



写真17 蒸留水の添加



写真18 共栓付き試験管への移行

これにジエチルエーテルを上部の総量と等量程度加えて栓をする。ガス抜きを挟みながら、撹拌する。(不ケン化物の除去)。2層に分かれるまで静置し、上層(エーテル層)をピペット(1本目)で廃液ビンに取り去る。再度エーテルを入れ、同様の操作を行う。(ケン化で作成された脂肪酸カリウムイオン($R-COOK$)は水溶性)



写真19 共栓付き試験管撹拌風景



写真20 静置風景

(7)【脂肪酸の生成・抽出】

(6)の操作で共栓付き試験管に残っている脂肪酸カリウムが溶解した蒸留水に6N硫酸1 mLと石油エーテル約10 mL(上の総量と等量)加え、新しい栓をする。その後、激しく撹拌し、ガス抜き・撹拌・ガス抜きをする。(この操作は、弱酸の脂肪酸カリウムイオン($R-COOK$)と強酸の硫酸(H_2SO_4)を反応させることで、脂肪酸($R-COOH$)と硫酸カリウム(K_2SO_4)を作製、それと同時に石油エーテルに脂肪酸を溶解させている。蒸留水にはケン化で生じたグリセリンが残留する。)



写真21 試薬写真

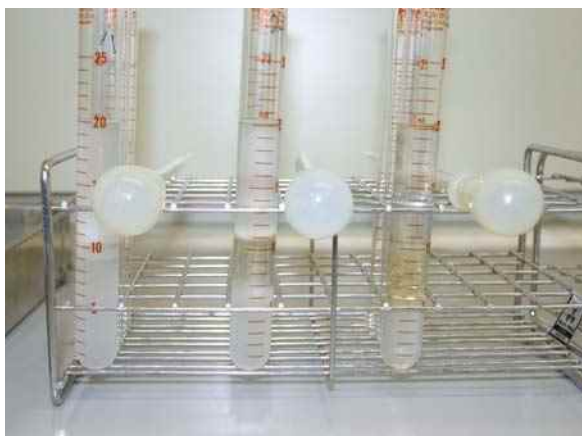


写真22 静置写真(2)

2層に分かれるまで静置し、上層（石油エーテル）をガラス駒込ピペット（2本目）で共栓付き試験管（2本目）に移し替える。再度石油エーテルを入れ、激しく攪拌し同様の操作を行う。余分な硫酸を除去するため、これに蒸留水約3 mLを加え、栓をして激しく攪拌し、2層に分かれるまで静置し、ロートに硫酸ナトリウム（無水）を7分目まで満たしたろ紙に、上層（石油エーテル層）をなす型フラスコに移す。



写真23 蒸留水の添加



写真24 なす型フラスコ

(8) 【脂肪酸メチルエステル化】

なす型フラスコから真空エバポレーターで石油エーテルを取り除く。これに三フッ化ホウ素メタノール1 mLを加え、ウォーターバスの冷却管に取り付け、約95℃の温湯で正確に5分間反応させる（メチルエステル化）。5分後、水道水を流しながら冷却し、飽和食塩水約3 mLを加え、反応を止める。ここまでの作業は、連続して1サンプルずつ行う。



写真25 ミフッ化ホウ素メタノール添加



写真26 メチルエステル化



写真27 なす型フラスコの冷却

(9) 【GC インジェクション用サンプル作成】

メチルエステル化物の入ったなす型フラスコに n -ヘキサン 5 mL 程度加えて、管壁を洗いながら共栓付き試験管（3 本目）に移す。この操作を 2 度行い、総量を約 20 mL とする。新しい栓をして、これを激しく攪拌し、2 層に分かれるまで静置する。

ろ紙に硫酸ナトリウム（無水）を満たしたロートに、上層（ n -ヘキサン）を梨型フラスコへ移す。再度、 n -ヘキサン 約 20 mL を加え、同様の操作を繰り返し、最後に n -ヘキサンをロートの上から軽く加える。



写真28 ヘキサンの添加



写真29 梨型フラスコへのヘキサン移行



写真30 ヘキサンの添加

これをエバポレーターでn-ヘキサンをほぼ全量取り除き、極少量残す。それをパスツールピペットでマイクロチューブに移す。(サンプルの採取量が少ない時は、全量移した後に、少量のn-ヘキサンを梨型フラスコに加え、攪拌しマイクロチューブに追加する。)



写真31 ヘキサンの蒸発



写真32 メチルエステル化物の採取

これを用いてガスクロマトグラフィーで分析する。(−30℃で冷凍保存可能。メチルエステル化物は構造が安定なので長期保存が可能)

【参考：脂肪酸の同定と計算】

脂肪酸の同定には、既知のメチルエステル標準品をガスクロマトグラフィーで分析し、検出されたピークのリテンションタイム（検出された時間）を確認する。このリテンションタイムと未知のサンプルを分析したときに得られる脂肪酸のピークのリテンションタイムと比較し、同定する。組成の算出は、同定した脂肪酸のピーク面積を百分率で表したものである。食肉の脂質に含まれる主要な脂肪酸であるC14:0、C14:1、C16:0、C16:1、C18:0、C18:1、C18:2の7種類は、少なくとも同定しておきたい。

5-2 脂肪融点

脂肪の融点はその脂肪の脂肪酸組成によって決定される。食肉中の脂肪を構成する脂肪酸の主なものとして、飽和脂肪酸であるパルミチン酸、ステアリン酸や不飽和脂肪酸であるオレイン酸、リノール酸などがあるが、脂肪酸組成の不飽和脂肪酸の割合が多いほど脂肪の融点が低い。

ここでは、皮下脂肪、筋間脂肪および筋肉内脂肪を加熱抽出した後、融点を測定する手法を紹介する。

分析手順

①サンプル約20 g を細切し、ろ紙を敷いたロートにのせ、30ml三角フラスコで受ける。

（筋肉内脂肪融点を測定する場合、脂肪の量が少なくなれば、使用するサンプル量を増やす。）



写真1. サンプル細切風景



写真2. 細切後セットしたサンプル

②105℃の恒温乾燥器で4時間、加熱抽出する。



写真3. 恒温乾燥器

③あらかじめ1 cmのところに印をつけておいた毛細管を、三角フラスコ内に抽出された脂肪につけ、印のところ（1 cm）まで脂肪を毛細管現象により吸い上げる。脂肪を吸い上げた毛細管は約-30℃の冷凍庫に入れる。これを繰り返し、1サンプルあたり7本の毛細管を作る。冷凍庫に入れた毛細管は一晩保存する。



写真4. 加熱抽出された脂肪



写真5. 毛細管による脂肪の吸い上げ



写真6. 毛細管内の脂肪

- ④翌日、ビーカーに水道水を入れ、水温がわかるようにデジタル温度計の先端を水中に入れる。
水中に氷を入れて5℃程度まで水温を下げる。
- ⑤冷凍庫から毛細管を出して、温度計等の棒状のものにセロハンテープ等で取り付け、水中に浸す。
- ⑥ホットスターラーでビーカーの水を加熱する。加熱は2分間に1℃水温が上昇するくらいのペースで行う。
- ⑦毛細管中の脂肪が溶け、毛細管内で1 cm上昇した時のデジタル温度計の温度を融点とする。
1 サンプルあたり7本の融点を測定し、平均値を求めサンプルの融点とする。



写真7. 脂肪融点測定風景

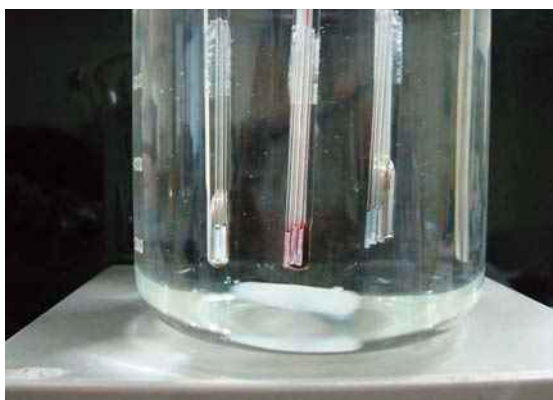


写真8. 融点測定中の脂肪

5-3 TBARS（チオバルピツール酸反応物質）分析

食肉における脂質の酸化は、オフフレーバー（酸化臭、腐敗臭など）の増加に伴う風味の低下、過酸化物質による肉色への悪影響、脂質の酸化物と蛋白質の相互作用による栄養的価値の低下などをもたらすことが明らかになっている。

脂質の過酸化度を測定する分析法として、TBA（チオバルピツール酸）を用いた吸光光度法であるTBA法、ヨードメトリー、蛍光光度法、化学発光法によるリノール酸メチルヒドロペルオキシド測定法などがある。それらの中でも、食肉の過酸化脂質度を測定するために最も良く使用されているのはTBA法である。

TBA法には、酸抽出法や蒸留法など多くの分析手法があるが、酸抽出法は蒸留法に比べて手間が少ない手法である。本稿では、Witteらの方法（Witteら，1970）を基に、畜産草地研究所で実施している酸抽出法（Mitsumotoら，1993）を紹介する。

TBA法について、酸性条件下の試料にTBAを加えると、過酸化脂質が分解されて試料から遊離するTBARS（チオバルピツール酸反応物質）と反応して赤色色素（励起532nm、蛍光553nm）が生じる。この生成された赤色色素の発光量からTBARSの量を算出し脂質の酸化度としている。なお、TBARSとしては、マロンアルデヒド（MA）が主であるが、組織により他のアルデヒド（アルケナールやアルカジエナール等）の関与もあると考えられている。

①試薬準備

(1)TBA溶液（分析当日に作成・使い切り）

○5×2サンプル分析時：半日分析時

TBA試薬（0.005M 2-thiobarbituric acid）を0.0721g 秤量して100ml褐色メスフラスコに入れ、超純水でメスアップする。メスアップ後、回転子を入れて、ホットスターラー上で暖めながら溶解させる。

○10×2サンプル分析時：AM,PM の一日分析時

TBA試薬を 0.1442g 秤量して 200ml 褐色メスフラスコに入れ、超純水でメスアップする。メスアップ後、回転子を入れて、ホットスターラー上で暖めながら溶解させる。

注）TBA試薬は、褐色ビンで2週間程度の冷蔵保存は可能。しかし、反応試薬であること、分析後の試薬残量がかかなり少ないことから、保存せずに溶液作成日のうちに使い切りとする。

(2)TCA溶液（褐色ビンで3ヵ月冷蔵保存可能）（取り扱い注意：めがね、手袋着用必須）

TCA試薬（20% trichloroacetic acid）を200g 秤量して1Lメスフラスコに入れ、超純水でメスアップする。

強酸性でありタンパク質凝固作用が強いため、取り扱いには十分注意すること。

1L褐色ビンで3ヵ月冷蔵保存可能

(3)TEP溶液

○一次溶液（褐色ビンで6ヵ月冷蔵保存可能）（TEP試薬は使い捨て）

TEP試薬（1,1,3,3-tetraethoxypropane）を0.612ml量り取り500mlメスフラスコに入れ、超純水でメスアップする。

500ml褐色ビンで6ヵ月冷蔵保存可能。

一次溶液の保存が利くため、TEP試薬は使い捨てとする。

○二次溶液（褐色ビンで3ヵ月冷蔵保存可能）

一次溶液を5ml量り取り500mlメスフラスコに入れ、超純水でメスアップする。

500ml褐色ビンで3ヵ月冷蔵保存可能。

②分析手順

- (1) サンプル10g（9.95～10.05g）をミンチし、ガラス製50ml遠沈管に入れ、TCA溶液を25ml加える。



＜ミンチ後サンプル＞



＜TCA溶液25mlを加える＞

注) TCA 試薬は強力な蛋白質凝固作用を持つため、使用時には眼鏡および手袋を着用するなど、取り扱いには十分注意する。

- (2) サンプルを7,000rpmで約1分間ホモジナイズする。

ホモジナイズ後は、シャフトに絡まっているサンプルも回収し、また、次のサンプルにコンタミしないように、超純水→HPLC用エタノール→超純水の順番でシャフトを洗浄する。



