

平成24年度

食肉に関する

助成研究調査成果報告書

VOL. 31

公益財団法人

伊藤記念財団

「伊藤記念財団」設立趣意書

私、伊藤傳三は、昭和3年食肉加工業を創業して以来五十有余年の永きにわたり食肉加工品の製造販売に従事して参ったところであります。

この間、昭和47年からは日本ハム・ソーセージ工業協同組合理事長、社団法人日本食肉加工協会理事長、加えて、ハンバーグ・ハンバーガー協会理事長等の重責を担わせていただく等、業界団体の役員を勤めさせていただいてきたところあります。

こうした中で昭和55年、はからずも勲二等瑞宝章受章という身にあまる榮譽に浴したのでありますが、受章に際し私自身の過ぎ来し方を振り返り、食肉及び食肉加工業界の行く末に思いを致し、2つの事柄を決意致しました。

第1は、食肉加工団体の指導体制の若返りであり、

第2は、食肉加工業の基礎的研究の充実であります。

諸情勢が激しく変わりつつある中で食肉加工業界をさらに大きく発展させるには、新しいリーダーの登場が望ましいことは論をまちません。また、食肉加工品については、これまでも日本独自の技術開発は行われてきましたものの、いずれも企業内技術であると言っても過言でなく、大学等における基礎的研究の不足が将来の日本の食肉加工業の発展を遅らせるおそれがあり、この現状を打破する必要があると考えたところあります。

以上のような基本的考えの下に私は、食肉関係団体等の役員を辞すると共に、食肉及び食肉加工に関する基礎的かつ広汎な研究を行い、あるいは助長するための財団の設立を発起するものであります。

昭和56年6月

設立発起人 伊 藤 傳 三

Philosophy Behind the Establishment of the Ito Foundation

Approximately half of a century has passed since I established a meat packing corporation for commercial products in 1928. While involved in this business, I have had occasion to serve as chairman of the boards of trustees of several organizations related to the meat industry, such as the Ham-Sausage Industrial Association of Japan in 1972, the Meat Packing Industrial Association of Japan, and the Hamburg-Hamburger Association of Japan.

In 1980, unexpectedly, I was highly honored to receive the Order of the Sacred Treasure, Gold and Silver Star from the emperor in acknowledgment of my contributions to the meat industry and improved human nutrition during my career. This illustrious award provided a strong impetus for me to act on my long-standing concern for the future of meat packing industries.

My commitment to the establishment of a new research foundation for the promotion of meat science was based on two fundamental philosophies : first, leadership of the Association of the Meat Packing Industry should be transferred to people with novel ideas and, second, an advanced system for basic research should be established in meat industries. Clearly, fresh leadership is needed in changing situations for intensive development in the meat packing industry. Although some technical product developments have been achieved in certain individual corporations, the lack of basic research in meat science at universities and other research organizations certainly will impede future development of Japanese meat packing industries. It is urgent to end the stagnation in the meat industry through research support.

On the basis of these philosophies, I myself will resign from any official positions in meat-related associations and will establish a new research foundation to support and promote basic and applied research in meat science.

Denzo Ito, Founder
June 1981

事業のあらまし

(目的)

本財団は、食肉に関する研究及び調査を行い、もって畜産業及び食品産業の振興と国民食生活の安定に資することを目的とする。

(事業)

本財団は、上述の目的を達成するため、次の事業を行う。

- (1) 食肉の生産、処理、加工等に関する基礎的研究及び調査。
- (2) 食肉の生産、処理、加工等に関する研究又は調査を行う大学等の研究機関に対する助成。
- (3) 食肉の生産、処理、加工等に関する情報の普及及び広報。

(事業実績)

回	年度	研究調査助成		研究調査委託	
第1回	昭和57年度	48件	60,000千円	5件	18,097千円
2	58	52	54,400	4	12,064
3	59	60	49,800	7	17,000
4	60	62	48,000	9	18,100
5	61	70	53,000	8	11,681
6	62	79	58,900	2	5,151
7	63	95	70,500	2	2,764
8	平成元年度	86	74,250	3	1,900
9	2	79	60,000	1	500
10	3	70	50,000	1	2,000
11	4	86	60,000	2	5,000
12	5	81	60,000	2	4,000
13	6	81	60,000	3	4,000
14	7	82	65,000	2	2,500
15	8	81	69,100	4	7,000
16	9	78	59,000	3	5,500
17	10	82	60,000	3	6,500
18	11	67	47,000	2	5,000
19	12	57	41,000	2	16,000
20	13	53	37,000	1	9,720
21	14	58	40,000	0	
22	15	55	41,000	0	
23	16	55	48,000	0	
24	17	56	48,000	0	
25	18	11	10,000	0	
26	19	12	10,000	0	
27	20	15	16,900	0	
28	21	11	10,000	0	
29	22	11	10,400	0	
30	23	12	12,000	0	
31	24	13	13,000	0	

ご 挨拶

当伊藤記念財団は、伊藤ハム株式会社の創業者故伊藤傳三による巻頭の「設立趣意書」に掲げた趣意をもって、昭和56年7月3日に財団法人として農林水産大臣から設立を許可され、平成24年4月1日に公益財団法人伊藤記念財団に移行登記したものであり、事業の内容は、「事業のあらまし」にあるとおりであります。

おかげ様で当財団は、昨年度からは公益財団法人として活動することとなり、その活動は本年で32年となります。この間、当財団の研究調査助成事業の存在が畜産関係の方々の中に浸透いたし、事業内容も逐次充実して参りつつあります。

これは、ひとえに関係各位のご指導ご鞭撻の賜と深く感謝申し上げるとともに、今後とも、食肉加工等の基礎的研究の充実を希う創設者の意志にそって、益々食肉産業ひいては畜産業の振興及び国民食生活の安定のために役立つべく、更に努力を重ねて参りたいと存じております。

本書は、第31回（平成24年度）助成事業における13件の研究調査助成対象研究者の皆様からいただいた研究成果報告をとりまとめたものでありますが、以上の目的にしたがって、食肉産業の基礎的研究等に携わる諸氏の研究の一助ともなれば幸甚でございます。

平成25年11月

理事長 伊 藤 功 一

Dear Sir :

I am very pleased to send you and your organization a complimentary copy of the research reports of the Ito Foundation. This research foundation was founded by the late Mr.Denzo Ito to advance research in meat science. The research reports are published annually. Unfortunately, the articles are largely in Japanese ; however, in the future we hope to contribute to the international development of meat science. Any constructive suggestions or critiques from others involved in meat-related research would be accepted gratefully.

You will find out philosophy behind the establishment of the Ito Foundation described by Mr.Denzo Ito, in the research report of the Ito Foundation, Vol.31 enclosed here. We appreciate any interest you may have in our research efforts.

It is my great pleasure to publish this report as the chief director.

Sincerely yours,
Nov. 2013
Koichi Ito
The chief director
The Ito Foundation



目 次

発酵食肉製品由来の機能性ペプチドに関する研究

……………津田 治敏（国立健康・栄養研究所 食品保健機能研究部）…………… 1

抗肥満或いは美容効果を有する食品素材としての豚血液の有効利用法の開発

……………上曾山 博（神戸大学大学院農学研究科）…………… 6

発育期サッカー選手の栄養摂取状況と畜産物由来ヘム鉄摂取の必要性に関する研究

……………坂元 美子（神戸女子大学）…………… 12

高齢者における肉類摂取が認知機能低下の予防に及ぼす影響

……………辻 一郎・柿崎真沙子
（東北大学大学院医学系研究科）…………… 20

畜産副生物由来の豚レバーパウダーによるスポーツ栄養への効果

一タンパク質栄養状態強化のスポーツ貧血改善への寄与一

……………松本 恵・鈴木 淳也・勝又 美紀*・朝賀 一美*・野口 智博
（日本大学文理学部体育学科, *ILS株式会社）…………… 27

食肉製品の客観的嗜好性評価に関する研究

……………芳賀 聖一・林 利哉・山口 恭平・西崎 あや・小川 幸彦*
（名城大学農学部, *名城大学農学部附属農場）…………… 36

牛肉のおいしさに影響する筋内遊離脂肪酸についての研究（第2報）

……………山之上 稔・大和彩弥香・上田 修司・井原 一高・豊田 浄彦
（神戸大学大学院農学研究科）…………… 42

黒毛和種牛銘柄牛肉の試食パネルと理化学成分分析による美味しさに係わる指標の探索

……鈴木 啓一¹・塩浦 宏陽¹・飯田 文子²・山田 信一³・佐久間弘典³
（¹東北大学大学院農学研究科, ²日本女子大学, ³家畜改良センター）…………… 49

受精能の良好なブタ精液の精子核クロマチン性状に基づく迅速かつ簡便な評価技術の開発

……………高坂 哲也¹・王 軍¹・藤井 栄治¹・皆川 至¹
桑原 康²・番場 公雄¹・柴田 昌利³
（¹静岡大学農学部動物生殖生理学・²富士農場サービス・
³静岡県畜産技術研究所中小家畜研究センター）…………… 58

暑熱環境時の豚の摂食行動における神経ヒスタミンの生理的役割

……………井上 寛暁・松本 光史・山崎 信
（九州沖縄農業研究センター）…………… 64

最高級豚肉の生産につながる放牧効果の解明

…………… 戸澤あきつ・田中 繁史・佐藤 衆介
(東北大学大学院農学研究科) …………… 70

粉碎タケの給与が黒毛和種繁殖雌牛の養分摂取量，採食反芻時間，第一胃内発酵および血液性状に及ぼす影響の解明

…………… 石田 元彦・本元 果歩・浅野 桂吾・高橋 宏平・小木野瑞奈
(石川県立大学) …………… 78

口蹄疫家畜埋却地の植生管理としてのネピアグラス栽培の適応性

…………… 石井 康之・井戸田幸子・西脇 亜也
(宮崎大学農学部) …………… 85

CONTENTS

Functional peptides derived from fermented meat products

- Tsuda Harutoshi
(National Institute of Health and Nutrition) 1

Development of the method for efficient utilization of porcine blood as an antiobesity or a cosmetic food ingredient

- Hiroshi Kamisoyama
(Graduate School of Agricultural Science, Kobe University) 6

Research for a growth phase soccer player, the nutrition intake and livestock product origin heme iron ingestion necessity

- Yoshiko Sakamoto
(Kobe Women's University) 12

Effect of meat consumption upon preventing cognitive decline in the elderly

- Ichiro Tsuji, Masako Kakizaki
(Tohoku University Graduate School of Medicine) 20

Effect of sports-nutrition-supports with intake of liver powder on women athlete.

—Trial of the anemia improvement with fortified protein nutritional status—

- Megumi Matsumoto, Junya Suzuki, Miki Katsumata^{*}, Kazumi Asaga^{*}, Tomohiro Noguchi
(Nihon University, College of Human and Sciences, ^{*}ILS Inc.) 27

Research on the objective evaluation for palatability of meat products

- Seiichi Haga, Toshiya Hayashi, Kyohei Yamaguchi, Aya Nishizaki, Yukihiko Ogawa^{*}
(Faculty of Agriculture, Meijo University, ^{*} Experimental Farm, Meijo University) 36

Intramuscular free fatty acids related to beef eating quality Part. II

- Minoru Yamanoue, Sayaka Yamato, Syuji Ueda, Ikko Ihara, Kiyohiko Toyoda
(Graduate School of Agricultural Science, Kobe University) 42

Search of the index about taste of the Japanese black cattle brand beef by panel test and chemical composition analysis

- Keiichi Suzuki¹, Hiroaki Shioura¹, Fumiko Iida², Shinichi Yamada³, Hironori Sakuma³
(¹Graduate School of Agricultural Science, Tohoku University²Japan Women's University
³National Livestock Breeding Center) 49

Development of a quick and simple procedure for evaluating the fertilizing ability of boar sperm based on the properties of sperm nuclear chromatin	
Tetsuya Kohsaka ¹ , Jun Wang ¹ , Eiji Fujii ¹ , Itaru Minagawa ¹ , Yasushi Kuwabara ² , Kimio Bamba ¹ , Masatoshi Shibata ³	
(¹ Laboratory of Animal Reproduction & Physiology, Faculty of Agriculture, Shizuoka University, ² Fuji Nojo Service, ³ Shizuoka Swine and Poultry Experimental Station)	58
Physiological role of neuronal histamine on feeding behavior of pigs at high environmental temperature	
Hiroaki Inoue, Mitsuhiro Matsumoto, Makoto Yamazaki (Kyushu Okinawa Agricultural Research Center)	64
Factors contributing to the grazing effect leading to a premium pork production	
Akitsu Tozawa, Shigefumi Tanaka, Shusuke Sato (Graduate School of Agricultural Science, Tohoku University)	70
Effect of feeding ground bamboo on intake, eating and rumination, ruminal fermentation and blood characteristics in Japanese black breeding cows	
Motohiko Ishida, Kaho Honmoto, Keigo Asano, Kohei Takahashi, Mizuna Ogino (Ishikawa Prefectural University)	78
Adaptability of napiergrass (<i>Pennisetum purpureum</i> Schumach) for weed control in burial sites of animals after foot-and-mouth disease outbreak	
Yasuyuki Ishii, Sachiko Idota, Aya Nishiwaki (Faculty of Agriculture, University of Miyazaki)	85

発酵食肉製品由来の機能性ペプチドに関する研究

Functional peptides derived from fermented meat products

津 田 治 敏

(国立健康・栄養研究所 食品保健機能研究部)

Tsuda Harutoshi

(National Institute of Health and Nutrition)

This study was designed to investigate a functionality of fermented meat products. *Lactobacillus farciminis* HM2001, *Lactobacillus alimentarius* EM2001 and *Lactobacillus plantarum* JAB2001 were used as a starter culture for the fermented meat, respectively. The inhibitory activity of angiotensin I-converting enzyme was shown in all extracts of 3 fermented meat, and the lowest IC₅₀ value was obtained with the fermented meat inoculated with *Lb. plantarum*. This extract was applied to a reverse-phase HPLC and a size-exclusion HPLC, and fractions were collected for an angiotensin I-converting enzyme inhibitory activity assay. The IC₅₀ value of the fraction with the highest inhibitory activity of angiotensin I-converting enzyme was 3.15 µg/ml.

1. 目 的

発酵食肉製品はヨーロッパ各地で発達し、食塩や亜硝酸塩の添加、原料などに由来する微生物の利用といったいくつかの保存法を駆使した加工食品である。かつては食肉の自然発酵を利用して製造されていたが、19世紀には発酵を安定的に進行させるためにスターターが用いられるようになった¹⁾。現在、発酵食肉用スターターの研究は進んでいるものの、発酵乳製品におけるスターター菌の研究と比べると遅れている。

その原因として、乳酸菌にとって食肉中での生育が困難であることが挙げられる。発酵食肉中の環境は菌の生育に厳しく、低水分活性、高塩濃度および低pHなどが重要な生育抑制因子として考

えられている¹⁾。一般に発酵食肉製品のスターターは食肉由来であることが多いが、その他の発酵食品由来の菌の利用も検討されている²⁻⁴⁾。その場合、何らかの付加価値が最終製品にもたらされることが期待される。たとえば、プロバイオティクス乳酸菌などを応用することによって発酵食肉製品に機能性を付与することが検討されている。しかしながら、そのような菌株が食肉中で良好な生育を示すとは限らない。

発酵食肉製品以外にも環境因子として低水分活性、高塩濃度および低pHを有する発酵食品がある。我が国で伝統的に製造されている熟れ鰯（ナレズシ）である。熟れ鰯は乳酸菌を利用した発酵食品であり、特に琵琶湖周辺で製造されている「フナズシ」は、我が国に現存する熟れ鰯の中では

Table 1 Component of fermented meat

Component	Ratio (%)
Beef shank	72.3
Porcine backfat	15
Common salt	2.0
Potassium nitrate	0.05
Glucose	0.5
White pepper	0.2
Onion	9
Cell suspension	1.0

最も古い形態を残していると考えられている⁵⁾。製造方法は、桶に飯，フナ，飯，フナの順に入れ積み上げた後、竹の皮で蓋をし、重石をする。1～2日間はそのままにし、次に水を表面まで張り、1～2年間漬込み発酵させたものである。発酵食肉製品と同様に、環境因子として低水分活性、高塩濃度および低pHなどが挙げられる^{6,7)}。鮎ずしは強い酸味と独特な匂いを持つ珍味であり、生理機能として整腸作用があることが経験的に知られていることから、有用な微生物の探索源となる可能性が高い。

本研究では、鮎ずし由来の乳酸菌を用いた発酵食肉の機能性について検討した。発酵食肉製品は通常の食肉と比べてタンパク質の分解が進んでいるため、ペプチドあるいはアミノ酸含量が増加することが知られている。そこで、今回は特に抗高血圧症が期待できるアンギオテンシン変換酵素(ACE)阻害ペプチドを探索した。食肉製品は加工・調理の過程で塩分が多くなるため、一般に高血圧症などの症状を引き起こす食事の一つと考えられがちだが、ACE阻害ペプチドを著量に含む発酵食肉であればそうしたリスクを低減できる可能性がある。本研究の目的は、鮎ずし由来の乳酸菌を用いた発酵食肉製品から、ACE阻害ペプチドを探索する事である。

2. 方 法

2.1 使用菌株

試験には *Lactobacillus farciminis* HM2001、*Lactobacillus alimentarius* EM2001 および *Lactobacillus plantarum* JAB2001 を用いた。これらの菌株は琵琶湖周辺の伝統的乳酸発酵食品「フナズシ」を分離源とするものであり、生理学的諸性質および16S rDNAの解析結果から菌種を同定したものである⁸⁾。また、いずれの菌株も食塩や硝酸塩を添加した調製挽肉に接種した際、良好な生育性を示し、25℃で48時間発酵したときpHを4.8以下にするものである⁹⁾。

2.2 食肉の発酵

発酵食肉の調製は中江ら¹⁰⁾を参考にした (Table 1)。牛すね肉、豚背脂肪およびタマネギは4mmのミンチにして用いた。菌体懸濁液は、菌株をMRS液体培地で継代培養したのち遠心分離 (1,000×G, 10分) して集菌・菌体洗浄を繰り返したのち等量の水に懸濁したものを用いた。調製食肉に菌体懸濁液を1%加え25℃、約80%RHで48時間培養したものを発酵食肉とした。

2.3 ACE阻害活性の測定

ACE阻害活性はCushmanとCheungの方法¹¹⁾を参考に以下の方法で測定した。アンギオテンシン変換酵素 (ウサギ肺製, SIGMA) 1 unitを2mLの50%グリセロールに溶解せしめ冷凍保存し、使用時にはほう酸緩衝液 (pH8.3, 300mM NaCl, 20μM ZnCl₂) で5倍希釈した。馬尿酸-ヒスチジルロイシン (SIGMA) 53.688mgを上記ほう酸緩衝液10mLに溶解せしめたものを基質溶液とし冷凍保存した。発酵食肉を5倍量の水に懸濁し70℃で30分間の加熱処理後、遠心分離 (10,000×G, 20分) し、回収した上澄液のpHを8.3に調整したのち、再度遠心分離して得られた上澄液を試料とした。

試料50 μ L およびACE溶液25 μ Lを混和し、37°Cの水浴で10分間反応させたのち、基質溶液50 μ Lを加え、37°Cの水浴で60分間反応させた。その後、反応溶液に反応停止液として0.5N HClを125 μ L加えたのち、酢酸エチル700 μ Lを加え攪拌した。遠心分離 (1,200 \times G, 5分) し、上層部 (酢酸エチル層) 500 μ Lを試験管にとり、濃縮遠心機に20分間かけた。乾固物に1.0mLの蒸留水を加え、この溶液の紫外部吸光度 (228nm) を測定し、溶液中の遊離馬尿酸量を測定した。対照には試料の代わりに未発酵調製肉抽出液あるいは蒸留水を用いた。ブランクには対照にあらかじめ0.5N HCl125 μ Lを加えたものを用いた。

阻害活性 (%) は以下の計算式で求めた。

$$\text{阻害活性 (\%)} = (E_c - E_s) / (E_c - E_b) \times 100$$

E_s , E_c および E_b はそれぞれ試料、対照およびブランクのOD₂₂₈を示す。

溶液に含まれるペプチド含量は対照にウシ血清アルブミンを用いた色素結合法¹²⁾で測定した。この値を用いて、IC₅₀値を算出した。IC₅₀は本来のACE活性を50%阻害する濃度とした。

2.4 ACE阻害ペプチドの粗精製

発酵食肉100 gを500mLの水に懸濁し70°Cで30分間の加熱処理後、遠心分離 (10,000 \times G, 20分) した。回収した上澄液のpHを8.3に調整したのち、1.5 Lの冷エタノールを徐々に加え生成した沈殿物を除去したものをエバポレーターで約300mLまで濃縮した。濃縮液を凍結乾燥し、得られた粉末を10mLの水に溶解したものを試料とした。

試料を逆相液体クロマトグラフィー (L-6200 システム, HITACHI) に供した。カラムはTSKgel ODS-100 V (東ソー) を用い、流速1.0mL/min, 吸光波長215nmで測定した。移動相には0.05% TFA水溶液を用い、0.05% TFAアセトニトリル溶液でグラジエントをかけた。5分毎に分画し、集めた画分を凍結乾燥したのち水に溶解

Table 2 IC₅₀ of the ACE inhibitory activities of fermented meat extracts

Starter culture	IC ₅₀ (μ g/ml)
<i>Lb. farciminis</i> HM2001	1660 (350) *
<i>Lb. alimentarius</i> EM2001	1850 (300)
<i>Lb. plantarum</i> JAB2001	1540 (260)

* : Figures in parenthesis are standard deviation (n=3).

し、ACE阻害活性を測定した。ACE阻害活性を示した画分を上記の条件で再び分画した。ACE阻害活性を示した画分は、同HPLCシステムとサイズ排除カラム (Superdex Peptide HR 10/300 GL) を用いて分画し、ACE阻害活性を測定した。

3. 結果と考察

3.1 発酵食肉のACE阻害活性

Lb. farciminis HM2001, *Lb. alimentarius* EM2001および*Lb. plantarum* JAB2001で発酵した食肉製品はいずれもACE阻害活性を示し、このときIC₅₀はJAB2001株で調製した発酵食肉製品で最も低い値を示した (Table 2)。そこで、以降はJAB2001株で調製した発酵食肉由来のACE阻害ペプチドを探索した。

選択した菌株は食肉中での生育性が良好であるだけでなく、各種消化液に対しても耐性を有する⁹⁾。すなわち、pH2.5に調整した人口胃液中においても3時間後まで菌数の減少は見られず、ウシ胆汁末であるOxgallの最小生育阻止濃度は20%と高く、人工腸液中でも生育性を示す菌株である。そのため、本菌株は経口摂取した際に生きて腸管まで届くことが期待でき、腸内菌叢の改善に役立つ可能性が高い。さらに、この株で調製した発酵食肉中に含まれるACE阻害ペプチドを明らかにすることで、抗高血圧作用も期待できる食肉製品の開発に寄与できるものと考えられた。

3.2 ACE阻害ペプチドの精製

JAB2001株で調製した発酵食肉製品の抽出液を

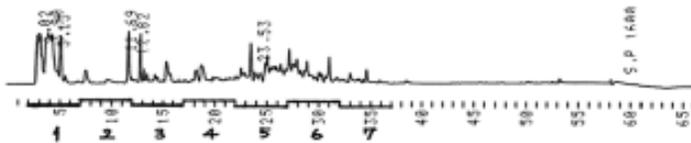


Fig. 1 A chromatogram of the fermented meat extract obtained with reverse-phase HPLC.

Table 3 ACE inhibitory activities of 7 fractions after reverse-phase HPLC and 1 fraction after size-exclusion HPLC.

Fraction*	ACE Inhibitory activity (%)	IC ₅₀ (μg/ml)
1	47.7 (1.7) **	125 (4.4)
2	ND***	—
3	5.9 (5.0)	927 (710)
4	6.0 (5.8)	1005 (697)
5	ND	—
6	ND	—
7	ND	—
8	31.4 (1.2)	3.15 (0.12)

* : Fraction numbers correspond to numbers in Figures1 (1~7) and 2 (8)

** : Figures in parenthesis are standard deviation (n=3)

*** : Not Determined (less than5%ACE inhibitory activity)

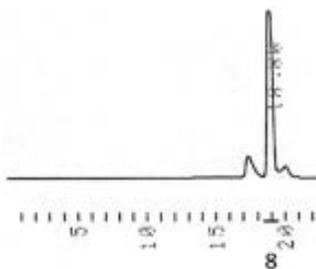


Fig. 2 A chromatogram of the ACE inhibitory fraction obtained with size-exclusion HPLC.

HPLCに供し、5分毎に分画した (Fig 1)。得られた画分の凍結乾燥粉末を水に溶解させ、ACE阻害活性を測定した (Table 3)。画分1で高いACE阻害活性が認められたため、この画分を更に同条件の逆相HPLCに供試し、3つの画分を得た。得られた画分のうち、高いACE阻害活性を示したものをサイズ排除カラムに供した (Fig 2)。この時のACE阻害活性は31%であり、IC₅₀は3.15 μg/mlであった。また、ACE阻害ペプチドの分子量はサイズ排除HPLCの結果から、300~1,000と推測された。

ACEは基質特異性の低い酵素であるため、試料中のペプチドと反応する可能性がある。試料中のペプチドとACEが反応した場合、酵素活性測定のための基質（馬尿酸ヒスチジルロイシン）との反応率が低くなるため、酵素活性阻害率が見かけ上高くなる。そこで、ACEと試料を反応させた後に基質を添加することで、見かけ上の阻害活性を除く方法（プレインキュベーション法）が考案され用いられている。本実験ではACEと試料を10分間反応させた後に基質を添加しており、本実験で得られた値は見かけ上の阻害活性ではないと考えられる。そのため、最終画分に含まれるペプチドはACE阻害活性を有する可能性が高い。今後はこのペプチドのアミノ酸配列を解析したのち、合成ペプチドを用いてACE阻害活性の中心となる配列を解析する予定である。

4. 要 約

本研究では発酵食肉製品の機能性について検討した。特に機能性ペプチドに着目し、ACE阻害ペプチドの探索を目的とした。発酵食肉製品の調製には、既に食肉中での生育性が良好であることが明らかとなっているフナズシ由来の乳酸桿菌3株を用いた。これらの菌株を用いてそれぞれ発酵食肉を調製し、抽出液のACE阻害活性を測定した結果、*Lb. plantarum* JAB2001を用いたもので最も低いIC₅₀値を示した。そこで、この抽出液を逆相HPLCに供し、分画した。各画分についてACE阻害活性を測定し、高い阻害活性を示した画分を再度逆相HPLCに供したのち、サイズ排除HPLCに供した。最終的に得られた画分が示すIC₅₀値は3.15 μg/mlであった。今後は機能性発酵食肉製品の開発に資するべく、この画分に含まれるペプチドのアミノ酸配列を解析する予定である。

文 献

- 1) 森田英利：発酵食肉製品における細菌の有用性、食肉の科学, **38**, 189~203, 1997.
- 2) Sameshima T., Magome C., Takeshita K., Arihara K., Itoh M. and Kondo Y.: Effect of intestinal *Lactobacillus* starter cultures on the behavior of *Staphylococcus aureus* in fermented sausage. *Int. J. Food Microbiol.*, **41**, 1~7, 1998.
- 3) Erkkilä S., Suihko M. L., Eerola S. Petäjä, E. and Mattila-Sandholm T.: Dry sausage fermented by *Lactobacillus rhamnosus* strains. *Int. J. Food Microbiol.*, **64**, 205~210, 2001.
- 4) Pidcock K., Heard G. M. and Henriksson A.: Application of nontraditional meat starter cultures in production of Hungarian salami. *Int. J. Food Microbiol.*, **76**, 75~81, 2002.
- 5) 藤井建夫, 西忠嗣, 奥積昌世：ふなずしの化学成分と微生物相, 山脇学園短期大学紀要, **46**, 90~103, 2008.
- 6) Kubo K.M., Ogawa Y. and Horikoshi M.: The effects of free amino acids, nucleic compounds, and volatile constituents of funazushi (fermented sushi of crucian carp (*Cyprinus auratus*)) on preference. *J. Sci. Food Agric.*, **88**, 1259~1265, 2008.
- 7) An C., Takahashi H., Kimura B. and Kuda T.: Comparison of PCR-DGGE and PCR-SSCP analysis for bacterial flora of Japanese traditional fermented fish products, aji-narezushi and iwashi-nukazuke. *J. Sci. Food Agric.*, **90**, 1796~1801, 2010.
- 8) Tsuda H., Kubota K., Matsumoto T. and Ishimi Y.: Isolation and identification of lactic acid bacteria in traditional fermented sushi, Funazushi, from Japan. *Food Sci. Technol. Res.*, **18**, 77~82, 2012.
- 9) Tsuda H., Matsumoto T. and Ishimi Y.: Selection of lactic acid bacteria as starter cultures for fermented meat products. *Food Sci. Technol. Res.*, **18**, 713~721, 2012.
- 10) 中江利孝, 片岡啓, 宮本拓：発酵ひき肉製品の製造と生化学的性状に関する研究, 食肉に関する助成研究調査成果報告書, **5**, 298~304, 1986.
- 11) Cushman D. W. and Cheung H. S.: Spectrophotometric assay and properties of the angiotensin-converting enzyme of rabbit lung. *Biochem. Pharmacol.*, **20**, 1637~1648, 1971.
- 12) Bradford M. M.: A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.*, **72**, 248~254, 1976.

抗肥満或いは美容効果を有する食品素材としての 豚血液の有効利用法の開発

Development of the method for efficient utilization of porcine blood as an antiobesity or a cosmetic food ingredient

上 曾 山 博

(神戸大学大学院農学研究科)

Hiroshi Kamisoyama

(Graduate School of Agricultural Science, Kobe University)

It is well known that edible meat products and by-products are notable sources of essential nutrients such as protein, minerals, and vitamins. However, there is little attention to the biological functions of these products. In Japan, blood is not usually used as food materials, and therefore, has been wasted as a by-product. In the present study, we have investigated about the development of the method for efficient utilization of porcine blood as an antiobesity or a cosmetic food ingredient. First, we investigated the effects of water soluble heme iron on diet-induced obesity in high-fat diet-induced obese mice. Dietary heme iron significantly decreased plasma triglyceride concentration in high-fat diet-induced obese mice. The weight of epididymal adipose tissue was decreased by dietary heme iron. There is no significant difference in food intake, body weight, and liver weight. Next, we investigated the effects of water soluble heme iron on food intake in normal mice. Intraperitoneal injection of heme iron did not influenced food intake in mice. Finally, we investigated the effects of water soluble heme iron on melanin production in melanoma cells. Addition of heme iron to the culture medium of melanoma cells did not influenced melanin content. These results suggest that the natural ingredient water soluble heme iron could be a promising candidate for the food ingredient to prevent or ameliorate obesity and hyperlipidemia.

1. 目 的

高齢化社会を迎えつつある我が国においては、極く近い将来、介護医療に要する費用の急激な増加は避け得ないと言われているが、その介護医療が必要となる疾患の主因とされている動脈硬化を引き起こすメタボリックシンドロームの原因となる肥満の効果的な予防法は未だ見出されていない。

い。また2011年のWHOの発表によれば、我が国における60歳以上の高齢者の割合は人口の30%（世界最高）を占め、健康な高齢者も増加しつつある。それ故、今後は、介護医療に繋がるメタボリックシンドローム予防のための「抗肥満」に加え、健康な高齢者のQOL（生活の質）を高めるための「抗老化（例えば、美容）」が、新たな課題になると判断される。

ホスファチジルエタノールアミンやスフィンゴミエリン等のリン脂質は、生体膜の主要な構成成分として知られるが、最近、これらのリン脂質が、種々の生体調節効果を有することが明らかにされつつある。例えば、脳機能に及ぼす影響として、ホスファチジルエタノールアミンの腹腔内投与が12時間以上という長時間に渡ってマウスの食欲を抑制すること¹⁾、および、スフィンゴミエリン強化乳の投与が新生児の精神運動発達を促進すること²⁾等が、脂質代謝調節機能に及ぼす影響として、スフィンゴミエリンの給与が脂肪肝と高コレステロール血症を改善すること³⁾等が、表皮機能に及ぼす影響として、スフィンゴミエリンの給与が表皮の機能を改善すること⁴⁾等が、それぞれ報告されている。それ故、これらのリン脂質の生体調節効果をヒトに活用することができれば、上述の、高齢化社会における2つの課題、即ち、食欲抑制と脂質代謝改善による「抗肥満」と、表皮機能改善による「美容」の両者に寄与できると判断された。

欧米では、家畜の畜産副生物を食品として活用する文化が根付いている。例えば、血液はブラッドソーセージとして食される。我が国においても、畜産副生物のうち、消化管や肝臓等の可食臓器は食用として、その他の非可食臓器類については飼料・肥料用として、それぞれ有効に利用されているが、保存や流通に費用が掛かる血液については、我が国においては食文化がないこともあり、多額の費用を掛けて廃棄（或いは、環境へ流出）されている。それ故、血液の有効利用法の開発が極めて重要な課題となっている。ここで、豚赤血球は、上述の生体調節効果を有するリン脂質（スフィンゴミエリンおよびホスファチジルエタノールアミン）を豊富に含むことが知られている⁵⁾。それ故、豚赤血球由来食品素材が生体調節効果、即ち、「抗肥満」および「美容」のいずれ

かの効果を有することが明らかになれば、血液の新規利用法の開発とそれに基づく環境への負荷の削減が可能になると判断された。

本研究では、畜産副生物である血液の食品としての新規利用法開発のための一環として、豚赤血球由来食品素材である水溶性ヘム鉄の「抗肥満」効果および「美容」効果について調べた。

2. 方法

2.1 水溶性ヘム鉄がマウスの脂質代謝に及ぼす影響

水溶性ヘム鉄（ILS株式会社）を0, 1 或いは3%含む高脂肪食飼料（Table 1）を5週齢のICRマウス（日本エスエルシー株式会社）に3週間給与した。試験飼料給与期間は、摂食量を毎日測定し、体重を毎週測定した。24時間絶食後、ネブタール麻酔下で腹部大静脈より採血し、血漿を分離後、トリグリセリド（TG）および遊離脂肪酸（NEFA）の血中濃度を測定した。TGおよびNEFAの測定には市販のキット（トリグリセリドE-テストワコーおよびNEFA C-テストワコー、和光純薬工業株式会社）を用いた。また、肝臓重量および腹部脂肪（精巣上体周囲脂肪および腎周囲脂肪）重量を測定した。統計解析はBonferroni/Dunn法により行なった。

2.2 水溶性ヘム鉄がマウスの食欲に及ぼす影響

水溶性ヘム鉄を、ICRマウスに腹腔内投与（0, 10或いは100 mg/kgBW）し、投与12時間後までの摂食量を経時的に測定することにより、食欲抑制効果が認められる投与量ならびにその効果が最も顕著に表れる投与後経過時間を調べた。統計解析はBonferroni/Dunn法により行なった。

2.3 水溶性ヘム鉄がメラニン生成に及ぼす影響

マウスB16メラノーマ細胞をシャーレに播種

Table 1 Composition of experimental diets

	(g/100g diet)		
	0	1	3
Casein	21	20	18
L-Cystein	0.39	0.39	0.39
Corn starch	20.94	20.94	20.94
Sucrose	8.9	8.9	8.9
Soybean oil	2	2	2
Beef tallow	32.9	32.9	32.9
Cellulose	6.5	6.5	6.5
Mineral mixture ¹⁾	1.3	1.3	1.3
Vitamine mixture ²⁾	1.7	1.7	1.7
CaHPO ₄ · 2H ₂ O	0.71	0.71	0.71
CaCO ₃	2.1	2.1	2.1
Potassium citrate	1.3	1.3	1.3
Choline-tartrate	0.26	0.26	0.26
Heme iron	0	1	3

¹⁾ AIN-93G Mineral mixture (Japan SLC, INC., Shizuoka, Japan)

²⁾ AIN-93G Vitamin mixture (Japan SLC, INC., Shizuoka, Japan)

し、10%牛胎児血清を含むD-MEM培地（対照培地）で24時間培養後、対照培地、1 mg/ml水溶性ヘム鉄を含む対照培地或いは0.1 mg/mlビタミンCを含む対照培地に交換し、6日間培養後、細胞を回収した。得られた細胞を2N NaOHを用いて37℃で1時間融解し、450nmの吸光度を測定することによってメラニンを測定した。統計解析はBonferroni/Dunn法により行なった。

3. 結果と考察

3.1 水溶性ヘム鉄がマウスの脂質代謝に及ぼす影響

ヘム鉄の給与は、マウスの精巢上体周囲脂肪組織重量を減少させたが、体重および肝臓重量にはヘム鉄給与の影響は見られなかった (Fig. 1)。また、3%ヘム鉄給与群において、血中TG濃度の有意な減少が認められた (Fig. 2)。これらの結果から、水溶性ヘム鉄の給与は、体重や飼料摂取量に影響を及ぼすことなく、体脂肪蓄積を抑制

することが示唆された。これまで、種々のタンパク質加水分解物による体脂肪蓄積抑制が報告されているが、ヘム鉄に関する報告はない。水溶性ヘム鉄は、豚血球分解産物の水溶性画分であることから、その主成分はヘモグロビンに由来するペプチドであると推察される。Kagawaらは、ヘモグロビンの酸性プロテアーゼ分解物が、血中TG濃度の上昇を抑制することを報告しており、その活性本体がテトラペプチド (Val-Val-Tyr-Pro) であることを示唆している^{7,8)}。しかしながら、本実験において用いた水溶性ヘム鉄は、アルカリ性プロテアーゼを用いて分解されたものであり、ヘム鉄を高濃度を含むことから、その機構はKagawaらの報告とは異なる可能性が高いと判断される。今後は、ヘム鉄給与による体脂肪蓄積抑制機構の解明と、鉄ポルフィリン錯体およびペプチドの関与について明らかにする必要があると考えられた。

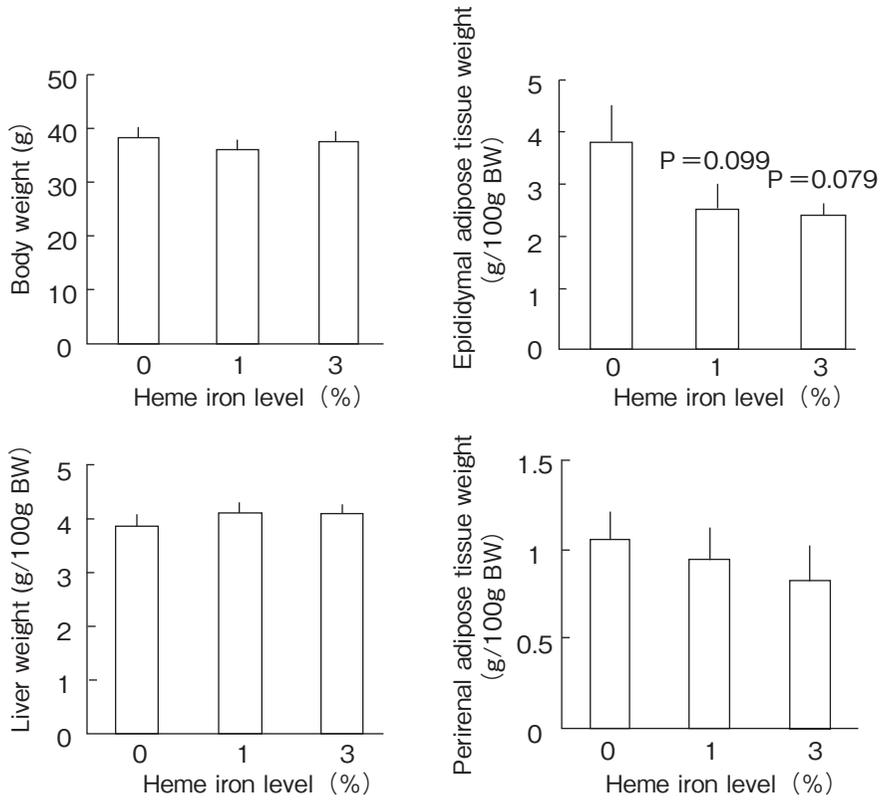


Fig. 1 Effects of heme iron on the weights of body, liver, and adipose tissues in highfat diet-induced obese mice. Data represent the mean \pm SEM for six mice in each group.

