

ぶどう搾り滓投与による養殖魚の品質向上- II

～ニジマス大型魚に対する効果検討～

名倉 盾

平成 23, 24 年度はニジマス小型魚を対象に、乾燥粉碎したぶどうの搾り滓を飼料に混合して投与し、その効果について影響を検討した¹²⁾。その結果、ぶどうの搾り滓を 1%餌に添加すると成長や生体防御能などが向上することが判明した。

平成 25 年度は、前年度までの結果を踏まえ、ニジマス大型魚に対して平成 24 年度と同様の試験を実施し、小型魚と同等の効果が得られるかを検討した。

材料及び方法

ぶどう搾り滓

ぶどう搾り滓は、山梨県果樹試験場から入手した赤ワイン用品種「甲斐ノワール」の搾り滓を試験に供した。熱乾器を用いて 70℃で乾燥させ、水分含量を 8%まで減少させた。乾燥及び粉碎は(合)明野市場に委託して実施した。

供試魚及び飼育方法

乾燥後粉碎したぶどう搾り滓（以下「ぶどう搾り滓」という）を乾燥重量で 1%含有されるように EP として造粒した 1%内添区と、同じくぶどう搾り滓 1%量をサラダ油で外添した 1%外添区、内添区飼料にぶどう搾り滓の代わりに炭酸カルシウムを 1%配合した対照区の 3 試験区を設定し、反復で試験を実施した。

試験飼料の 1%内添区及び対照区の餌を日本農産工業株式会社に委託して製造した。餌の配合割合や成分等を表 1 に示す。1%外添区は対照区の餌に 1%のぶどう搾り滓を 3%量のサラダ油で添着した。サラダ油を添加したことによる影響を無くすために 1%内添区や対照区にもサラダ油のみを同量添加した。

供試魚には当所産ニジマスを使用した。平均体重 1,240g のニジマスを 15 トンの長方形養殖池 2 池をそれぞれ 4 区に仕切り 1 区画に各 40 尾収容した。

飼育は 12℃の井水を使用し、平成 25 年 8 月 5 日～平成 25 年 10 月 28 日まで 85 日間行った。2 週間に魚体重の計測結果に基づき、ライトリッツの給餌率表に従って給餌量を調整し、1 度飼育池のローテーションを行った。給餌は、1 日 1 回週 5 日間行った。

2 週間毎に全群の体重測定を行い、1 か月毎に全個体の魚体重を計測した。試験開始 2 か月後と試験終了時に標準体長を測定し、肥満度を算出した。給餌量から飼料効率及び日間増重率を算出した。

得られた値を用いて試験区間の差を多重比較検定（Turkey-Kramer 法）により判定した。

肉質の評価

飼育終了後に、筋肉のアミノ酸量（遊離）、脂肪酸組成、不飽和脂肪酸量、硬直指数、筋肉の色、食味を測定した。

アミノ酸はアミノ酸自動分析法、脂肪酸類についてはガスクロマトグラフ法を用いて分析した。硬直指数は昨年同様尾藤らの方法³⁾によって各区 5 尾測定した。試験魚の脳付近を棒で殴り、即殺した後に鰓部分から包丁を入れて脊椎骨を切断し飼育水中で 20 分間血抜きを行った後、4℃に調整したインキュベーター内に貯蔵した。測定は、魚体の 2 分の 1 を水平な台の上に置き、はみ出した半身の垂下長（L）と、死後直後の垂下長（L0）から次式（硬直指数 = $(L0 - L) / L0 \times 100$ (%)）により硬直指数を求めた。

筋肉の色は、3枚におろした背びれ後部の筋肉をカラーチャート（QPCARD201）とともに写真撮影し、ホワイトバランスを調整した後にPhotoshopCCのLabモードで101×101ピクセルの平均のL(明度)、a(赤み)、b(黄色み)を測定した。食味は味覚センサー（インテリジェントセンサーテクノロジー社製SA402B）を用いて測定した。

筋肉の遊離アミノ酸量、脂肪酸類の測定、食味は日本ハム中央研究所に委託して分析を行った。

非特異的生体防御能、血液性状の評価

飼育終了後に白血球貪食能とヘマトクリット値をポンドサイトキットの方法によって測定した⁴⁾。測定後、貪食率を貪食している白血球数/観察した白血球数×100で、貪食指数は貪食されたザイモサンの数/貪食している白血球数により求めた。

