

# 1. 乳酸生成菌添加飼料投与ブリの感染防御試験

塙 原 淳一郎

過去行ってきた試験から、実験的に数種類の試験物質の中で乳酸生成菌の一種で感染・へい死に対して抑制的効果の可能性があることから、人為感染試験で効果的な投与法を検討してきた。今年度は乳酸生成菌添加飼料の感染防御能に与える効果を自然感染での場合の効果を明らかにすることを目的として、日本獣医畜産大学との共同研究で、過去感染実験において効果のみられた2週間の投与法を基本として、自然発病時の早期に投与した場合の比較検討を行った。

## 方 法

ブリ0.1才魚を供試魚とし、0才魚では試験区を6区（各区200尾）設け、連鎖球菌症の発病初期に6群のうち2群を投与群、4群を非投与群とした。投与群には1日に体重1kgあたり $1 \times 10^8$ の乳酸生成菌の菌数で投与する量とし、5日間投与後2日間休餌後、再度5日間投与（以下5投2休5投）することを1クールとし、2週間に再度5投2休5投を行って、最終投与日終了後30日目までの斃死について比較検討した。また、1才魚では試験区を2区（各区220尾）設け、発病初期に1群を5投2休投与群、もう1群を非投与群として比較検討した。

## 結 果

斃死状況はそれぞれ表1、2に示すとおりであり、ブリ0.1才魚における乳酸生成菌を連鎖球菌症の初期発生期に投与したが、投与後における約1ヶ月間の比

表1 ブリ0才魚における最終投与後30日目までの連鎖球菌症による斃死率

試験区No	投与の有無	斃死率(%)
1	無	38.0
2	有	22.0
3	無	16.0
4	有	19.5
5	無	17.0
6	無	17.0

較では投与における効果的な結果は得られなかった。過去の試験において、感染実験的には感染前の2週間の投与で効果がみられたが、初期の自然発病では投与効果は認められなかったことから、現場での応用については、現状では困難であると思われた。今回は、飼育群としての発病早期であれば、個体別では非感染の個体も多いものと想定し、効果の可能性を検討したが、へい死発生時であれば、早期であっても感染しているか効果の現れにくい程度に健康上衰弱しているものが多い可能性もあると考えられる面もあった。

表2 ブリ1才魚における最終投与後30日目までの連鎖球菌症による斃死率

試験区No	投与の有無	斃死率(%)
1	有	34.4
2	無	30.7

## ま と め

- 1) 過去行ってきた試験から、実験的に数種類の試験物質の中で乳酸生成菌の一種で感染・へい死に対して抑制的効果の可能性があるものと考えられ、人為感染試験では事前の2週間投与することが効果的と判断されたことから、ブリの連鎖球菌症の自然発病時において、初期に乳酸生成菌を投与し、斃死状況についての検討を行った。
- 2) ブリ0.1才魚において比較したが、無投与群とともに約1ヶ月間比較して検討したが、自然発病の効果的な結果は得られなかった。自然発病では人為感染とは異なり、現状では感染後の発病時にしか投与開始することができないため、現場応用については現状では困難と思われた。魚群としての早期の検査手法が今後確立された場合など、非感染の個体が多いと予想される場合に再度検討することも将来的には必要と考えられた。

(担当: 塙原)

## 2. 種苗生産および健苗性向上技術の開発

中田 久・門村和志・安元 進  
中尾貴尋<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>・AtleIvarOlsen<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、マハタなど新魚種の種苗生産技術開発に取り組んでいるが、これらの魚種は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が進んでおらず、水試単独では課題の解決に長時間を要すると考えられる。そのため、技術開発期間の短縮を目的として、親魚のホルモン処理を用いた成熟誘導技術および仔稚魚飼育技術についての基礎部分を大学と共同で研究している。本報では平成13年度中に得た共同研究成果の概要を報告する。

### I. ブリの卵黄形成促進とホルモン投与による排卵誘導

#### 要 約

1. 水温および日長調節による親魚の卵黄形成促進  
環境調節（水温、日長）により、親魚の卵黄形成促進を行うために、4つの環境調節方法（A-D 実験群）を実施し、卵巣卵の成長を比較した。A 群：11月中旬に陸上水槽に収容し、12月1日以降、加温（19°C一定）および長日（16L8D）条件で飼育。B 群：11月中旬に陸上水槽に収容し、12月1日以降、加温（16°C一定）および長日（16L8D）条件で飼育。C 群：1月初旬に陸上水槽に収容し、加温（19°C一定）および長日（16L8D）条件で飼育。D 群：海面生け簀で自然水温、自然日長条件下で飼育。11月における A-D 群の卵巣卵径はいずれも 100-140 μm の無卵黄卵であった。ブリの卵黄形成がほぼ終了する卵径 700 μm に達した時期は、それぞれ、1月31日（A 群）、2月20日（B 群）、2月25日（C 群）および4月21日（D 群）であった。このように、親魚の陸上水槽収容時期と、収容後の水温および日長条件を変えることにより、排卵誘導が可能な卵径 700 μm 以上の親魚を2月以降の目的とする時期に確保できることが明らかとなった。

#### 2. 養成親魚の排卵誘導におけるホルモン投与法の検討

ブリ養成親魚からの人工授精による採卵技術開発の一環として、HCG1 回投与法、HCG プライミング法、および LHRHa コレステロールペレット埋め込み法により排卵誘導を行い、最適なホルモン投与法を検討した。卵黄形成がほぼ終了した雌43個体を用い、各ホルモン投与法により排卵誘導を行った結果、HCG1 回投与法および HCG プライミング法では、ホルモン投与後48時間目から排卵が確認され、その48時間目に大部分の個体の排卵が集中した。一方、LHRHa コレステロールペレット埋め込み法では、やや排卵時間が遅い傾向がみられた。各ホルモン投与法による排卵誘導の結果、採卵量の増大には HCG プライミング法が、浮上卵率や卵質の向上には LHRHa コレステロールペレット埋め込み法が有効であることが確認された。しかし、ホルモン投与時の作業性や多量に使用するホルモンの価格等を総合的に考慮すると、ブリにおける排卵誘導方法としては、HCG1 回投与法が最も簡便で有効であると考えられた。

#### 3. 排卵誘導における HCG 投与時の卵径が排卵時間、卵量および卵質に及ぼす影響

ブリの人工授精による採卵技術の向上を目的として、HCG 投与時の卵径が排卵時間、卵量および卵質に及ぼす影響を調べた。卵径 650-800 μm の養成3歳雌魚33尾に HCG (500IU/kgBW) を投与して成熟および排卵を誘導した。その結果、HCG 投与時の卵径 (D, μm) と排卵までの時間 (T, hour) には、 $T = -0.082D + 105.99(R^2=0.51)$  の式で表わされる明確な負の相関関係が認められ、HCG 投与時に卵径を計測することで、排卵時刻をある時間範囲で正確に予測できることが明らかとなった。また、卵量は卵径 700-800

\*1 九州大学大学院農学研究院

\*2 長崎大学水産学部

$\mu\text{m}$  の個体で約 53 万粒／尾の卵が得られ、650-700  $\mu\text{m}$  の個体ではその半数であった。しかし、排卵直後に人工授精を行えば、いずれの卵径グループでも HCG 投与時の卵径に関わらず良質な受精卵が得られ、種苗生産用受精卵として利用可能なことが明らかとなつた。

#### 4. 人工授精における排卵後経過時間と受精率との関係

ブリの人工授精を行う際の媒精適期を検討するため、排卵後経過時間と受精率との関係を調べた。卵黄形成がほぼ終了した雌親魚 11 個体に HCG (500IU/kg) を投与し、最終成熟および排卵を誘導した。排卵は、HCG 投与後 36-54 時間に起こり、排卵直後の平均受精率は 92.5% と高く、その後時間の経過と共に受精率は低下し、排卵 48 時間後に 16.7% となった。このように、受精率は、排卵された卵の卵巣腔内滞留時間に依存しており、ブリの人工授精で高い受精率の卵を得るためにには、排卵の的確な予測を行い、排卵後短時間のうちに媒精する必要があることが明らかとなった。

(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行った。また、本報告は中田 久ほか 3 名が平成 13 年度日本水産学会国際シンポジウムにおいて研究発表した課題の要旨である。)

## II. ブリの卵成熟誘起ホルモンとその生殖腺受容体

### 要 約

ブリ雌の卵成熟誘起ホルモン (MIH) とその作用機構の解明を目的として、最終成熟期の卵濾胞におけるステロイド合成経路、および卵細胞膜に局在する MIH 受容体の結合特性を明らかにすると共に、本種の MIH を最終的に同定した。また、雄においても雌と同様のステロイドによる配偶子の最終成熟機構が存在するかどうかを調べるため、精巣を用いて膜局在型受容体の解析を行った。

濾胞付き卵母細胞を各種放射標識したステロイドと共に培養した結果、卵の最終成熟期に C17,20-lyase 活性の低下と 20 $\beta$ -HSD 活性の上昇によるステロイド合成系の転換が起こり、種々のプロゲストゲンが時

期特異的に合成された。それらのプロゲストゲンのうち 17,20 $\beta$ -dihydroxy-4-pregnen-3-one (17,20 $\beta$ -P) が、*invitro* において最も高い卵成熟誘起活性を示した。卵細胞膜画分を用いた MIH 受容体の解析を行った結果、本受容体は 17,20 $\beta$ -P に対する高い親和性 ( $K_d=22.9\text{nM}$ ) と特有の最大結合量 ( $B_{max}=2.1\text{pmol/gtissue}$ ) を持つ一種類の結合サイトであることが示された。さらに、本受容体は卵の最終成熟に伴い出現、増加し、卵成熟時に最大となったが、排卵後すみやかに消失した。一方、精巣の細胞膜画分にも 17,20 $\beta$ -P と特異的に結合する受容体が認められ、卵巣の MIH 受容体と非常によく似た結合特性を示した。以上の結果から、ブリの MIH は 17,20 $\beta$ -P であると結論づけられた。さらに、雄においても 17,20 $\beta$ -P が細胞膜局在型の受容体を介して精子の最終成熟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行った。また、本報告は太田耕平ほか 5 名が平成 13 年度日本水産学会国際シンポジウムにおいて研究発表した課題の要旨である。)

## III. オニオコゼの生殖周期とホルモン投与による排卵誘導

### 目 的

我々は、オニオコゼ *Inimicus japonicus* の種苗生産技術開発に取り組んでいる。本研究では、1) 本種の性成熟過程の解明と、2) ホルモン投与による人為的排卵の誘導を試みた。

### 方 法

1) 2000 年 4 月から 2001 年 7 月まで毎月 1 回、長崎県西有家沖において採集した個体より生殖腺を摘出し、生殖腺体指数 (GSI) を算出すると共に、卵径の測定と組織観察を行った。また、血液中の性ステロイド濃度を測定した。2) 平均卵径 763  $\mu\text{m}$  の卵を持つ個体に、LHRHa (100  $\mu\text{g}/\text{kgBW}$ ) または HCG (500IU/kgBW) を投与し、12, 24, 36, 48 時間後に卵径を測定した。異なる卵径 (297-848  $\mu\text{m}$ ) の卵を持つ個体に、LHRHa または HCG を投与し、48 時間後に排卵の確認を行った。

## 結 果

1) 雌の GSI は 4-6 月にかけて増加し, estoradiol- $17\beta$  もこの時期に高い値を示した。卵径  $600 \mu\text{m}$  を超える第 3 次卵黄球期の卵母細胞は 5 月以降に出現した。一方、雄の GSI は 5-7 月にかけて高値を示し、精子形成もこの時期に盛んに行われていた。のことから、本種の産卵盛期は 5-7 月であることが分かった。2) 産卵盛期の個体に LHRHa を投与すると 48 時間後に、また HCG を投与すると 36 時間後に排卵が確認された。異なる卵径の卵を持つ個体に LHRHa を投与すると卵径  $663 \mu\text{m}$  以上、HCG を投与すると卵径  $580 \mu\text{m}$  以上の卵を持つ個体で排卵が確認された。よって、大型の卵母細胞を持つ個体に LHRHa または HCG を投与すると、36-48 時間で排卵を誘導できることが分かった。

(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。また、本報告は野崎亮子ほか 5 名が平成 14 年度日本水産学会において研究発表した課題の要旨である。)

## IV. オニオコゼ仔魚の摂餌選択性

### 目的

オニオコゼ *Inimicus japonicus* は、近年、栽培漁業の対象種として注目されており、量産化のための技術開発が進められている。本種のふ化仔魚は、他の海産魚種と比べて比較的大きい体サイズである。そのため、種苗生産機関によって、開口時からアルテミアを給餌するところ、開口時にはワムシを給餌した後アルテミアに切り替える一般的な餌料系列を行っているところ、などと餌料系列が確立されていない。そこで、本研究では異なるサイズのワムシ 2 株と、アルテミアを給餌することによってオニオコゼ仔魚の摂餌選択性を解明し、本種の餌料系列確立の一助とすることを目的とした。

