

(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局

(43) 国際公開日
2022年11月3日(03.11.2022)



(10) 国際公開番号

WO 2022/231003 A1

- (51) 国際特許分類:
A23L 13/60 (2016.01) A23L 35/00 (2016.01)
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2022/019450
- (22) 国際出願日: 2022年4月28日(28.04.2022)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ:
特願 2021-077257 2021年4月30日(30.04.2021) JP
- (71) 出願人: 味の素株式会社 (AJINOMOTO CO., INC.) [JP/JP]; 〒1048315 東京都中央区京橋一丁目15番1号 Tokyo (JP).
- (72) 発明者: 郡 宗一郎 (KORI, Soichiro); 〒2108681 神奈川県川崎市川崎区鈴木町1-1 味の素株式会社内 Kanagawa (JP). ▲高▼▲柳▼洋 (TAKAYANAGI, Hiroshi); 〒2108681 神奈川県川崎市川崎区鈴木町1-1 味の素株式会社内 Kanagawa (JP). 薄衣 広悌 (USUGI, Koudai); 〒2108681 神奈川県川崎市川崎区鈴木町1-1 味の素株式会社内 Kanagawa (JP). 安部 孝彰 (ABE, Takaaki); 〒2108681 神奈川県川崎市川崎区鈴木町1-1 味の素株式会社内 Kanagawa (JP). 中越 裕行 (NAKAGOSHI, Hiroyuki); 〒2108681 神奈川県川崎市川崎区鈴木町1-1 味の素株式会社内 Kanagawa (JP). 堀 哲郎 (HORI, Tetsuo); 〒2108681 神奈川県川崎市川崎区鈴木町1-1 味の素株式会社内 Kanagawa (JP).
- (74) 代理人: 高島 一 (TAKASHIMA, Hajime); 〒5410044 大阪府大阪市中央区伏見町四丁目1番1号 明治安田生命大阪御堂筋ビル Osaka (JP).
- (81) 指定国(表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, IT, JM, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW.
- (84) 指定国(表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:

- 一 国際調査報告 (条約第21条(3))

(54) Title: KNEADED MEAT PRODUCT WITH IMPROVED QUALITY

(54) 発明の名称: 品質が向上した畜肉練り製品

(57) Abstract: The objective of the present invention is to provide a kneaded meat product with improved post-cooking yield during production, and a method of improving post-cooking yield of a kneaded meat product. The kneaded meat product contains one or both of (1) 65-9,000 weight ppm of choline, and (2) 230-380 weight ppm of inositol. The method of improving post-cooking yield of a kneaded meat product comprises causing phospholipase D to act on meat as a raw material.

(57) 要約: 本発明は、製造時における加熱後歩留りが向上した畜肉練り製品、及び畜肉練り製品の加熱後歩留り向上方法の提供を目的とする。(1) 65~9000重量ppmのコリン、(2) 230~380重量ppmのイノシトールのいずれか一方又は両方を含有する、畜肉練り製品。原材料である畜肉にホスホリパーゼDを作用させることを含む、畜肉練り製品の加熱後歩留り向上方法。



WO 2022/231003 A1

明 細 書

発明の名称：品質が向上した畜肉練り製品

技術分野

[0001] 本発明は、品質が向上した畜肉練り製品、具体的には、製造時における加熱後歩留りが向上した畜肉練り製品に関する。

背景技術

[0002] 通常ソーセージやミートボールといった畜肉練り製品を製造する際には、原料挽肉と塩類を混合し、塩溶性タンパク質を溶出させる事で、乳化を促進させる。乳化を促進することで畜肉練り製品の硬さや保水性に影響を与えるが、乳化剤や卵、乳カゼインといった既存の乳化促進素材は、最終製品への表示必要性や、アレルギーの観点から、使用することが難しかった。

また、畜肉練り製品においては、挽肉及びその他の原材料を混合して得られた生地を成形後、加熱（例えば焼成）して最終製品とするが、加熱後歩留り（加熱前（焼成前）の重量に対する加熱後（焼成後）の重量の割合）が高いと、肉汁が内部に閉じ込められており好ましい品質と考えられる。

[0003] 畜肉練り製品の硬さや保水性の改善を目的として、製造時に酵素を用いる方法が検討されている。

特許文献1には、食品にリパーゼを添加し、食品1mgあたりの脂肪酸含有量を $13\mu\text{g}$ 以上、 $80\mu\text{g}$ 以下とする、食肉加工食品の製造方法が開示されている。

特許文献2には、食塩の含有量が0.1重量%～1重量%である食肉加工食品の製造方法であって、トランスグルタミナーゼとグルコン酸塩もしくはリパーゼとを食肉加工食品に添加すること、またはトランスグルタミナーゼとグルコン酸塩およびリパーゼとを食肉加工食品に添加することを含む、食肉加工食品の製造方法が開示されている。

特許文献3には、畜肉加工製品の製造において、ホスホリパーゼC及び／又はホスホリパーゼDを用いることにより、畜肉加工製品の硬さ、しなやか

さ等の食感を劣化させることなく、畜肉加工製品の保存時の離水を抑制することができることが開示されている。

先行技術文献

特許文献

- [0004] 特許文献1：特開2018-102297号公報
特許文献2：国際公開第2020/004419号
特許文献3：国際公開第2010/140708号

発明の概要

発明が解決しようとする課題

- [0005] 本発明は、製造時における加熱後歩留りが向上した畜肉練り製品の提供を目的とする。

課題を解決するための手段

- [0006] 本発明者らは、上記課題の解決のために鋭意検討をしたところ、リン脂質からの遊離物であるコリン、イノシトールが含まれるミートボール等の畜肉練り製品が、加熱後歩留りが高いという新知見を見出した。

上記知見に基づいて、本発明者らは、さらに鋭意検討をして、本発明を完成させた。

- [0007] すなわち、本発明は、下記を提供する。

[1] 下記(1)、(2)のいずれか一方又は両方を含有する、畜肉練り製品。

(1) 65～9000重量ppmのコリン

(2) 230～380重量ppmのイノシトール

[2] 前記(1)及び(2)を含有する、上記[1]記載の畜肉練り製品。

[3] 前記コリン及びイノシトールが、畜肉練り製品の原材料に含まれるリン脂質に由来する、上記[1]又は[2]に記載の畜肉練り製品。

[4] 原材料である畜肉(本明細書において「原材料である畜肉」を「原料畜肉」と称する場合がある。)にホスホリパーゼDを作用させることを含む

、畜肉練り製品の加熱後歩留り向上方法。

[5] ホスホリパーゼDが、シグマ アルドリッチ (Sigma-Aldrich) 製ホスホリパーゼD 放線菌由来 (商品名)、ナガセケムテック製デナチームPMD-P1 (商品名) 及び旭化成ファーマ製PHOSPHOLIPASE D [PLDP (T-39)] (Glycerophospholipid specific) (商品名) からなる群から選択される、上記 [4] 記載の方法。

[6] トランスグルタミナーゼ、リパーゼ、及び澱粉分解酵素からなる群から選択される少なくとも1つの酵素をさらに作用させることを含む、上記 [4] または [5] に記載の方法。

[7] 原材料である畜肉に、シグマ アルドリッチ製ホスホリパーゼD 放線菌由来 (商品名)、ナガセケムテック製デナチームPMD-P1 (商品名) 及び旭化成ファーマ製PHOSPHOLIPASE D [PLDP (T-39)] (Glycerophospholipid specific) (商品名) からなる群から選択されるホスホリパーゼDを作用させることを含む、上記 [1] ~ [3] のいずれかに記載の畜肉練り製品の製造方法。

[8] トランスグルタミナーゼ、リパーゼ、及び澱粉分解酵素からなる群から選択される少なくとも1つの酵素をさらに作用させることを含む、上記 [7] 記載の方法。

[9] 原材料である畜肉に、シグマ アルドリッチ製ホスホリパーゼD 放線菌由来 (商品名)、ナガセケムテック製デナチームPMD-P1 (商品名) 及び旭化成ファーマ製PHOSPHOLIPASE D [PLDP (T-39)] (Glycerophospholipid specific) (商品名) からなる群から選択されるホスホリパーゼDを作用させることを含む、畜肉練り製品の製造方法。

[10] トランスグルタミナーゼ、リパーゼ、及び澱粉分解酵素からなる群から選択される少なくとも1つの酵素をさらに作用させることを含む、上記 [9] 記載の方法。

発明の効果

[0008] 本発明の畜肉練り製品は、製造時における加熱後歩留りが向上しており、ひいては食感及び呈味の向上（例えば、ジューシーさの向上）が期待できる畜肉練り製品である。

図面の簡単な説明

[0009] [図1]図1は、試験例1において、実施例1～3及び比較例1のミートボールの製造時の加熱後歩留りを算出した結果を示す。

[図2]図2は、試験例2において、実施例及び比較例のミートボールの製造時の加熱後歩留りを算出した結果を示す。

[図3]図3は、試験例3において、実施例及び比較例のミートボールの製造時の加熱後歩留りを算出した結果を示す。

[図4]図4は、試験例4において、実施例及び比較例の粗挽きソーセージの製造時の加熱後歩留りを算出した結果を示す。

[図5]図5は、試験例5において、実施例及び比較例のミートボールの製造時の加熱後歩留りを算出した結果を示す。

[図6]図6は、試験例6において、実施例及び比較例のミートボールの製造時の加熱後歩留りを算出した結果を示す。

[図7]図7は、試験例7において、実施例及び比較例のミートボールの製造時の加熱後歩留りを算出した結果を示す。

[図8]図8は、試験例8において、実施例及び比較例のハンバーグの製造時の加熱後歩留りを算出した結果を示す。

[図9]図9は、試験例9において、実施例及び比較例の粗挽きソーセージの製造時の加熱後歩留りを算出した結果を示す。

[図10]図10は、試験例10において、実施例及び比較例の鶏つみれの製造時の加熱後歩留りを算出した結果を示す。

[図11]図11は、試験例11において、実施例及び比較例の粗挽きソーセージの製造時の加熱後歩留りを算出した結果を示す。

発明を実施するための形態

[0010] 以下に、本発明を詳細に説明する。

本発明の畜肉練り製品は、以下（１）、（２）のいずれか一方又は両方を含有することを特徴とする。

（１） 65～9000重量ppm（好ましくは80～7000重量ppm、より好ましくは100～5000重量ppm、さらに好ましくは260～2060重量ppm）のコリン

（２） 230～380重量ppm（好ましくは235～363重量ppm、より好ましくは240～320重量ppm、さらに好ましくは243～273重量ppm）のイノシトール