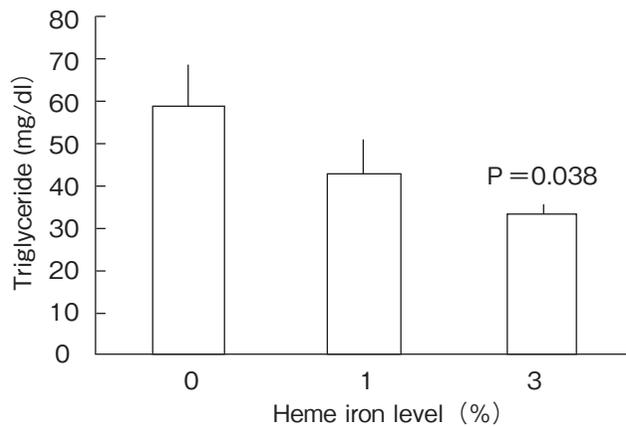


Fig. 2 Effect of heme iron on plasma triglyceride concentration in high-fat diet-induced obese mice. Data represent the mean \pm SEM for six mice in each group.

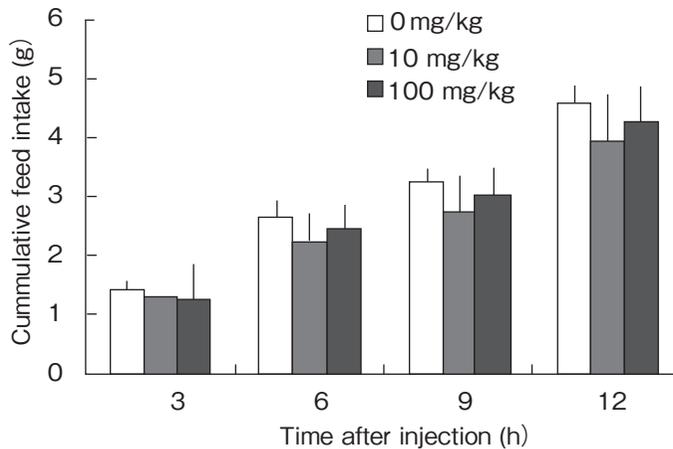


Fig. 3 Effect of intraperitoneal administration of heme iron on food intake in mice
Data represent the mean \pm SEM for six mice in each group.

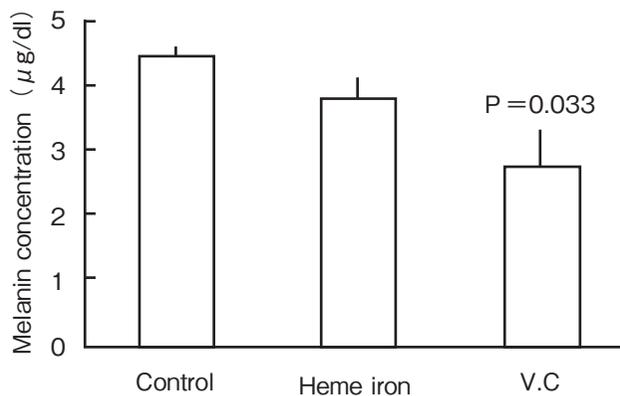


Fig. 4 Effects of heme iron and vitamin C (V.C) on melanin concentration in melanoma cells
Data represent the mean \pm SEM for three wells in each group.

3.2 水溶性ヘム鉄がマウスの食欲に及ぼす影響

ヘム鉄の腹腔内投与は、いずれの投与後経過時間においても、マウスの摂食量に影響を及ぼさなかった (Fig. 3)。これらの結果から、少なくとも本実験条件下においては、ヘム鉄はマウスの摂食に影響しないことが示唆された。

3.3 水溶性ヘム鉄がメラニン生成に及ぼす影響

水溶性ヘム鉄の培地への添加は、メラノーマ細胞のメラニン含量に影響を及ぼさなかったが、ビ

タミンCはメラノーマ細胞のメラニン含量を有意に減少させた (Fig. 4)。これらの結果から、ヘム鉄はメラノーマ細胞のメラニン生成に影響しないか、もし効果があったとしても、その効果はビタミンCのそれに比べ極めて小さいことが示唆された。

4. 要 約

本研究では、畜産副生物の利用法開発のための一環として、ヘム鉄の抗肥満或いは美容効果について調べた。まず、ヘム鉄がマウスの脂質代謝に

及ぼす影響について調べた結果、ヘム鉄の給与は、マウスの精巣上体周囲脂肪組織重量を減少させること、および、血中TG濃度を有意に減少させることが明らかになった。これらの結果から、水溶性ヘム鉄の給与は、体脂肪蓄積を抑制することが示唆された。次に、水溶性ヘム鉄がマウスの食欲に及ぼす影響について調べた結果、ヘム鉄の腹腔内投与は、マウスの摂食量に影響を及ぼさないことが明らかになった。最後に、水溶性ヘム鉄がメラニン生成に及ぼす影響について調べた結果、水溶性ヘム鉄の培地への添加は、メラノーマ細胞のメラニン含量に影響を及ぼさないことが明らかになった。これらの結果から、ヘム鉄は、抗肥満および高脂血症を予防或いは改善する食品素材として利用できる可能性があると判断された。

文 献

- 1) Gillum MP, Zhang D, Zhang XM, Erion DM, Jamison RA, Choi C, Dong J, Shanabrough M, Duenas HR, Frederick DW, Hsiao JJ, Horvath TL, Lo CM, Tso P, Cline GW, Shulman GI: N-acylphosphatidylethanolamine, a gut-derived circulating factor induced by fat ingestion, inhibits food intake. *Cell*, **135**, 813~824, 2008.
- 2) 清水俊明, 田中恭子, 宗像俊, 菊池透: 成長・発達と脂質. *J Lipid Nutr*, **20**, 23~34, 2011.
- 3) Yunoki K, Renaguli M, Kinoshita M, Matsuyama H, Mawatari S, Fujino T, Kodama Y, Sugiyama M, Ohnishi M: Dietary sphingolipids ameliorate disorders of lipid metabolism in Zucker fatty rats. *J Agric Food Chem*, **58**, 7030~7035, 2010.
- 4) Haruta-Ono Y, Ueno H, Ueda N, Kato K, Yoshioka T: Investigation into the dosage of dietary sphingomyelin concentrate in relation to the improvement of epidermal function in hairless mice. *Anim Sci J*, **83**, 178~183, 2012.
- 5) Hanahan DJ, Ekholm JE, Benson B: Characterization of the phospholipids and the normal and hydroxy acid containing glycosphingolipids (globosides) of pig erythrocytes. *Biochim Biophys Acta*, **231**, 343~359, 1971.
- 6) Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ: Protein measurement with the folin phenol reagent. *J Biol Chem*, **193**, 265~275, 1951.
- 7) Kagawa K, Matsutaka H, Fukuhama C, Watanabe Y, Fujino H: Globin digest, acidic protease hydrolysate, inhibits dietary hypertriglyceridemia and Val-Val-Tyr-Pro, one of its constituents, possesses most superior effect. *Life Sci*, **58**, 1745~1755, 1996.
- 8) Kagawa K, Matsutaka H, Fukuhama C, Fujino H, Okuda H: Suppressive effect of globin digest on postprandial hyperlipidemia in male volunteers. *J Nutr*, **128**, 56~60, 1998.

発育期サッカー選手の栄養摂取状況と畜産物由来 ヘム鉄摂取の必要性に関する研究

Research for a growth phase soccer player, the nutrition intake and
livestock product origin heme iron ingestion necessity

坂 元 美 子
(神戸女子大学)

Yoshiko Sakamoto
(Kobe Women's University)

72 high school male soccer players were administered between 3.5 mg, and 7 mg of heme iron supplements over a period of one month. 51 of the 72 subjects showed a decrease in the count of hemoglobin in their blood samples. 56 of the 72 subjects were not anemic, while 16 subjects were anemic. The 56 non-anemic subjects showed no sign of increase in hemoglobin count in their blood samples after administering the heme iron supplement during the period of study.

In observing the nutritional intake of the soccer players versus the energy output from physical activity, 52 of the 72 subjects showed a decrease in hemoglobin count from lack of vital nutrients such as protein, iron, zinc, copper, vitamin B6, and vitamin C among other nutrients taken from the diet. Therefore, we observed that the heme iron supplement does not effectively cover the deficiency of heme iron in the blood. The healthy production of hemoglobin in the blood should basically come from a balance of food intake and physical activity in healthy young athletes.

However, during this one month study trial, we observed one case where the anemic subject displayed a hemoglobin count of 9.5 g/dl was able to reach normal levels i.e. above 14 g/dl after one month's administering of the heme iron supplement.

Therefore, in order to establish the effects and affects of heme iron supplements in extreme cases where subjects suffer from acute anemia further study is necessary.

1. 目 的

健康を維持し、体力を向上させるためには、運動と栄養とメンタルヘルスが必須項目であり、心身ともに成長期である高校生にとって、健全な精神と肉体を育てるための手段としてスポーツを行

うことは重要である。特に発育期におけるスポーツ選手は、身体発育に必要な食事量に加え、トレーニング等による身体活動量の増加に見合った、より多くの食事量を必要とするが、選手自身の、必要なエネルギー摂取量や栄養素の充足に対する認識は非常に薄く、日本人の食事摂取基準¹⁾

にも、ビタミン、ミネラル等の栄養素のスポーツ選手への適切な摂取量は示されていない。そのため、多くの選手は、必要なエネルギー摂取量や栄養素の充足に対する認識が乏しく、適切な栄養摂取が困難な状況にある。

適切な食事量と栄養摂取ができていない場合、健全な精神と肉体を育てることは不可能になるばかりではなく、成長障害、疲労骨折、鉄欠乏性貧血、摂食障害など様々な障害の要因になる²⁾。特に、激しい運動が原因でおこる貧血はスポーツ貧血と呼ばれている³⁾。貧血とは単位容積血液中の赤血球数またはヘモグロビン濃度が減少した状態をいい、貧血症状としては、易疲労性や倦怠感、食欲不振、便秘、下痢、無月経、体動時の動悸、皮膚粘膜の蒼白、頭痛、めまい、耳鳴りなどがあげられる²⁾。運動時における鉄の役割は、ヘモグロビンによる酸素運搬だけではなく、筋肉中のミオグロビンによる細胞内への酸素の取り込みや、電子伝達系におけるシトクロムなどの鉄含有酵素、活性酸素分解酵素など、好氣的条件で行われるATP産生に重要な働きを持ち、スポーツ選手の貧血は貧血症状と同時に競技能力の低下をもたらす²⁾。スポーツ貧血が起こる原因として、鉄やたんぱく質等の栄養摂取不足、ランニングやジャンプ時の着地などへの衝撃による溶血、激しい運動時の血流亢進による赤血球の破壊による赤血球膜構造の可塑性の低下、発汗や尿便などによる損失が報告されている⁴⁾。通常は貧血の指標が正常値であっても、激しい運動などで急激に赤血球やヘモグロビンが減少し、貧血の症状を呈することもあり、適切な栄養素の摂取と基礎体力に見合ったトレーニングメニューの作成が必要と考えられる。

そこで、本研究は、持久的能力が必要なスポーツであるサッカー選手の血中ヘモグロビン値を測定し、消費エネルギーに見合った栄養素摂取がな

されているか、栄養調査を行い、貧血予防との関連を検討することおよび、発育期スポーツ選手の畜産物由来ヘム鉄摂取の必要性を検討することを目的とする。

2. 方 法

調査対象は、京都府の高校サッカー部に所属する男子部員86名中、同意を得られ全ての測定が可能であった72名。

2.1 栄養摂取状況調査

対象者の保護者に、連続した3日間の食事内容を評量法で測定してもらい、自記式記入法で調査用紙に記入してもらった。エネルギー・栄養素摂取量は栄養計算ソフトエクセル栄養君Ver.5(建帛社)を用いて算出した。

2.2 スポーツ貧血調査

非侵襲式血中ヘモグロビン量測定装置 アストリムSU(シスメックス社製)を用いて血中ヘモグロビン値を測定した。

2.3 エネルギー消費量調査

心拍数測定計 POLAR RS400(POLAR社製)を用いてエネルギー消費量を測定した。

2.4 身体計測

身長はSECA213(SECA社製)を用いて、体重、体脂肪率はデュアル周波数体組成計DC-320(株式会社 タニタ社製)を用いて測定した。

対象者とその保護者に研究の目的と内容を説明し、対象者が未成年であったため対象者の保護者に同意書による同意を得た上で、食事調査を行い、食事調査と同日の3日間、対象者に心拍数計を装着してもらった。対象選手の身体計測、ヘモグロビン値測定を行い、鉄としての摂取量7mgまたは3.5mgを畜産物由来ヘム鉄から1カ月間摂取後、再度血中ヘモグロビン測定を行った。統計解析はSPSS Statistics Ver.19を使用した。

table 1 The physical situation and energy consumed energy intake, nutritional intake of the subjects

	Height	Weight	Bbody fat	BMI	HGB before	HGB After	Energy consumed	Energy intake					
	cm	kg	%		g/dl	g/dl	kcal	kcal					
Average (n=72)	171.7	61.0	13.4	20.7	14.6	14.2	3144	2930					
SD (±)	5.6	7.2	4.4	2.0	1.2	1.1	354	640					
	Energy intake	Protein	Fat	Carbohydrate	Potassium	Calcium	Magnesium	Phosphorus	Iron	Zinc	Copper	Manganese	
	kcal	g	g	g	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg	
Average (n=72)	2930	111.4	97.3	386.4	3196	614	315	1530	10.4	14.5	1.59	4.30	
SD (±)	640	27.7	32.3	90.2	1064	297	96	412	3.6	4.3	.42	2.99	
	VitaminA	VitaminD	VitaminE	VitaminK	VitaminB1	VitaminB2	Niacin	VitaminB6	VitaminB12	Folic acid	Pantothenic acid	VitaminC	
	μgRE	μg	mg	μg	mg	mg	mgNE	mg	μg	μg	mg	mg	
Average (n=72)	742	9.7	10.0	283	1.52	1.73	25.6	1.84	9.3	389	9.45	120	
SD (±)	711	7.7	4.8	313	.53	.62	8.0	.65	5.2	200	2.50	67	

3. 結果と考察

3.1 身体状況と栄養摂取状況

対象選手の身体状況とエネルギー消費量、エネルギー・栄養素摂取量をTable 1に示す。身長は171.7cm (±5.6)、体重は61.0kg (±7.2)、体脂肪率は13.4% (±4.4)であった。血中ヘモグロビン値が、貧血と診断される指標である14g/dl未満の選手は72名中16名であった。畜産物由来ヘム鉄摂取前後の血中ヘモグロビン値の変化について、畜産物由来ヘム鉄摂取前の血中ヘモグロビン値の平均は14.6g/dl (±1.2)、摂取後の血中ヘモグロビン値の平均は14.2g/dl (±1.1)と、わずかではあるが低下した。エネルギー栄養素摂取量について、それぞれの基準値として、エネルギーは日本人の食事摂取基準(2010年版)の対象者と同年代の男性、身体活動レベル3とし、たんぱく質、脂質、炭水化物は基準エネルギー値からP:F:C=15:25:60のエネルギー比率で算出した。その他の栄養素は、日本人の食事摂取基準(2010年版)において推奨量が設定されているものは推奨量を、設定されていないもの(カリウム、リン、マンガン、ビタミンD、ビタミンE、ビタミンK、パントテン酸)は目安の量とした。結果として基準値が満たされていない栄養素は、エネルギー、

たんぱく質、炭水化物、マンガン、ビタミンAであった。消費エネルギー量は3144kcalであり、基準値とほぼ同じであったのに対し、摂取エネルギーは2930kcalと、消費量を満たしてはいなかった。摂取エネルギー充足者は27名、不足者は45名と消費量に見合ったエネルギー量が摂取できていない選手が圧倒的に多かった。

3.2 畜産物由来ヘム鉄摂取後の変化

ヘモグロビン値が増加し、畜産物由来ヘム鉄の摂取量が7mgの選手を1群、同じくヘモグロビン値が増加し、畜産物由来ヘム鉄の摂取量が3.5mgの選手を2群、ヘモグロビン値が低下し、畜産物由来ヘム鉄の摂取量が7mgの選手を3群、同じくヘモグロビン値が低下し、畜産物由来のヘム鉄の摂取量が3.5mgの選手を4群としてそれぞれの身体状況をTable 2に示す。1群は8名、2群は13名、3群は24名、4群は27名であった。それぞれの群別に一元配置分散分析(Tukey)を行った結果、有意な差は見られなかったが、体脂肪率は1,2群で多かった。食事からの鉄の摂取量は3群のみがチーム全体の平均値を下回り、日本人の食事摂取基準値を満たしていなかった。

3.3 エネルギー充足との関連

エネルギー摂取量がエネルギー消費量を上回っていて(以下エネルギー充足)、畜産物由来ヘム

table.2 The physical situation and energy consumed energy intake,nutritional intake of the each group

	Height	Weight	Bbody fat	BMI	HGB before	HGB After	Energy consumed	Energy intake						
	cm	kg	%		g/dl	g/dl	kcal	kcal						
group1	Aaverage (n = 8)	172.8	63.8	14.8	21.4	13.9	14.3	3319	2907					
	SD (±)	5.1	9.2	4.3	2.9	1.1	1.0	389	654					
group2	Aaverage (n = 13)	172.7	63.1	14.6	21.1	13.9	14.7	3198	3240					
	SD (±)	7.1	6.2	2.9	1.4	1.7	.9	342	697					
group3	Aaverage (n = 24)	170.8	59.8	12.9	20.5	14.9	14.1	3013	2636					
	SD (±)	5.1	5.2	3.2	1.6	1.0	1.3	277	536					
group4	Aaverage (n = 27)	171.6	60.2	12.9	20.4	14.9	13.9	3183	3049					
	SD (±)	5.6	8.4	5.8	2.3	.8	1.0	389	618					
	Energy intake	Protein	Fat	Carbohydrate	Potassium	Calcium	Magnesium	Phosphorus	Iron	Zinc	Copper	Manganese		
	kcal	g	g	g	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg		
group1	Aaverage (n = 8)	2907	111.2	109.8	350.5	3021	566	305	1531	10.5	14.8	1.50	3.71	
	SD (±)	654	22.7	45.4	82.8	799	267	91	410	2.6	3.9	.316	1.377	
group2	Aaverage (n = 13)	3240	114.7	110.2	435.2	3423	774	348	1674	10.9	14.7	1.69	5.04	
	SD (±)	697	29.5	31.0	110.8	1324	443	131	523	3.6	3.8	.486	3.122	
group3	Aaverage (n = 24)	2636	104.3	85.2	346.3	2683	545	273	1401	9.0	12.7	1.47	3.49	
	SD (±)	536	26.7	24.4	72.2	810	226	71	351	2.1	3.7	.434	.936	
group4	Aaverage (n = 27)	3049	116.1	98.2	409.1	3594	612	339	1576	11.5	15.9	1.67	4.85	
	SD (±)	618	29.0	32.4	80.5	1043	260	89	395	4.5	4.7	.378	4.169	
	VitaminA	VitaminD	VitaminE	VitaminK	VitaminB1	VitaminB2	Niacin	VitaminB6	VitaminB12	Folic acid	Pantothenic acid	VitaminC		
	μgRE	μg	mg	μg	mg	mg	mgNE	mg	μg	μg	mg	mg		
group1	Aaverage (n = 8)	653	11.9	9.8	264	1.39	1.71	27.8	1.91	12.9	356	9.21	111	
	SD (±)	212	10.0	3.1	103	.361	.494	8.5	.654	7.6	97	2.360	56	
group2	Aaverage (n = 13)	802	11.5	10.4	258	1.69	1.80	24.2	1.80	8.3	390	10.14	125	
	SD (±)	683	9.8	3.3	168	.657	.757	8.5	.670	5.1	194	3.427	64	
group3	Aaverage (n = 24)	665	8.7	8.5	223	1.39	1.56	25.8	1.56	9.8	325	8.74	83	
	SD (±)	688	4.6	2.7	99	.507	.446	9.5	.585	5.1	114	2.375	46	
group4	Aaverage (n = 27)	808	9.2	11.2	353	1.61	1.86	25.4	2.08	8.3	455	9.83	151	
	SD (±)	849	8.2	6.7	483	.522	.697	6.3	.626	4.2	263	2.067	73	

鉄の摂取量が7 mgの選手を1群, エネルギー充足し, 畜産物由来ヘム鉄の摂取量が3.5mgの選手を2群, エネルギー消費量がエネルギー摂取量を上回っていて(以下エネルギー不足), 畜産物由来ヘム鉄の摂取量が7 mgの選手を3群, エネルギー不足し, 畜産物由来ヘム鉄の摂取量が3.5mgの選手を4群として, それぞれの群の身体状況とエネルギー消費量, エネルギー・栄養素摂取量をTable 3に示す。1群が9名, 2群が17名, 3群が23名, 4群が23名であった。それぞれの群別に一元配置分散分析(Tukey)を行った結果, 各群

間で身体状況に有意な差は無かったが, 体脂肪率で2群と3群で低い傾向にあった。栄養摂取状況ではエネルギー摂取量, たんぱく質, 脂質, 炭水化物, ナトリウム, カリウム, カルシウム, マグネシウム, リン, 鉄, 亜鉛, 銅, ビタミンB2, ナイアシン, ビタミンB6, パントテン酸, ビタミンCについて有意な差が見られた。特にヘモグロビンの生成に影響が強い栄養素であるエネルギー摂取量, たんぱく質, 炭水化物, リン, 鉄, 亜鉛, 銅, ビタミンB6, ビタミンCについて各群と比較した有意確率をTable 4に示す。さらに,

table.3 The physical situation and energy consumed energy intake,nutritional intake of the each group

	Height	Weight	Bbody fat	BMI	HGB before	HGB After	Energy consumed	Energy intake						
	cm	kg	%		g/dl	g/dl	kcal	kcal						
group1	Average (n=9)	169.4	59.9	14.6	20.9	14.6	14.0	2840	3258					
	SD (±)	5.0	4.4	3.1	1.6	1.0	1.1	384	363					
group2	Average (n=17)	172.8	61.6	13.1	20.6	14.4	14.1	3046	3614					
	SD (±)	5.0	6.4	2.4	1.5	1.6	1.0	414	544					
group3	Average (n=23)	172.1	61.2	12.9	20.6	14.7	14.2	3187	2487					
	SD (±)	5.0	7.2	3.7	2.1	1.1	1.3	255	483					
group4	Average (n=23)	171.3	60.8	13.6	20.7	14.7	14.2	3293	2739					
	SD (±)	6.8	8.8	6.4	2.4	.9	1.1	300	418					
	Energy intake	Protein	Fat	Carbohydrate	Potassium	Calcium	Magnesium	Phosphorus	Iron	Zinc	Copper	Manganese		
	kcal	g	g	g	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg		
group1	Average (n=9)	3258	133.5	127.1	375.6	3450	740	351	1810	11.6	16.6	4.22	1.67	
	SD (±)	363	6.6	29.4	70.1	496	290	67	279	1.7	1.9	1.30	206	
group2	Average (n=17)	3614	134.3	128.2	464.5	4013	842	393	1873	13.5	18.4	5.18	1.91	
	SD (±)	544	29.3	30.6	74.6	1198	418	107	476	5.0	4.5	2.55	404	
group3	Average (n=23)	2487	95.2	77.3	336.3	2501	476	254	1286	8.5	11.9	3.28	1.41	
	SD (±)	483	21.8	20.0	73.4	752	159	62	279	1.9	3.6	.81	439	
group4	Average (n=23)	2739	101.9	82.8	382.9	3187	534	305	1412	9.7	13.4	4.71	1.50	
	SD (±)	418	19.5	15.0	87.3	952	169	83	279	2.6	2.8	4.59	325	
	VitaminA	VitaminD	VitaminE	VitaminK	VitaminB1	VitaminB2	Niacin	VitaminB6	VitaminB12	Folic acid	Pantothenic acid	VitaminC		
	μgRE	μg	mg	μg	mg	mg	mgNE	mg	μg	μg	mg	mg		
group1	Average (n=9)	640	15.2	11.2	268	1.68	1.99	2.1	32.35	11.8	385	10.78	114	
	SD (±)	213	7.8	2.2	92	258	.331	.5	8.22	6.0	91	1.623	57	
group2	Average (n=17)	762	10.7	13.0	438	1.78	2.26	2.3	29.48	9.9	477	11.34	164	
	SD (±)	634	7.7	8.2	604	.610	.867	.7	6.72	4.4	285	2.680	83	
group3	Average (n=23)	671	7.2	7.9	220	1.27	1.44	1.5	23.96	10.1	312	8.11	81	
	SD (±)	702	3.9	2.4	102	486	404	.6	8.56	5.8	111	2.162	43	
group4	Average (n=23)	839	9.4	9.4	237	1.53	1.53	1.7	21.71	7.1	402	8.89	128	
	SD (±)	901	9.5	2.3	107	511	.327	.5	5.27	4.2	206	1.899	56	

1群の血中ヘモグロビン値増加者（以下増加者）をI1群，血中ヘモグロビン値低下者（以下低下者）をI2群，2群の増加者をII3群，2群の低下者をII4群，3群の増加者をIII5群，3群の低下者をIII6群，4群の増加者をIV7群，4群の低下者をIV8群として，それぞれの群の身体状況とエネルギー消費量，エネルギー・栄養素摂取量をTable 5に示す。I1群は3名，I2群は6名，II3群は6名，II4群は11名，III5群は5名，III6群は18名，IV7群は6名，IV8群は17名で，各群すべてで血中ヘモグロビン値増加の方が少な

かった。

3.4 考察

今回の研究では，全ての選手に畜産物由来のヘム鉄を1カ月間摂取してもらったが，72名中51名の選手で血中ヘモグロビン値が低下した。血中ヘモグロビン値が貧血の診断の指標となる14g/dl以上の選手が56名おり，畜産物由来ヘム鉄の摂取後の血中ヘモグロビン値の変化が1g/dl未満であり測定誤差範囲内であること，さらに今回の対象選手の中で畜産物由来ヘム鉄摂取前の血中ヘモグロビン値が9.5g/dlと以上に低い選手が1名おり，

table. 4 The P value of the each group, about each nutrient

Energy intake							Protein						Fat					
group	1		2		3		1		2		3		1		2		3	
group	2	3	4	3	4	4	2	3	4	3	4	4	2	3	4	3	4	4
P value	.259	.000	.030	.000	.000	.267	1.000	.000	.003	.000	.000	.735	.999	.000	.000	.000	.000	.847
Carbohydrate							sodium						potassium					
group	1		2		3		1		2		3		1		2		3	
group	2	3	4	3	4	4	2	3	4	3	4	4	2	3	4	3	4	4
P value	.036	.578	.995	.000	.009	.190	.037	.462	.997	.000	.002	.339	.452	.050	.885	.000	.032	.063
Calcium							Magnesium						Phosphorus					
group	1		2		3		1		2		3		1		2		3	
group	2	3	4	3	4	4	2	3	4	3	4	4	2	3	4	3	4	4
P value	.784	.058	.194	.000	.003	.877	.600	.018	.478	.000	.006	.161	.968	.001	.019	.000	.000	.582
Iron							Zinc						Copper					
group	1		2		3		1		2		3		1		2		3	
group	2	3	4	3	4	4	2	3	4	3	4	4	2	3	4	3	4	4
P value	.462	.058	.386	.000	.001	.565	.566	.006	.106	.000	.000	.456	.406	.287	.681	.000	.006	.806
VitaminB2							Niacin						VitaminB6					
group	1		2		2		1		2		3		1		2		3	
group	2	3	4	3	4	4	2	3	4	3	4	4	2	3	4	3	4	4
P value	.596	.048	.135	.000	.000	.927	.766	.020	.002	.084	.006	.711	.804	.024	.358	.000	.011	.341
VitaminB12							Pantothenic acid						VitaminC					
group	1		2		3		1		2		3		1		2		3	
group	2	3	4	3	4	4	2	3	4	3	4	4	2	3	4	3	4	4
P value	.812	.838	.098	.999	.309	.192	.923	.013	.128	.000	.004	.615	.204	.489	.944	.000	.250	.049

この選手は畜産物由来の鉄の摂取量が3.5mgであったにもかかわらず1ヵ月後の血中ヘモグロビン値は14.5g/dlにまで上昇していたことも考慮すると、血中ヘモグロビン値が正常の選手が畜産物由来ヘム鉄を摂取しても血中ヘモグロビン値の上昇は期待できないことが示唆された。

また、摂取エネルギー量が消費エネルギー量を下回り、血中ヘモグロビン値が低下した選手が52名おり、エネルギー摂取量、たんぱく質、脂質、炭水化物、ナトリウム、カリウム、カルシウム、マグネシウム、リン、鉄、亜鉛、銅、ビタミンB2、ナイアシン、ビタミンB6、パントテン酸、ビタミンCについて有意に摂取量が少なかったことから、サプリメントとして畜産物由来ヘム鉄を摂取しても、エネルギー源栄養素と共に、ヘモグロビン生成に必要な栄養素の食事からの摂取が適切になされていなければ、効果的に作用しないことが示唆された。今回の研究の限界点として、畜産物由来ヘム鉄の摂取期間が1ヵ月間と限定されたため、その後増加する可能性があることを検

討できなかった。また、血中ヘモグロビン値のみの検討にとどまり、血清鉄やフェリチン値を含めた、採血での貧血の調査ができなかったことが挙げられる。今後は、スポーツ選手として必要な血中ヘモグロビン量を維持できていない選手に対して、エネルギー充足と食事摂取状況、畜産物由来ヘム鉄の継続的な摂取が、どのように効果的に働くかについて、より詳細な検討を続けて行う必要があると考える。

4. 要 約

高校生サッカー選手を対象に、1ヵ月間畜産物由来ヘム鉄を3.5mgまたは7mg摂取後の血中ヘモグロビン値を測定したが、72名中51名の選手で血中ヘモグロビン値が低下した。血中ヘモグロビン値が貧血の診断の指標となる14g/dl以上の選手が56名おり、血中ヘモグロビン値が正常の選手が畜産物由来ヘム鉄を摂取しても血中ヘモグロビン値の上昇は期待できないことが示唆された。

また、食事摂取状況調査より、摂取エネルギー

量が消費エネルギー量を下回り、血中ヘモグロビン値が低下した選手が52名おり、エネルギー摂取量、たんぱく質、脂質、炭水化物、ナトリウム、カリウム、カルシウム、マグネシウム、リン、鉄、亜鉛、銅、ビタミンB2、ナイアシン、ビタミンB6、パントテン酸、ビタミンCについて有意に摂取量が少なかったことから、サプリメントとして畜産物由来ヘム鉄を摂取しても、エネルギー源栄養素と共に、ヘモグロビン生成に必要な栄養素の食事からの摂取が適切になされていなければ、効果的に作用しないことが示唆された。今後は、スポーツ選手として必要な血中ヘモグロビン量を維持できていない選手に対して、エネルギー充足

と食事摂取状況、畜産物由来ヘム鉄の継続的な摂取が、どのように効果的に働くかについてより詳細な検討を続けて行う必要があると考える。

文 献

- 1) 厚生労働省策定：日本人の食事摂取基準〔2010年版〕, p.118~275, 第一出版社, 東京, 2010.
- 2) 樋口満：公認アスレティックトレーナー専門科目テキスト, スポーツと栄養, 48~55, 財団法人日本体育協会, 東京, 2009.
- 3) 宮崎保：運動と貧血—発育期における運動と貧血とくに鉄欠乏性貧血を中心に—, 体力科学, 46, 529~534, 1997.
- 4) 鯉川なつえ：陸上競技における「スポーツ貧血」の現状と対策, 日本臨床スポーツ医学会誌, 16 (2), 216~220, 2008.

高齢者における肉類摂取が認知機能低下の予防に及ぼす影響

Effect of meat consumption upon preventing cognitive decline in the elderly

辻 一郎・柿崎 真沙子
(東北大学大学院医学系研究科)

Ichiro Tsuji, Masako Kakizaki
(Tohoku University Graduate School of Medicine)

There were several previous studies about meat consumption and cognitive function. However, the result of the association between meat consumption and cognitive function did not consistent. One study showed meat consumption was significantly associated with cognitive decline in the middle aged population, the other study showed there was no association between meat consumption and cognitive function.

Therefore, the present study investigated that the association between meat consumption (chicken, pork and beef, ham/sausage/bacon, and liver meat) and cognitive function among Japanese elderly population. In addition, the present study investigated that the association between change of meat consumption in the decade between 2002 and 2012, and cognitive function.

We recruited our subjects from men and women who joined Comprehensive Geriatric Assessment in 2002, and who hope to join the present study. After excluding subjects who have previous history of stroke, head injury, and epilepsy, who have a limitation of daily living, who have a body pain, who have vicarious response, who do not live in the catchment area, and who have mild cognitive decline, we selected randomly. Then we conducted food frequency questionnaire and cognitive function test 72 men and women. Among them, we excluded from our analysis 10 subject who missed the data about meat consumption. Finally, we analyzed the data from 62 men and women, and the mean age of these subjects was 82 years old.

In the present study, we found that meat consumption in 2002 and 2012 were not associated with cognitive function in 2012. In addition, there was no significant association between change of meat consumption in the decade and cognitive function in 2012.

We concluded that meat consumption or change of meat consumption were not associated with cognitive function in the Japanese elderly population.

1. 目 的

高齢者において、特定の食品や栄養素の摂取がその後の認知機能と関連することが示されている。肉類の摂取頻度と認知症の関連についての先行研究では、肉類摂取が多い者で認知症罹患リスクの上昇と関連することを示すもの¹⁾、肉類摂取と認知症罹患リスクは関連がないことを示す研究²⁾があり、結果は一致していない。また、肉類の摂取は、総脂肪の摂取およびコレステロールの摂取と関連する。この脂肪摂取およびコレステロール摂取の増加は、認知機能の低下と関連するという報告³⁾がある一方で、肉類を多く含む高タンパク質の食事介入により、認知機能が改善したという報告⁴⁾も存在し、結果は一致していない。

また、高齢者においては疾病などの影響により、食習慣そのものが変化しやすい可能性があり、高齢者においてベースライン時点での肉類の摂取とその後の肉類摂取頻度の変化と、認知機能との関連についていまだ解明されていない。

そのため、本研究では高齢者において、2002年時点における肉類の摂取頻度と10年後（2012年）の認知機能との関連、および2002年から2012年間の肉類摂取頻度の変化と、10年後の認知機能との関連を検討することを目的とし、研究を実施した。

2. 方 法

2002年および2003年に実施した高齢者機能総合評価（寝たきり予防健診）を受診した1,476名のうち、2011年12月末時点で死亡および市外転出がない生存者で、自宅で生活している者1,014名のうち、認知機能検査およびアンケート調査に参加を希望した者が449名であった。この449名から脳卒中、頭部外傷、てんかん発作の既往歴のある者、EURO-QOL質問紙により、移動や身の回りの管

理に制限があり、体の痛みを訴える者、代理回答である者、研究対象地区に居住していない者、軽度認知障害がある者を除外し、2012年12月から2013年3月末までに書面により同意を得て検査を終了した72名を本研究の対象としている。この72名のうち、2002年の肉類摂取頻度のデータが欠損していた10名を除外した、62名を対象に統計解析を実施した。

肉類の摂取頻度は、2002年および2012年とも、Sasakiらによって開発されたBDHQ（簡易型自記式食事歴法質問票：brief-type self-administered diet history questionnaire）を使用した⁵⁾。このBDHQは、この1ヶ月における食物の摂取頻度を回答するもので、肉類の摂取については、鶏肉（挽き肉を含む）、豚肉・牛肉（挽き肉を含む）、ハム・ソーセージ・ベーコン、レバーについての質問項目がある。これらの各項目に、「毎日2回以上」「毎日1回」「週4～6回」「週2～3回」「週1回」「週1回未満」「食べなかった」の7項目から1項目を選択し、回答する。本研究の解析では、全ての肉類摂取の項目について「週1回以上」「週1回未満」の2群に対象者を分類した。2002年から2012年の10年間の肉類摂取頻度の変化については、2002年、2012年それぞれの回答を比較し、「変化なし」「減少」「増加」の3群に対象者を分類した。

認知機能検査は、Mini-Mental State Examination (MMSE) を用いた⁶⁾。MMSEは、認知機能や記憶力、見当識、言語力を簡易に測定するために開発された調査である。MMSEの調査は、調査員による聞き取りによって実施された。MMSEの調査内容は、日時や場所に関する見当識、言葉の記銘や遅延再生、計算問題、書字理解、自発書字、図形描写など11項目から構成される。MMSEの得点は30点満点であり、得点が低くなるほど、認知機能の低下を示す。

Table 1 Baseline characteristics

	All		Men		Women	
Numberofthesubject	62		30		32	
Age						
Meanage(SD)	81.7	(2.24)	81.7	(1.88)	81.7	(2.56)
Agecategories						
75-80years	8	12.9%	3	10.0%	5	15.6%
80-85years	47	75.8%	25	83.3%	22	68.8%
85-90years	7	11.3%	2	6.7%	5	15.6%
MMSEin2012						
Meanscore(SD)	27.8 (2.42)	28.3 (1.74)	27.4 (2.87)			
Scorecategories						
21orless	1.0	1.6%	0.0	0.0%	1.0	3.1%
22-26	15.0	24.2%	7.0	23.3%	8.0	25.0%
27-30	46.0	74.2%	23.0	76.7%	23.0	71.9%
Meatconsumption						
In2002						
Chicken						
2times/dayormore	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%
1time/day	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%
4-6times/week	1	1.6%	0	0.0%	1	3.1%
2-3times/week	22	35.5%	9	30.0%	13	40.6%
1time/week	16	25.8%	12	40.0%	4	12.5%
Lessthan1time/week	14	22.6%	7	23.3%	7	21.9%
Noteating	9	14.5%	2	6.7%	7	21.9%
Porkorbeef						
2times/dayormore	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%
1time/day	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%
4-6times/week	1	1.6%	0	0.0%	1	3.1%
2-3times/week	29	46.8%	11	36.7%	18	56.3%
1time/week	20	32.3%	12	40.0%	8	25.0%
Lessthan1time/week	10	16.1%	7	23.3%	3	9.4%
Noteating	2	3.2%	0	0.0%	2	6.3%
Ham/sausage/bacon						
2times/dayormore	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%
1time/day	2	3.2%	1	3.3%	1	3.1%
4-6times/week	1	1.6%	0	0.0%	1	3.1%
2-3times/week	15	24.2%	3	10.0%	12	37.5%
1time/week	19	30.6%	12	40.0%	7	21.9%
Lessthan1time/week	9	14.5%	6	20.0%	3	9.4%
Noteating	15	24.2%	8	26.7%	7	21.9%
Missing	1	1.6%	0	0.0%	1	3.1%
Livermeat						
2times/dayormore	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%
1time/day	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%
4-6times/week	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%
2-3times/week	3	4.8%	1	3.3%	2	6.3%
1time/week	1	1.6%	1	3.3%	0	0.0%
Lessthan1time/week	16	25.8%	7	23.3%	9	28.1%
Noteating	41	66.1%	21	70.0%	20	62.5%
Missing	1	1.6%	0	0.0%	1	3.1%
In2012						
Chicken						
2times/dayormore	2	3.2%	0	0.0%	2	6.5%
1time/day	3	4.8%	1	3.3%	2	6.5%
4-6times/week	3	4.8%	2	6.7%	1	3.2%

(Table1 continuing)

(Table1 continued)

