

廃棄魚類内臓を利用した消化態大豆粕の魚類への給餌効果

木原 稔*

東海大学生物学部海洋生物科学科

The Effects on Fish Growth Performance of Fish Meal Replacement by Pre-Digested Soybean Meal Produced by Fish Waste

Minoru KIHARA *

Department of Marine Biology and Sciences, School of Biological Sciences,
Tokai University, Sapporo 005-8601

ABSTRACT

The efficacy of pre-digested soybean meal (PDSBM) as a fish meal substitute in fish feeds was investigated. Crude enzyme solutions for soybean meal (SBM) digestion were prepared from stomach and pyloric caeca obtained from the waste of farmed bluefin tuna viscera, and the enzyme solutions were used to prepare gastric enzyme-digested SBM (G-PDSBM), pyloric enzyme-digested SBM (P-PDSBM) and pyloric enzyme-digested G-PDSBM (GP-PDSBM). Each PDSBM had a mixture of soy sauce and crustacean odors, and as a headspace analysis detected the presence of aldehydes and pyrazines in PDSBM, the odor is likely the product of a Maillard reaction. The feeding activity of salmon on PDSBM prepared with gastric enzyme was higher than that of salmon on SBM, and an improvement of palatability of PDSBM was confirmed by the digestion. Conversely, the feeding activity of jacobever (kurosoi rockfish) on PDSBM prepared with gastric enzymes was lower than that on SBM, suggesting that the response of fish to PDSBM probably differs among species. Finally, the growth coefficient of flounder and jacobever on a P-PDSBM diet was higher than that on an SBM diet. These findings suggest that P-PDSBM could be used as an alternative source of fish meal. *Soy Protein Research, Japan* **21**, 59-64, 2018.

Key words : bluefin tuna *Thunnus orientalis*, feeding activity, fish meal substitution, pyloric caeca, pre-digested soybean meal

*〒005-8601 札幌市南区南沢5条1丁目1-1

輸入魚粉を主原料とする国内養殖用配合飼料は、アンチョビーなど原料魚の資源量減少、中国やノルウェーなどの養殖漁業拡大による世界的な魚粉価格の高騰を受け、おもに植物性たん白質原料を利用した低魚粉化、無魚粉化が避けられない状況にある¹⁾。このようなことから、魚粉に代わるたん白質源として大豆粕が利用されているが、大豆粕による魚粉の大幅な置き換えは、嗜好性の低下などにより成長を鈍らせてしまう場合もある²⁾。大豆粕のアルコール洗浄あるいは発酵処理などで低魚粉化・無魚粉化の検討が進められているが、飼育成績やコストの点から普及には至っていない。

養殖クロマグロ (*Thunnus orientalis*) は鮮度保持のために釣り上げ直後に胃や腸を含む内臓が摘出され、産業廃棄物として処分されているが、産廃利用の点から大豆粕の現状を俯瞰してみると、クロマグロの胃や幽門垂が持つプロテアーゼにより大豆たん白質をあらかじめ消化して飼料原料とする方法が考えられるものの、これまで検討例は無い。木原ら³⁾はクロマグロの胃で消化された大豆たん白質のほうが幽門垂の酵素で消化されやすいことを *in vitro* で確認している。したがって、魚類内臓を用いた大豆粕の消化は、飼料原料として効果的な処理方法になる可能性がある。そこで本研究は、持続可能な養殖魚生産、産廃の減量という社会的課題の解決、ならびに副産物として多量に産出される大豆粕たん白質の有効利用を目的として、廃棄される養殖クロマグロの胃および幽門垂の粗酵素液を用いて作成した消化態大豆粕 (pre-digested soybean meal, PDSBM) を配合した飼料をヒラメ (*Paralichthys olivaceus*) やクロソイ (*Sebastes*

schlegeli) に給餌して、PDSBMの有効性を検討した。

方 法

粗酵素溶液の調製

イクスから釣り上げられた直後の養殖クロマグロの胃、幽門垂を採取し、いったん -20°C で冷凍保管した。胃は解凍後筋肉層を剥ぎ取り、粘膜層のみを2倍量の生理食塩水を加えてホモジナイズした。2,600×g, 2°C で15分間遠心分離後、上清を回収して胃粗酵素溶液とした。半解凍した幽門垂はあらかじめハサミで細かくし、4倍量のトリス塩酸緩衝液 (pH8.5) を加えてホモジナイズした。2,600×g, 2°C で15分間遠心分離後、脂質層を除去し、液層を回収して幽門垂粗酵素溶液とした。これらの粗酵素溶液は使用時まで -60°C で保管した。

