



塩漬中における肉質の変化に関する研究：特にタンパク質分解酵素 Protin P の肉質に及ぼす影響について(畜産学)

康, 宗玉

岡山, 高秀

近藤, 健次郎

(Citation)

神戸大学農学部研究報告, 14(2):405-410

(Issue Date)

1981-01-30

(Resource Type)

departmental bulletin paper

(Version)

Version of Record

(JaLCD0I)

<https://doi.org/10.24546/00227238>

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/00227238>



塩漬中における肉質の変化に関する研究

特にタンパク質分解酵素 Protin P の
肉質に及ぼす影響について

康 宗 玉*・岡 山 高 秀**・近 藤 健次郎**

(昭和55年8月11日受理)

STUDIES ON CHANGES OF MEAT QUALITY DURING CURING PROCESS

Effect of Protin P on the Quality of Meat

Jong Ok KANG, Takahide OKAYAMA and Kenjiro KONDO

Abstract

The changes in the content of total nitrogen(TN), protein nitrogen (PN), non-protein nitrogen (NPN) and amino nitrogen (AN) eluted to the various pickles from meat during curing process were investigated.

Three kinds of pickles were used in the present study : Those are distilled water, 2% sodium chloride and 2% sodium chloride containing a protease Protin P. The structural changes of muscle fiber of cured pork were also investigated by microscopy. The amount of all of the nitrogens in pickles was increased during curing process. The amounts of TN, NPN and AN in 2% sodium chloride containing Protin P were much more than those in 2% sodium chloride without Protin P and in distilled water. However, PN in 2% sodium chloride containing Protin P was lower than that in 2% sodium chloride without Protin P and in distilled water. The amount of NPN was increased with a rise in temperature.

From the observation of cross and longitudinal section of muscle tissue, the gross morphology of pork muscle fibers cured in distilled water was similar to that of untreated pork. The fibers cured in 2% sodium chloride were increased in the diameter, resulting in the close-in surrounding spaces between the fibers. On the other hand, when the pork muscle was cured in 2% sodium chloride containing Protin P, the breakdown of the fibers was observed in clear appearance, and probably caused by the enzymatic digestion.

緒 言

と殺後、肉は一旦硬直し、その後熟成に伴い軟化して同時に風味を増す。このように、肉の軟化と風味の間には正の相関があることが認められている¹⁶⁾。これまで、肉の軟化の原因を究明するいろいろの角度からの研究がなされており¹³⁾、肉中に存在するタンパク質分解酵素としては、筋漿タンパク質のほかミオシンも分解するカテプシン^{1,14)}、筋線維のZ帯に特異的に作用しトロポ

ニンC-タンパク質をも分解するCAF(Ca^{2+} -activated factor)⁴⁾、また最近ミオシンを特異的に分解する酵素¹⁰⁾などが見い出されている。

近年ハム類の製造においてピックルインジェクターが導入され、マッサージあるいはタンブラーなどの併用により塩漬工程の短縮化が実施されている。この場合、塩漬期間が著しく短かいため、前記の内因性タンパク質分解酵素のみでは十分な効果をあげることが出来ず、風味に乏しい製品が得られる傾向にある。

そこで当研究室では、短期間内で塩漬した肉製品においても風味のすぐれた製品を得る加工法を検討する目的

* 畜産製造学研究室 (現在、九州大学大学院農学研究科)

** 畜産製造学研究室

で、塩漬液にタンパク質分解酵素パパイン、プロメライン等を添加して実験を行なったが、苦味の発生あるいは塩漬後の加熱工程を経ても、なお酵素の活性が維持される等満足すべき結果が得られなかった^{6, 11)}。

そこで今回、広く食品工業に用いられている無臭でしかも肉製品の通常の湯煮処理で完全に失活する性質を有する中性プロテアーゼ Protin P を塩漬液に加え、筋肉から遊離する各態窒素量の経時的变化ならびに筋肉組織の形態的観察を通じて、タンパク質分解酵素、特に Protin P の短期間塩漬における効果的有用性につき検討した。

