

助成番号 0918

## ミネラル塩類添加食品保存中の香気成分組成変化

小竹 佐知子

日本獣医生命科学大学応用生命科学部食品科学科

**概要** 【目的】 食品塩蔵加工において欠かすことのできない“塩類”の機能を明らかにすることを目的として、本研究では塩蔵加工食品の中でも発色剤として使用されている亜硝酸塩の添加が特徴的なハムを取り上げた。亜硝酸塩の使用の有無が、冷蔵保存期間中のハム製品の品質にどのように影響するかを、香気成分組成に着目して検討した。

【方法】 豚ロース肉を、亜硝酸塩添加および無添加液にて1週間塩漬し、巻き締め、結紮後、加熱殺菌、冷却したものをそれぞれ、塩漬ハム試料(cured 試料)および無塩漬ハム試料(non-cured 試料)とし、0日～14日間保存したものを供試した。また、市販ハムの亜硝酸塩添加製品ハモンセラノと無添加製品パルマハムも試料とし、7日～90日間保存したものを供試した。各試料の水分活性、亜硝酸根濃度、チオバルビツール酸値(以下、TBA 値)、色調を測定し、試料香気を solvent assisted flavor evaporation 法により抽出して、ガスクロマトグラフマスマスペクトロメーター分析を行った。

【結果および考察】 酸化度を示すチオバルビツール酸価は、cured 試料では冷蔵保存中低く抑えられていたのに対し、non-cured 試料では漸次増加し、亜硝酸塩の抗酸化機能が認められた。酸化の進行した non-cured 試料では、脂肪の酸化分解物と考えられるアルデヒド類の pentanal、hexanal の保存中の増加が顕著であった。市販試料でも、亜硝酸塩添加製品のハモンセラノのチオバルビツール酸価は無添加のパルマハムに比べて小さく、ここでも亜硝酸塩の抗酸化機能が認められた。市販試料では、亜硝酸塩無添加のパルマハム保存中に hexanal の他に、butanoic acid や hexanoic acid といった酸類の増加も顕著に見られた。

## 1. 研究目的

塩蔵食品として広く食されているハム製品は、食塩の他に発色剤として亜硝酸塩・硝酸塩といったミネラル塩を用いて塩漬製造されるのが一般的である。食品衛生法では、亜硝酸ナトリウム、硝酸ナトリウム、および硝酸カリウムを発色剤として定めており、最終製品における残存亜硝酸根( $\text{NO}_2^-$ )濃度は70 ppmが上限となっている。ハム独特のピンク色は、これらミネラル塩由来の一酸化窒素が肉色素ミオグロビンと結合し、ニトロシルミオグロビンを経た後に加熱されることにより、ニトロシルヘモクロムが生成して呈することが知られている(西邑隆徳, 2007)。また、発色剤は塩漬中に発生する恐れのあるグラム陽性嫌気性有芽胞菌ボツリヌス菌(*Clostridium botulinum*)の生育を抑制する作用も知られている(坂田亮一, 2007)。さらに、これまでの本助成研究において、亜硝酸ナトリウムを添加しないで調

製した無塩漬ハムは、調製直後においてhexanalをはじめとするアルデヒド類の含有量の高いことが確認された。無塩漬ハムは酸化度の指標となるチオバルビツール酸価も高く、脂肪の酸化分解物としてアルデヒド類が生成したものと考えられ、亜硝酸ナトリウムの抗酸化効果が示唆された。そこで、本研究では、亜硝酸ナトリウム添加塩漬および無添加塩漬により調製したハム製品を冷蔵保存し、亜硝酸ナトリウムの有無による保存中の香気成分組成への影響を検討することを目的とした。また、市販されているハム製品の中で、亜硝酸塩を添加して製造するスペインのハム(ハモンセラノ, Jamón Serrano)と添加しないイタリアのハム(パルマハム, Prosciutto di Parma)保存中の香気成分組成変化についても検討した。香気成分抽出には、高温加熱工程を含まない solvent assisted flavor evaporation(以下、SAFE, Engel, W. et al.(1999))を用いて、

