

豚肉中の呈味および生理機能成分に及ぼす 製茶くず給与の効果（第1報） －単飼による肥育後期からの給与試験－

安田みどり，近藤道男，武富和美，乗富香奈恵¹
式町秀明²，坂井隆宏²，大曲秀明²

(西九州大学健康栄養学科、¹佐賀短期大学食物栄養学科、²佐賀県畜産試験場)

(平成17年12月8日受理)

**Effects of Green Tea Wastes on the Taste of pork and its Physiological Compounds (Part 1)
: Feeding Experiments in Individual Penning in the Last Half of the Fattening Stage**

Midori YASUDA, Michio KONDO, Kazumi TAKEDOMI, Kanae NORITOMI¹,
Hideaki SHIKIMACHI², Takahiro SAKAI² and Hideaki OHMAGARI²

(Department of Health and Nutrition Science, Nishikyushu University, ¹Department of Food
and Nutrition, Saga Junior College, ²Saga Prefectural Livestock Experiment Station)

(Accepted December 8, 2005)

Abstract

The possibility of meat production control of safely and highly useful pork by addition of 2% or 4% green tea waste into feed was investigated. The contents of Umami-compounds (inosine-5'-monophosphate and glutamic acid) in pork increased by addition of green tea waste. Under the same breeding condition of the feed, the contents of carotenes and retinol in the pork were unchanged, on the other hand, the increase of vitamin E in fat parts of pork was observed by HPLC analysis. Catechins were not found in pork, however, (-)-epigallocatechin and some compounds which were assumed to be metabolites of catechins were detected in blood plasma by addition of green tea waste. The result of sensory test for cooking pork showed that the pork in 2% green tea waste group was undesirable for softness, juiciness and total evaluation in the test against control group.

Key words: green tea 緑茶
pork 豚肉
catechins カテキン類
vitamins ビタミン
taste 呈味

1. 緒 言

近年の BSE、鳥インフルエンザ、豚コレラの発生、偽装表示問題などにより、消費者から「安全・安心」が保証された畜産物の供給が強く求められている。

安全で安心な畜産物の生産のために、生理活性物質を飼料へ添加する研究が進んでいる。その中でも、緑茶を利用した研究が多く、例えば、茶添加飼料給与が豚¹や鶏²の産出能力と肉質に与える影響、緑茶抽出物添加が鶏の発育および免疫応答に及ぼす影響³、鶏肉の鮮度保持に及ぼす茶がら投与の効果⁴などが既に報告されている。しかしながら、畜産物中の機能性成分や旨味について調べた研究はほとんどない。

そこで、佐賀県の特産物であり、多くの生理機能が知られている緑茶を添加した飼料を豚に与えることにより、豚肉に含まれる成分（特に緑茶に由来する成分）や旨味にどのような影響を及ぼすのかについて検討を行った。今回用いた緑茶は、製茶の加工の際に生じる製茶くず（以下茶くず）で、本来、焼却等の処分をされているものである。したがって、本研究は茶くずの飼料としての有効利用の可能性を検討するものもある。今回は、単飼による肥育後期からの給与試験を試みた。

2. 実 験

2.1 供試豚肉および血液試料

供与試験は、佐賀県畜産試験場内にてコントロール区、茶くず2%添加区、茶くず4%添加区それぞれ4頭ずつ（ランドレース種の去勢豚）を用いて行った。肥育は、縦3m、横1.2mのコンクリート床の豚房内にて単飼とした。体重70kg前後の肉豚に茶くずを混合した後期用市販飼料を115kgに達するまで不断給餌した。実験に供した豚肉は、屠殺後1日間冷蔵（4℃）保存後、-40℃にて冷凍保存し、実験開始24時間前に冷蔵庫内（4℃）にて解凍を行った。なお、実験に用いた部位は、ロース肉（赤身および脂身）であった。血液試料は、EDTA（1.5mg/ml）を加えたテストチューブに入れ、10分間遠心分離（1,000×g、4℃）を行った⁵。得られた血漿を直ちに採り、分析に供するまで-40℃以下にて凍結保存した。

2.2 供試茶くず

用いた茶くずは、平成16年4月下旬から5月上旬に佐賀県藤津郡嬉野町で摘採し、製茶に加工した際に生じたもので、JA佐賀みどり嬉野営農事業所から提供を受けた。茶くずは、大きさが不揃いであったため、ウイレー粉碎器（1029-B型、吉田製作所）にて粉碎し、30℃にて2日間乾燥を行った。

