

# 豚肉の凍結：塩可溶性窒素の抽出性に対する 熟成、凍結および解凍法の影響

大高文男・永山精美・岡田邦夫\*

## Freezing of Pork: Influence of Aging Time, Freezing Rate, and Thawing Method on Extractability of Salt-Soluble Nitrogen

FUMIO OHTAKA, KIYOMI NAGAYAMA and KUNIO OKADA\*

凍結肉の品質特性は、貯蔵および解凍など、一連の処理工程間で、様々な影響を受けて変化する。それら一連の処理が、肉質に対してどのように影響するかについては、古くから、単離、精製したたん白質や酵素を用い、肉中に起る複雑な要因を単純化することによって、その変性要因や機構解明のための研究が行われ、多くの成果が得られている<sup>1)</sup>。著者らも、豚肉ミオシンBの変性に対する冷凍温度の影響について、前に報告した<sup>2)</sup>。しかし、実際の肉組織系では、凍結前の肉の履歴、凍結および解凍法などの各種要因によって肉質への影響が、より複雑になるためか、抽出たん白質を用いたモデルシステム中での反応が、必ずしも対応しない場合も多い<sup>1)</sup>。それゆえ、肉組織それ自体を試料とした、より多くの研究例が必要となってくる。

著者らは、凍結豚肉の品質に対する各種要因の影響を知るために、まず熟成度の異なる原料肉を用いて、凍結速度および解凍法の単独または、相乗的效果について検討することとした。今回は、塩可溶性窒素の抽出性に対する前記要因の影響について、小肉片を用いて実験した結果を報告する。

### 実験方法および材料

#### 1. 試料肉

約90Kgの成豚をと殺後、すぐに解体し、両側の背最

長筋(LD筋と略す)をとり出した。脂肪組織をできるだけ取り除き、約2×3×4cm角に切り、それぞれサランフィルムに包み、さらにポリエチレン袋に入れて、使用時まで4°Cの冷室に保存した。

#### 2. 凍結法

前記の試料肉を、ドライアイス・アセトン液中にて、中心温度が-20°Cまで急速に凍結する方法を急速凍結法(R法と略す)とした。また、試料肉を-20°Cの冷凍庫に入れて凍結する方法を緩慢凍結法(S法と略す)とした。凍結した肉片は、いずれも実験に供するまで、-20°Cの冷凍庫に保存した。なお、前記の試料肉をR法で凍結した場合、0°Cまで約2.5分、0~-5°Cの間が約1分、さらに-20°Cまで約30秒、合計約4分間を要した。また、S法では、それぞれ、約2、4および14時間、計約20時間を要した。

#### 3. 解凍法および試料ひき肉の調製

抽出用の試料ひき肉の調製に際しては、凍結肉片を、4°Cの冷蔵庫で一夜解凍してから、ドライアイス粉末とともに、ブレンダー中で細切混合してひき肉とする方法(D法と略す)、および凍結肉片をそのまま直接ブレンダーで細切混合して、ひき肉とし、その間、同時に解凍もおわらせる方法(F法と略す)の二つの方法を用いた。

#### 4. 塩可溶性窒素量の測定

Awadらの方法<sup>3)</sup>を参照して以下のように実施した。試料肉5gを塩化カリ・リン酸塩緩衝液(pH 7.2,  $\mu = 1.0$ )100mlとともに3分間均質化後、さらに1時間攪拌抽出した。次に1500×Gで20分間冷却遠心分

\*現在、明治ケンコーハム株式会社研究室

(Meiji-kenko Ham Co., Ltd.)

静岡県三島市 (Mishima, Shizuoka pref.)

離し(0°C)、上澄液の全窒素量を測定して、高イオン強度塩溶液による全抽出性窒素(TENと略す)区分とした。非たん白態窒素(NPNと略す)区分は、前記上澄液に、同量の20%三塩化酢酸(TCAと略す)溶液を加え、60分後にろ過し、そのろ液の窒素量を測定した。また、TEN区分を脱イオン水で4倍容( $\mu = 0.25$ )に希釈して得られる浮遊物を約16時間静置後、2100×Gで30分間冷却遠心分離した。得られた沈でん物は、再び塩化カリ溶液に溶解し、再び希釈して沈でんさせる精製操作を2回くりかえした。この区分をミオシンB区分として、その窒素量を測定した(MBNと略す)。

低イオン強度抽出性窒素(SPNと略す)区分は、次のように測定した。試料肉5gに塩化カリ・リン酸緩衝液(pH 7.2,  $\mu = 0.05$ )を100ml加え、3分間均質化後、さらに1時間攪拌抽出した。この時の懸濁液を1500×Gで20分間冷却遠心分離して上澄を得た。残渣は、さらに2回同様に抽出し、これらの上澄液を合わせて一定容とし、その窒素量を測定した。

