

レトルト処理に伴う鰹だし中のうま味成分変化

笹井 実佐

Changes in the Umami Components of Extracts of Dried Bonito (*Katsuo-Dashi*) after Retort Sterilization

Misa Sasai

The mechanism of how retort sterilization causes obvious flavor changes in foods is not yet fully understood. This study aimed to clarify how sterilization causes flavor changes in *dashi*, an extract of *kombu* and dried bonito, which is used as a stock. A quantitative analysis of the umami components of *dashi* showed that the content of inosinic acid had decreased remarkably. Because the main source of inosinic acid was probably dried bonito (*katsuo-bushi*), we determined the contents of umami components in extracts of dried bonito (*katsuo-dashi*). This clearly revealed that one umami component, inosinic acid, had decomposed to form inosine, hypoxanthine and ribose. In contrast, the content of another umami component, glutamic acid, had decreased only slightly. Model solutions of inosinic acid, inosine and glutamic acid were prepared then quantified before and after retort sterilization to evaluate any flavor changes. Electronic taste sensors and traditional sensory evaluation detected differences between the flavor attributes of the model solutions before and after retort sterilization. These results thus revealed that one cause of flavor changes in *katsuo-dashi* after retort sterilization was the decomposition of the umami component inosinic acid.

Key words: retort sterilization, *dashi*, *katsuo-dashi*, inosinic acid, inosine, hypoxanthine, glutamic acid, aspartic acid, ribose, nucleic acid, amino acid, sugar, LC/MS, taste sensor, sensory evaluation

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に風味変化が生じることは旧知であるが, その変化を含有成分レベルで系統的に捕らえ, 風味変化に結び付けた例は少ない. そこで本研究では, 離乳食や塩分制限食など調味に制限のある加工食品において重要な風味寄与素材となる和風だしについて, 殺菌処理による風味変化の要因を呈味性成分の分析とその風味評価から明らかにすることを目的としている. 本報では特にうま味成分に着目し, レトルト処理がこれらに及ぼす変化を明らかにした. また, レトルト殺菌前後を想定した鰹だしのモデル液を調製し, 成分変化が風味に与える影響を調査した.

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, クロロホルムは富士フィルム和光純薬 (株) 製 HPLC 用を, 酢酸アンモニウム, グアニン (Gni), グアノシン (Gno), リ

ボースは富士フィルム和光純薬 (株) 製試薬特級を, アミノ酸混合標準液 H 型 (グルタミン酸 (Glu) およびアスパラギン酸 (Asp) 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, グアノシン-5'-リン酸二ナトリウム・n 水和物 (5'-GMP2Na) は Combi-Blocks 製, ヒポキサンチン (Hyp) はシグマアルドリッチジャパン (同) 製をそれぞれ用いた.

2.2. 試料の調製

(1) 鰹昆布だしの調製とオートクレーブ処理

市販のだしパック (「天然だしパック かつお味」, (株) マルモ製) 1 パック (8 g) を 500 mL の沸騰イオン交換水で 3 分抽出した. 抽出液をガラス製バイアル瓶 (マルエム製) に注入し, フタを弛めた状態でラボ用オートクレーブ LSC-500 ((株) トミー精工製) にてオートクレーブ処理した. 処理は 121°C 30 分の条件で行った. 調製した試料は -80°C にて保管した.

(2) 鰹節抽出液(鰹だし)の調製とレトルト処理

市販の鰹節(「花かつお」80 g入り, ヤマキ(株)製)から抽出液(鰹だし)を調製した。沸騰イオン交換水3.2 kgに鰹節80 g(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。得られた試料はスタンディングパウチ(アルミ4層, 120 mm × 180 mm × 33 mm)に250 gずつ封入した。レトルト処理前の試料は1日冷蔵庫にて保管した後, -80℃にて保管した。レトルト処理試料は, 1日冷蔵保存した鰹だしを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℃にて $F_0 = 20$ を目指した条件でレトルト処理し, -80℃にて保管した。

