

食肉製品に用いる天然ケーシングの機械特性と加工適性に及ぼす結合組織の影響

Effect of Connective Tissue on Mechanical and Processing Property of Natural Casing for Meat Products

坂田亮一, 森田英利, 西海理之*

麻布大学獣医学部・新潟大学農学部*

Ryoichi Sakata, Hidetoshi Morita and Tadayuki Nishiumi*

School of Veterinary Medicine, Azabu University and *Faculty of Agriculture, Niigata University

Abstract. Mechanical, biochemical and histological evaluations of natural hog and sheep casings were studied to elucidate the effect of connective tissue on the mechanical properties of natural casings. Chinese casings were significant tougher than any other casings ($p < 0.01$). Natural hog and sheep casings were predominantly composed of collagen organized in many layers of sheets of collagen fibers and minor elastin limited in blood vessels. The amounts of collagen, elastin, and proteoglycan, and histological distribution and density of elastin fibers for various casings were essentially the same. These parameters thus would not likely contribute to the strength of natural casings. Chinese casings possessed a significant low heat-solubility of collagen ($p < 0.01$), and a different size and arrangement of collagen fibers. Thus the thermal and structural stabilities of collagen may determine the mechanical properties of casings.

1. 目的

ソーセージ製造に用いられる可食性ケーシングには再構成コラーゲンをを用いた人工ケーシングと、主に豚や羊の腸などを利用した天然ケーシングがあり、天然ケーシングは適度の弾力性や特有の歯ごたえがあるために消費者に好まれ、広く用いられている。しかしながら天然ケーシングは品質のバラツキが大きく、例えばソーセージを詰める際に破れたり、硬すぎて咀嚼後もケーシング部分が口の中に残るといった問題があり、天然ケーシングの機械特性のバラツキをなくすことが大きな課題となっている。特に、生産量が多い中国産豚腸ケーシングは値段が手頃であるが硬いという難点があり、中国産ケーシングの

品質向上が大きな問題となっている¹⁾。

天然ケーシングは、豚や羊の腸から粘膜層と筋層を除去した残りの粘膜下組織であり、結合組織（コラーゲン、エラスチン、プロテオグリカンなど）から構成される組織である。コラーゲンは強固なコラーゲン線維ネットワークを構築し、ケーシング中を無尽に走る血管は主としてエラスチンから成る。またプロテオグリカンも、コラーゲン線維と相互作用することでコラーゲン線維の強度や安定性に関与すると考えられている。したがって、これら結合組織が天然ケーシングの硬さに影響すると予想されるが、天然ケーシング結合組織とその機械特性との関係についての研究のみならず、天然ケーシングを構築している結合組織の諸性質に関する報告もない。

本研究では、いくつかの産地から取り寄せた天然豚腸ならびに羊腸ケーシングの硬さを測定した上で、これらの天然ケーシング中の結合組織成分を組織学および生化学的に評価し、天然ケーシングの機械特性に及ぼす結合組織の影響について検討した。

2. 材料および方法

2.1 供試材料

中国産、日本産およびアメリカ産豚腸ケーシング（口径 32/34 mm）を用い、また羊腸ケーシング（口径 20/22 mm）は中国産、オーストラリア産およびエジプト産を用いた。これらの天然ケーシングを流水で数時間塩抜きしたのち、以下の実験に供した。

2.2 ケーシングの硬さの測定

塩抜きしたケーシングを切り開き、クリープメータ（山電）を用いてそれぞれのケーシングの硬さを測定した。硬さは、直径 3 mm の円柱状プランジャーをケーシングに対して垂直に荷重をかけ、プランジャーがケーシングを突き破る時に示す最大荷重値（破断応力, g）で示した。

2.3 生化学的分析

塩抜きしたケーシングを液体窒素で凍結粉碎し、クロロフォルム・エタノール（2:1）混合液で脱脂乾燥した試料（DDM）のコラーゲン、エラスチンおよびプロテオグリカン含量ならびにコラーゲンの加熱溶解性を測定した。なお、これらの生化学的分析は既報^{2,3)}の方法に従った。実験結果の統計的分析には、Student's t-test と Duncan's Multiple Range Test を用いた。