表1 試験に用いた飼料の原材料配合割合と成分組成

試験に用いた飼料の原材料配合割合 (%)				栄養組成 (%)		
原料名	対照区	1%内添区	1%外添区	原料名	対照区	1%内添区
小麦粉	27	27	27	粗たんぱく質	46.13	46.13
コーングルテンミール	7	7	7	粗脂肪	5.49	5.49
大豆油粕	15	15	15	粗繊維	1.90	1.90
脱脂米ぬか	2	2	2	粗灰分	10.90	9.91
魚粉	43	43	43	カルシウム	2.07	1.68
アスタキサンチン	0.05	0.05	0.05	リン	1.57	1.57
トルラ酵母	3	3	3			
食塩	0.2	0.2	0.2			
炭酸カルシウム	1	—	1			
第一リン酸カルシウム	1	1	1			
ビタミン・ミネラルミックス	0.75	0.75	0.75			
ぶどう搾り滓	—	1	1			
サラダ油(外割)	3	3	3			

結果

給餌開始当初は1%外添区の摂餌がやや悪かったため、試験開始から5日間は1日2回給餌として全量を食べさせた。6日目からは摂餌状態が良くなったため、1日1回給餌とした。測定などで取り上げた際に摂餌が悪くなる場合があった場合には随時給餌回数を1日2回にするなどして設定量を全て給餌した。

対照区と比較して、1%外添区は終了時の日間増重率・飼料効率に有意差があった(各々 $p=0.041$, $p=0.046$)。1%内添区は終了時の日間増重率に差があった($p=0.039$)。1%外添区・1%内添区共に対照区と比較して終了時平均体重は大きくなったが、有意差は認められなかった($p>0.05$) (表2)。

表2 ぶどう搾り滓配合飼料による飼育試験結果

試験区	対照区	1%外添区	1%内添区
開始時平均体重 (g)	1,230	1,240	1,240
終了時平均体重 (g)	1,610	1,750	1,760
日間増重率 (% / day)	0.10	0.19	0.18
飼料効率 (%)	55.5	74.3	62.7
肥満度	19.5	19.9	19.7

網掛け部は対照区との間に有意差あり ($p<0.05$)

遊離アミノ酸の分析結果を以下に示す(表3)。

今回、個別のアミノ酸量を見ると各試験区間で有意差は出なかった。そこで、旨味(アスパラギン酸・グルタミン酸)・甘味(グリシン・スレオニン・プロリン・セリン)・苦味(フェルアラニン・チロシン・アルギニン・ロイシン・イソロイシン・バリン・メチオニン・ヒスチジン)など味に関与しているグループごとに遊離アミノ酸を合算した(表4)。その結果、1%外添区の甘味を呈味するアミノ酸群が投与2カ月で対照区と比較して有意に高くなっていたが($p=0.0068$)、3カ月では差がなくなっていた。

表3 筋肉中のアミノ酸組成 (遊離)

単位mg/100g

アミノ酸	飼育期間	3カ月			3カ月		
		対照区	1%外添区	1%内添区	対照区	1%外添区	1%内添区
アスパラギン酸	(Asp)	3.5	4.0	4.0	2.5	3.5	3.0
スレオニン	(Thr)	7.5	6.5	8.0	10.0	8.0	8.5
セリン	(Ser)	11.5	9.0	10.5	10.0	9.0	9.0
アスパラギン	(Asn)	—	—	—	—	—	—
グルタミン酸	(Glu)	6.5	6.0	6.0	14.5	14.5	13.0
グルタミン	(Gln)	—	—	—	1.0	1.0	1.0
プロリン	(Pro)	3.5	6.0	5.0	4.5	5.0	5.0
グリシン	(Gly)	47.5	55.5	49.5	47.5	43.5	50.5
アラニン	(Ala)	30.0	30.0	32.5	39.0	40.5	39.0
バリン	(Val)	5.0	6.0	6.0	6.0	6.0	5.5
シスチン	(Cys)	—	—	—	—	—	—
メチオニン	(Met)	2.5	2.0	3.0	2.5	2.5	2.5
イソロイシン	(Ile)	2.0	2.0	2.0	2.5	2.0	2.5
ロイシン	(Leu)	4.0	5.0	5.5	5.0	5.0	5.0
チロシン	(Tyr)	4.5	4.5	5.0	4.5	4.5	5.0
フェニルアラニン	(Phe)	3.0	4.0	4.0	3.0	3.5	3.5
ヒスチジン	(His)	85.5	88.5	100.0	65.5	74.0	73.5
リジン	(Lys)	13.5	12.5	13.5	32.0	24.5	29.0
トリプトファン	(Trp)	2.0	2.0	2.5	2.0	3.0	2.5
アルギニン	(Arg)	3.0	2.5	3.0	5.0	3.5	4.5
合計		235.0	246.0	260.0	257.0	253.5	262.5

