

経産牛を活用した高付加価値食肉生産技術の確立

(3) カビ付き熟成が旨味成分および物理特性に与える影響

安里直和 下地秀作* 津嘉山勤子* 大城隼人*
花ヶ崎敬資** 荷川取秀樹

I 要 約

カビ付き熟成が黒毛和種経産牛の旨味成分や物理特性に与える影響について検討したところ以下のとおりであった。

1. カビ付き熟成によって水分含量の低下が抑えられ、熟成中、肉表面の硬化が抑制できた。
2. カビ付き熟成によって甘味系アミノ酸、旨味系アミノ酸、苦味系アミノ酸の増加が認められ、総遊離アミノ酸については顕著な増加が認められた。
3. カビ付き熟成によってオレイン酸含量の増加が認められた。
4. 熟成肉に見られる破断応力の低下は、咀嚼前半の応力の低下では無く、咀嚼後半の応力の低下に起因することが明らかとなった。

以上の結果より、経産牛をカビ付きで熟成させることによって、柔らかく、旨味成分に富んだドライエイジングビーフを生産することができた。

II 緒 言

牛肉の評価はおもに、筋肉中の脂肪交雑（霜降り）の入り具合によって判断され、各県においては脂肪交雑の改良に焦点を当てた研究がなされてきた。しかしながら近年、健康ブームや食に対する多様性などを背景に、脂身の少ない赤身肉に対する需要が高まりつつある。黒毛和種の経産牛¹⁾、ホルスタイン種²⁾、褐毛和種³⁾などを活用した赤身主体で、かつ、付加価値の高い食肉生産技術の取り組みがなされている。その中で経産牛については、脂肪が少なく肉本来の旨味があるなどの利点があるが、一般的な肥育牛と比較し、脂肪含量が低く、硬く、ジューシーさに欠けるなどの欠点がある。

と畜後の牛肉については2日程度で死後硬直が起こり、その後、軟化を経て熟成が始まる。通常、牛肉については、と畜後一週間程度の熟成期間が設けられその後、流通・販売される。ドライエイジングは、と畜後の肉を真空パックせずに、一定の温度および湿度のもと、長期間熟成する手法である。熟成の過程において、筋繊維のタンパク質や結合組織等が分解され、柔らかさやアミノ酸等の食味が向上し⁴⁾、また、熟成にともない独特の香り等が付加されることが報告されている⁵⁾。しかし、熟成の過程において水分の蒸発に伴う肉表面の変性等が発生するため、可食部の歩留まりが低下するなどのマイナスの面も存在する。

本研究センターでは経産牛をカビ無しで気流のみで熟成させることによって、旨味成分が増加し破断応力等の物理特性が改善されることを確認し、経産牛の高付加価値化への可能性を見いだした⁶⁾。いっぽう、県内企業においてカビ付きの熟成によって経産牛を活用する事例が見られ、また、（公財）沖縄県畜産振興公社においては、カビ付き熟成による県産経産牛の付加価値化に向けて、「まーさん熟成肉」の製造技術の確立およびブランド化に取り組んでいる。しかし、本県においてカビ付き熟成が経産牛の旨味成分や理化学特性に与える効果について検討した報告は少なく、特に大型熟成庫を用いた実証規模での報告は皆無である。そこで、本研究はカビ付き熟成が経産牛の旨味成分や物理特性に与える効果について検討したので報告する。

Ⅲ 材料および方法

1. 供試試料

試験に用いた経産牛は宮古島市の農家で飼養された黒毛和種成雌牛3頭(平均150カ月齢)で、増飼期間は210日であった。また、各試験牛のと畜時における枝肉格付けについては、A2, A2, B2で、平均枝肉重量は317kgであった。

2. 熟成および調査方法概要

と畜5日後の枝肉からサーロイン、外モモ、内モモの各部位について約5~8kg程度切り出し熟成に供した。試料は両側の枝肉から採取し、各部位について供試牛1頭から2個の試料を用いた。熟成は宮古島市所在の食肉製造企業の熟成庫で実施した。熟成期間は40日間とし、熟成庫の環境は、温度 $2.6 \pm 0.0^{\circ}\text{C}$ 、湿度 $88.4 \pm 0.1\%$ で試験期間中一定に保った。熟成に用いたカビについては、熟成庫に継代されている企業保有のカビを用いて実施した。熟成後の試料については速やかに表面をトリミングし、分析に供するまで -30°C で凍結保存した。遊離アミノ酸、機能性成分および理化学特性については、熟成終了後、おおむね1週間以内、水分含量、粗脂肪含量及び脂肪酸組成については、3カ月以内に分析を行った。