(3) 鰹だしモデル液の調製

5'-IMP2Na, InoおよびGluNaを任意濃度でイオン交換水に溶解し, 鰹だしモデル液を調製した。

2.3. 実験

(1) 核酸系うま味成分の分析および結果の主成分分析

試料をディスパーザブルメンブレンフィルターユニット(0.45 μm: DISMIC 13 HP: 東洋濾紙(株)製)にてろ過し, LC/MSによる核酸系うま味成分とその関連物質の分析に供した。LC/MS装置はアジレント・テクノロジー(株)製6430 Triple Quad LC/MSを, カラムはDiscovery® HS F5-5 (4.6 mm i.d. × 250 mm, 5 μm, シグマ アルドリッチ ジャパン(同)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: 0.3 ml/min, 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 min), カラム温度: 40℃, 注入量: 0.3 μl, ドライガス: 窒素(350℃), 12 L/min, ネブライザーガス: 60 psi, キャピラリー電圧: +2500Vおよび-2500V, 測定モード: scanおよびSRM, 極性: ポジティブまたはネガティブ, イオン化方法: ESI. scanモードによるノンターゲット分析から得られたクロマトグラムは多変量解析ソフト“Pirouette Ver4.0”(Infometrix社製)を用いて主成分分析を実施し, 差異成分の抽出を試みた。また, 各成分を定量するターゲット分析はSRMモードで分析を行った。定量した核酸系成分とそのイオン化条件を表1に示す。

(2) アミノ酸系うま味成分の分析

試料を0.45 μmのディスパーザブルメンブレンフィルターユニットにてろ過し, LC/MSを用いたアミノ酸系うま味成分(GluおよびAsp)分析に供した。LC/MS装置はアジレント・テクノロジー(株)製6430 Triple Quad LC/MSを, カラムはScherzo SS-C18 (2.0 mm i.d. × 150 mm, 3 μm, インタクト(株)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) 100 mM酢酸アンモニウムの水/MeOH混液(50:50, v/v), 流速: 0.3 ml/min, グラジェント条件: 0% Bにて1分保持後3分で2% Bへ, その後11分で45% Bへ, その後10分で100% Bへ(分析時間: 25 min), カラム温度: 45℃, 注入量: 0.3 μl, ドライガス: 窒素(350℃), 10 L/min, ネブライザーガス: 50 psi, 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2に示す。

表1 核酸分析条件(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
5'-GMP	C ₁₀ H ₁₄ N ₅ O ₈ P	363.2	Posi	364	152	150	21
			Nega	362	79	80	22
Ino	C ₁₀ H ₁₂ N ₄ O ₅	268.2	Nega	267.1	135	150	25
Gno	C ₁₀ H ₁₃ N ₅ O ₅	283.2	Nega	284	150.1	150	21
				282.1			
Hyp	C ₅ H ₄ N ₄ O	136.1	Nega	135	92	100	17
Gni	C ₅ H ₅ N ₅ O	151.1	Posi	152.1	135	110	18
			Nega	150	132.9	100	13

表2 アミノ酸分析条件 (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
Asp	C ₄ H ₇ NO ₄	133.1	134	74	100	10

(3) リボース分析

核酸系うま味成分は核酸塩基, リボースおよびリン酸から構成されている。そこで構成成分の一つであるリボースの定量をポストカラム LC/MS 法により行った。鰹だしを 0.45 μm のディスポーザブルメンブレンフィルターユニットにてろ過し, LC/MS を用いた糖分析に供した。LC/MS 装置はアジレント・テクノロジー (株) 製 1260 Infinity II (HPLC) および 6125 Infinity Lab LC/MSD, カラムは Unizon UK-Amino (3.0 mm i.d. × 150 mm, 3 μm, インタクト (株) 製) を用いた。分析条件を以下に示す。移動相: (A) 水, (B) アセトニトリル, グラジエント条件: 9% B にて 7 分保後, 23 分で 21% B へ (分析時間: 30 分), 流速: 0.4 ml/min, ポストカラム溶媒: クロロホルム/アセトニトリル (1:1, v/v), ポストカラム溶媒流速: 0.35 mL/min, カラム温度: 60°C, 注入量: 1 μl, ドライガス: 窒素 (350°C), 12 L/min, ネブライザーガス: 35 psi, キャピラリー電圧: -3000 V, 測定モード: SIM ($m/z=185$, $[M+Cl]^-$), 極性: ネガティブ, イオン化方法: APCI。

