

動物性食品の適塩普及に向けた塩味増強ペプチドの効果的な探索

上田 修司, 山之上 稔

神戸大学大学院農学研究科

概要 塩味に寄与するペプチド成分は広く知られており、鰹節や大豆の加水分解物などの食材に由来するペプチド成分が塩味増強剤として既に実用化されている。一方、これらの塩味増強剤は、原材料から持ち込まれる固有の風味が残存することから食品添加物としての汎用性には課題が残っている。塩分含量が比較的高いとされる畜産物加工品において、適切な新たな塩味増強剤の開発は、「美味しさ」と「健康に配慮した塩分含量」の両立において重要な課題である。

本研究では、電場型フーリエ変換を備えた液体クロマトグラフィー質量分析(LC-FTMS)による高分解能な質量分析技術を食品の成分分析に活用し、牛肉の品種、調理、熟成によるペプチド成分の網羅的な解析を実施した。

まず、焼成調理、及び乾燥熟成(ドライエイジング)を施した牛肉に生じるペプチド成分について、LC-FTMS を用いて検討したところ、牛肉において共通に検出されるピークとして 102 成分を検出した。また、牛肉の各試料において、特徴的なクロマトチャートを得ることができた。これらピークを多変量解析した結果、焼成調理、ドライエイジングに比べ、牛の品種間において顕著な違いが見られた。

次に、牛肉の品種間(黒毛和種及び乳用種)のペプチド成分の特徴について、LC-FTMSで詳細に検討したところ、332 成分が検出され、黒毛和種牛肉、乳用種で有意差の得られたピークについて、分子量からジペプチド、トリペプチド、テトラペプチドなどを推定した。また、牛肉の部位別の嗜好型アンケート調査を実施した結果、牛肉のラム芯(臀筋)で塩味が最も強く認識されることが示された。

今後、塩味の強さの異なる牛肉部位を用いたペプチド成分の網羅的な解析を行うことで、動物性食品の摂取に伴う塩分の低減を配慮した塩味増強剤の開発に向けた有益な情報が得られることが期待される。

1. 研究目的

近年、塩分摂取量を抑える減塩の取り組みが広く進められている。しかし、食事の塩分を抑えることは、食品の嗜好性を著しく損なうため、心的な負担が大きく、日々の食事で減塩を継続に実践することは容易なことではない。また、健康的な食生活を考える上で、肉、魚、野菜の摂取バランスを最適に維持することも重要であることから、特定の高塩濃度の食品摂取を抑えるだけでなく、様々な食品の塩分抑制の取り組みが求められている¹⁾。

塩味には、ナトリウムイオン以外に、塩化物など塩味を補う塩味増強剤が存在する。アミノ酸塩には、塩味を呈する種類が存在し、特定のアミノ酸を有するペプチド配列には強い塩味を呈することが知られている²⁾。この塩味増強

の性質を利用して、工業的なスケールで、蛋白質などを加水分解し、得られたペプチド成分を食品添加物に活かす研究が進められている。例えば、アラニンとリジン残基からなるジペプチドは(図1)、塩味性を強く呈することが報告されており、ペプチド成分の機能に着目した食品への活用に期待が寄せられている³⁾。

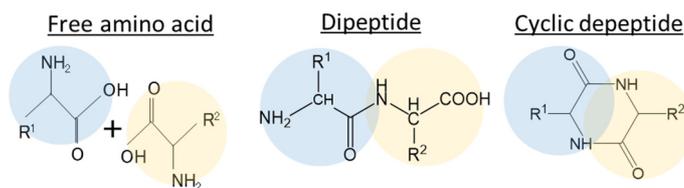


Fig. 1. Chemical structural formula of amino acid

また、古来より、醤油、チーズ、麴などの発酵食品には、微生物が蛋白質を分解することで生じる様々なペプチドが存在し、塩味の代用品として用いられてきた。近年では、様々な発酵食品中のペプチド成分が、特有の呈味性や抗菌作用など、生理活性機能を有することが多数報告されている(図 1)。また、このような微生物の発酵過程において、アミノ酸が脱水縮合して生じる環状ペプチド(2, 5-ジケトピペラジン)が生成し、これらの環状ペプチドにおいても強い塩味を呈することが報告されている³⁾。

このような背景より、食品の塩味には、ナトリウム含有量だけに限らず、様々なアミノ酸塩や、ジペプチド、トリペプチドなどの低分子ペプチド成分の組成がヒトの塩味の認識に深く関与することが推測される(図 1)^{4,6)}。

昨今、精密な質量分析計による食品素材に含まれる栄養成分の網羅的な解析技術(メタボローム解析)が目覚ましく発展している^{7,8)}。特に、食品分野においては、様々な栄養成分の定量化・定性化に向けた分析として成果を挙げており⁹⁾、従来法に比べて、分析労力の低減に期待が寄せられている。このような技術的な進展により、畜産物分野においても質量分析機器による食肉のメタボローム解析への応用が検証されつつある^{10,11)}。

本研究課題では、塩分の摂取割合が高いとされる動物性食品の適塩対策を念頭に置き、牛肉の調理に使用する食塩の減塩に向けた理解を図ることを目的に、牛肉に含まれる塩味性のペプチド成分の網羅的な探索を行った。分析に供する試料として、牛肉の蛋白質分解物に着目し、長期熟成、調理手段、牛肉の品種間の違いによって生じるペプチド成分の差異について検討した。特に、昨今の畜産物の熟成に対する消費者の関心の高まりを汲み、日本国内では、まだ珍しい熟成牛肉を試料として取り入れた。また、分析方法では、汎用性の高いガスクロマトグラフィー型質量分析(GC-MS)に加え、ペプチドの網羅的な分析も可能な液体クロマトグラフィー質量分析(LC-FTMS)を採用し、世界に先駆けて、牛肉におけるペプチド成分を対象としたメタボローム解析を行った。