2.3 実験方法

2.3.1 イノシン酸の分析^{6,7}

フードプロセッサーにて豚肉（赤身）を挽肉にし、その20gを精秤した。その後、遠沈管に入れ、3倍量の蒸留水を加え、ホモジナイザー（MICCA D-8、クボタ商事株式会社）で氷冷下にて1分間ホモジナイズした。このホモジネートを15,000×g（4℃）で20分間遠心分離し、ろ過を行い、得られたろ液を抽出液とした。熟成の進行を防ぐため、これらの操作はすべて低温（4℃以下）にて行った。

イノシン酸は酸性溶液中ではあまり安定でないため、遠心限外ろ過法で除タンパク処理を行った⁶。すなわち、ミリポア製の Ultrafree-MC 遠心式フィルタユニット（UFC LCC）に抽出液約400μlを入れ、30分間遠心分離（4℃、5,000×g）を行った。この上清を試料溶液とし、さらにメンブランフィルター（0.45μm）でろ過したものをおHPLC分析に供した。

イノシン酸（イノシン-5'-一リン酸）は、和光純薬工業株式会社製生化学用を用い、HPLCの溶離液（後に示す）に溶解した。

HPLC分析は、笠井の方法⁸に準じて行った。分析条件は、カラム；CAPCELL PAK C18 UG 120（4.6×150mm）（資生堂）、溶離液；22mMの2-ジエチルアミノエタノールを含んだ20mMリン酸水溶液（pH 6.5）、流速；1ml/min、カラム温度；45℃、注入量；10μl、検出；UV（250nm）であった。

2.3.2 グルタミン酸の分析

抽出液の調製法は、イノシン酸の場合と同様に行った^{6,7}。この抽出液9mlに、50%トリクロロ酢酸溶液1mlを加えてよく混ぜ、除タンパク処理を行った。この溶液を10,000×g（4℃）で15分間遠心分離を行った。得られた上清をメンブランフィルター（0.45μm）でろ過し、試料溶液とした。

グルタミン酸標準溶液は、和光純薬工業株式会社製のアミノ酸自動分析用Type Hを用いた。希釈の際には、0.1Mの塩酸を用いた。グルタミン酸のHPLC分析法は、既報⁹のとおりである。

2.3.3 ビタミン類の分析

試料中のα、β-カロテン¹⁰、ビタミンA（レチノール）¹¹およびE¹²の分析は、五訂日本食品標準成分表分析マニュアルに準じて行った。すなわち、α、β-カロテンは、試料をアルカリ性で加熱してけん化を行い、そのけん化物をHPLCにて分析した¹⁰。レチノールは、ピロガロールの存在下でアルカリ性にて加熱してけん化を行い、けん化物を溶媒抽出し、妨害物質をアルミニナカラムにて除去し、得られたエタノール溶液をHPLC-UV

にて分析した¹¹。ビタミンEは、けん化後の不けん化物を溶媒抽出し、HPLC-蛍光検出器法を用いて分析を行った¹²。なお、ビタミンEは、異性体（ α 、 β 、 γ 、 δ ）の分別定量を行い、 α -トコフェロール当量として算出した値を用いた。

2.3.4 カテキンの分析

茶くずまたは豚飼料は、乳鉢にて粉碎し、篩（500 μm ）にてふるった250 mgを精秤し、2%リン酸水溶液10 mlを加え、静かに振り混ぜ、エタノール10 mlを加え、40分間超音波抽出を行った¹³。これをメンブランフィルター（0.45 μm ）にてろ過を行った。

血漿試料の前処理方法⁵は次のとおりである。まず、酵素活性を阻害するために、固体のNaFを血漿サンプルに入れ（1%w/v）、超音波バスにて十分に混合させた（10分間）。次に、タンパク質を除去するために、1 mlの血漿に対して4 mlの塩酸酸性エタノール溶液（50 mM）を加え、室温で10分間放置し、遠心分離（5,700×g、10分間）を行った。得られた上清をメンブランフィルター（0.45 μm ）にてろ過を行ったものをHPLC分析に供した。

