

<令和2年度助成>

## 脂質およびタンパク質資源としての食用昆虫の栄養機能性評価

落合 優

(北里大学 獣医学部 栄養生理学研究室)

### 目 的

世界人口の増加とともに食糧難が予想される。持続可能な食資源の新規開拓を目指し、本研究では世界最大の生物群であり約 1,900 種類の存在が知られる食用昆虫の中でもトノサマバッタ（以下、バッタ）とシルクワームを用いて、含まれる栄養成分の中でもタンパク質および脂質に焦点を当て、栄養学的価値と栄養生理作用について検証を行った。食用昆虫バッタとシルクワームの栄養学的な特徴として、豊富なタンパク質および機能性脂質が高含有されることが知られる。この点は従来の食糧資源である畜肉や大豆とは大きく異なる点であり、畜産による環境汚染、食糧自給率、脂質供給元である水産資源の枯渇および飼料変換効率などを考慮すると、食糧資源として昆虫に活路を見出すことは理に適い、複数のSDGsに貢献できる可能性を秘める。しかしながら、昆虫由来タンパク質の消化分解性や脂溶性成分の機能性について、実験動物の生体内で検証された知見はほとんどない。

本研究では食用バッタのタンパク質の生体内消化性を検討し、タンパク質源として給餌した際の栄養生理学的な機能性を評価した（実験①）。また、n-3系多価不飽和脂肪酸を高含有するバッタおよびシルクワームの脂質種を同定し、高脂肪食給餌マウスを用いて抗肥満や耐糖能改善作用とその作用機序について検証を行った（実験②）。

### 方 法

#### 実験① 食用バッタ粉末のタンパク質の生体内消化性および栄養生理学的評価

試験試料には賦形剤を含まない TAKEO（株）製のバッタ粉末を使用した。生体内消化性は以下の通りに検討した。雄の Wistar ラット（日本エスエルシー（株））を一晩絶食させた後、絶食群（CO）、カゼイン対照群（CAS）およびバッタ粉末給餌群（INS）とし、CAS 群には CAS 食、INS 群には INS 食を 2 時間給餌した。食餌は AIN-93G 組成食（CAS 食）とし、そのタンパク質源の半分に当たる 10% を INS に置換した食餌を INS 食とした。給餌 2 時間後、ラット消化管を摘出し、内容物を回収した。CO 群のラットは絶食下のまま同様に消化管内容物を回収した。消化管内容物のタンパク質消化物の評価は SDS-PAGE 後に銀染色を行い、食餌タンパク質の消化分解能を定性的に評価した。

次に食用バッタ粉末の栄養生理学的評価を以下の通りに検討した。4 週齢の雄の Wistar ラットをカゼイン対照群（CA）およびバッタ群（IN）に分け、35 日間各食餌を自由給餌した。食餌は上述の食餌組成と同様のものを用いた。飼育期間中は 1 週間に 1 回非絶食下で尾静脈採血を行い、血漿中のグルコース、中性脂肪、総コレステロールを測定した。飼育最終週の 5 日間の排泄糞を回収し、凍結乾燥・粉末化して栄養分析に用いた。飼育期間終了後、10 時間絶食後に解剖して生体試料を回収した。血漿の生化学的指標および脂肪酸種、肝臓の脂質蓄積、蓄積脂肪酸種および酵素活性、屠体エネルギー蓄積などを測定した。また、血漿中のリポタンパク質を 20

画分に分画してそれぞれの分画物濃度を測定した (スカイライトバイオテックに分析外注)。統計解析は t 検定を利用し、有意水準は  $p < 0.05$  とした。

## 実験② 食用昆虫粉末に含まれる脂質種の 同定と栄養生理学的評価

試験試料には同様のバッタおよびシルクワームの蛹粉末 (TAKEO (株) 製) を使用した。まず、脂質成分の分離のために昆虫粉末を Folch 法 (クロロホルム+メタノール混液) にて抽出し、薄層クロマトグラフィー法 (TLC) にて各脂質種の分離を行った。分離条件は既報に従い、脂質種およびリン脂質種を分離するそれぞれの条件下で行った<sup>1)</sup>。分離後、中性脂肪およびリン脂質 (ホスファチジルコリン (PC) およびホスファチジエタノールアミン (PE) + カルジオリピン (CL)) の濃縮スポットをそれぞれかき取り、同様の抽出後にガスクロマトグラフィー法にて中性脂肪画分およびリン脂質画分の構成脂肪酸組成を分析した。

