

# インピーダンスによるムシガレイ鮮度の非破壊測定

石原成嗣<sup>1a</sup>・竹谷万理<sup>1</sup>・井岡久<sup>1</sup>・清川智之<sup>1</sup>

Nondestructive determination of freshness of roundnose flounder  
by impedance analysis

Seiji ISHIHARA, Banri TAKETANI, Hisashi IOKA, Tomoyuki KIYOKAWA

キーワード：ムシガレイ, 鮮度, インピーダンス

## はじめに

我が国の消費市場においては、広範な地域から多種多様な食材が提供されるようになり消費者の選択肢が広がった結果として、魚価向上のための漁獲物品質管理の重要性がますます高まっている。脂質など呈味に関わるもの、色調や傷の有無など外見に関わるもの、食中毒細菌の有無など安全性に関わるもの等、様々な品質評価基準が存在するが、その中でも鮮度は、呈味、外見、安全性全てに関連があることから特に重要性が高く、魚価に与える影響も大きい。

そのため各地で漁獲物の鮮度管理の試みが行われているが、島根県西部の沖合底びき網漁業においては、漁船の大規模修繕に併せ、漁獲物の冷海水処理による鮮度保持の試みが続けられている。2016年度からは、帰港前日の漁獲物のみを使用、船上で冷海水による冷却処理を施した上で氷入りスチロール箱に箱詰めし、通常船上で規格化のために行われている再選別作業を行わずに出荷する、という取り扱い基準を満たした漁獲物について、「沖獲れ一番」と命名してブランド化に取り組んでいる。

「沖獲れ一番」の品質管理にあたって、鮮度の基準として使用しているのはK値である。K値とはATP関連化合物中に占めるヒポキサンチンとイノシンの割合を百分率で表したものであり、鮮度低下に伴ってK値は増加する<sup>1)</sup>。経験的に生食に適するのはK値20以下であるとされており、「沖獲れ一番」においては、検査した個体全てのK値が20以下、かつ平均値が15以下であることをブランドの合格基準としている。しかし、K値を測定するためには、筋肉部を

採取・調整したうえで高速液体クロマトグラフィーによって各成分量を測定するという、侵襲的で時間がかかり高価な分析機械を必要とする方法が一般的であり、漁業者や漁協では分析するのが難しいため、水産技術センターが行う必要があった。

K値は生化学的な評価基準であるが、他の基準としては硬直指数、破断強度なども知られている。硬直指数は魚の死後硬直の進行を計測するもので、簡便ではあるが、鮮度の実態を良く反映する優れた基準である。死後硬直は筋繊維内のATP減少とともに進行し<sup>1)</sup>、完全硬直に達したのち、自己消化に伴う分解とともに解硬していく。そのため硬直指数は硬直に伴って上昇、解硬に伴って減少していくという過程を辿るが、これは鮮度低下とともに一律に数値が上昇していくK値と比べると、直感的な分かりやすさという意味では劣る点であると言える。

また、破断強度は筋組織の物理的な強度を表す値である。筋組織は死後硬直に伴う一時的な強度上昇の後、自己消化を受けてその強度を減じていく。破断強度の測定部位や方法は様々であり、統一した基準は無いため、これもK値の様な分かりやすさに欠けることは否めない。

一方、鮮度を測定する手段としては電気インピーダンスを用いる方法も試みられており、この分野ではイギリスで開発されたトリーメーターが以前から知られている。非破壊的で簡便な方法であるが、測定機械が高価であることなどから、日本では広範には普及していない。トリーメーターの仕様は公開されていないが、先行する論文から低周波域の電気インピーダンスを解析に使用していると推察されて

<sup>1)</sup> 漁業生産部 Fisheries Productivity Division

<sup>a</sup> 現所属：内水面浅海部 Inland Water Fisheries and Coastal Fisheries Division

いる<sup>2)</sup>。

加藤ら<sup>2)3)</sup>は 10kHz～1MHz の範囲における複数の周波数の電流を使用したインピーダンス測定によって、鮮度（氷蔵時間）を推定する試験を行っている。細胞膜は脂質二重膜で構成されているため電気的には絶縁体であり、低周波数の電流は主として細胞外を流れる。一方で、高周波数の電流は細胞膜を貫く種々のチャンネルを経路として細胞内を通過することができる<sup>4)5)</sup>。この性質の違いから、低周波数と高周波数の電流によるインピーダンスを比較することで、鮮度低下に伴う細胞膜の劣化の程度を推定することができる。加藤らによるこの試験では、フィレー肉側からの測定や、針状電極による侵襲測定によって推定された氷蔵時間と実測値との相関係数は 0.8 以上であった<sup>3)</sup>。一方で表皮側からの非破壊計測では相関が低く、実用には改良が必要とされている。この試験で用いられた装置は電流極と電圧極が分離していない二電極方式によるものであり、体表面の影響を受けやすいことが、体表からの計測精度を低くする要因となったと推察されている<sup>3)4)</sup>。

近年、大和製衡より発売された Fish Analyzer は、電気インピーダンス法により鮮魚の脂質含量を計測する装置である。その特徴としては電流極と電圧極を分けた四電極法であり魚体表面の影響を受けにくいこと<sup>4)6)</sup>、2kHz から 100kHz までの複数の周波数でインピーダンスを見る多周波測定方式を採用していることが挙げられる<sup>6)</sup>。絶縁体として働く体内の脂肪量を測定することが Fish Analyzer の本来の用途であるが、検量線モードとして加工していない生のインピーダンス値を出力することも可能である。

