

# 安全で良質な食肉製品を創製する加工技術に関する研究

## *Processing Technology for the Manufacture of Safe and High Quality Meat Products*

坂田亮一・オカタニ・A・トモミツ・押田敏雄

麻布大学獣医学部

Ryoichi Sakata, Tomomitsu A. Okatani and Toshio Oshida

School of Veterinary Medicine, Azabu University

**Abstract.** In sausage containing porcine hemoglobin (Hb) hydrolysates, 0.3 % and 0.4 % added-samples provided the best color visually, exhibited increase in  $a^*$  value and stable red color. Color forming ratio (CFR) of either sample was enhanced by Hb hydrolysate and during a period of 5 days storage, sample CFR was found to exceed that of the control having no Hb hydrolysate. Aerobic storage brought about decrease in CFR, but decrease in CFR of the sample having the Hb hydrolysate was less compared to the control and capacity to maintain coloration was greater. TBA value of the Hb-added sample was less than for the control, indicating antioxidant effect of the Hb hydrolysate. Color of the two samples over a two-week storage period was effectively preserved and the antioxidative effect was greater than for the control. Whey protein hydrolysate addition had no effect on color, there being no change in  $a^*$  value, CFR or TBA value, but color was confirmed to be maintained during storage.

In this study, nitrite and nitrate as color forming agents may possibly lead to the generation of carcinogenic substances such as nitrosamines. The authors thus sought to establish a method for reddening without the use of nitrite. To elucidate the characteristics of the dark red color in the Chinese raw ham, the absorbance spectrum of pigment was measured by acetone extraction and the extract stability was assessed. The red pigment of Chinese raw ham may be considered basically the same as that of Parma ham, but based on an existence of  $\text{NO}_2^-$ , it may be concluded that either nitrate or nitrite are contained in the marine salt used for meat salting, or that artificial color forming agents are used.

### 1. 目的

食肉の色調はヘムタンパク質であるミオグロビン (Mb) とその誘導体起因する。一般的な加熱処理ではそのヘム内の鉄が酸化 (メト化) し、褐色となる。食肉製品においては特有の美赤色発現の目的で硝酸塩や亜硝酸塩などの発色剤の使用が認められており、食肉中の Mb 分子内のヘムがニトロソ化すること (ニトロシルミオグロビン NOMb の生成) により、加熱しても安定な赤色の色調を呈する。しかしながら、亜硝酸自体の毒性、ならびにアミン類との

反応により発がん性物質であるニトロソアミンを形成することが知られている。安全性の点からもその使用量の削減、さらに代替物質の発見や加工法の改善、特に発色促進のための技術向上が望まれる。

一方、亜硝酸塩の添加量が少なくなっている現状で、食肉製品の発色不良、退色ならびに黄変等の問題も提起される。したがって発色を增強し色調保持を可能とし、さらに加工適性改善や栄養機能性の面で、天然の新しい食品素材として、畜産副産物の利用が着目される。その中で、と畜血液のヘモグロビン (Hb) を酵素処理し天然色素として利用すること

が検討されているが、と畜血液の赤血球画分は特に利用性が乏しく、その食材としての活用に関する研究が強く望まれている。これまでの我々の研究<sup>1)</sup>において、乳清タンパク質酵素分解物の発色促進効果を確認した。また、豚血液Hb酵素分解物（以下、Hb分解物と略記）と乳ペプチドとの組み合わせによる発色増強効果を認めた<sup>2)</sup>。さらに乳清タンパク質酵素分解物の発色促進機構、ならびにその有効成分を検索し、ミオグロビンの熱変性を促進することで発色促進に関与していることなどを推定した<sup>3)</sup>。そこで本実験では、発色増強ならびに抗酸化効果の面からHb分解物を取上げ、食肉製品におけるその至適使用条件について検討し、また乳清タンパク質酵素分解物との組み合わせ効果を調べることも目的とした。

