

高精細枝肉横断面画像を利用した筋肉内脂肪中 モノ不飽和脂肪酸割合の推定に関する研究

Prediction Method of Monounsaturated Fatty Acid in Marbling by Image
Analysis Using High Resolution Digital Image of Beef Meat

口田 圭吾・大石 幸・日高 智・*堀 武司

(帯広畜産大学, *北海道立工業試験場)

Keigo Kuchida, Miyuki Oishi, Satoshi Hidaka and *Takeshi Hori

(Obihiro University of Agriculture and Veterinary Medicine and
*Hokkaido Industrial Research Institute)

MUFA ratio might be one of the indicators of palatability for beef. The aim of this study was to develop the prediction method of MUFA ratio in marbling by image analysis method for Japanese Brown and Holstein. Data were collected from 25 Japanese Brown cattle (19 steers, 6 heifers; 1 investigation day) and 76 Holstein steers (5 investigation days). High-resolution digital images of their carcass cross-sections were taken. Samples for chemical analysis were collected from rib eye surface and actual MUFA ratio was measured by gas chromatography. Marbling area percentage in the rib eye, characteristics of marbling shape (19 traits), rib eye shape (2 traits), color of rib eye (84 traits), and the proportion of subcutaneous and intermuscular fat to the cross section area (2 traits) were calculated by image analysis. The multiple regression analysis was used to predict MUFA ratio from above 108 traits as candidate variables. The average of actual MUFA ratio was 55.32% (50.65 to 62.10) for Japanese Brown and 51.74% (44.06 to 58.24) for Holstein respectively. R^2 of the multiple regression equation for Japanese Brown and Holstein were 0.68 and 0.38 without considering the investigation day. When the five investigation days were included in the multiple regression analysis for Holstein cattle, the R^2 become 0.39 to 0.91. The selected traits were proportion of subcutaneous fat, proportion of intermuscular fat, overall coarseness of marbling, degree of convexo-concave, standard deviations (SD) of green component of lean and SD of green component of marbling. The selected variables were the same between the investigation days. These results indicated that the prediction of MUFA ratio might be possible for Holstein and Japanese Brown cattle by image analysis method.

1. 目 的

食肉の味にはアミノ酸組成、核酸関連物質、脂肪酸組成等が関与しており、牛肉ではその中でも特に脂肪酸組成の中でオレイン酸などのモノ不飽和脂肪酸（以下MUFA）割合が高いとおいしいと

言われている¹⁾。おいしさの観点から牛肉を評価する際には、理化学的手法による脂肪酸組成、アミノ酸組成および脂肪融点の測定などの分析が必要である。しかし、以上の分析方法は時間がかかるうえにコストが高く、流通する牛肉すべてを分析して評価に反映させることは不可能である。お

いしさを牛肉の評価に反映させるためには、安全、低コスト、かつ枝肉を破壊することなく迅速に分析を行う必要がある。現在の傾向として、画像解析によりさまざまな枝肉形質の推定が行われている。小西ら²⁾は、牛胸最長筋の粗脂肪含量を、高橋ら³⁾は小数点以下1桁までの値を持つBCSナンバーの推定を行った。さらに、Kuchidaら⁴⁾は黒毛和種の枝肉横断面画像から、胸最長筋筋肉内脂肪におけるMUFAの推定が可能であることを示唆した。WesterlingとHedrick¹⁾は牛肉脂肪の脂肪酸組成は品種、性、肥育期間、給与飼料の影響を受けることを示している。

本研究の目的は、Kuchidaら⁴⁾が黒毛和種を対象として行った画像解析によるMUFA割合の推定が異なる品種である褐毛和種およびホルスタイン種において、また肥育環境が異なっても応用が可能であるか検証を行うことである。

2. 材料および方法

2.1 画像解析のための材料

2005年11月にと殺された褐毛和種25頭（去勢19頭、雌6頭）および2005年2月から11月の間に4回に分けてと殺されたホルスタイン種76頭（すべて去勢）の高精細枝肉横断面画像を用いた。ホルスタイン種においては、肥育者により5つのロットに分けられており、ロットa～eとした。ただし、ロットeの枝肉は、複数の肥育者により出荷された牛で構成されていた。褐毛和種は肥育者がすべての枝肉で異なったため1ロットとして扱った。

