Nippon Suisan Gakkaishi 65(4), 74

インタラクタンス方式の光ファイバーを用いた 近赤外分光法による冷凍カツオ粗脂肪量の非破壊測定

山内 悟,澤田敏雄,河野澄夫

(1998年9月2日受付)

Nondestructive Determination of Fat Content in Frozen Skipjack by Near Infrared (NIR) Spectroscopy with Fiber Optics in Interactance Mode

Satoru Yamauchi,*1 Toshio Sawada,*1 and Sumio Kawano*2

Nondestractive determination of fat content in frozen skipjack by near infrared (NIR) spectroscopy with fiber optics using the interactance method (400–1100 nm) was investigated. As a result of multiple linear regression based on actual fat (range 1–55%) and second derivative value of the absorbance ($d^2 \log (1/R)$), good results could be obtained when fat content analyzed using flesh from skin surface to 5 mm depth of skipjack was used as a chemical value. The highest multiple correlation coefficient of 0.91 with a standard error of calibration (SEC) of 5.8% was obtained in case of calibration equation with four optical terms including 926 nm as the first wavelength. The standard error of prediction (SEP) was 6.4% with a bias of -0.1%. This prediction accuracy was affected by thawing process, because spectrum was changed by melting of ice into water on the skin of fish. However, the fat measuring system mentioned above is still useful for a frozen skipjack.

キーワード:粗脂肪量,近赤外分光法,カツオ,非破壊測定

静岡県焼津魚市場では年間を通じて大量の冷凍カツオ が水揚げされ、かつお節、なまり節および缶詰の加工、 並びに生食用に供されているが、脂肪の多少によりその 用途は異なる。例えば、かつお節の製造では脂肪含量の 少ないカツオが適している¹⁾が、生食では脂肪の高いも のが好まれる。通常、魚市場においてカツオの脂肪含量 のおおよその目安としては漁獲された海域から、黒潮続 流域で漁獲されたものは脂肪含量が高く、逆に北赤道反 流域のものは脂肪含量が少ないと判断される。しかし、 実際にカツオを加工する際には、さらに詳細な脂肪含量 の情報が必要となる。

カツオの脂肪含量の測定には通常湿式分析法が用いら れるが,前処理として試料の細断,均質化が必要である とともに,抽出,測定等の操作に長時間を必要とするこ とから,同法は現場で用いることは困難である。このた め,原料の受け入れ現場等における脂肪含量の判別は, もっぱら熟練者の官能検査に頼っているのが現状であ り,魚市場および加工工場においては,脂肪含量を迅速 に測定できる非破壊品質評価法の開発が緊急の課題とな っている。 近年,農畜水産物の非破壊評価法として近赤外分光法 が注目され,これまでに魚肉中の脂肪含量の測定につい てはサケ,²⁾マス³⁾の事例が報告されている。また,前 報⁴⁾において著者らは,同法により冷凍カツオ魚肉片の 脂肪含量推定の可能性について報告した。しかし,これ らの研究ではブロック状あるいは円柱状に切断した試料 が用いられ,現場の非破壊・迅速という要求を充分満足 するまでには至っていない。

そこで、本研究では市場等において使用可能なハンデ ィータイプの測定装置の開発を最終目的として、光ファ イバープローブを備えた近赤外分光装置によるラウンド の冷凍カツオの脂肪含量測定の可能性について検討し た。特に、インタラクタンス方式の光ファイバープロー ブの有効性および試料の解凍が測定精度に及ぼす影響に ついて検討した。

材料および方法

材料 静岡県焼津港で水揚げされた船内凍結魚のうち,さまざまな脂肪含量のカツオ Katsuwonus pelamis を供試した。供試用魚はスペクトルを測定するまで冷凍

^{*1} 静岡県水産試験場 (Shizuoka Prefectural Fisheries Experiment Station, Yaizu, Shizuoka, 425-0033, Japan).

^{*2} 農林水産省食品総合研究所(National Food Research Institute, Tsukuba, Ibaraki, 305-8642, Japan).

