

# 1. 種苗生産および健苗性向上技術の開発

中田 久・門村和志・宮木廉夫・安元 進  
山口明彦<sup>\*1</sup>・太田耕平<sup>\*1</sup>・M.A.Rahman<sup>\*1</sup>  
野崎亮子<sup>\*2</sup>・田中由香里<sup>\*2</sup>・征矢野清<sup>\*2</sup>  
阪倉良孝<sup>\*2</sup>・萩原篤志<sup>\*2</sup>・松山倫也<sup>\*1</sup>

当水試ではブリ、オニオコゼ、マハタなどの種苗生産技術開発に取り組んでいる。これらの魚種について親魚の成熟および仔魚の摂餌特性等に関する基礎的な研究部分を大学と共同で研究しているので、本報では平成14年度中に得た共同研究成果について概要を報告する。

## I. ブリの生殖腺刺激ホルモン (GtH) および生殖腺刺激ホルモン受容体 (GtHR) の遺伝子クローニングと性成熟における発現解析

### 目 的

魚類は他の脊椎動物同様、2種類の生殖腺刺激ホルモンを持ち (FSH および LH)、一連の卵形成および精子形成過程を制御していると考えられているが、これらの詳細な機能はほとんど明らかにされていない。本研究では、ブリの GtH の生理的機能を明らかにするために、GtH のサブユニット (GtH $\alpha$ , FSH $\beta$ , LH $\beta$ ) および GtH 受容体 (FSHR, LHR) の遺伝子クローニングを行い、さらに、脳下垂体および生殖腺におけるそれらの mRNA 量の発現動態を解析した。

### 方 法

ブリ成魚を1年にわたり各月雌雄5尾ずつを採集した。脳下垂体と生殖腺から Poly(A)<sup>+</sup>RNA を抽出し、各サブユニットに特異的なプライマーを用いて PCR を行い、さらに5'-および3'-RACE 法により各 cDNA の全長の塩基配列を決定した。さらに、Northern 解析により脳下垂体における GtH サブユニットと生殖腺における GtH 受容体の mRNA の発現量を調べた。

### 結 果

ブリの脳下垂体から  $\alpha$ 、FSH $\beta$ 、LH $\beta$  の3つのサブユニット遺伝子が単離され、ブリでも他の脊椎動物

と同様に2種類の GtH を下垂体で産生していることが明らかとなった。それらの塩基数は  $\alpha$ :579bp, FSH $\beta$ :453bp, および LH $\beta$ :578bp でそれぞれ114, 120, および148のアミノ酸をコードしていた。また雌の脳下垂体における FSH $\beta$  サブユニットは卵黄形成の活発な時期に、LH $\beta$  サブユニットは卵黄形成の後半から卵成熟直前にそれぞれ高い発現を示した。雄ではそれぞれの  $\beta$  サブユニットの発現量はともに活発な精子形成の見られる時期に高い値を示したが、一連の精子形成過程中、常に FSH $\beta$  の方が LH $\beta$  より4倍程度高い値を示した。また、ブリの生殖腺から2種類の GtH 受容体遺伝子、FSHR および LHR が単離され、それぞれ680および702のアミノ酸をコードしていた。Northern 解析の結果、FSHR の mRNA は初期の卵黄形成および精子形成の生殖腺に強く発現していた。一方、LHR は卵巣では後期の卵黄形成および最終成熟期で、また精巣では後期の精子形成および排精期で強く発現していた。これらの結果より、ブリでは雌雄共に FSH は配偶子形成過程の前半に作用するのに対し、LH は卵の最終成熟と排精を含む配偶子形成過程の後半に関与していることが強く示唆された。

(本事業は九州大学農学研究院 松山倫也教授との共同研究でおこなった。また、本報告は M.A.Rahman 他5名が2003年5月に開催された「第7回魚類の生殖生理に関する国際シンポジウム」において発表した講演要旨である。)

## II. LHRHa 投与によるオニオコゼの排卵誘導と人工授精における媒精適期

### 目 的

オニオコゼ *Inimicus japonicus* の人工種苗生産は日本各地で試みられているが、未だ良質かつ大量の受精

<sup>\*1</sup> 九州大学大学院農学研究院

<sup>\*2</sup> 長崎大学水産学部

卵を一度に得る技術は確立されていない。多くの魚種では種苗生産に必要な受精卵を得るために、LHRHaを用いた成熟・排卵の誘導や人工授精による採卵が行われている。しかし、本種においてこれらの方法を用いた例はない。そこで本研究では、LHRHa投与時の卵径と排卵時間との関係を調べると共に、排卵後腹腔内で保持された卵の保持時間と受精率および孵化率の関係を調べ、媒精適期を明らかにした。

#### 方 法

- 1) LHRHa投与による排卵誘導:カカオバターに懸濁させたLHRHa(100  $\mu$ g/kgBW)を雌に投与した。その後、24時間目から54時間目まで6時間毎にカニューラによって卵巣卵を採取し、排卵確認と卵径測定を行った。
- 2) 媒精適期:LHRHa投与後、24時間目から42時間目まで6時間毎に排卵確認を行い、卵の搾出が可能になった時間から6時間毎に卵を搾出して人工授精を行った。その後、得られた浮上卵を20°Cに保ち、受精率と孵化率をそれぞれ算出した。媒精には、複数の雄から抽出した精子を混合して作成した凍結精子を用いた。

#### 結 果

- 1) LHRHa投与時の卵径が700  $\mu$ m以上の個体では、LHRHa投与後24時間目から42時間目に全ての個体で排卵が確認された。卵径601-699  $\mu$ mの個体では、投与後42時間目および48時間目に全ての個体で排卵が確認された。卵径600  $\mu$ m以下の個体では、投与後42および48時間目に5個体中2個体で排卵が確認され、その最小卵径は574  $\mu$ mであった。残りの3個体では排卵は確認されなかった。
- 2) 受精率の平均値は、搾出が可能になった直後(0時間目)には100%、6時間後には67%、12時間後には9%と著しく減少し、18時間後には0%を示した。また孵化率の平均値は、0時間目には70%を示したが、6時間目には0%と著しく減少した。以上の結果より、投与時の卵径が600  $\mu$ m以上の卵を持つ個体にLHRHaを投与すると、48時間目までに排卵が誘導されることがわかった。また、卵径700  $\mu$ m以上の卵はLHRHaに対する感受性が高いこ

とが示唆された。さらに、本種では受精可能になった卵の受精能はすばやく低下することから、人工授精は卵の搾出が可能になった直後に行うことが最適であることが明らかになった。

(本事業は長崎大学水産学部征矢野清助教授との共同研究で行った。)

### Ⅲ. ワムシサイズに対するマハタ仔魚の摂餌選択性

#### 目 的

マハタ *Epinephelus septemfasciatus* は、近年、本県の栽培漁業および養殖対象種として注目されている。本種は仔魚の体サイズ、口器が他の海産魚種に比べて比較的小さく、適切な体サイズのワムシを給餌することが初期減耗軽減に必要である。本研究では、マハタ仔魚飼育の最適餌料系列を確立するための基礎的知見を得ることを目的とし、マハタ仔魚のワムシサイズ(被甲長)に対する摂餌選択性の解析を行った。

#### 方 法

2002年7月に人工授精によって得た受精卵を1kL容の黒色円形水槽に1万粒収容し、ふ化後20日令まで飼育した。餌料は *Brachionus plicatilis* (L型, 119~241  $\mu$ m), *B. rotundiformis* (S型, 93~179  $\mu$ m; SS型, 90~159  $\mu$ m) の3タイプのワムシで、これらを同時に仔魚の開口時から給餌した。飼育水中のワムシ密度を15個体/mLに保った(ワムシ1タイプ当たり5個体/mL)。飼育水槽より、2, 3日おきに仔魚とワムシをサンプリングし、5%ホルマリンで固定した。固定サンプルより、仔魚の形態(全長, 体長, 上顎長, 口幅)および仔魚の消化管内のワムシ数と被甲長を測定した。また、飼育水中のワムシ被甲長も併せて測定した。これらの計測データより仔魚の日令, 体長ごとに、異なるサイズのワムシに対する仔魚の摂餌選択性を調べた。

#### 結 果

マハタ仔魚は開口直後(4日令, 平均全長2.1mm)から体長3mm(全長3.2mm)までは被甲長80~120  $\mu$ mのワムシに、体長3~4mm(全長4.2mm)には被甲長120~180  $\mu$ mのワムシに対して強い選択性を示すことが

分かった。また、体長4mm（全長4.2mm）以上の仔魚は被甲長180 $\mu$ m以上のワムシを摂餌していた。体長および口器サイズと摂餌したワムシサイズには正の相関が見られた。

以上より、マハタ仔魚飼育では、開口時から全長3.2

mmまでは小型のSS型ワムシ、4.2mmまではSS型とL型の混合給餌、それ以降はL型ワムシの給餌が適していると判断された。

（本事業は長崎大学水産学部萩原篤志教授および阪倉良孝助教授との共同研究で行った。）

## 2. 潮汐エネルギーを利用した海底ブロックによる水質改善

矢田 武義・平野 慶二・山砥 稔文  
北原 茂・坂口 昌生

閉鎖性海域では、慢性的な湾内水の停滞に起因した水質が悪化が社会問題となることがある。

そこで、方向抵抗性を持つ海底ブロック（流況制御ブロック）を沈設し、潮汐エネルギーを利用した閉鎖性水域と外海との海水交換を促進させる技術を開発することを目的に、新長崎漁港を実験地として、九州大学、長崎大学と共同で、平成12年度から調査研究を実施している。

本年度は、海底ブロック設置後の環境変化を把握するため、水質等の調査を行った。

ここでは、昨年度同様、水産試験場が担当した水質のCOD、底質のCOD、全硫化物の概要を中心に報告する。

なお、各調査結果の詳細は、新長崎漁港水質改善プロジェクト研究報告書に記載した。

### 方 法

水質調査は、平成14年5月31日、7月1日、7月29日、8月24日、10月8日、12月9日の6回、図1に示した12定点で行った。

底質調査は、7月19日（Stn.A等港外の調査点については8月21日）、10月4日の2回、図1に示した調査点を中心とした16定点で行った。

採水 バンドーン採水器により、上層、中層、下層の3層から採水した。なお、上層は海面下2m、下層

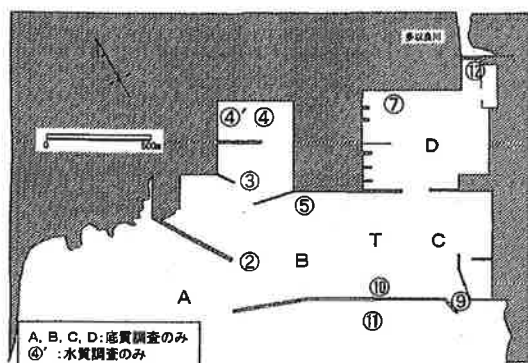


図1 調査定点の概要

は海底面上1.5mとし、中層は採水時の多成分水質計による観測で水温躍層がある場合は躍層、水温躍層がない場合は水深中央付近とした。

採泥 スミスマッキンタイヤー採泥器により採泥後、アクリル管により表層泥を柱状採取し、表層3cmの試料を分析に供した。

分析 水質のCODはアルカリ法により、底質のCOD、全硫化物は水質汚濁調査指針により、それぞれ分析した。

成層調査等 成層状況を把握するため、5～10月の間、2週間間隔で深度1m毎に、水温、塩分等を多成分水質計により測定した。

また、潮流については、夏季および冬季にそれぞれ45日間、湾中央部に電磁流速計およびADCPを設置し、観測を行った。

### 結 果

水質（COD） 主要調査点における平成12年5月以降の推移を図2に示した。

平成14年の推移についてみると、区域別では、港外（Stn.11）が0.37～1.41mg/L、港口部（Stn.2, 9）が0.06～1.44mg/L、港央部（Stn.5, 10）が0.14～2.78mg/L、港奥部（Stn.4, 7）が0.30～1.63mg/Lの範囲で推移し、各区域とも調査時に油膜や浮遊物が確認された7月下旬は1mg/L以上の高い値を示したが、他の時期は、ほぼ水産用水基準（1mg/L以下）を満たしていた。時期別には、港外を除き、12月が低め、層別には下層がやや低めであった。

ブロック設置前の平成12年の推移とブロック設置後の平成13、14年の推移を比較してみると、時期的な変動はあるものの、いずれの区域においても、総じて13、14年が低めであった。

平成12年から調査を継続して実施した港外のStn.11、港口のStn.2, 9、港央のStn.5, 10、港奥のStn.3, 4, 7の計8定点について、各年毎に6月下旬から12月

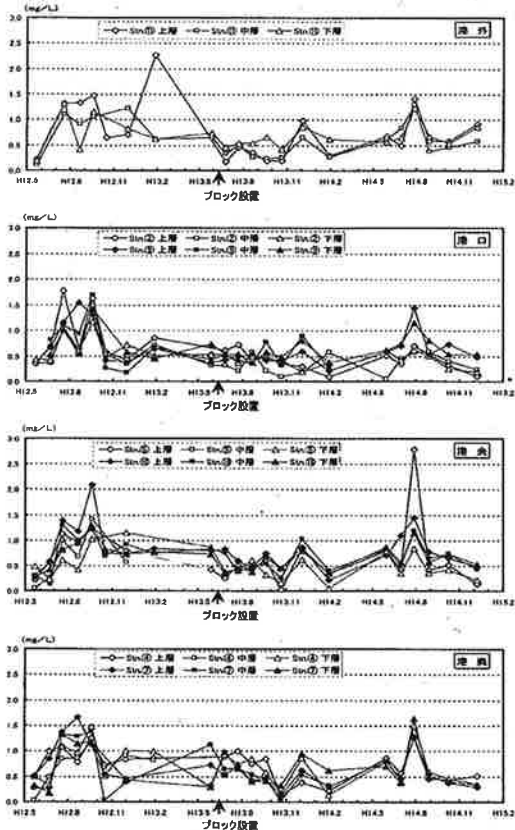


図2 水質 COD の推移

上旬までの間の全測定値の平均値を表1に示した。

海底ブロック設置前の平成12年と比べると、推移でも分かるように、海底ブロック設置後の2カ年は、全調査点で低くなっており、そのうち有意に低い値(危険率5%)を示したのは、設置直後の平成13年は、港奥部のStn.4を除く7定点、設置1年後の平成14年は、湾口部のStn.2、湾央部のStn.10、湾奥部のStn.3であった。2カ年とも有意に低い値を示した3定点についてみると、湾口部のStn.2は、海底ブロック45基を

表1 水質CODの年別平均値

区域・定点	H12年	H13年	H14年
港外 Stn.11	1.03 ± 0.32	0.45 ± 0.23	0.76 ± 0.32
港口 Stn. 2	0.80 ± 0.44	0.39 ± 0.17	0.42 ± 0.18
Stn. 9	0.85 ± 0.46	0.53 ± 0.16	0.77 ± 0.31
港央 Stn. 5	0.80 ± 0.36	0.43 ± 0.23	0.64 ± 0.77
Stn.10	0.94 ± 0.43	0.58 ± 0.21	0.76 ± 0.31
港奥 Stn. 3	0.78 ± 0.41	0.49 ± 0.21	0.44 ± 0.32
Stn. 4	0.89 ± 0.29	0.68 ± 0.29	0.65 ± 0.40
Stn. 7	0.88 ± 0.51	0.52 ± 0.24	0.62 ± 0.45

\* 1 6月下旬から12月上旬の全層平均

\* 2 平均値±標準偏差

設置した場所、湾央部のStn.10は海底ブロック設置後、成層の発達が弱くなった場所、湾奥部のStn.3は海底ブロックを45基設置した場所の直近の場所である。これらのことから、海底ブロック設置により、水質のCODについては改善されていると考えられた。

