

-平成21年 5月13日現在

研究種目：基盤研究 (C)
 研究期間：2007-2008
 課題番号：19580239
 研究課題名 (和文) 魚肉貯蔵・加工中の4-ヒドロキシアルケナール生成機構，特に畜肉のそれとの相違
 研究課題名 (英文) Formation mechanisms of 4-hydroxyalkenal in stored and processed fish meat, especially the difference from those of meat
 研究代表者
 境 正 (SAKAI TADASHI)
 宮崎大学・農学部・教授
 研究者番号：20112766

研究成果の概要：

NaCl添加後ボイルした魚肉の4-ヒドロキシヘキセナール (HHE) 生成には影響を及ぼさなかったが、畜肉4-ヒドロキシノネナール (HNE) 生成を促進した。BHTおよび α -トコフェロール添加はHHEおよびHNE生成に影響を及ぼさなかった。 β -カロチン添加は魚肉HHEの生成を促進し、畜肉HNEの生成を抑制した。明確ではないが、カテキン添加およびマイクロウェーブ加熱はHHE生成を抑制し、HNE生成を抑制する傾向を示した。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	2,900,000	870,000	3,770,000
2008年度	800,000	240,000	1,040,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,700,000	1,110,000	4,810,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：水産学・水産化学

キーワード：4-ヒドロキシヘキセナール，4-ヒドロキシノネナール，魚肉，畜肉，マロンアルデヒド，脂質過酸化

1. 研究開始当初の背景

良質で安全なタンパク質を供給することは、健康な食生活を送るために緊急な課題である。最も重要なのは動物性タンパク質の品質低下を引き起こす最大の要因は、脂質過酸化である。この脂質過酸化により多くの有毒アルデヒドが生じる。その中でも近年注目を浴びているのが4-ヒドロキシアルケナール (HAN) である。このアルデヒドは4位に水酸基の入った反応性に富む α - β 不飽和アルデヒドで、種々の疾病，例えばガンやアルツハイマー症

の発症要因である。その高度不飽和脂肪酸組成から、脂質過酸化の過程でn-3脂肪酸が主である魚肉では4-ヒドロキシヘキセナール (HHE) をn-6脂肪酸が主である畜肉では4-ヒドロキシノネナール (HNE) を生じる。これまでの研究結果より、魚肉中のHHEの生成機構が畜肉中のHNEの生成機構と異なっていることが明らかとなった。

2. 研究の目的

Esterbauer らの研究成果 (Free Radical Biol. Med., 11, 81-128 1991) によると, *in*

vitro における n-6 由来の HNE と n-3 由来の HHE の生成機構は同じであるにもかかわらず、貯蔵・加工中での、両アルデヒドの *in vivo* での生成機構が魚肉と畜肉で異なっている理由については全く分かっていない。その理由として、魚肉中の HHE 生成機構に関する研究は著者らの行っている一連の研究の他にいくつかあるだけであり、畜肉中の HNE 生成機構に関する研究は著者らの行っている一連の研究以外にほとんど無いことが上げられる。これまでの一連の研究結果で、水・畜産スモーク食品中に HAN が検出されたこと、水産練り製品の一部に多量の HHE が検出された。また、ラーメン店のチャーシュー中にも多量の HNE が検出された店がいくつか存在した。以上の結果は食品衛生上問題である。さらに、病院食としてはんぺんが使用されていること、老人食として畜肉を柔らかく加工したソフトフーズが使用されていることなど、体力の弱った人々への体力維持・回復のための食品として、魚肉および畜肉加工品が多く用いられてきており、そのような人達のための食品製造過程において、HHE や HNE など有毒なアルデヒドの生成をできるだけ抑制する必要がある。したがって、貯蔵・加工中における魚肉の HHE 生成機構と畜肉の HNE 機構が異なる原因を明らかにすることにより、有毒な両アルデヒドの生成を抑制し、安全で良質な動物性タンパク質、特に魚肉の供給に寄与することが本研究の目的である。

3. 研究の方法

試料として、魚肉はブリおよびタイ肉を畜肉としては豚肉を用いた。また、一般的に用いられている脂質過酸化の指標であるマロンアルデヒド(MA)含量についても測定した。

(1) 貯蔵・加工時における魚肉および畜肉中の MA と HAN の生成時期および生成速度の検討

①BHT 添加実験

ブリ、マダイおよびブタ肉に合成抗酸化剤である BHT を 0, 0.1, 0.5 および 1% になるように添加後、0℃にて貯蔵し、0, 3 および 7 日目にその中の HHE または HNE および MA 含量を測定した。