次に、食用バッタ粉末の栄養生理学的評価を以下

の通りに検討した。4 週齢の雄の ICR マウス (日本エスエルシー (株)) をカゼイン対照群 (C)、5% バッタ群 (B)、バッタ脂質群 (低用量群 BL および高用量群 BH) に分け、60 日間各食餌を自由給餌した。バッタ粉末からの抽出総脂質の回収率は約 12% であった。食餌は AIN-93G 組成食を基にインスリン抵抗性を惹起させるために牛脂とショ糖を含む高脂肪高ショ糖食 (脂質 30%、ショ糖 20%) を用いた。飼育最終週に耐糖能評価のために経口糖負荷試験を行った。飼育期間終了後、10 時間絶食後に解剖して生体試料を回収した。血漿の生化学的指標および肝臓・筋脂質蓄積などを測定した。統計解析は Tukey-Kramer 法による多重比較検定を行い、有意水準は  $p < 0.05$  とした。

## 結果

### 実験① 食用バッタ粉末のタンパク質の生体内 消化性および栄養生理学的評価

タンパク質の生体内消化性について、消化管内容

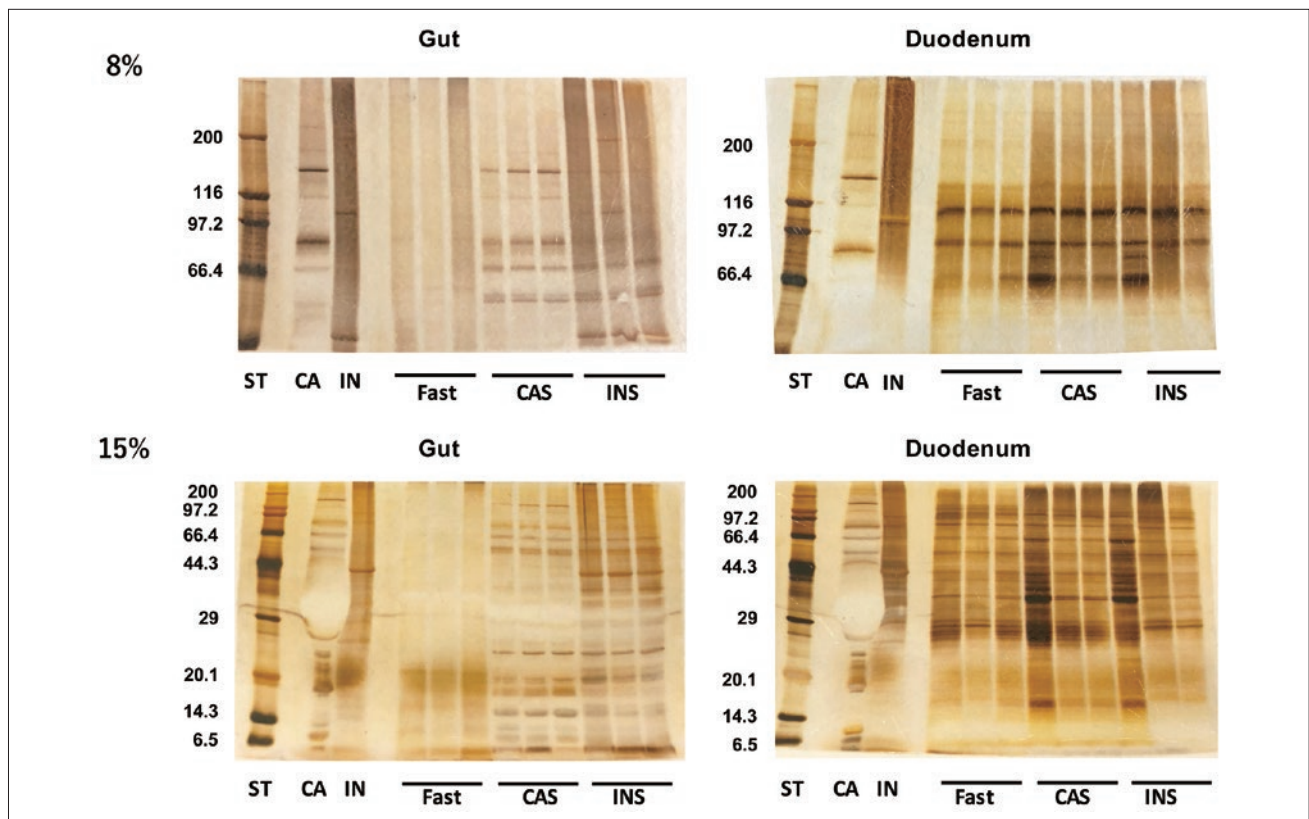


図1 ラット消化管内容物の SDS-PAGE (実験①)

物のタンパク質の分子量分布を図1に示した。粉末原料にはカゼインには含まれないバツタ粉末特有のバンドが確認され、食餌摂取後も胃において同様のバンド(約30~40 kDa、トロポミオシンおよびその類似体であることが推測される)の存在が見られた。しかし、小腸においてバツタ粉末特有のバンドは消失し、消化管下部においては群間の差は見られなくなった。

栄養生理学的分析において得られた代表的な結果を図2~4および表1に示した。体重推移はIN群でやや高値を推移し、食餌効率は高い傾向を示した。非絶食下の血漿中性脂肪濃度は経時的に高値を示し、血漿総コレステロール値は経時的に低値を示した。解剖時における組織・臓器重量に違いは認められなかった。絶食時の血漿生化学分析の結果、インスリン、中性脂肪、総コレステロール、リン脂質、プロタンパク質転換酵素サブチリシン/ケキシシ9型(PCSK9)、肝機能指標および尿素窒素濃度がIN群で低値を示し、インターロイキン6(IL-6)および総タンパク質濃度はIN群で高値を示した。肝臓の脂質蓄積を定量的に分析した結果、IN群で肝臓中