＜ホモジナイズ＞



＜シャフトについたサンプルも回収＞



＜シャフト洗浄＞

- (3) ホモジナイズしたサンプルを、漏斗（濾紙は使わない）を用いて50mlメスフラスコに移し、超純水で管壁のサンプルも洗い流しながら、最終的に50mlにメスアップする。

メスアップは、泡状の肉片の上側に合わせる。



＜サンプルをメスフラスコへ＞



＜管壁についたサンプルも回収＞



＜50mlにメスアップ＞

- (4) メスアップ後、ふたを閉めてよく転倒混和（10回）する。メスアップしたサンプルは、翌日まで保存可能。

(5)検量線のために、10ml褐色試験管を用いて下記のとおりスタンダード（STD）を調整する。

STDの組成	STD0 (ブランク)	STD1	STD2	STD3	STD4	STD5
TEP二次溶液(ml)	0.0	0.1	0.1	0.2	0.4	0.8
超純水(ml)	2.5	2.5	2.4	2.3	2.1	1.7
TCA(ml)	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5
合計(ml)	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0

(6)メスアップしたサンプルを攪拌後、濾紙をセットした漏斗を用いて50ml遠沈管に10～20ml程度濾過する。



<遠沈管に濾過する>



<濾過後のサンプル>

注) 濾過液が濁っている場合、測定値は異常値になってしまうため、もう一方のサンプルデータのみ採用する。

(7)濾過したサンプルを10ml褐色試験管に5ml入れる。



<濾過サンプル5mlを試験管へ>

(8)スタンダードおよびサンプルを入れた10ml褐色試験管それぞれに、TBA溶液を5ml入れよく転倒混和する。



<TBA溶液5mlを加える>

注) TBA 溶液を加えるタイミングについて、2 日目の測定を午前中（8 時頃～12 時頃）に行うには、1 日目の16 時頃に加えるとよい。

(9)TBA溶液を入れたら、室温、暗環境下で16時間以上20時間以下放置して反応させ、分光光度計で532nmの吸光度を測定する。なお、石英セルの洗浄には、超純水を使用する。



＜分光光度計にて測定＞

③データ解析

解析について、6つのSTD（STD0含む）の吸光度を用いて検量線を作成し、サンプルの吸光度から濃度を求め、TBARS値（mg MDA/kg 肉）を算出する。

【参考文献】

Witte, V. C., Krause, G. F. and Bailey, M. E. 1970. A new extraction method for determining 2-thiobarbituric acid values of pork and beef during storage. *Journal of Food Science*, 35 : 582-585.

Mitsumoto, M., Arnold, R. N., Schaefer, D. M. and Cassens, R. G. 1993. Dietary versus postmortem supplementation of vitamin E on pigment and lipid stability in ground beef. *Journal of Animal Science*, 71 : 1812-1816.

6

香気成分

食味の構成要素として、「食感」「におい（香り）」「味」の3要素が主に挙げられる。その中における「におい（香り）」は、黒毛和種牛肉には日本人に好まれる特有の香気（和牛香）が存在し、和牛香は霜降り肉を空気中で熟成させて加熱することにより増加する（Matsuishi ら, 2001）、豚へのリノレイン酸量の多い飼料の給与は、酸化臭の指標であるアルデヒド類を増加させ、引いては、酸化臭による豚肉の劣化を招く（Larick ら, 1992）、ラクトン類は、roasted beef flavorと正の相関関係、gamey/stale off-flavorと負の相関関係があり、ジテルペノイド類は、roasted beef flavorと負の相関関係、gamey/stale off-flavorと正の相関関係がある（Maruri ら, 1992）、など他にも多くの報告がみられることから、食味性を考える上で重要な因子の一つと考えられる。

香気成分を測定する方法として、目的成分が揮発性または半揮発性成分の場合、サンプルから抽出した香気成分をGCMSまたはGCにて分析する方法が一般的に用いられている。本稿では、（独）東北農業研究センターの渡邊 彰氏が報告しているDynamic-Headspace SPME（固相マイクロ抽出：Solid Phase Micro Extraction）法により抽出した香気成分をGCMSにて分析する方法（Watanabe ら, 2008）をもとに家畜改良センターで実施している方法を紹介する。

香気成分の抽出法は、水蒸気蒸留および溶媒抽出を同時、かつ連続で行う連続蒸留抽出法、有機溶媒に香気成分を溶かして直接抽出する溶媒抽出法など、目的とする成分の抽出に応じた様々な手法が開発されている。本稿で用いるDynamic-Headspace SPME法は、容器に試料を入れた時の上部空間（Headspace）に生じる揮発性物質を、不活性ガスにてパージしながらSPMEファイバーに吸着させる手法である。

このHeadspace SPME法は、サンプルの状態（固体、液体、気体）にかかわらずに、簡便かつ迅速に揮発性物質および半揮発性物質の抽出を可能とする手法であり、他の手法に比べ比較的少ないサンプル量での分析が可能である。ただし、SPME法で使用されるSPMEファイバーは、コーティング相や膜厚の違いにより吸着可能な物質が異なるため、目的に応じたSPMEファイバーの選択が必要であることは注意されたい。

①器具準備

- (1)ガラス製パストゥールピペット（以下、パストゥールピペット）、ガラス製バイアル（以下、バイアル）等のガラス器具は、300℃で4時間加熱処理したものを使用する。



＜ガラス製品は加熱処理後、ガラス容器内にて保存する＞

注）使用する器具について、プラスチック製品は、プラスチック由来成分のコンタミネーションを招くため使用を避ける。

- (2)10 μ lの1,2-dichlorobenzene と1240 μ lのインフィニティピュアメタノールを混和し、1,2-dichlorobenzene 濃度:0.0527 μ mol/mlの内部標準試薬(以下、I.S.)を作成する。(I.S.の保存は1週間程度を目安としている)



<内部標準液(I.S.)>

- (3)新品のSPMEファイバーアッセンブリー(以下、ファイバー)は加熱処理によるコンディショニングを行う。ファイバーの加熱処理は、別のGC装置を用いると便利である。ファイバーの種類によって加熱処理の温度および時間は変化するため、詳細はファイバーの説明書を参照されたい。本分析ではDVB/CAR/PDMSファイバー(gray)を使用するため270℃で1時間加熱処理を行う。



<SPMEファイバーアッセンブリー>



<ファイバーの加熱処理>

②GCMS起動・分析準備

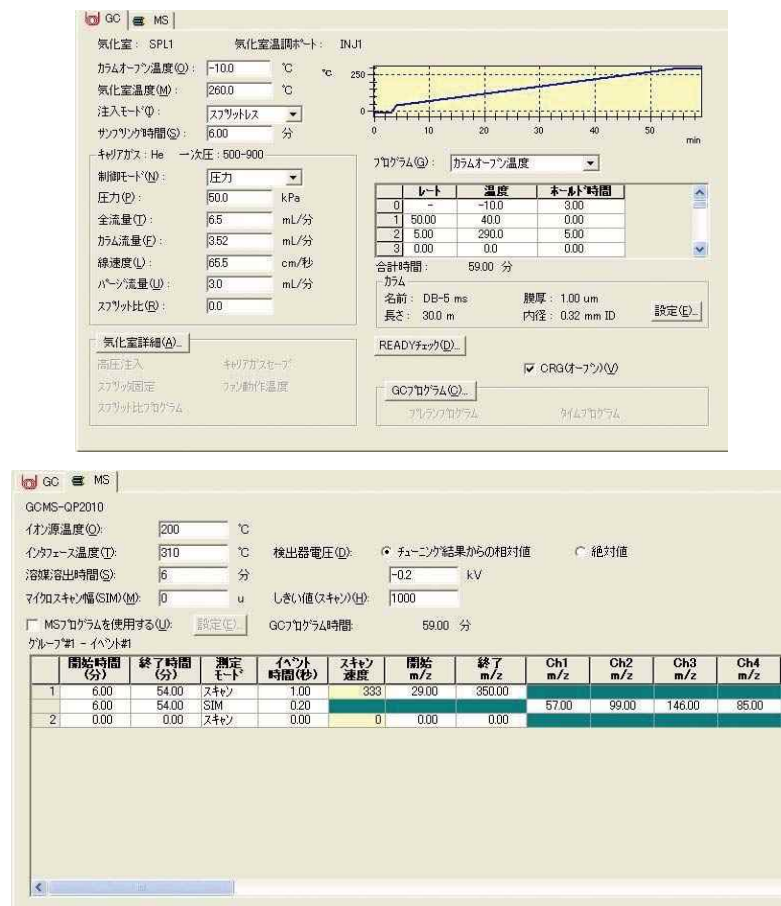
本分析では下記に示す分析カラム(DB-5ms)を取り付けた GCMS-QP2010Plus(島津製作所)を用い、DVB/CAR/PDMSファイバーによる抽出を行うので、これに合わせた装置の設定条件を示す。

- (1)真空度を最適な状態にするために、GCMSは分析の前日に起動し、MS部を真空にした状態で最低一晩待機状態にする。
- (2)GCMSの起動は、Heガスの元栓を開けてから、GC電源→MS電源→PC電源の順番でOnにする。
- (3)GC起動のため、「FLOW」 流量：On、「SYSTEM」 GC：起動を行う。
- (4)GCの状態を以下のとおりに設定する。「MONIT」の「流量」 圧力:50kPa、全流量:6.5mL/分、パージ流量:3.0mL/分、「COL」 オープン温度:35℃、「INJ」 気化室温度:260℃、「DET」 インターフェイス温度:310℃。
- (5)PCのデスクトップ上の「GCMS分析アイコン」をダブルクリックして、GCMS分析画面を立ち上げる。(ユーザー ID: Admin、パスワード: 空欄)
- (6)GCMS分析画面の「真空系の起動・停止」の「自動起動」からMSの真空系の起動を行う。

- (7)真空系の起動後、GCの状態を以下のとおり設定して一晩以上待機状態にする。「FLOW」圧力：10.9kpa、カラム流量：1.5ml/min、全流量：3.0ml/min、注入モード：SPLITLESS。

注) ガス節約のため、圧力を小さく、流量を少なくする。

- (8)分析前にGCの状態を②GCMS起動・分析準備の(4)GCのとおりに設定する。
 (9)カラムコンディショニングのため、カラムオープンを300℃で1時間カラムを空焼きする。
 (10)分析条件の確認を行う。



<MS分析条件>

- (11)チューニングの「ピークモニター」の「モニタグループ」から「水、空気」を選択し、H₂OとN₂のピークを確認する。N₂のピークがH₂Oのピークよりも2倍以上大きい時は真空漏れの可能性があるため、インジェクションのセプタムおよびガラスインサートのOリングの交換、またはカラムナットの増し締めを行う。ただし、GCMSを連日起動している場合は、H₂Oのピークがかなり小さくなるためこの限りではない。
- (12)オートチューニングを行い、チューニングレポートのチェックとチューニングファイルの保存を行う。チューニングレポートでは、検出器:1.5kV 以下、m/z69, 219, 502の半値幅:0.6 ±0.2以内、各m/zのマーカーズレ: ±0.2以内、m/z502の強度比: 2 以上であることを確認する。値が範囲外の場合は、GCおよびMSのメンテナンスを行う。
- (13)サンプル登録で日付、サンプル名、データファイル、データコメントおよびチューニングファイルを登録する。

