研究ノート

直火焼きにおける牛挽肉の性状と有効性リジン量の変化

寺澤洋子¹, 古賀貴子^{2*}, 齋藤昌義³

¹ 中村学園大学短期大学部食物栄養学科

² 長崎国際大学健康管理学部健康栄養学科

³ 独立行政法人国際農林水産業研究センター

Changes in the Properties and Amount of Available Lysine of Ground Beef during Grilling

Yoko Terazawa¹, Takako Koga^{2*} and Masayoshi Saito³

¹ Nakamura Gakuen University Junior College, 5-7-1 Befu, Johnan-ku, Fukuoka 814-0198

² Nagasaki International University, 2825-7 Huis Ten Bosch Cho, Sasebo, Nagasaki 859-3298

³ Japan International Research Center for Agricultural Sciences, 1-1 Owashi, Tsukuba, Ibaraki 305-8686

Ground beef in meatball form was investigated for changes in the available lysine content during simple grilling and *teriyaki* cooking (broiling with a mixture of soy sauce and sweet cooking rice wine (*mirin*)). In *teriyaki* cooking, a change in nitrogen content was not detected. The available lysine content had a high positive correlation with water content and color tone L*. Along with a decrease in water content (overheating), the amino-carbonyl reaction (change to brown color) proceeded due to the liquid mixture, and the available lysine content tended to decrease at the same time. Furthermore, the rate of lysine content decrease was remarkably high in *teriyaki*, twice as high as that in simple grilling at 12 or 24 min.

(Received Jun. 27, 2014; Accepted Aug. 29, 2014)

Keywords : ground beef, grilling, available lysine, amino-carbonyl reaction

キーワード : 牛挽肉, 直火焼き, 有効性リジン量, アミノカルボニル反応

リジンは人体の必須アミノ酸の中でも不足しやすいアミノ酸である。このε-アミノ基は反応性に富むため、還元糖とともに加熱すると、主にアミノカルボニル反応(褐変)により不溶化し、有効性リジンの損失が起こる。食品加工・貯蔵および調理の過程における有効性リジンの損失については、千畑らの総説¹⁾にも詳述されている。

旧来、調理中の有効性リジン量の変化に関しては、調味液(天つゆおよび煮物)中の加熱条件と砂糖量における報告²⁾、脱脂大豆のオートクレーブに関する全糖量の資料³⁾、マダイおよびハマチの調理における有効性リジン量の変化⁴⁾のほか、アミノカルボニル反応におけるモデル実験⁵⁾など幅広い分野の検討が行われている。しかしこれらの報告は当時のわが国の食生活に重要な食品を対象としており、その後の食生活の変化に伴い消費が増加した獣肉に関しては、有効性リジン量の研究は殆ど見受けられない。

本報告では、タンパク質が多く、脂肪量が少ない牛腿肉の挽肉を試料とし、その直火焼きにおける性状の変化と有効性リジン量の変化を調べた。直火焼きによる加熱およびしょう油、みりんによるアミノカルボニル反応(褐変)の

進行度については測色から検討した。なお、酸化度の指標としてチオバルビツール酸価およびカルボニル価も測定した。

これら性状の変化の評価を含め、直火焼き調理における牛腿肉の有効性リジン量を捉え、牛肉調理における栄養管理等へ役立つ知見を得ることを目的とした。

1. 実験方法

(1) 供試試料の調製

1) 基礎試料

牛腿肉を3度挽きとしたものを福岡市内の大手精肉店より購入し、これをさらに自動乳鉢(日陶科学)を用いて100 rpmの回転速度で5分間混捏した(デンプン、玉ねぎ、牛乳、卵などの副材料および調味料は用いない)。これを1個25gのミンチボール状に成形したものを基礎試料(GR)とした。

