

レトルト殺菌によるイノシン酸分解を抑制する手法の検討：pH 調整

笹井 実佐、湯浅 佳奈

Method Investigation to Control Inosinic Acid Degradation after Thermal Sterilization: the Effect of pH Change

Misa Sasai and Kana Yuasa

Although thermal sterilization reportedly alters the flavor of packed food, few studies have systematically examined this change. We have previously demonstrated that inosinic acid, which imparts umami in dried bonito extract (katsuo-dashi), decomposes to inosine and hypoxanthine; this decrease in the inosinic acid concentration contributes to flavor alteration (corroborated by sensory evaluation of a model liquid). Suppressing inosinic acid decomposition via sterilization may preserve katsuo-dashi's flavor. This study was focused on the role of pH in maintaining the flavor of katsuo-dashi after sterilization. Samples of katsuo-dashi and a model solution were enclosed in borosilicate glass ampoules and heated in an oil bath at 110, 120, and 130 °C to simulate thermal sterilization. After heating, the concentration of inosinic acid in the model solution, with pH 4.8–6.8 buffers, remained higher at pH 6.8 than at pH 4.8, indicating that adjusting pH could suppress inosinic acid decomposition. Therefore, a similar warming test was conducted by adjusting the pH of katsuo-dashi. However, in this case, the results varied, and the findings from the model solution were not reproduced. The complex components of katsuo-dashi influenced these results. Thus, pH adjustment was not effective for controlling inosinic acid decomposition and preserving flavor during thermal sterilization.

Keywords: thermal sterilization, dried bonito, katsuo-dashi, inosinic acid, flavor, pH

1. 背景および目的

容器詰加工食品に加圧加熱（レトルト）殺菌を施すことによって、内容品の風味が変化することは感覚的に知られているが、変化する成分について系統的に整理した例や、さらにそれをもとに風味の改善を試みた例は少ない。我々はこれまで鰹節抽出液（鰹だし）に着目し、鰹だしに含まれる主なうま味成分であるイノシン酸がイノシンおよびヒポキサンチンに分解されること、およびイノシン酸とグルタミン酸を含むモデル液の官能評価からイノシン酸の減少が風味変化の一因となりうることを示した（笹井 2020）。このことから、レトルト殺菌によって生じるイノシン酸の分解を抑制することができれば、レトルト殺菌前の風味を保持できる可能性があると考えた。そこで本研究では、レトルト殺菌前の風味を保持する目的で、イノシン酸の分解を抑制する手法として pH 調整の効果をモデル液により確認し、鰹だしへの応用を試みた結果について報告する。

2. 実験方法

2-1. 試薬

イノシン酸二ナトリウム・n 水和物 (5'-IMP2Na・n

水和物) は MP Biomedicals LLC 製、ギ酸、酢酸、酢酸ナトリウムは富士フィルム和光純薬（株）製 LC/MS 用、炭酸水素ナトリウムは富士フィルム和光純薬（株）製試薬特級をそれぞれ用いた。

2-2. 試料の調製

(1) 鰹節抽出液（鰹だし）の調製

市販の鰹節（「徳一番®」花かつお 80 g、ヤマキ株式会社製）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 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。鰹節の吸水および蒸発による水の損失は約 10% であった。得られた試料はパウチ（アルミ積層、内面 PP、スタンディング、120 mm × 180 mm × 33 mm）に 250 g ずつ封入し、-80°C にて冷凍保管した。

(2) 鰹だしモデル液の調製

z 値とは、任意温度にて生菌の 90% を死滅させるのに要する時間を表す D 値を、10 倍変化させる温度差を表し、生菌の温度安定性を示す指標として用いられる。生菌を死滅させるような過酷な加熱条件では、食品中の色味、香気