②β-カロテン添加試験

β-カロテンを 0, 0.1, 0.3 および 0.5% 添加後、0℃にて貯蔵し、BHT 添加試験と同じ間隔で、HHE または HNE 含量を測定した。

③α-トコフェロール添加試験

α-トコフェロールを所定の濃度添加後、0℃にて貯蔵し、HHE または HNE 含量を測定した。

(2) HHE および HNE の生成に及ぼす加熱調理の影響

①ボイル実験

ブタおよびブリ肉をミンチにした後、5 グラムの玉にした後、熱湯中で加熱後、0℃にて貯蔵した後、加熱前、加熱直後、1, 2 および 3 日後の HHE または HNE と MA 含量を測定した。また、水産練り製品製造過程における HHE および MA 含量の変動についても測定した。

②マイクロウェーブ加熱 (所謂電子レンジ) による調理

ミンチにした肉を 10 グラムの玉にした後、電子レンジにて 20 秒間の時間加熱する。加熱前、加熱直後の HHE, HNE および MA 含量を測定した。

(3) その他の実験

①Fe イオンをトラップすることが明らかになったカテキンおよび EDTA を魚肉および畜肉に添加後、0, 3 および 7 日目にその中の HHE または HNE および MA 含量を測定した。

②両アルデヒドの *in vivo* での生成機構が魚肉と畜肉で異なっている理由についての新たな知見を得る可能性が強く示唆されたので、魚肉および畜肉発酵食品中の HAN についても測定した。

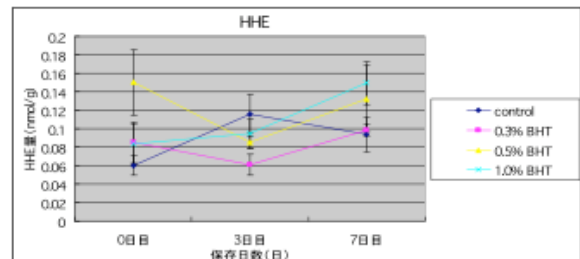
4. 研究成果

(1) 貯蔵・加工時における魚肉および畜肉中の MA と HAN の生成時期および生成速度の検討

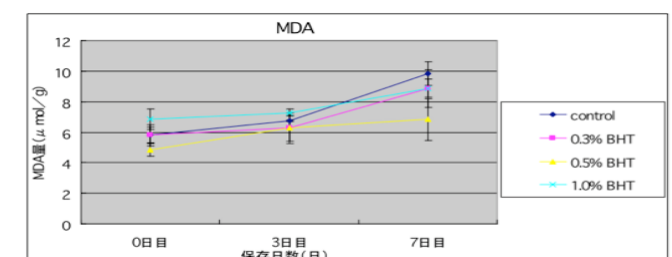
①BHT 添加実験

ブリ肉中の HHE 含量の経時変化を以下の図に示した。

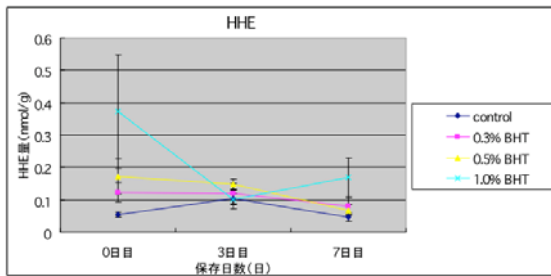
この図から明らかなように 0.3%BHT 添加区はコントロール区に比べ有意に低い値を示した。