### 方 法

2001 年 5 月に長崎県沿岸で漁獲された天然魚を 8kl 角形コンクリート水槽に収容し、自然産卵させた。この卵群から得たふ化仔魚を、50L の角型ガラス水槽に 1000 尾収容したものを 6 面設けた。このうち 3 面は、

S 型ワムシ（平均被甲長  $150 \mu\text{m}$ ）、L 型ワムシ（平均被甲長  $200 \mu\text{m}$ ）およびアルテミアープリウスを同時に給餌した。別の 3 面には日令 10 まで S、L 型ワムシを、日令 10 以降は S、L 型ワムシに加えアルテミアを給餌する実験区とした。飼育期間は着底の見られた日令 16 までとし、約 3 日おきに仔魚をサンプリング・固定した。サンプルは標準体長（脊索長）を測定後、実体顕微鏡下で解剖し、消化管内容物から、ワムシおよびアルテミアの個体数の確認とそれらのサイズを測定した。

### 結 果

オニオコゼ仔魚は開口時（4.2mm, 2 日令）には S、L 型ワムシを選択的に摂餌し、体長 5.5mm（13 日令）で完全にアルテミアを摂食するようになった。生残率は、開口時からアルテミアを給餌したものより、開口時から日令 10 まではワムシのみを給餌したものの方が高い傾向を示した。

事業場によっては、オニオコゼの初期飼育をアルテミア単独で行っているところもある。しかし本研究結果からは、少なくとも体長 5mm 前後までは L 型ワムシを、以降はアルテミアを給餌する餌料系列が適しているものと判断された。（本事業は長崎大学水産学部外国人客員研究員 Atle Ivar Olsen 博士、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。）

## 5. ワムシに対するマハタ仔魚の摂餌特性

### 目的

マハタ *Epinephelus septemfasciatus* を含むハタ類の仔魚の種苗生産では初期減耗が大きい。この初期減耗の一因として、マハタ仔魚が他の海産魚に比べて体サイズが小さく、通常の餌料系列がマハタの摂餌特性に適していないことが挙げられる。本研究では、異なるサイズのワムシに対するマハタ仔魚の摂餌特性の解析を行い、マハタ種苗生産の最適餌料系列確立の一助とすることを目的とした。

### 方 法

2001 年 5、6 月に実施した 2 回の種苗生産で、マハタ仔魚の日令 10 までの生残率、日令 20 までの体長とワムシ摂餌数の比較、ワムシサイズに対する仔魚の選

択性の解析を行った。ワムシは、*Brachionus plicatilis* (L型; 平均被甲長  $218\mu\text{m}$ ) と *B. rotundiformis* (S型;  $170\mu\text{m}$ , SS型;  $108\mu\text{m}$ ) の 3 タイプを給餌した。飼育水槽より 2, 3 日おきに仔魚とワムシをランダムにサンプリングした。サンプルの一部はガラス板上で押しつぶしてワムシ摂餌数を計数し、残りはホルマリン固定した。ホルマリン固定標本から、仔魚が摂餌したワムシと飼育水中のワムシサイズを測定し、摂餌選択性を求めた。

### 結 果

マハタ仔魚は、開口直後の日令 4 (平均体長  $2.0\text{mm}$ ) に多くのワムシを摂餌 (平均 4.7 個) した仔魚は、そうでない事例 (平均 0.6 個) よりも良好な成長・生残

を示した。したがって、開口時の摂餌状況の良否が初期生残率に大きく関わっていると考えられた。マハタ仔魚は成長に伴い大きなサイズのワムシを摂餌する傾向を示した。開口時の日令 4 に仔魚は  $110\mu\text{m}$  前後のワムシを多く摂餌していたが、 $150\mu\text{m}$  程度のワムシの摂餌も認められた。日令 7 からは、 $110\sim130\mu\text{m}$  のワムシが消化管内ワムシの 80% を占め、日令 10 から  $170\mu\text{m}$  以上のワムシの摂餌が認められた。このことから、マハタ種苗生産では、開口時に、一般的の種苗生産では使用されていない小型サイズのワムシ (SS型ワムシ) を必要とすることが示唆された。(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。)

## 技術開発のための共同研究推進事業

事務局：企画開発推進室

この事業は、漁業者や水産関係団体等の要望に即した調査研究を積極的に実施する「開かれた試験場」としての機能強化並びに各分野に亘る重要事項への対応を強化するため、他の研究機関や異業種団体等との共同研究を推進し、これまで水産試験場のみでは解決が困難とされていた諸課題の解決促進を図ることを目的とし、平成9年度から実施している。

平成13年度は、次の9課題を選定し、大学等関係機関との共同研究を行ったので、その概要を報告する。

共同研究課題名	担当科	関係機関
(1)乳酸生成菌添加飼料投与ブリの感染防御試験	病害科	日本獣医畜産大学
(2)種苗生産および健苗性向上技術の開発	種苗量産科	長崎大学、九州大学
(3)赤潮種シャットネラのアサリに与える影響について	種苗開発科	長崎大学
(4)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	環境養殖科	九州大学、長崎大学
(5)細菌性疾病に対する免疫機構の基礎研究	病害科	長崎大学
(6)マハタのVNN（ウィルス性神経壊死症）の防除対策に関する研究	病害科	広島大学
(7)藻食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	種苗開発科	水産大学校、西海区水産研究所
(8)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	加工科	長崎大学
(9)魚介類の高品質保持技術開発試験	加工科	長崎大学

### 3. 赤潮種シャットネラのアサリに与える影響

藤井 明彦・熊本 修<sup>\*1</sup>・石松 悅<sup>\*1</sup>

長崎県北高来郡小長井町地先の干潟域で養殖されているアサリが、平成10～12年の夏季に3ヵ年続けていずれもシャットネラ アンティカ *Chattonella antiqua* を主な構成種とする赤潮の発生直後に大量斃死する現象が観察された。平成12年はシャットネラ赤潮が発生した直後から、アサリの斃死状況を調査し、併せて漁場で採取したシャットネラ アンティカや室内で培養されたシャットネラ マリーナ *Chattonella marina* を用いてアサリを曝露し、シャットネラ赤潮がアサリを斃死させることを明らかにした。

そこで、本研究では、シャットネラ赤潮によるアサリの斃死機構を明らかにする目的で引き続き曝露実験等を行った。

#### 方 法

##### 実験Ⅰ 培養期間が異なるシャットネラによるアサリの曝露実験

曝露実験は、実験中の斃死個体の腐敗による影響を避けるため20mlビーカーにアサリ（殻長31mm）1個体ずつを収容し、合計10個体のアサリを用いて行った。シャットネラは室内で培養されたシャットネラ マリーナを用い、植え継ぎ後11日以内の対数増殖期のもの（対数増殖期区）と植え継ぎ後20～25日経過した定常期のもの（定常期区）で、それぞれにアサリを曝露し生残率を比較した。実験中の細胞密度は25,000cells/mlに調整し、実験期間中のシャットネラのO<sub>2</sub>産生量は化学発光法による発光強度をルミノメータ（大日本製薬（株）LUMINOMETER）で測定した。なお、水温は30℃に設定した。

##### 実験Ⅱ 光条件が異なるシャットネラ海水によるアサリの曝露実験

実験Ⅰと同様な実験方法で、対数増殖期のシャットネラ マリーナを用い、連続明期で曝露する区と連続暗期で曝露する区を設けて行った。明期は白色蛍光灯で照度5,000～8,000lxとした。

##### 実験Ⅲ アサリの鰓の組織学的観察

平成12年8月に漁場で採取された斃死個体や曝露実験で斃死した個体のブアン固定標本の鰓組織を観察した。鰓組織の観察は、外鰓葉を切り出し、テクノビット（Technobit7100, Kulzer）で樹脂包埋を行い、3～4μmの組織切片を作成後、トルイジンブルー染色を施した。

#### 結 果

実験Ⅰ 120時間後の生残率は、対数増殖期区が0%，定常期区が30%であったが、検定の結果、生残率に有意な差は認められなかった。一方O<sub>2</sub>産生量は対数増殖期区21.8、定常期区14.7となり、検定の結果、これには有意な差が認められた。この結果、O<sub>2</sub>産生量の相違は生残率に大きな影響を及ぼすほどの差ではないと考えられた。

実験Ⅱ 120時間後の生残率は、明期、暗期ともに0%で、両区に有意な差は認められなかった。光条件はアサリの斃死に大きな影響を及ぼさないものと考えられた。

実験Ⅲ 漁場で採取した斃死個体とシャットネラに曝露して斃死した個体いずれにも鰓上皮細胞膜の剥離、壊死がみられ、曝露生存個体にも鰓表面に粘液物質が付着していた。

#### ま と め

- 1) シャットネラのO<sub>2</sub>産生量の相違はアサリの生残率に大きな影響を及ぼすほどの差ではないことが分かった。
- 2) 魚類の斃死とは異なり、光条件はアサリの斃死に影響を及ぼさないことが分かった。
- 3) シャットネラ斃死アサリで鰓上皮細胞膜の剥離、壊死が観察された。

（担当：藤井）

\*1 長崎大学水産学部

## 4. 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

閉鎖性海域では、慢性的な湾内水の停滞に起因した水質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、長崎大学と共同で調査研究を実施している。

本年度は、港口部の2区域に計60基の海底ブロックを設置し、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。

### 方 法

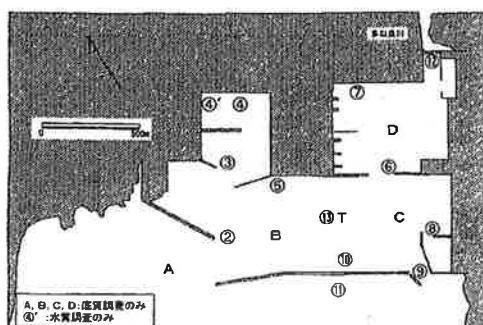


図1 調査定点の概要

水質調査は、海底ブロック（以下ブロック）設置前の平成13年5月28日、設置後の6月26日、7月24日、8月22日、9月20日、10月22日、12月3日、平成14年1月31日の8回、図1に示した12定点で行った。

底質調査は、7月13日、10月1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。

潮流調査等 潮流は、夏季および冬季にそれぞれ45日間、湾央部等に電磁流速計およびADCPを設置し、観測を行った。

また、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。

### ブロックの設置等

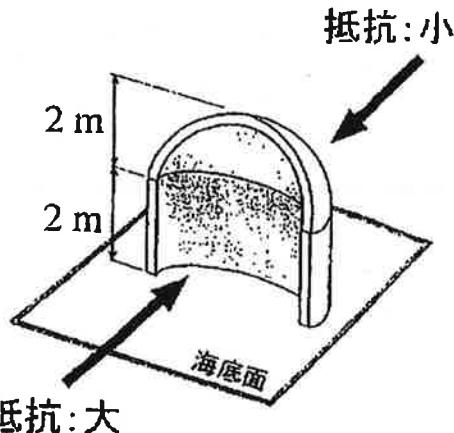


図2 海底ブロックの概略図

ブロックは、図2に示すように高さ4m、幅4m、上部が鋼鉄製の1/4球形、下部がコンクリート製の1/2円筒形で、凸面から凹面方向の流れを促進し、凹面から凸面方向の流れを抑制する構造になっている。

ブロックの設置は、平成13年5月28日から6月1日の間に実施し、図3に示すように、港口部のStn.9周辺には港内への流入促進方向に15基、Stn.2周辺には港外への流出促進方向に45基を配置して、堤防を中心に反時計回りの残差流が生成されたようにした。

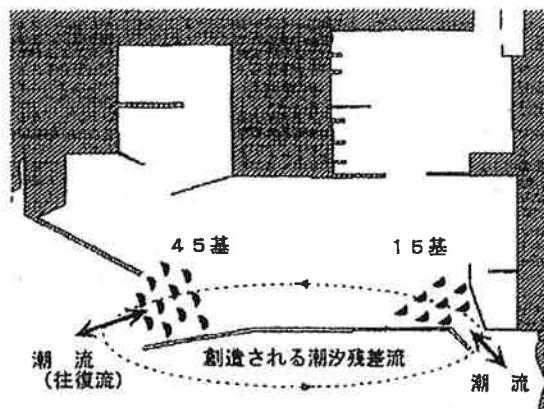


図3 海底ブロックの設置概略図

## 結 果

**水質(COD)** 主要調査点の推移を図4に示した。区域別にみると、港外(Stn.11)は0.18~0.98mg/L、港口部(Stn.2, 9)は0.10~0.90mg/L、港央部(Stn.5, 10)は0.03~1.02mg/L、港奥部(Stn.4, 7)は0.03~1.12mg/Lの範囲で推移し、ほとんどが水産用水基準(1mg/l以下)を満たしていた。時期別には、総じて12月が高め、港奥部では6~7月も高めであり、層別には下層がやや高めであった。

