

牛肉スープストック中の核酸関連物質に及ぼす 加熱時間および調製法の影響

田島真理子・税所 聡子*・米沢 瑞代**

(1991年10月15日)

Effects of heating time and preparation method on the nucleotides
in beef soup stock

Mariko TAJIMA, Akiko SAISYO, Mizuyo YONEZAWA

I. 緒 論

牛肉スープストックの調製において牛肉からスープストックへ溶出する成分は、おもにエキス分、無機質、脂肪、筋肉タンパク質の一部であるが、筆者ら^{1)~4)}はこれまでに筋肉タンパク質のうち、筋漿タンパク質はスープストック（以下ストックとする）調製時にあくへ移行すること、ストック中には筋原繊維、および結合組織タンパク質に由来するタンパク質が存在することを報告した。また、三田ら⁵⁾はエキス分の溶出について肉の使用量、加熱時間との関連について報告している。しかし、ストックの味に直接影響すると考えられるIMPのストックへの溶出および肉中の残存について、その前駆物質、分解を含めて検討された報告はない。そこで、本実験においてはアデノシン5'-三リン酸からヒポキサチンまでの一連の核酸関連物質のストックへの溶出について加熱時間との関連について、また、肉の旨味を逃がさないために前処理としてしばしば行われる表面加熱処理がストックへの溶出に影響するか検討した。また、各核酸関連物質の加熱分解に及ぼす加熱時間、pHの影響についても検討を行った。

II. 実 験 方 法

1. 試料の調製方法

1) スープストックの調製方法

スープストックの調製には市販の牛もも肉を用いた。肉は3cm（約30g）の角片に切り、これを精秤したのち200ml ビーカーに入れ、蒸留水100mlを加えて20分間浸漬した。点火後約15分で沸騰するように、また、沸騰後は軽く沸騰を続けるように火力を調整した。加熱中の蒸発は同

*鹿児島市立女子高等学校

**鹿児島県立薩南工業高等学校

温度の蒸留水で補い、100mlを保持するようにした。加熱時間は点火後30分、1、2、3時間とした。加熱終了後、ただちにビーカーを氷水中に移し、肉とあくを除いた後、東洋濾紙 No. 2で濾過し、得られた濾液を蒸留水で100mlに定容してスープストック試料とした。なお、比較のため、肉を蒸留水に浸漬した後濾過したものを加熱0分のストック試料とした。各試料は凍結保存し、測定時に冷水解凍を行った。

2) 牛肉からの核酸関連物質の抽出

加熱後ストックから取り出した肉は2倍量(w/w)の10%過塩素酸を加えて Waring Blenderで30秒間ホモジナイズし、5,000rpmで10分間遠心分離を行い上清液を得た。沈査は、更に5%過塩素酸液(2倍量)で3回抽出を繰り返し、得られた上清液を先の上清液と合わせ、これを5N水酸化ナトリウム液で中和した後、5,000rpmで10分間遠心分離し、上清液(A)を得た。沈査は更に2回少量の冷蒸留水を加えてかく拌し、同様に遠心分離にて上清液を得、先の上清液(A)と合わせて一定量にし、これを肉の核酸関連物質抽出試料とした。上記の操作はすべて低温下で行った。試料は測定まで凍結保存し、測定時に冷水解凍した。

3) 肉の表面加熱処理

3 cm 角の試料肉は重量を測定した後、ガスバーナーを用いて一面30秒間ずつ加熱し、表面タンパク質の変性を行った。加熱処理後ただちに、上述の方法1)、2)に従い、ストックおよび肉抽出試料の調製を行った。

