



Title	低利用海藻ダルスおよびマツモの成分・加工特性の解明に関する研究
Author(s)	宮部, 好克
Citation	北海道大学. 博士(水産科学) 甲第15588号
Issue Date	2023-09-25
DOI	10.14943/doctoral.k15588
Doc URL	http://hdl.handle.net/2115/90911
Type	theses (doctoral)
File Information	Yoshikatsu_Miyabe.pdf



[Instructions for use](#)

低利用海藻ダルスおよびマツモの
成分・加工特性の解明に関する研究

(Research on composition and processing characteristics of
underused seaweeds *Devaleraea inkyuleei* and *Analipus japonicus*)

北海道大学大学院水産科学院
海洋応用生命科学専攻

Division of Marine Life Science
Graduate School of Fisheries Sciences
Hokkaido University

宮 部 好 克
Yoshikatsu Miyabe

2023 年

目 次

略語	6
緒言	8
第 1 章 北海道産ダルスおよび青森県産マツモの主要成分の分析	
目的	17
実験方法	18
1. 試料	18
2. 試薬	19
3. 各種抽出物の調製	19
(1) 水抽出物	19
(2) 有機溶媒抽出物	19
4. 可視光吸収スペクトル分析	19
5. タンパク質の定量	20
(1) 紅藻類	20
(2) マツモ	20
6. 脂質の定量	20
7. 食物繊維の定量	20
8. 色素成分組成の解析	20
9. タンパク質成分組成の解析	21
10. 北海道産ダルスの葉緑体 DNA の調製	21
11. 北海道産ダルスの葉緑体 DNA の塩基配列分析	22
12. 北海道産ダルス PE の立体構造解析	23

13. 青森県産マツモの構成糖分析.....	23
結果.....	30
1. 紅藻類の水抽出物の色調および可視光吸収スペクトル.....	30
2. 紅藻類の水抽出物におけるタンパク質成分の量および組成 ..	30
3. 北海道産ダルスの葉緑体 DNA の全塩基配列.....	31
4. 北海道産ダルスの PE の一次構造	31
5. 北海道産ダルスの PE の立体構造	33
6. 青森県産マツモの各抽出物の色調および可視光吸収スペクトル ..	33
7. 青森県産マツモの脂質量およびその有機溶媒抽出物の色素成分の組成 ..	33
8. 青森県産マツモのタンパク質量およびその水抽出物のタンパク質成分組成 ..	34
9. 青森県産マツモの総食物繊維量および水抽出物加水分解物の糖組成 ..	34
小考察	52
1. 北海道産ダルスの主要成分の分析	52
2. 青森県産マツモの主要成分の分析	54
第 2 章 水産物レトルト食品の栄養成分に及ぼす加工工程の影響の評価法の確立	
目的	57
実験方法	58
1. 原料魚	58
2. 調味液および試薬	58
3. 水産物レトルト食品の製造.....	59
4. 直交表による実験計画	60
5. 一般成分 (水分, 脂質) の定量	60
6. 脂肪酸 (EPA, DHA) の定量	60
7. ミネラル (Na, Mg) の定量	61

8. 重量変化率および各種成分残存率	61
9. 統計解析	62

結果

1. 重量変化率	66
2. 一般成分残存率 (水分, 脂質)	66
3. 脂肪酸残存率 (EPA, DHA)	67
4. ミネラル残存率 (Na, Mg)	68

小考察	83
-----------	----

1. 包装条件が水産物レトルト食品の栄養成分に及ぼす影響 ...	83
2. 原料魚が水産物レトルト食品の栄養成分に及ぼす影響	85
3. 調味液が水産物レトルト食品の栄養成分に及ぼす影響	87

第3章 海藻レトルト食品の栄養成分および抗酸化力に及ぼす加工工程の影響

目的	91
----------	----

実験方法	92
------------	----

1. 原材料	92
2. 調味液および試薬	92
3. 海藻レトルト食品の製造	92
4. 直交表による実験計画	93
5. 一般成分 (水分, 脂質, 灰分, タンパク質, 炭水化物) の定量 ...	93
6. 脂肪酸 (EPA) の定量	94
7. ミネラル (Na, K) の定量	94
8. 抗酸化力 (DPPH ラジカル消去活性) の測定	95
9. 重量変化率	95
10. 統計解析	95

結果	99
1. 重量変化率	99
2. 一般成分 (水分, 脂質, 灰分, タンパク質, 炭水化物)	99
3. 脂肪酸 (EPA)	101
4. ミネラル (Na, K)	101
5. 抗酸化力 (DPPH ラジカル消去活性)	102
小考察	123
1. 原材料が海藻レトルト食品の栄養成分および抗酸化力に及ぼす影響	123
2. 包装条件が海藻レトルト食品の栄養成分および抗酸化力に及ぼす影響	125
3. 調味液が海藻レトルト食品の栄養成分および抗酸化力に及ぼす影響	125
4. 加熱温度が海藻レトルト食品の栄養成分および抗酸化力に及ぼす影響	126
5. 加熱時間が海藻レトルト食品の栄養成分および抗酸化力に及ぼす影響	127
総合考察	129
謝辞	135
参考文献	137

略 語

本論文では以下の略語を使用した。

ABEE	4-aminobenzoic acid ethyl ester
ABTS	2, 2'-azino-di-(3-ethylbenzthiazoline sulphonate)
ACE	angiotensin converting enzyme
APC	allophycocyanin
ATP	adenosine triphosphate
BHA	butylated hydroxyanisole
BHT	dibutylhydroxytoluene
bp	base pair
CBB	coomassie brilliant blue
CIA	chloroform-isoamylalcohol
CTAB	cetyl trimethyl ammonium bromide
DDBJ	DNA Data Bank of Japan
DHA	docosahexaenoic acid
DNA	deoxyribonucleic acid
DPPH	1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl
EDTA	ethylenediamineteraaetic acid
EPA	eicosapentaenoic acid
FID	flame ionization detector
HPLC	high performance liquid chromatography
K	potassium
Mg	magnesium
Na	sodium

NaCl	sodium chloride
NCBI	National Center for Biotechnology Information
ORAC	oxygen radical absorbance capacity
PAGE	polyacrylamide gel electrophoresis
PBS	phycobilisome
PC	phycocyanin
PCB	phycocyanobilin
PCI	phenol-chloroform-isoamylalcohol
PCR	polymerase chain reaction
PE	phycoerythrin
PEB	phycoerythrobilin
PUB	phycourobilin
RNase	ribonuclease
SDS	sodium dodecyl sulfate
TE	tris-EDTA
TFA	trifluoroacetic acid
TLC	thin-layer chromatography
wt.	weight

緒 言

2021年12月に開催された東京栄養サミットにおいて、健康的な食事に貢献する栄養価の高い食品へのアクセスを改善する行動の重要性が確認された¹⁾。また、食の志向調査において、健康志向は消費者の食の志向のうちで最も高く、消費者は食品購入時に健康を重視する傾向にあることが示された²⁾。国内の人口減少や高齢化の進行に伴い食品の需要が減少する中³⁾、消費者のニーズを的確に捉え、新たな販路の獲得につなげるためには、食品の健康機能の科学的根拠が重要である。このような社会情勢の中で、健康的な食事に貢献する栄養価の高い食品の一例として海藻を挙げることができる。海藻には食物繊維（カラギーナン、アルギン酸、フコイダン）、タンパク質（フィコビリタンパク質、レクチン）、ミネラル {ナトリウム (Na)、カリウム (K)}、脂肪酸 {エイコサペンタエン酸 (EPA)}、色素（カロテノイド、フィコビリリン）、フェノール化合物（フロロタンニン）、マイコスポリン様アミノ酸などの栄養成分が含まれており、これらの健康機能に関する研究が多岐にわたり報告されている^{4,5)}。

海藻は日本、韓国、中国などのアジア諸国を中心に日常食として消費されており、ヨーロッパ、北米、南米諸国においては、一部の沿岸地域で食されている⁶⁾。特に日本では食用海藻の種類が多く、古代から多種多様な調理・加工法により種々の海藻を利用してきた^{6,7)}。海藻の中でも、スサビノリ (*Pyropia yezoensis*)、ワカメ (*Undaria pinnatifida*)、コンブ (*Saccharina japonica*)、ヒジキ (*Sargassum fusiforme*) は日本における代表的な食用海藻であり、汁物、酢の物、煮物などの調理品や、塩蔵品、乾燥品、佃煮などの加工品として消費されてきた^{7,8)}。そのため、海藻

およびその加工品の栄養成分に関する研究は、これまで代表的な食用海藻を中心に行われてきた⁹⁾。近年、これらの代表的な食用海藻に加え、食用利用の少ない未・低利用海藻に関する研究・加工品開発の事例報告が増えている¹⁰⁻²⁰⁾。

北日本地域沿岸に分布する低利用海藻として、ダルス (*Devaleraea inkyuleei*) およびマツモ (*Analipus japonicus*) が挙げられる。北日本地域沿岸に分布するダルスは真正紅藻綱ダルス目ダルス科ホソベニフクロノリ属であり、アイルランドやカナダなど北大西洋沿岸に分布するダルス (*Palmaria palmata*) と同じダルス科に属する食用海藻である²¹⁾。北大西洋産ダルスはスープやシチューなどの具材として、アイルランドでは古くから親しまれてきた²²⁾。北日本産ダルスは北海道沿岸、青森県陸奥湾および太平洋沿岸、宮城県沿岸に分布するが、これまでほとんど利用されてこなかった。しかし近年、その栄養成分が着目され、北海道や宮城県において乾物、佃煮、発酵バターなどの加工品が開発¹⁵⁻¹⁷⁾された。一方、マツモは褐藻綱イソガワラ目イソガワラ科マツモ属の海藻であり、岩手県を中心に東北地方太平洋沿岸の一部地域で食されている^{23,24)}。青森県においては、下北地方の太平洋沿岸に分布しており、加熱すると鮮やかな緑色を呈することから、おひたし、味噌汁、しゃぶしゃぶ、味噌貝焼きなどとして消費されている²⁵⁾。しかし、その生産量が少ないことから、消費拡大のために陸上養殖が実施されている¹⁹⁾。最近、北海道産ダルスおよび青森県産マツモ由来の成分が抗酸化力などの健康機能を示す成分を含有するという報告²⁶⁻²⁹⁾があり、摂取による健康増進が期待される。

海藻は藻体の色調から紅藻類、褐藻類、緑藻類に大別され、これらは進化的に別の科・属である³⁰⁾。ダルスが属する紅藻類は光合成色素と

してクロロフィル a とフィコビリンを有することを特徴とする³¹⁾。紅藻類として、食用のアサクサノリ (*Pyropia tenera*), スサビノリ (*P. yezoensis*), フクロフノリ (*Gloiopeltis furcata*) などが、工業的に重要な硫酸多糖の原材料のオゴノリ (*Gracilaria vermiculophylla*), キリンサイ (*Eucheuma muricatum*) などが知られている^{23,30)}。紅藻類に属する海藻はウシケノリ網と真正紅藻網に大別され、アサクサノリやスサビノリはウシケノリ網に、ダルス, フクロフノリ, オゴノリ, キリンサイは真正紅藻網に属する^{23,30,32)}。一方、マツモが属する褐藻類は光合成色素としてクロロフィル a, クロロフィル c およびフコキサンチンを有することを特徴とし³¹⁾, 食用としてマコンブ (*S. japonica*), ヒジキ (*S. fusiforme*), ワカメ (*U. pinnatifida*), ダバーロック (*Alaria esculenta*) などが、工業的に重要なアルギン酸の原材料としてジャイアントケルブ (*Macrocystis pyrifera*), アスコフィラム (*Ascophyllum nodosum*), レッソニア (*Lessonia nigrescens*), オールウィード (*Laminaria digitata*) などが知られている^{23,30,33)}。褐藻類は褐藻網と黄金色藻網に大別され、前述の褐藻類はいずれも褐藻網に属する^{23,30)}。

海藻の栄養成分の組成は紅藻類と褐藻類で異なる。紅藻類 (*P. palmata*, *Kapapaphysus* sp., *P. yezoensis*) の主要な栄養成分は炭水化物 (30–45 g/100 g dry wt.), タンパク質 (8–40 g/100 g dry wt.), 灰分 (15–30 g/100 g dry wt.) であり, 脂質 (0.3–2 g/100 g dry wt.) は少量ながら含有されている³⁴⁾。一方, 褐藻類 (*A. nodosum*, *L. digitata*, *A. esculenta*) の主要な栄養成分は炭水化物 (アルギン酸 : 15–30 g/100 g dry wt., マンニトール : 5–10 g/100 g dry wt., フコイダン : 4–10 g/100 g dry wt.), 灰分 (15–25 g/100 g dry wt.) であり, タンパク質 (4–10 g/100 g dry wt.) および脂質 (1–4.5 g/100 g dry wt.) は少量ながら含有されている³⁴⁾。さらに, 海藻の栄養成分の含有量は採

取時期により異なる^{35, 36)}。また、海藻を調理・加工する際、その栄養成分および機能性成分が増減することが報告されている³⁷⁻⁴⁴⁾。これらの理由から、未・低利用の海藻の利用を推進する場合、加工品開発と並行して、その栄養成分および健康機能に関する研究を行う必要がある。

紅藻類は褐藻類や緑藻類に比べてタンパク質が多い傾向にある³⁴⁾。紅藻類の主要タンパク質は、色素タンパク質のフィコビリタンパク質である³⁴⁾。フィコビリタンパク質は紅藻類の光合成において中心的な役割を担っており、その含有量は藻体が吸収する光量に依存する⁴⁵⁾。さらに、藻体のフィコビリタンパク質の含有量は、紅藻類の生息地域や採取時期によっても変化する⁴⁶⁾。フィコビリタンパク質は開環テトラピロールであるフィコビルン色素 {フィコエリスロビルン (PEB), フィコウロビルン (PUB), フィコシアノビルン (PCB)} がアポタンパク質の特定のシステイン残基に共有結合したものである⁴⁷⁾。フィコビリタンパク質は、アポタンパク質に結合するフィコビルン色素の種類と数により、赤色を呈するフィコエリスリン (PE)、青色を呈するフィコシアニン (PC) およびアロフィコシアニン (APC) に大別される³⁰⁾。これらはアルファ (α) 鎖とベータ (β) 鎖の2つのサブユニットから成る単量体により、ドーナツ状の中空構造 (ディスク構造) を形成している³⁰⁾。フィコビリタンパク質は紅藻類の葉緑体内部のチラコイド膜上に分子集合体フィコビリソーム (PBS) を形成することで、効率よく可視光を光エネルギーとして葉緑体内に伝搬させることができる³⁰⁾。

褐藻類は紅藻類や緑藻類に比べて炭水化物が多い傾向にある³⁴⁾。褐藻類の主要な炭水化物は細胞壁粘質多糖のフコイダンであることが知られている⁴⁶⁾。フコイダンはL-フコースを主とした硫酸化多糖であり、ヒバマタ属、コンブ属、ワカメ属などに分布している。フコイダンは含

有される褐藻の種により構成糖の組成が異なることが知られており、L-フコースの他にガラクトース、マンノース、キシロース、ラムノース、グルクロン酸を有するものも報告されている^{47,48)}。フコイタンは藻体内において細胞壁の強化に寄与しており⁴⁹⁾、生息地域や採取時期によりその含有量が変化する⁵⁰⁻⁵³⁾。

海藻には様々な抗酸化物質が含有され、紅藻類ではフィコビリリン、ルテイン、マイコスポリン様アミノ酸、褐藻類ではフコキサンチン、フロロタンニンなどが知られている^{33,54-56)}。抗酸化物質は生体内で、スーパーオキシドアニオンラジカル、ヒドロキシラジカル、過酸化水素、一重項酸素などの活性酸素による脂質、タンパク質およびデオキシリボ核酸 (DNA) の酸化を抑制する⁵⁷⁾。生体内の成分の酸化は老化、発ガン、リウマチ、心筋梗塞、動脈硬化、アルツハイマー病、パーキンソン病、糖尿病合併症、筋萎縮性側索硬化症、白内障動脈硬化などの疾病に関わる⁵⁸⁾。そのため、食品から抗酸化物質を摂取することは、生体内の酸化障害を防ぎ、疾病予防に役立つと考えられている。一方、抗酸化物質は食品の脂質酸化も抑制する。食品の脂質酸化は、リポキシゲナーゼなどの酵素反応、あるいは自動酸化などの非酵素反応により進行し、最終的にアルデヒドやケトンなどのカルボニル化合物を生じる⁵⁹⁾。これらの成分は食品の風味を損なうだけでなく、下痢や腹痛など人体に影響を及ぼす様々な毒性を有する。そのため、食品の脂質酸化を防止するため、酸化防止剤としてカテキン、アスコルビン酸類、トコフェロール類、ルチン、フェルラ酸、オリザノールなどの天然抗酸化剤、ブチルヒドロキシアニソール (BHA) やジブチルヒドロキシトルエン (BHT) といった合成抗酸化剤が使用されている⁶⁰⁾。しかし、食品の安全性や健康に対する社会的関心が高まっていることから、天然由来でかつ効果の高い抗

酸化剤の開発が期待されている。植物および海藻は光合成により、太陽光、水および二酸化炭素を利用してデンプンなどの有機物および酸素を生成する。光合成の際、植物および海藻は強い光に曝されるため、生体内で活性酸素が生成する。このため、植物および海藻は生体内における酸化障害を防ぐため抗酸化物質を生産すると考えられている⁶⁰⁾。さらに、海藻由来の成分に魚介類の保存効果があること^{54, 61-64)}が知られている。これらの理由から、DPPH法、ABTS法、ロダン鉄法、ORAC法などの評価手法により、種々の海藻から抗酸化物質の探索⁶⁵⁻⁶⁷⁾が行われている。

海藻をはじめとする水産物は健康によいと認識されているにも関わらず、日本におけるこれらの消費量は減少傾向にある⁶⁸⁾。この理由として、消費者の「簡便性志向」の高まりが挙げられる⁶⁹⁾。我が国において、共働き世帯や単身世帯の増加、高齢化の進行、生活スタイルの多様化等により、従前は家庭内で行われていた調理を家庭外の調理食品や加工品に依存するようになった^{70, 71)}。前述の要因に加えて、水産物を消費する際、調理の手間がかかることから、消費者はその購入を控える傾向にある⁷²⁾。海藻は生の状態で消費されることは少なく、収穫後に乾燥、塩蔵、煮熟、蒸煮、焙焼などの加工工程を経て、加工品として流通する。これら海藻の加工品は、消費する際に水戻しや塩抜きなどの調理を伴う。そのため、消費者の海藻へのアクセスを改善するためには、海藻を簡便に食べることのできる調理食品や加工品の開発が必要である。

消費者の食の簡便性志向に対応した調理食品・加工品として、レトルト食品が挙げられる⁷¹⁾。レトルト食品は、加圧加熱殺菌されており、長期の常温保存が可能で、そのまま、あるいは温めるだけで食べることができる。食品は通常、調理・加工により栄養成分が増減することから、栄

養成分の摂取量を正確に把握するには、調理・加工による各食品の栄養成分の変化率を知る必要がある。日本食品標準成分表に栄養成分の変化率が収載されているが⁹⁾、レトルト食品についてはその変化率は明らかにされていない。そのため、栄養成分や機能性成分の損失を抑えたレトルト食品を製造するには、加工工程がその栄養成分および健康機能に及ぼす影響を把握する必要がある。

レトルト食品の加工工程は、原材料処理、容器充填、加圧加熱殺菌からなる。そのため、使用する原材料、調味液、容器や加熱温度、加熱時間などの処理条件がその栄養成分および健康機能に影響を及ぼすと考えられる。実験で多くの要因を取り上げる場合、それらの水準の全ての組み合わせを実験する要因配置実験、または一部の水準の組み合わせを実験する部分配置実験が行われる⁷³⁾。要因配置実験は、要因の比較や実験計画の作成を容易に行うことができるが、実験の組み合わせ数が膨大になりやすく、多くの要因を取り上げることが困難である。一方、部分配置実験は、少ない組み合わせ数で実験を実施でき、多くの要因を取り上げることができる。工業・農産分野では、多要因の影響を定量的に把握するため、部分配置実験の代表例である直交表を用いた実験計画法が用いられてきた⁷⁴⁻⁷⁶⁾。一方、水産分野においてその適用事例は少ない⁷⁸⁾。水産物の栄養成分の含有量は、生息地域、漁獲時期、個体のサイズ、測定部位により異なる⁷⁸⁻⁸⁵⁾。さらに、水産物は鮮度低下に伴い、pHの低下、アデノシン三リン酸 (ATP) の減少、揮発性塩基窒素の増加、遊離アミノ酸の増加、タンパク質の変性、生菌数の増加などが生じる⁸⁶⁾。また、水産物は漁獲量の変動が大きく不安定であり、計画的に入手することが難しい。これらの理由から、水産分野においては、工業・農業分野のように均質な分析試料を調製するのが困難である。水産物のレト

ルト食品に関する実験において、原材料の栄養成分のばらつきが大きいことを前提とし、多くの要因を取り上げるには、直交表を用いた実験計画法の適応可能性を把握する必要がある。

以上の背景を踏まえ、本研究は北日本地域に分布する低利用海藻の有効利用を目的として、ダルスおよびマツモの主要成分について分析を行い、これらのレトルト食品の栄養成分および健康機能に加工工程が及ぼす影響の解明を試みた。最初に第1章では、ダルスおよびマツモの主要成分の分析を行った。ダルスの主要成分はフィコビリタンパク質のPEであることから、その構造特性について検討した。一方、マツモの主要成分は炭水化物（食物繊維）であることから、その構成糖について検討した。また、マツモは色素およびタンパク質も含有していることから、それらの組成についても検討した。次に第2章では、水産物レトルト食品に関して、その栄養成分に及ぼす加工工程の影響を定量的に数値化する評価法の確立を試みた。そのモデルとして、水産物の缶詰やレトルト食品の主要な原材料であり、かつ加熱調理における栄養成分の知見があるマサバ (*Scomber japonicus*) およびマイワシ (*Sardinops melanostictus*)^{87, 88)} ならびに青森県産業技術センター食品総合研究所において缶詰やレトルト食品の製造実績があり、かつ同研究所において栄養成分の知見があるアイナメ (*Hexagrammos otakii*) を使用した。これらの魚種は青森県沖で漁獲されることから、鮮度低下による種々の品質変化が少なく、上述の評価法のモデル原材料として適している。モデル原材料を使用し、水産物レトルト食品の加工工程における種々の要因（包装条件、原料魚、調味液）が魚肉の一般成分（水分、脂質）、脂肪酸 {EPA, ドコサヘキサエン酸 (DHA)} およびミネラル {Na, マグネシウム (Mg)} に及ぼす影響を分析することで、直交表による実験計画法の

有用性を明らかにした。最後に第 3 章では、第 2 章で有効性を示した評価法を用いて、海藻レトルト食品の栄養成分および健康機能に及ぼす加工工程の影響を調べた。北日本地域で採取されたダルスおよびマツモを使用し、海藻レトルト食品の加工工程における種々の要因（原材料、包装条件、調味液、加熱温度、加熱時間）が藻体の一般成分（水分、脂質、灰分、タンパク質、炭水化物）、脂肪酸（EPA）、ミネラル（Na, K）および抗酸化力（DPPH ラジカル消去活性）に及ぼす影響を明らかにした。

第1章 北海道産ダルスおよび青森県産マツモの主要成分の分析

目 的

本章では、北日本地域に分布する低利用海藻の成分特性の把握を目的として、北海道産ダルスおよび青森県産マツモの主要成分の分析を行った。

北日本地域沿岸に分布するダルスおよびマツモは、食用海藻としての利用促進が期待される。これらの海藻を調理・加工する場合、それらに含まれる栄養成分は外観、食感、食味などの品質に影響を与える重要な要因である⁸⁹⁾。大西洋沿岸に分布するダルスの主要な栄養成分は炭水化物 (46–45 g/100 g dry wt.)、タンパク質 (8–35 g/100 g dry wt.)、灰分 (12–37 g/100 g dry wt.) である⁹⁰⁾。さらに、これらの主要成分はキシロース、フィコビリタンパク質、カリウムである^{90,91)}。一方、マツモの主要な栄養成分は、炭水化物 (47 g/100 g dry wt.)、タンパク質 (32 g/100 g dry wt.)、灰分 (16 g/100 g dry wt.) である⁹⁾。また、マツモはフコキサンチンなどの色素成分を有する^{30,80)}。食品の主要な栄養成分の分子種を同定し、その構造特性を把握することは、調理・加工品の品質向上、調理・加工工程の合理化、新製品の開発などを図るうえで重要である。しかし、北海道産ダルスのフィコビリタンパク質の構造特性に関する報告はこれまでにない。また、マツモの炭水化物、タンパク質および色素の成分組成に関する報告も少ない。

そこで本章では、第一に、北海道産ダルスのフィコビリタンパク質について、主要分子種を把握するとともに、その一次構造および立体構造を解析した。フィコビリタンパク質の含有量、光学特性、構造特性は種

により異なると考えられることから、北海道産ダルスと他の紅藻類のものを比較検討した。また、フィコビリタンパク質をはじめとする光合成関連タンパク質の遺伝子は葉緑体 DNA 上に存在することから^{30,81)}、その全塩基配列を決定することで、フィコビリタンパク質の一次構造（演繹アミノ酸配列）を得た。さらに、北海道産ダルスの主要タンパク質の PE の立体構造について、PE を精製して得られた結晶を X 線結晶構造解析に供した。

