

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年5月28日現在

機関番号：14501

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2010～2012

課題番号：22380136

研究課題名（和文） 脂肪酸プロファイル測定による和牛牛肉の品質・安全性評価手法の構築

研究課題名（英文） Development of a method for evaluating quality and health attributes of Japanese Wagyu beef by the measurement of fatty acid profile

研究代表者

豊田 浄彦（TOYODA KIYOHICO）

神戸大学・大学院農学研究科・教授

研究者番号：30144603

研究成果の概要（和文）：

筋内・筋間・皮下脂肪の抽出脂肪と脂肪組織を対象として、黒毛和種牛肉の食味の優位性を示す脂肪酸プロファイル測定へのATR-FTIR法の適用性を明らかにした。食味に影響する一価不飽和脂肪酸、健康機能に関係する ω -3、-6脂肪酸等の評価がFTIR法により可能であることを示した。ニューラルネットワークにより脂肪酸組成と食味評価尺度との関係をモデル化し、やわらかさ、香りの食味推定の可能性が示された。

研究成果の概要（英文）：

The applicability of ATR-FTIR spectroscopy in measuring fatty acid profile of adipose tissue and extracted lipids from intra-, inter-muscular and subcutaneous fats was revealed for specifying the superior quality of taste of Japanese Black Cattle beef. The profiles of monounsaturated fatty acids affecting beef taste and ω -3, -6 polyunsaturated fatty acids related to health attributes were evaluated by FTIR measurement. Relationship between the scores of sensory test of beef and fatty acid composition was modeled by artificial neural networks and the capability of FTIR spectroscopy for estimating beef taste such as tenderness and flavor was suggested.

交付決定額

（金額単位：円）

| | 直接経費 | 間接経費 | 合計 |
|--------|------------|-----------|------------|
| 2010年度 | 9,100,000 | 2,730,000 | 11,830,000 |
| 2011年度 | 2,500,000 | 750,000 | 3,250,000 |
| 2012年度 | 2,800,000 | 840,000 | 3,640,000 |
| 総計 | 14,400,000 | 4,320,000 | 18,720,000 |

研究分野：ポストハーベスト工学

科研費の分科・細目：農業工学・農業環境工学

キーワード：ATR-FTIR、遺伝的アルゴリズム、 ω -3脂肪酸、食味、ニューラルネットワーク

1. 研究開始当初の背景

(1) 低価格の輸入牛肉に対して品質優位性を重視した和牛生産が試みられている。そのなかで注目されている品質指標は、和牛独特

の香り、味、舌触り等の食味に係る脂肪酸である。ただし、その根拠とされる知見は海外における研究成果であり、オレイン酸が重視されているが、和牛の脂肪酸組成と食味

との関係は十分に解明されていない。牛肉脂質中には ω -3、-6 脂肪酸や共役リノール酸など、健康機能に関係する脂肪酸も含まれ、それらに対する消費者の関心も高い。そのため、特定の脂肪酸の多寡による評価ではなく、一価・多価不飽和脂肪酸およびその異性体、飽和脂肪酸等の脂肪酸組成全体の特性を脂肪酸プロファイルとして、牛肉の食味や健康機能の評価に用いる必要がある。

(2) 前項の理由から、牛肉の生産、流通、加工の場において脂肪酸プロファイルの簡便迅速な計測が望まれている。それに対して、近赤外分光法(NIR)の応用が試みられている。NIRは倍音・三倍音に基づく分光法であり、様々な要因が複合的に関与することから多変量解析の統計的手法に頼らざるを得ず、スペクトルによる脂質成分の直接的な説明は困難である。また、牛肉の脂肪測定では、商品価値の高い筋肉脂肪の評価が必要であるが、脂肪交雑内の脂肪のみを安定して非破壊測定することは容易でない。そこで、比較的測定容易な筋間・皮下脂肪の測定値から筋肉脂肪の値を推定することが行われる。しかし、筋肉・筋間・皮下脂肪の脂肪酸組成は一般に異なることから、適切な評価値を得る方法は未だ確立していない。