3. 調査項目

1) 水分含量、粗脂肪含量、旨味成分(遊離アミノ酸)および機能性成分の測定

遊離アミノ酸については一般的に旨み成分の指標となるグルタミン酸等19種類を分析し、全ての分析値の合計を総遊離アミノ酸とした。また、甘味系アミノ酸(プロリン、スレオニン、アラニン、セリン、グリシン)、旨味系アミノ酸(グルタミン酸、アスパラギン酸、グルタミン、アスパラギン)、苦味系アミノ酸(フェニルアラニン、チロシン、ロイシン、メチオニン、イソロイシン、バリン、システイン、ヒスチジン、リジン、アルギニン)の3種類に分け解析した。

機能性成分については、カルノシン、アンセリン、タウリンおよびオルニチンの4種類を分析し、カルノシン、アンセリンの合計値をイミダゾールジペプチドとした。

2) 理化学的特性の測定

理化学的特性については、噛み応えの指標となる破断応力および歪率を測定した。また、破断応力については、物理特性をより詳細に検討するため、試料が破断に至るまでの歪率から前半(0~50%)と後半(50~100%)に分け、それぞれの範囲における応力を弾性率1と弾性率2とした。弾性率1および2については、肉を噛む際の応力の経時的変化、すなわち咀嚼前半の応力および咀嚼後半の応力と解釈した。

3) 脂肪酸組成の測定

脂肪酸組成については、Folch⁷⁾の方法により油分を抽出し、脂肪酸メチル化キット(ナカライテスク)により鹸化およびメチルエステル化した後、GC(Agilent, 7890B)で分析した。分析項目は、オレイン酸(C18:1)等8種類で、全脂肪酸に占めるそれぞれの脂肪酸の割合を百分率で算出した。結果については、オレイン酸、飽和脂肪酸および不飽和脂肪酸で示した。

全ての分析項目について、前報⁶⁾と同様な分析機器および分析方法で行った。また、全ての分析結果については、熟成日数および部位による二元配置分散分析を実施した。

Ⅳ 結果

1. 熟成に伴うカビの付着およびトリミング後の状態

熟成に伴うカビの付着状況およびトリミング後の肉表面の状況を写真1に示す。各部位とも熟成7日目程度からカビの付着が認められ、熟成40日目においては試料全体を覆う程度付着していた。また、カビ無し熟成のような肉表面の硬化現象⁶⁾は認められず、ある程度の水分を保持している状態であった。各部位において、カビの付き具合や硬化の程度等の外観的な違いは認められず、ほぼ同じような状態で熟成が進んだ。また、香りについては、カビの付着と同様に熟成7日目程度から感じられるようになり、熟成日数が進むにつれて、ドライエイジングビーフに特有のナッツ香が強く感じられた。

トリミング後の肉色については、通常の食肉と同様な色合いを呈しており、カビ無し熟成の様な黒ずみなどが認められなかった。また、トリミング後の試料についてもナッツ香を呈しており、カビ付きの

肉表面だけではなく、肉内部までしっかりとナッツ香が感じられる結果であった。



写真1 熟成40日目およびトリミング後の写真（左：ロース，中：外モモ，右：内モモ）

2. 水分含量，粗脂肪含量，旨味成分（遊離アミノ酸含量）および機能性成分含量

各部位における熟成前後の水分含量および粗脂肪含量を図1に示す。水分については、各部位とも熟成にともない減少傾向を示したが有意差は認められなかった。粗脂肪含量については、外モモおよびサーロインで増加傾向を示したが、有意差は認められなかった。