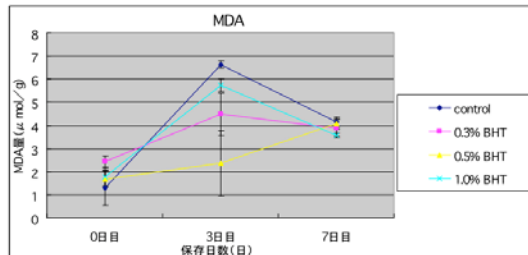
MA 含量の経時変化を以下の図に示した。



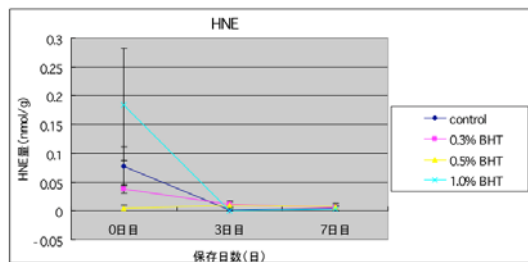
この図から明らかなように BHT 添加は MA の生成を抑制した。
 タイ肉中の HHE の変動を以下の図に示した。



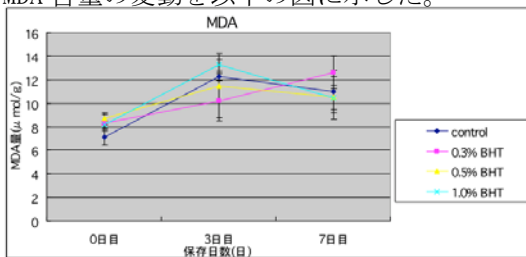
0 日目及び 7 日目において、全 BHT 添加区はコントロール区と比較して高い値を示した。
 MDA 含量の変動を以下の図に示した。



BHT 添加区はコントロール区と比べ低い値を示した。
 ブタ肉中の HNE 含量の変動を以下の図に示した。



BHT 添加区は 0 日目にコントロールに比べ高い値を示し、1.0%BHT 添加区は 3 日目にコントロール区と比べ低い値を示した。
 MDA 含量の変動を以下の図に示した。



BHT 添加は MDA の生成に影響を与えなかった。
 以上の結果を纏めると以下のような表になる。

		0.3%	0.5%	1.0%
ブリ肉	HHE	抑制	促進	-
	MA	抑制	抑制	抑制
タイ肉	HHE	促進	促進	促進
	MA	抑制	抑制	抑制
ブタ肉	HNE	促進	抑制	-
	MA	-	-	-

BHT 添加による変化についての考察

- 酸化条件や油脂の種類によって抗酸化剤の抗酸化力は変動する
- 過剰添加により酸化された抗酸化剤が多量に生成されると、逆に酸化を促進する物質に変化したと考えられる。

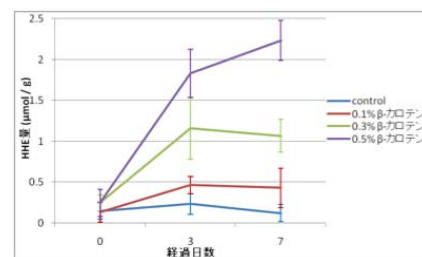
HHE と HNE の生成機構の差についての考察

- 不飽和脂肪酸含有量→生成量の違い
- 鉄含有量→脂質過酸化促進作用
- アスコルビン酸含有量→Fe²⁺の脂質過酸化促進

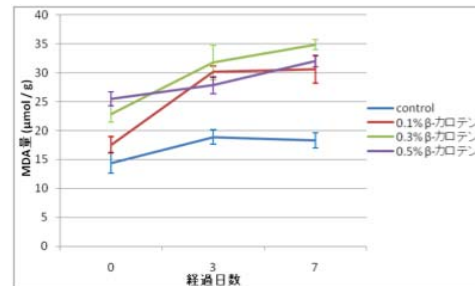
- α-トコフェロール含有量→脂質過酸化抑制
- HHE、HNE がほかの物質に変化した

