還元によってスルフヒドリルとして測定される値は大きい、ミオグロビン含量はアスコルビン酸無添加の塩漬肉の場合とはほぼ等しく、対照肉の場合に比してはるかに少い。また肉の熟成中もスルフヒドリルとミオグロビン量の変化との関係は各区の肉によって異った傾向が示されている。しかしながら肉の熟成中ミオグロビンの変化やニトロソミオグロビンの生成は第3図より明らかなように水抽出液の吸収曲線から認めることができよう。即ち(A)アスコルビン酸添加塩漬肉と(B)無添加塩漬肉において発色剤添加直後は(A)、(B)ともに波長 550~555 m μ (ミオグロビン) に最大吸収を有するが、熟成2日後は(A)、(B)ともにその最大吸収は波長 545 m μ (ニトロソミオグロビン、但し 577 m μ の方は最大吸収が認められない) に転じ((A)の吸収が(B)のそれより大きい)、4日後には(A)と異り、(B)には最大吸収が認められず、以後14日まで同様の傾向を示した。

従って肉の熟成中ミオグロビンを中心とする肉色の変化はミオグロビンの化学的定量によるよりも肉の水抽出液吸収曲線から追求されることが判った。なおこのような生肉を加熱したときに発現するいわゆる固定された肉色については別の方法で実験した結果を次に報告する。

要 約

(1) 各種肉類のミオグロビンを化学的に定量した。

(2) 肉、塩漬肉(アスコルビン酸ナトリウム添加及び無添加)の熟成中ミオグロビンの化学的定量及び肉の水抽出液の吸収曲線からミオグロビンの変化を追求した。ミオグロビンの定量の結果肉の熟成中その減少は5~7日(0~4 $^{\circ}$)後に生じる傾向が得られた。肉の熟成中ミオグロビン及びその誘導体の変化は肉の水抽出液の最大吸収の位置及びその吸収の強さから追求され、特にアスコルビン酸添加の肉色固定における効果を水抽出液の吸収曲線の結果から認めることができた。

終りに終始御懇篤な御指導を賜った東大教授佐々木林治郎先生に厚く御礼申し上げるとともに、種々御教示を戴いた東大教授板井芳人先生、神立 誠先生に御礼申し上げます。また本実験に御援助を与えられた社団法人日本屠畜協会常務理事熊倉 悟氏、試料肉の入手に御厚配を戴いた全国畜産株式会社高尾技師に謝意を表する。

(1) 藤巻正生, 荒川信彦: 本誌, 32, 858(1958).

(2) I. D. Ginger et al.: *J. Ag. Food Chem.*, 2, 1037 (1954).

(3) 梶田昭彦: 生 化, 26, 547 (1954).

(4) C. M. Hollenbeck, Rosmarie Monahan: *Food Technol.*, 9, 624 (1955).

(5) 橋本吉雄, 安井 勉: 日畜会報, 26, 203 (1955).

(6) K. A. Walsh, Dyson Rose: *J. Ag. Food Chem.*, 4, 352 (1956).

(7) Betty M. Watts et al.: *ibid.*, 3, 147 (1955).

肉の自己分解に関する化学的研究 (第11報)*

肉の熟成中ミオグロビン及びその誘導体の変化について (その2)

藤 巻 正 生 (東大農学部農芸化学科), 長谷川雅子 (お茶の水女子大学家政学部)

昭和33年5月28日受理

前報⁽¹⁾において塩漬肉の熟成中に生ずるミオグロビンの変化、ニトロソミオグロビンの生成はミオグロビンの化学的定量よりも肉の水抽出液の吸収から追求されることが判った。しかしながら肉加工品の場合のように、加熱に伴って発現する肉色の色素は上記の方法で抽出されず、従って肉の塩漬、加熱によって生ずる肉色の固定機構或いは塩漬条件と加熱肉の肉色との関係などを明らかにするためには従来硝酸塩、亜硝酸塩の変化⁽²⁾或いは加熱肉について切断面の各波長における反射率の測定⁽³⁾を追求する方法などがとられた。

しかし最近塩漬加熱肉の色素であるニトロソミオクロモゲンがアセトン、エーテルによって抽出されることが判った⁽⁴⁾のでその方法を検討後、肉の塩漬条件(肉の熟成、塩漬剤の量及び種類、塩漬期間)或いはコンビーフ罐詰製造に用いられているという加温塩漬⁽⁵⁾(ホットキュアリング)が加熱肉の発色に及ぼす影響を実験し、

* Chemical Studies on the Autolysis of Meats. Part XI. On the Changes of Myoglobin and its Derivatives during the Ageing of Meats (2).

