

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 27 日現在

機関番号：13101

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23580366

研究課題名(和文) 栄養処理による食肉の呈味制御：遺伝子発現及びメタボローム解析による高品質化

研究課題名(英文) Regulation of meat taste by diet: Studies of gene expression and metabolome analysis of muscle

研究代表者

藤村 忍 (Fujimura, Shinobu)

新潟大学・自然科学系・准教授

研究者番号：20282999

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円、(間接経費) 1,200,000円

研究成果の概要(和文)：食肉の高品質化の中で呈味向上に対する期待は大きいですが、効率的かつ有効な手法は未だに模索されている。そこでリジン(Lys)および分枝アミノ酸(BCAA)にグルタミン酸量(Glu)の調節及び肉質向上の可能性を見出し、その効果並びに作用機序を検討した。結果からBCAA量の調製によるGlu増加条件が明らかとなり、TCA中間代謝物への影響が見られた。一方Lys0.5%飼料添加は筋肉遊離Lys及びGluを有意に増加させ、Lys代謝物のサッカロピンやアミノアジピン酸も増加した。Lys異化の律速酵素の遺伝子発現が増加した。飼料に由来する筋肉のアミノ酸代謝が食肉の呈味成分の生合成に影響する可能性を明らかにした。

研究成果の概要(英文)：We investigated the relationships between feeds and meat qualities including taste active components. We have previously shown that free glutamate (Glu) content in meat was significantly increased by dietary Lysine and BCAA contents. However, the mechanism of free Glu synthesis by dietary amino acids in meat is unclear. In mRNA gene expression and metabolome analysis, lysine degradation pathway of muscle contributed to free Glu in meat. And some amino acids also related to the meat quality. These results suggest that dietary amino acids were important for meat quality.

研究分野：農学

科研費の分科・細目：畜産学・獣医学 ・ 畜産学・草地学

キーワード：食肉 呈味成分 アミノ酸代謝 リジン 筋肉 飼料 メタボローム グルタミン酸

1. 研究開始当初の背景

食肉の高品質化の中で呈味向上に対する期待は大きい、効率かつ有効な手法は未だに模索されている。従来の高品質化手法は遺伝(育種)及び食肉加工が主であった。生産段階で育種よりも短期間に高品質化を図る方法の一つに飼養管理があるが、食肉の呈味成分は飼料では変わらないとされてきた(Farmerら、1999他)。筆者の検討から一部の飼料成分が呈味成分に影響する可能性を見出した。それは食事制限や低エネルギーによる呈味成分量の低下で主体であった(1997、2001)。その後、高タンパク質飼料給与のよって主要呈味成分の一つであるグルタミン酸(Glu)が増加する可能性を得た。しかし高タンパク質は飼料コストや環境負荷の点から実用化の可能性は非常に低い。そこで微量の調節因子の可能性を検索し、リジン(Lys)及び分枝アミノ酸(BCAA)の添加により、筋肉Glu量の増加の可能性を見出した。しかし筋肉でのアミノ酸代謝能は低いと考えられており、Glu増加のメカニズムには不明確な点が多い。この中で、Lysでは遺伝子発現解析から筋肉でのLys異化系の亢進がGlu増加に關与する可能性を推察した。

2. 研究の目的

1) リジン代謝経路による筋肉遊離グルタミン酸量制御機構の検討

食肉の主要な呈味成分は筋肉遊離Gluであり、Glu量の調節は食肉の高品質化に有効である。高リジンLys飼料の短期給与による筋肉遊離Glu量の有意な増加に、サッカロピン経路及びピペコリン酸(PA)経路の2つのLys代謝経路が關与する可能性を得て日本畜産学会大会において発表を行った。ここでは飼料にLys及びLysの中間代謝物質であるPAを添加し、筋肉遊離Glu増加に対する両経路の制御機構の解明を試みた。

2) 家禽への低リジン飼料給与による食肉の呈味変化の解析

近年、食生活の充実に伴い食品には栄養的な重要性だけでなく、さらなる価値である「おいしさ」や「機能性」が求められている。筆者らは特に『呈味』に着目し、食肉の呈味成分の探索を行った。この結果、Gluが主要な呈味成分であり、これを調節することで食肉の呈味が向上する可能性を示した(Fujimura、1996)。そこで食肉中のGlu量を調節したLysの添加量を変動させた飼料を、14日齢のプロイラーに対して給餌し、食肉中の呈味成分量の変動を解析した結果、Lys150%飼料、Lys200%飼料及びLys86%飼料の全てで筋肉中の遊離Glu量が増加し、Lys86%区でGlu量が最大となった。そこで低Lys飼

