冷凍が黒毛和種牛肉の理化学特性と官能特性に及ぼす影響

山田信一¹・齋藤 薫¹・曾和 拓¹・佐久間弘典¹・小平貴都子¹・
本郷美那子¹・中山佐智雄¹・佐藤進司¹・赤井田満¹

¹ 独立行政法人家畜改良センター，福島県西郷村 961-8511

(2011. 9. 21 受付, 2012. 5. 7 受理)

要 約 冷凍が黒毛和種牛肉の理化学特性と官能特性に及ぼす影響について検討した。1頭の黒毛和種去勢牛から採取された左右の胸最長筋を用い，一方は2℃で屠畜後15日間冷蔵するとともに（冷蔵区），もう一方は2℃で屠畜後14日間冷蔵した後，-30℃で6日間冷凍し，さらに2℃で24時間かけ解凍した（冷凍区）。理化学特性は冷凍区の方が冷蔵区より剪断力価や保水性はやや低くなり，また水分や遊離アミノ酸量などの呈味成分がわずかに減少したものの，脂肪酸組成やTBARS値に差はみられなかった。官能特性では，多汁性において冷凍区の方が冷蔵区より評価値がやや低くなったものの，やわらかさや風味に関する項目において差はみられなかった。このことから，冷凍は黒毛和種牛肉の物理的特性にやや影響するものの，官能特性には大きくは影響せず，官能評価に冷凍した牛肉を用いてもおそらく特段の問題はないと考えられた。

日本畜産学会報 83 (3), 301-306, 2012

食肉の官能評価に供試するサンプルは，熟成の期間や温度，包装形態などの条件が食肉の特性に大きな影響を及ぼすため，官能評価までの貯蔵は必ず同じ条件とする必要がある（家畜改良センター 2005）。複数の異なる食肉サンプルを用いて官能評価を行う場合，熟成期間を同一にすることや，評価者であるパネルを同一日に集める都合など実験上の制約から，サンプルは冷凍で保管し，供試する前に解凍して行うことが多いと思われる。理化学分析の場合も同様に，複数のサンプルをまとめて供しようとする，分析に使用するまで冷凍で保管せざるを得ないことが多い。

冷凍は熟成の進行を抑制し，サンプルを長期間保管できるという利点がある一方，牛肉の剪断力価や保水性といった物理的特性や脂質の酸化度に影響することが報告されている（CrouseとKoochmaraie 1990；Shanksら 2002；Lagerstedtら 2008；Vieiraら 2009）。官能特性に関しては，訓練を1回受けたパネルによる評価では，冷蔵した牛肉の方が冷凍したものより味，多汁性，やわらかさの評価が高かったことが報告されている（Lagerstedtら 2008）。また，沖谷ら（1990）は，凍結輸入牛肉が国産牛肉に比べて不味の原因は，脂肪交雑など肉質の違いの他に，熟成の不充分さや凍結貯蔵による筋原線維タンパク質の凍結変性にあるとしている。

輸入牛肉については，輸送時間や用途などの点から冷凍で流通する割合の方が多いものの，国産牛肉で消費者

に小売りされるものは，冷凍牛肉はドリップがやすいことや風味が低下する懸念などから，冷蔵で小売店まで流通するのが一般的である。また，国産牛肉では冷凍は主に需給調整を図るために行われており，冷凍の国産牛肉の流通量を示す統計はないものの，我が国の牛肉の生産量（農林水産省 2011）と冷蔵，冷凍を区分した推定期末在庫（農畜産業振興機構 2011）からは，冷凍牛肉は生産量の1割から多くても2割程度と推計される。このため，冷凍と冷蔵で牛肉の特性が異なるのであれば，冷凍牛肉を用いる方法は流通や消費の実態に即しているとは言えず，結果の取扱いが問題となるとと思われる。しかしながら，黒毛和種牛肉における冷凍の影響について検討された報告はあまりみられないことから，黒毛和種牛肉について冷凍が理化学特性と官能特性にどのように影響するのか，確認する必要がある。

