

熟成に伴う馬肉の軟化に関する研究

島田 謙一郎

畜産科学科食料生産科学講座助教授

1. 目 的

欧米では、馬肉を食べる習慣があまりないものの、わが国では特定の地域（熊本、長野など）において好んで食べられている。日本において馬肉を食べる習慣は牛肉と同じくらい昔から存在すると言われている。現在、日本で馬肉の摂取方法は刺身（馬刺し）あるいは鍋物が一般的である。フランスでは、タルタルステーキなどが知られている。しかし、こうした食べ方は大変特異的で、畜肉の一つであるにも関わらず熟成に関する詳細な記載は行われていない。一般に、適正な熟成を行うと、と畜直後の生筋では得られない特性を食肉として獲得する。あまり目立たないが、北海道は国内の出荷頭数第2位（平成16年度）と全国でも有数の馬肉の生産地となっている。したがって、本学の立地条件で、馬肉の生産や利用法に関する研究を行うことは意義深い。さらに、現在、一部の畜種に偏った食肉の消費が問題視されているため、食肉の多様性が求められている。そこで、本研究は、熟成に伴う馬肉の軟化を調べ、軟化に要する熟成日数を確定することを目的とする。

2. 方 法

1) 実験材料

実験には2～4歳齢の雄および雌を各1頭ずつ計2頭の軽種馬を用いた。福岡県のと畜場で、と畜直後の屠体から半膜様筋を剖出して、冷蔵状態で空輸して実験に供試した。熟成は0.5% (w/v) アジ化ナトリウム溶液で湿らせたガーゼで筋肉を包んで4℃で貯蔵して行った。

2) 筋原線維の調製

経日的に採取した試料から切り出して挽肉を得た。筋原線維は挽肉の重量に対して7.5倍量の0.1 M KCl, 70 μ M leupeptin, 2 mM $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$, 1 mM DTT, 2 mM EGTA, 2 mM MgCl_2 , 1 mM NaN_3 , 10 mM Tris-maleate 緩衝液 (pH7.0) からなるPRB溶液を加えて10,000rpm・60秒間氷冷中でホモジナイズした。これを3000rpm・10分間遠心分離し、上澄みを捨てて得られた沈殿に対して、7.5倍量の0.1 M KCl, 70 μ M leupeptin, 1 mM DTT, 5 mM EDTA, 1 mM NaN_3 , 10mM Tris-maleate 緩衝液 (pH7.0) からなる溶液を加えて懸濁して再び遠心分離を行う。この操作を再び行い、得られた遠心分離後の沈殿の中間層から取り出して5 mM EDTA および5 mM Tris-HCl 緩衝液 (pH8.0) からなる溶液で懸濁し、8000 rpm・5分間遠心分離した。上澄みを捨て、同じ操作を2回繰り返して筋原線維標品とした。ビュレット法でタンパク質濃度を測定し、最終濃度が3 mg/mlの筋原線維タンパク質濃度になるようにSDS-PAGE用の試料を調製した。

3) pHの測定

経日的に得られた挽肉試料の重量に対して10倍量の150 mM KCl および 5 mM ヨード酢酸ナトリウムからなる溶液を加えてホモジナイズし、その懸濁液を pH メーターにより pH を測定した。

4) 筋原線維の小片化の測定

筋原線維の調製段階で、最初のホモジナイズをした懸濁液を顕微鏡用試料とした。これを0.1 M KCl, 70 μ M leupeptin, 1 mM DTT, 5 mM EDTA, 1 mM Na₃N, 10 mM Tris-maleate 緩衝液 (pH7.0) からなる溶液で125倍に希釈して位相差顕微鏡により 5 個以上のサルコメアからなる筋原線維と 4 個以下のサルコメアからなる筋原線維 ([F]) をカウントし、両者の総和を [Σ] とした。小片化率は、[F] / [Σ] で表した。

5) 電気泳動法 (SDS-PAGE)

電気泳動法は Laemmli の方法に従った。分離ゲルおよび濃縮ゲルのアクリルアミド濃度は12.5 %および 4 %として、SDS-ポリアクリルアミドスラブゲルを作成した。各レーンにはそれぞれ筋原線維タンパク質が 4 μ g/mm²になるようにアプライし、定電流で泳動を行った。泳動後に、ゲルは定法にて CBB R-250含む染色液で染色し、脱色を行った。

6) 剪断値の測定

試料は筋線維と垂直方向に 1 インチ厚で切り出し、ビニール袋に入れて70℃のウォーターバス中で 1 時間加熱した。試料表面を拭いてから筋線維方向と平行に直径0.5インチのコアラーで割り貫いて切断抵抗測定機 (Warner-Bratzler meat shear Model235, G-R manufacturing Co., USA) を用いて測定値を得た。

3. 結 果

今回用いた試料が帯広に到着したのは、雌はと畜後 2 日目で、雄はと畜後 3 日目であった。到着直後に筋肉の pH を測定すると、と畜後 2 日目の pH は5.65で、3 日目の pH は5.52であった。極限 pH は5.5付近まで低下するため、馬肉では極限 pH に 3 日目で達したと推定できる。通常、牛肉では、と畜 2 日目までに極限 pH に達するので、馬肉の方が牛肉よりも極限 pH に達する時間が長いと考えられた。

