緑茶ポリフェノール給与飼育によるブリ筋肉氷蔵中の酸化防止効果

石原則幸*・荒木利芳**・井上美佐***・西村昭史***
朱 政治*・レカ・ラジュ・ジュネジャ*・森下達雄**

Suppressive Effect of Green Tea Polyphenols on Oxidation in Yellowtail (*Seriola quinqueradiata*) Meat during Round Iced Storage

Noriyuki ISHIHARA*, Toshiyoshi ARAKI**, Misa INOUE***, Akifumi NISHIMURA***,
Djoing-Chi CHU*, Lekh Raj JUNEJA* and Tatsuo MORISHITA**

* Nutritional Foods Division, Taiyo Kagaku Co., Ltd., 1-3, Takaramachi, Yokkaichi, Mie 510-0844

** Faculty of Bioresources, Mie University, 1515, Kamihama-cho, Tsu, Mie 514-8507

*** Owase Branch, Fisheries Research Institute of Mie, 215-2, Tenmaura, Owase, Mie 519-3602

Suppressive effects of green tea polyphenols (GTP) containing (+)-catechin, (-)-epicatechin, (-)-gallocatechin, (-)-epigallocatechin, (-)-gallocatechin gallate, (-)-epicatechin gallate and (-)-epigallocatechin gallate on lipid oxidation in cultured fish meat were investigated. The moist pellets supplemented with different concentrations of GTP (0, 0.02 and 0.2% (w/w)) was fed to young yellowtails (*Seriola quinqueradiata*). These fish were killed on the 2nd and 4th week after feeding. Changes in peroxide value (POV), TBA value and metmyoglobin formation ratio in their meat were measured during iced storage of the round fish. The increase in all the measured values of the meat were suppressed by GTP feeding.

The POV and TBA value on the day when fish were killed were lowered by GTP feeding. These results show that GTP in the diet had the physiological antioxidative potential. The GTP feeding period for 4 weeks was more effective than that for 2 weeks, and also the feeding of 0.2% GTP than that of 0.02% GTP.

Therefore, it was suggested that GTP was effective for maintaining freshness during transportation of cultured fish, and might contributed to production of health cultured fish.

(Received Nov. 12, 1999 ; Accepted Jun. 21, 2000)

緑茶 (*Camellia sinensis*) の成分であるポリフェノール化合物 (以下, GTP と略す) には様々な作用のあることが明らかにされている¹⁾。例えば, 生体内に活性酸素を発生させたラットに GTP を投与すると DNA の酸化障害を抑制すること²⁾, 及び GTP を摂取したヒトでは血漿中のリン脂質の過酸化を抑制すること³⁾ などが報告されている。GTP は β -カロチン及び食用油脂に対する酸

化防止作用を有する⁴⁾⁵⁾ ので, 魚類の干物や塩蔵品の品質向上を目的としてその溶液への浸漬工程が導入されている。このように食品産業で広く応用されているだけでなく, 家畜に対しても種々の生理効果を発揮するために畜産用機能性飼料素材としても注目されている⁶⁾。

ところで近年, 養殖技術の発達により高級魚も身近な食材になってきたが, 消費者の高級品・本物志向から,

* 太陽化学株式会社 NF 事業部 (〒510-0844 三重県四日市市宝町 1-3)

** 三重大学生物資源学部 (〒514-8507 三重県津市上浜町 1515)

*** 三重県科学技術振興センター水産技術センター尾鷲分場 (〒519-3602 三重県尾鷲市大字天満浦字古里 215-2)

より高品位な魚の生産が望まれている⁷⁾。生産から消費者への物流段階での鮮度保持技術の向上は極めて重要な課題である⁸⁾ので、本研究では養殖ハマチへの GTP 給餌による魚肉部の酸化防止効果を検討した。なおこれまでに、GTP を養殖魚に給与した報告は全く認められない。

実験方法

1. 供試魚

供試魚には養殖ハマチ（ブリ, *Seriola quinqueradiata* 若年魚）を用いた。ハマチは、三重県科学技術振興センター水産技術センター尾鷲分場（以下、尾鷲分場と略す）の尾鷲湾大曾根養殖場において、モジャコから養成した当歳魚を用いた。

2. 給餌試験の日程

供試魚の試験飼育は尾鷲分場の大曾根養殖場において、1 区当り 3m×3m×3m の網生簀で行った。

試験餌料の給餌期間は平成 10 年 11 月 6 日～12 月 10 日までとした。試験開始時の供試尾数は 1 区当り 165 尾とした。試験開始時の平均体長及び体重は、それぞれ 32.0 cm 及び 596 g であった。給餌は 1 日 1 回午前中に行った。また、供試魚採取の前日は無給餌とした。給餌量は各試験区ともほぼ飽食量とした。試験期間中の水深 2 m の平均水温は 20.6℃ であった。試験期間中の塩分及び溶存酸素の変動は、それぞれ 31.1–34.0 psu 及び 5.4–6.1 mg/l であった。

