TUMSAT-OACIS Repository - Tokyo University of Marine Science and Technology (東京海洋大学)

熱・物質移動および反応を考慮したタンパク質食品の調理工学的解析

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2014-06-23 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 石渡, 奈緒美 メールアドレス: 所属:
URL	https://oacis.repo.nii.ac.jp/records/996

熱・物質移動および反応を考慮した
タンパク質食品の調理工学的解析

平成 25 年度

（2014 年 3 月）

東京海洋大学大学院

海洋科学技術研究科

応用生命科学専攻

石渡　奈緒美

熱・物質移動および反応を考慮したタンパク質食品の調理工学的解析

第 1 章　序論

1.1.　序論　1

1.2.　既往の研究　3

1.3.　加熱処理と調理　10

1.4.　本論文の構成　12

1.5.　本章の引用文献　13

第 2 章　筋原線維タンパク質の熱変性速度論

2.1.　はじめに　16

2.2.　筋原線維タンパク質

2.2.1.　畜肉の成分およびタンパク質　16

2.2.2.　畜肉タンパク質の加熱処理に伴う変化　18

2.3.　解析

2.3.1.　タンパク質熱変性速度論　21

2.3.2.　DSC-Dynamic 法　21

2.4.　DSC 測定　22

2.5.　結果および考察

2.5.1.　タンパク質熱変性速度パラメーターの算出　23

2.5.2.　タンパク質未変性率の予測　23

2.6.　結論　29

2.7.　記号説明　29

2.8.　本章の引用文献　30

第 3 章　筋原線維タンパク質の熱変性と畜肉品質との関係

3.1.　はじめに　32

3.2.　非定常三次元熱伝導解析　32

3.3.　タンパク質熱変性度の予測計算に基づく加熱処理条件の決定

3.3.1.　試料中心温度測定　33

3.3.2.　解析モデルおよび解析条件　34

3.3.3.　結果および考察　34

3.4.　原理
3.4.1.　応力緩和測定の原理　37
3.4.2.　MRI の原理　37
3.5.　実験
3.5.1.　弾性率および重量損失率測定　43
3.5.2.　MRI 測定　43
3.5.3.　統計処理　44
3.6.　結果および考察
3.6.1.　弾性率および重量損失率　50
3.6.2.　横緩和時間 T_2　51
3.7.　結論　60
3.8.　記号説明　60
3.9.　本章の引用文献　61

第 4 章　加熱処理における畜肉内の物質移動解析ならびに透過係数・粘度の決定
4.1.　はじめに　63
4.2.　解析　63
4.3.　実験
4.3.1.　収縮率の測定　65
4.3.2.　筋繊維サイズの定量　66
4.3.3.　PFG-NMR 法による拡散係数の測定　66
4.3.4.　抽出液の調製ならびにタンパク質濃度と pH の測定　67
4.3.5.　抽出液の動的粘弾性測定　67
4.3.6.　抽出液の DSC 測定　67
4.3.7.　二次元円筒形試料の残重量率の測定　68
4.3.8.　一次元モデルにおける MRI 測定および残重量率の測定　68
4.4.　結果および考察
4.4.1.　収縮率および筋繊維サイズの定量　72
4.4.2.　畜肉加熱処理時における物質移動解析モデル　73
4.4.3.　PFG-NMR 法による拡散係数および見かけの透過係数の推算　74
4.4.4.　粘度におよぼす抽出液中の水溶性タンパク質の変性　77
4.4.5.　マクロな系における解析値と実験値の比較　81

4.4.6.　MRI 測定による解析値と実験値の比較　83
4.5.　結論　97
4.6.　記号説明　97
4.7.　本章の引用文献　99

第 5 章　加熱処理における畜肉内の呈味成分の消長
5.1.　はじめに　102
5.2.　実験
5.2.1.　L-グルタミン酸キットによるグルタミン酸の定量　102
5.2.2.　HPLC 法によるイノシン酸の定量　103
5.3.　解析
5.3.1.　差分近似法を用いた熱伝導解析　105
5.3.2　結果および考察　106
5.4.　結果および考察
5.4.1.　グルタミン酸　108
5.4.2.　イノシン酸　109
5.5.　イノシン酸分解反応モデルの構築
5.5.1.　イノシン酸分解反応モデル　113
5.5.2.　イノシン酸分解反応速度パラメーターの算出　114
5.5.3.　イノシン酸分解酵素の速度パラメーターの算出　115
5.6.　二次元円筒形モデルにおける呈味成分の加熱調理シミュレーション　123
5.7.　結論　126
5.8.　記号説明　126
5.9.　本章の引用文献　127

第 6 章　真空調理法に基づくローストビーフの調理シミュレーション
6.1.　はじめに　130
6.2.　真空調理法とは　130
6.3.　実験
6.3.1.　辻学園調理・製菓専門学校でのローストビーフ調理　132
6.3.2.　実験室でのローストビーフ調理　133
6.4.　結果および考察　135

6.5.　解析
6.5.1.　真空調理法を想定した解析モデルおよび解析条件の検討　138
6.5.2.　伝熱解析値と実験値の比較　139
6.6.　異なるレシピにおける真空調理シミュレーション
6.6.1.　非定常三次元熱伝導解析　142
6.6.2.　タンパク質変性度の予測　143
6.6.3.　大腸菌 O157：H7 の菌数変化予測　144
6.7.　呈味成分の変化
6.7.1.　イノシン酸残存率の変化　150
6.7.2.　イノシン酸とグルタミン酸残存率の比較　151
6.8.　結論　159
6.9.　記号説明　159
6.10.　本章の引用文献　160

第 7 章　総括　162

謝辞　165

第1章 序論

1.1. 序論

ヒトにとって「食事」とは，生きるうえで必要不可欠な行為である。また，食事をするにあたり,「美味しいものを食べたい」という心理は，万人に共通する項目であるため，現在，本や雑誌，そしてテレビで“美味しい食事ができる店”に関する特集や，インターネットを利用した検索ツールが数多く存在している。また，各家庭でも美味しい食事を可能とするため，高級レストランの味を再現するレシピ本や，簡便かつ美味しく作れるレシピ本等が多数刊行されている。

ところで，1986 年に男女雇用機会均等法が施行されたことで，女性の社会進出が進み，以前までの「男性が外で働き，女性が家で家事や育児に専念する」という概念が徐々に変化している。2004 年に内閣府が行った,「男女共同参画社会に関する世論調査」で初めて,「夫は外，妻は家庭」という考えに対し,「反対」と回答した割合が「賛成」を上回ったことからも，女性の就業スタイルが変遷していることがうかがえる。しかし，総務省統計局が発表した,「平成 23 年社会生活基本調査」より，1 週間で家事に費やす時間は男性が 42 分なのに対し，女性は 3 時間 35 分と依然として顕著な差がある。家事は，掃除，洗濯，炊事および買い物などを示すが，このうち食事は他の家事と比べて，外食・中食を利用することで負担を軽減することが見込まれること，また，核家族化，単独世帯の増加に伴う食の個食化，孤食化といったライフスタイルの変化からも，外食・中食産業，そして冷凍食品や調理済み加工食品を生産している食品産業は，現代社会において大きな役割を担っているといえる。

それでは飽食の時代とよばれ,「沢山作れば売れる時代」の終焉を迎えた今日，食品産業はどのような視点で製品の開発・生産を目指しているのだろうか。食品産業に関わる専門家の討論や産業界，有識者などへのアンケート調査をもとにした，将来の食品産業のあるべき姿を想定し，5 年後にそのような状況を具体化するために必要な技術や政策，手法などの提案としてまとめられた食品産業技術ロードマップで，今後の方向性について以下のように整理されている[1]。

1）食品の高品質化（美味しい，安全，健康増進機能）
2）特定の対象者別食品（高齢者足品，嚥下困難者，メタボ，健常者，乳幼児）
3）6 次産業化（生産地加工，一次加工）に貢献できる技術
4）品質の見える化（信頼性，品質管理）や後継者不足などに対応した生産管理工程
5）環境負荷軽減（流通・加工時の農産物ロスの軽減，CO_2 低減化，省エネ）や生産性向上に寄与する加工システム

これらの項目から，今後，食品産業は，ヒトが食事に求めている「美味しく，安全で，身体に良い」製品のみを製造するのではなく，品質の見える化や環境負荷軽減を見据えた目標を設定していることがうかがえる。このような問題を解決する方法のひとつに，対象食材の変化を予測および可視化が可能である，シミュレーション手法が挙げられる。そこで以下に，シミュレーション手法の具体的な有効点についてまとめた。

1） 加熱不足による微生物リスクの防止
2） 加熱による食感，呈味性の低下，危害因子生成の抑制
3） 消費者に対するわかりやすい説明
4） 食材の廃棄量の抑制および消費エネルギーの軽減

食品の安全性は，企業存続をゆるがす重大項目のひとつであるため，微生物増加によって腐敗した加工食品を生産することは許されない。しかし，微生物の殺菌に特化した過度な加熱処理は，呈味成分や食感，栄養価の低下を招くだけでなく，アクリルアミド，ヘテロサイクリックアミンといったヒトにとって危害となる新たな物質を生成することに繋がる。すなわち，安全かつ高品質を担保した製品の製造を行うには，科学的根拠に基づいたシミュレーション手法による，最適な加熱パターンの探索が有効である。また，対象食品の内部変化を可視化することで，専門知識を有していない消費者に対して，提供する食品の安全性を視覚的にわかりやすく説明することが可能となる。

これとは別に，シミュレーション手法は新たな加工品の開発においても有効である。家庭レベルの調理では用いる食材の分量は限られるが，産業レベルで試作を行う場合，必要となる食材の分量は増大し，試作段階で用いる食材の分量，すなわち廃棄量が多いと予想される。しかし，シミュレーション手法を用いて加熱にともなう対象食材の変化をあらかじめ予測することで，試作回数の減少，すなわち食材の廃棄量の抑制や，加熱処理に要する消費エネルギーの軽減が期待できる。

このようにシミュレーション手法は，食品産業技術ロードマップの意向に沿う，非常に有効な解決手段であると考えられる。しかし，複数の成分で構成され，かつ産地や品種によって品質が異なる食材の変化を厳密に予測することは難しく，そのため現在も畜肉・魚肉，デンプン系食品および野菜を対象とした加熱処理過程の変化を記述可能とするモデル化の検討が行われている。

1.2. 既往の研究

今日もなお発展している，食材を対象としたシミュレーション手法は，現在に至るまで以下に示す 4 つの分類においてそれぞれ進歩をとげてきたと考えた。

1） 熱物性値の測定
2） 伝熱解析に基づく微生物の殺菌予測
3） 解析モデルおよび境界条件の厳密化
4） 物質移動解析

本研究は，流通している加工食品や，中食・外食での供給が著しく多く，また，以前と比較して消費量が増加している畜肉を研究対象食材とした。したがって，畜肉を解析対象とした既往の研究例について以下にまとめた。

1） 熱物性値の決定

畜肉を加熱処理した際，肉の温度が変化する。したがって，食材を対象としたシミュレーションを行うためには，まず伝熱解析を行うことが必要である。物質の温度上昇は，(1-1)式に示すフーリエの法則に基づき，予測することができる。

$$\kappa \cdot \nabla^2 T - \rho c_p \frac{\partial T}{\partial t} = 0 \tag{1-1}$$

ここで，κ（W/（m･K））は熱伝導率，T（K）は温度，t（s）は時間，ρ（kg/m^3）は密度，c_p（J/（kg･K））は定圧比熱を示す。

フーリエの法則に基づき伝熱解析を行うためには，対象とする食材の熱物性値が必要である。したがって，Table 1-1 に示すように 1970 年代から，畜肉の熱物性値の実測が行われており，現在もなお，続いている。また，畜肉は種類や部位，状態によっても値が異なるため，伝熱解析を行うにあたり，対象である食材に即した値を用いることが重要であると考えられている。

2） 伝熱解析に基づく微生物の殺菌予測

畜肉を原材料とした場合，食品産業で最も危惧する点は微生物増殖に伴う食中毒の発生である。そのため，熱物性値を決定し，試料の内部の温度履歴の予測を可能としたのちに発展した項目が，微生物の殺菌予測である。そこで，Table 1-2 に伝熱解析に基づく微生物挙動の解析例を示した。一般的に，微生物は畜肉の表面に多く存在し，内部に既存する初菌数は表面と比較して極めて少ないが，ハンバーグはミンチ肉，タマネギ，卵白等の複数の食材を混合し，成形しているため，

ハンバーグを対象とした伝熱ならびに微生物挙動のシミュレーションが盛んに行われている。解析対象となる微生物は，ハンバーグのみならず，畜肉の食中毒の主な原因である大腸菌 O157:H7 や，近年では低温においても増殖可能であるリステリア菌，缶詰等の容器詰め食品を想定した場合はクロストリジウム属を想定した加熱殺菌条件の検討が行われている。また，数多くの研究は，食材の中心点を最低温度点（冷点）とみなし，微生物殺菌の予測計算が行われていることが多いが，石渡ら[8]は，ハンバーグは焼成過程において形状変化が生じることから，ハンバーグ 1 個体を対象とした殺菌予測を行っており，初期中心点のみをモニタリングすることで安全性を検証することの危険性，ならびに試料全体を対象とした殺菌予測を行うことの重要性について述べている。このように現在においても殺菌に関するシミュレーションが盛んに行われていることから，食品産業および消費者にとって，安全性の担保がいかに重要であるかうかがうことができる。

3） 解析モデルおよび境界条件の厳密化

シミュレーションは前述したように，解析対象である食材に即した熱物性値を用いることが重要である。しかしこれと同時に，食材の形状をより厳密に反映した解析モデルの作成や，境界条件をより実際の加熱処理条件に近づける工夫が行われてきた。

Figure 1-1 に，解析対象の食材の形状を厳密に再現している解析モデルの例を示した。Figure 1-1（A）はソーセージ[14]，（B）は鶏[15]および（C）は牛肉[16]を想定した解析モデルである。ソーセージの伝熱解析には，非定常二次元熱伝導方程式を用いているが，解析モデルは単純な円筒形とせず，先端を狭めることで厳密な形状を再現していることがわかる。鶏の解析モデルは，形状を実施の鶏肉に近づけているのみならず，筋肉，骨，骨髄および軟骨といった畜肉組織の構成因子を考慮したモデルを作成しており，さらに，各成分に異なる熱物性値を設定している。牛肉の解析モデルは，近年普及しつつある市販の解析モデル作成ソフト（Comsol Multipysis Software ver. 3.5a ，COMSOL. AB.）を用いて，三次元の解析モデルを作成している。またこれとは別に Singh ら[17]は，ハンバーグを鉄板で焼成した際に形成されるクラスト層に着目し，鉄板に接するハンバーグ（二次元円筒形）の底面にクラスト層を別途設定する工夫を行っている。これらの解析モデルを用いて実施した伝熱解析の予測値は実測値と良好に一致していることから，食材の形状や畜肉組織の構成因子を厳密に反映した解析モデルの作成や，実際の調理時に生じる現象に着目した構成因子の設定が重要であることが示唆される。

食材の形状や成分を厳密に反映した解析モデルの作成が行われるのと同時に，境界条件の厳密化も行われてきた。畜肉の加熱処理法は，オーブン，鉄板，煮熟が挙げられるが，どの焼成器具を用いたかによって畜肉内部の温度履歴が異なるため，焼成器具に応じた境界条件を考慮する必要がある。

鉄板を焼成器具として調理した場合，食材への熱の移動は固体－固体間であるが，完全に密着していないため，流体（鉄板と食材の隙間）－固体（食材）間の伝熱とみなせる。また，オーブンを代表とする空気が熱媒体である場合も流体－固体間で伝熱現象が生じる。(1-1)式に示したフーリエの法則は，固体－固体間における伝熱現象を記述する式であるため，このような場合，(1-2)式に示すニュートンの法則を用いて整理することが多い[18]。

$$q = h\left(T_f - T_s\right) \tag{1-2}$$

ここで，q（W/m^2）は，単位断面積あたりの熱流束，h（W/（m^2･°C））は熱伝達率，T_f（°C）は流体の温度，T_s（°C）は食材の表面温度を示す。

熱伝達率 h は焼成器具の温度や，環境温度に大きく依存する。そのため Ikediala[19]は鉄板を用いた片面からのハンバーグ焼成の伝熱解析において，鉄板と接する試料底面および被接触面（試料上面と側面）の 3 箇所で異なる値を設定する工夫や，Pan ら[20]は鉄板ならびに試料温度の上昇に伴い，境界条件に用いる熱伝達を変化させている。またこれとは別に石渡ら[21]は，近年普及している IH 加熱を対象とし，フライパンでハンバーグを片面から焼成する際の伝熱解析において，試料表面－空気，試料のないフライパン面－空気の 2 箇所にて異なる熱伝達率を設定しているのみならず，IH 加熱特有の焼成器具（フライパン）に生じる発熱量分布を考慮している。

また，オーブンや炭火焼きなどを用いて食材を焼成した場合，空間を介して隔てられているふたつの固体表面間，ときには高温ガス－固体表面間で伝熱現象が生じる。このような場合，一般的に(1-3)式であらわされる[22]。

$$q = \sigma' F\left(T_h^{\,4} - T_s^{\,4}\right) \tag{1-3}$$

ここで，σ'（W/（m^2･K^4））はステファン・ボルツマン定数，F は両表面の幾何学的位置関係で決まる形態係数，T_h（K）は高温ガスの温度を示す。

放射伝熱による伝熱量が多いほうが，食材表面の焼き色が着きやすくなると報告されている[23]。食材表面の焼き色は，消費者に視覚的に訴える重要な品質であるため，放射伝熱を考慮した伝熱解析は重要と言える。しかし，放射伝熱を考慮した伝熱解析は，固形成分 1.0%の寒天[24]および冷凍マグロ[25]を対象とした報告はあるが，畜肉を対象とした研究例は見当たらず，熱伝達率を考慮した研究例と比較すると乏しい状況にある。そのため今後，畜肉のみならず他の食材を対象とした研究や，放射伝熱を考慮した食材の伝熱解析，ならびに焼き色の変化を予測する研究の発展が期待される。

またこの他にも，高温の水蒸気が低温の固体表面に凝縮する，あるいは液体の水が冷却されて氷になるといった 1 次相転移を伴う伝熱現象では，相転移の時に放出，または吸収される潜熱が熱伝達や熱伝導に著しい影響を及ぼす。具体的には，恒温の水蒸気が固体表面に凝縮する一例である滴状凝縮では，熱伝達速度は通常の約 6 倍程度にも大きくなる。そのため，研究対象の焼成

条件やその際に生じる食材の変化をしっかりと観察・把握し，境界条件に反映させることが重要と言える。

このように，シミュレーションの精度をより向上させるにあたり，解析モデルの工夫や境界条件の厳密化は必要不可欠である。しかし，加熱処理は様々な加熱媒体や様式が存在し，さらに，時間の経過に伴い焼成器具，熱媒体および環境温度が刻々と変化するため，既存のシミュレーションは全ての加熱処理時に生じる現象を境界条件として反映できていないと言える。したがって，この分野は今後の課題があると同時に，発展が期待される分野のひとつである。

4） 物質移動解析

伝熱解析の精度が向上してきたのち，現在盛んに行われている食材を対象としたシミュレーションが，水および溶解した油分を対象とした物質移動解析である。牛肉の塊を対象とした物質移動解析の既存の報告例を Table 1-3 に示す。また，焼成器具は全てオーブンを想定したシミュレーションである。

畜肉を対象とした物質移動解析に用いる基礎式は，以前は水分濃度勾配を駆動力とするフィックの法則が用いられてきたが，近年では，食材内部に生じる圧力勾配を駆動力としたダルシーの法則が用いられる傾向にある。これは，畜肉の加熱処理時は，収縮に伴い水分保持能力が減少するため，単純な拡散モデルでは畜肉加熱時の物質移動現象を記述することは難しい[29]，と提言されていることに由来する。

物質移動解析により，畜肉内部の水分含量や重量変化率の予測が可能となったが，ダルシーの法則に必要なパラメーターである透過係数と粘度は，加熱に伴う畜肉構造の変化を考慮した値が報告されていないため，水の粘度など，他の値が代替されている。また，伝熱解析と比較して，物質移動解析の予測値の精度は劣ることから，物質移動解析はまだ発展の余地が大いに見込まれる項目であると考えられる。

Table 1-1 Some values of thermal diffusivity of various products[2].

Product	Temp. (°C)	Thermal diffusivity ($\times 10^{-7}$ m^2/s)	Reference
Beef puree	-	1.75	Lenz et al., (1977)
Meat hash	-	1.52	Choi et al., (1986)
Meat croquette	59-115	1.98 ± 0.22	Olivares et al., (1986)
Meat, ground	20	1.26 - 1.82	Tung et al., (1989)
Hamm	3 - 74	1.0 – 1.20	Oliveira et al., (2005)
Hamm, processed	-	0.94	Smith et al., (1967)
Hamm salami	-	1.52	Choi et al., (1986)
Chicken	65-113	1.93 ± 0.21	Olivares et al., (1986)

Table 1-2 Summery of previous studies sterilization based on heat transfer analysis.

Microorganism	Product	Reference
Escherichia coli O157:H7	hamburger patty	Juneja et al., 1997 [3]
		Gill et al., 2001 [4]
		Murphy et al., 2004 [5]
		Ou et al., 2006 & 2007 [6,7]
		石渡ら，2012 [8]
	ground beef	Harris et al., 2012 [9]
	sausage	Santos et al., 2010 [10]
Listeria	hamburger patty	D' sa et al., 2000 [11]
		Passos et al., 2002 [12]
		Murphy et al., 2004 [5]
		Ou et al., 2006 & 2007 [6,7]
Clostridium	canned meat	Sandberg, et al., 1994 [12]

Table 1-3 Summery of previous studies on mass transfer analysis.

Product	Governing equation	Reference
	Fick's law	Singh et al., 1984 [21]
	Fick's law	Obuz et al., 2002 [27]
Beef roasting	Darcy's law	Ven der Sman, 2007 [28]
	Darcy's law	Goni et al., 2010 [16]
	Darcy's law	Feyssa et al., 2013 [29]

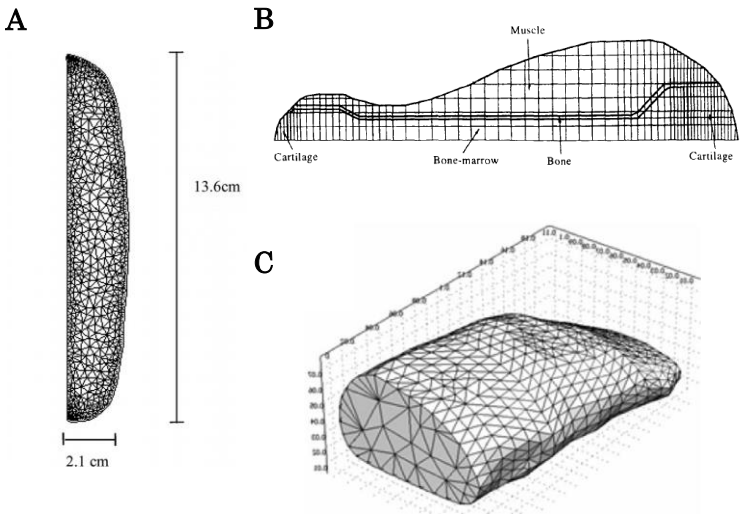


Figure 1-1 The analytical model for heat transfer analysis. (A) sausage[14], (B) chicken[15], (C) beef[16].

1.3. 加熱処理と調理

このように, 食材を対象としたシミュレーション手法に関する研究は数多く存在しており, 日々発展していると言える。ところで，加熱処理（熱処理）とは，物質を加熱・冷却して硬度などの性質を変化させることを示し，食材を「美味しく，安全で，身体に良いもの」に変化させることを含まない。したがって，品質を考慮して食材を加熱処理するためには，加熱処理を行うのではなく,「調理」を行う必要がある。そこで一度，調理の意味・目的について，以下にまとめる[30]。

1）衛生的にする
2）美味にする（外観を美しくする）
3）栄養効果を高める
4）一時的に保存する

食材には砂，ごみ，寄生虫卵，農薬などが付着していることがあるため，水や洗剤で十分に洗い流し，加熱処理によって除去する必要がある。そしてなによりも，食事は栄養を摂取するためのみならず，生活の中の楽しみのひとつであることから，供する人の嗜好や栄養を考え，あく抜きをし，まずい成分の除去や，香辛料などを利用して美味に仕上げること，そして色どり，形など，外観を美しくすることが目的として挙げられる。このような食材の変化は，人間の五感である視覚，嗅覚を刺激し，食欲を増進させる効果があることから，消化吸収を助け，栄養効果を高めることにも繋がる。これとは別に，食材は単独で栄養素を完全に含むものはまれであり，複数の食材と組み合わせて調理することで，さらなる栄養効果を発揮する。またこのような食材を調理して食するまでの過程とは別に，魚の塩じめ，酢じめ，つくだ煮類などをはじめとし，保存を目的に調理を行うことがある。

このように，調理の目的は多々あるが，すべて加熱処理が関与していることがわかる。そこで次に，畜肉加熱調理の種類について以下にまとめた[31]。

種類	温度帯	説明
煮熟	100 ºC 付近	水（調味液）を加熱媒体とする調理である。加熱中，水溶性分は溶出し，調味料は食材に浸透する。また，野菜は軟化され，タンパク質は熱変性に伴い凝固・硬化する。加熱中，加熱媒体である水（調味料）が蒸発するため，適度に水（煮汁）を追加する必要がある。

蒸す	100 ºC の蒸気	気化熱を利用して調理を行う。煮物に比べて形が崩れない，水分の吸収が少ない，味，栄養の損失が少ないなどの利点があるが，煮熟と比較し，時間と燃料を要する点，調味しにくい点が欠点として挙げられる。
焼く	150～200 ºC	放射熱または熱した金属板の上にて高温で加熱する調理である。食材の表面は加熱媒体の温度上昇に伴い上昇するが，内部は水分が存在するため，高い場合においても中心位置の到達温度は 80～90 ºC 程度である。したがって，食材表面と内部で不均一な温度分布が著しく存在する。また，焼き方は，直接，200～220 ºC の放射熱を受ける直火焼きと，フライパンや鉄板の上や，アルミ箔に包んだ状態で焼く，間接焼きのふたつの種類が存在する。
揚げる	150～190 ºC	高温度の油の中で加熱する調理であり，油の対流熱を利用する。油自体は 300 ºC 以上の温度に到達するが，利用温度は 150～190 ºC が適当とされる。食材内部の温度上昇は，外からの熱伝導によるが，水分が存在するため食材の温度が 100 ºC 以上に到達することはない。揚げると食材の水分は減少し，代わりに油を吸収するため，油の香味を与える。その為，カロリーが高くなる欠点が挙げられるが，加熱時間が短いため，ビタミン B，C 等の栄養素の損失が少ない。
炒める	160～180 ºC	熱せられた鍋の熱と，少量の油（食材に対して 5～7%）で加熱する方法である。高温で処理するため，焦げやすく，それゆえ絶えず混ぜる操作，すなわち食材を動かす必要がある。炒める操作は，高温で処理するため，揚げる操作と同様，加熱時間が短く，栄養素の損失は少ない。

このように，加熱調理法は様々な種類が存在し，調理温度帯や食材内部に形成される温度分布，カロリー，栄養素の損失量などが異なることがみてとれる。本研究は上記に示した加熱調理法のうち，油を添加する必要がなく，操作が最も単純であること，調理温度帯が 100 ºC 付近であるため，調理中の畜肉表面の炭化を考慮する必要のない煮熟調理を研究対象とした。

ところで，前述したように，畜肉を加熱処理した際の伝熱解析や，近年では物質移動解析が行われているにも関わらず，畜肉そのものの変化，具体的には品質に寄与する食感や呈味成分の消長の予測計算や，畜肉内部に形成される品質に寄与する因子の分布について記述した研究例は乏

しい。したがって，食材を「美味しく，安全で，身体に良いもの」に変化させる調理を想定した熱・物質移動解析の分野は発展途上にあると言える。

そこで本研究は，「美味しく，安全で，身体に良い製品」を製造するため，伝熱解析に基づき，畜肉加熱処理時に生じる現象を予測可能とする『調理シミュレーション』の構築を行うことを目的とした。

1.4. 本論文の構成

本論文は，以下の 7 章により構成される。

第 1 章では，現代社会における食品産業が担う役割とシミュレーションを行う意義，そして畜肉を対象としたシミュレーションが現在に至るまで発展してきた内容について，4 つの分類に分けて説明した。そして，調理の目的と意義および本研究の目的について述べた。

第 2 章では，畜肉タンパク質の種類ならびに役割と，本研究が着目している加熱処理過程における変化について説明した。また，タンパク質の変性度の違いは，食感や重量等の品質に大きな影響を及ぼすと考えられる。そこで，加熱処理に伴う畜肉タンパク質加熱変性度の予測を実施するため，変性速度定数の温度依存性を DSC－Dynamic 法により実測した。

第 3 章では，タンパク質変性度が及ぼす畜肉品質との関係を考察すべく，あらかじめタンパク質変性度分布を予測した試料を用いて，弾性率，重量損失率，および MRI 法を用いて試料内部に残存する横緩和時間 T_2 を測定した。

第 4 章では，畜肉加熱時の物質移動解析に着目をした。畜肉の物質移動現象は，試料内部に生じる圧力勾配を駆動力とするダルシーの法則に基づき説明できると考えた。ダルシーの法則には透過係数と粘度がパラメーターとして用いられる。そのため，これらのパラメーターを実測する必要があると考え，加熱に伴う畜肉構造の変化を反映した透過係数および粘度の決定と，物質移動モデルおよび決定したパラメーターの有効性について検証を行った。

第 5 章では，畜肉呈味成分のうち，旨味の発現に寄与している遊離グルタミン酸とイノシン酸に着目した。試料中に残存する呈味成分の定量を行い，加熱処理に伴う呈味成分の消長を把握し，定量結果より各成分を予測するための反応モデルを検討した。その後，二次元円筒形モデルを対象とし，同一条件下で加熱処理した際の両成分の残存量を予測するとともに，畜肉内部に形成される両成分の分布を比較した。

第 6 章では，実際の調理を想定したシミュレーションとして，レストラン等で実際に用いられている真空調理法によるローストビーフ調理を解析対象とし，各章で取得した反応モデルならびに速度パラメーターを用いて，タンパク質変性度，呈味成分，そして食品産業で最も留意されている微生物死滅数のシミュレーションならびに可視化を行った。また，真空調理法は，多数のレ

シピが存在することから，シミュレーション手法の利点を生かし，複数の調理法を対象としたタンパク質変性度ならびに微生物死滅数の予測もあわせて行った。

第 7 章では，本研究の研究結果の総括，ならびに今後の展望について示した。

1.5. 本章の引用文献

1) 五十部誠一郎（2011），これからの食品開発を考える 3　高付加価値化のための加工・流通技術，食品と開発，**46**，12-15

2) Holdsworth, D. & Simpson, R. (2007), Thermal processing of packaged foods second edition. Springer, p.18

3) Juneja, V. K., Williams, A. C., Marmer B.S. & Snyder, O. P. (1997), Thermal destruction of *Escherichia coli* O157:H7 in hamburger, *J. Food Prot.*, **60**, 1163-1166

4) Gill, C. O., Bryant, J. & Badoni, M. (2001), Effects of hot water pasteurizing treatments on the microbiological condition of manufacturing beef used for hamburger patty manufacture, *Int J Food Microbilo*, **63**, 243-256

5) Murphy, R. Y., Beard, B. L., Martin, E. M., Keener, A. E., & Osaili, T. (2004), Predicting process lethality of *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella*, and *Listeria monocytogenes* in ground, formulated, and formed beef/turkey links cooked in an air impingement oven, *Food Microb.*, **21**, 493-499

6) Ou, D., & Mittal, G. S. (2006), Double-sided pan-frying of unfrozen/frozen hamburgers for microbial safety using modeling and simulation, *Food Res. Int.*, **39**, 133-144

7) Ou, D., & Mittal, G. S. (2007), Single-sided pan frying of frozen hamburgers with flippings for microbial safety using modeling and simulation, *J. Food Eng.*, **80**, 33-45

8) 石渡奈緒美，堤一磨，福岡美香，渡部賢一，田口靖希，工藤和幸，渡辺至，酒井昇（2012），殺菌価を考慮したフライパンによるハンバーグ焼成時の最適調理（第 2 報）反転タイミングの違いがもたらす殺菌価への影響，日本調理科学会誌，**45**，275-284

9) Harris, D., Brashears, M.M., Garmyn, A. J., Brooks, J.C. & Miller, M. F. (2012) Microbiological and organoleptic characteristics of beef trim and ground beef treated with acetic acid, lactic acid, acidified sodium chlorite, or sterile water in a simulated commercial processing environment to reduce Escherichia coli O157:H7 and Salmonella. *Meat Sci.*, **90**, 783-788

10) Santos, M. V., Zaritzky, N. & Califano, A. (2010), A control strategy to assure safety conditions in the thermal treatment of meat products using a numerical algorithms. *Food Control*, **21**, 191-197

11) D'sa, E. M., Harrison, M. A., Williams, S. E. , & Broccoli, M. H. (2000), Effectiveness of two cooking systems in destroying Escherichia coli O157:H7 and *Listeria monocytogenes* in ground beef patties, *J. Food Prot.*, **63**, 894-899

12) Passos, M. H. C. R., & Kuaye, A. Y. (2002), Influence of the formulation, cooking time and final temperature of beef hamburgers on the destruction of Listeria monocytogenes, *Food Control*, **13**, 33-40

13) Sandberg, G. M. M., Durance, T. D., Richard, P. & Leung, P. H. (1994), Thermal Processing Canned Meat with Sub-Freezing Initial Temperatures: Thermal and Microbial Validation. *J Food Sci.*, **59**, 693-719

14) Santos M.v., Zaritzky, N. & Califano, A. (2008), Modeling heat transfer and inactivation of Escherichia coli O157:H7 in precooked meat products in Argentina using the finite element method. *Meat Sci.*, **79**, 595-602

15) Ngadi, M. O., Watts ,K. C. & Correia, L. R. (1997), Finite Element Method Modelling of Moisture Transfer in Chicken Drum During Deep-fat Frying. *J Food Eng.*, **32**, 11-20

16) Goni, S. M. & Salvadori, V. O. (2010), Prediction of cooking times and weight losses during meat roasting. *J Food Sci.*, **100**, 1-11

17) Singh, R. P., Pan, Z. & Vijayan, J. (1997), Use of predictive modeling in hamburger cooking. *Food Aust.*, **49**, 526-531

18) Bird, R. B., Stewart, W. E. & Lightfoot, E. N. (2001), Transport phenomena second edition,. John Wiley and Sons, Inc.

19) Ikediala, J. N., Correia, L. R., Fenton, G. A., & Ben-Abdallah, N. (1996), Finite element modeling of heat transfer in meat patties during single-sided pan-frying, *J. Food Sci.*, **61**,796-802

20) Pan, Z., Singh, R. P., & Rumsey, T. R. (2000), Predictive modeling of contact-heating process for cooking a hamburger patty, *J. Food Eng.*, **46**, 9-19

21) 石渡奈緒美，堤一磨，福岡美香，渡部賢一，田口靖希，工藤和幸，渡辺至，酒井昇（2012），殺菌価を考慮したフライパンによるハンバーグ焼成時の最適調理（第 1 報）モデル試料を用いた IH クッキングヒーターによるフライパン焼成伝熱および水分移動モデルの確立，日本調理科学会誌，**45**，265-274

22) 渋川祥子（1996），食品加熱の科学，朝倉書店，p.4

23) 渋川祥子（2006），調理における加熱の基本，日本食生活学会誌，**17**，89-93

24) 酒井昇，藤井敦夫，半澤保（1993），遠赤外線照射された食品内の熱移動解析，日本食品工業科学会誌，**40**，469-477

25) 酒井昇，森田信之，Qui, P.，半澤保（1995）遠赤外線照射によるまぐろ解凍過程の二次元移動解析，日本食品科学工学会誌，**42**，524-530

26) Singh, N., Akins, R.G. & Erickson, L. E.(1984), Modeling heat and mass transfer during the oven roasting of meat. *J Food Process Eng.*, **7**, 205-220

27) Obuz, E., Powell, T. H. & Dikeman, M. E. (2002), Simulation of Cooking Cylindrical Beef Roasts. *Lebensm Wiss Technol.*, **35**, 637-644

28) Van der Sman, R.G.M. (2007). Moisture transport during cooking of meat: An analysis based on Flory-Rehner theory. *Meat Sci.*, **76**, 730-738

29) Feyissa, A.H., Adler-Nissen, J., Gernaey, K. V. (2013). 3D modeling of couple mass and heat transfer of a convection-oven roasting process. *Meat Sci.*, **93**, 810-820

30) 荒川幸香，塩野緑子，山口光子（1972），調理の理論と手法，化学同人，pp.1-3

31) 荒川幸香，塩野緑子，山口光子（1972），調理の理論と手法，化学同人，pp.7-9

第2章 筋原線維タンパク質の熱変性速度論

2.1. はじめに

畜肉は加熱処理を施すことで物理的，化学的，生化学的変化（反応）が生じる。その結果，重量・体積が変化し，食感やメイラード反応など化学反応による色の変化，さらに酵素反応による成分変化など，様々な変化が生じる。このうち，代表的な物理的変化としてタンパク質の熱変が挙げられる。そこでまず，畜肉タンパク質の種類ならびに役割と，本研究が着目している加熱処理過程における変化について説明する。また，タンパク質の変性度の違いは，食感や重量等の品質に大きな影響を及ぼすと考えられることから，タンパク質の変性度を予測し，過度にタンパク質変性が生じないよう制御を行うことは，加熱処理による品質劣化を抑制することにつながる。そこで，加熱処理に伴う畜肉タンパク質加熱変性度の予測を実施するため，変性速度定数の温度依存性を DSC（Differential Scanning Calorimetry）-Dynamic 法により実測した。

2.2. 筋原線維タンパク質

2.2.1. 畜肉の成分およびタンパク質

畜肉の化学的成分は，畜肉の種類，年齢，性別ならびに筋肉部位によって異なるが，Table 2-1 に示したように，畜肉の主要成分は水およびタンパク質である[1,2]。また畜肉は，三大栄養素のひとつである炭水化物の含有量は低いが，カルシウム，リンなどの多くのミネラルやビタミン類を有する，きわめて栄養価の高い食材である。さらに畜肉は動物体組織そのものであるため，安全かつ栄養価の高い食材ともいえる。

タンパク質は水の次に，高い割合を占める畜肉の構成成分である。この畜肉タンパク質は数多くの種類が存在するが，筋線維タンパク質と結合組織タンパク質に大別することができ，また筋線維タンパク質についてはさらに，解糖系の酵素群やミオグロビンなど細胞液に溶在する筋漿タンパク質，ミトコンドリアや筋小胞体などの細胞小器官を構成するタンパク質，および筋肉の構造と機能を兼ね備えた筋原線維タンパク質に分類することができる[3-5]。

Table 2-2 に各タンパク質画分と畜肉品質との関係を示したが，これより畜肉品質のひとつとして挙げられるテクスチャー，すなわち食感に直接的に関与しているのは，筋原線維タンパク質のミオシンならびにアクチンと，結合組織タンパク質であるコラーゲンに起因することが示唆される。また，未加熱時に畜肉の約 70%を占めている水は加熱処理により減少するが，畜肉の水分保持能力は筋原線維タンパク質のミオシンならびにアクチンの変性に依存すること[5]，加熱処理時に畜肉の色の変化は，筋漿タンパク質であるミオグロビンの状態に由来することが知られている[2]。ところで，Table 2-2 に示した各タンパク質画分と畜肉品質の関係の中に，呈味成分に関与

するタンパク質がないことがわかる。これは，畜肉タンパク質は全て無味・無臭であることが原因として挙げられる。つまり，畜肉の呈味性は畜肉を構成する筋原線維タンパク質由来ではなく，畜肉内に既存する遊離アミノ酸，ペプチド，ヌクレオチド，あるいは揮発性生物などの微量成分や脂肪に依存することを意味する。

テクスチャーや保水性に影響を及ぼす筋原線維タンパク質の微細構造は Figure 2-1 であらわされる。光学顕微鏡で畜肉の切片を観察すると，直径 1.0 μm の長い糸状の構造の中に，明暗の縞が交互に規則正しく連続した横紋が確認できる。このうち，顕微鏡下で明るく見える部分は I 帯，暗く見える部分はA帯であり，A帯の中央にはH帯とよばれるやや明るい部分が存在する。また，I 帯中央にある Z 線から次の Z 線までが筋原線維の構造単位である[2,4]。筋原線維タンパク質の約 55%を占めるミオシンは，太いフィラメントを構成するタンパク質である。また，ミオシンは分子量が約 45 万の繊維状タンパク質であり，洋梨型の 2 つの頭部と棒状の尾部で構成される。ミオシン分子は 3 つの生物学的性質を有しており，頭部に①核酸関連物質である ATP を ADP と無機リン酸に加水分解する ATP 分解酵素，②アクチンと結合し，アクトミオシンと呼ばれる複合体を形成する性質，尾部に③生理的塩濃度において，約 400 分子が結合して太いフィラメントを形成する性質を持つ。また，ミオシンは前述したように，テクスチャーや保水性に影響を及ぼす代表的なタンパク質であり，これはミオシンが筋肉の収縮と密接に関与していることに起因する。

筋原線維タンパク質のうち，ミオシンの次に高い割合の約 20%を占めるのが，細いフィラメントを構成するアクチンである。アクチン分子は直径 5.5 nm の球状タンパク質であるが，生理的塩濃度においては，多数のアクチン分子が集合した二重らせん構造を形成した状態で存在する。また，アクチンの二重らせん構造間のくぼみに棒状のトロポミオシンが横たわっており，さらにその上にトロポニンが一定間隔で結合している。細いフィラメントに存在するアクチン，トロポミオシンおよびトロポニンのモル比率は，7：1：1 である[2]。結合組織タンパク質は，細胞および細胞外に形成された繊維と，それらを浸漬している無定形基質で形成される。しかしこの中で，筋肉組織を一定の状態に保持する役割を果たしているのは，細胞外に形成された線維である。

筋内膜，筋周膜および筋状膜などの筋肉組織内に存在する結合組織の線維は，コラーゲン線維である。このコラーゲン線維は多数のコラーゲン分子が規則的集合し形成されており，さらにこのコラーゲン分子は 3 本のポリペプチド鎖が捻じれあった 3 本鎖構造をしている。コラーゲンは組織からの抽出性の違いによって，中性塩可溶性，酸可溶性および不溶性の 3 種類に分けられ，この中でも不溶性コラーゲンの量が畜肉の軟らかさに関与するといわれる[5]。

2.2.2. 畜肉タンパク質の加熱処理に伴う変化

畜肉タンパク質は，そもそも多数のアミノ酸がペプチド結合により結合した高分子化合物であり，さらにその分子内にイオン結合，水素結合および S-S 結合を持つ複雑な高次構造である。このような構造を持つタンパク質を加熱処理した際，Figure 2-2 に示すように，まず側鎖が切れ，高次構造が崩れる。しかしその後，さらに加熱処理を続け温度が上昇すると，ペプチド分子間に新たに強固な結合が形成されることに伴い分子が集合し，その結果，凝集・凝固しゲル化する[5,6]。このうち，筋原線維タンパク質の主要成分であるミオシンは 50～55 ºC，アクチンは 70～80 ºC で凝固（変性）するといわれている。また，筋繊維全体は 65 ºC 付近から収縮するため，畜肉内部の温度上昇に伴い，体積は徐々に小さくなる。さらに温度が 70 ºC 以上に到達すると，ミオシン，アクチンおよびミオシンとアクチンが結合して形成するアクトミオシンの網状構造の間に保持されていた水が収縮により畜肉外に押し出され，保水性の低下をもたらす[5,6]。その結果，畜肉は初期重量に対して 20～40%の重量が減少し，硬化する。また，加熱処理温度が 80 ºC 付近に到達後，筋原線維タンパク質の変性は完了するが，次に，結合組織タンパク質の収縮が開始されるため，畜肉はさらに硬化する。しかし，90 ºC 以上で長時間加熱処理すると，結合組織タンパク質の主成分であるコラーゲンがゼラチン化し，筋繊維がほぐれ，ばらばらとなるため，畜肉の軟化が開始する[7]。

このように，筋原線維タンパク質のミオシンおよびアクチンの加熱に伴う熱変性は，硬化すなわち食感や，保水性すなわち重量に大きな影響を及ぼすことが知られている。したがって，タンパク質の加熱処理に伴う変性の程度を予測し，過度にタンパク質変性が生じないよう制御することは，品質劣化の抑制につながることが期待される。そこで本研究は，加熱処理中におけるタンパク質変性度の変化を予測するための反応モデルの構築ならびにタンパク質の変性速度定数の算出を試みた。

Table 2-1 Nutrient contents of several types of meat[2].

Type of meat	Water (%)	Protein (%)	Lipid (%)	Carbohydrate (%)	Ash (%)
Beef round (row)	64.4	19.8	14.2	0.6	1.0
Pork loin (row)	65.7	21.1	11.9	0.3	1.0
Chicken leg (skinless, row)	76.3	18.8	3.9	0	1.0

Table 2-2 Relationship between with the kined of meat protein and quality.

Classification of protein	Example	A relation with quality
Sarcoplasmic proteins	myoglobin	color
Myofibrillar proteins	myosin, actin	texture
Connective tissue proteins	collagen	texture

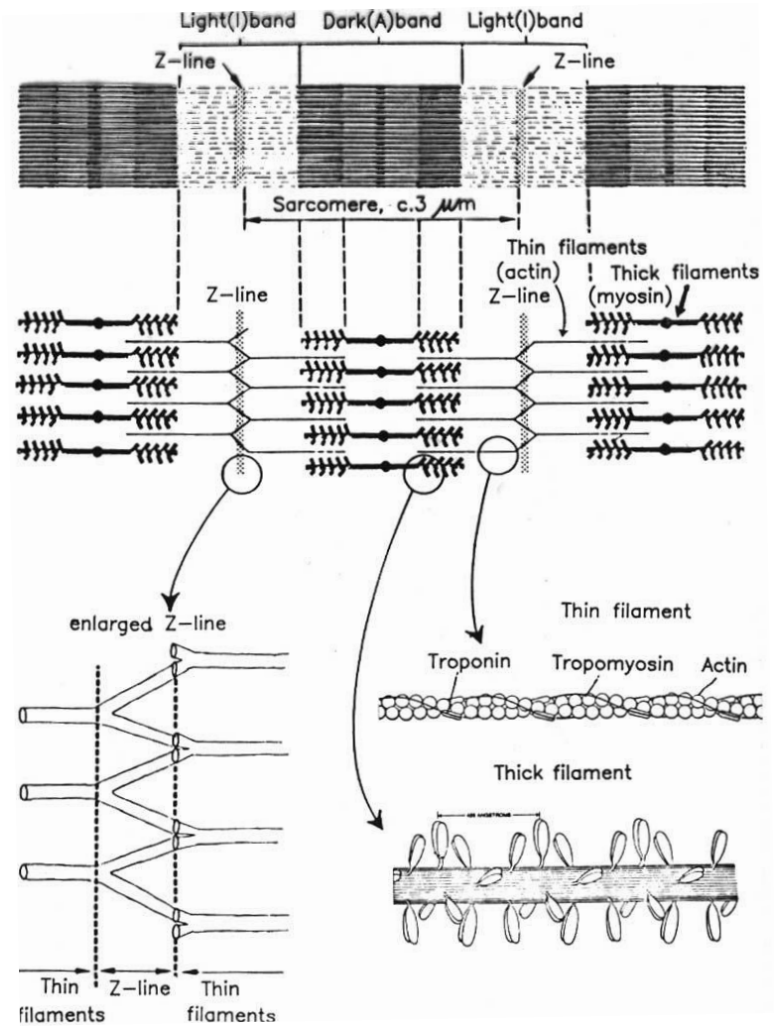


Figure 2-1 The structural build-up of the sarcomere, the thin and thick filaments[5].

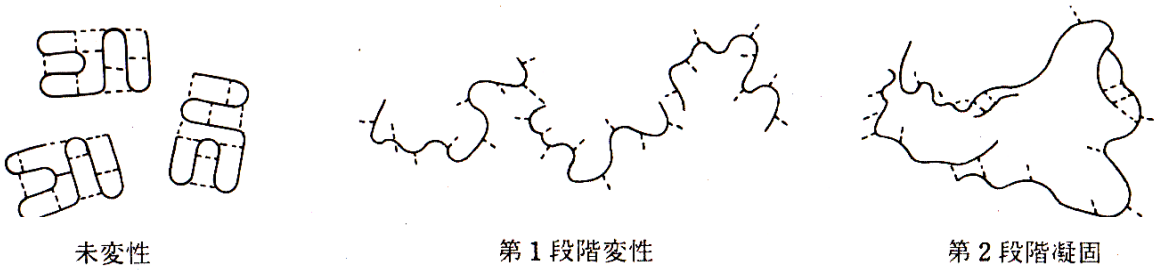


Figure 2-2 Diagrammatic illustration of thermal denaturation of meat protein[6].