表4 呈味アミノ酸群の比較

単位mg/100g

味覚	2カ月			3カ月		
	対照区	1%外添区	1%内添区	対照区	1%外添区	1%内添区
旨味	10	10	10	17	18	16
甘味	73.5	83	78	72	65.5	73
苦味	109.5	114.5	128.5	94	101	102

網掛け部は有意差あり ($p<0.05$)

ドコサヘキサエン酸(以下DHA)量, エイコサペンタエン酸(以下EPA)量, 不飽和脂肪酸総量, 脂肪酸総量を以下に示す(表5)。DHA量, EPA量, 不飽和脂肪酸量, 脂肪酸総量とも, 1%外添区>対照区>1%内添区の順に多かった。

表5 筋肉中の不飽和脂肪酸総量, DHA, EPA 量(g/100g)

分析項目	単位	2ヵ月			3ヵ月		
		対照区	1%外添区	1%内添区	対照区	1%外添区	1%内添区
DHA	g/100g	0.91	0.91	0.77	0.70	0.76	0.67
EPA	g/100g	0.13	0.14	0.11	0.10	0.11	0.09
不飽和脂肪酸総量	g/100g	3.12	3.60	2.67	2.22	2.61	2.22
脂肪酸総量	g/100g	4.15	4.78	3.52	2.89	3.44	2.89

硬直指数の経時変化を見たところ、以下のとおりであった(図1)。完全硬直に達するまでの時間は1%外添区>1%内添区>対照区であったが、有意差は無かった ($p>0.05$)。硬直が完全にとれる解硬の状態になるまでの時間は1%内添区>1%外添区>対照区となった(表6)。解硬にかかる時間は対照区に対し1%外添区・1%内添区共に有意に長くなった (各々 $p=0.015$, $p=0.021$)。

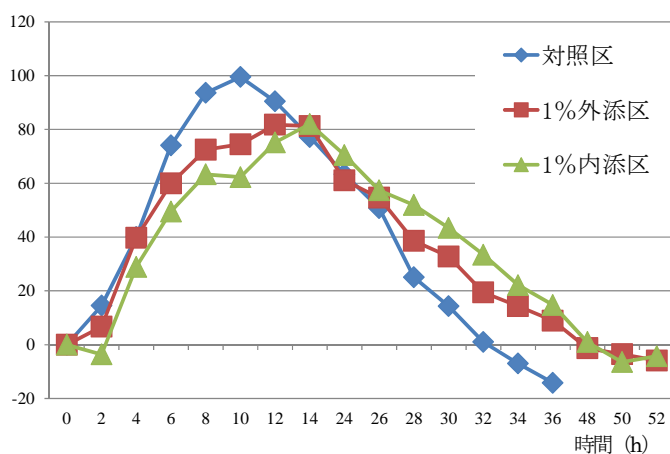


図1 硬直指数の経時変化

表6 完全硬直・解硬までの時間 (h)

	対照区	1%外添区	1%内添区
完全硬直までの時間	8.3	17.7	13.3
解硬までの時間	35.3	50.0	50.3

筋肉の色について飼育2ヵ月後、3ヵ月後に対照区と比較を行った(図2)。その結果、L値はどの試験区においても有意差は無かった。

a値は、飼育2ヵ月後の1%内添区が対照区に対して有意に高くなった。1%外添区は数値が高くなったものの、有意差は無かった。b値は対照区と比較して飼育3ヵ月後の1%内添区が有意に低くなった (各々 $p=0.0071$, $p=0.01$) (図3)。a値以外のL値・b値は飼育3ヵ月後の方が2ヵ月後より劣っており、成熟の影響と考えられた。