By Masao FUJIMAKI (Department of Agricultural Chemistry, Faculty of Agriculture, University of Tokyo) and Masako HASEGAWA (Faculty of Home Economics, Ochanomizu University)

併せて肉色固定に関する従来の理論を再検討したのでここに報告する。

実 験 方 法

試料肉として屠殺直後肉 (3才、雄牛の頸肉の部分) を除いては、市販の牛赤肉を2度挽いたもの (肉挽機の孔径 5 mm) を用いた。塩漬剤として特に記してある以外は肉に対して 0.3~3.0% 塩化ナトリウム、0.1% 硝酸カリウム、0.01% 亜硝酸ナトリウム、0.2% アスコルビン酸ナトリウムの混合を用い、挽肉に混和して硝子皿に入れ、約 5° の冷蔵庫内に貯えて塩漬を行った。塩漬後は約 100° に 30 分間蒸熱し、冷却後この加熱肉一定量を乳鉢にとり、海砂を加えて磨砕後これに肉の 10 倍量のアセトンを加えて共栓付着色試験管に移し、この試験管を氷水中 10 分間放置後、同量のエーテルを加えて遠心分離 (毎分 4,000 回転、8 分間) を行い、遠心後アセトン-エーテル抽出液はアセトンを加えて定容とした後、波長 400~700 mμ における吸収を日立製分光光度計を用いて測定した。

実験結果及び考察

塩漬加熱肉の色素抽出：この色素が抽出される条件は充分明らかに示されていないのでその条件を検討した。

生肉、塩漬を行わぬ加熱肉を蒸留水、アセトン、アセトン-エーテルの3種の溶媒で抽出した溶液の吸収曲線は第1図に示してあるように、生肉に存在する色素は蒸留水によってのみ抽出され (その最大吸収の波長 544 及び 582 mμ)、アセトン、アセトン-エーテルではほとんど抽出されず、また加熱肉の場合は3種の溶媒ではほとんど抽出されない。第1図の水抽出液における2箇の最大吸収の位置から、この色素はオキシミオグロビンと考えられ⁽⁶⁾、また前報⁽¹⁾における水抽出液の色素はその最大吸収の位置 (1 箇) からミオグロビンと推定される⁽⁷⁾。

塩漬及び同加熱肉 (塩漬 48 時間後) について前記3種の溶媒で抽出した結果、第2図に示してあるように、塩漬加熱肉の色素は蒸留水で抽出されず、アセトン単独よりもアセトン-エーテルによってよく抽出されることが判る。その最大吸収の波長は 480, 545 及び 575 mμ にあり、この色素は塩漬加熱によって生ずるニトロソヘムと考えられる。アセトン、エーテルを同時に加えて抽出するよりもアセトンを加えて放置後エーテルを加える方法の方が色素抽出量の多いことは第3図に示してあるが、これはアセトン処理によってニトロソヘムとアセトンとが複合体を生じ、このものがエーテルでよく抽出されるものと考えられる。しかしここに生じた色素は稀薄アルカリ水溶液や微アルカリ性の緩衝液への移行⁽⁴⁾が不充分であったので、以後の実験はアセトン-エーテル抽出液における吸収を測定して結果を求めた。なお抽出された色素は第4図にあるように、光における変化が著しい

第1図 生及び (塩漬を行わぬ) 加熱肉における抽出液の吸収曲線

1. 生肉 1g+蒸留水 10 ml
2. 生肉 1g+アセトン 10 ml
3. 生肉 1g+アセトン 5 ml+エーテル 5 ml
4. 加熱肉 1g+蒸留水 10 ml
5. 加熱肉 1g+アセトン 10 ml
6. 加熱肉 1g+アセトン 5 ml+エーテル 5 ml

