



| | |
|------------------|---|
| Title | ポイルドチキン罐詰の黒色変化に関する研究： 報 貯蔵時における遊離アミノ酸の検索について |
| Author(s) | 橋本, 吉雄; 安井, 勉; 星, 和美 |
| Citation | 北海道大學農學部邦文紀要, 2(4), 213-217 |
| Issue Date | 1956-11-18 |
| Doc URL | http://hdl.handle.net/2115/11637 |
| Type | bulletin (article) |
| File Information | 2(4)_p213-217.pdf |



[Instructions for use](#)

ボイルドチキン罐詰の黒色変化に関する研究

III 報 貯蔵時における遊離アミノ酸の検索について

橋 本 吉 雄*
安 井 勉*
星 和 美**

Studies on black-discoloration of canned boiled chicken

III Determination of free amino acids during storage period

By

Yoshio HASHIMOTO
Tsutomu YASUI
Kazumi HOSHI

緒 言

第 I 報¹⁾、第 II 報²⁾ においてボイルドチキン罐詰の黒色変化についてその要因の 2~3 を明らかにした。その後原料処理に際して、常法により屠殺解体処理を行った放血充分な鶏肉と、圧迫死により処理を行った放血不十分な鶏肉を罐詰した後、前回と同様に硫化水素の測定を行い、硫化水素発生因子の一要素と思われる -S-S 基、-SH-基を有する Cystine, Cysteine 並びに Methionine の検出を特に Winegard³⁾、Toennis⁴⁾ の方法による含硫アミノ酸のペーパークロマトグラフィーで求め、併せて貯蔵時における遊離アミノ酸の消長について検討を加えたので報告する。

実験材料及び実験方法

1) 実験材料

前回と同様に白色レグホン種雄雞 (50 日~60 日) を用い、その後の操作は全く前回同様の罐詰製造を行い、空罐は共に内面塗装罐 (ツナ罐) を用いた。

2) 実験方法

i) 硫化水素の測定 屠殺直後、罐詰後、37°C

10 日、37°C 20 日、37°C 30 日、37°C 40 日貯蔵後の放血充分なボイルドチキン罐詰と、放血不十分なボイルドチキン罐詰の製品について前回と同様に¹⁾、硫化水素含量を測定した。

ii) 試料の調製⁵⁾ 前記の試料を固型物 (肉)、並びに液汁について各々約 5.0~10.0g を採取しよく混合均一した後、蒸留水を加え数時間放置後、20% トリクロール醋酸で除蛋白、遠心分離、濾過を行いその濾液約 20 cc をとり 95% アルコール 60 cc を加え 24 時間室温に放置後濾過を行った。その濾液約 10.0~20.0cc 採取し減圧乾燥後、蒸留水約 0.1cc を加えてアミノ酸の試料液とした。尚此の際過酸化水素水を添加する方法を併用した⁶⁾。

iii) ペーパークロマトグラフィー 実施に当つては次の如く R. Consden et al.⁷⁾ 及び R. Block⁸⁾ による一次元上昇法、二次元上昇法を用いた。一次元並びに二次元の測定に東洋濾紙の No. 50 (2×40cm)、(40×40cm) を用い、展開用容器としては気密な Tall Cylinder 並びに東洋濾紙式ペーパークロマトグラフィー装置 C 号を用いた。アミノ酸試料液は毛细管ピペットを用い、直径 1.0cm 以上にならぬ様に少量宛附着し、乾燥後常法により展開した。展開溶媒としてフェノール-水 (4:1)、n-ブタノール-醋酸-水 (9:

* 北海道大学農学部

** 兵庫農科大学

1:7)の上層液を組み合わせを行つた。顕色試薬として0.25% ニンヒドリンアセトン溶液を用い、各々の単一アミノ酸の決定は同一条件において実施した既知アミノ酸のクロマトグラム並びに特異同定法^{9)~17)}による呈色反応と比較対照して求めた。

