

養殖マダイの体色改善に関する研究

I. アメリカザリガニ甲殻カロチノイドの投与効果

鹿山 光・中川平介・山田 久*・村上 豊

(広島大学水畜産学部水産学科)

Natural Coloration of Cultured Red Sea Bream, *Pagrus major* (T. & S.)

I. Feeding Effects of Crayfish Carapace Carotenoids

Mitsu KAYAMA, Heisuke NAKAGAWA,
Hisashi YAMADA* and Yutaka MURAKAMI

Department of Fisheries, Faculty of Fisheries and Animal Husbandry,
Hiroshima University, Fukuyama

(Tables 1-7)

近年、水産業界における増養殖業の発展とともに人工飼料を用いる養殖や蓄養が盛んに行なわれるようになった。しかし、人工飼料にはまだ天然餌料に劣るいくつかの問題点が指摘されており、本研究でとり扱った養殖マダイの体色に関することもその一つである。サケ¹⁾、ニジマス^{2)~4)}、キンギョ^{5),6)}、ニシキゴイ⁵⁾、マダイ⁷⁾等は、色調がそれらの品質、したがって商取引価格の決定に重要な因子となっている。

一方瀬戸内海の特産であったマダイの資源量は、沿岸の開発による産業化が著しく進展するとともに減少する傾向にある。その対策として、いわゆる栽培漁業による大量の稚魚の放流を行なっているが、同時にマダイの完全養殖の成功^{8),9)}は内海水産業の発展に光明を与えるものである。しかし、マダイを人工飼料で飼育すると、マダイ本来の鮮やかな赤い色調が褪色して黒味を帯びた養殖ものが生産されるようになり、問題となっている。天然マダイは甲殻類等を飽食していることから、それら天然餌料で飼育したマダイは体色の改善がみられるといわれている¹⁰⁾。したがって、マダイの発色には餌料が密接に関連していると考えられる。

本報は、日本の河川、湖沼、水田に定住し旺盛に繁殖しているアメリカザリガニの甲殻に含有されるカロチノイド色素を利用して、養殖マダイの体色改善に資する目的をもって配合飼料にこれらカロチノイドを添加した飼育試験の結果を纏めたものである。

実験方法

1. アメリカザリガニ甲殻カロチノイド色素の抽出と同定

本実験に使用したアメリカザリガニ、*Cambarus clarkii*、は梅田養魚場(広島県深安郡神辺町)の錦鯉養魚池から採集した。甲殻を分離し、風乾して細挫したもの、あるいはボール・ミル(Vibrating Sample Mill, 平工製作所、試料粉碎機モデルT 1-1)を用いて粉末化したものより、アセトンを加えてカロチノイド色

* 現勤務地：南西海区水産研究所海洋部，高知市。Present address: Nansei Regional Fisheries Research Laboratory, Department of Oceanography, Kochi.

素の抽出を行なった。アセトン抽出液を窒素気流下に濃縮し、石油エーテル (b. p. 30~60°C) を加え、さらに蒸留水を加えて色素を石油エーテル層に転溶し、石油エーテル層の水洗をくり返して可及的にアセトンを除去し、無水硫酸ナトリウムで脱水後、窒素気流下に石油エーテルを除去して赤橙色の脂質を得た。

カロチノイド色素の分離と同定は、硅胶—セライトカラムクロマト、薄層クロマト (TLC)、可視部の吸収スペクトル、カール・プライス反応、濃塩酸反応、90%メタノール—石油エーテル分配率、 NaBH_4 による還元生成物の吸収スペクトル¹¹⁾ 等の常法によった。TLCは 20×20cm あるいは 5×20cm ガラス板上に silica gel G (E. Merck AG.) をアプリケーターを用いて 250 μ の薄層とし、110°C で乾燥後、予めクロロホルム—メタノール (2:1, v/v) で洗滌し、さらに 110°C で 30~60分活性化を行なった。使用した展開溶媒は、n-ヘキサン—酢酸エチル (85:15, v/v) を主とし、ベンゼン—メタノール (95:5, v/v)、石油エーテル—エーテル—酢酸 (87.5:12.5:1, v/v/v) をスポットした試料に応じて用いた。カール・プライス反応は、分離したカロチノイドのクロロホルム溶液に飽和の三塩化アンチモンクロロホルム溶液を添加してその呈色をみた。アスタシンによって濃緑色を呈する。還元反応¹¹⁾は、カロチノイドを95%アルコールに溶かし少量の NaBH_4 を加え、25°C で2時間の反応を行なう。ケトカロチノイドのみ特異的に還元され、還元生成物は骨格カロチンの吸収スペクトルを示す。

