

[研究論文]

コオロギの食餌の違いによるタウリンおよび
アミノ酸含量への影響

堀田 拓馬・坪井 耀大・伊藤 崇志

要旨

昆虫は豊富なタンパク源かつ持続可能な食糧源であるとして、将来的に起こりうる人類の食糧危機を救うものであるとされている。中でもコオロギは、飼育管理の容易さ含有成分の豊富さ等により注目されている。こうした中で、食用昆虫の含有成分を調査することは必至となるが、その場合は昆虫個体が生存期間中にどのような食事を摂っていたかが一つの重要な要素となり得る。コオロギの食性は雑食性であり、アミノ酸やタウリン等が豊富に含まれているという研究報告もある。今回、コオロギの食性に着目し、食餌の違いによるアミノ酸等含有量への影響を調査した。実験では、フタホシコオロギ (*Gryllus bimaculatus*) を用いて、動物性の餌のみを与える肉食グループ、植物性の餌のみ与える草食グループ、植物性・動物性の両方の餌を与える雑食グループと、与える餌の違いで3グループに分類した。アミノ酸含有量の測定は HPLC を用いて行った。草食グループでは、飼育期間中のオスの死亡率が他グループに比べ高い割合となった。雑食グループでは、オス、メスともに高い生存率となり、成虫となった個体数も他グループより多い結果となった。各グループでコオロギの体重は実験開始時と比較すると減少した結果となった。アミノ酸含量測定の結果では、コオロギ体内中の各種アミノ酸含有量はオスよりもメスの方が高い傾向にあることが分かった。タウリン含量は、植物性の餌のみを与えた草食グループに対して、肉食や雑食グループの方が高い結果となった。さらに、動物性の餌のみ与えた肉食グループよりも、植物性・動物性両方の餌を与えた雑食グループでは、より豊富なタウリンを体内に蓄えていたことも分かった。以上、本検討から、植物性・動物性の餌をバランスよく摂取したコオロギでは、タウリン吸収あるいは生合成が向上しタウリン含有量が増加した可能性が示唆された。

背景

コオロギは豊富なタンパク源として、昆虫種の中でもミールワーム等と並んでペット用の食

受付日 2023.5.15

受理日 2023.7.7

所属 生物資源学部

餌として長らく用いられてきた。また、ペット用だけでなく、ヒトの食用として用いることも多くあり、中国や東南アジア地域だけでなく、日本の福島や山形、新潟、長野などいくつかの地域においても、佃煮などが伝統的な郷土料理として食されてきた歴史がある^{1~3)}。昨今では、昆虫は豊富なタンパク源かつ持続可能な食糧源であり、食用昆虫は将来的に起こりうる人類の食糧危機を救うものであるとして注目されている。その中でもコオロギは、飼育管理の容易さや含有成分の豊富さ等により、近年盛り上がりを見せる昆虫食ビジネスや研究において中心的な昆虫種の一つとなっている。こうした中で、食用昆虫の含有成分を調査することは必至となるが、その場合はサンプルに使用した昆虫個体が生存期間中にどのような食事を摂っていたかが一つの重要な要素となり得る。コオロギは分類上、バッタ、キリギリス等も含まれる直翅目(バッタ目)に属しており、食性としては、多くのバッタに共通する草食的な面がある一方で、他の昆虫や生物も餌とするなど肉食の面も併せ持つ雑食性である。この食性は多くの種類のコオロギに共通し、過密な飼育環境下においては共食いをする場合もある。こうした食性により、コオロギには他の昆虫種よりもアミノ酸やタウリン等が豊富に含まれているという研究報告もある^{4~5)}。タウリンは含硫アミノ酸の一種であり、心臓を始めとする各臓器の機能を高める働きや糖尿病や高血圧の予防の効果を持つ^{6~9)}。これは、コオロギ体内中のタウリン含有量の豊富さによっては、健康食品としてのポテンシャルも兼ね備えていると捉えることも可能である。今回はこうした点とコオロギの食性に着目し、コオロギの食餌の違いによるコオロギ体内のタウリンおよびアミノ酸にどの程度の差異が生じるかを調査する実験を行った。