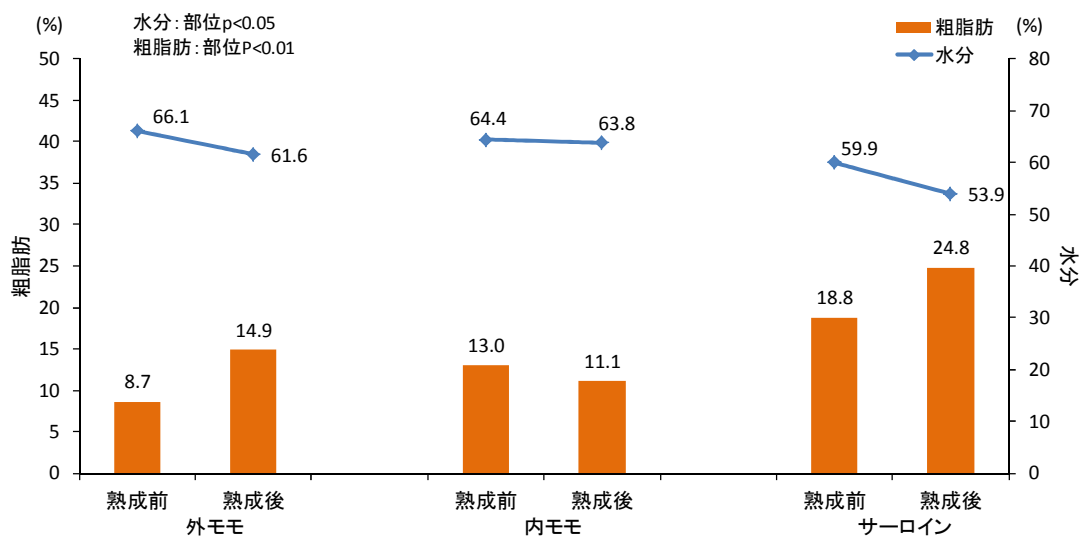


図1 熟成前後における水分および粗脂肪含量の変化

各部位における熟成前後の総遊離アミノ酸，甘味系アミノ酸，旨味系アミノ酸，苦味系アミノ酸の結果を図2に示す。各部位において熟成後，甘味系アミノ酸が3倍程度，旨味系アミノ酸が1.8倍程度，苦味系アミノ酸が5倍から6倍程度増加した。総遊離アミノ酸についても熟成後に3.5倍程度の増加が認められた。いっぽう，各部位間における各種アミノ酸および総遊離アミノ酸に差は認められなかった。

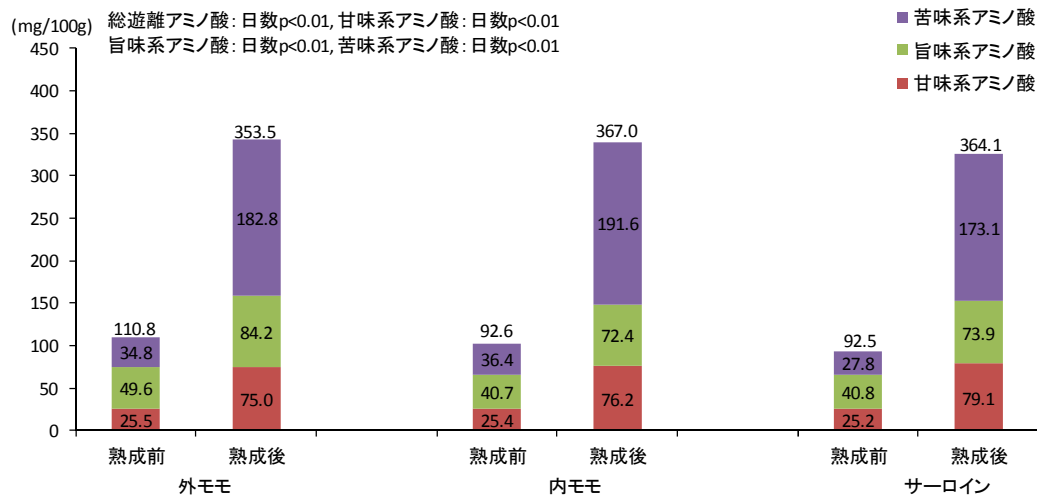


図2 熟成前後におけるアミノ酸の変化

各部位における熟成前後のカルノシン、アンセリン、タウリンおよびオルニチン含量を図3に示す。熟成によって、タウリンおよびオルニチンの増加が各部位で認められた。いっぽう、カルノシンおよびアンセリンのイミダゾールジペプチドについては、熟成による変化は認められなかった。また、タウリンおよびアンセリンについては部位間に差があり、サーロインに比べモモ系で高い値であった。