そこで今回、この Fish Analyzer を用いて、沖合底びき網漁業によって漁獲されたムシガレイの電気インピーダンスを計測し、その鮮度を K 値や硬直指数、破断強度として推定することが可能であるか、検討を行った。

## 資料と方法

**インピーダンス値の経時変化の測定** 検体として、JF しまね浜田支所に 2016 年 12 月 15 日に沖合底びき網漁船によって水揚げされたムシガレイ 12 尾を使用した。ムシガレイのうち発泡スチロール箱で出荷されるものは、氷の上に無眼側を上にして並べられる。このため入手した検体は、まず箱に並べられた状態のまま無眼側のインピーダンスを測定し、箱から取り出して全長、体長、体重、硬直指数を計測し

た後に、改めて氷上に並べた上で有眼側のインピーダンスを測定した。使用した検体は漁獲後 24 時間以内に水揚げされたものであるが、正確な時間は分からないため、漁獲後 24 時間経過したものとみなした。その後 48, 120, 144, 168 時間目にインピーダンス測定を行い、併せて 24（入手日）・120・144 時間目には ATP 関連化合物測定用の採肉も行った。なお、この検体のデータは下記に示す鮮度推定のための検量線作成にも用いた。

**硬直に伴うインピーダンス値の経時変化の測定** 検体として、2016 年 10 月 18 日に水産技術センターの調査船島根丸によって漁獲されたムシガレイ 3 尾を使用した。使用した検体の体重は、それぞれ 313g, 130g, 251g であり、順に検体 1, 2, 3 とした。検体は、10℃冷蔵庫内に置いたクーラーボックスの海水にエアレーションを施して漁獲翌日まで生かしておき、延髄締めにより即殺した。即殺後 14 時間目まで 1 時間毎に無眼側インピーダンスと硬直指数を計測し、その後 24 時間目に再び計測を行った。

**鮮度推定のための検量線作成** JF しまね浜田支所に 2016 年 5 月、および 8～12 月に沖合底びき網漁船によって水揚げされたムシガレイ計 235 個体を検体として用いた（表 1）。

表 1. 使用した検体の概要

調査日	規格	平均全長 (mm)	平均体長 (mm)	平均体重 (g)	平均品温 (℃)	検体数 (尾)
2016/5/16	11入り	303	260	283	5.1	5
	6入り	353	306	445	5.4	6
	7入り	357	308	393	4.8	5
	8入り	315	270	329	5.4	8
2016/8/24	7入り	364	311	520	1.5	7
2016/8/25	10入り	315	269	310	-0.1	11
2016/9/5	6入り	344	291	454	1.0	13
2016/9/6	10入り	321	272	348	1.3	10
2016/9/26	12入り	372	319	569	1.2	12
2016/9/30	12入り	308	264	301	1.9	12
2016/10/5	8入り	318	282	328	0.4	8
2016/10/13	45入り	303	262	273	1.0	10
2016/10/26	8入り	322	274	354	1.5	8
2016/10/27	14入り	345	295	463	1.1	14
2016/11/1	12入り	367	314	581	-0.2	12
2016/11/21	12入り	339	291	451	1.2	12
2016/12/1	10入り	363	312	554	0.4	10
2016/12/8	40入り	305	260	307	0.7	20
	7入り	383	328	669	0.4	7
2016/12/9	13入り	311	269	306	1.1	13
	40入り	303	263	290	2.3	20
2016/12/15	12入り	334	288	422	(欠測)	12

12月15日に入手したムシガレイについては、上記「硬直に伴うインピーダンス値の経時変化の測定」にある通り120, 144時間目にもK値とインピーダンス値を測定したので、これもデータに加え、計259検体分のデータセットとした。

検体は上記「インピーダンス値の経時変化の測定」と同様の方法によりインピーダンス値と全長、体長、体重、硬直指数を計測した。その後、ATP関連化合物と破断強度を測定するために、背部筋肉の採取を行った。

**インピーダンス値** インピーダンス値の測定には大和製衡Fish Analyzer DFA100を用い、背側の側線より上方、中央部の体表に電極を接触させて、2, 5, 20, 50, 100kHzの各周波数<sup>6)</sup>によるインピーダンス値を無眼側、有眼側それぞれ5回ずつ採取した。

インピーダンス値は最大値と最小値を除去し、残り3回分の値を平均して使用した。加藤ら<sup>2)</sup>により、異なる周波数の抵抗比や抵抗差を指標とすることで、温度や電極の接触状態による誤差をある程度相殺することが可能であると報告されていることから、各周波数間における抵抗の比と差を算出し、抵抗値とともに解析に供した。

検量線の算出にあたっては、各データをK値の順に並び替え、最小値から交互にキャリブレーション用とバリデーション用のデータとして設定した。キャリブレーション用データを用いて重回帰分析や曲線回帰分析を行い、得られた検量線の検定はバリデーション用データを用いて行った。

