

天然色素添加人工餌料投与によるアワビ真珠層の着色Ⅱ

堀口 吉重・木村 昭一*・岩城 健一**・上野 隆二
三重大学生物資源学部・*愛知県立内海高等学校・**株式会社トーカー

Pigmentation of the Nacre of Abalone on Artificial Diet Supplemented with Natural Pigments-II

Yoshishige HORIGUCHI, Shoichi KIMURA*, Kenichi IWAKI** and Ryuji UENO
Faculty of Bioresources, Mie University, *Utsumi High School, Aichi Pref., **Thokan & Co., Ltd.

Abstract

The previous paper (Horiguchi et al. 1987) reported phycocyanin (Lina blue A) to change the color of the outer shell surface and nacre of young abalone, *Haliotis (Nordotis) discus* Reeve. This paper describes changes in color of the shell of abalone fed on artificial diets supplemented with 5 pigments. Coloring of the nacre of abalone fed the test diet with phycoerythrin was similar to that with phycocyanin. Color stability of the abalone shell was examined using ultraviolet irradiation. The color of the abalone shell fed the test diet supplemented with phycocyanin was quite stable whereas the blue color of crude phycocyanin solution was lost soon following exposure to ultraviolet light.

Key words: pigmentation of nacre, abalone, phycocyanin, phycoerythrin, stability of color

緒 言

貝殻の外表面や真珠層内表面の美しい色彩は古くより興味を持たれ、いくつかの色素の存在が報告されている。真珠層の色発現の原因については、色素類の他に多重層構造に基づく光学的性質等が調べられている。アワビ類の貝殻の色彩は、餌中の色素に起源を持つと報告されているが¹⁻³⁾、それらの色素が貝殻外表面のみならず、真珠層の色彩に影響するかどうかは明らかにされていない。

筆者らは、13種類の天然色素を添加した人工餌料を用いてアワビ稚貝を水槽飼育した結果、フィコシアニン(リナブルーA)が貝殻外表面の色彩とともに真珠層の色彩を変化させることを見いだした⁴⁾。引き続き5種類

の天然及び合成色素投与によるアワビ貝殻の色彩変化を検討した結果、フィコエリスリンが貝殻の色彩を変化させることを見いだした。この報告では、フィコピリン系色素(フィコシアニン、フィコエリスリン)によるアワビ真珠層の着色とその性質について述べる。

実験方法

供試貝及び飼育方法

クロアワビ *Haliotis (Nordotis) discus* Reeve は、三重県浜島種苗センターで採苗した稚貝(体重1~2g, 殻長1.0~1.5cm)を飼育実験1回当たり約100個体用いた。飼育を三重大学水産学部水槽実験室で、1986年5月26日~9月2日、1987年7月17日~9月14日、10月7日~12月27日の3回の期間で行った。60ℓ容アクリル水槽に上面

濾過水槽を乗せ、レイシーポンプ (P-112 型, 最大流量 13 l/min) を付した循環式水槽10個に濾過海水を約50 l ずつ入れ、恒温装置を使用して水温を $20 \pm 1^\circ\text{C}$ に保持した。アワビを体重に応じて7~10個体をセラミックス製付着板 (切妻型, 高さ約7 cm) と共にアクリル製の円形籠 (直径20 cm, 高さ8 cm) に入れ、上部を漁網で覆った。1水槽に1籠を中層に吊り下げた。人工餌料を1日に1回付着板で押さえて投与し、残餌を投与時に除去した。供試貝の体重は2週間毎に測定した。

色素添加人工餌料の調製法

フィコシアニン (リナブルー A) は大日本インキ化学工業社より提供を受けた。フィコエリスリンは乾燥海苔から水抽出し、硫酸分画、リバノール法⁶⁾により調製した。フィコエリスリン水溶液は498, 565 nm に最大吸収を持つ。これらの色素を少量の水に溶解し、投与時海水中に溶出しないように30%塩化第一鉄溶液を滴下して沈澱させたのち、前報⁴⁾と同様の成分を加え混合した。海藻に似た堅さを持つように適量の水を加え、約3分間ホモジナイズして得られたゾル状物質を、アクリル板 (15 cm×8 cm) の表面に薄層状に均一に伸ばし、4%塩化カルシウム溶液中に約15分浸しアルギン酸カルシウムとして凝固させた。フィコシアニン添加人工餌料の粗タンパク質量をケルダール法によって測定したところ、約60% (乾燥重量中) であり、アワビ餌料の至適タンパク質含量の20~45%を大きく上回っていた⁸⁻¹⁰⁾。なお、プロトポルフィリン、アスタキサンチン、アリザニルピノール R およびアリザニブルーをそれぞれ添加した人工餌料も上述の様に調製した。

