

平成 29 年 6 月 23 日現在

機関番号：13101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26450375

研究課題名(和文) 栄養処理による食肉の呈味制御：遺伝子及びメタボローム解析と代謝調節による高品質化

研究課題名(英文) Regulation of Meat taste by dietary amino acids

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) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：食肉のおいしさは、味、香り、色、食感等の様々な要素によって形成されるが、特に「呈味」に着目した。食肉の主要な呈味成分は筋肉遊離Gluであり、Glu量の調節は食肉の呈味に影響する。執筆者らの検討から、リジン(Lys)、イソロイシンまたはバリンを添加した飼料の短期給与により、筋肉遊離Glu量が有意に増加することが示された。一方、低Lys飼料を給与した場合にも、筋肉遊離Glu量が有意に増加し、食肉のうま味及び総合的な味強度が向上することが示された。また機能性成分への影響も見られた。そこでメタボローム及び遺伝子発現解析を用いて、代謝物質の変動を解析し、メカニズムをそれぞれ検討した。

研究成果の概要(英文)：Regulation of taste is one of the effective methods to improve the meat quality. The main taste active component in meat is free glutamate (Glu). In the past, it has difficult that this component has changed by feeding. Our studies have been demonstrated that Glu could be increased in chicken meat by short term feeding of some other dietary amino acids. However, the regulation mechanism was not clear. This study was aimed to clarify the regulation mechanism of Glu content by dietary amino acids using genomic and metabolome analysis. As a result, dietary high Lys induced Lys catabolism in muscle, it synthesis the free Glu in muscle. Low Lys diet induced protein degradation of muscle, and free amino acids of muscle were increased. Furthermore, dietary histidine or Lys affected the imidazole dipeptide contents of muscle. In conclusion, some dietary amino acid levels metabolically affect the taste-active and functional components of meat.

研究分野：動物栄養学

キーワード：アミノ酸代謝 飼料 食肉 グルタミン酸 呈味 肉質 メタボローム解析 遺伝子発現解析

1. 研究開始当初の背景

食肉の品質には色調などの外観，食前香，食中香，呈味，食感など多数の要因が関与する。食肉の高品質化の中で呈味向上に対する期待は大きい，効率的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及び食肉加工が主で，飼料栄養学的方法も見出されてきた。飼料栄養は，生産段階で短期間に高品質化を図ることがメリットである。飼料へのトコフェロール類の添加による抗酸化性の付与や，飼料原料の変更による脂肪酸組成の調節などが見出され，一部は実用化がなされているが脂溶性成分の調節が多い。水溶性成分が主体となる食肉の呈味成分量は飼料では変わらないとされてきた (Farmer ら，1999 他)。しかしこれまでの筆者らの検討から，一部の飼料成分が呈味成分に影響する可能性が見出された。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され，この Glu 増加のメカニズムには不明な点が多かった。そこで以下の検討を行った。

2. 研究の目的

(1) 飼料中 Lys レベルの調節による食肉呈味の向上の研究

食肉のおいしさは，味，香り，色，食感等の様々な要素によって形成されるが，本検討では特に「味」に着目した。食肉の主要な呈味成分は筋肉遊離 Glu であり，Glu 量の調節は食肉の呈味に影響する。我々の検討から，高 Lys 飼料の短期給与により，筋肉遊離 Glu 量が有意に増加することが示された (Watanabe *et al.*，2015)。一方，Lys を要求量の 90% に制限した飼料を給与した場合にも，筋肉遊離 Glu 量が有意に増加し，食肉のうま味及び総合的な味強度が向上することが示された (渡邊ら，2014)。そこでメタボロー

ム解析を用いて，高または低 Lys 飼料給与時の代謝物質の変動を網羅的に解析し，筋肉遊離 Glu 量の増加メカニズムをそれぞれ検討した。

(2) 低 Lys 飼料給与による食肉の呈味向上：飼育成績の低下を伴わない手法の検討

食肉の高品質化に筋肉遊離 Glu は重要であり，その量は食肉呈味に影響する。これまでに可食期のブロイラーへの低 Lys 飼料給与により，筋肉遊離 Glu 量が増加し，うま味，コク及び味強度が増加する傾向を報告した。一方，Lys の制限により飼育成績が低下した。そこで給与期間短縮により飼育成績の低下を抑えながら食肉呈味の向上を目的とした。