他方、これまでの研究でパルマハムの示す赤色色素の特性を調べ、その色素の単離・精製を行ってきた<sup>4)</sup>。パルマハムは、北イタリア地方で作られる世界的に有名な生ハムで、豚のモモ肉を海塩のみを利用して長時間熟成して作られ、特有の美赤色を有する。中国でもパルマハムとよく似た工程で作られる生ハムがあり、金華ハムが有名である。中国浙江省金華地区の伝統的特産物で、海塩のみを利用して長時間熟成して作られ、これも赤色を呈する。塩漬時に海塩を利用し、長期にわたり熟成する点では、金華ハムとパルマハムは大変よく似ており、パルマハムやスペインのハモンセラノなどのオリジナルとも言われる。この研究では、発色剤として使用される亜硝酸塩などは、発ガン性物質を生成するなどの危険性があることから、発色剤を使用しないで、食肉製品を赤色化させる方法を検討することも目的とする。その題材の一つとして、発色剤を使用せずに作られる金華ハムを取り上げ、その濃赤色を示す色素の分光光学的特性を知るためにアセトン抽出を行い、吸収スペクトルを調べた。

## 2. 方法

### 2.1 Hb分解物の調製とソーセージ試作

豚血球Hbを55℃、pH 8.5、2時間の反応条件で、アルカラゼを用いて加水分解したものをHb分解物として使用した。脂肪や筋膜をできる限り取り除き、挽肉にしてパンミキサーで均質化した豚ロース

肉に、アスコルビン酸ナトリウム0.1%、NaNO<sub>2</sub> 100 ppmおよびNaCl 2%と共にHb分解物を0.05～1%添加した後、ナイロン樹脂をバリア層とした包装フィルムに充填し、75℃で1時間加熱してソーセージ試料を作成した。

各試料は遮光条件下で好氣的に4℃で保持した後、色調、発色率、TBA値の測定を行った。また、乳清WPC80酵素分解物<sup>1,2)</sup>を3%併用した試験区を調製し、各項目について同様に測定した。

### 2.2 生ハム試料

分析試料として、北京市紅橋市場で購入した金華ハムおよび日本国内で購入したパルマハムを使用し、包装に表示された品質保持期限内に分析を行った。

### 2.2 色調の測定

ソーセージ試料を乳鉢でよく擦り潰し、専用のガラスセルに隙間なく詰め、測色色差計(MINOLTA CM-3500d)を用いて色値(a\*, b\*, L\*値)を測定した。部位によっては差が出るため、1つの試料につき5カ所の測定を行い、その平均値を求めた。

### 2.3 全ヘム色素量、ニトロシルヘム色素量および発色率の測定<sup>4)</sup>

75%アセトン-0.7% HCl抽出法に基づき、食肉製品試料の全ヘム色素量を測定した。抽出液を最大吸収波長383 nmで測定し、その吸光度とヘム色素量が一定濃度範囲で正の1次相関にあることを認め、Abs.383 nmの値をヘム色素量として用いた。各試料は3～4個調製し、その測定平均値を求めた。一方、ニトロシルヘム色素は75%アセトンで抽出し、最大吸収波長395 nmで測定した。その最大吸収波長の吸光度Abs.395 nmを以ってニトロシルヘム色素量とした。各試料で、全ヘム色素量と同様に3～4個の測定平均値を求めた。

以上で得た全ヘム色素量に対するニトロシルヘム色素量の割合から、発色率<sup>4)</sup>を算出した。

### 2.4 TBA値の測定法

水蒸気蒸留法によりTBA値の測定<sup>5)</sup>を行った。最終的に532 nmで吸光度を測定し、肉試料1000 gあたりのマロンアルデヒド(MA)の量で表示した。各試料は3～4個調製し、その測定平均値を求めた。

Hb分解物は、その量が多くなると肉色を悪くすることがあり、本実験では最も良好な色調が観察された0.3%および0.4%添加区で、2週間をめぐりして

保存実験を行った。

### 3. 結果および考察

#### 3.1 色調

各Hb分解物添加試料および対照区の色値をTable 1に示した。各Hb分解物添加試料において、その添加量が多いほどa\*値とb\*値の数値が高かった。しかし、L\*値が低いため、添加量によっては赤黒くなってしまうことが多く、肉眼的にも好ましい色とはいえない色調を呈した。0日目の肉眼観察では、0.3%および0.4%添加区および対照区がもっとも良好な色調を示した。対照区では3日目以降極端にa\*値の低下が見られた。

