

学 位 論 文 要 旨

氏 名

ジャンス アラノ ラガザ

題 目

海産魚における飼料性海藻の有効利用に関する栄養学的研究
(NUTRITIONAL STUDIES ON EFFECTIVE UTILIZATION OF DIETARY
SEAWEEDS ON MARINE FISH SPECIES)

魚類に海藻を与えることにより魚類の成長や飼料効率及び健康状態に効果を示すことはこれまで報告されている。しかし、一部の海藻に限られ藻類の種類による影響を比較した例は少ない。本研究では、哺乳類に対して生物学的機能が報告されている褐藻 *Sargassum fulvellum* (SF) と紅藻 *Eucheuma denticulatum* (ED)を用い、マダイ及びヒラメに対する海藻の添加効果と至適添加量を明らかにすることを目的とした。SF および ED の一般組成、総アミノ酸含量、脂肪酸組成を調べた結果、粗タンパク質量は SF が 4.12%、ED が 3.33% で脂質含量はそれぞれ 1.60% 及び 1.13% であった。また、アミノ酸含量は 72.4mg 及び 51.8mg であった。脂肪酸組成は両者とも PUFA が高い値を示した。

まず、マダイ稚魚に対して、ED を 0%、3%、6% 及び 9% 添加した試験飼料を投与し飼育実験を実施した。飼育試験の結果、ED3% 添加区が最も高い成長を示し、ED 添加区では、血中ヘモグロビン量、GOT 値及び体内酸化ストレス度を改善することが明らかとなった。

次にヒラメを用いて、SF 添加量を変えた試験飼料 (0%、3%、6% 及び 9%) を給餌し、成長と体脂質成分に及ぼす影響を検討した。SF 添加区では無添加区と比較して成長、摂餌量、飼料転換効率及びタンパク効率が改善された。また、SF 添加区的全魚体、筋肉及び肝臓の脂質含量は無添加区と比べ低くなり、肝臓中の DHA 及びアラキドン酸含量は高くなった。以上の結果から、ヒラメは SF を有効に利用し、その至適添加量は飼料中 6% であることが示唆された。ヒラメに対する ED の添加効果を調べ、ヒラメにおいても ED3% 添加が最も高い成長と飼料転換効率を示したが、ED 添加量が増加するにつれ成長が低下することがわかった。また、ED 添加により筋肉中の n-3 系脂肪酸が増加することが確認された。ED 添加により血中の総コレステロール (TCHO) 及びトリグリセリド量 (TG) に違いがみられた。次にヒラメにおける ED と SF の添加効果を比較した結果、海藻添加区では血中 TCHO と TG 量が低下し、成長では 6%SF 添加が、体化学組成及び健康状態を指標とした場合 ED3% 添加が優れていることを明らかにした。

SF 由来のフコイダンはフコース 33.84%、硫酸基量 22.3% で、ED に含まれるカラギナンの硫酸基量は 28.4% であった。また、SF 及び ED のメタノール・エタノール抽出物は *E.coli* の増殖を抑制した。

以上の結果から、これら 2 種の海藻は海産魚のマダイ及びヒラメの成長と健康状態を改善し、飼料素材として有用であることが明らかにされた。

学 位 論 文 要 旨

氏 名	Janice Alano Ragaza
題 目	NUTRITIONAL STUDIES ON EFFECTIVE UTILIZATION OF DIETARY SEAWEEDS ON MARINE FISH SPECIES (海産魚における飼料性海藻の有効利用に関する栄養学的研究)

Seaweed supplementation has shown positive results in growth, feed utilization and overall health in many fish. Nonetheless, not all seaweeds have been tested in feeds for fish. *Sargassum fulvellum* (SF) and *Eucheuma denticulatum* (ED) are reported to exhibit biological functions. To obtain information on optimal levels of seaweeds, experiments were conducted to determine effects of supplementing seaweeds to red sea bream (*Pagrus major*) and Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*) diets. SF and ED were analyzed for proximate, amino acid and fatty acid profiles. SF contained 4.12% protein and 1.60% lipid; ED had 3.33% protein and 1.13% lipid. Total amino acids in SF and ED were 72.4 mg/g and 51.8 mg/g of seaweed, respectively. Fatty acid composition showed high PUFA levels.

