

## トラフグにおける数種のタンパク質の消化率

滝井健二・宇川正治・中村元二・熊井英水

### Apparent Protein Digestive Coefficient of Some Meals in Tiger Puffer Diet

Kenji TAKII<sup>\*1</sup>, Masaharu UKAWA<sup>\*2</sup>, Motoji NAKAMURA<sup>\*1</sup>,  
and Hidemi KUMAI<sup>\*1</sup>

In the tiger puffer *Takifugu rubripes*, apparent protein digestibility (APD) of brown fish meal (BFM) and near equi-weight of BFM and chicken meal, soy bean meal, corn gluten meal (CGM) or meat and bone meal (MBM), were assayed using feces collected by Guelph tank and intestinal digesta squeezed at 12 h after feeding. The APDs using feces were all higher than those using intestinal digesta. The mixtures of BFM and SBM or MBM showed higher ADPs than BFM using both feces and intestinal digesta. High trypsin activities were detected in intestinal digesta of these mixtures. No significant difference was found between APDs of BFM and the mixture of BFM and CGM when feces were used, but the low APD and trypsin activity were detected in interstitial digesta of the mixture of BFM and CGM. These results indicate that APDs using feces collected by Guelph tank is estimated somewhat higher than practical values when diets were included low digestible feedstuffs, and that SBM as a partial replacement of BFM is one of the favorable dietary vegetable protein sources in the diet for the tiger puffer.

*Key words*; tiger puffer, apparent digestibility, soy bean meal, meat and bone meal, corn gluten meal

これまで魚類の消化率の測定には、腹部圧搾法、肛門吸引法、腸管切開法などによって得た内容物、あるいは水槽底に沈澱した糞が採取され用いられてきた。しかし、内容物には腸組織、粘液さらには未消化物が混在するし、沈澱した糞からは可溶性物質が飼育水中に少なからず溶出するなど、採糞方法に関する種々の問題点が指摘されている。Cho and Singer<sup>1)</sup>はこれら問題点の改善を試み、採糞カラムを備えたゲルフ式採糞水槽を考案した。これまでニジマス *Oncorhynchus mykiss* やマスノスケ *Oncorhynchus tshawytscha* でこの採糞水槽が用いられ、消化吸収およびエネルギーフローに関する有用な知見が得られている<sup>2-4)</sup>。そこで、本研究ではゲルフ式採糞水槽より得られた糞を用いて、トラフグ *Takifugu rubripes* における数種のタンパク質の消化率を測定し、従来の腸内容物を用いる方法で得られた消化率および消化酵素活性と比較検討すると共に、現在トラフグ用配合飼料の

<sup>\*1</sup>浦神実験場 (Fisheries Laboratory, Kinki University, Urugami, Nachikatuura, Wakayama 649-51, Japan)

<sup>\*2</sup>丸紅飼料技術センター (Technical Research Center, Marubeni Feed Ind., Ono, Hyogo 675-13, Japan)

**Table 1.** Dietary formula and proximate compositions (%) used in the present study

Ingredient	Diet no.				
	1	2	3	4	5
Brown fish meal	60.0	28.3	28.3	28.3	28.3
Chicken meal		31.7			
Soy bean meal			31.7		
Corn gluten meal				31.7	
Meat and bone meal					31.7
Sardine oil	5.8	5.8	5.8	5.8	5.8
$\alpha$ -Corn starch	16.5	16.5	16.5	16.5	16.5
Vitamin mixture* <sup>1</sup>	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0
Mineral mixture* <sup>1</sup>	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0
CM-cellulose	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0
Cellulose	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0
Feeding stimulants* <sup>2</sup>	1.2	1.2	1.2	1.2	1.2
Chromic oxide	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
Proximate composition					
Crude protein	44.1	41.1	37.4	42.3	39.9
Crude fat	10.2	9.8	10.1	10.1	12.2
Digestible carbohydrate	19.5	22.4	22.4	21.6	20.4
Crude ash	12.5	12.1	9.6	7.9	14.7

\*<sup>1</sup> Halver mixture<sup>6)</sup>.

\*<sup>2</sup> Takaoka *et al.*<sup>5)</sup>.