PDSBMの作成

飼料用大豆粕粉末 250 gに対し、胃粗酵素液 1 Lを添加してpH2に合わせ、攪拌しながら 30°C 、24時間消化した。中和した消化物は 90°C で12時間乾燥し粉末化した (G-PDSBM)。また、大豆粕 300 gに幽門垂粗酵素液 1.2 L, 0.5% (w/v) クロラムフェニコール 15 mLを添加してpH8に合わせ、攪拌しながら 30°C 、48時間消化し、中和して乾燥・粉末化した (P-PDSBM)。さらにG-PDSBM 300 gに幽門垂粗酵素液 1.2 L, クロラムフェニコール 15 mLを添加して48時間消化し、中和・乾燥・粉末化した (GP-PDSBM)。

臭気分析

作成したG-PDSBM, P-PDSBM, GP-PDSBMおよび魚粉 (FM), 大豆粕 (SBM) ならびにオキアミミール (KM) を分析に用いた。バイアル (22 mL容) 入りの試料 1 gに対し純水 5 mLを添加し、トラップHSにて 55°C (15 min) で3回濃縮して得た臭気成分をGC/MS (JMS-Q1500GC-MS, 日本電子) で分析した。SCAN/SIMモードで測定し、得られたクロマトグラムからNISTのライブラリで化合物推定してストレッカーアルデヒドに該当するメチルプロパナル、メチルブタナルおよびピラジン類の面積値を比較した。

摂餌活性実験

体重 7~10 gのサケ (*Oncorhynchus keta*) あるいは体重 2~5 gのクロソイを、Fig. 1に示す水槽9個にそれぞれ3尾収容して馴致しておき、福田ら⁴⁾の方法に準じ、G-PDSBM, P-PDSBM, GP-PDSBM, FM,

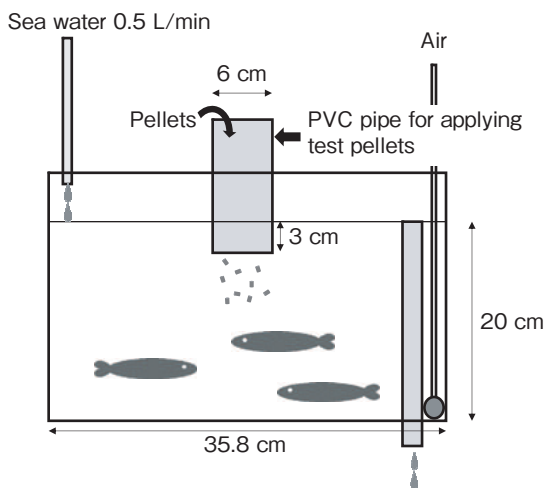


Fig. 1. Testing tank for feeding activity experiments.

SBMあるいはKMを4 g, α デンプン 0.7 g, カルボキシメチルセルロースナトリウム 0.3 gを加水して混練し, 1粒あたり 0.01 gのペレットに成形して20~25個を水槽の飼料投与口から一度に投入した. サケの場合, 投与後1分間のうちに食べたペレット数を, クロソイの場合は投与後10分間のうちに食べたペレット数をカウントした. また, 酵素消化の効果を確認するために, 消化0時間の試料も摂餌活性試験に用いた.

飼育実験①: ヒラメ

体重 0.5~1.4 gのヒラメ稚魚を9尾ずつ5群に分け, 15 Lガラス水槽に収容した. Table 1に示す飼料を42日間, 1日当たり体重の 3.8 wt%を給餌した. 飼料の有効性は, 1 kgの増肉に必要な飼料量を表す増肉係数(期間中の摂餌量/期間中の増体重量)で判断した.

飼育実験②: クロソイ

平均体重 5.2 gのクロソイを15尾ずつ5群に分け, 15 Lガラス水槽に収容した. Table 1に示す飼料を40日間, 1日当たり体重の 0.75 wt%を給餌した. 飼育終了後は尾静脈から採血し, RedoxSYS Analyzer (バイオリサーチセンター)で酸化還元電位を測定した. 開腹して腸, 幽門垂を分離採取し, ホモジナイズ後の遠心上清中の酵素をAPI-ZYM (ビオメリュージャパン)で測定した.

結果と考察

臭気

乾燥後のPDSBMは茶褐色であり, 醤油と甲殻類が混じり合ったようなおいであった. 消化せずに乾燥しても似た臭気が生じたが, 消化したものの方が強かったことから, PDSBMの臭気は消化により強く生じるものである. この臭気生成には作成工程や生成物の状況からメイラード反応が関係していると考えられた. メチルプロパナル, メチルブタナルといったいわゆるストレッカーアルデヒドが高く検出されたことも (Fig. 2), PDSBMの臭気生成にメイラード反応が関わっていることを示唆する⁵⁾.