測色色差計による測定方法

測色色差計は Z-1001DP 型ダブルビーム交照測光方式 (日本電色工業社製) を使用した。アワビ貝殻は軟体部を完全にに取り除き、よく水洗いしてから超音波洗浄機を用いて約3分間洗浄し、自然乾燥した。貝殻の平板状の部分を外縁部 (色素添加人工餌料による飼育で新しく形成された部分) と内部 (色素添加人工餌料による飼育以前にすでに形成されていた部分) に分け、測色色差計の最小測定面積である直径6 mm 円になるように切り取った。フィコシアニン添加人工餌料で飼育したアワビ (以下フィコシアニン添加区とする。) の貝殻50試料の殻皮

層と真珠層とをそれぞれ外縁部と内部に分け、各試料について3点ずつ合計600点を測定した。またフィコエリスリン添加人工餌料で飼育したアワビ (以下フィコエリスリン添加区とする) の貝殻10試料も上述と同様に分け、各試料から5点ずつ合計200点を測定した。

色の数値的表現 (L, a, b) と色差 (ΔE) については前報⁴⁾参照。

紫外線照射による色彩変化の測定

フィコシアニン添加区と無添加区の貝殻についての色彩変化の測定を以下の方法で行った。両区の殻皮層と真珠層の外縁部5試料ずつ (色彩測定に用いた試料より無作為に選んだ) をアルミ反射板で覆った恒温箱に設置した退色試験用高圧水銀ランプ (東芝 H-400F; 280 nm 以上の中近紫外線を放射) から20 cm の距離に置き、0, 4, 10, 20, 40, 60, 80および100時間照射した。恒温箱内の温度は 43°C 以下に保った。紫外線照射による貝殻の色彩変化は、各試料の一定部位をそれぞれ5回測色色差計によって測定し、その平均値を測定値とした。なお比較のためフィコシアニンの0.1および0.5%水溶液を試験管に入れ、同じ条件下で2時間紫外線照射し、色彩変化を測定した。フィコエリスリン添加区についてもフィコシアニン添加区と同様の条件で測定した。

検定方法

統計処理は t 検定を用い、信頼区は99%に設定した。

結 果

色素添加人工餌料投与によるアワビ稚貝の成長

プロトポルフィリン、アスタキサンチン、アリザニルピノール R およびアリザニブルーを添加した人工餌料で飼育したアワビの貝殻の殻皮層および真珠層は肉眼的に色彩の変化が認められなかった。

フィコシアニンおよびフィコエリスリン添加人工餌料投与により新しく形成された貝殻の殻皮層および真珠層の色彩は肉眼的に色素添加人工餌料による飼育以前に形成されていた部分と明らかに識別された。

フィコシアニン添加人工餌料を投与したアワビ稚貝の平均増重率は、1回目 (1986年5月26日~9月2日, 14週間) 83.3%, 2回目 (1987年7月17日~9月14日, 8

週間) 37.2%, 3回目(10月7日~12月27日, 12週間) 63.2%で, 1週間当たりの平均増重率は4.7~6.0%の範囲にあった。

フィコエリスリン添加人工餌料投与によるアワビ稚貝の平均増重率はフィコシアニン添加人工餌料投与によるものと近似した。また両色素添加人工餌料飼育によるへい死率はいずれも10%以内であった。

フィコシアニン投与によるアワビ貝殻真珠層および殻皮層の色彩変化

フィコシアニン添加区と無添加区貝殻真珠層のL(明度), a(赤色度), b(黄色度)の測定結果を外縁部と内部に分け比較した。フィコシアニン添加区の外縁部のLの平均値(63.41)は同内部(65.53), 無添加区の外縁