2. 高速液体クロマトグラフィーによる核酸関連物質の測定方法

6種の核酸関連物質(アデノシン5'-三リン酸:5'-ATP・Na₂, アデノシン5'-二リン酸:5'-ADP・Na₂, アデノシン5'-リン酸:5'-AMP, イノシン5'-リン酸:5'-IMP, イノシン:HxR, ヒポキサンチン:Hx)の定量には高速液体クロマトグラフィー(HPLC)を用い、測定条件は筆者⁶⁾の先の報告において述べた方法に従った。ただし、分離カラムはODS-80T 4.6×150mm(東ソーKK製)を用い、移動相は0.1Mリン酸ナトリウム緩衝液(pH 4.4)とアセトニトリルを99:1(V/V)に混和した溶液とし、流速0.8ml/min, 260nmの吸光度により定量した。図1に標準物質の高速液体クロマトグラムを示す。定量性については、各核酸関連物質濃度と吸光度との相関により確認した。なお、ストック試料は、日本ミリポア工業製遠心濾過チューブウルト

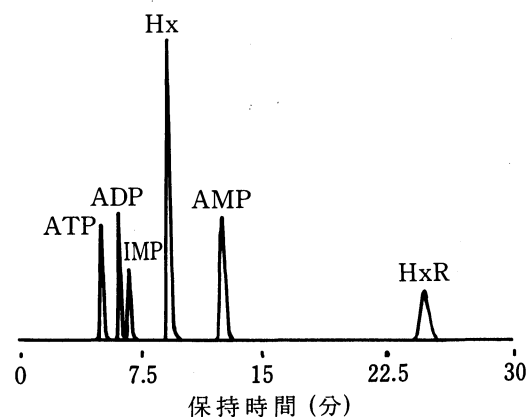


図1 ATP, ADP, AMP, IMP, HxR, Hx の高速液体クロマトグラム

条件: カラム: 東ソーODS-80T 4.6×150mm, カラム温度: 室温, 移動相: 0.1Mリン酸ナトリウム緩衝液(pH 4.4)/アセトニトリル=99:1(v/v), 流速: 0.8ml/min, 検出波長: 260nm

田島, 税所, 米沢: 牛肉スープストック中の核酸関連物質に及ぼす加熱時間および調製法の影響

ラフリー C3GC で濾過して分子量10,000以上のタンパク質を除去した後, 各核酸関連物質の定量を行った。

3. 核酸関連物質溶液の加熱方法

5'-ATP, 5'-ADP, 5'-AMP, 5'-IMP, HxR, Hx の6種 (いずれも半井化学薬品) を用い, それぞれ5 mg を精秤し, 3種類の緩衝液 (20mM酢酸/酸酸 Na 緩衝液: pH 4.0 および 5.5, 60mM $\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{NaOH}$ 緩衝液: pH7.0) 100ml に溶解して核酸関連物質試料溶液を調整した。この試料溶液5 ml をヒーティングブロック (M&S 機器製) を用いて100°Cで30分, 1, 2, 3, 6時間加熱し, 加熱終了後ただちに氷水中で冷却した。加熱後の試料中の各核酸関連物質量を測定してそれぞれのモル濃度を算出した後, 各試料溶液中の総核酸関連物質に対する各々の割合に換算した。

Ⅲ. 結果および考察

1. 肉およびスープストック中の核酸関連物質

加熱時間の延長に伴うスープストックおよび肉中の各核酸関連物質量的変化を表1に示す。20分間浸漬した未加熱の肉およびスープストック中の核酸関連物質の総量は $7.2 \mu\text{mole/g}$ で, 味の中核となるIMPは $3.77 \mu\text{mole/g}$ で, 総量の約52%を占めた。畑江ら⁷⁾は市販の鶏ブロイラーのIMPについて $3.65 \mu\text{mole/g}$ であったと報告しているが, おおよそ近似した値であった。また, 魚肉の核酸関連物質量と比較してみると, 内山ら⁸⁾は魚肉のヌクレオチド含量は $5 \sim 10 \mu\text{mole/g}$

