

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 5 日現在

機関番号：82111

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2011～2013

課題番号：23780276

研究課題名(和文) 筋肉部位間に香りの差をもたらす香気成分の特定と生成機構の解明

研究課題名(英文) Differences in volatile compounds between different types of muscles

研究代表者

大江 美香(Oe, Mika)

独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構・畜産草地研究所畜産物研究領域・研究員

研究者番号：90391383

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円、(間接経費) 1,020,000円

研究成果の概要(和文)：筋肉部位間における香気成分の違いを明らかにすること及び香気成分の違いに影響を及ぼす因子の解明を目的として本研究を行った。5種類のブタ骨格筋(中間広筋、横隔膜、大腰筋、胸最長筋、半腱様筋)を用いて、ガスクロマトグラフ質量分析(GC-MS)による揮発性物質の同定および定量を行った。GC-MSの結果、約100ピークを検出し、14種類の揮発性物質を同定した。揮発性物質総量は、半腱様筋および胸最長筋において中間広筋よりも多かった。揮発性物質総量と遅筋型ミオシン重鎖量との間に有意な負の相関がみられた($r = -0.56$, $P < 0.01$)ことから、揮発性物質総量に対する筋線維型の関与が示された。

研究成果の概要(英文)：Sensory differences in meat flavor between different types of muscles have been reported. However, it is unclear what kind of volatile compounds are responsible for the difference in meat flavor between different types of muscles. In this study, to determine the muscle type specific volatile compounds, we analyzed volatile compounds from porcine 5 muscles (vastus intermedius, diaphragm, psoas major, longissimus thoracis, semitendinosus) by solid phase micro extraction and gas chromatography-mass spectrometry. Approximately 100 peaks were detected and 14 volatile compounds were identified. The total amount of volatile compounds from longissimus thoracis and that from semitendinosus were higher than that from vastus intermedius. Our data that the total amount of volatile compounds was correlated with the relative amount of myosin heavy chain slow type isoform ($r = -0.56$, $P < 0.01$) indicates that muscle fiber types may affect production of volatile compounds.

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：筋肉 香り 筋線維 部位 ブタ 香気成分 食肉

1. 研究開始当初の背景

風味は食肉の品質を決定する重要な要素である。風味は舌で感知する味と鼻で感知する香りとして構成されているが、ヒトが「おいしい味」と表現している感覚は、実際には味だけでなく香りの寄与が大きいといわれている。

我々に香りの感覚をもたらすのは、食肉から揮発し、ヒトの嗅覚受容体に結合する低分子の揮発性物質である。この揮発性物質の生成には、筋肉が食肉になるまでの複数の過程が影響する。食肉はもともと家畜の筋肉であり、それがと畜 貯蔵または熟成 調理という過程を経て食肉となる。この過程では、と畜後の無酸素下での代謝反応、熟成中のタンパク質の分解、調理時のアミノカルボニル反応などが起こり、様々な揮発性物質が生成する。食肉の香りについては、これまでに flavor intensity や off flavor といった官能特性に関して、異なる種類の筋肉間で差があるという報告がされている。しかし、異なる種類の筋肉間に香りの差をもたらす原因となる揮発性物質及びその生成機構は解明されていない。

2. 研究の目的

本研究は、異なる種類の筋肉間に香りの差をもたらす揮発性物質及びその生成機構の解明を目指し、研究期間内に以下の2点を明らかにすることを目的として行った。

(1) メタボローム解析(キャピラリー電気泳動 - 質量分析)を用いて調理前の食肉中の代謝関連化合物の筋肉間差を明らかにする。

(2) ガスクロマトグラフ質量分析を用いて調理後の食肉から発生する揮発性物質の筋肉間差を明らかにする。

3. 研究の方法

(1) 胸最長筋および中間広筋のメタボローム解析

筋肉間で異なる香気成分の生成機構の解明のため、加熱前の食肉中の代謝関連化合物についてメタボローム解析を行った。

生体重約 90 kg のLWD(ランドレース種(L) × 大ヨークシャー種(W) × デュロック種(D)の3元交雑種)の雌豚3頭を供試した。と畜後、枝肉を2で168時間貯蔵した。168時間の貯蔵を行った枝肉より、速筋型筋肉である腰最長筋および遅筋型筋肉である中間広筋を採取し、液体窒素で凍結した後-80で保存した。採取した筋肉組織よりメタノールおよびクロロフォルムを用いて代謝物質の抽出を行い、キャピラリー電気泳動 - 質量分析を行った。測定は陽イオン性代謝物質およ

