

東海大学大学院平成 30 年度博士論文

静岡県産水産物の高付加価値化  
に関する研究

小泉 鏡子

# 目 次

Abstract	1
序 論	3
第 1 章 安定同位体比を指標とする産地判別技術の確立による 高付加価値化	9
第 1 節 しらす干しの原料原産地判別	9
1-1-1 はじめに	9
1-1-2 方法	10
1-1-3 結果	10
1-1-4 考察	11
第 2 節 さくらえび製品の産地判別	13
1-2-1 はじめに	13
1-2-2 方法	14
1-2-3 結果	15
1-2-4 考察	16
第 2 章 脂質成分を指標とするトラフグ及びハダカイワシ科魚類の 高付加価値化	20
第 1 節 天然トラフグと養殖トラフグの判別	20
2-1-1 はじめに	20
2-1-2 方法	21
2-1-3 結果	22
2-1-4 考察	23
第 2 節 ハダカイワシ科魚類の食用利用の可能性について	25
2-2-1 はじめに	25
2-2-2 方法	26
2-2-3 結果	27
2-2-4 考察	27
第 3 章 臭気成分を指標とする未利用資源の有効利用による 高付加価値化	31

第1節	カツオ血合肉の貯蔵中における臭気成分の変化	31
3-1-1	はじめに	31
3-1-2	方法	31
3-1-3	結果	33
3-1-4	考察	34
第2節	脱血処理がカツオの臭気成分に及ぼす影響	36
3-2-1	はじめに	36
3-2-2	方法	36
3-2-3	結果	37
3-2-4	考察	39
第3節	カツオ血合肉のすり身原料としての食用利用の可能性について	41
3-3-1	はじめに	41
3-3-2	方法	41
3-3-3	結果	42
3-3-4	考察	44
第4節	多脂カタクチイワシのエキス原料としての食用利用の可能性について	46
3-4-1	はじめに	46
3-4-2	方法	47
3-4-3	結果	49
3-4-4	考察	50
総括		54
引用文献		57
謝辞		69
図		70
表		93

# Studies on scientific performance for increasing the value of marine fish from the coastal areas of Suruga Bay and Enshu-nada in Shizuoka, Japan

Kyoko Koizumi

Various kinds of marine fish live along the coastal areas of Suruga Bay and Enshu-nada in Shizuoka, Japan. This region is rich in marine fishery resources that are not observed in other oceanic areas. To enable efficient and sustainable utilization of the rich marine fishery resources in the Shizuoka region, it is important to enhance the value of the resources produced in this region. Therefore, this study investigated discrimination technology based on scientific grounds as well as the possibilities for the use of previously unutilized food resources to increase the added value of fishery resources from Shizuoka.

## 1. Discrimination technology for increase the value

The researchers performed carbon and nitrogen stable isotope ratio mass analysis on Shirasuboshi collected from 10 areas in Japan, including Shizuoka, as well as from China and South Korea, and Sakuraebi shrimp products (e.g., raw, sun-dried, and boiled without drying) from Suruga Bay and Taiwan. The results indicated that Shirasuboshi and Sakuraebi products from Shizuoka could be differentiated from products from other areas within Japan as well as those from overseas.

The study investigated whether wild and cultured ocellate puffer *Takifugu rubripes* could be differentiated. For this purpose, fatty acid compositions in the muscles of 110 samples of Japanese wild, Japanese cultured, and Chinese cultured ocellate puffer were analyzed. Linear discrimination analysis using fatty acid composition values to construct a discriminant function for wild and cultured ocellate puffer was used.

Based on the results, Shirasuboshi, Sakuraebi products, and Japanese ocellate puffer, which are specialty aquatic products of the Shizuoka region, can be distinguished from overseas products, products from other regions in Japan, and those from cultured fish by using stable isotope ratio mass analysis and muscle fatty acid composition analysis. These results could be used to increase the brand power of aquatic products from the Shizuoka region.

## 2. For the edible use of unused resources

In terms of unused resources, the research focused on Myctophidae fish, the dark muscles of skipjack tuna *Katsuwonus pelamis*, and Japanese anchovies *Engraulis japonicus*, which contain a large amounts of fat. For the dark muscles of skipjack tuna and Japanese anchovies, which contain large amounts of fat, the researchers focused on volatile flavor compounds, which are a grave concern when considering these fish as a food source. In this case, the techniques for inhibiting the generation of volatile flavor compounds were investigated.

### (1) Myctophidae fish

To verify the safety of consuming Myctophidae fish, the researchers assessed the fat characteristics of these fish. Analysis of the fat and fatty acid compositions of three types of Myctophidae fish living in Suruga Bay indicated that they contained a small amount of wax ester,

which is harmful to human health when ingested in large amounts. However, the levels present in the fish tested in this study were acceptable for a food source. The fish were also found to contain high levels of icosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid, which are components of health functions, thereby demonstrating that these fish species are a potential source of n-3 polyunsaturated fatty acid.

(2) The dark muscles of skipjack tuna

The investigation of the characteristics of volatile flavor compounds of the dark muscles of skipjack tuna indicated that the primary volatile flavor compounds were aldehyde types, such as hexanal, and alcohol. These volatile flavor compounds are generated as a consequence of the co-existence of blood and fat in skipjack tuna. Thus, it is suggested that removing blood from skipjack tuna could decrease the amount of volatile flavor compounds in the dark muscles. The results also suggested that when a dark muscles paste is used as an ingredient in cooking, quickly washing it to prevent pH decrease and any denaturation of water-soluble protein helps in the production of high-quality minced fish with only a few volatile flavor compounds or pigmentation.

(3) Japanese anchovies, which contain large amounts of fat

To encourage the use of Japanese anchovies, which contain large amounts of fat, as food, the researchers investigated the effects of the drying process in the manufacture of niboshi, boiled and dried anchovies and the accompanying lipid oxidation on the volatile flavor compounds of niboshi and its extracts (soup stock). The results indicated that manufacturing niboshi from Japanese anchovies, which contain large amounts of fat and then extracting soup stocks could not prevent the decrease in flavor that accompanies lipid oxidation in products transferred into the soup stocks. Therefore, to use Japanese anchovies as an extract ingredient for consumption, the researchers formulated a novel method of manufacturing extract that did not involve drying. They demonstrated that with this method Japanese anchovies, which contain large amounts of fat could be used to produce extract with only a few volatile flavor compounds that are not inferior to extracts from niboshi in terms of extraction efficiency and components. They also confirmed that this method was a highly universal extract manufacturing method that could be applied to other fish as well.

The current study demonstrated that Shirasuboshi, Sakuraebi products, ocellate puffer, and specialty aquatic products from Shizuoka have a high added value. Additionally, the results demonstrated that the edible use of unused resources such as Myctophidae fish, the dark muscles of skipjack tuna, and Japanese anchovies, which contain large amounts of fat, for consumption could greatly contribute to increasing the added value of aquatic products from Shizuoka.

## 序 論

### 1. 静岡県概況

静岡県は、本州太平洋沿岸部のほぼ中央に位置し、伊豆半島から駿河湾を囲み、遠州灘を経て浜名湖に至る全長約 506km におよぶ長い海岸線を有している。遠州灘及び駿河湾は外洋に面し、沖合には世界最大級の海流である黒潮が流れている。

駿河湾は南に向けて大きく開いた開放性の湾で、約 56km におよぶ広い開口部からは黒潮系沖合水がしばしば湾内に流入するほか、最深部が 2,500m に達する日本一深い湾であるため、外洋の中・深層水が湾全域に容易に流入する。このため、駿河湾は沿岸水、黒潮系の外洋水、亜寒帯中層水、太平洋深層水の 4 種類の海水が積み重なった層状構造を成している[1]。

また、駿河湾の海底地形は複雑で、湾中央部に東西を二分する駿河トラフが南北に連なり、その東側には大陸棚と大陸斜面がある。一方、西側の大陸棚と大陸斜面には、湾の中央に水深約 50m の石花海と呼ばれる浅瀬（石花海堆）があり、さらに、この石花海堆と湾西岸の間には、水深 1,000m ほどの石花海海盆が分布している[2]。

このように駿河湾は海洋構造、海底地形ともに非常に複雑な海域であり、こうした海域の特性は駿河湾の魚類相を左右している。駿河湾及び静岡県の魚類相に関する研究の結果、駿河湾の魚類として 1,016 種、静岡県の魚類として 1,163 種がリストアップされている[3]。一方、中坊[4]は、日本及びその周辺海域には 4,213 種類の魚類が生息すると報告していることから、駿河湾には日本及びその周辺海域に生息する魚種の約 3 分の 1 が生息していることになり、その中には約 370 種の深海性魚類が含まれている。深海性魚類としては、ハダカイワシ科魚類やヨコエソ科魚類のほか、ホクヨウハダカ *Tarletonbeania taylori* のような北方性種も確認されている[3]。このように、静岡県沿岸には表層性から深海性まで、さらに熱帯性から寒帯性まで多種多様な魚種が生息し、他の海域では見られない豊かな水産資源が存在している。

### 2. 静岡県の漁業及び水産加工業の現状と課題

静岡県では、これらの豊かな水産資源を対象とする様々な漁業が営まれているが、静岡県の漁業生産量は 1987 年の 37 万トンピークに減少し、近年は 20 万トン台で横ばい状態が続いている[5]。一方、我が国の漁業生産量も 1984 年をピークに減少傾向が続いており、その要因として、資源動向が低位あるいは減少とされる魚種が増加しているなどの水産資源状態の悪化が挙げられており、2018 年に閣議決定された「水産政策の改革」では、資源管理の徹底が掲げられた。このような状況の中、静岡県の水産業の衰退を防ぎ、駿河湾の水産資源を将来にわたって、持続的にまた効率的に利用していくためには、漁獲量を増やすだけでなく、漁獲した水産物に付加価値を付けて漁業所得の維持・向上を図ることが重要な課題であると考えられる。

また、静岡県は、東京や名古屋などの大消費地に近い、交通網が発達している等の恵まれた立地環境を背景として、水産加工業が盛んで、しらす干し、鯉節、缶詰、練り製

品など特産品も多く全国有数の生産量を誇っている。しかし、近年の漁業生産量の減少に加え、国際的な水産物需要の増大により、日本向けの買い付けができない「買い負け」が頻発するなど、水産加工原料の安定確保に不安が生じている。静岡県の水産加工業の経営の安定、さらなる発展のためには、加工原料の安定確保が必要不可欠であり、そのためには、これまで食用利用されていない水産資源を食用利用するための技術開発が喫急の課題となっている。

本研究では、静岡県産水産物として、以下の6魚種に着目した。

### 3. 本論文で取り上げた魚種の現状と課題

#### (1) シラス

シラスは、カタクチイワシ *Engraulis japonicus* やマイワシ *Sardinops melanostictus*、ウルメイワシ *Etrumeus teres* 等の稚仔魚であり、静岡県はシラスの漁獲量及びその加工品であるしらす干しの生産量ともに常に全国トップクラスを誇っている。一方、しらす干しは全国各地で生産されており、国産しらす干しにはブランド価値による産地間の価格差が存在している[6]。また、北は茨城県から、南は宮崎県まで、静岡県を含む10府県の生しらすやしらす干しなどが、漁師が自信を持って勧める魚介類とされる「プライドフィッシュ」に選定されるなど、各産地においてしらす加工品のブランド化に向けた動きが活発化している。このため、静岡県産ブランドの維持・強化を図るためには、国内他産地との差別化が重要な課題となっている。また、韓国、中国、インドネシア、タイなどからもしらす干しが輸入されおり、タイ産しらす干しを国産と偽る偽装事件が発生したことなどから、科学的根拠に基づく原料原産地判別技術が求められている。

#### (2) サクラエビ

サクラエビ *Lucensosergia lucens* は、日本国内では駿河湾でのみ漁獲される静岡県の代表的な水産物であり、日本以外では台湾周辺でサクラエビ漁業が行われている。2006年の台湾におけるサクラエビの漁獲量は900トンで、その8割にあたる720トン前後が日本に輸出されており、その量は、同年の駿河湾における漁獲量の約4割に相当すると報告されている[7]。現在、サクラエビ漁場は駿河湾及び台湾周辺に限られていることから、さくらえび製品の産地は駿河湾と台湾の2産地しか存在しないが、両産地のサクラエビは同種であり[8]、外見から産地を判別することは非常に困難である。さらに、台湾産サクラエビの価格は駿河湾産の半分程度と安価で[7]、2010年には台湾産の素干しを駿河湾産と誤表示した業者が改善指示を受けていることなどから、科学的根拠に基づく判別技術が求められている。

また、2009年以降駿河湾におけるサクラエビの資源状態は低迷状態が続いており、2018年3月下旬から6月上旬のサクラエビ春漁における漁獲量が平成元年以降最低を記録するなど、近年の駿河湾産サクラエビの資源及び水揚げ量の減少は深刻な問題となっている。駿河湾産サクラエビの水揚げ量の減少を受け、静岡県内のサクラエビ業界は、安価な台湾産サクラエビが大量に市場に出回り、台湾産に国内シェアを奪われる可能性

について強い危機感を抱いている。一方、駿河湾におけるサクラエビ漁は、漁場および漁業資源が限定されていること、漁獲量の変動が激しいことなどから、1977年以降、魚価の維持、資源の確保・管理を目的として水揚げ金額を均等に分配する「プール制」を導入している[9]。さらに、漁業者自らが各操業日の漁獲量や出港・終漁時間の決定及び操業場所の割り振りを行うなど、徹底した資源管理の仕組みが確立している。現在まで40年以上にわたってプール制を維持してきた経験と、加工業も含めたサクラエビ業界全体の結束により、今後資源状態が回復することが期待される。科学的根拠に基づく判別技術は、駿河湾産のサクラエビ資源が回復し、台湾産との差別化による高付加価値化を推進するに当たって重要なツールになるものと考えられる。

### (3) トラフグ

遠州灘のトラフグ *Takifugu rubripes* は1975年頃から漁業対象種となり、1989年にかつてない豊漁を記録した。その後は漁獲量の変動は大きいものの、収益性が高いことから静岡県沿岸漁業の中で重要な位置を占めている。しかし、トラフグの取扱量日本一は下関であり、ブランドとしても定着していることから、遠州灘で漁獲されたトラフグのほとんどが下関に流通していた。そこで、遠州灘で水揚げされる天然トラフグの地元での消費拡大を図るため、2003年にふぐ加工処理工場が設立され、「遠州灘の天然トラフグ」の販売が開始されるとともに、毎年「遠州灘天然とらふぐ祭り」が開催されるなど、ブランド化に向けた取組みが始まった。2010年には「遠州灘天然とらふぐ」の地域団体商標も取得し、さらなるブランド力強化を目指している。一方、トラフグの卵巣や肝臓には猛毒が含まれるため、トラフグは身欠きや刺身の状態で流通することが多く、流通段階で天然トラフグと養殖トラフグを判別することは非常に困難である。また、1990年代後半以降、中国から養殖トラフグも輸入されている[10]ことから、科学的根拠に基づく天然トラフグと養殖トラフグあるいは、国産養殖トラフグと中国産養殖トラフグの判別技術が求められている。

以上のように、静岡県の特産水産物であるしらす干し、さくらえび製品、トラフグはいずれも、外国産、国内他産地あるいは養殖魚との差別化・ブランド力強化という課題を抱えている。

### (4) ハダカイワシ

ハダカイワシ科魚類の資源量は、FAO（国際連合食糧農業機関）の試算によれば全世界で10億トンと見積もられている[11]が、ほとんど漁獲されていないことから世界最大の未利用水産資源とされている。駿河湾ではこれまでに50種ものハダカイワシ科魚類の生息が確認されている[3]が、サクラエビ漁業や小型底びき網漁業、定置網漁業等で混獲されたものの一部が地元で食用利用されている以外、ほとんど利用されておらず、静岡県においても低利用資源となっている。

ハダカイワシ科魚類については、これまでにマリノフォーラム21の技術開発研究が実

施され、三陸沖に生息するハダカイワシ科魚類の生物特性や成分特性等について調査がなされている[12]。これらの研究では、ワックスエステルを多く含む魚種の利用を中心とした研究が行われたが、ハダカイワシ科魚類を効率的に漁獲する技術がないなどの理由により、有効利用技術の確立には至っていない。

一方、静岡県水産技術研究所では、駿河湾内に生息するハダカイワシ科魚類の有効利用に資するため、アイザック・キッド中層トロールネット等を用いた曳網調査やサクラエビ漁船による試験操業を行った結果、ハダカイワシ科魚類のうちの2魚種がサクラエビ漁船により効率的に漁獲できることを確認した[13]。しかし、これらのハダカイワシ科魚類について、食用利用を視野に入れた筋肉部の化学成分に関する知見は少なく、また、ハダカイワシ科魚類の中には前述のように食用利用に適さないワックスエステルを多量に含む種があることから、まず、食品としての安全性の確認を行う必要がある。

#### (5) カツオ

カツオ *Katsuwonus pelamis* は、主に近海カツオ船、遠洋カツオ船、海外まき網船で漁獲されており、遠洋カツオ船や海外まき網船は、三陸沖に形成される東沖漁場や赤道付近から南太平洋まで広がる南方漁場を主漁場としている。東沖漁場のカツオは、脂質含量が多いことから主に生食用として、南方漁場のカツオは、脂質含量が少ないことから主に鰹節原料として利用されている。遠洋カツオや海外まき網船の主要水揚げ港は静岡県焼津漁港のほか、鰹節の一大産地である鹿児島県枕崎漁港、山川漁港、東北地方有数の漁港である宮城県石巻漁港、女川漁港、塩釜漁港などである。漁業・養殖業生産統計によれば、2016年のカツオ漁獲量は全国で227,946トン、このうち静岡県は71,655トンと全国シェア31%でカツオの漁獲量日本一であり[5]、さらに、静岡県における魚介類の水揚げ量の51%がカツオで占められている[14]。静岡県は鰹節、缶詰、佃煮、たたきなど多様なカツオ加工業が発達していることから、他県に比べ、静岡県へのカツオ水揚げ量が多いと考えられる。

一方、漁船燃料用A重油の価格は、近年大きく変動しており、2008年8月に過去最高を記録した後、一旦下落したが、2016年以降再び上昇傾向で推移している。漁業は、他産業に比べ経費に占める燃料費の割合が高く、漁場が遠いほど燃油の高騰が漁業経営に及ぼす影響は深刻である。燃油価格の高騰が続けば、燃油節約のため、東沖漁場に近い宮城県や南方漁場に近い鹿児島県への水揚げが増加し、静岡県への水揚げが減少する可能性も否定できない。このような燃油価格の変動等に左右されず、静岡県へのカツオの水揚げ量の維持・増加を図るためには、カツオを高値で購入することが必要であり、そのためにはカツオの付加価値を向上させることが必要不可欠であると考えられる。

現在、カツオをたたきや鰹節などの製品に加工する際に頭や内臓、血合肉などの副産物が大量に排出され、これら副産物が魚体全体に占める割合は50%を超えている[15]が、副産物の大半は飼肥料原料として、安価に取引されている。中でも血合肉は、タウリン、EPA、DHAなどの健康増進成分を豊富に含有する優れた食料資源である[16-18]にもかかわらず、鮮度低下に伴う臭気成分の増大などの理由によりほとんど食用利用されていな

いことから、飼肥料原料として安価に取引されている血合肉を食用利用することによりカツオの高付加価値化が可能になると考える。カツオの高付加価値化は、静岡県へのカツオの水揚げ量の維持・増加だけでなく、静岡県内のカツオ加工業者の加工原料の安定確保につながり、静岡県の水産業、水産加工業の発展に大きく貢献するものと考えられる。

#### (6) カタクチイワシ

カタクチイワシ *E. japonicus* は北海道から南シナ海までの太平洋西部に広く分布しており、静岡県における主要な漁獲対象種の一つである。鮮度低下が速いため生食用としての利用はごく一部に限られており、大部分は煮干し原料あるいは飼肥料原料として利用されている。煮干し原料に適するとされるのは、脂質含量が少ないカタクチイワシで、中でも脂質含量2%以下のものは良質な煮干し原料として高値で取引されている。一方、脂質含量が多いカタクチイワシは、煮干し原料には不向きとされ、主に飼肥料原料として安価に取引されるなど、カタクチイワシは脂質含量の多寡によりその価値が大きく異なる。駿河湾で漁獲されるカタクチイワシの大半は脂質含量が2%を超えており[19]、利用価値が低いことから、獲り控えがおきるなど低利用資源となっている。

一方、カタクチイワシの漁獲量は1990年に20万トンを超えるまで急増した後、年変動はあるものの概ね増加傾向を示し、2003年には過去最高の40万トンを記録した。しかし、その後漁獲量は減少傾向に転じ、2015年には6万トンまで急減したことから、2016年度のカタクチイワシ太平洋系群の資源評価において、資源状態は低位、動向は減少とされている。資源が減少傾向にある今こそ、限りある資源を有効に利用するため、飼肥料原料となっている脂質含量の多いカタクチイワシの高付加価値化につながる食用利用技術開発は喫急の課題であると考えられる。

## 4. 論文の構成

静岡県の豊かな水産資源を将来にわたって持続的に、また効率的に利用していくためには、各魚種を利用するに当たって内在する課題に応じた高付加価値化を進めることが極めて重要であると考えられる。そこで、本研究では、科学的根拠に基づく他産地との差別化及び未利用資源の食用利用の可能性について検討することにより、静岡県産水産物の高付加価値化に資することを目的とし、以下に示した研究を実施した。

第1章：静岡県の特産水産物であるシラス、サクラエビを対象とし、他産地との差別化、ブランド力強化による高付加価値化に資するため、安定同位体比分析やDNA分析によるしらす干し及びさくらえび製品の産地判別技術について検討した。

第2章：脂質成分に着目し、まず、筋肉中の脂肪酸組成による天然トラフグと養殖トラフグの判別の可能性について検討した。また、駿河湾の未利用水産資源であるハダカイワシ科魚類の食用利用による高付加価値化に資するため、漁獲対象となりうるかと判断した3魚種について、その脂質特性を明らかにすることにより、食品としての安全性について検証した。さらに、ハダカイワシ科魚類3種の健康機能性成分(n-3系高度不飽和脂肪酸)供給源としての可能性についてもあわせて検討した。

第3章：食用利用による未利用資源の高付加価値化に資するため、臭気成分の発生抑制手法について検討した。まず、栄養価は高いものの臭気の発生等の問題により、ほとんど食用利用されていないカツオ血合肉の臭気成分の特徴を明らかにするとともに、脱血処理がカツオの臭気成分に及ぼす影響について検討した。さらに、臭気発生抑制手法として洗浄処理に着目し、カツオ血合肉のすり身原料としての食用利用の可能性について検討した。

さらに、主に飼肥料原料として利用されている脂質含量の多いカタクチイワシの食用利用に資するため、煮干し製造工程のうちの乾燥工程及び乾燥に伴う脂質酸化が煮干しと煮干しだし汁の臭気成分に及ぼす影響について明らかにするとともに、臭気成分の発生による風味低下を防ぐ新たなエキス抽出技術について検討した。

## 第1章 安定同位体比を指標とする産地判別技術の確立による高付加価値化

### 第1節 しらす干しの原料原産地判別

#### 1-1-1 はじめに

しらす干しは、明治初期から加工が行われている伝統的な水産加工品で、ニシン目の稚仔魚（シラス）を食塩水中で短時間煮熟して乾燥させた製品であり、福島県以南の太平洋沿岸の広い地域で生産されている。なお、しらす干しとは主に関東地方（中部以東）での呼称であり、関西地方ではちりめん、ちりめんじゃこと呼ばれている[20]。国産しらす干しにはブランド価値による産地間の価格差が存在し[6]、各産地はブランドの保護・強化のため他産地との差別化を望んでいる。また、韓国、中国、インドネシア、タイなどからのしらす干しの輸入量は年間 2,000 トン弱にのぼり[21]、2008 年には、タイ産しらす干しを淡路島産ちりめんじゃこと偽る偽装事件が発生するなど、科学的根拠に基づく原料原産地判別技術が求められている。

赤崎ら[22,23]は、輸入しらす干しの原料魚について、インドネシア産及びタイ産は、マイワシ属、カタクチイワシ属、ウルメイワシ属のいずれにも該当しないが、中国産、韓国産は、いずれもカタクチイワシ属であることを確認している。一方、国産しらす干しの原料魚はそのほとんどがカタクチイワシ *E. japonicus* やマイワシ *S. melanostictus* であること[20]から、DNA 分析による国内産地間判別や国産しらす干しと中国産、韓国産しらす干しとの判別は困難である。

現在、DNA 分析以外の産地判別技術として、微量無機元素分析、安定同位体比分析などがある。微量無機元素分析とは、農作物の無機成分は生育する土壌の影響を受けやすく、土壌中の無機成分はその地域の地層の影響を受けるため、産地により農作物の無機元素組成に違いが生じることを利用した産地判別技術である。黒大豆の一品種である「丹波黒」[24]、カボチャ[25]、乾シイタケ[26]など多くの農作物の産地判別においてその有用性が報告されている。しかし、魚介類に関しては、ウナギ[27]、ホタテガイやニジマス[28]、コンブ[29]、ワカメ[30]など、養殖魚介類あるいは固着性の高い海藻等の産地判別に関する報告はなされているものの、天然海域に生息する魚介類についての研究例はほとんど見当たらない。一方、安定同位体比分析とは、生物の軽元素（炭素、水素、窒素、酸素）の安定同位体比が生育環境を普遍的に反映することを利用した産地判別技術であり、微量無機元素分析と同様に、農作物[31,32]、家畜（牛肉[33]）、養殖ウナギ[34]、ワカメ[35]などにおいてその有用性が示されている。さらに、安定同位体比分析は物質循環の解明や食物網の構造解析、動物の食性解析などにも広く利用されてきた[36]。田中ら[37]は、日本近海のカタクチイワシの炭素・窒素安定同位体比（ $\delta^{13}\text{C}$ 、 $\delta^{15}\text{N}$ ）を調査したところ、海域による差異が見られたと報告している。東シナ海には窒素固定能を備えた藍藻類が存在しており[38]、これらの藍藻類の影響により、東シナ海の生物の  $\delta^{15}\text{N}$  値が他の海域の生物に比べて低いことが予想される。さらに、海洋植物プランクトンの  $\delta^{13}\text{C}$  値には緯度依存性があることが知られており、摂餌活動を行う海域の緯度により生物の  $\delta^{13}\text{C}$  値が異なるとされている[39]。

以上の知見をもとに、本節では安定同位体比に着目し、国産10産地、中国産、韓国産のしらす干しについて、炭素・窒素安定同位体比を比較することにより、しらす干しの原料原産地判別の可能性について検討した。

## 1-1-2 方法

### (1) 試料

2007年6-9月、2008年8月に国内10産地（福島県、茨城県、静岡県、愛知県、兵庫県、徳島県、広島県、愛媛県、宮崎県、鹿児島県、北緯：31～37度）、中国産（東シナ海、北緯：22～31度）、及び韓国産（北緯：33～38度）のしらす干しを、それぞれ1ロットずつ収集した。全ての試料は、分析に供するまで-30℃で保管した。

### (2) 分析

国産しらす干しについては、1個体ずつ個別分析を行った。中国産、韓国産しらす干しについては、漁場や漁獲日が異なる試料が混在している可能性があったため、2gを1検体とするバルク分析を行った。国産しらす干しは1個体（0.02-0.10g）ずつ、中国産及び韓国産しらす干しは2g（中国産：80-90個体、韓国産：120-135個体）を1検体として凍結乾燥し、乳鉢で粉碎後、クロロホルム/メタノール混液（2/1,v/v）で脱脂処理を行い、脱脂後、再び凍結乾燥したものを測定用試料とした。国内10産地のしらす干し合計100個体と中国産、韓国産しらす干し各10検体について炭素・窒素安定同位体比を測定した。

炭素・窒素安定同位体比は、元素分析計（Flash EA 1112, Thermo Fisher Scientific）を接続した質量分析計（Delta V Advantage, Thermo Fisher Scientific）を用いて分析を行った。それぞれの元素の安定同位体比は、標準試料からの千分偏差で表した。これらは、 $\delta X = (R_{\text{試料}}/R_{\text{標準}} - 1) \times 1000$  によって、 $\delta$ 値として表記した。Xは炭素、窒素に対して、それぞれ $^{13}\text{C}$ 、 $^{15}\text{N}$ を表し、Rはそれぞれの元素の同位体比、 $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ 、 $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ である。標準試料として、炭素ではPeeDee層のヤイシ類の化石（PDB）、窒素では大気窒素（AIR）を用いた。本試験にあたり、品質管理用マトリクス試料を2点併行で10日間分析して得られた合成標準不確かさは、炭素安定同位体比、窒素安定同位体比ともに0.2‰であった。

統計処理については、統計解析ソフトSPSS（16.0J, 日本アイ・ビー・エム株式会社）を用いた。国産しらす干しの産地間比較では、Ward法によるクラスター分析を行った。国産、中国産及び韓国産しらす干しの比較では、一元配置分散分析（ANOVA）を行い、有意差が検出された場合には、Schefféの方法を用いて多重比較を行った。

## 1-1-3 結果

国内10産地、中国産及び韓国産しらす干しの炭素・窒素安定同位体比（ $\delta^{13}\text{C}$ ・ $\delta^{15}\text{N}$ ）をFig. 1-1-1に、国内10産地のしらす干しの $\delta^{13}\text{C}$ ・ $\delta^{15}\text{N}$ 値を用いてクラスター分析を行った結果をFig. 1-1-2に示した。

クラスター分析の結果、国内10産地の100個体は3つのグループに分類された。グルー

グループⅠは太平洋沿岸から瀬戸内海東部地方（福島県、茨城県、静岡県、愛知県、兵庫県、徳島県）、グループⅡは九州地方（宮崎県、鹿児島県）、グループⅢは瀬戸内海西部地方（広島県、愛媛県）の産地であったが、このうち、鹿児島県産の1個体は、鹿児島県産と宮崎県産からなるグループⅡではなくグループⅠに分類された。各グループの $\delta^{13}\text{C}$ ・ $\delta^{15}\text{N}$ 値を比較すると、 $\delta^{13}\text{C}$ 値はグループⅡ（九州地方： $-16.9\pm 0.3\%$ 、平均±標準偏差）及びグループⅢ（瀬戸内海西部地方： $-17.2\pm 0.4\%$ ）がグループⅠ（瀬戸内海東部から太平洋沿岸： $-18.9\pm 0.6\%$ ）より有意に高く、 $\delta^{15}\text{N}$ 値はグループⅢ（ $12.5\pm 0.6\%$ ）がグループⅠ（ $10.4\pm 0.9\%$ ）、Ⅱ（ $10.1\pm 0.6\%$ ）より有意に高かった（Fig. 1-1-1, Table 1-1-1）。

一方、輸入しらす干しにおいては、国産、中国産及び韓国産しらす干しの $\delta^{13}\text{C}$ ・ $\delta^{15}\text{N}$ 値に有意差が検出された（ $p < 0.001$ ）。中国産しらす干しの $\delta^{13}\text{C}$ 値（ $-16.5\pm 0.3\%$ ）は、国産（ $-18.2\pm 1.0\%$ ）、韓国産（ $-18.2\pm 0.2\%$ ）に比べ有意に高く、 $\delta^{15}\text{N}$ 値は、中国産（ $8.0\pm 0.3\%$ ）が、国産（ $10.6\pm 1.3\%$ ）、韓国産（ $10.8\pm 0.2\%$ ）に比べ有意に低かったが、国産と韓国産の間では、 $\delta^{13}\text{C}$ ・ $\delta^{15}\text{N}$ 値ともに有意差は見られなかった。

#### 1-1-4 考 察

日本周辺海域に生息するカタクチイワシの炭素・窒素安定同位体比については、田中ら[37]のほか、複数の報告がなされている[40-42]。田中ら[37]は、沿岸域と沖合域のカタクチイワシの違いに焦点を当て、日本周辺の様々な海域から採集したカタクチイワシの $\delta^{13}\text{C}$ ・ $\delta^{15}\text{N}$ 値を分析した結果、日本周辺海域のカタクチイワシの $\delta^{13}\text{C}$ ・ $\delta^{15}\text{N}$ 値にはともに大きな変動幅があり（ $\delta^{13}\text{C}$ ： $-20.6\sim -14.2\%$ 、 $\delta^{15}\text{N}$ ： $7.2\sim 17.8\%$ ）、沿岸域、内湾域のもので高く、沖合域のもので低い傾向が見られたと報告している。さらに、 $\delta^{13}\text{C}$ 値が高い個体は概ね $\delta^{15}\text{N}$ 値も高く、両者に有意な正の相関が見られたこともあわせて報告している。

今回分析したしらす干しについては、太平洋沿岸から瀬戸内海東部地方のしらす干しにおいて $\delta^{13}\text{C}$ 値が低く $\delta^{15}\text{N}$ 値が高い個体が数個体確認されたが、それらの個体を除けば田中らの報告にある $\delta^{13}\text{C}$ ・ $\delta^{15}\text{N}$ 値の分布範囲内に含まれていた。また、九州地方のしらす干しの $\delta^{13}\text{C}$ ・ $\delta^{15}\text{N}$ 値は、田中らの報告における九州北西域や太平洋沖合域の値と重なっており、田中らの報告と地域的な一致も見られた。さらに、高井ら[40]や中島ら[41]は、瀬戸内海の広島湾や瀬戸内海に面した香川県沿岸域で採集したカタクチイワシについて、 $\delta^{13}\text{C}$ 値は $-16.5\%$ より低く、 $\delta^{15}\text{N}$ 値は $13\%$ より高かったと報告しているほか、中島ら[41]は、瀬戸内海では陸域からの人間活動由来の $\delta^{13}\text{C}$ ・ $\delta^{15}\text{N}$ 値の高い有機物が、海域の食物連鎖に大きく寄与している可能性を示唆している。本節においても、瀬戸内海西部地方のしらす干しの $\delta^{13}\text{C}$ ・ $\delta^{15}\text{N}$ 値は他の産地より有意に高く、前述の田中ら[37]が報告したカタクチイワシの $\delta^{13}\text{C}$ ・ $\delta^{15}\text{N}$ 値の変動幅の中でも沿岸域や内湾域で見られた高い値に相当しており、瀬戸内海へ流入する陸域からの人間活動由来の有機物の影響を強く受けているものと考えられた。本節の結果、安定同位体比分析により国内10産地は、九州地方、瀬戸内海東部から太平洋沿岸地方、瀬戸内海西部地方の3つのグループに分類された。

次に、国産しらす干しと中国産、韓国産しらす干しの $\delta^{13}\text{C} \cdot \delta^{15}\text{N}$ 値を比較したところ、中国産しらす干しの $\delta^{13}\text{C}$ 値は国産、韓国産より有意に高く、 $\delta^{15}\text{N}$ 値は国産、韓国産より有意に低かった。海洋植物プランクトンの $\delta^{13}\text{C}$ 値には緯度依存性があり、高緯度海域に分布する海洋植物プランクトンほど $\delta^{13}\text{C}$ 値が低いことが知られている。したがって、魚類では、高緯度海域で摂餌活動が行われると $\delta^{13}\text{C}$ 値が低くなり、低緯度海域で摂餌活動が行われると $\delta^{13}\text{C}$ 値が高くなるとされている[39]。また、中国に近い東シナ海には窒素固定能を備えた*Trichodesmium*属などの藍藻類が存在しており[38]、これらの藍藻類の窒素固定によって産生された $\delta^{15}\text{N}$ 値が低い有機物の影響により、東シナ海の生物の $\delta^{15}\text{N}$ 値は他の海域の生物に比べて低いことが予想される。今回見られた国産と中国産しらす干しの $\delta^{13}\text{C} \cdot \delta^{15}\text{N}$ 値の差はこれらの知見とよく一致していた。

以上のように、本節の結果、静岡県産しらす干しと国内他産地のしらす干しの判別については、福島県から徳島県までの太平洋沿岸から瀬戸内海東部地方のしらす干しの差別化は困難であったが、地理的に比較的遠い瀬戸内海西部地方（広島県、愛媛県）や九州地方（宮崎県、鹿児島県）とのグループ分けができた。また、輸入しらす干しの判別については、韓国産との間には有意差は見られず、安定同位体比のみによる判別は困難であったが、国産と中国産の間には有意差が見られた。

なお、本節で用いた試料は、輸入しらす干しについては2007年、国産しらす干しについては2008年単年の試料であり、ロット数や検体数も少ない。田中ら[42]は、長崎県橘湾で収集したカタクチイワシの炭素・窒素安定同位体比は季節により変動すると報告していることから、今後、季節変動や年変動の有無についても検討する必要がある。また、輸入しらす干しについては、数十キロという単位で輸入されるため、同一ロットでも漁場や漁獲日の異なるしらす干しが混在している可能性が高いことから、漁場や漁獲日等の明らかな試料の収集及び分析については今後の検討課題である。

なお、前述のとおり、これまで食品の産地判別における安定同位体比分析の有用性については、米[31]リンゴ[32]といった農作物においては数多くの報告がなされているものの、動物で有用性が示されているのは家畜（牛肉[33]）、水産物では養殖ウナギ[34]やウナギ加工品[43]、ワカメ[35]など、いずれも飼育されたものやその加工品、あるいは固着性の高い海藻等に限定されていた。しかし、本節の結果、これまで安定同位体比分析による産地判別の有用性について検討されていなかった、天然海域で漁獲されたカタクチイワシの稚仔魚の加工品であるしらす干しにおいて、安定同位体比分析による原料原産地判別の可能性が示されたことは、新たな知見であると考えられる。

## 第2節 さくらえび製品の産地判別

### 1-2-1 はじめに

サクラエビ *L. lucens* は、体長 4-5cm 程度の小型の遊泳性の甲殻類で、日本国内では駿河湾、東京湾湾口、相模湾酒匂川河口沖、遠州灘福田地先において分布が確認されているが、このうち、本種を対象とした漁業が行われているのは駿河湾のみである[44]。

駿河湾におけるサクラエビ漁の歴史は比較的浅く、1894 年にあじ船びき網漁の操業中に偶然大量のサクラエビが漁獲されたことが漁業の始まりとされている。現在さくらえび船びき網漁業では、産卵親エビ保護のための漁獲禁止期間（6 月 11 日-9 月 30 日）が定められているが、実際の漁期は、漁業者間の自主的な申し合わせにより 3 月下旬-6 月上旬の春漁と 10 月下旬-12 月下旬の秋漁の年 2 回に限定されている[9]。このように、サクラエビ漁は漁期および漁場が限定されているうえに漁獲量の変動が激しいことから、漁獲量の低下や価格の急騰を心配した加工業者がアジア諸国に類似の資源を求めた結果、1977 年頃台湾南西部（屏東県東港沖）で類似のエビが発見された。このエビは、外部形態的に駿河湾産サクラエビと差がないことから両者は同種であると確認され[8]、2004 年頃には台湾北東部（宜蘭県龜山島沖）でもサクラエビ漁場が発見された[7]。その後現在に至るまで、駿河湾及び台湾周辺以外でサクラエビが漁獲されたという報告はない。

現在、主に流通しているさくらえび加工製品としては、生食用さくらえび（以下、生さくらえび）のほか、水揚げされたサクラエビを水洗後、天日乾燥あるいは機械乾燥により水分が 20%前後になるまで乾燥した素干しさくらえび（以下、素干し）、食塩水で短時間煮熟した釜揚げさくらえび（以下、釜揚げ）がある。戦前は天日乾燥による素干しが主流であったが、戦後の家庭用冷蔵庫の普及に伴い煮上げたままの釜揚げの生産量が増加した。さらに近年では、原料の鮮度保持と冷凍技術の向上により、冷凍生さくらえびの生産量が急増している[45]。前述のように、現在のサクラエビ漁場は駿河湾、台湾周辺（南西部水域及び北東部水域）に限られていることから、さくらえび製品の産地は駿河湾と台湾の 2 産地しか存在しないが、台湾産さくらえび製品の価格は駿河湾産の約半分程度である[7]。2010 年には台湾産の素干しを静岡県産と誤表示した業者が改善指示を受けていることなどから、科学的根拠に基づく産地判別技術が求められている。

