

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年 3月30日現在

機関番号：17601

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2009～2011

課題番号：21580249

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ル生成抑制，特に畜肉のそれとの関連

研究課題名（英文） Suppression of 4-hydroxyalkenal formation in stored and processed fish meat, with special reference to those of meat

研究代表者

境 正 (SAKKAI TADASHI)

宮崎大学・農学部・教授

研究者番号：20112766

研究成果の概要（和文）：脂質酸化由来有毒4-ヒドロキシアルケナル（魚肉では4-ヒドロキシヘキセナル：HHE、畜肉では4-ヒドロキシノネナル：HNE）の生成機構の違いについて検討した。脂質酸化を促進または抑制する化合物の添加および種々の調理法によるHHEおよびHNE生成量の変動を経時的に調べた。魚肉および畜肉中の多価不飽和脂肪酸やミネラル量の違いや筋肉タンパク質に対するHHEおよびHNEの反応性の違いが生成機構の差異の原因と考えられた。

研究成果の概要（英文）：Difference of formation mechanism of lipid oxidation induced toxic 4-hydroxy-alkenals (fish meat, 4-hydroxy-hexenal: HHE, meat, 4-hydroxy-nonenal; HNE) was studied. Changes of HNE or HHE contents in the samples containing chemicals which accelerate or suppress lipid oxidation were analyzed. Those were also analyzed in the samples cooked difference methods. Difference of formation mechanism is caused by the differences of poly-unsaturated fatty acid and mineral contents and the differences of reactivity of muscle protein to HHE or HNE in fish and meat.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,600,000	480,000	2,080,000
2010年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2011年度	1,100,000	330,000	1,430,000
年度			
年度			
総計	3,800,000	1,140,000	4,940,000

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：-ヒドロキシヘキセナル，4-ヒドロキシノネナル，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

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ルである。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。脳においてアルツハイマーの予防に効果があると考えられてきたドコサヘキサエン酸が酸化されてHHEになるとHNE

存在しているとアルツハイマー等の脳神経系の疾病を悪化することも明らかになってきた。

2. 研究の目的

動物性タンパク質食品の品質低下を引き起こす最大の要因である脂質過酸化により、多くの有毒アルデヒドが生じる。そのなかでも、アルツハイマー等の認知症の発症要因である4-ヒドロキシアルケナール (HAN)は近年注目を浴びている。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)および 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。4-ヒドロキシアルケナールは水産練り製品、水産および畜産スモーク食品等に含まれているが、魚肉貯蔵・加工中の HHE の生成機構が畜肉貯蔵・加工中の HNE の生成機構と異なっている。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

宮崎ではブリ養殖が無くなったので魚肉はカンパチ（ヘモグロビン実験の時のみブリ）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 HAN と MA の生成時期および生成速度の検討

①ヘモグロビン添加実験

対照区と牛血液由来ヘモグロビン(Hb)を0.1%、0.2%、及び0.5%添加した試料を0°Cで貯蔵後、そのHHE、MA含量を0, 3, 7日目に測定した。

②ヘミン添加実験

対照区とヘミンを0.0005%、0.001%および0.002%添加した試料を0°Cで貯蔵後、そのHHE、MA含量を0, 3, 7日目に測定した。

③鉄イオン添加実験

対照区と塩化鉄0.005%、0.01%および0.02%添加した試料を0°Cで貯蔵後、そのHHE、MA含量を0, 3, 7日目に測定した。

④アスコルビン酸添加実験

対照区とアスコルビン酸0.1%(A)、0.2%(B)および0.5%(C)添加した試料を0°Cで貯蔵後、そのHHE、MA含量を0, 3, 7日目に測定した。

⑤エピガロカテキンガレート添加実験

対照区とエピガロカテキンガレート0.1%、0.2%および0.5%添加した試料を0°Cで貯蔵後、そのHHE、MA含量を0, 3, 7日目に測定した。

(2) HHE および HNE の生成に及ぼす加熱調理の影響

①フライ実験

10g のボール状にした試料を 180~200°C でサラダ油を用いて 5 分間揚げた後、0°C で貯蔵した試料の HNE および MA 含量を 0, 1, 2 日目に測定した。