2) 直火焼きの試料

i) 素焼き

GR群は600Wの電気コンロ(NK-685 SG, ナショナル)で素焼きにした。火力は入電から10分間の安定時間をお

¹ 〒814-0198 福岡県福岡市城南区別府 5-7-1, ² 〒859-3298 長崎県佐世保市ハウステンボス町 2825-7

³ 〒305-8686 茨城県つくば市大わし 1-1

*連絡先 (Corresponding author), takoga@niu.ac.jp

き、焼き時間は12分間 (GR-12) および24分間 (GR-24) とし、2分間おきに表裏に返した。

ii) 照り焼き

照り焼きはGR群をしょう油 (本醸造濃口, キッコーマン) およびみりん (本みりん, 宝酒造) を混合した調味液 (しょう油:みりん=1:1 (v/v)) に20分間浸漬した (GRSM)。GRSM群は前述の混合液をはけでつけながらGR群と同様の条件で焼いた。焼き時間は12分間 (GRSM-12) および24分間 (GRSM-24) とした。

(2) pH

基礎試料および調理後の各試料に5倍量の精製水を加えて混和後、pHメーター (ドキュ pHメーター, ザルトリウス) でガラス電極法により測定した。

(3) 水分量

約1.0gの試料について、常圧加熱乾燥法⁶⁾に準じ定量した。加熱条件は100~105℃, 1時間とした。

(4) 粗脂肪量

試料25gについて、ソックスレーの抽出法⁷⁾に準じ定量した。抽出時間は24時間とした。

(5) 窒素量

粗脂肪抽出後の脱脂試料を風乾後、自動乳鉢 (日陶科学) で粉碎し、この粉碎試料0.1gについて、ミクロケルダール法⁸⁾により定量した。なお、窒素-タンパク質の換算係数は6.25とした。

(6) 測色

粉碎試料3gについて、測色色差計 (SK-5, 日本電色工業) にて、表面色L*, a*, b*を測定し、得られた値から色差 (ΔE^*)⁹⁾ を算出した。

(7) 有効性リジン量

検量線はOkuyamaら¹⁰⁾に準じ合成した ϵ -トリニトロフェニール (TNP)-L-Lysを用いて作成した。標準液 (0.05, 0.1, 0.2, 0.25, 0.4, 0.6, 1.0 μ M/ml, 4%重炭酸ナトリウム) についてはKakadeら¹¹⁾の方法に準じ、各濃度の標準液に水1ml, 濃塩酸3mlを加え、封管後、120℃1時間で加水分解した。それを放冷後、エーテル抽出を2回行い、万能シェーカー (KM, イワキ) で振盪し (3分間を2回), エーテル層を除去した。完全にエーテルを気散させ、水層部を検液とし、分光光度計 (100-10, 日立) を用い、346nmにおける吸光度を測定した。

有効性リジンの定量には、5項における粉碎試料10mgをKakadeら¹¹⁾に準じ、封じ管に精秤し、4%重炭酸ナトリウム1mlを加え、40℃の水浴中で10分間振盪した。さらに、1%2,4,6-トリニトロベンゼンスルホン酸溶液1mlを加え、40℃2時間、TNP化した。これに濃塩酸3mlを加え、前述と同様に加水分解、エーテル処理を行い、吸光度を測定した。検量線よりLys mg/g Nを算出した。

(8) チオバルビツール酸価

チオバルビツール酸 (TBA) 試験は衛生試験法・注解¹²⁾

に準じ、粗脂肪0.1gについて530nmにおける吸光度を測定した。

(9) カルボニル価

カルボニル価 (COV) は衛生試験法・注解¹³⁾に準じ、粗脂肪0.01~0.02gについて440nmにおける吸光度を測定した。

(10) 統計処理

統計処理は統計解析ソフト4Steps エクセル統計【第3版】(オーエムエス出版) を用いて行った。平均値の差の検定は一元配置分散分析法およびTukey-Kramer法で多重比較によった。相関係数はピアソンの相関係数を用いて算出した。

2. 実験結果および考察

(1) 直火焼きによる牛挽肉のpH, 水分量, 粗脂肪量および窒素量の変化

これらの変化はTable 1に示した。

材料の牛挽肉は筋原線維タンパク質が多く、ペースト状になり易い部位を選んだ。これらを磨砕すると紐状のアクトミオシンに変化し、さらに網目構造を作るが、この構造の疎密、強弱はミンチボールの弾力性を左右するとみられる¹⁴⁾。

