

プロテアーゼ処理と急速冷凍処理の併用によって 豚ロース肉の結合組織と脂肪を除去する方法

西村 耕作、阿部 竜也

Protease and Quick-freezing Treatments for Removing Connective Tissue and Fat from Pork Loin

Kosaku Nishimura, Tatsuya Abe

During meat processing, connective tissue and fat are often removed. Previous studies have reported that protease treatment (PrT) and quick-freezing treatment (QFT) effectively remove connective tissue and fat from beef tallow during cooking. This indicated that tissue removal may be unnecessary; however, its applicability to general meat remains unclear. In this study, the juice loss, nutritional components, and taste of PrT/QFT-treated grilled pork loin meat were compared with those of untreated loin. The results revealed that PrT/QFT facilitates the removal of connective tissue and fat, thereby reducing the fat content and enhancing the protein content. Additionally, sensory evaluation indicated that PrT/QFT significantly reduced greasiness without affecting the comprehensive preference. These results indicated that PrT/QFT can enhance the nutritional value and sensory quality of general meat products.

Key words: connective tissue and fat of meat, protease treatment, quick-freezing treatment, papain, liquid nitrogen, pork loin

1. 背景と目的

牛肉や豚肉などの畜肉は主に筋肉組織（赤身）、結合組織（スジ）、脂肪から構成される。筋肉組織は畜肉の可食部の大部分を占め、おもにアクチン、ミオシンなどの筋原線維タンパク質から構成される。結合組織は畜肉の硬さ・噛み切りにくさの原因であるとされ、コラーゲンやエラスチンといったタンパク質が主成分である（Purslow 2005）。脂肪は畜肉のおいしさに寄与する一方で、過剰摂取による様々な健康被害リスクが指摘されている（Zhao *et al.* 2024）。以上の理由から、畜肉の結合組織や脂肪は畜肉が消費者に流通する前の加工工程において除去されることが多い。しかし、畜肉の構造は複雑であるため、除去に高い技術を要し、機械による完全な自動化も進んでいない。我々はこれまでに、結合組織と脂肪からなる牛脂身にあらかじめプロテアーゼ処理（PrT）と急速冷凍処理（QFT）の併用処理（PrT/QFT）を施してから加熱調理すると、非処理あるいは単独処理の場合より結合組織と脂肪が有意に流出し、除去されることを報告した（Nishimura & Abe 2023）。また、筋肉組織からなる牛モモ肉に PrT/QFT を施しても食味劣化は認められず、本法は長時間の PrT と比較しマイルドな処理方法であることを確認した。以上のことから、PrT/QFT を多量の畜肉に施し加熱調理

することで、筋肉組織の食味を損なうことなく、結合組織と脂肪の除去工程を大幅に削減できる可能性がある。しかし、筋肉組織、結合組織、脂肪のすべてを含む一般的な畜肉に対しての本処理方法の有効性は未検証であり、実用性は不明である。本報告書では、PrT、QFT、PrT/QFT を施した焼成した豚ロース肉に対し、結合組織・脂肪の流出量比較、タンパク質・脂質定量を行うことで既報との整合性を確認した（Fig. 1）。さらに、PrT/QFT を施した焼成した豚ロース肉の官能評価により食味への影響を確認し、本処理方法の実用性について考察した。

2. 材料と方法

2-1. 材料と試葉

豚ロース肉（ステーキ肉あるいはスライス肉）は市販品を用いた。パパインは天野エンザイム（名古屋）から購入した。

2-2. プロテアーゼ処理（PrT）、急速冷凍処理（QFT）

PrT にはパパイン（分子量 23,000）の溶液を用いた。パパイン標品の粉末を蒸留水に溶解し、使用の直前に溶液を調製した。酵素濃度測定にはプロテインアッセイ CBB 溶液（バイオ・ラッド、ハーキュリーズ、カリフォルニア