2.4. 風味評価

うま味成分の定量値を基にレトルト前後を想定した鰹だしモデル液を調製した。5'-IMP2Na, Ino, GluNa をそれぞれ任意濃度でイオン交換水に溶解し, うま味成分の変化が鰹だしの風味変化に与える影響を調査した。評価は味覚センサー測定と官能評価によって行った。

(1) 味覚センサー

鰹だしモデル液を用い, 味覚センサー((株)インテリジェントセンサーテクノロジー製 SA402B) によりうま味センサー値を求めた。

(2) 官能評価

鰹だしモデル液を用いた官能評価を実施した。パネルは 20 代から 40 代の男女 10 名で評価は 3 点識別法にて行った。

3. 結果および考察

3.1. 鰹昆布だし中のうま味成分分析

(1) 核酸系うまみ成分分析結果の多変量解析

オートクレーブ処理前後の鰹昆布だしを LC/MS 分析に供した。scan モードによるノンターゲット分析から得られたクロマトグラム (ネガティブ) を溶出時間とピーク強度にデータ行列化し, 多変量解析ソフトを用いて主成分分析した結果を図 1 に示す。オートクレーブ前後で組分けすることができ, またそれぞれを特徴づける差異成分として, オートクレーブ前で $m/z=347$ の成分が, オートクレーブ後で $m/z=267$ の成分が抽出された。これらの分子量は, 5'-IMP および 5'-IMP からリン酸が脱離した Ino の分子量とそれぞれ一致していることから, オートクレーブ処理により 5'-IMP の分解が起こる可能性が示唆された。

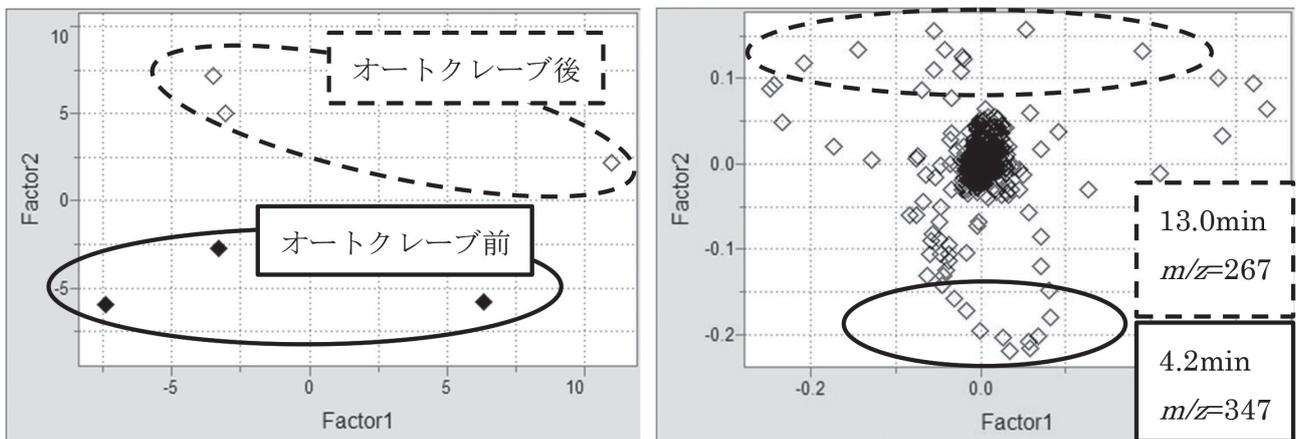


図 1 鰹昆布だしの主成分分析結果 (左: Score 図, 右: Loading 図)