大森ら[8]は、駿河湾産サクラエビと台湾産サクラエビは同種であるが、両者の間に地理的隔離のほか生殖的隔離が働いている可能性を示唆している。同一種であっても地域集団ごとに遺伝的な差異がある場合には、DNA 分析による原産地判別が可能である[46]ことから、本節では、まず始めに DNA 分析による産地判別の可能性について検討した。

同じ DNA 配列を持つ生物を対象とする産地判別技術として、安定同位体比分析や微量無機元素分析などがあり、様々な農作物においてその有効性が示されている。水産物における安定同位体比分析や微量無機元素分析による産地判別に関する先行研究は、そのほとんどが養殖魚や固着性の高い海藻類あるいは移動性の少ない貝類を対象としているのに対し、著者は、本論文の第 1 章第 1 節において、天然海域で漁獲された水産物の

加工品であるしらす干しについて、安定同位体比分析による産地判別の可能性を示した。

そこで、本節においても DNA 分析以外の産地判別技術として安定同位体比分析に着目し、さくらえび製品について安定同位体比分析による産地判別の可能性について検証した。安定同位体比分析により食物網解析を行う場合、貝殻や甲殻類の外骨格などを除去するため、酸による前処理を行うのが一般的である。これまでの研究の結果、酸処理が炭素・窒素安定同位体比 ( $\delta^{13}\text{C} \cdot \delta^{15}\text{N}$ ) に及ぼす影響は対象生物によって異なる[47]とされているが、サクラエビの  $\delta^{13}\text{C} \cdot \delta^{15}\text{N}$  値に及ぼす影響についての報告はない。また、安定同位体比を用いた加工品の産地判別技術開発においては、加工工程による影響や副材料・調味料等による影響についても考慮する必要があるとされているが、加工工程が安定同位体比に及ぼす影響については、ウナギ[43]やわかめ[48,49]についての報告のみで、甲殻類に関する報告はない。

そこで本節では、DNA 分析による産地判別の可能性について検討した後、酸処理が生さくらえびの安定同位体比に及ぼす影響について検討を行った。それらの結果をふまえ、さくらえび製品の  $\delta^{13}\text{C} \cdot \delta^{15}\text{N}$  分析を行い、加工工程がさくらえび製品の  $\delta^{13}\text{C} \cdot \delta^{15}\text{N}$  値に及ぼす影響について検討するとともに、 $\delta^{13}\text{C} \cdot \delta^{15}\text{N}$  分析によるさくらえび製品の産地判別の可能性について検証した。

## 1-2-2 方法

### 1. DNA 分析

#### (1) 試料

駿河湾産として、静岡県大井川港漁業協同組合から入手した生さくらえび (2006 年産 : L (ロット数) =1, N (分析数) =19) を  $-30^{\circ}\text{C}$  で凍結したものをを用いた。台湾産はさくらえび加工業者が自ら台湾で買い付けた冷凍生さくらえび (2006 年産 : L=1, N=6) をを用いた。試料は解凍後 99.5%エタノールで固定し、遊泳脚の一部を DNA 分析に供した。

#### (2) DNA の抽出及び塩基配列の解析

DNA 抽出は、ISOHAIR (NIPPON GENE CO., LTD.) を用いて行い、抽出した DNA を鋳型として mtDNA の 16SrRNA 遺伝子 (以下 16SrRNA) の一部領域を PCR により増幅した。PCR 反応のプライマーには、16S<sub>F1</sub> (5' CGC CTG TTT AAC AAA AAC AT 3') と 16S<sub>R1</sub> (5' CCG GTC TGA ACT CAG ATC ATG T 3') [50]のユニバーサルプライマーを用いた。PCR 反応にはサーマルサイクラー GeneAmp PCR System 9700 (Applied Biosystems) を用い、反応条件は、 $98^{\circ}\text{C}$ -10 秒、 $55^{\circ}\text{C}$ -30 秒、 $72^{\circ}\text{C}$ -90 秒を 30 サイクル行った。得られた PCR 産物に BigDye Terminator Ver3.1 Sequencing Standard Kit (Applied Biosystems) を用いてシーケンス反応を行った。シーケンス反応には PCR に用いたプライマーと同じものを用いた。ABI PRISM 3100-Avant Genetic Analyzer (Applied Biosystems) を用いてシーケンス産物の塩基配列を決定した。

## 2. 安定同位体比分析

### (1) 試料

駿河湾産は、生さくらえび（2007年産：L=2、N=30、2008年産：L=11、N=80、2009年産：L=6、N=60、2010年産：L=2、N=6）を静岡県大井川港漁業協同組合から入手するとともに、駿河湾産であることが明らかな市販の素干し（2007年産：L=3、N=40）、釜揚げ（2007年産：L=1、N=20）をさくらえび加工業者から購入した。

台湾産は、さくらえび加工業者が自ら台湾で買い付けた冷凍生さくらえび（2006年産：L=1、N=28、2007年産：L=1、N=40）、素干し（2007年産：L=3、N=40）、釜揚げ（2007年産：L=2、N=25）を用いた。全ての試料は、分析に供するまで $-30^{\circ}\text{C}$ で保管した。分析に供した生さくらえびの体長を Table 1-2-1 に、素干し及び釜揚げの重量を Table 1-2-2 に示した。

### (2) 前処理及び酸処理

試料は1個体を1検体としたが、個体が小さいものについては2~3個体を1検体として凍結乾燥し、乳鉢で粉碎後、クロロホルム/メタノール混液（2/1、v/v）で脱脂処理を行い、脱脂後再び凍結乾燥したものを測定試料とした。

酸処理の影響については、駿河湾産生さくらえび（2008年産）の一部に対して以下の処理を施した。すなわち、脱脂後の凍結乾燥物（測定試料）0.1~0.15gに約10倍量の6mol/L塩酸を加え、泡が出なくなるまで放置した後に遠心により塩酸を除去した。塩酸除去後の沈殿を蒸留水で洗浄し、得られた沈殿を再び凍結乾燥したものを酸処理群とした。

### (3) 加工工程による影響

加工工程（乾燥及び煮熟）が安定同位体比に及ぼす影響を明らかにするため、同一ロットの駿河湾産生さくらえびから素干し（乾燥）及び釜揚げ（煮熟）を製造し、加工工程前後の安定同位体比を比較した。素干し及び釜揚げの製造は、漁獲年の異なる生さくらえびを用いて複数回実施した。

### (4) 分析

$\delta^{13}\text{C}$ ・ $\delta^{15}\text{N}$ 分析については、第1章第1節と同様の方法により行った。本節の $\delta^{13}\text{C}$ ・ $\delta^{15}\text{N}$ 分析にあたり、品質管理用マトリクス試料を2点併行で10日間分析して得られた合成標準不確かさは、 $\delta^{13}\text{C}$ ・ $\delta^{15}\text{N}$ ともに0.2‰であった。

統計処理については、統計解析ソフト SPSS を用いて、Student の  $t$  検定により行った。

## 1-2-3 結果

### 1. DNA 分析

駿河湾産 19 個体について 16SrRNA の部分塩基配列(404bp)を決定し、DDBJ/EMBL/GenBank に AB705159 として登録した。引き続き、台湾産 6 個体について分析したところ全て AB705159 と同一の塩基配列を示した。

## 2. 安定同位体比分析

### (1) 酸処理の影響

酸処理群及び酸処理群と同一ロットの測定試料（非処理群）の $\delta^{13}\text{C} \cdot \delta^{15}\text{N}$  値を Fig.1-2-1 に示した。 $\delta^{13}\text{C}$  値は酸処理群 ( $-18.0 \pm 0.2\text{‰}$ , 平均値 $\pm$ 標準偏差)、非処理群 ( $-17.6 \pm 0.2\text{‰}$ ) と酸処理群で有意に低く ( $p < 0.001$ )、 $\delta^{15}\text{N}$  値は酸処理群 ( $9.8 \pm 0.4\text{‰}$ )、非処理群 ( $9.5 \pm 0.4\text{‰}$ ) と酸処理群で有意に高かった ( $p < 0.05$ )。以後の $\delta^{13}\text{C} \cdot \delta^{15}\text{N}$  分析においては、酸処理は行わなかった。

### (2) 加工工程の影響

素干しは2007、2008、2010年産、釜揚げは2008、2010年産の駿河湾産生さくらえびを原料として製造試験を行った。加工工程前後の $\delta^{13}\text{C} \cdot \delta^{15}\text{N}$  値の変化について Fig. 1-2-2 に示した。素干し加工の場合、加工前の生さくらえびと加工（乾燥）後の素干しの $\delta^{13}\text{C} \cdot \delta^{15}\text{N}$  値に有意差は見られなかった (Fig. 1-2-2a,  $p < 0.05$ )。

これに対し釜揚げ加工の場合は、2010年産では加工工程前後で $\delta^{13}\text{C} \cdot \delta^{15}\text{N}$  値に変化は見られなかったものの、2008年産では加工前の生さくらえびでは  $10.0 \pm 0.7\text{‰}$  だった $\delta^{15}\text{N}$  値が加工（煮熟）後  $9.1 \pm 0.4\text{‰}$  になり、有意な低下傾向が見られた (Fig.1-2-2b,  $p < 0.001$ )。

### (3) 産地判別の可能性

さくらえび製品（生さくらえび、素干し、釜揚げ）の $\delta^{13}\text{C} \cdot \delta^{15}\text{N}$  値の分析結果を Table 1-2-3 に示した。 $t$  検定の結果、生さくらえび（駿河湾産： $-17.3 \pm 0.3\text{‰}$ ,  $9.7 \pm 0.8\text{‰}$ 、台湾産： $-17.6 \pm 0.6\text{‰}$ ,  $7.8 \pm 0.5\text{‰}$ ）、素干し（駿河湾産： $-17.5 \pm 0.3\text{‰}$ ,  $8.8 \pm 0.4\text{‰}$ 、台湾産： $-17.9 \pm 0.3\text{‰}$ ,  $8.0 \pm 0.4\text{‰}$ ）、釜揚げ（駿河湾産： $-17.7 \pm 0.3\text{‰}$ ,  $9.5 \pm 0.2\text{‰}$ 、台湾産： $-18.2 \pm 0.2\text{‰}$ ,  $7.9 \pm 0.3\text{‰}$ ）の全てにおいて駿河湾産と台湾産の $\delta^{13}\text{C} \cdot \delta^{15}\text{N}$  値に有意差が検出された ( $p < 0.001$ )。

そこで、生さくらえび、素干し及び釜揚げの $\delta^{13}\text{C} \cdot \delta^{15}\text{N}$  値の分布を、それぞれ Fig. 1-2-3, Fig. 1-2-4 に示した。なお、生さくらえびについては、駿河湾産をさらに春漁と秋漁に分けて示した。生さくらえびでは、駿河湾産と台湾産の分布に一部重なりが見られたほか、特に台湾産において顕著な年変動が確認された。また、駿河湾産では、春漁と秋漁で $\delta^{13}\text{C} \cdot \delta^{15}\text{N}$  値に差が見られ、 $\delta^{13}\text{C}$  値は春漁が秋漁より高く、 $\delta^{15}\text{N}$  値は春漁が秋漁より低い傾向が見られた。素干し及び釜揚げについては、素干しでは生さくらえび同様、駿河湾産と台湾産の分布に一部重なりが見られたが、釜揚げについては、両者に重なりは見られなかった。

さらに、生さくらえびの同一ロット内での $\delta^{13}\text{C} \cdot \delta^{15}\text{N}$  値の個体差について検証した結果を Fig. 1-2-5 に示した。同一ロット内の $\delta^{13}\text{C}$  値の差は駿河湾産  $0.2\text{--}1.4\text{‰}$ 、台湾産  $0.8\text{--}1.3\text{‰}$  であり、 $\delta^{15}\text{N}$  値の差は駿河湾産  $0.3\text{--}3.2\text{‰}$ 、台湾産  $1.0\text{--}1.5\text{‰}$  であった。

## 1-2-4 考察

大森らは、1987-1988年に台湾東港で漁獲されたエビの標本を日本に持ち帰り、外部形態の特徴について駿河湾産サクラエビと比較した。その結果、外部形態に違いは見ら

れず、体色や発光器の位置・数にも有意差が認められなかったことから、両者は同一種であると同定している。しかし、台湾産では1月、3月にも成熟した雌個体が多数出現しており、6-9月に産卵する駿河湾産とは産卵期が明らかに異なると述べている。また、駿河湾産と台湾産サクラエビでは等電点電気泳動法によるバンドパターンに差異が見られたことから、両者に地理的隔離と生殖的隔離が働いている可能性を示唆している[8]。しかし、本節の結果、駿河湾産、台湾産サクラエビの16SrRNAの部分塩基配列は同一で全く差が見られなかった。また Takashima らは、駿河湾産及び台湾産サクラエビについて mtDNA の CO I 遺伝子 (以下 CO I) の部分塩基配列 (657bp) を決定しているが、両者は同一の塩基配列を示していた (AB477016、AB826490)。これらのことから、16SrRNA 及び CO I 領域を対象としたミトコンドリア DNA 分析による生さくらえびの産地判別は困難であると考えられた。これまで、水産動物の集団構造解析にはアイソザイム分析やミトコンドリア DNA 分析が用いられてきたが、近年分析技術の発達により、核 DNA の分析が可能となった。今後は、変異性や共優性が高いとされるマイクロサテライト DNA マーカーを用いた核 DNA 分析等による産地判別の可能性について検証を進める必要があると考える。

DNA 分析により産地判別できなかったため、DNA 分析以外の産地判別技術として、安定同位体比分析に着目した。

甲殻類の外骨格や貝殻は海水中の  $\text{CaCO}_3$  などの溶存態無機炭素に由来することから、安定同位体比分析により甲殻類や貝類の食物網解析を行う場合には、酸による前処理を行い、測定用試料から海水中の溶存態無機炭素の影響を取り除くのが一般的だが、これまでの研究によれば、酸処理が  $\delta^{13}\text{C} \cdot \delta^{15}\text{N}$  値に及ぼす影響は試料の種類によって異なるとされている。エビジャコ類の外骨格を含む筋肉では  $\delta^{13}\text{C} \cdot \delta^{15}\text{N}$  値に変化は見られず[51]、クルマエビ属では  $\delta^{13}\text{C}$  値は変化しなかったが、 $\delta^{15}\text{N}$  値は高くなった[52]との報告がある。さらに、スナモグリ類では  $\delta^{15}\text{N}$  値は変化しなかったが、外骨格を含む筋肉の  $\delta^{13}\text{C}$  値は低下した[48]とされている。本節では、同一ロットの生さくらえびについて、酸処理群と非処理群の  $\delta^{13}\text{C} \cdot \delta^{15}\text{N}$  を測定し両者を比較した結果、酸処理により  $\delta^{13}\text{C}$  値は有意に低くなり、 $\delta^{15}\text{N}$  値は有意に高くなった。過去の知見と比較した結果、酸処理が生さくらえびの  $\delta^{13}\text{C} \cdot \delta^{15}\text{N}$  値に及ぼす影響と、エビジャコ類、クルマエビ属、スナモグリ類に及ぼす影響は異なることが確認された。

また、 $\delta^{13}\text{C} \cdot \delta^{15}\text{N}$  分析における酸処理の必要性について、複数の研究者が見解を示している[47,51,52]。それによれば、石灰質構造を持つ無脊椎動物の食物網解析を行う場合、 $\delta^{15}\text{N}$  については酸処理が不要だが、 $\delta^{13}\text{C}$  については酸処理が必要とされている。しかし、本節の目的は食物網の解析ではなく産地判別であり、生息海域の溶存態無機炭素の影響も含めて駿河湾産と台湾産の差の有無を確認することが重要であると考え、加工工程の影響把握及び産地判別の可能性検証における  $\delta^{13}\text{C} \cdot \delta^{15}\text{N}$  分析では酸処理は行わないこととした。

次に、加工工程として乾燥 (干す) 及び煮熟工程が  $\delta^{13}\text{C} \cdot \delta^{15}\text{N}$  値に及ぼす影響を明らかにするため、同一ロットの駿河湾産生さくらえびから製造した素干し及び釜揚げと、

原料生さくらえびの安定同位体比を比較した。その結果、乾燥（干す）工程では製造及び測定を行った全てのロットにおいて  $\delta^{13}\text{C} \cdot \delta^{15}\text{N}$  値ともに変化が見られなかったことから、乾燥（干す）工程は  $\delta^{13}\text{C} \cdot \delta^{15}\text{N}$  値に大きな影響を及ぼさないと考えられた。一方、煮熟工程については、湯通し塩蔵わかめ（原藻わかめを海水あるいは塩水で湯通し後脱水したものに塩を添加したもの）や乾わかめ（湯通し塩蔵わかめを洗浄し、目的の大きさに裁断し、脱水後乾燥したもの）において原藻わかめに比べ  $\delta^{15}\text{N}$  値が低くなる傾向があると報告されている[48]。また、Bosley & Wainright[51]は、酸処理後のすすぎ工程により、酸によってサンプルから溶出した不溶性化合物が除去される可能性を示している。本節においては、煮熟工程により一部のロットにおいて  $\delta^{15}\text{N}$  値が低下する傾向が見られたが、これは、試料を水に浸す、あるいは水に浸した状態で加熱することにより、サクラエビ中の何らかの成分が流出したことに起因する可能性が考えられる。しかし、今回煮熟工程により  $\delta^{15}\text{N}$  値の低下が見られた2008年産のロットは、 $\delta^{15}\text{N}$  値が変化しなかった2010年産のロットに比べ煮熟工程前の原料生さくらえびの  $\delta^{15}\text{N}$  値が有意に高かったことから、原料の  $\delta^{15}\text{N}$  値が煮熟工程後の  $\delta^{15}\text{N}$  値に影響を及ぼしている可能性も否定できない。煮熟工程が  $\delta^{13}\text{C} \cdot \delta^{15}\text{N}$  値に及ぼす影響については、今後試料数を増やして更に検討を行う必要があると考える。

最後に、 $\delta^{13}\text{C} \cdot \delta^{15}\text{N}$  分析によるさくらえび製品（生さくらえび、素干し、釜揚げ）の産地判別のため、駿河湾産と台湾産のさくらえび製品の  $\delta^{13}\text{C} \cdot \delta^{15}\text{N}$  値を比較したところ、生さくらえび、素干し、釜揚げの全てにおいて駿河湾産の  $\delta^{13}\text{C} \cdot \delta^{15}\text{N}$  値の平均値は台湾産より有意に高かった ( $p < 0.001$ )。中島ら[41]は、瀬戸内海などの内湾域の魚類の  $\delta^{13}\text{C} \cdot \delta^{15}\text{N}$  値は外湾の魚類よりも高くなると報告しており、これには陸域からの人間活動由来の  $\delta^{13}\text{C} \cdot \delta^{15}\text{N}$  値の高い有機物が大きく寄与している可能性を示唆している。さらに、著者は本論文の第1章第1節において、瀬戸内海西部地域のしらす干しの  $\delta^{13}\text{C} \cdot \delta^{15}\text{N}$  値が九州地方や太平洋沿岸地域に比べ有意に高いことを確認している。2つのサクラエビ漁場を比較すると、駿河湾は日本一深い湾で、広く開いた開口部から黒潮系沖合水が流入するだけでなく、大井川、安倍川、富士川といった大河川が偏在し、大量の河川水が沿岸海域に供給されている。これに対し、台湾周辺漁場は、複数の流入河川はあるものの開放的で浅い[8]。さらに、台湾周辺海域は窒素固定能を備えた *Trichodesmium* 属などの藍藻類が存在する窒素固定活性の高い海域とされており[38]、窒素固定によって産生された  $\delta^{15}\text{N}$  値の低い有機物の影響により、当該海域の生物の  $\delta^{15}\text{N}$  値が他の海域の生物に比べ低いことが予想される。今回見られた駿河湾産と台湾産さくらえび製品の  $\delta^{13}\text{C} \cdot \delta^{15}\text{N}$  値の差は、こうした生息環境の違いを反映しているものと考えられる。

以上のように、駿河湾産と台湾産さくらえび製品の  $\delta^{13}\text{C} \cdot \delta^{15}\text{N}$  値の平均値に有意差が見られたが、 $\delta^{13}\text{C} \cdot \delta^{15}\text{N}$  値の散布図 (Fig. 1-2-3, 1-2-4) をみると、生さくらえびや素干しでは駿河湾産と台湾産の分布に一部重なりが見られたほか、台湾産生さくらえびでは、2006年産と2007年産の  $\delta^{13}\text{C} \cdot \delta^{15}\text{N}$  値に差が見られた。また、駿河湾産の中でも春漁の生さくらえびは、秋漁のものに比べ  $\delta^{13}\text{C}$  値が高く、 $\delta^{15}\text{N}$  値が低い傾向が見られた。

台湾産生さくらえびの2007年産のロットは2007年1-2月に台湾南西部水域で漁獲されたものだが、2006年産は漁場・漁獲時期が不明なため断定は出来ないが、台湾産生さくらえびで見られた $\delta^{13}\text{C}$ ・ $\delta^{15}\text{N}$ 値の差は漁場あるいは漁獲時期の違いが原因である可能性が考えられる。一方、駿河湾におけるサクラエビ漁業は、春漁は駿河湾奥部（清水・由比沖-富士川沖）を中心に操業が行われるのに対し、秋漁は駿河湾西部（焼津・大井川沖）を中心に操業が行われている[9]。駿河湾は前述のように複雑な海洋構造を有していることから、同じ駿河湾内でも春漁と秋漁で主漁場が異なることにより、 $\delta^{13}\text{C}$ ・ $\delta^{15}\text{N}$ 値に差が生じた可能性が考えられる。今後も引き続き漁場や漁獲時期等の明らかな試料を収集・分析し、さくらえび製品の $\delta^{13}\text{C}$ ・ $\delta^{15}\text{N}$ 値の年変動の有無等について確認する必要がある。

本節の結果、16SrRNA及びCO I 領域を対象としたDNA分析による駿河湾産と台湾産サクラエビの判別は困難であることが明らかとなった。一方、 $\delta^{13}\text{C}$ ・ $\delta^{15}\text{N}$ 分析の結果、生さくらえび、素干し、釜揚げの全てにおいて駿河湾産と台湾産の $\delta^{13}\text{C}$ ・ $\delta^{15}\text{N}$ 値の平均値に有意差が見られたことから、安定同位体比によるさくらえび製品の産地判別の可能性が示唆された。ただし、同一ロット内の個体差が平均値の差を上回るロットも存在することから、現時点では安定同位体比分析単独では1個体レベルでの産地判別は困難と言わざるをえない。しかし、今後、漁場や漁期の明らかなさくらえび製品を複数年にわたって収集し、データの蓄積及び解析を進めていくことにより、各ロットレベルでの判別は可能であり、その精度はさらに向上するものと考えられる。

## 要約

静岡県の特産品であるしらす干しやさくらえび製品は、国内他産あるいは外国産との差別化・ブランド力強化のため科学的根拠に基づく判別技術が求められている。そこで、本章では、安定同位体比に着目し、しらす干し及びさくらえび製品における産地判別の可能性について検討した。静岡県産を含む国内10産地、中国産、韓国産のしらす干し及び駿河湾産、台湾産のさくらえび製品（生さくらえび、素干し、釜揚げ）について、炭素・窒素安定同位体比分析を行った。その結果、しらす干しについては、福島県以南の太平洋沿岸から瀬戸内海東部地方産や韓国産と静岡県産の判別は困難であったが、瀬戸内海西部産や九州産、中国産と静岡県産との判別の可能性が示された。また、さくらえび製品においても静岡県産と台湾産の判別の可能性が示された。しらす干し、さくらえび製品ともに、今後検体数を増やし、データの蓄積・解析を進めることにより、判別の精度がさらに向上するものと考えられる。

## 第2章 脂質成分を指標とするトラフグ及びハダカイワシ科魚類の高付加価値化

### 第1節 天然トラフグと養殖トラフグの判別

#### 2-1-1 はじめに

1999年にJAS法が改正され、水産物も生鮮食品品質表示基準および水産物品質表示基準の適用を受けることとなった。これらの表示基準では、「名称」、「原産地」のほか、凍結後解凍したものについては「解凍」、養殖魚については「養殖」と表示することが義務付けられた。

トラフグはふぐ類の中では最も商業的価値が高く、特に冬場には高値で取引されている。天然トラフグの漁獲量は1980年代後半以降著しく減少し、代わりに養殖トラフグの生産量が急増している[10]。統計データによると、2006年以降の日本国内のふぐ類の漁獲量は5,000トン前後であるのに対し、養殖ふぐ類の収穫量は4,000トン前後である[53]。さらに、1994年以降中国からのふぐ類の輸入量が急増し、多いときには10,000トン前後に達したがその後減少し、近年は5,000トン前後で推移している[54]。このように、現在日本国内には、天然トラフグ、国産養殖トラフグ、中国産養殖トラフグの3種類が流通しているが、養殖トラフグの価格は天然トラフグの半額程度に過ぎない[10]。また、トラフグの卵巣や肝臓には猛毒のフグ毒テトロドトキシンが含まれるため、トラフグは身欠きや刺身に加工された状態で流通することが多く、流通段階で天然トラフグと養殖トラフグを判別することは非常に困難で、偽装表示問題の発生等が懸念されていた。2008年には中国産養殖トラフグを国産養殖トラフグと偽る偽装事件が発生するなど、科学的根拠に基づく天然トラフグと養殖トラフグ、あるいは国産養殖トラフグと中国産養殖トラフグの判別技術が求められている。

また、養殖技術や魚病研究の発達によって、様々な魚介類が養殖されるようになり、天然魚と養殖魚の品質を比較した研究が数多くなされてきた。それらによると、アジ、ヒラメ、マダイなど多くの魚種において、養殖魚は天然魚に比べ脂質含量が高く、肉質が柔らかいとされている[55-59]。また、餌料と筋肉の脂肪酸組成の関係についても多くの研究がなされ、アユ[60]、ヒラメ[61]、マダイ[57,62]などにおいて、筋肉の脂肪酸組成は餌料の脂質成分の影響を強く受けると報告されていることから、脂肪酸組成は天然魚と養殖魚を判別するに当たり有効な要素であると考えられた。

なお、トラフグの体成分に関しては、佐伯・熊谷[63,64]が一般成分及び無機成分について、西塔・國崎[65]が脂肪酸組成や遊離アミノ酸、筋肉硬度などについて調べている。これらの先行研究において、天然トラフグと養殖トラフグの筋肉の各成分に顕著な差はなく、さらに筋肉の一般成分は成長に伴う変動や季節変動がなく、常にほぼ一定である。また、トラフグでは餌料中の粗脂肪は筋肉ではなく肝臓に移行し、蓄積される。さらに、魚類筋肉組織の脂肪酸組成が餌料から受ける影響は、魚種によって異なり、天然トラフグと養殖トラフグの脂肪酸組成にほとんど差異が認められなかったことから、トラフグは餌料の影響を受けにくい魚種であると報告されている[63-65]。しかしながら、これまでトラフグに関して、実際に投与された餌料の成分と養殖魚の体成分の関係について調

べた報告はなく、中国産養殖トラフグについても、体成分に関する知見はほとんどない。

そこで、本節では、まず、天然トラフグ、国産養殖トラフグ及び中国産養殖トラフグ筋肉の脂質含量及び脂肪酸組成を分析し、中国産養殖トラフグの脂質特性を明らかにするとともに、国内の養殖場から養殖餌料を入手し、餌料と国産養殖トラフグ筋肉の脂質成分の関係について検討した。その後、トラフグ筋肉の脂肪酸組成を用いた天然魚と養殖魚の判別の可能性について検討を行った。

## 2-1-2 方法

### (1) 試料

分析に供したトラフグ *T. rubripes* の概要を Table 2-1-1 に示した。天然魚として、2006年1月に伊勢湾で漁獲されたもの、2006年8月、10月に駿河湾及び遠州灘で漁獲されたものを分析に供した。養殖魚は、国産養殖魚として、長崎県内の6箇所の養殖場で養殖されたものを、中国産養殖魚として、下関市南風泊市場で取引された河北省で養殖されたものを分析に供した。試験魚は $-20^{\circ}\text{C}$ で保管し、1個体ごとに背部の筋肉の一部を切り取り、細切均一化したもののうち約50gを試料とした。さらに、国産養殖魚を入手した6箇所の養殖場のうち4箇所の養殖場から実際にトラフグに投与していた餌料を入手し、分析を行った。

### (2) 分析

各試料から Bligh&Dyer 法の Hanson and Olley 変法[66]に準じてクロロホルム/メタノール混合液により全脂質 (TL) を抽出し、脂質含量を測定した。全試料のうち、天然魚、国産養殖魚、中国産養殖魚各10尾については、得られた TL を Sep-Pak シリカカートリッジ (690mg, Waters 社製) により中性脂質 (NL) と極性脂質 (PL) に分画した。抽出した TL は Hiratsuka *et al.*[67]に準じて塩化水素-メタノール溶液で直接メチルエステル化した後、キャピラリーカラムを用いたガスクロマトグラフ (GC-14、島津製作所株式会社) により脂肪酸を分析した。なお、分析条件は以下のとおりとした。分析カラム；GLサイエンス社製 TC-WAX 30m $\times$ 0.25mm i.d.、カラム温度；初期温度： $170^{\circ}\text{C}$ 、昇温速度： $1^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 、最終温度： $225^{\circ}\text{C}$ 、試料注入口温度； $250^{\circ}\text{C}$ 、検出器温度； $270^{\circ}\text{C}$ 、注入モード；スプリット (スプリット比；50：1)。脂肪酸・ジメチルアセタール (DMA) の定性は、標準品のリテンションタイムと比較するとともに、ガスクロマトグラフ質量分析法 (GC/MS 法) により行った。GC/MS 分析は、ジメチルオキサゾリン誘導体に変換後、島津 QP-5000 DC-MS システムを用いて行った。分析カラム；SUPELCO 製 Omegawax 320 30m $\times$ 0.32mm、カラム温度； $260^{\circ}\text{C}$ 、インターフェイス部； $200^{\circ}\text{C}$ 、イオン化チャンバー； $200^{\circ}\text{C}$ 、イオン化電圧；70eV。DMA は  $m/z$  75  $\text{CH}(\text{OCH}_3)_2$  のベースピークをもとに定性した[68]。

統計処理及び線形判別分析については、統計解析ソフト SPSS を用いて一元配置分散分析 (ANOVA) を行い、有意差が検出された場合には、Tukey 法あるいは Scheffé の方法を用いて多重比較を行った。

### 2-1-3 結果

トラフグ筋肉の脂質含量をTable 2-1-1に示した。天然魚、国産養殖魚、中国産養殖魚の3群間で脂質含量に差は見られなかった (0.84-1.01g/100g)。NL、PLについても3群間で差は見られず、TLに占めるPLの割合は、68.5-71.4%であった。

国産養殖魚を入手した養殖場のうち4養殖場で使用していた餌料の一般成分と脂肪酸組成をTable 2-1-2に示した。餌料中の脂質含量は14.9-24.2 g/100g (無水物換算) と養殖場による差が大きかった。餌料の主要な構成脂肪酸は、C16:0、C18:1n-9、C20:5n-3 (EPA)、C22:6n-3 (DHA) であり、C16:0、C16:1n-7、C18:2n-6、EPAにおいて養殖場間で差が見られた。

トラフグ筋肉TLの脂肪酸組成をTable 2-1-3、2-1-4に示した。トラフグ筋肉TLの主要な構成脂肪酸は、DHA、C16:0、C18:1n-9、C18:0、EPAであり、なかでもDHAの組成比が最も高かった。天然魚、国産養殖魚、中国産養殖魚の脂肪酸組成を比較したところ、同定された15種類の脂肪酸のうち、C18:1n-7、EPAを除く13種類の脂肪酸において、3群間で有意差が認められた。中国産養殖魚のDHA組成比は $36.0 \pm 0.9\%$  (平均値 $\pm$ 標準偏差) で、天然魚 ( $29.5 \pm 2.4\%$ )、国産養殖魚 ( $25.8 \pm 2.4\%$ ) と比べ有意に高く、C20:4n-6は $1.9 \pm 0.2\%$ で天然魚 ( $4.9 \pm 0.9\%$ )、国産養殖魚 ( $3.1 \pm 0.5\%$ ) と比べ有意に低かった。また、国産養殖魚はC18:1n-9 ( $11.4 \pm 1.0\%$ )、C18:2n-6 ( $3.7 \pm 2.3\%$ )、総飽和酸 ( $38.7 \pm 2.7\%$ ) 及び総モノエン酸 ( $16.2 \pm 1.6\%$ ) が、天然魚 (C18:1n-9 :  $9.3 \pm 0.9\%$ , C18:2n-6 :  $0.7 \pm 0.2\%$ , 総飽和酸 :  $34.7 \pm 2.1\%$ , 総モノエン酸 :  $14.7 \pm 1.1\%$ ) 及び中国産養殖魚 (C18:1n-9 :  $10.0 \pm 0.5\%$ , C18:2n-6 :  $1.0 \pm 0.1\%$ , 総飽和酸 :  $35.5 \pm 1.2\%$ , 総モノエン酸 :  $14.0 \pm 0.6\%$ ) に比べ有意に高かった。

国産養殖魚の脂肪酸組成について養殖場間で比較したところ、筋肉中の脂質含量が高めであったC1、C2、C6では、C18:1n-9、総飽和酸及び総モノエン酸が低く、C18:2n-6、総ポリエン酸が高い傾向が見られるなど、養殖場間でトラフグ筋肉脂肪酸組成に差が見られた。トラフグ筋肉は脂質含量だけでなく脂肪酸組成も餌料の影響を受けにくいとされている[65]ことから、餌料と養殖魚の筋肉の脂肪酸組成の関係をFig. 2-1-1に示した。その結果、C18:2n-6、C22:5n-3など数種類の脂肪酸で、餌料と養殖魚の筋肉脂肪酸の間に正の相関関係が見られた。

今回同定した15種類の脂肪酸のうち13種類の脂肪酸において、3群間で有意差が見られたことから、110尾の脂肪酸組成の分析結果をもとに主成分分析を行った。第1主成分の寄与率は50.8%、第2主成分の寄与率は20.4%で、第1主成分と第2主成分の累積寄与率は71.2%であった。第1主成分をX軸に、第2主成分をY軸に取り、全試料の主成分得点をプロットしたところ、Fig. 2-1-2に示したように、3群はそれぞれ異なるグループを形成しており、3群の脂肪酸組成は明らかに異なることがわかった。

そこで次に、Table 2-1-3に示した110尾のトラフグ筋肉中の15種類の脂肪酸組成値を用いた線形判別分析により、天然魚と養殖魚の判別関数を構築した。

$$Y = 1.23[C14:0] - 1.39[C15:0] - 0.06[C16:0DMA] + 0.04[C16:0] - 0.03[C16:1] - 0.05[C18:0DMA] + 0.81[C18:0] - 0.15[C18:1n-9] + 0.81[C18:1n-7] - 0.52[C18:2n-6] + 0.90[C20:4n-6] + 0.04[C20:5n-3] + 0.42[C22:5n-6] + 1.52[C22:5n-3] + 0.27[C22:6n-3] - 23.90$$

上記判別関数に各脂肪酸組成値を代入して得られた数値を判別得点とし、判別得点が正の場合は天然魚、負の場合は養殖魚と判定した。この判別関数により、養殖魚は全て養殖魚と判別されたが、天然魚50尾中の1尾が養殖魚と誤判別されたことから、全体の判別率的中率は99.1%であった。また、得られた判別関数の有効性を確認するため10-fold cross validation（全体の1/10の試料のデータを除いて新たに判別関数を作成し、除いた試料について予測する操作を10回行い、全試料の結果を予測することで判別精度を得る）を行ったところ、判別精度は、天然魚の的中率98.0%、養殖魚の的中率100%となり、本節で構築した判別関数は有効であることが確認できた。

#### 2-1-4 考察

本節の結果、天然魚の脂質含量は季節や体長・体重による変動が見られなかった(0.78-1.01g/100g)。また、国産養殖魚では、餌料中の脂質含量は、最も多い養殖場と最も少ない養殖場の間に1.6倍の差が存在したが、各養殖場のトラフグ筋肉中の脂質含量は0.84-0.96g/100gとほとんど差が見られなかった。これは、トラフグは筋肉中に脂質を蓄積しにくい魚種であり、筋肉中の脂質含量は1g/100g前後で一定であるというこれまでの報告と一致していた。

トラフグ筋肉TLの脂肪酸組成は、C16:0とDHAが主要な構成脂肪酸であり、特にDHAは22-36%と最も高かった。これは、マグロ類の22-36%、[69,70]カツオの26-39%[71]に匹敵する値であり、トラフグはDHA組成比が高い魚種であると考えられた。また、トラフグ筋肉は脂質含量だけでなく脂肪酸組成も餌料の影響を受けにくいとされている[65]が、本節の結果、C18:2n-6、C22:5n-3など数種類の脂肪酸で、餌料と養殖魚の筋肉脂肪酸の間に正の相関関係が見られたことから、トラフグの筋肉脂肪酸も、アユ[60]、ヒラメ[61]、マダイ[57,62]と同じように、餌料の影響を受ける可能性が示唆された。

中国産養殖魚については、脂質含量は国産養殖魚、天然魚と差が見られなかったが、脂肪酸組成は、国産養殖魚よりも天然魚に近かった。中国産養殖魚と国産養殖魚の脂肪酸組成を比較すると、中国産養殖魚は国産養殖魚に比べC18:0、C18:1n-9、C18:2n-6が低く、DHAが高かった。中国におけるトラフグ養殖では、配合飼料はほとんど使用されておらず、冷凍イカナゴ主体の生餌による養成が行われている。森下ら[57]や森岡ら[62]は、生餌で養成した養殖マダイは、モイストペレットで養成したものに比べ、C18:0、C18:1n-9、C18:2n-6が低く、DHA、EPAが高いと報告しており、本結果においても同様の傾向が見られた。以上のことから、トラフグにおける国産養殖魚と中国産養殖魚の差は、モイストペレット養成魚と生餌養成魚の差であり、中国産養殖魚はその養成手法、特に餌環境の違いから、国産養殖魚よりも天然魚に近い脂肪酸組成であると考えられた。なお、中国産養殖魚のDHAが天然魚よりも高かったことは興味深い、その理由は不明

であり、今後より多くのサンプルを分析してその理由を明らかにしていく必要がある。

110 尾のトラフグ筋肉の脂肪酸組成の分析値を用いて行った線形判別分析により構築した判別関数の判別精度は、天然魚の的中率 98.0%、養殖魚の的中率 100%と非常に良好であった。なお、本節で分析した中国産養殖トラフグは1ロット10尾のみであること、養殖トラフグの脂肪酸組成が餌料の影響を受ける可能性が示唆されたことから、今後、検体数を増やし定期的に判別関数の有効性を確認するとともに、養殖事情、特に餌料状況の変化等により必要に応じて、判別関数の更新を行うことが望ましいと考える。

以上、本節の結果から、トラフグ筋肉中の脂質含量は季節変動や養殖環境の影響を受けないが、トラフグの筋肉脂肪酸は餌料を始めとする生息環境から何らかの影響を受けており、将来的に天然魚と養殖魚を判別する際の一つのツールになる可能性が示唆された。

なお、本節の成果は、Koizumi K, Hiratsuka S. *Fisheries Science*, 75(5): 1323-1328 (2009)として報告しており、当該誌の転載許可を得たうえでその内容を記載した。

