

画像解析および理化学分析による紀州和華牛の肉質特性の究明

高田広達¹・松橋珠子²・後藤洋人^{1,3}・宮本泰成¹・亀位徹^{1,4}

¹和歌山県畜産試験場

²近畿大学先端技術総合研究所

Investigation of Kishu-Wakaushi Beef Meat Quality Characteristics Using Image Analysis and Physicochemical Analysis

Hirotatsu Takada¹, Tamako Matsubashi², Hiroto Goto^{1,3}, Yasunari Miyamoto¹ and Toru Kamei^{1,4}

¹*livestock experiment station, Wakayama prefecture*

²*Kindai University Advanced Technology Research Institute*

緒 言

「紀州和華牛」は、多様化する消費者ニーズに対応するため、赤身割合の高い黒毛和種牛肉を生産することを目指し、和歌山県畜産試験場と近畿大学の共同研究により開発された新たな和歌山県産牛肉ブランドである。本ブランドの特徴として、肥育期間中に和歌山県産の食品製造副産物により作製されたビタミンAおよびビタミンEに富むエコフィードを給与すること、ビタミンAコントロールをおこなわないこと、および肉質等級が5等級の牛肉を除外することが挙げられる（紀州和華牛協議会，2024）。これらにより、脂肪交雑を抑えた発育の良い肥育牛の生産が期待される。しかし、このような特徴的なブランドの定義や飼料給与方法によって生産される牛肉の肉質にどのような特徴が付与されるかは明らかでない。そこで本研究では、給与飼料の違いやブランドの定義によって付与される紀州和華牛の枝肉格付成績および肉質特性を、画像解析および理化学分析により調査した。

材料および方法

1 画像解析

1) 供試肉

県畜産試験場にてエコフィードを給与せず、市販の配合飼料のみで肥育した黒毛和種去勢牛7頭の牛肉を比較対照として慣行肥育牛とし、紀州和華牛協議会に参画する同一の会員農場にて、エコフィードを用いて配合飼料の給与量を50%代替して肥育した黒毛和種去勢牛7頭の牛肉を紀州和華牛とした。と畜後、各牛の第6-7胸椎間から尾側1cm程度の厚さのリブローズ部分を購入し、冷蔵保存した。枝肉成績は、(公社)日本食肉格付協会近畿・中・四国支所による格付成績を用いた。慣行肥育牛は同支所の大阪事業所による格付成績を、紀州和華牛は西宮事業所による格付成績を用いた。

2) 標本作製

³現在：和歌山県紀南家畜保健衛生所 ⁴現在：和歌山県農林水産部農業生産局畜産課

リブロースの胸最長筋の中心部から $1.5 \times 1.5 \times 1.0$ cm 程度の大きさに切り出し、10%ホルマリン緩衝液で固定した。固定した胸最長筋の第 6-7 胸椎面をさらに切り出し、組織包埋カセットに収め、常法に従いパラフィン包埋ブロックを作製した。ミクロトームを用いてこれを筋線維に対して垂直に $2-4 \mu\text{m}$ に薄切し、エラスチカ・ワンギーソン染色を施した。

3) 画像解析

染色後の切片の顕微鏡画像を形態が整った第 2 次筋束が鮮明な視野において CCD カメラで撮影し、解析に供した。画像解析には、フリーソフトウェア Fiji (ImageJ) を使用し

(<http://fiji.sc/>)、三浦・塚田 (2016) を参考にしておこなった。Fiji を用いた画像解析の手順として、画像をグレースケール化しスケール設定をおこなった後、2 値化処理および分水嶺処理をおこない、必要な領域を選択し測定をおこなった。具体的な手順としては、撮影した画像を Fiji に読み込み、メニューから「Image」を選択し、続いて「Type」を選び、最後に「8-bit」を選択してグレースケールに変換した。次に、既知の長さのスケールが含まれる画像を読み込み、Fiji のツールバーから「Straight」ツールを選択し、スケールと同じ長さの線を引いた。その後、「Analyze」メニューを選択し、「Measure」を選択すると引いた線のピクセル数が表示された。さらに、「Analyze」メニューから「Set Scale」を選択し、「Distance in pixels」に測定されたピクセル数を、「Known Distance」に既知のスケールの長さをそれぞれ入力し、「Unit of length」に既知のスケールの単位を入力した。このスケール設定は以降の画像にも適用される。