**ATP関連化合物** 検体の有眼側背部筋肉2gを切り取り、10mlの氷冷10%過塩素酸中でホモジナイズして遠心分離により除タンパク後、pH7前後に中和して定容したものを試料とし、高速液体クロマトグラフ（島津製作所 システムコントローラー：SCL-10Avp, オートインジェクタ：SIL-10ADvp, 送液ユニット：LC-10ADvp, カラムオープン：CTO-10Avp, 検出器：SPD-10Avp, 分析条件 移動相：100mMりん酸-トリメチルアンモニウム緩衝液/アセトニトリル = 100/1, カラム：信和化工 STR-ODS II, 移動相流速：1ml/min, カラム温度：40°C, 検出波長：254nm）によって定量分析したうえでK値を算出した。

**硬直指数** 頭部から魚体の半分を台上に乗せ、垂れ下がり $l_x$ （台表面を水平方向に延ばした線から尾部付け根までの長さ）を測定し、 $(l_0 - l_x) / l_0 \times 100$ の計算により硬直指数を算出した<sup>1)</sup>。なお、本来は斃死直後の垂れ下がり方を測定して $l_0$ とする必要があるが、「硬直に伴うインピーダンス値の経時変化の測定」

以外の試験では測定できないため、体長の1/2の長さ $l_0$ として仮の硬直指数を算出した。

**破断強度** 背肉を厚さ10mm程度、皮付きのまま切り取り、レオメータ（サン科学R-UDJ-DM II, 測定条件 プランジャー：直径5mm円形, 試料台速度：60mm/min, クリアランス：1mm）により、体軸方向に3回、位置を変えながら破断強度を測定して平均値を算出した。

## 結果

**インピーダンス値の経時変化の測定** 図1に各周波数における無眼側のインピーダンス値とK値の経時変化を示す。インピーダンス値は試験開始時（漁獲後24時間）より時間とともに減少し続けた。漁獲後48時間目にかけて、K値が概ね20に達する時点までの減少が最も大きく、その後の変化は比較的緩やかであった。また、低い周波数におけるインピーダンス値の変化の方が、高い周波数よりも大きかった。

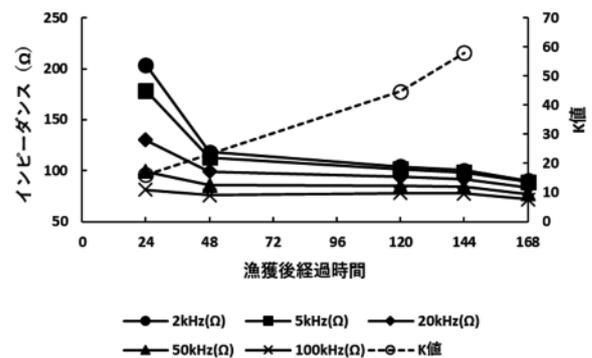


図1.各周波数におけるインピーダンス値およびK値の経時変化。

また、図2に様々な周波数の組み合わせにおけるインピーダンス値の比の経時変化を示した。最も変化が大きく表れたのは2kHzと100kHzにおけるイン

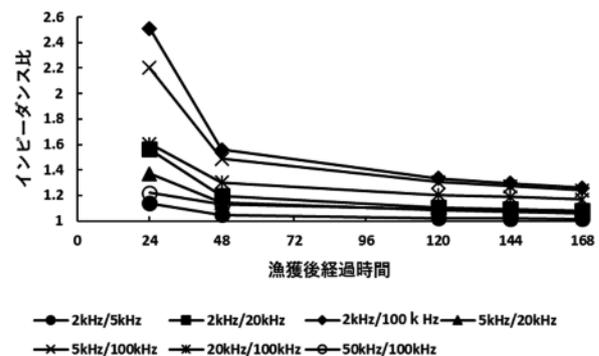


図2.インピーダンス比の経時変化。

ピーダンス値の比（以後 2kHz/100kHz と略す。他周波数についても同様とする）であり、漁獲後 168 時間で、調査開始時における値の 50%に低下した。逆に最も変化の小さい周波数の組み合わせは 2kHz/5kHz であり、漁獲後 168 時間のインピーダンス比は 24 時間の時点の 89%であった。このように、低周波数を使用した上で、組み合わせる周波数の差が大きいほど、インピーダンス比の経時変化も大きい傾向があった。

**硬直に伴うインピーダンス値の経時変化の測定**  
 即殺後の無眼側インピーダンス値は硬直の進行に伴い緩やかに上昇した（図 3）。また、インピーダンス比（2kHz/100kHz）も同様の推移を示し、概ね完全硬直に達するころに値の上昇が止まった（図 4）。ただし、他より小さい検体 2 のみは、完全硬直に達する前にインピーダンス比の上昇が止まり、値も他の 2 検体より小さかった。

硬直指数とインピーダンス比によってプロットを取ると、検体 1 は  $R^2=0.96$ 、検体 2 は  $R^2=0.70$ 、検体 3 は  $R^2=0.88$  の回帰直線を引くことができた（図 5）。