底質 COD, 全硫化物について、平成14年の分析結果の概要を表2,平成12年以降の主要調査点における推移を図3, 4に示した。

表2 底質の分析結果概要

調査年月日		H14. 7.19*	H14.10. 4
C O D	港 外	1.66 ~ 6.98 ( 3.56)	1.29 ~ 7.08 ( 4.24)
	港口部	4.36 ~ 8.59 ( 5.91)	3.94 ~ 10.09 ( 6.88)
	港央部	5.95 ~ 15.58 (10.33)	5.79 ~ 15.11 (10.10)
	港奥部	7.49 ~ 27.53 (14.05)	5.44 ~ 20.95 ( 9.79)
全硫化物	港 外	0.014 ~ 0.044 (0.023)	0.008 ~ 0.055 (0.025)
	港口部	0.031 ~ 0.110 (0.055)	0.038 ~ 0.160 (0.073)
	港央部	0.044 ~ 0.188 (0.096)	0.036 ~ 0.209 (0.126)
	港奥部	0.032 ~ 0.291 (0.146)	0.049 ~ 0.490 (0.159)

単位: mg/g 乾泥 ( ) は平均値

\* 港外および港口部の一部は H14.8.21 に調査を実施

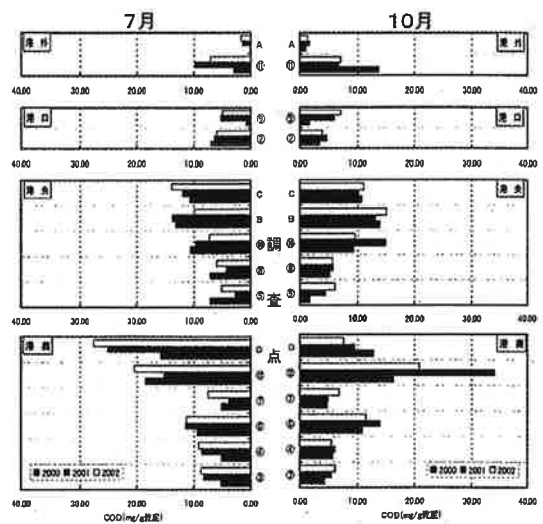


図3 COD(底質)の推移

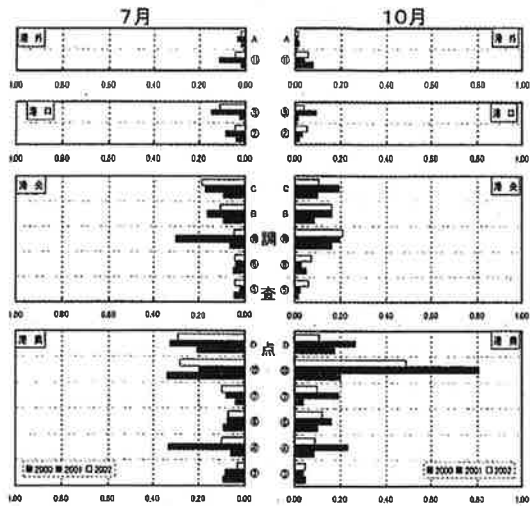


図4 全硫化物(底質)の推移

CODについてみると、港外が7月1.66~6.98mg/g乾泥、10月1.29~7.08mg/g乾泥、港口部が7月4.36~8.59mg/g乾泥、10月3.94~10.09mg/g乾泥、港央部が7月5.95~15.58mg/g乾泥、10月5.29~15.11mg/g乾泥、港奥部が7月7.49~27.53mg/g乾泥、10月5.44~20.95mg/g乾泥で、港外と港口部は10月が高め、港央部と港奥部は7月が高めであり、7月、10月とも港奥の一部(7月:Stn.12, D, 10月:Stn.12)で水産用水基準(20mg/g乾泥)を上回っていた。

海底ブロック設置前の平成12年同時期の値と比較すると、7月の港口Stn.2, 港央Stn.5, 8, 10, B, 10月の港外Stn.11, 港奥Stn.4, Dが低い値を示したが、顕著に低い値(50%以下)を示した調査点はみられなかった。

一方、他の調査点のうち、顕著に高い値(200%以上)を示したのは、7月の港外Stn.11, A, 港口Stn.9, 10月の港口Stn.9, 港央Stn.5であった。

また、海底ブロック設置直後の平成13年同時期の値と比較すると、7月の港外Stn.11, 港口Stn.2, 9, 港央Stn.10, B, 港奥Stn.6, 10月の港外Stn.A, 港口Stn.2, 港央Stn.8, 10, 港奥Stn.4, 6, 12, Dが低い値を示したが、顕著に低い値を示した調査点はみられなかった。一方、顕著に高い値を示した調査点はなかった。

全硫化物についてみると、港外が7月0.014~0.044mg/g乾泥、10月0.008~0.055mg/g乾泥、港口部が7月0.031~0.110mg/g乾泥、10月0.038~0.160mg/g

乾泥、港央部が7月0.044~0.188mg/g乾泥、10月0.036~0.209mg/g乾泥、港奥部が7月0.032~0.291mg/g乾泥、10月0.049~0.490mg/g乾泥で、各区域とも10月が高めであり、7月に港奥の一部(Stn.10, 4, D), 10月に港央, 港奥の一部(Stn.10, 12)で水産用水基準(0.20mg/g乾泥)を上回っていた。

海底ブロック設置前の平成12年同時期の値と比較すると、7月の港央Stn.5, 8, 10, 港奥Stn.3, 6, 12, 10月の港外Stn.11, A, 港奥Stn.Dが低い値を示した。このうち、顕著に低い値を示したのは、7月の港奥Stn.3であった。一方、他の調査点のうち、顕著に高い値を示したのは、7月の港外Stn.11, 港口Stn.9, 港奥Stn.7, 10月の港口Stn.2, 9, 港央Stn.5, 港奥Stn.7, 12であった。

また、海底ブロック設置直後の平成13年同時期の値と比較すると、7月の港外Stn.11, A, 港口Stn.2, 9, 港央Stn.10, B, 港奥Stn.3, 4, D, 10月の港口Stn.9, 港央Stn.C, 港奥Stn.4, 6, 7, 12, Dが低い値を示した。このうち、顕著に低い値を示したのは、7月の港外Stn.11, 港央Stn.10, 港奥Stn.3, 4, 10月の港口Stn.9, 港奥Stn.4, Dであった。一方、顕著に高い値を示したのは、10月の港央Stn.5, 8で、過去3年間の調査において0.100mg/g乾泥以下の値を示した調査点であった。

これらのことから、長崎漁港の底質環境は、時期的な差、年変動はあるが、湾口、湾央ではほぼ基準以下であるのに対し、湾奥の一部では基準を上回っており、湾奥での負荷に左右されていると思われる。

しかし、時期的な差はあるが、海底ブロック設置前に比べると、港口部東側、港央部中央などでやや高い値を示したものの、海底ブロックを港外流出方向に設置した港口西側周辺などで、他の場所より数値の低下が顕著であり、海底ブロック設置による改善効果が伺えた。

成層調査等 湾央部のStn.10における水温の鉛直分布についてみると、本年は、過去2カ年と同様、観測を開始した5月上旬には弱い水温成層が確認されたが、8月中旬に28℃まで上昇した後、下旬にはほぼ消滅し、昨年同様に、海底ブロック設置後は成層の発達が弱く

なった。このことは、同調査点における底層の溶存酸素飽和度が60%以下にならなかったことからもうかがえた。

港口部の潮流についてみると、潮汐運動に追随した流量の変動傾向がうかがえるが、東側では海底ブロック設置前に観測された最強時の流出傾向が弱まっているものの、満潮時直前に港外への流出が存在しており、西側では、下げ潮時に南から港外へ流出し、上げ潮時に北から港内への流入する流動構造が確認された。

#### ま と め

- 1) 方向抵抗性をもつ海底ブロック（流況制御ブロック）を設置し、潮汐エネルギーを利用した海水交換促進技術を開発することを目的として、実験地である長崎漁港において調査等を実施した。
- 2) 本年度は、海底ブロック設置1年後の環境を把握するため、平成14年5月から12月までの間に水質等の調査を実施した。
- 3) 水質のCODは、0.06～1.63mg/lの範囲で推移し、調査時に油膜等が確認された7月下旬を除き、水産用水基準(1.0mg/L以下)を満たしており、昨年同時期と同等かそれ以下であった。
- 4) 水質のCODについて、各年の6月下旬から12月上旬の間の全平均でみると、港外流出方向へ45基の海底ブロックを設置した湾口部西側などで、海底ブ

ロック設置前より有意に低くなっており、海底ブロックによる水質環境の改善の効果がうかがえた。

- 5) 底質のCODは、1.29～27.53mg/g乾泥、全硫化物は0.008～0.490mg/g乾泥の範囲で、湾奥部の一部などで水産用水基準（COD20mg/g乾泥、全硫化物0.20mg/g乾泥）を上回っていたが、昨年同時期と比べると、CODはやや高め、全硫化物はやや低めの傾向がみられた。
- 6) 港内における底質のCOD、全硫化物について、3カ年の推移でみると、時期的な差はあるが、海底ブロック設置前に比べると、湾口部東側、港中央部などやや高い値を示したものの、海底ブロックを港外流出方向に設置した湾口西側周辺などで、他の場所より数値の低下が顕著であり、海底ブロック設置による底質環境の改善効果が伺えた。
- 7) 湾中央部の水温成層については、海底ブロック設置前に比べ、設置後の2カ年は発達が弱くなっており、底層の溶存酸素飽和度も60%以上であった。
- 8) 海底ブロック設置前および設置後2カ年の水質のCOD、底質のCOD、全硫化物、水温成層等の状況からみると、湾口部、港中央部などの海水交換が促進され、環境が改善されていることがうかがえた。

(担当：矢田)

### 3. 細菌性疾病に対する免疫機構の基礎研究

塚原淳一郎・金井 欣也\*<sup>1</sup>

予防策がなく被害が大きい疾病に対するワクチン開発にかかる基礎的な研究を行うことを目的として長崎大学との共同研究を行った。対象疾病はブリの類結節症、ヒラメのエドワジェラ症・連鎖球菌症とし、今年度は主に試作ワクチンの有効性及びヒラメ連鎖球菌症の予防免疫に関する基礎検討を行った。

#### 方 法

##### ブリ類結節症試作ワクチンの有効性試験

ブリ稚魚に NUF89(強毒株)および NUF244 (NUF89の継代株, 弱毒) から作製した下記のワクチンを各30尾宛腹腔内接種し, 2週間後に $10^3$ CFU 筋肉接種して攻撃した。ワクチン投与量は1尾(体重約30g)あたり湿重量で3mg(0.1ml)とした。

試作ワクチン(①, ②, ⑨, ⑩は昨年実施)

- ① NUF89のBHI ブイヨン振とう培養, 0.3%ホルマリン死菌(FKC)。培地含む。
- ② NUF89のBHI ブイヨン振とう培養, 60°C加熱死菌。培地含む。
- ③ NUF89のBHI ブイヨン振とう培養, FKC。
- ④ NUF89のBHI ブイヨン振とう培養,  $H_2O_2$ で1時間処理, FKC。培地含む。
- ⑤ NUF89のBHI ブイヨン振とう培養, 金属除去培地で1時間処理, FKC。培地含む。
- ⑥ NUF89のBHI 寒天培養, FKC。
- ⑦ NUF89のBHI 寒天培養, FKC。菌体外産物含む。
- ⑧ NUF89のBHI 寒天培養,  $H_2O_2$ で1時間処理, FKC。菌体外産物含む。
- ⑨ NUF244のBHI ブイヨン振とう培養, FKC。培地含む。
- ⑩ NUF244のBHI ブイヨン振とう培養, 60°C加熱死菌。培地含む。

##### ヒラメエドワジェラ症試作ワクチンの有効性試験

普通培地 24 時間培養 FKC, 普通培地 40 時間培養

FKC, 合成培地36時間培養 FKC, 合成培地36時間培養後金属除去合成培地に3時間懸濁 FKC, 合成培地36時間培養後金属除去  $Mg^{2+}$ 添加合成培地に3時間懸濁 FKC, 合成培地36時間培養後金属除去  $Fe^{2+}$ 添加合成培地に3時間懸濁 FKC, 普通培地 24 時間培養後 20  $mMH_2O_2$ 添加普通培地に2時間懸濁 FKC, の7種類のFKCを各20尾宛 $10^3$  cells/100g 魚体重腹腔内接種し, 2週間後に *E.tarda* NUF251で菌浴攻撃した( $10^8$  CFU/ml)。PBS注射魚を対照とした。

##### ヒラメ連鎖球菌症の予防免疫に関する基礎検討

###### 1) 免疫魚の感染防御機構に関する研究

###### 実験1: 血清の感染防御能活性化作用の強さ

免疫魚を攻撃後2日目に採取した血清(免疫・攻撃血清), 攻撃せずに免疫魚から採取した血清(免疫血清)および非免疫魚から採取した血清(ノーマル血清)をPBSで2倍階段希釈し(2~32倍希釈), 各希釈血清をそれぞれ3尾のヒラメに腹腔内接種, その24時間後に *S.iniae* NUF631を $10^4$ CFU/100g 魚体重, 血管内に接種攻撃し, 48時間後の血液および腎臓の生菌数を測定した。血清の代わりにPBSを腹腔内注射したものを対照とした。

###### 実験2: 免疫防御における腎臓マクロファージの役割(腎臓マクロファージの殺菌活性)

2倍希釈した免疫・攻撃血清および2倍希釈したノーマル血清を腹腔内接種, その24時間後に腎臓を摘出して細胞を分散させた後, パーコール密度勾配遠心分離でマクロファージ分画を採取し, *S.iniae*NUF631に対する食作用および殺菌作用を調べた。

###### 2) 38-タイプ特異抗原多糖の免疫原性に関する研究

###### 実験3: 特異抗原・BSA複合体の免疫原性

化学的に牛血清アルブミンを結合させた特異抗原を200  $\mu$ g および20  $\mu$ g/100g ヒラメの腹腔内に接種し, 2週間後に *S.iniae* NUF631で攻撃した。

\*<sup>1</sup>長崎大学水産学部



結 果

ブリ類結節症試作ワクチンの有効性試験

攻撃後の死亡経過を表1に示した。攻撃5日目に全区で大量死が発生した(原因は酸欠)ため、ワクチンの効果を判定することはできない。しかし、昨年と同様、NUF89の方がNUF244よりも死亡数が少ない傾向があり、NUF89では加熱死菌よりもホルマリン死菌の方が効果が高いように感じられた。なお、⑦と⑧では免疫期間中にそれぞれ12尾および3尾死亡した。これは添加したECPの毒性のためと思われる。

表1 ブリの類結節症試作ワクチン有効性試験における攻撃後の日間死亡数の推移

試作ワクチン	攻撃後の経過日数												使用尾数 <sup>1)</sup>	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12		
①NUF89FKC+ECP	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	2	24
②NUF89HKC+ECP	0	(1) <sup>2)</sup>	0	1	4(2)	0	0	0	0	0	(1)	0	5(4)	25
③NUF89FKC	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	2	25
④NUF89FKC(H2O2)+ECP	0	0	0	0	2(2)	0	0	0	0	0	0	0	2(2)	25
⑤NUF89FKC(金属除去)+ECP	0	0	0	1	1(1)	0	0	0	0	0	0	0	2(1)	25
⑥NUF89熱天FKC	0	0	1	1	2	0	0	0	0	0	0	0	4	25
⑦NUF89熱天FKC+EPC	0	0	0	0	2(1)	0	0	0	0	0	0	0	2(1)	12
⑧NUF89熱天FKC(H2O2)+EPC	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	2	20
⑨NUF244FKC+ECP	0	0	0	0	3(2)	0	0	0	0	0	0	0	5(2)	25
⑩NUF244HKC+ECP	0	0	0	2	3(5)	0	1	0	0	0	0	0	8(5)	25
対照区	0	0	0	2	5	0	0	0	0	0	0	0	7	25

\*1 免疫期間中の死亡および攻撃時の死亡により、試験区間にばらつきがある。  
\*2 カッコ内の数字は攻撃数が分離されなかった個体数。

ヒラメドワジェラ症試作ワクチンの有効性試験

攻撃後の死亡状況を図1に示した。攻撃1ヵ月後の生残率は、対照区が30%、免疫区が順に60%、45%、50%、60%、60%、40%、65%であり、対照区と比べていずれも高かったが、従来から調べられている普通培地24時間培養FKCに比べて明らかに効果の高いワクチンはなかった。