2. マダイの飼育試験

試験に供したマダイ、*Pagrus major* (T. & S.)、は広島県水産試験場において昭和44年5月に孵化して、同年10月5日からの飼育試験直前まで同水試で飼育されていた当才魚、および昭和45年5月に孵化させ46年6月29日からの飼育試験直前まで同水試で飼育されていた一年魚である。

飼育飼料は日本配合飼料株式会社製の養鰯育成用 No. 6p を基本飼料とし、それに和光純薬の β -カロチン (A-1)、ロシュ社製の Carophyll Red (10% カンタキサンチン含有) (A-2)、アメリカザリガニの甲殻脂質をケン化して得られる不ケン化物を石油エーテルと90%メタノールで分配して、前者から得られるカロチン類 (A-3) と後者から得られるキサントフィル類 (A-4)、アメリカザリガニ甲殻脂質 (A-5)、アメリカザリガニ甲殻粉末 (A-6) を添加したもの、および対照飼料 (A-7) として基本飼料のみのものを用いた。また一年魚を対象とした飼育試験では、アメリカザリガニ甲殻粉末添加区 (B-1) と基本飼料 (B-2) を使用した。基本飼料のカロチノイド含有量について、それからクロロホルム—メタノールで脂質を抽出 (4.5% 含有) し、TLCおよび吸収スペクトルを測定して検討した結果、カロチノイドは殆んど含まれていないことを検した。またその水分含量は11.7%であった。以上各区のカロチノイド添加飼料は、カロチノイドを石油エーテルに溶解し、それに基本飼料を加えて混合し、窒素気流下に石油エーテルを除去し、さらに減圧下に溶剤を完全に除いて調整した。甲殻粉末添加飼料は、乾燥甲殻粉末1に対し基本飼料を同様に粉末化して2の重量比に加えてよく混合し、蒸留水を加えてペレット状に再整形し、さらに水分含量10%位になるまで乾燥してから使用した。以上の飼育試験AとBに用いた試験飼料とカロチノイドあるいは甲殻粉末の添加割合を Table 1 に示す。

カロチノイドの添加量は、基本飼料1kgに500mgの β -カロチンを添加した割合を基準として、これと脂質の不ケン化物が等量になるように調製した。但しアメリカザリガニ甲殻粉末の添加においては、甲殻の脂質含量が0.2%でその脂質中不ケン化物含量が26.6%であるから、500mgの不ケン化物を添加するためには940gの甲殻粉末添加ということになり、幼マダイの栄養上好ましくないと考えて、約その半量として500gの甲殻粉末を加えて調製した。したがって、この区の添加割合は不ケン化物として266mg/kgとなる。

3. カロチノイドの定量

アメリカザリガニ甲殻、マダイの表皮組織等からの脂質の抽出、分離その他の操作は、出来る限り暗室あるいは光を遮った状態で行なった。またTLCプレート上に展開されたカロチノイド色素の組成は、速やかに Ozumori デンシトメーター82 (明日香工業) によりフィルター No. 50 (500 μ) を用い、そのクロマトグラムを計測して求めた。さらに、総カロチノイド量の測定は、400~500 μ に現われる極大吸収の吸

Table 1. Carotenoids added to the basal diet.

Group	Carotenoid	Addition amount to basal diet
A-1	β -Carotene	500 mg/kg
A-2	Carophyll red (10% canthaxanthin)	5 g/kg
A-3	Carotenes of crayfish shell unsaponifiable matter	415.5 mg/kg
A-4	Xanthophylls of crayfish shell unsaponifiable matter	84.5 mg/kg
A-5	Crayfish carapace lipids	1.88 g/kg
A-6	Crayfish carapace powder	500 g/kg
A-7	Control (basal diet)	—
B-1	Crayfish shell powder	500 g/kg
B-2	Control (basal diet)	—

光値を測定し、 $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ を2000と仮定して求めた。またアメリカザリガニ甲殻脂質、アスタキサンチン・エステル、トリグリセリドおよびコレステロール・エステルの脂肪酸組成を比較検討したが、それらの測定には島津ガスクロマトグラフィ Model GC-2C により、水素炎検出器を使用し、25% diethylene glycol succinate/chromosorb W (60~80 メッシュ) の3 mステンレスカラム (内径4mm) を用い、カラム温度180°Cでガスクロマト分析を行なった。

実験結果

1. アメリカザリガニのカロチノイド色素組成

アメリカザリガニの甲殻、筋肉、卵巣および肝臓から抽出したカロチノイドは、 β -カロチン、アスタキサンチン・エステル、アスタシン、アスタキサンチンおよび数種の末不定カロチノイドを主として含有する¹²⁾。さらにアメリカザリガニ甲殻を頭胸部、腹部および尾部、鉗および脚部の各部に分けて、乾燥後粉末化してアセトンで抽出したもの、および0.6 M 硫酸アンモニウム水溶液でカロチノプロテイン^{13),14)}を予め抽出した残渣を凍結乾燥後石油エーテルを用いて抽出したものについて、それらのカロチノイド組成を Table 2 にまとめて表示する。

Table 2. Percentage composition of carotenoids extracted from the tissues and carapace parts of crayfish.

