

炭素及び窒素安定同位体比を用いた養殖魚と天然魚の判別法の検討

高嶋康晴¹、井口潤¹、浪越充司¹、中村哲^{1,2} 名塚英一¹、神谷光行^{1,3}
Yasuharu TAKASHIMA¹, Jun IGUCHI¹, Atsushi NAMIKOSHI¹,
Satoru NAKAMURA^{1,2}, Eiichi NAZUKA¹, Mitsuyuki KAMIYA^{1,3}

要 約

マダイ (*Pagrus major*) の養殖のものか天然のものかを判別するために、安定同位体分析による判別法の検討を行った。マダイ筋肉を凍結乾燥後脱脂し、安定同位体比質量分析計により炭素安定同位体比及び窒素安定同位体比を測定した。養殖マダイ群と天然マダイ群間で、炭素安定同位体比は有意水準 1 % で有意な差がみられたが、窒素安定同位体比は有意水準 5 % においても有意な差はみられなかった。炭素安定同位体比の両集団間の分布にはオーバーラップする部分が多かった。そのため、炭素及び窒素安定同位体比分析により、養殖マダイと天然マダイを判別するのは困難であることが明らかとなった。

1. はじめに

JAS法により生鮮水産物には給餌により育成したものについて「養殖」の表示が義務づけられている。形態的な特徴、脂肪酸組成の差などによる判別法が報告されているが¹⁻³⁾、種苗生産の改良、給餌方法の改善による形態的な形質の向上等により、脂肪酸組成による判別は困難であることが指摘されている^{4),5)}。

安定同位体解析は、生態学の分野で食物網の構造解析や食性解析で広く研究が行われており、多くの動物界の捕食者と被捕食者との間では捕食者中に ¹³C 及び ¹⁵N が濃縮され、筋肉組織では、炭素安定同位体比が約 1 ‰、窒素安定同位体比が 3~5 ‰増加することが知られている⁶⁻¹³⁾。これは、動物組織の炭素・窒素安定同位体比が摂取した食物の値を反映することに基づいている。天然海域においてマダイは、主に小型の甲殻類や魚類を摂餌しているといわれている。一方、養殖マダイに給餌される飼料は、魚粉、オキアミミール、脱脂大豆粉末、小麦粉末などの混合により形成されている。

従って、養殖マダイと天然マダイの食性の違いから筋肉中の炭素及び窒素安定同位体比が大きく異なることが推測される。そのため、我々はマダイ筋肉の炭素及び窒素安定同位体比を測定し、その差を明らかにすることで養殖マダイと天然マダイを判別する方法の検討を行った。

¹ (独)農林水産消費安全技術センター本部

² 現 (独)農林水産消費安全技術センター神戸センター

³ 現 (独)農林水産消費安全技術センター本部横浜事務所

2. 実験方法

2.1 試料

養殖マダイ及び天然マダイ：漁獲統計等を参考に養殖マダイ 51尾及び天然マダイ 42尾を入手した(表1-1及び1-2)。平成13年度入手魚は既報³⁾の試料を使用した。平成17年度入手魚は2003年度の漁獲統計を参考に漁協を通じてラウンド状態のマダイを購入し、試料とした。平成18年度入手魚は市販品を小売店から柵及びラウンド状態のマダイを購入し、試料とした。

表1-1 養殖マダイ

養殖魚	漁獲地	尾
平成13年度	長崎	5
	不明	5
平成17年度	愛媛	10
	高知	6
	和歌山	3
	熊本	3
平成18年度	愛媛	12
	三重	4
	静岡	1
	香川	1
	熊本	1
合 計		51

表1-2 天然マダイ

養殖魚	漁獲地	尾
平成13年度	福岡	8
	長崎	2
平成17年度	岡山	3
	愛媛	3
	鳥取	3
	熊本	3
平成18年度	長崎	6
	千葉	3
	福島	2
	山口	2
	大分	2
	三重	1
	兵庫	2
	宮崎	1
	鹿児島	1
	合 計	

2.2 試料調製

マダイ筋肉は、セラミック包丁により細切りにし、乳鉢・乳棒を用いて粉碎をおこなった。粉碎した試料をファスナー付きポリ袋に入れ、凍結乾燥機(EYELA FREEZE DRYER FD-1)により一晩乾燥した。乾燥試料は、1.5 mL チューブに小分けし、下記の脱脂処理を行った。

