

## 総説特集 食べ物のおいしさ 8

## 食肉の熟成による呈味向上のメカニズム\*

西村 敏 英\*\*

(広島大学・生物生産学部・動物資源利用学講座)

食肉は熟成により軟らかくなると同時に風味が向上する。風味要素のうち、呈味向上には遊離アミノ酸とペプチドの増加が寄与している。特に、遊離アミノ酸の増加はうまみを含む肉様の味の増強に、またペプチドの増加はまるやかさの向上に関与していると考えられる。食肉熟成中のペプチドの増加には、筋肉内エンドペプチダーゼ（カルパインおよびカテブシンBとL）が、遊離アミノ酸の増加には、中性に至適pHを有するアミノペプチダーゼC、HおよびPが貢献していると考えられる。

## はじめに

食肉は屠殺後すぐには食用には供されず、低温で一定期間貯蔵、すなわち熟成した後に食用として用いられる。これは死後硬直した硬い食肉が、軟らかくなると同時に風味が向上し、おいしくなるからである。通常4℃で貯蔵した場合に、牛肉では10日間～2週間、豚では5日間～1週間、鶏では2日間で熟成が完了する。熟成により向上する風味要素には、味と香りがある。ここでは、食肉の味に着目し、先ず呈味向上に寄与する成分を特定し、各々の成分が

どのように呈味向上に寄与しているかを考察する。次いで、各々の寄与成分の生成機構について述べる。

## 1. 呈味の向上

と殺直後の牛肉は加熱しても酸っぱく、金属的な味がして、少しも牛肉らしい風味は感じられないが、8日間熟成した肉は、牛肉ステーキ独特の香りがして味もよかったと報告されている<sup>1)</sup>。また、Paulら<sup>2)</sup>、Rödel<sup>3)</sup> および Smithら<sup>4)</sup> によって、低温で約

表1 牛、豚、鶏肉の低温貯蔵がうま味を含む肉様の味の強さに及ぼす影響<sup>6)</sup>

Meat	The number of samples judged to have a more intense brothy taste		
	Before storage	After storage	Difference <sup>a</sup>
Beef	12	4	NS
Pork	2	14	#
Chicken	8	23	#

a: NS, not significant; #: Significantly different ( $p < 0.05$ )

\*Received May 19, 1997; Accepted June 12, 1997.

Mechanisms involved in the improvement of the taste of meat during conditioning.

\*\*Toshihide Nishimura: Faculty of Applied Biological Science, Hiroshima University, 1-4-4 Kagamiyama, Higashi-Hiroshima 739, Japan, E-mail: toshix@ipc.hiroshima-u.ac.jp

10日間熟成した牛肉のフレーバースコアはと殺直後の肉のものより高いことが明らかにされている。鶏胸肉でも4℃で貯蔵した時、と殺直後のものよりしばらく低温で貯蔵した方がフレーバーが良いと報告されている<sup>5)</sup>。

フレーバー要素のうち、味だけに着目した研究は少ない。著者らは牛肉、豚肉、鶏肉を4℃でそれぞれ8日、5日および2日間貯蔵した後、各肉より調製した加熱スープの官能検査を行い、熟成による食肉の呈味変化を調べた。豚と鶏では、うま味を含む肉様の味は、熟成により有意に強くなることが明らかとなった。牛では、貯蔵前後で有意差が認められなかった(表1)<sup>6)</sup>。と殺直後の牛肉を用いてその呈味が熟成により向上することを明らかにしたCaulの報告<sup>1)</sup>やと殺後4日目の牛胸最長筋を7日目まで貯蔵してもフレーバーは向上しなかったというParrishら<sup>7)</sup>の報告を考えあわせると、牛肉では熟成の速さに個体差がある可能性が示唆された。このように、牛肉では個体差があるけれども、通常食

肉は熟成によりと殺直後の酸味が減少したり、肉様の味が増大しておいしくなることが明らかとなった。熟成による呈味向上はどのような物質によってもたらされるのであろうか。