第二に、マツモの色素、タンパク質および炭水化物の成分組成を調べた。色素の成分組成は、マツモ乾燥粉末から抽出した色素成分を薄層クロマトグラフィー法 (TLC) により調べた。タンパク質の成分組成は、マツモ乾燥粉末から抽出したタンパク質成分をポリアクリルアミド電気泳動法 (SDS-PAGE) により調べた。炭水化物の成分組成は、マツモ乾燥粉末から抽出した水溶性成分を構成糖分析に供することにより調べた。

実験方法

1. 試料

ダルス (*D. inkyuleei*), ウップルイノリ (*Porphyra pseudolinearis*), フクロフノリ (*G. furcata*), ユナ (*Chondria crassicaulis*), ウミゾウメン (*Nemalion vermiculare*), ムカデノリ (*Grateloupia filicina*) は 2010 年 2 月から同年 4 月の期間に北海道函館市で水揚げ後に冷凍されたものを使用した。マツモ (*A. japonicus*) は 2016 年 3 月に青森県東通村で水揚げ後に冷凍されたものを購入して使用した。各海藻は入手後、凍結乾燥し、 -30°C で保存した。なお、熊本県産アマノリ属 {*Pyropia* sp. (商品名「巖のり」)} と愛媛県産アマノリ属 {*Pyropia* sp. (商品名「磯ばらのり」)}

は水揚げ後に天日乾燥された市販品を購入して使用した。実験で使用した海藻類を Fig. 1-1 に示す。

2. 試薬

一般分析試薬類は、特級または分子生物学用グレードのものを使用した。タンパク質分子量マーカーは Sigma-Aldrich (Missouri, USA) およびタカラバイオ (滋賀), タンパク質標準品は富士フイルム和光純薬 (大阪), 単糖標準品は MGC ウッドケム (東京) を用いた。

3. 各種抽出物の調製

(1) 水抽出物

試料をワンダーブレンダー (WB1, 大阪ケミカル, 大阪) を用いて、標準フタで 15 秒間粉碎後、微粉碎フタで 15 秒間粉碎した。得られた粉末 1 g に 20 mL (紅藻類) または 10 mL (マツモ) の蒸留水を加えて 4°C で 7 時間静置し、遠心分離 (4°C, 15,000×g, 10 分間) 後、得られた上清を水抽出物とした (Fig. 1-2)。

(2) 有機溶媒抽出物

高速溶媒抽出装置 (ASE-350, Dionex, USA) を用いて、上記で調製したマツモの粉末にジクロロメタンを加えて抽出を行い、得られた溶液を有機溶媒抽出物とした。

4. 可視光吸収スペクトル分析

紅藻類の水抽出物の可視光吸収スペクトルは、分光光度計 (U-1800 Spectro-photometer, 日立ハイテック, 東京) を用いて 400–700 nm の範囲で測定した。測定条件はデータ間隔 2 nm, 走査速度 40 nm/min で行った。

5. タンパク質の定量

(1) 紅藻類

紅藻類の水抽出物のタンパク質量は Bradford 法⁹⁴⁾により牛血清アルブミンを標準タンパク質として測定し、得られた検量線を用いて定量した。成分値は水抽出物 1.0 mL 当たりの値とし、単位は mg として小数第 1 位まで表示した。

(2) マツモ

マツモのタンパク質量はケルダール法⁹⁵⁾により測定した。成分値は乾燥粉末 100 g 当たりの値とし、単位は g として小数第 1 位まで表示した。

6. 脂質の定量

マツモの脂質量は酸分解法⁹⁵⁾により測定した。

7. 食物繊維の定量

マツモの食物繊維量は食物繊維測定キット (富士フィルム和光純薬, 大阪) を用いたプロスキー法改変法^{96,97)}により測定した。

8. 色素成分組成の解析

マツモの色素成分組成の解析は、50 mm×200 mm のシリカゲル薄層板 (シリカゲル 70 TLC プレート, 富士フィルム和光純薬, 大阪) を用いて TLC により行った。シリカゲル薄層板の一端から 30 mm の位置を原点とし、有機溶媒抽出物をスポットし、風乾した。この薄層板をあらかじめ石油エーテル : アセトン (60 : 40, v/v) の展開溶媒を蒸気飽和させた展開槽に入れて展開後、取り出して風乾した。

9. タンパク質成分組成の解析

タンパク質成分組成の解析は、0.1% SDS を含むゲル濃度 14%または 15%のポリアクリルアミドスラブゲルを用いて Laemmli の方法⁹⁸⁾ (SDS-PAGE) に準じて行った。分子量マーカーは、卵アルブミン (Sigma-Aldrich), 牛トリプシノーゲン (Sigma-Aldrich), 牛乳 β -ラクトグロブリン (Sigma-Aldrich) および卵白リゾチーム (Sigma-Aldrich) を混合したもの、または Protein Molecular Weight Marker (Low, タカラバイオ) を用いた。ゲルの染色は、メタノール 200 mL, 酢酸 28 mL, 蒸留水 172 mL および CBB R-250 0.1 g の混合溶液を用いて行った。

10. 北海道産ダルスの葉緑体 DNA の調製

北海道産ダルスの藻体の葉緑体 DNA は、以下の方法で調製した。藻体を超純水でよく洗浄した後、ハサミで細切した。細切した藻体 500 mg に TE buffer を 1 mL 加えてディスペーサーにより破碎し、均一な液を調製した。得られた懸濁液 567 μ L に 10% SDS 30 μ L および 20 mg/mL プロテイナーゼ K 3 μ L を加えてよく混合した後、37°C で 1 時間インキュベートした。インキュベート後、5 M NaCl 100 μ L および CTAB 溶液 (10% CTAB, 0.7 M NaCl) 80 μ L を加えて転倒攪拌し、65°C で 10 分間インキュベートした。これに等量の PCI {フェノール：クロロホルム：イソアミルアルコール, 25 : 24 : 1 (v/v/v)} を加えて転倒攪拌し、室温で 10 分間静置後、遠心分離 (4°C, 15,000 \times g, 5 分間) して得られた上清を回収した。この上清に等量の CIA {クロロホルム：イソアミルアルコール, 24 : 1 (v/v)} を加えて転倒攪拌し、室温で 10 分間静置した後、遠心分離 (4°C, 15,000 \times g, 5 分間) して得られた上清を回収した。得られた

上清に 0.6 倍量の 2-プロパノールを加えて転倒攪拌し、遠心分離 (4°C, 15,000×g, 10 分間) して得られた沈殿を回収した。この沈殿に 70%エタノールを 1 mL 加えて転倒攪拌した後、遠心分離 (4°C, 15,000×g, 5 分間) して得られた沈殿を回収した。風乾後、TE buffer を 100 μL 加えて 4°Cの暗所で約 15 時間静置して溶解した。この溶液に RNase A を 1 μL 加えて攪拌した後、37°Cで 30 分間インキュベートした。インキュベート後、1/10 倍量の 3 M 酢酸ナトリウムと 2.5 倍量の 99.5%エタノールを加えて転倒攪拌した後、遠心分離 (4°C, 15,000×g, 15 分間) して得られた沈殿を回収した。得られた沈殿に 70%エタノールを 1 mL 加えて転倒攪拌した後、遠心分離 (4°C, 15,000×g, 10 分間) して得られた沈殿を回収した。風乾後、TE buffer を 100 μL 加えて 4°Cの暗所で一夜静置して溶解し、得られた溶液を測定溶液とした。測定溶液の DNA 濃度は NanoDrop (ND-2000, Thermo Fisher Scientific, USA) に供して定量した。

11. 北海道産ダルスの葉緑体 DNA の塩基配列分析

北海道産ダルスの葉緑体 DNA の塩基配列分析は、高知大学農林海洋科学部 足立亨介 教授に委託して行なった。葉緑体 DNA を酵素処理により断片化し、アダプターを付加してシーケンスライブラリを調製した。ライブラリの 1 本鎖 DNA を DNA キャプチャービーズに結合後、w/o エマルジョン化してエマルジョン PCR を行い、シーケンスのためのテンプレートを調製した。これを用いて次世代シーケンサー (GS Junior Titanium Series system, Roche, Switzerland) により塩基配列を分析し、コンティグを得た。得られた塩基配列のコンティグを、大西洋産ダルスの葉緑体 DNA (NC_031147.1) をリファレンス配列として米国国立生物工学情報センター (NCBI) の Nucleotide BLAST (Basic Local Alignment

Search Tool) プログラムに供し, 葉緑体 DNA をコードするコンティグを抽出してマッピングした。ギャップおよび欠損部分の塩基配列は, Table1-1 のプライマーを用いてサンガー法により分析した。遺伝子領域のアノテーションは, NCBI の塩基配列データベースを用いて, BLAST プログラムにより紅藻類の葉緑体 DNA 上の遺伝子を検索し, 手動で行なった。葉緑体 DNA のゲノムマップは, Organellar Genome Draw v1.2⁹⁹⁾ を用いて作成した。

12. 北海道産ダルス PE の立体構造解析

-30°C で凍結した北海道産ダルスに 4 倍量 (w/v) の蒸留水を添加し, フィコビリタンパク質を 4°C で 12 時間抽出した。抽出液をろ紙でろ過した後, ろ液を遠心分離 (4°C, 15,000×g, 15 分間) して得られた上清を回収した。得られた上清を蒸留水に対して 4°C で 24 時間透析し, Rotofor system (Bio-Rad, California, USA) を用いて PE を精製した。精製した PE の結晶化はハンギングドロップ蒸気拡散法で行った。PE の結晶化は, 0.1 M 酢酸ナトリウム (pH 4.8) および 12% ポリエチレングリコール 4000 を含む緩衝液を用いて行った。得られた PE の結晶の X 線結晶構造解析は, 北海道大学大学院先端生命科学研究院 田中良和 准教授に依頼した。分析は Table 1-2 の条件で行なった。

13. 青森県産マツモの構成糖分析

青森県産マツモの構成糖は, 上記で抽出した水抽出物をトリフルオロ酢酸 (TFA) で加水分解後, 得られた加水分解物に GlyScope ABEE 標識化キット (MGC ウッドケム, 東京) を用いて 4-アミノ安息香酸エチルエステルを標識したものを分析試料として測定した。分析は高速液

体クロマトグラフィー (HPLC) 法により Table1-3 の条件で行なった。

単糖標準品は，上記の加水分解物と同様に標識して測定した。

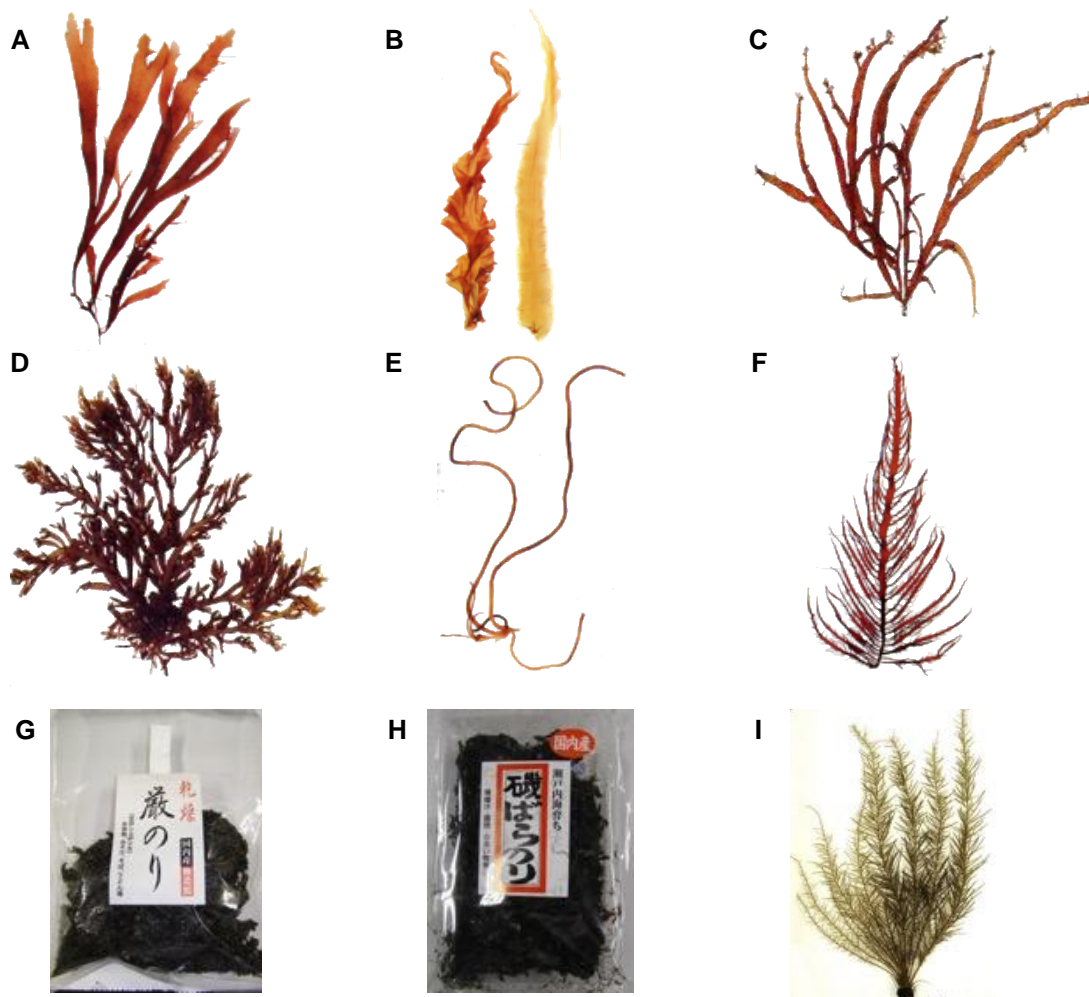


Fig. 1-1 本研究で使用した海藻類^{†1,2}

A, *D. inkyuleei* (ダルス); B, *P. pseudolinearis* (ウップルイノリ); C, *G. furcata* (フクロフノリ); D, *C. crassicaulis* (ユナ); E, *N. vermiculare* (ウミゾウメン); F, *G. filicina* (ムカデノリ); G, *Pyropia* sp. (アマノリ属: 巖のり); H, *Pyropia* sp. (アマノリ属: 磯ばらのり); I, *A. japonicus* (マツモ)。

†1 A-Fの写真はフィールドベスト図鑑11 日本の海藻より引用した¹⁰⁰⁾。

†2 Iの写真はAlgaeBaseより引用した¹⁰¹⁾。

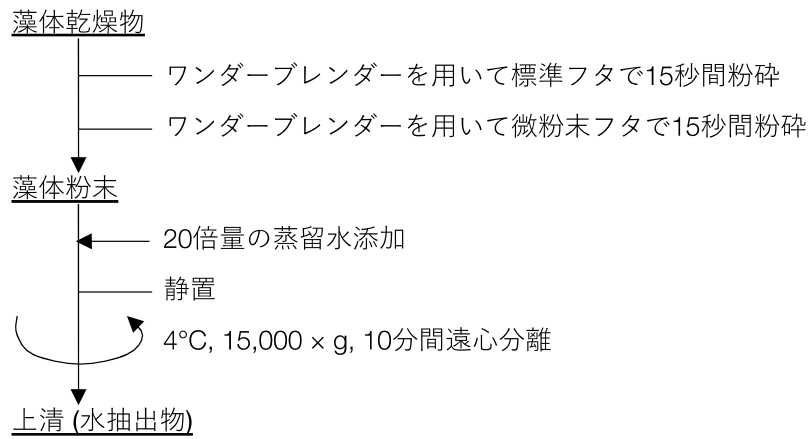


Fig. 1-2 水抽出物の調製法

Table 1-1 ギャップおよび欠損部位の塩基配列分析に用いたプライマー

プライマー名	種類	配列 (5'-3')	目的
accAFw	Forward	GGTGCAAGCGTTCTAATGGAG	Confirm <i>accA</i> and <i>ycf22</i> genes
ycf22Re	Reverse	CCCTTTGACTCAGAGTGCCC	
secG_ycf36Fw	Forward	TCTTAACAGGACTTTCTGTGACT	Confirm <i>secG</i> and <i>ycf36</i> genes
ycf36Re	Reverse	CCAACCGAGGTATAATCTGACCA	
secAFw	Forward	ACCCATGGGCACAACATCTC	Confirm <i>secA</i> gene
secARe	Reverse	AGCTTGAGTCTTTTTCAGAATGCG	
orf402Fw	Forward	ACTTCTCGTTAGCTCACAGCC	Confirm <i>orf402</i> gene
orf402Re	Reverse	TGCTGTAGTTTGTTAGATAGGTGC	
infBFw	Forward	CACTAAGCTCCCCCAACGAT	Confirm <i>infB</i> gene
infBRe	Reverse	TCACTGGCATTCACTTCTCCT	
orf441Fw	Forward	ACTTGTTACCCCTTGCCAACT	Confirm <i>orf441</i> gene
orf441Re	Reverse	AGTGGAACAATGAATCACCCCT	
dnakFw	Forward	GGTGTCCCGCAAATCGAAGT	Confirm <i>dnak</i> gene
dnakRe	Reverse	GCCAAACGTAACCTCCCGAAT	
rps5Fw	Forward	GCACCTATTACGTCACTTGCC	Confirm <i>rps5</i> and <i>rpl18</i> genes
rpl18Re	Reverse	AAAGCTTTAGCTGATGCGGC	
thiGFw	Forward	TCGCTCGCAGTACCAATTCC	Confirm <i>thiG</i> gene
thiGRe	Reverse	CTTCCCAACACAGCAGGATG	
carAFw	Forward	CTGGAATGCCTTTATTGAACGGT	Confirm <i>carA</i> gene
carARe	Reverse	TGGATCTCCTGGACCATTGGA	
fabHFw	Forward	AGAGTGCTTGGAGCAAGTCG	Confirm <i>fabH</i> gene
fabHRe	Reverse	TAGTGCCCCAGGTAAGTCCC	
chlNFw	Forward	CGGCACAAAACTTGTGGGT	Confirm <i>chlN</i> gene
chlNRe	Reverse	TTGTGCCATGGCTGCTAAGA	
ycf46Fw	Forward	GGGTATCCCCAAGAATGTAGCA	Confirm <i>ycf46</i> gene
ycf46Re	Reverse	ACATCTGACGATTGCGAGGT	
contig1C-3Fw	Forward	ACGTGTACTTTTTGGTTGGTG	Confirm connection of contigs
contig1C-3Re	Reverse	GGAAATGGTCATTTGGTTCGCT	
contig3N-1Fw	Forward	CTACACAGTCAACACCGCCA	Confirm connection of contigs
contig3N-1Re	Reverse	TTGTTAAAGCTGTTCATGATGCT	

Table 1-2 X線結晶構造解析の条件

項目	条件
beam line	Photon Factory BL17A
detector	ADSC Quantum270
wavelength	0.98 angstrom
temperature	100 K (-173°C)
oscillation	0.4 deg
data range	0-180 deg
detector distance	250.1 mm
exposure time	1 s

Table 1-3 糖組成分析の条件

項目	条件
装置	LC-10AD (SHIMAZU)
カラム	Honenpak C18 (75 mm × 4.6 mm)
移動相	0.2 Mホウ酸カリウム水溶液 (pH 8.9) / アセトニトリル (97 : 3)
流量	1.0 mL / min
検出	蛍光 (蛍光波長 305 nm, 励起波長 360 nm)
カラム温度	30°C
注入量	10 μ L

結 果

1. 紅藻類の水抽出物の色調および可視光吸収スペクトル

各紅藻の水抽出物の色調を Fig. 1-3 に示す。北海道産ダルス，ウップルイノリ，巖のり，磯ばらのりの場合，水抽出物の色調は赤紫色であった。フクロフノリ，ウミゾウメン，ムカデノリの場合，水抽出物の色調は薄赤色であった。一方，ユナの水抽出物の色調は薄緑色であった。

各紅藻の水抽出物の可視光吸収スペクトルを Fig. 1-4，それらの吸収極大波長を Table 1-4 に示す。ダルス，ウップルイノリ，巖のり，磯ばらのりでは 500 nm 付近，560 nm 付近，620 nm 付近に吸収極大が観察された。フクロフノリ，ウミゾウメン，ムカデノリでは 500 nm 付近，560 nm 付近に吸収極大が観察された。一方，ユナでは吸収極大は観察されなかった。

2. 紅藻類の水抽出物におけるタンパク質成分の量および組成

各紅藻の水抽出物におけるタンパク質成分の量を Fig. 1-5 に示す。水抽出物のタンパク質量は，磯ばらのり，ウップルイノリ，巖のり，ダルスの順に高かった。一方，フクロフノリ，ユナ，ウミゾウメン，ムカデノリの水抽出物のタンパク質量は，前述の紅藻類に比べて低かった。

各紅藻の水抽出物におけるタンパク質成分の組成を Fig. 1-6 に示す。北海道産ダルス，ウップルイノリ，巖のり，磯ばらのりは類似のバンドパターンを示し，分子量 18,400 付近および 45,000 付近にバンドが濃く検出された。一方，フクロフノリ，ユナ，ウミゾウメン，ムカデノリの場合，バンドは検出されなかった。

3. 北海道産ダルスの葉緑体 DNA の全塩基配列

北海道産ダルスの葉緑体 DNA のゲノムマップを Fig. 1-7 に示す。北海道産ダルスの葉緑体 DNA の全長は 192,409 bp, 遺伝子数は 205 であった。葉緑体 DNA にコードされる遺伝子を Table 1-5 に示す。その内訳は, 遺伝子制御に関わるものが 15, リボソームタンパク質のものが 52, 光合成に関わるものが 62, ATP 合成に関わるものが 8, 代謝に関わるものが 30, 輸送に関わるものが 9, その他ものが 29 であった。光合成に関わる遺伝子として, フィコビリタンパク質の PE, PC, APC がコードされていた。

4. 北海道産ダルスの PE の一次構造

上記で決定した北海道産ダルスの葉緑体 DNA の配列中に検出された PE 遺伝子の塩基配列とその演繹アミノ酸配列を Fig. 1-8 に示す。PE α 鎖の遺伝子の翻訳領域は 495 bp で 164 アミノ酸残基が演繹され, β 鎖の遺伝子の翻訳領域は 534 bp で 177 アミノ酸残基が演繹された。 α 鎖と β 鎖の間には 76 bp のスペーサー領域が存在した。 α 鎖の開始コドンおよび β 鎖の開始コドンの上流に, 原核生物の mRNA において開始コドンの上流に見られる共通配列であるシャイン・ダルガノ配列と推察される配列が認められた。さらに, 紅藻類およびシアノバクテリアの PE β 鎖上流に見られるプロモーター領域 (TGTTA モチーフ, TATA ボックス) と考えられる配列が存在した。PE の演繹アミノ酸配列から算出した分子量および等電点は, α 鎖の場合, 分子量 17,638, 等電点 5.40, β 鎖の場合, 分子量 18,407, 等電点 5.42 であった。

北海道産ダルスの PE に高度に保存されたアミノ酸残基を Table 1-6 に示す。PE α 鎖の場合, 発色団の結合に関わるもの (Cys82, Cys139), 発

色団の安定化に関わるもの (Arg84, Asp85), サブユニットの結合に関わるもの (Asp13, Arg17, Arg91, Tyr95, Glu115), α -ヘリックス形成に関わるもの (Gly100, Pro104, Gly112, Pro123) が保存されていた。PE β 鎖の場合, 発色団の結合に関わるもの (Cys50, Cys61, Cys82, Cys158), 発色団の安定化に関わるもの (Asn73, Arg77, Arg78, Ala80, Arg84, Asp85), サブユニットの結合に関わるもの (Asp3, Asp13, Arg91, Tyr92, Tyr95, Glu115, Arg108, Thr117), α ヘリックス形成に関わるもの (Gly100, Gly112, Pro123)が保存されていた。

北海道産ダルスおよび他の藻類のPEの一次構造を比較した結果を Fig. 1-9 に示す。PE α 鎖の場合, 北海道産ダルスはスサビノリと 90%, *Gracilaria tenuistipitata* と 87%, シアノバクテリアと 75%の配列同一性であった。PE β 鎖の場合, 北海道産ダルスはスサビノリと 90%, *G. tenuistipitata* と 80%, シアノバクテリアと 67%の配列同一性であった。

北海道産ダルスおよび他の生物のPEの極性電荷アミノ酸残基, 極性無電荷アミノ酸残基および非極性アミノ酸残基の含有率を Table 1-7 に示す。PE α 鎖の場合, 極性電荷アミノ酸残基の含有率は *G. tenuistipitata*, ダルス, スサビノリ, シアノバクテリアの順に高かった。極性無電荷アミノ酸残基の含有率は, *G. tenuistipitata*, スサビノリ, シアノバクテリアが同一の値を示し, ダルスよりも高かった。非極性アミノ酸残基の含有率は, ダルスとシアノバクテリアが同一の値を示し, *G. tenuistipitata* およびスサビノリよりも高かった。PE β 鎖の場合, 極性電荷アミノ酸残基の含有率はシアノバクテリア, ダルス, スサビノリ, *G. tenuistipitata* の順に高かった。極性無電荷アミノ酸残基の含有率は, *G. tenuistipitata*, ダルス, スサビノリ, シアノバクテリアの順に高かった。非極性アミノ酸残基の含有率は, シアノバクテリア, スサビノリ, ダルス, *G.*

tenuistipitata の順で高かった。

5. 北海道産ダルスの PE の立体構造

北海道産ダルスから PE を精製して結晶化し, X 線結晶構造解析によりその立体構造の決定を試みた。その結果, Fig. 1-10 に示すように, 北海道産ダルスの PE は α 鎖と β 鎖が交互に結合した円盤状の 6 量体を形成していた。PE α 鎖の場合, 2 つの PEB (Cys82 または Cys139 に共有結合) および 9 つの α -ヘリックス (X, Y, A, B, E, F0, F, G, H) を有していた。PE β 鎖の場合, 1 つの PUB (Cys50 および Cys61 に共有結合), 2 つの PEB (Cys82 または Cys158 に共有結合), 9 つの α -ヘリックス (X, Y, A, B, E, F0, F, G, H) を有していた。