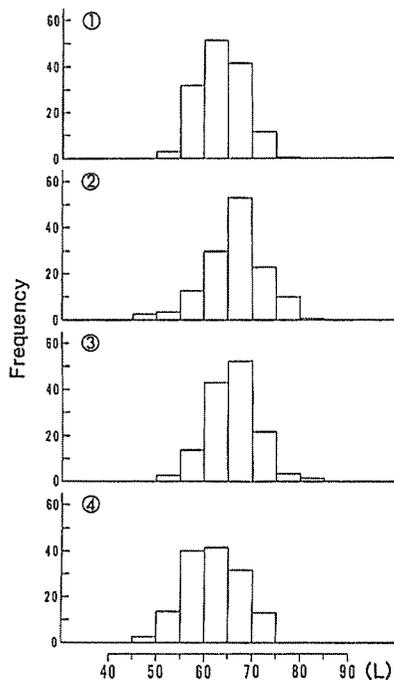


Fig. 1. Frequency distribution of L in color of the abalone nacre. ①: outer margin part of nacre of abalone fed a test diet supplemented with phycocyanin. ②: inner part of nacre of abalone fed a test diet supplemented with phycocyanin. ③: outer margin part of the nacre of abalone fed a test diet lacking in natural pigments. ④: inner part of the nacre of abalone fed a test diet lacking in natural pigments.

部(65.89), 同内部(62.01)と近似し, 検定の結果, 他の3部との間に有意差は認められなかった(Fig. 1)。フィコシアニン添加区外縁部のaの平均値(15.14)は他の3部(それぞれ-10.11, -7.65, -8.09)に比べて著しく高く, 有意差が認められた(Fig. 2)。フィコシアニン添加区外縁部のbの平均値(-5.73)は他の3部(1.86, 0.77, 1.55)に比べて低く, 有意差が認められた(Fig. 3)。

次に貝殻殻皮層の色彩を比較すると, フィコシアニン添加区の外縁部のLの平均値(33.99)は同内部(48.34), 無添加区の外縁部(40.17), 同内部(44.90)に比べて低く, 他の3部との間に有意差が認められた(Fig. 4)。aについても同様の傾向を示し, フィコシアニン添加区外縁部のaの平均値(2.63)は他の3部(-5.93, -5.57, -6.82)に比べて著しく高く, 有意差が認められたが(Fig. 5), bについては, フィコシアニン添加区外縁部の平均値(8.02)は他の3部(6.89, 8.24, 7.32)と近似し, 有意差が認められなかった(Fig. 6)。

フィコシアニン添加区とフィコエリスリン添加区の貝殻真珠層および殻皮層の色彩の比較

フィコシアニン添加区とフィコエリスリン添加区の貝

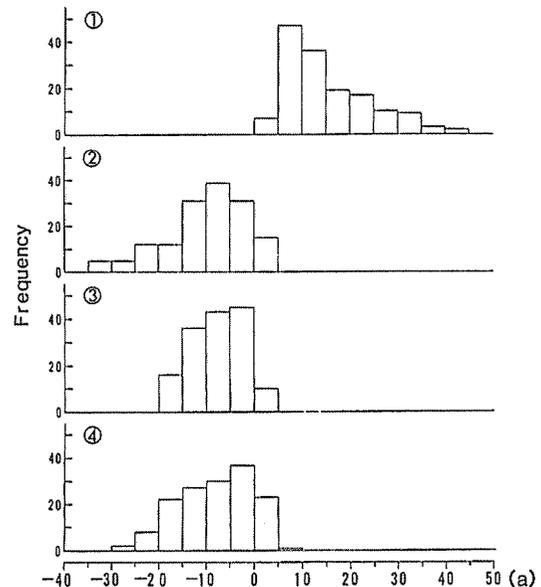


Fig. 2. Frequency distribution of a in color of the abalone nacre. ①②③④: refer to Fig. 1.

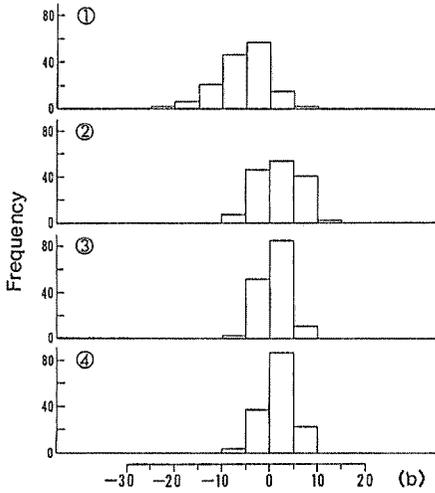


Fig. 3. Frequency distribution of b in color of the abalone nacre. ①②③④: refer to Fig. 1.

