

昆虫チアミナーゼの研究

渡辺喜弘、岡崎英規
武蔵丘短期大学

Studies on Insect Thiaminases

Yoshihiro Watanabe, Hideki Okazaki
Musashigaoka college, Saitama, Japan

Summary

Thiaminase activity of insects other than silk worm was first measured in larvae of black wasp (*Vespula flaviceps*) and paper wasp (*Polistes* spp.) together with a cooked locust (*Patanga* spp.). Practically no thiaminase activity, together with a high content of non-enzymatic thiamine inactivating factors in a raw paper wasp, was found in those insect samples.

Key words: thiaminase, insect,

1. 緒 言

我々は先にアフリカの野生蚕 *Anaphe* spp. の乾燥幼虫において初めて昆虫の強力なチアミナーゼを報告し¹⁾、更に日本産の家蚕幼虫にも活性を検出した²⁾。アフリカ蚕の幼虫は蛋白補助食品として用いられ、多数のヒトの健康障害を起こしていることがナイジェリアで報告されている³⁾。そこで他の昆虫にもチアミナーゼが存在するのか、もしあれば酵素の性質はどうであるかを調べようとした。我が国では食用としてカイコガ蛹を用いたつくだ煮が現存し市販されている。更に明治初期までカイコガの幼虫を食用とした記録も存在している⁴⁾。その他に昆虫を食用にしている例として蜂の子の大和煮、いなごの佃煮が現在も市販されている。養蚕に用いているカイコガのチアミナーゼについては既に報告したが、それに比較して他の食用される昆虫のチアミナーゼの有無について現在まで全

く測定報告が存在しない。そこで珍味として市販の材料二種と身近で採取した蜂の子について実験したのでその結果を報告する。

2. 実験方法

(1) チアミナーゼ試料

蜂の子の大和煮（原材料名クロスズメバチ：*Vespula flaviceps*）、いなご（原材料名イナゴ：ツチイナゴ *Patanga japonica*）と思われる。イナゴはイナゴ科のバツタ類の総称）の佃煮は有限会社かねまんが製造販売元でありそれぞれ2006年8月に池袋東武デパートにて購入した。アシナガバチ (*Polistes snelleni* コアシナガバチと思われる。アシナガバチは *Polistes* spp. の総称) の幼虫は武蔵丘短期大学敷地内に生息していたものを巣の駆除を兼ねて採取したもの（図1）を供試材料とした。

(2) チアミナーゼ活性測定試料の調製法

アシナガバチ幼虫は、採取できた28.5 g に等

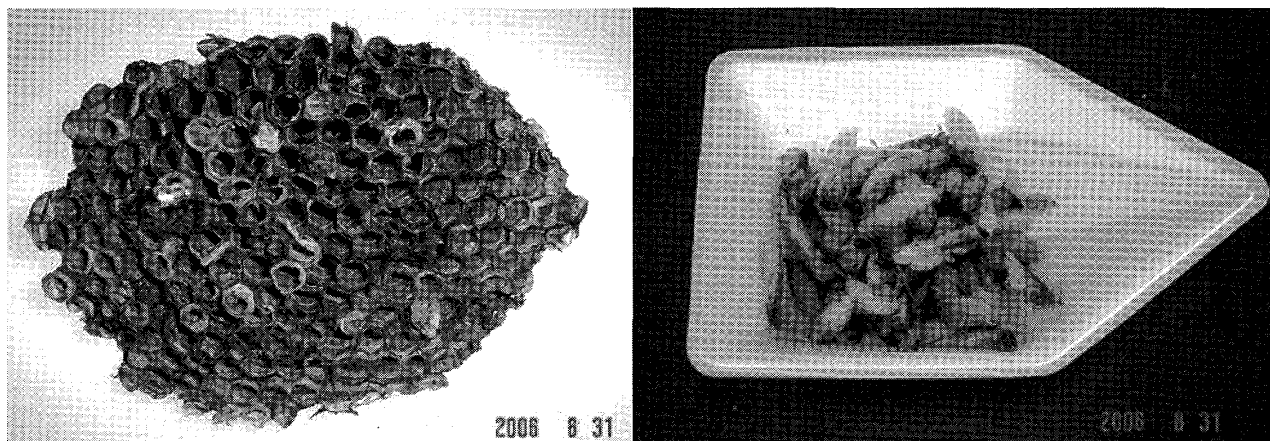


図1 大学構内で採取した蜂の巣と幼虫

量の0.2 M Na, Kリン酸緩衝液 pH 6.5と約3 gの精製海砂を加えて乳鉢ですりつぶし、60分間25℃で振混ぜた後低温で遠心分離（4℃, 10,000 xg, 30分）、上清液を抽出液とした。浮遊脂肪分は薬局方滅菌ガーゼでろ過して除去した。本液を活性の有無の検討に使用した後、更に20 mM Na, Kリン酸緩衝液 pH 6.5 + 1 mM β メルカプトエタノールに対し4℃24時間透析し経時的反応経過の測定に用いた。