Tissue of crayfish	Extraction solvent	β -Carotene	Astaxanthin esters	Astacene	Astaxanthin	Others
Carapace	Acetone	5.2	26.2	27.0	9.9	31.7
Muscle	CHCl ₃ -MeOH	14.3	28.6	19.7	11.1	26.3
Ovary	Acetone	33.3	19.0	—	31.0	16.7
Hepatopancreas	Acetone	89.5	3.2	—	5.3	2.0
Cephalothorax	Acetone	2.4	29.9	29.9	22.8	15.0
	Pet. ether*	1.6	52.9	21.9	10.7	12.9
Abdomen & tail	Acetone	trace	39.1	29.8	17.3	13.8
	Pet. ether*	1.6	54.3	20.9	3.9	19.3
Chelae & legs	Acetone	1.8	35.6	26.4	18.7	17.5
	Pet. ether*	1.3	49.5	21.0	7.6	20.6

* Petroleum ether extraction from the carotenoprotein pre-extracted carapace powder with 0.6 M ammonium sulphate solution.

アメリカザリガニのカロチノイド色素の分布は、概して甲殻部に集中して多く存在しているが、甲殻と筋肉ではかなり相似した組成を示し、卵巣には前二者でアスタキサンチンが主としてエステル型として存在しているのに対照的に遊離型として含まれており、肝臓とともに多量の β -カロチンを保持する点が特徴的である。また表の後半部に示されているカロチノプロテイン除去甲殻粉末からの石油エーテル抽出カロチノイドは、圧倒的にアスタキサンチン・エステルが多く、遊離のアスタキサンチンはアセトン抽出のそれに比べて激減している。このことは、遊離のアスタキサンチンが甲殻中においてクラスタンアミンのようなタンパク質と複合したカロチノプロテイン^{14), 15)}として存在することを示すもので、アセトンのような極性の強い溶媒によってはタンパク質との結合が切れてアスタキサンチンが抽出されてくるのに対し、エステル型のアスタキサンチンは極性の弱い石油エーテルによっても容易に抽出されてくると理解される。

2. マダイの飼育結果とカロチノイド含量

マダイの飼育試験は、仙酔島に所在する広島大学水産学部附属水産実験所の屋内コンクリート水槽を使用して行なった。

飼育試験A：各飼料グループ毎10尾の当才魚を2m×1m×0.4mの水槽に収容し、各水槽の採光、海水の流量等をなるべく均等にして、朝晩2回の投餌を行なった。飼育期間は昭和44年10月5日より同年11月29日までの8週間で、各区の摂餌量は、A-1が193.0g、A-2が215.5g、A-3が220.8g、A-4が261.0g、A-5が234.6g、A-6が320.0gであった。飼育試験終了後、カロチノイド色素の分析に供したマダイは各区の10尾中から5尾を任意に選んで使用した。したがって、分析に用いた各5尾の摂餌量はその半量として目安が得られる。

飼育試験の開始時母集団から無作為抽出した5尾をInitialとして、また各区5尾について1尾毎の試験終了時の体重、表皮および鱗の脂質含量とカロチノイドの含量がTable 3に表示されている。平均の増重量をグループ毎に比較してみると、A-1>A-3, A-5>A-4>A-7>A-2>A-6の順で、 β -カロチン投与区が最も高く、アメリカザリガニ甲殻粉末添加区が最も悪い値を示した。また各区の餌料転換効率も、概して上記順序にA-1が最高でA-6が最低値であった。

Table 3. Carotenoid content in the integument of raised red sea bream.

Group	Body weight (g)	Total (Average)	Fresh weight of integument (g)	Lipid content in integument (%)	Carotenoid content in lipid ($\mu\text{g}/\text{mg}$)	Carotenoids stored in group (μg)	Total (Average)
Initial	10.0	64.8 (13.0)	2.1	3.5	1.1	180.4	552.9 (110.6)
	9.9		1.8	4.6	1.8	153.7	
	13.3		2.7	8.2	0.4	89.5	
	14.2		2.6	6.3	0.3	48.5	
	17.4		3.1	6.6	0.4	80.8	
A-1	18.0	102.7 (20.5)	4.0	4.6	0.3	55.0	266.0 (53.2)
	20.5		1.5	20.0	0.4	116.2	
	24.3		4.7	4.8	0.4	90.6	
	21.5		4.2	3.7	0.01	1.6	
	18.4		6.9	3.8	0.01	2.6	
A-2	15.7	79.0 (15.8)	2.9	4.3	0.7	88.3	368.4 (73.7)
	14.7		2.7	3.8	0.7	71.1	
	15.2		3.0	4.1	0.4	48.6	
	17.0		2.8	3.9	0.8	86.3	
	16.4		2.6	4.0	0.7	74.1	
A-3	16.5	101.3 (20.3)	2.8	2.6	0.6	43.6	260.7 (52.1)
	20.3		3.6	5.5	0.4	79.0	
	22.1		4.0	5.1	0.3	60.2	
	18.9		4.0	4.3	0.2	34.3	
	23.5		3.7	3.9	0.3	43.6	