香氣成分の加熱変性が生じないように分析した。

## 2. 研究方法

### 2.1 試料

#### 2.1.1 調製ハム

試料原材料である豚肉は、武蔵野市内の肉専門店より調製当日に購入したものをを用いた。0.8 kg の豚ロース肉 (*Musculus longissimus dorsi*) 4 ブロックに対し、Table 1 に示す材料で1週間塩漬し(4°C)、巻き締め、結紮後、75°C 湯中にてブロック肉中心部温度が 63°C に到達後 30 分間加熱殺菌し、その後冷却したものを塩漬ハム試料(cured 試料)とした。また、亜硝酸ナトリウム無添加液にて同様に調製したものを無塩漬ハム試料(non-cured 試料)とした。両試料を 4°C の冷蔵室にて 0 日、7 日、14 日間保存して実験に供試した。

Table 1. Ingredients of samples

	Non-cured	Cured
Pork loin	0.8 kg x 4 pieces	0.8 kg x 4 pieces
Water	3.2 kg	3.2 kg
NaCl	8.0%	8.0%
Sucrose	1.5%	1.5%
Polyphosphate	0.5%	0.5%
NaNO <sub>2</sub>	—	625 ppm

#### 2.1.2 市販ハム

市販ハム製品として、亜硝酸塩を添加製造しているスペインのハム(ハモンセラノ, Jamón Serrano)と添加していないイタリアのハム(パルマハム, Prosciutto di Parma)を選んだ(いずれもトップトレーディング株式会社, 東京都)。これら「生ハム」と称される輸入ハム製品は、Fig. 1 に示すように、原産地で1年~1.5年かけて塩漬・熟成された物を日本へ輸送後、数回に分けてスライス真空包装した製品が賞味期限 90 日で販売される。そこで本研究では、スペインおよびイタリアから日本に輸入された直後のモモブロックからスライス真空包装した製品を入手し、4°C の冷蔵室にて 7 日、30 日、60 日、90 日間保存したものを実験に供した。スライス真空包装は両試料とも 200 g とし、スライス枚数は 10 枚~12 枚であった。

#### 2.2 水分活性・亜硝酸根濃度・酸化度・色調測定

調製した cured 試料および non-cured 試料より Fig. 2 に示す S1 の部位を採取し、亜硝酸根濃度(cured 試料のみ測定, ジアゾ化法)、酸化度(チオバルビツール酸価, 以下 TBA)、色調(ZE-2000 による L、a、b, 日本電色工業株式会社, 東京)を測定した。亜硝酸根濃度および酸化度については各試料につき 3 回繰り返し測定して平均値を求め、色調は試料部位より 4 箇所を測定して平均値を求め、試料間の有意差検定はチューキーの全群比較法により行った。