試験区分は、GTP を無添加の対照区、0.02% (w/w) 添加した 0.02% 区、0.2% (w/w) 添加した 0.2% 区の 3 つの試験区とした。

3. 飼育餌料

試験に用いた飼育餌料は市販の配合餌料（ハマチエース 50, 坂本飼料(株)製）と生マイワシ (*Sardinops melanostictus*) のミンチを 1 対 1 の割合で混合したモイストペレットを用いた。

ビタミン剤（ハマチ用ビタミンプレミックス・ハマチエード W-N, 武田薬品工業(株)製）は 5% (w/w) とな

るように内割添加した。また、フィードオイル（理研フィードオイル, 理研ビタミン(株)製）は 1% (w/w) を添加した。

GTP は、茶粉末単体飼料テアペクス B（ポリフェノール含量：25.5% (w/w), 太陽化学(株)製）を用いた。これをモイストペレットに対して 0.02 及び 0.2% (w/w) になるように添加した。その配合組成は Table 1 に示した。飼育餌料は 2 週間ごとに調製し、-20℃ で保管した。

4. 供試魚の採取

供試魚は、給餌 2 週間後及び 4 週間後にそれぞれ採取し、魚肉部の測定に供した。

各区とも 50 尾（魚肉部測定以外のものを含む）のハマチを即殺して、直ちに発泡スチロール箱の碎水中に埋め込んで実験室に搬送した。

5. 供試魚の保存条件

各試験区別にラウンドのまま発泡スチロール箱（排水孔付き）に満たした碎水中に埋め込んで水蔵し、0, 1, 3 及び 5 日目ごとに下記項目を測定に供した。尚、水蔵は 4℃ 低温室中で行い、適時に碎水を補給した。

6. 魚肉部の測定

魚肉部について、ラウンド水蔵中の過酸化物価 (POV), TBA 値及びメト化率の変化を測定した。

POV を測定するための脂質は魚肉部から Folch 法⁹⁾で抽出した。抽出脂質の POV は太田の方法¹⁰⁾で測定し、脂質 1 kg 当たりの活性酸素のミリ当量数で示した。

また、TBA 値は Turner 法¹¹⁾で測定し、試料肉 1 kg 当たりのマロンアルデヒドの nmol 数で示した。また、メト化率は尾藤の方法¹²⁾で測定した。

7. 魚肉部の調製

供試魚は各試験区別に水蔵期間ごとに 5 尾を取り出し、3 枚卸しのフィレーとして骨と皮を取り除いた後、背側と腹側に切り割いて血合肉を削ぎ、それぞれ部位別に集めた背肉、腹肉及び血合肉を魚肉部とした。

POV 及び TBA 値の測定には腹肉を、またメト化率の測定には血合肉を用い、いずれもチョッパーでペースト

Table 1 Composition of feed components (% (w/w))

Group	Green tea polyphenols	Fish meal	Formula feed	Vitamin mix	Feed oil
Control group	0	47.0	47.0	5.0	1.0
0.02% group	0.02	46.99	46.99	5.0	1.0
0.2% group	0.2	46.9	46.9	5.0	1.0

にしてよく混合してから測定に供した。尚、背肉は別途他の分析項目に供した。

実験結果

1. 保存中の POV の変化

各試験区のラウンド氷蔵中における魚肉部の POV の変化を Fig. 1 に示した。対照区と 0.02% 区及び 0.2% 区を比較すると、魚肉部の POV は既に氷蔵 0 日目から、0.02% 区及び 0.2% 区で対照区のそれよりも低く、魚肉部の過酸化物の生成が抑制されていた。さらに、氷蔵 1 日目、3 日目及び 5 日目の順に従い、それぞれの区において POV の上昇が認められたが、対照区と比較して 0.02% 区及び 0.2% 区ではその上昇が抑制される傾向にあった。

給餌期間を比較すると、2 週間の給餌よりも 4 週間の給餌期間の方が POV の上昇抑制に効果的である傾向が認められた。また、その際の添加量で比較すると、0.2% 区の方が 0.02% 区よりも低い POV を示す傾向にあった。

2. 保存中の TBA 値の変化

各試験区のラウンド氷蔵中における TBA 値の変化を Fig. 2 に示した。Fig. 2 から明らかなように、給餌開始 2 週間後及び 4 週間後とも魚肉部の TBA 値は氷蔵 0 日目から 0.02% 区及び 0.2% 区で対照区よりも低い傾向を