また、メタボローム解析と並行して、牛肉の嗜好型官能評価試験を行い、牛肉の部位間での塩味の強さの比較を検討し、官能評価結果と減塩に対するアンケート調査から塩味に対する意識と塩味について検討を行った。

2. 研究方法

2.1 供試牛肉

牛肉試料は、黒毛和種牛肉のロースを採材し、焼成調理は、厚さ 1 cm の牛肉片をホットプレート(220°C)で、加熱(表面 60 秒、裏面 90 秒)して行った¹²⁾。熟成牛肉は、日本の食肉衛生の許す期間内で熟成を施したロース肉(と畜日より 35 日)を入手した。牛肉の品種間の比較では、銘柄の定かな黒毛和種牛肉及びホルスタイン種の腰最長筋を厚さ 1.5 cm で採材し、真空パック後、4°Cで低温熟成させ、冷凍保存することで一定の熟成日(熟成 21 日目)に調整した。生肉は、低温解凍後、一定量を採取した。

官能評価試験に供する牛肉は、黒毛和種の主要な部位(ロース、カタ、モモ、ランプ、トモバラ、ウデ)を肉塊として採材し、使用するまで冷凍保管した。

2.2 試料の前処理

牛肉の塊のできるだけ内部より、約 1 g の肉片を試料として採取し、マルチビーズ式凍結粉碎機で粉末化後、均一に約 50 mg を分取し、標準品(DL-Lysine-4,4,5,5-d4 2HCl)を含むメタノール・水・クロロホルム [1:2.5:1(v/v/v)] 溶液で振とう抽出した。抽出物は、遠心分離後、上清を分取し、冷却超純水 200 µl を加え、十分に振とう後、高速遠心分離(16,000×g, 4°C, 5 分)にかけ、得られた上清をフィルター濾過後、ろ過液を凍結乾燥後、0.02 M 塩酸/アセトニトリル[9:1 (v/v)]で可溶化し、液体クロマトグラフィー質量分析に供した。

2.3 高速液体クロマトグラフィー質量分析(LC-FTMS)

高速液体クロマトグラフィーは、島津製作所社製 UFLC-XR を使用し、分離カラムには Imtakt 社製 Scherzo SS-C18(150 mm x 2 mm)を使用した。溶離液は、アセトニトリル/100 mM ぎ酸アンモニウム [7:3 (v/v)] 溶液を使用し、流速 0.25 mL/min、オープン温度 40°C、注入量 2 µl の条件で実施した。質量分析は、Thermo Fisher Scientific 社製 LTQ OrbitrapXL を採用し、熱エレクトロスプレーイオン化法、Data dependent Scan (Positive)、60,000 (m/z 400)、50-600 の質量範囲で実施した。プロセッシングは、Reyfigs 社 Signpost MS を使用し、各ピークの数値化は、検出したピーク面積値を内標準物質(DL-Lysine-4,4,5,5-d4)のピーク面積値で除して行い、各試料の重量補正は抽出時分取量で除して行った。ピーク成分の推定は、MS/MS スペクトルパターンから METLIN、

HMDB などデータベースを用いて照合した。

2. 4 ガスクロマトグラフィー質量分析 (GC-MS)

肉の塊の内部よりサンプルを採取し、標準品 (2-イソプロピルリンゴ酸) を含むメタノール・水・クロロホルム溶媒で食品成分を抽出し、上清を濃縮乾固後、メトキシ化と TMS 化を行い、GCMS-QP2010Ultra (島津製作所) に供した。カラムは、DB-5 (内径 0.25 mm, 長さ 30 m, 膜厚 1.0 μm) を使用し、イオン化法は EI 法で行い、マスレンジは m/z 45-600 で行った。検出されたピークは、SHIMADZU GC/MS Metabolite Database Ver.2 を用いて、保持時間情報とスペクトルパターンから成分を同定し、内部標準に対するピーク面積より検出成分の値を算出した。

2. 5 統計解析

分析成分の統計処理は、マイクロソフトエクセルで行い、一元配置分散分析は統計学ソフト JMP12 を用いて行った。多変量解析は、SIMCA ver.14 (Umetrics) を使用し、主成分分析、判別解析を行った。

2. 6 官能評価試験

官能評価は、食肉の官能評価ガイドライン¹²⁾に従い、「外観」、「食味性」、「保水性」、「風味」、「味のキレ」、「味のコク」の 6 項目を 5 段階で評価した。牛肉の調理方法は、ホットプレートで両面を十分に加熱し、焼成調理した。

2. 7 食味アンケート試験

神戸大学の大学生協において、食味アンケート調査を行った。協力頂いたパネルは、食肉に関わる行政官、有識者、生産・流通関係者 38 人で行った。調理方法は、部位名 (サーロイン、カタロース、ウデ、ランプ、トモバラ) を伏

せた肉塊の状態、内部まで十分に火が通るまで鉄板焼きし、サーロインを試食後、各パネルの評価尺度で試食を行った。今回の試食では、試食動作、咀嚼回数、鼻腔の開閉など細かい指示は行わず、調味料の味付けについても各自で選択して行った。官能評価の評価項目は、食肉の官能評価ガイドライン⁴⁾に従い、「食感」、「脂っこさ」、「旨み」、「塩味」、「苦味」の 5 項目を 5 段階で評価した。