第2図 塩漬肉及び塩漬加熱肉における抽出液の吸収曲線 (塩漬: 0.1% 硝酸カリウム+0.01% 亜硝酸ナトリウム+0.2% アスコルビン酸ナトリウム、48 時間)

1. 塩漬肉 0.5g+蒸留水 10 ml
2. 塩漬肉 0.5g+アセトン 10 ml
3. 塩漬肉 0.5g+アセトン 5 ml+エーテル 5 ml
4. 塩漬加熱肉 0.3g+蒸留水 10 ml
5. 塩漬加熱肉 0.5g+アセトン 10 ml
6. 塩漬加熱肉 0.5g+アセトン 5 ml+エーテル 5 ml

第3図 アセトン、エーテル抽出法の吸光値に及ぼす影響

実線：アセトン添加 10 分後にエーテルを加えて抽出したとき
点線：アセトン、エーテルを同時に加えて抽出したとき

第4図 塩漬加熱肉のアセトン、エーテル抽出液に及ぼす光の影響

ので実験は暗室内でなるべく光線を避けて行なった。図中冷暗所とあるのは光を避けて水中においたもの、室外とあるのは日陰に放置したものである。

塩漬期間と発色：塩漬肉を一定時間毎にとり、その抽出液の吸収曲線の変化は第5図に示してあるように、吸収の強さは塩漬時間によって異なり（吸収曲線の形は相似している）、この場合塩漬約 50 時間後に吸収の最大を示した。この場合の試料肉としては屠殺直後肉を用いた。

塩漬の最適期間は肉色の点からのみ判断できないとしても塩漬時間の長短によって肉の抽出液中のニトロソヘムの濃度ひいては肉の発色が異なることは肉加工上一考を要するであろうし、また橋本等の亜硝酸ナトリウムを含むキューリング法によるとき製品の色調は塩漬期間の長短により差を生じないという考察⁽⁴⁾は検討を要しよう。

次に同様の実験を市販肉について行なった結果は第6図に示してあるが、前と同様塩漬約 49 時間後吸収の最大を示している（これらの場合塩漬剤として塩化ナトリウムは加えてないが、後に示してあるように、塩漬期間によって肉の発色が異なることは塩化ナトリウムの有無に関係はなかった）。試料肉は屠殺直後肉の場合でも、屠殺後相当時間を経た市販肉の場合でも同様に塩漬約 50 時間後にニトロソヘムの吸収が最大を示した。しかし市

第5図 塩漬加熱肉におけるアセトン-エーテル抽出液の吸収曲線（試料は屠殺直後肉）
塩漬加熱肉 1g+アセトン 5ml+エーテル 5ml
図中の数字は塩漬時間を示す

第6図 塩漬加熱肉におけるアセトン-エーテル抽出液の吸収曲線（試料は市販肉）
塩漬加熱肉 1g+アセトン 10ml+エーテル 10ml
図中の数字は塩漬時間を示す

第 7 図 塩漬加熱肉のアセトン、エーテル抽出液の吸収曲線 (塩漬直後)

塩漬法	0.3% 塩化ナトリウム	0.1% 硝酸カリウム	0.01% 亜硝酸ナトリウム	0.2% アスコルビン酸ナトリウム
1	+	+	+	+
2	+	+	+	+
3	+	+	+	+
4	+	+	+	+
5	-	+	+	+

第 1 表 塩漬加熱肉のアセトン、エーテル抽出液の吸収変化

545mμにおける吸収		E_{545}			
塩漬法	種類*	1	2	3	4
塩漬日数	3	0.201	0.220	0.187	0.215
	4	0.212	0.203	0.225	0.184
	5	0.192		0.206	