そこで，本試験では1頭の黒毛和種去勢牛から左右の胸最長筋を採取し，一方は冷蔵のまま，もう一方は熟成後に一旦冷凍し，解凍したものをを用いて理化学分析と官能評価を行い，冷凍が黒毛和種牛肉の理化学特性と官能特性に及ぼす影響について検討した。

材料および方法

1. 供試サンプル

黒毛和種去勢牛1頭について，屠畜後，左右の枝肉半丸から採取された胸最長筋（サーロイン）を供試サン

連絡者：山田信一（fax：0248-25-3990，e-mail：s1yamada@nlbc.go.jp）

プルとした。供試牛の枝肉格付は、枝肉重量が453.0 kg、BMS No. が5、肉質が4等級であった。サンプルは、枝肉解体後にポリオレフィン・ポリ塩化ビニリデン製の真空包装用の袋（シールドエアジャパン、東京）に入れ、肉用真空包装機（SVM-4WU；古川製作所、東京）を用いて真空包装した。屠畜後13日目まで真空包装のまま2℃の冷蔵下で保管した後、屠畜後14日目に真空包装を開封し、第10-11胸椎断面から第12-13胸椎断面まで約10 cm厚を理化学分析用、第12-13胸椎断面から尾側5.5 cm厚を官能評価用サンプルとして分割した。これらを真空包装用のアルミ袋（三菱ガス化学、東京）に入れ、卓上真空包装機（TM-H；古川製作所、東京）を用いて再度真空包装後、左半丸部は冷蔵区として2℃で冷蔵し、右半丸部は冷凍区として容積452Lのバイオメディカルフリーザ（MDF-U537D；三洋電機、東京）の庫内温度を-30℃に設定して冷凍した。官能評価のサンプルを凍結保存する場合、できるだけ低い温度で速やかに凍結を行う必要があり、凍結温度は-18℃以下とされている（家畜改良センター2005）。本試験では-30℃で冷凍したが、流通段階で凍結肉を保管する倉庫には保管温度が-20℃～-30℃のF1級または-30℃～-40℃のF2級が用いられており（勝田2003）、本試験の凍結温度は流通段階で保管される温度範囲にある。

冷蔵区は1日冷蔵した後、すなわち屠畜後15日目に真空包装を開封し、脂肪や胸最長筋以外の筋肉を除去してから理化学分析および官能評価を行った。理化学分析のサンプルは、胸最長筋から加熱損失および剪断力価用に約50 gの立方体、保水性用に約0.5 gの立方体をそれぞれ2つずつ採取し、他の項目は残りの胸最長筋をミンチ肉にして用いた。冷凍区は6日間冷凍した後、2℃で24時間かけて解凍し、その後真空包装を開封して冷蔵区と同様に理化学分析および官能評価を行った。冷凍の間は熟成が抑制されることから、この処置により冷蔵区、冷凍区とも熟成日数は同じ15日間とみなした。

2. 理化学分析

理化学分析は「食肉の理化学分析及び官能評価マニュアル」（家畜改良センター2010）に準じて、以下の項目について実施した。水分含量は、サンプルを105℃で24時間加熱乾燥させ、加熱乾燥前後の重量差により算出した。粗脂肪含量は、水分含量測定後のサンプル用い、ソックスレー抽出器によりジエチルエーテルを16時間環流させ得られた抽出物の重量により算出した。粗タンパク質含量は、サンプルに硫酸を添加し加熱分解後、窒素蒸留滴定装置（Kjeltec Auto 2600；Foss, Hillerød, Denmark）を用いて滴定された窒素量から算出した。加熱損失は約50 gの肉塊を70℃の温湯で1時間加温し、加温前後の重量差により算出した。剪断力価は、加熱損失測定後のサンプルを筋線維に対して垂直断面が1×1 cmになるように切り出し、剪断速度を200 mm/分とした Warner-

Bratzler 測定用アタッチメントを付けたインストロン（model 5542；INSTRON, MA, USA）で測定した。保水性は遠心法（Irie と Swatland 1992）により測定した。