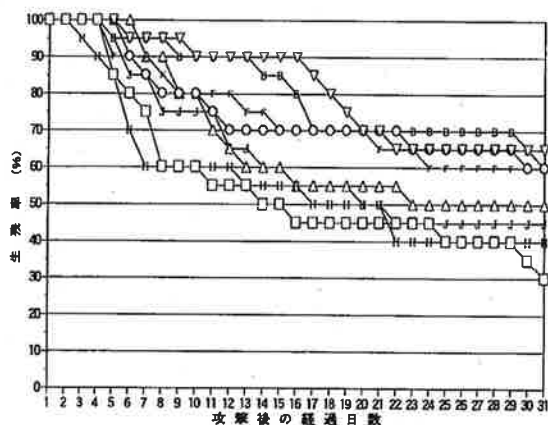
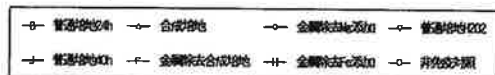


図1 E.tarda 試作ワクチンで免疫したヒラメの攻撃後の死亡経過



ヒラメの連鎖球菌症の予防免疫に関する基礎検討

1) 免疫魚の感染防御機構に関する研究

実験1: 血清の感染防御能活性化作用の強さ

個体ごとの腎臓および血液における生菌数をそれぞれ図2と3に示した。ノーマル血清では腎臓および血液どちらも対照と差がなかった。免疫・攻撃血清では2倍から16倍希釈まで強い活性化作用がみられ、32倍希釈では活性化作用が弱かった。免疫血清でも8倍希釈まで強い活性化作用がみられたが、16倍希釈では弱まり、32倍希釈では活性化作用が認められなかった。

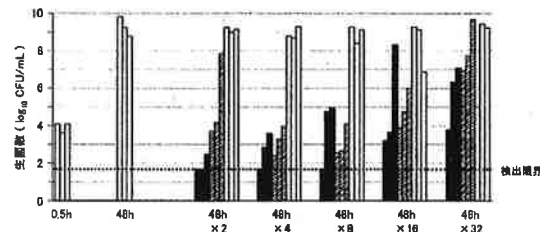


図2 希釈血清摂取後 *S.iniae*NUF631生菌を接種したときの腎臓における攻撃菌の消長 (n=3)

(□), PBS; (■), 免疫・攻撃ヒラメ血清; (○), 免疫血清; (◇), 正常血清

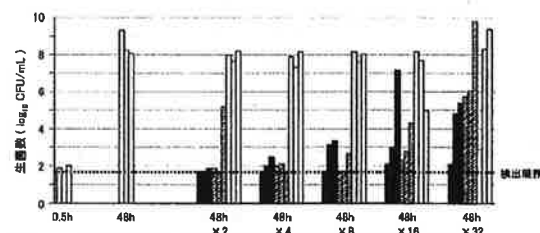
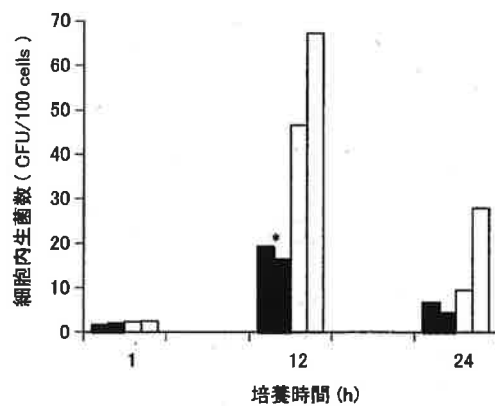


図3 希釈血清摂取後 *S.iniae*NUF631生菌を接種したときの血液における攻撃菌の消長 (n=3)

(□), PBS; (■), 免疫・攻撃ヒラメ血清; (○), 免疫血清; (◇), 正常血清



(\*: P<0.05, Student t-検定, 対照区と比較)

図4 免疫・攻撃ヒラメ血清接種魚から採取した腎臓マクロファージの細胞内生菌数 (n=2)

(■), 免疫・攻撃ヒラメ血清; (□), ノーマル血清

実験2：免疫防御における腎臓マクロファージの役割  
(腎臓マクロファージの殺菌活性)

腎臓マクロファージ内の生菌数変化を図4に示した。

各血清に2尾について行い、結果は個体ごとに示した。免疫・攻撃血清接種魚由来のマクロファージではノーマル血清接種魚のものとは比べ12時間後の生菌数が有意に低かった。24時間後にはいずれも減少しているが、殺菌が行われたというよりも、細胞内増殖した *S.iniae* によってマクロファージが破壊されたことも関係していると思われる。

2) 38-タイプ特異抗原多糖の免疫原性に関する研究  
実験3：特異抗原・BSA 複合体の免疫原性

攻撃後の死亡経過を図5に示した。免疫区と対照区

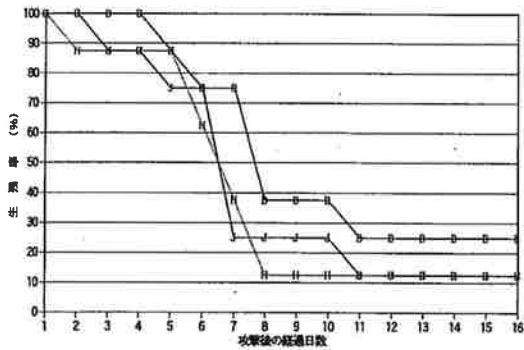
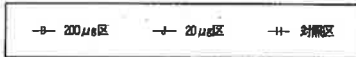


図5 特異抗原 BSA 複合体で免疫したヒラメの攻撃後の死亡状況



とに死亡率に差はみられなかった。一般に多糖類は免疫原性が弱く、タンパク質との複合体にすると免疫力が高まることもある。そこで本実験を行ってみたが、思わしい結果は得られなかった。

まとめ

- 1) ブリの類結節症、ヒラメのエドワジェラ症・連鎖球菌症とし、今年度は主に試作ワクチンの有効性及びヒラメ連鎖球菌症の予防免疫に関する基礎検討を行った。
- 2) ブリ類結節症試作ワクチンの有効性については試験中に供試魚が酸欠で大量死したために有効性を判定できるような結果が得られなかった。
- 3) ヒラメエドワジェラ症試作ワクチンは従来からの普通培地24時間培養FKCに比べて明らかに効果の高いワクチンではなかった。
- 4) ヒラメ連鎖球菌症の免疫・攻撃血清には16倍に希釈しても *S.iniae* NUF631の増殖を抑える作用が認められた。
- 5) 免疫・攻撃血清を接種したヒラメの腎臓マクロファージ内における *S.iniae* NUF631の生菌数は、12時間後に対照に比べて有意に少なくなった
- 6) 特異抗原・BSA 複合体には *S.iniae* NUF631に対する免疫効果は認められなかった。

(担当：塚原)

## 4. マハタの VNN(ウイルス性神経壊死症)の防除対策に関する研究

高見 生雄・中井 敏博\*<sup>1</sup>・杉原 志貴

マハタのウイルス性神経壊死症(VNN)の垂直伝播に関する研究

—RGNNV を用いた卵の人為汚染による検討—

シマアジの VNN 原因ウイルスである SJNNV については、PCR 法により生殖巣からウイルス遺伝子を検出し親魚を選別する方法で仔稚魚期の発病を抑えることに成功している。しかし、マハタにおいてはシマアジと同様の方法で親魚を選別しても仔稚魚期の発病を抑えることができていない。この原因として、マハタの場合は PCR 法により生殖巣からはあまり効率よくウイルス遺伝子が検出されないためか、それともマハタについては垂直伝播がそれほど重要ではないためなのかのいずれかであると考えられる。本研究では、マハタの VNN 原因ウイルスである RGNNV を用いて卵を人為汚染させることで垂直伝播に関する検討を行うことを目的とした。

### 方 法

RGNNV による人為汚染試験は2002年5月15日と22日の2回実施した。ウイルスは2001年8月に長崎県対馬で養殖されていたマハタから分離された RGNNV

をウイルス力価が $10^{5.25}$ TCID<sub>50</sub>/mlとなるように調整して用いた。

5月15日の試験では、汚染前の卵(以後「正常卵」とする)、正常卵からの孵化仔魚(以後「正常孵化仔魚」とする)、汚染後の卵(以後「汚染卵」とする)、汚染後の受精卵(以後「汚染受精卵」とする)、汚染後の受精卵からの孵化仔魚(以後「汚染孵化仔魚」とする)、汚染後の受精卵を消毒した後の孵化仔魚(以後「消毒孵化仔魚」とする)の6検体を採取した。5月22日の試験では、正常卵、正常卵を受精させた「正常受精卵」、正常孵化仔魚、汚染卵、汚染孵化仔魚、汚染後に消毒した「消毒卵」、汚染受精卵、汚染受精卵を滅菌海水で洗浄した「洗浄卵」、汚染受精卵を消毒した「消毒受精卵」、汚染受精卵が発眼胚の時に消毒した「消毒発眼胚」、消毒孵化仔魚の11検体を採取した。各検体はそれぞれ約200 $\mu$ lを海水と一緒にマイクロチューブに採取して一旦マイナス80 $^{\circ}$ Cで凍結保存し、11月27日に個体部分と液体部分に分けてnested-PCR法によってRGNNVの遺伝子の検出を行った。なお、消毒は有効ヨウ素50ppmで15分間実施後、滅菌海水で3回洗浄した。

表1 RGNNVの人為汚染試験結果

検体名	5月15日実施				5月22日実施			
	RT-PCR		nested-PCR		RT-PCR		nested-PCR	
	個体部	液体部	個体部	液体部	個体部	液体部	個体部	液体部
正常卵	-	-	-	-	-	-	-	-
正常受精卵	/	/	/	/	-	-	-	-
正常孵化仔魚	-	-	-	-	-	/	-	/
汚染卵	+	-	+	+	-	-	+	+
汚染受精卵	-	-	+	+	-	-	+	+
汚染孵化仔魚	-	-	+	+	-	/	+	/
消毒卵	/	/	/	/	-	-	+	-
洗浄受精卵	/	/	/	/	-	-	+	+
消毒受精卵	/	/	/	/	-	-	+	-
消毒発眼胚	/	/	/	/	-	-	-	-
消毒孵化仔魚			-	-	-	/	-	/

\*<sup>1</sup> 広島大学生物生産学部

## 結 果

表1に示すとおり nested-PCR 法によってRGNNV の遺伝子が個体部分と液体部分の両方から検出された検体は、5月15日の試験では汚染卵、汚染受精卵、汚染孵化仔魚であり、5月22日の試験では汚染卵、汚染受精卵、洗浄卵であった。個体部分からは検出されたが液体部分からは検出されなかった検体は5月22日の試験の消毒卵と消毒受精卵であった。

## ま と め

- 1) マハタのVNN原因ウイルスであるRGNNVを用いて卵を人為汚染させることで垂直伝播に関する検討を行った。
- 2) nested-PCR法により消毒発眼胚、消毒孵化仔魚からはRGNNV遺伝子は検出されなかった。

(担当：高見)

## 5. 藻食性魚類による大型褐藻類に対する食害の実態と対策に関する研究

桐山隆哉・大橋智志・藤井明彦（長崎水試）  
吉村 拓（西海区水産研究所）

平成13年度から5ヶ年事業として、都道府県等農林水産業関係試験研究事業（特別研究開発促進事業）により、藻場に対する魚類の食害実態の解明と食害対策を考慮した藻場造成技術の開発を目的に事業を行った。藻場造成技術開発試験の一部については、独立行政法人水産総合センター西海区水産研究所との共同研究で平成13年度から開始し、今年度も継続観察を行ったので、その結果を報告する。

なお、内容の詳細については、藻場に対する食害実態調査報告に記したので参考にされたい。

### 魚類の食害を考慮したホンダワラ類の移植試験

藻食性魚類に摂食され難い種を用いた移植試験と食害防護策の検討を行った。試験は、ノコギリモク（摂食され難い種）、ヨレモク（やや摂食され難い種）、ヤツマタモク（対照）、マジリモク（近年増加傾向にある暖海性種）の4種を移植用基質に採苗し、平成13年8月に野母崎町地先に設置した3基のイセエビ礁（西海区水研実験用）上にこれらを装着した。1基のイセエビ礁では、4種の海藻を1組として4組16枚の移植用基質を装着し、併せて食害防護策として、それぞれ1）網、2）人工海藻、3）銀色テープ（光り物）、4）何もしない（対照）の4試験区を設け、食害防護の効果の有無を調べた。

平成13年度は、魚類の食害被害は軽微で、移植した種苗はいずれも残存し、海藻種および設置した1）網、2）人工海藻、3）銀色テープ（光り物）、4）対照の4試験区での生長や歩留まりに大差は認められなかった。

平成14年度は、台風による食害防護施設の崩壊により、食害防護施設の有効性については明らかにできなかった。移植した種苗については、いずれの種も残存したが、生長や歩留まりに差がみられた。生長はヨレモクが最も良く、次いでヤツマタモク、ノコギリモク、マジリモクの順で、特にヨレモクでは成熟が確認された。歩留まりは、マジリモク以外は移植用基質当たり数本～10本前後であったが、マジリモクでは0～数本と低かった。食害被害は、9月～翌年3月の間に発生し、ヤツマタモクその他、自然着生したクロメにもみられた。ノコギリモク、マジリモクでは幼芽で短く、主枝や葉の欠損はみられず、被害の有無は確認できなかった。今回の観察では、食害被害はヤツマタモクと自然着生したクロメに発生し、種による差がみられた。また、食害によりクロメでは全て茎のみとなっており、再生不可能な状態であったが、ヤツマタモクでは欠損した主枝から枝が新たな枝が伸長しており、食害に対する回復力はホンダワラ類の方が高いことが示唆された。

## 6. カタクチイワシを原料とした魚醤油の機能性および機能性物質の検索

大迫 一史・野崎 征宣\*

魚醤油は、“うおしょうゆ”とも呼ばれ、魚介類を原料として作った醤油状の調味料の総称で、アジアでは、ベトナムの「ニョクマム」、フィリピンの「パティス」、中国の「魚露」、タイの「ナンプラー」、また、日本では、秋田の「しょっつる」や能登の「いしる」などがよく知られている。これらの魚醤油には、独特の旨みがあり、調理したものの味を良くするが、日本人にとっては一般的ではなく、特有の臭いはなじみにくい面もある。

魚醤油の伝統的な製法は、魚肉を多量の食塩とともに漬け込んで、1年以上自然発酵させるものであるが、船津らは、発酵に醤油麹を用いることによって、魚醤油特有の臭いを抑えることができると報告している。

長崎県で2～4月に漁獲されるカタクチイワシは脂肪含量が高い時期であり煮干し製品に不向きなため、その活用が課題となっている。これについては、平成13年度に魚醤油への適性を究明し、本魚が魚醤油の原料として非常に有用であることを報告した。平成14年度においては、同様の手法を用いてアイゴについて検討を行なった。アイゴは、磯焼けの直接原因とされており、大きな群れを形成して大規模かつ突発的な食害をもたらしている。本魚は内臓の強い臭気のため食用としての需要も少なく、新しい利用方法が期待されている。そこで本研究では、これらの有効利用を図る目的で、白身魚のアイゴ、赤身魚のカタクチイワシ、さらに、これらの中間魚としてマアジを原料に、醤油麹を用いて魚醤油の製造を試みた。

昨年度の事業報告においてカタクチイワシについては報告済みであるが、平成14年度に新たに取組んだマアジおよびアイゴとの比較のため、結果については掲載した。

### 実験方法

#### 1. 試料

本研究では魚醤油の試料として、カタクチイワシマ

アジ、アイゴを用いた。

#### 2. 魚醤油の製造

##### (1) もろみの調製

もろみ製造手順は昨年度と同様に行なった。すなわち、もろみの配合を魚肉10kg、醤油麹（日本醸造工業株式会社製 丸福種麹）10kg、20%食塩水（日本たばこ産業製 並塩）20kgとし、40kgで製造した。