をはじめ各種含有成分に変化が起きていることが推察される。そこで、食品中成分の変化の温度依存性を表す数値としても z 値が用いられてきた。既報 (芝崎 1998) では、食品成分などの熱破壊の温度依存性が示されており、pH3 よりも pH5 の方が 5'-IMP の z 値が高い、すなわち温度による変化が起りにくいことが示されている。そこで、試料の pH 調整により 5'-IMP の分解挙動を制御できる可能性を考え、調査した。5'-IMP2Na を 200 ppm となるよう緩衝液に溶解させ、鰹だしモデル液とした。鰹だしの pH は約 5.8 を示すことから、緩衝液は pH4.8, 5.8 および 6.8 のものを調製した。pH4.8 および 5.8 には酢酸-酢酸ナトリウム緩衝液を、pH6.8 には炭酸水素ナトリウム-ギ酸緩衝液をそれぞれ用いた。

(3) 鰹だしの pH 調整

(1) と同様に調製した鰹だしに炭酸水素ナトリウム 2 w/v% 水溶液を添加し、pH6.8 を目指して鰹だしの pH 調整を行った。pH 調整を行わない鰹だしには、pH 調整で添加した炭酸水素ナトリウム水溶液と同量のイオン交換水を添加して試料とした。pH 未調整の鰹だしは pH5.6 から 5.8 を示した。

(4) 加温試料の作製

上述の方法で調整した各試料 1 mL を硼珪素酸ガラス製アンプル管 ($\phi 7 \times 85 \times 150$ mm, 1 ml 容) に充填後、ガスバーナーにて溶封し、加熱試料とした。

2-3. 実験

(1) 加熱試験

オイルバスによる加温試験を実施した。オイルバスの設定温度および加熱時間はそれぞれ 110°C 26 分、51 分、77 分、120°C 9 分、19 分、28 分、および 130°C 3 分、7 分、10 分とした。オイルバスに浸漬する時間は、試料全体の温度が均一になる時間として、既報 (松田ら 1980)³⁾ を参考にしてそれぞれ上述の時間に 30 秒加算した。加温後のアンプル管は直ちに水冷し、分析に用いるまで -30°C にて保管した。この加温時間は、pH5 における 5'-IMP の z 値を 23°C としたとき (芝崎 1998)、クック・バリュー (C 値) が 0 (未加熱)、70、140、210 となるようにそれぞれ算出した値である。なお C 値は基準温度を 100°C としたときの加熱劣化指標として用いられる値であり、試料が受けた熱履歴を数値化した値である。C 値は以下の式 (1) で求められ、 t は時間を、 T は温度を、 z は z 値をそれぞれ表す。

$$C = \int_0^t 10^{\frac{T-100}{z}} \quad (1)$$

(2) 5'-IMP の分析

解凍した加温試験後の試料をガラス製パスツールピペットを用いてアンプル管から取り出し、原液および超純水にて 10 倍に希釈した試料をそれぞれポリプロピレン製フィルターバイアル (孔径 0.45 μ m、フィルター素材 PVDF、Thomson 社製) を用いてろ過し、LC/MS による 5'-IMP の分析に供した。分析は既報 (笹井 2020) を一部改変して行った。すなわち、LC/MS 装置はアジレント・テクノロジー株式会社製 6430 Triple Quad LC/MS を、カラムには Synergi Hydro-RP-HST (3.0 mm i.d. \times 100 mm, 2.5 μ m, SPELCO 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°C、注入量: 0.3 μ l、ドライガス: 窒素 (350°C)、12 L/min、ネブライザーガス: 60 psi、キャピラリー電圧: +2500 V、測定モード: SRM、極性: ネガティブ、イオン化方法: ESI、プリカーサーイオン m/z 347、プロダクトイオン m/z 79、フラグメンタ電圧 110 V、コリジョンエネルギー 30 eV とした。定量は検量線法によって行い、5'-IMP2Na \cdot n 水和物の水溶液を任意濃度で調製し、検量線試料とした。このとき、 $n=7.5$ として算出した。

3. 結果および考察

3-1. 鰹だし加温試験

調製した鰹だし 1 mL を封入したアンプル管を、2-3(1) 記載の時間で加温し、得られた試料溶液の 5'-IMP を定量した。定量結果を Table 1 に示す。既報 (笹井 2020) では、120°C で 20 分間レトルト殺菌すると、イノシン酸の分解に伴い 20% 程度のイノシン酸含有量の低下がみられた。今回、120°C 19 分の加温処理をした結果も約 20% の分解を示したことから、レトルト殺菌による加熱分解を概ね再現できていると判断し、以後の試験に本法を採用した。