豚肉の前処理方法は次の通りである。フードプロセッサーにて豚肉を挽肉にし、その20 gを遠沈管に入れ、3倍量の蒸留水を加えて、ホモジナイザーで氷冷下にて1分間ホモジナイズした。このホモジネートを15,000×g、4 °Cで20分間遠心分離し、ろ過を行い、得られたろ液を抽出液とした。これらの操作はすべて4 °C以下にて行った。その後の操作は、前述の血液試料と同様であった。

カテキン標準品として、（-）-エピカテキン（EC）、（-）-エピガロカテキン（EGC）、（-）-エピカテキンガレート（ECG）、（-）-エピガロカテキンガレート（EGCG）の4種を用いた。これらのカテキンは、栗田工業株式会社製の純度98%以上のものを用い、 1×10^{-4} Mの塩酸にて適切な濃度に調製した。カテキンのHPLC分析方法は既報¹⁴のとおりである。

2.4 官能検査

官能検査方法は、農林水産省畜産試験場による「豚肉の肉質改善に関する研究実施要領」¹⁵に準じて行った。すなわち、2～3 mmの厚さにスライス（重さ約15 g）し、試料の5倍量の2%の食塩水に30分間浸した。その後、ペーパータオルの上で軽く水切りし、ホットプレートにて肉色が変わるまで両面を加熱し、官能検査に供した。

西九州大学健康栄養学科の学生（20代女性）11名をパネルとした。検査項目は歯ごたえ、やわらかさ、ジューシーさ、風味、総合評価の5つであった。評価は評点法（最も良い5点、以下4、3、2点、最も悪い1点）にて

行った。

2.5 統計処理

茶くずや飼料の分析値については3回行った平均値、豚肉や血液試料については4頭の平均値として示した。得られたデータについて、F検定により等分散性の検定を行った後、t検定により両側検定を行い、有意差を検定した。この検定は、Microsoft Excelにより行った。

3. 結果および考察

3.1 旨味成分

イノシン酸とグルタミン酸は食肉の旨味に関与し、熟成により影響を受ける成分として知られている。まず、豚肉中のイノシン酸の分析を行った結果、コントロール区、茶くず2%添加区、茶くず4%添加区のイノシン酸含有量は、それぞれ、323±80、347±55、370±71 mg/100 gであった。個体差はあるものの、コントロール区<茶くず2%添加区<茶くず4%添加区と茶くずの添加によりイノシン酸が増加していることが認められた。しかしながら、有意差は認められなかった。

豚肉中のグルタミン酸の含有量は、コントロール区39.5±10.7 mg/100 g、茶くず2%添加区49.6±4.6 mg/100 g、茶くず4%添加区53.0±3.8 mg/100 gとなり、イノシン酸の結果と同様に、茶くず添加に伴ってグルタミン酸含有量が増大することが明らかになったが、有意な差は認められなかった。

イノシン酸とグルタミン酸は共存することで旨味が相乗的に強くなるといわれている¹⁶。実験の結果、有意差は認められなかったが、茶くず添加によって旨味成分が増大したことは非常に興味深い。また、他の旨味成分であるペプチド、脂肪酸等はおいしさの重要な要因¹⁷であるため、さらなる検討が必要である。また、旨味と運動量との関連¹⁸など餌以外の飼育条件も検討する余地がある。

3.2 ビタミン類

市販飼料中の α -カロテン、 β -カロテンは、6.2±1.1、8.3±1.7 $\mu\text{g}/100\text{ g}$ であったが、茶くず中の α -カロテン、 β -カロテンは、0.9±0.2、10.0±2.0 mg/100 gと非常に高い値であった。しかしながら、豚肉中の α および β -カロテン含有量を調べた結果、茶くずの添加にかかわらず、いずれの肉にもカロテン類は全く含まれていないことがわかった。これは、摂取したカロテン類が体内でレチノールに変換されるためと考えられる。

レチノールの分析の結果、レチノールは茶くずには含まれておらず、飼料、茶くず2%添加飼料、茶くず4%添加飼料中にそれぞれ1.2±0.8、0.8±0.2、0.5±0.7 $\mu\text{g}/$