これらの調査点におけるブロック設置後の6月下旬以降の値を昨年同時期の値と比較して図5に示した。昨年同時期より高い値を示したのは、上層では6月のStn.10(港央部)、12月のStn.9(港口部)、Stn.10(港央部)、Stn.7(港奥部)、下層では6月の港口部(Stn.2)、港央部(Stn.5)、港奥部(Stn.4, 7)、8月の港央部(Stn.5)、12月の港口部(Stn.9)、港央部(Stn.10)、港奥部(Stn.7)であった。湾奥部では2倍以上の値もみられたが、ブロックの影響範囲と考えられる湾口部および湾央部ではほとんどが昨年より低い値を示しており、年変動を考慮する必要はあるが、ブロックの設置により港外との海水交換が促進されていることがうかがえた。

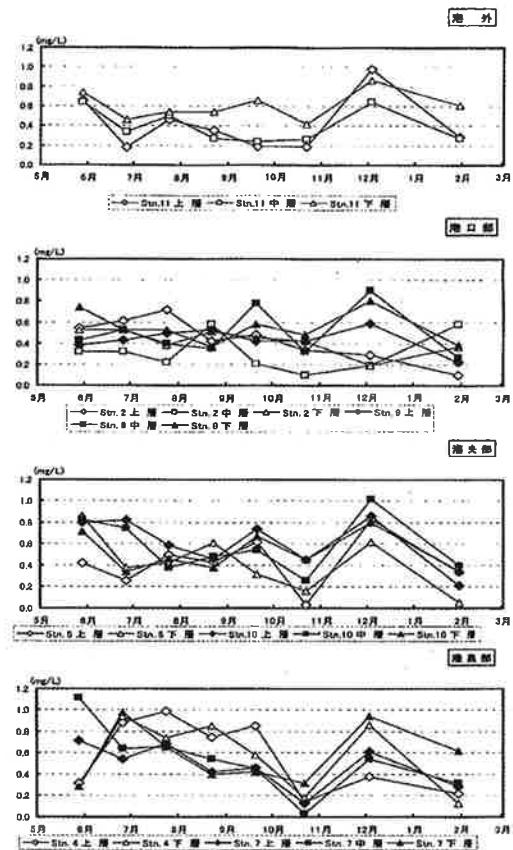


図4 水質CODの推移

**底質 COD, 全硫化物** の分析結果の概要を表1に示した。

区域別にみると、CODは、港外が7月1.35~9.83mg/g乾泥、10月1.68~6.72mg/g乾泥、港口部が7月5.11~6.30mg/g乾泥、10月4.72~11.53mg/g乾泥、港央部が7月2.63~15.13mg/g乾泥、10月3.80~15.06mg/g乾泥、港奥部が7月3.83~25.04mg/g乾泥、10月5.03~34.18mg/g乾泥で、港口部を除き10月が高めであり、港奥部の一部では水産用水基準(COD20mg/g乾泥)を上回り、特に10月のStn.12では高い値を示した。

全硫化物は、港外が7月0.034~0.113mg/g乾泥、10月0.010~0.040mg/g乾泥、港口部が7月0.083~0.146mg/g乾泥、10月0.030~0.222mg/g乾泥、港央部が7月0.022~0.299mg/g乾泥、10月0.024~0.196mg/g乾泥、港奥部が7月0.074~0.332mg/g乾泥、10月0.037~0.807mg/g乾泥で、港奥部を除き10月が低めであり、COD同様、港奥部の一部で水産用水

基準（全硫化物 0.20mg/g 乾泥）を上回っており、特に 10 月の Stn.12 では高い値を示した。

また、COD、全硫化物とも 10 月の港外を除き、ほとんどの調査点で昨年同時期に比べて高めであった。

表 1 底質の分析結果概要

調査年月日	H13. 7.13	H13.10. 1
COD		
港 外	1.35 ~ 9.83 ( 5.59 )	1.68 ~ 6.72 ( 4.20 )
港口部	5.11 ~ 6.30 ( 5.71 )	4.72 ~ 11.53 ( 8.26 )
港央部	2.63 ~ 15.13 ( 9.48 )	3.80 ~ 15.06 ( 9.41 )
港奥部	3.83 ~ 25.04 ( 11.99 )	5.03 ~ 34.18 ( 12.39 )
全硫化物		
港 外	0.034 ~ 0.113 ( 0.074 )	0.010 ~ 0.040 ( 0.025 )
港口部	0.083 ~ 0.146 ( 0.115 )	0.030 ~ 0.222 ( 0.103 )
港央部	0.022 ~ 0.299 ( 0.141 )	0.024 ~ 0.196 ( 0.108 )
港奥部	0.074 ~ 0.332 ( 0.182 )	0.037 ~ 0.807 ( 0.282 )

単位 : mg/g 乾泥 ( ) は平均値

港内について、昨年と、ブロック設置後の本年の 7 月と 10 月の値を比較して図 5 に示した。

CODについてみると、昨年は全ての区域で 10 月の値と 7 月の値はほぼ同等かそれ以下であったが、本年は、港央部と港奥部の一部で 10 月の値が 7 月の値に比べて高めであった。

全硫化物についてみると、昨年は港央部の一部で 10 月の値が 7 月の値に比べて高めであったが、本年は港奥部の一部を除き 10 月の値が 7 月の値に比べて同等かそれ以下であった。

これらのことから、年変動を考慮する必要はあるが、湾奥部では、汚染が進行しているものの、湾央部から湾口部にかけてはブロック設置後は湾外との交換等による環境改善が促進されていることがうかがえた。

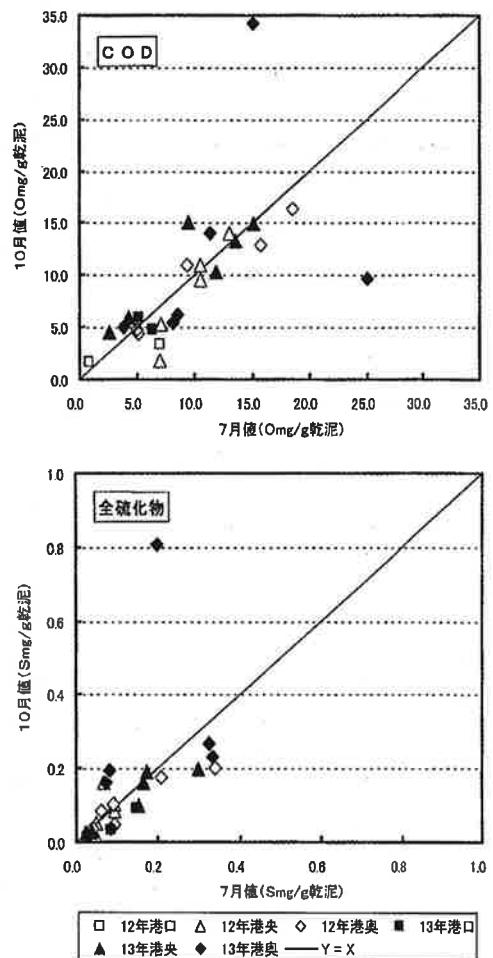


図 5 底質の比較 (12 年, 13 年)

潮流等\*1 湾央部の Stn.13 における潮流についてみると、昨年に比べて、主要 4 分潮 ( $O_1$ ,  $K_1$ ,  $M_2$ ,  $S_2$ ) の潮流幅円が大きくなっている、恒流成分も、堤防周りを反時計回りに速くなっていることが認められた。

また、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、昨年同様、観測を開始した 5 月上旬には弱い水温成層が確認され、8 月上旬には 30 °Cまで上昇した後、成層は中旬には弱り始め下旬にはほぼ消滅した。一方、昨年は 7 月に低気圧等により鉛直循環が起こったが、再び成層化し 8 月下旬に 28°C 間で上昇した後、9 月上旬にはほぼ消滅した。このように、本年は水温が高かったにもかかわらず、水温成層の形成が弱かったのは、ブロック設置により湾外との海水交換が促進されたためと考えられた。

## ま と め

- 1) 方向抵抗性をもつ海底ブロックを設置し、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) 本年度は平成13年5月29日から6月1日にかけて港口部2区域に計60基の海底ブロックを設置するとともに、設置前後の環境を把握するための水質等の調査を平成13年5月から平成14年1月の間実施した。
- 3) 水質のCODは、0.03~1.12mg/Lの範囲で推移し、総じて水産用水基準(1.0mg/l以下)を満たしていた。また、海底ブロック設置後の6月下旬以降の湾口部および湾央部の値は、ほとんどが昨年同時期の値より低めであった。
- 4) 底質は、CODが1.35~34.18mg/g乾泥、全硫化物が0.010~0.807mg/g乾泥で、10月の港外を除きほとんどが昨年同時期より高めであり、湾奥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。
- 5) 港内における底質のCOD、全硫化物について、7月と10月の値を比較すると、昨年は湾央部の一部で10月の値が7月の値より高めであったが、本年は湾奥部の一部を除きほとんどが10月の値が7月の値より低めであった。
- 6) 潮流については、昨年に比べて湾央部の主要4分潮の潮流幅円が大きくなっている、堤防周りの反時計回りの恒流も速くなっていることが認められた。
- 7) 湾央部の水温成層は、5月上旬から8月下旬にみられたが、昨年に比べ、最高水温が2°C高めであったにもかかわらず、形成が弱く、期間も短かった。
- 8) 海底ブロック設置前後の水質、底質、潮流等の変化からみると、年変動を考慮する必要はあるものの、海底ブロック設置により、港央部の海水交換が促進されていることがうかがえた。

(担当:矢田)

---

\* 1 中島広貴他 平成14年度日本水産工学会学術講演会講演論文集, 51~52 (2002)

## 5. 細菌性疾患に対する免疫機構の基礎研究

塚 原 淳一郎

海産魚の細菌性疾患については、一部の疾患に対してワクチンが実用化されているが、多くの疾患はまだ開発されていない。本研究では、まだ技術が確立されていない疾患について予防対策技術開発に関する基礎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。対象疾患はブリの類結節症、ヒラメのエドワジエラ症・連鎖球菌症とし、今年度は基礎的な予備検討を行った。

### 方 法

**ブリの類結節症の予防免疫に関する基礎検討** 今後の免疫関連の試験を行う為の試験として、ブリ0才魚を供試魚とし、類結節症の原因菌 *Pasteurella piscida* の菌浴法による攻撃方法の検討、新鮮株と継代株による毒力の差異等についての予備的検討を感染試験により行った。

**ヒラメのエドワジエラ症・連鎖球菌症の予防免疫に関する基礎検討** ヒラメのエドワジエラ症の原因菌 *Edwardsiella tarda* を用いた試作ワクチンを作成し、ヒラメ0才魚を供試魚とし、感染試験により免疫効果の可能性について比較検討した。原因菌から作製した試作ワクチンを注射法により投与2週間後に浸漬法で人為感染させる手法にて比較した。試験は2回実施し、1回目の試験では  $4.0 \times 10^7$  CFU/100gBWの菌数で浸漬攻撃後、攻撃後30日間の生残を比較した。2回目の試験では  $2.7 \times 10^8$  CFU/100gBWの菌数で浸漬攻撃後、31日間の生残を比較した。

また、ヒラメの連鎖球菌症の原因菌 *Streptococcus iniae* を用いた試作ワクチンを作成し、ヒラメ0才魚を供試魚とし、感染試験により免疫効果の可能性について比較検討した。原因菌から作製した試作ワクチン ( $10^{10}$  CFU/mL) を注射法により魚体重100gあたり0.1mL腹腔内接種した。対照区(非免疫区)と免疫区(試作ワクチン区)を設け、両区とも20尾供試した。2週間後に原因菌を懸濁した海水 ( $1.7 \times 10^7$  CFU

/ml) にヒラメを20分間浸漬して攻撃し、斃死を27日間比較した。また、攻撃後における両区の魚体内における攻撃菌の消長を調べるとともに、免疫したヒラメの血清についての防御因子についての検討も行った。

### 結 果

ブリの類結節症の予防免疫に関する基礎検討 注射法により、継代株では病原性の低下、新鮮株では  $10^3$  CFU/100gBWの接種でも強い病原性が認められた。(表1)