料を可食期のプロイラーに給餌し呈味成分量の変動を解析すると共に、得られた食肉の呈味を分析型官能評価により解析した。

3) 食餌性バリンによる食肉呈味成分量及びBCAA異化酵素遺伝子発現への経時的影響

これまでの研究から、飼料栄養による食肉呈味成分量の調節が可能であることが示されてきた。その中で食餌性BCAAを調節した飼料の短期給与によりプロイラーの筋肉遊離Glu量調節の可能性を得た。BCAAは異化酵素が共通であり拮抗作用がある。またバリン(Val)はGlu増加に効果的だがロイシンは抑制的であるため、Glu増加にはBCAA間のバランスが重要であると考えられる。そこでBCAAバランスによる筋肉遊離Glu量調節の機構解明を目的とし、食餌性Valによる筋肉遊離Glu及びBCAA量、BCAA異化酵素の遺伝子発現における経時的影響を検討した。

4) 食餌性ヒスチジンによる塩基性アミノ酸及びイミダゾールジペプチド調節への影響

イミダゾールジペプチドとは、その構造にイミダゾール環を含むジペプチド群の総称であり、食肉においてはほとんどの場合カルノシン(Car)及びアンセリン(Ans)の両者をさす。鶏むね肉において、両ジペプチドは他の主要な食肉と比較して最も多く含まれており、またCar;Ansの割合がおおよそ1:3であるという特徴を持つ。また近年、両ジペプチドは抗酸化作用をはじめ様々な機能性を持つことが報告されており、これらを高含有する鶏むね肉は機能性食品として注目を集めている。しかし、プロイラーにおけるこれらジペプチドに対する食餌性因子の影響は未解明な点も多い。そこで基質の1つであるヒスチジン(His)に着目し、食餌性Hisを低・中・高の3レベルを設定することによるイミダゾールジペプチドへの影響を検討した。また、Hisと同様に塩基性アミノ酸に分類されるアミノ酸であるLys及びアルギニン(Arg)について食餌性Hisによる興味深い相互作用がみられたためこれらについても検討した。

5) 栄養条件が鶏もも肉の脂質とその風味に与える影響

食肉のおいしさにおいて脂肪は主に食感に影響するとされてきた。脂肪量が少なく脂肪交雑を生じない鶏肉は脂肪がおいしさに影響しないと考えられてきたがKiyoharaら(2011)は特定脂肪酸による鶏肉の呈味増強効果を報告し油脂が風味に影響する可能性が示された。そこで栄養条件が鶏肉の脂肪量及びスープの風味に与える影響を検討した。

3. 研究の方法

1) リジン代謝経路による筋肉遊離グルタミン酸量制御機構の検討

14日齢 Chunky 系雌ブロイラーを供試し、試験飼料の Lys 量は NRC(1994)に対し 100%(対照)及び 150%(高 Lys)とした。PA は Lys100%に対して、Lys150%に添加した Lys と同量になるよう添加した。これらを 10日間給餌し、血漿、筋肉、肝臓を採取し、遊離アミノ酸濃度をアミノ酸分析機(日本電子, JLC-500/V)で測定した。

2) 家禽への低リジン飼料給与による食肉の呈味変化の解析

(1) 実験動物及び試験飼料: 28日齢 Chunky 系雌ブロイラーに対し、Lys 量が NRC(1994)に対し 100%(対照)、90%(低 Lys)となるように設計した飼料を 10日間給餌した。

(2) 飼育成績: 飼育試験終了日の午後 1時 30分に体重及び飼料摂取量を測定し、増体重、飼料摂取量、飼料効率、Lys 摂取量を算出した。(3) 試料採取: 体重の測定を行った後に、供試鶏の頸動脈を切断することで放血と殺を行い、速やかに浅胸肉を採取した。(4) 筋肉遊離アミノ酸の測定: 過塩素酸抽出法により、浅胸筋から組織抽出液を作成した。これを全自動アミノ酸分析機

