

～京都産和牛のおいしさ評価による需要の拡大(第1報)～

味認識装置を応用した和牛肉の食味評価手法の検討

河村翔一郎、佐々木敬之

A study of techniques for evaluating Wagyu beef palatability
with the application of Taste recognition device

Shoichiro Kawmura, Noriyuki Sasaki

要 約

味認識装置を和牛肉の食味評価に適用するにあたり、多量の筋中脂質を均質に除去できるサンプルの前処理法、および牛肉を用いずに低コストに作成できる標準サンプルを開発した。また、前処理時に、煮沸などの高温加熱を伴わず、常温下で呈味成分の水抽出を行う手法を開発、検証した結果、同一の肉に対して異なる調理を施したサンプル間での食味の差異を検出することが可能であったことから、任意条件の調理済みサンプル肉を同装置で評価できることが示唆された。

キーワード：味認識装置、食味評価、ブランド和牛、おいしさ

結 言

地域ブランド和牛の産地間競争が激化する中、消費者の「実際に食べた際のおいしさ」に対する関心が高まる傾向にある。これを受け、筋脂質中の代表的な1価不飽和脂肪酸(MUFA)であるオレイン酸を始めとして、風味や食感への影響が先行研究により指摘される成分を、おいしさの指標として、ブランド牛認定の条件に採用する取り組みが、各地で始まっている。

一方、京都府においては、府内産和牛を調査対象としたおいしさに関する研究が過去に存在しないこと、また、和牛肉の官能評価を行なった先行研究のほとんどが、グリルやローストといったいわゆるステーキ調理肉を評価しており、本府の主要消費形態である「すき焼き」や「しゃぶしゃぶ」とは調理条件が大きく異なることなどが障壁となり、ブランド認定への成分指標導入に対して説得力を持たせる科学的知見が極めて乏しい状況にある。

このため、おいさと成分指標の関連性について独自に調査を行う必要があるが、調査の核となる分析型(訓練型)官能評価は、パネルに対する訓練や精度の維持にかかる難易度が高く、多検体ほど比較時の精度が低下しやすい特性を持つため、官能評価値の変動と成分値の変動を調査するような10～100検体規模での実施は困難と考えられる。

こうした中、生体の味受容機構に倣った味認識装置が、新たな技術として登場した。この装置は、生体膜を模した、人工の脂質二重膜に覆われた電極をセンサとしており、この膜に呈味成分が吸着されることで生じる膜電位差を測定し、味の強度を評価する。

この味認識装置は、食味だけの評価であること、評価項目を自由に設定できないこと、消耗品であるセンサ電極に一定のコストを要することなどの点では、必ずしも分析型官能評価に対する優位性を持たない。しかし、実験者の練度や周辺環境の影響を受けにくいこと、評価精度の経時的な変化が少ないこと、異日に評価した結果を比較することが可能なこと等の点から、多検体での食味評価においては大きな優位性を持つと考えられる。

そこで本研究では、脂肪酸組成や遊離アミノ酸組成といった成分指標と食味の関連性を調査するため、「京都産和牛100検体規模での食味評価データ」および、「すき焼き・しゃぶしゃぶ調理時とグリル・ロースト調理時の食味比較評価データ」を取得することを主目的に据え、その前段階として、味認識装置を和牛肉の評価に応用するための技術的課題の解決を試みた。本報ではこの内容について報告する。

材料及び方法

本研究の食味評価には、インテリジェントセ

ンサテクノロジー社製味認識装置 TS-5000Z (図 1) を使用した。センサプローブは AAE (先味: 旨味, 後味: 旨味コク)、CT0 (先味: 塩味, 後味: なし)、CA0 (先味: 酸味, 後味: なし)、C00 (先味: 苦味雑味, 後味: 苦味) および AE1 (先味: 渋味刺激, 後味: 渋味) を用いた。ただし、AE1 プローブは 2017 年 9 月に追加導入したため、これ以前の測定結果には AE 1 の測定値を含んでいない。

