

研究論文

しょうゆ中のタンパク質分解酵素による鶏肉加工品の物性制御

丹羽昭夫*1

Control of Physical Property of Chicken Product by Protease in Soy Sauce

Akio NIWA *1

Food Research Center *1

本研究は、しょうゆ中のタンパク質分解酵素増量などの方法による鶏胸肉加工品のさらなる軟化の可能性を追求し、ユニバーサルデザインフード区分1の基準を満たすことを目的とした。タンパク質分解酵素の添加や、酵素反応の長時間化を行ったが、加工品の破断応力は生のしょうゆを用いた場合と比べ大きく低下せず、また試料の測定方法や調理加工方法を変えても破断応力は同様の変化を示した。このように、生のしょうゆに加えてのタンパク質分解酵素の添加による加工品の大幅な軟化は認められなかったが、生のしょうゆ単独使用でも基準値を満たす加工品の試作の可能性が認められた。

1. はじめに

現在、介護食品など多様な食感の食品の製造・開発が行われており、食品物性を制御する技術が求められている。そこで日本介護食品協議会などにより、ユニバーサルデザインフードなどの基準が設けられている¹⁾。

畜産食品はタンパク質を主な構成成分としている。一方しょうゆなど発酵調味料はタンパク質分解酵素によりうまみ成分であるアミノ酸を生成しており、製品にはタンパク質分解酵素活性が残存する。近年、火入れせず膜ろ過で除菌した生のしょうゆが広く販売されるようになってきている²⁾。この生のしょうゆに残存した酵素の作用により畜産食品の物性を制御できると考えられる。

そこで、前報³⁾で著者は生のしょうゆを用い、加熱調理の過程で酵素反応させる方法を用いることで、事前に浸漬する操作を不要とし、高温での酵素反応により短時間で酵素処理できる方法を提案した。本研究では、しょうゆ中の酵素増量などの方法による鶏胸肉加工品のさらなる軟化の可能性を追求し、ユニバーサルデザインフード区分1の基準を満たすことを目的とした。

2. 実験方法

2.1 試料

鶏胸肉は筋肉が集まっているため物性が均一であることと、加熱により硬くなりやすいため、本研究における物性試験用試料として選択した。

発酵調味料は生の濃口しょうゆ(愛知県内メーカーA社製)、白しょうゆ(県内メーカーB社製)各1種類を用いた(以下それぞれ「濃口生」、「白生」と表記)。各しよ

うゆについて、火入れにより酵素を失活させたものを用意した(以下「酵素なし」と表記)。これにプロテアーゼM「アマノ」G(*Aspergillus oryzae* 起源、天野エンザイム(株)製)を加えて酵素活性を調整した。すなわち、生のしょうゆ中のタンパク質分解酵素と同等となるように酵素を添加したものを1倍区とし、その5倍、10倍及び50倍量の酵素を加えたものをそれぞれ5倍区、10倍区、50倍区とした。火入れは、生のしょうゆ100mLをねじろびんに入れ、85℃の水浴中で30分間加熱、室温で1日静置後、2号ろ紙(アドバンテック(株))でろ過する方法を用いた。

2.2 しょうゆのタンパク質分解量の測定

前報³⁾の酵素活性の測定(物性測定試料調製条件で加熱した測定)と同様の方法でカゼイン分解量を求め、1mLのしょうゆでカゼインを1mg分解する活性を1mg/mLタンパク質分解量(以下「分解量」と表記)とした。

