



| | |
|------------------|---|
| Title | 加熱肉製品の色調に対する亜硝酸塩、リジン及びアルギニンの効果について |
| Author(s) | 竹岡, 良孝; 長橋, 隆雄; 安井, 勉 |
| Citation | 北海道大学農学部農場研究報告, 20, 64-72 |
| Issue Date | 1977-02-25 |
| Doc URL | http://hdl.handle.net/2115/13341 |
| Type | bulletin (article) |
| File Information | 20_p64-72.pdf |



[Instructions for use](#)

加熱肉製品の色調に対する亜硝酸塩、 リジン及びアルギニンの効果について

竹岡良孝**, 長橋隆雄*, 安井 勉**

* 北海道大学農学部附属農場

** 北海道大学農学部畜産学科

ハム、ソーセージのような伝統的肉製品の色調はその製造工程中の塩漬操作過程において、塩漬剤中に存在する亜硝酸塩と、筋肉中に存在する色素蛋白質ミオグロビン (Mb) との間の反応によって形成されるものであって、最終的な反応生成物は nitric oxide myoglobin (MbNO) である⁽⁸⁾。

MbNO はミオグロビンの呈色基へム中に含まれる 2 価鉄原子の第 6 番目の配位結合部位に一酸化窒素 (NO) が結合したものであって、嫌気的条件下における親和力の強さのためにこの色素蛋白質が加熱変性する際にも、呈色基から遊離することなく保持される。この結果、ハム、ソーセージの色調は加熱調理後も美しい赤色を維持し、これら肉製品の商品価値を高める主要な因子となっているのである。

最近、この肉製品の色調形成に決定的役割を演ずる亜硝酸塩が食品中のアミン類と結合し、ニトロソアミンとなる可能性が示唆されるにいたった⁽⁵⁾。ニトロソアミンは生体内代謝過程において、強度の発癌性を発揮する物質である⁽⁵⁾ところから、全世界的な規模で肉製品製造時における亜硝酸塩添加の是非が論じられるようになってきている⁽⁴⁾。

このような状況下において、肉製品製造学の分野では、亜硝酸塩使用適正量の決定、発色剤としての亜硝酸塩代替物質の探索、及び亜硝酸塩使用を極少量に抑制した場合の発色助長並びに色調安定剤の開発等が真剣に検討され始めている。

本報告は近年比較的経済的かつ安定的に供給可能となったリジンを中心とする塩基性アミノ酸が

肉製品の色調に及ぼす安定効果を中心に、実際的な製造試験を行ない、これらアミノ酸の発色助長効果について若干の考察を行なったものである。

実験方法並びに材料

1. 製造試験

各種塩漬剤により塩漬したソーセージについてその色調を肉眼あるいは色差計によって観察するために、以下の材料及び塩漬剤配合によって製造試験を行なった。

1) 材料及び配合率

北大農場産のホルスタイン牛赤肉(骨格筋)75%と、同農場産の豚脂肪組織 25% (重量%) を使用した。

原料肉の塩漬剤として第 1 表及び第 2 表のものをを用いた。但し、添加率は牛赤肉に対する重量%である。なお、脂肪組織は 2.5%の NaCl のみを用いて塩漬を行った。塩漬の条件は温度 4°C, 期間 96 時間である。

上記の原料肉重量に対して、氷水 25%, 香辛料 (コショウ, 0.3% オールスパイス, 0.02%), 調味料 (砂糖, 0.3% グルタミン酸ソーダ, 0.3%), 澱粉 0.3% をサイレントカッター中で添加し、ソーセージエマルジョンを作成した。エマルジョンはファイブラスケーシング (No. 4, 折徑 10.72 cm) に充填し、73°C の湯の中で 90 分湯煮を行ない、50°C の燻煙室で 90 分間燻煙して供試した。

2) pH の測定

第 1 表の塩漬剤を用いた場合は最終製品 5 g を

Table 1. Recipe* for sausage manufacturing experiment 1 of curing agents.

| Agents Samples | NaCl | KNO ₃ | NaNO ₂ | Lys+Arg (1+1) |
|----------------|------|------------------|-------------------|---------------|
| 1 | 2.5 | — | — | — |
| 2 | 2.5 | — | — | 0.5 |
| 3 | 2.5 | — | 0.003 | — |
| 4 | 2.5 | — | 0.003 | 0.5 |
| 5 | 2.5 | 0.1 | 0.01 | — |
| 6 | 2.5 | 0.1 | 0.01 | 0.5 |

* %, 100W/W of lean beef trimmings.