1) pH

素焼き群について、GRのpHは5.42であり、加熱によりGR-12およびGR-24はGRに対しわずかに上昇した。このpHの変化は、食肉の加熱によりアルカリ側に移動するとの報告¹⁵⁾とも一致した。一方、照り焼き群のpHは素焼き群に比して低く、焼き操作による変化は素焼き群よりも小さかった。GRSMがGRよりもpHが低いのは、本研究に用いた調味液のpHが4.47であったことによると考えられる。GRSM-24のようにカラメル化を生じている場合、その反応機構中、フルフラール、ギ酸その他の酸を生成しているため、pHが2.0前後まで低下するとの記述がある¹⁶⁾。このような反応からGRSM-24のpHは低くなったと考えられた。

2) 水分量

素焼き群および照り焼き群における水分量は、いずれも加熱前に比較して有意に減少した ($p<0.01$)。これらの減少量は、牛挽肉のタンパク質の熱変性に伴う肉汁を捕らえる副材料を含まないため、一般のミートボールより高値であるとみられる。水分の減少率について、GR-12はGRSM-12に対し、GR-24はGRSM-24に対し、それぞれ約6.6%高かった。GRSM群の加熱において、試料の表面ではカラメル化を生じており、このことにより照り焼きは可溶性成分の溶出を抑制し、やわらかく、焦げの風味も賞味する調理効果が期待され则认为られる。

3) 粗脂肪量

粗脂肪量は、素焼き群は加熱前に比較してGR-12ではわずかに低下したが、GR-24では有意な差は見られなかった。

Table 1 Chemical characteristics of grilled beef round meat

Grilled methods	pH	Moisture (%)	Crude fat (% dry wt.)	Protein-N (% dry wt.)
GR	5.42	71.1±0.5	22.5±0.9	13.01±0.34
GR-12	5.66	58.9±1.0**	19.2±1.1**	12.39±0.29*
GR-24	5.70	50.9±1.0**	22.5±1.8 ^{ns}	12.38±0.34*
GRSM	5.33	71.1±0.4	21.5±0.3	12.43±0.60
GRSM-12	5.56	62.8±0.8**	22.9±0.6*	12.18±0.48 ^{ns}
GRSM-24	5.41	54.3±0.9**	19.1±0.8**	12.31±0.32 ^{ns}

GR : A beef paste was made by grinding beef round meat three times and then mashing the grind. The paste was then molded into 25 g meat ball-type.

No starch and seasonings were added to these meat ball-type.

GR-12 : GR was grilled on a 600 W electric cooker for 12 minutes, during which GR was turned over every 2 minutes.

GR-24 : GR was grilled at the same temperature as with GR-12, but for 24 minutes, during which GR was turned over every 2 minutes.

GRSM : GR was soaked in a soy sauce and sweet cooking rice wine mixture (soy sauce : sweet cooking rice wine=1 : 1 v/v) for 20 minutes.

GRSM-12 : GRSM was grilled at the same temperature as with GR-12 for 12 minutes, during which GRSM was turned over and brushed with a soy sauce and sweet cooking rice wine mixture every 2 minutes (TERIYAKI).

GRSM-24 : GRSM was grilled at the same temperature as with GR-24 for 24 minutes, during which GRSM was turned over and brushed with a soy sauce and sweet cooking rice wine mixture every 2 minutes (TERIYAKI).

M±SD, n=5.

ns : not significant. **p<0.01, *p<0.05.

また照り焼き群においては、GRSM-12 で増加、GRSM-24 で減少が認められた。粗脂肪量の変化は、試料の加熱状態によって抽出される成分に変化が生じていることを反映している可能性があるが、本結果からは直火焼きの影響について明確な傾向は認められなかった。

4) 窒素量

素焼き群の GR-12 および GR-24 は加熱前に比較して、ともに有意に減少したが ($p<0.05$)、照り焼き群においては変化はみられなかった。

高倉ら¹⁷⁾ は、豚肉の可溶性成分の溶出について、みりんに浸漬することで溶出抑制効果があること、みりんはエタノールと糖の相乗効果でアミノ酸窒素および全窒素等の可溶性成分の溶出を低く維持したと述べている。このような要因が照り焼き群の窒素量に変化がなかったことに関与していると考えられる。

(2) 直火焼きによる牛挽肉の色の変化

直火焼きによる牛挽肉の色の変化について、明度 (L^*)、色度 (a^* , b^*) および色差 (ΔE^*) を Table 2 に示した。

L^* 値は素焼き群および照り焼き群ともに焼き時間が長い試料で低下し、照り焼き群での低下がより大きかった。また、 a^* 値は赤み (+) を、 b^* 値は黄色み (+) を呈し、いわゆる“きつね色”のベースとみられた。