(14)連日GCMSを稼働していても、分析当日に空分析を一度実施してから通常の分析を開始する。

③脂肪抽出

(1)お湯を沸騰させる。(100℃近く)

(2)100ml三角フラスコにミンチした牛肉10g（粗脂肪含量が約25%以上の場合）と、牛肉と同分量の蒸留水を入れてアルミホイルで蓋をし、沸騰水中で10分間加熱する。



<試料の調整>



<試料の加熱>

(3)加熱後、水と脂肪の混合水を10ml試験管に分注・採取して、2分間遠心分離(3,000rpm)する。



<試料の分注>



<採取・遠心分離後の試料>

(4)分離した脂肪と水のうち、パスツールピペットを使用して脂肪のみを吸い取り、0.2g（0.1950～0.2050g）をバイアルに秤量・採取する。（重量は小数点第4位まで記録する）



<脂肪の採取・秤量>

(5)脂肪を秤量・採取したバイアルは、直ぐに分析を実施しないのであれば、バイアルにキャップをしないで、脱酸素剤とともにアルミパックして常温で放置する。

(6)分析前にI.S.を2μl加えたのちキャップをして、ボルテックスでよく混和する。（I.S.を加えるときは、バイアルの管壁に接面した脂肪付近に落とすようにする）



<I.S.の投与>



<抽出バイアル>

(7) ボルテックス後、バイアルにサンプル番号を記載する。(以下、抽出バイアル)

注) マーカーの揮発成分がバイアル内に入らないようにするため、キャップ後にサンプル番号を記載する。

(8) 1 つのサンプルにつき抽出バイアルを 2 個作成する。(うち 1 個は予備)

④ SPMEファイバー吸着・GCMS分析

(1) ファイバー吸着を行う前に、ファーパーを270℃で15分間加熱処理する。

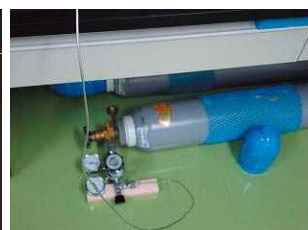
(2) 抽出バイアルのキャップに注射針で穴を2カ所開ける。

(3) 穴の一方に、毛細管を脂肪の5mm上まで差し込んだ後、毛細管にファイバーを挿入し、100℃に加熱したアルミブロックバスに抽出バイアルをセットする。



<毛細管は脂肪の5mm上まで差し込む>

(4) もう一方の穴に、純Heガス（純度：G1）の配管を突き刺して、Helium purifier（Heガス用フィルター）を通した純Heガスを5mm/minの流量で抽出バイアルに流しながら、ファイバー部を露出し、100℃で30分間ファイバー吸着させる。なお、配管は、純Heガスボンベ→流量コントローラー→Helium purifier→抽出バイアル（ドライブロックバス）の順番で設置する。



<Dynamic-Headspace SPME法>

注) 純Heガスを流すことで、バイアル内気圧の平衡状態が崩れるため、揮発成分の抽出がより可能となる。

- (5)ファイバー部を露出して25分経過後、GCMS分析画面上の「準備」を押し、さらに液化炭酸のバルブを開けてGCMSを分析準備の状態にする。「準備」を押すと、液化炭酸が流れてオープン温度が-10℃に下がり、3分後分析準備完了の状態になる)

注) 液化炭酸ガスにてオープン温度を-10℃に下げる理由は、気化室内での香気成分の拡散防止による分離能の向上(シグナルのシャープ化)のため。

- (6) 30分間のファイバー吸着後、ファイバー部の露出を戻して毛細管から抜き取り、他の香気成分が吸着しないようにファイバー先端部にセプタムをつける。
- (7) GCMSの準備が終了後、GCMSにファイバーをセットしてからファイバー部を露出し、直ちにGCの「START」を押して分析を開始する。



<GC/MSへの投与>

- (8)分析を開始してから1分後にファイバー部の露出を戻し、GCMSから抜き取る。
- (9)ファイバーに吸着した成分を完全に脱離させるため、念のため270℃で15分間加熱処理する。
- (10)分析開始10分後に、「OPTION」から液化炭酸の使用をOn→Offにして、さらに液化炭酸のバルブを閉じる。

注) 分析終了後のオープン温度を下げる際に、液化炭酸が使用されるのを避けるためバルブを閉じる。

- (11)GCMSにおける分析時間は、1検体あたり54分のため、次のサンプルを分析するときには、分析開始30分後あたりからファイバーの加熱処理を開始する。

⑤GCMS待機

- (1)翌日も分析を行う場合は、GCMS画面を閉じてから、GCの状態を以下のとおり設定して待機状態にする。「COL」オープン温度:35℃、「FLOW」圧力:10.9kpa、カラム流量:1.5ml/min、全流量:3.0ml/min、注入モード:SPLITLESS。

注) オープン温度を35℃に設定してからでないと、流量の変更はエラーのため不可能である。

- (2)次に分析を行う際には、②GCMS起動・分析準備の(8)GCの設定から行う。

⑥GCMS停止

- (1)GCMS分析画面上の「真空系の起動・停止」の「自動停止」から真空系を停止する。
- (2)真空系の停止後、GCMS画面を閉じてから、MS電源→GC電源の順番でOffにし、Heガスのバルブを閉じる。

⑦データ解析

- (1)各種炭化水素（C7-C22）をスタンダードとして分析し、それらのRT（リテンションタイム）から各ピークのLRI（Linear Retention Index）を算出する。ピークの同定には、NIST chemistry WebBookホームページや論文などのLRIとマスパターンを参考にして行う。
- (2)量的解析には定性と定量に関するデータを同時に取得できるFASSTモード（島津製作所）で分析しておく。添加した内部標準物質（I.S.）のTIC（トータルイオンクロマト）面積または選択イオン（1,2-dichlorobenzeneをI.S.とした場合は $m/z=146$ ）面積に対する同定物質のTIC面積または選択イオンの m/z 値による面積の比率で表す。

【参考：GCMSおよびカラム詳細】

GCMS：GCMS-QP2010Plus（島津製作所）
電子イオン化法（EI法：Electro Ionization）

カラム：DB-5ms（Agilent Technologies）
Length 30m, I.D. 0.320mm, Film Thickness 1.00 μ m

【参考文献】

- Matsuishi, M., Fujimori, M., and Okitani, A. 2001. Wagyu Beef Aroma in Wagyu (Japanese Black Cattle) Beef Preferred by the Japanese over Imported Beef. *Animal Science Journal*, 72 : 498-504.
- Larick, D. K., Turner, B. E., Schoenherr, W. D., Coffey, M. T., and Pilkington, D. H. 1992. Volatile compound content and fatty acid composition of pork as influenced by linoleic acid content of the diet. *Journal of Animal Science*, 70 : 1397-1403.
- Maruri, J. L., and Larick, D. K. 1992. Volatile Concentration and Flavor of Beef as Influenced by Diet. *Journal of Food Science*, 57 : 1275-1281.
- Watanabe, A., Ueda, Y., Higuchi, M., and Shiba, N. 2008. Analysis of Volatile Compounds in Beef Fat by Dynamic-Headspace Solid-phase Microextraction Combined with Gas Chromatography-Mass Spectrometry. *Journal of Food Science*, 73 : C420-C425.

7

呈味成分

7-1 遊離アミノ酸・ジペプチド量

本マニュアルでは家畜改良センターで行っているUV検出器を用いた液体クロマトグラフィー（HPLC）による分析（定量）手法を紹介する。当センターのアミノ酸組成分析は、「Pico・Tagアミノ酸分析法」を採用している。この方法は、Waters社が開発した高感度・迅速アミノ酸分析法で、ラベル化試薬としてPITC（フェニルイソチオシアネート）を用いてPTCアミノ酸（フェニルチオカルバミルアミノ酸）に誘導体化した後、専用カラムPico・Tagカラムで分離する方法である。

食肉における遊離アミノ酸は、サンプルに水を加えて、混和することで抽出することが可能であるが、分析の妨げとなる脂肪とタンパク質を除去しなければならない（ここまでの処理を前処理と定義）。また、抽出した遊離アミノ酸水溶液は、このままではUV検出できないので、プレカラム誘導体化法を用いて、検出できるようにラベル化する必要がある。ここでは、「サンプルの前処理」、「移動相の作製」、「誘導体化」および「HPLCの分析条件」に分けて分析例を紹介する。

①前処理の手順

(1) 【サンプル調製】

分析するサンプルはミンチ状に均一化した食肉約10gを秤量し※、分析まで真空状態で冷凍保存しておく。当センターでは50mLの遠沈管に窒素封入後、 -30°C で冷凍保存している。



写真1 サンプル秤量



写真2 秤量後のサンプル

※サンプルは正確に10gでなくても良いが、重量をきちんとメモしておく。

(2) 【サンプルの解凍】

遠沈管を冷凍庫から取り出し、 2°C ・2時間かけて解凍する（熟成による遊離アミノ酸の変動を極力なくするため、同条件での解凍方法が望ましい）。遠沈管に食肉には含まれないアミノ酸であるノルロイシン液※を内部標準物質として1 mL添加する。（前処理終了時に得られるアミノ酸水溶液濃度が $0.15\mu\text{mol/L}$ となるように、ノルロイシン・1/10規定NaOH溶液 $15\mu\text{mol/L}$ を1.0mL添加）

※100mlメスフラスコにノルロイシン0.1967gを入れ、N/10規定水酸化ナトリウム溶液でメスアップして作成

(3) 【遊離アミノ酸抽出と除脂肪】

超純水10mLをサンプル管に加え、約 1 分間タンパク質の変性を防ぐよう（熱をもたないように）ホモジナイズ（15000rpm）する。その後、遠沈管に n-ヘキサンを10mL加えて、ボルテックスおよび（粘性があるので）手でも遠沈管を振って攪拌し、遠心分離（2500rpm、3min）を実施する。脂肪が溶けている上澄み液（ヘキサン層）を除去する。これを再度繰り返す。



写真3 ホモジナイズ



写真4 ホモジナイズ後のサンプル

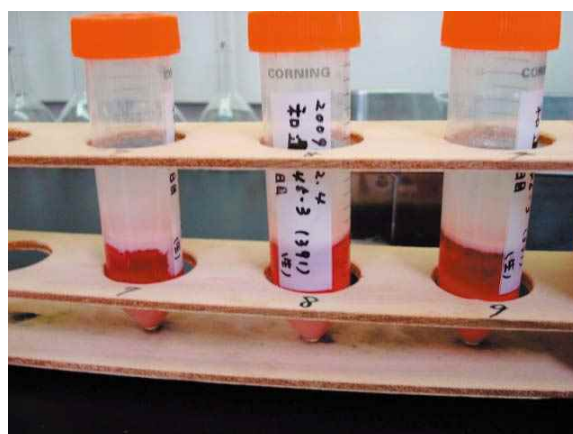


写真5 遠心分離後のサンプル(上層:エーテル+脂肪層)

(4) 【除タンパク】

脱脂されたサンプルにアセトニトリル30mL加えて※、ボルテックス等で攪拌する。攪拌されたサンプルを遠心分離（3000rpm、15min）し、肉片以外の液体部分をろ過しつつ回収する。