②蒸し実験

10g のボール状にした試料を市販の蒸し器を用

いて 100°C で 5 分間蒸した後、0°C で貯蔵した試料の HNE および MA 含量を 0, 1, 2 日目に測定した。

③焼き実験

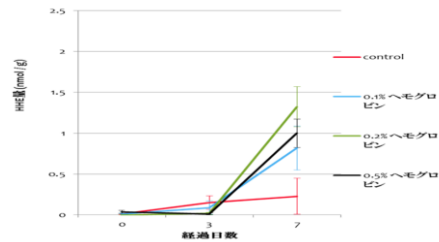
10g のボール状にした試料を市販の網焼き器を用いて 5 分間焼いた後、0°C で貯蔵した試料の HNE および MA 含量を 0, 1, 2 日目に測定した。

4. 研究成果

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

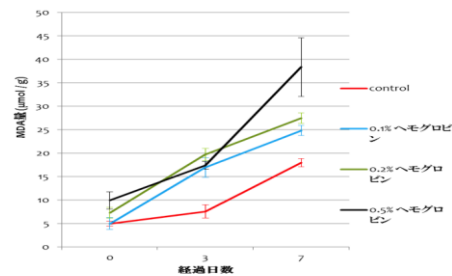
①ヘモグロビン添加実験

ブリ肉中の HHE 含量の変化を以下の図に示した。



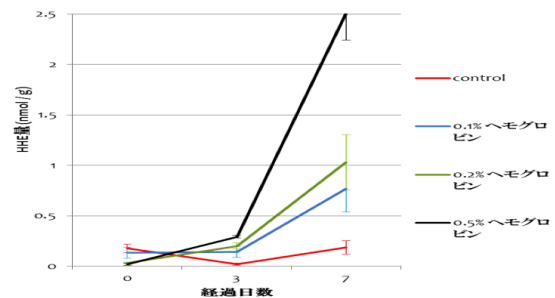
7日目ではコントロール区とHb0.2%添加区、Hb0.5%添加区間で有意な増加が見られた。

ブリ肉の MA 含量の変化を以下の図に示した。



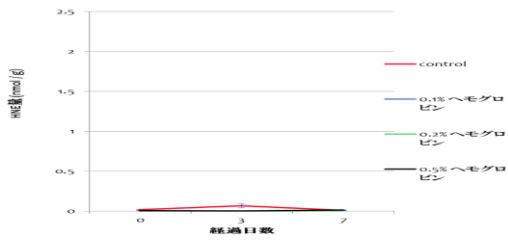
7日目ではコントロール区、Hb0.1%添加区、Hb0.2%添加区とHb0.5%添加区間で有意な増加が見られた。

タイ肉の HHE 含量の変化を以下の図に示した。

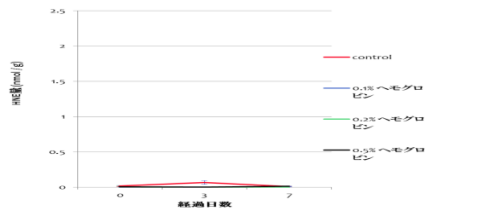


3日目と7日目では径時的にも、Hb添加量区間でも有意な増加が見られたことから、タイではブリ以上にHHEの生成が速く、脂質の過酸化が促進されていることが認められた。

タイ肉の MA 含量の変化を以下の図に示した。



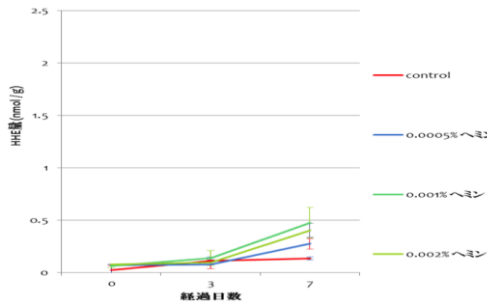
3日目では添加量が増えるごとに有意に増加し、7日目では特にHb 0.5%添加区とコントロール区間での有意で大きな数値の増加が見られた。ブタ肉のHNE含量の変化を以下の図に示した。



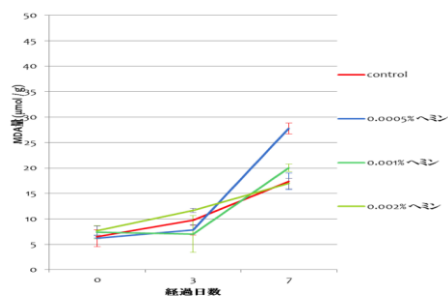
HNEはどのHb添加区間でも、経時的にも有意な増加は見られなかった。なお、ブタ肉においてMAはほとんど検出されなかった。