実験結果

1) 硫化水素含量の測定

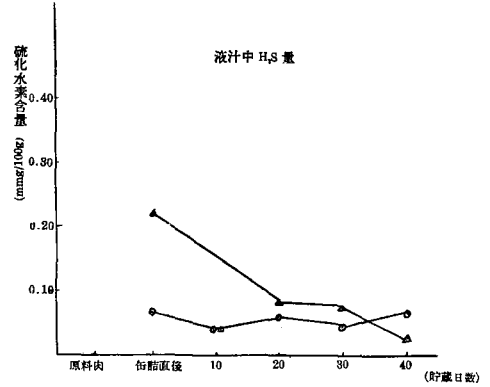
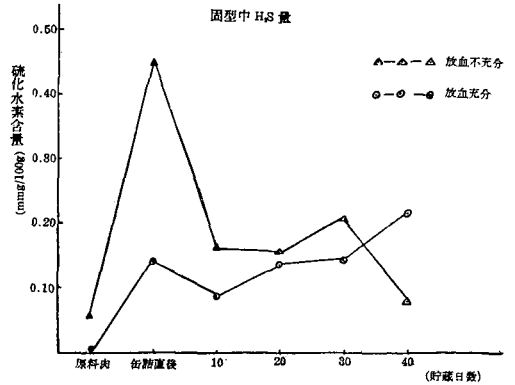
放血充分な鶏肉並びに放血不十分な鶏肉の屠殺直後、罐詰後、37°C 10日、37°C 20日、37°C 30日、37°C 40日貯蔵後の硫化水素含量は次の第1表、第1図の如くであつた。

2) ペーパークロマトグラフィー

i) Rf 値の測定 本実験に使用した展開溶媒による純粋アミノ酸の Rf 値は次の第2表の通りであつた。

ii) 放血充分な鶏肉によるボイルドチキン罐詰のアミノ酸の消長 放血充分な鶏肉における遊離アミノ酸の、屠殺直後、罐詰後、37°C 10日、37°C 20日、37°C 30日、37°C 40日貯蔵後に検出されたアミノ酸は次の第3表、第2図の通りであつた。