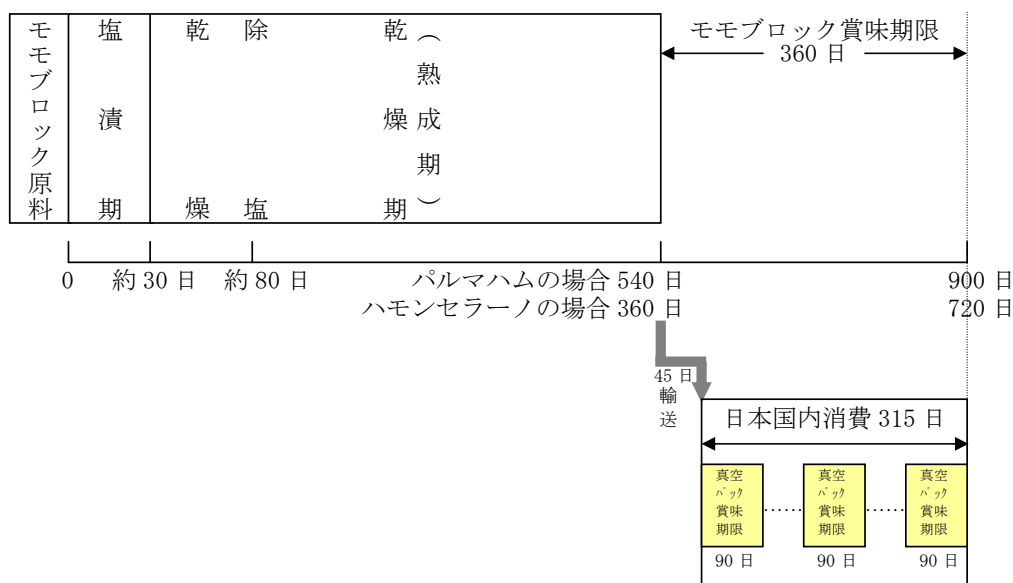


Fig. 1. 生ハムの製造工程の概略と日本国内での消費状況

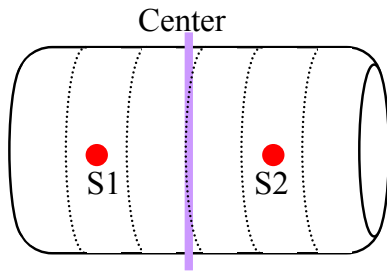


Fig. 2. Sample positions for measurements

市販試料については水分活性 (Water Activity Meter EZ-100, フロイント産業株式会社, 東京)、酸化度 (TBA)、色調を上記に準じて測定した。水分活性、酸化度については各試料につき3回繰り返し測定して平均値を求め、色調は試料部位より10箇所を測定して平均値を求め、試料間の有意差検定はチューキーの全群比較法により行った。なお、試料によっては、一部青緑色に反射する箇所(切断時の金属接触により生じたと考えられるポリペルジンのよる)がみられたので、この部分は測定からはずした。

### 2. 3 全香気抽出

調製試料 S2 部位 (Fig. 2) および市販試料それぞれ 100 g に同量の脱イオン水を添加し、ホモジナイズ後に試料 2 倍量のジクロロメタンを混合し (1 時間静置)、溶剤溶解成分を抽出した。静置後分液ロートによりジクロロメタン層を採取し、無水硫酸ナトリウムにより 1 時間脱水後濾過して、濾液を蒸留濃縮した後、Fig. 3 に示す香気成分抽出装置 (SAFE) により香気成分を抽出した (Engel, W. *et al.*, 1999)。香気抽出物は 50  $\mu$ L に濃縮後、0.1  $\mu$ L をガスクロマトグラフーマススペクトロメーター (6890GC-5973MSD, Agilent Technologies, Inc., Palo Alto, Ca, USA, 以下 GC-MS) に導入し、カラム (DB-WAX,  $\phi$ 0.25 mm  $\times$  30 m, 膜厚 0.25  $\mu$ m, Agilent Technologies) オープン 40 $^{\circ}$ C にて 3 分間保持  $\rightarrow$  8 $^{\circ}$ C/min にて 25 分昇温  $\rightarrow$  240 $^{\circ}$ C にて 10 分間保持の条件で分析した。SAFE 香気抽出法は香気成分抽出過程において、熱を加えない点が特徴的であり、本実験試料のハムのような冷蔵 $\sim$ 室温で食する食品試料の香気抽出には適したものと考えられている (Engel, W. *et al.*, 1999)。

## 3. 研究結果

### 3. 1 調製ハム

#### 3. 1. 1 亜硝酸根濃度・酸化度・色調変化

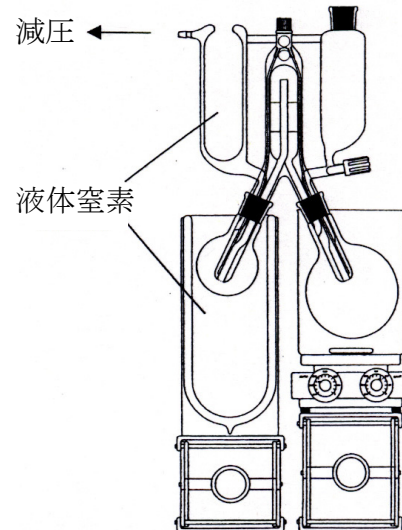


Fig. 3. SAFE apparatus (Engel, W. *et al.*, 1999)

