

令和3年度 受託研究

# クロダイ短期蓄養魚におい成分分析

## 報告書

別府大学食物栄養科学部食物栄養学科

梅木 美樹

## 実験1：クロダイ短期蓄養魚におい成分分析に関する実験（6月）

### 目的

クロダイは、時季によって独特の臭みを生じることから、値段が安く漁業者が積極的に漁獲しない状況となっている。そこで、クロダイの魚価向上のため、臭みを減少させる方法として短期の蓄養試験を行っている。今回の実験では、におい嗅ぎガスクロマトグラフ質量分析計（GC-MS-O）を用いて、蓄養の有無によるにおいへの影響について検討することを目的とした。

### 実験方法

#### 1) 実験試料

実験試料には、大分県北部振興局から提供して頂いた蓄養無のクロダイ（蓄養無区：対照）と蓄養有のクロダイ（蓄養有区）の2種類を用いた。なお、蓄養無区はn=17、蓄養有区はn=16をそれぞれ混合したもの（各約50g程度搬入）を用いた。蓄養無区の各試料の詳細を表1-1、蓄養有区の各試料の詳細を表1-2に示した。

実験試料は、2021年7月12日に冷凍の状態での搬入し、分析まで冷凍庫（-20℃）で保存した。

表 1-1 蓄養無区の各試料の詳細

蓄養無 区						
No.	測定日	全長(mm)	尾叉長(mm)	体重(g)	雌雄	備考
1	6月1日	386	370	880.7	♀	放卵
2	6月1日	394	370	764.7	♀	放卵
3	6月1日	433	410	1202.5	♀	
4	6月1日	407	380	921.7	♂	くさい
5	6月1日	380	365	781.5	♂	
6	6月1日	273	265	302.4	♀	未成熟
7	6月3日	360	340	715.6	♀	
8	6月3日	425	397	1233.6	♀	ガリガリ、背骨曲がり
9	6月3日	400	375	928.1	♀	
10	6月3日	415	388	1145.7	♂	放精
11	6月3日	450	420	1326.9	♂	放精
12	6月3日	430	405	1136.7	♂	放精
13	6月3日	410	385	1155.1	♀	
14	6月10日	391	375	795.2	♂	ガリガリ
15	6月10日	385	358	811.4	♂	
16	6月10日	384	358	785.7	♀	
17	6月10日	457	430	1354.7	♀	
平均		398.8	375.9	955.4		

表 1-2 蓄養有区の各試料の詳細

蓄養有区						
No.	測定日	全長(mm)	尾叉長(mm)	体重(g)	雌雄	備考
1	6月4日	371	360	770.2	♀	ぬめり
2	6月4日	380	355	692.7	♀	ぬめり、ガリガリ
3	6月4日	385	373	864.9	♀	ぬめり、尾びれスレ
4	6月4日	355	348	781.8	♀	全身スレ
5	6月4日	350	332	692.7	♂	ぬめり、放精
6	6月4日	405	395	1071.6	♀	ぬめり、ヤセ
7	6月4日	375	365	761.2	♀	ぬめり、尾びれスレ
8	6月4日	410	390	1092.7	♂	ぬめり、放精
9	6月4日	378	352	891.1	♀	ぬめり
10	6月4日	383	375	957.7	♂	ぬめり、尾びれスレ
11	6月4日	335	330	578.3	♀	ぬめり、尾びれスレ
12	6月4日	310	305	462.4	♂	ぬめり
13	6月4日	405	390	1080.4	♀	ぬめり、抱卵
14	6月4日	403	388	955.5	不明	ぬめり、ガリガリ
15	6月4日	420	415	1381.3	♀	片目つぶれ、全身スレ
16	6月4日	310	310	466.5	♂	尾びれスレ
平均		373.4	361.4	843.8		

## 2) サンプルの調製方法

サンプルの調製は下記の手順で行った。

- ①冷凍庫で保管していたサンプルを流水で10分間解凍した（写真1-1）。
- ②皮を取り除き、白身を1cm幅に切り、その後細かいミンチにした（写真1-2）。  
（まな板使用、手袋着用）。
- ③電子天秤で5g（5.004g以下にする）精秤した。  
\*薬包紙、ピンセットを使用する。  
\*試験区が変わる際は、新しいものに取り替える。
- ④容量20mlのガラスバイアルビンに入れた。



写真 1-1 解凍後のサンプルの様子



写真 1-2 ミンチ状のサンプルの様子

3) におい嗅ぎガスクロマトグラフ質量分析計 (GC-MS-O) による分析

蓄養無区のクロダイと蓄養有区のクロダイのにおい成分の分析を GC-MS-O (写真 1-3) を用いて行った。分析は 2021 年 8 月 2 日に実施し、1 検体につき 2 回測定を行った。

分析の順番は、蓄養有区→蓄養無区の順番で行った。



写真 3 GC-MS-O

分析に用いる GC-MS は、7890B に GC-5977A MSD (Agilent Technologies 社製) を設置したものである。装置の上部には、試料からにおい成分をサンプリングする MultiPurpose Sampler (Gerstel 社製) を付属している。表 1-3 に機器の測定条件をまとめた。

表 1-3 GC の測定条件

カラム	DB-WAX 0.250mm×30m・0.25µm (Agilent Technologies 社製)
カラム温度	40°Cで2分間保持後、40°C→230°C (40°C→100°Cまでは10°C/min、100°C→230°Cまで8°C/min)
注入口温度	100°C→250°C
インターフェイス温度	250°C
MS イオン源温度	230°C
四重極温度	190°C
キャリアーガス	He
キャリアーガス流速	1.9ml/min

分析は下記の手順で行った。2) に示す方法で調製した試料をにおいかぎ GC-MS のサンプラー部にセットする。試料を 40°C のアルミブロックバスの中で 5 分間加温した後、バイアル内に生じた揮発性成分を固相マイクロ抽出 (SPME) に吸着させ、オートサンプラーで自動的に GC (ガスクロマトグラフ) に注入した。SPME 抽出装置は、MSU071-00A Fiber 10mm, Scale 36mm を使用した。

