水産物づけおよび揚げ物の ω3 脂肪酸残存率に及ぼす製造条件の影響

宮部　好克・落合　瞳子

Effect of processing conditions on the residual ratio of omega-3 (ω-3) fatty acids in soy-marinated raw fish and deep-fried fish

Yoshikatsu MIYABE and Toko OCHIAI

キーワード：水産物加工食品 (Processed fish product)、ω3 脂肪酸 (ω3 fatty acid)、直交表 (Orthogonal table)、分散分析 (Analysis of variance)

近年の消費者は食の「健康」志向に加え調理に対する「簡便性」志向も高いことから、健康を意識した調理済み加工食品、惣菜、時短食品などの需要が高まっている。本研究では、タイセイヨウサケとサワラを用いて、づけと揚げ物の製造工程における種々の要因がエイコサペンタエン酸 (EPA) およびドコサヘキサエン酸 (DHA) の残存率に及ぼす影響について、直交表を用いた実験計画法により調べた。その結果、づけでは EPA 残存率と DHA 残存率は保存期間 (60 日間、120 日間) に影響を受けた。一方、揚げ物では EPA 残存率は魚種 (タイセイヨウサケ、サワラ) と油ちょう前後の冷凍 (油ちょう前、油ちょう後) に影響を受けた。

緒　言

近年の消費者は食の「健康」志向に加え調理に対する「簡便化」志向も高いことから、調理済み加工食品、惣菜、時短食品などの需要が高まっている。[1)] 特に水産物においては、保健機能成分でよく知られる ω3 脂肪酸であるエイコサペンタエン酸 (EPA) およびドコサヘキサエン酸 (DHA) があり、それらは種々の健康機能が報告されている [2–5)] ことから、水産物加工食品は「健康」と「簡便化」を備えた食品として注目されている。[6)] 水産物加工食品から EPA および DHA を効率よく摂取するには、製造後に消費者が購入して消費するまでの保蔵期間を経ても、それらが十分に残存していることが重要である。一方、水産物加工食品は種々の製造工程を有することから、魚肉中の水分や脂質などの栄養成分が製造時に損失する。そのため、魚肉中の栄養成分の損失を抑制することは水産物加工食品の価値を高めるためには重要である。しかしながら、水産物加工食品の製造工程における種々の要因が魚肉中の栄養成分の溶出に及ぼす影響について詳細に検討した報告は少ない。そこで本研究は、近年養殖技術の進歩により生産が世界的に増加しているタイセイヨウサケ [7)] と本県で水揚げ量が増加しているサワラ [8)] を用い、代表的な水産物加工食品であるづけと揚げ物の製造工程における種々の要因が EPA および DHA の残存率に及ぼす影響について、直交表を用いた実験計画法により調べた。

材料と方法

1．原料魚および調味料

試験はタイセイヨウサケとサワラの 2 魚種で行うこととし、タイセイヨウサケ (さく) は 2019 年 6 月に青森県八戸市内のスーパーで購入したもの、サワラ (ラウンド) は同年 10 月に同県八戸市沖で水揚げされたものを使用した。供試材料の入手後、試験開始までの保存方法については、タイセイヨウサケ (さく) はガスバリア性透明袋 (彊美人 XV-1525、クリロン化成、大阪) に充填して真空包装し、−30℃で保存し、サワラ (ラウンド) は水揚げ日に−30℃で冷凍した後、0–1℃の水道水中に 2–3 秒間浸漬してグレーズ処理し、−30℃で保存した。調味料として、醤油 (特選丸大豆醤油、キッコーマン、千葉)、日本酒 (純米酒、シジシージャパン、東京)、上白糖 (上白糖、三井製糖、東京)、すりおろし生姜 (おろし生しょうが、シジシージャパン、東京)、食塩 (お塩、シジシージャパン、東京)、馬鈴薯澱粉 (片栗粉、下田商事、東京)、サラダ油 (大豆油たっぷりサラダ油、J-オイルミルズ、東京) を使用した。酸化防止剤として、L-アスコルビン酸ナトリウム (L-アスコルビン酸ナトリウム、関東化学、東京) 、ミックストコフェロール (イーミックス TM-E30、三菱ケミカル、東京) を使用した。

2．づけの製造

づけの製造は図 1a に従い行った。づけはタイセイヨウサケ、サワラ共にさくの状態にしてから用い、タイセイヨウサケ (さく) およびサワラ (ラウンド) は流水中で解凍した後に加工した。サワラは頭部、内臓、メフンを除去して魚体を洗浄後、3 枚におろし、腹須骨および皮を除去してさくとした。両魚種ともさくを 2.0–2.5 cm 幅に裁断し、裁断した順に並べて番号を割り振り、奇数番号および偶数番号に分けた (図 2a)。本研究では原料魚の個体および使用する部位による違いが実験結果に系統誤差として影響すると考えられたことから、フィッシャーの 3 原則 (反復、無作為化、局所管理) に従い、これらの系統誤差の除去を試みた。[10] 無作為化は、部位による系統誤差を除去するため、コイントスにより奇数番号および偶数番号の魚肉がづけに用いられる確率を等しくすることで行い、コイントスで表が出れば奇数番号の魚肉、裏が出れば偶数番号の魚肉をづけに用い、もう一方を加工前魚肉とした。なお、反復および局所管理は、後述する直交表による実験計画に従い、実験日をブロック要因とすることで行った。加工前魚肉は後述する脂質残存率、脂肪酸残存率、脂肪酸組成変化率を算出するため、ガスバリア性透明袋 (同上) に充填して真空包装し、−30℃で 1 週間保存した。裁断後魚肉を半量の調味液 (醤油 100.0 g に対し、煮切り日本酒 100.0 g、上白糖 27.3 g、酸化防止剤 0.23–1.1 g を添加して調製) に一夜浸漬したのち液切りし、ガスバリア性透明袋 (同上) に充填して真空包装し、−30℃で 60 日間または 120 日間保存した。本実験では前述の魚種 (タイセイヨウサケ、サワラ)、酸化防止剤 (V.C.、V.E.) 、酸化防止剤量 (0.1% w/w、0.5% w/w) 、保存期間 (60 日間、120 日間) を実験結果に影響を与える要因とし、各 2 水準として表 1a に示した。なお、これらの要因の選択は、水産物調理品 [9] における脂肪酸などの栄養成分に関する報告をもとに、づけの EPA 残存率および DHA 残存率に影響を及ぼすと考えられるものを選択した。

