

牛肉熟成中における筋漿画分について

全 炯日, 三上 正幸, 関川 三男, 三浦 弘之
帯広畜産大学, 帯広市 080

On the beef sarcoplasm during conditioning

CHEUN, H. I., M. MIKAMI, M. SEKIKAWA and H. MIURA

Laboratory of Meat Science, Obihiro University of Agriculture
and Veterinary Medicine, Obihiro 080

キーワード : 牛肉, 熟成, 筋漿タンパク質, ペプチド, 遊離アミノ酸

Key words : beef, meat conditioning, sarcoplasmic proteins, peptide, free amino acids

要 約

ホルスタイン種の去勢牛8頭の半腱様筋を用いて、屠殺後2日目にブロック肉(BS)とホモジネート肉(HS)を調製し、生肉および加熱した上澄(加熱スープ)について実験を行った。ペプチド量において、生肉の2日目のものは加熱スープのものより少なかったが、21日目では生肉のHSおよびBSの方が多くなった。遊離アミノ酸総量は21日目においてBSの方がHSよりも多かったが、生肉と加熱スープとの間に大きな差はなかった。個々の遊離アミノ酸では、一般にGlu, Gly, AlaおよびLeuの大きな増加が見られた。しかしながら、Gluは加熱により減少した。高速液体クロマトグラフィーによる筋漿画分の分析では、HSとBSのピークは類似していた。熟成中にピークRT15.5とRT23の減少が見られ、一方タンパク質のピークRT15と蛋白質あるいはペプチドが分解したと思われる低分子量のペプチドあるいはアミノ酸のピークRT24が新たに生じ、ピークRT26は増加した。

緒 言

牛肉の熟成に関して、屠殺後の保存により筋原線維のZ線の脆弱化や筋原線維タンパク質と筋漿タンパク質が分解してペプチドや遊離アミノ酸の増加などにより、軟らかさや風味の向上が報告されている(Parrish et al., 1969; Field et al., 1971; Nishimura et al., 1988; 岡山ら, 1993; Mikami et al., 1994)。しかしながら、熟成過程において筋漿タンパク質、ペプチドまたは遊離アミノ酸がどのように変化するかについては不明な点も多い。

本実験では一般的な保存形態である肉塊(ブロック

肉試料)とドリップの損失、細菌汚染またはサンプル採取の場所による差を少なくするため、ホモジネート肉試料を用いた時に、筋漿タンパク質、ペプチドおよび遊離アミノ酸量にどのような違いがあるかについて、また加熱した時の上澄みにおけるペプチドおよび遊離アミノ酸量についても検討した。

材料および方法

1. 供試牛肉および試料の調製: 供試牛は18-19ヶ月令ホルスタイン種の去勢牛8頭を用い、屠殺後2日目の半腱様筋(*M. Semitendinosus*)を実験に供した。
 - 1). ブロック肉試料(BS)の調製: 約200gの肉塊4個をそれぞれ真空パックフィルム(酸素不透過性)に入れ真空包装し、1-2°Cで保存した。これを屠殺後5, 7, 14および21日目に取り出して細切し、次に述べるホモジネート肉試料と同様にして筋漿画分を調製した。
 - 2). ホモジネート肉試料(HS)の調製: できるだけ脂肪や筋を除いた牛肉70gを細切し、3倍の緩衝液(0.1M NaCl, 0.05%NaN₃を含む30mMクエン酸リン酸, pH5.6)210mlを加え、ホモジナイザーにより氷水中で約2分間均質化した。これを1-2°Cで保存し、屠殺後2, 5, 7, 14および21日目に試料の一部を取り出して実験に用いた。ホモジネート試料を11,000×g, 20分間0°Cで遠心分離し、上澄液を孔径0.2μmのフィルターでろ過したものを筋漿画分とした。試料はゲルろ過法によるHPLCに、一部はTCA可溶性画分の調製に用いた。
 - 3). TCA可溶性画分の調製: 1)及び2)で得られた筋漿画分と4%TCA溶液を等量で混合し、前報(長尾ら, 1994)と同様にして調製した。これ

をペプチドおよび遊離アミノ酸の試料として、分析時まで1-2℃で保存した。

4). 加熱スープ試料の調製：1) 及び2) の均質化した試料を約20g取り出し、75℃で15分間水浴中で加熱した。これを11,000×g, 20分, 0℃で遠心分離し、上澄液を孔径0.2μmのフィルターでろ過したものをホモジネート加熱スープ試料(CSHS)あるいはブロック肉加熱スープ試料(CSBS)とした。これは分析時まで-25℃で保存した。