主要なタンパク源である沿岸魚粉の代替タンパク源に関する有益な示唆を得ようとした。

### 材料および方法

**試験飼料** 飼料タンパク源には沿岸魚粉、チキンミール(CM)、大豆油粕(SBM)、コーングルテンミール(CGM)およびミートボーンミー( MBM)を用いた。Table 1に示すように、飼料1には沿岸魚粉を59.3%、飼料2-5には28%の沿岸魚粉と31.3%のCM, SBM, CGMおよびMBMをそれぞれ配合した。イワシ油、 $\alpha$ -デンプン、ビタミン・ミネラル混合物、セルロース、アスパラギン酸、セリン、グリシン、アラニン、ベタインなどから成る摂餌促進物質<sup>5)</sup>および消化率測定のための酸化クロムは、Takii *et al.*<sup>6,7)</sup>の報告に基づいてそれぞれ5.8, 16.5, 5.0, 4.0, 3.0, 1.2および0.5%ずつ共通して配合した。これらの飼育原料を良く混合した後、外割り30%の水道水を加えて練り合わせ、試験用造粒機で直径5 mmのモイストペレットに調製した。各試験飼料は20日毎に新しく調製し、調製後は速やかに-20°Cのフリーザーに凍結保存した。なお、給餌に際しては必要量を解凍した。

**供試魚および飼育方法** 水産養殖種苗センター浦神事業場でふ化後養成した一腹仔のトラフグ稚魚(平均体重93.3 g)を、400 l 溶のFRP製ゲルフ式採糞水槽に収容して5試験区を設けた。各試験区には所定の飼料を、1日3回(9:00, 13:00および16:00)飽食給与して飼育した。飼育期間中は各水槽に4 l/minの割合で紫外線殺菌濾過海水を注水した。なお、飼育期間の水温は20.1±1.94°C(平均±標準差, n=70)であった。

**採糞方法** 飼育開始20日後までは飼育条件に馴致し採糞は行わなかった。採糞は以下の手順で行った。すなわち、16:00の給餌が終了した時点で、残餌や他の夾雑物を除くため各水槽とも約100 lの飼育水を排水し、翌朝8:00に採糞カラムに残る糞を少量の海水と共に採取した。なお、各飼料の消化率分析は4日分の糞をまとめて1試料とし、それぞれ3試料について行った。

採糞方法の違いによる消化率の差異を比較するため、飼育開始72日後に各飼料を飽食給与し、12時間後に各区より3尾ずつ取り上げて、開腹してから腸内容物を注意深く採取した。なお、腸内容物は3尾分をまとめて分析に供した。

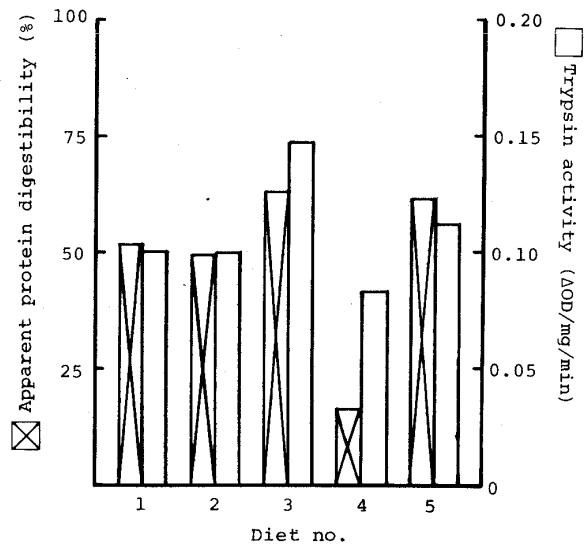
**Table 2.** Apparent protein digestive coefficient of diets using face collected dy Guelph tank

Diet no.	Protein	Digestibility (%)
1	BFM* <sup>1</sup> 60	71.0±9.01* <sup>2a</sup> * <sup>3</sup>
2	BFM28.3:CM* <sup>1</sup> 31.7	79.3±1.77 <sup>abc</sup>
3	BFM28.3:SBM* <sup>1</sup> 31.7	86.2±0.82 <sup>c</sup>
4	BFM28.3:CGM* <sup>1</sup> 31.7	71.5±2.70 <sup>a</sup>
5	BFM28.3:MBM* <sup>1</sup> 31.7	83.3±1.56 <sup>bc</sup>

\*<sup>1</sup> BFM, brown fish meal; CM, chicken meal; SBM, soy bean meal; CGM, corn gluten meal; MBM, meat and bone meal.

\*<sup>2</sup> Mean±standard deviation(n=3).

\*<sup>3</sup> Means with different superscript are aignificant difference( $P < 0.05$ )<sup>12</sup>.