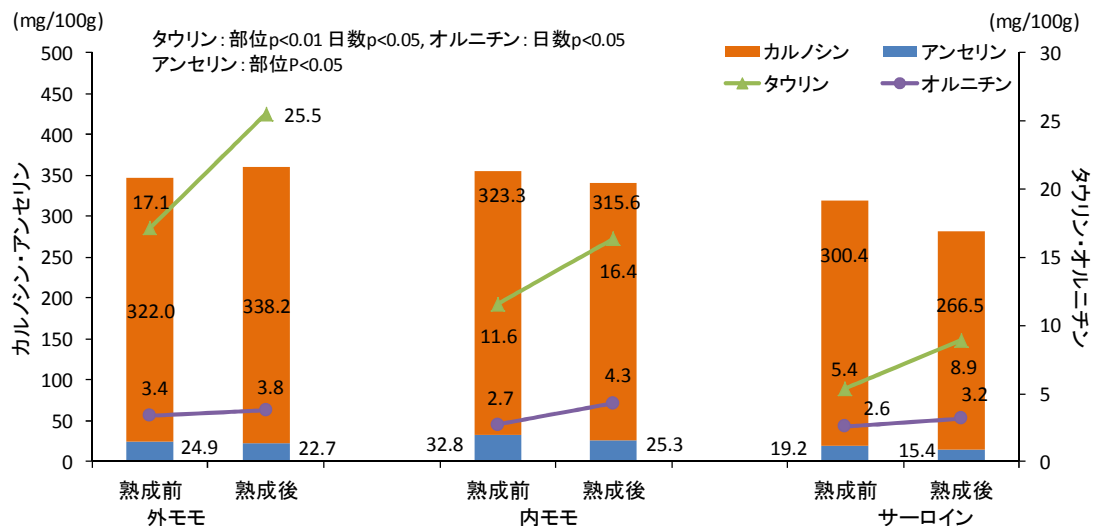


図3 熟成前後における機能性成分の変化

3. 理化学的特性（破断応力，歪率および弾性率）

各部位における熟成前後の破断応力および歪率を図4に示す。各部位において熟成後、破断応力および歪率の低下が認められた。外モモ破断応力については熟成前に $2.3E+06 \text{ N/m}^2$ と高値であったが、熟成後は $1.4E+06 \text{ N/m}^2$ まで低下し、熟成前のサーロインと同じ値となった。内モモについても熟成の効果が認められ、熟成後の値が $1.1E+06 \text{ N/m}^2$ と熟成前のサーロインを下回る結果となった。また、サーロインについては、破断応力および歪率とも部位間で最も低く、熟成による破断応力の低下が顕著に認められた。

