

# 魚類の栄養に関する研究—V.

## 排泄物中の Ammonia-N 並びに Urea-N に就て

古川 厚・小笠原義光

(内海区水産研究所)

Studies on Nutrition of Fish—V.

The Excretion of  $\text{NH}_3\text{-N}$  and Urea-N by Carp and Goldfish.

Atsushi FURUKAWA and Yoshimitsu OGASAWARA

During the course of an investigation on the digestibility of the protein in diets, our attention was attracted to the  $\text{NH}_3\text{-N}$ , and urea-N excreted by carp and goldfish.

This work was undertaken to determine quantitatively these substances excreted under several different conditions: A—Fish were fed in an approximately air-saturated water; B—Similar to A, but in a water deficient in  $\text{O}_2$ ; C—Starved in  $\text{O}_2$  sufficient water; D—Starved in water deficient in  $\text{O}_2$ .

The results obtained were as follows:

(1) Under the normal condition (A), the form of the nitrogen excreted seems to be essentially  $\text{NH}_3\text{-N}$  (Table 3).

(2) When the fishes were kept starved or in a water of low  $\text{O}_2$ -content for a long time (B, C, D), urea-N excreted increases in amount (Table 1, 2, 4).

動物体内に於いて、蛋白質代謝最終物質は、大部分尿中に排泄される事は一般に知られている所である。従つて体内に入つた含窒素物として蛋白質が体内に於いて、いかに分解され、吸収、排泄されるかは、その動物の排泄物を見る事によつて、大略を推察する事が出来る。此の意味で行われた研究は陸上動物では極めて多数にのぼっている。

一方魚類の排泄物に関する研究は極めて少なく、H. W. SMITH<sup>1)</sup>, A. GROLLMAN<sup>2)</sup>, R. F. PITTS<sup>3)</sup>, A. L. GRAFFLIN<sup>4)</sup>等の比較生理、並びに魚体滲透圧に関連した研究が見られるに過ぎず、魚類栄養の面からの研究は殆どない様に考えられる。尙魚類の排泄物に関して、上記諸研究を総合しても必ずしも一致した結論を得ているとは考えられず、H. W. SMITH はコイに就て尿中に排泄される  $\text{NH}_3\text{-N}$  は Urea-N より多いと報告し、A. L. GRAFFLIN は Sculpin に就て逆の結果を得ている。

著者等は餌料中の蛋白質の消化率を中心として、餌料の効果を魚体増肉との関係から吟味して来た<sup>5)6)7)9)</sup>。しかし今回は餌料蛋白質が魚体中でいかに変形されて行き、蛋白代謝がいかに行われるかを知るための第1段階として、排泄非蛋白態窒素の形態をキンギョ *Carassius auratus* 及びコイ *Cyprinus carpio* を使用して実験したのでその結果を報告する。

### 実験方法

使用したキンギョ、コイは何れも2才魚で、室内硝子容器中で予備飼育を行い、驚愕による異状を避ける事に努めた。魚体重の測定は右田等<sup>9)</sup>の方法に準じ、 $\text{NH}_3\text{-N}$ 、Urea-Nの測定はVAN SLYKE & CULLEN<sup>10)</sup>の試薬に倣い、W. W. KAY & H. L. SHEEHAN<sup>11)</sup>の用いた装置を幾分改良したものを使用して行つた。即ち試料 10cc. を大型試験管にとり、 $\text{NH}_3\text{-N}$ の定量に際してはアミルアルコール 2滴、飽和炭酸加里 5cc を加える。一方発生する  $\text{NH}_3\text{-N}$  を捕捉するために N/200  $\text{H}_2\text{SO}_4$  5cc. アミルアルコール 2滴を入れた試験管を用意し、通氣中に発生管の炭酸加里が受器に入らぬ様曲管で連絡した。通氣は発生管を 45°C に加温しな

がら2時間継続し、滴定は沃度法によつた。Urea-Nの定量は試料10ccに磷酸塩緩衝液及びUreaseのアルコール溶液1ccを加え、 $\text{NH}_3\text{-N}$ 測定と同様の装置を使用し、 $45^\circ\text{C}$ にて30分間Ureaseを作用させた後、 $\text{NH}_3\text{-N}$ と全く同様に処理した。 $\text{NH}_3\text{-N}$ 量は飼育前後の水中の値より計算したものであり、Urea-Nは使用した水そのものには検出されなかつたので、その量は飼育後の全 $\text{NH}_3\text{-N}$ 量より前に述べた飼育後の $\text{NH}_3\text{-N}$ 量を引き去つた値で示した。