**Fig. 1.** Apparent protein digestive coefficient and trypsin activity in intestinal digesta at 12 h after feeding.

**分析方法** 海水と共に採取した糞は10,000×g, 30分, 4℃で遠心分離し, 得られた沈澱物を70℃の恒温器内で24時間乾燥してから分析に供した。3尾分をまとめた腸内容物は, 糞の場合と同様に乾燥した。

酸化クロムの定量および見掛けのタンパク質消化率の算出は古川および塚原<sup>8)</sup>の方法によった。また, 飼育, 糞および内容物の一般化学成分および可消化糖質は, それぞれAOAC法<sup>9)</sup>およびフェノール硫酸法<sup>10)</sup>によった。摂餌12時間後の腸内容物のトリプシン活性はHummelの方法<sup>11)</sup>で分析した。すなわち, 腸内容物を50mM Tris-HCl緩衝液 (pH8.0) と共にガラスホモジナイザーでホモジナイズし, 11,000×g, 20分間遠心分離して得た粗酵素液を, 0.1mMTos-Arg-OMeおよび50mM Tris-HCl緩衝液 (pH8.0) から成る基質混液に加え, 反応温度26℃における247nmの吸光度の変化を測定した。なお, 粗酵素液の調製は4℃以下で行った。また, 酵素活性は一分間における内容物1mg当りの吸光度変化で示した。

**統計処理** 得られたデータはまず分散分析した後, Duncan's multiple range test<sup>12)</sup>を用いて, 平均値の差異を5%の危険率で有意差判定を行った。

## 結 果

**糞から求めたタンパク質消化率** Table 2に採糞カラムから得た糞を用いて測定した各飼料のタンパク質消化率を示した。SBMを配合した飼料3の平均消化率は86.2%と最も高く, 次いでMBMを配合した飼料5の83.3%, CMを配合した飼料2の79.3%, CGMを配合した飼料4の71.5%および沿岸魚粉を配合した飼料1の71.0%の順に低下した。飼料3および5と飼料1および4との間に有意差が認められた。

**腸内容物から求めたタンパク質消化率** Fig.1に摂餌12時間後に得た腸内容物を用いて測定した各飼料のタンパク質消化率を示した。内容物から求めた消化率は, 糞から得た値に比べていずれも低かったが, 飼料3が62.9%と最も高く, 次いで飼料5の61.5%, 飼料1の51.6%および飼料2の49.0%の順に低下し, 飼料4では16.9%と他の飼料に比べて著しく低かった。

**腸内容物のトリプシン活性** Fig.1に摂餌12時間後における各区の腸内容物のトリプシン活性を示

した。腸内容物のタンパク質消化率と同様な傾向が認められ、飼料3区が最も高く、次いで飼料5, 1, 2および4区の順に低下した。

## 考 察

Satoh *et al.*<sup>2)</sup>はゲルフ式採糞水槽にニジマスを収容して各種栄養素およびエネルギー消化率について検討した。北洋魚粉のタンパク質消化率は89%前後であったのに対して、ニンシニール, SBM, CGM, 小麦粉などを併用した場合は91%と若干高くなる程度で、顕著な差異のないことを報告した。本研究でもゲルフ式採糞水槽でトラフグにおけるタンパク質消化率を測定したところ、沿岸魚粉を主体にする飼料のタンパク質消化率は70%程度で、ニジマスにおける北洋魚粉の消化率に比べてかなり低かった。しかし、沿岸魚粉の約53%をSBMあるいはMBMに代替すると、タンパク質消化率はそれぞれ86および83%となり、沿岸魚粉のみを配合した場合より有意に高かった。魚種, 飼料原料, 飼料組成, 飼育条件などに違いはあるが、トラフグでの魚粉に対するタンパク質消化率がニジマスに比べて劣ったのは、トラフグが無胃魚である<sup>13)</sup>ことに関連するのかもしれない。一方、トラフグではSBMあるいはMBMを沿岸魚粉と併用すると、タンパク質消化率が著しく向上した。動物性タンパク質の多くはアミノ酸組成が優れており、良質のタンパク源として魚類の配合飼料に用いることが可能で、消化性にも問題の少ないことが知られている。しかし、植物性タンパク質は概してリジンおよびメチオニン含量ならびに消化性が低く、SBMではトリプシンインヒビター, アレルゲン, フィチン酸などの生理阻害物質が消化吸収率を低下させ、ひいては飼育成績に悪影響を及ぼすことが知られている<sup>14)</sup>。摂餌12時間後の腸内容物を用いて測定した場合にも、沿岸魚粉とSBMあるいはMBMを併用した飼料のタンパク質消化率ならびにトリプシン活性が、沿岸魚粉主体の飼料より高かったことから、SBMには生理阻害物質だけでなく消化酵素の分泌や吸収を促進する生理活性物質が存在するのかもしれない<sup>15)</sup>。マダイでは沿岸魚粉の10%程度をSBMに代替することによって、対照の沿岸魚粉主体の飼料を与えた場合より成長や飼育成績は向上するが、さらにSBMの代替率を増加させるとかえって成長が低下することが知られている<sup>16)</sup>。おそらく、飼料へのSBM配合率を増加させることによって、生理阻害活性が現れたものと考えられる。今後はSBMおよびMBMにおける消化吸収促進あるいは阻害効果に関する検討が必要であろう。

