2 Structure of rosmarinic acid.

(4) 赤梅酢の性状分析

経時的な pH、塩濃度の測定を行なった。さらに、紫外可視吸収スペクトル測定と HPLC による成分定量を行なった。

(5) 梅干しの性状分析

梅干しの果皮の色は、色彩色差測定により行なった。

3. 結果と考察

(1) 白梅酢の性状

約2週間室温で漬けて得た白梅酢の性状を Table 3 に示した。塩化マグネシウムの添加により、梅酢の pH の低下と白梅酢の溶出量の増加が認められた。これは、塩化ナトリウムとマグネシウムの水和力の違いによるものと推定できる。これに対し、エタノールの添加では、pH の上昇と白梅酢溶出量の減少が認められた。梅からの浸出液の主成分は有機酸類であり、それらが減少するために pH が低下するものと考えられる。

Table 3. Yield, pH, and concentration of sodium chloride of white ume-vinegar.

	White ume-vinegar (mL/Kg fresh ume)	pH	Conc. of NaCl (%)
A	410	1.9	17
B	530	1.6	0.0
C	510	1.8	8.5
D	340	2.4	8.0
E	300	2.9	1.1

(2) 赤梅酢の pH および塩分濃度の変化

同様に、着色後の赤梅酢の pH の変化を調べた (Table 4)。白梅酢と同様の傾向を示したが、シソ葉を加えると植物の細胞内成分による緩衝能の影響で、いずれの条件でも若干 pH が上昇した。特に、常法の着色条件 1 と比較して、アク汁を含まなかった着色条件 2、および粉碎葉を添加した 3 でより高くなった。しかし、塩化マグネシウム濃度の高い梅漬条件 B では、その影響が小さいことが示された。単離した色素を加えた着色条件 4 では、色素がトリフルオロ酢酸塩であったため、pH が著しく低下した。着色開始後 100 日、200 日のデータを比較したが、特に経時的に顕著な変化は認められなかった。即ち、梅酢の pH はほぼ梅漬の段階で平衡に達しているものと考えられる。

Table 4. pH change of colored ume-vinegar by aging.

	Time (day)	Coloring method				
		1	2	3	4	6
A	1	2.4	2.6	3.1	1.9	1.9
	100	2.4	2.4	2.5	2.0	2.1
	200	2.3	2.4	2.5	2.1	2.0
B	1	1.6	1.8	2.0	—	1.6
	100	1.8	1.8	1.9	—	1.6
	200	2.1	2.1	2.0	—	1.8
C	1	2.3	2.6	2.6	1.8	1.8
	100	2.2	2.2	2.3	1.9	1.9
	200	2.2	2.2	2.3	1.9	1.9
D	1	2.8	2.8	3.0	2.3	2.4
	100	2.7	2.7	2.8	2.4	2.5
	200	2.7	2.7	2.8	2.4	2.6
E	1	2.8	2.8	3.4	—	2.9
	100	2.9	2.9	2.9	—	2.9
	200	3.1	3.1	3.0	—	3.0

塩分濃度についても、同様に経時的に測定した。着色条件1および2では、シソ葉に塩化ナトリウムを加えて揉むので、塩濃度は若干上昇した。一方、粉碎シソ葉を加えた条件3では、逆に塩分濃度が低下した。これも、経時変化はほとんどなく、梅酢の溶出は、着色過程ではほとんど起きていないと推定できた。

(3) 赤梅酢の色およびその成分の変化

赤梅酢の赤色が各漬け条件、着色条件により、経時的にどのように変化するかを調べた。その結果を、紫外可視吸収スペクトルにおける、可視の吸収極大波長における吸光度の変化で示した (Fig. 4)。常法で着色した場合 (Fig. 4 upper)、着色開始から一週間ほどは梅酢の赤色は増していき、その後減少することがわかった。中でもCの10%塩化ナトリウム-10%塩化マグネシウムの条件では、吸光度の最高値も