* 第 7 図参照

が発色は最大であり、亜硝酸塩を添加していないものはアスコルビン酸の有無にかかわらずほとんど発色しなかった。しかし塩漬 2 日後になると、亜硝酸塩の有無は発色にはほとんど差異を及ぼさなかった。従って第 7, 8 図から塩漬加熱肉の発色に直接関与するのは亜硝酸塩であり、硝酸塩は亜硝酸塩に還元されて始めて発色に効果を及ぼすこと、またこの還元作用はこの塩漬 (5~8°) において約 2 日間で充分に行われるものと考えられる。この場合塩漬 2 日後の変化は第 1 表に示してあるように、塩漬剤の種類によって発色の最大となる日数及びその発色量の異なる結果が示されている。図及び表中アスコルビン酸の添加は常に肉の発色を大ならしめ、また第 13, 14 図 (塩化ナトリウム 1.5% の場合) においても同様に示されている。

塩化ナトリウムが塩漬加熱肉の発色に及ぼす影響： 第 9~12 図に示してあるように、塩化ナトリウムの濃度が 0 より 1.5% へ増加するに従って発色が大きくなる結果が得られた。このことは塩漬の食塩濃度が高くなるとメトヘモグロビンの生成を遅延し、ヘモグロビンに対する亜硝酸塩の作用がよくなる⁽¹⁰⁾ことと関連するものである。発色の最大となる日数は塩化ナトリウムの有無にかかわらず約 2 日後を示している。

前述のように塩化ナトリウム濃度が 0.3% の場合、亜硝酸塩の有無にかかわらず塩漬後約 2 日で相当の発色を示したが、塩化ナトリウムが 1.5% の場合に亜硝酸塩を添加していないものはアスコルビン酸の有無にかかわらず第 2 表に示してあるように、塩漬 4 日後も発色がほとんど認められなかった。従ってこのことからアスコルビン酸が硝酸塩の還元に与らぬこと、硝酸塩の還元は主として肉中の細菌によることが後述ホットキューリングの結果や既往の文献^(3,9)から肯定される (この場合貯蔵温度 [4°] の影響もあって細菌による硝酸塩の還元が充分に

第 8 図 塩漬加熱肉のアセトン、エーテル抽出液の吸収曲線 (塩漬 2 日後)

図中の番号は塩漬法の差異 (第 7 図参照) を示す

販肉試料の場合は屠殺直後肉と異り、図中吸収の値が塩漬時間の経過に伴って短波長の方へ移る傾向が示されている。従って屠殺直後肉と市販 (熟成) 肉とは肉の保水性が異っている^(11,12)ように、同様の塩漬を行っても完全に等しい肉の発色が得られるか否かは更に詳細な検討を要する。

塩漬剤の組合せによる加熱肉の発色： 塩漬剤として 0.3% 塩化ナトリウム、0.1% 硝酸カリウム、0.01% 亜硝酸ナトリウム及び 0.2% アスコルビン酸ナトリウムの組合せによる加熱肉の発色は第 7, 8 図に示してある。塩漬直後の場合、塩漬剤のすべてを含んだもの

第 9 図 塩漬における食塩の有無と塩漬加熱肉のアセトン、エーテル抽出液の吸収曲線 (1)
塩漬法 食塩無添加, 0.1% 硝酸カリウム+0.01% 亜硝酸ナトリウム+0.2% アスコルビン酸ナトリウム
図中の数字は塩漬時間を示す

第 10 図 塩漬における食塩の有無と塩漬加熱肉のアセトン、エーテル抽出液の吸収曲線 (2)
塩漬法 0.3% 塩化ナトリウム, その他は第 9 図の場合に同じ
図中の数字は塩漬時間を示す

第 11 図 塩漬における食塩の有無と塩漬加熱肉のアセトン、エーテル抽出液の吸収曲線 (3)
塩漬法 1.5% 塩化ナトリウム, その他は第 9 図の場合に同じ
図中の数字は塩漬時間を示す

第 12 図 塩漬における食塩の有無と塩漬加熱肉のアセトン、エーテル抽出液の吸収曲線 (4)
塩漬法 1.5% 塩化ナトリウム+0.01% 亜硝酸ナトリウム+0.2% アスコルビン酸ナトリウム
図中の数字は塩漬時間を示す

第 2 表 塩漬* 加熱肉のアセトン、エーテル抽出液の吸収

塩漬日数	E_{545}	
	0.2% アスコルビン酸ナトリウム添加	無添加
0	0.008	0.009
2	0.029	0.043
4		0.034

* 1.5% 塩化ナトリウム+0.1% 硝酸カリウム

行われなかったためと考えられる), またアスコルビン酸が用いられるとき色素の固定が促進されるのは酸化窒素がより多くつくられるからであるという説⁽¹¹⁾は亜硝酸塩生成以後の過程と考へべきである。