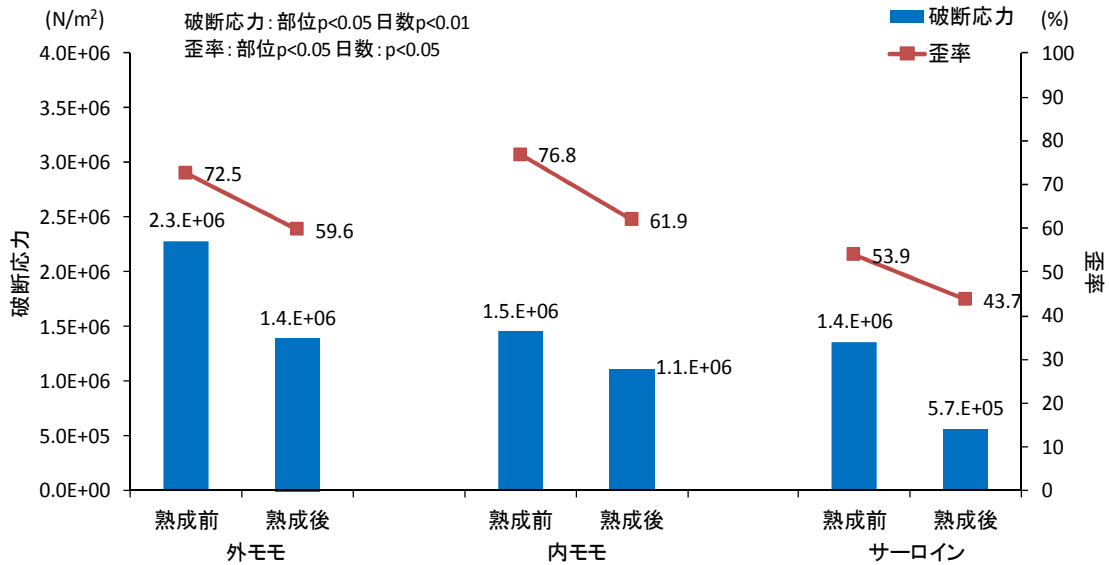


図4 熟成前後における破断応力および歪率の変化

各部位における熟成前後の理化学的特性を詳細に検討するため、各部位における代表的な応力-歪率の波形を図5に示す。各部位とも熟成にともない、破断点が左下にシフトした。すなわち、応力および歪率が低下したことが認められた。いっぽう、波形の形状については違いが認められた。サーロインについては、熟成前後を問わず、破断点に至るまで緩やかな傾きであるのに対して、モモ系においては歪率の変化量に対して応力の増加が大きかった。特に、歪率20~30%近傍から応力の傾きが急になった。また、各部位において熟成後の応力の波形が、破断点に至るまでの全領域において熟成前に比べ低い値で推移した。破断以降の応力の推移についても違いが認められ、特に外モモにおいて熟成前後を問わず、破断後に応力が上下に変動し、凸凹な波形を示す現象が確認された。

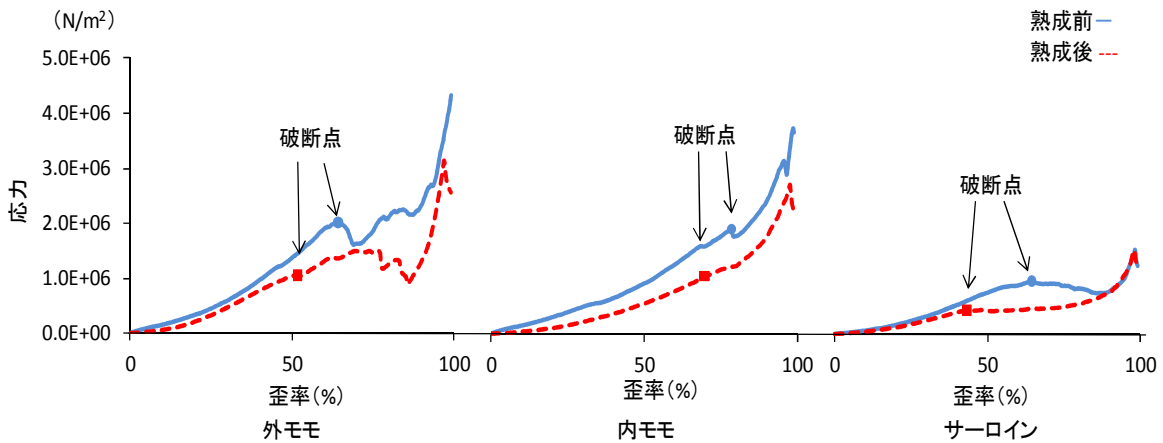


図5 熟成前後における応力-歪率の変化

図5において破断に至るまでの応力の変動に違いが認められたことから、その違いを詳細に検討するため、各部位および熟成前後における弾性率1および弾性率2を図6に示す。弾性率1については各部位で熟成前後に差は認められなかったが、弾性率2については熟成後、各部位において有意な低下が認められた。特に外モモとサーロインにおいて顕著な低下が認められた。この結果は、図4に示した破断応力の結果と一致するものであった。