蜂の子の大和煮、いなごの佃煮は市販品の50 gを20 mM Na, Kリン酸緩衝液 pH 6.5に一夜4℃で透析して調味料（砂糖、醤油等）を除いた後、重量と同量の0.2 M Na, Kリン酸緩衝液 pH 6.5と約3 gの精製海砂を加えて乳鉢ですりつぶし4℃, 10,000 xg, 15分遠心分離の後、上清液を抽出した。浮遊脂肪分は薬局方滅菌ガーゼでろ過して除去した。この抽出液で活性の有無を測定した。その後20 mM Na, Kリン酸緩衝液 pH 6.5 + 1 mM β メルカプトエタノールに対して4℃24時間透析を行い、経時的反応経過の検討試料とした。

(3) チアミナーゼの活性測定法

150 μ Lの0.2 M Na, Kリン酸緩衝液 pH 6.5に、アニリン飽和水8 μ L、1 M β メルカプトエタノール2 μ L、0.45 mM ビタミンB₁ 20 μ L、酵素添加後の全量が300 μ LとなるようにH₂Oを加えた後37℃とし、酵素液100 μ Lを加えて反応を開始し、0分、30分及び60分にBrCN 300 μ Lを加えて反応を停止し、更に20% NaOH 200 μ Lを加えて残存ビタミンB₁をチオクロ-

ム（蛍光）化した後、分光蛍光光度計により励起光波長375 nm、蛍光波長445 nmで測定し、酵素液を加えない反応液を100%、B₁液と酵素液を加えない反応液を0%に設定して、ビタミンB₁の分解量を計算した。なお、アニリン除外実験によりアニリン依存性塩基置換型（チアミナーゼI型）の反応ではない加水分解型（チアミナーゼII型）の活性の確認、および、経時反応経過や非透析性によりB₁不活化因子との区別を行った。

3. 実験結果

(1) アシナガバチ幼虫の抽出液中のチアミナーゼ活性

アシナガバチ幼虫にビタミンB₁を分解する活性が存在するかを確認するために、37℃でビタミンB₁と60分反応させ、100℃加熱標品を対照にして酵素活性を調べた。その結果（表1）、ビタミンB₁無添加の測定値から昆虫抽出液中に内在ビタミンB₁又は蛍光物質が少量存在すること、主実験の測定値から37℃60分反応させると加えたビタミンB₁が60%分解したかのような結果が得られたが、100℃に酵素を加熱しても見かけの分解反応の大部分は無くならない事から易熱性の酵素によるものが主ではないこと、及び100℃加熱で消滅するビタミンB₁の減少が僅かながら主実験の測定値に含まれること（表の実験では6.3%）がわかる。この易熱性の反応は酵素活性による可能性も有るが、不活化

因子でも同じ現象が見られることが知られているので、真の酵素反応の結果であることを確認するためには経時変化の動向を見る必要がある。そこで、表2及び図2の実験を行った。原液(×1)ではビタミンB₁不活化現象(芳香族二水酸化化合物等による化合物形成や蛍光形成阻害で定量値の減少が反応時間0 minで観察される)が強くてビタミンB₁の経時的な減少を確認できず、その影響を軽減する目的で10倍希釈すると(×10)大変弱い活性が確認さ

れるに過ぎないか、全く活性が見られなかった。またアニリン(第2基質)を除いて依存性を調べたが(表2)、添加時と同様の結果である事が確認された。表2の実験は37℃でも行ったが、ほぼ同様の結果であった。

反応時間0minで100%を下回る原因については、植物での研究結果から、不活性化因子がBrCN・NaOHの酸化反応を妨害している⁶⁾ことと、不活性化因子がB₁をTDSに変化させての結果⁷⁾⁸⁾であると考えられる。

表1 昆虫磨り潰し液とビタミンB₁の反応*

| | 主 実 験 | 100℃10分加熱酵素 | ビタミンB ₁ 無添加 |
|---------------|-------|-------------|------------------------|
| アシナガバチ粗抽出液 | 40.0 | 46.3 | 11.2 |
| クロスズメバチ粗抽出液** | 48.9 | 66.1 | 9.8 |
| イナゴ粗抽出液** | 32.4 | 34.4 | 4.7 |