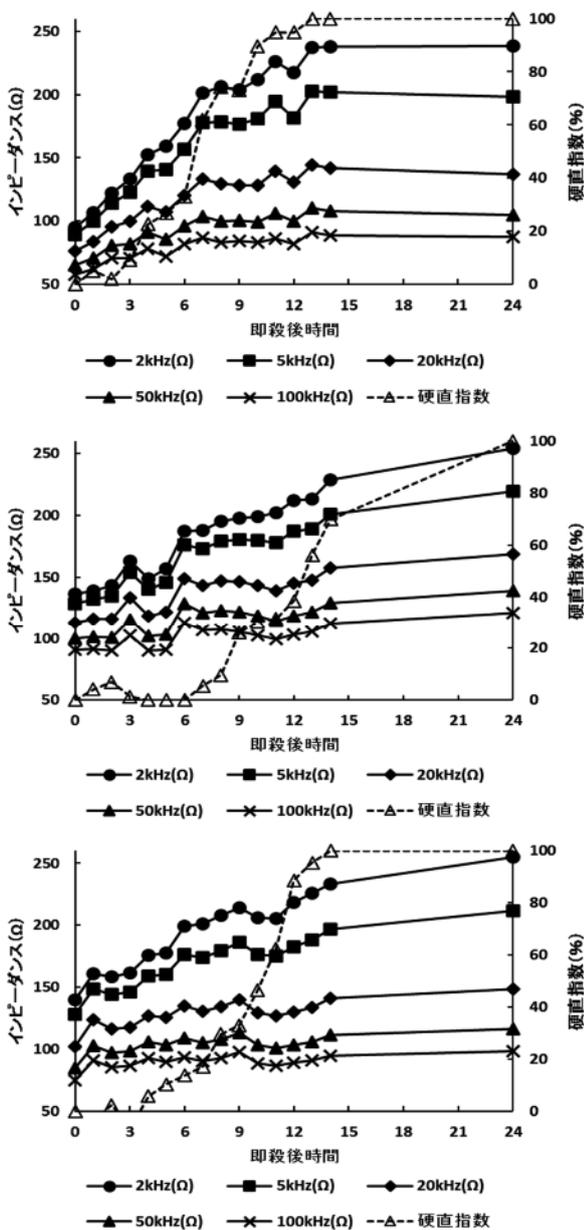


図 3. インピーダンス値と硬直指数の経時変化.  
 上から検体 1, 2, 3.

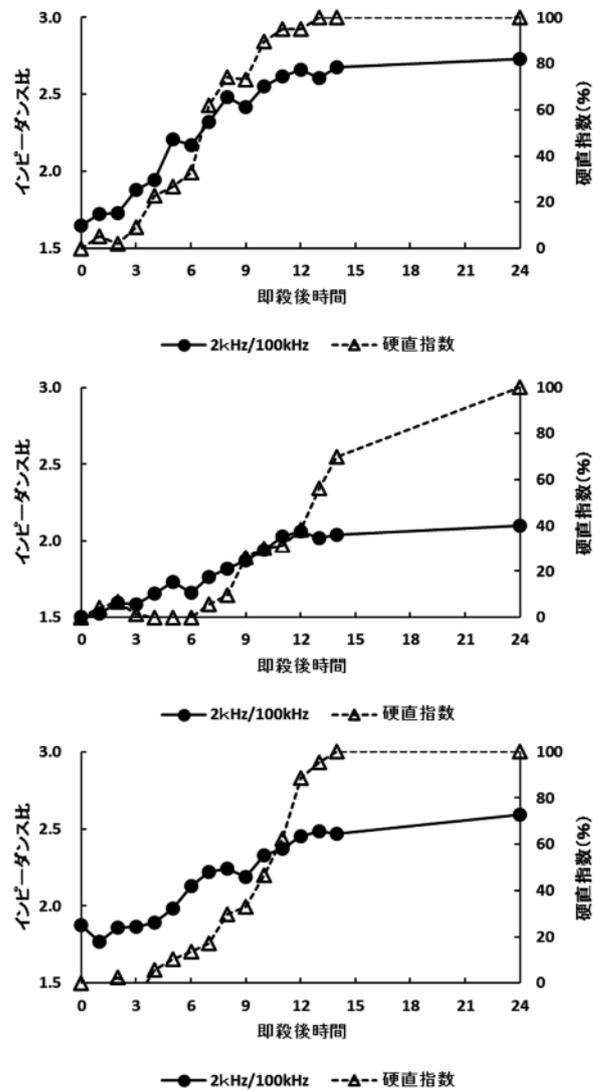


図 4. インピーダンス比と硬直指数の経時変化.  
 上から検体 1, 2, 3.