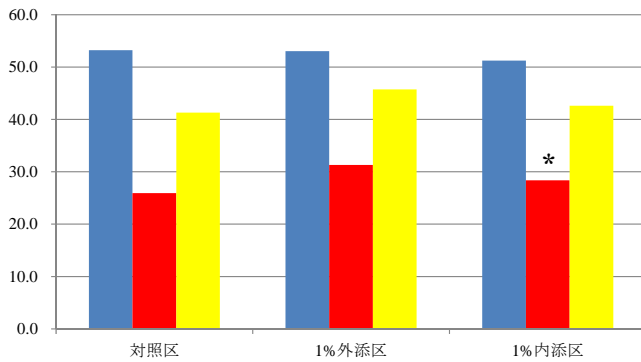


図2 飼育2カ月後の身の色

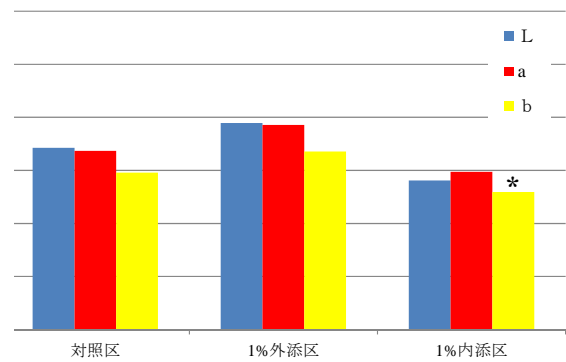


図3 飼育3カ月後の身の色

*印は対照区との間に有意差あり ($p < 0.05$)

平成24年度と異なり、色揚げに差がなかったのは、アスタキサンチン含有する餌が試験開始前から給餌されていたため、既にある程度の色がついていたのではないかと推察された。このため、色揚げについて追加で試験を実施した。

平成25年1月29日～3月12日、アスタキサンチン含有飼料を未給餌の平均体重834gのニジマスに1%外添区、対照区を設定して、それぞれ給餌を行った。飼育は事前の試験と同じ15トン池を仕切った1池を用いて行い、各10尾を飼育した。色揚げについては、3月12日に全尾を取り上げ、サーモファン (Salmo Fan™ ロシユ社製) を使用して肉色を観察した⁵⁾。サーモファンで測定した結果、1%外添区は平均26.2に対し対照区は23.6であり、有意に色が上がっていた ($p=0.0097$)。

白血球の食食率は、1%外添区が対照区に対して有意に高くなったが ($p=0.0187$)、食食指数はいずれの区も有意差が無かった ($p > 0.05$)。ヘマトクリット値は1%外添区で対照区に対して有意に高くなった ($p=0.034$) (表12)。

表12 白血球食食率と食食指数・ヘマトクリット値

	対照区	外添区	内添区
食食率	18.2	41.4	35.3
食食指数	2.12	2.15	3.73
ヘマトクリット値	48.0	59.9	59.6

網掛け部分対照区と比較して有意差あり ($p < 0.05$)

味覚センサーにより、「酸味」、「うま味」、「苦味」、「塩味」、「渋味」、「旨味コク」、「渋味刺激」、「苦味雑味」について検討を行った。検討した項目のうち、「酸味」、「苦味」、「塩味」、「渋味」、「渋味刺激」については数値が測定されなかった。

測定された項目のうち、「旨味コク」、「苦味雑味」について2カ月飼育後の対照区を0とした相対値を図4に示した。2カ月飼育後も3カ月飼育後も対照区と比較して、1%外添区・1%内添区共に「旨味コク」が高く、「苦味雑味」が低くなった。