## 2. 呈味向上寄与成分の特定

食肉の呈味物質としては、遊離アミノ酸、ペプチドなどの窒素化合物、糖、有機酸、無機質などがある。熟成による呈味向上に寄与する成分を特定するために、牛、豚、鶏肉中の各種呈味成分の熟成による変化を調べ、上記の官能検査の結果と比較した<sup>6)</sup>。熟成前の肉から調製したスープ中のイノシン酸含量(肉1g当たり)は熟成前の牛で約2.5 $\mu$ モル、豚で約5.5 $\mu$ モル、鶏で約6.0 $\mu$ モルであり、熟成後の肉のスープではいずれもこれらより低い値を示した。スープ中の乳酸含量(肉1g当たり)は、およそ牛で3mg、豚と鶏で5mgであり、熟成後の肉のスープでの値と有意な差は認められなかった。これらは、いずれも官能検査の結果とは対応せず、熟成による

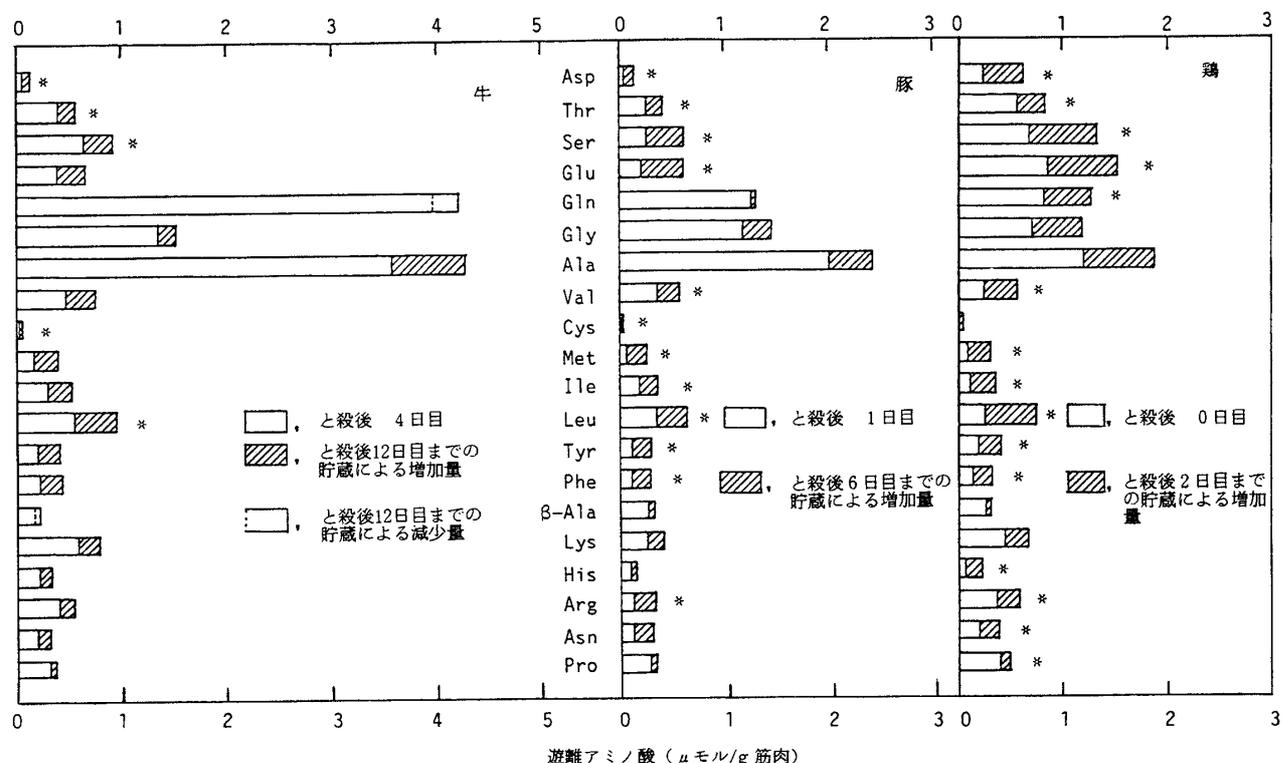


図1 牛、豚、鶏肉を4℃に貯蔵した時の遊離アミノ酸の変化<sup>6)</sup>

\* ; 貯蔵前後で有意差あり ( $P < 0.05$ )