iii) 放血不十分な鶏肉によるボイルドチキン罐詰のアミノ酸の消長 放血不十分な鶏肉における屠殺直



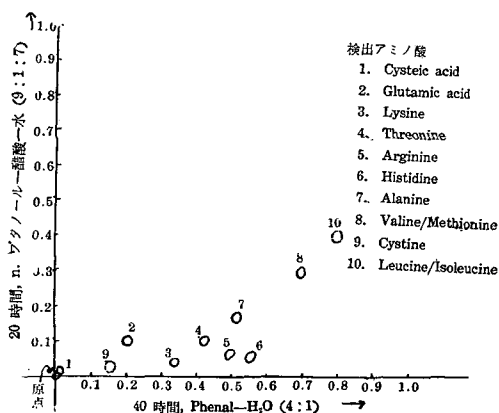
第 1 図

第 1 表 放血度合による硫化水素含量の測定

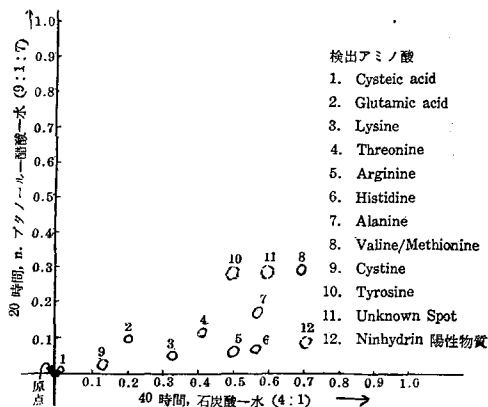
| 貯蔵後 日数 | 放 血 充 分 な 鶏 肉 | | | | | | | 放 血 不 充 分 な 鶏 肉 | | | | | | | | |
|-------------|---------------|--------------|----|---------------|--------------|----|-------------------|-----------------|---------------|--------------|----|--------------|--------------|----|-------------------|-------------|
| | 固 型 量 | | | 液 汁 量 | | | 罐状 内 面 感 | 真 空 度 | 固 型 量 | | | 液 汁 量 | | | 罐状 内 面 感 | 真 空 度 |
| | 読み | mmg/ 100g | 状態 | 読み | mmg/ 100g | 状態 | | | 読み | mmg/ 100g | 状態 | 読み | mmg/ 100g | 状態 | | |
| 屠殺 直後 | 0.05 0.05 | Trace | / | / | / | / | / | 0.08 0.07 | 586 | / | / | / | / | / | / | |
| 罐詰 直後 | 0.16 0.15 | 1473 | - | 0.15 0.15 | 670 | - | - | 12 | 0.60 0.61 | 4743 | - | 0.53 0.54 | 2350 | - | - | 11 |
| 37°C 10日 | 0.08 0.10 | 935 | - | 0.10 0.09 | 450 | - | - | 16 | 0.21 0.19 | 1698 | - | 0.10 0.11 | 450 | - | - | 15 |
| 37°C 20日 | 0.14 0.155 | 1311 | - | 0.15 0.155 | 690 | - | - | 18.5 | 0.16 0.165 | 1581 | - | 0.17 0.17 | 770 | - | - | 17 |
| 37°C 30日 | 0.16 0.15 | 1411 | - | 0.11 0.11 | 490 | - | - | 23 | 0.21 0.22 | 2126 | - | 0.15 0.15 | 680 | - | - | 17 |
| 37°C 40日 | 0.26 0.23 | 2190 | - | 0.12 0.12 | 540 | - | - | 17 | 0.10 0.11 | 806 | - | 0.07 0.06 | 270 | - | - | 22 |

後、罐詰後、37°C 10 日、37°C 20 日、37°C 30 日、37°C 40 日貯蔵後検出された遊離アミノ酸は次の第4表、第3図の通りであった。

iv) アミノ酸特異同定法 本実験に使用した各アミノ酸の特異呈色反応は次の第5表の通りであった。



第2図 放血充分な鶏肉による
ポイルドチキン罐詰



第3図 放血不十分な鶏肉による
ポイルドチキン罐詰

第2表 Rf 値の測定

| Amino acid | 石炭酸-水 (4:1) | | n-ブタノール-醋酸-水(9:1:7) | |
|-----------------------------|-------------|------|---------------------|------|
| | Rf 値 | 呈 色 | Rf 値 | 呈 色 |
| Aspartic acid | 0.08~0.12 | 紫 | 0.03~0.09 | 紫 |
| Cystine | 0.18 | 桃 | 0.02~0.03 | 桃赤 |
| Cysteine | (0.02) | (赤) | (0.04) | (赤桃) |
| Glutamic acid | 0.18~0.22 | 桃赤 | 0.05~0.13 | 桃赤 |
| Serine | 0.30~0.35 | 赤 | 0.06~0.10 | 赤紫 |
| Asparagine | 0.33~0.42 | 紫(灰) | 0.04~0.06 | 紫(灰) |
| Glycine | 0.38 | 赤 | 0.09~0.12 | 赤 |
| Taurine | 0.35 | 赤 | 0.08~0.10 | 赤 |
| Threonine | 0.48 | 紫(赤) | 0.12 | 紫赤 |
| Tyrosine | 0.53 | 赤(灰) | 0.24~0.28 | 赤(灰) |
| Alanine | 0.58~0.62 | 紫(赤) | 0.13~0.17 | 赤 |
| Glutamine | 0.54 | 赤褐 | 0.07 | 紫(赤) |
| Histidine | 0.45~0.68 | 紫青 | 0.05 | 紫(赤) |
| Lysine | 0.26~0.42 | 赤紫 | 0.05 | 紫 |
| Arginine | 0.50~0.55 | 赤 | 0.08 | 紫 |
| Methionine | 0.74 | 紫赤 | 0.33 | 紫赤 |
| α -Aminobutyric acid | 0.71 | 赤紫 | 0.20~0.25 | 紫赤 |
| Valine | 0.73 | 紫赤 | 0.30~0.33 | 紫赤 |
| Tryptophan | 0.75~0.76 | 紫 | 0.33 | 紫(赤) |
| Proline | 0.83 | 黄 | 0.18 | 黄 |
| Leucine | 0.78 | 赤(紫) | 0.43 | 赤(紫) |
| Phenylalanine | 0.80~0.82 | 紫 | 0.40 | 紫 |