2-3times/week	21	33.9%	7	23.3%	14	45.2%
1time/week	19	30.6%	12	40.0%	7	22.6%
Lessthan1time/week	10	16.1%	6	20.0%	4	12.9%
Noteating	4	6.5%	2	6.7%	2	6.5%
Porkorbeef						
2times/dayormore	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%
1time/day	3	4.8%	1	3.3%	2	6.5%
4-6times/week	8	12.9%	3	10.0%	5	16.1%
2-3times/week	28	45.2%	11	36.7%	17	54.8%
1time/week	16	25.8%	12	40.0%	4	12.9%
Lessthan1time/week	5	8.1%	1	3.3%	4	12.9%
Noteating	2	3.2%	2	6.7%	0	0.0%
Ham/sausage/bacon						
2times/dayormore	1	1.6%	0	0.0%	1	3.2%
1time/day	7	11.3%	3	10.0%	4	12.9%
4-6times/week	2	3.2%	0	0.0%	2	6.5%
2-3times/week	17	27.4%	8	26.7%	9	29.0%
1time/week	19	30.6%	10	33.3%	9	29.0%
Lessthan1time/week	6	9.7%	4	13.3%	2	6.5%
Noteating	10	16.1%	5	16.7%	5	16.1%
Livermeat						
2times/dayormore	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%
1time/day	1	1.6%	1	3.3%	0	0.0%
4-6times/week	1	1.6%	0	0.0%	1	3.2%
2-3times/week	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%
1time/week	3	4.8%	2	6.7%	1	3.2%
Lessthan1time/week	11	17.7%	3	10.0%	8	25.8%
Noteating	46	74.2%	24	80.0%	22	71.0%

統計解析は、2002年および2012年時点での肉類の摂取頻度を「週1回以上」「週1回未満」に分類し、Wilcoxonの順位和検定により2012年のMMSEの得点を比較した。2002年から2012年の10年間の肉類摂取頻度の変化については、2002年および2012年の肉類の摂取頻度の変化を「増加」「変化なし」「減少」の3群に分類し、Kruskal-Wallisの検定によりMMSE得点を比較した。多重比較には、Steel-Dwassの検定を用いた。

本研究では、対象者に書面により同意を得ている。本研究は東北大学大学院医学系研究科倫理委員会の承認のもとに行われている。

3. 結果と考察

対象者の基本特性をTable 1に示す。対象者62名のうち、男性48.4%、女性51.6%であった。平

均年齢は81.7歳 (SD: 2.23) であり、5歳階級別の年齢分布は、75~80歳が12.9%、80~85歳が75.8%、85~90歳が11.3%であった。2002年時点での鶏肉の摂取が週1回以上の者は62.9%、週1回未満の者は37.1%であった。2002年時点での豚肉・牛肉の摂取が週1回以上の者は80.7%、週1回未満の者は19.3%であった。2002年時点でのハム・ソーセージ・ベーコンの摂取が週1回以上の者は59.6%、週1回未満の者は38.7%、レバーの摂取が週1回以上の者が6.4%、週1回未満の者が91.9%であった。2012年時点での鶏肉摂取が週1回以上の者は77.3%、週1回未満の者は22.6%、豚肉・牛肉の摂取が週1回以上の者は88.7%、週1回未満の者は11.3%、ハム・ソーセージ・ベーコンの摂取が週1回以上の者は74.1%、週1回未満の者は25.8%、レバーの摂取が週1回

Table 2 Association between meat consumption and cognitive function

	1 time/week or more	Less than 1 time/week	P-value
In 2002			
Chicken			
Number of subject	39	23	
Mean score of MMSE in 2012 (score, SD)	28.0 (1.78)	27.6 (3.26)	0.71
Pork or beef			
Number of subject	50	12	
Mean score of MMSE in 2012 (score, SD)	27.8 (2.37)	27.8 (2.72)	0.78
Ham/sausage/bacon			
Number of subject	37	24	
Mean score of MMSE in 2012 (score, SD)	27.7 (2.66)	28.1 (2.04)	0.72
Liver meat			
Number of subject	4	57	
Mean score of MMSE in 2012 (score, SD)	25.0 (5.35)	28.1 (2.03)	0.14
In 2012			
Chicken			
Number of subject	48	14	
Mean score of MMSE in 2012 (score, SD)	27.7 (2.46)	28.2 (2.29)	0.39
Pork or beef			
Number of subject	55	7	
Mean score of MMSE in 2012 (score, SD)	27.9 (2.39)	27.6 (2.81)	0.86
Ham/sausage/bacon			
Number of subject	46	16	
Mean score of MMSE in 2012 (score, SD)	27.7 (2.63)	28.2 (1.68)	0.75
Liver meat			
Number of subject	5	57	
Mean score of MMSE in 2012 (score, SD)	25.4 (5.03)	28.1 (1.99)	0.19

以上の者は8.0%、週1回未満の者は91.9%であった。

Table 2 に、2002年および2012年時点での肉類の摂取頻度と、2012年のMMSEスコアの平均値の比較を示す。2002年時点での鶏肉摂取が1週間に1回以上だった者のMMSEスコアの平均値(SD)は、28.5(1.41)、1週間に1回未満の者の平均値は28.9(1.18)となり、P-valueは0.71で有意な差は見られなかった。同様に、豚肉・牛肉、ハム・ソーセージ・ベーコン、レバーの摂取についても1週間に1回以上摂取する者と1週間に1回未満の者の間に、2012年のMMSEスコアの差は見られなかった。2012年時点での肉類の摂取頻度と2012年のMMSEスコアの関連も同様に、鶏肉、豚肉・牛肉、ハム・ソーセージ・ベーコン、レバーの摂取についても1週間に1回以上摂取す

る者と1週間に1回未満の者の間に、2012年のMMSEスコアの差は見られなかった。

Table 3 に、2002年から2012年の10年間の肉類摂取頻度の変化と10年後の認知機能との関連についての結果を示す。鶏肉摂取が2002年から2012年の間で変化がなかった者のMMSEスコアの平均値(SD)は、28.3(1.82)、2002年から2012年の間で減少した群の平均値(SD)は27.6(2.95)、2002年から2012年の間で増加した者の平均値(SD)は27.3(2.20)であった。Kruskal-Wallis検定による3群間の平均値の差に対するP-valueは0.35となり、Steel-Dwassの検定による、多重比較の結果についても全てP-valueは0.05以上となり、3群間に2012年時点でのMMSEスコア平均値の差は見られなかった。同様に、豚肉・牛肉、ハム・ソーセージ・ベーコン、レバーの摂取

Table 3 Association between change of meat consumption 2002 to 2012 and cognitive function

	Change of meat consumption 2002 to 2012			P-value
	No change	Decrease	Increase	
Chicken				
Number of subject	25	26	11	
Mean score of MMSE in 2012 (score, SD)	28.3 (1.82)	27.6 (2.95)	27.3 (2.20)	0.35
Pork or beef				
Number of subject	31	24	7	
Mean score of MMSE in 2012 (score, SD)	27.7 (2.73)	27.9 (2.29)	28.4 (1.27)	0.95
Ham/sausage/bacon				
Number of subject	29	25	7	
Mean score of MMSE in 2012 (score, SD)	28.3 (1.73)	27.3 (3.09)	28.0 (2.00)	0.49
Liver meat				
Number of subject	42	9	10	
Mean score of MMSE in 2012 (score, SD)	28.0 (2.05)	26.1 (3.98)	29.0 (1.15)	0.10

についても、10年間の摂取量に変化なし、減少、増加の者の間で2012年のMMSEスコアの差は見られなかった。

本研究において、2002年および2012年における肉類摂取頻度と10年後（2012年）の認知機能との関連、2002年から2012年の10年間の肉類摂取頻度の変化と10年後の認知機能との関連を検討したが、肉類摂取頻度と認知機能との間に有意な関連は見られなかった。

本研究の結果は、肉類摂取と認知症罹患リスクは関連がないことを示したBarberger-Gateauらの研究結果と一致する²⁾。一方、肉類摂取と認知症罹患リスク増加の関連を示したAlbaneseらの研究とは結果は一致しない¹⁾。Barberger-Gateauらの研究は、フランスに居住する68歳以上の男女を対象に前向きに追跡した研究である¹⁾。Albaneseらの研究は65歳以上の中国、インド、キューバ、ドミニカ、ベネズエラ、メキシコ、パルーに居住する男女における、肉類摂取と認知機能との関連を横断的に調査した研究である²⁾。本研究は日本に居住する平均年齢82歳の男女において10年後の認知機能を追跡した研究であり、対象者の平均年齢の差や、研究デザインの差が、このような結果の違いをもたらした可能性がある。ま

た本研究においては、高齢者の10年間の肉類摂取の変化とその後の認知機能に関連がないことを示した。高齢者において疾病等により生活習慣が変化しやすいことが考えられる。本研究においても肉類の摂取頻度が、42~60%の者で減少もしくは増加していた。肉類の摂取頻度の増加は脂肪およびコレステロールの摂取の増加が示唆され、脂肪やコレステロール摂取の増加は認知機能の低下と関連することが一部の先行研究で示唆されている³⁾。しかしながら、本研究結果では、これらの肉類摂取頻度の変化とその後の認知機能に関連は示されなかった。このことより、高齢者においては肉類の摂取頻度が増加しても、認知機能の低下にはつながりにくいことが示唆される。

4. 要 約

本研究では高齢者において、2002年時点における肉類の摂取頻度と10年後（2012年）の認知機能との関連、および2002年から2012年間の肉類摂取頻度の変化と、10年後の認知機能との関連を検討することを目的とし、研究を実施した。

その結果、2002年および2012年時点での肉類（鶏肉、豚肉・牛肉、ハム・ソーセージ・ベーコン、レバー）の摂取頻度と、2012年の認知機能検

査 (Mini-Mental State Examination;MMSE) スコアの平均値に差はなかった。また、2002年から2012年の10年間の肉類摂取頻度の変化と10年後の認知機能との関連についても有意な差は示されなかった。

以上より、高齢者において肉類の摂取頻度と認知機能の低下は関連せず、肉類の摂取頻度が増加もしくは減少しても、認知機能の低下には影響を及ぼさないことが示された。

文 献

- 1) Albanese E, Dangour AD, Uauy R, Acosta D, Guerra M, Gurra SSG, Huang Y, Jacob KS, de Rodriguez JL, Noriega LH, Salas A, Sosa AL, Sousa RM, Williams J, Ferri CP, Prince MJ: *American Journal of Clinical Nutrition*, **90**, 392~400, 2009.
- 2) Barberger-Gateau P, Letenneur L, Deschamps V, Peres K, Dartigues JF, Renaud S: *British Medical Journal*, **325**, 932~933, 2002.
- 3) Kalmijn S, van Boxtel MPJ, Ocke M, Verschuren WMM, Kromhout D, Launer LJ: *Neurology*, **62**, 275~280, 2004.
- 4) Jakobsen LH, Kondrup J, Zellner M, Tetens I, Roth E: *Clinical Nutrition*, **30**, 303~311, 2011.
- 5) Kobayashi S, Murakami K, Sasaki S, Okubo H, Hirota N, Notsu A, Fukui M, Date C: *Public Health Nutrition*, **14**, 1200~1211, 2011.
- 6) Folstein MF, Folstein SE, McHugh PR: *Journal of Psychiatric Research*, **12**, 189~198, 1975.

畜産副生物由来の豚レバーパウダーによるスポーツ 栄養への効果

—タンパク質栄養状態強化のスポーツ貧血改善への寄与—

Effect of sports-nutrition-supports with intake of liver powder on women athlete.

—Trial of the anemia improvement with fortified protein nutritional status—

松本 恵・鈴木 淳也・勝又 美紀*・朝賀 一美*・野口 智博

(日本大学文理学部体育学科, *ILS株式会社)

Megumi Matsumoto, Junya Suzuki, Miki Katsumata*, Kazumi Asaga*, Tomohiro Noguchii

(Nihon University, College of Human and Sciences, *ILS Inc.)

Athletes frequently undergo anemia due to rigorous training, reducing food intake for weight control and destruction of erythrocyte by repeated sole impulse. In addition, menses make it difficult for females to improve anemia. In this study, to investigate effect of iron and protein supplementation, intervention trial for volleyball athletes appealing anemia symptoms was performed. Capsules containing heme-iron and liver powder were used as supplement (14 mg/day of Fe and 3 g of pig meat extracts). Forty female and male subjects (20.5 ± 1.7 years old, Female group; Hb : 12.8 ± 0.2 g/dL, Fer : 15.1 ± 2.5 ng/mL, Male group; Hb : 15.1 ± 0.2 g/dL, Fer : 102.7 ± 17.2 ng/mL) from the volleyball players took test iron and liver powder capsules every day for 2 months. After 2 month, subjects of all groups whom values of Hb, Fer and Fe were tendency increased, but not clear that effect of liver powder. It showed that improve effect of liver powder on Hp and Zn levels in female group, but not clear in male group. Furthermore this combination decreased "negative moods", increased "vigor" without constipation in male group. Supplementation of heme-iron and liver powder tendency improved anemia symptom in volleyball player. In conclusion, the supplementation of heme-iron and liver powder is available for sports anemia of volleyball player. For the remarkable improvement of the anemia symptom, it was thought that the improvement of the long-term support and protein intake method was necessary.

1. 目的

貧血症状は女性スポーツの現場において頻発する健康障害であり、パフォーマンスを著しく低下させる要因でもある¹⁾。スポーツ貧血の原因の多くは運動量の増加に伴って増加する鉄の必要量に

見合う食事からの鉄摂取量が充足できないことによると考えられる¹⁾。そのため、貧血症状を予防または改善するためには、鉄が供給できる食品を積極的に摂取できるような食事指導が行われたり、症状が重篤な場合は医師による鉄剤の投薬治療が施されている²⁾。また、貧血症状の改善には

ヘモグロビンやフェリチンなど体内の鉄輸送や貯蔵タンパク質の生成量が関係しており、食事のタンパク質摂取増加も望まれる³⁾。しかし、貧血症状を呈することの多い女性アスリートの場合、新体操などの審美系の競技者でプロポーションの維持のため、日常的に食事を制限していたり、陸上長距離選手のように激しい運動量で消費される鉄を食事のみで補うことが非常に難しいという例が多く、食事指導の効果を発揮することが難しい⁴⁾。

これまでに我々は鉄補給サプリメントとして、畜産副生物由来のヘム鉄（以後「ヘム鉄」と省略）を用い、貧血症状を訴える競技スポーツを行う女子学生を対象に、貧血改善効果を調べてきた。その結果、女性のスポーツ貧血の改善にはヘム鉄カプセルの摂取が有効であるが、貧血症状が強く、運動量の多い選手には、食事指導をともなった長期間のサポートがその効果をより向上させることが示唆された。その際、とくに鉄分の多い食品やタンパク質の摂取量を増加させることを目指した指導が行われ、被験者のタンパク質摂取量は増加傾向を示したが、顕著な増加を達成できなかった。また、血中のアルブミン値も増加しなかった。このことから、女性アスリートのタンパク質摂取量を増加させ、タンパク質栄養状態を顕著に改善させるためには、食事指導のみでは限界があることが考えられた。

そこで、本研究では、ヘム鉄サプリメントに併用して、タンパク質の供給源として畜産物由来のレバーパウダーを用い、これらの同時摂取による鉄栄養状態およびタンパク質栄養状態の改善が及ぼすスポーツ貧血症状の改善効果について明らかにすることを目的とした。貧血症状の自覚症状を持ち、鉄栄養状態が不良な男女スポーツアスリートのバレーボール選手にヘム鉄とレバーパウダーを継続的に摂取してもらい、その間の栄養摂取状況とトレーニング状況を観察した。バレーボール

選手はスポーツ貧血の中でも溶血が貧血症状の原因の一つと考えられているため⁵⁾、とくに溶血性の貧血に対するヘム鉄の影響も観察できると考えた。この研究成果が、より効果的な鉄補給サプリメントの使用法とその食事指導方法の発展の一助となることを目指した。

2. 方 法

2.1 被験者

被験者は、N大学に在籍するバレーボールを行う男女大学生で本人に貧血症状の自覚症状があることを条件に募集し、血液中のヘモグロビン値(Hb)が男子で15.5g/dL以下、女子で13.5g/dL以下、男女ともに10.0g/dL以上であり、フェリチン値(Fer)が男子110ng/mL、女子50ng/mL以下、男女ともに2.8ng/mL以上の軽度～中程度スポーツ貧血と考えられ、重篤で医師による治療が緊急を要しない平均20.2±1.3歳の男子15名女子25名、計40名を選出した。各被験者の競技歴は平均9.1±1.8年であった。被験者には試験方法や考えられる不利益等について事前に十分に説明し、同意を得られる場合のみ試験に参加していただいた。なお、本研究は日本大学文理学部倫理委員会の承認を得て実施された (Table 1)。

2.2 介入方法

試験開始前の血液検査により、被験者をHbとFer値が等しくなるように、男女ともに2つのグループに分け、それぞれのグループにヘム鉄カプセル (ILS株式会社、ヘムロン2Hi) を毎日朝と夕食時に700mg (鉄として7mg)、1日に合計1,400mg (鉄として14mg) と、プラセボカプセル (デキストリン) またはレバーパウダー (ILS株式会社、レバーHi) を毎日朝と夕食時にそれぞれ1.5g、1日に合計3gを2か月間継続的に摂取していただいた。本試験では、食事や生活活動に特別な制限は設けなかった。試験の前後で、血

Table 1 Volley ball player career and training in female group and male group.

	Female group	Male group
Athletic career, years	9.3±3.1	7.9±2.1
Start athletic years age	10.8±2.8	12.6±2.8
Technical training h/week	14.1±6.8	5.5±3.8
Endurance training h/week	2.6±2.2	1.1±1.3
Strength training h/week	2.2±1.5	1.2±1.1

Values are represented as means±SD (female n=25, male n=15).

液検査, 食事摂取頻度調査, 体組成測定, 体調聞き取り, 心理テスト (POMS) を行い, 鉄栄養状態および, タンパク質栄養改善状況を確認した。

2.3 測定項目

血液検査は, 血液中のアルブミン (Alb), 赤血球数 (RBC), Hb, ヘマトクリット (Ht), MCV, MCH, MCHC, ハプトグロビン (Hp), 血清鉄 (Fe), 総鉄結合能 (TIBC), 不飽和鉄結合能 (UIBC) フェリチン (Fer), 亜鉛 (Zn) について測定した。体組成はインピーダンス法 (BOIOSPACE, In Body520) を用いて, 体重, 体脂肪率, 筋量を測定した。食事調査は1週間の思い出し方式による食事摂取頻度調査 (建帛社, エクセル栄養君 Ver6.0 アドインソフト FFQgVer3.5) を用いて, 総摂取カロリー, 炭水化物, タンパク質, 脂質, 鉄, 亜鉛などの各栄養成分摂取量, 穀類, 肉類, 野菜類, 嗜好飲料などの食品群別摂取量の比較を行った。体調の聞き取りシートを作成し, 日常的な貧血の自覚症状として, 「身体のだるさ」, 「めまい」, 「頭痛」, 「吐き気」, 「起床時の気分の悪さ」, 「胃のむかつき」等, トレーニング中の感覚として, 「息切れ」, 「だるさ」, 「頭痛」, 「筋肉痛」などの項目についてその症状の出現頻度を「全くない」から「いつもある」の5段階選択式の回答方法を用いて評価した。便秘や下痢についても鉄分の摂取の影響を確認するために, 質問項目に加えた。また, 試験期間中のト

レーニング量に関して, ゲームや競技の技術を向上させることを目的とした技術系トレーニングと, 心肺機能の向上を目指した持久系トレーニングと, 筋力や筋量の増加を目指した筋力トレーニングのそれぞれ1週間中の総量を聞き取りによって調査した。貧血症状の状態が心理状態に及ぼす影響については, (金子書房, 日本語版POMS短縮版) を用いて評価した。

2.4 統計処理

得られたデータはすべて, 統計処理ソフト (SAS Institute Japan, JMP 8) を用いて平均値と標準誤差を算出した。各グループ間と各グループのPreとPostの測定値の比較はTukey-KramerのHSD検定を使用して確認した。各グループの介入前後の測定値の変化はStudent-t検定を使用して比較した。

3. 結果と考察

3.1 血液検査結果

被験者40名の介入前の血液検査では, 男子グループHbが 15.1 ± 0.2 g/dL, Ferが 102.7 ± 17.2 ng/mLであり, 女子グループがHbが 12.8 ± 0.2 g/dL, Ferが 15.1 ± 2.5 ng/mLであった。介入試験後の血液検査では, 男女ともに貧血の指標のHb, Fer, Fe値はヘム鉄カプセルを摂取することによって改善傾向が見られたが, 統計的には有意な変化は見られず, また, レバーパウダーの顕著な効果も

Table 2 The concentrations of blood iron status in female group to oral feeding hemeiron and liver powder at Pre and Post.

	Placebo		Liver Powder	
	Pre	Post	Pre	Post
Alb, g/dL	4.5 ± 0.1	4.8 ± 0.2	4.6 ± 0.1	4.9 ± 0.4
AST, U/L	19.3 ± 5.6	20.7 ± 4.8	21.3 ± 5.9	21.1 ± 5.8
ALT, U/L	13.1 ± 4.9	13.7 ± 3.2	14.1 ± 4.6	13.0 ± 3.9
LD, U/L	182.3 ± 38.6	179.1 ± 25.0	196.6 ± 32.4	196.7 ± 42.4
CK, U/L	162.3 ± 115.5	157.4 ± 86.1	208.7 ± 103.6	176.6 ± 150.5
Fe, μg/dL	67.9 ± 39.0	85.3 ± 45.0	85.7 ± 42.1	93.7 ± 48.8
TIBC, μg/dL	343.9 ± 45.3	339.0 ± 61.0	370.0 ± 80.5	369.5 ± 84.3
UIBC, μg/dL	276.0 ± 65.8	253.7 ± 34.5	284.3 ± 66.7	275.8 ± 97.2
WBC, /μL	6714.3 ± 1778.0	5914.3 ± 1700.4	4890.9 ± 1736.9	6000.0 ± 1687.0
RBC, 10 ⁴ /μL	437.1 ± 25.3	442.9 ± 23.1	431.5 ± 35.6	449.7 ± 36.7
Hb, g/dL	12.9 ± 0.6	13.1 ± 0.8	12.6 ± 1.1	12.9 ± 1.3
Ht, %	39.4 ± 1.7	39.9 ± 2.1	38.3 ± 2.9	39.8 ± 3.3
MCV, fL	90.1 ± 3.3	90.2 ± 2.5	88.8 ± 4.1	88.6 ± 4.3
MCH, pg	29.6 ± 1.2	29.5 ± 1.0	29.3 ± 1.8	28.7 ± 1.8
MCHC, %	32.8 ± 0.4	32.7 ± 0.4	32.9 ± 0.7	32.3 ± 0.7
Zn, μg/dL	75.7 ± 11.9	90.0 ± 9.3	81.4 ± 9.9	95.0 ± 15.6
Fer, ng/mL	12.6 ± 7.8	15.7 ± 10.7	12.1 ± 8.9	14.8 ± 10.8
Hp, mg/dL	49.0 ± 28.5	57.4 ± 31.1	40.0 ± 20.6	56.5 ± 40.8

Values are represented as means ± SD (n = 25). Statistical analyses were performed by one-way analysis of variance. A p-value ≤ 0.05 by a Tukey-Kramer test among the four groups was considered to indicate statistical significance. Values for the one-way ANOVA test are indicated as significant with different letters.

Table 3 The concentrations of blood iron status in male group to oral feeding heme-iron and liver powder at Pre and Post.

	Placebo		Liver Powder	
	Pre	Post	Pre	Post
Alb, g/dL	4.8 ± 0.5	4.8 ± 0.3	5.2 ± 0.2	5.2 ± 0.3
AST, U/L	17.7 ± 4.5	21.0 ± 8.7	21.8 ± 3.3	22.2 ± 3.1
ALT, U/L	14.3 ± 4.0	16.7 ± 3.5	18.8 ± 4.2	21.5 ± 3.9
LD, U/L	183.7 ± 28.7	189.3 ± 27.6	187.3 ± 10.1	196.0 ± 20.4
CK, U/L	198.3 ± 109.3	291.3 ± 293.4	338.3 ± 115.1	262.8 ± 92.5
Fe, μg/dL	104.0 ± 49.0	79.3 ± 32.3	111.5 ± 33.9	119.5 ± 33.2
TIBC, μg/dL	327.3 ± 24.6	340.7 ± 6.7	318.3 ± 54.1	318.3 ± 47.6
UIBC, μg/dL	223.3 ± 56.1	261.3 ± 34.2	206.8 ± 54.5	198.8 ± 45.5
WBC, /μL	5466.7 ± 503.3	7100.0 ± 1014.9	5700.0 ± 1873.0	5616.7 ± 1730.2
RBC, 10 ⁴ /μL	508.0 ± 54.6	526.3 ± 26.3	507.0 ± 29.6	508.7 ± 26.7
Hb, g/dL	15.2 ± 1.3	15.8 ± 0.7	15.2 ± 1.0	15.3 ± 0.9
Ht, %	45.5 ± 3.6	46.7 ± 1.8	46.2 ± 2.5	45.6 ± 2.0
MCV, fL	89.8 ± 2.5	88.8 ± 2.3	91.1 ± 3.1	89.7 ± 2.7
MCH, pg	30.0 ± 0.9	30.0 ± 0.8	30.1 ± 1.2	30.1 ± 1.1
MCHC, %	33.5 ± 0.7	33.7 ± 0.2	33.0 ± 0.4	33.5 ± 0.5
Zn, μg/dL	105.3 ± 5.8	82.7 ± 5.5	92.8 ± 9.8	87.5 ± 7.9
Fer, ng/mL	99.6 ± 18.8	115.4 ± 24.8	98.8 ± 70.8	112.0 ± 76.6
Hp, mg/dL	57.0 ± 69.3	57.0 ± 18.4	40.8 ± 25.0	45.2 ± 31.6

Values are represented as means ± SD (n = 15). Statistical analyses were performed by one-way analysis of variance. A p-value ≤ 0.05 by a Tukey-Kramer test among the four groups was considered to indicate statistical significance. Values for the one-way ANOVA test are indicated as significant with different letters.

Table 4 Body weight and body fat, muscle mass in female group group to oral feeding heme-iron and liver powder at Pre and Post.

	Placebo		Liver Powder	
	Pre	Post	Pre	Post
Weight, Kg	57.4±9.2	58.3±8.6	55.7±5.5	55.4±5.5
Body fat, %	24.8±3.4	24.8±3.1	22.6±3.3	21.8±3.7
Muscle mass, Kg	23.0±24.0	23.4±3.6	23.3±2.6	23.4±2.5

Values are represented as means ±SD (n=25). Statistical analyses were performed by one-way analysis of variance. A p-value ≤0.05 by a Tukey-Kramer test among the four groups was considered to indicate statistical significance. Values for the one-way ANOVA test are indicated as significant with different letters.

Table 5 Body weight and body fat, muscle mass in male group group to oral feeding heme-iron and liver powder at Pre and Post.

	Placebo		Liver Powder	
	Pre	Post	Pre	Post
Weight, Kg	68.1±6.0	68.2±6.2	66.8±2.1	67.2±1.9
Body fat, %	13.9±2.4	14.1±3.3	13.7±0.3	13.3±0.4
Muscle mass, Kg	33.5±2.7	33.4±2.4	33.9±0.4	33.6±0.6

Values are represented as means ±SD (n=15). Statistical analyses were performed by one-way analysis of variance. A p-value ≤0.05 by a Tukey-Kramer test among the four groups was considered to indicate statistical significance. Values for the one-way ANOVA test are indicated as significant with different letters.

見られなかった (Table 2, 3)。溶血の指標とされるHp, Znは顕著な変化ではなかったが、男女ともに介入前後で上昇する傾向が見られ、とくに、レバーパウダーによる改善傾向が見られた。タンパク質栄養状態を示す血中アルブミン値は女子のグループで介入後の増加傾向が見られたが、男子では変化が無く、レバーパウダーによる顕著な効果も確認できなかった。これらの結果より、ヘム鉄カプセルの2か月間の継続摂取は、一般的な血液検査から評価される貧血指標を改善する傾向が見られたが、レバーパウダーによる顕著な効果は見られず、タンパク質栄養が改善されていないことが示唆された。しかし、溶血の指標であるHpの変化値が女子ではプラセボ群と比較してレバーパウダー群の2倍 (p=0.047) であったことから、レバーパウダーが溶血のメカニズムに関わっている可能性が示唆された。

3.2 体組成の変化

体重、体脂肪量、筋肉量に介入前後の全期間を通して、大きな変化は見られなかった (Table 4, 5)。介入期間は平成24年10月から12月までであったが、本研究での被験者のバレーボール種目ではこの期間が秋季リーグの試合期間であったことから、トレーニング内容の変化が無かったことや筋力トレーニングを積極的に取り入れている被験者が少なかったことなどから、筋肉量や体脂肪量の変化が見られなかったのかもしれない。

3.3 食事調査の結果

食事摂取頻度からの推定エネルギー摂取量やタンパク質摂取量、鉄摂取量、亜鉛摂取量は、すべてのグループ、また介入前後で変化は見られず、栄養摂取状況に変化は見られなかった。

3.4 体調の聞き取りとトレーニング量

女子のグループでは日常的な体調やトレーニン

Table 6 Chronic physical condition and physical condition in training in female group to oral feeding heme-iron and liver powder at Pre and Post.

		Placebo		Liver Powder	
		Pre	Post	Pre	Post
Chronic physical condition	Feel languid	2.9 ± 1.3	2.1 ± 0.7	3.1 ± 1.2	2.7 ± 1.1
	Hardships of morning	3.6 ± 1.1	2.7 ± 1.1	2.9 ± 1.1	2.4 ± 0.7
	Head feels heavy	2.3 ± 1.4	1.3 ± 0.5	2.3 ± 1.3	2.1 ± 0.9
	Headache	2.0 ± 1.1	1.4 ± 0.8	2.5 ± 1.4	2.4 ± 0.8
	Giddiness	3.3 ± 0.8	2.4 ± 0.5	2.8 ± 0.8	2.9 ± 1.0
	Nausea	1.7 ± 1.3	1.1 ± 0.4	1.6 ± 1.0	1.5 ± 0.7
Physical condition in training	Shortness of breath	2.6 ± 1.0	2.9 ± 0.7	2.9 ± 1.0	2.6 ± 1.0
	Muscular fatigue	2.9 ± 0.7	3.1 ± 1.5	3.4 ± 0.8	3.1 ± 1.0
	Headache due to lack of oxygen	3.0 ± 0.8	2.7 ± 1.0	3.1 ± 1.0	2.7 ± 0.9
	Feel languid	2.1 ± 0.9	1.7 ± 1.0	2.5 ± 1.1	2.3 ± 1.0

Values are represented as means ± SD (n = 25). Statistical analyses were performed by one-way analysis of variance. A p-value ≤ 0.05 by a Tukey-Kramer test among the four groups was considered to indicate statistical significance. Values for the one-way ANOVA test are indicated as significant with different letters.

Table 7 Chronic physical condition and physical condition in training in male group to oral feeding heme-iron and liver powder at Pre and Post.

		Placebo		Liver Powder	
		Pre	Post	Pre	Post
Chronic physical condition	Feel languid	2.3 ± 1.2	2.6 ± 0.5	2.7 ± 1.5	1.7 ± 1.2
	Hardships of morning	2.8 ± 1.3	2.6 ± 0.5	4.3 ± 1.2	3.0 ± 2.0
	Head feels heavy	1.7 ± 0.8	1.6 ± 0.5	1.7 ± 0.6	1.3 ± 0.6
	Headache	1.3 ± 0.5	1.2 ± 0.4	1.7 ± 0.6	1.7 ± 1.2
	Giddiness	3.3 ± 0.8	2.6 ± 0.9	3.0 ± 1.0	2.7 ± 0.6
	Nausea	1.2 ± 0.4	1.0 ± 0.0	1.0 ± 0.0	1.0 ± 0.0
Physical condition in training	Shortness of breath	2.5 ± 0.8	3.10 ± 1.2	1.7 ± 1.2	2.7 ± 1.5
	Muscular fatigue	2.2 ± 0.8	2.6 ± 0.5	2.7 ± 0.6	3.3 ± 2.1
	Headache due to lack of oxygen	2.7 ± 0.8	1.6 ± 0.5	2.0 ± 1.0	1.7 ± 0.6
	Feel languid	1.2 ± 0.4	1.2 ± 0.4	2.0 ± 1.0	2.0 ± 1.7

Values are represented as means ± SD (n = 15). Statistical analyses were performed by one-way analysis of variance. A p-value ≤ 0.05 by a Tukey-Kramer test among the four groups was considered to indicate statistical significance. Values for the one-way ANOVA test are indicated as significant with different letters.

グ中の症状に全体的に改善する傾向が見られたが、男子では傾向がつかめなかった。個々のアンケート結果からヘム鉄を摂取して、「ふらつこなくなった」、「朝、起きるのがつらなくなった」などの自覚症状の改善を挙げる被験者がいたが、

貧血症状の出現頻度の回答では大きな変化は見られなかった (Table 6, 7)。これは男子の自覚症状に個人差が大きく、統計的な傾向を掴むことが難しかったことが考えられる。また、全被験者がヘム鉄を摂取し、プラセボ群が無いことから、統

Table 8 Profile of Mood States in training in female group to oral feeding heme-iron and lever powder at Pre and Post.

	Placebo		Liver Powder	
	Pre	Post	Pre	Post
Tension-Anxiety	9.9±1.7	7.7±1.7	7.5±1.3	8.2±1.3
Depression-Dejection	8.7±3.3	4.9±2.2	4.3±1.5	4.6±1.4
Anger-Hostility	4.6±1.9	3.1±1.3	4.2±2.0	4.9±1.9
Vigor	8.4±2.5	10.9±2.6	7.6±2.0	7.6±1.8
Fatigue	8.4±2.8	8.3±2.6	7.9±1.7	10.3±2.4
Confusion	5.7±1.5	5.1±1.2	6.4±1.8	6.2±1.6

Values are represented as means ±SD (n=25). Statistical analyses were performed by one-way analysis of variance. A p-value ≤0.05 by a Tukey-Kramer test among the four groups was considered to indicate statistical significance. Values for the one-way ANOVA test are indicated as significant with different letters.

Table 9 Profile of Mood States in training in male group to oral feeding heme-iron and lever powder at Pre and Post.

	Placebo		Liver Powder	
	Pre	Post	Pre	Post
Tension-Anxiety	9.7±2.6	6.2±0.4	4.0±1.5	2.3±2.0
Depression-Dejection	5.7±1.5	3.0±1.0	5.3±0.3	2.3±1.0
Anger-Hostility	4.5±1.7	4.2±1.2	4.3±1.3	3.3±0.5
Vigor	7.7±2.1	10.8±0.4	4.3±1.6	9.3±2.5
Fatigue	9.7±1.5	8.6±1.5	5.0±2.3	4.3±2.5
Confusion	6.7±1.3	5.4±0.8	2.7±0.7	2.3±0.7

Values are represented as means ±SD (n=15). Statistical analyses were performed by one-way analysis of variance. A p-value ≤0.05 by a Tukey-Kramer test among the four groups was considered to indicate statistical significance. Values for the one-way ANOVA test are indicated as significant with different letters.

計的に顕著な変化が見られないことも挙げられる。なお、全介入試験期間を通して、両グループともに便秘や胃痛を訴える被験者は無かった。

3.5 心理状態の変化

男女ともに介入前後を比較して、統計的な大きな変化は見られなかったが、男子グループで「緊張—不安」、「抑うつ—落ち込み」、「怒り—敵意」、「混乱」の項目でレバーパウダー群で低下し、「活気」の項目は増加する傾向が見られた (Table 8, 9)。このことから、スポーツ選手にヘム鉄のサプリメントとレバーパウダーを併用すると、男子選手でとくに気分や感情の状態が改善され、「生き生きする」などのポジティブな感情が上昇する可能性が考えられた。

3.6 総合考察

ヘム鉄カプセルとレバーパウダーを2か月間継続的に併用摂取することによって、食事の改善や生活の改善指導がなくても、血液検査から評価される貧血症状の指標や心理状態を良好に改善する傾向が見られた。これまでの報告において、ヘム鉄の摂取は、軽度の貧血症状をもつアスリートには顕著な改善効果を示し、より重い貧血症状をもつアスリートでは、2か月以上の介入期間と栄養指導の併用が貧血改善効果を強化することを明らかにしてきた。その際、栄養指導の介入はタンパク質栄養を改善する傾向が見られたことから、本試験では、レバーパウダーの併用摂取による、ヘム鉄の貧血改善効果の増強作用を観察した。ま

た、本試験での被験者は、昨年度の試験で大多数を占めた、バレーボール選手に注目し、貧血症状の原因についても考察することを目的とした。バレーボール選手の貧血の原因は食事由来の鉄やタンパク質摂取不足に加えて、ジャンプやレシーブ動作の繰り返しによる溶血が挙げられる⁵⁾。この溶血による貧血症状に対して、ヘム鉄および、レバーパウダーの影響を血液中のHpや赤血球性状によって観察した。その結果、ヘム鉄とレバーパウダーの併用摂取は、血液中のHp濃度を上昇させる傾向が見られ、溶血性の貧血の改善に影響を与えている可能性が考えられた。しかし、その他の貧血指標や被験者本人の自覚症状などに顕著な変化が無かったことから、レバーパウダーの貧血改善に対する相乗的効果を明らかにするためには、試験期間を延長するなどの長期に渡る観察が必要だったかもしれない⁶⁾。また、血液検査のAlb値も十分に上昇していなかったことについても、介入期間の短さやレバーパウダーの摂取量の設定が低かったことが考えられた。今後は、ヘム鉄カプセルとともにタンパク質源の補給方法を工夫し、長期に渡るモニタリングによる栄養サポートを検討する必要がある、その方法が確立されることがスポーツ選手にとって大変有用な情報になるであろう。

4. 要 約

スポーツアスリートにとって貧血はパフォーマンスを著しく低下させる病状の一つで、将来にわたっても健康被害が懸念される。スポーツ選手は運動量の増加や食事摂取量の減少、反復される足裏の衝撃による赤血球の破壊などが原因で貧血を頻発しやすい。とくにバレーボール選手はジャンプやレシーブ動作による日常的な溶血が懸念される。本研究では、ヘム鉄サプリメントによる鉄栄養状態の改善と同時にレバーパウダー摂取による

タンパク質栄養の改善によるバレーボール選手の貧血症状の改善効果を明らかにするために、貧血症状を訴える女性アスリートにヘム鉄サプリメント (Fe, 14mg/day) と、レバーパウダー3gを2か月間摂取してもらい、介入前後の血液検査、体調聞き取り、心理調査を行い、その変化を観察した。

被験者は20.5 ± 1.7歳の男女バレーボールアスリート40名で、試験開始前の血液検査では、女子グループがHbが12.8 ± 0.2g/dL、Ferが15.1 ± 2.5ng/mLであり、男子グループHbが15.1 ± 0.2g/dL、Ferが102.7 ± 17.2ng/mLであった。2か月間のヘム鉄サプリメントとレバーパウダー摂取の併用で、試験開始と終了後を比較して、Hb、Fer、Fe値は男女ともに増加する傾向が見られたが、レバーパウダーによる有意な変化は見られなかった。HpとZn値はヘム鉄とレバーパウダーの併用による影響が女子グループで見られたが、男子では大きな変化が無かった。試験期間中は鉄剤にみられる便秘症状などは見られず、心理調査の結果も疲労感が減少し、男子で「活気」が増加した。

以上の結果より、バレーボール選手のスポーツ貧血の改善にはヘム鉄カプセルとレバーパウダーの併用摂取が有効である可能性が見られたが、貧血症状の顕著な改善には、長期間のサポートやタンパク質摂取方法の改善が必要であることが考えられた。

文 献

- 1) 目崎 登：女子スポーツ選手の貧血, *The journal of clinical sports medicine*, 12 (2), 164, 1995.
- 2) 溝口秀昭：貧血の病態と治療, 最近の進歩日本内科学会雑誌, 93 (9), 1729~1738, 2004.
- 3) 西山宗六, 中村俊郎, 井本岳秋：女子長距離ランナーの貧血に対する亜鉛の治療効果, *The journal of clinical sports medicine*, 12 (10), 1192~1195, 1995.
- 4) 川野 因：スポーツ貧血発現における食事の役割, 特集/スポーツ栄養に関する最近の話題, 食品

- と開発, 41 (8), 8~10, 2006.
- 5) Telford RD, Sly GJ, Hahn AG, Cunningham RB, Bryant C, Smith JA: Footstrike is the major cause of hemolysis during running, *J Appl Physiol*, 94, 38~42, 2003.
- 6) McClung JP, Karl JP, Cable SJ, Williams KW, Nindl BC, Young AJ, Lieberman HR: Randomized, double-blind, placebo-controlled trial of iron supplementation in female soldiers during military training: effects on iron status, physical performance, and mood, *Am J Clin Nutr*, 90, 124~131, 2009.