肉色で重要視されるa\*値を示したFig. 1のグラフから、0.05%添加区を除いた各Hb添加試料は、対照区に比べ高い色値の保持を見せた。対照区は0日目において鮮赤色を示したが、それ以降は退色した。0.8%および1%添加区で高い色値保持を示すが、消費者の好まない暗赤色と判断される。

これまでの予備実験結果からもHbは添加する量が多すぎるとa\*値が上がり、L\*値が極端に低くなるために、試料が暗赤色を示す傾向にある。逆にHb

添加量を少なくし一定量以下になると、試料は赤色から黄色がかかった色調になってしまうという使用上の難しさもあわせ持っている。

Hb分解物0.3%と0.4%添加試料および対照区の色値をTable 2およびTable 3に示す。初日の段階でHb分解物添加試料と対照区の間、明確に見分けがつかないほどの差異を示した。Hb分解物0.3%および0.4%添加区は、対照区に比べa\*値の保持率が高く、また保存日数の経過に伴いL\*値が上昇した。肉眼観察では、初日鮮赤色であったが5日目以降、ピンク色へと変化していくのが確認できた。これは明るさ

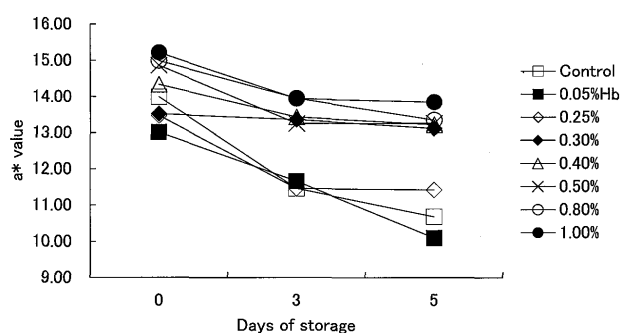


Fig. 1 Change in a\* value of Hb hydrolysate-added sausage during storage.

Table 1 Color values of Hb hydrolysate-added sausage samples during storage

Hb%	0 day			3 days			5 days		
	a*	b*	L*	a*	b*	L*	a*	b*	L*
0	13.99	11.95	52.34	11.46	10.68	56.42	10.99	10.98	54.25
0.05	13.01	12.50	57.74	11.66	11.15	60.34	10.09	11.20	61.77
0.25	13.47	13.25	56.62	11.46	11.54	59.46	11.42	11.87	59.66
0.30	13.52	11.87	54.94	13.36	12.03	55.98	13.12	11.78	56.89
0.40	14.33	12.14	53.37	13.43	11.59	55.32	13.22	11.80	56.78
0.50	14.86	13.35	53.25	13.25	12.43	56.39	13.26	11.87	57.07
0.80	14.99	13.56	52.75	13.95	12.22	55.79	13.35	12.18	55.64
1.00	15.22	14.34	51.20	13.94	12.03	55.50	13.85	13.34	54.41

Table 2 Color values for 0.3% and 0.4% Hb hydrolysate-added sausage samples

Storage (days)	0.3% Hb			0.4% Hb		
	a*	b*	L*	a*	b*	L*
0	13.71	11.98	54.79	14.24	12.14	54.76
3	13.53	12.53	55.34	13.97	12.30	55.79
7	12.15	12.66	55.33	12.85	12.91	55.87
14	12.02	14.24	56.23	12.08	14.93	56.91

Table 3 Color values for control sausage groups (without Hb hydrolysate)

Storage (days)	a* (redness)	b* (yellowness)	L* (brightness)
0	13.91	11.90	56.67
3	11.65	10.89	56.42
7	10.97	10.98	55.88
14	9.41	11.21	54.86

を示すL\*値が高くなり、赤色であるa\*値が若干低下したためだと考えられる。また、14日目には肉色に多少ではあるが、黄色が強く出ているように感じられた。これはL\*値の上昇とb\*値の上昇が同時に起こったためと考えられる。