*数値は37℃60分反応後のビタミンB₁定量値を反応に添加した量に対する%で示した。

**佃煮、大和煮は透析後に磨り潰した。

表2 昆虫磨り潰し液のビタミンB₁との反応の経時変化*

| | 主 実 験 | | | アニリン除外実験 | | |
|-----------------|-------|--------|--------|----------|--------|--------|
| | 0 min | 30 min | 60 min | 0 min | 30 min | 60 min |
| アシナガバチ透析後(×10) | 100.7 | 99.4 | 103.4 | 117.9 | 114.2 | 114.2 |
| アシナガバチ透析後(×1) | 39.0 | 39.1 | 42.9 | 39.5 | 36.9 | 40.8 |
| クロスズメバチ透析後(×10) | 99.1 | 99.2 | 99.9 | 121.2 | 114.0 | 114.5 |
| クロスズメバチ透析後(×1) | 84.6 | 85.3 | 94.9 | 84.0 | 85.6 | 93.2 |
| イナゴ透析後(×10) | 75.7 | 73.5 | 76.8 | 134.9 | 126.4 | 122.6 |
| イナゴ透析後(×1) | 77.5 | 76.6 | 74.6 | 128.8 | 128.6 | 122.1 |

*数値は45℃で表記の時間反応後のビタミンB₁量を添加量に対する%で示したもの。100以上の数値は試料抽出液中のビタミンB₁、その他の蛍光物質を示す。

(2) クロスズメバチの抽出液中のチアミンゼ活性

調理後のクロスズメバチ幼虫に耐熱性のビタミンB₁分解活性があるかを調べるために、37℃60分間反応させると、半分以上(51.1%)のビタミンB₁が見かけ上分解した(表1)。しかし、ハチ幼虫抽出液を100℃10分加熱すると、その一部(17.2%)だけが影響され、易熱性の酵素反応の可能性を示した。そこで、温度45℃で0

分、30分、60分における酵素活性を調べた。(表2、図2)その結果、原液(×1)ではアシナガバチよりは弱いもののビタミンB₁不活化現象による蛍光値の低下が見られたが、経時的な反応の進行(蛍光値の低下)は見られず、チアミンゼ活性は無いものと判定された。10倍希釈(×10)でビタミンB₁不活化現象の影響を希釈すると、経時的な反応の進行が浮かび上がって観察される事もあるが、今回の実験試料

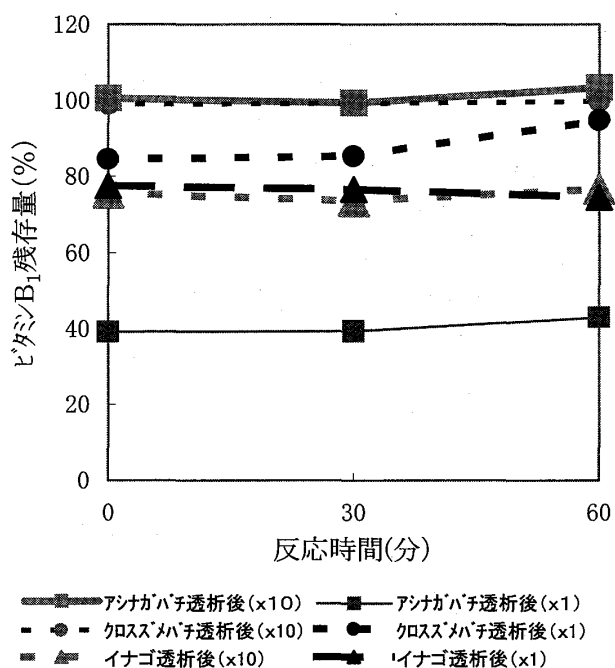


図2 昆虫抽出液とビタミン B₁ の反応

では活性が確認されなかった。また、アニリン除外実験でも同じ結果である事から、第2基質に非依存性のII型チアミナーゼ活性の検出も否定された(表2)。

(3) いなごの抽出液中のチアミナーゼ活性

いなごに調理後も残存する耐熱性のビタミン B₁ 分解活性があるかを調べるために、37°C 60分ビタミン B₁ と反応させたところ、見かけ上のビタミン B₁ の減少が定量されたので(表1)、45°C で経時的に酵素活性を調べた(図2)。その結果、原液測定(×1)でも10倍希釈測定(×10)でも活性が確認されず、アニリン除外実験でも同じ結果である事が確認され(表2)、調理後のイナゴにはチアミナーゼ活性は検出されなかった。