2.3 酵素増量・反応時間延長の検討

鶏胸肉は組織中のタンパク質分解酵素の影響を除去するため、63℃で30分加熱し、その後筋膜に近い部分を除去、約3cm角に切ったものを使用した。

酵素増量の検討では、1倍区、5倍区、及び50倍区の濃口しょうゆを用い、前報³⁾と同様の方法で鶏胸肉の物性測定試料を調製した。

反応時間延長の検討では酵素活性は1倍区を用いて、25℃から45℃に昇温後、44分、99分、あるいは209分間保持し、その後沸騰まで加熱した。

いずれの試験区も対照としてタンパク質分解酵素を添

*1 食品工業技術センター 保蔵包装技術室

加しない濃口しょうゆ(酵素なし)を用い、鶏胸肉を同時調製した。各試料調製はいずれも2連で行い、前報³⁾と同様の方法で筋繊維軸方向に対し垂直に試料の破断応力及び破断応力相対値を測定した。応力相対値とは同時調製した対照に対する酵素入り試料の応力値の比である。

2.4 物性測定方向の検討

物性の測定方法は前報³⁾に従い、酵素なし、1倍区及び50倍区の3点を同時調製し、それぞれの試験区で長軸が繊維軸方向となる物性測定試料と繊維軸方向に垂直となる物性測定試料を調整した。図1に示すように前者では垂直方向の、後者では平行方向及び繊維軸方向の破断応力及び破断応力相対値を測定した。

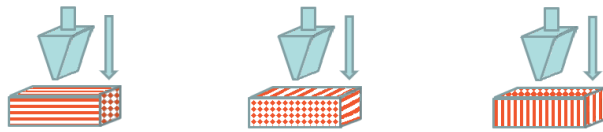


図1 鳥むね肉の破断の方向(左:垂直方向、中央:平行方向、右:繊維軸方向)

2.5 介護食に適した鶏胸肉加工品の試作

約3cm角に切った生の鶏胸肉を重量に対し容量で各10%の濃口、30%(W/V)ショ糖溶液とともにポリ袋に密封し、これを湯せんで25℃から63℃まで加熱した。その途中45℃及び55℃でそれぞれ5分間保持した。その後63℃で30分加熱し、冷却したものについて、クリープメーター(RE2-330005C、(株)山電)を用いて、垣尾による固形物の測定法⁴⁾に従い3mm径プランジャー、速度10mm/sec、測定歪率70%による破断応力、最大応力、及びそれらの応力相対値を測定した。測定は繊維軸方向に対し垂直に行った。最大応力は破断応力で使用した測定データを使用した。さらに前報³⁾と同様の方法による破断応力及び破断応力相対値も測定した。しょうゆは1倍区、5倍区、10倍区、及び50倍区の濃口しょうゆを用いた。

2.6 生のしょうゆを用いた試作

濃口及び白の酵素なし(以下それぞれ「濃口酵素なし」、「白酵素なし」と表記)と濃口生及び白生を用いて2.5節と同様に試作し、垣尾による固形物の測定法⁴⁾に従い破断応力及び最大応力を測定した。また濃口酵素なし及び白酵素なし、濃口生及び白生、及び10倍区の濃口及び白を用いて試作し、これを用いてかたさの官能

評価を行った。試作品3点をパネラーが試食し、かたいと感じるものから順に1、2、3と順位付けし、その平均値を求めた。パネラーは当センター職員20名が務めた。有意差の判定はクレーマーの迅速有意差検定表⁵⁾を用いた。

3. 実験結果及び考察

3.1 酵素増量・反応時間延長の検討

鶏胸肉の酵素増量及び反応時間延長での分解量を表1に示す。1倍区の分解量が4.9mg/mlであり、5倍区、50倍区では酵素添加量に比例して分解量が増加することを確認した。一方反応時間延長した場合は45℃での保持時間が長くなるほど分解量が大きくなった。

破断応力、及び破断応力相対値を表2に示す。破断応力はいずれも酵素なしと比べると低下していた。ただし1倍区と比べて明らかに大きく低下したものはなく、同じような低下率と考えられた。酵素なしに対する相対値を見ると209分を除き約0.8~0.9であり、酵素増量・時間延長といった方法で分解量を大きくしても破断応力は大きく低下しなかった。