2.4 組織学的分析

組織化学用標本として 10 % フォルマリン-PBS で固定したケーシングを Verhoff's Van Gieson 染色し（Elastin Stain Kit, Sigma）、光学顕微鏡下で各ケーシングにおけるエラスチン線維とコラーゲン線維を観察した。さらにケーシングコラーゲン線維構造の観察のために、2 % パラフォルムアルデヒド-2.5 % グルタルアルデヒド溶液（0.1 M リン酸緩衝液, pH 7.4）で固定した試料を Ohtani ら⁴⁾の細胞消化-走査電顕法に従って 10 % NaOH 水溶液で 5 日間処理後、蒸留水で 3 日間洗浄した。これをタンニン-オスミウム法⁵⁾で処理したのちアルコール系列で脱水後、t-ブチルアルコール置換および凍結乾燥した⁶⁾。乾燥試料を試料ホルダーに接着し、金・パラジウムを蒸着して Hitachi S-2380N または Hitachi S-430 走査型電子顕微鏡を用い加速電圧 15 kV で観察した。

3. 結果と考察

3.1 天然ケーシングの硬さ

Table 1 に示されるように、破断応力は豚腸および羊腸ケーシングのどちらにおいても中国産が有意に ($p < 0.01$) 高く、中国産ケーシングが硬いことが示された。我々も同様に中国産豚腸ケーシングがアメリカ産よりも硬いことを認めている¹⁾。また中国産ケーシングでは硬さの変動が大きく、他国産ケーシングと同等の硬さを示すものも多かったが極めて硬いものも多く、結果として硬さのばらつきが大きかった。

Table 1 Mechanical and biochemical characteristics of natural hog and sheep casings

Origin	Breaking Strength (g)	Total collagen content (mg/g DDM)	Heat-labile collagen content (mg/g DDM)	Heat-solubility of collagen (%)	Elastin content (mg/g DDM)	Uronic acid content (mg/g DDM)
Hog casing						
China	807 ± 203 ^a	921 ± 42 ^a	14.4 ± 5.0 ^a	1.56 ± 0.26 ^a	22.0 ± 1.6 ^a	1.72 ± 0.34 ^a
USA	664 ± 108 ^b	837 ± 82 ^{ab}	18.5 ± 4.4 ^a	2.12 ± 0.36 ^b	N.D.	1.99 ± 0.27 ^a
Japan	623 ± 117 ^b	830 ± 101 ^{ab}	19.1 ± 6.3 ^a	2.30 ± 0.45 ^b	16.3 ± 0.7 ^b	1.82 ± 0.24 ^a
Sheep casing						
China	499 ± 144 ^c	868 ± 92 ^{ab}	19.7 ± 8.1 ^a	2.27 ± 0.61 ^b	23.9 ± 1.2 ^a	1.86 ± 0.15 ^a
Egypt	330 ± 103 ^d	844 ± 86 ^{ab}	30.1 ± 6.5 ^b	3.57 ± 0.58 ^c	N.D.	1.79 ± 0.37 ^a
Australia	317 ± 75 ^d	803 ± 64 ^b	29.0 ± 6.2 ^b	3.61 ± 0.37 ^c	22.8 ± 2.1 ^a	1.72 ± 0.17 ^a

a-d: Means with different letters indicate significantly different ($p < 0.01$).