溶存酸素量はウィンクラー法に依り、飼育水中の全非蛋白態窒素は、飼育水100cc.を東洋濾紙No.5Aで濾過し、濾液に就て3%スルフォサリチル酸溶液を全体に対して約2%となる様に加え、蛋白質を沈澱濾過した後、その50ccを硫酸で分解しマイクロ・ケルダール法で測定した。

飢餓実験の場合は、予備飼育後4日間馬肉蛋白、精製馬鈴薯澱粉1:2混合物を糊状にしたものを毎日体重の1/50(乾物量として)を給与した後絶食にした。測定は絶食4日目より始め、此の日を飢餓第1日とした。従つて飢餓第3日とは絶食日数で7日に相当する。飢餓実験中飼育水中に発生する微生物の影響を除くため毎日換水した。給餌区のもの前記餌料を毎日多量に与え、1時間餌摂させた後排泄槽に移し、24時間後魚を取り出し、排泄槽中の飼育水に就て所定の定量を行つた。

実験は空気送入に依り水中酸素量を出るだけ多くした場合と酸素欠乏の場合とについて行つた。酸素欠乏の程度は水中酸素量の測定に依り定めた場合もあるが、所謂「鼻上げ」を持続する事をもつて判定した場合も多い。尚魚を排泄槽に出し入れする場合は腹部を軽く圧して出来得る限り正確に時間内の排泄物を得る様に努めた。

### 実験結果

得られた実験結果はTable 1~4に示した。表中にTraceと記載したのは排泄量 $0.4\text{mg}/100\text{g}$  24hr以下を示したものである。Table 5は飼育水中のUreaが2次的に $\text{NH}_3\text{-N}$ に変化するか否かの吟味結果である。即ち飼育水に既知量のUrea結晶を入れ、一方はそのまゝにし、一方はトルオール、クロロホルム(1:1)混液を入れ防腐し、何れも $16\sim 25^\circ\text{C}$ に保ち一定時間後に測定した結果である。

### 考察及び結論

$\text{NH}_3\text{-N}$ 及びUrea-Nの排泄におよぼす飢餓の影響はTable 1に示す如く、キンギョでは飢餓第5日目頃よりUrea-Nが多くなる傾向が認められるが、 $\text{NH}_3\text{-N}$ の排泄量には変化が見られない。此の事は長期の絶食予備試験でも見られた。コイに就ては長期にわたる飢餓試験は行わなかつたので、キンギョの場合と類似の経過をたどるか否かは今の所不明であるが、少なくとも飢餓日数が本実験の範囲内では顕著なUrea-Nの排泄量は認められない。キンギョとコイとで $\text{NH}_3\text{-N}$ の排泄量が可成相異しているが、実験条件の差異を考えると、直ちに種に依る結果とするには尙問題がのこる。

飢餓で且つ酸素の少ない極めて悪条件の場合に就ては、Table 2とTable 1とのコイの例から $\text{NH}_3\text{-N}$ の排泄量では大差がないが、Urea-Nの排泄量はTable 2の場合が多い様である。Urea-Nの排泄量と飢餓との関係に就ての考察でコイは飢餓日数が少なかつたので変化は見られなかつたが、Table 2の結果を考慮すれば、飢餓日数が延びるとUrea-Nの排泄量が多くなるのではないかと考えられる。

良好な飼育条件と考えられるTable 3では、キンギョ、コイともに排泄非蛋白態窒素は $\text{NH}_3\text{-N}$ が主体をなす様でありUrea-Nは極めて少ない。尙飢餓日数が少ない場合は異状排泄が見られなかつたTable 1の結果とTable 3とを比較すると、Table 1のコイに見られる $\text{NH}_3\text{-N}$ の排泄量が、キンギョと比較して少なかつたのは主として水温に依る結果と考えられる。

充分な餌料を与えても酸素欠乏の場合はTable 4に示す如くUrea-Nの排泄量が多くなる傾向が認められる。

$\text{NH}_3\text{-N}$ の排泄量と飼育条件との間には、二、三の例外はあるとしても、摂餌の如何に関せず酸素が充分だと $\text{NH}_3\text{-N}$ の排泄量は多く、酸素が不十分な場合は少ない傾向が見られる。

以上の考察は体外に排泄されたUreaが水中で2次的変化をうけない場合であつて、仮りに変化が起る時には、得られた結果は異つてくる。以上の事をたしかめる為飼育水に加えられたUrea含量の時間的变化