② β-カロテン添加試験

ブリ肉中の HHE 含量の経時変化を以下の図に示した。

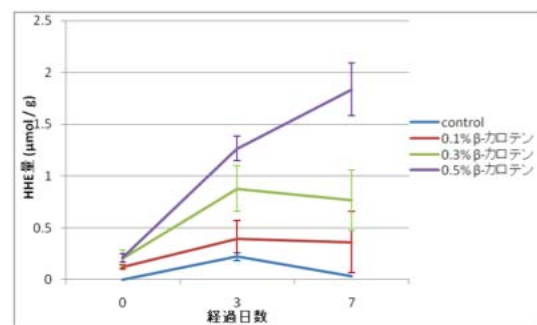


この図から明らかなように、β-カロテンを添加することにより HHE の生成が促進された。
 ブリ肉中の MDA 含量の経時変化を以下の図に示した。



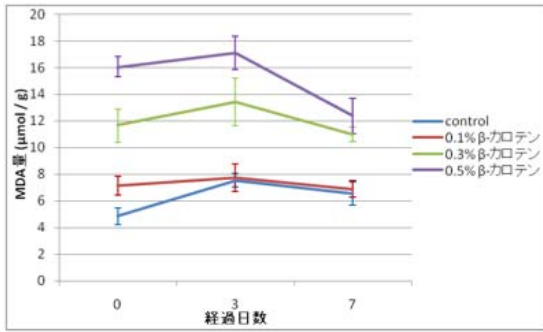
β-カロテン添加は MDA の生成を促進させる傾向を示した。

タイ肉中の HHE 含量の経時変化を以下の図に示した。

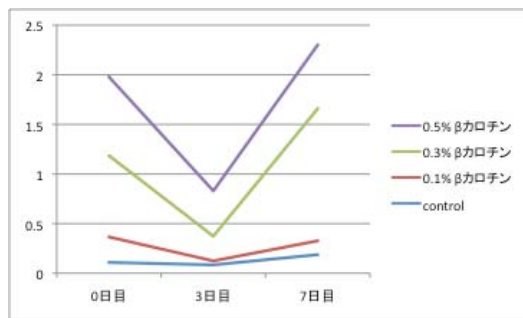


この図から明らかなように、ブリ肉と同様 β-カロテン添加は HHE の生成を促進する傾向を

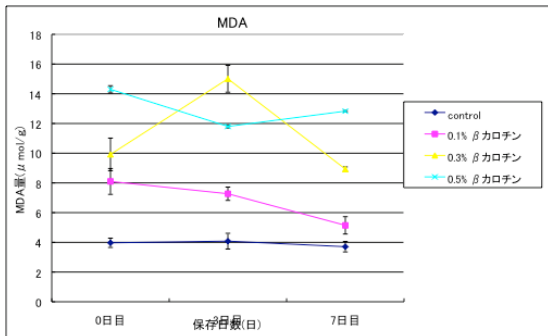
示した。
MDA 含量の経時変化を以下の図に示した。



ブリ肉と同様に β-カロテン添加は MDA の生成を促進する傾向を示したが、添加 7 日目には生成を抑制した。
豚肉の HNE 含量の変化を以下の図に示した。



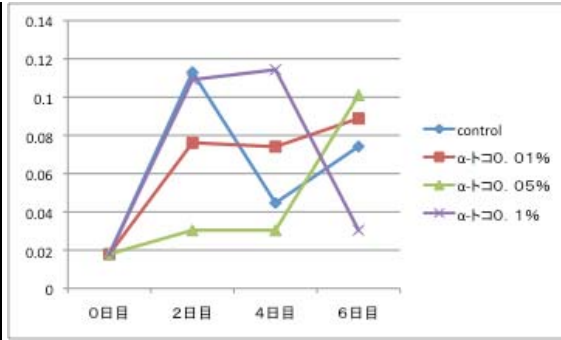
図に示したように β-カロテン添加は HNE 生成を促進したが、魚肉とは異なり添加 3 日目には減少し、7 日目に増加した。
MDA 含量の経時変化を以下の図に示した。



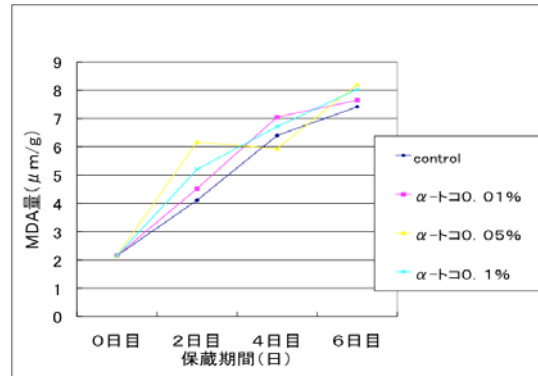
魚肉同様 β-カロテン添加は MDA の生成を促進する傾向を示した。
以上の結果より、β-カロテンは魚肉の HNE 生成を強く促進するが、畜肉については生成後、抑制と複雑な影響を及ぼした。MDA 生成については魚肉、畜肉ともに促進作用を示したが、その効果は魚肉の方が強かった。

