

養殖ブリに対するペプチド鉄の効果と安全性についての研究

著者	若林 高明, 中内 良介, 宮崎 照雄, 窪田 三朗
雑誌名	日本獣医畜産大学研究報告
巻	38
ページ	79-92
発行年	1989-12-01
その他のタイトル	The Study of Iron Peptide on the Effect and Safety in Cultured Yellow Tails
URL	http://hdl.handle.net/10076/2452

養殖ブリに対するペプチド鉄の効果と
安全性についての研究

若林高明・中内良介・宮崎照雄・窪田三朗

The Study of Iron Peptide on the Effect and Safety
in Cultured Yellow Tails

Takaaki WAKABAYASHI, Ryousuke NAKAUCHI, Teruo MIYAZAKI
and Saburoh S. KUBOTA

日本獣医畜産大学研究報告 第38号 別刷 平成元年12月

Reprinted from THE BULLETIN OF THE NIPPON VETERINARY
AND ZOOTECHNICAL COLLEGE, No. 38, December, 1989
(Musashino, Tokyo, Japan)

養殖ブリに対するペプチド鉄の効果と 安全性についての研究

若林高明*・中内良介*・宮崎照雄**・窪田三朗***

* エーザイ株式会社 動薬事業部

** 三重大学 生物資源学部

*** 日本獣医畜産大学 魚病学教室

要 約 養殖ブリの飼養管理には今だ多くの改善点が残されている。なかでも養殖ブリの貧血を伴う発育低下と斃死は生産性の低下をもたらし、養殖業界に大きな損害を与えている。桑原、竹田はペプチド鉄と各種鉄剤とを比較し、上記の問題の改善にペプチド鉄が有効であると指摘している。

そこで本実験では平均魚体重 208 g の養殖ブリに、冷凍生餌のコオナゴを餌料としペプチド鉄を鉄 (Fe) として 10 mg, 30 mg (餌料 1 kg 当り) 添加混和したものを効果試験には 21 日間、安全性試験では 60 日間連続給与した。実験開始時の供試魚の血液性状は総赤血球数 (RBC)、ヘモグロビン (Hb) 量、ヘマトクリット (Ht) 値、血漿総蛋白質 (T・P) ともに劣悪な状態を示していたが、ペプチド鉄の Fe 30 mg 区では著明な改善が見られた。さらに安全性試験から MCV で Fe 投与区が高い値を示し、MCHC では正の勾配で高い値を示した。また、いずれの組織所見からも副作用を示す問題点はなく、貧血防止のみならず体質の改善に効果があることが明らかとなった。また Fe 投与区の刺身の色は天然魚に近い養殖ブリの生産の可能性を示唆している。

キーワード：ペプチド鉄、養殖ブリ、貧血・

日獣畜大研報, 38, 79~92, 1989.

養殖ブリの飼養管理には数多くの問題点がある。その中で養殖ブリの貧血症状もしばしば研究者や生産者によって指摘され、その改善が要望されている。貧血の原因については必ずしも明らかではないが、細菌感染症、鯉寄生虫症、栄養性疾病、環境性疾病等に関連するものが多いと言われている。栄養性と考えられる 1 例として桑原、竹田らによる配合飼料をブリに与えた実験では、鉄剤無添加の北洋ミールを主成分とした場合に、供試魚は明らかに貧血に陥り、体質の低下を示唆する結果を報告している^{6,7,8)}。その報告では貧血を防止する目的でクエン酸第二鉄、硫酸第一鉄、ペプチド鉄を飼料に添加した場合、最も秀れた貧血防止効果はペプチド鉄^{1,2,3)}であるとしている。

本実験では上記の実験結果を参考にして、冷凍生餌のコオナゴにペプチド鉄を添加し、その効果と安全性について検討した。

材料および方法

供試魚は三重県南勢町礪浦地先海面で養殖中のブリ稚魚 (平均体重 208 g) で、7 月下旬に 2.7 m 角の小割生

簀に下記のように分養した。ペプチド鉄 (Fe 含量 10.0 %) の添加量^{4,9,10)}は鉄として対照区 (cont) 0 mg, 試験区は 10 mg (Fe-10) と 30 mg (Fe-30) (各々餌量 1 kg 当り) とした。放養個体数は 1 区 250 尾を基準とした。即ち、対照区 251 尾、10 mg 区 272 尾、30 mg 区 228 尾である。ブリ稚魚は分養の時点で類結節症の流行終息期にあり、実験開始時は連鎖球菌症の流行初期にあたっている。また、摂餌の安定を必要とするこのような実験では実験開始直前の個体数の補正は困難で、そのまま実験を進めた。

有効性の判定は鉄剤の性格から連用の場合、20 日間程度が適切と考えられた。したがってこの時点で必要個体数を採材し、残りの個体については、安全性の確認のため、ひきつづき 40 日間の連用を試みた。実験開始は 8 月 2 日で、有効性の実験に必要なサンプリングは 8 月 22 日に行い、それに引き続いて行った安全性の確認のためのサンプリングは 9 月 30 日に行い、その個体数は各区とも血液所見に 10 尾を原則とした。なお、外見的に細菌性の疾病に罹患していることが明白な個体はこれを除外して、健康魚で補てんした。

Table 1. Mean and Confidence interval of body length, body weight and Hematologic data.