高く、減少もゆるやかであった。AとBはほぼ同程度の着色と経時変化を示し、エタノールを含むD、Eは吸光度の到達最高値も低く、100日後の赤色も大変薄かった。凍結粉碎したシソ葉で着色した場合は (Fig. 4 lower)、着色1日後が赤梅酢の色は最も濃く、その後漸減した。また、20%塩化ナトリウムの漬け条件Aが最後まで最も赤色が濃く、B、Cはその約半分程度しか着色しなかった。D、Eの赤色は大変薄く、70日以降消失した。凍結粉碎葉の場合、組織が損傷しているために、室温にもどるとわずかな時間で葉は茶褐色に変色し、アントシアニンが分解する。従って、速やかに白梅酢に加え強酸性条件にする必要がある。今回の実験はその時間のばらつきにより、結果に再現性が認められなかったと推定される。今後の検討が必要である。

梅干しの着色は、梅酢へのシソ葉からの色素成分の溶出過程と赤梅酢から梅干し組織への色素着色の二段階がある。この過程は並行して起きているが、まず、梅酢への溶出過程をHPLCで分析した。方法1で着色した時の赤梅酢中の主色素マロニルシソニン、シソニンおよびロズマリン酸のピーク面積の経時変化を示した (Fig. 5)。マロニルシソニンは (Fig. 5 upper)、条件A、BおよびCで若干増加した後減少していき、100日まで漸減した。エタノール濃度の高いEも7日目までかなり高い濃度で溶出したが、その後Dと共に速やかに減少することがわかった。シソニンは (Fig. 5 middle)、A、BおよびCで30日ごろまで緩やかに増加しその後一定値を保った。これは、マロニルシソニンの分解によるものと推定できる。しかし、D、Eでは、さほど増加せず、低値であった。ロズマリン酸は (Fig. 5 lower)、Eで最初の一週間ほど濃度が大変高く、これはエタノールへの溶解度が高いためと推定できた。

梅干しの色の測定結果を Table 5 に示した。梅干し表面の赤色度は着色後7日後にほぼ上限値に達し、その後は横ばいであった。黄色度の低下は、それよりも若干遅れ、10日程度で下限値になりその後横ばいであった。着色100日後の梅の色を比較すると、方法1で着色した場合A、BおよびCは赤色度が濃く黄色度が低かった。これに対し、D、Eは黄色度が高く、赤色度が低かった。着色方法2では、1と比較してA、BおよびCにおいて若干暗色であった。方法3は、それらよりも赤色度が低く、着色が悪かった。これは今後実験方法の検討を要する。

4. まとめ

今回の結果からは、梅干しを漬ける際は常法の20%食塩で漬け、常法の塩もみシソ葉で着色する方法が最も良い結果を得た。梅酢の赤色および色素量は、着色開始後7~10日目までは上昇するもののその後減少し、成分変化(マロニル基の脱離)も起きていることがわかった。また、エタノール添加により、溶出量、成分共に大きく変わることがわかり、そのために着色がよくないことが判明した。梅の組織への色素吸着過程の化学的解明が今後の課題である。