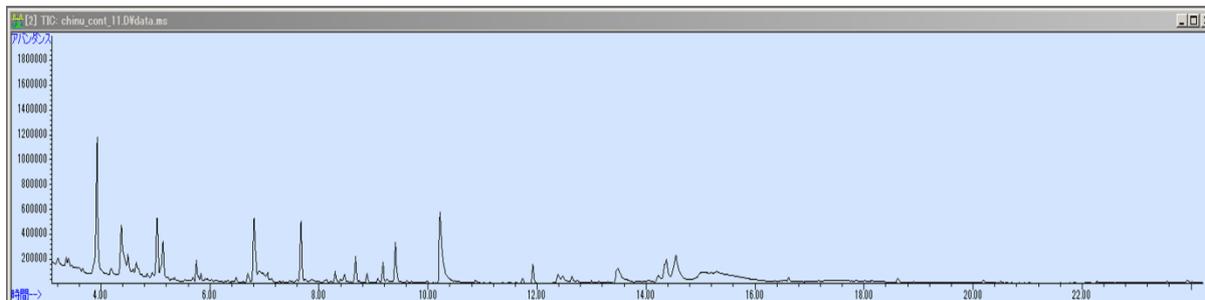
GC 中の揮発性成分は MS (質量分析計) とにおい嗅ぎ装置 (Olfactory Detection Port (ODP) 3) に分岐させて放出させた。今回は、MS による成分分析のみ実施し、におい嗅ぎは実施しなかった。

得られた結果は、Aroma Office を使用してにおい成分の同定を行った。成分の同定に関しては、各成分のピークの一致率が 90% 以上のものを結果として記載した。