クロロホルム：メタノールを 2：1 の割合で混合した溶液に試料を浸潤させる。

2,000 × g で 1 分間遠心後、油層を除去する。

スパチュラで脱脂が不十分な固形物を粉碎する。

へ戻り固形物が無くなるまで繰り返す。

ドラフトチャンバーで 30 分程度乾燥させる。

乾燥機(ADVANTEC SP-650)を用い 100 ℃, 60 分間乾燥させる。

2.3 測定

粉碎した乾燥試料は、スズカプセルに封入し、元素分析計が接続された continuous-flow 型安定同位体比質量分析装置(IsoPrimeTM EA/PyrOH)により、炭素及び窒素安定同位体比を測定した。同一サンプルの炭素及び窒素安定同位体比を測定するために自動希釈装置を

用い炭素安定同位体比は4倍希釈で測定した。

測定した炭素及び窒素安定同位体比は、 $X = R_{\text{試料}} / R_{\text{標準}} - 1$ によって、値として表記した。ここで、Xは、炭素、窒素に対して、それぞれ、 ^{13}C 及び ^{15}N を表し、Rはそれぞれの元素の同位体比、 $^{13}\text{C} / ^{12}\text{C}$ 及び $^{15}\text{N} / ^{14}\text{N}$ である。炭素標準試料は VPDB (Vienna PeeDee Belemnite)、窒素標準試料は大気窒素である。

3. 結果と考察

養殖マダイ及び天然マダイの炭素及び窒素安定同位体比は、養殖マダイ $^{13}\text{C} = -16.8 \pm 1.0 \text{ ‰}$, $^{15}\text{N} = 13.7 \pm 1.1 \text{ ‰}$ (n=51) (表2) 及び天然マダイ $^{13}\text{C} = -15.7 \pm 0.7 \text{ ‰}$, $^{15}\text{N} = 14.2 \pm 2.5 \text{ ‰}$ (n=42) (表3) となった。養殖マダイ群と天然マダイ群の炭素及び窒素安定同位体比について、有意差の有無を明らかにするために t 検定を行ったところ炭素安定同位体比は有意水準 1 % で両集団間に有意な差がみられ、窒素安定同位体比は有意水準 5 % においても両集団間に有意な差は見られなかった (表4)。炭素安定同位体比では、両群の分布にオーバーラップする部分が多いため、養殖マダイと天然マダイを判別することを目的とした検査に用いるには困難であると考えられた (図2)。

また、養殖マダイと天然マダイの炭素及び窒素安定同位体比についてスミルノフ・グラブス検定を棄却値となる値がなくなるまで実施したところ、天然マダイの窒素安定同位体比について棄却値とされた試料がみられた (表3)。窒素安定同位体比は富栄養化の指標として知られ、相模湾や瀬戸内海等では高い値を示すことがあると報告されている¹⁴⁻¹⁶⁾。スミルノフ・グラブス検定によって窒素安定同位体比が高く棄却された試料は、瀬戸内海で漁獲された天然マダイ 5 試料であり、漁獲地域の富栄養化の影響の可能性が示唆された。

4. まとめ

養殖マダイ群と天然マダイ群の炭素安定同位体比は有意水準 1 % で有意な差がみられたが、窒素安定同位体比は有意水準 5 % においても有意な差はみられなかった。炭素安定同位体比の両集団間の分布にはオーバーラップする部分が多く、炭素及び窒素安定同位体比分析により、養殖マダイと天然マダイを判別するのは困難であることが明らかとなった。

5. 謝辞

本研究を実施するに当たり、独立行政法人水産総合研究センター中央水産研究所海洋生産部低次生産研究室の豊川雅哉主任研究員をはじめとした中央水産研究所の皆様からは、技術指導を含め多大なるご支援をいただいたので感謝を申し上げます。