Table 2. Recipe* for sausage manufacturing experiment 2 of curing agents

| Agents Samples | NaCl | NaNO ₂ | phosphates | Lys+Arg (1+1) |
|----------------|------|-------------------|------------|---------------|
| 1 | 2.5 | — | — | — |
| 2 | 2.5 | 0.001 | — | — |
| 3 | 2.5 | 0.001 | — | 0.5 |
| 4 | 2.5 | 0.001 | 0.3 | 0.5 |
| 5 | 2.5 | 0.001 | — | 1.0 |
| 6 | 2.5 | 0.001 | 0.3 | 1.0 |

* %, 100W/W of lean beef trimmings.

秤取し、25 mlの脱イオン水を加えてホモゲナイズ (10,000 rpm, 20 秒) した後、日立ガラス電極 pHメーター、F-5型を用いて測定した。

第2表の塩漬剤を用いた場合には、各試料について、塩漬終了後と、燻煙後に前記と同様の操作でpH測定を行なった。

3) 色調の測定

塩漬剤として第1表のものを使用した場合には、その最終製品について、第2表を用いた場合には、製造直後の製品と、同一試料を直射日光に2時間さらしたのものについて、日本電色色差計CSK-5型を用いて各試料の明度(L)、赤色度(a)及び黄色度(b)を測定した。

II. 色素抽出試験

1) 試料調製

牛赤肉を1~1.5 cm角に細切り、塩漬剤として

第3及び4表の各種組合せを用いて4°C、96~120時間塩漬した。塩漬終了後一部を挽肉とし、ケーシング (No. 1, 折径6.58 cm) に充填した。75°Cの湯の中で50分湯煮し、直ちに水道水で冷却して供試試料とした。

2) pHの測定

試料を肉挽機で細切り、10 gを秤量して、これに4倍量の脱イオン水を加え、12,000 rpm, 15秒ホモゲナイズした。pHメーターは既述のものと同様である。

3) NO-ヘム色素の抽出

肉挽機で細切した試料10 gを三角フラスコ中に秤取し、これに10 mlのアセトン-水混合液 (40:3) を加えてペースト状とし、さらに33 mlの溶媒を加え15分間攪拌しながら放置した。その

Table 3. Recipe* for pigment extraction experiment 1 of curing agents

| Agents Samples | NaCl | KNO ₃ | NaNO ₂ | Lys. | Arg. |
|----------------|------|------------------|-------------------|------|------|
| C ₁ | 2.5 | — | — | — | — |
| C ₂ | 2.5 | 0.05 | 0.005 | — | — |
| S ₁ | 2.5 | 0.05 | 0.005 | 0.8 | — |
| S ₂ | 2.5 | 0.05 | 0.005 | — | 0.8 |
| S ₃ | 2.5 | — | — | 0.4 | 0.4 |
| S ₄ | 2.5 | 0.05 | 0.005 | 0.4 | 0.4 |

* %, 100W/W of lean beef trimmings.

Table 4. Recipe* for pigment extraction experiment 2 of curing agents

| Agents Samples | NaCl | NaNO ₂ | Lys+Arg (1+1) | phosphates |
|----------------|------|-------------------|---------------|------------|
| C | 2.5 | — | — | — |
| S ₁ | 2.5 | 0.001 | — | — |
| S ₂ | 2.5 | 0.001 | 0.5 | — |
| S ₃ | 2.5 | 0.001 | 0.5 | 0.3 |
| S ₄ | 2.5 | 0.005 | — | — |
| S ₅ | 2.5 | 0.005 | 0.5 | — |
| S ₆ | 2.5 | 0.005 | 0.5 | 0.3 |
| S ₇ | 2.5 | 0.01 | — | — |
| S ₈ | 2.5 | 0.01 | 0.5 | — |
| S ₉ | 2.5 | 0.01 | 0.5 | 0.3 |

* %, 100W/W of lean beef trimmings.

Table 5. Recipe* of curing agents for experiments on determination of heme pigment(experiment 1)

| Agents Samples | NaCl | Lys+Arg (1+1) | phosphates | NaNO ₂ |
|----------------|------|---------------|------------|-------------------|
| C | 2.5 | — | — | — |
| 1 | 2.5 | — | — | 0.001 |
| 2 | 2.5 | 0.5 | — | 0.001 |
| 3 | 2.5 | 0.5 | 0.3 | 0.001 |
| 4 | 2.5 | — | — | 0.002 |
| 5 | 2.5 | 0.5 | — | 0.002 |
| 6 | 2.5 | 0.5 | 0.3 | 0.002 |
| 7 | 2.5 | — | — | 0.004 |
| 8 | 2.5 | 0.5 | — | 0.004 |
| 9 | 2.5 | 0.5 | 0.3 | 0.004 |
| 10 | 2.5 | — | — | 0.006 |
| 11 | 2.5 | 0.5 | — | 0.006 |
| 12 | 2.5 | 0.5 | 0.3 | 0.006 |
| 13 | 2.5 | — | — | 0.008 |
| 14 | 2.5 | 0.5 | — | 0.008 |
| 15 | 2.5 | 0.5 | 0.3 | 0.008 |
| 16 | 2.5 | — | — | 0.01 |
| 17 | 2.5 | 0.5 | — | 0.01 |
| 18 | 2.5 | 0.5 | 0.3 | 0.01 |
| 19 | 2.5 | — | — | 0.02 |
| 20 | 2.5 | 0.5 | — | 0.02 |
| 21 | 2.5 | 0.5 | 0.3 | 0.02 |

*%, 100W/W of lean beef trimmings.