窒素の測定はケルダール法により、また抽出その他の操作は4°Cの冷室で行った。

実験結果および考察

と殺後の経過日数の異なる肉片、すなわちと殺日のもの(死後8時間目, 0日肉と略す)、1日目のもの(2~4°Cで24時間経過, 1日肉と略す)、および6日目(2~4°Cで6日間経過, 6日肉と略す)をそれぞれ2区分し、RおよびS法により凍結し、-20°Cにおいた。2日後、前記RおよびS法凍結区をさらに、それぞれ2区分し、各区からランダムに5個の肉片をとり出し、それぞれFおよびD法で解凍し、ひき肉とした。合計12試験区の試料ひき肉について、調製後直ちに塩可溶性窒素を抽出した。従って、解凍に時間を要するD法の試料肉では、F法で解凍したものよりも約12時間おくれて抽出されたことになる。

解凍後の各試料肉のPHならびにTEN, MBN, NPN, およびSPN各区分の窒素量を第1表に示した。

Table 1. Influence of aging time, freezing rate, and thawing method on extractability of salt-soluble nitrogen in frozen pork

Aging time (days)	Freezing rate	Thawing method	Total N (%)	Extractable nitrogen ( $\mu = 1.0$ ) (per cent of TN)				SPN <sup>5)</sup>	
				TEN <sup>1)</sup>	MBN <sup>2)</sup>	NPN <sup>3)</sup>	TEN-NPN <sup>4)</sup>	(% of TN)	P <sup>H</sup>
0	R <sup>6)</sup>	F <sup>8)</sup>	3.56	50.28	8.91	11.49	38.79	36.22	5.60
		D <sup>9)</sup>	3.64	42.20	6.52	10.18	32.02	29.34	5.32
		S <sup>7)</sup>	3.61	44.72	8.17	9.44	35.28	36.13	5.60
	S	D	3.65	43.60	9.87	10.11	33.49	35.60	5.50
		F	3.61	56.45	11.50	10.88	45.57	33.59	5.52
		D	3.58	45.69	9.97	9.62	36.07	35.59	5.48
1	R	F	3.52	51.85	11.41	11.74	40.11	35.77	5.52
		D	3.50	44.42	11.11	8.40	33.31	36.62	5.50
		S	3.62	51.09	13.28	11.68	39.41	34.49	5.48
	S	D	3.62	46.11	11.37	10.02	36.09	33.37	5.42
		F	3.33	42.58	9.85	9.14	33.44	35.62	5.50
		D	3.64	52.60	12.19	12.60	40.00	34.53	5.48

- 1) TEN: Total extractable nitrogen    2) MBN: Myosin B nitrogen    3) NPN: Non protein nitrogen
- 4) TEN-NPN: Total extractable nitrogen minus non protein nitrogen
- 5) SPN: Sarcoplasmic fraction nitrogen    6) R: Freezing in dry-ice acetone
- 7) S: Freezing in a freezer at -20°C    8) F: Blending pork directly from frozen state
- 9) D: Blending pork after thawing for about 12 hours at 2~4°C

Table 2. Analysis of variance: Effect of aging time, freezing rate, and thawing method

Factor	df	Mean square			
		TEN	MBN	NPN	SPN
Aging time(A)	2	20.0237	12.1970**	0.5460	1.3129
Freezing rate(B)	1	12.1002	0.0918	0.4961	11.3490
Thawing method(C)	1	41.6268	0.3640	0.9861	3.8190
A×B	2	0.9352	1.7948	0.3301	1.0275
A×C	2	3.43012	0.3192	2.6081	6.5796
B×C	1	53.2986*	7.6320**	2.1000	2.2794
Error		8.9169	0.2190	3.2576	4.0660

\* Significant at the 5% level

\*\* Significant at the 1% level

これらの値は，2回平行して分析したものの平均値で示してある。この結果を統計処理して得られた数値は第2表に示す通りであった。

TEN量は，1日肉で他の肉の場合よりもやや高いようであったが，統計的にみた場合，熟成要因の影響は認められなかった。

藤巻<sup>4)</sup>は，豚肉の塩可溶性たん白質が死後8時間から1日までの間に低下すると報告している。またMcintosh<sup>5)</sup>は，同じく豚肉について，その抽出性をと殺後30分，24時間および4日目(4°C)に比較し，24時間目のものが最低であったと報告している。本実験の1日肉は，と殺後24時間経過したものに，さらに凍結，貯蔵および解凍操作などに伴う時間的経過が加わっているので，実際には，それ以上の熟成度のもと考えられ，藤巻<sup>4)</sup>やMcintosh<sup>5)</sup>の報告した生肉とは直接比較することはできないが，本実験の場合，熟成度の違いによって，有意に低いとか，または高いという結果は得られなかった。

一方，MBN量は，凍結前の熟成に伴って増加する傾向が認められた( $P < 0.01$ )。生肉の場合，MBN量は死後漸増することが牛肉について報告されている<sup>5,6)</sup>。また，豚肉を用いた実験で，死後にやや高く，ついで急減し，そして再び漸増することが報告されている<sup>6)</sup>。本実験においては，凍結肉の解凍後のMBN量が，凍結前の原料肉の熟成度に関係していることが示された。一方凍結一解凍後のNPN，およびSPN量は，凍結前の熟成度の違いによって，有意の差が認められなかった。