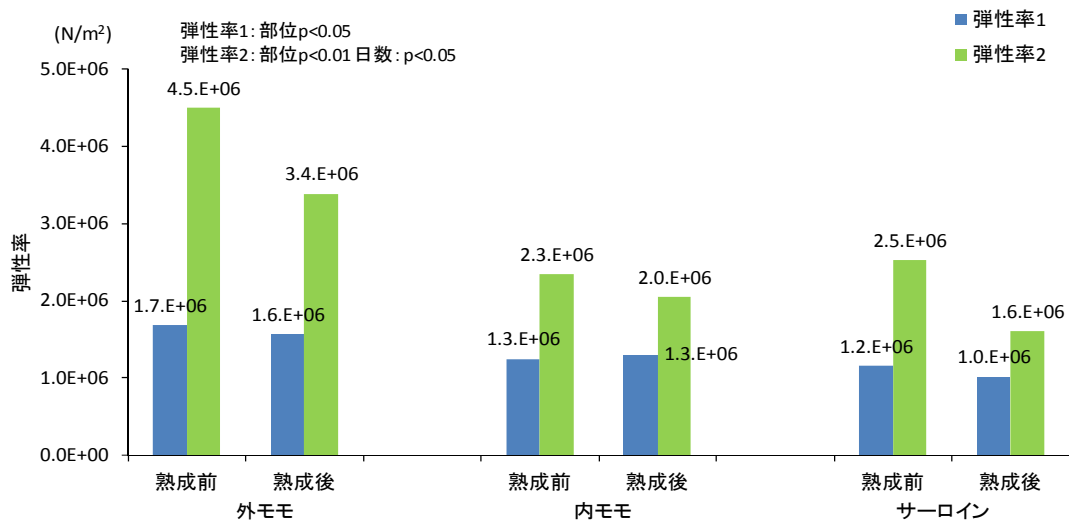


図6 熟成前後における弾性率1および弾性率2の変化

4. 脂肪酸組成 (オレイン酸, 飽和脂肪酸, 不飽和脂肪酸)

各部位における熟成前後のオレイン酸, 飽和脂肪酸および不飽和脂肪酸含量を図7に示す。各部位において熟成後, オレイン酸の増加が認められた。いっぽう, 飽和脂肪酸および不飽和脂肪酸については, 有意差は認められなかったが, それぞれ, 減少 ($p=0.09$) および増加 ($p=0.09$) 傾向を示した。