	B.W.(g)	B.L.(mm)	$\frac{B.W(g)}{B.L.^3(cm) \times 10^3}$	RBC($10^4/mm^3$)	Hb(g/dl)	Ht(%)	MCH(pg)	MCV(μm^3)	MCHC(%)	T. P
Initial Control (uninfected area)*	208 ± 41 (181)	239 ± 17 (214)	15.2 ± 0.8 (18.5)	313 ± 31 (469 ± 43)	6.9 ± 0.6 (12.3 ± 1.2)	32.8 ± 2.4 (48.0 ± 9)	23.0 ± 1.9 (26.2)	109 ± 9 (102)	21.3 ± 2.4 (25.6)	3.9 ± 0.3 (4.2 ± 0.3)
After 21 days Control	214 ± 12	239 ± 5	15.6 ± 0.4	476 ± 30	12.1 ± 0.9	54.3 ± 5.1	25.5 ± 0.6	114 ± 6.5	22.5 ± 1.1	4.4 ± 0.2
Fe-10	219 ± 17	235 ± 6	16.8 ± 0.3	483 ± 19	12.1 ± 0.5	54.1 ± 2.5	25.0 ± 0.6	112 ± 4.0	22.3 ± 0.6	4.5 ± 0.2
Fe-30	217 ± 14	238 ± 4.9	16.1 ± 0.7	496 ± 21	13.3 ± 0.6	52.6 ± 3.1	26.5 ± 1.8	108 ± 7.3	24.5 ± 1.4	4.7 ± 0.2
After 60 days Control	435 ± 31	298 ± 13	16.7 ± 1.3	496 ± 25	15.9 ± 0.7	60.4 ± 3.0	32.2 ± 1.1	122 ± 5.8	26.3 ± 1.2	4.2 ± 0.2
Fe-10	439 ± 27	298 ± 14	17.7 ± 2.1	475 ± 13	14.2 ± 0.5	60.3 ± 1.6	30.0 ± 0.8	127 ± 3.2	23.5 ± 1.0	4.3 ± 0.2
Fe-30	473 ± 35	293 ± 12	17.9 ± 0.6	450 ± 22	15.0 ± 0.8	57.2 ± 2.7	32.3 ± 1.9	127 ± 6.0	26.4 ± 1.6	4.4 ± 0.3

* Kouchi Prefecture

日間投餌量は区別に総魚体重の 20% 量のコオナゴとし、その餌料組成は前述のペプチド鉄の所定量、0.5% 量の総合栄養剤 (鉄剤非混入)、0.3% の粘結剤を添加し、これを均質化した後に自由摂餌の方法で全摂餌させた。サンプリング時の測定項目は体長と体重に加えて 21 日目と 60 日目は総赤血球数 (RBC)、ヘモグロビン (Hb) 量、ヘマトクリット (Ht) 値を、さらに内臓諸器官を固定して病理組織学的検索に供しこれらの測定から、MCV, MCHC, MCH 等を算出した⁵⁾。なお、実験開始時は細菌性疾病の流行期にあたったので、同程度の成長段階にある非流行地における上記の測定項目および算出値を参考までに付記した。

I. 効果実験の結果と考察

実験開始時と終了時ではどの区も体長・体重共に有意差はみられなかった (Table. 1., Fig. 1.)。実験開始時の供試魚の血液性状は総赤血球数 (RBC)、ヘモグロビン (Hb) 量、ヘマトクリット (Ht) 値、血漿総蛋白質量 (T. P) とも、いずれも劣悪な状態を示しており、ペプチド鉄の投与により 21 日後には対照区よりも良好な値を示しているが、対照区自体もそれぞれの性状が多少改善されている。このことは連鎖球菌症等が終息したためと考えられ、そのためにペプチド鉄投与区^{4,9,10)}と対照区の間には有意差がみられなかった。

ヘモグロビン (Hb) 量はペプチド鉄添加の有無に係りなく改善されており、平均赤血球ヘモグロビン量 (MCH) も似た傾向がある。ただ、有意差は認められないものの Fe-30 区では改善が明瞭である。平均赤血球容積 (MCV) はペプチド鉄の投与量が多いものほど小球化の傾向がみられるが、特に問題とするほどではないし、3 区の間には有意差もない。

投与 21 日目の肝実質細胞は実験開始前とくらべ脂肪の量が僅かに減少しているが、その他の点はほぼ同様な状態を示している (Fig. 9, 10) が、ペプチド鉄投与区は対照区よりも萎縮の傾向が弱まり、貯蔵脂肪は実験開始時以前にくらべてやや増加がみられている (Fig. 11, 12)。その他に特記すべき異常はみられない。(養殖魚の肝細胞の脂肪蓄積は健康である限り適量が存在する。) 脾における病的異常は特記すべきものはなく、実験開始前にくらべて対照区もペプチド鉄投与区もヘモジデリンの沈着が増加しているものが多く、その傾向は対照区よりも投与区の方が著明である (Fig. 13~16)。この点についてはさらに検討を要するが、マクロファージセンターへの集積と活動的なマクロファージ中のヘモジデリンの意義の違いを考えると投与区には後者が多いことから、

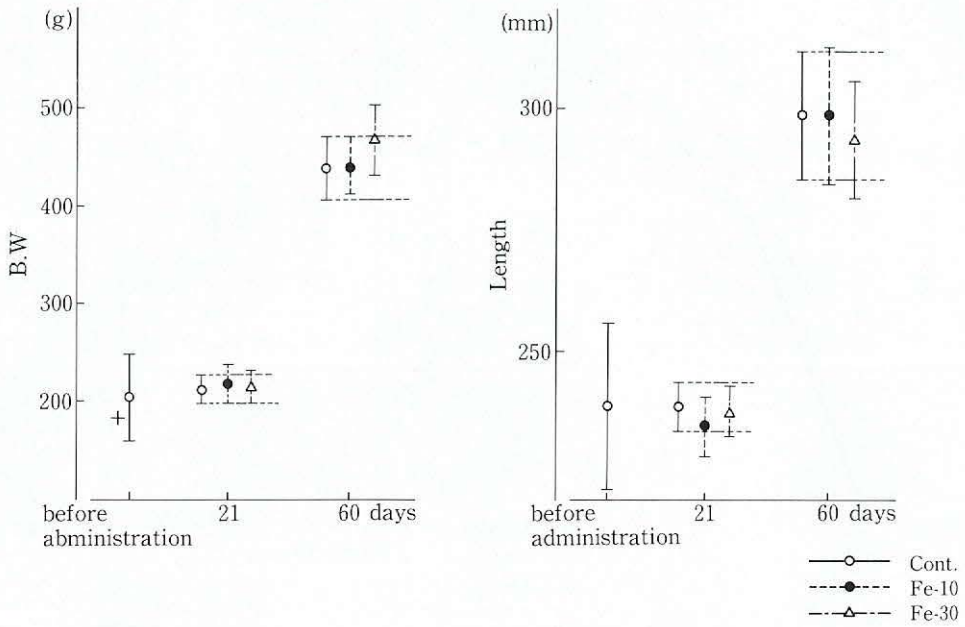


Fig. 1. Length & body weight of cultured yellow tails.

