

## 牛肉の色調とメトミオグロビン還元活性について

関川 三男, 部田 圭一, 三上 正幸, 三浦 弘之  
帯広畜産大学, 帯広市 080

## Relationship between color appearance and metmyoglobin reductase activity on beef

M. SEKIKAWA, K. TORITA, M. MIKAMI and H. MIURA

Department of Bioresource Chemistry, Obihiro University of  
Agriculture and Veterinary Medicine, Obihiro 080

キーワード：牛肉, 熟成, 色調, メトミオグロビン還元酵素

Key words : beef, meat conditioning, hunter color values, metmyoglobin reductase

## 要 約

ホルスタイン種去勢肥育牛 (19 カ月齢) 3 頭から得られた腰最長筋, 胸最長筋, 大腰筋, 大腿四頭筋, 下腿三頭筋, 腹横筋, 胸骨下顎筋および横隔膜を用いて, 色調とメトミオグロビン (メト Mb) 還元活性との関係を検討した。色調値と pH は, と殺後, 2 および 7 日に測定した。メト Mb 還元活性は, 供試筋の中では下腿三頭筋が最大で大腰筋が最も低い値を示した。この活性値と pH および Mb 含量とは正の, 2 日目の色調値の  $a^*$  および  $b^*$  とは負の, それぞれ有意な相関係数が得られた。しかし, 色調値の 7 日目との相関は有意ではなかった。これらの結果から, 色調値の 2 日目から 7 日目への変化, すなわち色調の安定性とメト Mb 還元活性との関連性が注目された。

## 緒 言

一般に, 消費者は食肉を購入する際に, 外観, 特に色調から品質の良否を推測することが多い。このため小売を含めた生産者側では, 食肉の色調を出来る限り良好に保つ工夫や努力が払われてきた。食肉の色調は, 主にミオグロビン誘導体の構成比率に依存し, 消費者から敬遠されるのはメトミオグロビン (メト Mb) の蓄積による茶褐色系の色調である。メト Mb は, ヘム鉄が 2 価から 3 価へ酸化されて分子状酸素との結合能を失ったものである。このため, 生体の筋肉ではメト Mb を還元するシステムが存在し, この生化学的な本体もほぼ明らかにされている (Arihara et al.; 1989)。また, 食肉においてもメト Mb 還元活性が発現して嫌氣的包装により色調が改善されることや, あるいは筋肉

部位によってメト Mb 還元活性に差があることなどが報告されている (Madhavi and Carpenter; 1993)。しかし, 牛肉における色調の安定性とメト Mb 還元活性との関係は不明の点も多い。そこで, 今回は牛肉を用いて色調の経日的な変化とメトミオグロビン還元活性との関係を, 同一個体から得られた 8 つの筋肉部位を用いて比較検討した。

## 方 法

試料には, ホルスタイン種去勢肥育牛 (19 カ月齢) 3 頭から得られた腰最長筋, 胸最長筋, 大腰筋, 大腿四頭筋, 下腿三頭筋, 腹横筋, 胸骨下顎筋および横隔膜を用いた。pH および色調値は, と殺後, 2 および 7 日目 (貯蔵温度  $4 \pm 1^\circ\text{C}$ ) に測定した。pH は, 各試料から脂肪および筋膜をできるかぎり除いた赤身 5.0 g に蒸留水 20.0 ml を加え氷水浴中で均質化 (ヒスコトロン; 最高回転数で 1 分間) し, pH メーター (TOA HM-40 S) を用いて測定した。色調の測定は, 分光測色計 (ミノルタ CM-1000) を用いて,  $L^*$ ,  $a^*$  および  $b^*$  値を求めた。メト Mb 還元活性は, Reddy and Carpenter (1991) の方法を若干改変し測定した。すなわち, と殺後 2 日目に凍結 ( $-30^\circ\text{C}$ ) した試料を冷蔵庫内で解凍し, 赤身部分 5.0 g にリン酸緩衝液 (2.0 mM, pH 7.0) 25.0 ml を加え, 氷水浴中で均質化 (ヒスコトロン; 最高回転数で 1 分間) し, これを遠心分離して ( $4^\circ\text{C}$ , 25,000 xg, 30 分) 上澄液を口過した。得られた口液に, 525 nm の吸光度から計算した Mb 含有量の 2 倍量 (モル比) のフェリシアン化カリウムを加え約 20 分間攪拌した。この溶液をリン酸緩衝液 (2.0 mM, pH 7.0) に対して透析 ( $4^\circ\text{C}$ , 24 時間) し, 25 ml に定容して粗酵素液とした。基質溶液は馬心筋 Mb (0.75 mM, 0.2 ml), EDTA (5.0 mM, 0.1 ml), クエン酸

