

## 平成29年度 学内研究助成金 研究報告書

研究種目	<input type="checkbox"/> 奨励研究助成金	<input type="checkbox"/> 研究成果刊行助成金
	<input checked="" type="checkbox"/> 21世紀研究開発奨励金 (共同研究助成金)	<input type="checkbox"/> 21世紀教育開発奨励金 (教育推進研究助成金)
研究課題名	しもふり豚肉の肉質特性に及ぼす長期熟成の効果	
研究者所属・氏名	研究代表者： 生物理工学部・食品安全工学科 准教授 白木琢磨 共同研究者： 農学部・環境管理学科 准教授 森 美穂	

### 1. 研究目的・内容

本研究の目的は、しもふり豚肉の熟成期間の違いによる理化学的特性、生化学的特性、微生物学的特性の変化を明らかにし、豚肉の長期熟成法を考案することである。

和歌山県、宮崎県などで作出した飼料給与や遺伝的背景の分かる霜降り豚肉、最高級豚肉など数検体を供試し、部位による影響と供試豚（遺伝+給与飼料）による影響を検討する。熟成店または研究室の冷蔵庫(4℃)内で、長期熟成期間中、1週間毎にサンプリングを行い、保存場所の影響と経時時間の影響を明らかにする。

### 2. 研究経過及び成果

和歌山県内の熊野プライムフーズで、アミノ酸バランス法により肥育されたLWD豚（いわゆる3元豚）を長期熟成用に供試した。アミノ酸バランス法で肥育した豚のロースを買い戻し、ロース中の粗脂肪含量および水分含量を測定することで、通常の豚肉より霜降りの多い豚肉であることを確認した。京都市内の精肉店（京都中勢以）において、上記豚肉を用い長期熟成（ドライエージング）を実施した。ドライエージングは肉を真空パックにせず、むき出しのまま熟成庫に放置する方法である。使用した熟成庫にはすでに熟成の進んだ他の豚枝肉が存在し、同じ空間に新しい枝肉を置くことで微生物が移行し、熟成の成功率を上げていることが期待される。実際に本研究で使用した豚肉も腐ることなく、表面の微生物群も見た限り同じような発生を認めた。イノブタでは熟成がうまく行かなかったことから、品種の影響は存在すると予想された。

熟成開始から2週間毎にロース末端をブロックでサンプリングし、熟成の進行に伴う肉質の変化を測定した。これまでの予備的研究において、長期熟成の成否は、きめ・しまりと言った保水性に相関していると考えられおり、霜降りのほとんどない鹿児島県産南の島豚などで長期熟成が成功していた。今回新たに霜降りの多いLWD豚でも長期熟成が成功したので、その成否を決める要因には霜降りではないことが確認された。2週間毎のサンプリングした肉を用いて理化学測定を行った結果、熟成に伴って水分含量が変化することを見出した。当初ドライエージングという名前からも予想される通り、熟成の進行に伴って乾燥が進み、水分含量が減少すると予想していたが、むしろ肉表面が微生物で覆われることで、肉自体の乾燥は防がれ、肉そのものの熟成に伴い化学反応により水分が作られていると考えられた。用いた枝肉の霜降りの度合いには関係なく同じように水分含量が増加していた。熟成の進行に伴って筋繊維の蛋白質の分解が進むことが知られている。したがって水分含量の増加は分解の進行に伴って生じる水溶性の成分を保持する役割があり、熟成肉の風味に影響していると考えられた。

ドライエージング法により作製された熟成肉は、表面が乾燥したり、カビに覆われたりするが、それらにより他の有害微生物の定着がなく、腐敗を防いでいるといわれている。しかしながら、どのような微生物が、どのように熟成肉の品質特性に影響を及ぼしているのかについては詳細に明らかにされていない。そこで微生物学的実験では、ドライエージング法の熟成に関与している微生物を特定するために、熟成庫内の浮遊菌検査と付着菌検査、および熟成過程の肉表面の微生物数と菌叢の経時的な変化を調査した。

微生物のサンプリングは、熟成ありと熟成なしの2店舗の精肉店で実施した。浮遊菌検査はエアースンプラー法で行なった。付着菌検査は簡易ふき取りキットを用いて、拭き取り検査法で行



なった。採取後の原液とペプトン加生理食塩水により 10 倍段階希釈した溶液を、それぞれ選択培地に塗抹し、各検出対象菌に適した温度と時間で培養した後にコロニー数を測定した。測定値は 2 枚の寒天培地の平均値から求めた。浮遊菌検査の結果、豚肉の熟成冷蔵庫は牛肉の熟成冷蔵庫よりも真菌の総菌数が多かった。また、熟成冷蔵庫の方が熟成作業を行っていない保存用冷蔵庫よりも細菌と真菌の総菌数が多く、熟成冷蔵庫では細菌よりも真菌が多く検出された。付着菌検査の結果、牛肉の熟成冷蔵庫より豚肉の熟成冷蔵庫の方が、真菌が多く検出され、熟成冷蔵庫では細菌よりも真菌が多く検出された。これらのことから、肉の熟成には、細菌よりも真菌が重要な役割を果たしていることが示唆された。

肉表面の微生物数測定と菌叢解析は以下の方法で行った。熟成過程の肉と市販の肉の表面を切り取り、ペプトン加生理食塩水を加え ULTRA-TURRAX® Tube Drive で破碎した後、10 倍段階希釈系列を作製した。それぞれ選択培地に塗抹し、各検出対象菌に適した温度と時間で培養した後にコロニー数を測定し、微生物数の経時的な変化を調査した。肉表面の微生物数測定の結果、低温食中毒原因菌とされる菌は検出されなかった。霜降り弱いものよりも強い肉の方が全体的に菌数の多い結果となった。細菌は熟成過程であまり増加せず、真菌は全ての肉で増加した。4℃の低温環境で培養した場合には、いずれの肉でも熟成が進むごとに一般細菌、従属栄養細菌、真菌が増加する傾向がみられた。

浮遊菌検査・付着菌検査と熟成肉表面から検出された菌について、MALDI/TOF-MS を用いたタンパク質成分のマスマスペクトルパターンと 16S rRNA 遺伝子配列に基づいた菌株同定を行なった。その結果、全ての実験で共通した優占種の存在を明らかにすることができた。

### 3. 本研究と関連した今後の研究計画

本研究は、実際の熟成肉販売業者の協力の下、現場の熟成庫で熟成を行った。ほぼ微生物叢が完成し安定した熟成庫での熟成を行っているため、成功するのが前提であったと言える。今後は実験室レベルの保管庫に熟成肉を移行させ、微生物叢や熟成条件をより厳密にコントロールした条件下で熟成を再現することで、熟成の進行をより詳細にモニターするとともに、熟成の成否に影響する因子を明らかにする予定である。

熟成過程の肉から抽出した微生物 DNA を用いて PCR-DGGE 法による培養できない微生物を含めた菌叢解析を進める予定である。熟成に関与している可能性が高い菌株については、リパーゼとプロテアーゼ活性を測定し、肉の香味成分や旨味成分との相関関係について検討し、熟成肉表面から単離保存した菌株を用いて、食中毒原因菌に対する抗菌活性測定を実施する予定である。

### 4. 成果の発表等

発表機関名	種類(著書・雑誌・口頭)	発表年月日(予定を含む)
日本防菌防黴学会 44 回年次大会	ポスター	H29.9.26
第 38 回日本食品日微生物学会学術総会	ポスター	H29.10.6
2017 年度生命科学系学会合同年次大会	ワークショップ口頭発表	H29.12.7