N.D.: Not determined

3.2 ケーシング結合組織の生化学的特性

ケーシング結合組織の生化学的特性として、総コラーゲン含量、加熱溶解コラーゲン含量、コラーゲンの加熱溶解性、エラスチン含量およびウロン酸含量を Table 1 に示した。なお、塩抜きしたケーシングの水分含量には大きな変動があったため、これらの結合組織含量を mg/g DDM で表した。

豚腸、羊腸とも天然ケーシングのほとんどはコラーゲンであり (80~92%)、硬さの異なるケーシング間での総コラーゲン含量の差異は認められなかった。また主として血管を構成するエラスチン含量は約 20 mg/g 程度で、この値は筋肉内結合組織に占めるエラスチンの割合²⁾と同様に低く、ケーシング間での差異もほとんど認められないことから、エラスチンはこれら天然ケーシングの硬さには影響しないと考えられた。しかしながら目に見えて血管が多いようなケーシング (veiny casing) では、エラスチンがその硬さに影響するかもしれない。また、プロテオグリカンの指標としてのウロン酸含量は、各ケーシング間に差は認められなかった。ある種のプロテオグリカンはコラーゲンと相互作用しコラーゲンの構造安定性に寄与することが示唆されている^{7,8)}が、本研究でのウロン酸含量と天然ケーシングの硬さとの関連性は認められなかった。

一方、コラーゲンの加熱溶解性は、豚腸においても羊腸においても、ともに中国産ケーシングでの値が有意に ($p < 0.01$) 低く、ケーシングの硬さの差異とよく対応していた。コラーゲンの加熱溶解性は、77°C、70分間の加熱によってコラーゲンの何%がゼラチンとして可溶化するかを表したものであり、コラーゲンの熱安定性を示す指標となる。コラーゲンの熱安定性には、コラーゲン分子間架橋形成ならびにコラーゲン線維のサイズや配向などが影響すると考えられている⁹⁾。本研究で得られた天然ケーシングコラーゲンの加熱溶解性 (1.5~3.6%) は他の組織、例えば 14~36 ヶ月齢ブタの半腱様筋での約 13%³⁾ に比べても極めて低く、また羊腸よりも豚腸で、さらにより硬い中国産ケーシングでコラーゲンの加熱溶解性が低くなっていた。したがってコラーゲンの加熱溶解性は、主としてコラーゲンからなる組織の熱安定性のみならず、組織の強靱さを反映していると考えられ、いいかえれば、非常に薄い天然

ケーシングの強靱さは、コラーゲン線維の構造やコラーゲン分子間架橋形成によってもたらされていると考えられる。天然ケーシングの機械特性に及ぼすコラーゲン線維構造やコラーゲン分子間架橋形成については、今後さらに検討する必要がある。

3.3 天然ケーシングの組織学的特性

各ケーシングにおけるエラスチン線維とコラーゲン線維の分布などを確かめるために、シグマ社の Elastin Stain Kit を用いて染色後、光学顕微鏡で観察した。この Kit は、エラスチンを黒色、コラーゲンを黄色に染色する。低倍率像では、主としてエラスチンから構成される血管がコラーゲン線維に埋もれて走行している様子が観察された (Fig. 1-a, 矢印; 細動脈, 矢じり; 細静脈)。この血管を拡大すると、細動脈 (A) と細静脈 (V) のエラスチン線維の密度が異なっていた (Fig. 1-b)。Fig. 1-c に示されるように、ケーシングは幾層ものコラーゲン線維からなるシートによって構成され、それぞれのシートは波うったコラーゲン線維の織物様構造であり、さらにその中に細いエラスチン線維が走っていた (Fig. 1-d, 矢印)。Fig. 1 は日本産豚腸ケーシングの光学顕微鏡写真であるが、これらの観察結果は、全てのケーシングで同様であり、豚腸と羊腸との間ならびに産地間における違いは認められなかった。

さらに、細胞消化-走査電顕法を用いて硬さの異なるケーシングにおけるコラーゲン線維構造を詳細に検討した。Fig. 2 に日本産および中国産豚腸ケーシングコラーゲン線維構造を示した。ケーシングの外側のコラーゲン線維の構造は、日本産 (Fig. 2-a)、中国産 (Fig. 2-b) とともに同様で、コラーゲン線維が平行に走る薄いシートの層から構築されていた。一方ケーシングの内側は、日本産では網目状に配向したコラーゲン線維によってスポンジ状を呈していたが (Fig. 2-c)、中国産豚腸ではほとんど観察されなかった (Fig. 2-d)。Fig. 3 にオーストラリア産および中国産羊腸ケーシングコラーゲン線維構造を示した。オーストラリア産羊腸ケーシング外側 (Fig. 3-a) は細いコラーゲン線維による非常にきめの細かい織物のようであったが、中国産羊腸 (Fig. 3-b) ではコラーゲン線維が比較的太く、オーストラリア産羊腸ケーシング外側のコラーゲン線維の配向とは異なり荒い織物状を呈し、むしろ豚腸ケーシングの概観に似て