表1 注射法による新鮮株と継代株のへい死の差異

	接種菌量 (CFU/100gBBW) 別の生残率			
	$10^7$	$10^5$	$10^3$	10
新鮮株	100	100	100	40
継代株	0	0	0	0

ヒラメのエドワジエラ症・連鎖球菌症の予防免疫に関する基礎検討 エドワジエラ症の1回目の試験における生残率は、対照区(非投与区)58%に対し、ワクチン試験区(投与区)は58~79%の範囲であった。2回目の試験では、対照区(非投与区)45%に対し、ワクチン試験区(投与区)は50~70%であった。

連鎖球菌症についての試験では、斃死数は対照区が9尾、免疫区2尾であり、試作ワクチンについては効果の可能性が示された。また、免疫後において原因菌を接種して魚体内的菌の消長を調べた結果、非免疫魚は24時間後も菌数が増加して斃死がでたが、免疫魚は24時間以降菌数が減少し、96時間以降は検出限界以下となった。さらに、免疫後に攻撃したヒラメの血清を採取してイオン交換クロマトグラフィーにて分画したものにヒラメの感染防御能に影響する活性化因子と考えられるものが認められた。

## ま と め

- 1) ブリの類結節症、ヒラメのエドワジエラ症・連鎖球菌症に関する予防免疫の予備的検討を行った。
- 2) ブリの類結節症の試験では、注射法では継代株の病原性の低下する傾向があったが、寄生虫の影響で菌浴法は試験では検討できなかった。従って、引き続き試作ワクチンの作成や効果判定の為の基礎検討を行っていくことが課題である。
- 3) ヒラメのエドワジエラ症の試験では、試作ワクチンでの顕著な効果は認められず、さらに試作ワクチンの作成方法や再現性等の検討が課題である。
- 4) ヒラメの連鎖球菌症については、予防免疫の可能性が認められ、今後は免疫機構の詳細な把握による予防手法の確立が課題である。

(担当：塚原)

## 6. マハタのVNN（ウイルス性神経壞死症）の防除対策に関する研究

高見 生雄・杉原 志貴・塙原淳一郎

マハタのVNNのワクチンとして開発がなされている組換え外皮タンパク質のワクチンとしての有効性について広島大学との共同研究で検討した。

### 方 法

広島大学において大腸菌の発現系を用いて作製されたマハタ病魚由来ノダウイルス(SGMie95株)の外皮タンパク質をワクチンとして、感染実験を反復して実施した。供試魚には、長崎県総合水産試験場で2001年に生産されたマハタの人工種苗を用い、第1系列の試験では平均体重14.0g、平均全長86.5mm、第2系列の試験では平均体重13.7g、平均全長86.7mmであった。試験区は、ウイルス外皮タンパク質を筋肉内接種(タンパク量50μg/尾)した「ワクチン区」、大腸菌由来タンパク質を筋肉内接種(タンパク量3μg/尾)した「タンパク区」、PBSを筋肉内接種した「対照区」の3区とした。(表1)供試魚は、1区あたり20尾を200Lパンライト水槽に入れて温度調節をせず、流水で飼育した。試験期間中の水温は27.4°Cから23.9°Cで、ウイルス接種時の水温は26.6°Cであった(図1)。ワクチンの接種は2回行い、1回目の接種から10日後に追加接種を行った。ワクチン区へのワクチン接種と同時にタンパク質区への大腸菌由来タンパクの接種と対照区へのPBSの接種も行った。2回目のワクチン接種から13日後に2001年8月に長崎県対馬で養殖さ

表1 試験区別平均全長とワクチン接種量

試験区	ワクチン区	タンパク区	対照区
第1系列	9.0cm	8.3cm	8.6cm
第2系列	8.6cm	8.7cm	8.8cm
接種物質	ウイルスの外被タンパク質+PBS(-)	大腸菌由来のタンパク質+PBS(-)	PBS(-)
接種量	50μg/0.1mL/尾	3μg/0.1mL/尾	0.1mL/尾

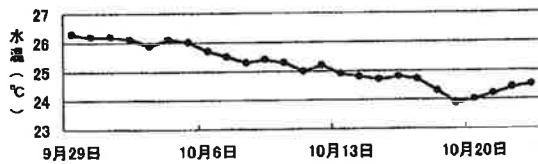


図1 試験期間の水温

れていたマハタから分離されたウイルスを $10^{4.5}$ TCID<sub>50</sub>/尾になるように全ての試験区の供試魚に接種した。ウイルス接種から25日間死亡状況を観察し、死亡魚は-80°Cで凍結保存し、後日RT-PCR法によりウイルス遺伝子の検出を行った。ワクチンの効果の有無についての判定は、はじめに各試験区の最終死亡率を求めて、次いでFisherの直接確立計算法によりおこなった。また、ワクチンの効果がどの程度あるかを知るために、次式により有効率を求めた。

$$\text{有効率} = 1 - (\text{ワクチン区の死亡率} / \text{対照区の死亡率})$$

### 結 果

試験期間中に死亡した全ての供試魚から、RT-PCR法によりVNNウイルスの遺伝子が検出され感染実験が成立したことが確認された。対照区とタンパク区の死亡率には大差無く、大腸菌由来のタンパク単独ではワクチン作用が無いことがわかった。また、対照区とワクチン区を比較した場合、偶然の確率は、第1系列で0.4%、第2系列では22.6%であった。(表2)この結果を危険率5%で判定すると第1系列ではワクチンは有效、第2系列では無効と判定された。有効率は第1系列が42.1%、第2系列が17.7%といずれも低い値であった。

表2 試験結果の一覧

系列	試験区	死亡率	偶然の確率	有効率
第1系列	ワクチン区	55%	0.4%	42.1%
	タンパク区	95%		
	対照区	95%		
第2系列	ワクチン区	70%	22.6%	17.7%
	タンパク区	90%		
	対照区	85%		

これらの結果から、このワクチンは有効ではあるが、今回の使用方法では、十分な効果が得られないことがわかった。今後、試験の方法を含めて使用方法についてのさらなる検討が必要と考えられた。

## ま と め

- 1) マハタ病魚由来ノダウイルス (SGMie95 株) の外皮タンパク質のワクチンとしての有効性について検討した。
- 2) 大腸菌由来タンパク質単独では、ワクチンの効果は認められず、外皮タンパク質はワクチンとしての効果が認められたが、その有効率は低かった。
- 3) 今後、ワクチン接種方法の検討とウイルス攻撃試験方法の検討が必要である。

(担当:高見)

## 7. 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（西海区水研）

平成13年度から、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実施した。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。供試した海藻は、摂食され難い種としてノコギリモク、やや摂食され難い種としてヨレモク、対照として摂食され易いヤツマタモク、さらに長崎県沿岸で近年増加傾向にある南方系種のマジリモクの4種で、これらを水産試験場で移植用基質に人工採苗して用いた。

移植試験は、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）上に移植用プレートを装着し、4種の海藻を1組として4組設置し、併せて食害防護策として、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。

移植は8月23日に行い、9月、11月、翌年3月に観察を行ったが、魚類の食害による消失はみられず、今回の3月までの実験結果からは、食害策として設置した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差は認められず、食害に対する有効性については明らかにすることはできなかった。

## 8. 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向かないため、その活用が課題となっている。そこで本研究では、これらの有効利用を図る目的で、カタクチイワシを原料に、醤油麹を用いて魚醤油の製造を試みた。また、これらと市販魚醤油および大豆醤油の品質を比較した。

### 実験方法

**試料** 本研究では魚醤油の試料として、カタクチイワシを用いた。また、市販魚醤油（有限会社カネツル砂子商店製 かつお醤・さけ醤、株式会社ホクチンHC製 よしる・いしり、株式会社姥米水産加工製 いか魚醤）および大豆醤油（キッコーマン株式会社製）を比較魚醤油とした。

### 魚醤油の製造

**もろみの製造** もろみ製造手順は図1に示した。本研究では、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。すなわち、カタクチイワシのラウンド肉をミートショッパー（南常鉄工業製 M-22型）を用いて細

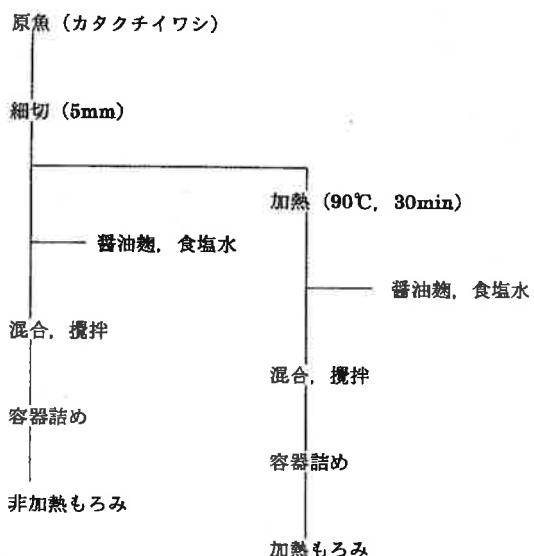


図1 もろみの製造手順

切し、醤油麹と20%食塩水を加えて混合したものを作成した。また、細切したラウンド肉の一部を加熱（90°C、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°C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。

**魚醤油の調製** 魚醤油の調製手順は図2に示した。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°C、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。

### 魚醤油の成分分析

**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。

**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。

\*長崎大学水産学部

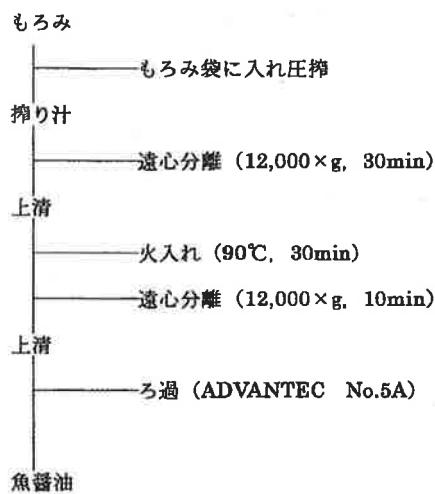


図2 魚醤油の調製

**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。

**全窒素** 魚醤油 2ml を量り取り, Kjeldahl 法で測定した。

**ホルモール窒素** 醬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 ピーカーに入れた。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 (t ml)。ホルモール窒素 (%) =  $t \times F \times 0.28$  (F=1/10 水酸化ナトリウム溶液のファクター)

**SOD 標活性** SOD 標活性はルミノメーター (アトーブル株式会社製 AB-2200) を用いて測定した。即ち, 試験管に  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  Buffer を 180  $\mu\text{l}$ , キサンチンオキシダーゼ溶液 60  $\mu\text{l}$ , 発酵試薬である 2-メチル-6-P-メトキシフェニルエチニルイミダゾピラジノン溶液を 20  $\mu\text{l}$  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  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  Buffer を減らして測定した。

**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。

### 結 果

色調  $L^*$ ,  $a^*$  および  $b^*$  値の結果を図 3~5 に示した。 $L^*$ ,  $a^*$  および  $b^*$  値は, いずれの魚醤油にも緩やかな低下が認められた。