3.2 発色率

Hb分解物0.3%、0.4%添加試料および対照区の発色率をFig. 2に示した。保存初日では、どの試料も発色率70%以上を示した。14日間という保存期間中、どの試料でも発色率の低下が確認できた。しかしながら、各Hb分解物添加試料と対照区では明らかに発色率に差が見られ、Hb分解物添加区では対照区より発色率が全体に高かった。また保存期間中の発色率低下がHb分解物添加区で遅く、14日目においても発色率65%以上を維持していた。これは、色値の測定結果と同様に、色調の保持が行われていることを示している。この保存実験は好氣的に行い、いわば肉にとって厳しい条件での保存と言える。嫌氣的保存法などの実施によって、より高い発色率の保持ができると予想される。

3.3 TBA値

脂質酸化の程度を示す指標として、Hb分解物0.3%、0.4%添加試料および対照試料のTBA値をFig. 3に示した。Hb分解物添加試料のTBA値は対照区に比べ低く、効果的に脂質酸化を抑制していることが分かる。実験前には、Hbからの鉄による脂質酸化促進を懸念したが、各Hb添加試料のTBA値は対照区に比較し、どの添加区でも低く効果的に脂質酸化を抑制した。また、Hb分解物の添加量を増やすことで抗酸化効果が増加する結果が得られた。

3.4 Hb分解物と乳清WPC80分解物の併用実験

Hb分解物0.3%および0.4%添加区、および3%WPC80分解物との併用添加区のそれぞれの発色率を

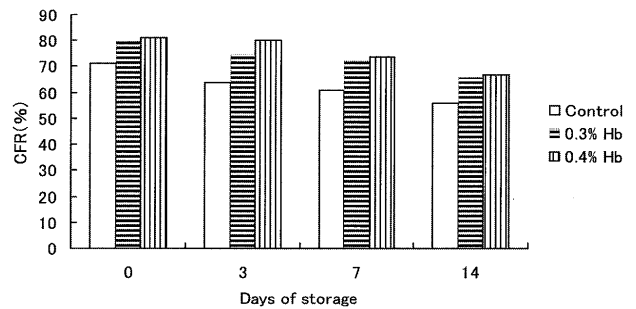


Fig. 2 Color forming ratio (CFR) for Hb hydrolysate-added sausage samples during storage.

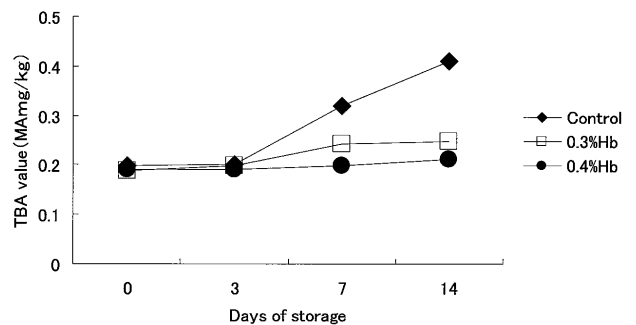


Fig. 3 TBA values of 0.3% and 0.4% Hb hydrolysate-added sausages during storage.

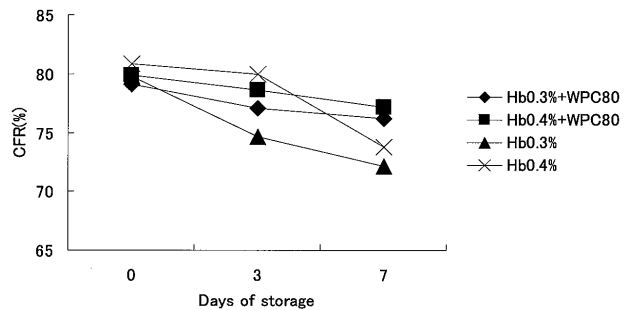


Fig. 4 Color forming ratio(CFR) of Hb- and WPC hydrolysate-added sausage samples during storage.