(3) 低 Lys 飼料給与による家禽の筋肉遊離アミノ酸量増加とその代謝機構の解析

著者らは，高 Lys 飼料をブロイラーに対して給餌することで筋肉遊離 Glu 量が増加する可能性を得た (2015)。一方，低 Lys 飼料をブロイラーに対して給餌した場合にも，食肉の主要呈味成分である遊離 Glu 量及び総遊離アミノ酸量が有意に増加することを明らかとした (渡邊，2014)。また，分析型官能評価により，うま味，酸味，苦味，コク及び全体の味強度の増加傾向を得た。そこで低 Lys 飼料の給与時の筋肉遊離アミノ酸量の増加メカニズムの検討を行った。

(4) 相対的低 Lys バランス飼料による食肉呈味の向上及び飼育成績への影響

本検討では Lys を要求量の 110%、他の必須アミノ酸を 125% とした「低 Lys バランスモデル (低 Lys モデル)」を作成し，飼育成績の維持と食肉呈味の向上を検討した。

(5) 筋肉 IDP 量増加への食餌性 Lys 量の検討

アンセリン (Ans) 及びカルノシン (Car) は IDP と総称され，抗酸化 (Kohen *et al.*，1988)，血糖値低下 (Kubomura *et al.*，2010) 等の機能が報告されている。食肉に多く含有され機能性物質として注目される。Ans 及び Car は，筋肉内で生合成されると推察

されている。著者らは飼料ヒスチジン(His)量による筋肉 IDP 調節の可能性を報告した(Kai *et al.*, 2015)。一方, 高 Lys 飼料による筋肉 Car 調節性も推察された(Watanabe *et al.*, 2015)。そこで筋肉 IDP 量を最も効果率的に増加させる飼料 Lys 量を代謝物質及び遺伝子発現解析により検討した。

(6) 食餌性メチオニンによる IDP 量及び合成酵素遺伝子発現量への影響

Imidazole dipeptide: IDP は, 食肉の機能性物質として注目されている。Ans は, 主にメチオニン(Met)代謝物である SAM を介した Car のメチル化により生合成される(McManus, 1962)。そこで食餌性 Met レベルによる筋肉 IDP 量への影響について, 血漿及び筋肉における基礎的なアミノ酸代謝に基づき検討を行った。また, 筋肉における IDP 合成酵素の mRNA 発現量を検討した。

3. 研究の方法

(1) 飼料中 Lys レベルの調節による食肉呈味の向上の研究

Lys 量を NRC(1994)に対し 100%(対照区), 150%(高 Lys 区)及び 90%(低 Lys 区)となるように試験飼料を調製した。これらを 28 日齢 Chunky 系雌ブロイラーに対して 10 日間給餌したのち, 浅胸筋を採取した。これを試験区ごとにプールして, メタボローム解析を行った(Agilent, CE-TOF MS)。

(2) 低 Lys 飼料給与による食肉の呈味向上: 飼育成績の低下を伴わない手法の検討

28 日齢 Chunky 系雌ブロイラーを供試し, 試験飼料の Lys 量は NRC 要求量(1994)に対し 100%(対照), 90%(低 Lys)に調製した。これらを 3, 6 及び 10 日間給餌し, 飼育成績を算出した。また浅胸筋を採取し遊離アミノ酸濃度の測定及び分析型官能評価を行った。

(3) 低 Lys 飼料給与による家禽の筋肉遊離アミノ酸量増加とその代謝機構の解析

28 日齢 Chunky 系雌ブロイラーを供試し,

試験飼料の Lys 量は NRC 要求量(1994)に対し 100%(対照)及び 90%(低 Lys)に調製した。これらを 10 日間給餌して筋肉を採取し, 遊離アミノ酸量をアミノ酸分析機(日本電子, JLC-500/V)で測定した。また, 筋肉タンパク質代謝関連酵素の mRNA 発現量を Real-time PCR で解析した。

(4) 相対的低 Lys バランス飼料による食肉呈味の向上及び飼育成績への影響

28 日齢 Chunky 系雌ブロイラーを供試し, 試験飼料の Lys 量は NRC 要求量(1994)に対し 125%(対照), 110%(低 Lys モデル)とし, 他の必須アミノ酸は両試験区とも 125%に調製した。これらを 10 日間給餌し, 飼育成績を算出した。また浅胸筋を採取し遊離アミノ酸濃度の測定及び分析型官能評価を行った。