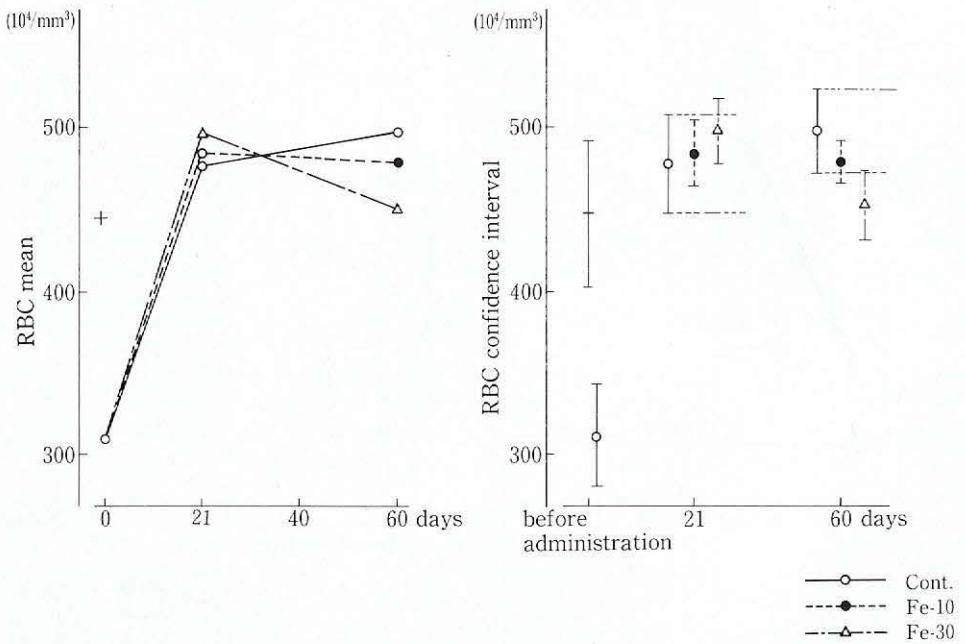


Fig. 2. Red blood cells (RBC) of cultured yellow tails.

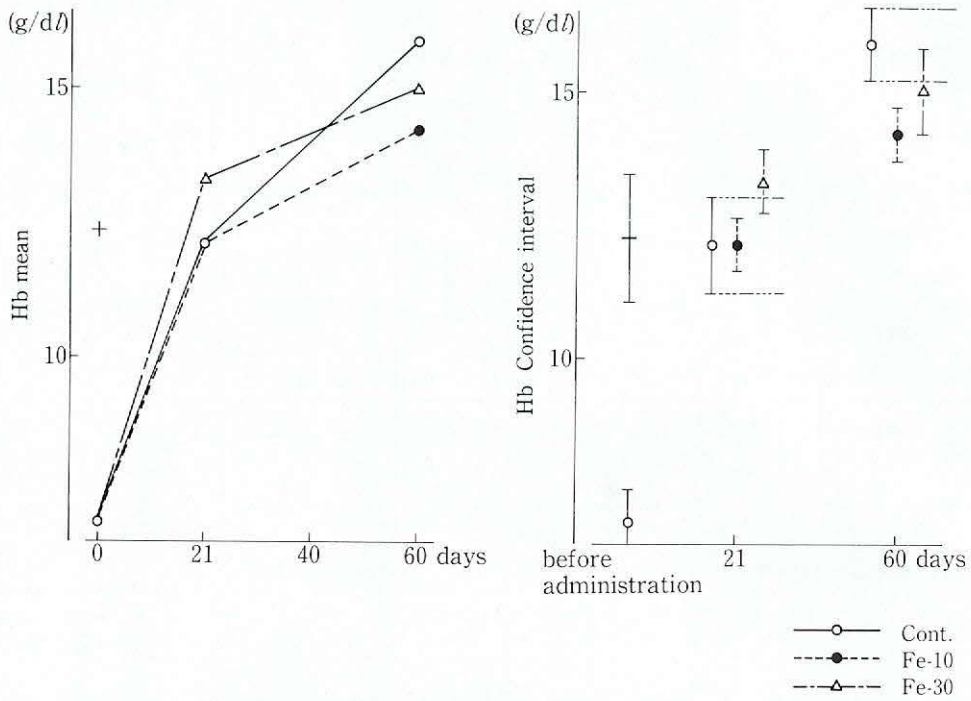


Fig. 3. Hemoglobin (Hb) of cultured yellow tails.

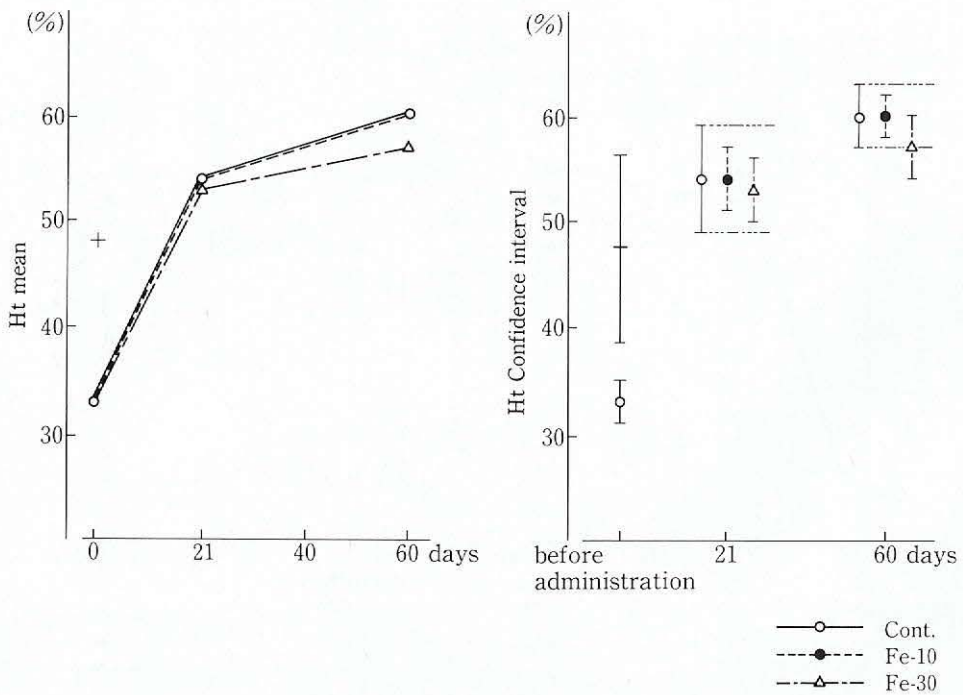


Fig. 4. Hematocrit (Ht) of cultured yellow tails.