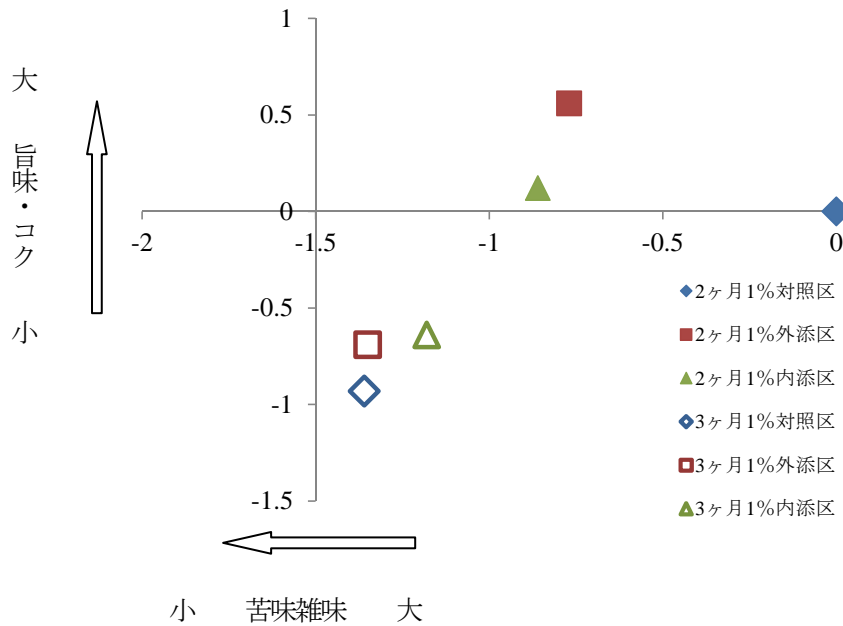


図4 味覚試験結果 (味覚センサー) 相対値

考察

平成25年度は、実際に普及が図られると想定したニジマス大型魚で試験を実施した。

平成24年度に使用した餌は手作りであり、品質的なバラつきがあったと推定されるが、平成25年度は飼料メーカーの試験用のEP製造機を使用して製造したため、実際に養殖の現場で使用されている餌と同品質の飼料を用いることができた。

成長等の結果は、1%外添区で日間増重率と飼料効率が対照区と比較して有意に良くなり、1%内添区でも日間増重率が有意に対照区よりも良くなった。昨年度の試験で飼料効率は全体的に低い値を示したが²⁾、今回の試験では魚のサイズから標準的と考えられる値の範囲内にあり、昨年度の飼料効率の低さは餌の質の問題だった可能性がある。

味と密接な関わりのある遊離アミノ酸を分析したところ、個々のアミノ酸単独の数値に有意差は無かった。そこで、呈味成分ごとにまとめたアミノ酸群を味ごとに比較したところ、甘味を感じるアミノ酸であるグリシン・スレオニン・プロリン・セリンの合計値で2カ月飼育後の1%外添区では有意に対照区に対して上昇がみられた。飼育3カ月後では有意差が無くなっていったが、このことについては後述する。

昨年度の試験結果から不飽和脂肪酸類の筋肉中の含有量は試験区が高くなることを期待していたが、最終的に有意差は無かった。1%内添区は対照区よりも含有量が低い値となった。今年度使用した飼料はEP飼料であり、内添区の場合、配合したぶどう搾り滓は乾燥時と造粒時の2回高温にさらされることになった。更に造粒時には高圧もかかっており、そのために何らかの有用成分が失われたのかもしれない。DP飼料で作成すれば、製造時に圧力をかけないため高圧による影響は回避できると思われるが、DP飼料の特性として飼育水が汚れる・油等が添加しにくいなどのデメリットもある。特に外添時には油を用いて添加することが一般的であるため、外添にはEP飼料の方が適している。

鮮度保持の試験では、完全硬直までの時間については各試験区共に有意差は無かった。しかし、解硬までの時間については、対照区が平均35.3時間だったのに対し、1%外添区50.0時間、1%内添区50.3時間とぶどう搾り滓を添加した試験区の方が有意に伸びていた。このことによって鮮度保持に効果があったと考えられる。また、解硬中はアデノシン3リン酸が分解されイノシン酸が生成されるため最も旨味が増している時期であり、このステージが長く保持できることは食味の点で有利である。

筋肉の色は、最初に実施した試験では飼育2カ月後の1%内添区でa値が対照区に対して有意に高くなったが、その他の項目で有意差が認められなかっただけでなく、3カ月飼育後には1%内添区のb値が対照区に対して有意に低くなるなど不安定な結果となった。原因としては、試験開始前からすでにアスタキサンチンが含まれた餌を給餌していたため試験開始時に既にある程度色があがっていたためではないかと推測された。そのため、追加試験としてアスタキサンチンを給餌していないニジマスに1%外添区飼料と対照区飼料を与えて色揚げを観察したところ、2カ月後には有意に1%外添区の身の色が揚がっていた。このことから、ぶどう搾り滓入りの餌を給餌すると、身の色がより濃く揚がるのではなく、身の色が対照区と比較してより早く揚がるということが推察された。

食食率について、1%外添区は昨年と同じく向上した。その一方で、1%内添区の平均値は対照区を上回ったものの有意差は無かった。不飽和脂肪酸と同じくEP飼料造粒時の高圧等の高温と高圧により食食率を向上させる成分が影響を受けていることが懸念された。このことから使用する餌をEP飼料で作成する場合には外添方式にすることが有利と考えられた。

