

56

助成番号 0156

魚肉および畜肉貯蔵中における脂質過酸化由来有毒アルデヒド、 4-ヒドロキシアルケナール生成の食塩添加による抑制

境 正 (宮崎大学農学部)

河原 聡 (宮崎大学農学部)

NaCl を添加した魚肉および食肉中の 4-ヒドロキシアルケナール (HALE) 含量および脂質過酸化の進行状況の指標としてのマロンジアルデヒド (MDA) およびカルボニル修飾タンパク質 (CP) 含量が種々の条件下で貯蔵したさいにどのように変動するかを測定し、その結果を基に NaCl 添加による HALE の生成が抑制される条件を検討した。

まず最初に魚肉 (ブリ) の冷蔵貯蔵中における NaCl 添加が HHE 生成におよぼす影響を調べた。MDA および CP の変動からみて、NaCl 添加は脂質過酸化の進行を抑制した。HHE に関しては、その生成を促進させる傾向を示していた。次いで、魚肉 (カンパチ) を用い、再度冷蔵貯蔵中における NaCl 添加が HHE 生成におよぼす影響を調べた。MDA および CP の変動からみて、NaCl 添加は脂質過酸化の進行を促進した。HHE に関しては、明確な傾向を示さなかった。

さらに、凍結貯蔵が、塩漬魚肉にどのように影響するのかを明らかにするため、NaCl を添加した魚肉 (カンパチ) を凍結貯蔵後、4 週間おきに 24 週目まで MDA, HHE および CP 含量の変動を測定した。MDA および CP 含量の変動から、凍結貯蔵した魚肉においては NaCl 添加により脂質過酸化が進行することが明らかになった。しかしながら、HHE の変動結果は、NaCl 添加が -20°C 貯蔵魚肉中の HHE 生成を抑制している可能性を示唆していた。

塩漬は、肉を熟成させる上で重要な加工方法の一つであり、ハムなどの肉製品の大部分に利用され、独特な風味をつくるのに欠かせない工程である。しかし、NaCl には保存食品中の脂質過酸化を促進する作用がある。しかし、NaCl 添加ブタ肉の貯蔵中の脂質過酸化物、特に HHE の変動については詳細な研究が少ない。そこで、 4°C にて塩漬ブタ肉を無菌状態で貯蔵し、その MDA、CP および HNE 含量の変動を調べた。

MDA、CP 含量の変動は、NaCl 添加が脂質過酸化を促進していることを示していた。HNE 含量についても、NaCl 添加区において有意的に生成が著しく促進された。以上のことから NaCl を添加することにより、脂質過酸化が促進され、その結果魚肉とは異なり HNE の生成も促進されることが明らかになった。可能性は少ないと思われる。

同じ肉であるにもかかわらず、魚肉と畜肉では NaCl 添加が HALE の生成に及ぼす影響は逆になった。なぜこのような結果になったのか、今後魚肉および畜肉中の HALE の生成機構について詳細に検討する必要がある。

助成番号 0156

魚肉および畜肉貯蔵中における脂質過酸化由来有毒アルデヒド、
4-ヒドロキシアルケナール生成の食塩添加による抑制

境 正 (宮崎大学 農学部)

河原 聡 (宮崎大学 農学部)

食品中に多く含まれる高度不飽和脂肪酸 (以下 PUFA) は二重結合が多いため酸化を受けやすい。PUFA の酸化反応によって生成される過酸化脂質は、食品の味、栄養、安全性に悪影響をおよぼすので、脂質過酸化の促進は食品加工上、非常に重要な問題である。脂質過酸化と関係のある物質としては、マロンジアルデヒド (以下 MDA)、カルボニル修飾タンパク質 (以下 CP) および 4-ヒドロキシアルケナール (以下 HALE) がある。PUFA は過酸化により最終的に MDA になる。この MDA 含量は食品および生体組織の酸化の指標として用いられている。HALE は 4 位に OH 基を持つ α , β 不飽和アルデヒドの総称で、エイコサペンタエン酸等の n-3 高度不飽和脂肪酸 (PUFA) より生じる 4-ヒドロキシヘキセナール (HHE) やアラキドン酸等の n-6PUFA より生じる 4-ヒドロキシノネナール (HNE) がある。その脂肪酸組成から、魚肉においては HHE が、畜肉においては HNE が重要である。HALE は強い細胞毒性および変異原性を持ち、発ガンやアルツハイマー等の疾病との関連が疑われている。HHE および HNE は我々が日常的に摂取する食品に含まれており、食品の安全性と重要な関わりをもっている。CP は、脂肪酸の自動酸化によって生じた活性の高いカルボニル類が、システイン、リジン、ヒスチジンなどのアミノ酸残基と反応してできるタンパク質である。これは、食肉の品質の低下のみならず、アルツハイマー病、動脈硬化、白内障リウマチ関節炎などの疾病などに関与していると報告されている。脂質過酸化は NaCl により促進されることはよく知られているが、その添加は食肉の加工上、例えば、すり身や塩漬等で重要である。したがって、NaCl 添加による脂質過酸化の促進およびそれに伴う 4-HALE の生成は魚肉および食肉加工上、重要な問題である。しかしながら、NaCl を添加した魚肉および食肉の貯蔵中における 4-HALE の生成機構についての研究はほとんどない。