カタクチイワシ、マアジおよびアイゴのラウンド肉をミートチョッパー（南常鉄工業製 M-22型）を用いて細切し、醤油麹と20%食塩水を加えて混合したものを非加熱もろみとした。また、細切したラウンド肉の一部を加熱（90℃、30分間）し、同様の製造工程により加熱もろみを製造した。もろみは23℃で135日間熟成させた。製造後1週間は1日1回攪拌した。その後、定期的な成分分析の際に同様の作業を行い、減重量分は蒸留水で補正した。

##### (2) 魚醤油の調製

魚醤油の調製は昨年度と同様に行なった。すなわち、もろみをろ布で圧搾し、搾り汁を遠心分離（12,000×g、30分間）した。得られた上清を加熱（90℃、30分間）した。これを常温まで冷却した後、遠心分離（12,000×g、10分間）し、得られた上清をろ紙（ADVANTEC No.5A）でろ過したろ液を魚醤油とした。

#### 3. 魚醤油の成分分析

##### (1) 色調

魚醤油10gを量り取り、色彩色差計（ミノルタカメラ製 CR-300A型）を用いて測定した。

##### (2) 比重

魚醤油10mlを量り取り、重量法により測定した。

##### (3) pH

魚醤油10mlを量り取り、pHメーター（株式会社堀場製作所製 F-23）を用いて測定した。

##### (4) 塩分濃度

魚醤油を蒸留水で100倍希釈したものを塩分分析計

\*長崎大学水産学部

(住友化学株式会社製 SUMISALT300) を用いて測定した。

#### (5) 固形物含量

魚醤油10mlを量り取り、105°Cで常圧加熱乾燥法により測定した。

#### (6) 無塩可溶性固形分

固形物含量から塩分含量を差し引くことにより求めた。

#### (7) 全窒素

魚醤油2mlを量り取り、Kjeldahl法で測定した。

#### (8) ホルモール窒素

醤油試験法によって測定した。即ち、魚醤油2mlをホールピペットで取り、100mlメスフラスコに入れ、蒸留水を加えて定容とした。この希釈液から25mlをホールピペットで量り取り、50mlビーカーに入れた。これをpHメーターにより0.1N水酸化ナトリウム溶液を滴下してpH8.5に調整した。これにpH8.5に調整したホルムアルデヒド液20mlをメスシリンダーで量り加えた。溶液のpHは酸性を示すので、改めて0.1N水酸化ナトリウム溶液を滴下して、pH8.5まで滴定した(tml)。

$$\text{ホルモール窒素 (\%)} = t \times F \times 0.28$$

$$F = 1/10 \text{水酸化ナトリウム溶液のファクター}$$

#### (9) SOD様活性

SOD様活性はルミノメーター(アトー株式会社製 AB-2200)を用いて測定した。即ち、試験管にKH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> Bufferを180ul, キサンチンオキシダーゼ溶液60ul, 発酵試薬である2-メチル-6-P-メトキシフェニルエチルイミダゾピラジノン溶液を20ul分注した。魚醤油の測定においては、分注した量に相当する量のKH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> Bufferを減らして測定した。

#### (10) 遊離アミノ酸

魚醤油を蒸留水で10倍希釈し、さらにクエン酸ナトリウム緩衝液(pH2.2)で10倍希釈し、メンブランフィルターでろ過した。得られたろ液をアミノ酸分析計(株式会社島津製作所製 ALC-1000)を用いて測定した。

#### (11) 有機酸の分析

試料には熟成90日目の魚醤油を用いた。魚醤油を蒸

留水で10倍に希釈し、セルロースアセテートフィルターでろ過し、高速液体クロマトグラフHPLC(株式会社島津製作所製 HPLC有機酸分析システム)を用いて測定した。分析に用いたカラムはShim-pack SCR-102H(7.8mmI.D.×300mmL.)×2, ガードカラム(6.0mmI.D.×50mmL.), 移動相は5mM p-トルエンシルホン酸水溶液, 流量は0.8ml/min, カラム温度は35°Cとした。

#### (12) 無機質の分析

試料には熟成90日目の魚醤油を用いた。魚醤油10gを量り取り、硝酸10mlおよび過塩素酸2mlを加え、砂皿上で加熱して白煙が出るまで処理した。冷却後、塩酸5mlおよび純水を加えて塩分を溶解し、蒸留水にて全量を100mlとし、これを試料溶液原液とした。

Naの測定は、試料溶液を1000倍希釈、Kの測定には250倍に希釈し、原子吸光度計にて測定した。Ca, Mg, P, Feの測定は、試料液を10倍希釈し、ICP発光分析装置にて測定した。

#### (13) ゲルろ過によるペプチドの分子量分布

最も良好に熟成したと考えられたマアジ加熱魚醤油の分子量分布について調べた。即ち、魚醤油を0.7ml、Sephadex G-25を充填したカラム(2.2cmI.D.×60cmI.)に展開し、ゲルろ過に供した。溶離液として0.1M NaCl-30mM Phosphate Buffer(pH7.0)を用い、1時間に30mlの流速で溶出し5mlずつ分取した。なお、操作は全て低温で行った。各分画液について、ペプチド結合に基づく220nmにおける吸光度を測定した。また同一条件で分子量既知のスタンダードを溶出して、分子量と溶出位置との関係を求めた。その後、各分画液の発光阻害率も調べた。特に発光阻害率の高かった分画のペプチドは塩酸加水分解を行い、構成アミノ酸を調べた。

## 結 果

#### (1) 色調

L\*, a\*, b\*の結果は表1~6に示した。いずれの魚醤油も緩やかな低下が認められた。

#### (2) 比重

比重の結果は表1~6に示した。いずれの魚醤油も経日変化は認められなかった。

### (3) pH

pHの結果は表1～6に示した。いずれの魚醤油もわずかな低下が認められた。

### (4) 塩分

塩分の結果は表1～6に示した。いずれの魚醤油も経日変化は認められなかった。

### (5) 固形物含量

固形物含量の結果は表1～6に示した。いずれの魚醤油も経日変化は認められなかった。

### (6) 無塩可溶性固形分

無塩可溶性固形分の結果は表1～6に示した。いずれの魚醤油も経日変化は認められなかった。

### (7) 全窒素

全窒素の結果は表1～6に示した。いずれの魚醤油も熟成15日目まで急激に増加し、その後、緩やかな増加が認められた。

### (8) ホルモール窒素

ホルモール窒素の結果は表1～6に示した。いずれの魚醤油も熟成30日目まで急激に増加し、その後、緩やかな増加が認められた。

### (9) SOD 様活性

SOD様活性の結果は表1～6に示した。SOD様活性はいずれの魚醤油も徐々に増加した。いずれの魚醤油も熟成初期は非加熱のほうが高い値を示したが、カタクチイワシは熟成90日目、マアジおよびアイゴは熟成135日目で加熱のほうが高い値を示した。

### (10) 遊離アミノ酸

遊離アミノ酸の結果は表7～12に示した。遊離アミノ酸総量はいずれの魚醤油も熟成30日目まで急激な増加した。その後、カタクチイワシ非加熱は熟成のばらつきが認められるものの、アイゴ非加熱を除くいずれの魚醤油も緩やかな増加が認められた。アミノ酸組成では、旨み系アミノ酸であるグルタミン酸およびアスパラギン酸の増加が顕著に認められた。

### (11) 有機酸

有機酸の結果は表13に示した。カタクチイワシ非加熱、アイゴ非加熱およびアイゴ加熱の有機酸の大半は乳酸であり、それ以外の魚醤油では酢酸が最も多く、ピログルタミン酸も比較的多く含まれていた。また、ピルビン酸、レブリン酸はいずれの魚醤油からも検出されなかった。

### (12) 無機質

無機質の結果は表14に示した。無機質含量はアイゴ非加熱のCa含量が少ないことを除いて、いずれの魚醤油もほぼ同じような値であった。いずれの魚醤油もNa含量は他の無機質含量に比べて多く、Feは少ないことが認められた。

### (13) マアジ加熱魚醤油のペプチドの分子量分布

マアジ加熱魚醤油のペプチドの分子量分布を図1に示した。成分のほとんどは分子量2000以下のペプチドで構成されていた。また、分画液ごとに調べた発光阻害率の結果も示した。特に高い値を示した熟成180日目のNo.30、31、37およびNo.38のペプチド構成アミノ酸を表15に示した。

### ま と め

- ・製法の違い（仕込み前の加熱の有無）および原料とする魚種による、呈味成分の違いは無いものと思われた。すなわち、魚種に関わらず、良好な魚醤油の原料となり得ると思われた。
- ・魚種による呈味成分の違いは無かったが、官能的には、アイゴから調製した魚醤油は本魚特有の臭気を有し、魚醤油には適さないと思われた。
- ・魚醤油のSOD様活性は、分子量2000以下の低分子ペプチドにあることが明らかになった。また、これの構成アミノ酸には画分による差はそう大きくないことから、生成されるペプチド種は貯蔵期間中変化がないものと推察された。

(担当：水産加工開発指導センター 大迫)



表1 魚醬油熟成中における化学成分の経日変化  
(カタクチイワシ, 非加熱)

	1日	15日	30日	60日	90日	135日
明度(L*)	27.87	26.50	25.58	23.51	22.03	22.13
色度(a*)	2.16	2.89	3.26	0.89	1.08	1.08
色度(b*)	5.35	3.36	2.59	0.82	-2.28	-2.17
比重(g/ml)	1.16	1.16	1.16	1.15	1.15	1.14
pH	5.31	5.15	5.11	5.43	5.07	5.25
塩分(%)	13.67	13.34	13.60	13.55	13.50	13.10
固形物含量(%)	30.51	31.14	30.80	28.87	30.72	28.18
無塩可溶性固形分(%)	16.84	17.79	17.20	15.32	17.22	13.08
全窒素(%)	1.10	1.26	1.30	1.36	1.37	1.38
ホルモール窒素(%)	0.47	0.63	0.74	0.76	0.81	0.85
SOD様活性(units)	135.18	161.17	198.30	331.53	401.48	594.17

表2 魚醬油熟成中における化学成分の経日変化  
(カタクチイワシ, 加熱)

	1日	15日	30日	60日	90日	135日
明度(L*)	32.08	27.31	25.69	23.58	21.88	21.86
色度(a*)	3.00	3.53	3.60	2.01	0.89	0.70
色度(b*)	5.93	4.84	2.87	1.39	-2.42	-2.53
比重(g/ml)	1.15	1.16	1.17	1.16	1.14	1.14
pH	5.32	5.11	4.99	5.14	5.27	5.21
塩分(%)	13.70	13.40	13.89	13.40	13.30	13.30
固形物含量(%)	30.08	30.71	30.53	30.51	29.50	28.81
無塩可溶性固形分(%)	17.38	17.31	16.84	17.11	16.20	15.51
全窒素(%)	1.05	1.33	1.34	1.37	1.35	1.42
ホルモール窒素(%)	0.40	0.64	0.71	0.72	0.77	0.79
SOD様活性(units)	98.41	140.4	176.6	295.54	428.57	726.6

表3 魚醬油熟成中における化学成分の経日変化  
(マアジ, 非加熱)

	1日	15日	30日	60日	90日	135日
明度(L*)	26.64	26.23	25.93	24.12	24.03	22.69
色度(a*)	3.95	2.48	2.61	1.96	1.72	1.46
色度(b*)	5.92	2.72	1.89	1.22	0.83	-2.07
比重(g/ml)	1.16	1.16	1.17	1.16	1.15	1.14
pH	5.33	5.28	5.14	5.05	4.91	4.86
塩分(%)	13.81	13.20	13.39	13.74	13.50	13.10
固形物含量(%)	31.78	31.68	32.05	32.02	30.99	30.30
無塩可溶性固形分(%)	18.17	18.38	18.66	18.28	17.49	17.20
全窒素(%)	1.11	1.27	1.34	1.39	1.36	1.39
ホルモール窒素(%)	0.34	0.64	0.71	0.89	0.89	0.73
SOD様活性(units)	133.5	162.3	198.43	341.24	438.96	638.22

表4 魚醬油熟成中における化学成分の経日変化  
(マアジ, 加熱)

	1日	15日	30日	60日	90日	135日
明度(L*)	27.32	27.33	25.39	24.15	23.84	21.85
色度(a*)	3.18	3.53	2.47	1.37	1.12	0.68
色度(b*)	6.72	4.50	2.18	0.93	0.27	-2.44
比重(g/ml)	1.16	1.16	1.16	1.16	1.15	1.14
pH	5.29	5.16	5.09	5.27	5.09	5.13
塩分(%)	14.13	13.34	13.54	13.87	13.70	13.30
固形物含量(%)	30.26	30.45	30.53	31.72	31.00	29.48
無塩可溶性固形分(%)	16.13	17.11	16.99	17.85	17.3	16.16
全窒素(%)	0.89	1.25	1.32	1.42	1.42	1.48
ホルモール窒素(%)	0.25	0.83	0.72	0.84	0.77	0.78
SOD様活性(units)	111.21	140.48	159.23	343.88	438.81	722.3

表5 魚醬油熟成中における化学成分の経日変化  
(アイゴ, 非加熱)

	1日	15日	30日	60日	90日	135日
明度(L*)	27.75	26.35	21.16	25.02	19.89	23.76
色度(a*)	1.81	2.28	2.08	1.15	0.18	1.30
色度(b*)	4.79	4.02	3.05	-1.07	0.18	0.71
比重(g/ml)	1.17	1.17	1.18	1.16	1.14	1.15
pH	5.40	5.22	5.22	5.61	5.33	4.86
塩分(%)	14.16	13.87	13.80	13.90	14.20	13.50
固形物含量(%)	31.04	32.12	31.74	28.70	29.34	29.68
無塩可溶性固形分(%)	18.88	18.45	17.84	14.80	15.14	16.18
全窒素(%)	1.02	1.17	1.17	1.24	1.25	1.26
ホルモール窒素(%)	0.39	0.61	0.67	0.69	0.77	0.82
SOD様活性(units)	107.84	141.25	160.78	350.78	360.09	457.01

表6 魚醬油熟成中における化学成分の経日変化  
(アイゴ, 加熱)

	1日	15日	30日	60日	90日	135日
明度(L*)	28.76	27.20	25.60	25.72	20.24	23.81
色度(a*)	3.13	3.22	2.75	2.71	0.86	1.33
色度(b*)	8.95	5.40	3.49	0.07	0.82	0.58
比重(g/ml)	1.16	1.15	1.18	1.15	1.15	1.15
pH	5.39	5.19	5.18	4.98	4.92	4.88
塩分(%)	13.85	13.33	13.80	13.7	13.70	13.80
固形物含量(%)	30.68	30.98	31.15	29.78	31.28	30.89
無塩可溶性固形分(%)	16.81	17.63	17.35	16.08	17.58	17.09
全窒素(%)	1.03	1.18	1.17	1.31	1.31	1.30
ホルモール窒素(%)	0.38	0.58	0.65	0.72	0.74	0.73
SOD様活性(units)	77.87	88.82	135.57	290.55	322.65	567.29

表7 魚醬油熟成中における遊離アミノ酸  
(カタクチイワシ, 非加熱) (mg/100ml)

	1日	15日	30日	60日	90日	135日
アスパラギン酸	237.0	568.0	636.2	531.8	719.3	335.3
グルタミン酸	362.2	659.6	789.3	743.7	682.5	450.9
ヒスチジン	252.2	267.7	273.8	204.7	284.0	135.2
リジン	415.6	439.8	463.2	399.6	444.8	295.1
アンモニア	50.1	75.9	114.3	273.9	97.8	633.0
アルギニン	293.3	361.1	414.3	278.7	410.3	N.D.
タウリン	94.7	99.2	120.0	89.9	116.4	74.8
スレオニン	262.7	370.7	350.2	215.6	323.4	125.4
セリン	166.2	292.1	305.3	219.5	328.4	122.5
プロリン	142.8	222.7	243.6	182.4	257.7	105.6
グリシン	77.9	162.4	184.2	150.6	235.4	89.5
アラニン	273.7	417.0	381.2	302.4	485.5	189.9
シスチン	24.0	25.2	N.D.	13.8	N.D.	N.D.
バリン	230.1	360.5	370.5	288.2	407.3	171.5
メチオニン	153.4	184.4	172.2	133.8	177.2	89.5
イソロイシン	200.2	306.3	324.9	240.3	354.6	149.5
ロイシン	423.2	525.3	529.8	379.7	588.9	242.4
チロシン	157.4	209.2	207.7	165.6	168.4	105.7
フェニルアラニン	241.4	263.7	270.9	209.3	304.5	141.8
Total	4057.9	5780.8	6181.6	5023.5	6542.4	3444.4