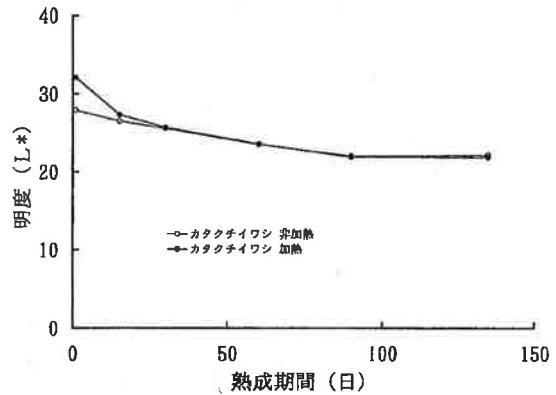


図3 明度 ( $L^*$ ) の経日変化

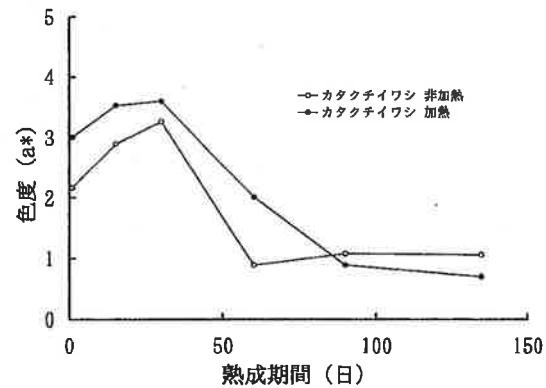


図4 色度 ( $a^*$ ) の経日変化

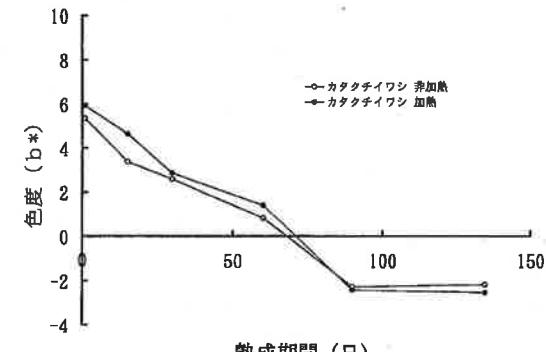


図5 色度 ( $b^*$ ) の経日変化

**固体物含量** 固体物含量の結果を図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。

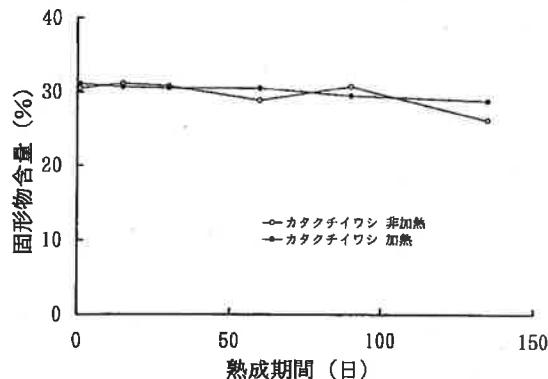


図6 固体物含量の経日変化

**無塩可溶性固体分** 無塩可溶性固体分の結果を図7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。

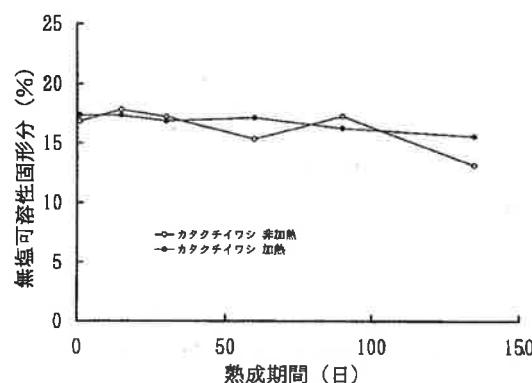


図7 無塩可溶性固体分の経日変化

**全窒素** 全窒素の結果を図8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。また、加熱のほうが高い傾向にあった。

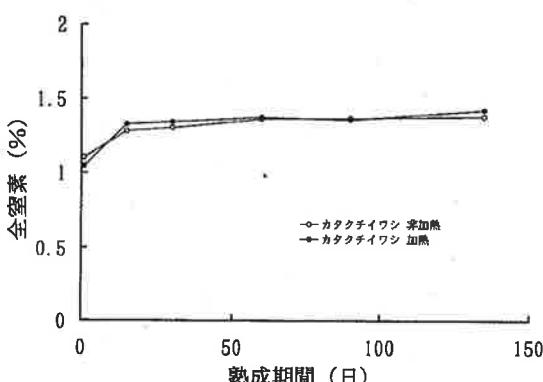


図8 全窒素の経日変化

**ホルモール窒素** ホルモール窒素の結果を図8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。また、非加熱が高い傾向にあった。

**SOD様活性** SOD様活性の結果を図9に示した。SOD様活性はいずれの魚醤油も徐々に増加した。熟成初期は非加熱のほうが高い値を示したが、熟成90日目で加熱のほうが高い値を示した。

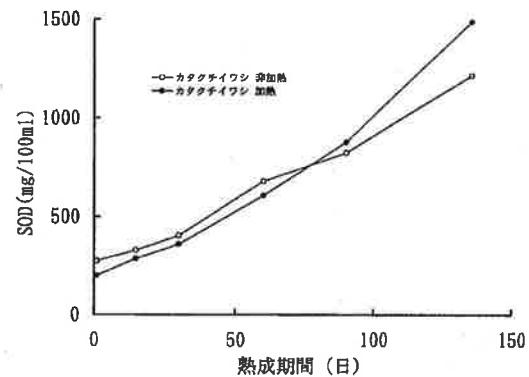


図9 活性酸素消去能の経日変化

**遊離アミノ酸** 表1および2にアミノ酸の経日的変化を示した。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。

表1 魚醤油熟成中における遊離アミノ酸(カタクチイワシ、非加熱)

	1日	15日	30日	60日	90日	135日
Asp	237	503	638	532	718	335
Glut	362	680	789	744	883	461
His	252	288	274	205	284	135
Lys	416	440	493	400	445	285
NH3	50	76	114	274	98	633
Arg	283	361	414	278	410	N.D.
Tau	95	99	120	80	116	75
Thr	263	371	350	216	323	125
Ser	160	292	306	220	326	122
Pro	143	223	244	182	258	108
Gly	78	162	184	151	235	86
Ala	274	417	381	302	488	190
Cys	24	25	N.D.	14	N.D.	N.D.
Bal	230	381	371	288	407	172
Met	153	184	172	134	177	90
Ile	200	308	325	240	355	150
Leu	423	525	530	380	667	242
Tyr	157	209	208	166	168	108
Phe	241	264	271	209	305	142
Total	4058	5781	6182	5024	6542	3444

表2 魚醤油熟成中における遊離アミノ酸(カタクチイワシ、加熱)

	1日	15日	30日	60日	90日	135日
Asp	169	410	481	568	601	689
Glut	285	577	669	780	858	924
His	199	245	254	235	239	243
Lys	312	450	430	400	420	483
NH3	42	69	104	143	144	161
Arg	231	353	380	361	372	346
Tau	84	93	94	92	91	105
Thr	204	311	294	264	250	255
Ser	129	250	260	266	265	257
Pro	108	188	197	206	183	176
Gly	65	156	191	182	214	217
Ala	204	389	388	382	371	409
Cys	10	21	17	N.D.	N.D.	N.D.
Bal	182	313	349	335	346	363
Met	112	168	173	160	151	157
Ile	138	283	296	288	302	321
Leu	321	478	504	467	473	510
Tyr	107	187	210	176	163	133
Phe	168	233	264	241	255	273
Total	3048	5153	5551	5524	5875	6037

N.D.: not detected.

市販魚醤油および大豆醤油の成分分析 成分分析の結果は表3に示した。熟成に醤油麹を用いない、よしるおよびいしりの塩分および固形物含量が高い値を示した。いずれの市販魚醤油も大豆醤油よりpH、全窒素およびホルモール窒素が高い値を示した。

遊離アミノ酸では、いずれの魚醤油も大豆醤油より遊離アミノ酸は多く含まれていた。アミノ酸組成では、リジン、スレオニン、グリシン、バリン、およびタウリンが大豆醤油よりも多く含まれていた。

SOD様活性では、カタクチイワシ魚醤油が、非加熱および加熱とともに、他の市販品に比較して高い値を示した。

## ま と め

- 1) カタクチイワシは、魚醤油の原料として優れてい る。
- 2) カタクチイワシ魚醤油は、他の市販醤油に比較して老化を防ぐ働き(SOD様活性)が高いことが明 らかになった。
- 3) 熟成には室温(23°C)で、4.5ヶ月から半年を要 することが明らかになった。
- 4) 原料を仕込み前に加熱するか否かは、カタクチイ ワシ魚醤油の場合、製品の品質には殆ど影響しない ことが明らかになった。

(担当: 大迫)

表3 市販魚醤油および大豆醤油の化学成分

	かつお醤	さけ醤	よしる	いしり	いか魚醤	大豆醤油	カタクチ非加熱	カタクチ加熱
明度(L*)	20.24	20.71	20.7	19.84	19.68	19.60	22.13	21.86
色度(a*)	1.26	2.04	1.78	0.09	-0.60	-0.66	1.06	0.70
色度(b*)	0.59	1.27	1.26	0.02	-0.19	-0.25	-2.17	-2.53
比重(g/ml)	1.15	1.15	1.21	1.19	1.12	1.15	1.14	1.14
pH	5.64	5.45	5.29	5.20	5.04	4.90	5.25	5.21
塩分(%)	17.60	15.30	30.60	26.20	14.60	18.40	13.10	13.30
固形物含量(%)	31.20	29.50	35.60	33.50	25.00	29.40	26.18	28.81
無塩可溶性固形分(%)	13.60	14.20	5.00	7.30	10.40	11.00	13.08	15.51
全窒素(%)	2.18	1.91	1.92	1.83	1.75	1.49	1.38	1.42
ホルモール窒素(%)	1.61	1.42	1.38	1.37	1.12	0.93	0.85	0.79
SOD様活性(units)	139.75	120.11	85.28	434.28	191.02	379.07	594.17	726.6

## 9. 魚介類の高品質保持技術開発試験

野中 健・朴 守煥\*・功力 茂\*・石矢朋子\*  
小西秀一\*・山口 陽・清原 満・橋 勝康\*

### I. マアジの保存温度と致死条件が生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、高値で取引が行われるため、死後硬直の進行は価格形成に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、高値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、(1) 保存温度による影響と(2) 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** 天然のマアジ(体長27~36cm, 体重390~660g)を網イケス(水温16°C)内で約10日間畜養したもの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。  
**保存温度** 保存温度による影響試験では、神経抜き(致死方法の詳細については致死条件で述べる。)した試料魚の片身をフィレーに、もう片身はそのまま(頭、骨、内臓の付いた状態)でポリエチレン袋に入れ、氷蔵と5, 10, 15°Cの恒温水槽にそれぞれ保存した。

また、致死条件の違いによる影響試験での保存温度はすべて10°Cとした。

なお、フィレーは破断強度の測定に、片身はATP関連化合物、乳酸、グリコーゲンの測定に用い、経時に背部普通筋を対象に測定した。

**致死条件** 以下で述べる5種類の方法で致死させた。即ち①神経抜き: 延髓刺殺後、脊髄をピアノ線で破壊し血抜き ②延髓刺殺: 延髓を刺殺し血抜き ③苦悶死: 空中に10分間放置 ④海水氷: 海水に角氷を入れた中に10分間放置 ⑤シャーベット状氷: 海水にシャーベット氷を入れた中に10分間放置の5種類である。

なお、苦悶死、海水氷、シャーベット状氷の各致死方法はそれぞれの条件下で10分間放置後、延髓を破壊し保存した。

**測定方法** 破断強度は採肉した筋肉の筋原線維の方向

に対して垂直方向にプランジャーを挿入して行った。測定機器は山電社レオナーRE3305で、直徑5mmの円柱型プランジャーを用い、プランジャー速度1mm/sec, クリアランス3mmで行った。ATP関連化合物はHPLC法<sup>1)</sup>、乳酸はHohorst法<sup>2)</sup>、グリコーゲンはアントロン硫酸法<sup>3)</sup>により測定した。

#### 結果及び考察

##### (1) 保存温度による影響

**破断強度の変化** 各保存温度における破断強度の経時変化を図1に示した。氷蔵では24時間目まで緩やかに低下し、それ以降では低下が認められなかった。5~15°C各保存温度での経時変化はレベルの違いは認められたがその変化の様相は似ていた。破断強度のレベルを各保存温度で比較すると、5°C > 10°C > 氷蔵 = 15°Cであった。

**ATP-AMP三合計値** ATP, ADPおよびAMPの合計値(以後三合計値)の経時変化を図2に示した。すべての区で即殺直後では三合計値は約90%以上と高値を示し、氷蔵では即殺直後から急速に低下し、48時間後にはほとんど検出されなかった。他の保存温度でもその様相は似ていたが、その減少速度に違いが見られた。即ち、氷蔵は最も早く、次いで5°Cと15°Cで、10°C保存は他と比べて非常に緩やかであった。

**IMPの変化** IMPの経時変化を図3に示した。氷蔵では先の三合計値と反比例して速やかに保存約18時間で約85%の最大に達した後、若干の低下がみられた。5°C保存では氷蔵より上昇が遅く、保存24時間で約85%の最大値に達した。10°C保存では上昇が最も遅く緩やかで保存48時間で最大値約85%に達した。15°C保存では氷蔵や5°C保存より上昇速度は若干遅いが保存18時間で最大値約85%に達し、その後48時間で約70%に低下した。

**K値の変化** K値の経時変化を図4に示した。氷蔵、5°C, 10°C保存とも緩やかに上昇し、保存24時間までは

\*長崎大学水産学部

明確な差を認めなかつたが、48時間保存後におけるレベルは $5^{\circ}\text{C} < \text{氷藏} < 10^{\circ}\text{C} < 15^{\circ}\text{C}$ であった。 $15^{\circ}\text{C}$ では最も上昇速度が速く48時間で24%と氷藏の約3倍の値を示した。