2.3. 解析

2.3.1. タンパク質熱変性速度論

タンパク質の熱変性速度は，未変性のタンパク質濃度 C（mol/g_{meat}）に比例する一次反応と仮定すると，速度式は(2-1)式であらわされる[8]。

$$\frac{dC}{dt} = -kC \tag{2-1}$$

ここで，k（1/min）はタンパク質熱変性速度定数である。また，未変性のタンパク質濃度を初期濃度で無次元化した値（以後，未変性率）を X（－）とすると，(2-1)式は(2-2)式であらわされる。

$$\frac{d}{dt}\left(\frac{C_t}{C_0}\right) = \frac{dX}{dt} = -k(T)X \tag{2-2}$$

ここで，C_0（mol/g_{meat}）はタンパク質初期濃度，C_t（mol/g_{meat}）は時間 t における未変性タンパク質濃度を示す。

また，タンパク質熱変性速度定数 k の温度依存性は，(2-3)式に示すアレニウスの式に従うとする。

$$k = Z\,exp\left(-\frac{E_a}{RT}\right) \tag{2-3}$$

ここで，E_a（kJ/mol）は活性化エネルギー，R（J/（mol·K））は気体定数，T（K）は温度，Z（1/min）は頻度因子を示す。

ウシ，ブタおよびウサギ等を対象とした畜肉タンパク質熱変性速度定数は既往の論文で報告されており，速度定数を算出するための測定方法としてビウレット反応（Biuret test），ELISA 法によるタンパク質濃度の定量[9,10]，および DSC で観測された吸熱ピーク温度および吸熱エンタルピーを用いる方法[11-13]が挙げられる。このうち，ビウレット反応や ELISA 法は，測定対象とするタンパク質を抽出・単離する前処理が必要があるが，DSC 法は前処理を施さなくても測定が可能である。本研究は畜肉を塊のまま加熱処理した際のタンパク質変性度分布の予測を目指しているため，抽出・タンパク質の単離等の処理を行わず，畜肉そのものを測定試料とする DSC 測定を用いた非等温速度解析法の DSC-Dynamic 法[14]により，アレニウスの式に用いるタンパク質熱変性速度パラメーターを算出を試みた。

2.3.2. DSC-Dynamic 法

タンパク質が DSC 測定により一定の昇温速度で加熱されると，加熱温度と昇温速度の関係は(2-4)式であらわされる。

$$dT = \beta dt \tag{2-4}$$

ここでβ (°C/min) は昇温速度を示す。つまり，(2-2)式および(2-3)式は(2-5)式に置き換えられる。

$$\beta \frac{dX}{dT} = -ZX\, exp\left(-\frac{E_a}{RT}\right)$$

$$\frac{\beta}{Z}\frac{d^2X}{dT^2} = -\left(-\frac{Z}{\beta} exp\left(-\frac{E_a}{RT}\right) + \frac{E_a}{RT^2}\right) X\, exp\left(-\frac{E_a}{RT}\right) \tag{2-5}$$

また，タンパク質未変性率 X とタンパク質の熱変性に要した吸熱エンタルピーΔH（J/g）の関係は，(2-6)式であらわされる。

$$X = \frac{\Delta H_T}{\Delta H_0} \tag{2-6}$$

ここで, ΔH_T (J/g) は温度 T における時間 t におけるタンパク質の熱変性に要するエンタルピー, ΔH_0（J/g）はタンパク質の熱変性に要するエンタルピーを示す。

DSC 曲線は温度 T もしくは時間 t の関数であるため，タンパク質未変性率 X と吸熱ピーク T_{max} の関係は，(2-7)式であらわされる。

$$\left.\frac{d^2X}{dT^2}\right|_{T=T_{max}} = 0 \tag{2-7}$$

また，(2-5)式および(2-7)式より，DSC で観測された吸熱ピーク T_{max} と昇温速度βの関係は(2-8)式であらわされる。

$$-\frac{Z}{\beta} exp\left(-\frac{E_a}{RT_{max}}\right) + \frac{E_a}{RT_{max}{}^2} = 0$$

$$ln\left(\frac{\beta}{T_{max}{}^2}\right) = ln\left(\frac{ZR}{E_a}\right) - \left(\frac{E_a}{RT_{max}}\right) \tag{2-8}$$

つまり，(2-8)式に従い OZAWA プロット（$-ln\left(\beta / T_{max}^2\right)$ vs. $1/T_{max}$）を実施することで，各タンパク質の速度パラメーターが算出可能となる[14]。

2.4. DSC 測定

市販スライス状国産牛モモ肉を試料とし，採取した約 15 mg を耐圧性アルミニウム容器（KIT NO.0219-0041，15 μl）に封入した。DSC 装置（Pyris1 DSC，Perkin Elmer Inc.）にて，昇温速度 5，10，12.5，17.5 および 20 °C/min の条件で 25～110 °C まで測定を行った。リファレンスには，何も充填していない空の容器を用いた。測定終了後，容器に穴をあけ，105 °C に設定した強制送風循環恒温槽（DV600，ヤマト科学）で 24 時間乾燥させ，試料の乾物重量を測定した。

そして得られた DSC 曲線に検出されたピーク面積と，試料の乾物重量からタンパク質の熱変性に要したエンタルピーΔH（J/g）を算出した。

2.5. 結果および考察

2.5.1. タンパク質熱変性速度パラメーターの算出

畜肉を試料とした DSC 測定は多数行われており[11,12,15]，54～58 °C で観測される吸熱ピークは，筋原線維タンパク質のミオシン，65～67 °C で観測される吸熱ピークは，結合組織タンパク質であるコラーゲン，そして 75 °C 付近で観測される吸熱ピークは筋原線維タンパク質のアクチン由来であると報告されている[5,12]。昇温速度 10 °C/min で DSC 測定を行った結果，Figure 2-3 に示したように，56.3 °C および 73.2 °C の 2 箇所に吸熱ピーク温度 T_{max}（°C）を有する吸熱変化が観測された。本実験で 65～67 °C 付近における吸熱ピークが観測されなかった原因として，試料充填量と pH が挙げられる。Wagner ら[12]は pH5.4～6.2 に調整した牛肉を 12～24 mg 充填し DSC 測定を行っている。この際，Wagner らの結果においても，試料充填量が少量になるのに伴い，はっきりとしたピークが観測されない傾向となっており，また，山口ら[16]が行った試料充填量の少ない測定（試料充填量 4.0 mg）では，本実験と同様に観測された吸熱ピークは 2 箇所である。さらには，Wagner ら[12]の実験では，pH が低い試料では 3 箇所で吸熱ピークが観測されたが，pH が高くなるに従い第 1 ピークと第 2 ピークが近づき，pH6.2 ではひとつのピークとして観測されている。本実験で使用した試料ならびに，山口らの測定でも試料の pH 測定を行っていないことから，本実験で使用した試料の pH が高かったことが原因のひとつとして示唆される。しかし，今回観測された 2 箇所の吸熱ピーク温度は既存の報告値と一致していることから，測定方法ならびに実験結果は妥当であると判断し，第 1 ピークを筋原線維タンパク質のミオシン，第 2 ピークを筋原線維タンパク質のアクチン由来であると帰属した。また，昇温速度においても，常に 2 箇所で吸熱ピークを観測できたと同時に，昇温速度が速くなるに従い，吸熱ピークが高温度にシフトする傾向を示した。

2.5.2. タンパク質未変性率の予測

観測された各昇温速度における吸熱ピーク T_{max}（°C）を(2-8)式に従い OZAWA プロットした結果を Figure 2-4 に示した。その結果，ミオシン，アクチンともに直線性を示したことから（ミオシン：相関係数 r^2＝0.930，アクチン；相関係数 r^2＝0.883），得られた直線の傾きと切片より，両タンパク質の活性化エネルギーE_a（kJ/mol）ならびに頻度因子 Z（1/min）を算出し，得られた結果を Table 2-3 にまとめた。また，実験より得られた速度パラメーターは DSC-Dynamic 法を用いて算出した既往の報告[11,12]とオーダーが一致し，大きな相違がないことを確認できた。こ

のように，各タンパク質の活性化エネルギーおよび頻度因子が明らかになったことで，任意の温度における各タンパク質の熱変性速度定数を(2-3)式に従い算出することが可能となり（Table 2-3），さらに得られた速度定数を(2-2)式に用いることで，ミオシンおよびアクチンの未変性率の予測計算が可能となった。

試料の初期温度を 25 °C とし，昇温速度 10 °C/min で加熱した際の各タンパク質未変性率変化と，DSC で算出したタンパク質変性速度パラメーターの妥当性の検証として，各タンパク質の変性率増加率を単位時間で微分した値，すなわち dC/dt の変化を Figure 2-3 に示した。Figure 2-3 より，ミオシンは 35 °C 付近から徐々に変性が始まり，65 °C 付近にて変性が完了したが，これに対してアクチンは，ミオシンが変性終了となる 65 °C 付近から変性が開始し，80 °C 付近にて変性が完了していることが見て取れる。また，タンパク質の変性率の変化もミオシンとアクチンで温度帯が異なることが明確となった。つまり，これらの結果より，同じ筋原線維タンパク質であっても，タンパク質の種類によって，変性が進行する温度帯が異なることが明らかとなった。また本研究では，タンパク質未変性率 X が 0.999 に到達した時を変性開始温度，0.001 に到達した時を変性終了温度と定義した。これらの定義によって算出した各タンパク質の変性開始温度（Onset）と終了温度（End），そして Figure 2-5 に示したタンパク質の変性率増加率を時間で微分した値の最大値を吸熱ピーク（Peak）とみなし，DSC 測定で観測された温度を Table 2-4 にまとめ，それぞれ比較を行った。Table 2-4 より，変性開始温度は予測値の方が実験値よりも低い温度であることが示された。これは，予測値の変性開始温度付近では変性速度は非常に遅く，変性量は微量であることから，変性開始時に要したエンタルピーを DSC 装置が感知できなかった可能性が原因として挙げられる。しかし，ミオシン，アクチンの両方において，吸熱ピークならびに変性終了温度は予測値と実験値が同等であることから，算出した両タンパク質の変性速度パラメーターは妥当であると判断した。

ところで，実際の筋肉細胞は複数のタンパク質が複合して，筋肉全体の構造を形成しているため，畜肉の機能や特性は，畜肉タンパク質自体の構造変化に起因すると推察できる。つまり，畜肉加工品の品質設計を行うには，各タンパク質の変性度のみならず，複数のタンパク質によって構成される畜肉タンパク質の未変性率を算出する必要がある。そこで本研究では，多々ある畜肉タンパク質のうち，DSC で観測できたミオシンとアクチンを主要タンパク質とみなし，畜肉タンパク質全体の未変性率 X_t（以後，total タンパク質未変性率）の算出を行った。total タンパク質未変性率を算出するにあたり，(2-9)式を用いた。

$$X_t = p_1 X_1 + p_2 X_2 \tag{2-9}$$

ここで，p_1（－）および p_2（－）はミオシンおよびアクチンそれぞれの係数，X_1 および X_2 はミオシンおよびアクチンの未変性率を示す。

Mochizui ら[17]はイカを試料とし，DSC 測定した際に得られたエンタルピー量の比率から，試料中のミオシンとアクチンの組成比を算出している。そこで本研究でも DSC 測定結果をもとに，各タンパク質の変性に要するエンタルピー量を算出したところ，昇温速度に依存せず，ミオシンは 7.1 ± 1.6（J/g），アクチンは 3.2 ± 1.3（J/g）となり，比率に変換すると p_1 は 0.69，p_2 は 0.31 となった。また，得られた比率は，クロマトグラフ法により定量したミオシンとアクチンの存在比率[18,19]と同程度であることから，妥当であると判断した。

Table 2-3 Calculation of the activation energy (E_a) and the pre-exponential factor (Z) for thermal denaturation of meat proteins.

	E_a (kJ/mol)	Z (1/min)		Temperature (°C)				
				40	50	60	70	80
Myosin	240.9 ± 7.66	4.69×10^{36}	k (/min)	2.93×10^{-4}	5.15×10^{-3}	7.62×10^{-2}		
Actin	380.3 ± 27.5	8.17×10^{55}		-	-	1.80×10^{-4}	9.88×10^{-3}	4.32×10^{-1}

k = rate constant of reaction.

Table 2-4 Comparison between experimental values and calculated values of onset, end and peak temperature.

	Myosin		Actin	
	exp.	cal.	exp.	cal.
Onset (°C)	45.2 ± 1.46	33.4	68.2 ± 0.22	56.6
End (°C)	63.4 ± 0.61	64.0	75.7 ± 0.19	78.7
Peak (°C)	56.3 ± 0.28	56.8	73.2 ± 0.12	73.6

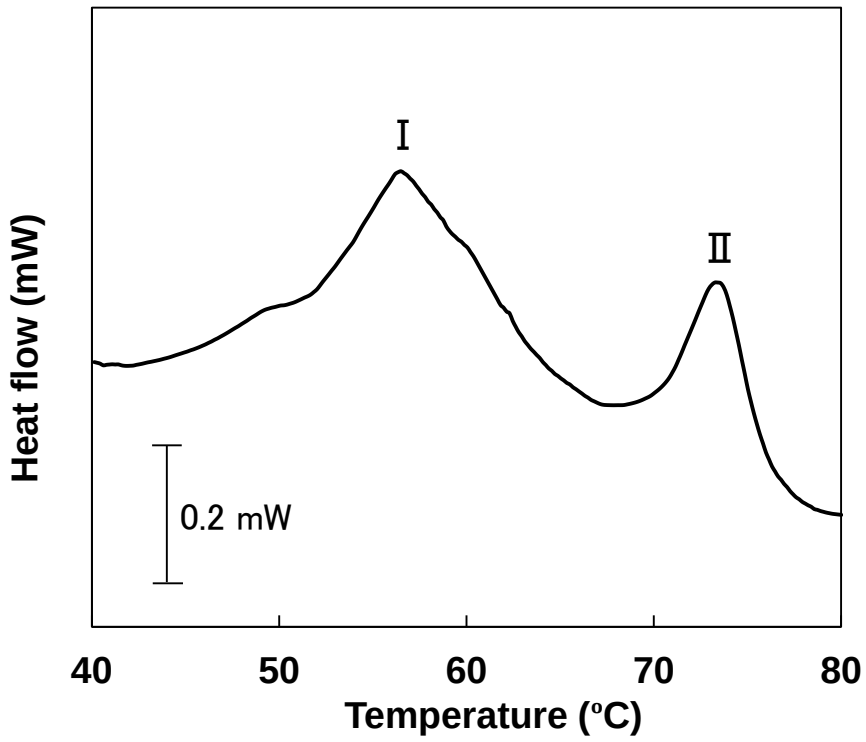


Figure 2-3 DSC thermogram of sliced round beef with heating rate of 10 °C/min. The first peak corresponds to myosin and the second one to the actin of the fibrillary protein.

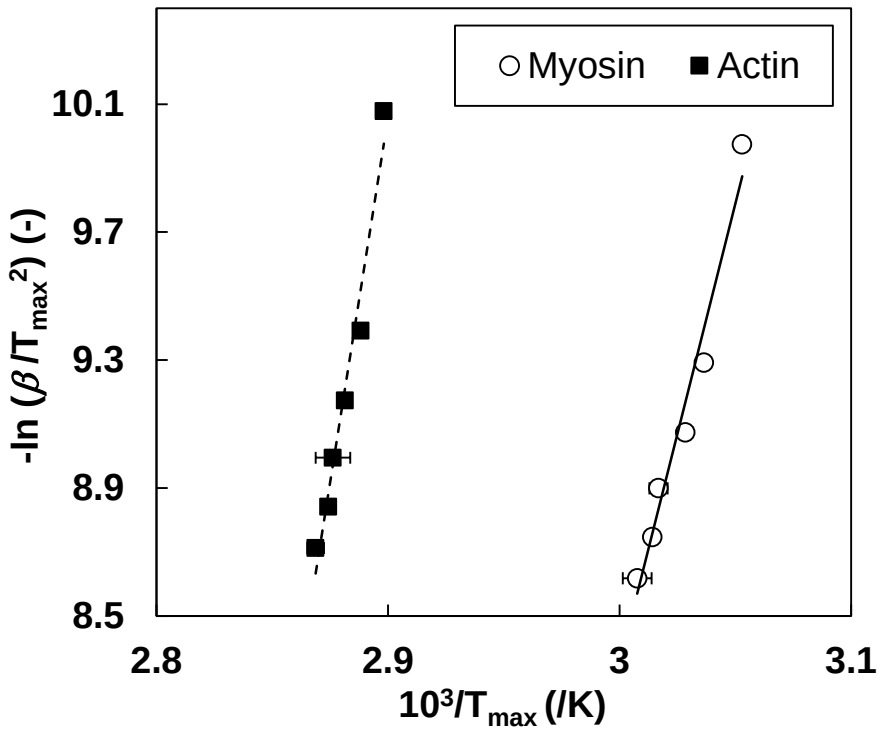


Figure 2-4 Ozawa plots for the myofibrillar proteins thermal denaturation according to the DSC dynamic method.

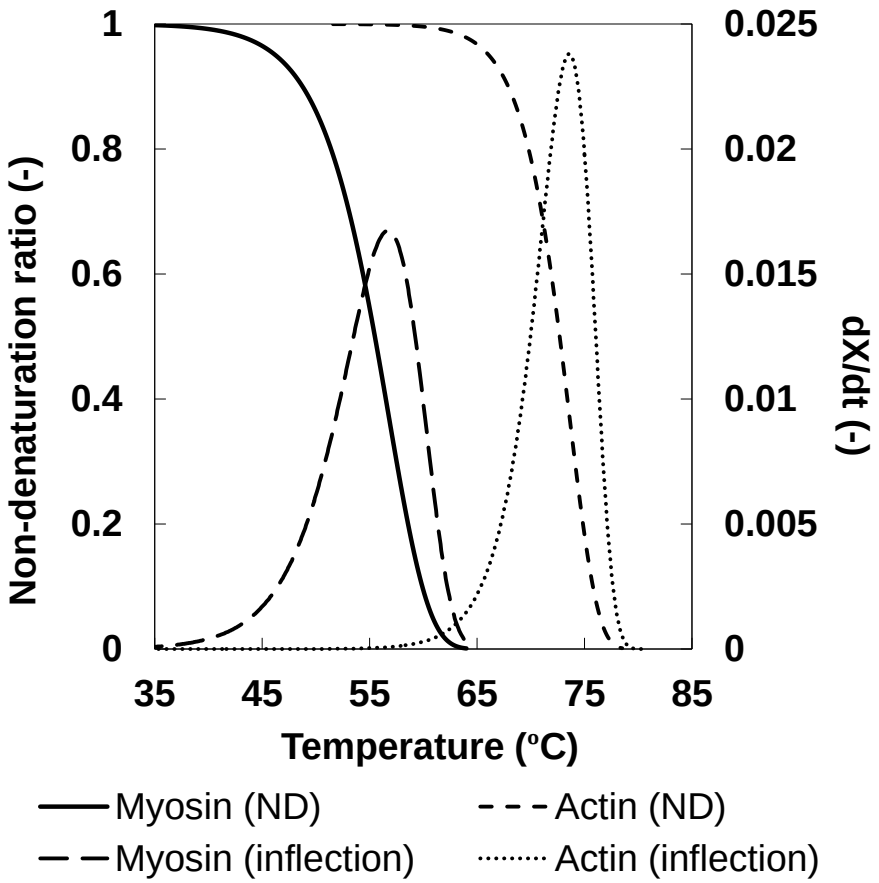


Figure 2-5 Calculated changes of the non-denaturation ratio of each protein during heat-scanning at 10 °C/min. When the time course of protein denaturation was differentiated with time, the inflection protein which corresponding to the peak temperature (T_{max}) in DSC measurement could be obtained.

2.6. 結論

本章では，畜肉タンパク質の種類ならびに役割と，本研究が着目している加熱処理過程における変化について説明した。また，タンパク質の変性度の違いは，食感や重量等の品質に大きな影響を及ぼすと考えられる。そこで，加熱処理に伴う畜肉タンパク質加熱変性度の予測を実施するため，変性速度定数の温度依存性を，DSC-Dynamic 法により実測した。得られた結果は以下のようにまとめられる。

- DSC 測定より，全ての昇温速度において 50 ºC および 70 ºC 付近で吸熱ピークを観測でき，また，既存の研究より，前者を筋原線維タンパク質のミオシン，後者をアクチンの変性由来であると帰属できた。
- DSC-Dynamic 法により，タンパク質熱変性速度定数 k の算出に必要となる速度パラメーターを算出したところ，ミオシンは E_a（kJ/mol）＝240.9 ± 7.66，Z（1/min）＝4.69 × 10^{36}，アクチンは E_a（kJ/mol）＝380.3 ± 27.5，Z（1/min）＝8.17 × 10^{55} を得た。
- タンパク質の熱変性速度は，未変性のタンパク質濃度 C（mol/g_{meat}）に比例する一次反応と仮定し，昇温速度 10 °C/min で加熱した際の各タンパク質未変性率変化を算出したところ，タンパク質の変性率の変化はミオシンとアクチンで温度帯が異なることが明らかとなった。
- 畜肉タンパク質全体の未変性率 X_t の算出を行うためのミオシンとアクチンの比率を，DSC 測定で計測した各タンパク質の熱変性に要したエンタルピー量の比率より，ミオシン：アクチン＝0.69：0.31 と決定した。

2.7. 記号説明

C	concentration of non-denaturated protein (mol/g_{meat})
C_0	initial concentration of non-denaturated protein (mol/g_{meat})
C_t	concentration of non-denaturated protein at time t (mol/g_{meat})
E_a	activation energy (kJ/mol)
H_0	enthalpy (J/g)
H_T	enthalpy at temperature (J/g)
k	rate constant of reaction (1/min)
p_i	fractions of the proteins (-)
R	gas constant (J/(mol·K))
t	time (s)

T	temperature (°C)
T_{max}	maximum peak temperature (°C)
X_i	non-denaturation ratio (-)
X_t	total non-denaturation ratio (-)
Z	pre-exponential factor of the Arrhenius equation (1/min)

Greece symbol

β	heating rate (°C/min)

2.8. 本章の引用文献

1) 沖谷明紘（1996），肉の科学，朝倉書店

2) 鈴木敦士，渡部終五，中川弘毅（1998），タンパク質の科学，朝倉書店

3) Lawrie, R.A.，森田重広（訳），内田和夫（訳），（1971），肉の科学，学窓社

4) 森田重広（1992），食肉・肉製品の科学，学窓社

5) Tornberg, E. (2005), Effect of heat on meat proteins-implications on structure and quality of meat products. *Meat Sci.*, **70**, 496-508

6) 岡田実（1963），食肉加工のユニットプロセス，光琳

7) Cheng, C. S., Parrish Jr., F. C. (1979), Heat-induced in changes in myfibrillar proteins of bovine longissimus muscle, *J Food Sci.*, **44**, 22-24

8) Villota, R., & Hawkes, J. G. (2007), Reaction kinetics in food system. IN: Heldman, D. R. & Lund, D. B. (Eds.), Handbook of food engineering, section edition, CRC Press, pp. 125-286

9) Chen, F., Kilonzo-nthenge, A., Peggy, H. Y.-H. & Bridgman, R. C. (2007), Kinetics of tropomyosin denaturation as a predictive model for verifying thermal processing of beef products. *J Food Prot.*, **69**, 247-253

10) Ikeuchi, Y., Ito, T. & Fukazawa, T. (1981), A kinetic analysis of thermal denaturation of F-actin. *J Sci. Food Agric.*, **13**, 1065-106

11) Kajitani, S., Fukuoka, M. & Sakai, N. (2011), Kinetics of thermal denaturation of protein in cured pork meat. *Jpn. Food J Eng.*, **12**, 19-26(2011)

12) Wargner, J. R. & Anon, M. C. (1986), Deaturation kinetics of myfibrillar proteins in bovine muscle. *J Food Sci.*, **50**, 1547-155

13) Findlay, C. J., Stanley, D. W. & Gullett, E. A. (1986). Thermomechanical properties of beef muscle, *Meat Sci.*, **22**, 57-70

14) Ozawa, T. (1970). Kinetic Analysis of Deriative Curves in Thermal Analysis. *J Therm Anal,* **2**, 301-324

15) Bertola, N. C., Bevilacqua, A.E. & Zaritzky, N. E. (1994). Heat treatment effect on texture changes and thermal denaturation of proteins in beef muscle. *J Food Proc. Preser.*, **18**, 31-46

16) 山口達彦，赤崎哲也，中村文雄，(2003)，示差走査熱量分析計（DSC）による肉たんぱく質の熱変性の測定，関税中央分析所報，**43**，5-8

17) Mochizuki, Y., Ogawa, H. & Iso, N. (1995). Trial determination of the ratio of myosin and actin in raw meat by differential scanning calorimetry. *Fisheries Sci.*, **61**, 723-724

18) Lawrence, D. Y., Marion, L. G. & Huxley, H. E. (1983). Quantitative determination of myosin and actin in rabbit skeletal muscle. *J Mole. Bio*, **168**, 123-141

19) Zarkadas, C. G., Karatzas, C. V., Khalili, A. D., Khanizadeh, S. & Morin, G. (1988). Quantitative determination of myofibrillar proteins and connective tissue content in selected porcine skeletal muscle. *J Agric. Food and Chem.*, **36**, 1131-1146

第3章 筋原線維タンパク質の熱変性と畜肉品質との関係

3.1. はじめに

第 2 章より，畜肉を構成する主要タンパク質である筋原線維タンパク質のミオシン，アクチンそれぞれの未変性率，ならびに畜肉を構成するタンパク質全体の変性率（または未変性率）を予測することが可能となった。そこで本章では，タンパク質変性度が及ぼす畜肉品質との関係を考察すべく，異なるタンパク質変性度を有する試料を対象とし，弾性率，重量損失率，および MRI 法を用いて試料内部に残存する横緩和時間 T_2 を測定した。また本章の特徴として，あらかじめ試料内部に形成されるタンパク質未変性率の予測計算に基づき，加熱処理条件を決定し，目的の変性分布を形成させた実験試料を調製したことが挙げられる。本手法を用いることで，目的とするタンパク質未変性率と，品質との相関を明らかにすることが可能である。また，畜肉は塊の状態で加熱処理を施されることが多いため，畜肉内部に不均一な温度ならびにタンパク質変性度分布が生じていることが予想される。そこで，試料中心点のみならず，実験試料全ての位置におけるタンパク質未変性率を算出するとともに，中心横断面におけるタンパク質未変性度分布を可視化することで，タンパク質変性度分布と品質との相関についても考察を行った。

3.2. 非定常三次元熱伝導解析

本研究は，フーリエの法則に基づく非定常三次元熱伝導方程式を基礎として，伝熱解析を行った。非定常熱伝導の基礎方程式は，(3-1)式であらわされる。

$$\kappa \cdot \nabla^2 T - \rho c_p \frac{\partial T}{\partial t} = 0 \tag{3-1}$$

ここで，κ（W/（m･K））は熱伝導率，T（K）は温度，t（s）は時間，ρ（kg/m^3）は密度，c_p（J/（kg･K））は定圧比熱を示す。本実験では，試料調整時の熱媒体として水を使用したことから，熱伝達率は非常に大きいとみなし，加熱直後に試料表面が環境温度 T_a（K）（すなわち規定した加熱処理温度）に到達するとみなした，(3-2)式に示す境界条件を採用した。さらに，初期条件として，加熱開始時 t=0 において，試料内部に不均一な温度分布は生じていないと仮定すると，(3-3)式であらわされる。

$$T = T_a \tag{3-2}$$

$$T = T_{in} \tag{3-3}$$

ここで，T_{in}（K）は試料内部の初期温度を示す。

次に，(3-1)式，境界条件ならびに初期条件に基づき解くための手段について述べる。本研究では，数値解を得るための手法として，ガラーキン法に基づく有限要素法を用いた。解析対象である試料を要素に分割すると，ある要素の温度分布は(3-4)式であらわされる。

$$T(x,y,z:t)=\sum_{i=1}^{n}N_i(x,y,z)\phi_i(t) \tag{3-4}$$

ここで，N_i(x,y,z)は節点温度と要素内部温度を結びつける内挿関数，$\phi_i(t)$は時刻 t における節点iの温度，n は 1 要素あたりの節点数を示す。本解析では 1 要素あたり 8 節点の直方体とした。これを定式化すると，(3-5)式であらわされる有限要素式が得られる。

$$[C_{mn}]\{\dot{\phi}_n\}+[K_{mn}]\{\phi_n\}=\{S_m\} \tag{3-5}$$

ここで，$\dot{}$ は時間微分を示す。また，

$$C_{mn}=\int_V \rho c N_m N_n \, dV$$

$$K_{mn}=\int_V \kappa\left(\frac{\partial N_m}{\partial x}\frac{\partial N_n}{\partial x}+\frac{\partial N_m}{\partial y}\frac{\partial N_n}{\partial y}+\frac{\partial N_m}{\partial z}\frac{\partial N_n}{\partial z}\right)dV+\int_{S_t}\alpha N_m N_n \, dS$$
$$+\int_{S_t}\sigma\varepsilon F\left(T+T_\infty\right)N_m N_n \, dS$$

$$S_m=-\int_{S_t} qN_m \, dS+\int_{S_t}\alpha T_0 N_m \, dS+\int_{S_t}\sigma\varepsilon F T_\infty\left(T+T_\infty\right)\left(T^2+T_\infty{}^2\right)N_m \, dS$$

上式 K_{mn}，S_m において，温度 T（K）は前ステップの当該温度を用いればよい。また，(3-4)式について，時間 t に関する 1 回の微分方程式をクランク・ニコルソン差分で解くと，dt を時間増分として(3-6)式であらわされる。

$$\left(\frac{1}{\Delta t}[C_{mn}]+\frac{1}{2}[K_{mn}]\right)\{\phi_n\}_{t+\Delta t}=\left(\frac{1}{\Delta t}[C_{mn}]-\frac{1}{2}[K_{mn}]\right)\{\phi_n\}_t+\{S_m\} \tag{3-6}$$

（3-5）式にもとづき，非定常熱伝導問題を時間方向に繰り返し計算することで，温度分布の時間変化が得られる。

3.3. タンパク質熱変性度の予測計算に基づく加熱処理条件の決定

3.3.1. 試料中心温度測定

実験試料には，市販されているブロック状国産牛モモ肉を使用した。試料を 15 × 20 × 20 mm に成形後，恒温湯槽（TR-4 型，アズワン㈱）を用いて 50 ºC もしくは 70 ºC で 20 分間等温加熱処理を行った。この際，試料中心にシース型熱電対（T-type，φ1.0 mm）を挿入することで，加熱過程における試料中心の温度履歴を取得した。

3.3.2. 解析モデルおよび解析条件

解析のためのモデル作成には，有限要素プリプロセッサである FEMAP Version 10.2（シーメンスインダストリーソフトウェア㈱）を用いた。作成したモデルの節点，要素，伝熱面などの条件を基礎データとし，FORTRAN 言語で書かれたプログラムを用いて有限要素解析を行った。また，肉の塊を調理した際には肉内部に不均一な温度分布，タンパク質変性分布が生じることが予想されることから，FEMAP を用いて解析結果の可視化をあわせて行った。本章では実験試料である畜肉サイズ 15 × 20 × 20 mm の直方体を想定した解析モデルを作成した。

FORTRAN 言語で書かれたプログラムを用いて，50 ºC もしくは 70 ºC の恒温湯槽で 20 分間の等温加熱処理を想定した熱伝導解析を行った。伝熱解析に必要な熱物性値である熱拡散率α（m^2/s）は温度依存性はないとみなし，α（m^2/s）＝1.40×10^{-7} を用いた[1,2]。

3.3.3. 結果および考察

解析モデル中心位置（(x，y，z）＝7.5，10，10）における伝熱解析値と，第 2 章で取得したタンパク質変性速度パラメーターを用いて算出したタンパク質未変性率変化の結果を Figure 3-1 に示した。また，実際に畜肉を 15 × 20 × 20 mm に成形し，恒温湯槽（TR-4 型，アズワン㈱）を用いて等温加熱処理を施した際に，試料中心位置の温度履歴を取得し，伝熱解析値と比較を行った。Figure 3-1 に中心位置の実測値をあわせて示したが，両方の温度帯で実測値と解析値は良好に一致している様子が見て取れることから，伝熱解析方法は妥当であると判断した。

Figure 3-1（A）より，ミオシンは加熱開始直後から徐々に変性が開始し，中心温度が環境温度である 50 ºC に到達時前後で著しく変性が進行し，加熱開始から約 19 分後，未変性率は 0 に到達した。これに対してアクチンは，50 ºC における変性速度は小さいため，加熱終了時においてもほとんど変性しなかった。しかし，70 ºC で加熱処理を行った場合（Figure 3-1（B））は，試料中心の温度上昇に伴いアクチンの変性が進行し，加熱開始から約 12 分後に変性が完了した。また，ミオシンは 50 ºC よりも 70 ºC における変性速度が速いため，70 ºC 加熱では約 3 分で変性が完了した。このように，加熱処理温度によってタンパク質未変性率の時間変化が大きく異なることが明確となった。

異なるタンパク質変性状況は，畜肉品質として挙げられる硬さや重量変化率に影響を与えることが予想される。そこで本研究では，予め伝熱解析ならびにタンパク質変性度の予測計算を行い，推測した試料中心位置におけるタンパク質未変性率変化から加熱処理条件を決定し，実験試料を調製することで，目的とするタンパク質変性度分布と品質との相関を明らかにすることにした。また，試料はブロック状の塊であるため，加熱媒体からの位置によって温度履歴が異なり，その

結果，タンパク質未変性率が異なる。そこで，(3-7)式を用いることで，試料全体の total タンパク質未変性率の平均値 μ（－）を算出した。

$$\mu = \frac{\sum_{i=1}^{n} v(i) X_t(i)}{\sum_{i=1}^{n} v(i)} \tag{3-7}$$

ここで，v（i）は要素 i における体積を示す。各要素における total タンパク質未変性率 X_i に要素の体積をかけあわせ，これを全ての要素体積の積分値（すなわち解析モデルの体積）で割ることで, 試料全体の total タンパク質未変性率の平均値 μ（－）を算出した。この方法を用いることで，タンパク質変性度分布が生じるような肉の塊において，相対的なタンパク質変性度と畜肉品質との相関の議論を可能とした。

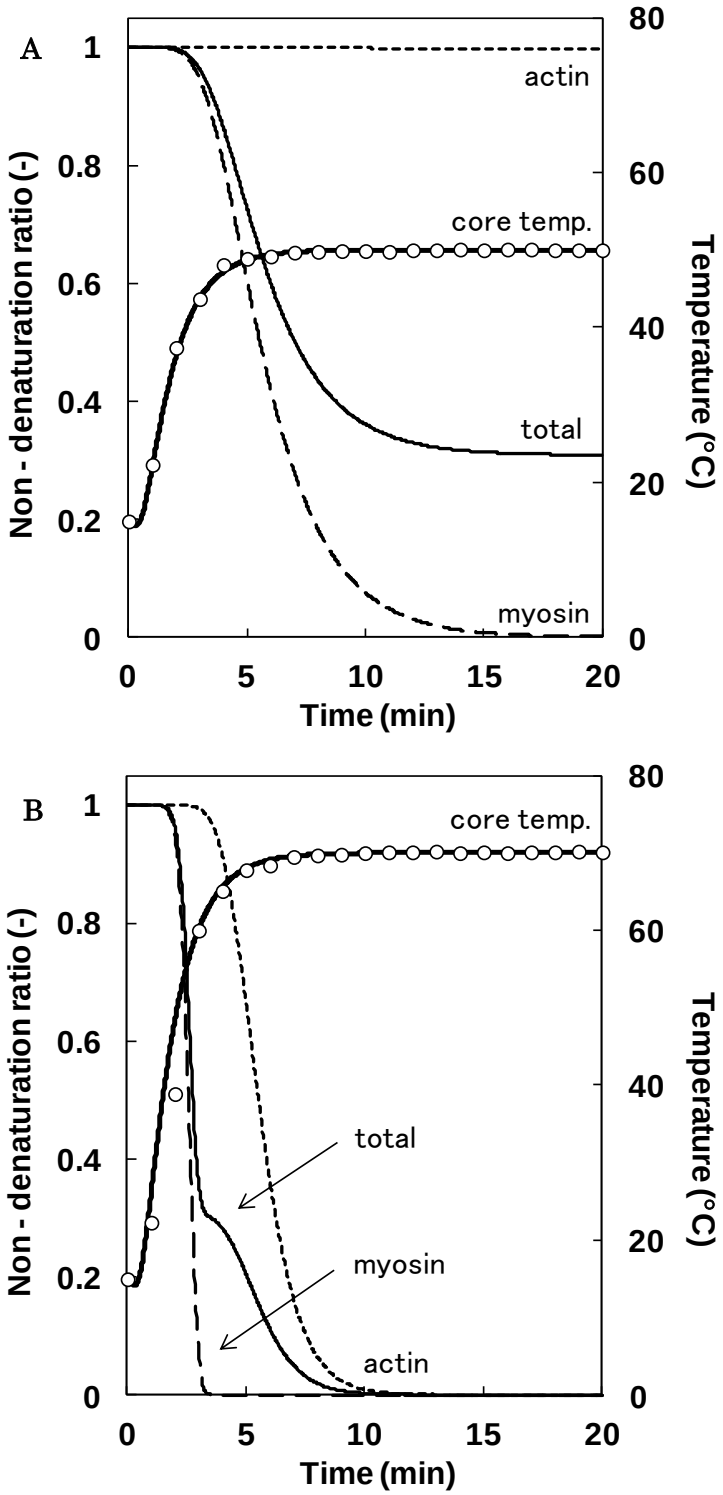


Figure 3-1 Simulated changes of the non-denaturaion ratio each protein, that is, myosin and actin, at the core of cube meat during heating. The sample was heated at 50 °C(A) and 70 °C(B). Comparison of measured and calculated tempearture history was also shown.
(○: measured temperature history at the core.)

3.4. 原理

3.4.1. 応力緩和測定の原理

物体を変形させ，その変形を保っておくと時間経過とともに応力が減少する現象を，応力緩和（stress relaxation）という。応力緩和現象は Figure 3-2 に示す弾性をあらわすバネと，粘性をあらわすダッシュポットを直列に組み合わせたモデル（マックスウエル模型）で説明することができる。この模型を急激に引っ張ったとすると，ダッシュポットはすぐに動けず，バネだけがのびる。この変形を保っておくと，今度はバネに貯えられた力が作用し，時間の経過に伴いダッシュポットが引き上げられ，バネが縮み，その内部の応力は減少する。また，n 個のマックスウエル模型を並列につないだ模型（一般化されたマックスウエル模型）を考えることで，一定の変形下において観測された応力緩和曲線から，測定試料の弾性率 E を算出することが可能である。

一般化されたマックスウエル模型を想定した応力緩和曲線の解析として逐次近似法が挙げられる。ただしこの方法は，試料の応力緩和特性が主として緩和時間の大きい要素によって決定される，という前提のもとで成り立つ。応力緩和測定で観測される応力と，弾性率および緩和時間の関係は(3-8)式であらわされる[3]。

$$E(t) = \frac{p}{e} = \sum_{i=1}^{n} E_i \, exp\left(-\frac{t}{\tau_{Mi}}\right) \tag{3-8}$$

ここで，E（N/m）は弾性率，p（N）は応力，e（－）は圧縮変形率，τ（s）は緩和時間，t（s）は時間を示す。

応力緩和測定で得られたデータを用いて，応力の対数値 $ln\, p(t)$ を時間 t に対してプロットした図が Figure 3-3 である。Figure 3-3（A）より時間 t が大きいところでは直線とみなすことができる。一般化マックスウエル模型を考えたとき，最も大きい緩和時間 τ_{Mi}（s）を持つ要素の弾性率を E_1 とすると，この直線の時間 0 における切片は eE_1 となる。ここで e は測定条件である圧縮変形率であることから，弾性率 E_1 を算出することが可能となる。また，残りの応力は算出した要素をひいた残りと考えることができる。すなわち，時間 t に対する(3-9)式の左辺の対数値のプロットが直線とみなせるまで同様の操作を行うことで（Figure 3-3（B）），緩和時間の小さい要素における弾性率の算出が可能である。

$$p - eE_1 \, exp\left(-\frac{t}{\tau_{M1}}\right) = e\sum_{i=2}^{n} E_i \, exp\left(\frac{t}{\tau}\right) \tag{3-9}$$

3.4.2. MRI の原理

磁気共鳴イメージング法（Magnetic Resonance Imaging: MRI）の利点として，非破壊で試料内部の水分分布を測定可能であることが挙げられる。水を構成する水素原子の原子核（プロトン）

は電荷を有しており，それに伴い自転していえるため，コイルに電流が流れると同時に磁場が発生する。すなわち，プロトンは小さな磁場とみなすことができる。これを強い静磁場 B_0 の中に置くと，プロトンが棒磁石の場合は，どの磁石も B_0 方向に配向するが，プロトンは回転しているため，B_0 方向（軸）の周りを首振り運動（歳差運動）する。このプロトンの首振り運動の周波数 ν_0 は，静磁石の強度 B_0 に比例し，比例定数 γ は原子核に固有な値をとる。

静磁場 B_0 を直交座標系の Z 軸とすると，試料中に存在するプロトンは，ほぼ同じ周波数，すなわち共鳴周波数 $\nu_0 = \gamma B_0 / 2\pi$ （Hz）で Z 軸の周りを首振り運動する。また，熱平衡状態時の首振り運動の位相はランダムになるため，試料中に存在するプロトン磁石のベクトルを足し合わせもの（巨視的磁化）は，X 軸および Y 軸方向では打ち消しあい，Z 軸方向の成分のみが残る。すなわち，多数のプロトン磁石は Z 軸を回転軸として共鳴周波数 ν_0 で回転する，ひとつの巨視的磁石 M とみなすことができる。この時，巨視的磁石 M と同じ周波数で Z 軸のまわりを回転しながら，同時に Z 軸に垂直な一定方向に磁場 B_1（RF 磁場）を印加すると，巨視的磁石 M は Z 軸のまわりを回転しつつ，ν_0 で回転している RF 磁場の軸の周りを首振り運動するようになる。このような回転系での動きは，回転座標系を用いて考えるとわかりやすい。そこで，Figure 3-4 を用いて，以後説明する。

まず，Z 軸のまわりを周波数 ν_0 で回転する直交座標 X’，Y’，Z’を考える。またこの際，Z’は Z 軸と等しい。静磁場 B_0 におかれた巨視的磁石 M は，Z 軸の周りを周波数 ν_0 で回転しているが，それを周波数 ν_0 で回転している回転座標からみると，静止しているようにみえる。さらに，X 軸方向に RF 磁場 B_1 をかけると，B_1 は回転座標系 X’では静磁場のようにみえるため，巨視的磁石 M は RF 磁場 B_1 の軸（すなわち，X’軸）のまわりを首振り運動する。この RF 磁場による首振り運動の周波数は，RF 磁場強度 B_1 に比例し，RF 磁石をパルス状に短時間 t_p だけ印加すると，RF 磁場による巨視的磁石 M の首振り運動は $\theta = \gamma B_1 t_p$ だけ回転して終わる。t_p を $\theta = \pi / 2$ になるように選択すると，巨視的磁石 M は 90º だけ回転し，X’Y’平面に倒れ静止する（Figure 3-4（a））。このような磁場パルスを 90º パルスと呼び，この際，Y 軸にレシーバーコイルを設置すると，巨視的磁石の Y’成分が受信される。しかし，静磁場 B_0 は場所によって不均一であるため，巨視的磁石を構成している各プロトンは B_0 中に置かれた位置により，若干異なる磁場強度（$B_0 \pm \Delta B_0$）を受ける。そのため，首振り運動の周波数も異なり，その結果，位相を失いばらけるとともに，信号強度は減衰していく（Figure 3-4（b））。このように，位相がずれて Y 軸方向の信号強度が減衰していった後，時刻 τ（ms オーダー）で再度 RF 磁場を X 軸にそって巨視的磁石が 180º 反転するように印加する（Figure 3-4（c））。これを 180º パルスと呼ぶ。180º パルスは，位相の遅れていたプロトンの位相を遅れていた分だけ進んだ位相に，位相の進んでいたプロトンの位相を進んでいた分だけ遅れた位相に反転させる（Figure 3-4（d））。各プロトンの静磁場 B_0 内における位

置は変わらないため，180º パルスの照射後も照射前と同じ周波数で進み，時刻 2τ において全てのプロトンの位相が一致し，レシーバーにシグナルが検出される（Figure 3-4（e））。また，このシグナルはエコーシグナルと呼ばれる。しかし，上記の NMR 法では静磁場 B_0 が試料内部で場所によらずほぼ均一であることから，試料内部のプロトンの位置情報を得ることができない。そこで，NMR イメージング装置では，傾斜磁場用コイルを用いて，静磁場 B_0 の上に B_0 の 1 %程度の傾斜磁場を重ね合わせ，試料の置かれた空間内の磁場強度を，中心からの距離に比例して直線的に変化される。この傾斜磁場は静磁場であるが，ms オーダーの短い時間だけパルス状に印加され，これらも磁場勾配パルスという。磁場勾配パルス G が印加されている間は，試料空間の中心から距離 x に比例した $B_0 + xG$ の強度が各場所にかかっているため，各場所における首振り運動の周波数は $\gamma(B_0 + xG)$ となる。これはγB_0 で回転する回転座標系においての周波数はγxG となり，そのプロトンの試料空間内における位置情報 x は，回転座標系からみた周波数で検出されることとなる。

位置情報を周波数に変換する手法は，1 次元 NMR イメージングを例にとると理解しやすい。そこで次に，90º-180º スピンエコーと，X 軸に沿った磁場勾配パルス G を組み合わせた 1 次元 NMR イメージングを例に挙げる。90º パルスによって X'Y'平面に倒れた巨視的磁石の Y'成分は，1 回目の磁場勾配パルスによって，それぞれの位置に固有の周波数で位相を崩す。そして，180º パルスによりスピンエコーが形成される 2 回目の磁場勾配パルスをかけることで検出されるエコー信号は，位置に固有の周波数で首振り運動している微少磁石による振動磁場の波により合成されたものであるため，エコー信号をフーリエ変換すると，位置情報を反映した周波数分布が得られ，これが試料中のプロトン密度をあらわす画像になる。しかし，1 次元 NMR イメージングは単一方向の画像取得となるため，対象物断面のピクセル情報は得られない。この問題を解決する手法が，2 次元 NMR イメージングである。2 次元 NMR イメージングは，磁場勾配パルスと選択励起 RF パルス（狭い周波数を持つ振動磁場）を組み合わせることでスピンエコーを形成し，これにより検出されるエコー信号を 2 次元フーリエ変換することで画像を取得する。しかし，2 次元 NMR イメージングは，1 次元 NMR イメージングと比較すると測定時間を長く要する欠点がある。そこで本研究では，スピンエコー法をもとに 90º パルスを印加後，180º パルスを次々と印加することで，一回の撮像でエコー時間が異なる複数の画像取得が可能である，マルチエコー法を用いた。

通常，測定された ^{1}H 密度（^{1}H 信号強度）は分子の自由度を反映した縦緩和時間（T_1）と横緩和時間（T_2）の影響を受けるため，真の ^{1}H 密度を示さない。すなわち，得られた画像を取り扱うには画像に何らかの較正を施し，画像を真の水分分布へ変換すると必要がある。

本研究の測定法として採用したマルチエコー法は，スピンエコー法をもとにしている。スピンエコー法では, エコー時間（echo time, TE）を短くし（$T_2 \ll TE$）, 繰り返し時間（repetition time, TR）を対象物の T_1 付近に設定すると，T_2 の影響の少ない T_1 強調画像を得られ，逆に繰り返し時間を長くし（$T_1 \ll TE$），エコー時間を対象物の T_2 付近に設定すると，T_1 の影響の少ない T_2 強調画像が得られる[4]。

ところで，スピンエコーの定式に従えば，$TE \ll TR$ のとき，(3-10)式が成り立つ。

$$I = I_0 \left\{ 1 - exp\left(-\frac{TR}{T_1} \right) \right\} \ exp\left(-\frac{TE}{T_2} \right) \tag{3-10}$$

ここで，I（－）は測定時の ^{1}H 密度（緩和の影響を受けている ^{1}H 密度），I_0（－）は緩和の影響を受けていない ^{1}H 密度を示す。また（3-10）式から，T_1 強調画像なら(3-11)式，T_2 強調画像なら(3-12)を導くことができる。

$$I = I_0 \left\{ 1 - exp\left(-\frac{TR(i)}{T_1} \right) \right\} \qquad (i=1,\ 2,\ \ldots,\ n) \tag{3-11}$$

$$I = I_0 \, exp\left(-\frac{TE(i)}{T_2} \right) \qquad (i=1,\ 2,\ \ldots,\ n) \tag{3-12}$$

すなわち，TR の異なる n 個の画像を測定すると，(3-11)式から試料の T_1（T_1 分布），TE の異なる n 個の画像を測定すると，(3-12)式から試料の T_2（T_2 分布）を求めることができる。

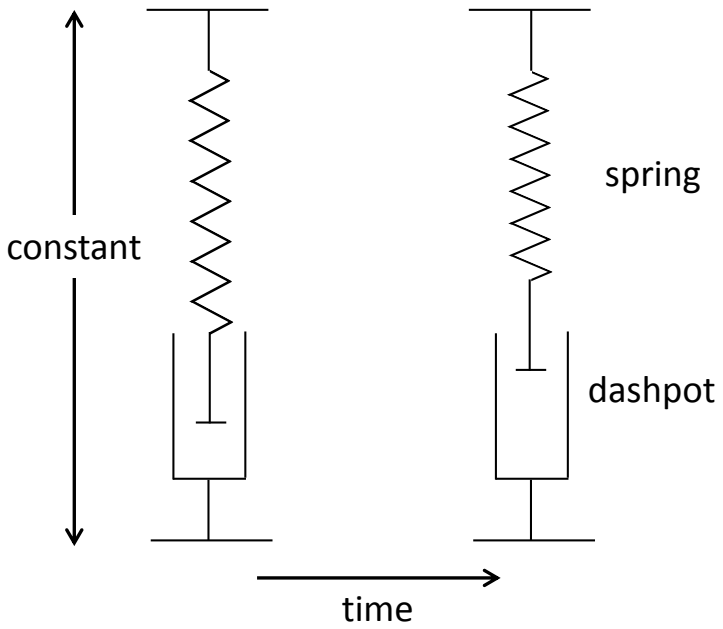


Figure 3-2 Explanation of the stress relaxation by the Maxwell model[5]

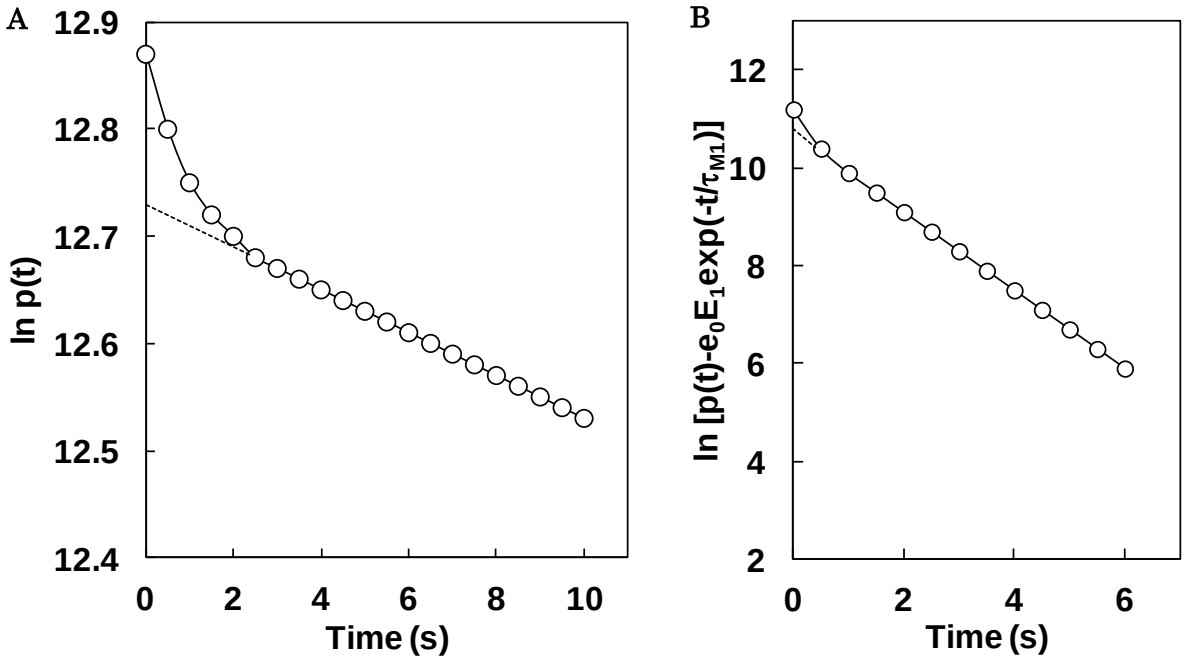


Figure 3-3 The example of a successive approximation. (A) shows first trial, and (B) shows the second traial[6].

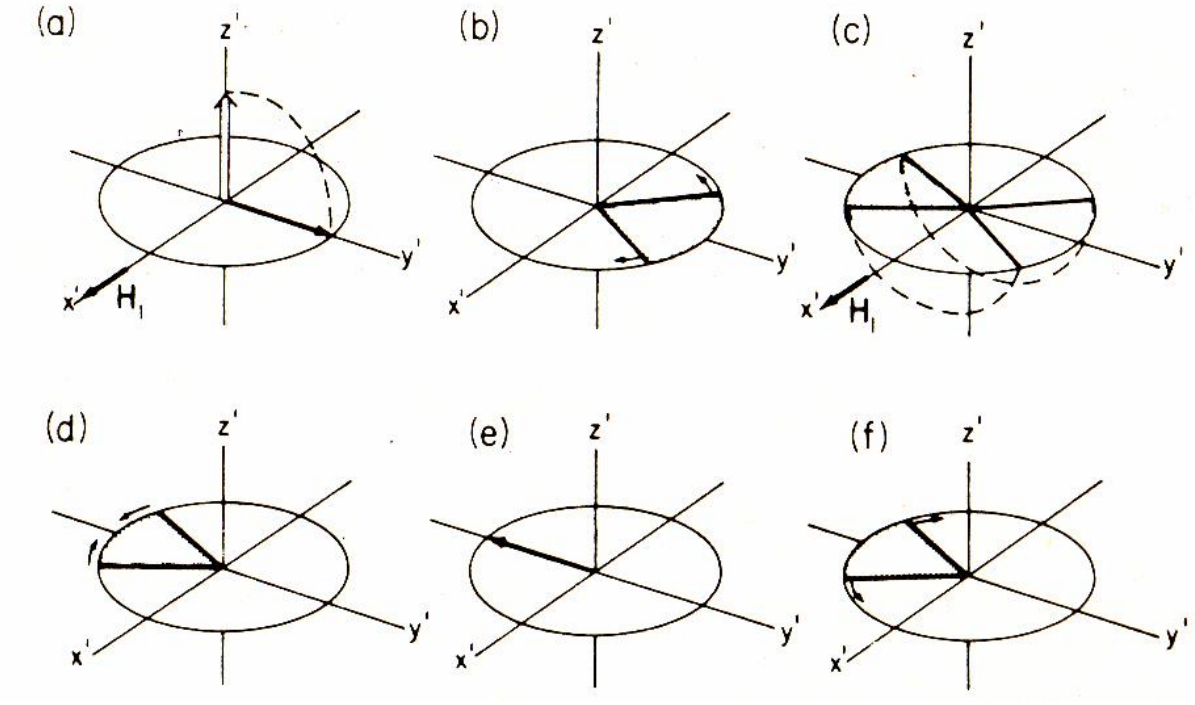


Figure 3-4 The principle of a spin echo. (a) impression of a 90° pulse, (b) damping of signal intensity, (c) impression of a 180° pulse, (d) the protons from which a phase is different assemble, (e) signal intensity is received by the receiver, (f) the same phenomenon as (b) starts[7].