そこで本研究では、NaCl を添加した魚肉および食肉中の HALE 含量および脂質過酸化の進行状況の指標としての MDA および CP 含量が種々の条件下で貯蔵したさいにどの様に変動するかを測定し、その結果を基に NaCl 添加による HALE の生成が抑制される条件を検討した。

第一章 ブリの冷蔵貯蔵実験

目的

Kanner et al. (1991) は、七面鳥筋肉組織の脂質過酸化における NaCl の影響を報告している。これによると、NaCl を加えた筋肉組織において、脂質過酸化が促進されるため MDA が生成され、NaCl 濃度を増すことにより、それは促進される。これは、NaCl がタンパク質とキレート結合している Fe を遊離させ、Fe イオンが生じ、触媒となり、ラジカルが生成されるためだと報告されている。また、魚肉組織においても、NaCl を加えると、脂質過酸化が促進されるため MDA が生成されることは確認されている。しかしながら、NaCl 添加と HHE の生成との関連については明らかにされていない。そこで、魚肉の冷蔵貯蔵中における NaCl 添加が HHE 生成におよぼす影響を明らかにするために、本実験を行った。

実験方法

1) 試料

試料のブリは、一般の市場で購入した。皮および内臓を取り除き、脂身と血合筋を削除した後、筋肉組織のみをフードプロセッサーで細かくした。その試料を3等分し、Control, 1.5 および 0.3M NaCl となるように調整した。それぞれをポリエチレンバックに入れ、0°C で貯蔵した。以上の条件で貯蔵した試料の中の MDA, CP および HHE 含量を 0, 2, 4, 6, 8 日目に測定し、それぞれの値の変動を観察、検討した。

2) MDA, HHE および CP の測定法

貯蔵魚肉中の MDA および HHE 含量はそれぞれ Sakai et al. (Sakai et al. 1999) (Sakai et al. 1997) の方法により分析した。CP については Nakamura and Goto (1996) の方法により分析した。

3) 統計処理

統計処理は Duncan の multiple range test を用いた (Duncan 1955)。

結果および考察

MDA, CP, HHE 量の測定結果を表 1 に示した。この表から明らかなように、貯蔵後 8 日目において、0.3M 食塩添加区の方がコントロール区よりも有意に MDA 含量が低く、NaCl 添加により脂質過酸化が抑制されることを示しており、Kanner et al. (1991) の報告結果、すなわち NaCl 添加が脂質過酸化を進行させるとは異なっていた。NaCl 添加による CP 含量の変動に関しては、有意な差は認められなかった。しかしながら、HHE 含量に関しては、貯蔵後 2 日目において 0.15 および 0.3 M NaCl 添加区はコントロール区に比べ有意に増加していた。また、貯蔵後 8 日目において NaCl 添加区はコントロール区に比べ有意ではないが、増加していた。この結果は食塩添加が HHE の生成を促進させる傾向を示しているのか

もしれない。

これまで行われてきた HHE 生成に関する一連の研究結果は、脂質過酸化の進行が抑制される状況下で HHE の生成が進行する事を示しているように思われる (Sakai et al. 2000) (Munasinghe et al. 2002b)。今回得られた結果も同様な傾向を示しているが、今後詳細な検討が必要と思われる。