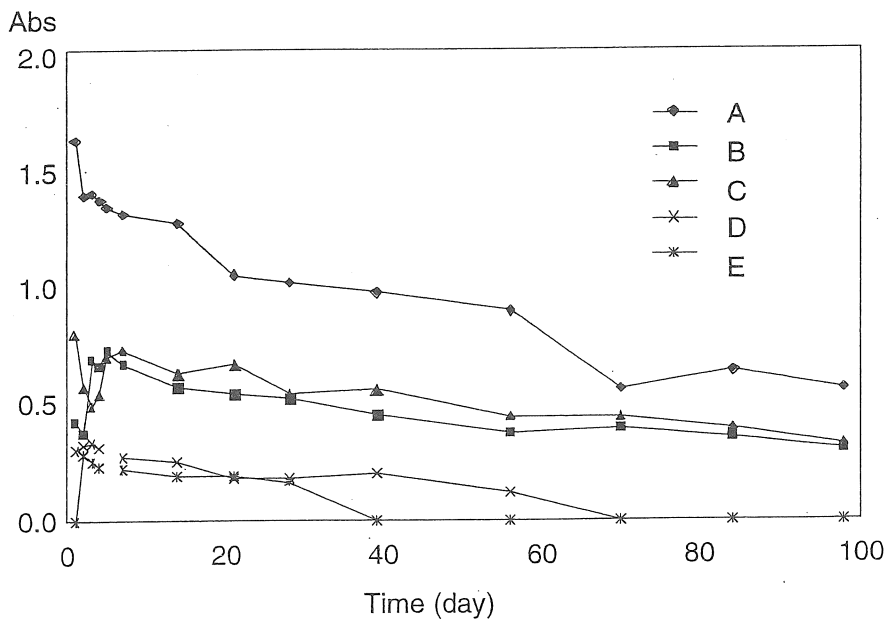
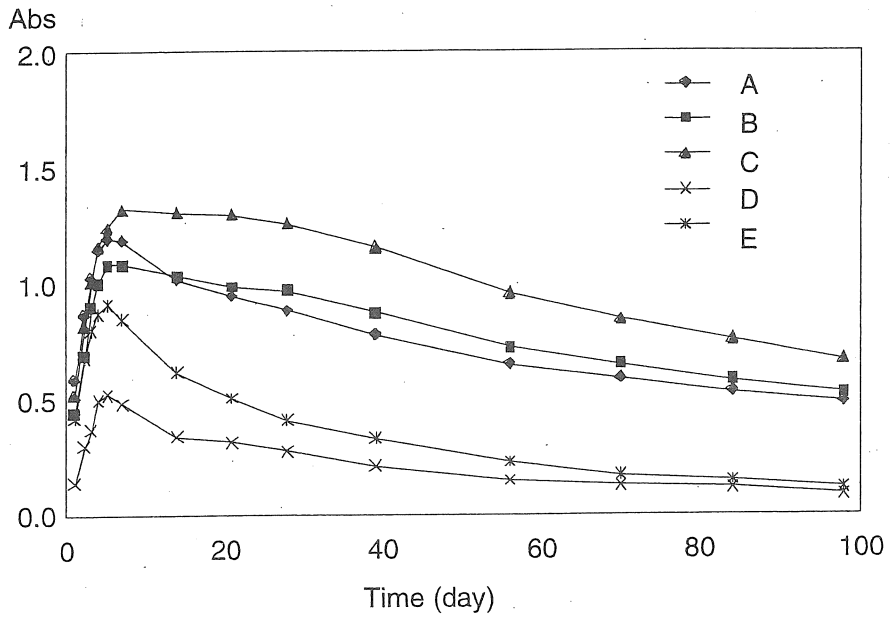


Fig. 4 The color change of red ume-vinegar by aging.
 Upper: coloring condition 1, lower: coloring condition 3.
 Absorbance at λ_{VISmax} was plot.