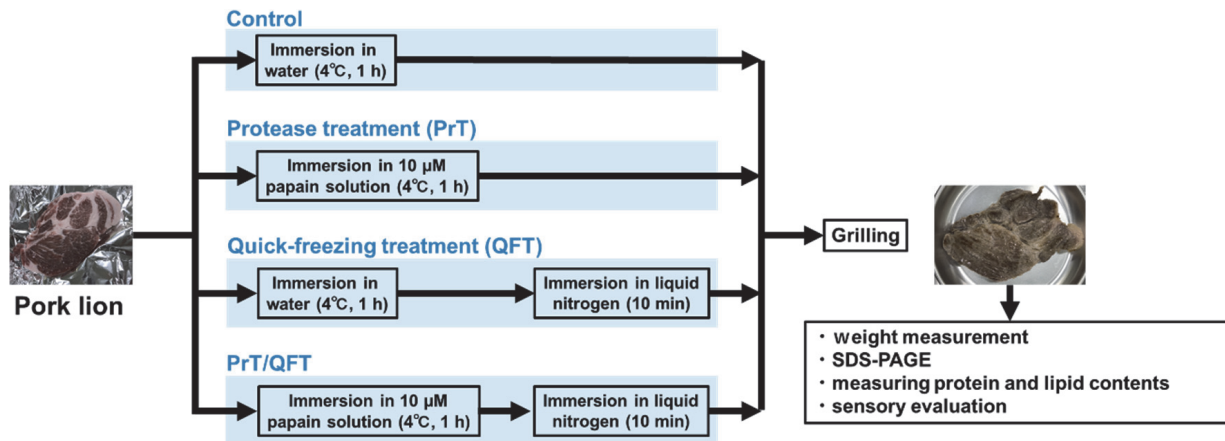


Fig. 1 Schemes for each pretreatment. After protease treatment, samples are washed with water, and after quick-freezing treatment, samples are thawed in water at room temperature.

州) を用い、ウシ血清アルブミン (和光純薬、大阪) を検量線標準液に用いた。豚ロース肉を 10 μ M のパパイン溶液に浸漬し、4°C で 1 時間静置した。反応終了後は、4°C の蒸留水で試料を十分に洗浄した。QFT では試料を耐冷性の袋にいれ、液体窒素に 10 分間浸漬して凍結させた後、室温の水に 10 分間浸漬して解冻させた。併用処理 (PrT/QFT) では、PrT 後の蒸留水洗浄の後、直ちに QFT に供した。

2-3. 加熱調理

豚ロースのステーキ肉を試料として用いた場合は、各処理を施した試料をアルミホイルの上に載せ 200°C のホットプレートで片面 2 分間ずつ、計 4 分間焼成した。焼成後の固形物 (肉) とアルミホイル上に流出した液体 (肉汁) の重量をそれぞれ測定し、初期重量 (処理前の試料重量) に対する相対重量 (%) を算出した。豚ロースのスライス肉を試料とした場合は、試料を直接 200°C のホットプレートで片面 3 分間ずつ、計 6 分間焼成した。

2-4. ドデシル硫酸ナトリウム - ポリアクリルアミドゲル電気泳動 (SDS-PAGE)

SDS-PAGE は、5-20% のグラジエントゲルを用いて還元条件下で行った (Laemmli 1970)。試料は等倍量の SDS サンプル緩衝液 [250 mL Tris-HCl 緩衝液、50% (v/v) グリセロール、10% (w/v) SDS、5% (v/v) ジチオスレイトール、0.05% (w/v) ブロモフェノールブルー] (富士フィルム和光純薬、大阪) と混合し、100°C で 10 分間加熱した後、20 μ g ずつ泳動に供した。25 mA の定電流条件で 60 分間泳動した後、ゲルをクーマシーブリアントブルー (CBB) R-250 で染色した。

2-5. 豚ロース肉の脂質量とタンパク質量の測定

筋肉組織、結合組織、脂肪のすべてを含む約 160 g の豚ローススライス肉に PrT、QFT、PrT/QFT の各処理

を施し、200°C のホットプレートで焼成した。焼成後の肉試料 100 g を 1 cm 角に細断し、脂質量とタンパク質量の測定に供した。各測定は食品表示法基準の「栄養成分等の分析方法等」(消費者庁 2015) に準拠し、分析は一般財団法人日本食品分析センターに委託した。タンパク質は、SUMIGRAPH NC-TRINITY (住化分析センター、大阪) を用いて窒素定量換算法 (燃烧法) により定量した。脂質はソックスレー抽出法 (エーテル抽出法) により抽出した後、溶媒除去後の試料を秤量した。

