

牛肉の食味性に影響を及ぼす要因に関する研究  
(Factors involved in beef palatability)

飯田文子

博士論文

牛肉の食味性に影響を及ぼす要因に関する研究  
(Factors involved in beef palatability)

飯田文子

日本獣医生命科学大学大学院獣医生命科学研究科

(指導教員：西村 敏英)

平成 28 年

# 牛肉の食味性に影響を及ぼす要因に関する研究

## 目次

序論	1
1, 牛肉の肉質評価	3
(1) 歩留等級	3
(2) 肉質等級	4
2, 牛肉の食味性に影響を及ぼす要因	5
(1) 物理的因子—食感	6
(2) 化学的因子—味・香り・風味	7
3, 牛肉の熟成と食味性	9
4, 牛肉の脂肪含量と食味性	11
(1) 脂肪含量が味に及ぼす影響	12
(2) 香りの前駆体としての働き	12
(3) 脂肪含量がテクスチャーに及ぼす影響	13
5, 牛肉の加熱方法と食味性	14
6, 研究の目的	17
第1章 加熱方法が牛肉の食味性に及ぼす影響	18
1, 目的	18
2, 方法	19
(1) 牛肉試料	19
(2) 加熱調理の方法	20

(3) 官能評価	22
(4) テクスチャー測定	23
(5) 化学的分析	23
1) 水分・粗脂肪含量の測定	23
2) 遊離アミノ酸測定	23
3) 5'-イノシン酸(5'-IMP) 測定	24
(6) 統計解析	24
3, 結果	25
(1) 異なる加熱方法による水分および粗脂肪含量の変化	25
(2) 異なる加熱調理法による牛肉のテクスチャー特性	26
1) 異なる加熱調理法による牛肉の官能評価特性	26
2) 異なる加熱調理法による牛肉の破断特性	27
(3) 異なる加熱調理法による牛肉の風味	28
1) 異なる加熱調理法による牛肉の風味	28
2) 異なる加熱調理法による牛肉中のうま味成分含量	29
2)-1 遊離アミノ酸含量	29
2)-2 異なる加熱調理法におけるうま味成分含量から計算したうま味強度	
	31
4, 考察	32
5, 結論	34
6, 要約	35
<b>第2章 脂肪含量が牛肉の食味性に及ぼす影響</b>	36
1, 目的	36
2, 方法	37
(1) 試料	37

(2) 牛肉の官能評価	37
(3) 理化学分析	38
1) 一般成分分析（水分、粗タンパク、粗脂肪含量）	38
2) 5'-IMP 測定	38
3) 遊離アミノ酸測定	39
(4) 統計解析	39
3, 結果	40
(1) 官能評価	40
(2) 粗脂肪含量と官能評価特性との関係	43
(3) 一般成分と官能評価特性との関係	46
(4) うま味成分測定値と官能評価特性との関係	48
(5) 牛肉の品種と調理法の検討	51
4, 結論	55
5, 要約	55
<b>第3章 長期熟成が和牛肉の食味性に及ぼす影響</b>	57
1, 目的	57
2, 方法	58
(1) 試料	58
(2) 化学成分分析	59
1) pH、水分、粗脂肪、調理損失の測定	59
2) 5'-IMP 測定	59
3) 遊離アミノ酸測定	60
4) aminopeptidase C と H 活性の測定	60
4)-1 粗酵素活性の測定	60
4)-2 精製した酵素活性の測定	61

4)-3 微生物の影響の検討	61
4)-3-1 油中熟成による酵素活性と遊離アミノ酸の変化	61
4)-3-2 微生物測定	61
(3) テクスチャー 測定	62
(4) 官能評価	62
(5) 統計解析	63
3, 結果	64
(1) 60 日間熟成 (dry aging) した霜降り和牛における pH、水分含量、粗脂肪含量 および加熱損失の変化	64
(2) 60 日間熟成 (dry aging) した霜降り和牛におけるうま味成分の変化	65
1) 5'-イノシン酸 (5'-IMP) の変化	65
2) 遊離アミノ酸の変化	66
(3) 熟成期間中のうま味強度の変化	68
(4) aminopeptidases 活性の測定	69
4)-1 粗酵素活性の測定	69
4)-2 精製した酵素活性の測定	71
4)-2-1 aminopeptidase C の Leu-NA に対する酵素活性	71
4)-2-2 aminopeptidase C の Glu-NA に対する酵素活性	72
4)-3 微生物の影響の検討	73
4)-3-1 油中熟成による酵素活性と遊離アミノ酸の変化	73
4)-3-2 微生物測定	75
(5) 破断特性値	78
(6) 官能評価特性	79
4, 考察	81
5, 結論	82

6, 要約	83
最終章	84
総括	
学位論文の要約	86
引用文献	95
謝辞	

# 牛肉の食味性に影響を及ぼす要因に関する研究

## 序 論

わが国の肉用牛には、3種の区分があり、肉専用種（和牛）、乳用種（国産若牛）、交雑種（F1）とされる。「肉専用種」は牛肉を生産する目的で飼養されているもの、「乳用種」は酪農経営の副産物である雄牛を肉向けに肥育したもの、「交雑種」は乳用牛の雌に肉専用種の雄を掛け合わせ、肉質の向上を図ったものである。

和牛の中にも4つの品種があり、黒毛和種、無角和種、日本短角種、褐毛和種がある。黒毛和種は肉専用種の約95%を占めており、脂肪交雑が多いのが特徴である。無角和種は、毛の色は黒毛和種よりも強いが、脂肪交雑や肉のきめで黒毛和種に劣る。日本短角種は、脂肪交雑は劣るが、体格が良く、放牧適正が高く粗飼料で効率的に赤身肉を生産する。褐毛和種は黒毛和種に次ぐ肉質で耐暑性に優れ、粗飼料利用性が高い。

乳用種はホルスタイン種の雄牛を去勢し、肥育したものである。肉質は輸入牛肉と競合し、国産牛と表示される。交雑種は黒毛和種の雄とホルスタイン種の雌牛を交配し肉質の向上を図ったものである。

いずれも6ヶ月から12ヶ月齢から濃厚飼料を給与され、平均20ヶ月から30ヶ月まで肥育されて、と畜されているので、軟らかい肉質を有している。中でも、黒毛和牛は筋肉内に脂肪が蓄積するマーブリングの割合が高く、海外の肉用牛に比較し、軟らかくて、嗜好性が高いという特徴を有している。しかし、わが国の畜産農家を取り巻く状況は深刻で、牛肉飼養戸数は平成26年に6.2%の減少、飼養頭数も2.8%減少があり、今後環太平洋戦略的経済連携協定 Trans-Pacific Strategic Economic Partnership Agreement (TPP) の導入によりますます苦境に立たされる農家も少なくないと考えられる。今後のTPPによる輸入牛肉の増加において、国産牛肉の消費を維持するためには、国産牛肉の特徴を理解すると同時に、それを活かした保存方法並びに調理方法を明らかにす



ることが課題である。これまで、牛肉の品質に関しては多くの研究がなされており、脂肪交雑度や熟成が肉質に及ぼす影響を調べた研究もある。しかし、これらの要因が食味性に及ぼす影響を詳細に調べた研究はほとんどない。

そこで、本論文ではわが国の牛肉に高付加価値をつけることを最終目的とし、牛肉の脂肪含量とドライエイジングによる長期熟成が食味性に及ぼす影響を官能評価と物理化学的測定から明らかにし、さらなる肉質向上を図ることを目的とした。

以下に、本研究の意義を明確にし、得られた結果の考察に資するために、牛肉の肉質評価、牛肉の食味性に影響を及ぼす要因、牛肉の食味性と熟成、牛肉の食味性と脂肪、牛肉の食味性と加熱方法に関する知見の概説を紹介する。

## 1, 牛肉の肉質評価

わが国では、日本で流通する牛の血統や肥育履歴を明らかにするため、家畜改良センターにより肉用牛枝肉情報全国データベースが作成されており、個体識別番号により産地表示が明らかになっている。データベースは、一般社団法人全国肉用牛振興基金協会、公益社団法人全国和牛登録協会、一般社団法人日本あか牛登録協会、一般社団法人日本短角種登録協会、公益社団法人日本食肉格付協会の5団体が肉用牛改良情報活用協議会を設立し、平成22年からは黒毛和種のみならず、和牛のすべての品種に対し、血統の明らかな枝肉情報（耳標番号、肥育者情報、格付情報、子牛登記情報）が提供される環境が整ってきている。

一方、牛肉の取引は公益社団法人日本食肉格付協会が農林水産省の承認を得て制定した「牛枝肉取引規格」（以下に示す）に基づき格付けがされている。

### 牛枝肉取引規格（格付け協会ホームページ<sup>1)</sup>より）

#### （1）歩留等級

等 級	歩留基準値	歩 留
A	72以上	部分肉歩留が標準より良いもの
B	69以上72未満	部分肉歩留の標準のもの
C	69未満	部分肉歩留が標準より劣るもの

#### （2）肉質等級

項 目  等 級				
	脂肪交雑	肉の色沢	肉の締まり 及びきめ	脂肪の色沢と質
5	胸最長筋並びに背半 棘筋及び頭半棘筋に おける脂肪交雑がか なり多いもの	肉色及び光沢が かなり良いもの	締まりはかなり良 く、きめがかなり 細かいもの	脂肪の色、光沢 及び質がかなり 良いもの
4	胸最長筋並びに背半 棘筋及び頭半棘筋に おける脂肪交雑がや や多いもの	肉色及び光沢が やや良いもの	締まりはやや良 く、きめがやや細 かいもの	脂肪の色、光沢 及び質がやや 良いもの
3	胸最長筋並びに背半 棘筋及び頭半棘筋に おける脂肪交雑が標 準のもの	肉色及び光沢が 標準のもの	締まり及びきめ が標準のもの	脂肪の色、光沢 及び質が標準 のもの
2	胸最長筋並びに背半 棘筋及び頭半棘筋に おける脂肪交雑がや や少ないもの	肉色及び光沢が 標準に準ずるも の	締まり及びきめ が標準に準ずる もの	脂肪の色、光沢 及び質が標準 に準ずるもの
1	胸最長筋並びに背半 棘筋及び頭半棘筋に おける脂肪交雑がほ とんどないもの	肉色及び光沢が 劣るもの	締まりが劣り又 はきめが粗いも の	脂肪の色、光沢 及び質が劣るも の

和牛の 95%をしめる黒毛和種牛肉の格付けは A4 および A5 等級がほとんどで和牛といえば黒毛和種の霜降り牛肉をさすといっても過言ではない。公益財団

法人日本食肉消費総合センターによる消費動向調査によれば、平成 24～25 年度牛肉の購入頻度は、豚肉や鶏肉が減少傾向であるのに対し、約 9%増加している。購入した牛肉の種類別にみると、「輸入牛肉」が減少し「国産和牛」「和牛以外の国産肉」が増加していた。また、消費者の 48.8%は、霜降り肉と赤身肉の双方を嗜好しているおり、「普段は赤身肉でたまに霜降り肉（43.8%）を購入」や「両方の肉を同程度（34.9%）購入」していると回答されていた。このように国産牛肉に対する嗜好は強く、消費者の好みは霜降り、赤身の双方にあるが、霜降り偏重により霜降り和牛の格付けは高いため、購入頻度は赤身肉よりは低いことがわかっている。このことから、現在も、畜産農家は霜降りの出やすい黒毛和種飼養中心の生産体制が多い。一方、赤身肉嗜好が国民の約半分に達している現状においてこの生産体制が果たして適切かどうか、食費者の求めているおいしい牛肉とは何なのか、牛肉の食味評価から明らかになる方向性が期待される。

## 2、牛肉の食味性に影響を及ぼす要因

牛肉をはじめとする食べ物の食味性には多くの要因が関わっている。動物個体（肉自体）による要因は、性差、体長体重、栄養状態、月齢などによる個体因子があり、出荷される前の格付け評価で決定される「枝肉歩留まり」や「脂肪交雑状態」などに影響を及ぼす。これらの要因の中で、格付けに大きく影響を及ぼしている牛肉脂肪交雑基準 Beef Marbling Standard (BMS) の高い肉と食味性の関係は十分に解明されているとは言えない。

また、と畜後の要因は、食肉の熟成条件や調理条件等がある。熟成は食肉加工業者の取り扱い、加工および加熱調理は小売店や家庭での取り扱いに関するものである。熟成には、温度や湿度をコントロールせず、含気あるいは真空包装して冷蔵保存する wet aging と、湿度、温度、送風を一定として冷蔵保存する dry aging がある。さらに、近年では dry aging による長期熟成も加わり多様な流通形態となってきた。これら多くの要因が、食味性に影響を与えることはよく知られている。

そこで、次に牛肉の食味性を官能評価する際の食味評価の項目を選定するに

あたり、その構成因子である食味因子について、物理的因子（食感）と化学的因子（味・香りおよび風味）に分けてさらに説明する。

## （１） 物理的因子—食感

食肉の食味性を評価する際の物理的因子として、口中の食感（テクスチャー）としてのかたさ、繊維感、噛んで出てくる dripping としての多汁性があげられる。まず第１に食肉のかたさについては、国内外の最も多くの研究報告がある。牛肉の筋肉タンパク質は、大きく分けて肉のかたさに大いに影響を与えるコラーゲン、エラスチンなどの肉基質タンパク質、また筋肉タンパク質のミオシン、アクチンに代表される筋原線維タンパク質、その他グロビンなどの筋漿タンパク質に分けられる。そのうち牛の筋肉のかたさは筋周膜や筋内膜に存在する結合組織の肉基質（meat stroma）と筋線維中にある筋原線維（myofibril）の量および状態によって決まる。さらに食肉として口に入るまでは、熟成による酵素の働き（解硬過程）や加熱（調理）による収縮も影響があり、その関連性については多くの研究報告がある。

と畜前の牛の筋肉の状態は月齢によっても硬くなるが、これはコラーゲンの量が増加するのではなく、コラーゲン分子間架橋が増加することにより硬くなる<sup>2)</sup>ことがわかっている。日本では、牛肉をやわらかくするために熟成がなされてきたが（熟成による軟化機構については後述）、熟成および月齢のみならず、筋肉内に脂肪を蓄積すること（肥育により霜降り肉を作る）にも力を注いできた。日本の黒毛和種牛は筋肉生産能力が高く<sup>3)-5)</sup>、また筋肉内脂肪酸組成中の１価不飽和脂肪酸であるオレイン酸(C18:1)を生産する Bovine fatty acid synthase (FASN) 酵素が遺伝的に多い<sup>6)</sup>ため Monounsaturated fatty acid (MUFA) 含量の高い口溶けの良い脂肪を持つ。また stearoyl-CoA desaturase (SCD) は飽和脂肪酸のステアリン酸(C18:0)、パルミチン酸(C16:0)から１価不飽和脂肪酸のオレイン酸(C18:1)、パルミトオレイン酸(C16:1)を生成する酵素がホルスタイン種の４．１倍、F1（交雑種）よりも３倍有意に高い<sup>7)</sup>ことも知られている。現在日本における黒毛和種の中で純粋但馬牛の血統（田尻、菊美）は、SCD 遺伝子が他の地域の種雄牛（茂金、毛高、栄光、藤良）のものに比較して多く、優

れた遺伝子を持っていることがわかっている。この霜降りが日本の牛肉のやわらかさ、多汁性に関わることが考えられるが、どの程度の脂肪含量が適切であるかは十分に解析されていない。

以上のように、肉の物理的因子である食感（テクスチャー）は、肉自体の要因である筋肉タンパク質の割合、月齢、脂肪交雑度と後天的要因である熟成等の要因が複雑に絡み合い影響を及ぼし合っている。

## （２） 化学的因子—味・香り・風味

食肉を食味評価する際の化学的因子としては、味と香りがある。食肉の味に関する成分として、熟成により増加する核酸関連物質 5'-IMP（イノシン酸）と遊離アミノ酸やペプチドがあげられる。これらの中では、うま味物質であるイノシン酸とグルタミン酸量のバランスは重要である。グルタミン酸(Glu)以外のアミノ酸ではアラニン(Ala)が多く、やや甘味があるのが特徴である。

ホルスタイン牛肉の熟成中のアミノ酸、核酸成分の変化は Nishimura らにより 1988 年に明らかにされている<sup>8)</sup>。熟成中に遊離アミノ酸が増加することについて、Nishimura らは筋肉中に存在する aminopeptidase C、その 3 倍の作用を呈する H を単離同定<sup>9)-12)</sup>し、その機序を明らかにしている。両アミノペプチダーゼを同時に作用させるとそれぞれ単独の作用よりもさらにアミノ酸量は増大し、それらのアミノ酸はアラニン、リジン、グリシン、セリン、スレオニン、ロイシン、バリン、グルタミン酸(Ala, Lys, Gly, Ser, Thr, leu, Val, Glu)とアルギニン(Arg)であった。また、aminopeptidase P は N 末端のプロリン(Pro)を遊離するが、この作用は他の遊離アミノ酸の増加にも寄与することが知られている。一方、味を呈するには分子量が大きくそのままでは味を呈しないペプチドについては、酸味を抑制し、味をまろやかにすることが明らかになっている<sup>13)</sup>。しかし、脂肪その他の成分が含まれる食肉を実際に食したときの感じ方にはそれらが一層複雑に味覚に関与することが考えられ、未だ不明な点が多い。

香りについては、食べ物を口に入れる前に直接鼻から嗅ぐことで感じられる

鼻先香 (orthonasal aroma) と口に含むことで喉から鼻に抜けて感じられる口中香 (retronasal aroma) がある。

食肉の香りには生鮮香気と加熱香気があり、生鮮香気には、熟成前の酸臭、血液臭、体液臭と熟成後の硫化水素、methylmercaptan、ethylmercaptan、acetaldehyde、acetone、2-butanone、methanol、ethanol、ammonia などがある。

沖谷は1993年の総説で、牛肉熟成香 (conditioned raw beef aroma) はミルク臭に似た甘い香気とされ、それには筋細胞とそれを囲む脂肪細胞が必要で通性嫌気性の *Brocothrix thermosphacta* によるものだと述べている<sup>14)</sup>。しかし、それは和牛独特の香りではなく輸入牛肉でも熟成により生じる香りであった。さらに、2001年 Matsuishi ら<sup>15)</sup>は黒毛和牛肉における甘く脂っぽい香りの存在を明らかにし、 $\gamma$ -nonalactone (ココナツ様、桃様の香り) によると報告している。しかし、黒毛和種の中の香りの同定は脂肪酸の種類によっても変化し、遺伝子との関連も指摘されてきている<sup>16)</sup>。一方、加熱香気には湿熱加熱による肉スープ香気と乾熱加熱によるロースト香気があり、それはL-Cysteine と糖によるメイラード反応による香ばしい香り (2,6-Dimethylpyrazine 等) として Okumura ら<sup>17), 18)</sup>によって報告されている。

2,6-Dimethylpyrazine はこく付与物質として早瀬ら<sup>19)</sup>により報告され、おいしさに寄与する要因の一つであることが確認された。一方、佐藤ら<sup>20), 21)</sup>は、黒毛和種特有の香りについて、含硫含窒素環状化合物 (thiazole) が多いことが他の褐毛、日本短角、ホルスタイン、アンガス種との違いであることを報告した。また黒毛和種の中でも銘柄による違いは脂質由来の化合物の差によることも報告している。このメイラード反応は赤身に含まれる水溶性の透析性低分子区分、つまり還元糖である glucose、核酸由来の ribose などと遊離アミノ酸、oligopeptide との加熱相互反応と考えられるが、油脂中での加熱生成物に pyrazine 類の生成が多い<sup>18)</sup>ことから、どのような脂肪酸によって変化するかなどの機序はまだ不明である。

以上、味と香り・風味は食肉の食味性に大いに関与しているが、両者の相互作用<sup>22)</sup>も順次明らかにされつつあり、その複雑さゆえに解明が期待されている。

### 3, 牛肉の熟成と食味性

牛肉は、と畜後すぐに 2-4 °C で 2-3 週間熟成することにより軟化し、風味が改良されることは通常良く知られるところである。

これまでのわが国での牛肉の熟成では、主に wet aging が使用されてきた。と畜後、2~4°C の冷蔵状態で、湿度のコントロールはされず、2 週間程度の保存がされてきた。また、海外から輸入される牛肉は真空包装され、低温で輸送・保存されている。しかし、最近、わが国では、dry aging が注目されている。dry aging は、元来、米国において赤身肉の保存性を高めるため、温度と湿度をコントロールし、送風しながら保存し、熟成する方法である。日本でも、黒毛和牛は、脂肪交雑が高いため、保存性が良く、1~2 か月間貯蔵する長期熟成がなされているものもある。これは、1 種の dry aging である。最近では、様々な種類の肉を、温度と湿度をコントロールし、送風して長期貯蔵する dry aging が多く流通するようになっている。

熟成による軟化機構については多くの報告があり、カルシウム説、プロテアーゼ説並びに IMP 説が提唱されている。それらの詳細について説明すると、1975 年から 77 年にかけて Locker ら<sup>23)</sup>は、引っ張り強度測定により、死後硬直から解硬における筋線維の状態を  $\text{Ca}^{2+}$  による活性化により Z 線および I 帯の裂け目に多くの架橋が出来ており、それらが筋肉の弾性が増すメカニズムであることを明らかにした。1979 年には Hattori & Takahashi<sup>24)</sup>が熟成中に筋肉内  $\text{Ca}^{2+}$  濃度が上昇し、Z 線が脆弱化することを筋繊維の長さおよび電気泳動による分子量測定により明らかにした。そして、Nishimura ら<sup>25)</sup>は筋肉内結合組織が 14 日以降ゆっくり軟化することを報告している。これは  $\text{Ca}^{2+}$  濃度が上昇し、 $\text{Ca}^{2+}$  がリン脂質や脂肪酸と結合することにより、リン脂質や脂肪酸が可溶化し、Z 線から遊離するために脆弱化するという軟化の機序を明らかにした。さらに  $\alpha$ -connectin (分子量 280 万) が  $\text{Ca}^{2+}$  と結合することにより、低分子量の  $\beta$ -connectin (分子量 210 万) とサブフラグメントに開裂し弾性が低下する (Tanabe 1994<sup>26)</sup>) ことも報告された。

また、Koohmaraie ら (1988a<sup>27)</sup>b<sup>28)</sup>) は熟成中の軟化は protease の m-calpain と  $\mu$ -calpain 活性が 14 日でも充分残存し calpain がタンパク質を分解し続けるこ



と、2006 年<sup>29)</sup>には  $\mu$ -calpain が軟化に関わっていることを報告した。calpain は中性側に至適 pH を持つが、 $\text{Ca}^{2+}$ により活性化され、筋肉タンパク質を分解し Z 線の脆弱化、myosin-actin 間の相互作用の脆弱化並びに connectin の開裂を引き起こし軟化に寄与する。さらに酸性 protease である cathepsin には B、D、H、L があり、B は myosin の分解、D は myosin、tropomyosin、troponin、 $\alpha$ -actinin、connectin を分解(Zeece<sup>30)</sup>)、L は Z 線の崩壊、筋原線維の小片化に寄与している(Matsukura ら<sup>31)</sup>、Mikami ら<sup>32)</sup>)。さらに熟成の条件とかたさの検討は Yu & Lee が 1986 年に pH や温度と肉のかたさの研究を報告<sup>33)</sup>している。さらに近年、Okitani ら<sup>34)</sup>、Nakamura ら<sup>35),36)</sup>は、熟成中に生じる IMP が actomyosin の解離に関わっており、軟化のメカニズムに関わっていると告している。このように、これまでに熟成による軟化機構は 3 つが提唱されているが、それぞれの寄与度に関しては、未だ不明である。

牛肉の熟成が食味性に及ぼす影響に関する研究報告で、真空パックした牛肉の熟成 (wet aging) についてやわらかさに関する報告はいくつかある。(Smith ら<sup>37)</sup>、Jones ら<sup>38)</sup>、Brewer & Novakofski<sup>39)</sup>)。前述したが、短期間の wet aging ではと畜後の死後硬直は calpain, cathepsin B, D, and L の作用によって軟化される (Okitani ら<sup>40)-44)</sup>) あるいは  $\text{Ca}^{2+}$  (Hattori & Takahashi<sup>24)</sup>)により軟化される。風味については Nishimura ら<sup>8),9)</sup>はホルスタイン牛肉の赤身中の遊離アミノ酸がと畜 4 日から 12 日にかけて増加することを報告している。これらの変化は 熟成中の aminopeptidase C と H の作用により引き起こされることがわかっている<sup>10)-12)</sup>。1992 年、Shimada ら<sup>45)</sup>はホルスタイン赤身肉のかたさが 14 日めで改良したことを報告している。しかし熟成中に遊離アミノ酸が増加すること、かたさが改善されることは知られているが、実際の食味については不明である。

wet または dry aging における長期熟成についての報告は、Cambell ら<sup>46)</sup>は 2001 年に 赤身肉を dry aging で 16 日と 21 日熟成させたものは、かたさ、風味の強さ、多汁性で少ない日にちのものより高い値が得られたことを報告している。さらに赤身肉のやわらかさは wet aging で 28 日であったこと (Dixon ら<sup>47)</sup>)の報告もある。

Nishimura ら<sup>25)</sup>は筋肉内結合組織はと畜 28 日でかなり減少したことを報告

している。柳原ら<sup>48)</sup>は 1995 年にホルスタイン牛肉のやわらかさと食味について熟成 32-56 日間で改良されたがさらにそれ以上の熟成では低下したと報告している。

このように霜降り和牛肉の熟成期間に関する記述は様々であり、適切な熟成期間は明らかになっていない。

#### 4、牛肉の脂肪含量と食味性

黒毛和牛の肉は、他の品種の肉に比べて、筋肉内の筋周膜に脂肪が均一に分散した脂肪交雑が入りやすく、嗜好性の高い食品の 1 つである。日本独自の食文化により育まれた国民の牛肉に対する好みは独特で、多くの国では赤身が高く評価される (Richardson<sup>49)</sup>, Grunert<sup>50)</sup>, Verbeke と Viaene<sup>51)</sup>, Holm, L. と Muhl<sup>52)</sup>, Lea と Worsley<sup>53)</sup>, Killinger<sup>54)</sup>) のに対し、日本では脂肪交雑牛 (marbling beef) が圧倒的に高く評価されている。わが国における黒毛和牛の肉の特徴を明らかにし、より嗜好性の高いものにすることは、TPP により安価な牛肉が入ってきても、消費量に影響を与えず、逆に海外への輸出を可能にすることができると考えられる。脂肪交雑牛の特徴は調理後もやわらかく、なめらかな食感、快い脂っこさ、濃厚なうま味 (四基本味では現されない牛肉らしい独特の味<sup>55)</sup>) や和牛独特な芳ばしい香り<sup>15), 56)</sup> など、赤身肉にない豊かな味わいが特徴である。本項では、その脂肪の肉質への影響について述べる。

##### (1) 脂肪含量が味に及ぼす影響

脂肪が牛肉の味に影響を及ぼす可能性としては、脂肪がうま味そのものを増強することと脂肪がうま味と共通する特性を付加すること、さらに、両者がもたらす複合感覚効果が考えられる。

うま味を強く感じるとすれば、油脂は粘度を増加させるため舌面での停滞時間が増加しうま味の認知を促す可能性が考えられる。霜降り和牛の特徴は赤身

を主とするタンパク質由来のうま味と、脂肪の触感、両者によって引き起こされる香り、風味を同時に発現させて食味を高めると考えられる。うま味物質はそれ自身快ではなく、食品中で種々のアミノ酸などの味と融和し肉的な味として感じられるが、山口はその効果をプロファイルし、こく、濃厚感、まろやかさ、広がり、持続性を与えると報告している<sup>55)</sup>。また油脂もそれ自身には味がなく、あまり好ましいものでもないが、なめらかな食感が食品にこくや広がり、持続性を与え、うま味とまぎらわしい効果を持つ。

これらを総合すると、適量の脂肪はうま味そのものを強めると同時に脂肪の「こく」やなめらかさなど、うま味に似た特性を付与し、さらに、次に示す香りと同時にうま味を強めると考えられるが、その実態は明らかでない。

## (2) 香りの前駆体としての働き

黒毛和牛肉における甘く脂っぽい香りの存在は、Matsuishi ら<sup>15)</sup>により 2001 年に  $\gamma$ -nonalactone (ココナツ様、桃様の香り) であることが明らかにされた。しかし、黒毛和種の中の香りの同定は脂肪酸の種類によっても変化し、遺伝子との関連も指摘されてきている<sup>16)</sup>が、ラクトン化合物の前駆体の解明は、未だなされていない。

一方、加熱香氣には湿熱加熱による肉スープ香氣と乾熱加熱によるロースト香氣があり、それは L-Cysteine と糖によるメイラード反応による香ばしい香り (2,6-Dimethylpyrazine 等) として Okumura ら<sup>17), 18)</sup>によって報告されているが、それらの香りは脂肪酸が介在することにより多く発生し、こく付与物質とされている<sup>22)</sup>。

一方、佐藤ら<sup>20), 21)</sup>は、黒毛和種特有の香りについて、含硫含窒素環状化合物 (thiazole) が多いことが他の褐毛和種、日本短角種、ホルスタイン種、アンガス種との違いであることを報告した。さらに、銘柄による違いは脂質由来の化合物の差であることも明らかになっており、黒毛和種独特の脂肪交雑は間接的にメイラード反応に関与し好ましいビーフの香りに寄与していると考えられる。実際、粗脂肪含量が増加すると脂っぽい香りと甘い香りが増加すると報告されている<sup>58)</sup>。

この好ましい香りやビーフの香りは牛肉の重要なうま味を増強することは、国枝<sup>59)</sup>が組み合わせによって、香りが味の強さを増強することや、山口が香りの存在がうま味の快不快を劇的に変化させることにより示されている。また最近、両者の相互作用<sup>57)</sup>も順次明らかにされつつあるが、牛肉において脂肪が存在することにより味をひきたて「こく」を増すかどうかはまだ証明されていない。