The first experiment aimed to determine optimal supplementation level of ED in red sea bream diet. Five isonitrogenous and isolipidic diets were prepared with ED levels of 0%, 3%, 6%, and 9%. Results demonstrated that fish fed 3% ED grew fastest. ED supplementation improved Hb, GOT, and d-ROMs. ED can be efficiently utilized by red sea bream, and optimal level is at 3%.

The second experiment aimed to determine optimal supplementation levels of SF for Japanese flounder. Five diets were prepared with SF levels of 0%, 3%, 6%, and 9%. Results demonstrated that fish fed SF-supplemented diets improved growth. Feed intake increased in fish fed SF-supplemented diets, reflecting better feed conversion and protein efficiency. The lipid contents of whole body, muscle and liver of fish fed SF-supplemented diets were lowered. DHA and AA contents in liver of fish fed SF-supplemented diets were increased. SF can be efficiently utilized by Japanese flounder, and optimal level is at 6%.

The third experiment aimed to determine the effects of supplementation of ED in diets of Japanese flounder. Five diets were prepared with ED supplementation levels of 0%, 3%, 6%, and 9%. Results indicated that growth and feed efficiency improved when 3% of ED was supplemented in the diets. There was reduction of growth and feed efficiency in fish fed diets with higher supplementation levels. Fish fed ED-supplemented diets exhibited higher muscular omega-3 polyunsaturated fatty acid. Blood parameters showed significant differences in TCho and TG levels. ED can be efficiently utilized by Japanese flounder, and optimal level is at 3%.

The fourth experiment aimed to compare previously determined dietary supplementation levels of ED and SF in diet of Japanese flounder. Four diets were prepared with ED and SF supplementation levels of 3% and 6%, respectively. Results demonstrated that fish fed SF showed highest growth and feed utilization. Blood TCho and TG were significantly lowered in fish fed seaweed-supplemented diets. LYS was also higher. SF at 6% supplementation resulted in better growth and feed utilization efficiency, improved carcass nutrient composition and enhanced health status than ED at 3% supplementation for Japanese flounder.

The last experiment aimed to determine SF and ED nutritional contents. Extracts thereof were quantified for fucose and sulphate contents and anti-bacterial activities. Fucoidan contained 33.84% fucose and 22.30% sulphate. Carrageenan contained 28.40% sulphate. Methanol and ethanol extracts of both seaweeds exhibited considerable inhibition zones against *E. coli*. In conclusion, both seaweeds contain essential nutrients, which make them potential ingredients for fish feeds.

学位論文審査結果の要旨

学位申請者 氏 名	ジャニス アラノ ラガザ
審査委員	主査 鹿児島 大学 教授 越塩 俊介
	副査 鹿児島 大学 教授 山本 淳
	副査 鹿児島 大学 教授 小山 次朗
	副査 鹿児島 大学 教授 杉元 康志
	副査 鹿児島 大学 准教授 石川 学
審査協力者	
題 目	Nutritional Studies on Effective Utilization of Dietary Seaweeds on Marine Fish Species (海産魚における飼料性海藻の有効利用に関する栄養学的研究)
<p>飼料への海藻粉末添加や海藻の給餌によって、魚類の成長や飼料効率及び健康状態が改善されることはこれまで報告されている。しかし、飼料素材として用いられている海藻は、一部の種類に限られ藻類の種類による効果を比較した例は少ない。本研究では、哺乳類に対して生物学的機能性が報告されている褐藻 <i>Sargassum fulvellum</i> (SF) と紅藻 <i>Eucheuma denticulatum</i> (ED)を用い、マダイ及びヒラメに対する海藻の添加効果と至適添加量を明らかにすることを目的としている。</p> <p>まず、SF および ED の一般組成、総アミノ酸含量、脂肪酸組成及びフコース量などを調べた結果、粗タンパク質量は SF が 4.12%、ED が 3.33% で脂質含量はそれぞれ 1.60% 及び 1.13% であること、また、アミノ酸含量は 72.4mg 及び 51.8mg であることを明らかにしている。また、脂肪酸組成では、両者とも PUFA の割合が高いことを確認している。次にそれぞれの海藻に含まれる硫酸基量を測定し、SF 由来のフコイタンはフコース 33.84%、硫酸基量 22.3% で、ED に含まれるカラギナンの硫酸基量は 28.4% であることを示した。また、SF 及び ED のメタノール・エタノール抽出物を用いて、<i>E.coli</i> の増殖に対する効果を調べ、メタノール・エタノール抽出物が増殖を抑制することを示してい</p>	