食肉製品の客観的嗜好性評価に関する研究

Research on the objective evaluation for palatability of meat products

芳賀 聖一・林 利哉・山口 恭平・西崎 あや・小川 幸彦*

(名城大学農学部, *名城大学農学部附属農場)

Seichi Haga, Toshiya Hayashi, Kyohei Yamaguchi, Aya Nishizaki, Yukihiro Ogawa*

(Faculty of Agriculture, Meijo University, *Experimental Farm, Meijo University)

Generally, texture evaluation is an important step in developing new products and improving processing procedure. Both instrumental measurements and sensory evaluation are often used in food palatability research. However, the relationship between instrumental analysis and sensory analysis are not clearly elucidated.

In the present study, we tried to elucidate the correlation between sensory and instrumental parameters obtained from several kinds of model pork sausages with lactic acid fermentation (3 strains of *Lactobacillus sakei*), heating (75, 95°C) and additive (0.1~0.5% potassium tripolyphosphate), and to establish texture prediction formula which can guess palatability from the objective values resulting in instrumental measurements by using multiple regression analysis over the whole parameters. If the formula can express organoleptic evaluation value, it will be very useful for not only food texture research but also food manufacturer.

After standardizing the numerical values of the physical property values based on all the instrumental measures and an organoleptic evaluation value, the correlativity between a subjective evaluation value and an objective value was investigated. Furthermore, we tried to calculate the texture prediction formula which estimates the palatability from the objective values by multiple linear regression analysis. Subsequently, the usefulness of the obtained estimate equation was verified.

High and significant linear correlations were found between organoleptic and instrumental parameters ($p < 0.05$). Furthermore, as the result of conducting multiple regression analysis, four texture prediction formulas concerning "Surface fineness (kime)", "Elasticity", "Juiciness", and "Total preference" were successfully obtained, respectively. All the equations have high contribution rate (65~82%) and significance ($p < 0.05$ or 0.01). Therefore, it is suggested that it can presume an organoleptic evaluation value from an objective data obtained from instrumental measurements.

1. 目 的

我々はこれまで、未同定である低温増殖性を有する乳酸菌のスクリーニングを行い、それらが我が国で唯一市販されている食肉加工用低温増殖性乳酸菌と同種であることを報告する¹⁾とともに、それらの食肉加工への有効性の有無について検討を続けてきた^{2,3)}。特に、塩漬豚肉を低温にて発酵させた場合における物性や微細構造等の変化からタンパク質分解に伴う機能的発現に至るまで、製品レベルと筋原線維を用いたタンパク質レベルの両面から種々検討を行ってきた。その結果、低温乳酸発酵によって筋原線維タンパク質が分解することで機能的性を有するペプチドが派生する可能性を見出し、低温乳酸発酵が食肉の機能的改善に有効であることを示している^{2~4)}。しかし一方で、食肉製品に求められる品質には、嗜好性が極めて重要であることはいうまでもなく、特に結着性や保水性の良否に基づく嗜好性は、製品の物性と深く関連しており、発酵食肉製品の主たる品質決定要因になると考えられる。現在のところ、嗜好面においては低温乳酸発酵によってモデルソーセージの保水性や結着性が低下する傾向にあることが現象として分かっている。

当研究室ではこれまで発酵だけでなく食肉加工に関わる様々な技術、すなわち高圧、レトルトおよび凍結処理等の有用技術が食肉の加工特性に及ぼす影響について多面的に追究してきた。その結果、食肉が有する豊かな機能特性が、その組織構造に支配されていることを画像解析による視覚情報の客観化を加味したアプローチにより示し、かつ食感に関わる種々の物性値が構造に基づく視覚的情報によって客観的かつ定量的に説明可能であることまで見出した^{5,6)}。しかしながら、客観的情報である機器測定値や組織構造に基づく視覚情報と、最終的に人間が判断する官能特性との関連

性については未だ不明な点や課題が多く^{7,8)}、評価に際して多大な労力を要する主観的官能特性を、機器測定値あるいは構造面から推測できれば、常に製品の品質改善が求められる食品製造業にとって大きな一助となる。また、当研究室の低温発酵モデルソーセージの嗜好性改善の検討においても有用な評価手段となる。

そこで本研究では、まずは機器測定による物性値と、人による官能評価特性との関連性を明らかにするため、低温発酵処理を含む種々の加工処理を施した16種類のモデルソーセージを作製し、これらの物性測定および官能評価を行い、両者の相関性について詳細に検討した。さらに、重回帰分析を用いて物性値から官能評価値を推定する推定式の作成を試みた。

2. 方 法

2.1 モデルソーセージの調製

と殺後3日以内の豚モモ肉の脂肪および結合組織をできるだけ取り除き、約5 cm角のブロック肉に細切した。これに塩漬剤 (2.0% NaCl, 0.3% トリポリリン酸Na, 0.02% NaNO₂, 0.05% KNO₃, 0.05% アスコルビン酸Na), 2.0% グルコースの添加および加水 (5%) を行い、60秒間カッティングした後、低温下 (4℃) で3日間塩漬した。低温発酵処理区においてはこの塩漬剤添加の際に各乳酸菌スターターを添加し、低温下 (4℃) にて5日間塩漬および発酵させた。塩漬後、スタッファーにて充填を行い、75℃恒温槽で中心部温度が63℃に達してから30分間加熱し、加熱後直ちに氷冷した。なお、加熱条件の異なるモデルソーセージとしては75℃、95℃恒温および75℃、95℃昇温加熱 (昇温速度1℃/分で75℃および95℃に達するまで加熱) を施した。また、塩漬条件の異なるモデルソーセージとしてはトリポリリン酸Naをトリポリリン酸Kに置き換え、0.10%

0.30%, 0.50% (以下, それぞれ K 0.10%, K 0.30%, K 0.50% と略す) の 3 種類について作製した。発酵区については当研究室で保有する低温増殖性乳酸菌 *Lactobacillus sakei* D-1001, No. 3, 7 (以下, それぞれ D-1001, No. 3, No. 7 と略す) をそれぞれ 10^6 CFU/g 肉となるように接種した。

2.2 モデルソーセージの機器測定と官能評価

物性測定はレオナー (RE2-33005 S, 株式会社山電) を用い, テクスチャー測定およびクリープ測定を行った。テクスチャー測定では, かたさ応力, 凝集性およびガム性応力の 3 項目を, クリープ測定では瞬間弾性率 E_0 , 遅延弾性率 E_1 と E_2 , 遅延粘性率 η_1 と η_2 およびニュートン粘性率 η_N の 6 項目を求めた。またこれに加えて, 加熱損失率 (クッキングロス), 保水率 (加圧ろ紙法) および pH の 3 項目をそれぞれ測定した。

官能評価は本学学生を対象に嗜好型官能評価を実施した。この官能評価では 1 回につき 40~50 名規模で行い, 全体で延べ 271 名に達した。評価には調製後 3 日目のモデルソーセージを用い, 1 回の評価につき 4 種類のモデルソーセージを対象として評価を行った。この 4 種類のうち, 1 種類はコントロール試料 (75°C 恒温加熱区) とした。評価項目は, 「断面の色調」, 「断面のきめ」, 「断面の光沢」, 「歯ごたえ」, 「ジューシーさ」および「総合評価」の 6 項目とし, 評価方法はこのコントロール試料と比べてそれぞれ「好き」か「嫌い」かの, 嗜好型で評価する 7 点尺度法を用いた。評価基準はコントロール試料を「0」とし, 「-3」から「+3」の 7 段階で実施した。各段階の評価基準は以下の通りである。

「-3」…とても嫌い, 「-2」…嫌い,
「-1」…やや嫌い, 「0」…かわらない,
「+1」…やや好き, 「+2」…好き,
「+3」…とても好き

2.3 データの標準数値化と統計解析

官能評価において, それぞれの条件で作製したモデルソーセージの評価値は, それぞれのコントロール試料を基準とした相対的評価値として表している。従って, 客観的評価である物性等の機器測定値においても, 各々のコントロール試料に対する相対値として表すことで, 両者の関係を同水準で比較することが可能となる。そこで, コントロール試料の値を常に「50」として, 各処理区における測定値を「0~100」で表すことで官能評価値, 機器測定値のすべてを標準数値化した。

標準数値化した数値を用いて, 統計処理を行った。まず官能評価値 6 項目および客観的評価項目 12 項目を用いて単相関係数を求めた。次に, 単相関係数の値が最も高いものを選択し, 変数増加型による重回帰分析を行い, 重回帰式を求めた。得られた回帰式を用いて主観的評価の推定を試みた。なお, 統計処理には, Excel 多変量解析 (Ver. 3.0, 株式会社エスミ) を用いた。

3. 結果と考察

標準数値化した数値を用いて客観的評価項目 (各種機器測定値) と官能評価項目との間における相関性の有無や程度を相関分析によって求めた。「断面の色調」, 「断面のきめ」, 「断面の光沢」, 「歯ごたえ」, 「ジューシーさ」および「総合評価」の官能評価項目 6 項目のうち, 「断面の色調」を除く 5 項目において, 客観的評価との間に有意な ($p < 0.05$) 相関が得られた。特に, 「歯ごたえ」においては, 客観的評価項目 12 項目のうち瞬間弾性率 E_0 を除く 11 項目と有意な ($p < 0.05$) 相関が得られた (Table 1)。歯ごたえとならんで, ソーセージのおいしさにおいて重要と考えられるジューシーさについては, ガム性応力と加熱損失率においてのみ, それぞれ正と負の相関がみられた ($p < 0.01$)。しかしながら, 総合評価では,

Table 1 Single correlation coefficient between sensory and instrumental values.

	Retarded elasticity (E ₁)	Retarded elasticity (E ₂)	Retarded viscosity (η ₁)	Retarded viscosity (η ₂)	Newtonian viscosity (η _N)	Hardness	Cohesiveness	Gumminess	Cooking loss	Water-holding capacity	pH
Surface fineness ("kime")								0.615			
Juiciness								0.540*	-0.690*		0.791**
Elasticity	0.583*	0.551*	0.560*	0.551*	0.665**	0.785**	0.558*	0.781**	-0.851**	0.615*	0.793**
Surface glossiness						0.581*		0.565*			
Total preference					0.552*	0.579*		0.641*	-0.844*	0.523*	0.869**

[**], $p < 0.01$; [*], $p < 0.05$ ($n = 12$)

相関係数0.869を示したpHを含む6項目と有意な ($p < 0.05$) 相関が得られた。客観的評価項目の中で、ニュートン粘性率 η_N 、かたさ応力、ガム性応力、加熱損失率、保水率、pHの6項目においては少なくとも2つ以上の官能評価項目と有意な相関があり、中でもガム性応力に関してはすべての官能評価項目と有意な ($p < 0.05$) 相関がみられた。

以上の結果に基づいて重回帰分析を実施したところ、官能評価項目6項目中、「断面のきめ」、「歯ごたえ」、「ジューシーさ」および「総合評価」の4項目において有意性のある重回帰式を得ることができた。以下に示す通り、得られた4つの重回帰式に要した客観的実験項目数は全部で6項目であった。

「断面のきめ」

$$y = 0.25 X 2 - 0.39 X 5 + 0.18 X 6 + 46.24$$

「歯ごたえ」

$$y = -0.21 X 4 + 0.20 X 2 + 33.57$$

「ジューシーさ」

$$y = 0.21 X 6 + 0.09 X 1 + 37.71$$

「総合評価」

$$y = 0.25 X 6 + 0.04 X 3 + 0.13 X 1 + 32.73$$

X 1 : 凝集性 X 2 : ガム性応力

X 3 : 遅延粘性率 η_1 X 4 : 加熱損失率

X 5 : 保水率 X 6 : pH

「断面のきめ」については、客観的評価項目3項目を選択することで、寄与率72.50%の重回帰式を得ることができた ($p < 0.05$)。「歯ごたえ」および「ジューシーさ」では、客観的評価項目を2項目ずつ選択することで、それぞれ寄与率86.09%および寄与率65.32%の有意な ($p < 0.01$) 重回帰式が得られた。また、総合的好ましさを示す「総合評価」では、客観的評価項目のうち3項目を選択することで、寄与率81.87%の重回帰式を得ることができた ($p < 0.01$)。

ここで実際に、得られた重回帰式によって、客観的評価値から官能評価値の推測が可能か否かを、重回帰式を用いて算出される官能評価推定値と、実際の官能評価値との比較を行うことで式の有用性の検証を試みた。4つの重回帰式のうち、比較的寄与率の高かった「歯ごたえ」と「総合評価」の2つについて検討した結果をFig. 1 (A) と (B) に示した。その結果、いずれの場合も、推定値と実測値の絶対値には差がみられたものの、基準となるコントロールに対する相対的変化はよく一致しており、これらの式を用いれば、いくつかの機器測定値を求めるだけで、人が判断する官能評価値をある程度推測することが可能であることが示唆された。しかしながら、トリポリリ

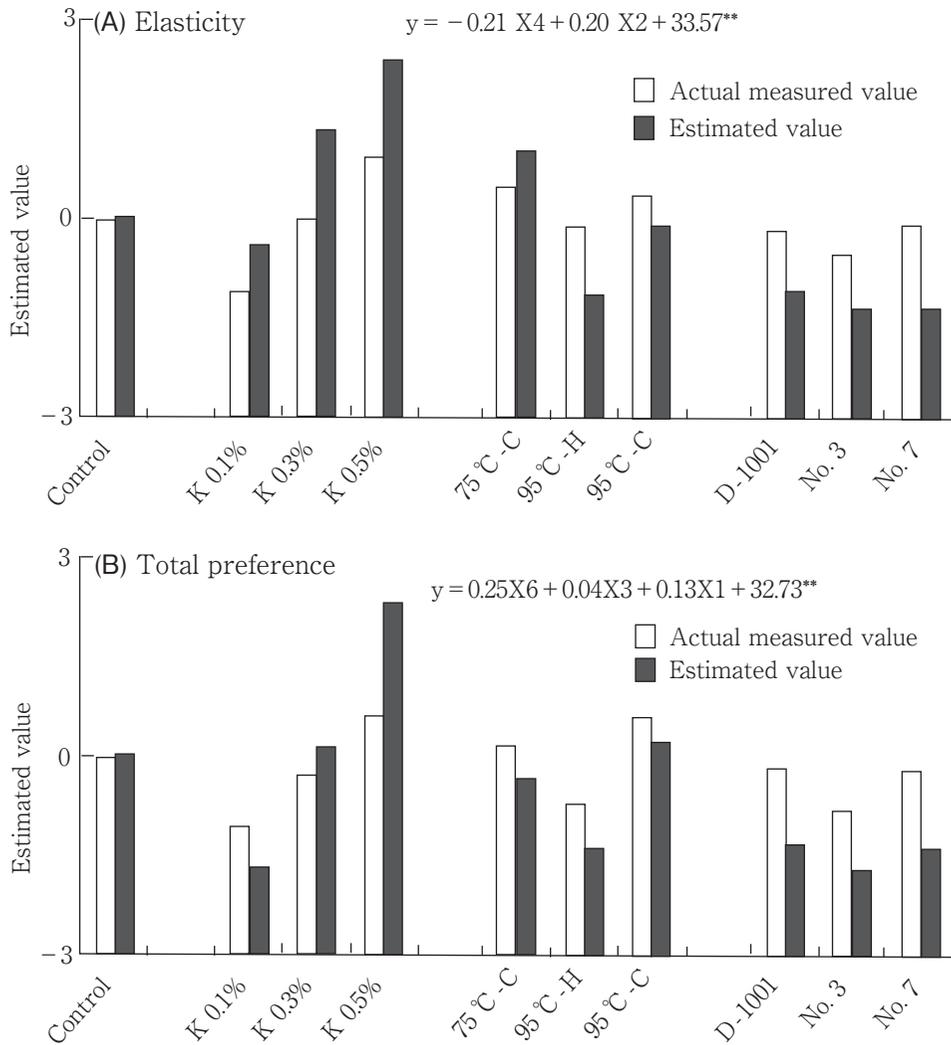


Fig. 1 Comparison of actual measured value from sensory test with estimated value from texture prediction formula for Elasticity (A) and Total preference (B).

Control : 75°C-heated at holding temperature

0.1-0.5%K : 0.1-0.5%potassium tripolyphosphate

75 and 95°C-C : heated at constant rate (1°C/min), 95°C-H : 95°C-heated at holding temperature (95°C)

D-1001, No.3 and No.7: *Lactobacillus sakei* D-1001, No. 3 and No.7, respectively

[X1] : Cohesiveness, [X2] : Gumminess, [X3] : Retarded viscosity η_1 , [X4] : Cooking loss, [X6] : pH, [**] : $p < 0.01$

ン酸カリウム添加グループのように、試料によっては大幅に数値が異なる場合もあり、今後、より精度を上げるためのさらなる検討が必要である。また、発酵ソーセージにおいては、実測値、推定値ともに、コントロールに対して評価が低くなる傾向がみられ、発酵ソーセージの品質改善を図るとともに、本推定式による検証も併せて行いたい。

以上のように本研究において、客観的機器測定値から主観的な官能評価値を推測することが可能であることが示されたが、機器測定値だけでなく、構造面からのアプローチも極めて重要であると考えている。今後引き続き検討を続け、食品の嗜好性研究や、実際の商品開発に資する客観的嗜好性評価法の確立を急ぎたい。

4. 要 約

一般においしさ評価は官能評価によって行われているが、あくまで個人差を伴う主観的評価であるため、より客観性をもつ評価の必要性が生じている。特に食感は、食肉製品において重要な特性の一つであり、かつ客観的評価がより困難な特性でもある。食感食品がもつ物性と関連性が強いとされており、機器測定による客観的物性値で、主観的な官能評価値を表すことができれば、物性値から嗜好性を推定できる極めて有益な手段となり得る。本研究では、機器測定による物性値と、人による官能評価特性との関連性を明らかにするため、低温乳酸発酵処理を含む種々の加工処理を施した16種類のモデルソーセージを作製し、これらの物性測定および官能評価を行い、両者の相関性について詳細に検討した。機器測定による物性値、人による官能評価値のすべての数値を標準数値化した後、主観的評価値と客観的評価値間の相関性を調べ、さらに重回帰分析により客観的評価値からの嗜好性の推定を試み、得られた推定式の有用性を検証した。

その結果、「断面のきめ」、「ジューシーさ」、「歯ごたえ」、「断面の光沢」および「総合評価」の5つの官能評価項目、中でも「歯ごたえ」において客観的評価項目である機器物性値と多くの相関性

が確認できた ($p < 0.05$)。さらに重回帰分析を行った結果、官能評価項目の「断面のきめ」、「歯ごたえ」、「ジューシーさ」、「総合評価」の4項目について有意性のある ($p < 0.05$) 重回帰式を得ることができ、客観的評価結果から官能評価値を推定することが可能であることが示された。これらの式より算出した理論(推定)値は、実際の官能評価結果と比較した際、発酵ソーセージでは評価が低くなる傾向がみられたが、コントロールに対する変化としてはおおむね類似の傾向を示すことが確認された。

文 献

- 1) 芳賀聖一, 林 利哉, 大場正春, 坂田亮一: 名城大学総合研究所総合学術研究論文集, 8, 91~96, 2009.
- 2) 寺本華奈江, 佐藤浩昭, 孫 麗偉, 鳥村政基, 田尾博明, 和栗伸伍, 林 利哉, 芳賀聖一: 分析化学, 56 (12), 1063~1070, 2007.
- 3) Hayashi, T., Washio, S., Arakawa, M., Taguchi, M., Toyoda, N. and Haga, S.: *Int. Cong. Meat Sci. Technol.*, 57, P395: 1~4, 2011.
- 4) 芳賀聖一, 林 利哉: 食肉に関する助成研究調査成果報告書, 伊藤記念財団, 30, 28~34, 2011.
- 5) 藤田利宗, 林 利哉, 芳賀聖一: レトルト加熱によるアクトミオシゲルの物性変化に関する研究, 日本食品科学工学会誌, 53 (8), 423~429, 2006.
- 6) 芳賀聖一, 岩切鉄矢, 水野達也: 名城大学農学部学術報告, 37, 89~94, 2001.
- 7) 西崎あや, 林 利哉, 小川幸彦, 芳賀聖一: 食肉の科学, 47 (1), 156~160, 2007.
- 8) Mullenet, J.F.: *J. Sensory Stud.*, 13, 77~93, 1998.

牛肉のおいしさに影響する筋内遊離脂肪酸についての研究（第2報）

Intramuscular free fatty acids related to beef eating quality Part. II

山之上 稔・大和 彩弥香・上田 修司・井原 一高・豊田 浄彦

(神戸大学大学院農学研究科)

Minoru Yamanoue, Sayaka Yamato, Syuji Ueda, Ikko Ihara, Kiyohiko Toyoda

(Graduate School of Agricultural Science, Kobe University)

The aims of this study were to analyze the amounts of free fatty acids and the fatty acid composition, and to characterize taste-traits of water soluble extracts from Japanese Black Wagyu beef during postmortem aging and cooking. Sample meats were taken from carcass cross-section between the sixth and seventh ribs of Japanese Black Wagyu cattle and stored at 4°C antiseptically. At 7-, 14- and 21-days postmortem, water soluble extracts were prepared from raw and cooked beef samples. The amounts of triacylglycerol (TG) and free fatty acids (FFA) were measured and fatty acid composition of TG was determined by GC analysis. As the results, the amounts of FFA in water soluble extracts increased significantly during postmortem aging ($P < 0.05$). Cooking caused no significant change in any amounts of TG and FFA. On the other hand, taste-traits of water soluble extract assessed by an electric sensing system showed that *sourness* was markedly decreased at 21-days postmortem and *acidic bitterness* was increased during storage. Sensory evaluation of cooked beef samples at 21-days postmortem by human panels showed better palatability of Japanese Black Wagyu beef as compared with Holstein beef. Thus, increased amount of FFA in water soluble extract during postmortem aging is possible to relate to taste-traits of Japanese Black Wagyu beef.

1. 目 的

今日一般に市販されている牛肉は、低温で一定期間の熟成を経て利用されている。牛肉は、熟成の進行に伴い軟化し、多汁性の回復や風味の向上が起こり¹⁾、おいしくなる。牛肉のおいしさには脂肪の関与も大きく、脂肪交雑としての筋内脂肪量が多いことが重要視されてきた。また近年では脂肪を構成する脂肪酸が牛肉のテクスチャーや風味を左右することが示され、注目されている²⁻⁴⁾。

これまで牛の飼養や牛枝肉における脂肪量および脂肪酸組成の変化に関し、数多くの研究が行われている⁵⁻⁷⁾。しかしながら牛肉が食品として提供されるまでの熟成期間に、酸化や酵素の影響を受けて筋内脂肪に経時的変化が起きている可能性が考えられるが、熟成中の牛肉の筋内脂肪変化に関する報告は少ない。また牛肉は生食されることは少なく、焼く・煮るなどの加熱調理が行なわれる。加熱により香り、色、テクスチャー、味などが変化して食べやすくなり、食中毒の原因となる

細菌が死滅し、安全になる。一方で加熱は牛肉の栄養価の減少や脂質の酸化を招き、条件によっては好ましくない匂いや味の原因になり得る。加熱調理が牛肉の筋内脂肪に及ぼす影響は、これまでの報告でも一致していない^{8,9)}が、加熱による脂肪の変化を明らかにすることは、牛肉のおいしさを向上させるうえで重要と考えられる。

このような背景から、我々は平成23年度に主要な肉牛である黒毛和種牛の筋肉からクロロホルムとメタノールの混液で抽出した総脂質と、総脂質から分画した中性脂質の大半を占めるトリアシルグリセロール (TG) や食味との関連が示唆されている遊離脂肪酸 (FFA) について、熟成および加熱に伴う脂質量および脂肪酸組成の変化を調べた¹⁰⁾。その結果、熟成後の牛肉中の総脂質量とTG量およびそれらの脂肪酸組成に変化は認められなかったが、遊離脂肪酸量が有意に増加することを認めた。また加熱前後の牛肉では各脂質クラスの量および脂肪酸組成に変化は認められなかった。これらの結果から、熟成中に増加し加熱調理に影響を受けない遊離脂肪酸が脂肪由来の牛肉の食味性に関与する可能性が考えられた。

本研究では、黒毛和種牛肉の筋内遊離脂肪酸と脂肪由来の牛肉の食味性との関連性を直接的に調べる目的で、摂取時の咀嚼中に牛肉から口腔内に滲出し、呈味物質が溶存する水溶性の肉汁試料を調製した。そして肉汁試料中のTGおよびFFAの定量および脂肪酸組成の分析を行い、熟成および加熱調理に伴う変化を調べた。また味覚センサーによる機器分析で肉汁試料の呈味性評価を行った。さらに加熱調理した牛肉の官能試験を行い、食味性を評価した。

2. 方 法

2.1 試薬および牛肉試料

試薬は特に表記してあるものを除き、ナカライ

テスク社または和光純薬工業株式会社の特級試薬を用いた。脂肪酸メチルエステル標準品はシグマ-アルドリッチ社から購入した。牛肉試料は、伊藤ハム (株) 関西ミートセンターから購入した黒毛和種枝肉の第6～7肋骨間のロース部を用いた。

2.2 熟成および加熱処理

ロース部の牛肉を4℃で保存し、と畜後7日目、14日目、および21日目にロース芯から牛肉片を無作為に採取して熟成および未加熱試料とした。一方、同期間熟成した牛肉ロース芯を4cm×5cmの大きさで厚さ1cmの肉片に整形し、120℃に加熱したホットプレートで内部温度が65～70℃になるように表裏を各130秒間加熱後に試料を採取し、加熱試料とした。

2.3 肉汁試料の調製

未加熱および加熱牛肉の各4gに10mlの蒸留水を加えて、10,000rpmで2分間ホモジナイズした。蒸留水を加えてメスシリンダーで15mlに定容にし、よく混合して均質にした後、5,000rpmで20分間の遠心分離を行った。遠心分離後、ろ過した上清を10mlに定容にして肉汁試料とした。

2.4 肉汁試料中のTGおよびFFA量の測定

肉汁試料中のTG量は、トリグリセリドE-テストワコーTG測定キット (和光純薬工業) を用いて測定した。測定方法は指示書に従い、トリオレイン酸を標準として波長600nmの吸光度から検量線を作成した。またFFA量はFree Fat Acid Quantification Kit (Bio Vision) を用いて測定した。測定方法はBio Vision社の指示書に従い、一部希釈した試薬を使用した。パルミチン酸を標準に、波長570nmの吸光度から検量線を作成した。

2.5 肉汁試料中のTGおよびFFAの分画

肉汁試料中のTGおよびFFAの分画は、前報¹⁰⁾の方法に準じてスケールダウンして行った。肉汁試料を除タンパク質後、2gのシリカゲル (WAKO GEL) を充てんしたカラム (φ15mm×115mm)

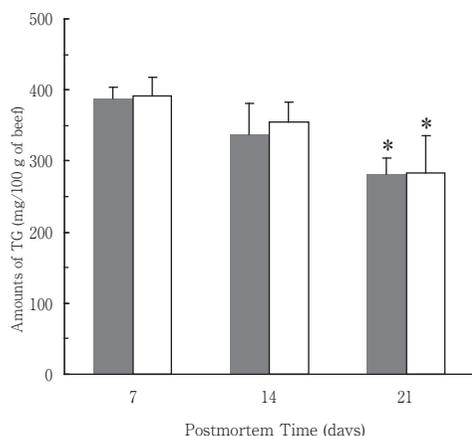


Fig. 1 Effects of postmortem aging and cooking (■, raw; □, cooked) on the amounts of TG separated from beef soup of Japanese Black Wagyu cattle ($n = 4$).
*, significant difference between 7- and 21-days postmortem ($P < 0.05$).

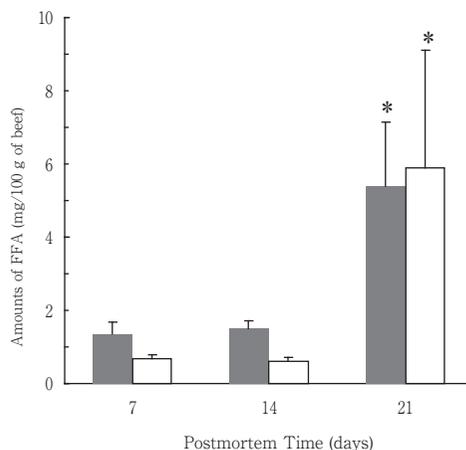


Fig. 2 Effects of postmortem aging and cooking (■, raw; □, cooked) on the amounts of FFA separated from beef soup of Japanese Black Wagyu cattle ($n = 4$).
*, significant difference between 7- and 21-days postmortem ($P < 0.05$).

で分離した。分画した脂質クラスを薄層クロマトグラフィー法で展開し、精製度を確認した。

2.6 脂肪酸組成の測定

分画したTGおよびFFAから三フッ化ホウ素-メタノール法で脂肪酸メチルエステル (FAME) を調製した。乾固したFAMEをヘキサンに溶解し、前報¹⁰⁾と同様にガスクロマトグラフ (GC) (島津GC-2014) で脂肪酸組成分析を行った。

2.7 呈味性評価

肉汁試料からタンパク質を除去後、呈味性を味覚センサー (INSENT) で分析した。使用したセンサーはAAE, CT0, CA0, C00およびAE 1であり、それぞれ旨味、塩味、酸味、苦味雑味、渋味の程度を検出する。

2.8 官能評価

熟成21日目の黒毛和種牛肉および比較のためのホルスタイン種牛肉の加熱試料の官能特性を、22~25歳の男女10名の学生により評価した。「食べる前の香り (良悪・強弱)」、「食べたときの香り (良悪・強弱)」、「牛肉らしい旨み」、「脂の滑らか

さ (口どけ)」、「脂の味の強さ (こく)」、「やわらかさ」および「総合評価」の各項目について7段階の評点法で評価した。

3. 結果と考察

牛肉を入手後4℃で熟成し、7日目、14日目、および21日目に肉汁試料を調製し、TGおよびFFA量を測定した。**Fig. 1**に示すように、未加熱肉汁試料中のTG量は熟成7日目に100g牛肉当たり387mgであったのが、14日目には338mg、21日目には281mgとなり、有意に減少した ($P < 0.05$)。また加熱肉汁試料でも熟成7日目に100g牛肉当たり392mg、14日目に355mg、21日目に284mgと減少し、未加熱サンプルと同様有意に減少した ($P < 0.05$)。両試料間におけるTG量に差は見られず、加熱の影響は認められなかった。また全ての熟成日数の加熱肉汁試料と未加熱肉汁試料間のTG量に有意差はなかった。

一方、**Fig. 2**に示すように肉汁中のFFA量は、未加熱試料で熟成7日目は100g牛肉当たり

1.3mg, 14日目には1.4mg, 21日目には5.1mgと有意に増加した ($P < 0.05$)。加熱試料では熟成7日目に100g牛肉当たり0.7mg, 14日目は0.6mg, 21日目には5.5mgと未加熱試料と同様, 有意に増加し ($P < 0.05$)。加熱処理が牛肉の肉汁中のFFA量に影響を及ぼさないことが明らかになった。

これらの値は, クロロホルム/メタノール混液¹¹⁾で抽出した前報¹⁰⁾で示す総脂質中のTG量およびFFA量と比較し, それぞれ約100分の1および約10分の1の値であった。しかし肉汁試料中にもTGとFFAが含まれていることを示し, 熟成に伴い有意にFFAが増加するという結果は, クロロホルム/メタノール混液で抽出した総脂質中のFFA量変化¹⁰⁾と一致する。さらに熟成に伴いTG量が減少しFFA量が増加することから, 牛肉汁中のTGの分解とFFAの増加が関連する可能性が示された。近年の研究で, マウスとラットの舌上において長鎖脂肪酸を受容する受容体の存在が明らかになっており¹²⁾, その存在はヒトでも示唆されている¹³⁾。ヒトの舌上に脂肪酸受容体が存在するのであれば, 熟成に伴う肉汁中のFFA量の増加は黒毛和種牛肉の食味性に影響する可能性が考えられる。

調製した肉汁試料をシリカゲルカラムで分離し, 分画したTGおよびFFAを薄層クロマトグラフィ法で分析した結果, それぞれ単一のスポットが認められた (図は示さず)。両脂質クラスをメチルエステル化後, GCで脂肪酸組成を分析した。その結果, 熟成中の未加熱および加熱牛肉における肉汁試料中のTGで最も多い脂肪酸は, オレイン酸 (C18:1) であり, 約49%であった (Fig. 3)。次に多い脂肪酸はパルミチン酸 (C16:0) およびステアリン酸 (C18:0) であり, それぞれ約26%および9%であった。熟成期間を通じてTGの脂肪酸組成に変化は認められず, また未加熱と加熱試料間でも有意差は認められな

かった。一方, 熟成中の未加熱および加熱牛肉からの肉汁試料に含まれるFFAの脂肪酸組成では, 両試料とも2つのピークが検出されたが多くの脂肪酸のピークは認められなかった。この理由として肉汁試料に含まれるFFA量が少なく (Fig. 2), GCのためのFAME濃度が低すぎたことが考えられる。FFAの分画方法やGC分析条件の再検討が必要である。

Fig. 4に, 肉汁試料の味覚センサーによる呈味性分析を行った結果を示す。熟成に伴い未加熱と加熱の両試料で味に深みを与える苦味雑味値が上昇した。さらに熟成21日目には両試料で酸味値が顕著に低下し, 加熱試料で旨味値が上昇した。牛肉の酸味は死後筋肉内で蓄積する乳酸量に関連することが味覚センサーで示されている¹⁴⁾。また熟成に伴い豚肉中に増加するペプチドによって刺激がマスクされ, 酸味が抑制されると報告されており¹⁵⁾, 牛肉の熟成中にも同様のペプチド増加¹⁶⁾が起るので, 熟成中に増加したペプチドのマスク効果が生じたのかもしれない。本実験では肉汁試料のFFAが熟成中に増加した (Fig. 2) が, FFA量は苦味と関連するという報告¹⁴⁾があり, 先味として味に深みをもたらす苦味雑味値の上昇とFFA増加の関連性については今後の課題である。

4℃で21日間熟成させた黒毛和種牛肉とホルスタイン種牛肉について加熱調理後に官能検査を行った。「食べる前の香り」, 「食べたときの香り (風味)」, 「牛肉らしい旨み」, 「脂の滑らかさ (口どけ)」, 「脂の味の強さ (こく)」, 「やわらかさ」および「総合評価」の7項目の評価で黒毛和種牛肉がホルスタイン牛肉に比べて有意に好ましいという結果であった (Fig. 5)。黒毛和種牛肉で好ましい項目である「脂の味の強さ (こく)」は, 味覚センサー分析における苦味雑味値の上昇との関連から肉汁試料中の遊離脂肪酸の影響が示唆さ

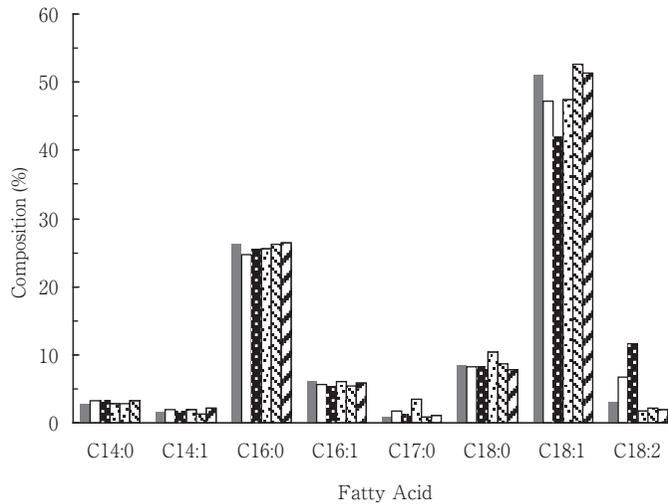


Fig. 3 Effects of postmortem aging and cooking on fatty acid composition of TG separated from beef soup of Japanese Black Wagyu cattle (n = 4 ~ 6).

Beef soup were prepared from raw (closed box) and cooked (open box) sample at appropriate postmortem days (7-days, ■, □; 14-days, ■, □; 21-days, ■, □).

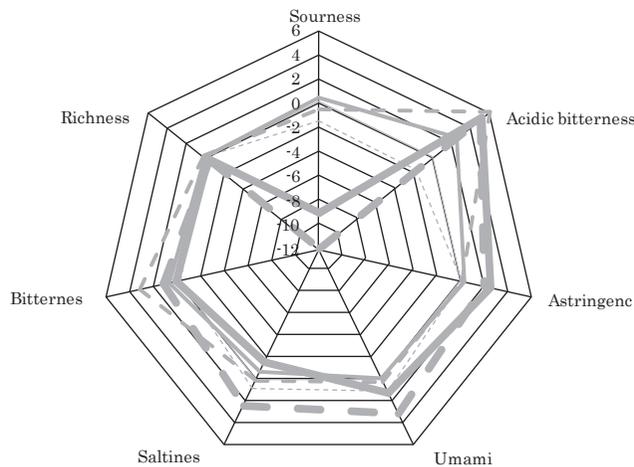


Fig. 4 Effects of postmortem aging and cooking on taste-traits of beef soup from Japanese Black Wagyu cattle by an electric sensing system.

Beef soup were prepared from raw (solid line) and cooked (broken line) sample at appropriate postmortem days (7-days, —; 14-days, —; 21-days, —).

れる食味性とと考えられ、興味深い結果であった。

今後、上記の結果をより明確にするために分析数を増やすとともに、ホルスタイン種牛肉の肉汁試料中のFFAの分析が必要と考えている。また味覚センサーと官能検査の両分析で黒毛和種牛肉

の旨味を示す結果が得られたが、旨味を呈する肉汁試料中の遊離アミノ酸およびイノシン酸の定量を行い、それらの結果と合わせて黒毛和種牛肉の食味の良さに対するFFAの関与を明らかにすることが重要と考えられる。

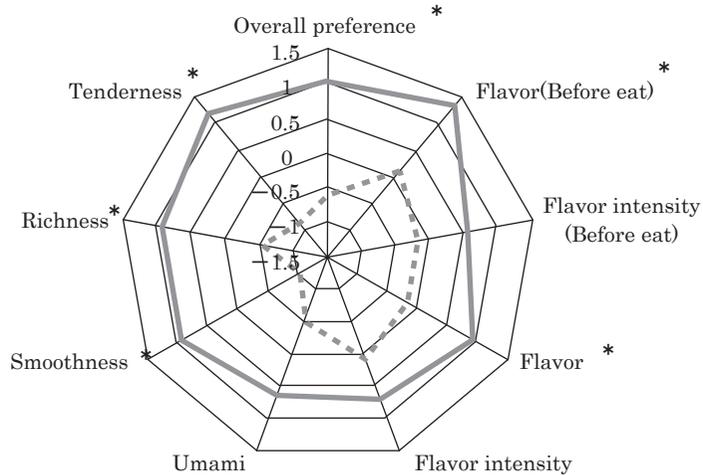


Fig. 5 Radar chart of sensory evaluation of Japanese Black Wagyu beef (—, n=4) and Holstein beef (---, n=4). *, significant difference between both beef ($P < 0.05$).