2-6. 官能評価

研究所内の研究員 9 名 (28-55 歳) をパネルとした採点法を実施した。脂っこさ (greasy)、噛切りやすさ (ease of biting off)、味の好ましさ (taste preference)、香りの好ましさ (aroma preference)、総合的な好ましさ (comprehensive preference) の 5 項目について、-2、-1、0、1、2 の 5 段階で評価し、平均値を算出した。また、評価シートには任意でコメントが可能な自由記述欄を設けた。

2-7. 統計処理

統計処理には、GraphPad Prism 7 (MDAF、東京) を使用した。3 回以上の繰り返し試験を行い、一元配置分散分析 (ANOVA) で有意差が認められた場合に、Tukey の多重検定を行った。

3. 結果と考察

3-1. 豚ロース肉の焼成における各処理の影響

PrT、QFT、PrT/QFT を豚ロース肉ステーキ (82 ~ 102 g) に施し、処理が肉試料の外観に与える影響、および処理前の肉重量に対する相対重量 (%) を確認した。各処理を施した後では試料間で外観や重量に差異は認められ

ず、処理による顕著な組織崩壊は起きていないと考えられた (Fig. 2A, B)。各試料をアルミホイルに乗せ、200℃のホットプレートで4分間焼成したところ、PrT、QFTでは結合組織や脂肪部分が流出したことにより、肉試料における当該組織での空隙の発生、肉の重量減少、肉汁の増加が認められた。また、PrT/QFTでは、さらにその傾向

が顕著になり、焼成後の各処理を併用することで効果が増強されたと推察された。また、流出した肉汁を回収し油層と水層の各液量を比較したところ、水層量に差はほぼ認められなかったのに対し、油層量はPrT/QFT、QFT、PrT、非処理の順で多かった (Fig. 2C)。したがって、流出量が増加した肉汁の大部分が脂肪であると推察された。一方、