③ α-トコフェロール添加試験

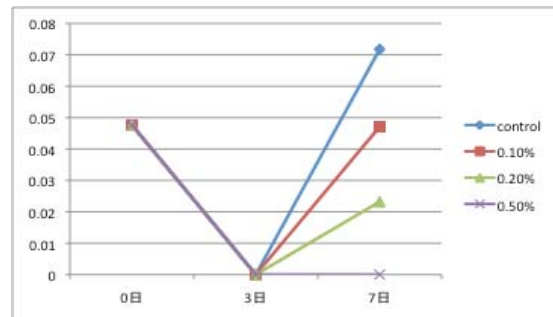
ブリの HNE の変動を以下の図に示した。



添加後 2 および 6 日目において 0.1% α-トコフェロール添加は HNE 生成を促進したが、6 日目ではその生成が抑制された。また、0.01% 添加区で 6 日目にその生成が促進した。
MDA の変動について以下の図に示した。

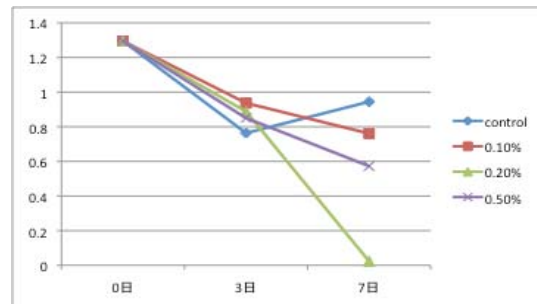


α-トコフェロール添加により MDA の生成は抑制された。
マダイについては明確な結果は得られなかった。
ブタ肉の HNE の変動について以下の図に示した。



α-トコフェロール添加は魚肉とは異なり HNE の生成を抑制した。

MDA の変動を以下の図に示した。



α -トコフェロール添加は MDA の生成を抑制した。

以上の実験結果から、 α -トコフェロールは魚肉中の HHE 生成を促進するが畜肉の HNE の生成を抑制するという、異なった結果が得られた。

(2) HHE および HNE の生成に及ぼす加熱調理の影響

①ボイル実験

ブリ肉中の HHE および MDA の変動を以下の表に示した。

項目	単位	対照区	NaCl 添加区
HHE (nmol/g)		0.26 ± 0.08	0.37 ± 0.11
MDA (μmol/g)		0.40 ± 0.00	10.46 ± 0.22

貯蔵期間中、ブリは全ての試験区の HHE 含量が有意に増加した。また貯蔵 1 日目から 3 日目にかけて食塩を添加区のほうが対照区に比べ MA 含量は有意に高かった。

ブタ肉中の HHE および MDA の変動を以下の表に示した。

項目	単位	対照区	NaCl 添加区
HHE (nmol/g)		0.15 ± 0.06	0.16 ± 0.03
MDA (μmol/g)		1.75 ± 0.10	1.46 ± 0.00

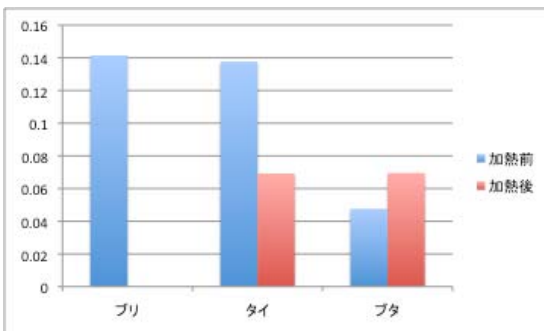
貯蔵期間中、ブタ肉中の NaCl 添加区の HNE 含量は、対照区に比べ有意に低く、NaCl 添加は HNE の生成を抑制した。他方、NaCl 添加はボイルしたブタ肉の脂質過酸化の進行に影響を及ぼさなかった。

以上の結果はボイルしたブリおよびブタ肉において、NaCl 添加は HHE の生成を促進するが、HNE の生成を抑制すること、すなわち逆の影響を及ぼすことを示している。