寄与率: 第 1 主成分軸 49.6%, 第 2 主成分軸 31.8%

(2) 核酸系うま味成分の分析

SRMモードによる分析から、試料中に含まれる5'-IMPおよび5'-GMPの定量を行った。定量結果を表3に示す。結果より、オートクレーブ処理により5'-IMPが24%程度減少していることが分かった。一方、5'-GMPは含有量が低く、変化がとらえにくかった。5'-IMPは主に鰹節由来と考えられることから、5'-IMPの減少は鰹節抽出液（鰹だし）由来であると考え、鰹だしにおける変化を精査していくこととした。

3.2. 鰹だし中のうま味成分分析

(1) 核酸系うま味成分の分析

LC/MSによりレトルト前後の鰹だし中における5'-IMPおよび5'-GMPとその関連物質の定量を行った。定量結果を表4に、定量値をモル換算した結果を図2にそ

れぞれ示す。図3に示すように、5'-IMPおよび5'-GMPは核酸塩基（Hyp, Gni）、糖（リボース）、およびリン酸から構成されている。そこで、それぞれの構成要素の総計を算出すると（図4）、5'-IMP, Ino, Hypまたは5'-GMP, Gno, Gniの総計がレトルト前後で保持されていることが示された。この結果は、レトルトによる核酸系うま味成分の分解を示している。特に、含有量の多い5'-IMPが不味成分であるInoへ分解されたことは風味変化にも寄与すると推察された。5'-IMPは通常魚肉中でイノシン酸分解酵素によりInoやHypに分解されることが知られているが、鰹節ではその製造工程で酵素が失活している。すなわち、この分解は殺菌処理が原因で起こったと考えられ、殺菌工程における風味変化の一因であると推察した。

表3 鰹昆布だし中の核酸系成分分析結果 (n=1)

	(μg/mL)	
	5'-IMP	5'-GMP
オートクレーブ前	5.4	0.3
オートクレーブ 30 分後	4.3	0.3

表4 鰹だし中の核酸系成分定量結果 (n=3 平均値)

	(μg/mL)					
	5'-IMP	Ino	Hyp	5'-GMP	Gno	Gni
レトルト前	132±11	108±7	4±0	1±0	1±0	1±0
レトルト後	103±1	110±11	4±0	1±0	1±0	1±0