**乳酸含量の変化** 乳酸含量の経時変化を図5に示した。乳酸含量は氷藏と $15^{\circ}\text{C}$ 保存は18時間まで速やかに上昇し48時間までそのレベルは変わらなかつた。 $5^{\circ}\text{C}$ 保存と $10^{\circ}\text{C}$ 保存は24時間までは氷藏、 $15^{\circ}\text{C}$ 保存と比べてその上昇速度は遅かったが48時間までは大差を認めなかつた。

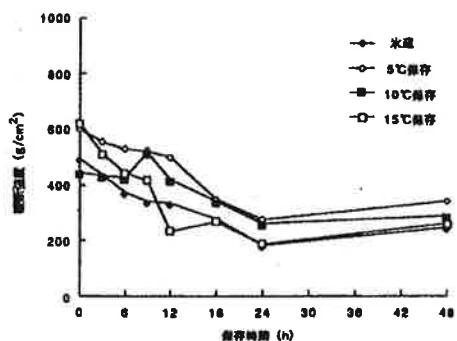


図1 保存温度の違いにおける破断強度の経時変化

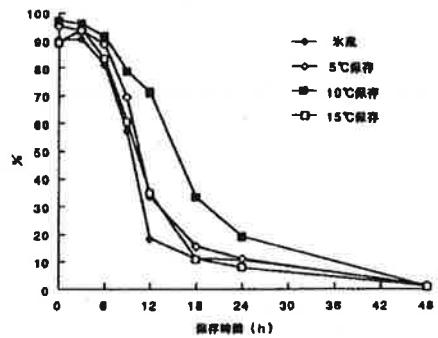


図2 保存温度の違いにおける三合計値の経時変化

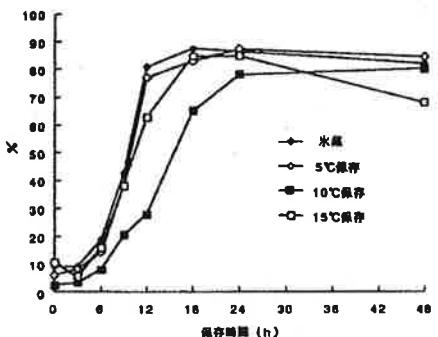


図3 保存温度の違いにおけるIMPの経時変化

**グリコーゲンの変化** グリコーゲンの経時変化を図6に示した。個体差が大きかつたが、保存時間の延長に呼応して低下し、48時間でほとんど検出されなかつたがその低下速度は氷藏 $\approx 5^{\circ}\text{C} \approx 10^{\circ}\text{C} > 15^{\circ}\text{C}$ であった。

以上の結果よりほぼ完全硬直に至ると考えられる三合計値の割合が20%以下になるのは $10^{\circ}\text{C}$ が最も遅く、K値の経時的上昇においても24時間までは氷藏や $5^{\circ}\text{C}$ と変わらなかつた。従つて、死後硬直を遅延させるのに最適な保存温度は $10^{\circ}\text{C}$ であろうと考えられた。

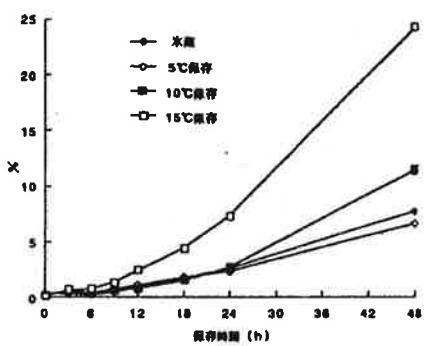


図4 保存温度の違いにおけるK値の経時変化

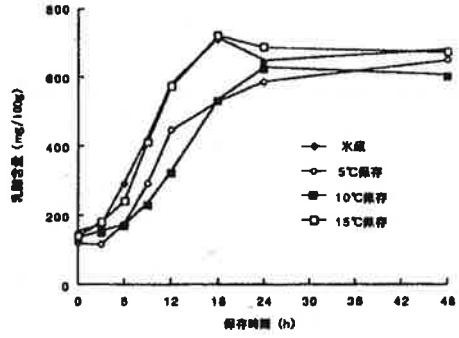


図5 保存温度の違いにおける乳酸含量の経時変化

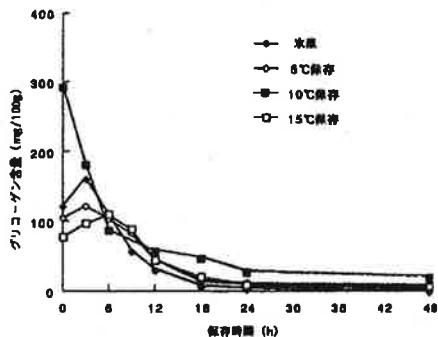


図6 保存温度の違いにおけるグリコーゲン含量の経時変化

## (2) 致死条件による影響

**破断強度の変化** 各致死条件の違いにおける破断強度の経時変化を図7に示した。延髓刺殺では致死直後は約700g/cm<sup>2</sup>で神経抜きの約1.5倍の値を示し、保存3時間までに急激に低下し、24時間で約240g/cm<sup>2</sup>まで緩やかに低下し、その後は低下は認められなかった。苦悶、海水氷、シャーベット状氷の各致死条件では延髓刺殺と同じ様相を呈した。一方、神経抜きでは致死直後は445g/cm<sup>2</sup>であり、24時間保存の260g/cm<sup>2</sup>まで緩やかに低下し、その後は低下が見られなかった。保存6時間以降は神経抜きが保存時間を通じて他の致死条件より若干高値を示した。

**ATP-AMP三合計値** 三合計値の経時変化を図8に示した。致死直後では三合計値は苦悶死を除くすべての致死条件で約90%以上と高値を示し、苦悶死は65%と低値であった。延髓刺殺では致死直後から急速に低下し、48時間後にはほとんど検出されなかった。他の保存温度でもその様相は似ていたが、減少速度に違いが見られた。致死条件で比較すると苦悶死>シャーベット状氷>海水氷=延髓刺殺>神経抜きであった。

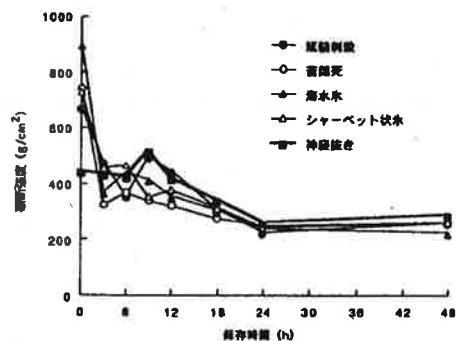


図7 致死条件の違いにおける破断強度の経時変化

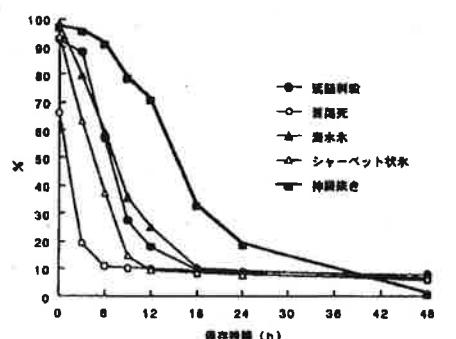


図8 致死条件の違いにおける三合計値の経時変化

**IMPの変化** IMPの経時変化を図9に示した。致死直後ではIMPは苦悶死以外の致死条件で約10%以下と低値を示し、苦悶死は35%で高値を示した。延髓刺殺では致死直後から急速に上昇し、最大に達した後、緩やかに低下した。各致死条件で上昇速度を比較すると苦悶>シャーベット状氷>海水氷=延髓刺殺>神経抜きであった。

**K値の変化** K値の経時変化を図10に示した。各致死条件の中で比較すると苦悶死が保存時間を通じて上昇速度が速く、その値も高かった。延髓刺殺、海水氷、シャーベット状氷とも緩やかに上昇し、24時間目では明確な差を認めなかつたが、48時間における値は苦悶死>延髓刺殺=海水氷=シャーベット状氷>神経抜きであった。

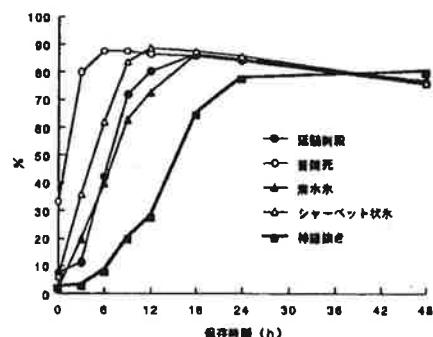


図9 致死条件の違いにおけるIMPの経時変化

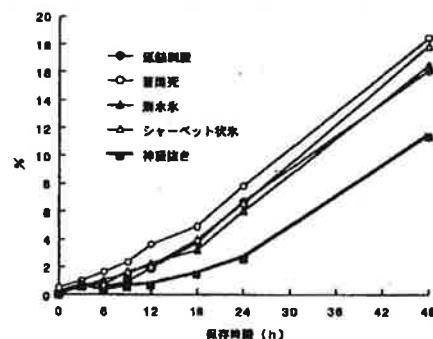


図10 致死条件の違いにおけるK値の経時変化

**乳酸含量の変化** 乳酸含量の経時変化を図11に示した。乳酸は致死直後から経時に上昇し24時間でほぼ最大値に達した後、48時間まで変化しなかつた。致死条件で比較すると、致死直後の値は苦悶死が190mg/100gで、他の100mg/100gより高く他の条件では差を認めなかつた。苦悶死>延髓刺殺=海水氷=シャーベット状氷=神経抜き

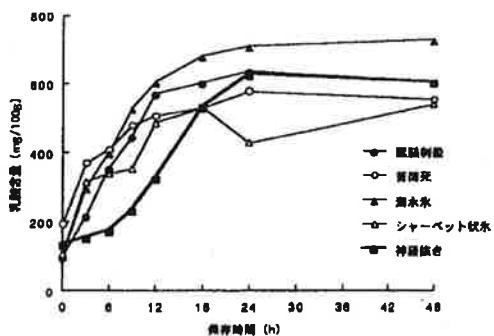


図11 致死条件の違いにおける乳酸含量の経時変化

**グリコーゲンの変化** グリコーゲンの経時変化を図12に示した。各条件では致死直後から経時に急な低下がみられ、グリコーゲンの致死直後の値は神経抜き>延髓刺殺>海水水>シャーベット状氷>苦悶死であった。グリコーゲンが消失する時間は苦悶死>シャーベット状氷>海水水>延髓刺殺>神経抜きであった。

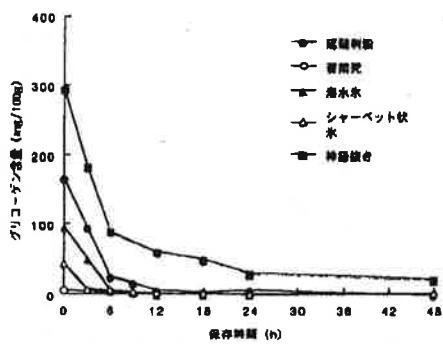


図12 致死条件の違いにおけるグリコーゲン含量の経時変化

以上の結果より、三合計値が20%以下になり、ほぼ完全に死後硬直に至るのは神経抜き：24時間、延髓刺殺：12時間、海水水：12時間、シャーベット状氷：9時間、苦悶死：3時間以降で、神経抜きによる致死条件が死後硬直の発生を最も遅らせると考えられた。K値の経時変化では神経抜きが最も上昇が遅く、48時間では、他の致死条件の約2/3と低値を示した。乳酸含量の経時変化でも、神経抜きは蓄積がピークに達する時間は他の条件と同じく24時間であったが、その変化の様相は他の致死条件と比べて緩やかであった。以上より、神経抜きをすることで死後硬直の進行の遅延のみならずK値の上昇をも遅らせることが可能であると考えられた。

一般に氷藏すると低温硬直現象が生じ、死後硬直が早く生じるとされている<sup>1)</sup>。本実験でも氷藏は他の保

存温度と比較して死後硬直が早かったことより、低温硬直が生じると考えられた。また、K値の上昇速度は筋肉のIMP分解酵素活性に依存しており、その活性レベルは保存温度の上昇に呼応して高くなるとされている。<sup>5)</sup> 10°C保存におけるK値上昇が最も遅かったのはその上昇の原因となるIMP分解酵素の基質であるIMPの供給が遅かったことに起因すると考えられた。

以上のことにより完全に硬直に至るまでの死後硬直を遅延させるには10°C保存が最良で、その後、氷藏することでK値上昇を遅らせることが可能となり、異なる2種の保存温度での2段保存法の有用性が考えられた。また、低温硬直現象は魚類の生息水温で変化するとしており、海水温が15°C前後の冬期のみでなく水温の高い夏期においても、同様の検討が必要と考えられた。