示した。さらに、添加区では、0.2% 区の方が 0.02% 区よりも低い傾向を示した。

3. 保存中のメト化率の変化

各試験区のラウンド氷蔵中における血合肉のメト化率の変化を Fig. 3 に示した。これは肉色のバロメーターである血合肉の赤味の度合いを調べたもので、メト化率が低いほど好ましい赤味である。給餌開始 2 週間後及び 4 週間後のいずれにおいても 0.02% 区及び 0.2% 区では、対照区と比較して常に低値で推移する傾向が認められた。

また、給餌期間については、2 週間よりも 4 週間の方がメト化率上昇抑制に効果的な傾向が認められた。

尚、官能検査は熟練したパネリストを集めることが困難であったので実施しなかったが、肉眼で GTP 添加区と対照区を比較すると、前者では血合肉独特の濃い赤味が鮮やかに保持される傾向があり、また、調理後も長時間持続する傾向が観察された。

考 察

GTP は (+) -カテキン, (−) -エピカテキン, (−) -ガロカテキン, (−) -エピガロカテキン, (−) -ガロカテキンガレート, (−) -エピカテキンガレート及び (−) -エピガロカテキンガレートの 7 種類のポリフェノール化合物から構成されている。

これまで、GTP はヒトや畜産動物に対して様々な生

Fig. 1 Change in POV of yellowtail meat by feeding of green tea polyphenols
(●) Control group, (■) 0.02% group, (▲) 0.2% group.

Fig. 2 Change in TBA value of yellowtail meat by feeding of green tea polyphenols
(●) Control group, (■) 0.02% group, (▲) 0.2% group.

Fig. 3 Change in metmyoglobin formation ratio of yellowtail red meat by feeding of green tea polyphenols
(●) Control group, (■) 0.02% group, (▲) 0.2% group.

理効果を示すことが明らかにされてきた¹³⁾。しかしながら、養殖魚のような水産動物に対する GTP の生理効果はこれまで明らかにされていなかった。今回の試験で、ハマチに GTP を給与し、当歳魚のハマチ筋肉の氷蔵過程での脂質及び筋肉色素の酸化に及ぼす影響を検討したところ、氷蔵日数の経過に伴って POV, TBA 値及びメト化率の上昇が抑制される傾向にあった。さらに氷蔵 0 日目における魚肉の POV, TBA 値及びメト化率が対照区と比較して、わずかではあるが既に低い値を示す傾向も認められた。しかしながら、氷蔵 0 日目の POV において、0.02% 区と 0.2% 区で幾分違いが認められたが、この原因については現在のところ不明である。今後、詳しい試験によって検討する必要があると考えられる。

竹田¹⁴⁾は、POV が 210 meq/kg の酸化魚油を投与したマダイでは新鮮魚油を投与したマダイと比較して血清中の TBA 値が高いことを報告している。今回の試験で使用した飼育餌料は新鮮な材料を用いて 2 週間ごとに調製して給餌直前まで -20℃ で凍結保存しているために、給与飼料の酸化の影響も考えられ、GTP 添加飼料での飼料の酸化防止の可能性も推測される。しかしながら、本研究では飼料の POV 及び TBA の測定を行っていないため、今後検討する必要がある。

GTP の生体内抗酸化作用については、Inagake ら⁵⁾は化学発癌剤である 1, 2-ジメチルヒドラジンを投与して大腸癌を誘発させたラットに GTP を経口投与すると、DNA の酸化的障害により生成する 8-ヒドロキシデオキシグアノシンの大腸内での生成が抑制されること及び *in vivo* で GTP が酸化抑制を示す可能性があることを報告している。また、Yokozawa ら¹⁵⁾¹⁶⁾は腎不全を誘発させたラットに GTP を投与するとクレアチンの酸化分解により生成する尿中メチルグアニジン濃度が抑制されること及び透析を必要とする腎不全患者に GTP を摂取させると血清中のメチルグアニジンの生成が低下することを報告し、これらのことから GTP が生体内でラジカルスカベンジャーとして作用している可能性を示唆している。これらのことから、本研究における酸化防止効果に関する測定値は、GTP の生体内抗酸化効果によるものではないかと推測される。

また、メト化率については、上昇抑制の結果から、魚肉中の色素タンパク質のミオグロビンやヘモグロビンのヘム中の鉄が 2 価から 3 価に酸化されて、それぞれメトミオグロビンやメトヘモグロビンとなる酸化が抑制される傾向を示し、氷蔵過程での血合肉の肉色劣化が抑制されることも明らかとなった。

