養殖マダイの生理学的研究—II

酸化油投与が血液、肝すい臓成分などに与える影響

坂口 宏海・浜口 章

(1978 年 11 月 20 日受理)

Physiological Studies on Cultured Red Sea Bream—II

Effect of Oxidized Oil on the Chemical Constituents
in Plasma, Hepatopancreas and MuscleHiromi SAKAGUCHI*¹ and Akira HAMAGUCHI*²

Red sea bream, *Chrysophrys major*, were kept for 17 weeks on diets containing 9% of one of fresh (O₁, POV 5) or oxidized pollack residual oils (O₂, POV 550 and O₃, POV 1,550) with or without vitamin B₂ and/or E.

Fat content of the muscle decreased and moisture increased by the administration of oxidized oil. The administration of O₂ oil decreased fat in the hepatopancreas markedly, whereas that of O₃ oil kept it on almost the same level as in fish fed the fresh oil.

Triglyceride and total cholesterol levels in the plasma decreased in fish fed the oxidized oils, which was enhanced in groups receiving O₃ oil or a diet devoid of both vitamin B₂ and E. Plasma protein concentrations decreased in the groups fed the oxidized oils and vitamin deficient diets, but A/G ratios and plasma glucose levels were not affected by the oxidized oils. The activity of plasma glutamic-oxalacetic transaminase increased in groups fed the oxidized oils.

養殖魚に対する酸化油の害作用については、橋本および渡辺ら¹⁻⁴⁾によるコイに関する詳細な研究のほか、ニジマス^{5,6)}、ハマチ^{7,8)}などについても報告されている。

最近、養殖中のマダイに肝すい臓の緑色化現象（緑肝症）や蓄積脂肪の黄色化（黄脂症）などの症状が観察されており、それらの原因として餌料中の油脂の酸化が考えられているが、まだ詳細は不明である。

著者らはマダイに対する酸化油の影響を知るため、酸化油を含む合成飼料で平均体重 55 g 前後のマダイ当才魚を 17 週間飼育したところ、飼料添加油の酸化の度合により、血漿、肝すい臓中の脂質含量などに差異がみられたので、それらの結果について報告する。

実験方法

供試魚および飼育法 供試マダイ、*Chrysophrys major* は 1975 年 6 月に明石市二見沖で捕獲後約 5 か月間アミエビおよび市販のマダイ用配合飼料で飼育した平均体重 52~59 g のものである。試験区は Table 1 に示した 10 区とした。ビタミン混合物および添加油を除いた基本飼料 (B.D) は米ら⁹⁾によつて開発されたマダ

Table 1. Test diets

Group No.		Oil* ³
1	B.D.* ¹	O ₁
2	"	O ₂
3	" (-V.E)* ²	O ₁
4	" (-V.E)	O ₂
5	" (-V.B ₂)	O ₁
6	" (-V.B ₂)	O ₂
7	" (-V.B ₂ and V.E)	O ₁
8	" (-V.B ₂ and V.E)	O ₂
9	" (-V.E)	O ₃
10	" (-V.B ₂ and V.E)	O ₃

*¹ Basal diet (B.D.)⁹⁾: casein (vitamin free) 52, gelatin 11, amino acid mixture 7, dextrin 8, vitamin mixture 3, mineral mixture 8, cellulose powder 2, and pollack residual oil (O₁, O₂ or O₃) 9 g.

*² Vitamin B₂ (V.B₂) and/or E (V.E) are replaced by the same amount of cellulose powder.

*³ POV: O₁, 5; O₂, 550; O₃, 1,550.

イ用試験飼料 YR-1 を用いた。添加油は 1, 3, 5 および 7 区には新鮮なスケソウダラ肝油分子蒸留残油（正常油, POV 5）を、他区には常温で空気吹き込みにより酸

*¹ 長崎大学水産学部 (Faculty of Fisheries, Nagasaki University Nagasaki 852).

*² 兵庫県立水産試験場 (Fisheries Experimental Station of Hyogo Prefecture, Akashi, Hyogo 673).