表8 魚醬油熟成中における遊離アミノ酸  
(カタクチイワシ, 加熱) (mg/100ml)

	1日	15日	30日	60日	90日	135日
アスパラギン酸	189.2	410.2	480.7	568.2	600.8	689.1
グルタミン酸	284.8	577	688.5	779.5	857.5	933.8
ヒスチジン	198.9	244.7	253.9	234.5	238.7	242.6
リジン	312.1	450.1	430.1	400.3	420.1	483.0
アンモニア	42.0	68.6	103.6	142.7	143.7	161.1
アルギニン	231.1	353.2	380.3	360.6	372.0	345.7
タウリン	84.3	93.0	93.8	81.9	90.7	106.3
スレオニン	204.0	311.4	294.0	264.2	250.0	259.0
セリン	128.9	248.7	259.8	265.9	254.5	256.6
プロリン	108.2	187.9	197.3	206.2	182.6	176.4
グリシン	65.4	156.3	191.0	192.0	213.8	217.3
アラニン	204.2	387.7	396.0	382.2	371	408.4
シスチン	10.4	21.1	16.8	N.D.	N.D.	N.D.
バリン	161.8	312.8	349.2	334.7	346.2	363.3
メチオニン	111.8	167.7	172.9	150.1	150.5	157.3
イソロイシン	136.2	263.2	295.5	287.7	301.8	320.9
ロイシン	320.5	478.3	504.0	467.0	473.0	510.2
チロシン	106.5	187.3	209.9	175.5	153.4	133.1
フェニルアラニン	187.5	232.7	253.6	241.2	254.8	272.5
Total	3047.9	5152.9	5550.9	5524.4	5674.9	6036.6

表9 魚醬油熟成中における遊離アミノ酸  
(マアジ, 非加熱) (mg/100ml)

	1日	15日	30日	60日	90日	135日
アスパラギン酸	139.0	397.7	538.2	589.1	462.4	258.5
グルタミン酸	283.2	584.2	749.5	897.1	904.0	984.5
ヒスチジン	170.6	188.0	204.8	204.7	167.6	218.6
リジン	358.2	454.8	430.2	482.1	480.7	475.5
アルギニン	228.1	333.1	371.5	214.4	21.7	369.7
スレオニン	228.5	341.0	338.7	287.0	258.4	282.8
セリン	118.4	238.2	281.6	284.8	257.1	269.9
プロリン	88.0	184.7	226.1	237.3	203.0	203.1
グリシン	53.7	137.3	178.4	218.7	204.6	231.8
アラニン	185.7	323.5	356.4	378.3	469.4	783.1
シスチン	19.7	27.5	20.6	N.D.	N.D.	N.D.
バリン	160.4	297.6	344.3	362.3	339.2	367.2
メチオニン	132.0	168.1	177.2	173.5	166.3	170.1
イソロイシン	150.5	287.8	305.4	329.4	312.0	342.7
ロイシン	345.7	461.9	507.8	537.1	495.5	552.2
チロシン	125.6	184.9	204.6	204.8	174.5	141.1
フェニルアラニン	211.5	243.0	259.7	274.4	267.2	282.8
タウリン	68.3	70.7	77.1	101.7	101.2	39.8
アンモニア	36.3	88.7	88.7	137.6	214.7	89.5
Total	3115.4	4982.7	5865.8	5922.3	5533.5	6020.9

表10 魚醬油熟成中における遊離アミノ酸  
(マアジ, 加熱) (mg/100ml)

	1日	15日	30日	60日	90日	135日
アスパラギン酸	107.0	339.7	484.2	581.7	595.0	601.0
グルタミン酸	231.0	546.8	731.7	884.7	877.7	937.1
ヒスチジン	123.6	166.0	225.3	207.1	238.4	228.9
リジン	287.8	431.0	504.1	496.3	517.7	530.6
アルギ						

表11 魚醤油熱成中における遊離アミノ酸 (アイゴ, 非加熱) (mg/100ml)

	1日	15日	30日	60日	90日	135日
アスパラギン酸	148.1	428.9	494.1	437.4	368.5	474.9
グルタミン酸	278.6	629.1	719.4	681.0	602.2	772.9
ヒスチジン	97.5	141.4	154.0	128.0	108.4	123.3
リジン	290.8	338.6	337.2	250.2	210.3	226.7
アンモニア	40.4	81.6	89.4	342.9	467.9	328.4
アルギニン	211.4	327.1	338.4	307.8	18.7	N.D.
タウリン	80.3	88.4	102.5	97.3	81.7	77.1
スレオニン	210.2	338.0	314.2	188.0	167.6	186.2
セリン	125.1	263.4	276.8	203.1	167.1	199.6
プロリン	90.8	198.1	208.0	155.2	138.4	131.6
グリシン	56.2	152.6	183.3	125.4	119.1	182.7
アラニン	174.0	327.5	331.8	228.4	204.6	302.0
シスチン	22.8	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
バリン	161.0	313.4	328.1	247.3	225.4	278.1
メチオニン	114.2	152.0	145.7	108.0	98.5	122.3
イソロイシン	138.5	267.2	289.2	216.2	193.2	242.7
ロイシン	319.2	453.6	488.4	346.2	288.8	389.1
チロシン	115.2	178.4	192.1	154.4	139.8	173.3
フェニルアラニン	181.6	220.3	227.2	181.1	171.2	214.2
Total	2851.9	4895.6	5207.8	4407.9	3791.6	4414.9

N.D.:not detected.

表12 魚醤油熱成中における遊離アミノ酸 (アイゴ, 加熱) (mg/100ml)

	1日	15日	30日	60日	90日	135日
アスパラギン酸	118.1	339.1	424.4	496.2	514.1	551.6
グルタミン酸	227.8	545.2	662.9	787.0	799.3	820.9
ヒスチジン	71.7	129.4	143.8	158.2	154.5	153.2
リジン	248.4	379.3	408.4	389.4	391.0	429.4
アンモニア	38.1	70.1	79.2	90.9	91.2	68.2
アルギニン	199.0	335.4	362.6	386.2	378.1	362.8
タウリン	74.1	87.1	88.5	88.1	86.6	91.4
スレオニン	169.2	275.4	289.5	281.9	269.0	258.6
セリン	98.8	218.6	253.6	268.3	261.1	258.1
プロリン	143.8	199.8	217.3	212.3	189.5	169.9
グリシン	73.0	195.9	238.4	271.1	257.1	279.2
アラニン	165.2	340.8	373.2	493.9	425.3	488.3
シスチン	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
バリン	118.0	262.3	303.5	343.0	337.8	348.7
メチオニン	88.4	141.9	153.0	160.7	152.2	152.3
イソロイシン	94.8	218.0	253.0	289.2	300.0	310.6
ロイシン	272.5	433.2	472.9	523.4	528.2	534.8
チロシン	81.4	152.9	176.2	188.2	154.2	112.9
フェニルアラニン	134.2	192.7	214.5	258.6	259.2	263.0
Total	2414.5	4518.9	5114.9	5884.6	5848.6	5853.1

N.D.:not detected.

表13 魚醤油中の有機酸 (mg/100ml)

	カタクチイワシ		マアジ		アイゴ	
	非加熱	加熱	非加熱	加熱	非加熱	加熱
クエン酸	N.D.	60.0	46.8	56.8	N.D.	1.6
ビルビン酸	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
リンゴ酸	22.4	102.8	87.7	103.9	58.4	33.8
コハク酸	29.2	39.0	43.1	38.8	16.6	38.7
乳酸	1172.2	105.4	167.6	149.0	1444.3	446.3
ギ酸	4.8	3.1	4.7	3.0	14.5	3.4
フマル酸	N.D.	12.2	12.7	16.5	3.6	6.0
酢酸	282.9	462.8	394.6	491.8	393.0	398.3
レブリン酸	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
ピログルタミン酸	187.2	170.1	292.7	152.4	88.1	230.5
Total	1698.7	955.4	1069.9	1011.6	2018.5	1156.8

N.D.:not detected.

表14 魚醤油中の無機質 (mg/100ml)

	カタクチイワシ		マアジ		アイゴ	
	非加熱	加熱	非加熱	加熱	非加熱	加熱
Na	4236.0	4483.8	4412.2	4457.1	4514.0	4570.9
K	450.9	479.4	439.5	453.2	468.5	481.2
Ca	46.1	33.4	63.8	32.7	3.3	44.6
Mg	103.9	102.6	91.6	89.5	92.5	103.0
P	321.7	320.8	292.4	267.8	334.0	289.4
Fe	1.6	2.2	1.8	1.4	2.0	1.5
Total	5160.2	5402.2	5301.3	5301.7	5414.3	5490.6

N.D.:not detected.

表15 各画分におけるペプチド構成アミノ酸 (%)

	フラクションNo.			
	No.30	No.31	No.37	No.38
タウリン	0.2	0.3	1.4	1.3
アスパラギン酸	11.8	15.5	9.4	10.3
スレオニン	3.1	3.9	4.2	4.6
セリン	2.4	3.2	3.5	4.4
グルタミン酸	23.8	23.1	17.8	18.6
プロリン	5.7	6.8	4.0	3.8
グリシン	6.3	7.6	5.5	5.9
アラニン	2.5	2.1	8.2	7.9
シスチン	2.5	3.7	0.3	0.3
バリン	5.2	3.9	6.5	6.3
メチオニン	1.2	1.2	2.3	2.7
イソロイシン	4.0	3.1	5.9	5.8
ロイシン	4.2	3.2	8.8	8.6
チロシン	0.4	0.7	0.0	0.0
フェニルアラニン	1.8	2.1	2.1	2.8
ヒスチジン	2.7	3.2	6.2	3.8
リジン	20.7	14.9	8.9	6.8
アルギニン	1.3	1.6	5.2	6.2

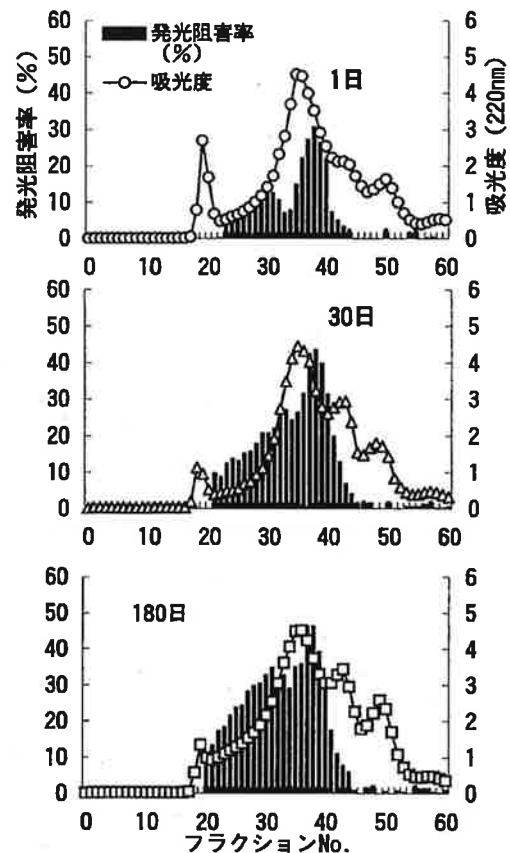


図1 マアジ加熱醤油のゲルろ過パターンと発光阻害率

## 7. 魚介類の高鮮度保持に関する研究

野中 健・橋 勝康\*・増田うづき\*  
石矢 朋子\*・山口 陽・清原 満

### I. $MgCl_2$ による麻酔を用いたアオリイカの活魚輸送に関する研究

近年、多種の魚介類が活魚輸送されており、海産魚ではタイやヒラメなどが活魚輸送の対象とされている。これらの海産魚介類の輸送に関する研究は種々なされているが、イカ類については、その飼育、輸送の取り扱いが困難なことから活魚輸送の対象にはし難く、その研究例も極めて少ない。イカ類を取り扱う場合、他の魚類を取り扱うときと同様の注意に加えて、スミを吐出させないという点に最も注意を払わなければならない。イカ類が活魚水槽中でスミを吐くと、体が弱のみならず、スミがエラに付着して、呼吸困難に起因する致死を招くとされ、その改善が関係業者より望まれている。これらのことから、一般の海産魚類の活魚輸送では、水槽の海水容量の約10~15%の魚を輸送するのが標準とされているが、イカ類では3~5%の量を輸送するのが限度となっている。<sup>1)</sup>ところで、このイカ類の活魚輸送について富山県食品研究所では $Mg^{2+}$ がイカ類に対し鎮静作用を持つ点に着目し、 $MgSO_4$ や $MgCl_2$ を麻酔剤として用いて、その効果を活魚輸送に利用し、イカ類の高鮮度流通の技術開発を行っており、ホタルイカの活魚輸送で生存時間を延長させることができた<sup>2),3)</sup>と報告している。

著者らは平成13年度に、にがりとしてよく食品加工に使われる $MgCl_2$ を用いて、長崎県での漁獲量も多く、都市圏で高級食材として珍重されているアオリイカを対象として、活魚輸送への利用の検討を行い、その可能性を報告した。<sup>4)</sup>しかしながら、 $MgCl_2$ がアオリイカに対し麻酔作用を持つことは確認できたが、活魚の状態での長時間輸送に耐える十分な生残率を維持できなかった。

以上のことから、本研究ではアオリイカを活魚の状態での長時間輸送に耐える十分な生残率を維持できるより詳細な麻酔処理条件について検討を行った。

### 実験方法

**試料** 試料のアオリイカはいずれも長崎近海で漁獲された生きたものを用い、生息水温は15~17°Cであった。

**方法** アオリイカの水温低下に対する影響を確認した上で、 $MgCl_2$ 麻酔処理と低水温で少量の海水を用いた活魚輸送モデル実験で以下のように検討を行った。

1. 水温低下実験 生息水温と同温(15~17°C)の海水5ℓを入れたプラスチック水槽中にアオリイカ1個体を入れ、エアレーションをしながら、漏斗から吐き出される水の回数を吐水回数として経時的に1分間計測した。なお、このプラスチック水槽は温度調節装置の付いた恒温水槽中に設置し、1時間あたり1~5°Cの範囲で水温を低下させた。

2.  $MgCl_2$ 麻酔処理と低水温による活魚輸送モデル実験 平成13年度に報告した至適麻酔濃度における麻酔処理を行い(最初50mMM $MgCl_2$ に10分間麻酔処理)、その後プラスチック水槽中に生息水温と同温(18°C)の5mMM $MgCl_2$ 海水9ℓあるいは3ℓ中にアオリイカ1個体を入れ、エアレーションをしながら水温18°Cから12°Cまで2°C/時間ずつ低下させ、実験開始より24時間生残率の測定を行った。なお、アオリイカを入れたプラスチック水槽中は先の水温低下実験と同じものを用いた。24時間の生残率実験終了後、生残したイカを500ℓ容18°C海水に戻し、回復の程度を観察した。

### 結果

1. 水温低下実験 漁獲時期が異なり生息水温の違うアオリイカを試料とし、1~5°C/時間で水温を低下させた時の吐水回数の結果を図1~3に示した。

生息水温15~16°Cのアオリイカの水温を16°Cから5°C/時間ずつ低下させたところ、吐水回数は実験開始時に平均値レベルで約35回/分であったが、1個体を除いて約12°Cまで直線的に低下し水温12°Cでは平均値レベルで約20回/分となり、9°C以下の温度ではすべて死に至った。(図1)