4. 考 察

チアミナーゼは植物や魚介類と細菌などで存在が知られていた⁵⁾が、最近まで昆虫類には報告された例は無かった。我々はアフリカ蚕 *Anaphe spp.* で強いチアミナーゼの存在を証明し¹⁾、日本産の家蚕にも活性を検出した²⁾。しかし、その他の昆虫にチアミナーゼが存在するか

否かについての報告は今まで無かった。

昆虫に着目したのは、日本においても珍味づくだにという形で小規模ながら食習慣が現存しており、また、将来の地球規模の食糧難に備えて、昆虫を食材として加工するための調理法を創出させようと考えているので検討の意義が認められるからである。加えて、某人気テレビ番組の制作担当者から「昆虫」を取り上げる番組に関してチアミナーゼについての問い合わせを受けた。蚕のチアミナーゼ活性が非常に強いことから、昆虫全般に強力なチアミナーゼが存在するがごとき印象を与えていることが判ったので、実態を身近な材料で検討しておく必要を感じたからでもある。

昆虫を試料として、チアミナーゼ活性について検討した結果、B₁不活化因子のほうが高濃度に含まれている結果であった。アフリカ野蚕の幼虫のチアミナーゼは強耐熱性で、加熱調理後もヒトに健康障害を起こしている³⁾ので、ハチの子やイナゴも調理品を用いて活性を測定したが検出されなかった。

B₁不活化因子の主要なものは同時に還元性の物質でもあり、これらの物質は昆虫の体内では過酸化状態の解消に関与している可能性も考えられる。

また、こうした食品を摂取した捕食者のB₁の有効性が低下する可能性が考えられるが、TDS (thiamine disulfide) は生成しても再度B₁に解離できると考えられるのでB₁欠乏には直結しないと考えられる。詳細は研究されていないが、植物性の不活化因子を多量に含むコーヒーを大量に飲む人の尿中B₁排泄量は低下することが知られている⁹⁾。捕食者へは非常に大量に食べる場合を除いてチアミナーゼは影響あるが不活化因子は影響ないものと考えられる。なお、ハチやハチの子の含有するB₁量については殆ど報告が無い¹⁰⁾。

5. 要 約

昆虫を食材として利用する際、その安全性を検討する必要がある。本報では、昆虫にチアミ

ナーゼが存在するか否かに着目し、以下の結果を得た。佃煮や大和煮などで現在食用されている昆虫やその幼虫にビタミンB₁分解酵素チアミナーゼを見出せなかった。

6. 謝 辞

西宗高弘教授の本論文に関する研究指導に感謝します。

7. 文 献

- (1) Nishimune T, Watanabe Y, Okazaki H, Akai H. Thiamine is decomposed due to *Anopheles* spp. Entomophagy in seasonal ataxia patients in Nigeria. J.Nutr. 130, 1625-28, 2000
- (2) 渡辺喜弘、岡崎英規、西宗高弘. カイコガ幼虫及び蛹の調理加工法の開発. 日本家政学雑誌52, 155-160, 2001
- (3) Adamolekun B, et al. A double-blind, placebo-controlled study of the efficacy of thiamine in a seasonal ataxia in Nigerians. Neurology 44, 549-551, 1994.
- (4) 農事試験場特別報告第31号 食用及薬用昆虫ニ関スル調査37頁、農商務省農事試験場1919.
- (5) Nishimune T. Development in the knowledge of thiaminase and related health hazards. Recent Res. Devel.Nutr. 5, 151-167, 2002.
- (6) Panijpan BP, Vilartsakdanon K, Rungruangsak SL, Vimokesant J. Resolution of the initial phase controversy in the thiamin-polyphenol reaction. Int J Vit Nutr Res. 48, 262-267, 1978.
- (7) Murata K, Tanaka R, Yamaoka M. Reaction mechanisms of thiamin with thermostable factors. J Nutr Sci Vitaminol. 20, 351-362, 1974.
- (8) Matsukawa D, Kawakami T. Model experiments of thermostable thiamin-inactivating factor. J Vitaminol 1 : 208-216, 1955.
- (9) Somogyi JC, Schock W. Antithiamine effects of decaffeinated coffee. (Unpublished experiments.) 1977. cited in Hilker DM, Somogyi JC. Antithiamines of plant origin. Their chemical nature and mode of action. Ann NY Acad Sci 378, 137-145, 1982.
- (10) Finke MD. Nutrient composition of bee blood and its potential as human food. Ecology of Food and Nutrition 44, 257-270, 2005.