化させた油を使用した。その POV は 2, 4, 6 および 8 区では 550, 9 および 10 区では 1,550 であった。ビタミン混合物は 1 および 2 区には米らりの処法と同じものを使つたが, 3, 4 および 9 区には上記の混合物中のビタミン E (V.E) を同量のセルロースで置換したものを使用した。同様に 5 および 6 区にはビタミン B₂ (V.B₂) を, また 7, 8 および 10 区には両ビタミンをセルロースで置換したものをを用いた。

供試魚数は各区とも 12 尾とし, 1×1×0.6 m (水量 0.5 トン) の塩水水槽中で砂ろ過海水を通気しながら毎時 200~300 l 注水した。給餌は 1 日 3 回とし, 各回とも飽食させた。飼育期間は 1975 年 11 月 17 日から 1976 年 3 月 14 日までの 17 週間とし, この間 2~3 週間ごとに魚体測定を行なつた。11 週後および終了時には各区 5~7 尾の魚から前報¹⁰⁾と同様の方法で血漿, 肝すい臓および筋肉を採取し, 同時に各区 3 尾の魚の鰓, 腸, 肝すい臓, 腎臓および筋肉の一部を 10% ホルマリン, ブランまたはロスマン試薬で固定し, 組織像の観察に供した。なお分析試料の採取に当たつては, 消化管内の飼料の影響をさけるため前日は無給餌とした。また全区の試料採取には約 10 時間を要するため, 各区の採取順位は無作為に決めた。その結果, 第 1 回 (11 週後) の試料は 1, 3, 7, 2, 10, 4, 6, 5, 9 および 8 区の順で, 終了時には 3, 6, 5, 8, 2, 10, 1, 4, 9 および 7 区の順とした。飼育期間中の水温は開始時に約 18°C であったが, 約 15°C に低下した 12 月中旬からは加温海水を用い, 17.5~19.0°C に保持した。しかしこの間ボイラー, 揚水ポンプなどの故障で 10 回, 計約 150 時間 9~14°C に低下した。

分析方法 血漿の GOT (glutamic oxalacetic transaminase), GPT (glutamic pyruvic transaminase) および LDH (lactic dehydrogenase) 活性ならびにトリグリセライド, 総コレステロール, グルコース, 蛋白量を分析し, 蛋白の電気泳動を行なつた。また肝すい臓お

び筋肉の水分, 脂肪量の分析もあわせて行なつた。分析法は蛋白の電気泳動はセルロース・アセテート膜法¹¹⁾で, 他は前報¹⁰⁾に記した方法によつたが, 血漿の分析は個体別に, 他は混合試料を分析した。

結 果

成長率など 各区の魚の成長は Table 2 に示したように正常油を添加した 1, 3 および 5 区にくらべて酸化油投与群ではいずれも低く, 特に 8, 9 および 10 区では 17 週間の飼育期間中にほとんど成長しなかつた。なお 1 区の魚は第 1 回採血の 1 週間前 (10 週後) から急に摂餌しなくなり, 採血時に調べたところ, 3 尾 (25%) の魚にビブリオ菌によると思われる体表のびらんが認められた。そのため全区とも水産用テラマイシン散 (テラマイシン塩酸, 台糖フナイザー K.K.) で薬浴を行なつたところ, 12~13 週後には回復し, 活発に摂餌するようになった。しかしこの間の摂餌不良が 1 区の成長を抑制し, 終了時の成長率は 3 および 5 区より劣つた。

実験開始時のマダイの肥満度は 35 前後であつたが, 全区とも徐々に低下し, 終了時には 28~32 前後まで減少したが, 添加油の性状による差異は明らかでなかつた。また酸化油投与魚にはコイ¹⁾やハマチ²⁾に見られた背こけ様の症状は認められなかつた。

へい死魚は 3 区 1 尾, 4 区 1 尾, 9 区 2 尾, 10 区 1 尾であつたが, これらのうち 4, 9 および 10 区の各 1 尾は水槽外に飛び出したものである。

筋肉および肝すい臓の分析結果 終了時の魚の筋肉および肝すい臓の分析結果を Table 3 に示した。筋肉中の脂肪含量は 2 区を除き, 酸化油給餌群で低く, 他方水分量は高かつた。

肝すい臓の脂肪含量は筋肉の場合とは多少異なつた変化をした。すなわち POV 550 の油を摂取した 2, 4, 6 および 8 区の魚の含量は, おのおの飼料中のビタミン組

Table 2. Growth rate of the red sea bream (mean±S.D.).