ところで、一般に養殖魚は飼育環境の悪化や飼育餌料の品質が低下するとストレスが負荷され、生体内で活性酸素が生成することが知られている¹⁷⁾¹⁸⁾。この活性酸素はハマチ黄疸発症の原因であることも報告されている¹⁹⁾。これらのことから、生鮮魚の鮮度保持以外に、健康なハマチの生産という観点からも GTP 給与は効果的であると推論できよう。

これらのことから、GTP はヒトや畜産動物以外に水産動物に対しても有用であることが明らかとなった。

要 約

緑茶ポリフェノールを添加したモイストペレットを当歳魚のハマチに給餌した。給餌開始 2 及び 4 週間後にハマチを活けじめし、ラウンド氷蔵中の魚肉部の酸化防止効果を検討した。

その結果、GTP の給与により、氷蔵日数の経過に伴う魚肉の POV, TBA 値及びメト化率の上昇が抑制される傾向にあった。これらは、GTP の給与期間及び添加量の増加に伴い、より効果的に抑制する傾向が認められた。

また、無添加区と比較して、GTP 添加区のハマチでは魚肉の POV 及び TBA 値が低値を示す傾向にあり、GTP がハマチに対して生体内抗酸化作用を示していることが示唆された。

これらのことから、GTP の養殖魚への給与は、流通段階の鮮度及び品質の保持に効果のあることが推察された。

本研究は財団法人三重県工業技術振興機構の地域研究開発促進拠点支援事業に係る可能性試験の一環で実施した。科学技術振興事業団並びに財団法人三重県工業技術振興機構に謝意を表します。

文 献

- 1) YAMAMOTO, T., JUNEJA, L.R., CHU, D.-C. and KIM, M., eds. : Chemistry and Applications of Green Tea, CRC Press, NY (1997).
- 2) INAGAKE, M., YAMANE, T., KITAO, Y., OYA, K., MATSUMOTO, H., KIKUOKA, N., NAKATANI, H., TAKAHASHI, T., NISHIMURA, H. and IWASHIMA, A. : *J. Cancer Res.*, **86**, 1106 (1995).
- 3) NAKAGAWA, K., NINOMIYA, M., OKUBO, T., AOI, N., JUNEJA, L.R., KIM, M., YAMANAKA, K. and MIYAZAWA, T. : *J. Agric. Food. Chem.*, **47**, 3967 (1999).
- 4) UNTEN, L., KOKETSU, M. and KIM, M. : *J. Agric. Food Chem.*, **45**, 2009 (1997).

- 5) KOKETSU, M. and SATOH, Y. : *J. Food Lipids*, **4**, 1 (1996).
  - 6) 石原則幸・中西運悦・赤地重光 : 酪農ジャーナル, **51**, 32 (1998).
  - 7) 吉岡 進 : 養殖, **1999-7**, 90 (1999).
  - 8) 岩本宗昭・渡部終五 : 月刊食品流通技術, **20**, 85 (1991).
  - 9) FOLCH, J., ASCOLI, I., LEES, M., MEATH, J.A. and LeBARON, B.N. : *J. Biol. Chem.*, **191**, 833 (1951).
  - 10) 大田静行 : 食品分析法, 渡辺篤二編 (光琳, 東京), p. 554 (1982).
  - 11) 梶本五郎 : 食品分析ハンドブック, 林 淳三・印南 敏・菅原龍幸編 (建帛社, 東京), p. 146 (1982).
  - 12) 尾藤方通 : 日水誌, **31**, 534 (1965).
  - 13) CHU, D.C. and JUNEJA, L.R. : *Innovations in Food Technol.*, **Nov. 1998**, 40 (1998).
  - 14) 竹田正彦・示野貞夫・細川英毅・天野勝明・池田康輔・井上伊佐男 : 水産増殖, **37**, 1 (1989).
  - 15) YOKOZAWA, T., OURA, H., SAKANAKA, S. and KIM, M. : *Biosci. Biotech. Biochem.*, **56**, 896 (1992).
  - 16) YOKOZAWA, T., OURA, H., SHIBATA, T., ISHIDA, K., KANEKO, M., HASEGAWA, M., SAKANAKA, S. and KIM, M. : *J. Trad. Medicines*, **13**, 124 (1996).
  - 17) 関谷朝裕・村田 寿・境 正・山内 清・延東真・下村敏之・宇川正治 : 日水誌, **60**, 505 (1994).
  - 18) 角田 出 : *Bio Industry*, **15**, 23 (1998).
  - 19) SAKAI, T., MURATA, M., ENDO, M., SHIMOMURA, T., YAMAUCHI, K., ITO, T., YAMAGUCHI, T., NAKAJIMA, M. and FUKUDOME, M. : *Aquaculture*, **160**, 205 (1998).
- (平成 11 年 11 月 12 日受付, 平成 12 年 6 月 21 日受理)
-