3.5. 実験

3.5.1. 弾性率および重量損失率測定

実験試料には，市販されているブロック状国産牛モモ肉を使用した。試料を 15 × 20 × 20 mm に成形後，試料中心位置（(x，y，z）＝7.5，10，10）が目的のタンパク質変性度になるよう，Figure 3-5 および Figure 3-6 に示す加熱処理条件に従い，恒温湯槽（TR-4 型，アズワン㈱）を用いて等温加熱処理を行った。加熱処理後にタンパク質変性を進行させない為，加熱処理終了後，直ちに氷水で冷却した。その後，レオメーター（RE-3305S，YAMADEN）を用いて応力緩和測定を行った。この際，プランジャーは直径 40 mm の円筒形，圧縮速度は 5.0 mm/s，圧縮変形は 30%（すなわち高さ 6.0 mm），一定歪の保持時間は 3 分，荷重をかける試料の断面は 15 × 20 mm とした。また，同一試料の加熱前後の重量測定を行い，(3-13)式を用いることで重量損失率の算出を行った。

$$X_{wl} = \frac{W_i - W_a}{W_i} \tag{3-13}$$

ここで，X_{wl}（－）は重量損失率，W_{i}（g）は加熱前の試料重量，W_a（g）は加熱後の試料重量を示す。

3.5.2. MRI 測定

NMR 装置には，ブルカー・バイオスピン㈱AVANCE400（^{1}H 共鳴周波数 400MHz，磁場強度 9.4T）ワイドボアタイプ・マイクロイメージングアクセサリー付きを使用し，試料内部の ^{1}H 密度を測定した。直径 30mm の RF コイル中央に，試料を入れた試験管（外径 30 mm）をセットした。測定条件は，積算回数 5 回，繰り返し時間を 1.5 s，最小エコー時間を 3.0 s，マトリックスサイズを 256 × 256，空間分解能は 108 × 108 × 500 μm，FOV は 27.6 × 27.6 mm とした。この測定条件は，$T_1 \langle\langle TE$ であると同時に，エコー時間を対象物の T_2 付近に設定しているため，T_1 の影響の少ない T_2 強調画像を得ることができる。さらに，エコー時間の異なる一連の画像から，(3-12)式に従うとみなし，各ピクセルの T_2 を算出した。この際，T_2 算出にあたり用いた減衰曲線の典型例を Figure 3-7 に示した。また，試料の加熱処理条件を Figure 3-8 に示したが，これは Figure 3-6 より抜粋した加熱処理条件である。ところで，Figure 3-8 に示した試料は不均一な変性分布が生じていることから，試料内部の横緩和時間 T_2 も位置に伴う分布が生じることが予想される。そこで Figure 3-9（A）に示すように，試料（15×15×20 mm）の高さ中央にあたる高さ 10 mm において，厚さ 0.5 mm に仮想的にスライスした xy 面の画像を取得した。さらに，タンパク質未変性率と T_2 の相関を検証するため，測定した xy 平面のうち，Figure 3-9（B）に従い，試料表面ならびに中央の 10 ピクセルの T_2 を抽出し，平均値を算出した。

3.5.3. 統計処理

異なる加熱処理条件おける弾性率，重量損失率の有意差ならびに，MRI 測定における試料表面および内部の横緩和時間の有意差に関する統計処理は，F 検定ならびに t 検定をエクセル統計 2010 for Windows で行った。

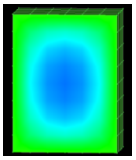
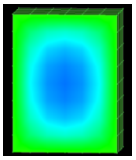
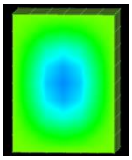
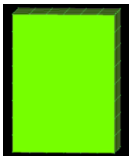
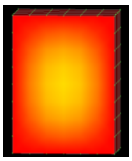
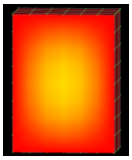
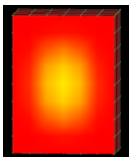
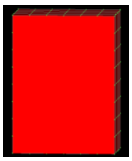
Non-denaturation ratio at the core	Heating condition		Total non-denaturation ratio (-)		
	Temp. (°C)	Time (min)	At the core	Distribution	μ : Mean
Myosin at 0.75	50	4.28	0.827		0.519
Myosin at 0.5		5.55	0.654		0.440
Myosin at 0.25		7.28	0.481		0.369
Myosin at 0		18.8	0.309		0.300
Actin at 0.75	70	4.71	0.232		0.051
Actin at 0.5		5.53	0.154		0.020
Actin at 0.25		6.50	0.077		0.011
Actin at 0		11.8	0		0

Figure 3-5 Heat treatment condition (temperature and time) and the thermal denaturation profile of meat sample used for texture analysis.

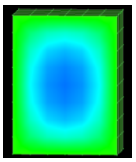
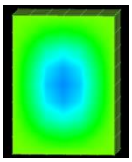
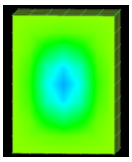
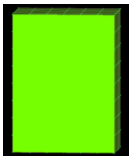
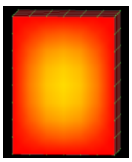
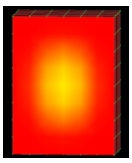
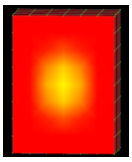
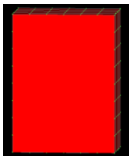
Non-denaturation ratio at the core	Heating condition		Total non-denaturation ratio (-)		
	Temp. (°C)	Time (min)	At the core	Distribution	μ : Mean
Myosin at 0.5	50	5.55	0.654		0.440
	55	4.15	0.654		0.350
	60	3.36	0.654		0.310
Myosin at 0	50	18.8	0.309		0.300
	55	8.90	0.308		0.300
	60	5.50	0.307		0.298
Actin at 0.5	70	5.53	0.154		0.020
	75	4.15	0.154		0.008
	80	3.46	0.154		0.003
Actin at 0	70	11.8	0		0
	75	6.25	0		0
	80	4.53	0		0

Figure 3-6 Heat treatment condition (temperature and time) and the thermal denaturation profile of meat sample used for texture analysis.

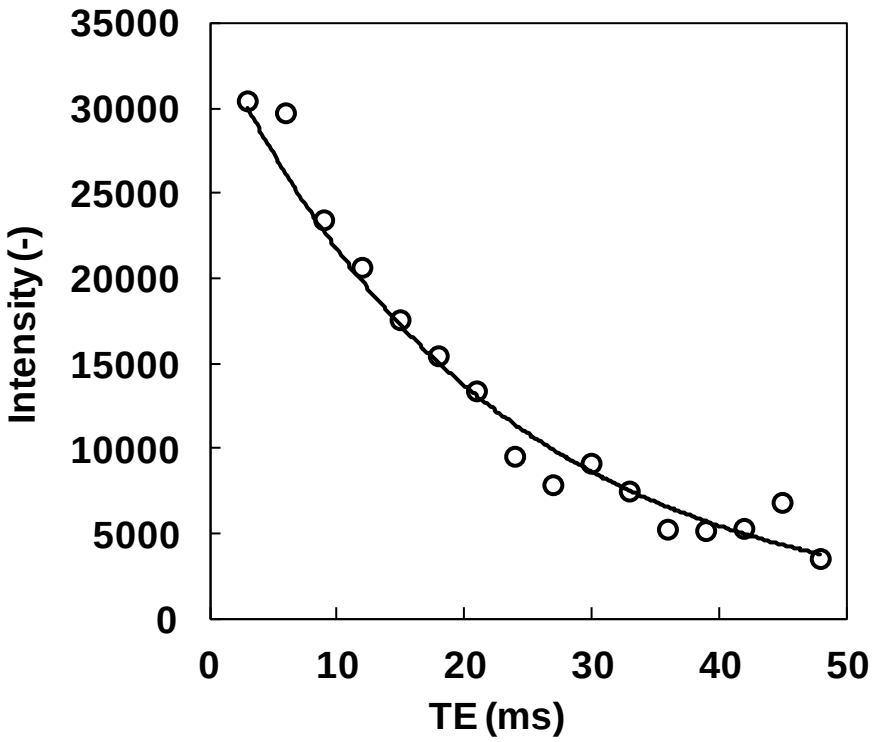


Figure 3-7 The typical example of the decay curve of NMR signal intensity.

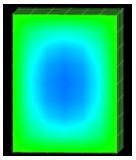
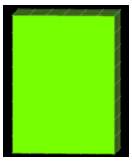
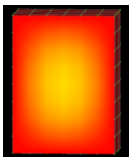
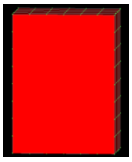
Non-denaturation ratio at the core	Heating condition		Total non-denaturation ratio (-)		
	Temp. (°C)	Time (min)	At the core	Distribution	μ : Mean
Myosin at 0.5	50	5.55	0.654		0.440
Myosin at 0	50	18.8	0.309		0.300
Actin at 0.5	70	5.53	0.154		0.020
Actin at 0	70	11.8	0		0

Figure 3-8 Heat treatment conditions (temperature and time) and the thermal denaturation profile of meat sample used for T_2 relaxation analysis by MRI.

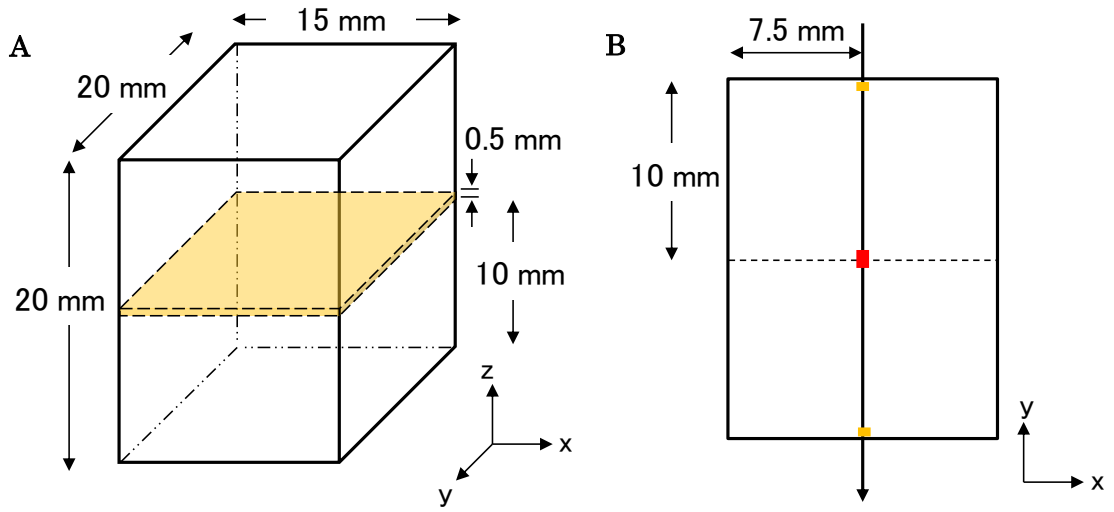


Figure 3-9 The diagrammatic illustration of cube meat which was used for MRI measurement. (A) Two-dimensional T_2-weighted MRI at the position of half the height of sample. (B) the one-dimensional T_2 profile extracted from the two dimensional T_2 values at the position of half the width.(■Surface region, ■Core region)

3.6. 結果および考察

3.6.1. 弾性率および重量損失率

畜肉試料を対象とし，応力緩和測定を行い，弾性率を算出したところ，2～4 の要素で構成されていることが確認できた。タンパク質の変性が進行するに伴い，要素数が増える傾向が確認されたが，今回は最も大きい緩和時間を持つ第 1 要素の弾性率に着目した。Figure 3-5 に示した異なる 8 種類の加熱処理を施した試料に加え，未加熱試料の弾性率と重量損失率の結果を Figure 3-10 に示した。Figure 3-10 より，タンパク質の変性に伴い，弾性率，重量損失率ともに増加している様子が見て取れる。しかし，未加熱試料と試料中心のミオシンが 25%変性している試料（すなわち，ミオシンの未変性率は 75%であることから，以後 M0.75 と示す。他の試料についても同様に表記する）では有意な増加が確認されなかった（$p>0.05$）。さらには，M0.75 から M0.5，M0.5 から M0 についても有意な増加は確認されなかった。これに対して，アクチンが変性した試料は常に有意な増加が確認された（$p<0.05$）。Bertola ら[8]が測定した畜肉の弾性率についても 66～68 ºC で加熱した試料は，著しく数値が上昇している。66～68 ºC はアクチンの変性が進行する温度帯であることから，アクチンの変性は弾性率に影響を与えることが示唆された。重量損失率は，M0.75 から M0.5，M0.5 から M0.25 のみ有意な増加は確認されなかった（$p>0.05$）。これに対して，M0.25 以降の試料については全て有意な増加が確認された（$p<0.05$）。アクチン変性試料については，弾性率と同様な傾向であったが，重量損失率に関しては，M0.25 から M0 で有意な増加が確認されたことから（$p<0.05$），重量損失率は，アクチンのみならず，ミオシンの変性も影響を及ぼすことが示された。

ところで，タンパク質熱変性速度定数は温度依存性を有しているため，加熱処理温度によって試料内部に形成されるタンパク質変性度分布は異なる。そこで，試料中心位置におけるタンパク質未変性率は同じであるが，異なる温度で加熱処理を行った試料を調製し，弾性率測定を行った。Figure 3-6 に，加熱処理温度，時間，試料中心横断面のタンパク質未変性率分布および試料全体の total タンパク質未変性率の平均値 μ をまとめた。中心位置におけるタンパク質未変性率が同じ場合，加熱処理温度が高いほど，目的のタンパク質未変性率に到達する時間は短くなることが予測計算で示された。また，試料全体の total タンパク質未変性率の平均値 μ は，M0 および A0 はほとんど同じだが，M0.5 ならびに A0.5 では，試料中心位置以外では，各加熱処理温度によって経験する温度履歴が異なり，かつ不均一な変性度分布を生じていることから，中心位置における未変性率が同じであっても，total タンパク質未変性率の平均値 μ は異なる数値を示している。また，加熱処理温度が高いほど μ（－）は小さい値を示した。

Figure 3-6 の試料を対象とし，弾性率測定を行った結果を Figure 3-11 に示した。Figure 3-11 より，M0.5 ならびに A0.5 では，加熱処理温度が高くなるに従い，弾性率は有意に増加すること

が明らかとなった（$p<0.05$）。この原因は，先ほど述べたように，中心位置ではタンパク質未変性率が同じでも，試料中心位置以外では，各加熱処理温度によって経験する温度履歴が異ること，また加熱処理温度が高いほど，total タンパク質未変性率の平均値 μ が低くなることに起因する。これに対して，M0 ならびに A0 ではそれぞれ弾性率の値は等しいことが見て取れる。これは，タンパク質変性度が均一である場合は，異なる温度で加熱処理を施しても total タンパク質未変性率の平均値 μ が同じ値であることが原因として挙げられる。

すなわちこれらの結果より，弾性率と重量損失率はアクチンの変性の進行に伴い，著しく増大すること，中心位置におけるタンパク質未変性率の値が同じであっても，total タンパク質未変性率の平均値 μ が異なる場合，弾性率は異なる値を示すことが明らかとなった。

最後に，Figure 3-6 に示した試料について，試料全体の total タンパク質未変性率の平均値 μ をもとに，弾性率ならびに重量損失率をまとめた結果を Figure 3-12 に示した。Figure 3-12 の横軸は μ であるが，μ が 0.3 より大きい値はミオシンが変性している領域，小さい値はアクチンが変性している領域である。未加熱試料（すなわち，$\mu=1.0$）からミオシンが全て変性終了した試料までは，弾性率は約 6kPa から約 15kPa と緩やかな増加であるが，アクチンの変性が開始すると著しく増加しており，変性終了時には約 60kPa に到達している。つまり，total タンパク質未変性率の平均値 μ に対して，アクチンの未変性率の占める割合はミオシンよりも低いが，アクチンの変性過程ではわずかな μ の低下が弾性率の著しい増加を招くことが明らかとなった。また，重量損失率についても，アクチンの変性領域ではわずかな μ の低下に伴い，著しく増加している様子が見て取れる。これに対して重量損失率は，ミオシンの変性終了時においても約 8%に到達している。重量損失率の最終値は約 24%であることから，弾性率よりも重量損失率はミオシンの変性領域で進行していると考えられる。また，Figure 3-5 に示した結果からも，重量損失率は，アクチンのみならず，ミオシンの変性も影響を及ぼすことが示されていることからも，ミオシンの変性は重量損失率，すなわち水分保持能力について影響を及ぼすことが示唆された。

3.6.2. 横緩和時間 T_2

Figure 3-8 に示した解析モデルには試料内部に不均一なタンパク質変性分布が生じている。タンパク質変性度の違いは，重量損失率，すなわち水分保水力に影響を与えることが明らかになったことから，水の運動性を反映する横緩和時間 T_2 についても同様に，試料内部に不均一な分布が生じていることが予想される。そこで，Figure 3-8 に示した試料を対象とし，Figure 3-9（A）に示す厚さ 0.5 mm に仮想的にスライスした xy 平面画像の ^{1}H 画像を構成する全てのピクセルの T_2 を用いてヒストグラムを作成し，タンパク質の変性進行に伴う T_2 値変化を検証した。

Figure 3-13（A）は，未加熱試料と各タンパク質（ミオシン，アクチン）が変性終了した試料を示している。未加熱試料は 30～45 ms に T_2 値が集中しており，なかでも 35～40 ms の T_2 値の存在割合は全体の約 40%を占めた。これに対し，試料中心のミオシンが変性終了した試料，すなわち試料全体のミオシンが変性終了した試料（以後，M0）は 30～35 ms で，試料中心のアクチンが変性終了した試料，すなわち試料全体のアクチンが変性終了した試料（以後，A0）は 25～30 ms の T_2 値の存在割合が最も高いことから，変性の進行に伴い，ヒストグラムのピークが低 T_2 側へシフトし，試料で最も多い割合で存在している T_2 値が低下することが確認された。Figure 3-13（B）は未加熱試料とミオシンの変性を対象とした試料，Figure 3-13（C）は未加熱試料とアクチンの変性を対象とした結果である。Figure 3-13（B）より，試料中心のミオシンが半分変性している試料（以後，M0.5）は 30～35 ms，Figure 3-13（C）より，試料中心のアクチンが半分変性している試料（以後，A0.5）は 25～30 ms で存在している T_2 が最も多く，この数値は各タンパク質が変性終了した際の存在割合が最も高い T_2 値の範囲と同じである。しかし存在割合を比較すると，変性終了時の存在割合はそれぞれ約 55%なのに対し，半分のみ変性終了している試料での存在割合は約 40%である。さらに M0.5 および A0.5 では未加熱試料で存在割合の高い 30～45 ms にも多くの T_2 が存在していることが見て取れる。今回測定した試料はブロック状であるため，試料表面と中心で経験する温度履歴が異なり，それに伴い M0.5 や A0.5 の表面は対象とするタンパク質の変性が終了しているが，内部は完全に変性が終了していない途中段階であるため，未加熱試料に多く存在する T_2 値の割合が高かったと考えられる。Sharifudin ら[9]が鶏肉を加熱処理し，MRI 測定した結果においても，9 分間加熱処理した試料は 0 ms の T_2 値が最も多く占めていたが，21 分間加熱処理を施すと，T_2 値のピークは 12 ms まで低下しており，同様な傾向を示した。Sharifudin らが測定した 2 種類の試料は，タンパク質未変性率が異なることが推測されることからも，タンパク質の変性の進行は，水の運動性を反映する T_2 値の低下させることが明確となった。

次に，加熱媒体からの距離（位置）に伴う T_2 値の変化を検証すべく，測定した xy 平面のうち，Figure 3-9（B）に従い x＝7.5 mm における y 方向の一次元画像として取り出した ^{1}H 画像を構成する全てのピクセルの T_2 値を，試料位置に対してプロットした結果を Figure 3-14 に示した。この際，別途行った実験より，T_2 値が 40 ms 以上は水ではなく，脂肪由来の ^{1}H 画像であるとみなし，畜肉の水（プロトン）由来であると想定した T_2 値が 40 ms 以下の値のみを抽出し，考察を行った。Figure 3-14（A）には M0.5 および A0.5，Figure 3-14（B）には M0 および A0 を示した。両方の結果において，アクチンの変性を対象としている試料の方が，ミオシンの変性を対象としている試料に比べ，試料中心から同じ位置における T_2 値が低いことが見て取れる。また，M0.5, A0.5 および A0 は中心からの距離が遠くなるに伴い T_2 値が低下する傾向であるのに対し，

M0 はどの位置においてもほぼ同等な値を示している。この理由として，M0 はミオシンが全ての位置において変性終了していること, M0 試料を調製する際に用いた加熱処理温度 50 ºC はアクチンが変性しない温度であるため，試料内部は全ての位置においてミオシンの未変性率は 0，アクチンの未変性率は 1.0 であり, 内部に不均一なタンパク質変性度分布は生じていない。そのため，T_2 値が位置に依存せず同等な値を示したと考えられる。

ところで，T_2 値とは別に，MRI 測定は測定時の空間分解能（108 × 108 × 500 μm）と，中心から最も離れているピクセルの位置から，試料サイズの算出が可能である。そこで，Figure 3-14 より, 全ての試料について x＝7.5 mm における y 方向の長さを計算したところ, M0 および M0.5 は未加熱試料とほぼ同等の 10.3mm であったのに対し, A0.5 は 9.68mm，A0 は 8.8mm であり，MRI 画像よりタンパク質の熱変性に伴う収縮変化を確認することができた。

最後に，Figure 3-9（B）に従い試料表面ならびに中央の 1.08 mm に該当する 10 ピクセルを抽出し，T_2 の平均値を算出した結果を Figure 3-15 に示した。統計処理を行った結果，未加熱試料と M0.5 の中心部で有意な減少が認められた（$p<0.05$）。重量損失率はアクチンのみならず，ミオシンの変性も影響を及ぼすことが前述した実験結果で明らかになっている点からも，この結果は妥当であると判断した。また, 各試料で表面と内部における T_2 の平均値を比較したところ, A0.5 のみ有意な差が認められた（$p<0.05$）。これは，Figure 3-8 に示したタンパク質変性度分布からもわかるように, 不均一な変性度分布が試料内部に形成されていることに由来する。しかし, M0.5 では表面と内部での有意差は認められなかったことから，ミオシンの変性はアクチンの変性と比較して，水分保持能力，すなわち重量損失率に及ぼす影響は小さいことが示唆された。

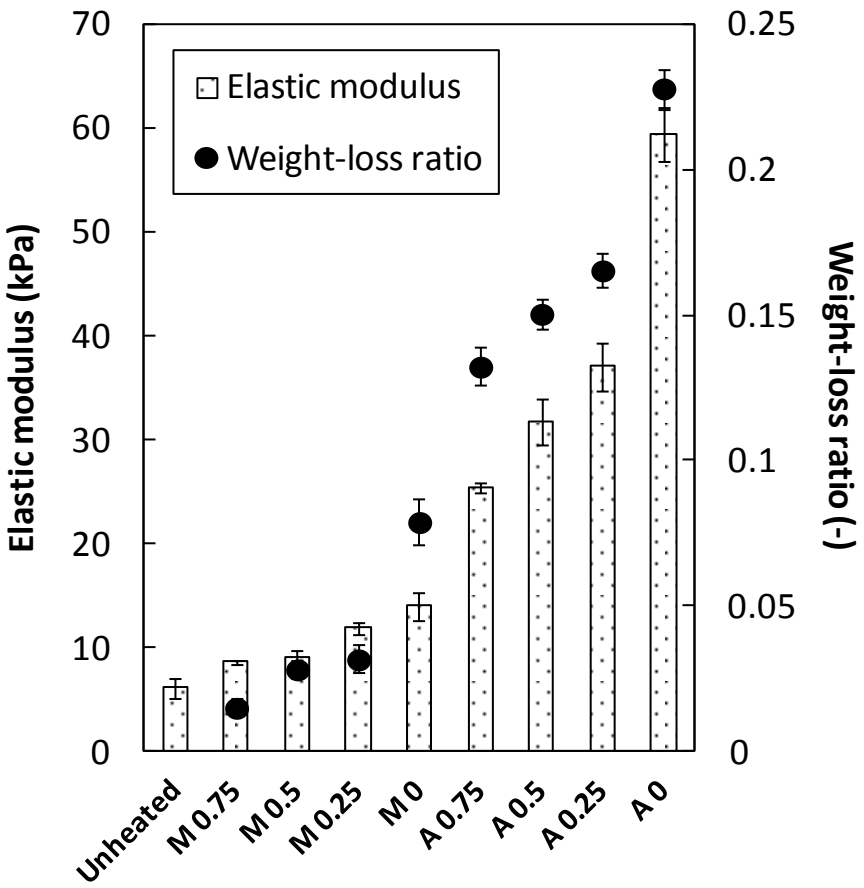


Figure 3-10 Effect of the degree of protein denaturation on the elastic modulus of meat sample. Heat-treated sample prepared under the conditions shown in Figure 3-5. *Significant different at $p<0.05$. Bars indicate the standard deviation from five determinations. M and A show the kind of denatured protein, M means myosin and A means actin. Moreover, number means the non-denaturation ratio.

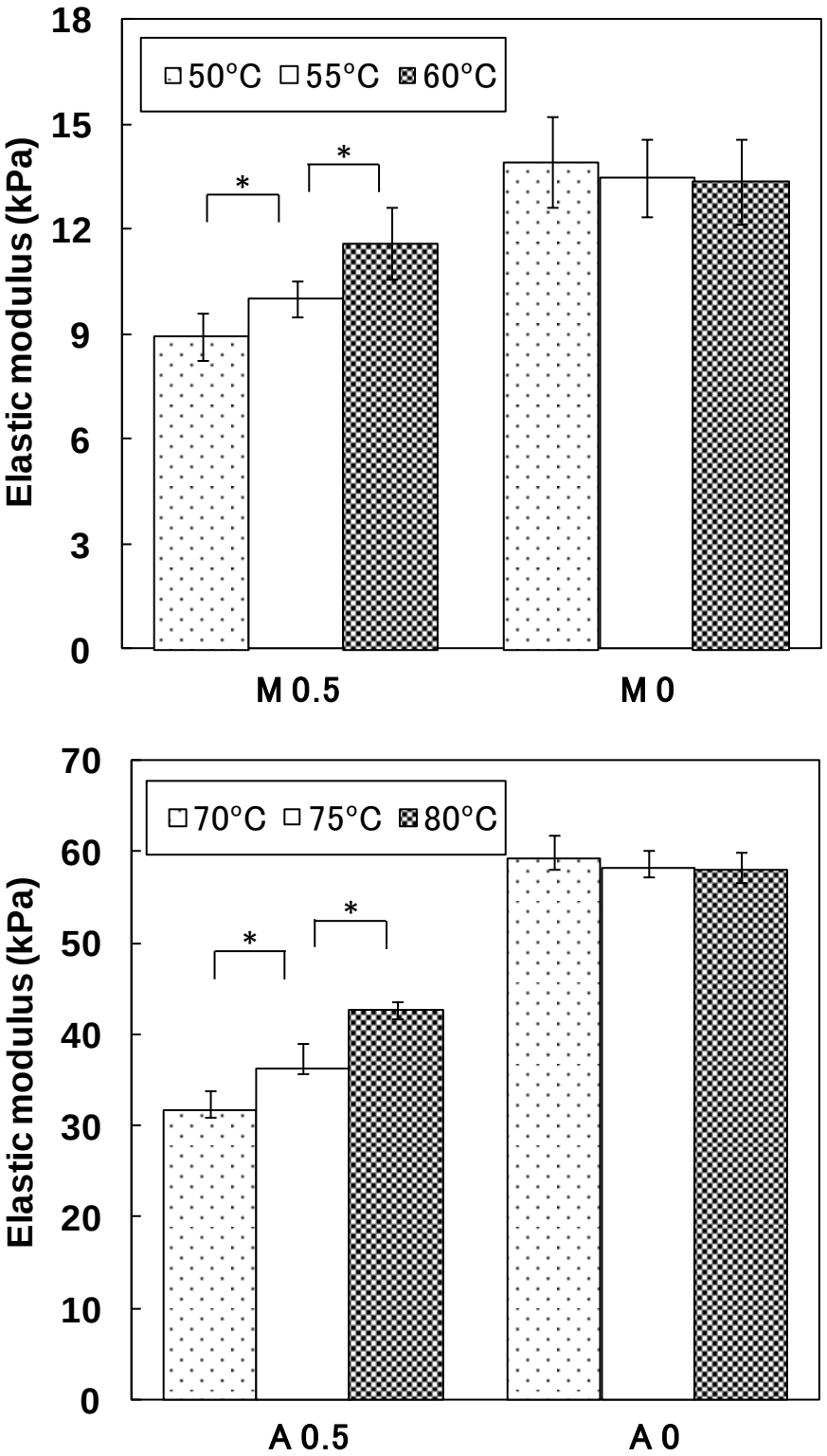


Figure 3-11 Effect of heating rate on the elastic modulus of meat sample. Heat-treated sample prepared under the conditions shown in Figure 3-6. *Significant different at $p<0.05$. Bars indicate the standard deviation from five determinations.

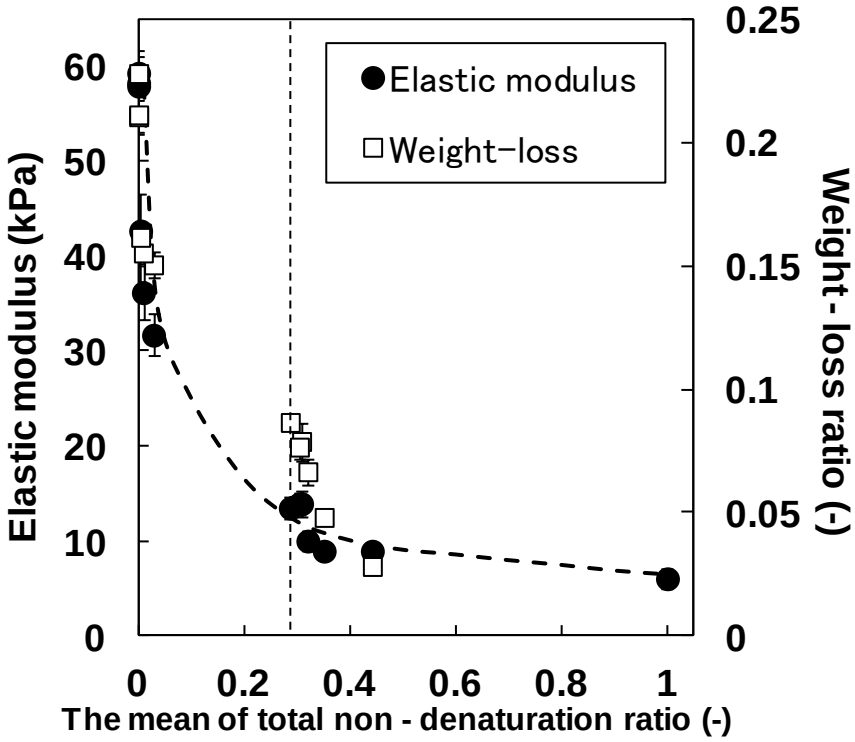


Figure 3-12 Effect of the total non-denaturation ratio on the elastic modulus and weight-loss ratio. The mean total non-denaturation ratio used as a horizontal axis was calculated with Eq. (2-9). Bars indicate the standard deviation from five determinations.

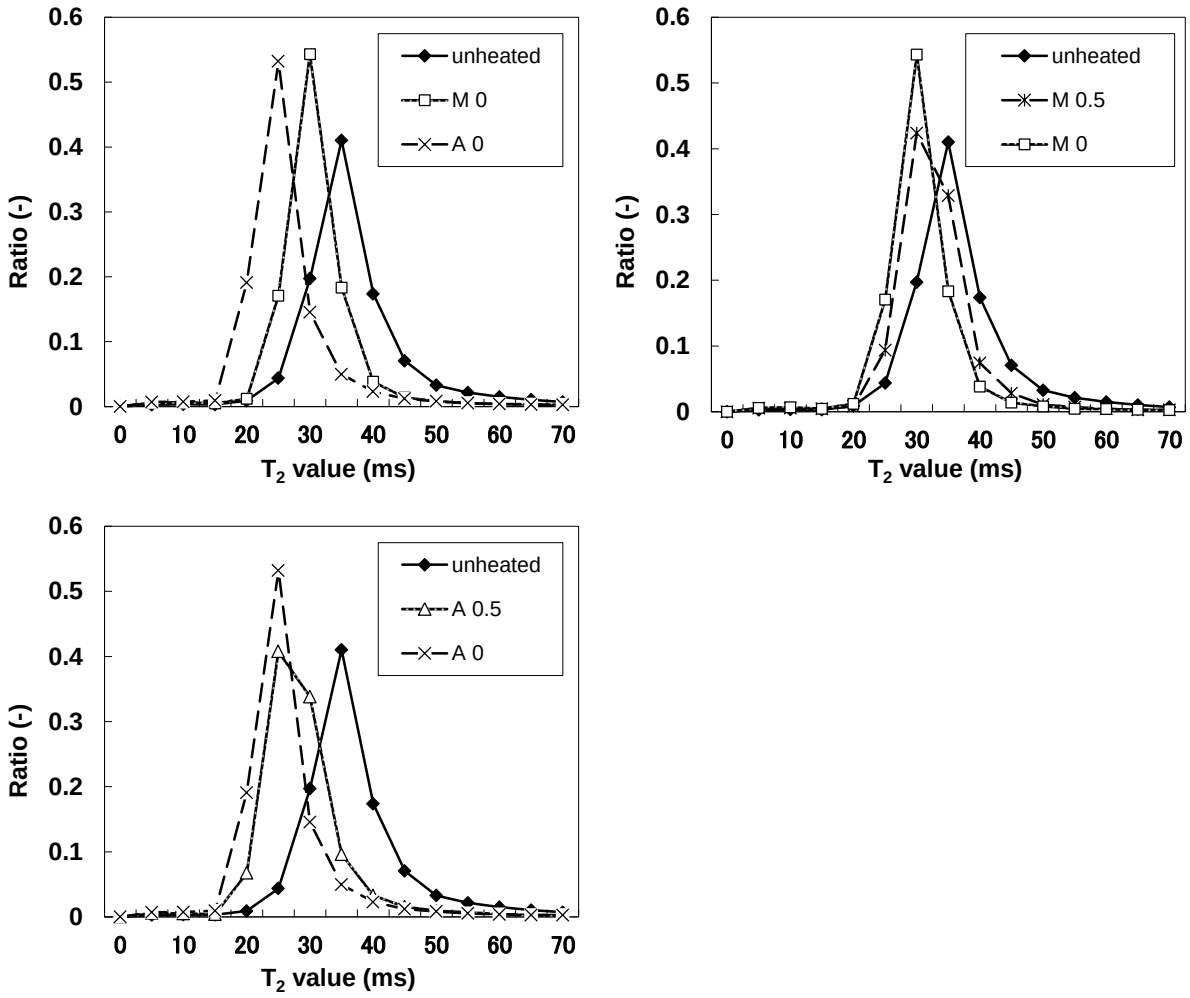


Figure 3-13 T_2 histograms from MRI data for the unheated and heated samples. Heat-treated samples prepared under the conditions in Figure 3-8 were used.

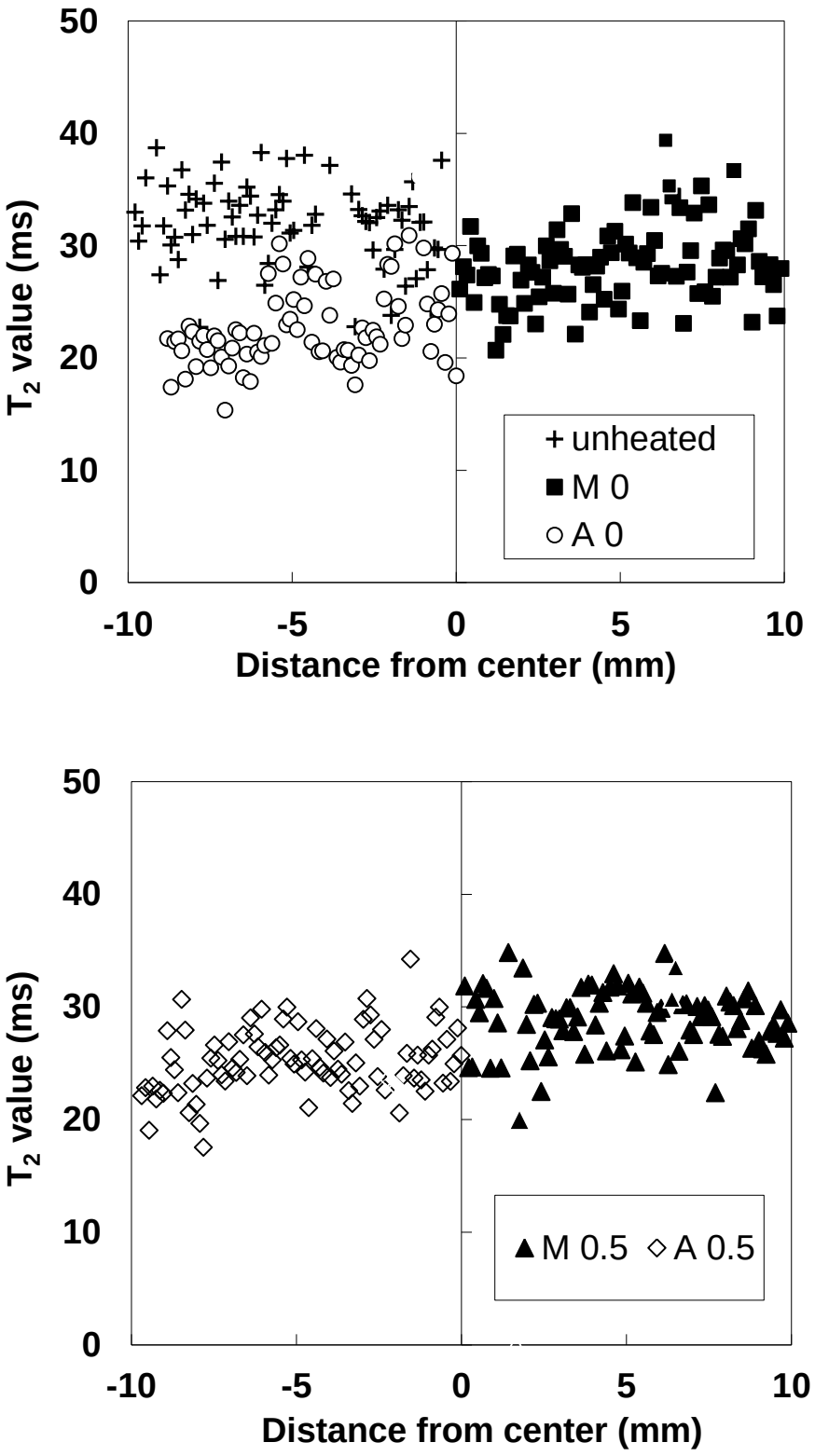


Figure 3-14 One-dimensional T_2 profile extracted from two-dimensional T_2-weighted MRI at the position of half the height of the meat sample. Heat-treated samples prepared under the conditions in Figure 3-8 were used.

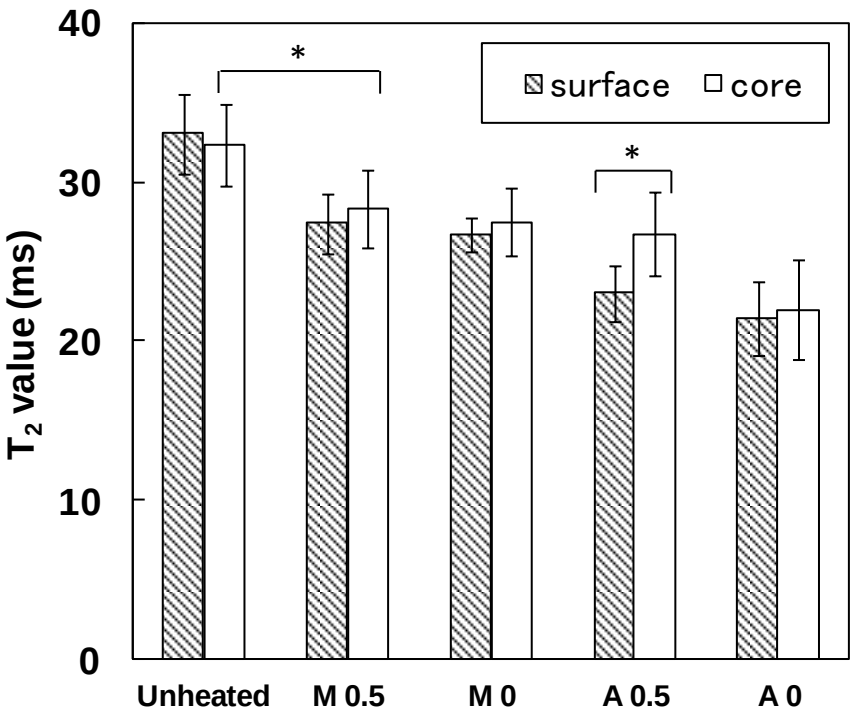


Figure 3-15 Comparison of T_2 value between the surface and a core region. The mean T_2 values were calculated by using 10 pixels for each region as shown in Figure 3-9(B). *Significant different at $p < 0.05$.

3.7. 結論

本章では，タンパク質変性度が及ぼす畜肉品質との関係を考察すべく，あらかじめタンパク質変性度分布を予測した試料を用いて，弾性率，重量損失率，および MRI 法を用いて試料内部に残存する横緩和時間 T_2 を測定した。得られた結果は以下のようにまとめられる。

- 畜肉サイズ 15 × 20 × 20 mm の直方体を想定した解析モデルを作成し，フーリエの法則に基づく非定常三次元熱伝導解析を行い，解析モデル中心点と，恒温水槽で等温加熱処理した畜肉試料の中心点を比較した結果，温度履歴は良好に一致した。
- 加熱処理温度（50°C，70°C）によってミオシン，アクチンの未変性率ならびに total タンパク質未変性率の時間変化が大きく異なることが明確となった。
- 弾性率はアクチンの変性に伴い，著しく増大することが明らかとなった。
- 中心位置におけるタンパク質未変性率の値が同じであっても，total タンパク質未変性率の平均値 μ が異なる場合，弾性率は異なる値を示すことが明らかとなった。
- 重量損失率はアクチンのみならずミオシンの変性も影響を及ぼすが，アクチンの方が影響力が大きいことが示唆された。
- タンパク質の変性の進行は水の運動性を反映する T_2 値の低下させるため，変性の進行に伴い短い横緩和時間 T_2 の占める割合が高くなることが示された。

3.8. 記号説明

c_p	constant pressure specific heat (J/(kg·K))
e	constant strain (-)
E	elastic modulus (N/m)
I	signal intensity (-)
I_0	equilibrium of signal intensity (-)
p	stress (N)
t	time (s)
T	temperature (°C)
T_a	ambient temperature (°C)
T_{in}	initial temperature (°C)
T_s	surface temperature (°C)
TR	repetition time (ms)
TE	echo time (ms)

T_1	longitudinal relaxation time (ms)
T_2	transverse relaxation time (ms)
v(i)	volume of the ith element (-)
W_a	weight of sample after heated (g)
W_i	initial sample weight (g)
X_t	total non-denaturation ratio (-)
X_{wl}	change of weight loss ratio (-)

Greece symbol

α	thermal diffusivity (m^2/s)
κ	thermal conductivity (W/(m·K))
μ	the mean total non-denaturation ratio (-)
τ	relaxation time (s)

3.9. 本章の引用文献

1) Sheridian, P. S. & Shilton, N. C. (2002). Determination of the thermal diffusivity of ground beef patties under infrared radiation oven-shelf cooling. *J Food Eng.*, **52**, 39-45

2) Markowski, M., Bialobrzewski, I. & Cierach, M. P. (2004). Determination of thermal diffusivity of Lyoner type sausages during water bath cooking and cooling. *J Food Eng.*, **65**, 591-598

3) 磯直道，水野治夫，小川廣男（1992），食品のレオロジー　ー食の物質評価ー，成山堂書店，pp. 53-54

4) 巨瀬勝美（2004），コンパクト NMR，共立出版

5) 磯直道，水野治夫，小川廣男（1992），食品のレオロジー　ー食の物質評価ー，成山堂書店，p.54

6) 磯直道，水野治夫，小川廣男（1992），食品のレオロジー　ー食の物質評価ー，成山堂書店，p.65

7) ファラー・ベッカー（1976），パルスおよびフーリエ変換 NMR　ー理論および方法への入門ー，吉岡書店，p.31

8) Bertola, N. C., Jakobsson, B. & Dagerskog, M. (1976). Cooking of beef by oven roasting: a study of heat and mass transfer. *J Food Sci.*, **41**, 1047-1053

9) Sharifudin, M. S., Kevin, P. N. & Laurance D. H. (2006). Combination of NMR and MRI quantitation of moisture and structure changes for convection cooking of fresh chicken meat. *Meat Sci.*, **72**, 398-403

第4章 加熱処理における畜肉内の物質移動解析
ならびに透過係数・粘度の決定

4.1. はじめに

本章では，畜肉加熱処理時の物質移動解析を試みた。畜肉を加熱処理した際の物質移動解析には，試料内部の圧力勾配を駆動力とするダルシーの法則が適すると考えた。ダルシーの法則を適用するにはパラメーターとして透過係数と粘度が必要である。しかし，ダルシーの法則を用いて畜肉加熱処理した際の物質移動解析を行った既存の報告では，透過係数や粘度に関して加熱に伴う畜肉構造の変化を考慮した値が用いられていない。また，粘度は水の粘度で代替されていることが多い。畜肉を加熱した際にドリップとして系外へ排出される流体には，水溶性タンパク質や融解した油分が含まれていることから，粘度は純溶液である水とは異なることが予想される。したがって，畜肉加熱時の物質移動解析を行うにあたり，パラメーターである透過係数と粘度をあらたに実測する必要があると考え，加熱に伴う組織構造の変化を反映した透過係数および粘度の決定を行った。そして，決定したパラメーターを用い，二次元円筒形モデルにおける物質移動解析を行い, 物質移動モデルの妥当性ならびにパラメーターの有効性について検証を行った。また，試料内部に存在する水分分布を実測する手法として MRI 測定を用い，試料内部の T_2 値の測定から残重量率に変換を行うとともに，物質移動解析の解析値の比較を行った。

4.2. 解析

畜肉は加熱処理時に主要成分のひとつである筋原線維タンパク質が熱変性し，それに伴い収縮（変形）する。この収縮変形を計算するにあたり必要となる応力解析の基礎式は，I）応力―ひずみ関係式，II）ひずみ―変位関係式，III）応力に関する平衡方程式あるいは仮想仕事の原理，の 3 つである。これらの基礎方程式について，以下に示す。

I）応力－ひずみ関係式

畜肉は加熱処理時に主要成分のひとつであるタンパク質が熱変性し，水溶性タンパク質を含む水分や融解した脂肪などの油分が流出する物質移動現象と収縮が生じる。この際，局所的なひずみ増加は，弾性によるひずみ増分と加熱に伴うひずみ増分の和であらわされると仮定する。畜肉は粘弾性体と考えられるが，加熱に伴うひずみ増分に，粘性によるひずみ増分が含まれていることになる。以上の仮定のもと，応力－ひずみ関係式は(4-1)式であらわされる。

$$\{d\varepsilon\} = \{d\varepsilon_s\} + \{d\varepsilon_0\} \tag{4-1}$$

ここで，$\{d\varepsilon_s\}$ は弾性によるひずみ増分，$\{d\varepsilon_0\}$ は加熱に伴うひずみ増分を示す。

次に，弾性のひずみを考えると，軸対称構成方程式（応力－ひずみ関係式）は(4-2)式で与えられる。

$$[d\sigma]=\begin{Bmatrix} d\sigma_r \\ d\sigma_z \\ d\sigma_\theta \\ d\tau_{rz} \end{Bmatrix}=\frac{E_y(1-\nu)}{(1+\nu)(1-2\nu)}\begin{bmatrix} 1 & \frac{\nu}{1-\nu} & \frac{\nu}{1-\nu} & 0 \\ \frac{\nu}{1-\nu} & 1 & \frac{\nu}{1-\nu} & 0 \\ \frac{\nu}{1-\nu} & \frac{\nu}{1-\nu} & 1 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & \frac{1-2\nu}{2(1-\nu)} \end{bmatrix}\cdot\begin{pmatrix} d\varepsilon_{sr} \\ d\varepsilon_{sz} \\ d\varepsilon_{s\theta} \\ d\gamma_{srz} \end{pmatrix} \tag{4-2}$$

$$=[D]\{d\varepsilon_s\}$$

ここで，E_y（N/m²）はヤング率，ν（－）はポアソン比を示す。ヤング率は，Oezkan ら[1]が実験的に算出したハンバーグの $E_y=1.07\times10^5$（N/m²）と，ポアソン比は $\nu=0.49$（－）を用いた。また，加熱処理に伴うひずみ増分は，収縮による体積減少に関連づけられる。

$$\{d\varepsilon_0\}=\begin{Bmatrix} d\varepsilon_{r0} \\ d\varepsilon_{z0} \\ d\varepsilon_{\theta0} \\ 0 \end{Bmatrix}=\begin{Bmatrix} dS_r \\ dS_z \\ dS_\theta \\ 0 \end{Bmatrix} \tag{4-3}$$

ここで，S_r，S_z，S_θ（－）は円筒座標空間上における各方向の収縮率であり，等方的に収縮が起こる場合，各方向の収縮率と体積変化率 S_V（－）の関係は，(4-4)式であらわされる。

$$S_r=S_z=S_\theta=(S_v)^{\frac{1}{3}} \tag{4-4}$$

II）ひずみ－変位関係式

いま取り扱っているモデルは軸対象であるため，θ 方向の変位はゼロとして，ひずみ－変位関係式は(4-5)式であらわされる。

$$\{d\varepsilon\}=\begin{bmatrix} \frac{\partial}{\partial r} & 0 \\ 0 & \frac{\partial}{\partial z} \\ \frac{1}{r} & 0 \\ \frac{\partial}{\partial z} & \frac{\partial}{\partial r} \end{bmatrix}\begin{Bmatrix} du \\ dv \end{Bmatrix}=[A]\{dU\} \tag{4-5}$$

ここで du および dv はそれぞれ半径方向，高さ方向の変位ベクトルを，$[A]$ はひずみ－節点変位マトリックス，$\{dU\}$ は変位ベクトルを示す。

III）仮想仕事の原理

応力に関する平衡方程式および力学的境界条件の代わりに，仮想仕事の原理を用いることができる。外部から力および圧力がかからないとして，仮想仕事最小の原理を適用すると(4-6)式が得られる。

$$\int_v \delta\{d\varepsilon\}^T \{d\sigma\} dV = 0 \tag{4-6}$$

次に，有限要素内部の変位増分ベクトル$\{dU\}$を，節点変位増分ベクトル$\{da\}$を用いて(4-7)式と仮定する。

$$\{dU\} = [N]\{da\} \tag{4-7}$$

ここで，$[N]$は形状関数マトリックスを示す。(4-7)式を(4-5)式に代入すると，要素内のひずみ増分ベクトル$\{d\varepsilon\}$は(4-8)式であらわされる。

$$\{d\varepsilon\} = [A]\{dU\} = [A][N]\{da\} = [B]\{da\} \tag{4-8}$$

ここで，$[B]$はひずみ－変位マトリックスを示す。さらに，(4-2)式と(4-6)式から，応力－ひずみ関係式は(4-9)式であらわされる。

$$\{d\sigma\} = [D]\{d\varepsilon - d\varepsilon_0\} \tag{4-9}$$

そして(4-6)式に，(4-8)式および(4-9)式を代入することで，(4-10)式を得る。

$$\int_V [B]^T [D][B] dV \{da\} = \int_V [B]^T [D]\{d\varepsilon_0\} dV \tag{4-10}$$

(4-10)式を積分することで得た，代数方程式を解くことで，節点の変位が求まる。さらに，(4-5) 式，(4-7) 式および(4-9)式から，応力場を算出することが可能となる。

4.3. 実験

4.3.1. 収縮率の測定

実験試料には，市販されているスライス状国産牛モモ肉を使用した。スライス状の試料は，厚みが約 1.0 mm と薄いことから，一次元無限平板とみなせる。そこで，第 2 章で求めたタンパク質変性速度パラメーターを用いてタンパク質変性度分布を予め予測し，Table 4-1 に示す加熱処理条件を決定すると共に，恒温湯槽（TR-4 型，アズワン㈱）を用いて等温加熱処理を行った。加熱処理後にタンパク質変性を進行させない為，加熱処理終了後，直ちに氷水で冷却した。次に，冷却終了した試料の密度をハバード型比重瓶（内径 22 mm，高さ 70 mm，柴田科学）を用いて測定し，密度および冷却終了時の重量から体積を算出した。さらに，(4-12)式を用いてタンパク質変性度に伴う体積変化率を算出した。

$$\rho = \frac{W_{sample}}{W_x + W_{sample} - W_y} \tag{4-11}$$

ここで，ρ（kg/m^3）は密度，W_x（kg）は比重瓶と水の重量，W_y（kg）は比重瓶，水そして試料重量，W_{sample}（kg）は試料重量を示す。

$$X_V = \frac{V_a}{V_i} \tag{4-12}$$

ここで，X_v（－）は体積変化率，V_a（m^3）は加熱後の試料体積，V_i（m^3）は加熱前の試料体積を示す。

4.3.2. 筋繊維サイズの定量

実験試料には，市販されているブロック状国産牛モモ肉を使用した。未加熱試料を 10×10×15 mm に成形後，振動刃ミクロトーム（VT1200S，ライカマイクロシステムズ）を用いて，リン酸緩衝生理食塩水（シグマアルドリッチ製）に浸漬させた試料を厚さ 120 μm に薄切りし，スライドガラスに貼り付けた。また切片は，試料の筋繊維方向に対して平行断面になるよう留意するとともに，振動刃ミクロトームの操作条件は，ナイフ速度を 0.09 m/sec，ナイフ振幅巾を 1.20 mm とした。切片の観察は蛍光顕微鏡（BZ-9000，㈱キーエンス）を用い，10 倍の対物レンズ（㈱ニコン）で撮影を行った。また，切片をホットステージ（mK1000，㈱東陽テクニカ）に置き，昇温速度 10 ºC/min で 30～80 ºC 加熱させた際の変化を経時的に観察した。その後，顕微鏡画像 1 枚に Figure 4-1 に示す横幅 150 μm のメッシュを設定し，画像解析ソフトのひとつである PC デジタルアナライザー（エクセルアナライザー for AdIn，Vector）を用いて，メッシュと接した位置における筋線維サイズの定量を行った。

4.3.3. PFG-NMR 法による拡散係数の測定

実験試料には，市販されているスライス状国産牛モモ肉を使用した。スライス状の試料は，厚みが約 1.0 mm と薄いことから，一次元無限平板とみなせる。そこで，第 2 章で求めたタンパク質変性速度パラメーターを用いてタンパク質未変性度を予め予測し，Table 4-2 に示す加熱処理条件を決定すると共に，恒温湯槽（TR-4 型，アズワン㈱）を用いて等温加熱処理を行った。加熱処理後にタンパク質変性が進行しないように，加熱処理終了後，直ちに氷水で冷却した。次に，試料を細かく切断し，試験管（ϕ 10 mm）に高さ約 20 mm まで，空隙のないよう留意し充填した。その後，NMR 装置（ブルカー・バイオスピン㈱AVANCE400（^{1}H 共鳴周波数 400MHz，磁場強度 9.4T））を用いて試料中に残存する水の拡散係数の測定を行った。パルクシークエンスは Figure 4-2 に示した通り，3 つの 90º RF パルスを組み合わせた stimulated echo 法を用いた。1 回目の

90º パルスの直後と 3 回目の 90º パルスの直後にそれぞれ磁場勾配強度 G（Gauss/m），パルス幅δ（s）の磁場勾配パルスを挿入した。2 つの磁場勾配パルスの間隔 Δ（s）が拡散時間である。δ と Δ を一定に保ちながら磁場勾配強度 G を変化させ，エコーシグナルを観測すると，シグナル強度 E は(4-13)式にしたがって減衰する[2]。

$$E = exp[-D(\gamma\delta G)^2(\Delta - \delta/3)] \tag{4-13}$$

ここで，γ（Hz/Gauss）は水素原子の磁気回転比である。$(\gamma\delta G)^2(\Delta-\delta/3)$に対して，log E をプロットすると直線が得られ，その傾きから拡散係数 D（m^2/s）が得られる。本実験では温度一定下（20 °C）において，磁場勾配強度 G は 250～4000 (Gauss/m)の範囲とした。また一定に保つ拡散時間 Δ は 0.025～1.25（s）の範囲で一連の実験を行い，拡散係数の拡散時間依存性についても検証した。

4.3.4. 抽出液の調製ならびにタンパク質濃度と pH の測定

実験試料には，市販されているブロック状国産牛モモ肉を使用した。試料を約 5.0 mm に切断後，遠沈管に 10 ± 0.1 g 加え，10 ºC で 20,000 × g ，60 分間遠心分離（himac CF15RX II，日立工機㈱）を行い，上清液（以後，抽出液）を採取した。また採取した試料の状態の再現性を検証するため, 試料の pH を pH メーター（F-57T, HORIBA）により, タンパク質濃度を Protein Assay Rapid Kit（和光純薬工業㈱）を用いて定量した。

4.3.5. 抽出液の動的粘弾性測定

遠心分離法に従い採取した抽出液，約 2.0 ml を，粘度・粘弾性測定装置（HAAKE MARS III, Thermo SCENTIFIC）に直径 60 mm のフラットプレートを接続し，周波数 1.592 Hz の条件にて測定を行った。さらに測定時，試料を昇温速度 1.0 ºC/min にて 20 ºC から 80 ºC まで温度走査させることで，温度依存性について測定した。

4.3.6. 抽出液の DSC 測定

試料である抽出液 80.5 ± 0.98 mg をステンレス製耐圧容器（Kit No, 03190218）に挿入した。DSC 装置（Pyris1 DSC，Perkin Elmer Inc.）にて，昇温速度 2.5，5.0，7.5，10，15 および 20 °C/min の条件で 20～90 °C まで測定を行った。リファレンスには，何も充填していない空の容器を用いた。測定終了後は容器に穴をあけ，105 °C に設定した強制送風循環恒温槽（DV600, ヤマト科学）で 24 時間乾燥させ，試料の乾物重量を測定した。DSC 曲線に検出されたピーク面積と，試料の乾物重量から，タンパク質の熱変性に要したエンタルピーΔH（J/g）を算出した。

4.3.7. 二次元円筒形試料の残重量率の測定

実験試料には，市販されているブロック状国産牛モモ肉を使用した。試料をステンレス製円筒形食品カッター（内径 20 mm，㈲カツミチコーポレーション）を用いて，直径 20 mm，高さ 20 mm の円筒に成形した。その後，恒温湯槽（TR-4 型，アズワン㈱）を用いて 50 ºC もしくは 70 ºC で 2.5，5.0，7.5 および 10 分間等温加熱処理をした。また，所定時間加熱処理終了後は，直ちに氷水で冷却した。その後，加熱前後の試料重量より，残重量率を算出した。

$$X_w = \frac{W_a}{W_i} \tag{4-14}$$

ここで，Xw（－）は残重量率，Wi（g）は加熱前の試料重量，Wa（g）は加熱後の試料重量を示す。

4.3.8. 一次元モデルにおける MRI 測定および残重量率の測定

実験試料には，市販されているスライス状国産牛モモ肉を使用した。スライス状の試料は，厚みが約 1.0 mm と薄いことから，一次元無限平板とみなせる。そこで，第 2 章で求めたタンパク質変性速度パラメーターを用いてタンパク質未変性度を予め予測し，Table 4-2 に示す加熱処理条件を決定すると共に，恒温湯槽（TR-4 型，アズワン㈱）を用いて等温加熱処理を行った。加熱処理後にタンパク質変性が進行しないように，加熱処理終了後，直ちに氷水で冷却した。加熱処理した試料を 20 × 20 mm に整形後，直径 30mm の RF コイル中央に，試料を入れた試験管（外径 30 mm）をセットし，ブルカー・バイオスピン㈱AVANCE400（^{1}H 共鳴周波数 400MHz，磁場強度 9.4T）ワイドボアタイプ・マイクロイメージングアクセサリー付きを使用し，試料内部の ^{1}H 密度を測定した。またこの際，測定中の試料表面の水の乾燥を防ぐため，プラスチックフィルムで包装した状態で測定を行った。測定条件は，積算回数 2 回，繰り返し時間を 1.5 s，最小エコー時間を 3.0 ms，マトリックスサイズを 256 × 256，空間分解能は 108 × 108 × 500 μm，FOV は 27.6 × 27.6 mm とした。また，加熱前後の試料重量測定を行い，(4-14)式を用いることで，残重量率を算出した。

4.3.9. 二次元モデルにおける MRI 測定

実験試料には，市販されているブロック状国産牛モモ肉を使用した。試料を，ステンレス製円筒形食品カッター（内径 20 mm，㈲カツミチコーポレーション）を用いて，直径 20 mm，高さ 20 mm の円筒に成形した。その後，恒温湯槽（TR-4 型，アズワン㈱）を用いて 50 ºC もしくは 70 ºC で 5 分および 10 分間等温加熱処理をした。また，所定時間加熱処理終了後は，タンパク質変性が進行しないよう，直ちに氷水で冷却した。その後，直径 30mm の RF コイル中央に試料を

入れた試験管（外径 30 mm）をセットし，ブルカー・バイオスピン㈱AVANCE400（^{1}H 共鳴周波数 400MHz，磁場強度 9.4T）ワイドボアタイプ・マイクロイメージングアクセサリー付きを使用し，試料内部の ^{1}H 密度を測定した。またこの際，測定中の試料表面の水の乾燥を防ぐため，プラスチックフィルムで包装した状態で測定を行った。測定条件は，積算回数 5 回，繰り返し時間を 1.5 s，最小エコー時間を 3.0 ms，マトリックスサイズを 256 × 256，空間分解能は 108 × 108 × 500 μm，FOV は 27.6 × 27.6 mm とした。また，測定した試料は不均一な変性分布が生じると予想されることから，試料内部の横緩和時間 T_2 も位置による分布が生じることが予想される。そこで試料の高さ中央にあたる，高さ 10 mm において，厚さ 0.5 mm に仮想的にスライスした xy 面の二次元画像を取得した。

Table 4-1 Heat treatment condition (temperature and time) and the thermal denaturation profile of meat sample used for the change of volume ratio.