る。

次にマダイ稚魚に対して、ED を 0%、3%、6%及び9%添加した試験飼料を投与し飼育実験を実施し、飼育試験の結果、ED3%添加区が最も高い成長を示し、ED 添加区では、血中ヘモグロビン量、GOT 値及び体内酸化ストレス度を改善することを明らかにしている。

ヒラメを用いた飼育試験では、SF 添加量を変えた試験飼料 (0%、3%、6%及び9%) を給餌し、成長と体脂質成分に及ぼす影響を検討している。その結果、SF 添加区では無添加区と比較して成長、摂餌量、飼料転換効率及びタンパク効率が改善されることを示した。また、SF 添加によって、全魚体、筋肉及び肝臓の脂質含量は無添加区と比べ低くなること、肝臓中の脂肪酸組成では、DHA 及びアラキドン酸の割合が高くなることを明らかにしている。また、ヒラメが SF を飼料素材として有効に利用でき、その至適添加量は飼料中 6%であることを示唆している。ヒラメに対する ED の添加効果を調べた飼育実験では、マダイと同様にヒラメにおいても ED3%添加が最も高い成長と飼料転換効率を示したが、ED 添加量が増加するにつれ成長が低下することを示している。また、ED 添加により筋肉中の n-3 系脂肪酸の割合が増加することを確認し、血中総コレステロール (TCHO)及びトリグリセリド量 (TG)に影響を与えることを明らかにしている。次にヒラメにおける ED と SF の添加効果を比較した飼育実験では、海藻添加区では血中 TCHO と TG 量が低下すること、成長では 6%SF 添加が、体化学組成及び健康状態を指標とした場合 ED3%添加が優れていることを明らかにしている。

以上の結果をまとめ、これら 2 種の海藻 (SF 及び ED) は海産魚のマダイ及びヒラメの成長と健康状態を改善し、飼料素材として有用であることを明らかにしている。本研究における海藻の添加効果及び至適添加量に関する知見は、配合飼料素材としての海藻類の有効利用と健康な魚を育成するための養殖用配合飼料の開発に大いに寄与するものであると考えられる。

以上の理由から、本論文は博士(水産学)の学位論文として価値を十分満たしていると考えられる。

最終試験結果の要旨

学位申請者 氏名	ジャニス アラノ ラガザ				
審査委員	主査	鹿児島	大学	教授	越塩 俊介
	副査	鹿児島	大学	教授	山本 淳
	副査	鹿児島	大学	教授	小山 次朗
	副査	鹿児島	大学	教授	杉元 康志
	副査	鹿児島	大学	准教授	石川 学
審査協力者					
実施年月日	平成25年 1月 29日				
試験方法 (該当のものを○で囲むこと。)					<input checked="" type="radio"/> 口答・ <input type="radio"/> 筆答
<p>主査及び副査は、平成25年1月29日の公開審査会において学位申請者に対して、学位申請論文の内容について説明を求め、関連事項について試問を行った。具体的には別紙のような質疑応答がなされ、いずれも満足できる回答を得ることができた。</p> <p>以上の結果から、審査委員会は申請者ジャニス アラノ ラガザが博士(水産学)の学位を受けるに必要な十分の学力ならびに識見を有すると認めた。</p>					