6. 青森県産マツモの各抽出物の色調および可視光吸収スペクトル

青森県産マツモの水抽出物および有機溶媒抽出物の色調を Fig. 1-11 に示す。水抽出物の色調は黄緑色, 有機溶媒抽出物の色調は深緑色であった。

マツモの水抽出物および有機溶媒抽出物の可視光吸収スペクトルを Fig. 1-12 に示す。水抽出物では 680 nm 付近に吸収極大が観察された。有機溶媒抽出物では 450 nm 付近, 620 nm 付近, 660 nm 付近に吸収極大が観察された。

7. 青森県産マツモの脂質量およびその有機溶媒抽出物の色素成分の組成

マツモの脂質量は乾燥重量 100 g 当たり 1.9 g であった。

マツモの有機溶媒抽出物における色素成分の組成を Fig. 1-13 に示す。有機溶媒抽出物は原点からの移動距離に近い順に, クロロフィル c, フ

コキサンチン、ルテイン、クロロフィル a、カロテンのスポットが検出された。

8. 青森県産マツモのタンパク質量およびその水抽出物のタンパク質成分組成

マツモのタンパク質量は乾燥重量 100 g 当たり 17.0 g であった。

マツモの水抽出物におけるタンパク質成分の組成を Fig. 1-14 に示す。水抽出物は分子量 14,300 付近および 44,000–66,400 付近にバンドが検出された。

9. 青森県産マツモの総食物繊維量および水抽出物加水分解物の糖組成

マツモの総食物繊維量は乾燥重量 100 g 当たり 34.5 g であった。

マツモの水抽出物加水分解物における糖組成を Fig. 1-15 に示す。水抽出物からガラクトース、マンノース、グルコース、リボース、キシロース、フコース、ラムノースのピークが検出された。

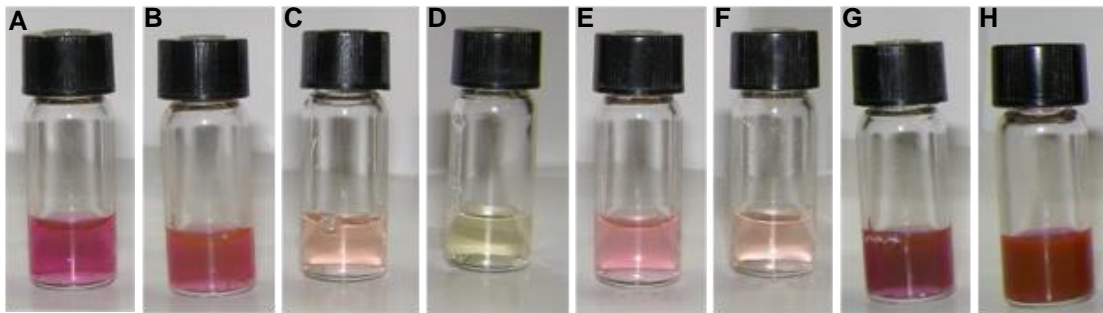


Fig. 1-3 紅藻類の水抽出物の色調

A, *D. inkyuleei* (北海道産ダルス); B, *P. pseudolinearis* (ウップルイノリ); C, *G. furcata* (フクロフノリ); D, *C. crassicaulis* (ユナ); E, *N. vermiculare* (ウミゾウメン); F, *G. filicina* (ムカデノリ); G, *Pyropia* sp. (アマノリ属: 巖のり); H, *Pyropia* sp. (アマノリ属: 磯ばらのり)。

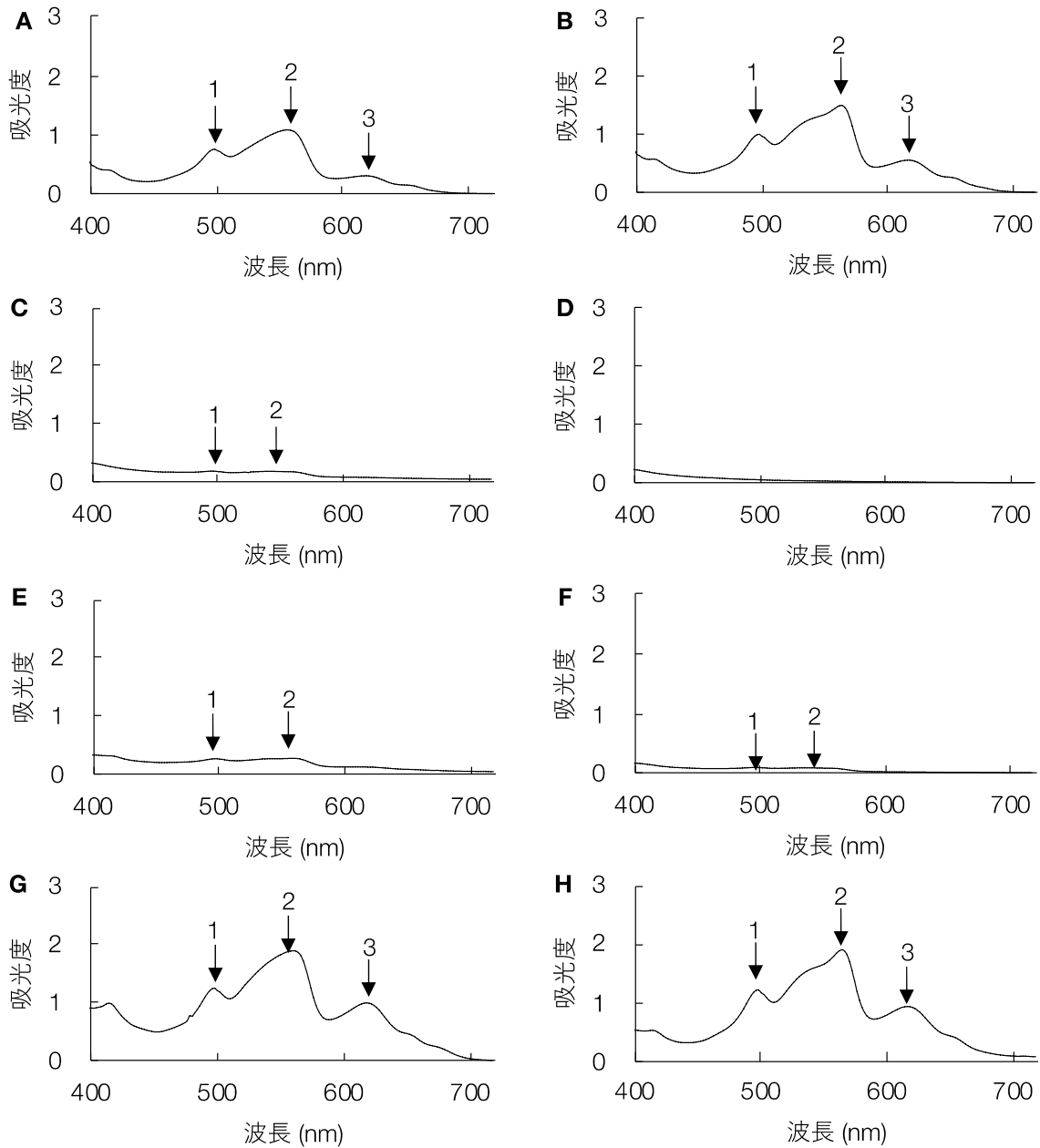


Fig. 1-4 紅藻類の水抽出物の可視光吸収スペクトル

A, *D. inkyuleei* (北海道産ダルス) ; B, *P. pseudolinearis* (ウップルイノリ) ; C, *G. furcata* (フクロフノリ) ; D, *C. crassicaulis* (ユナ) ; E, *N. vermiculare* (ウミゾウメン) ; F, *G. filicina* (ムカデノリ) ; G, *Pyropia* sp. (アマノリ属: 巖のり) ; H, *Pyropia* sp. (アマノリ属: 磯ばらのり)。

A-Gの水抽出物は蒸留水で2倍希釈したもの, Hの水抽出物は蒸留水で6倍希釈したものを示した。吸収極大波長は矢印で示した。

Table 1-4 紅藻類の水抽出物における可視光吸収スペクトルの吸収極大波長

紅藻類の水抽出物	可視光吸収スペクトルの吸収極大波長 (nm) ^{†1}		
	波長1	波長2	波長3
<i>D. inkyuleei</i> (北海道産ダルス)	498	556	618
<i>P. pseudolinearis</i> (ウップルイノリ)	498	564	616
<i>G. furcata</i> (フクロフノリ)	496	542	—
<i>C. crassicaulis</i> (ユナ)	—	—	—
<i>N. vermiculare</i> (ウミゾウメン)	498	560	—
<i>G. filicina</i> (ムカデノリ)	496	538	—
<i>Pyropia</i> sp. (アマノリ属)			
巖のり	498	560	618
磯ばらのり	498	564	616

—, 検出されず。

^{†1} Fig.1-6における紅藻類の可視光吸収スペクトルの吸収極大波長。

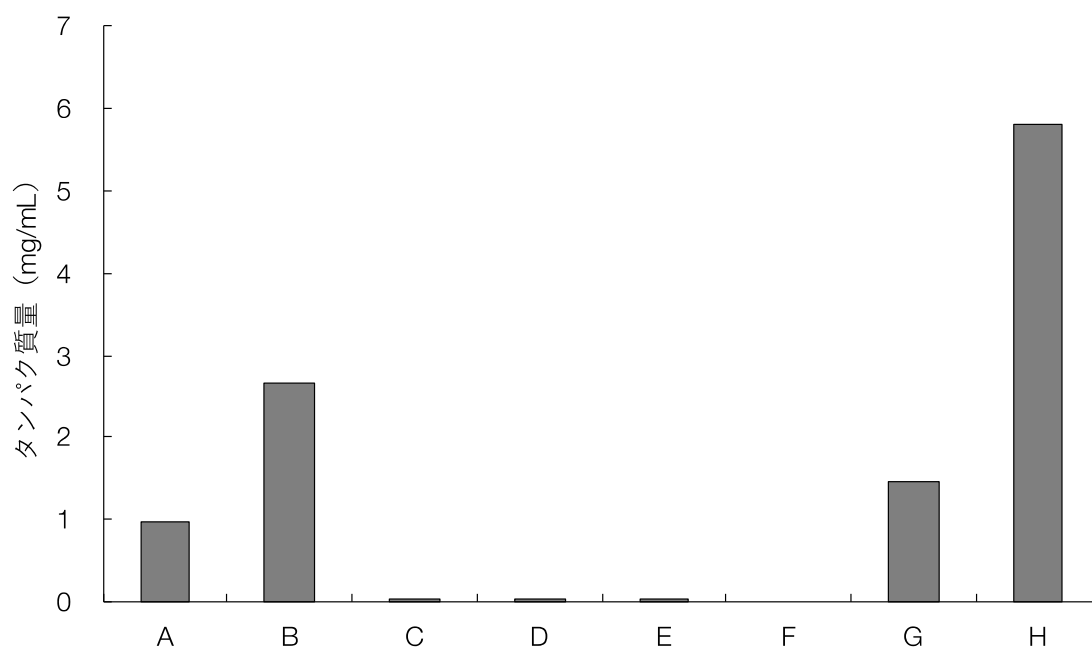


Fig. 1-5 紅藻類の水抽出物のタンパク質量

A, *D. inkyuleei* (北海道産ダルス) ; B, *P. pseudolinearis* (ウップルイノリ) ; C, *G. furcata* (フクロフノリ) ; D, *C. crassicaulis* (ユナ) ; E, *N. vermiculare* (ウミゾウメン) ; F, *G. filicina* (ムカデノリ) ; G, *Pyropia* sp. (アマノリ属: 巖のり) ; H, *Pyropia* sp. (アマノリ属: 磯ばらのり)。

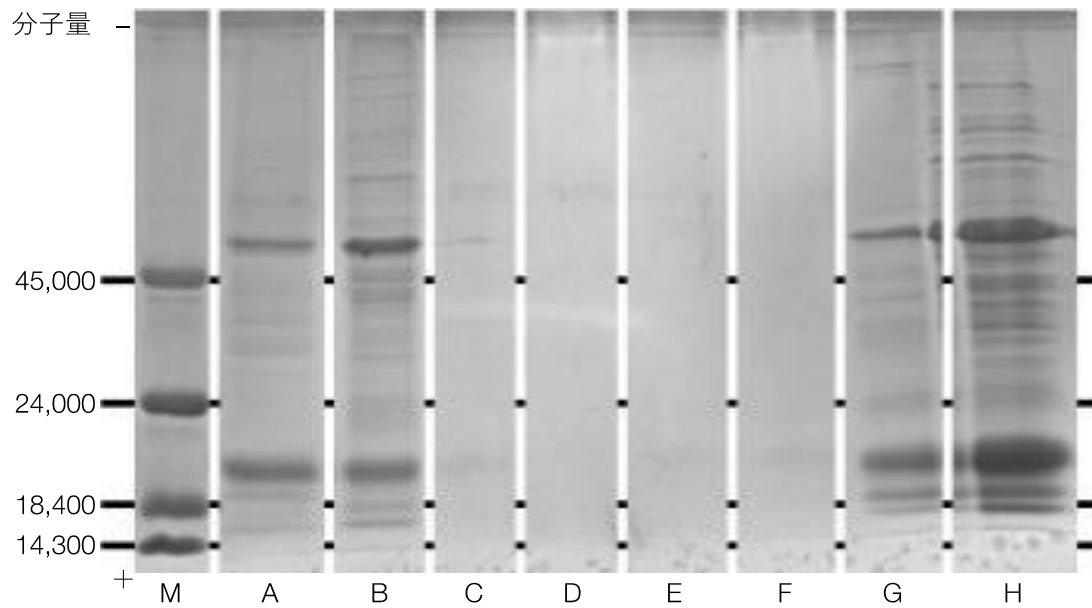


Fig. 1-6 紅藻類の水抽出物におけるタンパク質成分の組成

M, 分子量マーカー (45,000: 卵アルブミン, 24,000: 牛トリプシノーゲン, 18,400: 牛乳 β -ラクトフェリン, 14,300: 卵白リゾチーム); A, *D. inkyuleei* (北海道産ダルス); B, *P. pseudolinearis* (ウップルイノリ); C, *G. furcata* (フクロフノリ); D, *C. crassicaulis* (ユナ); E, *N. vermiculare* (ウミゾウメン); F, *G. filicina* (ムカデノリ); G, *Pyropia* sp. (アマノリ属: 巖のり); H, *Pyropia* sp. (アマノリ属: 磯ばらのり)。

Table 1-5 北海道産ダルスの葉緑体DNAにコードされる遺伝子

大分類	小分類	数	遺伝子							
Genetic System	Maintenance	2	<i>dnaB</i>	<i>rne</i>						
	RNA polymerase	5	<i>rpoA</i>	<i>rpoB</i>	<i>rpoC1</i>	<i>rpoC2</i>	<i>rpoZ</i>			
	Transcription factors	4	<i>ntcA</i>	<i>ompR</i>	<i>rbcR</i>	<i>ycf29</i>				
	Translation	4	<i>infB</i>	<i>infC</i>	<i>tsf</i>	<i>tufA</i>				
Ribosomal proteins			<i>rpl1</i>	<i>rpl2</i>	<i>rpl3</i>	<i>rpl4</i>	<i>rpl5</i>	<i>rpl6</i>	<i>rpl9</i>	<i>rpl11</i>
	Large subunit	28	<i>rpl12</i>	<i>rpl13</i>	<i>rpl14</i>	<i>rpl16</i>	<i>rpl18</i>	<i>rpl19</i>	<i>rpl20</i>	<i>rpl21</i>
			<i>rpl22</i>	<i>rpl23</i>	<i>rpl24</i>	<i>rpl27</i>	<i>rpl28</i>	<i>rpl29</i>	<i>rpl31</i>	<i>rpl32</i>
			<i>rpl33</i>	<i>rpl34</i>	<i>rpl35</i>	<i>rpl36</i>				
	Small subunit	19	<i>rps1</i>	<i>rps2</i>	<i>rps3</i>	<i>rps4</i>	<i>rps5</i>	<i>rps6</i>	<i>rps7</i>	<i>rps8</i>
			<i>rps9</i>	<i>rps10</i>	<i>rps11</i>	<i>rps12</i>	<i>rps13</i>	<i>rps14</i>	<i>rps16</i>	<i>rps17</i>
	tRNA processing	1	<i>tis</i>							
Protein quality control	4	<i>clpC</i>	<i>dnaK</i>	<i>ftsH</i>	<i>groEL</i>					
Photosystems	Phycobilisomes	12	<i>apcA</i>	<i>apcB</i>	<i>apcD</i>	<i>apcE</i>	<i>apcF</i>	<i>rpcA</i>	<i>rpcB</i>	<i>cpcG</i>
			<i>cpcS</i>	<i>rpeA</i>	<i>rpeB</i>	<i>nb1A</i>				
	Photosystem I	13	<i>psaA</i>	<i>psaB</i>	<i>psaC</i>	<i>psaD</i>	<i>psaE</i>	<i>psaF</i>	<i>psaI</i>	<i>psaJ</i>
			<i>psaK</i>	<i>psaL</i>	<i>psaM</i>	<i>ycf3</i>	<i>ycf4</i>			
	Photosystem II	19	<i>psbA</i>	<i>psbB</i>	<i>psbC</i>	<i>psbD</i>	<i>psbE</i>	<i>psbF</i>	<i>psbH</i>	<i>psbI</i>
			<i>psbJ</i>	<i>psbK</i>	<i>psbL</i>	<i>psbN</i>	<i>psbT</i>	<i>psbV</i>		
			<i>psbW</i>	<i>psbX</i>	<i>psbY</i>	<i>psbZ</i>	<i>psb30</i>			
Cytochrome complex	11	<i>ccs1</i>	<i>ccsA</i>	<i>petA</i>	<i>petB</i>	<i>petD</i>	<i>petF</i>	<i>petG</i>	<i>petJ</i>	
		<i>petL</i>	<i>petM</i>	<i>petN</i>						
Redox system	7	<i>acsF</i>	<i>bas1</i>	<i>dsbD</i>	<i>frtB</i>	<i>grx</i>	<i>pbsA</i>	<i>trxA</i>		
ATP synthesis	ATP synthase	8	<i>atpA</i>	<i>atpB</i>	<i>atpD</i>	<i>atpE</i>	<i>atpF</i>	<i>atpG</i>	<i>atpH</i>	<i>atpI</i>
Metabolism	Carbohydrates	6	<i>cfxQ</i>	<i>pdhA</i>	<i>pdhB</i>	<i>pgmA</i>	<i>rbcL</i>	<i>rbcS</i>		
	Lipids	5	<i>accA</i>	<i>accB</i>	<i>accD</i>	<i>acpP</i>	<i>fabH</i>			
	Nucleotides	2	<i>carA</i>	<i>upp</i>						
	Amino acids	8	<i>argB</i>	<i>gltB</i>	<i>ilvB</i>	<i>ilvH</i>	<i>hisS</i>	<i>syfB</i>	<i>trpA</i>	<i>trpG</i>
	Cofactors	8	<i>chlB</i>	<i>chlI</i>	<i>chlL</i>	<i>chlN</i>	<i>moeB</i>	<i>preA</i>	<i>thiG</i>	<i>thiS</i>
	Secondary Metabolites	1	<i>dfr</i>							
Transport	Transport	9	<i>cemA</i>	<i>secA</i>	<i>secG</i>	<i>secY</i>	<i>sufB</i>	<i>sufC</i>	<i>tatC</i>	<i>ycf38</i>
Unknown	Conserved ORFs	23	<i>ycf19</i>	<i>ycf20</i>	<i>ycf21</i>	<i>ycf22</i>	<i>ycf23</i>	<i>ycf33</i>	<i>ycf34</i>	<i>ycf35</i>
			<i>ycf36</i>	<i>ycf37</i>	<i>ycf39</i>	<i>ycf41</i>	<i>ycf45</i>	<i>ycf46</i>	<i>ycf52</i>	<i>ycf53</i>
	Unique ORFs	6	<i>ycf54</i>	<i>ycf55</i>	<i>ycf56</i>	<i>ycf60</i>	<i>ycf65</i>	<i>ycf80</i>	<i>ycf92</i>	
			<i>orf55</i>	<i>orf88</i>	<i>orf169</i>	<i>orf402</i>	<i>orf441</i>	<i>orf768</i>		
Total genes		205								

ATAATTAATTTATGATTAACAAACAGTAAGTTTTAAATCCTCTATTTTTAACTAAATTTTATGTTACAATATATTACTT 80
 TGTTCTTAATAGGTTATTAGAACTGTCATATATTATGTATTCGATACTAATACATCAGCAAGTTCAATTTTTTAAACAGCT 160
 GAAACAGCTAAGTCCTTTATATTTGTAATAAGGAGAGTTCCATGCTTGACGCATTTTCCAGAGTTGTAGTAAATTCAGAC 240
 M L D A F S R V V V N S D
 GCTAAAGCTGCTTACGTTGGTGGCAGTGACCTACAGGCTCTAAAAAATTCATTACTGATGGTAACAAACGCTTAGATTC 320
 A K A A Y V G G S D L Q A L K K F I T D G N K R L D S
 TGTTAGCTTTGTTGTTTCAAACGCTAGCTGTATCGTTTCTGATGCAGTATCAGGTATGATTTGTGAAAATCCTGGCTTAA 400
 V S F V V S N A S C I V S D A V S G M I C E N P G L
 TTGCTCCTGGTGGTAATTGTTACACTAATCGTCGTATGGCTGCTTGTCTACGTGATGGTAAATCATTCTACGTTATGCT 480
 I A P G G N C Y T N R R M A A C L R D G E I I L R Y A
 TCTTATGCTTTACTAGCTGGCGATCCTTCTGTAAGAGATCGTTGTCTTAATGGATTAAGAACTTACATTGCGTT 560
 S Y A L L A G D P S V L E D R C L N G L K E T Y I A L
 AGGAGTTCCTACTAATTCATCAGTAAGAGCTGTAAGCATTATGAAAGCTTCAGCTACAGCGTTTGTATCAGGCACAGCTT 640
 G V P T N S S V R A V S I M K A S A T A F V S G T A
 CTGACCGTAAAATGGCTTGTCTGATGGAGACTGTTTACGCTCTAGCATCAGAACTAGGTAGCTATTGTGATAGAGTTGCT 720
 S D R K M A C P D G D C S A L A S E L G S Y C D R V A
 GCTGCAATTAGCTAATAAAGCTGTTATAGACTAGAGTATATAAATTTTTATACTCTTAGGCTAAATACTTAATAAAAAA 800
 A A I S *
 AGGAGATTAATATGAAATCAGTTATGACTACAACGATTAGTGCTGCAGACGCAGCTGGTCGTTTCCCTTCATCTTCAGAT 880
 M K S V M T T T I S A A D A A G R F P S S S D
 CTTGAATCAGTTCAAGGTAATATTCAACGTGCTGCTGCTAGATTAGAAGCTGCTGAAAAGTTAGCTAGTAATCATGAAGC 960
 L E S V Q G N I Q R A A A R L E A A E K L A S N H E A
 TGTTGTAAGAAGGTGGAGACGCTGTTTTGCTAAGTATTCTTACTTAAAAAATCCAGGTGAAGCTGGCGATAGCCAAG 1040
 V V K E G G D A C F A K Y S Y L K N P G E A G D S Q
 AAAAAGTAAACAAGTGCTACAGAGACGTTGATCATTATATGCGTCTTGTAACCTATTCTTTAGTAGTTGGCGGAACTGGT 1120
 E K V N K C Y R D V D H Y M R L V N Y S L V V G G T G
 CCTCTTGATGAGTGGGCTATTGCTGGTGCTCGTGAAGTTTATAGAAGTTTAAATCTTCCATCAGCTTCTTATGTTGCTGC 1200
 P L D E W A I A G A R E V Y R T L N L P S A S Y V A A
 TTTGCTTTCACTCGTATAGACTATGTGTGCCACGTGACATGTCTGCTCAAGCAGGTGGAGAATATGTTGCAGCTCTAG 1280
 F A F T R D R L C V P R D M S A Q A G G E Y V A A L
 ATTATATTGTTAATGCTTTAACCTAATTTATAGCTTGATAATATAATAACAAATAAAATAGCTAAGCAAGCTTATTGCT 1360
 D Y I V N A L T *
 TAGCTATTTTATTTGTTTATTGAACAACCTAAGCTCAGTTATGATATTGATGTATAGTAGTACTATATAATATACGTAATT 1440
 ATAATACTACATACGTTGGAGCTTATTATGGATTCAAGTACAATGCAAAATACATGCATTAATATATCTTTTGGTCTTC 1520
 TACTAGTGACTTTATTGGCTTATTGGACAAGTATTGCCTT 1560