方法

コオロギの飼育

参考論文^{4~5)}においてはヨーロッパイエコオロギのアミノ酸含量を測定しているが、本実験では、飼育のしやすさを考慮してフタホシコオロギを使用した。フタホシコオロギはヨーロッパイエコオロギとともにペット用の餌として入手しやすい。また、ヨーロッパイエコオロギは成虫で体長2 cm程度であるのに対して、フタホシコオロギは3 cm以上に成長するため判別が容易で、飼育期間中の脱走の懸念が少ないと判断されたことから、こちらの種類を選んだ。フタホシコオロギの幼虫(6 齢程度)は、動物飼育用生き餌として販売されていたものをベイサイドアクア(神奈川、日本)より購入して使用した。飼育期間は3 週間であり、与える餌の違いで3 グループに分類した。動物性の餌のみを与えるグループ(以下、肉食グループ)にはニボシを与えた。植物性の餌のみ与えた草食グループにはナス、カボチャ、ニンジンを与えた。植物性・動物性の両方の餌を与えた雑食グループはニボシ、ナス、カボチャ、ニンジンを与えた。各グループのサンプル個体数が最低3 頭ずつ確保できるよう、飼育期間中の死亡も考慮して1 グループにつきオスを各6 頭、メスを各10 頭ずつに振り分けて飼育した。飼育期間中の1 週間

毎に体重測定にて確認した。なお、体重測定の際、個体ごとに測定するのは取り扱いが困難であったため、グループ内の全個体の重さを測定したのち、頭数で除した値を用いた。また、飼育終了時の各グループ全残存個体中の成虫の割合も調査項目とした。コオロギの歳は、身体の側面にある翅になる組織の様子で判断した。また、メスの場合は後部から産卵管の長さでも判断した。幼虫と成虫も見分けは背に翅があるかどうかで判別した。

アミノ酸測定

アミノ酸測定は過去の動物組織中のタウリン濃度の測定方法の報告にならって実施した¹⁰⁾。3週間飼育したコオロギは、飼育終了後に冷凍し、その後、全身をまとめて粉碎してサンプルとした。冷凍処理後、各個体をペースト状にしたのち1.5 mLチューブに60 mg移し、10倍量の200mM スルホサリチル酸水溶液を各サンプルに加えホモジナイズした。20分間の超音波処理ののち、15000 rpmで10分間遠心分離した。遠心分離後の上清を100 μ L採取し、それぞれ別のチューブに移してから、NaHCO₃水溶液（1 mol/L）を40 μ L加えて中和処理後、100mM α -アミノ酪酸水溶液を10 μ L加え、内部標準とした。続いて、各サンプル液を20 μ Lずつ採取して別のチューブにそれぞれ移し、真空乾燥処理を20分間施した。乾燥した各サンプルにエタノール:水:トリエタノールアミン（TEA）混合液（2:2:1）を20 μ Lずつ加えて溶解させたのち、再び乾燥処理（20分間）した。その後、乾燥した各サンプルにフェニルイソチオシアネート（PITC）溶液（エタノール:水:TEA:PITC=7:1:1:1）を50 μ Lずつ加えて溶解後、20分反応させ、再度、20分間の乾燥処理を行った。乾燥した各サンプルを確認し、それぞれに10mM リン酸バッファー（pH7.0）を1 mLずつ加え、ボルテックスして可能な限り溶解させ、不純物をフィルターで除き、HPLC測定用サンプルとした。

PITCにより誘導化されたサンプルは高速液体クロマトグラフィー UltiMate™3000（ThermoFisher, USA）を用いて分析した。カラムにはODSカラム（COSMOSIL 5 C18-MS-II Packed Column 5 μ m, 250×4.6mm；Nacalaitesque, Kyoto, Japan）を用いた。バッファーAには10mMリン酸カリウム水溶液（pH7.0）、バッファーBにはアセトニトリルを用いて、以下のポンプ条件で測定を行った；0～0.3分 A:B=95:5（1 mL/分）、0.3～20分 A:B=95:5→60:40。また、検出にはPhotodiode検出器を用いて、260 nmの波長の吸光度をモニターしてアミノ酸濃度を算出した。

