

## 脂肪酸分析によるマダイの養殖魚判別法の検討

高嶋 康晴

Yasuharu Takashima

### 要 約

生鮮マダイについて、脂肪酸分析による養殖魚の判別の可否について検討を行った。養殖マダイ 44 点と天然マダイ 50 点の脂肪酸組成を比較したところ、海域間や季節間に各脂肪酸組成の差がみられるが、リノール酸等の脂肪酸組成に養殖マダイと天然マダイ間に有意な差がみられ、これらの脂肪酸組成の差を指標として用いることで、養殖魚を判別できる可能性が示唆された。

### 1. はじめに

我が国における食品の品質に関する表示は、食品表示法（平成 25 年法律 70 号）及びこれに基づき制定された食品表示基準（平成 27 年内閣府令第 10 号）により定められており、生鮮水産物の表示については、給餌により育成されたものについては、「養殖である旨」の記載が義務付けられている。

マダイ (*Pagrus major*) は、日本における重要な食用魚の一つである。平成 26 年次の天然マダイの漁獲量は年間約 1.5 万トン、他方、養殖マダイの生産量は約 6.2 万トンであり<sup>1)</sup>、養殖マダイの生産量は天然マダイの漁獲量の 4 倍に達している。また、マダイは魚類の養殖生産量の 25.9%を占めており、ブリ類に次いで養殖生産量が多い魚種である<sup>1,2)</sup>。天然マダイの卸売価格は、夏季の一部の時期を除き養殖マダイの卸売価格を上回っている<sup>2)</sup>。養殖マダイと天然マダイは、切り身やさくの状態では、目視による判別は困難であり、このため、科学的な判別法の開発が求められている。養殖マダイと天然マダイの科学的な成分の差については、カロテノイド含有量、トコフェノール含有量、水分、脂質分、アミノ酸組成等の差が報告されている<sup>3-6)</sup>。しかし、近年の給餌飼料や養殖法の改良により、これらの成分の差を指標とする判別は困難となっている<sup>7)</sup>。そこで、本研究では、餌飼料中の脂肪酸組成の差により生じた養殖魚と天然魚間の筋肉中の脂肪酸組成の差に関する報告<sup>7-11)</sup>を参考に、養殖マダイと天然マダイの筋肉中の脂肪酸組成を比較するとともに、繰り返し測定による脂肪酸組成の再現性の評価、季節間での脂肪酸組成の差、天然マダイの海域間での脂肪酸組成の差について確認し、生鮮マダイの養殖魚判別法の可否について検討を行った。

## 2. 実験方法

## 2. 1 試料

養殖マダイについては、漁協及び生産者を通じてラウンド（魚体そのまま）の試料を21点、養殖表示のある市販品（切り身又はさく）の試料を23点の合計44点を入手した。天然マダイについては、漁協及び市場を通じて原産地（水揚げ都道府県）を確認し、ラウンドの試料を50点入手した（表1）。

表1 試料の内訳

種類	海域	原産地 (県名)	試料数	入手時期			
				1~3月	4~6月	7~9月	10~12月
養殖*		静岡	3				3
		三重	3 (3)	2 (2)	1 (1)		
		和歌山	3				3
		愛媛	21 (15)	7 (4)	7 (7)	5 (2)	2 (2)
		高知	2 (1)	2 (1)			
		熊本	8 (4)	3 (3)	1	4 (1)	
		長崎	1		1		
		鹿児島	3				3
		計	44 (23)	14 (10)	10 (8)	9 (3)	11 (2)
天然	太平洋	茨城	1		1		
		千葉	4	1			3
		静岡	1		1		
		三重	1	1			
		高知	1	1			
	日本海	青森	4		1	3	
		秋田	1			1	
		山形	3			3	
		石川	1	1			
		鳥取	1		1		
		島根	2			1	1
	東シナ海	長崎	7	1	2	3	1
		鹿児島	5	1	3		1
	瀬戸内	兵庫	2	1	1		
		香川	3	1	1		1
		愛媛	7	4		3	
		大分	6	1	2	2	1
		計	50	13	13	16	8