後東洋濾紙 No. 5A を用いて試験管中に濾過抽出した(以上の操作はすべて暗室中で行なった)。えられた抽出液は直ちに、日立 EPS-3 型分光光度計を用いて、450~700 nm の波長域における吸収スペクトル測定に供した。用いたセルは 1 cm の石英セルである。

4) NO-ヘム及びトータルヘム濃度の測定

3) の方法でえられた抽出液の吸収スペクトルから 540nm における吸光度 (A_{540}) を求め、この値から *Hornsey* の方法^(2,3)によって試料 10 g 中の NO-ヘム濃度を算出した。NO-ヘム (ppm) = $A_{540} \times 290$

トータルヘム濃度は無作為に混合された試料から 10 g を秤取し、これに 43 ml の抽出溶媒 (アセトン:濃塩酸:水=40:1:2) を加えて、1 時

間放置後、抽出濾過し、その 640nm における吸光度 (A_{640}) から次式により試料 10 g 中のトータルヘム色素濃度を算出した^(2,3)。トータルヘム (ppm) = $A_{640} \times 680$

5) NO-ヘム形成に必要な NaNO_2 添加量

第 5 及び 6 表に示される塩漬剤を用いて、塩漬した試料について、NO-ヘム濃度の定量分析を 4) の方法に従って行ない、発色に必要な亜硝酸塩の最少必要量を求めた。

III. モデルシステムを用いた試験

1) ミオグロビン (Mb) の調製

牛骨格筋の水抽出液より、安井の方法⁽⁷⁾または *Theorell* の方法⁽⁶⁾を用いて粗 Mb を調製した。Mb の濃度検定は *Ginger* の方法⁽¹⁾によって行なった。

2) 吸収スペクトルの観察

Mb の水溶液を用いて、種々の誘導体を形成させ、その吸収スペクトルを波長域 450~700 nm の範囲で測定し、定性、定量試験を行なった。

Table 6. Recipe of curing agents for experiments on determination of heme pigment(experiment 2).

| Agents Samples | NaCl | Lys+Arg (1+1) | phosphates | NaNO ₂ |
|----------------|------|---------------|------------|-------------------|
| control | 2.5 | — | — | — |
| 1 | 2.5 | — | — | 0.001 |
| 2 | 2.5 | 0.5 | — | 0.001 |
| 3 | 2.5 | 0.5 | 0.3 | 0.001 |
| 4 | 2.5 | — | — | 0.002 |
| 5 | 2.5 | 0.5 | — | 0.002 |
| 6 | 2.5 | 0.5 | 0.3 | 0.002 |
| 7 | 2.5 | — | — | 0.003 |
| 8 | 2.5 | 0.5 | — | 0.003 |
| 9 | 2.5 | 0.5 | 0.3 | 0.003 |
| 10 | 2.5 | — | — | 0.005 |
| 11 | 2.5 | 0.5 | — | 0.005 |
| 12 | 2.5 | 0.5 | 0.3 | 0.005 |
| 13 | 2.5 | — | — | 0.006 |
| 14 | 2.5 | 0.5 | — | 0.006 |
| 15 | 2.5 | 0.5 | 0.3 | 0.006 |

*%, 100W/W of lean beef trimmings.

結 果

I. アミノ酸添加及び無添加ソーセージの色調

牛肉及び豚脂を材料とし、水、香辛料、澱粉を加え、第1表に示した塩漬剤と添加率で塩漬(4°C, 96時間)、湯煮(73°C, 90分)及び燻煙(50°C, 90分)の工程を経て製造されたソーセージについて測定したpH値及び色調(明度L, 赤色度a, 黄色度b)は第7表の通りである。アミノ酸添加区のもの、pH値がやや高いが、これはアルギニンの影響と思われる(リジンは塩酸塩)。色調についてみると、アミノ酸添加区は無添加区のものに較べると、相対的に明度が低く、逆に赤色度が高い値を示している。この事実は肉眼的観察結果とも一致し、アミノ酸の発色助長効果を裏づけている。

また、発色剤としてKNO₃を用いず、NaNO₂のみを0.001%使用し、リン酸塩0.3%を添加して第2表に記した塩漬剤及び添加率で塩漬、製造(条件は前と同じ)したソーセージについて、製造直後の切断面及びそれを2時間直射日光にさらした場合の色調を測定して第8表に示した。