[0011] 本発明の畜肉練り製品としては、例えば、上記（１）及び（２）を含有する畜肉練り製品が挙げられる。

本発明の畜肉練り製品としては、例えば、以下（i）～（iv）が挙げられる。

（i）（１） 65～9000重量ppmのコリン及び（２） 230～380重量ppmのイノシトールを含有する、畜肉練り製品。

（ii）（１） 80～7000重量ppmのコリン及び（２） 235～363重量ppmのイノシトールを含有する、畜肉練り製品。

（iii）（１） 100～5000重量ppmのコリン及び（２） 240～320重量ppmのイノシトールを含有する、畜肉練り製品。

（iv）（１） 260～2060重量ppmのコリン及び（２） 243～273重量ppmのイノシトールを含有する、畜肉練り製品。

[0012] 本発明において、コリン、イノシトールの畜肉練り製品中の含有量は、後述の試験例1に記載の方法によって、測定することができる。

[0013] 本発明の畜肉練り製品において、前記コリン、イノシトールは、畜肉練り製品の原材料に含まれるリン脂質（ホスファチジルコリン、ホスファチジルイノシトール）に由来するコリン、イノシトールであることが好ましい。本発明において、「畜肉練り製品の原材料に含まれるリン脂質」には、畜肉練り製品の原料畜肉に由来するものだけでなく、畜肉練り製品に任意に含有し

ていてもよいその他の原材料（例えば、卵）に由来するものも含まれる。該原料畜肉は、後述の説明で例示するものと同様である。

本発明の畜肉練り製品において、前記コリン、イノシトールは、最終製品中のコリン、イノシトール含有量が上記した範囲となるように、製品の製造工程（例えば、原材料の混合工程）で添加してもよい。

[0014] 本発明の畜肉練り製品は、挽肉を主原材料にして作られる食品であり、例えば、ミートボール、ソーセージ（例えば、粗挽きソーセージ）、ハンバーグ、鶏つみれ、ハム、ミートローフが挙げられる。

[0015] 本発明の畜肉練り製品は、原材料として畜肉を含有する。該原料畜肉としては、例えば、牛肉、豚肉、馬肉、めん羊肉、山羊肉、家兎肉、鶏肉、七面鳥肉、カモ肉、ガチョウ肉、鶉肉が挙げられる。

本発明の畜肉練り製品において、原料畜肉の含有量は、製品の原材料（合計重量）に対して、例えば0.1～99重量%、好ましくは1～97重量%、より好ましくは10～90重量%である。

[0016] 本発明の畜肉練り製品は、上記した成分の他に、畜肉練り製品において一般的に使用される食材（例えば、玉ねぎ、パン粉、卵、植物蛋白、グルテン、卵白、ゼラチン、カゼイン等の蛋白質）や食品添加物（例えば、食塩、澱粉、加工澱粉、小麦粉、畜肉エキス等の調味料、香辛料、発色剤、酸化防止剤、デキストリン等の賦形剤、蛋白加水分解物、蛋白部分分解物、乳化剤、クエン酸塩、重合リン酸塩等のキレート剤、グルタチオン、システイン等の還元剤、アルギン酸、かんすい、色素、酸味料、香料等）を原材料として含有していてもよい。

[0017] 本発明の畜肉練り製品は、原料畜肉に、シグマ アルドリッチ製ホスホリパーゼD 放線菌由来（商品名）、ナガセケムテック製デナチームPMD-P1（商品名）及び旭化成ファーマ製PHOSPHOLIPASE D [PLDP (T-39)] (Glycerophospholipid specific)（商品名）からなる群から選択されるホスホリパーゼDを作用させることで製造することができる。該方法によって、原料畜肉に由来する

コリンを上記範囲で含む、本発明の畜肉練り製品を製造することができる。

[0018] ホスホリパーゼは、リン脂質を加水分解する活性を有する酵素である。

本明細書においてホスホリパーゼDの活性単位は、次のように測定され、かつ、定義される。

ホスファチジルコリンを含む基質溶液0.9 mLに酵素溶液0.1 mLを混和し、37℃にて30分間反応させ、反応停止後、コリンオキシダーゼ、ペルオキシダーゼ等を含む発色溶液1 mLに反応液50 μ Lを加え5分反応させ、反応停止後、コリンより生成した色素量を測定する。ホスファチジルコリンを基質として37℃、1分間に1 μ モルのコリンを遊離する酵素量を1 U（ユニット）と定義する。

[0019] 本発明において、ホスホリパーゼDの添加量は、畜肉練り製品の原材料1 gに対して酵素活性が、好ましくは0.001 U以上、より好ましくは0.01～100 U、さらに好ましくは0.1～50 Uである。

[0020] ホスホリパーゼDの作用時間（反応時間）は、酵素が基質物質である肉に作用することが可能な時間であれば特に限定されないが、例えば、0分以上、1分以上、3分以上、5分以上、10分以上、20分以上、30分以上が挙げられる。また、例えば、72時間以下、48時間以下、24時間以下、12時間以下、6時間以下、3時間以下、2時間以下、1時間以下が挙げられる。現実的な作用時間としては0～72時間が好ましく、30分～72時間がより好ましい。また、作用温度（反応温度）に関しても酵素が活性を保つ範囲であれば特に限定されないが、現実的な温度としては0～60℃で作用させることが好ましい。酵素反応は、例えば、70～75℃で、5～10分間加熱により終了させることができる。

[0021] 上記した本発明の製造方法において、上記したホスホリパーゼDに加えて、トランスグルタミナーゼ、リパーゼ、及び澱粉分解酵素からなる群から選択される少なくとも1つの酵素を、さらに原料畜肉に添加して、作用させることが好ましい。

複数の酵素を添加する場合の添加順序は、いかなる順序でもよく、全てを

同時に添加しても、時間差をつけて順に添加しても構わないが、簡便性の観点から、全てを同時に添加するのが望ましい。

トランスグルタミナーゼ、リパーゼ、及び澱粉分解酵素からなる群から選択される少なくとも1つの酵素をさらに原料畜肉に作用させる場合の、作用時間、作用温度、酵素反応の終了方法は、上記したホスホリパーゼDの作用時間、作用温度、酵素反応の終了方法と同じである。

本発明の製造方法において、原料畜肉に作用させるための酵素としては、以下 (I) ~ (VIII) が挙げられる。

- (I) ホスホリパーゼD
- (II) ホスホリパーゼD及びトランスグルタミナーゼ
- (III) ホスホリパーゼD及びリパーゼ
- (IV) ホスホリパーゼD及び澱粉分解酵素（例えば、 α -グルコシダーゼ）
- (V) ホスホリパーゼD、トランスグルタミナーゼ及びリパーゼ
- (VI) ホスホリパーゼD、トランスグルタミナーゼ及び澱粉分解酵素（例えば、 α -グルコシダーゼ）
- (VII) ホスホリパーゼD、リパーゼ及び澱粉分解酵素（例えば、 α -グルコシダーゼ）
- (VIII) ホスホリパーゼD、トランスグルタミナーゼ、リパーゼ及び澱粉分解酵素（例えば、 α -グルコシダーゼ）

[0022] 本発明に用いられるトランスグルタミナーゼは、タンパク質やペプチド中のグルタミン残基を供与体とし、リジン残基を受容体とするアシル転移反応を触媒する活性を有する酵素であり、例えば、哺乳動物由来のもの、魚類由来のもの、微生物由来のもの等、種々の起源のものが知られている。本発明において用いられるトランスグルタミナーゼは、上述の活性を有すればその起源は特に制限されず、いかなる起源のトランスグルタミナーゼであっても使用でき、また組み換え酵素を使用してもよい。本発明において用いられるトランスグルタミナーゼは市販品であってもよく、具体例としては、味の素株式会社より「アクティバ」TGの商品名で市販されている微生物由来のト

ランスグルタミナーゼを単独または組み合わせて用いることができる。

本明細書において、トランスグルタミナーゼの酵素活性は、温度 37℃、pH 6.0 のトリス緩衝液中、ベンジルオキシカルボニル-L-グルタミルグリシンおよびヒドロキシルアミンを基質とする反応系で、トランスグルタミナーゼを作用せしめ、生成したヒドロキサム酸をトリクロロ酢酸存在下で鉄錯体を形成させた後、525 nm における吸光度を測定し、ヒドロキサム酸量を検量線により求め、1 分間に 1 μモルのヒドロキサム酸を生成せしめる酵素量を 1 ユニット (1 U) と定義する (特開昭 64-27471 号公報参照)。

[0023] 本発明に用いられるリパーゼは、脂肪酸エステルを脂肪酸とグリセリンとに加水分解する反応の触媒となる酵素である。尚、「リパーゼ A 「アマノ」6」、「リパーゼ A Y 「アマノ」」という商品名で天野エンザイム株式会社より市販されている酵素が、リパーゼの一例である。

本明細書において、リパーゼの酵素活性は、オリーブ油 100 ml と 2% PVA 試液 150 ml を乳化させ基質とし、基質 5 ml、マッキルベイン緩衝液 (pH 7.0) 4 ml 及び酵素液 1 ml を混和し、37℃にて 60 分間反応させ、反応停止後、生成した脂肪酸を滴定法で測定する。遊離したオレイン酸 1 μmol に相当する酸を遊離させる活性を 1 U (ユニット) と定義する。

[0024] 本発明において、澱粉分解酵素とは、澱粉を含む糖鎖の分解反応、転移反応の触媒となる酵素である。本発明に用いられる澱粉分解酵素としては、例えば、α-グルコシダーゼ、α-アミラーゼ、β-アミラーゼ、グルコアミラーゼ、イソマルターゼ、プルラナーゼ、スクロース-α-グルコシダーゼ、α-グルコシルトランスフェラーゼ、シクロマルトデキストリナーゼ、イソアミラーゼ、ネオプルラナーゼなどが挙げられ、α-グルコシダーゼが好ましい。

[0025] 本発明に用いられる α-グルコシダーゼは、非還元末端 α-1, 4-グルコシド結合を加水分解し、α-グルコースを生成する酵素である。α-グル

コシダーゼのうち、トランスグルコシダーゼが好ましい。尚、「トランスグルコシダーゼL「アマノ」」という商品名で天野エンザイム株式会社より市販されている酵素が、 α -グルコシダーゼの一例である。

本明細書において、 α -グルコシダーゼの酵素活性は、1 mM α -メチル-D-グルコシド 1 mL に 0.02 M 酢酸バッファー (pH 5.0) 1 mL を加え、酵素溶液 0.5 mL 添加して、40°C 60 分間作用させたときに、反応液 2.5 mL 中に 1 μ g のブドウ糖を生成する酵素量を 1 U (ユニット) と定義する。

[0026] 本発明の製造方法において、トランスグルタミナーゼを使用する場合、トランスグルタミナーゼの添加量は、畜肉練り製品の原材料 1g に対して酵素活性が、例えば 0.005~3.0 U、好ましくは 0.01~1.0 U、より好ましくは 0.05~0.5 U、さらに好ましくは 0.1~0.3 U である。