### (3) 脂肪含量がテクスチャーに及ぼす影響

和牛のやわらかさの特徴は、前述のように、脂肪交雑(Marbling)によるところが大きい。海外における Marbling 研究では、1959 年、Blumer ら<sup>60)</sup>が脂肪量は 15%以下であったが、脂肪交雑のある牛肉は tenderness juiciness flavor のうち flavor に影響がみられたと報告している。その後の研究では、Blumer らは 1959 年と 1962 年の研究<sup>61)</sup>をまとめ、1963 年に総説<sup>62)</sup>で、脂肪交雑牛の食味特性について述べている。彼らの脂肪交雑対象牛は、粗脂肪含量 0.87-14.82% であるが、その筋間脂肪の存在は、やわらかさ・風味・多汁性に寄与したと報告された。

近年の海外の脂肪交雑研究は、肥育期間やと畜時の産肉特性との関連で報告され、May ら<sup>63)</sup>は、後期肥育牛で背脂肪厚より脂肪交雑等級が多汁性や風味の強さと相関が高かったと報告している。Shackelford ら<sup>64)</sup>も同様に、背脂肪厚ではなく、脂肪交雑等級がやわらかさと高い相関を持ったと報告している。また、赤身肉好きであった米国においても、最近では脂肪交雑牛が徐々に好まれつつあることも報告されている(Platter ら<sup>65)</sup>, Killinger ら<sup>66)</sup>)。しかし、上記報告の脂肪含量は日本の脂肪交雑牛とは比較にならないほど低い(8.8-10%)。さらに、最近では Marbling が多い牛肉(USDA Prime)が海外でも飼養されているが日本における国産乳牛程度(10~20%)である。日本の黒毛和牛の遺伝子を用いた Wagyu も飼養されてきてはいるが、日本の 50%を超える粗脂肪含量のものはなく、日本の黒毛和種 A5 のやわらかさは海外の追随をみないのが現状である。

一方、現在の日本では、日本格付協会による最高格付けである A5 等級の牛肉の粗脂肪含量は 40%を超えている。しかも脂肪交雑等級(BMS 番号、1~12)は、

消費者の霜降り礼賛意識ともあいまって、脂肪交雑度の高いものほど等級も高く格付けされる傾向があり(小堤ら<sup>67)</sup>、小堤<sup>68)</sup>、Cameron ら<sup>69)</sup>、井上ら<sup>70)</sup>、Ueda ら<sup>71)</sup>)、国産牛の脂肪交雑量は増加の一途をたどっている。しかし、山口らは多すぎる脂肪交雑は必ずしも消費者は望んでいない(沖田ら<sup>72)</sup>、山口<sup>73)</sup>)と報告している。実際、山口らが調べた一流百貨店で最高格付け(5等級)で販売されていた和牛のサーロイン部の粗脂肪含量は69%であり、一般消費者による官能評価では明らかに好まれていなかった(山口ら<sup>74)</sup>)。

本来、タンパク質性食品と考えられている牛肉が過度に高脂肪であることは、生命を維持するための主要な食材として望ましいとはいえず、どの程度の脂肪含量が望ましいのかは重要な問題であるといえる。

## 5、牛肉の加熱方法と食味性

牛肉は一部を除き加熱して食する。その加熱方法が、牛肉のおいしさをさらに引き出してくれる。

筋線維の加熱による変化については、Locker ら<sup>23)</sup>は、60℃から100℃の間の加熱で筋原線維とコラーゲンが変性すると報告している。また、60℃での長時間加熱あるいは70℃での短時間加熱では、まだ筋原線維のしなやかな弾力性が残っているが、70℃での長時間および80℃以上の加熱では筋原線維の変性により、肉が硬直することを明らかにした。しかし、この加熱温度帯で調理した時の牛肉の食味性に関しては、未だ不明な点が多い。

黒毛和牛は日本において最も好まれる牛肉である(沖田ら<sup>72)</sup>、Koizumi ら<sup>75)</sup>)。しかし、最近では、健康志向が高まり、赤身肉の多いホルスタイン種の肉を好む人々が増えてきている(飯田ら<sup>76)</sup>)。

肉食の歴史が長いヨーロッパでは、肉における多くの調理方法が開発されている。赤身肉を好んで食べていることから、月齢の高い牛肉でも、それをやわらかく調理して食べる方法が研究され、実践されている。海外における牛肉調理方法に関する研究では、Schock ら<sup>77)</sup>はロース肉(*M. semimembranosus*)を揚げる、ロースト、オーブン中で煮る調理や圧力をかけて煮る調理を行ったが、いずれの調理方法でも、やわらかさ、香り、総合評価とも好まれなかったと報

告している。Batcher と Deary<sup>78)</sup>、Morgan ら<sup>79)</sup> は ロースト調理による牛肉が broil または grill 調理のものよりも、やわらかさの点で好まれたと報告している。Morgan らは、長時間の調理においては、加熱中に生ずるコラーゲンの可溶化と水分含量の増加によりやわらかさが増すと報告している。

Goodson ら<sup>80)</sup>は 2002 年に行った「ステーキに関する消費者嗜好調査」において、肉の flavor が最も大切な官能特性であることを報告した。

Adhikari ら<sup>81)</sup>は、焼成調理による牛肉の medium-rare 状態がローストや煮る調理によるものよりも、juicy かつ flavor が良いことから、焼成調理がより適当な調理方法であると評価している。

調理温度肉質との関連性についても、いくつかの報告がある。Lorenzen ら<sup>82)</sup>は、2005 年に、嗜好性の高いビーフステーキを調理した時、肉中心の最終到達温度は 55-82 °C であると報告している。このように通常の調理方法に関する報告は多々あるが、その使用した部位、最終加熱温度、乾熱か湿熱か、またその調理時間など条件設定が複雑すぎて、一概に比較出来るものではない。

また、新しい調理方法に関する研究としては、低温長時間調理 (LTLT) についての研究が多くなされている (Laakkonen ら<sup>83)</sup>, Vaudagna ら<sup>84)</sup>, Obuz ら<sup>85)</sup>, Ko ら<sup>86)</sup>, Gunving ら<sup>87)</sup>)。これらの LTLT についての報告は肉をやわらかくして脂肪を減らすことに関するものであり、現在大量調理においてもよく使用されている。簡便性を追求した調理方法では、Fulton と Davis<sup>88)</sup>, Joseph と Joycelyn<sup>89)</sup> は電子レンジとコンベクションオーブンで調理した肉を比較し、電子レンジ加熱の肉は、より多くの collagen が可溶化するので硬くならないと報告している。

以上より、牛肉を加熱調理した場合、やわらかさ、多汁性、風味がおいしさに大きな影響を与えることがわかる。しかし、調理における研究は様々な角度からなされてきてはいるものの、同一部位を用いて同時に調理方法を行っていないため、必ずしも、効率的な調理 (加熱) 方法やその機序が解明されているとは言えない状況である。

加熱調理した牛肉の食味性を科学的に測定する手法についての研究は、官能評価と機器測定があるが、機器測定に関しては、未だに客観的な食味性を評価できるまでには至っていない状況である。

そこで、本論では食味性を科学的かつ客観的に判断する方法として、ヒトの5感（視覚、聴覚、嗅覚、味覚、触覚：体性感覚）によって事物を評価することおよびその方法（官能評価士テキスト：日本官能評価学会編<sup>90)</sup>）である官能評価という手法を用いることにした。官能評価はアメリカでは1940～50年代に行われた米軍軍隊食の受容性に関するフレーバーや嗜好の重要性が認識されたことに始まり普及し、日本では1950年代に日本科学技術連盟の研究会で心理学、生理学、統計学を中心とする学界と産業界の専門家により独自の方法論から官能検査として始まった手法である。現在では、国際標準化機構 international organization for standardization (ISO) との整合性も検討されつつある。官能評価の手法とは、品物の品質特性を測定する、判定基準と比較する、判断を下すの一連の評価手法のことをさす。その中には分析型官能評価と嗜好型官能評価があるが、本論では、パネルの判断が個人の感情を排除した客観的判断を行う、分析型官能評価を採用した。さらにその分析型官能評価とそれらの項目に密接に関連した機器測定値の相互結果を比較検討することにより、詳細な食味性の検証が行えたと考える。

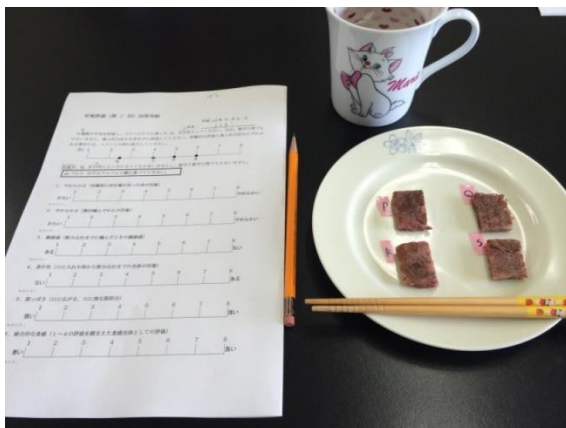


写真1 牛肉の官能評価風景

## 6, 研究の目的

牛肉には、和牛、交雑牛、ホルスタイン種由来のものや海外からの輸入牛肉があり、それぞれの肉質には特徴があることがわかっている。また、これらを調理した時のおいしさを決定する因子としては、味、香り、軟らかさやジューシーさなどの食感が重要であることがわかっている。しかし、これらの因子は、牛肉の加熱条件、脂肪含量、熟成条件等によって変わることがよく知られている。特に、日本では、黒毛和種の牛肉に対する嗜好性が高いにも関わらず、その食味性に影響を及ぼす要因に関して、十分な検討が行われてこなかった。このことは、今後の導入が決定している TPP に対して、満足な対応ができない可能性がある。

そこで、本論文では、わが国の牛肉に高付加価値をつけることを最終目的とし、牛肉の脂肪含量とドライエイジングによる長期熟成が食味性に及ぼす影響を官能評価と物理化学的測定から明らかにし、さらなる肉質向上を図ることを目的とした。

第1章では、加熱調理方法に着目し、加熱方法が牛肉の食味性に及ぼす影響を検討した。その結果、グリル並びにロースト調理が牛肉の高い嗜好性を付与できることが判明した。

第2章では、黒毛和牛肉を取り上げ、その脂肪含量が牛肉の食味性に及ぼす影響を検討した。その結果、粗脂肪含量が約 36%の牛肉が最も嗜好性が高いことを初めて明らかにした。

第3章では、ドライエイジングによる 60 日間の長期熟成を行った黒毛和牛肉を用い、熟成が食味性に及ぼす影響を検討した。その結果、40 日間の熟成期間が最適であることを明らかにした。

以下に、本研究での成果を詳細に述べる。

## 第1章 加熱方法が牛肉の食味性に及ぼす影響



## 1, 目的

黒毛和牛は日本人に大変好まれている食肉である（沖田<sup>72)</sup>, Koizumi<sup>75)</sup>）。一方、ホルスタインの赤身肉は、健康志向の人々に人気上昇している（飯田<sup>76)</sup>）。

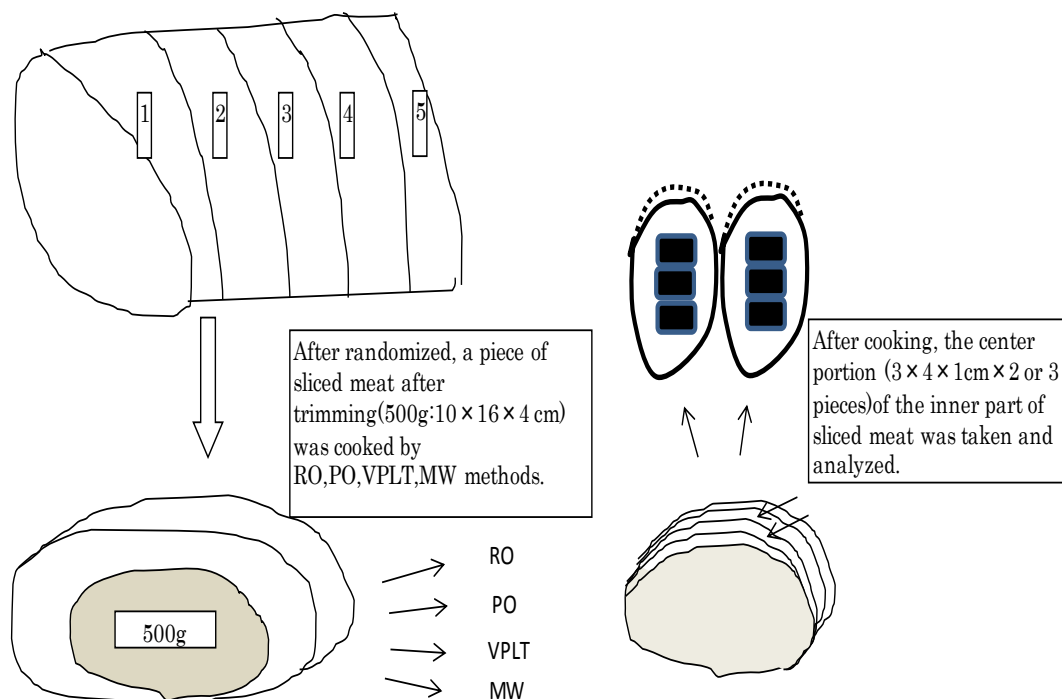
これらの肉は、生では食せず、ほとんどの場合、加熱調理して嗜好性を向上させてから、提供される。多くの調理人達は経験論から食肉の美味しさは調理法による影響が大きいと言っている。序論で示したように、牛肉の加熱方法に関する研究ではこれまでにいくつかの点が明らかにされてきた。それらの報告をまとめると、牛肉を加熱調理した場合、やわらかさ、多汁性、風味が美味しさに大きな影響を与えると考えられる。また、調理における研究は、様々な角度からなされてきてはいるものの、同一部位を用いて同時に調理方法を行っていないため、必ずしも、効率的な調理（加熱）方法やその機序が解明されているとは言えない状況である。

そこで、本研究の第 1 章では、肉類の美味しさを引き出す加熱調理方法の特徴をとらえ、牛肉加熱調理の条件を明らかにするため、肉質判定に用いる胸椎 6 番目あたりのリブローズを用いた。加熱調理方法は標準的な調理方法として簡便で、日本でも良く使用される焼成調理をコントロールとし、煮熟調理、蒸し焼き調理、真空低温調理、電子レンジ調理の 5 種とした。ただし、肉が硬くなるのを防ぐために、内部温度を筋原線維タンパク質と肉基質タンパク質が完全に硬直する前の 60℃として加熱調理を行った。それら調理後試料について官能評価を行うと同時に、同一試料をほぼ同時に機器測定を行うことにより食味に影響を与える各調理方法による加熱後試料の特性を明確化し、加熱方法が牛肉の食味性に及ぼす影響を検討することを目的として、実験を行った。

## 2, 方法

## (1) 牛肉試料

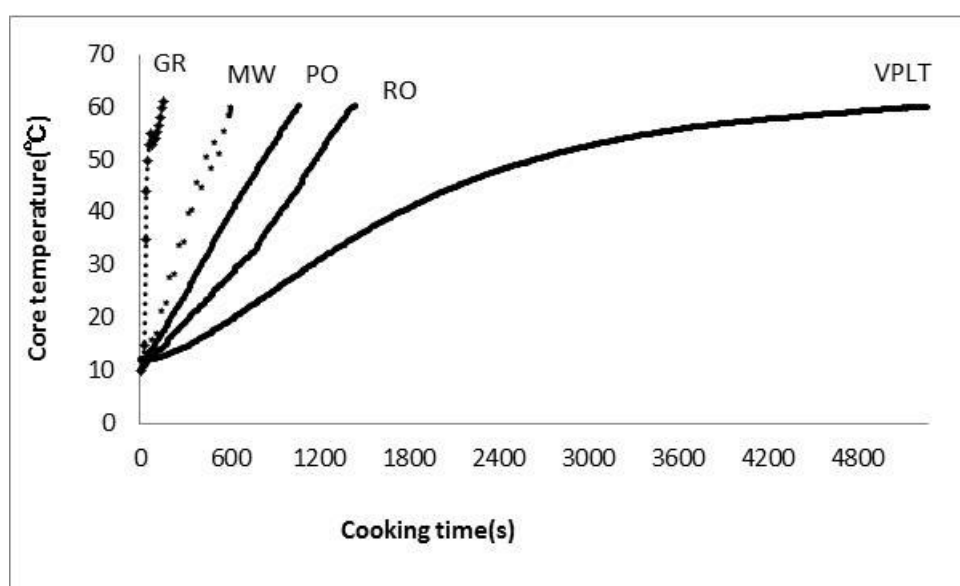
牛肉試料は世界的にみて多くの人たちが食していると考えられる脂肪含量（約 10%内外）の北海道産 19 ヶ月齢のホルスタイン去勢牛 8 頭とした。と畜後 0 °C で 14 日間熟成した右側ロース部胸最長筋部 (the *Longissimus thoracis*) のおよそ 25 cm、5 kg を使用した。牛肉は、等しい重量で 5 ブロックに切り分け 5 種の調理方法用にランダムイズして使用した。(Fig. 1)



**Fig. 1 Preparation of experimental samples for cooking and analyses from block meat**

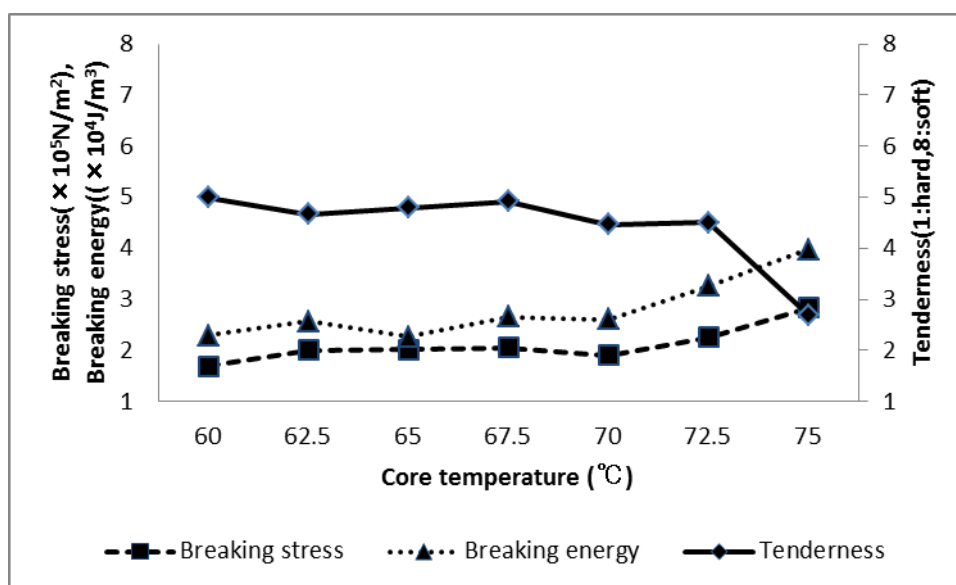
## (2) 加熱調理の方法

牛肉調理方法としてアメリカで汎用されている American meat cookbook (Aidells, B & Kelly, D., 1998<sup>91)</sup>), から焼成法 grilling (以下 GR と略す) (hot plate; Zojirushi, Japan)、ロースト (蒸し焼き法) oven roasting (以下 RO) (Electrolux Convection Ovens AR 170S, Sweden. Plate size 300 W × 500 D (mm)), 煮熟法 poaching (以下 PO) (4,700 kcal/h), 真空低温調理 vacuum-packed low-temperature cooking (以下 VPLT)、電子レンジ加熱 microwaving (以下 MW) (Harman combination range, DR508E GM0-S 1300, 1350 W, 50-60 Hz, 415 W × 365 D × 265 H (mm), Japan) の 5 種とした。内部中心温度は 60°C に達した時点を加熱終了とした。(Fig. 2).



**Fig. 2 Relationship between internal core temperatures and cooking time by cooking methods**

The value of MW cooking plotted the average value of three points.



**Fig. 3 Relationship between tenderness and breaking properties at different core temperatures of grilled beef**

すべての加熱調理法において、加熱開始時の牛肉試料の温度は 10 °Cとした。これらの条件は、予備テストにおいて、ミディアムレア (medium-rare) から ミディアムウェルダン (medium well-done ; 60-75 °C) の焼き具合を得ることができ、それらは官能評価と破断測定において最もやわらかく、高評価が得られたことから、以下の実験で用いられた。(Fig. 3).

そこで、共通温度として内部中心温度を 60 °Cとし、温度計 (ANRITSU COMPACT THERMOLOGGER AM-8010K TYPE K,  $\Phi$  1.0 mm) を用いて判断した。焼成法 (GR) では、200 °Cホットプレート上で表側を 1 分、返して裏側を 1 分 30 秒加熱した (内部中心温度 60 °C)。蒸し焼き法 (R0) では、内部中心温度が 60 °Cに達するまで 熱電対温度計を差し込み、加熱した (30 $\pm$ 5 分 : 180 °Cオーブン)。煮熟法 (P0) では、100 °C の沸騰水中で (1.5L,  $\Phi$ 180 mm 片手鍋) 約 18 分間 (内部中心温度 60 °C)加熱した。真空低温調理 (VPLT) では、真空処理後 CUTE PACK (Vacuum pack FCB-CR 27; Fuji Impulse, Japan) 60 °Cのウォーターバス (Advantec LD-220, Japan) 中で 6 時間加熱した。この条件は Ishii ら<sup>92)</sup> の報

告に基づいている。電子レンジ加熱は（MW）では、600W でトレイ上に肉をのせ、ラップ無しで 5 分間、裏返して、さらに 5 分加熱した。500 g ( $\pm 9.14$  g) の試料を RO、PO、VPLT と MW ( $10 \times 16 \times 4$  cm) に用いた。またコントロールとして 1 cm 厚さの焼成法（GR）と比較した。この実験では焼成法が他の 4 つの調理方法と異なっているが、この方法は、現在の日本では最もポピュラーな調理方法であるので、対照として加えた。加熱調理後、さらに物理的、化学的測定および官能評価を行った。

Table 1 に示したように、GR と MW は短時間調理（2.5-10 min）、一方 VPLT は長時間である（6 hours）。PO および RO は通常の調理時間としては長い方であるが、真空低温調理に比較すれば、中間の加熱時間といえる（18-30 min）。

### (3) 官能評価

官能評価は、上記に示した方法で加熱調理を行った。加熱調理した牛肉は、大きさ  $3 \times 4 \times 1$  cm<sup>3</sup> の肉片とし、調理後 10 分以内になるように温度 40 °C で供した。パネリストは日本女子大学調理学研究室所属の学生およびスタッフ 9 名（22-24 歳）とした。パネルは 5 味の識別テストを繰り返し行い、さまざまなかたさの牛肉でスケールを合わせる訓練を行った。官能評価は尺度法を用い、やわらかさ、多汁性、脂っこさ、牛肉の好ましい香り、うま味の強さ、総合評価の項目でのべ 43 試料（有効数）とした。スケール合わせの訓練は 5 ヶ月の子牛赤身肉のかたさを「やわらかいもの」とし、6 から 9 歳の牛を「かたいもの」とした。香りについては牛肉らしい香ばしい香りを「好ましい香り」とし、脂の酸化した香りを「好ましくない香り」とした。またホルスタイン牛肉のローストされた香りは「好ましい香り」で煮熟の蒸れた肉の香りを「好ましくない香り」とした。うま味の強さは MSG（0.05 g/dl）を標準として訓練を行った。うま味の強さを評価するときは香りの影響を極力少なくするためにノーズクリップを用いて評価した。パネリストは 5 つの調理法による試料を同時に評価し、5 回から 8 回別々の日に行った。すべての項目で評価は 8 段階評価尺度（1：かたい、多汁性のない、好ましい香りの少ない、うま味強度の少ない、悪い、8：やわらかい、多汁性のある、好ましい香りの強い、うま味強度の強い、良い）で

行った。

#### (4) テクスチャー測定

官能評価に用いたのと同じ牛肉片（大きさ； $3 \times 4 \times 1 \text{ cm}^3$ ）を用いて定速圧縮破断特性をレオナー Rheoner-RE33005s (Yamaden Co., Japan)を用いて行った。破断応力と破断エネルギーを異なる調理法ごとに 11 から 20 回、0.1 mm ナイフ型プランジャー (knife-type plunger)（接触面積； $3 \text{ mm}^2$ ）を用いて線維に対し直角に測定し、その応力ひずみ曲線から算出した。測定条件は、圧縮速度  $1 \text{ mm/sec}$ 、圧縮率 99%、荷重 200 N である。

#### (5) 化学的分析

##### 1) 水分・粗脂肪含量の測定

水分含量は、加熱調理後の牛肉の中央部  $1.29 \pm 0.2 \text{ g}$  を用いて、 $105^\circ\text{C}$  で 90 分間加熱した時の前後の重量変化より算出した。また、水分含量測定後の試料を用いて、粗脂肪含量測定をソックスレー抽出法 (Soxhlet extraction) により AOAC method (1990)<sup>93)</sup>に従い測定した。データは生肉に対する相対値として表記した。

##### 2) 遊離アミノ酸測定

加熱調理後牛肉試料の中心部 10 g を 25 ml の蒸留水で 1 分間、プロテアーゼ活性を低く抑えるために氷中で均質化 (ホモジナイズ) した。それを  $4^\circ\text{C}$  の遠心分離機に 10 分間かけ ( $11,500 \text{ g}$ )、その上澄みを収集した。上澄みはろ紙 (Advantec 5B; Toyo, Japan) でこしトリクロロ酢酸 (trichloroacetic acid : 5% final conc) で除タンパクを行った。その上澄み液をメンブランフィルター (membrane filter  $0.45 \mu\text{m}$ , Advantec; Toyo, Japan) に通し、アミノ酸アナライザー (JASCO LC-NET II/ADC Analyzer) で遊離アミノ酸を測定した。

### 3) 5'-イノシン酸(5'-IMP) 測定

Suzuki らの方法<sup>94)</sup>に従い調製した。加熱調理後の牛肉を挽肉 BAMIX (BM0101, Switzerland) とし、その 10 g を 25 ml の過塩素酸 (1 M  $\text{HClO}_4$ ) を加え 1 分間ホモジナイズした。それを 4 °C の遠心分離機 (11,500 *g*) で 10 分間かけて、上清をろ紙 (Advantec 5B; Toyo, Japan) でろ過した。ろ液の pH は 6.5-6.8 に 1 M or 5 M KOH または 1 M HCl を用いて調整し 4 °C で一晩放置した。上澄みを a メンブランフィルター (membrane filter : 0.45  $\mu\text{m}$ , Advantec, Toyo, JAPAN) を通した後、10 倍希釈して HPLC (Shimadzu SPD-10AV:UV-VIS, Detector LC-10AD, Japan) を用いて 5'-IMP 測定を行った。用いたカラムは (Senshu Pak PEGASIL-B ODS 4.6  $\Phi$   $\times$  250 mm, Japan) 20 mM phosphoric acid/22 mM diethyl amino ethanol で平衡化したもので行った。流速は 1.0 ml/min、250 nm で検出した。

### (6) 統計解析

官能評価および機器測定における統計解析は SPSS PASW Statistics 18 を用いて分散分析後 Tukey's HSD で有意差検定を行った。

### 3, 結果

#### (1) 異なる加熱方法による水分および粗脂肪含量の変化

異なる加熱調理方法による重量変化および加熱損失を Table 1 に示した。GR と RO は PO と VPLT に比較し加熱損失が少なく、MW はすべての調理方法の中で加熱損失率が大であった。相対的な水分と脂肪の損失も Table 1 に示したとおりである。生肉に対する相対的な水分損失率は、VPLT が最も低く、一方、PO と MW は高かった。粗脂肪量は VPLT が最も低かった。調理損失率の低かった焼成（グリル）調理と蒸し焼き（ロースト）調理は比較的水分および脂肪含量が多かった。

**Table 1 Cooking characteristics of five cooking methods for beef**

Cooking method <sup>1)</sup>	Cooking loss (%) $\pm$ S.D.	Moisture loss (%) <sup>2)</sup> $\pm$ S.D.	Fat content (%) $\pm$ S.D.	Cooking time (min)
		raw meat 0	raw meat 9.1 $\pm$ 0.0 A	$\pm$ S.D.
Grilling(GR)	14.6 $\pm$ 2 Aa	16.1 $\pm$ 3.0 ab	10.8 $\pm$ 0.2 B	2.5 $\pm$ 0.2
Roasting(RO)	10.0 $\pm$ 1.5 A	16.3 $\pm$ 4.9 ab	10.8 $\pm$ 0.3 B	30 $\pm$ 0.6
Poaching(PO)	20.9 $\pm$ 0.6 Bb	18.5 $\pm$ 1.8 a	10.3 $\pm$ 0.3 BC	18 $\pm$ 0.3
Vacuum low temperature (VPLT)	20.0 $\pm$ 3.7 B	10.1 $\pm$ 0.7 b	8.7 $\pm$ 0.3 A	360 $\pm$ 0.0
Microwave (MW)	28.6 $\pm$ 1.6 C	18.1 $\pm$ 2.6 a	11.1 $\pm$ 0.1 BD	10 $\pm$ 0.0

1) A piece of meat (500 g) was cooked by each cooking method.

2) Moisture loss indicates relative reduced rate after cooking against raw meat.