写真6 ろ過

※メタノール、エタノール、アセトニトリル等の有機溶媒をタンパク質水溶液に適量添加することにより、タンパク質の変性を促し、その後の遠心分離によってタンパク質を沈殿させることで、タンパク質を除くことが可能。

(5) 【遊離アミノ酸分析サンプル作製】

沈殿しているタンパク質内に遊離アミノ酸の抽出漏れを防ぐため、沈殿している肉塊に超純水5 mL、アセトニトリル15mL（75%アセトニトリル溶液20mL）を加えて、(4)と同様に攪拌後、遠心分離し、液体すべてをろ過（ろ紙：ADVANTEC 5A 90mm）しつつ回収する。回収したろ液を超純水で100mLまでメスアップし、遊離アミノ酸抽出液とする。作製した抽出液は、2 mL程度のサンプルチューブに2本以上（遊離アミノ酸分析用：1本、核酸関連物質分析用：1本）をフィルター（MILLIPORE Millex 0.45 μ m）でろ過しながら小分けにし、 -30°C で誘導体化実施日まで冷凍保存する。



写真7 サンプル作成

②移動相作製の手順

目的とするアミノ酸を省力的に分析するには、移動相を変更しつつ多種のアミノ酸を同時に分析する必要がある。当センターでは以下の移動相A,Bを混合し、分析している。なお、移動相は用事調製とする。

【移動相 A の作成】

- (1)Ca EDTA 0.1mgを超純水100mLでメスアップする。(100mLメスフラスコ使用)
- (2)氷酢酸（酢酸99.9%） 5 mLを超純水で50mlにメスアップし、10%酢酸を作る。(50mLメスフラスコ使用 冷蔵庫で3ヵ月間保存可能)
- (3)酢酸ナトリウム三水和物19gに超純水90mlで溶かす。(100mLビーカー使用)
- (4)50mlシリンジにフィルター（MILLIPORE Millex 0.45 μ m）を付けて、(3)液をろ過する。
(2Lビーカー使用)
- (5)(3)と(4)で利用したビーカーとシリンジを超純水10mlで洗うようにろ過する。さらに超純水1850mLを加えて1950mLとする。
- (6)(5)液にCa EDTAを400 μ L加える。
- (7)10%酢酸を1.04mL（1040 μ L）加えた後、氷酢酸を少しずつ追加してpH 6.45に合わせる。
- (8)最後にアセトニトリル50mLを加えて、よく攪拌する。



写真8 ④のろ過



写真9 ⑦のpH調整

【移動相 B の作成】

- (1)ジチオレイトール（DTT） 0.1g をメタノール100mLでメスアップする。(100mlメスフラスコ使用)（冷蔵庫で3ヵ月間保存可能）
- (2)超純水400mL、アセトニトリル450mL、メタノール150mLを混合する。
- (3)(2)液にジチオレイトール（酸化防止用）を1 mL加えて、よく攪拌する。

③誘導体化の手順

(1)【標準試料の準備】

当センターでは24種のアミノ酸と2種のジペプチドを測定している。市販の混合標準試料（H型アミノ酸混合標準溶液：和光純薬）に17種入っており、さらに単品をジペプチドを含めて9種追加すると便利である。追加アミノ酸の調製は以下の通り。

(2)【標準試料の調製】

最終的に26種すべてのアミノ酸を10、50および100pmol/ μ Lの標準試料を作製し、検量

線を作成する。まず、追加アミノ酸の調製について説明する。

ア 以下の試薬を0.1N NaOH 1 mLでそれぞれ溶解する。褐色バイアルの利用が望ましい。

- ・ グルタミン : 0.0146g
- ・ アスパラギン : 0.0150g
- ・ トリプトファン : 0.0204g

※アミノ酸の重量は、分子量に基づいて算出

イ 以下の試薬を0.1N HCL 1 mLでそれぞれ溶解する。

- ・ β -アラニン : 0.0089g
- ・ タウリン : 0.0125g
- ・ ヒドロキシプロリン : 0.0131g
- ・ ノルロイシン : 0.0131g
- ・ アンセリン : 0.0303g
- ・ カルノシン : 0.0226g

ウ 2 mLのマイクロチューブを利用し、アで作成した液10 μ Lを0.1N NaOH 990 μ Lで希釈する。2 mLのマイクロチューブを利用し、イで作成した液10 μ Lを0.1N HCL 990 μ Lで希釈する。

エ H型標準液40 μ Lを0.1N HCL 60 μ Lで希釈する。

オ ウおよびエで作製した液をそれぞれ10 μ L取り、計100 μ Lとし、よく攪拌する。このようにH型標準液と追加アミノ酸の混合液を調製したものを100 pmol/ μ Lの標準液とする。この標準液を20 mM NaOHで2倍（50/50）、10倍（10/90）希釈したものをそれぞれ50、10 pmol/ μ Lの標準液とする。



写真10 標準試料作製

※20 mM NaOHで希釈（グルタミン、アスパラギン、トリプトファンの酸化を防ぐため）
20 mM NaOH…市販の 0.1N NaOH (=100 mM NaOH) を 5 倍希釈（20/80）

(3) 【試料の乾固】

前処理で作製した試料溶液、標準溶液、ブランク（希釈に利用した0.1N HClと0.1N NaOH）をそれぞれ20 μ Lずつマイクロチューブに取り、減圧乾固する。なお、乾固は充分

に行うこと。どうしても一旦中断する必要がある場合はこの時点で保存、ただしグルタミン、アスパラギンが分解する恐れがあるため出来る限り最後まで続けて処理する。



写真11 減圧乾固用遠心エバポレータ



写真12 遠心エバポレータ内部

(4) 【中和】

ア 1 M酢酸ナトリウム（分子量は82.03なので、82.03mgを純水1 mLに溶解したもの）100 μ L、メタノール100 μ Lとトリエチルアミン50 μ L※を混合する。

イ 乾固した試料に、アを10 μ L加える。

ウ ボルテックスミキサーで約10秒間攪拌、減圧乾固する。

※トリエチルアミンは冷凍庫に保管（理想的には3 ヶ月毎に更新）、使用時は室温になってから開栓

(5) 【誘導体化】

ア メタノール700 μ L、純水100 μ L、トリエチルアミン100 μ L、イソチオシアン酸フェニル※100 μ Lをボルテックスミキサーで十分に混合し、反応試薬とする。

※イソチオシアン酸フェニルのアンプル管は一回につき1本使いきりとする。

★反応試薬調製時には充分攪拌して透明で均一な溶液にし、調製後2時間以内に使用すること

イ 中和後乾固した試料に、アを20 μ L加える。

ウ ボルテックスミキサーで約10秒間攪拌した後、サンプルチューブのフタを閉め（密閉）、室温（約25℃）で20分間反応させる。

エ 反応終了後、減圧乾固する。

オ Pico-Tag希釈液100 μ Lに溶解する。

カ エをキャピラリーチップ等で1 mLシリンジに移し、0.45 μ mメンブレンフィルター（Millex-LH）でろ過し、HPLC注入試料とする。

★誘導体化後は直ぐに分析すること



写真13 HPLCへの試料導入

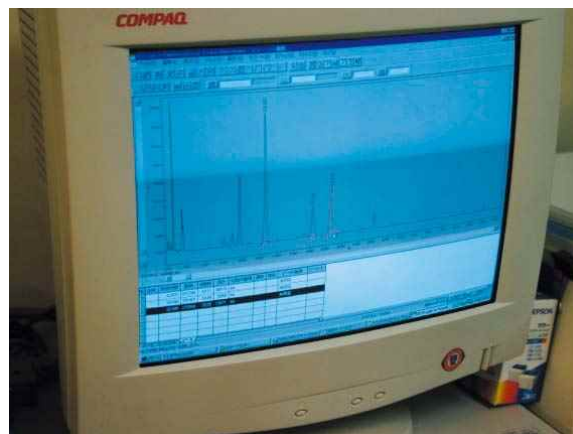


写真14 分析中のPC画面

④HPLC分析条件

目的とする遊離アミノ酸・ジペプチドは、すべて同時に分析すると時間的なロスが少なく効率的である。しかしながら、カラムのロットにより、グルタミン酸の分離が悪い例が見受けられる。そこで以下にアミノ酸・ジペプチドの同時分析の条件とともに遊離グルタミン酸だけを対象とした分析条件例を示す。

【遊離アミノ酸・ジペプチド】

装置 : 2695セパレーションモジュール、カラムヒーター
2487UV/Vis検出器、Empowerソフトウェア

移動相 A : 70mM NaOAc (pH6.45 with 10% Acetic acid) / MeCN = 975 / 25

移動相 B : H₂O / MeCN / MeOH = 40 / 45 / 15

カラム : Pico.Tag アミノ酸分析カラム (生体アミノ酸) 3.9×300mm

カラム温度 : 46.0℃

サンプル温度 : 5.0℃

注入量 : 5 μl

検出 : 254nm

分析時間 : 91.0min

グラジエント条件：

	時間(分)	流量(ml/分)	%A	%B	曲線
1	0.0	1.0	100.0	0.0	*
2	17.0	1.0	97.0	3.0	11
3	28.0	1.0	94.0	6.0	8
4	34.0	1.0	91.0	9.0	5
5	54.0	1.0	60.0	40.0	6
6	66.0	1.0	0.0	100.0	11
7	70.0	1.0	100.0	0.0	11
8	91.0	1.0	100.0	0.0	6

【グルタミン酸分析】

装置	: 2695セパレーションモジュール、カラムヒーター 2487UV/Vis 検出器、Empower ソフトウェア
移動相 A	: 70mM NaOAc (pH6.45 with 10% Acetic acid) / MeCN = 975 / 25
移動相 B	: H ₂ O / MeCN / MeOH = 40 / 45 / 15
カラム	: Pico.Tag アミノ酸分析カラム (生体アミノ酸) 3.9×300mm
カラム温度	: 50.0℃
サンプル温度	: 5.0℃
注入量	: 5 μl
検出	: 254nm
分析時間	: 91.0min
グラジエント条件:	

	時間(分)	流量(ml/分)	%A	%B	曲線
1	0.0	0.8	100.0	0.0	*
2	17.0	0.8	97.0	3.0	11
3	28.0	0.8	94.0	6.0	8
4	34.0	0.8	91.0	9.0	5
5	54.0	0.8	60.0	40.0	6
6	66.0	0.8	0.0	100.0	11
7	70.0	0.8	100.0	0.0	11
8	91.0	0.8	100.0	0.0	6

【参考：データ換算】

HPLC定量結果を検量線にあてはめることで $A \text{ pmol}/\mu\text{L}$ ($= A \text{ nmol/mL}$) と算出される。牛肉Cg前処理の最終抽出液量100mL中には、 $(A \text{ nmol/mL} \times 100\text{mL}) = 100A \text{ nmol} = 0.1A \mu\text{mol}$ 含まれることになる。つまり、牛肉 1 gあたりの含有量は、 $0.1A \mu\text{mol} / \text{Cg}$ となる。論文などでは、肉 1 g に含まれる遊離アミノ酸量 (molもしくはmg) でデータを示すことが一般的である。

7-2 核酸関連物質量

食肉の呈味に大きな影響を及ぼすと考えられているイノシン酸は、呈味性ヌクレオチドであり、これは食肉に含まれるATPが分解されることで生成される。ATP(アデノシン三リン酸)は、酵素の作用により大まかにADP(アデノシン二リン酸)、AMP(アデノシン一リン酸)、IMP(イノシン酸)、HxR(イノシン)の順に分解され、最終的にはHx(ヒポキサンチン)となる。ここではHPLCを用いたこれらの核酸関連物質の分析手法を紹介する。