庫 (-40℃) に保管した。供試した魚は全部で 123 個 体であり,体重 1.8~8.1 kg,尾叉長 42.5~71.0 cm で あった。

スペクトルの測定にはラウンドの魚を用いた。化学分 析用の試料としては,魚体右側の第2背鰭と側線の交 点付近を中心として体長×体高方向に50×20 mm の範 囲を,皮下から10 mm までと10 mm から20 mm まで の2層の魚肉を採取した。また,魚体左側の同じ位置 で皮下から5 mm までの魚肉を採取した(Fig.1)。な お,魚肉の採取はスペクトルの測定の終了後,魚体を解 凍してから行った。

カツオ魚油は,魚肉部分を煮熟して,その上澄み油を 活性白土で精製して得た。

スペクトルの測定 近赤外スペクトル (400-1100 nm)の測定には市販の近赤外装置 (NIRSystems 社製, 6500型)を用いた。スキャン回数は 25 回とし,リフ ァレンスの測定は白色セラミックス板を用いて試料毎に 行った。

(1) ラウンドの冷凍魚 予め冷凍庫(-25または -40℃)に保管し、魚体温度を冷凍庫の温度に調整し た冷凍カツオを実験室へ運び直ちにスペクトルの測定を 行った。インタラクタンス方式の光ファイバープローブ の先端部(直径25mm)をラウンドの冷凍カツオの魚 体右側(第2背鰭と側線の交点付近)に密着させて、 スペクトルを3回室温下で測定した(Fig.1)。プロー ブの先端部には、測定時に外光が入らないようにゴムカ バー(直径60mm)を取り付けて遮光した。

(2) 魚肉ブロック(深さ推定実験) インタラクタン ス方式により測定可能な魚肉の深さ方向の範囲を推定す るため、次の手順によりスペクトルを測定した。魚体測 定部分を表皮ともに 50×50×50 mm の大きさにブロッ ク状に切り出した解凍試料を所定の厚さに調整し、その 試料の表皮に光ファイバープローブの先端を密着させて 試料温度 20℃ でスペクトルを測定した。試料のセット の仕方による測定誤差を低減するため、試料のセットと スペクトルの測定の操作を 10 回繰り返し、平均スペク トルを求めた。この操作を試料の厚さを徐々に薄くしな がら繰り返した。

(3) 魚肉ブロック(解凍実験) 解凍しつつある試料 の近赤外法による推定値の変化を調べるため、上記と同 じ大きさのブロック肉を用いて同様な方法でスペクトル を測定した。-40℃で凍結した試料を25℃の条件下に 放置して、自然解凍させながら経時的にスペクトルを測 定した。

(4) 水(氷)のスペクトル 水および氷のスペクトル の温度による変化を明らかにするために,水あるいは氷 を満たした厚さ10mmのセルとファイバープローブを 接触させ,セルの反対側にセラミックス板を固定して, 冷凍庫あるいは恒温器のなかで -70, -40, -25, 1, 10, 20 および 30℃の温度条件下のスペクトルをそれぞれ 5 回ずつ測定し,平均スペクトルを求めた。

(5) 魚油のスペクトル カツオ魚油の吸収バンドを明 らかにするために,水のスペクトルの測定と同じ方法で 品温 20℃ で魚油のスペクトルを測定した。

化学分析 有機溶剤抽出による脂肪含量の定量分析 は、前述した化学分析用試料を用いて、魚肉を無水硫酸 ナトリウムにより脱水後、ジエチルエーテルを溶媒とす るソックスレー抽出法で行った。得られた化学分析デー タは、皮下から5mmまで、皮下から10mmまで、お よび皮下から20mmまで(それぞれ、0-5mm、0-10 mm、および0-20mmと略記)のブロック状魚肉の脂 肪含量として示した(Fig.1)。これらのデータを検量 線作成用試料と検量線評価用試料別にTable1に示し た。

スペクトルの解析 ラウンドの冷凍カツオの脂肪含量 を推定するための検量線の開発には、測定装置に付属し ている解析用プログラム (NSAS)⁵⁾を用い、2次微分ス ペクトルを基にした重回帰分析により解析⁴⁾した。波長 の選択において、第1波長は魚油の特性吸収波長とし、 第2波長以降の波長は700-1100 nm の範囲でコンピュ ーターにより自動的に選択される波長とした。

結果および考察

近赤外スペクトル 冷凍カツオと魚油の2次微分ス



Fig. 1. Schematic diagram of (a) NIR measurement, and (b) sapling for chemical analysis of skipjack.