表 1. 0°C貯蔵食塩添加ブリ肉中の MDA, HHE および CP 含量の変動

	Days	0	2	4	6	8
MDA	Control	0.36±0.02 ^{a,x}	8.23±1.08 ^{b,x}	8.91±1.21 ^{b,x}	12.22±4.32 ^{b,x}	20.83±3.51 ^{a,x}
(μmol/g	0.15M	0.36±0.02 ^{a,x}	5.39±1.39 ^{b,y}	11.96±3.77 ^{c,x}	7.19±1.13 ^{b,xy}	16.98±3.52 ^{d,xy}
tissue)	0.30M	0.36±0.02 ^{a,x}	8.70±0.20 ^{b,x}	9.38±1.43 ^{b,x}	6.80±0.79 ^{c,y}	11.19±1.21 ^{d,y}
HHE	Control	0.00±0.00 ^{a,x}	0.03±0.02 ^{ab,x}	0.07±0.03 ^{b,x}	0.04±0.01 ^{ab,x}	0.18±0.07 ^{c,x}
(nmol/g	0.15M	0.00±0.00 ^{a,x}	0.06±0.00 ^{ac,y}	0.13±0.06 ^{bc,x}	0.15±0.06 ^{bc,x}	0.23±0.10 ^{b,x}
tissue)	0.30M	0.00±0.00 ^{a,x}	0.11±0.01 ^{ab,z}	0.08±0.03 ^{ab,x}	0.13±0.11 ^{ab,x}	0.25±0.19 ^{b,x}
CP	Control	0.31±0.14 ^{a,x}	0.33±0.17 ^{a,x}	0.60±0.10 ^{a,x}	0.43±0.04 ^{a,x}	1.13±0.31 ^{b,x}
(nmol/mg	0.15M	0.31±0.14 ^{a,x}	0.56±0.07 ^{bd,x}	0.70±0.17 ^{b,x}	0.35±0.09 ^{ad,x}	0.97±0.14 ^{c,x}
protein)	0.30M	0.31±0.14 ^{a,x}	0.61±0.28 ^{a,x}	0.57±0.28 ^{a,x}	0.19±0.20 ^{a,x}	1.10±0.21 ^{b,x}

a-e 平均値 (n=3) ±標準偏差: 同じ列において異なった上付文字を持っているところは有意に差がある (P<0.05).

x-z 平均値 (n=3) ±標準偏差: 同じ行において異なった上付文字を持っているところは有意に差がある (P<0.05).

第2章 魚肉冷蔵貯蔵実験

目的

第1章の実験結果を基に、貯蔵魚肉中の HHE 生成におよぼす NaCl の影響を明らかにするために、試料にカンパチを用いて、貯蔵温度条件を 0°C にし、MDA, CP および HHE 量を測定した。

実験方法

1) 試料

試料にはカンパチを用いて、第1章と同様に調整し、0°C で貯蔵した。以上の条件で貯蔵した試料の MDA, CP および HHE 含量を 0, 2, 4, 6, 8 日目に測定し、それぞれの値の変動を観察、検討した。

2) MDA, HHE および CP の測定法

貯蔵魚肉中の MDA および HHE 含量はそれぞれ Sakai et al. (Sakai et al. 1999) (Sakai et al. 1997) の方法により分析した。CP については Nakamura and Goto (1996) の方法により分析した。

3) 統計処理

統計処理は Duncan の multiple range test を用いた (Duncan 1955)。

結果および考察

MDA, CP および HHE 量の測定結果を表 2 に示した。この表から明らかのように、貯蔵後 8 日目において、0.3M 食塩添加区の方がコントロール区よりも有意に MDA 含量が高く、NaCl 添加により脂質過酸化が促進されることを示しており、Kanner et al. (1991) の報告結果、すなわち NaCl 添加が脂質過酸化を進行させると同じであった。NaCl 添加による CP 含量の変動に関しても、0.3M 食塩添加区の方がコントロール区よりも有意に高かった。以上の結果から、カンパチを用いた今回の実験では、NaCl 添加は脂質過酸化を進行させた。HHE 含量に関しては NaCl 添加区とコントロール区との間には有意な差は認められなかった。