2.2 胸最長筋における筋肉内脂肪の脂肪酸組成の測定

枝肉横断面の撮影時に、スライドグラスで第6-7肋骨間の胸最長筋（以下ロース芯）表面を削り取り、サンプルとした。サンプルはスライドグラスごとにチャック付きのプラスチック製の

袋に入れ、密閉されて保管された。採取したサンプルは、ガスクロマトグラフにより脂肪酸組成が分析された。脂肪酸はミリスチン酸(C14:0)、ミリストレイン酸(C14:1)、パルミチン酸(C16:0)、パルミトレイン酸(C16:1)、ステアリン酸(C18:0)、オレイン酸(C18:1)、リノール酸(C18:2)およびリノレン酸(C18:3)の8種類について同定し、脂肪酸割合を算出した。

2.3 画像解析からのMUFA割合の推定

(1) 画像解析の前処理：撮影された枝肉横断面画像(4,500×3,000画素)から、ロース芯を中心に1,600×1,200画素で切り出した画像を、口田ら⁵⁾が開発した画像解析プログラムを用いて、ロース芯輪郭線を自動的に描画し、それが適切に描画されてない場合は手動により微調整を行い、ロース芯輪郭線を確定した。

(2) 画像解析による脂肪交雑粒子のあらさの数値化：ロース芯を抽出した画像を脂肪と筋肉に2値化し、その値から脂肪面積比を求めた。ロース芯の脂肪交雑粒子のあらさを示すために、全体の粒子のあらさと最大粒子のあらさの2変数を用いた⁶⁾。全体の粒子のあらさはロース芯全体の脂肪のあらさを示すもので、全体粒子のあらさは、かみあぶらなどのような大きな脂肪交雑のあらさを示すものである。

(3) 画像解析によるロース芯形状の数値化：枝肉画像からロース芯形状を数値化するために、口田ら⁷⁾の開発した画像解析ソフトウェアを用い、短径・長径比およびロース芯形状の複雑さを算出した。短径・長径比は、ロース芯形状の横長の程度を示すもので、値が小さいほどロース芯が横長な形状を呈していることを示す。ロース芯形状の複雑さはロース芯の輪郭線の複雑さを示すもので、ロース芯の外周囲長を凸多角形長で除したものである。この値が大きいほどロース芯の形状が複雑になることを示す。

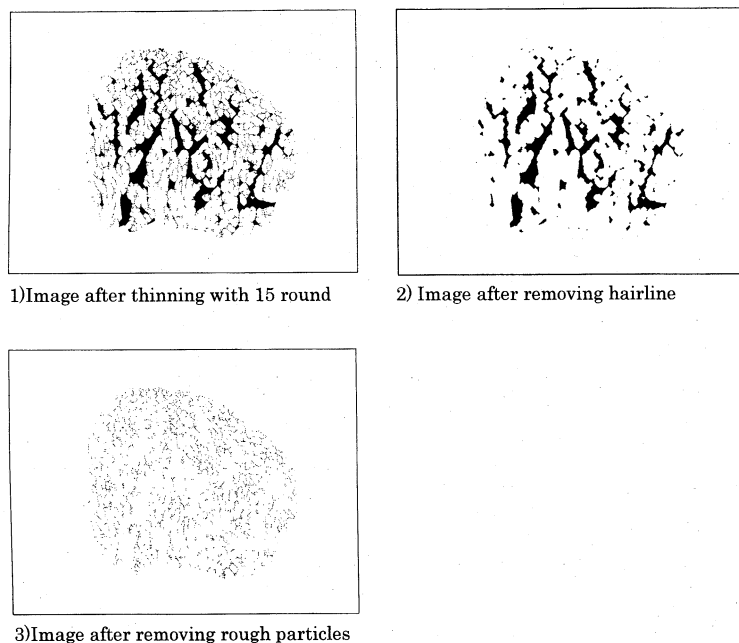


Fig.1 Procedure of image analysis to calculate the coarseness and fineness of marbling in the rib eye.