3. 結果

3. 1 LC-FTMS による牛肉中のペプチド成分の測定

食肉の熟成過程、あるいは細胞内で蛋白質合成の代謝中間体で生じるジペプチドは、20 種類存在するアミノ酸の二つから構成され、アミノ酸の組み合わせの異なるジペプチドは 380 種類にも上る⁴⁾。また、ジペプチドは、脱水縮合反応によって、環状ペプチドも生じることから、ジペプチドの種類は更に多様である (図 1)。

本研究では、牛肉中に含まれるジペプチド成分を網羅的に解析することを目的に、食品中の低分子成分を誘導体化とせず、LC カラムで溶液分離後、四重極-Orbitrap による高い分離能力を活かし、ジペプチドの様々な異性体の精密質量を分析した。各牛肉試料の LC-FTMS による分析の結果、牛肉の生肉、焼成調理、熟成牛肉において、主に 102 ピークが分離・検出された。熟成肉とコントロール牛肉のノイズを除去後のクロマトチャートを図 2 で示す。焼成調理、熟成によるクロマトグラムのピークパターンでは、大きな違いは見られず、チャート上の調理、熟成による変化は限定的であった。

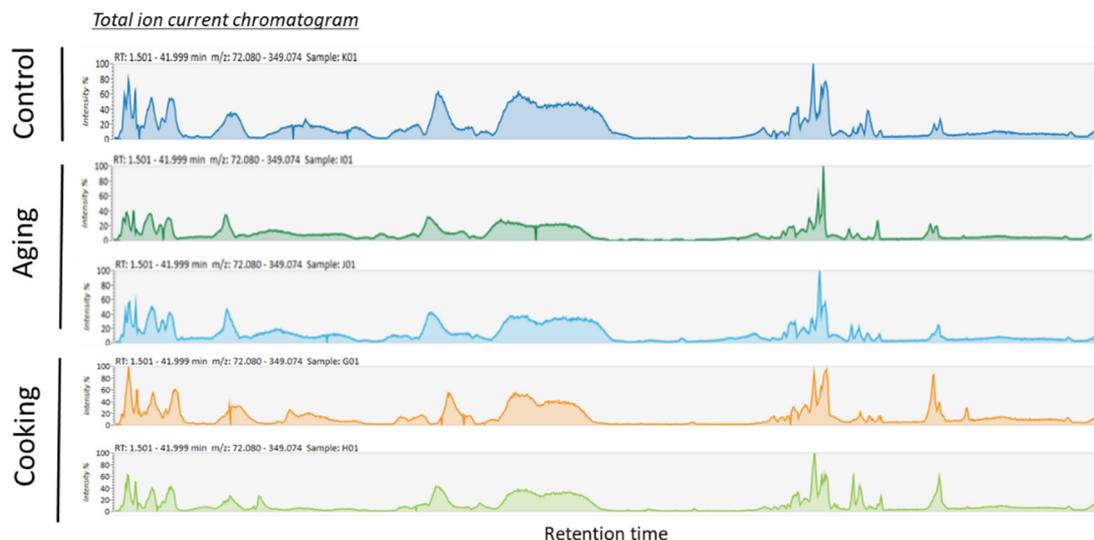


Fig. 2. Representative LC-MS spectra of beef sample

各試料の詳細な成分変化の検討のため、多変量解析による試料間のピーク面積の比較検討を行った。その結果、各試料の主成分分析によって、第1主成分の寄与率は33.9%で黒毛和牛種とホルスタイン種を分類することができ、第2主成分の寄与率は20.3%で、熟成による効果が示唆された(図3(A))。次に、分離・検出された102ピークについて、スペクトルパターンから化学構造式を検討した結果、43成分が推定され、12の化合物がデータベースに該当しない成分であった。図3(B)では、検出されたピークのアライメントIDと共に検出されたピークのローディングプロットを示す。ホルスタインで多くのピークが強く検出されており、熟成によって26成分が1.5倍に増加し、16成分が0.67以下に減少していた。一方、焼成調理では、22成分が1.5倍以上に増加したのに対し、27成分が0.67以下に減少していた。

3.2 GC-MSによる熟成牛肉の成分変化の測定

GC-MSは、揮発性が高く、低分子化合物分子の分析に限定されるが、豊富なデータベースによる構造推定が容易な利点を有する。本研究では、牛肉の熟成による影響について、GC-MSによるメタボローム解析から検証を試みた。黒毛和種牛肉のサーロイン部位(熟成日数17日、19日、29日、44日)を焼成調理し、官能評価を行った結果、熟成日数29日で最も風味が良いのに対して、17日、19日は風味が弱く、44日では風味の著しい低下が見受けられた(図示せず)。官能評価を行った牛肉の一部をクロマト抽出し、その上清画分をGC-MSに供した結果、アミノ酸13成分、核酸関連物質3成分、有機酸3成分が、熟成日

数に対して正の相関を示し、熟成日数の増加に伴ってピーク面積が増加することが示唆された(図4)。熟成過程における風味の変化に、熟成に伴って増加する蛋白質分解に由来する遊離アミノ酸、ペプチド成分の影響が強く推察される。