Different lowercase letters in the same item indicate significant differences;  $p < 0.05$

Different capital letters in the same item indicate significant differences;  $p < 0.01$



## (2) 異なる加熱調理法による牛肉のテクスチャー特性

### 1) 異なる加熱調理法による牛肉の官能評価特性

さまざまな加熱調理方法を行った牛肉の官能評価分析によるテクスチャー項目、すなわち、やわらかさ、多汁性、脂っこさの結果を図4に示した (Fig. 4)。それぞれの項目は異なる特徴があり、多汁性および脂っこさでは焼成 (グリル) 調理および蒸し焼き (ロースト) 調理は多汁性があり、脂っこいという評価であった。一方、PO と MW はやわらかさ、多汁性、脂っこさで常に低い評価であり、つまり、かたく、多汁性がなく、脂っこくないとされた。VPLT はやわらかさにおいて高評価であった。

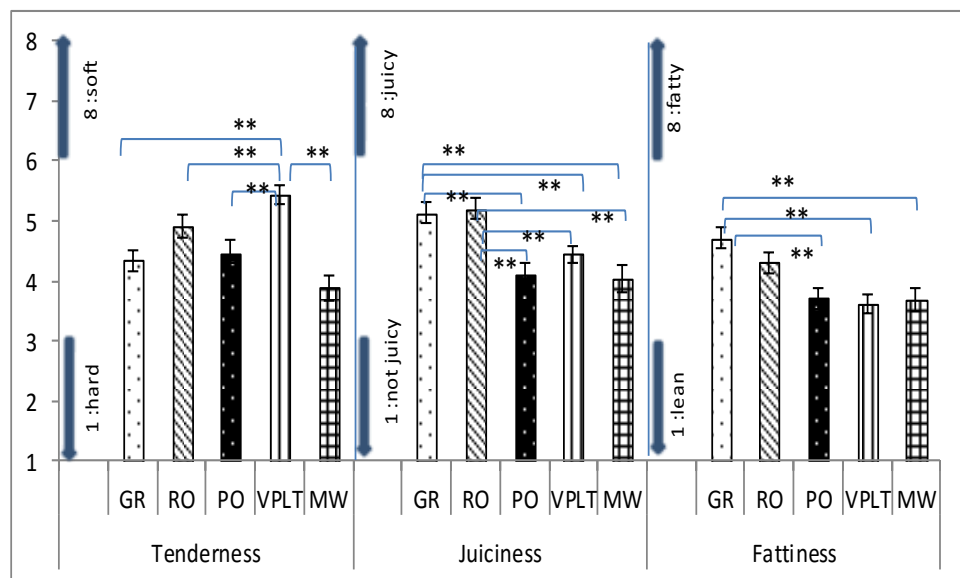


Fig. 4 Sensory analyses of beef cooked by five different methods (Texture)

\*: in the same item indicate significant differences;  $p < 0.05$

\*\*: in the same item indicate significant differences;  $p < 0.01$

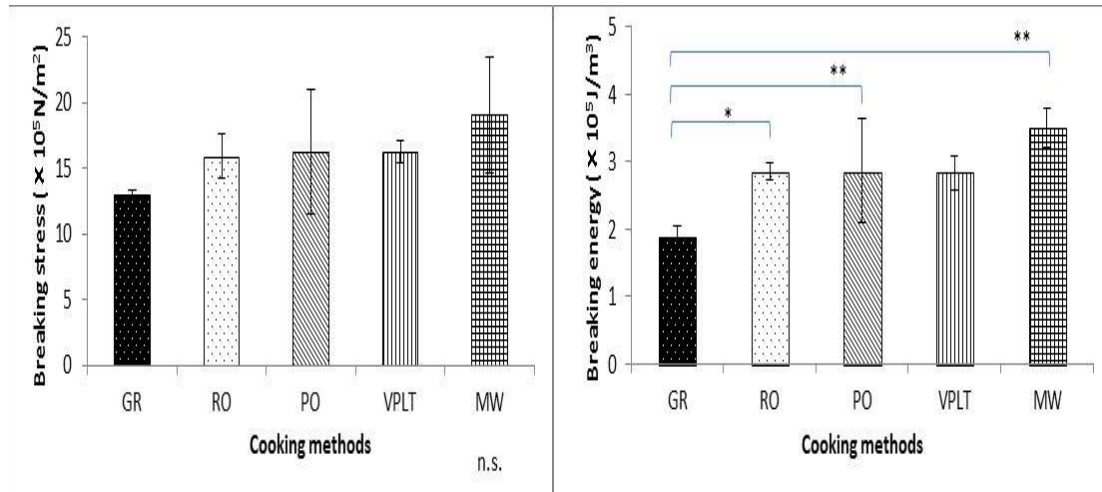
Analysis of variance Tenderness:  $F(4,210)=10.49$ ,  $p < 0.01$

Juiciness:  $F(4,210)=9.93$ ,  $p < 0.01$  Fattiness:  $F(4,210)=7.65$ ,  $p < 0.01$

Error bars indicate standard error of the mean

## 2) 異なる加熱調理法による牛肉の破断特性

5 種の加熱調理法による破断特性を Fig. 5 に示す。



**Fig. 5 Breaking properties of beef cooked by five different methods**

0.1 mm knife-type plunger. Ninety nine percent of the sample was broken.

Head speed of 1 mm/s and a pressing load of 200 N.

\* indicate significant differences;  $p < 0.05$

\*\* indicate significant differences;  $p < 0.01$

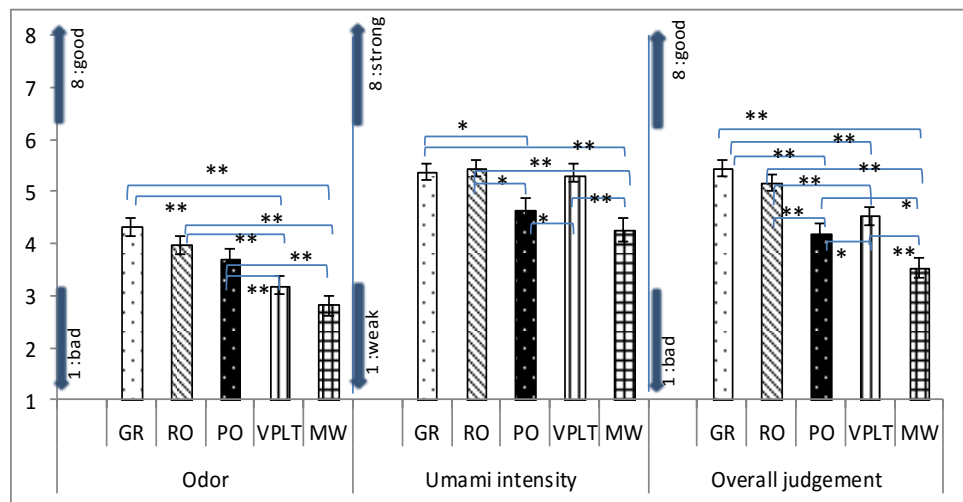
Bars indicate standard deviation

破断応力については加熱調理法による有意な差はみられなかった。破断エネルギーについては PO と MW が高値を示し、GR は最も低かった。筋肉線維の構造が PO と MW は加熱過程によって硬くなっていることが示唆された。

### (3) 異なる加熱調理法による牛肉の風味

#### 1) 異なる加熱調理法における牛肉の風味

官能評価分析における好ましい香りとうま味の強さの結果を Fig. 6 に示す。



**Fig. 6 Sensory analyses of beef cooked by five different methods  
(Flavor and overall judgement)**

\*: in the same item indicate significant differences;  $p < 0.05$

\*\*: in the same item indicate significant differences;  $p < 0.01$

Analysis of variance    Odor:  $F(4,210)=11.85$ ,  $p < 0.01$

Umami intensity:  $F(4,210)=8.34$ ,  $p < 0.01$

Overall judgement:  $F(4,210)=21.20$ ,  $p < 0.01$

Error bars indicate standard error of the mean

MW と VPLT は好ましい香りの評価値が低かった。焼成（グリル）調理と蒸し焼き（ロースト）調理は好ましい香り、うま味の強さおよび総合評価も評価値は高かった。

## 2) 異なる加熱調理法による牛肉中のうま味成分含量

### 2)-1 遊離アミノ酸含量

異なる調理法による遊離アミノ酸含量を表 2 に示す。P0 はすべての調理法の中で最も低い遊離アミノ酸含量であった。一方 VPLT はこれらのアミノ酸含量が最も多かった。その理由は VPLT は 60 °C で 6 時間加熱を行うため加熱中に酵素が働き遊離アミノ酸が増加することが考えられた (Ishii ら<sup>92</sup>)。遊離アミノ酸中の Gln と Ala は顕著に多く、調理法間での差は無視しうるものと考えられた。うま味を呈するアミノ酸である Glu と Asp は焼成 (グリル) 調理ではそれぞれ 1.49 と 0.51  $\mu\text{mol/g}$  であり、蒸し焼き (ロースト) 調理ではそれぞれ 1.32 と 0.44  $\mu\text{mol/g}$  であった。それらの含量の調理法別の有意差はなかった。調理法別の有意差がみられたのは Thr、Gln、Val、Leu、Tyr の量であった。これらの差は調理時間の差によるものと考えられた。Thr、Val、Leu、Tyr の量は調理時間の長い VPLT で多い一方、Gln 含量は減少した。

**Table 2 Free amino acid content in beef cooked by five different methods**

	(μmol/g meat)				
	GR	RO	PO	VPLT	MW
Asp	<b>0.51</b>	0.44	0.44	0.59	0.72
Thr	<b>0.81</b> <sup>b</sup>	0.79 <sup>b</sup>	0.65 <sup>Aa</sup>	1.34 <sup>B</sup>	0.71 <sup>Ab</sup>
Ser	<b>1.03</b> <sup>b</sup>	1.03 <sup>b</sup>	0.81 <sup>Aa</sup>	1.64 <sup>Bc</sup>	0.89 <sup>ab</sup>
Asn	<b>0.33</b>	0.30	0.22	0.37	0.27
Glu	<b>1.49</b>	1.32	1.10	1.36	0.87
Gln	<b>6.91</b> <sup>C</sup>	5.14 <sup>BC</sup>	4.67 <sup>B</sup>	2.54 <sup>A</sup>	4.80 <sup>B</sup>
Gly	<b>1.37</b> <sup>B</sup>	1.31 <sup>B</sup>	1.08 <sup>A</sup>	1.73 <sup>C</sup>	1.17 <sup>B</sup>
Ala	<b>5.54</b>	4.76	4.27	5.34	5.50
Val	<b>1.23</b> <sup>b</sup>	1.33 <sup>b</sup>	0.93 <sup>Aa</sup>	2.22 <sup>B</sup>	1.00 <sup>Aa</sup>
Met	<b>0.40</b> <sup>b</sup>	0.52 <sup>b</sup>	0.32 <sup>Aa</sup>	0.85 <sup>B</sup>	0.39 <sup>b</sup>
Ile	<b>0.43</b> <sup>A</sup>	0.89 <sup>A</sup>	0.73 <sup>A</sup>	1.60 <sup>B</sup>	0.68 <sup>A</sup>
Ileu	<b>1.04</b> <sup>B</sup>	1.71 <sup>B</sup>	0.86 <sup>A</sup>	2.40 <sup>C</sup>	1.19 <sup>B</sup>
Tyr	<b>0.28</b> <sup>A</sup>	0.72 <sup>B</sup>	0.29 <sup>A</sup>	0.98 <sup>C</sup>	0.53 <sup>B</sup>
Phe	<b>0.58</b>	0.78	0.48	1.04	0.47
Orn	<b>0.69</b>	0.48	0.61	0.61	0.34
His	<b>0.44</b>	0.37	0.41	0.48	0.39
Arg	<b>1.56</b>	1.46	1.72	1.77	2.01
Pro	<b>0.74</b>	0.55	1.17	1.13	0.52
Total	<b>25.38</b> <sup>b</sup>	23.89 <sup>b</sup>	20.77 <sup>Aa</sup>	27.99 <sup>B</sup>	22.45 <sup>b</sup>

Each value was the mean calculated using data of eight samples.

Different lowercase letters in the same item indicate significant differences;  $p < 0.05$

Different capital letters in the same item indicate significant differences;  $p < 0.01$

## 2)-2 異なる加熱調理法におけるうま味成分含量から計算したうま味強度

肉中のうま味強度 (*umami intensity*) はうま味成分間の相乗効果によって誘因されることがわかっている。例えば 5'-イノシン酸 (5'-IMP) とグルタミン酸 (Glu) あるいはアスパラギン酸 (Asp) 等である (Nishimura ら<sup>8)9)</sup>)。他のアミノ酸と核酸の相乗効果については、田中ら<sup>95)</sup>が、グリシン、アラニン、セリン、メチオニン、ヒスチジン塩酸塩、トリプトファンなどは核酸系呈味物質とグルタミン酸の 3 者を共存した場合、うま味に関して特異的、相乗的な作用を示し、核酸系呈味物質とグルタミン酸とは別質の 3 因子相乗効果が存在することを指摘しているが、本実験では、5つの調理法による牛肉中から測定された 5'-IMP とグルタミン酸含量から Yamaguchi の式<sup>96)</sup>により計算した *umami intensity* を Table 3 に示した。グルタミン酸と 5'-IMP 以外のアミノ酸のうま味に対する貢献度は低いと考えられたためである。

**Table 3** Quantity of *umami* compounds and *umami* intensity of beef cooked by five different methods

Cooking method	$\mu\text{mol/g meat}$				
	GR	RO	PO	VPLT	MW
5'-IMP	<b>3.75</b> <sup>B</sup>	3.27	1.28 <sup>A</sup>	3.00	2.93
<i>S.D</i>	<b><math>\pm 1.05</math></b>	$\pm 0.76$	$\pm 0.05$	$\pm 0.79$	$\pm 0.93$
Glu	<b>1.49</b>	1.32	1.10	1.36	0.87
<i>S.D</i>	<b><math>\pm 0.40</math></b>	$\pm 0.52$	$\pm 0.45$	$\pm 0.68$	$\pm 0.29$
<i>Umami</i> Intensity*	<b>3.49</b>	2.66	0.89	2.55	1.63

Different letters indicate significant differences;  $p < 0.01$

\*: Umami intensity was calculated by the following formula:  $y = u + 1218uv$

(y; umami intensity, u; Glu content (%), v; IMP content (%))

焼成（グリル）調理における 5'-IMP と グルタミン酸（Glu）量はすべての調理法中で最も高値を示した。計算された *umami intensity* も全ての中で最も高かった。肉試料中には十分な量の 5'-IMP があるため、グルタミン酸との相乗効果によりうま味が引きだされたと考えられる。肉中に 5'-IMP は 1 から 3.8  $\mu$  mol/g 含まれており、それは閾値である 0.64  $\mu$  mol/g に比較し遙かに高い。一方グルタミン酸含量は閾値である 1.77  $\mu$  mol/g（小俣<sup>97)</sup>）より低い。アスパラギン酸はその閾値である (6.45  $\mu$  mol/g) よりもかなり低い。しかしながら、それらの物質の相乗効果によりイノシン酸とグルタミン酸やアスパラギン酸の合算したうま味物質量はすべての肉試料中においてうま味を呈するに十分な量が含まれていると考えられた。

#### 4, 考察

本実験では異なる加熱調理法を用いた牛肉試料の中心部分におけるテクスチャーと風味の特徴を明らかにした。上記のホルスタイン牛ロース肉における調理特性結果に基づき以下の考察を行った。

GR と R0 の官能評価結果から焼成（グリル）調理と蒸し焼き（ロースト）調理は多汁性とうま味強度が高いことが示された。さらにこれらの調理法は好ましい香りも高い結果となった。この2つの調理法が示すより高い多汁性と脂っこさは調理後試料の高い粗脂肪含量と低い調理損失がもたらしたと考えられる。Adhikari ら<sup>81)</sup>は 2004 年に牛肉の多汁性はより高い水分含量と脂肪含量の双方に影響を受けることを報告している。これら GR と R0 はより低い調理損失であることから、遊離アミノ酸やうま味物質からくる牛肉中のより高いうま味強度を持っている。強いうま味強度は相乗効果に大きく関わる 5'-IMP と Glu、Asp、その他うま味を呈するアミノ酸などとの相乗効果が知られている（Nishimura ら<sup>8)</sup>、田中ら<sup>95)</sup>）。さらに GR と R0 の高温調理によって引き出される牛肉らしい香りの強さが好ましくない香りをマスキングしたことが官能評価によるより高い評価を導いたと考えられる。その他にも調理過程により生ずる様々な異なる特性がある。本実験では、中心部の温度は一定としたが、異なる調理時

間により肉質評価に差が出たことがあげられる。例えば、肉を 70 °C で長時間加熱すると perimysial collagen が縮み筋原線維が硬直化する (Locker ら<sup>23)</sup>)。GR 調理ではほとんどレアでその他の調理法に比較しやわらかかった。GR 調理は 100 °C 以上の高温で一気に加熱することにより 中心部が 60 °C になるまでの時間が短時間である。そして RO 調理は 対流電熱による輻射熱により低温でゆっくり加熱される。このことにより肉中の網目状の collagen が 伸びることにより肉質はやわらかくなると考えられる。また、PO 加熱は 100 °C の水中で直接加熱されたため、すべての項目で、中くらいの値であった。VPLT 加熱はうま味強度が強くやわらかいが牛肉の好ましい香りの項目で値が低くなった。そのやわらかさは 低温加熱が筋線維と膜を高温で収縮するのを妨げていることがわかる。Morgan ら<sup>79)</sup>は (1991) に、また Obuz ら<sup>85)</sup>も 2003 年に長時間調理が加熱過程でのコラーゲンの可溶化量の機会を増加させた結果、高い調理損失が出ることを報告している。Locker ら<sup>23)</sup>は 1977 年に 70 °C 以上で牛肉を加熱すると硬くなり、60 °C では筋線維の収縮が緩くコラーゲンの硬直化が穏やかであることを報告した。VPLT 加熱がうま味強度が強くなるのは遊離アミノ酸量が高くなることと考えられる。Ishii ら<sup>92)</sup>は 1995 年に VPLT 調理は加熱中に endopeptidases や aminopeptidases のようなプロテアーゼの作用が働くことにより、遊離アミノ酸量やペプチドを増加させることを示した。遊離アミノ酸やペプチドは 60 °C までの初期段階の加熱により増加すると考えられる。そしてこれらの化合物量の差は異なる調理法での牛肉の味の差異に寄与していると考えられる。本実験では異なる調理法で加熱した牛肉のうま味の強さに寄与する Glu 以外のアミノ酸については検討していない。このことは今後の課題 である。

MW は短時間で調理できる簡便性から大変ポピュラーな調理法である。しかし、この調理法で加熱した牛肉はやわらかさ、多汁性、うま味の強さ、好ましい香りのどの項目も評価が低かった。このことから MW 調理肉中の水分子から加熱されるため、水分の多い部分から部分的に高温になるため、急激な筋線維の収縮が起こり、調理損失が大きくなったことが明らかになった。Joseph ら<sup>89)</sup>は 1986 年 に MW 調理は線維に平行に切った肉において、煮熟調理よりもやわらかくなったと報告している。彼らは、MW 調理は PO 調理と比較するとコラーゲンがより多く可溶化したことを示している。この異なる結果は筋肉部位の違いと



筋線維に対する切り方の違いによるものと考察される。Joseph ら<sup>89)</sup> の試料は線維に平行に切り、本実験では線維に直角に切っている。Fulton と Davis<sup>88)</sup> は 1983 年に MW 調理した肉がロースト調理と同様にやわらかくなったことを報告している。このやわらかい肉は重厚なプラスチックラップフィルムにより覆ったことによるものと推察される。本実験では MW 調理はコンベクションオープン調理よりも多汁性が少なかったが、これは MW 調理が ラップなしで行ったからと考えられた。

本実験では、ホルスタイン牛のロースで同じ筋肉部位を用いて行った異なる調理方法の特徴を明らかにし、異なる調理方法がそれぞれの特徴ある加熱特性を持つことを報告した。特に、グリル並びにロースト調理による乾熱加熱は、調理損失が低く、テクスチャーとうま味の強さを好条件にすることで、評価が増すことが明らかとなった。

## 5, 結論

本実験はホルスタイン牛肉の同筋肉部位を用いて加熱調理法の特徴を明らかにするために行った結果、異なる加熱調理方法はそれぞれ異なった特徴があることが明らかになった。

焼成（グリル）調理と蒸し焼き（ロースト）調理は調理損失が少なく、脂肪が残存し、多汁性を増し官能評価値が高い結果となった。煮熟（PO）調理は全ての評価で中くらいの値であった。真空低温（VPLT）調理はやわらかく、うま味強度が高かったが、香りで評価値が低かった。電子レンジ（MW）調理は短時間で良く使用されるが その他の調理に比較し評価が低かった。特に乾熱加熱調理において、調理損失はテクスチャーとうま味の強さの双方に大きく影響を与えることが明らかとなった。

## 6, 要約

本研究は、ホルスタイン種牛肉のロースを異なる加熱方法、すなわち焼成と蒸し焼き、煮熟、真空低温、マイクロ波の各方法で、内部中心温度 60 °C に達するまで加熱した後、ロース芯を用いて官能評価と機器測定により食感および味の違いを検討した。

ロース芯の加熱損失は、焼成、蒸し焼き加熱で最も小さく、マイクロ波で最も大きかった。調理後の肉の水分含量は真空低温加熱で最も多く、煮熟とマイクロ波で最も少なかった。調理後の脂質含量は、真空低温で加熱した肉で低い値を示した。破断測定における破断エネルギーは、マイクロ波加熱と煮熟で高値であった。調理後の総アミノ酸含量は真空低温加熱で調理された肉において、最も高い値を示した。官能評価では、焼成および蒸し焼き加熱の肉で多汁性が高く、香りが良く、うま味も強いと評価された。真空低温加熱の肉はやわらかく、うま味強いが、香りが良くないと評価された。マイクロ波加熱はどの項目においても低い評価値を示した。

以上の結果から、異なる加熱方法によるホルスタイン種牛のロース芯の官能評価特性の差異は、加熱損失、水分含量、うま味成分含量並びに破断エネルギーの差によってもたらされることが明らかとなった。

## 第2章 脂肪含量が牛肉の食味性に及ぼす影響

### 1, 目的

第 1 章において、ホルスタイン種のロース肉（胸最長筋）の調理では、周囲が高温で加熱される焼成および蒸し焼き調理が、肉汁を内部に閉じこめ、風味、うま味が高く、テクスチャーも良いことを明らかにした。

第 2 章では、牛肉の脂肪含量が食味性に及ぼす影響を検討することとした。黒毛和牛は脂肪交雑量が多いのが特徴で、加熱しても筋肉の収縮が緩やかであるため、軟らかい肉質を保つだけでなく、なめらかな食感、快い脂っこさ、濃厚なうま味や和牛独特な芳ばしい香りといった特徴を持っている。現在、日本格付協会による最高格付けである A5 等級の牛肉の粗脂肪含量は 40% を超えている。しかも脂肪交雑等級（BMS 番号、1～12）は、高い（交雑量の多い）もののほど等級も高く格付けされる傾向があり、国産牛の脂肪交雑量は増加の一途をたどっている。本来タンパク質性食品と考えられている牛肉が過度に高脂肪であることは食材として望ましいとはいえず、どの程度の脂肪含量が適切かは重要な問題である。また、脂肪含量が食味性に及ぼす影響に関する研究はそれほど多くない。

そこで、食味特性からみた霜降り和牛肉の脂肪の量とその役割の関係を明らかにするために、飼育条件を計画的に管理した黒毛和牛の試験牛、BMS No. 3-9 格付け等級 B2-A5 (粗脂肪含量 23.8～48.6%) の 34 頭を用いて官能評価を行い、理化学成分および物性測定と併せて検討を行った。調理法は、第 1 章で牛肉の調理として最も適した加熱調理条件を決定した焼成肉とした。また、第 1 章で脂肪が少ないときには好まれなかったすき焼きに代表される煮熟調理への脂肪含量との関係についても検討した。

## 2, 方法

### (1) 試料

対象とした 34 頭の牛は、生後 6 ヶ月以降の子牛を福島県家畜改良センター内で同一の肥育方法により育成し、21~30 ヶ月齢となった一般的な黒毛和種去勢牛である。と畜方法とその後の処理方法は、すべて同一にした。日本の格付けに使用される胸椎 6-7 部位に最も近い 7-11 部位を理化学分析用、胸椎 13-第 1 腰椎部位を官能評価用に用いた。と畜後 2 °C で枝肉を 14 日間熟成後 -30 °C で冷凍保存し、官能評価 2 日前から 2 °C で 24 時間かけて解凍した。1cm の厚さにスライス後、冷蔵便で福島から東京の日本女子大学に輸送した。翌日到着した肉を直ちに 2 °C の恒温槽中に保存し、次の日に調理・評価を行った。試料には全体の実験計画の中で、同時にと畜された 3 頭分ずつが一度に評価された。

さらに、交雑牛 27 頭についても上記と同様に飼育されたものを検討した。

### (2) 牛肉の官能評価

評価は恒温槽から取り出し、室温に戻したスライス肉を焼肉にしたものについて行なった。スライス肉は筋線維に沿って 3×4 cm に切り出し、比較する 3 種類を同時に 200 °C に熱したホットプレート（象印(社)ホットプレート）上で表側 1 分間、裏側 1 分 30 秒間焼き、内部温度が 60 °C ± 1 °C（赤外線温度計：屈折率 0.95）になるように加熱した。この加熱条件で、牛肉の中心温度がほぼ 60 °C に達することは、第 1 章および Iida ら<sup>98)</sup>ですでに示した。さらなる加熱時間の微調整は、最初の 1 枚を半分に切った時の切断面の中心から左右 5mm 内外のところを infrared thermometer; refractive index 0.95 で測定して行った。その場合には数秒後に肉全体の温度が平衡に達し、ほぼ 60 °C になることも確認した。加熱時間は脂肪含量を加味して、多少の時間調整を行った。加熱した牛肉は、10 分間放置後、1/2 にカットし室温で官能評価に供した。煮熟肉については、薄切り肉 1 人 15 g を調味液（水 100：醤油 6：砂糖 2.2）で 2 分間加熱し 1 人 40 g 供した。

評価項目は、やわらかさ、多汁性、脂っこさ、牛肉らしい好ましい風味（口腔を通して感じられる香り）の強さ、うま味の強さ、総合評価（好き嫌いでなく牛肉としての望ましさ）の6項目で、中間値のない8段階評価尺度（8～1：とてもやわらかい～とてもかたい、多汁性のある～多汁性のない、あぶらっこい～あぶらっこくない、香りが強い～香りが弱い、うま味が強い～うま味が弱い、良い～悪い）を用いた評点法を用いた。

パネルは、日本女子大学調理学研究室の大学生と大学院生15名および教員3名（いずれも女性）のプールからその時々で14～18名が常時評価した。彼らは講義や実習で官能評価の基礎知識を習得しており牛肉以外の多くの食品についても高い頻度でパネルを経験している者であるが、本実験に際しては事前に実験試料の範囲を十分カバーするようなさまざまな等級の市販牛肉を試食して特徴を覚えさせた。

### (3) 理化学分析

#### 1) 一般成分分析（水分、粗タンパク、粗脂肪含量）

胸最長筋の水分含量は、挽肉にした後、それを105℃で24時間加熱した前後の重量から算出した。水分含量測定後の乾燥した試料を用いて、粗タンパク含量測定をKjeldahl法で、Soxhlet抽出法で粗脂肪含量をAOAC<sup>90)</sup>に従い測定した。値はすべて生肉換算で示した。

#### 2) 5'-IMPの測定

第1章と同様、Suzukiらの方法<sup>94)</sup>に従い調製した。すなわち生の牛肉を挽肉BAMIX (BM0101, Mettlen, Switzerland) とし、その10gを25mlの過塩素酸(1M HClO<sub>4</sub>)を加え1分間ホモジナイズした。それを4℃の遠心分離機(11,500g)で10分間かけて、上清をろ紙(Advantec 5B; Toyo, Tokyo, Japan)でろ過した。ろ液のpHは6.5-6.8に1M or 5M KOH または1M HClを用いて調整し4℃で一晩放置した。上澄みをメンブランフィルター (membrane filter : 0.45 μm, Advantec, Toyo, Tokyo, JAPAN)を通した後、10倍希釈してHPLC

(Shimadzu SPD-10AV : UV-VIS, Detector LC-10AD, Japan)を用いて 5'-IMP 測定を行った。用いたカラム (Senshu Pak PEGASIL-B ODS 4.6  $\Phi$   $\times$  250 mm, Japan) は 20 mM phosphoric acid/22 mM diethyl amino ethanol で平衡化したもので行った。流速は 1.0 ml/min、250 nm で検出した。

### 3) 遊離アミノ酸の測定

第1章と同じく Nishimura らの方法により行った<sup>8)</sup>。すなわち、生牛肉試料の中心部 10 g を 25 ml の蒸留水で 1 分間、プロテアーゼ活性を低く抑えるために氷中で均質化 (ホモジナイズ) した。それを 4 °C の遠心分離機に 10 分間かけ (11,500 g)、その上澄みを収集した。上澄みはろ紙 (Advantec 5B; Toyo, Tokyo, Japan) で濾過し、トリクロロ酢酸 (trichloroacetic acid : 5 % final conc) で除タンパクを行った。その上澄み液をメンブランフィルター (membrane filter 0.45  $\mu$ m, Advantec; Toyo, Tokyo, Japan) に通し、アミノ酸アナライザー (JASCO LC-NET II /ADC Analyzer) で遊離アミノ酸を測定した。

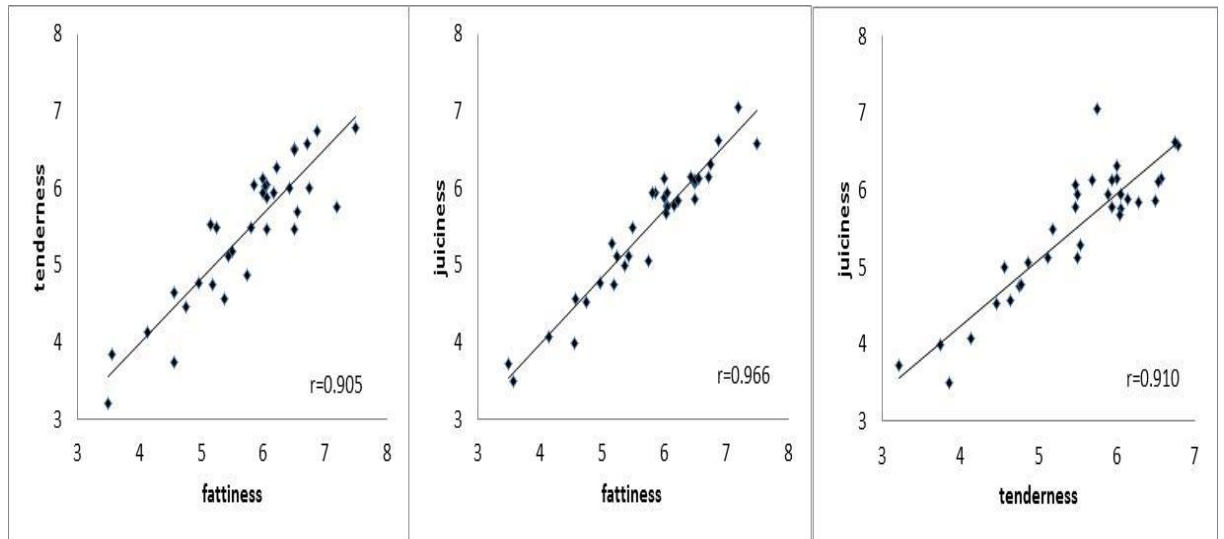
### (4) 統計解析

回帰分析は Excel 2010 for Windows (Microsoft. Co. US) および JUSE-StatWorks V5 (Juse-Package Software Products, Tokyo, Japan) を用いて行った。