Fig. 1-8 北海道産ダルのPE遺伝子の塩基配列および演繹アミノ酸配列

—, TGTТАモチーフおよびTATAボックス; ~, シャイン・ダルガノ配列; *, 終止コドン; ■, PUB結合部位; ■, PEB結合部位; ■, 発色団の安定化に関わるアミノ酸残基; ■, αヘリックス開始および終了部位。

Table 1-6 北海道産ダルスのPEに高度に保存されたアミノ酸残基

残基	アミノ酸	機能 ^{†1}
α および β 鎖		
13	Asp	$\alpha + \beta$ interaction with Arg 91 & Tyr 95
82	Cys	Chromophore attachment site
84	Arg	Cys 82 chromophore interaction
85	Asp	Cys 82 chromophore interaction
91	Arg	$\alpha + \beta$ interaction with Asp 13
95	Tyr	$\alpha + \beta$ interaction
100	Gly	End of helix E
112	Gly	Bend between helices F' & F
115	Glu	Possible linker interaction
123	Pro	Start of helix G
α 鎖のみ		
17	Arg	Trimer trimer interaction
104	Pro	Start of helix F'
139	Cys	Chromophore attachment site
β 鎖のみ		
3	Asp	Mediates "charge" interaction of N-terminus of α and β subunits
50	Cys	Chromophore attachment site
61	Cys	Chromophore attachment site
73	Asn	Cys 82 chromophore interaction, residue methylated
77	Arg	Cys 82 chromophore interaction
78	Arg	Cys 82 chromophore interaction
80	Ala	Cys 82 chromophore interaction
92	Tyr	Interaction with α 13 (Asp)
108	Arg	Possible linker interaction
117	Thr	Possible linker interaction
158	Cys	Chromophore attachment site

^{†1} Ficner R and Huber R¹⁰²⁾より引用した。

Table 1-7 北海道産ダルスおよび他の生物のPEのアミノ酸配列同一性, 極性電荷アミノ酸残基, 極性無電荷アミノ酸残基および非極性アミノ酸残基の含有率

藻類	PE	配列同一性 (%)	極性電荷アミノ酸 (%)	極性無電荷アミノ酸 (%)	非極性アミノ酸 (%)
<i>D. inkyuleei</i> ^{†1}	α鎖	100	23.8	26.2	50.0
	β鎖	100	19.7	28.3	52.0
<i>P. yezoensis</i> ^{†2}	α鎖	90	23.8	27.4	48.8
	β鎖	90	19.2	27.7	53.1
<i>G. tenuistipitata</i> ^{†3}	α鎖	87	24.4	27.4	48.2
	β鎖	80	18.0	29.9	51.9
<i>Cyanothece</i> sp. ^{†4}	α鎖	75	22.6	27.4	50.0
	β鎖	67	20.6	26.1	53.3

^{†1} AB807662 in DDBJ。

^{†2} NC_007932 in DDBJ。

^{†3} NC_006137 in DDBJ。

^{†4} NC_014501 in DDBJ。

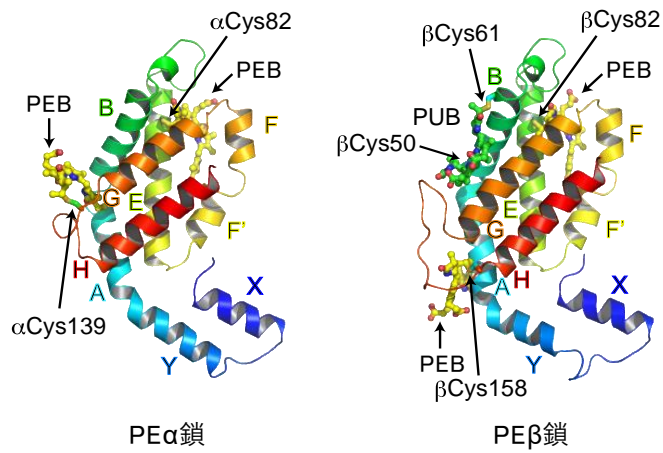
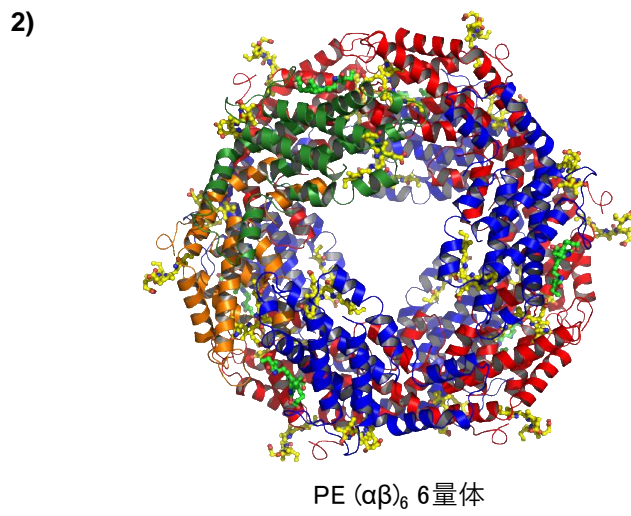
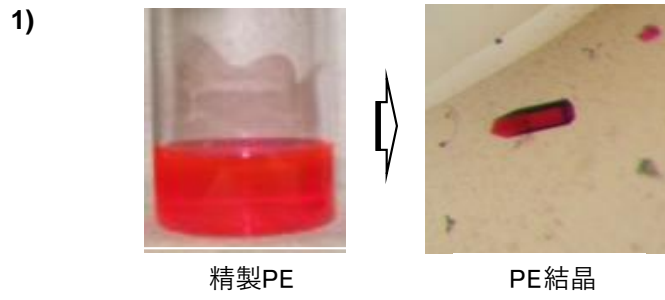


Fig. 1-10 北海道産ダルスのPEの立体構造

1) 北海道産ダルスのPEの精製物およびその結晶, 2) 北海道産ダルスのPEの立体構造。A-Yはαヘリックスを示す。



水抽出物



有機溶媒抽出物

Fig. 1-11 青森県産マツモの水抽出物および有機溶媒抽出物の色調

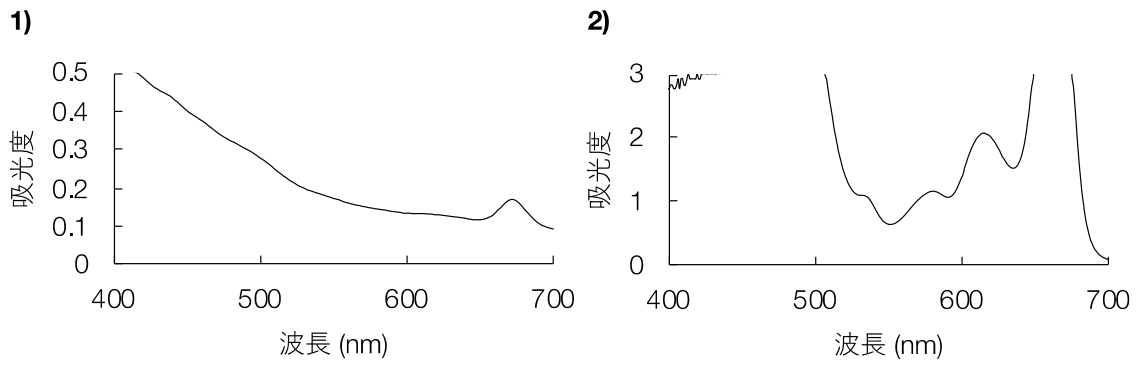


Fig. 1-12. 青森県産マツモの水抽出物および有機溶媒抽出物の可視光吸収スペクトル

1) 水抽出物, 2) 有機溶媒抽出物。



Fig. 1-13 青森県産マツモの有機溶媒抽出物における色素成分の組成

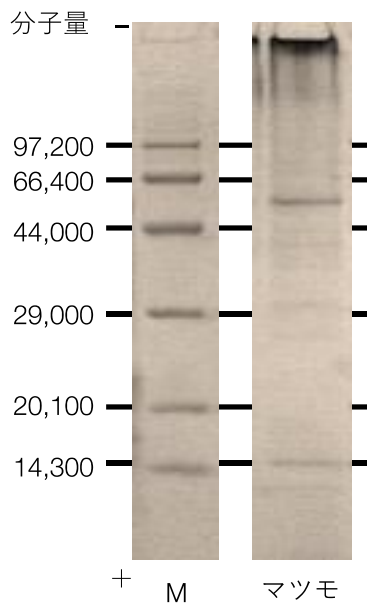


Fig. 1-14 青森県産マツモの水抽出物におけるタンパク質成分の組成

M, 分子量マーカー (97,200:ウサギホスホリラーゼB, 66,400:牛血清アルブミン, 44,000: 卵アルブミン, 29,000:牛炭酸デヒドラーゼ, 20,100:大豆トリプシンインヒビター, 14,300:卵白リゾチーム)

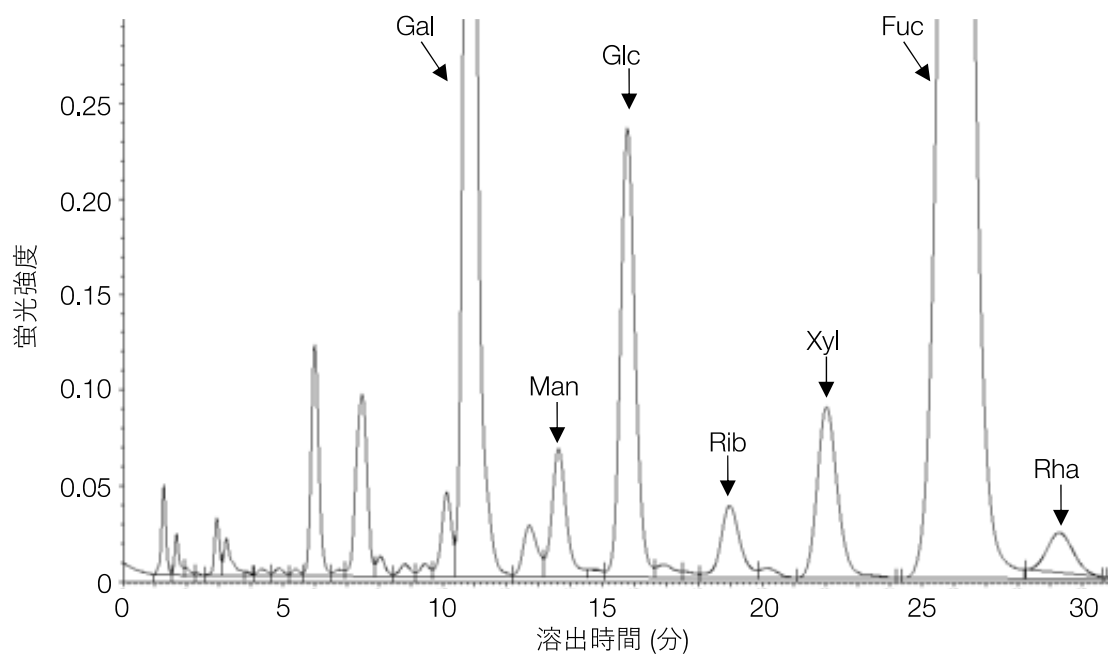


Fig. 1-15. 青森県産マツモの水抽出物加水分解物の糖組成

Gal, ガラクトース; Man, マンノース; Glc, グルコース; Rib, リボース; Xyl, キシロース; Fuc, フコース; Rha, ラムノース。

小考察

1. 北海道産ダルスの主要成分の分析

北海道産ダルスのフィコビリタンパク質について、その主要分子種の把握ならびに一次構造および三次構造の解析を行なった。

北海道産ダルスから水抽出物を調製し、その色調、可視光吸収スペクトル、タンパク質量およびタンパク質組成を他の紅藻類のものと比較した。その結果、ダルスの水抽出物はウップルイノリおよび市販のアマノリ属のものと同様の色調、可視光吸収スペクトルであった。紅藻類の主要タンパク質である PE は、水溶液中で赤色を呈し、PEB (吸収極大波長 500 nm) および PUB (吸収極大波長 560 nm) に由来する吸収極大波長を有する¹⁰³⁻¹⁰⁵⁾。また、紅藻類に含まれる PC は、水溶液中で青色を呈し、PEB および PCB (吸収極大波長 625 nm) に由来する吸収極大波長を有する^{47, 106)}。本研究では、ダルス、ウップルイノリ、市販のアマノリ属の水溶液はいずれも赤紫色を呈し、500 nm, 560 nm, 625 nm 付近に吸収極大が観察された。これは、ダルス、ウップルイノリ、市販のアマノリ属における PE および PC の含有割合が類似しているためと考えられる。ダルスのタンパク質量はウップルイノリおよび市販のアマノリ属のものよりも低かったが、他の紅藻類のものよりも高かった。一方、ダルスの水抽出物における SDS-PAGE のバンドパターンは、ウップルイノリおよび市販のアマノリ属のものと同様であった。紅藻類の PE の各サブユニットの分子量は、 α 鎖で分子量 19,000 程度、 β 鎖で 20,000 程度である¹⁰⁷⁾。さらに、紅藻類の PE にはリンカータンパク質の γ 鎖 (分子量 24,000–45,000) が結合しており、種によりその分子量や結合数が異なる¹⁰⁷⁾。本研究では、ダルスの水抽出物について、SDS-PAGE で分子

量 18,400–24,000 に濃いタンパク質のバンドが検出され、さらに分子量 24,000–45,000 に薄いタンパク質のバンドが検出されたことから、その主要タンパク質は PE であると考えられた。また、*Gracilaria changii* の二次元電気泳動において、分子量 40,000–55,000 の範囲に、 γ -チューブリン、リブロース-1, 5-ビスリン酸カルボキシラーゼ/オキシゲナーゼ L 鎖、LysR 型転写調節因子と推定されるタンパク質のバンドが検出されることが示されている¹⁰⁸⁾。本研究において、分子量 45,000 付近に検出されたタンパク質のバンドは、他の紅藻類と同様に、複数のタンパク質のものが重なっていると考えられた。

北海道産ダルスの葉緑体 DNA の全塩基配列を決定し、PE 遺伝子の塩基配列およびその演繹アミノ酸配列を他の藻類のものと比較した。Cho らは、大西洋沿岸に分布するダルスの葉緑体 DNA の全長は 192,961 bp、遺伝子数は 205 であると報告している¹⁰⁹⁾。一方、Skriptsova ら²¹⁾は、分類学的研究により、日本に分布するダルスは大西洋に分布するものと別種であると報告している。本研究において、北海道産ダルスの葉緑体 DNA の全長が大西洋のものと異なっていたことから、Skriptsova らの報告を支持するものと考えられる。北海道産ダルス PE の α 鎖および β 鎖の塩基配列およびそれらの演繹アミノ酸配列は、いずれも紅藻類に特徴的な構造を有していた。さらに、北海道産ダルスの α 鎖および β 鎖の演繹アミノ酸配列は、いずれもスサビノリと最も高い配列同一性を示した。スサビノリのフィコビリタンパク質に由来するペプチドは ACE 阻害活性または抗酸化力を有する¹¹⁰⁾。北海道産ダルスの PE の演繹アミノ酸配列においても、スサビノリで ACE 阻害活性または抗酸化力が認められた YRD, AGGEY, VYRT, VDHY, LKNPG, LDY, LRY が確認された。また、スサビノリが属するアサクサノリ属および大西洋産ダルスの

必須アミノ酸指数は 100 程度である¹¹¹⁾。紅藻類の主要タンパク質は PE であることから、本研究の北海道産ダルスにおいても、これらの紅藻類と同様の機能性や必須アミノ酸指数を有すると推測された。

北海道産ダルスの PE を結晶化し、その立体構造を決定した。北海道産ダルス PE の α 鎖および β 鎖の立体構造は、いずれも紅藻類に特徴的な構造を有していた。さらに、これらは他の紅藻類のものと同様に、ドーナツ状のディスク構造の 6 量体を形成していた。ダルスをはじめ、紅藻類のタンパク質の消化率は陸上植物のものに比べて低い^{112, 113)}。この要因として、紅藻類の多糖類などがタンパク質と相互作用して複合体を形成することが挙げられている。しかし、Maehre らは、ダルスを加熱処理することで、タンパク質の消化率が向上すると報告している¹¹⁴⁾。植物由来のタンパク質は畜肉由来のものに比べて消化率が低いですが、加熱処理によりタンパク質の立体構造が変化することで、その消化率が向上する¹¹⁵⁾。北海道産ダルスにおいても、PE の立体構造は他の紅藻類のものと同様であることから、加熱処理によりその消化率が向上すると考えられる。

2. 青森県産マツモの主要成分の分析

青森県産マツモの色素、タンパク質、炭水化物について、それらの主要分子種の把握を行なった。

青森県産マツモから水抽出物および有機溶媒抽出物を調製し、それらの色調、可視光吸収スペクトル、色素成分組成を調べた。その結果、マツモの水抽出物および有機溶媒抽出物は緑色系統の色調を呈し、共に 660 nm 付近に吸収極大を有していた。クロロフィル a はエーテル中で 660 nm 付近に吸収極大を持つ¹¹⁶⁾。褐藻類のクロロフィル a は、藻体内において、葉緑体中の光化学系 I 複合体、光化学系 II 複合体、フコキサ

ンチン-クロロフィル a-c タンパク質複合体などのクロロフィル結合タンパク質として存在している³⁰⁾。本研究において、TLCにより、マツモの有機溶媒抽出物からクロロフィル a が検出された。さらに、マツモの水抽出物および有機溶剤抽出物にクロロフィル a の吸収極大が観察された。これは、マツモのクロロフィル a が、水抽出物中ではタンパク質と結合した状態、有機溶媒中ではタンパク質から遊離した状態で存在するためと考えられる。一方、有機溶媒抽出物は 450 nm 付近および 620 nm 付近にも吸収極大を有していた。フコキサンチンは 450 nm 付近に、クロロフィル c は 620 nm 付近に吸収極大を持つ¹¹⁶⁾。本研究において、TLCにより、マツモの有機溶媒抽出物からフコキサンチン、クロロフィル c が検出された。以上から、マツモの主要な色素成分は、吸収極大の波長順に、フコキサンチン、クロロフィル c、クロロフィル a であると考えられる。

マツモの水抽出物について、SDS-PAGEによりタンパク質組成を調べた。その結果、分子量 14,300 付近および 44,000–66,400 付近に濃いタンパク質のバンドが検出された。マコンブ (*S. japonica*) の二次元電気泳動において、分子量 16,800–18,600 の範囲にフコキサンチン-クロロフィル a-c タンパク質複合体 F, 分子量 44,000–70,000 の範囲にリブローズ-1, 5-ビスリン酸カルボキシラーゼ/オキシゲナーゼ L 鎖, F1-ATP シンターゼ α 鎖, ホスホグリセリン酸キナーゼ, ペプチド鎖延長因子 Tu など、光合成に関連するタンパク質のバンドが複数検出されることが示されている¹¹⁷⁾。本研究において、マツモの水抽出物の SDS-PAGE で主に検出されたタンパク質のバンドは、他の褐藻類と同様に、光合成に関連する複数のタンパク質に由来すると考えられる。

青森県産マツモの水抽出物を加水分解物後、HPLC法によりその糖組

成を調べた。その結果、ガラクトース、マンノース、グルコース、リボース、キシロース、フコース、ラムノースのピークが検出された。褐藻類の主要な炭水化物はフコイダンである。フコイダンの構成糖はL-フコース、ガラクトース、マンノース、キシロース、ラムノース、グルクロン酸であり、種によりその組成が異なる⁴⁶⁾。Bilanら¹¹⁸⁾は、日本の太平洋地域産マツモのフコイダンについて、その構成糖がL-フコース、ガラクトース、マンノース、キシロース、グルクロン酸であること報告している。本研究において、青森県産マツモの水抽出物の加水分解物からL-フコース、ガラクトース、マンノース、キシロース、ラムノースが検出されたことから、青森県産マツモはBilanらが分析したものと類似の構造のフコイダンを有していると考えられる。

第2章 水産物レトルト食品の栄養成分に及ぼす加工工程の影響の評価法の確立

目 的

本章では、加工工程の諸要因が水産物レトルト食品の栄養成分に及ぼす影響を定量的に数値化する評価法の確立を試みた。

レトルト食品の加工工程は、原材料処理、容器充填、加圧加熱殺菌からなり、使用する原材料、調味液、容器、加熱温度、加熱時間などの処理条件がその栄養成分に影響を及ぼすと考えられる。一方、水産物の栄養成分の含有量や組成は環境要因、個体差、鮮度などに影響を受けることから⁷⁸⁻⁸⁶⁾、均質な分析試料の調製が困難である。そのため、水産物レトルト食品について、複数の処理条件が栄養成分の変化率に及ぼす影響を定量的に数値化するのは難しく、研究事例はほとんど見られない¹¹⁸⁾。

青森県では近年のスルメイカの不漁を受け、2020年の水揚げ量はマサバおよびマイワシがホタテガイ、アカイカ、タラ類と並ぶ主要魚種となっている(サバ類：漁獲量2.2万トン、金額28億円；マイワシ：漁獲量2.2万トン、金額9億円)¹²⁰⁾。マサバは青森県八戸市で「八戸前沖さば」としてブランド化され²⁵⁾、その加工食品製造(缶詰、レトルト食品、シメサバなど)に力が注がれている。一方、マイワシは青森県ではつみれ汁や煮付けで食されており¹²¹⁾、マサバと同様にその加工食品製造(レトルト食品など)に力が注がれている。また、アイナメはマサバやマイワシに比べて漁獲量は少ないが(アイナメ：漁獲量82トン、金額5600万円)¹²⁰⁾、青森県で伝統的に鍋や刺身で食されている¹²¹⁾ことから、青森県階上町でそのブランド化促進の一環として加工食品開発が進められている¹²²⁾。

そこで本章では、青森県でレトルト食品の製造実績のある上記の魚種を使用し、水産物レトルト食品の加工工程における種々の要因がその栄養成分に及ぼす影響を、複数要因の影響を最低限の試験区数で定量的に数値化する手法である直交表を用いた実験計画法により調べることで、その適用可能性を検討した。

実験方法

1. 原料魚

マサバは 2020 年 10 月に青森県八戸市沖で水揚げされたもの、マイワシは同年 6 月に同県八戸市沖で水揚げされたもの、アイナメは同年 6 月に同県階上町沖で水揚げされたものを使用した。原料魚は入手後、直ちに -30°C で冷凍した後、 $0-1^{\circ}\text{C}$ の水道水中に 2-3 秒間浸漬してグレーズ処理し、加工処理まで -30°C で保存した。

2. 調味液および試薬

水産物レトルト食品に充填する調味液は、青森県水産加工品製造の手引き¹²³⁾を参考に、5%食塩水、味噌調味液、サラダ油を使用した。5%食塩水は、水 100.0 g に対し、食塩 (お塩, シジシージャパン, 東京) 5.0 g を添加して調製した。味噌調味液は、水 100.0 g に対し、白味噌 (特撰津軽味噌白, ワダカン, 青森) 10.0 g, 食塩 (同上) 3.0 g, 上白糖 (上白糖, 三井製糖, 東京) 3.0 g, グルタミン酸ナトリウム (L-グルタミン酸ナトリウム, ショクテン, 宮城) 0.3 g を添加して調製した。サラダ油は市販のもの (大豆油たっぷりサラダ油, J-オイルミルズ, 東京) を使用した。一般分析試薬類は、特級または分析グレードの試薬を使用した。なお、

内部標準物質のトリコサン酸ならびに EPA と DHA の標準品はナカライテスク製 (京都) を, Na と Mg の標準液は富士フィルム和光純薬製 (大阪) を用いた。

3. 水産物レトルト食品の製造

各種水産物レトルト食品を, 直交表による実験計画に従って製造した。原料魚を流水中で解凍した後, 頭部, ヒレ, 内臓, 血合いを除去した魚体を洗浄後, 2.5–3.0 cm 幅に輪切りにした。輪切りにした魚肉を 5% 食塩水に 20 分間浸漬した後に液切りし, 中骨を除去して半身とし, 片方を製品に用い, もう片方を加工前魚肉とした。調製した魚肉 84.0 g および調味液 26.0 g を, 次の包装条件で容器に充填して密封した。

窒素・透明パウチ: 内容量 300 mL (幅 140 mm×高さ 200 mm×フィルム厚 0.087 mm) の透明パウチ (EACF-1420, カウパック, 愛知) に充填して小型真空ガス包装機 (FVCII-G, 古川製作所, 広島) で窒素充填包装, 真空・透明パウチ: 透明パウチ (同上) に充填して小型真空ガス包装機 (同上) で真空包装, 真空・缶詰: 内容量 119 mL (内径 74.0 mm×高さ 34.4 mm) の平 3 号缶 (MB1-HIRA3canK, シロ産業, 大阪) に充填して真空巻締機 (M-2, 東洋製罐, 東京) で減圧密封した。