(5) 筋肉 IDP 量の増加への食餌性 Lys 量検討

14 日齢 Chunky 系ブロイラーを供試した。試験飼料は NRC(1994)に準じ, Lys の要求量(飼料中 1.10%)に対して, Lys80%, 100%(Control)及び 120%の 3 試験区を設け, 10 日間自由摂取させた。採取した浅胸筋から遊離アミノ酸及び IDP 量を HPLC により測定し, また Carnosine synthase (CS), Carnosine N-Methyltransferase (CNMT)及び Cytosolic non-specific dipeptidase II (CNDP2)の mRNA 発現量を Real-time PCR により解析した。

(6) 食餌性 Met による IDP 量及び合成酵素遺伝子発現量への影響

供試動物は 14 日齢 Chunky 系雌ブロイラーを用い, 試験飼料の栄養要求量は NRC(1994)に準じた。試験区として, 低 Met 区(飼料中 0.38%; 要求量の 75%), 対照区(同 0.50%; 100%)及び高 Met 区(同 1.00%; 200%)の 3 試験区を設け, 10 日間自由摂取させた。血漿・浅胸筋の遊離アミノ酸及び IDP 量を HPLC により測定した。また浅胸筋中の CNMT 及び CS の mRNA 発現量を Real-time PCR により測定した。

4. 研究成果

(1) 飼料中 Lys レベルの調節による食肉呈味の向上の研究

対照区に対する代謝物質量の変動割合を解析した結果、高 Lys 区では、Lys に加えて、その分解産物であるサッカロピンや アミノアジピン酸が顕著に増加した。これらの物質は Glu の基質となることから、高 Lys 区における Glu の増加には、Lys の分解が寄与することが示唆された。低 Lys 区では、Glu を含むタンパク質構成アミノ酸が顕著に増加していた。このことから低 Lys 区における Glu の増加には、タンパク質代謝が寄与することが示唆された。以上から高 Lys 飼料と低 Lys 飼料は全く異なるメカニズムにより、筋肉遊離 Glu 量を増加させることが示唆された。

(2) 低 Lys 飼料給与による食肉の呈味向上：飼育成績の低下を伴わない手法の検討

低 Lys 区の 10 日目で対照区に対して増体の減少傾向が示されたが、3 及び 6 日目では有意な変動はなかった。飼料効率は全てで有意な変動はなかった。筋肉遊離 Glu 量は、3、6 及び 10 日目において 21.5~24.1%の増加を示した。分析型官能評価により、うま味、コク及び味強度は 3、6 及び 10 日給与の全てで高い値を示した。以上から、低 Lys 飼料を 3 日から 6 日間の給与は飼育成績を低下させずに呈味を向上できる可能性が示唆された。

(3) 低 Lys 飼料給与による家禽の筋肉遊離アミノ酸量増加とその代謝機構の解析

低 Lys 区では、対照に対して筋肉遊離 Glu 量が有意に増加した。また、総遊離アミノ酸量の増加傾向が示された。さらに、タンパク質分解に関与する 3M-His の増加傾向が示された。タンパク質代謝関連酵素は、 μ -カルパインの発現が対照に対して低 Lys で、有意に増加した。さらに μ -カルパインの発現と筋肉遊離 Glu 及び総遊離アミノ酸量との相関解析から、遊離 Glu 量との相関係数が 0.8、総遊離アミノ酸量が 0.7 となり、相関が見られた。低 Lys 飼料の給与に

よる遊離アミノ酸量の増加と、タンパク質分解酵素である μ -カルパインに相関性が得られたことから、Lys 制限によるタンパク質分解の亢進が筋肉遊離アミノ酸量を増加させた主要因である可能性が示唆された。

(4) 相対的低 Lys バランス飼料による食肉呈味の向上及び飼育成績への影響

増体、飼料摂取量及び飼料効率に有意な差は認められなかった。筋肉遊離 Glu 量は、対照区に対して低 Lys モデルで 34.5%有意に増加した。分析型官能評価により、うま味、コク、味強度及び肉様味が低 Lys モデルで有意に強いことが示された。