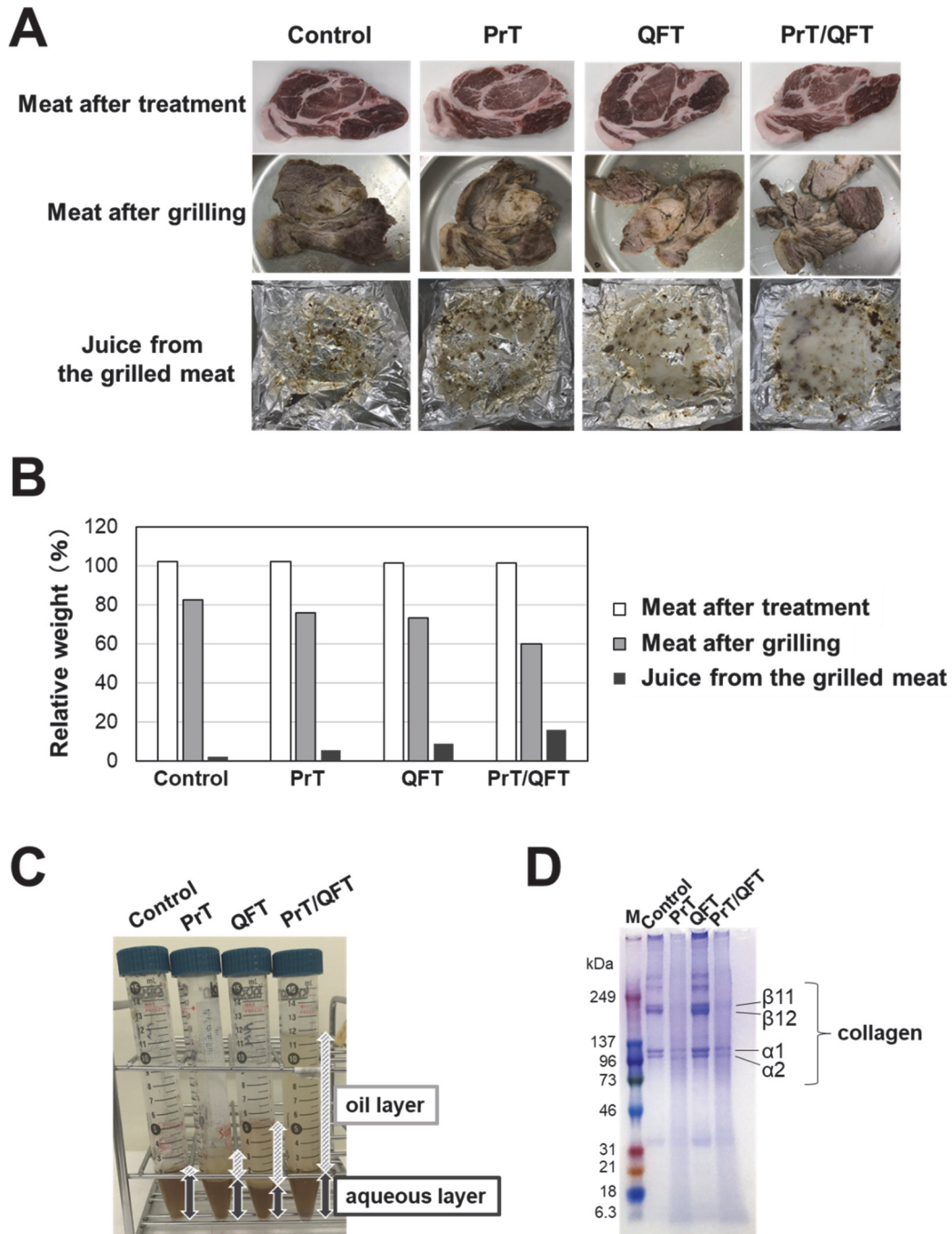


Fig. 2 Effects of each treatment on grilling pork loin steaks. (A) Appearance of meat and juice at each stage. (B) Relative weight of meat and juice at each stage, with the pre-treated meat weight set to 100%. (C) Appearance of aqueous and oil layers in the juice. (D) Sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis of the aqueous layer of each juice sample.

肉汁の水層を SDS-PAGE に供したところ、非処理区、QFT 区では複数の特徴的なバンドが認められた (Fig. 2D)。一般的に、コラーゲン分子は 1 本鎖である α 鎖とそれらが架橋した β 鎖や γ 鎖の組み合わせからなり、SDS-PAGE では β 11、 β 12、 α 1、 α 2 などのバンドが認められることが報告されている (Qian *et al.* 2016)。したがって、肉汁の水層中の主要タンパク質はコラーゲンであると推察された。また、コラーゲンのバンドは非処理区より QFT 区が、PrT 区より PrT/QFT 区の方がそれぞれ濃かったことから、QFT によりコラーゲン流出量が増え、水層中での濃度が高くなったと推察された。また、PrT 区と PrT/QFT 区では、コラーゲンのバンドがスメア状となった。パパインやフィシンなどのシステインプロテアーゼは、コラーゲンの完全変性温度 (ウシ真皮由来コラーゲンでは 42°C) 以下ではテロペプチド領域を切断するが、コラーゲンの強固な三重らせん領域は切断しない (Nishimura *et al.* 2020, 2021)。一方、完全変性温度以上では三重らせん領域も強く分解する。これらのことから、PrT 区および PrT/QFT 区において、4°C のパパイン溶液浸漬中にコラーゲンのテロペプチド領域が切断され、その後の焼成における昇温中に肉試料中の残存する微量なパパインによりコラーゲンの三重らせん構造が切断されたと推察された。以上の結果は、すでに報告している牛脂身の焼成試験の結果と矛盾しなかった (Nishimura & Abe 2023)。

3-2. 焼成後豚ロース肉の栄養成分の評価

低脂質な高タンパク質食品を摂取することで、体組成が改善されることが報告されている (Borges *et al.* 2020)。PrT/QFT を施した肉試料を焼成すると、脂肪が流出して除去され、肉の低脂質化および高タンパク質化が期待できる。非処理、あるいは PrT、QFT、PrT/QFT の各処理を施した豚ローススライス肉を 200°C で 6 分間焼成し、包丁で 1 cm 角に細断した。各試料について、100 g の試料中に含まれるタンパク質量、脂質量をそれぞれ測定した。結果、タンパク質量は、PrT/QFT 区、QFT 区、PrT 区、非処理区の順で多く、非処理区と PrT/QFT 区では有意な差が認められた (Fig. 3)。一方、脂質については有意な差は認められなかったものの、PrT/QFT で少ない傾向が認められた。これらの原因として、PrT/QFT 区では脂肪が流出して肉に含まれる脂質量が減少し、相対的にタンパク質の含有量が増加したことが考えられた。このことから PrT/QFT は畜肉試料の脂質・タンパク質のバランス改善に有効であることが示された。

