

令和 6 年 6 月 15 日現在

機関番号：34416

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K02142

研究課題名（和文）未凍結および微凍結での熟成処理が食肉の品質・呈味成分・調理特性に及ぼす影響

研究課題名（英文）Effects of -1 degree and -4 degree aging treatments on meat quality, testes components, and cooking characteristics

研究代表者

細見 亮太（Hosomi, Ryota）

関西大学・化学生命工学部・准教授

研究者番号：20620090

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：0 以下から氷結点までの温度のうち、-1 を用いた豚肉の熟成は、+2 を用いた熟成と比較して、腐敗に関わる生菌数の増殖を強く抑制した。一方、豚肉の水分が一部凍結する-4 を用いた熟成は、呈味成分である遊離アミノ酸濃度の増加はほとんど見られず、ドリップロスも高値を示した。本研究結果から、-1 を用いた豚肉の熟成は、凍結の影響を受けず、可食期間延長と呈味成分増加効果を有する技術としての活用が期待できる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

-1 を用いた食肉の熟成は、-4 熟成で観察された凍結によるドリップロスは生じず、呈味に関わる遊離アミノ酸の増加は阻害しないことを確認したことは、食品加工・保蔵学分野の新たな知見である。本研究で得られた成果をもとに0 以下の未凍結熟成技術を食品加工・流通産業の中に導入することにより、フードロスの削減および新たな付加価値をもたらすことができる。

研究成果の概要（英文）：Aging pork at -1 strongly inhibited the growth of viable bacteria during the aging period compared to Aging pork at 2 . On the other hand, aging pork at -4 , which is below freezing, resulted in little increase in total free amino acid concentration and greater drip loss during the aging period compared to aging pork at -1 . Therefore, aging pork at -1 is expected to be a technique that can extend shelf life without the effects of freezing.

研究分野：食品加工・保蔵学

キーワード：熟成 未凍結 微凍結 スーパーチリング 食肉

## 様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

環太平洋経済連携協定や欧州連合との経済連携協定の発効直後から、牛肉・豚肉の輸入が急増しており、国産の食肉価格が低下するといった影響が出てきている。そのため安価な輸入食肉に対抗し、日本の畜産業を維持するため、日本で生産される食肉の付加価値向上技術の確立が急務である。この付加価値を向上できる加工技術の一つとして「熟成」がある。通常、食肉の熟成はチルド(0℃~+5℃)で数日間行い、遊離アミノ酸・ペプチドなどの呈味成分を増やし、加えて、結合組織を分解させ肉質を柔らかくする。申請者は従来のチルドでの熟成(チルド熟成)ではなく、0℃以下から食品の凍り始める温度(氷結点)までの未凍結温度(氷温ともいう)を用いた熟成(未凍結熟成)に関する研究を行い、食肉の熟成処理において、チルド熟成には見られない成分変化を示すことを報告している<sup>1-3)</sup>。

一方、国外において0℃以下の未凍結温度はあまり認知されておらず、この未凍結温度は、スーパーチリングという温度帯(0℃~5℃)の中に含まれる。スーパーチリングは氷結点を境に食肉中の水分の物理的状態が異なり、0℃~氷結点では未凍結、氷結点から-5℃では部分的に氷結晶の生成がみられる。そのため、スーパーチリングを用いた熟成といっても、氷結点を境にして、食肉熟成中の成分変化に与える影響には大きな違いがある。しかし、スーパーチリングを用いた食肉の熟成において、水分の物理的状態(未凍結または微凍結)の違いに着目して、品質・呈味成分・食感・調理特性を評価した研究は見当たらない。

### 2. 研究の目的

これまでに我々は、0℃以上のチルド帯を利用した熟成と0℃以下の未凍結温度での熟成(未凍結熟成)とを比較することで、未凍結熟成の特徴について評価してきた。一方、国外の研究者らは、-4℃付近で食肉を熟成する方法に対して、0℃~5℃の温度帯を意味する「スーパーチリング」を用いてスーパーチリング熟成と表現している。しかし、上述したようにスーパーチリングは氷結点を境に水の状態を異なるため、食肉の熟成に対する影響は異なると考えられる。本研究では、スーパーチリングを用いた食肉の熟成中の成分変化に及ぼす氷結晶の有無の影響を明らかにするため、スーパーチリングの内、未凍結の0℃以下~氷結点、微凍結の氷結点~-5℃の2つの温度を用いて、食肉熟成中の品質・呈味成分・食感・調理特性への影響を評価した。スーパーチリングを用いた食肉の熟成処理の特性を理解し、食肉の付加価値向上技術としての確立を目指した。