ペクトルを Fig. 2 に示した。2 次微分スペクトルでは, 構成成分による吸収のピークが下向き(負の方向)に現 れる。魚油では 926 nm に強い吸収が,1034 nm および 758 nm にそれより弱い吸収が観察された。これらの波 長のうち,926 nm は油脂の官能基である CH の 3 倍音 に帰属する⁶⁾と考えられる。また,冷凍魚のスペクトル においても,926 nm および 1034 nm 付近に吸収が観察 された。

ラウンドの冷凍カツオ脂肪含量推定検量線の作成と評価 魚油の吸収波長である758 nm,926 nm,1034 nm の2次微分値と0-5 mm ブロックの化学分析値の間で 単相関係数を求めたところ,それぞれの相関係数は -0.26,-0.84,-0.1であり,926 nm において比較的 強い相関が得られた。相関係数が負の値を示すのは,2 次微分スペクトルにおける吸収のビークが負の値として Fig.2 に示されているためである。脂肪含量との間で強 い相関を有すること,脂肪含量の増加に伴って波長の吸 収も増大すること,および魚油の吸収バンドであること から脂肪含量推定用の重回帰式の第1波長は926 nm が 適当であると考えられた。

品温に依存しない検量線は,異なった温度で測定した スペクトルを用いることにより開発できることが明らか にされている。⁷¹ そこで,温度補償型の検量線を作成す るために,-25℃ および-40℃ で測定した検量線作成 用試料のスペクトルデータを統合し,得られたスペクト ルデータ(n=68)および化学分析値を基に重回帰分析 を行った。化学分析値には近赤外法との適合性を検討す るために,魚肉の0-5 mm,0-10 mm,および0-20 mm ブロックのデータを用いた。その結果を Table 2 に



Fig. 2. Second derivative spectra for frozen skipjack having low, medium, high fat, and it's oil.

示した。3種類の魚肉深度別検量線の推定精度に大きな 差は認められないが、化学分析用試料ブロックの厚いデ ータセットほど相関係数(R)がわずかに低くなる傾向 を示した。各検量線間で相関係数があまり変わらないの は、脂肪含量の絶対値は変わるものの、データ間に高い 内部(2次)相関が存在するためである。ここで重要な ことは、わずかではあるがなぜ相関係数が化学分析用試 料ブロックの厚いデータセットほど低下するかというこ とである。Table 1 からわかるように,脂肪含量は化学 分析用試料の厚みの増加にともない低下している。すな わち、表層に近いほど脂肪含量は高く、内部ほど低いこ とがわかる。試料内の成分がある濃度勾配をもって分布 しても、近赤外スペクトルが化学分析用試料の領域を均 一に測定したものであれば、化学分析で得られる対象成 分の濃度(分子の数)と近赤外で測定される分子の数は 一致するため、上述したような相関係数の低下は発生し ない。インタラクタンス方式の光ファイバープローブで は、プローブ先端部の外側のリングから光が試料に照射 され、試料内部で拡散反射された光がプローブ先端部の 内側で検出される。したがって、同方式により測定可能 な深さ方向の範囲には自ら限界が存在する。近赤外法で 測定する試料内部の領域と化学分析する領域が一致しな い場合,化学分析値に余分な領域の影響による誤差が含 まれる。したがって、両領域が一致する場合と比較して この場合の検量線の相関係数は低下する。Table 2 にお いて、0-5 mm 実験区より、0-10 mm 実験区および 0-20 mm 実験区において相関係数が低下していることは, 本プローブで測定可能な深さ方向の範囲は5mm 前後 である可能性が高いことを示している。

Fig.3に0-5mm 実験区の検量線から求めた検量線 評価用試料の脂肪含量の推定値とその化学分析値の関係 を示した。図中の点は3回の測定結果の平均値である。 同図から明らかなように,品温による影響は観察されな かった。

測定可能な魚肉の深さ方向の範囲 前述したようにイ ンタラクタンス方式の光ファイバープローブを用いた計 測では魚肉の深さ方向5mm前後の範囲まで検出でき

Table 1. The analytical data of calibration and prediction sets for determining fat content (%) in skipjack

	Calibr	ation set (n = 68)	Prediction set $(n=55)$			
	0–5 mm depth fat	0–10 mm depth fat	0-20 mm depth fat	0-5 mm depth fat	0-10 mm depth fat	0-20 mm depth fat	
Range	0.9-55.2	1.1-35.1	0.7-19.5	1.5-50.3	0.7-26.6	0.7-14.3	
Mean	18.4	10.2	5.8	18.2	9.5	5.5	
Standard deviation	13.9	9.1	4.9	13.4	7.7	4.0	

750

Table 2. Result of calibration and prediction for
fat contents in skipjack

	Wavelength				SEC	SEP	Bias	
Constituent	λ1	λ_2	λ3	λ_4	<i>R</i> *1	(%)*2	(%)*3	(%)*4
0–5 mm depth fat	926	1048	790	1016	0.91	5.8	6.4	-1.0
0–10 mm depth fat	926	1048	756	1058	0.88	4.3	3.5	-0.1
0–20 mm depth fat	926	1050	756	1020	0.87	2.4	1.9	-0.1

*1 R=Multiple correlation coefficient.