測色色差計により算出された ΔE^* と感覚的な差¹¹⁾ について、GR-12 と GR-24 の色差は 1.02 (わずかに感じられる)、

Table 2 Color of grilled beef round meat

Grilled methods ^a	L^*	a^*	b^*	Color (ΔE^*)
GR	66.32	+2.68	+14.98	1.02
GR-12	64.92	+1.85	+15.48	
GR-24	64.50	+0.92	+15.51	
GRSM	66.56	+2.69	+16.04	5.48
GRSM-12	60.55	+5.02	+16.44	
GRSM-24	52.04	+4.36	+16.75	
				12.99

a. See footnote in Table 1.

Each sample (3 g) at 20°C was measured with color and color difference meter.

The color values of rates from sample are shown, + a^* , red; - a^* , green; + b^* , yellow; - b^* , blue; + L^* , light; - L^* , darkness. $\Delta E^*(N. B. S) = ((\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2)^{1/2}$, N. B. S : National Bureau of Standards.

Values of L^* , a^* and b^* are means of 5 determinations, respectively.

GRSM-12 と GRSM-24 の色差は 8.54 (大きい) であって、両群とも焼き時間が長い試料で着色度を増した。一方、GR-12 と GRSM-12 では 5.48 (めだって感じられる)、GR-24 と GRSM-24 では 12.99 (非常に大きい) と、焼き時間に伴う色差は照り焼き群においてより顕著であって、褐変は照り焼きの方で明らかに進行していた。

Fig. 1 Amount of available lysine of grilled beef round meat with various grilling conditions

a : See footnote in Table 1.

M ± SD, $n=5$.

ns : not significant. ** $p<0.01$, * $p<0.05$.

Fig. 3 COV of grilled beef round meat with various grilling conditions

a : See footnote in Table 1.

M ± SD, $n=5$.

ns : not significant. ** $p<0.01$, * $p<0.05$.

Fig. 2 TBA values of grilled beef round meat with various grilling conditions

a : See footnote in Table 1.

M ± SD, $n=5$.

ns : not significant. * $p<0.05$.

通常肉の焼き色は、ビーフステーキの中心部では、赤みのあるものをレア、ピンク色のものをミディアム、灰褐色～褐色に変化したものをウェルダンと分類されており、

Table 2の測定値は、焼き時間が長いほどL*値は低くなり、焼き加減と色合いの変化の一致がよくわかった。

一方肉の表面では、ミオグロビンそのものの変化のほかアミノカルボニル反応が起こり、最終段階ではメラノイジン（褐色色素）になることが詳述されている¹⁸⁾。とくに、照り焼きでは肉の表面でアミノカルボニル反応や糖のカラメル化が急激に進行し、加熱の最後には炭素が表面に出てきて黒い焦げ色となる。このような多くの化学反応・分解により香り成分が生成し揮発するため香ばしい風味も加わる。

(3) 直火焼きによる牛挽肉の有効性リジン量の変化

有効性リジン量は、Fig. 1に示した。素焼き群において、GRに対しGR-12では有意差はなかったが、GR-24では有意に減少した($p<0.01$)。一方、照り焼き群ではGRSMに対し、GRSM-12およびGRSM-24ともに有意に減少した($p<0.01$)。これらの減少率は、照り焼きにおいてより顕著であった。

稲神ら¹⁹⁾は、加熱によるタンパク質中の有効性リジンの減少について、リジンが3つの官能基をもち、遊離しているε-アミノ基の大部分に糖やカルボニル化合物が結合するアミノカルボニル反応によるものと考えている。また、照り焼き群に関し、調味液のしょう油（大豆または脱脂大豆の加熱）について、川村ら³⁾は、大豆の中にもともと僅かにあった単糖類（主にグルコース）のほか、加熱に伴い加水分解によって生じる単糖類や還元性少糖類があること、