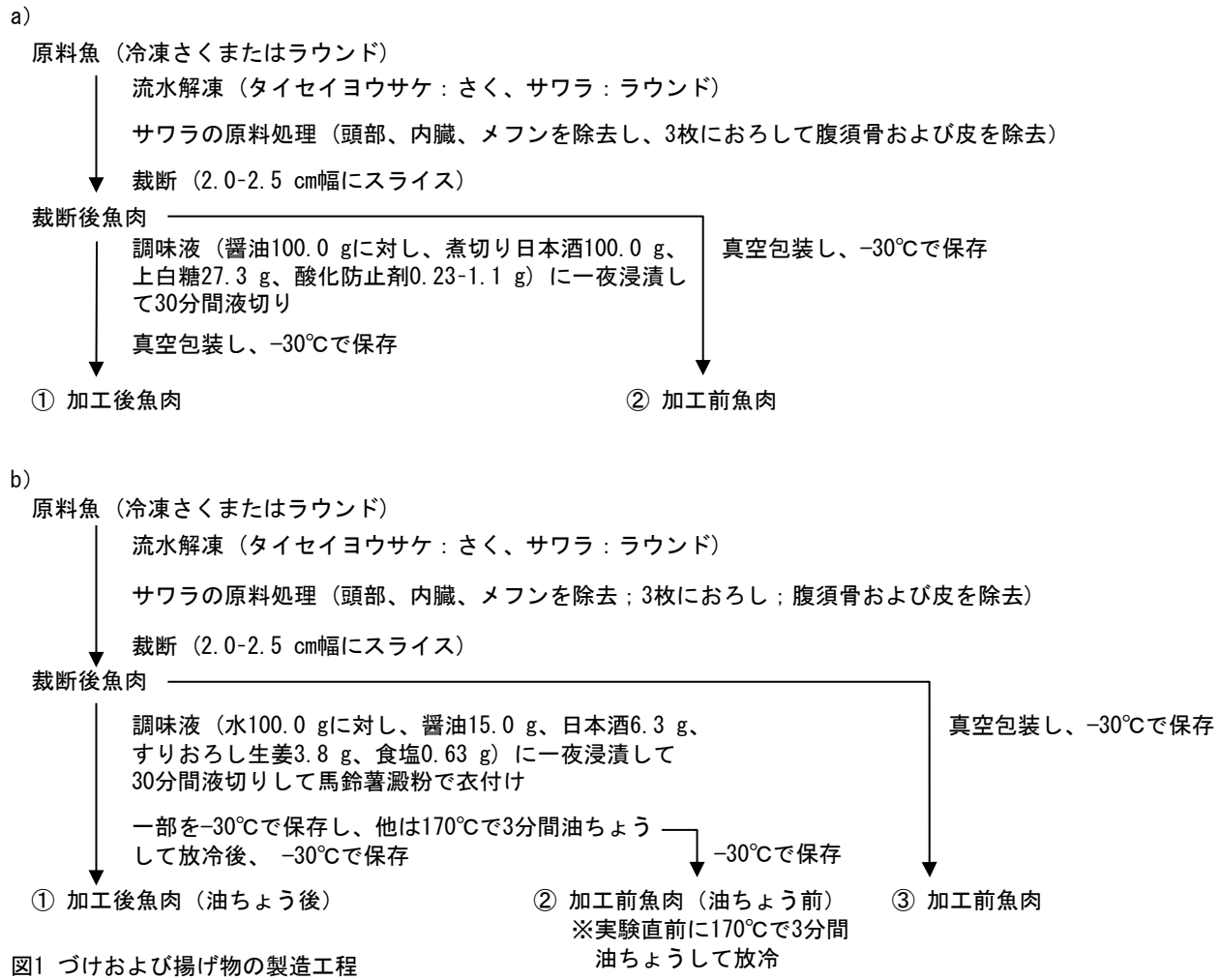


図1 づけおよび揚げ物の製造工程
a） づけの製造工程
b） 揚げ物の製造工程

表1 づけおよび揚げ物の要因と水準

a） づけの要因および水準

記号	要因	水準1	水準2
A	魚種	タイセイヨウサケ	サワラ
B	酸化防止剤	V.C	V.E
C	酸化防止剤量	0.1% w/w	0.5% w/w
D	保存期間	60日間	120日間

b） 揚げ物の要因および水準

記号	要因	水準1	水準2
A	魚種	タイセイヨウサケ	サワラ
B	油ちょう前後の冷凍	油ちょう前	油ちょう後
C	保存期間	60日間	120日間

表2 直交表を用いた実験計画

列 No.	1	2	3	4	5	6	7
1	1	1	1	1	1	1	1
2	1	1	1	2	2	2	2
3	1	2	2	1	1	2	2
4	1	2	2	2	2	1	1
5	2	1	2	1	2	1	2
6	2	1	2	2	1	2	1
7	2	2	1	1	2	2	1
8	2	2	1	2	1	1	2
づけの要因	A	B	A×B	C	A×C	e	D
揚げ物の要因	A	B	A×B	C	A×C	B×C	e