### 3, 結果

#### (1) 官能評価

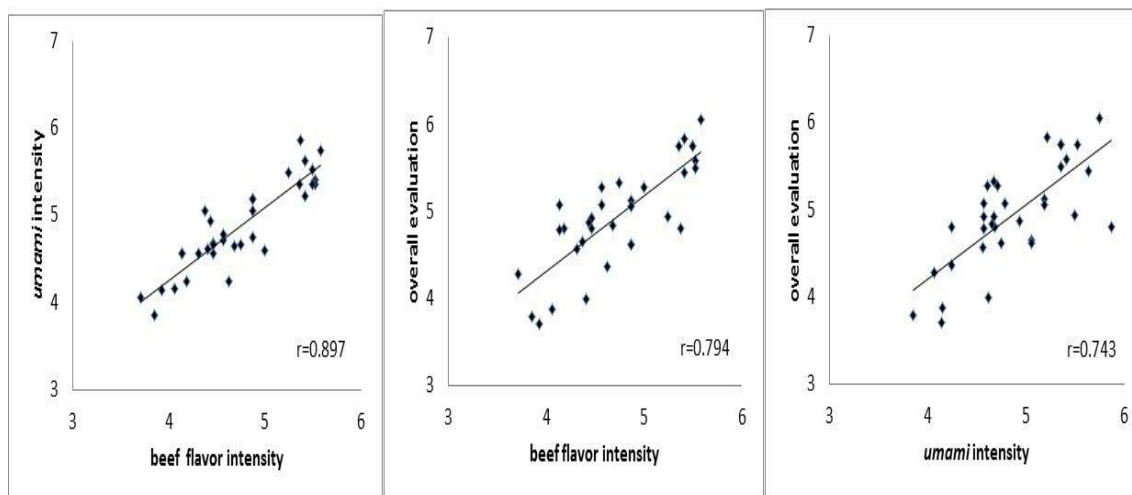
はじめに黒毛和種 34 頭についての官能評価結果を Fig. 7 に示す。



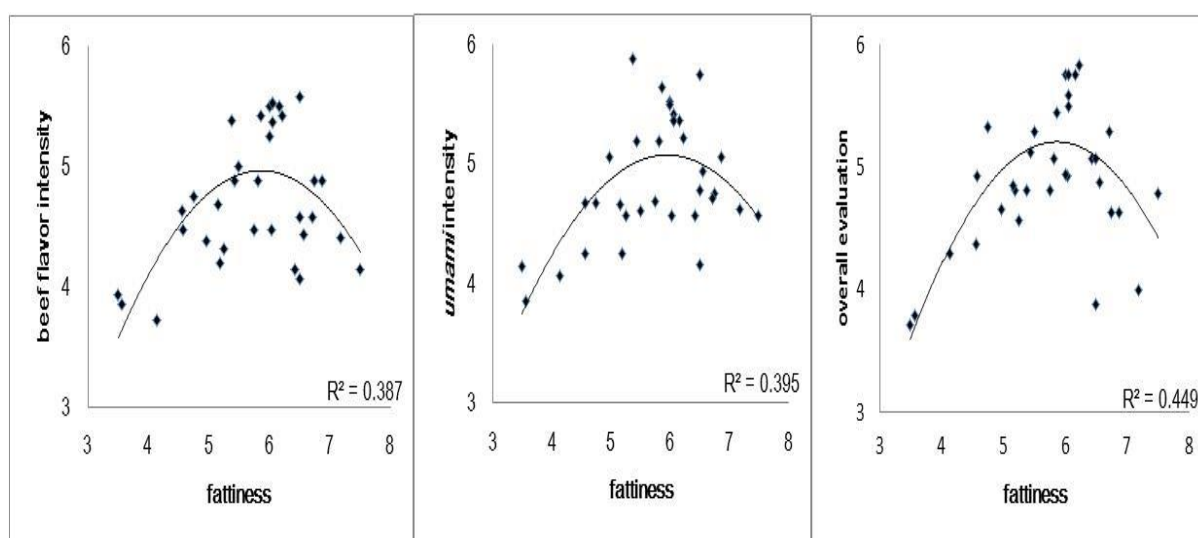
**Fig.7 Relation between fattiness and tenderness, fattiness and juiciness, and tenderness and juiciness**

やわらかさ、多汁性と脂っこさの群では、脂っこいものほどやわらかく、かつジューシーであった。また、やわらかいものほどジューシーに感じられた。中でも脂っこさと多汁性の相関係数は高く、0.966 であった。

肉様風味、うま味の強さと総合評価の群 (Fig. 8) では、肉様風味が強いものはうま味も強く、また、それらが強いほど総合評価は高かった。肉様風味およびうま味と総合評価の間には、概ね直線関係がみられたが、ばらつきは大きかった。このことは総合評価にはそれら以外の要素（やわらかさなど）も加味され判断されたためであると考えられた。

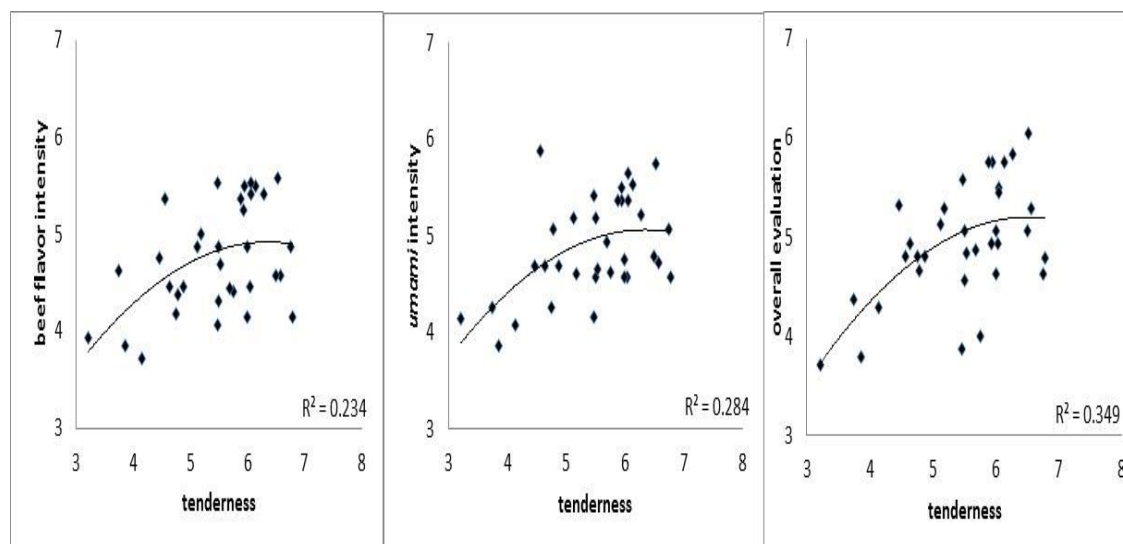


**Fig.8** Relationships between beef flavor intensity and *umami* intensity, beef flavor intensity and *umami* intensity, and overall evaluation



**Fig.9** Relationships of fattiness with beef flavor intensity, *umami* intensity, and overall judgment





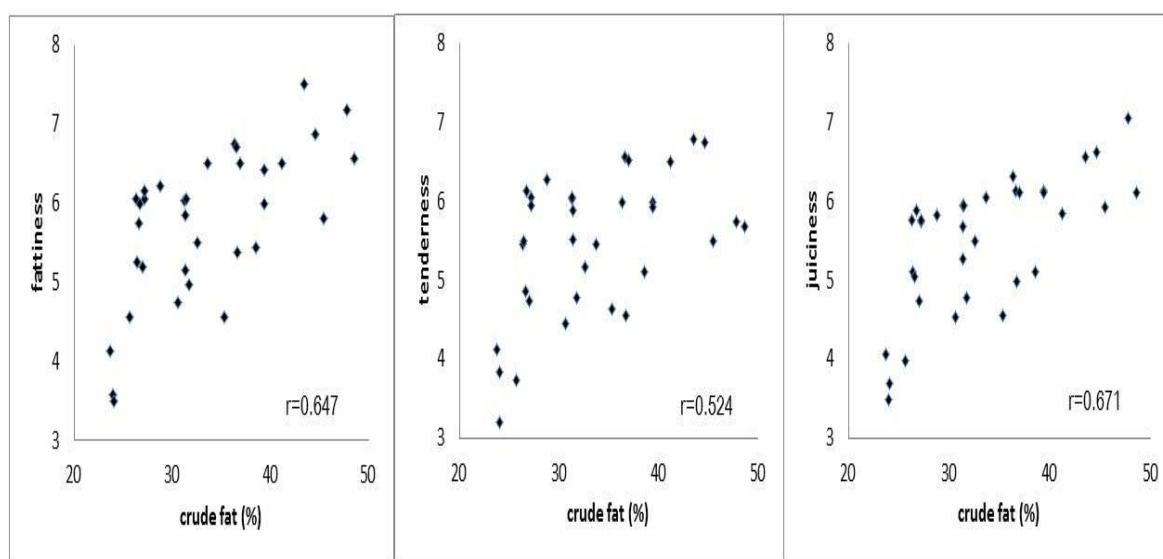
**Fig.10 Relationships of tenderness with beef flavor intensity, *umami* intensity, and overall judgment**

脂っこさと肉様風味、うま味の強さおよび総合評価の間には、ばらつきは大きいですが、上に凸な曲線関係が見られた。これは 1 つには脂っこさの強さに感覚として適正レベルがあること、もう一つは成分組成からくる制約であり、肉様風味の発現には赤身肉のタンパク質と脂肪の両方が関わっているので、一方が増えれば一方が減るため総量一定の中で配合比率のバランスに最適値があることである。うま味の強さに関しては、脂肪には明確な味はないが、うま味の効果と紛らわしいまろやかさやこくを与え、そのためにある程度までの量の脂肪はうま味を強く感じさせると考えられる。また、Fig. 9 では肉様風味、うま味、総合評価のいずれにおいても、最大値を与える脂っこさは、強すぎるとも弱すぎるともいえない評価尺度値 4.5 よりやや高くなっていた。これは脂っこさを若干強く感じる事が、これらの項目をさらに引き立てることを示している。しかし、脂肪量が一定の限度を超えるとタンパク質由来のうま味成分の減少と同時に脂っこさが突出して味・風味のバランスを崩すことになる。脂肪とうま味の関係については考察の部でさらに詳しく述べる。

脂っこさと直線相関の高い多汁性を横軸としても Fig. 9 と同様の図が得られるが（図省略）、多汁性が風味やうま味を直接支配するというよりは脂っこさに伴って生ずる見かけ上の相関とみるべきと思われる。やわらかさを横軸とした場合は（Fig. 10）本来ならば、軟らかければ軟らかいほど風味やうま味は口中で広がりやすく総合評価は高値となるはずであるが、やわらかさが中間値をすぎると脂っこさが過剰となるために、肉様風味、うま味、総合評価のいずれも頭打ちのカーブとなった。

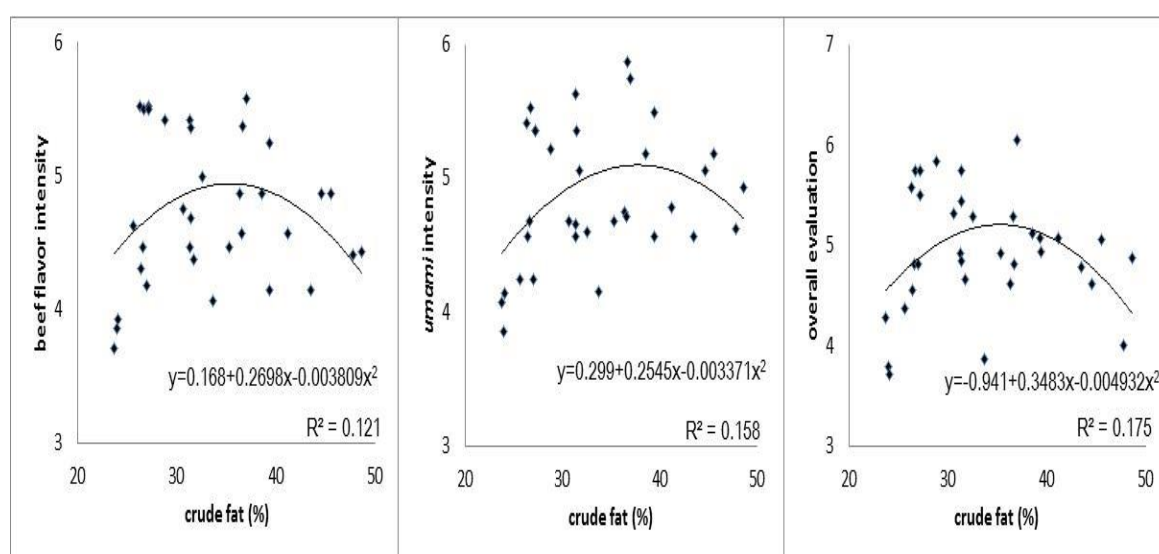
## (2) 粗脂肪含量と官能評価特性との関係

Fig. 11 は粗脂肪含量と脂っこさとやわらかさおよび多汁性の関係である。



**Fig.11 Relationships of crude fat content with fattiness, tenderness, and juiciness**

この図で、脂っこさを横軸とした官能評価の結果と比較すると、Fig. 11 は単調増加型ではあるが、低脂肪量サイドで、若干の上に突のカーブが見られた。それは横軸が感覚量ではなく物理量であることもあるが、特に低脂肪サイドでは脂肪量以外の要因、たとえば赤身部分の筋線維の太さや結合組織の量などの影響があるものと考えられる。



**Fig.12 Relationships of crude fat and beef flavor intensity, *umami* intensity, and overallevaluation**

Fig. 12 に粗脂肪含量と肉様風味、うま味の強さおよび総合評価との関係を示す。これを、脂っこさを横軸にした Fig. 9 と比較すると、ばらつきは大きいが、同様の上に凸の曲線のカーブがあてはまる。そこで、粗脂肪含量を変数として 2 次式を最小自乗法で当てはめ、各項目で最大の官能評価値を与える粗脂肪含量を求めた。得られた 2 次式はそれぞれの図中に示した。さらに、2 次曲線回帰の有意性を検定する係数の標準誤差および係数を 0 とするゼロ仮説に対して正または負とする対立仮説の有意性に関する *t*-検定 (片側検定) の結果を Table 4 に示した。

**Table 4** Estimated value of parameter of equation between crude fat content and beef flavor intensity, umami intensity, and overall evaluation

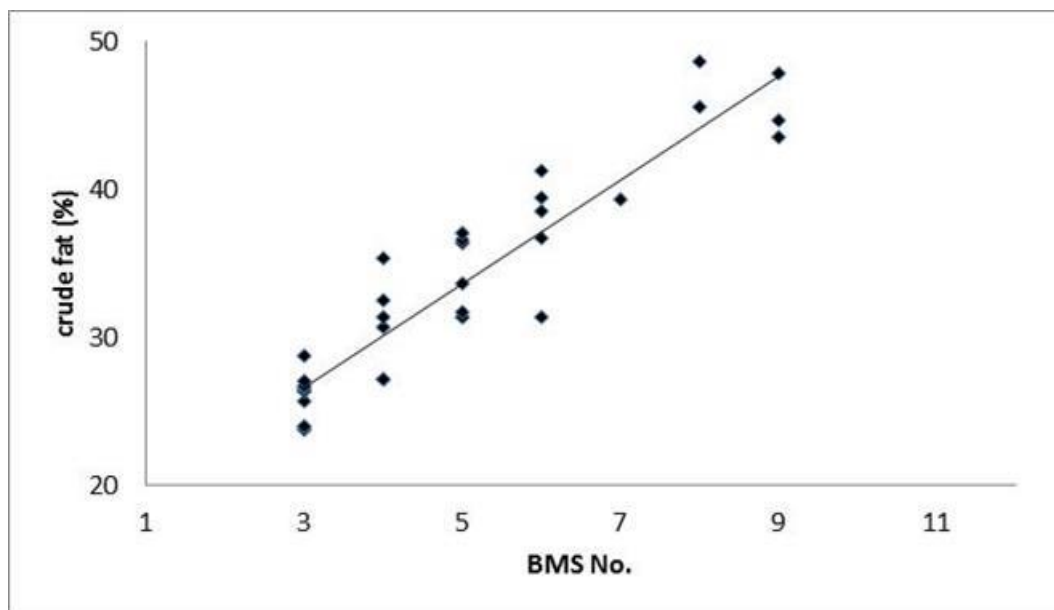
Term		parameter	S.E	<i>t</i> -value	<i>p</i> -value
Beef flavor intensity					
x		0.2698	0.1313	2.054	0.0241
x <sup>2</sup>		-0.003809	0.00185	-2.060	0.0238
Umami intensity					
x		0.2545	0.1205	2.113	0.0213
x <sup>2</sup>		-0.003371	0.00170	-1.987	0.0277
Overall judgement					
x		0.3483	0.1368	2.545	0.0080
x <sup>2</sup>		-0.004932	0.00193	-2.560	0.0077

1 次の係数はいずれも正で、2 次の係数はいずれも負で、それぞれ統計的に有意であった。このことは、脂肪はある濃度まで高いほど評点は高まるがある一定の濃度を超えると評点は加速度的に減少することを示している。最大値を与える脂肪量を各式から計算すると次のようになる。肉様風味では 35.5%、うま味の強さでは 37.5%、総合評価では 34.9%となり、いずれにおいても 36%程度が最も高い嗜好性を与えると推察された。

この値は、横軸を対数でプロットしてもほとんど変わらなかった。ただし、粗脂肪含量が半分以下の試料でカーブより上側のはずれ値がより多くみられ、特に総合評価でそれが多かった。このことは、低脂肪側では、脂肪含量以外の肉質がこれらの項目に寄与している場合もあることを示している。したがって、ここで計算された最適脂肪量は脂肪量以外の肉質の改良によってさらに引き下げられる可能性があることも示唆している。

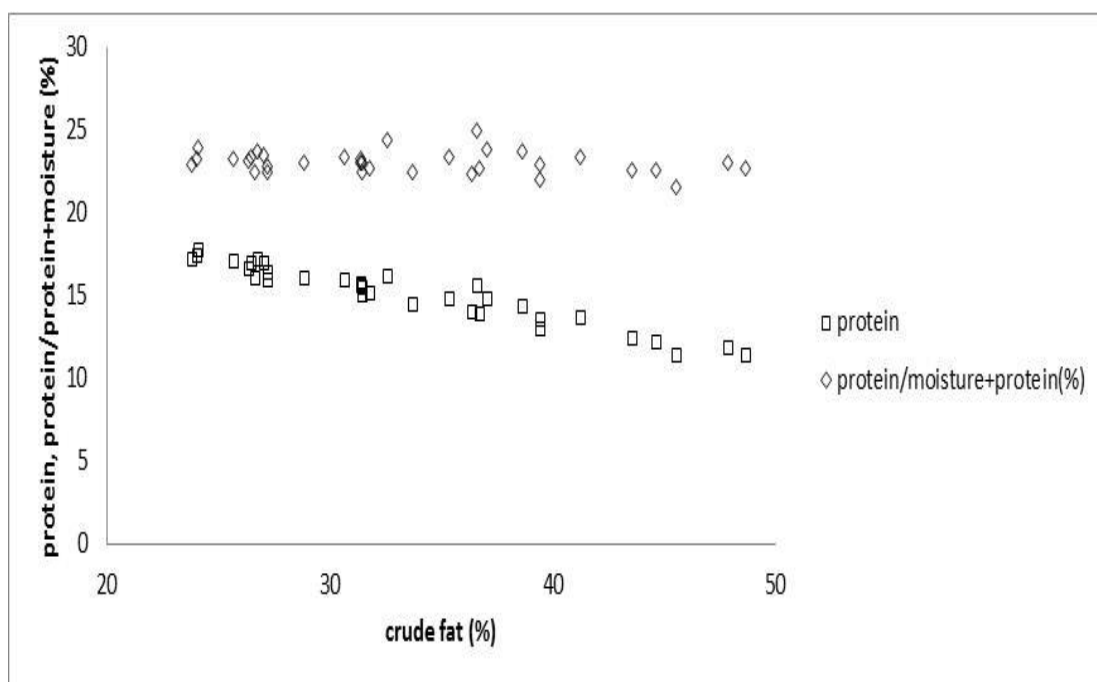
### (3) 一般成分と官能評価特性との関係

本実験に用いた（2003 年から 2006 年実施）和牛肉 34 頭の BMS No と粗脂肪含量の関係は Fig. 13 の通りで、BMS No. 3 - 9 の間で脂肪は 23.8%から 48.6%までほぼ直線的に増大していた。



**Fig.13 Relationships between fat content and marbling Score(BMS.No)  
for beef**

BMS No の最高は 12 であるが、今回用いた試料では最高の 9 でも粗脂肪含量は約 50%であった。1985 年の小堤らの報告<sup>68)</sup>では、特選和牛(BMS No. 11, 12)の粗脂肪含量は 31.7%とあったが、1998 年に行われた 21 頭の和牛を用いた Ueda らの報告<sup>71)</sup>では、粗脂肪含量 4.8-39.0%の BMS No. は 2-10 に格付けされていた。これらの 2 つの報告を Fig. 13 と比較すると同じ BMS No でも過去のものに比較し、短期間に粗脂肪含量が多くなってきていることがわかる。このことについては堀井も 2009 年<sup>99)</sup>に指摘している。



**Fig.14 Relationships between protein content or protein/moisture+protein and crude fat content**

粗脂肪含量とタンパク質含量の関係は、粗脂肪含量が増加するに従い、肉重量中の水分、タンパク質含量はいずれも直線的に減少し、粗脂肪含量が 23.8～48.6% (2.0 倍) まで増えると、水分は 58.4 から 39.6% (0.68 倍)、タンパク質は 17.9 から 11.6% (0.69 倍) に減少した。さらに、水分は 58.4 から 39.6%、タンパク質は 17.9 から 11.6% に減少した。減少率は、それぞれ 0.68 倍と 0.69 倍で、ほぼ同じであった (Fig. 14)。

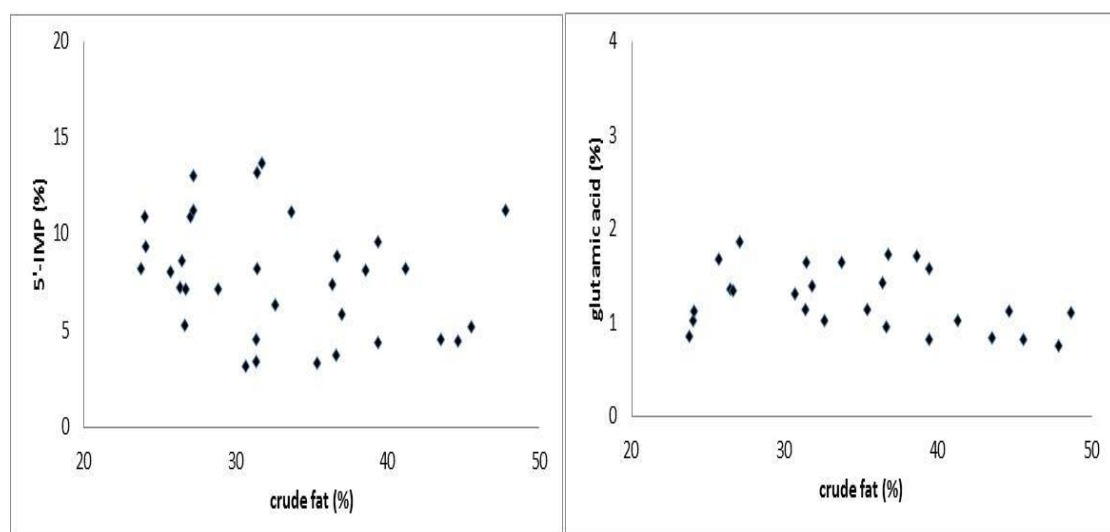
前記の Ueda らの報告<sup>71)</sup>では、粗脂肪含量が 23% 以下の低い時は脂肪が増えても水分が減るためタンパク質含量は 18% のレベルを保っており、脂肪含量がそれ以上に増加すると急激にタンパク質含量が減少すると報告していた。しかし堀井らは、1996－2004 年の種雄牛 15 頭から生まれた 195 頭 (28 ヶ月齢) の和牛の研究で脂肪の増大 (5.6-50.4%) とともに、直線的にタンパク質が減ると

報告し、本研究は後者の方と一致した。

脂肪が増えても、水分に対するタンパク質の割合はあまり変化していなかった。味は水に溶けた物質が味蕾に作用して引き起こされるが、タンパク質由来の水溶性のうま味成分やアミノ酸などの呈味成分が量的に減っても、水溶性部分の濃度はほぼ一定に保たれるものと考えられる。

#### (4) うま味成分測定値と官能評価特性との関係

Fig. 15 に試料の粗脂肪含量とイノシン酸とグルタミン酸の分析値の関係を示す。

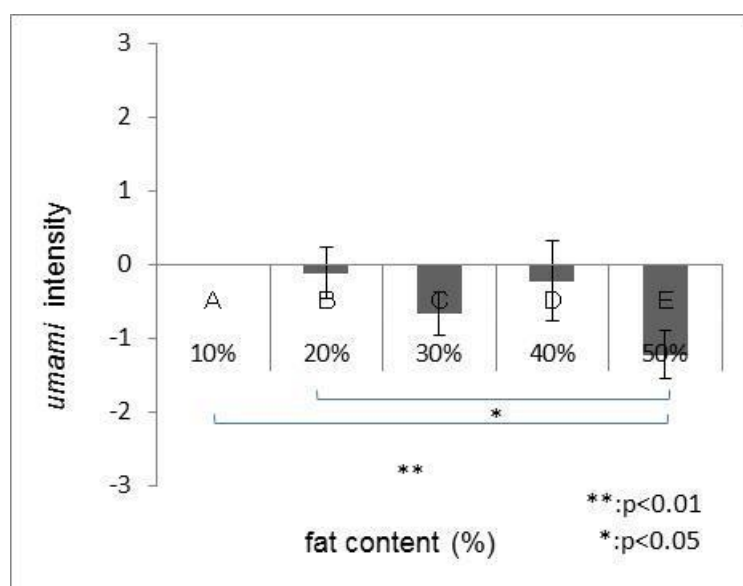


**Fig.15 Relationship between 5'-IMP (the left panel) or glutamic acid (the right panel) and crude fat content**

バラつきは大きいですが、相関係数を求めるとそれぞれ $-0.30$  ( $p=0.084$ ) と  $-0.34$  ( $p=0.092$ ) の負の相関傾向がみられた。これらのうま味成分量も水分中の割合としてみるとどちらも脂肪の増加にかかわらず一定であった。

しかし、官能評価ではある範囲の脂肪の増大によってうま味は明らかに増大した。これは脂肪が人の感覚としてうま味を増強することを示している。可能性としては、脂肪がうま味そのものを増強すること、あるいは脂肪がうま味と共通する特性を付加すること、さらに両者がもたらす複合感覚効果が考えられる。

そこで、先ず脂肪はうま味を増強するか否か調べるため、簡単なモデル実験を試みた。



**Fig.16 Intensity of umami in a solution with 10% to 50%  
rapeseed oil emulsion**



得られた化学分析値の平均値であるイノシン酸  $1 \mu\text{mol/g}$  とグルタミン酸  $0.6 \mu\text{mol/g}$  と等しいモル濃度のイノシン酸ナトリウムとグルタミン酸ナトリウムを同時に含む水溶液（うま味溶液）と菜種油を後者の割合がそれぞれ 10, 20, 30, 40, 50% になるように混合し、分離しないように 0.1% のショ糖ステアリン酸エステルを添加しエマルジョンとした試料を用意した。試料は約 5 ml を 1 口に含んで一通り舌上に行き渡らせた後、吐き出して舌の奥に残るうま味成分の強さを評価した。試料の温度は  $30^\circ\text{C}$  とし、口ゆすぎ用の水は  $40^\circ\text{C}$  で各 2 回ずつすいだ。脂肪含量 10% 試料のうま味強度を 0 としたとき試料液がどれくらいに感じたかを -3 から +3 の点数で示した結果を Fig. 16 に示した。パネルは 10 人で行った。油脂溶液は油脂含量が増加するほどうま味強度が減少した。

この実験では、脂肪量の増加により口中に含まれるうま味溶液の量は減少するが、2.5 ml 以上であれば味覚強度への影響は少ないと思われる。うま味を強く感じたとすれば、油脂は粘度を増加させるため舌面での停滞時間が増加し、うま味の認知を促した可能性が考えられる。しかし、一定の限度を超えれば、油脂がうま味溶液の味蕾への接触を妨げたと考えられる。

さらに、うま味の増強には以下の要因が考えられる。霜降り和牛の特徴は赤身を主とするタンパク質由来のうま味と、脂肪の触感、両者によって引き起こされる香り、風味を同時に発現させて食味を高めるものである。うま味物質はそれ自身快ではなく、食品中で種々のアミノ酸などの味と融和し肉的な味として感じられるが、山口はその効果をプロファイルし、こく、濃厚感、まろやかさ、広がり、持続性を与えると報告している<sup>100)</sup>。また油脂もそれ自身には味がなく、あまり好ましいものでもないが、なめらかな食感が食品にこくや広がり、持続性を与え、うま味とまぎらわしい効果を持つ。さらに、メイラード反応に関与し好ましいビーフの香りに寄与している<sup>101)</sup>。実際、粗脂肪含量が増加すると脂っぽい香りと甘い香りが増加する。国枝<sup>59)</sup>は組み合わせによって、香りが味の強さを増強することを報告している。また、山口は香りの存在がうま味の快不快を劇的に変化させることを示している<sup>102)</sup>。これらを総合すると、適量の脂肪はうま味そのものを強めると同時に脂肪のこくやなめらかさなどうま味に似た特性を付与し、さらに、メイラード反応などに寄与して香りと同時にうま