100 g 含まれていることがわかった。豚肉中のレチノールの含有量を図1に示す。レチノールは、豚肉の赤身中

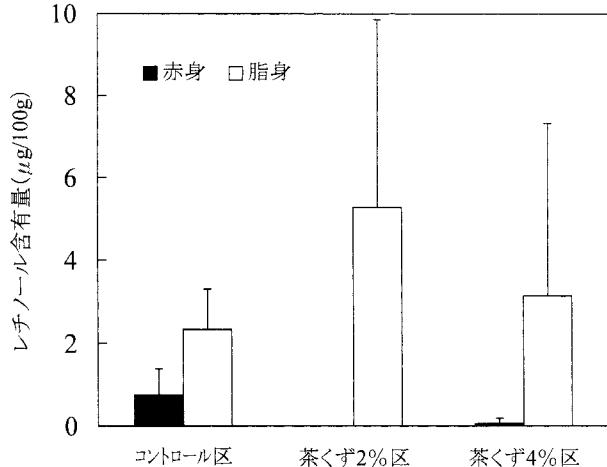


図1 豚肉（赤身および脂身）中のレチノール含有量

にはほとんど含まれておらず、脂身の方に多く含まれていた。また、茶くず中のカロテンが体内でレチノールに変換されていることが推察されることから、茶くず添加区に高い値が得られることが期待されたが、コントロール区とあまり違いはみられなかった。

ビタミンE含有量 (α -トコフェロール当量) については、茶くずは $21.4 \pm 0.3 \text{ mg}/100 \text{ g}$ となり、五訂日本食品成分表¹⁹⁾の煎茶に比べて非常に少ない量であったが、抹茶に近いものであった。

図2に豚肉の赤身および脂身中のビタミンE含有量

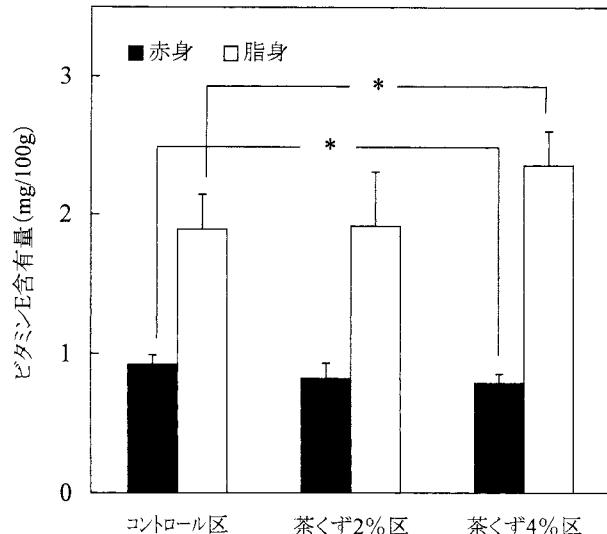


図2 豚肉（赤身および脂身）中のビタミンE含有量

* t-検定による有意差 ($p < 0.05$)

を示す。豚肉中のビタミンEは、赤身よりも脂身に多く含まれていた。赤身においては、茶くず給与に対する効果は認められず、逆に、コントロール区のビタミンEが茶くず4%添加区よりも有意（5%の有意水準）に多く含まれていることがわかった。脂身では、茶くず4%

添加区の豚肉中のビタミンEの含有量が5%の有意水準でコントロール区よりも有意に多く含まれていた。この結果は、鈴木らの報告¹⁷⁾と一致していた。茶くず中の脂溶性のビタミンEが脂身へ移行したのではないかと推察される。ビタミンEは、高い抗酸化性を示すビタミンであることから、茶くず給与により高機能性の豚肉の生産が可能であると思われる。

3.3 カテキン類

茶くず、茶くず2%および4%添加飼料中に含まれるカテキンの分析を行った。その結果を表1に示す。通常我々が飲用する緑茶中にはカテキンが約 $10 \sim 15 \text{ g}/100 \text{ g}$ 程度含まれている。また、1番茶の緑茶は、2番茶以

表1 茶くずおよび茶くず添加飼料中のカテキン含有量

試料	カテキン含有量 (g/100 g)				
	EC	EGC	ECG	EGCG	Total
茶くず	0.86	2.85	0.89	5.97	10.57
茶くず 2% 添加飼料	0	0.02	0	0.07	0.10
茶くず 4% 添加飼料	0.02	0.08	0.02	0.19	0.32

降のものよりもカテキン含量が少ないことが知られている²⁰⁾。今回用いた茶くずは1番茶であったため、 $10.57 \text{ g}/100 \text{ g}$ と比較的低い値を示したと考えられる。茶くず2%および4%添加飼料には、それぞれ 0.10 、 $0.32 \text{ g}/100 \text{ g}$ のカテキンが含まれていた。

