

鰹節および煮干しだし汁中の呈味成分の比較

山 崎 吉 郎

(神戸女子大学瀬戸短期大学)

平成5年2月19日受理

Comparative Studies on Taste Components of Katsuobushi and Niboshi Extracts

Yoshio YAMASAKI

Kobe Women's University Seto Junior College, Seto-cho, Okayama 709-08

The soup-stock of Katsuo-bushi and Niboshi were compared with gel filtration patterns, sensory tests and compounds.

The contents of free amino acid in Katsuo-bushi were in the order of His>Lys>Ala>Glu>Phe>Gly, and those in Niboshi were in the order of His>Pro>Lys>Ala>Glu. Lower molecular fractions of Katsuo-bushi-soup-stock had strong brothy taste of IMP and higher molecular fractions of Niboshi-soup-stock had brothy taste with favorable after-taste. Peptides in the brothy fraction of Niboshi-soup-stock comprised rich Gly, Glu, Ala and Asp in decreasing order of distribution. These four amino acids occupied about 60% of total amino acids. By successive application of chromatography on ion exchange resin (Dowex 50×2), and paper electrophoresis, the peptide group was separated from the brothy fraction. The ratio of amino acid composition in the peptide group was Asp:Thr:Ser:Glu:Pro:Ala:Gly=1:2:2:2:2:4.

(Received February 19, 1993)

Keywords: Katsuobushi 鰹節, Niboshi 煮干し, amino acid アミノ酸, peptide ペプチド, nucleotide ヌクレオチド.

1. 緒 言

鰹節、煮干しは天然調味料として古くから使用されてきた。今日に至ってもこれらの調味料の有用性に変化はなく、分析技術の進歩に伴って含有成分について数多くの研究がなされてきた。最近の研究では鰹節について、福家ら¹⁾は合成エキスを作成し、細川ら²⁾は鰹節各部所の呈味成分を比較している。また小谷ら^{3,4)}は節類中のアミノ酸、5'-リボヌクレチドを比較している。一方煮干しについては、平田ら⁵⁾はだし汁の調製条件について、脇田ら⁶⁾はだし汁成分の経時的な溶出量について研究している。

本研究では天然調味料の特徴である旨味、コク味に注目し、鰹節と煮干しのだし汁の成分にどのような差異が存在するかを知るため、アミノ酸、ペプチド、ヌクレオチドなどの主要な呈味成分を分析した。低分子化合物のみを対象とするのではなく、エキス全体を呈味成分とし

てとらえるため、まずゲルろ過クロマトグラフィーで分画し、各画分の呈味性を比較した。特に旨味、コク味を強く呈する画分については遊離アミノ酸、ペプチドのアミノ酸組成を知るとともに、ヌクレオチドを高速液体クロマトグラフィー(HPLC)で分析してエキスの呈味に与える影響について調べた。

2. 実験方法

(1) 試料の調製

鰹節は、高知県水産試験場より入手したものを鰹節削り器で粉末化した。煮干しはカタクチワシを使用し、頭部・腹部を除去したのち、粉碎機で粉状にした。各粉末試料 150 g を沸騰させた蒸留水 3 l 中に加え、3分間弱火で加熱した。こし布でろ過し、ろ液を集め、2回エーテル抽出して脂肪を除去した後、60~70℃で減圧濃縮したものをエキス試料として使用した。

(2) ゲルろ過クロマトグラフィーによる分画

セファデックス G-25 カラム (2.5×135 cm) に濃縮エキスを 6 g を蒸留水 4 ml 加えて溶解したものを添加し、10 %エタノール溶液を用いて流速 40 ml/h で溶出し、各 4 ml の画分とした。分画物について 0.2 ml を採取し、ニンヒドリン反応 (570 nm)、ビュレット反応 (540 nm) を行った。核酸塩基は 260 nm で測定した。

(3) ペプチドの分離

ダウエクセス 50×2 イオン交換樹脂カラム (0.9×58.0 cm) に試料を添加し、0.17 M, pH 4.7 (1.4 %ピリジン-1.5 %酢酸) から 0.40 M, pH 4.6 (3.2 %ピリジン-3.7 %酢酸), 1.07 M, pH 5.4 (8.6 %ピリジン-3.0 %酢酸) の緩衝液によるグラジエント溶出を行った。高圧ろ紙電気泳動はピリジン, 酢酸, 水 (1:14:289, pH 3.4), 1,000 V, 60 分間行った。

