

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 29 年 6 月 5 日現在

機関番号：11201

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2014～2016

課題番号：26560040

研究課題名(和文)非破壊測定による食肉テクスチャーの推定

研究課題名(英文) Estimation of meat textural properties by non-destructive analysis

研究代表者

村元 隆行 (MURAMOTO, Takayuki)

岩手大学・農学部・准教授

研究者番号：70355246

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,700,000円

研究成果の概要(和文)：牛パティの粗脂肪含量とインピーダンスとの関係を示す回帰式を用いてインピーダンスから牛パティの粗脂肪含量が推定可能であることが示された。この回帰式を用いてインピーダンスからパティだけではなくステーキの粗脂肪含量も推定可能であった。牛肉の最大荷重およびガム性荷重は屠畜後4および6日目が屠畜後2日目に比較して有意に低かった。筋線維に対して垂直方向のインピーダンスは、屠畜後6日目が屠畜後2日目に比較して有意に低かった。牛肉テクスチャーの違いはインピーダンスから非破壊的に推定できる可能性が示された。

研究成果の概要(英文)：The relationship between crude fat content and impedance in patty was analyzed using simple regression analysis: a high positive correlation was observed. This result suggested that it is possible to estimate crude fat content in patty using impedance and a regression equation based on the relationship between crude fat content and impedance in patty. It was also possible to estimate crude fat content in steak using this method. The maximum load and load of gumminess of beef at 4 and 6 days post-mortem were significantly lower than those of beef at 2 days post-mortem. The impedance measured in a perpendicular direction to the muscle fibers of beef at 6 days post-mortem was significantly lower than that of beef at 2 days post-mortem. These results suggested that it is possible to estimate textural properties non-destructively by measuring impedance in beef.

研究分野：食肉科学

キーワード：牛ステーキ 熟成 インピーダンス Texture Profile Analysis 官能評価 非破壊分析

## 1. 研究開始当初の背景

わが国における牛肉の品質評価は、枝肉の第6から第7肋骨間の切開面において行われており、一般に脂肪交雑の程度が最も重要な項目として考えられている。ところが、枝肉は数多くの筋肉によって構成されていることから、枝肉の第6から第7肋骨間の切開面における筋肉の評価がすべての筋肉における評価と完全に一致するとは限らない。脂肪含量の測定は化学的に抽出して行う方法が一般的であるが、この方法では時間を要し、またサンプリングにより枝肉の取引価格を低下させてしまう可能性がある。流通の段階において、少なくとも各部分肉における脂肪含量を求めるためには、迅速、簡易、および非破壊的な測定技術を開発する必要があると考えられる。

近年、筋肉中の脂肪含量を迅速および簡易に測定する方法として、筋肉のインピーダンスを測定して脂肪含量を推定する方法が開発されてきた。インピーダンスとは交流回路における電流の流れにくさを示す物理量である。インピーダンス測定技術は主に電気化学の分野で発達してきたものであるが、筋肉内の脂肪組織が電気的に絶縁体である性質を利用して脂肪含量を推定するなど、食肉科学の分野においてもいくつかの研究が行われている。ところが、これまでの研究で用いられてきた電極は針による突き刺し型であることが多く、対象となる筋肉が損傷してしまうことから、非破壊性の高い電極による測定が必要であると考えられている。

## 2. 研究の目的

### 試験 1

鎌田と村元(2014)は、牛ステーキのインピーダンス測定を、非破壊性が高い接触型の電極を用いて行い、インピーダンスと粗脂肪含量との間に高い相関( $R=0.85$ )があることを明らかにし、インピーダンスから粗脂肪含量を推定するための回帰式を求めている。また、Marchelloら(1999)は、牛肉および豚肉から調製した粒度の異なる挽肉について、突き刺し型電極ではあるが、インピーダンス測定を行い、挽肉の粒度が細くなるのに伴って、脂肪含量を推定するための回帰式の相関が高くなることを明らかにしている。しかし、非破壊性が高い接触型電極を用いて測定した牛挽肉のインピーダンスと粗脂肪含量との相関がどの程度であるのかについては明らかにされていない。

そこで本試験では、試験 1-1 で、接触型電極を用いて挽肉から調製した牛パティのインピーダンス測定を行い、インピーダンスから粗脂肪含量を推定するための推定式を求め、試験 1-2 で、この推定式が牛ステーキにも適用可能であるのかについて検討を行った。