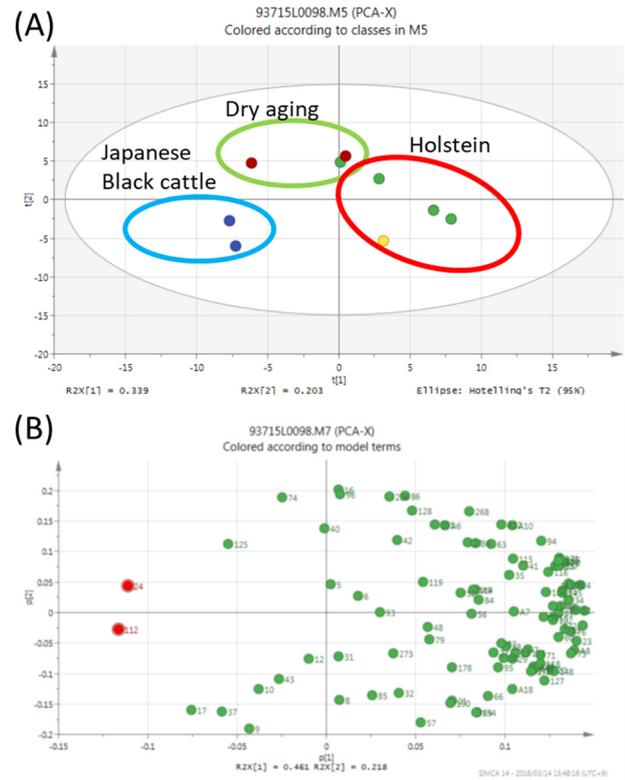


Fig. 3. Multivariate analysis for comparing metabolite profiling of beef sample by LC-MS. Score plots of PCA analysis among beef sample (A). Loading plots of the PCA (B)

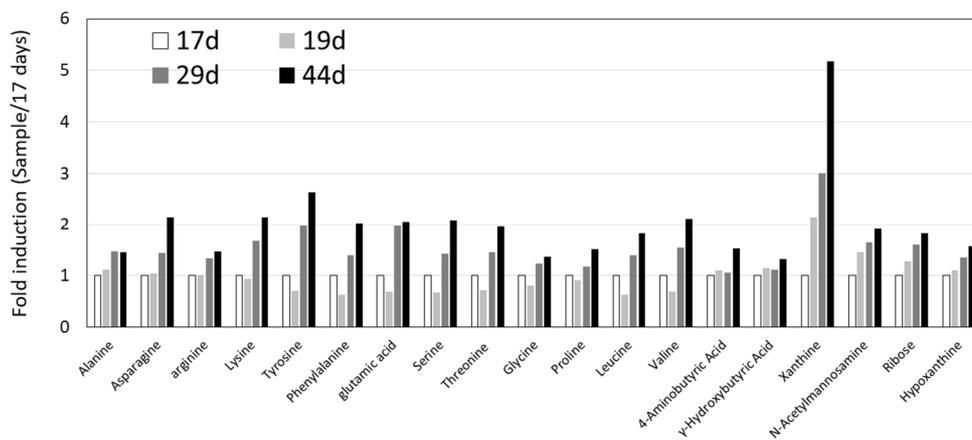


Fig. 4. Significantly increased metabolites with aging by GC-MS analysis. Graph shows as the fold-induction of peak intensity against sample of aging 17 days

3.3 牛肉の品種間におけるペプチド成分の比較解析

牛肉は、他の畜種に比べ、品種間及び銘柄間において食味の差が大きいことが知られている。本研究では、牛肉の品種と銘柄の違いについて、黒毛和種 2 銘柄とホルスタイン種 1 銘柄(各 6 頭)を LC-FTMS に供し、ペプチド成分の解析を行った。

その結果、LC-FTMS では、牛肉試料中から大小 332 ピークが検出された。各 6 試料のうち 4 試料以上で検出された特徴的なピークである 30 ピークについて、分子式の推定を行った。その結果、図 7 に示す 18 ピークの分子式が推定された。検出された全てのピークについて、多変量解析の結果、第一主成分軸(寄与率 17.8%)において黒毛和種とホルスタイン種の分類ができた(図 5)。

また、偏最小 2 乗回帰である PLS 法で黒毛和種とホルスタイン種で判別したところ、黒毛和種牛肉の銘柄間における特徴的な成分として、ジペプチド 3 成分(Ala/Lys, Glu/Thr, Arg/Ala)を含む 8 成分が示された。また、ホルスタイン種では、ジペプチド 6 成分(Leu/Pro, Val/Val, Ser/Pro, Val/Asn, Ala/His, Pro/Glu)を含む 28 成分が特徴的であった。更に成分の推定を進めることで、より多くのジペプチド成分について検証ができ、牛肉の品種間の塩味の特徴と結びつけることができると推察される(図 6&7)。