さらに、製造工程中塩漬後(未加熱)と燻煙後(加熱)のpH変化を第9表に示してある。

0.001%という通常使用量の1/10のNaNO₂添加の場合にも依然としてアミノ酸の発色助長効果は認められ、光線に対してもアミノ酸添加区の色調がより安定である(高いa値で示される)ことが判明した。また、アミノ酸添加は未加熱肉のpH値をかなり上昇させるが、加熱により起るpH上昇率は無添加区よりもかなり低い(第9表)。低pH値が良好な肉製品の色調形成には必要であるという一般的常識から考えると、塩基性アミノ酸によってもたらされるpH値の上昇と、最終製品における色調形成ならびに安定性に及ぼす助長効果は興味ある現象と考えられる。

II. 色素抽出試験

牛肉を材料として、第3及び4表に示す各種組合せの塩漬剤を用いて、塩漬(4°C, 96時間)、湯煮(75°C, 50分)したプレスハムについて測定されたpH値、トータルヘム及びNO-ヘム濃度等は第10及び11表に、また、450~700nmにおける

Table 7. pH values and color(L, a, b values) of experimental sausages*

| Samples | pH | L | a | b |
|---------|------|------|-------|------|
| 1 | 6.17 | 50.2 | 5.70 | 11.1 |
| 2 | 6.32 | 47.2 | 6.60 | 10.6 |
| 3 | 6.12 | 49.7 | 9.20 | 10.3 |
| 4 | 6.35 | 47.0 | 10.50 | 10.3 |
| 5 | 6.30 | 47.5 | 14.30 | 9.7 |
| 6 | 6.39 | 46.1 | 15.50 | 9.7 |

*Curing agents listed in Table I were used. Sample numbers were the same as in Table I.

Table 8. Changes in color(L, a, b values) of experimental sausages*before (A) and after(B) 2 hr-exposure under the sun light

| Color Samples | (A) | | | (B) | | |
|---------------|------|-------|-------|------|-------|-------|
| | L | a | b | L | a | b |
| 1 | 52.3 | + 7.0 | +12.4 | 46.0 | + 7.0 | +11.8 |
| 2 | 52.7 | 9.7 | 11.7 | 45.2 | 7.2 | 11.5 |
| 3 | 53.5 | 10.7 | 11.9 | 42.0 | 9.0 | 11.6 |
| 4 | 51.0 | 13.0 | 11.3 | 41.0 | 10.5 | 11.2 |
| 5 | 51.4 | 13.6 | 11.8 | 40.3 | 11.4 | 11.9 |
| 6 | 50.7 | 13.8 | 11.6 | 38.1 | 12.8 | 11.2 |

*Curing agents listed in Table 2 were used. Sample numbers were the same as in Table 2.

Table 9. pH values of experimental sausages*after curing and smoking.

| Sample No. | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
|------------------|------|------|------|------|------|------|
| pH after curing | 5.70 | 5.88 | 6.13 | 6.35 | 6.36 | 6.37 |
| pH after smoking | 6.48 | 6.60 | 6.50 | 6.55 | 6.88 | 6.72 |

*Curing agents listed in Table 2 were used. Sample numbers were the same as in Table 2.

抽出NO-ヘム-アセトン複合物の吸収スペクトルは第1及び2図にそれぞれ示されている。

前節の実験結果が示すように、実際のソーセージ製造試験においては、アミノ酸添加が亜硝酸塩(NaNO₂)と併用された場合には製品の色調形成

Table 10. Concentrations of heme pigments extracted and pH values of experimental press ham*

| Samples | PH | (A) Total heme conc (ppm) | (B) NO-heme conc (ppm) | B/A | Ratio to C ₂ |
|----------------|------|---------------------------|------------------------|------|-------------------------|
| C ₁ | 6.06 | 282.2 | — | — | — |
| C ₂ | 6.02 | 282.2 | 269.70 | 0.96 | 1.0 |
| S ₁ | 6.06 | 282.2 | 234.90 | 0.83 | 0.87 |
| S ₂ | 6.72 | 282.2 | 184.15 | 0.65 | 0.68 |
| S ₃ | 6.36 | 282.2 | — | — | — |
| S ₄ | 6.46 | 282.2 | 171.10 | 0.60 | 0.63 |

*Curing agents listed in Table 3 were used.
Signs of samples were the same as in Table 3.