材料および方法

1. 供試肉と塩漬液

市販の豚背ロース (*Longissimus thoracis*) 40 g (厚さ 2 cm, 角 5 cm) を 200 ml 容のビーカーに入れ、肉の重量の 2 倍量の塩漬液を加えて塩漬を行なった。塩漬液としては、2% 食塩溶液及び中性プロテアーゼ Protin P (PC-10) を含む 2% 食塩溶液を用いた。対照としては蒸留水を用いた。Protin P の濃度は 100, 300 及び 500 Protin units/ml (Pu/ml) の 3 段階とした。Protin P は大和化成株式会社(大阪)より提供された。なお、その酵素の力価はカゼイン消化力価測定法を用い、波長 275 nm での吸光度を測定し、得られた検量曲線 (Fig. 1) から 188 units/mg と計算された。Protin P の至適 pH は 6.0~8.0, 安定 pH は 5.0~8.0 であり、最適温度は 50~55°C である³⁾。

塩漬は通常 20°C で行なった。温度の影響を検討する実験においては、3°C では 2% 食塩溶液単独の効果を、40°C と 70°C では 2% 食塩溶液と Protin P を含む 2% 食塩溶液の効果を比較検討した。塩漬液中の pH は塩漬前の

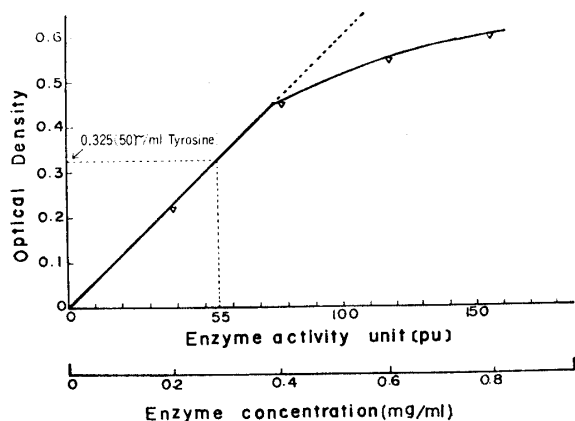


Fig. 1. The standard curve of Protin P by casein-275 nm method.

供試肉の pH とほとんど同じで、その pH の範囲は 5.3 から 6.4 であった。

2. 窒素の定量

窒素の分析はケルダール法で行なった¹⁹⁾。塩漬液中の全窒素 (TN), タンパク態窒素 (PN), 非タンパク態窒素 (NPN) 及びアミノ態窒素 (AN) 量を定量し、それぞれ mg/100 ml で表示した。TN は塩漬液を東洋口紙 No. 5 C でろ過し、そのろ液 10 ml 中の窒素量を定量した。PN はろ液 10 ml に等量の氷冷 10% トリクロル酢酸溶液を加えタンパク質を沈殿させたのち、東洋口紙 No. 5 C でろ過した。この時得られたろ紙上の沈殿物を PN, ろ液の方を AN とした。TN, PN はケルダール法により、AN はゼーレンゼンのホルモン滴定法で行なった¹⁷⁾。NPN は TN から PN を差し引いて求めた。実験は同一材料につき 2 回行ない、その平均値で示した。

3. 組織検索

試料の固定ならびに染色は常法によった⁷⁾。すなわち、厚さ 1~2 cm に切断した試料をホルマリンで固定しエタノールを用い脱水してパラフィン包埋後、厚さ 10 μ の切片を調製した。ヘマトキシリン・エオジンで 2 重染色した後、得られた鏡検用切片につき、光学顕微鏡を用いて倍率 10 $\times$ 10 で組織検索を行なった。

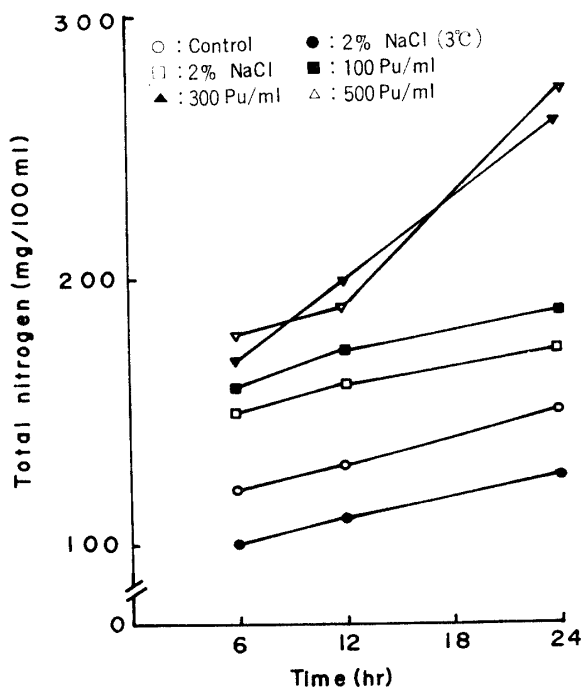


Fig. 2. Changes in the content of total nitrogen in distilled water, 2% sodium chloride and 2% sodium chloride containing Protin P used for curing pork muscle (*Muscular longissimus thoracis*) at 20°C.