## 第2節 ハダカイワシ科魚類の食用利用の可能性について

### 2-2-1 はじめに

平均水深4,000mの海洋において、光合成が行われているのは表層から150m程度に過ぎないが、有光層以深、特に水深1,500mまでの中深層における生物量、生物種類は多く、生物活動が活発に行われていることを示している。基礎生産が行われない中深層の生物生産は、有光層から輸送される生物起源の有機物に依存しているが、中深層の活発な生物活動を支えるには、表層からの物理的な沈降や流れに伴う輸送によるものだけでは圧倒的に足りないと考えられていた。一方、一般的な動物プランクトンに比べ大型で遊泳力を持つ中深層性魚類マイクロネクトンの多くの種が日周あるいは季節的鉛直移動を行うこと、また、その生物量が莫大であることなどから、これら中深層性魚類マイクロネクトンは、表層で生産された有機物を中深層へ輸送する生物ポンプの役割を果たしていると考えられるようになった。さらに、これら中深層性魚類マイクロネクトンの資源量は、全世界で10億トンレベルに達すると見積もられている[11]が、大規模な漁獲が行われていないことから、中深層魚類マイクロネクトンは、世界最大の未利用海洋生物資源として注目された。この中深層魚類マイクロネクトンの中で最も生物量が多いとされる生物群の一つがハダカイワシ科魚類であり、北極海を除く全世界の中層から深層(水深約200-1,500m)に30属約250種が生息するとされている[72]。

駿河湾では50種のハダカイワシ科魚類の生息が確認されている[3]が、静岡県内にハダカイワシ科魚類を対象とした漁業はなく、サクラエビ漁や駿河湾及び遠州灘を漁場とする小型機船底びき網漁業などで混獲されるハダカイワシ *Diaphus watasei* の一部が地元で消費されている以外、ほとんど利用されていない。そこで、静岡県水産技術研究所では、未利用水産資源であるハダカイワシ科魚類の有効利用に資するため、駿河湾内に生息するハダカイワシ科魚類の中で漁獲対象となり得る魚種の特定を行うことを目的に、アイザック・キッド中層トロール (IKMT) ネットや小型MOHT ネットを用いた曳網調査を行った。その結果、センハダカ *Diaphus suborbitalis* とイワハダカ *Benthosema pterotum* の2魚種は、サクラエビ漁場である比較的沿岸に近い海域での入網量が多く、漁獲対象になり得ると考えられた[13]。

一般的に海産魚の多くは、脂質中にDHAやEPA等の様々な種類のn-3系高度不飽和脂肪酸を豊富に含有していることが知られている。DHAやEPAを含む魚油の生理機能については、血栓防止作用[73]、抗腫瘍作用[74,75]、抗炎症作用[76,77]など、これまでに数多くの報告がなされている。また、マグロ類[78,79]やスルメイカ[80]などの高度回遊性魚類や表層性魚介類の脂肪酸に関しては数多くの研究報告があるが、深海性魚類の脂質組成や脂肪酸組成に関する研究事例は少ない。

駿河湾に生息するハダカイワシ科魚類については生態学的、生物学的研究は数多くなされている[81-84]ものの、食用利用を視野に入れた筋肉部の化学成分に関する知見は少ない。さらに、ハダカイワシ科魚類の中には人間の食糧として適さないワックスエステルを多量に含む種があることが知られているが、駿河湾及び遠州灘における詳細な分布

は明らかでない。

そこで、本節では、駿河湾に生息するハダカイワシ科魚類の中で漁獲対象種として食用利用の可能性を有するハダカイワシ、センハダカ、イワハダカについて、その脂質特性を明らかにすることにより、食品としての安全性について検証するとともに、健康機能成分である EPA、DHA 含量について調べた。

## 2-2-2 方法

### (1) 試料

試料の概要を Table 2-2-1 に示した。2011 年 10 月-2012 年 11 月に駿河湾及び遠州灘で採集したハダカイワシ *D. watasei*、センハダカ *D. suborbitalis*、イワハダカ *B. pterotum* を試料として用いた。ハダカイワシ科魚類の同定は「日本産魚類検索」[4]に従った。なお、2011 年 9 月に横浜南部市場で購入した三陸沖産カツオもあわせて試料とした。試料は魚体測定後、 $-40^{\circ}\text{C}$  で保管した。体長が 5cm 前後と小型なセンハダカ、イワハダカはラウンドでの利用が想定されることから全魚体を、体長 20cm 前後と比較的大型のハダカイワシは可食部を、カツオは普通肉を脂質分析に供した。

### (2) 脂質含量と脂質組成

ハダカイワシ科魚類 3 種については、第 2 章第 1 節と同様の方法により全脂質 (TL) を抽出し、脂質含量を測定するとともに、TL を中性脂質と極性脂質に分画した。中性脂質は薄層クロマトグラフィー (TLC) を用いて各脂質クラスに分画した。展開溶媒はヘキサン:エーテル:酢酸 (80:20:1 v/v/v) を用い、展開後、3%酢酸銅-8%リン酸試薬 (w/v) を噴霧した。 $130^{\circ}\text{C}$  で 20 分加熱発色させ、パブリックドメインの画像処理ソフト (Scion Image) を用いて各スポットの黒化度を測定した。

カツオについては、第 2 章第 1 節と同様の方法により抽出した TL を、ケイ酸カラムクロマトグラフィーを用いて各脂質クラスに分画した。ジクロロメタン:n-ヘキサン (2:3 v/v) による溶出区をワックスエステル、ジアシルグリセリルエーテル画分とした。これに続いて、ジクロロメタンを用いてトリアシルグリセロール (TAG) を溶出させた。以下、ジクロロメタン:エーテル (35:1) でステロールを、ジクロロメタン:エーテル (9:1) でジアシルグリセロールを、ジクロロメタン:メタノール (9:1) で遊離脂肪酸 (FFA) を、ジクロロメタン:メタノール (1:5) でフォスファチジルエタノールアミン (PE) を、ジクロロメタン:メタノール (1:20) でその他リン脂質を、ジクロロメタン:メタノール (1:50) でフォスファチジルコリン (PC) を溶出させた。各画分の脂質は、TLC を用いて標準物質の Rf 値との比較により定性的な同定を行った。

### (3) メチルエステル化と GC 分析

ハダカイワシ科魚類 3 種の TL は Hiratsuka *et al.*[67]に準じて、カツオの TAG、PE、PC は Saito *et al.*[80]の方法により、それぞれメチルエステル化した後、キャピラリーカラムを用いたガスクロマトグラフ (HP-6890、アジレント・テクノロジー株式会社) により脂肪酸を分析した。なお、分析条件は以下のとおりである。分析カラム; SUPELCO 社製 Omegawax-250 30m $\times$ 0.25mmi.d.、カラム温度;  $215^{\circ}\text{C}$ 、試料注入口温度;  $230^{\circ}\text{C}$ 、FID

検出器温度；240°C、注入モード；スプリット（スプリット比；76:1）、キャリアガス；ヘリウム0.7mL/min。成分の定量は、HP ChemStation System（A. 06 revision）を用いて行った。

### 2-2-3 結果

#### (1) 脂質含量と脂質組成

ハダカイワシ科魚類3種及びカツオの脂質含量と脂質組成を Table 2-2-2 に示した。ハダカイワシ科魚類3種の脂質含量は、ハダカイワシ 2.7-13.1g/100g、センハダカ 4.3-6.7g/100g、イワハダカ 3.6-9.2g/100g であり、高度回遊性魚類であるカツオ 2.0g/100g に比べいずれも高かった。脂質組成については、ハダカイワシ科魚類3種、カツオともに主成分は TAG で、TL に占める TAG の割合は、ハダカイワシ 39.0-82.4%、センハダカ 54.7-64.9%、イワハダカ 50.2-68.8%、カツオ 61.3%であった。その他の主要成分は、グリセロリン脂質（ハダカイワシ：12.3-29.7%、センハダカ：15.1-24.9%、イワハダカ：19.4-27.1%、カツオ：11.2%）で、いずれの魚種もグリセロール誘導体（TAG, ジアシルグリセロール, グリセロリン脂質）が TL の 70%以上を占めていた。また、全ての魚種のワックスエステル含有率は 0.0-4.2%と極めて低かった。

#### (2) 脂肪酸組成

ハダカイワシ科魚類3種及びカツオの脂肪酸組成を Table 2-2-3 に示した。全脂肪酸の約 3%以上を占める主要構成脂肪酸は、ハダカイワシ科魚類3種、カツオともに C14:0、C16:0、C18:0、C16:1n-7、C18:1n-9、C20:5n-3(EPA)、C:22:6n-3(DHA)の7種類であった。約 1%以上検出された脂肪酸は、ハダカイワシ科魚類3種は C18:1n-7、C20:1n-9、C22:1n-11、C24:1n-9、C20:4n-6、C22:5n-3 で、カツオは、C17:0、C18:1n-7、C18:2n-6、C20:4n-6、C22:5n-6、C22:5n-3 であった。モノエン酸についてみると、ハダカイワシ (39.1-53.6%)、センハダカ (35.1-40.5%) の総モノエン酸組成比は、イワハダカ (22.9-27.6%)、カツオ (22.9%) に比べ高かった。また、*Diaphus* 属（ハダカイワシ、センハダカ）は C20:1n-9 (1.9-3.8%)、C22:1n-11 (0.5-6.2%)、C24:1n-9 (0.5-1.5%) 等の長鎖モノエン酸組成比が高かった。ハダカイワシ科魚類3種の DHA 組成比 (6.9-18.5%) はカツオ (28.8%) に比べ低かった。

#### (3) 高度不飽和脂肪酸

全脂肪酸に占める高度不飽和脂肪酸の割合と脂質含量を掛け合わせて、筋肉 100g 中の高度不飽和脂肪酸量 (mg) を算出した (Table 2-2-3)。ハダカイワシ科魚類3種の EPA 含有量 (112.9-1,041.5mg/100g 筋肉) は、カツオ (101.5 mg/100g 筋肉) より高かった。同様に、脂質含量が低かったハダカイワシの2試料とセンハダカ1試料を除くハダカイワシ科魚類3種の DHA 含有量 (375.7-1,387.6 mg/100g 筋肉) は、カツオ (630.4 mg/100g 筋肉) より高かった。

### 2-2-4 考察

ハダカイワシ科魚類の脂質特性に関する報告はいくつかなされており、Saito *et al.*[85] は、三陸沖で採集したハダカイワシ科魚類 13 種の脂質含量は 4.4-26.1%で、平均 14.0%

であったと報告している。また、Seo *et al.*[86]は、北緯 40-41 度の亜寒帯域に生息する 20 種のハダカイワシ科魚類の脂質含量は、6.7-21.7%であったと報告している。本節で分析した駿河湾及び遠州灘のハダカイワシ科魚類 3 種（ハダカイワシ、センハダカ、イワハダカ）の脂質含量の範囲は、これまでに報告されているハダカイワシ科魚類のそれとほぼ一致していた。さらに、ハダカイワシ科魚類 3 種の脂質含量は、カツオ（2.0%）や他の高度回遊性魚類[78,79,87]に比べ高かった。これらの結果から、ハダカイワシ科魚類 3 種は、高度回遊性魚類と異なり、筋肉に脂質を蓄積しているものと考えられた。

Watanabe *et al.* [88]は、三陸沖に生息するハダカイワシ科魚類は、典型的な日周鉛直移動を行うタイプ、夜間の分布が表層と中層に分かれるタイプ、夜間の分布の上限が昼間の分布の上限よりも浅くなるタイプ、日周鉛直移動を行わないタイプの大きく 4 つのタイプに分けられると報告している。また、川口[81]は、駿河湾に出現するハダカイワシ科魚類 37 種を、日周鉛直移動の観点から海面上昇群、中層上昇群、非上昇群の 3 つに大別したところ、本節で分析したハダカイワシ科魚類 3 種はいずれも中層上昇群に属すると述べている。これまでカイアシ類など日周鉛直移動を行う海洋生物は、TAG ではなくワックスエステルを体内に蓄積する[89]とされており、ハダカイワシ科魚類においてもワックスエステルを多量に蓄積する種が存在することが知られている。一方、Seo *et al.*[86]は、北太平洋産ハダカイワシ科魚類では、ワックスエステルを蓄積する種は日周鉛直移動を行わないグループに限られており、日周鉛直移動を行う種は、ワックスエステルを蓄積しないと報告している。これについて藤本ら[90]は、ハダカイワシから調製した脂質を用いて、ハダカイワシの生息環境に相当する 0-20℃の温度変化に伴う脂質の物性変化を調べたところ、ワックスエステルでは 0℃付近で固相から液相への相転換が確認されたが、TAG ではそのような現象は確認されなかったと述べている。カイアシ類は、脂質をオイルサックと呼ばれる器官に油滴として蓄積しているが、前述のとおりハダカイワシ科魚類は筋肉中に脂質を蓄積していると考えられることから、ハダカイワシ科魚類においては、鉛直移動に伴う温度変化により、筋肉に蓄積した脂質に相転換が起これば重大な機能障害が起これる恐れがあるため、鉛直移動を行う種ではワックスエステルではなく、TAG として筋肉に蓄積していると考えられる。本節の結果、ハダカイワシ、センハダカ、イワハダカの脂質組成の主成分は TAG であり、ワックスエステルは痕跡程度しか含まれておらず、藤本らの知見と一致するとともに、ワックスエステルは深海生物にとって必須ではないという Neighbors[91]の報告を支持していた。これに対し、深海生物の中にはワックスエステルを大量に含み、摂取すると脂漏や下痢を引き起こすことから、厚生労働省の通知により販売が禁止されているバラムツ *Ruvettus pretiosus* やアブラソコムツ *Lepidocybium flavobrunneum* のような種が存在する。バラムツ及びアブラソコムツの総脂質に占めるワックスエステルの割合は、それぞれ 89.4%、89.3%と報告されている[92]。本節で分析したハダカイワシ科魚類 3 種のワックスエステル含有率は 0.0-4.2%と上記 2 種に比べ極めて低かったことから、食用素材として利用可能であることが確認された。

ハダカイワシとセンハダカの脂肪酸組成はモノエン酸の組成比が高く、中でも

C20:1n-9、C22:1n-11、C24:1n-9等の長鎖モノエン酸組成比が特異的に高かった。イワハダカは、総モノエン酸組成比は低かったが、長鎖モノエン酸は、C20:1n-9が0.8-1.3%、C22:1n-11が0.9-1.5%、C24:1n-9が0.8-1.1%と、いずれも1%前後検出された。一方、カツオは、モノエン酸組成比の合計値、長鎖モノエン酸組成比ともに低かった。ハダカイワシ科魚類の長鎖モノエン酸組成比が高いとの本節の結果は、深海魚の長鎖モノエン酸組成比が高いとのこれまでの報告[85,93]とよく一致していた。本節で分析したハダカイワシ科魚類3種とカツオのn-3系高度不飽和脂肪酸を比較すると、EPA組成比はいずれも同程度であったが、ハダカイワシ科魚類3種のDHA組成比はカツオに比べ著しく低かった。これは、高度回遊性魚類とその他の魚類、特に深海性魚類との違いによるものと考えられる。すなわち、カツオをはじめとする高度回遊性魚類は、広範囲を高速で移動する際のエネルギー源としてモノエン酸を消費するとともに、必須構造脂肪酸であるDHAを筋肉脂質として蓄積するのに対し、ハダカイワシ科魚類は、モノエン酸を貯蔵脂質として筋肉に蓄積し、他の深海魚と同じように鉛直移動時のエネルギー源として利用していると考えられた。

n-3系高度不飽和脂肪酸を豊富に含む水産物を摂取することは健康上有益であるとされ、これまでの研究の結果、特にEPAとDHAは、血栓防止作用[73]、抗腫瘍作用[74,75]、抗炎症作用[76,77]等の生理作用を有する健康機能性成分であることが知られている。魚類を食用利用するに当たっては、実際に筋肉中に含まれる高度不飽和脂肪酸含有量が重要であるが、マグロ類やカツオといった高度回遊性魚類は、脂質中のn-3系高度不飽和脂肪酸の組成比は高いものの脂質含量が少ないため、実際に筋肉中に含まれる高度不飽和脂肪酸含有量はそれほど高くない。本節で分析したハダカイワシ科魚類3種のEPA含有量はカツオより高く、DHA含有量は一部の試料を除きカツオより高かった。

以上の結果から、駿河湾内において漁獲対象種となり得ると考えられたセンハダカ、イワハダカ及びハダカイワシのワックスエステル含有率は極めて低く、食用利用に問題ないレベルであることが確認できた。また、EPA及びDHA含有量は概ねカツオより高かったことから、これらのハダカイワシ科魚類は高度不飽和脂肪酸の供給源としても有望であることが明らかになった。

## 要約

トラフグは、身欠きや刺身に加工された状態で流通することが多く、流通段階で天然魚と養殖魚を判別することは非常に困難であることから、科学的根拠に基づく判別技術が求められている。一方、駿河湾にはハダカイワシ科魚類が多数生息することが確認されているが、ほとんど利用されておらず未利用資源となっている。そこで、脂質成分に着目し、第1節では、トラフグ筋肉の脂質特性を明らかにするとともに、養殖餌料と養殖トラフグ筋肉の脂質成分の関係について検討した。さらに、トラフグ筋肉の脂肪酸組成を用いた天然魚と養殖魚の判別の可能性について検討した。第2節では、ハダカイワシ科魚類の脂質特性を明らかにすることにより、食品としての安全性について検証した。

トラフグについては、天然魚50尾、国産養殖魚50尾、中国産養殖魚10尾、及び国産

養殖魚の餌料の脂質成分分析を行った結果、トラフグの筋肉脂肪酸組成が餌料の影響を受ける可能性が示唆された。さらに、筋肉の脂肪酸組成値を用いた線形判別分析により、天然魚と養殖魚の判別関数を構築した。この判別関数の判別率的中率は 99.1%、判別制度は、天然魚の的中率 98.0%、養殖魚の的中率 100%であった。

ハダカイワシ科魚類については、曳網調査等の結果より駿河湾において漁獲対象種になりうると判断されたハダカイワシ、センハダカ、イワハダカの脂質組成、脂肪酸組成の分析を行った。その結果、多量に摂取すると健康被害を引き起こすワックスエステル含有率は極めて低く、食用利用に問題ないレベルであることが確認できた。さらに、健康機能性成分である EPA、DHA 含量が高く、n-3 系高度不飽和脂肪酸の供給源として有望であることが明らかになった。

## 第3章 臭気成分を指標とする未利用資源の有効利用による高付加価値化

### 第1節 カツオ血合肉の貯蔵中における臭気成分の変化

#### 3-1-1 はじめに

カツオの血合肉は可食部筋肉中の 13-16%を占めており、その量はクロダイ(4%)、マガレイ(5%)などの白身魚に比べ極めて多い[16, 94]。また、血合肉はタウリン、EPA、DHA、ミネラルなど健康増進成分を豊富に含有する優れた食料資源である[16-18]にもかかわらず、刺身やたたき用の冷凍ロインあるいは缶詰の製造時には取り除かれ、その大部分は飼肥料原料となっている。その原因として、鮮度低下に伴う品質劣化速度が速いことが挙げられるが、中でも臭気成分の急速な増大が食用利用に当たって大きな問題となっている。血合肉の化学成分に関しては多くの研究がなされており、品質劣化が速い原因は、普通肉に比べ脂質含量が多いこと[18]、ミオグロビンなどの色素タンパク質を多く含むこと[95]、各種酵素活性が高いこと[96]などであるとされている。一方、血合肉の臭気成分に関しては、普通肉に比べ、トリメチルアミンが多いとの報告[97,98]はあるが、臭気成分全般に係る研究としては、マサバ血合肉をコールドトラップ GC-FID 法で分析した徳永ら[99]の報告のみで、研究例は少ない。

そこで、本節では、カツオの加工工程において大量に排出されるにもかかわらず、現状ではその大部分が飼肥料原料となっている血合肉を、食品素材として有効利用するための基礎的知見を得るため、カツオ血合肉の臭気成分の特徴を明らかにすることを目的とした。

#### 3-1-2 方法

##### 1. 貯蔵試験

###### (1) 試料及び貯蔵方法

2010年8-10月に静岡県焼津市内の冷凍ロイン製造業者より冷凍PS（まき網ブライン一級品）カツオ *K. pelamis* をスキンレスロインの状態です4ロット入手し、1ロットにつき雄節4本、雌節4本の計8本を試料とした。試験に供した節の重量は雄節  $537.1 \pm 17.2\text{g}$ 、雌節  $408.8 \pm 25.3\text{g}$ （平均値±標準偏差）であった。半解凍状態にした各節から血合肉と普通肉を速やかに採取し、ロットごとに混合して包丁で裁断し、ホモジネートとした後ビニール袋に密封し5°C、25°Cで8時間貯蔵したものを、それぞれ5°C貯蔵区、25°C貯蔵区とした。

###### (2) 脂質分析

第2章第1節と同様の方法により脂質含量を測定するとともに、第2章第2節と同様の方法により全脂質を脂質クラスに分画し、各スポットの黒化度を測定した。トリアシルグリセロール (TAG) に対する遊離脂肪酸 (FFA) の比率を脂質分解率とした。

###### (3) pH、K 値及び揮発性塩基窒素 (VBN)

pHは魚肉2gに10倍量の蒸留水を加えてホモジナイズした後に、HORIBA社製のpHメーター (F-52) にて測定した。K値は、10%TCA溶液で魚肉から核酸関連物質を抽出し、抽出液をセントラル科学株式会社製の鮮度計KV-202にて分析した。VBNはコンウェイの微量拡散法[100]により測定した。

#### (4) 臭気成分の捕集

サンプル 0.2-0.3g をスクリーキャップ付き 20mL バイアル瓶に採取し、超純水 1mL と内部標準液 (5ppm シクロヘキサノール) 40  $\mu$ L を加えて攪拌後、40°C で 10 分間加温した。次に、DVB/CAR/PDMS を吸着剤とした SPME ファイバー (スペルコ社製) によりヘッドスペース中の臭気成分を 10 分間捕集した。

#### (5) GC/MS 分析

捕集した臭気成分は、ガスクロマトグラフ質量分析計 (GC/MS) により分離・定量した。分析結果は、魚肉 1g 当たりにおける各成分の総イオン数の内部標準物質 (IS) に対する相対強度で表した。GC/MS の分析条件は以下のとおりとした。ガスクロマトグラフ ; VARIAN 社製 450-GC、質量分析計 ; VARIAN 社製 220-MS、分析カラム ; Agilent J&W 社製 DB-WAX 60m $\times$ 0.25mm i.d. $\times$ 0.25  $\mu$ m、カラム温度 ; 初期温度 : 40°C、昇温速度 : 4°C/min、最終温度 : 200°C、キャリアガス ; He 1.0mL/min、注入口温度 ; 250°C、イオン化電圧 ; 70eV (EI)、イオン源温度 ; 150°C。ガスクロマトグラフで分離された成分の同定は、標準物質の保持時間、質量スペクトルとの比較及びライブラリーリサーチシステム (NIST Mass Spectra Data Base 2005 年版) を用いた検索により行った。

## 2. 脱脂魚肉タンパク質と魚油を用いた反応試験及び魚油の貯蔵試験

### (1) 反応試験用試料

脱脂魚肉タンパク質の調製は Hiratsuka *et al.* [100] に準じて行った。すなわち、魚肉 5g に 5 倍量のアセトンを加えて 4°C で 20 分間スターラーを用いて攪拌した。次に 4°C、6,000 $\times$ g の条件で遠心分離を 10 分間行い、沈殿物を回収した。この操作を 3 回繰り返す、さらに溶媒をジエチルエーテルに換えてもう 1 度行った。回収した沈殿物を 4°C の冷蔵庫内で一晩乾燥させたものを脱脂魚肉タンパク質とした。魚油は焼津市内の魚油製造会社より入手した、カツオ頭部からの粗抽出油をヘキサンの精製したものを使用した。

### (2) 緩衝液中での反応試験

反応試験は Hiratsuka *et al.* [100] の酵素反応条件を改変して行った。すなわち、スクリーキャップ付き 20mL バイアル瓶に 0.5M Tris-HCl Buffer (pH6.0) 1mL、0.22M CaCl<sub>2</sub> 0.2mL、50mM デオキシコール酸 Na 0.2mL、脱脂魚肉タンパク質 30mg、魚油 10mg を加えて 25°C で 4 時間反応を行った。試験区として、魚油区、脱脂血合肉タンパク質区、脱脂普通肉タンパク質区、魚油と脱脂血合肉タンパク質混合区、魚油と脱脂普通肉タンパク質混合区の 5 区を設けた。反応開始時と終了時に臭気成分を分析し、反応終了時の臭気分量について反応開始時に対する比率を求めた。

### (3) 魚油の貯蔵試験

(1) において調製した精製魚油を 30°C で 2 日間貯蔵し、過酸化価 [101] と臭気成分を分析した。なお、反応試験及び貯蔵試験は、それぞれ 4 検体ずつ分析を行った。

## 3. 統計処理

平均値の差の検定は、一元配置分散分析 (ANOVA) を行い、有意差が検出された場

合には、Tukey 法により多重比較を行った。

### 3-1-3 結果

#### 1. 貯蔵試験

##### (1) 脂質成分

カツオ魚肉を8時間貯蔵したときの脂質含量及び脂質分解率(FFA/TAG)をTable 3-1-1に示した。貯蔵開始時(0h)におけるカツオ魚肉の脂質含量は、普通肉の2.85g/100gに対して血合肉では5.06g/100gと血合肉は普通肉の1.8倍であった。8時間貯蔵後には血合肉、普通肉いずれの脂質含量も減少する傾向が見られた。脂質分解率は貯蔵開始時において普通肉の0.03に対して血合肉では0.11と高く、8時間貯蔵後には両者ともに大きく上昇した。そして、それは5°C貯蔵区(血合肉:0.29, 普通肉:0.19)に比べ25°C貯蔵区(血合肉:0.52, 普通肉:0.27)で顕著であった。

##### (2) pH、K 値、VBN

カツオ魚肉を8時間貯蔵したときのpH、K 値及びVBNをTable 3-1-2に示した。貯蔵開始時におけるpHは血合肉、普通肉いずれも6以下と低く、8時間貯蔵後も大きな変動は見られなかった。貯蔵開始時における普通肉のK 値は1.7%であり、鮮度は極めて良好であった。一方、血合肉の貯蔵開始時のK 値は24.8%と高い値を示した。8時間貯蔵後のK 値は血合肉(5°C貯蔵区:57.6%, 25°C貯蔵区:85.2%)、普通肉(5°C貯蔵区:11.9%, 25°C貯蔵区:47.1%)いずれも5°C貯蔵区に比べ25°C貯蔵区で大きく上昇していた。貯蔵開始時のVBNは血合肉、普通肉のいずれも13mg/100gで両者に差は見られなかった。8時間貯蔵後のVBNは僅かな上昇傾向が見られ、それは普通肉(5°C貯蔵区:13.6mg/100g, 25°C貯蔵区:15.9mg/100g)よりも血合肉(5°C貯蔵区:16.1mg/100g, 25°C貯蔵区:18.7mg/100g)で、5°C貯蔵区より25°C貯蔵区でやや大きかった。

##### (3) カツオ魚肉の臭気成分

カツオ魚肉の貯蔵開始時における臭気成分のGC/MS分析結果をTable 3-1-3に示した。カツオ魚肉の臭気成分としてアルデヒド3種類、アルコール5種類、炭化水素3種類、ケトン1種類の計12種類を同定した。血合肉の主要な臭気成分はヘキサナール、1-オクテン-3-オール、ペンタデカンであり、普通肉のそれはペンタデカンとヘキサナールであった。血合肉と普通肉の臭気成分の含量を比較すると、いずれの臭気成分も普通肉よりも血合肉で高く、特にヘキサナールで顕著であった。

##### (4) 貯蔵中の臭気成分の変化

カツオ魚肉の主要な臭気成分量の貯蔵中の上昇率(貯蔵開始時を1とした時の比率)をFig. 3-1-1に示した。アルデヒド3種類(ヘキサナール、ヘプタナール、オクタナール)はいずれも普通肉より血合肉で、また、5°C貯蔵区より25°C貯蔵区で上昇率が高かった。アルコール3種類(1-ペンテン-3-オール、2-ペンテン-1-オール、1-オクテン-3-オール)とケトン(2,3-ペンタンジオン)は貯蔵中に上昇が見られたが、アルデヒドのように魚肉の種類や貯蔵温度による明確な差は見られなかった。炭化水素2種類(ペンタデカン、ヘプタデカン)は血合肉、普通肉いずれも貯蔵中に変化が見られなかった。

## 2. 脱脂魚肉タンパク質と魚油を用いた反応試験及び魚油の貯蔵試験

### (1) 緩衝液中での反応試験における臭気成分の生成

カツオ血合肉において貯蔵中にヘキサナールの上昇率が高かった理由を推察するため、カツオの血合肉及び普通肉の脱脂魚肉タンパク質と魚油を緩衝液中で反応（25℃、4時間）させる試験を試みた。Fig. 3-1-2に反応後に生成したヘキサナール量を反応開始時に対する比率で示した。魚油区（1.2）、脱脂血合肉タンパク質区（0.9）、脱脂普通肉タンパク質区（1.1）、魚油と脱脂普通肉タンパク質混合区（1.0）では反応後にヘキサナールの上昇は見られなかったが、魚油と脱脂血合肉タンパク質混合区（1.7）では他の試験区に比べ、ヘキサナールの上昇率が有意に高かった。

### (2) 魚油の貯蔵試験

魚油を30℃で2日間貯蔵した時の過酸化価とヘキサナール量の変化をTable 3-1-4に示した。魚油の過酸化価は、貯蔵開始時23.5meq/kg、1日貯蔵後90.7meq/kg、2日貯蔵後162.1meq/kgと貯蔵中に著しく上昇したが、ヘキサナール量（2.45-2.67）はほとんど変化しなかった。

## 3-1-4 考察

赤身魚の利用において臭気成分の抑制は重要な課題であり、これまでにマイワシ、マサバなどの臭気成分に関する報告がなされている。吉和ら[102]はパージ・トラップ法でマイワシ普通肉の臭気成分を分析し、1-ペンテン-3-オールとプロパナールが量的に多く検出され、特に1-ペンテン-3-オールが鮮度低下とともに著しく増加すると報告している。また、Ganeko *et al.* [103]はSPME法でマイワシ普通肉を、徳永ら[99]はコールドトラップ法でマサバの普通肉と血合肉の臭気成分を分析しており、両魚種とも臭気成分の主体はアルデヒドやアルコールなどの脂質分解物であり、生臭みに関与するとされているトリメチルアミンは、一般的な赤身魚のpHである6.7以下ではほとんど検出されないと報告している。本節の結果では、カツオの血合肉、普通肉いずれも貯蔵中のVBNの上昇は僅かであったことから、貯蔵中におけるアミン類の生成は少なかったと考えられた。また、貯蔵中に魚肉の脂質分解率が大きく上昇したことから、貯蔵中にリパーゼ及びホスホリパーゼの作用を受けて魚肉の脂質分解が進んだと推察された。そして、それは特に血合肉で顕著であったことから、血合肉は普通肉に比べ脂質分解酵素活性が強いものと考えられた。さらに、魚肉の貯蔵中に、臭気成分のうちアルデヒド類とアルコール類の上昇が見られたことから、カツオ魚肉の臭気成分もマイワシ、マサバなどの赤身魚と同様に脂質分解物が関与しているものと考えられた。なお、カツオ魚肉の場合にはマイワシとは異なり貯蔵中の臭気成分の上昇は1-ペンテン-3-オールよりヘキサナールで大きく、それは特に血合肉で顕著であることが特徴であった。

次に本節では、カツオ血合肉において貯蔵中にヘキサナールが上昇する理由を推察するため、魚油と脱脂魚肉タンパク質を反応させる試験を行った。その結果、魚油のみを25℃の緩衝液中で4時間反応させてもヘキサナールは生成されなかったが、魚油と脱脂

血合肉タンパク質混合区ではヘキサナールの生成が認められた。また、別の実験として魚油のみを単独で30℃で2日間貯蔵したところ、貯蔵中に過酸化物質は急激に上昇したが、ヘキサナールはほとんど生成しなかった。これらの結果から、カツオ血合肉において貯蔵中にヘキサナールが増加する要因として、タンパク質中の何らかの成分の関与により、共存する脂質が酸化分解することが考えられた。また、魚油単独では脂質酸化が進んでもヘキサナールの生成が見られなかったことから、pHの関与すなわちpH6付近での条件がヘキサナールの生成に関与している可能性も考えられた。

タンパク質が関与する脂質の酸化分解としては、ヘム鉄及び非ヘム鉄が脂質の自動酸化を促進することが知られている[104]。カツオやマグロの筋肉中にはヘモグロビンやミオグロビンが多く存在し、それは特に血合肉で著しい[105]。本反応試験で用いた脱脂魚肉タンパク質もヘム鉄及び非ヘム鉄を含有していることから、カツオ血合肉でヘキサナールが生成する要因として、脂質の酸化分解に対して魚肉中の鉄が関与している可能性が考えられた。

一方、酵素が関与する脂質の酸化分解としては、大豆に含まれるn-6系脂肪酸の一種であるリノール酸からのヘキサナールの生成が知られている[106]。すなわち、リノール酸がリポキシゲナーゼの過酸化作用を受けてリノール酸13S-ヒドロキシペルオキシドリアーゼにより開裂してヘキサナールが生成する反応である。これに対し、n-3系脂肪酸からの臭気成分の生成については、 $\alpha$ -リノレン酸を基質としてマッシュルーム由来のタンパク質がアルコールの1種である1-オクテン-3-オールを生成する反応が報告されている[107]が、ヘキサナールの生成にn-3系脂肪酸に対する酵素が関与しているという報告はほとんどない。しかしながら、カツオの血合肉では脂質分解が速いこと、Mohri *et al.*[108,109]はマイワシの皮にリポキシゲナーゼが存在することを見出していることから、カツオ血合肉の臭気成分の生成にも酵素的反応が関与している可能性が考えられる。

以上のように、カツオ魚肉では貯蔵中に臭気成分のうちアルデヒド類やアルコール類の上昇が確認され、特に血合肉におけるヘキサナールの上昇が顕著であった。その要因として、カツオ血合肉に多く含まれているヘム鉄による、あるいはリポキシゲナーゼ等の酵素による脂質の酸化分解に関与している可能性が考えられた。今後、非酵素的及び酵素的の両面からヘキサナールの生成機序を明らかにし、その抑制を図ることがカツオ血合肉の有効利用促進に繋がるものと考えられた。

なお、本節の成果は、平塚聖一、青島秀治、小泉鏡子、加藤登. 日本水産学会誌, 77(6): 1089-1094 (2011)として報告しており、当該誌の転載許可を得たうえでその内容を記載した。

## 第2節 脱血処理がカツオの臭気成分に及ぼす影響

### 3-2-1 はじめに

前節において、カツオ血合肉の臭気成分について GC/MS により分析した結果、カツオ血合肉では貯蔵中に臭気成分のうちアルデヒド類とアルコール類が上昇し、特にヘキサナールの上昇が顕著であることが明らかになった。さらに、カツオ血合肉の貯蔵中にヘキサナールが上昇する要因として、血合肉に多く含まれるヘム鉄、あるいは、リポキシゲナーゼ等の酵素による脂質の酸化分解が関与している可能性が示唆された。

近年、漁獲物の高品質化に向けた様々な取り組みが全国各地で行われている中で、脱血処理が魚肉の品質を向上させるとの報告がなされている。安藤[110]は、脱血によりブリ、マアジ、シマアジでは筋肉の軟化が遅れると報告しているほか、望月ら[111]は、脱血によりマアジの死後硬直を遅延できると報告している。また、辻ら[112]は原料として用いるサケの脱血処理の有無と、それらの加工品の品質との関係を調べた結果、脱血サケから製造されたトバとフレークは、脱血していないサケから製造されたものに比べ、トリメチルアミン量が低いこと、脱血サケから製造されたスジコの過酸化脂質量は、脱血していないサケから製造されたものより低かったことを報告しており、原料魚の脱血処理はそれを用いた加工品の品質にも影響を与えるものと推察される。さらに、カツオの脱血処理については、寺山ら[113]による生鮮カツオにおける研究例があり、脱血したカツオは肉色が明るく鮮やかであること、官能評価では臭みがなく、消費地市場での評価が高かったことなどが報告されている。

そこで、本節ではまず、カツオ血合肉における臭気成分の生成に対する血液の関与について検証するため、カツオから抽出した血液と脂質を用いた反応試験を行った。次に、カツオの脱血処理が魚肉の臭いに与える影響を明らかにするため、実際に漁獲時に船上で脱血してから凍結したカツオと脱血せずに直ちに凍結したカツオの臭気成分を測定し、両者を比較することにより、脱血処理がカツオの臭気成分に及ぼす影響について検証した。

### 3-2-2 方法

#### 1. カツオから抽出した血液と脂質を用いた反応試験

##### (1) 反応試験用試料

静岡県御前崎市場に水揚げされた生鮮カツオ *K. pelamis* を入手し、心臓から採取した血液及び普通肉からヘキサンをを用いて抽出した脂質を反応試験に供した。

##### (2) 緩衝液中での反応試験

スクリーキャップ付き 20mL バイアル瓶に 0.5M Tris-HCl Buffer (pH6.0) 1mL、カツオの血液 (0-100  $\mu$ L) 及び脂質 (0-100mg) を入れて混合し、それらを 5°C で 2 日間貯蔵した。なお、本試験で使用した緩衝液の pH はカツオ肉の pH に近い 6.0 とした。生じたヘッドスペースガスを SPME ファイバーで捕集し、GC/MS により臭気成分の分析を行った。GC/MS の分析条件は第 3 章第 1 節と同条件とし、分析結果は各成分の総イオン数の内部標準物質 (IS) に対する相対強度で表した。

## 2. 脱血カツオと非脱血カツオの臭気成分

### (1) 試料

試料として2010年9月に北緯41度27分、東経163度50分の海域（東沖漁場）で漁獲されたカツオを用いた。この漁獲物のうち、脱血処理を施してからブライン凍結したカツオ（脱血群）と漁獲後直ちにブライン凍結したカツオ（コントロール群）各々5尾を分析用試料とした。これらは実験に供するまで $-60^{\circ}\text{C}$ で保管し、分析前日17時から分析当日9時まで、 $5^{\circ}\text{C}$ の冷蔵庫内で自然解凍した後に分析に供した。

### (2) 脱血方法

船上において漁獲後直ちに、前川製作所製の脱血機により鰓を切断後、 $15^{\circ}\text{C}$ の水槽内で10分間遊泳させた。

### (3) 脂質分析

近赤外線分光測定器（FQA-NIRGUN、シブヤ精機株式会社）により、あらかじめ作成した検量線を用いて脂肪量を測定した。測定部位は冷凍カツオの中央側線部とした。

### (4) 心臓中の残存血液量

羽田[114]に準じて測定した。すなわち、半解凍のカツオから取り出した心臓をナイフで切開し、生理食塩水を満たした容量300mLのビーカーの中で軽く攪拌しながら血液を洗い流した。次に、ステンレス製の籠に乗せて30秒間水切りした。洗浄前後の重量差を心臓残留血液量とみなし、洗浄前の心臓重量に対する心臓残留血液量の割合を算出した。

### (5) 臭気成分の捕集及びGC/MS分析

カツオ普通肉のホモジネート0.5gを用いて、第3章第1節と同様の方法により分析を行った。分析結果は、魚肉1g当たりにおける各成分の総イオン数の内部標準物質(IS)に対する相対強度で表した。

## 3. 統計処理

平均値の差は、2群間比較ではStudentの $t$ 検定により、また、多群間比較では一元配置分散分析(ANOVA)を行い、有意差が検出された場合には、Tukey法により多重比較を行った。