A-4	15.8	86.2 (17.2)	2.8	2.6	0.7	50.7	211.3 (42.3)
	18.0		3.2	4.2	0.3	40.1	
	15.9		2.7	2.8	0.4	30.6	
	15.7		2.6	3.5	0.7	63.4	
	20.8		3.0	4.4	0.2	26.5	
A-5	21.3	101.4 (20.3)	3.6	3.1	1.2	136.2	637.2 (127.4)
	18.9		3.4	4.8	0.7	114.0	
	18.9		3.2	3.6	1.0	116.1	
	22.6		3.3	4.5	0.6	89.8	
	19.7		2.6	3.8	1.8	181.1	
A-6	13.7	75.0 (15.0)	2.9	3.3	0.7	67.2	415.1 (83.0)
	10.9		2.6	2.8	0.6	42.7	
	15.4		2.7	2.4	1.3	82.8	
	17.1		2.8	4.4	1.1	134.7	
	17.9		2.9	3.3	0.9	87.7	
A-7	14.3	85.2 (17.0)	2.4	5.1	0.1	12.4	178.8 (35.8)
	16.9		2.8	3.2	0.7	62.2	
	18.8		2.9	4.3	0.3	37.7	
	16.3		2.6	2.9	0.4	30.1	
	18.9		3.1	3.9	0.3	36.4	

試験終了時に各グループのマダイをとり上げて肉眼的に体色を観察した結果では、A-5とA-6のグループが他と較べて赤く着色されていることをみた。A-2も対照に比較していくらか色づいて見えたが、他のA-1、A-3およびA-4はA-7の対照の体色と識別できる程の発色状態が認められなかった。すなわち、幼マダイの体色改善が対照に較べて認められたのは、アメリカザリガニ甲殻脂質および甲殻粉末の添加区においてであった。

さらに各区の体表皮および鱗に含有される総カロチノイドの分析結果を検討してみると、試験開始時(Initial) 1尾平均 110.6 μg 含有されていたものが、8週間基本飼料だけで飼育されたA-7は 35.8 μg と減少した値を示した。この対照と試験飼料区 A-1~A-6を比較してみると、A-5のアメリカザリガニ甲殻脂質を添加したグループが最高値を示して対照の3~4倍のカロチノイド含有割合となり、次いで甲殻粉末添加のA-6が対照の2~3倍の値を示し、前記肉眼的観察とよく一致した。Carophyll red (10%カンタキサンチン含有) 添加のA-2は対照の約2倍のカロチノイド含量を示したが、他は何れも対照より少しく多い含量を示しているものの、それ程ではなく、対照に較べて明確な差異は認め難い。また各区毎に脂質をブールしてTLCで展開後直ちにデンストメーターにかけて、マダイの体色に最も関係の深いアスタキサンチン・エステルの大凡の含有割合を分析した。その結果を Table 4 に示す。

Table 4. Content of astaxanthin esters in carotenoids extracted from the integument of raised red sea bream.

Group	Astaxanthin esters (%)	Other xanthophyll esters
Initial	—	+
A-1	—	+
A-2	±	+
A-3	—	+
A-4	—	+
A-5	40.0	+
A-6	26.8	+
A-7	—	+

アスタキサンチンのエステルはA-5に一番多くみられ、A-6がこれに次ぎ、A-2では痕跡程度認められたに過ぎず、他のグループでは全く認められなかった。しかし、未測定ではあるがキサントフィル・エステルとしてツナキサンチン・エステル¹⁶⁾あるいはルテインおよびゼアキサンチンとそれらの4-ケト化合物のエステル¹⁷⁾と思われるカロチノイドは、対照を含めた全区に存在した。

筋肉および肝臓についても、各グループ毎にそれら組織からクロロホルム-メタノール¹⁸⁾で脂質を抽出し、総カロチノイドの含量を測定した。その結果を Table 5 に記載する。

Table 5. The carotenoid content in the muscle and liver of raised red sea bream.