味覚について、味覚センサーを用いて検査を行った。3カ月飼育した後に測定した値は、2カ月飼育後に測定した値より明らかに劣った。これは色揚げなどと同様に、成熟の影響であると考えられる。従来から成熟に伴い味が落ちることは指摘されていたが、今回機械による測定によって客観的に裏付けられた。検査時期に関わらず、対照区と比較してぶどう搾り滓を添加することによって「旨味コク」が向上し、「苦味雑味」が低下した。甘味を呈味する遊離アミノ酸群の量の向上とともに、味覚センサーによる測定で味覚も向上したと考えられた。

今回の試験の結果から、1%のぶどう搾り滓を外添方式で餌に添加することにより、飼料効率や日間増重率が向上するなど飼育成績の向上が見込めるとともに、鮮度がより長く保持できること、生体防御能が向上すること、色揚げが早まることや食味の向上が図られることが判った。また1%外添区が対照区に劣る点は無かった。1%内添区は不飽和脂肪酸量やDHA量などが対照区に劣ることがあり、EP飼料に対する添加方法としては外添方式が適していると考えられた。

以上により、ぶどう搾り滓は1%を外添方式で添加することが望ましいと考えられた。

1%ぶどう搾り滓を外添方式で餌に添加して得られた結果は、いずれも飼育や販売に有利に働く要素である。今後、普及をはかるためには、ぶどう搾り滓の安定的な供給や安価な乾燥・粉碎方法を確立することが必要である。特に粉碎にコストと時間がかかるために、低コストで素早く、そして細かく粉碎する方法が見つかるのが理想である。

今回の試験では忍野支所で大型の全雌ニジマス三倍体を飼育していなかったため、ニジマス二倍体を用いて試験を行った。この結果飼育3か月目に測定した時に成熟による影響が脂肪酸やアミノ酸量、色、味などに様々な影響を及ぼしたと考えられた。成熟しない全雌三倍体で試験を実施すればより明確な結果が得られたと考えられる。

要約

1. ぶどう搾り滓入りの飼料を飼料メーカーで作成し、飼育試験を行った。
2. ぶどう搾り滓入り（1%内添・1%外添）飼料を給餌した飼育結果を対照区と比較したところ1%外添区で日間増重率、飼料効率ともに有意に向上し、1%内添区で日間増重率が向上した。
3. 遊離アミノ酸の単体の量に試験区と対照区で差は見られなかったが、呈味アミノ酸群ごとに見ると1%外添区の甘味の項目で対照区に対し有意に上昇した。
4. DHA・EPA量、不飽和脂肪酸量、脂肪酸総量は、1%外添区>対照区>1%内添区の順に多かったが、有意差は無かった。
5. 硬直指数の経時変化を見たところ、完全硬直までの時間は対照区との間に有意差は見られなかったが、解硬までの時間は1%内添区・1%外添区共に有意に延長された。
6. 筋肉の色について、1%外添区で対照区よりも早く色が揚がることが判明した。

7. 非特異的防御能として白血球食食率や食食指数，ヘマトクリット値を測定したところ，1%区内添区，1%外添区共に食食率が有意に上昇し，1%外添区は対照区より有意にヘマトクリット値が高い値を示した。
8. 味覚センサーで味を測定したところ，対照区と比較して，1%外添区・1%内添区共に「旨味コク」が高く，「苦味雑味」が低くなった。
9. ニジマスの餌に添加するぶどう搾り滓は1%を外添方式で添加することが望ましいと考えられた。

文 献

- 1) 名倉盾 (2012) : ぶどう搾り滓を利用した新ブランド魚の開発. 山梨県水産技術センター事業報告書第 40 号, 5-7.
- 2) 名倉盾 (2013) : ぶどう搾り滓投与による養殖魚の品質向上～投与濃度の検討～. 山梨県水産技術センター事業報告書第 41 号, 5-13.
- 3) 尾藤方通・山田金次郎・三雲泰子・天野慶之 (1983) : 魚の死後硬直に関する研究, 改良法による魚体の死後硬直の観察. 東海区水産研究所研究報告 109, 89-96.
- 4) 日本水産資源保護協会 (1998) : 改良ポンドサイトキットマニュアル (平成9年度版)
- 5) 松原利光・黒沢静男・佐藤敦彦 (2006) : 小型サイズのマス類の色揚げ試験. 群馬県水産試験場研究報告 第 12 号 49-54.