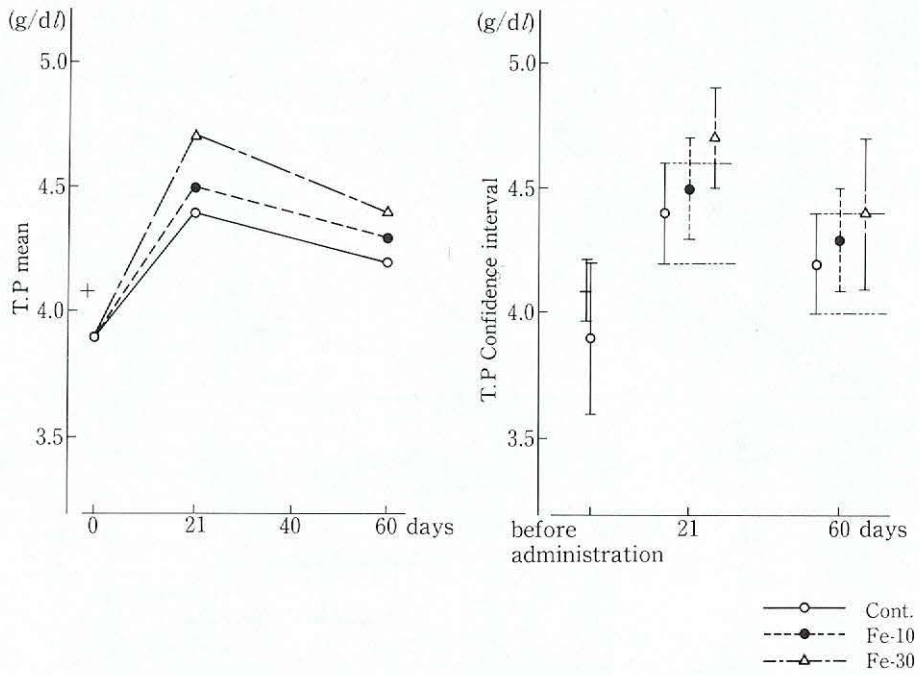


Fig. 5. Plasma total protein (T.P) of cultured yellow tails.

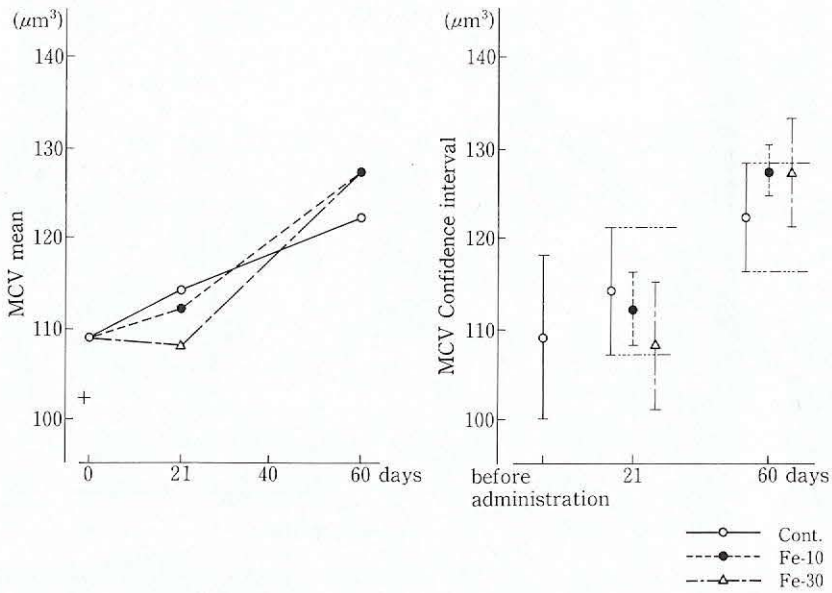


Fig. 6. Mean corpuscular volume (MCV) of cultured yellow tails.

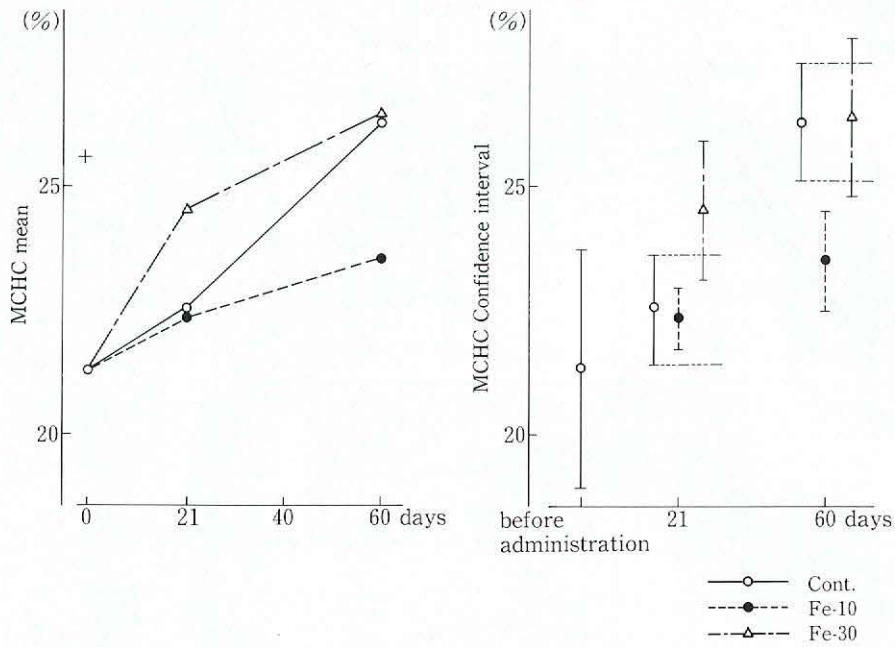


Fig. 7. Mean corpuscular hemoglobin concentration (MCHC) of cultured yellow tails.