2. ペプチド量の測定：前報(長尾ら, 1994)と同様の方法により行った。

3. 遊離アミノ酸量の測定：前報(長尾ら, 1994)と同様の方法により行った。

4. HPLCによる筋漿画分の分析：高速液体クロマトグラフィー(HPLC)による筋漿画分の分析は、TSK-G2000SWXLカラムを用いたゲルろ過法で0.25M K-Na₂リン酸緩衝液(pH 6.5)で溶出し、得られたピークおよびその面積を測定した。

結果および考察

1. ペプチド量の変化

図1はペプチド量の測定結果を示した。屠殺後2日目では生肉100g当たり132.1mgで、加熱スープでは216.9mgであった。屠殺後の経過日数と共にいずれのペプチド量も増加し、21日目にはHSでは434.3mg, BSでは399.8mg, そして加熱スープの場合、CSHSでは363.5mg, CSBSでは350.3mgであった。HSおよびBSの生肉では、HSの方がBSよりペプチド量は多い傾向にあり、また生肉と加熱スープでは、生肉の方が多かった。熟成中に内在性のカルパインおよびカテプシンなどのプロテアーゼによってタンパク質が分解され、ペプチドの増加が報告されている(岡山ら,

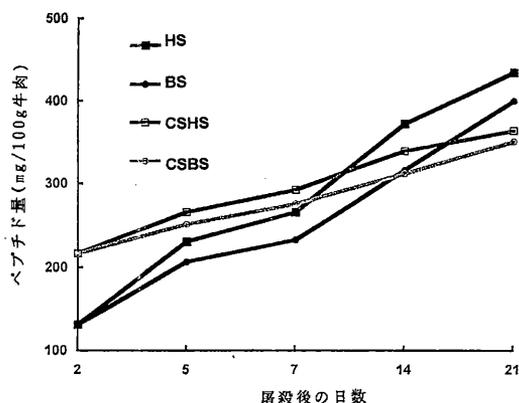


図1 保存中におけるペプチド量の変化
HS：ホモジネート肉の2%TCA溶液、
CSHS：ホモジネート肉の加熱スープ、
BS：ブロック肉の2%TCA溶液、
CSBS：ブロック肉の加熱スープ

1993：三上ら, 1995)。また、長尾ら(1994)はホルスタイン種の大腿二頭筋や半膜様筋のホモジネート肉を保存した時のペプチド量について報告しているが、本実験の値とおおよそ一致していた。一方、岡山ら(1993)は0-21日目まで牛肉を保存しており、この場合生肉の方が加熱スープよりペプチド量が多かったと報告している。しかし本実験では2日目から7日目までは逆に加熱スープの方が多かった。2日目に加熱スープのペプチド量が生肉よりも高い値を示した原因は不明であるが、タンパク質が加熱により分解したとことなどが考えられる。また21日目においてこの逆に加熱スープの方が少ないことは、熟成と共に生じる疎水性ペプチドなどが加熱によりタンパク質と結合し易くなること、またTCA処理と加熱処理とではタンパク質が沈殿するメカニズムが異なることなどが考えられた。

2. 遊離アミノ酸量の変化

牛肉中のタンパク質を構成している遊離アミノ酸の総量を図2に示した。屠殺後2日目の場合、牛肉100g当たり146.3mgであり、加熱スープでは143.0mgであった。14日目以降、BSの方がHSよりも多くなり、21日目にはHSでは306.2mg, BSでは382.7mgであった。加熱スープの場合、CSHSが289.2mg, CSBSでは370mgであり、生肉のものと違いは見られなかった。牛肉、豚肉および鶏肉を熟成すると遊離アミノ酸、核酸や非蛋白態窒素などが増加すると報告があり(Parrish et al., 1969 : Field et al., 1971 : Nishimura et al., 1988 : Mikami et al., 1994), 保存中に遊離アミノ酸を含む色々な化学的な成分の変化が起こる。本実験の屠殺後2日目における遊離アミノ酸総量は、前報(長尾ら, 1994)と類似していたが、21日目の値はいずれも高い値を示した。特にBSで保存したものはHSで保存したものよりも高かった。これはホモジネート肉を調製する時に用いた緩衝液によりアミノペ