②ヘミン添加実験

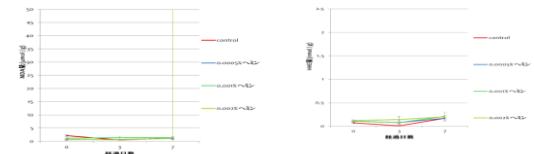
カンパチ肉中のHNE含量の変化を以下の図に示した。



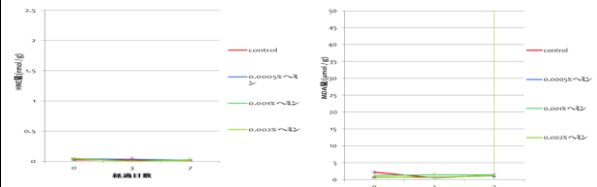
HNEは3日目から7日目にかけてそれぞれのヘミン添加区間で有意な増加がみられた。以下の図に示したように、MAは経時的に有意に増加したが区間に有意差はみられなかった。



以下の図に示すように、タイ肉のHNE(左)およびMA(右)含量は低く、明確な結果は得られなかった。

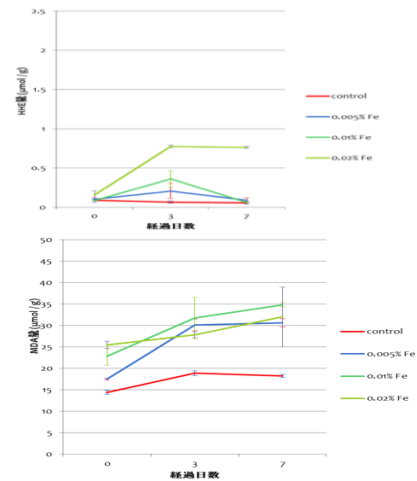


以下の図に示すように、タイ肉と同様ブタ肉のHNE(左)およびMA(右)含量は低く、明確な結果は得られなかった。

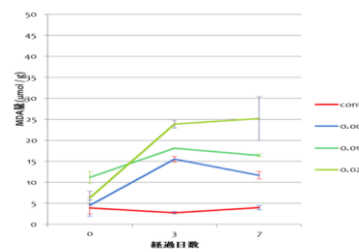


③鉄イオン添加実験

カンパチのHNE(上)およびMA(下)含量の変化を以下の図に示した。



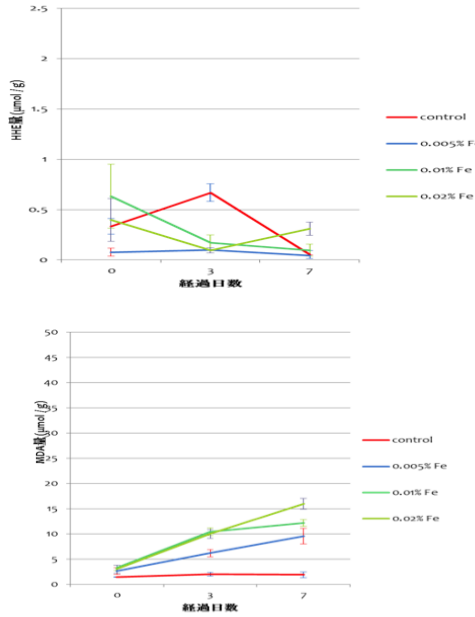
HNEは0.01%, 0.02%添加区において特に酸化の促進がみられた。MAではFeの添加濃度に関わらずControlと比較して酸化の促進がみられた。カンパチのHNE(上)およびMA(下)含量の変化を以下の図に示した。



HNEでは0.005%添加区の3日目のみ突出した結果となり、それ以外はHNEの生成自体がほとんどみられなかった。MAではFe濃度が高くなるにつれ生成量も多くなった。3日目と7日目では生成量に大差はみられなかった。

ブタ肉のHNE(上)およびMA(下)の変化を以下の

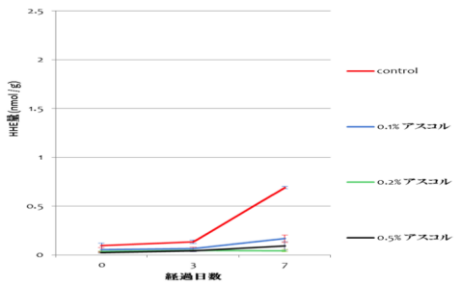
図に示した。



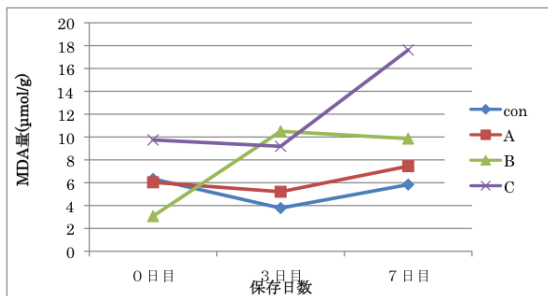
HNE 含量は測定誤差が大きすぎたため目立つ有意差はみられなかった。MA 含量においては Fe 添加濃度では 0.01%と 0.02%添加区間では有意差はみられなかったものの、濃度が高くなるにつれ MDA の生成が促進されており、経時的にも 0, 3, 7 日目と生成量が増えていった。