亜硝酸塩が存在する場合に硝酸カリウムの有無が肉の発色に及ぼす影響については第 11, 12 図に示してあるように発色にはほとんど差異が認められなかったが, 最大発色に至る塩漬期間は異なる傾向がみえる。

塩化ナトリウム濃度 1.5% の場合も肉の塩漬に亜硝酸塩の存在においてアスコルビン酸を添加すると発色を増大することは第 13, 14 図に示されている。この場合アスコルビン酸を欠くと最大発色に至る時間が遅れる結果が生じた。

第 13 図 塩漬におけるアスコルビン酸の存在が加熱肉の発色に及ぼす影響 (1)

塩漬法 1.5% 塩化ナトリウム+0.1% 硝酸カリウム+0.01% 亜硝酸ナトリウム+0.2% アスコルビン酸ナトリウム
 図中の数字は塩漬時間を示す

第 15 図 ホットキュアリング (加温塩漬) とコールドキュアリング (低温塩漬, 通常の塩漬) との肉の発色における比較 (1)

1. 普通塩漬 (0.1% 硝酸カリウム+0.01% 亜硝酸ナトリウム+0.2% アスコルビン酸ナトリウム) 直後の加熱肉
2. ホットキュアリングの加熱肉, パーボイル (100°, 10分間) + 塩漬 (65°, 4 時間)
3. ホットキュアリングの加熱肉, 塩漬 (45°, 4 時間)
4. 低温塩漬 2 日間の加熱肉

第 4 表 ホットキュアリングの温度, 時間の肉の発色に及ぼす影響 (1)

波長 nm	温度	30°			45°		60°	
		時間 2	4	6	2	4	2	4
500		0.245	0.215	0.175	0.259	0.237	0.272	0.175
510		0.242	0.212	0.207	0.255	0.235	0.270	0.176
540		0.283	0.249	0.243	0.303	0.278	0.318	0.210
550		0.282	0.245	0.243	0.301	0.279	0.317	0.207
560		0.285	0.246	0.246	0.305	0.285	0.323	0.210
570		0.280	0.241	0.242	0.305	0.280	0.320	0.200
650		0.024	0.026	0.012	0.012	0.019	0.026	0.012

数字は吸光度を示す

第 14 図 塩漬におけるアスコルビン酸の存在が加熱肉の発色に及ぼす影響 (2)

塩漬法 アスコルビン酸を欠くとき (他は第 13 図のときと同じ)
 図中の数字は塩漬時間を示す

第 3 表 ホットキュアリング肉の冷蔵が発色に及ぼす影響

	E_{445}
ホットキュアリング後蒸熱 (30 分間)	0.209
同上後冷蔵 (5°, 20 時間)	0.189
ホットキュアリング, 冷蔵後蒸熱	0.188

以上の結果から塩漬剤の組合せ如何にかかわらず塩漬期間によって肉の発色が増減することは明らかである。

いわゆるホットキュアリングについて: コンビーフ罐詰製造の際迅速塩漬法として肉片を沸騰水中に入れ, 撚拌しつつ 25 分間パーボイルし, 次に 50~60° の塩漬液中で 6~8 時間塩漬を行ういわゆるホットキュアリング法⁽¹²⁾が用いられることもある。

ホットキュアリングと通常のキュアリングとの発色比較は第 15 図に示してあるように, ホットキュアリングを行った肉の発色は若干少く, 特にパーボイルを行った場合は最少を示した。ホットキュアリングを行った肉を冷蔵すると第 3 表に示してあるように発色は減少した。

次にホットキュアリングの温度, 時間が肉の発色に

第 5 表 同上 (2)

波長 nm	時間	温度 60°		
		1	2	3
500		0.297	0.275	0.266
510		0.272	0.251	0.242
540		0.306	0.283	0.276
550		0.315	0.290	0.282
560		0.314	0.290	0.282
570		0.318	0.292	0.285
650		0.026	0.022	0.018