表1 食用バツタ粉末食給餌試験における血漿生化学指標(実験①)

	CA	IN
Glucose (mg/100 mL)	188 ± 12	216 ± 14
Insulin (ng/mL)	3.53 ± 1.20	0.92 ± 0.04*
IL-6 (pg/mL)	842 ± 90	1424 ± 139**
Prostaglandin E2 (ng/mL)	6.3 ± 0.4	5.4 ± 0.7
Triglyceride (mg/100 mL)	214 ± 25	121 ± 9**
Phospholipids (mg/100 mL)	197 ± 13	120 ± 5***
Total cholesterol (mg/100 mL)	123 ± 12	73 ± 5**
HDL-cholesterol (mg/100 mL)	64 ± 6	47 ± 3*
PCSK9 (ng/mL)	21.4 ± 1.8	11.7 ± 0.3***
BCAA (μmol/mL)	416 ± 24	443 ± 22
Total protein (mg/100 mL)	5.6 ± 0.1	5.8 ± 0.1*
Urea nitrogen (mg/100 mL)	15.5 ± 0.7	11.4 ± 0.4***
AST (Unit/L)	60 ± 2	55 ± 1*
ALT (Unit/L)	29 ± 1	25 ± 1*

Values are mean ± SE (n = 8). Statistically significant differences were evaluated by Student's t-test. \* \*\* \*\*\* p < 0.05, 0.01, 0.001