「Process」メニューから「Binary」を選択し、「Make Binary」を選んで画像を 2 値化した。この方法で 2 値化すると Fiji が最適だと考えるアルゴリズムにより 2 値化される。さらに、

「Process」メニューから「Binary」を選択し、「Watershed」で分水嶺処理をおこなった。分水嶺処理により、密着した一次筋線維を分離することができる。その後、第 2 次筋束の断面積、第 2 次筋束内の第 1 次筋束数、第 1 次筋束の断面積、第 1 次筋束内筋線維の数、第 1 次筋束内筋線維の断面積の和を測定した。その際、微小な計測ノイズを除去するため、星野ら (1987) に従い横断面積 $150 \mu\text{m}^2$ 未満の筋線維は計測から除外した。画像解析の流れを図 1 に示した。

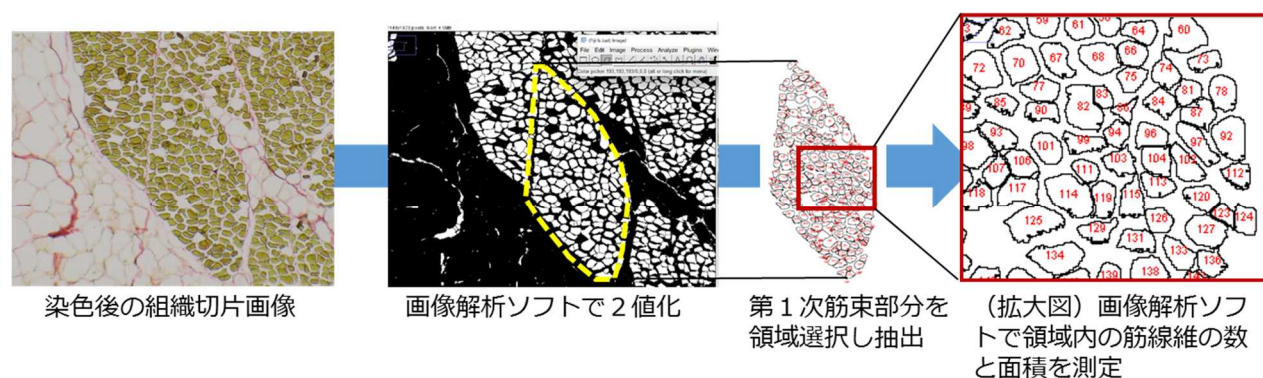


図 1 画像解析の流れ

4) 統計処理

各項目について Student の t 検定により試験区間の平均値の差を検定した。

2 理化学分析

1) 供試肉

画像解析に用いた牛肉とは異なる牛肉を供試した。県畜産試験場にてエコフィードを給与せず、

市販の配合飼料のみで肥育した黒毛和種去勢牛 5 頭を比較対照として慣行肥育牛とし、紀州和華牛協議会に参画する同一の会員農場にてエコフィードを給与して肥育した黒毛和種去勢牛を紀州和華牛とした。紀州和華牛の内、配合飼料の給与量を 30%代替して肥育した 10 頭を 30%区、配合飼料の給与量を 50%代替して肥育した 10 頭を 50%区とした。と畜後、各牛の第 6-7 胸椎間から尾側 1cm 程度の厚さのリブローズ部分を購入し、真空包装後、分析まで -30°C で保管した。枝肉成績は画像解析と同様に慣行肥育牛は(公社)日本食肉格付協会近畿・中・四国支所大阪事業所による格付成績を、紀州和華牛は同支所西宮事業所による格付成績を用いた。

2) 理化学分析

外観評価および、家畜改良センターに準じて各種理化学分析をおこなった(家畜改良センター, 2010)。すなわち分光測色計(KONICAMINOLTA, CM-2500d)を用いてロース肉の色彩値(Lab*表色系, SCI方式)を測定後、胸最長筋部分を切り出し、保水性は遠心法により、水分含量は 135°C 乾燥法により測定した。粗脂肪含量の測定はソックスレー抽出法によりおこない、脂肪融点は水中加温時の上昇融点を測定した。脂肪酸組成はFolch法により脂肪抽出しメチルエステル化した脂肪酸を、DB-WAXカラム(Agilent Technologies, 122-7062)によるガスクロマトグラフィー