## ま と め

- マアジの死後硬直発生を遅延させる適切な保存温度と致死条件について検討を行った。
- マアジの死後硬直発生を遅延させるのに最も効果的な保存温度は10°Cであった。
- マアジの死後硬直発生を遅延させるのに最も効果的な致死方法は、延髓刺殺の後脊髄を破壊する神経抜きによる方法であった

## 文 献

- 植木六良、三嶋敏雄、宇津木照洋、北島俊一、矢田殖郎、保田正人：日水誌、51,1363-1369(1985)
- H.J.Hohorst : in Method of Enzymatic Analysis (ed. by H.U.Bergmeyer), Academic Press, New York 266-270(1963)
- 関根隆光：生化学領域における光電比色法「生化学の領域」(増刊34) 南江堂、東京、1958;36-39
- 岩本宗昭：魚類の死後硬直・致死条件と貯蔵温度・水産学シリーズ(86)，恒星社厚生閣、東京、7-23(1978)
- 富岡和子、遠藤金次：各種魚肉のK値変化速度とイノシン酸分解酵素活性、日水誌、50, 889-892(1984)

(担当：野中)

## II. $MgCl_2$ による麻酔を用いたアオリイカの活魚輸送の検討

近年のグルメブームに伴って、活魚の輸送技術の発展は目覚ましく進歩している。

現在、輸送技術の向上によりタイやヒラメなど多種の魚介類が活魚輸送されており、輸送に関する研究は種々なされている。イカ類については墨の吐出や酸素消費量が多く、一般の海産魚類では、水槽の中の海水重量の約10~15%の魚を輸送するのが標準であるが、イカ類では3~5%の量を輸送するのが限度とされているなどの困難性からその研究例もほとんどないのが現状である。

最近、イカ類の活魚輸送について  $Mg^{2+}$  イオンがイカ類に対し鎮静作用を持つことが見いだされ、 $MgSO_4$  や  $MgCl_2$  を麻酔剤として用いて、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との報告がある。<sup>1)</sup> 本研究では、にがりとしてよく食品加工に使用される  $MgCl_2$  を用いて、アオリイカの活魚輸送への利用の検討を行った。

### 方 法

**試料** 試料は、本県野母崎沿岸で主に定置網で漁獲された生きたアオリイカを用いた。平均外套長と平均体重はそれぞれ、18.8±1.5cm, 303.8±69.8gであった。

**試験容器** 濃度別および温度別の吐水回数の把握試験では海水5Lを入れたプラスチック容器に試料を入れ、通気しながら観察を行った。生残率試験は15°C 5mM  $MgCl_2$  添加海水3Lが入ったプラスチックバッグ（縦40mm×横280mm）に3または1尾ずつ入れ、酸素を封入して行った。

**肉中の成分などの測定** 24時間経過まで毎時間経時に肉眼的生残率および肉中のATP関連化合物量、乳酸量、グリコーゲン量の測定を行った。

測定法は前述1のマアジ鮮度保持試験に準じた。

### 結 果

#### (1). 吐水回数実験

##### 1) $MgCl_2$ 濃度の違いによる吐水回数の変化

種々の  $MgCl_2$  濃度添加海水におけるアオリイカの吐水回数の経時変化の実測数を図13-A, 測定開始時の吐水回数は55~65回ぐらいで個体差があったため、

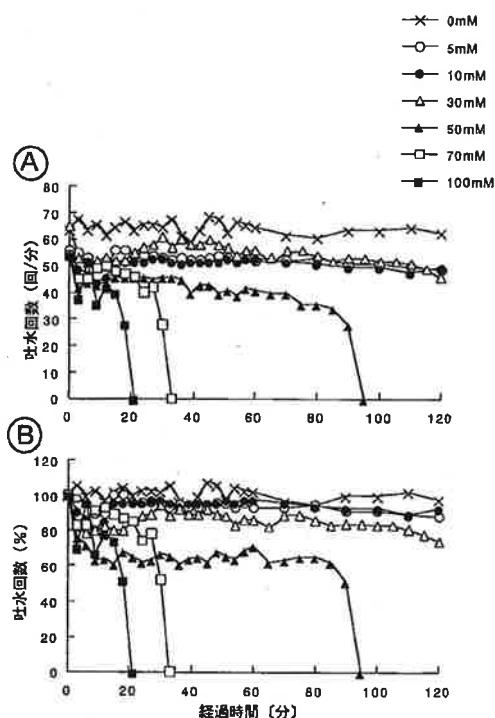


図13 種々の  $MgCl_2$  濃度添加海水におけるアオリイカの吐水回数の変化

定開始時を100%とし、それに対する割合を図13-Bに示した。吐水回数は無添加~30mM  $MgCl_2$  までは目立った変化はみられず比較的安定していた。50 mM  $MgCl_2$  では吐水回数は測定開始から10分で約60%になり、その後測定開始から80分経過まで60~70%で安定後、急激に吐水回数は減少し、約90分後吐水は停止した。70mM~100mM  $MgCl_2$  では吐水回数の変化は不安定で、70mM  $MgCl_2$  は約30分後に、100mM  $MgCl_2$  では約20分後に吐水は停止した。総じて見ると、0~30mM  $MgCl_2$  ではアオリイカの吐水回数に大きな変化は認められず、50~100mM  $MgCl_2$  では、 $MgCl_2$  による影響を受けていた。

##### 2) 水温の違いによる吐水回数の変化

異なる水温の無添加海水における吐水回数の経時変化を先の  $MgCl_2$  の影響と同様に実測数（図14-A）と割合（%）（図14-B）で示した。5~10°C 海水におけるアオリイカの吐水回数は、測定開始後急激に減少し、速やかに吐水が停止した。15°C 海水では、9分後に約40%となり、測定終了まで約40~50%で安定していた。20°C 海水では測定開始やや低下するが影響は少なかった。

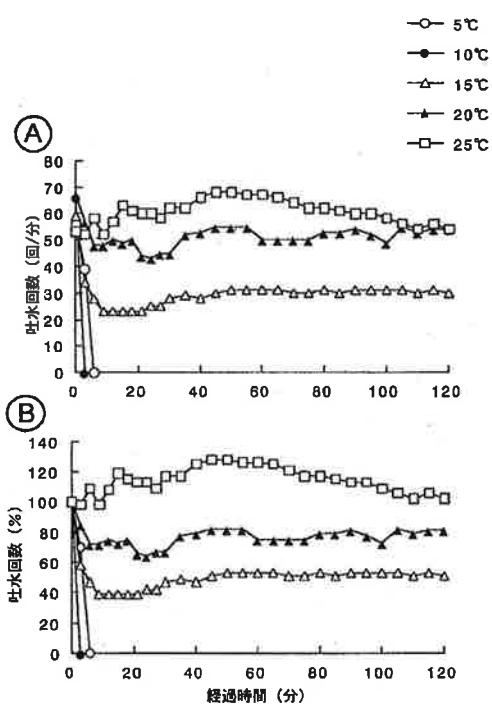


図14 異なる水温の  $MgCl_2$ 無添加海水におけるアオリイカの吐水回数の変化

## (2). 生残率実験

### 1) 1つの袋に3尾の個体を入れた場合の生残率

麻酔処理を行った個体3尾を1つの袋に入れて行った場合の生残率実験の結果を図15に示した。

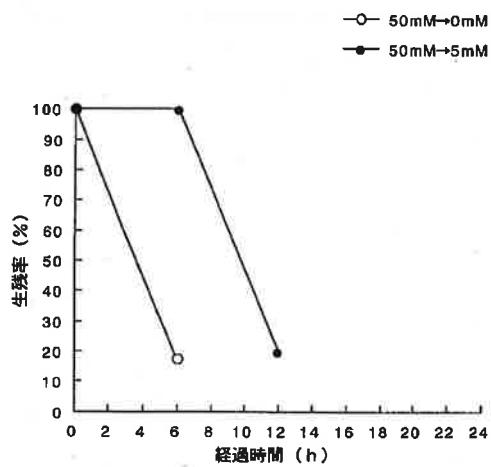


図15  $MgCl_2$ 麻酔処理によるアオリイカの生存率  
(1つの袋にアオリイカ3尾)

50mM  $MgCl_2$ での麻酔処理後、15°C  $MgCl_2$ 無添加海水で保持したイカの生残率は6時間目には17%まで低下した。一方、麻酔処理後15°C 5mM  $MgCl_2$ 添加海

水で保持した場合の生残率は6時間目では100%、12時間目では20%で、無添加海水で保持した場合より5mM  $MgCl_2$ 添加海水で保持した場合の方が高い生残率を示した。

次に即殺2個体と、実験開始6時間目、及び12時間目にそれぞれ袋から取り出した時の個体の生死と体色及びATP関連化合物、乳酸量、グリコーゲン量の測定結果を表1に示した。

総じて見ると、各群においてばらつきはあったものの、ATP関連化合物中におけるATPの割合は生残していた個体、死んでいたが体色が半透明な個体、死んでおり白濁した個体の順に高く、K値はこの順で低かった。また、IMPは生残していた個体(No.13)、死んでおり白濁色の個体(No.14)の1個体ずつ以外からは検出されなかった。Xtは全個体約4%以下と低い値を示した。乳酸量は、死んでおり白濁した個体、死んでいたが半透明な個体、生残していた個体の順に低く、グリコーゲン量はその逆であった。

### 2) 1つの袋に個体を1尾ずつ入れた場合の生残率

麻酔処理を行ったイカを1つの袋に1尾ずつ入れて行った場合の生残率実験の結果を図16に示した。

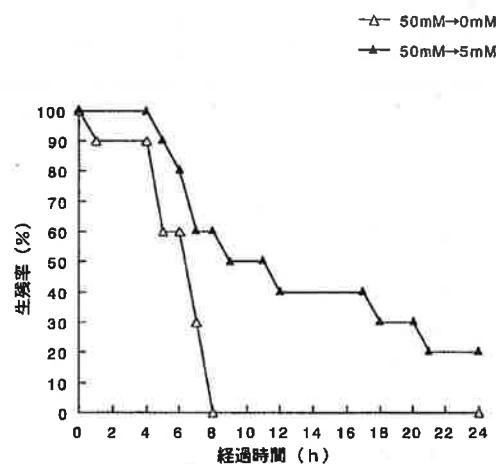


図16  $MgCl_2$ 麻酔処理によるアオリイカの生存率  
(1つの袋にアオリイカ1尾)

麻酔処理後15°C無添加海水中で保持した場合の生残率は、測定開始から1時間後に90%、7時間目に30%，8時間目には生残率0%と経時的な低下を示した。一方、麻酔処理後15°C 5mM  $MgCl_2$ 添加海水中で保持した群では、開始から4時間目までは100%で、6時間目に80

表1 生存率実験におけるアオリイカのATP関連化合物・乳酸量・グリコーゲン量  
(1つの袋に3尾)

サンプル No.	測定時間 (h)	生死	体色	筋肉中ATP関連化合物量(μmole/g)							
				ATP	ADP	AMP	IMP	HbR	Hx	XI	総量
1	即殺	生		8.310	1.311	0.341	0.000	0.000	0.130	0.130	11.223
2	即殺	生		10.059	1.608	0.514	0.000	0.000	0.101	0.284	12.566
3	6	死	半透明	4.677	3.134	2.194	0.000	0.284	0.315	0.448	11.052
4	6	死	白濁	0.000	0.647	5.645	0.000	1.862	2.145	0.432	10.755
5	6	死	白濁	0.000	0.699	5.080	0.000	3.076	1.579	0.451	10.888
6	6	死	白濁	0.000	0.582	4.404	0.000	2.406	2.380	0.441	10.214
7	6	生		8.784	2.013	0.637	0.000	0.000	0.153	0.344	11.931
8	6	死	半透明	4.924	3.604	2.433	0.000	0.340	0.210	0.182	11.694
9	12	生		8.820	1.595	0.524	0.000	0.000	0.142	0.344	11.425
10	12	死	半透明	6.141	2.513	1.436	0.000	0.000	0.209	0.226	10.526
11	12	死	白濁	0.000	0.784	4.132	0.000	3.475	2.330	0.236	10.057
12	12	死	白濁	0.000	0.806	4.927	0.000	2.397	2.139	0.374	10.643
13	12	生		3.775	3.101	2.351	0.392	0.170	0.154	0.082	10.005
14	12	死	白濁	0.000	0.585	3.291	0.221	3.036	2.990	0.047	10.170