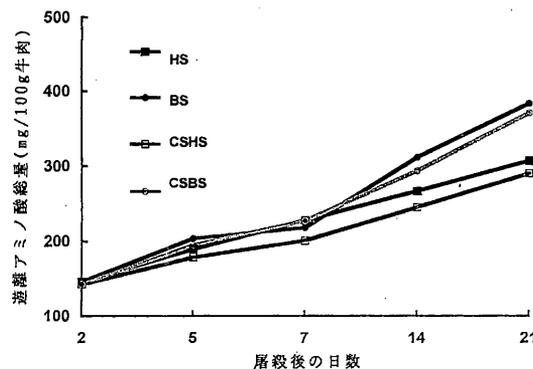


図2 保存中における総遊離アミノ酸量の変化
HS：ホモジネート肉の2%TCA溶液、
CSHS：ホモジネート肉の加熱スープ、
BS：ブロック肉の2%TCA溶液、
CSBS：ブロック肉の加熱スープ

プチダーゼの活性が影響を受けたことも考えられる。三上ら (1995) は牛肉の異なる部位の遊離アミノ酸量を調べたが、各部位によって異なることを報告した。本実験における2日目の値は類似していたが、21日目の値はいずれも高い値であった。

個々の遊離アミノ酸についてみると (データ省略), Asp と Cys の増加はあまり見られなかったが、他の遊離アミノ酸はいずれの処理条件においても時間の経過とともに増加した。特に Glu, Gly, Ala と Leu の増加量が多かった。Field et al. (1971) によると Gly として Ala が、また三上ら (1993) は Glu と Ala の増加が大きかったと報告しており、本実験の結果と一致した。CSHS の場合は HS より Ala と Glu の量が少なく、CSBS の場合は BS より Glu の量が少なかった。このように生肉と比べると、加熱した場合に Glu 量が減少するのは、加熱によって Glu が分解することなどが考えられた。

3. HPLC による筋漿画分の分析

TSK-G2000SWXL カラムを用いた筋漿画分のクロマトグラムを図3に示した。ピークは分子量の大きなものから小さなものへ RT (Retention Time) 11, 12,

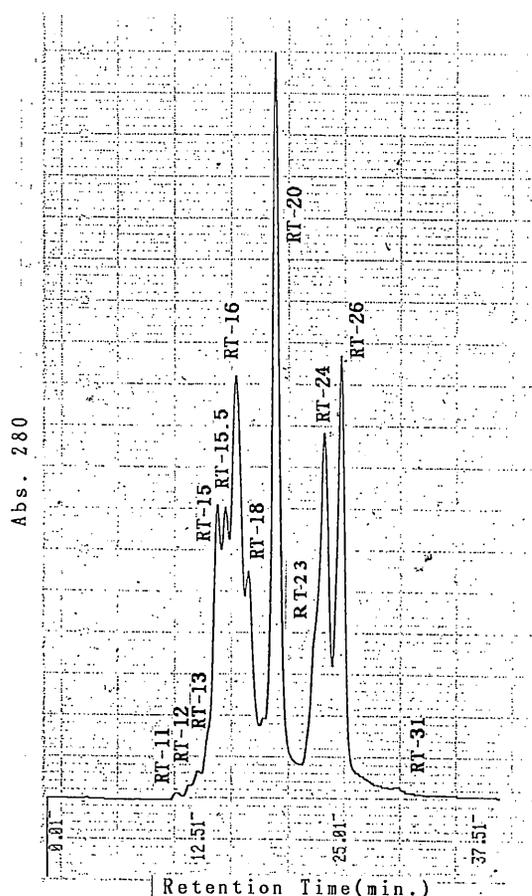


図3 筋漿画分の HPLC クロマトグラム

カラム: TSK-G 2000 SWXL,
流速: 0.5 ml/min,
緩衝液: 0.25 M リン酸緩衝液, pH 6.5,
試料: 屠殺後 14 日目のブロック肉の筋漿画分 (10 μ L)

13, 15, 15.5, 16, 18, 20, 23, 24, 26 および 31 までの 12 個が観察された。それぞれのピークは、三上ら (1993) の報告した筋漿タンパク質の電気泳動の結果や標準物質の溶出時間、また各ピークの電気泳動の結果、ピーク RT20 まではタンパク質であり、ピーク RT20 は主に分子量 17,000 のミオグロビンであることが分かった。ピーク RT23 以降のものは電気泳動によるバンドは現れなかったためタンパク質ではなく、低分子量のペプチド或はアミノ酸などと考えられた。Davis and Anderson (1984) が TSK-G2000SW カラムを用いた筋漿タンパク質の分析結果と本実験の結果は類似していた。