e: 誤差要因

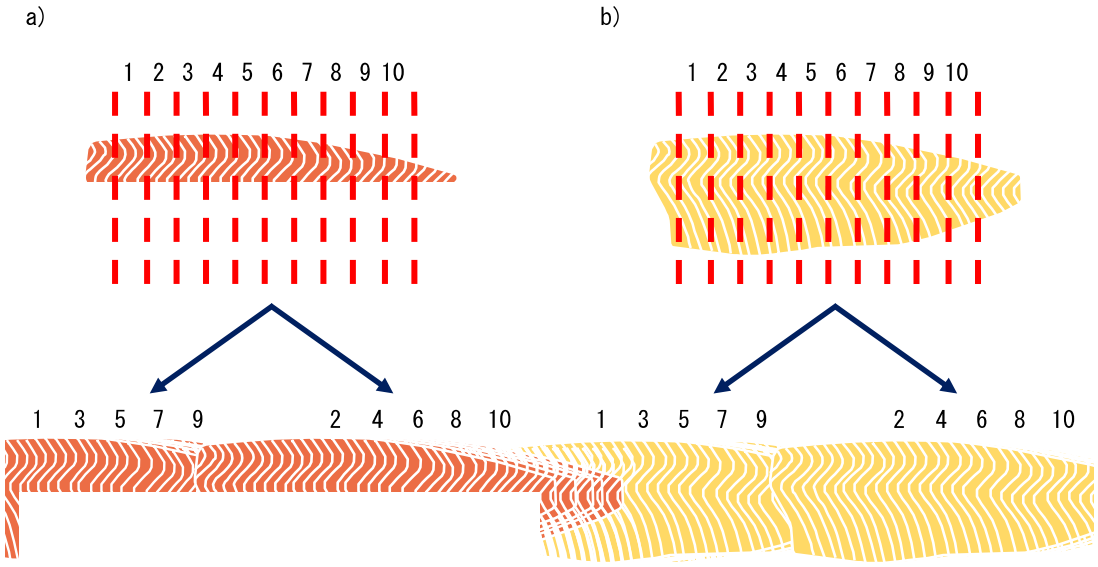


図2 づけおよび揚げ物における裁断後魚肉の番号割付け
a) タイセイヨウサケ
b) サワラ
コイントスを行い、表が出れば奇数番号の魚肉、裏が出れば偶数番号の魚肉をづけおよび唐揚げに用い、もう一方を加工前魚肉として−30℃で冷凍保存した。

3．揚げ物の製造

揚げ物の製造は図 1b に従い行った (図 1b)。揚げ物はタイセイヨウサケ、サワラ共にさくの状態にしてから用いることとし、タイセイヨウサケ (さく) およびサワラ (ラウンド) は流水中で解凍した後に加工した。タイセイヨウサケ (さく) およびサワラ (ラウンド) を前述のづけと同様に処理してさくとし、加工前魚肉は前述のづけと同様の理由により、ガスバリア性透明袋 (同上) に充填して真空包装し、−30℃で 1 週間保存した。両魚種ともさくを前述のづけと同様に裁断した (図 2b)。裁断後魚肉を同量の調味液 (水 100.0 g に対し、醤油 15.0 g、日本酒 6.3 g、すりおろし生姜 3.8 g、食塩 0.63 g を添加して調製) に一夜浸漬したのち液切りし、馬鈴薯澱粉を均一に塗布し、一部を油ちょう前冷凍魚肉としてアルミパウチ (NACF−SW1318、カウパック、愛知) に充填して含気包装し、−30℃で 60 日間または 120 日間保存した。馬鈴薯澱粉を塗した魚肉を 170℃のサラダ油で 3 分間油ちょうして放冷した後、油ちょう後冷凍魚肉として、油ちょう前冷凍魚肉と同様に保存した。なお、油ちょう前冷凍魚肉は解凍せずに 170℃のサラダ油で 3 分間油ちょうして放冷した後、実験に用いた。本実験では前述の魚種 (タイセイヨウサケ、サワラ)、油ちょう前後の冷凍 (油ちょう前、油ちょう後)、保存期間 (60 日間、120 日間) を実験結果に影響を与える要因とし、各 2 水準として表 1b に示した。なお、これらの要因は水産物調理品 [9] における脂肪酸などの栄養成分に関する報告をもとに、揚げ物の EPA 残存率および DHA 残存率に影響を及ぼすと考えられるものを選択した。

4．重量変化率

づけおよび揚げ物における加工前後の魚肉の重量変化率は次式により算出した。なお、油ちょう前冷凍魚肉については、保存後に油ちょうした後、放冷して重量を測定し、解凍後の魚肉重量として重量変化率を算出した。なお、本研究における重量変化率の計算式は五訂成分表収載食品の調理による成分変化率表 [11] を参考に定義した。

重量変化率 (%) ＝ づけまたは油ちょう加工後の魚肉重量 (g) ／
づけまたは油ちょう加工前の魚肉重量 (g) ×100

５．脂質残存率

づけおよび揚げ物における加工前後の魚肉の脂質抽出はクロロホルム-メタノール (2 : 1 v/v) 混合液を使用する Folch 法[12] により行った。脂質残存率は次式により算出した。なお、油ちょう前冷凍魚肉の脂質抽出については、前述と同様に処理した後に行った。なお、本研究における脂質残存率の計算式は前述の重量変化率と同様に定義した。

脂質残存率 (%) ＝ づけまたは油ちょう加工後の脂質量 (g) ／
づけまたは油ちょう加工前の脂質量 (g) ×100

６．脂肪酸残存率および組成変化率

づけおよび揚げ物における加工前後の魚肉の脂肪酸量は、上記で抽出した脂質に内部標準物質を加えて 2 mol/L 水酸化ナトリウム-メタノール (関東化学、東京) でけん化後、得られた脂肪酸を三ふっ化ほう素メタノール試薬 (富士フイルム和光純薬、大阪) でメチルエステル化してガスクロマトグラフ装置 (GC-2014、島津製作所、京都) により測定した。カラムは 100 m × 0.25 mm × 0.20 μm の SP-2560 キャピラリーカラム (Supelco、Bellfote、Pennsylvania、USA) を用いた。注入口温度 250℃、FID 検出器温度 260℃で、キャリアーガスはヘリウムを用いた。カラム温度は初期温度 140℃で 5 分間保持した後、4℃／分で 240℃まで昇温して 15 分間保持させた。内部標準物質にはトリコサン酸 (ナカライテスク、京都) を用いた。EPA・DHA 標準品 (ナカライテスク、京都) を上記と同様に処理して測定し、得られた検量線を用いて内部標準法により脂肪酸量を定量した。脂肪酸残存率および脂肪酸組成変化率は次式で算出した。なお、本研究における脂肪酸残存率の計算式は前述の重量変化率と同様に定義し、脂肪酸組成変化率の計算式は Kako ら[13] の研究を参考に定義した。また、脂肪酸組成変化率を算出する際に用いた脂肪酸組成は脂肪酸量を脂質量で除して 100 を乗じて算出した。

脂肪酸残存率 (%) ＝ づけまたは油ちょう加工後の脂肪酸量 (g) ／
づけまたは油ちょう加工前の脂肪酸量 (g) ×100

脂肪酸組成変化率 (%) ＝ づけまたは油ちょう加工後の脂肪酸組成 (%) ／
づけまたは油ちょう加工前の脂肪酸組成 (%) ×100

脂肪酸組成 (%) ＝ 脂肪酸量 (g) ／ 脂質量 (g) × 100

７．直交表による実験計画

要因間に交互作用があると仮定し、要因、交互作用、誤差要因を表 2 のように $L_8(2^7)$ 型直交表に割付けた。[14] 表 2 の交互作用と誤差要因を除く各要因を割付けた列の水準数を表 3a および表 3b のように水準名に置換し、各行を試験区 (8 試験区) とした。各試験区の実験は乱塊法に従い、実験日をブロックと

