

令和 4 年 5 月 31 日現在

機関番号：32669

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2021

課題番号：20K15487

研究課題名（和文）和牛肉の嗜好性に貢献する和牛香の生成に必要な牛肉成分の探索

研究課題名（英文）Exploring a key parameter for generating characteristic aroma of Japanese wagyu beef

研究代表者

小林 優多郎（Kobayashi, Yutaro）

日本獣医生命科学大学・応用生命科学部・講師

研究者番号：90770561

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 1,700,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、和牛肉の嗜好性に貢献する和牛香の生成に必要な牛肉成分の探索を目的とした。和牛香の生成条件の一つである食肉の酸化状態に着目して、脂質酸化物の定量、還元型および酸化型ミオグロビンの比率分析を行い、和牛肉に特徴的な脂肪酸とミオグロビンの酸化状態を評価した。和牛香モデル実験の香り分析に、脂質マトリックスの影響を低減できる手法を導入した結果、和牛香成分であるジアセチルとアセトインの量は加熱時間に応じて増加することを初めて明らかにした。他の和牛香成分であるラクトン類においても時間依存的な変化が認められた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

日本産牛肉（特に和牛肉）の輸出量は年々増加しており、和牛肉の美味しさは世界的にも認知されている。一方で、和牛肉の美味しさの原因は十分に解明されていない。和牛肉の嗜好性に関与する和牛香に着目した本研究は、和牛肉の成分組成に加えて、調理条件が、和牛香成分に影響することを明らかにしており、和牛香の生成機構の解明につながる成果を得ていると言える。

研究成果の概要（英文）：In this study, we aimed to investigate key compounds for Wagyu aroma which contribute the palatability of Japanese wagyu beef. By measuring fatty acid peroxides and Myoglobin Redox forms, we demonstrated the characteristic fatty acids and oxidized level of Myoglobin which affect Wagyu aroma generation. By using our improved the preparation procedure for extracting flavor from Wagyu meat, we demonstrated a relationship between one of Wagyu aroma (diacetyl and acetoin) and boiling condition.

研究分野：食肉科学

キーワード：和牛香 和牛肉 香り 加熱

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

和牛肉は輸入牛肉よりもおいしいと認識している消費者は多い。1970年代~80年代にて、米産牛肉はオレイン酸含量が高いほど香味(香り+味)の望ましさが増すという報告がなされた。その後、和牛肉を用いた官能評価が日本でも行われたが、滑らかさや香味は、オレイン酸量には弱く相関し、むしろ、粗脂肪含量またはBMS番号には強く相関するという結果が報告されており、和牛肉のおいしさの要因は明らかになっていない。我々は、煮た和牛肉に特有な甘い、脂っぽい良い香り(和牛香)に着目し、和牛香の生成条件をいくつか報告してきた。また、これまでの研究によって、その重要香気であり甘い香りを持つラクトン類は酸化された和牛肉脂質の加熱で生じる可能性を見出した。一方で、従来の香り分析では試料のラクトン回収率が低下してしまうため、その定量性に問題があった。そこで、本研究では新たな溶剤抽出-GC/MS法をモデル実験の香り分析に適用して、加熱条件が和牛香成分の生成に与える影響について検討を行った。

2. 研究の目的

- (1) 脂質マトリックスの影響を低減化できる前処理法を我々の和牛香実験モデルに導入して、和牛香成分の分析を試みる
- (2) 和牛香生成条件の一つである加熱処理に着目して、加熱条件が和牛香成分組成に与える影響を評価する