(JLC-500/V)により測定した。(5) メタボロームの解析: 採取した浅胸筋サンプルを区毎にプールし、サンプルとして用いた。これらをヒューマン・メタボローム・テクノロジー株式会社へ委託し、CE-TOFMS system (Agilent Technologies)を用いて解析した。

(6) 分析型官能評価: 浅胸筋を 24時間解凍熟成し、官能評価用のスープを加熱抽出した。シェッフエの一対比較法及び二点比較法により、対照区と低 Lys 区の呈味を比較解析した。(7) 統計解析: 飼育成績、筋肉遊離アミノ酸量は分散分析を行い、次いで t 検定により、平均値の差の有意差検定を行った。官能評価試験の一対比較法は、各項目の人数を集計し、F 検定により主効果及び順序効果の有意性を検討した。

3) 食餌性 Val による食肉呈味成分量及び BCAA 異化酵素遺伝子発現への経時的影響

ブロイラーを供試し、試験飼料(CP18%、ME3.2kcal/g)を調製した。試験飼料は NRC 要求量を基準とし HV(Val2.0X)及び対照(Val1.0X)区を設けた。給与開始から 3、5、10日目に筋肉を採取し、分析項目は飼育成績、筋肉遊離アミノ酸濃度、BCAA アミノ基転移酵素(BCAT)及び分岐鎖-ケト酸脱水素酵素複合体(BCKDC)の筋肉での遺伝子発現量とした。

4) 食餌性ヒスチジンによる塩基性アミノ酸及びイミダゾールジペプチド調節への影響

供試動物には 14日齢チャンキー系メスブロイラーを用いた。試験飼料は NRC(1994)に準じ、His の NRC 要求量に対して 67%、100%、200%(それぞれ Low-His 区、Control 区及び High-His 区とする)の 3レベルを設定した。給与期間は 10日間とし、飼料及び水は自由摂取させた。測定項目は血漿及び浅胸筋中の遊離アミノ酸及びイミダゾールジペプチド量とした。

5) 栄養条件が鶏もも肉の脂質とその風味に与える影響

栄養条件が鶏肉の脂肪量及びスープの風味に与える影響を検討するため、低タンパク質飼料給与ブロイラーの大腿筋の成分分析と分析型官能評価を行った。

4. 研究成果

1) リジン代謝経路による筋肉遊離グルタミン酸量制御機構の検討

高 Lys 飼料により筋肉、肝臓の Lys 量及び筋肉の Glu 量は有意に増加した。しかし PA による Lys 量及び Glu 量の変化はなかった。よって、筋肉 Glu 量増加にはピペコリン酸経路が関与しないことが示された。また、Lys の中間代謝物質である 2-アミノアジピン酸が、筋肉では高 Lys で増加したのに対して、肝臓では PA により増加した。以上から、肝臓と筋肉の Lys 代謝機構の相違が示された。

2) 家禽への低リジン飼料給与による食肉の呈味変化の解析

(1) 飼育成績: 対照区に対して低 Lys 区で、増体重量、飼料効率及び Lys 摂取量が有意に低下した。(2) 筋肉遊離アミノ酸量: 対照区に対して低 Lys 区で筋肉遊離 Glu 量が 20.6%有意に増加した。また筋肉中の必須アミノ酸の総量が有意に増加した。(3) 筋肉遊離 3メチルヒスチジン(3M-His)量: タンパク質の分解を示す指標となる 3M-His が、対照区に対して低 Lys 区で有意に増加した。

(4) メタボローム解析: 対照区に対して低 Lys 区で、Glu 及びコハク酸等のうま味成分、グリシン等の甘味を有するアミノ酸、BCAA 及び塩基性アミノ酸等の苦味を有するアミノ酸がそれぞれ増加した。(5) 分析型官能評価: 二点比較法により全てのパネルが対照区と低 Lys 区の呈味に差があることを示した。一対比較法によりうま味、酸味、苦味、コク及び全体の味強度の増加傾向が見られた。

アミノ酸分析及びメタボローム解析から、低 Lys 飼料の給与により食肉中の呈味成分量が増加することが明確に示された。また呈味成分の中でも特に必須アミノ酸の増加が顕著であることが示された。これは、低 Lys 飼料の給与によりタンパク質の分解が亢進さ