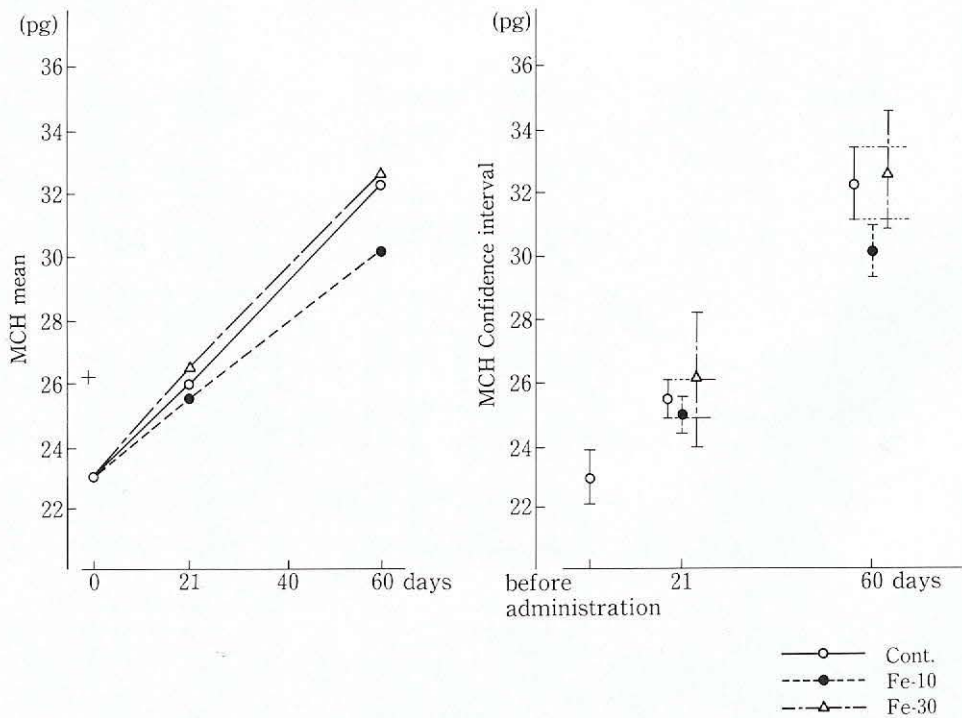


Fig. 8. Mean corpuscular hemoglobin (MCH) of cultured yellow tails.

り高く、60日後では投与区の方が対照区より高い値を示している。しかし、それらの間に有意差はない。平均赤血球ヘモグロビン濃度 (MCHC) は21日目よりもいづれも正の勾配で高い値を示すが、特に対照区は勾配が大きい。平均赤血球ヘモグロビン量 (MCH) は21日目とくらべて3区ともその値が高くなっている。しかし、平均赤血球ヘモグロビン濃度 (MCHC) と平均ヘモグロビン量 (MCH) は Fe-10 区のみが対照区との間に有意差を示している。このことは前述のヘモグロビン量の場合と同じことが考えられ、低い値がペプチド鉄の投与に関係ないといえよう。(Fig. 6, Fig. 7, Fig. 8. 参照)。

血漿蛋白質量 (T. P) については21日目よりもやや低い値を全ての区で示しているが、投与区の方が対照区よりも高い値を示し、両者の間に有意差はない。以上のことから血液学的な問題点は見られず、安全性は確認できた。

組織学的所見では60日目の肝実質細胞の萎縮は対照区と同程度 (Fe-10) かやや軽減 (Fe-30) されているが、脂肪の蓄積は投与区の方が明らかに少く、実験開始前の状態に近い。しかし、21日目にくらべれば僅かに増えている。(Fig. 9, Fig. 17~Fig. 19. 参照)

ヘモジデリンの沈着は実験開始時よりは明らかに多いが、21日目よりも60日後の方がどの区も軽減している。しかし、投与区の方が対照区よりも僅かに多い傾向があ

る (Table 2, Fig. 20~Fig. 22. 参照)

以上の結果から組織学的所見からも問題点はなく、肝実質細胞中の脂肪の蓄積が過度になっていないことは肝機能の活性維持、体質の改善も期待しうる現象であり、効果実験のところで述べたように投与方法を改善すれば長期的な使用も可能と考えられる。

III. 刺身の色 (変色を含む) と味

ブリの刺身は養殖ブリと天然ブリではしばしば次の点の問題として指摘される。1) 養殖ブリでは死後の変色が天然ブリにくらべて著しく早く、とくに血合筋が帯汚褐色となる。2) 軀幹筋 (白色筋) の背側部脊柱近接部位に天然ブリは赤味を帯びるが、養殖ブリは一般にその程度が弱い。3) 養殖ブリは脂肪が多く、死後時間の経過と共に筋肉が脆弱となる。

これらの問題点は容易に解決できるものであり、消費者は天然ブリに高い評価を与えているが、流通過程では外見的な肥満魚に高い評価が与えられているために消費者の好む養殖ブリが生産されないという問題点がある。筆者らはその点について次の実験を行った。5名の学生らに刺身の味について検討させたところ、検盲的な方法の結果は Table 3-2) に示す通り高い評価が与えられた。この刺身を冷蔵庫中に12時間放置後に刺身の色および感触を5名の学生等に評価させた結果を Table 3-1) に示す。なお、この時点における刺身の色は Fig.