(4) アミノ酸分析

遊離アミノ酸はニンヒドリン法によるアミノ酸自動分析器 (日立 835 型, クエン酸緩衝液) で測定した。ペプチドのアミノ酸組成は 6 N 塩酸, 110°C, 24 時間加水分解して生じたアミノ酸増加量から求めた。

(5) スクレチドの分析

ヌクレオチド類の定量は HPLC (島津 LC-6A) を用いて行った。カラムは Shim-pack CLC-ODS (5×150 mm), 移動相は 24 mM ジエチルアミノエタノール含有 16 mM クエン酸水溶液を使用した。流速は 0.9 ml/min, オープン温度 40°C, 検出器 250 nm で検出した。

(6) 官能検査

両試料についてゲルろ過分画したものを減圧濃縮後、蒸留水にて一定容量に希釈し、パネル 4 名にて旨味、コク味等の呈味性を比較した。

3. 実験結果および考察

熱水抽出した鰹節および煮干しエキスの遊離アミノ酸を試料 100 g 中の mg 数で表わしたものを Table 1 に示した。鰹節エキスではヒスチジンが特別に多く検出され、比較的多いものがリジン, アラニンであった。煮干しエキスの遊離アミノ酸においてもヒスチジンが多く、次いでプロリン, リジン, アラニン, グルタミン酸の順に含有されていた。

試料 100 g 当りを熱水抽出した場合の両エキスに含有されるヌクレオチド成分の mg 数を Table 2 に示した。両エキスともヌクレオチド類の含有量全体からみれば IMP の比率が高く、その他の成分については、鰹節はイノシン, ヒポキサンチンが多く, ADP, AMP が少な

Table 1. Free amino acids in Katsuobushi and Niboshi extracts

	(mg/100 g)	
	Katsuobushi	Niboshi
Asp	9.3	4.7
Thr	11.7	6.2
Ser	10.3	4.4
Glu	24.3	16.4
Pro	20.8	21.4
Gly	22.3	6.8
Ala	49.3	17.8
Val	19.7	8.0
Met	9.7	2.7
Ile	9.7	5.1
Leu	16.9	7.9
Tyr	7.6	4.2
Phe	22.9	11.4
Lys	78.7	19.0
His	1529.7	121.6
Arg	4.5	15.5

Table 2. 5'-Mononucleotides and related substances in Katsuobushi and Niboshi extract

	(mg/100 g (%))	
	Katsuobushi	Niboshi
ADP	2.1 (0.4)	7.9 (5.1)
AMP	19.4 (3.6)	20.8 (13.5)
IMP	413.5 (76.3)	118.1 (76.8)
HxR	81.9 (15.1)	3.6 (2.3)
Hx	25.2 (4.6)	3.4 (2.2)
Total	542.1(100.0)	153.8(100.0)

HxR: Inosine, Hx: Hypoxanthine.

い。一方、煮干しでは鰹節と異なり ADP, AMP が多く、イノシン, ヒポキサンチンが少量であった。内山ら⁷⁾や村田ら⁸⁾が魚肉中のこれらの核酸関連物質の変化について報告しているが、鰹節, 煮干しの場合については製造工程が異なっているため核酸関連物質の成分含量から材料の鮮度を比較することは困難と思われた。

鰹節エキスおよび煮干しエキスのセファデックス G-25 カラムによるゲルろ過分画では、それぞれ No. 1~No. 6 の画分に分けることができた。鰹節エキスでは Fig. 1 に示すようにニンヒドリン反応, ビュレット反応のピークから判断して低分子側に成分の多くが存在し

