魚肉色素の加熱変化

小泉千秋・松浦文雄

(1967年1月19日受理)

Changes of the Muscle Pigment in Tuna on Cooking

Chiaki KOIZUMI* and Fumio MATSUURA**

Absorption spectra of cooked tuna meat were determined directly, after addition of sodium hydrosulfite, and after further addition of nicotinamide by using a spectrophotometer equipped with an opal glass apparatus^{1,2)}. On reduction with sodium hydrosulfite, the cooked meat was observed to become intensely pink giving the absorption spectrum fairly characteristic of ferrohemochrome. After further addition of a small amount of nicotinamide, the meat bore the spectrum typical of ferrohemochrome, indicating an additional formation of ferrohemochrome (Fig. 1).

In the case of heat-denatured myoglobin, the typical spectrum of ferrohemochrome appeared only when treated together with reducing agent and nicotinamide (Fig. 2). Therefore it is likely that myoglobin, when heated, is not converted to a denatured globin hemochrome, but to a pigment having room for co-ordination with nicotinamide. The pigment seems to correspond to "metmyochromogen" presented by TARLADGIS³⁾, of which the fifth and sixth co-ordination positions are occupied by denatured globin and water molecule. Such a conception should facilitate to solve above-mentioned phenomenon.

On the basis of these observations, the pink color of cooked meat is considered attributable for a mixture of "metmyochromogen" and hemochrome, co-ordinating denatured globin and a nitrogenous base inherently present in the meat. Standing on this view point, the improvement of the pink color of cooked meat by addition of nitrogenous bases and reducing agents can be reasonably explained assuming the additional formation of ferrohemochrome from the "metmyochromogen".

マグロのような赤身魚肉を加熱した場合、必ずしも赤色ないしピンク色の好ましい色にならず、缶詰などの製品にした場合暗褐色化して品質を落とすことがしばしばある。一方、ニコチン酸あるいはニコチンアミドなどの塩基と還元剤、または還元剤の添加は、加熱肉の赤色保持の効果があるとされている。加熱肉が何ゆえ暗褐色となりやすいか、また、上記の保色効果がいかなる機構によるかを知ることは、水産加工上のみならず、ひろく食肉加工の立場からぜひとも知りたいところである。これらのことを追究するためには、肉色の支配的要因である筋肉色素、すなわちミオグロビン (Mb) が加熱によつていかなる変化を受けるかをまず知らねばならないが、この点は必ずしも明瞭でない。肉を加熱するとヘマチンが遊離されるとする考え方⁴⁾があつたが、これはヘマチンの抽出され難いことによつて一応否定されている。たまたま、NAUGHTON⁵⁾、BROWN^{6,7)}は、いわゆるマグロ青肉の研究に関連して、加熱マグロ肉の反射スペクトルの測定結果を基に、加熱マグロ肉の好ましいピンク色は ferrohemochrome、肉が酸化した場合の暗褐色は ferrihemochrome の色であるとしており、さらに BROWN⁸⁾は hemochrome 分子のポルフィリン鉄に配位結合する窒素塩基として変性グロビン、またはニコチンアミド、あるいはその両者を考えている。ところが、その後、TARLADGIS⁹⁾は豚肉についてではあるが、加熱肉の反射スペクトルに量子力学的な解釈を加えて、ここに

* 東京水産大学 (Tokyo University of Fisheries, Minato-ku, Tokyo)

** 東京大学農学部 (Faculty of Agriculture, the University of Tokyo, Bunkyo-ku, Tokyo)

生じた色素はポルフィリン鉄の第5および第6の配位座に変性グロビンと水分子が配位した“metmyochromogen”ともいうべきものであるとして、hemochrome 説を否定している。