び陰イオン性代謝物質について行った。検出されたピークは、自動積分ソフトウェアを用いて自動抽出し、ピーク情報として質量電荷比、泳動時間、ピーク面積を得た。検出されたピークの質量電荷比および泳動時間の値を基に候補化合物のデータベース検索を行った。

(2) ガスクロマトグラフ質量分析を用いた5種類の筋肉の揮発性物質の解析

生体重約 90 kg のLWDの雌豚6頭を供試した。と畜後、枝肉を4で7日間貯蔵した。7日間の貯蔵を行った枝肉より、5種類の筋肉(中間広筋、横隔膜、大腰筋、胸最長筋、半腱様筋)を採取し、分析まで真空パック下で-20で凍結保存した。試料を、90の恒温槽中で30分間加熱し、氷水中で冷却後細切り、20 ml のガラスバイアルに2g秤量した。揮発性物質の捕集は、65 μm PDMS/DVB のSPME ファイバーを用いた動的ヘッドスペース法により行った(図1)。試料および内部標準(5-methyl-2-hexanol)が入ったガラスバイアルを、80のヒートブロック上で30分間加熱しSPME ファイバーに揮発性物質を吸着させた。捕集した揮発性物質の同定は、ガスクロマトグラフ質量分析(GC-MS)により行った。GC-MSには、HP5972 MSD /HP6890 GC装置(HEWLETT PACKARD社製)を用いて行った。カラムは、TC-WAX(長さ60 m × 内径0.25 mm, 膜厚0.25 μm, GLサイエンス社製)を用いた。SPME ファイバーに吸着した揮発性物質をGCのスプリットレスモードの注入口において250で2分間熱脱離させた。GC-MSは、キャリアガスとしてHeを用い、50 1分 220(4 /分) 220 5分の昇温条件で行った。揮発性物質の同定は、標準物質の保持時間およびマススペクトルパターンとの比較により行った。揮発性物質の量は、内部標準のピーク面積を100として計算した。