(4) 胸最長筋における肉色の測定：ロース芯内の肉色を評価するために、以下に示す84変数の画像解析形質を算出した⁸⁾。

(1) 胸最長筋全体，筋肉部分および脂肪交雑部分のR，G，B各階調値と輝度の平均値，標準偏差および最頻度（計36変数）

(2) 上記3部位について，全画素のR，G，B各階調値および輝度をそれぞれ降順に並べ替え，それらのうち上位10%，上位20%，下位20%および下位10%における値（計48変数）

(5) 胸最長筋内の脂肪交雑粒子形状の測定：胸最長筋を中心に撮影された枝肉画像でロース芯内の脂肪交雑粒子について15回の細線化処理を施し，線幅1の部分のみを残した。**Fig.1**にロース芯内の脂肪交雑粒子について15回の細線化処理を施し，線幅1の細線を除去する前（**Fig.1-1**），線幅1の細線を除去した後（**Fig.1-2**），ならびに細線を除去前の画像から細線を除去後の画像を減じたもの（**Fig.1-3**）を示した。この画像からソフトウェアPop Imaging（Digital being kids Co.,Ltd）

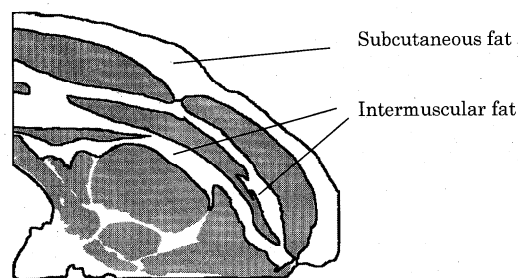


Fig.2 Measurement area of subcutaneous and intermuscular fat in the cross sectional image of carcass.

を用い，2次モーメント，絶対最大長，パターン幅，円相当径，円径度，凹凸度，外周囲長，包絡周囲長，粒子総数の9変数を算出した。

(6) 枝肉横断面における皮下脂肪・筋間脂肪の面積測定：**Fig.2**に解析対象領域における皮下脂肪および筋間脂肪面積の測定箇所の詳細を示した。解析対象領域に対し，汎用の画像処理ソフトウェア（Adobe Photoshop6.0）を使用して脂肪を分離した。画像解析により求めた皮下および筋間脂肪面積を実際の脂肪量に相当するものと考え，それらの実面積および面積%を測定した。ここで，面

Table 1 Crude fat contents in the rib eye and fatty acid composition (%) of marbling in Japanese Brown (JBR), Holstein (HOL) and Japanese Black (JBL) cattle.

Fatty acid	JBR (n=25)	HOL (n=76)	JBL (n=46)
Crude fat contents ¹⁾	22.7 ± 5.2 ^a	13.4 ± 4.0 ^b	34.1 ± 7.3 ^c
SFA	41.2 ± 2.7 ^a	45.4 ± 3.1 ^b	39.8 ± 2.9 ^a
MUFA	55.3 ± 2.6 ^a	51.4 ± 3.1 ^b	55.4 ± 2.9 ^a
PUFA	3.5 ± 0.6 ^a	3.2 ± 1.0 ^a	2.1 ± 0.4 ^b
C14:0	2.7 ± 0.4 ^a	3.5 ± 0.7 ^b	2.7 ± 0.4 ^a
C14:1	0.9 ± 0.2 ^a	1.0 ± 0.3 ^a	1.0 ± 0.3 ^a
C16:0	26.2 ± 1.6 ^a	27.5 ± 2.1 ^b	26.1 ± 1.8 ^a
C16:1	3.8 ± 0.5 ^a	3.5 ± 0.7 ^a	3.8 ± 0.7 ^a
C18:0	12.3 ± 1.5 ^a	14.4 ± 2.0 ^b	11.0 ± 1.5 ^c
C18:1	50.7 ± 2.9 ^a	46.9 ± 7.2 ^b	50.7 ± 2.6 ^a
C18:2	2.8 ± 0.6 ^a	2.9 ± 1.0 ^a	2.0 ± 0.4 ^b
C18:3	0.6 ± 0.2 ^a	0.3 ± 0.1 ^b	0.1 ± 0.0 ^c