この種の研究は、加熱肉の色素が不溶性であることに大きな困難がある。これまで、もつばら反射スペクトル法が用いられてきたが、その測定結果はかなり不鮮明であるという難点がある。この点、オパールグラス法^{1,2)}はやや優れているように思われる。また、著者らは熱変性 Mb が界面活性剤 Sodium dodecyl sulfate (SDS) に容易に溶解することを知り、このようにして得た透明溶液を用いれば、一層鮮明なスペクトルの測定が可能であろうと考えた。これらの方法を用いて肉あるいは Mb そのものの加熱時における吸収スペクトルの変化を追及し、その結果から加熱肉中の色素の本体を探てみたいと考えた。

実験方法および結果

加熱マグロ肉の吸収スペクトル

キハダマグロ (*Thunnus macropterus*) の肉を磨碎し、その約 30 g をソーセージ用ケーシング (塩化ビニリデン系フィルム) 中に封じ、これを沸騰水中で 1 時間加熱した。得られた凝固肉を乳鉢中で磨碎したもののについてオパールグラス法により吸収スペクトルを測定した。このものは褐色で、その吸収スペクトルは

Fig. 1. Absorption spectra of cooked tuna meat determined by using a spectrophotometer equipped with an opal glass apparatus.
a: untreated, b: treated with sodium hydrosulfite, c: treated with sodium hydrosulfite and nicotinamide.

トル曲線はまったく定性的なものである。

加熱変性 Mb は赤褐色を呈し、その吸収スペクトルは Fig. 2 曲線 a に示すように、530 mμ 付近に明瞭な吸収極大を、560 mμ 付近に肩を示した。次いで、このものに少量のヒドロサルファイトを加えて、還元させた後に吸収スペクトルを測定すると同図曲線 b に変わる。ただしこの場合、還元剤添加と同時に強い赤色に変わったが、この色はごく短時間に褪せて褐色系の色に戻ってしまった。したがって、この強い赤色の吸収スペクトルを測定することが困難であつた。この赤味が褪せた後の測定結果を示したのが曲線 b である。曲線 b は 555 mμ 付近に明らかな吸収極大を、530 mμ 付近に屈曲を示す。このものを長時間空気中に放置すると、再び酸化されて曲線 a に戻る。

Fig. 1 曲線 a に示すように 530~535 mμ 付近に極大とおぼしき山が認められる。これをヒドロサルファイトで還元したところ、肉眼的にも明らかに赤味を増し、曲線 b のように 555 mμ と 525 mμ 付近に顕著な極大を生じた。吸光度は α 極大の方が明らかに大きい。曲線 a の色素に還元剤とニコチンアミドとを同時に加えたところ、スペクトルは同図曲線 c に示すように上記 α, β 両極大は僅かながら短波長側にかたより、吸光度はともにかなり増大した。

加熱変性 Mb の吸収スペクトル

Mb 試料 ホンマグロ (*Thunnus thynnus*) またはメバチ (*Parathunnus sibi*) の血合肉を材料とし、常法にしたがつてメト Mb (MMb) 結晶を調製した。

加熱変性 Mb の調製 上記 MMb 結晶を 0.1 M 磷酸塩緩衝液 (pH 6.5) 中に、色素濃度が 150 mg% となるように溶解し、この溶液 10 ml を試験管にとつて沸騰水中で 1 時間加熱し、変性 Mb を得た。これを濾紙上に集め、少量の水で 3 回洗浄した。

吸収スペクトル測定 (1) 上記の加熱変性 Mb を乳鉢中で磨碎し、オパールグラス法により吸収スペクトルを測定した。ただし、以下の測定においては色の濃淡に応じて、測定に用いる色素量を加減した。したがって、スペク

Fig. 2. Absorption spectra of heat-denatured myoglobin determined by using a spectrophotometer equipped with an opal glass apparatus.

a: untreated, b: treated with sodium hydrosulfite, c: treated with sodium hydrosulfite and nicotinamide.

Fig. 3. Absorption spectra of heat-denatured myoglobin dissolved in 1% sodium dodecyl sulfate.

a: untreated, b: treated with sodium hydrosulfite, c: treated with sodium hydrosulfite and nicotinamide.