測定では、30mM 塩化カリウム+0.3mM 酒石酸水溶液を無味の基準液とし、センサプローブをサンプル中に浸潤した際の膜電位差を先味、再び基準液中に戻し、軽く洗浄した後の膜電位差を後味とした。

測定した膜電位差 (mV) は、無味または標準サンプルを 0 として、1 目盛の増加が物質濃度 20% 増加に相当する補間処理値へと換算を行なった。測定は各サンプル 4 回ずつ行い、2 回目以降の 3 回分の補間処理値の平均をサンプルの測定値とした。



図 1 本研究で使用した味認識装置

結果及び考察

1. 前処理における脂質除去法の検討

本研究で使用した味認識装置は、センサ電極表面の脂質膜に油脂が付着すると、呈味成分の吸着が阻害され、測定値の再現性が低下する。このため、油脂を多く含む食品の測定では、前処理工程において、食品全体から水溶性の呈味成分を水抽出したうえで、油脂のみを分離し、除去する必要がある。特に、BMS No. の高い和牛肉は、筋肉中に多量の脂質を含むため、これを確実に除去できる手法が求められる。そこで、先行研究において用いられた手法を参考とし、除去能力と作業性の両方の観点から、有効性の高い手法を検討した。

検討用の材料として、BMS No.5 以上の黒毛和種肥育牛肩ロース肉 (n = 8)、リブロース肉 (n = 3) および外モモ肉 (n = 5) の計 13 検体を用い、肉

100 g を蒸留水 150ml とホモジナイズ (5000rpm, 1min) し、これを沸騰水中で 60 分間湯煎した牛肉スープに対して、以下の方法で脂肪除去を試みた。

(1) 濾過による除去

都甲らの報告¹⁾においては定性濾紙濾過が、中村らの報告²⁾ではガーゼ濾過が、それぞれ牛肉スープの脂質除去法として用いられており、これらを参考とした手法を試みた。

その結果、都甲らの手法と同様の定性濾紙 (アドバンテック東洋 No.1) を使用したところ、固形物および脂質ともに完全に除去されるものの、濾紙の目詰まりが起こり、ろ過が中断する検体が多数発生した。

次に保持粒子径など性質がほぼ同等でありながら、粘性粒子にも対応した濾紙 (アドバンテック東洋 No.101) を用いたところ、すべての検体において、中断なく濾過が完了したが、濾液には液面付近に若干量の油脂が残留した。

中村らの手法と同様のガーゼ濾過では、すべての検体において、中断なく濾過が完了したが、除去できるのは固形物のみで、脂質の大半が残留した。

(2) 冷却遠心分離による除去

味認識装置ユーザーズガイド³⁾では、食肉全般のホモジナイズ液に対する脂質除去法として、冷却遠心 (3000rpm, 4℃, 10 分) による分離が紹介されており、同様の牛肉スープに対して試みた。

その結果、約半数の検体において、4℃でも脂質が凝固せずに液性を保った検体が発生し、こうした検体では下層 (水分画) と上層 (脂質・固形分画) の境界面付近において十分な分離が起こらない事例が散見された。また、下層の回収時に、回収器具 (マイクロピペット 10ml 容、またはホールピペット 50ml 容) 表面上層の脂質が付着しやすく、回収処理に起因するコンタミネーションが起こりやすいことが判明した。

さらに、前処理後にサンプルの凍結保存を行なう状況を想定して、遠心分離に成功した検体のみを対象に、ポリプロピレン容器に封入した上で、凍結 (-82~-78℃, 48h) ・解凍 (4~6℃, 12h) の処理を実施した。この解凍後のサンプルを目視観察したところ、残留していたと思われる微量の脂質が解凍の際に遊離する事例が散見された。

(3) 濾過と遠心分離による 2 段階除去

和牛肉、特に 30 ヶ月齢を上回るような肥育牛のロース肉では、脂質性状における個体差が大きく、4℃でも融解する個体がある一方で、30℃以

上でも融解しない個体も存在する。先に試みた、濾過あるいは遠心による 1 回の処理では、こうした脂質性状の個体差を問わずに均質な除去を行なう事が困難であることが判明した。実際の調査では前処理と測定の際に、サンプルの保存期間を挟むことが想定される。このため、「前処理時に脂質を大まかに除去しておき、測定直前に最終除去を実施する」という 2 段階の行程をとることが適切と考えられる。