3-3. 焼成後豚ロース肉の食味の評価

一般的な肉試料は、結合組織・脂肪・筋肉組織の含有率や形状が大きく異なるため、類似した試料を用意することが難しい。したがって先行研究では、牛脂身 (結合組織と脂肪) と牛モモ肉 (筋肉組織) のそれぞれに対し PrT/

QFT を施し、結合組織と脂肪が十分に流出すること、ならびに筋肉組織の食味を劣化させないことを確認した (Nishimura & Abe 2023)。しかし、一般的な畜肉は結合組織・脂肪・筋肉組織のすべてを含む。このような畜肉において、PrT/QFT が畜肉の風味を著しく劣化させないかを確認する必要がある。本報告では、可能な限り同型の豚ロースのスライス肉を試料とし、非処理あるいは PrT/QFT の各処理を施して焼成した後、官能評価により食味を比較した。

非処理および PrT/QFT の試料を 200°C で焼成したところ、焼成 1 min 時点で非処理区では液体の流出はほぼ認められなかったが、PrT/QFT 区では認められた (Fig. 4A)。非処理区が喫食可能になるよう十分に焼成された 6 min 時点では、PrT/QFT 区は過剰に焼成され、焦げが認められた。この原因として、PrT/QFT 区では結合組織と脂肪が早い段階で流出した結果、肉の厚みが薄くなり比較的早く加熱されたことが考えられた。

官能評価により各肉試料の食味を比較したところ、「脂っこさ」は PrT/QFT 区の方が有意に低く評価され ($p < 0.01$)、PrT/QFT 区において脂肪が流出したと矛盾しなかった (Fig. 4B)。「噛み切りやすさ」については、PrT/QFT 区では -1 : 5 名、0 : 4 名と評価者間で値が概ね合致した一方、非処理区では -2 : 4 名、-1 : 1 名、0 : 1 名、+1 : 2 名、+2 : 1 名と大きくばらつき、平均値は PrT/QFT 区と同値となった。自由記述欄において、非処理区の肉が「柔らかく食べやすい」といった記述が見られたことから、非処理区に柔らかい試料が混在したことがばらつきの原因と考えられた (Table)。また、PrT/QFT 区で認められた「ぱさぱさしている」「締まっており (少し硬い)」といった記述は、前述の過剰な加熱に因るものと考えられ、「噛み切りやすさ」がやや低い (-1 ~ 0) と評価された原因と推察された。今回の加熱時間は非処理区の衛生的な安全性を確保するため 6 min としたが、PrT/QFT 区の適切な加熱時間はさらに短かったと推察された。好ましさについては自由記述欄において PrT/QFT 区の香りが弱いといった記述が認められ、脂肪の流出により香りが減弱した可能性が示されたが、「味の好ましさ」「香りの好ましさ」「総合的な好ましさ」についてはいずれも試料間で差は認められず、PrT/QFT が畜肉の風味を損なう可能性は低いと考えられた。以上のことから、PrT/QFT により脂っこさを低減できる一方で、好ましさは大きくは損なわれず、実用的な手法であることが示された。また、処理の有無や肉試料のサイズによって適切な加熱条件を検討する必要があることが明らかとなった。