\*長崎大学水産学部

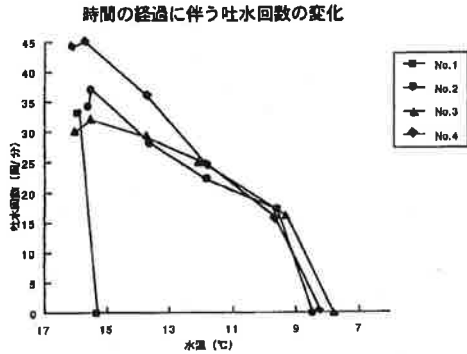
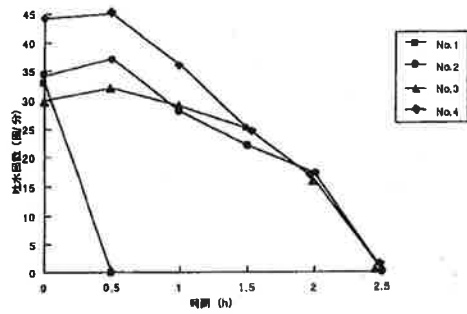


図1 水温の低下に伴う吐水回数の変化

生息水温17°Cのアオリイカの水温を20°Cから2°C/時間ずつ低下させたところ、吐水回数は実験開始時に平均値レベルで約45回/分であったが、約12°Cまではほぼ直線的に低下し水温12°Cでは平均値レベルで約30回/分となり、11°Cで2個体、9°Cで2個体が死に至った。(図2)

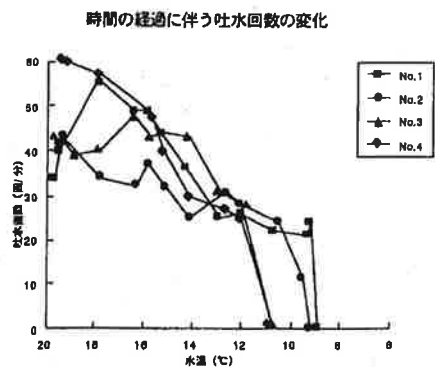
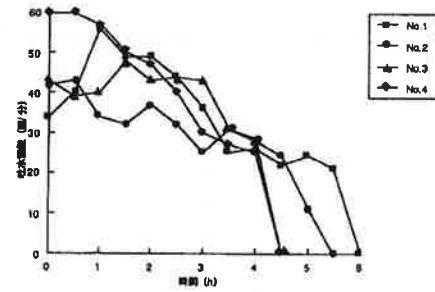


図2 水温の低下に伴う吐水回数の変化

生息水温17°Cのアオリイカの水温を18°Cから1°C/時間ずつ低下させたところ、吐水回数は実験開始時に平均値レベルで約35回/分であったが、約12°Cまではほぼ直線的に低下し、水温12°Cでは平均値レベルで約25回/分となり、11°Cで1個体、10°Cで1個体、7°Cで1個体が死に至った。(図3)

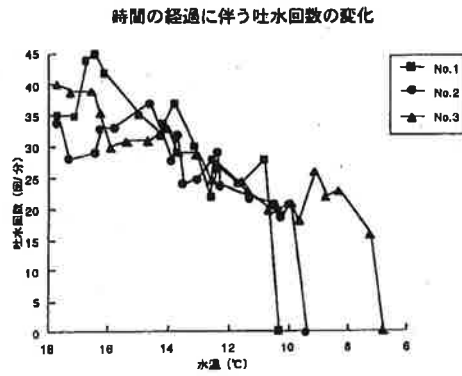
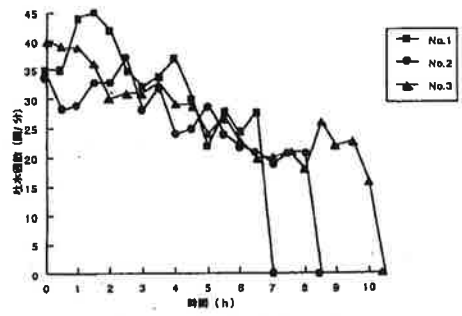


図3 水温の低下に伴う吐水回数の変化

2. MgCl<sub>2</sub>麻酔処理と低水温による活魚輸送モデル実験 棲息水温16°Cのアオリイカを用い、最初50mM MgCl<sub>2</sub>に10分間麻酔処理、その後、5mMMgCl<sub>2</sub>海水9ℓあるいは3ℓ中に入れ、水温18°Cから2°C/時間ずつ低下させ、12°Cで活魚輸送モデル実験を行った。5mMMgCl<sub>2</sub>海水9ℓにおける吐水回数の変化を図4に、海水3ℓにおける吐水回数の変化を図5に示した。

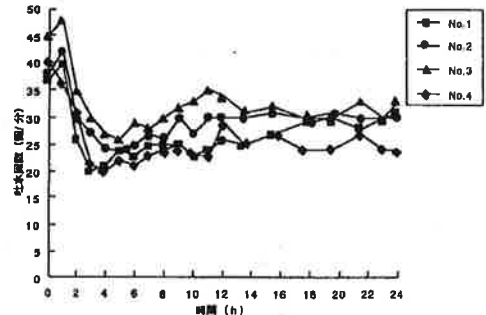


図4 時間の経過に伴う吐水回数の変化 (5mMMgCl<sub>2</sub>海水9ℓ使用海水9ℓ)

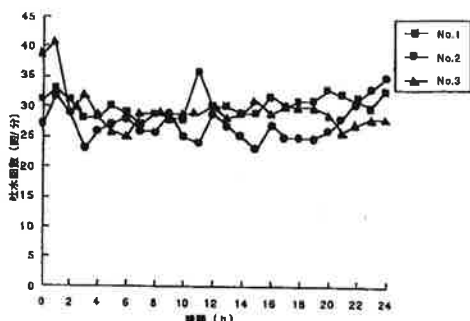


図5 時間の経過に伴う吐水回数の変化  
(5mMMgCl<sub>2</sub>海水3ℓ使用海水9ℓ)

5mMMgCl<sub>2</sub>海水9ℓを使用したところ、実験開始時に吐水回数は平均値レベルで約40回/分で、水温が12℃となった実験開始3時間目では約25回/分となった。その後若干吐水回数は上昇したが、実験終了までほぼ25~30回/分と安定していた。(図4)

5mMMgCl<sub>2</sub> 海水を1個体あたり3ℓと減少させた中に入れ、さきと同様の実験を行った。実験開始時に吐水回数は平均値レベルで約33回/分で、水温が12℃となった実験開始3時間目では約28回/分となった。その後若干吐水回数は実験終了までほぼ25-30回/分と安定していた。(図5)

本モデル実験では1個体あたり9ℓ及び3ℓの海水を用いた両実験で、全ての個体が実験終了まで生残し、本実験終了時に18℃の海水中に戻したところ、元の状態に回復し、翌日まで健全な状態を維持した。(表1)

表1 MgCl<sub>2</sub>麻酔処理と低水温による活魚輸送モデル実験における生残率及び24時間後における生残状態

使用海水量 (ℓ)	使用個体数	実験終了時 生残率(%)	24時間後生 残状態
9	4	100	良
3	3	100	良

活魚輸送モデル実験に用いた使用海水には全て50mM MgCl<sub>2</sub> 海水を用いた。

### 考 察

水温低下実験でアオリイカの吐水回数はほとんどの個体で水温12℃まで直線的に低下し、10℃以下では死に至った。このことから、活魚輸送を念頭に置いた場合、アオリイカの温度 低下に伴う吐水回数からみた生残可能温度は12℃付近であろうと考えられた。また水温低下実験で死に至った水温と実測した水温低下速

度との関係をみると両者の間には有意な関係を見出すことは出来なかった(図6)。このことより、水温低下速度が1~5℃/時間の範囲ではいずれの低下速度であっても12℃の水温まではアオリイカは生残可能であると考察された。

本研究におけるMgCl<sub>2</sub>麻酔処理と低水温による活魚輸送モデル実験で、アオリイカを最初50mMMgCl<sub>2</sub>に10分間麻酔処理を行い、5mMMgCl<sub>2</sub> 海水3ℓと12℃という水温で24時間生残させることが出来た。この点について船津らはMgCl<sub>2</sub>用いてホタルイカの活魚輸送を試み4℃以下で24時間以上十分輸送可能であると報告している。<sup>3)</sup> 一般にホタルイカの生息水温は極めて低いのにに対し、アオリイカは暖海に生息する種であり、極めて水温低下に弱いと考えられる。本活魚輸送モデル実験で100%の生残が可能であったことより、適正濃度のMgCl<sub>2</sub>麻酔処理と低水温を利用することでアオリイカのみならず比較的暖海に生息するイカ類の活魚輸送が可能となると考えられた。今後、本条件を利用し、梱包容器や酸素供給方法の検討を行うことでアオリイカの24時間以上の活魚輸送が可能となると考えられた。

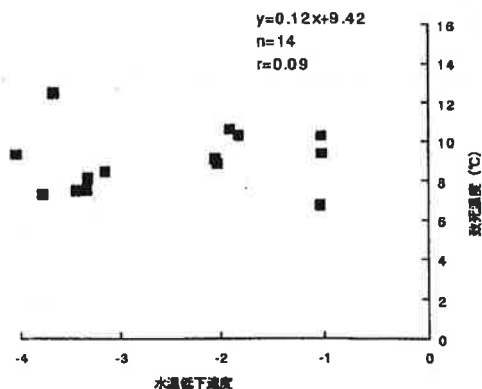


図6 水温低下実験で死に至った水温と実測した水温低下速度との関係

### ま と め

- 1) MgCl<sub>2</sub>麻酔を用いてアオリイカを活魚の状態でも長時間輸送に耐える、より詳細な処理条件について、平成13年度の結果をふまえて検討を行った。
- 2) 経時的に水温低下を行ったところ、アオリイカの吐水回数からみた生存可能水温は約12℃であった。
- 3) アオリイカを50mMMgCl<sub>2</sub>で10分間麻酔処理後、

5mMMgCl<sub>2</sub> 12°C, 海水 3 l の条件で24時間生残可能であった。

文 献

- 1) スルメイカの飼育と活輸送. 「イカーその生物から消費まで」(奈須敬二, 奥谷喬司, 小倉通男編) 成山堂書店, 東京, 1991; 212-229
- 2) 富山県食品研究所. 水産物品質保持技術基礎調査事業報告書.  
<http://www.kitanippon.co.jp/backno/200104/01syakai.html>
- 3) 船津保浩, 川崎賢一, 鍋島裕佳子, 阿部宏喜, 内山 勇, 臼井一茂, 清水俊治: 軟体動物の鎮静作用に関する研究-マグネシウムイオンを用いたホタルイカの活魚輸送, 平成14年度日本水産学会大会講演要旨集, p165 (2002)
- 4) 野中 健他: MgCl<sub>2</sub>による麻酔を用いたアオリイカの活魚輸送の検討. 平成13年度長崎県総合水試事業報告書, 205-209 (2001)

(担当: 野中)

II. マアジの保存温度と致死条件が生鮮鮮度変化に及ぼす影響

魚の流通において, 死後硬直前の魚は活魚として活魚と同等の取り扱いを受け, 高価での取引が行われ, 死後硬直の進行は価格形成に置いて非常に密接に関わっている。よって, 死後硬直を遅延させることで, 高価での取引が期待できる。

本研究では, マアジの死後硬直を遅延させる方法について, 昨年度は冬季のマアジを用いたが, 本年度は夏季のマアジを用い, 保存温度による影響と致死条件による影響の2種に分けて検討を行った。

試料および方法

試料魚 平成14年8月下旬に長崎県五島灘で旋網により漁獲され, 約1週間海上生け簀にて畜養したマアジ(平均体重335.8±56.3g, 平均体長27.3±1.6cm 生息水温25°C)を実験室に運搬し水槽中で1日間休養させて実験に用いた。

試験方法 保存温度は氷蔵, 5, 10, 15, 20°Cの5区分, 致死条件は延髄刺殺, 苦悶死, 海水水, シャーベッ

ト状水, 神経抜きの5区分とした。

各分析方法は昨年度の方法に準じた。<sup>1)</sup>

結 果

1. 保存温度が生鮮鮮度変化に及ぼす影響試験

種々の保存温度における ATP-AMP 三合計値の減少は15°C保存が最も遅かった(図7)。IMP値は20°C保存が保存9時間目にピークに達し, その後急激に減少した。K値は保存48時間目で氷蔵及び5°C保存では10%以下, 10°C保存では約25%, 15°C保存では約40%, 20°C保存では約90%と保存温度が高くなるに

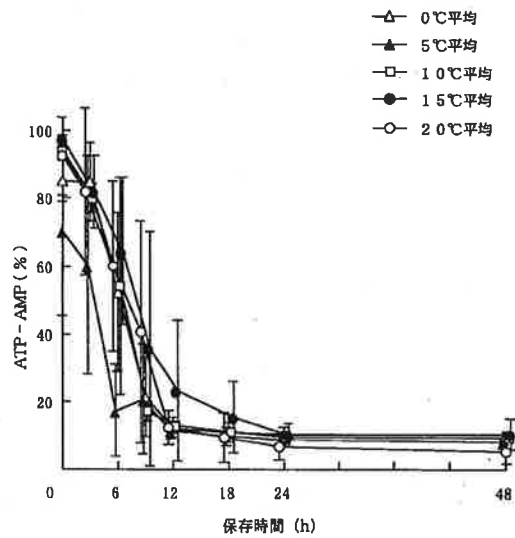


図7 種々の保存温度における ATP-AMP 三合計値の経時変化

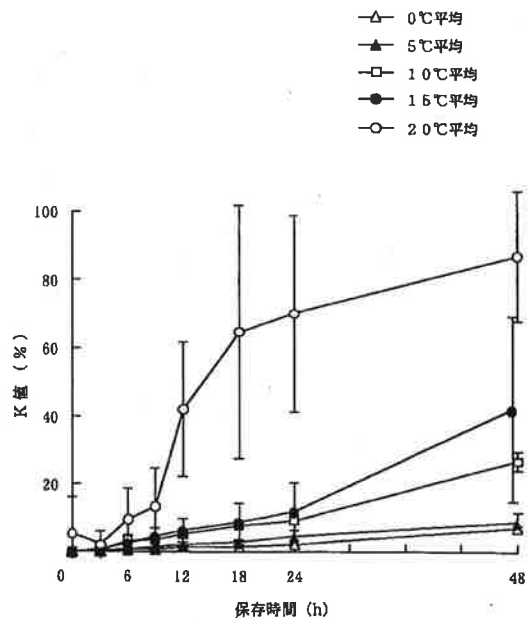


図8 種々の保存温度における K 値の経時変化

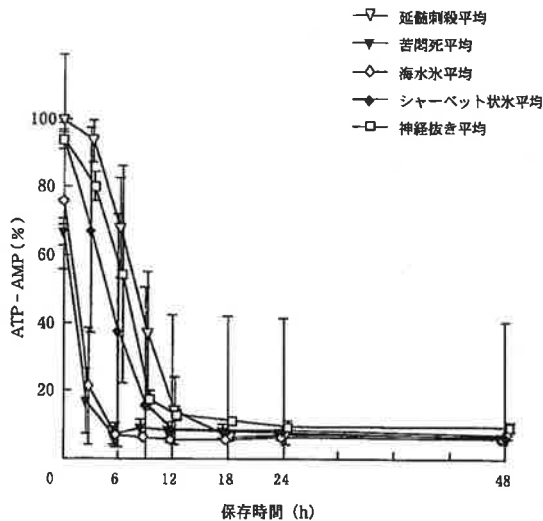


図9 種々の致死条件におけるATP-AMP 三合計値の経時変化

つれ K 値の上昇は速かった (図8)。グリコーゲンは保存48時間目で15、20℃保存ではほとんど消失した。乳酸は氷蔵での上昇が最も速く、0℃保存での上昇が最も遅かった。破断強度は各保存温度で大きな差異はなく、低下の傾向も同様であった。硬直指数は20℃保存が最も速く上昇し、他の保存温度よりもピークレベルが低かった。また、5、10、15℃保存における上昇が遅かった。

## 2. 致死条件が生鮮度変化に及ぼす影響試験

種々の致死条件実験における ATP-AMP 三合計値の減少は、延髄刺殺が最も遅く、苦悶死および海水氷が速かった (図9)。ATP の減少に伴う死後硬直は ATP-AMP 三合計値が20%以下になったときに完全硬直に達するとされており、各致死条件でのそれに達した時間は延髄刺殺が約12時間目以降、苦悶死が約3時間目以降、海水氷が約6時間目以降、シャーベット状氷が約9時間目以降、神経抜きが約9時間目以降で