Group No.	Body weight (g)			Fatness		
	Week			Week		
	0	11	17	0	11	17
1	55±13	81±14	91±13	34.0±1.1	30.0±1.0	29.9±1.6
2	57±21	83±13	83±28	34.2±1.4	31.9±2.1	31.8±1.5
3	52±8	78±15	94±13	34.8±0.9	31.2±0.7	31.1±1.0
4	57±5	77±12	75±11	35.4±1.6	32.0±2.1	28.1±0.9
5	53±13	81±9	101±31	34.2±0.6	30.2±2.3	31.9±0.9
6	55±13	82±11	81±11	34.3±0.5	30.2±1.4	30.5±1.8
7	53±8	65±9	77±14	34.8±1.1	31.5±0.9	29.8±3.3
8	58±9	70±14	66±8	35.0±1.4	31.1±1.8	30.6±0.8
9	59±8	65±10	66±6	35.8±1.0	31.1±2.2	31.2±1.0
10	58±14	75±9	61±20	36.5±0.7	31.7±1.4	29.6±1.7

Table 3. Fat and moisture contents in muscle and hepatopancreas of the red sea bream after feeding experiment for 17 weeks

Group No.	Muscle (%)		Hepatopancreas (%)	
	Moisture	Fat	Moisture	Fat
1	74.4	3.0	67.0	10.1
2	73.8	3.7	70.1	7.6
3	74.0	2.9	65.8	11.5
4	75.0	2.7	70.6	6.5
5	73.1	4.8	66.3	12.3
6	74.7	2.9	70.0	4.6
7	73.6	3.2	69.8	8.4
8	76.1	2.2	74.9	4.8
9	75.1	2.3	69.5	9.2
10	77.3	1.3	69.4	12.1

成が等しく、正常油を添加した 1, 3, 5 および 7 区の魚の含量にくらべて低値であつた。しかしながら POV 1,550 の酸化油を与えた 9 および 10 区のマダイの含量は正常油を与えた 3 区および 7 区の含量に近似していた。

血漿の分析結果

1. 化学成分 各区の魚の血漿成分の分析結果を

Table 4. Chemical constituents and A/G ratio in plasma of the red sea bream (mean±S.D.)

Group No.	Triglyceride (mg/dl)	Total cholesterol (mg/dl)	Glucose (mg/dl)	Protein (g/dl)	A/G ratio
11th week					
1	296±148	156±29	67±8		
2	362*1	131±24	71±12		
3	296±113	138±20	64±11		
4	198±81	122±22	68±15		
5	158±40	132±18	69±15		
6	175±41	109±16	60±6		
7	172±25	123±11	75±28		
8	135±58	112±12	64±11		
9	135±51	86±23	60±9		
10	112±30	84±12	61±9		
17th week					
1	235±74	153±23	66±12	4.47±0.47	0.33±0.04
2	143±46	133±24	86±48	4.06±0.55	0.31±0.09
3	190±96	137±18	70±16	3.99±0.19	0.34±0.04
4	137±45	132±11	89±18	3.26±0.36	0.40±0.09
5	229±93	152±46	58±10	3.89±0.14	0.39±0.09
6	210±91	125±24	64±5	3.81±0.16	0.32±0.06
7	175±46	145±36	75±8	3.69±0.19	0.39±0.08
8	99±30	117±11	69±7	3.83±0.22	0.27±0.05
9	85±21	107±7	61±11	3.38±0.10	0.31±0.08
10	58±6	104±26	56±8	3.43±0.38	0.24±0.06

*1 pooled sample of 4 fish.