### 試験 2

一般に、脂肪の含量は筋肉の硬さに影響を及ぼすことが知られている。しかし、筋肉の硬さは、脂肪の含量だけでなく、骨格筋線維および結合組織の性質、および熟成による影響を受け、死後硬直後に低温で熟成されることで、様々な酵素および物理化学的作用により食感および風味が向上する。Damezら(2008)は、熟成期間が異なる筋肉において、筋線維に対して様々な方向からインピーダンスを測定し、硬さの指標である stress compression values との関係から、解硬が完了したかどうかを推定することが可能であることを報告している。しかし、熟成中に変化するテクスチャーは硬さだけではない。したがって、硬さ以外のテクスチャーとインピーダンスとの関係についても明らかにし、解硬が完了したかどうかをより多くの指標から推定する方法について検討する必要があると考えられる。また、理化学分析では、食肉の品質特性を客観的な数値で評価することは可能であるが、消費者にとっての食品としての評価をすることは難しい。したがって、インピーダンスにより推定可能なテクスチャーの違いが、実際に消費者が喫食した場合においても識別可能なものであるのかについて検討しておく必要があると考えられる。

そこで本試験では、解硬が完了したかどうかを硬さ以外のより多くの指標から推定する方法を明らかにするため、熟成前および熟成後の牛ステーキのインピーダンス、テクスチャー特性、および嗜好型パネルを用いた官能評価について検討を行い、また、屠畜の何日後に解硬が完了しているのかを明らかにするため、熟成期間の異なる牛ステーキのインピーダンスおよびテクスチャー特性について検討を行った。

## 3. 研究の方法

### 試験 1-1

パティの調製には、日本短角種去勢牛の半膜様筋(*M. semimembranosus*)およびウシの皮下脂肪を用いた。半膜様筋から筋膜などの結合組織を除き、ミートグラインダーを用いて、孔径 5mm の固定カッターで 2 度挽いた後、孔径 3mm の固定カッターで 1 度挽いて挽肉を調製した。脂肪組織は細切し、半膜様筋の挽肉に対して、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、および 90% の割合でよく混ぜ合わせたものをパティとした。また、脂肪を混ぜ合わせない挽肉を脂肪 0%、および細切した皮下脂肪を脂肪 100% とした。これらのサンプルから直方体状の約 7g のパティを作成した。

インピーダンスの測定は 4 端子プローブを接続した LCR ハイテスタを用い、HCUR 端子の電極と HPOT 端子の電極および LCUR 端子の電極と LPOT 端子の電極との間隔を、それぞれ約 1cm の幅で向き合わせ、パティの両端との間に隙間が生じない状態で行った。なお、定電圧は 0.4V および周波数は 120Hz と

した。

インピーダンス測定後の各パティの粗脂肪含量の測定は、16時間のジエチルエーテル抽出によるソックスレー法により行った。

パティの粗脂肪含量とインピーダンスとの関係について回帰分析を行い、インピーダンスから粗脂肪含量を推定するための推定式を求め、また粗脂肪含量とインピーダンスとの間の相関について検定を行った。

#### 試験 1-2

日本短角種去勢牛 (n=2) の腰最長筋 (*M. longissimus lumborum*)、黒毛和種去勢牛 (n=2) の腰最長筋、半膜様筋 (*M. semimembranosus*)、および半腱様筋 (*M. semitendinosus*)、および交雑種去勢牛 (ホルスタイン種×黒毛和種) (n=2) の胸最長筋 (*M. longissimus thoracis*) および半腱様筋から筋線維と平行になるようにステーキ (10×10×40mm) を調製した。

インピーダンスの測定は試験 1-1 と同様の方法で行ったが、向き合わせた 2 つの電極対とステーキとの間に隙間が生じない状態で、筋線維に対して垂直方向からインピーダンスの測定を行った。

インピーダンス測定後の各ステーキの粗脂肪含量の測定は、各ステーキを細切した後、試験 1-1 と同様の方法で行った。

ステーキの粗脂肪含量とインピーダンスとの関係について回帰分析を行い、インピーダンスから粗脂肪含量を推定するための推定式を求め、また粗脂肪含量とインピーダンスとの間の相関について検定を行った。