4. 結論

結合組織・脂肪・筋肉組織のすべてを含む豚ロース肉において、PrT/QFT が肉の液体流出や栄養成分、官能に与

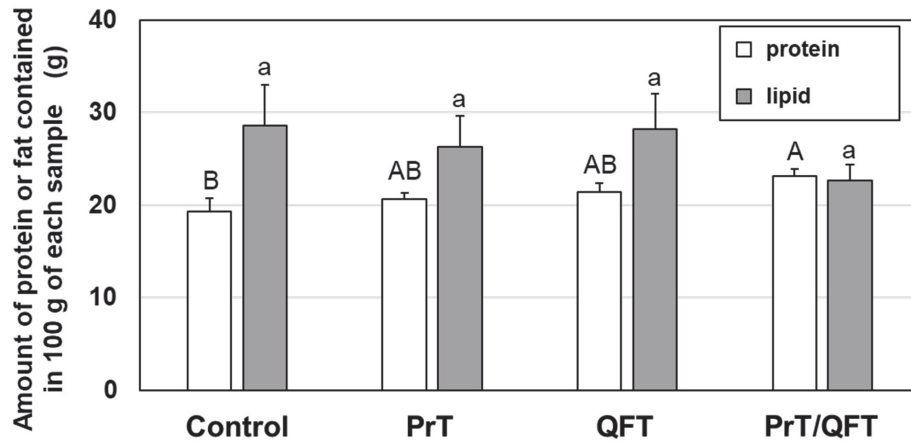


Fig. 3 Average protein and fat content of each sample (n = 3). Error bars represent standard deviation. Different alphabets indicate significant differences at the 5% level, as assessed using Tukey's multiple comparison test.

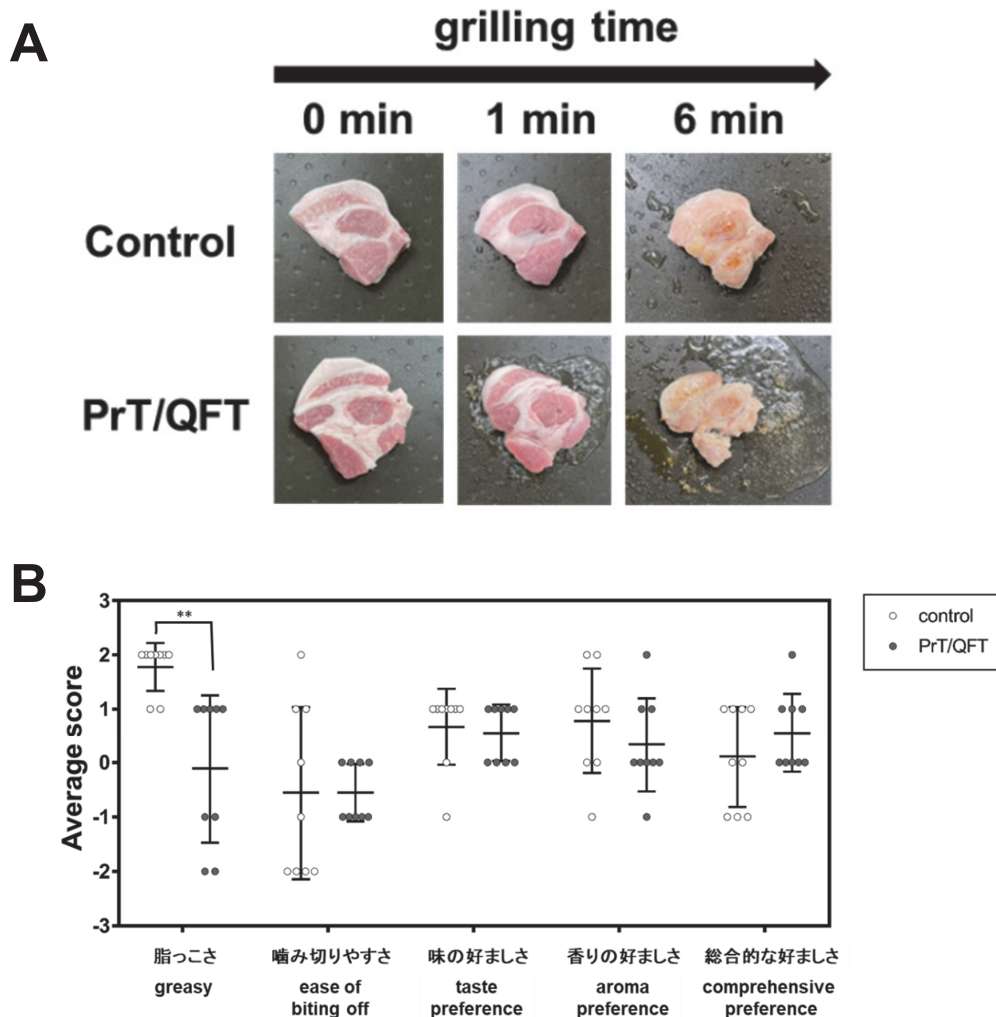


Fig. 4 (A) Alterations in the appearance of each sample owing to grilling. (B) Average sensory evaluation score for each sample (n = 9). Error bars represent standard deviation. Each point represents a score assessed by a sensory panel. **A t-test reveals a significant difference between the control and protease treatment/quick-freezing treatment at the 1% level.