## 食肉の熟成による呈味向上のメカニズム

呈味向上には貢献していないと推察された。

遊離アミノ酸含量は、いずれの肉でも熟成後で高いことが判明した (図1)。熟成で増加量の多いアミノ酸は、牛ではアラニン、ロイシン、セリン、バリン、豚と鶏では、アラニン、グルタミン酸、セリン、バリンであった。うま味成分であるグルタミン酸の増加量は牛では少なかったが、これが牛肉において熟成による肉様の味の増強効果が認められなかった原因であると推定された。また、熟成前の肉から調製した加熱スープ中のペプチド含量 (肉1g

当たり) は、牛では3.5mg、豚では3mg、鶏では2mgであった。熟成後の豚と鶏のスープでは、ペプチド含量が熟成前のものより高かった。以上の結果から、豚と鶏肉で認められた熟成による肉様の味の増大は、遊離アミノ酸とペプチドの増加によってもたらされると推察された。

呈味成分のうち、グルタミン酸ナトリウムとイノシン酸は食肉のうま味や肉様の味に寄与すると報告されている<sup>8,9)</sup>。著者らは、牛、豚、鶏肉の呈味成分の分析結果に基づいて調製した合成スープのオミッ

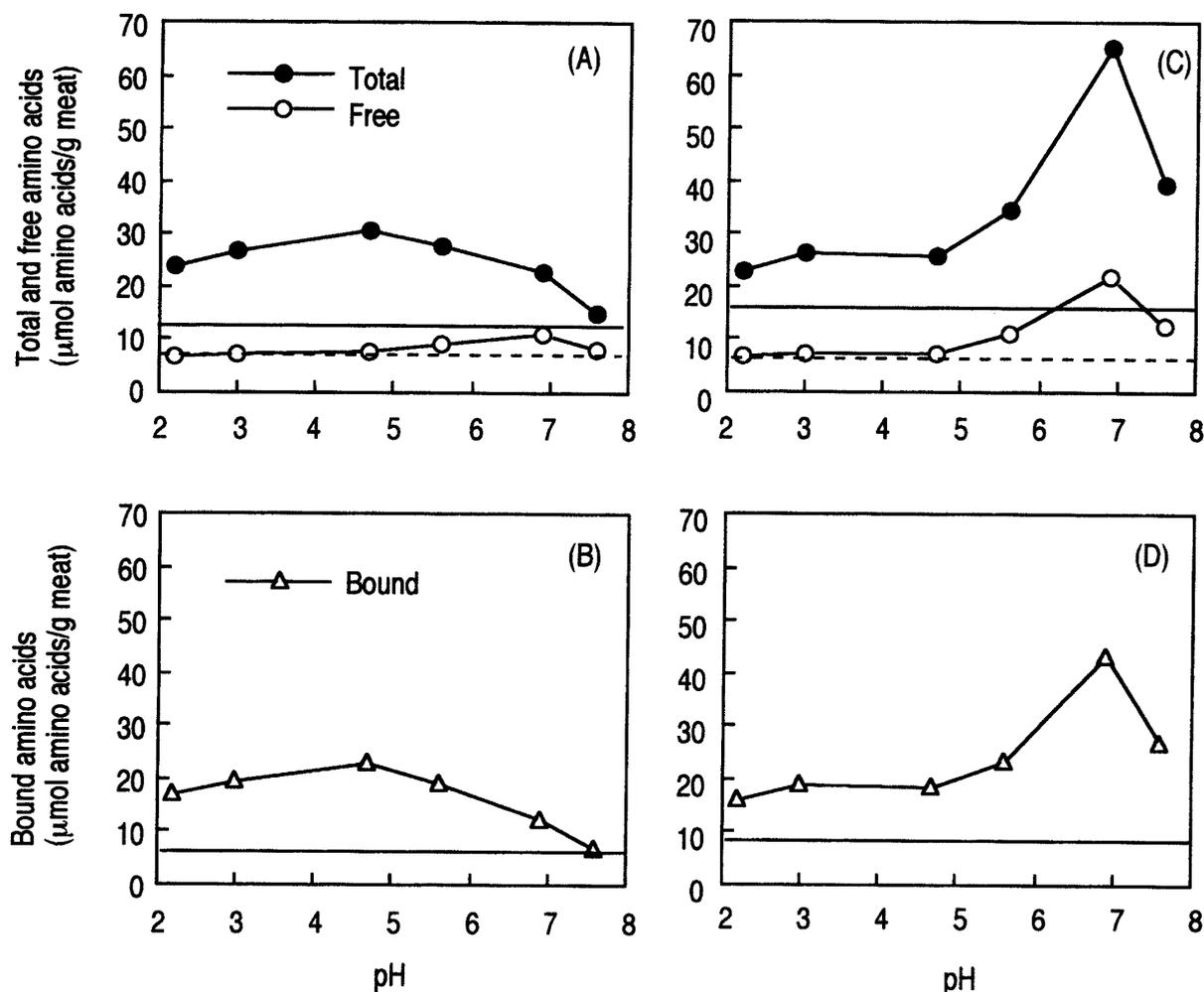


図2 各pHの豚筋肉ホモジネートを4℃に5日間貯蔵した時の酸可溶性の遊離アミノ酸および結合型アミノ酸 (ペプチド) の変化

試料は、トリクロロ酢酸で除タンパク処理した後、分析された。図中の実線と波線は貯蔵前の全アミノ酸、遊離アミノ酸および結合型アミノ酸量を示している。

(A)、(B) ;  $\text{Ca}^{2+}$  無添加。(C)、(D) ;  $\text{Ca}^{2+}$  添加。