表1 加熱時間に伴うスープストックおよび肉中の核酸関連物質量的変化

加熱時間 (hr)		核酸関連物質 ($10^{-3} \mu\text{mole/g}$)						合計
		ATP	ADP	AMP	IMP	HxR	Hx	
0	スープストック	92	35	11	371	97	61	767
	肉	63	792	87	3403	1078	1045	6468
	合計	155	827	98	3774	1175	1206	7235
1	スープストック	42	225	144	2012	735	760	3918
	肉	62	228	202	1250	383	479	2604
	合計	104	453	346	3262	1118	1239	6522
2	スープストック	40	235	196	1980	815	824	4090
	肉	74	202	170	1035	352	422	2255
	合計	114	437	366	3015	1167	1246	6345
3	スープストック	30	249	227	2033	909	787	4235
	肉	37	133	204	909	331	317	1931
	合計	67	382	431	2942	1240	1104	6166

に分布していることが多いと報告しており、本実験に使用したもも肉では ATP から IMP までのヌクレオチド含量は $4.85 \mu\text{mole/g}$ で魚肉に比べ幾分低い値であった。

ATP, ADP についてみると、肉およびストック中の総量は加熱時間の延長に伴い減少する傾向が見られた。これは加熱により一部 ATP から ADP へ、ADP から AMP へ分解したためと思われる。逆に、AMP は合計量が経時的に増加したが、これは、ATP, ADP の分解によるものと考えられる。肉およびストックの味に最も関与する IMP については図 2 に見られるように加熱時間の延長に伴い減少が見られ、加熱により IMP が一部分解することが推測された。全核酸関連物質の合計量についてみると、加熱経過時間に伴い減少が見られた (表 1)。本実験においてはアデノシン含量の測定を行っていないため、AMP からアデノシンへの分解、あるいは一部の核酸関連物質のあくへの吸着などがあるのではないと思われる。

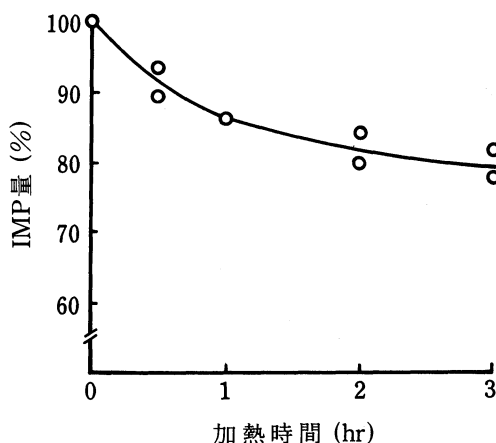


図 2 加熱時間に伴う IMP 量の変化
未加熱時の IMP 量を 100 とした時の、各加熱時間での IMP 量の割合を示す

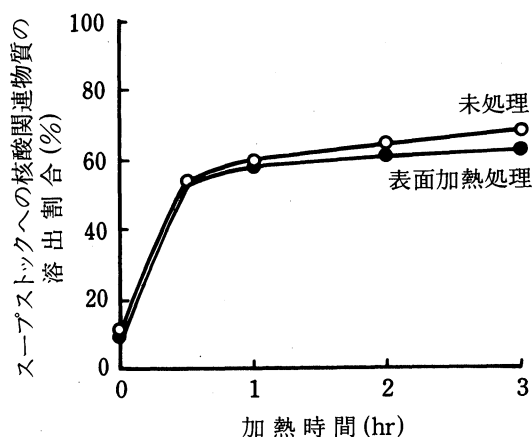


図 3 スープストックへの核酸関連物質の溶出に及ぼす加熱時間の影響

ストックへの核酸関連物質の溶出割合の加熱時間に伴う変化を図 3 に示す。20 分間蒸留水に浸漬を行った場合、肉およびストック中の核酸関連物質総量に占めるストック中の核酸関連物質量の割合は約 10% で、その後の 30 分間の加熱でストックの占める割合は約 54% に上昇した。30 分加熱以後は緩やかに増加し、3 時間加熱で約 69% が溶出していた。