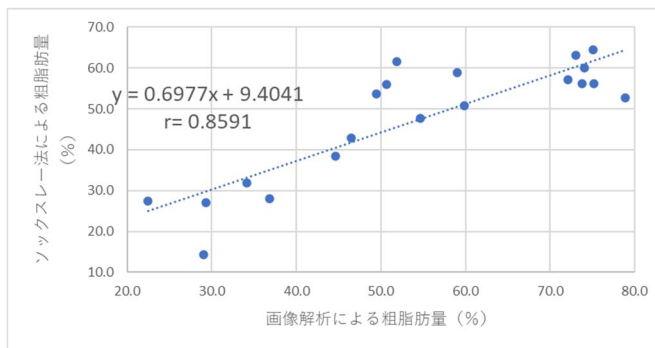
3. 研究の方法

- (1) 本研究では市販のサーロインの和牛肉および輸入牛肉を使用した。牛肉試料の脂肪酸組成は脂肪酸分析用メチルエステル化試薬(ナカライテスク社製)を用いて測定した。牛肉試料の粗脂肪量は、デジタルカメラによる画像撮影を行った後に、ソックスレー法により評価した。撮影画像にImageJを用いた画像解析を行い、粗脂肪量の非破壊測定を実施した。撮影は40 cm×40 cm×40 cmの撮影ボックス内で行い、照度計を用いて光ムラが少なくなるようにLED照明の位置を調整して、10000 lux条件下で行った。撮影画像はImageJにて、画像中の緑成分値のしきい値を調整して、赤身領域と筋肉脂肪(サシ)領域を判別した。それぞれの面積を算出して、粗脂肪量を算出した。牛肉試料の酸化状態を評価するために、脂質酸化物を測定するTBARS法、色素タンパク質(ミオグロビン)の酸化型と還元型を評価する吸光分光法を用いた。
- (2) 和牛香モデル実験は次のように実施した。牛肉試料(1~1.5cm厚)から直径20 mm程度の円柱型に試料を切り抜いた。試料は、80 の食塩水(1%)中で一定時間ボイルした。冷却後、-80 で冷凍保存した。前処理は次のように実施した。加熱処理した牛肉試料に8倍量のMethyl tert-butyl ether-Methanol(3:1)混合液を添加してホモジナイズした後、濾液をロータリエバポレーター(35)で濃縮した。濃縮液にHexaneとMethanolを順次添加して、液-液抽出を行った。Methanol層に内部標準物質(1,2-Dichlorobenzene)と飽和食塩水を添加して、Methanol濃度を約30%にした。続いて、Dichloromethaneを用いた液-液抽出を行った。得られたDichloromethane層にSodium sulfate(anhydrous)を添加して、-80 で24時間脱水処理を施した。濾液を大気圧下、45 でHempel columnを用いて濃縮して、香気成分分析試料を得た。香気分析は、高温分析が可能なWAX型カラム(DB-Heavy WAX column, 0.25 mm×30 m, 0.25 μm)を用いて、GC/MS装置で評価した。

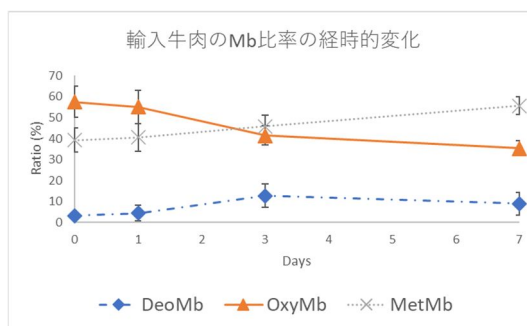
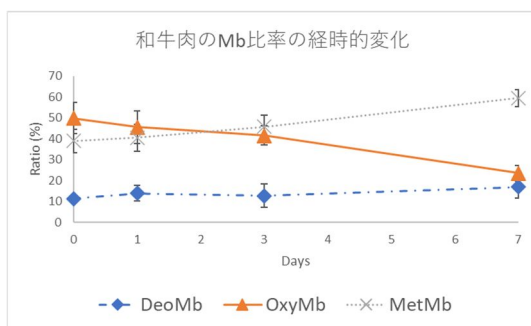
4. 研究成果