Table 1 鰹だし中の 5'-IMP 定量結果

温度°C	C 値 (加温時間 分)	5'-IMP μ g/mL	5'-IMP 残存率 %
加温無し	0(0)	138	100
110	70(26)	125	91
	140(51)	118	86
	210(77)	113	81
120	70(9)	126	91
	140(19)	110	80
	210(28)	100	72
130	70(3)	131	95
	140(7)	112	81
	210(10)	110	79

3-2. 鰹だしモデル液加温試験

pH4.8、pH5.8 および pH6.8 に調整した 5'-IMP2Na 水溶液 1 mL を封入したアンプル管を 3-1 と同様に加温し、5'-IMP の定量を実施した。定量結果を **Table 2** に示す。5'-IMP の残存率はいずれの加温温度においても pH4.8 が最も低く、pH6.8 が最も高い傾向にあった。また、110°C で 210 分加熱した試料では、pH4.8 と pH6.8 を比較すると pH6.8 の残存率が有意に高かった ($p=0.012$)。これらは、既報 (芝崎 1998) に示された pH が高い方が 5'-IMP の耐熱性が高い、すなわち分解しにくいという結果と矛盾しない結果であった。また、加温条件によらず、熱履歴すなわち C 値が等しいと同等の残存率となることも示され、z 値による分解挙動を理解する上で矛盾のない結果となった。

Table 2 鰹だしモデル液中の 5'-IMP 定量結果

温度 °C	C 値 (加温時間 分)	5'-IMP μg/mL			5'-IMP 残存率 %		
		pH4.8	pH5.8	pH6.8	pH4.8	pH5.8	pH6.8
110	0(0)	155 ± 7	148 ± 8	158 ± 4	100	100	100
	70(9)	139 ± 3	138 ± 3	150 ± 7	90	93	95
	140(19)	129 ± 2	133 ± 8	145 ± 6	83	90	92
	210(28)	117 ± 4*	122 ± 6	137 ± 5*	76	82	87
120	0(0)	154 ± 7	154 ± 3	154 ± 4	100	100	100
	70(9)	137 ± 5	141 ± 4	142 ± 7	89	92	92
	140(19)	127 ± 5	130 ± 4	134 ± 5	83	85	87
	210(28)	123 ± 4	123 ± 2	129 ± 5	80	80	84
130	0(0)	154 ± 7	154 ± 3	154 ± 4	100	100	100
	70(9)	142 ± 3	141 ± 2	143 ± 6	92	91	93
	140(19)	129 ± 5	133 ± 5	133 ± 5	84	86	87
	210(28)	122 ± 4	125 ± 3	129 ± 4	79	81	84

平均値 ± 標準偏差 (n = 3)
* $p=0.012$, Tukey-Kramer 法

一方、**Table 2** の結果から改めて各 pH における 5'-IMP の z 値の算出を試みたところ、pH が低いほど z 値が大きいうという実際の結果に即さない値となった。元来 z 値は生菌を基準として考察されてきた値であることから、加熱による生菌の減少挙動と比較して変化量が非常に小さい 5'-IMP の分解挙動を本実験結果から考察するには、数値データの不足があったことが要因として考えられた。そこで、この反応を反応速度論的に考察し、本分解反応を 1 次反応式と仮定してそれぞれの pH における 5'-IMP の反応速度定数 k を式 (2) から求めた (**Table 3**)。ここで $[C]$ は 5'-IMP の濃度を示す。**Table 3** より、温度 t が大きくなるのに従って、また、pH が小さくなるのに従って、反応速度定数 k が大きくなる、すなわち分解が速く進行することが示された。

$$\text{反応速度 (v)} = -\frac{d[C]}{dt} = k[C] \quad (2)$$

Table 3 反応速度定数 k

温度°C	pH4.8	pH5.8	pH6.8
110	0.00359	0.00245	0.00180
120	0.00796	0.00791	0.00626
130	0.02348	0.01998	0.01746