**Table 1.** Results of 24 hour experiment on starved fish in water sufficient in O<sub>2</sub>.

Sample no.	Body weight (g.)	Species	Total-N mg. per 100g. 24hr.	NH <sub>3</sub> -N mg. per 100g. 24hr.	Urea-N mg. per 100g. 24hr.	O <sub>2</sub> cc./L.		Days starved	Water temp. (°C.)
						Begining	End		
1	9.4	Goldfish	54.3	21.0	Trace	—	—	1	25
2	47.0	Carp	—	6.6	Trace	4.43	1.39	3	6-7
3	32.5	Carp	—	12.9	Trace	5.17	2.42	3	6-8
4	121.8	Carp	—	4.1	1.2	5.36	2.30	4	6-12
5	9.0	Goldfish	43.7	23.9	Trace	—	—	5	25
6	8.6	Goldfish	35.3	20.3	15.1	—	—	11	25
7	8.3	Goldfish	—	24.5	12.1	—	—	16	25

**Table 2.** Results of 24 hour experiment on starved fish in water deficient in O<sub>2</sub>.

Sample no.	Body weight (g.)	Species	NH <sub>3</sub> -N mg. per 100g. 24hr	Urea-N mg. per 100g. hr	O <sub>2</sub> cc./L.		Days Starved	Water temp. (°C.)
					Begining	End		
1	36.8	Carp	6.3	7.6	4.95	0.80	3	6-7
2	47.1	Carp	5.6	18.9	4.11	0.77	3	6-7
3	38.0	Carp	3.6	3.3	8.60	0.57	4	6-8

**Table 3.** Results of 34 hour experiment on fish in normal condition. (with food and sufficient O<sub>2</sub>)

Sample no.	Body weight (g.)	Species	NH <sub>3</sub> -N mg. per 110g. 24hr	Urea-N mg. per 100g. 24hr	O <sub>2</sub> cc./L		Water temp. (°C.)
					Begining	End	
1	9.5	Goldfish	31.5	Trace	—	—	25
2	22.5	Carp	10.9	2.5	6.06	4.44	16-25
3	29.8	Carp	19.4	Trace	6.32	2.33	16-25

**Table 3.** Results of 24 hour experiment on fed fish in water deficient in O<sub>2</sub>-content.

Sample no.	Body weight (g.)	Species	NH <sub>3</sub> -N mg. per 100g. 24hr	Urea-N mg. per 100g. 24hr	O <sub>2</sub> cc./L		Water temp. (°C.)
					Begining	End	
1	28.0	Goldfish	6.8	2.8	6.72	0.89	16-20
2	26.8	Goldfish	5.2	20.1	7.36	0.95	16-20
3	31.2	Carp	9.3	3.9	7.36	0.74	16-20

**Table 5.** Time-variation of the Urea added to culture water.

Time (hr.)	Culture-Water		Sterilized culture-water	
	NH <sub>3</sub> -N N/200 Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>2</sub> cc.	Urea-N N/200 Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>3</sub> cc.	NH <sub>3</sub> -N N/200 Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>3</sub> cc.	Urea-N N/200 Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>3</sub> cc.
0	4.95	0.51	4.95	0.51
6	4.99	0.52	4.94	0.52
24	4.96	0.51	4.98	0.54

を測定し、Table 5 に示す如き結果を得た。即ち飼育水に添加した Urea は 24 時間後に於ても変化しない。

以上の実験結果から次の傾向が結論される。

- i) コイ、キンギョの正常な条件での含窒素排泄物は主として  $\text{NH}_3\text{-N}$  であり、Urea は微量である。
- ii) 絶食が長期にわたると Urea-N の排泄量が多くなる、此の場合でも  $\text{NH}_3\text{-N}$  の量は正常の場合と大差ない。
- iii) 酸素欠乏の場合は Urea-N の排泄量が多くなり  $\text{NH}_3\text{-N}$  の排泄量は少なくなる。

終りに臨み有益な御助言を給った、所長花岡資博士並びに右田正男博士に深甚なる謝意を表する。

#### 文 献

- 1) H. W. SMITH: *J. Biol. Chem.*, **81**, 727 (1929).
- 3) A. GROLLMAN: *J. Biol., Chem.*, **81**, 267 (1929).
- 3) R. F. PITTS: *J. Coll. and Comp. physiol.*, **4**, 339 (1934).
- 4) A. L. GRAFFLIN: *Biol. Bull.*, **6**, 9 (1935).
- 5) 花岡, 古川, 小笠原: 本誌, **14**, 319 (1948).
- 6) 古川, 小笠原: 本誌, **17**, 255 (1952).
- 7) 古川, 小笠原: 内水研報告, No. 5. (1954).
- 8) 古川, 小笠原, 橋口: 内水研報告, No. 5 (1954).
- 9) 右田, 花岡, 都築: 水試報告, No. 8, 99 (1937).
- 10) VAN SLYKE & CULLEN: *J. Biol. Chem.*, **19**, 211 (1914).
- 11) W. W. KEY & H. L. SHEEHAN: *Biochem. J.*, **28**, 1784 (1934).