1) Crude fat contents were predicted value by Kuchida et al. (1998)

SFA: Saturated fatty acid (Total of C14:0, C16:0, C18:0)

MUFA: Mono unsaturated fatty acid (Total of C14:1, C16:1, C18:1)

PUFA: Polyunsaturated fatty acid (Total of C18:2, C18:3)

a,b,c: Different superscript in the same row were significant (P<0.05)

Values of JBL were cited from Kuchida et al. (2005)

積%とは解析対象領域に対して各部位の実面積が占める割合である。

(7) 画像解析形質を利用した脂肪酸割合の推定: 褐毛和種およびホルスタイン種で各々に MUFA 割合を推定するための重回帰分析を行った。すなわち、公定法で算出された筋肉内脂肪中の MUFA 割合 (以下 MUFA 割合実測値) を従属変数、脂肪面積比、脂肪交雑粒子のあらさに関する画像解析形質 (10 変数)、ロース芯形状に関する画像解析形質 (2 変数)、ロース芯内の肉色に関する画像解析形質 (84 変数)、脂肪交雑粒子の形状に関する画像解析形質 (9 変数) および枝肉横断面における皮下脂肪および筋間脂肪の面積割合の計 108 形質を説明変数候補とし、SAS の REG プロシジャを用い⁹⁾、変数の選択には変数逐次増減法 (最大 R² 値改良法) を利用した。なお、選択される変数は最大 5 変数とした。

3. 結果および考察

Table 1 に褐毛和種、ホルスタイン種および黒毛和種における粗脂肪含量および脂肪酸分析によ

り計測された脂肪酸組成の基礎統計量を示した。なお、黒毛和種の値は、Kuchida ら⁴⁾からの値を引用した。さらに、褐毛和種およびホルスタイン種における粗脂肪含量は、Kuchida ら¹⁰⁾の方法に従ってロース芯脂肪面積割合から推定された値を用いた。粗脂肪含量は、黒毛和種 (34.1)、褐毛和種 (22.7)、ホルスタイン種 (13.4) の順に高い値であり、その差は約 10% ずつであった。SFA 割合および MUFA 割合は褐毛和種 (41.2, 55.3) と黒毛和種 (39.8, 55.4) の間で差がみられなかったが、PUFA 割合は褐毛和種 (3.5) およびホルスタイン種 (3.2) で黒毛和種 (2.1) に比べ有意に高い値を示した。黒毛和種と褐毛和種では粗脂肪含量 (それぞれ 22.7 および 34.1) に大きな差があるものの脂肪酸組成はほぼ等しく、褐毛和種で不飽和脂肪酸割合が多少高いことが示された。ホルスタイン種は他の 2 品種と比較して飽和脂肪酸割合が高く (45.4)、不飽和脂肪酸割合が低く (54.6)、吉村ら¹¹⁾ (それぞれ 45.9 および 54.1) と一致した。

褐毛和種およびホルスタイン種で各々に MUFA 割合を推定するための重回帰分析を行っ

Table 2 Number of selected variables and determination coefficients in the multiple regression equation to predict MUFA ratio by lots in Holstein steers.