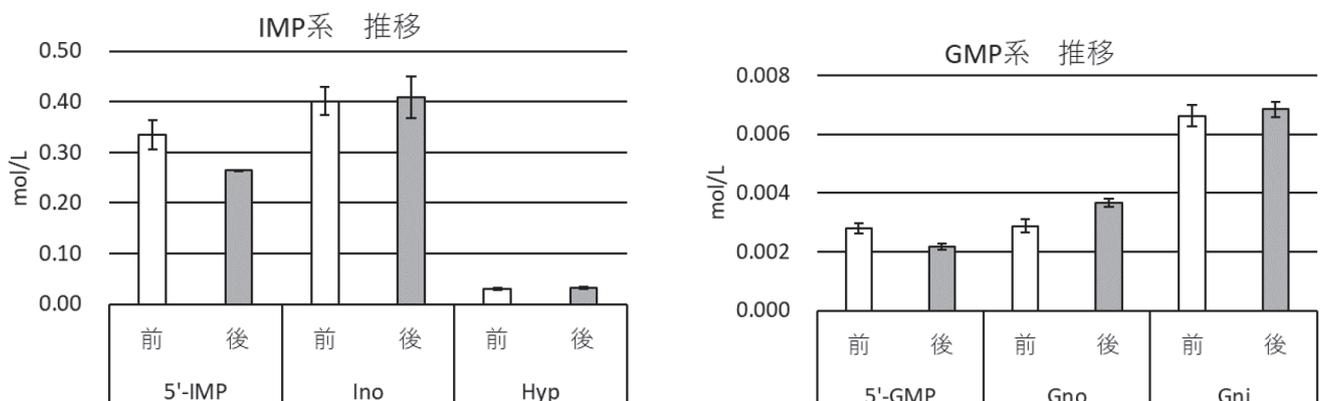


図2 鰹だし中の核酸系成分定量結果（モル換算, n=3 平均値）

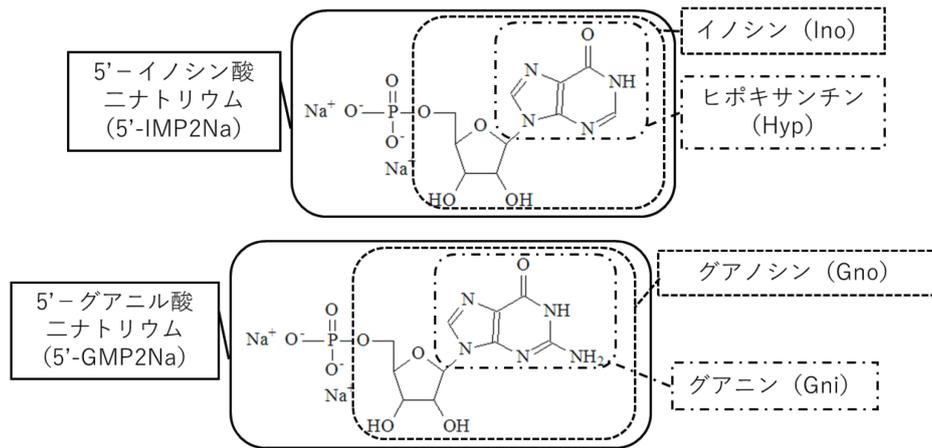


図3 核酸の構造式

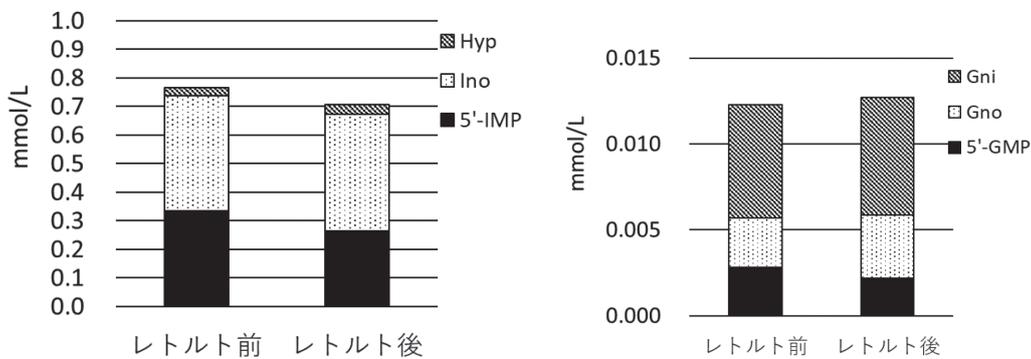


図4 経だし中の核酸系成分総計

(モル換算, 左: 5'-IMP 関連, 右: 5'-GMP 関連, n=3 平均値)

(2) アミノ酸系うま味成分の分析

レトルト前後の経だしについてLC/MSを用いたアミノ酸系うま味成分 (Glu および Asp) の分析を行った。定量結果を表5に示す。結果より、アミノ酸系うま味成分はその含有量も少なく、レトルトによる変化も5~10%程度であり、核酸系成分よりも変化量は小さかった。

(3) リボースの分析

核酸系うま味成分の構成成分の一つであるリボースの定量結果を表6に示す。レトルト前の経だしにはほぼ含まれていなかったリボースがレトルトによって増加、すなわち生成したことが示された。またその増加量をmol換算すると0.0079 mol/LとなりHypの増加量 (0.0080 mol/L) と良好な一致をみたことから、Inoの分解によりHypとリボースが生成したことが裏付けられた。

表5 経だし中のアミノ酸系うま味成分定量結果 (n=3 平均値) (µg/mL)