緩衝液 (50.0 mM, pH 5.7, 0.1 ml), フェロシアン化カリ (3.0 mM, 0.1 ml), 蒸留水 (0.2 ml) を含み, これに筋肉抽出液 (0.1 ml) および NADH (2.0 mM, 0.2 ml) を加え反応 (30°C) を開始させ, 580 nm の吸光度 (日本分光 Ubest-50) を反応開始時から 1 分毎に測定した。活性は, 30 分間での吸光度の最大値 (通常 30 分後) と開始時の値の差を生肉 1.0 g 当たり換算して表した。

分散分析および平均値の多重比較 (Duncan) は, Statistical Analysis System (SAS) の GLM (SAS; 1985) を用いて行った。

### 結果および考察

家畜の筋肉は, と殺後, 複雑な生化学的変化を経て食肉となる。pH は, 食肉の生化学的状態を良く反映するので重要な測定項目である。今回, 用いた試料の 7 日目の pH (Table 1) は, 横隔膜で比較的高い値を示したが, 全て 5.5 から 5.9 の範囲にあり, ほぼ正常な取扱いを受けた試料と考えられる。横隔膜の pH が比較的高いことは既に指摘されている (Sekikawa et al., 1993)。

供試筋におけるメト Mb 還元活性, Mb 含有量および色調値の筋肉部位別の平均値を Table 2 に示したが, 分散分析の結果, 全ての項目で個体差は有意ではないが, 部位間差は有意であった (5%)。Mb 含有量の平均値は, 今回用いた供試筋において約 4.6 から 6.2 (mg/g) の範囲にあり, これまでに報告された値と大きな差はない (細野, 鈴木; 1994)。

今回, メト Mb 還元活性の測定は, と殺後 2 日目の試料を凍結し分析時に解凍して行った。このことは, Reddy and Carpenter (1991) がメト Mb 還元活性は凍結によりほとんど影響されないと報告していることや, 我々が胸最長筋と大腰筋を用いて, 凍結の有無およびと殺後 2 日目と 7 日目の活性を測定し比較した所, 大きな差はなかったことによる。

メト Mb 還元活性の平均値は, 下腿三頭筋が最大で, 大腰筋が最も低い値であり, 腰最長筋, 胸最長筋, 腹横筋および胸骨下顎筋は平均値が約 1.0 で中間的な値を示した。Reddy and Carpenter (1991) は, 大腿筋膜張筋, 胸最長筋, 大殿筋, 横隔膜, 半膜様筋, 大腰筋のメト Mb 還元活性を分析し, この順序で低下すると報告している。この結果と本実験とは, 用いた筋肉が一部異なるので, 直接, 比較することはできないが, 大腰筋は胸最長筋をはじめ他の筋肉よりもメト Mb 還元活性が低いことを示している。このことは, 肉眼的に大腰筋の方が胸最長筋よりも色調の安定性が低いとされていることに一致する傾向で, さらに同一個体内の筋肉間でメト Mb 還元活性には差のあることを示す。

色調値の L\*, a\* および b\* は, それぞれ明度, 赤色度および黄色度を表す 3 次元座標値である。供試筋の貯蔵日数別の色調値 (平均値) は Table 2 に示した通り, 各色調値の最大値は, L\* では横隔膜の 7 日目, a\* および b\* ではいずれも大腰筋の 2 日目の値である。色調値の経日的変化は, L\* および b\* よりも a\* において著しい。すなわち, と殺後 2 日目と 7 日目の色調値の差の平均値を供試 8 筋肉別に求めると, L\* では 1.2, b\* では 1.4, a\* では 3.4 であった。また, この色調値の差の最大値は, L\* では 3.6, b\* では 4.0, a\* では 8.5 であり, これらはいずれも大腰筋でのものである。このように大腰筋は, 供試筋の中で色調値の変化が大きく, メト Mb 還元活性が最も低い。このことは, メト Mb 還元活性と色調値の変化との関連性を示唆する。そこで, 供試 8 筋肉を込みにしてメト Mb 還元活性と色調値等との相関係数を求めた (Table 3)。相関係数の絶対値で最も大きいのは, と殺後 2 日目の pH とのものである。供試筋のと殺後 2 日目の pH の範囲 (平均値) は, 5.52 (腹横筋) から 5.92 (横隔膜) で比較的狭いが, これとメト Mb 還元活性が正の相関を示した。今回, メト Mb 還元活性の測定では緩衝液