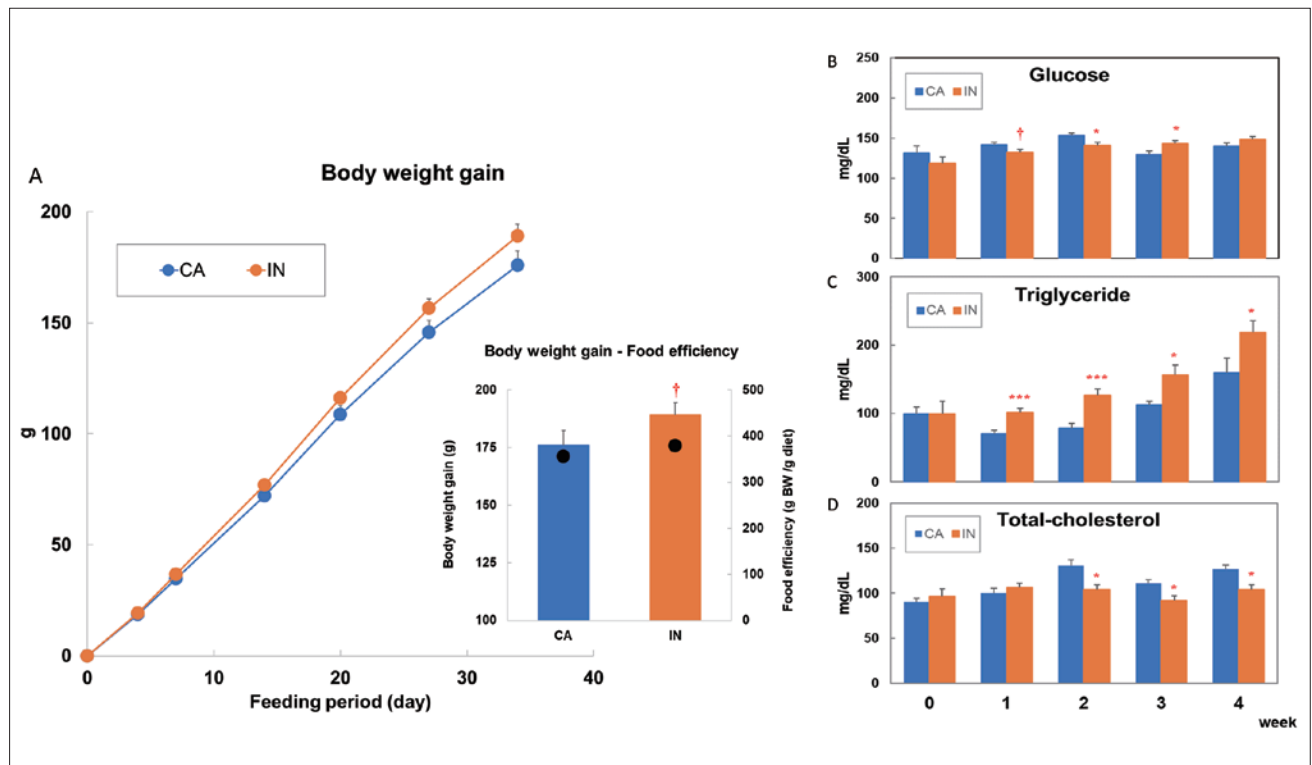


図2 体重および非絶食時の血漿成分値(実験①)

