

和文要旨

マダガスカルのエビ孵化場において *Penaeus monodon* 稚エビの付属肢に形成された褐色小塊について(報文)

佐野元彦(西海区水産研究所石垣支所)
岩川秀人・末光正典(国際協力事業団)
皆川 恵(西海区水産研究所石垣支所
/西海区水産研究所企画連絡室)
Juliette RASOARINIRO・
Louisette RZAFINDRADOANY

(マダガスカルエビ養殖センター)

マダガスカルで孵化場で飼育されているウシエビ *Penaeus monodon* 稚エビの付属肢中に褐色小塊がしばしば形成され、斃死原因となっている。病理組織学的検討では、褐色小塊は、メラニン化を伴った血球細胞による宿主反応であり、付属肢先端部の上皮細胞の壊死によって引き起こされたものと推察され、褐色小塊部位には、細菌や寄生虫の感染は確認されなかった。この褐色小塊は、4日間絶食させた稚エビに形成された。褐色小塊のある稚エビを実験用水槽に移し、飼育密度などの飼育条件を改善することによって、小塊は消失し、さらに、絶食により出現する褐色小塊形成は、作用機作は明らかではないが、飼育水への最終濃度25ppmのホルマリン添加により抑制されることも明らかとなった。以上の結果から、本症は、細菌感染により引き起こされるのではなく、水質や摂餌に関連した要因によって発生することが示唆された。

No. 3, 1 - 6 (2002)

夏季東シナ海大陸棚におけるカドミウム、リン、窒素の再生(短報)

阿部和雄(西海区水産研究所石垣支所)

東シナ海大陸棚域において1999年夏、生物制限元素であるカドミウム、リン酸塩、硝酸+亜硝酸の再生を調べた。これらの元素の鉛直分布は海底に向かってその濃度は増加していた。再生の際に消費された酸素に対する比はモル比で0.00134×10⁻³:0.00684:0.0998:1であり、この結果は琉球列島近海における以前の調査結果と概ね一致する。冬季から夏季にかけての底層でのカドミウム、リン酸塩、硝酸+亜硝酸塩の見かけの濃度増加はそれぞれ0.079nM, 0.41 μM, 6.1 μMであり、これは夏季における底層での有機物分解による活発な供給を示唆する。

No. 3, 27 - 29 (2002)

パフンウニ生殖巣の新規苦味アミノ酸プルケリミンに関する研究(博士号論文)

村田裕子(中央水産研究所)

パフンウニ(*Hemientrotus pulcherrimus*)は、広く日本沿岸で漁獲されている美味なウニの一種であ

り、すでに食用部分である生殖巣の呈味成分組成については明らかにされている。しかし、生殖巣に強い苦味を有するために、福島県などパフンウニを漁獲対象としていない地域がある。本研究では、パフンウニの苦味を解明するために、福島県いわき地方に生息する個体を対象とし、苦味の発現頻度、苦味物質の単離と化学構造、苦味物質の分析、味覚生理学的特性について検討した。その内容は以下のように要約される。

1. 生殖巣の苦味の発現頻度と季節変化

(1) いわき地方における苦味を有する生殖巣の発現頻度
生殖巣に強い苦味を有するパフンウニが生息する福島県いわき地方の海岸において、パフンウニの大きさ、雌雄の数、苦味の有無について調査を行った。その結果、苦味は成熟した卵巣に特有なものであることが明らかになった。苦味を有する卵巣と苦味のない精巣のアミノ酸組成を比較した結果、既知の苦味アミノ酸でないことを確認した。

(2) 苦味の季節変化

一般にウニは生殖周期を有することから、苦味も成熟過程において増減する事が考えられる。そこで、いわき地方において平成10年11月から平成11年11月までの間、3ヵ月おきにパフンウニ100個体について大きさ、性別、生殖巣の成熟の有無、苦味の有無について調査を行った。その結果、11月から2月までは雌雄の判別が容易な程、成熟が進み、卵巣のほとんどに苦味があった。一方、5月、8月では、未成熟で雌雄の判別の困難な個体が多く苦味のない卵巣も見られた。このように成熟個体数に季節変化は見られるが、成熟個体の分布および生殖巣指数のばらつきから、群としてまとまりのある生殖周期が示されなかった。

2. パフンウニ生殖巣の苦味成分 pulcherrimine の構造の解明

(1) Pulcherrimine の単離

パフンウニ卵巣628gを80%エタノールで3回抽出を行い、減圧濃縮後エーテル-水分配を行い水溶性画分を得た。この画分に抽出残渣を20%メタノールで3回抽出を行って得られた抽出物と合わせ減圧濃縮を行った。この水溶性画分について、ODSカラムクロマトグラフィー、Sephadex G-10によるゲルろ過、逆相HPLCを用いて苦味化合物の精製を行い、30mgの苦味化合物を単離した。なお、純度の確認には逆相HPLC(検出:示差屈折計)およびシリカゲルTLC(BuOH-AcOH-DW=4:1:2で展開、ニンヒドリンで検出)を用い、単一ピーク、単一スポットを確認した。

(2) Pulcherrimine の化学構造式(平面構造)