Fig. 4で示した。WPC80分解物の添加による発色率上昇は確認できなかったが、Hb分解物のみを添加し

Table 4 TBA values of sausage samples with Hb- and WPC hydrolysates during storage

Storage (days)	0.3%Hb +3%WPC80 (MAmg/kg)	0.4%Hb +3%WPC80 (MAmg/kg)
0	0.193	0.200
3	0.205	0.206
7	0.239	0.221

た試料に比べて、WPC80分解物添加区は保存中に発色率の低下速度が遅いことがグラフから分かる。保存7日目で、WPC80分解物併用区のみが発色率75%以上を保った。色値測定で、 $a^*$ 値の保持も行っていることから（データ省略）、HbとWPC80それぞれの分解物の相乗効果で、肉の退色を防ぐ可能性が示唆された。また、Table 4に示したTBA値は、Hb分解物とWPC80分解物を同時に加えたソーセージ試料で対照区（Fig. 3参照）と比べ増加することではなく、これらのタンパク質分解物が効果的に脂質酸化を抑制することが見出された。

発色促進と共に抗酸化効果が向上したのは、Hb分解物中のペプチドが働いたことによると推測される。これまでのわれわれの研究で、乳ペプチドに十分な発色促進効果が認められ、食肉製品の発色の面から亜硝酸塩の低減化をカバーする添加物として使用の可能性が示唆されている。また、沼田ら<sup>6)</sup>は、豚血液由来ヘム鉄濃縮物のラットにおける生体利用性を調べ、豚Hbの酵素分解により主に分子量8000以下のペプチド画分にすることで、鉄の生体吸収率が向上することを報告している。家畜血液Hbを酵素分解することで、副産物としての利用が大いに広がると期待される。

### 3.5 生ハムの分析結果

金華ハムの方が濃い色を呈し、そのヘム色素をアセトン-塩酸法で抽出すると、通常の食肉からの色素抽出液と同様、ソーレー帯である383nmに最大吸収波長を有した。ミオグロビンを使用して求めた検量線で色素量を算出すると、金華ハムは0.36%、これに対して、パルマハムは約1/3の0.13%を示した（Fig. 5）。この値からも金華ハムの赤色が濃いことが裏付けられた。

次に、金華ハムの赤色ミオグロビン誘導体をアセトン抽出して、吸収スペクトルを測定した。その結

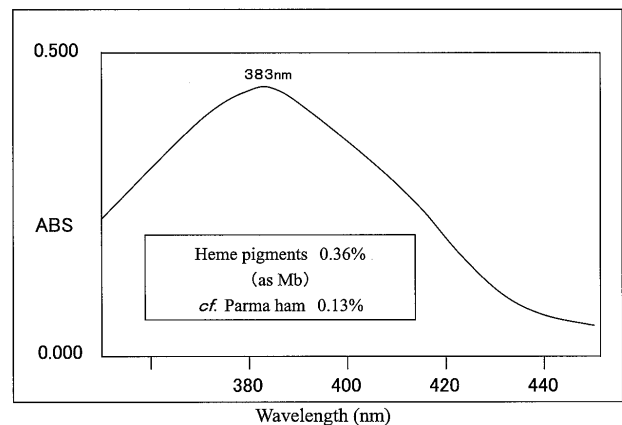


Fig. 5 Absorption spectrum of heme pigments extracted from Chinese raw ham (Acetone-HCl method).

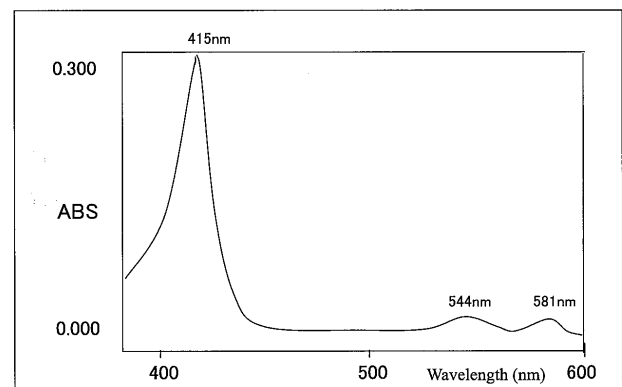


Fig. 6 Absorbance spectrum of the acetone extract from Chinese raw ham.