して 3 回反復した。反復毎の各試験区に対し、Excel for Mac バージョン 16.47.1 (Microsoft、Redmond、Washington、USA) を用いて乱数を割当てた後、乱数の昇順で実験を行った。なお、本研究では実験日をブロックとしたことから、づけおよび揚げ物の製造ならびに脂質抽出および脂肪酸のメチルエステル化が 1 日内で完了するように、直交表を決定した。本研究における実験計画法に関する用語は品質工学会 [15] および日本産業標準調査会 [16] の定義に準拠した。

8．統計解析

統計解析は Excel for Mac バージョン 16.47.1 (同上) を用いた分散分析により行い、有意水準は $p < 0.05$、$p < 0.01$ および $p < 0.001$ とした。各要因における水準毎の測定値 (n = 12) は要因効果の推定法 [17] に従い平均値 ±95%信頼区間として求めた。また、交互作用およびブロック (反復) における水準毎の測定値 (交互作用 ：n = 6、反復 ：n = 8) を上記と同様に求めた。

表3　水準割付け後のづけおよび揚げ物の実験計画

a)　づけの実験計画

No.	要因と水準			
	魚種	酸化防止剤	酸化防止剤量	保存期間
1	タイセイヨウサケ	V.C	0.1% w/w	60日間
2	タイセイヨウサケ	V.C	0.5% w/w	120日間
3	タイセイヨウサケ	V.E	0.1% w/w	120日間
4	タイセイヨウサケ	V.E	0.5% w/w	60日間
5	サワラ	V.C	0.1% w/w	120日間
6	サワラ	V.C	0.5% w/w	60日間
7	サワラ	V.E	0.1% w/w	60日間
8	サワラ	V.E	0.5% w/w	120日間

b)　揚げ物の実験計画

No.	要因と水準		
	魚種	油ちょう前後の冷凍	保存期間
1	タイセイヨウサケ	油ちょう前	60日間
2	タイセイヨウサケ	油ちょう前	120日間
3	タイセイヨウサケ	油ちょう後	60日間
4	タイセイヨウサケ	油ちょう後	120日間
5	サワラ	油ちょう前	60日間
6	サワラ	油ちょう前	120日間
7	サワラ	油ちょう後	60日間
8	サワラ	油ちょう後	120日間

結　果

1．諸要因がづけの各評価項目に及ぼす影響

直交表による実験計画にもとづき、諸要因がづけ製造前後における魚肉の重量変化率に及ぼす影響を検討した。その結果、表 4a に示すように、いずれの要因においても有意差は認められなかった。

次に、諸要因がづけ製造前後における魚肉の脂質残存率に及ぼす影響を検討した。その結果、表 4b に示すように、保存期間 (D1：60 日間、D2：120 日間) で有意差 ($p < 0.05$) が認められ、寄与率は 24%であった。また、図 3a に示すように、60 日間における魚肉の脂質残存率は 114.3 ± 6.9%であったが、120 日間のそれは 101.1 ± 6.9%であった。

次に、諸要因がづけ製造前後における魚肉の EPA 残存率に及ぼす影響を検討した。その結果、表 4c に示すように、保存期間 (D1：60 日間、D2：120 日間) で有意差 ($p < 0.05$) が認められ、寄与率は 16%であった。また、図 3b に示すように、60 日間における魚肉の EPA 残存率は 102.3 ± 10.8%であったが、120 日間のそれは 86.4 ± 10.8%であった。

次に、諸要因がづけ製造前後における魚肉の EPA 組成変化率に及ぼす影響を検討した。その結果、表 4d に示すように、いずれの要因においても有意差は認められなかった。

次に、諸要因がづけ製造前後における魚肉の DHA 残存率に及ぼす影響を検討した。その結果、表 4e に示すように、保存期間 (D1：60 日間、D2：120 日間) で有意差 ($p < 0.01$) が認められ、寄与率は 31%で

あった。また、図 1c に示すように、60 日間における魚肉の脂質残存率は 91.0 ± 9.4%であったが、120 日間のそれは 70.2 ± 9.4%であった。

最後に、諸要因がづけ製造前後における魚肉の DHA 組成変化率に及ぼす影響を検討した。その結果、表 4f に示すように、いずれの要因においても有意差は認められなかった。

表4　づけの分散分析表

a)　重量変化率（n=24）

	平方和	自由度	*p*値	判定	寄与率
R　反復	35	2	0.215		
A　魚種	0	1	0.980		0
B　酸化防止剤	24	1	0.143		6
C　酸化防止剤量	7	1	0.420		0
D　保存期間	0	1	0.880		0
A × B	13	1	0.274		1
A × C	9	1	0.366		0
誤差	154	15			93

b)　脂質残存率（n=24）

	平方和	自由度	*p*値	判定	寄与率
R　反復	607	2	0.126		
A　魚種	136	1	0.317		0
B　酸化防止剤	0	1	0.986		0
C　酸化防止剤量	65	1	0.485		0
D　保存期間	1,048	1	0.012	*	24
A × B	62	1	0.495		0
A × C	7	1	0.820		0
誤差	1,908	15			76

c)　EPA残存率（n=24）

	平方和	自由度	*p*値	判定	寄与率
R　反復	646	2	0.373		
A　魚種	326	1	0.319		0
B　酸化防止剤	90	1	0.597		0
C　酸化防止剤量	24	1	0.784		0
D　保存期間	1,509	1	0.042	*	16
A × B	0	1	0.972		0
A × C	166	1	0.473		0
誤差	4,598	15			83

d)　EPA組成変化率（n=24）

	平方和	自由度	*p*値	判定	寄与率
R　反復	98	2	0.866		
A　魚種	631	1	0.192		5
B　酸化防止剤	110	1	0.576		0
C　酸化防止剤量	107	1	0.583		0
D　保存期間	75	1	0.644		0
A × B	26	1	0.786		0
A × C	97	1	0.601		0
誤差	5,078	15			95

e)　DHA残存率（n=24）

	平方和	自由度	*p*値	判定	寄与率
R　反復	666	2	0.271		
A　魚種	498	1	0.165		3
B　酸化防止剤	38	1	0.692		0
C　酸化防止剤量	22	1	0.761		0
D　保存期間	2,601	1	0.004	**	31
A × B	122	1	0.480		0
A × C	167	1	0.411		0
誤差	3,500	15			65

f)　DHA組成変化率（n=24）

	平方和	自由度	*p*値	判定	寄与率
R　反復	76	2	0.851		
A　魚種	843	1	0.077		11
B　酸化防止剤	55	1	0.635		0
C　酸化防止剤量	73	1	0.584		0
D　保存期間	584	1	0.134		6
A × B	240	1	0.327		0
A × C	101	1	0.521		0
誤差	3,499	15			82