\*：括弧内の数字はさく又は切り身で入手した試料数

## 2. 2 脂肪酸組成分析

## 2. 2. 1 粗製脂質の抽出

粗製脂質の抽出には、基準油脂分析試験法の参考法<sup>12-14)</sup>を改変して用いた。マダイ筋肉をフードプロセッサーで十分に粉碎し均一化した後、300 mL ナス型フラスコに約3.5 g 採取し、これに、50 mL の HI 混液（ヘキサン（関東科学）：イソプロピルアルコール（和光純薬）＝3:2、vol）を加え、ポリトロンホモジナイザー（PT 10-35、KINEMATICA）で1分間粉碎した。その後、HI 混液を50 mL 再度追加し、1分間粉碎した後、さらにHI 混液を30 mL を追加し、ポリトロンホモジナイザーで1分間粉碎した。マダイ筋肉と粉碎混合したHI 混液全量を、減圧ろ過により不溶物を除去し、ろ液を分液ロートに移し6.7 %

硫酸ナトリウム（和光純薬又は関東科学）水溶液 75 mL を加え、振とう後、有機層を回収した。水層は再度分液ロートに戻し、ヘキサン：イソプロパノール混液（7：2、vol）を 50 mL を加え、振とう後、有機層を回収した。回収した有機層を合わせて、ロータリーエバポレーターにより、溶媒を除去した後に、真空ポンプ及び真空デシケーターを用い、真空下（100 Pa 以下）で溶媒を完全に除去し粗製脂質を保存した。

### 2. 2. 2 脂肪酸メチルエステル化

脂肪酸のメチルエステル化及び合成した脂肪酸メチルエステルの精製には、齋藤らの手法<sup>15)</sup>を用いた。粗製脂質 10～30 mg を脂肪抽出受器に採取し、10 mL のメタノール（和光純薬）、0.1 mL の塩酸（和光純薬）を加え 2 時間以上加熱還流した。還流後は、100 mL の飽和食塩水（塩化ナトリウム；一級以上、和光純薬又は関東科学）及び 10 mL の飽和炭酸水素ナトリウム水溶液（炭酸水素ナトリウム；特級、和光純薬）を加えた分液ロートに回収し、50 mL のヘキサンで脂肪抽出受器を洗浄し、分液ロートに加えた。中性条件下で振とう後、有機層をスリ付き三角フラスコに回収した。無水硫酸ナトリウム（和光純薬）5 g を入れ、栓をした状態で 1 時間静置し、有機層の脱水をした。脱水後、吸着剤としてシリカゲル（シリカゲル 60、メルク）、展開溶媒にヘキサン：ジエチルエーテル（和光純薬）（20：1、vol）を用いたカラムクロマトグラフィーにより脂肪酸メチルエステルを精製した。

### 2. 2. 3 脂肪酸組成の測定

水素炎イオン化検出器（Flame Ionization Detector; FID）を装備したガスクロマトグラフ装置（HP6890、Agilent Technologies）を用いて測定した。なお、分析条件は齋藤らの測定条件<sup>15)</sup>を用いた。カラムはキャピラリーカラム（Omegawax<sup>TM</sup>250、Supelco）（長さ 30 m、内径 0.25 mm、シリカコーティング 0.25  $\mu$ L）を用い、注入口温度 230  $^{\circ}$ C、FID 検出器温度 240  $^{\circ}$ C、カラム温度は 215  $^{\circ}$ C（スプリット比 1/76）とし、キャリアーガスとしてヘリウムガス（0.7 mL/min）を用いた。精製した脂肪酸メチルエステルは約 10 mg/1.5 mL の濃度でヘキサンに溶解し、注入量は 1  $\mu$ L で測定を行った。各脂肪酸メチルエステルのピーク同定は、パルミチン酸、ステアリン酸、オレイン酸、リノール酸、リノレン酸の各メチルエステル化物については、混合脂肪酸メチルエステル標準 F.A.M.E.Mix（GLC - 10、Supelco）を、アラキドン酸メチルエステル及びドコサヘキサエン酸（DHA）メチルエステルについては、混合脂肪酸をメチルエステル標準 FAME Qualitive Mix（1021-58209、GLサイエンス）を試料と同じように測定し、その保持時間から各脂肪酸メチルエステルピークを同定した。ミリスチン酸メチルエステル及びドコサペンタエン酸（DPA）メチルエステルのピーク同定については、文献値と比較し、他の脂肪酸メチルエステルとの相対的な保持時間から推定した。未同定のピークも含めて、検出されたピーク面積の総和に対する各脂肪酸メチルエステルのピーク面積の百分率をもって脂肪酸組成とした。ピークの検出及び脂肪酸組成の計算にはクロマトパック OpenLAB CDS ChemStation（Agilent Technologies）を使用した。