密封後の製品を高温高圧調理殺菌装置 Flavor Ace シャワー式 (RCS-40SPXTG-FAM, 日阪製作所, 大阪) により 120°C で 30 分間加熱した。製造した水産物缶詰・レトルト食品を 90 日間, 室温で暗所に保存した後, 魚肉をザルに取り出して調味液を除去し, 加工後の魚肉として各種測定に供した。加工前魚肉は, 各種測定に供するまで -30°C で冷凍保存し, 測定前に解凍して使用した。なお, 反復実験 (データは示さず) の結果から, 魚肉の再凍結は本研究の分析結果に影響を与えないことを確

認している。

4. 直交表による実験計画

本研究では、水産物レトルト食品の包装条件、原料魚、調味液が実験結果に影響を与える要因と仮定した。これらの要因およびそれらの水準は、先行研究^{119, 124-128)}をもとに、水産物レトルト食品における魚肉の各種成分に影響を及ぼすと考えられるものを選択した (Table 2-1)。要因および誤差要因を Table 2-2 のように L₉ (3⁴) 型直交表¹²⁹⁾ に割付けた。Table 2-2 の誤差要因を除く各要因を割付けた列の水準数を、Table 2-3 のように水準名に置換し、各行を試験区 (9 試験区) とした。各試験区の実験は完全無作為化法に従って 3 回反復した。各実験 (27 実験) に対し、Excel for Mac バージョン 16.47.1 (Microsoft, Redmond, Washington, USA) を用いて乱数を割当てた後、乱数の昇順で実験を行った。

5. 一般成分 (水分, 脂質) の定量

加工前後の魚肉の水分は常圧加熱乾燥法⁹⁵⁾により測定した。脂質は Folch 法¹³⁰⁾により測定した。

6. 脂肪酸 (EPA, DHA) の定量

加工前後の魚肉の EPA 量および DHA 量は、上記で抽出した脂質に内部標準物質を加えて 2 mol/L 水酸化ナトリウム-メタノールでケン化後、得られた脂肪酸を三ふっ化ほう素メタノール試薬でメチルエステル化したものを分析試料とした。分析は次の条件で行った。

ガスクロマトグラフ装置：SHIMADZU, GC-2014 (京都), カラム：Omegawax 250 (30 m×0.25 mm×0.25 μm, Supelco, Bellefonte, Pennsylvania,

USA), 分析条件:注入口温度 250℃, FID 検出器温度 260℃, キャリヤーガス: He, カラム温度: 50℃で 2 分間保持後, 4℃/分で 220℃まで昇温, 15 分間保持。

内部標準物質にはトリコサン酸を用いた。EPA と DHA の標準品を脂質と同様に処理して測定し, 得られた検量線を用いて内部標準法により各脂肪酸量を定量した。

7. ミネラル (Na, Mg) の定量

加工前後の魚肉の Na 量および Mg 量は, 希酸抽出法⁹⁵⁾で抽出したミネラルを原子吸光分析装置 (PinAAcle 900F, パーキンエルマージャパン, 千葉) に供して測定した。定量は, Na と Mg の 1000 ppm 標準液を 1%塩酸で適宜, 希釈し, 作成した検量線より算出した。

8. 重量変化率および各種成分残存率

魚肉の重量変化率および各種成分の残存率は次式により算出した。

$$\text{重量変化率 (\%)} = A/B \times 100$$

A: 加工後の魚肉重量 (g)

B: 容器充填時の魚肉重量 (g)

$$\text{成分残存率 (\%)} = A/B \times 100$$

A: 加工後の魚肉の成分量 (g)

B: 加工前の魚肉の成分量 (g)

9. 統計解析

統計解析は Excel for Mac バージョン 16.47.1 を用いた分散分析により行い、有意水準は $p < 0.05$, $p < 0.01$ および $p < 0.001$ とした。各要因における水準毎の測定値 ($n = 9$) の比較は、要因効果の推定法¹²⁹⁾に従い、各水準の要因効果 (平均値 \pm 95%信頼区間) を求め、要因効果図を作成して行なった。

Table 2-1 実験計画における要因と水準

記号	要因	水準1	水準2	水準3
A	包装条件	窒素・透明パウチ	真空・透明パウチ	真空・缶詰
B	原料魚	マサバ	マイワシ	アイナメ
C	調味液	5%食塩水	味噌調味液	サラダ油

Table 2-2 実験計画における要因のL₉ (3⁴) 型直交表への割付

列 No.	1	2	3	4
行 No.				
1	1	1	1	1
2	1	2	2	2
3	1	3	3	3
4	2	1	2	3
5	2	2	3	1
6	2	3	1	2
7	3	1	3	2
8	3	2	1	3
9	3	3	2	1
実験計画の要因	A	B	C	e'

A-C, Table 2-1で示した要因；e', 誤差要因。

Table 2-3 L₉ (3)⁴ 型直交表から作成した実験計画

行 No.	要因と水準		
	包装条件	原料魚	調味液
1	窒素・透明パウチ	マサバ	5%食塩水
2	窒素・透明パウチ	マイワシ	味噌調味液
3	窒素・透明パウチ	アイナメ	サラダ油
4	真空・透明パウチ	マサバ	味噌調味液
5	真空・透明パウチ	マイワシ	サラダ油
6	真空・透明パウチ	アイナメ	5%食塩水
7	真空・缶詰	マサバ	サラダ油
8	真空・缶詰	マイワシ	5%食塩水
9	真空・缶詰	アイナメ	味噌調味液

結 果

1. 重量変化率

水産物レトルト食品の加工工程における諸要因が加工前後の魚肉の重量変化率に及ぼす影響を検討した。その結果、Table 2-4 に示すように、原料魚 ($p < 0.001$)、調味液 ($p < 0.05$) で有意差が認められ、寄与率はそれぞれ 44.2% および 13.0% であった。有意差が認められた要因について、それらが魚肉の重量変化率に及ぼす影響を Fig. 2-1 に示す。原料魚がマサバの場合の重量変化率は、マイワシおよびアイナメの場合に比べて高かった。調味液が味噌調味液の場合の重量変化率は、5%食塩水およびサラダ油の場合に比べて高かった。

2. 一般成分残存率 (水分, 脂質)

水産物レトルト食品の加工工程における諸要因が加工前後の魚肉の水分残存率に及ぼす影響を検討した。その結果、Table 2-5 に示すように、包装条件 ($p < 0.05$)、原料魚 ($p < 0.001$) および調味液 ($p < 0.001$) で有意差が認められ、寄与率はそれぞれ 5.2%、38.6% および 29.4% であった。有意差が認められた要因について、それらが魚肉の水分残存率に及ぼす影響を Fig. 2-2 に示す。包装条件が窒素・透明パウチの場合の水分残存率は、真空・缶詰および真空・透明パウチの場合に比べて高かった。原料魚がマサバの場合の水分残存率は、マイワシおよびアイナメの場合に比べて高かった。調味液が 5%食塩水の場合の水分残存率は、味噌調味液およびサラダ油の場合に比べて高かった。

水産物レトルト食品の加工工程における諸要因が加工前後の魚肉の脂質残存率に及ぼす影響を検討した。その結果、Table 2-6 に示すよう

に、包装条件 ($p < 0.05$), 原料魚 ($p < 0.001$), 誤差 ($p < 0.01$) で有意差が認められ、寄与率はそれぞれ 14.7%, 38.5% および 39.7% であった。有意差が認められた要因について、それらが魚肉の脂質残存率に及ぼす影響を Fig. 2-3 に示す。包装条件が真空・缶詰の場合の脂質残存率は、窒素・透明パウチおよび真空・透明パウチの場合に比べて高かった。原料魚がマサバの場合の脂質残存率は、アイナメおよびマイワシの場合に比べて高かった。

3. 脂肪酸残存率 (EPA, DHA)

水産物レトルト食品の加工工程における諸要因が加工前後の魚肉の EPA 残存率に及ぼす影響を検討した。その結果、Table 2-7 に示すように、包装条件 ($p < 0.05$), 原料魚 ($p < 0.001$) および調味液 ($p < 0.05$) で有意差が認められ、寄与率はそれぞれ 12.0%, 35.0% および 12.0% であった。有意差が認められた要因について、それらが魚肉の EPA 残存率に及ぼす影響を Fig. 2-4 に示す。包装条件が真空・缶詰の場合の EPA 残存率は、窒素・透明パウチおよび真空・透明パウチの場合に比べて高かった。原料魚がマサバの場合の EPA 残存率は、アイナメおよびマイワシの場合に比べて高かった。調味液が味噌調味液の場合の EPA 残存率は、5%食塩水およびサラダ油の場合に比べて高かった。

水産物レトルト食品の加工工程における諸要因が加工前後の魚肉の DHA 残存率に及ぼす影響を検討した。その結果、Table 2-8 に示すように、原料魚 ($p < 0.01$) および誤差 ($p < 0.05$) で有意差が認められ、寄与率はそれぞれ 25.3% および 55.7% であった。有意差が認められた要因について、それが魚肉の DHA 残存率に及ぼす影響を Fig. 2-5 に示す。原料魚がマサバの場合の DHA 残存率は、アイナメおよびマイワシの場

合に比べて高かった。

4. ミネラル残存率 (Na, Mg)

水産物レトルト食品の製造工程における諸要因が加工前後の魚肉の Na 残存率に及ぼす影響を検討した。その結果, Table 2-9 に示すように, 包装条件 ($p < 0.01$), 原料魚 ($p < 0.001$), 調味液 ($p < 0.001$) および誤差 ($p < 0.01$) で有意差が認められ, 寄与率はそれぞれ 5.0%, 13.3%, 67.9%および 13.8%であった。有意差が認められた要因について, それらが魚肉の Na 残存率に及ぼす影響を Fig. 2-6 に示す。包装条件が窒素・透明パウチの場合の Na 残存率は, 真空・透明パウチおよび真空・缶詰の場合に比べて高かった。原料魚がマサバの場合の Na 残存率は, マイワシおよびアイナメの場合に比べて高かった。調味液が 5%食塩水の場合の Na 残存率は, 味噌調味液およびサラダ油の場合に比べて高かった。

水産物レトルト食品の加工工程における諸要因が加工前後の魚肉の Mg 残存率に及ぼす影響を検討した。その結果, Table 2-10 に示すように, 調味液で $p < 0.05$ の有意差が認められ, 寄与率は 28.3%であった。有意差が認められた要因について, それが魚肉の Mg 残存率に及ぼす影響を Fig. 2-7 に示す。調味液がサラダ油の場合の Mg 残存率は, 味噌調味液および 5%食塩水の場合に比べて高かった。

Table 2-4 重量変化率の分散分析表

要因	平方和	自由度	p 値	判定	寄与率 (%)
A 包装条件 (n = 27)	110	2	0.070		5.8
B 原料魚 (n = 27)	597	2	< 0.001	***	44.2
C 調味液 (n = 27)	202	2	0.012	*	13.0
誤差	361	20	0.101		37.0

*, $p < 0.05$; ***, $p < 0.001$ 。

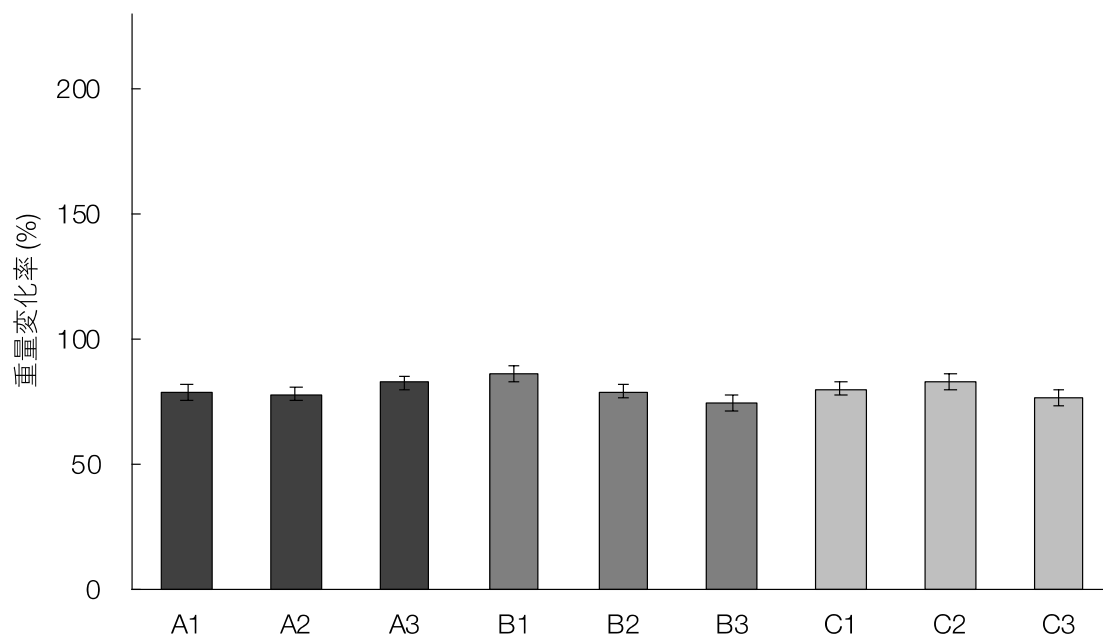


Fig. 2-1 重量変化率における要因効果図

■, 包装条件 (A1, 窒素・透明パウチ; A2, 真空・透明パウチ; A3, 真空・缶詰); ■, 魚種 (B1, マサバ; B2, マイワシ; B3, アイナメ); ■, 調味液 (C1, 5%食塩水; C2, 味噌調味液; C3, サラダ油)。

エラーバーは平均値 ± 95%信頼区間を示す (n = 27)。

Table 2-5 水分残存率の分散分析表

要因	平方和	自由度	p 値	判定	寄与率 (%)
A 包装条件 (n = 27)	206	2	0.049	*	5.2
B 原料魚 (n = 27)	1156	2	< 0.001	***	38.6
C 調味液 (n = 27)	894	2	< 0.001	***	29.4
誤差	587	20	0.332		26.8

*, $p < 0.05$; ***, $p < 0.001$ 。

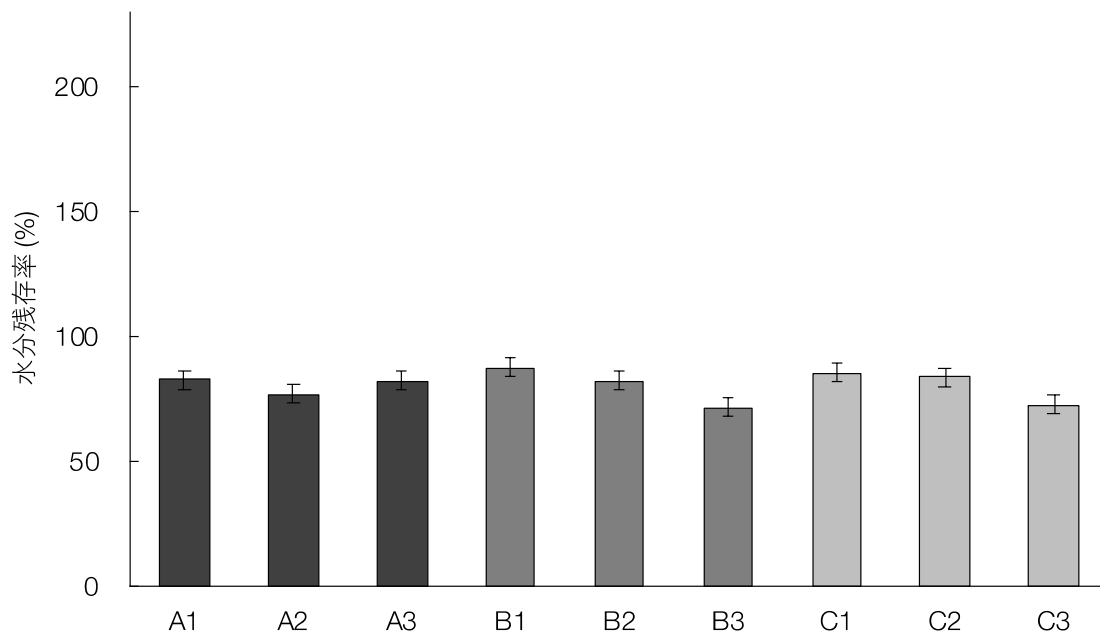


Fig. 2-2 水分残存率における要因効果図

■, 包装条件 (A1, 窒素・透明パウチ; A2, 真空・透明パウチ; A3, 真空・缶詰); ■, 魚種 (B1, マサバ; B2, マイワシ; B3, アイナメ); ■, 調味液 (C1, 5%食塩水; C2, 味噌調味液; C3, サラダ油)。

エラーバーは平均値 ± 95%信頼区間を示す (n = 27)。

Table 2-6 脂質残存率の分散分析表

要因	平方和	自由度	p 値	判定	寄与率 (%)
A 包装条件 (n = 27)	2928	2	0.010	*	14.7
B 原料魚 (n = 27)	6856	2	< 0.001	***	38.5
C 調味液 (n = 27)	1684	2	0.056		7.1
誤差	5043	20	0.007	**	39.7

*, $p < 0.05$; **, $p < 0.01$; ***, $p < 0.001$ 。

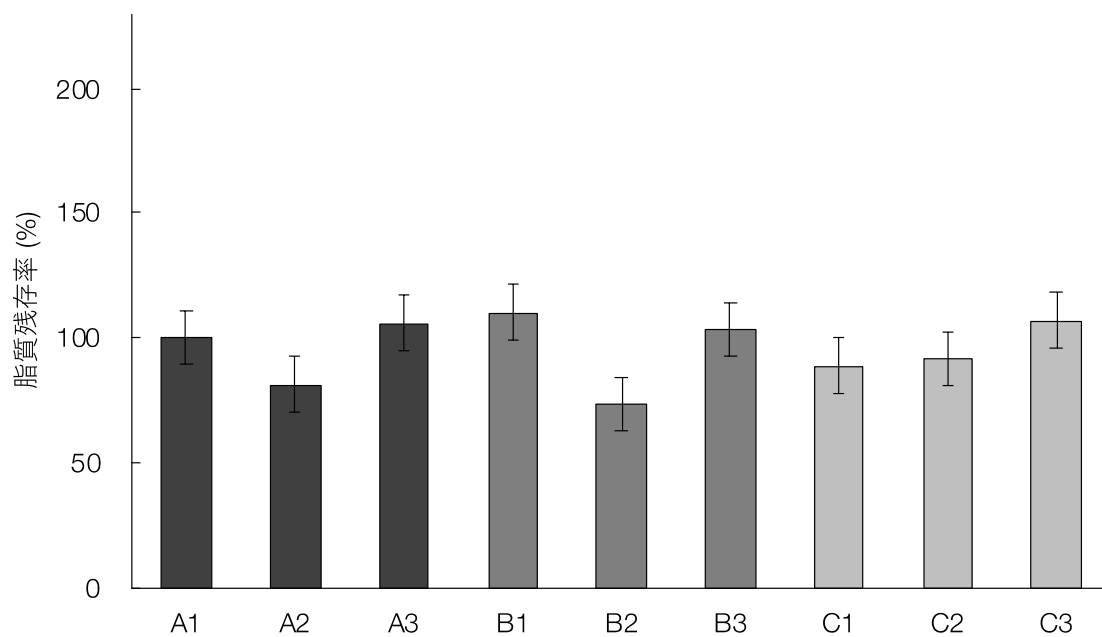


Fig. 2-3 脂質残存率における要因効果図

■, 包装条件 (A1, 窒素・透明パウチ ; A2, 真空・透明パウチ ; A3, 真空・缶詰) ; ■, 魚種 (B1, マサバ ; B2, マイワシ ; B3, アイナメ) ; □, 調味液 (C1, 5%食塩水 ; C2, 味噌調味液 ; C3, サラダ油)。

エラーバーは平均値 ± 95%信頼区間を示す (n = 27)。

Table 2-7 EPA残存率の分散分析表

要因	平方和	自由度	p 値	判定	寄与率 (%)
A 包装条件 (n = 27)	1192	2	0.023	*	12.0
B 原料魚 (n = 27)	3031	2	< 0.001	***	35.0
C 調味液 (n = 27)	1195	2	0.022	*	12.0
誤差	2588	20	0.089		42.0

*, $p < 0.05$; ***, $p < 0.001$ 。

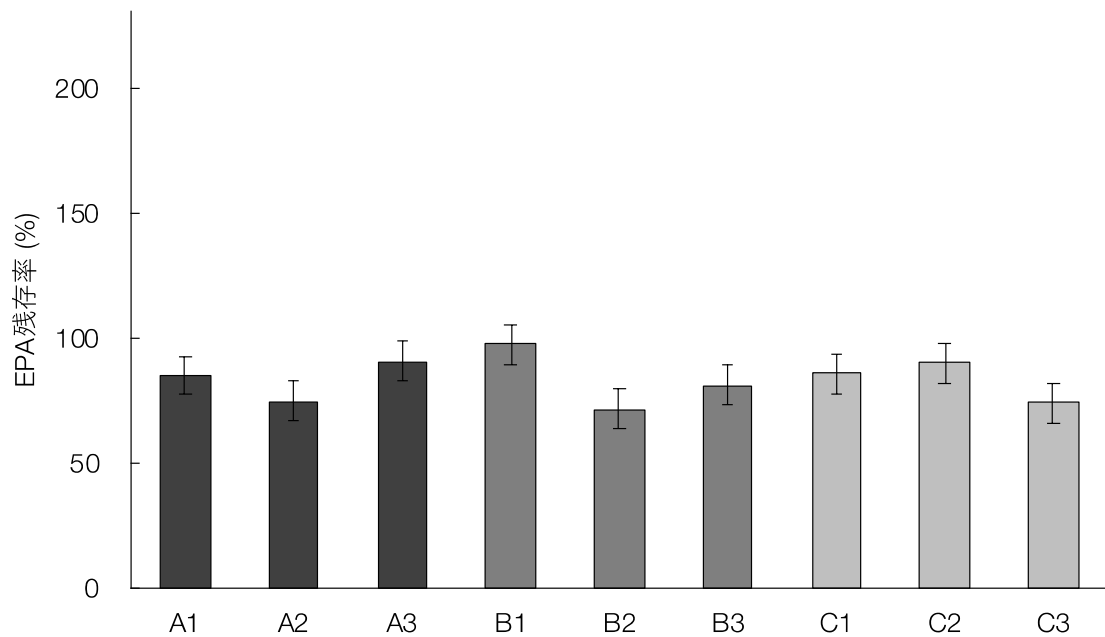


Fig. 2-4 EPA残存率における要因効果図

■, 包装条件 (A1, 窒素・透明パウチ; A2, 真空・透明パウチ; A3, 真空・缶詰); ■, 魚種 (B1, マサバ; B2, マイワシ; B3, アイナメ); □, 調味液 (C1, 5%食塩水; C2, 味噌調味液; C3, サラダ油)。

エラーバーは平均値 ± 95%信頼区間を示す (n = 27)。

Table 2-8 DHA残存率の分散分析表

要因	平方和	自由度	p 値	判定	寄与率 (%)
A 包装条件 (n = 27)	1102	2	0.076		8.3
B 原料魚 (n = 27)	2590	2	0.005	**	25.3
C 調味液 (n = 27)	1308	2	0.050		10.7
誤差	3746	20	0.049	*	55.7

*, $p < 0.05$; **, $p < 0.01$ 。

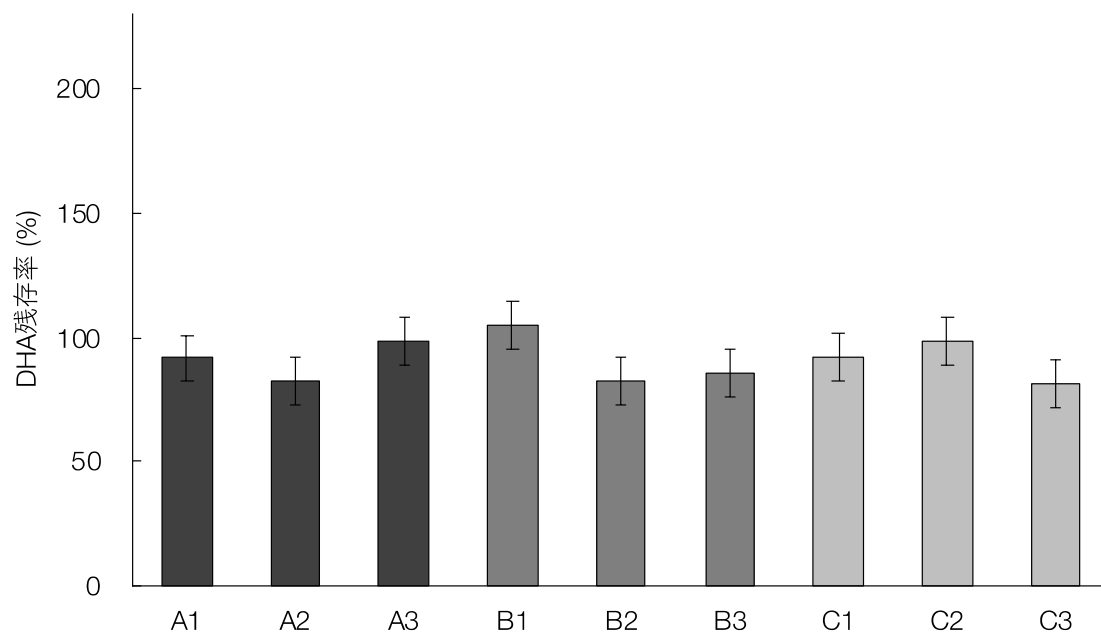


Fig. 2-5 DHA残存率における要因効果図

■, 包装条件 (A1, 窒素・透明パウチ ; A2, 真空・透明パウチ ; A3, 真空・缶詰) ; ■, 魚種 (B1, マサバ ; B2, マイワシ ; B3, アイナメ) ; □, 調味液 (C1, 5%食塩水 ; C2, 味噌調味液 ; C3, サラダ油)。