4. 要 約

牛肉のおいしさへの筋内脂肪の影響を、牛肉中の遊離脂肪酸と咀嚼時の食味性との関係から明らかにするために、熟成および加熱調理で牛肉肉汁中の筋内脂肪量や脂肪酸組成が、また肉汁の呈味性がどのように変化するか調べた。

黒毛和種牛枝肉の第6～第7肋骨間ロース部を4℃で保存し、と畜後7, 14, および21日目にロース芯から筋肉片を採取した。未加熱および加熱処理後、水溶性画分を調製し、肉汁試料としてトリアシルグリセロール (TG) および遊離脂肪酸 (FFA) を定量した。その結果、熟成中にTGの減少に伴いFFAが増加する結果が得られ、加熱試料でも同様であった。また肉汁試料の呈味性を機器分析したところ、熟成に伴い未加熱と加熱の両試料で味に深みを与える苦味雑味値が上昇した。さらに熟成21日目には両試料で酸味値が顕著に低下し、加熱試料で旨味値が上昇した。4℃で21日間熟成させた黒毛和種牛肉とホルスタイン種牛肉について加熱調理後に官能検査を行った結果、7つの評価項目で黒毛和種牛肉がホルスタイン

種牛肉に比べて有意に好ましいという結果であり、好ましさの1項目である「脂の味の強さ(こく)」は、機器分析における苦味雑味値の上昇との関連から肉汁試料中の遊離脂肪酸の影響が示唆される食味性と考えられた。

文 献

- 1) Muchenje, V., Dzama, K., Chimonyo, M., Strydom, P.E., Hugo, A. and Raats, J.G.: *Food Chem.*, **112**, 279~289, 2009.
- 2) Westerling, D.B. and Hedrick, H. B.: *J. Anim. Sci.*, **48**, 1343~1348, 1978.
- 3) Melton, S. L., Amiri, M., Davis, G. W. and Backus, W. R.: *J. Anim. Sci.*, **55**, 77~87, 1982.
- 4) Mandell, I. B., Buchanan-Smith, J. G. and Cambel, C. P.: *J. Anim. Sci.*, **76**, 2619~2630, 1998.
- 5) Smith, S. B., Lunt, D. K., Ki Y. Chung, Chang B. Choi, Ron K. Tume and Meiji Zembayashi, M.: *Anim. Sci. J.*, **77**, 478~486, 2006.
- 6) Wood, J.D., Enser, M., Fisher, A.V., Nute, G.R., Sheard, P.R., Richardson, R.I., Hughes, S.I. and Whittington, F.M.: *Meat Sci.*, **78**, 343~358, 2008.
- 7) Ueda, Y., Watanabe, A., Higuchi, M., Shingu, H., Kushibiki, S. and Shinoda, M.: *Anim. Sci. J.*, **78**, 189~194, 2007.
- 8) Sarries, M. V., Murray, B. E., Moloney, A.P., Troy, D. and Beriain, M. J.: *Meat Sci.*, **81**, 307~312, 2009.
- 9) Duckett, S. K., and Wagner, D. G.: *J. Food Compo. Anal.*, **11**, 357~362, 1998.

- 10) 山之上 稔, 矢野恵子, 上田修司, 井原一高, 豊田浄彦:平成23年度食肉に関する助成研究調査成果報告書, Vol. 30, 68~75, 2012.
- 11) Folch, J., Lees, M. and Stanley, G. H. S. : *J. Biol. Chem.*, **226**, 497~509, 1957.
- 12) Matsumura, S., Mizushige, T., Yoneda, T., Iwanaga, T., Tsuzuki, S., Inoue, K. and Fushiki, T. : *Biomed. Res.*, **28**, 49~55, 2007.
- 13) Galindo, M. M., Voigt, N., Stein, J., Lengerich, J., Raguse, J-D., Hofmann, T., Meyerhof, W. and Behrens, M., : *Chem Senses*, **37**, 123~139, 2012.
- 14) Chikuni, K., Oe, M., Sasaki, K., Shibata, M., Nakajima, I., Ojima, K. and Muroya, S. : *Anim. Sci. J.*, **81**, 600~605, 2010.
- 15) Okumura, T., Ryoji Yamada, R. and Nishimura, T. : *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **68**, 1657~1662, 2004.
- 16) Muroya, S., Ohnishi-Kameyama, M., Oe, M., Nakajima, I. and Chikuni, K. : *Meat Sci.*, **75**, 506~514, 2007.

黒毛和種牛銘柄牛肉の試食パネルと理化学成分分析による美味しさに係わる指標の探索

Search of the index about taste of the Japanese black cattle brand beef by panel test and chemical composition analysis

鈴木 啓一¹・塩浦 宏陽¹・飯田 文子²・山田 信一³・佐久間弘典³

(¹東北大学大学院農学研究科, ²日本女子大学, ³家畜改良センター)

Keiichi Suzuki¹, Hiroaki Shioura¹, Fumiko Iida², Shinichi Yamada³, Hironori Sakuma³

(¹Graduate School of Agricultural Science, Tohoku University, ²Japan Women's University, ³National Livestock Breeding Center)

To examine the index of the chemical composition related to delicious Japanese black beef, panel tests and the analysis of the chemical composition of six (A-F) brand beefs were conducted. This study investigated 35 purchased meat samples from six brands of beef of five heifers each, which were graded as A4 meat class or higher. The chemical composition analysis assessed raw meat and roasted meat, which had been roasted in the same conditions as those of the panel test. Results of panel tests and analysis of the chemical composition clarified that the contents of the fatty acid composition, sugar, nucleic acid content, amino acid composition, and odor composition in the sirloin meat differed among brand beefs. Furthermore, the correlation of chemical composition between roasted and raw meat was significantly high, but the correlation differed between that for the panel test and the chemical composition of roasted meat or raw meat. Especially, the sugar component and the nucleic acid of the roasted meat showed significant correlation with the “overall judgment” of the panel test. Nucleic-acid-related materials such as inosinic acid and amino acids such as carnosine, taurine, and anserine of the roasted meat and raw meat were correlated significantly with the “favorable taste” of the panel test item. Results suggest that this chemical composition is important as an index related to the delicious taste of beef.

1. 目 的

黒毛和種牛肉の脂肪交雑などの肉質は育種改良と飼養管理技術の改善により劇的に変化してきている(家畜改良センター, 2012)。しかし、長期的な視点から、新たな肉質評価基準が模索されており、より付加価値の高い美味しい牛肉の指標づくりが課題となってきている。我々は、これまで

牛肉について、BMSNo.、性を一定とした場合にモノ不飽和脂肪酸の割合の違いが、どの程度食味性に影響を及ぼすかを訓練パネルにより比較検討してきた(鈴木ら, 2011)が、以下の点が課題となった。一つはBMSNo. と性を統一した上で、美味しさに関して変異のあるサンプルを対象として、試食パネル(焼肉)と牛肉化学成分の分析を統一した条件での解析が必要なことである。さら

に、黒毛和種去勢肥育牛の平均的な出荷月齢は29～30ヶ月齢だが、食味に優れた牛肉を生産するため、40ヶ月齢程度まで肥育する生産者も一部に見られる。そこで本研究では、国内で流通している特長のある美味しい牛肉としての銘柄牛と超長期肥育で生産された牛肉を購入し、それらを対象として試食パネルテストを実施すると同時に、試食パネルと同じ条件で焼いた牛肉の化学成分を分析することで、美味しさにかかわる化学成分の指標を検討することを目的とした。

2. 方 法

2.1 サンプルの入手

仙台、山形、岩手県、神戸、岐阜県、沖縄県の食肉市場に出荷された「仙台牛」、「米沢牛」、「前沢牛」、「神戸牛」、「飛驒牛」、「石垣牛36ヶ月肥育牛」、「石垣牛40ヶ月肥育牛」で肉質等級「A4」以上、「雌」のサーロイン牛肉2kgを5頭ずつ、合計35頭分を購入した。各牛肉の熟成期間は2週間とし、サーロインブロックを真空パックにて凍結保存したものを入手した。真空パック冷凍保存された約2kgの牛肉ロース部分を試食パネル用1kg、香氣成分用500g、アミノ酸・ジペプチド・糖成分分析用500gずつに分割し、同時にロース部分から脂肪を採材した。分割、脂肪採材後の牛肉は再度真空パックして冷凍保存した。

2.2 脂肪酸分析

脂肪酸組成の分析方法は以下のとおりである。生肉のロース部分から採材した脂肪をn-ヘキサン（和光純薬）を1mL加え激しく振倒した後、10分以上室温に放置し、2N-NaOHメタノールを200 μ L添加し、約1分間振倒する。さらに、ウォーターバスにより50℃で20秒間加温し、約1分振倒した後室温に放置して冷却させ、塩酸メタノール試薬10（2N-HCLメタノール；東京化成）を600 μ L添加し、約1分間振倒した後、2層に

分離した上層をキャピラリーガラスピペットを使って別の共栓試験管に分け取る。ブロックヒーターで50℃に加温し窒素を噴きつけながらn-ヘキサンを揮発させて濃縮し、その後一定量のn-ヘキサンで希釈してガスクロマトグラフィーにより脂肪酸組成を分析する。また、焼き肉については食味テストと同じ条件で牛肉を加熱処理し、直接火と触れない部分の牛肉から脂肪を採材し、生肉と同じ方法で脂肪酸組成を分析した。

2.3 アミノ酸・ジペプチド、糖成分の分析

生肉と同時に、パネルテストと同じ条件で処理した牛肉（焼き肉）からもサンプルを採材した。サーロイン牛肉の一部200～250mgを粉碎してからホモジナイズし、ヘキサン5mLで脱脂してからヘキサンを吸引除去した。その後、アセトニトリル3.5mLを添加し、70%アセトニトリル（5mL）とした。0.45 μ mのフィルターを通したものを1mLを高速液体クロマトグラフィーで分析した。得られたクロマトグラフィーの各アミノ酸のピーク強度を標準アミノ酸のピーク強度と比較算出した。

2.4 香氣成分の分析

生肉と同時にパネルテストと同じ条件で焼き肉処理した牛肉からもサンプルを採材した。牛肉10gから脂肪を抽出後、Dynamic-Headspace SPME法SPMEファイバー吸着・GCMSにて香氣成分を測定した。なお、測定値は内部標準物質である1,2ジクロロベンゼンとの強度比で示した。

2.5 パネルテスト

真空パック冷凍保存した牛肉を2℃の高温槽中で24時間かけて解凍した。訓練されたパネルにより、6つの銘柄牛の食味テストを行った。パネルテストの方法は、原則として3つの銘柄牛肉を3点比較法により、次に別の3つの銘柄牛肉を同様に3点比較法により、10人のパネルにより銘柄牛肉についてそれぞれ合計5回のテストを行った。パネルテスト項目は、「やわらかさ（はじめの一

Table 1 Comparison of panel test, fatty acids of raw meat and roasted meet between brand beef.

		Brand beef							
State	Traits	A	B	C	D	E	F	G	Correlation
	n	5	5	5	5	5	5	5	—
	Age (Month)	37.3 ^B	29.1 ^E	31.7 ^{DE}	30.2 ^E	33.8 ^{CD}	36.2 ^{BC}	40.2 ^A	—
	CW (kg)	448.6	423.0	401.4	418.3	381.4	427.8	394.2	—
	BMSNo	8.6 ^{AB}	8.2 ^{ABC}	9.3 ^A	9.2 ^{AB}	6.2 ^C	6.8 ^{BC}	6.8 ^{BC}	—
Panel test	Roasted meat								
	Tenderness (First bite)	6.7	6.0	6.6	6.5	6.3	6.2	6.3	-0.145 ¹
	Tenderness (Chewing)	6.8	6.1	6.6	6.7	6.3	6.3	6.3	-0.142
	Fibrous feeling	6.3	5.7	6.1	6.2	5.7	5.8	5.7	0.022
	Juiciness	6.6	5.9	6.5	6.2	6.2	6.5	6.2	-0.144
	Total texture	6.5	5.8	6.1	6.2	6.2	6.1	6.2	0.287
	Good cattle aroma	6.2	5.9	6.1	6.1	6.1	6.2	6.2	0.479 ^{**}
	Bad cattle aroma	6.3 ^A	5.4 ^B	6.0 ^{AB}	5.8 ^{AB}	6.1 ^{AB}	6.1 ^{AB}	6.2 ^{AB}	0.296
	Strength of flavor	6.0	5.9	6.1	6.0	6.0	6.2	6.2	0.700 ^{***}
	Favorable taste	5.8 ^B	6.5 ^A	6.3 ^{AB}	6.5 ^A	6.3 ^{AB}	6.3 ^{AB}	6.2 ^{AB}	0.531 ^{**}
Overall judgment	6.1	6.1	6.1	6.2	6.3	6.1	6.2	—	
Fatty acids	Raw meat								
	C 14 : 0 %	2.1 ^{ABC}	2.6 ^{AB}	1.8 ^{BC}	2.8 ^A	2.1 ^{ABC}	1.9 ^{BC}	1.7 ^C	0.790 ²
	C 14 : 1 %	1.6 ^A	1.2 ^{AB}	1.0 ^B	1.3 ^{AB}	1.0 ^B	1.0 ^B	1.0 ^B	0.728
	C 16 : 0 %	20.4 ^{BC}	24.3 ^{AB}	22.1 ^{ABC}	25.2 ^A	24.2 ^{AB}	21.9 ^{ABC}	19.5 ^C	0.872
	C 16 : 1 %	7.2 ^A	5.7 ^B	5.1 ^B	6.1 ^{AB}	5.1 ^B	5.7 ^B	6.2 ^{AB}	0.885
	C 18 : 0 %	6.2 ^B	8.5 ^A	9.3 ^A	8.5 ^A	9.7 ^A	8.4 ^A	8.3 ^{AB}	0.956
	C 18 : 1 %	58.6 ^{AB}	54.5 ^{AB}	58.4 ^{AB}	53.2 ^B	55.0 ^{AB}	57.8 ^{AB}	60.1 ^A	0.854
	C 18 : 2 %	4.0 ^A	3.2 ^{AB}	2.2 ^B	2.9 ^{AB}	2.8 ^{AB}	3.2 ^{AB}	3.2 ^{AB}	0.864
	Melting point ^{°C}	18.1 ^C	24.7 ^{AB}	22.1 ^{ABC}	26.0 ^A	24.8 ^{AB}	21.4 ^{ABC}	18.9 ^{BC}	0.901
	USS	2.4 ^A	1.8 ^{ABC}	2.0 ^{ABC}	1.7 ^C	1.7 ^{BC}	2.0 ^{ABC}	2.3 ^{AB}	0.887
Fat%	49.9 ^A	36.0 ^B	38.7 ^{AB}	39.8 ^{AB}	39.0 ^{AB}	37.5 ^{AB}	38.3 ^{AB}	0.711	
Fatty acids	Roasted meat								
	C 14 : 0 %	2.1	2.7	2.3	2.9	2.6	2.3	2.4	—
	C 14 : 1 %	1.6	1.2	1.1	1.2	1.2	1.1	1.3	—
	C 16 : 0 %	20.4 ^{BC}	24.2 ^{AB}	24.0 ^{AB}	25.8 ^A	25.9 ^A	23.4 ^{AB}	22.0 ^{AB}	—
	C 16 : 1 %	6.8 ^A	5.6 ^B	5.2 ^B	5.7 ^{AB}	5.4 ^B	5.9 ^{AB}	6.2 ^{AB}	—
	C 18 : 0 %	6.2 ^B	8.6 ^A	9.6 ^A	9.0 ^A	9.6 ^A	8.3 ^A	8.3 ^{AB}	—
	C 18 : 1 %	58.6 ^A	54.5 ^{AB}	56.0 ^{AB}	52.9 ^B	53.1 ^{AB}	56.2 ^{AB}	57.0 ^{AB}	—
	C 18 : 2 %	4.2 ^A	3.1 ^{AB}	1.7 ^C	2.5 ^{BC}	2.2 ^{BC}	2.6 ^{BC}	2.9 ^{BC}	—
	Melting point ^{°C}	18.3 ^B	25.0 ^A	24.9 ^A	27.1 ^A	27.1 ^A	23.3 ^{AB}	22.2 ^{AB}	—
	USS	2.3 ^A	1.8 ^B	1.7 ^B	1.6 ^B	1.6 ^B	1.9 ^{AB}	2.0 ^{AB}	—
Fat%	53.8 ^A	41.3 ^B	38.7 ^B	43.8 ^{AB}	39.8 ^B	37.5 ^B	37.6 ^B	—	

1 : Coefficient correlation with overall judgment. **p<0.01, ***p<0.001

2 : Coefficient correlation of fatty acids between raw and roasted meat. Statistically significant at 0.1%level.

A, B, C, D, E : Significant difference between different character between row at 5% level.

噛み)」「やわらかさ(咀嚼時)」「線維感」「多汁性」「総合的食感」「良い牛くささ」「悪い牛くささ」「風味の強さ」「好ましいうま味」「総合評価」の10項目である。評価は1から8の段階で数字の大きい方が優れている。

2.6 統計解析

統計解析にはSASプログラムのPROC GLMを用い、各測定項目毎に銘柄牛を要因とした分散分析を行い、有意な項目についてはTukeyの多重検定により差の検定を行った。また、生肉と焼き肉の脂肪酸、糖成分、核酸関連物質、アミノ酸について相関とパネルテストと脂肪酸、糖成分、アミノ酸、香気成分との相関をSASのPRC CORRを用い計算した。

3. 結果と考察

6銘柄の出荷日齢、枝肉重量、BMSNo、パネルテスト、生肉と焼き肉の脂肪酸組成をTable 1に示した。銘柄Gは40.2ヶ月で最も高く、次いでA、F、Eの順で34ヶ月齢以上だが、B、C、Dの牛肉は約30ヶ月齢と標準的な出荷月齢だった。また、枝肉重量は銘柄間で差は認められなかったが、BMSNo. についてはCの9.3が最も高く、Eの6.2が最も低かった。

パネルテストの結果、「やわらかさ」、「線維感」、「多汁性」、「総合的食感」はAが他の銘柄よりも値は高いが統計的有意差は認められなかった。また、「総合評価」、「風味の強さ」も銘柄間で有意差は認められなかった。しかし、「悪い牛くささ」では、AがBより有意に高く、「好ましいうま味」では、BとDがAより有意に優れた。「総合評価」と他のパネル形質との関連を見ると、「風味の強さ」が最も高い相関(0.700)を示し、次いで、「好ましいうま味」が0.531、「良い牛くささ」は0.479の相関だが、他のパネル形質との相関は有意ではなかった。

脂肪酸組成について生肉と焼き肉の相関係数を見ると、0.728(C14:1)から0.956(C18:0)のバラツキを示したが、C18:1やUSSの相関は0.9に近い値を示しており、焼肉の脂肪酸組成は生肉の脂肪酸組成を反映していると判断された。脂肪酸のC18:1について、生肉ではGがDより有意に高く、焼き肉ではAがD有意に高く、他の銘柄はこの間の値を示した。銘柄間で生肉では約7%、焼き肉では約6%のC18:1の差が認められた。同様に、USSは生肉ではAがD、Eより有意に高く、焼き肉でもAがGを除く他の銘柄より有意に高かった。

Table 2には、生肉と焼き肉の糖、核酸関連物質、アミノ酸について6銘柄を比較した結果を示した。糖、核酸関連物質は合計値を、アミノ酸はグルタミン酸(Glu)とカルノシン+タウリン+アンセリン(Car+Tau+Ans)と、うま味、甘味、苦味、その他に区分される各アミノ酸の合計値、さらにアミノ酸全体の合計値を示した。糖については、生肉でEがA、B、C、D、焼肉でもA、B、C、D、Gより有意に多かった。また、核酸成分は生肉ではAが他の銘柄よりも有意に少なく、焼き肉でもAはBより有意に少なく他の銘柄はその中間の値だった。なお、生肉、焼肉共に核酸関連物質の量は、ロース肉脂肪含量と有意に高い負の相関を示しており(表には示さず)、脂肪割合が高いと核酸関連物質の割合は少ないことが明かとなった。Aの核酸成分が少ないのは脂肪割合が高いため(Table 1)と考えられる。アミノ酸に関しては、Eが生肉、焼き肉共にグルタミン酸、うま味成分、甘味成分、苦味成分、アミノ酸全体で最も高い割合を示した。また、Car+Tar+Ansは生肉ではAが他の銘柄牛より少なく、焼き肉でもAが他より有意に少なく、F、Fが最も高い値を示した。

ラクトン、ケトン、アルコール、飽和脂肪族ア

Table 2 Comparison of sugar, nucleic acids and amino acids of raw and roasted meat between brand beef

State	Component	Brand beef							Correlation
		A	B	C	D	E	F	G	
Raw meat	Sugar	2.03 ^{B2}	2.13 ^B	2.21 ^B	2.15 ^B	3.21 ^A	2.63 ^{AB}	2.51 ^{AB}	0.732 ^{***1}
	Nucleic acids	2.04 ^B	3.28 ^A	3.09 ^A	2.99 ^A	3.18 ^A	3.13 ^A	2.93 ^A	0.760 ^{***}
	Glu	0.45 ^B	0.41 ^B	0.67 ^{AB}	0.49 ^B	1.07 ^A	0.76 ^{AB}	0.67 ^{AB}	0.713 ^{***}
	Umami	0.45 ^B	0.41 ^B	0.67 ^{AB}	0.48 ^B	1.07 ^A	0.75 ^{AB}	0.66 ^{AB}	0.948 ^{***}
	Sweetness	3.28 ^B	3.97 ^B	4.54 ^B	3.96 ^B	6.67 ^A	5.10 ^{AB}	4.98 ^{AB}	0.924 ^{***}
	Bitter taste	2.52 ^B	3.05 ^B	4.03 ^{AB}	2.93 ^B	6.10 ^A	3.88 ^{AB}	4.13 ^{AB}	0.949 ^{***}
	Other taste	1.78	1.82	2.13	1.77	2.39	2.04	2.24	0.720 ^{***}
	Amino acids	8.04 ^B	9.26 ^B	11.38 ^{AB}	9.16 ^B	16.24 ^A	11.80 ^{AB}	12.03 ^{AB}	0.920 ^{***}
	Car + Tau + Ans	7.59 ^B	11.94 ^A	13.58 ^A	12.21 ^A	12.14 ^A	13.90 ^A	12.51 ^A	0.827 ^{***}
	Amino dipeptide	15.63 ^C	21.20 ^{BC}	24.96 ^{AB}	21.37 ^{BC}	28.39 ^A	25.70 ^{AB}	24.54 ^{AB}	0.843 ^{***}
Roasted meat	Sugar	2.07 ^B	2.13 ^B	2.55 ^B	2.07 ^B	3.59 ^A	2.64 ^{AB}	2.50 ^B	—
	Nucleic acids	2.58 ^B	3.71 ^A	3.51 ^{AB}	3.35 ^{AB}	3.49 ^{AB}	3.54 ^{AB}	3.32 ^{AB}	—
	Glu	0.53 ^B	0.44 ^B	0.64 ^B	0.49 ^B	1.09 ^A	0.80 ^{AB}	0.77 ^{AB}	—
	Umami	0.52 ^B	0.43 ^B	0.63 ^B	0.49 ^B	1.09 ^A	0.79 ^{AB}	0.76 ^{AB}	—
	Sweetness	3.76 ^B	4.20 ^B	4.33 ^B	4.09 ^B	6.63 ^A	5.21 ^{AB}	5.14 ^{AB}	—
	Bitter taste	2.83 ^B	3.21 ^B	3.85 ^B	2.99 ^B	6.46 ^A	3.99 ^{AB}	4.44 ^{AB}	—
	Other taste	1.65	1.69	2.07	1.58	2.19	1.95	2.16	—
	Amino acids	8.79 ^B	9.55 ^B	10.90 ^B	9.17 ^B	16.40 ^A	11.95 ^{AB}	12.51 ^{AB}	—
	Car + Tau + Ans	8.80 ^B	12.12 ^{AB}	13.82 ^A	12.13 ^{AB}	12.62 ^{AB}	14.14 ^A	13.74 ^A	—
	Amino dipeptide	17.59 ^C	21.67 ^{ABC}	24.72 ^{ABC}	21.30 ^{BC}	29.02 ^A	26.10 ^{AB}	26.25 ^{AB}	—

¹Correlation of amino-acids between raw and roasted meat. ***p<0.001. ²A, B, C : Significant difference between different character between row at 5% level. The unit of sugar, nucleic acids and free amino acids were $\mu\text{g/gWW}$, nmol/gWW and nmol/gWW .

Table 3 Comparison of flavor composition of meat between brand beef.

Component	Brand beef						
	A	B	C	D	E	F	G
Lactones	19.6 ^B	26.1 ^B	33.5 ^B	23.2 ^B	61.7 ^A	76.8 ^A	60.6 ^A
Ketones	115 ^B	428 ^A	239 ^{AB}	246 ^{AB}	217 ^{AB}	152 ^B	186 ^B
Alcohols	200 ^B	347 ^A	337 ^{AB}	222 ^{AB}	212 ^{AB}	165 ^{AB}	244 ^{AB}
Aliphatic aldehydes (saturated)	700 ^B	1512 ^A	1284 ^{AB}	899 ^{AB}	1220 ^{AB}	1016 ^{AB}	1120 ^{AB}
Aliphatic aldehydes (unsaturated)	204 ^B	439 ^{AB}	304 ^{AB}	196 ^B	617 ^A	471 ^{AB}	582 ^A
Acids	600 ^{AB}	612 ^{AB}	680 ^{AB}	503 ^B	807 ^A	789 ^A	872 ^A
Diterpenoids	273 ^{BC}	158 ^C	327 ^{AB}	137 ^C	464 ^{AB}	539 ^A	528 ^A
Others	338 ^A	339 ^A	288 ^A	246 ^B	309 ^{AB}	300 ^{AB}	329 ^A

A, B, C: Significant difference between different character between row at 5% level.

Table 4 Coefficient of correlation between panel test and fatty acids, glucose and amino acids

Traits	Tenderness (First bite)		Tenderness (Chewing)		Fibrous feeling		Juiciness		Total texture		Good cattle aroma		Bad cattle aroma		Strength of flavor		Favorable taste		Overall judgment		
	Raw	Roust	Raw	Roust	Raw	Roust	Raw	Roust	Raw	Roust	Raw	Roust	Raw	Roust	Raw	Roust	Raw	Roust	Raw	Roust	
Fatty acid	C140	-0.26	-0.40	-0.22	-0.36	-0.08	-0.22	-0.47	-0.63	-0.24	-0.34	-0.30	-0.22	-0.47	-0.44	-0.17	-0.09	0.15	0.27	-0.13	-0.09
	C141	0.12	0.07	0.17	0.11	0.23	0.22	-0.01	-0.05	0.29	0.31	0.09	0.28	0.04	0.13	-0.01	0.13	-0.25	-0.14	0.02	0.05
	C160	-0.31	-0.42	-0.27	-0.38	-0.22	-0.37	-0.44	-0.53	-0.40	-0.51	-0.41	-0.41	-0.54	-0.52	-0.30	-0.26	0.23	0.26	-0.18	-0.15
	C161	0.16	0.14	0.13	0.11	0.17	0.15	-0.01	0.01	0.23	0.22	0.17	0.25	0.24	0.24	0.17	0.23	-0.26	-0.21	0.13	0.11
	C180	-0.14	-0.12	-0.10	-0.10	-0.12	-0.11	-0.10	-0.13	-0.17	-0.20	-0.12	-0.13	-0.23	-0.24	-0.12	-0.09	0.29	0.28	-0.16	-0.13
	C181	0.27	0.38	0.23	0.34	0.14	0.29	0.46	0.54	0.26	0.38	0.29	0.29	0.46	0.45	0.19	0.17	-0.18	-0.22	0.12	0.12
	C182	0.11	0.18	0.07	0.16	0.13	0.21	0.09	0.23	0.36	0.42	0.40	0.26	0.40	0.35	0.35	0.18	-0.28	-0.39	0.29	0.15
	MP	-0.30	-0.37	-0.25	-0.33	-0.19	-0.30	-0.43	-0.49	-0.36	-0.43	-0.37	-0.32	-0.53	-0.48	-0.26	-0.19	0.28	0.31	-0.20	-0.14
	USS	0.29	0.36	0.25	0.34	0.20	0.32	0.40	0.47	0.35	0.45	0.33	0.31	0.49	0.45	0.25	0.19	-0.28	-0.31	0.20	0.13
	Fat	0.34	0.40	0.28	0.37	0.20	0.33	0.33	0.24	0.29	0.30	0.06	0.05	0.23	0.18	0.02	-0.06	-0.47	-0.47	-0.08	-0.28
Sugar, nucleic acid, amino acids	Gly	-0.03	-0.06	-0.01	-0.03	-0.07	-0.09	-0.02	0.04	0.08	0.06	0.00	0.09	0.10	0.14	-0.04	0.08	0.02	0.20	0.05	0.36
	Rib	-0.23	-0.19	-0.24	-0.17	-0.28	-0.23	-0.18	-0.13	0.03	0.03	0.19	0.08	0.17	0.12	0.21	0.10	0.24	0.25	0.27	0.43
	Fru Ma	-0.10	-0.15	-0.02	-0.04	0.07	0.03	-0.10	-0.09	0.04	0.08	0.10	0.08	-0.16	-0.14	-0.01	-0.01	0.24	0.33	0.15	0.45
	Glu	-0.12	-0.20	-0.11	-0.15	-0.10	-0.17	0.00	0.00	0.14	0.09	0.25	0.18	0.17	0.14	0.18	0.12	0.21	0.28	0.27	0.42
	Ino	0.32	0.29	0.27	0.28	0.16	0.18	0.30	0.34	-0.03	-0.05	-0.06	0.07	0.07	0.07	-0.23	-0.17	-0.24	-0.11	-0.43	-0.21
	Sugar	-0.13	-0.17	-0.11	-0.11	-0.12	-0.14	-0.05	-0.01	0.10	0.08	0.19	0.15	0.13	0.12	0.13	0.10	0.20	0.29	0.23	0.45
	IMP	-0.09	-0.14	-0.04	-0.09	0.19	0.16	-0.11	-0.17	-0.21	-0.25	-0.06	-0.11	-0.33	-0.36	0.07	0.07	0.48	0.48	0.08	0.13
	Hx	-0.10	-0.26	-0.10	-0.26	-0.23	-0.37	-0.06	-0.09	0.05	-0.05	0.04	0.04	0.11	0.07	-0.06	-0.04	-0.04	-0.02	0.01	0.16
	HxR	-0.22	-0.25	-0.15	-0.19	-0.12	-0.16	-0.05	-0.11	-0.07	-0.14	0.24	0.16	0.08	0.01	0.28	0.25	0.45	0.41	0.30	0.37
	Nucleic acids	-0.25	-0.42	-0.18	-0.35	-0.08	-0.20	-0.16	-0.26	-0.16	-0.31	0.07	0.00	-0.16	-0.26	0.11	0.13	0.54	0.57	0.19	0.37
	K value	0.04	0.05	0.00	0.01	-0.23	-0.24	0.10	0.12	0.18	0.18	0.08	0.09	0.31	0.33	-0.06	-0.07	-0.43	-0.44	-0.06	-0.08
	Gln	-0.13	-0.17	-0.10	-0.20	-0.27	-0.37	0.00	-0.05	0.00	-0.14	0.08	0.05	0.22	0.16	-0.13	-0.02	-0.11	-0.07	-0.12	0.08
	Car Ta	-0.24	-0.33	-0.22	-0.32	-0.16	-0.27	-0.12	-0.16	-0.26	-0.33	0.12	0.06	-0.07	-0.10	0.16	0.12	0.54	0.47	0.19	0.32
Others	-0.13	-0.17	-0.10	-0.20	-0.27	-0.37	0.00	-0.05	0.00	-0.14	0.08	0.05	0.22	0.16	-0.13	-0.02	-0.11	-0.07	-0.12	0.08	
Car Tau Ans	-0.25	-0.33	-0.23	-0.33	-0.18	-0.30	-0.11	-0.14	-0.26	-0.33	0.12	0.07	-0.08	-0.09	0.17	0.14	0.52	0.44	0.18	0.32	

Bold figures show significance at less than 5% level.

ルデヒド, 不飽和脂肪酸アルデヒド, 酸, ジテルペノイド, ベンズアルデヒドなどその他の成分を比較した結果をTable 3に示した。ラクトン類ではE, F, GがA, B, C, Dより有意に高い値を示した。また, ケトン類とアルコール類ではBが最も高い値を示した。さらに, 飽和脂肪酸アルデヒドではBが最も高く, 不飽和脂肪酸アルデヒドはEとGが他の銘柄牛よりも高い値を示した。酸類ではE, F, Gが他の銘柄牛より有意に高い値を, ジテルペノイドはF, Gが他の銘柄牛よりも高い値を示した。

Table 4には, 生肉と焼き肉の脂肪酸, 糖, 核酸物質およびアミノ酸各組成のうちいずれかがパネルテスト項目と有意な相関を示した成分のみを示した。脂肪酸では, 焼肉のC18:1およびUSSが「やわらかさ」と有意な正の相関を示し, 「多汁性」とは生肉, 焼肉ともに有意な正の相関を示した。さらに, 「悪い牛臭さ」と有意な正の相関を示したが, 「好ましい香り」との相関は低かった。次に, 糖, 核酸物質, アミノ酸との関連では, 焼肉の糖成分がパネルテストの「総合評価」と有意な正の相関を示した。一方で, 「好ましいう

Table 5 Coefficient of correlation between panel test and flavor components.

Component	Tenderness (First bite)	Tenderness (Chewing)	Fibrous feeling	Juiciness	Total texture	Good cattle aroma	Bad cattle aroma	Strength of flavor	Favorable taste	Overall judgment
Lactones	-0.239	-0.293	-0.378	0.014	-0.069	0.153	0.162	0.144	0.051	0.145
Ketones	-0.255	-0.247	-0.118	-0.417	-0.323	-0.326	-0.447	-0.12	0.27	-0.104
Alcohols	-0.07	-0.0792	-0.059	-0.304	-0.252	-0.335	-0.363	-0.173	0.118	-0.243
Aliphatic aldehydes (saturated)	-0.38	-0.373	-0.352	-0.407	-0.427	-0.373	-0.382	-0.213	0.141	-0.167
Aliphatic aldehydes (unsaturated)	-0.253	-0.2421	-0.284	-0.183	-0.062	-0.061	0.098	-0.005	0.042	0.044
Acids	-0.223	-0.214	-0.251	-0.057	0.078	0.221	0.283	0.183	-0.147	0.018
Diterpenoids	-0.186	-0.262	-0.329	-0.015	-0.074	0.288	0.354	0.128	-0.178	-0.038
Others	-0.296	-0.304	-0.284	-0.273	-0.133	-0.239	-0.109	-0.077	-0.152	-0.033

Bold figures show significance at less than 5%.

ま味」は生肉、焼き肉のイノシン酸、イノシン、核酸合計値、さらに、カルノシン+タウリン、カルノシン+タウリン+アンセリンと正の有意な相関を示した。最後に、生肉、焼き肉ともに脂肪割合は「好ましいうま味」と負の有意な相関を示し、脂肪割合が高いと「好ましいうま味」が感じられなくなることが示唆された。前述したように、脂肪割合と核酸関連物質は生肉で-0.895、焼き肉でも-0.835の相関が示され、脂肪割合が多くなると核酸関連物質の量が少なくなることが関連していると思われる。

Table 5 にはパネルテストと生肉の香気成分との相関を示した。パネルテストと正の相関を示した成分はジテルペノイドと「悪い牛くささ」だけであり、不飽和脂肪族アルデヒドは「やわらかさ」、「繊維感」、「多汁性」、「総合的食感」、「良い牛くささ」、「悪い牛くささ」といずれも負の有意な相関を示し、濃度が低い方がこれらの項目に好ましい影響を与えることが示唆された。さらに、ケトン類と、アルコール類も「悪い牛くささ」と負の有意な相関を示し、同様に濃度の低い方が好ましいことが示唆された。

以上、本研究の結果から、銘柄牛によりロース

肉中の脂肪酸組成、糖、核酸含量、アミノ酸組成、香気成分が異なることが明らかとなった。また、各成分の焼肉と生肉との相関は有意に高いが、パネルテスト項目と生肉あるいは焼肉の成分の相関は異なることが明かとなった。特に、パネルテストの「総合評価」に関しては焼肉の糖成分と核酸が有意に高い相関を示したこと、「好ましいうま味」に関しては、生肉と焼肉のイノシン酸など核酸関連物質とカルノシン、タウリン、アンセリン濃度が有意な正の相関を示した。これらの成分は牛肉の美味しさに関わる指標として重要であることが示唆された。

4. 要 約

黒毛和種牛肉の美味しさに関わる化学成分の指標を検討するため、6つの銘柄牛肉（A～F）についてパネルテストと化学成分の分析を行った。肉質等級「A4」以上、「雌」のサーロイン牛肉を5頭ずつ、合計35頭分を購入した。化学成分の分析はパネルテストと同じ条件で焼いた牛肉と生肉について行った。パネルテストと化学成分の分析の結果、ロース肉中の脂肪酸組成、糖、核酸含量、アミノ酸組成、香気成分が銘柄牛間で異なる

ことが明らかとなった。また、焼肉と生肉との相関は有意に高いが、パネルテスト項目と生肉あるいは焼肉とで相関が異なることが明らかとなった。特に、パネルテストの「総合評価」に関しては焼肉の糖成分と核酸成分が有意な相関を示した。「好ましいうま味」に関しては、生肉と焼肉のイノシン酸など核酸関連物質とカルノシン、タウリン、アンセリン濃度が有意な正の相関を示し、牛肉の美味しさに関わる指標として重要であることが示唆された。

謝 辞

本研究を進めるに当たり、糖、核酸関連物質、アミノ酸組成の分析に協力頂いた山形県総合農業

研究センター畜産試験場主任専門研究員庄司則章様、研究員小松智彦様に感謝いたします。

文 献

- 1) 家畜改良センター：全国域での種雄牛および繁殖雌牛の遺伝的能力の推移について、家畜改良センター、2012.2.28. <http://www.nlbc.go.jp/pdf/data/trend23s.pdf>
- 2) 松石昌典：牛肉のおいしさに貢献する香り、栄養生理研究会報、53、39～46、2009.
- 3) 佐久間弘典、斉藤薫、曾和拓、浅野早苗、小平貴都子、奥村寿章、山田信一、河村正：黒毛和種肥育牛の胸最長筋における官能特性に及ぼす粗脂肪含量と脂肪酸組成の影響について、日本畜産学会、83、291～299、2012.
- 4) 鈴木啓一、横田祥子、飯田文子：試食パネルによる黒毛和種牛肉の肉質等級、脂肪酸組成と食味性との関連に関する研究、平成22年度食肉に関する助成研究調査成果報告書、VOL29、60～67、2011.

追 記：

昨年度（平成23年度）の報告書について下記のように訂正いたします。

訂正箇所：

Table 2 Textureの3, 4, 6段目の数値を太字から細字へ。Flavの2, 7, 8, 9段目のgを削除。

Table 3 Goodの3, 5段目の数値を細字から太字へ。

Table 2 Partial correlation coefficients from error between panel test and fatty acids composition

	Mean	SD	Texture	Good	Bad	Flav	Taste	Overall
c 140	2.59	0.44	0.38	0.12	0.04	-0.12	0.00	0.05
c 160	26.27	2.21	0.50	0.12	0.06	-0.34	-0.10	-0.04
c 161	4.07	0.91	0.02	0.10	-0.01	0.25	0.15	0.15
c 180	11.65	1.96	0.05	0.00	0.06	-0.10	-0.07	-0.01
c 181	53.11	2.93	-0.51	-0.10	-0.06	0.28	0.12	0.02
c 182	2.31	0.6	0.00	-0.22	-0.11	0.00	-0.19	-0.18
SFA	40.51	3.38	0.44	0.11	0.08	-0.32	-0.11	-0.03
MUFA	57.18	3.37	-0.45	-0.06	-0.06	0.32	0.15	0.07
RATIO	1.43	0.2	-0.44	-0.07	-0.07	0.28	0.11	0.04

Texture: Total texture, Good: Good cattle aroma, Bad: Bad cattle aroma, Flav: Strength of flavor, Taste: Favorable taste, Overall: Overall judgment

SFA: Saturated fatty acids, MUFA: Mono-unsaturated fatty acids, RATIO: MUFA/SFA, Bold figure shows significant coefficient of correlation at 5%. DF=48

Table 3 Partial correlation coefficients from error between panel test of aroma and volatile compounds.