茶くずを与えた豚肉の赤身中には、カテキンはほとんど含まれていなかった（図3）。しかしながら、茶くずの添加によりコントロール区ではみられなかったピーク

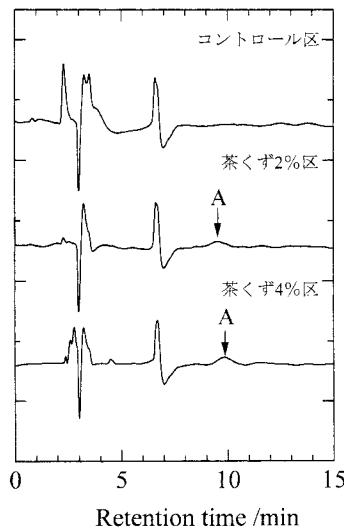


図3 豚肉（赤身）のHPLCクロマトグラム

(A) が検出された。一方、豚肉の脂身中にも、カテキンは含まれていないことが明らかになった(図4)。

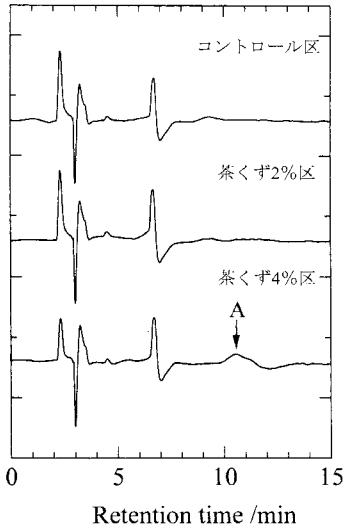


図4 豚肉(脂身)のHPLCクロマトグラム

しかし、茶くず4%添加区において、コントロール区では認められなかったピーク(A)が検出されるものもあつた。これらの新たなピークは、カテキンではないが、カテキン由来の成分である可能性がある。

豚の血漿中のカテキン含有量を調べた結果、茶くず2%添加区において、6週間給与後の豚の血漿中にEGCとみられる顕著なピーク(A)が認められた(図5)。

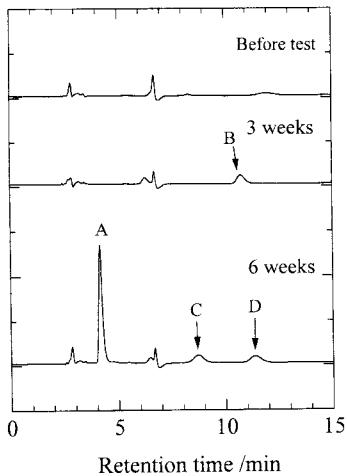


図5 茶くず2%添加区の豚の血漿中のクロマトグラム

ただし、これは4頭の内、3頭のみに認められた。しかしながら、その他のカテキンのピークは検出されず、3週間後の血漿においてBのピーク、6週間後においてはCとDのピークが認められた。

茶くず4%添加区では、2%添加区では認められたEGCのピークは検出されなかった(図6)。しかしながら、給与期間3週間及び6週間後の豚の血漿中にAのピークが含まれることが明らかになった。これは、給与期間3週間後のものは全頭に、6週間後には3頭のみに

認められた。また、Aの濃度は、3週間後よりも6週間後の方が大きかった。

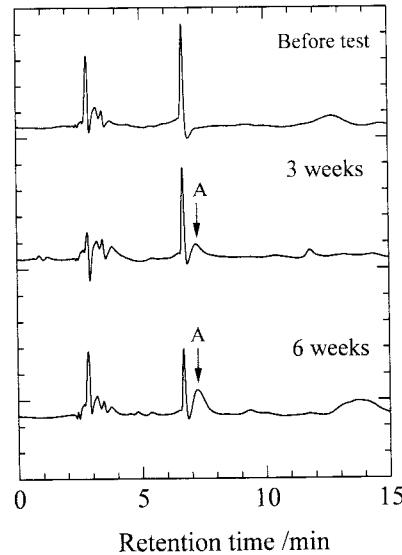


図6 茶くず4%添加区の豚の血漿中のクロマトグラム

ヒトにおいて緑茶摂取後1~2時間後に血漿中のカテキン濃度が最大になることが報告されている²¹⁾。また、カテキンは体内で代謝され、一部はグルクロン酸抱合体を形成するという報告^{22,23)}もあることから、これらの新たなピークはカテキン由来の代謝産物である可能性もある。今回は、飼料を不断給餌としているため、カテキンの体内への正確な吸収時間や吸収率は不明であるが、茶くずの給与によりEGCやその他のピークが認められたことは非常に興味深い。