Table 11. Concentrations of heme pigments extracted and pH values of experimental press hams*

| Samples | PH | (A) Total heme conc (ppm) | (B) NO-heme conc (ppm) | B/A | Ratio to S ₁ , S ₄ , S ₇ |
|----------------|------|---------------------------|------------------------|------|---|
| C | 5.99 | 302.6 | — | — | — |
| S ₁ | 6.05 | 302.6 | 100.05 | 0.33 | 1.0 |
| S ₂ | 6.40 | 302.6 | 73.95 | 0.24 | 0.73 |
| S ₃ | 6.59 | 302.6 | 78.30 | 0.26 | 0.79 |
| S ₄ | 6.06 | 302.6 | 294.35 | 0.97 | 1.0 |
| S ₅ | 6.50 | 302.6 | 207.35 | 0.80 | 0.82 |
| S ₆ | 6.66 | 302.6 | 181.25 | 0.60 | 0.62 |
| S ₇ | 6.20 | 302.6 | 246.65 | 0.82 | 1.0 |
| S ₈ | 6.42 | 302.6 | 218.95 | 0.72 | 0.88 |
| S ₉ | 6.68 | 302.6 | 211.70 | 0.70 | 0.85 |

*Curing agents listed in Table 4 were used.
Signs of samples were the same as in Table 4.

を助長する傾向が認められた (第7及び8表) のであるが、80%アセトン抽出による抽出色素の吸収スペクトルの観察結果 (第1及び2図) は形成された色素はすべて、563, 540, 及び480 nmに吸収帯を保有するNO-ヘム-アセトン複合体の特徴を示し、定性的に同一物質であることを示唆している。

しかしながら、その定量値は第7及び8表の結果とは逆に、NaNO₂単用のものが最高値を示し、

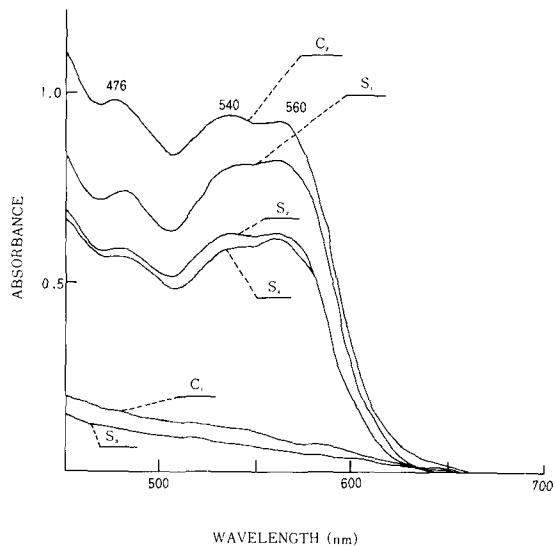


Fig. 1. Effect of amino-acids on the formation of NO-heme-acetone complex extracted from experimental press hams*
* Signs of samples were the same as in Table III.

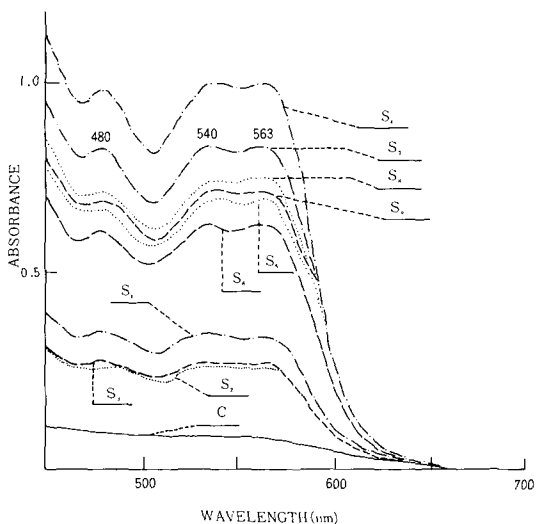


Fig. 2. Effect of amino-acids on the formation of NO-heme-acetone complex extracted from experimental press hams*
* Signs of samples were the same as in Table VI.

以下+リジン>+アルギニン>+(アルギニン+リジン)の順に低い値を示すようになる。肉中に含まれるヘム色素総含量であるトータルヘム量に

対する形成 NO-ヘム量の割合を計算し、アミノ酸無添加 (NaNO₂のみ使用) の場合を 1.0 として比較すると、リジン場合は約 90%、アルギニンは約 70%、リジン+アルギニン区では約 60% の順で NO-ヘムの抽出濃度が減少している (第 10 表)。また、NaNO₂ の添加濃度を 0.001, 0.005, 0.01% と段階的に変えて、対照区、アミノ酸 (リジン+アルギニン) 0.5% 添加区、及びアミノ酸 0.5% + リン酸塩 0.3% 添加区にわけ、その最終製品から NO-ヘム-アセトン複合物を抽出して吸収スペクトルを観察すると、その吸収スペクトルは定性的には同一であるが、NaNO₂ 添加量に応じて高い吸光係数を示すようになる (第 2 図) ことが判明する。波長域 450~600 nm の間における吸光係数は同一 NaNO₂ 濃度で比較してみると、NaNO₂ 単用区 > NaNO₂ + (リジン+アルギニン) 区 > NaNO₂ + (リジン+アルギニン) + リン酸塩区の順で減少する (第 11 表及び第 2 図)。第 10 表及び第 1 図の結果の解析と同様の方法で NO-ヘム形成割合を計算してみると、NaNO₂ 単独使用の場合は、0.001% で約 30%, 0.01% で 80%, 0.005% ではほぼ 100% の NO-ヘム形成がみられた (第 11 表)。さらに、アミノ酸を添加した場合、NaNO₂ の添加各濃度ごとに NO-ヘム形成割合をみると、亜硝酸単用の場合を 100 として、NaNO₂ 濃度の低い方から、それぞれ約 70, 80, 90% となり、アミノ酸にリン酸塩が加わったものでは、同じく 80, 60, 85% とそれぞれ対照区に較べて NO-ヘム抽出濃度が低下していることが明らかになっている。