#### 試験 2

解硬が完了したかどうかを硬さ以外のより多くの指標から非破壊で推定する方法を検討するため、供試筋肉として日本短角種 4 頭の半膜様筋 (*M. semimembranosus*) を用いた。屠畜後に枝肉を 2 で約 48 時間冷蔵した後、半膜様筋を採取して 2 分割し、一方の筋肉ブロックはただちに -20 で冷凍し (熟成前サンプル)、もう一方の筋肉ブロックは 4 で 21 日間の熟成を行った後、-20 で冷凍した (熟成後サンプル)。解凍は 4 で 48 時間かけて行い、各サンプルからステーキ (30×30×10 mm) を調製した。なお、各ステーキは筋線維と平行になるように切り出し、30×10 mm の面に筋線維断面が表れるように調製した。官能評価に用いるサンプルは、熟成前サンプルおよび熟成後サンプルから切り出したステーキを、それぞれサンプル A およびサンプル B とした。

また、屠畜後何日で解硬が完了しているのかを非破壊で推定する方法を検討するため、供試筋肉として日本短角種 4 頭の大腰筋 (*M. psoas major*) を用いた。屠畜後に枝肉を 2 で約 48 時間冷蔵した後、大腰筋を採取して 3 分割した。これらのサンプルは、屠畜後 2 日目のサンプル、その後 4 で 2 日間の熟成を行った屠畜後 4 日目のサンプル、および同

じく 4 で 4 日間の熟成を行った屠畜後 6 日目のサンプルとし、各サンプルからステーキ (30×30×10 mm) を調製した。なお、各ステーキは筋線維と平行になるように切り出し、30×10 mm の面に筋線維断面が表れるように調製した。

インピーダンスの測定は試験 1-2 と同様の方法で行ったが、筋線維に対して平行および垂直方向から、それぞれインピーダンスの測定を行った。

インピーダンス測定後の筋肉サンプルは、卓上型物性測定器を用い、プランジャー No.6 (直径 8 mm 円柱状) および圧縮スピード秒速 2.5 mm の条件において、プランジャーが厚さ 10 mm の方向に加圧されるように Texture Profile Analysis (TPA) を行った。

インピーダンス測定後の各ステーキの粗脂肪含量の測定は、試験 1-2 と同様の方法で行った。

サンプル A およびサンプル B はステンレスのバットに入れ、乾燥を防ぐためにポリ塩化ビニールで密閉し、加熱するまで 4 で保持した。加熱はプレートの表面温度を約 220 としたホットプレートを用いて行い、加熱時間は表面を 60 秒間および裏面を 90 秒間とした。加熱後のサンプルには調味のため、微量の NaCl (重量の 0.5% から 1%) を表面に添加した。官能評価は 2 点識別法により行い、サンプル A および B をパネルに喫食させ、硬いと評価した方のサンプルを選択させた。なお、官能評価に供したパネルはパネル選定テストおよび訓練を受けていない 20 歳代前半の女性 (21.6 ± 0.2 歳) であった。また、官能評価は 1 頭あたり 9.5 ± 1.0 人のパネルにより行った。

熟成期間の違いによるインピーダンスおよび TPA の各測定値の差の検定を Tukey-Kramer の多重比較検定により行った。また、官能評価において、サンプル A (熟成前サンプル) を選択した場合を正解とし、その有意性を二項検定法により解析した。

## 4. 研究成果

### 試験 1-1

脂肪 0 から 100% および 0 から 50% のパティにおける粗脂肪含量とインピーダンスとの関係を、それぞれ図 1 および 2 に示す。脂肪 0 から 100% のパティにおける粗脂肪含量とインピーダンスとの間の相関係数は 0.97 であった。また、脂肪 0 から 50% のパティにおける粗脂肪含量とインピーダンスとの間の相関係数も 0.97 であった。鎌田と村元 (2014) は、脂肪 0 から 50% の牛ステーキのインピーダンスを接触型電極により測定し、筋肉中の粗脂肪含量とインピーダンスとの関係を調べ、相関係数が 0.85 であったことを報告している。したがって、本試験でパティから得られた推定式の相関係数は彼らがステーキから得た推定式の相関係数に比較して高いことが示された。Marchello ら (1999)