エラーバーは平均値 ± 95%信頼区間を示す (n = 27)。

Table 2-9 Na残存率の分散分析表

要因	平方和	自由度	p 値	判定	寄与率 (%)
A 包装条件 (n = 27)	7487	2	0.011	*	5.0
B 原料魚 (n = 27)	17,620	2	< 0.001	***	13.3
C 調味液 (n = 27)	84,884	2	< 0.001	***	67.9
誤差	13,053	20	0.001	**	13.8

*, $p < 0.05$; **, $p < 0.01$; ***, $p < 0.001$ 。

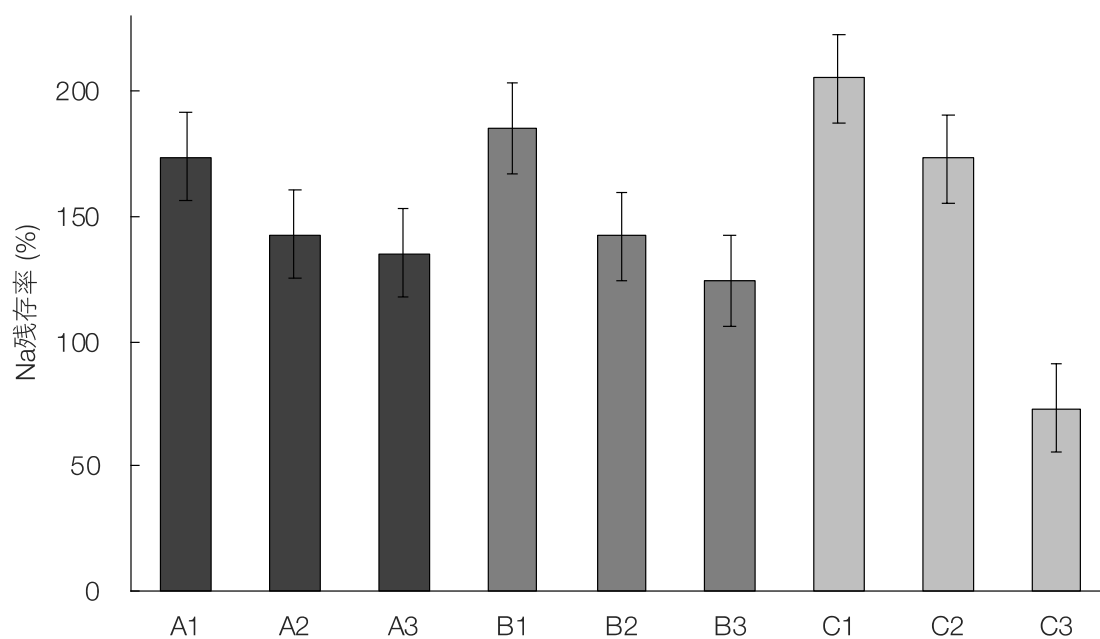


Fig. 2-6 Na残存率における要因効果図

■, 包装条件 (A1, 窒素・透明パウチ ; A2, 真空・透明パウチ ; A3, 真空・缶詰) ; ■, 魚種 (B1, マサバ ; B2, マイワシ ; B3, アイナメ) ; □, 調味液 (C1, 5%食塩水 ; C2, 味噌調味液 ; C3, サラダ油)。

エラーバーは平均値 ± 95%信頼区間を示す (n = 27)。

Table 2-10 Mg残存率の分散分析表

要因	平方和	自由度	p 値	判定	寄与率 (%)
A 包装条件 (n = 27)	27	2	0.833		< 0.1
B 原料魚 (n = 27)	116	2	0.463		< 0.1
C 調味液 (n = 27)	830	2	0.011	*	28.3
誤差	1447	20	0.729		71.7

*, $p < 0.05$ 。

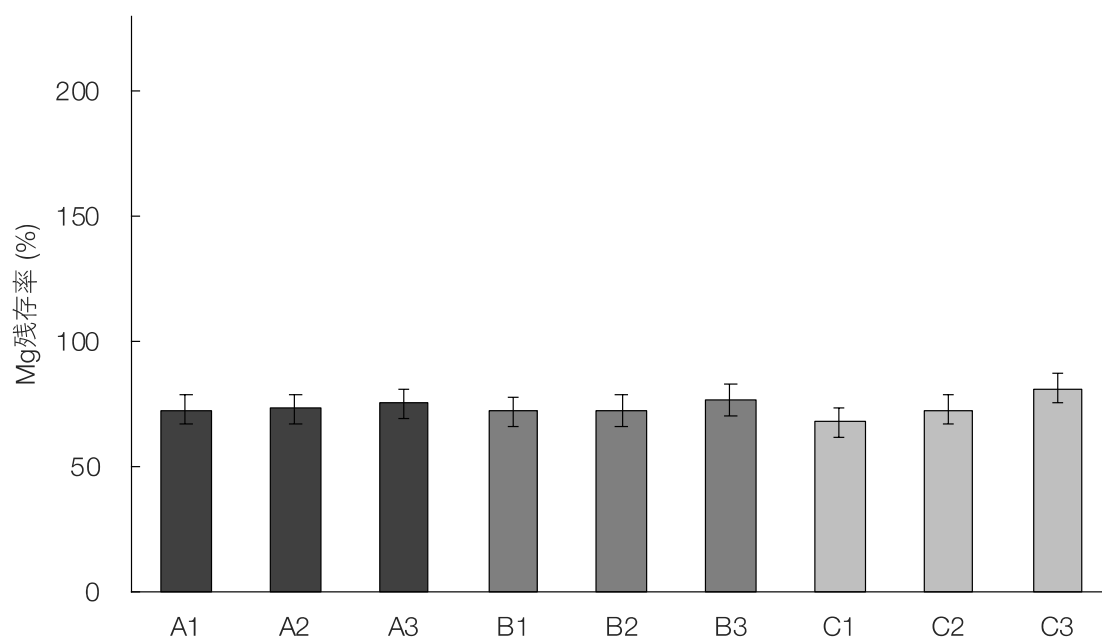


Fig. 2-7 Mg残存率における要因効果図

■, 包装条件 (A1, 窒素・透明パウチ; A2, 真空・透明パウチ; A3, 真空・缶詰); ■, 魚種 (B1, マサバ; B2, マイワシ; B3, アイナメ); □, 調味液 (C1, 5%食塩水; C2, 味噌調味液; C3, サラダ油)。

エラーバーは平均値 ± 95%信頼区間を示す (n = 27)。

小考察

1. 包装条件が水産物レトルト食品の栄養成分に及ぼす影響

水産物レトルト食品の加工において、包装条件は DHA および Mg 以外の栄養成分の残存率に影響を及ぼした。加工前後における魚肉の水分残存率は窒素・透明パウチ > 真空・缶詰 > 真空・透明パウチの順で、脂質残存率および EPA 残存率は真空・缶詰 > 窒素・透明パウチ > 真空・透明パウチの順で高かった。

パウチ容器を真空包装する場合、容器の柔軟性により減圧空間を保持できず、内外圧差に応じて容器が内容物に密着する¹²³⁾。また、Durance ら¹³²⁾は性成熟したサケの缶詰・レトルト食品において、レトルト食品では殺菌後の魚肉組織が缶詰の場合よりも密になり、硬い食感になると報告している。本研究では、真空・透明パウチの水分残存率および脂質残存率が、真空・缶詰および窒素・透明パウチのそれらよりも低かった。この理由として、真空・透明パウチの場合、真空包装により容器が魚肉に密着することで、殺菌時に魚肉が圧縮されて水分と脂質が流出したと考えられる。

一方、魚肉の DHA 残存率については、有意差は認められなかった。しかし、その残存率は真空・缶詰 > 窒素・透明パウチ > 真空・透明パウチの順で高く、EPA 残存率と同様の傾向を示した。本研究では、真空・透明パウチにおける魚肉の EPA と DHA の残存率が真空・缶詰と窒素・透明パウチよりも低かった。真空・透明パウチの場合、前述の脂質残存率の場合と同様の理由により、EPA および DHA が流出しやすくなると考えられる。

加工前後における魚肉の Na 残存率は、窒素・透明パウチ > 真空・透明パウチ > 真空・缶詰の順で高かった。調理における食材への食塩 (NaCl) などの調味料の拡散速度は、Fick の法則に基づくモデル¹³³⁾により、温度が高いほど大きいと説明されている。畑江ら¹³⁴⁾は、ジャガイモ、ダイコン、コンニャクにおいて、保温温度を変えることにより温度降下速度を変えて NaCl が食材に拡散する速度を比較したところ、高温で長時間保温することで食材の NaCl 含有率が高くなると報告している。本研究では、包装条件により魚肉の Na 含有率に違いが生じる理由として、殺菌時の魚肉および調味液の昇温・保温・冷却における温度履歴が包装条件により異なり、調味液中の Na が魚肉内に拡散する速度に違いが生じるためと考えられる。

一方、魚肉の Mg 残存率は、Na 残存率の場合と異なり、包装条件の影響を受けず、全ての条件で減少した。本研究で使用した原料魚の魚肉の Mg 量 (平均値 ± 標準偏差) が 28.0 ± 3.0 mg/100 g であり、Na 量 (220.0 ± 41.0 mg/100 g) に比べて低く、また使用した調味液中の Mg 量も微量である (データは示さず)。Fig. 2-8 に示すように、Na の場合は魚肉中より調味液の方が高濃度なので調味液から魚肉へと拡散浸透するが、Mg の場合は調味液より魚肉中の方が高濃度なので調味液に拡散する。先に述べたように、殺菌工程における魚肉の圧縮によって水分が魚肉から調味液へと物理的に押し出されるので、水分と同方向に拡散する Mg は逆方向に拡散する Na より速やかに魚肉内外の濃度が平衡に達すると考えられる。よって、Mg は測定までに魚肉内外の濃度が平衡に達していたが Na は平衡に達していなかったため、Na の方が殺菌条件の影響が顕著に現れたと考えられる。

2. 原料魚が水産物レトルト食品の栄養成分に及ぼす影響

水産物レトルト食品の加工において、原料魚種によって Mg 以外の栄養成分の残存率が異なった。

加工前後における魚肉の重量変化率、水分残存率はマサバ > マイワシ > アイナメの順で、脂質残存率はマサバ > アイナメ > マイワシの順で高かった。一般的に、魚類では水分量と脂質量が逆相関的に変動することが知られている¹³⁵⁾。また、加熱調理後の魚肉の脂質と水分の流出率について、脂質量が少ない魚種では脂質より水分が多く、脂質量が多い魚種では水分より脂質が多いと、青木ら⁸⁸⁾は報告している。本研究で用いた加工前の魚肉の水分量 (平均値 ± 標準偏差) はアイナメ (76.2 ± 4.2 g/100 g) > マサバ (61.9 ± 4.0 g/100 g) > マイワシ (58.2 ± 2.7 g/100 g) の順で多く、脂質量 (平均値 ± 標準偏差) はマイワシ (21.8 ± 2.6 g/100 g) > マサバ (11.2 ± 4.0 g/100 g) > アイナメ (2.9 ± 0.7 g/100 g) の順で多かった。本研究では、マサバの魚肉において、水分量はマイワシより、脂質量はアイナメより多いにも関わらず、重量変化率、水分残存率、脂質残存率のいずれにおいても、これらの減少が最も少なかった。一般的に、魚肉の水分量および脂質量は、普通肉、血合肉、皮で異なり、普通肉で水分量が多く、血合肉および皮で脂質量が多い。マサバおよびマイワシについても同様であるが、マサバはマイワシよりも普通肉および血合肉における脂質量が多い¹³⁶⁾。本研究において、マサバの魚肉の重量変化率、水分残存率、脂質残存率が他の魚種よりも減少しなかったのは、その水分および脂質の分布が他の魚種と異なるため、魚肉から溶出する水分や脂質の量に違いが生じたからと考えられる。

加工前後における魚肉の EPA 残存率および DHA 残存率はマサバ > アイナメ > マイワシの順で高かった。前述の脂質残存率の場合と同様

の理由により、魚種により魚肉から溶出する EPA と DHA の量に違いが生じると考えられた。

加工前後における魚肉の Na 残存率はマサバ > マイワシ > アイナメの順で高かった。上柳¹³⁷⁾は、種々の魚種の魚肉への食塩の浸透について検討し、水分量が多く筋原繊維の太いものほど、食塩が浸透すると報告している。本研究においては、5%食塩水に浸漬した魚肉を加工前魚肉として使用した。それらの Na 量 (平均値 ± 標準偏差) はアイナメ (257 ± 15 mg/100 g) > マイワシ (232 ± 22 mg/100 g) > マサバ (171 ± 22 mg/100 g) の順で多かった。各原料魚の加工前魚肉の Na 量は、日本食品標準成分表⁹⁾の Na 量 (アイナメ: 150 mg/100 g; マイワシ: 81 mg/100 g; マサバ: 110 mg/100 g) より多く、その増加率はマイワシ > アイナメ > マサバで高かった。一方、加工後の魚肉の Na 量は、5%食塩水の場合でアイナメ (564 ± 7 mg/100 g) > マイワシ (554 ± 7 mg/100 g) > マサバ (516 ± 64 mg/100 g), 味噌調味液の場合でマイワシ (470 ± 12 mg/100 g) > アイナメ (465 ± 19 mg/100 g) > マサバ (380 ± 14 mg/100 g), サラダ油の場合でアイナメ (250 ± 14 mg/100 g) > マイワシ (233 ± 16 mg/100 g) > マサバ (163 ± 23 mg/100 g) の順で多かった。殺菌前の 5%食塩水への浸漬により、マイワシとアイナメの魚肉の Na 量はマサバより増加した。そのため、加工前の魚肉の Na 量が最も少ないマサバは、殺菌時に他の魚種よりも魚肉へ Na が拡散浸透したと考えられる。

一方、Mg 残存率は原料魚の影響を受けず、全ての水準で減少した。原料魚によらず魚肉の Mg 残存率が一様に減少した理由として、前述の包装条件の場合と同様に (Fig. 2-8), Mg は測定までに魚肉内外の濃度が平衡に達していたが Na は平衡に達していなかったため、Na の方が殺菌条件の影響が顕著に現れたと考えられる。

3. 調味液が水産物レトルト食品の栄養成分に及ぼす影響

水産物レトルト食品の加工において、調味液は脂質およびDHA以外の栄養成分の残存率に影響を及ぼした。

加工前後の魚肉の重量変化率は味噌調味液 > 5%食塩水 > サラダ油の順で、水分残存率は5%食塩水 > 味噌調味液 > サラダ油の順で高かった。星野は¹³⁸⁾馬肉において、各種調味液で煮た筋肉の組織学的変化を検討した。その結果、水で煮た場合、筋肉内の自由水が失われると共に、筋肉外部から筋繊維周囲に水が侵入して空隙が形成される。一方、サラダ油で煮た場合も筋肉内部にサラダ油が侵入するが、筋繊維周囲に空隙はほとんど形成されないと報告している。さらに星野¹³⁹⁾は、マサバにおいて、前述と同様に筋肉の組織学的変化について検討し、水で煮た場合の組織学的変化は馬肉の場合と同様であるが、サラダ油で煮た場合、筋繊維の崩壊が激しいと報告している。また、マサバは5%食塩水で煮た場合、水で煮た場合よりも筋繊維の崩壊が激しいと報告している。本研究では、調味液にサラダ油を使用した場合の魚肉の重量変化率および水分残存率は、5%食塩水または味噌調味液を使用した場合よりも低かった。この理由として、サラダ油を使用した場合、殺菌時に魚肉の筋繊維が崩壊することで、筋肉内の自由水は失われるが、外部から水の侵入がないため、他の場合よりも水分の減少に伴う重量変化が著しいと考えられる。

一方、脂質残存率は調味液の影響を受けなかった。本研究では、加工前後の魚肉の脂質残存率は、マサバおよびアイナメの場合、サラダ油 > 味噌調味液 > 5%食塩水の順で高かったが、マイワシの場合、5%食塩水 > 味噌調味液 > サラダ油の順で高かった (データは示さず)。一方、重量

変化率および水分残存率では、このような傾向は観察されなかった。本研究において、調味液が魚肉の脂質残存率に影響を及ぼさなかったのは、調味液と原料魚の間に交互作用があるためと考えられた。この理由として、原料魚による魚肉中の脂質の分布の違いや、表皮・真皮・皮下脂肪層の構造の違いによるものと考えられる。

加工前後の魚肉の EPA 残存率は味噌調味液 > 5%食塩水 > サラダ油の順で高かった。一方、魚肉の DHA 残存率には有意差が認められず、EPA 残存率と同様の傾向を示した。本研究では、加工前後の魚肉の EPA と DHA の残存率は、マサバおよびアイナメの場合、味噌調味液 > サラダ油 > 5%食塩水の順で高かったが、マイワシの場合、5%食塩水 > 味噌調味液 > サラダ油の順で高かった (データは示さず)。一方、加工前後の魚肉の脂質中の EPA と DHA の割合は調味液の影響を受け、サラダ油の場合でのみ減少し、アイナメ > マサバ > マイワシの順で高かった (データは示さず)。本研究において、5%食塩水および味噌調味液の場合、魚肉の EPA と DHA の減少は少なかったが、サラダ油の場合、マイワシの魚肉の EPA と DHA が顕著に減少した。この理由として、前述の脂質残存率における交互作用が生じた理由と同様に、魚肉中の脂質の分布の違いや、表皮・真皮・皮下脂肪層の構造の違いにより、マイワシの場合、サラダ油中で魚肉から EPA と DHA が溶出しやすいと考えられる。

加工前後の魚肉の Na 残存率は 5%食塩水 > 味噌調味液 > サラダ油の順で高かった。魚肉内への食塩の拡散・浸透は、食塩の添加量が多いほど、浸透速度が速く、浸透量も多い¹⁴⁰⁾。本研究で使用した調味液に含まれる食塩は、5%食塩水 > 味噌調味液の順で多く、サラダ油には含まれていない。このため、Na は 5%食塩水および味噌調味液では魚肉中より高濃度なので調味液から魚肉へ拡散浸透し、サラダ油では魚肉中よ

り低濃度なので魚肉から調味液へ拡散浸透したと考えられる (Fig. 2-8)。

一方、Mg 残存率は全ての水準で減少し、サラダ油 > 味噌調味液 > 5%食塩水の順で高かった。魚肉に含まれる Mg は、魚肉を素焼きした場合よりも、水で煮た場合に著しく損失すると、鈴木ら¹⁴¹⁾は報告している。本研究において、味噌調味液および 5%食塩水の場合、Mg は調味液より魚肉中の方が高濃度なので調味液に拡散すると考えられる (Fig. 2-8)。しかし、サラダ油の場合、その極性が他の調味液に比べて低いいため Mg の拡散速度が遅く、Mg は測定までに魚肉内外で平衡に達しなかったと考えられる (Fig. 2-8)。

以上より、水産物レトルト食品における魚肉の一般成分、脂肪酸およびミネラルを保持するには原材料、調味液、加熱温度の制御が重要であることが明らかになった。従来 of 要因配置実験で本章の実験の試験区を設定した場合、その組み合わせ数は 27 であり、実験を 3 回反復すると、実験回数は 81 となる。一方、部分配置実験の場合、試験区の組み合わせ数は 9 であり、実験を 3 回反復すると、実験回数は 27 となる。直交表による実験計画法を用いることで、水産物レトルト食品の加工工程における諸要因が魚肉の各種成分に影響することを、従来法に比べて 3 分の 1 の実験回数で定量的に数値として把握することができた。

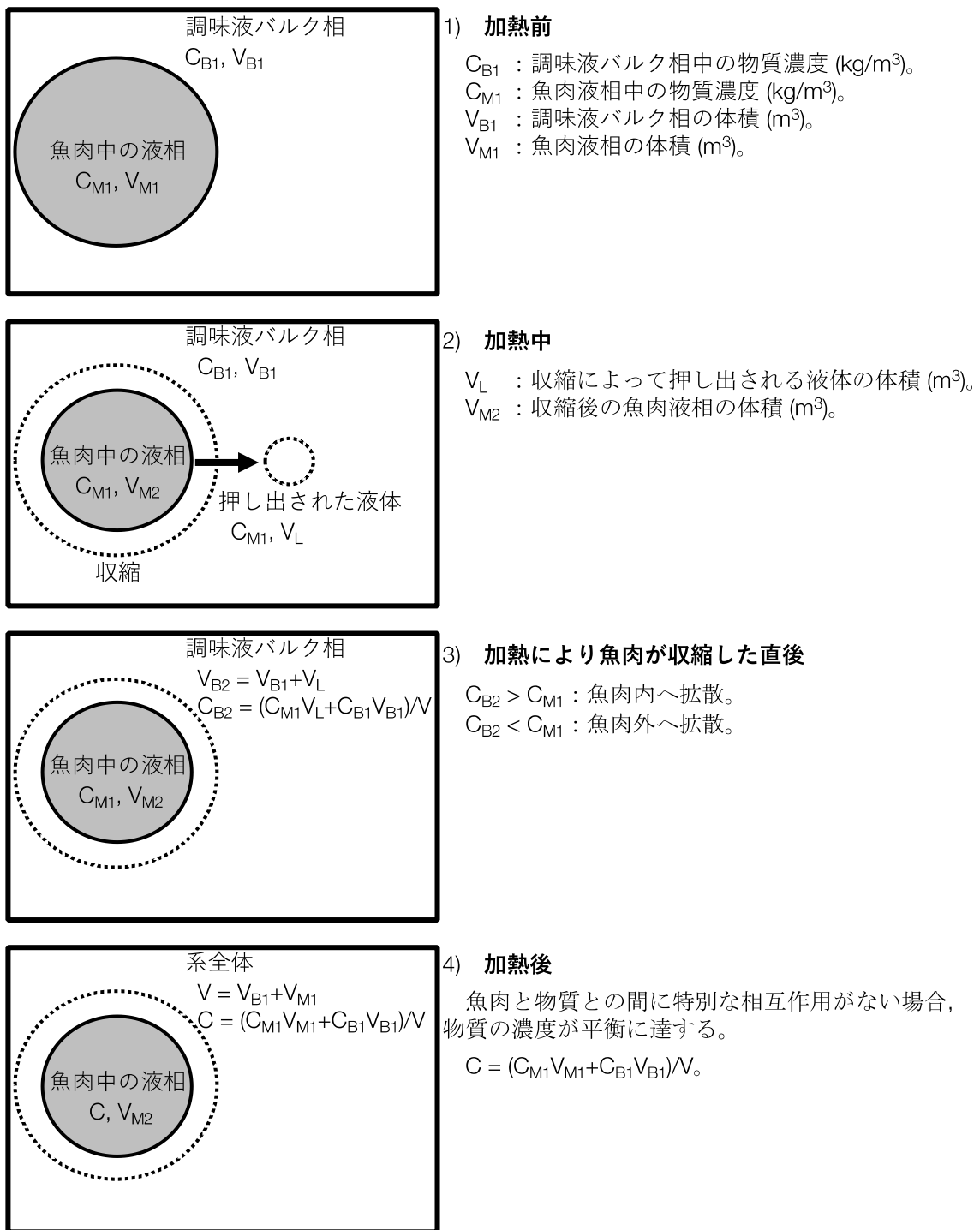


Fig. 2-8 加工前後における水産物レトルト食品中の物質移動

第 3 章 海藻レトルト食品の栄養成分および抗酸化力に及ぼす加工工程の影響

目 的

第 2 章において、加工工程における諸要因が水産物レトルト食品の栄養成分に影響することを、直交表を用いた実験計画法により、従来の総当たりで行う試験に比べて少ない回数で定量的に数値化することができた。

青森県において、スルメイカやサケ等の主要水産物の漁獲量が減少傾向であり¹⁴²⁾、漁業者の収入が安定しないことが問題となっている。そこで、同県では低利用海藻であるダルスおよびマツモに着目し、これらの栄養成分および機能性成分の分析を行うことで、新たな特産物としての価値を付加して漁業者の所得安定を目指す「下北地域魅力ある漁業づくり推進事業 (2016 年-2017 年)」を実施した。この事業の成果として、宮部ら¹⁴³⁾は青森県産のダルスおよびマツモの一般成分および抗酸化力について報告した。

海藻の調理・加工品について、乾燥品や佃煮などの代表的なものを中心に栄養成分や機能性成分の分析が行われてきた^{7, 39, 144)}。しかし、海藻レトルト食品について、加工による栄養成分および健康機能に対する影響に関する報告は少ない¹⁴⁵⁾。そこで本章では、直交表を用いた実験計画法により、北海道産ダルスおよび岩手県産マツモのレトルト食品について、加工前後の一般成分、脂肪酸、ミネラル、抗酸化力を分析し、それらの栄養成分および健康機能に及ぼす加工工程要因の影響の解明を試みた。

実験方法

1. 原材料

ダルスは2021年2月に北海道函館市で水揚げ後に冷凍されたものを使用した。マツモは2021年4月に青森県八戸市内の鮮魚店から、岩手県で水揚げ後に冷凍されたものを購入して使用した。原材料は入手後、加工処理まで -30°C で保存した。

