食肉中のヘモグロビン及びミオグロビンの含量について

Hemoglobin and Myoglobin Content of Meat

(昭和 34 年 5 月 4 日受理)

水上 久枝
(Hisae Minakami)

The content of hemoglobin and myoglobin in meat—beef, horse and whale—was estimated simultaneously by the spectrophotometry on the extract saturated with carbon monoxide. Hemoglobin and myoglobin were extracted from the homogenized meat with acetate buffer pH 4.5 as described by de Duve. The absorption spectra of the mixtures of carboxyhemoglobin and carboxymyoglobin were plotted by Beckman DK self-recording spectrophotometer or Hitachi EPU-1 spectrophotometer. The content of hemoglobin and myoglobin was obtained from the absorbancy at 560, 570, 576 and 580 $m\mu$ by the nomograph made by Tsushima and Okazaki. The rate of hemoglobin and myoglobin was also calculated by other methods such as that of de Duve and that of Poel. The sum of these proteins was also checked by cyanide-methemoglobin method.

The rate of hemoglobin and myoglobin as observed to remain constant in spite of the difference of the animal species and the localization in the body, accordingly in spite of the difference in the total content of the extractable heme-proteins. The content of hemoglobin was estimated to be approximately 10% of the total heme. No remarkable difference in the hemoglobin content was observed between whale and the other meat, although some difficulties in removing the blood might be conceivable in the former.

The hemin content of dark muscles of bonito and tuna was also determined.

1 緒 論

食肉の色は食用上重要な問題であるが、その色素は主としてヘモグロビン（以下 Hb と略記）及びミオグロビン（以下 Mb）からなっている。例えば鯨の肉は空気中では不快な茶褐色を呈するが、これは Hb 及び Mb のメト型によると考えられ、市販食肉に含まれる血液の量がどの程度であるかは興味ある問題である。そこで食肉及び魚の血合肉の Hb 及び Mb の含量を測定してみた。

Hb と Mb は同じ配合群をもち性質も似ているために、別々に測定することはかなり困難であり、今迄に幾つかの方法が考案されている。即ち、Drabkin¹⁾ の塩析による分離定量法、Rossi Fanelli²⁾ のアルカリ変性による分離定量法のように Hb と Mb を分離する方法と、C. de Duve,³⁾ 津島⁴⁾ らのように Hb と Mb の分光学的な微細な差を利用し、その混合物の曲線より各々の成分の割合を計算によつて出す方法とがある。前者は塩析や熱、アルカリに対する性質が動物に依り異なり、広く多数の動物に應用することができない。これに反し分光学的な定量法はかなり広範囲に利用し得る。

このように Hb と Mb の含量をそれぞれ食肉において測定することは方法が困難なために、今日まで殆んど行

われていない。本報においては日立分光光度計および Beckman 自記分光光度計を用いて食肉抽出液の—酸化炭素結合物の可視部吸収を測定し、Hb と Mb のそれぞれの含量を計算した。

2 実 験

i) 試 料

市販の牛肉、馬肉、冷凍鯨の赤肉及び尾肉、かつを及びまぐろの血合肉を用いた。

ii) 実験方法

抽出は de Duve の方法に準じた。

イ) 肉片を細かく切り約 5g を秤量する。

ロ) 約 30ml $1/100$ M 酢酸塩緩衝液 (pH. 4.5), を加えブレンダー及びホモジェナイザーにかける。

ハ) 一定量を乾燥重量測定のため秤量瓶にとり 110°C の乾燥器内にて恒量に達するまで乾燥を続ける。

ニ) 他方前記のホモジェネート 10ml を遠心沈殿管にとり 4000rpm 10 分間遠心沈殿を行う。上澄液をとり沈殿を 2~3ml の $1/100$ M 酢酸塩緩衝液 (pH 4.5), で 2~3 回洗い、上澄液を全部合わせる。

ホ) 上澄液量を測り、濁りがあれば濾紙にて濾過し、1ml につき結晶第二磷酸ソーダ ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$) 25mg

第1図 Hb, Mb 含量計算の図表

(計算図表および Hb, Mb の吸光係数の比は津島・岡崎⁴⁾による。筋抽出液の数値は第2図の測定値から求めたもの)