本研究で対象とした和牛肉および輸入牛肉試料の主要な脂肪酸組成を比較した。和牛肉では、オレイン酸は $47.5 \pm 3.5\%$ 、パルミチン酸は $24.4 \pm 2.5\%$ 、ステアリン酸は $8.8 \pm 1.1\%$ 、リノール酸は $1.9 \pm 0.7\%$ であった。一方、輸入牛肉は、オレイン酸は $38.4 \pm 2.7\%$ 、パルミチン酸は $27.2 \pm 1.9\%$ 、ステアリン酸は $19.5 \pm 0.7\%$ 、リノール酸は $1.1 \pm 0.4\%$ となった。ソックスレー法で測定した粗脂肪量は、和牛肉では $50.8 \pm 5.5\%$ 、輸入牛肉では $18.1 \pm 2.3\%$ であった。和牛香は、生肉では感じられず、加熱処理した輸入牛肉よりも和牛肉で強く感じられることを確認している。和牛肉に特徴的なこれら脂肪酸が、和牛香の前駆物質になり得ることが示唆された。

よって、牛肉試料に含まれる筋肉脂肪（サシ）の含有量が和牛香生成に影響を与えられたと考えられた。しかしながら、ソックスレー法で測定後の試料を香気成分分析に供することはできないため、非破壊測定法として画像解析による粗脂肪量の推定を実施した。ソックスレー法による測定値と相関分析を行い、検量線の式を得た。本画像解析法で粗脂肪量を測定した試料を次の香気成分分析に供した。

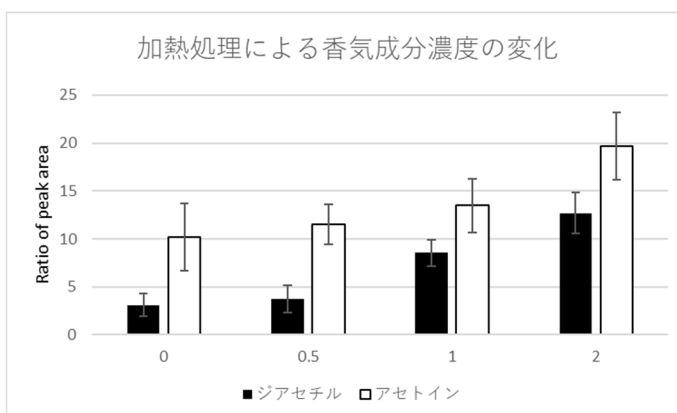


これまでの検討により、和牛香の重要成分であるラクトン類の生成には牛肉試料の脂質酸化が関与する可能性を報告してきた。そこで、本研究で使用した牛肉試料の酸化状態を経時的に評価した。まず、市販牛肉の購入日を Day 0 として、色素タンパク質（ミオグロビン）の酸化型と還元型を評価した。4、含気条件下で保存して、Day 1, 3, 7 の時に、同様に測定した。還元型デオキシミオグロビン（DeoMb）は酸化されると、オキシミオグロビン（OxyMb）になり、さらに酸化されるとメトミオグロビン（MetMb）に変化する。測定の結果、和牛肉と輸入牛肉は共に、経時的に OxyMb 比率が減少して、MetMb 比率が上昇した、すなわち、褐変が進行していた。一方で、Day 0 と Day 1 の間には顕著な差が認められなかった。和牛香の生成条件のひとつは、牛



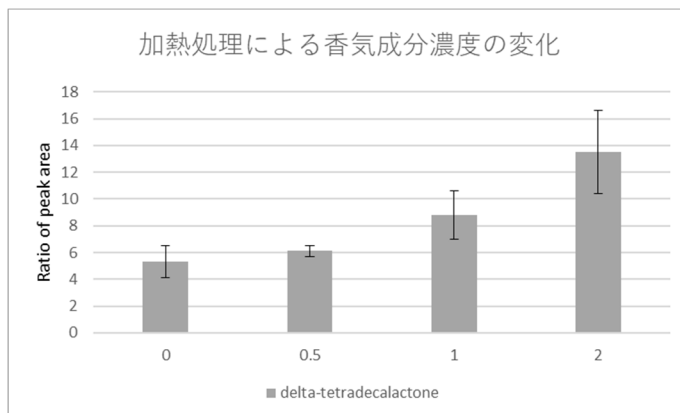
肉試料を一部酸化させるために、4、含気条件下で1日程度保存することであるが、今回使用した牛肉試料は、購入時には十分酸化（ブルーミング）されていたと考えられた。同様に、脂質酸化度の指標である TBARS 法の結果では、Day 0 と Day 1 の間には明らかな差が認められないことから、次の和牛香モデル実験では、含気冷蔵処理を行わずに、牛肉試料の購入当日に加熱処理を行い、分析用試料を調製した。