これまで行われてきた HHE 生成に関する一連の研究結果は、前の章でも述べたが脂質過酸化の進行が抑制される状況下で HHE の生成が進行する事を示しているように思われる (Sakai et al. 2000) (Sakai et al. 2002 in press)。今回得られた結果はそれとは異なった結果がえられており、NaCl が魚肉の脂質過酸化におよぼす影響については詳細に検討する必要がある。

表2. 0℃貯蔵食塩添加カンパチ肉中のMDA, HHE およびCP含量の変動

		Days	0	2	4	6	8
MDA (μ mol/g tissue)	Control		0.60 \pm 0.09 ^{a,x}	8.23 \pm 1.08 ^{b,x}	8.91 \pm 1.21 ^{b,x}	3.53 \pm 1.27 ^{ab,x}	4.74 \pm 1.83 ^{b,x}
	0.15M		0.60 \pm 0.09 ^{a,x}	5.39 \pm 1.39 ^{b,x}	11.96 \pm 3.77 ^{ad,x}	3.98 \pm 1.24 ^{bd,x}	9.08 \pm 2.57 ^{c,y}
	0.30M		0.60 \pm 0.09 ^{a,x}	8.70 \pm 0.20 ^{b,x}	9.38 \pm 1.43 ^{bc,y}	11.05 \pm 1.74 ^{c,y}	11.91 \pm 1.69 ^{c,y}
HHE (nmol/g tissue)	Control		0.00 \pm 0.00 ^{a,x}	0.04 \pm 0.06 ^{a,x}	0.04 \pm 0.06 ^{a,x}	0.08 \pm 0.11 ^{a,x}	0.01 \pm 0.02 ^{a,x}
	0.15M		0.00 \pm 0.00 ^{a,x}	0.06 \pm 0.05 ^{a,x}	0.05 \pm 0.09 ^{a,x}	0.03 \pm 0.04 ^{a,x}	0.01 \pm 0.02 ^{a,x}
	0.30M		0.00 \pm 0.00 ^{a,x}	0.08 \pm 0.04 ^{a,x}	0.08 \pm 0.07 ^{a,x}	0.14 \pm 0.13 ^{a,x}	0.00 \pm 0.00 ^{a,x}
CP (nmol/mg protein)	Control		0.21 \pm 0.04 ^{ad,x}	0.27 \pm 0.10 ^{ab,x}	0.41 \pm 0.11 ^{b,x}	0.08 \pm 0.09 ^{cd,x}	0.02 \pm 0.02 ^{c,x}
	0.15M		0.21 \pm 0.04 ^{a,x}	0.20 \pm 0.15 ^{a,x}	0.47 \pm 0.29 ^{ab,x}	0.70 \pm 0.03 ^{b,y}	0.35 \pm 0.19 ^{a,xy}
	0.30M		0.21 \pm 0.04 ^{a,x}	0.28 \pm 0.02 ^{a,x}	0.60 \pm 0.09 ^{b,x}	0.57 \pm 0.25 ^{b,y}	0.63 \pm 0.09 ^{b,y}

a-e 平均値 (n=3) \pm 標準偏差: 同じ列において異なった上付文字を持っているところは有意に差がある (P<0.05).

x-z 平均値 (n=3) \pm 標準偏差: 同じ行において異なった上付文字を持っているところは有意に差がある (P<0.05).

第三章 魚肉の凍結（-20℃）貯蔵実験

目的

前の二章でも述べてきたようにNaClは、食品中の脂質過酸化を促進すると言われてきた。しかし、短期間における塩漬魚肉の貯蔵研究は行なわれてきたが、凍結（-20℃）貯蔵の研究はまだ行なわれていない。そこで、凍結貯蔵が、塩漬魚肉にどのように影響するのかを明らかにするため、NaClを添加した魚肉を凍結貯蔵後、4週間おきに24週目までMDA、HHEおよびCP含量の変動を測定した。

実験方法

1) 試料

試料魚肉（ブリ）は、一般市場で購入した。皮および内臓を取り除き、脂身と血合筋を削除した後、筋肉組織のみをフードプロセッサーで細かく刻んだ。その試料を4等分にし、Control、0.3MNaCl、0.6MNaCl、0.9MNaClとなるように調合した。それぞれをポリエチレンバックにいれて、-20℃で貯蔵した。以上の条件で貯蔵した試料のMDA、HHE、CPを測定し、それぞれの値の変動を観察、検討した。なお期間は、0日目から4週間おきに24週目まで測定を行なった。