を加えておく。(以上の操作は氷水浴中で行つた)。

iii) 測定

イ) 上記の液 4~5ml に還元剤として充分量のヒドロ亜硫酸ナトリウム ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$) を加え、還元型とする。

ロ) 石炭ガスを充分通じて CO 型とする。

ハ) Beckman 自記分光光度計で 500~600m μ の波長にわたり吸光度を測定する。

日立分光光度計を用いない時には、560, 570 576 (CO Hb c CO Mb の isosbestic point), 580m μ の吸光度を測定する。

ニ) Hb と Mb の合計はさらに独立にシアン・メトヘモグロビン法により定量した。すなわち、上記の抽出液に $1/10\text{M}$ 磷酸塩緩衝液 (pH 7.38), 0.4% KCN, 0.001M $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ を等量ずつ加え、CN 結合物として伊藤電気製光電比色計にて比色した。鉄含量が既知のヘモグロビン溶液を用いて画いた標準曲線より血色素総量(Hb+Mb)を求めた。

iv) 計算法

主として津島・岡崎の作った計算図表を用い、E570/E576, E580/E576, E560/E576 の比より求められる値を平均した。de Duve の計算法³⁾, W. E. Poel⁵⁾ の計算法もこれとはほぼ同じ原理によるものであり試みたが、表には津島・岡崎による数値の平均値をのせた。

3 結果及び考察

食肉(馬肉)抽出液をヒドロ亜硫酸ナトリウムにより還元し、一酸化炭素を通気したものの吸光曲線は第2図に示すごとくであり、Hb のそれとは異なり結晶 Mb について文献記載のものとはほぼ一致し、Hb の占める割合はそれ程多くないことが示される。この曲線を解析し

第2図 食肉抽出液 CO 結合型(I)の吸収曲線

(Beckman 自記分光計 (DK型) による; 横軸は不
等間隔) II はヘモグロビン溶液

Hb の割合を求めるに、津島らの I, II, III 式による値はそれぞれ 0, 13, 20 であり、必ずしもよく一致しないが、この肉に含まれている Hb 量が Mb の約 10% 前後であることは、吸収極大が 576~577m μ にあり、Hb は 570m μ , Mb は 577m μ であることから計算し得るも

第1表 牛肉の血色素含量(Hb+Mb)
と Mb の割合

試料	CN 法 による mg/lg 乾重	576m μ 吸光度 による mg/lg 乾重	Mb %	試料	CN 法 による mg/lg 乾重	576m μ 吸光度 による mg/lg 乾重	Mb %
牛肉 1	29.2	28.8	89	牛肉 8	30.7	27.4	97
2	21.7	22.9	95	9	19.5	24.6	92
3	33.5	32.4	89	10	19.6	18.0	98
4	32.0	29.4	96	11	43.0	42.6	96
5	-	28.6	98	12	45.2	43.5	95
6	27.9	27.4	-	13	30.7	29.7	83
7	30.0	28.4	89	14	30.9	26.7	88

第2表 馬肉の血色素含量(Hb+Mb)
と Mb の割合

試料	576m μ 吸 光度による mg/lg 乾燥重量	Mb %	試料	576m μ 吸 光度による mg/lg 乾燥重量	Mb %
馬肉 1	27.3	91	馬肉 4	22.4	92
2	23.6	97	5	25.0	87
3	22.6	94	6	34.8	88

第3表 鯨肉の血色素含量(Hb+Mb)と Mb の割合

試料	CN 法による mg/lg 乾燥重量	576 m μ 吸光度による mg/lg 乾燥重量	Mb %	試料	CN 法による mg/lg 乾燥重量	576 m μ 吸光度による mg/lg 乾燥重量	Mb %
白ながす赤肉 1	87.5	89.4	94	ながす尾肉 1	-	12.5	90
2	102.5	103.9	88	2	8.5	13.8	90
尾肉 1	35.5	38.7	94	種類不明赤肉 1	37.5	36.4	96
2	35.5	36.0	90	2	24.0	29.2	-
まつこう赤肉 1	68.0	78.5	92	3	28.0	29.6	90
2	70.5	80.0	94	4	-	38.2	96
尾肉 1	16.8	17.1	84	尾肉 1	-	13.9	89
2	18.8	17.1	84	2	-	19.7	89
ながす赤肉 1	33.4	33.6	84	3	25.6	27.0	92
2	37.2	35.1	88	4	22.3	20.7	92