Table 3. Color and taste of "sashimi" from yellow tails given Iron peptide

1) Color of "sashimi" (sliced and stored in refrigerator for 12 hrs)

Grade of scarlet color	Tester				
	A	B	C	D	E
1	Fe-30	Fe-30	Fe-30	Fe-30	Fe-30
2	Fe-10	Fe-10	Fe-10	Fe-10	Fe-10
3	Cont	Cont	Cont	Cont	Cont

2) Taste of "sashimi" (freshly sliced)

Preferred order	Tester				
	A	B	C	D	E
1	Fe-30	Fe-30	Fe-30	Fe-10	Fe-10
2	Fe-10	Fe-10	Fe-10	Fe-30	Cont
3	Cont	Cont	Cont	Cont	Fe-30

Cont : No addition of iron peptide

Fe-10 : Iron peptide was added at Fe-10 mg/kg feed

Fe-30 : Iron peptide was added at Fe-30 mg/kg feed

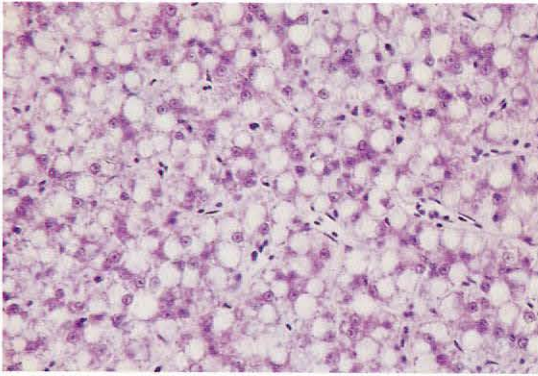


Fig. 9. Initial control group, liver. H-E stain. ($\times 320$) Condition of fat droplets is normal.

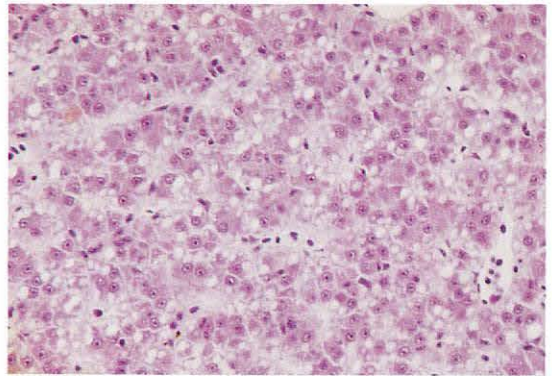


Fig. 10. Control group at 21 days. H-E stain. ($\times 320$) Fat droplets are slightly decreased compared to that Fig. 9.

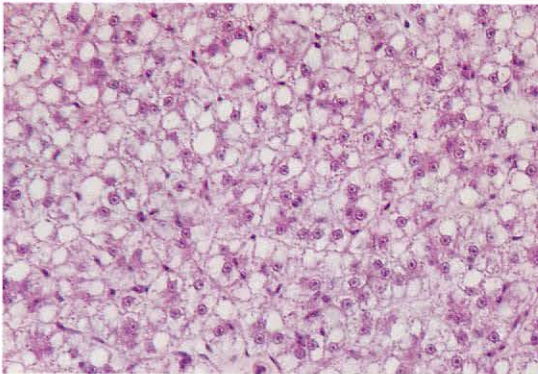


Fig. 11. Fe-10 mg group at 21 days. H-E stain. ($\times 320$) Fat droplets in liver are slightly increased compared to the control group.

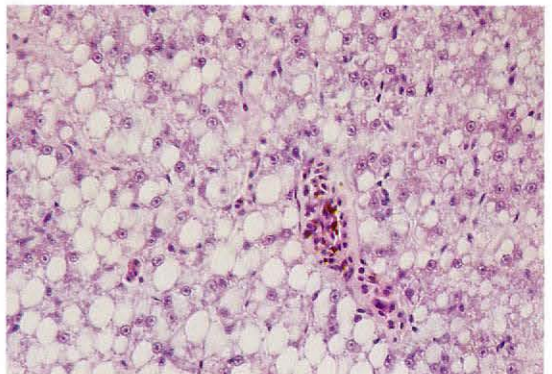


Fig. 12. Fe-30 mg group at 21 days. Day 20. H-E stain. ($\times 320$) As in Fe-10 mg group, fat droplets in hepatocyte are somewhat increased compared to the control group.

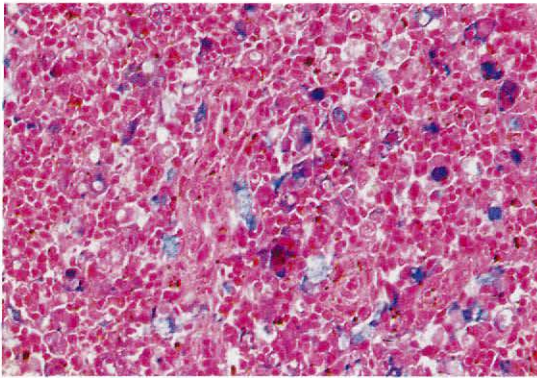


Fig. 13. Hemosiderin deposits in spleen of initial control. Hemosiderin is dispersed and development of macrophage center is barely observed, indicating iron supply from feed is almost normal. Berlin blue stain ($\times 320$).

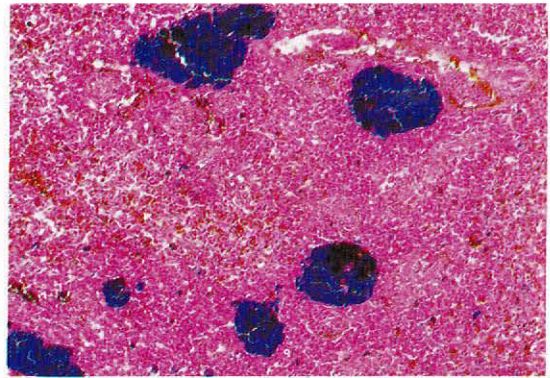


Fig. 14. State of hemosiderin accumulation in spleen from control group at 21 days. In this case, change of feed produced oversupply of iron. Thus a hemosiderin-positive substance is accumulated in the macrophage center. Berlin blue stain ($\times 160$).

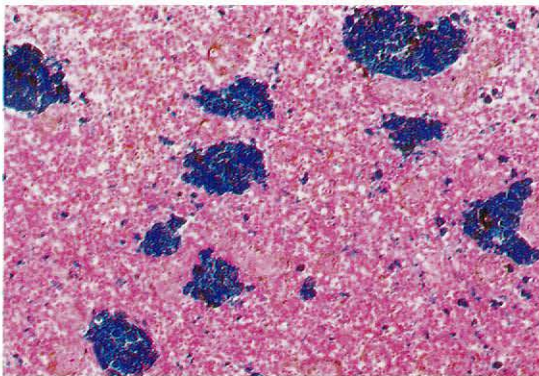


Fig. 15. State of hemosiderin accumulation in spleen from Fe-10 mg group at 21 days. Accumulation of iron in macrophage center is somewhat more noticeable compared to that in control group at the same point, however, the difference is not so obvious. Berlin blue stain ($\times 160$).