Group	Muscle		Liver	
	Lipid content (% in average)	Total carotenoids stored in the group (μg)	Lipid content (% in average)	Total carotenoids stored in the group (μg)
A-1	6.6	14.0	12.2	1.4
A-2	5.2	5.7	9.2	2.0
A-3	5.0	6.4	16.3	0.7
A-4	5.1	9.4	11.5	1.5
A-5	5.8	10.4	13.3	1.2
A-6	4.5	11.2	9.9	2.4
A-7	5.1	7.9	9.2	1.7

各グループ間での筋肉および肝臓中のカロチノイド含量の有意な差は認められず、また前述の表皮および鱗の含有量と比較して極めて微量であった。したがって、マダイにおけるカロチノイド色素の分布もアメリカザリガニと同じく、その大部分は体表皮と鱗に蓄積されて、その他の組織での含有割合は至って少ないといえる。

飼育試験B：各飼料グループ毎6尾の1年魚を飼育試験Aの項で述べたと同じ水槽を用いて、昭和46年6月29日より同年8月27日までの2ヶ月間、日本配合飼料の養鱒育成用 No. 6p を基本飼料 (B-2) とし、飼育試験AのA-6と同じくアメリカザリガニ甲殻粉末を基本飼料に 500g/kg の割合に添加して再整形した飼料 (B-1) で飼育試験の追試を行なった。この成長試験の結果を Table 6 に示す。

Table 6. Body weight gain in raising experiment.

Group	Number of fish	Initial		Final		Gain	
		Total weight (g)	Average weight (g)	Total weight (g)	Average weight (g)	Total (g)	Average (g)
B-1	6	600.0	100.0	730.0	121.7	130.0	21.7
B-2	6	565.8	94.3	845.0	140.8	279.2	46.5

魚体重の増加は、飼育試験Aの場合と同様に、甲殻粉末添加飼料区が対照に比較して劣り、増重量が半分以下であった。また、両区の摂餌量は試験期間中それぞれ1kgで、飼料転換効率も対照に比較して甲殻粉末区は劣る結果を示した。

飼育開始時に母集団より無作為抽出した6尾 (Initial)、アメリカザリガニ甲殻粉末添加区および基本飼料区について試験終了時それぞれ6尾を1尾毎に表皮および鱗からアセトンで脂質を抽出し、石油エーテルに移行させて脱水後 470m μ における吸光値を測定し、1尾毎の総カロチノイド含量を求めた。またカロチ

ノイドの含量を魚体重に対する mg% で表わし、一緒にその結果を Table 7 に示す。

Table 7. Carotenoid content in the integument of raised red sea bream.

Group	Body weight (g)	Total (Average)	Carotenoids stored in group (μg)	Total (Average)	Carotenoid content to body weight (mg%)	(Average)
Initial	135.0	556.0 (92.7)	220.8	932.4 (155.4)	0.164	(0.167)
	90.0		177.5		0.197	
	94.4		169.0		0.179	
	81.6		166.5		0.204	
	86.0		94.8		0.110	
	69.0		103.8		0.150	
B-1	151.0	730.0 (121.7)	270.5	1424.5 (237.4)	0.179	(0.197)
	138.8		307.5		0.222	
	120.0		202.5		0.169	
	116.2		187.0		0.161	
	113.5		234.5		0.207	
	90.5		222.5		0.246	
B-2	160.2	845.0 (140.8)	214.5	1092.5 (182.1)	0.134	(0.129)
	159.0		215.0		0.135	
	146.0		184.5		0.126	
	142.1		168.0		0.118	
	127.0		153.0		0.121	
	110.7		157.5		0.142	

Initial に比べ、基本飼料で飼育したものは1尾当りの平均総カロチノイドは幾分増加したようにみえるが、マダイの体重当りでは少しく減少しており、両者間の差は認め難い。しかし、アメリカザリガニ甲殻粉末を投与したグループは対照のものより総カロチノイド含量、体重当りのカロチノイド含量ともに顕著に高く、飼育試験Aの結果を再確認した。さらに、飼育試験後のマダイの体色を観察して、甲殻粉末投与のマダイは対照のものより赤味の発色が強いことを認めた。

また、従来ビタミンA・エステル脂肪酸はパルミチン酸であるといわれていたが、実際は単一の脂肪酸ではなく、アメリカザリガニおよびマダイのアスタキサンチン・エステル脂肪酸部をガスクロマト分析してみると、トリグリセリドと同じように種々の脂肪酸から構成されていることをみた。

考 察

魚類の体色発現に関する形態的単位としては色素胞 (chromatophore) が主要なもので、それらは黒色素胞 (melanophore)、黄色色素胞 (xanthophore)、赤色色素胞 (erythrophore) および虹胞 (iridocyte, guanophore or leucophore) であって、カロチノイドを色素とするものは黄色および赤色色素胞の lipophore である¹⁹⁾。したがって、それら色素胞の相対的な強弱によって魚類の体色が変化してくる。養殖マダイが褪色して黒味を帯びてくるということも、カロチノイド色素の減少に伴って lipophore である黄色色素胞、とくにマダイの場合は赤色色素胞の発色が劣るようになり、メラニン色素とする黒色色素胞の発色が目立ってくるものと考えられる。