のである。この誤差は微量な混雑物や濁りによつて影響されるものであるらしく、筋抽出物の際には避けられないと思われる。

以上の津島らのものの他に、de Duve の方法その他があるが、実用上はこれが便利であるので、以後の結果はこの方法による平均値を表わしている。

牛、馬、鯨の市販肉の幾つかの標品にこれを応用した結果は第1, 2, 3表のごとくであり、抽出液中の血色素(Hb+Mb)のほぼ10%前後が Hb であり、この値は動物種差(牛、馬、鯨)及び肉の部位、すなわち Hb+Mb の総量とはあまり関係がないことが示されている。このことは生理学的にいえば、血液の含量、すなわち筋肉中の Hb 量とこれより酸素を受け取る Mb 量が常に一定の割合となる傾向があることを示している。このような関係が、白鼠についてもいえることは最近報告⁶⁾があるがこのように市販の食肉についても成り立つことは興味深い。鯨のような放血の不十分な食肉では、若干 Hb の割合が増加していることがみられるが、それにも拘らずこの増加は顕著ではない。

この実験の一つの目的は鯨肉が空気中で不快な茶褐色になることや特異臭を生ずる原因の一つとして、放血が不十分なためかどうかを調べることであったが、上に示されたように Hb の割合は特に多くなかった。ヘミンの総量は赤肉においては牛肉の2倍にも及んでいるので、含まれる血液量もそれに応じて多いものと考えられる。しかし鯨肉の特徴が血液量の問題あるいはヘミン総量の問題と関連があるかどうかは疑問である。尾肉の部分の

第4表 魚血合肉の血色素含量(Hb+Mb)

試料	CN 法による mg/lg 乾燥重量	試料	CN 法による mg/lg 乾燥重量
まぐろ血合肉 1	35.2	かつお血合肉 1	25.2
2	25.0	2	25.5
3	42.2	3	25.6
4	42.2	4	35.0
5	61.5	5	41.0
6	67.0		

ヘミン量は牛、馬肉のそれにほぼ一致している。

魚類の血合肉の Hb, Mb を分離定量しようと試みたが、これらの蛋白は哺乳動物のそれとはかなり性質が異なることが知られており、分光学的にもまた塩析でも分けることができないので、総ヘミンの定量に止めた(第4表)。最近橋本^注らは魚の Hb, および Mb を熱変性により分離定量を試みている。

4 総括

- 1 牛、馬、鯨の市販肉の抽出液に一酸化炭素を通気し分光学的に測定し、Hb, Mb の量を津島・岡崎の方法に従つて計算により求めた。
- 2 Hb と Mb の割合は、動物および肉の部位が異なりヘミン含量が異なるにも拘らず著しい変動はなく、Hb は全ヘミン量の約10%前後であつた。
- 3 鯨肉の総ヘミン量は赤肉部は牛、馬肉にくらべかなり多いが、尾肉部はほぼ対応した値が得られた。
- 4 魚肉の血合肉抽出液のヘミン量は、牛、馬肉に対応する(かつお)か又はそれよりかなり上廻つた値(まぐろ)が得られた。

文 献

- 1) D. L. Drabkin: *J. Biol. Chem.*, **182**, 317(1950)
- 2) R. Fanelli: *Bull. Soc. Chem. Biol.*, **31**, 457 (1949)
- 3) C. de Duve, in F. J. W. Roughton and J. C. Kendrew, "Haemoglobin," Butterworths Sci. Publ., London, 1949. p. 125
- 4) 津島・岡崎: 生化学 **26**, 232 (1954)
- 5) W. E. Poel: *Am. J. Physiol* **156**, 44 (1949)
- 6) J. P. Ellis, Jr. & R. T. Clark: *Fed. Proc.* **17**, 41 (1958)

実験にあたり種々御指導御助言を戴いた本学佐藤勘之助教授並びに松浦宏之助教授に感謝の意を表する。

また分光光度計使用に御便宜をお与え下さつた東大医学部栄養学教室吉川春寿教授に感謝の意を表する。

(女子栄養短期大学)

注) 私信