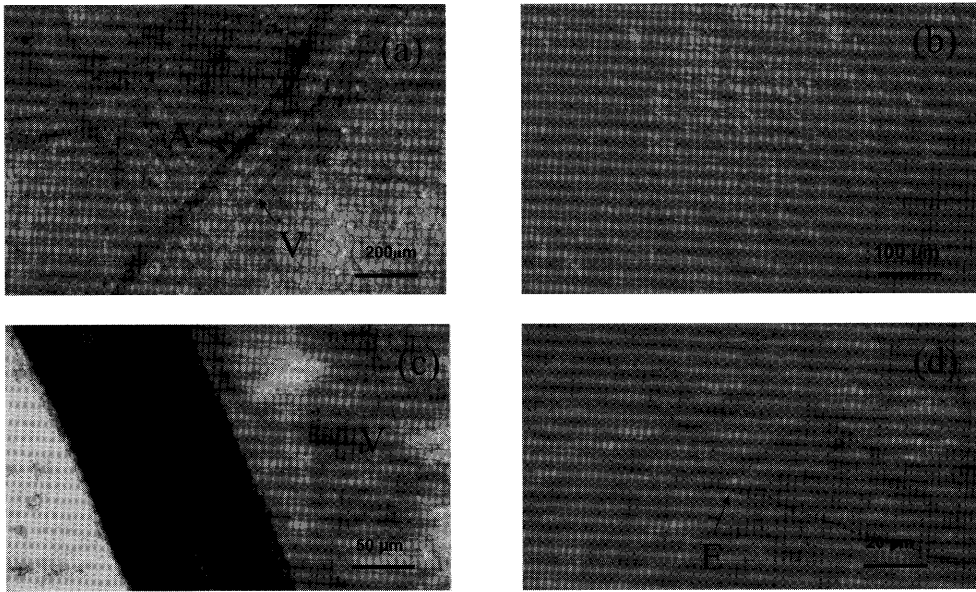


Fig. 1 Histochemistry of connective tissue of Japanese hog casing with Verhoff's Van Gieson stain. Elastin fibers are stained black and collagen fibers are yellow. (a) Gross view. Blood vessels, arteries (A) and veins (V), are embedded in the predominant collagen fibers. (b) Casing mainly composed of numerous layers of sheets of crimped collagen fibers with crisscross arrangement. (c) Elastin fibers in artery (A) and vein (V). (d) Fine elastin fibers (E) are scattered sparsely in collagen fibers.