脂肪酸組成は、Folch ら（1957）の方法を用いて脂肪を抽出し、これを水酸化カリウムエタノール溶液でケン化後、3フッ化ホウ素メタノールでメチルエステル化し、ガスクロマトグラフィー（FID：GC380、ジーエルサイエンス、東京）を用いて測定した。測定条件は、ガスクロマトグラフィーの注入口と検出器の温度を160℃とし、カラムにキャピラリー（CP-Sil88 Wcot 0.25 mm×50 m、ジーエルサイエンス）を用いた。キャリアガスにはヘリウムガスを使用した。脂肪融点は上昇融点法（厚生労働省2006）により測定した。脂質酸化度は、Mitsumoto ら（1993）の方法により測定した。TBARS（チオバルビツール酸反応物質）値は牛肉1 kg 当たりのマロンジアルデヒドのmg量で示した。

遊離アミノ酸、ジペプチドおよび核酸関連物質は、ミンチをした牛肉に超純水を加えてホモジナイズ（7200×g、1分）し、ヘキサンで除脂肪、アセトニトリルで除タンパクした後、得られたものを測定用のサンプルとした。なお、遊離アミノ酸、ペプチド分析には、内部標準としてノルロイシンを用いた。遊離アミノ酸、ペプチド分析は、測定用 picotag 法により誘導体化した後、液体クロマトグラフィー（Waters 2690；Waters, MA, USA）に注入し、分析した。カラムは、生体アミノ酸用カラム（picotag column for free amino Acid, 3.9 mm i.d.×300 mm；Waters）、検出器はUV検出器（Waters 2487；UV；Waters）を用いた。核酸関連物質は、測定用サンプルをそのまま同様のHPLCに注入し、分析した。カラムは、Atlantis（4.6 mm i.d.×150 mm；Waters）を用い、検出器は遊離アミノ酸と同じものを用いた。

水分含量、粗脂肪含量、粗タンパク質含量、加熱損失、保水性は2回ずつ測定し、平均値を算出した。剪断力価は12回測定し、最大値と最小値を除いて平均値と標準偏差を算出した。また、脂肪融点は7回測定し平均値と標準偏差を算出した。それ以外の項目は1回ずつ測定した。

3. 官能評価

官能評価は、当センターの職員16名をパネリストとして行った。パネリストのうち、5名は分析型パネルとして熟練した経験者であった。供試肉は、あらかじめ加熱しておいた恒温乾燥機（オーブン）に熱電対を挿入した供試肉を入れ、165℃で加熱した。供試肉の内部温度が70℃になった時点で取り出し、10分間放冷後3 cm×3 cm×5 mmに切り分け、提示試料とした。冷蔵区と冷凍区は同日に直接比較できないことから、対照区として黒毛和種とホルスタイン種の交雑種1頭から得られた冷凍サンプル（胸最長筋）を用意し、対照区を0として、-3から3までの7段階で、それぞれ以下の5項目につ

いて評価した。

- ・咀嚼時のやわらかさ（－3：かたい，3：やわらかい）
- ・多汁性（－3：ない，3：やわらかい）
- ・和牛らしい風味（－3：弱い，3：強い）
- ・オフフレーバー（－3：弱い，3：強い）
- ・総合評価（－3：好ましくない，3：好ましい）

結果および考察

冷蔵区，冷凍区の一般組成（水分含量，粗タンパク質含量，粗脂肪含量）と物理的特性の値を表1に示した。平均値では冷凍区は冷蔵区より水分含量は1.6%低く，粗脂肪含量は2.0%高い値を示した。また，加熱損失は冷凍区の方が1.6%高く，剪断力価は0.64 kgf，保水性は2.6%それぞれ低い値を示した。

脂肪酸組成，脂肪融点，TBARS 値を表2に示した。脂肪融点は冷凍区が冷蔵区より1℃低かったが，脂肪酸組成はほぼ同じであった。TBARS 値にほとんど差はみられなかった。

遊離アミノ酸，ジペプチド，核酸関連物質の値を表3に示した。遊離アミノ酸は冷凍区の方がグルタミンで0.31 $\mu\text{mol/g}$ 低く，他の遊離アミノ酸は冷凍区がわずかに低いかまたはほぼ同じ値であり，結果として総遊離アミノ酸量は，冷凍区が冷蔵区より0.8 $\mu\text{mol/g}$ 低くなった。ジペプチドは冷凍区の方がカルノシンで0.4 $\mu\text{mol/g}$ 低かった。核酸関連物質は，イノシン酸，イノシン，ヒ