[0027] 本発明の製造方法において、リパーゼを使用する場合、リパーゼの添加量は、畜肉練り製品の原材料 1g に対して酵素活性が、例えば 0.1~30.0 U、好ましくは 0.3~15.0 U、より好ましくは 0.5~10.0 U、さらに好ましくは 1.0~3.0 U である。

[0028] 本発明の製造方法において、澱粉分解酵素（例えば、 α -グルコシダーゼ）を使用する場合、澱粉分解酵素（例えば、 α -グルコシダーゼ）の添加量は、畜肉練り製品の原材料 1g に対して酵素活性が、例えば 0.0005~0.1 U、好ましくは 0.001~0.05 U、より好ましくは 0.002~0.02 U、さらに好ましくは 0.005~0.01 U である。

[0029] 上記した本発明の製造方法により製造される本発明の畜肉練り製品は、製造時における加熱後歩留りが向上しており、ひいては食感及び呈味の向上が期待できる畜肉練り製品である。

[0030] 本発明はまた、原料畜肉にホスホリパーゼ D を作用させることを含む、畜肉練り製品の加熱後歩留り向上方法に関する。

本発明の、該加熱後歩留り向上方法において、ホスホリパーゼ D は、シグ

マ アルドリッチ製ホスホリパーゼD 放線菌由来（商品名）、ナガセケムテック製デナチームPMD-P1（商品名）及び旭化成ファーマ製PHOSPHOLIPASE D [PLDP (T-39)] (Glycerophospholipid specific)（商品名）からなる群から選択されるホスホリパーゼDが好ましい。

[0031] 本発明の、該加熱後歩留り向上方法において、上記したホスホリパーゼDに加えて、トランスグルタミナーゼ、リパーゼ、及び澱粉分解酵素からなる群から選択される少なくとも1つの酵素をさらに、原料畜肉に作用させることが好ましい。

本発明の、該加熱後歩留り向上方法において、原料畜肉に作用させるための酵素としては、以下 (I) ~ (VIII) が挙げられる。

- (I) ホスホリパーゼD
- (II) ホスホリパーゼD及びトランスグルタミナーゼ
- (III) ホスホリパーゼD及びリパーゼ
- (IV) ホスホリパーゼD及び澱粉分解酵素（例えば、 α -グルコシダーゼ）
- (V) ホスホリパーゼD、トランスグルタミナーゼ及びリパーゼ
- (VI) ホスホリパーゼD、トランスグルタミナーゼ及び澱粉分解酵素（例えば、 α -グルコシダーゼ）
- (VII) ホスホリパーゼD、リパーゼ及び澱粉分解酵素（例えば、 α -グルコシダーゼ）
- (VIII) ホスホリパーゼD、トランスグルタミナーゼ、リパーゼ及び澱粉分解酵素（例えば、 α -グルコシダーゼ）

[0032] 本発明の、該加熱後歩留り向上方法において、畜肉練り製品の例示、原料畜肉の例示、使用量、ホスホリパーゼD、トランスグルタミナーゼ、リパーゼ及び澱粉分解酵素（ α -グルコシダーゼ）の定義、例示、添加量、添加方法、任意に添加してもよい成分、添加剤等は、上記本発明の畜肉練り製品の製造方法において説明した、畜肉練り製品の例示、原料畜肉の例示、使用量、ホスホリパーゼD、トランスグルタミナーゼ、リパーゼ及び澱粉分解酵素

(α -グルコシダーゼ)の定義、例示、添加量、添加方法、任意に添加してもよい成分、添加剤等と同様である。

[0033] 本明細書において、畜肉練り製品の加熱後歩留りとは、畜肉練り製品の製造時において、原材料を混合して得た生地（パテ）の加熱前（焼成前）の重量に対する加熱後（焼成後）の重量の割合（重量%）をいう。

本発明において、畜肉練り製品の加熱後歩留り向上とは、酵素無添加で製造した畜肉練り製品と比較して、加熱後歩留まりが高いことをいう。

実施例

[0034] 以下、実施例、試験例に基づいて本発明をより詳細に説明するが、本発明はこれらに限定されるものではない。

[0035] [試験例1]

(実施例1～3、比較例1のミートボールの製造)

表1に示した牛バラ赤身、牛ケンネ脂を肉挽き機（チョッパー）により3mmのミンチとした。玉ねぎは約2mmのみじん切りとした。

表1に示した配合の原材料に、表2に示した各ホスホリパーゼDを原材料1gあたり3.0Uとなるよう添加し、スタンダードミキサー（「キッチンエイド（KitchenAid）KSM5WH」、ワールプール・コーポレーション製）を用い、設定速度1にて3分間混合し、ミートボール生地を調製した。空気抜きした後に30gの球形に手で成型した。成型後、インピンジャー（FGJOA9L、フジマック製）にて250℃で1分間焼成及びスチームコンベクションオーブン（FSCC WE 61G、フジマック製）にて200℃、RH50%で6分間焼成し、実施例1～3のミートボールを得た。

また、ホスホリパーゼDを添加しない以外は同様の方法で、比較例1のミートボールを得た。

得られた実施例1～3、比較例1のミートボールについて、後述の（1）加熱後歩留りの評価、及び（2）ミートボール中遊離コリン及び遊離イノシトール測定を行った。加熱後歩留りの評価のために、ミートボール製造時にお

いて、上記焼成前の重量と焼成後の重量を測定した。

表2に示す各ホスホリパーゼDのメーカー、酵素活性を表3に示す。

[0036] [表1]

原材料	配合 (重量%)
牛バラ赤身	60.00
牛ケンネ脂	25.00
薄力粉	1.00
パン粉	5.00
ガーリックパウダー	0.10
ホワイトペッパー	0.10
食塩	0.50
玉ねぎ	1.50
市水	6.80
合計	100.00

[0037] [表2]

		比較例 1	実施例 1	実施例 2	実施例 3
ホスホリパーゼ D (U/g)	デナチーム PMD-P1 (商品名)	—	3.0	—	—
	PHOSPHOLIPASE D [PLDP(T-39)] (Glycerophospholipid specific) (商品名)	—	—	3.0	—
	ホスホリパーゼ D 放線菌由来 (商品名)	—	—	—	3.0

表中、ホスホリパーゼ D の U/g は、原材料 1g あたりのユニット数を示す。

[0038]

[表3]

酵素	酵素製剤 (商品名)	メーカー	酵素活性
ホスホリパーゼD	デナチーム PMD-PI	ナガセケムテックス	56500 U/g
ホスホリパーゼD	PHOSPHOLIPASE D [PLDP(T-39)] (Glycerophospholipid specific)	旭化成ファーマ	63600 U/g
ホスホリパーゼD	ホスホリパーゼD 放線菌由来	シグマ アルドリッチ	50844 U/g

表中、ホスホリパーゼDの酵素活性U/gは、酵素製剤1gあたりのユニット数を示す。

[0039] (1) 加熱後歩留りの評価

一般的に、挽き肉加工食品においては、加熱後歩留りが高いと、肉汁が内部に閉じ込められており、好ましい品質であると考えられる。

実施例1～3、比較例1のミートボールの製造時における焼成前の重量と焼成後の重量から、下記の式に従って、加熱後歩留りを算出した。

(式)

$$\text{加熱後歩留り (重量\%)} = (\text{焼成後の重量} / \text{焼成前の重量}) \times 100$$

結果を表4及び図1に示す。

[0040] [表4]

	比較例1 (酵素無添加)	実施例1	実施例2	実施例3
加熱後歩留り	72.2 重量%	75.0 重量%	72.8 重量%	76.3 重量%

[0041] 表4の結果より、ホスホリパーゼDを添加して製造した実施例1～3のミートボールは、酵素無添加の比較例1に対して、加熱後歩留りが高く、加熱後歩留りの向上が認められた。なかでも、実施例1及び3において、顕著な加熱後歩留りの向上が認められた。

[0042] (2) ミートボール中遊離コリン及び遊離イノシトール測定

(2-1) サンプルの調製

実施例1～3、比較例1のミートボールについて、アルミパウチに入れて外側から手でつぶし、凍結乾燥機を用いて凍結乾燥した。凍結乾燥による減

量割合を表5-1に示す。乾燥後、麺棒でたたいて粉碎し、ミートボール粉末を得た。得られたミートボール粉末を、下記の(2-2)ミートボール中遊離コリン測定、(2-3)ミートボール中遊離イノシトール測定のサンプルとして用いた。

[0043] [表5-1]

	比較例1 (酵素無添加)	実施例1	実施例2	実施例3
凍結乾燥による減量割合 (重量%)	57.7	57.1	57.1	58.6

[0044] (2-2) ミートボール中遊離コリン測定

(測定前処理(抽出)方法)

- (i) 0.5gのミートボール粉末に3.0mlの水を加えた。
- (ii) 氷冷しながら10000rpmで2分間、ポリトロンで粉碎した。
- (iii) 1.5mlチューブ2本に全量を均等に分注し、10000×g, 10度, 1分で遠心分離した。
- (iv) 上清を2.5mlシリンジに移し、0.45μmクロマトディスクを通してサンプル液を得た。

(遊離コリン測定方法)

コリンオキシダーゼ、ペルオキシダーゼ等を含む発色溶液(コリンエステラーゼキット-NC、289-75181、富士フィルム和光純薬株式会社)1mLにサンプル液50μLを加え5分反応させ、赤色キノン色素を生成した。その後、反応停止液(コリンエステラーゼキット-NC、289-75181、富士フィルム和光純薬株式会社)にて反応停止後、10分間室温にて放置した。その後、波長505nmにおける吸光度を測定した。基準液(コリンエステラーゼキット-NC、289-75181、富士フィルム和光純薬株式会社)を用いて、0、0.75、1、1.25、1.5及び1.75mMコリン標準液を作成し、上記と同様の操作にて吸光度を測定した。吸光度より検量線を作成し、ミートボール中遊離コリン含有量を求めた。結果を表5-2に示す。

[0045] [表5-2]

	比較例 1	実施例 1	実施例 2	実施例 3
ミートボール中 遊離コリン (ppm)	60	311	392	317

[0046] (2-3) ミートボール中遊離イノシトール測定

(測定前処理 (抽出) 方法)

(i) 1~2 g のミートボール粉末に 60 ml の水を加えた。

(ii) 30分振とう後、1 mol/L 水酸化ナトリウム溶液及び 1 mol/L 塩酸を用いて pH 5.0 に調整した。

(iii) 水で 100 mL に定容し、ろ過し、サンプル液を得た。

(遊離イノシトール測定方法)

Saccharomyces cerevisiae ATCC 9080 をブドウ糖ペプトン培地「ニッスイ」(日水製薬株式会社)を用い 30°C ± 1°C、20時間 ± 3時間で前培養し、接種菌液を調製した。滅菌したイノシトール分析培地に標準溶液又はサンプル液を塗布し、30°C ± 1°C、19時間 ± 3時間で培養し、波長 600 nm で測定した。標準溶液 (イノシトール 0.5 mg/ml、25% エタノール溶液) を用いて検量線を作成し、ミートボール中遊離イノシトール含有量を求めた。結果を表 5-3 に示す。