2) MDA、HHEおよびCPの測定法

貯蔵魚肉中のMDAおよびHHE含量はそれぞれSakai et al.（Sakai et al. 1999）（Sakai et al. 1997）の方法により分析した。CPについてはNakamura and Goto（1996）の方法により分析した。

3) 統計処理

統計処理はDuncanのmultiple range testを用いた（Duncan 1955）。

結果および考察

MDA、CPおよびHHE量の測定結果を表3に示した。MDA含量については、Control区では4週目までは変化しないが8週目で著しく増加し、12週目で著しく減少した。その後、24週目まで徐々に増加しているが、大きな変化はなかった。NaCl 0.3M区では、4週目に増加し、8週目まで増加し続けた。その後、12週目で著しく減少し、24週目まで徐々に増加しているものの大きな変化はなかった。NaCl 0.6M、0.9M区でも同じ変化を示した。増加量はControl区に対して、0.9M区、0.6M区、0.3M区の順に大きかった。HHE含量については、Control区では4週目に増加し、8週目まで増加しつづけるが、その後16週目まで減少し、その後は大きな変化は見られなかった。0.3M、0.6M、0.9M区も、Control区と同様に4週目で著しく増

加し、8週目まで増加するが、12週目は著しく減少し、その後は大きな変化は見られなかった。増加量はControl区に対して、0.9M、0.6M、0.3M区の順で大きかった。CP含量については、Control区は12週目までほとんど変化せず、16週目で少し増加し、24週目では増加した。0.3M区は、4週目に少し増加し、8週目では減少したが、16週目まで徐々に増加していき、その後、Control区同様24週目まで著しく増加した。0.6M区は、4週目で増加し、その後徐々に減少するが、16週目で増加し、その後Control区同様24週目で著しく増加した。0.9M区は、20週目での一時的な減少は見られなかったが、0.6M区とほぼ同じ動きを示した。増加量は、Control区に対して、0.9M、0.6M、0.3M区の順で大きかった。

CPだけが徐々に増えているが、これは魚肉の脂質過酸化が徐々に進行している事を示している。以上の結果から見て、 -20°C で貯蔵しても食塩添加魚肉中で脂質過酸化がかなり進行している事が明らかになった。20週では0.9M添加区のHHE含量はcontrol区のそれに比べ有意に低く、24週では有意ではないが、NaCl添加区のHHE含量はcontrol区のそれに比べ低かった。したがって、NaCl添加は -20°C 貯蔵魚肉中のHHE生成を抑制していると考えられる。

表 3. 塩漬魚肉、-20°C長期貯蔵実験

Week	0	4	8	12	16	20	24
MDA(μmol/g tissue)							
control	0.05±0.01ae, w	0.06±0.01a, w	0.14±0.01b, w	0.03±0.00cb, w	0.05±0.00ae, w	0.04±0.00ce, w	0.06±0.00a, w
NaCl 0.3M	0.05±0.01ae, w	0.11±0.01a, x	0.23±0.02a, x	0.08±0.01b, wx	0.10±0.00b, x	0.09±0.00b, x	0.16±0.01d, x
NaCl 0.6M	0.05±0.01ae, w	0.15±0.03ac, y	0.34±0.00ac, y	0.09±0.01b, x	0.13±0.00b, y	0.13±0.01b, y	0.19±0.01e, y
NaCl 0.9M	0.05±0.01ae, w	0.39±0.01a, z	0.43±0.00c, z	2.61±0.14a, x	0.14±0.00d, y	0.13±0.00d, y	0.19±0.01b, y
HHE(nmol/g tissue)							
control	0.06±0.00a, w	0.83±0.02bc, w	1.21±0.22b, w	0.51±0.04ac, w	0.17±0.08a, wx	0.49±0.20ac, w	0.49±0.39ac, w
NaCl 0.3M	0.06±0.00a, w	1.71±0.32b, x	2.06±0.45b, wy	0.26±0.07a, x	0.14±0.01a, w	0.21±0.07a, wy	0.25±0.16a, w
NaCl 0.6M	0.06±0.00a, w	1.16±0.05b, wx	0.00±0.00b, x	0.09±0.03a, y	0.30±0.02a, w	0.55±0.10a, w	0.26±0.17a, w
NaCl 0.9M	0.06±0.00a, w	1.47±0.15b, x	2.91±0.14c, y	0.06±0.01a, y	0.30±0.00a, wy	0.00±0.00a, x	0.34±0.16a, w
CP(nmol/mg protein)							
control	2.93±0.11ad, w	3.65±0.29ad, w	3.50±0.18ad, w	3.16±0.12ad, w	6.71±0.60b, w	4.45±0.08ab, w	5.09±0.43ab, w
NaCl 0.3M	2.93±0.11ad, w	5.27±0.32b, x	3.70±0.27a, w	5.42±0.67b, x	9.17±0.47c, wy	3.41±0.50a, w	7.11±1.26d, w
NaCl 0.6M	2.93±0.11ad, w	8.12±0.28b, y	5.72±0.21c, x	5.11±0.32cf, x	11.17±0.92d, y	7.41±0.16bc, y	10.86±0.95d, y
NaCl 0.9M	2.93±0.11ad, w	9.46±0.56bf, z	6.87±0.32c, y	8.02±0.00bc, y	11.57±1.09d, y	11.09±0.51df, z	12.44±0.44d, y