ポキサンチンそれぞれ冷凍区の方が冷蔵区よりやや低い値を示した。

官能評価の結果を図1に示した。多汁性については冷凍区が冷蔵区よりやや低い値であったが，その他の項目に差は見られなかった。

これまでに熟成日数が同一である場合，冷凍した牛肉の方が冷蔵に比べ剪断力価は低くなり，また保水性は低く，加熱損失も高い値を示すことが報告されている（Shanks ら 2002；Lagerstedt ら 2008）。この要因としては，冷凍により筋細胞内に氷晶が形成され，細胞の物理的な構造が破壊されることによることが推測されている。本試験においても，剪断力価，保水性，加熱損失においてこれまでの報告と一致した結果であった。黒毛和種牛肉においては他品種と比べ脂肪交雑が多い分，水分は少ない特徴があるが，今回の結果からは，その黒毛和種牛肉においても水分が凍結することによる物理的な影響があると思われる。

冷凍区において総遊離アミノ酸量などの減少がみられたが，これは解凍時に水分が流出した結果，これに含まれる遊離アミノ酸なども同時に流出したためと推測された。一方，アミノ酸によっては冷蔵区と冷凍区で差がないものもみられた。Watanabe ら（2004）は，3品種のウシの胸最長筋を冷蔵し保存日数と遊離アミノ酸量との関係を調べた結果，アスパラギン酸を除くすべての遊離アミノ酸量は保存日数に伴い増加したものの，アミノ酸に

Table 1 Moisture, WBSF, WHC and other physicochemical traits in chilled and frozen beef

item		Chilled	Frozen
Moisture, %	1st time	51.6	50.3
	2nd time	51.0	49.0
	Mean	51.3	49.7
Crude protein, %	1st time	15.4	16.2
	2nd time	15.2	14.6
	Mean	15.3	15.4
Ether extract, %	1st time	31.8	33.3
	2nd time	32.6	35.1
	Mean	32.2	34.2
Cooking loss, %	1st time	19.3	22.9
	2nd time	18.6	18.0
	Mean	18.9	20.5
WBSF, kgf	Mean $\pm$ SD	2.64 $\pm$ 0.30	2.00 $\pm$ 0.32
WHC, %	1st time	82.0	76.4
	2nd time	79.5	80.0
	Mean	80.8	78.2

WBSF : Warner-Bratzler shear force

WHC : Water holding capacity

SD : Standard deviation

Table 2 Fatty acid composition, melting point and lipid oxidation in chilled and frozen beef

item	Chilled	Frozen
Fatty acid composition, %		
C12 : 0	0.1	0.1
C14 : 0	3.2	3.2
C14 : 1	0.7	0.7
C15 : 0	0.5	0.5
C16 : 0	25.0	24.8
C16 : 1	4.1	4.1
C17 : 0	1.0	1.0
C17 : 1	1.0	1.0
C18 : 0	9.6	9.8
C18 : 1	49.6	49.8
C18 : 2	4.4	4.2
C18 : 3	0.2	0.2
C20 : 0	0.1	0.1
C20 : 1	0.5	0.5
SFA	39.5	39.5
MUFA	55.9	56.1
PUFA	4.6	4.4
US/S	1.53	1.53
Melting point, °C	22.1 ± 1.4 ¹⁾	21.1 ± 1.7
TBARS, mg MDA/kg muscle	0.14	0.15

¹⁾ mean ± standard deviation

よって増加割合が異なっていたことを報告している。本試験では冷凍保存中にプロテアーゼによる分解がわずかではあるが進み、遊離アミノ酸が増加してその割合に差が生じた結果、アミノ酸によっては冷蔵区と冷凍区で差がないのがみられたのかもしれない。