味を強めるものといえる。また、風味とうま味が高い相関を示したこともこのような理由によると考えられる。

一方、軟らかい牛肉が好まれることは Cover ら<sup>103)</sup>などの多くの報告があるように内外を問わず一般的に認められている。軟らかい肉質にするため単に脂肪交雑量を増やしすぎれば、牛肉の食味特性として大切な、風味やうま味の強さを減じ評価を下げることも本実験で示された。

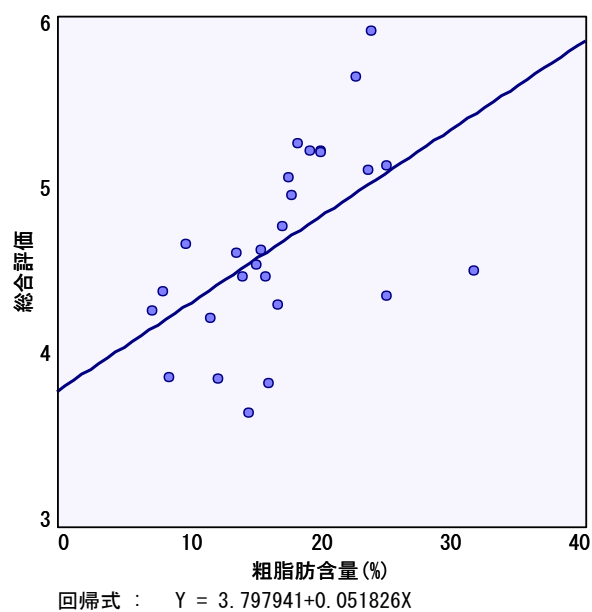
以上から、霜降り和牛肉における脂肪の役割は、あぶらっこさ、やわらかさ、ジューシーさ、牛肉らしい風味、うま味の強さのすべてを增強し、総合評価を高めること、ただし、脂肪量には適量がありそれはおよそ 36%と推定された。

今回は脂肪量という肉の基本構造からみてきたが、肉の質を高めるには、赤身と脂肪の質、交雑の細かさ、肥育方法、熟成なども重要である。そうすれば適正脂肪含量はさらに引き下げることとも可能と思われる。

#### (5) 牛肉の品種と調理方法の検討

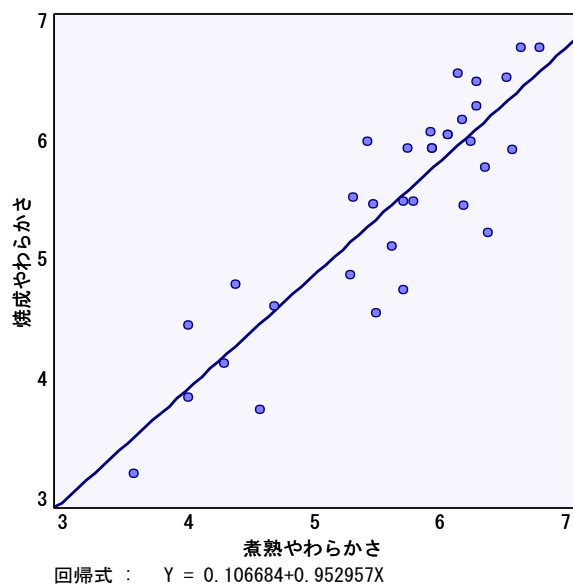
Fig. 17 に交雑牛 27 頭（粗脂肪含量 8–25%）の粗脂肪含量と官能評価の総合評価の関係を示した。粗脂肪含量の最大値は 25%であったため、官能評価値の総合評価は粗脂肪含量と直線関係にあり、黒毛和種のようにピークは生じなかった。このことは、交雑牛の粗脂肪含量が黒毛和種のピーク点である 35% に達してなかったからと考えられた。すなわち、35%に達しない範囲では、粗脂肪含量は多いほど、官能評価値は高評価であった。つまり、25%までの粗脂肪含量は必要であると考えられる。

一方、調理法比較については、Fig. 18 に示したように、黒毛和種が焼成肉と煮熟肉が正比例関係で、双方がほぼ等しい評価値を示したのに対し、交雑種は若干、焼成肉の方が、官能評価のやわらかさ、および総合評価で高評価であり、共に y 軸上側にシフトした (Fig. 19、21)。しかし、黒毛和種牛肉では、粗脂肪含量が増加すると煮熟肉の評価側 (x 軸) の方に評価がずれ、脂っこい肉は煮熟により脂を軽減する調理方法の方が、評価が高いことを示している (Fig. 20)。



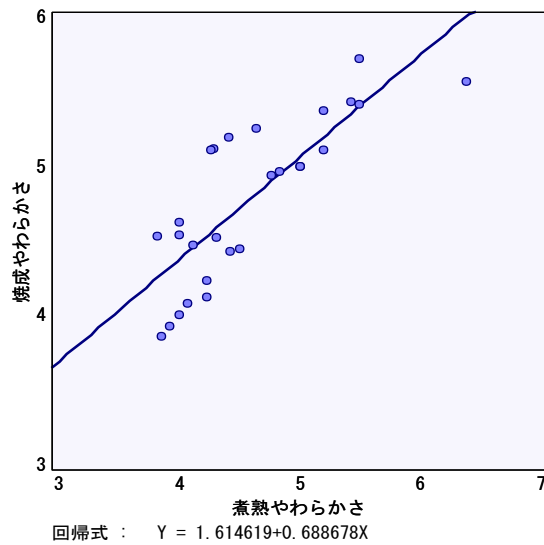
項目	横軸	縦軸
変数番号	2	9
変数名	粗脂肪含量 (%)	総合評価
データ数	27	27
最小値	6.880	3.643
最大値	31.880	5.960
平均値	16.9270	4.6752
標準偏差	5.95014	0.57514
相関係数	0.536	
回帰定数	3.798	
回帰係数1次	0.052	
t 値	3.176	
P値 (両側)	0.004	

Fig. 17 交雑種牛のロース肉焼成調理による粗脂肪含量と総合評価の関係



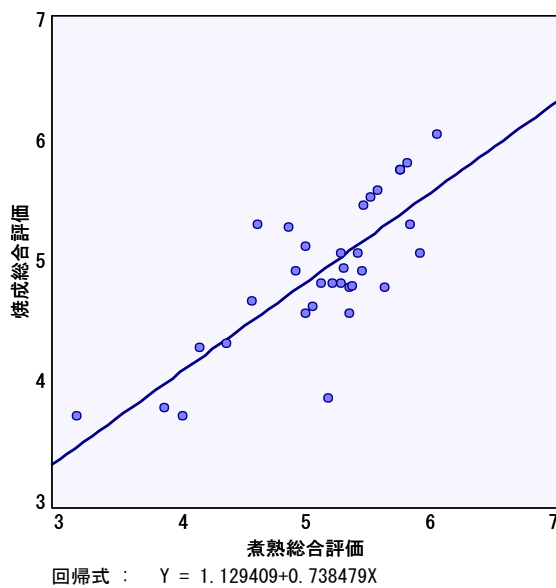
項目	横軸	縦軸
変数番号	3	1
変数名	煮熟やわらかさ	焼成やわらかさ
データ数	34	34
最小値	3.571	3.214
最大値	6.786	6.786
平均値	5.6357	5.4773
標準偏差	0.83879	0.90645
相関係数	0.882	
回帰定数	0.107	
回帰係数1次	0.953	
t 値	10.578	
P値 (両側)	0.000	

Fig. 18 黒毛和種牛肉の「やわらかさ」評価における焼成法と煮熟法の関係



項目	横軸	縦軸
変数番号	3	1
変数名	煮熟やわらかさ	焼成やわらかさ
データ数	27	27
最小値	3.824	3.857
最大値	6.385	5.720
平均値	4.5904	4.7760
標準偏差	0.63358	0.53804
相関係数	0.811	
回帰定数	1.615	
回帰係数1次	0.689	
t 値	6.930	
P値 (両側)	0.000	

Fig. 19 交雑種牛肉の「やわらかさ」評価における焼成法と煮熟法の関係



項目	横軸	縦軸
変数番号	4	2
変数名	煮熟総合評価	焼成総合評価
データ数	34	34
最小値	3.143	3.714
最大値	6.059	6.059
平均値	5.1498	4.9324
標準偏差	0.65256	0.61486
相関係数	0.784	
回帰定数	1.129	
回帰係数1次	0.738	
t 値	7.139	
P値 (両側)	0.000	

Fig. 20 黒毛和種牛肉の「総合評価」値における焼成法と煮熟法の関係

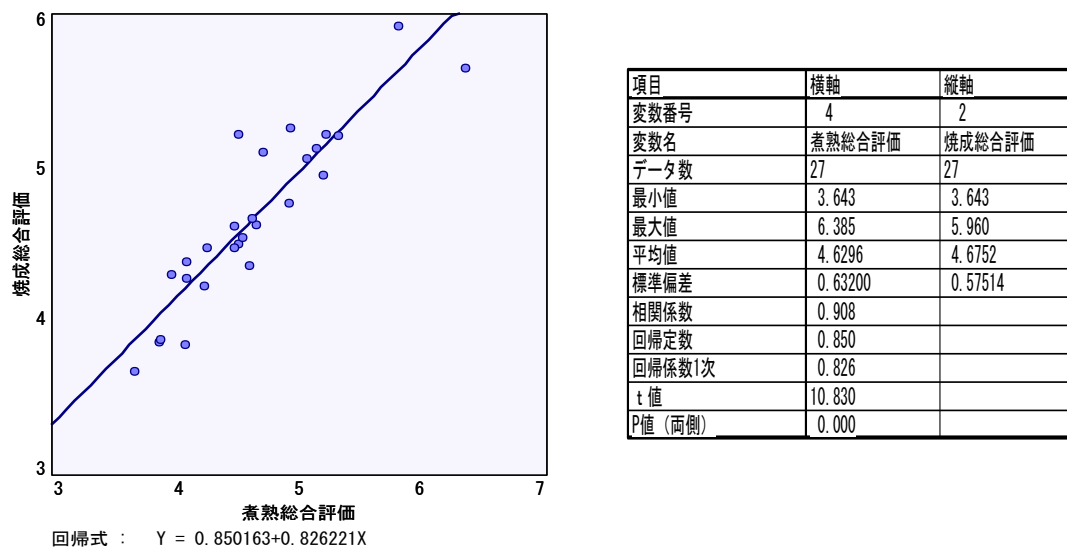


Fig. 21 交雑種牛肉における「総合評価」値における焼成法と煮熟法の関係

この理由として、いくつかが考えられる。1つは、煮ることで、赤身肉は硬くなってしまいうため脂肪交雑度の低い牛肉は嫌われる。また、加熱で生じる香気成分、例えばラクトン類などが高温加熱である焼成調理よりも煮る調理で多く生じることが考えられる。日本では、昔から黒毛和牛の煮肉（牛鍋）料理として、牛鍋（すき焼き）がある。これは、粗脂肪含量が高く筋間の脂肪交雑度の高い牛肉が、煮ても軟らかいことにより、高く評価されてきたと考えられた。

しかし、近年は食生活の西洋化に伴い、焼成肉としての需要が増してきたため、行き過ぎた脂肪交雑を見直す時期にきていると推察された。

#### 4, 結論

脂肪含量の異なる和牛肉の食味特性を明らかにするため、飼育条件を統一した黒毛和種去勢牛 34 頭（粗脂肪含量 23.8～48.6%）を用いて分析型官能評価を行い、理化学成分測定と併せて検討を行った。

粗脂肪含量の増加は、肉質評価のやわらかさ、多汁性、脂っこさを増加させた。また、脂肪量の増加は水分を大きく減らすと同時に若干のタンパク質量を減らし、うま味成分含量を減らしたが、水分あたりのタンパク質量およびうま味成分量は一定であった。脂肪はうま味と牛肉らしい風味を増強し総合評価を高めたが、脂肪量には適量があり粗脂肪含量に対して約 36%がピークであることが示された。この交点はそれ以上であれば、油脂が多くなり、脂っこいと感じる点でもあった。

さらに交雑牛 27 頭（粗脂肪含量 8～25%）は焼成肉・煮熟肉とも粗脂肪含量が多いほど食感・風味ともに官能評価結果が高くなった。これは黒毛に比較し粗脂肪含量が少なかったことによるものと考察された。

#### 5, 要約

脂肪含量の異なる黒毛和牛の食味特性を明らかにするため、飼育条件を同じくした黒毛和種去勢牛、BMS No. 3-9 格付け等級 B2-A5（粗脂肪含量 23.8～48.6%：月齢 21 か月～30 ヶ月）の 34 頭由来の肉を用い、焼成肉による分析型官能評価を行い、水分、タンパク質、核酸、グルタミン酸含量と併せて検討した。

粗脂肪含量の増加は、肉質評価のやわらかさ、多汁性、脂っこさの値を増加させた。理化学成分の粗脂肪量の増加は水分の大きな減少と同時に若干の粗タンパク質含量の減少、さらにわずかな核酸およびグルタミン酸含量を減少させたが水分あたりに換算するとそれらはほとんど変わらなかった。脂肪は肉質評価のうま味の強さと牛肉らしい風味を著明に増強し総合評価を高めることが示されたが、脂肪量には粗脂肪含量に対し、36%をピークとした量があることが示唆された。

粗脂肪含量 25%以下の交雑牛については調理法にかかわらず、粗脂肪含量が増加するほど食感および風味どちらも官能評価結果は高値となった。煮熟調理においては、煮汁中に脂肪が流出することが考えられ、脂肪の多いものでも許容される傾向がみられたが、それでも限界はあると考えられた。

## 第4章 長期熟成が和牛肉の食味性に及ぼす影響

### 1, 目的

第1章では、加熱方法が牛肉の食味性に及ぼす影響を調べた。また、2章では牛肉の脂肪含量が食味性に及ぼす影響を明らかにした。第3章では、熟成処理が食味性に及ぼす影響を検討した。

と畜後の牛肉を低温で一定期間保存しておく熟成により、筋肉組織がやわらかくなると同時に、風味が改善されることはよく知られている。熟成期間は、食肉の種類や保存条件により異なる。また、赤身肉が多いホルスタイン種では、保存期間は短く、含気包装による wet aging の条件では、4℃で10日間から2週間程度である。また、真空包装による wet aging では、貯蔵期間を延ばすことができる。保存条件で、低温かつ湿度を一定にし、肉の表面に送風する dry aging で保存すると、1カ月～2か月間の長期熟成が可能となる。日本では、昔から、脂肪交雑の高い黒毛和牛の肉は、dry aging で熟成を行っている場合が多い。

と畜後に硬直を起こした肉も、熟成により軟らかくなることが知られている。また、熟成により、タンパク質の内在性プロテアーゼによる自己消化が起こり、遊離アミノ酸やペプチドが増加し、味に複雑さが出ることが明らかにされている。また、遊離アミノ酸の増加は、加熱による香気成分を増加させることから香りの改善にも貢献している。これらの現象に関しては、古くから国内外で研究されており、多くの知見が得られている<sup>25), 46) -48)</sup>。しかし、日本の誇る黒毛和牛肉の長期熟成による食味性の変化に関する研究は多くない。

そこで、第3章では、60日熟成された霜降り牛肉のうま味成分、破断特性、官能特性における変化を遊離アミノ酸の増加に寄与する aminopeptidase 活性とともに検討し、適切な熟成期間を明らかにすることを目的とした。



## 2, 方法

### (1) 試料

試料とした脂肪交雑牛は黒毛和牛 5 頭（兵庫県産但馬牛 30 か月齢）とした。日本格付け協会による肉質等級は A3-5 であった。と畜 3 日後に枝肉はチルド（2℃）で貯蔵施設まで配送された。枝肉はそのままと畜 60 日後まで熟成された。はじめの 30 日は骨を下にしておき、その後の 30 日はつるして熟成させた。具体的には、1-4℃、相対湿度 80-90%、肉表面に送風される熟成条件で冷蔵した。60 日間、1 カット（5.0-cm thick）を胸最長筋右側（*Longissimus thoracis*: ribeye roll）から 4、11、20、30、40、50、60 日目に切り出した。焼成用の肉は、熟成肉から切り出した後、24 時間以内にチルドで日本女子大学まで搬送された。分析および官能評価は日本女子大学に運ばれた直後に行われた。なお、官能評価のと畜 4 日の試料は一部を即時に冷凍し（-40℃）、官能評価の前日に 2℃で 24 時間解凍したものをそのつど基準として使用した。



写真 2 熟成 40 日の枝肉（中勢以：田園調布にて）

## (2) 化学成分分析

### 1) pH、水分、粗脂肪、調理損失の測定

肉汁の pH は pH meter (IQ Scientific instruments IQ 170 Hach US) で測定した。胸最長筋 (*longissimus thoracis*) の水分含量は、ミンチにした肉を

105 °C で 180 分間、恒温器で加熱し、加熱前後の重量から算出した。水分測定終了後の試料を Soxhlet 抽出法を用いて 粗脂肪含量測定を行った。粗脂肪含量測定は、前章と同様に、the *Official Methods of Analysis* of AOAC International<sup>93)</sup> に従い行った。ここに示した値はすべて生肉換算により算出した。加熱損失は加熱前後の重量から算出した。

### 2) 5'-IMP の測定

前章と同様、Suzuki らの方法<sup>91)</sup>に従い、調製した。すなわち、生の牛肉を挽肉 BAMIX (BM0101, Mettlen, Switzerland) とし、その 10 g を 25 ml の過塩素酸 (1 M HClO<sub>4</sub>) を加え 1 分間ホモジナイズした。それを 4 °C の遠心分離機 (11,500 g) で 10 分間かけて、上清をろ紙 (Advantec 5B; Toyo, Tokyo, Japan) でろ過した。ろ液の pH は 6.5-6.8 に 1 M or 5 M KOH または 1 M HCl を用いて調整し、4 °C で一晩放置した。上澄みをメンブランフィルター (membrane filter : 0.45 μm, Advantec, Toyo, Tokyo, Japan) を通した後、10 倍希釈して HPLC (Shimadzu SPD-10AV : UV-VIS, Detector LC-10AD, Japan) を用いて 5'-IMP 測定を行った。カラムは (Senshu Pak PEGASIL-B ODS 4.6 Φ×250 mm センシュ - 科学, Tokyo, Japan) を用い、20 mM phosphoric acid/22 mM diethyl amino ethanol を移動相とする条件で行った。流速は 1.0 ml/min、250 nm で検出した。

## 2) 遊離アミノ酸測定

Nishimura らの方法<sup>8)</sup>により行った。すなわち、生牛肉試料の中心部 10 g を 25 ml の蒸留水で 1 分間、プロテアーゼ活性を低く抑えるために氷中で均質化 (ホモジナイズ) した。それを遠心分離機に 11,500 *g* で 4 °C、10 分間かけ、その上澄みを収集した。上澄みはろ紙 (Advantec 5B; Toyo, Tokyo, Japan) で濾過し、トリクロロ酢酸 (trichloroacetic acid : 5% final conc) で除タンパクを行った。その上澄み液をメンブランフィルター (membrane filter

0.45  $\mu$  m, Advantec; Toyo, Tokyo, Japan) に通し、アミノ酸アナライザー (JASCO LC-NET II/ADC Analyzer) で遊離アミノ酸を測定した。

## 3) aminopeptidase C と H 活性の測定

### 4)-1 粗酵素活性の測定

Nishimura らの方法に従って行った<sup>10)</sup>。具体的には、できる限り大きな筋や脂肪を取り除いた生肉をバーミックス (1200 rpm) で粉砕して 10 g 精秤した。冷えた 40 mM トリス塩酸緩衝液 (pH 7.2) を 30 ml 加え、氷で冷やしながらバーミックス (Bamix BM0101, Mettlen, Switzerland) で 1 分間攪拌した後、4 °C、11,500 *g* で 10 分間遠心分離した。

粗タンパク質の測定は Bradford 法を用いて protein assay kit (BIO RAD) を用いて行った。牛血清アルブミンをスタンダードとして用いた (absorbance at 595nm)。

酵素活性の測定では、グルタミン酸及びロイシンの  $\beta$ -naphthylamide 誘導体 (Glu-NA と Leu-NA) に作用させ、遊離した  $\beta$ -naphthylamine 量を測り、活性とした。具体的には、0.2 ml の粗酵素液と 0.1 ml の 1 mM Glu-NA あるいは Leu-NA 10 mM のトリス塩酸緩衝液 pH 7.2 を 37 °C で 5-60 分インキュベートした後、0.4 ml の 0.23 N HCL in ethanol を混合し、反応を停止した。その後、0.4 ml の 0.06% *p*-dimethylaminocinnaldehyde in ethanol を添加して、遊離した naphthylamine を発色させた。室温で 30 分間静置した後、540 nm

の赤色吸光度を測定し  $\beta$ -naphthylamine 量とした。

#### 4)-2 精製した酵素活性の測定

4)-1 と同様に調製した酵素液 20 ml を透析チューブに入れ、10 倍量の 10 mM トリス塩酸緩衝液 (pH 7.2) 中に入れ、4 °C の低温室にてスターラーで攪拌させながら 6 時間透析させた。その後、透析物をあらかじめ 40mM トリス塩酸緩衝液で平衡化させた DEAE セルロースカラム ( $\Phi 2.5 \times 20$  cm) に吸着させ、同緩衝液 250 ml で非吸着部分を洗い流してから、0 M から 0.5 M NaCl までの食塩濃度傾斜法を用いて溶出し、1 画分として、10 ml をフラクションコレクターにて収集した。分画した画分の aminopeptidase 活性を Glu-NA と Leu-NA を用いて、測定した。

#### 4)-3 微生物の影響の検討

##### 4)-3-1 油中熟成による酵素活性と遊離アミノ酸の変化

と畜 8 日目にチルド配送された原料肉を 50 g ずつ切り出し、200 ml ビーカーに入れ、表面が隠れるまで市販サラダ油 (日清オイリオ株式会社) を加え、2 °C の恒温器でそれぞれ 14、20、30、40、50、60 日まで熟成させた。試料調製の際は、油をよく拭き取り、側面約 1 cm 四方トリミングをおこなってから使用した。

試料肉の酵素活性と遊離アミノ酸の変化に関する測定は、それぞれ、前項 3) と 4)-1 と同様に行った。

##### 4)-3-2 微生物測定

試料肉は、原料肉到着後に整形し、直ちに凍結したものを 2 °C の恒温器で、24 時間かけて解凍してから、使用した。

生肉約 10 g に滅菌水を同量加え、ストマッカーで均質化し、濾過した濾過液を滅菌水で希釈し、測定試料とした。

好気性細菌数測定用、およびカビ・酵母測定用ペトリフィルム (3M 社製) を

使用し、好気性細菌数測定用プレートは、35 °C、48 時間、カビ・酵母測定用は 20 °C、5 日間培養した後、試料肉 1 g あたりのコロニー数を算出した。

### (3) テクスチャー測定

官能評価に用いたのと同じ試料について、( $3 \times 2 \times 1 \text{ cm}^3$ )，破断特性を Rheoner-RE33005s (Yamaden Co., Tokyo, Japan) で 各 10 回ずつ定速圧縮破断測定を行った。99%破断したときの応力ひずみ曲線から破断応力、破断ひずみ、破断応力、初期弾性率を求めた。測定条件は、荷重 200 N、歯形プランジャーを用い、圧縮速度 1 cm/min で行った。

### (4) 官能評価

官能評価は、4、11、20、30、40、50、60 日目に必要量のみ切り出した肉を、周囲をトリミングし、1 cm 厚さにスライサーでスライスして室温に 30 分間放置した。コントロールの 4 日試料は前日に冷凍庫から取り出した後、24 時間、2 °C で解凍した。200 °C のホットプレート (Zojirushi Corporation, Osaka, Japan) で表面 1 分間、裏面 1.5 分間加熱し中心温度  $60 \pm 1 \text{ }^{\circ}\text{C}$  (thermocouple ; AD-5604 AND (China) and infrared thermometer ; refractive index 0.95) とした (第 1 章および第 2 章焼成肉参照)。焼成後 10 分間、休ませ、線維に沿って  $3 \times 2 \text{ cm}$  に切り出し、官能評価用試料とした。

官能評価は、4 日試料を基準とした 11、20、30、40、50、60 日のそれぞれを 2 点比較法 (two-pair comparison) として室温で行った。評価項目は、「やわらかさ」、「多汁性」、「牛肉の好ましい香りの強さ (orthonasal aroma)」、「うま味強度」の 4 項目について、4 日を 4.5 とした 8 段階評価尺度で相対評価を行った。最も高い点数である 8 は、「やわらかさ」においては大変やわらかい、「多汁性」においては大変ジューシー、「牛肉の好ましい香りの強さ」では好ましい香りが大変強い、「うま味の強さ」では大変うま味が強いとした。一方、最も低い点数である 1 は、「やわらかさ」では大変かたい、「多汁性」では大変ばさばさ、「好ましい香りの強さ」では大変好ましい香りが弱い、「うま味

の強さ」では大変うま味の強さが弱いとした。パネルメンバーは、7人の学部生と大学院学生、2名の研究室スタッフ（すべて女性）とした。すべてのパネルメンバーは官能評価における基礎知識や講義および実習を経たもので、牛肉を含むさまざまな食品の官能評価の経験を持つもの達である。さらに、この実験開始前にさまざまなグレードの牛肉を練習し特徴を覚えた。パネルの訓練としては格付けの様々な牛肉でやわらかさの範囲を訓練し、分類可能とした。また、牛肉中に含まれる好ましい香りについての訓練、牛肉中に含まれる平均的な5'-IMP とグルタミン酸による濃度差識別訓練も行った。また、うま味の評価は、香りの混入を避けるため、ノーズクリップを用いて評価した。

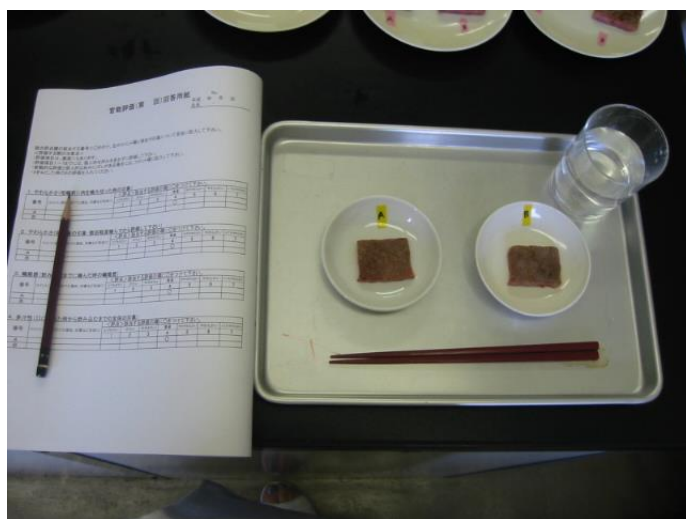


写真3 官能評価

#### (5) 統計解析

統計解析は SPSS PASW Statistics 18 for Windows を用いて分散分析後 Tukey の HSD を用いた。

### 3, 結果

本実験結果における等級および熟成日数間の交互作用はみられず、それぞれの等級よる差をこえて、熟成による差が顕著であった。

#### (1) 60 日間の長期熟成 (dry aging) した霜降り和牛肉における pH、水分含量、粗脂肪含量および加熱損失の変化

60 日間の長期熟成 (dry aging) した霜降り和牛肉の pH、水分含量、粗脂肪含量および加熱損失における変化を表 (Table 5) に示した。と畜 4 日めの肉の pH は 5.84 であった。その後 と畜 11 日目から 60 日目にかけてわずかに変化し、霜降り和牛肉の極限 pH は 5.74 - 5.80 であった。

霜降り和牛肉の水分含量の変化については、と畜後 4 日目の肉で 44.9%、11 日目の肉は 40.7、20 日目の肉では 39% と減少した。しかし、30 日目の肉では 43.4% と回復し、その後、60 日目の肉で 47.6% と増加した。一方、粗脂肪含量はと畜 4 日目の肉で 40.3%、その後 11 日目の肉は 44.9%、20 日目の肉では 43.8% となった。しかし、30 日目の肉では、37.4% と減少しその後はほぼ変わらず、60 日目の肉では 35.8% であった。

調理損失は、11 日目の肉で 15.8%、20 日目の肉で 16.6% であった。それは、40 日目や 50 日目の肉に比較し高値であった。

**Table 5 Changes in pH and moisture and crude fat content and cooking loss, in highly marbled beef during for 60 days with dry aging**

	4 days		11 days		20 days		30 days		40 days		50 days		60 days		F value	P value
		SD		SD		SD		SD		SD		SD		SD		
pH	5.84 <sup>b</sup>	0.08	5.76 <sup>a</sup>	0.07	5.79 <sup>ab</sup>	0.10	5.80 <sup>ab</sup>	0.09	5.77 <sup>ab</sup>	0.14	5.74 <sup>a</sup>	0.14	5.75 <sup>a</sup>	0.06	5.223	0.000
moisture(%)	44.9 <sup>ab</sup>	3.3	40.7 <sup>a</sup>	2.8	39.0 <sup>a</sup>	4.4	43.4 <sup>ab</sup>	3.2	45.8 <sup>b</sup>	5.5	46.0 <sup>b</sup>	2.3	47.6 <sup>b</sup>	4.8	5.164	0.000
crude fat(%)	40.3 <sup>ab</sup>	5.9	44.9 <sup>b</sup>	4.6	43.8 <sup>ab</sup>	4.3	37.4 <sup>ab</sup>	6.8	36.1 <sup>a</sup>	6.4	36.3 <sup>a</sup>	5.5	35.8 <sup>a</sup>	4.6	3.830	0.003
cooking loss(%)	12.5 <sup>a</sup>	1.5	15.8 <sup>b</sup>	1.2	16.6 <sup>b</sup>	1.9	14.3 <sup>b</sup>	1.4	12.5 <sup>a</sup>	2.4	12.3 <sup>a</sup>	1.4	14.9 <sup>b</sup>	0.7	8.503	0.000

Values with different letters differ significantly;  $p < 0.05$

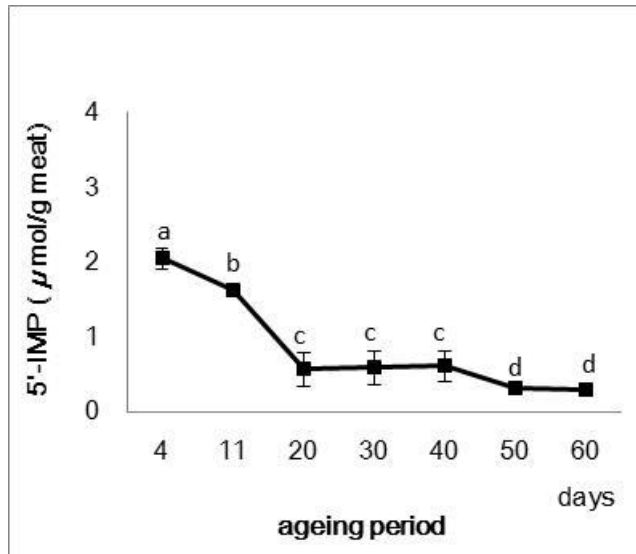
Measurement was repeated five times for each five Tajima Japanese black cattles.