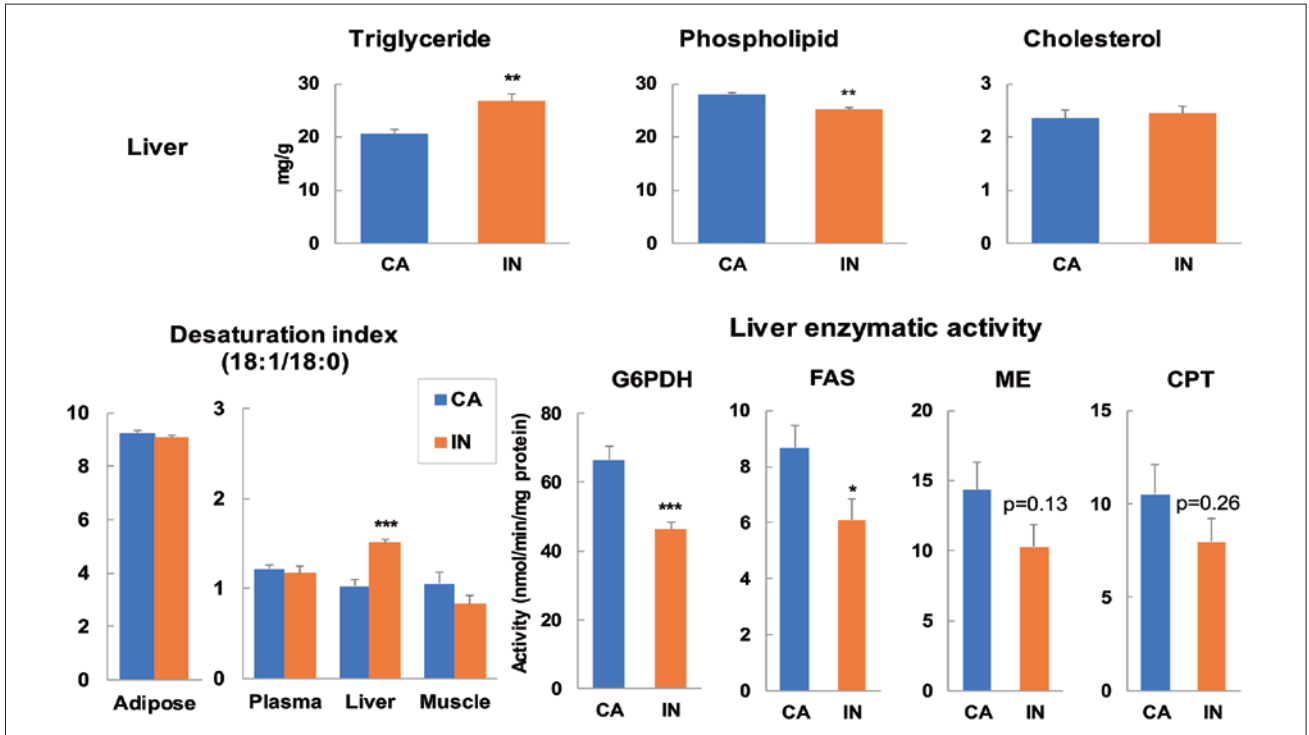


図3 肝臓脂質値および肝臓酵素活性値 (実験①)