官能特性については、多汁性において冷凍区の方が冷蔵区より評価がやや低くなったが、これは凍結解凍による水分含量の減少、保水性の低下と加熱損失の増加が影響しているものと考えられた。一方、咀嚼時のやわらかさにおいては、冷凍区の方が剪断力価は低い値を示したにもかかわらず、評価値は変わらなかった。Lagerstedtら（2008）は冷凍区よりも冷蔵区の方が剪断力価は高いにもかかわらず、官能評価におけるやわらかさの評価値が高くなったことを報告しており、この理由として冷蔵区で多汁性などの評価が高いことに影響されたと推測している。本試験においても、多汁性など他の要因が咀嚼した際のやわらかさの知覚に影響したのかもしれない。和牛らしい風味、オフフレーバーにおいても差はみられなかった。冷凍区は冷蔵区より加熱損失が多いことから、加熱時に流出する肉汁中に含まれる呈味成分などもその分多いと思われるものの、今回は風味に影響を生じる程の差ではなかったと考えられる。総合評価において

も差は見られなかったが、これは多汁性以外の項目に差が見られなかったことに加え、多汁性における両区の差は総合評価に影響するほど大きくはなかったためと考えられる。

冷凍が肉質に及ぼす影響に関しては、冷凍期間の長さや脂質酸化との関連も報告されている。Vieiraら（2009）は、真空包装の上、90日間冷凍保管した牛肉は、冷凍しないものよりTBARS値は高くなったものの、不快な臭いの目安となる2 mgMDA/kgより低く、また官能評価において臭いの強さに影響したものの、不快な臭いは感じられなかったとしている。このことから、凍結期間を本試験より長くしても、短期間であれば酸化による官能特性への影響は最小限に抑えられると考えられる。ただし、数年といった長期間にわたる冷凍保管であれば、牛肉は徐々に乾燥や酸化が進み、いわゆる「冷凍焼け」の状態となり、風味にも何らかの影響を及ぼすと考えられる。冷凍保管の期間による官能特性への影響については、さらなる検討が必要であろう。

以上より、黒毛和種牛肉において冷凍は剪断力価、加熱損失、保水性といった物理的特性にやや影響し、また肉中の水分や遊離アミノ酸量などの呈味成分がわずかに減少するものの、脂肪酸組成やTBARS値には影響はみ

Table 3 Free amino acids, dipeptides and ATP metabolite contents ($\mu\text{mol/g}$ of wet weight) in chilled and frozen beef

item	Chilled	Frozen
Aspartic acid	0.08	0.09
Glutamic acid	0.80	0.69
Hydroxyproline	0.03	0.03
Serine	0.72	0.67
Asparagine	0.23	0.23
Glycine	0.92	0.86
Glutamin	2.37	2.06
β -Alanine	0.09	0.08
Taurine	1.04	0.93
Histidine	0.24	0.24
Threonine	0.41	0.39
Alanine	3.38	3.28
Arginine	0.38	0.38
Proline	0.14	0.13
Tyrosine	0.44	0.44
Valine	0.65	0.63
Methionine	0.37	0.37
Isoleucine	0.44	0.44
Leucine	0.88	0.87
Phenylalanine	0.48	0.48
Tryptophan	0.12	0.12
Lysine	0.48	0.49
Total FAA	14.7	13.9
Carnosine	7.7	7.3
Anserine	2.1	2.1
Total dipeptide	9.9	9.5
IMP	0.16	0.13
inosine	0.98	0.87
hypoxanthine	1.82	1.66

Figure 1 Rader chart of sensory traits in chilled and frozen beef.

られなかった。また、官能特性は多汁性の評価値がやや低くなる以外に影響はみられなかった。このことから、冷凍保管する期間の長さには留意する必要があるものの、官能評価に冷凍した牛肉を用いても、おそらく特段の問題はないと考えられた。なお、本試験は各区1検体ずつの結果であることに注意する必要がある。