Heating condition		Total non-denaturation ratio (-)		
Temp. (°C)	Time (min)	Myosin	Actin	Total
45	2.10	0.80	1.0	0.86
	4.83	0.60	1.0	0.72
	8.67	0.40	1.0	0.59
50	3.71	0.20	1.0	0.45
	16.0	0	1.0	0.31
65	2.12	0	0.75	0.23
	5.10	0	0.5	0.15
70	1.42	0	0.25	0.08
	7.06	0	0	0

Table 4-2 Heat treatment condition (temperature and time) and the thermal denaturation profile of meat sample used for NMR measurement.

Heating condition		Total non-denaturation ratio (-)		
Temp. (°C)	Time (min)	Myosin	Actin	Total
45	2.10	0.80	1.0	0.86
	4.83	0.60	1.0	0.72
	6.57	0.50	1.0	0.65
	8.67	0.40	1.0	0.59
50	3.71	0.20	1.0	0.45
	16.0	0	1.0	0.31
65	2.12	0	0.75	0.23
	5.10	0	0.5	0.15
70	1.42	0	0.25	0.08
	7.06	0	0	0

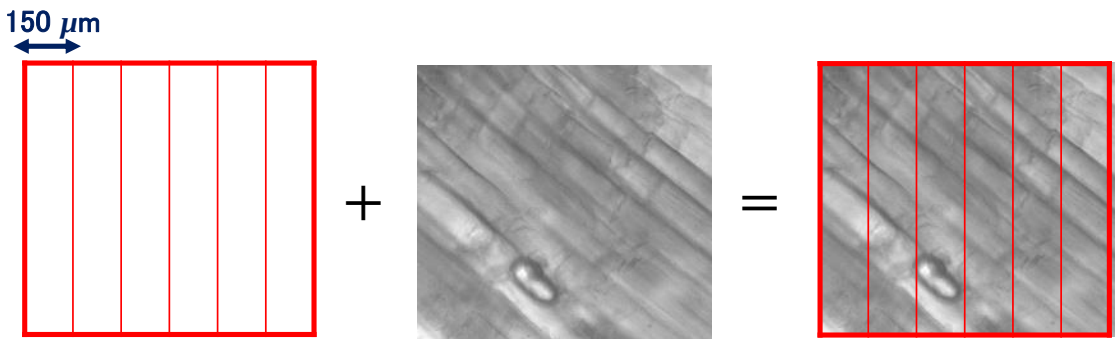


Figure 4-1 Determination of the diameter of fiber using the PC image analyzer.

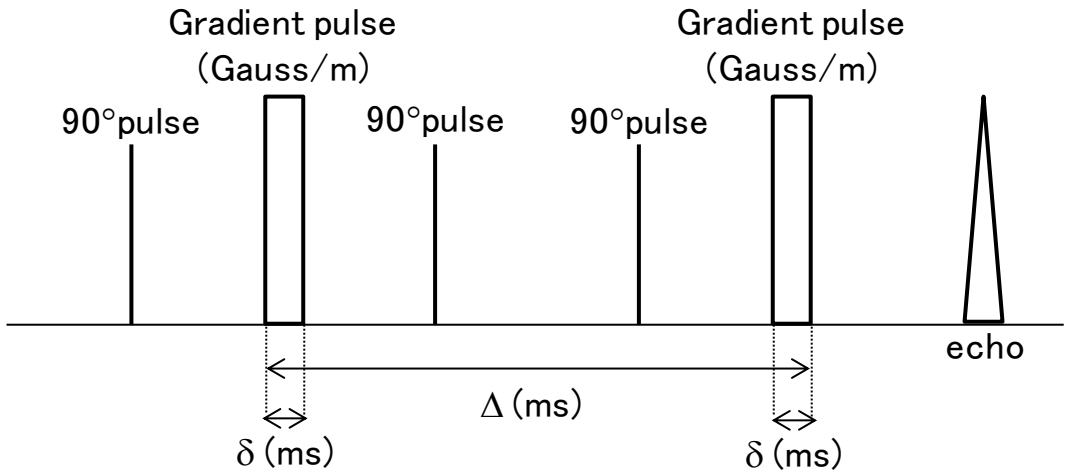


Figure 4-2 Stimulated echo pulse sequence for diffusion measurement. Three non-selective 90 ° pulses and pair of gradient pulses of duration δ are applied. The interval Δ between the gradient pulses is diffusion time.

4.4. 結果および考察

4.4.1. 収縮率および筋繊維サイズの定量

畜肉は加熱処理時に主要成分のひとつであるタンパク質が熱変性し，それに伴い収縮（変形）する。この収縮変形を計算するには，加熱に伴う畜肉の収縮率が必要となるため，比重法により加熱に伴う体積変化（収縮率）を実験的に求め，タンパク質未変性率と収縮率との関係を明らかにした。

total タンパク質未変性率に対する比重法により算出した体積変化の結果を Figure 4-3 に示した。total タンパク質未変性率の低下に伴い, 試料の収縮が進行している様子が見て取れる。また，total タンパク質未変性率の値が 0.3 より大きい値はミオシンが変性している領域，小さい値はアクチンが変性している領域をあらわすが，ミオシンが変性完了した時点で，0.83 程度収縮し，その後，アクチンの変性に伴い，0.75 まで低下することが示された。第 3 章より，ミオシンの変性は重量損失率に影響を及ぼすことが示唆されたが，これは収縮に伴い，試料系外に水が排出されたた為であると考えられる。肉の塊を対象とした収縮率の測定に関する報告は乏しいが，既存の畜肉加熱時の形状変化に関する報告は，すべて加熱処理温度に基づき説明されており，40～50°C で収縮が始まり，その後，試料温度 60～70 °C でさらに収縮が進行すると述べられている[3,4]。40～50 °C はミオシンの変性温度帯，60～70 °C はアクチンの変性温度帯であることから，今回測定した total タンパク質未変性率に対する収縮率の変化は妥当であると考えられる。そこで，Figure 4-3 に示した結果から，total タンパク質未変性率と収縮率の相関は，(4-15)式であらわすことができた。

$$X_v = 3.56\times10^{-1}X_t^3 + 4.72\times10^{-1}X_t^2 + 1.17\times10^{-1}X_t + 7.44\times10^{-1} \tag{4-15}$$

ここで，X_v（－）は体積変化率，X_t（－）は total タンパク質未変性率を示す。

このように, 収縮変形を計算するために必要となる total タンパク質未変性率に対する収縮率の相関式を算出すること，同時に，肉の塊（マクロな系）における加熱に伴う体積変化の挙動についても確認することができた。そこで次に，ミクロな系として，畜肉を構成している筋繊維を対象とし，加熱に伴う構造変化の有無を確認するため，顕微鏡法を利用して筋繊維の直径を計測した。

一般的に切片を作成するには，固定や包埋等の作業が必要である。しかし，この操作の過程で筋繊維の収縮・膨張が懸念されることから，今回，畜肉繊維の顕微鏡観察を行うための切片作成には，下処理を必要としない振動刃ミクロトームを使用した。

作製した切片をホットステージに置き，昇温速度 10 ºC/min で 30～80 ºC 加熱させた際の顕微鏡写真を Figure 4-4 に示したが，目視では顕著な違いを確認することができなかった。そこでさ

らに，画像解析によって筋繊維の直径の測定を行った結果を Table 4-3 に示した。結果から，加熱温度の上昇に伴い，わずかではあるが収縮変化を確認することができた。しかし，最も変化していた加熱温度 80 ºC は未加熱試料と比較し，変化率は 0.95（－）であり，他の加熱処理温度では常に 50μm 付近の値を示していた。Palka ら[5]による牛肉を真空加熱した際の筋繊維の測定結果もあわせて Table 4-3 に示したが，Palka らの結果も著しい直径の変化は確認されず，今回の実験結果と同様な傾向である。ところで，顕微鏡観察を行った際，温度上昇に伴って繊維と繊維の間隔（隙間）が狭くなることが観察された。先に示した肉の塊（スライス状試料）ではタンパク質変性の進行に伴い，収縮が確認されていることから，畜肉は加熱に伴い筋繊維の直径は一定値を保つが，間隔が狭くなることで肉の体積が小さくなる，すなわち収縮したと考えられる。しかし多くの論文は，筋繊維レベルにおいても加熱処理温度 40 °C から徐々に収縮が始まり，アクチンの変性温度帯である 60 °C 付近に到達すると，さらに収縮すると報告している [3,4,6]。今回の測定結果では 60 °C 付近からの著しい変化は確認できなかったが，温度上昇に伴い収縮変化が進行する結果であることから，今回の測定は妥当であると判断した。

4.4.2. 畜肉加熱処理時における物質移動解析モデル

実験で得られた収縮率，筋繊維タンパク質の定量値ならびに文献[3-6]より，畜肉を加熱した際のメカニズム（解析モデル）について一度まとめる。Figure 4-5 に畜肉加熱時の筋繊維変化ならびにその際に肉系外に排出される，水溶性タンパク質や呈味成分を含む流体の排出メカニズムを示した。まず，マクロな系（畜肉の塊レベル）から説明をする。

畜肉は加熱に伴う温度上昇により，タンパク質が熱変性し，収縮する。これにより試料内部に圧力勾配が生じ，試料が保持出来なくなった水溶性タンパク質や呈味成分を含む流体が系外に排出される，物質移動現象が生じる。

次に，ミクロな系（畜肉を構成する筋繊維タンパク質レベル）を説明する。

畜肉を加熱した際，温度上昇に伴いタンパク質が熱変性し収縮する。この収縮には 2 段階あると仮定した。まず第 1 段階の収縮は 40～50 °C はミオシンの変性温度帯で生じ，この際，筋繊維タンパク質のサイズは一定である。しかし，繊維と繊維の間隔（隙間）が狭くなることで，圧力勾配が発生し，隙間に存在していた物質が系外に排出される。またこの際の物質移動は，主にミオシンの変性によって生じると想定した。第 2 段階の収縮は 60～70 °C のアクチンの変性温度帯で生じる。既存の研究で，この温度帯では筋繊維タンパク質の収縮が著しく生じると報告されていることから[3-6]，筋繊維タンパク質自体が保持していた流体が，収縮に伴い系外に排出されたと仮定した。

上記で仮定したモデルは，収縮によって試料内部に圧力勾配差が生じ，物質移動現象が生じると考えている。そのため，畜肉加熱時の物質移動現象を予測するには，水分濃度勾配を駆動力とするフィックの拡散法則ではなく，ダルシーの法則が適用できると考えた。

ダルシーの法則とは，充填層を通して層流状態で流体が流れる時，単位面積当たりの体積流量，すなわち，みかけの流速は充填層両端の圧力に比例し，充填層の長さに反比例する，という経験則から成り立ち，主に地下水の流れ等，多孔質体中での流体の流れの解析に用いられている。現在では，さらに温度依存性の大きい粘度の影響を独立させ，(4-16)式に示す関係式をダルシーの法則（またはダルシーの式）と呼んでいる[7]。

$$\frac{Q}{A} = u = -\frac{K}{\eta}\frac{dP}{dL} \quad \left(\frac{dP}{dL} < 0\right) \tag{4-16}$$

ここで，Q（m^3/s）は体積流量，A（m^2）は流れ方向に垂直な充填層断面積，u（m/s）は流速，P（Pa）は充填層両端の圧力差，η（Pa･s）は流体の粘度，L（m）は充填層の長さを示す。また比例定数 K（m^2）は透過係数と呼ばれているが，モデルによって定義される特性パラメーターであるため，多孔体の構造や表面の性質などの相違は全て透過係数 K にまとめられている。また，(4-16)式の両辺に密度ρ（kg/m^3）を乗じることで，(4-16)式は(4-17)式であらわされる。

$$\rho u = \omega = -\rho\frac{K}{\eta}\frac{dP}{dL} \tag{4-17}$$

ここで，ω（kg/（m^2･s)）は質量流束を示す。すなわち，(4-17)式を用いることで，充填層から排出される流体の質量を算出することが可能となる。

ダルシーの法則は前述したように，ろ過や充填層の性質を解析する際に用いられることが多く，食品を対象とした物質移動での実用例は乏しい[8-10]。畜肉に関しては，未加熱試料の透過係数の値について報告されているが[11]，加熱に伴う畜肉構造の変化を考慮した値は報告されていない。さらに，ダルシーの法則に用いるもうひとつのパラメーターである粘度は，既存の研究例では水の粘度で代替されている[8-10]。畜肉を加熱した際に排出される流体には，水溶性タンパク質や融解した油分が含まれていることから，粘度は純溶液である水よりも高い値であることが予想される。したがって，畜肉加熱時の物質移動解析を行うにあたり，パラメーターである透過係数と粘度を実測する必要があると考え，以下の実験を行った。

4.4.3. PFG-NMR 法による拡散係数および見かけの透過係数の推算

拡散現象とは，分子のランダムなブラウン運動によって，空間的位置を変えていくプロセスである。濃度勾配があるとき，分子はランダムなミクロブラウン運動をしながら，高い濃度域から低い濃度域へと移動する確率が高くなる。多数の分子の集合体が存在する系を考えた時，その系

をブラウン運動によって拡散する際，時刻 0 から t までの間の分子の移動距離の二乗平均を x^2 とすると，(4-18)式であらわされる。

$$< x^2 >= 2Dt \tag{4-18}$$

ここで，D（m²/s）は拡散係数を示す。

物質が拡散する場となる媒体は，自由な空間を考えることが多いが，生体系内および食品素材内など構造を有する場合，分子の拡散は制限を受ける。すなわち(4-18)式は，自由拡散が制限されると，拡散時間 t の増大に対して無制限に成立するのではなく，ある時間の経過後に距離は一定値に収束する。この時，見かけ上の拡散係数は時間と共に小さくなり，このような拡散現象を制限拡散と呼ぶ。植物細胞などの細胞構造を持つ系の場合，細胞内の水の拡散は，細胞膜あるいは細胞壁によって自由な拡散が制限されるため，制限拡散が観測される[12-14]。しかし，細胞が何らかの力によって破壊され，その構造を保てなくなった場合，水の拡散は制限されなくなり，自由空間における拡散と近い挙動を示すようになる。したがって，拡散時間の経過に伴う数値の変化（拡散情報）をもとに，試料の構造の状態変化や植物・動物組織の水分子の透過性を評価することが可能である[15,16]。また，細胞などの見かけ上，閉鎖空間とみなせる試料において，制限拡散がはっきりと観測された場合，(4-19)式より透過係数λ（m/s）を算出することができる[15,16]。

$$\frac{1}{D_\infty} = \frac{1}{D_0} + \frac{1}{\lambda \times d} \tag{4-19}$$

ここで，D_∞（m²/s）は拡散時間が無限大である場合，D_0（m²/s）は拡散時間が短く，障壁の影響がないとみられる場合の拡散係数，λ（m/s）は透過係数，d（m）は対象試料の障壁間距離を示す。

本研究の実験試料である畜肉は，植物細胞とは異なる構造を有しているが，安藤ら[17]はマグロを実験試料とし，NMR 測定を行った際，植物細胞と同様に制限拡散を観測している。マグロと畜肉は共に動物組織であることから，本研究対象である畜肉においても，制限拡散を観測することが期待できる。また，異なる加熱処理条件で調整した試料を用いて NMR 測定を行うことで，畜肉の構造変化を反映した拡散係数の測定が見込まれるとともに，本研究では加熱処理条件からタンパク質未変性率を推算できる。したがって，タンパク質未変性率に応じた透過係数を推算することが可能であると考え，本実験を行った。しかし，(4-16)式に示したダルシーの式の透過係数と，(4-19)式に示した透過係数は異なる単位を有する。そこで以後，実験により算出した透過係数λ（m/s）について，見かけの透過係数と明記する。

典型例として，未加熱試料の拡散時間 0.1 s におけるエコーシグナル強度が磁場勾配強度 G の増大によって減衰する様子を Figure 4-6 に示した。各プロットは一次関数とみなすことができることから，直線の傾きから拡散係数 8.50×10^{-10}（m²/s）が得られた。拡散時間を増加させると，

直線の傾きが小さくなり，拡散係数値が減少した。次に拡散係数の拡散時間依存性の典型例について Figure 4-7 に示した。全ての試料において，肉試料内の水の拡散係数は Figure 4-7 にみられるような拡散時間依存性を有していること，いずれの試料についても拡散時間 0.6 s においてほぼ平衡値に到達しており，制限拡散現象を観測することができた。また，測定試料のタンパク質の変性が進行するのに伴い数値は低下するが，減少傾向ならびに平衡値に到達する拡散時間は常に等しいことが確認できた。Ruiz-Cabrera ら[18]は，乾燥した豚肉を対象とし，試料の水分量と拡散係数の関係を検証したところ，水分量の低下に伴い，拡散係数値は低下したと報告している。タンパク質が変性することで，重量減少し，水分含量が減少することから，本測定結果の挙動は妥当であると言える。このように，畜肉試料においても制限拡散が観測できたことから，(4-19)式を用いて透過係数を算出し，total タンパク質未変性率との関係を調べた。

(4-19)式に必要となる拡散時間が非常に短い場合の拡散係数 D_0 は，測定条件を考慮して，拡散時間がゼロ近傍である 0.025 s で得られた値を用いた。拡散時間が無限大である場合の拡散係数 D_∞ は，全ての試料において平衡値に到達していた拡散時間 0.6～1.2 s の平均値を各試料で算出した。また対象試料の障壁間距離 d は，温度に伴う収縮・膨張はないと仮定し，Table 4-3 に示した 30～80 °C の筋繊維の測定結果から平均値を算出した値，50 μm を用いた。

Figure 4-8 に，total タンパク質未変性率に対する透過係数の変化を示した。一般的に透過係数は膜内の流体の透過のしやすさ，ならびに自由拡散を阻害する構造の影響が十分反映された場合の移動速度に相当すると考えられる。したがって，値が大きいほど透過がしやすく，本研究では系外に物質が流出しやすいことを意味する。Figure 4-8 から，タンパク質の変性の進行に伴い，透過係数が低下していることが見て取れる。動物組織は細胞膜のみで構成されており，この細胞膜の構成成分のひとつにタンパク質が含まれている[19]。そのため，加熱処理に伴う細胞膜中のタンパク質が熱変性に従い細胞膜が強固な構造へと変化したことが，透過係数の低下につながったと示唆される。また，NMR 測定ならびに顕微鏡観察により推算した細胞サイズが約 10 μm である新鮮なマグロの透過係数は約 3.2×10^{-5} m/s と報告されている[6]。この値は，今回算出した値とオーダーが一致していることから，推算した値は妥当であると判断した。そこで，Figure 4-8 に示した結果をもとに，total タンパク質未変性率と透過係数の相関式を算出した。

$$\lambda = -1.09\times10^{-5}X_t^2 + 2.69\times10^{-5}X_t + 3.36\times10^{-5} \tag{4-20}$$

ここで， X_t（－）は total タンパク質未変性率を示す。

このように，ダルシーの法則を用いた物質移動解析に必要となるパラメーターのひとつである透過係数を，total タンパク質未変性率に基づき推算することが可能となった。

4.4.4. 粘度におよぼす抽出液中の水溶性タンパク質の変性

水溶性タンパク質が含まれるドリップの粘度は, pH やタンパク質濃度に依存すると報告されている[20]。本研究の対象試料は牛肉であることから，採取した抽出液には水溶性タンパク質が溶解していることが予想される。また，試料の再現性を検証するために，異なる時期に購入した牛肉試料 4 個体の pH ならびにタンパク質濃度の測定を行った。その結果，pH の平均値は pH 5.62 となり，この値は貯蔵期間中に畜肉から採取したドリップの既存の報告値と同じであった[21-23]。また，抽出液中に含まれる水溶性タンパク質濃度は 78.9 ± 5.71 mg/ml であり，この値についても牛肉を様々な温度下で保存した際に採取したドリップのタンパク質濃度の範囲であることを確認できた[21,24]。そこで次に，遠心分離法により採取した抽出液を用いて，動的粘弾性測定を行った。

Figure 4-9 に，昇温速度 1.0 ºC/min にて 20～80 ºC まで温度上昇させた際の動的粘度の結果を示した。抽出液の粘度と温度との関係は，低温度域（20～50 ºC）と高温度域（50～80 ºC）とで大きく異なる様子が見てとれる。Figure 4-9 に示した水のように，一般的に液体の粘度は，温度上昇に伴い粘度は低下する。今回測定した抽出液の温度上昇に対する粘度の変化率を算出したところ，測定開始から 47.9 ± 0.1 ºC までの傾きは常にマイナスとなり，水と同様に抽出液の粘度は低下していた。また Hertog-Meischke ら[21]は，貯蔵中に採取した牛肉ドリップを試料とし，0～30 ºC における粘度を実測しており，水の値よりもドリップの粘度の値が常に高いこと，測定したドリップの粘度は(4-21)式に示す温度依存性を有すると述べている。

$$\eta = 4.65e^{-0.02T} \tag{4-21}$$

ここで，η（cP）は粘度，T（ºC）は温度を示す。

(4-21)式に基づき，20 ºC および 30 ºC における粘度を算出したところ，それぞれ 3.12×10^{-3}（Pa･s），2.55×10^{-3}（Pa･s）であり，今回実測した値とほぼ等しかった。しかし抽出液の動的粘度は 60 ºC 付近から著しく値が上昇し，70.3 ± 0.1 ºC で最高値となり，その後若干ではあるが数値が低下しており，水のような純溶液の粘度とは異なる挙動を示した。これは，粘度が著しく上昇した温度において，抽出液中に溶解する水溶性タンパク質が熱変性したことが原因として挙げられる[24-27]。特に加熱初期においては，温度上昇に伴い粘度が低下したが，60 ºC 付近から著しく上昇している点から，粘度が上昇している温度区間において水溶性タンパク質が熱変性していることが示唆される。そこで次に，DSC 測定により抽出液中の水溶性タンパク質に由来する熱変性を DSC 法により確認すると共に，変性速度パラメーターの特定を試みた。

昇温速度 10 °C/min で DSC 測定を行った際, 観測された吸熱ピークの変性開始温度 (Onset)，終了温度（End）およびタンパク質の変性に要するエンタルピー量ΔHを Table 4-4 に，温度上昇に伴う吸熱変化を Figure 4-10 に示した。このように，昇温速度 10 °C/min では 54.6 °C および

67.9 °C に吸熱ピーク温度 T_{max}（°C）を有する吸熱変化が観測された。また，Figure 4-10 からわかるように，エンタルピー量は第 1 ピークと第 2 ピークで大きく異なり，吸熱ピークが明確に観測できた第 2 ピークは第 1 ピークの約 6 倍の値を示した。他の昇温速度においても同様に 2 ヶ所で吸熱ピーク温度を観測したと同時に，エンタルピー量についても同様な傾向であった。また，昇温速度が速くなるに伴い，吸熱ピークが高温度にシフトする傾向を示した。

既存の報告[25-27]より，観測された吸熱ピークは，糖分解酵素，クレアチンキナーゼおよびミオグロビンから構成させる筋形質タンパク質由来であることが示唆される。特に落合 [28]は pH5.5 のマグロ中に含まれるミオグロビンを抽出し，DSC 測定したところ，66 °C で吸熱ピークが観測されたと報告している。本実験で測定した抽出液の pH が 5.62 であること，2 つ目の吸熱ピーク温度が 68.0 °C であることから，2 つ目の吸熱ピークは，ミオグロビンの変性由来であることが示唆された。

このように，DSC 測定により抽出液中に存在するタンパク質の吸熱ピーク温度を観測できたことから，次に変性速度パラメーターを特定すると共に，抽出液中に存在する水溶性タンパク質変性度から，動的粘度を予測する速度モデルの構築を試みた。

タンパク質の熱変性速度は，未変性のタンパク質濃度 C（mol/g_{meat}）に比例する一次反応と仮定すると，速度式は(4-22)式であらわされる。

$$\frac{dC}{dt} = -kC \tag{4-22}$$

ここで，k（1/min）は抽出液中に溶解するタンパク質熱変性速度定数である。また，未変性のタンパク質濃度を初期濃度で無次元化した値（以後，未変性率）を X とすると，(4-22)式は(4-23)式であらわされる。

$$\frac{d}{dt}\left(\frac{C_t}{C_0}\right) = \frac{dX}{dt} = -k(T)X \tag{4-23}$$

ここで，C_0（mol/g_{meat}）は抽出液中に溶解するタンパク質初期濃度，C_t（mol/g_{meat}）は時間 t における未変性タンパク質濃度を示す。

タンパク質熱変性速度定数 k の温度依存性は，(4-24)式に示すアレニウスの式に従うとする。

$$k = Z\,exp\left(-\frac{E_a}{RT}\right) \tag{4-24}$$

ここで，E_a (kJ/mol) は活性化エネルギー，R (J/ (mol·K)) は気体定数，T (K) は温度，Z (1/min) は頻度因子を示す。

アレニウスの式に必要となる活性化エネルギーおよび頻度因子の算出は，第 2 章で述べた DSC-Dynamic 法を用い，DSC で観測された各昇温速度における吸熱ピーク T_{max}（°C）を(4-25)式に従って OZAWA プロットを実施した。

$$ln\left(\frac{\beta}{T_{max}^{2}}\right)=ln\left(\frac{ZR}{E_a}\right)-\left(\frac{E_a}{RT_{max}}\right) \tag{4-25}$$

ここで，β（°C/min）は昇温度速度を示す。

Figure 4-11 より，両方のピークにおいて直線性を示したことから（第 1 ピーク：相関係数 r^2＝0.935，第 2 ピーク：相関係数 r^2＝0.936），得られた直線の傾きと切片より，両タンパク質の活性化エネルギーE_a（kJ/mol）ならびに頻度因子 Z（1/min）を算出し，Table 4-5 にまとめた。各タンパク質の活性化エネルギーおよび頻度因子が明らかになったことで，任意の温度における各タンパク質の熱変性速度定数を(4-24)式に従い算出することが可能となった（Table 4-5）。そして，さらに得られた速度定数を(4-23)式に用いることで，両タンパク質の未変性率の予測計算が可能となった。また，タンパク質未変性率 Xは 0 ～1 の範囲であり，タンパク質変性率 X_dは(4-26)式であらわされる。

$$X_d=1-X \tag{4-26}$$

抽出液中に含まれる水溶性タンパク質の変性度の予測が可能となったことから，次に，水溶性タンパク質変性度に基づく動的粘度の予測モデルの構築を行なった。

液体の粘度の温度依存性は，一般的に(4-27)式に示すアンドレードの式であらわされる。

$$\eta=Z_v\,exp\left(\frac{E_{av}}{RT}\right) \tag{4-27}$$

ここで E_{av}（kJ/mol）は活性化エネルギー，Z_v（1/(Pa·s)）は頻度因子を示す。

アンドレードの式は主に液体の粘度で適用されるが，石原ら[30]は動的粘度においても温度上昇に従い値が低下している領域について，アンドレードの式が適用できると報告している。今回測定した抽出液は，20 ºC から 47.9 ± 0.1 ºC まで温度上昇に伴い動的粘度が低下していたことから，この温度領域においてはアンドレードの式が適用できると考え，アレニウスプロット（η vs. $1/T$）を実施することで，アンドレードの式における活性化エネルギーと頻度因子の算出を行なった（Figure 4-12）。Figure 4-12 に示したプロットは一次関数とみなすことができたことから（相関係数 r^2，r^2＝0.928），近似した一次関数の直線の傾き，および切片より，アンドレードの式における活性化エネルギーE_{av}＝28.49（kJ/mol）ならびに頻度因子 Z_v＝3.38 × 10^{-8}（1/(Pa·s)）を算出した。

ところで，本来であれば液体の粘度は温度上昇に伴い低下するはずだが，今回測定した抽出液の動的粘度は 60 ºC 付近から著しく値が上昇し，70.3 ± 0.1 ºC で最高値となり，その後若干ではあるが数値が低下している。そこで，アンドレードの式に基づく値に対して，どの程度値が上昇したのか，(4-28)式を用いて算出した。

$$\frac{\eta^*}{\eta_a{}^*} = \eta^* / Z_v \, exp\left(\frac{E_{av}}{RT}\right) \tag{4-28}$$

ここで，η^*（Pa･s）は抽出液の動的粘度実測値，$\eta_a{}^*$（Pa･s）はアンドレードの式（(4-27)式）に基づき算出した値を示す。

また，(4-28)式で得られた結果と，20 ºC から 80 ºC において，昇温速度 1.0 ºC/min で温度上昇させた際の両ピークのタンパク質変性度の比較を Figure 4-13 に示した。Figure 4-13 より，動的粘度を無次元化した値の変化は，2 つ目のタンパク質変性率変化とほぼ同じ挙動であることが見て取れる。言い換えると，1 つ目のタンパク質変性度温度帯では，溶液の粘度に及ぼす影響は小さく，水を代表とする純溶液の温度依存性と同程度であり，アンドレードの式に従うが，2 つ目のタンパク質の変性に伴い，著しく数値が上昇することが示唆された。そこで次に，2 つ目のタンパク質変性率の影響を反映した動的粘度を予測する式として，(4-29)式を仮定した。

$$\eta_{cal}{}^* = Z_v \, exp\left(\frac{E_{av}}{RT}\right) \; a^{X_d} \tag{4-29}$$

ここで$\eta_{cal}{}^*$（Pa･s）は動的粘度の予測値，a（－）は定数を示す。

2 つ目のタンパク質変性率が開始していない温度帯，すなわち X_d＝0 のとき，(4-29)式は(4-29a)式で置き換えられる。

$$\begin{aligned}\eta_{cal}{}^* &= Z_v \, exp\left(\frac{E_{av}}{RT}\right) \; a^0 \\ &= Z_v \, exp\left(\frac{E_{av}}{RT}\right)\end{aligned} \tag{4-29a}$$

つまり, 動的粘度の予測値$\eta_{cal}{}^*$は, アンドレードの式のみに従うことをあらわす。これに対して，2 つ目のタンパク質変性率が完全に終了した温度帯，すなわち X_d＝1.0 のとき，(4-29)式は(4-29b)式で置き換えられる。

$$\eta_{cal}{}^* = Z_v \, exp\left(\frac{E_{av}}{RT}\right) \; a \tag{4-29b}$$

すなわち，動的粘度の予測値$\eta_{cal}{}^*$は，アンドレードの式と定数 a を乗じた値であらわすことができる。また，タンパク質変性率の予測計算より，20 ºC から 80 ºC において昇温速度 1.0 ºC/min で温度上昇させた際，2 つ目のタンパク質は 69.3 ºC で変性終了することが明らかになっている。

この変性終了温度は，動的粘度の実測値が最高となった温度（70.3 ± 0.1 ºC）とほぼ同じであることから，やはり動的粘度の変化は 2 つ目のタンパク質の変性が大きく関与していることが確認された。また，動的粘度が最も高くなった 70.3 ± 0.1 ºC における粘度の値を (4-24b)式の左辺（η_{cal}*）に挿入することで，定数 a ＝3.36 × 10^6 を決定した。

最後に，(4-29)式の有効性を検証するため，動的粘度の実測値と比較した結果を Figure 4-14 に示した。Figure 4-14 より，予測値と実測値は良好に一致していることが見て取れる。また，実測値で加熱温度 70.3 ± 0.1 ºC で最高値となり，その後低下する現象を予測値は再現している。したがって，抽出液中に存在する水溶性タンパク質のタンパク質変性率とアンドレードの式より，任意な温度における動的粘度を推測することが可能となった。

4.4.5. マクロな系における解析値と実験値の比較

このように，ダルシーの法則に用いる透過係数と粘度を推算することが可能となった。そこで最後に，推算したパラメーターの有効性を検証する為，ダルシーの法則に基づく物質移動解析を行い，実測値と比較した。

解析モデルは，加熱処理実験と統一し，直径 20 mm，高さ 20 mm の円筒形とした。作成したモデルの節点，要素，伝熱面などの条件を基礎データとし，FORTRAN 言語で書かれたプログラムを用いて有限要素解析を行った。また本実験では，試料調整時の熱媒体として水を使用したことから，熱伝達率は非常に大きいとみなし，加熱直後に試料表面が環境温度 T_a（K）（すなわち規定した加熱処理温度）に到達するとみなした，(4-30)式に示す境界条件を採用した。さらに，初期条件として，試料温度内部に不均一な温度分布は生じていないと仮定した。

$$T = T_a \tag{4-30}$$

ところで本研究は，ダルシーの法則に従い畜肉加熱時の物質移動解析を行うに当たり，加熱に伴う組織構造の変化を反映したパラメーターの実測を行った。しかし，測定したパラメーターのうち，透過係数は NMR 測定より算出した拡散係数と，畜肉の筋繊維から推算しているため，本来の透過係数と絶対値が異なることが予想される。そこで，(4-31)式を用いた。

$$K = f \times p \tag{4-31}$$

ここで，λ（m/s）は実測した見かけの透過係数，f（m･s）は本来の透過係数に相関させるための係数，K（m^2）は係数を用いて算出した透過係数をあらわす。また f は，畜肉円筒形の残重量率の実測値から f=4.0 × 10^{-2} と決定した。このフィッテングより決定した f の単位は，距離と時間を乗じたものである。そこで，今回行った PFG-NMR 法による拡散係数の実験条件に基づき，距離を試験管の φ10mm と，時間を拡散時間が無限大である場合であるとみなした拡散時間 1.2 s を乗じることで，本来の透過係数に相関させるための係数 f（m･s）の検証ならびに考察を試みた。

試験管のφ10mm と拡散時間 1.2 s の積（以後，検証値）は，1.2×10^{-2}（m·s）となり，フィッテングより決定した f=4.0×10^{-2} と比較し，小さい値である。しかし検証値は，水分濃度差を駆動力とするフィックの法則のみに従った場合の値であり，本研究では畜肉加熱処理時に生じる物質移動は, 試料内部に生じる圧力勾配を駆動力とするダルシーの法則が支配的であると考えている。すなわち，今回フィッテングにより決定した数値は，フィックの法則のみに従った際の値より大きいことから，畜肉加熱処理時の物質移動現象は，ダルシーの法則が大きく寄与していることが定量的側面より提示された。

またこれとは別に，透過係数 K（m²）は特性パラメーターであるため，試料サイズの違いや加熱処理条件に応じてフィッテングパラメーターである f の値も変化することが予想される。しかし本研究では, ひとつの試料サイズならびに 50 ºC もしくは 70 ºC における加熱処理のみの実験であることから，今後の課題として異なる条件における実測ならびに物質移動解析を行い，フィッテングパラメーターである f の変動の有無について考察することが必要であると考えている。

Figure 4-15 に 50 ºC もしくは 70 ºC で 10 分間加熱処理した際の残重量率ならびに，上記に示した解析条件に従い算出した解析結果を示した。加熱処理温度 50 ºC，70 ºC ともに時間の経過に伴って重量減少した。また, タンパク質の変性が進行している 70 ºC で加熱処理した試料の方が, 50 ºC 試料よりも低い値であることが見て取れる。減少傾向について考察すると，50 ºC 試料は 10 分以降も加熱処理を続けた場合，さらなる重量減少が予測されるが，70 ºC 試料は加熱時間 7.5 分と 10 分で著しく重量減少していないことから，平衡値に近づいていると推測できる。50 ºC 加熱処理を想定した物質移動解析結果は，加熱開始から 5 分までは実測値と解析値は良好に一致したが，7.5 分以降では実測値よりも低い値を示した。また，70 ºC 加熱処理を想定した解析結果についても加熱初期の重量減少の傾向を再現しているが，解析結果は加熱開始から約 6 分で平衡値に到達する結果となった。

加熱処理に伴う筋原線維タンパク質の構造変化は，水分結合サイトの減少による離水や，この水を含む組織内にあらかじめ含まれる流体（融解した油分や呈味成分）が収縮による内部圧力を生む。そこで本研究は，組織内に発生した圧力勾配を駆動力として系外に流体が排出されると考えるダルシーの法則のみで説明を試みた。しかし，50 ºC 試料の後半や，70 ºC 試料の前半では，実測値は解析値よりも高い値を示していることから，実際は系外に排出されるまでに時間を要していることがうかがえる。また，70 ºC 試料の解析値は，試料全体のタンパク質変性が加熱開始から約 6 分で完了しているため平衡値に到達しているが，実測値では 6 分以降も低下しており，これは収縮が完了した以降も流体の流出が生じていることを意味する。したがって，ダルシーの法則のみで畜肉加熱時の物質移動現象を説明することは難しく，フィックの法則を考慮する必要があると示唆された。しかし，実測値と解析値で多少，数値の差はあるものの，残重量率の減少傾

向は一致していることから，顕微鏡法を利用して計測した筋繊維の直径と，NMR 法により観測した拡散係数より推定した透過係数，ならびに流体中に存在する水溶性タンパク質のタンパク質変性率とアンドレードの式より予測した動的粘度は妥当であると判断した。しかし今後，より実際の現象に即した物質移動解析を行うためには，ダルシーの法則のみならず，フィックの法則を用いて，流体の拡散現象を考慮する必要があると示唆された。

4.4.6. MRI 測定による実験値と解析値の比較

MRI 測定は，非破壊で試料内部の水分分布の測定が可能である点が特徴として挙げられる。デンプン系食品であるスパゲッティを対象とした研究において矢部ら[31]は，MRI 測定より得られたスパゲッティの半径方向における T_2 値分布と，含水率と T_2 値の較正曲線より，試料内部の水分分布の定量化を行っている。また同時に，茹で調理過程の物質移動解析結果との比較に用いることで，物質移動解析の妥当性についても検証している。畜肉の塊を調理した際，試料内部に不均一な水分分布が形成されることは明白である。しかし，既存の畜肉を対象とした物質移動解析において，試料内部の水分分布の解析結果と MRI 測定を用いた詳細な水分分布の実測値の比較・検証は行われていない。そこで本研究は，前述した方法で解析した解析値の残重量率の解析値の妥当性や，解析条件の妥当性を検証するため，MRI 測定を用いて試料内部の T_2 値の測定ならびに解析値との試料内部に形成される水分分布の比較を試みた。

通常，測定された ^{1}H 密度（^{1}H 信号強度）は分子の自由度を反映した縦緩和時間（T_1）と横緩和時間（T_2）の影響を受けるため，真の ^{1}H 密度を示さない。しかし，得られた横緩和時間 T_2 より，以下に示す二つの手法を用いることで，真の水分分布へ較正することができる。

手法 1　横緩和時間 T_2 は水分含量に大きく依存することから，あらかじめ T_2 と水分含量の関係を示す較正曲線を作成し，これを用いて試料の T_2（T_2 分布）を水分含量（水分含量分布）へ変換する

手法 2

$$E = E_0 \, exp\left(-\frac{TE(i)}{T_2}\right) \qquad (i=1,\ 2,\ \ldots,\ n) \tag{4-32}$$

(4-32)式から，E 値と T_2 値を用いて I_0 値を外挿し，横緩和の影響を受けていない ^{1}H 密度（^{1}H 密度分布）を推測する

本研究では，加熱処理中に流出する主な物質は水分であるとみなし，手法 1 を用いて横緩和時間 T_2 と残重量率の関係を示す較正曲線を作成した。また実験試料には，厚みが約 1.0 mm と薄いことから，一次元無限平板とみなせるスライス状の試料を用いた。

加熱処理前後の残重量率に対し，画像を構成する各ピクセルの T_2 値を平均した値をプロットした結果を Figure 4-16 に示した。この際，別途行った実験より，T_2 値が 40 ms 以上は水ではなく，脂肪由来の ^{1}H 画像であるとみなし，畜肉の水（プロトン）由来であると想定した T_2 値が 40 ms 以下の値のみを抽出し，平均化した。Figure 4 16 より，重量損失が進行するのに伴い，T_2 値が低下している様子が見て取れる。また，プロットした結果は直線性を示したことから（相関係数 r^2＝0.963），T_2 値と残重量率の相関を，(4-33)式であらわすことができた。

$$X_w = 1.98\times10^{-2}T_2 + 3.19\times10^{-1} \tag{4-33}$$

そこで，加熱処理をした直径 20 mm，高さ 20 mm の円筒形試料における横緩和時間 T_2 と，残重量率の相関式である(4-33)式を用いて，T_2 値を残重量率に変換した値（以後，実験値）と，ダルシーの法則に従い予測した値（以後，解析値）を比較した結果を Figure 4-17 に示した。また，本実験試料は位置に伴う T_2 および水分分布が予想されることから，試料の高さの中心にあたる 10 mm を比較対象とした。

Figure 4-17 の全ての試料において，実験値にばらつきはあるものの，解析値と傾向が一致している様子が見て取れる。50 ºC で 5 分加熱処理した試料（Figure 4-17（A））は，中心部はほぼ重量減少しておらず，表面部のみ低下していることが示された。これに対して加熱処理を 10 分間行った試料（Figure 4-17（B））は，表面のみならず，中心部においてもわずかに重量減少していることが，実験値，解析値ともに確認することができた。70 ºC 試料については，加熱処理に伴いタンパク質の変性が 50 ºC よりも進行しているため，重量減少も進行しており，加熱開始 5 分の時点（Figure 4-17（C））で表面・中心部ともに減少している。そして加熱時間 10 分（Figure 4-17（D））ではほぼ均一な分布となっていることが実験値，解析値ともに確認することができた。しかし，試料 1 個体の残重量率の実験値と解析値に一部相違があったように，詳細を確認すると，50 ºC で 10 分，70 ºC で 5 分間加熱処理した試料の解析値は，全体的にわずかであるが実験値より値が低く，70 ºC で 10 分間加熱処理した試料の解析値は，実験値よりも値が高くなっている。このような差の合計が，マクロな系における実測値と解析値の相違に関与していると考えられる。しかし，試料内部に形成される水分分布の特徴を 4 種類にて再現できていることから，解析値で得られた水分分布は妥当であると判断した。

ところで，本測定においても T_2 値とは別に，MRI 測定時の空間分解能（108 × 108 × 500 μm）と，中心から最も離れているピクセルの位置から，試料サイズの算出が可能である。そこで，Figure 4-17 に示した全ての試料において，x＝10 mm における y 方向の長さ，すなわち半径を計算した結果と，解析値の比較を Table 4-6 に示した。Table 4-6 より，加熱時間が進行するのに伴い，収縮は進行すること，同じ時間加熱処理を行った場合，温度の高い試料の方が，収縮が進行してい

ることが明確となった。また，半径の値を比較すると，解析値はMRI測定より算出した値とほぼ等しいことを確認することができ，収縮率の妥当性についても検証することができた。

Table 4-3 Fiber diameter of meat muscle during heating at various temperature.

Temperature (°C)	This work (μm)	Palka et al.,[5] (μm)
30 (unheated)	51.01 ± 1.41	62.3 ± 13.2
40	50.83 ± 1.55	no date
50	50.04 ± 1.28	61.1 ± 8.2
60	50.59 ± 1.20	57.8 ± 8.5
70	49.10 ± 1.12	61.2 ± 9.5
80	48.56 ± 1.22	62.8 ± 10.1

Table 4-4 Measurement values of DSC experiment during heat-scanning at 10 °C/min.

	Onset (°C)	Peak (°C)	End (°C)	ΔH (J/g)
Peak I	48.5 ± 0.59	54.6 ± 0.42	59.9 ± 1.34	1.06 ± 0.50
Peak II	62.3 ± 0.33	67.9 ± 0.35	74.5 ± 0.62	5.92 ± 0.36

Table 4-5 Calculation of the activation energy (E_a) and the pre-exponential factor (Z) for thermal denaturation of water-soluble proteins.

	E_a [a] (kJ/mol)	Z (/min)		Temperature (°C)				
				30	40	50	60	70
Peak I	415.8 ± 10.4	1.12×10^{67}	k (/min)	3.76×10^{-7}	7.35×10^{-5}	1.03×10^{-2}		
Peak II	405.9 ± 16.3	4.28×10^{63}		-	1.44×10^{-6}	1.81×10^{-4}	1.69×10^{-2}	1.21

k = rate constant of reaction.

[a] Mean standard deviation (%) of E_a.

Table 4-6 Comparison between the experimental value and the calculated values about shrinkage during heating.