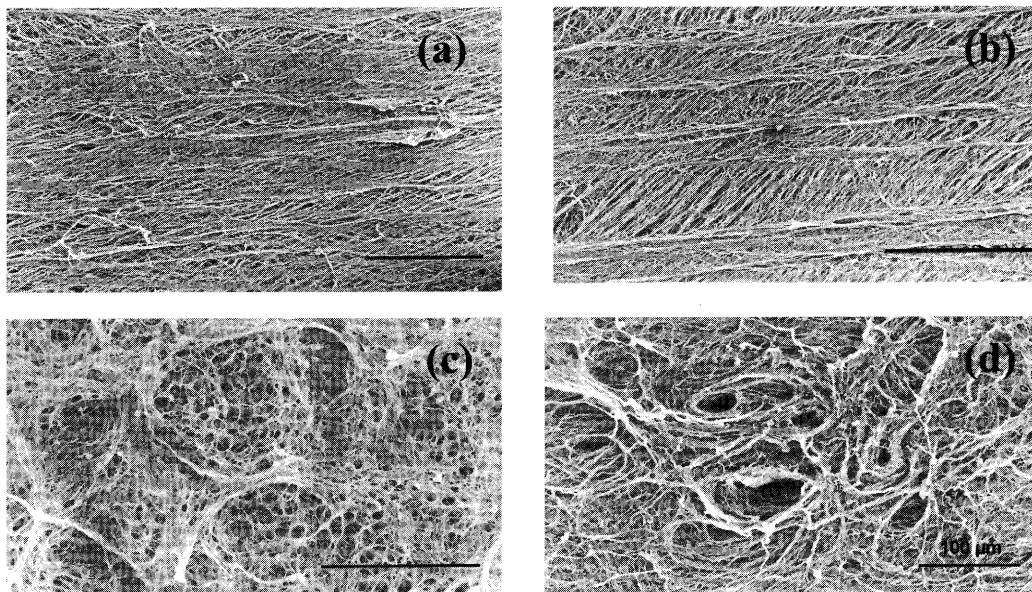


Fig. 2 Structures of collagen fibers of Japanese and Chinese hog casings observed using the cell-maceration/SEM method. The arrangement of collagen fibers on the external surface of hog casings from Japan (a) and China (b) are generally similar. However, the arrangement of collagen fibers on the internal surface of hog casings from China (d) is different from that from Japan (c).

いた。羊腸ケーシングの内側のコラーゲン線維構造は豚腸ケーシング内側とは異なり、オーストラリア産、中国産とも、大きな穴を取り囲むようにコラーゲン線維が走っていた。しかしながら、オーストラ

リア産羊腸 (Fig. 3-c) では繊細なレース状の概観を呈したのに対し、中国産羊腸 (Fig. 3-d) のコラーゲン線維は太く、きめの粗い外観を呈していた。したがって、コラーゲン線維の太さや配向状態がケーシ

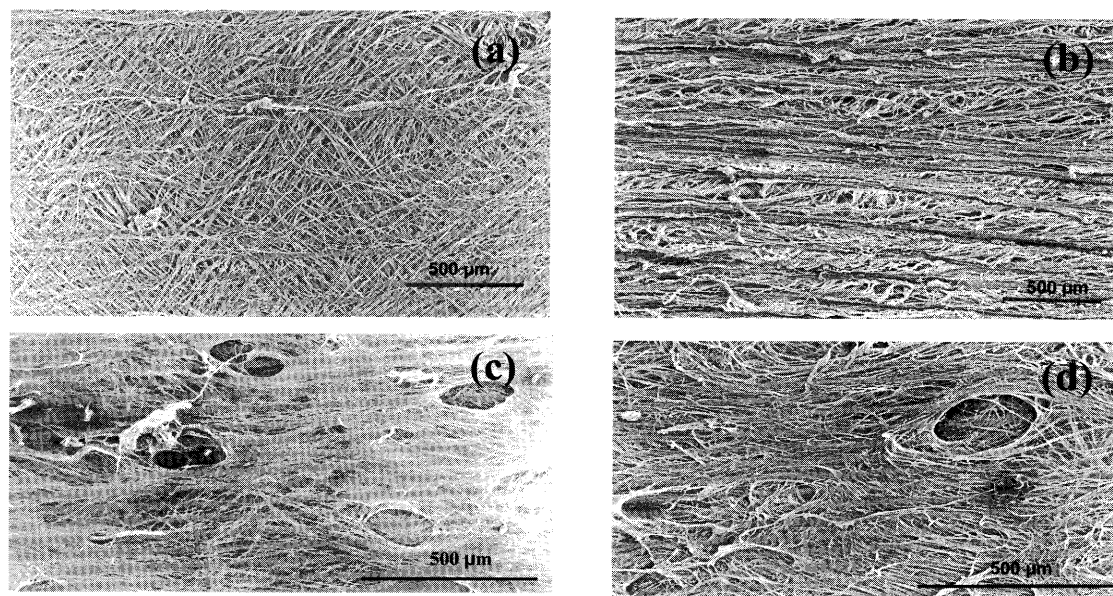


Fig. 3 Structures of collagen fibers of Australian and Chinese sheep casings observed using the cell-maceration/SEM method. (a) The external surface of Australian casing is composed of a textile-like sheet of crisscross arrangement of collagen fibers. (b) Arrangement of collagen fibers on the external surface of Chinese sheep casing is not so much similar to (a) as to that of hog casings. The arrangement of collagen fibers on the internal surface of sheep casings from China (d) is grossly similar to that from Australia (c) but appear to be coarser.