### 3-2-3 結果

#### 1. 反応試験における臭気成分の生成

カツオ普通肉より抽出した脂質100mgとカツオ心臓より採取した血液 $100\mu\text{L}$ とを緩衝液中で混合し、それらを $5^{\circ}\text{C}$ で2日間貯蔵した時の、アルデヒド、アルコール、炭化水素、ケトンの生成量をFig. 3-2-1に示した。緩衝液と血液のみを混合した場合には、2日間の貯蔵中の臭気成分の生成量は、アルデヒド0.2-0.6、アルコール0.2-0.3、炭化水素0-0.1、ケトン0-0.1と低かった。同様に、緩衝液と脂質のみを混合した場合にも、2日間の貯蔵中の臭気成分の生成量は、アルデヒド0.5-0.6、アルコール0.2-0.3、炭化水素0.1-0.1、ケトン0-0.1と低かった。一方、緩衝液中で血液と脂質を混合させた場合には、混合直後(0日)からアルデヒド(2.6)とアルコール(1.3)の生成が顕著であった。

また、それらの生成量は、アルデヒドは1日貯蔵後7.9、2日貯蔵後10.4、アルコールは1日貯蔵後4.2、2日貯蔵後7.1と、貯蔵日数が長くなるほど有意に高く、アルコールよりアルデヒドで有意に高かった。緩衝液中で脂質100mgに対して血液0-100 $\mu$ Lを混合し直ちにGC/MS分析した時のアルデヒドとアルコールの生成量をFig. 3-2-2に示した。アルデヒドとアルコールの生成量は、脂質に添加する血液に対して濃度依存的に増加する傾向が見られた。すなわち、アルデヒドの生成量は、血液0 $\mu$ L(0.59)に比べ血液10 $\mu$ L(1.14)と血液25 $\mu$ L(1.47)で有意に高く、血液50-100 $\mu$ L(1.89-2.22)でさらに有意に高かった。アルコールの生成量は、血液0 $\mu$ L(0.35)と血液10 $\mu$ L(0.63)に比べ血液25-100 $\mu$ L(1.01-1.35)で有意に高かった。次に、緩衝液中で血液100 $\mu$ Lに対して脂質0-100mgを混合し直ちにGC/MS分析した時のアルデヒドとアルコールの生成量をFig. 3-2-3に示した。アルデヒドとアルコールの生成量は、脂質添加量0mg(アルデヒド:0.08, アルコール:0.11)に比べ脂質25-100mg(アルデヒド:2.03-2.46, アルコール:0.83-1.35)で有意に高いが、脂質25-100mgの間では有意差は見られなかった。

## 2. 脱血カツオと非脱血カツオの臭気成分

### (1) 脂肪量及び心臓中の残存血液量

Table3-2-1に試験魚の概要を示した。本試験に用いたカツオは体長、体重、脂肪量において脱血群とコントロール群の間に有意差は見られなかった。羽田[114]の報告により、カツオの心臓中に残存している血液量が脱血の指標になることが確認されている。本試験の結果では、心臓中に残存していた血液量は、コントロール群(14.5%)に比べ脱血群(7.9%)で有意に少なかったことから、本試験で行った脱血方法により、通常の凍結カツオより残存血液量が少ないカツオを製造できることが確認された。

### (2) カツオ魚肉の臭気成分

解凍直後におけるカツオ普通肉の臭気成分のうち同定できた成分をTable 3-2-2に示した。カツオ魚肉の臭気成分としてアルデヒド5種類、アルコール6種類、炭化水素3種類、ケトン1種類の計15種類を同定した。このうち、ヘキサナール(脱血群:0.32, コントロール群:0.70)、ヘプタナール(脱血群:0.08, コントロール群:0.20)、オクタナール(脱血群:0.08, コントロール群:0.14)、1-ペンテン-3-オール(脱血群:0.12, コントロール群:0.17)、2-ペンテン-1-オール(脱血群:0.08, コントロール群:0.13)、1-オクテン-3-オール(脱血群:0.08, コントロール群:0.12)は、コントロール群に比べ脱血群で有意に低かった。Table 3-2-3に解凍直後(0h)と、解凍後25 $^{\circ}$ Cで4時間貯蔵後(4h, 25 $^{\circ}$ C)における脱血群とコントロール群のアルデヒド量、アルコール量、炭化水素量及びケトン量を示した。カツオ魚肉を解凍後25 $^{\circ}$ Cで4時間貯蔵した時のアルデヒド量(脱血群:1.00, コントロール群:1.62)とアルコール量(脱血群:0.60, コントロール群:0.82)は、解凍直後のアルデヒド量(脱血群:0.51, コントロール群:1.07)とアルコール量(脱血群:0.35, コントロール群:0.47)に比べ有意に高かった。また、解凍直後、解凍後25 $^{\circ}$ Cで4時間貯蔵のどちらにおいても、アルデヒド量とアルコール量はコントロール群に比べ脱血群で有意に低かった。

### 3-2-4 考 察

アルデヒド類やアルコール類は、脂質の酸化・分解によって生成することが知られている[106]。本論文の第3章第1節において、カツオ血合肉の貯蔵中にアルデヒドの一種であるヘキサナールが上昇する要因として、カツオ魚肉に存在する脂質とタンパク質の相互作用、すなわち魚肉中の脂質に対して魚肉タンパク質中のヘム鉄が関与して脂質を分解させる可能性があることを示した。また、辻ら[112]は、脱血したサケから製造されたスジコの過酸化脂質量が脱血していないサケから製造されたものより低かった要因として、脱血によりヘモグロビンとメト化物が減少したことを挙げている。さらに、高橋ら[115]は、脱血したシロサケの臭いをおいセンサーにより計測した結果、脱血したシロサケの臭いは脱血していないものより低く、かつ、脱血することで抗酸化作用を持つカロチノイド量の減少及びa値の低下を抑制できることを報告している。これらの研究結果から、魚肉中に血液が存在することで脂質や色素などの酸化が促進される可能性が考えられた。

そこで、本節ではまず、カツオより抽出した血液と脂質を各々の濃度を変えて緩衝液中で混合・反応させた場合の、アルデヒドとアルコールの生成量の変化について調べた。その結果、緩衝液中に血液のみ、あるいは脂質のみを添加して5°Cで2日間貯蔵しても、アルデヒドとアルコールの生成量は極めて低かった。一方、緩衝液中において脂質と血液とを混合させると、貯蔵開始時点からアルデヒドとアルコールの生成が起り、それらの生成量は貯蔵時間が長くなるほど高くなった。また、一定量の脂質に対して血液の添加量を変えて混合させると、アルデヒドとアルコールの生成量は、添加する血液に対して濃度依存的に増加した。したがって、本反応試験の結果より、カツオ魚肉中におけるアルデヒドとアルコールの生成には、魚肉中の血液による脂質の酸化分解が影響している可能性が示唆された。

以上の結果から、カツオを脱血処理することで臭気成分の生成が抑制され臭いを低減できると考え、実際に漁獲後直ちに船上において脱血処理した冷凍カツオと脱血処理していない冷凍カツオ（コントロール群）の臭気成分を比較したところ、脱血群はコントロール群に比べ臭気成分のうち、アルコール量とアルデヒド量が有意に低かった。近年の研究によると、一般的な赤身魚のpH値であるpH6.7以下では生臭みに関与するといわれているトリメチルアミンはほとんど検出されないこと[99,103]、赤身魚の臭気成分としては、第3章第1節で示したカツオのヘキサナールや、マイワシの1-ペンテン-3-オール[102,103]といったアルデヒドやアルコールが主要成分であることなどが報告されている。さらに、今回、脱血処理したカツオのアルコール量とアルデヒド量がコントロール群に比べ有意に低かったことから、カツオを脱血することで臭気成分を低減できるものと考えられた。また、寺山ら[113]は脱血処理した生鮮カツオの臭いについて官能評価を行った結果、脱血処理したカツオは生臭くなかったことを報告しているが、本節の結果から、冷凍カツオにおいても、脱血処理により解凍後の魚肉の臭いを低減できる可能性が示唆された。

以上の結果から、カツオ血合肉の臭気成分であるアルデヒド類、アルコール類は、カツオの血液と脂質の共存により生成され、カツオを脱血することでそれらの成分の生成が抑制され、臭いを低減できることが明らかになった。

なお、本節の成果は、平塚聖一, 羽田好孝, 小泉鏡子. 日本水産学会誌, 82(1): 28-32 (2016) として報告しており、当該誌の転載許可を得たうえでその内容を記載した。

### 第3節 カツオ血合肉のすり身原料としての食用利用の可能性について

#### 3-3-1 はじめに

1970年代後半、日本近海におけるサバ類、イワシ類などの多獲性赤身魚の漁獲量が急増したことを受け、多獲性赤身魚のすり身原料化に関する研究が行われた。先行研究の多くは普通肉のみを対象としており、血合肉のすり身原料化に関する研究はほとんどなされていないが、鮮度のよい赤身魚を使用すれば血合肉が混入しても良好なすり身が製造できることが報告されている[116]。赤身魚を原料としたすり身は、血合肉の混入量が増加するにつれてゲル形成能の低下のほか、着色や臭気の発生等の問題が生じるとされているが、あしの強さを重要視しない揚げ蒲鉾や魚肉ソーセージの原料として一部の地域ではすでに事業規模での生産も行われている[117]。

本節では、カツオ血合肉のすり身原料としての食用利用に資するため、臭気発生抑制手法として洗浄処理に着目し、血合肉の鮮度及び洗浄回数の相違が洗浄肉の色調及び臭気成分に与える影響について検討した。

#### 3-3-2 方法

##### 1. 洗浄試験

###### (1) 試料及び洗浄操作

静岡県焼津市内の冷凍ロイン製造業者から冷凍PS（巻き網ブライン一級品）カツオ *K. pelamis* のロイン3尾分を入手し、分析まで $-40^{\circ}\text{C}$ で保管した。

室温に放置し半解凍状態にしたカツオロインから血合肉を速やかに採取し、1尾分ずつ混合して包丁で裁断し、ホモジネートを調製した。3尾分のホモジネートをそれぞれ2等分し、一方は直ちに洗浄操作を行い（0h区）、他方はホモジネート調製直後にビニール袋に密封し、 $25^{\circ}\text{C}$ のインキュベータ内で4時間貯蔵した後に洗浄操作を行った（4h区）。洗浄操作は以下のように行った。すなわち、血合肉ホモジネートに5倍量の冷リン酸緩衝液（ $\text{pH } 7.5$ 、イオン強度：0.05）を加えて氷冷しながらホモジナイズ（PHYSICOTRON NS-50, 24,600rpm, 20秒）し、 $5^{\circ}\text{C}$ 、 $4,500\times g$ で10分間遠心分離した後、上清を除去するまでを1回の洗浄操作とした。1回目の洗浄操作後に得られた沈渣を1回洗浄肉とし、これに再び冷リン酸緩衝液を加えて、2回目の洗浄操作を行った。洗浄操作の回数は、各試験区について1回、3回、5回とした。

###### (2) 色調、水分及び脂質含量

色調は、分光測色計（CM-2002、MINOLTA）を用い、各試料を測定用セルに均一になるように充填した後測定した。

水分は、常法に従い $105^{\circ}\text{C}$ 、5時間常圧乾燥後の乾燥減量より算出した。脂質含量は、第2章第1節の方法により測定した。

###### (3) 臭気成分の捕集及びGC/MS分析

各試料0.5-0.6gをサンプルとし、第3章第1節と同様の方法により行った。

#### (4) pH 及び K 値

0h 区、4h 区ともに、洗浄前の血合肉についてのみ測定した。pH 及び K 値は第 3 章第 1 節と同様の方法により測定した。

### 2. 水溶性タンパク質の変性試験

上記試験とは異なる冷凍 PS カツオロイン 3 本から採取した血合肉を混合後、包丁で裁断してホモジネートを調製した。ホモジネートに 3 倍量の冷リン酸緩衝液 (pH 7.5、イオン強度:0.05) を加えて氷冷しながらホモジナイズ (PHYSCOTRON NS-50、24,600rpm、40 秒) し、5°C、12,000×g で 15 分間遠心分離して得られた上清を綿ろ過したものを水溶性タンパク質溶液 (Sp-p 溶液) とした。得られた Sp-p 溶液に、5 倍量のリン酸緩衝液 (pH 7.5) またはクエン酸-リン酸緩衝液 (pH 5.0) を加え、pH 5 区 (pH 5.30±0.02) と pH 7 区 (pH 7.02±0.02) の 2 種類の pH の Sp-p 溶液を 3 本ずつ調製し、25°C で 4 時間静置した。静置後、5°C、7,500×g で 20 分間遠心分離し、上清中のタンパク濃度をビウレット法[118]により測定するとともに、生じた沈殿の重量を測定した。生じた沈殿が等電点沈殿か否かを確認するため、重量測定後の沈殿に 30mL の pH7.5 リン酸緩衝液を加えてホモジナイズ後、5°C、7,500×g で 20 分間遠心分離し、再度沈殿重量を測定した。

### 3. 統計処理

洗浄前の血合肉の各種測定値及び水溶性タンパク質の変性試験については、Student の *t* 検定により有意差の検定を行った。洗浄肉については二元配置分散分析により解析を行った。

#### 3-3-3 結果

##### 1. 洗浄前の血合肉の性状

洗浄前の血合肉の pH、K 値、脂質含量、色調を Table 3-3-1 に、臭気分量を Table 3-3-2 に示した。洗浄前の血合肉の K 値は、0h 区ですでに 24.8% と高い値であった。4h 区では 42.6% と有意に増加しており、明らかに鮮度が低下していた。一方、pH、脂質含量及び色調については、0h 区と 4h 区の間に有意差は見られなかった。臭気分量は、いずれも貯蔵により増加した。総アルデヒド量 (0h 区 : 14.0, 4h 区 : 29.0) と総炭化水素量 (0h 区 : 5.6, 4h 区 : 7.1) は 4h 区で有意に高く、4h 区の総アルデヒド量は 0h 区の 2 倍であった。

##### 2. 洗浄肉の性状

###### (1) 色調

0h 区及び 4h 区における洗浄回数ごとの色調を Fig. 3-3-1 に示した。0h 区、4h 区とも 3 回洗浄肉は 1 回洗浄肉に比べ明らかに赤みが低下していた。3 回洗浄肉と 5 回洗浄肉では赤みにほとんど差は見られなかった。また、3 回及び 5 回洗浄肉について 0h 区と 4h 区を比較すると、4h 区の洗浄肉で赤みが強かった。洗浄肉の *b*\*値及び *L*\*値は、いずれ

も 0h 区より 4h 区が高い値を示したが、洗浄回数との間に明らかな関係が見られなかったことから、a\*値の測定結果を Fig. 3-3-2 に示した。1 回洗浄肉の a\*値は 0h 区と 4h 区で差が見られなかった。3 回洗浄することにより 0h 区では a\*値が低下したのに対し 4h 区では大きな変化は見られなかった。0h 区、4h 区とも 3 回洗浄肉と 5 回洗浄肉の a\*値に差は見られず、3 回洗浄以降 4h 区の a\*値は 0h 区を上回っていた。

### (2) 脂質含量

Fig. 3-3-3 に各洗浄肉の脂質含量（乾物換算値）を洗浄前の血合肉の脂質含量に対する比率で示した。0h 区では 3 回洗浄することにより脂質含量が低下したが、3 回以上洗浄しても脂質含量に変化は見られなかった。4h 区では洗浄回数を増やしても脂質含量は低下しなかった。各洗浄回数において 0h 区と 4h 区を比較すると、1 回洗浄肉（0h 区：0.68，4h 区：0.87）、3 回洗浄肉（0h 区：0.59，4h 区：0.83）、5 回洗浄肉（0h 区：0.54，4h 区：0.81）のいずれも 4h 区の脂質含量が有意に高かった。

### (3) 臭気成分

臭気成分として、アルデヒド 4 種類（ヘキサナール、ヘプタナール、オクタナール、ノナナール）、アルコール 5 種類（1-ペンテン-3-オール、2-ペンテン-1-オール、ヘキサノール、1-オクテン-3-オール、ヘプタノール）、炭化水素 3 種類（ペンタデカン、ヘキサデカン、ヘプタデカン）、ケトン 1 種類（2,3-ペンタンジオン）の計 13 種類を同定した。洗浄回数ごとの総アルデヒド量、総アルコール量、総炭化水素量を Fig. 3-3-4 に示した。臭気成分量は総アルデヒド量が最も高く、いずれの臭気成分も洗浄回数の増加に伴って低下した。0h 区と 4h 区を比較すると、総アルデヒド量は、1 回洗浄肉（0h 区：19.1，4h 区：33.9）、3 回洗浄肉（0h 区：8.5，4h 区：28.1）、5 回洗浄肉（0h 区：6.1，4h 区：10.1）のいずれも 4h 区で有意に高かった。総アルコール量は、1 回洗浄肉（0h 区：10.4，4h 区：12.7）及び 3 回洗浄肉（0h 区：4.7，4h 区：13.1）では 4h 区が有意に高かったが、5 回洗浄肉では差が見られなかった。総炭化水素量は、各試験区間で明らかな関係性は見られなかった。

## 3. 水溶性タンパク質の変性試験

洗浄前の血合肉の pH 値が 6 以下であったことから、カツオ血合肉を pH6 以下の状態で一定時間放置することが血合肉中の水溶性タンパク質に与える影響を明らかにするため、血合肉から抽出した水溶性タンパク質を、2 種類の pH 条件下（pH5、pH7）で 25℃、4 時間静置する変性試験を行った。pH5 及び pH7 に調製した Sp-p 溶液を 25℃、4 時間静置後に遠心分離した時の上清のタンパク質濃度と生じた沈殿量を Fig. 3-3-5 に示した。静置前の上清タンパク質濃度は 2.6mg/mL であった。静置後の上清タンパク質濃度は、pH7 区では 2.1mg/mL と静置前の 83%であったのに対し、pH5 区では 1.6mg/mL と静置前の 60%となっており、タンパク質濃度は大きく低下した。一方、沈殿量は、pH5 区では 0.20g であり pH7 区の 0.07g の約 3 倍と大きく増加した。なお、沈殿を pH7.5 リン酸緩衝液に再懸濁させても沈殿量はほとんど低下しなかった。

### 3-3-4 考 察

鮮度が異なるカツオ血合肉から洗浄回数を変えて洗浄肉を調製し、その色調及び臭気成分量について比較検討した結果、色調は、洗浄前の血合肉では0h区と4h区で差が見られなかった。洗浄肉では、3回以上洗浄しても4h区のa\*値は0h区を上回っており、4h区の洗浄肉において赤みの残存（着色）が確認された。一方、血合肉の臭気成分は、洗浄前、洗浄後ともに総アルデヒド量が高かった。また、洗浄前の段階で、4h区の総アルデヒド量は0h区の2倍であった。その後、洗浄回数の増加に伴って、洗浄肉の臭気成分量は低下したが、総アルデヒド量及び総アルコール量は、いずれの洗浄回数においても0h区より4h区で高かった。したがって、貯蔵により原料となる血合肉の鮮度が低下すると、洗浄回数を増やしても、洗浄肉の着色及び臭気の改善は困難であることが明らかになった。

これまで、鮮度低下等に伴って魚肉のpHが低下すると、筋原線維タンパク質が変性するという報告はなされているが[119,120]、本節の結果、水溶性タンパク質も低pH条件下において変性し、凝集・不溶化していることが確認された。Chen *et al.* [121]は、乳酸及びATP分解物の蓄積によってpHが酸性になったサバヒーを2週間氷蔵したところ、氷蔵中にミオグロビンが不溶化したこと、サバヒーの筋肉をリン酸緩衝液で晒したところ、pH6未満の緩衝液よりもpHが高い（pH6.4-8.0）緩衝液で晒した方が、色素タンパク質の抽出効率が高いことを報告している。これらのことから、本節で見られた4h区の洗浄肉における赤みの残存（着色）は、低pH条件下での貯蔵により血合肉のミオグロビン自体が変性し、不溶化したり、鮮度低下によって筋原線維タンパク質が変性する際に一緒に取り込まれたりすることにより、洗浄肉中にミオグロビンが残存していることが原因であると推察された。また、魚肉のpHを高く保つ、あるいは洗浄に用いる溶媒のpHを高くすることにより血合肉に含まれるミオグロビン等の水溶性タンパク質の変性や不溶化を抑え、効率的な抽出・除去が可能になると推察された。これまで、魚肉のpHを高く保つことは筋原線維タンパク質の変性に伴うゲル形成能の劣化抑制に効果がある[122]とされてきたが、本節の結果から、魚肉の水溶性タンパク質の変性や不溶化を抑制することによる洗浄肉の着色防止効果もあるものと考えられた。なお、本結果では4h区の洗浄肉の脂質含量が0h区より有意に高かった。脂質もミオグロビンと同様に鮮度低下による筋肉タンパク質の変性の影響を受けて洗浄肉中に残存した可能性が考えられるが、脂質の存在状態とタンパク質の変性との関係等については、今後検討する必要がある。

水産物の臭気成分については、マイワシ[123]やサバ[124]の特異臭には主に脂質酸化によって生成されるアルデヒド類が強く関与しているとの報告があるが、本節の結果、洗浄前の血合肉及び洗浄肉ともに総アルデヒド量が高く、4h区は0h区よりも有意に高かった。洗浄前の血合肉については、本論文の第3章第1節で示唆したように、貯蔵中に血合肉中のヘム鉄あるいは脂質分解酵素の関与により、共存する脂質の酸化分解が進み、アルデヒド類が増加したものと考えられる。洗浄肉については、4h区洗浄肉は、0h区洗浄肉より脂質含量が高いうえに低pH条件下での貯蔵により、水溶性タンパク質がより

多く残存していることが推察される。このことから、洗浄肉に残存したミオグロビンや脂質分解酵素により洗浄肉中の残存脂質の酸化が促進され、アルデヒド類が増加した可能性が考えられる。また、総アルコールについては、臭気成分量としては総アルデヒドより低いものの、総アルデヒドと同様に4h区で高い傾向が見られた。n-3系脂肪酸である $\alpha$ -リノレン酸とマッシュルーム由来のタンパク質を反応させたところ、1-オクテン-3-オールが生成されたとの報告[107]があることから、本節で確認された総アルコール量の増加も、アルデヒドと同様に脂質の酸化分解が関与していると考えられた。

以上のように、洗浄肉中に残存したミオグロビン等の水溶性タンパク質や脂質が、洗浄肉の着色や臭気発生に関与している可能性が示唆された。このことから、水溶性タンパク質や脂質の含量が高い血合肉や赤身魚をすり身原料として利用する場合には、漁獲後直ちに凍結したり、解凍時のpH低下を速やかに中性付近まで戻す処置を施したりすることによって魚肉のpH低下を抑え、水溶性タンパク質を変性させずに素早く洗浄することがすり身の着色防止につながると考えられた。また、臭気の発生抑制のためには、原料やすり身から脂質及びミオグロビン等水溶性タンパク質を除去することが重要であると考えられた。

なお、本節の成果は、小泉鏡子，平塚聖一，青島秀治，加藤登. 日本水産学会誌，78(4): 736-741 (2012)として報告しており、当該誌の転載許可を得たうえでその内容を記載した。

## 第4節 多脂カタクチイワシのエキス原料としての食用利用の可能性について

### 3-4-1 はじめに

カタクチイワシは、北海道から南シナ海までの太平洋西部に広く分布しており、内湾から沖合に至る沿岸域の表層に大きな群で生息している。カタクチイワシは我が国の重要な水産資源である一方、鮮度低下が速いため生食用の利用はごく一部に限られており、大部分は煮干し原料あるいは飼肥料原料として利用されている。

煮干しとは、カタクチイワシやマイワシを塩水で煮熟後、水分が15%前後になるまで乾燥したもので、古くから鰹節や昆布、干しいたけなどとともにだし素材として広く利用されてきた。しかし、製造の際に数日間に亘る長期間の乾燥を要すること、乾燥品のため常温で流通される場合が多いことなどから、製造工程や流通過程において脂質の酸化が懸念されるため、脂質含量の多いカタクチイワシは、煮干しの原料には不向きとされている。これまでに煮干しの品質や脂質酸化について数多くの研究がなされており、田辺ら[125]は、製造工程及び保存中の煮干しの酸化生成物の変化を調べた結果、脂質酸化は乾燥工程中に急速に進行すること、また、滝口[126]は、脂質含量の異なる煮干しを用いて貯蔵中の脂質酸化を調べ、脂質含量の多い製品では、より脂質酸化が進むことを報告している。一方、谷本ら[127]は、煮干しの臭気成分をパージ・トラップ法により捕集してGC/MSで分析した結果、脂質含量の多い煮干しは官能的に強い臭気を有するとともにアルデヒド類の含量が特に多いことから、アルデヒド類が煮干しいわしの臭いの主要成分であると推察している。さらに、久保ら[128]は、煮干しの脂質酸化とだし汁の官能評価結果との関係を調べ、脂質酸化生成物量が多い煮干しから抽出しただし汁ほど生臭みが強く、味も好まれなかったと報告している。これらの結果から、煮干しは製造時の乾燥工程中に脂質酸化が進行し、脂質酸化した煮干しから抽出しただし汁中にはエキスとともに脂質酸化生成物が抽出される。これがだし汁の風味を低下させる原因であり、このことが脂質含量の多いカタクチイワシが煮干しの原料魚として不向きとされる一因になっていると推察される。しかし、これまでのだし汁の風味の評価は官能によるもののみであり、煮干しの臭気成分と抽出しただし汁の臭気成分との関係は明らかになっていない。

そこで、本節では、まず、乾燥工程及び乾燥に伴う脂質酸化が煮干しと煮干しだし汁の臭気成分に及ぼす影響を明らかにするため、脂質含量の異なる煮干しとそれらから抽出しただし汁の臭気成分をGC/MSにより分析し、両者の関係を明らかにした。次に、煮干し製造時の乾燥工程中に脂質酸化が進行することから、脂質含量を均一化したカタクチイワシのミンチ肉を用いて、ミンチ肉の乾燥時間と、それから抽出しただし汁の臭気成分との関係を調べた。さらに、脂質含量の多いカタクチイワシの有効利用に資するため、乾燥工程中の脂質酸化による風味の低下を防止した新たなエキス製造法として、短時間加熱したカタクチイワシから固液分離により直接エキスを抽出する技術についても考察した。

### 3-4-2 方法

#### (1) 試料及び煮干し製造

2013年1月に静岡県に水揚げされた後、ブロック状に凍結されたカタクチイワシ *E. japonicus* (平均粗脂肪量3.1%：以下、少脂魚とする) と同年8月に千葉県に水揚げされた後、ブロック状に凍結されたカタクチイワシ (平均粗脂肪量6.0%：以下、多脂魚とする) の2種類のロットを用いて、以下に示す方法で煮干し製造を行った。すなわち、原料カタクチイワシを解凍し、ロットごとに85 - 95°Cの4%食塩水で8分間煮熟した後、25 - 30°Cの温風と室温による間欠乾燥を4 - 7日間繰り返した。このほかに、対照として抗酸化剤無添加と表示されたカタクチイワシ煮干しを購入し、あわせて試料とした。煮干しは製造あるいは購入後-30°Cで保管し、頭・内臓を除去してから粉碎したものを分析に供した。

#### (2) だし汁の調製

だし汁の調製は、削りぶしの日本農林規格[129]に定められたエキス分測定方法の試料溶液の調製法に準じて行った。すなわち、三角フラスコに煮干し粉碎物を一定量量りとり、5% (w/v) になるように蒸留水を加えた後に、冷却管を付してホットプレート上で加熱し、時々攪拌しながら沸騰後20分間継続加熱した。加熱終了後、No.5Aのろ紙を用いて吸引ろ過して得られたろ液をだし汁とした。

#### (3) 脂質分析

脂質含量はソックスレー法により分析した。

#### (4) カタクチイワシミンチ肉を用いた乾燥試験

半解凍状態の多脂魚から頭・内臓を除去して筋肉(可食部)を採取し、チョッパー(目合い2.5mm)を用いてミンチ化した。ミンチ肉を通電加熱により中心温度が90°Cになるまで短時間加熱して得られたブロック状の加熱ミンチ肉を6等分し、1つは乾燥0時間として直ちに-30°Cで凍結した。残りの加熱ミンチ肉は、温風乾燥機を用いて25 - 30°C下で、それぞれ2時間、4時間、8時間、16時間、24時間乾燥後、直ちに-30°Cで凍結した。凍結保管したカタクチイワシ乾燥ミンチ肉を解凍し、ミルを用いて粉碎した後、一定量を三角フラスコに量りとり、5% (dry w/v) になるように蒸留水を加えた。以後、前述の方法によりだし汁を調製した。カタクチイワシ乾燥ミンチ肉から抽出しただし汁については、松下的方法[130]によりTBA値を測定し、532nmの吸光度により示した。

#### (5) 臭気成分の捕集

煮干し及びカタクチイワシ乾燥ミンチ肉の粉碎物は、0.2 - 0.5gをスクリュウキャップ付20mLバイアル瓶に採取し、超純水1mLと内部標準物質(25ppmシクロヘキサノール)40 $\mu$ Lを添加した。各種だし汁は、0.9mL採取し内部標準物質(5ppmシクロヘキサノール)40 $\mu$ Lを添加した。各試料を70°Cで10分間攪拌後、生じたヘッドスペースガスをDVB/CAR/PDMSを吸着剤とする固相マイクロ抽出(SPME)ファイバー(スペルコ社製)により10分間捕集し、直ちにGC/MS分析に供した。

#### (6) GC/MS 分析

捕集した臭気成分は、第3章第1節と同様の方法により分析した。分析結果は、試料 1g あるいは 1mL 当たりにおける各成分の総イオン数の内部標準物質 (IS) に対する相対強度で表した。

#### (7) 新たなエキス製造法と得られたエキスの成分分析

乾燥工程中の脂質酸化による風味の低下を防ぐため、乾燥工程を省いた新たなエキス製造法 (以下、本法とする) を考案した。本法は、①生鮮または凍結魚をラウンドのまま粉碎・ミンチ化し、必要に応じて加水を行う。②ミンチ化した魚肉を短時間加熱する。③加熱魚肉を固液分離して直接エキスを抽出するという3つの工程から成る。本法で得られたエキスと対照として前述の多脂魚煮干しから抽出しただし汁について、以下の分析を行った。Brix 値は糖用屈折計 (MASTER-A10T、株式会社アタゴ社) を用いて測定した。蒸発皿に試料を一定量量り取り、水浴上で加熱して蒸発乾固させ、さらに 105°C で1時間乾燥後の固形物重量をエキス分とした。遊離アミノ酸は、島津高速液体クロマトグラフィー (HPLC) アミノ酸分析システムにより分析した。カラムは Shim-Pack Amino-Li を使い、反応試薬には OPA (オルトフタルアルデヒド) 試薬を使用した。イノシン酸分析は HPLC により、以下に示す分析条件で行った。ポンプ ; LC-6A、検出器 ; SPD-6AV、クロマトパック ; C-R4A (以上、島津製作所)、カラム ; 信和化工製 STR-ODS II 150L×4.6mmI.D.、移動相 ; 100mM リン酸 (トリエチルアンモニウム) 緩衝液 : アセトニトリル = 100 : 1 (v/v)、流速 ; 1.0mL/min、検出波長 ; 260nm。

臭気成分と TBA 値は、蒸留水を用いて Brix 値が等しくなるように希釈した後に前述の方法で測定した。

#### (8) エキスの官能試験

静岡県水産技術研究所職員 12 名をパネルとし、本法により得られたエキス、多脂魚煮干し及び市販煮干しから抽出しただし汁について官能試験を行った。パネルの男女別構成は男が 9 人、女が 3 人で、年齢別構成は 50 代が 4 人、40 代が 3 人、30 代が 2 人、20 代が 3 人であった。パネルに対する訓練は行っていない。試料は、市販煮干しから抽出しただし汁 200mL、本法により得られたエキス及び多脂魚煮干しから抽出しただし汁 100mL を室温下で Brix 値が等しくなるように調製し、それぞれコニカルビーカーに入れた状態でパネルに提供した。パネルは必要量を 10mL の試飲カップに取り分け、評価を行った。評価は、市販煮干しから抽出しただし汁を基準として、本法により得られたエキスと多脂魚煮干しから抽出しただし汁の生臭み及び苦味について「+3 (非常に弱い)」から「-3 (非常に強い)」の 7 段階尺度で行った。なお、生臭みについては、口に含んだ状態で評価した。

#### (9) 統計処理

平均値の差の検定は、2 群間比較では Student の *t* 検定により行った。多群間比較では一元配置分散分析 (ANOVA) を行い、有意差が検出された場合には Tukey 法により多重比較を行った。なお、官能評価結果については *t* 検定により解析した。

### 3-4-3 結果

#### (1) 原料魚及び煮干しの性状

Table 3-4-1 に原料魚の性状及び3種類の煮干しの脂質含量を示した。原料魚として用いたカタクチイワシの体長、体重は少脂魚 (10.3cm, 11.1g) に比べ多脂魚 (12.8cm, 18.3g) で有意に高く、脂質含量 (少脂魚 : 3.1g/100g, 多脂魚 : 6.0g/100g) は、多脂魚で有意に多かった。煮干しの脂質含量は、市販煮干し (4.5g/100g) が最も少なく、次いで少脂魚煮干し (10.9g/100g)、多脂魚煮干し (16.9g/100g) の順に有意に多くなった。

#### (2) 煮干し及び煮干しだし汁の臭気成分

脂質含量の異なる3種類の煮干し (多脂魚煮干し、少脂魚煮干し、市販煮干し) とそこから抽出した煮干しだし汁の臭気成分のうち、同定できた成分を Table 3-4-2 に示した。煮干しあるいは煮干しだし汁の臭気成分として、アルデヒド7種類、アルコール7種類、炭化水素3種類、ケトン1種類、アミン類1種類の計19種類を同定した。煮干しの主要な臭気成分は、炭化水素3種類 (ペンタデカン、ヘキサデカン、ヘプタデカン) のほか、ヘキサナール、オクタナール、ノナナール、1-オクテン-3-オールであり、煮干しだし汁のそれは、炭化水素類3種類とノナナール、1-オクテン-3-オールであった。

#### (3) 脂質含量の異なる煮干し及び煮干しだし汁の臭気成分

脂質含量の異なる3種類の煮干しとそこから抽出しだし汁の臭気成分量を Fig. 3-4-1 に示した。煮干し (a) のアルデヒド量、アルコール量、炭化水素量はいずれも脂質含量の多い煮干しでより高くなった。多脂魚煮干しのアルデヒド量 (61)、炭化水素量 (250) は、少脂魚煮干し、市販煮干し (それぞれ、アルデヒド量 : 51, 30, 炭化水素量 : 56, 25) に比べ有意に高く、特に炭化水素量が顕著に高かった。また、多脂魚煮干しのアルコール量 (22) は、市販煮干し (16) に比べ有意に高かった。煮干しだし汁 (b) では、脂質含量の多い煮干しから抽出しだし汁ほどアルデヒド量、アルコール量、炭化水素量が高く、多脂魚煮干しから抽出しだし汁のアルデヒド量 (7)、アルコール量 (6)、炭化水素量 (56) は少脂魚煮干し、市販煮干しから抽出しだし汁 (それぞれ、アルデヒド量 : 3, 2, アルコール量 : 3, 3, 炭化水素量 : 5, 2) に比べ有意に高かった。

#### (4) 乾燥工程が乾燥ミンチ肉及びそのだし汁に及ぼす影響

カタクチイワシ筋肉の乾燥ミンチ肉とそこから抽出しだし汁の臭気成分量について、乾燥工程中の増加率 (乾燥0時間を1としたときの比率) を Fig. 3-4-2 に示した。カタクチイワシ乾燥ミンチ肉 (a) では、アルデヒド量、アルコール量、炭化水素量のいずれも乾燥時間が長いほど増加し、アルデヒド量の増加率が最も高かった。乾燥時間との関係を見ると、アルデヒド量、アルコール量、炭化水素量はそれぞれ乾燥2時間 (1.7)、8時間 (2.5)、16時間 (2.6) 以降において、乾燥0時間に比べ有意に増加した。一方、カタクチイワシ乾燥ミンチ肉から抽出しだし汁 (b) では、アルデヒド量、アルコール量は乾燥時間が長いほど増加し、それぞれ乾燥8時間 (2.1)、16時間 (4.3) 以降有意に増加したが、炭化水素量においては乾燥時間との間に明確な関係は見られなかった。また、カタクチイワシ乾燥ミンチ肉から抽出しだし汁のTBA値を Fig. 3-4-3 に示した。ミンチ肉の乾燥時間が長いほど、そこから抽出しだし汁のTBA値が高くなり、16時

間乾燥したミンチ肉から抽出しただし汁の TBA 値が最も高かった。

#### (5) 新たな製造法により得られたエキスの性状

本法により得られたエキスと多脂魚煮干しから抽出しただし汁の Brix 値、エキス分、遊離アミノ酸総量、イノシン酸含量、TBA 値を Table 3-4-3、遊離アミノ酸組成を Table 3-4-4 に示した。なお、本法により得られたエキスと多脂魚煮干しから抽出しただし汁の Brix 値に差が見られたことから、エキス分、遊離アミノ酸総量、イノシン酸含量については、原料魚肉 100g から得られたエキス及びだし汁中の含量に換算した。本法により得られたエキスの Brix 値 (4.0%) 及びエキス分 (3.7g/100g) は、多脂魚煮干しから抽出しただし汁 (Brix 値 : 0.9%, エキス分 : 2.5g/100g) に比べ有意に高かった。さらに、遊離アミノ酸総量は本法により得られたエキスで高く、イノシン酸含量は多脂魚煮干しから抽出しただし汁で高い傾向が見られた。また、本法により得られたエキスの TBA 値は、多脂魚煮干しから抽出しただし汁の約 7 分の 1 と著しく低かった。遊離アミノ酸組成は、本法により得られたエキスでは、タウリンの組成比が 33% と最も高く、次いでヒスチジンが 24% と高かった。多脂魚煮干しから抽出しただし汁では、タウリンとヒスチジンがともに 20% 以上と高かった。いずれも、主要な遊離アミノ酸であるタウリンとヒスチジンで全体の 50% 以上を占めており、両者の遊離アミノ酸組成に差は見られなかった。臭気成分量は、本法により得られたエキスのアルデヒド量、アルコール量、炭化水素量のいずれも、多脂魚煮干しから抽出しただし汁に比べ有意に低かった。

#### (6) エキスの官能試験

本法により得られたエキスと多脂魚煮干しから抽出しただし汁の生臭み、苦味について、市販煮干しから抽出しただし汁を基準として官能試験を行った結果を Fig. 3-4-4 に示した。生臭みについては、多脂魚煮干しから抽出しただし汁 (-0.6) に比べ、本法により得られたエキス (0.5) の評価が高く、有意差が見られた ( $p < 0.05$ ) が、苦味については両者 (0, -0.2) に有意差は見られなかった。

### 3-4-4 考察

主にカタクチイワシを原料として製造される煮干しにおいては、色、つや、大きさを含む形状、香りやだしの強弱などが、その品質を決定する重要な要因であり、これらには原料カタクチイワシの脂質含量と脂質酸化が大きく影響する[131]。このため、脂質酸化の観点から煮干しの品質を考察した研究が数多く行われている。滝口[126,132]は、脂質含量の多いカタクチイワシから製造した煮干しは、脂質含量が少ないカタクチイワシから製造した煮干しより脂質酸化が進行すること、煮干し、丸干し、開き干し等のカタクチイワシ乾製品では製造時の乾燥時間が長いほど製品の脂質酸化が進行することを報告している。また、谷本ら[127]は、脂質含量の多い煮干しは、官能的に強い臭気を有するとともに、アルデヒド類の含量が特に多く、C3 から C6 の直鎖アルデヒドが煮干しのおおの主要成分であると推察している。本節では、脂質含量の異なる 3 種類の煮干しと、乾燥時間を変えて製造したカタクチイワシ乾燥ミンチ肉の臭気成分量を測定した結果、脂質含量が多い煮干しほど、また、乾燥時間が長いミンチ肉ほどアルデヒド量、ア