統計

アミノ酸測定の結果は、平均±標準偏差で表した。統計処理にはSSPS Statics 23（IBM, Chicago, IL, USA）を用いた。多重比較は1元配置分散分析により行い、Tukey's testによりPost-hoc検定を行った。

結果・考察

コオロギの残存個体数と体重に及ぼす食餌の影響

コオロギの生存数並びに体重の変化をグループごとに比較した(表1)。草食グループはナス、カボチャ、ニンジン、肉食グループはニボシ、雑食グループにはニボシ、ナス、カボチャ、ニンジンを与えた。草食性の餌を与えた草食グループでは、飼育期間中におけるオスの死亡率が他グループと比較すると高い割合となった。これは、本来は雑食性であるコオロギが、動物性の餌を摂取できなかったことによるものと考えられる。一方で、肉食グループではオスの生存率は高く、メスの生存率は草食グループと同程度となった。雑食グループでは、雌雄ともに高い生存率となり、成虫となった個体数も他グループより多い結果となった。

体重は、どのグループとも飼育開始前に比べて減少した。その中でも、雑食グループは体重減少が最小限となった。雑食グループは摂取した養分のバランスがよかったために体重の減少が小さかったと考えられた。各グループでコオロギの体重は実験開始時と比較して減少したが、本来はペット用の餌として飼育されていたため、優れた飼育環境と、より肥えさせるため養分が豊富な餌が与えられていたことが一因として考えられる。一方、幼虫から成虫になる過程で体重が減少するものかもしれないと考えられるため、今後調査を進めたい。

表 1 飼育期間中の生存数、平均体重の推移

		実験開始時		1 週間経過時		2 週間経過時		3 週間経過時	
		生存数(頭) [生存率(%)]	平均体重 (g)	生存数(頭) [生存率(%)]	平均体重 (g)	生存数(頭) [生存率(%)]	平均体重 (g)	生存数(頭) [生存率(%)]	平均体重 (g)
オス	草食	6 [100]	1.04	5 [83.3]	0.92	4 [66.7]	0.94	3 [50]	0.99
	肉食	6 [100]	1.08	6 [100]	1.04	5 [83.3]	1.00	5 [83.3]	1.02
	雑食	6 [100]	1.03	5 [83.3]	1.05	5 [83.3]	1.02	5 [83.3]	1.00
メス	草食	10 [100]	1.00	9 [90]	0.96	7 [70]	0.94	7 [70]	0.90
	肉食	10 [100]	0.98	8 [80]	0.97	7 [70]	0.95	7 [70]	0.92
	雑食	10 [100]	1.08	10 [100]	1.00	9 [90]	1.01	9 [90]	1.01

体重は同グループ内の全個体をまとめて測定し、グループ内の頭数で除した値を示した。

コオロギ体内のアミノ酸等含有量に及ぼす食餌の影響

コオロギ体内の各種アミノ酸含有量は、全体的にオスよりもメスの方が高い傾向がみられた(表2)。タウリンは、オスでは飼育開始前と比較して肉食および雑食のグループで増加したが、草食グループでは変化がなかった。一方、メスでは、飼育開始前に比較して雑食グループで増加の傾向があったが、肉食、草食のグループでは変化が認められなかった。その他のアミノ酸について、実験開始前に比べて草食グループでは雌雄ともセリンが低下したが、他のアミノ酸で変化は認められなかった。また、肉食グループでは、雌雄ともにイソロイシン、メチオニン、バリンの増加が認められた。雑食グループではオスにおいてはそれらに加えてチロシンの増加も見られ、メスでも統計的有意差はないもののその傾向が認められた。

今回の結果では、オスよりもメスに全体的にアミノ酸量が多い傾向があったが、これはコオロギに限らず、メスは本来、繁殖をするうえで子孫を残すために重要な産卵のことが関連していると推測される。メスは、卵に十分な養分を供給するためにアミノ酸の吸収率あるいは保持率が高くある必要があり、より豊富に体内に蓄積させたと考えられる。今回の飼育条件は、オスとメスを同じケース内で飼育していたため、成虫となった個体のいくつかは交尾を行った可能性がある。こうした点を考慮すると、いくつかのメスは既に産卵に向けての養分の蓄積を始めていた可能性が考えられた。一方で、アミノ酸の種類によっては性別間で差異が少ない場合やオスの方が多い場合もあり、性別によって要求、蓄積するアミノ酸種類が異なる可能性も考えられた。