田中²⁰⁾は、マダイを遮光した箱生質内で生アカエビを投与して飼育し、101日後には本来の体色にほとんど近い程度にまで回復させたが、アカエビの肉だけでは効果がなかった。また片山ら²¹⁾は、マダイのカロチノイドを抽出し、同定した結果、アスタキサンチンの他ルテイン、タラキサンチン様物質を見出し、その主成分はアスタキサンチンであることを明らかにし、さらに天然マダイと養殖マダイのアスタキサンチンの含量を比較して、後者は前者のわずか1/20のアスタキサンチンしか含有していないことを指摘した。米ら²¹⁾は、マダイにベニザケ肉を投与し、ベニザケ肉のアスタキサンチンがマダイに移行して赤色色調の発色に効

果のあることをみた。福岡水試はアカエビを、また長崎水試²²⁾は冷凍オキアミを投与して褪色の回復することをみたが、それらの発色は赤味が増しても自然のマダイのように鮮やかではなく、多少黒味を帯びた色調を呈する結果を得た。したがって、水面近くの網生養殖では光の影響によるメラニン色素の増加も、マダイの褪色に関係すると理解される。

本実験に用いた6種の飼料区分を比較すると、A-5のアメリカザリガニ甲殻脂質そのものの添加が最も良好であったことは、甲殻脂質中のカロチノイド、とくにアスタキサンチンおよびそのエステルがマダイによって吸収され、体表皮へ移行・蓄積されたことを意味する。またA-6およびB-1にみられるように、アメリカザリガニ甲殻粉末の添加も相当な発色効果が得られ、アスタキサンチンが遊離、エステル型あるいはクラスタシアニンのようなタンパク質との複合体となっても、マダイは体表皮の発色に利用し得ることがうかがえる。但し、甲殻粉末の大量投与は増重量が他に較べて劣っていることから、マダイの栄養上考慮しなければならない問題点である。A-1の β -カロチン添加は、マダイの体色改善に関してはその効果を期待できない。マダイは、甲殻類あるいはフナ、コイ等よりも多分に β -カロチンのキサントフィル類への酸化代謝能が劣っているように思われる。たとえマダイがそれを吸収したとしても、体表皮へあまり蓄積することはない^{16), 17)}。ただ、このグループの増重量が最高であったことは、プロビタミンAとしての効果の現れと考えられる。またA-2のカンタキサンチン添加区はA-5、A-6(B-1)区に次いで少しく効果がみられ、カンタキサンチンがアスタキサンチンの前駆体²³⁾として働くことを示唆するものであっても、マダイの転換能力は至って低いものと考えられる。しかしながら、飼育後のA-2表皮脂質中に痕跡ながらもアスタキサンチン・エステルが検出されたことは、定性的にカンタキサンチンから変換されたものとすべきで、定量的にはその能力が極めて低いと解釈される。アメリカザリガニ脂質をケン化して得られる不ケン化物をさらに分別して得られたA-3のカロチン区とA-4のキサントフィル区は、両者とも効果が認められなかった。確かに β -カロチンの効果がみられなかったことから、A-3のカロチン類の効果は期待できない。さらにケン化することによって、アスタキサンチンはアスタシンに変化することから、得られたキサントフィル類の主成分と考えられるアスタシンはマダイにとって吸収および皮膚への移行が劣るものと考えられる。したがって、A-5の甲殻脂質投与区にみられるように、ケン化してからカロチノイド色素を分離して投与することはアスタキサンチンの折角の効果をアスタシンに無力化するものであって、脂質そのままの形で投与すべきであることがうかがえる。

以上の考察よりマダイの体色改善に関して、アメリカザリガニ等の甲殻類カロチノイドを利用する場合に、遊離あるいはエステル型のアスタキサンチンを含む甲殻脂質そのものを投与することが最も効果的であって、それが不可能な場合には甲殻粉末を飼料に混合して投与する簡便法も可能である。しかし、後者の場合にはマダイの栄養上一工夫する必要がある。さらに、美しいマダイのカロチノイド色素組成はアスタキサンチン・エステルが主成分で、褪色したものにおいては極端にそれが減少していることから、アスタキサンチン・エステルがマダイ体色本来の鮮やかな赤い色の発色に関係するものと考えられる。

最近になって、片山ら²⁴⁾はルテインからアスタキサンチンにエステルとして変換されることを報じ、また秦ら²⁵⁾はゼアキサンチンからアスタキサンチンが合成されることを示した。両報告とも金魚を用いての実験ではあるが、マダイでもこのような変換が行なわれるかどうか、マダイの体色改善に有効かどうかを検討すべく今後の研究を計画している。