a-e 平均値 (n=3) ±標準偏差: 同じ列において異なった上付文字を持っているところは有意に差がある (P<0.05).

x-z 平均値 (n=3) ±標準偏差: 同じ行において異なった上付文字を持っているところは有意に差がある (P<0.05).

第四章 食塩添加がブタ肉の脂質過酸化に及ぼす影響

目的

塩漬は、肉を熟成させる上で重要な加工方法の一つであり、ハムなどの肉製品の大部分に利用され、独特な風味をつくるのに欠かせない工程である。また、塩漬剤の主剤であるNaClは、その脱水作用によって貯蔵性を高め、細菌の増殖を抑制する作用がある。しかし、NaClには保存食品中の脂質過酸化を促進する作用がある。このことは、加工食品の安全性の面において非常に重大な問題である。畜肉の脂質過酸化と関係のある物質としては、MDA、CPおよびHNEがある。HNEは、n-6脂肪酸の酸化によって生じる α 、 β 不飽和アルデヒドである。この不飽和アルデヒドには、たくさんの種類が存在することが知られているが、中でもこのHNEは非常に強い細胞毒性を持ち、種々の疾病を引き起こすことが知られているために、最近特に注目されているアルデヒドである。

NaClを加えた筋肉組織において、NaCl濃度が増すことにより脂質過酸化は促進されるといわれている。これは、NaClがタンパク質とキレート結合しているFeを遊離させ、Feイオンが生じ、触媒となり、活性酸素種が生成されるためであるとされている。しかし、NaCl添加ブタ肉の貯蔵中の脂質過酸化物質、特にHNEの変動については詳細な研究が少ない。

そこで、NaClがブタ肉の脂質過酸化へおよぼす影響を明らかにするために、本実験を行った。4℃にて塩漬ブタ肉を無菌状態で貯蔵し、そのMDA、CPおよびHNE含量の変動を調べた。

〔実験方法〕

1) 貯蔵条件

試料のブタは一般の市場で購入した。皮、脂身を削除したあと、筋肉組織のみをフードプロセッサで細かくした。その試料を3等分し、Control (Control区) およびNaCl溶液を1.0 (1.0%添加区) および2.0% (2.0%添加区) となるように添加した2試験区、計3試験区に調製した。それぞれを無菌パックに入れ、4℃で貯蔵し、各試験区の試料のMDA、CPおよびHNE生成量を0、3、7、10日目に測定した。

2) MDA、HNEおよびCPの測定法

貯蔵魚肉中のMDAおよびHNE含量はそれぞれSakai et al. (1999) およびGoldring et al. (1993) の方法により分析した。CPについてはNakamura and Goto (1996) の方法により分析した。