またアミノ化合物としては遊離のアミノ酸よりペプチドの側鎖に出ているリジンの ϵ -アミノ基が量的に多いと報告している。また、みりんはグルコースが多く、アミノ酸も含まれており、さらにしょう油とともに加熱することによりしょう油中のアミノ酸と反応してアミノカルボニル反応が進むともみられる²⁰⁾。このように、照り焼きに使用するしょう油、みりんの還元糖がアミノカルボニル反応を通して有効性リジン量の減少に影響していると考えられる。

(4) 直火焼きによる牛挽肉の脂質の酸化程度

直火焼きによる牛挽肉の脂質の酸化程度について、TBA 値は Fig.2 に、COV 値は Fig.3 に示した。

1) TBA 値

照り焼き群の TBA 値は素焼き群のそれらに比し低い値を示した。また、照り焼き群の TBA 値は GRSM-12 では有意差を認めなかったが、GRSM-24 では有意に高かった ($p < 0.01$)。加熱の際のタンパク質変性に伴う、タンパク質に結合している不飽和度の高い脂質 (リノレン酸などの高度不飽和脂肪酸) の酸化が考えられた。

本みりん中には 1,1-ジフェニル-2-ピクリルヒドラジル (DPPH) ラジカル消去活性を有するアミノカルボニル反応生成物が含まれており、抗酸化活性が高まることで脂質の酸化抑制を示したことが、さらに本みりんとしょう油を混合して使用した際の DPPH ラジカル消去活性は顕著に高くなり、アミノカルボニル反応生成物が新たに生じ、抗酸化活性がより高まったことが報告されている²¹⁾。本実験でもこのような効果が認められた。

2) COV 値

素焼き群では焼き時間に伴って有意に減少し ($p < 0.01$)、カルボニル化合物が消費されたことが推察された。

大下²²⁾ は、しょう油が油脂 (リノール酸) に対し強い抗酸化作用を示すことを認めている。照り焼き群の COV は素焼き群のそれに比し約 40% 低い値を示し、さらに照り焼き群の COV は焼き時間に伴う変化が小さかったことから、しょう油によるリノール酸に対する酸化抑制効果が示唆された。

以上のように、直火焼きにおける牛挽肉の変化について検討した結果、有効性リジン量は、性状の変化と関連が認められた。有効性リジン量は水分量および L* 値との間にも有意な正の相関を認めた。すなわち、牛挽肉の脱水が促進され水分量は減少し、褐変度が増してアミノカルボニル反応が進み L* 値は低下するとともに、有効性リジン量は減少した。

また、直火焼きの際の照り焼きの影響に関し、水分量は減少したが、乾物あたりの窒素量の変化は認められなかった。

本結果からは好ましい焦げ色や風味のある試料では有効性リジンの減少が避けられないことであると考えられ、栄養管理の点からは生の食物が加熱調理や加工されるとき

栄養成分の損失に配慮する必要がある。従来、有効性リジンに関する研究は、わが国においても数多くみられるが、本報告は調理科学および栄養化学の面から、栄養管理等において有効に利用される知見であると考えられる。

3. 要 約

牛挽肉の直火焼き (素焼きおよび照り焼き、焼き時間はともに 12 分間および 24 分間) における有効性リジン量の変化を知る目的で、小形のミンチボール状のものを試料とした。これら試料について、主に加熱、しょう油-みりんの混合液によるアミノカルボニル反応 (褐変) の影響を検討した。

(1) 水分量は、素焼きおよび照り焼きともに有意に減少したが、その減少率は素焼きの方が高かった。

(2) 照り焼きに関し、窒素量の変化は認められなかった。

(3) 色調 L* は、素焼きおよび照り焼きともに加熱により低下し、色差 ΔE^* は照り焼きの方でより顕著であった。

(4) 有効性リジンの減少率は、素焼きにおける 12 分間および 24 分間加熱した試料に比較し、照り焼きで加熱した試料ではそれぞれ 2 倍の高値であった。

水分量および色調 L* は有効性リジン量の減少率に高い正の相関を示した。直火焼きにおける水分減少 (加熱) に伴いアミノカルボニル反応が進み、L* は低下し、有効性リジン量は減少するものと考えられた。