そこで、新たな手法として、粘性粒子対応の定性濾紙（アドバンテック東洋 No.101）を使用した 1 次除去と、濾液の遠心分離（3000rpm, 4℃, 10 分）による 2 次除去を組み合わせた手法を考案・試行した。

その結果、すべてのサンプルにおいて滞りなく濾過が完了し、1 次除去での残留脂質および凍結保存後の遊離濾紙についても、2 次除去の遠心によって、分離することが可能であった。また、遠心分離操作においても、分離する油脂が少量であるため、回収操作時のコンタミネーションは起こりにくかった。

以上より、濾過と遠心分離を組み合わせた、(3) の 2 段階除去により、測定サンプルへの脂質残留を低減しつつ、脂質性状の様々な牛肉に対して均質な処理を行なう事が可能であると示唆された。

2. 牛肉を使用しない、低コストな補正用標準サンプルの検討

本研究で使用した味認識装置の評価 1 回あたりの同時測定可能数は 10 検体までであるため、別評価での測定結果を相対比較する際には、同一の標準サンプルを毎回測定し、これを 0（ゼロ）基準として測定値を補正（補間差分処理）する必要がある。

分析サンプルに近似の測定値を得られるほど補正の信頼性が向上することから、実物の牛肉を標準サンプルに用いることが最も簡便であるが、評価の回数と比例して大量の牛肉が必要となり、

評価にかかるコストの上昇に繋がる。また、牛肉の個体差を考慮すると、同等の標準サンプルを再調整することは困難であるほか、平均的な測定値を得るためには複数個体の肉を混合して使用する必要があるなど、制約も大きい。

そこで、調整にかかる必要量が牛肉よりも相対的に少なく、保存性の高い試料を用いることで、均質な標準サンプルを安価に大量調整する手法の開発を目指すこととした。

牛肉の代替となる試料には、上記の条件を考慮した結果、細菌培地用の牛肉エキス粉末（LAB-LEMCO POWDER／BEEF EXTRACT・LP0029）を試料に選び、和牛肉と近似の測定値を示す標準サンプルが作製できるかを検討した。

まず、濃度の変化による測定値の変化を把握するため、牛肉エキス粉末をそれぞれ 0.05, 0.20, 1.0, 5.0 および 10% の濃度で溶解した水溶液を用意し、味認識装置で測定した。

その結果を表 1 に示す。数値は無味を基準（= 0）とする補間加算値で表される。濃度ごとの測定値変動が顕著だったのは、「旨味コク」および「塩味」の 4 項目であり、いずれも濃度の増加に伴って、値が正方向へ増大する傾向にあった。

次に、生体試料由来の水分と純水の浸透圧の差が測定値に及ぼす影響を把握するため、牛肉エキスを溶解する溶媒を、塩化ナトリウム水溶液としたサンプルを用意し、測定した。塩化ナトリウムの濃度は生理食塩水と同等の 0.137mol/L および、より低い 0.020mol/L の 2 種類とし、牛肉エキス粉末濃度はいずれも 1.0% とした。その結果を、表 2 に示す。数値は無味を基準（= 0）とする補間加算値で表される。塩化ナトリウム添加によって測定値変動が顕著だったのは、塩味、酸味、苦味雑味および旨味コクで、このうち苦味雑味のみ値が減少し、他は増大した。

表 1 牛肉エキス粉末水溶液の味認識装置測定結果（補間加算値）

	酸味	苦味雑味	旨味	塩味	苦味	旨味コク
牛肉エキス0.050%	-33.09	9.39	9.31	-22.49	-0.42	0.85
牛肉エキス0.20%	-38.07	7.55	13.11	-17.31	-0.4	0.42
牛肉エキス1.0%	-39.26	6.93	16.33	-10.33	-0.28	0.41
牛肉エキス5.0%	-35.64	8.21	15.4	-3.01	0.05	5.11
牛肉エキス10%	-33.25	9.04	13.58	0.45	0.21	13.12