●—● ; 貯蔵後の全アミノ酸、○—○ ; 貯蔵後の遊離アミノ酸、

△—△ ; 貯蔵後の結合型アミノ酸。

ションテストから、グルタミン酸を含む遊離アミノ酸がうま味と肉様の味に寄与していることを確認した<sup>10)</sup>。イノシン酸はと殺直後に増えるが、熟成により減少し、必ずしもうま味を含む肉様の味の強さに対応しない。しかし、これはイノシン酸の食肉呈味形成を否定するものではない。特に、グルタミン酸とのうま味における相乗作用の面<sup>11)</sup>から、イノシン酸が一定量以上存在していることが食肉の呈味形成に重要であることは明白である。また、グルタミン酸とイノシン酸との混合物に他の遊離アミノ酸を添加するとうま味強度はさらに増すことから、グルタミン酸以外の遊離アミノ酸によるうま味増強効果が認められている<sup>12,13)</sup>。従って、グルタミン酸以外の食肉熟成中に増加する遊離アミノ酸は、それぞれ

が閾値に達していなくても、そのうま味増強効果により食肉熟成中の呈味向上に寄与していると考えられる。

近年、ペプチドの呈味効果が少しずつ明らかにされてきた。真空調理法で調理した牛肉からペプチドを分画し、それを未熟成の牛肉から調製した加熱スープに添加してその呈味性を調べた。分画したペプチドの内、1,000~10,000の分子量を有するペプチド群（主要構成アミノ酸はグルタミン酸あるいはグルタミン、プロリン、リジン、アスパラギン酸である。）は、それ自身無味であるが、それを添加したスープでは、その酸味が抑制されると同時にまろやかさが増し、呈味の向上が認められた<sup>14)</sup>。このことから、食肉熟成中のペプチド増加は熟成による味の