あった。IMP 値の増加は ATP-AMP 三合計値の減少と逆呼応し、各致死条件でピークに達した後、若干の減少が見られた。K 値は48時間目で延髄刺殺、苦悶死、海水氷、シャーベット状氷が約20%で神経抜きが約25%と若干高い値を示していた。グリコーゲンは致死直後から苦悶死での含量が低く、最も高かった延髄刺殺の約1/3であった。苦悶死、海水氷では48時間目ではほとんど消失したが、延髄刺殺の致死直後の約1/8が残存していた。乳酸は神経抜きでの増加が最も遅く、ピーク時の含量も最も低かった。破断強度は各致死条件で大きな差異はなく、その低下の傾向も同様であった。硬直指数はシャーベット状氷での上昇が速く、延髄刺殺での上昇が遅かった。

以上の結果から、夏季におけるマアジは、即殺した後、15℃での保存を行うことで死後硬直を遅延させることが可能であろうと考えられた。

また、K 値の上昇をも抑えようとするならば、マアジが完全硬直を起こした後、直ちに氷蔵やそれに近い温度での保存が必要であろうと考えられた。

## まとめ

- 1) 夏季におけるマアジは、即殺した後、15℃での保存を行うことで死後硬直を遅延させることが可能であろうと考えられた。
- 2) また、K 値の上昇をも抑えようとするならば、マアジが完全硬直を起こした後、直ちに氷蔵やそれに近い温度での保存が必要であろうと考えられた。

## 文献

- 1) 野中 健他：マアジ保存温度と致死条件が生鮮度変化に及ぼす影響.平成13年度長崎県総合水試事業報告書,201-204 (2001)

(担当 野中)

## 8. キビナゴの日齢と成長の研究

西村 大介・渡邊 良朗\*

五島周辺海域でキビナゴの資源評価を行う上で必要な年齢-成長に関する知見は皆無であった。そこで、本種の人工授精を行い、日齢30まで人工飼育し、耳石輪紋は1日1本形成される日輪であることが明らかにした。耳石の日輪解析により、天然で漁獲される個体の発生日および日齢の査定が可能になったことから、本種の日齢-成長の関係を明らかにするとともに、東京大学海洋研究所が研究を進めている他海域産キビナゴとの比較検討を行い、キビナゴ成長の海域特性を明らかにするため、本共同研究を計画した。

### 方 法

本研究に用いる耳石標本は平成9年度以降魚体測定時に採取したものをを用いることとしているが、本年度は耳石標本が不足していた稚仔魚について、標本を採取することとし、北松地区沿岸のすくい網により漁獲

されたキビナゴ未成魚について、体長を測定するとともに耳石を摘出した。

### 結 果

9月～11月に合計512尾を測定した。体長(尾叉長)は21～65mmの範囲にあり、31～35mmにモードがみられた。測定魚のうち、300尾について耳石を摘出し、日齢査定のための標本とした。

### ま と め

本年度までに、耳石標本はおおむね採取することができた。15～16年度には、これら耳石標本を用いて、光学顕微鏡や電子顕微鏡を使用して稚仔魚、未成魚および成魚の日輪解析を行い、発生日と日齢を査定し、この結果を基に日齢と成長の関係を検討する予定である。

(担当 西村)

\*東京大学海洋研究所



## 9. アワビ浮遊幼生の着底機構および底棲期幼稚体に関する研究

大橋 智志・藤井 明彦・桐山 隆哉  
Khalfan Rashdi\*・北村 等\*

### クロアワビの着底機構に関する研究

クロアワビの着底機構については解明されていない部分が多い。そこで、クロアワビの着底にかかるメカニズムについて検討することを目的として実験を行った。今年度は、幼生の卵黄物質の分布と恒温条件下での浮遊期間との関係を検討した。

### 方 法

**試料** 試料として2002年2月12日採卵したクロアワビ受精卵からふ化した浮遊幼生を使用した。浮遊幼生は17.5°C~18.5°Cに調整した1tパンライト水槽に直径120cm高さ80cmの円柱状ネット（オープニング100 $\mu$ m）を垂下して飼育し、その中にあらかじめ微小藻類を繁殖させたポリカーボネイト板（面積75cm<sup>2</sup>）2枚を垂下し、浮遊幼生の着底を誘起した。採集は浮遊幼生が確認できなくなるまで毎日行い、採集した幼生はパラホルムアルデヒド2%-グルタルアルデヒド2.5%液（Ph7.3カコジル酸緩衝）で固定した後、カコジル酸緩衝液（ph7.3 サッカロース20%）内に保存した。

保存試料は面盤細胞の脱落によって着底を確認し、一部試料を1%オスミウム液（Ph7.3カコジル酸緩衝）で後固定を施した後、spurr 処方によるエポキシ樹脂に包埋し厚さ0.5 $\mu$ mの薄切切片を作成し光学顕微鏡での観察に供した。

### 結 果

**浮遊期間** 幼生の着底数推移を図1に示す。幼生の着

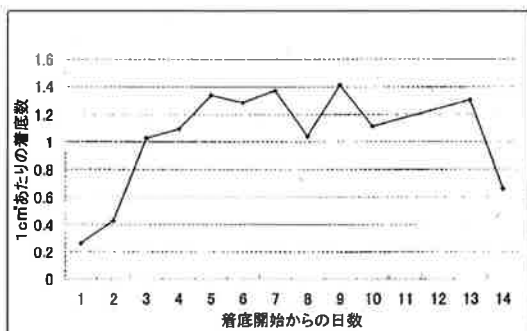


図1 クロアワビ浮遊期幼生の着底開始からの累積着底数の推移

底はふ化後7日目から始まり、14日目まで続いた。このことから水温17.5~18°Cの条件下では、クロアワビ幼生は14日間に渡って浮遊することが判った。

**卵黄物質の分布** 組織学的観察結果から、体組織後部に位置する卵黄囊<sup>1)</sup>内の卵黄物質以外に、体細胞内に点在する小顆粒状の物質を確認した（図2）。これは、クマサルボウ浮遊幼生において確認された卵黄物質<sup>2)</sup>に酷似しており、卵黄物質の1つと考えられた。この小顆粒は筋組織細胞内に点在するほか、面盤細胞内に独立して多量に蓄積されており、面盤細胞による遊泳活動の栄養として利用されている可能性が示唆された。このことは浮遊幼生の遊泳活動が着底後に利用する卵黄栄養とは別の栄養によって維持されていることを示唆するものである。

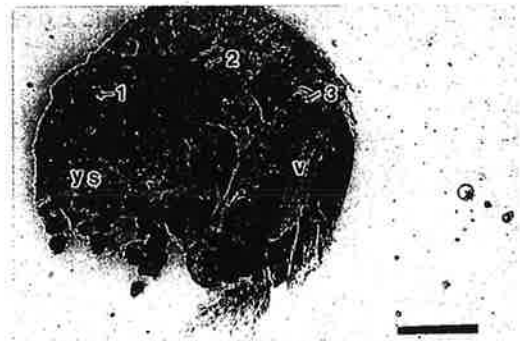


図2 クロアワビ浮遊期幼生の卵黄物質 トルイジンブルー染色 0.5 $\mu$ m  
矢印1, 体組織後部卵黄囊内の卵黄物質  
矢印2, 筋組織内に点在する小顆粒状の卵黄物質  
矢印3, 面盤細胞内に蓄積された小顆粒上の卵黄物質  
v; 面盤 y.s 卵黄囊 スケールバーは100 $\mu$ m

### ま と め

- 1) クロアワビ浮遊期幼生の浮遊期間について検討した。
- 2) 得られた試料の組織学的検討を行った結果、新たな卵黄物質として小顆粒状の卵黄物質を確認した。この卵黄物質は筋組織細胞内に点在するほか、面盤細胞内に独立して多量に蓄積されており、遊泳活動のみに利用されている可能性が示唆された。

（担当 大橋）

\*長崎大学水産学部

## 文 献

- 1) 大橋智志：クロアワビ底生期幼稚体における卵黄の吸収.長崎県水試研報, 19,23-25,1993
- 2)大橋智志・吉越一馬：クマサルボウ浮遊幼生の成長に伴う体組織構造の組織学的検討.2003年度日本水産学会口頭発表, 2003

## 10. 環境負荷低減飼料開発に関する研究

宮崎 隆徳・佐藤秀一\*<sup>1</sup>・塚原淳一郎

海面養殖から環境への汚染負荷を軽減していくためには主要な汚染原因物質である窒素とリンの排泄量をできるだけ軽減していくことが必要である。

窒素については飼料に含まれるエネルギー含量を増やすことによりタンパク質を節減することで削減可能であるが、それも限界に近づきつつある。一方リンについては削減する余地がまだ十分あると考えられる。

そこでまず基礎的試験として海産養殖魚用飼料に用いる飼料原料中のリンの消化吸収率（以下、リン吸収率とする）および有効リン含量を調べる必要がある。このため今年度はブリ当歳魚についてリンの吸収率および有効リン含量を東京水産大学と共同で測定した。

### 方 法

供試魚総合水産試験場で種苗生産した早期採卵ブリ当歳魚を市販の配合飼料（ソフトドライペレット：SDP）で海面飼育し、魚体重250～397gのものを容量1tの自然採糞装置に25～30尾収容し、試験飼料で3日間予備飼育してから用いた。採糞装置への注水量は13.4～20.5L/分とした。

試験飼料 現在、養魚用飼料の主な原料となっているチリ産アジミールあるいはペルー産アンチョビミール、リンの少ない魚粉代替タンパク源として期待される大豆油粕およびコーングルテンミールならびに多くの市販飼料で用いられる小麦粉についてリン吸収率等を測定するため表1および2に示すように試験飼料1～5をエクストルーダーで作製した。試験飼料中のリン含量等については表3のとおりである。大豆油粕、コーングルテンミールおよび小麦粉由来のリン含量は魚粉由来のものに比べ低かった。

給 餌 給餌は1日2回（午前、午後）とし、ほぼ飽食量を与えた。

採 糞 午後の給餌30分後より翌朝まで採糞を行った。その操作を分析に必要な量を採集できるまで3～4日継続した。採集した糞は遠心分離機で海水を取り

除いた後凍結乾燥した。

### 結 果

試験期間中の水温は26.0～26.9℃であった。

ブリにおける主要飼料原料に含まれるリン吸収率と有効リン含量の測定結果を表4に示した。なお、大豆油粕、コーングルテンミール、小麦粉のリン吸収率は次式から求めた。

$(\text{試験飼料のリン吸収率} - \text{基本飼料1のリン吸収率} \times 0.7) / 0.3$

アジミールに含まれるリン吸収率は25%と低く、アンチョビミールではそれより高い40%であった。また、大豆油粕および小麦粉では100%であったが、コーングルテンミールでは30%と低かった。有効リン含量はアジミールで0.66%、アンチョビミール1.07%、大豆油粕0.61%、コーングルテンミール0.13%、小麦粉0.59%であった。

### ま と め

- 1) 主要な汚染原因物質であるリンの排泄量軽減のため、ブリ当歳魚について養魚用飼料の主な原料となっているアジミール、アンチョビミール、大豆油粕、コーングルテンミール、小麦粉についてリンの消化吸収率および有効リン含量を測定した。
- 2) リン吸収率はアジミールで25%、アンチョビミールで40%、大豆油粕および小麦粉で100%、コーングルテンミールで30%であった。有効リン含量はアジミールで0.66%、アンチョビミール1.07%、大豆油粕0.61%、コーングルテンミール0.13%、小麦粉0.59%であった。
- 2) 大豆油粕および小麦粉のリン吸収率が高かったため、さらに詳細に検討する必要がある。また、今後、ブリ1歳魚について各飼料原料中のリン吸収率および有効リン含量を測定するとともに、有効リン含量を参考に試験飼料を作製し、環境負荷低減飼料の開発をさらに検討する必要がある。（担当：宮崎）

\*<sup>1</sup>東京水産大学資源育成学科

表1 基本飼料の配合組成

(%)

原(材)料名	基本飼料1	基本飼料2
アジミール	64.4	
アンチヨビミール		64.4
その他(リンを含まない)	35.6	35.6
合計	100	100

○その他については基本飼料1. 2とも同じ組成

○消化率測定用内部標準物質として酸化クロムを含む

表2 試験飼料の配合内容

(%)

原(材)料名	試験飼料1	試験飼料2	試験飼料3	試験飼料4	試験飼料5
基本飼料1	100		70	70	70
基本飼料2		100			
大豆油粕			30		
コーングルテンミール				30	
小麦粉					30

○大豆油粕, コーングルテンミール, 小麦粉の配合割合はブリの摂餌性を考慮して設定した

表3 試験飼料のリン含量等

(測定対象原料名)	試験飼料1 (アジミール)	試験飼料2 (アンチヨビ ミール)	試験飼料3 (大豆油粕)	試験飼料4 (コーングルテ ンミール)	試験飼料5 (小麦粉)
飼料中のリン(mg/g)	17.6	15.4	13.8	14.1	14.5
測定対象原料中のリン(mg/g)	17.6	15.4	1.50	1.80	2.20
酸化クロム(%)	0.50	0.51	0.34	0.35	0.34

表4 飼料原料中のリンの消化吸収率と有効リン含量

(%)

	アジミール	アンチヨビ ミール	大豆油粕	コーングルテ ンミール	小麦粉
原料中のリン含量	2.60	2.67	0.61	0.41	0.81
消化吸収率	25.2	40.1	100	32.2	100
有効リン含量	0.66	1.07	0.61	0.13	0.59

# 11. 未利用魚の筋原繊維蛋白質を利用した機能性高分子ゲルの開発と応用 — アワビ用餌料の基質スクリーニング —

大迫 一史・野崎 征宣\*・古川 睦久\*

本研究課題においては、最終的に、開発されたハイブリッドゲルから成るマイクロカプセルを海藻シート(基質)に埋め込み、これをアワビ種苗生産に生かすことを目的としているが、本小課題においては、基質に用いる海藻種を決定することを目的とした。

## 実験方法

### 1. 海藻

ワカメ、コンブ、ヒジキ、アカモクおよびアナオサを用いた。ワカメおよびコンブは、2002年に長崎県島原半島で延縄養殖により生産し、それを塩蔵加工(生原料をボイルしたのち、食塩をまぶすもの)したのち-25℃で冷凍保存したもの、ヒジキは、長崎県対馬で漁獲し、これを天日乾燥後、蒸煮し、熱風乾燥を行なったもの、アカモクは長崎県島原半島で漁獲し、これを-25℃で冷凍保存したもの、アナオサは長崎県大村湾で漁獲し、それを塩蔵加工(生原料をボイルしたのち、食塩をまぶすもの)したのち-25℃で冷凍保存したものをを用いた。

### 2. アワビ餌料(基質)の調製

ヒジキを除く、上記4種の実を半日流水中に晒し、脱塩のち温風乾燥し、これを粉碎機(メッシュ1mm)で粉末化した。次にこれを、海藻粉末:アルギン酸ナトリウム:水=4:1:15の割合で、脱気攪拌機を用いて混合した。混合物は薄板状に引き延ばし(厚さ1mm)、5%塩化カルシウム水溶液中に3時間浸漬して凝固させ、塩化ビニル袋に入れ密閉し、保存性を高める目的で80℃の恒温水槽で30分間加熱し、5℃で保存し、順次投餌した。コントロールは水分含量が海藻餌料と同

じになるように、アルギン酸ナトリウム:水=1:3の割合で混合し、海藻餌料と同様の処理を行なった。

### 3. 飼育

平成14年11月19日から12月19日までの1ヶ月間飼育を行なった。飼育は直径10cmの塩化ビニル製筒の下部に1辺が0.5mm程度のメッシュの網を張り、上部からは4-5箇所から50cc/分程度の速度で濾過海水を滴下して行なった。塩化ビニル筒1個に対して40個体のアワビを飼育した。餌料は、上記方法で調製したシート状のものを、0.25g/個体与え、翌日残餌を除去し、新たに投餌した。飼育水温は20℃でほぼ一定であった。