24

表 2 牛肉エキス粉末・塩化ナトリウム混合水溶液の味認識装置測定結果（補間加算値）

	酸味	苦味雑味	渋味刺激	旨味	塩味	苦味	渋味	旨味コク
牛肉エキス1.0%	-35.67	10.28	0.06	12.21	-20.16	-0.51	-0.07	0.64
牛肉エキス1.0% + NaCl0.020mol/L	-28.29	3.88	0.48	10.45	-2.33	-0.45	-0.03	0.97
牛肉エキス1.0% + NaCl0.137mol/L	-28.65	3.57	0.12	12.63	8.74	-0.14	-0.02	8.01

以上を踏まえ、事前の予備試験における和牛肉の測定結果と比較を行い、これに近い測定値となるよう、牛肉エキスの濃度を 2.0%、塩化ナトリウムを 0.010mol/L となるように調整した標準サンプルを試作した。

この試作標準サンプルの測定値を検証するため、黒毛和種リブローズ肉 (n=3) に対し、前項に示す前処理法によって作製したサンプルを用意し、試作標準サンプルとともに味認識装置で測定した。また参考として牛肉エキス 1.0% 水溶液についても同時に測定を行なった。

その結果を、無味を基準 (= 0) とする補間加算値として表 3 に、和牛肉リブローズの平均値を基準とする補間差分値として図 2 に示す。全項目のうち、すべてのサンプルにおいて、無味基準を上回る (= 人が味を感じる) 補間加算値が得られたのは旨味コク、旨味および苦味雑味の 3 項目であり、逆に、苦味、渋味、渋味刺激および酸味ではすべてのサンプルにおいて無味基準以下の値を示した。また、補間差分処理によって、和牛肉

リブローズを基準に相対比較を行なうと、苦味雑味及び旨味コクにおいて、試作標準サンプルは牛肉エキス 1.0% 水溶液よりも和牛肉に近い値を示し、人間が違いを把握できないとされる 1 以下の差となった。渋味、渋味刺激および苦味では、標準サンプル、牛肉エキス 1.0% 水溶液ともに和牛肉と 1 以下の差を示した。一方、酸味および塩味ではいずれも和牛肉とは 5 を上回る差を示したほか、旨味では牛肉エキス 1.0% 水溶液の方がより和牛肉に近い値を示し、この点について課題を残した。

以上より、実物の牛肉を使わず、牛肉抽出エキスから調整したサンプルであっても、濃度調整や塩化ナトリウム添加によって、牛肉の測定値に近似させることが可能であり、補正用標準サンプルとして使用可能であることが示唆された。ただし、すべての項目において近似の測定値を得るためには、牛肉エキスおよび塩化ナトリウム添加濃度調製のさらなる検討が必要であると考えられた。

表 3 黒毛和種リブローズ肉、および試作標準サンプルの味認識装置測定結果 (補間加算値)

	酸味	苦味雑味	渋味刺激	旨味	塩味	苦味	渋味	旨味コク
黒毛和種リブローズ (n=3)	-29.82	3.78	-0.97	11.42	-11.06	-0.51	-0.22	4.45
牛肉エキス1.0%	-39.86	10.10	-1.19	13.37	-18.44	-0.56	-0.07	0.94
牛肉エキス2.0% + NaCl 0.010mol/L	-36.82	4.45	-0.56	15.78	-2.51	-0.43	-0.07	3.78