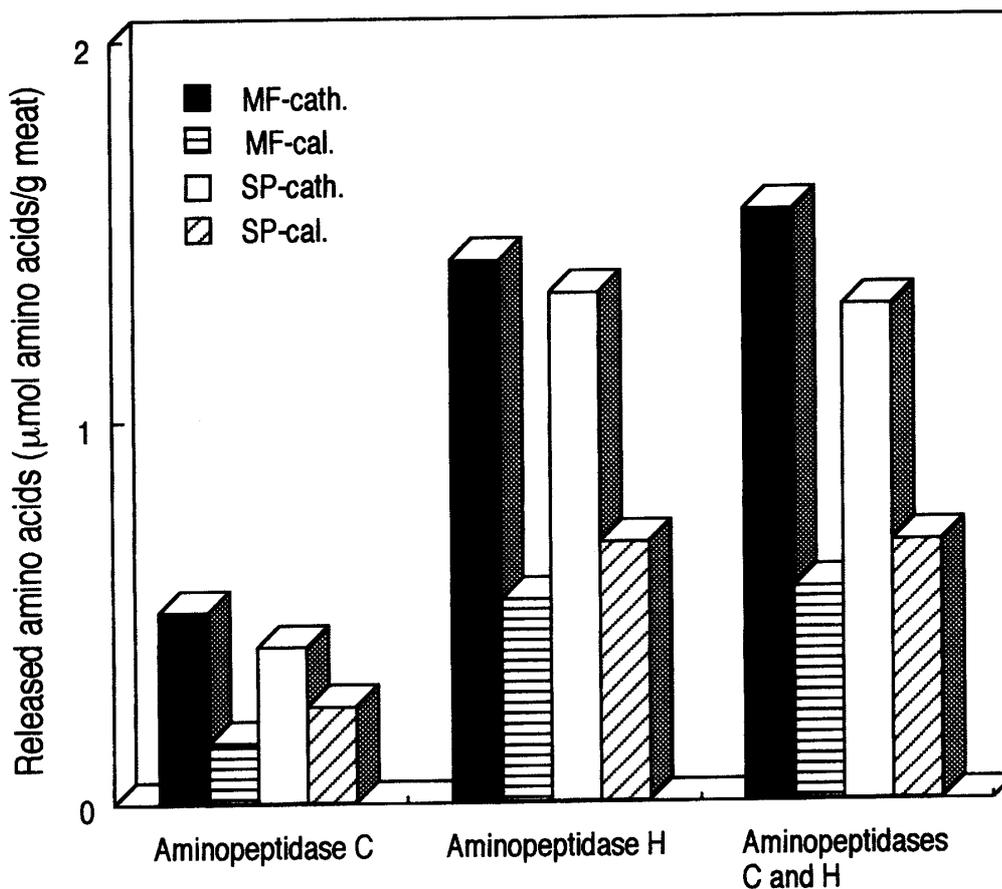


図3 アミノペプチダーゼCとHのペプチドへの作用で遊離したアミノ酸量<sup>39)</sup>

MF-cath.、MF-cal.；筋原線維タンパク質 (MF) にカテプシン群 (cath.) またはカルパイン (cal.) を作用させて調製したペプチド。

SP-cath.、SP-cal.；筋しょうタンパク質 (SP) にカテプシン群 (cath.) またはカルパイン (cal.) を作用させて調製したペプチド。

## 食肉の熟成による呈味向上のメカニズム

まろやかさの増大に貢献していると推定された。また、牛肉抽出物から“あつみ・こく”を付与する成分が見いだされ、これらが牛筋肉タンパク質であるトロポミオシンやゼラチン由来の物質であることも明らかにされている<sup>15)</sup>。今後ペプチドの呈味効果をさらに検討し、解明することは非常に興味深い問題である。

## 3. 呈味向上寄与成分の生成機構

死後筋肉においてはタンパク質の生合成は停止し、プロテアーゼによるタンパク質の分解のみが進行する。タンパク質はエンドペプチダーゼの作用でペプチドへと分解され、そのペプチドはエキソペプチダーゼの作用により遊離アミノ酸へと分解される。この分解により増加したペプチドと遊離アミノ酸が熟成による食肉の呈味向上に貢献している。

筋肉中の主なエンドペプチダーゼとしては、酸性領域に至適 pH を有するカテプシン B<sup>16)</sup>、D<sup>17,18)</sup>、H<sup>19)</sup>、L<sup>20)</sup> や中性領域に至適 pH を有するカルパイン<sup>21,22)</sup> やプロテアソーム (ATP 依存性エンドペプチダーゼ)<sup>23)</sup> の存在が知られている。熟成中のペプチド生成にはいずれの酵素が寄与しているのだろうか。種々の pH で調製した豚筋肉ホモジネートを

低温で5日間貯蔵した時、ペプチド (結合型アミノ酸) の増加量は pH 5 以下の酸性側で著しく多かった (図 2)<sup>24)</sup>。中性側でも  $\text{Ca}^{2+}$  の存在下でペプチドの増加が認められた。家兎筋肉においても同じ結果が得られている<sup>25)</sup>。酸性側でのペプチドの増加は酸性に至適 pH を有するカテプシン群 (B, D, L) の作用によると、また中性側でのペプチドの増加は  $\text{Ca}^{2+}$  で活性化されるカルパインの作用によると推察された。次に、筋肉より調製した筋原線維および筋しょうタンパク質に、同じ筋肉から分画したカテプシン群 (B と L) あるいはカルパインを作用させた結果、いずれの場合にもペプチドの生成が認められた。Koochmaraie ら<sup>26)</sup> や Zeece ら<sup>27)</sup> はカルパインが食肉熟成中の筋原線維タンパク質の分解に関与していると報告している。一方、Okitani ら<sup>28)</sup> はカテプシン B と L がその分解に関わっていると考察している。これまでの知見と熟成中の pH である 5.5 付近がペプチド増加の両ピークの谷間であることを考えあわせると、食肉熟成中にはカテプシン群 (主に B と L) とカルパインの両者が筋肉タンパク質を分解し、ペプチドを生成すると考えるのが妥当であろう。