	Mean	SD	Good	Bad	Flav
Lactones	27.4	15.2	0.08	-0.14	-0.29
Ketones	78.7	36.6	-0.19	-0.06	0.13
Alcohols	5.1	1.8	-0.34	-0.15	0.17
Aliphatic aldehydes (saturated)	318.8	125.2	-0.28	-0.06	0.10
Aliphaticaldehydes (unsaturated)	153.8	74.5	-0.34	-0.17	0.03
Acids	4.1	0.9	0.06	0.10	-0.04
Diterpenoids	60.0	22.0	0.17	0.30	0.18

Good: Good cattle aroma, Bad: Bad cattle aroma, Flav: Strength of flavor, Bold figure shows significant coefficient of correlation at 5% DF = 42

受精能の良好なブタ精液の精子核クロマチン性状に基づく迅速かつ簡便な評価技術の開発

Development of a quick and simple procedure for evaluating the fertilizing ability of boar sperm based on the properties of sperm nuclear chromatin

高坂 哲也¹・王 軍¹・藤井 栄治¹・皆川 至¹
桑原 康²・番場 公雄¹・柴田 昌利³

(¹静岡大学農学部動物生殖生理学・²富士農場サービス・³静岡県畜産技術研究所中小家畜研究センター)

Tetsuya Kohsaka¹, Jun Wang¹, Eiji Fujii¹, Itaru Minagawa¹,
Yasushi Kuwabara², Kimio Bamba¹, Masatoshi Shibata³

(¹Laboratory of Animal Reproduction & Physiology, Faculty of Agriculture, Shizuoka University,

²Fuji Nojo Service, ³Shizuoka Swine and Poultry Experimental Station)

The prediction of male fertility is an important aspect of livestock production. Until now, a routine semen analysis including sperm motility and morphology is widely used as a fundamental indicator of male fertility. However, it does not provide precise information about the fertilizing capacity of sperm, because fertilization sometimes occurs even in the presence of abnormal semen analysis. In addition, there is an event of semen with low fertility, though there is little apparent overall difference on a routine semen analysis. Therefore, we developed a simple procedure for evaluating the fertilizing ability of boar sperm based on the properties of acridine orange (AO), which fluoresces green when bound to intact, double-stranded DNA and yellow or red when bound to denatured DNA (single-stranded). Sperm-rich ejaculate fractions were collected from each of 9 mature boars which were assigned to fertile (n = 5) and subfertile (n = 4) groups based on conception rates after natural mating or artificial insemination. Semen quality of both groups was within the normal ranges in a routine semen analysis. When AO staining after DNA denaturation was carried out on sperm smears, in fertile semen the percentage of yellow or red-fluorescing sperm heads remained low (3%), indicating that the majority of sperm heads contained a chromatin resistant to denaturation. In subfertile semen a high percentage of yellow or red-fluorescing sperm heads was found (37%), revealing the presence of cells whose chromatin was sensitive to denaturation. In addition, AO data was well reflected in *in vitro* fertilization rates, which were significantly higher ($P < 0.01$) in fertile semen than subfertile semen (72% vs. 4%). From these findings, therefore, it is possible that increased susceptibility to denaturation causes decreased structural stability of sperm nuclear chromatin, suggesting that the AO staining method could be a useful tool for diagnosing subfertile boars.

1. 目的

ブタの人工授精の普及率は年々高まり、平成21年度には約44%の農場で人工授精が行われている¹⁾。普及率向上の要因としては、精液の保存および利用技術の改良に加え、生産性の改善、疾病の蔓延防止等への有効性が認識されたこと、宅配便を利用することにより、精液性状を良好に維持しながら全国に輸送することが可能となったことなどがあり、ブタ人工授精のボトムアップに拍車を掛けてきた。

人工授精に供する精液は、良好な運動能を維持する精子を十分に含み、精子の形態に異常が少なく、受胎性が優れていることが要求される。しかし最近、精子の形態や活力は正常であるが、受胎成績の極めて悪い精液（以下、低受胎精液と呼ぶ）の事例も少なくない。これは現行の精液検査（精子活力、濃度、形態検査など）では、正常精液の範疇に入ってしまう、検出することは困難なためである。そのため、低受胎精液の問題は家畜の受胎率低下を加速させる雄側要因の一つと考えられる。従って、このような精液を早期に判定できる診断技術の開発に期待がもたれている。

精子の受精能力は精巣で作られた精子が精巣上体を通過中に付与され、精子の成熟過程と呼ばれている²⁾。この過程では、受精能力の付与に併せて、精子核のクロマチンが凝縮して構造的に安定となる。しかし、何らかの要因で、精子核クロマチンの構造安定性が低下すると、精子の受精能や受胎成績が著しく低下することがヒトの研究で指摘されてきた³⁻⁵⁾。

そこで本研究では、核クロマチンに簡単に取り込まれ、クロマチンの性状により異なる蛍光色を発するアクリジンアレンジ蛍光プローブに着目し、DNA変性負荷と組み合わせて、ブタ精子核クロマチンの性状を顕微鏡レベルで簡便かつ高精

度に判定できる評価法を開発し、受精能の良好なブタ精液のみを評価する新しい家畜生産技術を開発する。

2. 方法

2.1 精液の採取と凍結

ブタ精液には、デュロックまたはランドレース種より、正常な受胎成績を示す雄豚5頭と低い受胎成績のもの4頭から採取して用いた。精液は一般精液性状検査（精子活力、濃度、形態検査）を行った後、凍結精液を常法に従って作製し^{6,7)}、液体窒素中に保存して実験に供した。

2.2 精子塗抹標本の作製

凍結精液は37℃に暖めておいたBTS (Beltsville thawing solution)⁷⁾を加えて融解させた後、TNE緩衝液（0.01 M Tris-HCl, 0.15 M NaCl, 1 mM EDTA, pH7.4）で3回遠心洗浄し、同緩衝液で 1×10^7 cells/mlに懸濁した後、スライドガラスに塗抹した。

2.3 変性負荷処理とアクリジンオレンジ (AO) 染色

精子塗抹標本はHCl, Triton X-100からなる低pH・非イオン界面活性剤に浸漬して70分間の変性負荷処理を施した後、AO染色液（Sigma, St. Louis, MO, USA）で10分間染色した。

2.4 検鏡

AO染色標本は460~490nmの励起フィルター、515nmのバリアーフィルターを用いて蛍光顕微鏡（BX-50；OLYMPUS, Tokyo, Japan）で観察した。1標本あたり約2000精子を調べ、緑、黄、赤の蛍光色に分類した。緑の蛍光はDNA変性を受けなかった精子、黄と赤はDNA変性を受けた精子として評価した。観察した全精子に対する黄および赤の蛍光色を示す精子の割合を変性率として表した。

2.5 体外受精による検証

(1) 卵丘-卵母細胞複合体の採取と体外成熟

未成熟豚の卵巣より直径2～5mmの胞状卵胞から注射器で卵母細胞を吸引し、Hepes-TALP液 (Tyrode-Albumin-Lactate-Pyruvate)-PVA (Polyvinyl alcohol) に集め、実体顕微鏡下で卵丘・卵母細胞複合体 (COC) を回収した。COCは30～40個を一群として流動パラフィンで覆った成熟培地内で44～46時間、成熟培養した。なお、一連の体外受精操作は我々の方法に順じた⁸⁾。

(2) 卵丘細胞の除去

成熟培養後、0.1%ヒアルロニダーゼ (Sigma, St. Louis, MO, USA) を含む生理的食塩水を成熟培地に添加し、ピペッティングにより膨潤化した卵丘細胞を完全に除去した。受精培地m-BOで洗浄した後、受精培地に20個の卵子を一群として導入した。

(3) 精子の調製と体外受精

ブタ凍結精液を融解し、生存率をSperm Viability Kit (Molecular Probe, Eugene, OR, USA) で計測した後、受精培地m-BOで生存精子数を 1×10^6 /mlに調製し、卵子を導入した受精培地に添加した。媒精6時間後に、卵子を発生培地m-NCSU-23に移し、ピペッティングにより卵子周辺に付着した精子を除去し、さらに12時間培養した。

(4) 成熟と受精の判定

媒精18時間後、卵子は酢酸メタノール、1%アセトオルセイン染色を施し、微分干涉顕微鏡で観察した。成熟の判定は、第一極体と第二減数分裂中期に達した卵子を成熟卵子とした。受精の判定は、雄性前核形成能に基づき、雄性前核が見られる成熟卵子を受精卵として受精率を算出した。

2.6 統計処理

一元配置分散分析法とアスピン・ウエルチのt-検定で行った。

3. 結果と考察

本研究では、DNA変性負荷とアクリジンオレンジ (AO) 染色を組み合わせて、受精能の良好なブタ精液の精子核クロマチンの性状を顕微鏡レベルで簡便かつ高精度に判定できる評価法を開発した。

研究に用いたAOは、変性を受けていない2本鎖DNAに対してモノマーとして塩基対間にインターカレートし蛍光顕微鏡下で緑色を呈し、一方、変性を受けた1本鎖DNAに対しては負に電荷を帯びたDNAのリン酸基にイオン結合してポリマーを形成し、黄から赤色の蛍光を発する特性を有している^{9, 10)}。われわれはこのAOの特性に注目し、ブタ精子核クロマチンの性状評価法を開発した (Fig. 1)。本法の特徴は精子塗抹標本に対してDNA変性負荷を行った後に、AO染色を施し、DNA変性ストレスに対する感受性の程度によりブタ精子核クロマチンの性状を評価するものである。とくに、DNA変性負荷処理として用いた低pH条件により精子核DNAの変性が強く誘起され、また非イオン界面活性剤により細胞膜の透過性を高めてAO染色液の細胞内への取り込みが促進され、その結果、検出効率が増大し、信頼できる評価法を開発できたと考える。このことは、本アッセイの精度によく表れており、アッセイ内変動係数が9.8%、アッセイ間変動係数が10.1%であったことから、非常に精度の高い評価法といえることができる。

本研究に用いた精液は、ブタの正常精液と受胎成績の悪い精液 (低受胎精液) の2種類である。これら精液を精子活力、濃度および形態検査に基づく現行の精液検査法で調べたところ、精液性状には両者の間で差がなく、いずれも正常精液の範疇に入ってしまう、現行の精液検査法では正常精液と低受胎精液を区別することはできない。

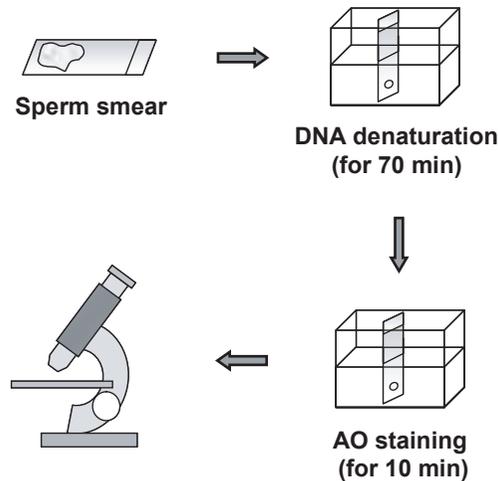


Fig. 1 Acridine orange (AO) staining combined with denaturation stress by low pH and nonionic detergent.

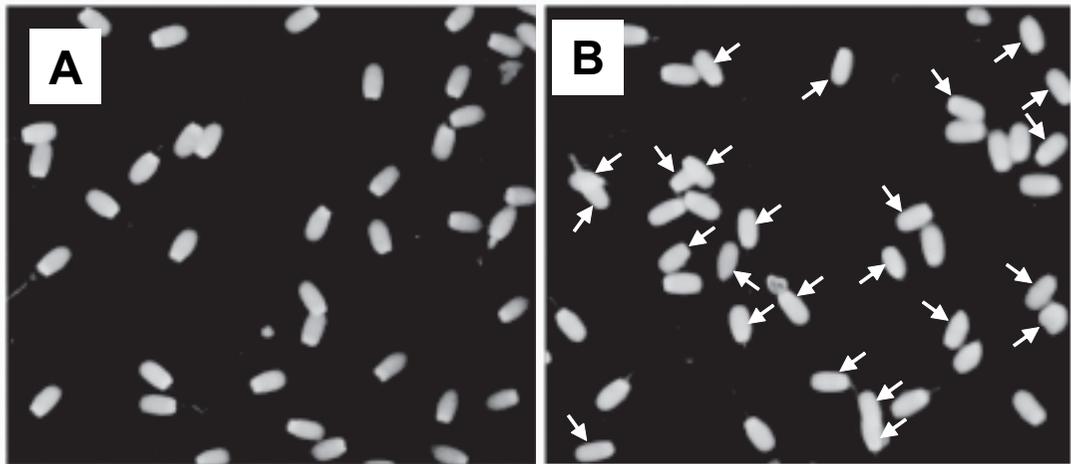


Fig. 2 AO staining patterns of sperm nuclei in fertile and subfertile boar semen. A, Fertile semen. Most of the sperm heads fluoresced green. B, Subfertile semen. Subfertile semen contained an increased yellow/red-fluorescing sperm heads (arrows) in comparison with fertile semen. Scale bars in A and B = $20\ \mu\text{m}$.

しかし、本研究で開発したAO評価法でこれらの精液を解析した結果、正常精液では、ほとんどの精子頭部が緑色に染色されたのに対し、低受精精液では赤や黄色に染まった精子頭部（矢印）が多く観察され、多くの精子核がDNAの変性を受けていることが分かった（Fig. 2）。次に、観察した全精子（約2000細胞）に対して黄および赤の蛍光色を発する変性精子の割合を変性率として算出した結果、正常精液（ $n = 5$ ）において変性率

（ \pm SEM）は $3.0 (\pm 0.4) \%$ と極めて低い値を示したのに対して、低受精精液（ $n = 4$ ）では $36.9 (\pm 5.5) \%$ と有意に高い値を示し（Fig. 3）、ブタ低受精精液の精子核クロマチンがDNA変性ストレスに対して抵抗性が著しく低下し、クロマチンの構造安定性が著しく低下していることが判明した。さらに、精子核クロマチンの構造安定性の低下が実際に受精率の低下を反映しているか否か体外受精で検証を行った。その結果、正常精液の受

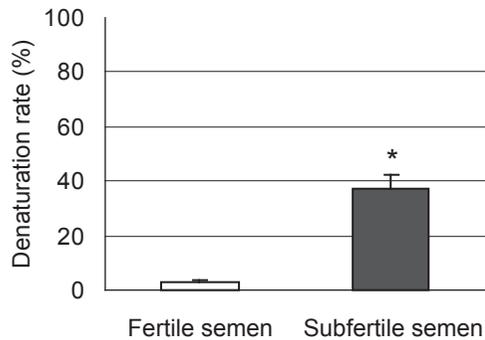


Fig. 3 Comparison of stability of the sperm nuclear chromatin to denaturation stress between fertile and subfertile groups. Denaturation rate of sperm nuclear chromatin in subfertile semen was significantly higher than that in fertile semen, revealing a decreased structural stability of sperm nuclear chromatin in subfertile. Results are means \pm SEM. $P < 0.01$ was considered statistically significant.

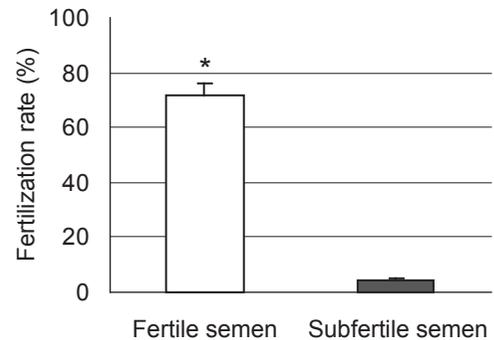


Fig. 4 Assessment by in vitro fertilization. A decrease in stability to denaturation treatment of sperm nuclear chromatin in subfertile semen was well reflected in IVF rates, which were significantly lower in subfertile semen than fertile semen (4 % vs. 72 %). Results are means \pm SEM. $P < 0.01$ was considered statistically significant.

精率 (\pm SEM) は72.0 (\pm 3.8) %と高い値を示したが、低受精精液のそれは4.1 (\pm 1.3) %と有意に ($P < 0.01$) に低い値を示し (Fig. 4), AO染色による精子核クロマチンの構造安定性の低下は受精率低下によく反映されていることが明らかとなった。これまでに、同様の見解はヒト精子でも認められ、妊孕性のある男性の精液は不妊患者のそれと比べて緑色蛍光を示す精子を有意に高い割合で含んでいることが報告されている^{3, 4)}。さらに、ヒトの精子核クロマチンの安定性が受精能力と強い相関のあることも指摘されてきた^{5, 11)}。従って、本研究から得られたブタの知見やこれまでのヒトの見解を考え合わせると、精子核クロマチンの構造安定性は精子の受精 (胎) 能を司るキーファクターである可能性は大といえる。

一般に正常精子では、精子成熟段階で核蛋白プロタミンに存在する多数のチオール基が酸化されてジスルフィド結合を形成し、精子核クロマチンの安定性をもたらす、凝縮を引き起こすことが知られている¹⁾。さらに、その強固な精子核は卵子透明帯の侵入に必要であることが以前から指摘さ

れてきた¹²⁾。従って、本実験のブタ低受精精液で見出された精子核クロマチンの構造安定性の著しい低下は、プロタミンのジスルフィド結合の不均一性または減少を示唆するものと考えられる。事実、ハムスターやヒトの正常精子でジスルフィド結合を解離させると、精子核クロマチンはAOで赤色となり、構造安定性の低下が誘起されることが報告されている¹³⁾。従って、今後はジスルフィド結合も視野に入れた受精率低下要因の解明に取り組む必要があるものと考えられる。

以上のことから、本研究では受精能の良好なブタ精液の精子核クロマチン性状に基づく迅速かつ簡便な評価法を開発できた。本法は、高度な技術や特殊機器を必要とせず、再現性や精度に優れ、試薬も安価であるなどの利点を有していることから、家畜生産の現場での日常の検査法として簡便に行える精子核クロマチン評価法として有用であると考えられる。

4. 要 約

本研究では、核クロマチンに簡単に取り込まれ、クロマチンの性状により異なる蛍光色を発す

るアクリジンアレンジに着目し、DNA変性負荷と組み合わせて、ブタ精子核クロマチンの性状を顕微鏡レベルで簡便かつ高精度に判定できる評価法を開発した。本法により、ブタ正常精液と受胎成績の悪い精液の間で、精子核クロマチンの構造安定性に明らかに違いのあることが見出され、体外受精成績によく反映していることを確認した。本法は、高度な技術や特殊機器を必要とせず、再現性や精度に優れ、試薬も安価であるなどの利点を有していることから、生産現場で問題となっている受胎成績の悪いブタ精液の未然防止策に使用でき、受精能の良好なブタ精液のみを選別できる新しい受胎性診断技術と考える。

文 献

- 1) 日本養豚協会：平成21年度養豚基礎調査全国集計結果，1～33，2009.
- 2) 高坂哲也：動物生殖学(佐藤英明編)，初版，41～67，2003.
- 3) Tejada RI, Mitchell JC, Norman A, Marik JJ, Friedan S : *Fert Steril*, **42** : 87～91.
- 4) Sukcharoen N : *J Med Assoc Thai*, **78** : 82～87, 1995.
- 5) Spanō M, Bonde JP, Hjøllund HI, Kolstad HA, Cordelli E, Leter G : *Fertil Steril*, **73** : 43～50, 2000
- 6) Pursel VG, Johnson LA : *J Anim Sci*, **40** : 99～102, 1975.
- 7) Bamba K, Cran DG : *J Reprod Fertil*, **82** : 509～518, 1988.
- 8) Toung-Joon H, Miah AG, Yoshida M, Sasada H, Hamano K, Kohsaka T, Tsuji I : *J Reprod Dev*, **52** : 657～662, 2006.
- 9) Yamabe S : *Arch Biochem Biophys*, **130** : 148～155, 1969.
- 10) Ichimura S : *Biopolymers*, **14** : 1033～1047, 1975.
- 11) Liu DY, Baker HW : *Hum Reprod*, **22** : 1597～1602, 2007.
- 12) Bedford JM, Calvin HI : *J Exp Zool*, **188** : 137～156, 1974.
- 13) Kosower NS, Katayose H, Yanagimachi R. : *J Androl*, **13** : 342～348, 1992.

暑熱環境時の豚の摂食行動における神経ヒスタミンの生理的役割

Physiological role of neuronal histamine on feeding behavior of pigs
at high environmental temperature

井上 寛 暁・松本 光 史・山崎 信

(九州沖縄農業研究センター)

Hiroaki Inoue, Mitsuhiro Matsumoto, Makoto Yamazaki

(Kyushu Okinawa Agricultural Research Center)

The present study was conducted to determine the role of hypothalamic histamine on feeding behavior and thermoregulation at high environmental temperature in pigs. In the first experiment, pigs were reared for 1 week in either 22°C or 30°C environments and histamine concentration in the hypothalamus was compared between the two temperature treatments. Results from this experiment revealed that histamine content in the pig hypothalamus was higher at 30°C compared to that at 22°C environment. In the second experiment, to clarify the roles of endogenous histamine on appetite and body core temperature regulation, we administered histamine H1 receptor antagonist to pigs at high (32°C) ambient temperature. Peripheral administration of histamine H1 receptor antagonist, chlorpheniramine maleate (CPA), induced a rise in abdominal temperature. Feed intake was decreased in CPA-treated pigs compared to controls. The results of the present study suggest that histamine possess the hypothermic action and increase of histamine concentration in the hypothalamus appears to be an important factor contributing to thermoregulation under high environmental temperature. Since administration of H1 receptor antagonist failed to increase feed intake, hypothalamic histamine may not be the main factor in an appetite reduction at high ambient temperature.

1. 目 的

豚は環境温度の上昇に対し生体機能を維持できる範囲に深部体温を保つために、自律性および行動性の体温調節反応を起こす。夏期の高温環境でみられる飼料摂取量の低下もその一つであり、摂食に伴う熱産生を抑えることで深部体温の上昇を防いでいる。しかし、この摂食低下の機序には未解明な面が多く残されている。すなわち、摂食調

節中枢と体温調節中枢の間には密接な相互連絡が存在すると考えられるが、どのような作用機序により生体の体温情報が摂食調節中枢に伝達されて摂食量が決定しているのかは明らかにされていない。

これまでの研究から、動物種により反応は異なるものの生体アミンが体温調節に関与することがその投与実験から明らかにされている¹⁾。その中でもヒスタミンは体温および摂食調節中枢がある

視床下部に高濃度で存在し²⁾、その濃度は環境温度の上昇に应答して増加すると報告されている³⁾。さらに、ヒスタミンをラットの中樞へ投与すると、体温が降下し^{4, 5)}、摂食行動が抑制され⁶⁾、さらに飲水行動が亢進する⁷⁾。これらヒスタミン作用は、暑熱時にみられる豚の体温調節行動そのものであり、ヒスタミンが暑熱時の体温および摂食調節機序に深く関与している可能性がある。そこで本研究では、肥育豚を用いて暑熱環境下におけるヒスタミンの生理作用を検討することを目的とした。具体的には、視床下部におけるヒスタミン濃度は暑熱と常温環境で変化するのかを調べた。また、暑熱環境下の肥育豚にヒスタミン受容体拮抗剤を投与して、内因性ヒスタミンの作用を阻害した際の深部体温および摂食量への影響を調べた。

2. 方 法

動物実験はすべて独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構の動物実験指針に則って計画し、九州沖縄農業研究センター動物実験委員会の承認を得て行った。

2.1 暑熱環境が肥育豚の視床下部ヒスタミン濃度に及ぼす影響

母豚2腹の産子であるLWD交雑種去勢雄豚(平均体重71.9kg)10頭を用いた。供試豚を腹および体重に基づいて2区に分け、室温22℃一定(常温区, n = 5)あるいは30℃一定(暑熱区, n = 5)に空調制御した単飼豚房に収容した。トウモロコシと大豆粕を主体とした肥育後期豚用飼料を用い、毎日午前10時と午後5時の2回に分けて飽食となる量を給与し、飲水は自由とした。試験開始1週間後に豚をと畜して、視床下部を採取し、ヒスタミン濃度を測定した。視床下部の摘出範囲は、吻側を視交叉、尾側を乳頭体、左右は視床下溝とし、分析まで-80℃で凍結保存した。ヒ

スタミン濃度の測定には、ヒスタミンELISAキット「イムノテック」(IM-2562, (株)医学生物学研究所)を用いた。

2.2 暑熱時の肥育豚へのヒスタミンH1受容体拮抗剤投与が深部体温および摂食量に及ぼす影響

母豚2腹の産子であるLWD交雑種去勢雄豚(実験開始時の平均体重77.1kg)9頭を用いた。トウモロコシと大豆粕を主体とした肥育後期豚用飼料を用い、毎日午前10時と午後4時の2回に分けて飽食となる量を給与し、飲水は自由とした。試験開始前に、豚の深部体温を測定するために既報の方法⁸⁾で温度データロガー(サーモクロンSLタイプ, (株)KNラボラトリーズ)を腹腔深部に装着した。術後、室温22℃一定に空調制御した単飼豚房に豚を収容し、2週間の回復期間を経た後、室温を32℃に上げて試験を開始した。供試豚を腹および体重に基づいて3区に分け、暑熱開始1週目にヒスタミンH1受容体拮抗剤をそれぞれ0, 0.5および5.0mg/kgBW(各区n = 3)の用量で頸部に筋肉内投与した。ヒスタミンH1受容体拮抗剤には、(+)-αクロルフェニラミンマレイン酸塩(CPA)(和光純薬工業(株))を用いた。ヒスタミンH1受容体拮抗剤投与後1, 3, 6および24時間の飼料摂取量を計測した。また、投与後24時間にわたって深部体温の変動を解析した。暑熱開始2週目に豚を一晩絶食させ、3区の豚に再度、同用量のヒスタミン受容体拮抗剤を筋肉内投与し、絶食下における深部体温の推移を観察した。

2.3 統計処理

測定値は平均±標準誤差で示した。2群間の比較はunpaired Student's t-testで行った。3群間の比較は一元配置分散分析を行い、有意差が認められた場合はTukeyの多重比較検定を行った。これらの統計処理には、PASW Statistics18(エス・

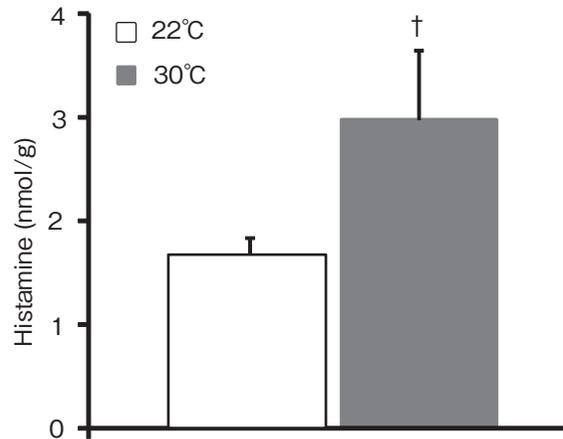


Fig.1 Hypothalamic histamine concentration in pigs at 22°C and 30°C environments. Values are the mean \pm SEM of 5 animals. † P = 0.06.

ピー・エス・エス (株) を用い、危険率 5 % 未満の場合に有意差があるものと判定した。

3. 結果と考察

3.1 暑熱環境が肥育豚の視床下部ヒスタミン濃度に及ぼす影響

神経ヒスタミンは中枢神経系で神経伝達物質として機能する生体アミンである。ヒスタミン神経系は後部視床下部の結節乳頭核に起始細胞があり、脳内の様々な神経核に投射繊維を送っている。特に、摂食調節の中枢である視床下部腹内側核や室房核、体温調節の中枢である視索前野へは密な繊維連絡があることから⁹⁾、ヒスタミンが体温あるいは摂食調節に関与していると考えられる。そこで、これらの神経核が存在する視床下部中のヒスタミン濃度が、常温と暑熱環境で飼養した豚で異なるのか比較した。

試験期間中の平均室温は常温区、暑熱区の順に 21.7 ± 0.9 , $29.7 \pm 1.7^\circ\text{C}$ 、相対湿度は 50.7 ± 9.4 , $57.1 \pm 5.3\%$ であった。飼料摂取量および日増体量はともに暑熱区で低い値となったが、統計的に有意な差は認められなかった (飼料摂取量: $3.18 \pm$

0.36 vs. $2.95 \pm 0.19\text{kg}/\text{日}$ 、日増体量: 1.03 ± 0.14 vs. $0.95 \pm 0.05\text{kg}/\text{日}$)。常温区および暑熱区の肥育豚の視床下部ヒスタミン濃度を Fig. 1 に示す。視床下部ヒスタミン濃度は常温区で $1.44 \pm 0.21\text{nmol/g}$ であったのに対し、暑熱区では $3.00 \pm 0.67\text{nmol/g}$ であり、約 2.1 倍に上昇していた (P = 0.06)。

Fujimoto ら³⁾ はラットを室温 4, 21 および 31°C で飼育すると、環境温度にตอบสนองして視床下部ヒスタミン濃度が増加し、室温 31°C で最も高くなると報告しており、本研究結果と一致した。

3.2 暑熱時の肥育豚へのヒスタミン H1 受容体拮抗剤投与が深部体温および摂食量に及ぼす影響

暑熱環境で飼養した肥育豚の視床下部ヒスタミン濃度は、常温環境と比較して約 2.1 倍に増加していた。そこで次に、このヒスタミン濃度の上昇が体温および摂食に対してどのような役割を果たしているのかを明らかにするために、暑熱環境下の肥育豚にヒスタミン H1 受容体拮抗剤である CPA を投与した。

試験期間中の平均室温は $31.2 \pm 0.6^\circ\text{C}$ 、相対湿度

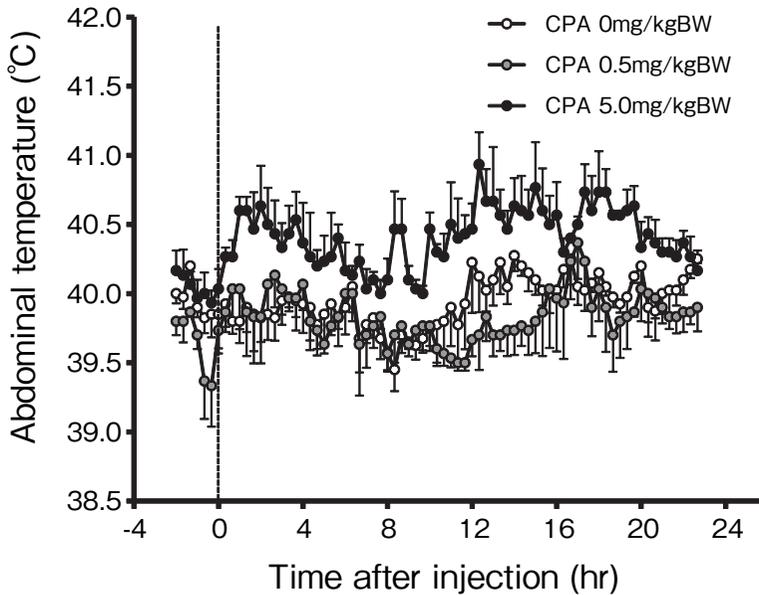


Fig. 2 Changes in abdominal temperature after administration of chlorpheniramine maleate (CPA) in fasting pigs at 32°C environment. Values are the mean \pm SEM of 3 animals.

は $62.8 \pm 5.5^\circ\text{C}$ であった。Fig. 2 に絶食条件下におけるCPA投与後の深部体温の推移を示す。5.0mg/kgBWのCPA投与により深部体温は上昇し、投与後24時間にわたって0 mg/kgBW区より高い値を維持した。投与後24時間の深部体温の平均は0, 5.0mg/kgBW区の順に 39.9 ± 0.1 , $40.4 \pm 0.1^\circ\text{C}$ であり、5.0mg/kgBW区で約 0.5°C 高くなる傾向がみられた ($P = 0.08$)。0.5mg/kgBW区の平均深部体温は $39.8 \pm 0.1^\circ\text{C}$ であり、0 mg/kgBW区との間に有意な差はみられなかった。

ヒスタミンの体温調節作用に関する研究は多くの動物種で報告されている¹⁾。中枢へのヒスタミン投与は、マウス¹⁰⁾、ラット⁴⁾、ウサギ¹¹⁾、ハト¹²⁾で体温の低下を引き起こし、ネコでは体温降下後に上昇するといった二相性を示す¹³⁾。また、BrezenoffとLomax⁴⁾は、ヒスタミンの中枢投与による直腸温の低下は、ヒスタミンH1受容体拮抗剤の前投与により消失したと報告している。本

実験では視床下部ヒスタミン濃度が上昇する暑熱環境下で、CPAを5.0mg/kgBWの用量で投与してヒスタミン作用を阻害したところ深部体温が上昇した。これは、他の動物種と同様に豚でも内因性のヒスタミンがH1受容体を介して深部体温の降下に寄与している可能性を示唆している。

しかし、本実験ではCPAを末梢投与していることから、末梢組織でのH1受容体阻害による影響を排除できない。暑熱環境では皮膚血管が拡張し、体表面を流れる血流量が増加することで体熱が効率的に体外に放散され、体温が降下するが、この皮膚血管の拡張にヒスタミンが一部関与するらしい。Wongら¹⁴⁾は、皮内マイクロダイアリス法を用いてヒトの前腕にH1受容体拮抗剤であるピリルアミンを投与すると、全身加温による皮膚血流量の増加が減弱したと報告している。従って本実験では、投与したCPAのうち一部は皮膚血管に直接作用し、血管の拡張が阻害されたこと

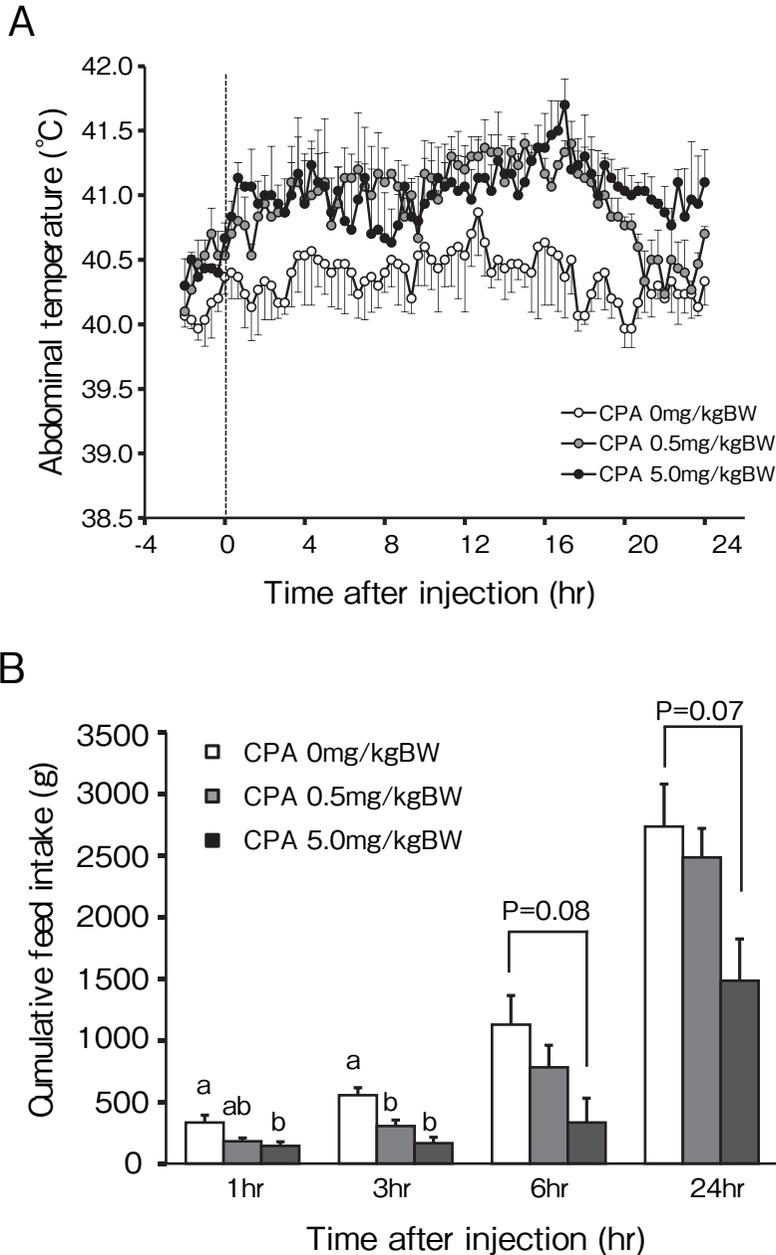


Fig.3 Changes in abdominal temperature (A) and cumulative feed intake (B) after administration of chlorphenilamine maleate (CPA) in ad libitum-fed pigs at 32°C environment. Values are the mean \pm SEM of 3 animals.