調製した cured 試料および non-cured 試料の亜硝酸根濃度、酸化度および色調の結果を Table 2 に示す。cured 試料中の亜硝酸根濃度は保存中変動がみられ、塩漬中に肉内部に取り込まれたものが保存中に試料内部で拡散移動したことが考えられた。TBA 値は両試料とも保存に伴い増加したが、non-cured 試料における値の方が大きく、その変化の程度も大きかった。すなわち、non-cured 試料では酸化反応の進んでいることが認められ、一方、亜硝酸塩は酸化反応を抑制する効果のあることが認められた。明度 (L 値) は non-cured 試料では保存に伴い減少したが、cured 試料では統計的な変化は認められなかった。a 値 (正の値が大きいほど赤みが強い) は cured 試料の方が non-cured 試料に比べて値が高く、すなわち赤みが強いことが認められた。また、保存中 non-cured 試料では統計的に変化は認められなかったのに対し、cured 試料では減少し、赤みが弱くなっていることが認められた。b 値 (正の値が大きいほど黄色みが強い) は non-cured 試料の方が cured 試料より大きい傾向があり、すなわち黄色みの強いことが認められた。保存中の b 値は両試料とも統計的に変化は認められなかった。

#### 3. 1. 2 香気成分組成変化

調製ハムの抽出香気成分を分析した結果、125 化合物が同定された。豚肉の香気成分としてこれまで報告 (Poligné ら 2002, Ramarathnam ら 1991 および 1993, Shahidi ら 1987) されている分枝脂肪族類、ベンゼン化合

**Table 2.** Properties of prepared samples during storage

			0th day	7th day	14th day
NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> (ppm)		Cured	26.56 ± 0.87 <sup>b</sup>	24.05 ± 0.51 <sup>c</sup>	31.15 ± 0.29 <sup>a</sup>
TBA (-)		Non-cured	0.104 ± 0.008 <sup>c</sup>	0.177 ± 0.019 <sup>b</sup>	0.227 ± 0.002 <sup>a</sup>
		Cured	0.003 ± 0.000 <sup>b</sup>	0.005 ± 0.000 <sup>b</sup>	0.006 ± 0.001 <sup>b</sup>
Color	L	Non-cured	60.75 ± 1.73 <sup>a</sup>	56.14 ± 2.89 <sup>abc</sup>	54.96 ± 2.47 <sup>c</sup>
		Cured	55.58 ± 2.37 <sup>bc</sup>	58.63 ± 1.08 <sup>abc</sup>	60.01 ± 1.14 <sup>ab</sup>
	a	Non-cured	4.23 ± 0.49 <sup>c</sup>	3.83 ± 0.53 <sup>d</sup>	5.14 ± 0.17 <sup>c</sup>
		Cured	9.12 ± 0.50 <sup>a</sup>	6.96 ± 0.80 <sup>b</sup>	6.95 ± 0.75 <sup>b</sup>
	b	Non-cured	7.22 ± 0.23 <sup>a</sup>	5.61 ± 1.75 <sup>ab</sup>	7.14 ± 0.44 <sup>a</sup>
		Cured	3.96 ± 0.45 <sup>b</sup>	4.72 ± 0.36 <sup>b</sup>	4.67 ± 0.98 <sup>b</sup>

Valued indicate mean ± standard deviation. The different small letters in the same measurement indicate significant differences analyzed by Tukey's test at significant level  $p < 0.05$ .

物類は両試料ともに検出された。両試料間で保存中の含量に差のみられたものはアルデヒド類の pentanal と hexanal であり、non-cured 試料での増加が顕著で、保存 14 日試料の hexanal は保存 0 日試料の 600 倍であった。このほか、アルデヒド類の (*E*)-2-nonenal、(*E*)-2-heptenal、(*E,E*)-2,4-Nonadienal、(*E,E*)-2,4-decadienal と酸類の hexanoic acid は non-cured の保存 14 日試料にのみ検出された。