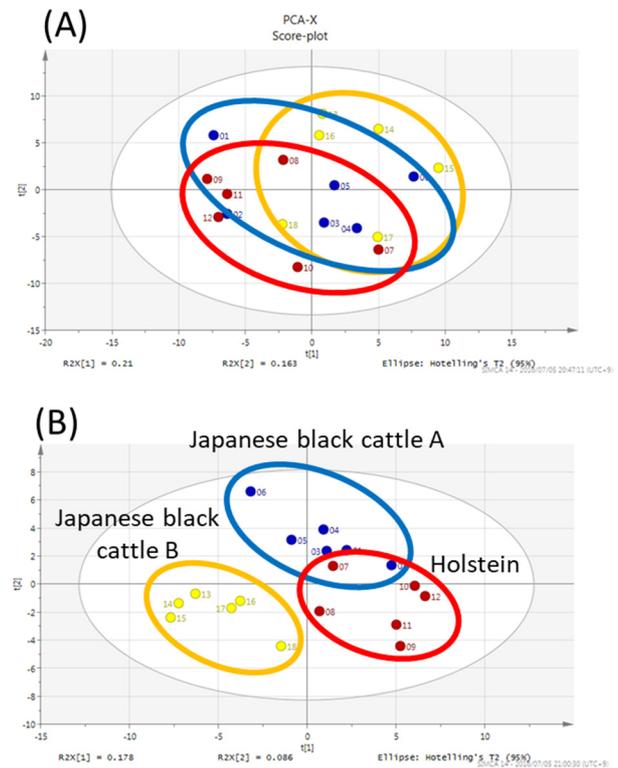


Fig. 5. PCA plots of beef meat (A). PLS plots (B) Multivariate analysis for comparing metabolite profiling of beef samples by LC-MS (n=18). Score plots of PCA analysis among beef samples (A). PLS-DA score plots among beef samples (B).

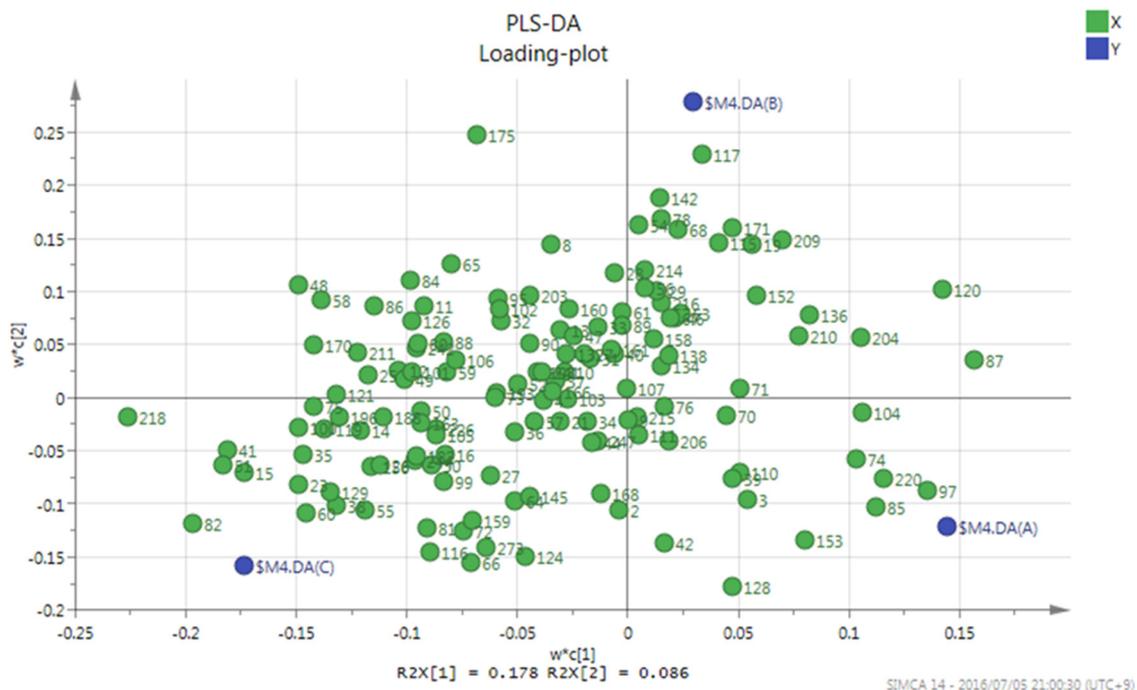


Fig. 6. Loading plots of PLS-DA based on Fig 5

#	Alignment	Alignment	Alignment	molecular formula	Predicted compound name
	ID	RT	Mz		
174	209	30.15	260.1955	C ₁₂ H ₂₅ N ₃ O ₃	Lys-Leu or Lys-Ile
217	289	30.52	272.1703	C ₁₁ H ₂₁ N ₅ O ₃	Arg-Pro
27	6	6.18	137.0449	Unknown	Unknown
64	65	4.94	232.1276	C ₉ H ₁₇ N ₃ O ₄	Val-Asn
118	137	17.52	229.1528	C ₁₁ H ₂₀ N ₂ O ₃	Leu-Pro or Ile-Pro
187	226	2.35	229.1526	C ₁₁ H ₂₀ N ₂ O ₃	Pro-Leu or Pro-Ile
114	130	17.48	178.0833	C ₉ H ₁₁ N ₃ O ₄	Unknown
14	A17	6.21	269.0858	C ₁₀ H ₁₂ N ₄ O ₅	Inosine
101	116	17	242.1313	C ₂₁ H ₃₄ N ₆ O ₇	Unknown (Tetrapeptide)
213	283	30.85	287.0937	Unknown	Unknown
202	249	30.9	326.1398	Unknown	Unknown
7	A8	5.01	177.086	C ₆ H ₁₂ N ₂ O ₄	Ala-Ser or Ser-Ala or Thr-Gly or Gly-Thr
109	125	32.68	316.2464	C ₁₇ H ₃₃ NO ₄	Decanoylcarnitine
41	23	15	227.1121	C ₉ H ₁₄ N ₄ O ₃	Carnosine
2	A2	1.94	147.0754	C ₅ H ₁₀ N ₂ O ₃	Gly-Ala or Ala-Gly
3	A3	30.44	373.242	C ₁₇ H ₃₂ N ₄ O ₅	Unknown (Tripeptide or Tetrapeptide)
152	183	35.63	83.0848	Unknown	Unknown
127	148	32.94	257.1669	Unknown	Unknown
73	77	31.25	288.2156	C ₁₅ H ₂₉ NO ₄	Octanoylcarnitine
219	293	30.98	249.1068	C ₉ H ₁₆ N ₂ O ₆	Glu-Thr
84	90	30.66	203.1208	C ₁₇ H ₃₂ N ₄ O ₇	Unknown (Tetrapeptide)