表2 養殖マダイの炭素及び窒素安定同位体比

番号	入手年度	¹³ C (‰)	¹³ N (‰)	漁獲地	番号	入手年度	¹³ C (‰)	¹³ N (‰)	漁獲地
1	平成13年度	-14.9	15.1	不明	27	平成17年度	-16.5	13.4	愛媛
2	平成13年度	-14.8	15.3	不明	28	平成17年度	-16.5	13.5	愛媛
3	平成13年度	-17.9	11.6	長崎	29	平成17年度	-16.3	13.6	愛媛
4	平成13年度	-18.0	11.4	不明	30	平成17年度	-18.2	13.4	和歌山
5	平成13年度	-15.7	14.5	不明	31	平成17年度	-18.0	13.7	和歌山
6	平成13年度	-17.6	14.1	長崎	32	平成17年度	-18.3	13.1	和歌山
7	平成13年度	-17.4	14.4	長崎	33	平成18年度	-17.3	12.0	愛媛
8	平成13年度	-16.8	14.7	不明	34	平成18年度	-17.1	12.3	愛媛
9	平成13年度	-17.3	15.7	長崎	35	平成18年度	-16.2	14.3	愛媛
10	平成13年度	-17.2	15.9	長崎	36	平成18年度	-18.3	11.2	愛媛
11	平成17年度	-18.3	13.0	熊本	37	平成18年度	-16.6	12.9	静岡
12	平成17年度	-18.1	12.9	熊本	38	平成18年度	-15.7	13.8	三重
13	平成17年度	-17.9	13.1	熊本	39	平成18年度	-15.8	14.4	愛媛
14	平成17年度	-16.7	15.2	高知	40	平成18年度	-17.6	12.9	香川
15	平成17年度	-16.4	15.1	高知	41	平成18年度	-15.8	13.4	愛媛
16	平成17年度	-16.8	15.4	高知	42	平成18年度	-16.3	15.1	三重
17	平成17年度	-15.6	13.9	高知	43	平成18年度	-15.4	13.4	愛媛
18	平成17年度	-15.6	13.9	高知	44	平成18年度	-16.1	14.0	愛媛
19	平成17年度	-15.5	13.8	高知	45	平成18年度	-16.4	14.0	三重
20	平成17年度	-18.0	13.4	愛媛	46	平成18年度	-16.0	14.9	熊本
21	平成17年度	-18.0	13.5	愛媛	47	平成18年度	-16.4	13.8	三重
22	平成17年度	-18.0	13.7	愛媛	48	平成18年度	-16.3	14.4	愛媛
23	平成17年度	-16.3	12.8	愛媛	49	平成18年度	-16.4	14.3	愛媛
24	平成17年度	-17.7	12.7	愛媛	50	平成18年度	-16.5	13.9	愛媛
25	平成17年度	-17.6	12.4	愛媛	51	平成18年度	-16.9	13.9	愛媛
26	平成17年度	-17.5	12.6	愛媛	平均±標準偏差		-16.8±1.0	13.7±1.1	

表3 天然マダイの炭素及び窒素安定同位体比

番号	入手年度	¹³ C (‰)	¹³ N (‰)	漁獲地	番号	入手年度	¹³ C (‰)	¹³ N (‰)	漁獲地
1	平成13年度	-15.8	12.2	福岡	23	平成18年度	-16.3	13.8	福島
2	平成13年度	-15.2	12.7	福岡	24	平成18年度	-15.5	13.7	福島
3	平成13年度	-15.8	11.3	福岡	25	平成18年度	-16.2	12.1	宮崎
4	平成13年度	-16.0	13.8	長崎	26	平成18年度	-16.4	11.9	長崎
5	平成13年度	-15.2	14.3	福岡	27	平成18年度	-16.9	12.5	千葉
6	平成13年度	-14.8	13.6	福岡	28	平成18年度	-15.9	13.9	千葉
7	平成13年度	-15.7	14.2	長崎	29	平成18年度	-15.6	13.1	長崎
8	平成13年度	-14.8	11.3	福岡	30	平成18年度	-15.8	13.0	山口
9	平成13年度	-16.0	13.4	福岡	31	平成18年度	-16.4	13.3	大分
10	平成13年度	-15.4	13.7	福岡	32	平成18年度	-14.5	15.8	三重
11	平成17年度	-15.2	13.9	熊本	33	平成18年度	-17.0	12.7	長崎
12	平成17年度	-14.8	14.6	熊本	34	平成18年度	-16.5	11.8	長崎
13	平成17年度	-15.2	14.2	熊本	35	平成18年度	-14.6	18.4*	兵庫
14	平成17年度	-15.1	13.2	鳥取	36	平成18年度	-14.8	18.6*	兵庫
15	平成17年度	-15.4	13.4	鳥取	37	平成18年度	-16.2	13.0	鹿児島
16	平成17年度	-15.5	13.8	鳥取	38	平成18年度	-14.4	14.3	千葉
17	平成17年度	-15.7	14.2	愛媛	39	平成18年度	-16.6	14.7	長崎
18	平成17年度	-16.1	13.2	愛媛	40	平成18年度	-16.4	14.1	大分
19	平成17年度	-17.2	14.5	愛媛	41	平成18年度	-16.7	12.9	山口
20	平成17年度	-14.8	21.7*	岡山	42	平成18年度	-17.0	13.1	長崎
21	平成17年度	-15.5	21.4*	岡山	平均±標準偏差		-15.7±0.7	-14.2±2.5	
22	平成17年度	-15.2	21.7*	岡山					

*: スミルノフ・グラブス検定で棄却された値

表4 炭素及び窒素安定同位体比における養殖マダイ群と天然マダイ群のt検定結果(p値及びt値)

比較変数	p 値	t 値
炭素安定同位体比	0.000	-6.218
	0.000*	-5.467*
窒素安定同位体比	0.244	-1.177
	0.135*	-1.519*