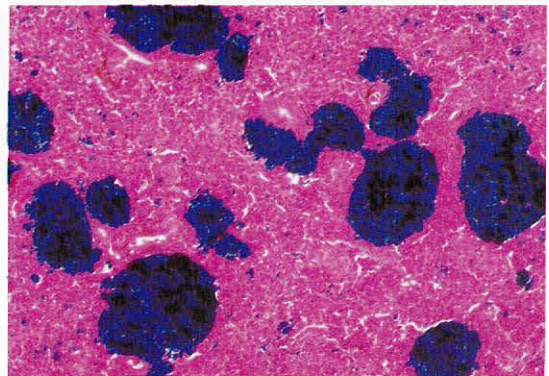


Fig. 16. State of hemosiderin accumulation in spleen from Fe-30 mg group at 21 days. In this group, accumulation of hemosiderin in macrophage center is remarkable compared to control and Fe-10 mg groups. Berlin blue stain ($\times 160$).

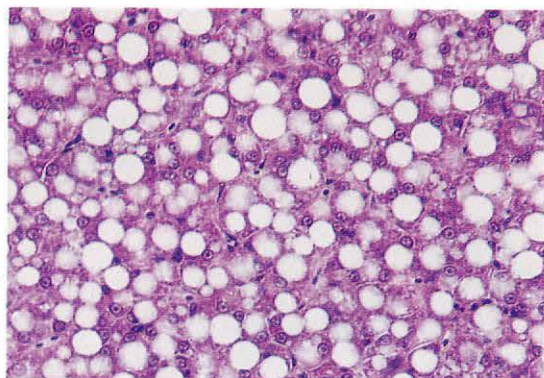


Fig. 17. Control group in a safety corroboration test at 60 days. Fat droplets in hepatocyte increased in size. H-E stain ($\times 320$).

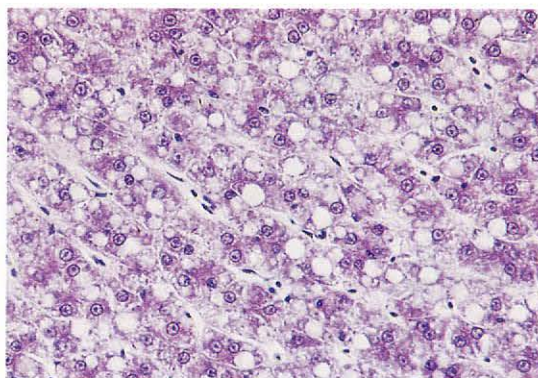


Fig. 18. Liver in the case treated at Fe-10 mg consecutively for 60 days. In a safety corroboration test, the extent of fat deposits is similar to or slightly lower than that of the initial control group (Fig. 9). There were no adverse effect on liver parenchyma. H-E stain ($\times 320$).

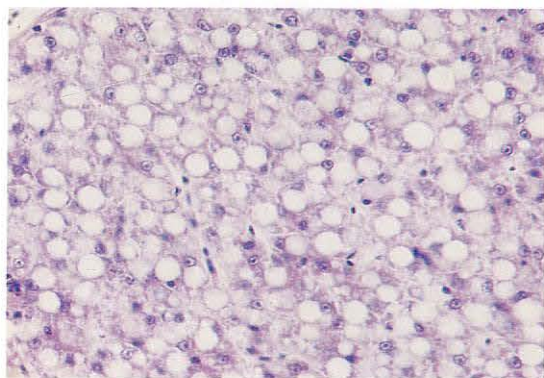


Fig. 19. Liver in the case treated at Fe-30 mg consecutively for 60 days in a safety corroboration test. Extent of fat deposits is similar to or slightly higher than that of the initial control. There are no photos indicating adverse effects on liver parenchyma. H-E stain ($\times 320$).

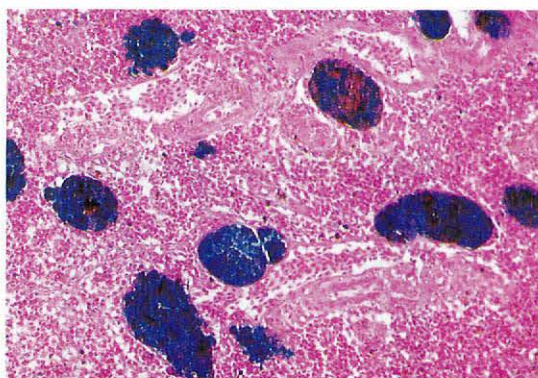


Fig. 20. Control group for safety corroboration at 60 days. Generally, state of hemosiderin accumulation in macrophage center in liver is somewhat increased compared to those in the same group at 21 days. Berlin blue stain ($\times 160$).

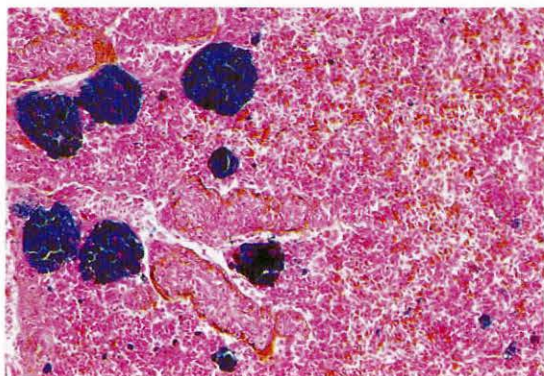


Fig. 21. Spleen in the case treated at Fe-10 mg for 60 days in a safety corroboration test. State of hemosiderin accumulation and Berlin blue positive-stained substances are reduced compared to those in the same group at 21 days or those in the control group at 60 days. This tendency may be attributable to the inhibition of iron absorption through the intestinal wall. Berlin blue stain ($\times 160$).