Table 豚ロース肉の官能評価の自由記述欄

肉試料	感想
非処理区	<ul style="list-style-type: none"> • かなり噛切りにくかった。脂っこく口の中にしつこく残る。香りは良い（おそらく脂）。個人的には苦手だが、若い男性など好む人もいそう。 • 脂が強い。 • スジが噛切れない。後味に豚臭さ。 • 脂っこい。 • 香りが少し薄い。 • 脂が多くスジが最後まで残った。 • 柔らかく食べやすいが脂っこい。
PrT/QFT 区	<ul style="list-style-type: none"> • ジューシーさはなくぱさぱさしているが味は淡白で食べやすい。 • 非処理区と比べて香りが弱い印象。 • 少しスジが残る。 • 塩気が欲しくなる。 • 非処理区に比べ、香り（風味）が弱かったように感じられた。 • 肉が締まっており（少し硬い）好ましい硬さ。

える影響をそれぞれ調べた。PrT/QFT によって、豚ロース肉は加熱時にコラーゲン流出と脂肪流出が促進され、結果として肉の高タンパク質化と低脂質化を図れることが示された。また、PrT/QFT を施すことで「脂っこさ」が低減されるが、「味の / 香りの / 総合的な好ましさ」は低下しなかった。このことから、PrT/QFT によって栄養面と官能面の両方で畜肉の付加価値を向上できる可能性が示された。PrT/QFT は結合組織・脂肪・筋肉組織を含む幅広い畜肉に応用できると予想された。一方、畜肉の種類や部位によって、焼成時間等の調理条件を細かく最適化する必要があると考えられた。

5. 引用文献

- Purslow, P. P., 2005, Intramuscular connective tissue and its role in meat quality, *Meat Sci.*, **70**(3), p.435-447. DOI: 10.1016/j.meatsci.2004.06.028.
- Zhao, B.; Gan, L.; Graubard, B. I.; Männistö, S.; Fang, F.; Weinstein, S. J.; Liao, L. M.; Sinha, R.; Chen, X.; Albanes, D.; Huang, J., 2024, Plant and animal fat intake and overall and cardiovascular disease mortality, *JAMA Intern. Med.*, **184**(10), p.1234-1245. DOI: 10.1001/jamainternmed.2024.3799.
- Nishimura, K.; Abe, T., 2023, Meat pretreatment with protease and quick freezing allows connective tissue and fat to flow out during cooking, *Food Sci. Technol. Res.*, **29**, p.113-122. DOI: 10.3136/fstr.FSTR-D-22-00145.
- Laemmli, U. K., 1970, Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4, *Nature*, **227**, p.680-685. DOI: 10.1038/227680a0.
- 消費者庁, 2015, “別添 栄養表示関係”, 食品表示基準について (平成27年3月30日 消食表第139号), https://www.caa.go.jp/policies/policy/food_labeling/food_labeling_act/assets/food_labeling_cms201_240401_202.pdf (2024年11月13日閲覧)
- Qian, J.; Okada, Y.; Ogura, T.; Tanaka, K.; Hattori, S.; Ito, S.; Satoh, J.; Takita, T.; Yasukawa K., 2016, Kinetic analysis of the digestion of bovine type I collagen telopeptides with porcine pepsin, *J. Food Sci.*, **81**(1), C27-34. DOI: 10.1111/1750-3841.13179.
- Nishimura, K.; Higashiya, K.; Ueshima, N.; Abe, T.; Yasukawa, 2020, K., Characterization of proteases activities in *Ficus carica* cultivars, *J. Food Sci.*, **85**(3), p.535-544. DOI: 10.1111/1750-3841.15028.
- Nishimura, K.; Higashiya, K.; Ueshima, N. ; Kojima, K.; Takita, T.; Abe, T.; Takahashi, T.; Yasukawa, K., 2021, Insight into the collagen-degrading activity of a serine protease in the latex of *Ficus carica* cultivar Masui Dauphine, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **85**(5), p.1147-1156. DOI: 10.1093/bbb/zbab025.
- Borges, J. G.; Negreiros, P. F.; Paiva, E. R. A., 2020, Frequent ingestion of animal fat and risks associated with consumption, *Int. J. Dev. Res.*, **10**(07), p.37686-37689. DOI: 10.37118/ijdr.19367.07.2020.