*：$p < 0.05$；**：$p < 0.01$；***：$p < 0.001$

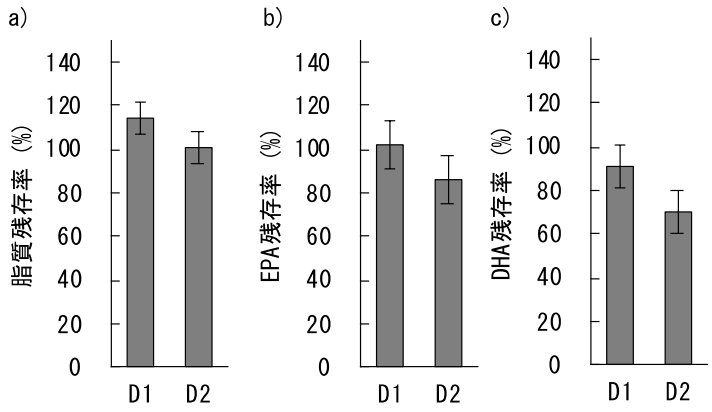


図3 づけにおける各評価項目の要因効果図
a）脂質残存率
b）EPA残存率
c）DHA残存率
記号：D1、60日間；D2、120日間（n＝12）
分散分析で有意差が認められた評価項目について要因効果図を作成した。

２．諸要因が揚げ物の各評価項目に及ぼす影響

直交表による実験計画にもとづき、諸要因が揚げ物製造前後における魚肉の重量変化率に及ぼす影響を検討した。その結果、表 5a に示すように、交互作用 (油ちょう前後の冷凍×保存期間) ($p < 0.05$)、反復 ($p < 0.001$) で有意差が認められ、寄与率は交互作用 (油ちょう前後の冷凍×保存期間) が 3%であった。交互作用 (油ちょう前後の冷凍×保存期間) に関して、タイセイヨウサケの重量変化率は 30 日間 (98.3 ± 2.5%) より 60 日間 (98.9 ± 2.5%) の方が高く、サワラでは 60 日間 (96.2 ± 2.5%) より 30 日間 (100.7 ± 6.3%) の方が高かった (データは示さず)。反復に関しては、反復 2 (102.7 ± 2.1%)、反復 3 (102.1 ± 2.1%)、反復 1 (90.8 ± 2.1%) の順に重量変化率が高かった (データは示さず)。

次に、諸要因が揚げ物製造前後における魚肉の脂質残存率に及ぼす影響を検討した。その結果、表 5b に示すように、魚種 (A1 : タイセイヨウサケ、A2 : サワラ)($p < 0.001$) および油ちょう前後の冷凍 (B1 : 油ちょう前、B2 : 油ちょう後)($p < 0.05$) で有意差が認められ、寄与率はそれぞれ 70%および 4%であった。有意差が認められた魚種 (A1 : タイセイヨウサケ、A2 : サワラ) および油ちょう前後 (B1 : 油ちょう前、B2 : 油ちょう後) の冷凍が魚肉の脂質残存率に及ぼす影響を図 4a に示す。原料魚にサワラ (998.1 ± 154.9%)、油ちょう前後の冷凍が油ちょう後 (705.1 ± 154.9%) の場合の脂質残存率はタイセイヨウサケ (189.9 ± 154.9%) および油ちょう前 (483.0 ± 154.9%) の場合のそれらに比べて高かった。

次に、諸要因が揚げ物製造前後における魚肉の EPA 残存率に及ぼす影響を検討した。その結果、表 5c に示すように、魚種 (A1 : タイセイヨウサケ、A2 : サワラ)($p < 0.05$) および油ちょう前後 (B1 : 油ちょう前、B2 : 油ちょう後) の冷凍 ($p < 0.05$) で有意差が認められ、寄与率はそれぞれ 12%および 21%であった。有意差が認められた魚種 (A1 : タイセイヨウサケ、A2 : サワラ) および油ちょう前後の冷凍 (B1 : 油ちょう前、B2 : 油ちょう後) が魚肉の EPA 残存率に及ぼす影響を図 4b に示す。魚種 (A1 : タイセイヨウサケ、A2 : サワラ) および油ちょう前後の冷凍 (A1 : タイセイヨウサケ、A2 : サワラ) に関して、サワラ (122.0 ± 17.6%) および油ちょう後 (125.2 ± 17.6%) の EPA 残存率はタイセイヨウサケ (96.0 ± 17.6%) および油ちょう前 (92.8±17.6%) のそれらに比べて高かった。

次に、諸要因が揚げ物製造前後における魚肉の EPA 組成変化率に及ぼす影響を検討した。その結果、表 5d に示すように、魚種 (A1 : タイセイヨウサケ、A2 : サワラ)($p < 0.001$) で有意差が認められ、寄与率は 82%であった。有意差が認められた魚種 (A1 : タイセイヨウサケ、A2 : サワラ) の EPA 組成変化率に及ぼす影響を図 4c に示す。原料魚にタイセイヨウサケ (52.4 ± 6.4%) の場合の EPA 組成変化率はサワラ (13.3 ± 6.4%) のそれに比べて高かった。

次に、諸要因が揚げ物製造前後における魚肉の DHA 残存率に及ぼす影響を検討した。その結果、表 5e に示すように、いずれの要因においても有意差は認められなかった。

最後に、諸要因が揚げ物製造前後における魚肉の DHA 組成変化率に及ぼす影響を検討した。その結果、表 5f に示すように、魚種 (A1 : タイセイヨウサケ、A2 : サワラ)($p < 0.001$) で有意差が認められ、寄与率は 81%であった。有意差が認められた魚種 (A1 : タイセイヨウサケ、A2 : サワラ) の DHA 組成変化率に及ぼす影響を図 4d に示す。原料魚にタイセイヨウサケ (47.3 ± 5.7%) の場合の DHA 組成変化率はサワラ (11.0 ± 5.7%) の場合のそれに比べて高かった。