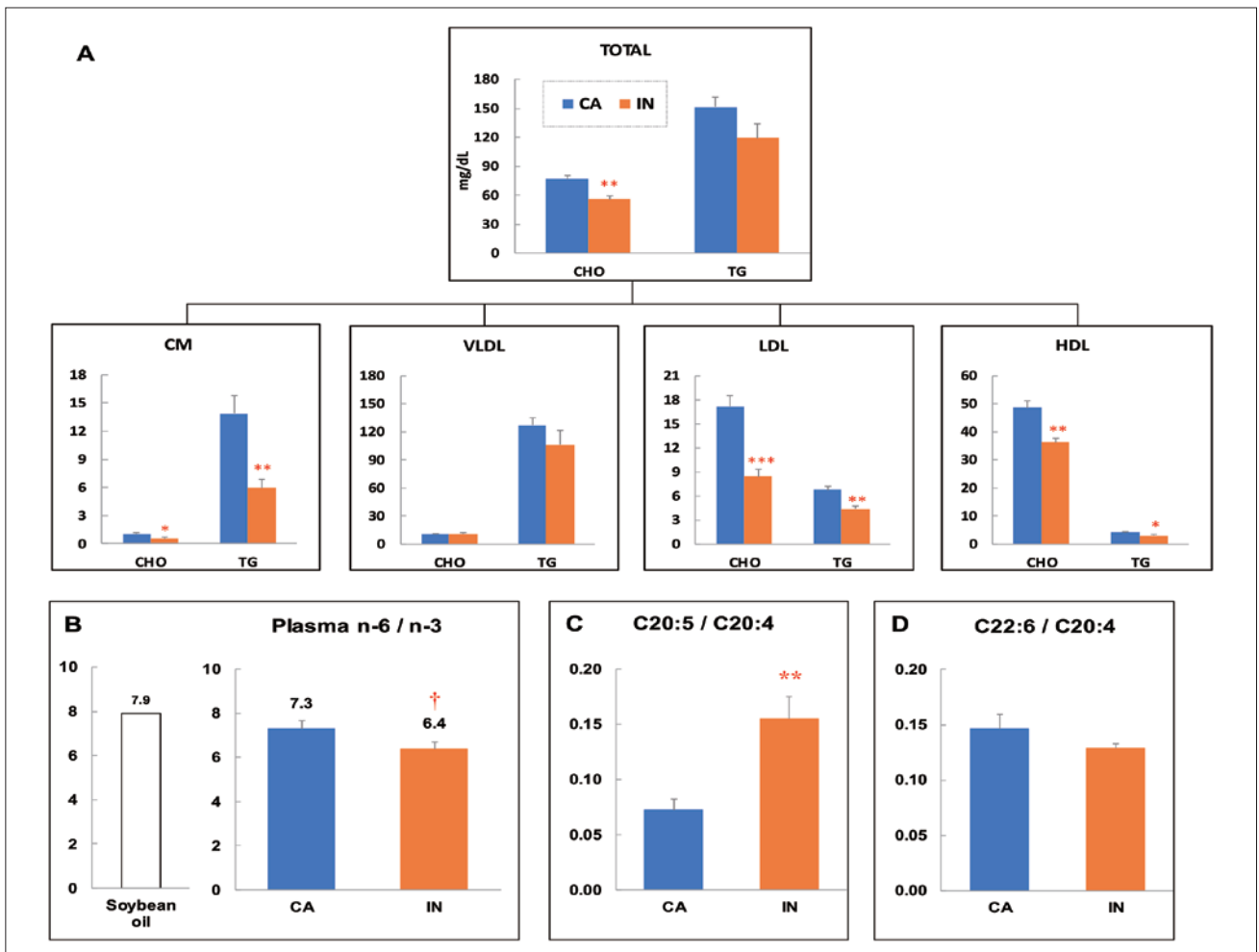


図4 血漿リポタンパク質濃度および総脈硬化指標 (実験②)

性脂肪値は高値となり、リン脂質値は低値となった。一方で、肝臓の脂質合成系酵素 (FAS、G6PDH、ME) の活性は IN 群で低値となった。血漿中の脂肪酸分析の結果、n-6/n-3 比およびアラキドン酸含有率は IN 群で低値となり、動脈硬化性指数 (C22:5/C22:4) は IN 群で高値となった。また、血漿中のリポタンパク質を画分ごとに分析したところ、特にカイロミクロン画分と LDL 画分が IN 群で低値を示した。一方で、糞中への脂質の排泄が IN 群で顕著に高くなる結果は得られなかった。

## 実験② 食用昆虫粉末に含まれる脂質種の 同定と栄養生理学的評価

食用昆虫粉末に含まれる脂質種を示した TLC プレート図 (バッタ) を図 5 に示した。バッタ粉末に含まれる脂質種として中性脂肪、コレステロールおよびリン脂質種が主に含まれ、シルクワームには中性脂肪を主体として同様の脂質が含まれることが示された (省略)。さらにリン脂質を種別ごとに分離したところ、コリン、エタノールアミン、イノシトール、セリン基を側鎖に持つリン脂質やカルジオリピンなどが含まれることが示された。PC 画分と PE + CL 画分に含まれる脂肪酸組成を分析したところ、いずれの食用昆虫粉末も  $\alpha$  リノレン酸 (n-3 系) を豊富に含み、総脂質の脂肪酸組成に反映する結果となった。