次に曲線 a の色素に還元剤とニコチンアミドとを同時に添加したところ、色素は比較的安定な強い赤色に変わった。そのスペクトルは曲線 c に示すように、555 mμ 付近と 525 mμ 付近とにともに明瞭な極大を示した。α 極大の方が鋭く、吸光度ははるかに大きい。

吸収スペクトル測定 (2) MMb の 30 mg に相当する量の前記加熱変性 Mb を 40 ml の 1% SDS に溶解した。得られた透明な赤褐色溶液の吸収スペクトルを Fig. 3 曲線 a に示した。525 mμ 付近に比較的弱い吸収帯が、600 mμ 付近に肩が認められる。これをハイドロサルファイトで還元すると、溶液は赤味を増し、曲線 b のスペクトルが示すように 570 mμ と 535~540 mμ 付近にそれぞれ明瞭な極大を現わした。さらに、還元剤とニコチンアミドとを同時に添加すると、強いピンク色となり、同図曲線 c の如く 555 mμ と 525 mμ 付近に顕著な極大を生じ、吸光度は α 極大の方が大きかった。

なお、比較のために上記加熱 Mb の実験に用いた Mb 量とほぼ当量のヘマチンの 1% SDS 溶液について上記と全く同様にして吸収スペクトルを測定し、その結果を Fig. 4 に示した。

Fig. 4. Absorption spectra of hematin dissolved in 1% sodium dodecyl sulfate, pH 6.8.

a: untreated, b: treated with sodium hydrosulfite, c: treated with sodium hydrosulfite and nicotinamide.

考 察

Mb を加熱したときにいかなる物質を生ずるかが、まず第1の問題点である。Fig. 1 および Fig. 2 における曲線 c が ferrohemochrome であることは、その典型的なスペクトルの形状および極大の波長から明らかである。先に、BROWN らは Fig. 1 曲線 a に相当するものをもつて ferrihemochrome、同じく曲線 b に相当するものをもつて ferrohemochrome であるとした。曲線 b は曲線 c によく似ているので、これを ferrohemochrome と考えてほぼさしつかえないであろうし、したがって、その酸化型である曲線 a をもつて ferrihemochrome とすることもうなずけぬ訳ではない。しかしながら、ここで気付かれる一つの不思議な現象は、曲線 b と曲線 c とが相違することである。換言すれば、ニコチンアミドの存在下では何ゆえ吸光度が増大し、より典型的な ferrohemochrome のスペクトルを現わすのかということである。この現象は、BROWN らがすでに肉眼的な観察によつて指摘し、これを色の安定化と称しているが、その機構については説明していない。このようなスペクトルの変化の様相は、Fig. 2 の加熱変性 Mb の場合に一層顕著に現われている。Fig. 2 において曲線 a は ferrihemochrome のスペクトルによく似ている⁸⁾。しかしながら、還元後の曲線 b は、ferrohemochrome のスペクトルとは認め難く、ニコチンアミドの共存により初めて ferrohemochrome の典型的なスペクトルを現わす。これに伴い著しく色が改善される。それでは、曲線 a および曲線 b はいかなる色素を表わすものであろうか。

さて、このように曲線 b の色素が、ニコチンアミドの添加によつて ferrohemochrome の典型的なスペクトルを現わすということは、この色素は、ニコチンアミドと結合することによつて ferrohemochrome に化すべき物質そのものであるか、またはこのものと ferrihemochrome との混合物であることを示すものと考えることができよう。これに関連して、先の実験の項で述べたとおり、加熱 Mb の還元の際に瞬間的といつてよいほど、一時的に色が著しく改善されるという事実はきわめて示唆に富む。元来、ferrohemochrome は ferrihemochrome に酸化されやすいものではあるが、曲線 c のスペクトル測定が可能であることからわかるように、瞬間的に酸化され、褪色するようなものではない。しかるに、加熱変性 Mb の還元型の色が、上述のようにきわめて不安定であるということは、このものが ferrihemochrome 以外の極度に酸化されやすい物質であることを示すものと思われる。