3-3. pH 調整した鰹だしの加温試験

炭酸水素ナトリウムにより pH6.8 に調整した鰹だしと pH が未調整の約 5.8 である鰹だしそれぞれ 1 mL を封入したアンプル管を 120°C 28 分で加温し、5'-IMP の定量を実施した。**Table 4** に示した定量結果から示されたように、pH6.8 に調整した鰹だし中の 5'-IMP 残存率は試料の調製日によって大きく異なっており、一定の傾向を示さなかった。3-2 のモデル液加温試験結果を再現しなかった要因として、鰹だしに含まれる多様な成分の影響が考えられ、その特定は難しく、安定した制御は困難であると推察された。加えて、鰹だしの pH を高くすると、うま味は強くなるが酸味が弱く、印象が弱くなるとの先行研究から (坂口ら 2013)、イノシン酸の分解を抑制することでレトルト前の風味を保持するという本研究の目的に、pH 調整という手法は適さないと判断した。

Table 4 pH 調整した鰹だし中の 5'-IMP 定量結果 (120°C 28 分加熱)

鰹だし調製 年/月/日	加温時間 分	5'-IMP μg/mL		5'-IMP 残存率 %	
		pH5.8	pH6.8	pH5.8	pH6.8
2023/2/15	0	183	163	100	100
	28	154	154	84	94
2023/5/26	0	152	168	100	100
	28	152	163	100	97
2023/10/10	0	125	159	100	100
	28	129	124	103	78
2024/1/26	0	154	158	100	100
	28	129	125	81	91

4. 総括

レトルト殺菌によって生じる、鰹だし中のうま味成分である 5'-IMP の分解を抑制する目的で、pH 調整の効果を確認した。試料 1 mL を封入した硼珪素酸ガラス製アンプル管を、110°C、120°C および 130°C に加温したオイルバスで任意時間加温して急冷し、レトルト殺菌状態を模擬的に再現して加温試料とした。まず、pH 調整なしの鰹だしを加温したところ、レトルト殺菌後と同程度の 5'-IMP の分解が確認されたことから、レトルト殺菌の模擬的な再現としてアンプル管による加温法を採用した。5'-IMP を含み、pH を 4.8、5.8 および 6.8 にそれぞれ調整した鰹だし

モデル液の加温試験を実施したところ、110℃での加温において pH4.8 と 6.8 で有意に 5'-IMP の分解程度に差がみられ、pH6.8 の方が分解が抑制されていた。鰹だしの pH5.8 より高めに pH を調整することで 5'-IMP の分解抑制が見込まれたことから、炭酸水素ナトリウムにより pH6.8 に調整した鰹だしを用いて同様に加温試験を実施した。120℃における加温を複数の試料において実施したところ、5'-IMP の分解量は一定の傾向を示さず、すなわちモデル液による試験結果を再現しなかった。これは、鰹だしに含まれる多様な成分が影響したと考えている。また、鰹だしの pH を高くすることで鰹らしい風味が減じるとの先行研究から、レトルト殺菌によるイノシン酸の分解を抑制することでレトルト前の風味を保持するという本研究の目的に、pH 調整は適さないと判断した。

5. 参考文献

- 松田 典彦; 駒木 勝; 松縄 桂子, 1980, 芽胞の耐熱性測定実験における加熱処理時間の補正, *缶詰時報*, **59**(9), p.785-790.
- 坂口 守彦; 石村 哲代; 奥田 玲子; 松田 有加; 吉岡 立仁; 山岸 海; 石崎 早苗; 荻野目 望, 2013, かつお節「だし」の酸味とイノシン酸の役割, *日本調理科学会平成25年度大会要旨集*, p.62. DOI: 10.11402/ajscs.25.0.62.0.
- 笹井 実佐, 2020, 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**, p.63-69.
- 芝崎 勲, 1998, 改訂新版・新・食品殺菌工学, 株式会社光琳, p.60. ISBN: 978-4771298033.