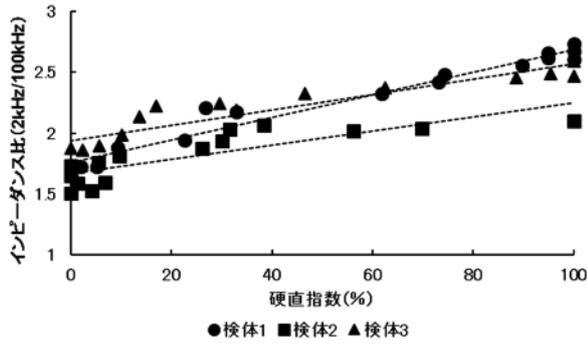
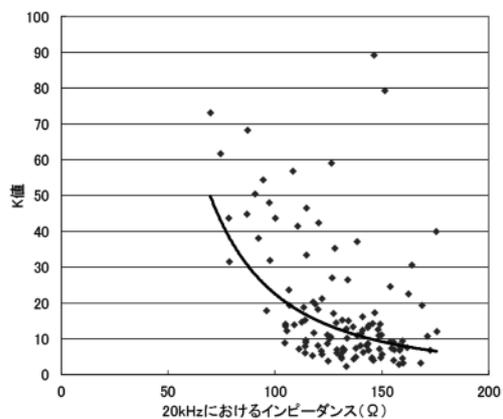
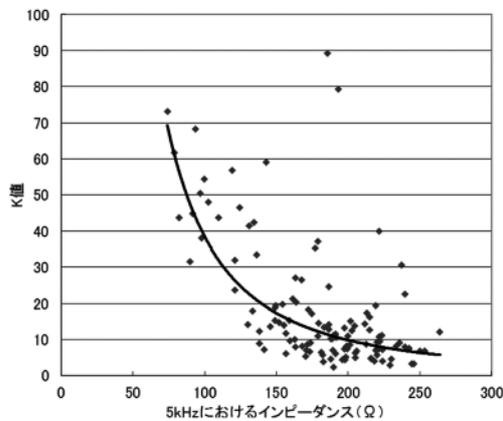
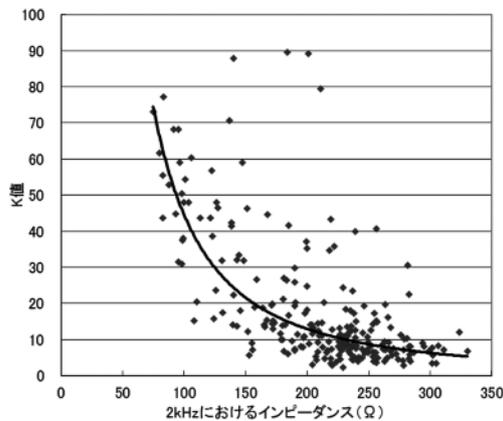


図5. インピーダンス比と硬直指数の関係。点線は回帰直線を示す



**鮮度推定のための検量線作成** まず無眼側インピーダンス値を用いてK値を推定する検量線を作成することとした。なお、入手した検体の鮮度が比較的良好であったためK値の分布には偏りがあり、K値20以下のデータが全体の73%を占めていた。

図6に各周波数におけるインピーダンス値とK値との関係を示す。2kHzの周波数においてK値との間の線形近似、指数近似、対数近似、累乗近似による決定係数 ( $R^2$  値) を算出したところ、それぞれ0.42, 0.46, 0.47, 0.48であり、累乗近似による近似曲線が他より若干相関が高かった。一方で周波数が上昇するにつれて、K値との相関は低下していった。

また、各周波数間におけるインピーダンス値の比や差とK値との関係を見ると(図7)、2kHz/5kHzの相関が最も高く、 $R^2$  値は線形近似、指数近似、累乗近似でそれぞれ0.56, 0.61, 0.62となった。

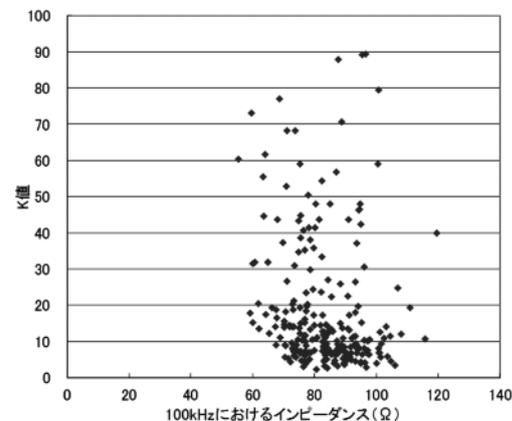
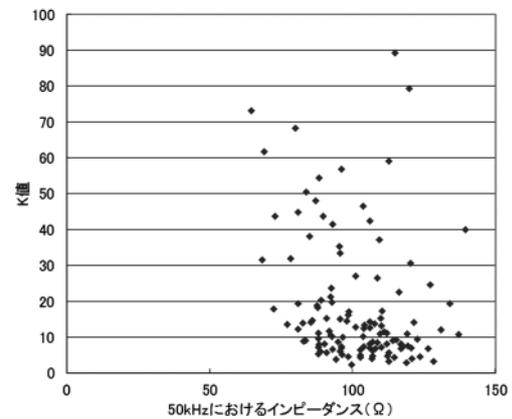