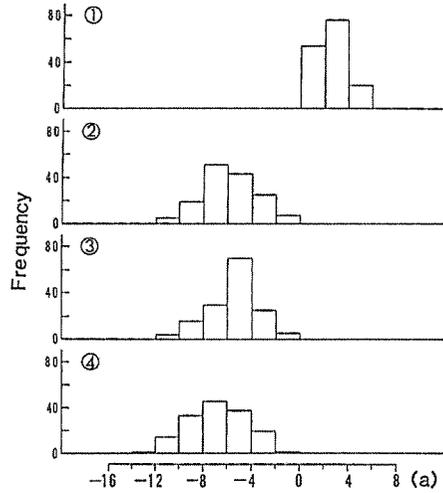


Fig. 5. Frequency distribution of a in color of the outer shell surface. ①②③④: refer to Fig. 4.

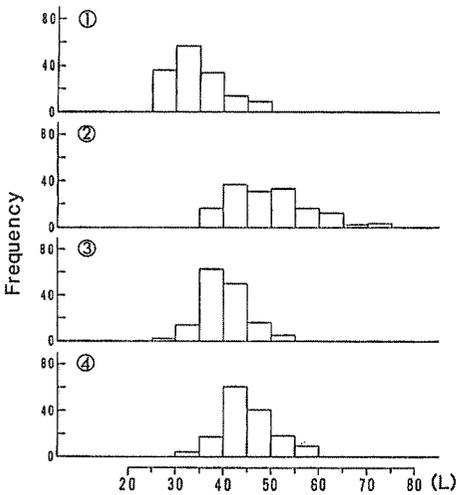


Fig. 4. Frequency distribution of L in color of the outer shell surface of abalone. ①: outer margin part of outer shell surface of abalone fed a test diet supplemented with phycocyanin. ②: inner part of outer shell surface of abalone fed a test diet supplemented with phycocyanin. ③: outer margin part of outer shell surface of abalone fed a test diet lacking in natural pigments. ④: inner part of outer shell surface of abalone fed a test diet lacking in natural pigments.

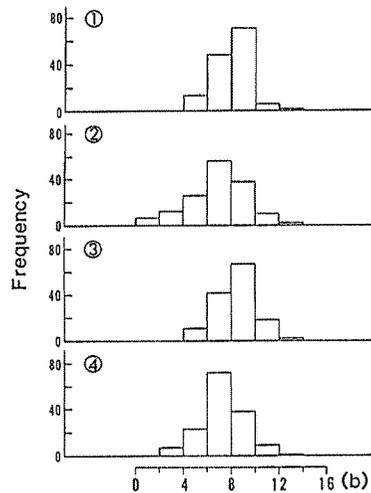


Fig. 6. Frequency distribution of b in color of the outer shell surface. ①②③④: refer to Fig. 4.

殻真珠層の色彩を比較した (Fig. 7)。L の平均値は前者と後者が、63.41, 66.43, a の平均値は15.14, 15.71, b の平均値は-5.73, -7.69で、L, a, b いずれにおいても両色素添加区間に有意な差は認められなかった。すなわち、両色素投与によるアワビ貝殻真珠層の着色は近似していた。

殻皮層の色彩変化についても同様の傾向が認められ、

フィコシアニン添加区とフィコエリスリン添加区の貝殻殻皮層の色彩における、両添加区の L の平均値は33.99, 32.87, a の平均値は2.63, 3.25, b の平均値は8.02, 8.28で、L, a, b いずれにおいても両色素添加区間に有意な差は認められなかった (Fig. 8)。これらの結果は肉眼的判定と一致した。

次に、フィコシアニン添加区の真珠層、殻皮層の色彩すなわち、L, a, b および ΔE (色差) を基準とし、他の貝殻各部のそれらと比較した。Table 1 のごとく、真珠

層について、フィコシアニン添加区外縁部はフィコエリスリン添加区外縁部との ΔE の3.65を除き、他の4部との ΔE は23以上あり、NBS 単位と色彩の感覚との関係¹²⁾ から“多大”な感覚的差が認められた。殻皮層についても同様の傾向が認められ、フィコシアニン添加区外縁部はフィコエリスリン添加区外縁部との ΔE の1.31を除き、他の4部との ΔE は10以上あった (Table 2)。