## (2) 60 日間長期熟成 (dry aging) した霜降り和牛肉におけるうま味成分の変化

### 1) 5'-イノシン酸 (5'-IMP) の変化

と畜 4 日目の肉の 5'-IMP 含量は  $2 \mu\text{mol/g}$  であった。その後、徐々に減少し、と畜 11 日目の肉で  $1.63$ 、20 日目の肉で  $0.56 \mu\text{mol/g}$  であった。20 日目の肉と 40 日目の肉の 5'-IMP 含量は変化がみられずその後さらに減少した。(Fig. 22)





**Fig. 22 Changes in 5'-IMP content of highly marbled beef  
during dry aging for 60 days**

Values with different letters differ significantly;  $p < 0.05$

Bar in the figure indicates standard deviations

Measurement was repeated five times as the average of four measurements.

## 2) 遊離アミノ酸の変化

霜降り和牛肉の遊離アミノ酸（FAA）である Asn、Glu、Gln、Orn、Arg 以外のアミノ酸は、熟成 20 日目まで少しずつ減少した。一方、Thr、Ser、Asn、Glu、Gly、Val、Cys、Met、Ile、Leu、Tyr、Phe、Lys は熟成 30 日目から急激に増加した (Table 6)。さらに、Tau、Gln、Orn 以外の遊離アミノ酸は 4 日から 60 日間で有意に増加した。Fig. 23 に示したように、霜降り和牛の遊離アミノ酸総量は、と畜後 4 日目の肉から 60 日目の肉になるにつれて有意に増加した。うま味成分のひとつであるグルタミン酸総量は、4 日に比較し 60 日目の肉で有意に高くなった。

**Table 6 Changes in free amino acid contents during dry aging of meat  
from highly marbled beef**

	4 days			11 days			20 days			30 days			40 days			50 days			60 days			F value	P value
			SD			SD			SD			SD			SD			SD			SD		
Tau	2.0	a	0.48	2.2	ab	0.46	2.6	ab	0.90	2.5	b	1.32	2.0	ab	0.78	1.6	ab	0.38	1.8	ab	0.85	38.850	0.001
Asp	0.5	a	0.30	0.4	ab	0.20	0.5	ab	0.19	0.6	b	0.42	0.8	b	0.72	0.6	b	0.32	0.9	b	0.61	3.326	0.004
Thr	0.3	a	0.14	0.4	ab	0.20	0.5	ab	0.13	0.9	ab	0.51	1.4	b	1.15	1.2	b	0.48	1.9	b	0.75	20.921	0.000
Ser	0.4	a	0.10	0.4	ab	0.13	0.6	ab	0.12	1.1	ab	0.44	1.8	b	0.81	1.6	b	0.34	2.3	b	0.55	64.217	0.000
Asn	0.2	a	0.11	0.2	a	0.13	0.3	ab	0.18	0.4	ab	0.17	0.6	ab	0.22	0.6	b	0.28	0.8	b	0.40	17.127	0.000
Glu	0.7	a	0.28	0.8	ab	0.39	0.7	ab	0.20	1.3	ab	0.78	2.1	ab	1.39	1.7	b	0.64	2.5	b	0.95	17.757	0.000
Gln	5.2	a	1.85	3.9	ab	1.45	3.7	b	1.24	3.3	b	1.16	2.9	b	0.65	2.7	b	0.76	3.0	b	0.71	8.903	0.000
Gly	0.7	a	0.15	0.7	ab	0.14	0.8	ab	0.14	1.2	ab	0.39	1.7	b	0.72	1.8	b	0.47	2.2	b	0.49	46.015	0.000
Ala	2.0	a	0.80	1.9	b	1.01	2.2	ab	1.02	2.3	ab	0.69	2.7	ab	0.92	2.7	ab	0.63	3.2	ab	0.83	5.149	0.000
Val	0.2	a	0.16	0.2	ab	0.15	0.4	ab	0.15	0.6	ab	0.48	1.0	ab	1.30	0.7	b	0.77	1.4	b	1.23	12.588	0.000
Cys	0.3	a	0.12	0.3	ab	0.24	0.4	ab	0.23	0.6	ab	0.31	1.2	b	0.37	1.4	b	0.40	1.7	b	0.45	75.655	0.000
Met	0.3	a	0.27	0.3	a	0.29	0.4	ab	0.42	0.9	ab	0.78	1.5	ab	1.36	1.1	b	0.59	1.4	b	0.93	10.800	0.000
Ile	0.4	a	0.11	0.4	ab	0.12	0.5	ab	0.17	1.1	ab	0.79	1.9	b	1.55	1.4	b	0.59	2.2	b	1.04	17.479	0.000
Leu	0.2	a	0.14	0.3	ab	0.18	0.6	ab	0.33	1.1	b	0.49	2.0	b	0.52	2.1	b	0.41	2.3	b	0.54	90.74	0.000
Tyr	0.2	a	0.14	0.3	ab	0.33	0.3	ab	0.11	0.7	ab	0.30	1.2	b	0.57	0.9	b	0.28	1.5	b	0.67	32.682	0.000
Phe	0.3	a	0.26	0.2	a	0.12	0.4	ab	0.22	1.1	ab	1.17	1.1	b	0.29	1.1	b	0.10	1.1	b	0.63	16.235	0.000
Orn	0.3	a	0.24	0.2	ab	0.22	0.1	ab	0.11	0.1	B	0.08	0.1	b	0.04	0.1	b	0.04	0.1	b	0.06	5.807	0.000
Trp	0.5	a	0.17	0.5	ab	0.17	0.6	ab	0.15	0.7	ab	0.20	1.2	ab	0.37	1.1	b	0.42	2.0	b	0.62	34.136	0.000
Lys	0.2	a	0.12	0.3	a	0.16	0.6	ab	0.44	0.6	b	0.34	1.0	b	0.45	1.0	b	0.48	1.3	b	0.66	18.286	0.000
His	0.2	a	0.08	0.2	ab	0.09	0.4	ab	0.55	0.3	ab	0.04	0.4	ab	0.14	0.4	b	0.32	0.5	b	0.23	5.460	0.000
Arg	0.8	ab	0.64	0.9	ab	0.90	0.8	ab	0.47	0.9	ab	0.44	1.0	ab	0.36	1.1	ab	0.32	1.3	ab	0.19	2.124	0.055

unit:  $\mu$  mol/g meat

Values with different letters differ significantly;  $p < 0.05$

Measurement was performed five times on five samples derived from five  
Tajima Japanese black cattle.

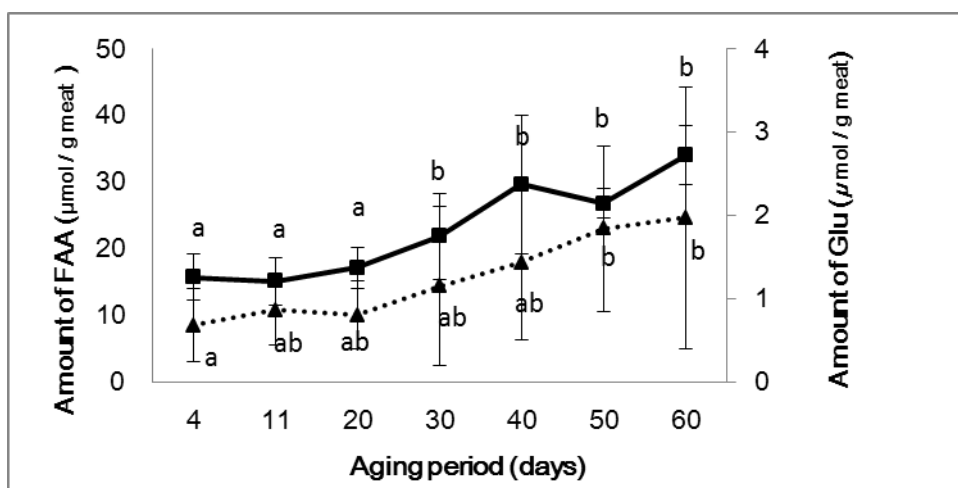


Fig. 23 Changes in free total amino acid (FAA) and glutamic acid contents during dry aging of highly marbled meat



Values with different letters differ significantly;  $p < 0.05$

Bar in the figures indicate standard deviations.

Measurement was performed four times on five samples derived from five Tajima Japanese black cattle.

### (3) 熟成期間中のうま味強度の変化

熟成期間による霜降り和牛のうま味強度 (The calculated *umami* intensity : Y) は 5'-IMP とグルタミン酸含量から以下のように計算<sup>96)</sup>された (Table 7)。

**Table 7 Umami intensities calculated from the 5'-IMP  
and glutamic acid contents during dry aging of highly marbled meat**

Aged period(days)	4	11	20	30	40	50	60
*Umami intensity (Y)	0.94	0.87	0.25	0.48	0.81	0.35	0.48

\*:Umami intensity(Y)=u+1218uv

u:Glu (%) v:IMP (%)

This formula was derived from the work of Yamaguchi et al. (1971)<sup>96)</sup>.

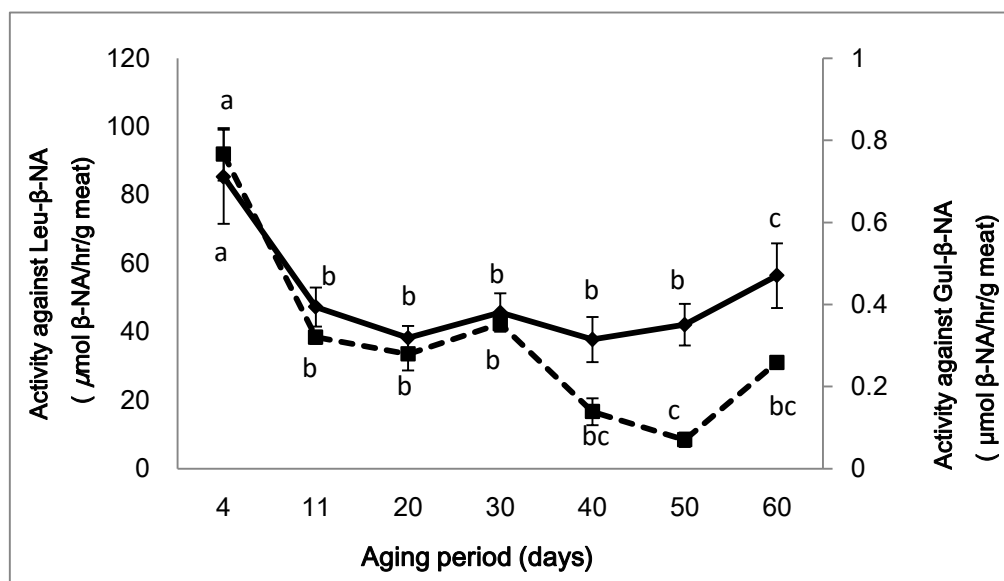
霜降り和牛肉のと畜 4 日目の肉のうま味強度は熟成期間すべての中で最も高値であった。このことは、グルタミン酸含量は低いながら 5'-IMP 量が最も高かったことに起因すると思われる。と畜 20 日目の肉のうま味強度は他熟成日数に比較し低かった。このことは、20 日目の肉では 5'-IMP が減少し、グルタミン酸含量もまだ増加前だったことから両者の割合がもっとも低くなったと考えられた。一方、40 日目の肉のうま味強度は 20 日目の肉、50 日目の肉と比較して高値となった。このことは 30 日目の肉から 40 日目の肉にかけてグルタミン酸含量が急激に増加したことが、うま味強度の増加に寄与したと考えられる。

#### (4) aminopeptidase 活性の測定

##### 4)-1 粗酵素活性の測定

熟成中の遊離アミノ酸含量の増加には Leu-NA や Glu-NA などに作用する aminopeptidase C と H の作用が寄与すると報告されている(前述 Nishimura ら<sup>11), 12)</sup>)。Fig. 24 に示したように、60 日間熟成した霜降り和牛の Glu-NA 分解活性は、Leu-NA 分解活性に比較し低いと考えられる。と畜 4 日目の肉の両酵素活性は、他の日に比較し高かった。Leu-NA 分解活性は 11 日目の肉で低下したが、その後 11 日目の肉から 50 日目の肉まで安定であった。その後、60 日目

の肉では上昇した。一方、Glu-NA 分解活性は Leu-NA 分解活性と同じように 11 日目の肉で減少し、11 日目の肉から 30 日目の肉にかけて安定であった。そして、それからと畜 50 日目の肉まで減少し 60 日目の肉でふたたび増加した。両酵素の活性は、霜降り和牛の熟成中のグルタミン酸を含む遊離アミノ酸含量の増加に寄与していると推定された。



**Fig. 24** Changes in the activity of Leu-NA and Glu-NA (as determined by the activity of aminopeptidases C and H, respectively) during dry aging of highly marbled beef



Incubated at 37 °C for 5 to 60 min with 0.1 ml of 1 mM Glu-NA and Leu-NA in 100 mM Tris chloride (pH 7.2), containing 2 mM DTT, 0.4 ml of 0.23 N HCl in ethanol and 0.4 ml of 0.06% p-dimethylaminocinnamaldehyde in ethanol at 540 nm

Values with different letters differ significantly;  $p < 0.05$ .

Bar in the figure indicates standard deviations.

The measurement was performed four times, and enzyme activity per protein was expressed as the average of the four measurements.

#### 4)-2 精製した酵素活性の測定

Glu-NA に対する活性が低かったことや aminopeptidase H は C よりも失活しやすいことから、長期熟成中の遊離アミノ酸生成には aminopeptidase C の貢献度が高いと考えられた。そこで、(4) で使用した酵素液を透析、精製を行い、アミノ酸生成の寄与が大きい aminopeptidase C の活性の測定を行った。

##### 4)-2-1 aminopeptidase C の Leu-NA に対する酵素活性

熟成に伴う aminopeptidase C のロイシン活性を Fig. 25 に示した。Aminopeptidase C の Leu-NA に対する活性は、4 日目の肉から 11 日目の肉にかけて緩やかに低下し、11 日目の肉から 20 日目の肉にかけ、上昇がみられた ( $p < 0.01$ )。その後、30 日目の肉では再び低下し、以降、活性は停滞したが 60 日目の肉でわずかな上昇がみられた (有意差なし)。

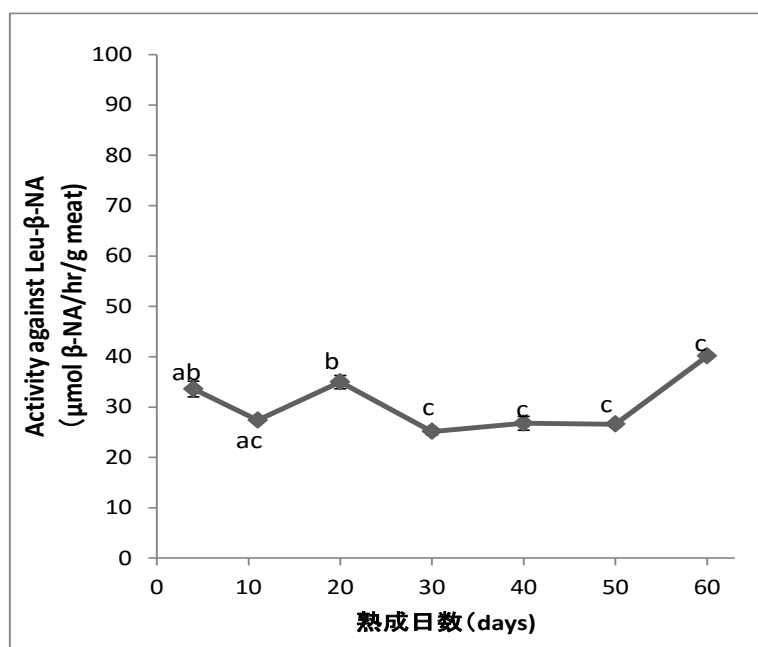


Fig. 25 熟成に伴う aminopeptidase C 活性の変化 (Leu)

異なるアルファベット間で  $p < 0.01$  で有意差あり  $n=4$

#### 4)-2-2 aminopeptidase C の Glu-NA に対する酵素活性

熟成に伴う aminopeptidase C の Glu-NA に対する酵素活性を Fig. 26 に示した。aminopeptidase C の Glu-NA に対する酵素活性は、4 日目の肉から 11 日目の肉にかけて低下し ( $p < 0.01$ )、その後 20 日目の肉で上昇し ( $p < 0.01$ )、30 日目の肉で再低下し ( $p < 0.01$ )、60 日目の肉にかけて緩やかな活性の再上昇がみられた。

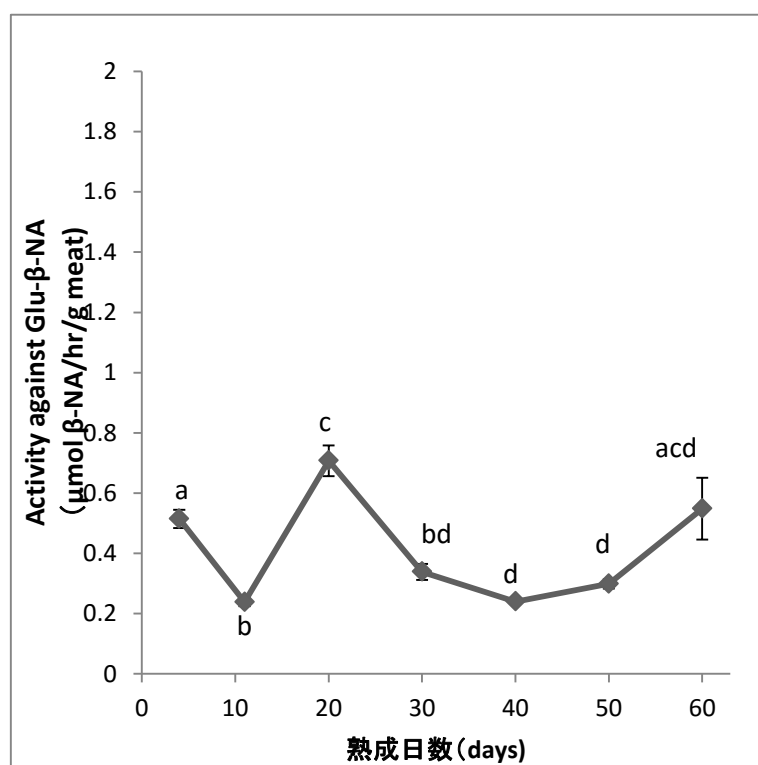


Fig. 26 熟成に伴う aminopeptidase C 活性の変化 (Glu)  
異なるアルファベット間で  $p < 0.01$  で有意差あり n=4

#### 4)-3 微生物の影響の検討

##### 4)-3-1 油中熟成による酵素活性と遊離アミノ酸の変化

酵素および aminopeptidase C は 60 日間の熟成期間中、常に働いていることが明らかとなった。熟成におけるアミノ酸の増加は、熟成中に作用する酵素の働きにより、タンパク質からペプチド、アミノ酸へと生成され、牛肉内に蓄積されるためと考えられる。そこで、好気性微生物の影響を除去した場合の酵素活性を検討するため、油中における熟成による酵素活性を検討した。

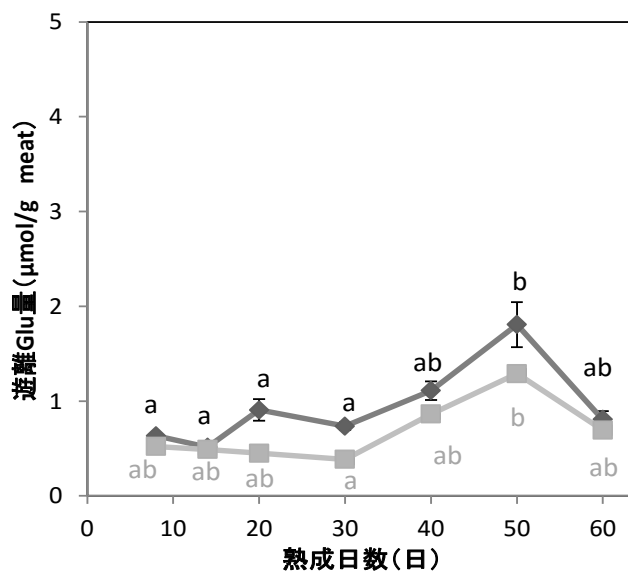


Fig. 27 熟成における遊離 Glu 量の変化

◆ BMSNo. 5      ■ BMSNo. 7

異なるアルファベット間で  $p < 0.01$  で有意差あり



油中熟成における遊離グルタミン酸の変化を Fig. 27 に示した。油中熟成においても長期熟成によりグルタミン酸量が増加することが明らかとなった。

そこで、酵素活性についても検討を行い、Leu-NA に対する活性を Fig. 28 に、Glu-NA に対する活性を Fig. 29 に示した。いずれも 20 日目の肉をピークに一旦上昇する精製した酵素活性と同様の傾向を示した。

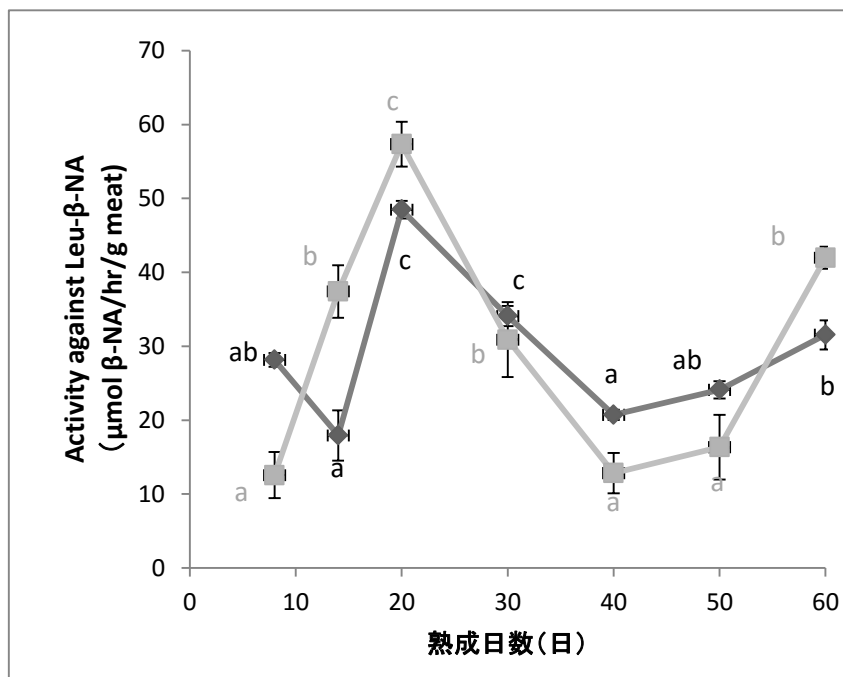


Fig. 28 油中熟成に伴う Leu-β-NA 分解活性の変化

◆ BMSNo. 5      ■ BMSNo. 7

異なるアルファベット間で  $p < 0.01$  で有意差あり

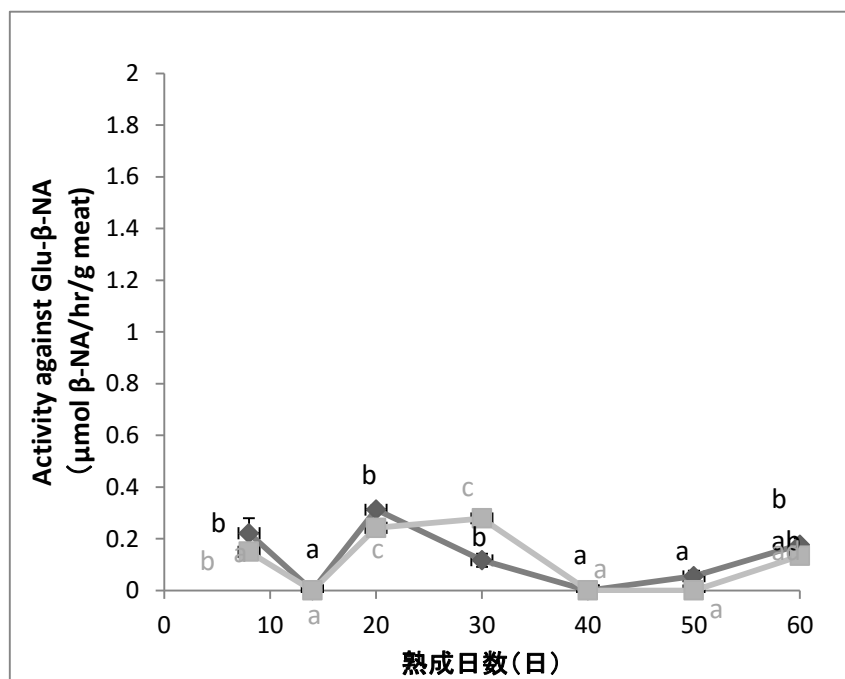


Fig. 29 油中熟成に伴う Glu-β-NA 分解活性の変化

◆ BMSNo. 5    ■ BMSNo. 7

異なるアルファベット間で  $p < 0.01$  で有意差あり

#### 4)-3-2 微生物測定

上記 aminopeptidase 活性のピークは異なるが、油中熟成を行った実験でも熟成早期での活性の上昇、中期での低下、後期での再上昇を観測した。これにより、牛肉の長期熟成における酵素活性の変化は、好気性微生物による作用ではない可能性が示唆された。さらに、熟成肉汁中の微生物測定を行った。

以下に、去勢 (A3)、去勢 (A5) 牛肉の熟成に伴う酵母の数を測定した結果を示す。

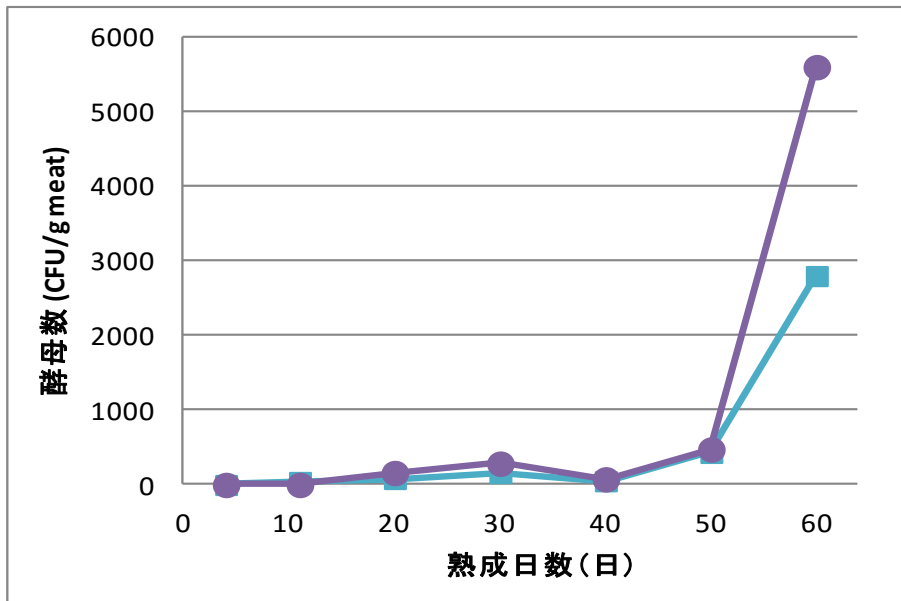


Fig. 30 熟成に伴う酵母数の変化

■ 去勢 (A3) ● 去勢 (A5)

等級に関わらず、どちらも同様の傾向を示し、熟成に伴い増加した。特に熟成 60 日目の肉で大幅に増加しており、酵母が長期熟成による肉の食味向上に寄与する可能性が示唆された。瀬島らは、2011 年に熟成専用冷蔵庫内には、肉の熟成を促す酵母菌が自然発生していると述べているが、熟成に伴う牛肉の食味変化の原因が酵母であるとする先行研究はない。また、増加しているとはいえ、微生物発生の数としては少ないといえる。

一般生菌、かび、酵母、すべてにおいて、去勢 (A3) よりも去勢 (A5) の方が多く測定された。前述<sup>14)</sup>した *Brochothrix thermosphacta* など、好気下で脂肪に作用する微生物が、脂肪含量の多い去勢 (A5) に多く生育した可能性が推察され、脂肪含量の違いが微生物の生育に影響を与える可能性が示唆されるが、このことについては今後更なる検討が必要である。

本実験において、一般生菌は熟成 30 日目までは、かびは去勢 (A5) のみであるが、熟成 20 日目まで、酵母は熟成 40 日目以降と比較して小さな変化ではあるが 30 日目まで増加した。熟成 40 日目の肉は、一般生菌、かび、酵母、すべてにおいて減少しており、原料肉内で何らかの変化が起こっている可能性が示唆された。