そこで、NaNO₂ 添加量と NO-ヘム形成量との関係をより詳細に検討するために、牛肉を材料とし、第 5 及び 6 表に示した塩漬剤を用いて塩漬 (4°C, 96 時間)、湯煮 (75°C, 50 分) を経て製造されたプレスハムから、NO-ヘムをアセトン複合体の形で抽出し、540nm における吸光度測定より定量値を求めて上述の関係をしらべた (第 3 及び第 4 図)。

結果は第 1 及び 2 図の場合と同様であって、生ずる吸収スペクトルは典型的な NO-ヘム-アセトン複合物のそれであった。540nm における吸光

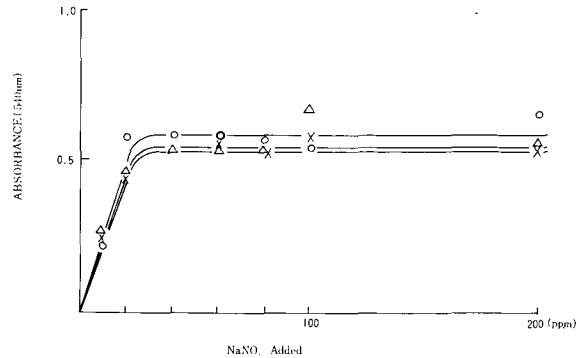


Fig. 3. Extractability of NO-heme-acetone complex as a function of added NaNO₂ concentration
 -○- ; NaNO₂, -x- ; NaNO₂ + amino-acids, -△- ; NaNO₂ + amino-acids + phosphate. For added curing agents, see Table V.

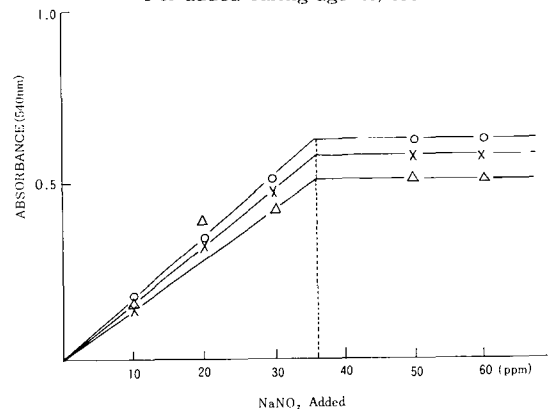


Fig. 4. Extractability of NO-heme-acetone complex as a function of added NaNO₂ concentration Symbols were the same as in Fig. 3. For added curing agents, see Table VI.

度と添加 NaNO₂ 濃度との関係は第 3 及び 4 図に示される通りであって、A₅₄₀ の値は NaNO₂ 単用区が最大値を示し、アミノ酸添加区、アミノ酸+リン酸塩添加区の順に低い値を示す。

第 3 及び 4 図から、本実験条件下における NO-ヘム形成のための最小必要 NaNO₂ 添加量を求めると、36 ppm となり、これだけの量の NaNO₂ 添加により肉中に存在するヘム蛋白質のほぼ 100% が NO-ヘムに変化することになる。

これらの関係から、肉中のトータルヘム濃度及び添加 NaNO₂ 濃度をモル濃度に換算してそのモル比を計算すると $[\text{NO}_2^-] / [\text{ヘム}] = 1.4$ となる。従来の NO-ヘム形成機構¹⁾から考えると、理論的には $[\text{NO}_2^-] / [\text{ヘム}] = 1.0$ となる筈

であるが、実際の製造プロセス中でNO-ヘム形成反応が完結するためには理論値の1.4倍のモル比が必要とされるのであろう。したがって、実用量としての NaNO_2 濃度は NO_2^- として使用原料肉中の全ヘム量（モル濃度）の1.4倍を用いればよい。

III. モデル系を用いた試験

IIにおける色素抽出試験の結果は、Iにおける製造試験の結果と矛盾する。すなわち、肉眼的観察及び色差計による測定値はリジンやアルギニンの添加が NaNO_2 による肉製品の発色を助長することを示しているが、抽出色素量は逆に減少する（第7-8表、第10-11表及び第1-4図）。この抽出効果と発色助長効果の間にみられるギャップを明らかにする目的で、Mbを用いた試験管内モデル実験を行なった。