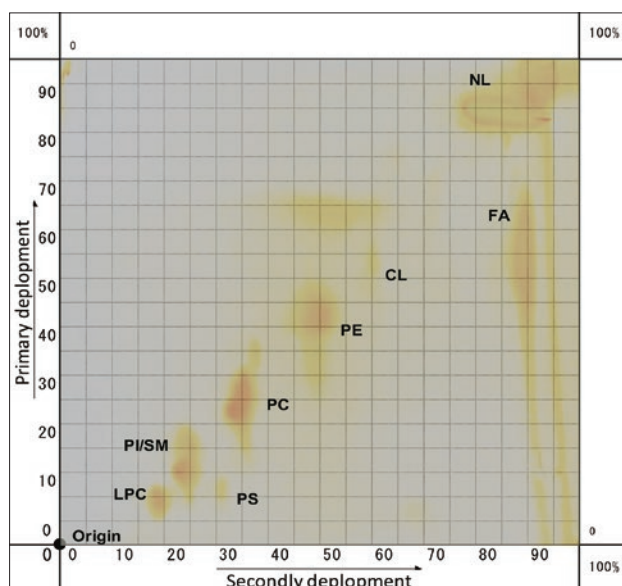


図 5 食用昆虫バッタ粉末に含まれる脂質成分の TLC 展開図 (実験②)

また、栄養生理学的分析にて得られた結果を文章で示す (図省略)。耐糖能試験における血漿グルコース濃度に違いは認められなかったが、解剖時の血漿グルコース濃度および肝機能指標は B、BL、BH 群で有意に低値を示した。肝臓脂質値 (中性脂肪、コレステロール、リン脂質) はいずれもバッタおよびバッタ油脂給餌群で高値となり、油脂の用量依存的に高くなり、肝臓への脂質取り込みが亢進することが示唆された。

## 結果のまとめ及び結論

食用昆虫バッタおよびシルクワームには機能性脂質である  $\alpha$  リノレン酸が中性脂肪およびリン脂質型として含まれ、リン脂質が複数種存在することが示された。バッタ粉末のタンパク質は胃消化耐性があるものの小腸以下で消化分解されることが示された。ラットに粉末食を 5 週間給餌したところ、リポタンパク質代謝を改善し、肝臓 LDL 受容体を介して LDL 脂質の取り込みを助長する一方で、肝臓脂質合成系酵素活性を抑制する作用が示され、動脈硬化症を予防する可能性が示唆された。また、高脂肪食給餌マウスへのバッタ脂質抽出画分の給餌は耐糖能への影響を与えず、肝臓脂質蓄積を高める可能性が示唆された。食用昆虫は機能性が付加された代替タンパク質源として利用価値があることが示された。

## 謝 辞

本研究の遂行にあたり、研究助成を賜りました公益財団法人 浦上食品・食文化振興財団に厚く御礼を申し上げます。

## 参考文献

- 1) 新井洋油ら編, 脂質解析ハンドブック (羊土社) 13 章, 231 ページ, 2019 年発行

## **Nutritional and Functional Evaluation of Edible Insects as Lipid and Protein Resources**

**Masaru OCHIAI**

*School of Veterinary Medicine, Kitasato University*

Edible insects are considered to be sustainable foods. However, their nutritional and functional properties have not been clarified. This study clarified the protein digestibility of powder of migratory locust (MLP) as being resistant to gut pepsin, but favorably digestible by intestinal trypsin or chymotrypsin. The analytical nutritional study indicated that MLP and silkworm powder are rich in several kinds of phospholipids and triglycerides binding with n-3 fatty acids. In animal experiment A, the dietary effects of MLP proteins on lipid and glucose metabolism were investigated in rats. Dietary MLP proteins resulted in favorable growth, intestinal conditions, plasma parameters, and body energy accumulation in rats. The plasma levels of lipids, lipoproteins, and arteriosclerosis-related fatty acid indices and liver function indices were improved with MLP. Liver triglyceride levels and desaturation indices increased, while on the other hand, de novo lipogenic enzyme activities were suppressed by MLP. These alterations were favorably caused by an increase in LDL-lipid uptake into the liver. Therefore, MLP was a valuable and sustainable protein resource for the prevention of dyslipidemia. In animal experiment B, the dietary effects of MLP lipids on lipid and glucose metabolism were investigated in mice fed with a high-fat diet. Dietary MLP lipids increased liver lipid (triglycerides, cholesterol, and phospholipids) accumulation, but improved liver function indices and did not exacerbate glucose intolerance. These findings suggest that dietary MLP, which contains digestible proteins and functional n-3 lipids, improved plasma-liver lipoprotein mechanisms and functions without exacerbating growth, plasma parameters, or glucose intolerance in rodents.