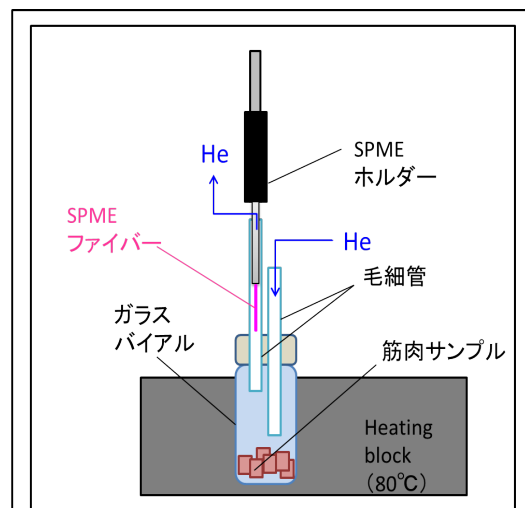


図1. 固相マイクロ抽出法(Solid Phase Micro Extraction: SPME)による揮発性物質の抽出

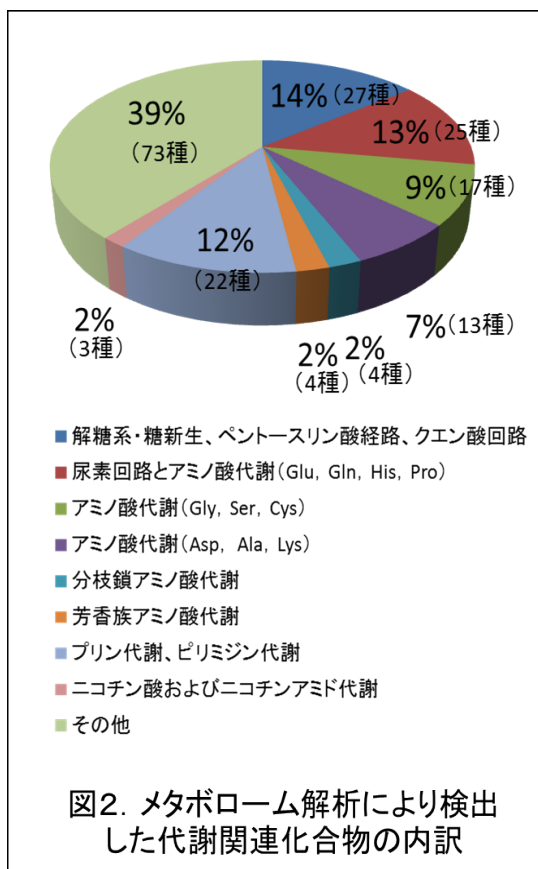
(3) 遅筋型ミオシン重鎖の ELISA

筋肉間における揮発性物質の違いをもたらす要因として筋線維型に着目し、5種類の筋肉の筋線維型を調べた。筋線維型の指標として、ミオシン重鎖の遅筋型アイソフォーム(MyHC-slow)を用いた。MyHC-slow量の測定は、MyHC-slow抗体を用いたELISAにより行った。筋肉試料片より、8M尿素溶液(8M Urea, 5mM DTT, 0.5 M リン酸カリウム緩衝液, pH6.5)でミオシンを抽出し、市販の抗遅筋型ミオシン重鎖抗体(M8421, SIGMA)および抗マウスIgG / HPA conjugate(A2554, SIGMA)を用いて吸光度の測定を行った。得られたデータは抽出液のタンパク質量で補正した後、ウシ咬筋の抽出液を遅筋型ミオシン量100の基準として、試料の遅筋型ミオシン量を計算した。8M尿素抽出液のタンパク質含量は市販のProtein Assay Kit (Bio Rad)で測定した。

4. 研究成果

(1) 胸最長筋および中間広筋のメタボローム解析結果

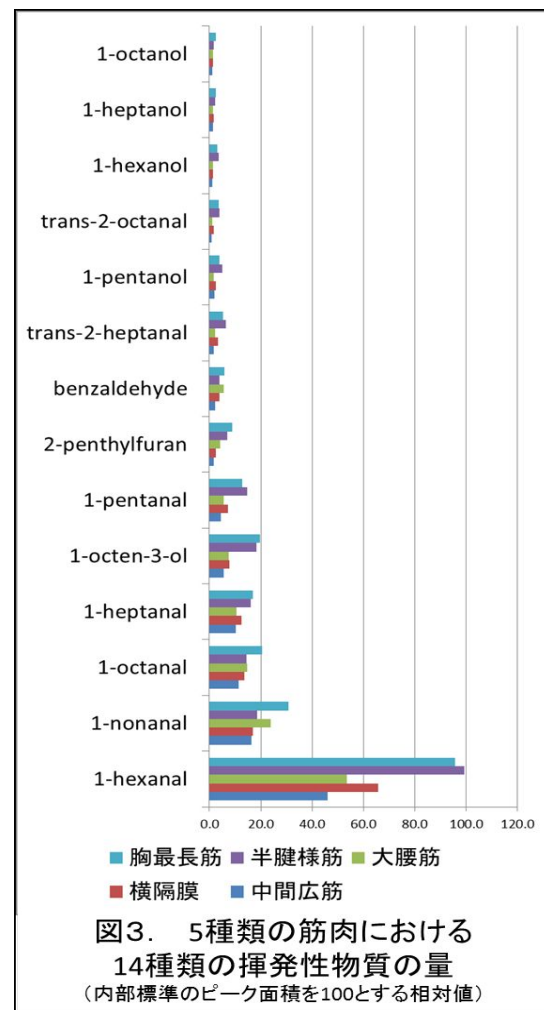
キャピラリー電気泳動 - 質量分析により188化合物を検出した(図2)。188化合物の内、解糖系・糖新生、ペントースリン酸経路、クエン酸回路に属する代謝物質が27種、尿素回路とアミノ酸代謝(Glu, Gln, His, Pro)に属する代謝物質が25種、アミノ酸代謝(Gly, Ser, Cys)に属する代謝物質



が17種、アミノ酸代謝(Asp, Ala, Lys)に属する代謝物質が13種、分枝鎖アミノ酸代謝に属する代謝物質が4種、芳香族アミノ酸代謝に属する代謝物質が4種、プリン代謝、ピリミジン代謝に属する物質が22種、ニコチン酸およびニコチンアミド代謝に属する代謝物質が3種、その他の代謝物質が73種検出された。また、と畜168時間後において、中間広筋でのみ検出された物質は14物質であり、胸最長筋でのみ検出された物質は13物質であった。これら各筋肉に特徴的な物質は、揮発性物質の筋肉間の違いに影響を及ぼす可能性が考えられた。