鰹節および煮干しだし汁中の呈味成分の比較

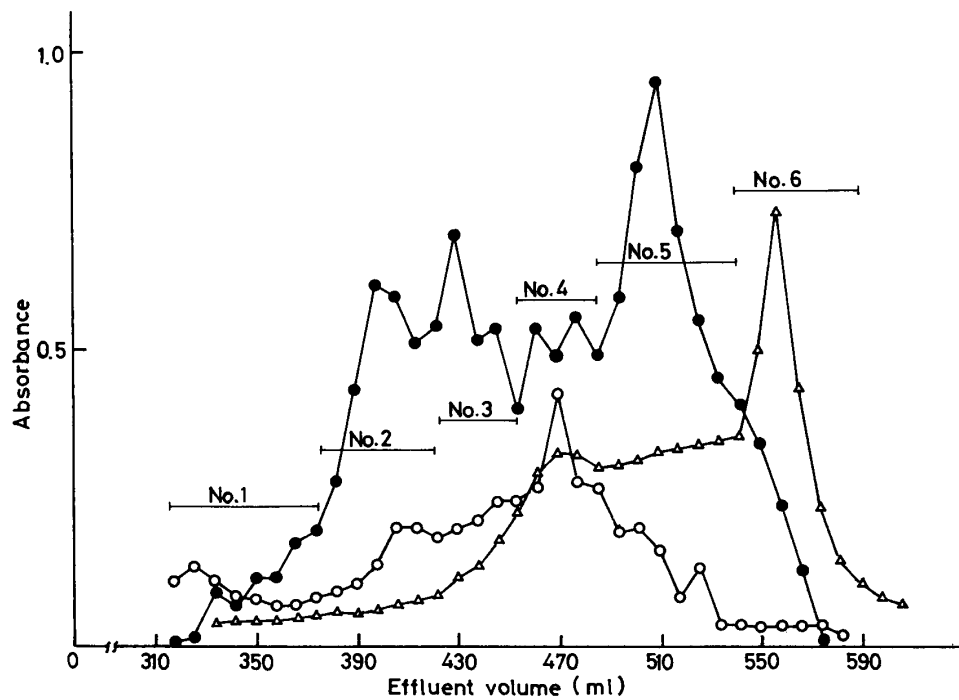


Fig. 1. Fractionation of extract of Katsuobushi

Column: Sephadex G-25 (2.5 cm × 135 cm), eluted with 10% ethanol, 40 ml/h. (●) absorbance at 570 nm of the ninhydrin-positive substance; (○) absorbance at 540 nm of the biuret reaction; (△) absorbance at 260 nm.

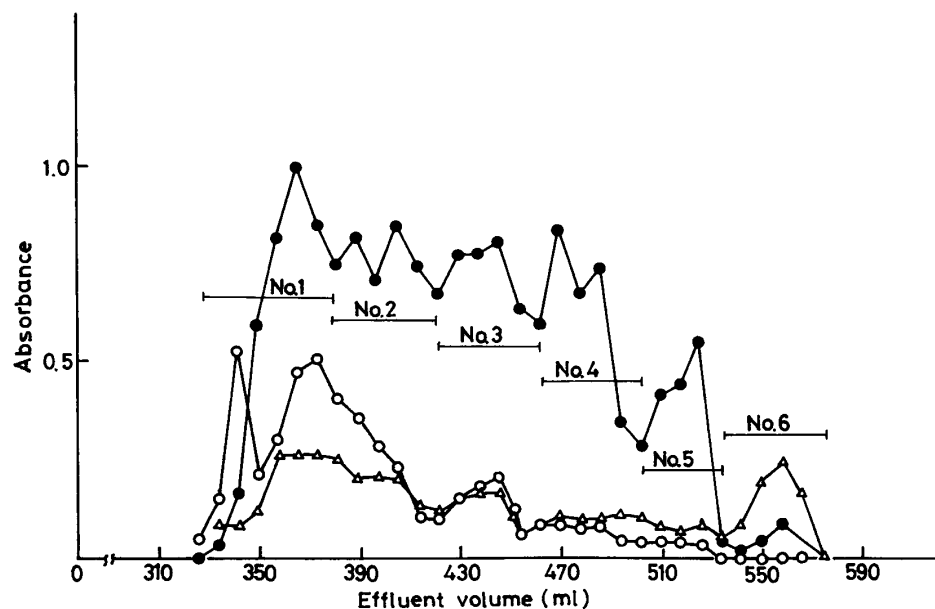


Fig. 2. Fractionation of extract of Niboshi

Column: Sephadex G-25 (2.5 cm × 135 cm), eluted with 10% ethanol, 40 ml/h. (●) absorbance at 570 nm of the ninhydrin-positive substance; (○) absorbance at 540 nm of the biuret reaction; (△) absorbance at 260 nm.