ルコール量、炭化水素量が高かった。したがって、これまでの知見と同様に、煮干し等の乾製品は原料魚の脂質含量が多いほど、また製造時の乾燥時間が長いほど、製品の脂質酸化が進行し、アルデヒド類などの臭気成分量が増加すると考えられた。

一方、煮干しから抽出しただし汁に関する研究は、調理学や家政学の分野においてなされてきた。久保ら[128]は、煮干し中の脂質酸化生成物量とだし汁の風味の間に相関が見られ、脂質酸化生成物量の高い煮干しから抽出しただし汁は官能的に生臭みが強いと評価されたと報告している。また、浅川[133]は、かつお節、さば節、いわし節などの削り節の脂質酸化と抽出しただし汁の官能試験を行い、脂質酸化した削り節からだし汁を抽出すると、得られただし汁の風味が明らかに低下したこと、削り節の脂質酸化に伴ってだし汁の TBA 値が高くなったことから、だし汁中に脂質酸化生成物が抽出されていると推察している。本節の結果では、主要な臭気成分と考えられるアルデヒド量とアルコール量の高い煮干し、あるいはアルデヒド量とアルコール量の高いカタクチイワシ乾燥ミンチ肉から抽出しただし汁は、アルデヒド量とアルコール量が高かった。さらに、アルデヒド量とアルコール量の高いカタクチイワシ乾燥ミンチ肉から抽出しただし汁は脂質酸化生成物の指標とされる TBA 値が高かった。これらの結果は、これまで「脂質が酸化した煮干しから抽出しただし汁は生臭い」と官能的に評価されていた事実を数値的に裏付ける結果であると考えられる。さらに、脂質含量の多いカタクチイワシを原料として煮干しを製造すると、製造時の乾燥工程中に脂質酸化が進行し、脂質酸化した煮干しから抽出しただし汁中には、エキスだけでなく煮干し中で増加した脂質酸化生成物が移行する。これによりだし汁の風味の低下は避けられないことを裏付ける結果が得られた。

山本ら[134]は、原料カタクチイワシの脂質含量と煮干し単価の関係について調べた結果、脂質含量が2%以上のカタクチイワシを加工すると完成する煮干しの脂質含量は8%以上となり、これを日本農林規格の煮干魚類の粗脂肪分の基準に当てはめると、「標準」規格に満たない安価な製品になる可能性が高いと報告している。このため、瀬戸内海などでは、脂質含量が多く煮干し加工に不向きな「脂イワシ」の出現状況によっては、煮干しの品質低下や単価の低迷を防ぐため休漁することもあると言われている。そこで、煮干しの脂質酸化によるだし汁の風味の低下を防ぎ、脂質含量の多いカタクチイワシからでも風味良好なだし汁を得るため、新たなエキス製造法について検討した。本法では、脂質酸化の原因となる乾燥工程を省き、短時間加熱した生の脂質含量の多いカタクチイワシから固液分離により直接エキスを抽出した。本法で得られたエキスと、煮干しから抽出しただし汁の性状を比較した結果、本法により得られたエキスの臭気成分量は煮干しだし汁よりも有意に低く、官能試験においても有意に生臭みが弱いという結果が得られた。一般に頭・内臓込みの生の魚肉を煮熟して抽出したエキスは、生臭みのほかに苦みが生じることが懸念されるが、本法により得られたエキスの苦みのレベルはかなり低かった。これには、短時間加熱あるいは乾燥工程の省略が影響していると考えられるが、苦みの生成機構の解明については今後の課題であると考えられる。また、原料魚肉 100g から得られるエキス及びだし汁中の遊離アミノ酸総量、イノシン酸含量は両者ともほぼ同程

度であったことから、本法を用いることにより、脂質含量の多いカタクチイワシから臭気成分が少なく、さらに抽出効率や成分の点では煮干しだし汁と遜色ないエキスが得られることが明らかになった。以上のような特徴を有する本法であるが、実際に工業規模での魚介類エキス製造で利用するには、いくつかの課題が存在する。煮干しなどの乾燥品を粉砕し、エキスを抽出するこれまでのエキス製造ラインでは、構造上あるいは衛生上の問題により必ずしも生の魚肉を扱えるとは限らない。また、他の場所で生の魚肉からエキスを抽出しそれを搬入して使用する場合には、液状のエキスを冷蔵状態で輸送することになり、これまでの乾燥品の輸送に比べコストがはるかに高くなることが予想される。これらのことから、本法は脂質含量の多いカタクチイワシなど、これまでの魚介類エキス製造で利用することが困難であった原料魚からエキスを製造するのに適した技術であると考えられる。

以上のように、脂質含量の多い原料カタクチイワシを用いると、煮干し製造時の乾燥工程により煮干しの臭気分量が高くなり、そこから抽出しだし汁の臭気分量も高くなることが明らかとなった。また、乾燥に伴う脂質酸化によって生じた脂質酸化生成物がだし汁に移行することが、だし汁の風味低下の原因である可能性が示唆された。そこで、乾燥工程を省き短時間加熱した魚肉から直接エキスを抽出するという新たなエキス製造法について検討した結果、本法を用いることにより、これまで煮干し等乾製品の原料として不向きであり、脂質含量の少ないカタクチイワシに比べ価値が低いとされ、低利用資源となっている脂質含量の多いカタクチイワシを、エキス原料として有効活用できる可能性が示唆された。

なお、本節の成果は、小泉鏡子，平塚聖一．日本水産学会誌，83(2): 199-206 (2017)として報告しており、当該誌の転載許可を得たうえでその内容を記載した。

## 要約

未利用資源であるカツオ血合肉及び脂質含量の多いカタクチイワシの食用利用に資するため、臭気成分の発生抑制手法について検討を行った。

カツオ血合肉については、カツオ血合肉の臭気成分の特徴について調べるとともに、臭気成分の生成に影響を及ぼす要因を明らかにするため、脱脂魚肉タンパク質と魚油を用いた反応試験、カツオの血液と脂質を用いた反応試験を行った。次に、臭気成分の発生抑制手法として洗浄処理に着目し、すり身原料としての食用利用の可能性について検討した。その結果、カツオ血合肉の主な臭気成分は、ヘキサナールをはじめとするアルデヒド類やアルコール類であり、これらの臭気成分は、カツオの血液と脂質が共存することにより生成され、カツオを脱血することにより血合肉の臭気成分を低減できることが明らかになった。また、血合肉をすり身原料として利用する場合には、血合肉の pH 低下を抑え、水溶性タンパク質を変性させずに素早く洗浄することにより、臭気成分や着色の少ない良質なすり身を製造できる可能性が示唆された。

次に、現在、主に飼肥料原料となっている脂質含量の多いカタクチイワシの食用利用に資するため、煮干し製造工程中の乾燥工程及び乾燥に伴う脂質酸化が煮干し及び煮干

しだし汁の臭気成分に及ぼす影響について調べた。その結果、脂質含量の多いカタクチイワシから煮干しを製造すると、乾燥工程中の脂質酸化の進行により臭気成分量が高くなり、そこから抽出しだし汁の臭気成分量も高くなることが明らかになった。また、乾燥に伴う脂質酸化により生じた脂質酸化生成物がだし汁に移行することにより、だし汁の風味が低下する可能性が示唆されたことから、乾燥工程を省いた新たなエキス製造法を考案した。この新たなエキス製造法を用いることにより、脂質含量の多いカタクチイワシから臭気成分が少なく、抽出効率や成分の点では煮干しだし汁と遜色ないエキスが得られることが明らかになった。

## 総 括

駿河湾の複雑な海洋構造や海底地形の影響により、静岡県沿岸には多種多様な魚種が生息し、他の海域では見られない豊かな水産資源が存在している。また、静岡県は水産加工業も盛んで全国有数の生産量を誇っている。一方、水産業や水産加工業を取り巻く環境としては、漁業生産量の減少傾向が続いているほか、資源動向が低位あるいは減少とされる魚種が急増するなど水産資源状態の悪化が深刻な問題となっており、2018年に閣議決定された「水産政策の改革」では、資源管理の徹底が掲げられている。また、漁業生産量の減少に加え、国際的な水産物需要の増大により日本向けの買い付けができない「買い負け」が頻発するなど、水産加工原料の安定確保に不安が生じている。

このような状況の中、静岡県の水産資源を将来にわたって持続的に、また効率的に利用していくためには、静岡県産水産物の価値を高めることが極めて重要である。そこで、本研究では、静岡県産水産物の高付加価値化に資することを目的として、科学的根拠に基づく判別技術について検討を行うとともに、未利用資源の食用利用の可能性について検討を行った。

### 1. 科学的根拠に基づく判別技術

本研究では判別手法として、安定同位体比分析と脂肪酸組成分析に着目した。まず、しらす干し及びさくらえび製品を対象とし、安定同位体比分析による産地判別の可能性について検討した。静岡県産を含む国内10産地、中国産、韓国産のしらす干し及び駿河湾産、台湾産のさくらえび製品（生さくらえび、素干し、釜揚げ）について、炭素・窒素安定同位体比分析を行った結果、しらす干しについては、福島県以南の太平洋沿岸から瀬戸内海東部地方産や韓国産と静岡県産の判別は困難であったが、瀬戸内海西部産や九州産、中国産と静岡県産との判別の可能性を示すことができた。また、さくらえび製品においても、駿河湾産と台湾産の判別の可能性を示すことができた。さらに、これまで水産物において安定同位体比分析による産地判別の有用性が示されていたのは、養殖魚あるいは固着性が高い海藻類や貝類に限られていたが、本研究の結果、天然海域で漁獲されたシラスの加工品であるしらす干しにおいても、安定同位体比分析による産地判別の有用性を示すことができた。

次に、トラフグについて、天然魚と養殖魚の判別の可能性について検討した。天然魚（n=50）、国産養殖魚（n=50）、中国産養殖魚（n=10）の3群について筋肉の脂肪酸組成分析を行った結果、3群の脂肪酸組成は明らかに異なることがわかった。そこで、筋肉の脂肪酸組成値を用いた線形判別分析により、天然魚と養殖魚の判別関数を構築した。この判別関数による天然魚と養殖魚の判別の中率は99.1%、判別精度は、天然魚の的中率98.0%、養殖魚の的中率100%となり、判別関数の有効性が確認できた。

以上のように、静岡県の特産水産物であるしらす干し、さくらえび製品、トラフグについては、安定同位体比分析や脂肪酸組成分析を活用することにより、科学的根拠に基づき、外国産や国内他産地あるいは養殖魚との差別化やブランド力の強化を図ることが

できると考えられた。また、判別技術が存在することを周知することにより、偽装表示の抑止など食の安心確保による高付加価値化にもつながることが期待される。

## 2. 未利用資源の食用利用

未利用資源としてハダカイワシ科魚類、カツオ血合肉及び脂質含量の多いカタクチイワシに着目した。

ハダカイワシ科魚類については、脂質特性を明らかにすることにより食品としての安全性について検証した。駿河湾において漁獲対象種になりうると判断したハダカイワシ、センハダカ、イワハダカの脂質組成、脂肪酸組成を分析した結果、多量に摂取すると健康被害を引き起こすワックスエステル含有率は極めて低く、食用利用に問題ないレベルであることが確認できた。さらに、健康機能性成分である EPA、DHA 含量が高く、n-3 系高度不飽和脂肪酸の供給源として有望であることが明らかになった。

本研究の結果を踏まえ、さらなる漁獲試験や加工試験を重ねた結果、センハダカの漁業化・食用利用に向けた取組みとして、漁業者と加工業者それぞれにより研究会が組織された。漁業者が組織する研究会が県の許可を受けて試験操業を行い、加工業者が組織する研究会が試験操業で漁獲したセンハダカを使用した新商品開発を進め、これまでに佃煮や練り製品、スナック菓子など複数の新商品が誕生した。今後、センハダカが、駿河湾でしか漁獲されないという希少性と EPA や DHA が豊富に含まれるという健康機能性を訴求ポイントとする新たな静岡県産水産物になることが期待される。

次に、水産物を食用利用するに当たって大きな課題である臭気成分に着目し、カツオ血合肉と脂質含量が多いカタクチイワシにおける臭気成分の発生要因の解明と発生抑制手法について検討を行った。

### (1) カツオ血合肉

カツオ血合肉の臭気成分の特徴について調べるとともに、臭気成分の生成に影響を及ぼす要因を明らかにするため、脱脂魚肉タンパク質と魚油を用いた反応試験及びカツオの血液と脂質を用いた反応試験を行った。次に、臭気成分の発生抑制手法として洗浄処理に着目し、すり身原料としての食用利用の可能性について検討した。その結果、カツオ血合肉の主な臭気成分はヘキサナールをはじめとするアルデヒド類やアルコール類であり、これらの臭気成分はカツオの血液と脂質が共存することにより生成され、カツオを脱血することで血合肉の臭気成分を低減できることが明らかになった。また、血合肉をすり身原料として利用する場合には、血合肉の pH 低下を抑え、水溶性タンパク質を変性させずに素早く洗浄することにより、臭気成分や着色の少ない良質なすり身を製造できる可能性が示唆された。

本研究結果は、鮮度の良い原料を短時間に洗浄できるすり身製造ラインの民間企業への導入だけでなく、カツオのすり身を使用したつみれやハンバーグなどの新商品開発・販売につながった。

## (2) 脂質含量の多いカタクチイワシ

脂質含量の多いカタクチイワシが煮干し原料に不向きとされる原因を明らかにするため、煮干し製造工程中の乾燥工程及び乾燥に伴う脂質酸化が煮干し及び煮干しだし汁の臭気成分に及ぼす影響について調べた。その結果、脂質含量の多いカタクチイワシから煮干しを製造すると、乾燥工程中の脂質酸化の進行により臭気成分量が高くなり、そこから抽出しだし汁の臭気成分量も高くなることが明らかになった。また、乾燥に伴う脂質酸化により生じた脂質酸化生成物がだし汁に移行することにより、だし汁の風味が低下する可能性が示唆された。すなわち、脂質含量の多いカタクチイワシを原料として煮干しを製造し、そこからだし汁を取ると、だし汁に移行した脂質酸化生成物により、だし汁の風味の低下が避けられないことを数値的に裏付ける結果が得られた。そこで、脂質含量の多いカタクチイワシをエキス原料として食用利用するため、乾燥工程を省いた新たなエキス製造法を考案した。新たなエキス製造法を用いることにより、脂質含量の多いカタクチイワシから臭気成分が少なく、抽出効率や成分の点では煮干しだし汁と遜色ないエキスが得られることが明らかになった。さらに、この新たなエキス製造法は、カタクチイワシ以外の魚種への応用が可能な、汎用性が高いエキス製造法であることを確認している。ここ数年カタクチイワシの漁獲量が急減し、代わりにマイワシの漁獲量が増加傾向に転じていることから、魚種交代により、1980年代のようにマイワシ漁獲量が急増する可能性が指摘されている。1980年代の豊漁時には、大半のマイワシが飼肥料原料となっていたが、本研究で考案した新たなエキス製造法を用いることにより、エキス原料としての食用利用が可能になると考える。

以上のように、本研究は、静岡県の特産水産物であるしらす干し、さくらえび製品、トラフグの高付加価値化に加え、ハダカイワシ科魚類、カツオ血合肉、脂質含量の多いカタクチイワシ等の未利用資源の食用利用による静岡県産水産物の高付加価値化に大きく貢献するものと考えられる。

## 引用文献

- [1] 稲葉栄生. 海洋物理. 「新版 駿河湾の自然」(東海大学海洋学部編) 静岡新聞社, 静岡. 42-50 (1996).
- [2] 三澤良文. 海洋地質. 「新版 駿河湾の自然」(東海大学海洋学部編) 静岡新聞社, 静岡. 8-19 (1996).
- [3] 鈴木克美. 海洋生物. 「新版 駿河湾の自然」(東海大学海洋学部編) 静岡新聞社, 静岡. 118-123 (1996).
- [4] 中房徹次. 「日本産魚類検索 第三版 全種の同定」東海大学出版部, 東京. 2013.
- [5] 漁業・養殖業生産統計
- [6] 東京都中央卸売市場月報水産物編.
- [7] 田中寿臣. 台湾におけるサクラエビ漁業について. 碧水, **120**, 1-3 (2007).
- [8] 大森信, 浮島美之, 村中文夫. 台湾東港水域で発見されたサクラエビ—新たな出現記録とその系統および地理分布の考察—. *Journal of the Oceanographical Society of Japan*, **44**, 261-267 (1988).
- [9] 大森信. 総論. 「桜えび漁業百年史 第1版」(大森信, 志田喜代江編) 静岡県桜えび漁業百周年記念事業実行委員会, 静岡. 21-93 (1995).
- [10] 天野千絵. 下関唐戸魚市場(株) フク類取扱高表の推移. 「西日本フク研究会10周年記念誌」西日本フク研究会, 山口. 79-80 (2002).
- [11] Gjøsæter, J. and Kawaguchi, K.: A review of the world resources of mesopelagic fish. *FAO Fish. Tech. Pap.*, **193**, 1-151 (1980).
- [12] 野口敏. 第1章 水産食料資源とその利用、第5節 ハダカイワシの利用用途. 「水産資源の先進的有効利用法 ～ゼロエミッションをめざして～」(坂口守彦, 平田孝監修) 株式会社エヌ・ティー・エス, 東京. 54-63 (2005).
- [13] 小林憲一, 日吉宏. 2 ハダカイワシ類資源の評価 (1)ハダカイワシ類の資源量調査および漁獲手法研究. 平成24年度静岡県水産技術研究所事業報告, 7-8, (2014).

- [14] 水産物流通調査(2016), 産地上場水揚量・卸売価格(208 漁港), 漁港別品目別上場水揚量・卸売価格 .
- [15] 長谷川薫, 高木毅, 平塚聖一, 和田卓, 岩橋義人. 赤身魚におけるレシチンの分布と濃度. 平成元年水産物健康性機能有効利用開発研究の成果の概要, 水産庁研究部研究課, 53-62 (1990).
- [16] 長谷川薫, 高木毅, 平塚聖一, 和田鏡子, 和田卓, 澤田敏雄. 赤身魚各組織中のレシチン含量とその構成脂肪酸について. 静岡県水産試験場研究報告, **28**, 41-52 (1993).
- [17] 小畠渥, 積山昇司, 山本康之. 血合肉のエキス成分組成. 日本水産学会誌, **51**, 1461-1468 (1985).
- [18] 小畠渥, 井出英敏, 井脇幹生, 志水寛. 血合肉と普通肉の一般成分組成の比較. 高知大学水産実験所報告, **3**, 107-112 (1978).
- [19] 久保田洋. カタクチイワシの脂肪量別漁獲量の推定. 平成20年度中央水産研究所主要研究成果集 研究のうごき, 独立行政法人水産総合研究センター中央水産研究所, **7**, 7 (2009).
- [20] 矢口登希子. しらす干し. 「全国水産加工品総覧第1版」(福田裕, 山澤正勝, 岡崎恵美子監修) 光琳, 東京. 72-76 (2005).
- [21] 財務省貿易統計, 品別国別表, 1604.16-000, <<http://www.customs.go.jp/toukei/index.htm>> (2017)
- [22] 赤崎哲也, 猿渡敏郎, 片山貴之, 朝長洋祐. ミトコンドリアDNA(シトクローム**b**)を利用した「ちりめんじゃこ」の原料魚種推定について. 関税中央分析所報, **45**, 5-9 (2005).
- [23] Akasaki, T., Saruwatari, T., Tomonaga, H., Sato, S. and Watanabe, Y.: Identification of imported Chirimen at the genus level by a direct sequencing method using mitochondrial partial 16S rDNA region. *Fish. Sci.*, **72**, 686-692 (2006).
- [24] 法邑雄司, 鈴木忠直, 小阪英樹, 堀田博, 安井明美. 無機元素組成による黒大豆「丹波黒」の一粒産地判別. 日本食品科学工学会誌, **53**, 619-626 (2006).

- [25] 門倉雅史, 法邑雄司, 渡邊裕之, 堀田博, 鈴木忠直, 安井明美. 無機元素組成によるカボチャの原産地判定技術. 日本食品科学工学会誌, **57**, 78-84 (2010).
- [26] 門倉雅史, 臼井裕一, 有山薫. 無機元素分析による乾シイタケの原料原産地および栽培方法の判別. 日本食品科学工学会誌, **53**, 489-497 (2006).
- [27] Yamashita, Y., Omura, Y, and Okazaki, E.: Distinct regional profiles of trace element content in muscle of Japanese eel *Anguilla japonica* from Japan, Taiwan, and China. *Fish Sci*, **72**, 1109-1113 (2006).
- [28] 小林豊, 高村巧, 下野功, 浦和寛, 都木靖彰. ホタテガイの貝殻およびニジマス耳石中の微量元素組成を用いた養殖地識別の試み. 水産増殖, **57**, 271-278 (2009).
- [29] 服部賢志, 塚田政範, 法邑雄司. 無機元素分析によるコンブの原料原産地判別. 日本水産学会誌, **75**, 77-82 (2009).
- [30] 絵面智宏, 國分敦子, 阿部洋俊, 濱田真子, 加藤栄一, 鈴木彌生子. 加工による影響を受けにくい微量元素組成による原藻わかめ, 湯通し塩蔵わかめおよび乾わかめの産地判別. 日本食品科学工学会誌, **63**, 427-432 (2016).
- [31] 鈴木彌生子, 中下留美子, 赤松史一, 伊永隆史. 安定同位体比分析による国産米の産地及び有機栽培判別の可能性. 分析化学, **58**, 1053-1058 (2009).
- [32] 鈴木彌生子, 中下留美子, 河邊亮, 北井亜希子, 富山眞吾. 炭素・酸素安定同位体比分析による青森県産および中国産リンゴの産地判別の可能性. 日本食品科学工学会誌, **59**, 69-75 (2012).
- [33] 中下留美子, 鈴木彌生子, 伊永隆史, 渡辺伸枝, 田中公一, 安定同位体比分析による日本国内に流通する牛肉の産地判別, 分析化学, **58**, 1023-1028 (2009).
- [34] 中下留美子, 鈴木彌生子, 一宮孝博, 伊永隆史, 生元素安定同位体比解析による養殖ウナギの産地判別の可能性, 食工誌, **56**, 495-497 (2009).
- [35] 鈴木彌生子, 國分敦子, 絵面智宏, 中山和美. 炭素・窒素・酸素安定同位体比分析による湯通し塩蔵ワカメの産地判別の可能性. 日本食品科学工学会誌, **60**, 1-10 (2013).

- [36] 和田英太郎. 安定同位体比精密測定法による陸上生態系の解析. 日本生態学会誌, **47**, 333-336 (1997).
- [37] Tanaka, H., Takasuka, A., Aoki, I. and Ohshimo, S.: Geographical variations in the trophic ecology of Japanese anchovy, *Engraulis japonicus*, inferred from carbon and nitrogen stable isotope ratios. *Mar. Biol.*, **154**, 557-568 (2008).
- [38] 酒井均, 松久幸敏. 窒素の同位体地球化学. 「安定同位体地球化学 第1版 第3刷」 東京大学出版会, 東京. 326-329 (1996).
- [39] 高井則之, 富永修. 安定同位体比手法とは. 「安定同位体スコープで覗く海洋生物の生態ーアサリからクジラまで 第1版」 (富永修, 高井則之編) 恒星社厚生閣, 東京. 16 (2008).
- [40] Takai, N. and Mishima, Y.: Carbon sources for demersal fish in the western Seto Inland Sea, Japan, examined by  $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{15}\text{N}$  analyses. *Limnol. Oceanogr.*, **47**, 730-741 (2002).
- [41] 中島紗知, 山田佳裕, 多田邦尚. 香川県の沿岸域における魚類の炭素・窒素安定同位体比の分布. 香川大学農学部学術報告, **59**, 59-64 (2007).
- [42] Tanaka, H., Ohshimo, S., Takagi, N. and Ichimaru T.: Investigation of the geographical origin and migration of anchovy *Engraulis japonicus* in Tachibana Bay, Japan: A stable isotope approach. *Fisheries Research*, **102**, 217-220 (2010).
- [43] 鈴木彌生子, 中下留美子, 伊永隆史. 安定同位体比分析によるウナギ加工品の産地判別の可能性. 分析化学, **58**, 1067-1070 (2009).
- [44] Omori, M.: The biology of a sergestid shrimp *Sergestes Lucens* Hansen. *Bull. Ocean. Res. Inst. Univ. Tokyo*, **4**, 1-83 (1969).
- [45] 山内悟. 釜揚げさくらえび. 「全国水産加工品総覧 第1版」 (福田裕, 山澤正勝, 岡崎恵美子監修) 光琳, 東京. 84-85 (2005).
- [46] 高嶋康晴. 水産物の種及び産地判別技術. 日本食生活学会誌, **22**, 85-87 (2011).
- [47] Carabel, S., Godínez-Domínguez E., Verísimo P., Fernández L and Freire J.: An assessment of sample processing methods for stable isotope analyses of marine food webs. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **336**, 254-261 (2006).

- [48] 鈴木彌生子, 絵面智宏, 國分敦子, 阿部洋俊, 濱田真子, 加藤栄一, 中山和美. 加工の影響を受けにくい安定同位体比および微量元素組成によるわかめ加工品の産地判別技術の開発. 日本水産学会誌, **84**, 94-102 (2018).
- [49] Hiraoka, H., Morita, S., Gotou, Y., Hattori, S., Ishikawa, T. and Okano, K.: Confirming the authenticity of the geographical origin of Naruto dried wakame *Undaria pinnatifida* using stable nitrogen isotope ratios. *Fish Sci.*, **80**, 635-642 (2014).
- [50] Palumbi, SR., Martin, A., Pomano, S., McMillan, WO., Stice, L. and Grabowski, G.: *The Simple Fool's Guide to PCR, Version 2*. Zoology Department, University of Hawaii, Honolulu, USA (1991).
- [51] Bosley, KL. and Wainright, SC.: Effects of preservatives and acidification on the stable isotope ratios ( $^{15}\text{N}$ : $^{14}\text{N}$ ,  $^{13}\text{C}$ : $^{12}\text{C}$ ) of two species of marine animals. *Can. J. Fish Aquat. Sci.*, **56**, 2181-2185 (1999).
- [52] Bunn, SE., Loneragan, NR. and Kempster, MA.: Effects of acid washing on stable isotope ratios of C and N in penaeid shrimp and seagrass: Implications for food-web studies using multiple stable isotopes. *Limnol. Oceanogr.*, **40**, 622-625 (1995).
- [53] 漁業・養殖業生産統計. 魚種別漁獲量. 養殖魚種別収穫量 (2016).
- [54] 貿易統計. 農林水産物輸出入統計 (2016).
- [55] 佐伯清子, 熊谷洋. 10種の天然魚および養殖魚の一般成分の比較. 日本水産学会誌, **50**, 1551-1554 (1984).
- [56] 青木隆子, 鷹田馨, 國崎直道. 天然および養殖魚6種の一般成分、無機質、脂肪酸、遊離アミノ酸、筋肉硬度および色差について. 日本水産学会誌, **57**, 1927-1934 (1991).
- [57] 森下達雄, 宇野和明, 松本好央, 高橋喬. 養殖マダイ一般成分組成の産地別, 養殖方法別並びに天然魚との比較. 日本水産学会誌, **54**, 1965-1970 (1988).
- [58] 國崎直道, 鷹田馨, 松浦宏之. 天然および養殖アジの脂肪含有量, 筋肉硬度および脂肪酸組成について. 日本水産学会誌, **52**, 333-336 (1986).
- [59] 畑江敬子, 李敬姫, 土屋隆英, 島田淳子. 養殖魚と天然魚のテクスチャー特性につ

いて. 日本水産学会誌, **55**, 363-368 (1989).

- [60] 平野敏行, 須山三千三. 天然および養殖アユの脂質の脂肪酸組成とその季節変化. 日本水産学会誌, **49**, 1459-1464 (1983).
- [61] 井岡久, 山中英明. 餌料の異なる養殖ヒラメの品質評価. 日本水産学会誌, **63**, 370-377 (1997).
- [62] 森岡克司, 森木竜也, 伊藤慶明, 小畠渥. 異なる餌料で養成したマダイ体成分の比較. 日本水産学会誌, **64**, 867-877 (1998).
- [63] 佐伯清子, 熊谷洋. 天然および養殖トラフグの成長にともなう一般成分と無機成分の変動. 日本水産学会誌, **48**, 967-970 (1982).
- [64] 佐伯清子, 熊谷洋. 天然および養殖トラフグにおける一般成分の季節的変動. 日本水産学会誌, **50**, 125-127 (1984).
- [65] 西塔正孝, 國崎直道. 天然および養殖トラフグ筋肉の一般成分, 脂肪酸組成, 遊離アミノ酸, 無機質および筋肉硬度について. 日本水産学会誌, **64**, 116-120 (1998).
- [66] Hanson, SWF. and Olley, J.: Application of the Bligh and Dyer method of lipid extraction to tissue homogenates. *J. Biochem.*, **89**, 101-102 (1963).
- [67] Hiratsuka, S., Kitagawa, T., Matsue, Y., Hashidume, M. and Wada, S.: Lipid class and fatty acid composition of phospholipids from the gonads of skipjack tuna. *Fish Sci.*, **70**, 903-909 (2004).
- [68] Hiratsuka, S., Ishihara, K., Kitagawa, T., Wada, S. and Yokogoshi, H.: Effect of dietary docosahexaenoic acid containing phospholipids on the lipid peroxidation of the brain in mice. *J Nutr Sci Vitaminol*, **54**, 501-506 (2008).
- [69] Saito, H., Ishihara, K. and Murase, T.: Effect of prey fish lipids on the docosahexaenoic acid content of total fatty acids in the lipid of *Thunnus albacares* yellowfin tuna. *Biosci. Biotech. Biochem.*, **60**, 962-965 (1996).
- [70] Ishihara, K. and Saito, H.: The docosahexaenoic acid content of the lipid of juvenile Bluefin tuna *Thunnus thynnus* caught in the sea off Japanese coast. *Fish Sci.*, **62**, 840-841 (1996).

- [71] Saito, H., Watanabe, T. and Murase, T.: The fatty acid composition characteristic of a highly migratory fish, with seasonal variation of docosahexaenoic acid content in lipid of bonito (*Euthynnus pelamis*). *Biosci. Biotech. Biochem.*, **59**, 2186-2188 (1995).
- [72] 李雅利. 西部北太平洋におけるハダカイワシ科魚類の生態に関する研究. 海の研究 (Oceanography in Japan), **14**, 489-498 (2005).
- [73] Nordoy, A., Marchioili, R., Arnesen, H. and Videbaek, J.: n-3 polyunsaturated fatty acids and cardiovascular diseases. *Lipids*, **36**, S127-129 (2001).
- [74] Jennifer, MG., Mark, W., Jennifer, AM., Michael, R., Christopher, JMS., William, S LS. and Ian, TJ.: Consumption of fish oil leads to prompt incorporation of eicosapentaenoic acid into colonic mucosa of patients prior to surgery for colorectal cancer, but has no detectable effect on epithelial cytokinetics. *J. Nutr.*, **129**, 1862-1865 (1999).
- [75] Matthew, DB., James, AR., Tom, P., Alan, S. and Kenneth CHF.: Fish oil-enriched nutritional supplement attenuates progression of the acute-phase response in weight-losing patients with advanced pancreatic cancer. *J. Nutr.*, **129**, 1120-1125 (1999).
- [76] Stansby, ME.: Nutritional properties of fish oil for human consumption, Modern aspects, in fish oils in nutrition (Stansby, ME., ed), Van nostrand reinhold, New York, 289-308 (1990).
- [77] Nieto, N., Torres, MI., Rios, A. and Gil, A.: Dietary polyunsaturated fatty acids improve histological and biochemical alterations in rats with experimental ulcerative Colitis. *J. Nutr.*, **132**, 11-19 (2002).
- [78] Medina, I., Aubourg, SP. and Martin, RP.: Composition of phospholipids of white muscle of six tuna species. *Lipids*, **30**, 1127-1135 (1995).
- [79] Saito, H., Seike, Y, Ioka, H., Osako, K., Tanaka, M., Takashima, A., Keriko, JM., Kose, S. and Souza, JCR.: High docosahexaenoic acid levels in both neutral and polar lipids of a highly migratory fish. *Thunnus tonggol* Bleeker. *Lipids*, **40**, 941-953 (2005).
- [80] Saito, H. and Ishikawa, S.: Characteristics of lipids and fatty acid compositions of the neon flying squid, *Ommastrephes bartramii*. *J. Oleo Sci.*, **61**, 547-564 (2012).
- [81] 川口弘一. マイクロネクトン群集—駿河湾のハダカイワシ科魚類—. 「海の生物群集と生産」(西沢敏, 石田力一, 川崎健編) 恒星社厚生閣, 東京. 235-268 (1977).

- [82] 久保田正. 駿河湾におけるホクヨウハダカ *Tarletonbeania taylori*の出現. 魚類学雑誌, **19**, 195-198 (1972).
- [83] 藤井英一, 上野輝弥. 西部太平洋産オオクチイワシ(ハダカイワシ科)について. 魚類学雑誌, **22**, 227-233 (1976).
- [84] 渡邊泉, 四宮基彦, 國頭恭, 田辺信介, 窪寺恒己. 駿河湾および東北沖で採取された深海生魚介類の微量元素蓄積. 地球科学, **36**, 179-189 (2002).
- [85] Saito, H. and Murata, M.: Origin of the monoene fats in the lipids of midwater fishes: relationship between the lipids of myctophids and those of their prey. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **168**, 21-33 (1998).
- [86] Seo, H. -S., Endo, Y., Fujimoto, K., Watanabe, H. and Kawaguchi, K.: Characterization of lipids in myctophid fish in the subarctic and tropical Pacific Ocean. *Fisheries Sci.*, **62**, 447-453 (1996).
- [87] Ackman, RG: Fatty acids, (Ackman, RG, ed), *Marine Biogenic Lipids, Fats, and Oils*, Vol. I., CRC Press Inc., Florida. 103-137 (1989).
- [88] Watanabe, H., Moku, M., Kawaguchi, K., Ishimaru, K. and Ohno, A.: Diel vertical migration of myctophid fishes (family Myctophidae) in the transitional waters of the western North Pacific. *Fish. Oceanogr.*, **8**, 115-127 (1999).
- [89] 鹿山光. 深海生物と非グリセリド脂質—水圧変化の体内調節—. 化学と生物, **9**, 368-370 (1971).
- [90] 藤本健四郎, 徐還淑. ハダカイワシのワックスと生態 ワックスエステルかトリアシルグリセロールのいずれを蓄積するかは日周鉛直移動の有無によって決まる. 化学と生物, **36**, 627-629 (1998).
- [91] Neighbors, M -A.: Triacylglycerols and wax esters in the lipids of deep midwater teleost fishes of the Southern California Bight. *Mar. Biol.*, **98**, 15-22 (1988).
- [92] Mori, M., Saito, T., Nakanishi, Y., Miyazawa, K. and Hashimoto, Y.: The composition and toxicity of wax in the flesh of castor oil fishes. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fisheries*, **32**, 137-145 (1966).

- [93] Phleger, CF., Nelson, MM., Mooney, BD. and Nichols, PD.: Wax esters versus tryacyl-glycerols in myctophid fishes from the Southern Ocean. *Antarctic Sci.*, **11**, 436-444 (1999).
- [94] 渡部終吾. 魚の栄養の科学. 「魚の科学」(鴻巣章二監修) 朝倉書店, 東京. 2-3 (1994).
- [95] 松浦文雄, 橋本周久. 血合筋肉の化学的研究-X. 日本水産学会誌, **24**, 809-815 (1959).
- [96] 小畠渥, 土井敏男, 小野達也. 血合肉中におけるイノシン酸の分解とその酵素活性. 日本水産学会誌, **54**, 283-288 (1988).
- [97] 徳永俊夫. 魚類血合肉中のトリメチルアミノオキサイドならびにその分解物- I. 日本水産学会誌, **36**, 502-509 (1970).
- [98] 木村メイコ, 平岡芳信, 木宮隆, 今村伸太郎, 鈴木道子, 岡崎恵美子, 木村郁夫. サンマ肉のトリメチルアミン生成に及ぼす凍結貯蔵の影響. 日本水産学会誌, **76**, 1073-1079 (2010).
- [99] 徳永俊夫, 飯田遥, 中村弘二, 太田佳子. 氷蔵および水氷貯蔵中のサバ肉揮発性成分の変化. 東海区水産研究所研究報告, **104**, 67-75 (1981).
- [100] Hiratsuka, S., Kitagawa, T., Yamagishi, K. and Wada, S.: Phospholipase A<sub>1</sub> activity of crude enzyme extracted from the ovaries of skipjack tuna. *Fish Sci.*, **74**, 146-152 (2008).
- [101] 油脂および油脂製品試験法部会報告: 基準油脂分析試験法, 日本油化学協会, 東京. 2,4, 12-86 (1986).
- [102] 吉和哲郎, 守木京三, 坂本宏司, 石川行弘. パージ・トラップ法によるマイワシ臭気成分の分析. 日本水産学会誌, **58**, 2105-2110 (1992).
- [103] Ganeko, N., Shoda, M., Hirohara, I., Bhadra, A., Ishida, T., Matsuda, H., Takamura, H. and Matoba, T.: Analysis of volatile flavor compounds of sardine by solid phase microextraction. *J. Food. Sci.*, **73**, S83-88 (2008).
- [104] Oshima, T., Wada, S. and Koizumi, C.: Influences of heme pigment, non-heme iron, and nitrite on lipid oxidation in cooked mackerel meat. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **54**, 2165-2171 (1988).

- [105] 橋本周久. 色素タンパク質. 「水産学シリーズ 13 白身の魚と赤身の魚」(日本水産学会編) 恒星社厚生閣, 東京. 28-29 (1976).
- [106] 高村仁知. 食品の脂質劣化および風味変化に関する研究. 日本食品科学工学会誌, **53**, 401-407 (2006).
- [107] Wurzenberger, M. and Grosch, W.: Enzymic oxidation of linolenic acid to 1,Z-5-octadien-3-ol, Z-2, Z-5-octadien 1-ol and 10-oxo-E-8-decenoic acid by a protein fraction from mushroom (*Psalliota bispora*). *Lipids*, **21**, 261-266 (1986).
- [108] Mohri, S., Cho, SY., Endo, Y. and Fujimoto, K.: Lipoxygenase activity in sardine skin. *Agric. Biol. Chem.*, **54**, 1889-1990 (1990).
- [109] Mohri, S., Cho, SY., Endo, Y. and Fujimoto, K.: Linoleate 13(S)-lipoxygenase in sardine skin. *J. Agric. Food. Chem.*, **40**, 573-576 (1992).
- [110] 安藤正史. 魚類筋肉の死後における軟化現象に関する研究. 日本水産学会誌, **62**, 555-558 (1996).
- [111] 望月聡, 乗田嘉子, 前野久美子. マアジ筋肉の死後変化に及ぼす脱血の影響. 日本水産学会誌, **64**, 276-279 (1998).
- [112] 辻浩司, 野俣洋, 蛭谷幸司, 信太茂春, 佐藤暁之. 脱血処理によるサケ加工品の品質向上について. 水産技術, **6**, 27-32 (2013).
- [113] 寺山誠人, 山中英明. カツオの品質に及ぼす脱血の効果. 日本水産学会誌, **66**, 852-858 (2000).
- [114] 羽田好孝. 冷凍カツオ及びビンナガの心臓残留血液量からみた脱血指標の可能性. 静岡県水産技術研究所研究報告, **46**, 97-100 (2014).
- [115] 高橋是太郎, 南山卓範, 小坂尚弘, 羽田野六男, 小林源司. 産卵回帰シロサケの致死条件と死後変化. 北海道大学水産科学研究彙報, **43**, 96-104 (1992).
- [116] 石川宣次, 中村邦典. 冷凍すり身技術 原料鮮度および製造条件と品質. 昭和 52 ~ 56 年度水産業振興費 多獲性赤身魚の高度利用技術開発研究に関する総合報告書, 水産庁研究部研究課, 東京. 119-127 (1982).