②マイクロウェーブ加熱（所謂電子レンジ）

による調理

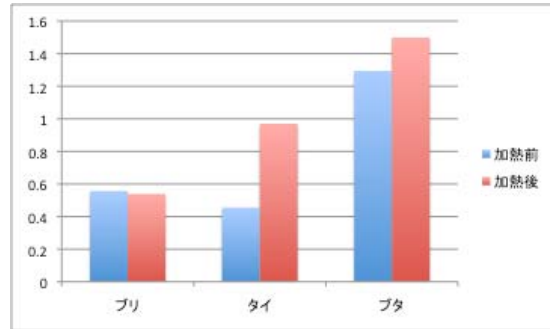
ブリ、タイおよびブタ肉の加熱前後の HHE または HNE 含量の変化を以下の図に示した。



クッキングロスも考慮しても、電子レンジ加熱により魚肉では HHE 含量が減少したのに対して、ブタ肉では HNE 含量が増加した。しかしながら、実験結果にばらつきが多いので、明確な差があるかどうかについては明確でない。

ブリ、タイおよびブタ肉の加熱前後の MDA 含

量の変化を以下の図に示した。



電子レンジ加熱により、タイおよびブタ肉では MDA 含量が増加したが、ブリについては変化が認められなかった。

電子レンジ加熱は魚肉と畜肉の 4-ヒドロキシアルケナル生成過程の違いを明らかにする上で有力な実験手法と考えられるので、今後は詳細な実験を行う必要がある。

③水産練り製品製造過程による HHE 生成の相違

試料	すり身	貯蔵期間 (日)		
		0	1	2
チクワ	HHE (nmol/g)	0.26 ± 0.08	0.37 ± 0.11	0.11 ± 0.01
	MDA (μmol/g)	0.40 ± 0.00	10.46 ± 0.22	10.71 ± 0.04
カマボコ	HHE (nmol/g)	0.15 ± 0.06	0.16 ± 0.03	0.17 ± 0.03
	MDA (μmol/g)	1.75 ± 0.10	1.46 ± 0.00	1.54 ± 0.10

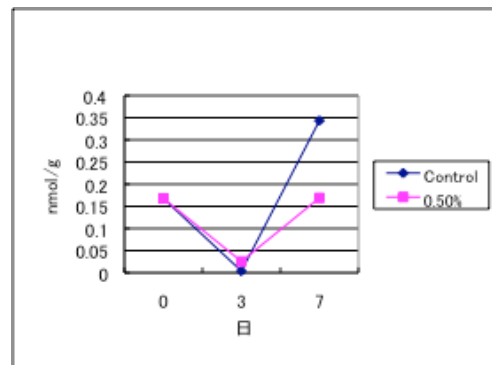
スケソウダラより作成した冷凍すり身から、ちくわは焼きにより、かまぼこは蒸しにより作成した後、0°Cにて2日間貯蔵した。加工前後及び貯蔵期間中、ちくわ及びかまぼこの HHE 含量は有意ではないが増加した。加工後ちくわの MA 含量は有意に増加し、かまぼこの MA 含量は有意に減少した。貯蔵 2 日目にちくわの MA 含量は有意に減少し、かまぼこのそれは有意に増加した。この結果は、ちくわはガスによる直火で焼いたのに対し、かまぼこはマイルドな加熱方法である蒸しによる加熱方法の差によるものと考えられる。

(3) その他の研究

①カテキン添加実験

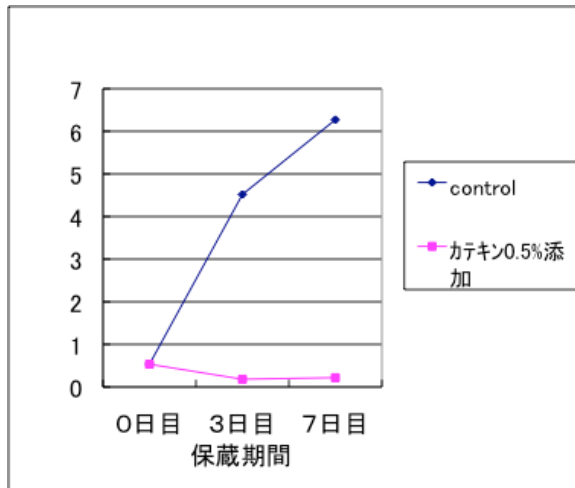
Fe イオンをトラップすることが明らかになったカテキン (混合物) を 0.5% 添加後、HHE または HNE および MDA 含量の変化を測定した。