熟成 50 日以降の肉での微生物の変化は傾向が 2 つに分かれ、一般生菌、およびかびは熟成 60 日目の肉で減少したが、酵母は熟成 60 日目の肉で大幅に増加した。一般生菌数と酵母数の関係、およびかび数と酵母数の関係を Fig. 31、Fig. 32 に示した。乾燥塩漬けハムは、内因性及び微生物酵素によるタンパク質分解及び脂質分解がフレーバーの発生に決定的な役割を持つとされ、かびが水分活性を下げ、その後酵母が作用する相互作用が熟成に寄与していると報告されている<sup>104)</sup>。本実験においても、かびが増加した後に酵母が増加していることから、同様にかびが水分活性を下げ、その影響により酵母が増加したことが考察できる。また、一般生菌もかびと同様の傾向を示していることから、酵母の増加に何らかの影響を与えている可能性が示唆される。これらのことについて、今後更なる検討が必要である。

本実験において、かび、および酵母は、一般的に測定される数よりも少なかった。これは肉の内部を測定に使用したためと推察される。かびや酵母は好気性のものが多く、測定されたかびや酵母は肉表面に生育していたものが付着したものと推察できる。肉内部で測定された微生物数と表面に生育している微生物数に関連はあると考えられるが、今後は肉表面で測定を行い、より詳しくかびや酵母が熟成に与える影響について検討する必要があると示唆された。

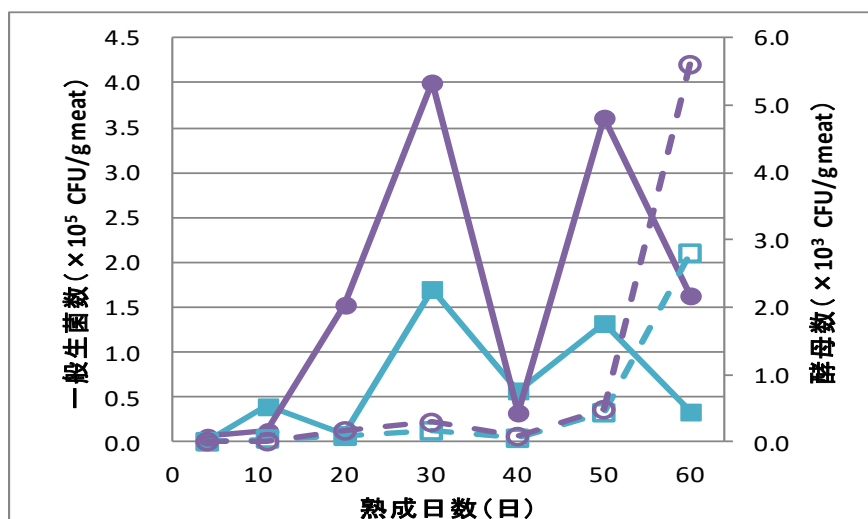


Fig. 31 一般生菌数と酵母数の関係

一般生菌 / ■ 去勢 (A3)      ● 去勢 (A5)  
 酵母 / □ 去勢 (A3)      ○ 去勢 (A5)

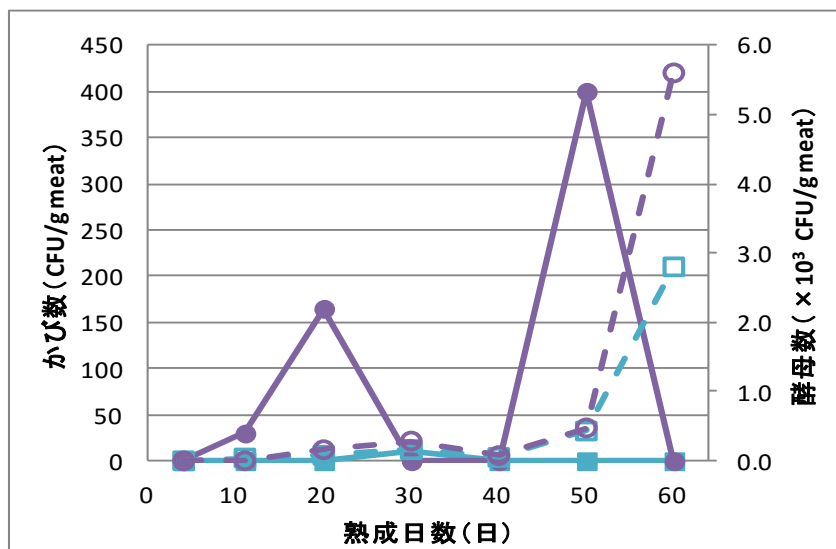
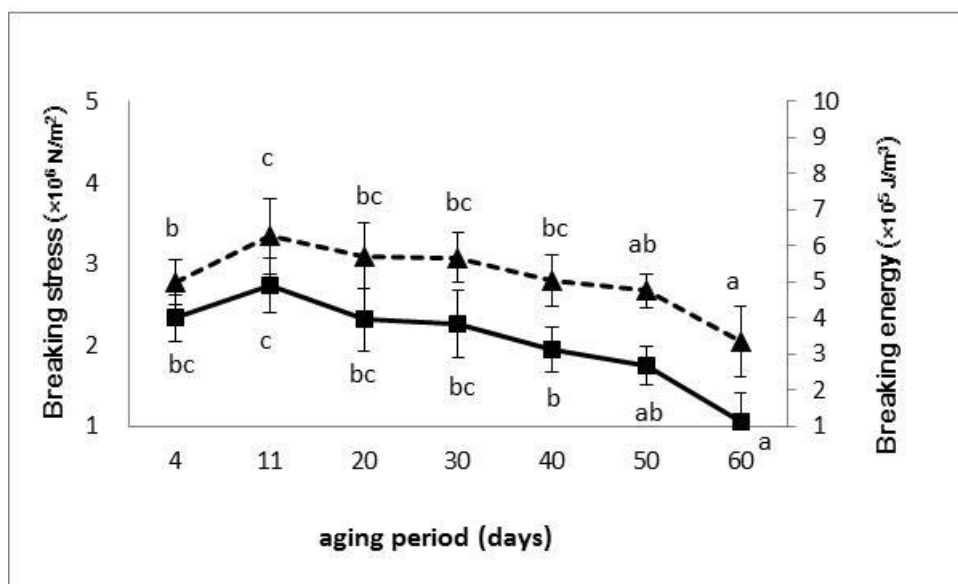


Fig. 32 かび数と酵母数の関係

かび／■去勢（A3） ●去勢（A5）  
 酵母／□去勢（A3） ○去勢（A5）

### (5) 破断特性値

と畜後 60 日間熟成した霜降り和牛肉の硬さの変化を測定するため、破断測定を行い、Fig. 33 に破断応力（ Breaking stress ;Bs ）と破断エネルギー（ breaking energy ;Be ）を算出した結果を示す。破断応力（ Bs ）ははじめの一噛みのかたさとして感じる感覚である。一方、破断エネルギー（ Be ）は牛肉を噛んでいる間の噛む力のエネルギーに相当する。牛肉は Bs と Be が小さい方がやわらかいと感じる。霜降り和牛の熟成中の Bs と Be はと畜後 30 日間ほとんど変化がみられなかった。その後、と畜 40 日目を過ぎると徐々に減少した。これらの結果から霜降り和牛のやわらかさは熟成 30 日目まではほとんど変化せず、その後少しずつやわらかくなった。40 日目以降は、Bs と Be は有意に低くなることが示された。



**Fig. 33 Breaking stress and energy during dry aging of highly marbled beef**



Used a toothed-profile-type plunger, the head speed was 1 cm/min and the pressing load was 200 N.

Values with different letters differ significantly;  $p < 0.05$ .

Bar in the figure indicates standard deviations.

Measurement was performed four times on five samples derived from five Tajima Japanese black cattle.

## (6) 官能評価特性

熟成期間による食味特性の変化を検討するため、と畜 4 日目の肉を基準とし、11 日、20 日、40 日、50 日、60 日目の肉との 2 点比較で評価を行った。項目は、「やわらかさ」「多汁性」「風味」「うま味の強さ」を用いた。

**Table 8 Changes in sensory evaluation value highly marbled beef during conditioning for 60 days with dry aging**

	4 days		11 days		20 days		30 days		40 days		50 days		60 days		F value	P value
	SE		SE		SE		SE		SE		SE		SE			
Tenderness	4.5	-	4.85	0.26	4.39	0.18	4.81	0.17	4.86	0.32	5.21	0.35	5.16	0.25	2.107	0.054
Juiciness	4.5 <sup>b</sup>	-	4.57 <sup>bc</sup>	0.23	3.78 <sup>ab</sup>	0.17	4.98 <sup>bc</sup>	0.20	4.09 <sup>b</sup>	0.22	4.81 <sup>bc</sup>	0.28	4.84 <sup>bc</sup>	0.29	5.037	0.000
Flavour	4.5 <sup>a</sup>	-	4.77 <sup>ab</sup>	0.19	4.46 <sup>ab</sup>	0.19	5.26 <sup>bc</sup>	0.20	5.26 <sup>ab</sup>	0.30	5.06 <sup>ab</sup>	0.34	4.79 <sup>ab</sup>	0.24	2.851	0.011
Umami intensity	4.5 <sup>a</sup>	-	4.81 <sup>ab</sup>	0.23	4.33 <sup>a</sup>	0.17	5.29 <sup>b</sup>	0.18	5.44 <sup>b</sup>	0.29	4.86 <sup>ab</sup>	0.28	4.90 <sup>ab</sup>	0.20	4.488	0.000

Values with different letters differ significantly;  $p < 0.05$

Sensory evaluation was performed nine panelists on five samples derived from five Tajima Japanese black cattle.

The score of 1: very tough, very dry, with very weak flavor intensity and umami intensity.

The score of 8: very tender, very juicy, with very strong flavor intensity and umami intensity.

霜降り和牛の「やわらかさ」の評価は熟成 40 日目の肉まではあまり変化がみられず、その後徐々に評価が高くなった。この結果は、破断測定値の結果と一致した。「多汁性」は、20 日目の肉を除いて変化がなかった。熟成 20 日目の肉の「多汁性」が有意に低かったことは、20 日目の肉の水分含量が低かったことによると考えられた。「風味の強さ」と「うま味の強さ」は、ほとんど同じ結果であった。その双方とも、熟成 30 日と 40 日目の肉が他の熟成肉に比較し高く、その後 50 日、60 日間熟成することにより減少した。40 日目の肉の「うま味の強さ」が高値を示したことは、Glu と IMP 含量から計算したうま味強度値が 20 日目や 50 日目と比較し高かったことと相関していた。

「やわらかさ」「多汁性」「風味の強さ」「うま味の強さ」が示す官能評価結果から、霜降り和牛の最適熟成期間は 40 日間であることが初めて明らかとなっ

た。

#### 4, 考察

近年、霜降り和牛肉は徐々に海外でも受け入れられつつある。霜降り和牛肉はその軟らかさ、多汁性、うま味を含んだ牛肉の良い風味により嗜好性の高い食品の一つである。しかし、霜降り和牛肉における長期熟成に関する研究は少ない。そこで、本研究ではと畜後 60 日間長期熟成 (dry aging) された霜降り和牛肉の肉質の変化について調べた。本研究における結果は、赤身牛肉の熟成変化とは異なる結果となった。赤身牛肉の死後硬直直後は、大変硬いことがよく知られている。死後硬直した肉は、と畜後 3-5 週で熟成により少しずつ軟らかくなる (Cambell ら<sup>46)</sup>、Smith ら<sup>37)</sup>)。この軟化は 熟成中にプロテアーゼによって引き起こされる (Okitani ら<sup>40-44)</sup>) かまたは、 $\text{Ca}^{2+}$  イオン (Hattori ら<sup>24)</sup>) によって引き起こされる。本研究で用いた霜降り和牛肉は、脂肪交雑度が高いため、熟成 30 日目までは、赤身部分の軟らかさの変化は認められず、その後 60 日目までに少しずつ軟らかさの変化が感じられたと推察された。この変化は、官能評価からも破断特性からも示された。霜降り和牛肉の粗脂肪含量は、約 30-40% で、筋原線維中に不均一に分散している。この脂肪の状態が、霜降り和牛をやわらかいものとしている (Ueda ら<sup>71)</sup>)。霜降り和牛は、と畜後の熟成がなくてもやわらかいことを示している。と畜 40 日目以降のさらなる軟化は、プロテアーゼや  $\text{Ca}^{2+}$  イオンの作用による赤身部分の作用によるものであると推察された。

霜降り和牛の熟成中の多汁性の変化は、赤身牛肉の結果とは異なった。本研究では、霜降り和牛の官能評価における多汁性は 20 日目の肉を除いて変化がなかった。一方、赤身牛肉の多汁性は dry aging 16-21 日目がと畜数日に比較しより高かった (Cambell ら<sup>46)</sup>) と報告されている。この多汁性の結果の違いは、粗脂肪含量と霜降り度合いによるものと考えられる。霜降り和牛の粗脂肪含量中の脂肪酸組成で顕著に多いものは、オレイン酸 である (Inoue ら<sup>70)</sup>)。霜降り和牛におけるオレイン酸含量比率は 50% を超えることがあり、その脂肪融点は約 20 °C である。霜降り和牛の低い脂肪融点は、多汁性をもたらすと考えら



れる。それゆえに、高粗脂肪含量の霜降り和牛は保存に影響しないこと、また 60 日間熟成した霜降り和牛中の多汁性の変化が少なかったと推定された。

60 日間熟成した霜降り和牛の官能評価と Glu と IMP から計算したうま味強度については、40 日が最も高い値であった。このうま味強度の高い値は、Glu と IMP などのうま味成分間の相乗効果によるものと推察された。霜降り和牛中のほとんどの遊離アミノ酸含量が、と畜 20 日以内にわずかに増加したが、その後 30 日以降、多くのアミノ酸が急激に増加した。遊離アミノ酸含量が増加したことは熟成中に aminopeptidase C と H が作用したことによるものと思われる。本実験では、60 日間熟成中の霜降り和牛の両活性が検出された。両酵素における 50 日以降の活性の増加については予期されなかったところである。両酵素の作用機序は 解決すべき課題であろう。赤身肉について、同様の変化が Parrish ら<sup>106)</sup>、Smith ら<sup>37)</sup>により報告されている。Nishimura ら<sup>8)</sup>は、11 日間熟成されたホルスタイン牛肉で熟成による遊離アミノ酸の増加はそれほど多くなかったことを報告している。三上ら<sup>107)</sup>は、21 日間熟成したホルスタイン牛肉における遊離アミノ酸含量は増加したと報告している。柳原ら<sup>48)</sup>も、64 日熟成したホルスタイン牛肉中の遊離アミノ酸含量が次第に増加したことを示している。

本研究結果から、風味の強さの変化はうま味の強さの変化と一致した。官能評価におけるやわらかさ、多汁性、うま味と風味の強さの結果からは、熟成期間は 30-40 日がのぞましいことが示された。山口<sup>100, 102, 105)</sup>や Nishimura ら<sup>108)</sup>によれば、うま味成分は flavor enhancer としての役割が大きいと述べている。うま味の強さと風味の強さは香気成分の同定と関わりが深いと考えられるが、今後の課題である。

## 5, 結論

黒毛和牛（但馬牛）の 60 日間の長期熟成による肉質変化を探るため、A3-A5 の雄雌 5 頭（粗脂肪含量平均 40%）を対象に官能評価および理化学測定を行った。と畜 4 日目から 60 日目までの一般成分（水分、粗脂肪含量）の熟成による変化は、20 日目の肉の水分含量が減少したこと以外はわずかな変動であった。

軟らかさにおいては、破断測定により破断応力・破断エネルギーともに 30 日目の肉までは変化がなく、その後、熟成 60 日目の肉にかけて低値となり、官能評価の「やわらかさ」と同傾向を示した。官能評価の「多汁性」は、20 日目の肉を除き変化がみられなかった。20 日目の肉の低値は、水分含量の減少と考えられた。

また、官能評価の「風味」「うま味の強さ」は同傾向を示し、30 日、40 日目の肉で高値を示した。うま味成分含量は、熟成により減少し、グルタミン酸を含むほとんどの遊離アミノ酸量は熟成に伴い増加した。グルタミン酸量の増加に寄与する aminopeptidase C 活性はわずかであるが、失活せずに残存しており、その結果、遊離アミノ酸が増加しつづけていたという機序が示唆された。5'-IMP とグルタミン酸含量から計算されたうま味強度も、40 日目の肉で高値を示し、官能評価のうま味強度と一致した。

以上の結果から、黒毛和種の長期熟成は風味・うま味の増強を考慮し、40 日間がもっとも効果的な熟成であることが示された。

## 6, 要約

霜降り和牛のと畜60 日間熟成による肉質の変化を分析し、赤身肉と異なる肉質の変化を示した。霜降り牛肉のやわらかさは、熟成40 日目まではほとんど変わらず、その後徐々に60 日目にむけて軟化した。やわらかさの増加は、官能評価と破断特性の結果と一致した。官能評価による霜降り牛肉の多汁性は20 日目の肉を除いて60 日間変化がみられなかった。官能評価およびGlu量と5'-IMP量から計算されたうま味強度は熟成40 日目の肉で最も高値であった。この高いうま味強度は、うま味成分であるGluと 5'-IMPの相乗効果によるものと推察された。やわらかさ、多汁性、うま味強度および風味の強さの結果から、霜降り和牛の最も適切な熟成期間は 40 日間であると推察された。

## 最終章 総括

本研究では、牛肉の食肉に影響を及ぼす要因として、加熱方法、脂肪含量並びに長期熟成を検討した。

その結果、第 1 章では、赤身肉が主体となるホルスタイン種ロース肉では、グリル並びにローストによる調理方法が食味性を最適にすることが明らかとなった。加熱で影響を受ける因子として、テクスチャーが浮き彫りとなった。テクスチャーには食肉自体のもつ粗脂肪含量や脂肪酸組成、と畜後の熟成度合いが関与し、また同じ肉であっても加熱方法によって多汁性が変化した。この変化が、食味性に大きな影響を与えることが明らかとなった。

しかし、品種の異なる黒毛和牛の肉では、筋肉間に霜降り状に散らばる粗脂肪含量（マーブリング）が多くかつ、海外の牛肉に比較しオレイン酸が多いため軟らかくて、融点が高い融点が高いことはよく知られている。この霜降り牛肉はと畜時からすでにやわらかく、多汁性に富むため、本来赤身牛肉に必要な熟成における改良点の最重要課題である筋肉の軟化には貢献していないようであるが、風味を改善するうえでは、不可欠な要素であることが確認された。そして、うま味強度の高く、風味の良い焼成加熱調理が好まれることが明らかとなった。

第 2 章では、牛肉の脂肪含量が食味性に及ぼす影響を検討した結果、脂肪含量として約 36%が最もうま味強度が高く、食味性が最適になることを明らかにすることができた。それ以上に粗脂肪含量が多くなると、赤身の割合が減少し、うま味成分濃度が相対的に減少するため、やわらかいだけになってしまい、牛肉の食味性が低下することが明らかとなった。さらに、多汁性の中の水分と油脂の割合が 35% 辺りに交点があり、それ以上の粗脂肪含量の牛肉は脂っこいと感じることも示された。現在、国内では、脂肪交雑の高ければ高いほど、評価の高い格付け制度があるが、これを見直すことが必要かもしれないと思われた。多すぎる脂肪交雑牛は好ましいとはいえなかった。

第 3 章では、長期熟成（dry aging）が、食味性に及ぼす影響を検討した。黒毛和牛肉では、脂肪交雑が高い場合、と畜直後の肉でも軟らかいため、熟成を必要としないと思われるかもしれない。しかし、熟成は、黒毛和牛肉の場合に

も風味改善には不可欠であることを示した。また、うま味強度を考慮すると 30－40 日であることを初めて明らかにすることができた。食肉のうま味強度は、食肉の口中香の感じ方を強くし、風味の広がりにも貢献することが明らかにされている。食肉では、異なるうま味成分が 2 種以上存在することにより相乗効果によりうま味強度は増強される。どちらか 1 種のみでは増強されないうま味強度の発現には、核酸および遊離グルタミン酸含量のバランスがとくに重要である。なぜバランスが重要であるかといえば、核酸は ATP の分解で生じるが、長時間熟成すると IMP 量が減少する。一方、遊離グルタミン酸量は、熟成や調理課程で酵素が働く時間が必要で、長時間になるほど増加する。すなわち、新鮮なほど IMP 量が多く、長時間熟成するほどグルタミン酸量は増えることから、それぞれの存在量によって決定される「うま味の相乗効果」によるうま味強度の最も強くなる時期が長期熟成による黒毛和牛肉の食味性を最高にすることが期待される。そのようなことから、長期熟成による両うま味物質の変化は、食味性を決定するうえで極めて重要であることを示すことができた。

これらの結果を総合すると、最も食味性の良い牛肉を提供するためには、テクスチャーと味・風味のすべてを網羅した理想的な牛肉であり、粗脂肪含量が 36%程度の適度な脂肪交雑を有する黒毛和牛肉で、かつ 40 日程度の適度な熟成をへた後、調理損失が少なく、香ばしい香りの付与する焼成調理法で加熱されたものであると結論された。わが国の牛肉は脂肪交雑量が増加するほど良い格付けの指標となり、近年は高オレイン酸含量が良い格付けの指標に加わっているが、多すぎる脂肪交雑は一考の余地があることが明らかとなった。

本論文で得られた結果は、日本が有する黒毛和牛肉の特徴を明らかにしたものである。また、その肉の特徴を活かした調理や熟成をすることで最高の食味性を有する食肉を提供できることを示したといえる。これらの知見を有効に利用すれば、国産牛肉の食材としての価値を高め、他国の牛肉に追随をみないわが国の誇る主要な畜産物輸出品目としての地位を確立するとともに今後めざすべき育種や飼養条件を示唆しうることもできたことから、日本の畜産業の発展にも少なからず貢献できたと確信している。

牛肉の食味性に影響を及ぼす要因に関する研究  
(Factors involved in beef palatability)

飯田文子

わが国の肉用牛には、3種の区分があり、肉専用種（和牛）、乳用種（国産若牛）、交雑種（F1）とされる。「肉専用種」は牛肉を生産する目的で飼養されているもの、「乳用種」は酪農経営の副産物である雄牛を肉向けに肥育したもの、「交雑種」は乳用牛の雌に肉専用種の雄を掛け合わせ、肉質の向上を図ったものである。いずれも6ヶ月から12ヶ月齢から濃厚飼料を給与され、平均20ヶ月から30ヶ月まで肥育されと畜される。中でも、黒毛和牛は筋肉内に脂肪が蓄積するマーブリングの割合が高く、海外の肉用牛に比較し、軟らかくて、嗜好性が高いという特徴を有している。しかし、近年わが国の畜産農家を取り巻く状況は深刻で、牛肉飼養戸数は平成26年に6.2%の減少、飼養頭数も2.8%減少があり、今後環太平洋戦略的経済連携協定 Trans-Pacific Strategic Economic Partnership Agreement (TPP)の導入によりますます苦境に立たされる農家も少なくないと考えられる。今後のTPPによる輸入牛肉の増加において、国産牛肉の消費を維持するためには、国産牛肉の特徴を理解すると同時に、それを活かした保存方法並びに調理方法を明らかにすることが課題である。

これまでも、牛肉の食味性に影響を及ぼす要因に関する多くの研究がなされてきているが、動物個体の肉質に大きく影響する筋肉内脂肪要因、と畜後の熟成と加工要因と食味との関連性は未だ詳細に報告されていない。

そこで、本論文では、牛肉の食味性に及ぼす要因として、加熱方法、牛肉の脂肪含量並びに長期熟成処理を取り上げ、それぞれの要因が食味性に及ぼす影響を分析型官能評価で評価すると同時に、評価項目に関連する物理的・化学的因子を測定し、官能評価結果との相関性を考察した。

## 第1章 加熱方法が牛肉の食味性に及ぼす影響

加熱調理方法の選定については、肉食の歴史が長く多様な調理方法をもつアメリカの汎用性の高い”The complete meat cook book”を参考にした。具体的には、乾熱長時間焼成（ロースト）と近年日本でも主流となっている乾熱短時間焼成（グリル）、一方日本におけるすきやき、しゃぶしゃぶやヨーロッパに伝統的な湿熱加熱（煮熟）、大量調理によく使われる新調理システムとして低温長時間調理（真空低温調理）、さらに家庭での簡便調理（電子レンジ）の5つの方法を用いた。

まず、調理方法の異なる牛肉の食味性を官能評価した。同じ試料を用いて、加熱前後のクッキングロス、粗脂肪含量および水分含量、破断特性、調理後の肉中に含まれるうま味物質（イノシン酸とグルタミン酸）の含量を測定し、官能評価結果と比較した。

その結果、グリル調理とロースト調理ではクッキングロスが少なく、また残存脂肪量が多いため、多汁性が高く、官能評価値が高い値を示した。煮熟調理は全ての評価で中くらいの値であった。真空低温調理はやわらかく、うま味強度が高かったが、香りで評価値が低かった。電子レンジ調理は短時間でよく使用されるがその他の調理に比較し評価値が低かった。また、グリル及びロースト調理による肉では、機器測定においても、軟らかく、かつうま味物質の損失も少ないことが明らかとなった。

これらの実験により、赤身肉の加熱では、グリル及びロースト調理が牛肉加熱時の水分・脂肪の損失を小さくすることが明らかとなり、牛肉の最適加熱条件の指標になりうることが判明した。

## 第2章 脂肪含量が牛肉の食味性に及ぼす影響

牛肉の中でも、黒毛和牛の肉は脂肪含量が高く、食味性に大きな影響を及ぼすことが知られている。特に、粗脂肪含量の増加はテクスチャーを改善するものと考えられる。現在と畜される牛肉の粗脂肪含量では50%を超える脂肪量の

ものまで生産されているが、食味性からみた霜降り和牛肉の脂肪の適切な量は、十分に検討されていない。そこで、本章では、脂肪含量が牛肉の食味性に及ぼす影響を調べた。調理方法は、牛肉の食味性を活かすことができるグリル調理で行った。

実験では、飼育条件および種雄牛を計画的に管理した黒毛和牛の試験牛、格付け等級 2-5（粗脂肪含量 24～49%）の 34 頭及び、等級 2-5（粗脂肪含量 8～25%）の交雑種 27 頭を用いて、グリル調理した各牛肉の官能評価を行い、理化学成分および物性測定と併せて検討を行った。

その結果、粗脂肪含量の増加は、肉質評価のやわらかさ、多汁性、脂っこさを増加させた。また、脂肪量の増加は水分を大きく減らすと同時に若干のタンパク質量を減らし、うま味成分量を減らした。しかし、水分あたりのタンパク質量およびうま味成分量は一定であった。脂肪はうま味強度と牛肉らしい風味を増強し、総合評価を高めたが、脂肪含量には適量があり粗脂肪含量に対して約 36%が最も食味性が高いことが明らかとなった。また、交雑牛の肉では、粗脂肪含量が 25%以下と少なかったため、脂肪含量の上昇とともに官能評価値が高くなった。

### 第3章 長期熟成が和牛肉の食味性に及ぼす影響

牛肉は、と畜後枝肉で取引されたのち、一般的には、含気包装あるいは真空包装され、冷蔵もしくは冷凍保存された後、消費者に渡っている（Wet aging）。一方、高級店では、一定期間低温、低湿度で熟成する Dry aging 処理をした牛肉もある。特に、高級黒毛和牛である但馬牛の肉の熟成は 60 日間にも及ぶが、その期間中の肉質変化は明らかになっていない。そこで、長期熟成期間中の変化を探るため、但馬牛雄雌あわせて 5 頭について、と畜 4 日から 60 日までの官能評価を行った。同じ試料を用いて、うま味成分分析、破断測定を行った。さらに遊離アミノ酸生成の機序を明らかにするため aminopeptidase 活性の測定も行った。

その結果、和牛肉の官能評価による「やわらかさ」は、熟成期間中、大きな違いは認められなかった。機器による物性測定でも、破断応力・破断エネルギー

一ともに 30 日までは変化が認められなかった。その後、熟成 60 日にかけて低値となったが、官能評価への影響は認められなかった。官能評価の「多汁性」は、20 日を除き変化がみられなかった。20 日の低値は水分含量の減少によると推定された。

官能評価の「風味」と「うま味の強さ」は同傾向を示し、熟成に伴い増強し、30-40 日で高値を示した。肉中のうま味成分含量のうち、イノシン酸は熟成により減少したが、グルタミン酸を含むほとんどの遊離アミノ酸量は熟成に伴い増加した。熟成期間中のグルタミン酸量の増加には、残存するアミノペプチダーゼ C 活性が寄与していると推定された。イノシン酸とグルタミン酸含量から計算されたうま味強度も 40 日で高値を示し、官能評価のうま味強度と一致した。

以上の結果から、黒毛和種の肉のやわらかさは、熟成期間中に変化しないことから、風味を増強させるうま味強度が高い 40 日間が最適な熟成日数であることが明らかとなった。

以上より、牛肉の食味性に影響を及ぼす要因を検討した結果、赤身肉の加熱では、グリル及びロースト調理が牛肉加熱時の水分・脂肪の損失を小さくすることが明らかとなり、牛肉の最適加熱条件の指標になりうる事が判明した。また、脂肪交雑度の高さが特徴である和牛肉では、脂肪含量に適量があり、約 36%のときに最も食味性が高くなる事が明らかとなった。さらに、高度な脂肪交雑を有する黒毛和種の肉では、やわらかさは、と畜直後から高く、熟成期間中に変化しないことから、うま味強度が高い 40 日間が最適な熟成日数であることが明らかとなった。

本論文で得られた知見は、国産牛肉の特徴やそれを活かした保存方法並びに調理方法の解明に少なからず貢献できたと同時に、他国の牛肉に追随をみないわが国の誇る主要な畜産物輸出品目としての地位を確立するための条件を示唆しうることを考える。



## Summary of doctor thesis

### Factors involved in beef palatability

(牛肉の食味性に影響を及ぼす要因に関する研究)

Fumiko Iida (飯田文子)

Beef cattle raised to supply our country's meat has three types of classification, namely meat-only (Japanese black cattle); Holstein (domestic steers); and crossbred (F1). These types are respectively cattle bred only to produce beef; Holstein steers that are a by-product of dairy management and are fattened to produce beef; and cattle from crosses between Japanese black cattle and Holstein bulls. In this thesis my focus is on improving the meat quality of Japanese-produced beef.

