

レトルト処理に伴う鰹だし中の成分変化：市販鰹節4種の調査

笹井 実佐, 湯浅 佳奈

Changes in Components of Extract of Dried Bonito (Katsuo Dashi) after Retort Sterilization : Investigation of Four Katsuo Dashi Prepared from Commercially Available Dried Bonitoes

Misa Sasai and Kana Yuasa

Although the flavor of packed food is well-known to change after retort sterilization, the mechanism of that flavor change is not well understood. We have now confirmed, through the use of the sensory evaluation of model solutions of inosinic acid, that it is caused by a decrease in umami components, such as inosinic acid, after sterilization. This study has confirmed that the decrease in umami components after sterilization was a general phenomenon. We investigated four brands of dried bonito (katsuo-bushi) available on the market. The quantitative analysis for extract of katsuo-bushi showed that the volume of inosinic acid decreased at the same rate from all samples, whereas the volume of glutamic acid did not decrease at the same rate. The brand of katsuo-bushi that excluded blood (chiai) exhibited a slight decrease in glutamic acid. The pH and contents of lactic acid and metal elements were quantified to find the reason for this difference, and showed that the decrease rate of glutamic acid was positively correlated with pH and negatively correlated with the calcium content.

Keywords: retort sterilization, katsuo dashi, inosinic acid, inosine, hypoxanthine, glutamic acid, nucleic acid, amino acid, lactic acid, pH, Ca, LC/MS, ICP

1. 背景および目的

容器詰め加工食品では必須である殺菌工程, 例えばレトルト殺菌工程において, 内容品の風味が変化することは旧知であるが, その風味変化を食品中の成分変化と結び付けた例は少ない. 我々はこれまでに, 鰹節抽出液(鰹だし)中の複数の呈味性成分を分析し, レトルト処理前後で変化する成分の抽出とその変化が風味へ与える影響を調査してきた. その結果, 鰹だしにおいて重要なうまみ成分の一つであるイノシン酸がレトルト処理によって分解していること, また, それがレトルトによる風味変化の一因であることが示唆された¹⁾. この鰹だしに起こる変化が一般的な事象であることを確認するため, 市販の鰹節4種から鰹だしを調製してレトルト処理を施し, その成分変化を調査した.

2. 実験方法

2.1. 試薬

ギ酸, 酢酸, アセトニトリルおよびメタノール (MeOH) は富士フィルム和光純薬(株)製 LC/MS 用を, 酢酸アンモニウムは富士フィルム和光純薬(株)製試薬特級を, 超

微量分析用硝酸およびイットリウム標準液は富士フィルム和光純薬(株)製を, アミノ酸混合標準液 H 型 (グルタミン酸 (Glu) を含む) は富士フィルム和光純薬(株)製アミノ酸自動分析用を, イノシン酸二ナトリウム (5'-IMP2Na) は MP Biomedicals LLC 製, イノシン (Ino) は Thermo Fisher Scientific 製, グルタミン酸ナトリウム (GluNa) は東京化成(株)製, ヒポキサンチン (Hyp) はシグマアルドリッチ製, ICP マルチエレメントスタンダード IV はメルク(株)製, Organic acid Standard Solution はアジレント・テクノロジー(株)製をそれぞれ用いた.

2.2. 試料

試料には, いずれも市販品である「徳一番®」花かつお(ヤマキ(株)), 花かつお(有限会社池田物産), 徳用かつお節, および削り・かつお血合い抜き(いずれも(株)和田久)の鰹節4種を用いた. 試料の一覧を表1に示す.