### 3. 結果及び考察

#### 3. 1 養殖マダイと天然マダイの脂肪酸組成の差

養殖マダイ 44 点と天然マダイ 50 点について 9 種類の脂肪酸組成（ミリスチン酸、パルミチン酸、ステアリン酸、オレイン酸、リノール酸、リノレン酸、アラキドン酸、DPA、DHA）を測定し、t 検定により養殖マダイと天然マダイ間の各脂肪酸組成を比較したところ、パルミチン酸を除く 8 種類の脂肪酸組成について統計的に有意な差がみられた（表 2）。特に、リノール酸組成は、養殖マダイでは、天然マダイの 10 倍以上の高い（平均値）結果が得られた。一方、アラキドン酸組成は、養殖マダイでは、天然マダイの 1/3 以下の低い（平均値）結果が得られた（表 2、図 1）。

表 2 養殖マダイ及び天然マダイの脂肪酸組成（平均値 ± 標準偏差（%））

脂肪酸名	養殖マダイ	天然マダイ	t検定
	N=44	N=50	
ミリスチン酸 (14:0)	3.1±0.5	2.7±1.0	**
パルミチン酸 (16:0)	19.5±1.6	19.6±2.7	
ステアリン酸 (18:0)	5.3±0.6	6.6±0.7	***
オレイン酸 (18:1n-9)	20.4±2.8	11.7±3.5	***
リノール酸 (18:2n-6)	8.6±2.2	0.7±0.2	***
リノレン酸 (18:3n-3)	1.1±0.4	0.4±0.3	***
アラキドン酸 (20:4n-6)	1.0±0.2	3.7±1.6	***
DPA (22:5n-3)	2.4±0.3	3.7±1.6	***
DHA (22:6-3)	12.6±2.9	19.8±5.9	***

\*\* 1%の有意水準（養殖マダイー天然マダイ間）

\*\*\* 0.5%の有意水準（養殖マダイー天然マダイ間）

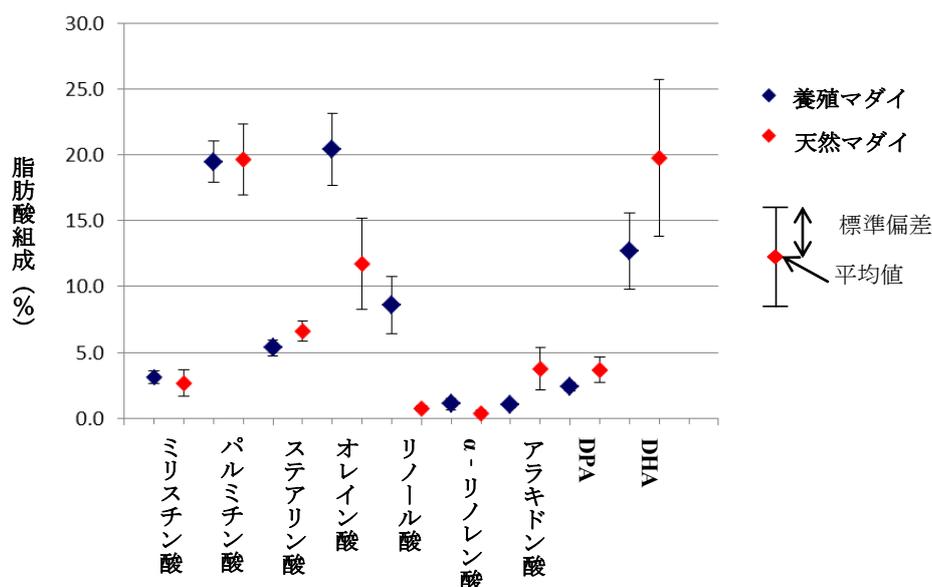


図 1 養殖マダイ及び天然マダイの脂肪酸組成（平均値 ± 標準偏差（%））

### 3. 2 各脂肪酸組成の繰り返し測定による再現性の評価

各脂肪酸における分析の再現性を評価するために、養殖マダイ及び天然マダイの各2点合計4試料について「2. 2. 1 粗製脂質の抽出」～「2. 2. 3 脂肪酸組成の測定」の操作を5回繰り返し、9種類の脂肪酸組成を測定したところ、ミリスチン酸、ステアリン酸、アラキドン酸、DHAの4種類の脂肪酸組成で、測定値の相対標準偏差が5%以上の試料がみられ、これら脂肪酸組成の再現性が低いと考えられた(表3)。