は、牛肉および豚肉から調製した粒度の異なる挽肉のインピーダンスについて突き刺し型電極を用いて測定し、挽肉の粒度が細くなるのに伴って、脂肪含量を推定するための推定式の相関が高くなることを明らかにしている。彼らは、この理由について、挽肉の粒度が細くなるのに伴って、脂肪組織がより均一に分布するためであると考察している。したがって、本試験でパティから得られた推定式の相関係数が鎌田と村元（2014）がステーキから得た推定式の相関係数に比較して高かったのは、挽肉と細切した脂肪とを混合してパティを調製したことにより、パティの中で脂肪組織がより均一に分布したためではないかと考えられる。

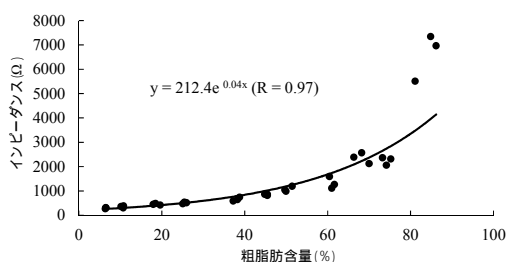


図1 牛パティの粗脂肪含量(0-100%)とインピーダンスとの関係。

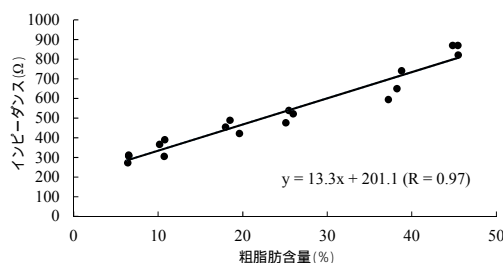


図2 牛パティの粗脂肪含量(0-50%)とインピーダンスとの関係。

### 試験 1-2

ジエチルエーテル抽出法により得られた粗脂肪含量（実測値）と、試験 1-1 における脂肪 0 から 50% のパティから得られた推定式および鎌田と村元（2014）がステーキから得た推定式に、それぞれステーキで測定したインピーダンスを当てはめて得られた脂肪含量（推定値）において、半腱様筋、半膜様筋、腰最長筋、および胸最長筋における実測値と推定値との間の誤差は、試験 1-1 で得られた推定式で、それぞれ 2.9%、0.6%、0.2%、および 5.6%、鎌田と村元（2014）が求めた推定式で、それぞれ 14.7%、13.0%、16.8%、および 13.1% であった。したがって、パティから求めた推定式はステーキから求めた推定式に比較して高い精度でステーキの脂肪含量を推定できる可能性のあることが示された。鎌田と村元（2014）は、筋肉内の脂肪組織の分布の違いにより実測値と推定値との間に大きな差が生じることを報告している。また、Marchello ら（1999）は、牛肉および豚肉から調製した粒度の異なる挽肉についてインピーダンス測定を行い、挽肉の粒度

が細くなるのに伴って、脂肪含量を推定するための推定式の相関が高くなることを明らかにしている。したがって、本試験では、挽肉および細切した脂肪組織を混合したパティを供試したことにより、サンプル内の脂肪の分布が均一になり、精度の高い推定式が得られたと考えられる。

一方、本試験において、脂肪含量の実測値と推定値との間の誤差には、筋肉により違いがみられた。粗脂肪含量が約 20% 以下の筋肉に比較して、粗脂肪含量が約 30% 以上の胸最長筋では実測値と推定値との間の誤差が大きかった。これは、粗脂肪含量が低いほどインピーダンスによる脂肪含量推定の精度が高いという Marchello ら（1999）の報告と一致する。

### 試験 2

凝集性および付着性には熟成期間による差はみられなかったが（ $P > 0.05$ ）、筋肉を変形させるのに必要な力を示すことから硬さの要因の一つとなる最大荷重は、屠畜後 21 日目が屠畜後 2 日目に比較して有意に低くなった（ $P < 0.01$ ）。また、飲み込める状態にまで砕くのに必要な力を示すことから硬さの要因の一つとなるガム性荷重も最大荷重と同様に屠畜後 21 日目が屠畜後 2 日目に比較して有意に低くなった（ $P < 0.01$ ）。したがって、硬さの指標である剪断力価だけではなく、硬さの要因となる最大荷重およびガム性荷重からも解硬の完了を推定可能であることが示された。これは、解硬が完了した食肉では、弾性物質であるコネクチンの脆弱化によって硬さ以外の物性も変化していることが要因の一つとなっているためではないかと考えられる。