図6. インピーダンス値とK値の関係。近似曲線は累乗近似によるもの。

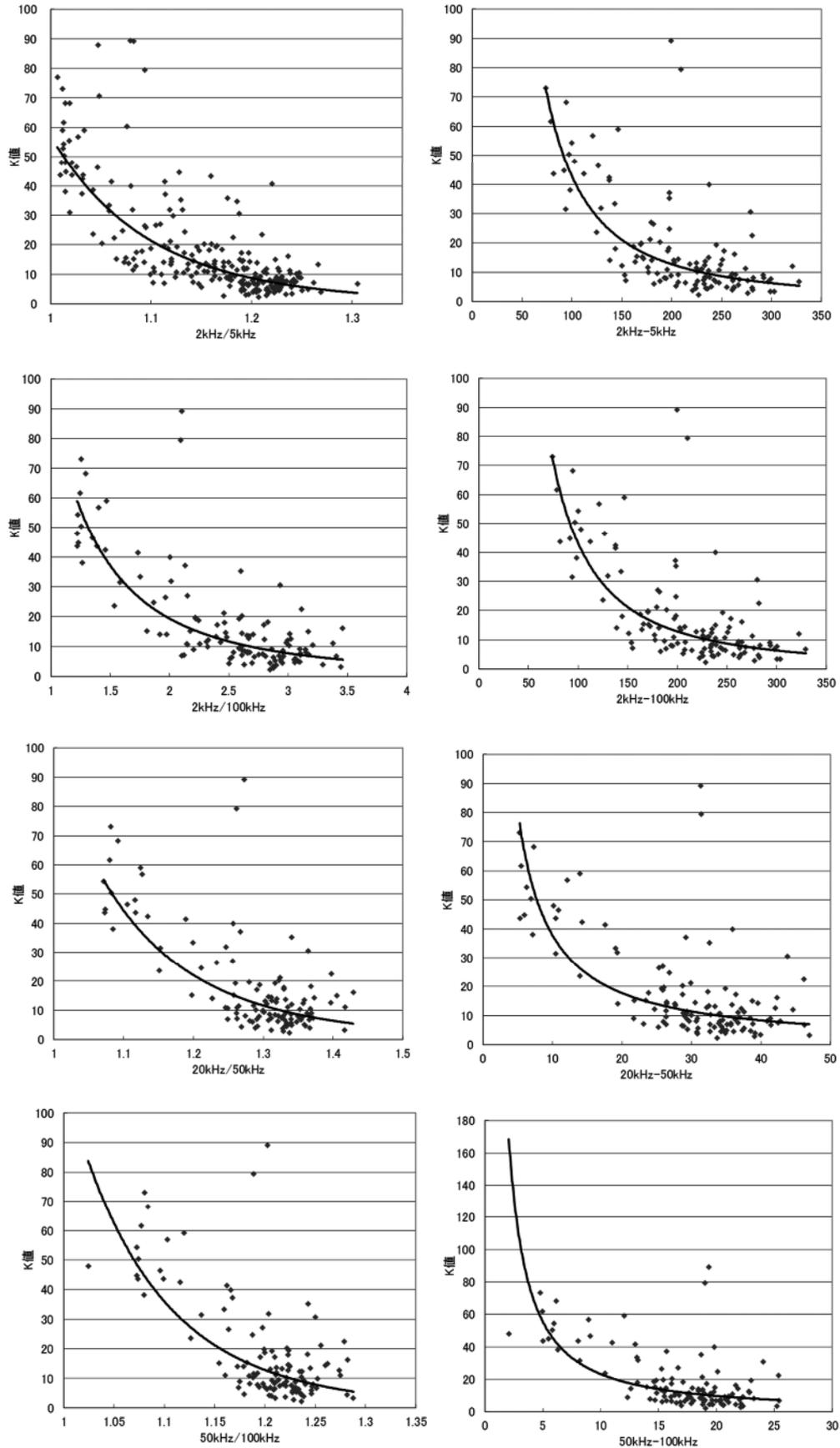


図7. 各周波数におけるインピーダンス値の比・差と K 値の関係。  
近似曲線は累乗近似によるもの。

続いてキャリブレーション用データを用いて検量線を作成し、検定を行った（表2）。

表2. K値推定用検量線の評価  
SEP=検量線検定における標準誤差  
RPD=SEPと検定試料の標準偏差の比

重回帰分析による検量線（第1変数=2kHz/5kHz）

変数の数	検量線 R <sup>2</sup>	検定 R <sup>2</sup>	SEP	RPD
5	0.69	0.58	11.95	1.55
4	0.67	0.60	11.75	1.57
3	0.64	0.57	12.11	1.53

累乗近似による検量線

使用周波数	検量線 R <sup>2</sup>	検定 R <sup>2</sup>	SEP	RPD
2kHz/5kHz	0.69	0.57	12.22	1.51

最も精度が高かったのは重回帰分析による検量線で、変数の数は4、バリデーション用データによる検定R<sup>2</sup>値は0.60であった。また、累乗近似による検量線の検定R<sup>2</sup>値は0.57であった。いずれも精度が低く、RPD値はそれぞれ1.57、1.51であった。

そこで検量線の精度を上げるために、測定データから魚体の小さなカレイ（40入り、45入り規格のもの計50検体分）を全て除去し、残りのデータのみを使用して再び検量線を作成した（表3）。

表3. 魚体の小さな検体を除去して作成した検量線の評価

重回帰分析による検量線（第1変数=5kHz/20kHz）

変数の数	検量線 R <sup>2</sup>	検定 R <sup>2</sup>	SEP	RPD
5	0.85	0.72	8.22	1.89
4	0.84	0.74	7.98	1.95
3	0.79	0.66	9.03	1.72

累乗近似による検量線

使用周波数	検量線 R <sup>2</sup>	検定 R <sup>2</sup>	SEP	RPD
2kHz/5kHz	0.72	0.73	8.45	1.84

その結果、重回帰分析による検量線（使用変数：5kHz/20kHz, 50kHz-100kHz, 5kHz-20kHz, 5kHz/100kHz）で検定R<sup>2</sup>値は0.74, RPDは1.95, 累乗近似による検量線（使用変数2kHz/5kHz）で検定R<sup>2</sup>値は0.73, RPDは1.84となった。