糞および腸内容物から求めた各飼料のタンパク質消化率に異なる結果が得られた。すなわち、糞から求めたタンパク質消化率は、それぞれ沿岸魚粉, CMおよびCGMを配合した飼料1, 2および4の間に有意な差異は認められなかったが、腸内容物から求めたタンパク質消化率は飼料4で顕著に低かった。飼料4区の摂餌12時間後における腸内容物には、未消化の飼料が形状を保持した状態で認められ、しかも排泄された糞は柔らかく飼育水中で容易に微粒状化する傾向が認められた。飼料4区では採糞量も他の飼料区よりきわめて少なかったことから、未消化物の多くが採糞カラムに蓄積されずに溶出したために、見掛け上糞から求めたタンパク質消化率が高く見積られたものと考えられる。今後、ゲルフ式採糞水槽を用いてトラフグでの消化率を測定する場合には、給水量について再検討すると共に、消化率が高く見積られる可能性についても考慮する必要がある。

これまでニジマス<sup>17)</sup>, コイ *Cyprinus carpio*<sup>18)</sup>, テラピア *Oreochromis spp.*<sup>19)</sup>, ブリ *Seriola quinqueradiata*<sup>20,21)</sup>, マダイ *Pagrus major*<sup>16)</sup>などで、飼料タンパク源として繁用されている沿岸魚粉の代替タンパク源として、種々の植物性タンパク質の利用が検討されている。なかでもSBMが供給量, 価格, アミノ酸組成などの面から最も注目され、ある程度の代替率であれば魚粉を主体にする

配合飼料に比べて遜色ない飼育成績が得られている。以上の本研究結果より、トラフグにおいて飼料タンパク質の約半量をSBMに代替しても高いタンパク質消化率の得られることが示され、SBMが有望な沿岸魚粉の代替タンパク源の一つであることが示唆された。今後はトラフグ用配合飼料へのSBM利用に関する研究をさらに推進し、飼料の低廉価を通して低迷する魚類養殖業界への一助としたい。

## 要 約

トラフグにおける沿岸魚粉、チキンミール、大豆粕、コーングルテンミールおよびミートボーンミールのタンパク質消化率を、ゲルフ式採糞水槽および腸管切開して得た糞および腸内容物を用いて測定した。糞から求めた消化率は内容物から得たそれらよりかなり高かったが、沿岸魚粉の約半量を大豆粕あるいはミートボーンミールに代替することによって、沿岸魚粉より優れた消化率が得られた。また、腸内容物のトリプシン活性もこれら代替飼料で高かった。一方、沿岸魚粉の約半量をコーングルテンミールに代替した場合に、糞から求めた消化率は沿岸魚粉のおれに比較して有意な差異はなかったが、腸内容物から求めた消化率は顕著に低かった。コーングルテンミールに代替した飼料を採取したトラフグの糞は柔らかく、飼育水中に容易に散逸したことから、消化率が高く見積もられたものと考えられる。以上のタンパク質消化率の測定結果から、SBMがトラフグ用配合飼料の代替タンパク源として有望であることが示唆された。

## 謝 辞

本研究を行うに当たって、農学部水産学科水産増殖学専攻生西田一敏氏に供試魚の飼育および分析に多大のご助力を賜わった。また、水産養殖種苗センター浦神事業場より供試魚を分与して頂いた。これら関係各位に衷心より謝意を表します。