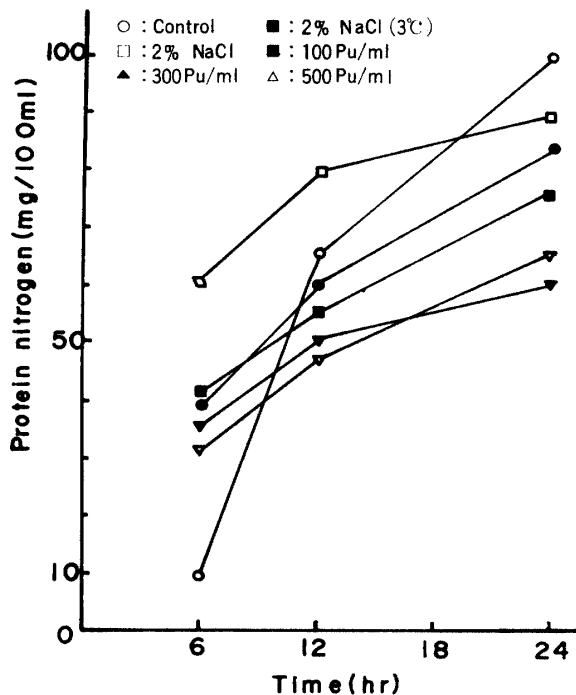


Fig. 3. Changes in the content of protein nitrogen in distilled water, 2% sodium chloride and 2% sodium chloride containing Protin P used for curing pork muscle (*Muscular longissimus thoracis*) at 20°C.

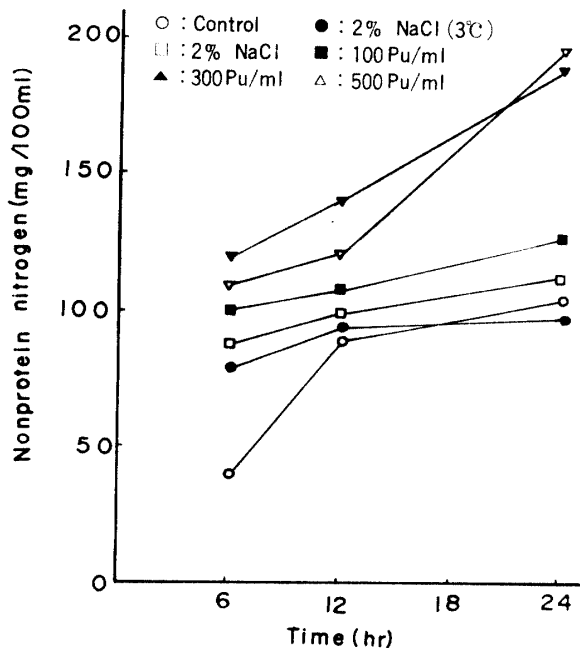


Fig. 4. Changes in the content of non-protein nitrogen in distilled water, 2% sodium chloride and 2% sodium chloride containing Protin P used for curing pork muscle (*Muscular longissimus thoracis*) at 20°C.

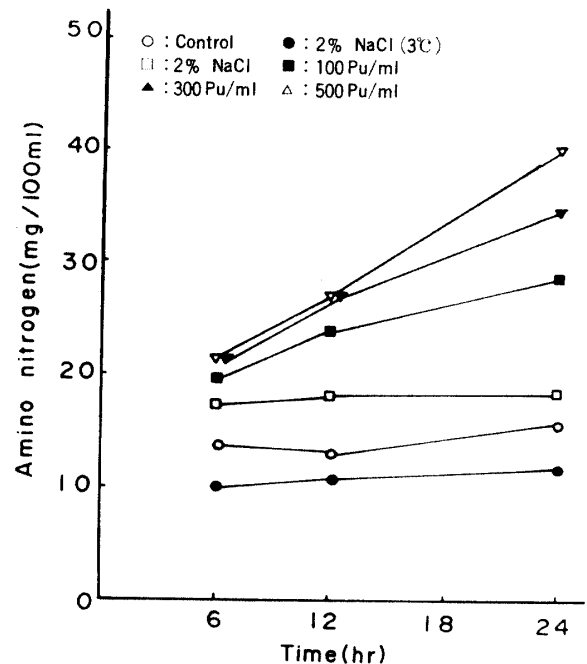


Fig. 5. Changes in the content of amino nitrogen in distilled water, 2% sodium chloride and 2% sodium chloride containing Protin P used for curing pork muscle (*Muscular longissimus thoracis*) at 20°C.