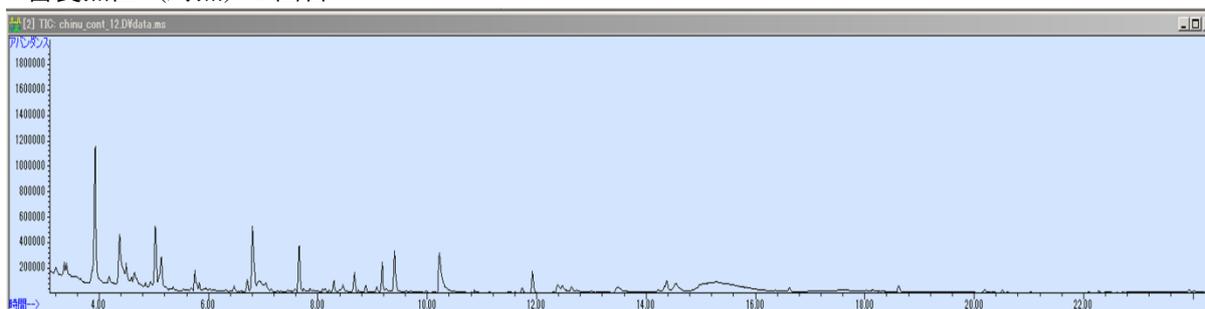
### 3. 実験結果

GC-MS-O による解析パターンを図 1-1、図 1-2 に示した。蓄養無区の方が蓄養有区に対して、ピークの検出数が若干多かった。

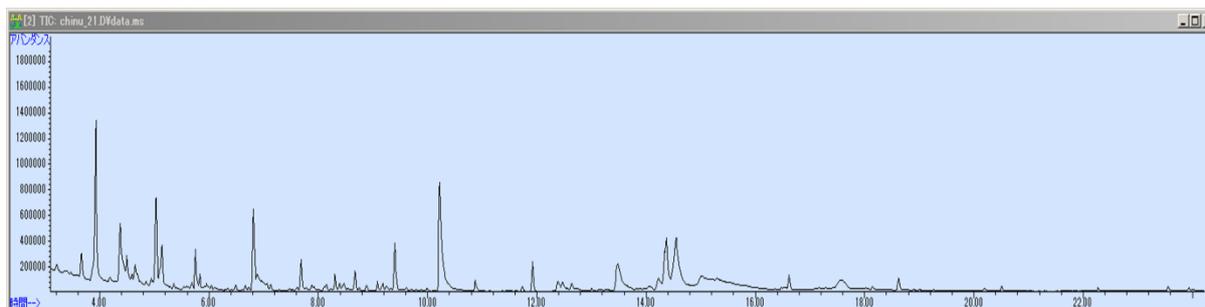
蓄養無区（対照）1回目



蓄養無区（対照）2回目



蓄養有区 1回目



蓄養有区 2回目

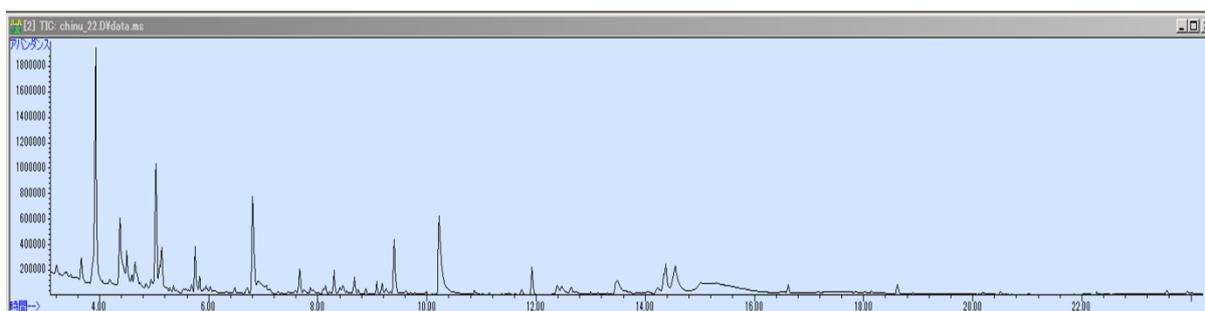
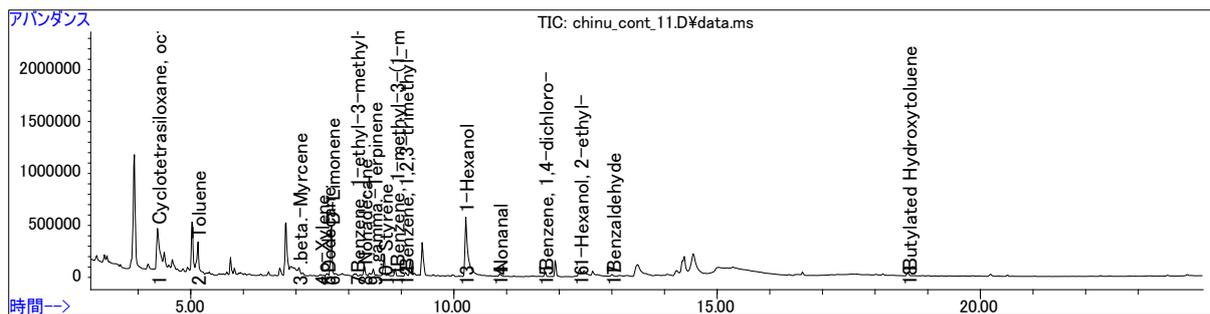
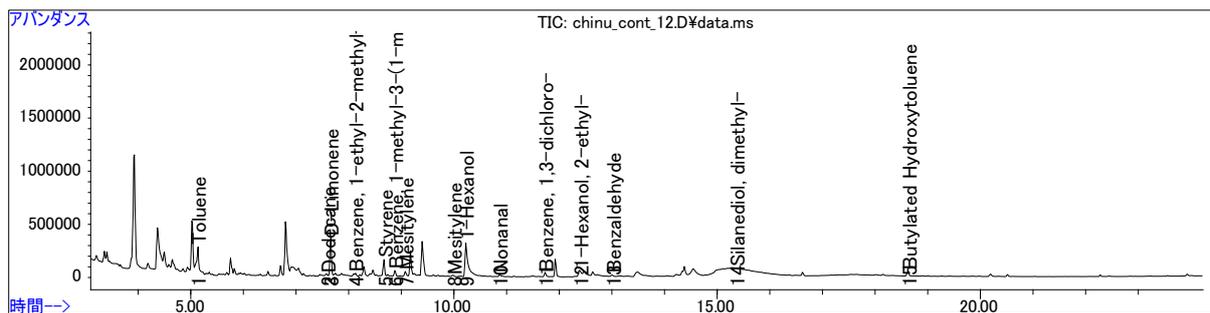


図 1-1 GC-MS-O のパターン (210803 分析)

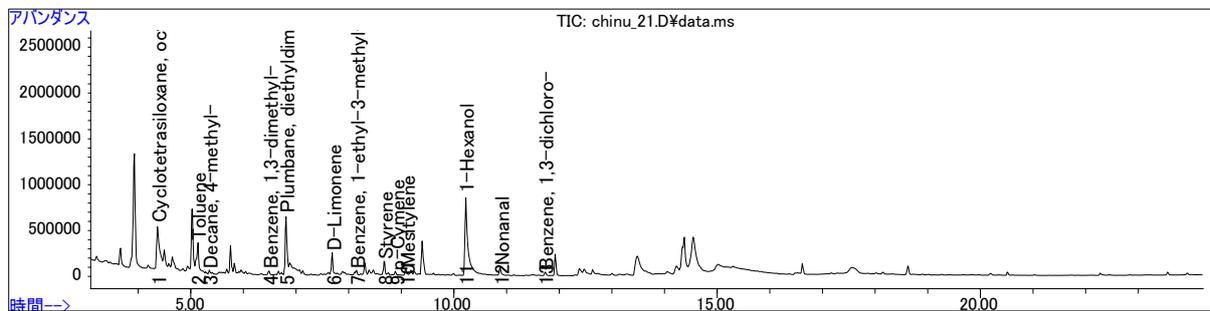
蓄養無区 (対照) 1 回目



蓄養無区 (対照) 2 回目



蓄養有区 1 回目



蓄養有区 2 回目

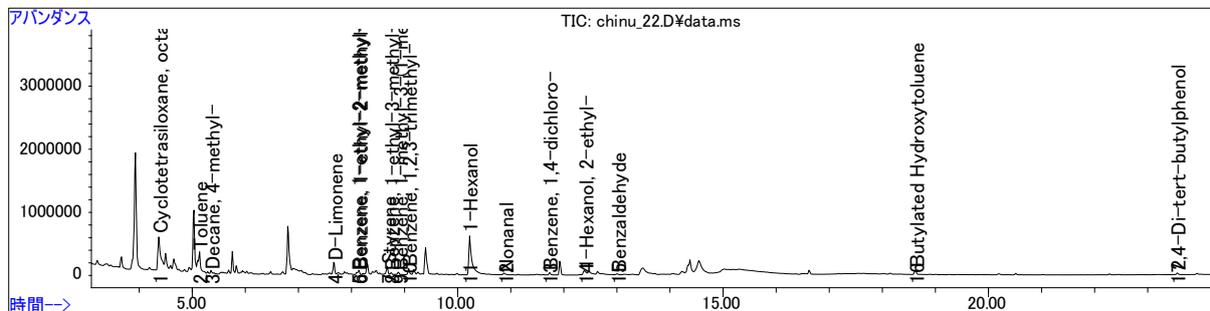


図 1-2 GC-MS-O のパターン (210803 分析)

GC-MS-O による定性結果から物質同定を行い、各成分のピークの一一致率が 90% 以上のものを表 1-4 に示した。

表 1-4 クロダイの 90%以上の香気成分 (210802 分析)