次に IMP のストックへの溶出割合に及ぼす加熱時間の影響について図 4 に示す。IMP の溶出は 20 分間の蒸留水浸漬で 10%、30 分加熱で約 59% で、やはり加熱初期の温度上昇期

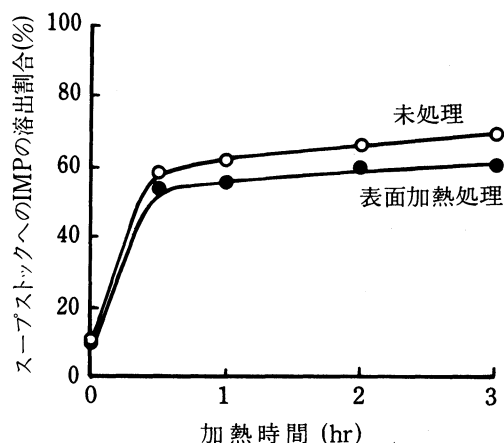


図 4 スープストックへの IMP の溶出に及ぼす加熱時間の影響

田島, 税所, 米沢: 牛肉スープストック中の核酸関連物質に及ぼす加熱時間および調製法の影響

に大きく増加していることがわかる。その後の増加は緩やかで3時間加熱では68%の溶出であった。

以上のように、30分間の加熱でも核酸関連物質およびIMPのストックへの溶出割合は50~60%と大きく、一般的なストックの調製時間3~3.5時間と比較した場合、10~15%の差にとどまった。調製時間についてはその他のエキス分やタンパク質の溶出の影響も考えられるため、味との関連が今後の検討課題である。

2. 肉の表面加熱処理の影響

肉からストックを調製する場合と異なり、肉をストックとともに食するシチューやポトフのような料理の場合、肉中の旨味がストックへ移行すると肉の旨味が減少するため、しばしば前処理として肉の表面を加熱してタンパク質を変性凝固させ、内部からの旨味の溶出を抑える方法が取られる。煮魚の場合では、加熱初温度が50℃以上ではそれ以下の場合に比べて溶出タンパク質の割合が減少するが、脱水率には差がないことが報告されている⁹⁾。しかし、この表面加熱処理が旨味成分、特に肉の旨味の中核となるIMPの溶出にどのような影響に及ぼすかについては検討されていない。一般にシチュー等ではまず、油脂でいためてから煮る方法が取られるが本実験では直に肉表面を火で焼いて表面タンパク質を変性させ、その後ストックの調製と同様な煮加熱を行った。図3および図4に表面加熱処理を行った場合の核酸関連物質およびIMPのストックへの溶出割合の経時変化を示す。核酸関連物質の溶出割合については、加熱初期段階では表面加熱処理をした肉としていない肉での溶出率の差は認められなかったが、加熱1時間以降では、表面加熱処理した肉の溶出率がわずかに低くなった。また、IMPについてみると、30分から3時間の加熱のいずれの時点でも表面加熱処理した肉がストックへの溶出率が低かった。このことから、煮る前に肉表面を加熱することは肉の旨味保持に幾分効果があると思われる。

3. 核酸関連物質の加熱による変化

表1で示したように、肉を蒸留水中で加熱した場合、加熱時間の延長に伴いATP, ADPの減少、およびAMPの増加が認められた。そこで、ATP, ADP, AMP, IMPそれぞれを、pH 4.0, 5.5, 7.0で加熱し、各ヌクレオチドの経時的分解を調べた。結果を図5に示す。ATPは30分間の加熱でADPに変化し、更に、AMPへ変化した。このADP, AMPへの変化はpH 4.0で最も早く、次にpH 5.5で、pH 7.0で最も遅かった。しかし、pH 4.0とpH 5.5の差は小さかった。pH 4.0では1時間加熱でATPは54%に減少し、ADP, AMPがそれぞれ37%, 9%であったが、6時間加熱した場合には、ATP, ADP, AMPはそれぞれ7%, 25%, 67%であった。図に見られるように3時間加熱以降ではAMPが主体となっており、IMPは6時間加熱においても認められなかった。一方、pH 7.0では4時間加熱以降でADPがATPより多くなり、6時間の加熱においてもAMPの割合はADPより低かった。本実験で肉からストックを調製する時のpHは5.6