1日当たりの飼料摂取量からカテキン摂取量を算出すると、茶くず2%および4%添加区の豚は、1日当たりそれぞれ2.7、8.0gのカテキンをそれぞれ摂取していることになる。ヒトにおける疫学的調査では、1日700mg(緑茶として約10杯)以上を摂取することで顕著にガンの発生が低下することなどが明らかにされており²⁴⁾、豚に対しても強い疾病予防効果が期待される。今回の実験では、茶くずの給与により豚肉に直接カテキンが移行することはなかったが、豚の血漿中にカテキンの存在が認められたことから、少なくとも豚の健康増進に役立っていることが推察された。

3.4 官能検査

官能検査の結果を図7に示した。図中の値は、パネル11名の評点の平均値である。先に述べたとおり、豚肉中の旨味成分(イノシン酸、グルタミン酸)の含有量が茶くずの添加により高まったことから、官能検査(風味や総合評価)に反映されることが期待されたが、風味に関しては各区間に違いがみられず、総合評価については逆にコントロール区の方が茶くず2%添加区よりも有意に好まれるという結果となった。また、やわらかさに關

してコントロール区と茶くず2%添加区で有意水準1%の有意差があり、茶くず2%添加区と茶くず4%添加区との間で有意水準5%の有意差が認められた。ジューシーさについては、有意水準5%でコントロール区の方が茶くず2%添加区よりも有意に好まれた。総合評価では、有意水準5%でコントロール区の方が茶くず2%添加区よりも有意に高い評価であった。

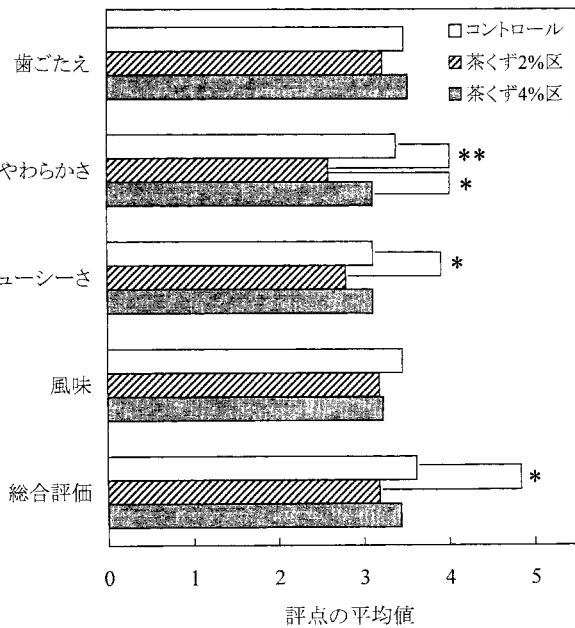


図7 豚肉の官能検査の結果

*,** t-検定による有意差 (*p<0.05, **p<0.01)

以上のように、官能検査では、やわらかさやジューシーさ、総合評価でコントロール区の方が茶くず2%添加区よりも有意に好まれる傾向であった。茶くずの添加により、肉組織がかたくなっていることが予想され、これがおいしさに影響していることが推察された。しかしながら、4%添加区ではそのような傾向はあまりないことから、茶くずの添加が豚肉のおいしさに直接起因しているかどうかは今のところ明確ではない。今後、やわらかさやそれに起因していると思われる水分と脂肪の含量や比率などに関して検討の余地があると思われる。

官能検査の結果はコントロール区との大きな差が認められなかつたが、茶くずの給与により脂身中のビタミンEが増大し、血漿中にカテキンに起因する成分が認められた。したがつて、茶くずの給与は、薬やワクチンに頼らない安心・安全で高付加価値の豚肉の生産技術の開発に寄与する可能性が示唆された。今後、他の部位や熟成の度合いについても検討し、実用化に向けた取り組みを行う必要がある。一方、茶くずの飼料としての利用は、豚飼料のコスト削減や廃棄物処理の面からも有意義であると考えられる。