- [117] 藤井 豊. 加工技術. 「多獲性赤身魚の有効利用」(日本水産学会編) 恒星社厚生閣, 東京. 76-88 (1981).
- [118] 梅本 滋. ビュレット反応による魚肉たん白定量法の改良. 日本水産学会誌, **32**, 427-435 (1966).
- [119] 福田 裕, 掛端甲一, 新井健一. サバおよびスケトウタラおとし身中のアクトミオシンの温度安定性の比較. 日本水産学会誌, **43**, 717-725 (1977).
- [120] 橋本昭彦, 新井健一. 数種の魚類の筋原繊維 Ca-ATPase の安定性に及ぼす pH と温度の影響. 日本水産学会誌, **44**, 1389-1393 (1978).
- [121] Chen, WL., Chow, CJ. and Ochiai, Y.: Effects of washing media and storage condition on the color of milkfish meat paste. *Fish. Sci.*, **62**, 938-944 (1996).
- [122] 加藤 登, 橋本昭彦, 中川則和, 新井健一. 水中ミンス工法によるイワシおよびサバからの冷凍すり身の製造とその品質. 日本水産学会誌, **55**, 507-513 (1989).
- [123] 野中道夫, 平田史生, 佐伯宏樹, 中村 誠, 笹本泰彦. マイワシから製造した高栄養魚肉食素材より発生する揮発性カルボニル化合物. 日本水産学会誌, **56**, 67-72 (1990).
- [124] 徳永俊夫, 飯田 遙, 中村弘二, 太田佳子. 氷蔵および水氷貯蔵中のサバ肉揮発性成分の変化. 東海区水産研究所研究報告, **104**, 67-75 (1981).
- [125] 田辺 伸, 滝口明秀, 堀口辰司. 煮干しイワシの油焼け防止-II 煮干しイワシの脂質の酸化と変色. 千葉県水産試験場研究報告, **42**, 83-87 (1984).
- [126] 滝口明秀. 脂質含量の異なる煮干しいわしの脂質酸化の相違について. 日本水産学会誌, **52**, 1029-1034 (1986).
- [127] 谷本昌太, 坂本宏司, 守本京三. パージ・トラップ法による煮干しイワシの臭気成分の分析. 日本水産学会誌, **71**, 215-217 (2005).
- [128] 久保加織, 丹羽知佐子, 堀越昌子, 的場輝佳. 煮干し脂質の性状とその酸化がだし汁の風味に及ぼす影響. 日本調理科学会誌, **33**, 192-197 (2000).

- [129] 削りぶしの日本農林規格. 平成 25 年 11 月 12 日 農林水産省告示第 2770 号.
- [130] 松下雪郎. 過酸化脂質測定のための TBA テストの有用性とその限界. 栄養と食糧, **34**, 523-529 (1981).
- [131] 田辺 伸. 煮干しの科学. 「煮干し ニボシの履歴書・煮干しの科学」(堀口辰司・田辺伸著) 全国煮干協会, 東京. 127-242 (1999).
- [132] 滝口明秀. カタクチイワシ乾製品の乾燥・貯蔵中における脂質劣化. 日本水産学会誌, **53**, 1463-1469 (1987).
- [133] 浅川具美. 削り節中の脂質の酸化が煮出汁の風味に及ぼす影響. 調理科学, **16**, 57-61 (1983).
- [134] 山本昌幸, 中山博志. カタクチイワシ煮干しにおける「脂イワシ」評価基準の検討. 水産技術, **5**, 179-182 (2013).

## 謝 辞

本論文を作成するに当たり、その機会を与えて下さるとともに終始懇切なるご指導を賜った東海大学海洋学部水産学科の齋藤寛教授、平塚聖一教授に心より深く感謝いたします。

東海大学理学部化学科の石原良美博士、東海大学海洋学部水産学科の秋山信彦博士、鈴木伸洋博士、東京海洋大学の岡崎恵美子博士には本論文のご校閲の労をいただきました。東海大学海洋学部清水教養教育センターの Wendy M. Gough 特任講師には英文のご校閲をしていただきました。

また、研究にご協力いただいた静岡県水産技術研究所開発加工科の皆様には感謝するとともに、本論文の実験データの収集にご協力いただいた東海大学海洋学部4年生の丸山元樹氏、岡村裕起氏（平成22年度卒業）に感謝いたします。

さらに、しらす干しの確保に多大なご協力をいただいた株式会社マルカイの海野光弘氏、さくらえび製品の確保に多大なご協力をいただいた大場祐一氏をはじめとする大井川港漁業協同組合の皆様及び株式会社ヤママルの片瀬幸修氏に深謝申し上げます。

最後に、本論文の作成に対し最大限の理解を示してくれただけでなく、様々な場面で精神的、物理的に支えてくれた私の夫及び子供達に深く感謝します。

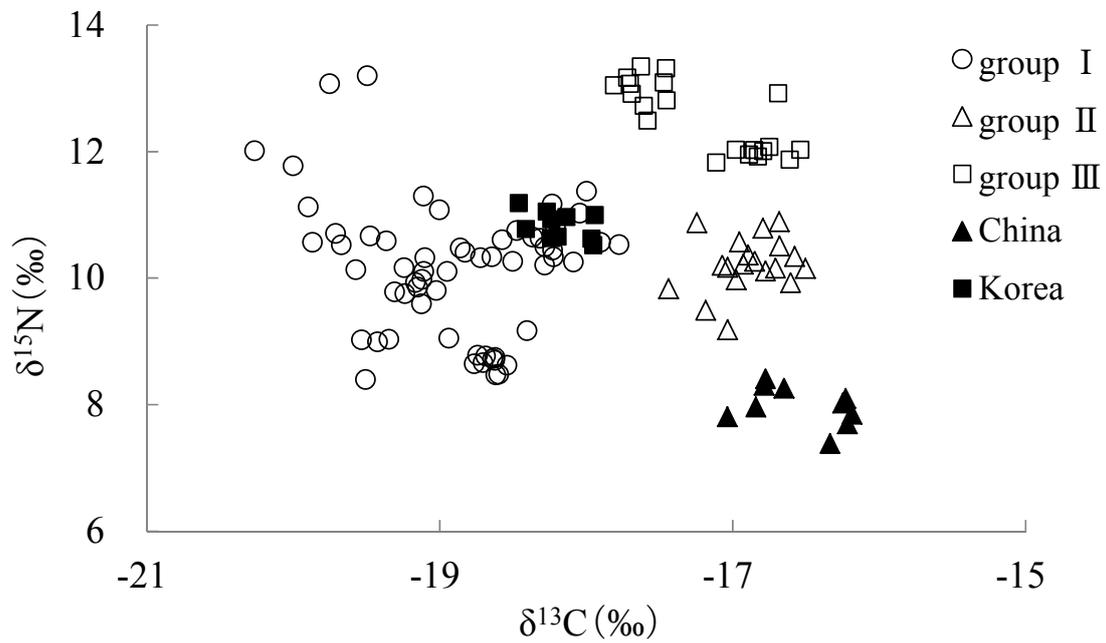


Fig. 1-1-1 Distribution of carbon and nitrogen stable isotope ratios of Shirasuboshi.

Refer to Fig. 1-1-2 about group. ○, group I ; △, group II ; □, group III ; ▲, China; ■, Korea.

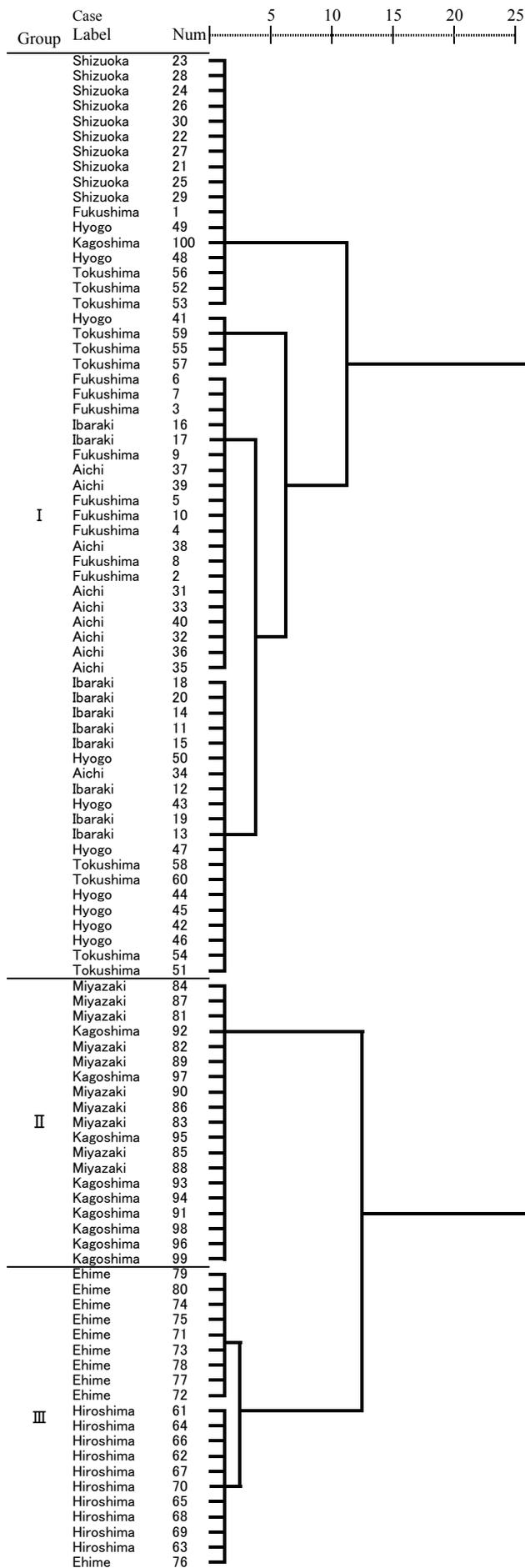


Fig. 1-1-2 Dendrogram of 100 samples of Shirasuboshi from 10 producing areas in Japan by cluster analysis using Ward method.

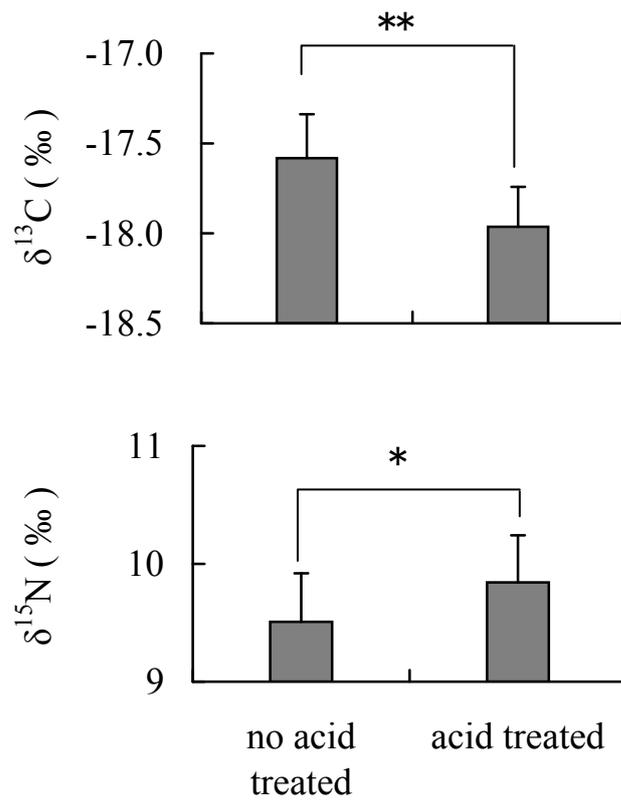


Fig. 1-2-1 Carbon and nitrogen stable isotope ratios of raw Sakuraebi for different treatments.

Bars represent means  $\pm$  standard deviations ( $n = 18$ ). Asterisks indicate significant differences (Student's  $t$ -test, \*\*  $p < 0.001$ , \*  $p < 0.05$ ).

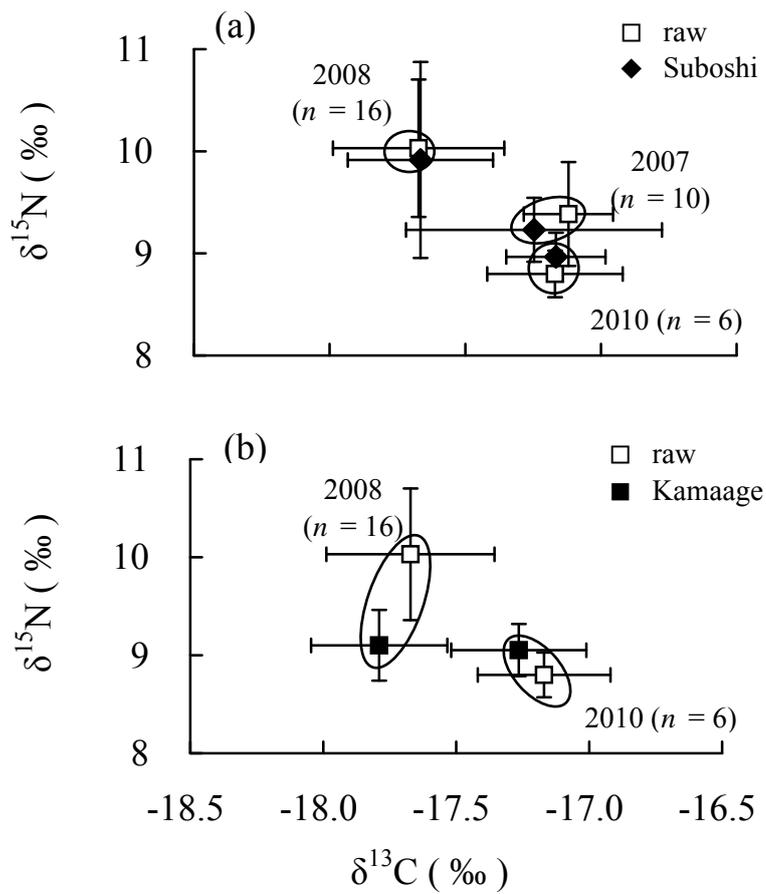


Fig. 1-2-2 Changes in carbon and nitrogen stable isotope ratios of raw Sakuraebi during sun-dried (a), and boiled (b).

□, raw; ◆, sun-dried (Suboshi); ■, boiled (Kamaage).

The data points represent means and the error bars represent standard deviations.

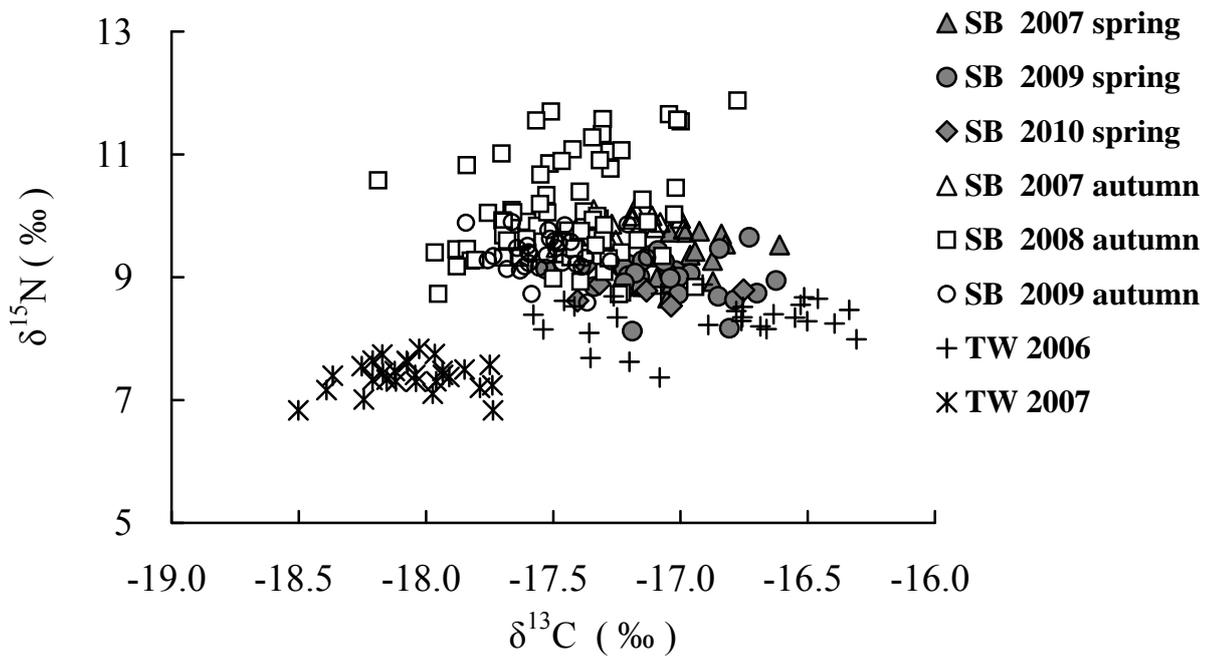


Fig. 1-2-3 Distribution of carbon and nitrogen stable isotope ratios of raw Sakuraebi.

SB, Suruga Bay; TW, Taiwan.

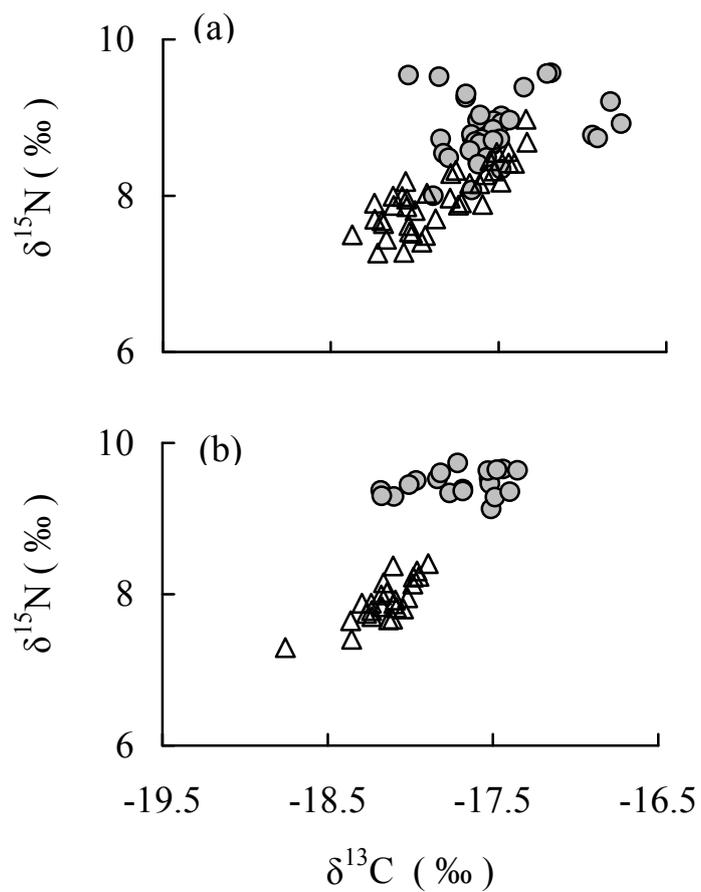


Fig. 1-2-4 Distribution of carbon and nitrogen stable isotope ratios of Suboshi (a) and Kamaage (b) in 2007.

●, Suruga Bay; △, Taiwan.

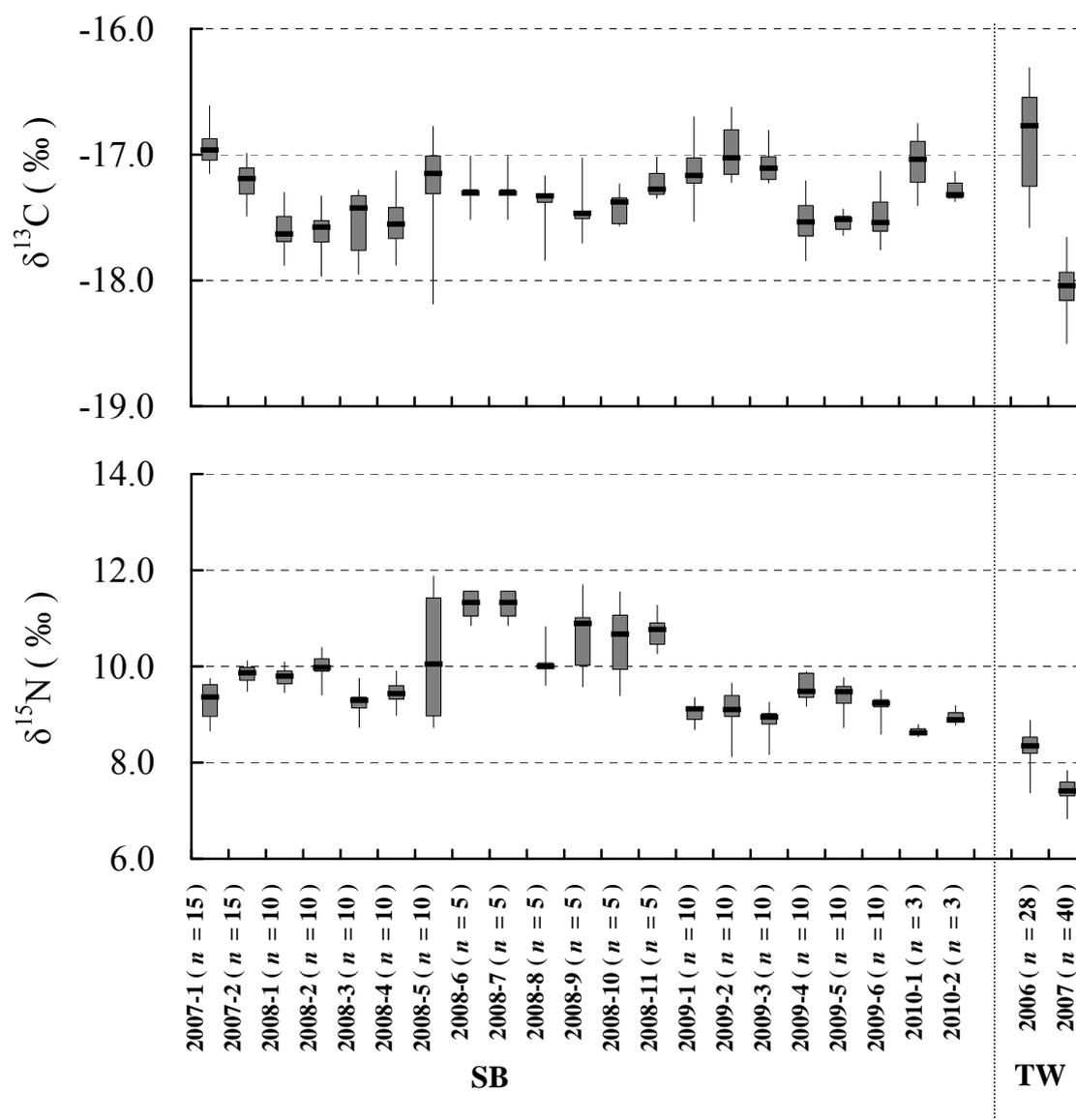


Fig. 1-2-5 Box-and-whisker plots of carbon and nitrogen stable isotope ratios of raw Sakuraebi for every lots.

Box, interquartile range; Bar, median; Whiskers, range; SB, Suruga Bay ; TW, Taiwan.

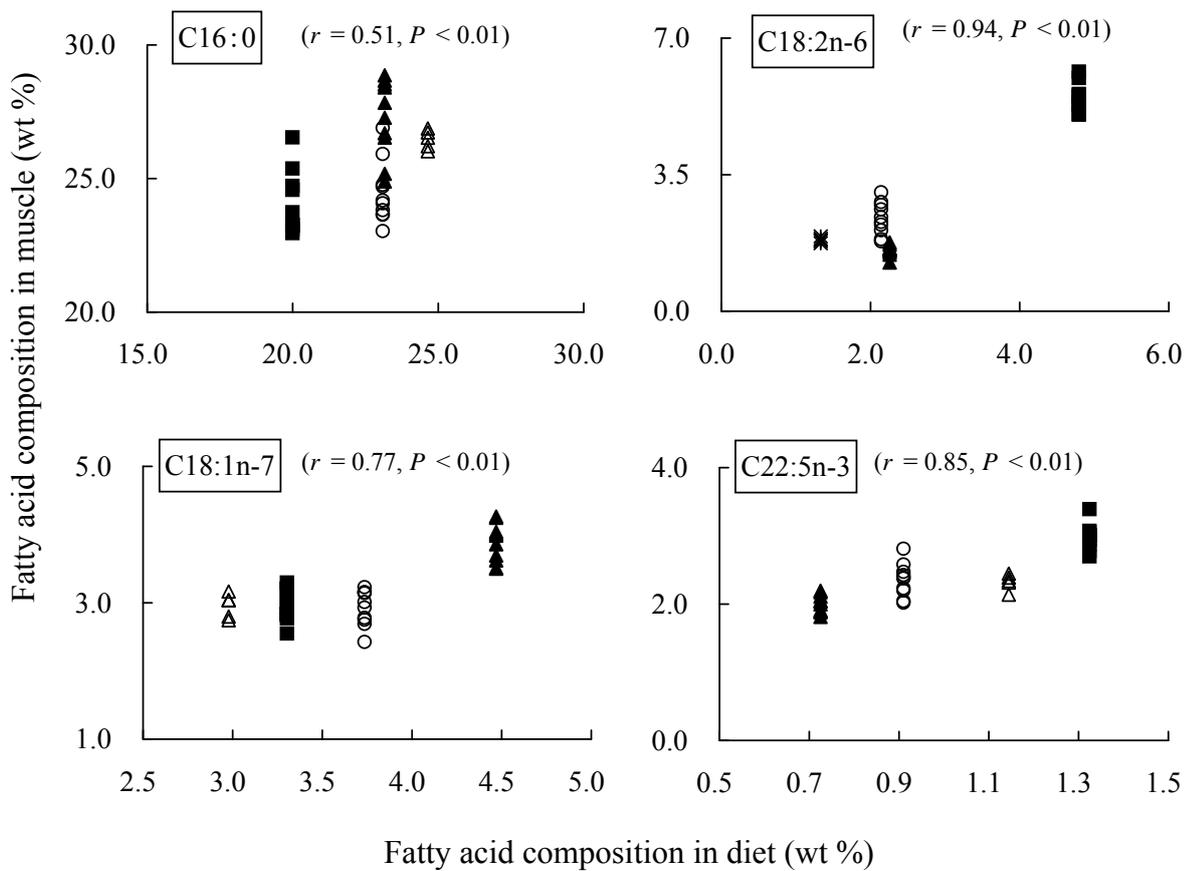


Fig. 2-1-1 Relationships between the fatty acid compositions in the muscle of Japanese cultured ocellate puffer and the culture diet.

*Filled squares*, Cultured 2; *open triangles*, Cultured 3; *filled triangles*, Cultured 5; *open circles*, Cultured 6

Reproduced from Koizumi K, Hiratsuka S. Fisheries Science, 75(5): 1323-1328 (2009)

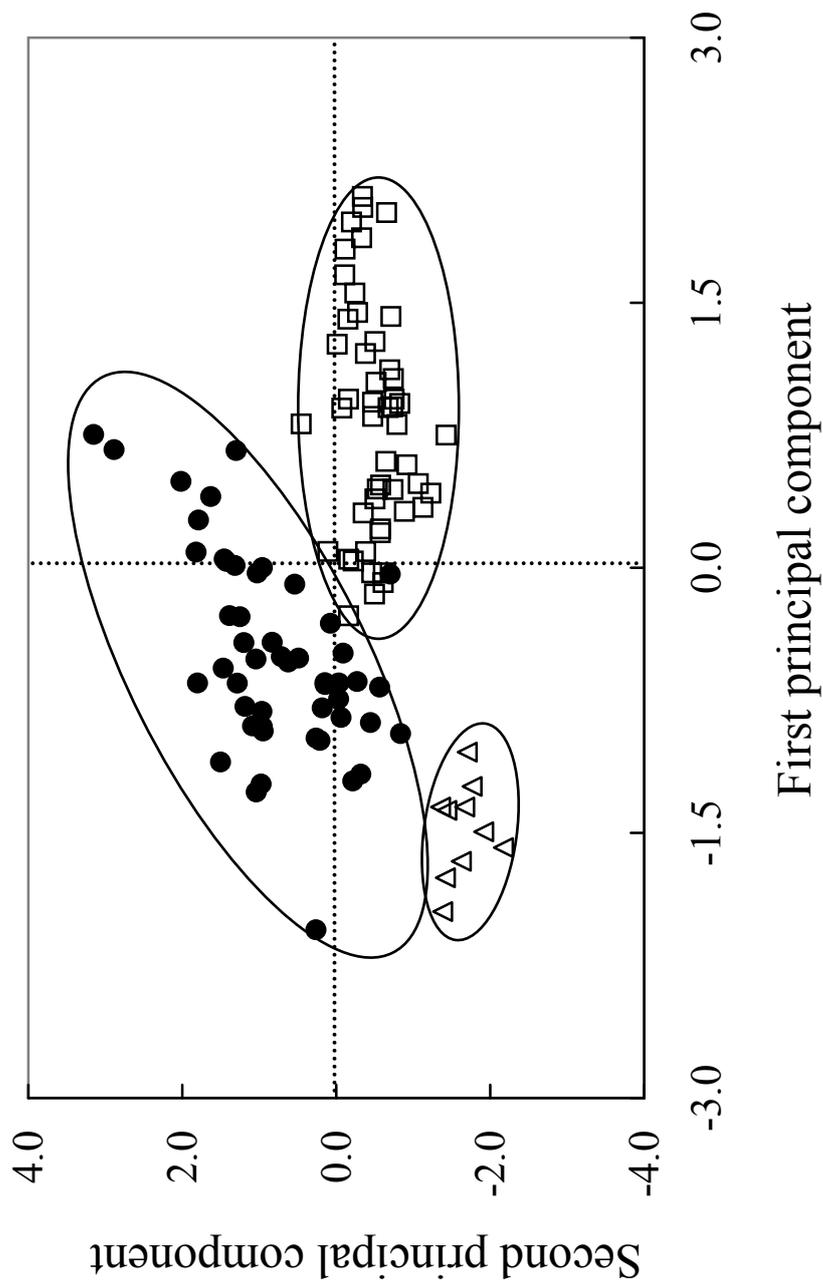


Fig. 2-1-2 Distribution of the principal component scores in ocellate puffer ( $n = 100$ ).

*Filled circles*, Wild; *open squares*, Japanese cultured; *open triangles*, Chinese cultured. Reproduced from Koizumi K, Hiratsuka S. Fisheries Science, 75(5): 1323-1328 (2009)

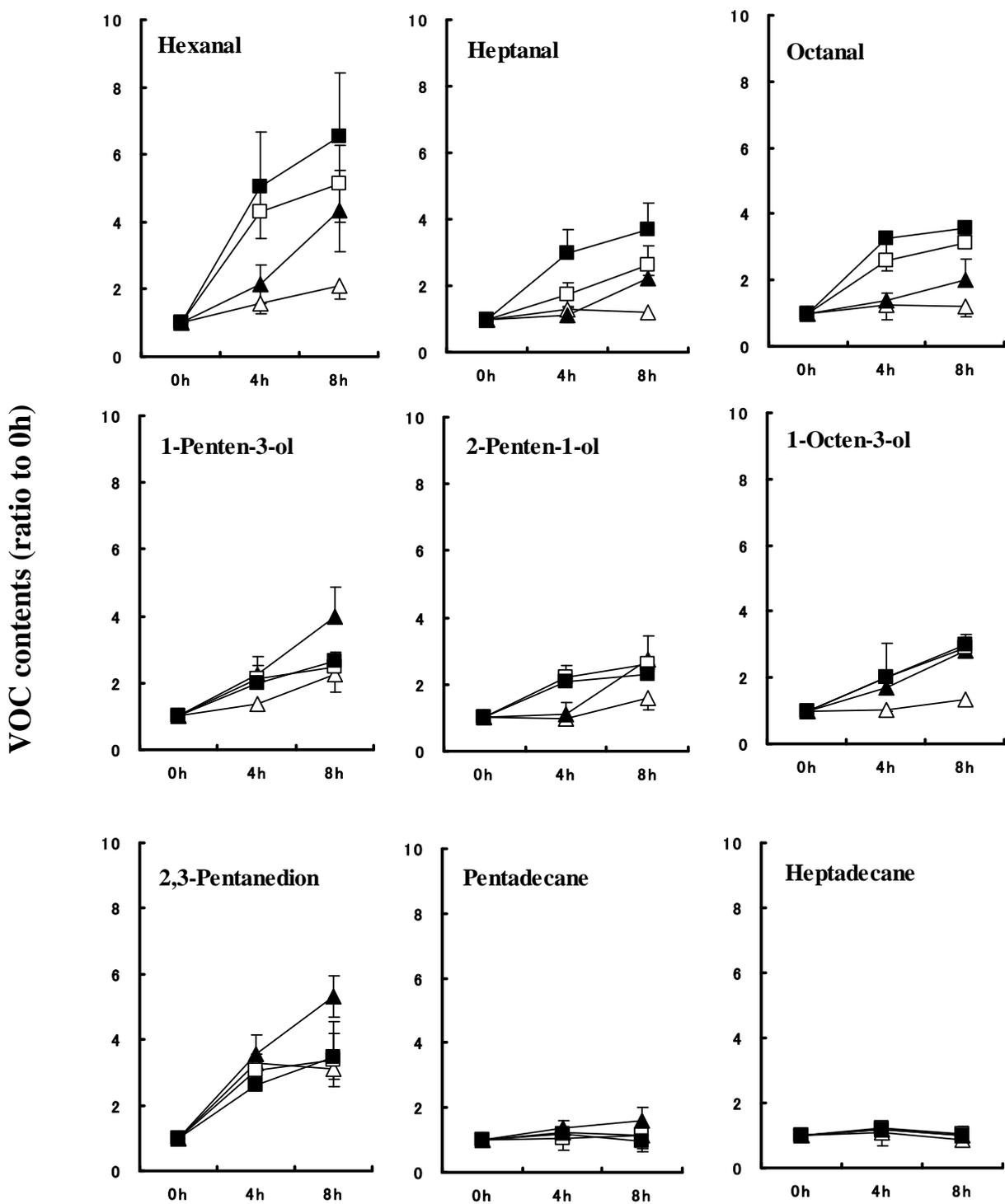


Fig. 3-1-1 Changes in main volatile flavor compounds in dark and ordinary muscles of skipjack tuna during storage at 5°C and 25°C.

■,dark muscle(25°C); □,dark muscle(5°C); ▲,ordinary muscle(25°C); △:ordinary muscle(5°C).

Bars represent means  $\pm$  standard deviations ( $n = 4$ ).

Reproduced from Hiratsuka et al. Nippon Suisan Gakkaishi, 77(6): 1089-1094 (2011)

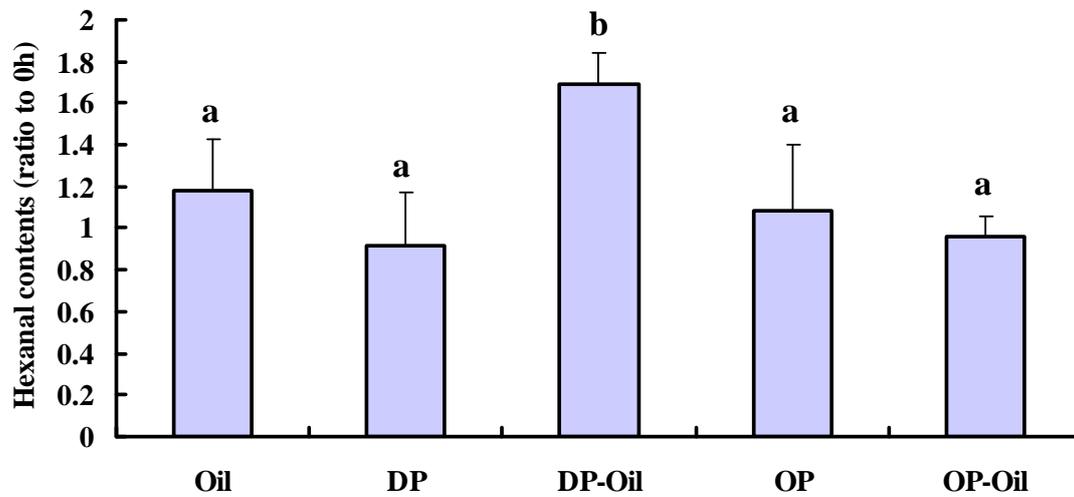


Fig. 3-1-2 Hexanal contents generated from the protein and oil mixtures after reaction for 4 hours 25°C.

DP, Dark muscle protein; OP, Ordinary muscle protein.

Bars represent means  $\pm$  standard deviations ( $n = 4$ ). Different letters indicate significant differences (Tukey's HSD,  $p < 0.05$ ).

Reproduced from Hiratsuka et al. Nippon Suisan Gakkaishi, 77(6): 1089-1094 (2011)

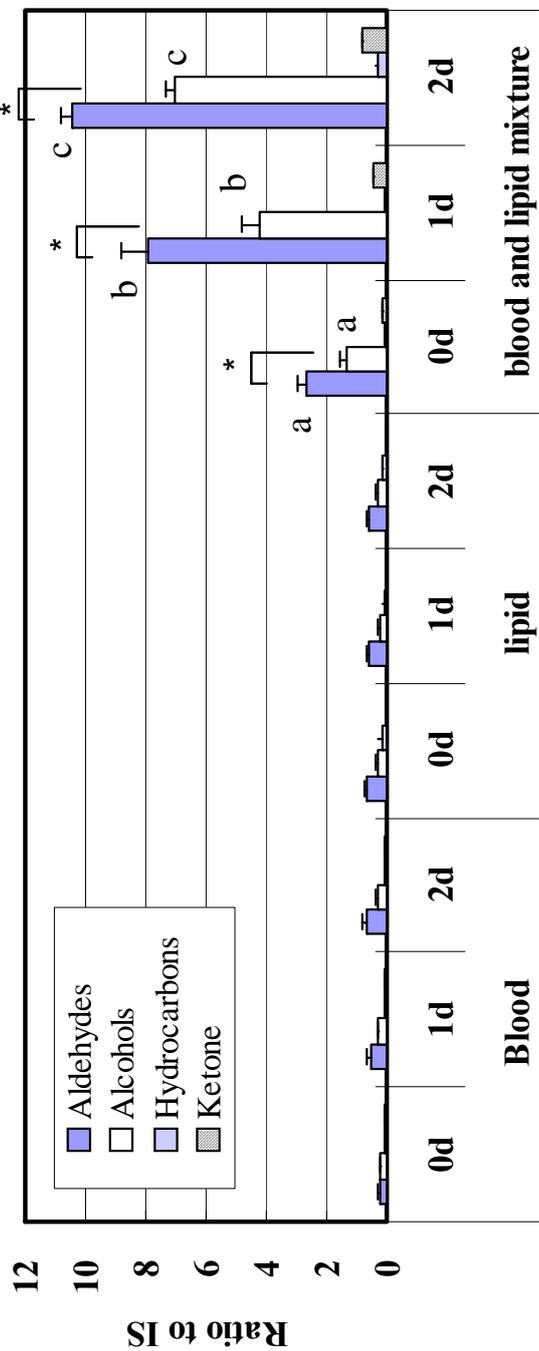


Fig. 3-2-1 Changes of volatile flavor compound contents from the blood and lipid mixtures during storage for 2 days at 5°C.

Bars represent means  $\pm$  standard deviations ( $n = 4$ ). Different letters in the same component indicate significant differences (Tukey's HSD,  $p < 0.05$ ). Asterisks (\*) indicate significant differences between the aldehydes and alcohols (Student's  $t$ -test,  $p < 0.05$ ).