により深部体温の上昇を招いた可能性が考えられる。しかし、いずれにしてもヒスタミンは暑熱時の体温降下に寄与しているものと推察された。

次に、飽食条件下におけるCPA投与後の深部体温をFig. 3 Aに示す。CPAの0.5および5.0mg/kg

BW投与により深部体温は上昇し、いずれも投与後24時間に渡って0 mg/kgBW区より高い値で推移した。投与後24時間の深部体温の平均は0, 0.5 および5.0mg/kgBW区の順に 40.4 ± 0.2 , 41.0 ± 0.1 , $41.0 \pm 0.2^\circ\text{C}$ であり、0 mg/kgBW区と比較して0.5

および5.0mg/kgBW区で約0.6℃高くなった ($P < 0.05$)。この時の各区の飼料摂取量をFig. 3 Bに示す。CPA投与により飼料摂取量は減少した。0 mg/kgBW区と比較して0.5mg/kgBW区では投与後3時間目まで累積摂食量の減少がみられた ($P < 0.05$)。5.0mg/kgBW区ではCPA投与後24時間においても累積摂食量の低下がみられ、0 mg/kgBWの54%であった ($P = 0.07$)。

ラットでは、中枢へのヒスタミン投与により摂食量が低下すると報告されている⁶⁾。逆に、ヒスタミン合成酵素の自殺基質である α -フルオロメチルヒスチジンを脳室内に投与して視床下部ヒスタミンを枯渇させると、摂食量が増加する¹⁵⁾。また、ヒスタミンH1受容体拮抗剤の脳室内投与は摂食量を増加させると報告されている¹⁶⁾。本実験ではヒスタミンH1受容体拮抗剤であるCPA投与により摂食量が逆に低下した。この相違については本実験からは明らかにできない。上記ラットにおける報告はいずれも常温環境で得られた結果であることから、暑熱環境では反応が異なるのかもしれない。しかし、CPA投与によりヒスタミン作用を阻害しても摂食量が増加しなかったことから、豚においては視床下部ヒスタミンは高温環境時にみられる摂食低下に寄与していない可能性が示唆された。

4. 要 約

本研究では、高温環境下の豚の摂食行動および体温調節に及ぼすヒスタミンの役割を明らかにすることを目的とした。実験1では、豚を22℃あるいは30℃環境で1週間飼育し、視床下部ヒスタミン濃度を両区で比較した。その結果、豚の視床下部ヒスタミン濃度は22℃環境と比較して30℃で高いことが明らかとなった。実験2では、食欲および体温調節における内因性ヒスタミンの生理的役割を明らかにするために、高温 (32℃) 環境の豚

にヒスタミンH1受容体拮抗剤を投与した。ヒスタミンH1受容体拮抗剤であるクロルフェニラミン (CPA) の末梢投与は深部体温の上昇を引き起こした。飼料摂取量はCPA投与により減少した。以上の結果から、ヒスタミンは体温降下作用を有し、暑熱環境下における視床下部ヒスタミン濃度の上昇は深部体温の調節維持に寄与しているものと考えられた。また、H1受容体拮抗剤の投与により摂食量が増加しなかったことから、暑熱時にみられる摂食量の低下にヒスタミンは関与しない可能性が示唆された。

文 献

- 1) Clark W.G. and Clark Y.L.: *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 4, 175~240, 1980.
- 2) Oishi R., Nishibori M., and Saeki K.: *Brain Reserch*, 280, 172~175, 1983.
- 3) Fujimoto K., Sakata T., Ookuma K., Kurokawa M., Yamatodani A., Wada H.: *Experientia*, 46, 283~285, 1990.
- 4) Brezenoff H.E. and Lomax P.: *Experientia*, 26, 52~53, 1970.
- 5) Cox B., Green M.D., and Lomax P.: *Experientia*, 32, 498~500, 1976.
- 6) Itowi N., Nagai K., Nakagawa H., Watanabe T., Wada H.: *Physiology & Behavior*, 44, 221~226, 1988.
- 7) Leibowitz S.F.: *Brain Reserch*, 63, 440, 1973.
- 8) 松本光史・村上斉・阪谷美樹・井上寛暁・梶雄次: 栄養生理研究会報, 52, 43~48, 2008.
- 9) Haas H.L., Sergeeva O.A., and Selbach O.: *Physiological Reviews*, 88, 1183~1241, 2008.
- 10) Costentin J., Boulu P., and Schwartz J.C.: *Agents and Actions*, 3, 177, 1973.
- 11) Sawyer C.H.: *American Journal of Physiology*, 180, 37~46, 1954.
- 12) Shukla R., Srimal R.C., and Dhawan B.N.: *Journal of the Autonomic Nervous System*, 8, 373~381, 1983.
- 13) Clark W.G. and Cumby H.R.: *The Journal of Physiology*, 261, 235~253, 1976.
- 14) Wong B.J., Wilkins B.W., and Minson C.T.: *The Journal of Physiology*, 560, 941~948, 2004.
- 15) Ookuma K., Sakata T., Fukagawa K., Yoshimatsu H., Kurokawa M., Machidori H., Fujimoto K.: *Brain Research*, 628, 235~242, 1993.
- 16) Fukagawa K., Sakata T., Shiraishi T., Yoshimatsu H., Fujimoto K., Ookuma K., Wada H.: *American Journal of Physiology*, 256, R605~R611, 1989.

最高級豚肉の生産につながる放牧効果の解明

Factors contributing to the grazing effect leading to a premium pork production

戸澤 あきつ・田中 繁史・佐藤 衆介

(東北大学大学院農学研究科)

Akitsu Tozawa, Shigefumi Tanaka, Shusuke Sato

(Graduate School of Agricultural Science, Tohoku University)

In order to elucidate the effect of grazing to fattening pigs, we compared undermentioned indicators among five treatments; Indoor housing system (IS), Outdoor pasturing system (OP), Concrete floor paddock system (CF), Concrete floor paddock system with fresh grass (FG), and Soil floor paddock system (SF). We assessed serum cortisol, disturbed behavior and normal behavior as stress indicators, antibody production for vaccination and the numbers of all enterobacteria and *Clostridium* cluster from feces as health indicators, and skatole in backfat, wounds on body, average daily gain and feed conversion ratio as productivity indicators. Wounds on body and disturbed behavior were more and feed requirement and daily weight gain in late stage were higher in CF. Wounds on body and disturbed behavior were less and feed efficiency and daily weight gain were also lower in FG. While pigs in SF were more active and playful, had less wounds on body and less performed disturbed behavior and feed efficiency and daily weight gain were higher. Enrichment treatment did not affect the acquired immunity, but brought out pigs' rooting in addition to chewing and suppressed stress and increased productivity in pigs.

1. 目 的

肥育豚の放牧飼育が行動や生産性におよぼす影響はこれまでも盛んに研究されてきた¹⁻³⁾。著者らは昨年の実態調査において、放牧区において行動は多様化し、糞便pHが中性化し、糞便中の全細菌数や*Clostridium*属菌の減少を新たに明らかにした^{4,5)}。しかし、放牧のどういった要因が行動や健康性、生産性に影響しているかは究明されていない。要因を究明することにより、各効果を

集約畜産の中で再現することが可能となり、より高ウェルフェアな飼育方法が提言できると考えられる。

本研究では最高級豚肉の生産につながる放牧効果の解明として、放牧要因を運動場の提供、生草の給与、土壌床の提供の3つに分け、それぞれの効果を検討した。比較項目を、(1)生理学的・行動学的ストレス指標、(2)正常行動発現性、(3)健康指標として、免疫性と腸内環境、(4)生産指標として、豚肉の臭気、体表面の外傷および増体、飼料要求

率とした。

2. 方 法

2.1 供試豚と飼育方法

導入先がすべて同じLW種の子豚SPF豚を計20頭、各処理区4頭ずつ供試した。放牧の要因を運動場、生草、土壌の3つとし、それぞれを提示する3つの処理区と、対照としてすべての要因を含まない舎飼区、すべての要因を備えている放牧区の計5処理を設けた。4.86㎡の豚舎で飼育した舎飼区 (indoor housing system:IS区)、10×20mのコンクリート床運動場内にIS区と同じ豚舎を設置した区 (concrete floor:CF区)、CF区と同環境で毎日新鮮な生草を2kg給与した区 (concrete floor with fresh grass:FG区)、運動場が土壌床であった区 (soil floor:SF区)、運動場が牧草地であった放牧区 (outdoor pasture:OP区)であった。

肥育豚は体重33.9±2.1kgで導入し、導入後38日目 (体重61.7±4.6kg)までを前期とし、その後から78日目 (体重91.4±6.21kg)までを後期とした。導入後106日、体重115.6±8.2kgで出荷した。サンプリングを、前期及び後期の2期に分けて行った。IS区とOP区以外の処理区では、前期と後期で処理を変えた。前期にCF区で飼育されていた群は後期でFG区へ、FG区はSF区へ、SF区はCF区へと移動させた。OP区では前期と後期で放牧地を変え、常時生草が摂取できる状態を保った。

すべての区で配合飼料 (CP:16.0%以上、TDN:80.0%以上)を不断給餌、自由飲水とした。

2.2 ストレス評価

(1) 生理的評価:コルチゾール測定

5つの処理の違いによる急性ストレスに対する生理的变化を血中コルチゾールにより評価した。前期および後期試験期間終了時に採血を行った。採血時に鼻保定を用い、急性ストレスとした。保

定直後 (pre) と保定を3分間持続した後 (post)の血液を採取した。血清を凍結保存後、後日、酵素免疫測定法 (EIA) によるコルチゾール測定に供した。

(2) 行動的評価:失宜行動

心理的ストレスを失宜行動から評価した。1処理区のブタ全頭の失宜行動を30秒ごとに4分間1-0サンプリングした。1分間で次の区に移動し、5処理区での調査を繰り返し、5分間休憩の後、再度同じ観察を繰り返した。観察時間はブタの活動性が高い6:00~10:00と15:00~18:00の計7時間を2日間行った (合計224データ)。失宜行動として他個体咬み、施設咬み、腹下ルーティング、偽咀嚼を観察した。

2.3 正常行動発現性

正常行動の発現性を調査するために、2種類の行動観察を行った。スキャンサンプリングで摂食行動、探査行動、活動時間を観察し、1-0サンプリングでルーティング、チューイング (偽咀嚼は除く)、および物の取り合いや追いかかけあい、跳ね回りといった遊戯行動を観察した。

スキャンサンプリングは5分間隔で行い、観察時間は6:00~10:00、15:00~18:00の計7時間、2日間行った (合計168データ)。1-0サンプリング方法については失宜行動観察と同様であった。

2.4 健康性評価

(1) 免疫性評価:ワクチン抗体価

肥育豚にワクチンを接種し、そのワクチン抗原に対する抗体反応によって免疫性を評価した。日本脳炎 (京都微研)、豚繁殖・呼吸障害症候群 (PRRS) (インゲルバックR®)、オーエスキー病 (AD) (ポーリス Begonia DF) の3種類のワクチンを用いた。

前・後期ともに試験開始時にpreサンプリングを行い、試験開始3~6日以内にワクチンを接種

Table 1 Serum cortisol concentration before and after restraint stress in pigs

		Cortisol (ng/ml)		P-value				
		Pre	Post	IS	OP	CF	FG	SF
Prior period	IS	37.1 ± 26.3	46.8 ± 33.4		—	—	—	—
	OP	23.6 ± 11.2	22.5 ± 9.9	**		—	—	—
	CF	25.5 ± 13.8	26.4 ± 13.7	**	**		—	—
	FG	17.5 ± 9.5	15.8 ± 8.2	**	n.s.	**		—
	SF	11.4 ± 4.0	12.3 ± 3.6	**	n.s.	**	n.s.	
Latter period	IS	31.9 ± 18.2	35.3 ± 21.9		—	—	—	—
	OP	30.9 ± 14.7	32.5 ± 13.0	n.s.		—	—	—
	CF	11.8 ± 5.3	17.3 ± 6.0	**	**		—	—
	FG	10.9 ± 11.7	10.6 ± 9.0	**	**	n.s.		—
	SF	39.3 ± 18.2	35.3 ± 2.2	n.s.	n.s.	**	**	

mean ± s.d.

Two-way repeated measures ANOVA Prior period $P < 0.01$

Latter period $P < 0.01$

** : Significantly different at $P < 0.01$ as determined by Tukey HSD test

n.s. : No significance between groups as determined by Tukey HSD test

した。ワクチン接種3週間後にpostサンプリングを行い、preとpostで抗体上昇度を比較した。日本脳炎はIS区、OP区、CF区、PRRSはIS区、OP区、FG区、ADはIS区、OP区、SF区の比較に用いた。前・後期の2期間試験を行っているため、CF区、FG区、SF区の3処理では供試頭数は前・後期合わせて8頭であった。

(2) 腸内環境評価：糞便中の全細菌と*Clostridium*属菌の定量化

昨年度の実態調査にて^{4,5)}、放牧飼育で糞便中の*Clostridium*属菌が減少することが確認された。本試験でも再確認のために糞便中の全菌数および*Clostridium*属菌数を定量化した。

前・後期ともに試験終了時に糞便を直接直腸から採取した。-80℃で凍結保存していた糞便からDNAを抽出し、リアルタイムPCR法によって検体1gあたりの標的遺伝子コピー数を算出した。これを全細菌数および*Clostridium*属菌の菌数とした。

2.5 生産性評価

(1) 臭気性評価：スカトール

スカトールとは豚肉の不快感臭気に関係する有機化合物の一種であり⁶⁾、脂肪中に蓄積する。臭気は食味における嗜好性にも影響を与えるため⁷⁾、食肉の消費を左右する。昨年の調査⁵⁾で放牧豚における脂肪中スカトール含量の低下が示唆されたため、今回、再確認のためスカトールの測定を行った。

出荷時に温と体腰椎上部の背脂肪を採取し、ガスクロマトグラフィーによる質量分析を行った。スカトールの測定に関してはIS区およびOP区のみ行った。

(2) 外傷評価

Welfare Quality[®] Assessment Protocol⁸⁾を参照し、出荷時に全頭の外傷をスコア付けした。

(3) 一日平均増体重 (ADG) と飼料要求率
生産性の基本的な指標として、肥育豚のADGおよび処理区ごとの飼料要求率を算出した。

体重を試験開始時および終了時に全頭測定し、

Table 2 Behavior of pigs at both prior and latter periods

Behaviour (%)		IS	OP	CF	FG	SF	P-value
Feeding	Prior	18.2±2.6	12.8±3.7	16.5±2.1	18.0±4.3	19.9±3.8	0.106
	Latter	12.7±1.0	12.7±2.7	11.2±1.7	8.0±3.1	17.3±3.0	0.019
Grass eating	Prior	0	4.5±2.0	0	16.5±3.1	0	0.001
	Latter	0	5.2±1.6	0	8.6±2.8	0	0.001
Soil eating	Prior	0	2.8±1.3	0	0	7.3±1.1	0.001
	Latter	0	2.1±0.6	0	0	2.2±1.2	0.001
Foraging (Feeding eating + Grass eating + Soil eating)	Prior	18.2±2.6	20.1±3.3	16.5±2.1	34.5±4.5	27.2±4.8	0.005
	Latter	12.7±1.0	19.9±3.5	11.2±1.7	16.7±3.5	19.5±4.3	0.008
Exploring	Prior	6.1±2.3	11.5±5.2	15.5±5.6	12.1±6.6	23.4±3.2	0.012
	Latter	3.3±0.8	12.2±1.0	9.2±4.1	5.1±1.4	16.2±5.2	0.004
Activity	Prior	34.5±4.3	39.6±2.0	44.2±7.8	54.2±3.8	66.2±8.9	0.004
	Latter	25.7±4.0	45.2±6.7	28.9±4.3	29.6±9.6	45.2±6.7	0.012
I-0 sampling (no.)		IS	OP	CF	FG	SF	P-value
Disturbed behaviour	Prior	16.8±11.2	0.5±0.6	3.0±3.2	2.3±1.7	2.5±4.4	0.053
	Latter	15.5±11.0	1.3±1.5	7.5±5.2	3.3±2.1	1.0±0.8	0.008
Rooting	Prior	0	45.5±16.3	0.5±1.0	0	41.0±8.6	0.002
	Latter	0	26.0±11.2	0	0	51.0±6.8	0.001
Chewing	Prior	2.0±3.4	24.8±8.5	6.3±5.4	29.8±9.1	11.3±2.9	0.003
	Latter	0.5±0.6	36.3±6.7	2.0±2.2	30.8±7.5	8.5±3.3	0.002
Play	Prior	0	4.5±1.3	0.8±0.5	1.0±1.4	6.3±3.3	0.004
	Latter	0	1.3±1.9	0	0	3.0±1.4	0.007

mean ± s.d. P-value : Kruskal-Wallis test

飼料を毎日の給与量と試験終了時の残量を測定し、飼料要求率を算出した。

2.6 統計処理

コルチゾールの処理区での比較にはTwo-way repeated ANOVAを使用し、その後の検定にTukey HSD検定を用いた。コルチゾールのpre, postの比較ではWilcoxon検定を用いた。行動および腸内細菌の全菌数に対する*Clostridium*属菌の割合、そして一日平均増体をKruskal-Wallis検定で比較した。ワクチン抗体価に関して、PRRSではIS区とOP区、FG区ADではIS区とOP区、FG区でそれぞれMann-Whitney検定を行った。

3. 結果と考察

3.1 ストレス評価

(1) 生理的評価：コルチゾール測定

ストレス負荷試験において、前期ではIS区でpre, postの血中コルチゾール値が高値を示していた (Table 1)。後期ではOP区, SF区で上昇し、IS区と差が見られなかった ($p < 0.01$)。また、前・後期のすべての処理区でpreとpostの比較をおこなったが差は見られなかった (Wilcoxon検定, $p > 0.1$)。今回の鼻保定は3分間であったが、コルチゾール分泌の途上 (最大値は20分後) であったことが、差をもたらさなかった要因の1つと考えられた。

Table 3 Antibody titer to various vaccination in pigs

Vaccination		IS (n = 4)		OP (n = 4)		CF (n = 8)		FG (n = 8)		SF (n = 8)	
		Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post
Japanese	Antibody prevalence rate (%)	0	75	0	50	0	12.5	—	—	—	—
Encephalitis	Average antibody titer		13.3		10		20	—	—	—	—
PRRS	Positive ratio (%)	0	100	0	100	—	—	0	100	—	—
	Elevated levels of antibody		2.47 ± 0.81		2.36 ± 0.86 (n.s.)	—	—		1.83 ± 0.71 (n.s.)	—	—
AD	Positive ratio (%)	0	75	0	75	—	—	—	—	0	0
	Elevated levels of antibody		0.42 ± 0.34		0.37 ± 0.28 (n.s.)	—	—	—	—		0.04 ± 0.06 (*)

* : Significantly different from IS at $P < 0.05$ as determined by Mann-Whitney test

n.s. : No significance from IS as determined by Mann-Whitney test

(2) 行動的評価：失宜行動

前・後期ともにIS区で失宜行動が多く発現していた (Table 2)。他の区がIS区と異なる点は運動場が存在する点であるため、運動場がエンリッチメントとして機能していると考えられた。しかし、運動場のみのCF区では回数は少ないがIS区の次に失宜行動の発現回数が多かった。このことからコンクリート床の運動場というエンリッチメントだけでなく、チューイングが発現可能な生草やルーティングが発現可能な土壌床が失宜行動軽減に多大な効果があると考えられた。

3.2 正常行動発現性

土や草を含む摂食行動は前・後期ともCF区で最も少なく、続いてIS区であった (Table 2)。探索行動の発現および活動時間はSF区で最も多く、IS区で最低であった。土壌床の存在が探索行動を促し、活動性を増すことが考えられた。ルーティングはOP区とSF区で多く発現し、土壌の存在が発現に寄与していた。チューイングはOP区とFG区で発現が多かったため、生草の存在が発現に寄与していた。遊戯行動はSF区で最も多く発現し、続いてOP区であった。遊戯行動の発現は、土壌

床の存在が効果的であると示唆された。

3.3 健康性評価

(1) 免疫性評価：ワクチン抗体価

ワクチン抗体価の結果をTable 3に示した。日本脳炎ワクチン接種では接種後3週間でIS区では4頭中3頭、OP区で4頭中2頭、抗体を保有していたが、CF区では8頭中1頭しか抗体を保有していなかった。また、ADワクチン接種では接種後3週間でIS区とOP区では陽性率が75%であり、抗体価の上昇度も有意差が見られなかった ($p > 0.1$)。しかし、SF区では陽性率がpreと変わらず0%であり、抗体価の上昇度もIS区と比較して有意に低かった ($p < 0.05$)。PRRSのワクチン抗体価では差がなかった ($p > 0.1$)。エンリッチメントの獲得免疫への効果は明らかではなかった。

(2) 腸内環境評価：糞便中の全細菌とClostridium属菌の定量

昨年度の報告^{4,5)}では舎飼と比較して放牧飼育で全細菌中のClostridium属菌の割合が減少する傾向があった。しかし、今回の試験では全細菌中のClostridium属菌の割合はIS区よりもOP区で高かった (Table 4)。また、前期ではCF区、FG区

Table 4 Total bacterial and Clostridium cluster I, II 16S rDNA copies in pig feces

		Total bacterial 16S rDNA (copies/g feces)	<i>Clostridium</i> cluster I, II 16S rDNA (copies/g feces)	Abundance ratio (%)	<i>P</i> -value
Prior period	IS	6.9 ± 2.1 × 10 ¹¹	1.3 ± 1.2 × 10 ¹⁰	1.6 ± 1.0	0.083
	OP	5.5 ± 2.9 × 10 ¹²	13.6 ± 6.7 × 10 ¹⁰	2.7 ± 1.4	
	CF	9.9 ± 3.4 × 10 ¹¹	5.3 ± 3.1 × 10 ¹⁰	4.9 ± 1.5	
	FG	7.3 ± 3.5 × 10 ¹¹	3.7 ± 2.5 × 10 ¹⁰	4.9 ± 1.4	
	SF	11.5 ± 4.1 × 10 ¹²	3.5 ± 1.7 × 10 ¹⁰	0.3 ± 0.2	
Latter period	IS	4.5 ± 3.4 × 10 ¹¹	4.3 ± 4.1 × 10 ⁹	1.2 ± 1.1	<0.01
	OP	4.2 ± 1.3 × 10 ¹²	13.6 ± 6.0 × 10 ¹⁰	3.4 ± 1.2	
	CF	3.0 ± 16.2 × 10 ¹¹	0.67 ± 33.6 × 10 ⁹	0.3 ± 0.3	
	FG	3.3 ± 1.3 × 10 ¹¹	1.6 ± 1.7 × 10 ⁹	0.6 ± 0.8	
	SF	4.8 ± 1.5 × 10 ¹²	4.1 ± 5.2 × 10 ¹⁰	0.8 ± 1.0	

mean ± s.d.

Abundance ratio : Clostridium cluster I, II 16S rDNA/Total bacterial 16S rDNA

P-value : Kruskal-Wallis test

で高い割合を示した (4.9 ± 1.5, 4.9 ± 1.4) が、後期では低値を示した (0.3 ± 0.3, 0.6 ± 0.8)。SF区では前・後期ともに比較的低値を示していた。昨年度の実態調査と異なる結果が得られたが、今回の全ての処理区は、牧草地の上に設置されており、実態調査の舎飼区とは異なり、全ての区で清浄環境であったことが、結果に影響したと考えられた。

3.4 生産性評価

(1) 臭気性評価：スカトール

背脂肪中のスカトールはIS区で0.04ppmが4頭中3頭、0.05ppmが1頭、OP区では検出限界以下が4頭中2頭、他の2頭は0.02ppmであった。OP区で背脂肪中のスカトールが低いことが確認された。スカトールは消化管内で産生され、腸管から吸収され、血流に乗り脂肪組織に沈着する経路と床から皮膚を經由して脂肪組織に沈着する経路が知られている。放牧は豚肉の不飽和脂肪酸やビタミンの組成にも影響をおよぼすことが知られているし^{9, 10)}、IS区の床は糞尿で汚染されており、どの経路により脂肪中の臭気成分が影響されたかは、今後の検討課題である。

(2) 外傷評価

出荷時の外傷スコアはIS区で最も高く、SF区で最も低かった (IS区 : 47.50 ± 11.36, OP区 : 6.25 ± 2.17, CF区 : 13.00 ± 2.12, FG区 : 7.00 ± 1.35, SF区 : 1.50 ± 1.19, Kruskal-Wallis 検定 : $p = 0.004$)。CF区もIS区より低値を示したが、OP区、FG区、SF区ではより低値であった。つまり、運動場のみの提供よりも生草や土壌床といったエンリッチメント素材が外傷を軽減していた。生草や土壌の存在が、心理的ストレスによる他個体への攻撃性を低下させる効果が示唆される。

(3) 一日平均増体 (ADG) と飼料要求率

ADGは前期では差が無いが ($p = 0.069$)、後期では差がみられた ($p = 0.018$) (Table 5)。最もADGの高かった区は前期でCF区であったが後期ではOP区であった。また、最もADGが低かった区は前・後期ともにFG区であった。成長曲線の通り、肥育前期は一般的にADGが高く、後期で低下する。しかし、OP区およびSF区では後期にADGが上昇した。生草区では、不消化物の摂取によりDGが低下したと示唆される。土壌区では、ルーティングによる摂食行動の低下は見られず、

Table 5 Average daily gain and feed conversion ratio in pigs

		Average Daily Gain kg/day	P-value	Feed Conversion Ratio
Prior period	IS	0.76 ± 0.23	0.069	3.43
	OP	0.68 ± 0.18		3.16
	CF	0.84 ± 0.05		3.1
	FG	0.53 ± 0.13		4.10
	SF	0.59 ± 0.14		3.65
Latter period	IS	0.67 ± 0.15	0.018	3.78
	OP	0.91 ± 0.09		3.56
	CF	0.72 ± 0.09		3.80
	FG	0.52 ± 0.16		4.72
	SF	0.89 ± 0.24		3.33

ADG : mean ± s.d.

P-value : Kruskal-Wallis test

エンリッチメントの効果及び土への潜り込みによる暑熱ストレスの軽減によりADGが上昇した可能性が示唆された。

飼料要求率は、前・後期ともFG区で最も高かった。不消化物の摂取が影響した可能性が示唆される (Table 5)。

4. 要 約

肥育豚への放牧効果を解明する目的で、要因実験を行った。コンクリート床運動場区、コンクリート床+生草給与区、土壌床運動場区、舎飼区、及び放牧区の5処理区で比較した。ストレス評価として、コルチゾール及び失宜行動、正常行動発現性、健康性評価としてワクチン抗体価、腸内細菌数、生産性評価として脂肪中のスカトール含量、体表の外傷、1日平均増体重、飼料要求率を調査した。コンクリート床運動場区では、失宜行動と外傷が多かったが、特に前期の日増体重と飼料効率は高かった。コンクリート床運動場+生草給与区では、失宜行動も外傷も少なかったが、日増体重も飼料効率が低かった。土床運動場区では、活動性と遊戯行動が多く、失宜行動や外傷は少なく、日増体重や飼料効率高かった。エン

リッチメント処理は、獲得免疫性には影響しなかった。チューイングにもましてルーティングの発現をもたらすエンリッチメントが、ストレスを抑え、生産性を高める可能性が示唆された。

文 献

- 1) Barton GP: Effect of rearing system and mixing at loading on transport and lairage behaviour and meat quality: comparison of outdoor and conventionally raised pigs. *Animal*, 2, 902~911, 2008.
- 2) Gentry J., McGlone J., Miller M. and Blanton J.: Environmental effects on pig performance, meat quality, and muscle characteristics. *Journal of Animal Science*, 82, 209~217, 2004.
- 3) Guy J. H., Rowlinson P., Chadwick J.P. and Ellis A.: Growth performance and carcass characteristics of two genotypes of growing-finishing pig in three different housing systems. *Animal Science*, 74, 493~502, 2002.
- 4) 戸澤あきつ, 佐藤衆介: 最高級豚肉を目指した生産方式の解明, 平成23年度食肉に関する助成研究調査成果報告書, VOL. 30, 83~88, 2012.
- 5) Tozawa A, Takahashi T, Sato S: Welfare assessment of pigs reared at pasture by monitoring enteric environment, The 46th Congress of the International Society for Applied Ethology, 159, 2012.
- 6) Hansson K.E., Lundstrom K., Fjelkner-Modig S. and Persson J: The importance of androstenone and skatole for boar taint. *Swedish Journal of Agriculture Research*, 10, 167~173, 1980.

- 7) Losel D., Lacorn M., Buttner D. and Claus R.: Flavor improvement in pork from barrows and gilts via inhibition of intestinal skatole formation with resistant potato starch, *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, **54**, 5990~5995, 2006.
- 8) Welfare Quality[®] Assessment Protocol for Pigs, 2009. Welfare Quality[®] consortium. Lelystad, Netherlands.
- 9) Nilzen V., Babol J., Dutta P.C., Lundeheim N., Enfalt A.C. and Lundstrom K.: Free range rearing of pigs with access to pasture grazing-effect on fatty acid composition and lipid oxidation products, *Meat Science*, **58**, 267~275, 2001.
- 10) Hogberg A., Pickova J., Babol J., Andersson K. and Dutta P.C. : Muscle lipids, vitamins E and A, and lipid oxidation as affected by diet and RN genotype in female and castrated male Hampshire crossbreed pigs, *Meat Science* , **60** , 411 ~ 420 , 2002.

粉碎タケの給与が黒毛和種繁殖雌牛の養分摂取量、採食反芻時間、第一胃内発酵および血液性状に及ぼす影響の解明

Effect of feeding ground bamboo on intake, eating and rumination, ruminal fermentation and blood characteristics in Japanese black breeding cows

石田 元彦・本元 果歩・浅野 桂吾・高橋 宏平・小木野 瑞奈
(石川県立大学)

Motohiko Ishida, Kaho Honmoto, Keigo Asano, Kohei Takahashi, Mizuna Ogino
(Ishikawa Prefectural University)

Feeding trials were conducted in the Youden square design with four Japanese black breeding cows (Average initial live body weight : $336 \pm 42\text{kg}$), four diet treatments and three periods to examine the effect of the inclusion levels of ground felled bamboo silage (GFBS) in the diet on feed intake, chewing time, rumen fermentation and blood compositions. The treatments were 0, 13, 18 and 24% inclusion of GFBS in the basal diet consisting of 83% tall fescue hay, 14% formula feed for beef cattle and 3% soybean meal on a dry matter basis. Each trial consisted of ten days preliminary period and three days collection period. Intake of dry matter and total digestible nutrients (TDN) had tendency to be reduced by increased inclusion level of GFBS, but even the cows in 24% GFBS treatment, which had the lowest TDN intake, could consume enough TDN to meet the energy requirement for maintenance. The chewing time in 18% and 24% GFBS treatments were 38 and 39 minutes per 1kg dry matter intake, respectively and lower than in 0% GFBS treatment ($P < 0.05$). However, the chewing time in the both treatments was much higher than 30 minutes which is reported to be the shortest time to maintain rumen function. The pH and composition of volatile fatty acids were not significantly different among the treatments. The levels of blood components were within the standard values for breeding cows. These results suggested that 1 kg of hay could be replaced with 2 kg of GFBS in the diet without adverse effects on nutrient intake, rumen fermentation and the nutritional status in Japanese black breeding cows.

1. 目的

わが国は飼料の多くを海外に依存しており、飼料自給率は25%と極めて低い。近年、飼料輸出国のアメリカ合衆国でのトウモロコシからのエタ

ノール生産の本格化、オーストラリアの早魃や中国、インドなどの新興国の飼料需要の拡大などの影響で輸入飼料価格が安定しない状況が続いている。肉用子牛生産農家においては、繁殖用雌牛に与える輸入飼料の価格が変動し、経営を不安定な

ものになっている。このような状況は今後とも続くことが予想され、経営内の飼料自給率を向上することが求められている。

一方、竹林は地域の担い手による適切な管理によって、長年にわたり持続的に維持されてきた。しかし、地域の担い手の減少により、「放置竹林」が拡大して問題となっている。そのために、地域のNPO法人が竹林整備を行い伐採したタケを細かく粉碎し未利用資源として利用しようとする取り組みが行われている。しかし、伐採するタケの量は極めて多く、石川県だけでも年間4081 tの未利用タケの発生が見込まれている¹⁾が、粉碎タケの用途は堆肥としての利用など限られており、その用途拡大が求められている。

従来のタケの飼料化に関する研究結果からは、粉碎タケは家畜による嗜好性、消化率ともに低い²⁾ことから、それを高栄養の食品副産物であるトウフ粕と醤油粕と混合、ペレット化して利用する方法が開発されている³⁾。しかし、ペレット化するには経費を多く要し、可能であれば粉碎タケをそのまま飼料として利用するのが望ましい。粉碎タケは、穀類と混合して与えれば肉用牛繁殖雌牛はよく採食するという予備的な観察を得た。また、粉碎タケの消化率は25%であり、肉用牛繁殖雌牛によく与えられる輸入のフェスク乾草の45%の半分程度であることから、給与乾草の一部をその2倍量の粉碎タケで置き換えることによってウシの養分要求量を維持できると考えられる。さらに、このように給与乾草の一部を2倍量の粉碎タケで置き換えることによってウシの乾物摂取量も増え、維持水準で飼養され満腹感を満たすことのできない繁殖雌牛の空腹感を和らげ、ストレス軽減につながることも期待できる。しかし、給与乾草の2倍量を粉碎タケで置き換えた場合にウシが飼料を残さずに食べ養分要求量を満たすことができるのかは分かっていないし、粉碎タケの粒度は乾

草に比べて小さく、牛に必要な飼料の物理性が小さいという懸念があり、採食・反芻時間や第一胃内発酵に及ぼす影響も検討する必要がある。

そこで、本研究では黒毛和種子牛生産農家において、繁殖雌牛に与える乾草の一部をその2倍量の粉碎タケで置き換えた場合の養分摂取量, 採食・反芻時間, 第一胃発酵, ストレスに及ぼす影響を検討した。

2. 方 法

2.1 実験場所と時期

石川県白山市内の和牛飼育牧場で2012年10月23日から12月4日まで飼養試験を実施した。

2.2 供試牛

黒毛和種繁殖成雌牛4頭（開始時平均体重336 ± 42kg）であった。

2.3 供試飼料

粉碎タケは5 mmのフルイを付けた竹粉碎機（株式会社大橋GS121GB）を用いて石川県金沢市において伐採されたモウソウチクを粉碎し、ポリ袋に密封、約1か月保管して調製したサイレージ（Table 1）、乾草（輸入トールフェスク乾草）肉牛用配合飼料および大豆粕を供試した。

2.4 飼料処理区

乾草、肉牛用配合飼料および大豆粕を乾物比で83、14および3%の割合で給与するタケ0%区

Table 1 Chemical composition of ground felled bamboo silage

Component	Content
Dry matter%	65.8
Composition of dry matter%	
Organic matter	98.6
Crude protein	1.2
Ether extracts	0.3
Organic cell wall	95.4
Oa	0.0
Ob	95.4

Table 2 Ingredient and chemical composition of diets

Items	Inclusion levels of GWBS DM%			
	0	13	18	24
Ingredient composition DM%				
Tall fescue hay	83.8	72.0	66.4	61.2
GFBS	0.0	12.6	18.5	24.1
Formula feed for beef cattle	13.6	12.5	11.9	11.4
Soybeanmeal	2.6	2.9	3.2	3.4
Chemical composition DM%				
Organic matter	93.2	93.9	94.2	94.5
Crude protein	10.7	9.9	9.5	9.2
Ether extracts	1.5	1.4	1.3	1.3
Organic cell wall	63.5	66.8	68.4	69.9
Oa	3.2	2.8	2.6	2.4
Ob	60.3	64.1	65.8	67.5

GWBS ; Ground felled bamboo silage, DM ; Dry matter, Oa ; Higher digestible cell wall, Ob ; Lower digestible cell wall

(対照区), タケ0%区の飼料乾物中13, 18および24%を粉碎タケサイレージで置き換えて給与する区(それぞれ, タケ13, 18, 24区)を設けた(Table 2)。

2.5 実験計画

4頭のウシに4飼料処理区を割り当てる飼養試験を3期間実施するユーデン方各法で実験を実施した⁴⁾。なお, 各試験期は予備期10日間, 本試験期3日間とした。

2.6 飼養管理

飼料給与量は日本飼養標準肉用牛2008年版⁵⁾に示されたウシの維持要求量の110%水準とした。ウシはつなぎ飼い単飼とし, 1日分の飼料を等分して朝夕に給与した。タケ0%区では配合飼料を与えて全て採食させた後に乾草を与え, タケを与えた区では配合飼料に粉碎タケを混合したものを与えた後に乾草を与えた。水は自由飲水とした。

2.7 測定項目と方法

試験の開始時と終了時にウシの体重を牛の体重計(株式会社 藤原製作所)を用いて測定した。本試験期間の間, 飼料を採取するとともに残飼を

測定し飼料摂取量を求めた。また, 酸不溶性灰分を指標物質とするインデックス法⁶⁾によって消化率を測定するために朝夕に直腸糞を採取した。さらに, そしゃくモニタリングシステム(株式会社 三宅)を用いて採食・反芻時間を測定した。本試験終了後, 朝の飼料給与後4時間に尾静脈から血液を採取するとともに第一胃内容物を牛用胃汁採取器(三紳工業株式会社製)を用いて採取した。

タケサイレージ, 残飼, 糞は60℃の通風乾燥器内で乾燥し, 1mmのフルイを付けた粉碎機で粉碎して分析に供した。酸不溶性灰分は須藤の方法⁷⁾で分析した。飼料と糞の水分, 粗灰分, 粗脂肪の含量を常法⁸⁾で, 有機細胞壁成分(OCW)を酵素分析法⁹⁾でそれぞれ測定するとともに, 粗蛋白質を酸素循環燃焼方式・改良デュマ法による「全窒素—全炭素」測定装置(住友化学製, Sumigraph Model NC-220F)を用いて測定した。飼料の有機物と粗脂肪の含量と消化率から可消化養分総量(TDN)含量を求め, 飼料摂取量に乗じてTDN摂取量を算出した。血液については栄養に関連する成分を測定し, 第一胃内容物はpH

Table 3 Effect of the inclusion levels of ground felled bamboo silage in the diet on feed intake, apparent digestibility and nutrients intake in Japanese black breeding cows

Items	Inclusion levels of GWBS, DM%				SE
	0	13	18	24	
Numbers of cows	4	4	4	4	...
Live body weight, kg	336.0	380.2	378.0	299.3	...
Feed intake, kg DM/head/day					
Tall fescue hay	4.76 ^a	4.40 ^b	4.09 ^c	3.80 ^d	0.02
GFBS	0.0 ^b	0.70 ^a	0.82 ^a	1.26 ^a	0.10
Formula feed for beef cattle	0.77 ^a	0.76 ^b	0.73 ^c	0.71 ^d	0.00
Soybeanmeal	0.15 ^d	0.18 ^c	0.2 ^b	0.21 ^a	0.00
Total	5.68	6.05	5.83	5.98	0.20
Intake to offered feed, %	100	98.4	94.6	96.0	1.65
Apparent digestibility, %					
Organic matter	54.1	48.0	48.4	45.6	2.11
Crude protein	59.1	60.7	64.8	66	1.24
Ether extracts	42.0	62.3	68.6	65.6	9.09
Organic cell wall	41.8	35.8	38.7	39.9	2.26
TDN content, DM%	51.2	46.1	46.7	44.1	2.14
Nutrients intake, kg/head/day					
Crude protein	0.61 ^a	0.61 ^a	0.59 ^b	0.58 ^b	0.00
TDN	2.90	2.79	2.72	2.63	0.10
TDN intake to requirement, %	120.2	111.3	105.4	108.6	3.89

a, b, c, d P<0.05

GFBS ; Ground felled bamboo silage, SE ; Standard error, TDN ; Total digestible

メータでpHを, 高速液体クロマトグラフ(島津製作所製, 島津高速液体クロマトグラフ有機酸分析システム)を用いて酢酸, プロピオン酸, 酪酸の組成を, インドフェノール法でアンモニアをそれぞれ測定した。

得られたデータを分散分析し, 各測定項目について飼料処理の効果を検定し, 有意な差が認められた場合はTukeyの方法で処理区間の平均値を比較した⁴⁾。統計計算は統計計算ソフトIBM SPSS Statistics Version 21を用いて行った。

3. 結果と考察

飼料のタケサイレージの給与割合がウシの飼料摂取量に及ぼす影響をTable 3に示す。1日あた

りの乾草の摂取量(乾物量)は4.76kgから3.80kgまで低下し, タケサイレージ摂取量は1.26kgまで増加した。配合飼料の摂取量は低下したが, 大豆粕の摂取量は増加した。その結果, 総乾物摂取量はタケサイレージ給与割合の増加とともに増えたが, 飼料処理間に有意な差は認められなかった。タケサイレージのウシによる嗜好性は高いと期待したが, 供試したウシの4頭のうち3頭がタケサイレージを食べ残し, 飼料の採食率はタケ給与割合が高くなると, 処理間に有意な差は認められなかったが, 100%から94.6%まで低下した。サイレージ調製時の水分含量が35%程度であり, 乳酸菌が活発に活動するには水分が低かったので, 発酵が十分に進まなかったことが嗜好性の悪かった

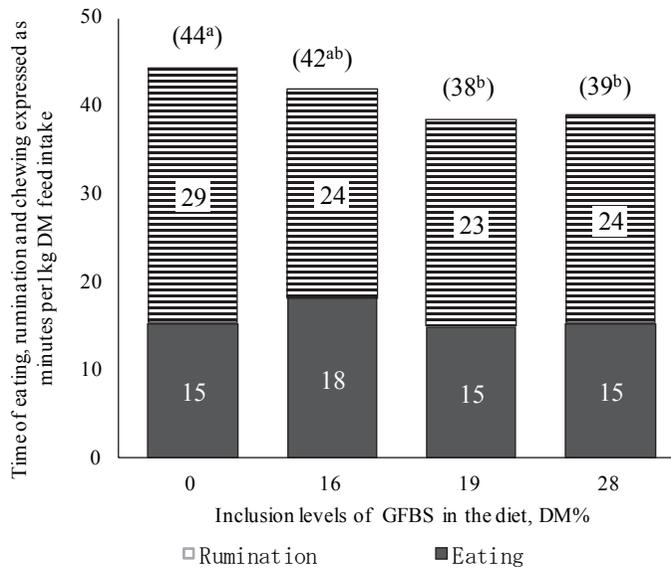


Fig. 1 Effect of the inclusion levels of ground felled bamboo silage in the diet on the time of eating, rumination and chewing in Japanese black breeding cows.