表 1. 試料一覧

商品名 (略称)	メーカー	容量 (g)
「徳一番®」花かつお (ヤマキ)	ヤマキ株式会社	80
花かつお 3番 (池田)	有限会社池田物産	90
徳用かつお節 (和田)	株式会社和田久	100
削り・かつお血合い抜き (血合い抜き)	株式会社和田久	100

2.3. 試料の調製

(1) 鰹節抽出液 (鰹だし) の調製

試料の鰹節 4 種から抽出液 (鰹だし) を調製した。沸騰イオン交換水 3.2kg に鰹節 80g (水に対し 2.5%) を添加して軽くかき混ぜた後、加温を停止した。5 分後にキッチンペーパーで抽出液を濾過し、2 分間清置した後、鰹節を除去して鰹だしを得た。得られた試料はろ過後すぐにスタンディングパウチ (アルミ 4 層, 120mm × 180mm × 33mm) に 250g ずつ封入し、ヒートシールにより密封した。レトルト処理を行わない試料 (レトルト前) は水冷後、-80 °C にて保管した。

(2) レトルト処理

密封した試料は水冷後に小型高温高圧調理殺菌装置 40R- II 型 (日本バイオコン (株) 製) を用い、121 °C にて $F_0=20$ 分または 40 分を目指した条件でレトルト処理した。試料は水冷後に -80 °C にて保管した。

2.4. 実験

(1) 核酸系うま味成分の分析

試料をフィルターバイアル (フィルター材質: PVDF, 細孔: 0.45 μ m, Thomson 社製) にて処理し、LC/MS による核酸系うま味成分 (イノシン酸: 5'-IMP) とその関連物質 (イノシン: Ino, ヒポキサンチン: Hyp) の分析に供した。LC/MS 装置は Agilent 6430 Triple Quad LC/MS (アジレント・テクノロジー (株) 製) を、カラムは Synergi (3.0mm i.d. × 100mm, 2.5 μ m, Phenomenex 製) を用いた。分析条件を以下に示す。移動相: (A) 0.1% ギ酸, (B) アセトニトリル, 流速: 0.3ml/分, グラジェント条件: 0%B にて 5 分保持, その後 10 分で 60%B へ (分析時間: 15 分), カラム温度: 40 °C, 注入量: 0.3 μ l, ドライガス: 窒素 (350 °C), 12L/分, ネブライザーガス: 60psi, キャピラリー電圧: +2500V または -2500V, 測定モード: SRM, 極性: ポジティブまたはネガティブ, イオン化方法: ESI. 定量した核酸系成分とそのイオン化条件を表 2 に示す。

表 2. 核酸系成分の分析条件 (LC/MS, SRM モード)

成分名	分子式	分子量	極性	プリカーサー イオン	プロダクト イオン	フラグメント 電圧 (V)	コリジョン エネルギー (eV)
5'-IMP	C ₁₀ H ₁₃ N ₄ O ₈ P	348.2	Nega	347	79	110	30
Ino	C ₁₀ H ₁₂ N ₄ O ₅	268.2	Nega	267.1	135	150	25
Hyp	C ₅ H ₄ N ₄ O	136.1	Nega	135	92	100	17

(2) アミノ酸系うま味成分の分析

試料を 0.45 μ m のフィルターバイアルにて処理し、LC/MS を用いたアミノ酸系うま味成分 (グルタミン酸: Glu) 分析に供した。LC/MS 装置は Agilent 6430 Triple Quad LC/MS (アジレント・テクノロジー (株) 製) を、カラムは Scherzo SS-C18 (2.0mm i.d. × 150mm, 3 μ m, Imtakt 製) を用いた。分析条件を以下に示す。移動相: (A) 各 0.2% のギ酸および酢酸を含む水溶液, (B) 100mM

酢酸アンモニウムの水/MeOH 混液 (50:50, v/v), 流速: 0.3ml/分, グラジェント条件: 0%B にて 1 分保持後 4 分で 2%B へ, 15 分で 45%B へ, 25 分で 100%B へ (分析時間: 25 分), カラム温度: 45 °C, 注入量: 0.3 μ l, ドライガス: 窒素 (350 °C), 10L/分, ネブライザーガス: 50psi, キャピラリー電圧: +4000V, 測定モード: SRM, 極性: ポジティブ, イオン化方法: ESI, 定量したアミノ酸とそのイオン化条件を表 3 に示す。

表 3. グルタミン酸分析条件 (LC/MS, SRM モード)

成分名	分子式	分子量	プリカーサー イオン	プロダクト イオン	フラグメント 電圧 (V)	コリジョン エネルギー (eV)
Glu	C ₅ H ₉ NO ₄	147.1	148	84	100	10