(SHIMADZU, GC-2014)で分析した。ビタミンE含量は酢酸エチル・ヘキサンで抽出したトコフェロールをヘキサンに溶解し、SW-C18カラム(Imtakt, SW076)を用いたHPLC(SHIMADZU)で分析した。脂質過酸化値の測定には、チオバルビツール酸反応性物質(TBARS)を指標としたTBARS Assay Kit(Cayman Chemical)を用いた。

3) 統計処理

各項目について一元配置分散分析により試験区間の平均値の差を検定した。各試験区間に有意差を認めた場合、Tukeyの多重比較検定により各試験区間の比較をおこなった。

結 果

1 画像解析

画像解析に供した牛の枝肉格付成績を表1に示した。枝肉重量は慣行肥育牛 426.3kg, 紀州和華牛 492.6kgであり紀州和華牛で大きかった。また、ばらの厚さは慣行肥育牛 7.1cm, 紀州和華牛 8.1cmであり紀州和華牛で厚い結果であった。ロース芯面積、皮下脂肪の厚さ、締まり、きめ、牛脂肪交雑基準ナンバー(BMS. No), 牛肉色基準ナンバー(BCS. No)および牛脂肪色基準ナンバー(BFS. No)では慣行肥育牛と紀州和華牛間で差は認められなかった。画像解析の結果を表2に、画像解析結果の一例を図2にそれぞれ示した。第2次筋束内の第1次筋束数は慣行肥育牛 4.9個, 紀州和華牛 7.0個であり、紀州和華牛で多かった($p<0.05$)。また、第1次筋束内筋線維の断面積の和は慣行肥育牛 $2,124.5\mu\text{m}^2$, 紀州和華牛 $1,285.4\mu\text{m}^2$ であり、紀州和華牛で小さかった

($p<0.05$)。第2次筋束の断面積、第1次筋束の断面積および第1次筋束内の筋線維数では慣行肥育牛と紀州和華牛間で差は認められなかった。

2 理化学分析

理化学分析に供した牛の枝肉格付成績を表3に示した。BFS. Noのみ紀州和華牛が慣行肥育牛に比べて高く、その他の項目では3区間で差が認められなかった。理化学分析の結果を表4に示した。粗脂肪含量は30%区 31.5%で、慣行肥育牛 39.4%に比べて低かった($p<0.05$)。脂肪酸割合についてC18:2(リノール酸)割合と多価不飽和脂肪酸割合は、慣行肥育牛に比べ紀州和華牛で高

表 1 画像解析に供した牛の枝肉成績

項目	慣行肥育牛	紀州和華牛	P 値
出荷月齢 (ヶ月齢)	26.6 ± 0.6	26.8 ± 1.2	
枝肉重量 (kg)	426.3 ± 43.4 ^b	492.6 ± 45.1 ^a	0.016
ロース芯面積 (cm ²)	53.0 ± 7.7	57.9 ± 7.4	
皮下脂肪の厚さ (cm)	2.2 ± 0.4	2.5 ± 0.5	
ばらの厚さ (cm)	7.1 ± 0.5 ^b	8.1 ± 0.5 ^a	0.003
締まり	4.1 ± 0.9	4.1 ± 0.4	
きめ	4.3 ± 0.8	4.6 ± 0.5	
BMS. No	6.6 ± 2.1	6.3 ± 0.8	
BCS. No	4.0 ± 0.0	3.7 ± 0.5	
BFS. No	2.3 ± 0.5	3.3 ± 0.8	

平均値±標準偏差 a-b : p<0.05

表 2 紀州和華牛および慣行肥育牛の画像解析結果

項目	慣行肥育牛	紀州和華牛
第 2 次筋束内の第 1 次筋束数	4.9 ± 1.2 ^b	7.0 ± 1.7 ^a
第 2 次筋束の断面積 (mm ²)	1.4 ± 0.6	2.3 ± 2.1
第 1 次筋束の断面積 (mm ²)	0.3 ± 0.1	0.3 ± 0.2
第 1 次筋束内の筋線維数	93.2 ± 62.5	120.4 ± 74.8
第 1 次筋束内筋線維の断面積の和 (μm ²)	2,124.5 ± 658.4 ^a	1,285.4 ± 297.1 ^b