紫外線照射に対するフィコシアニン添加区の貝殻色彩の安定性

フィコシアニン水溶液は紫外線照射に対して不安定で

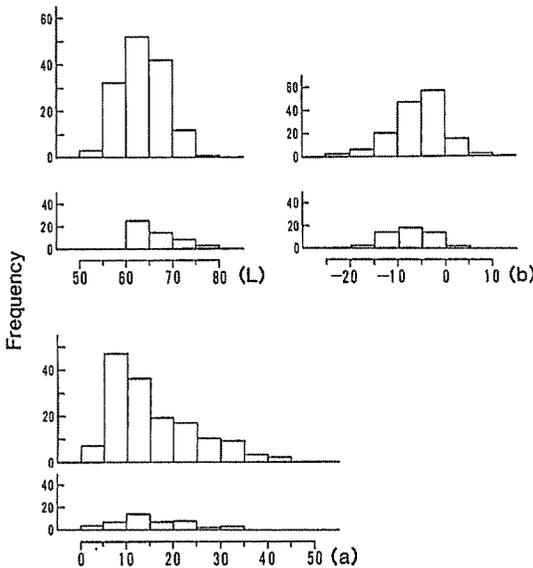


Fig. 7. Comparison of frequency distribution of L, a, b in color between the nacre of abalone fed a phycocyanin-diet (upper histogram) and phycoerythrin-one (under one).

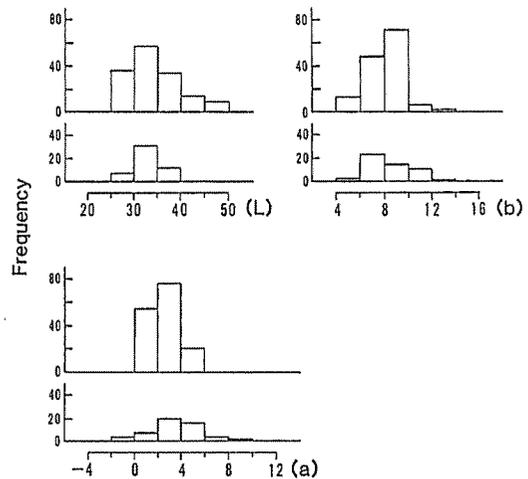


Fig. 8. Comparison of frequency distribution of L, a, b in color between the outer shell surface of abalone fed a phycocyanin-diet (upper histogram) and phycoerythrin-one (under one).

Table 1 Changes in color of the nacre of abalone on a test diet supplemented with phycocyanin or phycoerythrin

Shell		ΔL	Δa	Δb	ΔE
Abalone on a test diet supplemented with phycocyanin	outer margin part of nacre	0	0	0	0
	inner part of nacre	2.12	25.25	7.59	26.45
Abalone on a test diet supplemented with phycoerythrin	outer margin part of nacre	3.02	0.57	1.96	3.65
	inner part of nacre	1.01	23.30	5.02	23.86
Abalone on a test diet supplemented with phycocyanin	outer margin part of nacre	2.48	22.79	6.50	23.84
	inner part of nacre	1.40	23.23	7.28	24.38

Table 2 Changes in color of the outer shell surface of abalone on a test diet supplemented with phycocyanin or phycoerythrin

Shell		ΔL	Δa	Δb	ΔE
Abalone on a test diet supplemented with phycocyanin	outer margin part of nacre	0	0	0	0
	inner part of nacre	14.35	8.56	1.13	16.75
Abalone on a test diet supplemented with phycoerythrin	outer margin part of nacre	1.12	0.62	0.26	1.31
	inner part of nacre	11.63	8.99	7.22	14.72
Abalone on a test diet supplemented with phycocyanin	outer margin part of nacre	6.18	8.20	0.22	10.27
	inner part of nacre	10.91	9.45	0.70	14.45

あった。0.5%水溶液では2時間の照射によりLは12.51から16.18に、aは11.35から0.33に、bは-3.92から1.00と急速に退色し、0.1%水溶液では、さらに急速に退色した。これに対して、貝殻の色彩は紫外線に対して安定であり、フィコシアニン添加区および無添加区の貝殻外縁部の真珠層、および殻皮層のL, a, bの変化は100時間紫外線照射しても、微小であった (Figs 9, 10)。紫外線照射前後の色彩の変化を ΔE で示すと、フィコシアニン添加区の真珠層、殻皮層はそれぞれ5.21, 5.95, 無添加区では5.09, 5.91で近似し、色彩の変化は少なかった。フィコエリスリン添加区もフィコシアニン添加区と類似の結果を得た。