①分析の手順

(1)【移動相の準備】

核酸関連物質は、シンプルなアイソクラティックで分析が可能である。移動相は、2Lビーカーにリン酸二水素カリウムを27.2g入れ、超純水2Lで溶解し(0.1M KH_2PO_4)、溶液のpHが、4.00~3.95となるようにリン酸を加えて調製する。目的とする物質の分離は、移動相のpHに大きく影響されるので、pH3.94以下になったら作り直すこととする。作成した移動相は、標準試料調製用に100mL程度ビーカーに分注しておく(以下A液と略す)。なお、移動相は、用事調製とする。



写真1 移動相作成準備

(2)【標準試料の準備】

核酸関連物質6種について、100, 10, 1pmol/ μL の検量線を作成するために、それぞれ以下のとおり操作する。

ア 市販の標準品をそれぞれ以下の通り秤量し、10mL褐色試験管の中に入れる。

・ ATP (分子量: 588.4 ※)	: 0.0588g (参考値)
・ ADP (分子量: 529.4 ※)	: 0.0529g (参考値)
・ AMP (分子量: 428.1 ※)	: 0.0428g (参考値)
・ IMP (分子量: 348.2)	: 0.0348g
・ HxR (分子量: 268.2)	: 0.0268g
・ Hx (分子量: 136.1)	: 0.0136g



写真2 標準試料の作製準備

※ただし、ATP、ADP、AMP は、純度が低いため、純粋な分子量から純度を換算する必要があります。そのため、ロット毎に換算を行い、換算後の分子量から試薬の量を決定する。

→換算例：ADP（付属の成分表を参考）

427.2 (as anhydrous free acid)

ADP contents 80.7%

$427.2 / 0.807 = 529.4$ ←この値を標準試料調製時に使用する分子量とする。

イ アで秤量したそれぞれの試薬を、以下の量の A 液で溶解する。

- ・ ATP、ADP、IMP、AMP : A 液 1 mL （濃度 0.1mol/L）
- ・ HxR : A 液 10mL （濃度 0.01mol/L）
- ・ HX : A 液 50mL （濃度 0.002mol/L）

ウ イで作成した各溶液を、以下の割合に再び A 液でそれぞれ希釈し、濃度が1000pmol/ μ Lになるように調製する。

- ・ ATP、ADP、AMP、IMP 各種 10 μ L : A液 990 μ L
- ・ HxR 100 μ L : A液 900 μ L
- ・ HX 500 μ L : A液 500 μ L

エ 100pmol/ μ Lの標準試料は、核酸関連物質ごとに③で作成した溶液50 μ Lと450 μ LをA液で希釈し作製する。本手法はpHの若干の変化で各核酸関連物質のリテンションタイムが大きく異なることから、100pmol/ μ Lの標準試料については、単品で分析する方が望ましい。

10pmol/ μ Lの標準試料は、作製した100pmol/ μ Lの標準試料から20 μ L採取・混合（20 $\times$ 6 = 120 μ L）し、A液80 μ Lで希釈し作製する。

1 pmol/ μ Lの標準試料は、100pmol/ μ Lの標準試料からそれぞれ10 μ L採取・混合（10 $\times$ 6 = 60 μ L）し、A液 940 μ Lで希釈し作製する。

(3) 【サンプル調製】

遊離アミノ酸・ジペプチド分析と共通の前処理済みサンプル（遊離アミノ酸・ジペプチドの章を参照のこと）を、 $0.45\mu\text{m}$ メンブレンフィルターを付けた1mlシリンジにてろ過する。ろ過したサンプル $20\mu\text{L}$ とA液 $180\mu\text{L}$ を混合し、分析用試料とする。



写真3 サンプル調製風景



写真4 HPLC注入準備

HPLC分析条件

装置	: 2695セパレーションモジュール、カラムヒーター 2487UV/Vis 検出器、Millennium32 ソフトウェア
移動相 A	: $0.1\text{M KH}_2\text{PO}_4$ (pH4.00~3.95)
カラム	: Atlantis dC18 $5\mu\text{m}$ 、 $4.6\times 150\text{mm}$
カラム温度	: 40.0°C
サンプル温度	: 25.0°C
注入量	: $10\mu\text{L}$
検出	: 254nm
分析時間	: 26.0min
グラジエント条件	: なし
流量	: 1.0mL/min

【参考：データ換算】

HPLC定量結果を検量線にあてはめることで $A\text{ pmol}/\mu\text{L}$ ($=A\text{ nmol/mL}$) と算出される。牛肉Cg前処理の最終抽出液量 100mL 中には、 $(A\text{ nmol/mL} \times 100\text{mL}) = 100A\text{ nmol} = 0.1A\text{ }\mu\text{mol}$ 含まれることになる。ここまでは、遊離アミノ酸のデータ換算時と同様です。ただし、HPLCにインジェクションする際に3で10倍希釈を行っているので、牛肉1gあたりの含有量は、 $10\times 0.1A\text{ }\mu\text{mol} / \text{Cg}$ となる。

Ⅱ. 官能評価

1

概要

官能評価とは、人の感覚（視覚、味覚、嗅覚、聴覚、触覚）を利用して評価対象物の特性の強さや好ましさの程度などを測定・評価することで、機器による測定が困難なものでも測定・評価できる手法として世界的に用いられている。また、JISでは単なる試験（test）としてではなく、人の感覚器官を利用した測定・実験・データ解析・結果の解釈という一連のシステム全体（官能評価分析）とされている。

人の感覚を用いてデータを得る官能評価においては、評価に影響を及ぼす要因（実験条件）を揃え、再現性を確保することが重要であり、これらを上手くコントロールしながら実施することによって、より信頼できる結果を得ることができる。

官能評価の実施には評価者が不可欠だが、評価者には研究の目的にあった評価を行う人を選ぶ必要がある。この選ばれた人達の集団をパネル（個人をパネリスト）といい、官能評価の内容に応じて分析型と嗜好型（消費者型）に分類される。

分析型パネルは、評価の対象となる試料における品質の差を識別したり、特性の強弱を測定したりする分析型官能評価に用いられるため、鋭敏な感度（識別能力）や分析的判断が要求される。一方、嗜好型パネルは、試料に対する人の嗜好（好み）を測定する嗜好型官能評価に用いられ、主観的判断を行う。

官能評価の実施にあたり、官能評価によって何を知りたいのか目的を明確にし、目的に応じたサンプル、パネル、手法、評価項目（外観、食感、香りなど）の設定を行う。さらに、情報収集のツールとして評価用紙（質問票）は不可欠であり、設計にあたっては、評価の目的やサンプルの味わい方などの注意書きの明示化や項目の量や質などに留意する必要がある。また、官能評価に集中出来るような環境（室温20～25℃、防音、臭気の流入防止、給排気など）や試料用の容器（同一容器、無味無臭など）、提示試料の調製（温度コントロール、試料数など）や提示方法（記号効果、順序効果など）などにも配慮する必要がある。

2

分析型官能評価

官能評価の実施に際しての流れとしては、実施目的の明確化、評価項目の設定、パネル選定、パネル訓練（トレーニング）、官能評価の実施としている。

家畜改良センターにおける官能評価の最終的な目的は家畜・家禽の育種改良への応用であることから、畜種に応じて官能評価項目を設定しており、おいしさを構成する香りややわらかさなどを具体的な評価項目としている。

分析型パネルの選定については、基本的には職員を対象として基本味等を用いたパネル選定テストを実施し、合格者をパネルとして選定している。その後、感覚合わせ等のためのトレーニングを行った後、官能評価を実施している。

現在、家畜改良センターで取り組んでいる牛肉および豚肉の官能評価の実施方法について、以下に示す。

2-1 サンプル採取

牛肉の場合は、と畜後5～7日目に脱骨解体し、と畜後9～14日目（実験の設定等により異なるが実験内で同一条件にする）にサンプルを採取、豚肉の場合は、と畜した翌日に脱骨解体し、サンプルを採取し、真空包装した後－30℃で冷凍保存している。

2-2 分析型パネルの選定方法

パネルは一定の感度を持ち、試料間の差を識別できる能力を有していなければならない。そのためには、基本的な感度テスト（味覚、嗅覚など）や実際の試料（牛肉、豚肉など）を用いた識別テストでも感度のよさを発揮できるか検証する等、色々な方法を取り入れ、総合的な判断によってパネルを選定することが大切である。また、通常、識別能力を有していれば年齢や性別等は問われない。

分析型パネルの選定方法は様々あるが、当センターで行っている実施方法について以下に示す。なお、現在は牛肉の香りを中心とした官能評価に取り組んでいるため、①～③(1)を行い、パネルを選定している。

①識別テスト（回答用紙：参考1）

(1)基本 5 原味

ア 試料の準備と調製

表 1 に示す 5 種類の基本味の水溶液を作成し、各コップに10ml程度注ぐ。このとき、偶然正答する確率を低くするために蒸留水（無味）が入った 3 個のコップも用意する。

イ 受験者への試料の提示方法（図 1-1、1-2）

ランダムに並べた 8 個のコップ（溶液）と口直し用の水（蒸留水）を提示し、それぞれの味（甘味、塩味、酸味、苦味、うま味）に該当するコップを選ばせる（配偶法¹⁾）。



図1-1 試料の提示



図1-2 基本5原味の識別テスト

ウ 合格基準

5 味中の誤数が 1 個以下もしくは 2 個（この場合は水の選択はしていないこと）としている。

表 1 5 味の識別テスト用の試料濃度^{注 1)}

味の種類	甘 味	塩 味	酸 味	苦 味	うま味
溶 質	ショ糖	食塩	酒石酸	無水カフェイン	MSG*
濃度(g/dl)	0.4	0.13	0.005	0.02	0.05

*グルタミン酸ナトリウム

（古川（1994）より改変）

(2)基準臭 5 種類^{注2)}

ア 試料の準備

1 つの基準臭につき 5 枚の試験紙をマグネット付きクリップに挟み、基準臭 5 種類で計 5 組（試験紙 25 枚）を用意する。

イ 受験者への提示方法（図 2-1、2-2）

（ア）5 枚のうち 2 枚を基準臭液に、3 枚を無臭流動パラフィンに浸し、液に浸した方を上にして速やかに提示する。

（イ）受験者は、試験紙 1 ～ 5 のにおいを順番に嗅ぎ、においを感じた 2 枚の試験紙を選ぶ。これを基準臭 5 種類について、それぞれ行う。



図2-1 試料の提示



図2-2 基準臭5種類の識別テスト

ウ 合格基準

5 基準臭すべてについて正解した場合のみとしている。

②濃度差の識別テスト（回答用紙：参考 2）

(1)基本 4 原味

ア 試料の準備と調製（図 3-1）

苦味を除く 4 種類の基本味について、表 2 に示す濃度の異なる 2 個の水溶液を 2 種類（各 8 組）作製する。このとき、色別マグネットなどで 1 回目と 2 回目を区別しておく と便利である。

イ 受験者への提示方法（図 3-2）

受験者に 2 種類のコップと口直し用の水（蒸留水）を提示し、各味についてより強い方のコップを選ばせる（2 点試験法²⁾）。



図3-1 試料の準備



図3-2 試料の提示

ウ 合格基準

8 組中の誤数が 2 個以下としている。

表 2 味の濃度差識別テスト用の試料濃度 注 1)