[0047] [表5-3]

	比較例 1
ミートボール中 遊離イノシトール (ppm)	213

[0048] [試験例 2] コリン添加試験

(実施例 2-1 ~ 実施例 2-5、比較例 2-2 ~ 比較例 2-4 のミートボールの製造)

表 6 に示した牛バラ赤身、牛ケンネ脂を肉挽き機 (チョッパー) により 3

mmのミンチとした。玉ねぎは約2mmのみじん切りとした。

表6に示した配合の原材料および表7-1、7-2に記載の添加量のコリンを使用し、スタンダードミキサー（「キッチンエイド（Kitchen Aid）KSM5WH」、ワールプール・コーポレーション製）を用い、設定速度1にて3分間混合し、ミートボール生地を調製した。空気抜きした後に30gの球形に手で成型した。成型後、1時間冷蔵庫で静置した。インピンジャー（FGJOA9L、フジマック製）にて250℃で1分間焼成及びスチームコンベクションオーブン（FSCC WE 61G、フジマック製）にて200℃、RH50%で6分間焼成し、実施例2-1～実施例2-5、比較例2-2～比較例2-4のミートボールを得た。

（比較例2-1のミートボールの製造）

コリンを添加しない以外は実施例2-1等と同じ方法で、比較例2-1のミートボールを得た。

（ミートボール中コリン含有量）

表7-1に示す、比較例2-1のミートボール中コリン含有量は、同様の方法で製造した試験例1の比較例1のミートボール中のコリン含有量（60重量ppm、表5-2参照）に基づく推定値である。比較例2-1はコリンを添加していないので、ミートボール中コリン含有量（推定値：60重量ppm）は、原材料中に元々含まれるコリン量である。

表7-1、7-2に示す、実施例2-1～実施例2-5、比較例2-2～比較例2-4のミートボール中コリン含有量は、原材料中に元々含まれるコリン量（推定値：60重量ppm）とコリン添加量との合計である。

（加熱後歩留りの評価）

加熱後歩留りの評価のために、ミートボール製造時において、上記焼成前の重量と焼成後の重量を測定した。製造時における焼成前の重量と焼成後の重量から、下記の式に従って、加熱後歩留りを算出した。

（式）

加熱後歩留り（重量%）＝（焼成後の重量／焼成前の重量）×100

結果を表 7-1、7-2 及び図 2 に示す。

[0049] [表6]

原材料	配合(重量%)
牛バラ赤身	60.0
牛ケンネ脂	25.0
薄力粉	1.0
パン粉	5.0
ガーリックパウダー	0.1
ホワイトペッパー	0.1
食塩	0.5
玉ねぎ	1.5
市水	6.8
合計	100.0

[0050] [表7-1]

	比較例 2-1	比較例 2-2	実施例 2-1	実施例 2-2
加熱後歩留り(重量%)	70.4	70.0	70.9	72.6
コリン添加量(重量 ppm)	0	4	10	200
コリン含有量(重量 ppm)	60	64	70	260

[0051] [表7-2]

	実施例 2-3	実施例 2-4	実施例 2-5	比較例 2-3	比較例 2-4
加熱後歩留り(重量%)	75.3	74.7	74.0	69.5	69.9
コリン添加量(重量 ppm)	400	1000	2000	10000	20000
コリン含有量(重量 ppm)	460	1060	2060	10060	20060

[0052] 表 7-1、7-2、図 2 の結果より、コリン含有量を 260~2060 重量 ppm の範囲に調整した実施例 2-2、2-3、2-4、2-5 のミートボールにおいて、加熱後歩留りが特に高いことが示された。

[0053] [試験例 3] イノシトール添加試験

(実施例 3-1~実施例 3-3、比較例 3-2~比較例 3-7 のミートボー

ルの製造)

試験例2の表6に示した牛バラ赤身、牛ケンネ脂を肉挽き機(チョッパー)により3mmのミンチとした。玉ねぎは約2mmのみじん切りとした。

試験例2の表6に示した配合の原材料および表8-1、8-2に記載の添加量のイノシトールを使用し、スタンダードミキサー(「キッチンエイド(KitchenAid)KSM5WH」、ワールプール・コーポレーション製)を用い設定速度1にて3分間混合し、ミートボール生地を調製した。空気抜きした後に30gの球形に手で成型した。成型後、1時間冷蔵庫で静置した。インピンジャー(FGJOA9L、フジマック製)にて250℃で1分間焼成及びスチームコンベクションオーブン(FSCCWE61G、フジマック製)にて200℃、RH50%で6分間焼成し、実施例3-1~実施例3-3、比較例3-2~比較例3-7のミートボールを得た。

(比較例3-1のミートボールの製造)

イノシトールを添加しない以外は実施例3-1等と同じ方法で、比較例3-1のミートボールを得た。

(ミートボール中イノシトール含有量)

表8-1に示す、比較例3-1のミートボール中イノシトール含有量は、同様の方法で製造した試験例1の比較例1のミートボール中のイノシトール含有量(213重量ppm、表5-3参照)に基づく推定値である。比較例3-1はイノシトールを添加していないので、ミートボール中イノシトール含有量(推定値:213重量ppm)は、原材料中に元々含まれるイノシトール量である。

表8-1、8-2に示す、実施例3-1~実施例3-3、比較例3-2~比較例3-7のミートボール中イノシトール含有量は、原材料中に元々含まれるイノシトール量(推定値:213重量ppm)とイノシトール添加量との合計である。

(加熱後歩留りの評価)

加熱後歩留りの評価のために、ミートボール製造時において、上記焼成前

の重量と焼成後の重量を測定した。製造時における焼成前の重量と焼成後の重量から、下記の式に従って、加熱後歩留りを算出した。

(式)

$$\text{加熱後歩留り (重量\%)} = (\text{焼成後の重量} / \text{焼成前の重量}) \times 100$$

結果を表8-1、8-2及び図3に示す。

[0054] [表8-1]

	比較例 3-1	比較例 3-2	比較例 3-3	比較例 3-4	実施例 3-1
加熱後歩留り(重量%)	70.1	70.1	70.1	69.4	72.2
イノシトール添加量(重量ppm)	0	0.3	3	15	30
イノシトール含有量(重量ppm)	213	213.3	216	228	243

[0055] [表8-2]

	実施例 3-2	実施例 3-3	比較例 3-5	比較例 3-6	比較例 3-7
加熱後歩留り(重量%)	71.2	70.5	69.6	69.8	70.1
イノシトール添加量(重量ppm)	60	150	300	1500	3000
イノシトール含有量(重量ppm)	273	363	513	1713	3213

[0056] 表8-1、8-2、図3の結果より、イノシトール含有量を243~273重量ppmの範囲に調整した実施例3-1、3-2のミートボールにおいて、加熱後歩留りが特に高いことが示された。

[0057] [試験例4] 酵素添加試験(ホスホリパーゼDとリパーゼとの併用)

(実施例4-1~実施例4-7の粗挽きソーセージの製造)

表9中の群Aの原材料を肉挽き機(チョッパー)により5mmのミンチとし、ニーダー(「卓上ニーダーPNV-5」、株式会社入江商会製)にて、前記ミンチに表9中の群Bの原材料および水を添加し、更に表10に記載のユニット量となるようにホスホリパーゼD(デナチームPMD-P1、ナガセケムテックス株式会社製)およびリパーゼ(リパーゼAY「アマノ」、天野エンザイム株式会社製)を加えて10分間混合した後、冷蔵庫にて4時間静置し塩漬処理をした。

次いで、表9中の群Cの原材料を添加してスタンダードミキサー（「キッチンエイド（KitchenAid） KSM5WH」、ワールプール・コーポレーション製）にて2速で1分間混合した後、真空包装した。

次に、コラーゲンケーシング（デブロ（Devro）株式会社製）に充填し、60℃で30分間乾燥した後、燻煙（60℃、10分）および蒸煮（75℃、30分）を行い、一晩冷却して、実施例4-1～実施例4-7の粗挽きソーセージを製造した。

（比較例4-1の粗挽きソーセージの製造）

酵素を添加しない以外は実施例4-1～実施例4-7と同じ方法で、比較例4-1の粗挽きソーセージを得た。

（加熱後歩留りの評価）

加熱後歩留りの評価のために、粗挽きソーセージ製造時において、上記乾燥前の重量と、冷却後（すなわち、乾燥－燻煙－蒸煮－冷却工程の後）の重量を測定した。製造時における乾燥前の重量と冷却後の重量から、下記の式に従って、加熱後歩留りを算出した。

（式）

加熱後歩留り（重量％）＝（冷却後の重量／乾燥前の重量）×100

結果を表10及び図4に示す。

[0058]

[表9]

原材料群	原材料	配合(重量%)
A	豚ウデ肉	42.0
	豚脂	30.0
B	食塩	1.5
	重合リン酸塩製剤	0.2
	10%重量亜硝酸ナトリウム	0.1
	L-アスコルビン酸ナトリウム	0.1
C	砂糖	1.0
	味の素	0.2
	ホワイトペッパー	0.1
D	市水	24.8
合計		100.0

[0059] [表10]

	比較例 4-1 (酵素無 添加)	実施例 4-1	実施例 4-2	実施例 4-3	実施例 4-4	実施例 4-5	実施例 4-6	実施例 4-7
加熱後歩留り (重量%)	76.2	76.9	79.0	77.3	78.1	80.2	77.1	79.8
ホスホリパーゼD (対粗挽きソーセ ージU/g)	-	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
リパーゼ (対粗挽きソーセ ージU/g)	-	0.3	0.5	0.7	1.1	1.6	1.9	2.3

[0060] 表10、図4の結果より、ホスホリパーゼD及びリパーゼを添加して製造した実施例4-1～実施例4-7の粗挽きソーセージは、酵素無添加の比較例4-1に対して、加熱後歩留りが高く、加熱後歩留りの向上が認められた。

[0061] [試験例5] 酵素添加試験（ホスホリパーゼDとトランスグルタミナーゼとの併用）

（実施例5-1～実施例5-3のミートボールの製造）

表11に示した牛バラ赤身、牛ケンネ脂を肉挽き機（チョッパー）により3mmのミンチとした。玉ねぎは約2mmのみじん切りとした。

表11に示した配合の原材料および表12に記載のユニット量となるようにホスホリパーゼD（デナチーム PMD-P1、ナガセケムテックス株式会社製）およびトランスグルタミナーゼ（「アクティバ」TG、味の素株式会社製）を使用し、スタンダードミキサー（「キッチンエイド（Kitchen Aid）KSM5WH」、ワールプール・コーポレーション製）を用い設定速度1にて3分間混合し、ミートボール生地を調製した。空気抜きした後に30gの球形に手で成型した。成型後、1時間冷蔵庫で静置した。インピンジャー（FGJOA9L、フジマック製）にて250℃で1分間焼成及びスチームコンベクションオーブン（FSCC WE 61G、フジマック製）にて200℃、RH50%で6分間焼成し、実施例5-1～実施例5-3のミートボールを得た。