4. 要 約

本研究では、茶くず(2%、4%)を豚に給与することにより、安全で高機能性の豚肉の開発が可能かどうかについて検討を行つた。飼料に茶くずを添加することにより、豚肉中の旨味成分(イノシン酸、グルタミン酸)は増大した。しかし、カロテン類、レチノールについては、茶くずの影響はみられなかつた。豚肉の脂身中のビタミンE含有量は、茶くず給与によって有意に増大した。カテキン類については、肉への移行は確認されなかつたが、血漿中に(-)-エピガロカテキンやカテキンの代謝物と推定される成分の存在が認められた。官能検査については、やわらかさやジューシーさ、総合評価で茶くず2%添加区がコントロール区よりも有意に好まれない傾向であった。

本研究の一部は、日本私立学校振興・共済事業団平成16年度学術研究推進特別経費学術研究高度化推進経費(共同研究経費)によって行われたものである。最後に、茶くずを提供して頂きましたJA佐賀みどり嬉野営農事業所に厚く御礼申し上げます。

5. 参考文献

- 1) 鈴木敬一, 門脇宏, 日野正浩, 田村勝男: 日豚会誌, 39, 59 (2002)
- 2) 池谷守司, 鳥居幸男, 佐野満昭, 小泉豊: 静岡県中小家畜試験場研究報告, 8, 19 (1995)
- 3) 岩澤敏幸, 池谷守司: 同上, 15, 19 (2004)
- 4) 佐野満昭, 佐々木清隆, 富田勲, 池谷守司, 鳥居幸男, 小泉豊, 小泊重洋: 食衛誌, 37, 38 (1996)
- 5) M. V. Martinez-Ortega, M. C. Garcia-Parrilla and A. M. Troncoso: *Analytica Chimica Acta.*, 502, 49-55 (2004)
- 6) 田邊亮一, 服部昭仁, 辰巳隆一, 西村敏英, 西邑隆徳, 六車三治男: 食肉の科学, 39, 38 (1998)
- 7) T. Nishimura, M. R. Rhue, A. Okitani and H. Kato: *Agric. Biol. Chem.*, 52, 2323 (1988)
- 8) 笹井孝正: “Application Data”, 資生堂ファインケミカル事業部編, p.80, (2002), (資生堂)
- 9) 安田みどり, 近藤道男, 尊田民喜, 武富和美, 熊川景子, 尾崎加奈, 江口勝平, 江口亜由美, 永原学園・西九州大学・佐賀短期大学紀要, 34, 33 (2004)
- 10) 財團法人日本食品分析センター: “分析実務者が書いた五訂日本食品標準成分表分析マニュアルの解説”, p.131 (2001), (中央法規出版)
- 11) 財團法人日本食品分析センター: “分析実務者が書いた五訂日本食品標準成分表分析マニュアルの解説”,

- p.125 (2001), (中央法規出版)
- 12) 財団法人日本食品分析センター：“分析実務者が書いた五訂日本食品標準成分表分析マニュアルの解説”, p.145 (2001), (中央法規出版)
- 13) 堀江秀樹、山本(前田)万里、氏原ともみ:茶研報, 94, 60 (2002)
- 14) M. Kumamoto, T. Sonda, K. Takedomi and M. Tabata : *Anal. Sci.*, 16, 139 (2000)
- 15) 農林水産省畜産試験場加工第2研究室：“豚肉の肉質改善に関する研究実施要領”, p.25 (1990)
- 16) 沖谷明紘, 松石昌典, 西村敏英:調理科学, 25, 44 (1992)
- 17) 西村敏英:日本味と匂学会誌, 8, 161 (2001)
- 18) 藤村忍, 門脇基二:日本畜産学会北陸支部会報, 77, 11 (1998)
- 19) 食品成分研究調査会：“五訂日本食品成分表”, p.208 (2001), (医歯薬出版)
- 20) 中川致之, 鳥井秀一:茶試研報, 6, 65 (1970)
- 21) K. Nakagawa, M. Ninomiya, T. Okubo, N. Aoi and L. R. Juneja : *J. Agric. Food Chem.*, 47, 3967 (1999)
- 22) 馬場星吾, 寺尾純二:オレオサイエンス, 4, 271 (2004)
- 23) J. D. Lambert, M-J. Lee, H. Lu, X. Meng, J. J. J. Hong, D. N. Seril, M. G. Sturgill and C. S. Yang : *J. Nutr.*, 133, 4172 (2003)
- 24) K. Imai, K. Suga and K. Nakachi, *Prev. Med.*, 26, 769 (1997)