各グループのアミノ酸含有量に関しては、タウリンだけでなく、イソロイシン、メチオニン、バリンでは、植物性の餌のみを与えた草食グループに対して、動物性の餌を与えた肉食グループの方が高い結果となった。いくつかのアミノ酸では、雑食グループより高い結果となっており、特に肉食グループのオスは、他グループより多量のアミノ酸を保持していた。一方で、草食グループのタウリン含有量に関しては、実験開始前の個体とあまり変化していないか減少している結果となった。これはメチオニンやアルギニン、グリシン、ヒスチジン、イソロイシン等のアミノ酸でも同様の傾向が見られた。ここで注目したいのは、サンプルとして用いた草食グループの個体は、実験開始前(の個体)は6、7歳前後の幼虫であったが、3週間の飼育期間を経て成虫や終齢幼虫へと成長した状態となっていることである。今回の実験において、草食グループでは特にオスにおいては生存率が他のグループと比べ低く、体重の減少も見られたことの原因として、草食グループは、成長に対する各アミノ酸含量が不足したことが今回の結果から考えられた。特に、タウリンは心機能を高める効果を持つ成分であり、先の体重変化や生存率のデータにおいて、草食グループの死亡率が他グループより高かった点とも関連していると考えられる。さらに、この生存率とアミノ酸含有量の関係という点に関しては、先に挙げたようにメスの方が各種アミノ酸をより豊富に保持していることに加え、生存率・成長度合い

表 2 鯨、性別のコオロギ個体中アミノ酸含量

オス	飼育開始前	草食	肉食	雑食
Alanine	1.31±0.19 ab	1.02±0.35 a	1.57±0.18 ab	1.27±0.62 ab
Arginine	4.3±0.42 a	2.85±0.88 a	4.19±0.59 a	4.53±0.63 a
Aspartic acid	1.6±0.57	1.17±0.72	1.65±0.19	2±0.7
Cystine	1.84±0.35 ab	1.25±0.81 a	2.43±1.09 ab	1.45±1.35 ab
Glutamic acid	4.31±0.19 ab	2.75±0.64 a	9.15±2.49 b	4.67±1.16 ab
Glycine	1.14±0.06 a	0.95±0.09 a	2.27±0.43 a	5.8±5.19 ab
Histidine	2.81±0.41 ab	1.7±0.28 ab	3.04±0.18 a	1.12±0.62 ab
Isoleucine	0.52±0.09 ab	0.65±0.28 abc	1.06±0.14 bcd	1.37±0.21 d
Leucine	0.85±0.11	0.73±0.39	0.83±0.21	1.13±0.17
Methionine	0.41±0.17 a	0.38±0.12 a	0.92±0.07 bcd	1.2±0.16 d
Proline	1.01±0.09	0.73±0.29	2.01±0.51	1.84±0.94
Serine	4.6±0.02 c	1.89±0.61 a	3.81±0.63 c	3.86±0.8 c
Taurine	1.55±0.54 a	1.54±0.05 a	3.63±0.7 ab	2.79±0.85 ab
Threonine	1.31±0.08 abc	0.61±0.22 a	2.39±0.87 bc	1.46±0.74 abc
Tyrosine	1.34±0.18 ab	0.61±0.28 a	5.34±3.18 abc	8.8±2.88 cd
Valine	0.06±0.02 a	0.08±0.02 ab	0.14±0.01 bcd	0.19±0.04 de
メス	飼育開始前	草食	肉食	雑食
Alanine	1.22±0.19 ab	2.01±0.35 ab	1.06±0.39 a	2.22±0.12 b
Arginine	5.79±1.08 a,b	3.43±0.59 a	8.42±1.26 b	7.75±1.19 b
Aspartic acid	1.65±0.52	1.37±0.95	1.75±0.55	0.94±0.33
Cystine	1.67±0.64 ab	1.43±0.46 ab	1.25±0.23 a	4±0.42 b
Glutamic acid	5.99±0.66 ab	5.01±2.12 ab	4.81±2.23 ab	8.54±1.79 b
Glycine	1.33±0.12 a	1.59±0.38 a	2.53±0.51 a	11.5±1.26 b
Histidine	2.83±0.73 ab	1.28±0.24 ab	3.73±1.68 b	2.27±0.31 ab
Isoleucine	0.38±0.09 a	0.78±0.15 abc	1.18±0.22 cd	0.93±0.04 abcd
Leucine	0.67±0.15	0.52±0.23	0.82±0.3	0.77±0.18
Methionine	0.57±0.17 abc	0.45±0.11 ab	1.26±0.2 d	0.98±0.09 cd
Proline	0.77±0.09	1.09±0.42	1.72±1.31	1.71±0.23
Serine	4.12±0.24 c	1.92±0.74 ab	0.97±0.32 a	3.69±0.18 bc
Taurine	2.62±0.18 ab	2.23±1.17 ab	2.79±0.76 ab	4.54±0.93 b
Threonine	1.14±0.02 ab	1.56±0.44 abc	1.16±0.1 ab	2.83±0.23 c
Tyrosine	1.39±0.19 ab	1.15±0.17 ab	8.09±3.07 bcd	13.06±2.63 d
Valine	0.08±0.02 ab	0.1±0.02 abc	0.16±0.04 cd	0.24±0.02 e