(5) 酸化度

TBA 値は、照り焼きよりも素焼きの方が高かった。また、COV は、素焼きにおいて焼き時間に伴って有意に減少した。

本研究を遂行するにあたり、ご協力いただいた中村学園大学名誉教授古賀美子氏および中村学園大学卒論ゼミ生の吉村由貴子氏に深謝申し上げます。

文 献

- 1) 千畑一郎, 伊藤 博, 川島啓助, リジンの分解および不活性化について, 栄養と食糧, **19**, 1-9 (1966).
- 2) 前田清一, 松野武夫, 高嶋百合子, 調理中のアミノ酸の変化リジンおよび他のアミノ酸の調理中における加熱安定性 (予報), 栄養と食糧, **23**, 231-235 (1969).
- 3) 川村信一郎, 笠井 忠, 本田 (西岡) 章子, 脱脂大豆の加熱による糖類の変化と有効性リジンの減少, 栄養と食糧, **20**, 478-481 (1967).
- 4) 浜田滋子, 調理による有効性リジンの損失について, 三重大学教育学部研究紀要, **32**, 125-129 (1981).
- 5) 柳田晃良, 菅野道廣, 長 修司, 和田正太, リノール酸エチル酸化に伴うカゼインの有効性リジン量および消化率の変化, 日本農芸化学会誌, **41**, 73-78 (1973).
- 6) 日本薬学会 環境・衛生部会, 「衛生試験法・注解 2000」, 日本薬学会編, (金原出版, 東京), pp.151-152 (2000).
- 7) 日本薬学会 環境・衛生部会, 「衛生試験法・注解 2000」, 日本薬学会編, (金原出版, 東京), pp.191-192 (2000).
- 8) 菅原 潔, 副島正美, 「蛋白質の定量法」, 第 3 版, (学会出版センター, 東京), pp.182-183 (1990).

- 9) 古賀 菱子, 測色色差計, 「食物と栄養の科学 7. 調理学実験」, 第 1 版, 亀山 春編 (朝倉書店, 東京), pp.147-148 (1997).
- 10) Okuyama, T. and Satake, K., On the preparation and properties of 2, 4, 6-trinitrophenyl-amino acids-peptides. *J. Biochem.*, **47**, 454-466 (1960).
- 11) Kakade, M. L. and Liener, Irvin E., Determination of available lysine in proteins. *Anal. Biochem.*, **27**, 273-280 (1960).
- 12) 日本薬学会 環境・衛生部会, 「衛生試験法・注解 2000」, 日本薬学会編, (金原出版, 東京), pp.200-202 (2000).
- 13) 日本薬学会 環境・衛生部会, 「衛生試験法・注解 2000」, 日本薬学会編, (金原出版, 東京), pp.199-200 (2000).
- 14) 的場輝佳, ハンバーグをジューシーに仕上げるコツは?, 「料理のなんでも小事典」, 日本調理科学会編, 第 1 刷, (講談社, 東京), pp.144-145 (2008).
- 15) 右田正男, 講座 蛋白質と調理 (V) 肉の加熱による変化 (2), 調理科学, **3**, 96 (1969).
- 16) 河野友美, 沢野 勉, 杉田浩一, 「調理科学事典」, 第 1 刷, (医歯薬出版, 東京), p.113 (1975).
- 17) 高倉 裕, 河辺達也, 森田日出男, 本みりんの調理特性に関する研究 (第 1 報) 肉の可溶性成分の溶出抑制効果, 日本調理科学会誌, **33**, 37-43 (2000).
- 18) 長尾慶子, 肉を焼くと焼き色がつくのはなぜ?, 「料理のなんでも小事典」, 日本調理科学会編, 第 1 刷, (講談社, 東京), pp.86-87 (2008).
- 19) 稲神 馨, 堀井正治, 食品加工のさいにおこる蛋白質中の有効性リジンの損失に関する研究, 九州大学農学部学芸雑誌, **22**, 191-198 (1966).
- 20) 河辺達也, 煮ものを作るとき入れるみりんはどんな役割をしているの?, 「料理のなんでも小事典」, 日本調理科学会編, 第 1 刷, (講談社, 東京), pp.224-226 (2008).
- 21) 石田丈博, 本みりんの調理効果に関する研究 主として本みりんの抗酸化効果, 日本調理科学会誌, **41**, 79-83 (2008).
- 22) 大下克典, 醤油の機能性について, 日本醸造協会誌, **85**, 762-770 (1990).

(平成 26 年 6 月 27 日受付, 平成 26 年 8 月 29 日受理)