Values in the parenthesis show the chewing time.

GFBS; Ground felled bamboo silage

^{a, b} $P < 0.05$

原因であると推察された。タケは伐採後放置しておくことで水分含量が低下することが知られている。今後は伐採後時間のあまり経っていないタケを用いるか、放置時間の長かった伐採タケには加水して水分含量を乳酸菌に適した水分の40%に調整する必要があると考えられた。

飼料消化率とTDN含量はタケサイレージ給与割合を高めると有意な差は認められなかったが、低下する傾向にあった (Table 3)。この結果はタケのTDN含量が乾物中25%と低いと報告されていた¹⁰⁾ ことから予想されたことであった。しかし、TDN摂取量はタケ給与割合を高めると低下する傾向にあったが、有意な差は認められず、タケサイレージの給与割合を24%まで高めてもウシの維持要求量の108%まで摂取できることが分かった。

タケサイレージの給与割合を高めても飼料乾物1 kg摂取あたりの採食時間は15分程度で変わらなかったが、反芻時間が低下する傾向にあり、採

食と反芻時間の合計で示される咀嚼時間は44分から38分まで有意に低下した (Fig. 1)。一般に粗飼料は細かく切断されたり粉砕されると、反芻時間は短くなる¹¹⁾。供試したタケは5 mmのフルイを付けた粉砕機で粉砕されたもので粒度が小さかったために、タケサイレージの給与割合を高めると反芻時間が短くなり、咀嚼時間が低下したものと考えられた。

ウシは咀嚼することによってアルカリ性の唾液分泌を促進して第一胃へ送り、そこで飼料の発酵によって産生される酸を中和して第一胃での微生物発酵を持続している。咀嚼時間が短くなると第一胃機能が低下するが、その機能を維持するために必要な飼料乾物1 kgあたりの咀嚼時間は30分とされている¹¹⁾。本試験の結果、タケサイレージの給与割合が最も高かった区においても咀嚼時間は飼料乾物1 kgあたり39分であったことから、タケの給与割合を24%まで高めても第一胃機能を維持するための咀嚼時間は確保できるものと考え

Table 4 Effect of the inclusion levels of ground felled bamboo silage in the diet on pH, volatile fatty acids and ammonia concentrations in the rumen liquor in Japanese black breeding cows

Items	Inclusion levels of GFBS, DM%				SE
	0	13	18	24	
pH	6.82	6.84	6.72	6.75	0.10
Total VFA, mmol	7.52	5.59	6.94	6.70	0.38
Composition of VFA, mmol%					
Acetic acid	70.6	70.5	69.7	70.0	0.35
Propionic acid	18.4	18.6	18.4	18.6	0.31
Butyric acid	8.5 ^{ab}	8.4 ^b	9.1 ^a	8.6 ^{ab}	0.11
Ammonia, mg/dl	10.00 ^a	7.76 ^b	10.38 ^a	11.37 ^a	0.26

GFBS : Ground felled bamboo silage, VFA : Volatile fatty acid

^{ab} P<0.05**Table 5** Effect of the inclusion levels of ground felled bamboo silage in the diet on blood components in Japanese black cows

Items	Inclusion levels of GWBS, DM%				SE
	0	13	18	24	
Free fatty acid, μ Eq/l	106	206	174	138	32.6
Glucose, mg/dl	58.0	59.0	60.3	59.7	1.58
Total cholesterol, mg/dl	80.3	84.3	73.7	82.7	2.78
Triglyceride, mg/dl	22.3	28.0	24.7	26.3	1.79
Albumin, g/dl	3.2	3.3	3.4	3.2	0.10
Blood urea nitrogen, mg/dl	13.0	14.1	12.5	14.0	0.35
Calcium, mg/dl	9.17	9.23	9.17	9.03	0.10
Inorganic phosphorus, mg/dl	5.63	6.13	5.10	5.57	0.31
γ -GTP, U/l	20.7 ^b	24.3 ^a	21.0 ^b	20.0 ^b	0.47

GFBS : Ground felled bamboo silage

^{a, b} P<0.05

られた。このことは、タケサイレージの給与割合を高めても第一胃内のpH, 揮発性脂肪酸の割合に大きな変化が起きなかった (Table 4) ことから裏付けられた。

ウシの栄養状態を調べるための血液中成分はタケサイレージ給与割合を変化させても大きく変わることはなく、タケ13%区の γ -GTPを除いて、全ての項目で肉用種繁殖雌牛における標準値の範囲内¹²⁾にあった (Table 5)。また、 γ -GTPの標準値は16.6 \pm 4.4U/lであり、タケ13%区の値はこ

れを大きく超えるものではなく、問題はないものと思われた。

以上の結果から、肉用種繁殖雌牛に与える乾草1kgをタケサイレージ2kgで置き換えてもエネルギー摂取量, 第一胃機能および栄養状態に問題ないことが示唆された。ただ、本試験は短期の実験であり、このことを長期飼養試験で実証することが必要である。また、タケサイレージの発酵品質を高めることを検討することも課題として残った。

(本実験を実施するにあたり、NPO法人くくのち様からは粉碎伐採タケサイレージの提供を受け、株式会社森川畜産様からは実験場所と供試動物を貸与していただきました。また、石川県石川農林総合事務所の大橋伸行氏には森川畜産と当研究室の連絡調整をしていただきました。これら各位に感謝いたします。)

4. 要 約

肉用種繁殖雌牛の飼料として伐採タケを活用するために、黒毛和種繁殖成雌4頭(開始時平均体重336kg)を供試し、乾草、肉牛用配合飼料および大豆粕のそれぞれを乾物重量で83, 14, 3%の割合で与える飼料乾物量の0, 13, 18, 24%(乾物割合)をタケサイレージで置き換えて給与する4種類の飼料処理区に割り当てて、予備期10日本試験期3日間の飼養試験を3期間実施するユーデン方格法で実験を行い、タケサイレージの給与割合が飼料摂取量、採食と反芻時間、第一胃発酵および血液性状に及ぼす影響を検討した。タケサイレージの給与割合を高めると、飼料乾物と可消化養分総量の摂取量(TDN)は低下する傾向にあったが、タケ給与割合の最も高い区でもウシの維持要求量の108%のTDN量を摂取できた。飼料乾物1kg摂取あたりの咀嚼時間もタケサイレージの給与割合を高めると44分から38分まで有意($P < 0.05$)に短くなったが、ウシの第一胃機能維持に必要とされる咀嚼時間の30分以上は確保でき、第一胃液のpH、揮発性脂肪酸組成は飼料処理区間に有意な差は認められなかった。また、ウ

シの栄養状態を表す血液成分濃度は検査した全ての項目に大きな問題は認められなかった。これらのことから、肉用種繁殖雌牛に与える乾草1kgをタケサイレージ2kgで置き換えてもエネルギー摂取量、第一胃機能および栄養状態に問題ないことが示唆された。

文 献

- 1) 独立行政法人 新エネルギー産業・技術総合開発機構：バイオマス賦存量・有効利用可能量の推計、<http://appl.infoc.nedo.go.jp/biomass/> [2013年4月25日確認]。
- 2) 萬田正治, 長 英司, 徳田博幸, 黒肥地一郎, 渡邊昭三: 鹿大農学術報告, 40, 173~179, 1990。
- 3) 家木 一, 小池正充, 藤岡一彦: 日草誌, 50: 34~38, 2010。
- 4) 吉田 実: 畜産を中心とする実験計画法, 初版, 234~241, 養賢堂, 東京, 1975。
- 5) 独立行政法人 農業・食品産業技術総合研究機構編: 日本飼養標準 肉用牛(2008年版), 初版二刷, 141, 中央畜産会, 東京, 2009。
- 6) 石橋 晃, 板橋久雄, 祐森誠司, 松井 徹, 森田哲夫 編著: 動物飼養学, 第2版, 118, 養賢堂, 東京, 2012。
- 7) 須藤まどか: 新編 動物栄養試験法(石橋 晃監修), 初版, 558~559, 養賢堂, 東京, 2001。
- 8) 甘利雅弘: 粗飼料の品質評価ガイドブック(自給飼料利用研究会編), 三訂版, 6~12, 社団法人日本草地畜産種子協会, 東京, 2009。
- 9) 永西 修: 粗飼料の品質評価ガイドブック(自給飼料利用研究会編), 三訂版, 21~24, 社団法人日本草地畜産種子協会, 東京, 2009。
- 10) 室伏淳一, 西田武弘, 細田謙次, 松山裕城, エルデンバヤル, 塩谷 繁, 野田準一, 深澤 修, 三宅晃次: 静岡県畜産試験場研究報告, 32: 10~12, 2006。
- 11) 独立行政法人 農業・食品産業技術総合研究機構編: 日本飼養標準乳用牛(2006年版), 二版, 86~90, 中央畜産会, 東京, 2008。
- 12) 岡田啓司: 生産獣医療システム 肉牛編(社団法人 全国家畜生産物衛生指導協会 企画), 183~191, 社団法人 農山漁村文化協会, 東京, 2012。

口蹄疫家畜埋却地の植生管理としてのネピアグラス栽培の適応性

Adaptability of napiergrass (*Pennisetum purpureum* Schumach) for weed control in burial sites of animals after foot-and-mouth disease outbreak

石井 康之・井戸田 幸子・西脇 亜也

(宮崎大学農学部)

Yasuyuki Ishii, Sachiko Idota, Aya Nishiwaki

(Faculty of Agriculture, University of Miyazaki)

After the foot-and-mouth disease outbreaks in Miyazaki Prefecture in 2010, cattle and swine were slaughtered and buried up to 100 ha of areas, where weed control is difficult and costly since lands are unlevelled and prohibited to be plowed for 3 years. In the burial site and the neighboring area at Takanabe Agricultural High School, normal type, Wruk wona (WK), and dwarf variety of late-heading type (DL) napiergrass were established by transplanting at 1 plant/m² in the contrast with sowing of maize (cv. Ohka, MZ) and sorghum (cv. Sanjaku sorgo, SR) at 5 plants/m² in mid-June 2011. Soil chemical property, establishment and sustainability of plants, plant growth and structural carbohydrate of plants were determined only for the burial (BU) areas in 2011 and for both BU and the (neighboring) bordered (BO) areas in 2012. Even though lands were cleared by cutting in addition with herbicide application before planting, MZ and SR failed to be established stably at only 1/3 ~ 1/2 due to the suppression of growth by indigenous weeds, while WK and DL succeeded in establishing as high as 82 ~ 91 % and 73 ~ 85 %, respectively, in late December 2011. Plant height, dry matter weight and cellulose concentration were higher in WK than in other 3 species in 2011. Forage growth was higher in the animal burial site than in the area where sanitizing and slaughtering materials were buried and in the BO areas. Harvesting plants and clearing soil surfaces were delayed to mid-March 2012 and late-February 2013 due to the suppression of spring weeds, requiring 74 man hr/ha. Overwintering ability was higher in DL than in WK. It is necessary to consider the labor-saving clearing methods after overwintering and utilizing forage plants on the animal-burial site.

1. 目 的

2010年に宮崎県で発生した口蹄疫により、宮崎県では約29万頭（牛約6万8千頭、豚約22万頭）の偶蹄類の家畜が殺処分され、埋却地面積は5市

7町で252箇所（約97.5ha）にも及んだ（宮崎県口蹄疫対策検証委員会、2011）。口蹄疫は、偶蹄類の伝染病の中でも感染力が強く、家畜伝染病予防法に基づく殺処分・埋却処理と埋却地の3年間発掘禁止の措置が採られ、埋却地では作物生産が困

難である(西脇・一木, 2011)。宮崎県立高鍋農業高等学校は口蹄疫被害の最も激しい児湯郡に位置し、2010年5月に飼養していた乳牛32頭、肉用牛22頭、豚281頭の家畜が埋却処理され、埋却地の植生管理が問題となっている。埋却された家畜の土壤中での腐敗(土壌微生物等による分解)に伴い、大量の無機塩類が流亡することによる周辺環境への汚染も懸念されている(西脇・一木, 2011)。

ネピアグラス、特にその矮性品種(矮性ネピアグラス)は、肉用繁殖牛および乳用牛に対する放牧適応性が高く(Ishiiら, 2005)、南九州の各県での適応性にも優れることが実証された(Utamyら, 2011)。また、ネピアグラスは各種無機養分の吸収能力も高く(Idotaら, 2005)、大量の無機塩類が生じ、周辺環境に流亡することによる土壌汚染も懸念される口蹄疫家畜埋却地(西脇・一木, 2011)において植生管理に適する飼料作物種と考えられる。

そこで本研究は、不整地で機械作業が困難な埋却地で、不耕起の植生管理に適する飼料作物として、南九州の低標高地では多年生(石井ら, 2000)で、乾物生産性の高いネピアグラス普通品種(Mukhtarら, 2004)と粗飼料としての利用性に優れ(Ishiiら, 2005)、植生管理も容易な矮性品種の矮性ネピアグラス(Ishiiら, 2005)を、一般的青刈作物のトウモロコシとソルガム(Idotaら, 2013)と比較しながら、その適応性を造成後の2年間にわたって検討することを目的とした。

2. 方法

2.1 実験地、栽培概要および前年度の方法

(1) 実験地と栽培概要

本実験は、宮崎県立高鍋農業高等学校舞鶴牧場(宮崎県児湯郡高鍋町大字上江、標高約71m)内の口蹄疫家畜埋却地にて、偶蹄類の家畜が埋却処理された埋却地(台地状を呈し、幅9~10m、長

さ63~64mの約620m²)および一体的な栽培管理が行われていた周辺地を含めた約1,800m²において、2011年6月~2013年2月に実施した。2011年6月3日に、メヒシバなどの雑草を刈払機にて掃除刈りし、6月6日に除草剤グリホサートカリウム塩(モンサントヨーロッパ、日産化学(株))を、4.4mL/m²の濃度で散布した。埋却地は、消毒・殺処分用具類を主に埋却した区域と、家畜を主に埋却した区域とに分かれ、両者の明確な区分は不明であるが均等に埋却地を三分し、用具類の埋却区域から家畜の埋却区域の順に反復1, 2, 3とし、反復間に1m幅の通路を設けた。

2011年6月14日に、ネピアグラス普通品種(Wruk wona; 以下WK)、同矮性晩生品種(Dwarf-late; DL)、トウモロコシ(王夏; 雪印種苗(株); 以下MZ)、およびソルガム(三尺ソルゴー; 雪印種苗(株); 以下SR)の4草種を、3反復の乱塊法により配置した。栽植密度は、ネピアグラス2品種(WK, DL)では1本/m²(株間、畦間ともに1m)、MZおよびSRでは5点/m²の1点2粒播き(株間0.2m、畦間1m)とし、いずれの草種も人力の挿苗により栽植し、各草種各反復につき4畦を設けた。埋却地では堆積した消石灰のために、土壌改良用資材としてピートモス(pH4.0)を650mL/m²で、播種・移植地点に施用した。2011年7月1日に、化成肥料によりN, P₂O₅, K₂Oの成分量で4.5g/m²を施用し、2012年7月3日にも同量を施用した。越冬後の2012年3月14日に、埋却地および周辺地の全体(約1,800m²)を刈払機により刈り払い、枯死・脱落葉を完全に除去してその労働力を計測し、2013年2月24日にも同様に刈り払った。

2012年6月16日には、欠株のネピアグラス2品種には1株/m²にて補植し、トウモロコシとソルガムには5点/m²の栽植密度で再播種した。埋却地および周辺地ともに、2012年7月2, 3日

に刈り払い機により畦間を掃除刈りしたが、除草剤は散布せず、それ以降は何ら肥培管理を行わなかった。

2.2 土壌および植物体の調査

2011年6月14日および2012年11月7日に、埋却地および周辺地の各草種・各反復から、表層0～10cmの土壌を3～6か所採取して混合し、pH、電気伝導度（EC）をpHメータ（Model PRN-

41、（株）藤原製作所、東京）、ECメータ（Model B-173、（株）堀場製作所、京都）にて測定した。

移植後約2週間目の2011年7月1日および2012年7月3日に、埋却地および周辺地の初期定着率を調査し、生育終期の2011年12月20日および2012年10月27日に同様に最終定着率を調査した。2012年6月9日に、株の越冬率を調査した。また2011年では埋却地のみから、2012年では埋却地と周辺

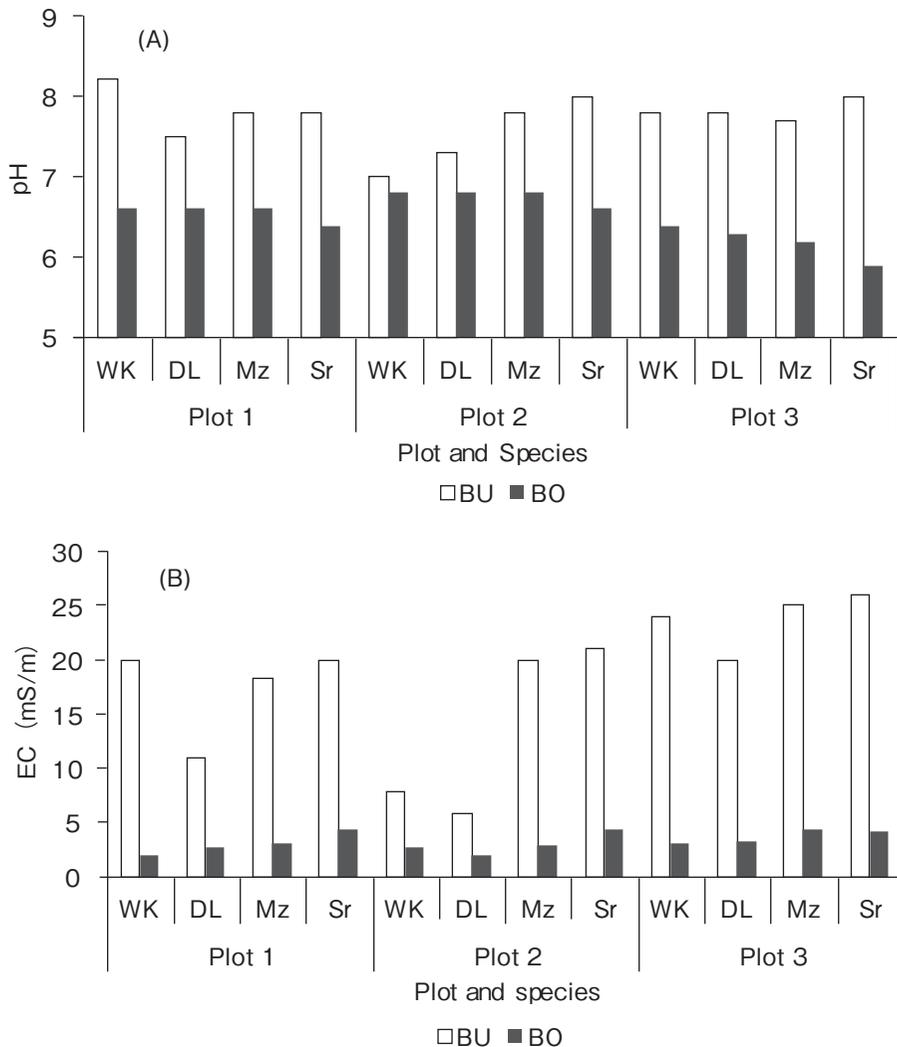


Fig. 1 Changes in soil pH (A) and soil EC (B) at the harvest on November 7, 2012.

For plots 1-3, animals were mainly buried in plot 3, sanitizing and slaughtering materials were mainly buried in plot 1 and both of animals and materials were buried in plot 2.

For abbreviations of species, napiergrass cv. Wruk wona (WK), and dwarf variety of late-heading type (DL), maize (cv. Ohka, MZ) and sorghum (cv. Sanjaku sorgo, SR).

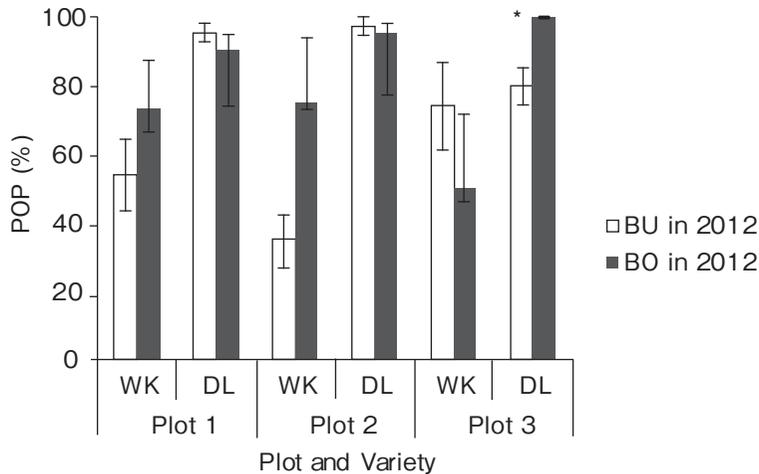


Fig. 2 Percentage of overwintered plants (POP) of two napiergrass varieties on June 9, 2012. For both plots and varieties, refer to Fig. 1.

地について、各草種各反復の4個体について草高および茎数を調査し、3個体の生体重、乾物重を測定し、乾物率を算出した。単位面積当たりの乾物収量は、個体当たりの乾物重に栽植密度と最終定着率を乗じて算出した。

2.3 飼料品質の分析

各草種の収穫時に乾燥試料を1mmのふるいを通るように粉碎し、中性デタージェント繊維(NDF)、酸性デタージェント繊維(ADF)および酸性デタージェントリグニン(ADL)の各含有率を、ANKOMファイバアナライザー(Model A200; ANKOM Technology Corp., Macedon, NY, USA)を用いて測定した。セルロースおよびヘミセルロース含有率は、各々NDFとADF含有率との差、ADFとADL含有率との差により算出した。ペプシン・セルラーゼ法(Goto・Minson 1977)による*in vitro*乾物消化率(IVDMD)の測定にはANKOMインビトロインキュベータ(Model D200; ANKOM Technology Corp., Macedon, NY, USA)を用いた。

3. 結果と考察

3.1 家畜埋却地の土壌化学性

家畜埋却地の土壌化学性として、表層土壌のpHとECを、埋却地、周辺地ともに草種・反復別に、Fig. 1 (A), (B)にそれぞれ示した。pHは、埋却地では約7~8、周辺地では約6~7であり、明らかに埋却地で高くなる傾向であったが、反復間の差異は明瞭ではなかった(Fig. 1 A)。この傾向は、土壌ECでも同様であり、周辺地では約5 mS/m未満であったが、埋却地ではECが高く、その程度は反復1, 2に比べて反復3で高くなる傾向であった(Fig. 1 B)。

3.2 植物体の越冬率

ネピアグラス2品種の2012年6月上旬の越冬率を、周辺地と埋却地の反復別にFig. 2に示した。DLでは反復1, 2では90%以上で両区の差異も認められなかった。一方、WKの越冬率はいずれも低く、特に2区の埋却地では35%と最も低くなったが、周辺地と埋却地の差異は見られなかった。

3.3 植物体の定着率

植物体の晩秋における定着率を、2011年では周

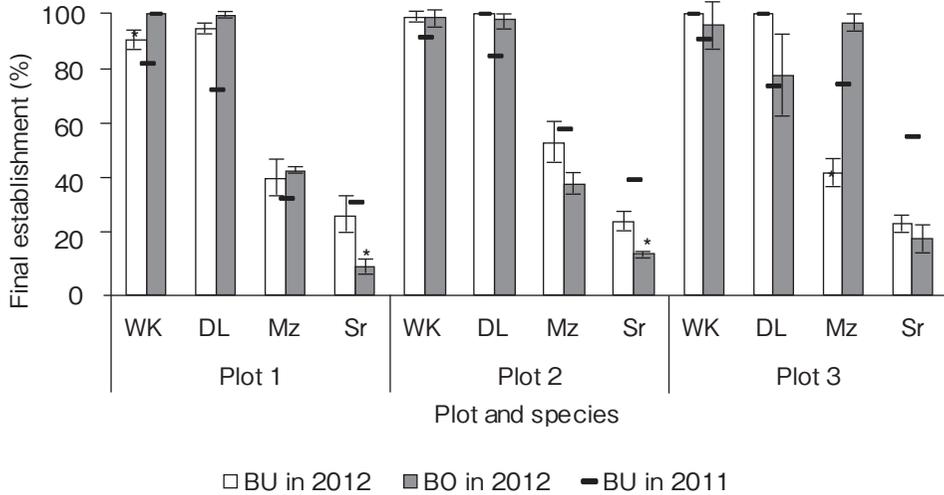


Fig. 3 Final established percentage of 4 species in late autumn on December 20, 2011 and on October 27, 2012 (Mean \pm standard deviation). *: $P < 0.05$ in 2012. For both plots and species, refer to Fig. 1.

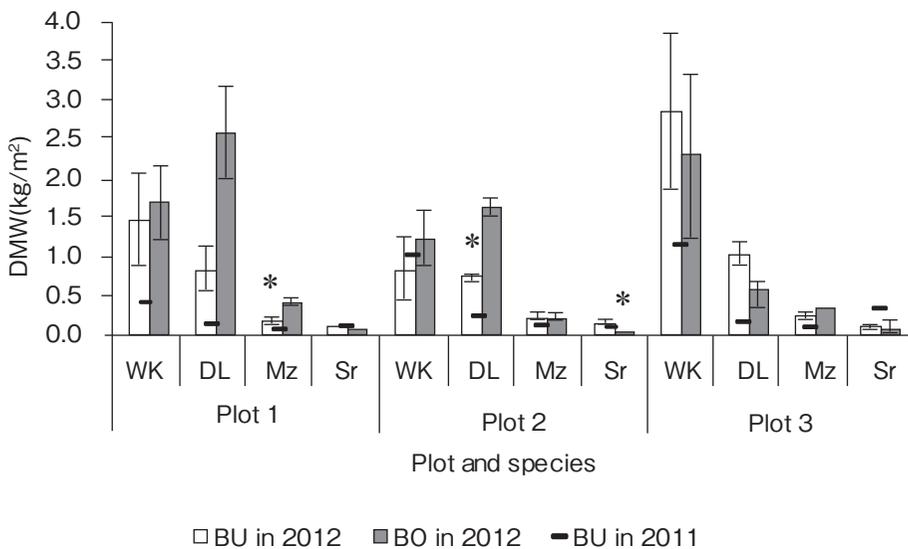


Fig. 4 Dry matter weight at the harvest in late autumn on December 20, 2011 and on November 3, 2012 (Mean \pm standard deviation). *: $P < 0.05$. For both plots and species, refer to Fig. 1.

辺地と埋却地の両区を分けずに、2012年では両区の反復別、草種別にFig. 3に示した。移植後約2週間目の2011年7月1日における初期定着率はネピアグラス2品種では95%以上と高くなったが、MZでは87~90%、SRでは36~74%と大きく低下

した。特段の草地管理を行わずに12月20日の最終定着率は、WKでは約90%で最も高く、次いでDLでは約80%であり、多くの株が定着できたと考えられたが、MZでは34~75%、SRでは33~56%であり、反復間の差が大きかった。MZとSR

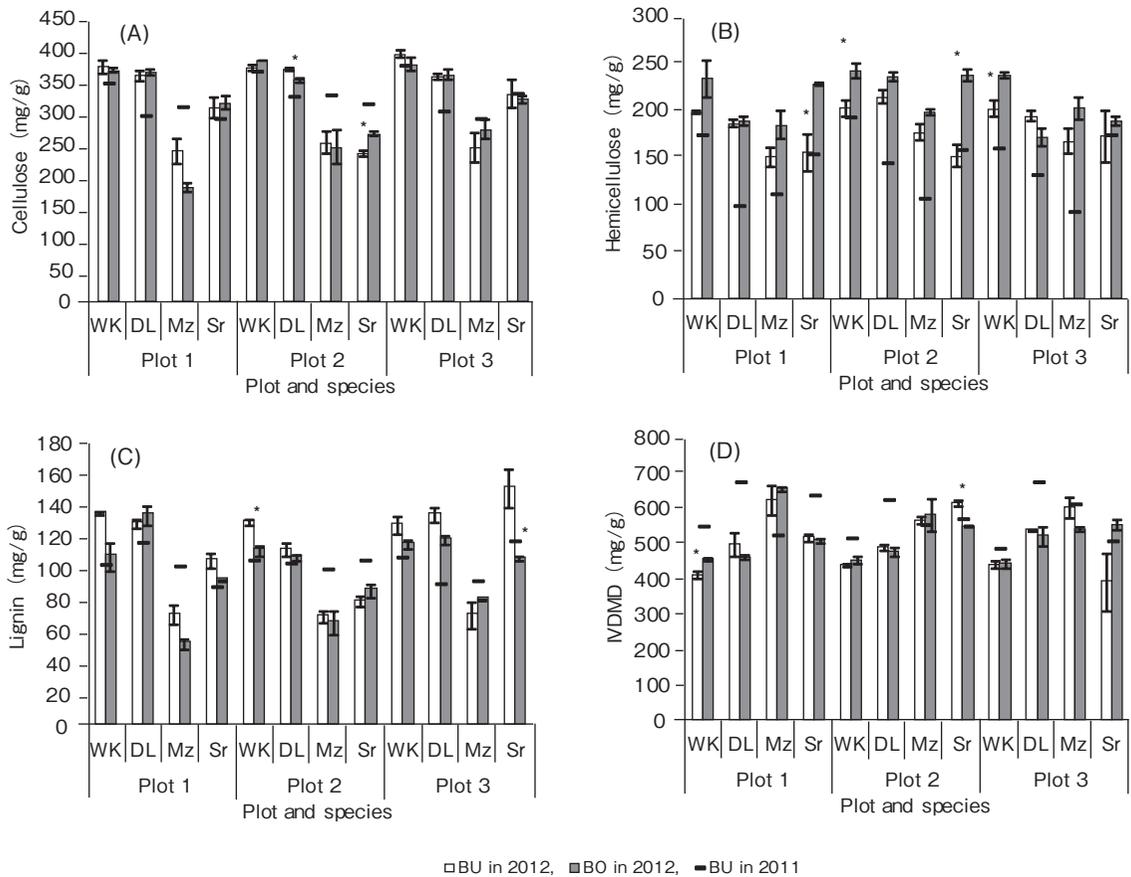


Fig. 5 Cellulose (A), hemicellulose (B), and lignin (C) contents and *in vitro* dry matter digestibility (IVDMD) of 4 species in late autumn on December 20, 2011 and on October 27, 2012 (Mean \pm standard deviation). *: P < 0.05 in 2012.

For both plots and species, refer to Fig. 1.

では反復3で最も定着率が高く、次いで反復2、反復1の順であったが、メヒシバなどの雑草の繁茂程度が、反復1 > 反復2 > 反復3の順であったことを反映していると考えられた。この傾向は2012年でも同様であり、人力による播種・造成では、栽植間隔の広く永続的利用が可能なネピアグラスで、省力的栽培が可能と考えられた。

3.4 成長形質および収量

植物体の晩秋における乾物重を、2011年では周辺地と埋却地の両区を分けずに、2012年では両区の反復別、草種別にFig. 4に示した。2011年の乾物重は、反復3のDLを除いて、いずれの草種で

も反復3で最も高く、次いで反復2、反復1の順となった。これは、反復3では家畜が主に埋却されたこととの関連性が推察された。草種間差異を見ると、WKで最も高くなったが、その他の草種間差は小さかった。2012年の乾物重は、1, 2区では埋却地で低くなる傾向であったが、3区ではMzを除いてその傾向が逆転する傾向であった。

3.5 構造的炭水化物含有率およびIVDMD

セルロース含有率は、乾物重の大きかったWKで最も高く、その他の草種間差異は小さく、全ての草種と反復を合わせて乾物重と正の相関関係が成り立った ($r = 0.892$, $P < 0.01$)。また、WK

ではセルロース含有率は反復3で最も高く、次いで反復2、反復1の順となる傾向であった (Fig. 5 A)。ヘミセルロース含有率はWKとSRで高く、MZで低くなる傾向であった (Fig. 5 B)。リグニン含有率は草種間差が小さく、全草種、処理区を合わせて8.8~11.7%の範囲であり、乾物重の増加に伴い、SRでは増加する傾向であったが、その他の草種では乾物重との間に一定の傾向は認められなかった (Fig. 5 C)。タイで1~12か月間隔の5水準の刈取り間隔を平均すると、ネピアグラス普通品種Commonおよび矮性品種Muaklekでは、セルロース含有率が各々42.3および39.1%、ヘミセルロース含有率が各々24.4、22.8%であったが (Rengsirikulら, 2011)、本実験のWKおよびDLでは両含有率ともに低くなる傾向であった。セルロースなどの構造的炭水化物は、生育の進みに伴い含有率が増加するが (Rengsirikulら, 2011)、埋却地ではその進みが遅れる傾向であることが推察された。IVDMD (平均±標準偏差, n = 3) は、DLで最も高く65.4±2.9%であり、次いでSR (56.9±6.4%)、MZ (56.1±4.4%) であり、WKで最も低く51.4±2.9%であった。

3.6 雑草防除

家畜埋却地の2011年11月中旬ではWKは埋却地をほぼ完全に被覆したが、MZは雑草にはほぼ被圧され、越冬後の3月中旬では、いずれの草種も葉身などは降霜によって枯死し、冬季の季節風により脱落した。しかし、ネピアグラス2品種 (WKおよびDL) では枯死葉が地表部を被覆し、春雑草の成長を抑圧した。2012年3月14日に、埋却地および周辺地の全体 (1,800m²) を刈り払い、枯死・脱落葉を完全に取り除くために、800人・分の労働力 (74人・時/ha) を要した。

3.7 今後の課題

ネピアグラスは、本実験地域を含む南九州沿岸の低標高地帯では一般に越冬可能だが、埋却地で

は生育の進みがやや遅れた。家畜埋却地での作物栽培はほとんど行われておらず、家畜伝染病予防法による発掘制限期間が終了する2013年5月以降における植生管理の一助として、本実験の成果が活用されることを希望する。また、本実験では埋却地におけるネピアグラスの適応性と雑草防除効果のみを検討したが、今後は栽培飼料作物の安全性にも配慮することが必要と考えられる。

4. 要 約

2010年に宮崎県で発生した口蹄疫により殺処分された家畜埋却地の植生を管理し、雑草繁茂を防止する目的で、宮崎県立高鍋農業高等学校の埋却地および周辺地にネピアグラスの普通種WKおよび矮性種DLと、対照としてトウモロコシおよびソルガムを2011年6月中旬に栽植し、2011年および2012年に植生管理の効果を検討した。トウモロコシおよびソルガムは雑草に部分的に被圧され、最終的に定着できたのは1/3~1/2程度で低くなったが、ネピアグラス2品種は約8割以上の株が定着できた。晩秋における草高、乾物収量およびセルロース含有率などはWKで最も高く、これら形質の他の3草種間の差異は2011年では小さかった。埋却地では、消毒等の用具に比べて家畜を埋却した区域で、供試した飼料作物の成長量が特に高くなる傾向であった。春雑草の繁茂を抑制する目的で、越冬後の3月中旬に行った植生の刈取り・除去に74人・時/haの労働力を要した。ネピアグラスの越冬性はDLで高くなる傾向であった。今後は越冬後の簡易な植生管理法や埋却地で栽培された飼料作物の利用方法も検討する必要があると考えられる。

文 献

- 1) Goto, I., Minson, D.J.: Animal Feed Science and Technology, **22**, 247~253, 1977.
- 2) 石井康之・伊藤浩司・福山喜一: 日本作物学会紀

- 事, **69**, 209~216, 2000.
- 3) Idota, S., Hasyim, H., Wadi, A., Ishii, Y.: *Grassland Science*, **51**, 259~267, 2005.
- 4) 井戸田幸子, 浅野陽樹, 霧村雅昭, 杉本安寛, 石井康之: *日本草地学会誌*, **58**, 230~240, 2013.
- 5) Ishii, Y., Mukhtar, M., Idota, S., Fukuyama, K.: *Grassland Science*, **51**, 209~220, 2005.
- 6) Mukhtar, M., Ishii, Y., Tudsri, S., Idota, S., Sonoda, T.: *Plant Production Science*, **6**, 65~73, 2004.
- 7) 宮崎県口蹄疫対策検証委員会, 2011.
<http://www.pref.miyazaki.lg.jp/contents/org/nosei/chikusan/miyazakicow/saishu.html> [2012年3月26日参照]
- 8) 西脇亜也・一木美紗: *農作業研究*, **46**, 159~165, 2011.
- 9) Rengsirikul, K., Ishii, Y., Kangvansaichol, K., Pripanapong, P., Sripichitt, P., Punsuvon, V., Vaithanomsat, P., Nakamane, G., Tudsri, S.: *Grassland Science*, **57**, 135~141, 2011.
- 10) Utamy, R.F., Ishii, Y., Idota, S., Harada, N., Fukuyama, K.: *Journal of Warm Regional Society of Animal Science, Japan*, **54**, 87~98, 2011.

平成24年度助成研究調査一覧

本年度の対象とする研究または調査：

食肉および食肉製品の食品価値、加工技術及び家畜生産技術の向上に関する研究又は調査

単位：千円

研究調査のテーマ	継続年度	代表研究者		助成金額
		代表研究者名	所属機関	
発酵食肉製品由来の機能性ペプチドに関する研究		津田 治敏	独立行政法人国立健康・栄養研究所	500
抗肥満或いは美容効果を有する食品素材としての豚血液の有効利用法の開発		上曾山 博	神戸大学大学院農学研究科	1,200
発育期サッカー選手の栄養摂取状況と畜産物由来ヘム鉄摂取の必要性に関する研究		坂元 美子	神戸女子大学健康福祉学部	700
高齢者における肉類摂取が認知機能低下の予防に及ぼす影響		辻 一郎	東北大学大学院医学系研究科	1,200
畜産副生物由来の豚レバーパウダーによるスポーツ栄養への効果 —タンパク質栄養状態強化のスポーツ貧血改善への寄与—	H.21～	松本 恵	日本大学文理学部体育学科	1,200
食肉製品の客観的嗜好性評価に関する研究	H.22～	芳賀 聖一	名城大学農学部	1,000
牛肉のおいしさに影響する筋内遊離脂肪酸についての研究（第2報）	H.23～	山之上 稔	神戸大学大学院農学研究科	1,000
黒毛和種牛銘柄牛肉の試食パネルと理化学成分分析による美味しさに係わる指標の探索	H.22～	鈴木 啓一	東北大学大学院農学研究科	1,200
受精能の良好なブタ精液の精子核クロマチン性状に基づく迅速かつ簡便な評価技術の開発		高坂 哲也	静岡大学農学部	900
暑熱環境時の豚の摂食行動における神経ヒスタミンの生理的役割		井上 寛暁	農研機構九州沖縄農業研究センター	1,100
最高級豚肉の生産につながる放牧効果の解明	H.23～	佐藤 衆介	東北大学大学院農学研究科	1,000
粉碎タケの給与が黒毛和種繁殖雌牛の養分摂取量、採食反芻時間、第一胃内発酵および血液性状に及ぼす影響の解明		石田 元彦	石川県立大学生産科学科	1,000
口蹄疫家畜埋却地の植生管理としてのネピアグラス栽培の適応性		石井 康之	宮崎大学農学部	1,000
合	計	13件		13,000

食肉に関する助成研究調査成果報告書

〔Final Reports for Research Grants for Meat and Meat Products〕

平成24年度 (Vol. 31)

2013年11月 発行

編集・発行——公益財団法人伊藤記念財団

THE ITO FOUNDATION

東京都目黒区三田1丁目6番21号 アルト伊藤ビル

〒153-8587

Alt Ito Building, 1-6-21 Mita, Meguro-ku, TOKYO

153-8587 JAPAN

TEL : 03 (5720) 8611

FAX : 03 (5720) 8612

印刷・製本——恒心社出版株式会社

<非売品・無断禁転載>