Fig. 7. Loading plots of PLS-DA based on Fig 5

3. 4 塩味に関する牛肉の嗜好型官能評価試験について

牛肉は、部位毎に食味の特徴が異なるとされており、牛肉のそれぞれの部位の味の評価は、今後の塩味ペプチドの分析の重要な情報と成り得る。そこで、黒毛和種牛肉の5部位(サーロイン、カタロース、ウデ、ランプ、トモバラ)について、「食感」、「脂っこさ」、「旨み」、「塩味」、「苦味」の5項目の嗜好型官能評価を実施した。今回の評価では、味付けの嗜好性も加味した評価を行い、事前に牛肉の味付けを一切行わず、各自が官能評価の際の牛肉の調味料(塩、コショウ、醤油、ソース、マスタード)の選択を委ねることとした(図8)。

官能評価の参加者38名のうち、調味料に関して回答が得られなかった参加者は6名であり、官能評価に調味料を用いた参加者は7名、調味料を加えなかった参加者は25名であった。調味料の有無でデータを分けて集計し、その平均値を比較した。その結果、調味料の有無に関わ

らず、トモバラとウデを除き、官能評価のレーダーチャートは類似したパターンを示した。各部位の食味の比較では、脂肪含量が最も高いトモバラでは、「脂っこさ」、「食感」が高い値を示し、脂肪含量の低いランプとウデでは低い値を示した。また、高級な部位に該当するサーロインとカタロースは、5項目の評価が互いに類似していた。「脂っこさ」、「食感」は、脂肪含量に相関し、サーロインとカタロースは、脂肪含量の高いトモバラと低いランプとウデの中間に位置した。これらの結果より、牛肉の霜降り由来する脂肪含量は、官能評価に大きく影響することが今回の部位毎の官能評価でも示された(図8)。

食味に関する評価項目では、「塩味」はウデにおいて最も高い値が示され、「旨み」においても、ウデが高い値を示した。一方、「苦味」については、サーロイン、カタロース、ウデ、ランプ、トモバラの部位間で大差は認められなかった(図8)。牛肉の「塩味」は、「旨み」と相関が高く、一方で脂肪含量とは相反することから、霜降りの少ない赤身部位

で「塩味」が高く評価されることが示唆された。これらの結果、牛肉の赤身肉に由来する成分が牛肉の「塩味」に高い相関を示すことが強く推測される(図9)。

今回の嗜好型官能評価では、牛肉の味付けに関するアンケート調査も併せて実施した。アンケート調査の参加者は、官能評価と同様に38名であり、参加者の職業構成は、企業・食肉関係者31.6%、行政・法人関係者28.9%、学者・有識者23.7%、その他15.8%であった。また、参加

者の殆ど全てにおいて、食肉に対する高い知識を有していると回答した。

調理の「味付けの濃さの好み」に関するアンケートの集計では、参加者の43%が「普通」の濃さの味付けを好むと回答し、味付けの濃さに対して偏りがないに対し、参加者の67%が何かしらの「減塩」を考えていると回答し、食肉に関わる行政官、有識者、生産・流通関係者の多くが減塩について意識をしていることが伺えた(図10)。