2. 研究の目的

(1) ガスクロマトグラフィ(GC)法により牛肉の筋肉・筋間・皮下脂肪の脂肪酸プロファイルを明らかにすると共に、分子の基準振動である中赤外域でのATR-FTIR法(全反射吸収型フーリエ変換赤外分光法)による同プロファイルの非破壊測定法を明らかにする。

(2) 流通等の現場での自由度の高い測定への適用が期待されるファイバースコープ(PIR)による脂肪酸測定法を明らかにする。

(3) 健康機能に関係する ω -3、-6 脂肪酸をGC法、FTIR法により求め、和牛牛肉のそれらの特性とその簡便な測定法を明らかにする。

(4) 食味官能試験による食味評価尺度と脂肪酸組成の関係を明らかにし、FTIR測定による牛肉の食味評価の可能性を明らかにする。

3. 研究の方法

(1) 38頭(黒毛和種36頭、交雑種2頭、屠畜齢25~33ヶ月)の第6-7肋骨間切開面の試料肉より採取した皮下・筋間・筋肉脂肪の脂肪酸組成をGC分析により測定した。脂質抽出はFolch法に拠った。

(2) 前項(1)で供した脂肪組織と抽出脂質の

中赤外スペクトルをATR-FTIR法により測定した。ZeSn窓材を装着したATR-FTIR分光装置(MB3000、ABB)により、分解能 2cm^{-1} 、波数領域 $600\sim 4000\text{cm}^{-1}$ 、積算平均32回でスペクトルを測定した。

(3) GC測定値を参照データとしてFTIR測定スペクトルにPLS(部分最小二乗)法を適用し、脂肪酸組成を予測する回帰式を求めた。解析に用いる測定スペクトルの波数選択について、全領域によるPLS法、遺伝的アルゴリズム法(GA)、IPLS、MWPLSの適用を試みた。

(4) 牛肉の分析型食味官能試験を「食肉の官能評価ガイドライン(日本食肉消費総合センター刊)」に沿って実施した。延べ43名のパネラーにより、各々3~5点の試料肉の食味尺度(やわらかさ、多汁性、香り、旨味、脂っこさ、臭み、総合評価)が評価された。供試肉の主要脂肪酸組成と食味尺度の関係をニューラルネットワークによりモデル化した。

4. 研究成果

(1) ATR-FTIRによる脂肪酸プロファイルの簡便迅速測定法の開発

牛肉抽出脂質のATR-FTIR測定スペクトルについて、GC測定値を参照値とし、筋肉・筋間・皮下脂肪の脂肪酸組成を予測するPLS回帰式を求めた。各脂肪部位のGC測定値から、オレイン酸(一価不飽和脂肪酸、C18:1)は筋肉脂肪で $47.2\pm 3.0\%$ であり、筋間・皮下脂肪で $50.1\pm 3.4\%$ 、 $49.7\pm 3.8\%$ であった。逆に、ステアリン酸(飽和脂肪酸、C18:0)は、筋肉・筋間・皮下脂肪において、それぞれ $11.7\pm 2.9\%$ 、 $10.82\pm 3.4\%$ 、 $6.5\pm 2.1\%$ であった。一価不飽和脂肪酸(MUFA)と飽和脂肪酸(SFA)の比(MUFA:SFA)は、筋肉・筋間・皮下脂肪において、それぞれ $1.21\pm 0.8\%$ 、 $1.47\pm 0.8\%$ 、 $1.68\pm 0.9\%$ となり、体幹中心に近い筋肉脂肪の不飽和度が低く、体表面に近い皮下脂肪の不飽和度が高い。抽出脂質と脂肪組織のFTIR測定値にPLS法を適用し、回帰式を求めた。回帰分析に供した波数領域により、回帰式の決定係数は大きく異なった。 $600\sim 4000\text{cm}^{-1}$ の全領域によるPLS法、GA、IPLS、MWPLS法では、オレイン酸のPLS回帰式の決定係数 R^2 は0.409、0.954、0.944、0.948であった。同様に、飽和脂肪酸では、0.818、0.986、0.985、0.978、一価不飽和脂肪酸では、0.736、0.981、0.975、0.970であり、本研究の範囲ではGA法による波数選択により予測精度の高い回帰式が得られた(図1、図2)。