れ、筋肉中のアミノ酸のプール量が増加したためであると考えられる。アミノ酸分析により、タンパク質の分解を示す指標である 3M-His が有意に増加したことからこの仮説が裏付けられる。分析型官能評価により対照区に対して低 Lys 区でうま味を始めとする複数の呈味の増加傾向が示された。よって低 Lys 飼料の給与に伴う、筋肉中の呈味成分量の増加に伴って人間の舌で感知できるレベルの呈味変化が生じていることが示された。以上から低 Lys 飼料の給与により特徴的な呈味を有する食肉となる可能性が示された。

3) 食餌性バリンによる食肉呈味成分量及び BCAA 異化酵素遺伝子発現への経時的影響

飼育成績に差はみられなかった。筋肉遊離 Glu 量は HV において 3 日目から 10 日目にかけて増加し、10 日目に有意に増加した。筋肉遊離 BCAA 量は HV において常に有意に増加した。遺伝子発現量では BCKDC に有意差はなく、BCAT は HV において 5 日目に発現量が低下した。結果から Val 添加では筋肉遊離 Glu 量は経時的に増加すること、BCAA 異化酵素では発現レベル以外に酵素活性などの検討が必要である可能性が示された。

4) 食餌性ヒスチジンによる塩基性アミノ酸及びイミダゾールジペプチド調節への影響

遊離 His は、血漿及び浅胸筋において食餌性レベルに従い段階的に増加がみられた。イミダゾールジペプチドに関して、血漿中では両者とも検出されず、浅胸筋中では、Low-His 区において Car は検出されず、Ans は有意に低下した。High-His 区において Car は有意に増加した。また生体内遊離 Lys 及び Arg に関して、Low-His 区において血漿中遊離 Lys は有意に増加した。また浅胸筋中遊離 Lys 及び Arg は、Low-His 区に対して High-His 区において有意に低下した。これらの結果から、食餌性 His は両イミダゾールジペプチド、特に Car へ影響を与え、また生体内 Lys 及び Arg レベルにも影響する可能性、特に Lys と相互作用を生じさせる可能性が示唆された。

5) 栄養条件が鶏もも肉の脂質とその風味に与える影響

栄養条件が鶏肉の脂肪量及びスープの風味に与える影響を検討した結果、脂肪酸組成に変化が見られ、官能評価ではコクの増強、苦味の低下及びまろやかさの付与が明らかとなり、栄養条件による脂肪量と脂肪酸組成の変化は風味に影響するものと考えられた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 3 件)

Perenlei G, Tojo H, Okada T, Kubota M, Kadowaki M, Fujimura S, Effect of dietary astaxanthin rich yeast, *Phaffia rhodozyma*, on meat quality of broiler chickens, *Animal Science Journal*, 査読有, 印刷中.

藤村 忍、渡邊源哉、甲斐慎一、おいしさ与健康にかかわる鶏肉の成分と評価、鶏の研究、8、18-23、査読無、2013.

藤村 忍、鶏肉の呈味成分及び飼料が食味に及ぼす影響、科学飼料、57(9)、347-350、査読無、2012.

〔学会発表〕(計 16 件)

甲斐慎一、渡邊源哉、久保田真敏、門脇基二、藤村 忍、食餌性リジンによる筋肉イミダゾールジペプチドへの影響、日本畜産学会第 118 回大会、2014 年 3 月 28 日.

渡邊源哉、小林裕之、石川 玄、柴田昌宏、久保田真敏、門脇基二、藤村 忍、家禽への低リジン飼料給与による食肉の呈味変化とその代謝機構の解析、日本畜産学会第 118 回大会、2014 年 3 月 27 日.

渡邊源哉、小林裕之、石川 玄、柴田昌宏、久保田真敏、門脇基二、藤村 忍、家禽への低リジン飼料給与による食肉の呈味成分量への影響、日本畜産学会第 117 回大会、査読無、2013 年 9 月 9 日.

岡庭就祐、藤田むつみ、勝矢美波、久保田真敏、門脇基二、藤村 忍、栄養条件が鶏もも肉の脂質とその風味に与える影響、日本味と匂学会第 47 回大会、査読無、2013 年 9 月 7 日.