### 4. 一般成分の分析

水分は、試料10gを精秤後、105℃で恒量にして求めた。試料を600℃で灰化後恒量にして粗灰分とした。粗タンパク質含量はKjeldahl法で全窒素量を求めたのち6.25を乗じて求めた。粗脂肪含量はFolchらの方法で求めた。

### 5. 脂肪酸組成の測定

上記の方法で抽出した粗脂肪30mgを精秤後、3~5滴の塩酸を滴下した30mlのメタノール中で3時間煮沸した。冷却後、ヘキサン(和光特級)を加えて分液漏斗中で激しく振り混ぜた後ヘキサン層のみを得た。これをシリカゲル(Merk & CoLtd 製 Kieselgel60,70-230 mesh)で精製後、得られたメチルエステルをガスクロマトグラフ質量分析計(島津製作所製 GC17A-MSQP 5000型、カラムはSUPELLOWAX-10)で分析した。分析条件は、インジェクターとディテクターの温度はともに250℃、カラムは、初期温度200℃で14分間保持

表1 海藻粉末の一般成分(%)

	アカモク 固形物換算	アナオサ 固形物換算	ヒジキ 固形物換算	ワカメ 固形物換算	コンブ 固形物換算
水分	15.4 ( - )	10.0 ( - )	9.5 ( - )	12.6 ( - )	11.1 ( - )
粗脂肪	1.1 ( 1.3 )	1.1 ( 1.2 )	0.7 ( 0.8 )	3.3 ( 3.8 )	1.7 ( 2.0 )
粗タンパク質	9.1 ( 10.7 )	24.1 ( 26.8 )	14.4 ( 15.9 )	18.6 ( 21.3 )	13.3 ( 15.0 )
粗灰分	16.6 ( 19.7 )	13.5 ( 15.0 )	16.6 ( 18.4 )	17.6 ( 20.1 )	17.3 ( 19.5 )
炭水化物	57.8 ( 68.3 )	51.2 ( 56.9 )	58.8 ( 65.0 )	47.9 ( 54.8 )	56.6 ( 63.6 )

\*長崎大学

したのち3°C/minで250°Cまで昇温した。スプリット比は25:1であった。

#### 6. タンパク質構成アミノ酸の測定

試料20mgを精秤後、6NHClを1ml加えて110°Cで22時間加水分解した。この一部をクエン酸ナトリウム緩衝液(pH2.2)で10倍に希釈してアミノ酸自動分析計(島津製作所製 ALC-1000型, カラムはNa型)を用いて遊離アミノ酸を測定した。

#### 7. 物性の測定

調製したアワビ餌料は、レオメーター(不動工業製 NRM-2003J型)を用いて破断試験を行なった。すなわち、厚さ0.5mm, 幅10mmに切り出した試料を、安全剃刀刃を装着したプランジャー、試料台上昇速度6cm/minで測定し、破断したときの荷重を破断応力(g)とした。6回測定分の平均値を結果に示した。

#### 8. アルギン酸ナトリウムゾルの凝固速度の測定

直径27mm, 長さ100mmのアルギン酸ナトリウムゾルを、5%塩化カルシウム水溶液に浸漬し、経時的に輪切りにして凝固距離を測定した。また、このとき、アルギン酸ナトリウムゾル中のアルギン酸ナトリウム濃度は、2.5, 5.0, 7.5および10.0%の4種類のものを調製した。

### 結 果

#### 海藻粉末の栄養成分

表1に、基質に用いた海藻粉末の一般成分、表2および3に脂肪酸組成、表4および5にタンパク質構成アミノ酸組成を示した。表1の結果から、稚貝の成長に最も必要であると想定される粗タンパク質含量は、固形物換算で、アナアオサが最も多く、次いでワカメであることが明らかになった。さらに、粗脂肪含量についてはワカメが最も多く、次いでコンブであった。炭水化物含量はアカモクに最も多く含まれていた。以上の結果から、海藻5種のあいだでは、粗脂肪は、ワカメ>コンブ>アカモク=アナアオサ>ヒジキ、粗タンパク質は、アナアオサ>>ワカメ>ヒジキ>コンブ>アカモク、炭水化物では、ヒジキ>アカモク>コンブ>アナアオサ>ワカメの順であった。

表2に、海藻粉末の脂肪酸組成、表3に、海藻粉末中に含まれる脂肪酸の絶対量を示した。飽和酸ではい

表2 海藻粉末の脂肪酸組成(%)

Fatty acid	アカモク	アナアオサ	ヒジキ	ワカメ	コンブ
飽和酸	36.6	27.6	31.1	17.7	23.0
C14:0	5.1	1.0	3.5	1.8	4.8
C16:0	30.3	26.0	27.6	15.4	17.8
C18:0	1.2	0.6	ND	0.5	0.4
モノエン酸	21.4	13.1	13.9	4.6	16.9
C16:1 n-7	6.3	2.3	5.2	0.2	3.9
C18:1 n-9	6.6	1.3	5.3	4.4	13.1
C18:1 n-7	3.6	9.3	1.5	ND	ND
C20:1 n-9	2.1	0.1	ND	ND	ND
C22:1 n-11	0.8	ND	1.9	ND	ND
C22:1 n-9	ND	ND	ND	ND	ND
C24:1 n-9	ND	ND	ND	ND	ND
ジエン酸	3.7	3.6	3.7	4.9	5.4
C18:2 n-6	3.7	3.6	3.7	4.9	5.4
ポリエン酸	6.1	16.2	11.9	30.4	21.1
C18:4 n-3	1.2	14.6	4.4	21.3	11.2
C20:5 n-3	4.6	0.7	7.5	8.1	8.9
C22:5 n-3	ND	ND	ND	ND	ND
C22:6 n-3	0.3	0.9	ND	ND	ND
Unknown	32.2	39.5	39.4	42.4	33.5

表3 海藻粉末の脂肪酸組成(%)

Fatty acid	アカモク	アナアオサ	ヒジキ	ワカメ	コンブ
飽和酸	387.9	308.4	215.2	589.1	400.6
C14:0	53.7	11.5	24.3	60.5	83.8
C16:0	321.4	280.3	180.9	512.8	309.2
C18:0	12.6	6.6	ND	16.0	7.5
モノエン酸	227.0	145.0	99.0	152.0	295.0
C16:1 n-7	87.4	28.1	35.7	5.5	67.5
C18:1 n-9	70.1	15.0	36.8	148.5	227.4
C18:1 n-7	38.3	104.0	10.3	ND	ND
C20:1 n-9	22.6	0.9	ND	ND	ND
C22:1 n-11	8.4	ND	13.2	ND	ND
C22:1 n-9	ND	ND	ND	ND	ND
C24:1 n-9	ND	ND	ND	ND	ND
ジエン酸	38.8	40.6	25.6	161.3	94.4
C18:2 n-6	38.8	40.6	25.6	161.3	94.4
ポリエン酸	64.1	180.7	82.2	1010.7	368.4
C18:4 n-3	12.3	163.1	30.4	707.8	195.2
C20:5 n-3	49.1	7.4	51.8	302.9	173.1
C22:5 n-3	ND	ND	ND	ND	ND
C22:6 n-3	2.7	10.2	ND	ND	ND
Unknown	717.7	675.7	418.9	1913.1	1158.4

ずれの海藻粉末もC16:0を最も多く含み、モノエン酸には優勢な脂肪酸は見あたらなかった。ポリエン酸は、どの海藻もC22:5n-3(DPA)を含まなかった。海産魚類の必須脂肪酸として明らかにされているC20:5n-3(EPA)はいずれの海藻粉末にも認められたが、組成比および絶対量ともにワカメおよびコンブが多く含んだ。C22:6n-3もEPAと同じく必須脂肪酸として重要視されているが、これらはヒジキ、ワカメおよびコンブには認められなかった。

表4に、海藻粉末のタンパク質構成アミノ酸の組成比、表5に海藻粉末中の絶対量を示した。海藻の種類による組成比に大きな違いは認められなかったことから、これら海藻粉末の制限アミノ酸およびタンパク

表4 海藻粉末中のタンパク質構成アミノ酸(%)

	アカモク	アナアオサ	ヒジキ	ワカメ	コンブ
Thr	0.3	0.1	0.9	0.0	0.1
Asp	12.5	12.0	11.3	10.7	11.8
Thr	6.2	5.8	5.8	5.5	6.0
Ser	5.7	5.7	5.2	5.2	5.8
Glu	14.2	11.7	16.7	13.2	13.2
Pro	4.5	4.5	4.7	4.6	4.9
Gly	6.3	6.8	6.3	6.3	6.5
Ala	6.6	9.3	7.3	8.3	6.1
Cys	0.3	0.8	0.2	0.1	0.1
Val	6.2	6.3	6.0	6.2	6.1
Met	2.3	1.8	2.5	1.9	2.4
Ile	4.7	4.2	4.6	5.0	4.7
Leu	7.9	7.9	8.7	9.5	9.1
Tyr	3.4	3.4	3.6	3.5	3.2
Pha	6.5	5.7	6.3	5.8	5.8
His	2.1	2.5	1.9	2.4	2.2
Lys	5.5	5.3	4.4	8.3	5.9
Arg	4.8	6.1	5.4	5.4	4.7
Total	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0

表5 海藻粉末中のタンパク質構成アミノ酸 (%)

	アカモク	アナアオサ	ヒジキ	ワカメ	コンブ
Tau	20.4	18.4	0.0	0.0	7.7
Asp	899.7	2318.7	1200.0	2011.4	1167.6
Thr	442.1	1127.8	593.5	1034.3	608.9
Ser	405.9	1101.8	558.0	982.3	585.4
Glu	1015.4	2271.2	1670.1	2481.7	1329.8
Pro	323.6	888.2	502.5	897.4	493.7
Gly	448.9	1319.3	673.1	1174.9	652.0
Ala	472.8	1793.1	773.1	1558.6	816.1
Cys	21.0	180.9	17.8	22.1	12.1
Val	441.3	1215.0	642.6	1158.1	617.9
Met	162.1	380.1	262.0	363.8	244.1
Ile	336.9	817.1	513.6	940.6	489.3
Leu	585.9	1531.1	930.0	1773.7	913.8
Tyr	245.8	667.5	378.7	660.7	326.3
Phe	484.1	1097.1	667.4	1043.0	581.0
His	147.4	492.4	202.2	455.2	218.0
Lys	392.9	1024.8	468.5	1188.2	595.9
Arg	342.9	1172.5	576.5	1018.8	475.1
Total	7137.1	19354.9	10829.6	18754.8	10092.0

コアに差は無いものと考えられた。

アルギン酸ナトリウムゾルの凝固速度の検討

図1に、アルギン酸ナトリウムゾルの凝固速度の測定結果を示した。いずれのアルギン酸ナトリウム濃度においても浸漬時間に対する凝固距離は相関関係にあり、それは直線で示された。また、アルギン酸ナトリウム濃度が高いほど、回帰直線の傾きは大きく、塩化カルシウム溶液の浸透および凝固が速いことが示唆された。また、厚さ5mm以下の基質であれば、24時間浸漬すれば十分凝固することが明らかになった。

基質物性の変化

表6に、海水浸漬前後の基質物性の変化を示した。コントロールについては24h経過後の方がむしろ物性が高かったが、他の基質は物性が大きく低下した。表6にゲル崩壊率を示したが、ヒジキの崩壊率が最も高く、アナオサのそれが最も小さかった。

アワビの殻長、重量の変化、成長率および増重率の変化

表7に実験開始前後のアワビの殻長、重量の変化、

表6 アワビ飼料の物性の変化

	コントロール	アカモク	アナアオサ	ヒジキ	ワカメ	コンブ
海水浸漬前の破断応力(g)	378.4 ± 24.4	177.7 ± 21.5	259.3 ± 14.2	275.1 ± 10.3	369.9 ± 4.3	339.8 ± 6.9
海水24h浸漬後の破断応力(g)	861.7 ± 148.4	95.6 ± 19.4	244.2 ± 34.7	34.6 ± 5.2	431.7 ± 28.0	259.6 ± 21.0
ゲル崩壊率 (%) <sup>1</sup>	-128.9	46.2	5.8	87.4	-16.7	23.6
膨潤率(% W/W)	132.2	126.4	134.7	152.9	187.2	167.0

<sup>1</sup>ゲル崩壊率=100-海水24h浸漬後の破断応力(g)/海水浸漬前の破断応力(g)

表7 実験開始前後のアワビの殻長、重量の変化、成長率、増重量および日間給餌率

	実験開始		実験終了		成長率(%)	増重率(%)	日間給餌率(g/day)
	殻長(cm)	重量(g)	殻長(cm)	重量(g)			
コントロール	22.3 ± 2.7	1.8 ± 0.7	22.5 ± 3.0	1.8 ± 1.1	0.8	-3.8	1.0
アカモク	22.0 ± 2.5	1.7 ± 0.6	22.0 ± 3.0	1.6 ± 0.6	0.3	-3.6	7.1
アナアオサ	21.2 ± 2.6	1.6 ± 0.5	22.3 ± 2.7	1.7 ± 0.5	5.3	6.7	0.9
ヒジキ	22.0 ± 2.8	1.8 ± 0.8	22.3 ± 2.7	1.7 ± 0.5	1.6	-0.6	5.7
ワカメ	21.9 ± 2.8	1.7 ± 0.7	22.9 ± 3.0	1.8 ± 0.7	4.8	6.4	0.7
コンブ	22.2 ± 2.8	1.8 ± 0.7	23.1 ± 3.2	2.0 ± 0.7	4.1	11.5	4.3

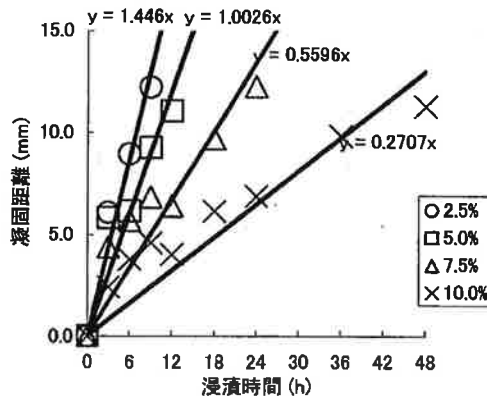


図1 アルギン酸ナトリウムゾルの凝固速度

成長率、増重率および日間給餌率を示した。殻の成長率は、アナアオサ>ワカメ>コンブ>ヒジキ>コントロール>アカモクの順であった。また、増重率においてはコンブ>アナアオサ≒ワカメ>ヒジキ>コントロール≒アカモク順であり、基質に用いる海藻粉末としてはアナアオサ、ワカメおよびコンブが優れていることが明らかになった。

また、飼育時の斃死個体数は、コントロール1個体、アカモク0個体、アナアオサ1個体、ヒジキ1個体、ワカメ2個体、コンブ3個体であり、餌料種の違いによる大きな差は見られなかった。

アワビの一般成分

表8にアワビの一般成分を示した。餌料の違いによる、一般成分の組成比に大きな違いは見られなかった。ワカメおよびコンブ飼育のものに若干粗脂肪含量が高い傾向が見られたが、これは餌料の粗脂肪含量が高いことに起因していると思われる。

表8 アワビの一般成分 (%)

	コントロール	アカモク飼育	アナアオサ飼育	ヒジキ飼育	ワカメ飼育	コンブ飼育
水分	79.4	81.0	78.8	79.0	78.9	80.0
粗脂肪	1.3	1.1	1.2	1.3	1.6	1.4
粗タンパク質	13.4	13.0	14.0	14.0	13.9	12.6
粗灰分	3.3	2.9	2.8	3.0	2.9	2.8
炭水化物	2.7	2.0	3.1	2.7	2.7	3.2

ま と め

- アナアオサ, コンブおよびワカメが, 基質に用いられる海藻として適当であることが明らかになった。
- ワカメが脂肪酸の供給源としては最も優れているように思われたが, 脂肪は加工工程により酸化・加水分解の影響を受けることが想定され, 加工工程中の

脂質性状の把握および, 過酸化物がアワビ稚貝の成長に与える影響の把握が必要であると思われた。

- 厚さ 5 mm以下の基質の凝固液 (5%塩化カルシウム) の浸漬時間は24時間であれば十分であることが明らかになった。