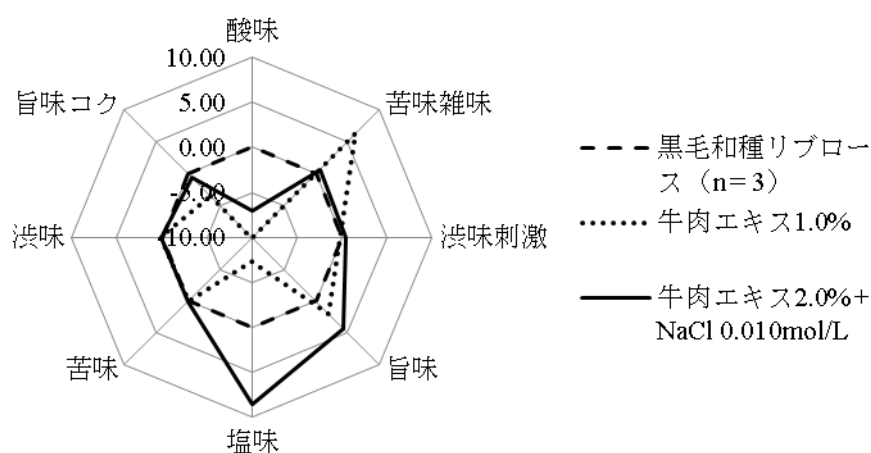


図 2 黒毛和種リブローズ肉、および試作標準サンプルの味認識装置測定結果 (補間差分値)

3. 調理済み肉の食味を測定するためのサンプル処理法の検討

牛肉の味認識装置測定を行なった先行研究^{1, 2)}では、牛肉と蒸留水のホモジナイズ液を沸騰水中で湯煎し、呈味成分を抽出した牛肉スープを作製する手法が一般的である。これは、生肉を検体試料とした測定において、呈味成分の抽出効率を高められるよう最適化された手法であるが、湯煎の工程自体が一種の調理として機能しているため、任意の調理条件下で食味評価ができない。

本研究は、すき焼き・しゃぶしゃぶ調理を想定した条件下で、従来のグリル・ロースト調理との食味比較実施を目的の一つとしているため、調理肉の測定に対応する必要がある。

そこで、湯煎を伴わない、常温での水抽出による前処理によって調理肉の比較測定が可能かを検討するため、調理条件の異なる調理済み牛肉を複数種類用意して、前処理・測定を行ない、調理条件に起因する食味の差異を検出できるか

を検討した。

調理肉の原料として、それぞれ異なる枝肉より採取した黒毛和種肩ロース肉 3 個体分から、同一形状（厚さ 2mm, 直径 25mm の円形）に整形した肉を各個体ごとに多数用意した。これに、京都独自のすき焼き調理（煮込みを行なう前に、他の具材を加えず肉のみを鉄鍋の底で焼く）を想定した「焼き調理：200℃のホットプレート上で裏表各 30 秒ずつ焼成」または、しゃぶしゃぶを想定した「煮沸調理：沸騰水中で 20 秒煮沸」を実施した。サンプルは 2 つの調理法に「調理なし（生肉）」を加えた 3 調理条件×3 個体の合計 9 検体を準備した。

前処理には、各検体 30 g（調理後の重量で測定）分の整形調理肉を蒸留水 150ml とホモジナイズして水抽出し、定性濾紙（アドバンテック東洋 No.101）による濾過および遠心分離（3000rpm, 4℃, 10 分）によって脂質を分離した水分画を測定用サンプルとした。

表 4 黒毛和種肩ロース肉（n = 3）の調理条件ごとの味認識装置測定結果（補間加算値）

評価項目	調理条件		
	調理なし	焼き	煮沸
酸味	-36.36 ± 0.78 ^a	-37.86 ± 0.84 ^b	-37.51 ± 0.81 ^b
苦味雑味	5.29 ± 0.33 ^a	5.15 ± 0.35 ^a	5.86 ± 0.37 ^b
旨味	11.15 ± 0.16 ^{ab}	11.45 ± 0.23 ^a	10.92 ± 0.15 ^b
塩味	-10.91 ± 0.95 ^{ab}	-9.66 ± 1.00 ^a	-11.71 ± 0.50 ^b
苦味	-0.13 ± 0.02 ^a	-0.30 ± 0.03 ^b	-0.23 ± 0.03 ^{ab}
旨味コク	0.76 ± 0.03 ^a	1.35 ± 0.07 ^b	1.22 ± 0.07 ^b