つぎに，凍結および解凍法の違いによる塩可溶性窒素の抽出性をみると，TEN，MBN，NPNおよびSPN量は，それぞれ凍結速度(RとS法との間)，ならびに解凍法(FとD法との間)の要因による有意の差は認められなかった。

Love<sup>7)</sup>によれば，凍結速度の違いは，肉たん白質の抽出性に対してそれ程影響しないという。また，斉藤ら<sup>8)</sup>は豚カット肉について実験し，その肉質に対する凍結速度の影響は明らかでないとしている。本実験の場合も熟成度の異なる肉について，凍結速度および解凍法をかえて実験したが，それらの間の抽出性窒素量に有意の差は認められなかった。しかし，両要因を組合せた場合の交互作用は，TENおよびMBNの抽出性に対して有意の影響を与えるという結果が得られた。特に，R-F区ではTENならびにMBNの抽出性が，他の組合せ区，すなわち，R-D区，S-F区およびS-D区よりも高かった。このことは，原料肉を急速に凍結し，凍結したまま細切解凍した肉の塩可溶性たん白質の抽出性が良いことを示している。最近，ソーセージ製造時のカッティングに凍結肉片をそのまま用いる方法が，ドイツその他の食肉工場で行われているという。たん白質の抽出性の良否が原料肉や肉製品の評価<sup>9)</sup>とも関連することを考えれば，このようなカッティング処理の，ソーセージ製造上における意義とも考え合わせて興味ある問題である。

以上のことからすると，凍結前の原料肉の熟成度は，凍結肉の塩可溶性窒素の抽出性に影響することが認めら

れたが、凍結の速度および解凍法が異なっても塩可溶性窒素の抽出性に対して余り影響せず、両者の交互作用のみが有意に影響するという結果が得られた。今回の実験では、肉の塩可溶性窒素の抽出性を一つの指標として、凍結肉の品質に対する各種要因の影響について検討したが、これを手がかりとして、さらに抽出性窒素区分の内容をより詳細にし、酵素活性等との関係、またより実際的な肉質評価法なども併用し今後検討を加えたい。

## 要 約

豚の背最長筋肉片の塩可溶性窒素の抽出性に対する原料肉の熟成度、凍結速度および解凍法の影響について実験した。塩可溶性窒素区分の抽出には、pH 7.2のNa-Phosphate-KCl緩衝液(イオン強度:1.0および0.05)を用いた。

凍結肉の塩可溶性窒素量は、凍結の速度の違い、もしくは、解凍の方法をかえても有意の差が認められなかった。しかし、原料肉の熟成度の違いによつて、ミオンBの抽出性は有意に影響された。すなわち、熟成の時間をより長くして凍結すると、ミオンBの抽出性がより高くなった。凍結し解凍した肉の塩可溶性全窒素の抽出性、ならびにミオンB区分の抽出性に対する凍結速度と解凍法との組み合わせ効果は有意であった。

本報告は、文部省科学研究費(昭和50年度、課題番号:673-056030)の援助によつたものである。本研究を進めるに際し、御助言をいただいた玉手六朗博士に感謝致します。

## 文 献

- 1) 安井 勉:日本食品工業学会第15回シンポジウム講演集, p.44, (1968)
- 2) 大高文男・永山精美・雨谷 厚:茨大農学術報告, 21, 21 (1973)
- 3) Awad, A., W.D.Powre and O.Fennema: J.Food Sci., 33, 227 (1968)
- 4) 藤巻正生:農化, 32, 689 (1958)
- 5) Mcintosh, E.N.: J.Food Sci., 32, 208 (1967)
- 6) 藤巻正生・中島 裕:農化, 32,695 (1958)
- 7) Love, R. and W.J.Stadelman: J.Food Sci., 35, 229 (1970)
- 8) 斉藤不二男・山本藤五郎・安藤四郎・池田敏雄・西尾重光:農林水産加工に関する研究集録, p.675 (1965)
- 9) 橋本吉雄:畜肉の科学と製造, p.149, (1969) 養賢堂

## Summary

The present study was undertaken to investigate the effects of aging time, freezing rate, and thawing method on extractability of salt-soluble nitrogen from porcine LD muscle and whether the combined effects of the variables would be expected. The extraction was KCl in phosphate buffer at pH 7.2 and ionic strength 1.0, and 0.05.

No significant differences between freezing rates (rapid freezing with dry-ice acetone and slow freezing in a freezer at  $-20^{\circ}\text{C}$ ) or between thawing methods (rapid thawing by blending pork directly from the frozen state and slow thawing in a refrigerator at  $4^{\circ}\text{C}$  for about 12 hr.) were found for any parameter. But, for aging, significant differences were found for extractability of myosin B fraction, the longer aging time showing slightly higher myosin B nitrogen content. A significant interaction between freezing rate and thawing method was also noted for total extractable ( $\mu=1.0$ ) and myosin B nitrogen content.