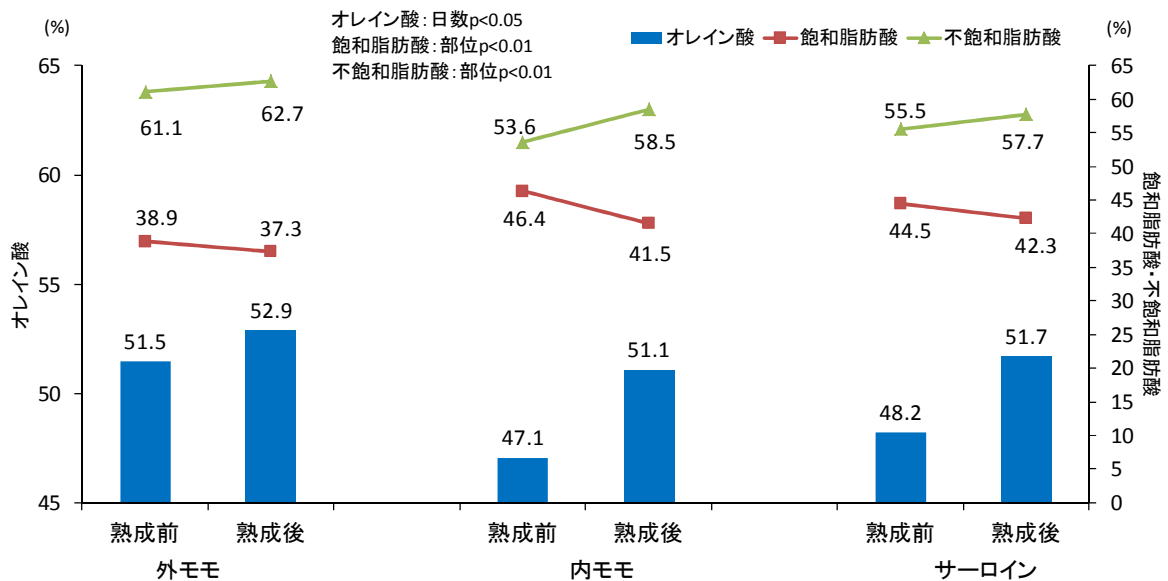


図7 熟成前後におけるオレイン酸, 飽和脂肪酸および不飽和脂肪酸の変化

V 考 察

ドライエイジングビーフについては, 熟成の過程で水分の蒸発や自己の酵素反応により, 物理的および化学的な反応が起きる。前報の報告⁶⁾において経産牛のロース, バラおよび外モモをカビ無しで熟成させることによって, 水分含量が減少し, 各種アミノ酸および理化学的特性に変化が起きることが認められた。本研究においてカビ付きによる熟成を実施したところ, カビ無し熟成と同様に各種アミノ酸の増加や理化学的变化等が確認されると同時に, 水分含量では大きな変化が無く, オレイン酸や不飽和脂肪酸が増加する等, カビ無し熟成と異なる結果も認められた。また, 理化学的特性については, 新たな分析手法を取り入れることによって, 熟成の効果をより詳細に検討することが可能となった。まず, 熟

成中の肉表面の状態については、カビ無し熟成に見られた表面の硬化現象および水分含量の減少は認められず、熟成中、水分を保持し潤いが有ることが確認できた。トリミング後の肉内部の水分含量については、熟成前後で変化が無く、カビ無し熟成で見られたような大幅な水分含量の減少は認められなかった。また、熟成中、カビについても湿り気があり、水分を保持していることが認められた。これらのことは、カビの付着によって急激な水分の蒸発が抑えられ、カビ無し熟成で見られた肉表面の硬化が起きなかったと推察された。熟成に伴う肉表面の硬化については、歩留まりに直接的な影響を与えるので、カビ付き熟成による水分保持効果は、歩留まりの向上に期待できる結果となった。

熟成の大きな効果の一つに各種アミノ酸の増加があるが、本研究において熟成後、各部位において各種アミノ酸の増加が認められた。甘味系アミノ酸、旨味系アミノ酸および苦味系アミノ酸の増加割合については、カビ無し熟成とほぼ同様な結果であったが、総遊離アミノ酸については本研究の結果が100mg/100g程度高い値となった。本研究においては熟成後の水分含量に変化が無いことから、水分の蒸発に伴う濃縮効果は小さく、その他の要因に起因すると考えられた。熟成中、自己酵素による様々な作用が報告されており⁸⁾、本研究においても同様な機序が作用したと考えられるが、カビが各種アミノ酸に与える直接的な効果については不明であり今後の検討課題となった。機能性成分については、熟成によってアンセリン、タウリンおよびオルニチンの増加が認められた。いっぽう、カビ無し熟成においては、カルノシン、アンセリンおよびタウリンの増加が認められ、アンセリンの増加以外は、相反する結果となった。カルノシンについてはメチル化によるアンセリンへの変化、また、酵素反応によるヒスチジンおよびβアラニンへの分解など各種アミノ酸への変動があるため⁹⁾、熟成中のその挙動を把握するのは難しい結果となった。また、これらの成分について、熟成中に変化しないとの報告もあり¹⁰⁾、熟成の効果を検証する成分としては検討が必要となった。いっぽう、脂肪酸組成については、カビ無し熟成では認められなかったオレイン酸の増加が確認された。熟成による脂肪酸組成への効果については報告が無く、本研究においてオレイン酸が増加した機序については不明であった。

各種アミノ酸と同様に、熟成の大きな特徴である理化学的な特性にも効果が認められた。各部位において破断応力の低下が認められ、特に熟成前に高値を示していた外モモにおいては、熟成後、サーロインの熟成前と同程度の柔らかさになるなど熟成の効果が示された。これらの特徴についてはカビ無し熟成とほぼ同様な結果となっており、カビの有無が熟成肉の理化学的特性へ与える差異は小さいと考えられた。