表5　揚げ物の分散分析表

a)　重量変化率（n=24）

	平方和	自由度	*p*値	判定	寄与率
R　反復	718	2	0.000	***	
A　魚種	3	1	0.526		0
B　油ちょう前後の冷凍	0	1	0.910		0
C　保存期間	22	1	0.118		2
A × B	0	1	0.887		0
A × C	1	1	0.788		0
B × C	39	1	0.044	*	3
誤差	120	15			95

b)　脂質残存率（n=24）

	平方和	自由度	*p*値	判定	寄与率
R　反復	25,711	2	0.819		
A　魚種	3,919,123	1	0.000	***	70
B　油ちょう前後の冷凍	296,193	1	0.047	*	4
C　保存期間	15,322	1	0.630		0
A × B	194,184	1	0.100		2
A × C	28,940	1	0.509		0
B × C	115,094	1	0.198		1
誤差	950,067	15			23

c)　EPA残存率（n=24）

	平方和	自由度	*p*値	判定	寄与率
R　反復	1,621	2	0.394		
A　魚種	4,049	1	0.042	*	12
B　油ちょう前後の冷凍	6,308	1	0.014	*	21
C　保存期間	188	1	0.638		0
A × B	2,061	1	0.133		5
A × C	59	1	0.791		0
B × C	236	1	0.598		0
誤差	12,245	15			63

d)　EPA組成変化率（n=24）

	平方和	自由度	*p*値	判定	寄与率
R　反復	35	2	0.853		
A　魚種	9,169	1	0.000	***	82
B　油ちょう前後の冷凍	13	1	0.731		0
C　保存期間	32	1	0.598		0
A × B	46	1	0.526		0
A × C	121	1	0.311		0
B × C	17	1	0.701		0
誤差	1,647	15			18

e)　DHA残存率（n=24）

	平方和	自由度	*p*値	判定	寄与率
R　反復	1,491	2	0.232		
A　魚種	526	1	0.303		1
B　油ちょう前後の冷凍	862	1	0.192		3
C　保存期間	1,176	1	0.132		6
A × B	326	1	0.415		0
A × C	5	1	0.922		0
B × C	246	1	0.477		0
誤差	6,938	15			90

f)　DHA組成変化率（n=24）

	平方和	自由度	*p*値	判定	寄与率
R　反復	149	2	0.435		
A　魚種	7,908	1	0.000	***	81
B　油ちょう前後の冷凍	148	1	0.206		1
C　保存期間	49	1	0.460		0
A × B	75	1	0.361		0
A × C	0	1	0.997		0
B × C	42	1	0.490		0
誤差	1,270	15			18

* : $p < 0.05$; ** : $p < 0.01$; *** : $p < 0.001$

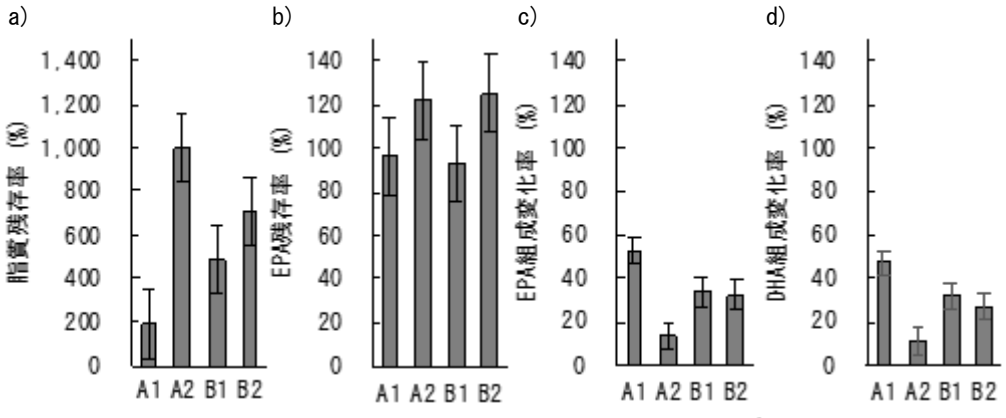


図4 揚げ物における各評価項目の要因効果図

a）脂質残存率
b）EPA残存率
c）EPA組成変化率
d）DHA組成変化率

記号：A1、タイセイヨウサケ；A2、サワラ；B1、油ちょう前；B2、油ちょう後（n＝12）
分散分析で有意差が認められた評価項目について要因効果図を作成した。

考　察

本研究では、代表的な水産物加工食品であるづけおよび揚げ物の製造工程において、種々の要因が EPA 残存率および DHA 残存率に及ぼす影響について検討した。その際、直交表を用いて実験計画を設定し、分散分析法により諸要因の影響を解析した。

第一に、づけの検討では魚種 (タイセイヨウサケ、サワラ)、酸化防止剤 (V.C.、V.E.)、酸化防止剤量 (0.1% w/w、0.5% w/w)、保存期間 (60 日間、120 日間) の 4 項目を要因として実験計画を設定し、製造前後の魚肉の重量変化率、脂質残存率、EPA 残存率、DHA 残存率を測定した。その結果、魚肉の脂質残存率、EPA 残存率、DHA 残存率は保存期間 (60 日間、120 日間) に影響を受けることが判明した。

づけの製造前後における魚肉の重量変化率はいずれの要因においても有意差は認められなかった。一方、脂質残存率は 60 日間 (114.3 ± 6.9%) では増加したが、120 日間 (101.1 ± 6.9%) ではほとんど変化しなかった。また、EPA 残存率、DHA 残存率は 60 日間 (EPA : 102.3 ± 10.8% ; DHA : 91.0 ± 9.4%) ではほとんど変化しなかったが、120 日間 (EPA : 86.4 ± 10.8% ; DHA : 70.2 ± 9.4%) では脂質残存率と同様に減少した。本研究でづけに用いた加工前の魚肉の脂質量はタイセイヨウサケ (6.2–23.3 g/100 g) よりサワラ (0.6–2.5 g/100 g) の方が少なかったが、脂質残存率は魚種において有意差は認められなかった。本研究で使用した醤油には、カルボニル化合物やエステル類などの有機溶剤に可溶な種々の香気成分などが含有されていることが報告されている。[18] 本研究でづけから抽出した脂質から醤油特有の香りがしたことからも (データは示さず)、60 日間で脂質残存率が増加したのは、調味液の主要な調味料である醤油由来の脂溶性成分が魚肉の脂質に溶解したためと考えられた。一方、保存中に魚肉において、フォスファチジルコリンなどのリン脂質やトリアシルグリセロールなどの中性脂質が遊離脂肪酸に分解して減少することが知られている。[19] EPA 組成変化率、DHA 組成変化率は 60 日間 (EPA : 89.9 ± 11.3% ; DHA : 79.9 ± 9.4%) 、120 日間 (EPA : 86.4 ± 11.3% ; DHA : 70.8 ± 9.4%) いずれの保存期間においても同程度に減少した。これらの結果から、120 日間で 60 日間よりも脂質残存率、EPA 残存率、DHA 残存率が低下したのは、保存中に魚肉中の種々の脂溶性成分が一様に分解して減少したためであると考えられた。なお、本研究でづけ製造前後における脂質量の変化量は重量の変化量よりも十分少なかったことから、脂質量の変化は重量変化率に影響を及ぼさなかったと推察された。