味の種類	溶 質	1 回目			2 回目		
		S(g/dl)	X1(g/dl)	濃度比 X1/S	S(g/dl)	X2(g/dl)	濃度比 X2/S
甘 味	ショ糖	5.000	5.500	1.100	5.000	5.250	1.050
塩 味	食 塩	1.000	1.060	1.060	1.000	1.030	1.030
酸 味	酒石酸	0.020	0.024	1.200	0.020	0.022	1.100
うま味	MSG*	0.200	0.266	1.330	0.200	0.242	1.210

*グルタミン酸ナトリウム

(古川 (1994))

(2)基準臭 5 種類

ア 試料の準備

1 つの基準臭につき 3 枚の試験紙を用意し、基準臭 5 種類で計 5 組（試験紙15枚）を用意する。

イ 受験者への提示方法

(ア) 3 枚のうち 2 枚を濃度の異なる 2 種類の基準臭液に、1 枚を無臭流動パラフィンに浸し、液に浸した方を上にして速やかに提示する。

(イ) 受験者は、試験紙 1 ～ 3 のにおいを順番に嗅ぎ、においの強い順に試験紙を選ぶ（順位法³⁾）。これを基準臭 5 種類について、それぞれ行う。

ウ 合格基準

5 基準臭中の誤数が 1 個以下としている。

③食肉の識別テスト

(1) 3 点試験法⁴⁾ (回答用紙：参考 2)

ア 試料の準備と調製

特性の異なる（品種、脂肪量など）2 種類（A、B）の食肉試料を用いて、調製する（試料の調製は後述の 2-3 ②(1)アと同様）。

イ 受験者への提示方法（図 4）

(ア) 肉色の差による評価への影響を少なくするため、赤色灯を使用した場所に、3 つの試料（P、Q、R）をのせた皿を提示する。

(イ) 受験者は、特性の異なる試料を 1 つ選択する。

ウ 合格基準

異なるサンプルを選択した場合とする。

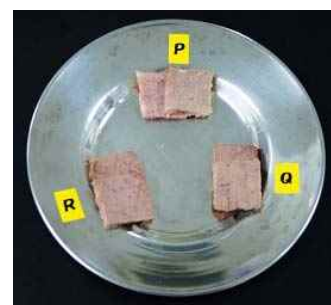


図4 試料の提示
(例：P－A、Q－B、R－B)

(2) 1：2 点試験法⁵⁾ (回答用紙：参考 3)

ア 試料の準備と調製

剪断力価等かたさの異なる牛肉試料（モモとロース等）を用いて、肉のかたさの程度の違いについて適切な判断が出来るかどうかを判定する。どちらかを基準とした 3 種類

(例：No.1－モモ、No.2－ロース、No.3－モモ)の試料を用いて調製する(試料の調製は後述の2-3②(1)アと同様)。

イ 受験者への提示方法(図5-1、5-2)

(ア)肉色の差による評価への影響を少なくするため、赤色灯を使用した場所に、3つの試料(No.1、No.2、No.3)をのせた皿を提示する。

注)赤色灯は蛍光灯に赤セロファンを巻くことで作れる。

(イ)受験者は、はじめにNo.1の試料を食べ、かたさの程度を評価⁶⁾する。

(ウ)次に、No.2、No.3の試料を食べ、No.1と異なる試料を選択し、No.1と比較したかたさの程度を評価⁷⁾する。

ウ 合格基準

異なる試料を選択し、No.1のかたさ評価と比較した評価が適切だった場合(上記例：かたさ評価2、選択試料No.2、比較した評価+1)とする。



図5-1 赤色灯の使用



図5-2 試料の提示

④パネルの採用基準

受験者は各テストを最低2回受験し、2回以上(1回のみ合格の場合は再テストにより計2回以上)合格した場合にパネルとして選定される。

注)現在は、各テストのうち①(1)(2)の合格者を対象に、②(1)(2)、③(1)のテストを実施している。

2-3 分析型パネルの訓練方法

①パネル訓練の意義と効果

分析型官能評価では、実験の目的に応じた訓練を行うことによりパネルの識別能力を向上させ、バラツキを小さくすることによってより精度の高い結果を得ることが重要である。

パネルの能力としては、一般的な感度の良さ(識別能力)、再現性の良さ(判断の安定性)、パネルの判断が一致しているかどうか(判断の妥当性)や的確な特性を表現する能力などが挙げられる。これらを向上させるために、分析型パネルに対して訓練を行う必要がある。また、差の識別だけでなく、差の程度を測定する場合にはパネルが共通の評価尺度や評価用語を有することが不可欠である。

センターで新しく選定された新規パネルと経験が豊かな熟練パネルに対して牛肉試料を用いた訓練を行ったところ、新規パネルは評価平均値からの分散が大きく、熟練パネルでは分散が小さいという結果が得られた(図6)。このように、パネルに対する訓練を行うことによって、

性別、年齢、生活環境や好みなど多岐にわたり異なる個人が、分析型パネルとして同一試料に対する評価の尺度（ものさし）や用語（ことば）を共有できる基準作りが可能となる。

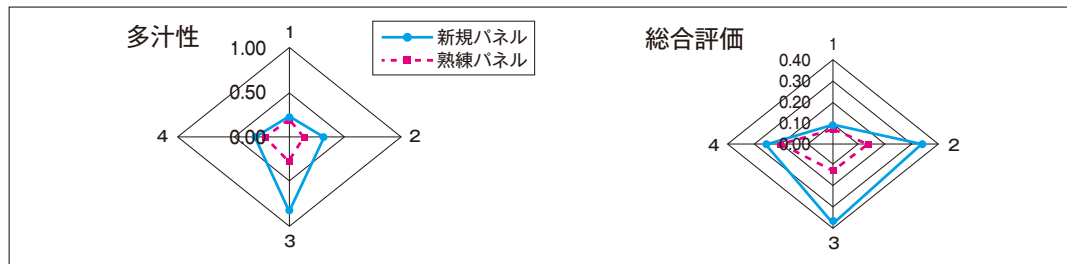


図6 家畜改良センターで実施した訓練における結果（n=4、パネル5～9人）

②実施方法

パネルに対する訓練では、できる限り実際の評価で使用される試料や手法を用いることが望ましいと考えられる。当センターでは、現在までにいくつかの加熱方法による官能評価を実施しており、それぞれに対応したパネル訓練をしている。また、うま味や肉様の香りに対する感覚を養うために牛肉エキスをを用いた訓練もしている。これまでに実施してきたパネル訓練の方法について、以下に示す。

(1)食肉試料を用いた場合の準備と調製

試料は、品種、脂肪量など特性が異なる胸最長筋（ロース）や半膜様筋（モモ）を2～3個用いる。冷凍保存された試料肉は、4℃、24時間で解凍する。

ア ロースト法

(ア) 厚さ5cm程度の試料肉を網付きバットにのせ、165℃に温められた恒温器（オーブン）で内部温度が70℃（温度計でモニタリング）になるまで加熱する（図7-1）。

注）官能評価の再現性確保に不可欠な試料の均一な加熱のためには、試料の内部温度のモニタリングが必要である。

(イ) 加熱終了後、10分程度放冷し、外側部分は切り落とし、筋線維を短く切るように、一定の大きさ（例：1cm×2cm×1cm厚、3cm×3cm×5mm厚）に切り出す（図7-2、7-3）。

注）焼きむらがある場合は、ステンレスのバットなどに並べて入れ、10分程度保温することによって焼き上がりを一定にする。

(ウ) 1試料につき3～5個（評価項目などにより変更）を1人分として提示する。

注）試料はステンレスの容器（臭い移り防止のため）に入れ、提示直前まで55℃程度で冷めないように保温（恒温器や湯せん等）しておく（図7-4、7-5）。また、提示試料をのせる皿も保温しておくといふ（官能評価は試料の温度の影響を受けるため、試料の温度は出来るだけ一定に保つことを心がける）。



図7-1 内部温度の測定

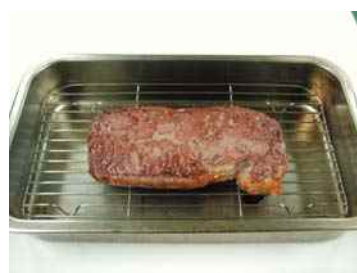


図7-2 加熱後の試料肉

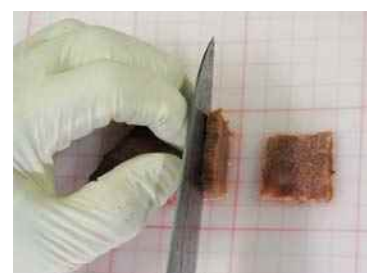


図7-3 試料肉の切り出し



左:図7-4 試料肉の保温

右:図7-5 恒温器

イ 焼き肉法

(ア) 試料肉は、厚さ 1 cm× 4 cm× 5 cmに切り出す。

(イ) 試料はステンレスのバットなどに入れ、乾燥を防ぐためにラップ等で密閉し、加熱するまで 4℃で保管する。

(ウ) 試料肉は、220℃に加熱したホットプレート（図 8-1、8-2）で表面60秒、裏面90秒加熱する（図 8-3）。

注）可能であれば温度制御つきのものを用意する。家庭用ホットプレートを使用する場合は、温度制御が難しいなどの欠点があるため、温度調節の感度や温度変動の範囲などを確かめて、実測温度を測定するなど点検の必要がある。

(エ) 加熱終了後、半分に切ったサンプル片（1 cm× 4 cm× 2.5cm）を一切れとする。

(オ) 1 試料につき一切れを 1 人分として提示する。

注）焼き肉法で調製した試料は、評価に与える影響を少なくするため、保温せずに加熱後ただちに提示する。



図8-1 ホットプレート



図8-2 温度制御部分

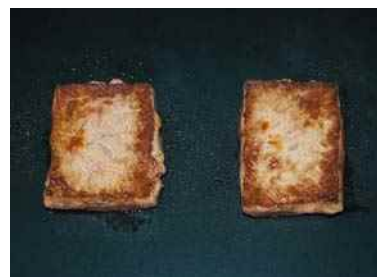


図8-3 加熱後の試料肉

ウ 煮肉法

(ア) 厚さ 2 mm 程度× 7 cm× 7 cmにスライサーで切り出す。

(イ) 試料はステンレスのバットなどに入れ、乾燥を防ぐためにラップ等で密閉し、加熱するまで 4℃で保管する（図 9-1）。

(ウ) 直径18cmの鍋に水を1.8 L 入れ、沸騰するまで加熱し、沸騰したら火は中火（炎の先が鍋の底につく程度）にする（図 9-2）。

注）鍋やカセットコンロなどは複数用意しておくとも便利である。ただし、使用するものは同一型もしくは同一の熱量になるものを用意する。また、試料の加熱に使用した沸騰水は、1 試料ごとに交換する。

(エ) 試料を沸騰水中に10秒間くぐらせる。

注）中まで十分に加熱されないおそれがあるため、試料が折りたたまれた状態にならないように気を付ける。

(オ) 鍋から試料を取り出して2分割し、これを1組として直ちに提示する。



図9-1 試料肉



図9-2 カセットコンロと鍋の準備

(2) 試料の提示と評価方法 (回答用紙：参考 4)