Temperature (°C)	Time (min)	cal. (mm)	exp. (mm)
50	5	8.60	8.74
	10	8.28	8.42
70	5	8.16	8.21
	10	8.11	8.00

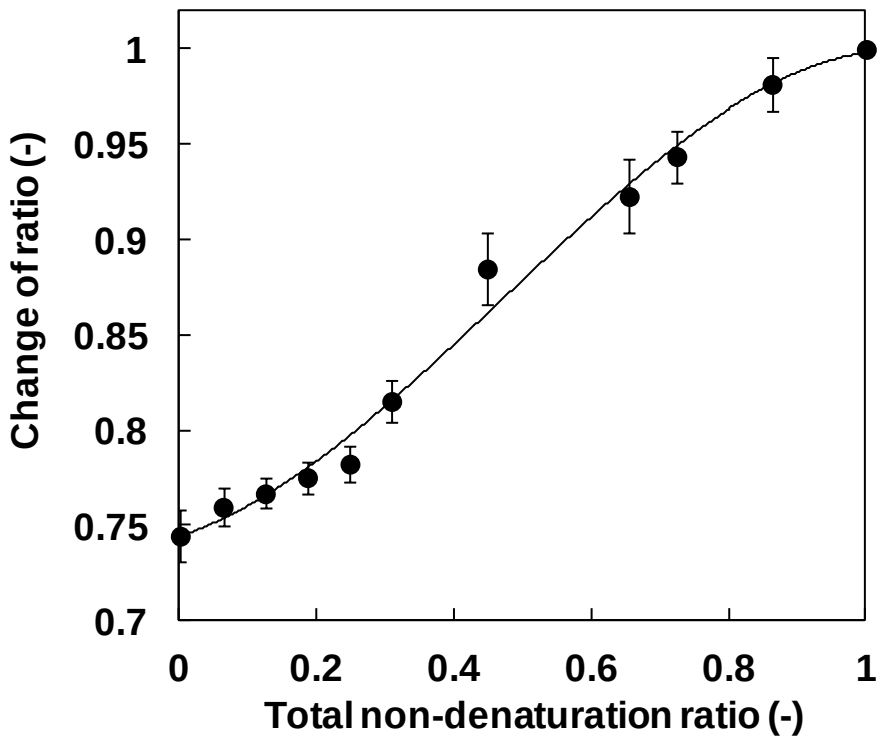


Figure 4-3 Volumetric changes in the meats with various denaturation degree. Solid line shows the enprical equation, Eq.(4-20)

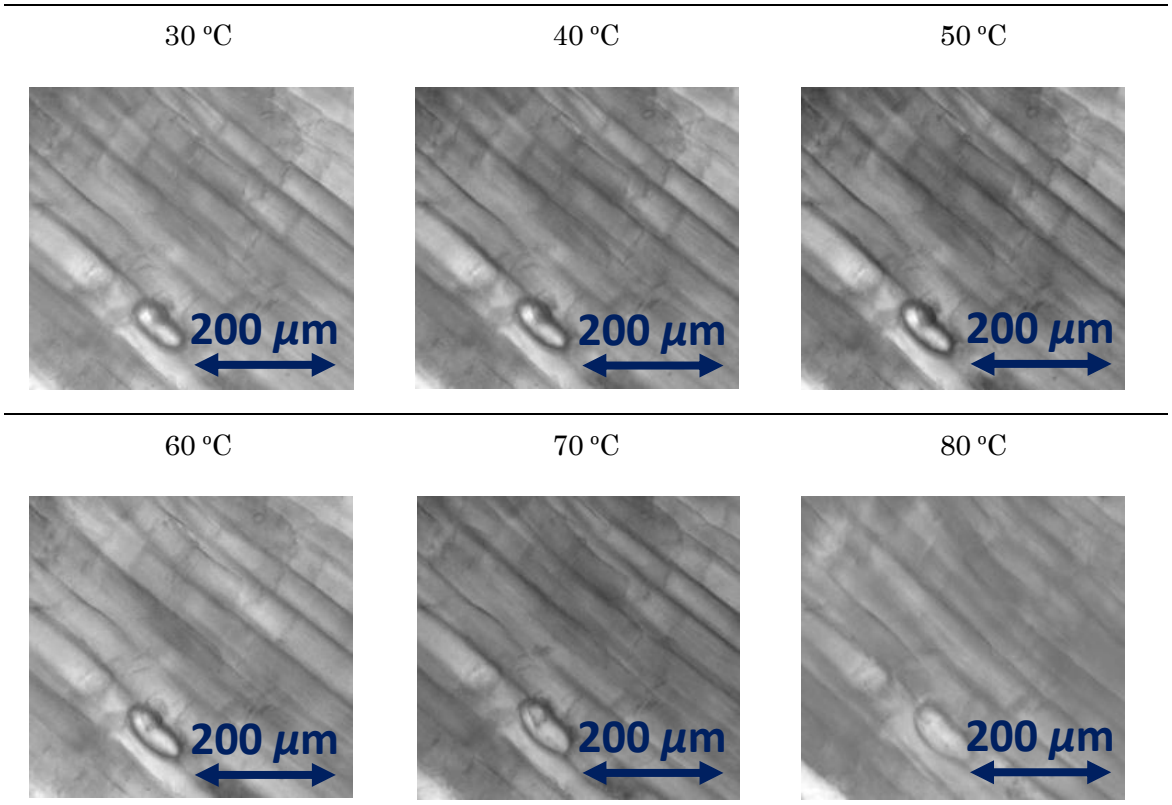


Figure 4-4 Fluorescence micrograph longitudinal sections of beef muscle during heating.

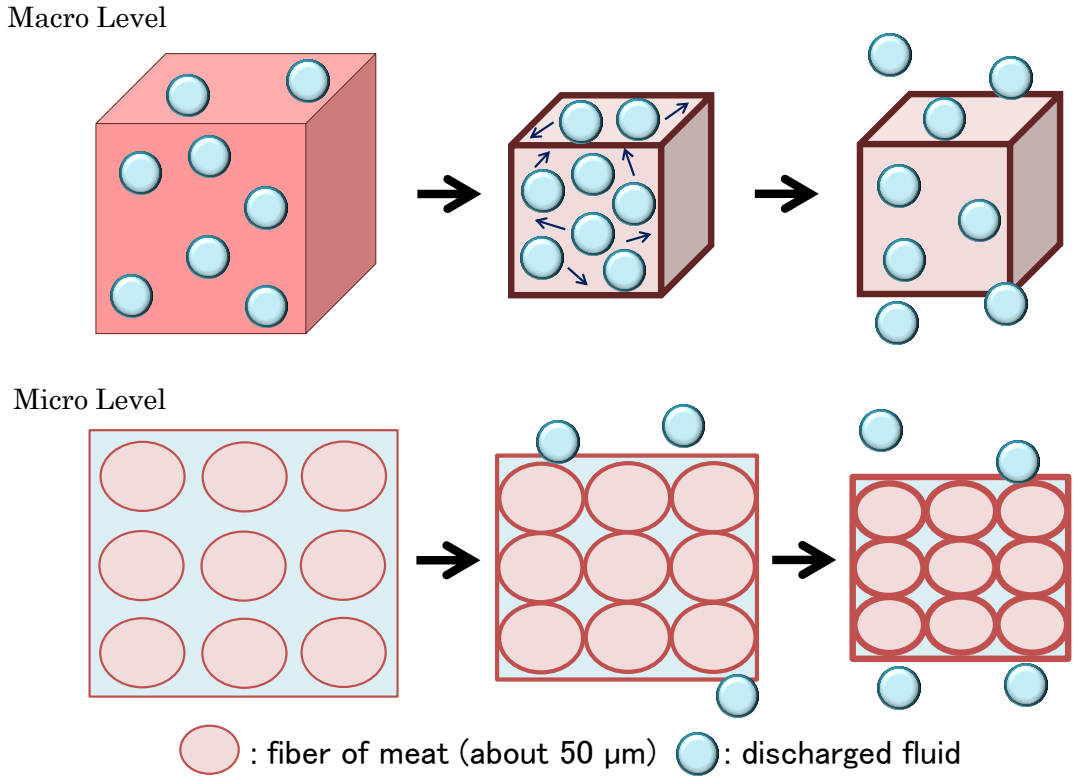


Figure 4-5 The diagrammatic illustration of the mass transfer phenomenon in meat tissue during heating.

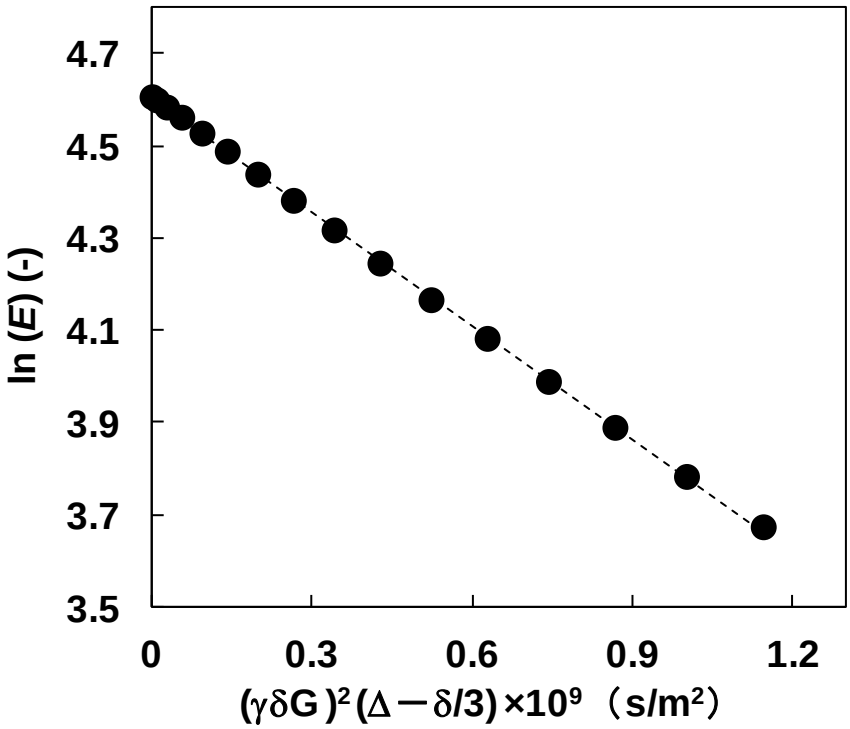


Figure 4-6 Signal attenuation against $(\gamma\delta G)^2(\Delta-\delta/3)$. E is the signal intensity with the field gradient pulse. The field gdarient pulses applied with a duration time δ =1.0 ms, interval Δ = 0.1 s, varied magnetude (G) up to 4000 Gauss/m.

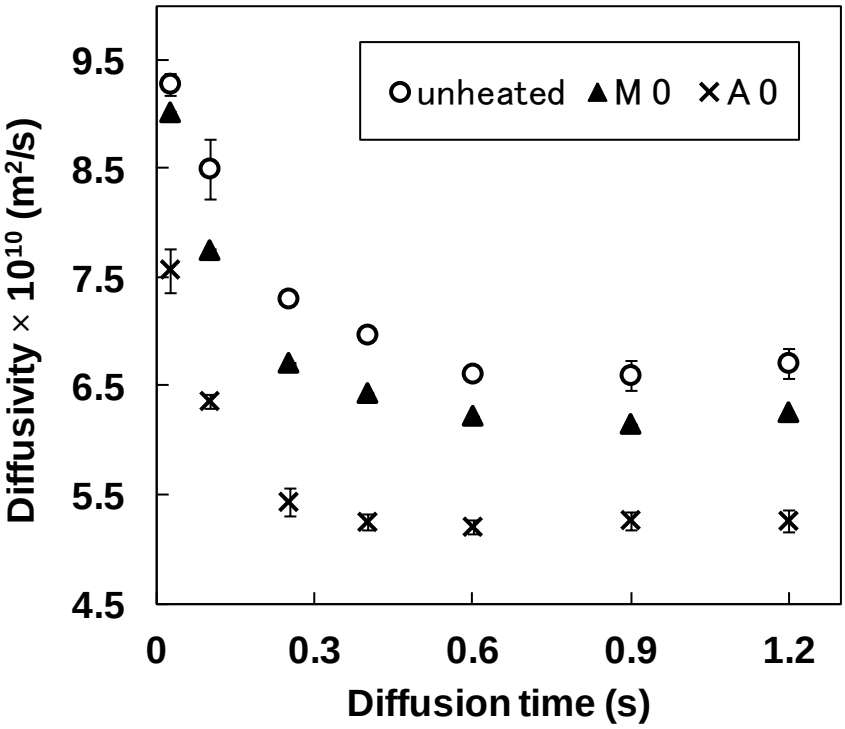


Figure 4-7 Moisture diffusivity against diffusion time. M and A show the kind of denatured protein, M means myosin and A means actin. Moreover, number means the non-denaturation ratio.

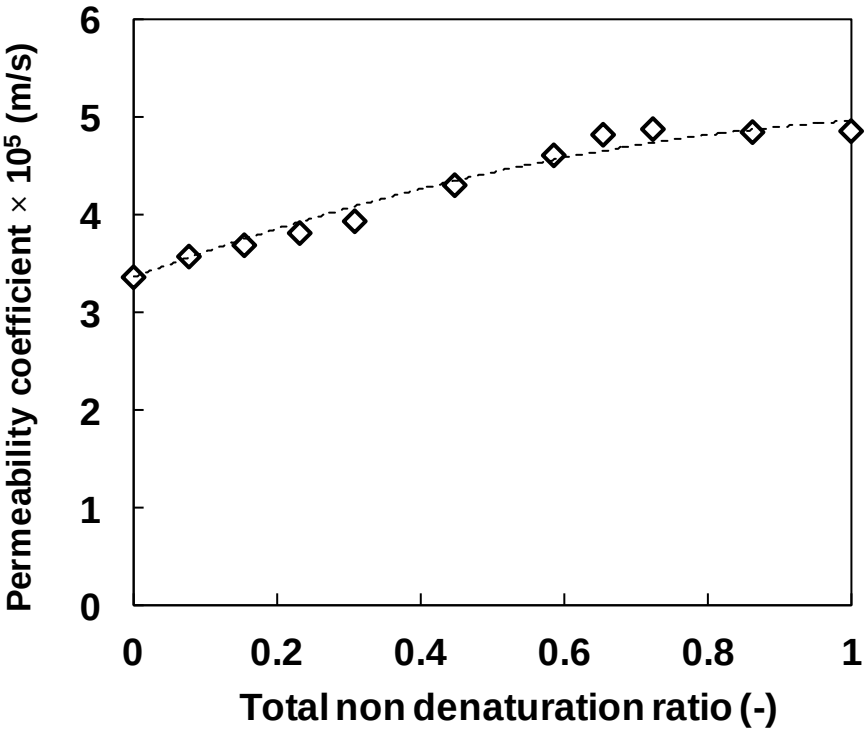


Figure 4-8 Changes of the permeability coefficient at various total non-denaturation ratio.

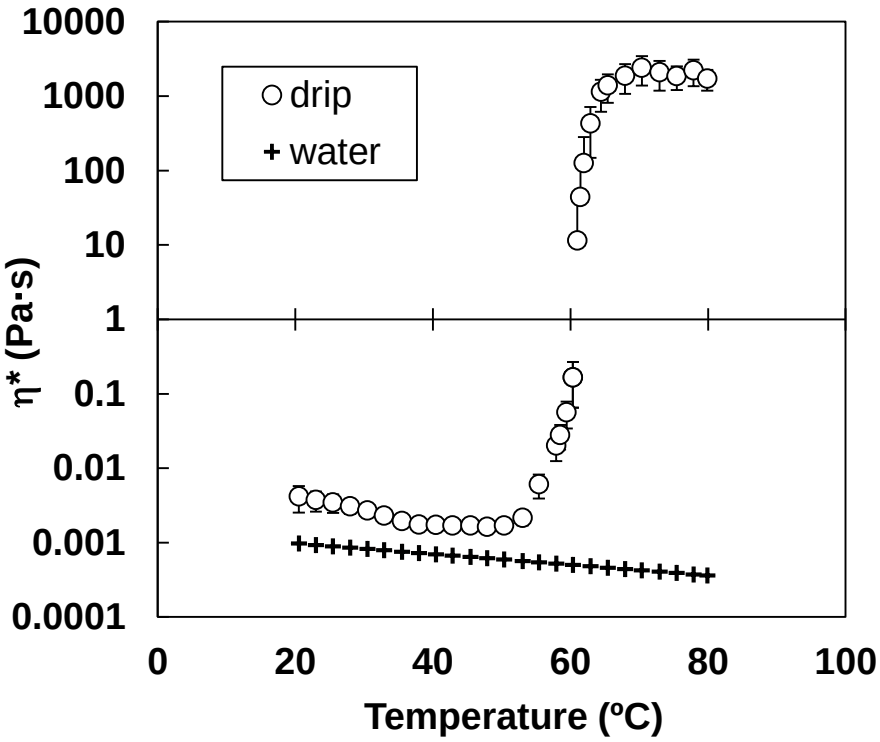


Figure 4-9 Changes in the dynamic visvosity of extraction water during temperature scanning (f=1.592 Hz, the stress =1.0 Pa) and the viscosity of pure water was also shown.

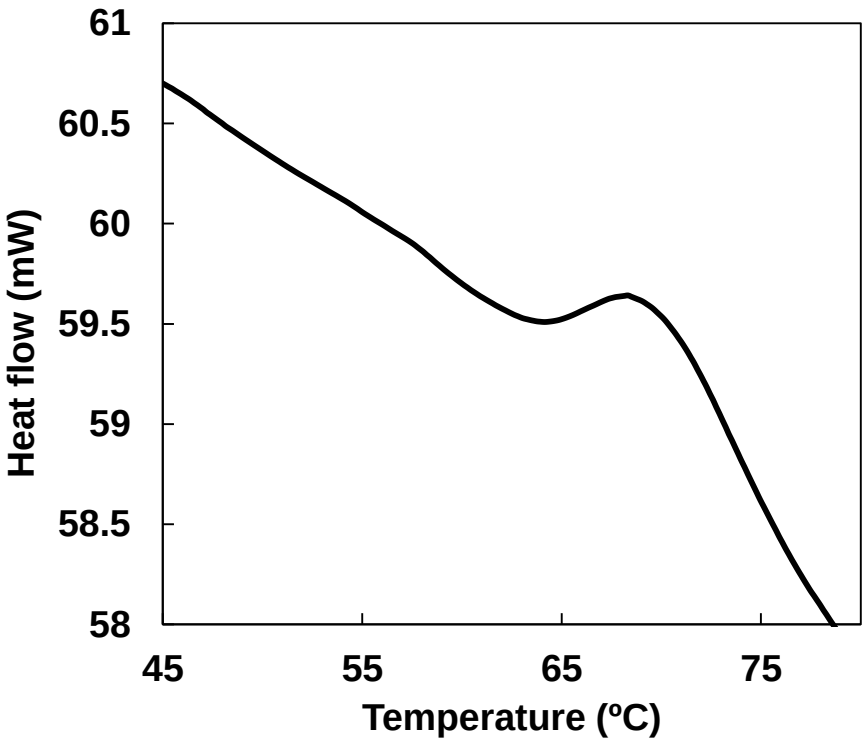


Figure 4-10 DSC thermogram of the water-soluble protein of drip with heating rate of 10 ºC/min.

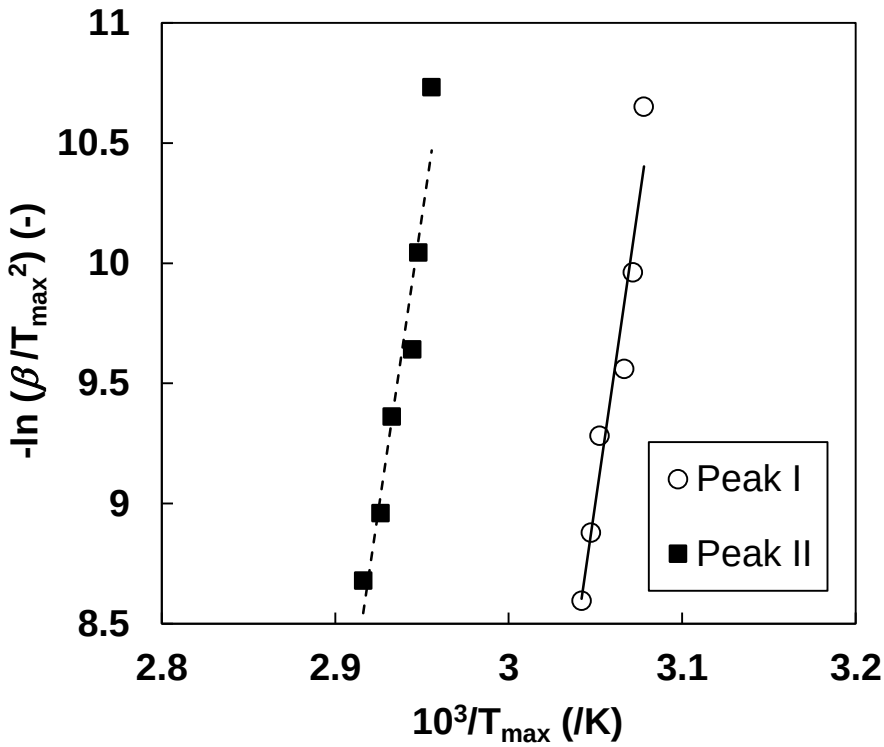


Figure 4-11 Ozawa plots for the water-soluble protein of drip thermal denaturation according to the DSC dynamic method.

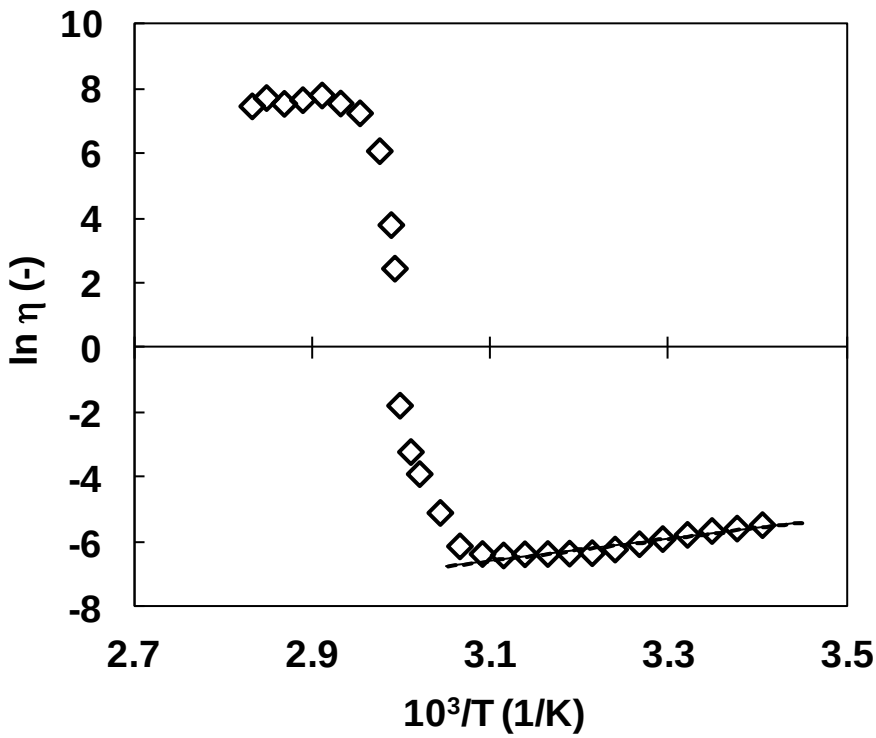


Figure 4-12 Relationship between the measured dynamic viscosity, η, and the heating temperature, 1/T.

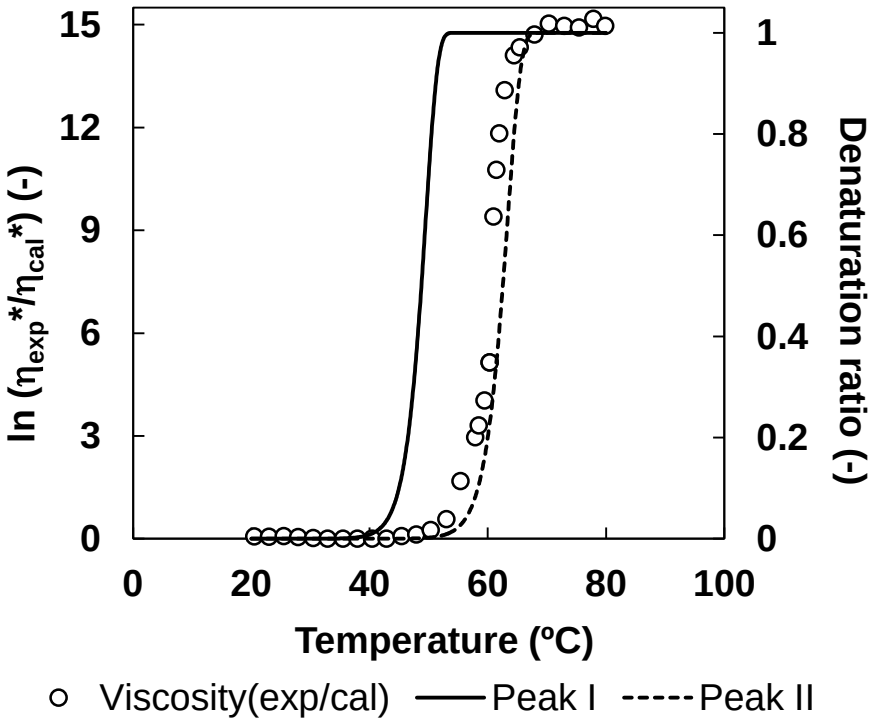


Figure 4-13 Comparison between the ratio $\eta_{exp}^{*}/\eta_{cal}^{*}$ and the protein denaturation ratio during heating from 20 ºC to 80 ºC at a heating rate of 1.0 ºC/min.

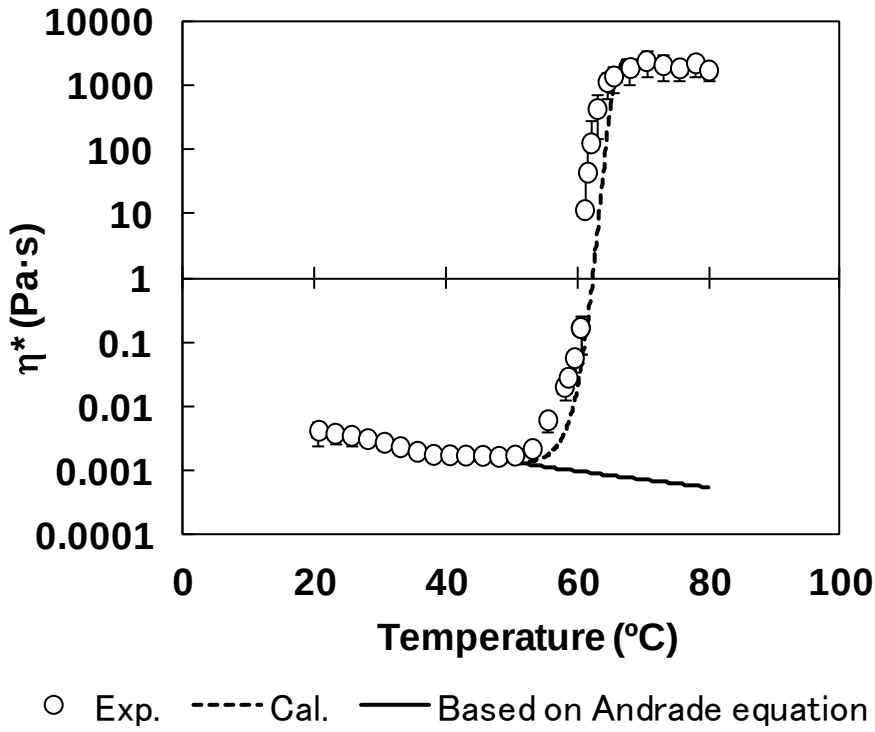


Figure 4-14 Comparison between the measured dynamic viscosity and the predicted value based on water-soluble protein denautraion ratio of extraction water.

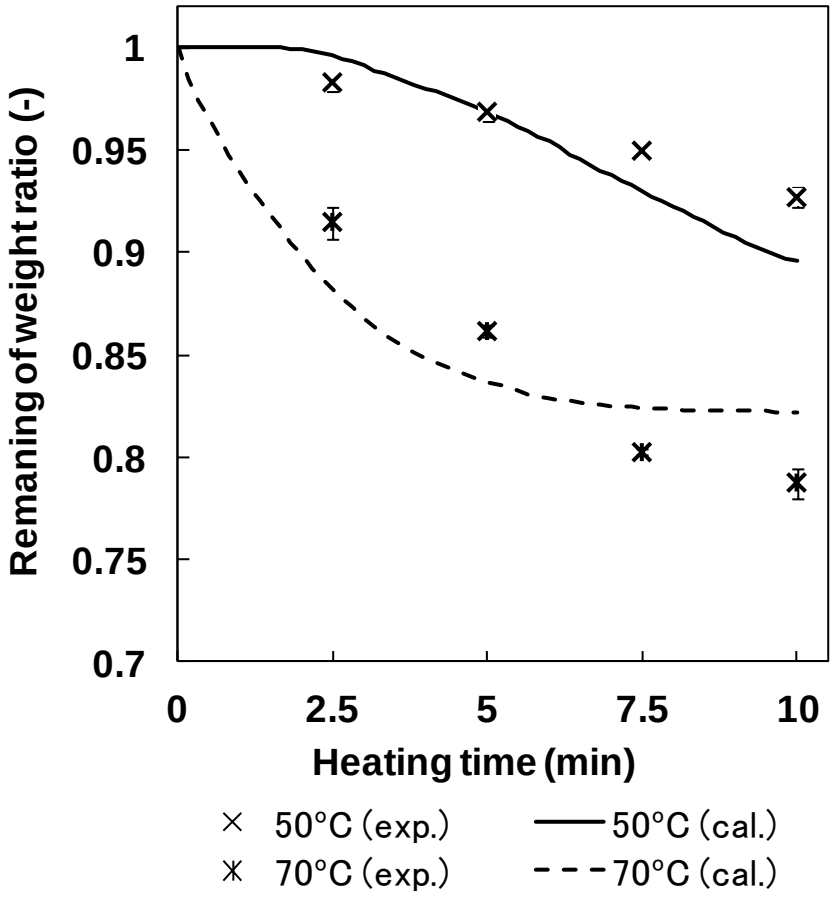


Figure 4-15 Comparison between the experimental value and the calculated values. Lines show the calculated values, plots shows the measured value.

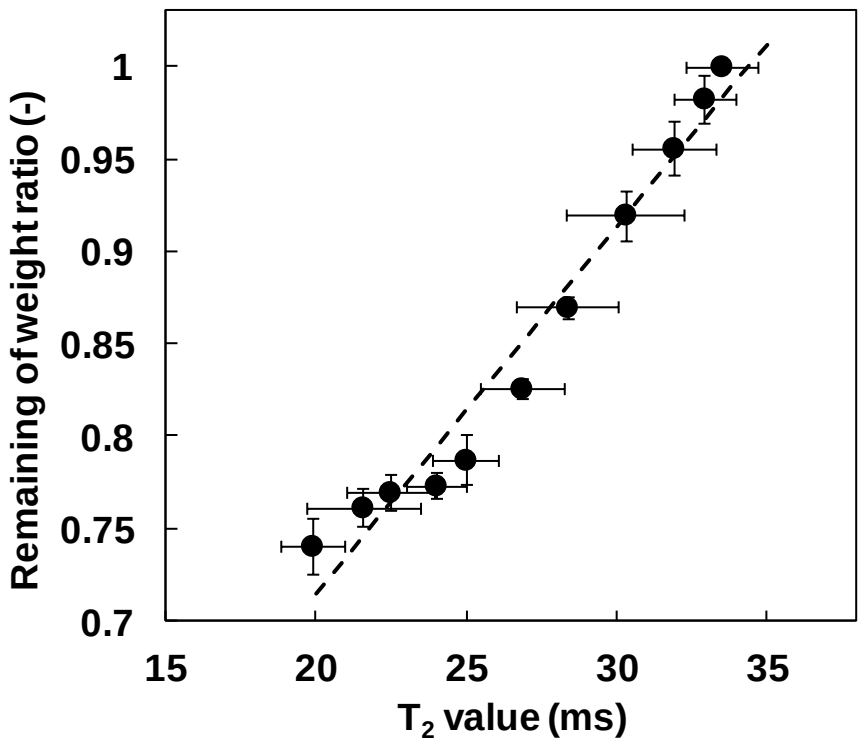


Figure 4-16 Relationship between T_2 and remaining of weighit ratio.

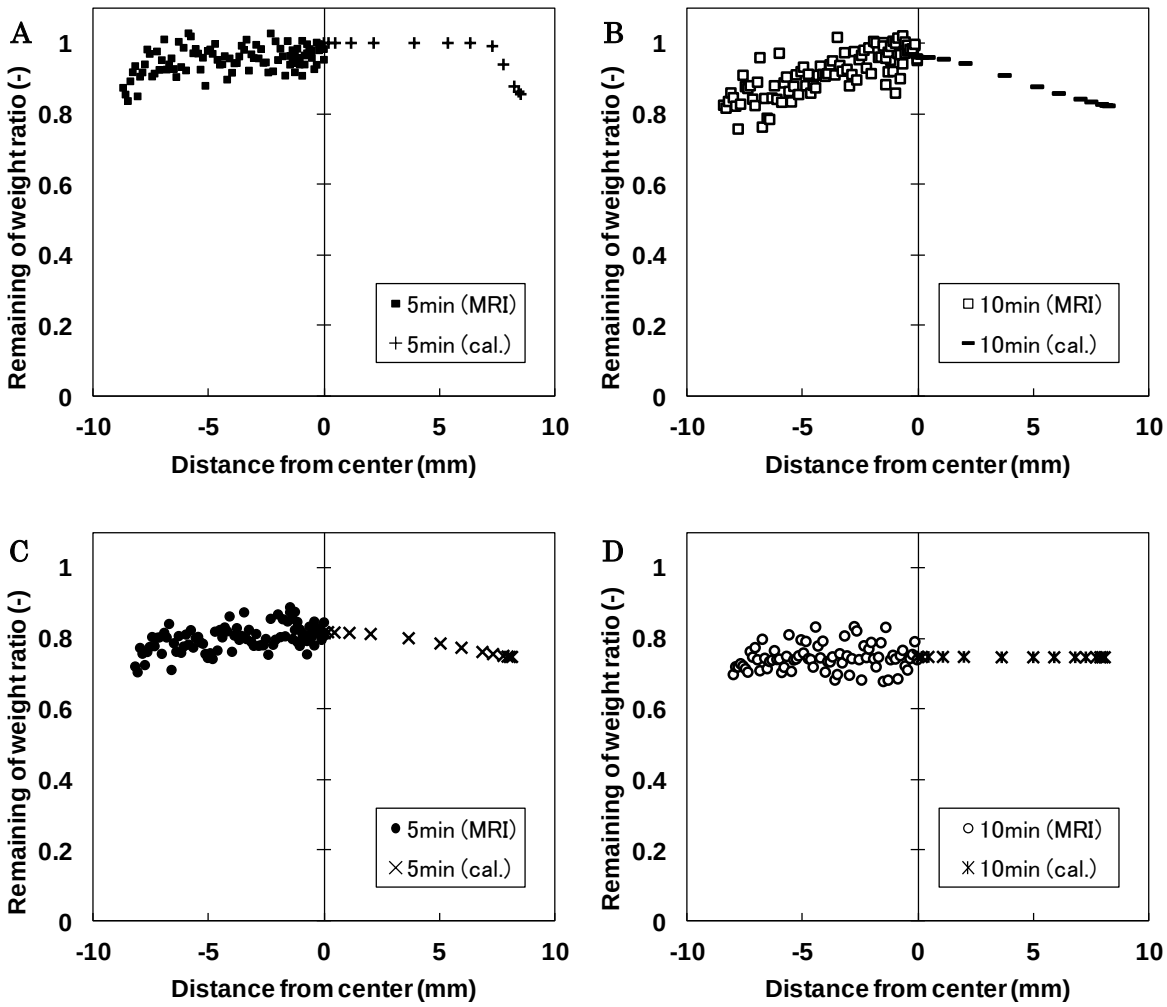


Figure 4-17 Comparison between experiment value and clculated remaining of wright ratio.The experiment value was converted from T2 value to remaining of weight ratio by calibration carve was shown in Figure 4-16.

4.5. 結論

本章では，畜肉加熱時の物質移動解析に着目をした。畜肉の物質移動現象は，試料内部に生じる圧力勾配を駆動力とするダルシーの法則に基づき説明できると考えた。ダルシーの法則には透過係数と粘度がパラメーターとして用いられる。そのため，これらのパラメーターを実測する必要があると考え，加熱に伴う畜肉構造の変化を反映した透過係数および粘度の決定と，物質移動モデルおよび決定したパラメーターの有効性について検証を行った。得られた結果は以下のようにまとめられる。

- 畜肉の加熱に伴う畜肉の収縮率が必要となるため，比重法により加熱に伴う体積変化（収縮率）を実験的に求めた。また，total タンパク質未変性率と収縮率の相関式を式であらわすことができた。
- 顕微鏡法を利用して計測した筋繊維の直径と，NMR 法により観測した拡散係数より，透過係数を推算した。また，total タンパク質未変性率と透過係数の相関を式であらわすことができた。
- 流体中に存在する水溶性タンパク質の加熱変性率とアンドレードの式より，任意の温度における動的粘度を推測することが可能となった。
- 物質移動解析を行った結果，実測値と解析値で多少，数値の差はあるものの，傾向が一致したことより，物質移動モデルおよび実験的に決定したパラメーターは妥当であると判断した。
- 今後，より厳密な物質移動解析を行うためには，ダルシーの法則のみならず，フィックの法則を考慮する必要があると示唆された。
- MRI 測定で観測した T_2 値と残重量率について較正曲線を作成し，マクロな試料における残重量率の分布と解析値を比較した。その結果，MRI 測定で算出した値（実測値）と解析値は多少，数値の差はあるものの，試料内部に形成される水分分布の傾向が一致した。

4.6. 記号説明

a	constant (-)
A	cross-sectional area (m^2)
C	concentration of non-denaturated protein (mol/g_{meat})
C_0	initial concentration of non-denaturated protein (mol/g_{meat})
C_t	concentration of non-denaturated protein at time t (mol/g_{meat})
d	the diameter of muscle fiber (m)

D	diffusivity coefficient (m^2/s)
D_0	diffusivity coefficient at 0.25 s (m^2/s)
D_∞	the average of diffusivity coefficient (0.9~1.2 s) (m^2/s)
E	signal intensity (-)
E_a	activation energy for the Arrhenius equation (kJ/mol)
E_{av}	activation energy for the Andrade equation (kJ/mol)
f	coefficient (m·s)
G	gradient in the magnetic field (Gauss/m)
H_0	enthalpy (J/g)
H_T	enthalpy at temperature (J/g)
k	rate constant of reaction (1/min)
K	permeability coefficient (m^2)
L	length (m)
P	pressure (N/m)
Q	volume flow (m^3/s)
R	gas constant (J/(mol·K))
t	time (s)
T	temperature (°C)
T_{max}	maximum peak temperature (°C)
T_a	ambient temperature (°C)
u	fluid velocity (m/s)
V_a	volume of sample after heated (m^3)
V_i	initial sample volume (m^3)
W_a	weight of sample after heated (g)
W_i	initial sample weight (g)
W_{sample}	sample weight (kg)
W_x	weight of specific gravity bottle and water (kg)
W_y	weight of specific gravity bottle, water and sample (kg)
X	non-denaturation ratio (-)
X_d	denaturation ratio (-)
X_t	total non-denaturation ratio (-)

X_v	volume change ratio (-)
X_w	remaining weight ratio (-)
Z	pre-exponential factor of the Arrhenius equation (1/min)
Z_v	pre-exponential factor of the Andrade equation (1/(Pa·s))

Greece symbol

β	heating rate (°C/min)
Δ	diffusion time (s)
λ	apparent permeability coefficient (m/s)
η	viscosity (cP), (Pa·s)
η^*	dynamic viscosity (Pa·s)
η_a^*	calculated dynamic viscosity based on the Andrade equation (Pa·s)
η_{cal}^*	calculated dynamic viscosity based on the protein denaturation ratio (Pa·s)
ρ	density (kg/m^3)
ω	flux of solution (kg/(m^2·s))

4.7. 本章の引用文献

1) Oezkan, N., Ho, I., & Farid, M. (2004), Combined ohmic and plate heating of hamburger patties: quality of cooked patties, *J. Food Eng.*, **63**, 141-145

2) Callaghan, P. T. (1991), Principle of Nuclear Magnetic Resonance Microscopy. Oxford University Press, Oxford.

3) Hostetler, R. L. & Landman, W. A. (1968), Photomicrographic studies of dynamic changes in muscle fiber fragments. 1. Effects of various het treatments on length, width and birefringence. *J Food Sci.*, **33**, 468

4) Bendal, J. R. & Restall, D. J. (1983), The cooking of single myofibres, small myofibre bundles and muscle stripes from beef M. psoas and M. sternomandibularis muscle at varying heating rates and temperature, *Meat Sci.*, **8**, 93-117

5) Palka, K. & Daun, H. (1999), Changes in texture, cooking losses, and myofibrillar structure of bovine M. semitendinosus during heating. *Meat Sci.*, **51**, 237-243

6) Tornberg, E., Andersson, K. & Josell, A. (1997), The rheological properties of whole and minced meat during cooking as related to sensory and structural characteristics. In

Proceedings of the 1st international symposium on food rheology and structure, **16-2013**, Zurich

7) 矢野俊正（1992），食品工学基礎講座　第１巻　食品工学の基礎，光琳，p.93

8) Van der Sman, Van der Sman, R. G. M. (2007), Moisture transport during cooking of meat: An analysis based on Flory-Rehner theory. *Meat Sci.*, **76**, 730-738

9) Van der Sman, R. G. M. (2007), Soft condensed matter perspective on moisture transport in cooking meat. *American Institute of Chemical Engineering*, **53**, 2986-2995

10) Feyissa, A.H., Adler-Nissen, J., Gernaey, K. V. (2013), 3D modeling of couple mass and heat transfer of a convection-oven roasting process. *Meat Sci.*, **93**, 810-820

11) Datta, A. K. (2006), Hydraulic permeability of food tissues. *J. Food Prop.*, **9**, 767-780

12) Tanner, J. E. & Stejkal, E. O. (1968), Restricted self – diffusion of protons in colloidal systems by the pulsed – gradient, spin - echo method. *J Chem. Phys.*, **49**, 1768-1777

13) Wossner, D. E. & Gutowsky, H. S. (1963), Nuclear pure quadruple relaxation and its temperature dependence in solids. *J Chem. Phys.*, **39**, 440-456

14) Wossner, D. E. (1961), Effect of diffusion in nuclear magnetic resonance spin – echo experiments. *J Chem. Phys.*, **34**, 2057-2061

15) Anismov, A. V., Sorokina, N. Y. & Dautova, N. R. (1998), Water diffusion in biological porous systems: a NMR approach, *Magn. Res. Imaging*, **16**, 565-568

16) Kinesy, S.T., Locke, B.R., Penke, B. & Moerland, T. S. (1999), Diffusional anisotropy is induced by subcellular barriers in skeletal muscle. *NMR in Biomedicine*, **12**, 1-7

17) 安藤寛子，福岡美香，宮脇長人，鈴木徹（2006），凍結・解凍による食品ダメージ程度の NMR による評価，日本冷凍空調学会論文集，**23**，305-312

18) Ruiz- Cabrera, M. A., Gou, P., Foucat, L., Renou, J. P. & Daudin, J. D. (2004), Water transfer analysis in pork meat supported by NMR imagin. *Meat Sci.*, **67**, 169-178

19) Alberts, B., Bray, D., Lulian, J., Raff, M., Robaets, K. & Watoson, J. D.，中村桂子（訳），松原謙一（訳），（1987），The CELL 細胞の分子生物学，教育社，pp.255，1099-1110

20) Ito, Y., Nishimura, T., Hattori, A., Toki, S., Omori, T., Ide, H. & Tatsumi, R. (2004), Physicochemical properties of water-soluble myofibrillar protein prepared from chicken breast muscle. *Ani. Sci. J*, **75**, 59-65

21) Den Hertog-Meischke, M. J. A, Smulders, F. J. M. & Van Logtestijn, J. G. (1998), The effect of storage temperature on drip loss from fresh beef. *J Sci. Food and Agri.*, **78**, 522-526

22) Den Hertog-Meischke, M. J. A, Smulders, F. J. M., Van Logtestijn, J. G. & Van Knapen, F. (1997), The effect of electrical stimulation on the water-holding capacity and protein denaturation of two bovine muscles. *J Animal Sci.*, **75**, 118-12

23) Ngapo, T.M., Babare, L.I., Reynolds, J. & Mawson, R.F. (1999), A preliminary investigation of the effects of frozen storage on samples of pork. *Meat Sci.*, **53**, 169-177

24) Anon, M.C. & Calvelo, A. (1980), Freezing rate effects on the drip loss of frozen beef. *Meat Sci.*, **4**, 1-14

25) Findlay, C., J., Parkin, K. L. & Stanley, D. W. (1989), Differential scanning calorimetry can determine kinetics of thermal denaturation of beef muscle protein. *J Food Biochem.*, **10**, 1-15

26) Tornberg, E. (2005), Effects of heat on meat proteins – Implications on structure and quality of meat products. *Meat Sci.*, **70**, 493-508

27) Wright, D. J., Leach, I. B. & Wilding, P. (1977), Differential scanning calorimetric studies of muscle and its constituents. *J Sci. Food Agric.*, **28**, 557

28) 落合芳博 (2010)，クロマグロで発生したヤケ肉における肉質の変化および水溶性タンパク質の変性，日本水産学会誌，**76**，695-704

29) Hunt, M. C., Sorheim, O. & Slinde, E. (1999), color and heat denaturation of myoglobin forms in grand beef. *J Food Sci.*, **64**, 847-851

30) 石原 眞興，佐野 秀二（2001），紛体塗料の融解過程におけるレオロジー，DNT コーティング技法，**1**，2-5

31) 矢部晋太郎，福岡美香，酒井昇（2012），スパゲティ茹で調理の水分移動に影響を及ぼすデンプンの構造変化，熱物性，**26**，179-186

第5章 加熱処理における畜肉内の呈味成分の消長

5.1. はじめに

ヒトは調理を行う際，食材が美味しくなるよう無意識のうちに心がけている。また，約半世紀も前から，食品産業や研究機関にて官能評価が用いられており[1,2]，多くの研究者が「美味しい食べ物とはどのようなものか」について突き詰めていることからも，美味しさに関わる因子をシミュレーション手法により予測する意義は大きい。食材の種類により，美味しさに寄与する要素は異なるが，畜肉の美味しさを決定づけている主要素は，食感，味，香りである[4]。食感については，第 3 章にてタンパク質変性度と食感（テクスチャー）を反映する弾性率，MRI 法により水の運動性を反映する横緩和時間 T_2 分布の算出を行った。そこで本章では呈味成分に着目をした。畜肉の主な味は，旨味，こく，まろやかさの 3 種類存在し，このうち，旨味が強く，こくとまろやかさが十分にあると，ヒトは食肉を美味しく感じると言われている[3]。また，畜肉の旨味の発現は，遊離グルタミン酸とイノシン酸が寄与していることが知られている。しかし，既存の研究において，畜肉加熱処理過程における両旨味成分の消長を予測した報告はなく，両旨味成分を予測するための反応モデルの構築や, 速度パラメーターの推定が行われていない。そこで本研究は, 試料中に残存する呈味成分の定量を行い，加熱処理に伴う呈味成分の消長を把握し，定量結果より各成分を予測するための予測反応モデルを検討した。その後, 二次元円筒形モデルを対象とし, 同一条件下で加熱処理した際の両成分の残存量を予測するとともに，畜肉内部に形成される両成分の分布を比較した。

5.2. 実験

5.2.1. L-グルタミン酸キットによるグルタミン酸の定量

実験試料には，市販されているスライス状国産牛モモ肉を使用した。スライス状の試料は，厚みが約 1.0 mm と薄いことから，一次元無限平板であるとみなせる。そこで，第 2 章で求めたタンパク質変性速度パラメーターを用いてタンパク質変性度分布を予め予測し, Table 5-1 に示す加熱処理条件を決定すると共に, 恒温湯槽 (TR-4 型, アズワン㈱) を用いて等温加熱処理を行った。加熱処理後はタンパク質変性度を進行させない為，加熱処理終了後，直ちに氷水で冷却した。また，温度分布が生じる系として，市販されているブロック状国産牛モモ肉を使用し，円筒形食品カッター（内径 20 mm，㈲カツミチコーポレーション）を用いて，直径 20 mm，高さ 20 mm の円筒に成形した。その後, 恒温湯槽 (TR-4 型, アズワン㈱) を用いて 50 ºC もしくは 70 ºC で 2.5, 5.0，7.5 および 10 分間等温加熱処理後，タンパク質の変性を進行させない為，氷水で直ちに冷却した。

グルタミン酸を定量するための抽出方法は，千国ら[1]の方法に基づき行った。等温加熱処理した試料ならびに未加熱試料 5.0 g に蒸留水 8.0 ml を加えホモジナイズ後，12.5 ml に定容した。このホモジネート 4.0 ml に，2.0 ml の 10%トリクロロ酢酸を加え撹拌し，4 ºC で 14,000×g ，10 分間遠心分離（himac CF15RXⅡ，日立工機㈱）することでタンパク質を沈殿させた。その後，上清液を採取し，孔径 0.45 μm のニトロセルロースィルターでろ過したものを検体液とした。試料中に含まれるグルタミン酸の定量は，L-グルタミン酸キット II（ヤマサ）を用いた。

5.2.2. HPLC 法によるイノシン酸の定量

イノシン酸を定量するための実験試料には，と殺後 3 から 5 日経過したメスの国産牛モモ肉を用いた。試料は，と殺場で 3 日間 5 ºC で保管されたのち，小売店にて 5 ºC で 2 日間保管されている。本実験は，同一条件で保管された 5 つの牛肉を用いて行った。また加熱処理には厚さ 1.0 mm にスライスされた市販国産牛モモ肉を用い，プラスチックバック（耐ピンホール三方袋（CP30/NY15/SPE15/LLD60），㈱メイワパックス）に充填後，真空包装機（FVC-Ⅱ型，㈱古川製作所）で脱気・密封した。その後，30，32，35，38，40，42，45，50，55，60，65 および 70 ºC の異なる 12 種類の温度に設定した恒温湯槽（TR-4 型，アズワン㈱）で等温加熱処理し，加熱終了後は恒温湯槽から試料を取り出し，氷水で試料温度が 20 ºC に到達するまで冷却した。等温加熱処理した試料ならびに未加熱試料 2.0 g に 10%過塩素酸溶液 5.0 ml を加えホモジナイズ後，4 ºC で 14,000 × g ，10 分間遠心分離（himac CF15RXⅡ，日立工機㈱）した。上清液を採取した後，沈殿部に再度 10%過塩素酸溶液 5.0 ml を加え，同様の条件で遠心分離し，上清液を合一後，25 ml に定容した。これを試料抽出溶液とした。

HPLC 法による試料中に含まれるイノシン酸の定量方法は，永峰ら[9]の方法に従い行った。まず，抽出液 1.0 ml を分取し，10 mol/L と 1.0 mol/L の水酸化カリウム溶液を用いて pH7.0 に中和した。そして，5 ºC で 16,000×g ，2 分間遠心分離（himac CF15RXⅡ，日立工機㈱）し，採取した上清液を蒸留水で 10 倍希釈し，さらに孔径 0.45 μm のメンブレンフィルターでろ過したものを検液とした。HPLC 分析は，検液 20 μl を 30 ºC に設定した直径 7.6 mm，長さ 300 mm のカラム（Asahipak GS-3200HQ，昭和電工㈱）に注入し，0.2 mol/L リン酸二水素ナトリウム緩衝液（pH2.9）の移動相，流速 0.6 ml/min で分離溶出させ，紫外可視検出器（L-7420，㈱日立製作所）を用いて，検出波長 200 nm におけるイノシン酸を検出した。

Table 5-1 Heat treatment condition (temperature and time) and the thermal denaturation profile of meat sample used for quantification of concentration of glutamine acid.