謝 辞

本試験に関して貴重な情報をご提供いただいた食肉関係者の方々、また官能評価にご協力いただいたパネリストの方々に感謝申し上げます。

文 献

- Crouse JD, Koohmaraie M. 1990. Effect of Freezing of Beef on Subsequent Postmortem Aging and Shear Force. *Journal of Food Science* **55**, 573-574.
- Folch J, Lee M, Stanley GHS. 1957. A simple method for isolation and purification of total lipids from animal tissues. *Journal of Biological Chemistry* **226**, 497-509.
- Irie M, Swatland HJ. 1992. Relationships between Japanese pork color standards and optical properties of pork before and after frozen storage. *Food Research International* **25**, 21-30.
- 家畜改良センター編. 2005. 食肉の官能評価ガイドライン. 日本食肉流通センター, 東京.
- 家畜改良センター. 2010. 食肉の理化学分析及び官能評価マニュアル. 家畜改良センター, 福島.
- 勝田正文. 2003. 物の保存と低温・冷凍技術. *電気学会誌* **123**, 792-795.
- 厚生労働省. 2006. 第15改正日本薬局方. 厚生労働省. 東京; [cited 22 August, 2011]. Available from URL: <http://jpd.b.nihs.go.jp/jp15/>
- Lagerstedt Å, Enfält L, Johansson L, Lundström K. 2008. Effect of freezing on sensory quality, shear force and water loss in beef *M. longissimus dorsi*. *Meat Science* **80**, 457-461.
- Mitsumoto M, Arnold RN, Schaefer DM, Cassens RG. 1993. Dietary versus postmortem supplementation of vitamin E on pigment and lipid stability in ground beef. *Journal of animal Science* **71**, 1812-1816.
- 農畜産業振興機構. 2011. 牛肉の推定期末在庫 [homepage on the internet]. 農畜産業振興機構, 東京; [cited 17 February 2012]. Available from URL: <http://lin.alic.go.jp/alic/statis/dome/data2/nstatis.htm>
- 農林水産省. 2011. 食肉流通統計 [homepage on the internet]. 農林水産省, 東京; [cited 17 February 2012]. Available from URL: <http://www.maff.go.jp/j/tokei/kouhyou/kensaku/hin8.html>
- 沖谷明紘・松石昌典・根岸晴夫・吉川純夫. 1990. 凍結貯蔵牛肉の解凍後貯蔵による食味性の向上. *日本畜産学会報* **61**, 990-997.
- Shanks BC, Wulf DM, Maddock RJ. 2002. Technical note: The effect of freezing on Warner-Bratzler shear force values of beef longissimus steaks across several postmortem aging periods. *Journal of Animal Science* **80**, 2122-2125.
- Vieira C, Diaz MT, Martínez B, García-Cachán MD. 2009. Effect of frozen storage conditions (temperature and length of storage) on microbiological and sensory quality of rustic cross-bred beef at different states of ageing. *Meat Science* **83**, 398-

404.
Watanabe A, Ueda Y, Higuchi M. 2004. Effects of slaughter age

on the levels of free amino acids and dipeptides in fattening cattle. *Animal Science Journal* **75**, 361–367.

Effect of freezing on physicochemical traits and sensory traits of beef in Japanese black steer

Shinichi YAMADA¹, Kaoru SAITO¹, Taku SOWA¹, Hironori SAKUMA¹, Kimiko KOHIRA¹,
Minako HONGO¹, Sachio NAKAYAMA¹, Shinji SATO¹ and Mitsuru AKAIDA¹

¹ National Livestock Breeding Center, Nishigo, Fukushima 961–8511, Japan

Corresponding : Shinichi YAMADA (fax : +81 (0) 248-25-3990, e-mail : s1yamada@nlbc.go.jp)

Effect of freezing on physicochemical traits and sensory traits of beef in Japanese black steer was investigated. Both longissimus muscle from one Japanese black steer were used. The chilled sample was kept at 2 °C for 15 days after postmortem. The frozen sample was kept at 2 °C for 14 days after postmortem, frozen at –30°C, and then thawed to 2°C for 24 hours. The Warner-Bratzler shear force value and water holding capacity in the frozen sample were a little lower than in the chilled sample, and moisture and taste components such as free amino acids were also slightly lower, whereas there was no difference in fatty acid composition and TBARs values between the two samples. The sensory traits, in the frozen sample obtained lower score for juiciness than the chilled sample, but there was no difference in tenderness and flavor. These results suggest that freezing does not have much effect on sensory traits in beef from Japanese black steers and although it has a little effect on physical traits, there is no special problem in using frozen beef in sensory evaluation.

Nihon Chikusan Gakkaiho 83 (3), 301–306, 2012

Key words : beef, freezing, juiciness, shear force, water holding capacity.