HS のピークの変化を見ると時間の経過とともにタンパク質のピーク RT15.5 は減少するが、それよりも分子量の大きいピーク RT15 は増加した。また分子量 1 万以下のペプチドと思われるピーク RT23 は減少し、更に分子量の小さいピーク RT24 と 26 は増加した (図4)。BS の場合はほぼ HS のものと似ていたが、ピーク RT15 と 24 は 7 日目から現れ、その後、増加した (図5)。この分子量の大きなピーク RT15 は、2 日目の筋漿タンパク質には含まれていない高分子のものであるから、結合組織タンパク質または筋原線維タンパク質などが熟成中に分解されたり、あるいは筋漿タンパク質の会合などが考えられ、またピーク RT24 と 26 はタンパク質やペプチドの分解したものに由来し

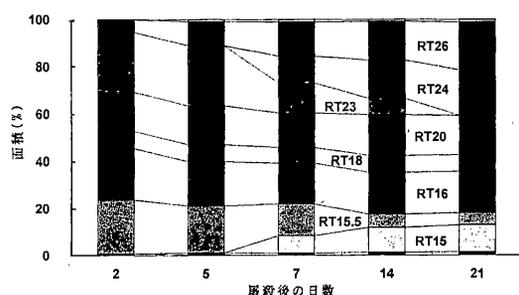


図4 TSK-G 2000 SWXL による筋漿画分の各ピークの面積

試料: ホモジネート肉。

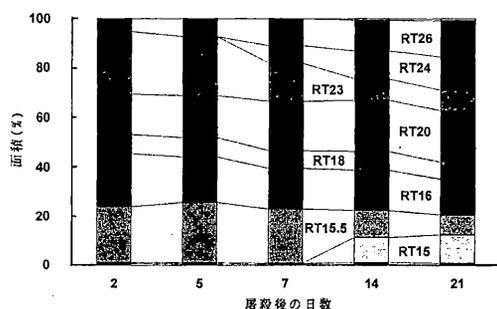


図5 TSK-G 2000 SWXL による筋漿画分の各ピークの面積

試料: ブロック肉。

ていることなどが考えられた。

文 献

- Davis, C. E. and J. B. Anderson (1984), Size exclusion/HPLC of heated water soluble bovine and porcine muscle proteins. *J. Food Sci.*, **49**: 598-602.
- Field, R. A., M. I. Riley and Y. O. Chang (1971), Free amino acid changes in different aged bovine muscles and their relationship to shear values. *J. Food Sci.*, **36**: 611-612.
- 三上正幸, 長尾真理, 関川三男, 三浦弘之 (1993), 牛肉ホモジネートおよび筋漿の保存中における蛋白性化合物の変化. *日畜会報*, **64**: 918-926.
- Mikami, M., M. Nagao, M. Sekikawa, H. Miura and Y. Hongo (1994) Effects of electrical stimulation on the peptide and free amino acid contents of beef homogenate and sarcoplasm during storage. *Anim. Sci. Technol. Jpn.*, **65**: 1034-1043.
- 三上正幸, 長尾真理, 関川三男, 三浦弘之 (1995), 異なる筋肉部位から調製した牛肉ホモジネート保存中におけるペプチド量および遊離アミノ酸量の変化. *日畜会報*, **66**: 630-638.
- 長尾真理, 三上正幸, 関川三男, 三浦弘之 (1994), 牛肉ホモジネートの保存中におけるペプチドおよび遊離アミノ酸量について. *北畜会報*, **36**: 29-32.
- Nishimura, T., M. R. Rhue, A. Okitani and H. Kato (1988), Components contributing to the improvement of meat taste during storage. *Agric. Biol. Chem.*, **52**: 2323-2330.
- 岡山高秀, 塩瀬 敬, 中川成男, 山之上稔, 西川 勲 (1993), 黒毛和種腿肉の熟成中における筋漿低分子量成分の変化. *日畜会報*, **64**: 748-753.
- Parrish, F. C. Jr., D. E. Goll, W. J. Newcom II, B. O. de Lumen, H. M. Chaudhry and E. A. Kline (1969), Molecular properties of post-mortem muscle. 7. Changes in nonprotein nitrogen and free amino acids of bovine muscle. *J. Food Sci.*, **34**: 196-199.