一方、脂肪組織では、GA、IPLS、MWPLS法により求めた回帰式のオレイン酸の決定係数は0.608、0.414、0.578、飽和脂肪酸の決定係数は0.752、0.678、0.642、一価不飽和脂肪酸の決定係数は0.703、0.628、0.619と

なり、GA 法で最も高い決定係数が得られたが、決定係数の値は、抽出脂質に比べ 0.28~0.53 低下した。

本研究期間における測定例の蓄積により、回帰式の決定係数は改善されたが、共存物質を含む脂肪組織の回帰式の決定係数が予測精度の高い抽出脂質のそれと同等になることは無かった。

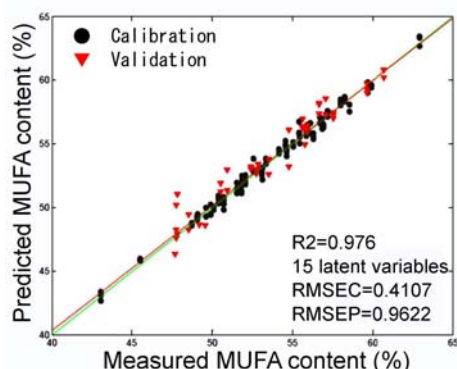


図 1 一価不飽和脂肪酸の PLS 回帰分析結果 (抽出脂質、GA 法による波数領域選択)

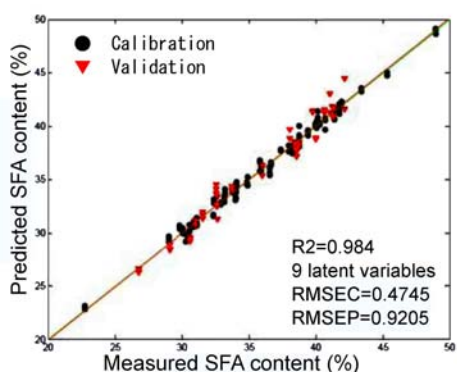


図 2 飽和脂肪酸の PLS 回帰分析結果 (抽出脂質、GA 法による波数領域選択)

(2) ファイバースコープによる FTIR 測定法の開発

オンサイトで利用可能なファイバースコープ (PIR) による脂肪酸組成の測定を試みた。測定部のベアファイバー・チップと試料との一様な接触を確保する測定セルを試作し、その効果を確認したが、得られた PLS 回帰式の予測精度は ATR-FTIR 法に比べ総じて低く、決定係数は 0.5 以下となった。可撓性のあるファイバークーブルにより自由に測定位置を選択できるが、ケーブルの測定時の曲率により信号の伝達損失が変化し、一定の信号強度を維持することは難しい。そこで、プローブによるスポット測定を機械化を前提に、位置決めのためのカット牛肉断面の画像解析

を検討した。紫外線励起蛍光画像による筋内・筋間・皮下脂肪の部位識別、部位内のクラスタリングを試みた。脂質やコラーゲンは紫外線照射下で蛍光を発生し、可視光の場合に比べ容易に脂肪部位を識別できた (図 3)。脂肪組織内の成分の違いに起因すると思われる蛍光強度の分布が観察され、蛍光画像から測定プローブの位置決めに関する有用な情報が得られることが分かった。現在の機器構成ではファイバースコープによる脂質測定は一般の ATR 測定に比べ精度が劣るが、蛍光画像の利用により、プローブの測定位置決め精度の向上、即ち、一定部位に対して再現性の高い測定が可能になると期待できる。蛍光画像による脂肪部位識別と蛍光強度マッピングによる脂肪組織のクラスタリングにより、再現性の高いファイバースコープを用いた脂肪酸測定が期待される。