考 察

貝殻の色素の起源に関する情報は乏しいが、貝殻の軟組織には数種類の天然色素が含まれ、その一部は貝殻殻皮層に沈着して、様々な色彩を発現する。アワビ貝殻殻皮層の色彩は、餌となる海藻の種類によって相違し、貝殻から数種類の色素が分離されている^{2,3)}。またアコヤガイ真珠からポルフィリン¹⁾、Fe-ペプチド化合物などの存在¹¹⁾が報告されている。真珠層の色彩の発現は、多層構造に基づく光学的性質と共に色素等の化学成分が影響すると言われているが、真珠層の色素含有量は少なく、分離精製は困難を伴う。従って真珠の色調変化に各因子がどの程度関与するのかを判定するのは容易ではない。

アワビ真珠層の色が摂取餌料中の色素に関係するか否かを明らかにする目的で、筆者らは以前に13種類の天然色素を添加した人工餌料でアワビ稚貝を飼育した。その

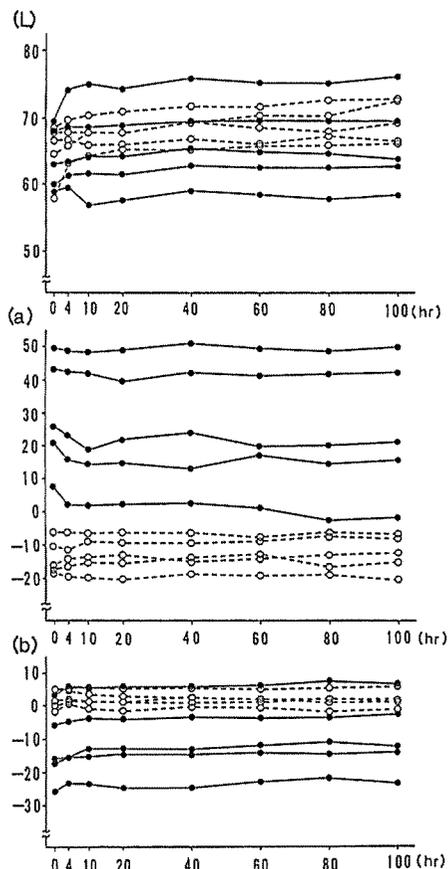


Fig. 9. Changes in color (L, a, b) of outer margin part of the abalone nacre by the ultraviolet irradiation. (●) on a phycocyanin supplement diet, (○) on a diet lacking in natural pigments.

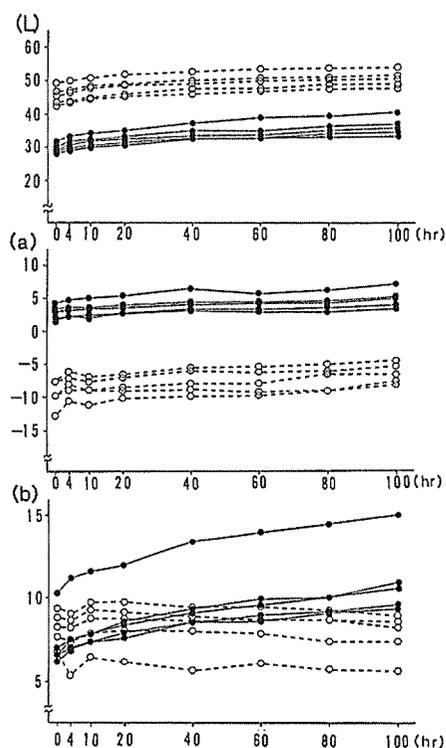


Fig. 10. Changes in color (L, a, b) of outer margin part of the abalone outer shell surface by the ultra-violet irradiation. (●) on a phycoerythrin supplement diet, (○) on a diet lacking in natural pigments.