* : スミルノフ・グラブス検定により棄却値をとるサンプルを除いた検定結果

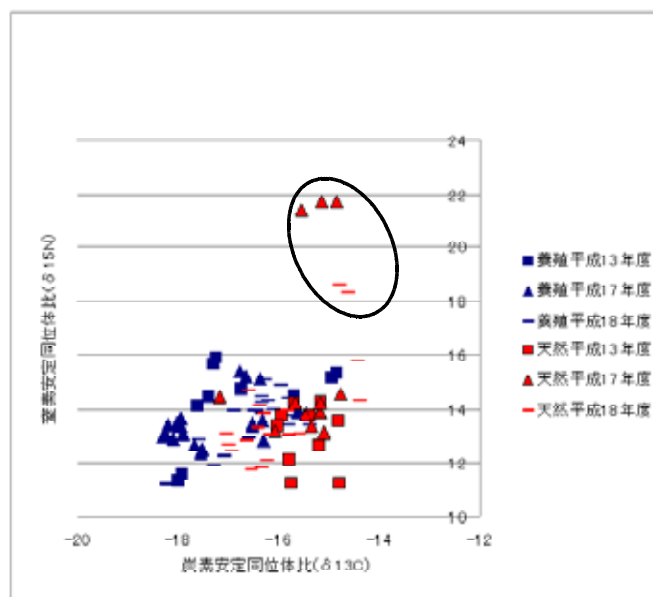


図1 天然マダイ及び養殖マダイの炭素及び窒素安定同位体比
(丸枠内はスミルノフ・グラブス検定で棄却されたサンプル)

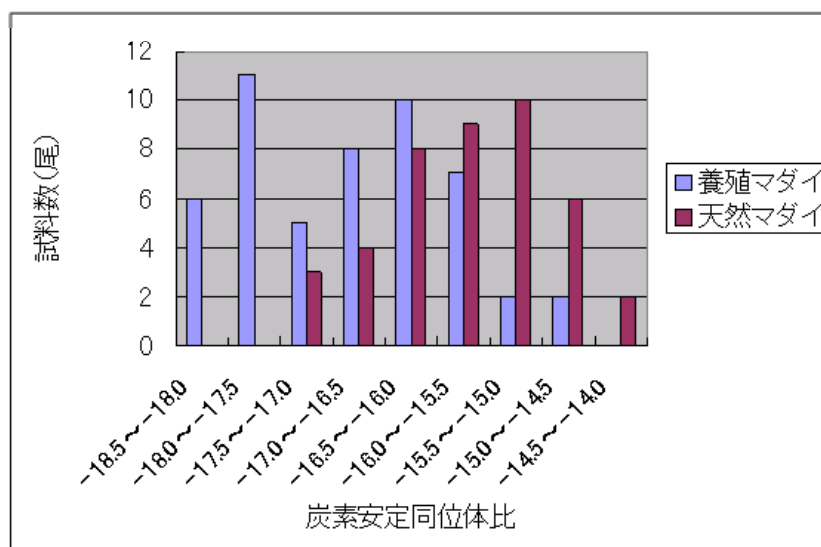


図2 養殖マダイと天然マダイの炭素安定同位体比の分布

6 . 文 献

- 1) 大島敏明、他：日水誌, **49**(9), 1405-1409 (1983)
- 2) 松宮義晴、他：日水誌, **50**(7), 1173-1178 (1984)
- 3) 藤田卓、他：農林水産消費技術センター調査研究報告, No.27, 27-49 (2002)
- 4) 山口勝己、他：効果的なマダイの色揚げ法について . 養殖 No.254 , 51-53 (1985).
- 5) 新食品分析法 [] p524-535
- 6) 和田英太郎、南川雅男：Tracer, **8**, 8-12 (1983)
- 7) 和田英太郎：海洋科学, **16**(2), 117-123(1984)
- 8) 安藤喬志：化学, **40**(10), 633-639(1985)
- 9) 和田英太郎、他：Radioisotope **35**(3) , 136-146 (1986)
- 10) 杉本敦子、和田英太郎：Radioisotope **41**(7):
- 11) 和田英太郎、半場祐子：生化学, **66**(1), 15-28 (1994)
- 12) 和田英太郎、山田佳裕：化学, **49**, 719-723 (1994)
- 13) 和田英太郎、他：エネルギー・資源, **24**(1) , 27-33(2003)
- 14) 高津文人、他：生物資源科学 , **2**(2),(1996)
- 15) 高井則之：日本生態学会誌, **55**, p269-285(2005)
- 16) 高津文人：水文・水資源学会誌, **19**(5), (2006)