Table 1 pH values on 8 muscle samples during storage

	2 days*		7 days	
	mean	SD	mean	SD
1. <i>M. longissimus thoracis</i>	5.57 <sup>bc</sup>	0.07	5.44 <sup>cd</sup>	0.03
2. <i>M. longissimus lumborum</i>	5.76 <sup>abc</sup>	0.19	5.42 <sup>d</sup>	0.04
3. <i>M. psoas major</i>	5.66 <sup>abc</sup>	0.12	4.49 <sup>bcd</sup>	0.05
4. <i>M. quadriceps femoris</i>	5.68 <sup>abc</sup>	0.23	5.50 <sup>bcd</sup>	0.05
5. <i>M. triceps surae</i>	5.89 <sup>ab</sup>	0.24	5.57 <sup>b</sup>	0.10
6. <i>M. sternomandibularis</i>	5.75 <sup>abc</sup>	0.10	5.53 <sup>bc</sup>	0.08
7. <i>M. transversus abdominis</i>	5.52 <sup>c</sup>	0.08	5.42 <sup>d</sup>	0.03
8. Diaphragma	5.92 <sup>a</sup>	0.26	5.75 <sup>a</sup>	0.05

\*: days after postmortem

<sup>a-d</sup>: means with same letter are not significantly different

Table 2 Mean (SE) of metmyoglobin reducing activity (MRA), myoglobin content (Mb), and color value on 8 muscle samples

	1*	2	3	4	5	6	7	8
MRA	0.94 <sup>bc</sup> 0.10	0.95 <sup>bc</sup> 0.12	0.57 <sup>c</sup> 0.05	0.77 <sup>bc</sup> 0.05	1.49 <sup>a</sup> 0.12	1.07 <sup>b</sup> 0.10	0.93 <sup>bc</sup> 0.03	1.23 <sup>ab</sup> 0.27
Mb (mg/g)	4.92 <sup>cd</sup> 0.09	5.10 <sup>bc</sup> 0.06	4.89 <sup>cd</sup> 0.09	5.37 <sup>b</sup> 0.09	5.97 <sup>a</sup> 0.07	5.82 <sup>a</sup> 0.01	4.61 <sup>d</sup> 0.18	6.17 <sup>a</sup> 0.24
colour values								
L*2	40.3 <sup>c</sup> 0.9	41.8 <sup>bc</sup> 1.0	41.6 <sup>bc</sup> 0.1	43.1 <sup>ab</sup> 1.3	42.7 <sup>ab</sup> 1.0	42.8 <sup>ab</sup> 0.1	44.3 <sup>a</sup> 0.1	45.0 <sup>a</sup> 0.3
L*7	41.2 <sup>c</sup> 1.2	42.2 <sup>bc</sup> 1.2	45.2 <sup>a</sup> 0.8	43.8 <sup>abc</sup> 0.7	43.7 <sup>abc</sup> 0.5	44.1 <sup>ab</sup> 1.1	42.9 <sup>abc</sup> 0.6	45.3 <sup>a</sup> 0.2
a* 2	12.9 <sup>b</sup> 0.7	14.0 <sup>b</sup> 0.3	17.5 <sup>a</sup> 1.1	14.9 <sup>ab</sup> 1.1	14.5 <sup>ab</sup> 0.6	13.5 <sup>b</sup> 1.2	13.4 <sup>b</sup> 1.4	12.0 <sup>b</sup> 1.2
a* 7	12.0 <sup>ab</sup> 0.1	13.6 <sup>a</sup> 1.5	9.0 <sup>bc</sup> 0.6	11.5 <sup>abc</sup> 1.0	8.8 <sup>c</sup> 0.6	9.8 <sup>bc</sup> 1.2	11.9 <sup>abc</sup> 1.0	9.2 <sup>bc</sup> 0.3
b* 2	9.0 <sup>b</sup> 0.6	9.9 <sup>b</sup> 0.2	13.0 <sup>a</sup> 0.4	10.5 <sup>b</sup> 0.7	10.1 <sup>b</sup> 1.3	9.3 <sup>b</sup> 0.9	8.9 <sup>b</sup> 0.2	8.4 <sup>b</sup> 0.9
b* 7	8.5 <sup>abc</sup> 0.3	10.9 <sup>a</sup> 1.2	9.0 <sup>abc</sup> 0.2	10.3 <sup>ab</sup> 0.2	7.0 <sup>c</sup> 1.0	8.4 <sup>abc</sup> 1.1	7.8 <sup>bc</sup> 1.5	8.0 <sup>bc</sup> 0.2

\*: Nos.1-8 indicate muscle names referred as Table 1  
<sup>a-d</sup>: means with same letter are not significantly different