Table 4 に示した。1 区の総コレステロール含量は 2 回の調査でいずれも約 150 mg/dl であつたが、酸化油を与えた 2 区では 130 mg/dl 前後で多少低かつた。同様の傾向はビタミン組成が等しく、添加油の性状のみが異なる 3, 4 および 9 区, 5 および 6 区, ならびに 7, 8 および 10 区でもみられた。トリグリセライド含量も二, 三の例外が認められたが、おおむね総コレステロールと類似の変化をした。蛋白質は添加油の性状が等しい場合はビタミン類の欠除により、またビタミン組成が等しい場合は酸化油の摂取区で低かつた。血糖値には酸化油の摂取あるいはビタミン欠除の影響は認められなかつた。セルロース・アセテート膜法で蛋白は 4 分画に分離された。陽極よりの分画をアルブミンと仮定して求めた A/G 比は Table 4 に示したように酸化油との関連性は認められなかつた。

2. 酵素活性 11 週後の血漿 GOT 活性は全般に高く、1, 2, 3 および 7 区では 20 unit 以上であつたが、終了時には 5 区を除き正常油摂取群で低下した。LDH 活性も GOT 活性が高い区でおおむね高かつた。GPT 活性は全般に低く、酸化油の影響は明らかでなかつた (Table 5)。

Table 5. Enzymatic activities in plasma of red sea bream

Group No.	GOT (Karmen unit)		GPT (Karmen unit)		LDH (Wroblewski unit)
	11th week	17th week	11th week	17th week	17th week
1	23±16	6±3	5±2	2±1	190±70
2	20±12	23±17	4*1	3±1	790±420
3	25±21	6±2	4±2	2±1	400±220
4	7±2	14±10	3±2	2±2	310±170
5	13±9	16±2	3±1	3±1	560±80
6	11±6	15±7	2±2	2±1	370±100
7	22±11	9±6	4±3	2±2	320±220
8	12±8	17±10	3±1	2±2	620±130
9	17±13	16*1	4±2	3±1	490±170
10	19±5	17±5	4±2	3±2	450±300

*1 pooled sample of 4 fish.

考 察

酸化油が魚類に与える害作用については、コイにおける背こけ病、筋肉の変性など¹⁻⁴⁾、ニジマスの死亡率の増加、肝臓の変性、貧血など^{5,6)}、ハマチの背こけ様の症状、高死亡率^{7,8)}などが報告されており、マダイにおいても酸化油の投与によってなんらかの障害が生じることが予想される。

近年、冬期の養殖マダイにみられる緑肝症の原因として、餌料中の油脂の酸化が考えられている。しかし本実験の結果では、正常な飼料を与えた1区の魚にも緑色肝を呈するものが出現した。水温 8°C 前後で飼育したマダイ当才魚では緑色肝の出現率が増加する¹⁰⁾が、同時に約 19°C の加温海水中で飼育した魚にはこのような現象はほとんど観察されなかつた (未発表)。また今回の試験では、飼育期間中延べ約 150 時間水温が 9~14°C に低下した。したがって本実験で認められた肝すい臓の緑化現象の原因は酸化油によるものではなく、低水温によるマダイの生理活性の低下によるものと考えられる。

マウスはリボフラビン欠乏飼料に酸化油を添加して飼育すると成長が正常油添加群にくらべて著しく低下する¹²⁾。マダイにおいても同様の結果が得られたが、これがマウスと同じように酸化油にたる腸内の V.B₂ 合成細菌の成長を阻害することによるものか、あるいは酸化油がマダイのビタミン消費を増大させることによるものか明らかでない。

酸化油を摂取したハマチ⁹⁾の血清コレステロール含量は減少する。同様の結果がマダイにおいても認められた。酸化油投与群の血漿トリグリセライド含量は正常油摂取区のそれにくらべてかなり低くなつた。コイでは過酸化物はほとんど吸収されない¹³⁾。また NISHIDA ら¹⁴⁾