サンプル No.	測定時間 (h)	生死	体色	ATP関連化合物(%)						2合計値 (ATP+ADP)	K値	乳酸量 (mg/100g)	グリコーゲン量 (mg/100g)	
				ATP	ADP	AMP	IMP	HbR	Hx					
1	即殺	生		83.0	11.7	3.0	0.0	0.0	1.2	100.0	84.6	1.2	24.23	
2	即殺	生		80.0	12.8	4.1	0.0	0.0	0.8	100.0	92.8	0.8	19.38	
3	6	死	半透明	42.3	28.4	19.8	0.0	2.6	2.8	4.0	100.0	70.7	5.6	21.67
4	6	死	白濁	0.0	6.0	52.5	0.0	17.5	20.0	4.0	100.0	6.0	39.0	80.53
5	6	死	白濁	0.0	6.4	46.7	0.0	28.3	14.5	4.1	100.0	6.4	44.8	81.52
6	6	死	白濁	0.0	5.7	43.1	0.0	23.6	23.3	4.3	100.0	5.7	49.0	88.52
7	6	生		73.6	16.9	5.3	0.0	0.0	1.3	2.9	100.0	99.5	1.3	21.67
8	6	死	半透明	42.1	30.8	20.8	0.0	2.8	1.8	1.6	100.0	72.9	4.8	80.71
9	12	生		77.2	14.0	4.6	0.0	0.0	1.2	3.0	100.0	91.2	1.3	36.12
10	12	死	半透明	58.3	23.9	13.6	0.0	0.0	2.0	2.2	100.0	82.2	2.0	14.20
11	12	死	白濁	0.0	7.2	37.7	0.0	31.7	21.3	2.2	100.0	7.2	54.1	107.42
12	12	死	白濁	0.0	7.6	46.3	0.0	22.5	20.1	3.5	100.0	7.6	44.2	15.01
13	12	生		37.7	31.0	23.5	3.9	1.7	1.5	0.6	100.0	68.7	3.3	12.64
14	12	死	白濁	0.0	5.8	32.4	2.2	28.9	29.4	0.5	100.0	5.8	58.5	21.06

表2 生存率実験におけるアオリイカのATP関連化合物・乳酸グリコーゲン量  
(1つの袋に1尾)

サンプル No.	測定時間 (h)	生死	体色	筋肉中ATP関連化合物量(μmole/g)							
				ATP	ADP	AMP	IMP	HbR	Hx	XI	総量
1	1	死	半透明	8.898	2.041	0.893	0.111	0.198	0.118	0.000	12.281
2	5	死	半透明	4.716	3.708	1.043	0.085	0.141	0.175	0.000	10.771
3	5	死	半透明	2.325	2.728	4.617	0.114	0.412	0.262	0.180	10.840
4	5	死	半透明	5.295	3.281	2.692	0.122	0.180	0.179	0.238	12.287
7	7	死	半透明	0.421	1.454	6.246	0.162	1.200	0.800	0.237	10.331
8	7	死	半透明	4.090	3.854	2.593	0.080	0.189	0.173	0.214	11.193
9	7	死	半透明	0.144	0.880	8.770	0.108	1.301	0.739	0.241	10.173
10	8	死	やや白濁	2.077	1.104	6.784	0.109	1.681	0.978	0.178	11.089
11	8	死	やや白濁	2.414	2.900	4.858	0.108	0.486	0.444	0.146	11.156
12	8	死	半透明	3.818	3.354	2.676	0.074	0.267	0.251	0.208	10.769
5	5	死	半透明	0.783	1.006	6.191	0.183	1.637	0.888	0.188	11.764
6	6	死	やや白濁	0.418	1.461	6.392	0.172	1.660	0.885	0.202	11.368
13	7	死	半透明	0.882	2.304	5.685	0.088	0.999	0.506	0.186	10.740
14	7	死	やや白濁	0.105	0.726	5.399	0.104	2.206	1.764	0.189	10.403
15	9	死	半透明	0.470	1.789	6.474	0.083	1.242	0.776	0.183	11.017
16	12	死	半透明	5.438	3.221	1.316	0.100	0.154	0.143	0.164	10.537
17	18	死	半透明	3.868	3.727	2.989	0.067	0.222	0.146	0.174	11.191
18	21	死	やや白濁	0.000	0.727	3.798	0.143	2.842	3.775	0.173	11.482
19	24	生	透明	8.054	1.380	0.318	0.054	0.098	0.081	0.116	11.092
20	24	生	透明	8.521	1.371	0.435	0.078	0.128	0.107	0.164	10.806

サンプル No.	測定時間 (h)	生死	体色	ATP関連化合物(%)								2合計値 (ATP+ADP)	K値	グリコーゲン量 (mg/100g)	乳酸量 (mg/100g)
				ATP	ADP	AMP	IMP	HbR	Hx	XI	総量(%)				
1	1	死	半透明	72.6	16.8	7.3	0.9	1.6	1.0	0.0	100.0	89.2	2.8	71.11	35.21
2	5	死	半透明	42.8	34.4	18.0	0.8	1.3	1.6	0.0	100.0	78.2	2.9	9.69	54.36
3	5	死	半透明	21.4	25.1	44.4	1.1	3.0	2.4	1.8	100.0	46.6	6.3	5.74	79.18
4	5	死	半透明	43.1	26.7	24.4	1.0	1.5	1.5	1.9	100.0	69.8	3.0	8.84	34.07
7	7	死	半透明	4.1	14.1	60.5	1.6	11.7	5.8	2.3	100.0	18.1	17.9	11.09	40.35
8	7	死	半透明	38.5	34.4	23.1	0.8	1.7	1.5	1.9	100.0	71.0	3.3	11.17	70.29
9	7	死	半透明	1.4	8.5	65.8	1.1	12.8	7.3	2.4	100.0	9.8	20.5	6.25	38.84
10	8	死	やや白濁	2.4	9.9	61.1	1.0	15.1	6.8	1.6	100.0	12.4	24.3	4.89	81.50
11	8	死	やや白濁	21.6	26.0	41.8	1.0	4.4	4.0	1.3	100.0	47.6	8.4	4.87	22.07
12	8	死	半透明	36.4	31.1	24.9	0.7	2.7	2.3	1.9	100.0	67.5	5.1	6.51	65.24
5	5	死	半透明	6.7	16.2	52.6	1.6	13.9	7.5	1.4	100.0	22.8	21.8	17.2	33.87
6	6	死	やや白濁	3.7	12.8	56.1	1.5	16.3	7.8	1.8	100.0	18.5	24.5	8.64	83.82
13	7	死	半透明	9.0	21.5	52.0	0.8	9.3	4.7	1.6	100.0	30.4	14.3	5.54	48.27
14	7	死	やや白濁	1.0	6.9	51.5	1.0	21.0	16.8	1.8	100.0	7.9	~ 38.5	13.85	50.08
15	9	死	半透明	4.3	16.2	58.8	0.8	11.3	7.0	1.7	100.0	20.5	18.8	14.23	47.81
16	12	死	半透明	51.6	30.6	12.5	0.9	1.5	1.4	1.6	100.0	82.2	2.8	20.25	39.08
17	18	死	半透明	34.5	33.3	26.7	0.6	2.0	1.3	1.6	100.0	67.8	3.3	10.01	74.83
18	21	死	やや白濁	0.0	6.3	33.1	1.2	24.8	33.0	1.5	100.0	6.3	58.6	2.97	89.48
19	24	生	透明	61.7	12.3	2.9	0.5	0.9	0.7	1.0	100.0	94.0	1.0	55.36	21.37
20	24	生	透明	78.9	12.7	4.0	0.7	1.2	1.0	1.5					

%、12時間目に40%、24時間経過時では20%と先の無添加海水での保持より生残率の経時の低下が緩やかであった。

次に袋から取り出した個体のATP関連化合物、乳酸量、グリコーゲン量の測定結果を表2に示した。

総じて見ると、先の生残率実験と同様にATP関連化合物中におけるATPの割合は生残していた個体、死んでいたが半透明な個体、死んでおり白濁した個体の順に高く、K値はこの逆であった。また、全個体においてIMP、Xtは極めて低値か検出レベル以下であった。乳酸量は生きていた個体が死んだ個体より、極めて低い値を示した。しかし、死んだ個体の体色の異なったイカの間に顕著な差は認められなかった。グリコーゲン量では、生きた個体、死んでいたが半透明な個体、死んでおり白濁した個体の順に低かった。しかし、各群においてばらつきがあり、半透明な個体の中で高い値を示すものもあった。

### 考 察

種々のMgCl<sub>2</sub>添加海水中におけるアオリイカの吐水回数実験の結果より、MgCl<sub>2</sub>の影響はその添加濃度の上昇に応じて、吐水回数が低下し、その低下したレベルも低い値を示すことから、アオリイカに対しMgCl<sub>2</sub>が麻酔作用を持つことが確認できた。本実験で用いた濃度では、50mM MgCl<sub>2</sub>の添加が吐水回数を最も低く安定させたことから、麻酔処理濃度としては最も適していると考えた。それに対し、0～30mM MgCl<sub>2</sub>の低濃度の添加では十分な麻酔効果が得られず、70及び100mM MgCl<sub>2</sub>の高濃度の添加では吐水回数の低下が早く速やかに死に至るため、適度な麻酔状態にすることが困難であると判断した。

次に、異なる水温のMgCl<sub>2</sub>無添加海水中における吐水回数実験の結果では、水温の低下に応じて吐水回数はより低い値まで低下することから、先の吐水回数実験と同様に考えると活魚輸送に利用可能な水温は15°Cであると考えた。また、アオリイカの場合10°C以下の水温では死に至るため活魚輸送への応用は困難であると考えられた。

以上の実験結果より、50mM MgCl<sub>2</sub>添加海水で20分間麻酔処理を行い、15°C MgCl<sub>2</sub>無添加海水、及び

5 mM MgCl<sub>2</sub>添加海水中で生残率実験を行った。その生残率実験の結果より、無添加海水中で保持したイカより5mM MgCl<sub>2</sub>添加海水中で保持したイカの方が生残率が高かったことについて、15°Cの無添加海水では十分な麻酔効果の維持が困難で、また15°C 5 mM MgCl<sub>2</sub>でもそれが必ずしも十分でないと考えられた。しかし、その詳細は未だ明確ではない。また、1つの袋に個体を3尾入れた場合より1つの袋に1個体ずつ入れた場合の方が生残率は高かった点については、複数のイカを同じ袋の中に入れると1個体のイカがスミを吐くと水質悪化に伴って他の個体が影響を受けて死んでしまうということが報告されている<sup>2)</sup>ことから、1つの袋に1個体ずつ入れた場合より生残率が低くなったと考えられた。袋から取り出したアオリイカのATP関連化合物と乳酸量、グリコーゲン量を測定したところ、生残していた個体より死んだ個体の外套膜筋中のATP、グリコーゲン量が少なく、乳酸量が多く、袋の中でスミを吐いて死んでいた。この点について、魚類では苦悶状態における筋肉中のATP、グリコーゲンが分解され、乳酸が蓄積することが周知であり<sup>3)</sup>、またイカ類はストレスによってスミを吐くといわれていることより<sup>2)</sup>、本実験で死んで体色の白濁していた個体は相当の苦悶状態で死に至ったと考えられた。しかし、死んでいた個体の中でも体色が半透明なものはATP、グリコーゲン量共にある程度残っていたことから死んだ直後であると考えられた。

### ま と め

- 1) MgCl<sub>2</sub>を用いて、活魚輸送への利用を検討するとともに、アオリイカの保存中における生鮮度変化についても検討を行った。
- 2) MgCl<sub>2</sub>濃度の違いによる吐水回数の変化では濃度の増加に伴って吐水回数が低下し、MgCl<sub>2</sub>が麻酔作用を持つことが確認できた。50mM MgCl<sub>2</sub>の添加が吐水回数を最も低く安定させたことから、麻酔処理濃度としては最も適していると考えられた。
- 3) 異なる水温のMgCl<sub>2</sub>無添加海水中における吐水回数では、水温の低下に呼応して吐水回数は低下したが、10°C以下の水温では吐水を停止し死亡した。
- 4) 以上の実験結果より、50mM MgCl<sub>2</sub>添加海水で

20分間麻酔処理を行い、15°C MgCl<sub>2</sub>無添加海水、或いは5mM MgCl<sub>2</sub>添加海水中で生残率実験を行った。その生残率実験の結果より、無添加海水中で保持したイカより5mM MgCl<sub>2</sub>添加海水中で保持したイカの方が生残率が高かった。

## 文 献

- 1) 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 HYPERLINK "<http://www.kitanipp.on.co.jp/backno/200104/01syakai.html>

2) スルメイカの飼育と活輸送。「イカ 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

3) 岩本宗昭. 致死条件と貯蔵温度。「魚類の死後硬直」(水産学シリーズ86, 山中英明編) 恒星社厚生閣, 東京, 1991; 74-81

(担当:野中)