単離された苦味化合物についてHRFAB-MS、元素分析により分子量および分子式を検討した結果、分子量249、分子式C₉H₁₅O₅NSであることを明らかにした。

つぎに,各種NMR(一次元 ^1H , ^{13}C ,2次元H-H COSY, HMQC, HMBC)により,化学構造を解析した。この化合物は,4-(2'-carboxy-2'-hydroxyethylthio)-2-piperidinecarboxylic acidという新規の含硫アミノ酸であることから, pulcherrimine と命名した。

(3) pulcherrimine の立体構造

本化合物は3つの炭素 C-2, C-4, C-2' が不斉炭素であるため,8種類の立体異性体の存在が考えられる。そこで, Pul の立体構造について検討した。本化合物は乳酸とピペコリン酸を硫黄原子をはさんで結合した構造をとっている。まず, NOESY により本化合物のピペコリン酸側の硫黄原子結合炭素 C-4を支点としたときの6員環のひずみ形を明らかにした。つぎに, ニッケル触媒のもとで水素添加により硫黄部位で加水分解後, ピペコリン酸を得た。ピペコリン酸はキラルカラムによる HPLC および Marfey 法によりその立体構造を検討し, D 型であることが確認された。C-2' については2'位のOH基に(R)-MTPA および(S)-MTPA を反応させエステルにし, 両ジアステレオマーの化学シフトの差を利用した改良 Mosher 法により(S)体であることを明らかにした。したがって Pul は 4 S-(2'-carboxy-2'-S-hydroxyethylthio)-2R-piperidinecarboxylic acid である。

3. Pulcherrimine の分析

(1) 分析方法の検討

アミノ酸のラベル化剤である Dabs-Cl (dinitroaminoazobenzensulphonyl chloride) を用いて Pul を Dabsyl 化し, Dabs-Pul として逆相 HPLC での分析条件を検討した。Pul 濃度に対する検量線は 0 - 4 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の範囲で直線性が得られ, 回収率は90%であった。

(2) 苦味の強さと pulcherrimine 量との関係

成熟期である1998年11月の試料について, 苦味の強さと Pul 含量を調べた。成熟卵巣では平均1.37mg/100g の Pul が含まれていた, 一方, 精巣には苦味がなく, Pul は検出されなかった。生殖巣の苦味の強さと Pul 含量との間に有意な相関関係がみられた。

(3) パフウニ卵巣中の pulcherrimine 含量の季節変化

1998年11月から1999年11月まで, 3ヵ月ごとにいわき地方のパフウニ生殖巣中の Pul を定量した。卵巣中の Pul 含量は個体間でばらつきが見られるものの, 含量の少ない雌は8月に多く, 2月に少なかった。また, Pul 含量の最も高いのは, ほとんどの個体が成熟期である2月であった。このことから, 卵巣中の Pul

含量と雌個体の成熟段階と関係があることが示唆された。

4. Pulcherrimine の苦味の官能評価

(1) Pulcherrimine の閾値

3点識別法により Pul の閾値を調べたところ, 検知閾値は0.17mM, 認知閾値は0.34mM であった。

(2) パフウニ生殖巣エキス中における pulcherrimine の苦味効果

Pul の生殖巣中での苦味効果を確認するために, 未成熟生殖巣, 成熟卵巣, 成熟精巣よりそれぞれ熱水抽出エキスを調製し, これらのエキスを Pul を添加したときの閾値を調べた。その結果, どの生殖巣エキスにおいても, Pul は検知閾値は0.25mM, 認知閾値は0.50mM と同様な苦味効果が示すことが確認された。

5. マウスにおける pulcherrimine の味覚生理学的特性の行動学的解析

(1) マウスにおける pulcherrimine の行動閾値とその系統差

マウスにおける味覚感受性の系統差は種々の味物質において見られる。そこで, C57BL/6 と BALB/c の2つの系統のマウスについて本化合物に対する行動閾値を比較した。4mM Pul でマウスに条件付けを行い, 0.03mM から4mM までの Pul に対するリック数を調べた。その結果, 苦味を識別できる最低濃度すなわち行動閾値は C57BL/6 では1mM, BALB/c は0.1mM と系統差が見られた。なお, 予備実験の段階で条件付け可能な最低濃度にも C57BL/6 では2~4mM に対して BALB/c では1~2mM と系統差が見られた。

(2) 条件付け味覚嫌悪行動からみた各種苦味物質の味覚類似性

C57BL/6 と BALB/c マウスに対して4mM Pul およびその他15種類の呈味物質で条件付けを行い, 種々の苦味物質に対する汎化パターンを調べた。Pul で条件付け後 C57BL/6 では PTC, PROP, MgSO_4 硫酸キニーネ (QH_2SO_4) および SOA と Den に対して強い汎化が見られた。BALB/c では, PTC, QH_2SO_4 および SOA に強い汎化が見られたが, C57BL/6 と比べ, 他の苦味物質に対する汎化が弱い傾向にあった。さらに, クラスタ解析から, Pul は含硫苦味化合物群および味刺激変換機構において IP_3 が関与しているといわれる SOA, Den, Str と同じグループを形成し, それらと味覚類似性が高いことが示された。