（比較例5-1、5-2のミートボールの製造）

酵素を添加しない以外は実施例5-1等と同じ方法で、比較例5-1のミートボールを得た。ホスホリパーゼDを添加しない以外は実施例5-1等と同じ方法で、比較例5-2のミートボールを得た。

（加熱後歩留りの評価）

加熱後歩留りの評価のために、ミートボール製造時において、上記焼成前の重量と焼成後の重量を測定した。製造時における焼成前の重量と焼成後の重量から、下記の式に従って、加熱後歩留りを算出した。

（式）

加熱後歩留り（重量％）＝（焼成後の重量／焼成前の重量）×100

結果を表12及び図5に示す。

[0062]

[表11]

原材料	配合(重量%)
牛バラ赤身	60.0
牛ケンネ脂	25.0
薄力粉	1.0
パン粉	5.0
ガーリックパウダー	0.1
ホワイトペッパー	0.1
食塩	0.5
玉ねぎ	1.5
市水	6.8
合計	100.0

[0063] [表12]

	比較例 5-1 (酵素無 添加)	実施例 5-1	比較例 5-2 (ホスホリパーゼD 無添加)	実施例 5-2	実施例 5-3
加熱後歩留り(重量%)	72.3	74.6	71.9	74.9	74.3
ホスホリパーゼD (対ミートボールU/g)	-	0.75	-	0.75	0.75
トランスグルタミナーゼ (対ミートボールU/g)	-	-	12	12	6

[0064] 表12、図5の結果より、ホスホリパーゼDを添加して製造した実施例5-1、ホスホリパーゼD及びトランスグルタミナーゼを添加して製造した実施例5-2及び実施例5-3のミートボールは、酵素無添加の比較例5-1及びホスホリパーゼD無添加の比較例5-2に対して、加熱後歩留りが高く、加熱後歩留りの向上が認められた。

[0065] [試験例6] 酵素添加試験(ホスホリパーゼDと α グルコシダーゼとの併用)

(実施例6-1～実施例6-4のミートボールの製造)

酵素を表13に示す酵素及び配合量に変更した以外は、実施例5-1等と

同じ方法で、実施例 6-1～実施例 6-4 のミートボールを得た。酵素はホスホリパーゼ D（デナチーム PMD-P 1、ナガセケムテックス株式会社製）および α -グルコシダーゼ（トランスグルコシダーゼ L「アマノ」、天野エンザイム株式会社製）を使用した。

（比較例 6-1、6-2 のミートボールの製造）

酵素を添加しない以外は実施例 6-1 等と同じ方法で、比較例 6-1 のミートボールを得た。ホスホリパーゼ D を添加しない以外は実施例 6-1 等と同じ方法で、比較例 6-2 のミートボールを得た。

（加熱後歩留りの評価）

加熱後歩留りの評価のために、ミートボール製造時において、上記焼成前の重量と焼成後の重量を測定した。試験例 5 と同じ方法で、加熱後歩留りを算出した。結果を表 13 及び図 6 に示す。

[0066] [表13]

	比較例 6-1 (酵素無添加)	実施例 6-1	比較例 6-2	実施例 6-2	実施例 6-3	実施例 6-4
加熱後歩留り (重量%)	72.1	74.6	74.2	76.9	76.7	75.5
ホスホリパーゼ D (対ミートボール U/g)	-	0.75	-	0.75	0.75	0.75
α -グルコシダーゼ (対ミートボール U/g)	-	-	0.75	10	0.75	0.05

[0067] 表 13、図 6 の結果より、ホスホリパーゼ D を添加して製造した実施例 6-1、ホスホリパーゼ D 及び α -グルコシダーゼを添加して製造した実施例 6-2～実施例 6-4 のミートボールは、酵素無添加の比較例 6-1 及びホスホリパーゼ D 無添加の比較例 6-2 に対して、加熱後歩留りが高く、加熱後歩留りの向上が認められた。

[0068] [試験例 7] 酵素添加試験（ホスホリパーゼ D と α -グルコシダーゼとリパーゼとの併用

（実施例 7-1 のミートボールの製造）

酵素を表14に示す酵素及び配合量に変更した以外は、実施例5-1等と同じ方法で、実施例7-1のミートボールを得た。酵素はホスホリパーゼD（デナチーム PMD-P1、ナガセケムテックス株式会社製）、 α -グルコシダーゼ（トランスグルコシダーゼL「アマノ」、天野エンザイム株式会社製）およびリパーゼ（リパーゼAY「アマノ」、天野エンザイム株式会社製）を使用した。

（比較例7-1のミートボールの製造）

酵素を添加しない以外は実施例7-1と同じ方法で、比較例7-1のミートボールを得た。

（加熱後歩留りの評価）

加熱後歩留りの評価のために、ミートボール製造時において、上記焼成前の重量と焼成後の重量を測定した。試験例5と同じ方法で、加熱後歩留りを算出した。結果を表14及び図7に示す。

[0069] [表14]

	比較例7-1 (酵素無添加)	実施例7-1
加熱後歩留り(重量%)	70.9	74.4
ホスホリパーゼD (対ミートボールU/g)	-	0.75
α グルコシダーゼ (対ミートボールU/g)	-	0.75
リパーゼ (対ミートボールU/g)	-	1.1

[0070] 表14、図7の結果より、ホスホリパーゼDと α -グルコシダーゼとリパーゼとを添加して製造した実施例7-1のミートボールは、酵素無添加の比較例7-1に対して、加熱後歩留りが高く、加熱後歩留りの向上が認められた。

[0071] [試験例8] ホスホリパーゼD添加試験（ハンバーグ）

(実施例 8-1、8-2 のハンバーグの製造)

表 15 に示した肉原料 (牛バラ、豚ウデ) を肉挽き機 (チョッパー) により 3 mm のミンチとした。

表 15 に示した配合の各原料に、ホスホリパーゼ D (デナチーム PMD-P1、ナガセケムテックス株式会社製) を対原材料 1 g あたり 0.4 U もしくは 4.0 U となるよう添加し、スタンダードミキサー (「キッチンエイド (Kitchen Aid) KSM5WH」、ワールプール・コーポレーション製) を用い、設定速度 1 にて 3 分間混合し、ハンバーグ生地を調製した。

生地を 150 g に計量し、空気抜きした後に小判形 (長径 130 mm、短径 90 mm、厚さ 12 mm) に成型した。成型後にハンバーグ生地を 230 °C のグリドル (FGFT60601TC、フジマック社製) にて両面 1 分間ずつ焼成し、表面に焼き目を付けた後、インピンジャー (FGJOA9L、フジマック製) にて 250 °C で 4 分間焼成し、実施例 8-1、8-2 のハンバーグを得た。

(比較例 8-1 のハンバーグの製造)

酵素を添加しない以外は実施例 8-1、8-2 と同じ方法で、比較例 8-1 のハンバーグを得た。

(加熱後歩留りの評価)

加熱後歩留りの評価のために、ハンバーグ製造時において、上記焼成前の重量と焼成後の重量を測定した。製造時における焼成前の重量と焼成後の重量から、下記の式に従って、加熱後歩留りを算出した。

(式)

加熱後歩留り (重量%) = (焼成後の重量 / 焼成前の重量) × 100

結果を表 16 及び図 8 に示す。

[0072]

[表15]

原材料	配合(重量%)
牛バラ	35.0
豚ウデ	35.0
食塩	0.5
玉ねぎ(みじん切り)	15.0
ドライパン粉	4.0
全卵	5.0
グラニュー糖	1.0
グルタミン酸ナトリウム	0.1
ホワイトペッパー	0.1
ナツメグ	0.1
市水	4.2
合計	100.0

[0073] [表16]

	比較例 8-1 (酵素無添加)	実施例 8-1	実施例 8-2
加熱後歩留り(重量%)	76.6	83.2	83.0
ホスホリパーゼ D (対ハンバーグ U/g)	-	0.4	4.0

[0074] 表 16、図 8 の結果より、ホスホリパーゼ D を添加して製造した実施例 8-1、8-2 のハンバーグは、酵素無添加の比較例 8-1 に対して、加熱後歩留りが高く、加熱後歩留りの向上が認められた。

[0075] [試験例 9] ホスホリパーゼ D 添加試験 (ソーセージ)

(実施例 9-1 の粗挽きソーセージの製造)

表 17 中の群 A の原材料を肉挽き機 (チョッパー) により 5 mm のミンチとし、ニーダー (「卓上ニーダー PNV-5」、株式会社入江商会製) にて、前記ミンチに表 17 中の群 B の原材料および水を添加し、更に表 18 に記載の配合量でホスホリパーゼ D (デナチーム PMD-P1、ナガセケムテ

ックス株式会社製)を加えて10分間混合した後、冷蔵庫にて4時間静置し塩漬処理をした。

次いで、表17中の群Cの原材料を添加してスタンダードミキサー(「キッチンエイド(KitchenAid) KSM5WH」、ワールプール・コーポレーション製)にて2速で1分間混合した後、真空包装した。

次に、コラーゲンケーシング(デブロ(Devro)株式会社製)に充填し、60℃で30分間乾燥した後、燻煙(60℃、10分)および蒸煮(75℃、30分)を行い、一晩冷却して、実施例9-1の粗挽きソーセージを製造した。

(比較例9-1の粗挽きソーセージの製造)

酵素を添加しない以外は実施例9-1と同じ方法で、比較例9-1の粗挽きソーセージを得た。

(加熱後歩留りの評価)

加熱後歩留りの評価のために、粗挽きソーセージ製造時において、上記乾燥前の重量と、冷却後(すなわち、乾燥-燻煙-蒸煮-冷却工程の後)の重量を測定した。製造時における乾燥前の重量と冷却後の重量から、下記の式に従って、加熱後歩留りを算出した。

(式)

加熱後歩留り(重量%) = (冷却後の重量 / 乾燥前の重量) × 100

結果を表18及び図9に示す。

[0076]

[表17]

原材料群	原材料	配合(重量%)
A	豚ウデ肉	49.4
	豚脂	28.3
B	食塩	1.5
	重合リン酸塩製剤	0.2
	10%重量亜硝酸ナトリウム	0.1
	L-アスコルビン酸ナトリウム	0.1
C	砂糖	1.0
	味の素	0.2
	ホワイトペッパー	0.1
D	市水	19.1
合計		100.0

[0077] [表18]

	比較例 9-1 (酵素無添加)	実施例 9-1
加熱後歩留り(重量%)	90.4	92.0
ホスホリパーゼ D (対ソーセージ U/g)	—	1.6

[0078] 表18、図9の結果より、ホスホリパーゼDを添加して製造した実施例9-1の粗挽きソーセージは、酵素無添加の比較例9-1に対して、加熱後歩留りが高く、加熱後歩留りの向上が認められた。

