

氏名（本籍） Gwen Manero ANUEVO（ フィリピン ）

学位の種類 博士（農学）

学位記番号 博 甲 第 6948 号

学位授与年月日 平成26年 3月25日

学位授与の要件 学位規則第4条第1項該当

審査研究科 生命環境科学研究科

学位論文題目 Evaluation of Green Tea Enriched *Artemia* sp. as Food and Antioxidant Activity Enhancer for Freshwater Ornamental Fishes  
(栄養付加した *Artemia* sp. の観賞用淡水魚用機能性飼料および抗酸化活性強化物質としての機能評価)

主査 筑波大学准教授 博士（農学） 野村 名可男

副査 筑波大学教授 博士（農学） 北村 豊

副査 筑波大学准教授 博士（生物工学） 楊 英男

副査 筑波大学准教授 博士（理学） 山田 小須弥

## 論 文 の 要 旨

近年、観賞用魚類生産のための水産養殖業が急激な増加傾向にあり、それらの多くが熱帯地域の開発途上にある国で養殖または捕獲されるものが多く、水産資源の保全、病原体予防の観点から機能性を有する飼料の開発が求められている。本研究では、動物に対して抗酸化活性、成長促進などの生理活性を有することが知られている緑茶を活用した養殖観賞魚用機能性飼料の開発を試みた。緑茶成分をそのまま養殖魚に給餌した場合に想定される養殖水の pH 変化、および微生物叢への影響を軽減する、さらに緑茶有効成分を濃縮された状態で養殖観賞魚へ供給するために、養殖魚類、特に稚魚の生餌として用いられているアルテミア (*Artemia nauplii*) に有効成分を吸収・濃縮させる、いわゆる生物的包括作用（バイオエンカプスレーション）を利用することとした。緑茶有効成分をアルテミアに効率的に吸収・濃縮させ、養殖観賞魚へ捕食させることで緑茶有効成分の効果的な利用を目的とした。

第1章では養殖用魚類養殖の世界的な動向と問題点、さらに緑茶の生理活性作用に関する既往研究および報告を調査、比較することで本研究の独創性、必要性を確認し、本研究の目的、期待される効果を明示した。

第2章では、アルテミアによる有効成分の吸収に最適な条件を検討するため、緑茶抽出物質添加後におけるアルテミア体内のポリフェノール成分などの抗酸化物質の濃度経時変化を測定し、さらに有効成分が最も効率的に蓄積されるアルテミアの幼齢（孵化後時間）を検討した。緑茶抽出物を調整しアルテミアに添加したところ、アルテミア体内のポリフェノールなどの緑茶有効成分が増加していることが確認されたことから、アルテミアは緑茶有効成分を選択的に排除することなく体内へ取り込んでいることが明らかとなった。また、異なる幼齢のアルテミアを用いて緑茶抽出物質の添加実験を試みたところ、6時間後のアルテミアが最も効率的に緑茶有効成分を体内に蓄積していることが明らかとなった。

第3章では、最適条件で緑茶有効成分を体内へ吸収させたアルテミアを海水観賞用熱帯魚（Guppy, *Poecilia reticulata*）に給餌し、抗酸化成分の観賞魚への吸収を確認した。さらに観賞魚を高塩濃度環境

下にさらした場合の緑茶成分のストレス耐性に対する効果を検証した。緑茶抽出物質を吸収させたアルテミアを Guppy (*Poecilia reticulata*) へ給餌したところ、Guppy 体内の緑茶有効成分濃度および抗酸化活性の上昇が確認されたことから、ポリフェノール類等の緑茶有効成分はほとんど分解されることなく Guppy 体内へ取り込まれていることが明らかとなった。さらに、緑茶抽出物質を吸収させたアルテミアを給餌した Guppy (*Poecilia reticulata*) を高塩濃度にさらし、給餌していないアルテミアと生存率を比較したところ、100%致死率に至る時間を約 2 倍に増加させたことから、緑茶有効成分は Guppy の体内で塩濃度ストレスに対する耐性を強化したことが示唆された。

第 4 章では、緑茶有効成分を給餌した養殖魚の体重が、成長速度とストレス耐性に及ぼす影響を確認するため、異なる幼齢の養殖魚 (Neon tetra, *Paracheirodon innesi* および Guppy, *Poecilia reticulata*) を用いて同様の実験を試みた。緑茶抽出物質を吸収させたアルテミアの給餌による成長速度比較では、ほとんどすべての条件で成長促進効果がみられたが、Neon tetra の幼魚が最も高い値を示した。また、ストレス耐性に関しては、Neon tetra、Guppy とともに幼魚での耐性強化が確認されたが、成魚では顕著な変化が確認されなかったことから、緑茶有効成分は幼魚において生理活性強化の効果があることが示唆された。

第 5 章では、緑茶抽出物質を吸収させたアルテミアの給餌による対象養殖魚体内の消化系に係る生化学的な活性に対する影響を確認するため、給餌後の養殖魚体内の全脂質・全タンパク量さらに消化器系に係る酵素 (全プロテアーゼ、全アミラーゼ) 活性を測定した。緑茶抽出物質を吸収させたアルテミアを 10 日間給餌した後、各パラメーターを測定し、緑茶抽出物質を吸収させていないアルテミアを給餌した場合と比較したところ、すべてのパラメーターにおいて優位な差異は認められなかった。したがって、緑茶抽出物質による消化器系の生化学的な生理活性への影響はほとんどないことが明らかとなった。

以上の結果から、緑茶抽出物質を吸収させたアルテミアは観賞養殖魚、特に幼魚期における成長促進、ストレス耐性強化に効果的であり、かつ観賞養殖魚の消化系に負担の少ない機能性飼料として応用可能であることが明らかとなった。

## 審 査 の 要 旨

本研究は、アルテミアの有するバイオエンカプスレーション作用を活用し緑茶有効成分を用いた養殖魚のための機能性飼料の開発を目的として実施され、緑茶抽出物質調整条件、最適アルテミア幼齢、最も高い効果の得られる養殖魚の条件、ストレス耐性強化を解明したものである。観賞魚養殖産業の持続的発展への貢献が期待できる結果が多く含まれており、博士学位に値する成果が得られている。

平成 26 年 1 月 28 日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもとに論文の審査及び最終試験を行い、本論文について著者に説明を求め、関連事項について質疑応答を行った。その結果、審査委員全員によって合格と判定された。

よって、著者は博士 (農学) の学位を受けるのに十分な資格を有するものとして認める。