④アスコルビン酸添加実験

ブリ肉の HNE 含量の変動を以下の図に示した。



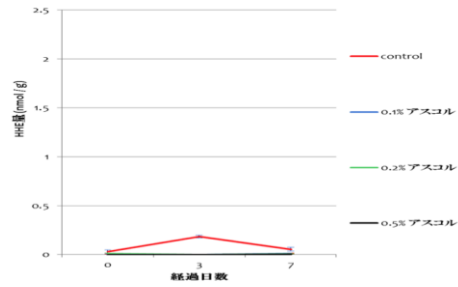
七日目の 0.002%添加区においてのみ酸化が促進され、有意差が出た。カンパチ肉の MA 含量の変動を以下の図に示した。



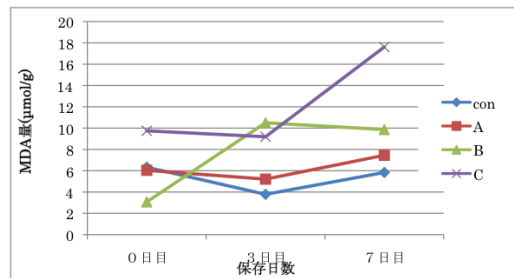
この図から明らかなようにアスコルビン酸添加

は MA 生成を促進した

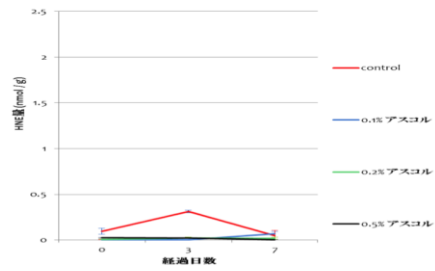
以下の図に示すようにタイの HNE 含量は低く経時的変動もほとんど認められなかった。



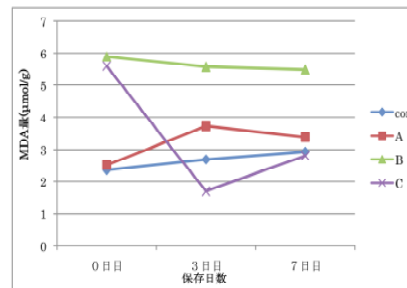
以下の図に示したようカンパチ同様、アスコルビン酸添加は MA 生成を促進した



以下の図に示すようにブタの HNE(含量はタイと同様に低く経時的変動もほとんど認められなかった。

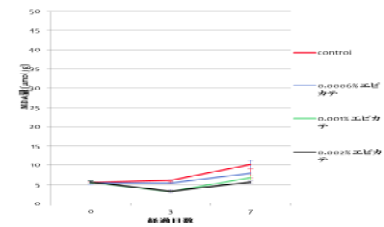
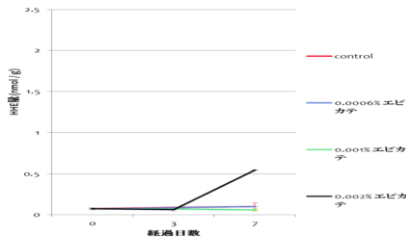


以下の図に示したように、同様アスコルビン酸添加は MA 生成を促進した。

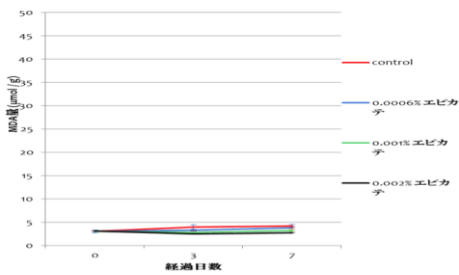
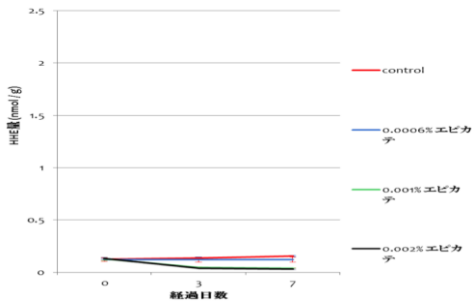