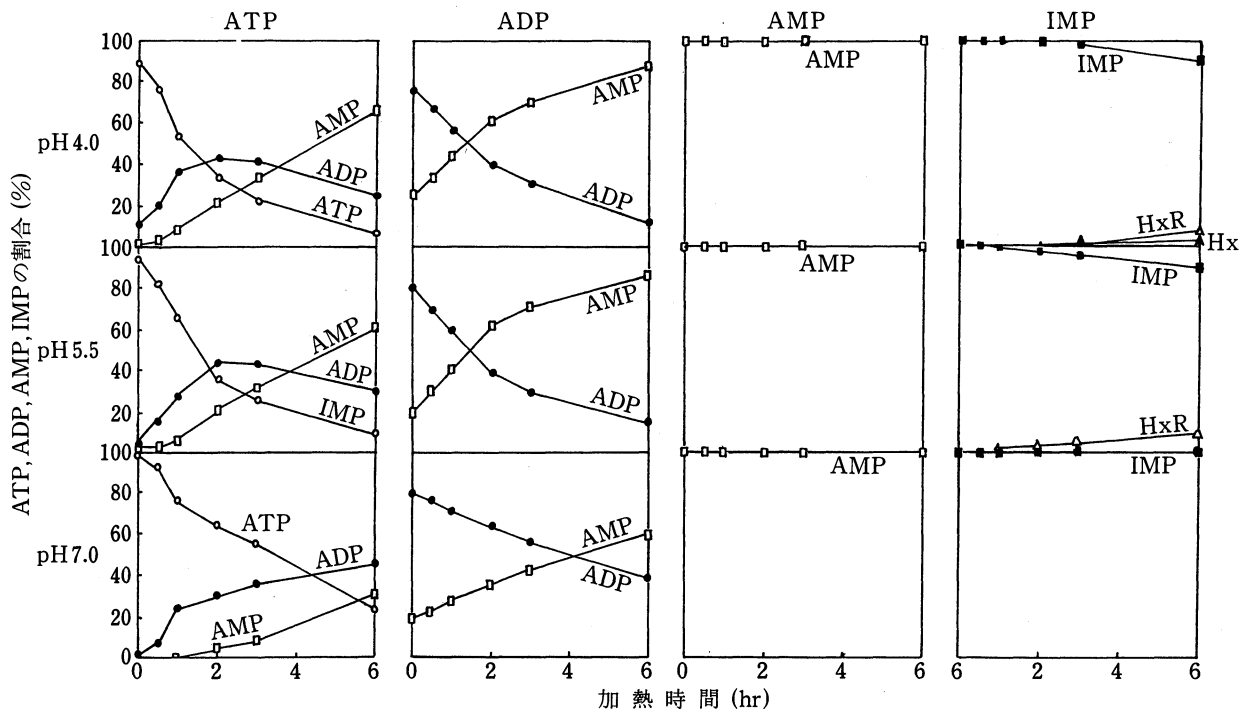


図5 ATP, ADP, AMP, IMP の変化に及ぼす加熱時間の影響

から5.7であったが、先の表1に見られたように加熱時間の延長に伴い ATP が減少したことを本結果は裏付けているといえる。

次に ADP についてみると、ADP から AMP への分解速度は ATP の場合と同様に pH が低い方が速く、pH 4.0 および5.5では加熱1時間から2時間にかけて ADP より AMP が多くなっており、pH 7.0 では4時間加熱で AMP が ADP を上回った。6時間加熱において pH 4.0 および5.5では AMP が86~88%に達しているが、IMP への変化は認められなかった。