RT	成分	蓄養無 (対照)		蓄養有	
		1 回目	2 回目	1 回目	2 回目
4.37	Cyclotetrasiloxane, octamethyl-	○		○	○
5.14	Toluene	○	○	○	○
5.35	Decane, 4-methyl-			○	○
6.49	Benzene, 1,3-dimethyl-			○	
6.81	Plumbane, diethyldimethyl-			○	
7.06	.beta.-Myrcene	○			
7.46	o-Xylene	○			
7.59	Dodecane	○	○		
7.67	D-Limonene	○	○	○	○
8.13	Benzene, 1-ethyl-2-methyl-		○		○
8.15	Benzene, 1-ethyl-3-methyl-	○		○	
8.29	Nonadecane	○			
8.47	.gamma.-Terpinene	○			
8.67	Styrene	○	○	○	○
8.74	Benzene, 1-ethyl-3-methyl-				○
8.88	Benzene, 1-methyl-3-(1-methylethyl)-	○	○		○
8.89	p-Cymene			○	
9.08	Benzene, 1,2,3-trimethyl-	○			○
9.08	Mesitylene		○	○	○
10.23	1-Hexanol	○	○		
10.87	Nonanal	○	○		
11.73	Benzene, 1,3-dichloro-		○	○	
11.73	Benzene, 1,4-dichloro-	○			○
12.38	1-Hexanol, 2-ethyl-	○	○		○
13.00	Benzaldehyde	○	○		○
15.36	Silanediol, dimethyl-		○		
18.62	Butylated Hydroxytoluene	○	○		○
23.56	2,4-Di-tert-butylphenol				○

※○は検出、空欄は未検出を示す。

表 1-4 の成分のうち、蓄養無区のみ、蓄養有区のみ、蓄養無区および蓄養有区の両方の区で 2 回とも検出された成分とそのにおいの特徴を表 1-5 に示した。蓄養無区でのみ検出された成分は、Dodecane、1-Hexanol、Nonanal の 3 成分だった。蓄養有区でのみ検出された成分は、Decane, 4-methyl- の 1 成分だった。両方の区で検出された成分は、D-Limonene、Styrene の 2 成分だった。

表 1-5 クロダイの 90%以上の香気成分 (210802 分析)

RT	成分	蓄養無区	蓄養有区	においの特徴
5.35	Decane, 4-methyl-		○	データベース掲載なし
7.59	Dodecane	○		burnt, cedar, chinese medicine
7.67	D-Limonene	○	○	citritic, citrus, citrus fruit
8.67	Styrene	○	○	almost floral odor, apple, aromatic
10.23	1-Hexanol	○		alchol, alcoholic, aromatic
10.87	Nonanal	○		aldehyde, aldehyde-like, aldehydic

※○は検出、空欄は未検出を示す。

#### 4. 考察

今回の実験では、におい嗅ぎガスクロマトグラフ質量分析計 (GC-MS-O) を用いて、蓄養の有無によるにおいへの影響について検討することを目的とした。

その結果、蓄養無区でのみ検出された成分は、Dodecane、1-Hexanol、Nonanal の 3 成分だった。Dodecane は、アロマオフィスのデータベースでは、「焦げた」「スギ」「漢方薬」のようなにおいの特徴を持つとされている。1-Hexanol は、アロマオフィスのデータベースでは「アルコール」、その他の文献では、「草様のにおい」といったにおいの特徴を持つとされている。Nonanal は、アロマオフィスのデータベースでは、「アルデヒド臭」のようなにおいの特徴を持つとされている。また、Hexanol および Nonanal は、アロマオフィスで検索した「Fishy (魚臭い、生臭い)」にも含まれている (下記参照)。このようなにおいが蓄養有区では、検出されなかったため、今回の実験より、短期蓄養によるクロダイの独特なにおいが減少した可能性が考えられた。

蓄養有区でのみ検出された成分である Decane, 4-methyl- はデータベースにはなかった。Decane で検索すると「burnt, cedar, chinese medicine」といった Dodecane と同様のにおいの特徴が記されていたので、蓄養有区で逆に増加する成分にあるものと考えられた。

両区で観察された D-Limonene は、「柑橘系」のにおい、Styrene は「花臭」「りんご」といったにおいの特徴を持ち、蓄養の有無に関わらず検出されることが明らかになった。

以上の結果から、クロダイを短期間蓄養することにより、「焦げた」、「漢方薬」のにおいととも魚臭い成分が減少する可能性が示唆された。すなわち、クロダイの短期蓄養は、魚価の向上につながるものと考えられた。

参考)

アロマオフィスで検索した生臭い成分

Fishy (魚臭い、生臭い) 26成分

Dimethyltrisulphide,heptanal,hexanal,Methional,Methylproranal,nonanal,

Octanal,(E,E)-2,4-heptadienal,(E,E)-2,4-nonadienal,(E,Z)-2,4-heptenal,(Z)-4-

heptenal,(Z)-1,5-Octadien-3-one,1-octen-3-ol,1-Octen-3-one,2,3-Butanedione,2,3-

Pentanedione,2-Acetyl-1-pyrroline,2-Ethyl-3,5-dimethylpyrazine,2-Methylbutanal,2-

sec-Butyl-3-methoxypyrazine,3-Methyl-2,4-nonanedione,3-

Methylbutanal,Decanal,Dimethyl sulphide,Dimethyltetrasulphide

## 5. 参考文献

- 1) Chang, C., Seitz, L. M. and Chambers, E. : Volatile Flavor Components of Breads Made from Hard Red Winter Wheat, Cereal Chem., 72, 3(1995), 237-242

## 実験2：クロダイ短期蓄養魚におい成分分析に関する実験（9～10月）

### 目的

クロダイは、時季によって独特の臭みを生じることから、値段が安く漁業者が積極的に漁獲しない状況となっている。そこで、クロダイの魚価向上のため、臭みを減少させる方法として短期の蓄養試験を行っている。実験1では、産卵直後でおおいが強くなるとされる6月頃のクロダイについて、におい嗅ぎガスクロマトグラフ質量分析計（GC-MS-O）を用いて、蓄養の有無によるにおいへの影響について検討を行った。その結果、クロダイを短期蓄養することにより、「焦げた」、「漢方薬」のにおいとともにおい成分が減少する可能性が示唆され、クロダイの短期蓄養は、魚価の向上につながるものと考えられた。今回の実験では、6月以外の時期のクロダイを対象とし、蓄養の有無によるにおいへの影響について検討することを目的とした。なお、今回も、におい嗅ぎガスクロマトグラフ質量分析計（GC-MS-O）を用いて実験を行うこととした。