2. 調味液および試薬

海藻レトルト食品に充填する調味液は、第2章を参考に、5%食塩水およびサラダ油を使用した。5%食塩水は第2章、実験方法2と同様に調製し、サラダ油は市販品（大豆油たっぷりサラダ油, J-オイルミルズ, 東京）を使用した。一般分析試薬類は、特級または分析グレードの試薬を使用した。なお、内部標準物質のトリコサン酸, EPA標準品はナカライテスク製（京都）を, NaとKの標準液および Trolox は富士フイルム和光純薬製（大阪）を用いた。

3. 海藻レトルト食品の製造

各種海藻レトルト食品を、直交表による実験計画に従って製造した。原材料を水道水中で解凍・洗浄した後、二槽式洗濯機（JW-W40E, ハイアールジャパンセールス, 大阪）の脱水槽を使用して5分間遠心脱水を行った。脱水した原材料 50.0 g および調味液 10.0 g を, 内容量 200 mL（幅 130 mm×高さ 180 mm×フィルム厚 0.096 mm）のアルミパウチ（NACF-SW1318, カウパック, 愛知）に充填して小型真空ガス包装機（FVCII-G, 古川製作所, 広島）で窒素充填包装または真空包装した。こ

れを高温高圧調理殺菌装置 Flavor Ace シャワー式 (RCS-40SPXTG-FAM, 日阪製作所, 大阪) により, 115°Cまたは 120°Cで, 30 分間または 60 分間加熱した。製造した海藻レトルト食品を 90 日間, 恒温恒湿器 (PR-2J, ESPEC, 大阪) に 25°Cで保存した後, 藻体をザルに取り出して調味液を除去し, 加工後の藻体として各種測定に供した。脱水後の藻体は, 加工前の藻体として各種測定に供するまで-30°Cで冷凍保存し, 測定前に冷凍状態で 1-3 mm 角に細切りした後, 解凍して使用した。なお, 反復実験 (データは示さず) および先行研究^{146, 147)}の結果から, 藻体の再凍結は本研究の分析結果に影響を与えないと示されている。

4. 直交表による実験計画

本研究では, 海藻レトルト食品の原材料, 包装条件, 調味液, 加熱温度, 加熱時間が実験結果に影響を与える要因と仮定した。これらの要因および水準は, 第2章で得られた結果をもとに, 加工後の藻体の各種成分および抗酸化力に影響を及ぼすと考えられるものを選択した (Table 3-1)。要因, 交互作用および誤差要因を Table 2 のように $L_8(2^7)$ 型直交表¹²⁹⁾に割付けた。Table 3-2 の交互作用および誤差要因を除く各要因を割付けた列の水準数を, Table 3-3 のように水準名に置換し, 各行を試験区 (8 試験区) とした。各試験区の実験は完全無作為化法に従って 3 回反復した。各実験 (24 実験) に対し, 第2章, 実験方法 4 と同様に乱数を割当てた後, 乱数の昇順で実験を行った。

5. 一般成分 (水分, 脂質, 灰分, タンパク質, 炭水化物) の定量

加工前後の藻体の一般成分は日本食品標準成分表 2015 年版 (七訂) 分析マニュアル・解説⁹⁵⁾ に準じて測定した。水分は常圧加熱乾燥法に

より測定した。脂質は酸分解法により測定した。灰分は直接灰化法により測定した。タンパク質はケルダール法により測定した。炭水化物は差引き法により算出した。成分値は可食部 100.0 g 当たりの値とし、単位は g として小数第 1 位まで表示した。

6. 脂肪酸 (EPA) の定量

加工前後の藻体の EPA 量は、上記で抽出した脂質に内部標準物質を加えて 2 mol/L 水酸化ナトリウム-メタノールでケン化後、得られた脂肪酸を三ふっ化ほう素メタノール試薬でメチルエステル化したものを分析試料とした。分析は次の条件で行った。

ガスクロマトグラフ装置：SHIMADZU (京都), GC-2014, カラム：Omegawax 250 (30 m×0.25 mm×0.25 μm, Supelco, Bellefonte, Pennsylvania, USA), 分析条件：注入口温度 250°C, FID 検出器温度 260°C, キャリヤーガス：He, カラム温度：50°C で 2 分間保持後、4°C/分で 220°C まで昇温、15 分間保持。

内部標準物質にはトリコサン酸を用いた。EPA 標準品を脂質と同様に処理して測定し、得られた検量線を用いて内部標準法により各脂肪酸量を定量した。成分値は可食部 100.0 g 当たりの値とし、単位は mg として小数第 1 位まで表示した。

7. ミネラル (Na, K) の定量

加工前後の藻体の Na 量および K 量は、希酸抽出法⁹⁵⁾で抽出したミネラルを原子吸光分析装置 (PinAAcle 900F, パーキンエルマージャパン, 千葉) に供して測定した。定量は, Na と K の 1000 ppm 標準液を 1%塩酸で適宜, 希釈し, 作成した検量線より算出した。成分値は可食部 100.0 g

当たりの値とし、単位は mg として小数第 d1 位まで表示した。

8. 抗酸化力 (DPPH ラジカル消去活性) の測定

加工前後の藻体の DPPH ラジカル消去活性の評価は、藻体 2.0 g に 80%エタノールを 20 mL 加えてポリトロンホモジナイザー (PT2500E, KINEMATICA, Switzerland) により摩砕し、均一な液を調製した。遠心分離 (4°C, 3000 rpm, 15 分間) 後、得られた上清を測定溶液とした。測定は、沖の試験管を用いた評価法¹⁴⁸⁾により測定した。測定溶液の添加量を変化させて得られた吸光度の値から作成した回帰直線の傾きを、Trolox の添加量を変化させて前述と同様に得られた回帰直線の傾きで除し、原液 1 L あたりの DPPH ラジカル消去活性 ($\mu\text{mol-Trolox}$ 当量/L) を求めた。得られた値を可食部 100.0 g あたりの DPPH ラジカル消去活性 (mg-Trolox 当量/100.0 g) に換算して小数第 1 位まで表示した。

9. 重量変化率

藻体の重量変化率は次式により算出した。

$$\text{重量変化率 (\%)} = A/B \times 100$$

A: 加工後の藻体重量 (g)

B: 容器充填時の藻体重量 (g)

10. 統計解析

統計解析は第 2 章、実験方法 10 と同様に行った。

Table 3-1 実験計画における要因と水準

記号	要因	水準1	水準2
A	原材料	ダルス	マツモ
B	包装条件	真空包装	窒素充填包装
C	調味液	5%食塩水	サラダ油
D	加熱温度	115°C	120°C
E	加熱時間	30分間	60分間

Table 3-2 実験計画における要因の $L_8 (2^7)$ 型直交表への割付

列 No. 行 No.	1	2	3	4	5	6	7
1	1	1	1	1	1	1	1
2	1	1	1	2	2	2	2
3	1	2	2	1	1	2	2
4	1	2	2	2	2	1	1
5	2	1	2	1	2	1	2
6	2	1	2	2	1	2	1
7	2	2	1	1	2	2	1
8	2	2	1	2	1	1	2
実験計画の要因	A	B	AxB	C	D	E	e'

A-E, Table 2-1で示した要因；AxB, AとBの交互作用；e', 誤差要因。

Table 3-3 L₈ (2⁷) 型直交表から作成した実験計画

行 No.	要因と水準				
	原材料	包装条件	調味液	加熱温度	加熱時間
1	ダルス	真空包装	5%食塩水	115°C	30分間
2	ダルス	真空包装	サラダ油	120°C	60分間
3	ダルス	窒素充填包装	5%食塩水	115°C	60分間
4	ダルス	窒素充填包装	サラダ油	120°C	30分間
5	マツモ	真空包装	5%食塩水	120°C	30分間
6	マツモ	真空包装	サラダ油	115°C	60分間
7	マツモ	窒素充填包装	5%食塩水	120°C	60分間
8	マツモ	窒素充填包装	サラダ油	115°C	30分間

結 果

1. 重量変化率

海藻レトルト食品の加工工程における諸要因が加工前後の藻体の重量変化率に及ぼす影響を検討した。その結果, Table 3-4 に示すように, いずれの要因においても有意差は認められず, Fig. 3-1 に示すように, いずれの場合においても, 加工前後の藻体の重量変化率は 100%程度であった。

2. 一般成分量 (水分, 脂質, 灰分, タンパク質, 炭水化物)

加工前の原材料の一般成分量は, ダルス, マツモの順に, 可食部 100 g 当たり水分量は 88.6 g, 86.0 g, 脂質量は 0.1 g, 0.2 g, 灰分量は 0.7 g, 1.9 g, タンパク質量は 4.5 g, 3.7 g, 炭水化物量は 6.1 g, 8.3 g であった。

海藻レトルト食品の加工工程における諸要因が加工後の藻体の水分量に及ぼす影響を検討した。その結果, Table 3-5 に示すように, 原材料 ($p < 0.001$), 包装条件 ($p < 0.05$), 調味液 ($p < 0.001$), 加熱温度 ($p < 0.001$) および加熱時間 ($p < 0.05$) で有意差が認められ, 寄与率はそれぞれ 26.3%, 0.4%, 68.0%, 3.4% および 0.4% であった。有意差が認められた要因について, それらが藻体の水分量に及ぼす影響を Fig. 3-2 に示す。原材料がダルスの場合の水分量は, マツモの場合に比べて高かった。包装条件が真空包装の場合の水分量は, 窒素充填包装の場合に比べて高かった。調味液が 5%食塩水の場合の水分量は, サラダ油の場合に比べて高かった。加熱温度が 120°C の場合の水分量は, 115°C の場合に比べて高かった。加熱時間が 60 分間の場合の水分量は, 30 分間の場合に比べて高かった。

海藻レトルト食品の加工工程における諸要因が加工後の藻体の脂質量に及ぼす影響を検討した。その結果, Table 3-6 に示すように, 原材料 ($p < 0.001$), 調味液 ($p < 0.001$) および加熱温度 ($p < 0.001$) で有意差が認められ, 寄与率はそれぞれ 3.0%, 88.8% および 3.1% であった。有意差が認められた要因について, それらが藻体の脂質量に及ぼす影響を Fig. 3-3 に示す。原材料がマツモの場合の脂質量は, ダルスの場合に比べて高かった。調味液がサラダ油の場合の脂質量は, 5%食塩水の場合に比べて高かった。加熱温度が 115°C の場合の脂質量は, 120°C の場合に比べて高かった。

海藻レトルト食品の加工工程における諸要因が加工後の藻体の灰分量に及ぼす影響を検討した。その結果, Table 3-7 に示すように, 原材料 ($p < 0.001$) および調味液 ($p < 0.001$) で有意差が認められ, 寄与率はそれぞれ 65.7% および 33.5% であった。有意差が認められた要因について, それらが藻体の灰分量に及ぼす影響を Fig. 3-4 に示す。原材料がマツモの場合の灰分量は, ダルスの場合に比べて高かった。調味液が 5%食塩水の場合の灰分量は, サラダ油の場合に比べて高かった。

海藻レトルト食品の加工工程における諸要因が加工後の藻体のタンパク質量に及ぼす影響を検討した。その結果, Table 3-8 に示すように, 加熱温度 ($p < 0.05$) で有意差が認められ, 寄与率は 21.6% であった。有意差が認められた要因について, それが藻体のタンパク質量に及ぼす影響を Fig. 3-5 に示す。加熱温度が 120°C の場合のタンパク質量は, 115°C の場合に比べて高かった。

海藻レトルト食品の加工工程における諸要因が加工後の藻体の炭水化物量に及ぼす影響を検討した。その結果, Table 3-9 に示すように, 原材料 ($p < 0.001$) および調味液 ($p < 0.05$) で有意差が認められ, 寄与率

はそれぞれ 64.8%および 5.9%であった。有意差が認められた要因について、それらが藻体の炭水化物量に及ぼす影響を Fig. 3-6 に示す。原材料がマツモの場合の炭水化物量は、ダルスの場合に比べて高かった。調味液がサラダ油の場合の炭水化物量は、5%食塩水の場合に比べて高かった。

3. 脂肪酸量 (EPA)

加工前の原材料の可食部 100 g 当たり EPA 量は、ダルス、マツモの順に、68.0 mg, 45.1 mg であった。

海藻レトルト食品の加工工程における諸要因が加工後の藻体の EPA 量に及ぼす影響を検討した。その結果、Table 3-10 に示すように、原材料 ($p < 0.001$)、調味液 ($p < 0.001$) および加熱温度 ($p < 0.001$) で有意差が認められ、寄与率はそれぞれ 68.0%、23.5%および 5.6%であった。有意差が認められた要因について、それらが藻体の EPA 量に及ぼす影響を Fig. 3-7 に示す。原材料がダルスの場合の EPA 量は、マツモの場合に比べて高かった。調味液がサラダ油の場合の EPA 量は、5%食塩水の場合に比べて高かった。加熱温度が 120°C の場合の EPA 量は、115°C の場合に比べて高かった。

4. ミネラル量 (Na, K)

加工前の原材料のミネラル量は、ダルス、マツモの順に、可食部 100 g 当たり Na 量は 5.1 mg, 197.4 mg, K 量は 27.4 mg, 216.1 mg であった。

海藻レトルト食品の加工工程における諸要因が加工後の藻体の Na 量に及ぼす影響を検討した。その結果、Table 3-11 に示すように、原材料 ($p < 0.001$)、調味液 ($p < 0.001$) および加熱温度 ($p < 0.05$) で有意差が認められ、寄与率はそれぞれ 19.4%、80.1%および 0.1%であった。有意差が

認められた要因について、それらが藻体の Na 量に及ぼす影響を Fig. 3-8 に示す。原材料がマツモの場合の Na 量は、ダルスの場合に比べて高かった。調味液が 5%食塩水の場合の Na 量は、サラダ油の場合に比べて高かった。加熱温度が 115°Cの場合の Na 量は、120°Cの場合に比べて高かった。

海藻レトルト食品の加工工程における諸要因が加工後の藻体の K 量に及ぼす影響を検討した。その結果、Table 3-12 に示すように、原材料 ($p < 0.001$) で有意差が認められ、寄与率は 97.9%であった。有意差が認められた要因について、それが藻体の K 量に及ぼす影響を Fig. 3-9 に示す。原材料がマツモの場合の K 量は、ダルスの場合に比べて高かった。

5. 抗酸化力 (DPPH ラジカル消去活性)

加工前の原材料の可食部 100 g 当たり DPPH ラジカル消去活性は、ダルス、マツモの順に、10.8 mg-Trolox 当量, 128.9 mg-Trolox 当量であった。

海藻レトルト食品の加工工程における諸要因が加工後の藻体の DPPH ラジカル消去活性に及ぼす影響を検討した。その結果、Table 3-12 に示すように、原材料 ($p < 0.001$) で有意差が認められ、寄与率は 97.8%であった。有意差が認められた要因について、それが藻体の DPPH ラジカル消去活性に及ぼす影響を Fig. 3-10 に示す。原材料がマツモの場合の DPPH ラジカル消去活性は、ダルスの場合に比べて高かった。

Table 3-4 重量変化率の分散分析表

要因	平方和	自由度	<i>p</i> 値	判定	寄与率 (%)
A 原材料 (n = 24)	83.0	1	0.284		1.1
B 包装条件 (n = 24)	3.8	1	0.816		< 0.1
C 調味液 (n = 24)	0.3	1	0.947		< 0.1
D 加熱温度 (n = 24)	2.7	1	0.845		< 0.1
E 加熱時間 (n = 24)	66.6	1	0.336		< 0.1
A×B	29.5	1	0.519		< 0.1
誤差	1153.1	17	0.469		98.9

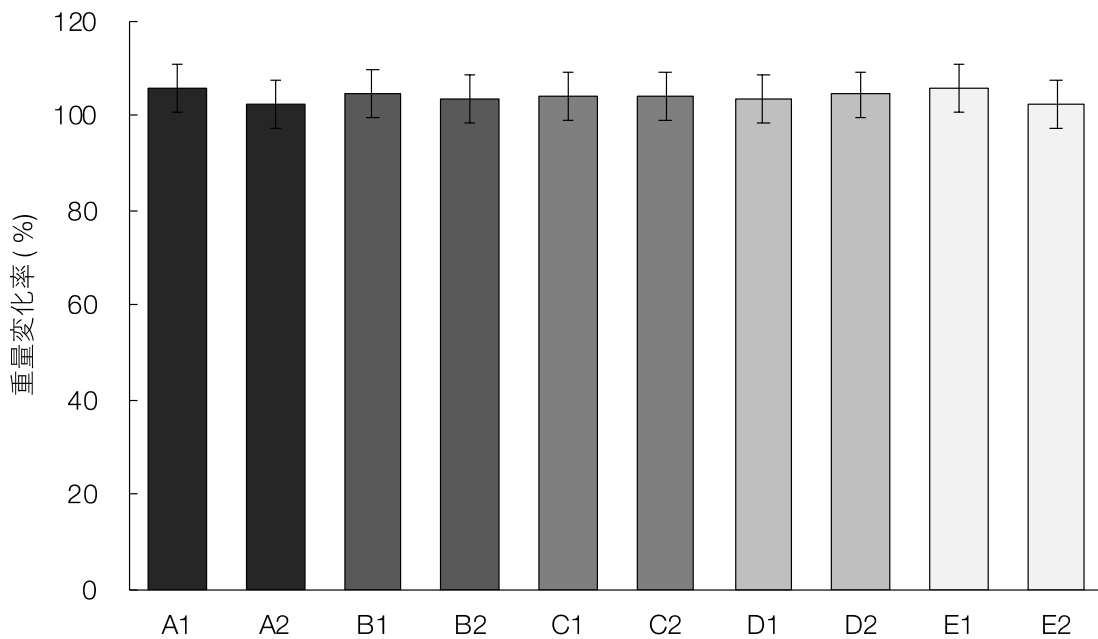


Fig. 3-1 重量変化率における要因効果図

■, 原材料 (A1, ダルス; A2, マツモ); ■, 包装条件 (B1, 真空包装; B2, 窒素充填包装); ■, 調味液 (C1, 5%食塩水; C2, サラダ油); ■, 加熱温度 (D1, 115°C; D2, 120°C); □, 加熱時間 (E1, 30分間; E2, 60分間)。

エラーバーは平均値 ± 95%信頼区間を示す (n = 24)。

Table 3-5 水分量の分散分析表

要因	平方和	自由度	p 値	判定	寄与率 (%)
A 原材料 (n = 24)	187.0	1	< 0.001	***	26.3
B 包装条件 (n = 24)	3.6	1	0.013	*	0.4
C 調味液 (n = 24)	482.9	1	< 0.001	***	68.0
D 加熱温度 (n = 24)	24.6	1	< 0.001	***	3.4
E 加熱時間 (n = 24)	3.3	1	0.016	*	0.4
A×B	0.3	1	0.432		< 0.1
誤差	7.9	17	0.366		1.5

*, $p < 0.05$; ***, $p < 0.001$ 。

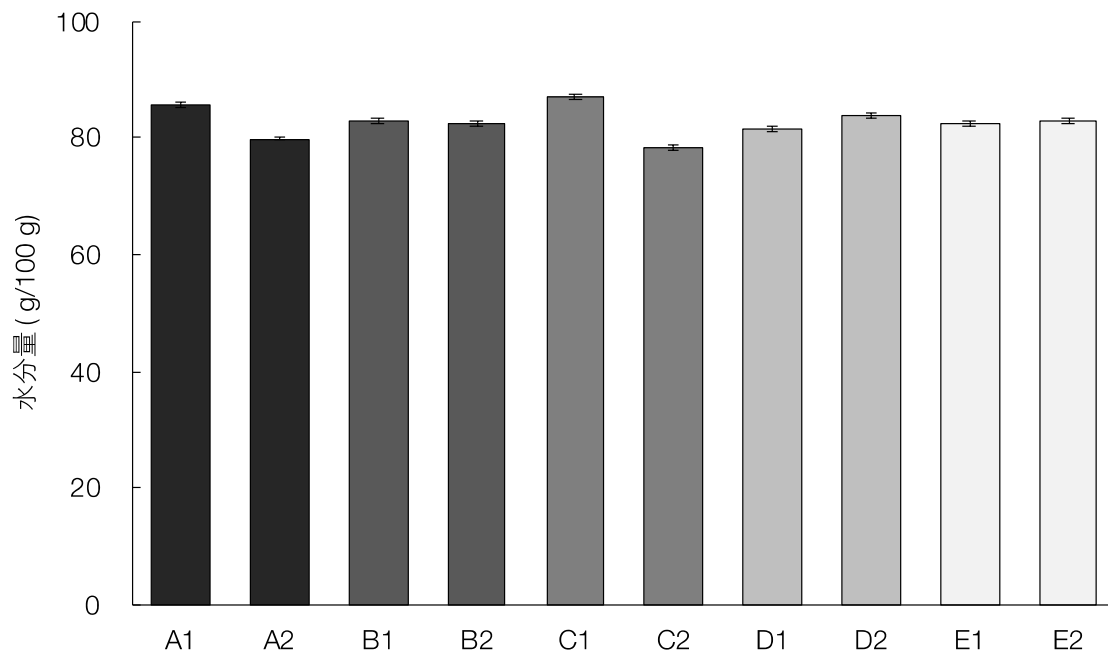


Fig. 3-2 水分量における要因効果図

■, 原材料 (A1, ダルス; A2, マツモ); ■, 包装条件 (B1, 真空包装; B2, 窒素充填包装); ■, 調味液 (C1, 5%食塩水; C2, サラダ油); ■, 加熱温度 (D1, 115°C; D2, 120°C); □, 加熱時間 (E1, 30分間; E2, 60分間)。

エラーバーは平均値 ± 95%信頼区間を示す (n = 24)。

Table 3-6 脂質量の分散分析表

要因	平方和	自由度	p 値	判定	寄与率 (%)
A 原材料 (n = 24)	17.0	1	< 0.001	***	3.0
B 包装条件 (n = 24)	1.6	1	0.243		0.1
C 調味液 (n = 24)	469.5	1	< 0.001	***	88.8
D 加熱温度 (n = 24)	17.2	1	< 0.001	***	3.1
E 加熱時間 (n = 24)	1.8	1	0.209		0.1
A×B	2.4	1	0.148		0.3
誤差	18.1	17	0.114		4.6

***, $p < 0.001$ 。

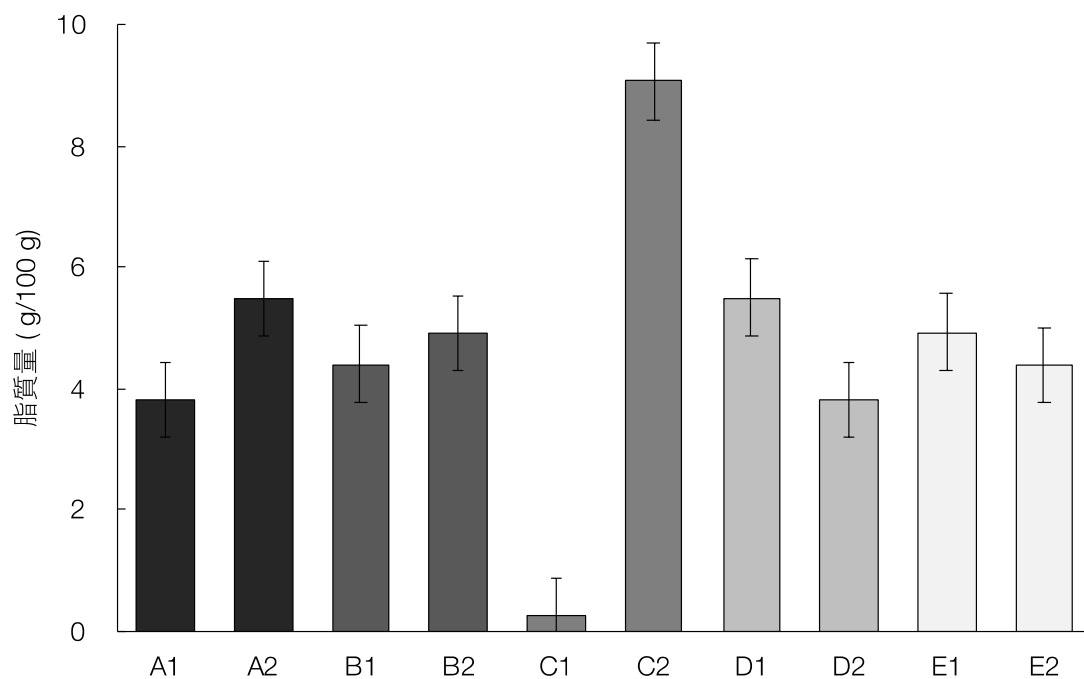


Fig. 3-3 脂質量における要因効果図

■, 原材料 (A1, ダルス; A2, マツモ); ■, 包装条件 (B1, 真空包装; B2, 窒素充填包装); ■, 調味液 (C1, 5%食塩水; C2, サラダ油); ■, 加熱温度 (D1, 115°C; D2, 120°C); □, 加熱時間 (E1, 30分間; E2, 60分間)。

エラーバーは平均値 ± 95%信頼区間を示す (n = 24)。

Table 3-7 灰分量の分散分析表

要因	平方和	自由度	p 値	判定	寄与率 (%)
A 原材料 (n = 24)	7.564	1	< 0.001	***	65.7
B 包装条件 (n = 24)	0.002	1	0.546		< 0.1
C 調味液 (n = 24)	3.855	1	< 0.001	***	33.5
D 加熱温度 (n = 24)	0.007	1	0.219		< 0.1
E 加熱時間 (n = 24)	< 0.001	1	0.735		< 0.1
A×B	0.002	1	0.493		< 0.1
誤差	0.072	17	0.847		0.8