ア ブラインドサンプルとして2試料をパネルに提示する (図10-1)。

注) 1人分として1試料につき少なくとも15g程度 (ロースト法では3～5個程度) とする。

イ 評価は、8段階⁸⁾や12段階⁹⁾ (評価項目により変更) の評価尺度を用い、円卓法 (オープンパネル法)¹⁰⁾にて実施する (図10-2)。

注) 味わい方はパネルの自由に任せる場合と細かくコントロールする場合があるが、分析型官能評価では、データのバラツキを小さくして再現性を高めるために、コントロールする場合が多い。例えば、味と香りを区別して評価する場合には、味覚に関する項目 (「うま味」「甘味」など) では鼻腔を閉じた状態で評価し、香りに関する項目 (「脂っぽい香り」「肉様の香り」など) では鼻腔を開けて評価するといったことや噛む回数を指定するなどである。

ウ 評価終了後、パネルの評価値を分布図に集計する (図10-3)。

エ 分布図に提示された結果を基に、パネルリーダーやパネル同士で自由に討論しながら、この評価結果に対する各人の尺度や言葉の意味合いの捉え方を認識することによって、同一試料についての感覚がパネル全体で同じになるように統一していく。



図10-1 試料の提示



図10-2 オープンパネル

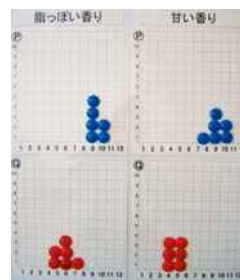


図10-3 評価値の分布図

(3) 牛肉エキスを用了場合 (回答用紙：参考 5)

ア 試料の準備と調製

市販の牛肉エキス、熱湯、添加物 (グルタミン酸ナトリウムなど)、寒天など

(ア) 異なる濃度のスープや寒天ゼリー (例：A-2.0%、B-2.3%)、一定の濃度に添加物が加えられたスープや寒天ゼリー (例：牛肉エキス 2.3%、A-0.05%、B-無添加) などを調製する。

(イ) スープは提示直前まで恒温器、湯せんなどを用いて60℃前後で冷めないように保温し、寒天ゼリーは冷蔵庫で冷やしておく。

イ 試料の提示と評価方法

(ア) スープの場合

- a コップに20ml程度注ぐ。
- b ランダムに並べた合計3個のコップを提示し、パネルは異なる試料を1個選ぶ(3点試験法)。
- c 評価終了後、パネルでどの試料がどのように異なっているのか確認し、牛肉の味や濃度の違いによる影響に対する感覚を養う。

(イ) 寒天ゼリーの場合

- a 15g程度の大きさに切り出し、一枚の皿に2種類を並べる。
- b 皿を提示し、パネルは始めに鼻腔を閉じて味わい、鼻腔を開ける。
- c 牛肉の香り(主に肉様)について、牛肉の味との識別を行い、濃度や種類の違いによる影響に対する感覚を養う。

2-4 官能評価の実施方法

家畜改良センターで取り組んでいる牛肉の官能評価では、食味要素として重要な食感、味覚および香りに関する評価項目を設定している。試料は、胸最長筋(ロース)を中心に半膜様筋(モモ)も用いている。試料の調製は、パネル訓練時と同様に行っているが、現在主として実施しているロースト法の調製方法、試料の提示、評価項目および評価方法について、以下に示す。

①試料の準備

冷凍保存された試料肉は、4℃、24時間で解凍する。

②試料の調製

- (1) 2-3 ②(1)ア(ア)に同じ。
- (2) 加熱終了後、10分程度放冷し、外側部分は切り落とし、筋線維を短く切るように、3cm×3cm×5mm厚に切り出す。
- (3) 1試料につき5枚(食感と味覚に関する項目;2枚、香りに関する項目;3枚)を1人分として提示する。

③試料の提示と評価方法(回答用紙:参考6)

- (1) 肉色の差による評価への影響を少なくするため、赤色灯を使用し、個室法¹¹⁾にて実施する(図11-1、11-2)。

注) 官能評価室がない場合は、会議室などを利用し、仕切りなどで簡易なブースを作る。

- (2) ブラインドサンプルとして1試料ずつ(1回の試料数は2~3試料)提示する。

注) 順序効果¹²⁾や記号効果¹³⁾に影響されない工夫をする。当センターでは、試料に表記する記号はP、Q、Rを用い、提示順番は来場順によって変更している。また、評価する際の試料温度を一定にするため、一度に全試料ではなく1試料ずつ提示している。

- (3) 評価は、食感と味覚に関する項目(「咀嚼時のやわらかさ」「多汁性」「脂の広がり」「うま

味」「酸味」および「脂の残留度」と香りに関する項目（「脂っぽい香り」「甘い香り」「肉様の香り」「鉄様の香り」「酸っぽい香り」「甘い香りの持続性」および「脂の残留度」）の13項目について、12段階の評価尺度を用いて行う。

注）食感と味覚に関する項目では鼻腔を閉じた状態で評価し、香りに関する項目では鼻腔を開けて評価している。また、項目によって噛む回数も指定している。



図11-1 官能評価室内のブース



図11-2 評価風景

④パネルの管理

- ・ 評価終了後、支障のない限り当日行った試料について情報（枝肉格付、理化学分析値など）を明らかにし、集計した結果について、フィードバックする。
- ・ お口直しとして、茶菓類を適宜出す。

3

消費者型官能評価 注 1) 3) 4)

消費者パネルによる官能評価を消費者型官能評価といい、消費者パネルは、嗜好型パネルであり、好き嫌い（嗜好）の判断が出来ればよい。ただし、研究室などで用いられている嗜好型パネルは、何らかの評価基準を持ち、評価尺度などの共有化が図られていることから平均的な消費者より判断力が高いとされており、通常の消費者パネルとは基本的に異なっている。

消費者型官能評価は、評価する対象物の嗜好を評価することであり、試料を通してパネルの性質に関する情報（どの試料がどんな特性のパネルに好まれたのかなど）を集めることが目的である。そのため、市場をどのような基準で細分化（セグメント化）し、ターゲットを決めて効果的に実施するかが重要となる。

消費者パネルの人数は、多ければ多いほどよいなど諸説あり、ひとつのセグメント（性別、年齢、地域など）あたり、少なくとも50名以上というあたりが現実的である、や目的に応じたパネル人数についての基準（消費者嗜好調査：大型；200～20万人、中型；40～200人など）などがある。

また、実施する際に留意する点として、評価用語、尺度、手法などがあげられる。評価用語は、誰でも分かることばを使うことが重要である。消費者の尺度は、個々に評価基準が異なるため、データのブレが生じやすくなる独立評価（単独で試料を提示）ではなく、基準品や競合品などを入れた相対評価（2つまたはそれ以上の試料を提示）を行うことにより、それらが評価の基準となり、より安定した結果が得られる。

※ 注釈

- 1) t種の試料を2組作り、各組より同種の試料を1個ずつ組合せる方法^{注1)}
- 2) 2種類の試料AとBがあり、試料に差があるかなどを判定する方法^{注3)}
- 3) 3種類以上のサンプルを提示し、刺激の大小などに関して順位をつけさせる。同順位を許す場合と許さない場合があるが、通常は許さない場合が多い^{注3)}
- 4) 2種類のサンプルAとBを識別するのに、Aを2つとBを1つ（A、A、B）またはAを1つとBを2つ（A、B、B）の合計3つのサンプルを提示し、異なると感じた1つのサンプルを選ばせる方法^{注3)}
- 5) 2種類のサンプルAとBを識別するのに、一方を標準品として与え、その特長を記憶させた後、さらにAとBを同時に提示し、標準品と同じと感じた方を選ばせる^{注4)}
- 6) 1：非常にかたい、2：かたい、3：ややかたい、4：ふつう、5：やややわらかい、6：やわらかい、7：非常にやわらかい
- 7) -3：非常にかたい、-2：かたい、-1：ややかたい、0：おなじ、+1：やややわらかい、+2：やわらかい、+3：非常にやわらかい
- 8) 1：非常にない（かたい、弱い）、2：とてもない（かたい、弱い）、3：ない（かたい、弱い）、4：ややない（かたい、弱い）、5：ややある（やわらかい、強い）、6：ある（やわらかい、強い）、7：とてもある（やわらかい、強い）、8：非常にある（やわらかい、強い）
- 9) 1：非常に弱い（かたい、ない）～12：非常に強い（やわらかい、ある）
- 10) パネルリーダー（司会者）と数名のパネルが円卓を囲んで、たがいに意見交換しながら評価を行い、意見をまとめていく方法^{注3)}
- 11) 相互に意見交換することのないよう、独立に仕切られた個室（ブース）の中でパネルが評価する方法^{注3)}
- 12) 試料の性質に関係なく試料の記号に対する好みに影響されて判断を決定する傾向のこと^{注4)}。対策としては、乱数表を使って三桁以上の数字にしたり、上位下位の意識を生じさせないP、Qなどの記号にするなどがある。
- 13) 2個の刺激を比較するとき、その刺激の客観的な順位に無関係に常に最初の刺激または後の刺激の方を過大評価する傾向のこと^{注4)}。

引用文献

注1) おいしさを測る 古川秀子著 幸書房

注2) パネル選定用基準臭液 第一薬品産業(株)

注3) 食肉の官能評価ガイドライン 家畜改良センター編 日本食肉消費総合センター

注4) 新版 官能検査ハンドブック 日科技連出版社

分析型官能評価パネル選定テスト I について（説明用紙）

技術部 技術第二課

本日はお忙しいところご協力ありがとうございます。

回答用紙は裏面にありますので、氏名・所属課・生年月日の記入をお願いします。

選定テストには、下記の2種類（5味識別テスト、におい識別テスト）があります。

どちらのテストから受けていただいても結構です。

各種テストについて、それぞれ計2回の受験をお願いいたします。

（1日目と2日目に分けて受験していただいても結構です。）

5味テストには口直し用の水を用意しますので、次の試料に移る時などお使いください。

何かありましたら、気兼ねなくお声をかけてください。

5味識別テスト（味覚試験）

水を一口飲んでから、テストを始めてください。

与えられた8個の試料を少しずつよく味わい、その中より

- ・ 甘 味 を感じるもの
- ・ 塩 味 を感じるもの
- ・ 酸 味 を感じるもの
- ・ 苦 味 を感じるもの
- ・ うま味 を感じるもの（うまみ調味料の味）

を各1個ずつ選び、該当する**コップの番号**を記入してください。

どのコップから先に味わっても結構です。**5種の味に該当するコップは必ずあります。**

もし、同じような味が2個以上あると感じた時は、より強く味を感じる方のコップの番号を記入して下さい。8個のうち3個は該当しないので、記入する必要はありません。

におい識別テスト（嗅覚試験）

においの嗅ぎ方として、

- ・ 神経を集中して軽く、短時間嗅いでください。
- ・ 一度においを嗅いで判別できない時は、再度においを嗅いでも差し支えありません。
- ・ 嗅ぎ直しは少し時間をおいてから行ってください。

1回のテストにつき、**全5種類**のにおい物質について、それぞれテストを行います。

5本のにおい紙（番号：1～5）のうち、1種類のにおい物質を染みこませたにおい紙（**同じにおいのする**におい紙）が**2本**、**においのない**におい紙が**3本**あります。