肉の理化学的特徴の一つである柔らかさについては、一般的に肉が破断に至る応力、すなわち破断応力で評価しているが、破断応力は肉が破断に至る応力の一点のみを表しており、肉の理化学的特徴を詳細に評価しているとは言いがたい。そこで、本研究においては、応力と歪率の関係を経時的に捉え、破断前、破断直前および破断後の応力の推移および波形の形状からその特徴を捉えてみた。任意のΔ歪率におけるΔ応力、すなわち任意の範囲における応力の変化量は波形の傾きと関係があるため、傾きが緩やかだと力のかかり具合が小さいと考えられる。まず、熟成前後における応力-歪率の波形を詳細に見てみると、破断点付近の波形の傾きが熟成後は緩やかになっており、力のかかり具合が破断点直前あたりで低下していることが認められた。実際、試料が破断に至るまでの歪率から前半(0~50%)と後半(50%~100%)に分け、それぞれの範囲の応力である弾性率1と弾性率2を見てみると、弾性率2、すなわち、咀嚼後半における応力が低下している。これらの結果は、熟成によって得られる肉の軟化現象(破断応力の低下)が、咀嚼後半の応力である弾性率2と密接に関連していることを示している。言い換えれば、熟成肉については咀嚼前半(食べ始め)にはその柔らかさを感じられないが、咀嚼後半から破断にかけて、その柔らかさがより顕著に感じられると推察される。

また、外モモにおいて破断以降の波形において特徴的な結果が得られた。熟成前後を問わず、破断後に凸凹な波形が見られた。破断後の応力の推移については噛み応えや食感に影響を与える。実際に熟成後の外モモを食してみると柔らかくなっていると感じられるが、いっぽう、所々に硬い筋繊維が残存する感覚が認められた。外モモにおける破断後の凸凹は、筋繊維の有無による応力の変動を示していると推察された。外モモについては、熟成によって全ての範囲で応力の低下が認められたが、更なる食味の向上、すなわち、柔らかさという付加価値を付けるには、破断後の応力の改善が必要だと考えられた。

以上の結果よりカビ付き熟成によって、カビ無し熟成では認められなかった、水分含量の維持による肉表面の硬化現象の回避、オレイン酸の増加などが認められた。また、総遊離アミノ酸の顕著な増加や

理化学的特性の改善等, 付加価値の高い熟成肉を製造する方法として, カビ付き熟成が有効な手法であることが示された。

VI 引用文献

- 1) 松本和典 (2013) 耕作放棄地で生産した「放牧仕上げ熟ビーフ」の特徴, 畜産技術, **697**, 7-11
- 2) 山本紫乃・伊藤信一・坪坂修二・脇坂巧・岡田繁・山口悠・前田さくら・口田圭吾 (2014) 十勝若牛[®]を用いた枝肉の客観的評価値と消費者食味特性との関連性, 日畜会報, **85** (3), 315-320
- 3) 中村好徳 (2015) 周年放牧肥育牛肉の特徴ならびに熟成による肉質の変化, 日暖畜報, **58** (2), 261-266
- 4) 沖谷明紘 (1993) 牛肉の熟成条件とフレーバーの生成, 日食工学会誌, **40** (7), 535-541
- 5) 小林正人・佐々木整輝 (2015) 牛肉の匂いに及ぼす熟成と加熱調理の影響, 平成 26 年度食肉に関する助成研究調査成果報告書, 伊藤記念財団, **33**, 39-45
- 6) 安里直和・本田祥嵩・花ヶ崎敬資・荷川取秀樹・(2016) 経産牛を活用した高付加価値食肉生産技術の確立 (1) ドライエイジングによる旨み成分等の経時的変化, 沖縄畜研研報, **45**, 1-10
- 7) Folch, J., M. Lees and G.H. Sloane stanley (1957) A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues, *J. Biol. Chem.*, **226**, 497-509
- 8) Dashmaa Dashdorj, Vinay Kumar Tripathi, Soohyun Cho, Younghoon Kim and Inho Hwang (2016) Dry aging of beef; Review, *J. Anim. Sci. Tech.*, **58** (20),
- 9) Salah E. Gariballa, Alan J. Sinclair (2000) Carnosine: Physiological properties and therapeutic potential, *Age and Ageing*, **29**, 207-210
- 10) 岡山高秀・鎌刈久絵・中川成男・山之上稔・西川勲・光石直起・小西喜八郎 (1991) 黒毛和種腿肉の熟成中における物理・化学的变化, 日畜会報, **62** (2), 178-185