⑤エピガロカテキンガレート添加実験

カンパチ肉の HNE(上)および MA(下)の変化を以下の図に示した。



カテキン添加により HHE 生成は促進され、MA 生成は抑制されるように思えるが、共に生成量が少ないため明確な結論とは言えない。タイ肉の HHE(上)および MA(下)の変化を以下の図に示した。

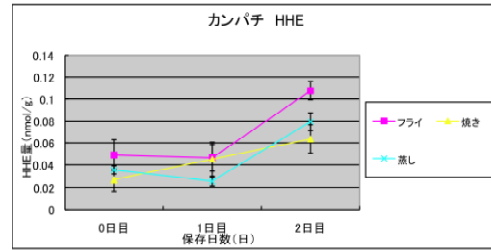


0.002%エピカテキンをガレット添加区で三日目と七日目に有意ではないが HHE 生成抑制の効果がみられた。MA 量においては全てにおいて数値が低く、ほとんど酸化がみられなかった。ブタ肉中においては HNE および MA はほとんど検出されなかった。

(2) HHE および HNE の生成に及ぼす加熱調理の影響

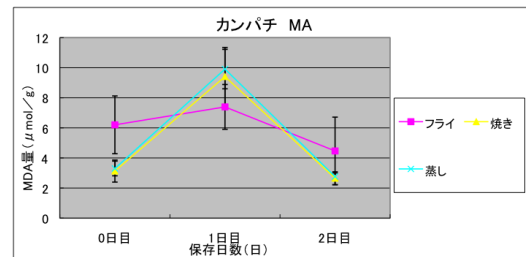
①カンパチ

以下の図にカンパチのフライ、焼きおよび蒸しの HHE 変動の結果を示す。



HHE 含量は1日目から2日目にかけてはフライと蒸しで有意に増加した。焼きでも有意ではないが増加していた。最終的に HHE の生成量が最も多かったのはフライで次いで蒸し、焼きであった。

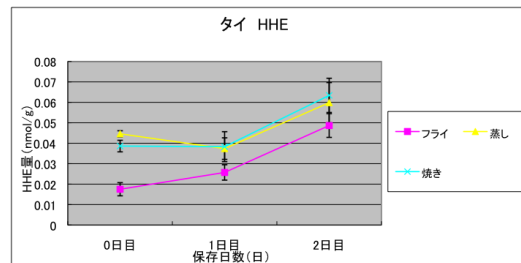
MA の変動を以下の図に示した。



MA では0日目から1日目にかけて焼きと蒸しでは有意な増加が見られたが、フライでは殆ど変化は認められなかった。1日目から2日目では焼きと蒸しの値が大きく減少し0日目と近い値を示した。

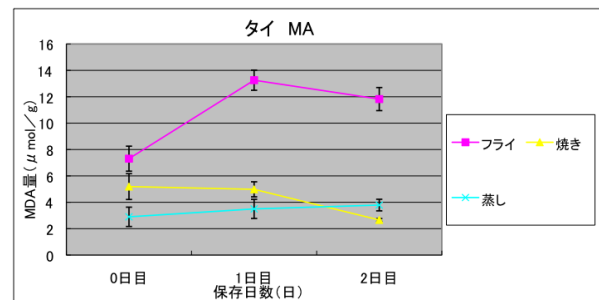
②タイ

以下の図にタイのフライ、焼きおよび蒸しの HHE 変動の結果を示す。



HNE 含量は1日目から2日目においてはフライと焼きにおいて有意な増加が見られたが蒸しでは見られなかった。最も多量の HNE が検出されたのは焼きの操作の時に、次に蒸し、フライと続いた。

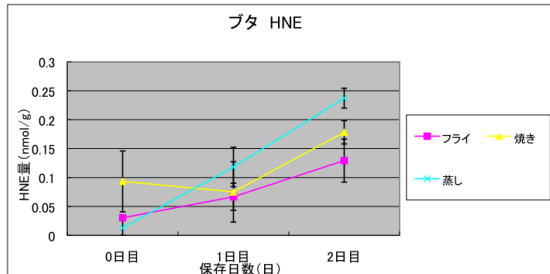
MA の変動を以下の図に示した。



MA では0日目から1日目にかけてフライで著しい有意な増加が見られた。蒸し、焼きでは有意な変化が見られなかった。フライが蒸しと焼きに比べても2倍以上の極めて高い数値を示した。