検出香気化合物を主成分分析により解析して固有ベクトル (Fig. 4) を得た結果、cured 試料と non-cured 試料にグループが分かれた。Cured 試料グループでは保存 0 日試料に比べて、保存 7 日試料と保存 14 日試料の 2 者の方が近い関係であった。一方、non-cured 試料グループでは保存 14 日試料に比べて、保存日試料と保存 7 日試料の関係が近かった。検出化合物の主成分得点をみると (Fig. 5)、non-cured 試料に寄与する化合物として hexanal、pentanal、ethanol があげられ、cured 試料に寄与する化合物には toluene、ethylbenzene、*p*-xylene、2-pentanone、*D*-limonene、nonanal、acetone がみられた。

### 3. 2 市販ハム

#### 3. 2. 1 水分活性・酸化度・色調変化

市販ハム各試料の水分活性、酸化度および色調の結果を Table 3 に示す。ハモンセラーノおよびパルマハムと

もに水分活性は 0.90~0.92 の範囲にあり、保存中には変化はみられなかった。TBA 値は亜硝酸塩無添加製品のパルマハムでは 0.092~0.121、添加製品のハモンセラーノでは 0.028~0.068 の範囲にあり、いずれの保存期間においてもパルマハムの方がハモンセラーノよりも大きかった。また、保存中に変動したものの、保存 90 日試料の値は保存 7 日試料に比べると統計的に大きくなっていった。明度 (L 値) はハモンセラーノ試料では保存中に変動はしたものの、保存 90 日試料の値は保存 7 日試料と統計的に差は認められなかった。パルマハムの明度は保存に伴い減少した。赤みを表す a 値は、ハモンセラーノ試料のほうがパルマハム試料に比べて高く、亜硝酸塩添加による発色効果が認められた。黄色みを表す b 値は、ハモンセラーノ試料では保存と共に減少したが、パルマハムでは変化は認められなかった。

#### 3. 2. 2 香気成分組成変化

市販ハムの抽出香気成分を分析した結果、158 化合物が同定された。生ハムの香気成分としてこれまで報告 (Barbieri 1992, Bolzoni ら 1996, Dirinck ら 1997, Flores ら 1997, Hinrichsen ら 1995, Rivas-Cañedo ら 2009, Sabio ら 1998) されているアルコール類の 1-butanol、1-pentanol、1-hexanol、1-penten-3-ol、3-methyl-1-butanol、2-butoxy