第二に、揚げ物の検討では魚種 (タイセイヨウサケ、サワラ)、油ちょう前後の冷凍 (油ちょう前、油ちょう後)、保存期間 (60 日間、120 日間) の 3 項目を要因として実験計画を設定し、殺菌前後における魚肉の重量変化率、脂質残存率、EPA 残存率、DHA 残存率を測定した。その結果、魚肉の脂質残存率、EPA 残存率は魚種 (タイセイヨウサケ、サワラ) および保存形態 (60 日間、120 日間) に影響を受けることが判明した。

製造前後における魚肉の脂質残存率はタイセイヨウサケ (189.9 ± 154.9%) およびサワラ (998.1 ± 154.9%)、いずれの魚種においても増加した。本研究で揚げ物に用いた加工前の魚肉の脂質量はサワラ (0.6–2.3 g/100 g) よりタイセイヨウサケ (5.9–20.0 g/100 g) の方が多く、脂質残存率の結果と逆の傾向であった。浅川 [20] はマアジ、マイワシ、マサバの加熱調理 (煮る、蒸す、焼く、揚げる) において、脂質量の多い魚種で揚げた後の脂質残存率が高くなることを本研究と同様に報告している。このような魚種による差異は、魚肉の水分量の違いにより、揚げ時における水分とサラダ油が置換する量が異なるために生じたと推察された。一方、脂質残存率は油ちょう前後の冷凍にも影響を受け、油ちょう前 (483.0 ± 154.9%) よりも油ちょう

後 (705.1±154.9%) で増加する傾向が観察された。郡ら [21] は魚肉を用いた揚げ物について、魚肉は冷凍の有無や解凍法の違いにより揚げ時の吸油量が異なることを報告している。本研究では油ちょう後の魚肉は馬鈴薯澱粉を塗した後に直ちに揚げたのに対し、油ちょう前の魚肉は解凍せずに揚げた。よって、本研究における揚げ物の保存形態による差異は、揚げ前における魚肉の冷凍回数や解凍法の違いで、筋原繊維タンパク質の変性による魚肉の保水性が変化して生じたと推察された。ただし、冷凍回数や解凍法により筋原繊維タンパク質の変性による魚肉の保水性に変化が生じるかは不明であり、さらなる研究が必要である。

次に、EPA 残存率はサワラ (122.0 ± 17.6%) よりもタイセイヨウサケ (96.0 ± 17.6%) で少なく、上記の脂質残存率と同様の傾向が観察された。一方、DHA 残存率はいずれの要因においても有意差は認められなかったが、サワラ (95.9 ± 13.2%) よりもタイセイヨウサケ (86.5 ± 13.2%) で少なく、EPA 残存率と同様の結果であった。本研究において魚肉の脂質における EPA 組成変化率および DHA 組成変化率は魚種の影響を受け、タイセイヨウサケ (EPA : 52.4 ± 6.4% ; DHA : 47.3 ± 5.7%) よりもサワラ (EPA : 13.3 ± 6.4% ; DHA : 11.0 ± 5.7%) で少なく、上記の結果と逆の傾向が観察された。これは揚げる際に魚肉の水分がサラダ油に置換されたことで、魚肉の脂質における EPA および DHA の割合が少なくなり、さらに EPA および DHA も水分とともに流出したと考えられた。また、その減少量は魚肉の水分量の違いによると考えられた。なお、魚種の違いによる EPA 残存率、DHA 残存率の差異は筋肉組織における脂質の局在などに影響を受けると考えられたが、さらなる研究が必要である。

EPA 残存率は油ちょう前後の冷凍にも影響を受け、油ちょう後 (125.2 ± 17.6%) よりも油ちょう前 (92.8 ± 17.6%) で少なく、前述の脂質残存率と同様の傾向が観察された。一方、DHA 残存率はいずれの要因においても有意差は認められなかったが、油ちょう後 (97.2 ± 13.2%) よりも油ちょう前 (85.2 ± 13.2%) で少なく、EPA 残存率と同様であった。本研究において魚肉の脂質における EPA 組成変化率および DHA 組成変化率は油ちょう前後の冷凍の影響を受けず、油ちょう前 (EPA : 33.6 ± 6.4% ; DHA : 31.6 ± 5.7%)、油ちょう後 (EPA : 32.1 ± 6.4% ; DHA : 26.7 ± 5.7%) いずれも同程度に減少した。揚げることで魚肉の水分とサラダ油が置換されて脂質量が増加すると、EPA 組成変化率および DHA 組成変化率は減少する。しかしながら、油ちょう前は油ちょう後よりも脂質残存率が増加しなかったにもかかわらず、EPA 組成変化率および DHA 組成変化率は油ちょう後と同程度であった。これは、油ちょう前では魚肉の各種脂質分解酵素などにより保存中に脂肪酸が分解されるが、油ちょう後では揚げることで魚肉中の各種脂質分解酵素が失活するため、脂肪酸の減少が抑制されると考えられたが、さらなる研究が必要である。

重量変化率では反復で有意差が認められた。本研究では原料魚の鮮度に差異がないよう、購入日に−30℃で保存した。しかしながら、実験日をブロックとして反復したことから、実験日による外気温や水温などの違いにより、解凍後における原料魚の鮮度に違いが生じたと考えられた。このことから、魚肉からの水分の流出量に違いが生じたため、重量変化率で反復による差異が観察されたと考えられたが、さらなる研究が必要である。