筋線維に対して平行方向のインピーダンスには熟成期間による有意な差はみられなかったが（ $P > 0.05$ ）、筋線維に対して垂直方向のインピーダンスは、屠畜後 21 日目が屠畜後 2 日目に比較して有意に低かった（ $P < 0.01$ ）。これは、突き刺し型電極を用いて行った Damez ら（2008）の報告と一致する。したがって、接触型電極を用い、筋線維に対して垂直方向のインピーダンスを測定することにより、熟成前および熟成後のインピーダンスの差を非破壊で推定することが可能であることが示された。

筋肉は死後硬直に至る過程で筋原線維のアクチンとミオシンが結合し、最大硬直時にはその結合部分が最も多くなる。また、最大硬直後に起こる解硬では、熟成に伴ってアクチンとミオシンの結合の脆弱化、Z 線の脆弱化、および筋原線維の小片化が起こる。したがって、筋線維に対して垂直方向のインピーダンスが低くなったのは、熟成に伴う筋線維構造の脆弱化により、アクチンとミオシンの重なり合う部分の減少および Z 線部分での筋線維の小片化が起こり、最大硬直時には筋線維に対して垂直方向に作用していた筋原線

維による絶縁構造が崩壊し、電気抵抗が低下したことが一因ではないかと考えられる。一方、筋線維に対して平行方向のインピーダンスには熟成に伴う変化がみられなかったことから、筋線維に対して平行方向に存在する絶縁構造は筋原線維によるものではなく、脂肪組織によるものである可能性が示された。

屠畜後 2 日目と 21 日目との間において牛ステーキの硬さに対して二項検定を行った結果、屠畜後 2 日目と 21 日目との間における牛ステーキの硬さの違いは嗜好型パネルにより有意に識別された ( $P < 0.001$ )。このことから、硬さの要因となる最大荷重およびガム性荷重の差は消費者に識別される程度のものである可能性が高いと考えられ、またその差はインピーダンスから推定できる可能性が示された。

熟成期間が牛ステーキのテクスチャーに及ぼす影響を図 3 に示す。凝集性および付着性には熟成期間による差はみられなかったが ( $P > 0.05$ )、最大荷重は、屠畜後 4 日目 (14.3 N) および 6 日目 (13.5 N) が屠畜後 2 日目 (20.8 N) に比較して有意に低くなった ( $P < 0.05$ )。また、ガム性荷重も最大荷重と同様に屠畜後 4 日目 (5.3 N) および 6 日目 (5.0 N) が屠畜後 2 日目 (6.9 N) に比較して有意に低くなった ( $P < 0.05$ )。したがって、日本短角種の大腰筋は屠畜後 4 日目で解硬が完了することが示され、その解硬の完了が最大荷重およびガム性荷重から推定可能であることが示された。

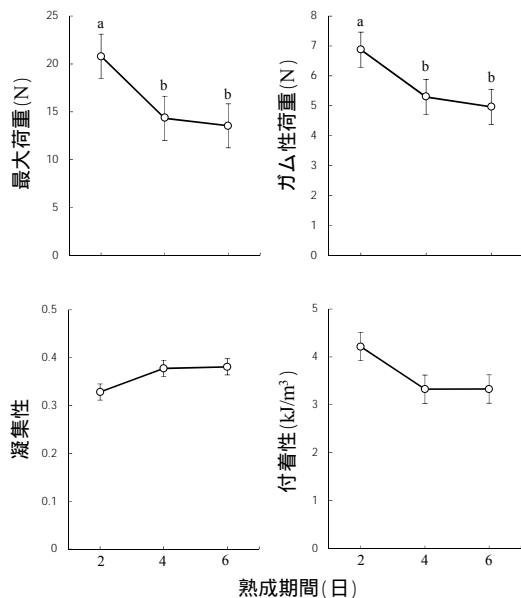


図 3 熟成期間が牛ステーキのテクスチャーに及ぼす影響

熟成期間が牛ステーキの筋線維に対して平行および垂直方向で測定したインピーダンスに及ぼす影響を図 4 に示す。筋線維に対して平行方向のインピーダンスには熟成期間による有意な差はみられなかったが ( $P > 0.05$ )、筋線維に対して垂直方向のインピーダンスは、屠畜後 6 日目 (217.4  $\Omega$ ) が屠畜後 2 日目 (349.9  $\Omega$ ) に比較して有意に低かった ( $P$