数字は吸光度を示す

第16図 ホットキュアリングとコールド
キュアリングとの比較 (2)

1. 低塩塩漬後の加熱肉
2. ホットキュアリング (60°, 1時間) の加熱肉
3. 低塩塩漬 25 時間後の加熱肉
4. 低塩塩漬 25 時間後更に 60°, 1時間ホットキュアリングを行ったものの加熱肉

第6表 キュアリング条件の肉の発色に及ぼす影響
(ホットキュアリング, 60°, 1時間)

3% NaCl	0.1% KNO ₃	0.01% NaNO ₂	0.2% Na-ASA	吸光値 (mμ/mμ)	
				570/650	540/500
+	+	+	+	9.67	1.02
+	+	+	-	7.50	1.02
+	+	-	+	1.25	1.00
+	+	-	-	1.86	0.83

及ぼす影響を検討した結果は第4, 5表に示してあるように、温度は高いほど時間は短いほど、発色の大きいことを示している。その結果この場合 60°, 1時間のホットキュアリングの発色が最大であったからその条件と通常のキュアリングとの発色比較を行った結果第16図に示してあるように、通常のキュアリングが前と同様に発色が若干大であった。

ホットキュアリングの場合塩漬剤の組合せが発色に及ぼす影響は第6表に示してあるように、亜硝酸塩の添加してない肉はほとんど発色しないし、また3%塩化ナトリウムの存在において60°, 1時間の加熱を行って微生物による硝酸塩の還元がほとんど行わ

れなかった肉では、アスコルビン酸の有無にかかわらず亜硝酸塩を欠くときは肉の発色がほとんどみられないことは前述のように、肉の発色は亜硝酸塩によるものであること、硝酸塩の還元は微生物の作用によるもので肉の加熱による変性に伴うスルフヒドリルの還元作用はそれほど期待されないこと、アスコルビン酸の存在は亜硝酸塩の存在下では肉の発色を助長するが、硝酸塩を還元して亜硝酸塩を生ずる作用のないことなどが再認されたものと考えられる。

要 約

- (1) 塩漬加熱肉の色素の抽出方法を検討した。
- (2) 塩漬剤の組合せ如何にかかわらず塩漬時間の長短により加熱肉の発色量は増減した。塩漬 (約 5°) 後 2~4 日に発色量は増大となり、以後時間の経過に伴って減少した。
- (3) 各塩漬剤の塩漬加熱肉の発色に及ぼす効果を明らかにし、且つ肉色固定の機構を再検討した。
- (4) ホットキュアリングにおける発色の最適条件を求め、この場合に発色は通常のキュアリングより若干劣るが、固定の可能なことを明らかにした。

終りに本実験に御懇篤な御指導を賜った東大教授佐々木林治郎先生、御教示を戴いた東大教授桜井芳人先生、同神立 誠先生、お茶の水女子大学教授稲垣長典先生に厚く御礼申し上げます。またホットキュアリングについて助言を与えられた清水水産株式会社吉野孝光氏に謝意を表する。

- (1) 藤巻正生, 大倉礼子: 本誌, 33, 101 (1959).
- (2) 佐々木林治郎, 西条義広: 日畜学会大会講演 (1951).
- (3) 橋本吉雄, 安井 勉: 日畜会報, 26, 83 (1955).
- (4) J. I. Anderton, D. J. Locke: *Nature*, 175, 818 (1955).
- (5) A Complete Course in Canning, 7 Ed. 273 (1946), A Publication of the Canning Trade, U. S. A.
- (6) L. B. Jensen, W. M. Urbain: *Food Res.*,

- 1, 283 (1936).
- (7) J. D. Ginger et al.: *J. Ag. Food Chem.*, 2, 1037 (1954).
- (8) 藤巻正生, 倉林広子: 本誌, 32, 775 (1958).
- (9) R. Hamm: *Zeit. für Unters. Lebensm.*, 107, 1 (1958).
- (10) A. H. Woodcock et al.: *Can. J. Res.*, 21 D, 85 (1943); *C. A.*, 4148 (1943).
- (11) R. L. Henrickson et al.: *Food Technol.*, 10, 500 (1956).