なお破断応力相対値の高かった45℃で209分保持したものでは、酵素なしの破断応力そのものが他の試験区より低かった。これは対照も同じ時間保持されるため、酵素なしの試料でも塩分や長時間加熱による軟化が起こった可能性が考えられた⁶⁾。

表1 鳥むね肉の酵素増強及び反応時間延長での分解量

	1倍区	5倍区	50倍区	44分	99分	209分
分解量(mg/ml)	4.9	24	240	35	58	110

表2 鳥むね肉の酵素増強及び反応時間延長での破断応力、及び破断応力相対値

	酵素なし		酵素入り		相対値
	n数	相対値	n数	相対値	
	(10 ⁶ N/m ²)	(10 ⁶ N/m ²)	(10 ⁶ N/m ²)	(10 ⁶ N/m ²)	
1倍区	2.2±0.5	16	1.8±0.2	24	0.81
5倍区	2.3±0.6	16	2.0±0.5	23	0.82
50倍区	2.4±0.5	14	2.0±0.3	18	0.81
44分	2.7±0.7	18	2.3±0.4	14	0.87
99分	2.5±0.7	18	1.9±0.6	16	0.78
209分	2.2±0.5	18	2.1±0.3	16	0.96

表3 各破断方向での破断応力及び破断応力相対値

	酵素なし		1倍区		50倍区			
	n数	相対値	n数	相対値	n数	相対値		
	(10 ⁶ N/m ²)	(10 ⁶ N/m ²)	(10 ⁶ N/m ²)	(10 ⁶ N/m ²)	(10 ⁶ N/m ²)	(10 ⁶ N/m ²)		
垂直	3.1±0.8	5	2.7±0.4	5	0.87	2.5±0.3	6	0.83
平行	0.78±0.40	9	0.59±0.22	12	0.75	0.61±0.22	10	0.78
繊維軸	0.70±0.40	9	0.61±0.22	10	0.87	0.61±0.18	10	0.86

3.2 物性測定方向の検討

鶏胸肉の物性測定方向による破断応力及び破断応力相対値をそれぞれ表 3 に示す。前報³⁾と同じ垂直方向に比べその他のものは破断応力が大幅に低かった。しかし相対値は約 0.8~0.9 であり、垂直方向と同様の傾向を示した。このように、物性測定方法を変えても酵素による破断応力の低下は同様の傾向を示した。

3.3 介護食に適した鶏胸肉加工品の試作

肉中のコラーゲンは 65℃以上になると収縮し、肉が硬化する。そこで加熱温度を 65℃以下にすることにより介護食に適した鶏胸肉加工品(以下加工品と表記)の試作を行った。加工品の試作条件での分解量を表 4 に示す。1 倍区の試作過程での分解量は 17 mg/ml であり、表 1 の酵素添加 1 倍区の 3 倍以上の値を示した。これは添加したタンパク質分解酵素の至適温度⁷⁾近くの 45℃から 55℃に長時間保持されたためと考えられた。

表 4 加工品の試作条件での分解量

	1 倍	5 倍	10 倍	50 倍
分解量(mg/ml)	17	83	170	830

表 5 加工品の 3mm 径プランジャーでの破断応力及び破断応力相対値

	酵素なし		酵素入り		相対値
	n 数	(10 ⁵ N/m ²)	n 数	(10 ⁵ N/m ²)	
1 倍区	16	5.3±0.8	16	4.2±0.8	0.80
5 倍区	16	4.6±1.2	16	3.9±0.7	0.85
10 倍区	18	4.7±0.8	18	4.3±0.6	0.92
50 倍区	18	4.3±0.5	18	3.1±0.8	0.74

表 6 加工品のくさび型プランジャーでの破断応力及び破断応力相対値

	酵素なし		酵素入り		相対値
	n 数	(10 ⁶ N/m ²)	n 数	(10 ⁶ N/m ²)	
1 倍区	14	2.1±0.4	18	1.8±0.3	0.85
5 倍区	14	2.1±0.3	18	1.8±0.5	0.86
10 倍区	16	1.9±0.4	16	1.8±0.4	0.91
50 倍区	16	1.8±0.4	16	1.4±0.3	0.81