3) 統計処理

統計処理はDuncanのmultiple range testを用いた(Duncan 1955)。

結果および考察

MDA、HNE および CP 含量の測定結果を表4に示した。MDA 含量は、Control 区においては、10日目まで有意に増加し続けた。1.0%区においては、7日目まで有意に増加し続け、その後、変化はなかった。2.0%区においては、7日目まで有意に増加し、その後、変化はなかった。CP 含量は、Control 区においては、7日目まで有意に増加し続けた。1.0%区においては、3日目までは変化せず、7日目に有意に増加し、その後、減少した。2.0%区においては、7日目まで有意に増加し、その後、有意に減少した。HNE 含量は、Control 区と1.0%区では、10日目まで変化しなかった。2.0%区では7日目に有意に大きく増加し、その後変化はなかった。MDA、CP 含量については、コントロールに比べて、NaCl を添加したもののほうが生成は促進している。HNE 含量については、2%区において有意的に生成が著しく促進された。以上のことから NaCl を添加することにより、脂質過酸化が促進され、その結果魚肉とは異なり HNE の生成も促進されることが明らかになった。

表4. 塩漬ブタ肉貯蔵中における MDA, HNE および CP の変動

Days		0	3	7	10
MDA ($\mu\text{mol/g tissue}$)	Control	0.22 \pm 0.01 ^{a,x}	0.74 \pm 0.02 ^{b,x}	1.43 \pm 0.06 ^{c,x}	1.30 \pm 0.34 ^{d,x}
	1.00%	0.22 \pm 0.01 ^{a,x}	1.03 \pm 0.03 ^{b,y}	1.59 \pm 0.07 ^{c,xy}	1.52 \pm 0.05 ^{c,x}
	2.00%	0.22 \pm 0.01 ^{a,x}	1.21 \pm 0.13 ^{b,y}	1.86 \pm 0.18 ^{c,y}	1.90 \pm 0.07 ^{c,x}
HNE (nmol/g tissue)	Control	0 \pm 0 ^{a,x}	0 \pm 0 ^{a,x}	0 \pm 0 ^{a,x}	0 \pm 0 ^{a,x}
	1.00%	0 \pm 0 ^{a,x}	0 \pm 0 ^{a,x}	0.01 \pm 0.05 ^{a,x}	0.02 \pm 0.00 ^{a,x}
	2.00%	0 \pm 0 ^{a,x}	0 \pm 0 ^{a,x}	0.20 \pm 0.06 ^{b,y}	0.28 \pm 0.02 ^{b,y}
CP (nmol/mg protein)	Control	0.37 \pm 0.05 ^{a,x}	0.35 \pm 0.02 ^{ac,x}	0.52 \pm 0.02 ^{b,x}	0.25 \pm 0.04 ^{c,x}
	1.00%	0.37 \pm 0.05 ^{a,x}	0.38 \pm 0.03 ^{a,x}	0.76 \pm 0.11 ^{b,xy}	0.50 \pm 0.05 ^{ab,y}
	2.00%	0.37 \pm 0.05 ^{a,x}	0.58 \pm 0.03 ^{ac,y}	1.07 \pm 0.17 ^{b,y}	0.72 \pm 0.09 ^{c,y}

a-e 平均値 (n=3) \pm 標準偏差: 同じ列において異なった上付文字を持っているところは有意に差がある (P<0.05).

x-z 平均値 (n=3) \pm 標準偏差: 同じ行において異なった上付文字を持っているところは有意に差がある (P<0.05).

第五章 総合考察

NaCl 添加魚肉の冷蔵および冷凍実験の結果は、これまで得られた多くの実験結果、すなわち魚肉中の HHE は脂質過酸化の進行が抑制された状況下、例えば-20°C貯蔵時 (Sakai et al. 2000) や木酢液添加時 (Munasinghe et al. 2002a; Munasinghe et al. 2002b) に、その生成が促進されるが、逆に脂質過酸化の進行が促進される状況下、すなわち α -トコフェロール含量が少ないマダイ肉中では抑制される (村田ら; 未発表データ)、と一致していた。したがって、魚肉に関しては、NaCl 添加は多くの場合脂質過酸化を促進するので、HHE の生成を抑制する可能性が示唆される。

NaCl 添加ブタ肉の実験結果は、NaCl 添加により脂質過酸化が促進され、その結果 HNE の生成も促進したことを示している。ブタ肉に木酢液を添加した実験結果、すなわち木酢液添加により脂質過酸化が促進され、その結果 HNE の生成も促進した (Munasinghe et al. 2002c) と良く一致した。したがって、ブタ肉において NaCl 添加は HNE の生成を抑制する可能性は少ないと思われる。