実験に使用したシステムは最終濃度として0.5 M NaCl (0 mM アミノ酸, 85/2 mM リジン, 30 mM アルギニンまたは 85/4 mM リジン+15 mM アルギニンを含む), 0.4 mM NaNO_2 及び約 0.045 mM の Mb に 10~20 mg の粉末 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ (還元剤) を加えたもので、pH はリン酸緩衝液を用いて 6.1 に調製した (全容量 10 ml)。

十分量の NaNO_2 存在下で、Mb を還元剤存在下で発色、すなわち MbNO 形成を行なわせると、その最終吸収スペクトルは、共存するアミノ酸の種類や有無にかかわらず、545 及び 580 nm に吸収帯を示す特徴的な MbNO のそれを示し、アミノ酸の存在下でも形成される未加熱の Mb 誘導体は MbNO であることが明示されている (第5図)。

そこで、第5図と同一条件で MbNO を形成させ、これを 70°C、10 分間加熱して加熱凝固物をつくり、これから 80% アセトン抽出法^(2,3)によって、NO-ヘム-アセトン複合物を抽出すると第6図のような結果がえられる。すなわち、すべての Mb が第5図に示されているように MbNO となっているにもかかわらず、抽出 NO-ヘム-アセトン複合物の吸収スペクトルは II の抽出実験と同じ順序で各波長における吸光度の減少を示している。この現象は添加アミノ酸の加熱変性防止作用による凝固物形成量の低下に起因するものではない。

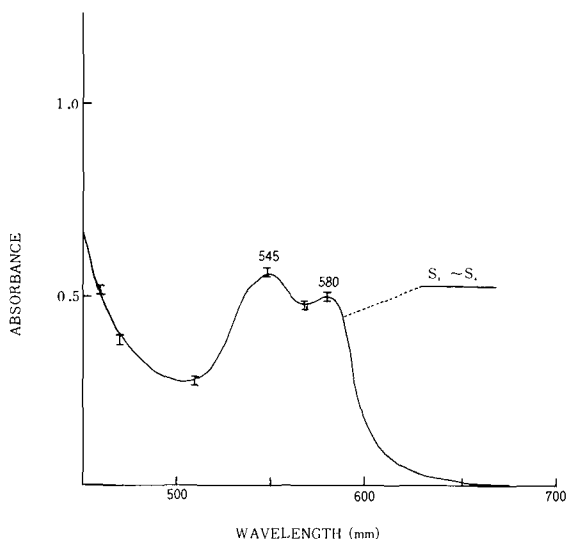


Fig. 5. Effect of amino-acids on the formation of MbNO S_1 ; Mb+0.5 M NaCl+0.4 mM NaNO_2
 S_2 ; S_1 +42.5 mM lysine
 S_3 ; S_1 +30 mM arginine
 S_4 ; S_1 +42.5 mM lysine and 15 mM arginine
 Mb concentration; 0.042 mM with 20 mM phosphate buffer (pH6.0)

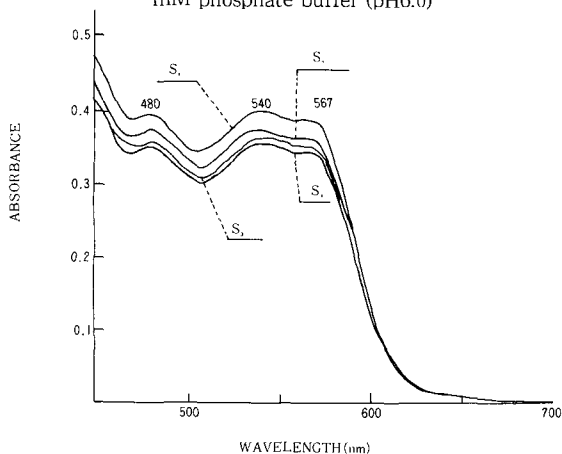


Fig. 6. Effect of amino-acids on the extractability of NO-heme-acetone complex from heated model systems shown in Fig. 5
 Symbols were the same as in Fig. 5.
 Mb concentration; 0.047 mM. Heating conditions; 70°C for 10 min at pH 6.0.

何故ならば、残留可溶 Mb の定量結果は対照区 > リジン添加区 > アルギニン添加区 > (リジン+アルギニン) 添加区の順序であり、むしろアミノ酸の存在は Mb の加熱凝固を促進する傾向を示すからである。

考 察

著者らは本実験において、ソーセージの製造に際し、1) 亜硝酸塩単独のもの、2) 亜硝酸塩とアミノ酸(リジン、アルギニン)併用のもの、3) 亜硝酸塩、アミノ酸及びピリン酸塩併用によるもの、の三種類の塩漬剤を使用し、その最終製品の色調を比較検討した。その結果、同一亜硝酸塩濃度においては、アミノ酸添加製品の方が赤色度の増加をもたらすという事実を確認することができた。