Heating condition		Total non-denaturation ratio (-)		
Temp. (°C)	Time (min)	Myosin	Actin	Total
45	2.72	0.75	1.0	0.83
	6.75	0.50	1.0	0.65
50	3.20	0.25	1.0	0.48
	16.0	0	1.0	0.31
65	2.12	0	0.75	0.23
	5.10	0	0.5	0.15
70	1.42	0	0.25	0.08
	7.06	0	0	0

5.3. 解析

5.3.1. 差分近似法を用いた熱伝導解析

試料中に含まれるイノシン酸の定量するにあたり，加熱処理時に畜肉をプラスチックバックに脱気・密閉している。そのため，試料表面と中心位置において不均一な温度分布が形成させることが懸念される。そこで今回，差分近似法を用いて，フーリエの法則に基づく熱伝導方程式を解き，試料とプラスチックバックが接する面および試料中心位置の温度履歴の計算を試みた。

フーリエの法則に基づく非定常熱伝導の基礎方程式は，(5-1)式であらわされる。

$$\kappa \cdot \nabla^2 T - \rho c_p \frac{\partial T}{\partial t} = 0 \tag{5-1}$$

ここで，κ（W/（m･K））は熱伝導率，T（K）は温度，t（s）は時間，ρ（kg/m^3）は密度，c_p（J/（kg･K））は定圧比熱を示す。また，伝熱解析に必要な熱物性値である熱拡散率α（m^2/s）は，(5-2)式であらわされる。

$$\alpha = \frac{\kappa}{c_p \rho} \tag{5-2}$$

したがって(5-1)式は，温度 Tと場所 xと時間 tの 2 変数を用いた，(5-3)式であらわすことができる。

$$\frac{\partial T}{\partial t} = \alpha \frac{\partial^2 T}{\partial x^2} \tag{5-3}$$

(5-3)式に示した熱伝導方程式の左辺を，温度 Tの変数である時間 tに関する 1 回の微分を前進差分近似で解くと，(5-4)式であらわされる。

$$\frac{\partial T}{\partial t} = \frac{T_{i,j+1} - T_{i,j}}{k} \tag{5-4}$$

ここで，k（s）は時間 tの刻み幅を示す。

次に，(5-3)式に示した熱伝導方程式の右辺を，温度 Tの変数である場所 xに関する 2 回微分を，差分近似法で解くと，(5-5)式であらわされる。

$$\frac{\partial^2 T}{\partial x^2} = \frac{T_{i+1,i} + T_{i-1,j} - 2T_{i,j}}{h^2} \tag{5-5}$$

ここで，h（m）は場所 xの刻み幅を示す。以上より，数値計算による伝熱方程式の近似解は，(5-6)式であらわされる。

$$T_{i,j+1} = T_{i,j} + \alpha \frac{k}{h^2}\left(T_{i+1,j} + T_{i-1,j} - 2T_{i,j}\right) \tag{5-6}$$

また，差分近似法で解が収束するための条件を(5-7)式に示す。

$$\frac{\Delta t}{(\Delta x)^2}\alpha < 0.5 \tag{5-7}$$

厚み 1.0 mm（片面の厚み 500 μm）のプラスチックバックに，厚さ 1.0 mm に畜肉を充填し，脱気・密閉したモデルを仮定した。本実験では，試料調整時の熱媒体として水を使用したことから，熱伝達率は非常に大きいとみなし，加熱直後にプラスチックバックの表面が，恒温湯槽の設定温度に到達するとみなした，(5-8)式に示す境界条件を採用した。さらに，初期条件として，加熱開始時 t=0 において，試料内部に不均一な温度分布は生じていないと仮定すると，

$$T = T_a \tag{5-8}$$

$$T = T_{in} \tag{5-9}$$

ここで，T_{in}（K）はプラスチックバックおよび畜肉の初期温度を示す。

本実験で使用したプラスチックバックの主な素材はポリエチレンであることから，伝熱解析に必要な物性値である熱伝導率κ（W/（m･K））＝0.56，ρ（kg/m^3）＝940，c_p（J/（kg･K））＝2300 を，畜肉の熱物性値に関しては，熱拡散率α（m^2/s）＝1.40 × 10^{-7} を用いた。また全ての物性値において，温度依存性はないとみなした。時間 t の刻み幅である，k（s）＝0.03，場所 x の刻み幅である h（m）＝5.0×10^{-5} とし，収束条件を満たすように設定し，初期温度 10 ºC におけるプラスチックバックと畜肉試料が接する面および，試料中心位置の等温加熱処理時における温度履歴の計算を行った。

5.3.2. 結果および考察

30～70 ºC の異なる 12 種類の加熱処理温度のうち，典型例として最も加熱処理温度の低い 30 ºC，40 ºC および 65 ºC で加熱した際のプラスチックバックと畜肉試料が接する面および，試料中心位置の温度履歴の計算結果を Figure 5-1 に示した。全ての温度において，加熱媒体からの距離が近いプラスチックバックと畜肉試料が接する面（Figure 5-1 では plastic film と表記）は試料中心位置（Figure 5-1 では meat と表記）よりも加熱開始初期において温度上昇が著しい様子が見て取れる。しかし，温度遅れが生じている試料中心においても，加熱開始から約 15 秒で環境温度に到達していることが予測計算より明らかとなった。等温加熱処理に要する時間は最短で 15 分であることから，試料全体が環境温度に到達するまでに要する 15 秒はごくわずかであることから，今回，プラスチックバックの包装や，試料の厚みに伴う温度遅れは無視することができると判断した。

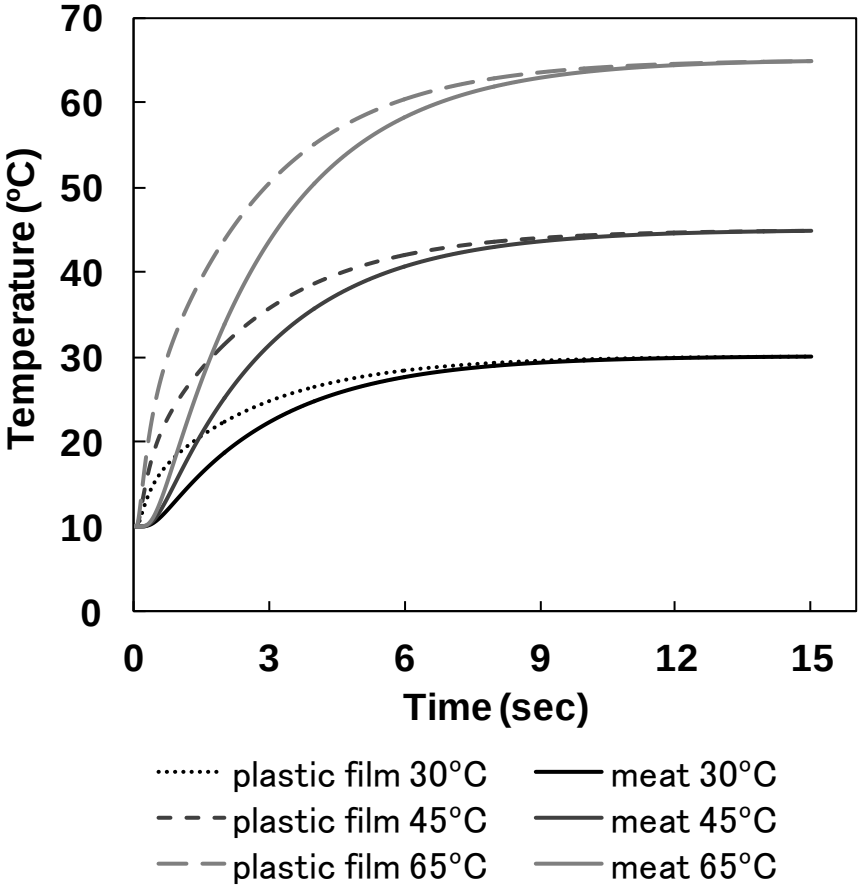


Figure 5-1 Results of heat transfer analysis was based on difference approximation. The dotted lines show the boundary temperature of a plastic film and meat, and the solid lines show the core temperature of meat.

5.4. 結果および考察

5.4.1. グルタミン酸

アミノ酸のひとつであるグルタミン酸（以後，Glu）は，タンパク質の構成物質として存在するものと，単体で存在する遊離グルタミン酸と 2 種類存在する[1]。このうち，畜肉の呈味のひとつであるうま味の発現に大きく寄与するのは，単体で存在する遊離グルタミン酸とナトリウムイオンが結合した，グルタミン酸ナトリウム（以後，MSG: monosodium glutamate）と後述するイノシン酸（以後，IMP）である[3]。MSG と IMP の共存下では，うま味が相乗的に強くなることが知られているが，一定量の MSG と IMP の混合溶液では，それぞれが等量存在しているときに最もうま味が強くなる。これに対して IMP が一定量存在する場合は，MSG 濃度が高くなればなるほどうま味が発現されるため，うま味の発現には，MSG 濃度，すなわち Glu 濃度に大きく依存することとなる[3]。

未加熱試料中に含まれる Glu 量（以後，Glu 初期含量 C_G μmol/g_{meat}）は，畜肉の種類，品種，部位によって異なる。その為，既存の研究で報告されている畜肉中の Glu 初期含量 C_G は，0.29～1.04 μmol/g_{meat} と幅広い[1, 3-8]。本実験で使用した試料中の Glu 初期含量 C_{G0} は 0.32± 0.01 μmol/g_{meat} であり，報告されている範囲内の値であることから，測定結果は妥当であると判断した。また，未加熱中の Glu 初期含量 C_{G0} の標準偏差が小さいことから，実験に使用した複数の牛肉試料の品質は同程度であるとみなした。

次に，等温加熱処理した試料中に残存する Glu 量 C_{G0} (μmol/g_{meat}) を評価するにあたり，(5-10)式を用い Glu 量を無次元化し，Glu 量 C_G を Glu 残存率 X_G（－）として，以後取り扱った。

$$X_G = \frac{C_G}{C_{G0}} \tag{5-10}$$

Table 5-1 に示した加熱処理条件に従い等温加熱処理した際の，total タンパク質未変性率に対する Glu 残存率変化 X_G を Figure 5-2 に示した。また，Glu は水溶性アミノ酸であることから，遊離アミノ酸の一部が加熱によって離水した水溶液中に溶出し，減少することが予想される。そこで Figure 5-2 に，Glu 残存率変化に加え，(5-11)式に従い算出した残重量率 X_w（－）をあわせて示した。

$$X_w = \frac{W_a}{W_i} \tag{5-11}$$

ここで W_i（g）は加熱前の試料重量，W_a（g）は加熱後の試料重量を示す。

Figure 5-2 より，タンパク質の変性の進行に伴い，Glu 残存率が徐々に低下すること，さらには残重量率 X_w の減少傾向と類似していることが明らかとなった。千国ら[1]は 70 ºC で加熱した際，豚肉中に含まれる Glu 量が約 20%減少した原因として，加熱による分解ではなく，水溶液へ

の溶出が原因であると報告している。すなわち，今回加熱処理条件に用いた温度帯（45～70 ºC）でも同様に，Glu が熱分解されたと考えるのは難しい。また，残重量率と同様な減少傾向であった点からも，Glu は加熱中，タンパク質変性に伴い離水した水溶液中に溶出し，減少したと考えられる。すなわち，畜肉中に残存する Glu 量を予測するためには，第 4 章に示した，ダルシーの法則に基づく物質移動解析に従って，残重量率を算出すればよいことが示唆された。

そこで次に，温度分布が生じる系として調整した直径 20 mm，高さ 20 mm の円筒形試料についても同様に，Glu 残存率変化 X_G と残重量率 X_w（－）を比較し，Figure 5-3 に示した。Figure 5-3 より，Glu 残存率と残重量率は加熱時間の経過に伴い減少していること，タンパク質の変性が進行している 70 ºC 試料の方が，50 ºC 試料よりも値が低下している様子が見て取れる。また，スライス状の試料と同様に，Glu 残存率と残重量率の値はほぼ同程度であることから，やはり，残重量率を算出することで，Glu 残存率を予測することが可能であると確認することができた。

5.4.2. イノシン酸

と殺直後の牛肉は，酸味が強く美味しくないが，熟成した牛肉は酸味が弱くなり，まろやかとなることで風味ならびに味が改善される。これは熟成期間において，食肉の主な呈味成分である IMP，遊離アミノ酸およびペプチドの増加が原因として挙げられる[3,10]。このうち IMP は，と殺直後にはほとんど存在しないが，熟成に伴い増加する。これは，IMP はアデノシン三リン酸（ATP），アデノシン二リン酸（ADP），アデノシン一リン酸（AMP），イノシン（inosine）およびヒポキサンチン（hypoxanthine）に分類される核酸関連物質のひとつであること[11]，熟成期間中に ATP，ADP および AMP が分解されることで増加する。

未加熱試料中に含まれる IMP 量（以後，IMP 初期含量 C_{I0} μmol/g_{meat}）は，畜肉の種類，性別，品種，と殺時の年齢に依存する [12]。その為，既存の報告においても牛肉中の IMP 初期含量 C_{I0} は，Maga[13]は 2.7～11.3 μmol/g_{meat} であるのに対し，Madruga[14]は 1.76 μmol/ g_{meat} と異なる値を報告している。本実験で使用した試料中の IMP 初期含量 C_{I0} は 3.04 ± 0.31 μmol/g_{meat} となり，既存の報告値と多少異なるが，今回使用した品種が既存の報告で定量されていない国産である点や，Maga[13]が報告した値の範囲内である点から，測定結果は妥当であると判断した。さらに，未加熱中の IMP 初期含量 C_0 の標準偏差が小さいことから，実験に使用した 5 つの牛肉試料の品質は同程度であるとみなした。また，Terasaki ら[15]は，ATP から IMP までは速やかに分解されるが，IMP からイノシンへの分解は緩やかであるため，と殺して 2 日後 IMP の濃度は最大値を示すと報告している。本実験で使用した試料は，と殺後 3 から 5 日経過しているため最大値ではなく，IMP からイノシンへの分解が開始している時期であると推定できる。

次に，等温加熱処理した試料中に残存する IMP 量 C_I（μmol/g_{meat}）を評価するにあたり，(5-12)式を用い IMP 量を無次元化し，IMP 量 C_I を IMP 残存率 X_I（－）として，以後取り扱った。

$$X_I = \frac{C_I}{C_{I0}} \tag{5-12}$$

Figure 5-4 に，35，40，55，60 および 70 ºC で等温加熱処理した試料中の IMP 残存率 X_I の時間変化を示した。Figure 5-4 より，加熱処理温度 35～60 ºC は加熱時間の経過に伴い，IMP 残存率が徐々に低下することが確認できた。また，なかでも 40 ºC 試料は全ての加熱時間において IMP 残存率は最も低下しており，これは Ishii ら[16]の実験結果と同様な傾向であった。冨岡ら[17]は肉類の加熱処理中における IMP 分解は，IMP 分解酵素の酵素活性度ならびに熱安定性に依存し，pH6.0 の牛肉は，IMP 分解酵素の酵素活性は 45～48 ºC で 50%以下になると報告している。そこで，IMP 分解酵素の失活温度帯を検証するため，全ての加熱処理温度における加熱時間 60 分における IMP 残存率を Figure 5-5 に示した。Figure 5-5 より，加熱温度 30～40 ºC までは温度上昇と共に IMP 残存率は低下するが，その後は温度上昇に伴い IMP 残存率は高くなり 65 ºC ならびに 70 ºC に至っては初期含量（＝未加熱試料）とほぼ等しい様子が見て取れる。また，冨岡ら[17]が報告した IMP 分解酵素の失活温度帯（45～48 ºC）で加熱処理した試料は，40 ºC 試料の残存率よりも高い値であることを確認できた。このような挙動の原因として，IMP 分解酵素の失活に伴う IMP 分解の抑制が挙げられる。したがって，IMP 残存率を予測するには，IMP 分解反応と，IMP を分解する酵素の酵素活性度低下反応の 2 種類を考慮した反応モデルを構築する必要があると判断した。また本研究では，IMP 残存率が最小値となった加熱処理温度 40 ºC 付近を IMP 分解酵素の至適温度帯と考え，40 ºC より高い温度帯で加熱処理をした場合のみ，IMP 分解酵素の酵素活性が低下すると仮定し，モデル構築を試みた。

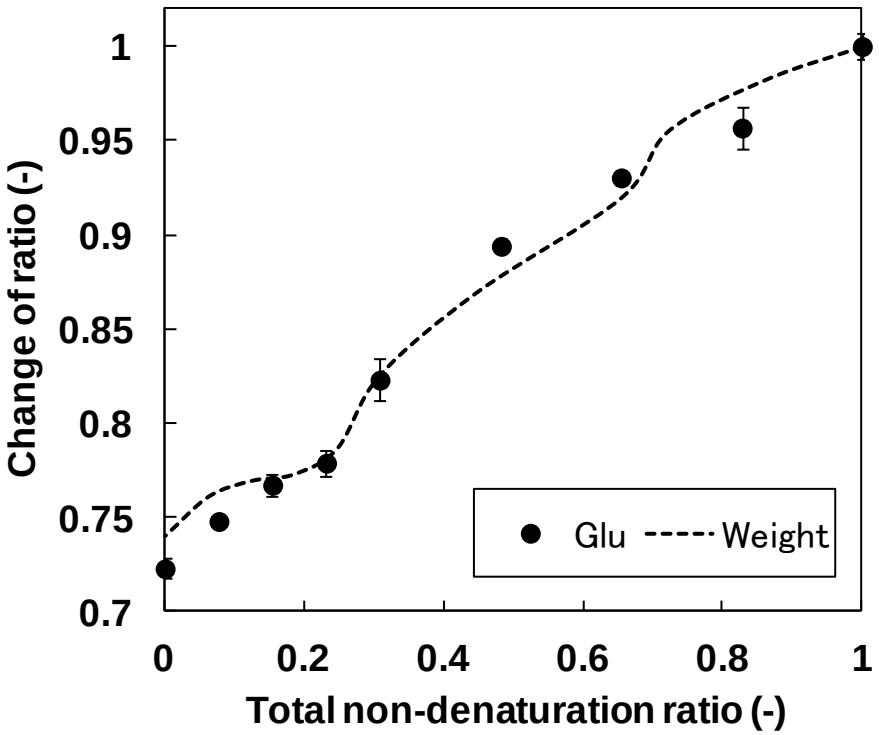


Figure 5-2 Comparison with the remaining Glu ratio and remaining weight ratio at various total non-denaturation ratio.

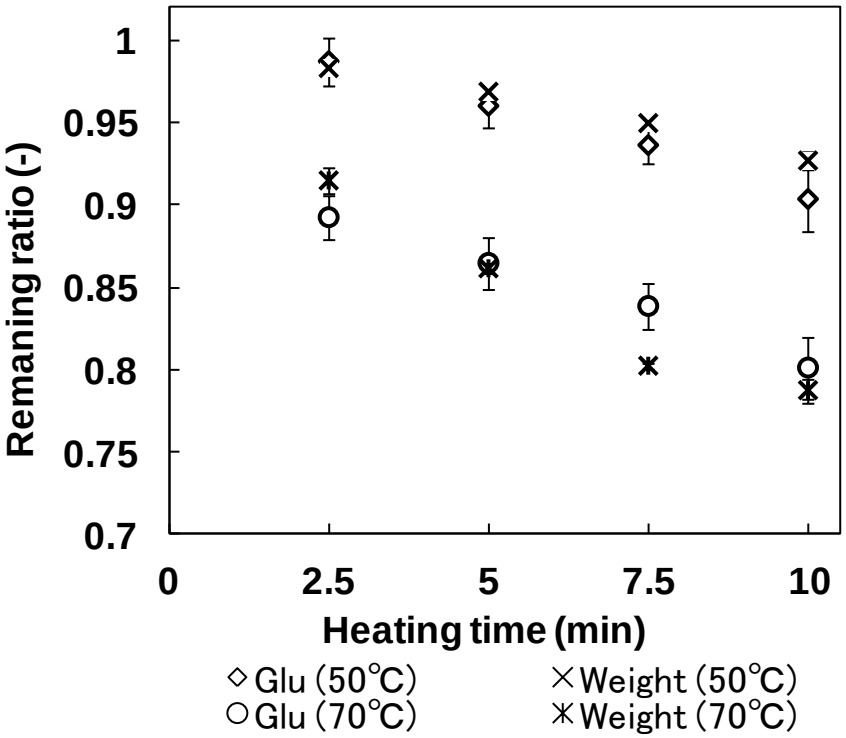


Figure 5-3 Comparison with the remaining Glu ratio and remaining weight ratio during heating.

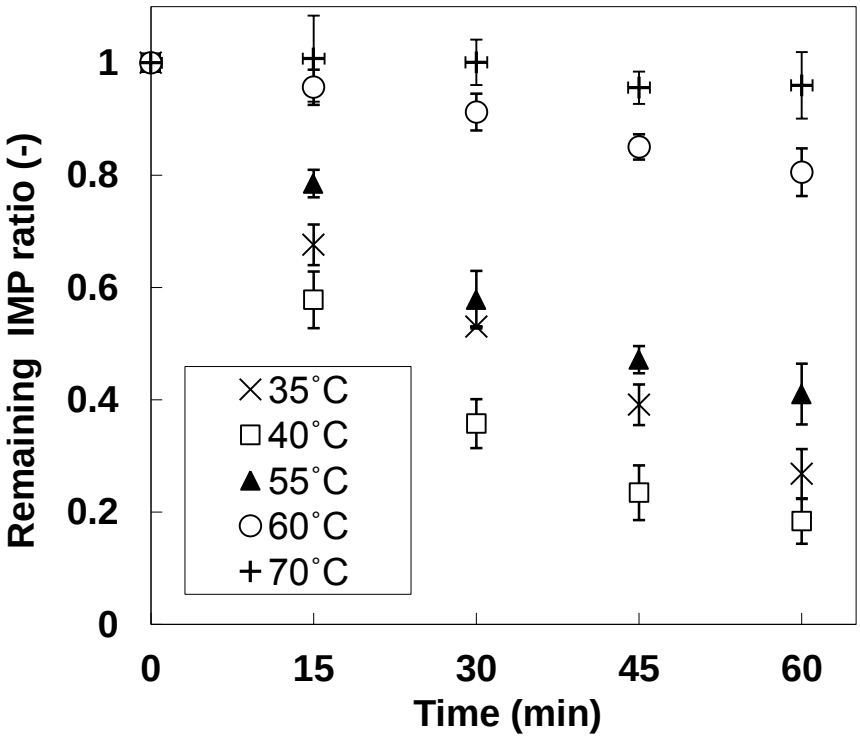


Figure 5-4 Changes in the remaining IMP ratio during heating at various temperatures.

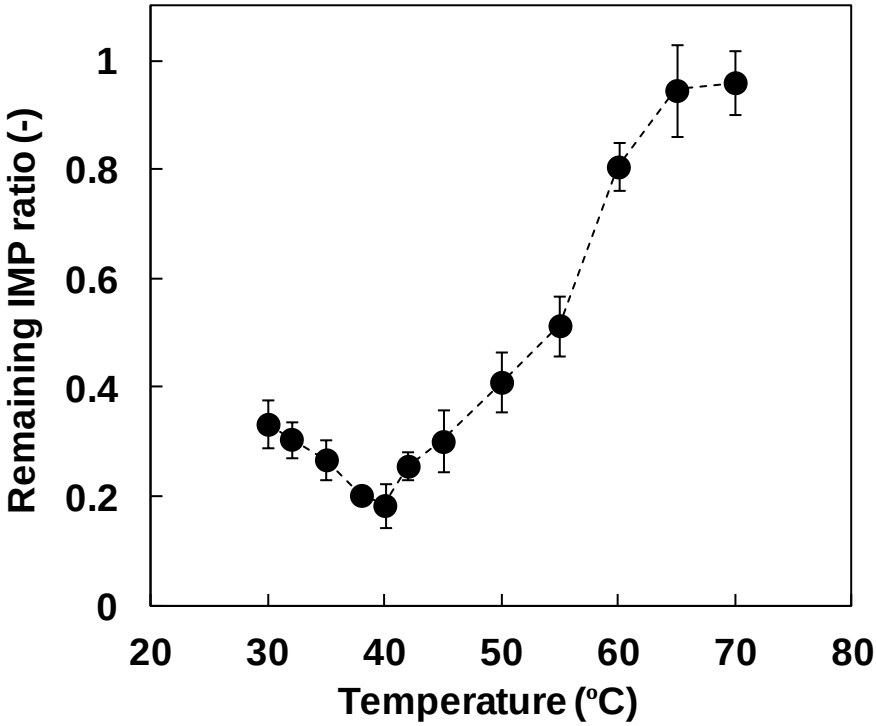


Figure 5-5 Correlation of heating temperature and the remaining IMP ratio heated for 60 minutes.

5.5. イノシン酸分解反応モデルの構築

5.5.1. イノシン酸分解反応モデル

IMP 残存率を計算するためには, IMP を分解する酵素の酵素活性度の変化を考慮する必要がある。酵素反応が関与する反応速度の算出には，(5-13)式に示す Michaelis-Menten の式が用いられることが多い。

$$v = \frac{V_m C_S}{K_m + C_S} \tag{5-13}$$

ここで，v（M/min）は生成物の生成速度，V_m（M/min）は反応速度の最大値，C_S（M）は基質濃度，K_m（M）は Michaelis 定数を示す。V_m は全ての酵素が気質と複合体を形成した時の速度をあらわし，(5-4a)式であらわされる。

$$V_m = kC_{E0} \tag{5-4a}$$

ここで，k（1/min）は反応速度定数，C_{E0}（M）は全酵素濃度を示す。また，基質濃度 C_S を試料中に残存する IMP 量 C_I であらわすと，(5-13)式は(5-14)式であらわされる。

$$\frac{dC_I}{dt} = -\frac{kC_{E0}C_I}{K_m + C_I} \tag{5-14}$$

ところで，(5-14)式は多くのパラメーターを決定する必要があるため，反応式の簡略化を試みた。まず，Michaelis 定数は非常に小さい（$K_m << C_I$）と仮定すると，(5-14)式は(5-15)式であらわされる。

$$\frac{dC_I}{dt} = -kC_{E0} \tag{5-15}$$

(5-15)式は酵素活性度が低下しない温度帯では IMP の分解速度が一定であることをあらわす。しかし，Figure 5-4 に示した IMP 残存率変化より，IMP 分解速度は一定割合でないことは明白であることから，(5-15)式は実験結果で示された挙動と一致していない。そこで次に，Michaelis 定数は非常に大きい（$K_m >> C_I$），すなわち試料中に残存する IMP 量 C_I は小さいと仮定した。この場合，(5-14)式は(5-16)式であらわされる。

$$\frac{dC_I}{dt} = -\frac{kC_{E0}C_I}{K_m} \tag{5-16}$$

実験結果より，酵素は加熱処理温度が高くなるに伴い，酵素濃度が低下することが示唆されたことから，その影響を酵素活性比として(5-17)式のように定義すると，(5-16)式式は(5-18)式であらわされる。

$$A_E = \frac{C_{E0}}{C_{E0}*} \tag{5-17}$$

$$\frac{dC_I}{dt} = -\frac{kC_{E0}*A_E C_I}{K_m} = -k_I A_E C_I \tag{5-18}$$

ここで，A_E（－）は IMP 分解酵素活性度，C_{E0}*（M）は失活が起こる前の全酵素濃度，k_I（＝kC_{E0}*/K_m）（1/min）は酵素活性度低下を考慮した IMP 分解反応速度定数を示す。また，酵素活性度低下を考慮した IMP 分解反応速度定数 k_I の温度依存性は，(5-19)式に示すアレニウスの式に従うとする。

$$k_I = Z\,exp\left(\frac{-E_a}{RT}\right) \tag{5-19}$$

5.5.2. イノシン酸分解反応速度パラメーターの算出

酵素活性度が低下しないと仮定した 40 ºC 以下の加熱処理温度帯では，IMP 分解酵素活性度 A_E（－）は常に一定（A_E = 1.0）とみなせることから，(5-18)式は(5-20)式に置き換えることができ，さらに(5-12)式を用いて無次元化した IMP 残存率 X_I は(5-11a)式であらわされる。

$$\frac{dC_I}{dt} = -k_I C_I \tag{5-20}$$

$$ln\frac{C_I}{C_{I0}} = ln\,X_I = -k_I t \tag{5-11a}$$

HPLC 分析で定量した 32～40 ºC 試料の IMP 残存率を用いて，(5-11a)式に従い各加熱処理温度で一次反応プロットを実施した。その結果，全ての加熱処理温度で直線性を示したことから（相関係数 r^2，0.976≦r^2≦0.999），直線の傾きより各加熱処理温度における IMP 分解反応速度定数を算出した。次に，IMP 分解反応の活性化エネルギーならびに頻度因子を算出するためアレニウスプロット（k_I vs. $1/T$）を実施した結果を Figure 5-6 に示した。Figure 5-6 に示したプロットは一次関数とみなすことができたことから（相関係数 r^2，r^2＝0.963），近似した一次関数の直線の傾き，および切片より，IMP 分解酵素活性度 A_E＝1.0 における IMP 分解反応の活性化エネルギーE_a＝3.92 × 10^4（J/mol）ならびに頻度因子 Z＝1.04 × 10^5（1/min）を算出した。

次に，得られた速度パラメーターの妥当性を検証するため，30，35 および 40 ºC で等温加熱処理し，HPLC 分析で定量した実験値と，(5-11b)式に従い算出した解析値を比較した。

$$\frac{dX_I}{dt} = -Z\,exp\left(-\frac{E_a}{RT}\right)X_I \tag{5-11b}$$

Figure 5-7 より，40 ºC 以下の加熱処理温度において，実験値と解析値が良好に一致していることがわかる。これより，算出した IMP 分解反応の速度パラメーターは妥当であると判断した。

5.5.3. イノシン酸分解酵素の速度パラメーターの算出

40 ºC より高い温度帯における IMP 残存率を予測するには，(5-18)式に示したように IMP 分解反応のみならず, IMP を分解する酵素の酵素活性度低下反応を考慮する必要がある。そこでまず，酵素活性度は加熱時間に依存し，徐々に低下すると仮定した反応モデルの速度パラメーターの取得を試みた。

既存の報告で，酵素活性度の失活は一次反応式であらわされていることから[18,19]，酵素活性度低下速度は，残存している酵素濃度 C_{E0}（M）に比例すると仮定すると，速度式は(5-21)式であらわされ，さらに両辺を失活が起こる前の全酵素濃度 C_{E0}*（M）で割ると，(5-21)式は(5-12a)式であらわされる。

$$\frac{dC_{E0}}{dt} = -k_E C_{E0} \tag{5-21}$$

$$\frac{dA_E}{dt} = -k_E A_E \tag{5-12a}$$

ここで，k_E（1/min）は酵素活性度低下速度，IMP 分解酵素活性度 A_E（＝C_{E0}/C_{E0}*）（－）を示す。

各加熱処理温度における酵素活性度低下速度 k_E は，先に算出した IMP 分解速度パラメーターを(5-18)式に用い，さらに(5-12a)式に従い算出した IMP 残存率が，HPLC 分析で定量した実験値に最も近づく値を黄金分割法により推算した。典型例として，加熱処理温度 42 ºC における IMP 残存率実験値と，推算値が最も近づいた際の IMP 分解酵素活性度 A_E の時間変化を Figure 5-8 に示す。Figure 5-8 より，IMP 残存率の実験値と推算値の時間変化は良好に一致している様子が見て取れる。またこの際，IMP 分解酵素活性度 A_E は(5-12a)式に示した一次反応であらわされることから，一次反応プロットを実施し，直線の傾きより各加熱処理温度における酵素活性度低下速度 k_E を算出した。さらに，酵素活性度低下反応の活性化エネルギーならびに頻度因子を算出するためアレニウスプロット（k_E vs. $1/T$）を実施した結果を Figure 5-9 に示した。

Figure 5-9 に示したプロット一次関数とみなすことができたことから（相関係数 r^2, r^2＝0.985），近似した一次関数の直線の傾き，および切片より，酵素活性度低下速度の活性化エネルギー E_E＝1.73 × 10^2（J/mol）と，頻度因子 Z_E＝5.48 × 10^{26}（1/min）を算出した。

このようにして推算した速度パラメーターの妥当性を検証するため，45，50 および 60 ºC で等温加熱処理し，HPLC 分析で定量した実験値と，(5-18)式ならびに(5-12a)式に従い算出した解析

値を比較した。Figure 5-10 より，加熱処理温度 45 ºC では実験値と解析値に数値の差はあるものの，IMP 残存率の時間経過に伴う減少について傾向が一致している。しかし，加熱処理温度が高くなるに従い，実験値と解析値の挙動が異なっている。特に，加熱処理温度 60 ºC では，解析値では加熱開始から約 5 分で IMP 分解酵素活性度は A_E＝0 となり，IMP 残存率は平衡値に到達しているのに対し，実験値はわずかながら時間経過に伴い徐々に IMP 残存率は低下しているため，数値の差が顕著となった。すなわち，これらの結果より，酵素活性度の失活は一次反応であると仮定した反応モデルは適していないと考え，他の反応モデルを構築する必要があると判断した。

そこで次に，IMP 分解酵素活性度 A_E は加熱処理温度に依存し，かつ，加熱開始直後に各加熱処理温度の平衡値に到達すると仮定した反応モデルの構築を試みた。すなわち，温度一定下で A_E を一定値とみなすと，(5-9)式，(5-12a)式はそれぞれ(5-9a)式および(5-12b)式であらわされる。

$$\frac{dC_I}{dt} = -k_I A_E C_I = -k^* C_I \tag{5-9a}$$

$$ln\frac{C_I}{C_{I0}} = ln\, X_I = -k^* t \tag{5-12b}$$

ここで，k^*（＝$k_I A_E$）（1/min）は酵素活性度低下を含んだ見かけの速度定数であり，その温度依存性は k_I と同様に(5-19)式に示したアレニウスの式に従うとする。

HPLC 分析で定量した 40 ºC より高い温度における実験値を(5-9a)式に挿入し，一次反応プロットを実施することで，各加熱処理温度における k^*を推算することが可能である。そこで，各加熱処理温度に対して，IMP 分解酵素活性度 A_E＝0 における IMP 分解反応速度 k_I を用いて，IMP 分解酵素活性度 A_E（=k^*/k_I）をプロットした結果を Figure 5-11 に示した。ただしこの際，65 ºC および 70 ºC 試料は HPLC 分析の実験結果から加熱時間の経過に伴い低下せず，常に初期含量（＝未加熱試料）とほぼ同等であったことから，この二つの温度については A_E＝0 であると仮定した。Figure 5-11 より，加熱処理温度が上昇するのに伴い，A_E が徐々に低下していることが明らかとなり，温度依存性を有していることが示唆された。そこで，Figure 5-11 から加熱処理温度と IMP 分解酵素活性度 A_E の相関式をあらわす実験式を次式で示した。

$$A_E(T) = -3.30\times10^{-5}T^3 + 6.57\times10^{-3}T^2 - 4.52\times10^{-1}T + 1.07\times10 \quad (40 < T \le 64.1) \tag{5-22}$$

(5-22)式に示した加熱処理温度と IMP 分解酵素活性度 A_E の相関式は，加熱処理温度が 64.1 °C 到達時，A_E＝0 となることから，HPLC 分析で得られた 65 および 70 ºC 試料が初期含量と同等であること，すなわち A_E＝0 であることの妥当性を確認できた。また，IMP 分解酵素の EC 番号（Enzyme Commission numbers）は特定されていないが，冨岡ら[17]は畜肉中に存在する 5’－ヌクレオチダーゼと酸性ホスファターゼが主に関与しており，両酵素を考慮した酵素活性度は

pH6.0 の牛肉は 45～48 ºC で 50%以下になると報告している。また食材は異なるが，梁ら[20]はハマチから抽出した pH6.0 の粗酵素液を用い IMP 分解に関与する酵素の熱安定性を測定したところ，60 ºC でほぼ失活したと報告している。すなわち，今回得られた IMP 分解酵素活性度 A_E の相関式であらわされる挙動と，既存の報告の酵素活性度の温度依存性の数値に大きな相違がない点を確認できた。そこで最後に，(5-22)式の妥当性を検証するため，先と同様に 45，50 および 60 ºC で等温加熱処理し，HPLC 分析で定量した実験値と，(5-9a)式ならびに(5-22)式に従い算出した解析値を比較した。

Figure 5-12 より，酵素活性度は時間経過に伴い低下すると仮定した際，再現できなかった加熱初期における実験値と解析値が一致した。すなわち，IMP 分解酵素の酵素活性度 A_E が低下する温度帯では，IMP 分解酵素活性度 A_E は加熱処理温度に依存し，かつ，加熱開始直後に各加熱処理温度の平衡値に到達すると仮定した反応モデルが適していることが明らかとなった。

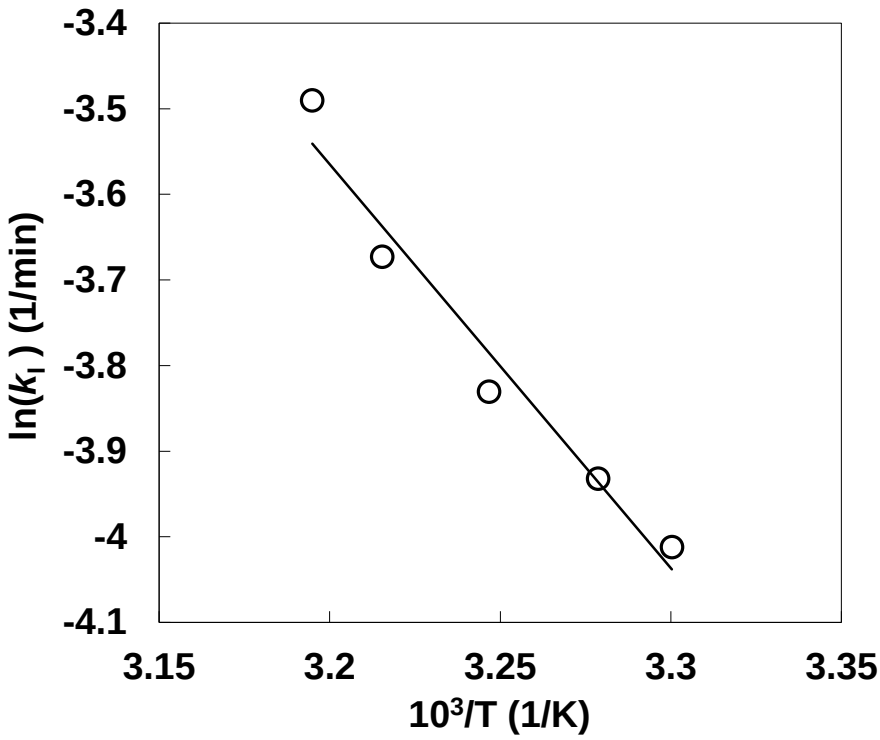


Figure 5-6 Plot of the relationship between IMP decomposition reaction rate constant, k_I, and the heating temperature, $1/T$.

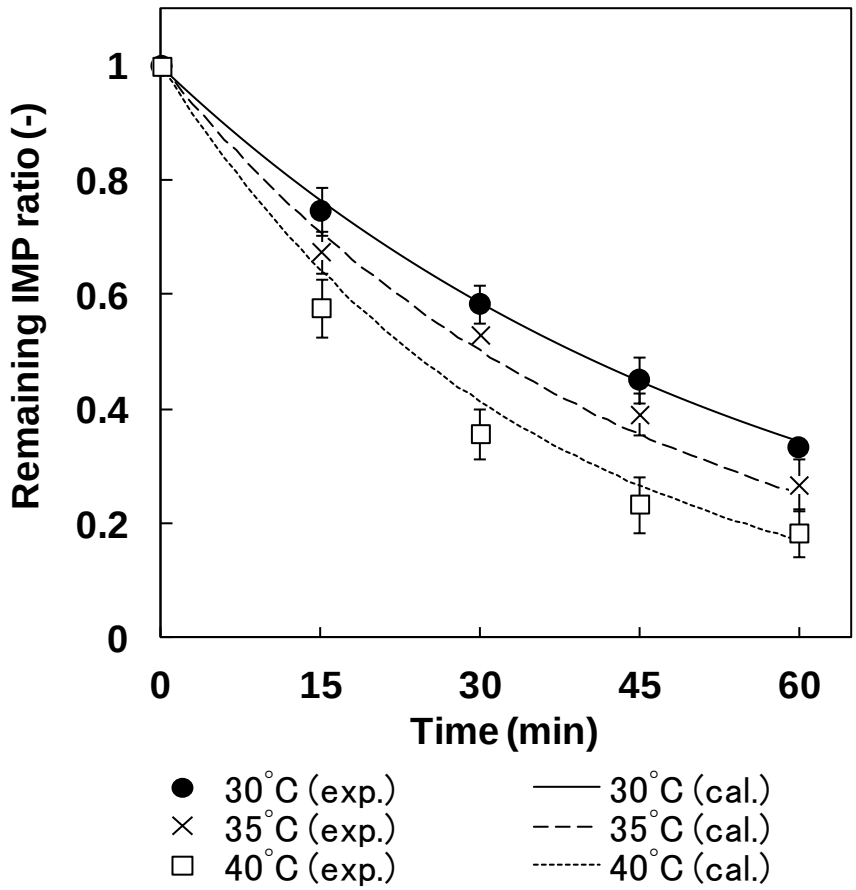


Figure 5-7 Comparison of the remaining IMP ratio from experimental data and the calculation results at 30 ºC, 35 ºC and 40 ºC.

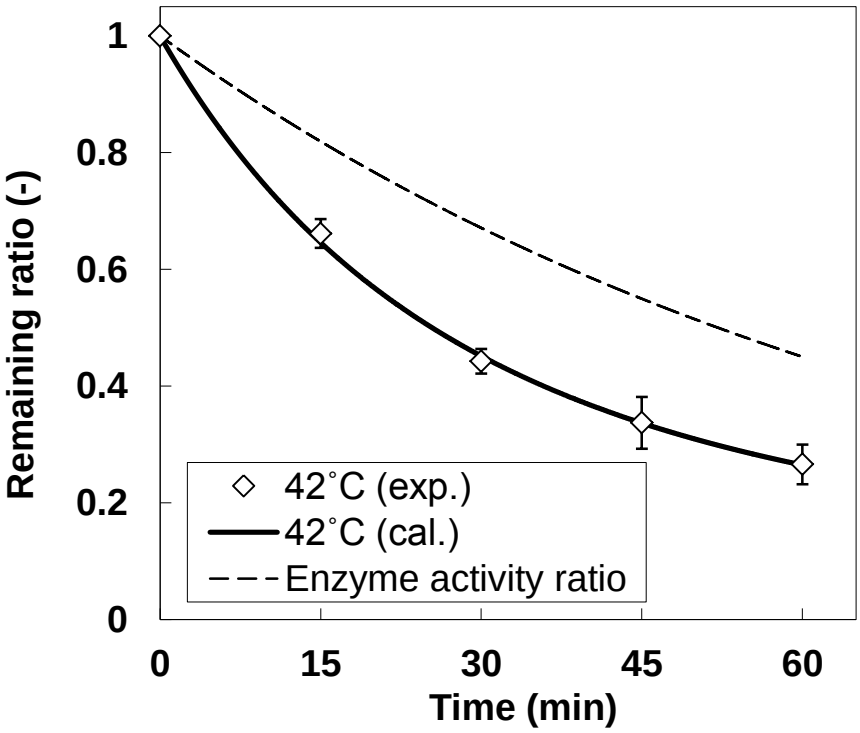


Figure 5-8 Comparison of the remaining IMP ratio from experimental data and the calculation results at 42 ºC heating. Moreover, dot line shows the changes in enzyme activity ratio during heating.

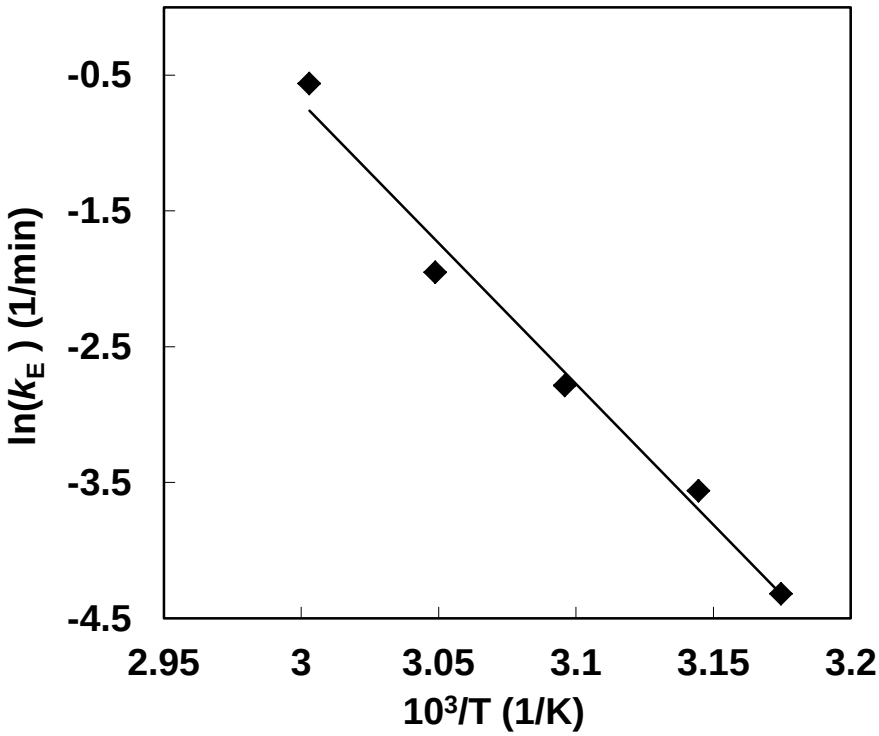


Figure 5-9 Plot of the relationship between the enzyme concentration reaction, k_E, and the heating temperature, 1/T.

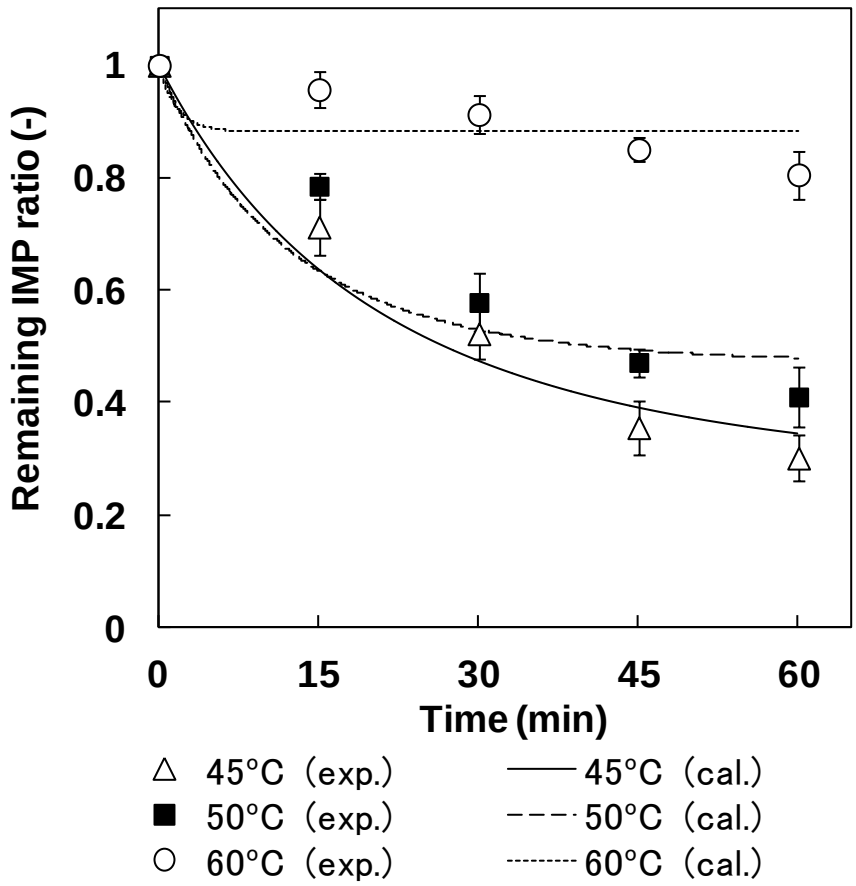


Figure 5-10 Comparison of the remaining IMP ratio from experimental data and the calculation results using the obtained kinetic parameters, assuming that the enzyme activity decreased by a first-order reaction.

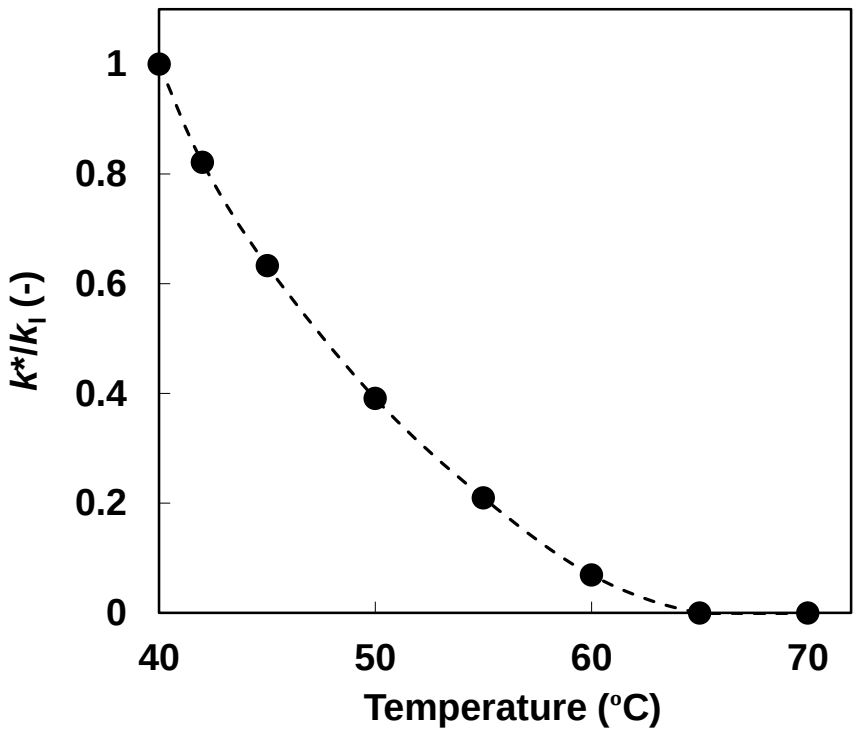


Figure 5-11 Correlations between the enzyme activity ratio, $A_E(=k^*/k_I)$, calculated using k_I and temperature.

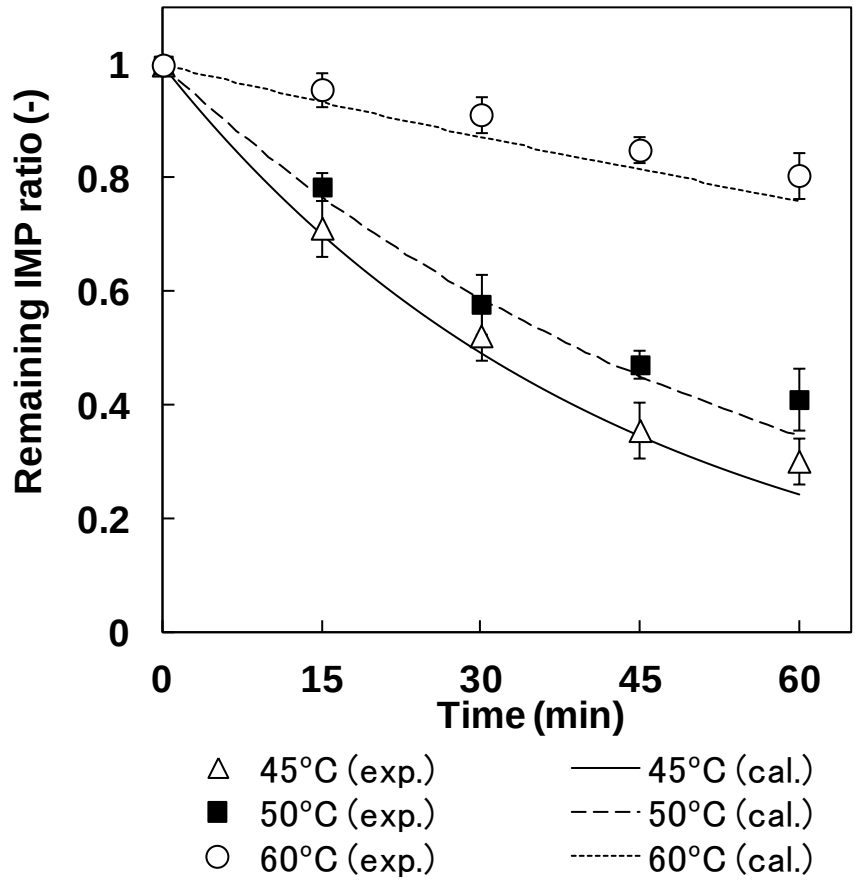


Figure 5-12 Comparison of the remaining IMP ratio from experimental data and the calculation results, assuming that the enzyme activity has heat temperature dependency.