摂餌活性

サケでは, FM, KM, G-PDSBMへの反応が強く, 特にKMへの反応は激しかった. SBMは口に入れても吐き出す個体や, 嚥下に時間がかかる個体が多く確認された. 差は有意ではないがP-PDSBMの摂餌活性は他のPDSBMよりも低く, 消化前のP-PDSBMと変わらなかったことから酵素消化の効果は小さいと考えられた (Fig. 3). 消化前のG-PDSBMおよびGP-PDSBMは, 消化したものよりも摂餌活性が低かった. サケにおいては, 胃粗酵素消化はSBMの摂餌性を改善する効果がありそうである. 一方, クロソイでも大豆粕の摂餌活性が低かったが, G-PDSBMはさらに低かった (Fig. 3).

Table 1. Composition of experimental diets

Ingredients	Diets for Japanese flounder					Ingredients	Diets for jacopeer (kurosoi rockfish)				
	FM	SBM	G-PD SBM	P-PD SBM	GP-PD SBM		FM	SBM	G-PD SBM	P-PD SBM	GP-PD SBM
Fish meal	66.0	43.0	35.0	37.0	27.0	Fish meal	66.0	15.0	15.0	15.0	15.0
SBM		32.0				SBM		55.0			
G-PDSBM			40.0			G-PDSBM			55.0		
P-PDSBM				38.0		P-PDSBM				55.0	
GP-PDSBM					48.0	GP-PDSBM					55.0
Wheat flour	7.4	5.2	4.0	4.0	2.9	Casein	0.5	9.0	9.0	9.0	9.0
Cellulose	10.4	2.3	0.5	0.7	0.3	Cellulose	15.0	4.1	1.4	1.4	1.4
α -Starch	3.5	2.0	4.0	4.0	4.3	α -Starch	5.8	0.3	3.0	3.0	3.0
Feed Oil	3.2	5.9	6.9	6.7	7.9	Feed Oil	3.2	7.0	7.0	7.0	7.0
CMC	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	CMC	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
Taurine	0.0	0.1	0.1	0.1	0.1	Taurine	0.0	0.1	0.1	0.1	0.1
Vitamin mixture	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	Vitamin mixture	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0
Mineral mixture	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	Mineral mixture	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0
Celite®	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	Celite®	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
Total	100	100	100	100	100	Total	100	100	100	100	100

Celite® was added as a marker for determining digestibility.

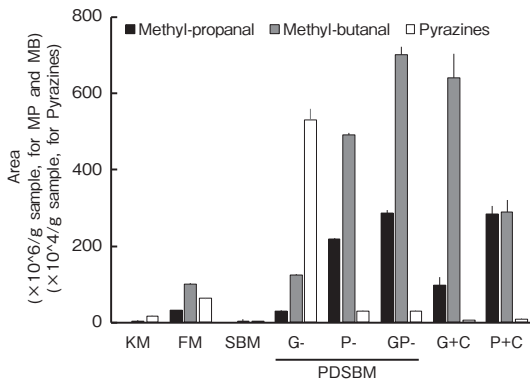


Fig. 2. Formation of Strecker aldehydes and pyrazines in pre-digested soybean meal (PDSBM). Columns represent the mean with standard deviation (bar) of two samples. KM: krill meal, FM: fish meal, SBM: soybean meal, G-: Gastric enzyme-digested SBM (G-PDSBM), P-: pyloric enzyme-digested SBM (P-PDSBM), GP-: pyloric enzyme-digested G-PDSBM (GP-PDSBM), G+C: Gastric enzyme with cellulose, P+C: Pyloric enzyme with cellulose.

SBM, G-PDSBMでは、口に入れても吐き出す個体があった。サケではG-PDSBMは効果的であったがソイでは摂餌性が悪くなったことから、種によってPDSBMへの反応が異なる可能性がある。

岡田ら⁶⁾は、納豆菌を用いた発酵大豆粕の臭気が甲殻類の臭気に似ており、オキアミ臭気成分のピラジン類を検出したことを報告している。また、この発酵大豆を用いた飼料をギンザケに与えると高い嗜好性を示したことから、発酵で付与される甲殻類に似た臭気成分が嗜好性に関与していることを示唆している⁶⁾。本研究のPDSBMの臭気成分中にもピラジン類が検出された。しかしながら両魚種共に、PDSBMよりピラジン類臭気の低いFMやオキアミのほうが高い摂餌活性を示したことは、必ずしもピラジン類臭気が摂餌性を高める要因ではないことを示す。クロソイでは摂食後に吐き出す個体があったことから、SBMやG-PDSBMには口腔内で嫌忌的に作用する物質が存在すると考えられる。