ところで、加熱 Mb が BROWN らのいうように hemochrome であるとするならば、hemochrome の一般的な概念からすれば、ポルフィリン鉄に結合する第5および第6の配位子はともに変性グロビンであるはずである。この場合、2個の配位子は、同一変性グロビン分子上の2個の塩基性基であるのか、あるいは異なる変性グロビン分子上のものであるのか知る由もない。いずれしろ、加熱 Mb のポルフィリン鉄の2つの配位座が、すでに変性グロビンによつて占められているとすると、前記のごとく、このものにニコチンアミドのような塩基を加えたとき新たに hemochrome が生成することの理由がまったくわからない。このニコチンアミド添加による hemochrome の新たな生成を説明するためには、少なくともこの塩基がポルフィリン鉄に結合する配位子として関与することを考えねばならない。この際、変性グロビンと塩基とを配位した hemochrome または2個の塩基を配位した hemochrome の新生が起こるべきものと考えられる。

ここに想起されるのは、豚肉についてではあるが、加熱肉中の色素は hemochrome ではなく、ポルフィリン鉄の第5および第6の配位座のうち一つは変性グロビン、他の一つは水分子によつて占められる“metmyochromogen”と称すべき色素であるとする TARLADGIS⁹⁾の説である。この説に従えば、添加された塩基と水分子との間に置換が起こり、変性グロビンとニコチンアミドとの両者を含む mixed hemochrome の生成によつて hemochrome の新生を無理なく説明し得るように思われる。しかし、このような考え方をとるにしても、TARLADGIS のいうように加熱肉中のすべての色素が“metmyochromogen”であるとは考え難い。何となれば、肉の中には元来、多少なりともニコチンアミドのような塩基が存在しているから、一方の配位座は変性グロビン、他の一つの配位座は塩基によつて占められた hemochrome が、ある程度生成すると考えられるからである。Fig. 1 と Fig. 2 の曲線 b の相違は、この間の事情を示すものと考えらる。

Fig. 2 曲線 b をもつてただちに “metmyochromogen” の還元型に相当するものとするには疑問の余地はあるにせ、加熱肉の場合における Fig. 1 曲線 b は、加熱 Mb の場合の Fig. 2 曲線 b に比べて、はるかに ferrohemochrome の特徴が現われている、すなわち、その影響を強く受けているものと解せられる。なお、加熱 Mb の場合、あるいは少量ながらも変性 globin hemochrome の生成を考えるべきであるかも知れないが、“metmyochromogen” の吸光性質が明らかにされていない現在、単に吸収スペクトル上からは判断し難い。

ところで、かつて加熱肉中にはヘマチンが遊離するということが報告された。もし、この考え方が当たつているとすれば、還元剤と塩基の添加による hemochrome の新生は極めて説明しやすい。この間の消息を知るために、SDS を用いて加熱変性 Mb をその溶液として扱うことにより、色素の変化の過程を定量的に観察しようと試みた。その結果、Fig. 3 曲線 a が Fig. 4 曲線 a の色素、すなわちヘマチンのスペクトルと一致しないので、Mb の加熱によつてヘマチンが遊離するとは考え難い。しかし、この曲線 a の色素を還元剤で処理すると、曲線 b となつて Fig. 4 曲線 b、すなわちヘムのスペクトルと事実上一致する。PHILLIPS⁹⁾ はこれをポルフィリン鉄に 2 分子の水が配位した “water hemochrome” と称している。Mb を加熱後還元して “water hemochrome” が得られると仮定するならば、ニコチンアミドの共存下では曲線 c のように ferrohemochrome の典型的なスペクトルを生ずるのは当然というべきであろう。しかし、ここに生じた nicotinamide ferrohemochrome は水溶性のはずであるが、水抽出を試みた結果は、色素を抽出できなかった。このことは上記の考え方を否定するものである。そこで、曲線 a が Fig. 3 と Fig. 4 とで一致しないにもかかわらず、還元によつてスペクトルの酷似する色素が得られるということに対する説明としては、還元によつてこの色素からヘムが遊離するという解釈が適当でないとするならば、曲線 b の色素はヘムとスペクトルは酷似しているが、ヘムとは別の色素と解すべきであろう。ヘムでもなく、いわゆる hemochrome でもなく、塩基の添加によつて hemochrome を生ずるような色素としてはやはり、前記の “metmyochromogen” 様の色素を考えざるを得ない。