Watanabe G, Shibata M, Kubota M, Kadowaki M, Fujimura S, Free Glutamate Content of Meat is Regulated by Lysine Degradation Pathway in Muscle, 19th European Symposium of Poultry Nutrition, PP-V71(1-4), 査読有, Germany, 2013 年 8 月 27 日.

藤村 忍、藤田むつみ、久保田真敏、門脇基二、鶏肉の風味に対する脂肪酸の影響、日本畜産学会第 116 回大会、査読無、2013 年 3 月 29 日.

山田菜由子、久保田真敏、門脇基二、藤村 忍、食餌性バリンによる食肉呈味成分量及び BCAA 異化酵素遺伝子への経時的影響、日本畜産学会第 116 回大会、128、査読無、2013 年 3 月 28 日.

渡邊源哉、小林裕之、石川玄、柴田昌宏、久保田真敏、門脇基二、藤村 忍、リジン代謝経路による筋肉遊離グルタミン酸量制御機構の検討、日本畜産学会第 116 回大会、129、査読無、2013 年 3 月 28 日.

甲斐慎一、渡邊源哉、橋澤義憲、久保田真敏、門脇基二、藤村 忍、食餌性ヒスチジン

による筋肉中イミダゾールジペプチドへの影響、日本畜産学会第 116 回大会、128、査読無、2013 年 3 月 28 日。

山田茉由子、久保田真敏、門脇基二、藤村忍、食餌性分岐鎖アミノ酸による筋肉遊離 Glu 量の調節機構の解明、日本農芸化学会関東支部 2012 年度大会、査読無、P-76、2012 年 10 月 27 日。

渡邊源哉、塩野智洋、伊藤友紀、小林裕之、石川玄、柴田昌宏、久保田真敏、門脇基二、藤村忍、メタボローム解析による食餌性リジン代謝の組織特異性及び調節機構の解明、日本畜産学会第 115 回大会講演要旨集、査読無、2012 年 3 月 29 日。

渡邊源哉、塩野智洋、伊藤友紀、柴田昌宏、久保田真敏、門脇基二、藤村忍、メタボローム解析を用いたリジン代謝の組織特異性の研究：食肉の高品質化に向けた研究、第 31 回キャピラリー電気泳動シンポジウム、査読有、166-167、2011 年 11 月 9 日。

山田茉由子、渡辺 徹、石川 玄、久保田真敏、門脇基二、藤村忍、食餌性 Val による食肉呈味分量の制御及びその機構の解明、第 31 回キャピラリー電気泳動シンポジウム、査読有、166-167、2011 年 11 月 9 日。

渡邊源哉、塩野智洋、伊藤友紀、渡邊裕也、小林裕之、柴田昌宏、久保田真敏、門脇基二、藤村忍、食肉の高品質化における食餌性リジン代謝の組織特異性及び調節機構の解明、日本畜産学会第 114 回大会講演要旨集、査読無、134、2011 年 8 月 27 日。

渡辺徹、山田茉由子、石川 玄、久保田真敏、門脇基二、藤村忍、食餌性分枝アミノ酸による食肉呈味分量の制御及びその調節機構の解明、日本畜産学会第 114 回大会講演要旨集、査読無、134、2011 年 8 月 27 日。

Kuwabara M, Kadowaki M, Fujimura S, Evaluation of Meat Taste using Taste Sensor and Sensory Evaluation, Congress Proceedings of 57th International Congress of Meat Science and Technology, 査読有, P120: 1-3, 2011 年 8 月 9 日。

〔図書〕(計 2 件)

アミノ酸科学の最前線-基礎研究を活かした応用戦略-、鳥居邦夫、門脇基二監修、分担執筆、藤村忍、シーエムシー出版、印刷中。

Fujimura S and Sasaki K, Application to Food: Meat., *In* Biochemical Sensors: Mimicking Gustatory and Olfactory Senses. Kiyoshi TOKO ed. 91-102., Pan Stanford Publishing PTE. Ltd., 2013.

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

http://researchers.adm.niigata-u.ac.jp/html/895_ja.html

<http://www.agr.niigata-u.ac.jp/profile/fujimura/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

藤村 忍 (FUJIMURA, Shinobu)

新潟大学・自然科学系・准教授

研究者番号：20282999

(2) 研究分担者

門脇 基二 (KADOWAKI, Motoni)

新潟大学・自然科学系・教授

研究者番号：90126029