ていることがわかった。一方同様に分画した煮干しエキ
スでは、Fig. 2 に示すように高分子側のピークが大きく、

低分子側に移るにしたがって小さなピークに変化してい
ることから、高分子成分がエキス構成成分中で多くを占

めていることが認められた。

核酸塩基の 260 nm の吸収では鰹節エキスの場合、ピークが低分子側に大きな片寄りを見せていることから、ヌクレオチドなどの低分子の核酸塩基成分を多く含有していることが推定された。一方煮干しエキスでは高分子の核酸類が多くを占めており、低分子の核酸塩基類は若干量存在するのみであることが推定された。

各画分について官能検査を行った結果、鰹節エキスでは No. 1 画分は無味、No. 2 は強い酸味、No. 3 画分は酸味と IMP 様の旨味が認められ、No. 4, 5 画分は IMP 様の強い旨味を呈した。No. 6 は旨味は存在せず、強い苦味を呈した。煮干しエキスでは No. 1 画分は旨味とコク味を有しており、No. 2 は強い旨味と適度な塩味を示した。No. 3 画分は IMP 様の旨味と塩味を有し、No. 4, 5 はアミノ酸様の旨味を呈し、No. 6 は強い苦味を示した。以上の結果から鰹節エキスの強い旨味は低分子側に存在し、その成分は、主にヌクレオチドであることが HPLC 分析の結果からも認めることができた。一方煮干しエキスは高分子側にペプチドと思われるまろやかな旨味成分が存在しているのが特徴であり、ヌクレオチド類による旨味は弱いものであると考えられた。

更に両エキスの旨味成分を追究してゆくため、鰹節については低分子核酸関連物質を、煮干しについては旨味画分含有ペプチドのアミノ酸組成を分析した。

鰹節エキスのゲルろ過分画では No. 4, 5 画分が強い旨味を有していたが、核酸関連物質分析の結果、全 IMP のうち 48.3 % が No. 4 画分に存在することが認められ

Table 3. Amino acid compositions of the peptides in broth fractions of Niboshi

	Fr. 1	Fr. 2
Asp	0.15 (5)	0.13 (3)
Thr	0.06 (2)	0.04 (1)
Ser	0.08 (3)	0.07 (2)
Glu	0.20 (7)	0.18 (5)
Pro	0.13 (4)	0.12 (3)
Gly	0.48 (16)	0.45 (11)
Ala	0.21 (7)	0.17 (4)
Val	0.05 (2)	0.04 (1)
Ile	0.03 (1)	0.03 (1)
Leu	0.08 (3)	0.07 (2)
Tyr	0.02 (1)	0.02 (0)
Phe	0.05 (2)	0.05 (1)
His	0.02 (1)	0.04 (1)
Lys	0.11 (4)	0.08 (2)
Arg	0.04 (2)	0.06 (2)

Unit: $\mu\text{M}/100\text{ g.}$ (): best estimated value.

た。煮干しエキスの旨味画分である No. 1, 2 中のペプチドのアミノ酸成分を Table 3 に示した。両画分ともグリシン、グルタミン酸、アラニン、アスパラギン酸が多く含有され、4 者はモル比で全体の 60~61 % を占めていた。それゆえこれらの親水性アミノ酸が、煮干しエキスの旨味ペプチド構造中において重要な役割を果たしていることが推察された。

特に煮干しの低分子ペプチド成分に呈味力の強いもの

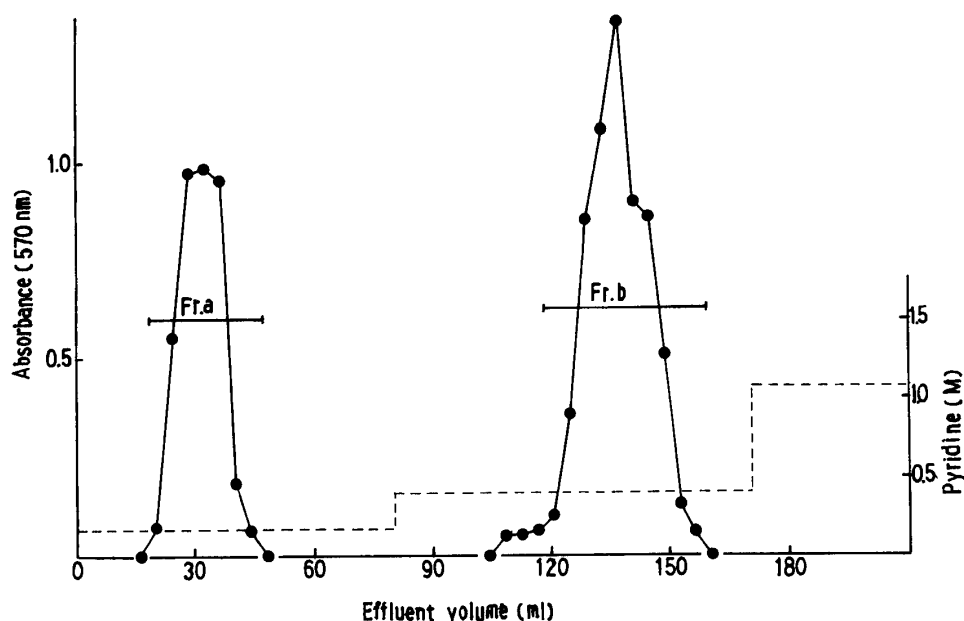


Fig. 3. Chromatography of the fraction No. 2 on a Dowex 50 $\times$ 2 column (0.9 $\times$ 58.0 cm)