第3表 放血充分な鶏肉によるボイルド
チキン罐詰の遊離アミノ酸分布

| Amino acid | 貯蔵日数 原料肉 | 罐詰 直後 | 37°C | | | |
|---------------|-------------|----------|------|-----|-----|-----|
| | | | 10日 | 20日 | 30日 | 40日 |
| Cystine | ± (?) | ± | + | + | + | + |
| Cysteic acid | + | + | + | + | + | + |
| Glutamine | | | | | | |
| Glutamic acid | ± | ± | + | + | + | + |
| Asparagine | | | | | | |
| Aspartic acid | | | | | | |
| Serine | ± | ± | | | | |
| Lysine | + | + | + | + | + | + |
| Threonine | + | + | + | + | + | + |
| Alanine | + | + | + | + | + | + |
| Arginine | + | + | + | + | + | + |
| Histidine | + | + | + | + | + | + |
| Valine | | | | | | |
| Methionine | ± | + | + | + | + | + |
| Phenylalanine | | | | | | |
| Tryptophan | | | | | | |
| Leucine | | | | | | |
| Iso-leucine | ± | ± | | | ± | ± |
| Proline | | | | | | |
| Oxyproline | | | | | | |
| Tyrosine | | | | | | |
| UnKnown Spot | | (1) | (1) | (1) | (1) | (1) |

(註) + = 確認された spot
± = 不明確な spot
? = 疑わしき spot
() = 検出された spot の数

第4表 放血不十分な鶏肉によるボイルド
チキン罐詰の遊離アミノ酸分布

| Amino acid | 貯蔵日数 原料肉 | 罐詰 直後 | 37°C | | | |
|--------------------|-------------|----------|------|-----|-----|-----|
| | | | 10日 | 20日 | 30日 | 40日 |
| Cystine | ± | ± | ± | + | + | ± |
| Cysteic acid | ± | + | + | + | ± | ± |
| Glutamine | | | | | | |
| Glutamic acid | ± | + | + | + | + | + |
| Asparagine | | | | | | |
| Aspartic acid | | | | | | |
| Serine | ± (?) | ± (?) | | | | |
| Lysine | + | + | + | + | + | + |
| Threonine | + | + | + | + | + | + |
| Alanine | + | + | + | + | + | + |
| Arginine | + | + | + | + | + | + |
| Histidine | + | + | + | + | + | + |
| Valine | | | | | | |
| Methionine | ± | ± | + | + | + | + |
| Phenylalanine | | | | | | |
| Tryptophan | | | | | | |
| Leucine | | | | | | |
| Iso-leucine | | | | | | |
| Proline | | | | | | |
| Tyrosine | | ± | | ± | ± | ± |
| Ninhydrin 陽性 物質 | | | (1) | (1) | (1) | (1) |
| UnKnown spot | | (1) | (1) | (1) | (1) | (1) |

(註) ± = 明瞭な spot
+ = 確認された spot
± = 不明確な spot
? = 疑わしき spot
() = 検出された spot の数

第5表 アミノ酸特異呈色検出法

| 反 応 名 | 検 出 ア ミ ノ 酸 | 呈 色 検 出 |
|---------------------------------------|---------------------|-------------|
| Isatin 反応 | Proline, Oxyproline | 青色 (黄色地) |
| 坂口氏反応 | Arginine | 赤 色 |
| NaIO ₄ 反応 | Serine, Threonine | 橙色 (黄色地) |
| Pauly 反応 | Tyrosine, Histidine | 橙色又は赤橙色 |
| Na-Nitroprusside 反応 | Cystine, Arginine | 赤色~橙色 |
| H ₂ PtCl ₆ 反応 | Cystine, Methionine | 白色~黄色 (桃色地) |
| Neubauer-Rhode 反応 | Tryptophan | 青紫色 |
| K ₄ Fe(CN) ₆ 反応 | Lysine | 桃色 (黄色地) |
| KMnO ₄ 反応 | Methionine | 黄色 (赤色地) |