平均値±標準偏差 a-b : p<0.05

表 3 理化学分析に供した牛の枝肉格付成績

項目	慣行肥育牛	紀州和華牛		P 値
		30%区	50%区	
出荷月齢 (ヶ月齢)	26.5 ± 0.5	26.6 ± 0.9	26.6 ± 0.4	
枝肉重量 (kg)	417.0 ± 39.6	447.0 ± 52.4	456.8 ± 32.1	
ロース芯面積 (cm ²)	50.6 ± 6.6	56.5 ± 6.4	57.5 ± 5.5	
皮下脂肪の厚さ (cm)	2.3 ± 0.3	2.5 ± 0.7	2.2 ± 0.4	
ばらの厚さ (cm)	7.1 ± 0.6	7.3 ± 0.6	7.8 ± 0.5	
締まり	4.0 ± 0.9	3.8 ± 0.4	3.9 ± 0.5	
きめ	4.2 ± 0.7	4.5 ± 0.5	4.5 ± 0.7	
BMS. No	6.2 ± 2.0	5.9 ± 1.1	5.8 ± 1.3	
BCS. No	4.0 ± 0.0	3.8 ± 0.4	3.5 ± 0.7	
BFS. No	2.0 ± 0.0 ^b	3.2 ± 0.6 ^a	3.1 ± 0.3 ^a	0.001

平均値±標準偏差 a-b : p<0.05

く、その他の脂肪酸については3区間で差が認められなかった。脂肪融点は30%区25.5℃で、慣行肥育牛31.4℃に比べて低かった。また、ビタミンE含量は慣行肥育牛に比べ紀州和華牛で高かった。L*a*b*, 保水性, 水分含量, 剪断力価, 水分含量および脂質過酸化値は3区間で差が認められなかった