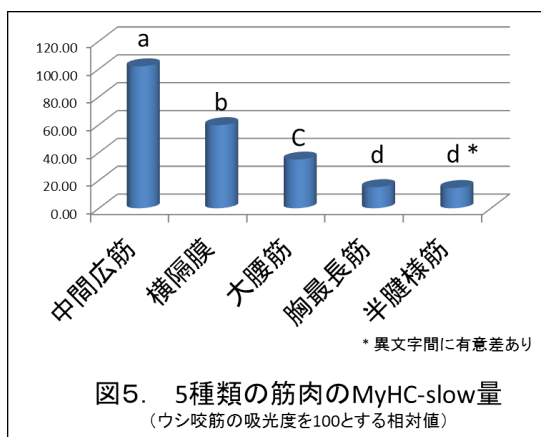
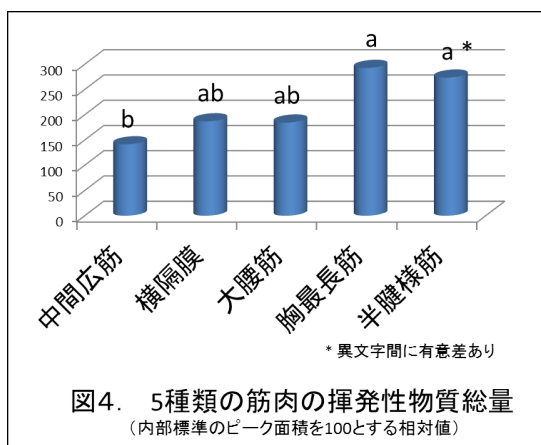
(2) 5種類の筋肉における揮発性物質の違いと筋線維型との関係

GC-MSの結果、約100ピークを検出し、標準物質の保持時間およびマススペクトルパターンとの比較により14種類の揮発性物質、すなわち1-pentanal, 1-hexanal, 1-heptanal, 1-octanal, 1-nonanal, 1-pentanol, 1-hexanol, 1-heptanol, 1-octanol, 1-octen-3-ol, 2-pentylfuran, benzaldehyde, trans-2-heptanal, trans-2-octanalを同定した。14種類の揮発性物質について、5種類の筋肉における定量結果を図3に示した。これら14種の揮発性



物質は主にアルデヒド、アルコールであり、これらは脂質由来の揮発性物質と考えられた。14種類の揮発性物質は5種類の筋肉すべてで検出され、各筋肉に特有の揮発性物質はみられなかった。さらに、どの筋肉においても、14種の合計量は、検出した約100ピークの合計量である揮発性物質総量の60%以上を占めており、14種の揮発性物質の組成についても筋肉間で大きな差がみられなかった。以上の結果より、検出された揮発性物質の内、主要な揮発性物質の種類に関しては、筋肉間で違いがないと考えられた。

また、量に関しては、半腱様筋および胸最長筋において中間広筋よりも揮発性物質総量が多かった(図4)。各筋肉のMyHC-slow量の分析結果は図5のようになった。これらの結果より、速筋型筋線維の割合が多い筋肉(=速筋)では、遅筋型筋線維の割合が多い筋肉(=遅筋)よりも揮発性物質総量が多いということが示された。さらに、揮発性物質総量とMyHC-slow量との間に有意な負の相関がみられた($r = -0.56, P < 0.01$)ことから、揮発性物質総量に対する筋線維型の関与が示された。



以上の結果から、本研究の加熱条件下においては、筋肉間での香気成分の違いは、揮発性物質の種類の違いではなく、量の違いであることが明らかとなった。さらに、揮発性物質総量への筋線維型の関与が示唆されたことから、脂質由来の揮発性物質が生成する過

程において、筋線維型に特徴的な成分が、揮発性物質の生成量に影響を及ぼしている可能性が考えられた。筋肉間の香気成分の違いを明らかにし、その違いに筋線維型が関与する可能性を示した本研究の成果は、将来的に食肉の各部位の品質向上に貢献すると考えられる。

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)

[学会発表](計 3 件)

M. Oe, K. Chikuni, I. Nakajima, K. Ojima, M. Shibata, S. Muroya, 「Myosin heavy chain expression in bovine muscles was detected at the single muscle fiber level」, The 64th Annual Meeting of the European Federation of Animal Science (France, Nantes), 2013年8月26日

大江美香、尾嶋孝一、中島郁世、佐々木啓介、千國幸一、柴田昌宏、室谷進、 「ブタ中間広筋および胸最長筋における揮発性物質の違い」, 日本畜産学会第116回大会(広島県、安田女子大学)、2013年3月30日

大江美香、千國幸一、尾嶋孝一、中島郁世、室谷進、 「ウシ単一筋線維中のトロポミオンアイソフォーム発現解析」, 日本畜産学会第115回大会(愛知県、名古屋大学東山キャンパス)、2012年3月29日

6. 研究組織

(1) 研究代表者

大江 美香 (Oe, Mika)

独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構・畜産草地研究所・畜産物研究領域・研究員

研究者番号：90391383