考 察

本実験結果より未だ peptide, Amine の除去に不備の点がみとめられ、満足な二次のクロマトグラムを得る事ができなかつたが、目的とした Cystine, Methionine が検出された。又ボイルドチキン罐詰特有の硫化水素臭の一要素と思われる Tryptophan は検出されず、目下研究の段階にある。肉眼的観察により放血不十分な鶏肉のボイルドチキン罐詰において、一般に pattern は各アミノ酸の斑点の広がりかみられ、特に含硫黄物質の Cystine, Methionine の斑点の濃度は顕著の様に思われた。

鶏肉の屠殺処理に際して放血度合により、罐詰後の貯蔵日数において検出される遊離アミノ酸に若干の差異はみられたが、Cysteic-acid, Cystine, Glutamic-acid, Threonine, Histidine, Arginine, Alanine, Valine/Methionine, Lysine は略々共通に見出され、その他 3~5 種の不定のアミノ酸が得られた。今後イオン交換クロマトグラフィー並びに濾紙電気泳動法による分離法により、更に peptide, Amine の完全除去と遊離アミノ酸の検出の確立を図り、更に進んで遊離アミノ酸のクロマトグラフィーによる定量的測定により、金属イオンと黒色とのメカニズムを検討し黒変の防止を図りたいと思う。

要 約

鶏肉水煮罐詰における黒変の一因である硫化水素発生因子の含硫黄物質の Cystine, Methionine がペーパークロマトグラフィーにより検出され、硫化水素の発生が黒変に介在する事が本実験により更に裏付けられた。

罐詰後の遊離アミノ酸は鶏体の屠殺に際しての放血度合により若干の差異がみとめられたが、6~8種の共通なアミノ酸が見出され、2~3種の不定のアミノ酸が得られた。放血不十分な鶏肉については Cystine, Methionine の検出が肉眼的観察であつたが、得られたクロマトグラム上で顕著であつた。

文 献

- 1) 橋本吉雄・安井勉、星和美：北海道大学農学部邦文紀要, 1956.
- 2) 橋本吉雄・安井勉・星和美：北海道大学農学部邦文紀要, 1956.
- 3) M. Winegard : Science, 108, 506, 1948.
- 4) G. Toennies : Anal. Chem., 23, 1095, 1951.
- 5) F. Kosikowsky : J. Dairy. Sci., 34, 228, 1951.
- 6) E. Chargaff et al : J. Biol. Chem., 175, 67, 1948.
- 7) R. Consden et al : Biochem. J., 38, 224, 1944.
- 8) R. Block : Anal. Chem., 22, 1327, 1950.
- 9) 大須賀昭夫：化学の領域, 8, 181, 1954.
- 10) 佐竹一夫：クロマトグラフ, 1954.
- 11) 桑田 智：クロマトグラフィー, 1954.
- 12) R. Block : The amino acid composition of Proteine and food, 400, 1954.
- 13) 赤堀四郎他：蛋白質化学, 1, 142, 1954.
- 14) F. Cramer : Paper Chromatography, 46, 1954.
- 15) A. Albanese : Science, 110, 163, 1949.
- 16) B. Ames : J. Am. Chem. Soc., 74, 252, 1952.
- 17) 藤岡小太郎：薬学 3, 2, 1949.

Résumé

Assuming that after-blackening of the canned boiled chicken has a relation to the quantity of sulfur compounds in the canned products and the sulfur compounds are derived from the amino acids in which sulfur is contained in the structure, we checked sort of amino acids developed on the paper chromatography using the samples which have some difference between degrees of bleeding.

The result obtained our experiments was as follows :

1. 6~8 kinds of amino acids are always found without relation to bleeding degree.

2. In addition to the above spots, unknown 2~3 spots are detected irregularly with the sample which the bleeding was performed imperfectly.

3. Within limit of seeing the patterns of paper chromatogram with naked eye, spots of cystine and methionine developed from the sample out of imperfect bleeding meat have deeper color than that of perfect bleeding sample. In the other words, the former may have much free amino acid in comparison with the latter.