うちフィコシアニン（リナブルーA）がアワビ真珠層の色彩を変化させることを確かめた⁴⁾。引き続きフィコシアニンの他にフィコエリスリン，プロトポルフィリン，アスタキサンチン，アリザニルピノールRおよびアリザニルブルーをアワビに投与して貝殻殻皮層および真珠層の着色効果を比較した。その結果，フィコエリスリンにも肉眼的に着色効果があることを認めた。アワビ稚貝をフィコシアニンおよびフィコエリスリン添加人工餌料で，8-14週間水槽飼育すると，着色効果が新しく形成された外縁部の殻皮層，真珠層に強く現れ，すでに形成されている貝殻真珠層の内表面の色彩はほとんど変化しなかった。

また，フィコシアニンおよびフィコエリスリン添加人工餌料で飼育し，新しく形成されたアワビ貝殻真珠層は色素添加区の内部や色素無添加区の外縁部，内部と比べ

て，明るさが僅かに減少し，赤みが著しく強くなり，青みが僅かに増し，感覚的色彩の差が多大であることが判明した。殻皮層の色彩についても同様の傾向が認められた。

アワビ貝殻にはフィコピリン系色素に由来するグリクロムの存在が知られている¹⁾。フィコシアニンとフィコエリスリンは近似した化学構造を有する水溶性色素タンパク質であり前者は青色，後者は赤色を呈する。色調の異なる両色素の投与により新しく形成されたアワビ貝殻はいずれも赤みを増し近似の色彩を呈した。フィコピリン系色素は不飽和度により色彩が変化するので，上述の貝殻の呈色は両色素がアワビに摂取され貝殻に沈着する代謝過程で変化を受け色調が近似したためと思われる。

フィコシアニン水溶液の青色は紫外線に対して不安定であるが，フィコシアニン添加区貝殻の色彩は，真珠層，殻皮層とも色素無添加区の貝殻と同じ程度高い光安定性を示した。フィコエリスリン添加区貝殻の色彩も同様の光安定性を保持した。また，フィコシアニン投与アワビの真珠層の色調は実験室内で2年間以上放置しても肉眼的に退色しなかった。従ってアワビの貝殻形成時に取り込まれたフィコピリン系蛋白質は光安定性を増すことが推定された。

上述の実験結果はアワビ貝殻真珠層の色発現に餌中の色素が関係することを示しており，好ましい色調の真珠を人工管理により生産するための手がかりになると思われる。

謝 辞

実験に使用したフィコシアニン（商品名リナブルーA）は大日本インキ化学工業，供試アワビと濾過海水は三重県浜島種苗センターよりそれぞれ提供を受けた。記して謝意を表します。

文 献

- 1) Fox, D. L., Chromatology of animal skeletons, *Am. Scient.*, 60: 436-447 (1972).
- 2) 田島迪生，池森雅彦，新崎盛敏. アワビに含まれる餌料藻起源の色素-I. 日本水産学会誌, 46(4): 445-450 (1980).
- 3) 田島迪生，池森雅彦，新崎盛敏. アワビに含まれ

- る餌料藻起源の色素-Ⅱ. 日本水産学会誌, 46(5): 517-522 (1980).
- 4) 堀口吉重, 木村昭一, 上野隆二. 天然色素添加人工餌料投与によるアワビ真珠層の着色. 三重大学水産学部紀要, 14: 101-111 (1987).
 - 5) 谷村顕雄. 天然着色料ハンドブック. 光琳, p 508-520 (1979).
 - 6) 高木俊夫, 柳園江. タンパク質の科学 (I). 東京化学同人, p 452-469 (1976).
 - 7) 小原哲二郎, 鈴木隆雄, 岩尾裕之. 食品分析ハンドブック. 建帛社, p 36-39 (1982).
 - 8) 荻野珍吉, 加藤紀子. アワビの栄養に関する研究 I. 日本水産学会誌, 29(7): 691-694 (1963).
 - 9) 荻野珍吉, 太田穎亮. アワビの栄養に関する研究 II. 日本水産学会誌, 30(6): 523-526 (1964).
 - 10) 浮 永久, 煙山 彰, 渡辺 武. アワビ餌料におけるタンパク質の至適含量. 日本水産学会誌, 52(6): 1005-1012 (1986).
 - 11) 沢田保夫. 真珠の黄色色素の研究. 国立真珠研報告, 7: 865-869 (1961).
 - 12) 日本色彩学会. 色彩科学ハンドブック. 東京大学出版会, p 183-258 (1980).