要 約

養殖マダイは、とくにその体表皮の色に問題がある。天然産のものと比較すると、マダイ本来の鮮やかな赤い色調が褪色して黒味を帯びた養殖ものが得られる。この欠陥を改良するため、アメリカザリガニの甲殻カロチノイドを人工飼料に添加して、養殖マダイの体色改善に資する目的をもった飼育試験を試み、以下の結果を得た。

1. アメリカザリガニ甲殻カロチノイドは、 β -カロチン、アスタキサンチン・エステル、アスタシンお

よびアスタキサンチンを主要成分とするが、なお未同定の数種カロチノイドを含む。遊離型のアスタキサンチンは甲殻中では主としてカロチノプロテインとして存在する。

2. 当才魚および一年魚のマダイに対する基本飼料への各種カロチノイドの添加飼育試験は、肉眼的観察および体表皮と鱗に存在する総カロチノイド含量から判定して、アメリカザリガニ甲殻脂質の添加区(A-5)が最も良好で、次いで甲殻粉末添加区(A-6, B-1)であった。但し、甲殻粉末の大量添加はマダイの栄養上好ましくなく、増重量が他と較べて劣っていた。また、カンタキサンチン添加区(A-2)は僅かな効果を示したが、 β -カロチン(A-1)、アメリカザリガニ甲殻脂質不ケン化物を分別して得たカロチン類(A-3)とキサントフィル類(A-4)の添加区は効果がみられなかった。

3. マダイのカロチノイドは大部分体表皮および鱗に局在し、主としてアスタキサンチン・エステルと他のキサントフィル・エステル類として存在する。

4. 飼育試験でマダイの発色に効果のみられたアメリカザリガニ甲殻脂質および甲殻粉末添加区のマダイ体表皮のカロチノイドは主としてアスタキサンチン・エステルおよび他のキサントフィル・エステル類を含有するが、他の区では前者が検出されず、カンタキサンチン投与区で痕跡程度認められた。したがって、マダイ本来の赤色調の発色にはアスタキサンチン・エステルが大いに寄与すると考えられ、人工飼料に遊離あるいはエステル型のアスタキサンチンまたはクラスチンアニオンを添加することによってマダイ体色の改善が可能である。

5. アメリカザリガニ甲殻およびマダイの体表皮に存在して赤い色調を出すアスタキサンチン・エステルの構成脂肪酸は単一のものではなく、トリグリセリドの組成と同じように種々の脂肪酸から構成されていることをみた。

6. マダイにおける植物カロチノイドから動物カロチノイド、とくにアスタキサンチンへの代謝について錦鯉および金魚あるいは甲殻類と比較し、マダイの変換能の劣ることを考察した。

謝 辞

本稿をとじるに当って、マダイ幼魚の提供を仰いだ広島県水産試験場、伏見徹技官、アメリカザリガニの採集に御協力を頂いた梅田養魚場、梅田四一氏、また Carophyll red を寄贈して頂いた日本ロッシュ株式会社に対し誌上を借りて心から厚く御礼申し上げます。

文 献

- 1) 金光庸俊・青江 弘：サケ、マス類のカロチノイド色素に関する研究—I。筋肉色素の同定、日本誌、**24**, 209-215 (1958)。
- 2) DEUFEL, J.: Pigmentierungsversuche mit Canthaxanthin bei Regenbogenforellen. *Archiv Fischereiwiss.*, **16**, 125-132 (1965)。
- 3) PETERSON, D. H., JÄGER, H. K., and SAVAGE, G. M.: Natural coloration of trout using xanthophylls. *Trans. Amer. Fish. Soc.*, **95**, 408-414 (1966)。
- 4) 金子徳五郎・石井清之助・西出一彦：昭和42年度日水会年会、講演番号215 (1967)。
- 5) 平尾秀一・菊池 嶺・田口脩子：魚類のカロチノイド色素に関する研究—I。金魚と錦鯉のカロチノイド色素、日本誌、**29**, 371-381 (1963)。
- 6) 平尾秀一・小沢聰子・末松靖子：魚類のカロチノイド色素に関する研究—II。キンギョの体色変化に対する餌料カロチノイドの影響、日本誌、**29**, 382-386 (1963)。
- 7) 片山輝久・池田伸義・原田喜代子：マダイ *Chrysophrys major* TEMMICK and SCHLEGEL の Carotenoids について—I。日本誌、**31**, 947-952 (1965)。
- 8) 伏見 徹・橋本俊将・北島 力：マダイの種苗生産に関する研究—III。養成親魚から得た仔稚魚の飼育結果、広水誌研究報、2号、1-8 (1969)。