ングの機械特性に影響を及ぼすことが示唆され、特に中国産ケーシングのコラーゲン線維は比較的太く、その配向状態も異なり、きめの粗い外観を呈していた。天然ケーシングのコラーゲン線維構造については報告がないが、天然ケーシングの素材となる小腸粘膜下組織外側のコラーゲン線維構造を観察した報告では、どの動物においてもコラーゲン線維は織物のように格子状に走ること^{10,11)}、ラットの加齢に伴いコラーゲン線維の格子状配向は変化しないがコラーゲン線維が太くなること¹²⁾が示されている。したがってと畜時の年齢とケーシングの機械特性およびコラーゲン線維構造との間に関係があるのかもしれないが、このことについては今後さらに検討する必要がある。中国産ケーシングの生産量は多くその価格も安いですが、硬いため、現在我が国での使用量は激減している。今後は、中国産ケーシングの有効利用法も含めた天然ケーシングの品質制御法についても検討しなければならない。

4. 要約

天然豚腸ならびに羊腸ケーシングの機械特性に及ぼす結合組織の影響について、組織学的・生化学的

分析により検討した。豚腸および羊腸ケーシングのそれぞれにおいて、中国産ケーシングが明らかに硬かった。天然ケーシングの主要成分はコラーゲンであり、幾層ものコラーゲン線維のシートから構築されていた。一方エラスチンは量的にも少なく、その存在は血管に限定された。コラーゲン、エラスチンおよびプロテオグリカン含量ならびに組織学的なエラスチン線維の分布や量は全てのケーシングで違いはなく、天然ケーシングの機械特性にこれらの要因は関与しないと思われた。一方、中国産ケーシングは、コラーゲンの熱安定性が高く、またコラーゲン線維の組織学的構造も異なることから、コラーゲンの熱的・構造的安定性が天然ケーシングの機械特性に影響を及ぼすと考えられる。

文献

- 1) Sakata, R., Segawa, S., Morita, H. and Nagata, Y., *Fleischwirtschaft*, 78: 371-372 (1998).
- 2) Nishiumi, T., Kunishima, R., Nishimura, T. and Yoshida, S., *Anim. Sci. Technol.*, 66: 341-348 (1995).
- 3) 西海理之・國嶋隆司・福田亨・浦田高治・武富真理子・西村敏英, 平成8年度食肉に関する助成研究調査成果報告書, 15: 204-210 (1997).

- 4) Ohtani, O., Ushiki, T., Taguchi, T. and Kikuta, A., *Arch. Histol. Cytol.*, 51: 249-261 (1988).
- 5) Murakami, T., *Arch. Histol. Jap.*, 36: 189-193 (1974).
- 6) Inoue, T. and Osatake, H., *Arch. Histol. Cytol.*, 51: 53-59 (1988).
- 7) 西邑隆徳・高橋興威, 酪農科学・食品の研究, 44: A165-A176 (1995).
- 8) Nishiumi, T., Fukuda, T. and Nishimura, T., *J. Agric. Food Chem.*, 45: 2978-2983 (1997).
- 9) Bailey, A.J. and Light, N.D., In: *Connective Tissue in Meat and Meat Products*, pp.149-194, Elsevier Applied Science, London (1989).
- 10) Gabella, G., *Cell Tissue Res.*, 248: 491-497 (1987).
- 11) Komuro, T., *Cell Tissue Res.*, 251: 117-121 (1988).
- 12) Orberg, J.W., Klein, I. and Hiltner, A., *Connective Tissue Res.*, 9: 187-193 (1982).