### 3. 研究の方法

#### (1) 氷結点の測定

豚ロース筋肉部の氷結点は、温度センサーにより凍結曲線を作成し求めた。凍結曲線の結果より氷結点が-1.3℃となったため、氷温熟成の温度を-1.0℃と決定した。

#### (2) 熟成処理

試料は豚ロース肉を用い、真空パックした状態で熟成処理した。チルド熟成は+2℃、未凍結熟成は-1℃、微凍結熟成は-4℃に設定したクールインキュベーター内で熟成処理した。熟成期間はチルドが28日間とし、熟成期間中、1週間毎に試料を採取した。

#### (3) 一般生菌数の測定

一般生菌数はコロニーカウティング法で測定した。熟成後の豚ロース肉の胸最長筋を切り出し、ストマッカーでホモジナイズした。その後、標準寒天培地に試料溶液を加え、37℃の好気条件下で2日間培養後、コロニー数を計測し求めた。

#### (4) 総遊離アミノ酸濃度およびアミノ酸組成の測定

総遊離アミノ酸濃度は、ピクルルスルホン酸を用いる発色法、またアミノ酸組成は高速液体クロマトグラフで分析した。試料溶液の調製は次のように行った。熟成後の豚ロース肉の胸最長筋を切り出し、4%過塩素酸溶液を加えて、ホモジナイズした。次に、これを遠心分離後、上層を採取した。この上層を1 M水酸化カリウム水溶液および0.1 M炭酸カリウム水溶液を用いて中和し、濾過後にメスアップした。

#### (5) 小片化率

熟成後の豚ロース肉の胸最長筋をホモジナイズ後、遠心分離を行い、生じた沈殿を緩衝液で溶解した。溶液をろ過後、同緩衝液で希釈し、位相差顕微鏡で筋原線維の形態を観察した。全筋原線維における1~4個のサルコメアで構成する筋原線維の割合を求め、小片化率とした。

#### (6) 組織観察

経日的にサンプリングした豚ロース肉の胸最長筋部を約1.0 cm角に切り出し、10%中性緩衝ホルマリン溶液で固定した。その後、切片を作成し、ヘマトキシリン・エオシン染色を行い、顕微鏡で観察した。

#### (7) 加熱損失

豚ロース肉の最長筋部を約5~10 gに切り出し、サンプルの重量を測定後、チャック袋へ移した。その後70℃に設定した湯浴で1時間加熱し、加熱後冷水で30分冷却した。サンプルをチャック袋より取り出し、表面の肉汁の固まり等を流水で落とし、キムタオルで表面の水分を取り除

いてから重量を測定した。加熱処理によって失われた重量を加熱損失とした。

#### (8) ドリップロス

試料到着日に熟成前のカットした状態の豚ロース肉の重量を測定した。一定期間熟成後、試料の重量を測定した。熟成によって失われた重量をドリップロスとした。

#### (9) アミノペプチダーゼH活性

##### 粗酵素液の調製

熟成後の豚ロース肉の胸最長筋を包丁で細切りし、冷0.4 M酢酸緩衝液 (pH 5.5) を加えて、ホモジナイズした。これを遠心分離後、中層を採取した。この採取した中層を粗酵素液とした。タンパク質濃度は、粗酵素液を適時希釈し、Lowry法を用いて測定した。

##### 組換え酵素の調製

ブタ由来アミノペプチダーゼHを大腸菌 KRX 株に組み込み、発現誘導を行った。アフィニティークロマトグラフィーによりアミノペプチダーゼHを精製した。

##### 活性測定

アミノペプチダーゼHの活性測定の基質として、それぞれGlu-ナフチルアミド (NA) を用いた。粗酵素液と基質を加えた反応液を+2°C、-1 および-4 で静置し、その後遊離したNAを発色し活性を求めた。

### 4. 研究成果

#### (1) 一般生菌数および総遊離アミノ酸濃度

肉類の腐敗に最も影響を与える要因として、一般生菌数が挙げられる。図1に熟成期間中の一般生菌数の変化を示した。+2 熟成では21日まで直線的な増殖が見られ、28日後では約 $10^6$ CFU/gであった。一方、同じスーパーチリングである-1 および-4 熟成との比較では、一般生菌数の増殖はほぼ同等であった。

図2に熟成期間中の総遊離アミノ酸濃度の変化を示した。総遊離アミノ酸濃度の変化は、+2 熟成で増加が速く、-1、-4 と温度が低くなるにつれて増加が緩やかになった。-4 熟成では、ほとんど総遊離アミノ酸濃度が増加しなかった。