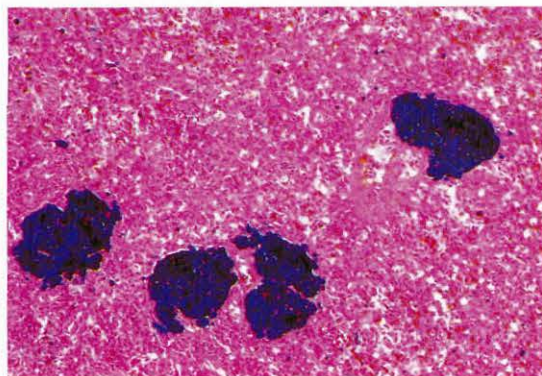


Fig. 22. Spleen in the case treated at Fe-30 mg for 60 days in a safety corroboration test. A similar tendency to Fe-10 mg group is obvious in the macrophage center. This is more obvious when compared with the spleen at 21 days (Fig. 16). Adverse effect on the spleen were suspected at 21 days, however, it was confirmed using the results from the 60-day consecutive administration that there were no adverse effects. Berlin blue stain ($\times 160$).



Fig. 23. Color of cultivated yellow tail "sashimi"

Iron peptide ; Fe-10 mg/kg feed
 Control ; Fe-0 mg/kg feed
 Iron peptide ; Fe-30 mg/kg feed
 After 12 hrs storage in refrigerator.
 The reddish tinge in white muscle was intensified with increasing Fe dosing and approached the color of natural fish.

23 に示す通りで、いずれも Fe-30 区が最もすぐれており、対照区は明らかに劣っていた。

総 括

ペプチド鉄^{4,9,10)} は飼料添加により貧血防止にも有効と判断されるが、正常魚ではその影響が血液性状に及ぶことがない。しかしそれ以上に体質の改善に効果があることがわかった。このことはペプチド鉄の安全性を示唆するものであるが、今後は種々の貧血に対して検討し、貧血の原因と効能との因果関係を明らかにする必要がある。さらに使用方法を検討すれば、現在一つの大きな命題とされている天然魚に近い養殖ブリの肉質をつくりあげることが可能になるといえよう。なお前述の通り安全性確認という点でも有害性は全く見られなかった。

文 献

- 1) ASHMEAD, D. (1974). The Need for Chelated Trace Minerals. *Vet Med/Small Animal Clinician.*, 467~468.
- 2) ASHMEAD, D. (1975). Prevention of Baby Pig Anemia with Amino Acid Chelate. *Vet Med/Small Animal Clinician.*, 607~610.
- 3) ASHMEAD, D. (1975). Chelation-The Key to Mineral Metabolism, Paper Presented at: Palmer College of Chiropractic. Davenport Iowa U.S.A. August. 12. 1975.
- 4) FUJITA, T., SATO, M., UCHIYAMA, M., HOSHIDA, H., KAWABE, K., YASHIRO, J. and WAKABAYASHI, T. (1982). Binding of Iron Ions with Soybean Protein. *Eisei Kagaku.*, 28, 106~110.
- 5) 池田彌生・尾崎久雄・瀬崎啓次郎 (1986). 魚類血液図鑑・緑書房社, 東京, pp. 286~292.
- 6) 桑原秀俊・竹田正彦・示野貞夫・細川秀毅・窪田三朗・神谷直明・梶山英俊 (1983). ハマチ用配合飼料に対する各種鉄剤の添加効果. 昭和 58 年日本水産学会春季大会., 49. (Suppl. 1.). 43.
- 7) 示野貞夫・竹田正彦・細川秀毅・桑原秀俊・小野俊和 (1984). ハマチ用沿岸魚粉飼料に対する鉄剤及びビタミン混合物の添加効果. 昭和 59 年度日本水産学会秋季大会., 50. (Suppl. 2.). 22.
- 8) 示野貞夫・境井健二・竹田正彦・桑原秀俊・阿久津正治 (1986). 実用的配合飼料によるハマチの飼育. 昭和 61 年度日本水産学会春季大会., 52. (Suppl.1.) 39.
- 9) TERATO, K., FUJITA, T. and YOSHINO, Y. (1973). Studies on Iron Absorption. I. The Role of Low Molecular Polymer in Iron Absorption. *Digestive Disease.*, 18, 121~128.
- 10) TERATO, K., HIRAMATSU, Y. and YOSHINO, Y. (1973). Studies on Iron Absorption. II. Transport Mechanism of Low Molecular Iron chelate in Rat Intestine. *Digestive Diseases.*, 18, 129~134.

The Study of Iron Peptide on the Effect and Safety
in Cultured Yellow Tails

Takaaki WAKABAYASHI*, Ryouusuke NAKAUCHI*, Teruo MIYAZAKI**
and Saburoh S. KUBOTA***

* Department of Verterinary Research & Development,
Eisai Co., Ltd., Japan

** Faculty of Bioresources, Mie University, Japan

*** Department of Fish Disease, Nippon Veterinary
and Zootechnical College, Japan

ABSTRACT

There are still many aspects to be improved on the management of yellow tail culture. Practically decreased growth and increased mortality due to anemia caused much in economic losses in the fish cultured industry. The efficacy of iron peptide was demonstrated from a comparative study of various iron preparations by KUWAHARA, TAKEDA *et al.* They suggested that iron peptide was effective on the improvement of productivity in cultured yellow tails.

Therefore, in the present study, cultured yellow tails of an average body weight of 208 g were fed with frozen raw fish feed "Kohnago", which contained iron peptide to the extent of 10 or 30 mg Fe per kg of raw feed, consecutively for 21 days in an efficacy test and for 60 days in a safety test. Hematologic data of cultured yellow tails at the start of the experiment indicated poor red blood cells (RBC), Hemoglobin (Hb), and Hematocrit (Ht) and in plasma total protein (T.P.). However, a remarkable improvement was observed in the group treated with iron peptide, the Fe-30 mg group. Moreover, in the safety corroboration test, the Fe treatment groups showed high values in MCV and also in MCHC with a positive correlation. No side-effect was observed in the histopathological findings which indicated the effect of improving constitution as well as prevention of anemia. The color of "sashimi" from the Fe dosing groups suggested the capability of production of cultured yellow tails having a natural color.

Key words : iron peptide, cultured yellow tails, anemia

Bull. Nippon Vet. Zootech. Coll., No. 38, 79~92, 1989.