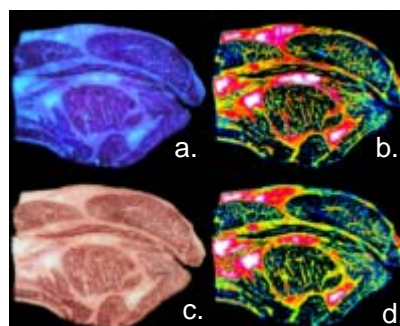


図 3 蛍光画像によるカット牛肉脂肪部位識別と脂肪内分布の検出 (a. 紫外線励起蛍光画像、b. 蛍光画像疑似カラーマップ、c. 可視光画像、d. 可視光画像疑似カラーマップ)

(3) ω -3、-6 脂肪酸の FTIR 測定

ω -3、-6 脂肪酸の標準試薬、試薬添加抽出脂質の模擬試料、牛肉脂肪組織を対象として FTIR スペクトルによる脂肪酸の PLS 回帰分析を行った。牛肉の主要な ω -3、-6 脂肪酸である α -リノレン酸、リノール酸では 3010cm^{-1} 近くでピークシフトが観測され (図 4)、 α -リノレン酸、 γ -リノレン酸では、 1265cm^{-1} で特徴的なピークが見られた。

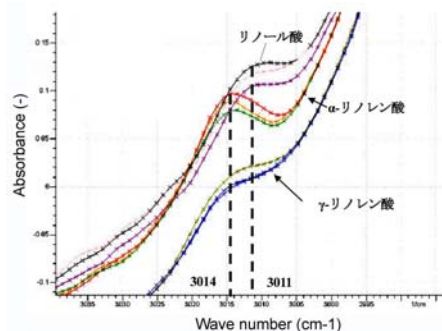


図 4 α -および γ -リノレン酸、リノール酸のスペクトル

それらを含む波数領域を対象に、抽出脂質の模擬試料の PLS 回帰式の決定係数は 0.70～0.91 となった(図 5、図 6)。更に、脂肪組織では、決定係数は 0.57～0.89 となった。供試牛肉の α -リノレン酸、リノール酸の全脂肪酸に占める比率はそれぞれ $0.02 \pm 0.008\%$ 、 $1.12 \pm 0.32\%$ であり、また、その比(ω -3: ω -6)は約 1:50 であった。健康維持のために理想とされる ω -3: ω -6 の比は 1:1 とされることから、 ω -3: ω -6 の比は肉牛生産における脂肪酸組成改善の課題の一つと考えられる。供試牛肉の γ -リノレン酸量は検出限界以下であった。

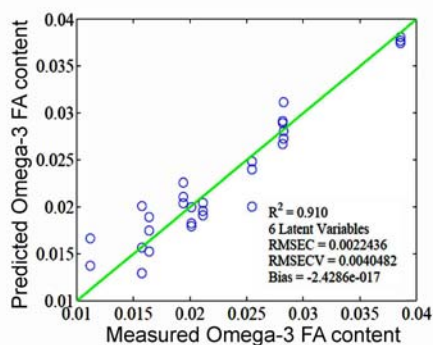


図 5 ω -3 脂肪酸の PLS 回帰結果

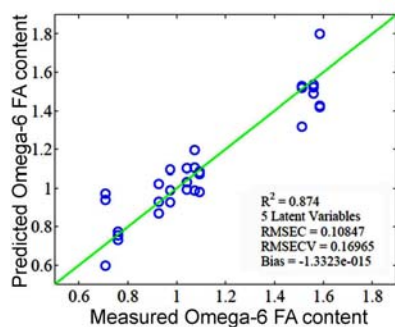


図 6 ω -6 脂肪酸の PLS 回帰結果

(4) 脂肪酸組成による牛肉の食味評価

分析型官能評価パネル試験を実施し、111 検体の試料肉の食味評価尺度と主要脂肪酸(6 種類)の成分比との関係を、ニューラルネットワーク(ANN)によりモデル化した。