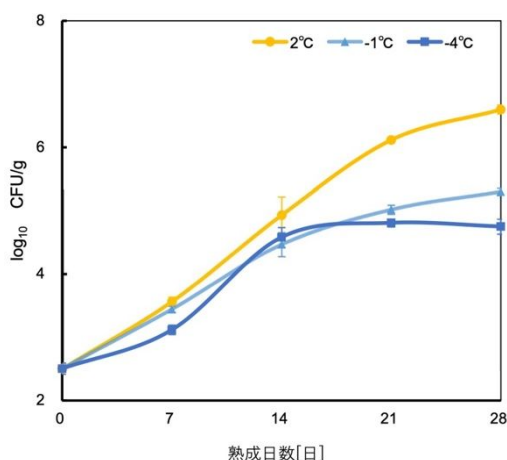


図1：熟成中の一般生菌数の変化

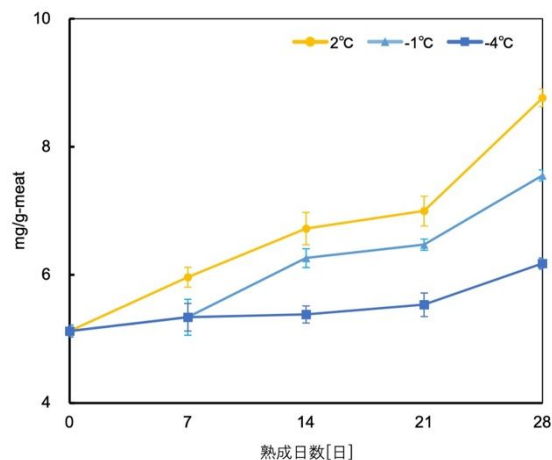


図2：熟成中の総遊離アミノ酸濃度の変化

#### (2) 小片化率および組織観察

物理的な刺激を与えることでサルコメアのZ線部分に断裂を生じさせ、その際にどの程度細かい断片が生成するのかを示したのが小片化率であり、柔らかさの指標として用いられる。図3に熟成期間中の小片化率の変化を示した。-1 熟成で小片化率の上昇が、+2 および-4 熟成と比較して、緩やかであった。

さらに筋肉組織の切片を作成し観察を行った。-1 熟成は氷結点付近のために、水分がわずかに凍ってしまうことが懸念されたが、組織像を見る限り、凍結の影響は見られなかった。一方、-4 熟成は氷結点よりも低いため、豚肉中の水分が部分的に凍結したことが影響していると考えられる損傷が見られた (データ未掲載)。

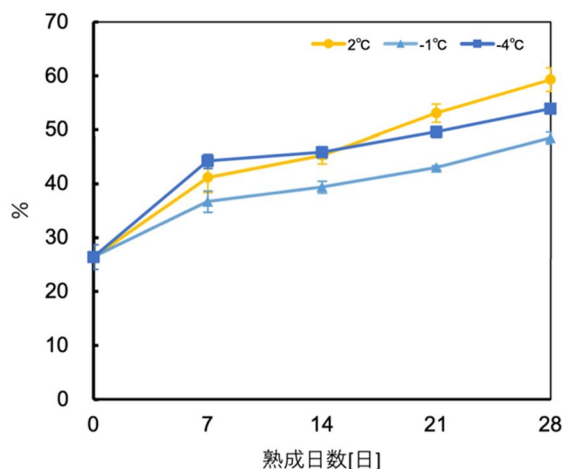


図3：熟成中の小片化率の変化

### (3) 調理特性

各温度帯で熟成した豚肉を調理した時の違いについて、加熱した際の重量変化から得られる加熱損失、熟成前後の重量変化をドリップロスとして評価した。

図4に加熱損失の変化を示した。温度帯でわずかな差はあるが、一定の傾向がみられないことから、+2、-1 および-4 熟成ともに加熱損失に大きな差はないと考えた。

図5にドリップロスの変化を示した。-1 熟成は、+2 熟成と比較して、ドリップロスが少なかった。一方、-4 熟成は、他の温度帯に比べて、ドリップロスが高かった。これは水分が部分的に凍ったことによる影響があると考えた。