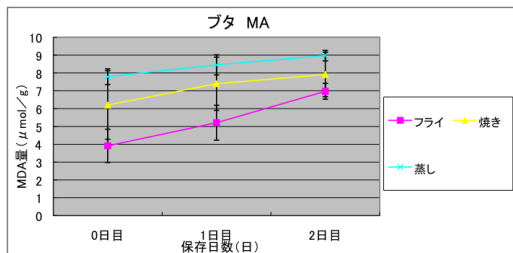
②ブタ

以下の図にブタのフライ、焼きおよび蒸しのHNE変動の結果を示す。



HNE 含量はフライと蒸しで、保存1日目から有意に増加した。保存2日目にはフライ、蒸しだけでなく焼きでも有意に増加した。最も大きくHNE 含量が増加したのは蒸しの調理方法であり、次いで焼き、フライであった。

MA の変動を以下の図に示した。



MA 含量は0日目から1日目にかけてフライ、焼き、蒸し、いずれの調理方法でも増加したように見られるが、検定の結果からみて、有意に増加したといえるのはフライの調理方法のみであった。1日目から2日目にかけても同様でフライのみが有意に増加し、蒸しと焼きでは増加が見られなかった。

(3) 脂肪酸含量およびその組成

各ブリ、カンパチ、タイおよびブタ肉の脂肪酸の組成および含量について試料の採取時期等で若干の変動が見られた。しかしながら、各試験において、各試験区における各脂肪酸含量の経時的变化はほとんど認められなかった。一般的に、魚肉では酸化されやすいエイコサペンタエン酸やドコサヘキサエン酸等のn-3系の高度不飽和脂肪酸(PUFA)を多く含むこと、ブタ肉のPUFAはn-3系に比べ酸化されにくいn-6系のリノール酸およびアラキドン酸が主成分であることが知られている。また、Feに関して畜肉の方が魚肉に比べ多い傾向が認められることが知られている(五訂増補日本食品標準成分表:文部科学省)。

(4) 得られた結果のまとめと考察

魚肉および畜肉中のn-6系脂肪酸含量とn-3系

脂肪酸含量の差およびFe含量の違いや筋肉タンパク質に対するHNEおよびHNEの反応性の違い等が関与している事を示唆している。魚肉においてはHNEの生成を抑制するために、促進の要因の除去および抗酸化物の添加が効果的であることを示している。また、ヘモグロビン、ヘミン、Feの実験結果より、これらの添加は特に魚肉の脂質過酸化を促進しており、特にヘモグロビンの存在がエイコサペンタエン酸やドコサヘキサエン酸といったn-3系脂肪酸の酸化を促進していると思われる、魚の血抜きはHNE生成および脂質酸化の抑制において重要と思われる。

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)

① Tadashi SAKAI、Saori KIRIAKE、Shusaku OHTUBO、and Yukiko SHIMIZU、Effect of NaCl on 4-Hydroxy-2-alkenal Formation of Frozen Pork and Yellowtail Meat 宮崎大学農学部研究報告、査読有り、56巻 2010、111-114

[学会発表] (計6件)

① 境 正、押川聖胤、貯蔵魚肉および畜肉の4-ヒドロキシアルケナル生成におよぼすFeイオン添加、日本農芸化学会2012大会、2012年3月24日、京都女子大

② 橋本博樹、境 正、魚肉と畜肉の脂質過酸化由来4-ヒドロキシアルケナルの生成機構、2011年9月17日、宮崎大学

③ 境 正、橋本博樹、橋口昌代、迫畑敏之、佐藤拓弥、カンパチ、タイ、ブタの脂質過酸化に及ぼすフライ、蒸し、焼きの影響、平成23年度日本水産学会秋期大会、2011年10月1日、長崎大学

④ 境 正、松下将次、野島圭衣、橋口昌代、橋本博樹、魚肉・畜肉貯蔵中における脂質酸化由来有毒アルデヒド生成に及ぼすヘモグロビン添加の影響、平成22年度日本水産学会春季大会、2010年3月27日、日本大学生物資源科学部

6. 研究組織

(1) 研究代表者

境 正 (SAKKAI TADASHI)
宮崎大学・農学部・教授
研究者番号：20112766

(2) 研究分担者

河原 聡 (KAWAHARA SATOSHI)
宮崎大学・農学部・准教授
研究者番号：30284821

(3) 連携研究者

()

研究者番号：