(5) 筋肉 IDP 量増加への食餌性 Lys 量の検討

遊離アミノ酸は、Lys120%で、遊離 Lys 量が増加した。Lys80%で、遊離 His 及び 1M-His 量が増加した一方で、-Ala 量は減少した。IDP は、Lys80%で Ans 量が増加した。一方で、Car 量は減少した。IDP 代謝酵素 mRNA 発現量は、Lys80%で CS の発現量が低下した。また、Lys120%に対して、Lys80%で CNBP2 の発現量が低下した。低 Lys 飼料の給与により筋肉 Ans 量が有意に増加した。飼料 Lys 量により Ans:Car 比は変化した。Ans の増加には本検討以外の酵素等の寄与が推察された。

(6) 食餌性 Met による IDP 量及び合成酵素遺伝子発現量への影響

浅胸筋では、高 Met 区の遊離 Met、1MH 及び Ans 量が有意に増加した。低 Met 区の遊離 Met 量は検出されず、また両 IDP 量に影響はみられなかった。IDP 合成酵素 mRNA 発現量は、高 Met 区の CNMT 及び CS の発現が有意に低下した。高 Met 飼料により筋肉 Ans 量が増加したが、Car 及び総 IDP 量に差はみられなかった。Car メチル化を触媒する CNMT の mRNA 発現量は低下した。高 Met 飼料による筋肉 Ans 量の増加には Car のメチル化以外の可能性も検討する必要性が示唆された。

〔雑誌論文〕(計 4 件)

Watanabe G, Kobayashi H, Shibata M, Kubota M, Kadowaki M, Fujimura S, Reduction of dietary lysine increases free glutamate content in chicken meat and improves its taste. *Anim. Sci. J.*, 査読有, 88(2), 300-305, 2017. doi: 10.1111/asj.12577.

渡邊源哉, 小林裕之, 久保田真敏, 門脇基二, 藤村 忍, 食餌性リジンによる筋肉の代謝変化とこれを利用した鶏肉呈味の向上, 栄養生理研究会報, 査読有, 61(1), 35-54, 2017.

Watanabe G, Kobayashi H, Shibata M, Kubota M, Kadowaki M, Fujimura S, Regulation of free glutamate content in meat by dietary lysine in broilers. *Anim. Sci. J.*, 査読有, 86(4), 435-42, 2015. doi: 10.1111/asj.12321.

Kai S, Watanabe G, Kubota M, Kadowaki M, Fujimura S, Effect of dietary histidine on contents of carnosine and anserine in muscles of broilers. *Anim. Sci. J.*, 査読有, 86(5), 541-6, 2015. doi: 10.1111/asj.12322.

〔学会発表〕(計 16 件)

金野健一郎, 渡邊源哉, 小林裕之, 柴田昌宏, 久保田真敏, 門脇基二, 藤村 忍, 高リジン飼料給与による鶏肉の熟成と肉質に関する研究, 日本畜産学会第 122 回大会, 2017 年 3 月 29 日, 神戸大学(神戸).

渡邊源哉, 小林裕之, 久保田真敏, 門脇基二, 藤村 忍, 食餌性リジンによる筋肉の代謝変化とこれを利用した鶏肉呈味の向上(招待講演), 2017 年度家畜栄養生理研究会春季集談会, 2017 年 3 月 26 日, 京都大学(京都).

甲斐慎一, 渡邊源哉, 久保田真敏, 門脇基二, 藤村 忍, 筋肉イミダゾールジペ

チド量を増加させる食餌性リジン量の検討, 日本アミノ酸学会第 10 回学術大会, 2016 年 11 月 19 日, 東京大学(東京).

甲斐慎一, 渡邊源哉, 久保田真敏, 門脇基二, 藤村 忍, 食餌性メチオニンによる筋肉イミダゾールジペプチド代謝変動の解析, 日本家禽学会 2016 年春季大会, 2016 年 3 月 30 日, 日本獣医生命科学大学(東京).

渡邊源哉, 小林裕之, 柴田昌宏, 久保田真敏, 門脇基二, 藤村 忍, 相対的低リジンバランス飼料による食肉呈味の向上及び飼育成績への影響, 日本畜産学会第 121 回大会, 2016 年 3 月 29 日, 日本獣医生命科学大学(東京).