- 9) 伏見 徹：マダイ稚仔魚期の飼育管理技術の向上に関する研究，浅海域における増養殖漁場の開発に関する総合研究報告，1号，108-118 (1971)。
- 10) 北島 力：タイ養成についての問題点，昭和43年度日水会大会 シンポジウム，日水誌，**35**，576-582 (1969)。
- 11) KRINSKY, N. I.: A relationship between partition coefficients of carotenoids and their functional groups. *Anal. Biochem.*, **6**, 293-302 (1963).
- 12) 中川平介・鹿山 光・山田 久・浅川末三：昭和48年度日水会年会，講演番号505 (1973)。
- 13) CECCALDI, H. J., and ALLEMAND, B. H.: Carotenoproteides. 3. Extraction du pigment bleu de la carapace de homard *Homarus gammarus* (L.). *Rec. Trav. Stat. Mar. End. Bull.*, **35**, 3-7 (1964).
- 14) NAKAGAWA, H., KAYAMA, M., and ASAKAWA, S.: Studies on carotenoprotein in aquatic animals. I. Distribution of carotenoprotein in exoskeleton of cray fish (*Cambarus clarkii*). *J. Fac. Fish. Anim. Husb. Hiroshima Univ.*, **10**, 61-71 (1971).
- 15) NAKAGAWA, H., KAYAMA, M., and ASAKAWA, S.: Studies on carotenoprotein in aquatic animals. II. Reddening of carotenoprotein obtained from cray fish (*Cambarus clarkii*). *J. Fac. Fish. Anim. Husb. Hiroshima Univ.*, **11**, 129-139 (1972).
- 16) 平尾秀一：魚類のカロチノイド，昭和42年度日水会年会シンポジウム，日水誌，**33**，866-871 (1967)。
- 17) HATA, M., and HATA, M.: Carotenoid pigments in goldfish—IV. Carotenoid metabolism. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, **38**, 331-338 (1972).
- 18) BLIGH, E. G., and DYER, W. J.: A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canad. J. Biochem. Physiol.*, **37**, 911-917 (1959).
- 19) 日比谷 京：形態および生理の面からみた魚類の色素，昭和42年度日水会年会シンポジウム，日水誌，**33**，872-877 (1967)。
- 20) 田中小治郎：マダイの体色に及ぼす餌料の影響の観察，魚雑，**1**，182-186 (1950)。
- 21) 米 康夫・古市政幸：昭和41年度日水会年会，講演番号547 (1956)。
- 22) 藤田矢郎：タイ養成についての問題点—討論，昭和43年度日水会大会シンポジウム，日水誌，**35**，583-586 (1969)。
- 23) 原島圭二：カロチンの生体内酸化，油化学，**16**，491-498 (1967)。
- 24) KATAYAMA, T., YOKOYAMA, H., and CHICHESTER, C. O.: The Biosynthesis of astaxanthin. I. The structure of α -doradexanthin and β -doradexanthin. *Int. J. Biochem.*, **1**, 438-444 (1970).
- 25) HATA, M., and HATA, M.: Carotenoid pigment in goldfish. V. Conversion of zeaxanthin to astaxanthin. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, **38**, 339-343 (1972).

SUMMARY

When applying an artificial diet in the rearing of red sea bream, *Pagrus major* (T. & S.), one of the main problems is that the brilliant-redish-natural color of the skin and fins fades away slowly and turns dark. Hereupon, in order to improve the color appearance of cultured red sea bream, a feeding experiment of crayfish (*Cambarus clarkii*) carapace carotenoids, in which astaxanthin in free and ester forms, astacene and β -carotene are major component, added to a basal diet (Nippai No. 6 P for trout) was experimented.

Red sea breams of 5 months (A) and 13 months (B) of age were grouped according to the kind of addition and raised during 8 weeks for the former, and 2 months for the latter as follows: β -carotene (A-1), carophyll red (10% canthaxanthin) (A-2), carotenes (A-3) and xanthophylls (A-4) separated from the unsaponifiable matter of crayfish carapace lipid, crayfish carapace lipid (A-5), crayfish carapace powder (A-6, B-1), and control (A-7, B-2) of basal diet.

The effects of the diet on the fish pigmentation were determined by naked eye observation, the total carotenoid content and the measurement of astaxanthin esters in the integument, muscle and liver of red sea breams. The group A-5 was significantly better colored, A-6 or B-1 came after, whilst the other groups remained almost similar in appearance to the control group, but A-2 indicated a little effect. Analytical examination of the integument showed significant increase in the level of total carotenoids as well as the deposition of astaxanthin esters in the group A-5 and A-6 or B-1.

It may therefore be concluded that when red sea breams are fed on ordinary rations plus astaxanthin either in the forms of free, ester with fatty acids or crustacyanin, they will absorb and deposit astaxanthin mainly in the form of esters in the integument of the fish. Moreover, the metabolic ability of red sea bream in the conversion of carotenoids was compared with that of other fish, such as fancy carp and goldfish, or crustacea, and was discussed.