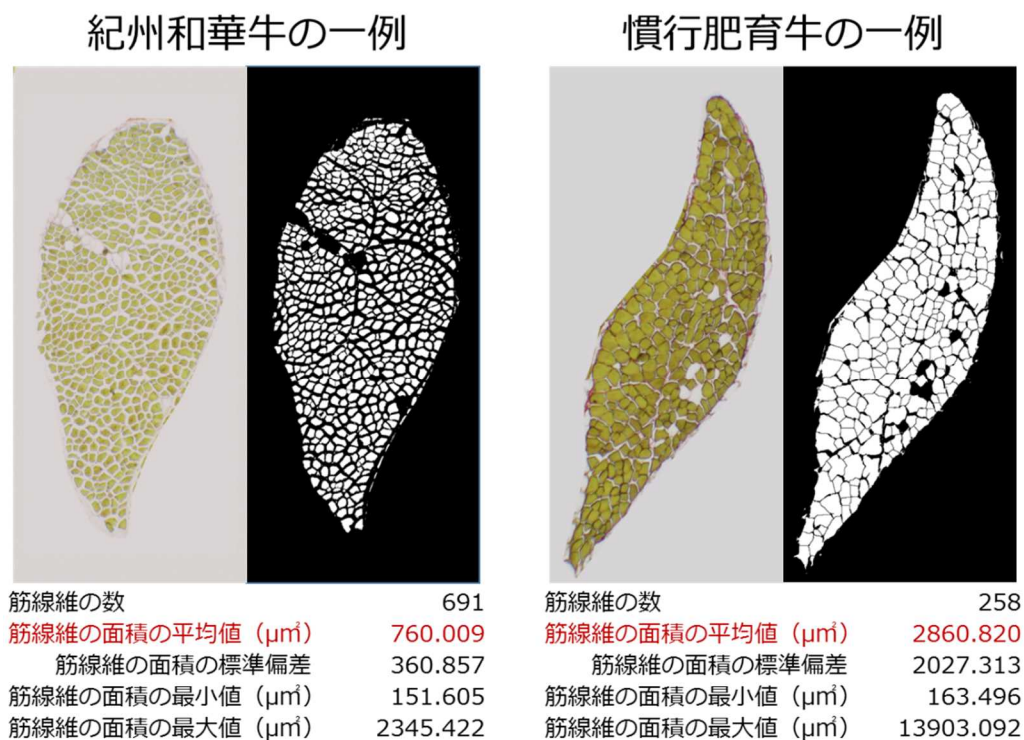


図2 画像解析結果の一例

考 察

枝肉格付成績について、紀州和華牛は慣行肥育牛に比べて枝肉重量、ばらの厚さおよびBFS. Noの成績が高く、その他の項目において成績が低い項目がなかった(表1, 表2)ことから、エコフィード給与が枝肉成績に及ぼす負の影響はなかったと考えられた。さらに、枝肉重量およびばらの厚さの成績が高かった理由として、紀州和華牛では慣行肥育牛でBMS. Noの向上のためにおこなわれているビタミンAコントロールが実施されていないことが挙げられる。中程度のビタミンA欠乏であっても、食欲不振や下痢による増体量の低下が懸念されている(社団法人畜産技術協会, 2005)。

画像解析結果について、入江(2015)は牛肉のきめが遺伝的な影響を受けるだけでなく、飼養管理の影響を受けることを報告している。画像解析に用いた紀州和華牛は、配合飼料給与量の50%をビタミンAおよびビタミンEに富むエコフィードで代替給与しており、特殊な肥育方法を採用している。本研究で実施した画像解析法は、筋線維タイプの分類をおこなわず、単純にその数や面積を計測したものであるものの、紀州和華牛と慣行肥育牛の間で第2次筋束内の第1次筋束数および第1次筋束内筋線維の断面積の和に有意な差が認められた(表3)。第1次筋束内筋線維の断面積の和が紀州和華牛で小さいことから、紀州和華牛の筋肉がより細かい筋線維で構成されていると考えられ、このことは肉質のきめ細かさや柔らかさに影響を与える可能性がある。

表 4 紀州和華牛および慣行肥育牛の理化学分析値

項目		慣行肥育牛	紀州和華牛		P 値
			30%区	50%区	
L*		35.9 ± 1.2	36.6 ± 4.0	36.9 ± 4.6	
a*		19.8 ± 1.0	20.6 ± 2.4	18.5 ± 1.7	
b*		21.9 ± 1.0	21.9 ± 1.3	20.8 ± 1.9	
保水性		79.9 ± 3.0	76.8 ± 2.9	76.4 ± 3.1	
剪断力価	g	1,076 ± 254	1,123 ± 293	1,373 ± 557	
水分含量	%	41.5 ± 6.4	47.3 ± 3.2	45.7 ± 3.7	
粗脂肪含量	%	39.4 ± 8.7 ^a	31.5 ± 3.9 ^b	35.2 ± 4.4 ^{ab}	0.035
脂肪酸組成	%	35.9 ± 1.2	36.6 ± 4.0	36.9 ± 4.6	
	C14:0	3.0 ± 0.1	2.6 ± 0.4	2.9 ± 0.5	
	C16:0	30.0 ± 2.4	27.4 ± 2.4	27.7 ± 1.7	
	C16:1	4.0 ± 0.5	4.4 ± 1.9	4.0 ± 0.7	
	C18:0	12.3 ± 1.2	11.6 ± 1.3	12.1 ± 1.4	
	C18:1	48.6 ± 3.0	50.3 ± 2.8	49.5 ± 2.7	
	C18:2	2.1 ± 0.7 ^b	3.7 ± 0.6 ^a	3.8 ± 2.6 ^a	0.004
	C18:3	0.1 ± 0.1	0.1 ± 0.0	0.1 ± 0.1	
	飽和脂肪酸	45.3 ± 3.5	41.6 ± 3.4	42.7 ± 2.9	
	不飽和脂肪酸	54.7 ± 3.5	58.2 ± 3.4	57.3 ± 2.9	
	多価不飽和脂肪酸	2.2 ± 0.6 ^b	3.7 ± 0.6 ^a	3.8 ± 2.6 ^a	0.004
脂肪融点	°C	31.4 ± 3.5 ^a	25.5 ± 2.5 ^b	27.2 ± 4.5 ^{ab}	0.021
脂質酸化値	μM	3.9 ± 0.9	3.9 ± 0.5	3.6 ± 0.7	
ビタミン E 含量	μg/g	22.0 ± 7.5 ^b	39.4 ± 5.3 ^a	36.1 ± 5.8 ^a	0.001