Reproduced from Hiratsuka et al. Nippon Suisan Gakkaishi, 82(1): 28-32 (2016)

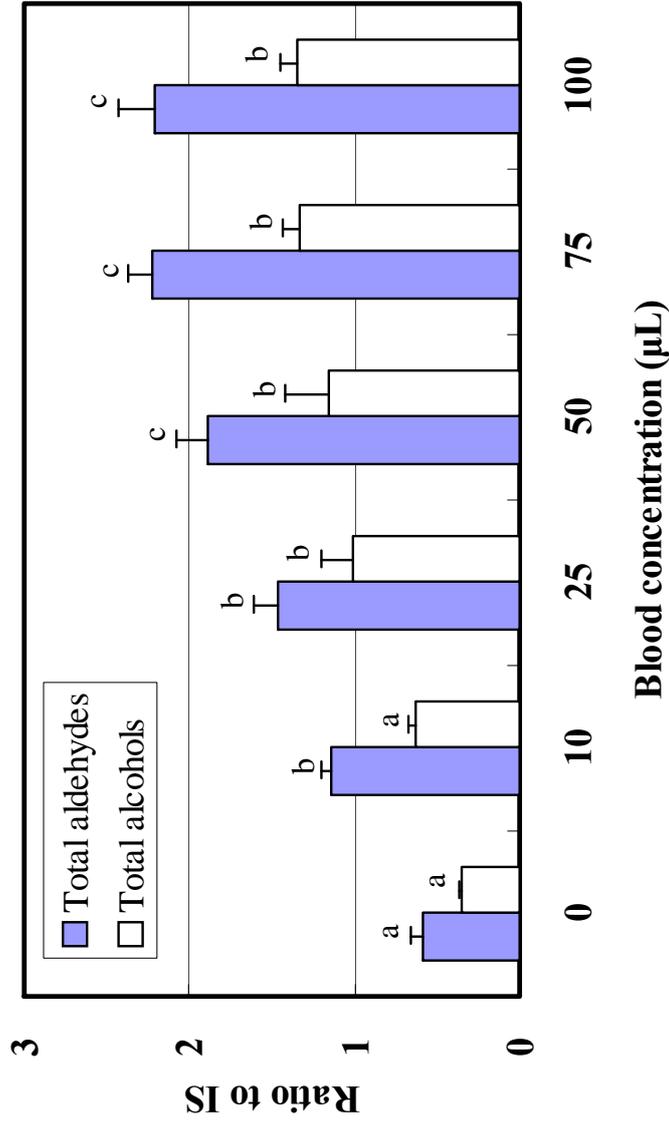


Fig. 3-2-2 The contents of total aldehydes and alcohols generated from the lipid(100mg) and blood(0-100 μ L) mixtures.

Bars represent means ± standard deviations ( $n = 4$ ). Different letters in the same component indicate significant differences (Tukey's HSD,  $p < 0.05$ ).  
 Reproduced from Hiratsuka et al. Nippon Suisan Gakkaishi, 82(1): 28-32 (2016).

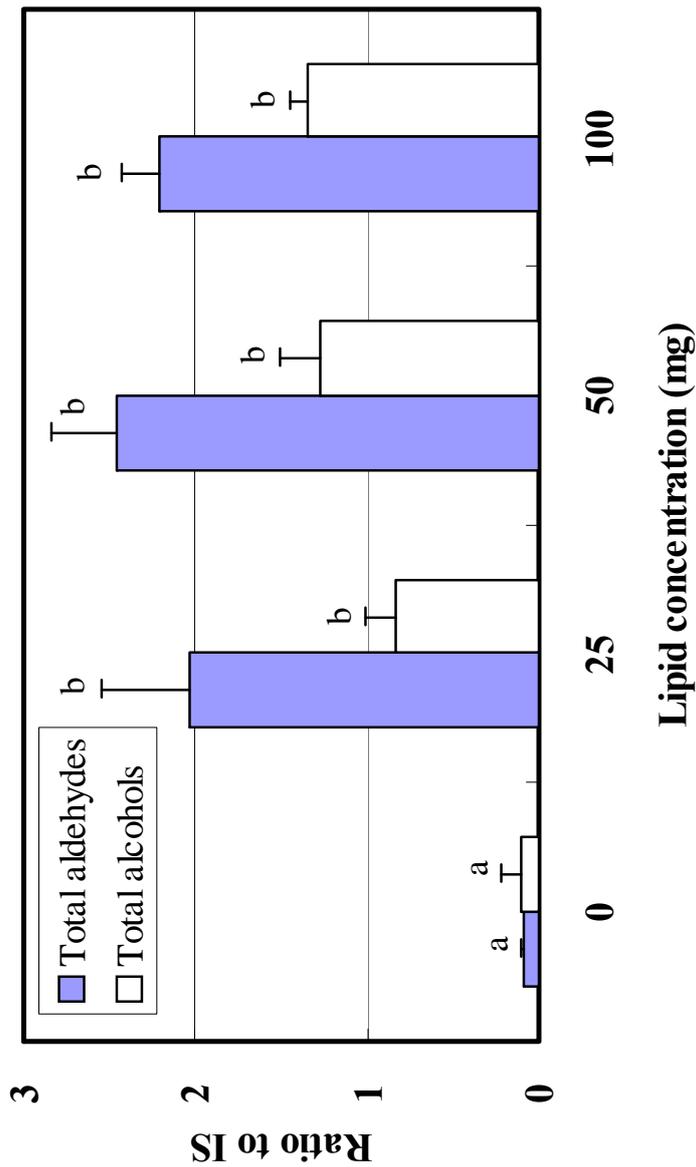


Fig. 3-2-3 The contents of total aldehydes and alcohols generated from the blood(100  $\mu$  L) and lipid(0-100mg) mixtures.

Bars represent means  $\pm$  standard deviations ( $n = 4$ ). Different letters in the same component indicate significant differences (Tukey's HSD,  $p < 0.05$ ).

Reproduced from Hiratsuka et al. Nippon Suisan Gakkaishi, 82(1): 28-32 (2016)

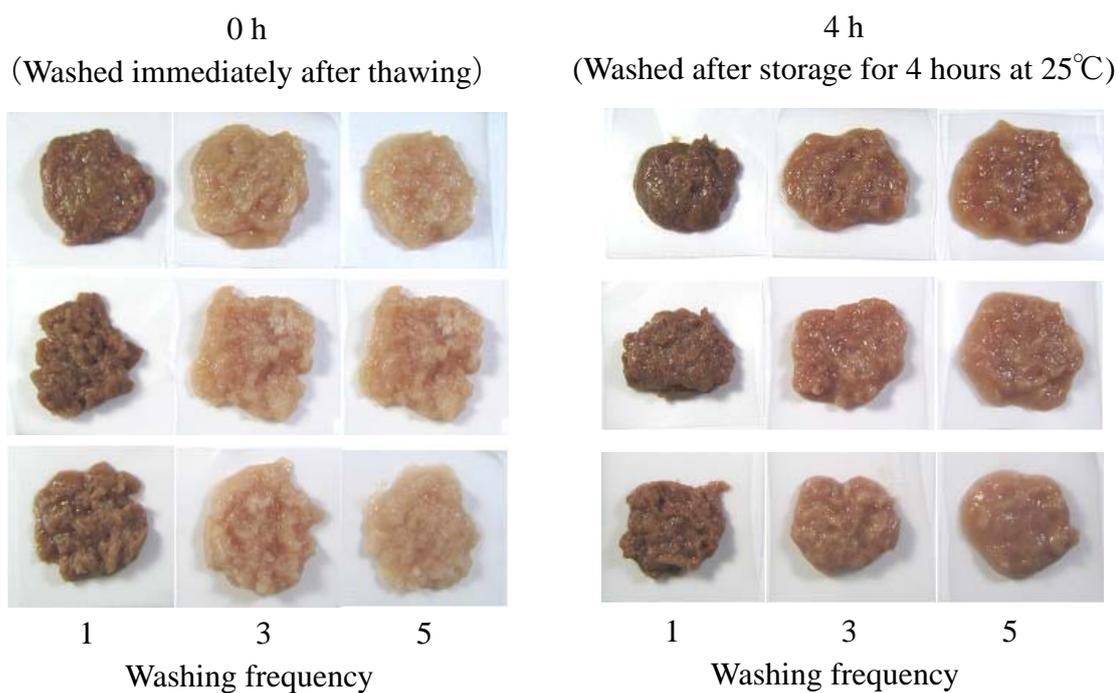


Fig. 3-3-1 Changes in the appearance of washed meat prepared from the dark muscles of skipjack tuna. Each row indicates washed meat prepared from the same fish.

Reproduced from Koizumi et al. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 78(4): 736-741 (2012)

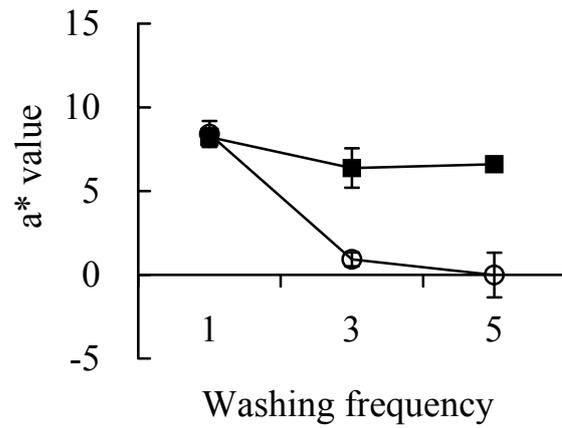


Fig. 3-3-2 Changes in the a\* value of washed meat prepared from the dark muscles of skipjack tuna.

○, 0 h (washed immediately); ■, 4 h (washed after storage for 4 hours at 25°C)

Bars represent means  $\pm$  standard deviations ( $n = 3$ ).

Reproduced from Koizumi et al. Nippon Suisan Gakkaishi, 78(4): 736-741 (2012)

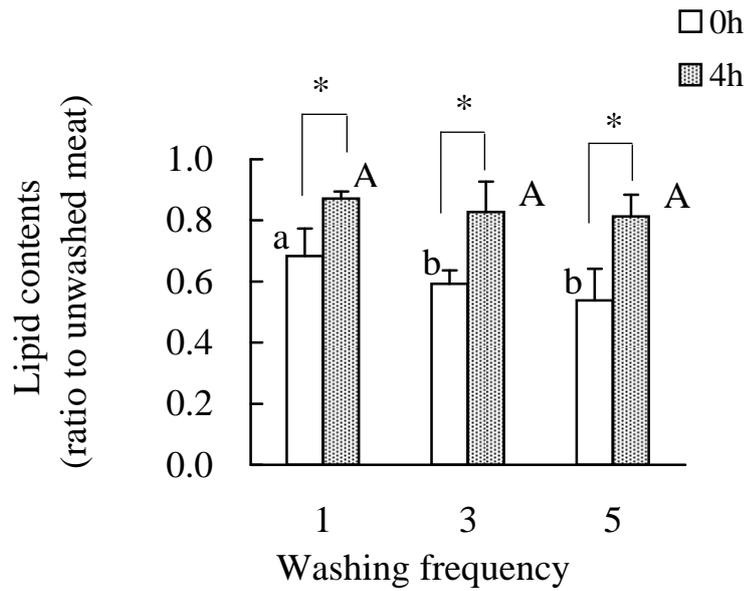


Fig. 3-3-3 Changes in lipid contents (g/100g dry weight) in washed meat prepared from the dark muscles of skipjack tuna.

Bars represent means  $\pm$  standard deviations ( $n = 3$ ). Different letters in the same storage condition indicate significant differences (two-way ANOVA,  $p < 0.05$ ). Asterisks(\*) indicate significant differences between 0h and 4 h in the same washing frequency (two-way ANOVA,  $p < 0.05$ ). Reproduced from Koizumi et al. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 78(4): 736-741 (2012)

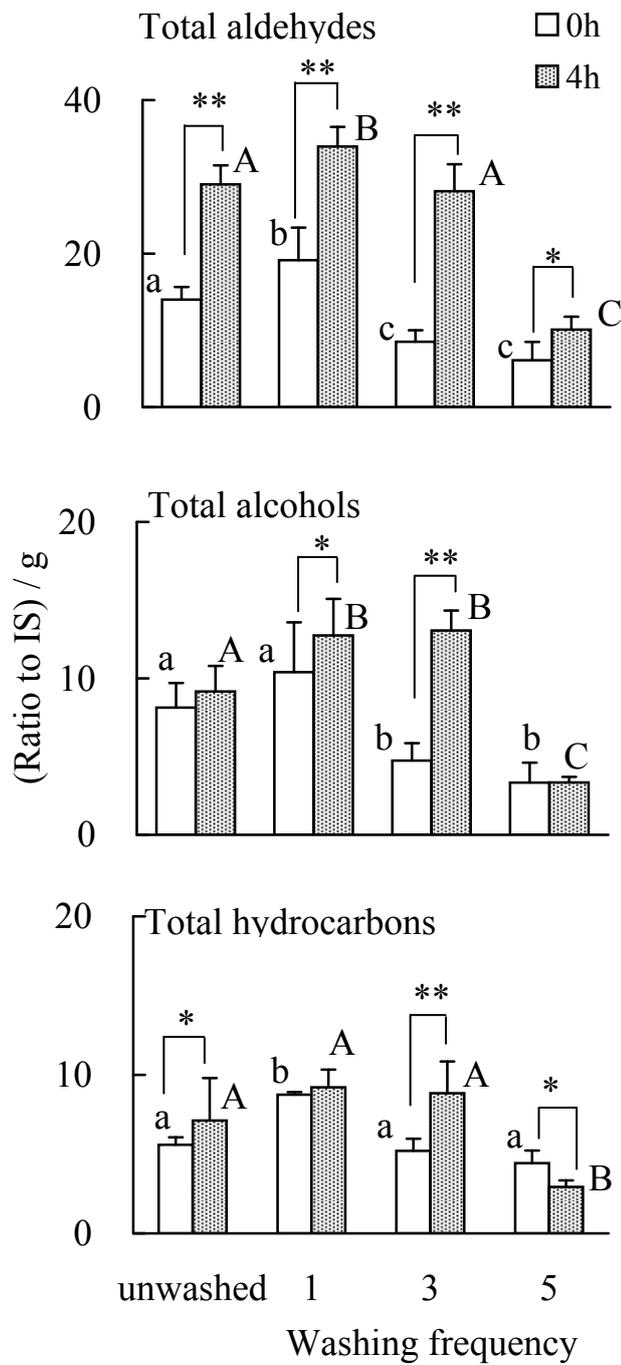


Fig. 3-3-4 Changes in the contents of volatile flavor compounds in washed meat prepared from the dark muscles of skipjack tuna.

Bars represent means  $\pm$  standard deviations ( $n = 3$ ). Different letters in the same storage condition indicate significant differences (two-way ANOVA,  $p < 0.05$ ). Asterisks(\*) indicate significant differences between 0h and 4h in the same washing frequency (two-way ANOVA, \*\* $p < 0.01$ , \* $p < 0.05$ ).

Reproduced from Koizumi et al. Nippon Suisan Gakkaishi, 78(4): 736-741 (2012)

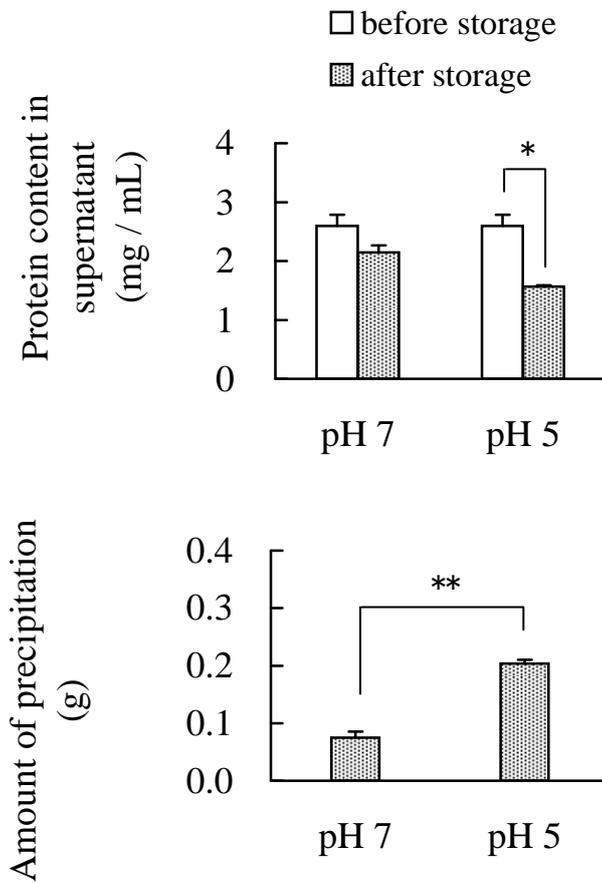


Fig. 3-3-5 Influence of pH on insolubilization of sarcoplasmic proteins in the dark muscles of skipjack tuna.

Supernatants and precipitates were prepared from sarcoplasmic proteins by centrifugation ( $7,500 \times g$ , 20 min.) after storage for 4 hours at  $25^{\circ}\text{C}$ . Asterisks indicate significant differences (two-way ANOVA,  $**p < 0.01$ ,  $*p < 0.05$ ).

Reproduced from Koizumi et al. Nippon Suisan Gakkaishi, 78(4): 736-741 (2012)

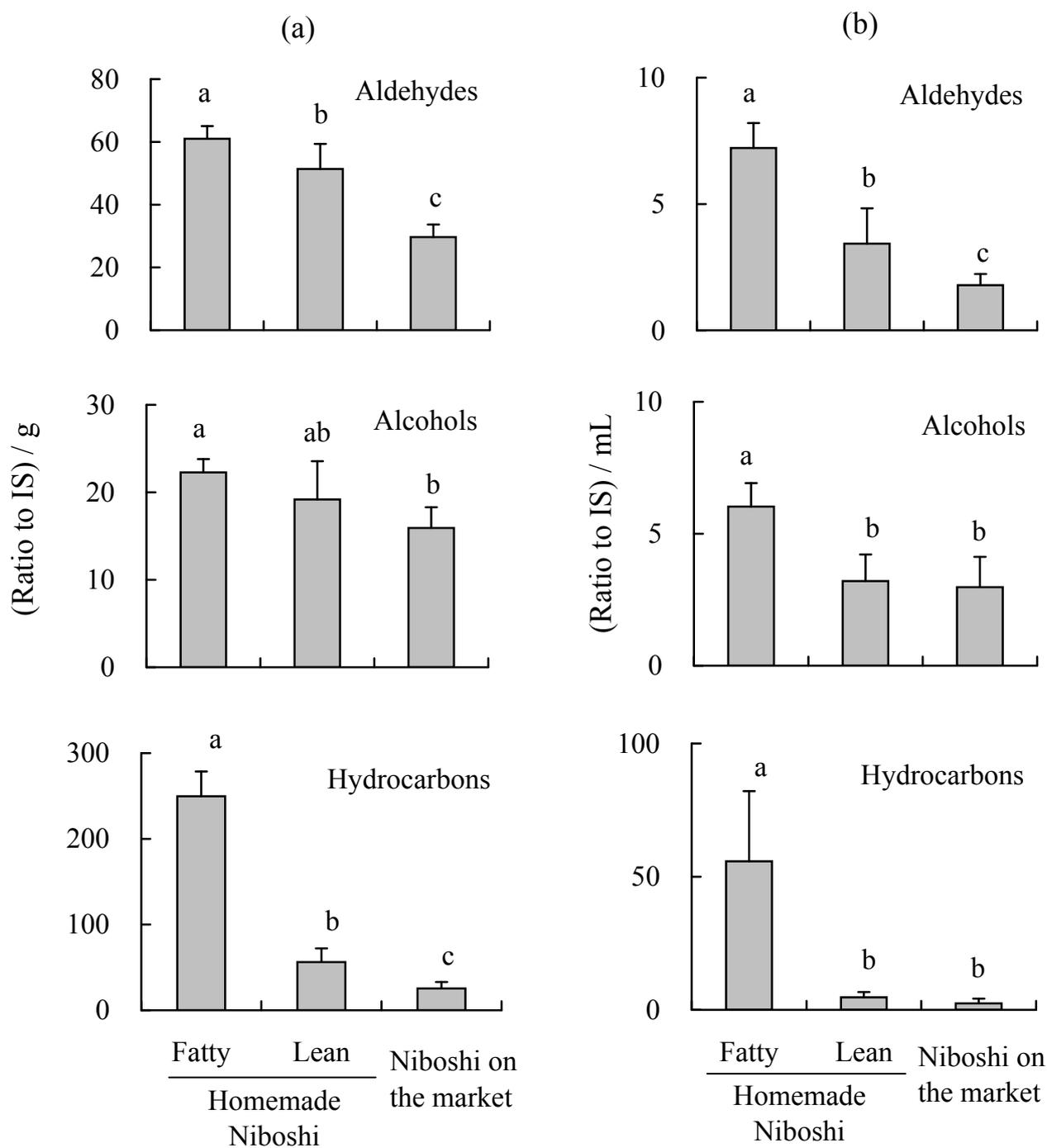


Fig. 3-4-1 The amount of volatile flavor compounds in Niboshi (a) and its extract (b).

Bars represent means  $\pm$  standard deviations ( $n = 9$ ). Different letters indicate significant differences (Tukey's HSD,  $p < 0.05$ ).

Reproduced from Koizumi K, Hiratsuka S. Nippon Suisan Gakkaishi, 83(2): 199-206 (2017)

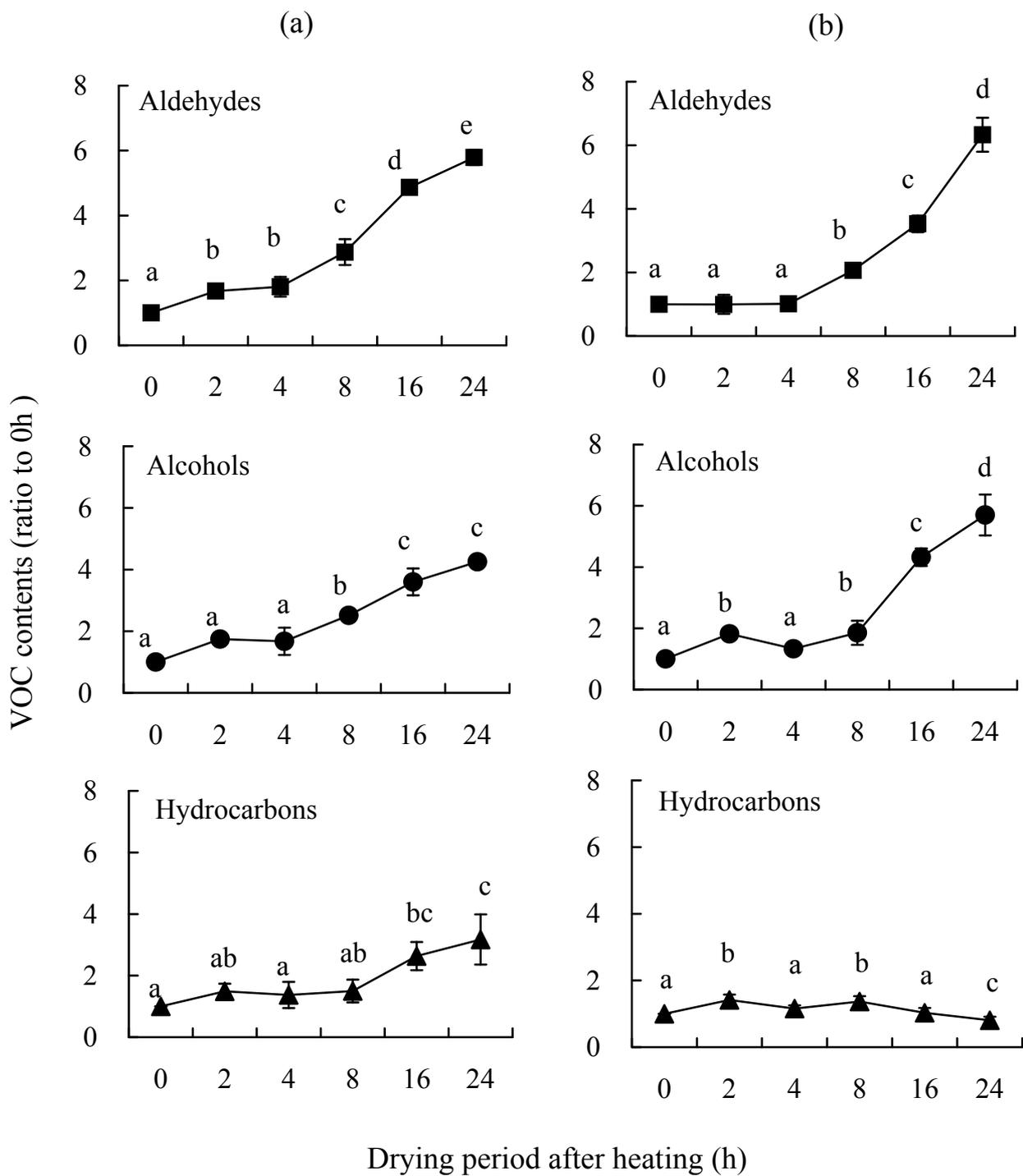


Fig. 3-4-2 Changes in the amount of volatile flavor compounds in meat dried at 25°C (a) and the extract obtained from the dried meat (b).

Bars represent means  $\pm$  standard deviations (a:  $n = 3$ , b:  $n = 9$ ). Different letters indicate significant differences (Tukey's HSD,  $p < 0.05$ ).

Reproduced from Koizumi K, Hiratsuka S. Nippon Suisan Gakkaishi, 83(2): 199-206 (2017)

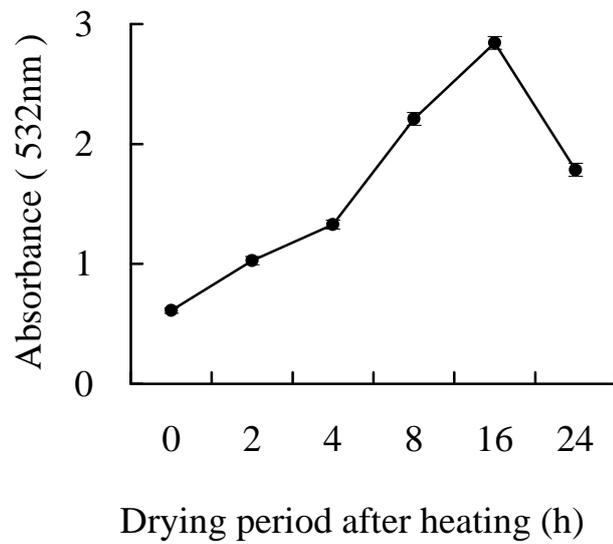


Fig. 3-4-3 Changes in the amount of thiobarbituric acid value (TBA value) in the extract obtained from the meat dried at 25°C.

Bars represent means  $\pm$  standard deviations ( $n = 6$ ).

Reproduced from Koizumi K, Hiratsuka S. Nippon Suisan Gakkaishi, 83(2): 199-206 (2017)

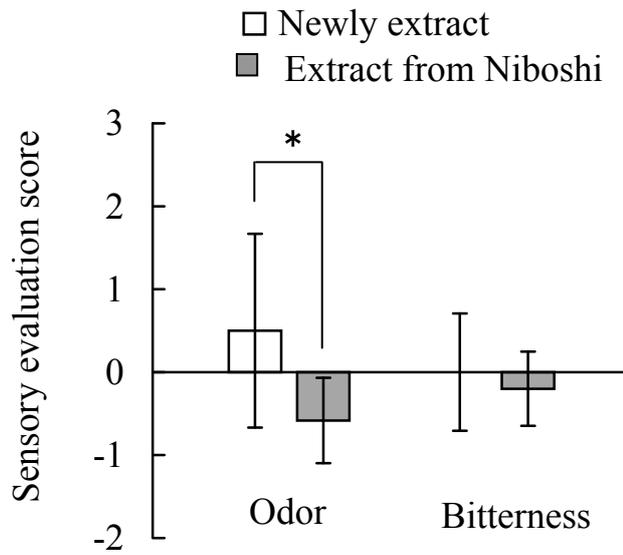


Fig. 3-4-4 The results of sensory evaluation for soup stocks extracted from Niboshi and produced by the newly developed method.

Bars represent means  $\pm$  standard deviations ( $n = 12$ ). Asterisk(\*) indicates a significant difference (Student's  $t$ -test,  $p < 0.05$ ).

Reproduced from Koizumi K, Hiratsuka S. Nippon Suisan Gakkaishi, 83(2): 199-206 (2017)

Table 1-1-1  $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{15}\text{N}$  values of Shirasuboshi for 3 groups classified by cluster analysis

Group	n	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^{15}\text{N}$
I	61	$-18.9 \pm 0.6^a$	$10.1 \pm 1.1^a$
II	19	$-16.9 \pm 0.2^b$	$10.2 \pm 0.4^a$
III	20	$-17.2 \pm 0.4^b$	$12.5 \pm 0.6^b$

Values are means  $\pm$  standard deviations. Different letters in the same column indicate significant differences (Scheffe test,  $P < 0.001$ ).

Table 1-2-1 Number and range in body length of raw Sakuraebi  
( *Lucensoergia lucens* ) from Suruga Bay and Taiwan

year	season	Suruga Bay				Taiwan			
		L	N	Body length ( mm )		L	N	Body length ( mm )	
				Mean	Range			Mean	Range
2006	—	—	—	—	—	1	28	34.7	31.0 - 40.0
2007	Spring	1	15	40.3	37.0 - 46.0	1	40	32.9	30.0 - 37.0
	Autumn	1	15						
2008	Autumn	11	80	41.4	37.5 - 44.0	—	—	—	—
2009	Spring	3	30	42.2	39.0 - 46.5	—	—	—	—
	Autumn	3	30						
2010	Spring	2	6	35.8	32.0 - 38.5	—	—	—	—

Table 1-2-2 Number and range in body weight of Suboshi and Kamaage from Suruga Bay and Taiwan in 2007

	Suruga Bay				Taiwan			
	L	N	Body weight ( g )		L	N	Body weight ( g )	
			Mean	Range			Mean	Range
Suboshi <sup>a</sup>	3	40	0.11	0.07 - 0.19	3	40	0.90	0.06 - 0.14
Kamaage <sup>b</sup>	1	20	0.30	0.11 - 0.54	2	25	0.25	0.16 - 0.44

a, sun-dried; b, boiled.

Table 1-2-3  $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{15}\text{N}$  values of raw Sakuraebi, Suboshi and Kamaage

	(‰)	
	Raw Sakuraebi	
	$\delta^{13}\text{C}$ *	$\delta^{15}\text{N}$ *
SB (n = 176)	$-17.3 \pm 0.3$	$9.7 \pm 0.8$
TW (n = 68)	$-17.6 \pm 0.6$	$7.8 \pm 0.5$
	Suboshi <sup>a</sup>	
	$\delta^{13}\text{C}$ *	$\delta^{15}\text{N}$ *
SB (n = 40)	$-17.5 \pm 0.3$	$8.8 \pm 0.4$
TW (n = 40)	$-17.9 \pm 0.3$	$8.0 \pm 0.4$
	Kamaage <sup>b</sup>	
	$\delta^{13}\text{C}$ *	$\delta^{15}\text{N}$ *
SB (n = 20)	$-17.7 \pm 0.3$	$9.5 \pm 0.2$
TW (n = 25)	$-18.2 \pm 0.2$	$7.9 \pm 0.3$

a, sun-dried; b, boiled; SB, Suruga Bay; TW, Taiwan. Asterisks(\*) indicate significant differences between Suruga Bay and Taiwan (Student's *t*-test,  $p < 0.001$ ).

Table 2-1-1 Profiles of ocellate puffer for analysis

Sample name	Sampling month (2006)	Sampling place	Sample number	Body length (cm) <sup>a</sup>	Body weight (g) <sup>a</sup>	Lipid content (g/100 g tissue)		
						TL <sup>a</sup>	NL	PL
Wild 1 (W1)	January	Ise Bay	30	25.3 ± 1.8	348.2 ± 74.7	1.01 ± 0.05		
Wild 2 (W2)	August	Suruga Bay and Enshu Nada	10	32.8 ± 1.0	669.1 ± 100.3	0.87 ± 0.04	0.29 ± 0.02 <sup>b</sup>	0.63 ± 0.06 <sup>b</sup>
Wild 3 (W3)	October	Suruga Bay and Enshu Nada	10	33.2 ± 0.7	665.1 ± 44.2	0.92 ± 0.03		68.5 <sup>c</sup>
Cultured 1 (C1)	May	Nagasaki City	10	29.7 ± 0.7	488.4 ± 28.2	0.96 ± 0.04		
Cultured 2 (C2)	September	Sikamachi-cho	10	26.9 ± 1.4	450.7 ± 72.7	0.92 ± 0.04		
Cultured 3 (C3)	October	Hirado City	5	26.4 ± 1.4	372.0 ± 77.8	0.84 ± 0.03	0.27 ± 0.02 <sup>b</sup>	0.64 ± 0.05 <sup>b</sup>
Cultured 4 (C4)	November	Sasebo City	5	29.0 ± 0.7	435.6 ± 55.1	0.85 ± 0.04		70.3 <sup>c</sup>
Cultured 5 (C5)	December	Matuura City Hoshika-cho	10	30.4 ± 1.6	596.2 ± 95.9	0.85 ± 0.03		
Cultured 6 (C6)	January	Matuura City	10	28.0 ± 1.2	539.4 ± 55.4	0.91 ± 0.03		
Cultured in China (C-C)	October	Shimonoseki City	10	29.9 ± 0.8	557.4 ± 17.3	0.92 ± 0.07	0.26 ± 0.04 <sup>a</sup>	0.65 ± 0.04 <sup>a</sup>

TL, total lipids; NL, nonpolar lipids; PL, polar lipids

<sup>a</sup> Values are means ± standard deviations

<sup>b</sup> Values are means ± standard deviations of 10 of the 50 extracted samples

<sup>c</sup> Proportions of PL in TL: PL content / TL content × 100(%)

Reproduced from Koizumi K, Hiratsuka S. *Fisheries Science*, 75(5): 1323-1328 (2009)

Table 2-1-2 Proximate and fatty acid compositions of the culture diets

Component	Sample *					
	C2 Dry pellet	C3 Moist pellet	C5 Moist pellet	C6 Moist pellet		
Crude protein (g/100g dry weight)	54.6	57.2	59.4	58.2		
Lipid (g/100g dry weight)	16.2	24.2	14.9	16.3		
Ash (g/100g dry weight)	0.2	0.1	0.2	0.1		
Fatty acid (wt %)						
C 14:0	7.1	6.6	6.1	6.3		
C 15:0	0.6	0.6	0.4	0.4		
C 16:0	20.0	24.6	23.2	23.1		
C 18:0	3.6	4.5	3.2	3.4		
C 16:1n-7	6.9	9.1	7.9	7.9		
C 18:1n-9	13.4	12.1	11.4	12.2		
C 18:1n-7	3.3	3.0	4.5	3.7		
C 18:2n-6	4.8	1.3	2.3	2.1		
C 20:4n-6	1.0	1.0	0.9	0.8		
C 20:5n-3	9.3	10.0	13.0	13.4		
C 22:5n-6	0.0	0.0	0.0	0.0		
C 22:5n-3	1.3	1.1	0.7	0.9		
C 22:6n-3	12.5	13.5	12.9	12.1		
Saturates	31.4	36.3	32.9	33.2		
Monoenes	23.6	24.1	23.8	23.7		
Polyenes	28.9	27.0	29.8	29.3		

\* See Table 1  
 Reproduced from Koizumi K, Hiratsuka S. *Fisheries Science*, 75(5): 1323-1328 (2009)

Table 2-1-3 Fatty acid compositions of total lipid in the muscle of ocellate puffer

Fatty acid (wt %)	Wild (n = 50)	Cultured	
		Japan (n = 50)	China (n = 10)
C 14:0	0.8 ± 0.3 <sup>a</sup>	0.8 ± 0.2 <sup>a</sup>	0.1 ± 0.3 <sup>b</sup>
C 15:0	0.3 ± 0.2 <sup>a</sup>	0.1 ± 0.1 <sup>b</sup>	0.1 ± 0.1 <sup>b</sup>
C 16:0	22.0 ± 1.2 <sup>a</sup>	24.7 ± 2.2 <sup>b</sup>	24.7 ± 1.0 <sup>b</sup>
C 18:0	7.7 ± 1.1 <sup>ab</sup>	8.2 ± 0.6 <sup>a</sup>	7.3 ± 0.6 <sup>b</sup>
C 16:1n-7	2.2 ± 0.5 <sup>a</sup>	1.7 ± 0.4 <sup>b</sup>	1.2 ± 0.1 <sup>c</sup>
C 18:1n-9	9.3 ± 0.9 <sup>a</sup>	11.4 ± 1.0 <sup>b</sup>	10.0 ± 0.5 <sup>a</sup>
C 18:1n-7	3.2 ± 0.3	3.2 ± 0.5	2.9 ± 0.2
C 18:2n-6	0.7 ± 0.2 <sup>a</sup>	3.7 ± 2.3 <sup>b</sup>	1.0 ± 0.1 <sup>a</sup>
C 20:4n-6	4.9 ± 0.9 <sup>a</sup>	3.1 ± 0.5 <sup>b</sup>	1.9 ± 0.2 <sup>c</sup>
C 20:5n-3	7.8 ± 2.1	7.1 ± 1.2	6.5 ± 0.4
C 22:5n-6	1.0 ± 0.3 <sup>a</sup>	0.5 ± 0.4 <sup>b</sup>	0.3 ± 0.3 <sup>b</sup>
C 22:5n-3	3.8 ± 1.0 <sup>a</sup>	2.5 ± 0.5 <sup>b</sup>	1.9 ± 0.2 <sup>b</sup>
C 22:6n-3	29.5 ± 2.4 <sup>a</sup>	25.8 ± 2.4 <sup>b</sup>	36.0 ± 0.9 <sup>c</sup>
C 16:0DMA	2.9 ± 0.7 <sup>a</sup>	3.9 ± 0.8 <sup>b</sup>	2.6 ± 0.2 <sup>a</sup>
C 18:0DMA	0.9 ± 0.1 <sup>a</sup>	1.0 ± 0.2 <sup>a</sup>	0.7 ± 0.1 <sup>b</sup>
Saturates	34.7 ± 2.1 <sup>a</sup>	38.7 ± 2.7 <sup>b</sup>	35.5 ± 1.2 <sup>a</sup>
Monoenes	14.7 ± 1.1 <sup>a</sup>	16.2 ± 1.6 <sup>b</sup>	14.0 ± 0.6 <sup>a</sup>
Polyenes	47.7 ± 2.1 <sup>a</sup>	42.8 ± 3.9 <sup>b</sup>	47.6 ± 1.1 <sup>a</sup>
Others	3.0 ± 1.1	2.3 ± 1.1	2.9 ± 0.6
n-3/n-6	6.4 ± 1.7	5.3 ± 1.7	13.8 ± 1.9

DMA, dimethylacetal

Values are means ± standard deviations. Different letters in the same row indicate significant differences (Tukey's HSD,  $p < 0.01$ ).