[0079] [試験例10] ホスホリパーゼD添加試験(鶏つみれ)

(実施例10-1の鶏つみれの製造)

表19中の肉原料(鶏ムネ肉、豚脂肪)を肉挽き機(チョッパー)により5mmのミンチとし、スタンダードミキサー(「キッチンエイド(KitchenAid) KSM5WH」、ワールプール・コーポレーション製)にて、前記ミンチに表19中の各原料を添加し、更に表20に記載の配合量で

ホスホリパーゼD（デナチーム PMD-P 1、ナガセケムテックス株式会社製）を加えて2速3分30秒間混合した。

生地を15gに計量し、冷蔵庫にて2時間静置した。成型後にスチームコンベクションオーブン（FSCC WE 61G、フジマック製）にて100℃、RH100%で10分間焼成し、実施例10-1の鶏つみれを得た。

（比較例10-1の鶏つみれの製造）

酵素を添加しない以外は実施例10-1と同じ方法で、比較例10-1の鶏つみれを得た。

（加熱後歩留りの評価）

加熱後歩留りの評価のために、鶏つみれ製造時において、上記焼成前の重量と焼成後の重量を測定した。製造時における焼成前の重量と焼成後の重量から、下記の式に従って、加熱後歩留りを算出した。

（式）

加熱後歩留り（重量％）＝（焼成後の重量／焼成前の重量）×100

結果を表20及び図10に示す。

[0080]

[表19]

原材料	配合(重量%)
鶏ムネ肉	46.0
豚脂肪	12.0
食塩	0.8
玉ねぎ	13.0
ドライパン粉	8.4
粒状大豆たんぱく	5.0
馬鈴薯澱粉	3.3
グラニュー糖	1.0
しょうが	1.0
醤油	0.5
卵白粉末	0.2
グルタミン酸ナトリウム	0.2
pH調整剤	0.1
水	8.5
合計	100.0

[0081] [表20]

	比較例 10-1 (酵素無添加)	実施例 10-1
加熱後歩留り(重量%)	93.9	96.4
ホスホリパーゼ D (対鶏つみれ U/g)	-	2.4

[0082] 表20、図10の結果より、ホスホリパーゼDを添加して製造した実施例10-1の鶏つみれは、酵素無添加の比較例10-1に対して、加熱後歩留りが高く、加熱後歩留りの向上が認められた。

[0083] [試験例11] ホスホリパーゼD添加試験(高脂肪ソーセージ)
(実施例11-1の粗挽きソーセージの製造)

表21中の群Aの原材料を肉挽き機(チョッパー)により5mmのミンチとし、ニーダー(「卓上ニーダーPNV-5」、株式会社入江商会製)にて

、前記ミンチに表 2 1 中の群 B の原材料および水を添加し、更に表 2 2 に記載の配合量でホスホリパーゼ D（デナチーム PMD-P 1、ナガセケムテックス株式会社製）を加えて 1 0 分間混合した後、冷蔵庫にて 4 時間静置し塩漬処理をした。

次いで、表 2 1 中の群 C の原材料を添加してスタンダードミキサー（「キッチンエイド（Kitchen Aid）KSM5WH」、ワールプール・コーポレーション製）にて 2 速で 1 分間混合した後、真空包装した。

次に、コラーゲンケーシング（デブロ（Devro）株式会社製）に充填し、6 0℃で 3 0 分間乾燥した後、燻煙（6 0℃、1 0 分）および蒸煮（7 5℃、3 0 分）を行い、一晩冷却して、実施例 1 1-1 の粗挽きソーセージを製造した。

（比較例 1 1-1 の粗挽きソーセージの製造）

酵素を添加しない以外は実施例 1 1-1 と同じ方法で、比較例 1 1-1 の粗挽きソーセージを得た。

（加熱後歩留りの評価）

加熱後歩留りの評価のために、粗挽きソーセージ製造時において、上記乾燥前の重量と、冷却後（すなわち、乾燥-燻煙-蒸煮-冷却工程の後）の重量を測定した。製造時における乾燥前の重量と冷却後の重量から、下記の式に従って、加熱後歩留りを算出した。

（式）

加熱後歩留り（重量％）＝（冷却後の重量／乾燥前の重量）× 1 0 0

結果を表 2 2 及び図 1 1 に示す。

[0084]

[表21]

原材料群	原材料	配合(重量%)
A	豚ウデ肉	40.7
	豚脂	34.0
B	食塩	1.5
	重合リン酸塩製剤	0.2
	10%重量亜硝酸ナトリウム	0.1
	L-アスコルビン酸ナトリウム	0.1
C	砂糖	1.0
	味の素	0.2
	ホワイトペッパー	0.1
D	市水	22.1
合計		100.0

[0085] [表22]

	比較例 11-1 (酵素無添加)	実施例 11-1
加熱後歩留り(重量%)	84.4	87.2
ホスホリパーゼD (対ソーセージU/g)	-	1.6

[0086] 表22、図11の結果より、ホスホリパーゼDを添加して製造した実施例11-1の粗挽きソーセージは、酵素無添加の比較例11-1に対して、加熱後歩留りが高く、加熱後歩留りの向上が認められた。

産業上の利用可能性

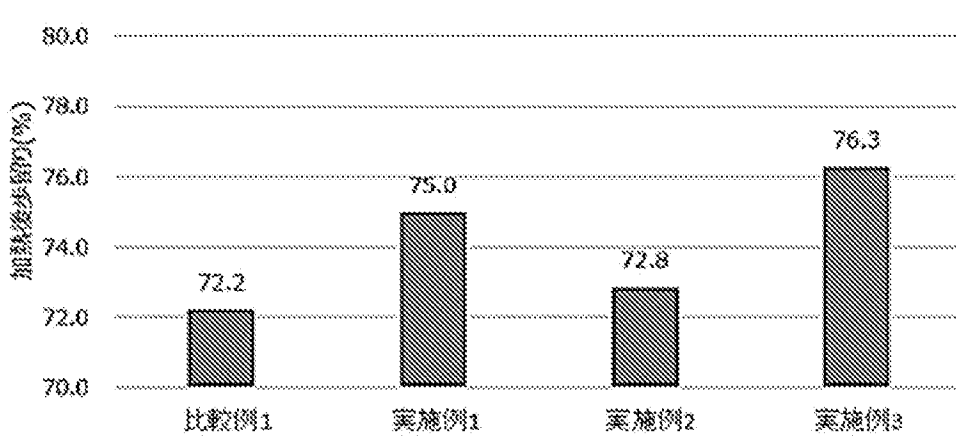
[0087] 本発明によれば、加熱後歩留りが向上した畜肉練り製品を提供することができる。

[0088] 本出願は、日本で出願された特願2021-077257を基礎としており、その内容は本明細書にすべて包含されるものである。

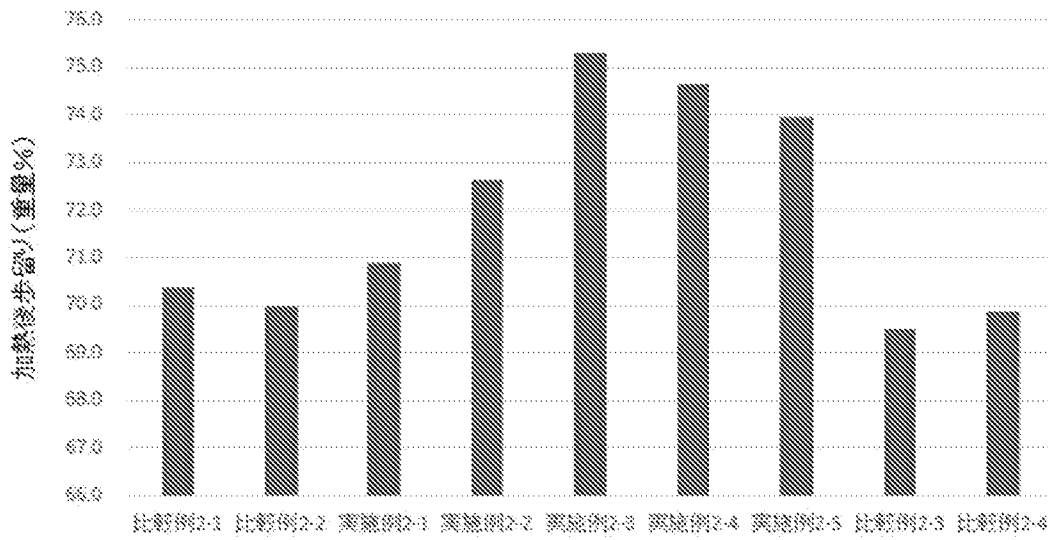
請求の範囲

- [請求項1] 下記（１）、（２）のいずれか一方又は両方を含有する、畜肉練り製品。
- （１） 65～9000重量ppmのコリン
- （２） 230～380重量ppmのイノシトール
- [請求項2] 前記（１）及び（２）を含有する、請求項1記載の畜肉練り製品。
- [請求項3] 前記コリン及びイノシトールが、畜肉練り製品の原材料に含まれるリン脂質に由来する、請求項1又は2に記載の畜肉練り製品。
- [請求項4] 原材料である畜肉にホスホリパーゼDを作用させることを含む、畜肉練り製品の加熱後歩留り向上方法。
- [請求項5] ホスホリパーゼDが、シグマ アルドリッチ製ホスホリパーゼD放線菌由来（商品名）、ナガセケムテック製デナチームPMD-P1（商品名）及び旭化成ファーマ製PHOSPHOLIPASE D [PLDP (T-39)] (Glycerophospholipid specific)（商品名）からなる群から選択される、請求項4記載の方法。
- [請求項6] トランスグルタミナーゼ、リパーゼ、及び澱粉分解酵素からなる群から選択される少なくとも1つの酵素をさらに作用させることを含む、請求項4または5に記載の方法。