入力層 6 ノード(主要脂肪酸成分比)、中間層 5 ノード、出力層 1 ノード(各食味評価尺度)とし、伝達関数はシグモイド関数を採用し、バックプロパゲーション法により学習を行った。その結果、食味評価尺度の「やわらかさ」、「香り」、「脂っこさ」において、脂肪酸組成と比較的高い相関を認めた。それらの相関係数は 0.78、0.72、0.67 であった。図 7 に「やわらかさ」の例を示す。

以上より、和牛牛肉の特徴である食味の優位性の根拠となる脂肪酸プロファイルの簡

便計測法を明らかにした。前処理を必要とせず非破壊計測が可能な FTIR 法は現場への適用が期待できる測定法であり、今後、ファイバースコープの適用性向上などの周辺技術の進展が FTIR 応用を促すものと期待できる。

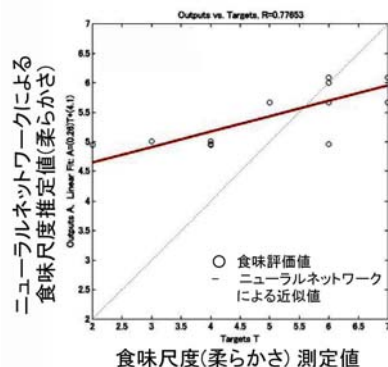


図 7 ニューラルネットワークによる食味(やわらかさ)推定結果

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 0 件)

[学会発表] (計 9 件)

①木下 光一・豊田 淨彦・井原 一高、画像解析によるカット牛肉脂肪組織の部位識別、農業機械学会関西支部第 129 回例会、2013.03.05、神戸大学、査読無

②Kiyohiko Toyoda, Minoru Yamanoue, Ikko Ihara, Xiaoping Hu, ATR-FTIR Evaluation of Important Fatty Acid Profile in Japanese Black Cattle Beef, The 58th International Congress of Meat Science and Technology 2012.08.13, Hilton Montreal Bonaventure Montreal, Canada, 査読有

③Kiyohiko TOYODA, Xiaoping HU, Ikko IHARA, Minoru YAMANOUE, Characterization of fatty acid composition profile of Japanese black Wagyu beef by ATR-FTIR spectroscopy, Proceeding, In: the proceeding CD of ISMAB2012, eonju, Korea, 2012.6.18-20, 査読無

④豊田 淨彦、井原 一高、田邊 稚香子、FTIR 法による牛肉脂質中の機能性脂肪酸の迅速測定、農業機械学会関西支部第 127 回例会、関西支部報 112 号、p.58、京都大学、2012.3.5、査読無

⑤Kiyohiko Toyoda, Minoru Yamanoue, Ikko Ihara, X. HU, Multivariate analysis of fatty acid composition of black Wagyu beef by ATR-FTIR spectroscopy and PLS regression, 6th International CIGR

Technical Symposium, 2011.4.19, Nantes, France, 査読無

⑥豊田 淨彦、胡 曉萃、岡田由佳理、井原一高、山之上 稔、ATR-FTIR による牛肉脂肪酸組成の非破壊迅速測定法の開発ー波数領域の選択による推定精度の向上ー、農業機械学会第70回年次大会講演要旨、p.70-71、2010.9.28、弘前大学

〔図書〕(計0件)

〔その他〕

ホームページ等

(1)牛肉品質評価プロジェクト

<http://www2.kobe-u.ac.jp/toyoda/beefproj2/default.html> ~

(2)ひらめき☆ときめきサイエンス 「光で科学する牛肉の美味しさと品質」

<http://www2.kobe-u.ac.jp/toyoda/hirameki2012/default.html> ~

6. 研究組織

(1)研究代表者

豊田 淨彦 (TOYODA KIYOHICO)
神戸大学・大学院農学研究科・教授
研究者番号：30144603

(2)研究分担者

(3)連携研究者

①山之上 稔 (YAMANOUE MINORU)
神戸大学・大学院農学研究科・准教授
研究者番号：30182596

②井原 一高 (IHARA IKKOU)
神戸大学・大学院農学研究科・准教授
研究者番号：50396256