図8にK値の実測値と検量線による推定値の関係を示す。一般的に、選別に使用できる検量線はRPD値

2.5以上とされており、精度は向上したものの、選別に使用できる精度には至らなかった。また、K値40～50を超えると推測値が頭打ちの状態となり、誤差が大きくなった。

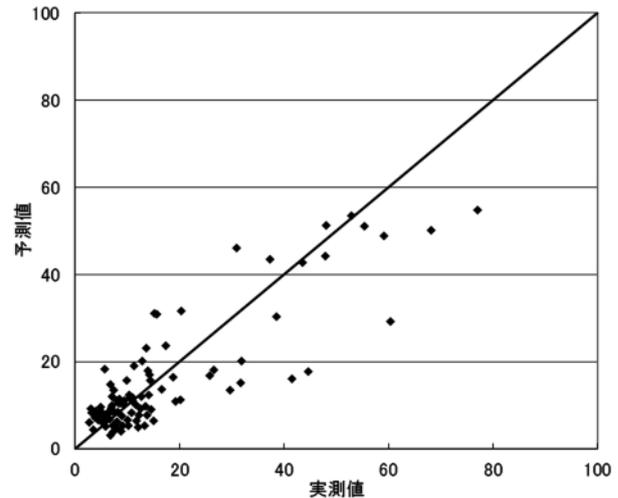


図8. K値の実測値と検量線による推定値の関係。重回帰分析による検量線（変数4）。

なお、有眼側のインピーダンス値においても同様に検量線を作成したが、R<sup>2</sup>=0.4程度と低い値であった。これはK値測定用のサンプルの採取を有眼側の背肉から行う都合上、一度採肉した検体からは有眼側のインピーダンスを計測出来なくなることから、高いK値のデータが揃わなかったことが理由の一つであると推察される。

続いて、K値と同様に無眼側のインピーダンス値を使用し、魚体の小さなカレイを除去したデータによって、硬直指数と破断強度を推測する検量線を作成した。その結果、硬直指数の推定に関しては、重回帰分析によるもの（使用変数：2kHz/5kHz, 50kHz-100kHz）で検定R<sup>2</sup>=0.65, RPD=1.68と、K値よりも精度の低い検量線が作成された（表4, 図9）。

表4. 硬直指数推定用検量線の評価

重回帰分析による検量線（第1変数=2kHz/5kHz）

変数の数	検量線 R <sup>2</sup>	検定 R <sup>2</sup>	SEP	RPD
3	0.76	0.64	13.47	1.67
2	0.74	0.65	13.38	1.68
1	0.73	0.64	13.66	1.65

累乗近似による検量線

使用周波数	検量線 R <sup>2</sup>	検定 R <sup>2</sup>	SEP	RPD
2kHz/5kHz	0.75	0.57	15.07	1.03

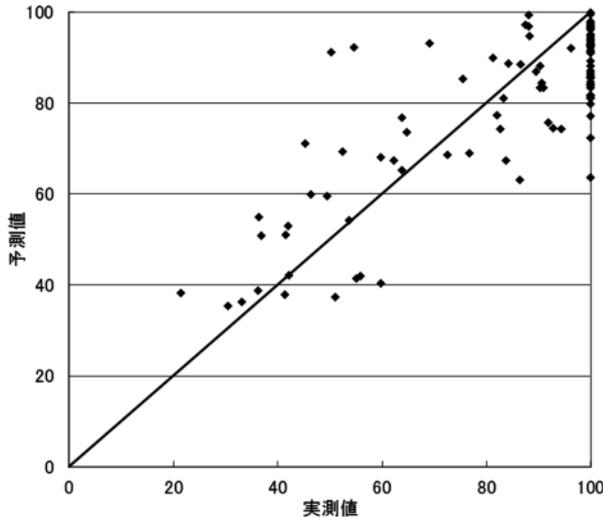


図9. 硬直指数の実測値と推定値の関係.  
重回帰分析による検量線 (変数2) .

また、破断強度に関してはインピーダンス値との相関が低く、多変量解析を行っても検量線  $R^2$  は 0.09 と、極めて低い値であった。

### 考察

Fish Analyzer は小型軽量で扱いやすく比較的安価であるため、この装置を用いた鮮度測定は、漁業者が自主的な検査を行い品質改善に資する用途に適していると考えられる。一方で、検量線精度の向上が今後の課題として残った。

今回、K 値によって個体毎の選別を可能とするだけの精度を持つ検量線を作成することは出来なかったが、平均値を見ることで、ロット毎の漁獲物の概ねの鮮度を推定することは可能であると考えられる。図 10 に漁獲日毎の鮮度の平均値と予測値の平均値を示した。この場合、実測値と予測値の相関は  $R^2=0.96$ ,  $SEP=3.4$ ,  $RPD=4.3$  となり、概ね「沖獲れ一番」規格基準 (K 値平均 15 以下) を満たしているかどうか推測することが可能であった。