表 7 加工品の 3mm 径プランジャーでの最大応力及び最大応力相対値

	酵素なし		酵素入り		相対値
	n 数	(10 ⁵ N/m ²)	n 数	(10 ⁵ N/m ²)	
1 倍区	16	7.4±1.7	16	6.6±1.3	0.89
5 倍区	16	6.4±1.7	16	5.9±1.3	0.92
10 倍区	18	5.7±1.0	18	6.4±1.3	1.10
50 倍区	18	5.8±1.3	18	4.5±0.9	0.79

加工品の 3mm 径プランジャーでの破断応力及び破断応力相対値をそれぞれ表 5、従来のくさび型を用いた破断応力及び破断応力相対値をそれぞれ表 6 に示す。3mm 径プランジャーでの破断応力は酵素増量及び反応時間延長での結果に比べ大幅に低いが、相対値は 50 倍区が少し低いものの他は約 0.8~0.9 であり、加工品でもこれまでの物性測定と同様の変化を示した。一方くさび型を用いた破断応力は、酵素増量及び反応時間延長での結果に比べやや低いが大きな違いはなかった。これは 3mm 径プランジャーでの測定がくさび型を筋繊維軸方向に対し平行に測定した場合に近いと考えられた。しかし相対値は同じく約 0.8~0.9 であり、これまでの物性測定と同様の変化を示した。これらより試料の測定方法や調理加工方法を変えても相対的な変化は同じように評価できると考えられた。

3mm 径プランジャーでの最大応力及び最大応力相対値をそれぞれ表 7 に示す。最大応力は、酵素なしより 10 倍区が大きくなるなどばらつきが大きく、解析は困難と考えられた。これは最大応力には、図 2 に示すように破断応力と同じとなるものと異なるものの 2通りがあり、このような性質が異なるデータが混在したためと考えられた。しかしその他は酵素なしより酵素入りが低くなり、酵素により低下する傾向が見られた。今回の結果からは、50 倍区はユニバーサルデザインフード区分 1 の基準値(最大応力 5×10⁵N/m² 未満)を満たしており、酵素により基準に合致する方向に導くことが可能と考えられた。

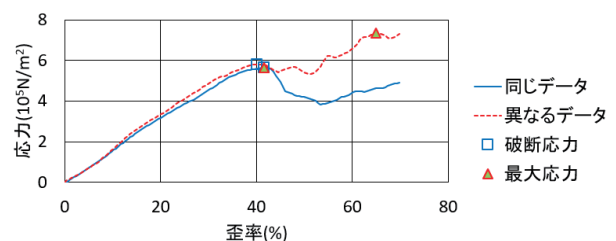


図 2 最大応力と破断応力を示した測定例

3.4 生のしょうゆを用いた試作品のかたさ

生のしょうゆを用いた加工品試作条件での分解量を表 8 に示す。表 4 の介護食に適した鶏胸肉加工品の試作の 1 倍区よりも低いが、表 1 の酵素添加 1 倍区より大きいため、生のしょうゆでも介護食に適した鶏胸肉加工品の試作と同等の処理を行えば軟化させるのに十分効果があると考えられた。

生のしょうゆを用いた加工品の物性測定値を表 9 に示す。破断応力は濃口生、白生いずれも対照である濃口酵素なし・白酵素なしと比べ 8 割強まで低下を示した。一方最大応力は濃口生については低下が見られたが、白生

は低下しなかった。これは前節でも記述した通り、最大応力の制御は破断応力よりも困難であるためと考えられた。今回の結果では、濃口生を用いた加工品はユニバーサルデザインフード区分1の基準値を満たしていた。