カテキン添加ブリ肉中の HHE 含量の変化を以下の図に示した。

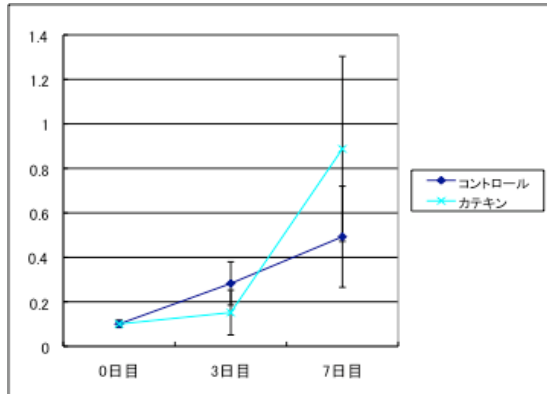


カテキン添加は貯蔵 7 日目に HHE の生成を抑

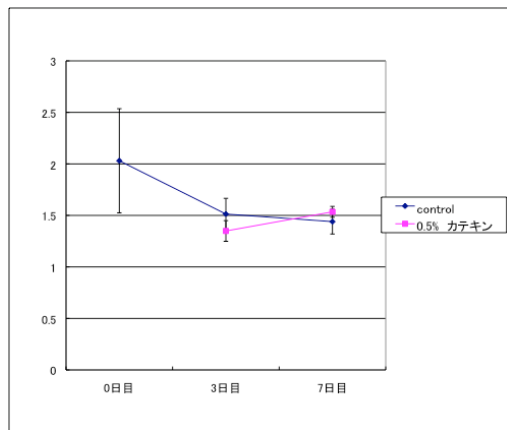
制した。
MDA 含量の変動を以下の図に示した。



カテキン添加はMDA生成を抑制した。
カテキン添加ブタ肉中のHNE含量の変動を以下の図に示した。



カテキン添加はHNEの生成を促進した。
MDA含量の変動を以下の図に示した。

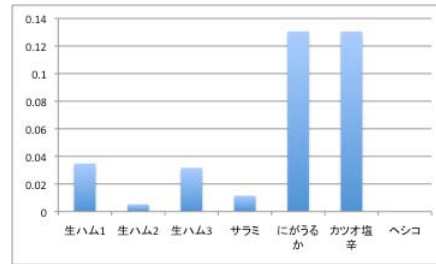


カテキン添加はMDAの生成にほとんど影響を及ぼさなかった。

明確ではないが、カテキン添加が魚肉HHE生成に及ぼす影響と畜肉のHNE生成に及ぼす影響が逆の可能性が示された。

なお、EDTA添加はHHEおよびHNEの生成に明確な影響を及ぼさなかった。

②発酵食品中のHHEまたはHNE含量
以下の図に水産および畜産発酵食品中のHHEまたはHNE含量を示した。



この結果より、HHEの生成に何らかの酵素が関与している可能性が示された。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 1 件)

Sakai T., Akiyama T., Ogura A., Kawano C. The effects of NaCl on lipid peroxidation-derived aldehyde, 4-hydroxy-2-hexenal formation in boiled yellowtail meat. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* (査読有) 72, 2441-2444 (2008)

[学会発表] (計 3 件)

境 正.秋山 哲也、小倉 愛、川野 智恵.冷蔵ブリ、タイ及びブタ肉の4-ヒドロキシアルケナル生成に及ぼすBHT添加の影響、水産学会平成21年度春季大会. 2009年3月28日. 東京海洋大学.

境 正.秋山 哲也、小倉 愛、川野 智恵、河原 聡. NaClがボイルしたブリ肉の4-ヒドロキシヘキサナル生成に及ぼす影響.農芸化学会度西日本支部2008年大会. 2008年9月20日. 長崎大学.

境 正、秋山 哲也、小倉 愛、川野 智恵. ブリおよびタイ肉冷蔵貯蔵中のHHE生成に及ぼすBHT添加の影響. 2008年度日本農芸化学会. 2008年3月28日. 名城大学

6. 研究組織

(1)研究代表者

境 正 : 宮崎大学農学部・教授
20112766

(2)研究分担者

六車 三治男 : 宮崎大学農学部・教授
50091369

(3)連携研究者