また、重量変化率は油ちょう前後の冷凍×保存期間の交互作用に関して、油ちょう前では 120 日間 (100.7 ± 2.5%) よりも 60 日間 (98.3 ± 2.5%) で少なく、油ちょう後では 60 日間 (98.9 ± 2.5%) よりも 120 日間 (96.2 ± 2.5%) で少なかった。これは脂質残存率と同様に冷凍回数により筋原繊維タンパク質の熱安定性によるタンパク質の保水性に変化が生じたためと考えられたが、さらなる研究が必要である。

本研究の直交表を用いた実験計画法により、製造工程における諸要因が魚肉の EPA 残存率および DHA

残存率に影響することを、従来の総当たりで行う試験に比べて少ない回数で定量的に数値として把握することができた。今後、本手法を他の水産物加工食品や調理品の品質評価にも応用し、評価法の基盤を確立したい。

要　約

１．本研究は直交表を用いた実験計画法により、水産物づけおよび揚げ物の製造工程において、種々の要因が重量変化率、脂質残存率、EPA 残存率、DHA 残存率に及ぼす影響を解析した。

２．水産物づけに関する検討では魚種 (タイセイヨウサケ、サワラ)、酸化防止剤 (V.C、V.E)、酸化防止剤量 (0.1%、0.5%)、保存期間 (60 日間、120 日間) の 4 項目を要因に設定して解析した。その結果、脂質残存率、EPA 残存率、DHA 残存率は保存期間に影響を受けることが判明した。

３．水産物揚げ物に関する検討では魚種 (タイセイヨウサケ、サワラ) 、油ちょう前後の冷凍 (油ちょう前、油ちょう後)、保存期間 (60 日間、120 日間) の 3 項目を要因に設定して解析した。その結果、魚肉の脂質残存率、EPA 残存率が魚種および保存形態に影響を受けることが判明した。

４．本研究から、製造工程において魚肉の EPA および DHA を保持するには、づけでは保存期間 (60 日間、120 日間)、揚げ物では魚種 (タイセイヨウサケ、サワラ) および油ちょう前後の冷凍 (60 日間、120 日間) が重要な制御要因であることが明らかになった。

引用文献

1) 消費者動向調査 (令和 3 年 7 月調査). 株式会社日本政策金融公庫、東京. 2021.

2) Bucher, C. H., Hengstler, P., Schindler, C. and Meier, G. N−3 polyunsaturated fatty acids in coronary heart disease: a meta−analysis of randomized controlled trials. *Am. J. Med*. 2002; **112**: 298–304.

3) Iso, H., Kobayashi, M., Ishihara, J., Sasaki, S., Okada, K., Kita, Y., Kokubo, Y. and Tsugane, S. Intake of fish and n3 fatty acids and risk of coronary heart disease among Japanese: the Japan Public Health Center−Based (JPHC) Study Cohort I. *Circulation*. 2006; **113**: 195–202.

4) Yamagishi, K., Iso, H., Date, C., Fukui, M., Wakai, K., Kikuchi, S., Inaba, Y., Tanabe, N. and Tamakoshi, A. Fish, omega−3 polyunsaturated fatty acids, and mortality from cardiovascular diseases in a nationwide community−based cohort of Japanese men and women. *J. Am. Coll. Cardiol*. 2008; **52**: 988–996.

5) Miyagawa, N., Miura, K., Okuda, N., Kadowaki, T., Takashima, N., Nagasawa, S., Nakamura, Y., Matsumura, Y., Hozawa A., Fujiyoshi, A., Hisamatsu, T., Yoshita, K., Sekikawa, A., Ohkubo, T., Abbott, D. R., Okamura, T., Okayama, A. and Ueshima, H. Long−chain n−3 polyunsaturated fatty acids intake and cardiovascular disease mortality risk in Japanese: a 24−year follow−up of NIPPON DATA80. *Atherosclerosis*. 2014; **232**: 384–389.

6) 令和 2 年度水産白書. 水産庁, 東京. 2021; 9–11.

7) Global aquaculture production. FAO Fisheries and Aquaculture Division, Rome. 2010–2019.

8) 青森県海面漁業に関する調査結果書. 青森県農林水産部, 青森. 2006–2020.

9) Cheung, Y. K. L., Tomita, H. and Takemori T. Mechanisms of docosahexaenoic and eicosapentaenoic acid loss from pacific saury and comparison of their retention rates after various cooking methods. *J. Food Sci*. 2016; **81**:

1899–1907.
10) 田邊直紀. 実験計画および多変量解析. 日本顎咬合学会誌　咬み合わせの科学. 2019; **39**: 216–228.
11) 渡邊智子, 鈴木亜夕帆, 熊谷昌士, 見目明継, 竹内昌昭, 西牟田守, 萩原清和. 五訂成分表収載食品の調理による成分変化率表. 栄養学雑誌. 2001; **61**: 251–262
12) Folch, J., Lees, M. and Sloanestanley, H. G. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. *J. Biol. Chem*. 1956; **226**: 497–509.
13) Kako, J. K, Liu, S. M. and Thornton, J. M. Changes in fatty acid composition of myocardial triglyceride following a single administration of ethanol to rabbits. *J. Mol. Cell.Cardiol*. 1973; **226**: 497–509.
14) 菅　民郎. 直交表実験計画法.「例題と Excel 演習で学ぶ実験計画法とタグチメソッド」株式会社オーム社, 東京. 2016; p. 134.
15) 品質工学用語 (基本). 品質工学会, 東京. 2007.
16) 統計ー用語と記号ー第 3 部：実験計画法. 日本産業標準調査会, 東京. 1999.
17) 田口玄一. 直交表入門 (タイルの実験).「第 3 版　実験計画法　上」丸善株式会社、東京. 1976; pp. 154–155.
18) 石津日出子. しょうゆの香気成分. 調理科学. 1969; **2**: 156–164.
19) 高間浩蔵, 座間宏一, 五十嵐久尚. 魚類筋肉脂質の冷凍貯蔵中における変化:I　ホンマグロ筋肉脂質. 北海道大學水産學部研究彙報. 1967; **18**: 240–247.
20) 浅川具美. 加熱調理による青魚の脂質の変化. 日本調理科学会誌. 1997; **30**: 301–305.
21) 郡敏子, 口羽章子, 江崎君子. 冷凍魚の調理学的研究　(第 2 報). 食物学会誌. 1968; **22**: 17–2.