飼育実験①：ヒラメ

飼育期間中の増体重量はP-PDSBM区が最も高く、GP-PDSBM区はSBM区と同程度に低かった。試験終了時の増肉係数は、FM区 (1.16) → P-PDSBM区 (1.41) → G-PDSBM区 (1.64) → SBM区 (1.69) → GP-PDSBM区 (2.15) の順であり、P-PDSBM飼料はFM飼料につ

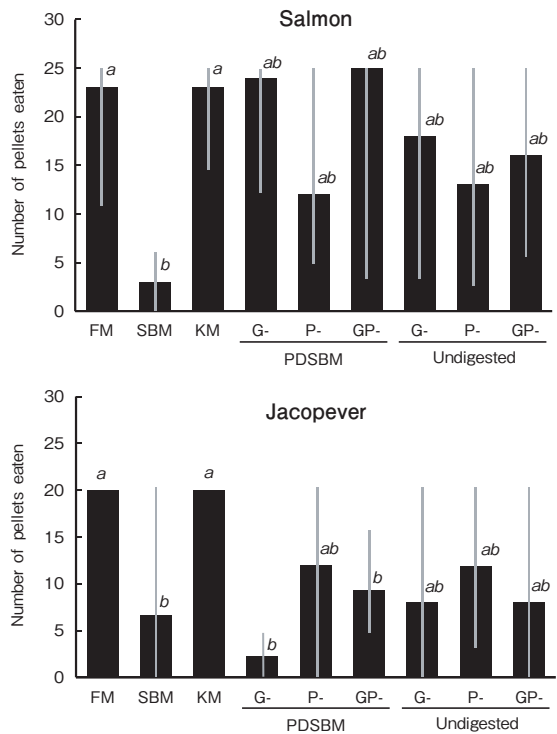


Fig. 3. Stimulatory effects of pre-digested soybean meal (PDSBM) on feeding activity of salmon (top) and jacopever (bottom). Columns represent the median with range (bar) of 5 experiments. Undigested G-, P- and GP- represent the zero-time samples for each PDSBM. Columns with different superscripts are significantly different ($P < 0.05$). FM: fish meal, SBM: soybean meal, KM: krill meal, G-: G-PDSBM, P-: P-PDSBM, GP-: GP-PDSBM.

いで増肉効率が良かった。

飼育実験②：クロソイ

成長はFM区およびP-PDSBM区が高く、G-PDSBM区ならびにGP-PDSBM区は低かった (Fig. 4)。試験終了時の増肉係数は、FM区 (1.12) → P-PDSBM区 (1.13) → SBM区 (1.37) → G-PDSBM区 (1.64) → GP-PDSBM区 (1.67) の順であり、クロソイにおいてもP-PDSBM飼料の増肉効率が良かった。腸管組織の酵素活性は、幽門垂のたん白質分解酵素群の活性がP-PDSBM区で高かった (Fig. 5)。腸においてもP-PDSBM区のたん白質分解酵素群の活性は高値であったが有意ではなかった。血中酸化還元電位はP-PDSBM区が低く、体内の酸化ストレス⁷⁾が抑えられていることが示唆された (Fig. 6)。

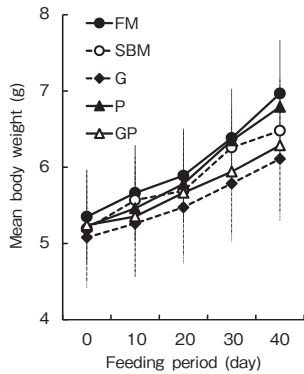


Fig. 4. Effects of pre-digested soybean meal (PDSBM) on body weight of jacobever. Symbols represent the mean with standard deviation (bar) of 15 fish. FM: fish meal diet, SBM: soybean meal diet, G: G-PDSBM diet, P: P-PDSBM diet, GP: GP-PDSBM diet.

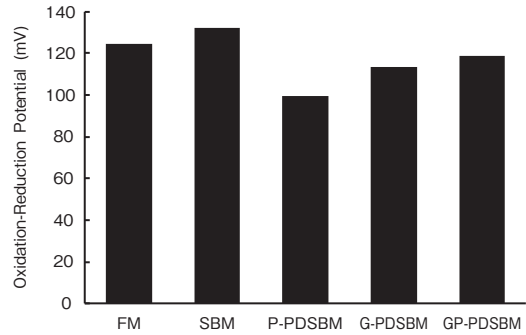


Fig. 6 Redox status in plasma of jacobever fed diets with pre-digested soybean meal (PDSBM). As plasma used for the analysis was pooled from 5 fish, standard deviations are not shown for values analyzed.