### 実験方法

#### 1) 実験試料

実験試料には、大分県北部振興局から提供して頂いた蓄養無のクロダイ（蓄養無区：対照）と蓄養有のクロダイ（蓄養有区）の2種類を用いた。なお、蓄養無区はn=5、蓄養有区はn=12をそれぞれ混合したものを用いた。蓄養無区の各試料の詳細を表2-1、蓄養有区の各試料の詳細を表2-2に示した。

実験試料は、2021年10月1日に冷凍の状態での搬入し、分析まで冷凍庫（-30℃）で保存した。

表 2-1 蓄養無区の各試料の詳細

蓄養無 区						
No.	測定日	全長(mm)	尾叉長(mm)	体重(g)	雌雄	備考
1	9月9日	400	375	964.0	不明	貝食
2	9月9日	425	398	1172.7	♀	
3	9月9日	415	388	1099.4	不明	貝食
4	9月9日	410	383	1085.3	不明	貝食
5	9月9日	385	375	876.7	♀	ヤセ
平均		407.0	383.8	1039.6		

表 2-2 蓄養有区の各試料の詳細

蓄養有区						
No.	測定日	全長(mm)	尾叉長(mm)	体重(g)	雌雄	備考
1	9月6日	365	346	656.4	不明	ヤセ
2	9月6日	383	362	673.4	不明	ヤセ、脾臓黒すぎ(病気か?)
3	9月6日	410	385	1073.0	不明	
4	9月6日	390	372	884.8	不明	
5	9月6日	420	397	1308.5	♀	
6	9月6日	381	381	992.5	♀	キズ
7	10月1日	425	425	1330.6	♀	
8	10月1日	420	410	1107.6	不明	
9	10月1日	430	416	1429.0	♀	
10	10月1日	355	355	795.3	♀	
11	10月1日	425	409	1683.6	不明	
12	10月1日	425	410	1257.5	不明	キズ
平均		402.4	389.0	1099.4		

## 2) サンプルの調製方法

サンプルの調製は下記の手順で行った。

- ①冷凍庫で保管していたサンプルを流水で10分間解凍した(写真2-1)。
- ②皮を取り除き、白身を1cm幅に切り、その後細かいミンチにした(写真2-1)。  
(まな板使用、手袋着用)。
- ③電子天秤で5g(5.004g以下にする)精秤した。  
\*薬包紙、ピンセットを使用する。  
\*試験区が変わる際は、新しいものに取り替える。
- ④容量20mlのガラスバイアルビンに入れた(写真2-2)。



写真 2-1 解凍後(左)とミンチ状(右)にしたサンプルの様子



写真 2-2 バイアルビンに入れたサンプルの様子

3) におい嗅ぎガスクロマトグラフ質量分析計 (GC-MS-O) による分析

蓄養無区のクロダイと蓄養有区のクロダイのにおい成分の分析を GC-MS-O (写真 2-3) を用いて行った。分析は 2021 年 10 月 7 日に実施し、1 検体につき 2 回測定を行った。分析の順番は、蓄養有区→蓄養無区の順番で行った。



写真 2-3 GC-MS-O

分析に用いる GC-MS は、7890B に GC-5977A MSD (Agilent Technologies 社製) を設置したものである。装置の上部には、試料からにおい成分をサンプリングする MultiPurpose Sampler (Gerstel 社製) を付属している。表 2-3 に機器の測定条件をまとめた。

表 2-3 GC の測定条件

カラム	DB-WAX 0.250mm×30m・0.25µm (Agilent Technologies 社製)
カラム温度	40°Cで2分間保持後、40°C→230°C (40°C→100°Cまでは10°C/min、100°C→230°Cまで8°C/min)
注入口温度	100°C→250°C
インターフェイス温度	250°C
MS イオン源温度	230°C
四重極温度	190°C
キャリアーガス	He
キャリアーガス流速	1.9ml/min

分析は下記の手順で行った。2) に示す方法で調製した試料をにおいかぎ GC-MS のサンプラー部にセットする。試料を 40°C のアルミブロックバスの中で 5 分間加温した後、バイアル内に生じた揮発性成分を固相マイクロ抽出 (SPME) に吸着させ、オートサンプラーで自動的に GC (ガスクロマトグラフ) に注入した。SPME 抽出装置は、MSU071-00A Fiber 10mm, Scale 36mm を使用した。

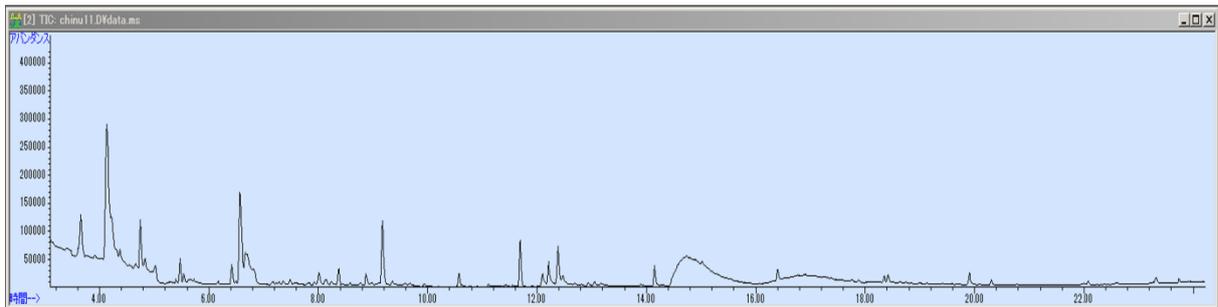
GC 中の揮発性成分は MS (質量分析計) とにおい嗅ぎ装置 (Olfactory Detection Port (ODP) 3) に分岐させて放出させた。今回は、MS による成分分析のみ実施し、におい嗅ぎは実施しなかった。