表8 生のしょうゆを用いた加工品試作条件での分解量

	濃口生	白生
分解量(mg/ml)	12	9.2

表9 生のしょうゆを用いた加工品の物性測定値

	破断応力 相対値		最大応力 相対値		n 数
	(10 ⁵ N/m ²)		(10 ⁵ N/m ²)		
濃口酵素なし	4.4±1.0	なし	5.9±0.9	なし	8
濃口生	3.7±0.7	0.84	4.9±0.6	0.83	8
白酵素なし	4.4±0.7	なし	5.7±0.9	なし	8
白生	3.8±1.0	0.86	5.7±1.3	1.00	8

3.5 生のしょうゆを用いた試作品の官能評価

図3に試作直後の官能評価用試料の写真を示す。10倍区は煮汁の濁りが少なく、特に濃口では色が濃く見え、試料自身も図4に示すように醤油がしみ込んで表面が茶色くなった。また10倍区は肉の表面が溶けたようになり、この性質は製品として好ましくないと考えられた。

かたさの官能評価の結果を表10に示す。数値が大きいほど柔らかく評価されている。白酵素なしが有意にかたく、10倍区の濃口が柔らかいと判定された。全体と



図3 試作直後の官能評価用試料の写真(左から濃口入れ、生、10倍区、白火入れ、生、10倍区)



図4 官能評価用試料濃口10倍の写真

表10 かたさの順位

	酵素なし	生	10倍
濃口	1.80±0.77	1.75±0.79	2.45±0.76
白	1.55±0.76	2.05±0.69	2.40±0.82

して、酵素が作用したものは柔らかく評価される傾向があると考えられた。ただし生より10倍区の数値が大きく、破断応力の結果とは異なる結果となった。これはヒトが単純に破断応力のみでかたさを判断していないためと考えられた。

4. 結び

発酵調味料である生のしょうゆを用いてユニバーサルデザインフード区分1の基準を満たす鶏胸肉加工品を目指し、酵素の増量・反応時間の延長、物性測定法や調理加工方法の検討を行った。その結果、タンパク質分解酵素の添加や、酵素反応の長時間化による加工品の破断応力は生のしょうゆを用いた場合と比べ大きく低下せず、また試料の測定方法や調理加工方法を変えても破断応力は同様の変化を示した。このように、生のしょうゆに加えての酵素添加による加工品の大幅な軟化は認められなかったが、生のしょうゆ単独使用でも基準値を満たす加工品の試作の可能性が認められた。

肉をたたくといった物理的な方法などをさらに利用することでより確実に基準を満たすことができると考えられる。一方、肉の物性には膠原繊維が関わっているとされている⁸⁾。そこでしょうゆの酵素の作用による膠原繊維及びそれを構成するコラーゲンの変化を分析することにより効果的な方法を検討できると考えられる。

文献

- 1) 日本介護食品協議会: ユニバーサルデザインフードとは, <https://www.udf.jp/outline/udf.html>, (2019/6/10)
- 2) 農林水産省: 農林物資規格調査会平成27年9月8日会議資料日本農林規格の改正について「しょうゆの日本農林規格」, http://www.maff.go.jp/j/jas/kaigi/pdf/h270908_jas_tyou_siryoku1_kai.pdf, (2019/6/10)
- 3) 丹羽昭夫: あいち産業科学技術総合センター研究報告, **7**, 116(2018)
- 4) 垣尾尚史: Shimadzu Application Notes, **33**, 1(2012)
- 5) 日科技連官能検査委員会: 新版官能検査ハンドブック, 845(1973)
- 6) 沖谷明紘編: 肉の科学, 112(1996)
- 7) 天野エンザイム: 「Food Processing Use」Protease M “Amano” G 20150916, 2 (2015)
- 8) 佐藤靖子: 鶏肉の肉の軟化に関する組織化学的構造の変化と軟化度の関連, www.nakashima-foundation.org/kieikai/pdf/24/31.pdf, (2019/6/10)