値は平均値±標準誤差（補間加算）

ab: 同一行内の異符号間で有意差あり（P < 0.05）

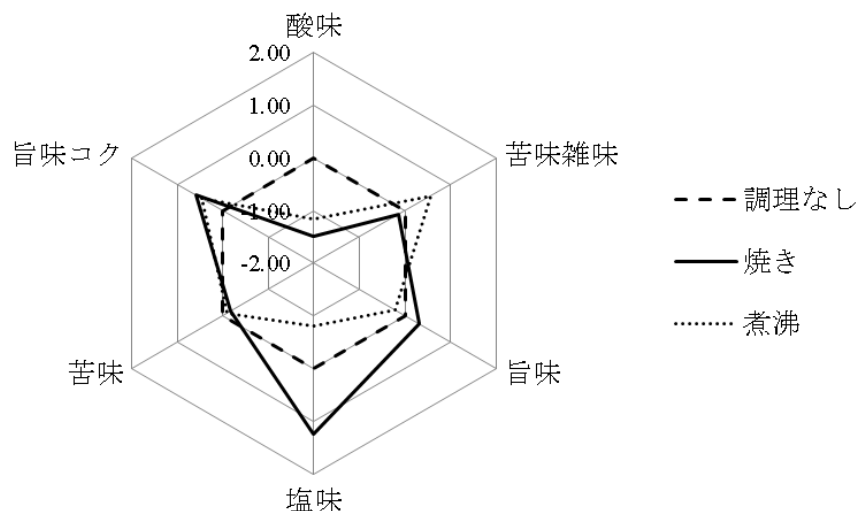


図 3 黒毛和種肩ロース肉（n = 3）の調理条件ごとの味認識装置測定結果（補間差分値）

測定結果の統計解析は、評価項目ごとの補間差分値に対し、調理条件および個体を主要因とした二元配置分散分析 (Two-way ANOVA) および、Turkey-Kramer 多重比較検定を実施し、調理条件間で危険率 5%以下を有意とした。解析ソフトは Statcel ver.4 (オーエムエス出版「エクセル統計解析」) を用いた。

結果を、無味を基準とする補間加算値として表 4 に、「調理なし」を基準とする補間差分値として図 3 に示す。

分散分析での有意差 ($P < 0.05$) はすべての評価項目について認められ、このうち測定値が無味の基準を上回ったのは「苦味雑味」、「旨味」および「旨味コク」の 3 項目であった。この 3 項目中、苦味雑味では「」が他 2 者に対して、旨味では「焼き」が「煮沸」に対して、旨味コクでは「焼き」および「煮沸」が「調理なし」に対して、有意に高い値を示した。

また、調理なしを基準とした補完差分値を表すレーダーチャート上でも、「焼き」と「煮沸」でそれぞれ異なる波形を示し、「焼き」では各味が全体的に濃くなる傾向にある一方、「煮沸では」旨味コクや雑味以外の味が薄くなることで、これらの味が相対的に強調される傾向となった。

以上より、調理前後および異なる調理法の間での食味変化を検出できていると考えられ、常温での抽出を行なう前処理法により、調理肉サンプルの食味比較評価が可能となることが示唆された。

引用及び参考文献

- 1) 池崎秀和; 谷口晃; 都甲潔. 味センサを用いた緑茶の味の定量化. 電気学会論文誌. E, センサ・マイクロマシン部門誌, 1997, 117.9: 465-470.
- 2) 中村好徳, et al. 慣行肥育と草地肥育により生産された褐毛和種去勢雄牛の半腱様筋における肉質比較. 日本暖地畜産学会報, 2011, 54.1: 49-60.
- 3) 日本貿易振興機構 農林水産・食品調査課. 味覚嗜好性調査 調査報告書 (牛肉). 日本貿易振興機構ホームページ. 2014.
URL:
https://www.jetro.go.jp/ext_images/_Reports/63ed6342c5f90c4a/mikaku_beef_rev.pdf