*2 SEC=Standard error of calibration.

*3 SEP=Bias-corrected standard error of prediction.

*4 Bias=Mean difference between analyzed valur by standard method and predicted value by the NIR method.



Fig. 3. Relationship between crude fat contents and NIR values of frozen skipjack calculated with the calibration defined in the Table 2 using the prediction sample (\bullet , -25° C; \circ , -40° C) set.

Solid lines show Y = X.

る可能性が高いことが明らかとなった。そこで,別の方 法による確認実験を行った。すなわち,ブロック状の試 料のスペクトルをその試料の厚みを少しずつ薄くしなが ら測定し,得られたスペクトルから前項で開発した検量 線で脂肪含量の推定を行った。供試した試料が十分厚け れば,プローブで検出される散乱光は切断の影響を受け ず,近赤外法による脂肪含量の推定値は本来の正しい値 を示すはずである。しかし,試料が薄くなりすぎた場 合,魚肉内の光の散乱状態が変化し,その結果脂肪含量 の推定値は変動する。このような発想の基にこの実験を 行った。

試料の厚みと脂肪含量の推定値の関係を Fig. 4 に示した。魚肉の厚みが 5 mm 以上では脂肪含量の推定値





Vertical bars present the standard error of the means, n=10.

が7~9% で推移しているが,それよりも薄くなると推 定値は徐々に変化した。30 mm の場合の推定値を基準 にして,それぞれの値の有意差検定(た検定)を行った ところ,5 mm 以下で有意(p<0.01)であった。した がって,本プローブによる測定では表皮から約5 mm の深さまでの情報が得られていると考えられる。この結 果は,前項で得られた知見と一致した。

黒潮続流域で漁獲された 50 個体のカツオについて, 背側表皮から 6 mm までの皮下部と 6~12 mm までの 内部の脂肪含量が分析比較されており⁸⁾,皮下部で 20~30%の脂肪を蓄積する魚体でも内部では 2~3% にすぎないと報告されている。いわゆる「脂ののったカ ツオ」の蓄積脂肪は表層肉に集中する。このことは,魚 肉の深さ方向 5 mm 前後の範囲まで測定できる本測定 方式にとっては好都合である。

試料の解凍による推定値の変化 魚市場などで,本方 式により冷凍カツオの脂肪含量を測定する場合,凍結試 料の温度上昇および試料表面の解凍が脂肪含量の推定値 に影響を及ぼすことが懸念される。そこで,実際に放置 された凍結試料が近赤外分光法による脂肪含量の推定値 に及ぼす影響について検討した。経過時間と脂肪含量の 推定値の変化を Fig. 5 に示した。多脂魚では,実験開 始から2 分後に脂肪含量 27% と推定されたものが,時 間の経過とともに少しずつ推定値は低下して,3時間後 には 17% になった。時間の経過とともに推定値が低下 する現象は,少脂魚でも観察された。

試料解凍時の2次微分スペクトル(多脂魚)の変化 をFig.6に示した。926 nm, 972 nm, 1034 nm の d² log(1/R)値が著しく変化した。972 nm は水に由来す るもの⁹⁾であり,解凍が進むにつれてその強度は強くな る傾向を示した。また,926 nm,1034 nm は魚油に由 来するものであり,その強度は弱くなる傾向を示した。

近赤外スペクトルが温度によって影響を受ける現象は 水素結合が大きく関与し、その現象は油¹⁰⁾では観察さ れず、水¹¹⁾において著しいことが知られている。

そこで,水と氷の2次微分スペクトルの温度による 変化をFig.7に示した。水の吸収帯である968 nm で は,水温の上昇に伴って吸収が強くなった。また,液体 状態から固体(氷)状態への相の変化によって,吸収帯 のピーク位置が高波長側の1026 nm に大きくシフトし



Fig. 5. Change of NIR estimated fat content of frozen skipjack meat during thawing with the calibration defined using 0-5 mm depth equation.