表3 養殖マダイ及び天然マダイの繰り返し測定における再現性

脂肪酸名	養殖マダイ				天然マダイ				平均相対標準偏差
	鹿児島県産		愛媛県産		愛媛県産		山形県産		
	組成比(%)	RSD	組成比(%)	RSD	組成比(%)	RSD	組成比(%)	RSD	
ミリスチン酸 (14:0)	3.5±0.1	2.0	3.4±0.1	3.5	3.2±0.1	4.3	2.9±0.2	<u>5.3</u>	3.8
パルミチン酸 (16:0)	20.6±0.5	2.5	19.6±0.3	1.6	17.7±0.8	4.6	18.7±0.3	1.6	2.6
ステアリン酸 (18:0)	6.4±0.3	4.4	5.6±0.1	1.5	5.7±0.4	<u>7.8</u>	5.9±0.4	<u>6.6</u>	5.1
オレイン酸 (18:1n-9)	21.4±0.3	1.5	17.8±0.2	1.4	12.8±0.4	3.3	8.8±0.1	1.4	1.9
リノール酸 (18:2n-6)	4.8±0.0	1.0	7.5±0.1	0.9	1.2±0.0	2.1	1.0±0.0	1.1	1.3
リノレン酸 (18:3n-3)	0.7±0.0	3.3	1.0±0.0	1.9	1.1±0.0	3.0	0.6±0.0	4.2	3.1
アラキドン酸 (20:4n-6)	0.9±0.0	4.7	1.1±0.1	<u>7.1</u>	1.6±0.1	<u>5.3</u>	2.5±0.1	4.3	5.3
DPA (22:5n-3)	2.7±0.1	2.6	2.8±0.0	0.8	2.4±0.1	3.6	2.9±0.1	2.5	2.4
DHA (22:6-3)	11.7±0.4	3.7	13.8±0.7	<u>5.3</u>	20.8±1.0	4.7	29.7±1.0	3.2	4.2

繰り返し測定数：5回

RSD：相対標準偏差(%)、太字下線：相対標準偏差5%以上

### 3. 3 養殖マダイ及び天然マダイにおける季節間の脂肪酸組成の差

養殖マダイ及び天然マダイについて試料の入手時期から季節(1～3月期、4～6月期、7～9月期、10～12月期)間の脂肪酸組成をKruskal-Wallis検定により比較したところ、養殖マダイでは、ステアリン酸及びオレイン酸の2種類の脂肪酸組成について季節間で統計的な有意な差がみられたが、天然マダイでは、9種類の脂肪酸組成に季節間で統計的な有意な差はみられなかった。一般的に魚類の脂肪酸組成は季節変動が少ない<sup>16)</sup>とされており、天然マダイではこれを支持する結果が得られた。

表4-1 養殖マダイにおける季節間の脂肪酸組成の差(平均値±標準偏差(%))

脂肪酸名	1～3月	4～6月	7～9月	10～12月	Kruskal-Wallis検定
	N=12	N=9	N=12	N=11	
ミリスチン酸 (14:0)	3.0±0.7	3.3±0.5	3.1±0.4	3.1±0.3	
パルミチン酸 (16:0)	18.9±1.7	19.6±1.5	20.2±1.6	19.1±1.0	
ステアリン酸 (18:0)	5.0±0.7	5.3±0.3	5.8±0.6	5.2±0.4	*
オレイン酸 (18:1n-9)	19.7±3.1	20.0±1.4	22.3±1.5	19.5±3.4	*
リノール酸 (18:2n-6)	9.3±1.8	8.9±2.1	8.6±2.6	7.7±2.1	
リノレン酸 (18:3n-3)	1.2±0.4	1.2±0.2	0.9±0.4	1.1±0.6	
アラキドン酸 (20:4n-6)	1.1±0.3	1.0±0.1	1.0±0.2	1.0±0.2	
DPA (22:5n-3)	2.4±0.3	2.4±0.2	2.3±0.4	2.5±0.4	
DHA (22:6-3)	13.5±3.6	13.0±1.6	11.1±2.2	13.3±3.1	

\* 5%の有意水準(季節間)

表4-2 天然マダイにおける季節間の脂肪酸組成の差 (平均値 ± 標準偏差 (%))