結果と考察

1. 塩漬液中の窒素量

Fig. 2~5 に示したように, TN, NPN及びAN量は蒸留水, 2%食塩溶液, Protin Pを含む2%食塩溶液のいずれの塩漬液の場合でも6時間, 12時間, 24時間と塩漬時間が経過するにつれ増加した。TN, NPN及びANの溶出量については蒸留水と3℃の2%食塩溶液間では顕著な差異は認められなかったが, Protin Pを含む2%食塩溶液中には前二者よりも多く溶出された。PN量についてもTN, NPN及びANの場合と同様に経時的にその量は増加した。しかし, その溶出量はTN, NPN及びANの場合と異なり, 24時間後の蒸留水区で最も多く, ついで2%食塩溶液中, Protin Pを含む食塩溶液中の順序となった。したがって, TNの増加はNPNによるものであること, また, Protin PはPNを分解しANを増加させることが明らかにされた。

2. 水溶液中の窒素量

蒸留水中に浸漬した場合でもかなりのタンパク質が液中に溶出され, 同時に浸漬中肉色が淡くなるのが観察されたが, これは筋漿中のミオグロビン, ヘモグロビン等の色素タンパク質やその他の水溶性タンパク質の溶出によるものであろうと考えられる。しかし, 浸漬液中の肉

Table 1. The amount of total nitrogen, protein nitrogen, non-protein nitrogen and amino nitrogen in pickles during curing process at 40°C (a) and 70°C (b).

(a)					(mg N/100ml)
Nitrogen	2% NaCl	Protin P 100 Pu/ml			
		Time(hr)			
		6	12	6	12
T N	200.4	230.5	268.3	373.6	
P N	102.6	95.1	72.5	72.5	
N P N	97.8	135.4	195.7	310.1	
A N	8	12	25	70	

(b)					
Nitrogen	2% NaCl	Protin P 100 Pu/ml			
		Time(hr)			
		2	4	2	4
T N	140.2	185.4	223.0	287.0	
P N	27.3	49.9	49.9	54.4	
N P N	112.9	135.4	173.1	229.5	
A N	10	15	20	20	

の赤色度は蒸留水処理区で最も大であり、次いで2%食塩溶液、Protin P を含む2%食塩溶液であった。

肉の熟成中あるいは凍結貯蔵中にみられる水溶性タンパク質の変化の30%はアミノ酸と低分子量のペプチドの変化に起因するといわれている⁸⁾。Fig. 2~5 に示した蒸留水中の窒素量の増加は、塩漬の初期段階から筋漿中の水溶性タンパク質が溶出されることを示唆している。

3. 高温下での窒素量の変化

Table 1 に示したように、40°Cと70°Cの高温下では2%食塩溶液の場合より Protin P を含む食塩溶液中で T N, N P N 及び A N 量が急増した。しかし40°Cにおける P N 量は20°Cで塩漬した場合に溶出される P N 量と同様に Protin P を含む2%食塩溶液の方が低かったが、70°Cでは Protin P を含む2%食塩溶液の方が大であった。40°Cに比べると低い値が得られたが、経時的に減少の傾向は示さなかった。このことは Protin P の最適温度である50~55°Cを越える高温下における Protin P の失活によるものであろうと推察された。タンパク質分解酵素パパインの場合、KANG (1974)⁵⁾、TAPPEL (1956)¹⁸⁾らは室温より、40°C、60°Cで酵素活性が高く、加水分解速度も大であったと報告している。このようなタンパク質分解酵素の作用はそれぞれの酵素の持つ最適温度に依存するものであろう。