た。氷の場合も、水ほどではないが温度の上昇にともな い吸収が強くなる現象が観察された。これらの現象は阿 部ら¹²⁾の報告と一致している。脂肪含量用検量線の第 1 波長に選択した 926 nm において、氷の d² log (1/R) はほぼ一定値を示すのに対し、水のそれは大きく変化し た。これは、968 nm にピークを有する水の 2 次微分処 理によりサイドローブと呼ばれる副次的な偽のピークが 同波長域に発生するためである。

安定した検量線を作成するには、将来測定するであろう試料の母集団を代表する試料を検量線作成用試料に取り込むことが近赤外分光法の基本である。¹³⁾ 今回の実験では、-40℃と-25℃のスペクトルデータを統合し



Fig. 6. Change of second derivative spectra during thawing of frozen skipjack muscle piece.



Fig. 7. Second derivative spectra of the water and ice at various temperatures.

たために検量線作成用試料は凍結状態における試料温度 の変化の要因をある程度含んでいるが,解凍に伴って発 生する水のスペクトル変動は含んでいない。すなわち, 前述したような解凍によって発生する水のスペクトルの 脂肪の吸収バンドは補正できず,測定誤差として発生す る。

以上の理由により,魚肉ブロックの室温放置による解 凍実験で,解凍にともない脂肪含量の推定値が変化した ものと推察される。したがって,実際にラウンドのカツ オを測定する場合,解凍により魚体表面に水が生じない 時間内に測定する,あるいは解凍により発生する魚体表 面水の影響を受けない測定システムを開発するなどの対 策が必要である。

最後に,本研究を行うに当たり協力をいただいた静岡 県水産試験場加工研究室および食品総合研究所非破壊評 価研究室の諸氏に感謝の意を表する。

参考文献

- 1) 山内 悟,澤田敏雄,名取芳和:かつお削り節の品質と原 料脂肪の関係について.静岡水試研報,31,33-37 (1996).
- H. Solid and C. Solberg: Salmon fat content estimation by near infrared transmission spectroscopy. J. Food Sci., 57, 792-793 (1992).
- B. A. Rasco, C. E. Miller, and T. L. King: Utilization of NIR spectroscopy to estimate the proximate composition of trout muscle with minimal sample pretreatment. J. Agr.

Food Chem., 39, 67-72 (1991).

- 山内 悟,澤田敏雄,河野澄夫:近赤外分光法によるカ ツオ粗脂肪の非破壊計測の可能性.静岡水試研報,32, 21-24 (1997).
- 5) 岩元睦夫,河野澄夫,魚住 純:近赤外分光法入門,幸 書房,東京,1994, pp.116-118.
- B. G. Osborne, T. Fearn, and P. H. Hindle: Practical NIR spectroscopy with application in food and beverage analysis, 1st ed., Longman Scientific and Technical, New York, 1983, pp. 29–33.
- S. Kawano, H. Abe, and M. Iwamoto: Development of a calibration equation with temperature compensation for determining the brix value in intact peaches. J. Near Infrared spectrosc., 3, 211–218 (1995).
- 二平 章:潮境域におけるカツオ回遊魚群の行動生態お よび生理に関する研究.東北水研報, 58, 133-233 (1996).
- 9) 三代達也,杉山雅昭,峯岸裕,阿部英幸,河野澄夫, 岩元睦夫:近赤外透過スペクトルを用いたドライソーセージ中の水分含量の非破壊迅速測定,日食工誌,42,436-441 (1995).
- C. M. Garman: Applications of nectic NIRA instruments in chocolate processing, Proc. international sym. on NIRS, Royal Australlian chemical Institue, 1984, pp. 119-125.
- M. Iwamoto, J. Uozumi, and K. Nishinari: Preliminary investigation of the state of water in foods by near infrared spectroscopy, Int. NIR/NIT conference, Budapest, Hungary, 1986, pp. 3–12.
- 12) 阿部英幸,草間豊子,河野澄夫,岩元睦夫:近赤外吸収 スペクトルのバンド分解による木の水素結合状態の解析. 分光研究,44,247-253 (1995).
- 13) 岩元睦夫,河野澄夫,魚住 純:近赤外分光法入門,幸 書房,東京,1994,59p.