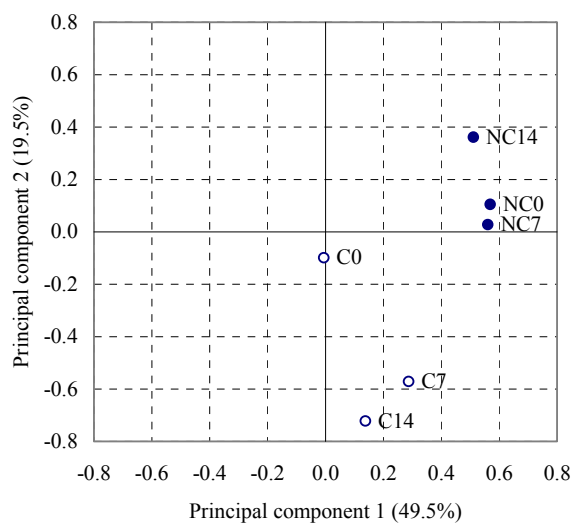


Fig. 4. Eigenvector of principal component analysis

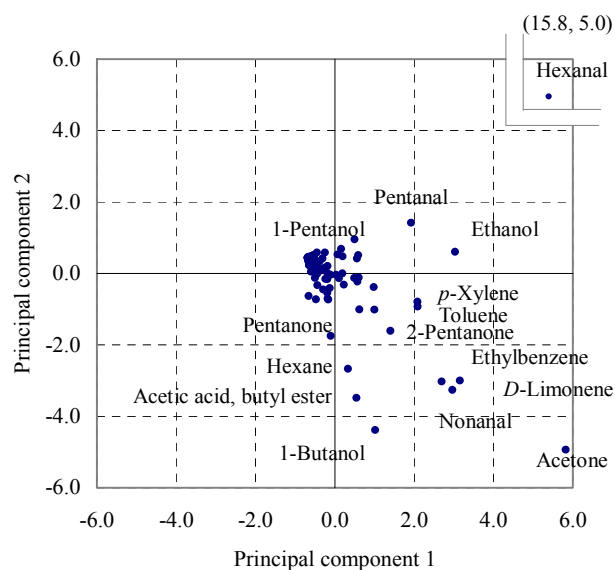


Fig. 5. Principal component score

Table 3. Properties of purchased samples during storage

		7th day	30th day	60th day	90th day	
Jamón Serrano	Aw (-)	0.91 ± 0.01 <sup>a</sup>	0.92 ± 0.01 <sup>a</sup>	0.91 ± 0.01 <sup>a</sup>	0.91 ± 0.01 <sup>a</sup>	
	TBA (-)	0.041 ± 0.004 <sup>a</sup>	0.059 ± 0.017 <sup>ab</sup>	0.028 ± 0.010 <sup>a</sup>	0.068 ± 0.005 <sup>b</sup>	
	Color	L	28.24 ± 3.78 <sup>a</sup>	25.71 ± 1.83 <sup>b</sup>	29.46 ± 3.86 <sup>a</sup>	27.80 ± 2.96 <sup>a</sup>
		a	11.28 ± 2.65 <sup>ab</sup>	12.36 ± 2.69 <sup>a</sup>	9.91 ± 3.41 <sup>ab</sup>	8.19 ± 1.86 <sup>b</sup>
b		8.53 ± 0.88 <sup>a</sup>	7.87 ± 0.94 <sup>ab</sup>	7.67 ± 0.73 <sup>abc</sup>	6.89 ± 0.47 <sup>bc</sup>	
Prosciutto di Parma	Aw (-)	0.91 ± 0.01 <sup>a</sup>	0.91 ± 0.01 <sup>a</sup>	0.91 ± 0.01 <sup>a</sup>	0.90 ± 0.01 <sup>a</sup>	
	TBA (-)	0.099 ± 0.007 <sup>a</sup>	0.107 ± 0.006 <sup>ab</sup>	0.092 ± 0.003 <sup>a</sup>	0.121 ± 0.009 <sup>b</sup>	
	Color	L	31.84 ± 2.04 <sup>a</sup>	31.28 ± 3.46 <sup>ab</sup>	24.68 ± 3.39 <sup>d</sup>	28.30 ± 1.62 <sup>bc</sup>
		a	5.02 ± 1.33 <sup>ab</sup>	4.23 ± 2.76 <sup>b</sup>	6.24 ± 1.64 <sup>ab</sup>	6.76 ± 1.27 <sup>a</sup>
b		6.28 ± 0.79 <sup>a</sup>	6.55 ± 0.70 <sup>a</sup>	5.55 ± 0.80 <sup>a</sup>	5.68 ± 1.95 <sup>a</sup>	

Values indicate mean ± standard deviation. The different small letters in the same line indicate significant differences analyzed by Tukey's test at significant level  $p < 0.05$ .

ethanol、ケトン類の 2,3-butanedione、2-butanone、3-hydroxy-2-butanone、アルデヒド類の hexanal、heptanal、ベンゼン化合物の toluene、ピラジン類の 2,6-dimethyl pyrazine が本分析においても検出された。また、これまで報告がみられなかった benzothiazole、butyrolactone、 $\gamma$ -hexalactone が本試料からは検出された。保存中の両試料間で差のみられたものとしては、亜硝酸添加製造のハモンセラーノには 2,3-butandion、3-hydroxy-2-butanone、1-hydroxy-2-propanone といったケトン類、1-pentanol、1-hexanol などのアルコール類がみられた。また、パルマハムではアルデヒド類の hexanal、酸類の butanoic acid、hexanoic acid が多く認められ、保存中の hexanoic acid の増加が顕著であった。

検出香気化合物を主成分分析により解析して固有ベクトル(Fig. 6)を得た結果、亜硝酸塩添加製造のハモンセラーノ7日保存、30日保存、60日保存、パルマハム7日保存のグループと、ハモンセラーノ90日保存、パルマハム30日保存、60日保存、90日保存のグループに分かれた。検出化合物の主成分得点をみると(Fig. 7)、パルマハムの30日保存、60日保存、90日保存試料には、butanoic acid、hexanoic acid が大きく寄与していた。