Number of traits	Lot a	Lot b	Lot c	Lot d	Lot e
1	0.39	0.46	0.27	0.33	0.13
2	0.59	0.62	0.49	0.63	0.18
3	0.75	0.74	0.85	0.73	0.32
4	0.91	—	—	—	0.37
5	—	—	—	—	0.40

た。褐毛和種においては4変数モデルで推定した際の決定係数は0.69と高い値となり、4変数モデルで十分に推定を行うことができた。このとき得られた重回帰式を以下に示す。

$$Y_{JBR} = 187.88847 + 13.71757X_1 - 0.47047X_2 + 79.18325X_3 - 0.57823X_4$$

Y_{JBR} : 褐毛和種において公定法で測定されたロース芯脂肪交雑中MUFA割合

X_1 : ロース芯内脂肪面積割合

X_2 : ロース芯の緑成分のばらつき

X_3 : 脂肪粒子全体のあらさ

X_4 : 脂肪R成分下位10%

これにより、褐毛和種において、筋肉内脂肪中MUFA割合が高い個体は、脂肪交雑が全体的にあらく、脂肪交雑が多く、ロース内の色の濃さが一様である、という傾向が示された。

一方、ホルスタイン種においては、5変数モデルで推定を行ったとき決定係数は0.39と、推定精度は低くなった。撮影日が4日間と断続的であり、撮影日ごとに撮影環境が異なり、色成分が不安定となったと推察した。そこでホルスタイン種においては肥育者ごとに分けられた5つのロットで各々に推定を行った。ただし、ロットeの枝肉は、複数の肥育者により出荷された牛で構成されていた。

Table 2 にホルスタイン種のロットごとにMUFA割合について重回帰分析を行った際に選択された変数の数とそのときの決定係数を示した。

ロットa～dでは、決定係数が0.73～0.91と高い値を示し、ロットごとに推定を行うことにより推定精度が向上した。ロットeにおける決定係数は5変数モデルでも0.40と低かった。他のロットが単一の肥育者によって出荷された枝肉で構成されていたことに対し、ロットeは肥育者が複数であったことから、推定に使用する変数が肥育環境の影響を受けていることが推察された。このとき得られたロットごとの推定式を以下に示す。また、本研究ならびにKuchidaら⁴⁾により報告されたMUFA割合推定値と実測値との関連性をFig.3に示した。

$$Y_a = 18.38601 + 34.48141X_1 - 0.26238X_2 - 0.51585X_3 + 40.98383X_4$$

$$Y_b = 18.56193 + 45.73786X_1 - 0.46711X_3 - 0.67317X_2$$

$$Y_c = 80.72268 + 99.11125X_5 - 1.52787X_2 + 35.89338X_6$$

$$Y_d = 91.19652 - 32.93072X_1 - 29.04117X_4 + 27.33073X_6$$

$$Y_e = 46.031 + 35.969X_4 + 19.111X_6 - 1.171X_2 + 14.361X_1 + 46.753X_5$$

Y_{a-e} : ロットa～eにおいて公定法で測定されたロース芯脂肪交雑中MUFA割合

X_1 : 脂肪粒子の凹凸度

X_2 : 脂肪緑成分のばらつき

X_3 : 筋肉緑成分のばらつき

X_4 : 筋間脂肪面積割合

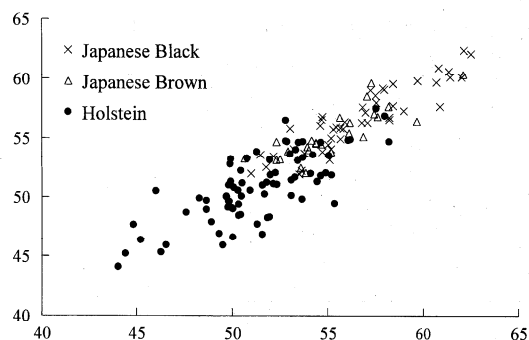


Fig.3 Relationship between actual measurement value and predicted value of MUFA ratio in Japanese Brown, Holstein and Japanese Black^a.

^a MUFA of Japanese Black were cited from Kuchida *et al.* (2005).