学位申請者
氏名

ジャニス アラノ ラガザ

[質問1] 海藻の機能性は、褐藻ではフコイダン、紅藻ではカラギーナンによるものと考えてよいのか。

[回答1] そう思われる。

[質問2] 本研究の目的は何であるか。海藻粉末は、魚粉代替素材と機能性飼料素材のどちらであるか。

[回答2] 私の研究目的は、海藻の魚粉代替物としての利用ではなく、栄養価向上のための飼料添加物としての評価である。海藻粉末を魚粉代替物として利用した例はあるが、魚粉に比べて成長が劣ることが報告されている。

[質問3] この研究で用いた海藻に含まれるフコイダンとカラギーナンの分子量は、どれくらいであるか。また、これらは消化管内で消化され吸収されているのか。消化吸収の面から見て、海藻の効果はどのように説明するか。

[回答3] 今回は多糖類の分子量は測定していない。実験2と3では、海藻添加量が増加するにつれて成長や飼料転換効率が改善した。多糖類の増加によって、エネルギー源として利用されるタンパク質が減少したのではないかと考える。

[質問4] 海藻添加により、肝臓中のEPA(%)が増加しているが、筋肉中でも同じ傾向がみられたのか。

[回答4] 筋肉中の脂肪酸組成には、違いがみられなかったためスライドには載せていない。

[質問5] Nitrogen free extractsとは何か。

[回答5] 炭水化物に相当する。

[質問6] なぜマダイ稚魚の血中GOTとGPTは低下したのか。

[回答6] GOT及びGPTは、肝機能の指標である。海藻摂取により肝機能が改善されたと考えられる。

[質問7] なぜ、最後の実験では、なぜED添加量を3%、SF添加量を6%と決定したのか。

[回答7] 実験3と4の結果を基に決定した。

[質問8] EPAやDHAのパーセンテージが増加しているが、含量が増加したのか、他の脂肪酸の割合が減少したのか、どちらであるか。

[回答8] 含量が増加している。

[質問9] カラギーナンは高価なものであるが、経済的に見て養殖用配合飼料として使用できるのか。

[回答9] カラギーナンは機能性物質としての効果と粘結剤としての効果を持っているため配合飼料に使いやすい。今回用いたEDは、比較的安価なものである。

[質問10] 海藻粉末添加により飼料のテクスチャーや水中での安定性に変化はあったか。

[回答10] 目視での観察では、海藻粉末添加飼料の保型性が高くなった。また、褐藻に含まれるアルギン酸は飼料の水中での安定性を増加し、成長や摂餌量を向上させることが知られている。

学位申請者
氏名

ジャニス アラノ ラガザ

[質問 1 1] 海藻のコレステロール低下効果は、海藻中の単一物質による効果であるか、複合効果であるのかどちらであるか。

[回答 1 1] 海藻中にはコレステロール低下作用を有する物質としてn-3系脂肪酸、カラギーナン及び食物繊維の存在が知られている。これらの複合的な効果ではないかと考えている。

[質問 1 2] 海藻添加により、アラキドン酸の増加が報告されている例はあるのか。

[回答 1 2] 褐藻中にはフコキサンチンが存在し、マウスで肝臓中のDHAとアラキドン酸を増加させることが報告されている。

[質問 1 3] アラキドン酸は魚類の必須脂肪酸であると考えられる研究者もいるが、どう思うか。

[回答 1 3] アラキドン酸は必須脂肪酸の前駆体として働くので、必須脂肪酸と考えてよいと思う。

[質問 1 4] NC飼料を摂取した魚のd-ROMsが高いのはなぜか。BAPとは何か説明してほしい。

[回答 1 4] BAPとは抗酸化能である。NC飼料を摂取した魚は、飼料の栄養価が低いため、体内の酸化状態が高くなり、d-ROMsが高くなったものと思われる。

[質問 1 5] 肝臓中で不飽和脂肪酸が増加するメカニズムを説明してほしい。

[回答 1 5] 肝臓中で、飼料性脂肪酸の鎖長延長、不飽和化の反応が生じ、高度不飽和脂肪酸が合成されると考えられる。