#### 4. 考察

亜硝酸塩の有無がハム製品冷蔵保存中の品質に及ぼす影響を検討するため、まず、モデル系試料として亜硝

酸添加(cured)および無添加(non-cured)の試料を調製した(調製試料)。Non-cured 試料では TBA 値の増加から保存中の酸化反応が認められ、これに呼応して脂質からの酸化分解化合物と考えられる香気成分 pentanal、hexanal の含有量が保存期間に伴い増加した。一方の亜硝酸塩添加の cured 試料では、保存期間中の酸化度を示す TBA 値の値は低く抑えられ、亜硝酸塩による抗酸化作用が認められた。本調製試料は塩漬後、63°Cにて加熱殺菌したハムであり、分類としては加熱食肉製品に相当する。そこで、市販製品の非加熱食肉製品を取り上げ、亜硝酸塩添加製品(ハモンセラーノ)と無添加製品(パルマハム)の比較も行った。「生ハム」と称されるこれらの非加熱食肉製品は製造から最終消費までの期間が長く、その保存期間中の品質管理は重要である。亜硝酸塩無添加製品のパルマハムの TBA 値は、添加製品のハモンセラーノより大きく、非加熱食肉製品においても亜硝酸塩による抗酸化作用が認められた。加熱製品と非加熱製品を比較すると、加熱製品の non-cured 試料 14 日保存試料の TBA 値が 0.227 であったのに対し、非加熱製品の亜硝酸塩無添加パルマハムの 90 日保存試料の値は 0.121 と低く、非加熱製品の方が酸化は抑えられていた。非加熱製品の亜硝酸塩無添加パルマハム冷蔵保存中に増加した香気化合物には、hexanal、butanoic acid、hexanoic acid が認められ、脂肪分解物のアルデヒド類のみでなく、酸類の増加が顕著であった。

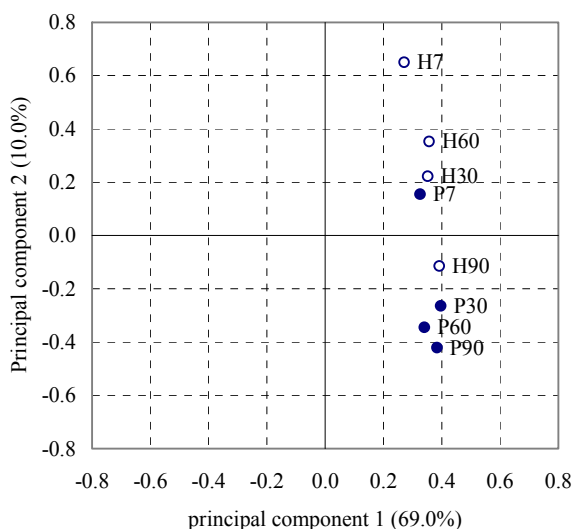


Fig. 6. Eigenvector of principal component analysis

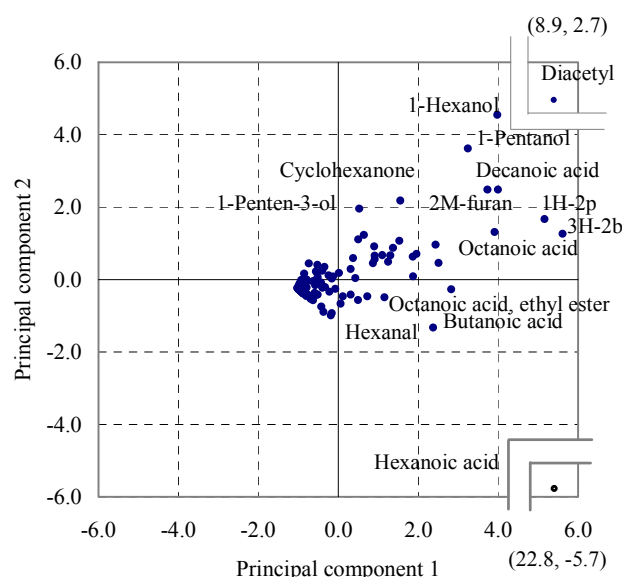


Fig. 7. Principal component score

## 5. 今後の課題

本研究では亜硝酸塩添加および無添加試料として、調製したモデル系試料と市販の試料を用い、いずれの場合も亜硝酸塩添加試料における抗酸化現象を把握した。今後はさらに、亜硝酸塩による抗酸化作用がどのようにして発現されているのか、そのメカニズムを検討する必要があると考えられる。