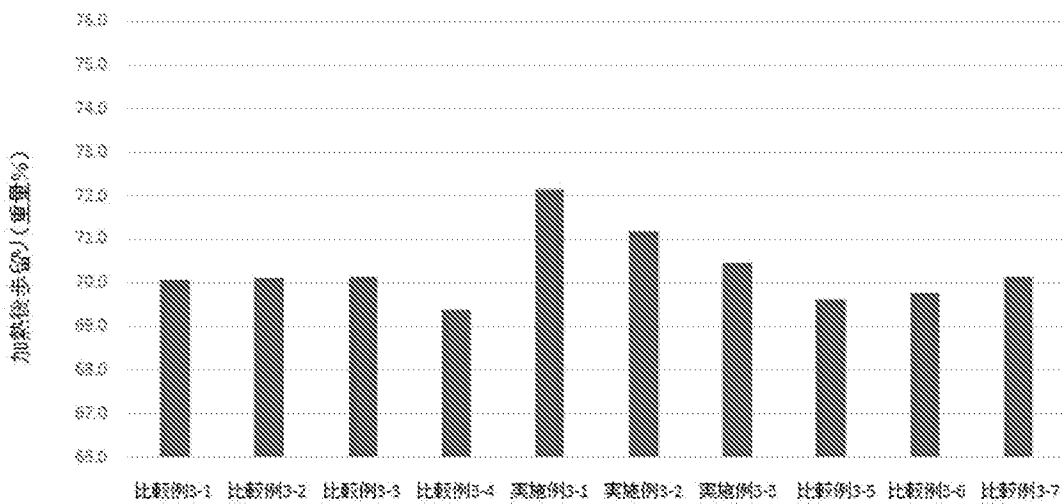
[図1]



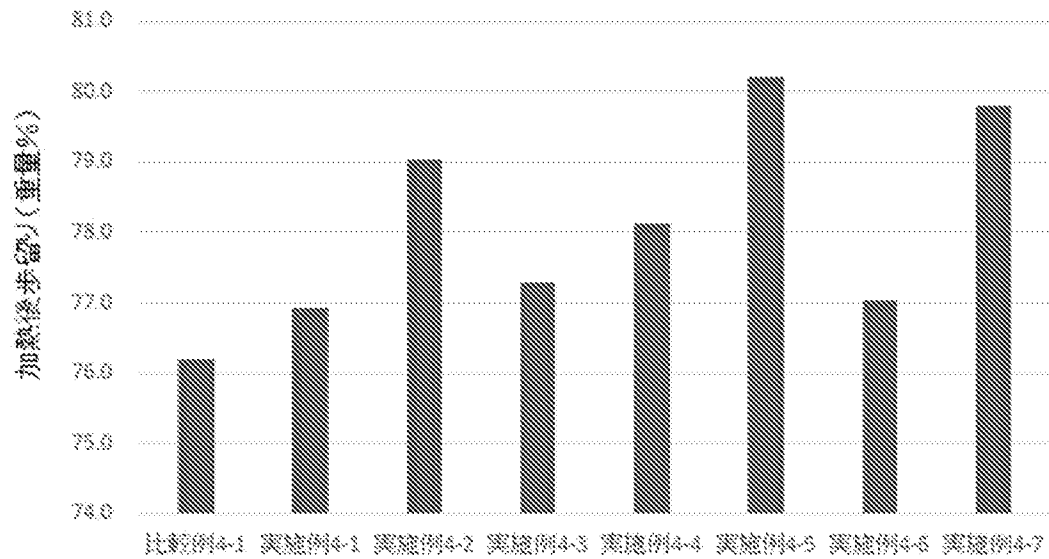
[図2]



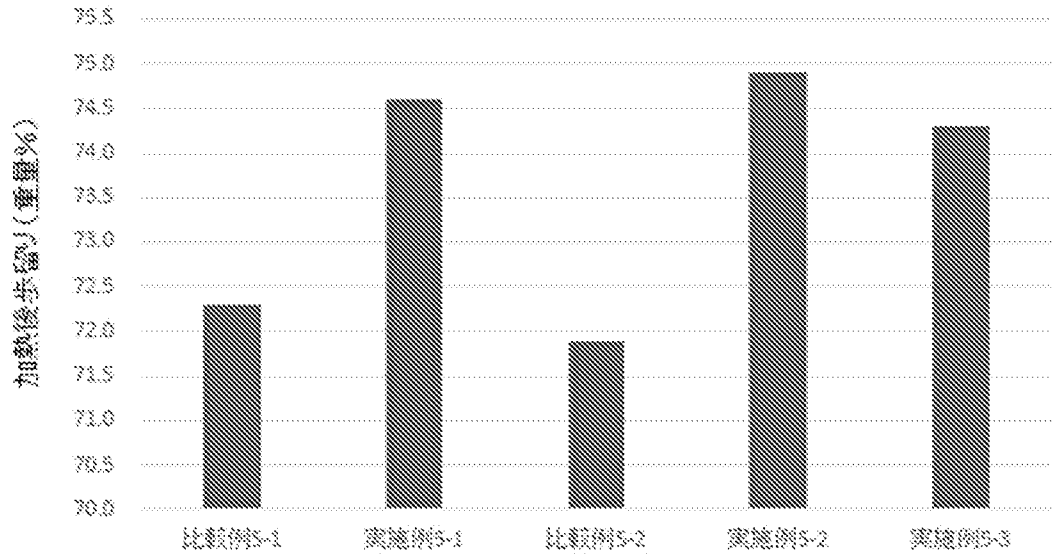
[図3]



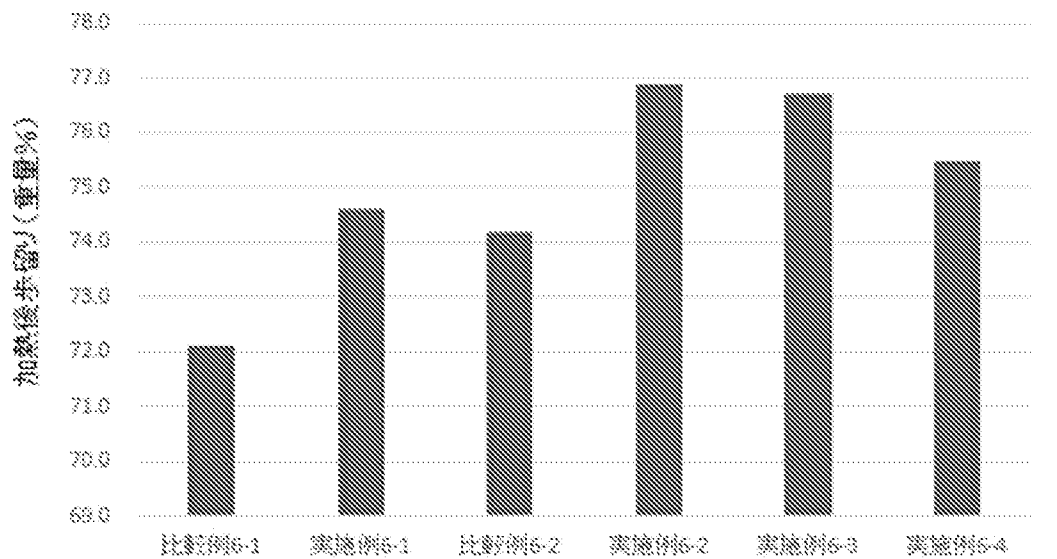
[図4]



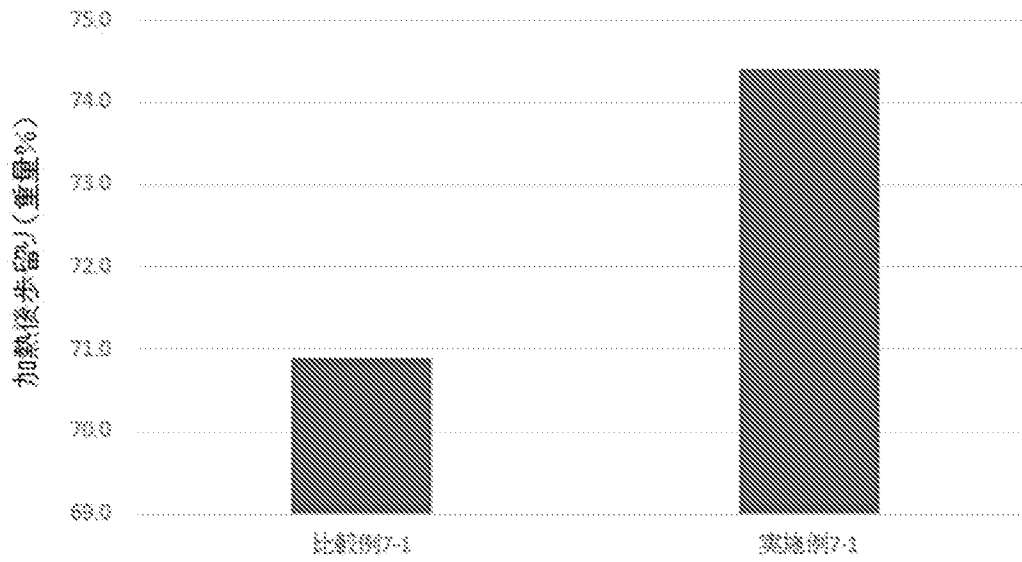
[図5]



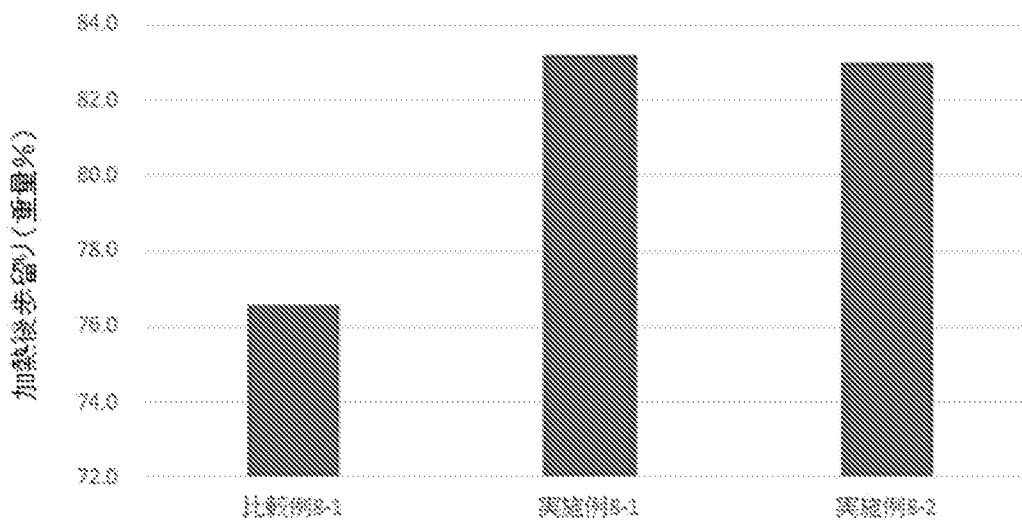
[図6]