5.6. 二次元円筒形モデルにおける呈味成分の加熱処理シミュレーション

加熱処理過程における，肉内部に残存するグルタミン酸ならびにイノシン酸の予測が可能となったことから, 50 ºC もしくは 70 ºC で等温加熱処理を想定した両呈味成分の予測と比較を試みた。この際，解析モデルは直径 20 mm，高さ 20 mm の円筒形，初期温度は 15 ºC とし，解析モデル中心横断面（底面に対して垂直）における温度と両呈味成分分布の時間変化を Figure 5-13 および Figure 5-14 に示した。ここで，Figure 5-13 は 50 ºC で加熱処理した場合，Figure 5-14 は 70 ºC で加熱処理した場合の結果である。

Figure 5-13 より，試料温度は表面から徐々に温度が上昇している様子が見て取れる。また Glu も温度上昇に伴いタンパク質変性が進行するため, 温度分布と同様に試料表面から徐々に減少し, 常に試料表面よりも内部の残存率が高い不均一な分布となっていることがわかる。これに対して IMP は 50 ºC 加熱の場合, 加熱開始直後は温度上昇の遅れる中心部位は温度が低いことから, IMP 分解速度が遅く，その結果，中心部は初期含量を保っているが，加熱時間の経過に伴い，中心内部も徐々に残存率が低下する様子が見て取れる。そして，加熱開始 5 分後以降は Glu と同様に，試料表面よりも内部の残存率が高い分布を形成していることが明らかとなった。

これに対して 70 ºC で加熱処理した結果（Figure 5-14）では，Glu は 50ºC で加熱処理した場合と同様に，試料表面よりも内部の残存率が高い分布となっている。しかし，加熱時間 10 分ではほぼ均一な Glu 残存率分布となった。これは, total タンパク質未変性率が原因として挙げられる。Glu 残存率は, ダルシーの法則に基づく物質移動解析に基づき予測している。ダルシーの法則は, タンパク質変性に伴い試料が収縮することで内部に生じる圧力勾配を駆動力としているが，70 ºC で 10 分間加熱処理をした場合，試料全体のタンパク質の変性は終了している。したがって，試料が保持出来なくなった流体は全て系外に排出されるため，50 ºC で加熱処理した結果と比較して，均一な Glu 残存率になっていると考えた。これに対して IMP は, 試料表面は加熱開始直後に IMP 分解酵素が失活するため，調理終了時まで常に初期含量を保っていること，内部は前述したように一時的に減少するが, 失活温度に到達後は一定値を示すことが見て取れ，50 ºC で加熱処理した際の IMP 残存率分布や，Glu 残存率分布が著しく異なり，試料表面よりも内部の残存率が低い不均一な分布となることが明らかとなった。

これらの結果から，畜肉のうま味を発現する，代表的な呈味成分であっても，Glu と IMP は加熱処理における消長のメカニズムが異なるため，残存率を予測するために用いる反応モデルが異なる。したがって，同じ条件で加熱処理を行った場合においても，試料内部に形成される残存率分布が異なること，特に IMP は，酵素反応に基づき予測するため，加熱処理温度によって残存率分布が異なることが明らかとなった。

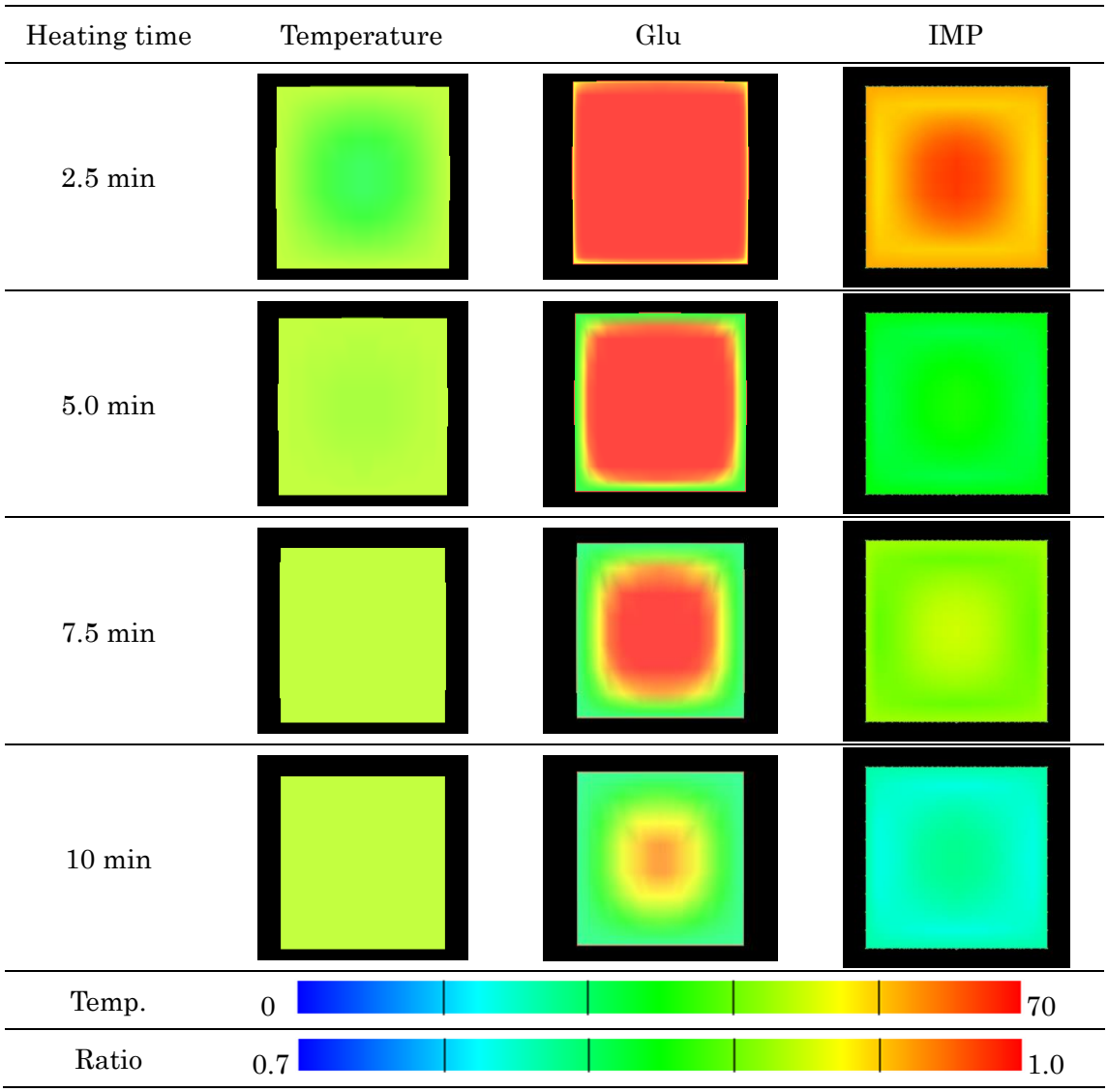


Figure 5-13 Visualization of the remaining Glu ratio and the remaining IMP ratio in the central section of the cylindrical meat during heating. Heating temperature is 50 °C.

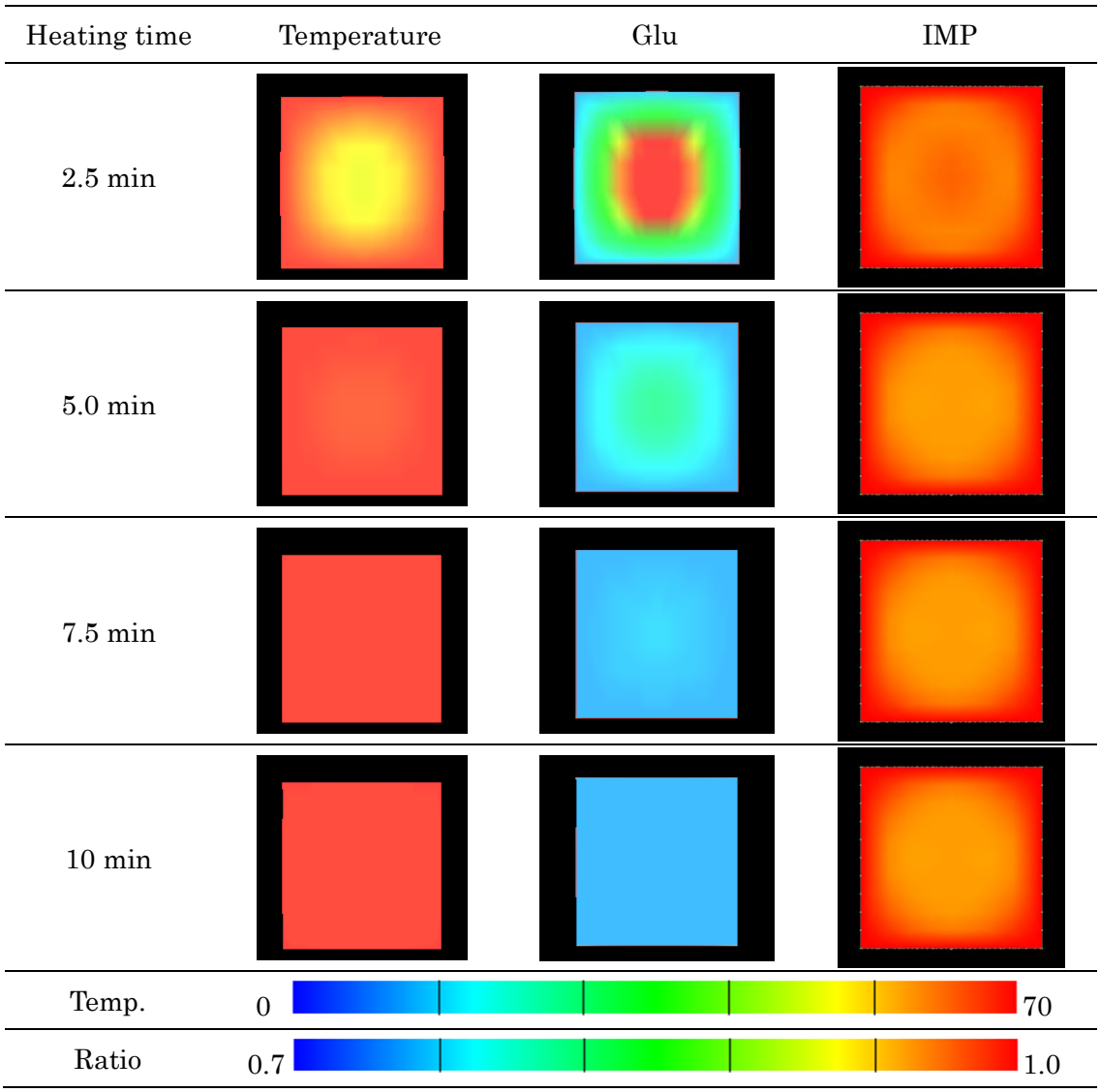


Figure 5-14 Visualization of the remaining Glu ratio and the remaining IMP ratio in the central section of the cylindrical meat during heating. Heating temperature is 70 °C.

5.7. 結論

本章では，畜肉呈味成分のうち，旨味の発現に寄与している遊離グルタミン酸とイノシン酸に着目した。試料中に残存する呈味成分の定量を行い，加熱処理に伴う呈味成分の消長を把握し，定量結果より各成分を予測するための反応モデルを検討した。その後，二次元円筒形モデルを対象とし，同一条件下で加熱処理した際の両成分の残存量を予測するとともに，畜肉内部に形成される両成分の分布を比較した。得られた結果は以下のようにまとめられる。

- Glu 残存率と残重量率の減少傾向は同程度であることから，残重量率を算出すること，すなわち物質移動解析により Glu 残存率を予測することが可能であることが明らかとなった。
- IMP 残存率を予測するためには，IMP 分解反応と，IMP を分解する酵素の酵素活性度低下反応の 2 種類を考慮した反応モデルを構築する必要があると考えた。
- IMP を分解する酵素の酵素活性度は，加熱処理温度に依存し，かつ，加熱開始直後に各加熱処理温度の平衡値に到達すると仮定した反応モデルが適していることが明らかとなった。
- Glu と IMP は同じ条件で加熱処理を行った場合においても，加熱処理温度によって，試料内部に形成される残存率分布が異なることが示された。

5.8. 記号説明

A_E	enzyme activity ratio (-)
C_{E0}	total enzyme concentration (M)
C_{E0}^*	total enzyme concentration before deactivation (M)
C_G	glutamine acid concentration at time t (μmol/g_{meat})
C_{G0}	initial glutamine acid concentration in unheated meat (μmol/g_{meat})
C_I	IMP concentration at time t (μmol/g_{meat})
C_{I0}	initial IMP concentration in unheated meat (μmol/g_{meat})
c_p	constant pressure specific heat (J/(kg·K))
C_S	substrate concentration (M)
E_a	activation energy of IMP decomposition reaction (J/mol)
E_E	activation energy of the enzyme activity decrease reaction (J/mol)
k	reaction rate constant (1/min)
k^*	rate constant of the IMP decomposition including enzyme deactivation (1/min)
k_E	rate constant of the enzyme activity decrease reaction (1/min)

k_I	rate constant of the IMP decomposition reaction in consideration of the enzyme activity (1/min)
K_m	Michaelis-Menten constant (M)
R	gas constant (J/(mol·K))
t	time (s)
T	temperature (°C)
T_a	ambient temperature (°C)
T_{in}	initial temperature (°C)
v	rate of product formation (M/min)
V_m	maximum rate of reaction (M/min)
W_a	weight of sample after heated (g)
W_i	initial sample weight (g)
X_G	remaining glutamine acid ratio (-)
X_I	remaining IMP ratio (-)
X_w	remaining weight ratio (-)
Z	pre-exponentioal factor of the IMP decomposition reaction (1/min)
Z_E	pre-exponentioal factor of the enzyme activity decrease reaction (1/min)

Greece symbol

α	thermal diffusivity (m²/s)
κ	thermal conductivity (W/(m·K))
ρ	density (kg/m³)

5.9. 本章の引用文献

1) 柳本正勝（2002），食べ物のおいしさに対する各感覚特性の貢献度，日本調理科学会誌，**35**，32-36

2) 山口静子（2009），官能評価の信用性に関する一考察，日本調理科学会誌，**42**，1-8

3) 西村敏英（2008），食べ物のおいしさー味 食肉の美味しさに関わる呈味成分とその生成機構，*Foods and Food Ingred. J Jpn*, **213**, 336-344

4) 沖谷明紘（2006），肉の食味，日本食生活学会誌，**17**，94-99

5) 千国幸一，佐々木啓介，中島郁世，室井進，三津本充，江森格，岩本史之，谷史雄（2002），豚肉風味関連物質の含量に対する加熱処理の影響，日本養豚学会誌，**39**，191-199

6) 関澤春仁（2007），鶏肉に含まれる遊離グルタミン酸の簡易測定法，養鶏の友，**543**，43-46

7) Sasaki, K., Motoyama, M.& Mitsumoto, M. (2007), Changes in the amounts of water-soluble umami-related substances in porcine *longissimus* and *biceps femor* is muscles during moist heat cooking. *Meat Sci.*, **77**, 167-172

8) Yamazaki, T., Iwamori, H., Ito, N., Hotta, Y. & Murayama, A. (2006), Utilization and characteristics of *nakaniku* using low temperature steam cooking. *J Soc. Cookery Sci.*, **39**, 346-353

9) 永峰文洋，福田裕，石川哲（1985），高速液体クロマトグラフィーによるＫ値の測定，青森県水産物加工研究所研究報告，111-119

10) Nishimura, T., Rhue, M.R., Okitani, A., & Kato, H. (1988). Components contributing to the improvement of meat taste during storage. *Agr. Biol. Chem.*, **52**, 2323-2330

11) Okumura, H., & Watanabe, E. (2002). Flow system for fish freshness determination based on double multi-enzyme reactor electrodes. *Biosens. and Bioelectron*, **17**, 367-372

12) Bailey, M.E. (1983). The maillard reaction and meat flavour. In G.R. Walter, & M.S. Feather (Eds.), The maillard reaction in foods and nutrition (pp. 169-184). Wahington, DC: American Chemicals Society.

13) Maga, J.A. (1983). Flavour potentiator. *CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, **18**, 231-312

14) Madruga, M.S. (1997). Analysis of inosine-5'-monophosphate (5'-IMP) and its derivatives in different muscle of beef, pork and lamb. *Ciencia-e-technologie-de-alimentos*, **17**, 84-88

15) Terasaki, M., Kajikawa, M., Fujita, E., & Ishii, K. (1965). Studies on the flavor of meats, Part I, Formation and degradation of inosic acids in meats, *Agr. Biol. Chem.*, **29**,208-215

16) Ishii, K., Tsuchida, M., Nishimura, T., Okitani, A., Nakagawa, A., Hatae, K., & Shimada, A. (1995). Changes in the taste and taste components of beef during heating at a low temperature for a long time. *J Home Econ. Jpn*, **46**, 229-23

17) 冨岡和子，梁善雅，遠藤金次（1993），加熱調理過程における獣鳥肉および魚肉中のイノシン酸の分解，日本家政学会誌，**44**，11-16

18) Yu, B., Jin, Z., Deng, L., Xu, Xueming, He, L., Wang, J., Tian, Y., & Chen, H. (2010). Kinetic study of thermal inactivation of potato peroxidase during high-temperature short-time processing. *J Food Sci. Technol.*, **47**, 67-72

19) Goncalves, E.m., Pinheiro, J., Abreu, M., Brandao, T.r.s., & Silva, C.l.m. (2010). Carrot (Daucus carota L.) peroxidase inactivation, phenolic content and physical changes kinetics due to blanching. *J Food Eng.*, **97**, 574-581

20) 梁善雅，遠藤金次（1992），魚肉中のイノシン酸分解に及ぼす加工・調理条件の影響，家政学研究，**38**，51-57

第6章 真空調理法に基づくローストビーフ調理シミュレーション

6.1. はじめに

第 2 章ではタンパク質変性速度定数解析，第 4 章では物質移動解析ならびにパラメーター（透過係数と粘度）の決定，第 5 章では畜肉の旨味の発現に多きく寄与するグルタミン酸とイノシン酸の反応モデルの構築ならびに速度パラメーターを決定した。本章では，実際の調理を想定したシミュレーションとして，レストラン等で実際に用いられていえる真空調理法によるローストビーフ調理を解析対象とし，伝熱，タンパク質未変性率，呈味成分変化，そして食品産業で最も留意されている微生物死滅数のシミュレーションと，試料内部に形成される各項目の可視化を行った。また，シミュレーション手法の最大の利点のひとつに，「様々な加熱処理条件を対象とした予測計算が可能な点」が挙げられる。伝熱解析方法や，各パラメーターの検証が行われていれば，実際の加熱実験や調理を行うことなく，肉内部に形成される各項目について予測することができる。真空調理法は，多数のレシピが存在することから，シミュレーション手法の利点を生かし，複数の調理法を対象としたタンパク質変性度ならびに微生物死滅数の予測もあわせて行った。

6.2. 真空調理法とは

畜肉の加熱調理方法は，従来から頻繁に用いられている茹で加熱やフライパン焼成に加え，IH ヒーター，スチームや過熱水蒸気を利用したオーブンなどの新しい加熱機器の登場により[1]，数多くの調理方法が存在する。そのため，加熱製造・調理過程における食材の伝熱ならびに品質の予測計算を行うにあたり，対象とする加熱機器・調理法を定める必要がある。そこで本研究は，実際にレストランやホテル，病院やセントラルキッチンでの調理を想定し，真空調理法（*sous-vide*）を対象とした畜肉内部の伝熱現象ならびに品質変化の予測計算を行った。

真空調理（*sous-vide*）は，1974 年フランスの Georges Pralus により考案された調理法であり[2]，①食材を真空パック専用袋に入れて脱気・密封し，②恒温湯槽やスチームコンベクションオーブンで食材に適した温度下で加熱を行う，という二つの基本的な操作から成り立つ[3]。この調理法は食材の歩留まりが高い[4,5]，畜肉料理では柔らかく仕上がる[4,5]，ビタミン類の破壊が少ない[3,5]，集中大量調理が可能[7]といった調理上の利点や，真空包装による二次汚染の予防および貯蔵・運搬性の向上といった，集中調理システムでの管理上の利点が挙げられ，現在，レストランやホテル，病院やセントラルキッチンを有する施設で幅広く普及している。

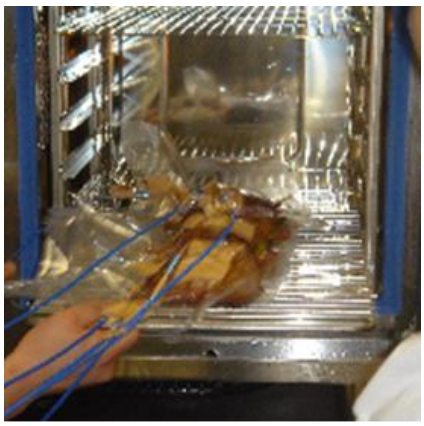
真空調理法は食材の品質保持のため，加熱処理温度と時間の管理（TT 管理）が重要となる[3]。そのため食材や料理内容に応じた適切な加熱処理温度が推奨されており，畜肉や魚といったタンパク質を主成分とする食品をしっとり仕上げる場合は芯温を 70°C 以下，野菜ではセルロース軟

化温度と水分の気化温度を考慮し，90～95°C で加熱処理を行う[3]。現在日本では，真空調理を考案した Georges Pralus の「プラリュ方式」と，日本で真空低温調理を提案および普及させた谷孝之の「谷方式」が存在する[8]。谷方式は，目標とする食材の芯温とオーブン等加熱機器の設定温度を等しくして，加熱を行う方法であるため，過加熱を防ぐことが可能である。これに対しプラリュ方式は，目標とする芯温に対して調理温度を高く設定することが多いため，谷方式と比較して調理時間は短縮されるが，指標とする食材の中心温度を，常に監視する必要がある。また，芯温が目標温度を逸脱する可能性が高くなるとともに，伝熱が先行する食材表面では過加熱となる領域が形成される。このように二つの調理法はそれぞれメリット・デメリットを併せ持つが，共通事項として「衛生管理の徹底」が挙げられる。真空調理は食材の品質保持のため，前述したように畜肉の場合，しっとり仕上げるために芯温 70°C 以下の温度により加熱処理する場合が多い[3]。しかしこの温度帯で調理を行った場合，食材の芯温は 75°C に到達しないため，中心領域では十分な加熱殺菌効果は期待できない。そのため，既存する微生物が少ない新鮮な食材を選定する必要がある。また微生物を増殖させないため，食材を保存する場合は冷却器（ブラストチラー，恒温湯漕など）または氷水を用い，微生物が増殖しやすい温度である 10～55°C を素早く通過させること,加熱工程後の冷却開始から 90 分以内に食材の芯温を 3°C 以下に到達させること，貯蔵・流通時は 3°C 以下で保存することを徹底している調理法である[9]。

6.3. 実験

6.3.1. 辻学園調理・製菓専門学校でのローストビーフ調理

辻学園調理・製菓専門学校（以後，辻学園）にて，真空調理法に従ってローストビーフの調理を実施した。この際の調理風景ならびに調理方法について，Figure 6-1 に示す。



試料には，市販牛ランプ肉（71.0×107×59.5mm，398 g）を用いた。

まず，試料の各面を殺菌目的のため，フライパンで焼成した。試料表面に焼き色が形成されたらトレーへと取り出し，ブラスト・チラー(QXF-006SF5 型，福島工業㈱)にて品温が約 10°C 以下になるまで放置した。

冷却終了後，試料をナイロン・ポリエチレン製真空パック専用袋に入れ真空包装機(V-380G 型，㈱TOSEI)で脱気・密封した後，80 °C に設定したスチームコンベクションオーブン(SCOS-RS 型，ニチワ電機㈱)で加熱した。この際，密封状態が保たれるように，試料中心にシース型熱電対(T-type，φ1.0 mm)を挿入および固定し，試料のフィルム表面には熱電対(T-type，φ1.0 mm)を固定することで，調理過程における試料中心ならびに表面温度履歴を取得した。

試料中心部の温度が 58 °C に到達した後，直ちに 2 °C に設定したウォーター・チラー(RR-13TS-CN 型，ニチワ電機㈱)に投入し，芯温が 3 °C になるまで冷却した。また，この状態を調理終了とした。

Figure 6-1 Roast beef in accordance with vacuum pack cooking (*sous-vide*) in Tsuji Academy Cooking and Confectionery Vocational School.

6.3.2. 実験室でのローストビーフ調理

実験室にて, 辻学園で行った調理方法に基づき, ローストビーフを調理した。市販牛モモ肉（71.0 × 107 × 57.4 mm，約 400 g）の各面をフライパンで焼成し，冷蔵庫（NR-B172J 型，パナソニック㈱）にて品温が 10 °C 以下になるよう 1 時間放置した。その後，プラスチックバック（耐ピンホール三方袋（CP30/NY15/SPE15/LLD60），㈱メイワパックス）に入れ真空包装機（FVC-II 型，㈱古川製作所）で脱気・密封した後，80 °C に設定した恒温湯槽（TR-4 型，アズワン㈱）で加熱した。試料中心部の温度が 58 °C に到達した後, 直ちに 2 °C に設定した冷却用の恒温湯槽（CTA400 型，ヤマト科学㈱）に投入し，芯温が 3 °C になるまで冷却した。調理中の中心温度および表面温度，加熱前後の重量およびサイズは，辻学園で行った方法と同様に取得した。また別途，調理終了時におけるイノシン酸（IMP）を定量する試料として，市販牛モモ肉（64.0× 90.2 × 86.2 mm，460 g）を用いて同様な調理を行った。調理終了後，長さ 10 mm における中心横断面を採取後，Figure 6-2 に示した位置に従って試料を採取した。その後，第 5 章に示した方法に従い，抽出液を調製し，HPLC 分析に供した。

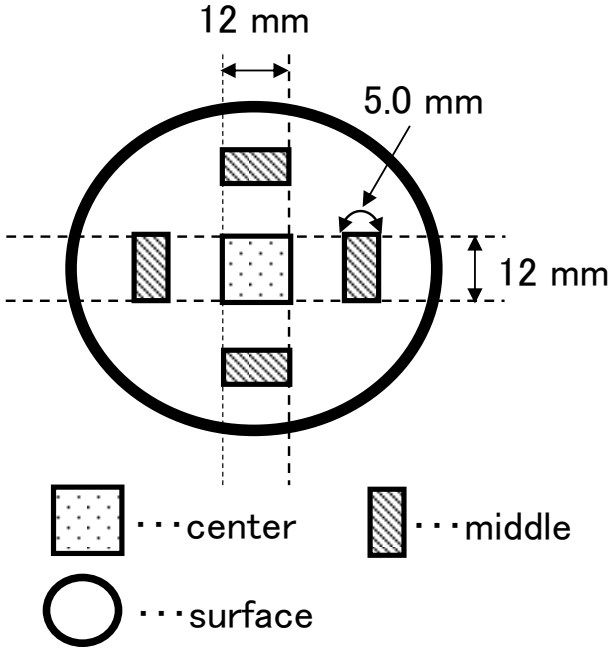


Figure 6-2 Diagrammatic illustration of the cross-section of a meat during used for chemical analysis.

6.4. 結果および考察

Figure 6-3 に辻学園で取得した試料表面および中心部の温度履歴を示した。試料をオーブンに投入した際，庫内温度が低下した為，表面温度は設定した 80 °C よりわずかに低くなったが，約 10 分後に設定温度に到達し，その後は常に 80 °C に保たれていることがわかる。一方，肉中心部の温度は加熱開始後一時的に温度が低下したが，その後は徐々に温度上昇し，加熱開始から 41 分後，目標である 58 °C に到達した。この時，直ちにオーブンから試料を取り出しチラーに移動させたが，中心温度は余熱により 62.8 °C まで上昇し，その後ゆるやかに下降した。調理前後の試料サイズおよび重量変化率を Table 6-1 に，実験室で調理した試料サイズおよび重量変化率を Table 6-2 に示し，比較したところ，形状変化の傾向および変化率の値と大きな相違がないことを確認できた。Sanchez del Pulgar ら[10]は，豚肉を 60 °C で 5 時間真空調理した場合と 100 °C で 30 分間加熱調理した際の重量損失を比較した結果，前者は 16.7%，後者は 36.4%であり，水分含量は真空調理した試料の方が高いと報告している点から，今回調理した試料の重量損失約 15%は，一般的なローストビーフ調理と比較し重量損失が抑制されていると推察される。また，試料サイズは長さ方向のみ収縮し，厚みおよび高さはわずかに膨張した。このような真空調理製品の重量およびサイズの変化は加熱処理温度に由来する。畜肉の保水能力や収縮変化は加熱温度に依存しており，水分保持能力は 55°C 以上[11]，収縮変化は 60°C 以上で著しく変化する[12]。すなわち，真空調理法により調理した肉（ローストビーフ）は肉の中心温度が目標温度に到達後，冷却操作を行うことで，これらの変化が著しい温度帯の滞在時間が短くなり，その結果，重量損失や収縮が抑制されたと考えられる。

Table 6-1 Size and weight of the meat sample before and after cooking in the kitchen experiment.

	Length (mm)	Width (mm)	Height (mm)	Weight (g)
Before cooking	107	71.0	59.5	398
After cooking	90.0	71.5	61.0	339
Change of ratio (%)	-15.9	0.70	2.52	-14.8

Table 6-2 Size and weight of the meat sample before and after cooking in the laboratory experiment.

	Length (mm)	Width (mm)	Height (mm)	Weight (g)
Before cooking	107 ± 3.21	71.0 ± 1.50	57.4 ± 2.35	405 ± 12.4
After cooking	91.7 ± 4.25	72.2 ± 1.33	59.5 ± 1.81	348 ± 15.4
Change of ratio (%)	−14.9 ± 1.86	1.74 ± 1.10	3.69 ± 1.54	−14.1 ± 2.35

*Mean ± standard deviation from three determinations.

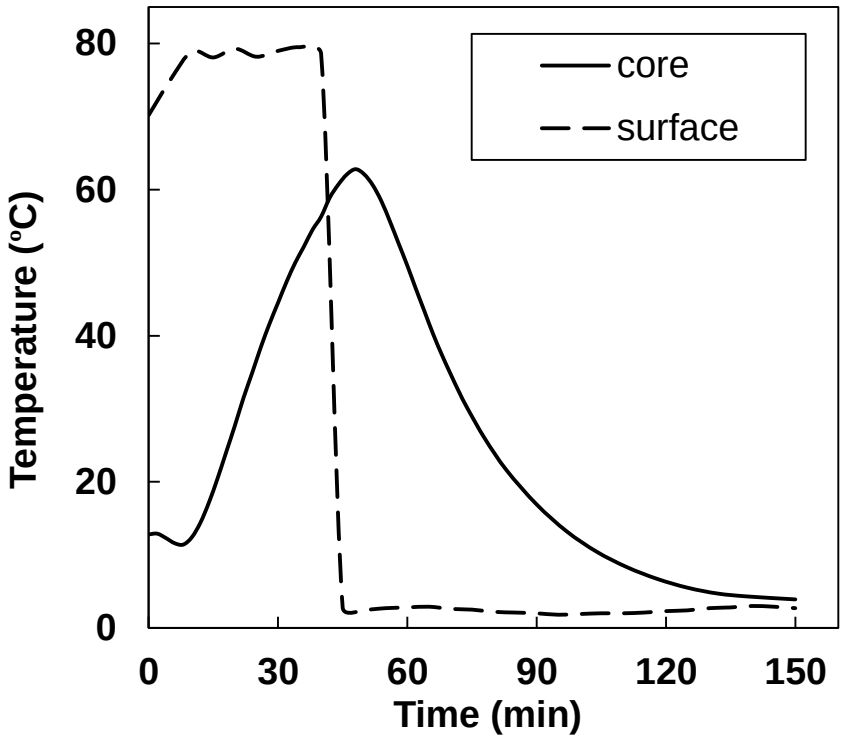


Figure 6-3 Temperature history of beef during *sous-vide* cooking in the kitchen experiment.

6.5. 解析

6.5.1. 真空調理法を想定した解析モデルおよび解析条件の検討

有限要素プロプロセッサである FEMAP Version 10.2（シーメンスインダストリーソフトウェア㈱）を用い，真空調理法に従い調理したローストビーフを想定した解析モデルを作成した。ところで，真空調理法は前述したように，食材を真空パック専用袋に入れて脱気・密封する。この際，試料形状を観察すると，脱気・密封時に食材である畜肉の高さ方向が圧縮されると同時に，幅が大きくなり，加熱および冷却工程時の試料形状は，脱気・密封前の試料形状（直方体）と異なった。忠実な予測計算を行うためには，解析モデルを調理工程中の試料形状にできる限り近づける必要がある。そこで本研究では Figure 6-4 に示した手法を用いて解析モデルを作成した。また，以下に具体的な手順を示す。

① 試料を脱気・密封した際，長さ方向への圧縮は小さいことから，モデルの長さは実際の調理に使用した加熱前の畜肉試料と等しくした。また，解析モデルにおける高さと幅で構成される断面積を，調理に用いた試料の高さと幅で構成される断面積 S（mm²）と等しくした。断面積 S（mm²）の算出は，脱気・密封前の試料サイズ，すなわち直方体に基づくため，(6-1)式であらわされる。

$$S\ (mm^2) = H\ (mm) \times W\ (mm) \tag{6-1}$$

ここで，H（mm）は高さ，W（mm）は幅を示す。

② 脱気・密封後の幅を 2x（mm）とし，半径 x（mm）の円を断面積の基準とする。また，圧縮により短くなった高さを y (mm)，x 軸に対して平行ひいた直線と，弧の交点を点 A とする。

③ 点 A からひいた接線と，y 軸との交点を点 C とする。∠CAB＝θとすると，△ABC と△OAC は相似関係であることから，∠COA＝∠CAB＝θとなる。

④ 解析モデルにおいて，高さと幅で構成される断面積は，Figure 6-4 に示した図の黒線で囲まれた部分に該当する。この面積を算出するには，△OAB の面積と，半径 x（mm）で角度が（90-θ）°の扇形の面積を足し合わせ，4 倍した面積と等しい。すなわちこの面積の算出は，(6-2)式であらわされる。

$$\frac{1}{4}\pi \cdot x^2 - \frac{\theta}{360}\pi \cdot x^2 + \frac{\cos\theta \sin\theta}{2} \cdot x^2 = S \tag{6-2}$$

⑤ (6-2)式に，脱気・密封後の高さに近づくような角度θを代入することで，半径 x（mm）を導出することが可能となる。ただし，試料の包装容器（プラスチックバック）は薄く，かつフィルムの熱抵抗は非常に小さく無視できると仮定して，解析モデルは畜肉のみとした。

実験室で行った加熱肉の試料サイズをもとに，上記の方法に従って Figure 6-5 に示す解析モデルを作成し，非定常三次元熱伝導解析を行った。またこの際，環境温度の変化は調理中の実測結果を参考とし，解析モデルでは中心点が 58 °C 到達時に，境界条件となる環境温度を変更した。また境界条件は，加熱開始直後に，試料表面温度が環境温度に到達すると仮定した。設定した環境温度は表面温度の実験値から加熱工程時は 80 °C，冷却工程時を 2 °C とした。伝熱解析に必要な熱物性値である熱拡散率α（m^2/s）は，温度依存性はないとみなし，α（m^2/s）＝1.40×10^{-7}を用いた[13,14]。

6.5.2. 伝熱解析値と実験値の比較

Figure 6-6 に伝熱解析結果と，実験室で測定した肉の中心温度と環境温度を示した。その結果，加熱直後は実験値と解析値で最高で 3.3 °C 程度，最高到達温度の差は 1.1 °C 程度である。しかし，実測値の測定部位が真の中心点からずれている可能性がある点，解析モデルが調理に用いた試料と厳密に合同ではない点等を考慮すると，この温度差は大きな差とは言い難い。また，解析値の中心点は余熱により 58 °C より高くなる現象を再現していることから，伝熱解析の結果は妥当であると判断した。また，実験室で取得した中心温度は，加熱開始から 39.7±1.39 分後に目標温度である 58°C に到達し，辻学園の結果と比較して約 1.3 分到達に要する時間が短かった。これは，オーブンを使用して調理した辻学園の試料表面温度は，試料投入の際，オーブン庫内の温度が低下したが，恒温湯槽を使用した場合は試料投入時の著しい温度低下がなく，加熱開始直後においても試料表面温度は加熱温度の 80°C を保っていたため，目標温度に到達する時間が短縮されたと考えられる。また，Figure 6-6 に示した温度履歴は再現性が高いことから，加熱試料の形状，重量，加熱開始時の初期温度が同じ場合，加熱処理温度と時間の管理（TT 管理）を行うことで，真空調理法は常に同じ品質の製品を生産することが可能であることが示された。

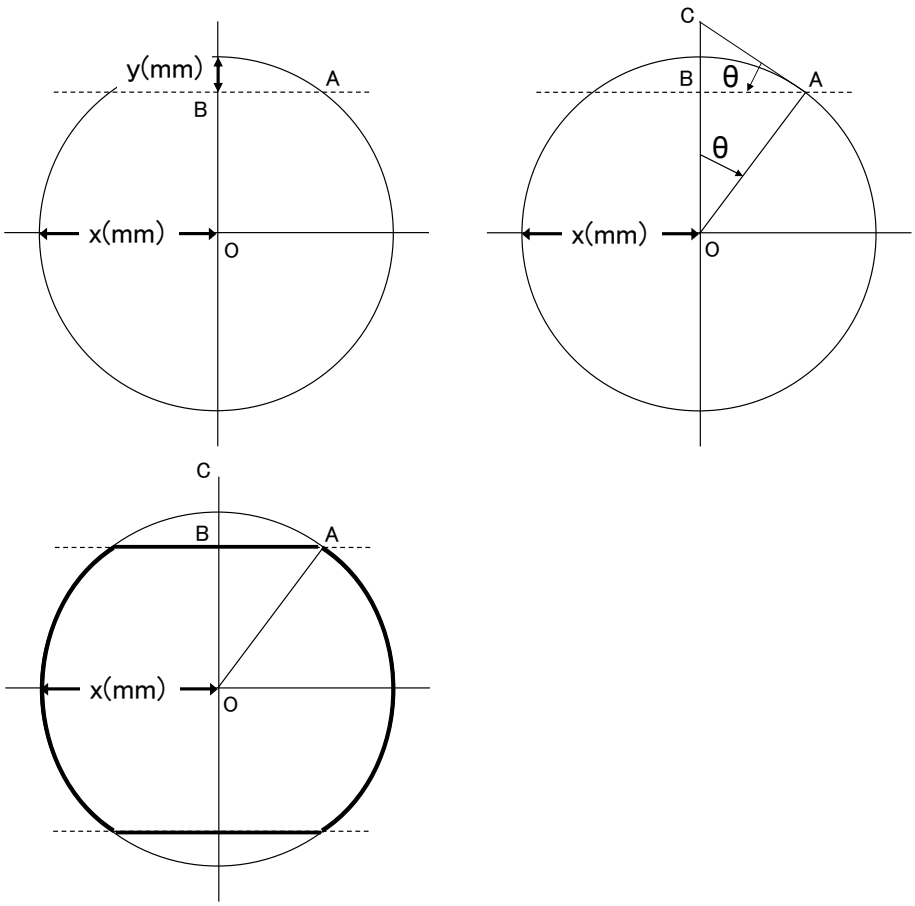


Figure 6-4 How to make the analysis model based on an experiment sample.

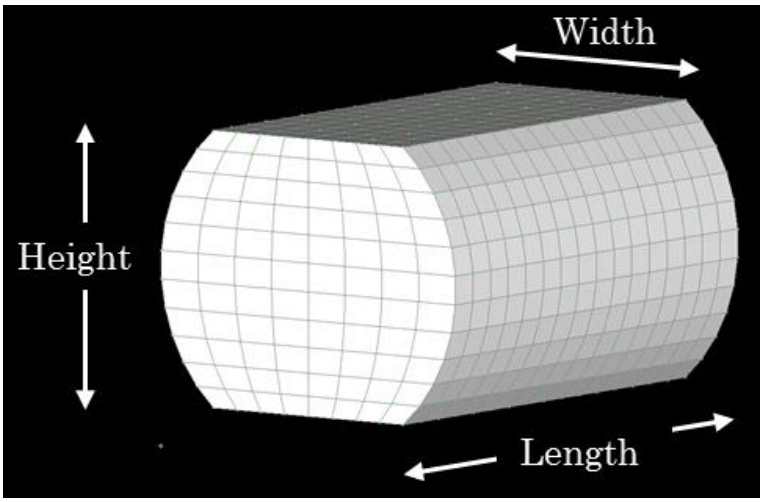


Figure 6-5 The diagrammatic illustration of meat sample used for unsteady-state three-dimensional heat transfer analysis.

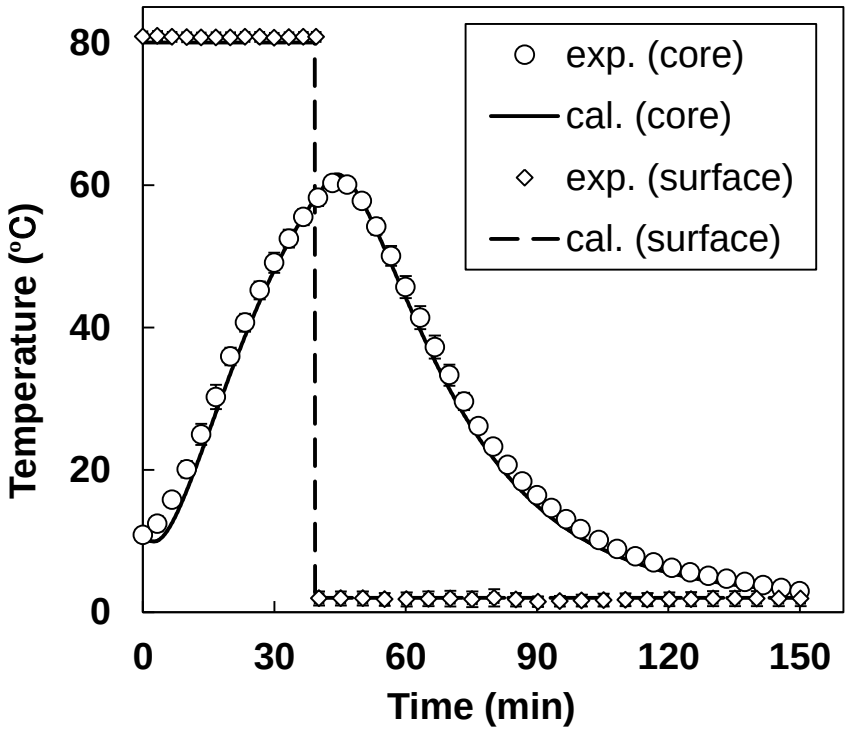


Figure 6-6 Comparison between measured and calculated temperature histories during *sous-vide* cooking. In the laboratory conducted bars indicate the standard deviation from three determinations.

6.6. 異なるレシピにおける真空調理シミュレーション

6.6.1. 非定常三次元熱伝導解析

実験室で再現実験を行った試料を対象として伝熱解析を行った結果，実験値と解析値は良好に一致したことから，伝熱解析方法の妥当性を確認できた。そこで次に，他の真空調理法を想定した伝熱解析を行い，各レシピにおける伝熱結果の差異について考察した。前述した調理方法は「プラリュ方式」による調理（以後，レシピ I）であることから，「谷方式」に従った，以下の 2 種類の調理方法を解析対象とした。

レシピ II：500g の肉を，65 °C に設定したスチームコンベクションオーブンで 60 分加熱

レシピ III[15]：400g の肉を，59.5°C に設定した恒温湯槽で 45 分加熱

プラリュ方式は中心温度を常に監視し，食材の芯温を調理基準としているのに対し，谷方式は調理する肉の重さを規定し，調理時間を設定している。レシピ I で調理した試料重量は約 400g であったため，レシピ III は同じ解析モデルを使用することが可能だが，レシピ II は試料重量 500g を対象とした調理法であるため，同じ解析モデルを使用することができない。そこで，畜肉の密度を 1.0（g/cm^3）と仮定し，レシピ I の解析モデルの一辺をそれぞれ 1.077 倍することで試料重量 500g とみなせるモデルを作成し，レシピ II の解析に使用した。また環境温度の変更は，レシピ I は解析モデル中心点が目標温度到達時に環境温度を変更したが，レシピ II および III の冷却開始時間は，加熱を開始してからの時間を指標としている。そのためレシピ II は加熱開始から 60 分，レシピ III は 45 分加熱した時に環境温度を変更した。なおレシピによって指定されている加熱機器は，レシピ II はスチームコンベクションオーブン，レシピ III は恒温湯槽であるため，厳密には加熱機器や熱媒体に応じた境界条件を考慮する必要がある。しかし，レシピ I においてスチームコンベクションオーブンと恒温湯槽の両方を用いて調理を行った結果から，加熱工程に要した時間差は約 1.3 分であり，ほぼ同等の加熱処理効果があると考えられる。そのため，熱伝達率が水より低い熱媒体である空気，すなわちオーブンを用いた調理を対象とした伝熱解析においても，境界条件は，加熱開始直後に，試料表面温度が環境温度に到達すると仮定した。レシピ II および III で調理した際の中心および環境温度の解析結果を Figure 6-7 に示した。レシピ II で調理した場合，冷却直前の調理開始 60 分時，中心温度は 54.8 °C に到達後，余熱により 56.1 °C まで上昇し，その後下降した。これに対してレシピ III は，調理開始 45 分時，中心温度が 45.8 °C に到達後，余熱により 49.2 °C まで上昇し，下降した。また余熱により温度上昇した時間は，レシピ I と III では約 7 分だったが，レシピ II は解析モデルが大きいため試料内部までの伝熱に時間を要することから，約 8 分間温度上昇し続けた．また，余熱により上昇した温度は「レシピ I

＞レシピ II≒レシピ III」であった。レシピ I は 3 種類の調理法のうち最も高い環境温度 80 °C を用いていることから，試料表面部における温度勾配が最も大きく，昇温速度が速くなるため，試料中心での温度が最も高くなったと考えた。各レシピの試料中心点における最高到達温度と環境温度差を比較したところ，プラリュ方式のレシピ I の温度差は約 20 °C であったのに対し，谷方式のレシピ II および III は約 10 °C であり，食材の中心温度の最高温度と加熱温度がほぼ等しくなるまで加熱を行う谷方式の特徴を確認することができた。また，プラリュ方式のメリットは調理時間の短縮が挙げられる。そこでレシピ I（環境温度 80 °C）において，レシピ III（すなわち環境温度が 59.5 °C）での加熱開始から 45 分経過した時の中心温度 45.8 °C に到達する時間を算出したところ，レシピ I では加熱開始 28.3 分後に到達すると明らかとなり，芯温を同程度加熱する場合の調理時間が 3 分の 1 程度短縮されると確認できた。

6.6.2. タンパク質未変性率の予測

伝熱解析値と第 2 章で求めた，各タンパク質（ミオシンおよびアクチン）の変性速度パラメーターを用いて，調理中の試料表面部ならびに中心部位のタンパク質未変性率の時間変化を試算した。Figure 6-8（A）にミオシンを，（B）にアクチンの未変性率の時間変化を示した。3 種類の調理法の環境温度（レシピ I : 80 °C，レシピ II : 65 °C，レシピ III : 59.5 °C）は，いずれもミオシンが変性可能な温度であることから[16-21]，試料表面のミオシンは調理開始直後，直ちに未変性率が 0 となり，変性が終了していることが示された。また肉の中心では，環境温度の高い順に変性が開始すると予想されるが，レシピ II は解析モデルのサイズが大きいため，ミオシンの変性が開始する時間は環境温度が最も低いレシピ III より遅かった。さらに全てのレシピにおいて，ミオシンの変性帯に到達すると，著しく変性が進行している様子が分かる。しかし，レシピ III の中心位置の最高到達温度は 49.2 °C であり，ミオシンが変性可能な温度帯に滞在する時間が他のレシピより短いため，調理終了時の未変性率は 0.01 となることが示された。73 °C 付近で著しく変性が進行するアクチンは[16-21]，環境温度が 80 °C であるレシピ I では試料表面の変性は調理開始直後に変性が完全に終了する。これに対しレシピ II と III は，時間経過と共に未変性率が減少していくが，レシピ III では変性終了前に冷却工程が開始したため，肉表面であってもアクチンの変性は完了せず，調理終了時の未変性率は 0.50 であった。中心においてはレシピ I のみ，未変性率は 0.76 まで低下したが，レシピ II および III の最高到達温度は 60 °C に到達しないため，アクチンの変性は進行せず，調理終了時におけるアクチンの未変性率はレシピ II，レシピ III 共に 0.99 だった。Figure 6-9 に肉試料の長さを 107 mm とした中心横断面の冷却工程開始直前における温度分布と，調理終了時の各タンパク質未変性分布を示した。レシピ I は試料表面部と中心部で温度差が約 20 °C となり，不均一な温度分布が形成されているのに対し，レシピ II および

レシピ III では比較的均一な温度分布となっている。タンパク質未変性度分布はミオシンおよびアクチンで大きく異なり，調理終了時のミオシンはレシピⅢの中心部は未変性率 0.01 と僅かながら未変性の領域が存在するが，Figure 6-9 に示した中心横断面の分布図からは，レシピ I および II と同様に試料全体が変性終了していることがわかる。これに対してアクチンは，環境温度が最も高いレシピ I においても肉中心部は変性終了せず，レシピ III に至っては表面においても変性終了しない。Bertram[21]は DSC で観測された結果と NMR により測定した横緩和時間 T_2 値より，アクチンの変性温度帯では肉から水分が排出されると報告している。この他にも，アクチンの変性温度帯で加熱処理した試料は，硬さの増加や筋線維が収縮すると報告されていることから[11,12]，Table 6-1 ならびに Table 6-2 に示した重量減少や体積変化が一般的な調理法に比べて抑制された理由は，試料内部温度がアクチンの変性温度に到達していない点が挙げられる。また，いずれのレシピにおいても調理終了時，試料全体のミオシンはほぼ変性終了しているにも関わらず，アクチンは肉内全ての領域で変性が終了していない。第 3 章より，アクチンの変性はテクスチャーを反映する弾性率が著しく上昇することが明らかとなっていることから，肉が柔らかくかつ歩留まりが高く仕上がるといった真空調理製品における大きなメリットは，このような特徴的なタンパク質変性分布によってもたらされていることが明確に示された。

6.6.3. 大腸菌 O157：H7 の菌数変化予測

安全性の評価として大腸菌 O157：H7 を対象とし調理終了時の菌数変化の予測計算を行った。加熱処理による菌数死滅速度は Ou ら[22]により，(6-3)式に示す一次反応であらわすことが出来ると報告されている。

$$\frac{dN}{dt} = -\frac{2.303}{D_r 10^{(T_r - T)/z}} N \tag{6-3}$$

ここで，N（CFU/g）は菌数，D_r（sec）は基準温度における熱抵抗値，T_r（°C）は基準温度，T（°C）は試料温度，z（°C）は Z 値を示す。本研究はローストビーフ調理の解析を対象としているため，畜肉加工品の食中毒の原因となるケースが高い大腸菌 O157：H7 を指標菌に選定した。(6-3)式に必要なパラメーターは Vijay ら[23]が報告した D_r＝21.13 分，T_r＝55 °C および z＝5.98 °C を用いた。また，試料温度 T には熱伝導解析より得た試料の温度履歴を用いた。

Figure 6-10（A）に試料中心点における菌数変化の計算結果を示した。Figure 6-10（A）より，レシピ I は経験する温度履歴が最も低いとみなせる中心点においても加熱工程中に 4 桁の菌数が減少したのに対し，他のレシピは加熱工程終了時においても，ほとんど菌数減少していないことがわかる。またレシピ I は調理開始から 46 分後，すなわち余熱により温度上昇している間に著しく菌数が減少すると明らかとなった。次に，レシピ II および III における調理終了時における肉

内部の菌数分布を Figure 6-10（B）に示した。Figure 6-10（B）は試料横断面（長さ 53.5 mm）のうち，さらに高さ方向中央 28.7 mm（高さの中央）における菌数分布を示している。またグラフの横軸は中心横断面における中心からの距離をあらわすが，レシピ II と III で解析モデルのサイズが異なるため無次元化を行っている。レシピ II は表面から 11.9 mm，レシピ III は表面から 3.44 mm の領域で 6 桁以上の菌数減少を確認できたことから，表面領域において十分な殺菌効果を期待できるが，試料中心付近では初菌数とほぼ同じ菌数であることが示された。一般的に，微生物は畜肉の表面に多く存在し，内部に既存する初菌数は表面と比較して極めて少ないため，レシピ II，レシピ III に従い調理したローストビーフを食しても食中毒を発症する危険性は低いと考えられる。しかし，低い温度で加熱処理を行うレシピについては，新鮮な食材を選定すること，さらに調理過程において畜肉表面での微生物の付着ならびに肉内部への侵入と増殖を避けるために，徹底した衛生管理が必要であることが提示された。

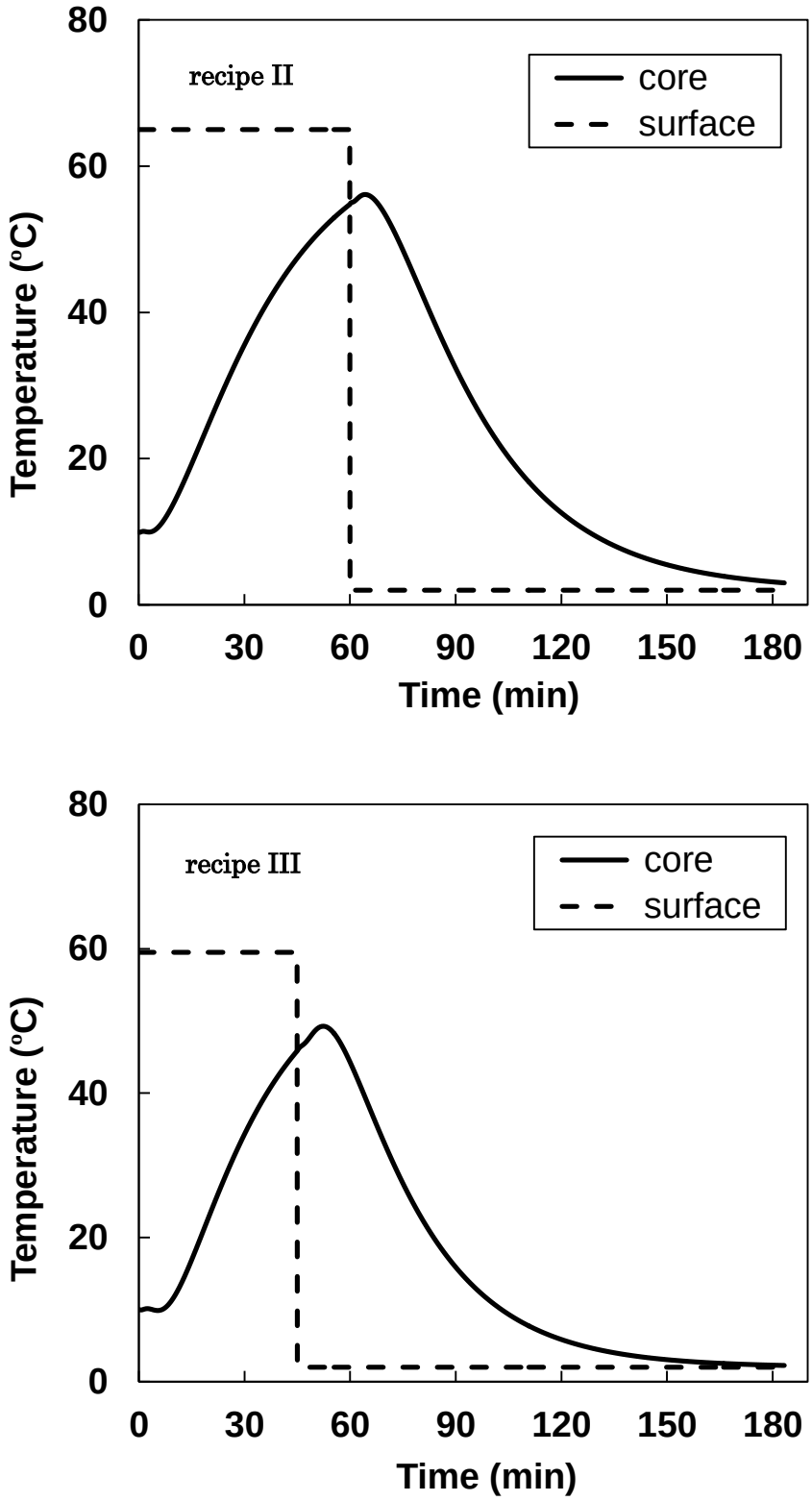


Figure 6-7 Simulated temperature history during *sous-vide* cooking using recipe II and recipe III.