AMP はいずれの pH においても変化は見られなかった。これらの結果は表1における加熱時間の延長に伴う ATP および ADP の減少、AMP の増加を裏付けるものと思われる。AMP から IMP への変化は見られなかったが、AMP は IMP の旨味の補強効果を持つと考えられており、AMP の増加は味に寄与しうると考える。

IMP の加熱においては、pH 4.0 および5.5で6時間加熱において約10%が HxR に変化した、pH 7.0では変化は見られなかった。IMP について栗山ら¹⁰⁾は100℃、60分加熱の場合 pH 3, 5, 7, 9 でよく残存し、pH の影響をあまり受けないと報告しているが、ストック調製時の pH、加熱時間においても IMP は比較的よく保持されるものと考えられる。

田島, 税所, 米沢: 牛肉スープストック中の核酸関連物質に及ぼす加熱時間および調製法の影響

IV. 要 約

牛肉スープストック調製時の肉およびストック中の核酸関連物質の経時変化と肉表面の加熱処理の影響について、また、核酸関連物質の加熱変化に及ぼす加熱時間と pH の影響について検討した。

1) 牛肉中の ATP から Hx までの核酸関連物質量は $7.2 \mu\text{mole/g}$ で、IMP はその約52%であった。

2) 肉の核酸関連物質は30分間の加熱で約54%がストックへ溶出し、その後は徐々に増加し、3時間加熱では約69%が溶出した。肉中の IMP のストックへの溶出もそれと同様の傾向を示した。

3) 加熱時間の延長に伴い、肉およびストック中の ATP, ADP は減少し、AMP が増加した。IMP は3時間加熱で約22%減少した。

4) 表面加熱処理を行った肉でストックを調製した場合、核酸関連物質のストックへの溶出は加熱処理を行わない場合に比べ、2~5%減少した。IMP の溶出も4~9%減少した。

5) ATP を pH 4.0, 5.5, 7.0 で加熱した場合、加熱時間の延長に伴い、ADP, AMP への変化が見られたが、その変化は pH 4.0 で最も変化が大きく、pH 7.0 で最も小さかった。

6) ADP を同条件で加熱した場合も ATP と同様の変化を示し、AMP の増加が見られた。

7) AMP はいずれの pH においても IMP への変化は認められなかった。

8) IMP を pH 4.0, 5.5 で加熱した場合、加熱6時間で HxR に変化した。pH 7.0 では変化は見られなかった。

参 考 文 献

- 1) 田島真理子, 三橋富子, 妻鹿絢子, 矢野淳子, 荒川信彦: 家政学雑誌, **35**, 161(1984).
- 2) 田島真理子, 三橋富子, 妻鹿絢子, 荒川信彦: 日本家政学会誌, **40**, 121(1989).
- 3) 田島真理子, 妻鹿絢子, 三橋富子, 荒川信彦: 日本家政学会誌, **42**, 877(1991).
- 4) Tajima, M., Mitsuhashi, T., Mega, A., Arakawa, N., : J. Home Econ. Jpn., **42**, 967(1991).
- 5) 三田コト, 青柿節子, 吉松藤子: 家政学雑誌, **33**, 235(1982).
- 6) 田島真理子: 鹿児島大学教育学部研究紀要自然科学編, **42**, 43(1991).
- 7) 畑江敬子, 青柿節子, 吉松藤子, 川中郁子, 留目幸子: 家政学雑誌, **32**, 515(1981).
- 8) 内山均, 江平重男, 小林宏, 清水亘: 日本水産学会誌, **36**, 177(1970).
- 9) 下田吉人: 調理科学講座 2 巻, 朝倉書店, 東京, 75(1962).
- 10) 栗山千枝子, 伏崎峯子, 村田希久: 栄養と食糧, **17**, 337(1965).