	Glu	Asp
レトルト前	132±11	108±7
レトルト後	103±1	110±11

表6 リボース定量結果 (n=3 平均値)

	µg/mL	mol/L
レトルト前	0.11±0.09	0.0007±0.0001
レトルト後	1.29±0.30	0.0086±0.0061

3.3. 風味評価

うま味成分の定量値を基に、レトルト前後の鰹だしを想定したモデル液を調製した。モデル液は、鰹だしの等倍相当濃度 (①) と2倍相当濃度 (②) の2系統を調製した。モデル液の組成を表7に示す。

(1) 味覚センサー

レトルト前後を想定した鰹だしモデル液を味覚センサー測定に供した。得られたうま味センサー値を表8に示す。うま味センサー値の差が1以上で人に認知可能な差であ

る(メーカー公証)ことから、5'-IMPの減少とInoの増加がうま味の強弱に影響する可能性が示唆された。

(2) 官能評価

続いてモデル液を用いた官能評価を実施した。20~40代の男女10名をパネルとした3点評価の結果を表9に示す。2倍濃度のモデル液(②)において識別に有意差が見られ($p < 0.05$)、分解による5'-IMPの減少とInoの増加が風味変化の一因であることが示唆された。

表7 鰹だしモデル液組成(水溶液)

記号	ねらい	添加量 $\mu\text{g/mL}$			備考
		5'-IMP2Na	Ino	GluNa	
①	レトルト前	150	100	10	等倍濃度
	レトルト後	100	150	10	
②	レトルト前	300	200	20	2倍濃度
	レトルト後	200	300	20	

表8 鰹だしモデル液のうま味センサー値(n=3 平均値)

	レトルト前相当	レトルト後相当	差
①	9.74 \pm 0.22	8.01 \pm 0.15	1.73
②	12.86 \pm 0.05	11.25 \pm 0.03	1.60

表9 モデル液の官能評価結果

鰹だしに対する倍率(濃度)	正答者
①	5
②	7*

* : $p < 0.05$

4. 総括

レトルト殺菌工程における風味変化について、うま味成分に着目して調査した。市販のだしパックから調製した鰹昆布だしでは、核酸系うま味成分分析結果の主成分分析から、オートクレーブによる加熱処理において5'-IMPの減少とInoの増加が示唆された。このことは定量分析の結果からも支持され、うまみ成分である5'-IMPが減少したことが明らかとなった。5'-IMPは鰹節に多く含まれるうま味成分であることから、鰹だしに着目して検討を進めることとし、核酸系うま味成分(5'-IMPおよび5'-GMP)、アミノ酸系うま味成分(GluおよびAsp)および糖(リボース)の分析を行った。鰹だしにおける各成分の定量結果から5'-IMPの減少量とIno、Hypおよびリボースの生成量に良好な一致が見られ、レトルト処理により5'-IMP

がその構成要素であるIno、Hypおよびリボースに分解されることが示された。5'-IMPは魚肉中ではその分解酵素によりInoおよびHypへ分解されることが知られているが^{1), 2)}、鰹節においてはその製造工程で酵素は失活している³⁾。すなわち、酵素の関与なしに殺菌処理によってうまみ成分である5'-IMPが分解されたことが示された。一方、鰹だし中には少量のGluも含まれていたが、レトルト処理に伴う大きな含有量の変化は見られなかった。

このうま味成分の分解が風味に与える影響を確認するため、レトルト前後の鰹だしを想定したモデル液を調製し、味覚センサー測定および官能評価を実施した。評価結果は共に風味の変化を示したことから、うま味成分の分解がレトルト処理に伴う鰹だしの風味変化の一因であることが示された。

参考文献

- 1) 中野俊樹, 伊藤恵真, 中川孝之, 永山文男, Nippon Suisan Gakkaishi, 56(4), 633-639 (1990)
- 2) 遠藤金次, マテリアルライフ, 10[4] 190-195 (1998)
- 3) <https://www.ninben.co.jp/katsuo/katsuobushi/about/>