平均値±標準偏差 a-b : p<0.05

紀州和華牛はビタミン A コントロールをおこなわず、脂肪の少ない牛肉を生産することを目的としている。また、肉質等級 5 等級を除外することから、理化学分析値について慣行肥育牛に比べて脂肪含量が低くなることが期待され、実際に慣行肥育牛と 30%区の間に差が認められた。脂肪融点についても同様に、慣行肥育牛と 30%区の間に差が認められた（表 4）。多価不飽和脂肪酸の融点は、飽和脂肪酸や一価不飽和脂肪酸と比べて低く、紀州和華牛と慣行肥育牛の多価不飽和脂肪酸含量の違いが、脂肪融点に影響を与えたと考えられた。紀州和華牛で多価不飽和脂肪酸が多かったことについては、エコフィードの主要な原料である醤油粕に由来するものと考えられた。また、ビタミン E 含量については、紀州和華牛が慣行肥育牛より高く、ビタミン E に富むエコフィードを給与したことに由来すると考えられる。食肉中のビタミン E 含量の向上は肉色の安定化やドリップロスの低減に役立つことが報告されている（三津本, 1996）。以上のことからエコフィードの使用により牛肉に様々な特徴が付与できていることが示唆されるが、今回一部の理化学分析結果がエコフィードの代替割合によって異なったことについては、今後十分に検討していく必要がある。また、理化学分析値が食味に直接結びつくわけではないため、消費者に好まれる牛肉生産のためには、官

能評価を併せておこなう必要がある。

摘 要

胸最長筋のホルマリン固定薄切標本をエラスチカ・ワンギーソン染色により染色し顕微鏡撮影した画像を用いて、第2次筋束内の第1次筋束数、第2次筋束の断面積、第1次筋束の断面積、第1次筋束内筋線維の断面積、第1次筋束内筋線維の線維数を、画像解析ソフト（Fiji）を用いて測定したところ、紀州和華牛は慣行肥育牛に比べて第2次筋束内の第1次筋束数が多く、筋線維が細いことが明らかになった。理化学分析では、慣行肥育牛に比べ紀州和華牛はリノール酸割合、多価不飽和脂肪酸割合、ビタミンE含量が高かった。また、30%区では慣行肥育牛と比べ、粗脂肪含量が少なく、脂肪融点が低かった。以上の結果から、紀州和華牛は筋線維が細かく、脂肪が少なく、ビタミンE含量が高いことに加えて、脂肪融点が低く口溶けが良い牛肉であることが示唆された。

謝 辞

本研究は和歌山県畜産試験場と近畿大学との共同研究として実施された。牛肉検体の収集や枝肉情報の提供にご協力いただいた紀州和華牛協議会の皆様に感謝の意を表する。

引用文献

- 星野忠彦・新妻澤夫・玉手英夫. 1987. 牛筋組織の構成単位としての筋束の構築. 日畜会報. 58 : 817-826.
- 入江正和. 2015. 新システム画像解析法による食肉物性評価技術の開発. 課題番号 24580392. 科学研究費助成事業研究成果報告書.
- 家畜改良センター. 2010. 食肉の理化学分析及び官能評価マニュアル. pp. 6-54. 家畜改良センター.
- 紀州和華牛協議会. 2024. 紀州和華牛協議会ホームページ. <https://kishu-wakaushi.com/> (アクセス日: 2024年11月27日).
- 三浦耕太・塚田祐期. 2016. ImageJ ではじめる生物画像解析. pp. 16-171. 株式会社学研メディカル秀潤社. 東京
- 三津本充 (1996). ビタミンEとビタミンCによる牛肉品質の改善と保持. 日本畜産学会報. 67: 1110-1126.
- 社団法人畜産技術協会. 2005. ビタミンAのコントロールを用いた効率的肥育技術Q&A Vol. 2. 平成16年度飼養管理新技術確立・普及推進事業報告書.