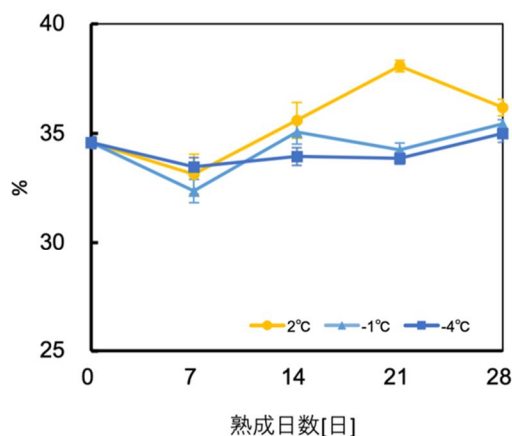


図4：熟成中の加熱損失の変化

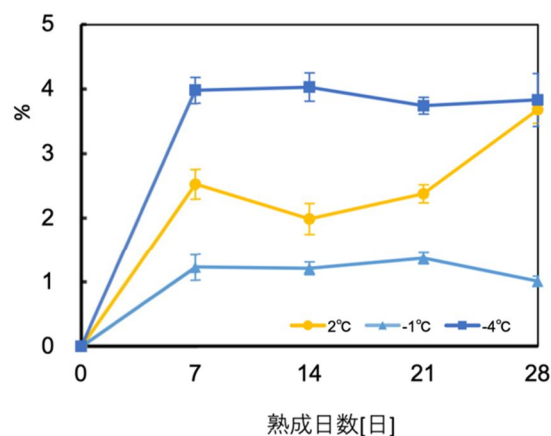


図5：熟成中のドリップロスの変化

### (4) アミノペプチダーゼH活性

熟成中にグルタミン酸を特異的に切断する酵素であるアミノペプチダーゼHに着目し、豚肉のホモジネート液および組換え酵素を用いて、低温下での酵素活性を評価した。ホモジネート液および組換え酵素のどちらにおいても、+2°C、-1 および-4 と温度が低下するにつれて活性も低下した（データ未掲載）。

以上のことから、豚肉の-1 熟成は、+2 熟成と比較して、一般生菌数の増殖を抑制することで可食期間の延長が可能、さらに-4 熟成と比較して、呈味成分である遊離アミノ酸濃度が増加およびドリップロスが低減できる特徴があることを示すことができた。

### 参考文献

- 1) 細見亮太, 福間康文, 戸田裕子, 山本夏穂, 大塚錬, 吉田宗弘, 福永健治. 氷温熟成過程での豚ロース筋肉部の遊離アミノ酸および呈味成分の変化, 氷温科学, 17, 1-6, 2015.
- 2) 細見亮太, 岸本友里恵, 福田雄一, 中村潤平, 福間康文, 吉田宗弘, 福永健治. 氷温を利用した豚肉の長期熟成処理が一般生菌数および呈味成分濃度に及ぼす影響. 氷温科学, 22, 1-6, 2021.
- 3) 中村好徳, 福間康文, 細見亮太. '氷点下の未凍結貯蔵' を用いた食肉のための可食期間延長技術 共著, 食品の冷凍・解凍技術と冷凍食品開発, NTS, pp. 275-294, 2023.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 中村好徳, 福間康文, 細見亮太, 細田謙次	4. 巻 65
2. 論文標題 牛, 豚ならびに鶏肉の凝固点に及ぼす品種, 骨格筋の種類, 栄養成分含量ならびに屠畜からの経過日数の影響	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 日本暖地畜産学会報	6. 最初と最後の頁 3-8
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.11461/jwaras.65.3	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また, その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 中村好徳, 福間康文, 細見亮太, 細田謙次.	4. 巻 65
2. 論文標題 豚肉と鶏肉の可食期間に及ぼす氷点下の未凍結貯蔵の影響	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 日本暖地畜産学会報	6. 最初と最後の頁 109-116
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.11461/jwaras.65.109	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また, その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 中村好徳, 福間康文, 細見亮太, 細田謙次
2. 発表標題 家畜・家禽骨格筋における凝固点の特徴
3. 学会等名 第38回水温研究全国大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 坂本竜也, 細見亮太, 福間康文, 吉田宗弘, 福永健治
2. 発表標題 スーパーチリング帯の異なる温度を用いた熟成が豚肉の一般生菌数および品質に与える影響
3. 学会等名 第11回低温・水温研究会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 坂本竜也, 細見亮太, 福間康文, 吉田宗弘, 福永健治.
2. 発表標題 熟成温度の違いが豚肉の一般生菌数および品質の変化に及ぼす影響
3. 学会等名 日本食品科学工学会第68回大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 坂本竜也, 細見亮太, 福間康文, 吉田宗弘, 福永健治.
2. 発表標題 豚肉の呈味成分、色調および細胞の形態に及ぼす未凍結温度を用いた熟成の影響
3. 学会等名 第十回低温・氷温研究会
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 部分執筆：中村好徳, 福間康文, 細見亮太 (堀越 智、渡辺 学 編)	4. 発行年 2023年
2. 出版社 エヌ・ティー・エス	5. 総ページ数 380
3. 書名 食品の冷凍・解凍技術と商品開発	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関