(3) 乳酸量および pH 測定

鰹だしは一般的に酸味を感じるが、これは主に鰹だし中に含まれる乳酸由来であることが知られている^{2), 3)}。そこで、4種の鰹だし間で乳酸量を比較した。試料を0.45μmのフィルターバイアルにて処理後、LC/MSを用いた乳酸分析に供した。標準溶液にはOrganic acid Standard Solutionを用い、検量線法により定量した。HPLC装置はAgilent 1260 Infinity II、質量分析計はAgilent 6125 Infinity Lab LC/MSD (共にアジレント・テクノロジー(株)製)、カラムはDiscovery HS-F5 (2.1mm i.d. × 250mm, 5μm, SPELCO製)を用いた。分析条件はアジレント・テクノロジー(株)提供のアプリケーションノート⁴⁾を参考にした。分析条件を以下に示す。移動相：(A) 0.1%ギ酸水溶液, (B) アセトニトリル, グラジエント条件：0%Bにて2分保持後、5分で25%Bへ、11分で35%Bへ、15分で95%B (分析時間:15分), 流速:0.25mL/分, カラム温度:40℃, 注入量:3μL, ドライガス:窒素(350℃), 10L/分, ネプライザーガス:50psi, キャピラリー電圧:-2500V, 測定モード:SIM (*m/z*=89), 極性:ネガティブ, イオン化方法:ESI。

また、それぞれの試料のpHを卓上型pH・水質分析計F-72 ((株)堀場アドバンスドテクノ製)により測定した。

(4) 無機成分測定

試料中の無機成分量を誘導結合プラズマ発光分光分析(ICP-OES)装置により測定した。試料20mLに超微量分析用硝酸5mLを添加し、80℃で予備加熱を40分間行った。その後100℃にて40分間加熱して有機物を湿式灰化した。灰化後の試料を0.1Nに希釈した超微量分析用硝酸で50mLにメスアップし、試料とした。標準試料は、ICPマルチエレメントスタンダードIVを0.1N硝酸で適宜希釈して検量線とした。内標準法で定量を行い、内標準物質にはイットリウムを用いた。試料または検量線溶液15mLに、約200μL/mLのイットリウム標準液100μLを添加して分析に供した。ICP-OES装置は島津製作所(株)製ICPE-9000を用いた。

3. 結果および考察

3.1. 核酸系うま味成分の分析

LC/MS分析から、試料中に含まれる5'-IMPおよびその関連成分の定量を行った。定量結果を表4に示す。また、レトルト前の5'-IMP量を100%として残存率を算出した結果を図1に示す。鰹節の種類によって含まれる5'-IMP量に違いは見られたが、いずれの鰹だしもほぼ同等の5'-IMP残存率を示すことが分かった。

表 4 4種の鰹だし中の核酸系成分分析結果 (n=3平均)

		(μg/mL)		
		5'-IMP	Ino	Hyp
ヤマキ	レトルト前	95±12	128±22	6±1
	F ₀ =20分	77±6	140±22	7±1
	F ₀ =40分	66±2	152±30	7±1
池田	レトルト前	134±22	132±24	5±1
	F ₀ =20分	110±20	150±29	6±1
	F ₀ =40分	94±15	162±25	6±1
和田	レトルト前	118±28	129±35	4±1
	F ₀ =20分	97±25	144±30	5±1
	F ₀ =40分	81±22	152±33	5±1
血合い抜き	レトルト前	152±38	109±33	3±1
	F ₀ =20分	124±33	125±32	4±1
	F ₀ =40分	104±27	137±36	4±1

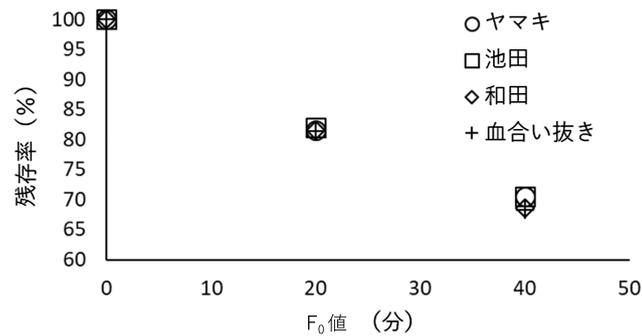


図1 4種の鰹だし中に含まれる核酸系成分のレトルト後残存率 (%)