脂肪酸名	1~3月	4~6月	7~9月	10~12月	Kruskal-Wallis検定
	N=13	N=13	N=16	N=8	
ミリスチン酸 (14:0)	2.6±0.7	2.6±1.1	2.8±0.9	2.6±1.5	
パルミチン酸 (16:0)	20.1±1.9	19.4±2.9	19.9±2.6	19.1±3.8	
ステアリン酸 (18:0)	4.6±1.7	6.6±0.8	6.5±0.6	6.6±1.1	
オレイン酸 (18:1n-9)	12.6±2.6	11.2±3.3	11.3±4.8	12.9±2.7	
リノール酸 (18:2n-6)	0.7±0.1	0.7±0.2	0.8±0.2	0.7±0.3	
リノレン酸 (18:3n-3)	0.3±0.2	0.4±0.3	0.4±0.3	0.3±0.3	
アラキドン酸 (20:4n-6)	3.5±1.8	3.7±1.6	3.4±1.0	4.4±2.1	
DPA (22:5n-3)	4.0±0.7	3.7±0.8	3.5±1.3	3.2±0.6	
DHA (22:6-3)	17.9±5.9	17.9±6.4	22.3±4.5	19.9±7.5	

### 3. 4 天然マダイにおける海域間の脂肪酸組成の差について

天然マダイについて、海域（太平洋海区、日本海区、瀬戸内海区、東シナ海区）間の脂肪酸組成を Kruskal-Wallis 検定により比較したところ、ミリスチン酸、オレイン酸、リノール酸、DPA の 4 種類の脂肪酸組成について海域間で統計的に有意な差がみられた(表 5)。

表5 天然マダイにおける海域間の脂肪酸組成の差 (平均値 ± 標準偏差 (%))

脂肪酸名	太平洋海区	日本海区	瀬戸内海区	東シナ海区	Kruskal-Wallis検定
	N=8	N=12	N=18	N=12	
ミリスチン酸 (14:0)	2.6±0.7	3.5±1.2	2.5±0.8	2.1±0.8	*
パルミチン酸 (16:0)	19.0±3.3	17.8±3.4	21.0±1.7	20.2±1.3	
ステアリン酸 (18:0)	6.7±0.6	6.5±0.8	6.5±0.8	6.7±0.6	
オレイン酸 (18:1n-9)	10.8±3.1	10.5±3.7	13.9±3.4	10.9±3.0	*
リノール酸 (18:2n-6)	0.6±0.2	0.7±0.2	0.9±0.2	0.6±0.2	*
リノレン酸 (18:3n-3)	0.3±0.1	0.3±0.2	0.5±0.4	0.3±0.2	
アラキドン酸 (20:4n-6)	3.3±1.6	3.9±1.3	3.2±1.8	4.4±1.4	
DPA (22:5n-3)	4.2±0.7	3.1±0.7	3.4±0.9	4.2±1.0	*
DHA (22:6-3)	17.7±8.3	20.6±8.0	19.7±5.5	19.8±2.3	

\* 5%の有意水準 (海域間)

### 3. 5 養殖マダイの判別

3. 1で養殖マダイと天然マダイ間で差が大きい脂肪酸組成としてリノール酸、アラキドン酸の 2 種類の脂肪酸組成を挙げたが、アラキドン酸組成は繰り返し測定による再現性が低く、リノール酸組成は海域間に差がみられること明らかとなった。しかし、リノール酸組成については、養殖マダイと天然マダイ間の差に比べて海域間の差は小さく影響は小さいと推測された (図 2)。養殖マダイ中のリノール酸組成が高い原因は、養殖マダイに給餌される飼料に、魚粉に代わるタンパク源としてリノール酸を多く含む脱脂大豆かすが使用されることや養殖飼料用の添加油としてリノール酸組成の高い陸上植物由来の油脂が使用されていることによるとされている<sup>10, 11)</sup>。マダイでは、養殖コストや環境影響の関係から生餌から飼料化が進められており<sup>2)</sup>、今後も有効な指標としてリノール酸組成が活用できると推測された。