## 文 献

- 1) Cho, C.Y. and S.J. Slinger (1979): Apparent digestibility measurement in feedstuffs for rainbow trout, in "Proc. World Symp. Finfish Nutr. Finfish Technol." (ed. by J.E. Halver and K. Tiews), Vol. 2, Hamburg. Heenemann, Berlin, pp.238-247.
- 2) Satoh, S., C.Y. Cho and T. Watanabe (1992): Effect of fecal retrieval trimming on digestibility of nutrients in rainbow trout diet with Guelph and TUF feces collection system. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **58** (6), 1123-1127.
- 3) Hajen, W.E., R.M. Beams, D.A. Higgs and B.S. Dosanjh (1993): Digestibility of various feedstuffs by post-juvenile chinook salmon (*Onchorhynchus tshawytscha*) in sea water. 1. Validation of technique. *Aquaculture*, **112** (4), 321-332.
- 4) Kaushik, S.J. and F. Medale (1994): Energy requirements, utilization and dietary supply to salmonids. *Aquaculture*, **124** (1-4), 81-97.
- 5) Takaoka, O., K. Takii, M. Nakamura H. Kumai and M. Takeda (1995): Identification of feeding stimulants for tiger puffer. *Fisheries Science*, **61** (5), 833-836.
- 6) Takii, K., M. Ukawa, M. Nakamura and H. Kumai (1995): Suitable sugar level in brown fish meal diet for tiger puffer. *Fisheries Science*, **61** (5), 837-840.
- 7) Takii, K., M. Ukawa, M. Nakamura and H. Kumai (1995): Suitable lipid level in brown fish meal

- diet for tiger puffer. *Fisheries Science*, **61**(5), 841-844.
- 8) 古川 厚・塚原弘子 (1966) : 養魚飼料消化試験の指標物質としての酸化クロームの湿式定量法について. 日水誌, **32**(7), 502-506.
  - 9) AOAC(1984): Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists, 14th edition, Arlington, VA, p.1141.
  - 10) Hodge, J.E. and B.T. Hofreiter (1962): Determination of reducing sugars and carbohydrates. in "Methods in carbohydrate chemistry" (ed. by R.L.Whistler and M.L.Wolfrom), Vol.1, Academic Press, New York, pp.388-389.
  - 11) Hummel, B.C.W. (1959): A modified spectrophotometric determination of chymotrypsin, trypsin and thrombin. *Can. J. Biochem. Physiol.*, **37**, 1393-1399.
  - 12) Hater, H.L. (1960): Critical values for Duncan's new multiple range tests. *Biometrics*, **16**, 671-685.
  - 13) Kumai, H., I. Kimura, M. Nakamura, K. Takii and H. Ishida (1989): Studies on digestive system and assimilation of a flavored diet in ocellate puffer. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **55**(6), 1035-1043.
  - 14) Hendricks, J.D. and G.S. Bailey (1989): Adventitious toxins. in "Fish Nutrition" (ed. by J.E. Halver), Vol. 2, Academic Press, New York, pp.605-651.
  - 15) 宇川正治・滝井健二・中村元二・熊井英水 (1994) : マダイ用配合飼料に対する大豆油粕の利用. 水産増殖, **42**(2), 335-338.
  - 16) Reseland, J.E., H. Horm, M.B. Jacobsen, T.G. Jenssen and L.E. Hanssen (1996): Proteinase inhibitors induce selective stimulation of human trypsin and chymotrypsin secretion. *J. Nutr.*, **126**(3), 634-642.
  - 17) Oliva-Teles, A., A.J. Gomes and P. Rema (1994): The effect of different processing treatments on soy bean meal utilization by rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture*, **124**(1-4), 343-349.
  - 18) Satoh, S. (1991): Common carp, *Cyprinus carpio*. in "Handbook of nutrient requirements of finfish" (ed. by R.P. Wilson), CRC Press, Boca Raton, pp.55-68.
  - 19) Luquet, P. (1991): Tilapia, *Oreochromis* spp. in "Handbook of nutrient requirements of finfish" (ed. by R.P. Wilson), CRC Press, Boca Raton, pp.169-179.
  - 20) 示野貞夫・橋本敦士・安藤嘉生・早川 潔 (1994) : ブリ稚魚に対する大豆油粕の精製および発酵による栄養価の向上. 水産増殖, **42**(2), 247-252.
  - 21) 示野貞夫・金高佳夫・T. Ruchimat・宇川正治 (1995) : ブリ稚魚に対する各種大豆タンパク質栄養価の評価. 日水誌, **61**(6), 919-926.