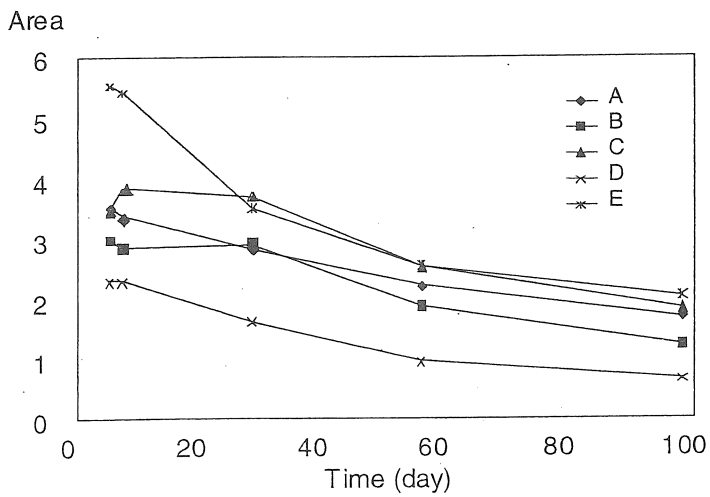
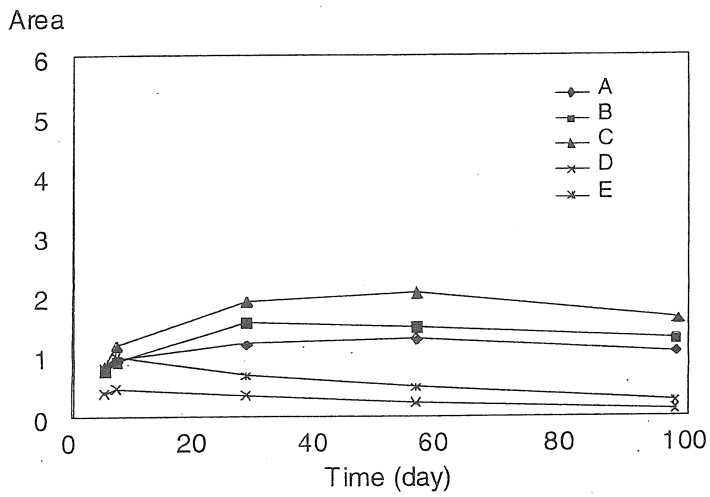
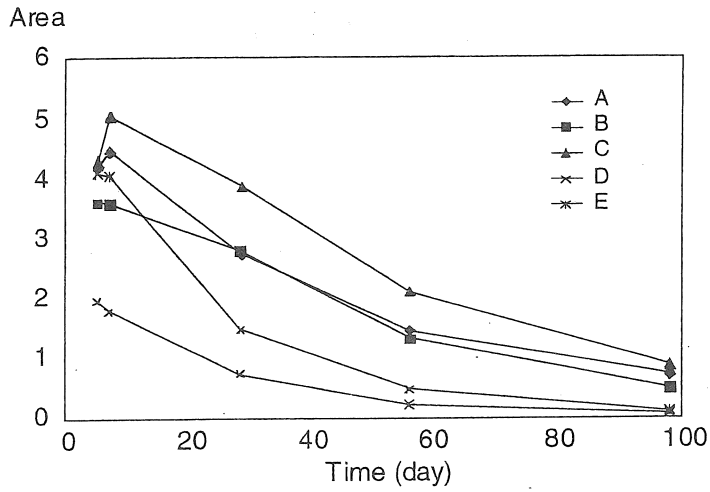


Fig. 5 HPLC analysis of each compolents in red ume-vinegar. Coloring method 1, the upper: malonylshisonin, the middle: shisonin, the lower: rosmarinic acid.

Table 5. Color analysis of pickled ume, (100 days, n=9, mean \pm SD)

	L	a	b
Coloring method 1			
A	22.7 \pm 1.96	31.3 \pm 2.00	9.0 \pm 1.44
B	25.8 \pm 1.50	30.5 \pm 1.48	10.0 \pm 0.77
C	22.3 \pm 1.44	30.1 \pm 2.14	7.5 \pm 0.79
D	35.5 \pm 1.88	13.9 \pm 1.87	19.0 \pm 2.60
E	36.4 \pm 1.62	11.4 \pm 0.81	15.7 \pm 2.78
Coloring method 2			
A	25.0 \pm 1.06	28.3 \pm 3.49	10.1 \pm 1.15
B	26.5 \pm 0.61	25.3 \pm 2.52	8.2 \pm 1.05
C	28.1 \pm 1.27	29.8 \pm 2.54	9.7 \pm 1.02
D	33.5 \pm 1.33	14.7 \pm 1.82	15.7 \pm 1.93
E	33.8 \pm 1.48	14.7 \pm 0.91	17.6 \pm 1.43
Coloring method 3			
A	28.7 \pm 1.03	24.7 \pm 4.85	10.2 \pm 2.98
B	30.2 \pm 3.16	18.3 \pm 2.36	11.1 \pm 2.20
C	30.2 \pm 3.10	21.5 \pm 2.49	11.7 \pm 0.99
D	39.8 \pm 0.64	8.3 \pm 0.70	18.6 \pm 2.00
E	41.2 \pm 2.22	8.1 \pm 0.71	22.6 \pm 1.93