T NとN P N量の増加は、一般にタンパク質またはペプチドの分解によるものである。筋肉中においては筋原線維そのものの貯蔵中における加水分解は少なく、大部分のN P Nの増加は筋漿タンパク質の分解によるものであるといわれている^{2,12,15)}。WEIR (1958)²⁰⁾らはN P N量は20°Cで12時間まで増加し、24時間では減少すると報告している。このような傾向を示すのは筋肉の硬直のためであり、72時間から312時間にかけてのN P N量の著しい増加は微生物の影響によるものと LOCKER (1960)⁹⁾らは述べている。

本研究で塩漬に用いた Protin P を含む2%食塩溶液の場合は、タンパク質分解酵素により筋漿タンパク質をはじめ筋原線維及び結合組織のタンパク質が一部分解されたものと考えられる。

4. 塩漬処理した肉の組織

Fig. 6 及び 7 は蒸留水、2%食塩溶液と Protin P を含む2%食塩溶液で処理した肉の横断面と縦断面組織像をそれぞれ示している。蒸留水に浸漬した肉中の筋線維はその太さや形がある程度一様であるが(Fig. 7a)、2%食塩溶液で塩漬した肉の筋線維には線維間の結合組織の減少が認められ、筋線維の直径が大きくなった (Fig. 6b, 7b)。Fig. 6c に示したように Protin P を含む2%食塩溶液で塩漬した肉の筋線維は前二者の場合より、線維間結合組織層が非常に薄くなっていた。また Protin P を含む2%食塩溶液で塩漬した肉の筋線維は切断され短くなっているのが観察された。これに対し、蒸留水に浸漬した肉と2%食塩溶液で塩漬した肉の筋線維には、切断は認められなかった (Fig. 7a, 7b)。

本研究では、塩漬に際し、タンパク質分解酵素を添加することにより塩漬操作中短時間内に塩漬液へ溶出される非タンパク態窒素量を増大させ、筋線維を切断することが出来ることを明らかにしたが、このことは、タンパク質分解酵素の利用により、塩漬中の肉の軟化及び塩漬時間の短縮化の可能性を示唆するとともに、老廃牛、その他低品質の硬い肉の有効利用に寄与する可能性を示すものと考えられる。

要 約

軟化剤として食品工業に使用されているタンパク質分解酵素 Protin P の塩漬中における肉質に及ぼす影響を検討する目的で、塩漬液中の窒素量の変化、すなわち、熟成中塩漬液に溶出される全窒素(T N)、タンパク態窒素(P N)、非タンパク態窒素(N P N)及びアミノ態窒素(A N)の量的変化の測定と塩漬豚肉の組織変化の観察を行なった。その結果は、次の通りである。

1. 塩漬液中のTN量は Protin P を添加した塩漬液で一番多く、次いで2%食塩、蒸留水処理区の順であり、それぞれ塩漬時間が経過するにつれて増加した。

2. 塩漬中のTN量の増加に伴い、PN、NPN及びANも増加した。しかし Protin P 処理区においては蒸留水処理区、2%食塩溶液処理区に比べ、PNの溶出量が少なかった。このPN溶出量の低下とは対照的にAN量は逆に増加した。したがって、TNの増加はNPNの増加に起因するものであろうと推察された。

3. 2%食塩のみで処理した場合とそれに Protin P を加えた場合、40°C、70°Cの高温条件下においては、2%食塩溶液に溶出される窒素量は3°C及び20°Cの場合より多かった。また、Protin P を含む2%食塩溶液の場合には2%食塩溶液の場合よりも溶出される窒素量がさらに増加した。

4. 塩漬豚肉の組織から、蒸留水処理区の筋線維は太さ、形がある程度一様であったが、2%食塩処理区の筋線維は前者より間隙が狭くなり、筋線維の直径が大きくなった。また Protin P 処理区の筋線維は酵素作用によるものと考えられる筋線維の切断が明確に認められた。