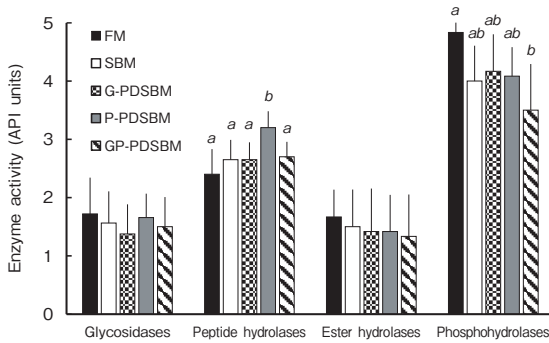


Fig. 5. Comparison of enzyme activity in pyloric caeca of jacobever fed diets with pre-digested soybean meal (PDSBM). Columns represent the mean with standard deviation (n=4). Columns with different superscripts within an enzyme group are significantly different ($P < 0.05$).

謝 辞

ヒラメおよびクロソイをご供与いただいた北海道栽培漁業振興公社瀬棚事業所、ならびに飼料用大豆粕をご供与いただいた日清丸紅飼料株式会社に感謝いたします。

要 約

クロマグロ内臓の酵素で消化した消化態大豆粕 (pre-digested soybean meal, PDSBM) の魚粉代替原料としての有効性を検討するために、大豆粕を胃粗酵素液で24時間消化したG-PDSBM、幽門垂粗酵素液で48時間消化したP-PDSBM、G-PDSBMをさらに幽門垂粗酵素液で48時間消化したGP-PDSBMを作成した。いずれのPDSBMも醤油と甲殻類が混じり合ったようなにおいであり、臭気分析でアルデヒド類やピラジン類を多く検出したことから、においてはメイラード反応が関係していると考えられた。サケに対する摂餌活性は、胃を使ったPDSBMが大豆粕より高く、酵素消化による摂餌性改善が確認された。しかしクロソイでは、胃を使ったPDSBMが大豆粕よりも低い摂餌活性であったことから、種によってPDSBMへの反応が異なる可能性がある。ヒラメおよびクロソイ飼育実験では、P-PDSBMの増重効率が大豆粕よりも高かった。したがってP-PDSBMは魚粉代替源としての利用が期待できる。

文 献

- 1) 津崎龍雄, 吉田一範, 堀田卓朗, 中川雅弘, 山田真之, 佐藤秀一, 興石友彦, 前野幸二, 秋山敏男, 石田典子 (2015) : 完全無魚粉化 extruded-pellet (EP) 飼料を用いたブリ *Seriola quinqueradiata* の長期飼育試験. 水産増殖, **63**, 29-38.
- 2) McGoogan BB and Gatlin DM III (1997): Effects of replacing fish meal with soybean meal in diets for red drum *sciaenops ocellatus* and potential for palatability enhancement. *Journal of the World Aquaculture Society*, **28**, 374-385.
- 3) 木原 稔, 伊藤 暁, 内藤信二, 三代健造, 三宅謙嗣 (2014) : クロマグロ培養胃内消化物の幽門垂粗酵素による消化-培養臓器を用いた飼料栄養価評価方法の研究3-. 日本水産学会春季大会. 講演要旨1204.
- 4) 福田一弥, 神原 淳, 曾嶺, 日高磐夫 (1989) : ブリ若魚に対するスルメイカ筋肉エキスの摂餌刺激効果. 日本水産学会誌, **55**, 791-797.
- 5) 奥村丞司 (1993) : メイラード反応とフレーバーの生成. 日本醸造協会誌, **88**, 178-187.
- 6) 岡田梨可, 山内晶子, 中野俊樹, 山口敏康, 佐藤 実, 片山知史, 落合芳博 (2016) : 銀鮭幼魚用飼料としての発酵大豆の有用性の検討-発酵大豆の臭気成分についての検討-. 日本水産学会秋季大会. 講演要旨942.
- 7) Spanidis Y, Goutzourelas N, Stagos D, Kolyva AS, Gogos CA, Bar-Or D and Kouretas D (2015) : Assessment of oxidative stress in septic and obese patients using markers of oxidation-reduction potential. *in vivo*, **29**, 595-600.