一方、豚筋肉ホモジネートを低温で5日間貯蔵した時、遊離アミノ酸の増加は酸性ではほとんど認め

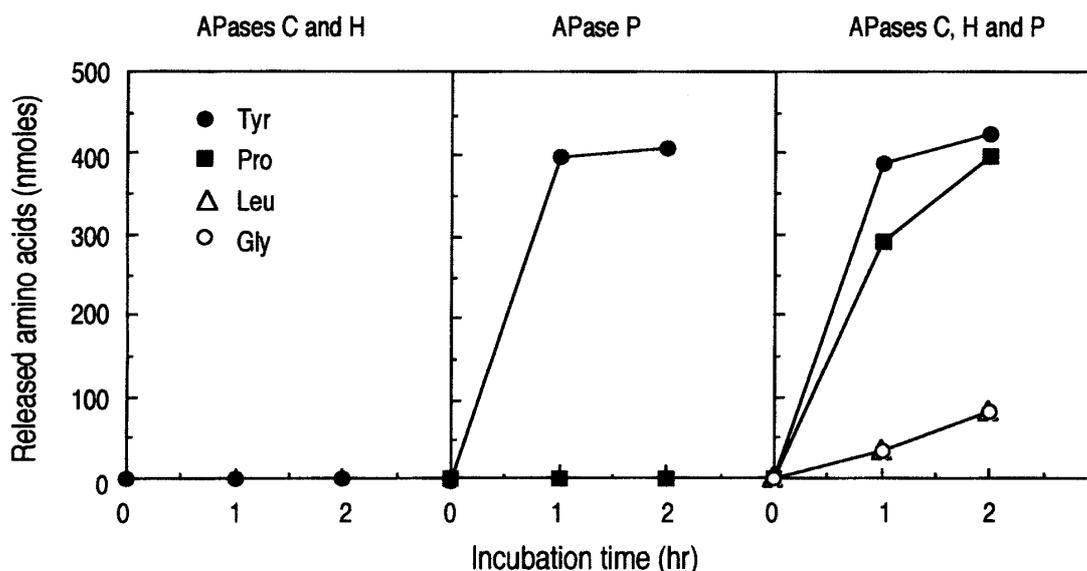


図4 アミノペプチダーゼC、HおよびPの Tyr-Pro-Leu-Gly への作用様式<sup>39)</sup>

アミノペプチダーゼC、HおよびP (それぞれ45.9、21.4および104.1mU) を1mMのペプチドにpH7.2、37°Cで作用させた。

西村

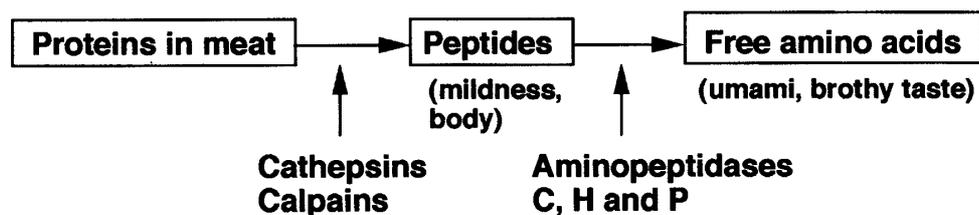


図5 食肉熟成中のペプチドおよび遊離アミノ酸の生成機構

られず、中性でその増加が認められた<sup>24)</sup>。筋肉中にカルボキシペプチダーゼ活性が認められていないことから、食肉熟成中の遊離アミノ酸の増加には中性に至適 pH を有するアミノペプチダーゼが関わっていることが明らかとなった。筋肉中の中性アミノペプチダーゼとしては、ロイシンアミノペプチダーゼ<sup>29)</sup>、アミノペプチダーゼ B<sup>30, 31)</sup>、C<sup>31-33)</sup>、H<sup>34-38)</sup>、P<sup>39)</sup>、ピログルタミルアミノペプチダーゼ<sup>40)</sup> およびジペプチダーゼ<sup>41)</sup> の存在が認められている。どの中性アミノペプチダーゼが関わっているかを解明する為、鶏筋肉を用いて中性アミノペプチダーゼを検索した。その結果、鶏筋肉中には、少なくとも6種類の中性アミノペプチダーゼの存在が明らかとなった。これらの基質特異性と活性の大きさから食肉熟成中の遊離アミノ酸生成の最大寄与酵素がアミノペプチダーゼ C と H であると推定された<sup>42)</sup>。そこで、カテプシン群とカルパインの作用で生成した筋原線維および筋しょうタンパク質の分解物(ペプチド)にアミノペプチダーゼ C と H を作用させ、遊離アミノ酸の増加量を調べた(図3)。増加量の多い遊離アミノ酸は、アラニン、リジン、グリシン、セリン、スレオニン、ロイシン、バリン、グルタミン酸 および アルギニンであった。この遊離アミノ酸の増加パターンを熟成中に増加した遊離アミノ酸のパターンと比較した結果、その類似率は約90%を示し、食肉熟成中の遊離アミノ酸の増加が主にアミノペプチダーゼ C と H の両酵素によりもたらされることが判明した。