文 献

- 1) ARAKAWA, N., S. TSUJIKI, L. INAGAKI and M. FUJIMAKI : *Agric. Biol. Chem.*, **40**, 1265-1267, 1976.
- 2) BODWELL, C. F. and A. M. PEARSON : *J. Food Sci.*, **29**, 602-607, 1964.
- 3) 大和化成技術レポート, **13**, Aug. 1962.
- 4) DAYTON, W. R., D. E. GOLL, M. G. ZECHE, P. M. ROBSON and W. L. REVILLE : *Biochemistry*, **15**, 2150-2167, 1976.
- 5) KANG, C. K. and W. D. WARNER : *J. Food Sci.*, **39**, 812-818, 1974.
- 6) 川手康二 : 神大農研究論文, 1973.
- 7) 木村良順 : 病材料検査法, 南山堂, 1948.
- 8) KRONMAN, M. J. and R. J. WINTERBOTTOM : *J. Agric. Food Chem.*, **8**, 67-71, 1960.
- 9) LOCKER, R. H. : *J. Sci. Food Agric.*, **11**, 520-526, 1960.
- 10) MURAKAMI, U. and K. UCHIDA : *Biochem. Biophys. Acta*, **525**, 219-229, 1978.
- 11) 大野龍二 : 神大農研究論文, 1975.
- 12) PARRISH, F. C., D. E. GOLL, W. J. NEWCOMB, B. O. LUMEN, H. M. CHAUDHRY and E. A. KLINE : *J. Food Sci.*, **34**, 196-202, 1969.
- 13) PENNY, I. F. : In *Developments in Meat Science-1*, Edited by R. LAWRIE, 115-139, Applied Science Publishers, London, 1980.
- 14) SCHWARTZ, W. N. and J. W. C. BIRD : *Biochem. J.*, **167**, 811-820, 1977.
- 15) SHARP, J. G. : *J. Sci. Food Agric.*, **14**, 468-479, 1963.
- 16) SMALLINGS, J. B., J. D. KEMP, J. D. FOX and W. G. MOODY : *J. Anim. Sci.*, **32**, 1107-1112, 1971.
- 17) SØRENSEN, S. P. L. : *Z. Physiol. Chem.*, **64**, 120, 1910.
- 18) TAPPEL, A. L., D. S. MIYADA, L. STERING and V. P. MAIER : *Food Res.*, **21**, 375-383, 1956.
- 19) 東大・農化研究室 : 実験農芸化学 (上巻), 朝倉書店, 116-122, 1961.
- 20) WEIR, C. E., H. WANG, M. L. BRIKNER : *Food Res.*, **23**, 411-422, 1958.
- 21) YASOGAWA, N., Y. SANADA and N. KATSUNUMA : *J. Biochem.*, **83**, 1355-1360, 1978.