アミノ酸添加による赤色度の増大理由として次の三つの可能性が考えられる。

(1)アミノ酸添加による MbNO 以外の NO-ヘム複合体の形成。

(2)MbNO のアミノ酸による酸化防止的安定化作用。

(3)酸化-還元酵素系にアミノ酸が関与して MbNO の形成促進作用を行なう。

(2)及び(3)の可能性を想定すると、これらの場合には当然にも形成される色素は未加熱の場合には MbNO であり、加熱時には NO-ミオヘモクロームとなって、Hornsey の 80%アセトン抽出法により NO-ヘム-アセトン複合物として抽出される。

両者は分光化学的手法により同定、定量が可能であるので、この方法によって、(2)及び(3)の可能性の当否を証明できる筈である。第 5 図の結果は形成される色素が水溶液中ではすべて MbNO であることを示しており、(1)の可能性よりも(2)及び(3)の可能性を考える方がより妥当であることを示唆している。

しかし、もしそうであるとすれば、形成された MbNO が加熱凝固した場合、抽出される NO-ヘム量はアミノ酸存在下の方が量的に多くなることはあっても、少なくなることはないであろう。

II の抽出実験の諸結果(第 10-11 表, 第 1-4 図)はアミノ酸共存下での NO-ヘム抽出量が常に NaNO₂ 単用時のそれを下廻ることを示しており、上記と矛盾する。第 5 及び 6 図の結果は、たとえモデル系を用いても、II の抽出実験の結果を再現できることを示しており、この事実は従来加

熱変性 MbNO からの NO-ヘム抽出法として確立されていた Hornsey の抽出法^(2,3)に対して、本実験で使用したアミノ酸が抽出阻害剤として作用していると考えるとよく説明できる。

要 約

1. 添加物としての塩基性アミノ酸リジン及びアルギニンは単独で使用した場合には肉製品の色調形成効果を発揮しない。

2. 亜硝酸塩と併用した場合、アミノ酸は製品の赤色度を上昇させる。

3. 光による赤色度の減少はアミノ酸添加によってある程度防止される。

4. 製品中の NO-ヘムの抽出量はアミノ酸添加区の方が対照区よりも低い値を示した。

5. NO-ヘム形成に必要な添加亜硝酸根の最低必要量は、原料肉中のトータルヘム色素量に対して、モル比として 1.4 倍量である。

6. アミノ酸の存否にかかわらず、Mb と NaNO₂ の還元状態下での最終反応物は一酸化窒素ミオグロビン (MbNO) である。

7. 本実験で使用したアミノ酸は NO-ヘムの抽出法として確立されている 80%アセトン抽出法の阻害剤として働らく。

謝 辞

本研究を行なうにあたり、アミノ酸の供与を受けた共和発酵株式会社、ならびに、有益な助言と協力を与えられた九州大学教授深沢利行氏に感謝の意を表する。

文 献

1. GINGER, I. D. and B. S. SCHWEIGERT : Agr. Food Chem. 2, 1037, 1954
2. HORNSEY, H. C. : J. Sci. Fd. Agric. 7, 534, 1956
3. HORNSEY, H. C. : J. Sci. Fd. Agric. 8, 547, 1957
4. INSTITUTE OF FOOD TECHNOLOGISTS : Food Technol. 26, 11, 121, 1972
5. 俣野景典 : 魚肉ソーセージ. 169, 9月号, 34, 1969
6. THEORELL, H. : Biochem. Z. 268, 55, 1934
7. 安井 勉 : 日畜会報. 27, 217, 1956
8. 安井 勉 : 畜肉の科学と製造, 橋本吉雄編著, p. 134, 養賢堂, 1969

Contribution of Nitrite, Lysine and Arginine to the Color of Cooked Cured Meat Products.

Yoshitaka Takeoka **, Takao Nagahashi * and Tsutomu Yasui **

(Experiment Farm * and Department of Animal Science **,
Faculty of Agriculture, Hokkaido University, Sapporo, Japan)

Summary

1. In the absence of nitrite, basic amino-acids, L-lysine and L-arginine, as food additives have been found to exert no direct influence on the development of cured meat color.
2. When used with nitrite, these amino-acids increased the a value (redness) of the color of experimental sausages and to some extent protected the color from fading under the light.
3. Amount of extractable heme-pigment of cured meat products in the presence of the amino-acids was less than that in the absence of the amino-acids.
4. Minimum dose of nitrite required for the formation of cured meat color (NO-hemochrome) is 1.4 times greater than the concentration of total heme pigment present in the material meat on the molar basis.
5. The overall reaction product of myoglobin and nitrite under the reduced state was nitric oxide myoglobin, irrespective of the presence or absence of the amino-acids.
6. The amino-acids used in this experiment acted as the inhibitor for extraction of NO-heme by standard acetone extraction procedure used for the determination of the pigment in cooked cured meat products.