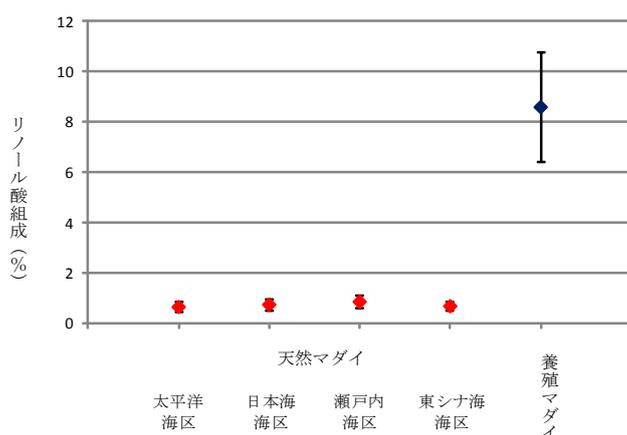


図2 天然マダイ（海域別）と養殖マダイのリノール酸組成

#### 4. まとめ

生鮮マダイについて、脂肪酸分析による養殖魚の判別の可否について検討を行った。養殖マダイ 44 点と天然マダイ 50 点について 9 種類の脂肪酸組成を測定し、養殖マダイと天然マダイ間で比較したところ、リノール酸等の 8 種類の脂肪酸組成で養殖マダイと天然マダイ間に有意な差がみられ、養殖魚を判別できる可能性が示唆された。分析法の再現性の評価を行ったところ、ミリスチン酸、ステアリン酸、アラキドン酸、DHA の 4 種類の脂肪酸組成で、再現性が低い結果となった。養殖マダイ及び天然マダイについて、季節間の脂肪酸組成を比較したところ、養殖マダイでは、ステアリン酸及びオレイン酸の 2 種類の脂肪酸組成で有意な差がみられたが、天然マダイでは、9 種類の脂肪酸組成に有意な差は見られなかった。天然マダイについて、海域間の脂肪酸組成を比較したところミリスチン酸、オレイン酸、リノール酸、DPA の 4 種類の脂肪酸組成で有意な差がみられた。リノール酸組成については、天然マダイで海域間に脂肪酸組成の差がみられたが、養殖マダイと天然マダイ間の差に比べて海域間の差は小さいため、養殖判別の有効な指標として用いることが可能であると推測された。

#### 5. 文献

- 1) 農林水産省 平成 26 年漁業・養殖業生産統計
- 2) 水産庁 平成 25 年水産白書
- 3) 片山輝久、池田伸義、原田喜代子：マダイ *Chrysophrys major* Temmick and Schlegel の Carotenoids-I、日本水産学会誌、**31**、947 - 952(1965)
- 4) 鴻巣章二、渡辺勝子：養成及び天然マダイのエキス成分の比較、日本水産学会誌、**42**、1263 - 1266 (1976)
- 5) 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)
- 6) Morisita, T., Uno, K., Araki, T. and Takahashi, T.: Comparison of the amounts of extractive

- nitrogen constituents in the meat of cultured red seabream differing in the localities and culture methods, and those wild fish, *Nippon Suisan Gakkaishi*, **55**, 1565-1573 (1989)
- 7) 齋藤洋昭:「水産物の養殖・天然」日本分析化学会表示・起源分析技術研究懇談会編『食品表示を裏づける分析技術－科学の目で偽装を見破る－』, pp.157 - 165, 東京電気大学出版局, (2010)
  - 8) 大島敏明、和田俊、小泉千秋: 養殖及び天然マダいの脂質成分の比較、日本水産学会誌、**49**、1405 - 1409 (1983)
  - 9) Morisita, T., Uno, K., Araki, T. and Takahasi, T.: Comparison of the fatty acid composition in cultured red sea bream differing in the localities and culture methods, and those in wild fish, *Nippon Suisan Gakkaishi*, **55**, 847-852 (1989)
  - 10) 藤田卓、安永聡、辻映美、小林佐貴子、千場堅司、矢野敏弘: 天然マダイと養殖マダいの判別法の検討、農林水産消費技術センター調査研究報告、**26**、27 - 49 (2002)
  - 11) 藤田卓、千場堅司、森田幸博、矢野敏弘: 養殖魚と天然魚の判別法の検討－マダイフィレー部位における適用－、農林水産消費技術センター調査研究報告、**27**、21 - 36 (2003)
  - 12) 日本油化学会編「参 3. 1. 4<sub>-2013</sub>」 「ヘキサン－イソプロピルアルコール混液抽出法」 : 基準油脂分析試験法 (2013) .
  - 13) Hara, A. and Radin, N. S. :Lipid Extraction of Tissues with a Low-Toxicity Solvent, *Anal. Biochem.*, **90**, 420-426 (1978)
  - 14) Erickson, M. C. :Lipid Extraction from Channel Catfish Muscle: Comparison of Solvent System. *J. Food Science*, **58**, 84-89 (1993)
  - 15) 齋藤洋昭:「魚介類の天然・養殖判別技術」日本食品化学工学会・食品分析研究会編:『新・食品分析法 [II]』,pp.525-535, 光琳 (2006)
  - 16) 村田寿、山内清: 養殖マダイ, *Pagrus major* 脂質の脂肪酸組成、水産増殖、**38** (2)、99-103 (1990)