X₅: 全体の粒子のあらさ (15回)

X₆: 皮下脂肪面積割合

ホルスタイン種において重回帰分析で選択された変数は6つであり、ロットをわたっておおよそ共通していた。変数の影響度および組み合わせは多少異なったが、頭数が少なく重回帰式が安定しなかったのではないかと推察した。以上より、ロットごとに異なる推定式の確立が必要であるものの、ホルスタイン種という品種内においてMUFA割合推定に寄与している形質は一定であることが推察された。本研究で開発されたMUFA割合推定法は、ロットにより推定式が違うという点が、最大の課題であり、この問題が解決しない限り実用化につながらない。しかしながら、高精細枝肉横断面画像を用いることで、MUFA割合が推定できることは結論として導いてよいと考える。今後、枝肉の温度を計測するなどし、推定式の補正に用いることにより、ロットによる影響を受けない汎用的な推定式を得るための研究を継続する予定である。

4. 要 約

牛肉のおいしさの指標のひとつとしてモノ不飽和脂肪酸 (MUFA) 割合があげられる。本研究で

は、褐毛和種 (JBR) およびホルスタイン種 (HOL) における画像解析を用いたMUFA割合推定法を開発し、その推定精度を検証した。高精細枝肉撮影装置により、JBR25頭 (去勢19頭、めす6頭、1ロット) およびHOL76頭 (去勢、5ロット) の枝肉横断面を撮影した。MUFA割合実測値は、コース芯をスライドガラスで削り取り、定法で求めた。枝肉横断面画像を解析し、脂肪面積比、脂肪粒子のあらさに関する形質 (10形質)、コース芯形状に関する形質 (2形質)、コース芯の色に関する形質 (84形質)、脂肪交雑の形状に関する形質 (9形質)、横断面面積に占める皮下脂肪および筋間脂肪の面積割合を算出した。MUFA割合の推定は、以上の108形質を用い、5変数を上限とした最大R²値改良法による重回帰分析で行った。MUFA割合実測値の範囲はJBRにおいて50.65~62.10% (平均: 55.32%), HOLにおいて44.06~58.24% (51.74%) であった。JBR (1ロット) では脂肪赤成分下位10%, 脂肪粒子全体のあらさ、コース緑成分のばらつきおよびコース芯脂肪割合の4形質が選択された (R²=0.69)。HOLにおいて、全ロットを一つのデータセットとした重回帰式のR²値は0.38であった。各ロットで枝肉表面の温度、と殺後の経過時間などが異なると推察されたため、ロットごとに重回帰分析を行った。各ロットで選択された変数はおおむね共通しており、皮下脂肪割合、筋間脂肪割合、脂肪粒子全体のあらさ、脂肪粒子の凹凸度、筋肉緑成分のばらつきおよび脂肪緑成分のばらつきの6形質であった (R²=0.39~0.91)。精度を高めるために、推定に使用する画像解析形質を再検討する必要があるが、JBRおよびHOLにおいてもMUFA割合を推定可能であった。

文 献

- 1) Westerling DB, HB Hedrick. Journal of Animal

- Science. 48: 1343-1348. 1979.
- 2) 小西一之・撫 年浩・前田正志・内山美智子, 日本畜産学会報, 66: 548-554. 1995.
- 3) 高橋健一郎・口田圭吾・堀 武司・波 通隆・本間稔規・小高仁重. 日本畜産学会報, 77: 237-244. 2006.
- 4) Kuchida K, Y Hirayama, A Oka, E Iwamoto, M Fukushima. Abstracts of 2005 Annual Meeting of American Society of Animal Science, 156. 2005.
- 5) 口田圭吾・栗原晃子・鈴木三義・三好俊三. 日本畜産学会報, 71: 224-231. 1997.
- 6) 口田圭吾・鈴木三義・三好俊三. 日本畜産学会報, 73: 9-17. 2002.
- 7) 口田圭吾・菊地 彩・加藤貴之・鈴木三義・三好俊三. 日本畜産学会報, 74: 23-29. 2003.
- 8) 口田圭吾・長谷川未央・鈴木三義・三好俊三. 日本畜産学会報, 72, J321-J328. 2001.
- 9) SAS. SAS/STAT User's Guide (Version 6.12). SAS Inst. Inc., Cary, NC. 1996.
- 10) Kuchida K, K Konishi, M Suzuki, S Miyoshi. Animal Science and Technology (Jpn). 69: 585-588. 1998.
- 11) 吉村豊信・並河 澄. 日本畜産学会報, 56: 122-129. 1985.