果、金華ハムはアセトン抽出液で、ソーレー帯の中の、415nmで最大吸収波長のピークが見られた。これはパルマハムとよく似た吸収スペクトルを示しており（Fig. 6）、通常ミオグロビン誘導体の吸収スペクトルとは異なることが明らかになった。

一方、発色色素との同時定量法<sup>8)</sup>で残存亜硝酸塩を測定したところ、1.1ppmと少ないながら、亜硝酸根が検出された。これはもともと肉成分に含まれていた亜硝酸塩と考えることもできるが、塩漬けに用

いた海塩の中に、硝酸塩、あるいは亜硝酸塩の混在、もしくは人為的な発色剤の添加も推定される。したがって、用いた塩についての解析や実際の現場での製造方法の調査などが必要だと思われる。アセトン抽出液の吸収スペクトルの結果からは、ここまでのデータでは今回使用した金華ハムに亜硝酸塩は使用されていなかった可能性が高いと思われた。またマスペクトルでの測定で（データ省略）、金華ハムに新規な色素の存在が示され、発色剤無添加での赤色化を起こす色素の一つであるかもしれない。

#### 4. 要 約

豚Hb分解物添加試料の色調において、肉眼的に最も良い赤色を示したのは0.3%および0.4%添加区で、 $a^*$ 値の増加と保持効果が確認できた。発色率はHb分解物によって促進され、5日間の保存実験の中でHb分解物無添加の対照区よりそれぞれ高い値を示した。また好氣的な保持により、それぞれ発色率の減少がみられたが、Hb分解物添加試料は対照区に比べて発色率低下が少なく、退色抑制効果が示された。各Hb分解物添加試料のTBA値は対照区に比べ低く、効果的に脂質酸化が抑制された。また、Hb 0.3%と0.4%添加区による2週間の保存実験を行った結果、対照区に比べ効果的に色調が保持され、高い抗酸化作用が示された。乳清WPC80酵素分解物を更に加えると、 $a^*$ 値、発色率、TBA値に変化はみられなかったが、保存中における色調保持効果が増強されることを認めた。

また、プロシュート（生ハム）タイプの無塩漬食肉製品として、中国産の金華火腿（ハム）を入手し、その濃赤色を示す色素の特性を解明するために色素の有機溶媒抽出を行い、その安定性を検討した。その結果、金華ハムは、比較的赤色度が高く、低い明度を示した。吸収スペクトルのピークはソーレー帯

の415 nm（最大吸収）などで検出され、発色剤を使用する通常の生ハムと異なり、パルマハムと類似のパターンを示した。亜硝酸塩は、今回使用した金華ハム試料から微量しか検出されなかった。吸収スペクトル測定の結果、この金華ハム試料では発色剤が添加されずに製造されたものと推察された。

#### 文 献

- 1) 坂田亮一・森田英利：食肉製品の発色に及ぼす乳ペプチドの促進効果。平成12年度食肉に関する助成研究調査成果報告書。(財)伊藤記念財団編, 19, 201-206, 2001.
- 2) 坂田亮一・森田英利：食肉製品の発色に及ぼす乳ペプチドの促進効果 —乳清タンパク質酵素分解物の効果—。平成13年度食肉に関する助成研究調査成果報告書。(財)伊藤記念財団編, 20, 196-202, 2002.
- 3) 坂田亮一・森田英利：食肉製品の発色に及ぼす乳ペプチドの促進効果 —その機構ならびに乳清タンパク質酵素分解物からの有効成分の分離—。平成14年度食肉に関する助成研究調査成果報告書。(財)伊藤記念財団編, 21, 185-191, 2003.
- 4) Morita, H., Nui, J., Sakata, R., Nagata, Y.: Red pigment of Parma ham and bacterial influence on its formation. *Journal of Food Science*, 61, 1021-1023. 1996.
- 5) 坂田亮一：「食肉・食肉製品の品質評価／色調およびヘム色素」, 食肉の科学, 40, 221-224, 1999.
- 6) 山内 清・安藤則秀：亜硝酸塩が存在する場合の肉のTBA number測定法。日畜会報, 44, 155-158. 1973.
- 7) 沼田正寛・副田理美・中村豊郎：豚血液由来ヘム鉄濃縮物のラットにおける生体利用性。日畜会報, 63, 1195-1202. 1992.
- 8) Mirna, A., Schütz, G.: Verfahren zur gleichzeitigen Bestimmung des Pökelfarbstoffes sowie von Nitrit und Nitrat in Fleischzeugnissen. *Fleischwirtschaft*, 71, 1209-1212. 1974.