1本ずつちぎりながら、先端を鼻先に触れない程度に近づけてにおいを嗅いでください。

においを嗅いだ後は、プラスチック皿の上に乘せてください。

（皿ににおいをつけないように、におい紙の先端が皿からはみ出すように置いてください。）

5本のにおいを嗅ぎ終わってから、**においがする**と思われる**2本**のにおい紙の番号を記入してください。

においを嗅ぎ終わったら、フタ付ゴミ箱に**におい紙のみ**捨ててください。

（プラスチック皿は再度使いますので捨てないでください。）

プラスチック皿ににおい紙の先端が触れた時は、新しいプラスチック皿と交換してください。

パネル選定テスト 回答用紙

氏 名： _____

所 属 課： _____

【5味識別テスト】

1回目

味の種類	甘 味	塩 味	酸 味	苦 味	うま味
コップ番号					

2回目

味の種類	甘 味	塩 味	酸 味	苦 味	うま味
コップ番号					

【におい識別テスト】

5本のうち、においがする2本の番号を選んでください。

1回目

	においがする2本の番号	
におい-O		
におい-P		
におい-Q		
におい-R		
におい-S		

2回目

	においがする2本の番号	
におい-O		
におい-P		
におい-Q		
におい-R		
におい-S		

お疲れさまでした。ご協力ありがとうございました。

分析型官能評価パネル選定試験ⅡおよびⅢ（牛肉）について（説明用紙）

技術部 技術第二課

本日はお忙しいところご協力ありがとうございます。

回答用紙は裏面にありますので、氏名・所属課の記入をお願いします。

本テストは、下記の3種類（4味濃度差識別テスト、におい濃度差識別テスト、牛肉識別テスト）からなっております。

各種テストについて、それぞれ計2回の受験をお願いいたします。

4味濃度差識別テスト、牛肉識別テストには口直し用の水を用意しますので、次の試料に移る時などお使いください。

何かありましたら、気兼ねなくお声をかけてください。

におい濃度差識別テスト

1回のテストにつき、全5種類のにおい物質について、それぞれテストを行います。

それぞれ、濃度の異なる3本のにおい紙（O, P, Q）について、においを強く感じた順ににおい紙のアルファベットを記入して下さい。

4味濃度差識別テスト

水を一口飲んでから、テストを始めて下さい。

与えられる8つの試料には4種類の味がついており、甘味（No.1,2）、塩味（No.3,4）、酸味（No.5,6）、旨味（No.7,8）となっています。

それぞれの4種の味について、味がより強いと感じたNo.を○で囲んで下さい。

牛肉の識別テスト

水を一口飲んでから、テストを始めて下さい。

トレイの3種類（P, Q, R）の牛肉サンプルのうち、特性の異なる牛肉が1つあります。

その異なる牛肉のアルファベットを回答欄に記入して下さい。

また、他の2つと比較して、どのような点に違いを感じましたか。その理由についてもご記入お願い致します。

パネル選定試験 回答用紙

No. _____

氏 名： _____

所 属 課： _____

【におい濃度差識別テスト】

においの強い順に、におい紙のアルファベット（O, P, Q）を記入して下さい。

1回目

	においの強い順	
I	>	>
II	>	>
III	>	>
IV	>	>
V	>	>

2回目

	においの強い順	
I	>	>
II	>	>
III	>	>
IV	>	>
V	>	>

【4味濃度差識別テスト】

味を強く感じるコップの番号を○で囲んで下さい。

1回目 赤 甘味（1・2） 塩味（3・4） 酸味（5・6） 旨味（7・8）
 青 甘味（1・2） 塩味（3・4） 酸味（5・6） 旨味（7・8）

2回目 赤 甘味（1・2） 塩味（3・4） 酸味（5・6） 旨味（7・8）
 青 甘味（1・2） 塩味（3・4） 酸味（5・6） 旨味（7・8）

【牛肉識別テスト】

3種類の牛肉のうち、特性の異なる牛肉のアルファベット（P, Q, R）を記入して下さい。

1回目

他の2つと異なる牛肉 = ()

他の2つと比較して、どのような点に違いを感じましたか。

回答欄

2回目

他の2つと異なる牛肉 = ()

他の2つと比較して、どのような点に違いを感じましたか。

回答欄

お疲れさまでした。ご協力ありがとうございました。

分析型官能評価パネル選定試験について（説明用紙）

技術部技術第二課

お忙しいところご協力ありがとうございます。

解答用紙は2枚目にありますので、氏名・受験日・受験回数を記入して下さい。

1回につき、下記の2種類のテスト（5味識別テスト、牛肉のかたさ判定テスト）を受けて下さい。

どちらのテストにも口直し用の水を用意しますので、次の試料に移る時などお使い下さい。

何かありましたら、声をかけて下さい。

5味識別テスト（味覚試験）

参考1に同じ

テスト② 牛肉のかたさ判別テスト

水を一口飲んでから、テストを始めて下さい。

トレイに3種類の牛肉があります。初めに、「No.1」の肉を食べて、やわらかさの程度を7段階で評価し、「No.1の肉のかたさ」で該当する番号のところに○を書いて下さい。

次に、「No.2」「No.3」の肉を食べて下さい。「No.2」「No.3」のどちらかは「No.1」と同じ肉です。このうち「No.1」と違う肉を選び、その番号を（ ）内に記入して下さい。

また選んだ肉について、「No.1」と比べてやわらかさがどのくらい違うかを回答欄に記入して下さい。

<記入例> 「No.1」の肉のかたさが（ややかたい）、「No.1」と違う肉が「No.3」、
「No.1」に比べて（やややわらかい）場合

「No.1」の肉のかたさ

1 〔非常に かたい〕	2 (かたい)	3 (ややかたい)	4 (ふつう)	5 〔やや やわらかい〕	6 (やわらかい)	7 〔非常に やわらかい〕
		○				

「No.1」と違う肉＝（ 3 ）の肉

「No.1」と比べて

-3 〔非常に かたい〕	-2 (かたい)	-1 (ややかたい)	0 (おなじ)	+1 〔やや やわらかい〕	+2 (やわらかい)	+3 〔非常に やわらかい〕
				○		

パネル選定試験 回答用紙

氏 名： _____

受 験 日：平成 _____ 年 _____ 月 _____ 日

受験回数： _____ 1 _____ 2 _____ 回目（○を付けて下さい）

テスト① 味覚試験（5味識別テスト）

味の種類	甘 味	塩 味	酸 味	苦 味	うま味
コップNo.					

テスト② 牛肉のかたさ判別テスト

「No. 1」のかたさ

1 〔非常に かたい〕	2 (かたい)	3 (ややかたい)	4 (ふつう)	5 〔やや やわらかい〕	6 (やわらかい)	7 〔非常に やわらかい〕

「No. 1」と違う肉＝〔 _____ 〕の肉

「No. 1」と比べて

-3 〔非常に かたい〕	-2 (かたい)	-1 (ややかたい)	0 (おなじ)	+1 〔やや やわらかい〕	+2 (やわらかい)	+3 〔非常に やわらかい〕

お疲れさまでした。ご協力ありがとうございました。

官能評価に関するパネル訓練（第 回）回答用紙

平成 年 月 日

氏名

評点欄の該当する番号に○を付け、コメント欄には理由や印象などについて、自由に記入して下さい。

<評価する際の注意点>

- ・評価項目は、裏面にもあります。
- ・個人的な好みを含めずに評価して下さい。
- ・客観的な評価と個人的な好みにズレがある場合は、コメント欄に記入して下さい。

【鼻をつまんで評価して下さい】

咀嚼時のやわらかさ（10回程度噛んだ時のやわらかさの印象）

番号	コメント (評価を付けた理由、印象など自由に)	非常にかたい ← → 非常にやわらかい											
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
P													
Q													

多汁性（10回程度噛んだ時の多汁性の印象）

番号	コメント (評価を付けた理由、印象など自由に)	非常にない ← → 非常にある											
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
P													
Q													

うま味（20回程度噛んだ時のうま味の印象）

番号	コメント (評価を付けた理由、印象など自由に)	非常に弱い ← → 非常に強い											
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
P													
Q													

【鼻をつまんで5回程度噛んだ後、鼻をあけて評価して下さい】

脂っぽい香り（鼻に抜けてくる香りの印象） 例：バター、サラダオイル

番号	コメント (評価を付けた理由、印象など自由に)	非常に弱い ← → 非常に強い											
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
P													
Q													

肉様の香り（鼻に抜けてくる香りの印象） 例：ビーフジャーキー、コンビーフ、牛肉エキス

番号	コメント (評価を付けた理由、印象など自由に)	非常に弱い ← → 非常に強い											
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
P													
Q													

検査全体に関する印象やご意見等がありましたら、ご自由に記入して下さい。

ご協力ありがとうございました。

参考5 牛肉スープを使ったパネル訓練

官能評価に関するパネル訓練 回答用紙

平成 年 月 日

氏名 _____

<方法>

1・2・3の番号がついたコップを1つずつよく味わってください。
3つのうち、1つだけ他の2つと違うスープ（2つは同じスープ）です。
他のスープと違うスープを1つ選び、その番号を回答欄に書いてください。
また、そのとき他の2つとどこが違うのかについても、記入してください。

<例>

①のコップ	②のコップ	③のコップ
A?	A?	B?

とおもったら・・・。

回答欄の番号の所に③と書き、隣の欄になぜそう思ったか書いてください。

<回答欄>

番号	コメント記入欄

（検査全体に関する印象・意見等ご自由にご記入下さい）

おつかれさまでした！

後日、評価値の平均をお知らせします。ご自分の答えと照らし合わせて、本番の時の参考にしてください。

P

牛肉の官能評価（第 回） 回答用紙

No.

平成 年 月 日

氏名

評点欄の該当する番号に○を付け、コメント欄には理由や印象などについて、自由に記入して下さい。

<評価する際の注意点>

- ・評価項目は、裏面にもあります。
- ・個人的な好みを含めずに評価して下さい。
- ・客観的な評価と個人的な好みとズレがある場合は、コメント欄に記入して下さい。

【鼻をつまんで評価して下さい】

咀嚼時のやわらかさ（10回程度噛んだ時のやわらかさの印象）

番号	コメント (評価を付けた理由、印象など自由に)	<評点>該当する評価の欄に○をつけて下さい。											
		非常にかたい ← 非常にやわらかい											
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
P													

多汁性（10回程度噛んだ時の多汁性の印象）

番号	コメント (評価を付けた理由、印象など自由に)	<評点>該当する評価の欄に○をつけて下さい。											
		非常にない ← 非常にある											
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
P													

うま味（20回程度噛んだ時のうま味の印象）

番号	コメント (評価を付けた理由、印象など自由に)	<評点>該当する評価の欄に○をつけて下さい。											
		非常に弱い ← 非常に強い											
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
P													

【鼻をつまんで5回程度噛んだ後、鼻をあけて評価して下さい】

脂っぽい香り（鼻に抜けてくる香りの印象） 例：バター、サラダオイル

番号	コメント (評価を付けた理由、印象など自由に)	<評点>該当する評価の欄に○をつけて下さい。											
		非常に弱い ← 非常に強い											
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
P													

肉様の香り（鼻に抜けてくる香りの印象） 例：ビーフジャーキー、コンビーフ、牛肉エキス

番号	コメント (評価を付けた理由、印象など自由に)	<評点>該当する評価の欄に○をつけて下さい。											
		非常に弱い ← 非常に強い											
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
P													

検査全体に関する印象やご意見等がありましたら、ご自由に記入して下さい。

ご協力ありがとうございました。

日本の畜産 改良と技術で育てます



執筆者 家畜改良センター 技術部 技術第二課

齋藤 薫

奥村 寿章

曾和 拓

佐久間弘典

山田 信一

家畜改良センター技術マニュアル 21

食肉の理化学分析及び官能評価マニュアル

発行／独立行政法人家畜改良センター

〒961-8511 福島県西白河郡西郷村大字小田倉字小田倉原 1

TEL：0248-25-2231（代表） FAX：0248-25-3990

<http://www.nlbc.go.jp>

発行日／平成22年 3 月

印刷所／有限会社 ワタベ印刷所