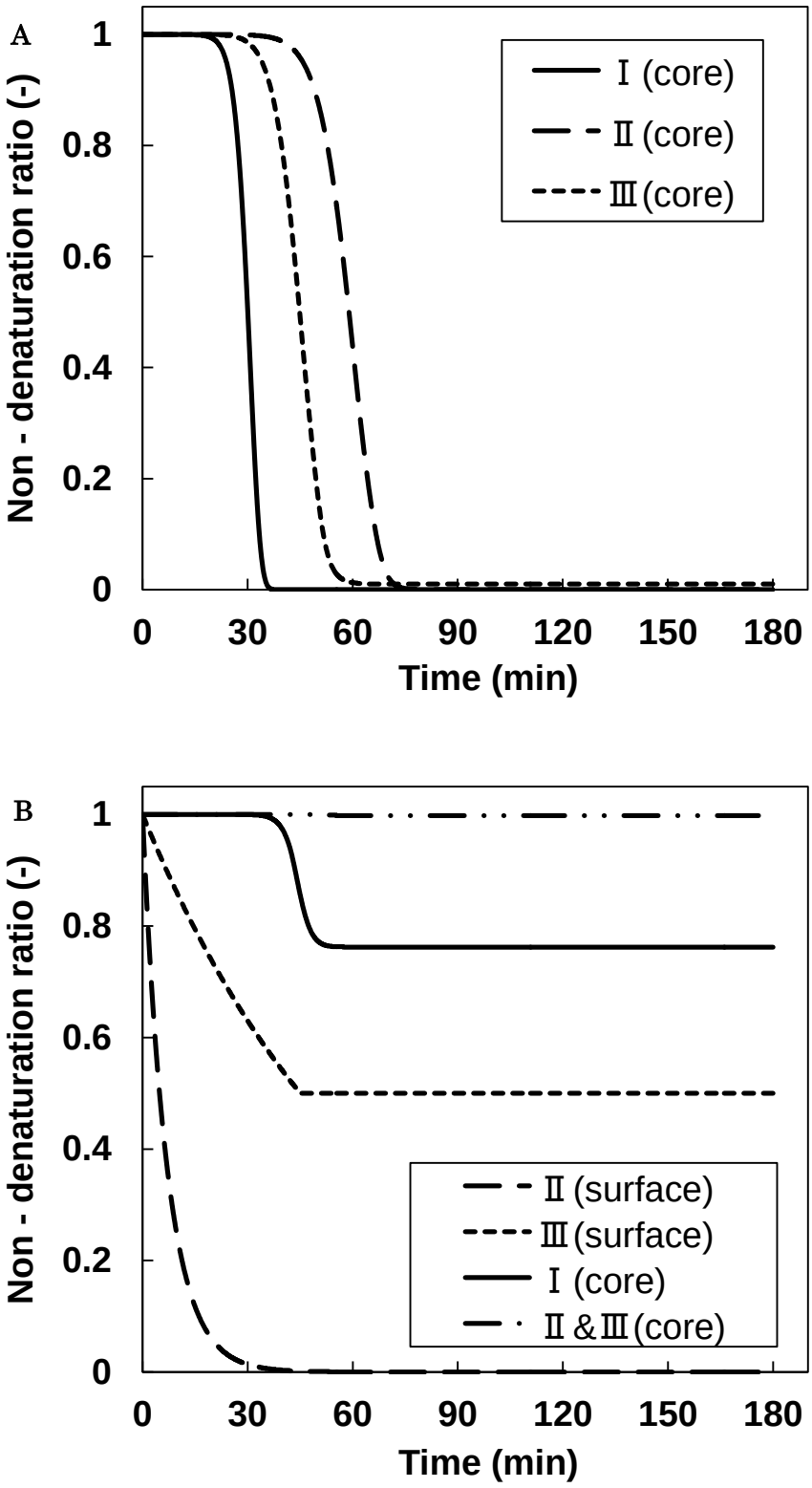


Figure 6-8 Changes in the non-denaturation ratio based on the simulated temperature history during cooking. ((A) Myosin, (B) Actin)

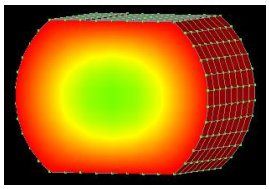
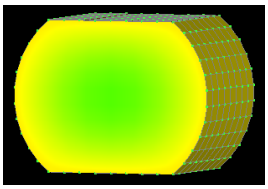
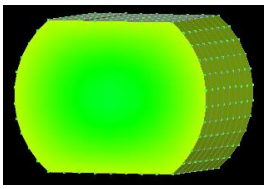
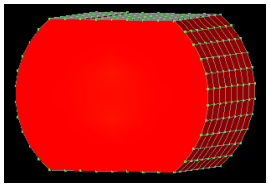
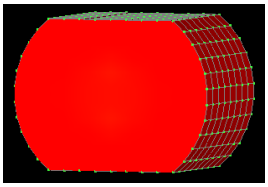
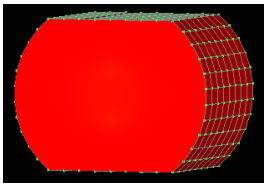
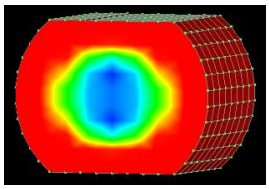
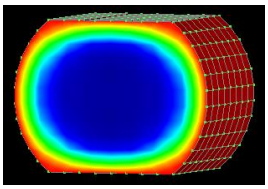
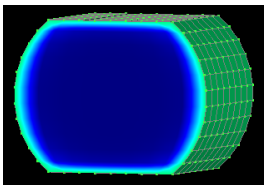
	Recipe I	Recipe II	Recipe III
Cooking temp.	80 °C	65 °C	59.5 °C
Heating time	39 min	60 min	45 min
Temperature (just before cooling)			
Myosin			
Actin			
Temperature (°C)	0 80		
Non-denaturation ratio (−)	0 1.0		

Figure 6-9 Visualization of the thermal denaturation profile of meat protein in the central section at half the length during *sous-vide* cooking. Temperature distribution shows just before the cooling period.

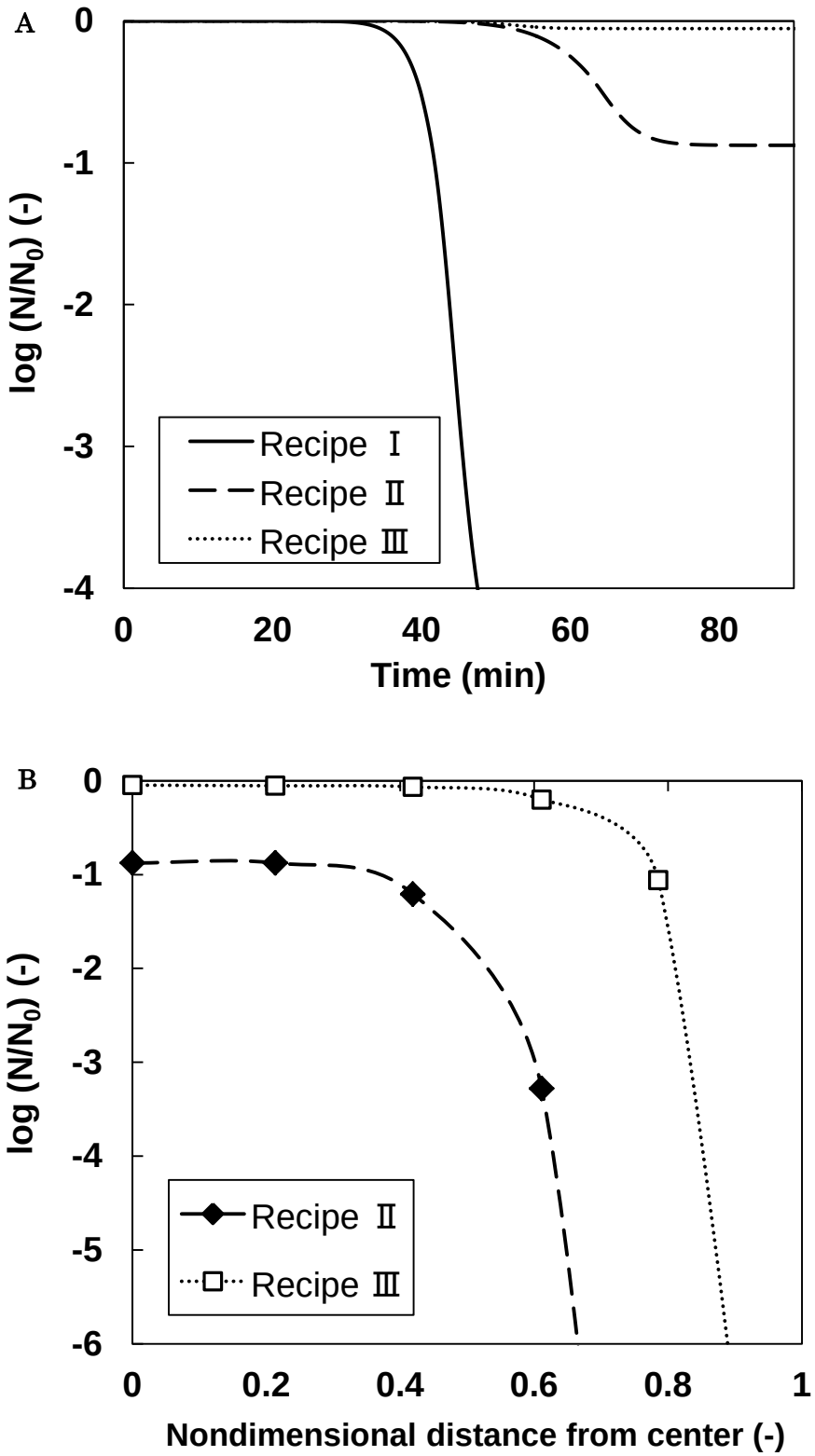


Figure 6-10 Predicted inactivation of *E. coli* O157:H7. The data expressed as a logarithm of N/N_0 where N is the count at time t and N_0 is the count at initial. (A) at the core position, (B) distribution at the position of half the length of the sample at the end of cooking.

6.7. 呈味成分の変化

6.7.1. イノシン酸残存率の変化

調理終了時における IMP を定量する試料として，市販牛モモ肉（64.0× 90.2 × 86.2 mm, 460 g）を用いて，プラリュ方式（レシピ I）に基づき真空調理を行い，この際，試料表面および中心部の温度履歴もあわせて取得した。解析モデルは先に示した方法（Figure 6-4）に従い，Figure 6-11（A）に示す解析モデルを作成した。また，実験値は Figure 6-2 に従い，表面，中心および中間部の 3 箇所の IMP 残存量を定量している。そこで，作成した解析モデルの中心横断面に対して，実際に測定した位置に対応する解析値と特定し（Figure 6-11（B）），実験値と比較した。

Figure 6-12 に伝熱解析結果と，実測した肉の中心温度と環境温度を示した。実験値は加熱開始から 42 分後に中心温度は目的温度の 58 °C に到達し，余熱により 62.3 °C まで上昇したのち下降した。解析値も同様な傾向を示し，最大温度差は 2.9 °C であった。実測値の測定部位が真の中心点からずれている可能性がある点，解析モデルが調理に用いた試料と厳密に合同ではない点等を考慮すると，この温度差は大きな差とは言い難い。また，解析値の中心点は余熱により 58 °C より高くなる現象を再現していることから，伝熱解析の結果は妥当であると判断した。

伝熱解析方法の妥当性を確認できたことから，次に伝熱解析値と第 5 章で求めた，IMP 分解反応の速度パラメーターを用いて，調理中の試料表面ならびに中心部の IMP 残存率と中心部の IMP 分解酵素の酵素活性度の時間変化を試算し，Figure 6-13 に示した。Figure 6-13 より，IMP 分解酵素の酵素活性度は 40°C 以下では低下しないため，初期値（A_E＝1.0）を保つが，中心温度が上昇し，40°C より高い温度帯に到達すると徐々に失活する様子が見て取れる。その為，中心部における IMP 残存率は加熱時間の経過に伴い徐々に低下した。しかし，中心温度が 60°C 付近に到達すると，酵素活性度はほぼ 0 となるため，IMP 残存率の低下は抑制され，減少傾向は緩やかとなり，調理終了時における IMP 残存率は 0.58 となることが明らかとなった。これに対し試料表面は，加熱開始直後に IMP 分解酵素の酵素活性度が 0 となるため，IMP 残存率は初期値を保つことが示された。すなわち，試料表面と中心部では，経験する IMP 分解酵素の酵素活性度が異なるため，試料の位置によって IMP 残存率の消長が異なることが明確となった。さらに，Figure 6-9 に肉試料の長さを 90.2 mm とした中心横断面の冷却工程開始直前における温度分布と，調理過程における IMP 残存率および IMP 分解酵素の酵素活性度分布を示した。調理開始から試料表面から伝熱が進行し，加熱開始 42 分後に中心温度が目的温度である 58 °C に到達後，冷却工程が始まり，試料表面から伝熱が進行していること，内部は直ちに冷却されず，高い温度を保っている様子が見て取れる。また酵素活性度は，試料内部への伝熱が進行するのに伴い，低下する様子が示された。酵素活性度の影響を受ける IMP 残存率は，加熱開始直後に酵素活性度が著しく低下している試料表面領域は，加熱開始から終了時まで常に IMP 初期含量と同等な値を示しているのに対

し，酵素活性度が徐々に低下する内部では，IMP 残存率が低下する様子が明確となった。ところで，加熱開始 15 分から 30 分までの IMP 残存率分布は，表面と中心部は IMP 残存率が高いが，その中間領域の数値は低く，非常に特徴的な分布であることが見て取れる。これは，試料表面からの伝熱が進行し，表面と内部で温度差，すなわち不均一な温度分布が生じることが原因として挙げられる。加熱開始直後の試料中心部は酵素活性度が低下する温度帯（40 °C より高い温度）ではないが，同時に IMP 分解反応速度が遅い温度帯に該当するため，IMP 分解反応は促進されない。それゆえ，一時的に中心部も表面領域と同様に高い IMP 残存率であることが示唆された。

最後に，調理終了時における IMP 残存率分布の実験値と解析値を比較した結果を Figure 6-15 に示した。実験値も解析値と同様に，試料表面部は IMP 分解はほとんど生じず，調理終了時であっても初期含量と同等であるのに対し，試料の内部に位置するに従い，IMP 残存率は低下する傾向であった。また数値を比較すると，ほぼ等しい値を示していることから，試料内部で不均一な IMP 残存率分布が生じるようなブロック状の試料においても，第 5 章で構築した IMP 残存率を予測するモデルは適用可能であると確認することができた。

6.7.2. イノシン酸とグルタミン酸残存率の比較

解析モデルを半径 32.5 mm，長さ 100 mm の円筒形とし，プラリュ方式（レシピ I）に基づき真空調理を行った際の IMP と Glu 残存率分布の比較を行った。両呈味成分の予測は，第 5 章に示した反応モデル（IMP：伝熱解析および IMP 分解反応速度に加え，IMP 分解酵素の酵素活性度を考慮した反応モデル，Glu：ダルシーの法則に基づく物質移動解析）を用いた。

Figure 6-16 に，レシピ I を想定した，試料中心位置における伝熱解析結果を示した。解析値は加熱開始から 38 分後に目的温度の 58 °C に到達し，余熱により 63.7 °C まで上昇したのち下降した。今回の解析モデルの体積は，先に示した解析モデルよりも小さいため，目的温度に到達するまでに要した時間は最も短く，余熱に伴う温度上昇は最も高くなった。

Figure 6-17 に解析モデルの中心横断面における，調理過程中の IMP 残存率および Glu 残存率分布を示した。IMP 残存率は，先に示した結果と同様に，解析モデルの表面部は加熱開始直後に IMP 分解酵素が失活するため，調理終了時まで常に初期含量を保っていること，表面よりも内部の IMP 残存率が低い，不均一な残存率分布が形成されている様子が見て取れる。これに対して Glu 残存率は，表面から減少し，常に試料表面よりも内部の残存率が高い不均一な分布となっており，IMP と Glu で試料内部に形成される残存率分布が異なることが明らかとなった。また，両呈味成分はそれぞれ残存率が 0.6 を上回っていること，うま味の発現に寄与する Glu 残存率が特に高いことから，真空調理法により調理したローストビーフは，著しい旨味の減少を抑制した調理法であると示唆された。

ところで真空調理法に基づきローストビーフを調理する際，最初に試料各面に焼き色が形成されるまでフライパンを用いて焼成する。フライパンによる焼成は，試料表面に既存する微生物の殺菌効果が見込まれているが，この操作によって，試料表面の透過係数は著しく低下することが予想される。したがって，解析モデルの表面に低い透過係数を設定していない現在のの解析モデルで物質移動解析を行った場合，Glu 残存率の解析値は実測値よりも低い値を示している可能性がある。すなわち，今後より実際の調理に即した予測計算を行うためには，解析モデルは内部とは別に表層部は焼成によって形成される透過係数の低い領域とし，それぞれに適した物性値を設定し，物質移動解析を行う必要があると示唆された。

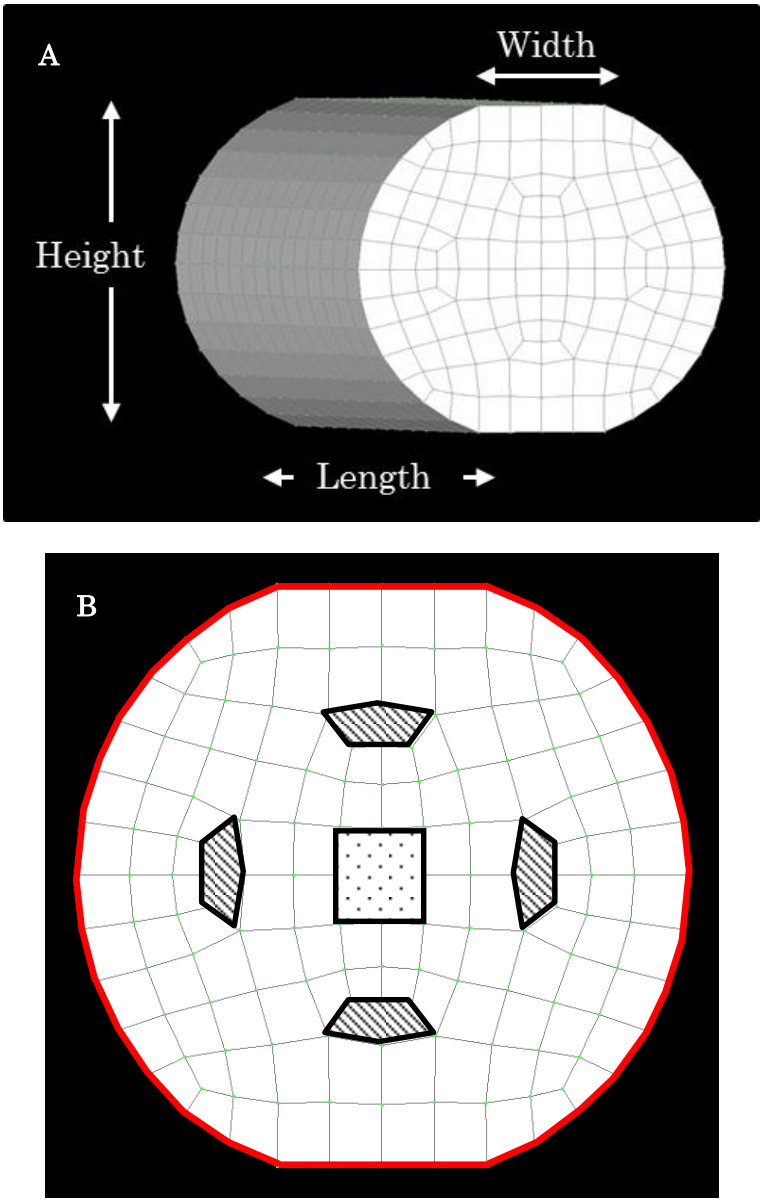


Figure 6-11 (A) The diagrammatic illustration of meat sample used for unsteady-state three-dimensional heat transfer analysis used for quantification of IMP. (B) position of analytical model compared with measured IMP remaining ratio.

…center, …middle, …surface

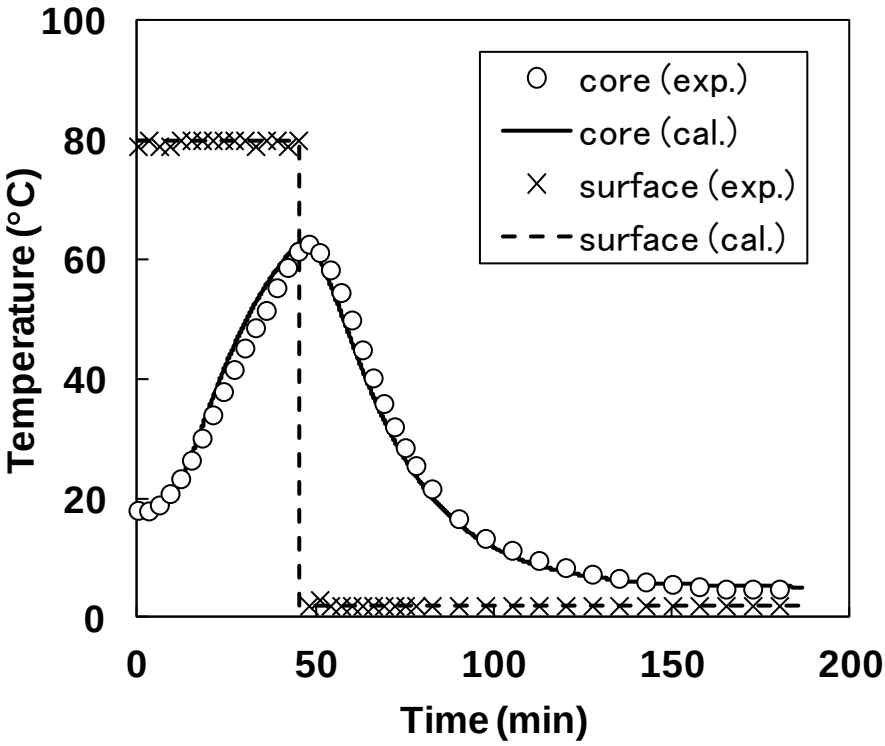


Figure 6-12 Comparison between measured in the laboratory experiment and calculated temperature history during *sous-vide* cooking.

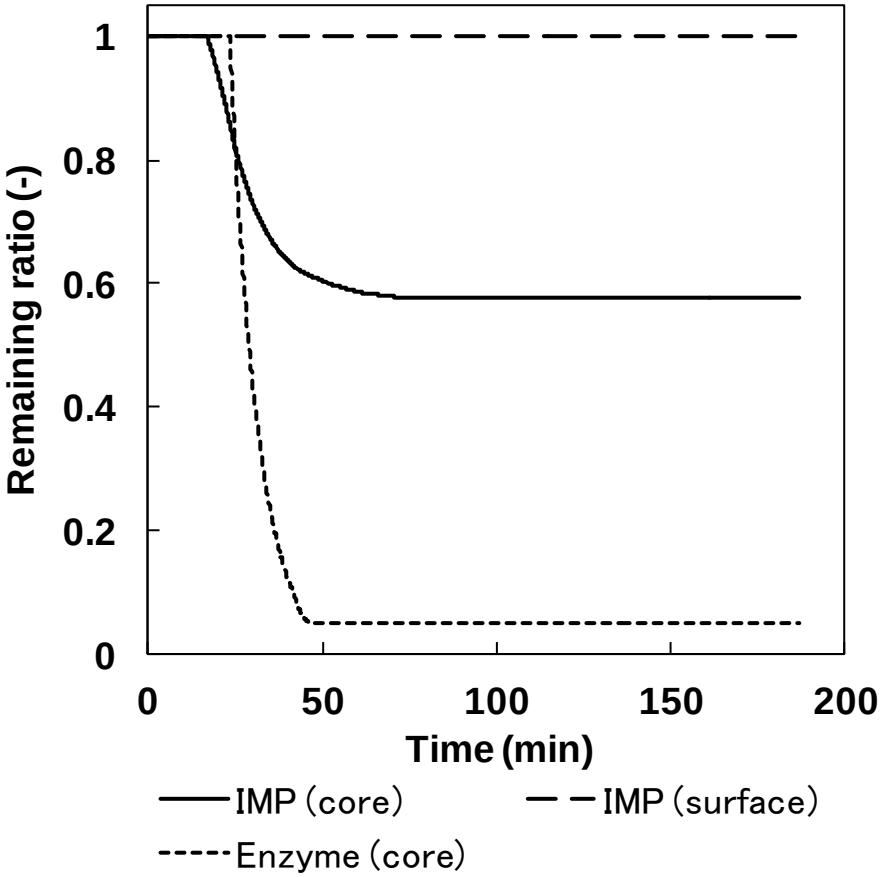


Figure 6-13 The change s of IMP remaining ratio and enzyme activity ratio were simulated based on calculated temperature history at the core and the surface.

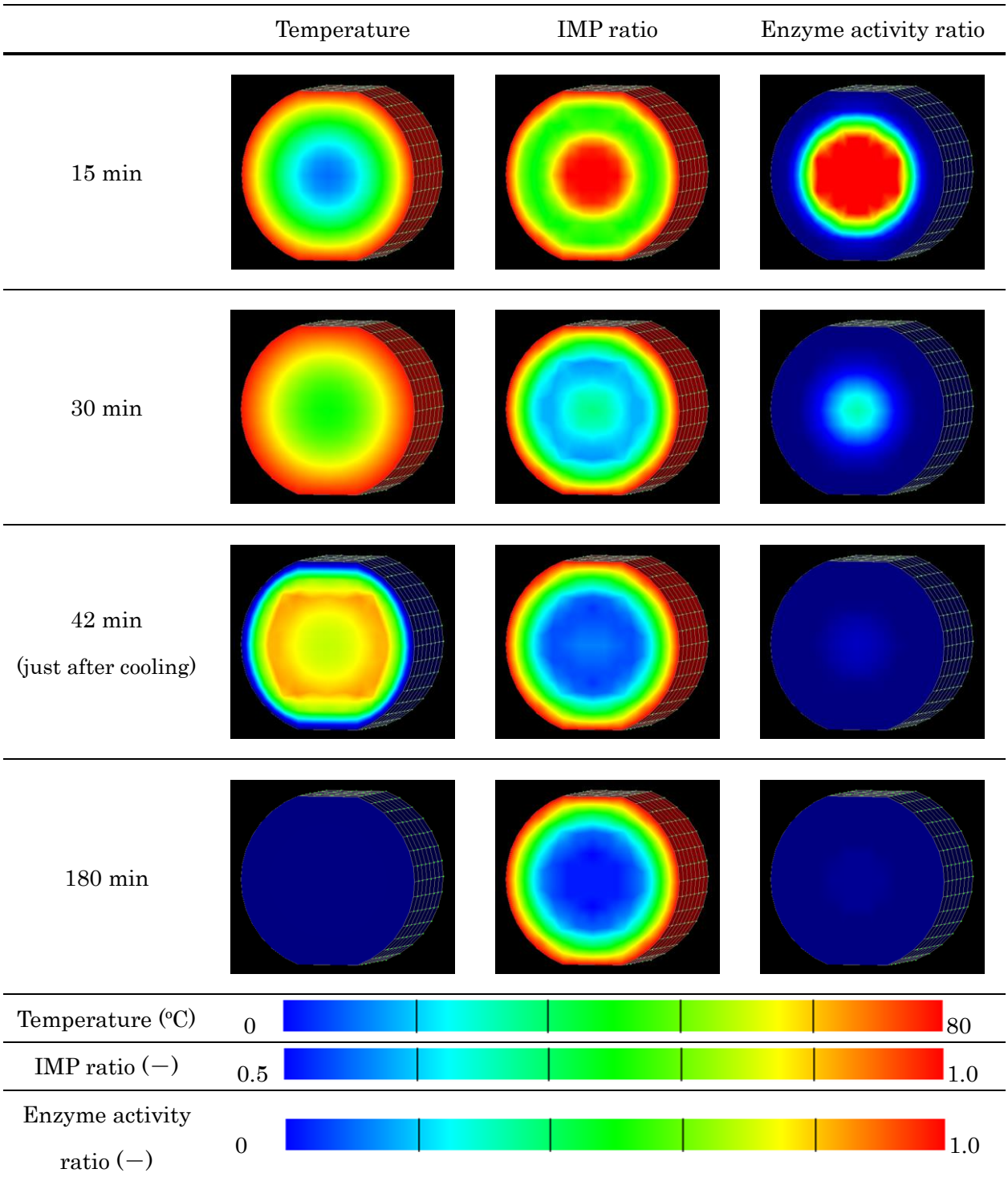


Figure 6-14 Distribution of the remaining IMP ratio and the enzyme activity ratio in a cross-section of a meat sample at half the height, together with the change of temperature distribution during *sous-vide* cooking.

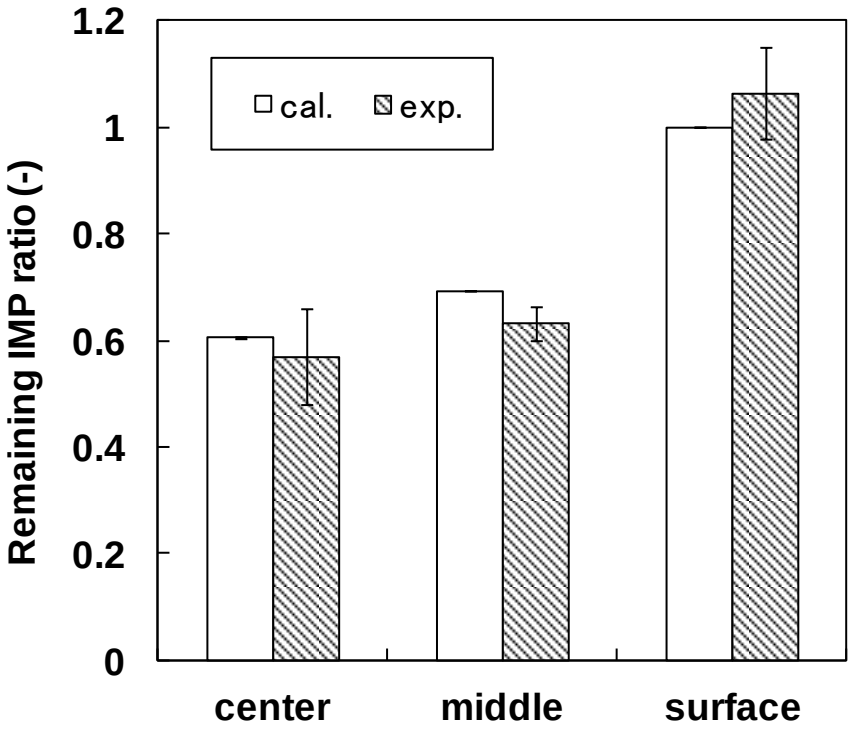


Figure 6-15 Comparison of the experimental remaining IMP ratio and the calculated one at the end of sous-vide cooking.

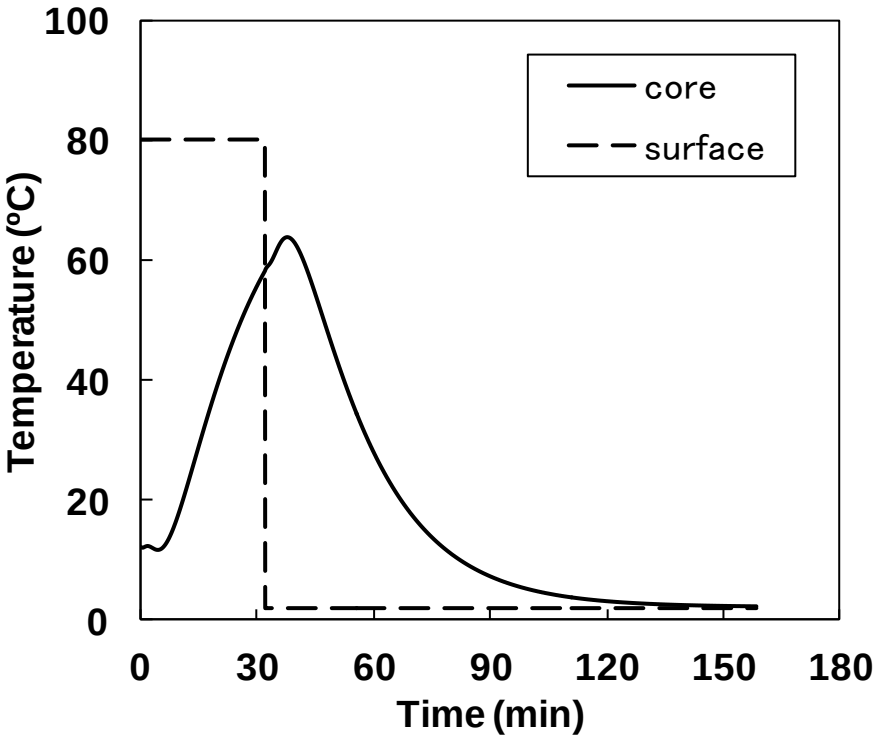


Figure 6-16 Simulated temperature history during *sous-vide* cooking using recipe I for comparing with the remaining Glu ratio and IMP ratio.

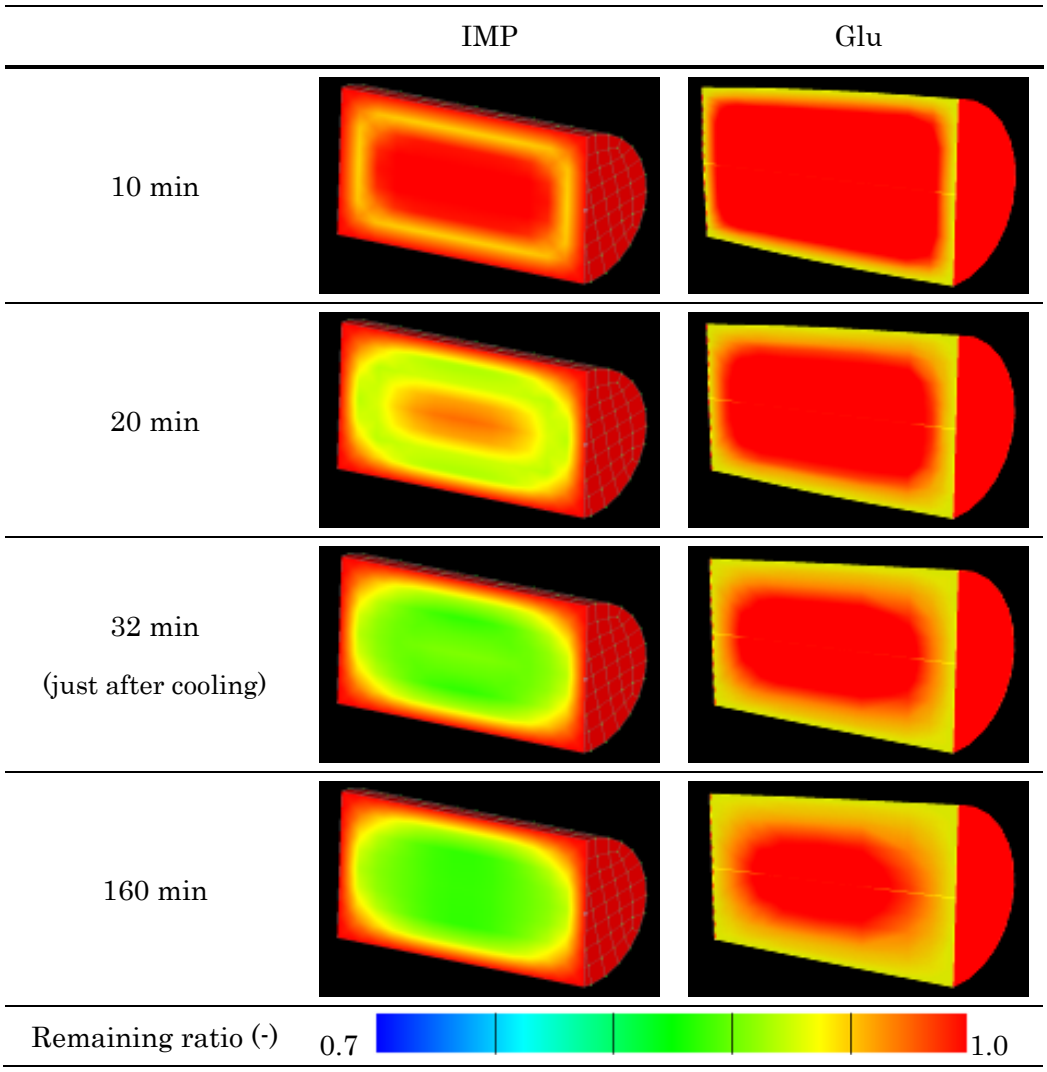


Figure 6-17 Distribution of the remaining IMP ratio and the remaining Glu ratio in a cross-section of a meat sample at half the width during *sous-vide* cooking.

6.8. 結論

本章では，実際の調理を想定したシミュレーションとして，レストラン等で実際に用いられている真空調理法によるローストビーフ調理を解析対象とし，各章で取得した反応モデルならびに速度パラメーターを用いて，タンパク質未変性率，呈味成分，そして食品産業で最も留意されている微生物死滅数のシミュレーションならびに可視化を行った。また，真空調理法は，多数のレシピが存在することから，シミュレーション手法の利点を生かし，複数の調理法を対象としたタンパク質変性度ならびに微生物死滅数の予測もあわせて行った。得られた結果は以下のようにまとめられる。

- 真空包装した畜肉サイズを想定した解析モデルを作成し，フーリエの法則に基づく非定常三次元熱伝導解析を行った解析値と，実際に実験室で調理したローストビーフの中心温度履歴は良好に一致した。
- タンパク質変性度の分布は，加熱処理条件の異なる 3 つの全てのレシピにおいて，ミオシンは全て変性完了していたが，アクチンは表面部のみ変性していることが明らかとなった。
- 低い温度で加熱処理を行うレシピについては，肉内部における微生物死滅数は少ないことから，新鮮な食材を選定すること，さらに調理過程において畜肉表面での微生物の付着ならびに肉内部への侵入と増殖を避けるために，徹底した衛生管理が必要であることが提示された。
- IMP は，表面よりも内部の IMP 残存率が低い，不均一な残存率分布が形成されていたが，Glu 残存率は，表面から減少し，常に試料表面よりも内部の残存率が高い不均一な分布であった。
- 両呈味成分はそれぞれ残存率が 0.6 を上回っていること，うま味の発現に寄与する Glu 残存率が特に高いことから，真空調理法により調理したローストビーフは，著しい旨味の減少を抑制した調理法であると示唆された。

6.9. 記号説明

D_r	reference decimal reduction time (s)
H	height (mm)
N	number of fungi (CFU/g)
S	cross section area (mm^2)
t	time (s)
T	temperature (°C)
T_a	ambient temperature (°C)

T_r reference temperature (°C)

T_s surface temperature (°C)

W width (mm)

Z thermal resistance constant (°C)

Greece symbol

α thermal diffusivity (m^2/s)

6.10. 本章の引用文献

1) 渋川祥子（2006），調理における加熱の基本，日本食生活学会誌，**17**，89-93

2) 谷孝之，金谷節子，長田銑司，川平秀一（2002），真空調理ってなに？，柴田書店，p.14

3) Schellekens, M. (1996), New research issues in sous-vide cooking. *Trends Food Sci. Tech.*, **7**, 256-262

4) 西念幸江，柴田圭子，安原安代（2003），鶏肉の真空調理に関する研究（第 1 報）真空調理と茹で加熱した鶏肉の物性及び食味，日本家政学会誌，**54**，591-600

5) Nishimura, K., Miyamoto, Y. & Higasa, T. (2004), Tenderer chicken breasts vacuum-cooked at 75°C. *J. Home Econ. Jpn.*, **55**, 605-615

6) 丹羽悠輝，森山三千江，大羽和子（2007），真空調理に伴う植物性食品の抗酸化機能成分の変化，日本調理科学会誌，**40**，257-265

7) 谷孝之，金谷節子，長田銑司，川平秀一（2002），真空調理ってなに？，柴田書店，pp. 22-23

8) 谷孝之，金谷節子，長田銑司，川平秀一（2002），真空調理ってなに？，柴田書店，pp. 17-18

9) 谷孝之，金谷節子，長田銑司，川平秀一（2002），真空調理ってなに？，柴田書店，p. 133

10) Sanchez del Pulgar, J., Gazquez, A. & Ruiz-Carrascal, J. (2012), Physico-chemical, textural and structural characteristics of sous-vide cooked pork cheeks as affected by vacuum, cooking temperature, and cooking time. *Meat Sci.*, **90**, 828-835

11) Tornberg, E. (2005), Effect of heat on meat proteins-implications on structure and quality of meat products. *Meat Sci.*, **70**, 496-508

12) Sman R.G.M., V. D. (2007), Moisture transport during cooking of meat: An analysis based on Flory-Rehner theory. *Meat Sci.*, **76**, 730-738

13) Sheridian, P. S. & Shilton, N. C. (2002). Determination of the thermal diffusivity of ground beef patties under infrared radiation oven-shelf cooling. *J Food Eng.*, **52**, 39-45

14) Markowski, M., Bialobrzewski, I. & Cierach, M. P. (2004). Determination of thermal diffusivity of Lyoner type sausages during water bath cooking and cooling. *J Food Eng.*, **65**, 591-598

15) Keller, T., Benno, J., Lee, C. & Rouxel, S. (2008), "*Under Pressure Cooking Sous Vide*", Artisan, New York

16) Kajitani, S., Fukuoka, M. & N. Sakai (2011), Kinetics of thermal denaturation of protein in cured pork meat. *Jpn. Food J. Eng.*, **12**, 19-26

17) Wargner, J. R. & Anon, M. C. (1986), Deaturation kinetics of myfibrillar proteins in bovine muscle. *J. Food Sci.*, **50**, 1547-1550

18) Stabursvik, E. & Martens, H. (1980), Thermal denaturation of proteins in post rigor muscle tissue as studied by differential scanning calorimetry. *J. Sci. Food Agric.*, **31**, 1034-1042

19) Wright, D. J., Leach, I. B. & Wilding, P. (1978), Differential scanning calorimetric studies of muscle and its constituent proteins. *J. Sci. Food Agric.*, **28**, 557-56

20) Martens, H. & Vold, E. (1977), DSC studies of muscle protein denaturation. *22nd Eur. Meat Res. Work.*, Malmo, Sweden

21) Bertram, H. C., Wu, Z., Berg, F.V.D. & Andersen, H. J. (2006), NMR relaxometry and differential scanning calorimetry during meat cooking. *Meat Sci.*, **74**, 684-68

22) Ou, D. & Mittal, G. S. (2007), Single-sided pan frying of frozen hamburgers with flippings for microbial safety using modeling and simulation. *J. Food Eng.*, **80**, 33-45

23) Vijay, K. J., Oscar, P. S. & Benne, J. S. M. (1997), Thermal destruction of Escherichia coli O157:H7 in beef and chicken: determination of D- and z- values. *Intern. J. Food Microbiol.*, **35**, 237-237

24) Nyati, H. (2000), An evaluation of the effect of storage and processing temperature on the microbiological status of sous vide extended shel-life products. *Food Control*, **11**, 471-476

第7章 総括および今後の展望

本研究は，伝熱解析に基づき，畜肉加熱処理時に生じる現象を予測可能とする調理シミュレーションの構築を行うことを目的とした。そのため，畜肉加熱処理時に生じる，品質に影響を及ぼす因子の反応モデルの決定と，予測に必要となる速度パラメーターの取得を試みた。

第 1 章では，現代社会における食品産業が担う役割とシミュレーションを行う意義，そして畜肉を対象としたシミュレーションが現在に至るまで発展してきた内容について，4 つの分類に分けて説明した。そして，調理の目的と意義および本研究の目的について述べた。

第 2 章では，食感や重量変化等の品質に大きな影響を及ぼすと考えられる，畜肉の主要成分であるタンパク質の熱変性速度定数の温度依存性を DSC-Dynamic 法により実測した。その結果，DSC-Dynamic 法により，食感や重量変化に大きな影響を及ぼす筋原線維タンパク質であるミオシンとアクチンの変性速度定数パラメーターを得た。また，タンパク質の熱変性速度は未変性のタンパク質濃度に比例する一次反応と仮定することで，任意の温度変化におけるミオシン，アクチンそれぞれのタンパク質未変性率, ならびに DSC 測定で計測した各タンパク質の熱変性に要したエンタルピー量の比率より, 畜肉タンパク質全体を考慮した total タンパク質未変性率を予測することが可能となった。

第 3 章では，タンパク質変性度が及ぼす畜肉品質との関係を考察すべく，あらかじめタンパク質変性度の分布を予測した試料を用いて，弾性率，重量損失率，および MRI 法を用いて試料内部に残存する横緩和時間 T_2 を測定した。まず畜肉サイズ 15 × 20 × 20 mm の直方体を想定した解析モデルを作成し, フーリエの法則に基づく非定常三次元熱伝導解析を行い, 解析モデル中心点と，恒温水槽で等温加熱処理した畜肉試料の中心点を比較した結果，温度履歴は良好に一致した。伝熱解析の妥当性について確認できたことから，伝熱解析値を用いて，ミオシン，アクチンそれぞれのタンパク質未変性率ならびに total タンパク質未変性率を予測したところ，加熱処理温度（50 °C，70 °C）によって，変性率の時間変化が大きく異なることが明確となった。また，弾性率はアクチンの変性に伴い，著しく増大すること，中心位置におけるタンパク質未変性率の値が同じであっても，total タンパク質未変性率の平均値 μ が異なる場合，弾性率は異なる値を示すことが明らかとなった。そして重量損失率は，アクチンのみならず，ミオシンの変性も影響を及ぼすが，アクチンの方が影響力は大きいこと，タンパク質の変性の進行は，水の運動性を反映する T_2 値の低下させるため, 変性の進行に伴い短い横緩和時間 T_2 の占める割合が高くなることが示された。

第 4 章では，畜肉加熱時の物質移動解析に着目をした。畜肉の物質移動現象は，試料内部に生じる圧力勾配を駆動力とするダルシーの法則に基づき説明できると考えた。ダルシーの法則には

透過係数と粘度がパラメーターとして用いられる。そのため，これらのパラメーターを実測する必要があると考え，加熱に伴う畜肉構造の変化を反映した透過係数および粘度の決定と，物質移動モデルおよび決定したパラメーターの有効性について検証を行った。得られた結果は以下のようにまとめられる。まず，比重法により加熱に伴う体積変化（収縮率）を実験的に求めた結果，total タンパク質未変性率と収縮率の相関式を式であらわすことができた。透過係数は，顕微鏡法を利用して計測した筋繊維の直径と，NMR 法により観測した拡散係数より推算し，total タンパク質未変性率と透過係数の相関を式であらわすことができた。粘度は，流体中に存在する水溶性タンパク質の加熱変性率とアンドレードの式より，任意の温度における値を推測することが可能となった。これら実験より得た値を用いて，二次元物質移動解析を行った結果，実測値と解析値で多少，数値の差はあるものの，傾向が一致したことより，物質移動モデルおよび実験的に決定したパラメーターは妥当であると判断した。しかし，今後，より厳密な物質移動解析を行うためには，ダルシーの法則のみならず，フィックの法則を考慮する必要があると示唆された。また，MRI 測定で観測した T_2 値と残重量率について較正曲線を作成し，マクロな試料における残重量率の分布と解析値を比較した。その結果，MRI 測定で算出した値（実測値）と解析値で多少，数値の差はあるものの，試料内部に形成される水分分布の傾向が一致した。

第 5 章では，畜肉呈味成分のうち，旨味の発現に寄与する遊離グルタミン酸とイノシン酸に着目した。試料中に残存する呈味成分の定量を行い，加熱処理に伴う呈味成分の消長を把握し，定量結果より各成分を予測するための反応モデルを検討した。その後，二次元円筒形モデルを対象とし，同一条件下で加熱処理した際の両成分の残存量を予測するとともに，畜肉内部に形成される両成分の分布を比較した。その結果，Glu 残存率と残重量率の減少傾向は同程度であることから，残重量率を算出すること，すなわち物質移動解析により Glu 残存率を予測することが可能であること，IMP 残存率を予測するためには，IMP 分解反応と，IMP を分解する酵素の酵素活性度低下反応の 2 種類を考慮した反応モデルを構築する必要があること，IMP を分解する酵素の酵素活性度は，加熱処理温度に依存し，かつ，加熱開始直後に各加熱処理温度の平衡値に到達すると仮定した反応モデルが適していることが明らかとなった。また，Glu と IMP は同じ条件で加熱処理を行った場合においても，加熱処理温度によって，試料内部に形成される残存率分布が異なることが示された。

第 6 章は，実際の調理を想定したシミュレーションとして，レストラン等で実際に用いられている真空調理法によるローストビーフ調理を解析対象とし，各章で取得した反応モデルならびに速度パラメーターを用いて，タンパク質未変性率，呈味成分，そして食品産業で最も留意されている微生物死滅数のシミュレーションならびに可視化を行った。まず，真空包装した畜肉サイズを想定した解析モデルを作成し，フーリエの法則に基づく非定常三次元熱伝導解析を行った解析

値と，実際に実験室で調理したローストビーフの中心温度履歴は良好に一致した。そこで，伝熱解析値をもとにタンパク質変性度分布を異なる 3 つのレシピにおいて予測したところ，ミオシンは全て変性完了していたが，アクチンは表面部のみ変性している共通点があった。また，低い温度で加熱処理を行うレシピについては，肉内部における微生物死滅数は少ないことから，新鮮な食材を選定すること，さらに調理過程において畜肉表面での微生物の付着ならびに肉内部への侵入と増殖を避けるために，徹底した衛生管理が必要であることが提示された。呈味成分分布は，IMP は，表面よりも内部の IMP 残存率が低い，不均一な残存率分布が形成されていたが，Glu 残存率は，表面から減少し，常に試料表面よりも内部の残存率が高い不均一な分布であった。また，それぞれの呈味成分の残存率はともに 0.6 をうわまわっていること，うま味の発現に寄与する Glu 残存率が特に高いことから，真空調理法により調理したローストビーフは，著しい旨味の減少を抑制した調理法であると示唆された。

以上述べたとおり，熱移動現象に伴い変化する物理的，化学/生化学的変化のモデル構築および速度パラメーターの取得を行うことで，品質に寄与するタンパク質未変性率の変化，呈味成分の消長および微生物死滅数について予測ならびに可視化することが可能となった。しかし，現在のシミュレーションには，ヒトが実際に食した際の“官能評価”が反映されていない。そのため今後，官能試験に基づき「ヒトが最適と考える値」について検証すること，そして，「最適値」となる加熱処理条件を探索可能とするシミュレーションの構築が期待される。さらには，加熱処理時に要する消費エネルギーの推算をあわせて行うことで，品質と環境負荷を同時に考慮した，最適調理の決定が可能となるであろう。このように，食材を対象としたシミュレーションには残された課題は数多い。しかし本研究で得た知見が，今後のシミュレーション手法を新しいステージへと導くきっかけとなること，ならびに食品産業や消費者に対して，より高品質かつ安全性を担保した加工食品の生産/提供に寄与されることを願う。

謝辞

本研究は，東京海洋大学大学院 海洋科学技術研究科 応用生命科学専攻において，2011年4月から2014年3月にわたり行ったものです。この間，甚大なるご協力と，親身なご指導を承りました，主指導教官である，東京海洋大学 福岡美香准教授ならびに酒井昇教授に厚く御礼申し上げます。また，お忙しいにも関わらず，崎山高明教授，濱田奈保子教授に御高閲，数多くの助言を賜りましたことを，深く感謝申し上げます。また本研究の一部は，公益財団法人東洋食品研究所の助成により行いましたことを，心より感謝申し上げます。

そして合計6年間在籍した食品熱操作工学研究室で出会った数多くの先輩，後輩，そして卒業後も支えてくれた同級生，なにより，長い大学生活において，研究活動に邁進できる環境を与えてくれた家族に，深く感謝申し上げます。

最後になりましたが，ここでお名前を挙げることのできなかった方々へお詫びをするとともに，私を支えて下さった皆様に改めて感謝の意をあらわし，今後とも相変わりませぬご指導，ご鞭撻の程，お願い申し上げます。