以上の考察を基にして、Fig. 1 の加熱肉の諸スペクトルを解釈するならば、曲線 a は “metmyochromogen” と ferrihemochrome との混成になるもの、曲線 b はおそらく “metmyochromogen” の還元型に相当するものと ferrohemochrome との混成になるものと想像される。Fig. 1 曲線 a が Fig. 2 の曲線 a に比してスペクトルの特徴が顕著でないのは、Fig. 2 が色素自体を扱っているのに対して、Fig. 1 では肉中の色素を対象としており、色素濃度において格段の差があつたためと考えられる。それにもかかわらず、Fig. 1 曲線 b において ferrohemochrome の特徴的スペクトルが見られるのは、先にも述べたように変性グロビンと肉中の塩基とが配位した mixed hemochrome の共存の影響が大きく現われたためと解される。

なお、本実験によつて、ニコチンアミドの添加による肉色の改善効果が客観的に証明されたと考えるが、この機構としては、“metmyochromogen” と塩基とから生ずる mixed hemochrome の生成を推定するものである。

要 約

マグロ肉および精製ミオグロビンそれぞれの加熱凝固物について、磨砕直後のもの、これにハイドロサルファイトおよびさらにニコチンアミドを加えたものの三者の吸収スペクトルをオパールグラス法により測定し、比較するとともに、加熱 Mb についてはさらに、1% sodium dodecyl sulfate 中に溶解して得た溶液について、上記と同様にして吸収スペクトルを測定しこれをヘマチンのそれと比較した。

これらの結果に基づいて、1) 加熱肉の色素は、ferrihemochrome と TARLADGIS のいわゆる “metmyochromogen” との混合物であること、2) 塩基と還元剤の添加による肉色の改善効果は、hemochrome の増加によること、3) この hemochrome は、塩基の添加により “metmyochromogen” から生ずることなどを推論した。

終わりに、本研究を行なうに当たり御助言を頂いた橋本芳郎・野中順三九両教授に厚く御礼申し上げる。
また、本研究の費用の一部は文部省科学研究費によつた、記して謝意を表する。

文 献

- 1) C. KOIZUMI and Y. HASHIMOTO: 本誌, 31, 439~447 (1965).
- 2) 安藤一夫: 本誌, 30, 585~588 (1964).
- 3) B. G. TARLADGIS: *J. Sci. Food Agric.*, 13, 481~484 (1962).
- 4) L. B. JENSEN: *Meat and Meat Foods*, Ronald, New York (1949), 3) より引用.
- 5) J. J. NAUGHTON, H. ZEITLIN, and M. M. FRODYMA: *J. Agric. Food Chem.*, 6, 933~938 (1958).
- 6) W. DUANE BROWN and A. L. TAPPEL: *Food Research*, 22, 214~221 (1957).
- 7) W. DUANE BROWN, A. L. TAPPEL, and H. S. OLCOTT: *ibid.*, 23, 262~268 (1958).
- 8) R. LEMBERG and J. W. LEGGE: *Hematin Compounds and Bile Pigments*, Interscience Publishers, Inc., New York (1949).
- 9) J. N. PHILLIPS: *Comprehensive Biochemistry* vol. 9, p. 46, Elsevier Publishing Co., New York (1963).