鰹節および煮干しのだし汁中の呈味成分の比較

が考えられるため、旨味画分 No. 2 の濃縮液をダウエックス 50×2 のイオン交換樹脂カラムに添加し、ピリジン-酢酸緩衝液で溶出した結果、Fig. 3 に示すように Fr. a, b の二つのピークを得た。最初の溶出である Fr. a はアミノ酸分析により、タウリンと少量のアミノ酸およびペプチドと推定できるピークを示した。Fr. b は主にヒスチジンであり、リジンを若干含有していた。Fr. b に含有されるヒスチジン、リジンは旨味を呈するアミノ酸ではないため、Fr. a に旨味成分は含有されていることが推定される。それゆえ Fr. a に注目して、濃縮液中のペプチドを高圧ろ紙電気泳動で分離し、酢酸抽出後、6N 塩酸加水分解してアミノ酸組成を求めたところ、モル比でアスパラギン酸：スレオニン：セリン：グルタミン酸：プロリン：アラニン：グリシン (1：2：2：2：2：2：4) の組成を有するペプチド群であることがわかった。このような組成のペプチド群が旨味を呈する主要な成分になっていることが考えられた。

以上の結果から、鰹節と煮干しのだし汁の旨味を呈している主要成分は異なっていることがわかった。すなわち、コク味、味のまろやかさを呈するものはペプチドを多く含有する煮干しであり、強力な旨味を呈するものは IMP を多量含有する鰹節であることが認められた。そしてこれらの材料によって呈される特徴ある旨味は、日本料理の味つけに欠かせないものであると考えられた。

4. 要 約

調味のだし材料として古くから使用されている鰹節、煮干しのエキス成分の比較を、ゲルろ過分画、官能検査、アミノ酸分析および核酸塩基類の分析で行い、次の結果を得た。

1) 遊離アミノ酸含有量はいずれもヒスチジンが特别多く、他は鰹節でリジン、アラニンが、煮干しでプロリ

ン、リジン、アラニン、グルタミン酸がそれぞれ多かった。

2) 核酸関連物質含有量は、IMP が両試料とも最も多く、他の成分では鰹節にイノシン、ヒポキサンチンが多く、煮干しに ADP, AMP が多かった。

3) セファデックス G-25 カラムによっておのおの 6 画分に分けることができ、鰹節は低分子部分に核酸関連物質の強い旨味を呈したが、煮干しは高分子部分から低分子にかけて旨味を有しており、特に高分子側でペプチドのコク味、まろやかさを呈した。

4) 煮干しの旨味を呈するペプチドはグリシン、グルタミン酸、アラニンが主要な構成アミノ酸になっており、分離ペプチド群ではアスパラギン酸：スレオニン：セリン：グルタミン酸：プロリン：アラニン：グリシン (1：2：2：2：2：2：4) の組成を有していた。

本研究の概要は、第 35 回および第 36 回日本家政学会中国・四国支部総会において発表した。

引 用 文 献

- 1) 福家真也, 渡辺勝子, 酒井久視, 鴻巣章二: 日食工誌, **36**, 67~70 (1989)
- 2) 細川 誠, 榊原英公, 矢島 泉, 林 和夫: 日食工誌, **37**, 856~861 (1990)
- 3) 小谷弘一, 河村貫二, 和田武夫, 佐谷英二: 日食工誌, **31**, 624~629 (1984)
- 4) 小谷弘一, 和田武夫, 河村貫二, 飯田 敦, 佐谷英二: 日食工誌, **31**, 630~635 (1984)
- 5) 平田裕子, 脇田美佳, 長野美根, 畑江敬子, 島田淳子: 家政誌, **40**, 891~895 (1989)
- 6) 脇田美佳, 平田裕子, 畑江敬子, 島田淳子: 家政誌, **42**, 1051~1057 (1991)
- 7) 内山 均, 江平重男: 日水誌, **36**, 977~922 (1970)
- 8) Murata, M. and Sakaguchi, M.: *J. Agric. Food Chem.*, **36**, 595-599 (1988)