## 文献

Barbieri, G. (1992): *J. Agric. Food Chem.*, 40, 2389-2394  
 Bolzoni, L., Barbieri, G., Virgili, R. (1996): *Meat Science*, 43, 301-310  
 Dirinck, P., Van Opstaele, F., Vandendriessche, F. (1997): *Food Chemistry*, 59, 511-521  
 Engel, W., Bahr, W. and Schieberle, P. (1999): *Eur. Food Res. Technol.*, 209, 237-241  
 Flores, M., Grimm, C.C., Toldrá, F., Spanier, A.M. (1997): *J. Agric. Food Chem.*, 45, 2178-2186

Hinrichsen, L.L., Pedersen, S.B.(1995): *J. Agric. Food Chem.*, 43, 2932-2940  
 西邑隆徳(2007): 阿久澤良造, 坂田亮一, 島崎敬一, 服部昭仁編著「乳肉卵の機能と科学」, pp.233-237  
 Poligné, I., Colligna, A., and Trystram, G. (2002): *J. Food Sci.*, 67, 2976-2986  
 Ramarathnam, N., Rubin, L. J., and Diosady, L. L.(1991): *J. Agric. Food Chem.* 39, 344-350  
 Ramarathnam, N., Rubin, L. J., and Diosady, L. L.(1993): *J. Agric. Food Chem.* 41, 933-938  
 Rivas-Cañedo, A., Fernández-García, E., Nuñez, M. (2009): *Meat Science*, 82, 162-169  
 Sabio, E., Vidal-Aragón, M.C., Bernalte, M.J., Gata, J.L. (1998): *Food Chemistry*, 61, 493-503  
 坂田亮一(2007): 阿久澤良造, 坂田亮一, 島崎敬一, 服部昭仁編著「乳肉卵の機能と科学」, pp.240  
 Shahidi, F., Yun, J., Rubin, L.J., and Wood, D. F. (1987): *Can. Inst. Food Sci. Technol. J.*, 20, 104-106

No. 0918

## Changes in Volatile Compounds of Mineral Added Food during Storage

Sachiko Odake

Nippon Veterinary and Life Science University, Faculty of Applied Life Science

### Summary

Volatile compounds of loin ham samples were measured to investigate how nitrite influenced on the flavor profile during storage (0 - 14 days). Loin pork meats were cured by using a solution of sodium chloride, sucrose, sodium polyphosphate and sodium nitrite (hereafter referred to as cured sample), then rolled with strings, boiled at 75°C for 30 minutes after the center of the meat reached at 63°C, and then cooled down. Non-cured samples were prepared as the same procedure without sodium nitrite. In addition, purchased products with sodium nitrite (Jamón Serrano) and without one (Prosciutto di Parma) were also analyzed after stored for 7, 30, 60 and 90 days.

Thiobarbituric acid values of the cured samples were suppressed during storage, and those of non-cured samples increased during storage. This indicated that sodium nitrite played as an antioxidant compound during storage. Volatile compounds of samples were extracted by solvent assisted flavor assisted method, less affecting of high temperature heating. Pentanal and hexanal, which were considered to be derived from the oxidation-reaction of fat, increased during storage in the non-cured samples. Antioxidant effect of nitrite was also observed in purchased samples, since thiobarbituric acid values of Jamón Serrano were less during storage than those of Prosciutto di Parma. Hexanal, butanoic acid and hexanoic acid increased after 90 day-storage in Prosciutto di Parma. The sodium nitrite was concluded as an important ingredient for anti-oxidation in cured products.