特に、食肉のおいしさに重要であるグルタミン酸や甘味を呈するグリシンの遊離にはアミノペプチダーゼ H が貢献していると推定された。しかし、両酵素の作用ではプロリンの生成だけが認められなかった。両酵素は、プロリンがN端から2番目にあるペプチドには作用しないことから、熟成中のプロ

リンの生成にはこのようなペプチドに作用するアミノペプチダーゼ P の存在が必要であると考えられた。そこで、鶏筋肉から精製したアミノペプチダーゼ C、H および P を用いて、プロリンの生成機構を調べた(図4)。これらの酵素をペプチド(YPLG)に作用させた結果、アミノペプチダーゼ P の作用でのみチロシンの遊離が認められた。また、すべての酵素の作用により、プロリン、ロイシン および グリシンの遊離も認められた。このことから、プロリンの遊離にはアミノペプチダーゼ P の存在が不可欠であることが明らかとなった<sup>39)</sup>。

#### 4. まとめ

食肉熟成中にペプチドおよび遊離アミノ酸は、図5に示された機構により増加すると考えられる。それぞれの増加は食肉のまろやかさおよびうま味を含む肉様の味の増大に貢献し、食肉の熟成による呈味向上をもたらしていると推察された。

#### 参考文献

- 1) Caul F: In Study on Development of Beef Flavor in U.S. Choice and U.S. Commercial Cuts of Sirloin, Quarter Master Food and Container Inst., Surveys Progr. Military Subsistence Problems Ser. I. No. 9, 1957, p. 152.
- 2) Paul P, Lowe B and McClurg BR: *Food Res.* 9, 221 (1944)
- 3) Rödel W: *Die Nahrung* 13, 489 (1969)
- 4) Smith GC, Culp GR and Carpenter ZL: *J. Food Sci.* 43, 823 (1978)
- 5) Terasaki M, Kajikawa M, Fujita E and Ishii K, *Agric. Biol. Chem.* 29, 208 (1965)