によると、過酸化物を含む脂肪はネズミにおける脂肪の吸収を著しく阻害するという。このことは本実験の結果と併せて考えると、酸化油はその毒作用のほかに摂取した脂質の吸収率を低下させているように思われる。この点については次報でふれたい。

マダイ血漿中の GOT 活性は飼育水温によっても変化する¹⁰⁾。本実験中の水温は前報¹⁰⁾の 5~6 月の水温に相当するが、前報の魚の GOT 活性 (11±4) を仮に正常値とみなすと、酸化油を与えた魚の終了時の活性はいずれも多少高かつた。これは、酸化油を投与したマダイの腎、肝すい臓などの組織像に異常が認められたので、これらの臓器の傷害によるものと思われる。コイでは V.B₂ の欠乏により肝すい臓、腎臓などに異常が認められている¹⁵⁾。マダイでも 5 区の魚の肝すい臓、腎臓の組織像に異常が認められており、このことが本区の GOT 活性を上昇させたものと考えられる。組織学的検査の結果については別の機会に報告する予定である。なお第 1 回の分析では 1 区の GOT 活性が高かつたが、これは採血時に認められた体表のびらんが影響しているものと思われる。

酸化油を摂取したニジマスでは肝臓の脂肪が増加する⁹⁾。マダイの肝すい臓では POV 550 の油を添加した群の含油量は正常油投与区のそれより低かつたが、POV 1,550 の油を与えた魚 (9 および 10 区) の含油量は正常油投与群 (3 および 7 区) の含量に近似している。7 区および 10 区に類似した飼料で飼育したマダイ (11 および 12 区) の肝すい臓脂肪量の経時変化をみると、前者では 24 時間後まではほとんど変化せず、その後わずかに減少したが、他方後者では 2~6 時間後に減少し、24 時間以降に増加する (未発表)。したがって本実験でみられた添加油の酸化度の違いによるマダイ肝すい臓の脂肪の蓄積に時間的なずれが生じるためとも考えられるが、この点についてはさらに検討する必要がある。

終りにのぞみ有益なご助言をいただいた長崎大学水産学部 道津喜衛教授に厚くお礼申し上げるとともに試験遂行に際し常にご鞭撻とご助言をいただいた兵庫県立水産試験場 井沢康夫前場長に深謝します。

文 献

- 1) 橋本芳郎・岡市友利・渡辺 武・古川 厚・梅津武司: 日水誌, 32, 64-69 (1966).
- 2) 渡辺 武・松浦康修・橋本芳郎: 日水誌, 32, 887-891 (1966).
- 3) 渡辺 武・土屋孝夫・橋本芳郎: 日水誌, 33, 843-847 (1967).

- 4) T. WATANABE and Y. HASHIMOTO: *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, **34**, 1131-1140 (1968).
- 5) T. ONO, F. NAGAYAMA, and T. MASUDA: *J. Tokyo Univ. Fish.*, **46**, 97-109 (1960).
- 6) 川津浩嗣: 淡水研報, **14**, 1-10 (1964).
- 7) 古川 厚・梅津武司: 内水研刊行物C輯, No. 4, 61-69 (1965).
- 8) 坂口宏海・浜口 章: 日水誌, **35**, 1207-1214 (1969).
- 9) 米 康夫・藤井正人: 九大水実研報, No. 2, 25-32 (1974).
- 10) 坂口宏海・浜口 章: 日水誌, **45**, 401-406 (1979).
- 11) 清水文彦監修: 衛生検査技術講座, **7**, 医歯薬出版, 東京, 1967, pp. 377-378.
- 12) H. KAUNITZ, R. E. JOHNSON, and C. A. SLANETZ: *J. Nutr.*, **46**, 151-159 (1952).
- 13) 竹内昌昭: 日水誌, **38**, 155-159 (1972).
- 14) T. NISHIDA and F. A. KUMMEROW: *J. Lipid Res.*, **1**, 450-458 (1960).
- 15) H. AOE, I. MASUDA, T. SAITO, and A. KOMO: *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, **33**, 355-360 (1967).