3.2. アミノ酸系うま味成分の分析

LC/MS分析から、試料中に含まれるGluの定量を行った。定量結果を表5に示す。また、レトルト前の含有量を100%として残存率を算出した結果を図2に示す。核酸系成分と比較して含有量は低いが、Gluでもレトルトによる減少が見られた。F₀=40分で10～15%の含有量減少が見られたが、血合い抜き試料でのみ減少率が5%未満

に抑えられていることが示された。Gluは強いうま味を持つ成分であることから、レトルトによる現象が抑制されることは大きな意味を持つと考えた。そこで、血合い抜き試料と他の試料において、成分の分解に関わると予測した乳酸量、pHおよび無機分量を調査し、比較することとした。

表5 鰹だし中のアミノ酸系うま味成分定量結果 (n=3 平均値)

		($\mu\text{g/mL}$)
		Glu
ヤマキ	レトルト前	9.2 \pm 2.9
	F ₀ =20分	8.2 \pm 2.7
	F ₀ =40分	7.7 \pm 2.6
池田	レトルト前	4.9 \pm 0.8
	F ₀ =20分	4.7 \pm 0.7
	F ₀ =40分	4.4 \pm 0.6
和田	レトルト前	9.5 \pm 3.4
	F ₀ =20分	9.3 \pm 3.1
	F ₀ =40分	8.7 \pm 2.6
血合い抜き	レトルト前	8.3 \pm 2.7
	F ₀ =20分	8.0 \pm 2.7
	F ₀ =40分	8.1 \pm 2.5

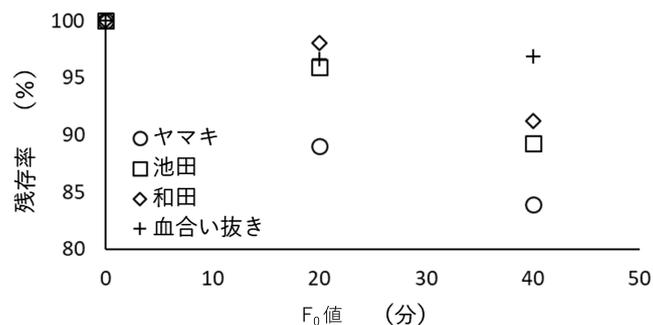


図2 4種の鰹だし中に含まれるGluのレトルト後残存率 (%)

3.3. 乳酸量および pH 測定

LC/MS 分析から各試料中の乳酸量および pH を測定した結果を表 6 に示す。すべての試料において、レトルト前後で乳酸および pH に大きな変化は見られなかった。また、Glu 変化量の小さかった血合い抜きは、池田や和田と比較して乳酸量が少なかったが、変化量の最も大きかつ

たヤマキよりも多く、Glu 変化量との相関は見られなかった。一方、pH は他と比較して僅かに高く、Glu 減少率と正の相関がみられる結果となった (図 3 左)。また、乳酸量が 4 種の中で最も低いヤマキであるが pH は最も低かったことから、鰹だしの pH には乳酸以外の要因も関与している可能性が示唆された。

表 6 鰹だしの pH および乳酸定量結果 (n=1)

		(μg/mL)	
		乳酸	pH
ヤマキ	レトルト前	786	5.4
	F ₀ =20 分	796	5.4
	F ₀ =40 分	789	5.4
池田	レトルト前	914	5.5
	F ₀ =20 分	927	5.5
	F ₀ =40 分	928	5.5
和田	レトルト前	860	5.4
	F ₀ =20 分	859	5.5
	F ₀ =40 分	833	5.5
血合い抜き	レトルト前	816	5.6
	F ₀ =20 分	829	5.6
	F ₀ =40 分	827	5.7