Reproduced from Koizumi K, Hiratsuka S. *Fisheries Science*, 75(5): 1323-1328 (2009)

Table 2-1-4 Fatty acid compositions of total lipid in cultured ocellate puffer from different localities

Component	Sample *					
	C1	C2	C3	C4	C5	C6
Lipid content (g/100 g tissue)	0.96	0.92	0.84	0.85	0.85	0.91
Fatty acid (wt %)						
C 14:0	0.6 ± 0.1	0.8 ± 0.2	0.6 ± 0.4	0.7 ± 0.1	0.9 ± 0.1	1.0 ± 0.2
C 15:0	0.0 ± 0.1	0.0 ± 0.0	0.1 ± 0.1	0.1 ± 0.1	0.1 ± 0.1	0.1 ± 0.1
C 16:0	21.9 ± 1.7 <sup>a</sup>	24.1 ± 1.2 <sup>ac</sup>	26.5 ± 0.4 <sup>bc</sup>	25.3 ± 1.3 <sup>abc</sup>	27.3 ± 1.4 <sup>b</sup>	24.5 ± 1.2 <sup>abc</sup>
C 18:0	8.8 ± 0.7	8.2 ± 0.4	7.9 ± 0.6	8.2 ± 0.4	8.1 ± 0.6	8.0 ± 0.4
C 16:1n-7	1.3 ± 0.2 <sup>ac</sup>	1.2 ± 0.2 <sup>a</sup>	1.9 ± 0.4 <sup>abc</sup>	2.1 ± 0.2 <sup>b</sup>	1.9 ± 0.2 <sup>bc</sup>	1.9 ± 0.4 <sup>abc</sup>
C 18:1n-9	10.2 ± 0.7 <sup>a</sup>	11.4 ± 0.4 <sup>ab</sup>	12.1 ± 0.4 <sup>bc</sup>	12.0 ± 1.1 <sup>bc</sup>	12.4 ± 0.6 <sup>b</sup>	10.8 ± 0.6 <sup>ac</sup>
C 18:1n-7	2.9 ± 0.4 <sup>a</sup>	3.0 ± 0.2 <sup>a</sup>	3.0 ± 0.2 <sup>ac</sup>	3.7 ± 0.2 <sup>bc</sup>	3.9 ± 0.3 <sup>b</sup>	2.9 ± 0.3 <sup>a</sup>
C 18:2n-6	7.3 ± 0.4 <sup>a</sup>	5.5 ± 0.4 <sup>b</sup>	1.8 ± 0.1 <sup>c</sup>	2.1 ± 0.3 <sup>c</sup>	1.6 ± 0.1 <sup>c</sup>	2.4 ± 0.4 <sup>c</sup>
C 20:4n-6	3.3 ± 0.2 <sup>ab</sup>	2.7 ± 0.1 <sup>ac</sup>	3.4 ± 0.4 <sup>ab</sup>	3.7 ± 0.6 <sup>b</sup>	3.5 ± 0.2 <sup>b</sup>	2.4 ± 0.2 <sup>c</sup>
C 20:5n-3	5.5 ± 0.3 <sup>a</sup>	7.3 ± 0.4 <sup>bc</sup>	7.0 ± 0.6 <sup>abc</sup>	5.9 ± 0.9 <sup>ab</sup>	8.2 ± 1.1 <sup>c</sup>	8.1 ± 0.6 <sup>c</sup>
C 22:5n-6	0.7 ± 0.4	0.6 ± 0.2	0.3 ± 0.4	1.0 ± 0.1	0.2 ± 0.3	0.4 ± 0.3
C 22:5n-3	3.2 ± 0.4 <sup>a</sup>	3.0 ± 0.2 <sup>a</sup>	2.3 ± 0.1 <sup>b</sup>	1.9 ± 0.1 <sup>b</sup>	2.0 ± 0.1 <sup>b</sup>	2.4 ± 0.2 <sup>b</sup>
C 22:6n-3	27.6 ± 0.8 <sup>ab</sup>	25.3 ± 1.2 <sup>a</sup>	25.9 ± 1.4 <sup>abc</sup>	24.6 ± 1.7 <sup>ac</sup>	22.5 ± 1.5 <sup>c</sup>	28.4 ± 1.1 <sup>b</sup>

Values are means ± standard deviations. Different letters in the same row indicate significant differences (Scheffe test,  $p < 0.001$ ).

\*See Table 1

Reproduced from Koizumi K, Hiratsuka S. *Fisheries Science*, 75(5): 1323-1328 (2009)

Table 2-2-1 Locality of capture and biological data of the three myctophids and *Katsuwonus pelamis*

	Date	Locality	Sample number	Standard length (mm)	Body weight (g)
<i>Diaphus watasei</i>	October 13, 2011	Enshu Nada	3	8.6 ± 0.7	7.9 ± 2.1
	November 30, 2011	Suruga Bay	4	10.6 ± 1.3	15.2 ± 5.6
	March 22, 2012	Suruga Bay	4	12.8 ± 0.7	26.6 ± 4.1
	April 24, 2012	Suruga Bay	4	11.0 ± 0.7	19.4 ± 3.4
	June 5, 2012	Suruga Bay	2	11.8 ± 0.9	23.6 ± 5.8
<i>Diaphus suborbitalis</i>	April 24, 2012	Suruga Bay	4	4.9 ± 0.4	1.2 ± 0.3
	September 10, 2012	Suruga Bay	4	5.1 ± 0.3	2.2 ± 0.6
	October 24, 2012	Suruga Bay	4	5.7 ± 0.2	2.5 ± 0.3
<i>Benthosema pterotum</i>	June 5, 2012	Suruga Bay	3	3.9 ± 0.3	0.9 ± 0.1
	October 24, 2012	Suruga Bay	3	3.3 ± 0.5	0.5 ± 0.2
	November 28, 2012	Suruga Bay	4	3.6 ± 0.3	0.7 ± 0.2
<i>Katsuwonus pelamis</i>	September 20, 2011	Off Sanriku coast	3	549.4 ± 3.0	3,552.0 ± 102.5

Values are means ± standard deviations ( $n = 2-4$ ).

Table 2-2-2 Lipid classes of the three myctophids and *Katsuwonus pelamis*

Sample number	Lipid content (g/100g wet)	Wax esters <sup>b</sup>	Diacylglyceryl esters	TAG <sup>a</sup>	Sterols	Diacyl glycerols	Free fatty acids	PE <sup>a,b</sup>	Other minor phospholipids	PC <sup>a</sup>
<i>Diaphus watasei</i>										
3	2.7 ± 0.6	0.9 ± 0.1		39.0 ± 10.2	9.1 ± 0.2	3.2 ± 0.1	18.2 ± 4.2	29.7 ± 5.9		
4	4.3 ± 1.7	0.5 ± 0.4		50.9 ± 13.2	7.5 ± 1.9	1.8 ± 0.3	19.7 ± 7.4	19.5 ± 3.9		
4	13.1 ± 2.4	0.1 ± 0.1		79.8 ± 2.6	3.3 ± 0.6	1.7 ± 0.2	2.1 ± 1.3	13.0 ± 0.8		
4	7.5 ± 1.9	0.2 ± 0.1		71.1 ± 3.8	4.1 ± 0.7	2.0 ± 0.2	5.3 ± 1.3	17.3 ± 1.9		
2	11.4 ± 1.5	0.0 ± 0.0		82.4 ± 0.1	2.2 ± 0.2	0.2 ± 0.0	2.8 ± 0.3	12.3 ± 0.4		
<i>Diaphus suborbitalis</i>										
4	4.3 ± 0.4	0.3 ± 0.1		54.7 ± 1.7	8.3 ± 0.4	1.3 ± 0.0	10.4 ± 0.9	24.9 ± 1.0		
4	6.0 ± 0.3	0.3 ± 0.1		65.6 ± 2.1	7.0 ± 0.9	0.7 ± 0.0	6.7 ± 0.3	19.6 ± 1.4		
4	6.7 ± 0.7	1.8 ± 1.2		64.9 ± 2.3	6.3 ± 0.4	1.2 ± 0.1	10.7 ± 0.8	15.1 ± 0.5		
<i>Benthosema pterotum</i>										
3	9.2 ± 0.7	0.5 ± 0.1		68.8 ± 1.4	4.7 ± 0.1	1.8 ± 0.1	4.8 ± 0.5	19.4 ± 1.0		
3	4.1 ± 0.2	4.2 ± 1.5		50.7 ± 2.4	7.7 ± 0.3	1.9 ± 0.3	14.4 ± 1.1	21.1 ± 0.9		
4	3.6 ± 0.2	1.8 ± 0.9		50.2 ± 2.4	7.8 ± 0.4	2.5 ± 0.1	10.6 ± 0.6	27.1 ± 1.3		
<i>Katsuwonus pelamis</i>										
3	2.0 ± 0.2	0.0 ± 0.0	9.8 ± 1.9	61.3 ± 1.7	4.1 ± 0.4	2.6 ± 0.3	11.0 ± 1.5	4.0 ± 0.5	2.9 ± 0.2	4.3 ± 1.8

Values are means ± standard deviations ( $n = 2-4$ ).

a: TAG, PE, and PC means triacylglycerols, phosphatidylethanolamine, and phosphatidylcholine, respectively.

b: Wax ester fraction and PE fraction of the three myctophids contains all other neutral and polar lipids, respectively.

Table 2-2-3 Fatty acid composition of three myctophids species examined

	<i>Diaphus wattasei</i>				<i>Diaphus suborbitalis</i>				<i>Benthosema pterotum</i>				<i>Katsuoonus pelamis</i>
	October	November	March	April	June	April	September	October	June	October	November	Ordinary mussle	
<b>Total saturated</b>	<b>31.1 ± 1.7</b>	<b>28.6 ± 2.0</b>	<b>30.9 ± 0.8</b>	<b>33.4 ± 0.8</b>	<b>32.7 ± 0.0</b>	<b>30.2 ± 0.4</b>	<b>34.2 ± 0.3</b>	<b>34.5 ± 0.3</b>	<b>33.2 ± 0.3</b>	<b>37.0 ± 0.3</b>	<b>35.4 ± 0.2</b>	<b>31.0 ± 1.7</b>	
<b>C14:0</b>	2.5 ± 0.2	2.5 ± 0.4	2.8 ± 0.2	3.0 ± 0.1	3.0 ± 0.0	3.6 ± 0.1	3.6 ± 0.0	3.5 ± 0.1	4.6 ± 0.1	5.0 ± 0.1	4.7 ± 0.0	2.6 ± 0.4	
<b>C16:0</b>	21.0 ± 1.2	18.1 ± 1.6	20.3 ± 0.7	23.1 ± 0.4	21.9 ± 0.0	19.3 ± 0.3	22.2 ± 0.3	22.7 ± 0.2	20.0 ± 0.3	21.4 ± 0.3	20.1 ± 0.1	19.7 ± 1.1	
<b>C17:0</b>	0.5 ± 0.1	0.4 ± 0.0	0.3 ± 0.0	0.4 ± 0.0	0.3 ± 0.0	0.4 ± 0.0	0.7 ± 0.0	0.7 ± 0.0	0.7 ± 0.0	0.9 ± 0.0	1.0 ± 0.0	1.0 ± 0.0	
<b>C18:0</b>	5.0 ± 0.3	5.7 ± 0.2	6.0 ± 0.1	5.2 ± 0.4	6.0 ± 0.0	4.5 ± 0.2	5.1 ± 0.1	5.4 ± 0.1	4.6 ± 0.0	5.9 ± 0.1	5.9 ± 0.2	5.2 ± 0.2	
<b>Total monoenoic</b>	<b>39.1 ± 3.6</b>	<b>53.6 ± 2.6</b>	<b>52.9 ± 2.2</b>	<b>43.9 ± 2.4</b>	<b>49.2 ± 0.0</b>	<b>35.1 ± 1.4</b>	<b>38.0 ± 0.2</b>	<b>40.5 ± 0.3</b>	<b>27.6 ± 0.6</b>	<b>26.5 ± 0.4</b>	<b>22.9 ± 0.2</b>	<b>22.9 ± 1.0</b>	
<b>C16:1n-7</b>	4.2 ± 0.7	3.3 ± 0.7	3.6 ± 0.2	3.8 ± 0.2	4.2 ± 0.0	6.1 ± 0.2	6.9 ± 0.2	6.8 ± 0.1	7.4 ± 0.1	7.4 ± 0.1	6.6 ± 0.1	3.3 ± 0.4	
<b>C18:1n-9</b>	25.6 ± 2.9	36.5 ± 2.9	38.2 ± 2.7	30.3 ± 2.4	37.0 ± 0.0	11.9 ± 2.0	16.0 ± 0.5	18.1 ± 0.4	11.1 ± 0.4	10.6 ± 0.3	9.1 ± 0.1	13.5 ± 0.4	
<b>C18:1n-7</b>	2.7 ± 0.1	2.6 ± 0.5	2.8 ± 0.3	2.5 ± 0.2	2.7 ± 0.0	2.6 ± 0.0	2.7 ± 0.1	2.9 ± 0.0	3.2 ± 0.1	2.8 ± 0.1	2.4 ± 0.1	2.2 ± 0.1	
<b>C20:1n-9</b>	1.9 ± 0.4	3.4 ± 0.7	3.3 ± 0.4	2.7 ± 0.3	2.5 ± 0.0	3.8 ± 0.2	2.9 ± 0.1	3.2 ± 0.1	1.3 ± 0.1	1.1 ± 0.0	0.8 ± 0.1	0.6 ± 0.0	
<b>C22:1n-11</b>	1.2 ± 0.3	2.8 ± 1.3	1.5 ± 0.6	0.9 ± 0.2	0.5 ± 0.0	6.2 ± 0.4	5.3 ± 0.2	5.7 ± 0.2	1.5 ± 0.1	1.4 ± 0.1	0.9 ± 0.0	0.3 ± 0.0	
<b>C24:1n-9</b>	1.1 ± 0.0	1.2 ± 0.4	0.7 ± 0.1	1.0 ± 0.0	0.5 ± 0.0	1.5 ± 0.1	1.5 ± 0.1	1.4 ± 0.1	0.8 ± 0.0	1.1 ± 0.0	1.1 ± 0.1	0.6 ± 0.1	
<b>Total PUFA</b>	<b>26.4 ± 4.6</b>	<b>16.9 ± 3.1</b>	<b>15.9 ± 1.4</b>	<b>22.3 ± 2.8</b>	<b>17.6 ± 0.0</b>	<b>33.1 ± 1.6</b>	<b>26.7 ± 0.4</b>	<b>23.9 ± 0.4</b>	<b>37.7 ± 0.9</b>	<b>35.1 ± 0.2</b>	<b>39.9 ± 0.1</b>	<b>45.2 ± 2.7</b>	
<b>Total n-6 polyenoic</b>	<b>4.0 ± 0.4</b>	<b>2.7 ± 0.3</b>	<b>2.6 ± 0.1</b>	<b>2.7 ± 0.2</b>	<b>2.6 ± 0.0</b>	<b>3.4 ± 0.1</b>	<b>3.6 ± 0.1</b>	<b>3.6 ± 0.1</b>	<b>4.3 ± 0.1</b>	<b>5.4 ± 0.0</b>	<b>5.4 ± 0.1</b>	<b>5.3 ± 0.1</b>	
<b>C18:2n-6</b>	0.7 ± 0.0	0.7 ± 0.1	0.7 ± 0.1	0.6 ± 0.1	0.6 ± 0.0	0.5 ± 0.0	0.9 ± 0.0	0.9 ± 0.0	1.2 ± 0.0	1.3 ± 0.0	1.2 ± 0.0	1.3 ± 0.1	
<b>C20:4n-6</b>	1.8 ± 0.2	1.1 ± 0.2	0.9 ± 0.1	0.9 ± 0.1	1.0 ± 0.0	1.4 ± 0.0	1.4 ± 0.1	1.4 ± 0.1	1.5 ± 0.1	2.1 ± 0.1	2.2 ± 0.0	1.4 ± 0.0	
<b>C22:5n-6</b>	0.7 ± 0.1	0.4 ± 0.1	0.3 ± 0.0	0.3 ± 0.0	0.2 ± 0.0	0.3 ± 0.0	0.4 ± 0.0	0.4 ± 0.0	0.4 ± 0.0	0.9 ± 0.0	1.0 ± 0.0	1.5 ± 0.2	
<b>Total n-3 polyenoic</b>	<b>21.8 ± 4.2</b>	<b>13.2 ± 2.9</b>	<b>12.6 ± 1.3</b>	<b>18.8 ± 2.7</b>	<b>14.5 ± 0.0</b>	<b>27.4 ± 1.5</b>	<b>21.8 ± 0.3</b>	<b>19.1 ± 0.3</b>	<b>31.8 ± 0.7</b>	<b>28.5 ± 0.3</b>	<b>33.3 ± 0.2</b>	<b>39.1 ± 2.7</b>	
<b>C20:5n-3 (EPA)</b>	4.3 ± 0.4	2.2 ± 0.4	3.5 ± 0.6	4.5 ± 0.9	4.8 ± 0.0	10.8 ± 0.6	6.6 ± 0.1	5.7 ± 0.2	11.3 ± 0.1	8.3 ± 0.1	9.8 ± 0.1	5.1 ± 0.3	
<b>C22:5n-3</b>	1.3 ± 0.2	0.9 ± 0.2	1.0 ± 0.1	1.1 ± 0.1	1.0 ± 0.0	1.3 ± 0.0	1.1 ± 0.1	1.0 ± 0.0	1.4 ± 0.1	1.3 ± 0.1	1.5 ± 0.1	0.9 ± 0.1	
<b>C22:6n-3 (DHA)</b>	15.4 ± 3.7	9.4 ± 3.0	6.9 ± 0.8	11.0 ± 1.8	7.5 ± 0.0	13.0 ± 0.8	12.2 ± 0.2	10.6 ± 0.2	15.1 ± 0.6	15.9 ± 0.3	18.5 ± 0.2	31.5 ± 3.2	
<b>Total fatty acids</b>	<b>96.6 ± 3.6</b>	<b>99.1 ± 0.2</b>	<b>99.7 ± 0.0</b>	<b>99.6 ± 0.0</b>	<b>99.5 ± 0.0</b>	<b>98.4 ± 0.1</b>	<b>98.9 ± 0.2</b>	<b>98.9 ± 0.1</b>	<b>98.6 ± 0.1</b>	<b>98.6 ± 0.1</b>	<b>98.3 ± 0.3</b>	<b>99.5 ± 0.1</b>	
Actual EPA levels (mg/100g)	112.9	115.3	450.2	318.2	603.4	463.9	396.6	382.9	1041.5	341.3	352.5	101.5	
Actual DHA levels (mg/100g)	396.9	375.7	911.5	798.7	954.4	560.9	734.4	712.7	1387.6	652.1	667.7	630.4	

Values are means ± standard deviations (n = 2-8).

Table 3-1-1 Changes in lipid content in dark and ordinary muscles of skipjack tuna during storage at 5° C and 25° C

		0 h	8 h	
			5° C	25° C
Lipid content (g/100g)	(Dark muscle)	5.06 ± 0.43	4.49 ± 0.60	4.50 ± 0.42
	(Ordinary muscle)	2.85 ± 0.97	2.25 ± 0.92	2.49 ± 0.82
FFA / TAG	(Dark muscle)	0.11 ± 0.02 <sup>a</sup>	0.29 ± 0.07 <sup>b</sup>	0.52 ± 0.10 <sup>c</sup>
	(Ordinary muscle)	0.03 ± 0.00 <sup>a</sup>	0.19 ± 0.08 <sup>b</sup>	0.27 ± 0.09 <sup>b</sup>

FFA, free fatty acids; TAG, triacylglycerols

Values are means ± standard deviations ( $n = 4$ ). Different letters in the same row indicate significant differences (Tukey's HSD,  $p < 0.05$ ).

Reproduced from Hiratsuka et al. Nippon Suisan Gakkaishi, 77(6): 1089-1094 (2011)

Table 3-1-2 Changes in pH, K-value and volatile basic nitrogen (VBN) contents in dark and ordinary muscles of skipjack tuna during storage at 5 °C and 25 °C

		0 h	8 h	
			5 °C	25 °C
pH	(Dark muscle)	5.80 ± 0.13	5.74 ± 0.08	5.81 ± 0.13
	(Ordinary muscle)	5.66 ± 0.10	5.58 ± 0.12	5.59 ± 0.16
K value (%)	(Dark muscle)	24.8 ± 4.7 <sup>a</sup>	57.6 ± 3.4 <sup>b</sup>	85.2 ± 6.8 <sup>c</sup>
	(Ordinary muscle)	1.7 ± 0.7 <sup>a</sup>	11.9 ± 3.2 <sup>b</sup>	47.1 ± 6.3 <sup>c</sup>
VBN (mg/100g)	(Dark muscle)	12.7 ± 1.0 <sup>a</sup>	16.1 ± 1.8 <sup>b</sup>	18.7 ± 1.6 <sup>b</sup>
	(Ordinary muscle)	12.9 ± 1.8 <sup>a</sup>	13.6 ± 0.7 <sup>ab</sup>	15.9 ± 1.2 <sup>b</sup>

Values are means ± standard deviations ( $n = 4$ ). Different letters in the same row indicate significant differences (Tukey's HSD,  $p < 0.05$ ).

Reproduced from Hiratsuka et al. Nippon Suisan Gakkaishi, 77(6): 1089-1094 (2011)

Table 3-1-3 Volatile flavor compounds identified in dark and ordinary muscles of skipjack tuna

Compounds	(Ratio to IS) / g	
	Dark muscle	Ordinary muscle
Aldehydes(3)		
Hexanal	11.19 ± 1.37	0.66 ± 0.41
Heptanal	1.21 ± 0.33	0.15 ± 0.09
Octanal	1.22 ± 0.47	0.14 ± 0.09
Alcohols(5)		
1-Penten-3-ol	1.24 ± 0.19	0.35 ± 0.29
2-penten-1-ol	2.27 ± 0.62	0.20 ± 0.17
Hexanol	0.38 ± 0.18	0.04 ± 0.01
1-octen-3-ol	3.87 ± 0.80	0.14 ± 0.06
Heptanol	0.47 ± 0.06	0.06 ± 0.02
Hydrocarbons(3)		
Pentadecane	4.29 ± 0.48	2.08 ± 0.83
Hexadecane	0.99 ± 0.74	0.20 ± 0.07
Heptadecane	1.42 ± 0.25	0.18 ± 0.05
Ketone(1)		
2,3-Pentanedione	0.51 ± 0.15	0.19 ± 0.06

Values are means ± standard deviations ( $n = 4$ ).

Reproduced from Hiratsuka et al. Nippon Suisan Gakkaishi, 77(6): 1089-1094 (2011)

Table 3-1-4 Changes in peroxide value and hexanal content of extracted oil from skipjack tuna during storage for 2 days

	0 day	1 day	2 days
POV (meq/kg)	23.47 ± 0.79 <sup>a</sup>	90.73 ± 3.65 <sup>b</sup>	162.05 ± 7.25 <sup>c</sup>
Hexanal*	2.45 ± 0.21	2.67 ± 0.22	2.65 ± 0.31

\*(Ratio to IS)/g

Values are means ± standard deviations ( $n = 4$ ). Different letters in the same row indicate significant differences (Tukey's HSD,  $p < 0.05$ ).

Reproduced from Hiratsuka et al. Nippon Suisan Gakkaishi, 77(6): 1089-1094 (2011)

Table 3-2-1 Fish size, fat content and blood content of heart for skipjack tuna samples

	Fork length(cm)	Body weight(kg)	Fat content(%)	Blood content of heart(%)
Bleeding	51.3 ± 1.4	3.1 ± 0.2	7.8 ± 1.4	7.9 ± 3.1 *
Control	50.6 ± 1.9	2.9 ± 0.2	7.0 ± 1.5	14.5 ± 7.0

Values are means ± standard deviations ( $n = 5$ ). Asterisk (\*) indicates a significant difference (Student's  $t$ -test,  $p < 0.05$ ).

Reproduced from Hiratsuka et al. Nippon Suisan Gakkaishi, 82(1): 28-32 (2016)

Table 3-2-2 Volatile flavor compounds identified in ordinary muscles of bleeding and control skipjack tuna

Compounds	(Ratio to IS) / g	
	Bleeding	Control
Aldehydes(5)		
Butanal	0.01 ± 0.00	0.01 ± 0.00
Hexanal	0.32 ± 0.09 *	0.70 ± 0.15
Heptanal	0.08 ± 0.01 *	0.20 ± 0.11
Octanal	0.08 ± 0.02 *	0.14 ± 0.02
Nonanal	0.02 ± 0.01	0.02 ± 0.01
Alcohols(6)		
1-Penten-3-ol	0.12 ± 0.04 *	0.17 ± 0.03
1-Pentanol	0.01 ± 0.00	0.01 ± 0.00
2-Penten-1-ol	0.08 ± 0.03 *	0.13 ± 0.02
1-Hexanol	0.02 ± 0.00	0.03 ± 0.00
1-Octen-3-ol	0.08 ± 0.02 *	0.12 ± 0.02
1-Heptanol	0.03 ± 0.01	0.04 ± 0.00
Hydrocarbons(3)		
Pentadecane	0.54 ± 0.11	0.49 ± 0.07
Hexadecane	0.10 ± 0.04	0.08 ± 0.02
Heptadecane	0.03 ± 0.01	0.03 ± 0.00
Ketone(1)		
2,3-Pentanedione	0.09 ± 0.03	0.12 ± 0.01

Values are means ± standard deviations ( $n = 5$ ). Asterisks(\*) indicate significant differences (Student's  $t$ -test,  $p < 0.05$ ).

Reproduced from Hiratsuka et al. Nippon Suisan Gakkaishi, 82(1): 28-32 (2016)

Table 3-2-3 Total aldehydes, alcohols, hydrocarbons and ketones in the ordinary muscles of bleeding and control skipjack tuna storage for 4 hours at 25°C after thawing

Compounds	(Ratio to IS) / g			
	0h		4h, 25°C	
	Bleeding	Control	Bleeding	Control
Aldehydes	0.51 ± 0.11 *	1.07 ± 0.15	<u>1.00</u> ± <u>0.37</u> *	<u>1.62</u> ± <u>0.16</u>
Alcohols	0.35 ± 0.11 *	0.47 ± 0.07	<u>0.60</u> ± <u>0.22</u> *	<u>0.82</u> ± <u>0.10</u>
Hydrocarbons	0.67 ± 0.15	0.60 ± 0.08	0.72 ± 0.12	0.68 ± 0.12
Ketones	0.09 ± 0.03	0.12 ± 0.01	0.15 ± 0.04	<u>0.19</u> ± <u>0.03</u>

Values are means ± standard deviations ( $n = 5$ ). Asterisks(\*) indicate significant differences (Student's  $t$ -test,  $p < 0.05$ ). Under bars indicate significant differences from the 0h (Student's  $t$ -test,  $p < 0.05$ ).

Reproduced from Hiratsuka et al. Nippon Suisan Gakkaishi, 82(1): 28-32 (2016)

Table 3-3-1 Changes in pH, K-value, lipid content and color values (L\*, a\*, b\* value) of the dark muscles of skipjack tuna during storage at 25°C

	pH	K value (%)	Lipid content (g/100g dry weight)	Color values		
				L*	a*	b*
0 h	5.83 ± 0.09	24.8 ± 5.8 <sup>a</sup>	17.3 ± 1.2	11.2 ± 2.2	7.4 ± 1.9	5.5 ± 1.9
4 h	5.78 ± 0.07	42.6 ± 4.2 <sup>b</sup>	15.9 ± 2.0	12.6 ± 1.3	7.0 ± 1.7	5.1 ± 1.1

Values are means ± standard deviations ( $n = 3$ ). Different letters in the same line indicate significant differences (Student's  $t$ -test,  $p < 0.05$ ).

Reproduced from Koizumi et al. Nippon Suisan Gakkaishi, 78(4): 736-741 (2012)

Table 3-3-2 Changes in the contents of volatile flavor compounds in the dark muscles of skipjack tuna during storage at 25°C.

	(Ratio to IS) / g		
	Total aldehydes	Total alcohols	Total hydrocarbons
0 h	14.0 ± 1.6 <sup>a</sup>	8.1 ± 1.6	5.6 ± 0.5 <sup>a</sup>
4 h	29.0 ± 2.5 <sup>b</sup>	9.2 ± 1.6	7.1 ± 2.7 <sup>b</sup>

Total aldehydes: hexanal, heptanal, octanal, nonanal;  
 Total alcohols: 1-penten-3-ol, 2-penten-1-ol, hexanol, 1-octen-3-ol, heptanol;  
 Total hydrocarbons: pentadecane, hexadecane, heptadecane.  
 Values are means ± standard deviations ( $n = 3$ ). Different letters in the same line indicate significant differences (Student's  $t$ -test,  $p < 0.05$ ).  
 Reproduced from Koizumi et al. Nippon Suisan Gakkaishi, 78(4): 736-741 (2012)

Table 3-4-1 Profiles of Japanese anchovy *Engraulis japonicus* used as a raw material of Niboshi and lipid contents of Niboshi after removing the internal organs and head

	Raw materials					Niboshi	
	Sampling Date	Sampling Place	Standard length (cm)	Body weight (g)	Lipid (g / 100g)	Lipid (g / 100g)	Lipid (g / 100g)
Homemade							
Lean	January, 2013	Shizuoka	10.3 ± 0.3 <sup>a</sup>	11.1 ± 1.3 <sup>a</sup>	3.1 ± 0.6 <sup>a</sup>	10.9 ± 1.1 <sup>a</sup>	10.9 ± 1.1 <sup>a</sup>
Fatty	August, 2013	Chiba	12.8 ± 0.4 <sup>b</sup>	18.3 ± 1.9 <sup>b</sup>	6.0 ± 3.1 <sup>b</sup>	16.9 ± 0.1 <sup>b</sup>	16.9 ± 0.1 <sup>b</sup>
On the market	—	—	—	—	—	—	4.5 ± 0.2 <sup>c</sup>

Values are means ± standard deviations (Niboshi:  $n = 3$ , raw materials:  $n = 10$ ). Different letters in the same line indicate significant differences (Student's  $t$ -test,  $p < 0.05$ ).

Reproduced from Koizumi K, Hiratsuka S. Nippon Suisan Gakkaishi, 83(2): 199-206 (2017)

Table 3-4-2 Volatile flavor compounds identified in Niboshi and its extract

Compounds	Niboshi (Ratio to IS) / g			ANOVA	Extract from Niboshi (Ratio to IS) / mL			ANOVA
	Fatty	Lean	On the market		Fatty	Lean	On the market	
Aldehydes(7)								
Propanal	1.8 ± 0.2 <sup>a</sup>	1.5 ± 0.3 <sup>a</sup>	0.4 ± 0.2 <sup>b</sup>	0.000	—	—	—	
Butanal	0.8 ± 0.1 <sup>a</sup>	1.1 ± 0.2 <sup>b</sup>	0.4 ± 0.1 <sup>c</sup>	0.000	0.3 ± 0.0 <sup>a</sup>	0.2 ± 0.1 <sup>a</sup>	— <sup>b</sup>	0.000
Pentanal	2.1 ± 0.1 <sup>a</sup>	1.7 ± 0.3 <sup>b</sup>	1.0 ± 0.1 <sup>c</sup>	0.000	0.4 ± 0.0 <sup>a</sup>	0.2 ± 0.1 <sup>b</sup>	0.1 ± 0.0 <sup>c</sup>	0.000
Hexanal	23.4 ± 2.9 <sup>a</sup>	16.2 ± 2.9 <sup>b</sup>	5.7 ± 0.6 <sup>c</sup>	0.000	1.5 ± 0.4 <sup>a</sup>	0.6 ± 0.3 <sup>b</sup>	0.2 ± 0.1 <sup>b</sup>	0.000
Heptanal	7.3 ± 0.4 <sup>a</sup>	8.1 ± 1.9 <sup>a</sup>	4.5 ± 2.1 <sup>b</sup>	0.000	0.9 ± 0.2 <sup>a</sup>	0.6 ± 0.3 <sup>b</sup>	0.2 ± 0.1 <sup>c</sup>	0.000
Octanal	11.2 ± 0.6 <sup>a</sup>	11.2 ± 1.7 <sup>a</sup>	9.4 ± 1.3 <sup>b</sup>	0.010	1.6 ± 0.3 <sup>a</sup>	0.7 ± 0.3 <sup>b</sup>	0.5 ± 0.1 <sup>b</sup>	0.000
Nonanal	14.5 ± 0.8 <sup>a</sup>	11.6 ± 2.1 <sup>b</sup>	8.3 ± 1.0 <sup>c</sup>	0.000	2.6 ± 0.6 <sup>a</sup>	1.1 ± 0.3 <sup>b</sup>	0.8 ± 0.3 <sup>b</sup>	0.000
Alcohols(7)								
1-Penten-3-ol	3.6 ± 0.3 <sup>a</sup>	2.8 ± 1.1 <sup>a</sup>	1.2 ± 0.7 <sup>b</sup>	0.000	0.7 ± 0.2 <sup>a</sup>	0.4 ± 0.2 <sup>b</sup>	0.3 ± 0.2 <sup>b</sup>	0.001
1-Pentanol	1.1 ± 0.3	1.1 ± 0.4	0.8 ± 0.5	0.349	0.4 ± 0.3	0.2 ± 0.1	0.2 ± 0.1	0.067
2-Penten-1-ol	2.1 ± 1.3 <sup>ab</sup>	2.6 ± 1.6 <sup>a</sup>	1.1 ± 0.6 <sup>b</sup>	0.049	0.6 ± 0.2 <sup>a</sup>	0.4 ± 0.2 <sup>b</sup>	0.3 ± 0.1 <sup>b</sup>	0.002
Hexanol	0.6 ± 0.1	0.6 ± 0.1	0.9 ± 0.5	0.038	0.3 ± 0.2	0.2 ± 0.1	0.2 ± 0.1	0.262
1-Octen-3-ol	8.6 ± 0.5 <sup>a</sup>	7.3 ± 2.5 <sup>ab</sup>	6.1 ± 0.9 <sup>b</sup>	0.008	2.2 ± 0.4 <sup>a</sup>	1.0 ± 0.4 <sup>b</sup>	0.9 ± 0.4 <sup>b</sup>	0.000
Heptanol	3.1 ± 0.2 <sup>a</sup>	2.7 ± 0.4 <sup>a</sup>	3.7 ± 0.6 <sup>b</sup>	0.000	1.0 ± 0.1 <sup>a</sup>	0.5 ± 0.2 <sup>b</sup>	0.7 ± 0.3 <sup>b</sup>	0.000
1-Octanol	3.2 ± 0.3 <sup>a</sup>	2.2 ± 0.4 <sup>b</sup>	2.1 ± 0.3 <sup>b</sup>	0.000	0.8 ± 0.3 <sup>a</sup>	0.5 ± 0.1 <sup>b</sup>	0.5 ± 0.1 <sup>b</sup>	0.000
Hydrocarbons(3)								
Pentadecane	137.0 ± 27.0 <sup>a</sup>	31.3 ± 11.0 <sup>b</sup>	3.6 ± 1.8 <sup>c</sup>	0.000	28.1 ± 14.3 <sup>a</sup>	1.6 ± 0.9 <sup>b</sup>	0.7 ± 0.7 <sup>b</sup>	0.000
Hexadecane	79.0 ± 6.1 <sup>a</sup>	12.7 ± 4.0 <sup>b</sup>	3.9 ± 1.0 <sup>c</sup>	0.000	16.9 ± 10.9 <sup>a</sup>	1.7 ± 0.7 <sup>b</sup>	0.6 ± 0.7 <sup>b</sup>	0.000
Heptadecane	33.7 ± 6.7 <sup>a</sup>	12.2 ± 3.6 <sup>b</sup>	18.0 ± 5.5 <sup>b</sup>	0.000	7.0 ± 4.2 <sup>a</sup>	1.4 ± 0.5 <sup>b</sup>	1.1 ± 0.4 <sup>b</sup>	0.000
Ketone(1)								
2,3-Pentanedione	2.8 ± 0.2 <sup>a</sup>	2.6 ± 0.5 <sup>a</sup>	0.5 ± 0.1 <sup>b</sup>	0.000	0.3 ± 0.0 <sup>a</sup>	0.3 ± 0.1 <sup>a</sup>	0.1 ± 0.1 <sup>b</sup>	0.000
Amine(1)								
Trimethylamine	1.9 ± 0.1 <sup>a</sup>	1.6 ± 0.2 <sup>b</sup>	1.6 ± 0.2 <sup>b</sup>	0.001	1.2 ± 0.3	1.3 ± 0.6	1.0 ± 0.2	0.473

—, not detected.

Values are means ± standard deviations ( $n = 9$ ). Different letters in the same row indicate significant differences (Tukey's HSD,  $p < 0.05$ ).

Reproduced from Koizumi K, Hiratsuka S. Nippon Suisan Gakkaishi, 83(2): 199-206 (2017)

Table 3-4-3 Properties of soup stock extracted from Niboshi and produced by the newly developed method

	Soup stock		<i>p</i> <sup>*3</sup>
	Extract <sup>*1</sup>	Extract from Niboshi	
Brix value (%)	4.0 ± 0.3	0.9 ± 0.1	0.000
Total extract (g/100g wet wt <sup>*2</sup> )	3.7 ± 0.5	2.5 ± 0.3	0.001
Total free amino acids content (mg/100g wet wt <sup>*2</sup> )	313.8 ± 47.9	236.4 ± 72.2	0.073
Inosinic acid content (mg/100g wet wt <sup>*2</sup> )	238.4 ± 31.4	260.4 ± 28.1	0.251
TBA value ( <i>A</i> <sub>532</sub> )	0.17 ± 0.01	1.28 ± 0.03	0.000

Values are means ± standard deviations (*n* = 4).

\*1 Produced by the newly developed method.

\*2 Wet weight of raw materials from which the soup stock was extracted.

\*3 By Student's *t*-test.

Reproduced from Koizumi K, Hiratsuka S. Nippon Suisan Gakkaishi, 83(2): 199-206 (2017)

Table 3-4-4 Free amino acid compositions of soup stock extracted from Niboshi and produced by the newly developed method (%)<sup>\*1</sup>

Amino acid	Soup stock		<i>p</i> <sup>*3</sup>
	Extract <sup>*2</sup>	Extract from Niboshi	
Phosphoserine	1.3 ± 1.4	2.0 ± 0.9	0.332
Taurine	33.9 ± 6.9	27.9 ± 1.5	0.032
Phosphoethanolamine	0.1 ± 0.1	0.2 ± 0.1	0.148
Aspartic acid	0.6 ± 0.6	1.4 ± 0.7	0.044
Threonine	1.3 ± 0.3	1.6 ± 0.3	0.049
Serine	1.3 ± 0.2	1.8 ± 0.3	0.001
Glutamic acid	3.5 ± 0.8	5.0 ± 1.1	0.008
Proline	1.1 ± 0.9	1.8 ± 0.6	0.136
Glycine	1.6 ± 0.3	2.0 ± 0.2	0.013
Alanine	6.2 ± 0.4	7.8 ± 2.0	0.098
Valine	2.0 ± 0.4	2.6 ± 0.3	0.021
Cysteine	—	—	0.363
Methionine	0.9 ± 0.9	0.2 ± 0.4	0.101
Isoleucine	1.2 ± 0.3	1.5 ± 0.2	0.028
Leucine	3.7 ± 1.3	4.0 ± 0.7	0.633
Tyrosine	1.7 ± 1.2	1.8 ± 0.9	0.871
Phenylalanine	1.8 ± 0.7	1.8 ± 0.4	0.987
β-Alanine	—	—	0.716
β-Aminoisobutyric acid	—	—	0.217
γ-Aminobutyric acid	0.1 ± 0.1	0.1 ± 0.1	0.681
Histidine	24.6 ± 4.0	26.5 ± 3.7	0.380
Ornithine	—	0.1 ± 0.1	0.181
Lysine	6.4 ± 2.7	6.4 ± 1.3	0.961
Arginine	6.7 ± 4.1	3.5 ± 0.7	0.049

—, not detected.

Values are means ± standard deviations (n = 6).

\*1 Each amino acid (μg/mL) / Total amino acid (μg/mL) × 100 (%).

\*2 Produced by the newly developed method.

\*3 By Student's *t*-test.

Reproduced from Koizumi K, Hiratsuka S. Nippon Suisan Gakkaishi, 83(2): 199-206 (2017)