藤村 忍, 動物の代謝情報と栄養素の機能を形質に生かす栄養学「メタボローム解析を活用した食肉の高品質化研究の新たな展開」(招待講演), 日本畜産学会第 121 回大会, 2016 年 3 月 28 日, 日本獣医生命科学大学(東京).

渡邊源哉, 伊藤友紀, 小林裕之, 柴田昌宏, 久保田真敏, 門脇基二, 藤村 忍, 低リジン飼料給与によるタンパク質代謝の変化が筋肉遊離アミノ酸量の増加を誘導する, 日本アミノ酸学会第 9 回学術大会, 2015 年 10 月 24 日, 滋賀県立大学(彦根).

甲斐慎一, 渡邊源哉, 久保田真敏, 門脇基二, 藤村 忍, 食餌性メチオニンによるイミダゾールジペプチド量及び合成酵素遺伝子発現量への影響, 日本アミノ酸学会第 9 回学術大会, 2015 年 10 月 24 日, 滋賀県立大学(彦根).

渡邊源哉, 小林裕之, 柴田昌宏, 久保田真敏, 門脇基二, 藤村 忍, 低リジン飼料給与による筋肉遊離アミノ酸量の増加へ熟成が与える影響, 日本畜産学会第 120 回大会, 2015 年 9 月 11 日, 酪農学園大学(江別).

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量および代謝遺伝

子発現量への影響，日本栄養・食糧学会大 96 回関東支部大会，2015 年 9 月 5 日，新潟大学（新潟）。

阿部紘子，久保田真敏，門脇基二，藤村 忍，給与形態の違いによる食餌性バリンが筋肉遊離グルタミン酸に及ぼす影響，日本栄養・食糧学会大 96 回関東支部大会，2015 年 9 月 5 日，新潟大学（新潟）。

渡邊源哉，小林裕之，伊藤友紀，永嶋淳，柴田昌宏，久保田真敏，門脇基二，藤村 忍，飼料中リジンレベルの調節による食肉呈味の向上の研究～メタボローム解析を用いた呈味物質増加メカニズムの解明～，日本栄養・食糧学会大 96 回関東支部大会，2015 年 9 月 5 日，新潟大学（新潟）。

Watanabe G, Kubota M, Kadowaki M, Fujimura S, Low lysine feeding enhances chicken meat taste by increasing of free glutamate, 57th International Congress Meat Science and Technology. 2015 年 8 月 26 日, Clermont-Ferrand (France).

Kai S, Watanabe G, Kubota M, Kadowaki M, Fujimura S, Effect of dietary methionine on metabolism of carnosine and anserine in muscles of broiler chicken, 57th International Congress Meat Science and Technology. 2015 年 8 月 26 日, Clermont-Ferrand (France).

Kai S, Watanabe G, Kubota M, Kadowaki M, Fujimura S, Effects of dietary histidine levels to amounts of imidazole dipeptides and interactions with lysine and arginine in muscles of broiler, 57th Asian Conference of Nutrition, 2015 年 5 月 16 日, Yokohama (Japan).

藤村 忍，飼料及びアミノ酸代謝に基づく家禽肉の呈味向上に関する研究（学会受賞講演），日本畜産学会第 119 回大会，2015 年 3 月 28 日，宇都宮大学（宇都宮）。

渡邊源哉，小林裕之，柴田昌宏，久保田真敏，門脇基二，藤村 忍，低リジン飼料給与による食肉の呈味向上～飼育成績の低下を伴わない手法の検討～，日本畜産学会第 119 回大会，2015 年 3 月 28 日，宇都宮大学（宇都宮）。

渡邊源哉，久保田真敏，門脇基二，藤村 忍，低リジン飼料給与による家禽の筋肉遊離アミノ酸量増加とその代謝機構の解析，日本アミノ酸学会第 8 回学術大会，2014 年 11 月 8 日，東京農業大学（東京）。

Kai S, Kubota M, Kadowaki M, Fujimura S, Dietary histidine level alters contents of carnosine and anserine in muscle of broiler chicken, XIVth European Poultry Conference, 2014 年 6 月 28 日, Stavanger (Norway).

〔その他〕

解説（計 2 件）

藤村 忍，食肉の美味しさと呈味成分，香料，266，35-41，2015。

藤村 忍，食肉の美味しさの評価，PRESS LIT，62，3-4，2015。

ホームページ等（計 3 件）

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

<https://www.agr.niigata-u.ac.jp/teachers/228>

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