単位：mg/kg BW, 検体数：各グループ 3 匹, a ~ e; 同じアルファベットは平均値に有意差がないことを示す (Tukey's HSD, 有意水準は p<0.05)

もメスの方が優位であった。ここに関しても、メス本来の性質とコオロギの食性が関連している可能性がある。以上のことを考慮すると、昆虫食として考えた場合にはオスよりもメスからの方が多くのアミノ酸を摂取可能であると推測される。

コオロギは従来からペットの餌用として生産されてきたことや、餌の確保など飼育しやすい昆虫として飼育方法が確立されている。コオロギを商業的に飼育する場合は、生存率での損失やアミノ酸摂取目的での食品として利用することを考慮すると、動物性の餌を与える必要がある。アミノ酸に着目したうえで食用昆虫用途として考慮すると、コオロギ本来の食性通り、植物性の餌のみで飼育するよりも、動物性、植物性両方を与える飼育条件が食用コオロギに適していると考えられる。

参考文献

- Florence Inje Oibiokpa, Helmina Olufunmilayo Akanya, Ali Audu Jigam, Abubakar Ndaman Saidu, Evans Chidi Egwim. Protein quality of four ingredients edible insect species in Nigeria. *Food science and human wellness*. 7, 175-183 (2018)
- 新井哲夫、東野秀子. 昆虫と食文化. 山口県立大学学術情報 2, 106-123 (2009)
https://crd.ndl.go.jp/reference/modules/d3ndlcrdentry/index.php?page=ref_view&id=1000303796 (2023年2月22日閲覧)
- Sarah McCusker, Preston R Buff, Zengshou Yu, Andrea J Fascetti. Amino acid content of selected plant, algae and insect species. *Journal of Nutritional Science*. e39 (2014)
- Mark D. Finke. Complete nutrient composition of commercially raised invertebrates used as food for insectivores. *Zoobiology*. 21, 269-285 (2002)
- Stephen W. Schaffer, Kyoko Takahashi, Junichi Azuma. Role of osmoregulation in the actions of taurine. *Amino Acids*. 19, 527-546 (2000)
- Takashi Ito, Stephen W. Schaffer, Junichi Azuma. The effect of taurine on chronic heart failure: actions of taurine against catecholamine and angiotensin II. *Amino Acids*. 46, 111-119 (2014)
- Takashi Ito, Stephen W. Schaffer, Junichi Azuma. The potential usefulness of taurine on diabetes mellitus and its complications. *Amino Acids* 42 1529-1539 (2012)
- Treatment of hypertension with oral taurine: experimental and clinical studies. *Amino Acids*. 23, 381-393 (2002)
- Takashi Ito, Khanh Hoang Nguyen, Chitose Maruyama, Yoshimitsu Hamano, Shigeru Murakami, Stephen W Schaffer. Bioavailability of tauropine after oral ingestion in mouse. *Advances in Experimental Medicine and Biology (Taurine 12)* . 1370, 137-142 (2022)