今回使用したデータは K 値 20 以下のものが多く偏りが大きかったが、今後さらに精度の高い検量線を作成するためには、K 値が 20~50 程度の検体のデータを多く集め、分散を大きくしたデータセットを解析に供することが必要であると考えられる。ただし、図 6, 7 を見る限り、概ね K 値 40 以上ではインピーダンス値やインピーダンス比の傾きがほぼ垂直になってしまうことから、K 値が概ね 40 を超えると正確な鮮度の推定は難しくなると推察される。

また、カレイは魚体の厚さが薄いため、骨などの

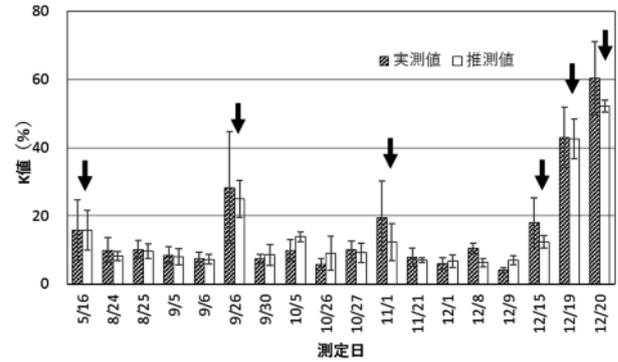


図 10. 測定日ごとの K 値実測値と推定値の平均。  
上下に伸びる線分は標準偏差を示す。  
矢印は「沖獲れ一番」の基準を満たさなかった日を示す。  
12 月 19・20 日の検体は、12 月 15 日の検体と同一個体。

筋肉組織以外の絶縁体による情報がノイズとして入ってしまうことも、検量線の精度を低下させる一つの要因として挙げられる。検量線作成に当たって、小型のカレイをデータから除去することで精度が増したのも、これが原因であると考えられる。この問題に関しては、大和製衡より小型の魚 (魚体の厚さ 3cm 以下) の測定用に Fish Analyzer のアタッチメントが用意されている<sup>6)</sup>。当初大型のカレイ中心に測定を行う予定であったことから本試験では使用しなかったが、実際には、厚さ 3cm に達しないカレイも多数測定に使用せざるを得なかった。今後このアタッチメントを使用してデータを取り、なおかつ魚体の大きさ別に検量線を作成することによって、更なる精度向上が可能であると考えられる。

また、硬直指数を推定する検量線は K 値のそれよりも精度が低かったが、硬直までのインピーダンス値の推移をみると、即殺直後、完全硬直に至る前であれば、硬直指数と強い相関を持つであろうことが推察された。この段階におけるインピーダンスの変化は、硬直の進行に伴い引き起こされる筋肉の収縮に影響を受けることが示唆されている<sup>4)</sup>。

破断強度に関しては、今回、検量線を作成することができなかった。今回の破断強度の測定方法では、同じ魚でも測定位置が少しずれただけで大幅に数字が変わるなど、精度の低いデータしか取れなかったことが、原因の一つであると考えられる。しかし、細胞の構造の劣化が電気特性に影響を与えるという原理から考えると、破断強度とインピーダンス値に何らかの相関があってもおかしくは無い。また筋内膜のコラーゲンの分解は、即殺後 1 日以内のような冷

蔵初期の段階においても進行し、構造の脆弱化や組織内の間隙を生じさせる<sup>7)</sup>。このような構造の変化や間隙に貯留した電解質成分も、インピーダンス値に影響を与えられとされる。今後、破断強度の測定方法・条件について更なる検討を行うとともに、検鏡による組織の構造の観察やドリップ量の測定など、筋組織の脆弱化を示す別の指標の採用も考慮する必要があると考える。

#### 謝辞

調査を行うにあたり、各沖合底びき網漁船の船員の皆様、JF しまね浜田支所の職員の皆様には、検体入手に格別のご協力をいただいた。島根県水産技術センターの各位には、測定にあたって助力していただいた。また、大和製衡株式会社自動一般機器事業部一般機器開発課 岡部修一係長には、Fish Analyzer とインピーダンス測定について、技術面で多数のご助言をいただいた。ここに記して深謝いたします。

#### 文献

- 1) 岩本宗昭 (1989) 魚類の“生き”の保持に関する研究. 島水試研報, 6, 1-59.
- 2) 加藤宏郎・坂口守彦・大井康之・丸尾信・豊田薫 (2000) インピーダンス特性による魚肉の鮮度判定(第1報). 農業機械学会誌 62 (3): 76-83.
- 3) 加藤宏郎・坂口守彦・大井康之・丸尾信・豊田薫 (2000) インピーダンス特性による魚肉の鮮度判定(第2報). 農業機械学会誌 62 (5): 59-69, 2000.
- 4) 久保久美子・松本欣弘・桑原弘一・岡部修一・谷山茂人・橘勝康・村田昌一 (2016) インピーダンスを用いたブリおよびマアジの脂肪量の非破壊測定 日水誌, 82 (5) : 743-752.
- 5) 豊田浄彦 (2014) 農産物・食品の安全と品質の確保技術. 農業食料工学会誌 76(1) : 32-35.
- 6) 大和製衡株式会社 (2016) Fish Analyzer TM Ver. 2.00 技術資料.
- 7) 木村茂編 (1997) 魚介類の細胞外マトリックス, 恒星社厚生閣 : 73-82.