続いて、既報の脂質マトリックスの影響を低減化できる前処理法を用いて、牛肉試料からの和牛香成分の抽出を試みた。既報では、Chloroform-Methanol 混合液を使用していたが、本研究では、香り分析試料に少量の Chloroform が残留したため、その溶媒ピークが GC/MS 分析結果に影響を及ぼしていた。検討の結果、Methyl tert-butyl ether に置換すると、当該ピークが測定開始時間前に検出されるため、溶媒による夾雑ピークの影響を低減できた。さらに、香気成分の Dichloromethane 転溶の際に、脱イオン水から飽和食塩水に変更したことで、水層と有機層の分離性をより良好にすることが可能となった。本研究では、和牛香は和牛肉が加熱（ボイル）されると生成されることに着目して、牛肉試料に対する加熱処理の時間が香気成分組成に与える影響を評価した。80 の食塩水（1%）中での加熱時間を 0 min（未加熱）、0.5 min、1 min、2 min と設定した。2 min の加熱時間はこれまでに報告した和牛香の生成条件の一つである。測定の結果、和牛香成分の一つとして報告された脂様の香りを持つジアセチルとアセトインの濃度は、加熱時間依存的に増加する傾向が見られた。なお、これらの前駆体物質である 2,3-butanediol の濃度は 2 min の加熱処理により、6 割程度に減少していたことから、加熱処理による酸化反応がジアセチルとアセトインの生成に関与する可能性が示唆された。他の和牛香成分であるラクトン類



についても分析した結果、特に、**-tetradecalactone** は加熱処理によって有意に増加することを確認した。さらに、**-dodecalactone**、**-nonalactone** についても、加熱処理時間に応じて増加する傾向にあった。ラクトン類の前駆体物質は、酸化された脂肪酸であり、当該成分が加熱処理によって環状化、すなわち、ラクトン化する可能性が考えられた。

本研究では、改良した溶剤抽出-GC/MS 法を用いて、和牛香試料から抽出した香気成分を分析することにより、加熱処理によって和牛香を構成する香気成分の濃度が上昇したことを示した。本知見は、これまでに報告した和牛香は生肉ではなくポイルされた肉試料で感じられることを支持していた。



本研究では、改良した溶剤抽出-GC/MS 法を用いて、和牛香試料から抽出した香気成分を分析することにより、加熱処理によって和牛香を構成する香気成分の濃度が上昇したことを示した。本知見は、これまでに報告した和牛香は生肉ではなくポイルされた肉試料で感じられることを支持していた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 榎本光洋、小林優多郎、松石昌典
2. 発表標題 レトルト加熱牛肉香の畜種差を決める要因
3. 学会等名 日本畜産学会第128回大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 小林優多郎、松石昌典
2. 発表標題 イノシン酸によるアクトミオシン解離機構の検討
3. 学会等名 日本畜産学会第128回大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 小林優多郎、松石昌典
2. 発表標題 和牛肉の香気成分組成に及ぼす加熱調理時間の影響
3. 学会等名 日本食肉科学会第63回
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Yutaro Kobayashi, Masanori Matsuishi
2. 発表標題 Effect of heat treatment on flavor of Japanese wagyu beef.
3. 学会等名 the 68th International Congress of Meat Science and Technology (国際学会)
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------