$< 0.05$ )。したがって、少なくとも日本短角種の大腰筋の解硬完了をインピーダンス測定により推定するためには、最大荷重およびガム性荷重から推定可能であった屠畜後 4 日目では難しいが、屠畜後 6 日目では可能となることが示された。

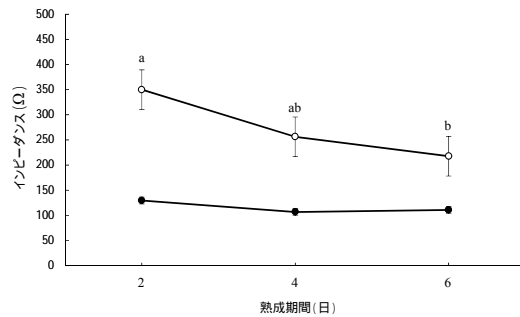


図 4 熟成期間が牛ステーキの筋線維に対して平行 (○) および垂直方向 (●) で測定したインピーダンスに及ぼす影響

本試験の結果から、熟成の進行に伴って生じる消費者が識別できる程度の硬さの変化は硬さの要因となる最大荷重およびガム性荷重からも推定可能であり、またその変化は、接触型電極を用いて筋線維に対して垂直方向のインピーダンスを求めることによって非破壊的に推定可能であることが示された。また、日本短角種の大腰筋では、屠畜後 2 日目から屠畜後 6 日目にかけて最大荷重およびガム性荷重が、それぞれ 7.3 N および 1.9 N 低下し、インピーダンスが 132.5  $\Omega$  低下した。したがって、少なくとも日本短角種の大腰筋では、屠畜後 2 日目のインピーダンスに比較して 132.5  $\Omega$  以上低下すれば最大荷重およびガム性荷重が、それぞれ 7.3 N および 1.9 N 低下しており、解硬の完了が推定できる可能性のあることが示された。

本試験で用いたステーキの粗脂肪含量は半膜様筋が  $2.2 \pm 0.4\%$  および大腰筋が  $4.8 \pm 0.6\%$  であった。したがって今後は、粗脂肪含量が高い筋肉についても解硬の完了がインピーダンスにより非破壊的に推定可能であるのかについても検討する必要があると考えられる。

#### < 引用文献 >

Damez JL, Clerjon S, Abouelkaram S, Lepetit J, Electrical impedance probing of the muscle food anisotropy for meat ageing control, Food Control, 19 巻, 2008, 931-939

鎌田丈弘、村元隆行、接触型電極を装着した LCR メータを用いたインピーダンス測定による牛肉中脂肪含量の推定、日本畜産学会報、85 巻、2014、193-196

Marchello MJ, Slinger WD, Carlson JK, Bioelectrical impedance: fat content of beef and pork from difference size grinds, Journal of Animal Science, 77 巻, 1999, 2464-2468

## 5. 主な発表論文等

### 〔雑誌論文〕(計2件)

村元隆行、木浦佑一、石松朝輝、鎌田丈弘、接触型電極を用いたインピーダンス測定による牛肉テクスチャーの非破壊推定、日本畜産学会報、査読有、88巻、2017、印刷中

木浦佑一、鎌田丈弘、村元隆行、接触型電極を用いたインピーダンス測定による牛パティの脂肪含量推定、日本畜産学会報、査読有、87巻、2016、35-38

### 〔学会発表〕(計1件)

木浦佑一、鎌田丈弘、村元隆行、接触型電極を用いた牛パティのインピーダンス測定による牛肉中脂肪含量の推定、日本畜産学会第120回大会、2015年9月12日、酪農学園大学(北海道・江別市)

## 6. 研究組織

### (1)研究代表者

村元 隆行 (MURAMOTO Takayuki)

岩手大学・農学部・准教授

研究者番号：70355246