得られた結果は、Aroma Office を使用してにおい成分の同定を行った。成分の同定に関しては、各成分のピークの一致率が 90% 以上のものを結果として記載した。

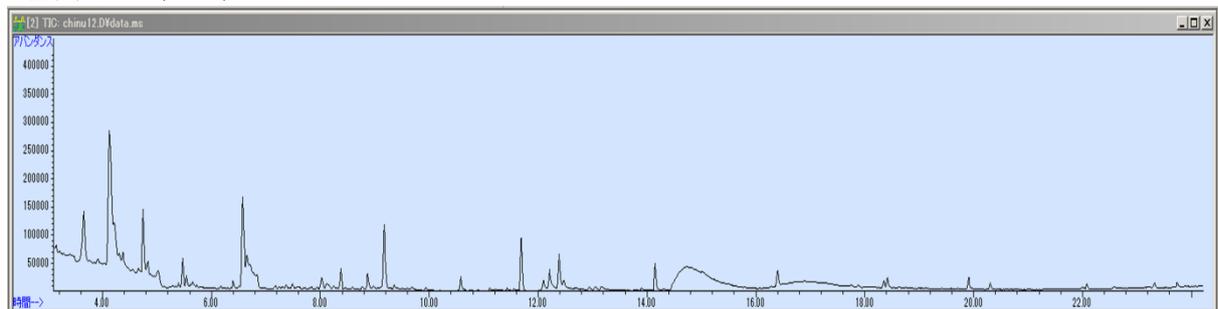
### 3. 実験結果

GC-MS-O による解析パターンを図 2-1、図 2-2 に示した。全体的なピークパターンは類似しているが、蓄養無区に対して、蓄養有区の方がピークの検出が若干多かった。

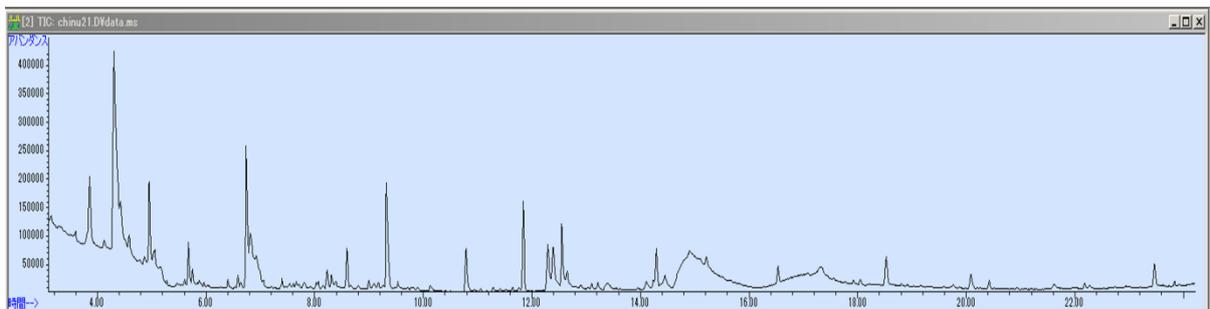
蓄養無区 (対照) 1 回目



蓄養無区 (対照) 2 回目



蓄養有区 1 回目



蓄養有区 2 回目

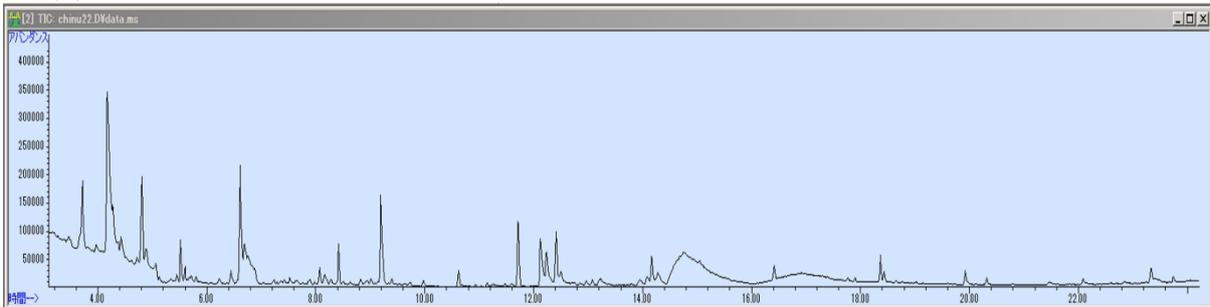
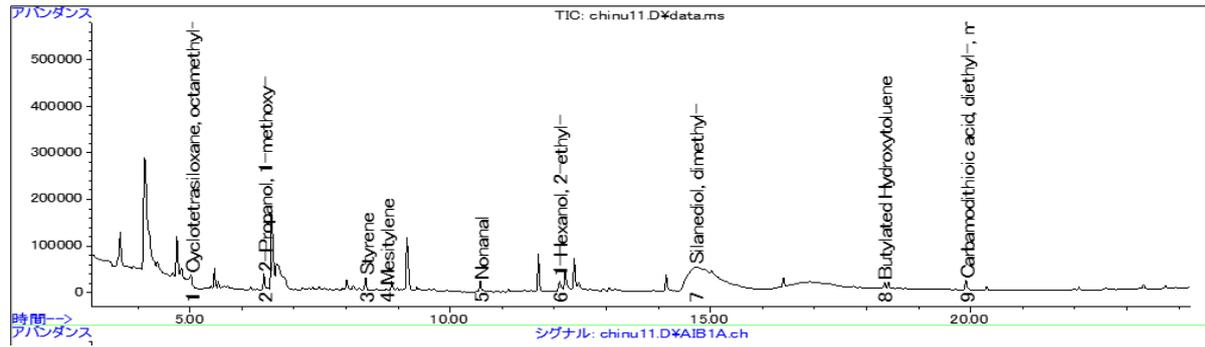
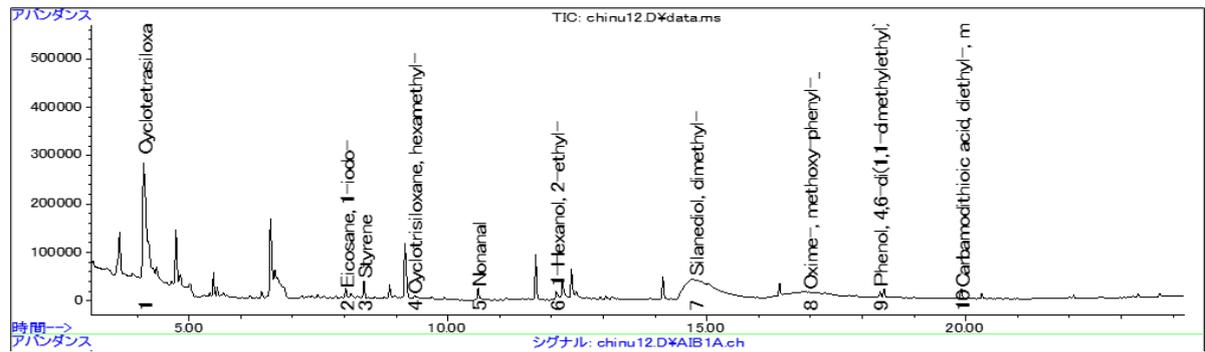