4. 文献

- Goto, T., Hoshino, T. and Ohba, M. (1976) *Agric. Biol. Chem.*, **40**, 1593-1596.
- Goto, T. and Kondo, T. (1991) *Angew. Chem. Int. Engl.* **30** 17-33 (1991).
- J. B. Harborne, (eds.), *The Flavonoids, Advances in Research since 1980*, Chapman and Hall, London, pp. 1-20 (1988).
- Ishikura, N. (1981) *Agric. Biol. Chem.*, **45**, 1855-1860.
- Kondo, K. (1931) *Yakugaku Zasshi*, **51**, 254-260.
- Kondo, T., Tamura, H., Yoshida, K. and Goto, T. (1989) *Agric. Biol. Chem.*, **53**, 797-800.
- Kuroda, C. and Wada, M. (1935a) *Proc. Imp. Acad. Japan*, **11**, 28-31.
- Kuroda, C. and Wada, M. (1935b) *Proc. Imp. Acad. Japan*, **11**, 272-287.
- Markakis, P. (1982) *Anthocyanins as Food Colors*, Academic Press, New York, pp. 163-180.
- Mazza, G. and Miniati, E. (1993) *Anthocyanins in Fruits, Vegetables, and Grains*, CRC Press, Boca Raton.
- Harborne, J. B. (eds.), *The Flavonoids, Advances in Research Since 1986*, Chapman and Hall, London, pp. 1-22 (1994).
- Watanabe, S., Sakamura, S. and Obata, Y. (1966) *Agric. Biol. Chem.*, **30**, 420-422.
- Yoshida, K., Kondo, T., Kameda, K. and Goto, T. (1990) *Agric. Biol. Chem.*, **54**, 1745-1751.
- Yoshida, K., Kameda, K. and Kondo, T. (1993a) *Phytochemistry*, **33**, 917-919.
- Yoshida, K., Kameda, K., Kondo, T. and Goto, T. (1993b) T. Kakihana, T. Hoshi, (eds.), in *Seventh Symposium on Salt vol II*, Elsevier Science Publishers B. V., Amsterdam, pp. 623-630.

Effect of Salt on Color Stability of Pickled Ume

YOHIDA, Kumi,¹ KONDO, Tadao,² KAMEDA, Kiyoshi³

¹Graduate School of Human Informatics, ²Graduate School of Bioagricultural Sciences,
Nagoya University

³School of Life Studies, Sugiyama Jogakuen University

Summary

Umeboshi, a salty pickled plum colored by purple perilla leaves, is a traditional Japanese preserved food. Anthocyanins in perilla leaves were extracted into exude juice, shira-umezu, then adsorbed to the salted plant tissue. The color of anthocyanins is generally very unstable in weakly acidic or neutral aqueous solutions, however, the red color of “umeboshi” is very stable for a long time. It has been a question why umeboshi keeps such a beautiful red color after several years. We studied on the red color and stability of umeboshi by changing the procedure of salt pickling and coloring.

We pickled ume using various conditions (addition of $MgCl_2$ and ethanol) as well as traditional method of 20% NaCl. The coloring was also done not only by the routine procedure but also using the frozen and crushed leaves. The change of pH and NaCl concentration in white and red ume-vinegar was measured. The change of red color and the amounts of each component in red ume-vinegar by aging were analyzed by spectrophotometry and HPLC. The color of pickled plum, umeboshi, was measured by the color-difference meter.

The amount of exude white ume-vinegar was increased when pickled with $MgCl_2$ and decreased with ethanol. The pH was lowered by $MgCl_2$ and changed to high value by ethanol. The absorbance of red color of ume-vinegar became maximum value after one week of starting coloring, and it slowly decreased afterwards. $MgCl_2$ had a hyperchromic effect on red color of ume-vinegar and the color of which obtained by pickling with ethanol was thin and yellowish. At the first stage (c. a. 30 days) the major pigment was malonylshisonin, although, it was hydrolyzed to shisonin by aging.

Traditional procedure: using 20% NaCl for pickling and colored with salt crumpled and squeezed perilla leaves, gave the most beautiful red colored umeboshi. The high concentration of salt and the low pH must effect the red color development of umeboshi. The study on coloring mechanism of anthocyanins to the plum tissue is under progress.