## 食肉の熟成による呈味向上のメカニズム

- 6) Nishimura T, Rhyu MR, Okitani A and Kato H, *Agric. Biol. Chem.* 52, 2323 (1988)
- 7) Parrish Jr. FC, Rust RE, Popenhagen GR and Miner BE, *J. Animal Sci.* 29, 398 (1966)
- 8) Fujimura S, Kawano S, Koga H, Takeda H, Kadowaki M and Ishibashi, T: *Anim. Sci. Technol. (Jpn)* 66, 43 (1995)
- 9) 武 恒子、大塚一止：新潟大学教育学部紀要 9, 97 (1967)
- 10) Kato H and Nishimura T: Taste Components and Conditioning of Beef, Pork and Chicken, In UMAMI: A Basic Taste, Marcel Dekker Inc. New York and Basel p. 289 (1987)
- 11) Yamaguchi S, Yoshikawa T, Ikeda S and Ninomiya T: *J. Food Sci.* 36, 846 (1971)
- 12) 横塚 保、斉藤伸生、奥原 章、田中輝男：農化、43, 165 (1969)
- 13) 田中輝男、斉藤伸生、奥原 章、横塚 保：農化、43, 171 (1969)
- 14) Ishii K, Nishimura T, Okitani A, Tamura T, Hatae K and Shimada A: *J. Home Econ. Jpn.* 46, 307 (1995)
- 15) 上田要一：日本味と匂学会誌 4, 197-200 (1997)
- 16) Okitani A, Matsuishi M, Matsumoto T, Kamoshida E, Sato M, Matsukura U, Watanabe M, Kato H and Fujimaki M: *Eur. J. Biochem.* 171, 377 (1988)
- 17) Suzuki A and Fujimaki M: *Agric. Biol. Chem.* 32, 975 (1968)
- 18) Fukushima K, Gnoh GH and Shinano S: *Agric. Biol. Chem.* 35, 1495 (1971)
- 19) 沖谷明紘、松石昌典、斉藤 群、加藤博通、日本農芸化学会昭和60年度大会講演要旨集 p. 626 (1985)
- 20) Okitani A, Matsukura U, Kato H and Fujimaki M: *J. Biochem.* 87, 1133 (1980)
- 21) Dayton WR, Reville WJ, Goll DE and Stromer MH: *Biochemistry* 15, 2159 (1976)
- 22) Ishiura S, Murofushi H, Suzuki K and Imahori K: *J. Biochem.* 84, 225 (1978)
- 23) Driscoll J and Goldberg AL, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86, 787 (1989)
- 24) 沖谷明紘、松石昌典、西村敏英：調理科学 25, 314 (1992)
- 25) Okitani A, Otsuka Y, Sugitani M and Fujimaki M: *Agric. Biol. Chem.* 38, 573 (1974)
- 26) Koochmaraie M, Babiker AS, Markel RA and Dutson TR: *J. Food Sci.* 53, 1253 (1988)
- 27) Zeece MG, Robson RM, Lusby ML and Parrish Jr FC: *J. Food Sci.* 51, 797 (1986)
- 28) 沖谷明紘、佐藤 信監修、「食品の熟成」、光琳 p. 551 (1984)
- 29) Joseph RL and Sanders WJ: *Biochem. J.* 100, 827 (1966)
- 30) Mantle D, Lauffart B, McDermott JR, Kidd AM and Pennington RJT: *Eur. J. Biochem.* 147, 307 (1985)
- 31) Ishiura S, Yamamoto T, Yamamoto M, Nojima M, Aoyagi T and Sugita H: *J. Biochem.* 102, 1023 (1987)
- 32) Otsuka Y, Okitani A, Katakai R and Fujimaki M: *Agric. Biol. Chem.* 40, 2335 (1976)
- 33) Nishimura T, Kato Y, Rhyu MR, Okitani A and Kato H: *Comp. Biochem. Physiol.* 102B, 129 (1992)
- 34) Okitani A, Nishimura T and Kato H: *Eur. J. Biochem.* 115, 269 (1981)
- 35) Nishimura T, Rhyu MR and Kato H: *Agric. Biol. Chem.* 55, 1779 (1991)
- 36) Rhyu MR, Nishimura T, Kato Y, Okitani A and Kato H: *Eur. J. Biochem.* 208, 53 (1992)
- 37) Nishimura T, Rhyu MR, Kato H and Arai S: *J. Agric. Food Chem.* 42, 2709 (1994)
- 38) Adachi H, Tsujimoto M, Fukasawa M, Sato Y Arai H, Inoue K and Nishimura T: *Eur. J. Biochem.* 245, 283 (1997)
- 39) Nishimura T, Rhyu MR, Tajima T and Kato H: In Proceedings of the 42nd International Congress of Meat Science and Technology, p. 412 (1996)
- 40) Lauffart B and Mantle D: *Biochim. Biophys. Acta* 956, 300 (1988)
- 41) Smith EL: *J. Biol. Chem.*, 176, 9 (1948)
- 42) Nishimura T, Okitani A, Rhyu MR and Kato H: *Agric. Biol. Chem.* 54, 2769 (1990)

## <著者紹介>

### 西村敏英氏略歴

昭和54年3月 東京大学農学部農芸化学科卒業  
昭和59年3月 東京大学農学系研究科博士課程修了  
昭和59年10月 日本学術振興会奨励研究員  
昭和60年4月 東京大学農学部助手  
平成6年4月 広島大学生物生産学部助教授