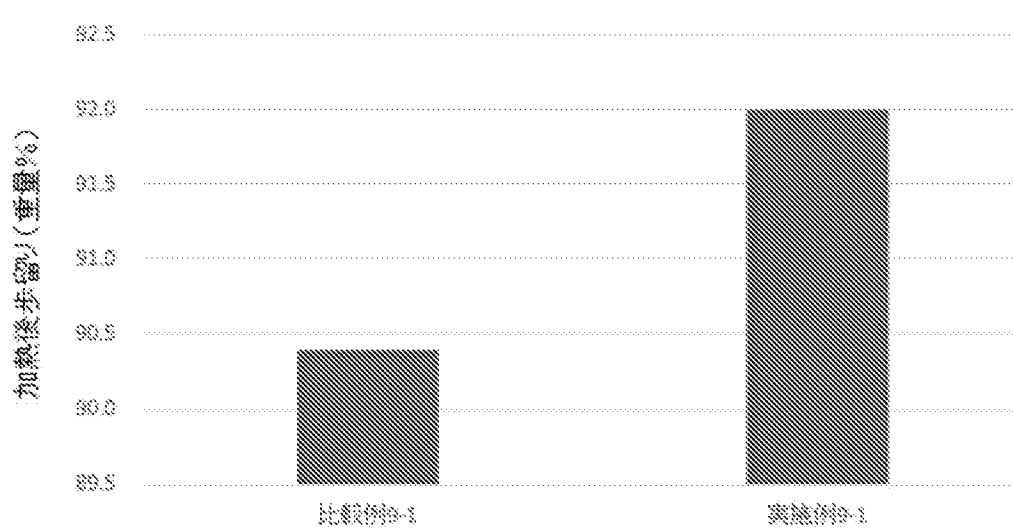
[図7]



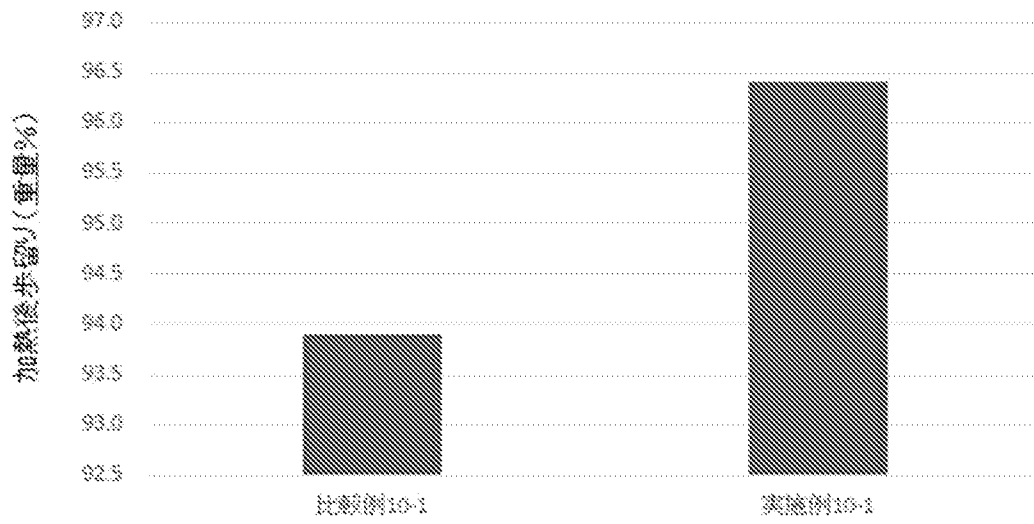
[図8]



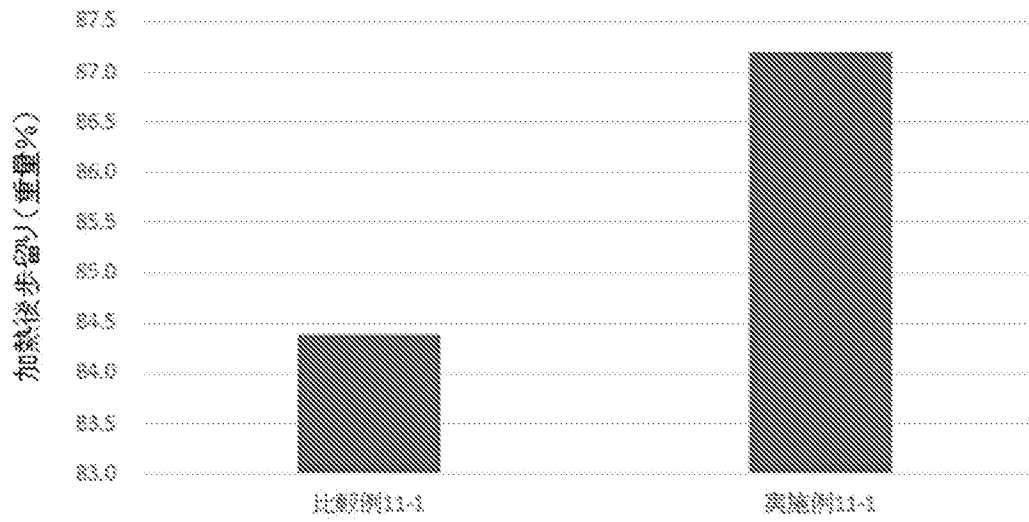
[図9]



[図10]



[図11]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2022/019450

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		
A23L 13/60(2016.01)i; A23L 35/00(2016.01)i FI: A23L13/60; A23L35/00		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) A23L13/60; A23L35/00		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Published examined utility model applications of Japan 1922-1996 Published unexamined utility model applications of Japan 1971-2022 Registered utility model specifications of Japan 1996-2022 Published registered utility model applications of Japan 1994-2022		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII); 日経テレコン		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2013/172447 A1 (NAGASE CHEMTEX CORPORATION) 21 November 2013 (2013-11-21) paragraphs [0005], [0021], [0039], examples	1, 3
Y	paragraphs [0005], [0021], [0039], examples	2
Y	CN 107593874 A (ANHUI JINGTONG AGRICULTURAL TECHNOLOGY DEVELOPMENT CO., LTD.) 19 January 2018 (2018-01-19) paragraphs [0002]-[0011]	2
X	WO 2010/140708 A1 (AJINOMOTO CO., INC.) 09 December 2010 (2010-12-09) paragraph [0003], examples	1, 3
Y	paragraph [0003], examples	2
Y	paragraph [0003], examples	4-6
Y	JP 2020-145977 A (OKUNO CHEM IND CO) 17 September 2020 (2020-09-17) paragraph [0064]	4-6
Y	WO 2006/075771 A1 (AJINOMOTO CO., INC.) 20 July 2006 (2006-07-20) example 2	4-6
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 11 July 2022		Date of mailing of the international search report 26 July 2022
Name and mailing address of the ISA/JP Japan Patent Office (ISA/JP) 3-4-3 Kasumigaseki, Chiyoda-ku, Tokyo 100-8915 Japan		Authorized officer Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2022/019450

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	JP 11-346719 A (IZU RICE CENTER KK) 21 December 1999 (1999-12-21) paragraph [0031]	4-6
.....		

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/JP2022/019450

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)	Publication date (day/month/year)
WO	2013/172447	A1	21 November 2013	US 2015/0181913 A1 paragraphs [0007], [0024], [0042], examples EP 2850952 A1 CN 104302190 A BR 112014028587 A	
CN	107593874	A	19 January 2018	(Family: none)	
WO	2010/140708	A1	09 December 2010	US 2012/0135111 A1 paragraphs [0028]-[0046], examples EP 2438823 A1 MX 2011012860 A	
JP	2020-145977	A	17 September 2020	(Family: none)	
WO	2006/075771	A1	20 July 2006	US 2007/0254066 A1 example 2 EP 1836907 A1 KR 10-2007-0104528 A CN 101090644 A MX 2007007406 A MY 148140 A DK 1836907 T ES 2547222 T TW 200637501 A	
JP	11-346719	A	21 December 1999	(Family: none)	

A. 発明の属する分野の分類（国際特許分類（IPC）） A23L 13/60(2016.01)i; A23L 35/00(2016.01)i FI: A23L13/60; A23L35/00		
B. 調査を行った分野 調査を行った最小限資料（国際特許分類（IPC）） A23L13/60; A23L35/00 最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの 日本国実用新案公報 1922-1996年 日本国公開実用新案公報 1971-2022年 日本国実用新案登録公報 1996-2022年 日本国登録実用新案公報 1994-2022年		
国際調査で使用した電子データベース（データベースの名称、調査に使用した用語） JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII); 日経テレコン		
C. 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
X	WO 2013/172447 A1 (ナガセケムテックス株式会社) 21.11.2013 (2013-11-21) [0005]、[0021]、[0039]、実施例	1,3
Y	[0005]、[0021]、[0039]、実施例	2
Y	CN 107593874 A (ANHUI JINGTONG AGRICULTURAL TECHNOLOGY DEVELOPMENT CO., LTD.) 19.01.2018 (2018-01-19) [0002]-[0011]	2
X	WO 2010/140708 A1 (味の素株式会社) 09.12.2010 (2010-12-09) [0003]、実施例	1,3
Y	[0003]、実施例	2
Y	[0003]、実施例	4-6
Y	JP 2020-145977 A (奥野製薬工業株式会社) 17.09.2020 (2020-09-17) [0064]	4-6
Y	WO 2006/075771 A1 (味の素株式会社) 20.07.2006 (2006-07-20) 実施例 2	4-6
<input checked="" type="checkbox"/> C欄の続きにも文献が列挙されている。 <input checked="" type="checkbox"/> パテントファミリーに関する別紙を参照。		
* 引用文献のカテゴリー “A” 特に関連のある文献ではなく、一般的な技術水準を示すもの “E” 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの “L” 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献（理由を付す） “O” 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献 “P” 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願の日の後に公表された文献 “T” 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と抵触するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの “X” 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの “Y” 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの “&” 同一パテントファミリー文献		
国際調査を完了した日	国際調査報告の発送日	
11.07.2022	26.07.2022	
名称及びあて先 日本国特許庁(ISA/JP) 〒100-8915 日本国 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	権限のある職員（特許庁審査官） 高山 敏充 40 4153 電話番号 03-3581-1101 内線 3461	

C. 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリ*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
Y	JP 11-346719 A (株式会社伊豆ライスセンター) 21.12.1999 (1999 - 12 - 21) [0031]	4-6

国際調査報告
 パテントファミリーに関する情報

国際出願番号

PCT/JP2022/019450

引用文献			公表日	パテントファミリー文献		公表日
WO	2013/172447	A1	21.11.2013	US 2015/0181913	A1	
				[0007], [0024], [0042], EXAMPLES		
				EP 2850952	A1	
				CN 104302190	A	
				BR 112014028587	A	
CN	107593874	A	19.01.2018	(ファミリーなし)		
WO	2010/140708	A1	09.12.2010	US 2012/0135111	A1	
				[0028]-[0046], 実施例		
				EP 2438823	A1	
				MX 2011012860	A	
JP	2020-145977	A	17.09.2020	(ファミリーなし)		
WO	2006/075771	A1	20.07.2006	US 2007/0254066	A1	
				Example 2		
				EP 1836907	A1	
				KR 10-2007-0104528	A	
				CN 101090644	A	
				MX 2007007406	A	
				MY 148140	A	
				DK 1836907	T	
				ES 2547222	T	
				TW 200637501	A	
JP	11-346719	A	21.12.1999	(ファミリーなし)		