3.4 無機成分量測定

試料中の金属量を ICP-OES により定量した。結果のうち、試料中に 0.1 μg/mL 以上検出された成分の定量結果を表 7 に示す。4 種の鰹だし中に検出された Al, In, Li,

Ca, Mg, Na, K, P は、いずれも 4 種間で大きな含有量の差は見られなかったが、Ca 含有量のみ Glu 減少量と強い負の相関がみられた (図 3 右)。

表 7 鰹だしの無機成分定量結果 (n=2, 各 3 回測定平均値)

	(μg/mL)							
	Al	In	Li	Ca	Mg	Na	K	P
ヤマキ	0.3	0.1	0.1	2.3	9.1	46.2	83.0	510.5
池田	0.3	0.1	0.1	2.0	10.1	77.0	104.0	630.5
和田	0.3	0.1	0.1	1.6	9.2	63.5	84.3	524.0
血合い抜き	0.3	0.1	0.1	1.4	8.8	38.2	93.5	538.0

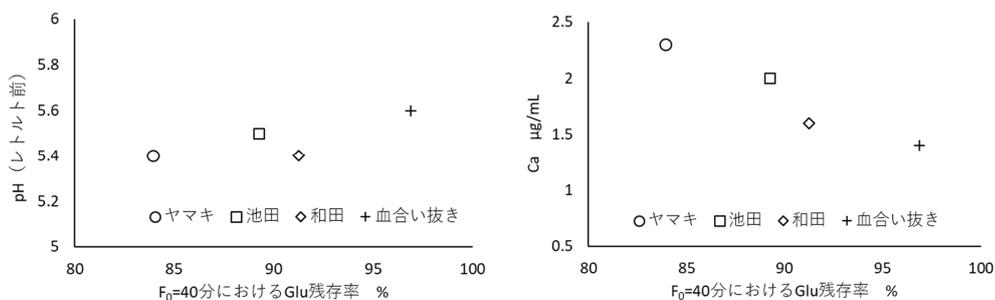


図 3 Glu 残存率と pH (左: 相関係数 0.78) および Ca 量 (右: 相関係数 -0.96)

4. 総括

レトルト殺菌工程において鰹節抽出液に生じる風味変化について、うま味成分であるイノシン酸の分解が関与していることを示したが¹⁾、その変化が鰹だし一般について生じる事象であることを確認するための試験を実施した。前報¹⁾と同種の鰹節を含む3社4種の市販鰹節から鰹だしを抽出し、F₀=20分および40分の条件でレトルト処理して試料とした。核酸系うま味成分である5'-IMPおよびアミノ酸系うま味成分であるGlu分析を実施したところ、核酸系うま味成分の分解率は4種の鰹だしでほぼ同等であったのに対し、Gluは血合い抜きの鰹節から得た鰹だしにおいてのみ減少率が低かった。Gluはうま味を強く呈するアミノ酸であり、だしの呈味に与える影響も大きいと考えられる。特定の鰹だしにおいてGlu減少率が低い要因を探る目的で、乳酸、pHおよび各種無機成分を定量した。乳酸や検出された無機成分のうちAl, In, Li, Mg, Na, KおよびPの含有量に4種の鰹だし間で差は見られなかったが、Glu減少率とpHには正の相関が、またCa量には負の相関がみられた。このことは今後多様なだしについて調査していくうえで有用な結果であると考えられる。

【参考文献】

- 1) 笹井実佐, “レトルト処理に伴う鰹だし中のうま味成分変化”, 東洋食品研究所研究報告書, **33**, 63-39 (2020)
- 2) 福家真也, 渡辺勝子, 酒井久視, 鴻巣章二, *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi*, **36**(1), 67-70 (1989)
- 3) 細川誠, 榊原英公, 矢島泉, 林和夫, *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi*, **37**(11), 856-861 (1990)
- 4) アジレント・テクノロジー (株). “Agilent 6120 シングル四重極 LC/MS による味噌中アミノ酸, 有機酸の一斉分析”. <https://www.agilent.com/cs/library/applications/LC-MS-201607YM-002.pdf> (2022/10/06)