同じ肉であるにもかかわらず、魚肉と畜肉では NaCl 添加が HALE の生成に及ぼす影響は逆になった。なぜこのような結果になったのか、今後魚肉および畜肉中の HALE の生成機構について詳細に検討する必要がある。

文献

- Duncan, D. B. (1955). Multiple range and multiple *F* tests. *Biometrics*, 11, 1-42.
- Goldring, C., Casini, A. F., Maellaro, E., Del Bello, B. & Comporti, M. (1993). Determination of 4-hydroxynonenal by high-performance liquid chromatography with electrochemical detection. *Lipids*, 28, 141-145.
- Kanner, J. Harel, S. & Jaffe, R. (1991). Lipid peroxidation of muscle food as affected by NaCl. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 39, 1017-1021.
- Munasinghe, D. M. S., Ichimaru, K., Ryuno, M., Ueki, N., Matsui, T., Sugamoto, K., Kawahara, S. & Sakai, T. (2002a). *Lipid*

peroxidation-derived hepatotoxic aldehydes, 4-hydroxy-2E-hexenal in smoked fish meat products. *Fisheries Science*, in press.

Munasinghe, D. M. S., Sugamoto, K., Ichimaru, K., Ryuno, M., Ueki, N., Kawahara, S. & Sakai, T. (2002b). Effect of wood vinegar on lipid peroxidation of fish. *Fisheries Science*, in press.

Munasinghe D. M. S., Ichimaru, K. Matsui, T. Sugamoto, K. & Sakai, T. (2002c). Lipid peroxidation-derived hepatotoxic aldehyde, 4-hydroxy-2-nonenal in smoked pork. *Meat Science*, in press.

Nakamura, A. & Goto, S. (1996). Analysis of protein carbonyls with 2,4-dinitrophenyl hydrazine and its antibodies by immunoblot in two-dimensional gel. *Journal of Biochemistry*, 119, 769-774.

Sakai, T., Matsushita, Y., Sugamoto, K. & Uchida, K. (1997). Lipid peroxidation-derived hepatotoxic aldehyde, 4-hydroxy-2-hexenal, in fish. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, 61, 1399-1400.

Sakai, T., Habiro, A. & Kawahara, S. (1999). High-performance liquid chromatographic analysis of 1,3-diethyl-2-thiobarbituric acid-malonaldehyde adduct in fish meat. *Journal of Chromatography B*, 726, 313-316.

Sakai, T., Sugamoto, K. & Eto, N. (2000). Cytotoxicity of 4-hydroxy-2E-hexenal, a lipid peroxidation-derived aldehyde, and changes of its content in frozen yellowtail meat. *Journal of Food Hygienic Society of Japan*, 41, 368-370.

Addition of NaCl may suppress the formation of lipid peroxidation derived toxic aldehydes, 4-hydroxyalkenals in stored meats

Tadashi Sakai and Satoshi Kawahara
Faculty of Agriculture, Miyazaki University

In order to elucidate effects of NaCl on the formation of 4-hydroxyalkenals in meats, we investigated the changes on 4-hydroxyhexenal (HHE) or 4-hydroxynonenal (HNE) contents in fish meats or pork containing NaCl, respectively. As an index of lipid peroxidation, we also analyzed malonaldehyde (MDA) and protein carbonyl (CP) contents in these samples.

Judging from MDA and CP contents, NaCl may suppress lipid peroxidation in yellowtail Seriola quinqueradiata meats stored at 0 °C. However, HHE contents increased during storage in the meats containing NaCl. In contrast to yellowtail meats, NaCl may accelerate lipid peroxidation but might suppress the formation of HHE in cangid fish Seriola dumerili meats stored at 0 °C.

The NaCl treated cangid fish meats stored at -20°C demonstrated a concentration dependent significantly high level of MDA and CP indicating NaCl accelerates lipid peroxidation. However, HHE was not detected in 0.6M and 0.9M NaCl treated samples after 12th storage indicating NaCl may suppress the formation of HHE.

Judging from MDA, CP and HHE contents, NaCl accelerated both lipid peroxidation and HNE formation in the pork stored at 0 °C.

Further studies are necessary to elucidate the effect of NaCl on the formation of 4-hydroxyalkenals in meats because results obtained from fish meats seems to be contrary to those obtained from pork.