馬肉の硬さを示す指標である剪断値は、熟成 2 日目が6.2 kg と最も高く、熟成日数に伴って減少し、熟成14日目まで2.3 kg となり、これ以降は、熟成28日目まで殆ど変化しなくなった (図 1)。

これより馬肉も熟成により軟化すると考えられる。一般に、熟成に伴う食肉の軟化は、筋原線維構造の脆弱化と筋肉内結合組織の脆弱化が主な原因と考えられている。中でも、熟成初期の変化には、筋原線維構造の脆弱化が大きく寄与していると考えられるために、実際の構造の脆弱化を表す筋原線維の小片化率 (図 2) を測定した。

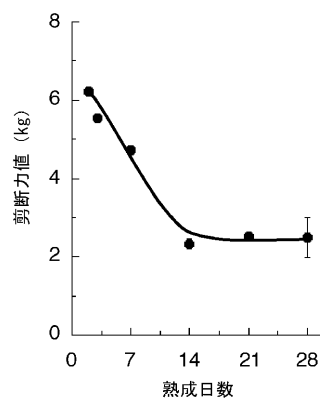


図 1. 熟成に伴う剪断値の変化

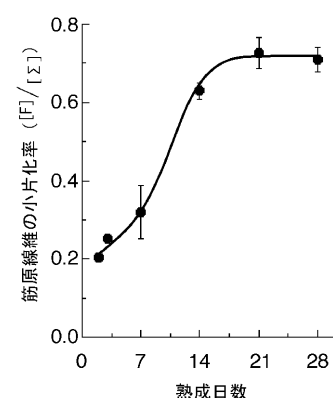


図 2. 熟成に伴う筋原線維の小片化率の変化

筋原線維の小片化率は、熟成2日目が0.20と最も低く、熟成日数に伴い増加し、熟成21日目で0.73と最も高い値を示した。次に、筋原線維構造を構成している筋原線維タンパク質の変化をSDS-PAGEにより分離して調べた(図3)。筋原線維タンパク質の一つであるトロポニンTの分解産物とされる30 kDa成分の出現速度が食肉の軟化と密接に関係していることはよく知られている。図3のSDS-PAGE像で、矢印はトロポニンTを、矢じりは30 kDa成分を示している。トロポニンTは熟成日数に伴って消失し、熟成14日目では殆ど消失した。一方、その分解産物である30 kDa成分は熟成3日目ではまだ僅かにしか確認できないが、熟成日数に伴い増加し、熟成14日目以降は、バンドの染色強度は増加していない。

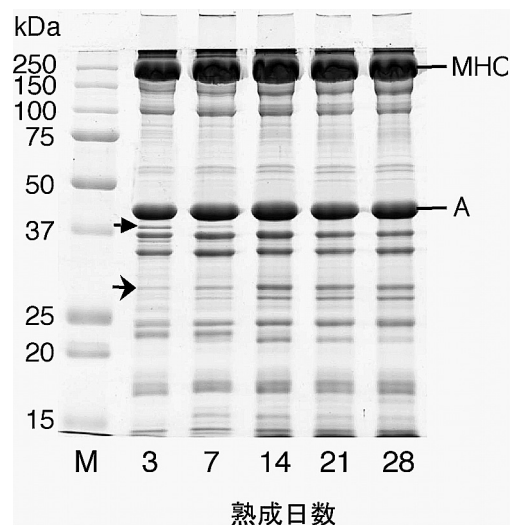


図3. 熟成に伴う筋原線維タンパク質の変化
Mは分子量マーカ(#161-0373, Bio-Rad)
MHC, ミオシン重鎖; A, アクチン

3. 考 察

本研究では、2～4歳齢の軽種馬2頭を用いた。例数が少ないため、得られた結果の再現性を確認する必要があるが、熟成により馬肉が軟化するという事実を明らかにする足がかりにはなる筈である。馬肉の極限pHは3日目であると考え、これは馬肉のグリコーゲン量が牛肉よりも多いと言われていることと関係するかもしれない(平成16年 農用馬放牧肥育技術確立検討事業 報告書, 社団法人 日本馬事協会)。すなわち、死後硬直が完了する期間も牛に比べて遅いとも考えられる。しかし、日本では、馬肉を刺身(馬刺し)で食べる習慣があるので、死後硬直が完了する時間が遅いことは、利にかなっているとも言える。実際の硬さの指標となる剪断値の結果で、熟成14日目で最も軟らかくなったが、これらは筋原線維構造の脆弱化から馬肉の場合も説明がつく。筋原線維の小片化では、最大が熟成21日目であったが、熟成14日目で0.630であった。この数値は熟成21日目の87%に相当するため、熟成14日目で約9割の軟化が完了している。さらに、トロポニンTの消失速度や30 kDa成分の出現速度をみても、同様に熟成14日目ではほぼ最大に軟化している。これは、熟成に伴う剪断値の結果とよく一致しており、4℃で熟成した場合には、14日間、すなわち、2週間の冷蔵熟成により軟らかい馬肉を得ることができると判明した。今後は、味と関係する遊離アミノ酸、外観と関係する色調値などが、熟成日数に伴ってどのように変化するのか比較検討することにより適正な熟成期間を決定することができるので、例数を増やして実験を継続する必要がある。

最後に、本研究を遂行するにあたり、ご援助を賜りました財団法人帯広畜産大学後援会に、厚く御礼申し上げます。

キーワード：馬肉, 熟成, 筋原線維, 剪断値