を用いているので反応液の pH はほぼ等しく、この有意な相関は、試料自体の pH とメト Mb 還元活性が関連することを示している。pH の低下速度は、生体における個々の筋線維における単収縮の持続時間や代謝の相違によって異なり、これらはミオグロビンの含有量、さらには死後硬直あるいは熟成の進行状況と関連する (Chrystall and Devine ; 1985)。牛肉においては、と殺直後から約 48 時間の間に死後硬直および解硬初期へ移行するが、この時期には、細胞機能の崩壊やタンパク質の変性など、種々の要因がメト Mb 還元活性へ影響することが予想される。このため、食肉としての牛肉のメト Mb 還元活性を分析するには、今回示したようにと殺後 2 日以上経過した試料が望ましいと考え

Table 3 Correlation coefficients between metmyoglobin reducing activity and some other measurements

	2day	7day
pH	0.67 <sup>#</sup>	0.44 <sup>#</sup>
L*	0.16	-0.10
a*	-0.50 <sup>#</sup>	-0.17
b*	-0.49 <sup>#</sup>	-0.29
Mb	0.53 <sup>#</sup>	

# : P<0.05 (df=22, r=0.404)

られる。また、Arihara et al. (1989) によれば骨格筋のメト Mb 還元系の本体は、NADH-チトクロム b 5 還元酵素であり、その至適 pH は、6.5 とされている。

色調値とメト Mb 還元活性との相関では、と殺後 2 日目の a\* および b\* において有意な負の相関係数が得られた。a\* および b\* は、彩度を規定するもので、通常の牛肉においては、値が高い方が肉眼的に色調が良い。しかし、得られた相関は負であり、活性の高いものは彩度が低い傾向を示す。この要因は明らかではないが、メト Mb 還元活性が低い筋肉では、還元型 Mb に分子状酸素が容易に結合するのかもしれない。Mb がメト化する際には、通常の雰囲気では紫赤色の還元型から鮮赤色の酸素型を経て、これに続いて茶褐色系のメト Mb が形成される。今回の試料は、と殺後、約 48 時間目に搬入され、切断面を空气中に露出させてから約 3 時間後に 2 日目の色調を測定したので、このため酸素化に要する時間に部位差が表れた可能性も考えられる。一方、7 日目の色調値の相関は、2 日目と比べて低く、全て有意ではない。すなわち、7 日目の色調値はメト Mb 還元活性と独立した傾向を示し、さらに平均値の範囲が 2 日目よりも狭いため、色調値の経日的変化が少ない筋肉は、メト Mb 還元活性が高いことを示唆するものと考えられる。

食肉の色調は、Mb の含有量やその誘導体の存在比

に大きく依存するが、この他に pH や温度あるいは酸素分圧等、種々の要因に影響される。pH の大きな変化は L\* に影響し、これは Mb の誘導体を変化させるばかりではなく、むしろ筋肉自体の素地へ影響し光散乱性を増すことが示されている(泉本, 川瀬; 1987)。また、生体時、個々の筋細胞は収縮や代謝の様相が一樣ではないので、Mb の含有量やと殺後の pH の低下速度等に差が生じる。これらの要因は、全て互いに影響を及ぼし合い食肉の色調が発現するものと考えられるが、この中でメト Mb 還元活性は最も重要な因子の一つであり、今後、さらに詳細な検討が必要である。

## 文 献

- Arihara, K., M. Ito and Y. Kondo (1991), Identification of bovine skeletal muscle metmyoglobin reductase as an NADH-cytochrome b5 reductase. *J. Zootech. Sci.*, **60**: 46-56.
- Chrystall, B. B. and C. E. Devine (1985), Electrical stimulation: Its early development in New Zealand. in *Advances in Meat Research. Electrical Stimulation*. pp 73-115.
- 細野昭義, 鈴木敦士(1994), 畜産加工, 朝倉書店, pp 63-65.
- 泉本勝利, 川瀬慎二(1987), 畜肉の色調現象におよぼす pH の影響, 帯畜大研報 I, **15**: 203-209.
- Madhavi, D. L. and C. E. Carpenter (1993), Aging and processing affect color, metmyoglobin reductase and oxygen consumption of beef muscles. *J. Food Sci.*, **58**: 939-942.
- SAS Institute Inc. (1985), *SAS User's Guide: Statistics*, Ver. 5 ed. SAS Institute Inc., Cary.
- Sekikawa, M., M. Mikami and H. Miura (1993), Effects of electrical stimulation on meat colour, structure and amino acid content. *Proc. 1 st Asia and Pacific Congress on Meat Sci. and Techno.*, Beijing, China, p.183-193.
- Reddy, I. M. and C. E. Carpenter (1991), Determination of metmyoglobin reductase activity in bovine skeletal muscles. *J. Food Sci.*, **56**: 1161-1164.