図 2-1 GC-MS-O のパターン (211007 分析)

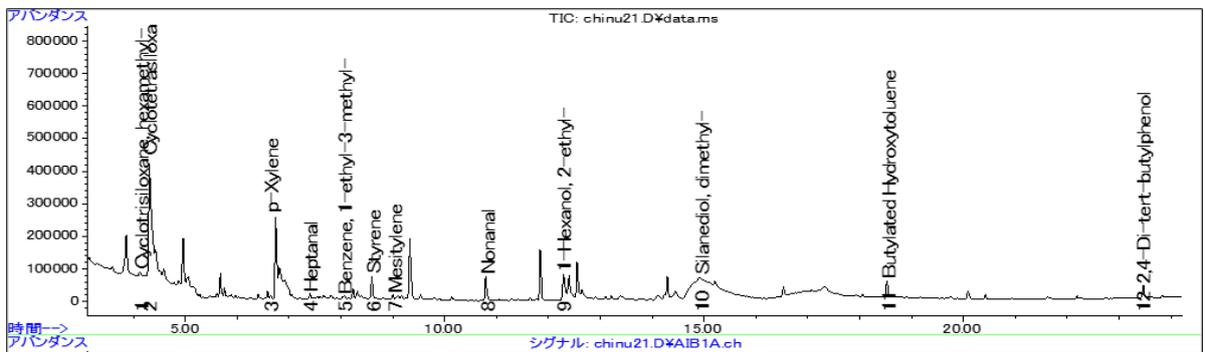
蓄養無区 (対照) 1 回目



蓄養無区 (対照) 2 回目



蓄養有区 1 回目



蓄養有区 2 回目

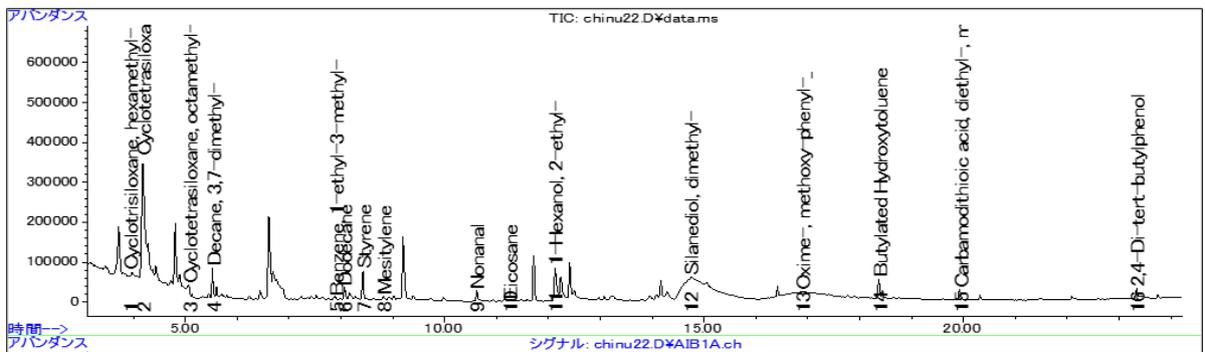


図 2-2 GC-MS-O のパターン (211007 分析)

GC-MS-O による定性結果から物質同定を行い、各成分のピークの一一致率が 90% 以上のものを表 2-4 に示した。平均検出数は、蓄養無区が 5 個、蓄養有区が 9 個となり、蓄養有区の方が多く検出された。

表 2-4 クロダイの 90%以上の香気成分 (211007 分析)

RT	成分	蓄養無 (対照)		蓄養有	
		1 回目	2 回目	1 回目	2 回目
4.04	Cyclotrisiloxane, hexamethyl-			○	○
7.40	Heptanal			○	
8.07	Benzene, 1-ethyl-3-methyl-			○	
8.44	Styrene	○	○	○	○
8.87	Mesitylene	○		○	○
10.66	Nonanal	○		○	○
12.29	1-Hexanol, 2-ethyl-			○	
14.75	Silanediol, dimethyl-	○	○		○
16.88	Oxime-, methoxy-phenyl-				○
18.41	Butylated Hydroxytoluene	○		○	○
19.92	Carbamodithioic acid, diethyl-, methyl ester	○	○		
23.40	2,4-Di-tert-butylphenol			○	○