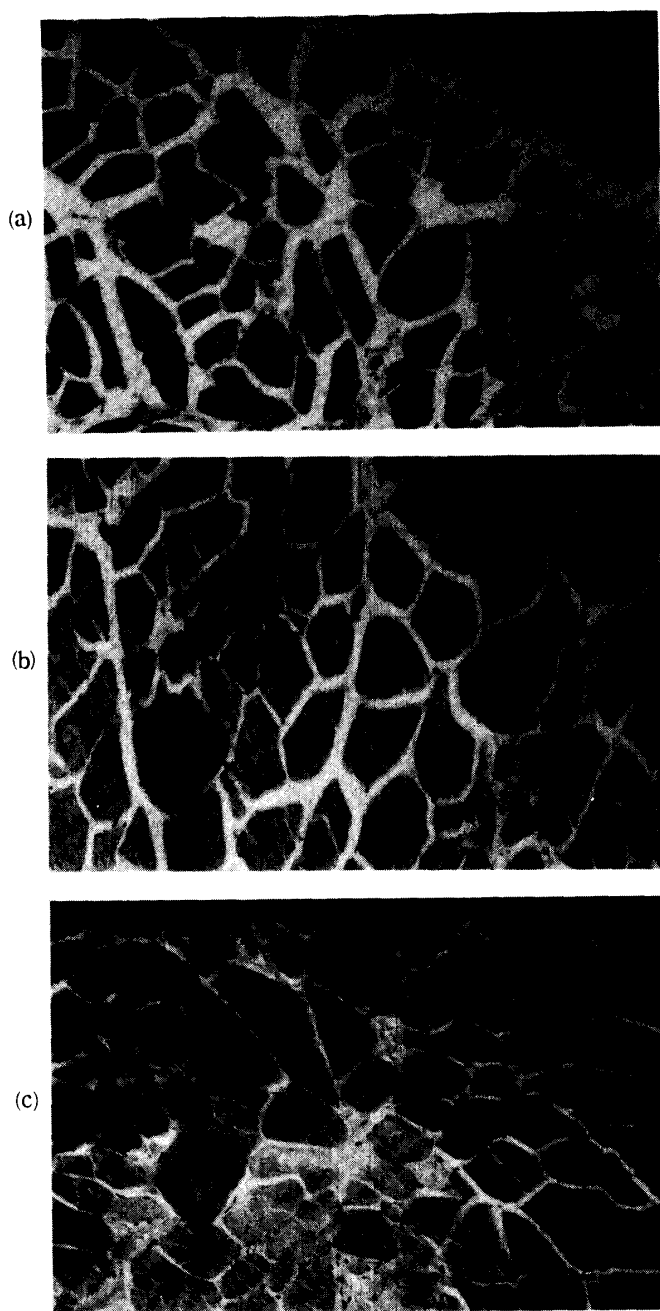


Fig. 6. Cross-section of muscle fibers immersed in distilled water, 2% sodium chloride and 2% sodium chloride containing Protin P. a : After immersion in distilled water for 24 hours at 20°C. b : After immersion in 2% sodium chloride for 24 hours at 3°C. c : After immersion in 2% sodium chloride containing Protin P (300 Pu/ml) for 24 hours at 20°C. (Magnification $\times 100$)

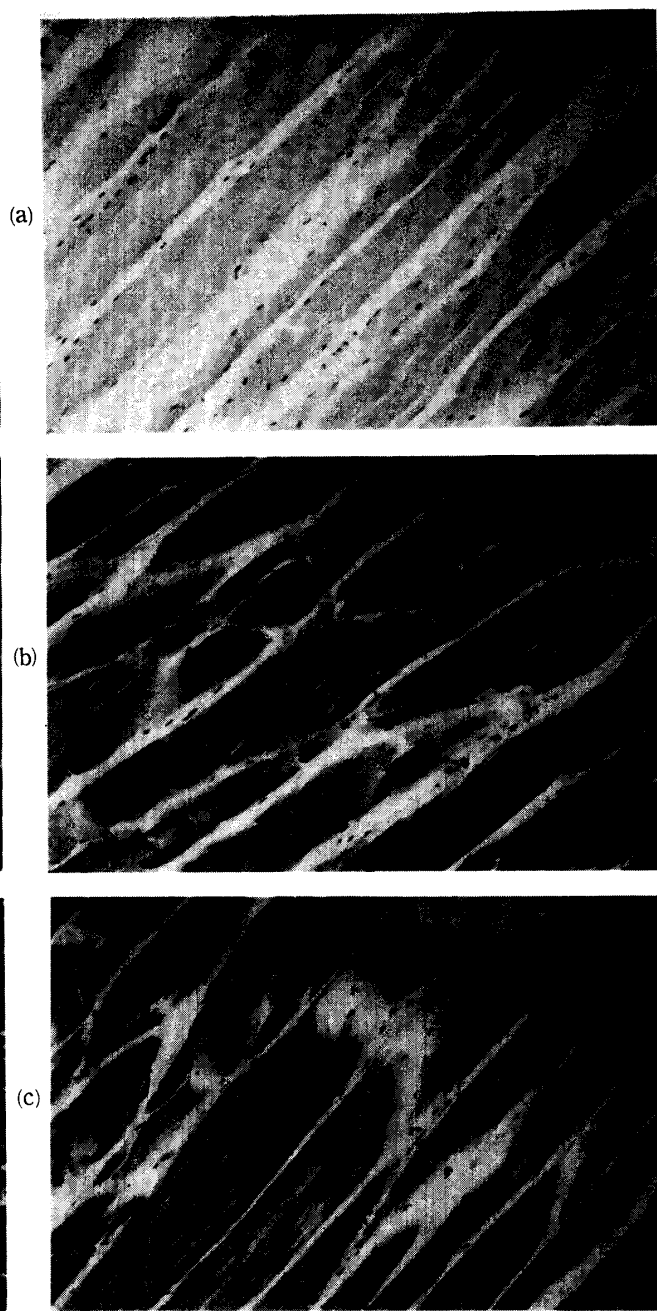


Fig. 7. Longitudinal-section of muscle fibers immersed in distilled water, 2% sodium chloride and 2% sodium chloride containing Protin P. a : After immersion in distilled water for 12 hours at 20°C. b : After immersion in 2% sodium chloride for 12 hours at 20°C. c : After immersion in 2% sodium chloride containing Protin P (500 Pu/ml) for 12 hours at 20°C. (Magnification $\times 100$)