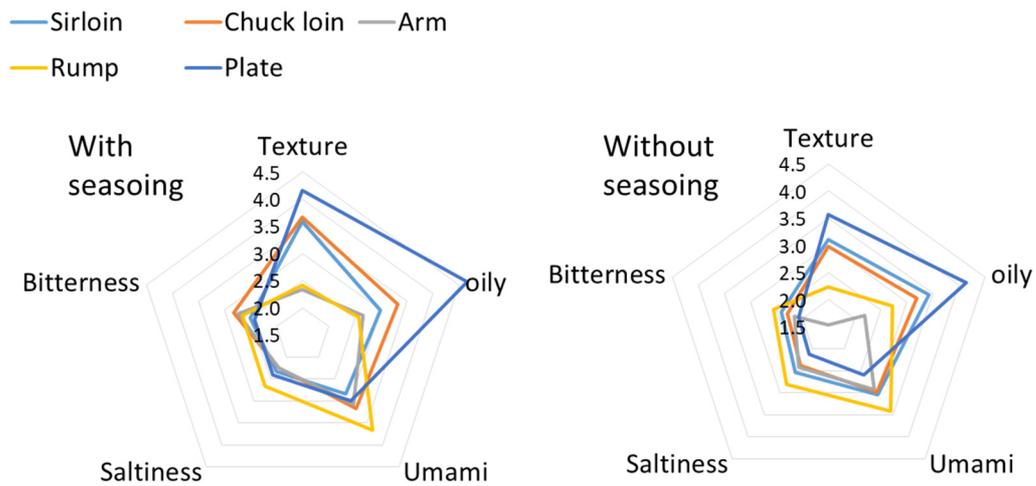


Fig. 8. Comparison between parts of the beef by the sensuality evaluation

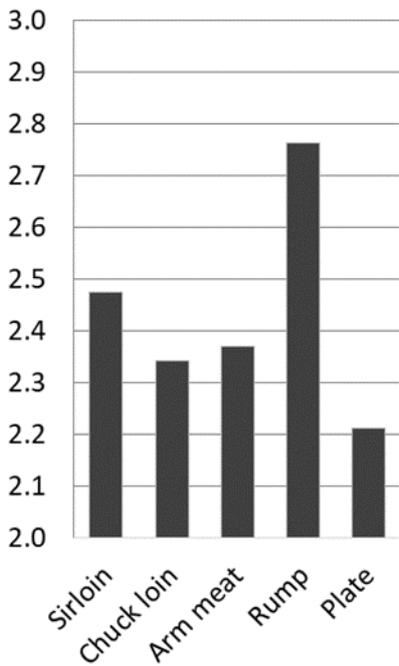


Fig. 9. Sensory evaluation test for saltiness

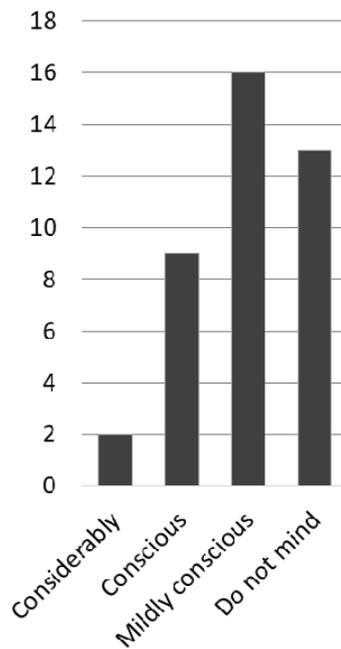


Fig.10. Questionnaire evaluation for sodium restriction

4. 考 察

健康長寿に向けた社会の醸成において、バランスの良い食生活の継続は関心の高い問題である。本研究では、高分解能を有する LC-FTMS による質量分析技術を牛肉の栄養成分の解析に活用し、牛肉の品種間、調理、熟成によるペプチド成分の網羅的な解析を実施した。まず、牛肉の生肉、焼成調理、乾燥熟成の LC-FTMS による分析の結果、およそ 102 ピークの多様な異性体のピークが分離・検出された(図 2&3)。焼成調理した牛肉では、メイラード反応や、ストレッカー分解の進行によって、多数の香氣成分が生じることが知られている。しかし、今回の分析条件では、LC-FTMS の液体クロマト分離カラムを SS-C18 に替えるなど、塩味性の呈味性ペプチドの分析に最適化したため、焼成調理で生じるケトアルデヒド類などの変化を検出することができなかった(図 3)。

また、実験計画時に立てた仮説に反して、熟成した牛肉では、蛋白質分解によるペプチド類の分解物はそれほど多く検出されなかった。また、チーズ、醤油のような発酵食品で良く検出される環状型ペプチドであるジケトピペラジン(図 1)は、全く検出されなかった。環状型ペプチドは、カビや麹菌などの微生物が産生することが知られている⁴⁾。今回の実験課題で使用した熟成牛肉は、日本国内で流通している牛肉を使用した。日本国内では、カビや麹菌などが付着した牛肉は冷蔵庫を汚染するため、特殊なケースを除き、通常の流通に乗ることが無いと言う。このような背景より、海外のドライエイジングした熟成牛肉に比べて、日本国内の熟成期間を短く、熟成由来のペプチド類の検出が少なく、環状型ペプチドが検出されなかったと推測される。

牛肉は、と畜後の低温の熟成期間を経ると、蛋白質が分解し、遊離アミノ酸とペプチド類が増加し、塩味を含む牛肉の呈味性が濃くなる傾向が一般的に知られている。そこで、本課題では、LC-FTMS に比べて、成分の同定が容易なガスクロマトグラフィーと質量分析計を組み合わせた GC-MS を用いて、牛肉に含まれる有機酸、アミノ酸、核酸の網羅的な解析を行った。その結果、熟成日数が 17 日、19 日、29 日、44 日と経つ毎に検出されるピーク数と面積が増加し、熟成日数に対して、アミノ酸 13 成分、核酸関連物質 3 成分、有機酸 3 成分が正の相関を示した。一方で、牛肉の官能評価試験では、牛肉としての風味は熟成日数

29 日をピークに、44 日では、牛肉の風味の著しい低下を招くことから、熟成日数 29 日までの牛肉において、牛肉の風味に関わる成分組成の変化が生じることが推測される(図 4)。

本課題では、品種間の違いを LC-FTMS の分析で判別できることが期待されたため、黒毛和種 2 銘柄とホルスタイン種で、詳細な LC-FTMS の分析を行った。その結果、牛肉試料中から大小 332 ピークが検出され(図 5)、牛肉の品種間、特徴となるペプチド成分を PLS 解析で分けることができた(図 6)。また、分子式の推定から、品種に特徴的な 18 ピークの成分が示唆された(図 7)。これらの牛肉で見つかったペプチド成分の塩味の影響については、今後の検討課題である。

牛肉の主要な 5 部位に対する嗜好型官能評価では、比較したサーロイン、カタロース、ウデ、ランプ、トモバラにおいて、ウデで「塩味」が最も高く、「旨み」も同様に高く評価された。この結果より、肉の「塩味」と「旨み」が高く関連していることが推察された。また、霜降りの多い脂肪含量の高い部位では、「塩味」と「旨み」の評価が低くなることから、ウデのように赤身肉が大半を占める赤身の部位ほど、塩味の増強剤となりえるような塩味性ペプチドを多く含む可能性が考えられ、今後の塩味ペプチドの探索では分析に用いる部位の重要性が強く示唆される(図 8)。