※○は検出、空欄は未検出を示す。

表 2-4 の成分のうち、蓄養無区のみ、蓄養有区のみ、蓄養無区および蓄養有区の両方で 2 回とも検出された成分とそのにおいの特徴を表 2-5 に示した。蓄養無区でのみ検出された成分は、Silanediol, dimethyl-、Carbamodithioic acid, diethyl-, methyl ester の 2 成分だった。蓄養有区でのみ検出された成分は、Cyclotrisiloxane, hexamethyl-、Mesitylene、Nonanal、Butylated Hydroxytoluene、2,4-Di-tert-butylphenol の 5 成分だった。両方の区で検出された成分は、Styrene の 1 成分だった。

蓄養無区および蓄養有区の両方で検出された Styrene のピーク面積の結果を図 2-3 に示した。蓄養無区に対して、蓄養有区では約 2 倍の Styrene が検出されていた。

表 2-5 クロダイの 90%以上の香気成分 (211007 分析)

RT	成分	蓄養無区	蓄養有区	においの特徴
4.04	Cyclotrisiloxane, hexamethyl-		○	データベース掲載なし
8.44	Styrene	○	○	almost floral odor, apple, aromatic
8.87	Mesitylene		○	データベース掲載なし
10.66	Nonanal		○	aldehyde, aldehyde-like, aldehydic
14.75	Silanediol, dimethyl-	○		データベース掲載なし
18.41	Butylated Hydroxytoluene		○	medicinal , phenolic
19.92	Carbamodithioic acid,diethyl-, methyl ester	○		データベース掲載なし
23.40	2,4-Di-tert- butylphenol		○	phenol-like, pungent, phenolic

※○は検出、空欄は未検出を示す。

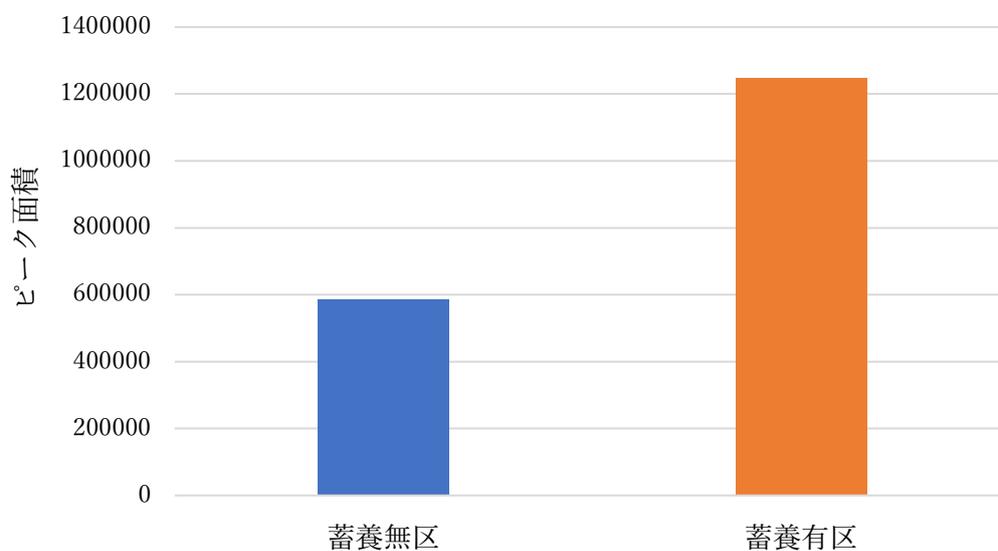


図 2-3 styreneのピーク面積

#### 4. 考察

実験2では、9月～10月にサンプリングされたクロダイを対象とし、におい嗅ぎガスクロマトグラフ質量分析計（GC-MS-O）を用いて、蓄養の有無によるにおいへの影響について検討することを目的とした。

その結果、蓄養無区でのみ検出された成分は、Silanediol, dimethyl-, Carbamodithioic acid, diethyl-, methyl ester の2成分だった。これらの成分のにおいの特徴はデータベースにはなかったため、においの特徴について明らかにすることはできなかった。

蓄養有区でのみ検出された成分は、Cyclotrisiloxane, hexamethyl-, Mesitylene、Nonanal、Butylated Hydroxytoluene、2,4-Di-tert-butylphenol の5成分だった。Nonanalは、アロマオフィスのデータベースでは、「aldehyde, aldehyde-like, aldehydic」「Fishy（魚臭い、生臭い）」のようなにおいの特徴を持つとされている。6月にサンプリングされたクロダイを対象とした実験1では、Nonanalは、蓄養無区でのみ検出され、蓄養有区では検出されずクロダイを短期蓄養することにより、魚臭い成分が減少する可能性が示唆されていた。しかし、今回の実験では、逆の結果となった。すなわち、9～10月のクロダイでは、短期蓄養によるNonanalの減少は見られなかった。実験1と異なる結果が出た要因については、個体差等の影響も考えられるため、更なる検討が必要であると考えられた。また、「medicinal, phenolic」のようなにおいの特徴を持つ Butylated Hydroxytoluene、「phenol-like, pungent, phenolic」のようなにおいの特徴を持つ「2,4-Di-tert-butylphenol」が蓄養有区でのみ検出されることも明らかになった。これらはいずれもフェノール臭であり、蓄養有区に特徴的なにおいである可能性が考えられた。

両区で検出された Styrene は、実験1においても同様に蓄養の有無に関わらず検出されている。実験1では、両区に大きな差は観察されなかったが、今回の実験では、蓄養無区に対し、蓄養有区で約2倍の Styrene が観察された。Styrene は、「almost floral odor, apple, aromatic」といったにおいの特徴を持っているため、魚の臭みの減少に寄与するのではないかと考えられた。

以上の結果から9～10月のクロダイを研究対象とした今回の実験では、魚臭い成分を減少する効果は認められないことが明らかになった。また、実験1と実験2のクロマトグラムを比較するとピークのスケールが実験2ではかなり小さいことも明らかになった。すなわち、6月のクロダイを研究対象とした実験1と比較して、9～10月のクロダイは、そもそもにおい成分の検出がかなり小さく、におい成分自体が少ないものと考えられた。これらのことより、9～10月の短期蓄養の効果は、6月と比較してあまりないものと考えられた。