All Japanese cattle are fed for 6 months from age 12 months; they are then fattened from an average of age 20 months to 30 months. Therefore, compared with overseas beef cattle raised for meat, Japanese black cattle, especially, are characterized by marbling, in which fat accumulates in the muscles. However, the situation faced by Japan's dairy farmers in recent years is serious; there was a 6.2% decrease in the number of beef cattle bred in 2014 compared with the previous year, with a 2.8% reduction in the number of breeding farms. In future, many cattle farms will be faced with the predicament of needing to comply with the provisions of the Trans-Pacific Strategic Economic Partnership (TPP) Agreement. If the amount of beef imported increases under a future TPP, it will become important to highlight the features of domestic beef from the perspective of methods of preservation and cooking in order to maintain consumption of the local product.

Although there have been many studies of the palatability of beef, the relevance of the intramuscular fat factor, which greatly influences meat quality, as well as aging after slaughter and flavor, has not been reported in detail.

Here, I examine heating method as a factor affecting the palatability of beef.

I look at the fat content and long-term aging treatment of beef. Whereas analytical sensory evaluations have been used previously to determine the influence of each factor on palatability, I measured the physicochemical factors relevant to evaluation criteria. I also discuss the relationship between sensory and instrumental analysis.

## Chapter 1 Influence of Heating Method on Palatability of Beef

*The Complete Meat Cookbook*, one of the most popular cookbooks in the United States, provides information on selecting a heating method. My aim was to clarify the taste and texture characteristics of Holstein loin meat cooked until it reached an internal core temperature of 60 ° by using different methods, namely grilling, roasting, poaching, vacuum-packed low-temperature (VPLT) cooking, and microwaving.

Cooking loss was lowest in grilled or roasted beef, whereas it was highest in microwaved beef. Moisture content after cooking was highest in beef cooked by the VPLT method and low in beef cooked by poaching or microwaving. The fat content that remained after cooking was lowest in beef cooked by the VPLT method. The breaking energy of microwaved beef was the highest. Beef cooked by using the VPLT method contained the highest quantity of total free amino acids. Sensory analysis showed that grilled or roasted beef was judged to possess greater juiciness, a more desirable odor, and greater *umami* intensity. Beef cooked by the VPLT method was tenderer and had greater *umami* intensity but a less desirable odor. Microwaved beef did not receive a high score for any of the above criteria. These results revealed that the differences in sensory properties of cooked beef loin were caused by differences in cooking loss, water content, *umami* compound content, and breaking energy resulting from cooking by different methods.

## Chapter 2 Influence of Fat Content on Palatability of Beef

The meat of Japanese black cattle has a high fat content, and this has a great influence on palatability. Increasing the crude fat content is especially likely to improve texture.

I analyzed the sensory characteristics of meat samples with crude fat contents between 23.8% and 48.6% that were taken from 34 Japanese black steers. I also analyzed samples with crude fat contents of 8% to 25% taken from 27 crossbred cattle. We grilled the meat and subjected it to analytical sensory evaluation. We also measured the amounts of moisture, protein, nucleic acid, and glutamic acid.

An increase in crude fat content increased the tenderness, juiciness, and fattiness in the meat quality evaluation. An increase in crude fat content reduced the crude protein and moisture contents; it also slightly reduced the nucleic acid and glutamic acid contents, although when the reductions in these *umami* components were assessed relative to the moisture content they changed little. Increasing the fat content up to a certain point greatly enhanced the *umami* intensity and beef flavor intensity in the meat quality evaluation and raised the overall evaluation score; the peak appropriate crude fat content for these purposes was about 36%.

### Chapter 3 Influence of Long-term Aging on Palatability of Japanese Black Cattle Beef from Tajima

After slaughter, beef is generally air- or vacuum-packed and refrigerated or preserved by freezing before being passed on to consumers. (These processes are known as wet aging.) However, boutique butchereries are now selling beef kept at low temperature, constant moisture of about 80%, and wind circulation to surface of block meat that has been dry-aged for a fixed period. Although Tajima beef, which is produced from high-quality Japanese black cattle, is aged for 60 days, the meat quality changes during this period

are not clear. My analysis of the quality of highly marbled beef during this 60-day dry-aging period after slaughter showed that the changes in some qualities differed from those of conventional meat.

The tenderness of these meats did not change during aging for 50 days, but thereafter it gradually increased until day 60. The juiciness of these meats, as determined by sensory evaluation, did not change during aging for 60 days, except for a decrease on day 20. The *umami* intensity of these meats in the sensory evaluation, and the calculated glutamic acid and inosine monophosphate quantities, were highest on day 40. This high *umami* intensity was induced by the synergistic effect of *umami* compounds such as glutamic acid and inosine monophosphate.

These results for tenderness, juiciness, *umami* intensity, and flavor intensity suggested that the best duration of dry aging for highly marbled beef was 40 days.

As mentioned above, as a result of examining factors affecting the palatability of beef, in heating lean meat it became clear that grilled and roasted beef were judged to possess greater juiciness, a more desirable odor, and greater *umami* intensity. These findings could form the basis of an index of the optimal heating conditions for beef. Moreover, in highly marbled beef from Japanese black cattle, an increase in crude fat content increased the tenderness, juiciness, and fattiness in the meat quality evaluation. An increase in crude fat content reduced the crude protein and moisture contents; it also slightly reduced the nucleic acid and glutamic acid contents. Increasing the fat content up to a certain point greatly enhanced the *umami* intensity and beef flavor intensity in the meat quality evaluation and raised the overall evaluation score; the peak appropriate crude fat content for these purposes was about 36%. Furthermore, analysis of highly marbled beef aged for between 4 and 60 days showed that the *umami* intensity of these meats in the sensory evaluation, and the calculated glutamic acid and inosine

monophosphate values, were highest on day 40. These results for tenderness of highly marbled meats did not change during aging, and flavor intensity evaluation suggested that the best duration of dry aging for highly marbled beef was 40 days.

## 引用文献

- 1) 公益社団法人日本食肉格付協会 <http://www.jmga.or.jp/>
- 2) Hill F. (1966) The solubility of intramuscular collagen in meat animals of various ages, *J. Food Sci.*, **31** (2), 161-166
- 3) 善林明治 (1993) 去勢肥育牛の枝肉組織生産の純粋種および交雑種間比較、*日本畜産学会報*, **64** (2)、149-155
- 4) 善林明治 (1993) 去勢および雌肥育牛の枝肉組織の成長と分布の比較、*日本畜産学会報*, **64** (3)、260-266
- 5) 善林明治 (1993) 肥育牛の牛肉生産効率に及ぼす純粋種および交雑種と性の影響、*日本畜産学会報*, **64** (3)、267-274
- 6) アルディヤンティアストリッド、平山琢二、阿部剛、庄司則章、小林栄治、千国幸一、鈴木啓一、蘆尚建、加藤和雄 (2009) 黒毛和種牛における枝肉形質、脂肪酸組成、内分泌機能および脂肪合成に関する遺伝子発現量に及ぼす GH 遺伝子多型の影響、*栄養生理研究会報*, **53** (2)、11-18
- 7) 谷口雅章 万年英之 大山憲二 宇津木健司 辻莊一 (2003) ウシ体脂肪の脂肪酸組成に影響する遺伝子要因、*J. Anim. Genet.*, **30** (2), 17-20
- 8) Nishimura, T., Rhue, M.R., Okitani, A., and Kato. H. (1988b) Components contributing to the improvement of meat taste during storage, *Agric. Biol. Chem.*, **52** (9), 2323-2330
- 9) Nishimura T., Okitani A., and Kato H. (1988a) Identification of neutral aminopeptidases responsible for peptidolysis in postmortem rabbit skeletal muscle. *Agric. Biol. Chem.*, **52** (9), 2183-2190
- 10) Nishimura T., Okitani A., Rhue M.R., and Kato H. (1990) Survey of neutral aminopeptidases in bovine, porcine, and chicken skeletal muscles, *Agric. Biol. Chem.*, **54** (11), 2769-2775
- 11) Nishimura T., Kato Y., Okitani A., and Kato H. (1991) Purification and properties of aminopeptidase C from chicken skeletal muscle, *Agric. Biol. Chem.*, **55** (7), 1771-1778

- 12) Nishimura T., Rhue M.R., Kato H., and Soichi A. (1994) Purification and properties of aminopeptidase H from bovine skeletal muscle, *J. Agric. Food Chem.*, **42**, 2709-2712
- 13) Okumura T., Yamada R., and Nishimura T. (2004) Sourness-suppressing peptides in cooked pork loins, *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **68** (8), 1657-1662
- 14) 沖谷明紘 (1993) 牛肉の熟成条件とフレーバーの生成、*日本食品工業学会誌*、**40** (7), 535-541
- 15) Matsuishi M., Fujimori M., and Okitani A. (2001) Wagyu beef aroma in Wagyu (Japanese black cattle) beef preferred by the Japanese over imported beef. *Anim. Sci. J.*, **72** (6), 498-504
- 16) 佐久間弘典、小林栄治 (2011) 黒毛和種の優れた風味とそれをもたらす遺伝子の解明、*におい・かおり環境学会誌*、**42** (4)、1-9
- 17) Okumura J., Yanai T., Yazima I., and Hayashi K. (1990) Volatile products formed from L-cysteine and dihydroxyacetone thermally treated in different solvents, *Agric. Biol. Chem.*, **54** (7), 1631-1638
- 18) Okumura J. (1993) Influence of water content on the formation of volatiles from L-cystein and dihydroxyacetone heated in a glycerine-water system, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **57** (2), 341-342
- 19) 早瀬文孝、高萩康、渡辺寛人 (2013) 調味液の加熱香気成分とコク寄与成分の解析、*日本食品科学工学会誌*、**60** (2), 59-71
- 20) 佐藤雅彦 a・中村豊郎・沼田正寛・橋田ひとみ・本間清一・佐藤朗好・藤巻正生 (1995) 同一条件で飼育した品種の異なる牛肉の香気と呈味成分について、*日本畜産学会報*、**66** (2), 149-159
- 21) 佐藤雅彦 b・中村豊郎・沼田正寛・桑原京子・本間清一・佐藤朗好・藤巻正生 (1995) 牛肉の香気と呈味成分に関する研究—黒毛和種銘柄牛間の成分の相違について、*日本畜産学会報* **66** (3)、274-282
- 22) 植野洋志 (2014) 「減塩食品開発を目指して一天然物由来成分の塩味増強効果を定量的に評価するシステム開発」の経緯とその後、*化学と生物*、**52** (11) 742-748

- 23) Locker, R.H., Daines, G.J., Carse, W.A., and Leet, N.G. (1977) Meat tenderness and the gap filaments, *Meat Sci.*, **1**, 87-104
- 24) Hattori A., and Takahashi, K. (1979) Studies on the post-mortem fragmentation of myofibrils, *J. Biochem.*, **85**, 47-56
- 25) Nishimura T., Liu, A., Hattori A., and Takahashi K. (1998) Changes in mechanical strength of intramuscular connective tissue during postmortem aging of beef, *J. Anim. Sci.*, **76**, 528-532
- 26) Tanabe R., Tatsumi R., and Takahashi K. (1994) Purification and characterization of the 1,200-k Da subfragment of connctin filaments produced by 0.1mM calcium ions, *J. Biochem.*, **115**, 351-355
- 27) Koohmaraie M., Babiker A.L., Merkel R.A., and Dutson T.R. (1988a) Role of Ca<sup>2+</sup>-dependent proteases and lysosomal enyzmes in postmortem changes in bovine skeletal muscle. *J. Food. Sci.*, **53** (5), 1253-1257
- 28) Koohmaraie M., Babiker A.L., Schroeder A.L., Merkel R.A., and Dutson T.R. (1988b) Acceleration of postmortem tenderization in ovine carcasses though activation of Ca<sup>2+</sup>-dependent proteases. *J. Food. Sci.*, **53** (6) 1638-1641
- 29) Koohmaraie, M., and Geesink, G.H. (2006) Contribution of postmortem muscle biochemistry to the delivery of consistent meat quality with particular focus on the calpain system, *Meat Sci.*, **74**, 34-43
- 30) Zeece M.G., Katoh K., Robson R.M., and Parrish Jr F.C. (1986) Effect of Cathepsin D on bovine myofibrils under different conditions of pH and temperature, *J. Food. Sci.*, **51** (3), 769-773
- 31) Matsukura U., Matsumoto T., Tashiro Y., Okitani A., and Kato H. (1984) Morphological changes in myofibrils and glycerinated muscle fibers on treatment with cathepsins D and L, *Int. J. Biochem.*, **16** (9), 957-962
- 32) Mikami M., Yamada Y., Wakahara Y., and Miura H. (1991) Effects of electrical stimulation on the sarcoplasmic proteins, peptide and amino acid contents of beef, *Anim. Sci. Technol.(Jpn.)*, **62** (6), 519-528



- 33) Yu L.P., and Lee Y.B. (1986) Effects of postmortem pH and temperature on bovine muscle structure and meat tenderness, *J. Food. Sci.*, **51** (3), 774-780
- 34) Okitani A., Ichinose N., Koza M., Yamanaka K., Migita K., and Matsuishi M. (2008) AMP and IMP dissociate actomyosin into actin and myosin, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **72** (8), 2005-2011
- 35) Nakamura Y., Migita K., Okitani A., and Matsuishi M. (2012) Enhancing effect of IMP on myosin and actin extraction from porcine meat, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **76** (9), 1611-1615
- 36) Nakamura Y., Migita K., Okitani A., and Matsuishi M. (2013) Mode of IMP and pyrophosphate enhancement of myosin and actin extraction from porcine meat, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **77** (6), 1214-1218
- 37) Smith G.C., Culp G.R., and Carpenter Z.L. (1978) Postmortem aging of beef carcasses, *J. Food. Sci.*, **43** (3), 823-826
- 38) Jones S.D.M., Jeremiah L.E., Tong A.K.W., Lutz S., and Robertson W.M. (1991) The effects of marbling level, electrical stimulation, and post-mortem aging on the cooking and palatability properties of beef rib-eye steaks, *Can. J. Anim. Sci.*, **71**, 1037-1043
- 39) Brewer S., and Novakafski J. (2008) Consumer sensory evaluations of aging effects on beef quality, *J. Food. Sci.*, **73** (1), 78-82
- 40) Okitani A., and Fujimaki M. (1968a) The changes of “Myosin B” during storage of rabbit muscle part V. Denaturation of F-actin solution, *Agric. Biol. Chem.*, **32** (2), 178-184
- 41) Okitani A., Nakamura T., and Fujimaki M. (1968b) The changes of “Myosin B” during storage of rabbit muscle part VI. Effect of Ca-chelation agent on ATPase activity of intact and trypsin-treated “Myosin B”, *Agric. Biol. Chem.*, **32** (6), 683-688
- 42) Okitani A., Otsuka Y., Sugitani M., and Fujimaki M. (1974) Some properties of neutral proteolytic system in rabbit skeletal muscle, *Agric. Biol. Chem.*, **38** (3), 573-579

- 43) Okitani A., Matsukura U., Kato H., and Fujimaki M. (1980)  
Purification and some properties of a myofibrillar protein-degrading protease, cathepsin L, from rabbit skeletal muscle, *J. Biochem.*, **87**, 1133-1143
- 44) Okitani A., Matsuishi M., Matumoto T., Kamoshida E., Sato M., Matsukura U., Watanabe M., Kato H., and Fujimaki M. (1988)  
Purification and some properties of cathepsin B from rabbit skeletal muscle, *Eur. J. Biochem.*, **171**, 377-381
- 45) Shimada A., Watanuki M., Tanisawa Y., and Hatae K. (1992) Changes in the taste of beef with aging, *J. Home Econ. Jpn.*, **43** (3), 199-206
- 46) Campbell R.E., Hunt M.C., Levis P., and Chambers IV, E. (2001)  
Dry-aging effects on palatability of beef longissimus muscle, *J. Food Sci.*, **66** (2), 196-199
- 47) Dixon C.L., Woerner D.R., Tokach R.J., Chapman P.L., Engle T.E., Tatum J.D., and Belk K.E. (2012) Quantifying the aging response and nutrient composition for muscle of the beef round, *J. Anim. Sci.*, **90**, 996-1007.
- 48) 柳原一美、矢野幸男、中村豊郎、中井博康、田邊亮一 (1995) 牛肉の長期熟成中における官能評価、物性および化学成分の変化、*日本畜産学会報*, **66** (2)、160-168
- 49) Richardson N., Shepherd R., and Elliman N. (1993) Current attitudes and future influences on meat consumption in the UK, *Appetite*, **21**, 41-51
- 50) Grunert K.G. (1997) What's in a steak? A cross-cultural study on the quality perception of beef, *Food Qual. Pref.*, **8**, 157-174
- 51) Verbeke W., and Vianene J. (1999) Beliefs, attitude and behavior towards fresh meat consumption in Belgium: empirical evidence from a consumer survey, *Food Qual. Pref.*, **10**, 437-445
- 52) Holm L., and Mohl M. (2000) The role of meat in everyday food culture: an analysis of an interview study in Copenhagen, *Appetite*, **34**, 277-283
- 53) Lea E., and Worsley A. (2001) Influences on meat consumption in

Australia, *Appetite*, **36**, 127-136

- 54) Killinger K.M., Calkins C.R., Umberger W.J., Feuz D.M., and Eskridge K.M. (2004) Consumer sensory acceptance and value for beef steaks of similar tenderness, but differing on marbling level, *J. Anim. Sci.*, **82**, 3294-3301
- 55) 山口静子 (2011) 高級霜降り和牛の食味評価、*日本味と匂い学会誌*, **18** (3)、409-412
- 56) 松石昌典、久米淳一、伊藤友巳、高橋道長、荒井正純、永富宏、渡邊佳奈、早瀬文孝、沖谷明紘 (2004) 和牛肉と輸入牛肉の香気成分、*日本畜産学会報*, **75** (3), 409-415
- 57) Yamaguchi S., and Takahashi C. (1984) Hedonic function of monosodium glutamate and four basic taste substance used at various concentration levels in single and complex systems, *Agric. Biol. Chem.*, **48**, 1077-1081
- 58) 佐久間弘典、齋藤薫、曾和拓、浅野早苗、小平貴都子、奥村寿章、山田信一、河村正 (2012) 黒毛和種肥育牛の胸最長筋における官能特性に及ぼす粗脂肪含量と脂肪酸組成の影響について、*日本畜産学会報*, **83** (3)、291-299
- 59) 國枝里美 (2006) 香りのある世界 - 嗅覚と他感覚との相互作用について - 、*日本官能評価学会誌*, **10** (1)、19-24
- 60) Blumer T.N., and Fleming H.P. (1959) A method for the quantitative estimation of marbling in the beef rib eye muscle, *J. Anim. Sci.*, **18**, 959-963
- 61) Blumer T.N., Craig H.B., Pierce E.A., Smart W.W.G. Jr., and Wise M.B. (1962) Nature and variability of marbling deposits in *Longissimus Dorsi* Muscle of beef carcasses, *J. Anim. Sci.*, **21**, 935-942
- 62) Blumer T.N. (1963) Relationship of marbling to the palatability of beef, *J. Anim. Sci.*, **22**, 771-778
- 63) May S.G., Dolezal H.G., Gill D.R., Ray F.K., and Buchanan D.S. (1992) Effects of days fed, carcass grade traits, and subcutaneous fat removal on postmortem muscle characteristics and beef palatability, *J. Anim. Sci.*, **70**,

- 64) Shackelford S.D., Koohmaraie M., and Wheeler T.L. (1994) The efficacy of adding a minimum adjusted fat thickness requirement to the USDA beef quality grading standards for select grade beef, *J. Anim. Sci.*, **72**, 1502-1507
- 65) Platter W.J., Tatum J.D., Belk K.E., Chapman P.L., Scanga J.A., and Smith G.C. (2003) Relationships of consumer sensory ratings, marbling score, and shear force value to consumer acceptance of beef strip loin steaks, *J. Anim. Sci.*, **81**, 2741-2750
- 66) Killinger K.M., Calkins C.R., Umberger W.J., Feuz D.M., and Eskridge K.M. (2004) Consumer sensory acceptance and value for beef steaks of similar tenderness, but differing in marbling level, *J. Anim. Sci.*, **82**, 3294-3301
- 67) 小堤恭平、安藤四郎、池田敏雄、中井博康、千国幸一 (1985) 市場牛肉の格付等級と理化学的特性について、*日本畜産学会報*, **56** (1)、1-6
- 68) 小堤恭平 (1989) 牛肉の品質評価に関する研究、*日本食品工業学会誌*, **36** (10)、857-866
- 69) Cameron P.J., Zembayashi M., Lunt D.K., Mitsunashi T., Mitsumoto M., Ozawa S., and Smith S.B. (1994) Relationship between Japanese beef marbling standard and intramuscular lipid in the *M.longissimus thoracis* of Japanese black and American wagyu cattle, *Meat Sci.*, **38**, 361-364
- 70) 井上慶一、平原さつき、撫年浩、藤田和久、山内健治 (2002) 交雑種肥育牛の胸最長筋の粗脂肪含量および脂肪酸組成に及ぼす種雄牛の影響、*日本畜産学会報*, **73** (3)、381-387
- 71) Ueda Y., Watanabe A., Higuchi M., Shingu H., Kushibiki S., and Shinoda M. (2007) Effect of intramuscular fat deposition on the beef traits of Japanese Black steers (Wagyu), *Anim. Sci. J.*, **78**, 189-194
- 72) 沖田三千代、岩森大、阿久澤さゆり、澤山茂、山口静子、飯田文子 (1999) 牛肉のおいしさの構成要因に関する研究、*日本科学技術連盟*、第 29 回官能評価シンポジウム発表報文集、113-122

- 73) 山口静子 (2011) 高級霜降り和牛の食味評価、*日本味と匂学会誌*, **18** (3)、409-412
- 74) 山口静子、丸山新、常石英作 (2009) 脂肪含量の異なる牛肉のおいしさに及ぼす熟成の影響、*日本味と匂学会誌*, **16** (3)、441-444
- 75) Koizumi S., Kobayashi S., Pan I., Takaku S., Nishino M., and Nagano M., (2000) Study on consumer behavior for meat consumption in Japan (Tokyo, Osaka), *Anim. Sci. J.*, **71** (6), 621-633
- 76) 飯田文子、岩森大、沖田三千代、阿久澤さゆり、澤山茂、山口静子 (1999) 牛肉の好ましい脂肪交雑量の評定、*日本科学技術連盟、第 29 回官能評価シンポジウム発表報文集*、213-220
- 77) Schock D.R., Harrison D.L., and Anderson L.L. (1970) Effect of dry and moist heat treatments on selected beef quality factors, *J. Food. Sci.*, **35**, 195-198
- 78) Batcher O.M., and Deary P.A. (1975) Quality characteristics of broiled and roasted beef steaks, *J. Food.Sci.*, **40**, 745-746
- 79) Morgan J.B., Savell J.W., Hale D.S., Miller R.K., Griffin D.B., Cross H.R., and Shackelford S.D. (1991) National beef tenderness survey, *J. Anim. Sci.*, **69**, 3274-3283
- 80) Goodson K.J., Morgan W.W., Reagan J.O., Gwartney B.L., Courington S.M., Wise J.W., and Savell J.W. (2002) Beef customer satisfaction: Factors affecting consumer evaluations of clod steaks, *J. Anim. Sci.*, **80**, 401-408
- 81) Adhikari K., Keene M.P., Heymann H., and Lorenzen, C.L. (2004) Optimizing beef chuck flavor and texture through cookery methods, *J. Food. Sci.*, **69**, 174-180
- 82) Lorenzen C.L., Davuluri V.K., Adhikari K., and Grün I.U. (2005) Effect of end-point temperature and degree of doneness on sensory and instrumental flavor profile of beefsteaks, *J. Food. Sci.*, **70** (2), S113-118
- 83) Laakkonen E., Wellington G.H., and Sherbon J.N. (1970) Low-temperature, Long-time heating of bovine muscle 1. Changes in

- tenderness, water-binding capacity, pH and amount of water-soluble components, *J. Food.Sci.*, **35** (2), 175-177
- 84) Vaudagna S. R., Sánchez G., Neira M. S., Insani E. M., Picallo A. B., Gallinger M. M., and Lasta J. A. (2002) Sous vide cooked beef muscles: effects of low temperature-long time (LT-LT) treatments on their quality characteristics and storage stability, *Int. J. Food Sci. Technol.*, **37**, 425-441
  - 85) Obuz E., Dikeman M.E., and Loughin T. M. (2003) Effects of cooking method, reheating, holding time, and holding temperature on beef *longissimus lumborum* and *biceps femoris* tenderness, *Meat Sci.*, **65**, 841-851
  - 86) Ko S., Yoo S., Lee S., Cho S., Kim K., and Hwang R. (2011) Effect of long low temperature-short high temperature cooking cycle on physicochemical properties of beef, *Food Sci. Technol. Res.*, **17** (1), 11-16
  - 87) Gunving A., Torngren M. A., Aaslyng M.D., Knochel S., and Christensen M. (2012) Sensory characteristics of meat cooked for prolonged times at low temperature, *Meat Sci.*, **90**, 485-489
  - 88) Fulton L., and Davis C. (1983) Roasting and braising beef roasts in microwave ovens, *J. Am. Diet. Assoc.*, **83**, 560-563
  - 89) Joseph F. Z., and Joycelyn O.N. (1986) The influence of microwave heating on the textural properties of meat and collagen solubilization, *J. Food Process. Preserv.*, **10**, 203-214
  - 90) 官能評価士テキスト(2009) 日本官能評価学会編、p3、建帛社
  - 91) Aidells B., and Kelly D. (1998) The complete meat cook book. Houghton Mifflin company, Boston, Massachusetts. 02116.
  - 92) Ishii K., Tsuchida M., Nishimura T., Okitani A., Nakagawa A., Hatae K., and Shimada A. (1995) Changes in the taste and taste components of beef during heating at a low temperature for a long time, *J. Home Econ. Jpn.*, **46** (3), 229-234
  - 93) Association of Official Analytical Chemists, (AOAC) (1990) Official Methods of Analysis, 15<sup>th</sup> edn. AOAC, Washington, DC, USA.

- 94) Suzuki A., Homma N., Fukuda A., Hirao K., Uryuu T., and Ikeuchi Y.  
(1994) Effect of high pressure treatment on the flavour-related components in meat, *Meat Sci.*, **37**, 369-379
- 95) 田中輝男、斎藤伸生、奥原章、横塚保 (1969)  $\alpha$ -アミノ酸の呈味作用に関する研究 (第2報)  $\alpha$ -アミノ酸のうま味増強作用について (1)、*日本農芸化学会誌*, **43**, 171-176
- 96) Yamaguchi S., Yoshikawa T., Ikeda S., and Ninomiya T. (1971)  
Measurement of the relative taste intensity of some L- $\alpha$ -amino acids and 5'-nucleotides, *J. Food. Sci.*, **36**, 846-849
- 97) 小俣靖 (1986) “美味しさ” と味覚の科学、*日本工業新聞社*, p169
- 98) Iida F., Horie K., and Nishimura T. (2014) Taste and texture characteristics of beef cooked by different methods, *J. Home Econ. Jpn.*, **65** (1), 3-12
- 99) 堀井美那、櫻井由美、神辺佳弘、笠井勝美、浅田勉、小林正和、山田真希夫、林征幸、甫立京子 (2009) 牛脂肪交雑基準(BMS)と筋肉内脂肪含量との関係(1996 から 2004 年)、*日本畜産学会報*, **80** (1)、55-61
- 100) Yamaguchi S. (1998) Basic properties of umami and its effects on food flavor, *Food Rev. Int.*, 139-176
- 101) Hong J.H., Kwon K.Y., and Kim K.O. (2012) Sensory characteristics and consumer acceptability of beef stock containing the glutathione-xylose Maillard reaction product and/or monosodium glutamate, *J. Food. Sci.*, **77**, S233-S239
- 102) Yamaguchi S. (1987) Fundamental properties of umami in human taste sensation, In. Kawamura Y, Kare M (eds), Umami: A basic taste. pp. 48-73. *Marcel Dekker Inc.*, New York and Basel.
- 103) Cover S., Butler O.D., and Cartwright T.C. (1956) The Relationship of fatness in yearling steers to juiciness and tenderness of broiled and braised steaks, *J. Anim. Sci.*, **15**, 464-472
- 104) Cordoba J.J., Nunez F., and Asenseio M.A. (2002) Contribution of the fungal population to the quality of dry-cured ham, *Qual. Meat & Meat*

*Products*, 311-325. ISBN:81-7736-125-2.

- 105) Yamaguchi S. (1967) The synergistic taste effect of monosodium glutamate and disodium 5'-inosinate, *J. Food. Sci.*, **32**, 473-478
- 106) Parrish Jr. F.C., Rust R.E., Popenhagen G.R., and Miner Betty E. (1969) Effect of postmortem aging time and temperature on beef muscle attributes, *J. Anim. Sci.*, **29**, 398-403
- 107) 三上正幸、長尾真理、関川三男、三浦弘之 (1995) 異なる筋肉部位から調製した牛肉ホモジネート保存中におけるペプチド量および遊離アミノ酸量の変化、*日本畜産学会報*, **66** (7)、630-638
- 108) Nishimura T., Goto S., Miura K., Takakura Y., Egusa A., and Wakabayashi H. (2016) Umami compounds enhance the intensity of retronasal sensation of aromas from model chicken soups, *Food Chem.*, **196**, 577-583



## 謝辞

本研究を行うにあたり終始ご懇篤なるご指導とご鞭撻を賜りました日本獣医生命科学大学大学院教授 西村 敏英 先生に深く感謝申し上げます。また、15年の長きにわたり、官能評価のご指導とご鞭撻を賜りました元東京農業大学教授 山口 静子 先生にも深く感謝申し上げます。

さらに本研究の実現にむけてご助言頂きました日本女子大学教授 大越 ひろ 先生、日本獣医生命科学講師 江草 愛 先生に厚く御礼申し上げます。

本研究の審査におきましては、ご多忙の中、論文のお目通しいただき、ご指導いただきました、渋井 達郎 教授、中山 勉 教授、松石 昌典 教授、吉田 充 教授 に深謝申し上げます。

第3章のデータ作成にあたっては、大学院生 宮崎 祐希 さん、露木 理紗子さんのご協力を得ました。お二人に感謝申し上げます。

最後にこのような研究の機会を与えてくださった日本女子大学教授 故グエン・ヴァン・チュエン 教授に心より感謝申し上げます。