本課題では、併せて「味付けの濃さの好み」に関するアンケートを実施した。その結果、参加者の大半は「普通」の濃さの味付けを好むが、67%が何かしらの「減塩」を考えていると回答した。厚生労働省改訂の 2015 年版食事摂取基準では、一日の食塩の目標摂取量は、以前の値から男性 8.0 g 未満、女性 7.0 g 未満と一段と低く設定しており、今後の風潮として、老若男女を問わず、広く塩分摂取を抑える傾向が伺える。今後、動物性食品の分野においても、高血圧や生活習慣病を予防する観点から食肉の摂取に伴う塩分量を適度に抑える「適塩」などの健康志向が更に広がることを推測される(図 9&10)。

5. 謝 辞

本研究は、公益財団法人ソルト・サイエンス研究財団の援助によって実施されました。アンケート調査では、JRA 畜産振興事業、神戸肉流通推進協議会、兵庫県食肉事業協同組合連合会、全国食肉事業協同組合連合会の協

力を頂きました。ご支援・ご助言を頂きました先生方に深くお礼申し上げます。

6. 参考文献

- 1) 「日本人の食事摂取基準(2015 版)策定検討会」報告書 : 247-252
- 2) Yamamoto S, Shiga K, Kodama Y, Imamura M, Uchida R, Obata A, Bamba T, Fukusaki E., Analysis of the correlation between dipeptides and taste differences among soy sauces by using metabolomics-based component profiling. *J Biosci Bioeng.* 2014; 118(1):56–63
- 3) 西村敏英.「食品の呈味形成におけるペプチドの役割を探る」*生物と化学*,2001;39(3), 177-183
- 4) Prasad C, Bioactive Cyclic Dipeptides,Peptides, 1995;16(1), 151- 164
- 5) 山本慎也, 福崎英一郎. 「しょうゆに含まれるジペプチドと呈味の相関」*生物工程*,2014;12(92), 665-668
- 6) Takashi Nakata, Masatoshi Takahashi, Masaru Nakatani, Rie Kuramitsu,Masahiro Tamura, Hideo Okai. Role of basic and acidic fragments in delicious peptides (Lys-Gly-Asp-Glu-Glu-Ser-Leu-Ala) and the taste behavior of sodium and potassium salts in acidic oligopeptides. *Biosci Biotechnol Biochem.* 1995; 59(4):689-93.
- 7) Iwaniak A, Minkiewicz P, Darewicz M, Hryniewicz M. Food protein-originating peptides as tastants Physiological, technological, sensory, and bioinformatic approaches.*Food Res Int.* 2016 Nov;89(Pt 1):27-38.
- 8) 及川彰.「メタボロミクス of 農業・食品分野への応用」Vol. 51, No.9, 615-621, *化学と生物* (2013)
- 9) Augustin Scalbert. The food metabolome: a window over dietary exposure. *Am J Clin Nutr.* 2014; 99:1286–308.
- 10) Yamamoto S, Bamba T, Sano A, Kodama Y, Imamura M, Obata A, Fukusaki E. Metabolite profiling of soy sauce using gas chromatography with time-of-flight mass spectrometry and analysis of correlation with quantitative descriptive analysis. *J Biosci Bioeng.* 2012; 114(2):170-5.
- 11) Muroya S, Oe M, Nakajima I, Ojima K, Chikuni K. CE-TOF MS-based metabolomic profiling revealed characteristic metabolic pathways in postmortem porcine fast and slow type muscles. *Meat Sci.* 2014; 98(4):726-35.
- 12) 食肉の官能評価ガイドライン, 家畜改良センター編, 日本食肉消費総合センター (2005)

Study of Salty-Taste Related Peptides for the Progress of Low-Salt Animal Food

Shuji Ueda, Minoru Yamanoue

Graduate School of Agricultural Science, Kobe University

Summary

The peptide components that contribute to salty taste are widely known. Peptide components which are hydrolyzed from such foods as bonito and soybean, have already been put to practical use as salty taste enhancers. On the other hand, these salty taste enhancers still have a problem in versatility as a food additive derived from the raw material remains. Therefore, the development of a new salty taste enhancer, suitable for processed products of livestock products, is an important issue for achieving the compatible animal products between "tastiness" and "moderate salt content". In this study, we carried out an exhaustive analysis of the peptide components using high-resolution mass spectrometry technology based on liquid chromatography (LC-FTMS) to analyze the different species of beef, the manner of cooking, and dry-aging. First, using LC-FTMS, we examined the peptides produced in the beef that had been subjected to cooking, and dry aging. We detected 102 components as commonly detected peaks in beef. Moreover, we were able to obtain the characteristic chromatograph for each of the beef samples. We conducted the multivariate analysis of these peaks whose results revealed noticeable differences among beef species compared with cooking, and dry aging. Additionally, we carried out a detailed examination of the characteristics of the peptide components in different species among Japanese black cattle and dairy cattle by using LC-FTMS, and detected 332 components. Based on the molecular weight of the peaks whose significance differences, we estimated characteristic dipeptide, tripeptide and tetrapeptide in beef meat. In addition, we conducted a sensory evaluation to survey the preference type on the different parts of beef. The results revealed that salty taste was recognized most strongly in the rump (gluteus muscles) of beef. In the future, by conducting a comprehensive analysis of peptide components, using the beef parts with different salty taste strengths, we expect to obtain useful information for developing "salty taste enhancers" that take into consideration the reduction of salt, associated with the intake of animal foods.