***, $p < 0.001$ 。

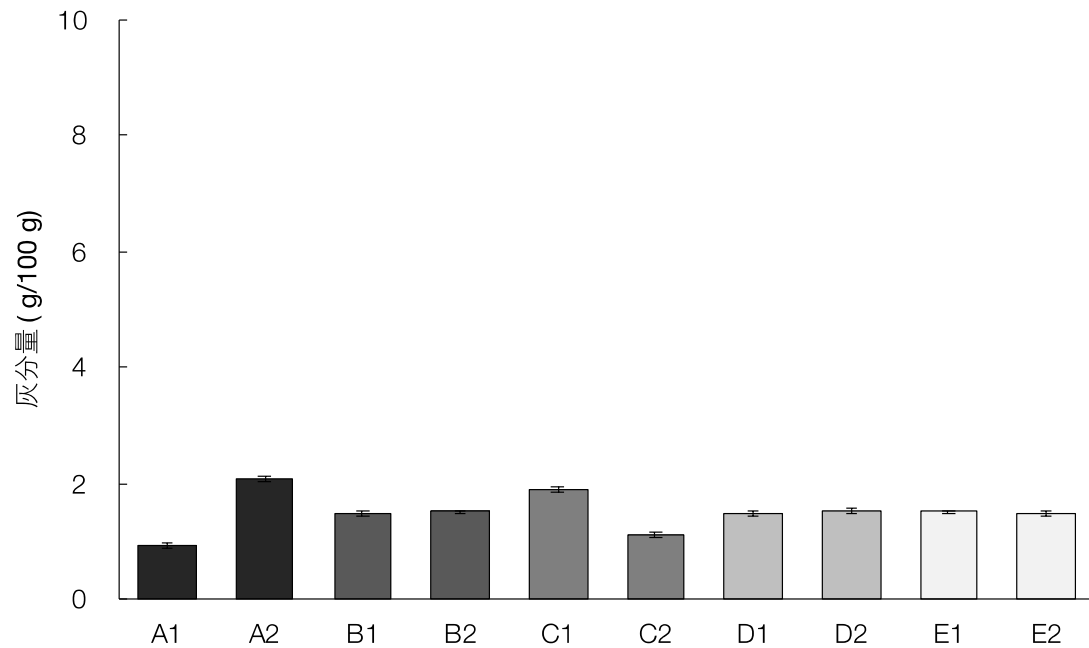


Fig. 3-4 灰分量における要因効果図

■, 原材料 (A1, ダルス; A2, マツモ); ■, 包装条件 (B1, 真空包装; B2, 窒素充填包装); ■, 調味液 (C1, 5%食塩水; C2, サラダ油); ■, 加熱温度 (D1, 115°C; D2, 120°C); □, 加熱時間 (E1, 30分間; E2, 60分間)。

エラーバーは平均値 ± 95%信頼区間を示す (n = 24)。

Table 3-8 タンパク質量の分散分析表

要因	平方和	自由度	p 値	判定	寄与率 (%)
A 原材料 (n = 24)	0.051	1	0.363		< 0.1
B 包装条件 (n = 24)	0.003	1	0.823		< 0.1
C 調味液 (n = 24)	0.003	1	0.838		< 0.1
D 加熱温度 (n = 24)	0.412	1	0.016	*	21.6
E 加熱時間 (n = 24)	0.171	1	0.104		6.9
AxB	0.006	1	0.756		< 0.1
誤差	0.989	17	0.096		71.4

*, $p < 0.05$ 。

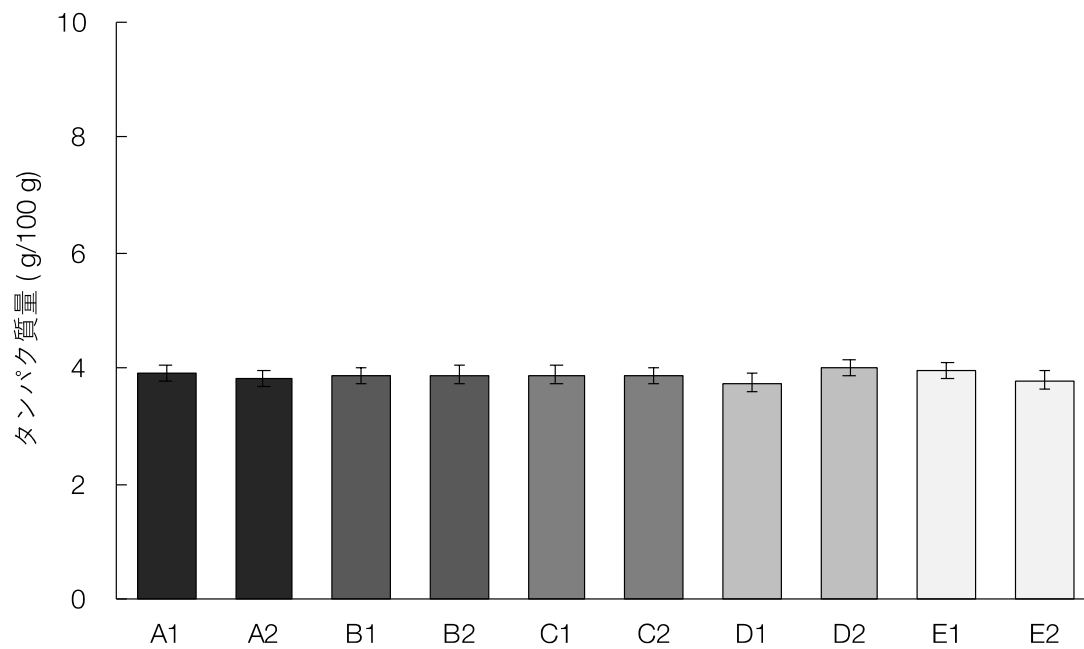


Fig. 3-5 タンパク質量における要因効果図

■, 原材料 (A1, ダルス ; A2, マツモ) ; ■, 包装条件 (B1, 真空包装 ; B2, 窒素充填包装) ; ■, 調味液 (C1, 5%食塩水 ; C2, サラダ油) ; ■, 加熱温度 (D1, 115°C ; D2, 120°C) ; □, 加熱時間 (E1, 30分間 ; E2, 60分間)。

エラーバーは平均値 ± 95%信頼区間を示す (n = 24)。

Table 3-9 炭水化物量の分散分析表

要因	平方和	自由度	p 値	判定	寄与率 (%)
A 原材料 (n = 24)	49.4	1	< 0.001	***	64.8
B 包装条件 (n = 24)	0.3	1	0.574		< 0.1
C 調味液 (n = 24)	5.4	1	0.029	*	5.9
D 加熱温度 (n = 24)	2.3	1	0.134		1.9
E 加熱時間 (n = 24)	< 0.1	1	0.967		< 0.1
A×B	1.3	1	0.258		0.5
誤差	16.0	17	0.157		26.9

*, $p < 0.05$; ***, $p < 0.001$ 。

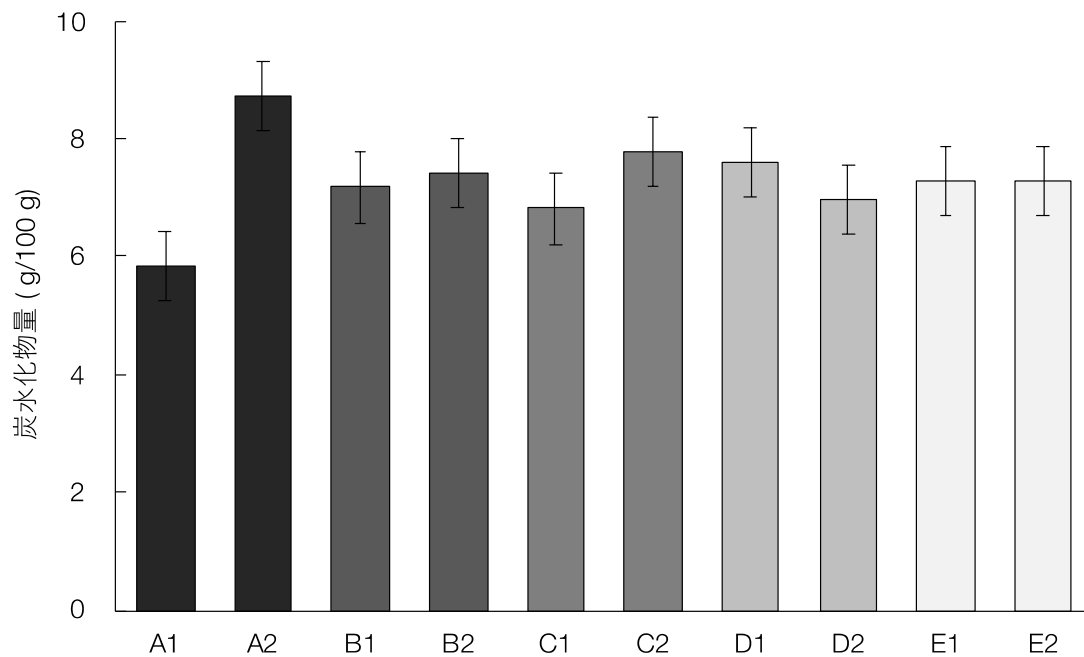


Fig. 3-6 炭水化物量における要因効果図

■, 原材料 (A1, ダルス; A2, マツモ); ■, 包装条件 (B1, 真空包装; B2, 窒素充填包装); ■, 調味液 (C1, 5%食塩水; C2, サラダ油); ■, 加熱温度 (D1, 115°C; D2, 120°C); □, 加熱時間 (E1, 30分間; E2, 60分間)。

エラーバーは平均値 ± 95%信頼区間を示す (n = 24)。

Table 3-10 EPA量の分散分析表

要因	平方和	自由度	p 値	判定	寄与率 (%)
A 原材料 (n = 24)	69,011	1	< 0.001	***	68.0
B 包装条件 (n = 24)	45	1	0.560		< 0.1
C 調味液 (n = 24)	23,936	1	< 0.001	***	23.5
D 加熱温度 (n = 24)	5750	1	< 0.001	***	5.6
E 加熱時間 (n = 24)	197	1	0.232		0.1
A×B	155	1	0.287		< 0.1
誤差	2184	17	0.516		2.8

***, $p < 0.001$ 。

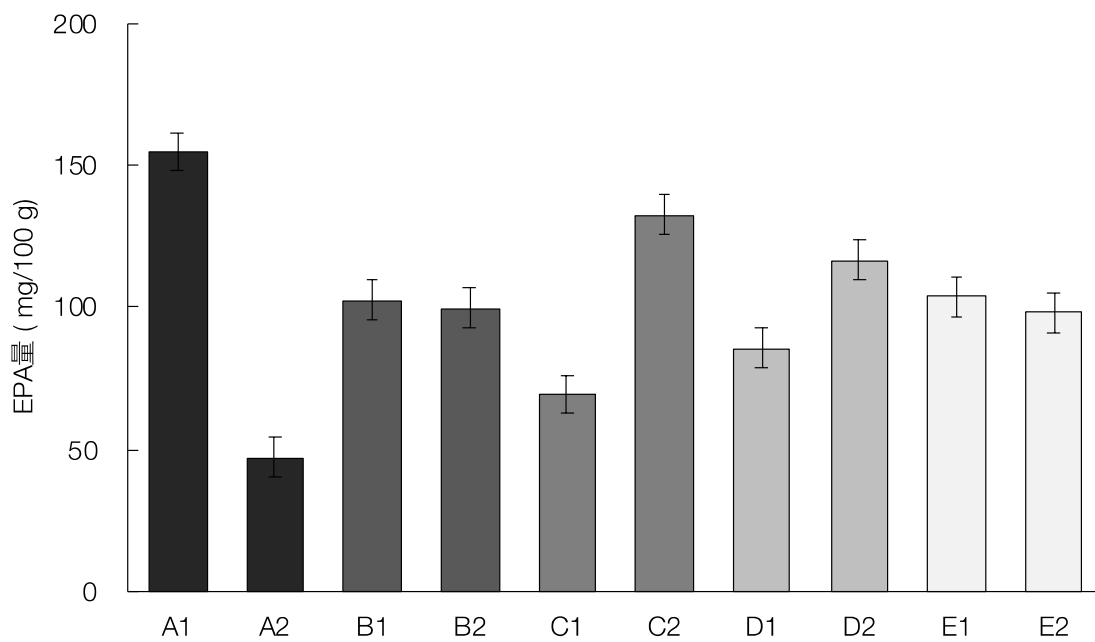


Fig. 3-7 EPA量における要因効果図

■, 原材料 (A1, ダルス; A2, マツモ); ■, 包装条件 (B1, 真空包装; B2, 窒素充填包装); ■, 調味液 (C1, 5%食塩水; C2, サラダ油); ■, 加熱温度 (D1, 115°C; D2, 120°C); □, 加熱時間 (E1, 30分間; E2, 60分間)。

エラーバーは平均値 ± 95%信頼区間を示す (n = 24)。

Table 3-11 Na量の分散分析表

要因	平方和	自由度	p 値	判定	寄与率 (%)
A 原材料 (n = 24)	145,907	1	< 0.001	***	19.4
B 包装条件 (n = 24)	254	1	0.167		< 0.1
C 調味液 (n = 24)	603,156	1	< 0.001	***	80.1
D 加熱温度 (n = 24)	667	1	0.032	*	0.1
E 加熱時間 (n = 24)	94	1	0.392		< 0.1
A×B	235	1	0.183		< 0.1
誤差	2070	17	0.366		1.5

*, $p < 0.05$; ***, $p < 0.001$ 。

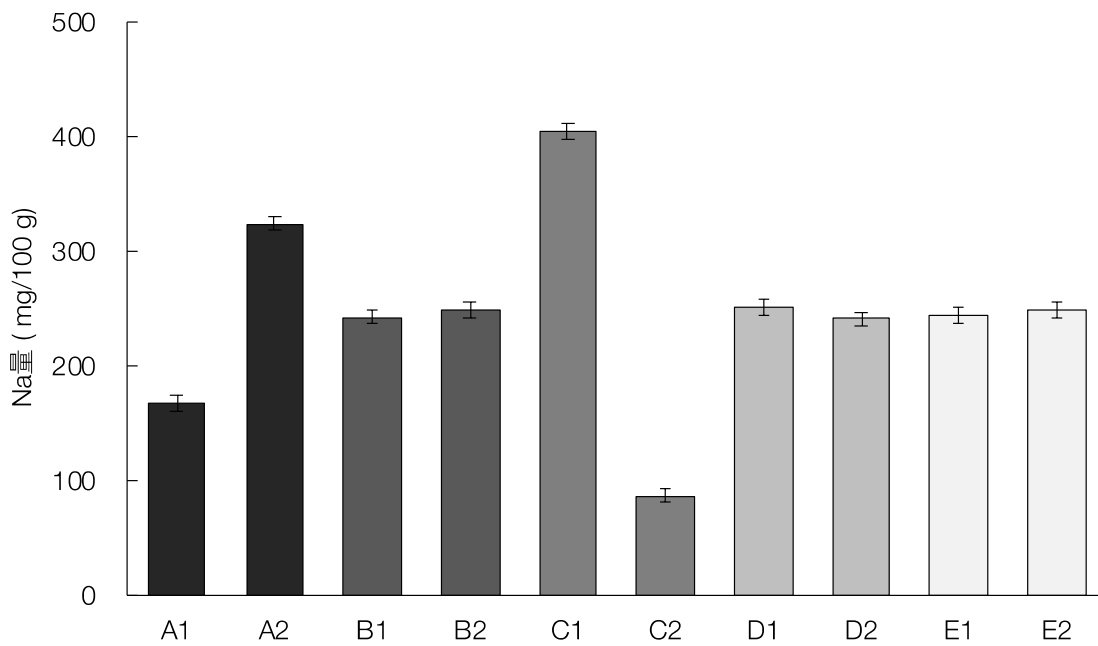


Fig. 3-8 Na量における要因効果図

■, 原材料 (A1, ダルス; A2, マツモ); ■, 包装条件 (B1, 真空包装; B2, 窒素充填包装); ■, 調味液 (C1, 5%食塩水; C2, サラダ油); ■, 加熱温度 (D1, 115°C; D2, 120°C); □, 加熱時間 (E1, 30分間; E2, 60分間)。

エラーバーは平均値 ± 95%信頼区間を示す (n = 24)。

Table 3-12 K量の分散分析表

要因	平方和	自由度	p 値	判定	寄与率 (%)
A 原材料 (n = 24)	153,984	1	< 0.001	***	97.9
B 包装条件 (n = 24)	97	1	0.407		< 0.1
C 調味液 (n = 24)	493	1	0.072		0.2
D 加熱温度 (n = 24)	295	1	0.156		0.1
E 加熱時間 (n = 24)	1	1	0.922		< 0.1
A×B	79	1	0.452		< 0.1
誤差	2273	17	0.535		1.8

***, $p < 0.001$ 。

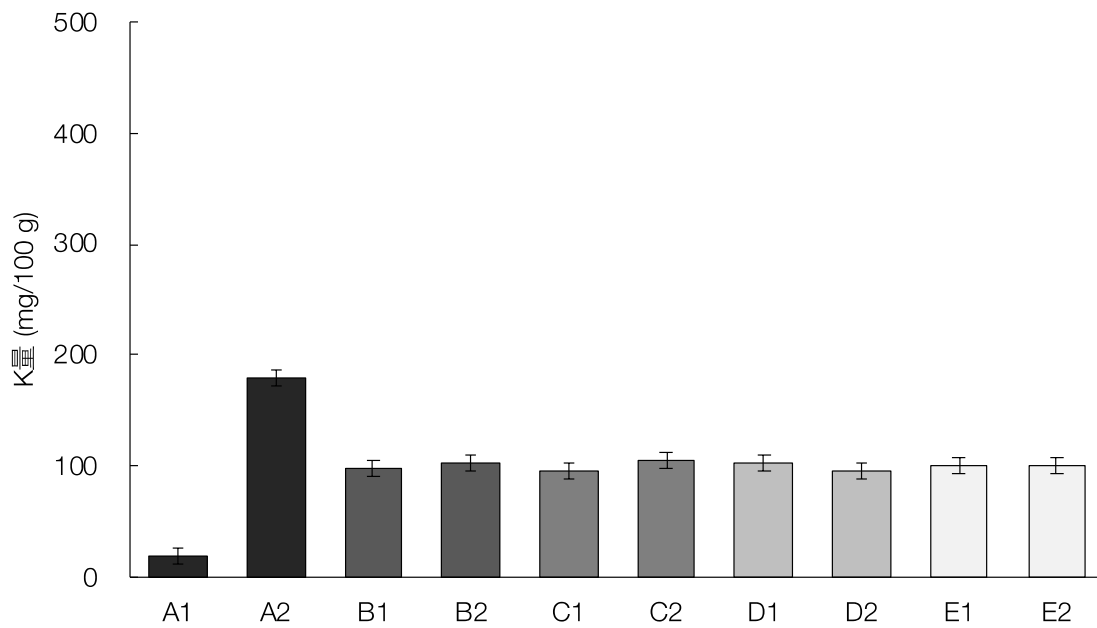


Fig. 3-9 K量における要因効果図

■, 原材料 (A1, ダルス; A2, マツモ); ■, 包装条件 (B1, 真空包装; B2, 窒素充填包装); ■, 調味液 (C1, 5%食塩水; C2, サラダ油); ■, 加熱温度 (D1, 115°C; D2, 120°C); □, 加熱時間 (E1, 30分間; E2, 60分間)。

エラーバーは平均値 ± 95%信頼区間を示す (n = 24)。

Table 3-12 DPPHラジカル消去活性の分散分析表

要因	平方和	自由度	p 値	判定	寄与率 (%)
A 原材料 (n = 24)	8921	1	< 0.001	***	97.8
B 包装条件 (n = 24)	4	1	0.571		< 0.1
C 調味液 (n = 24)	1	1	0.781		< 0.1
D 加熱温度 (n = 24)	1	1	0.734		< 0.1
E 加熱時間 (n = 24)	2	1	0.672		< 0.1
AxB	4	1	0.540		< 0.1
誤差	181	17	0.611		2.2

***, $p < 0.001$ 。

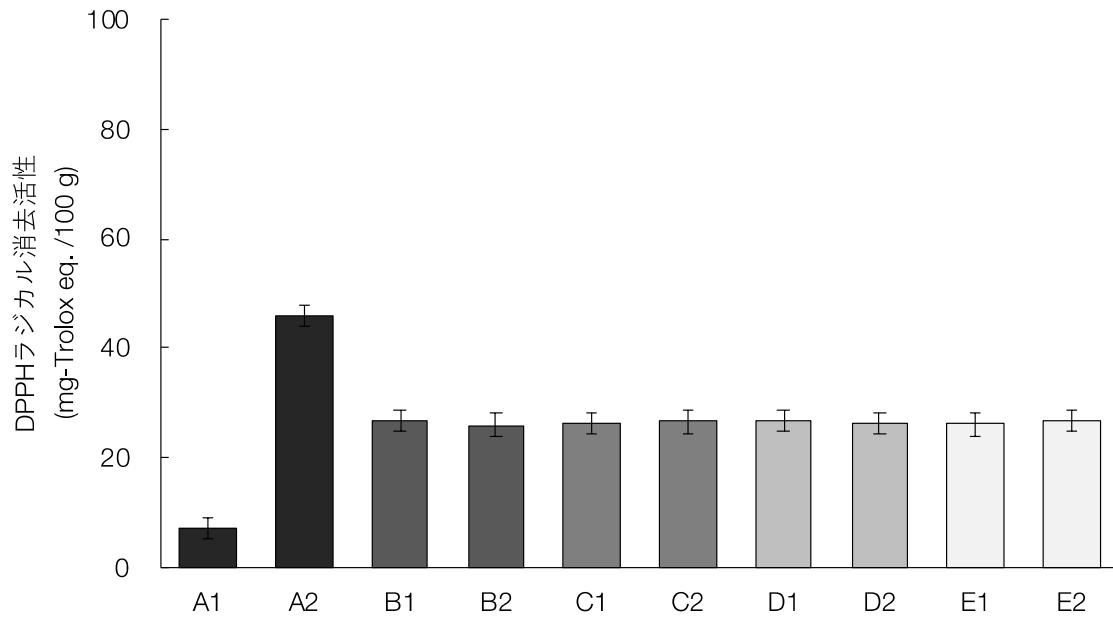


Fig. 3-10 ラジカルDPPH消去活性における要因効果図

■, 原材料 (A1, ダルス; A2, マツモ); ■, 包装条件 (B1, 真空包装; B2, 窒素充填包装); ■, 調味液 (C1, 5%食塩水; C2, サラダ油); ■, 加熱温度 (D1, 115°C; D2, 120°C); □, 加熱時間 (E1, 30分間; E2, 60分間)。

エラーバーは平均値 ± 95%信頼区間を示す (n = 24)。

小考察

1. 原材料が海藻レトルト食品の栄養成分および抗酸化力に及ぼす影響

海藻レトルト食品の加工において、原材料は藻体のタンパク質量以外の栄養成分量と抗酸化力に影響を及ぼし、加工後の藻体の水分量、EPA量はマツモよりダルスで、脂質量、灰分量、炭水化物量、Na量、K量、DPPHラジカル消去活性はダルスよりマツモで高かった。

青木ら⁸⁸⁾は、加熱調理後の魚肉の脂質と水分の流出率について、脂質量が少ない魚種では脂質より水分が多く、脂質量が多い魚種では水分より脂質が多いと報告している。一方、松本ら¹⁴⁶⁾は、イモ類と野菜の揚げ調理では、原材料の炭水化物の含有量と揚げ調理後の吸油量が反比例の関係であり、炭水化物の多いイモ類および野菜ほど、吸油量が少ないと報告している。しかし、本研究では原材料の炭水化物量はダルスよりマツモで多かったにも関わらず、加工前後の藻体の水分量はダルスよりもマツモで減少し、脂質量はダルスよりもマツモで増加した。理由として、ダルスの主要な炭水化物はキシラン、マツモの主要な炭水化物はフコイダンである^{143, 150)}。これらの水分の保持力の違いにより、加工時に藻体から調味液へ流出する水分および調味液から藻体へ流入する脂質の量に違いが生じるためと考えられる。

加工前後における原材料の灰分量、Na量およびK量は、ダルスよりマツモで多く、灰分量およびNa量は両海藻で加工後に増加し、K量は両海藻で加工後に減少したが、その増加率および減少率はマツモよりダルスで高かった。調理における食材への食塩(NaCl)などの調味料の拡散速度は、Fickの法則に基づくモデルにより、温度が高いほど大きい¹³³⁾と説明されている。畑江らは、ジャガイモ、ダイコン、コンニャクにお

いて、保温温度を変えることにより温度降下速度を変えてNaClが食材に拡散する速度を比較したところ、高温で長時間保温することで食材内のNaClが多くなると報告している¹³⁴⁾。第2章の魚肉の場合と同様に(Fig. 2-8), Naは藻体中より調味液(5%食塩水)の方が高濃度なので調味液(5%食塩水)から藻体へと拡散浸透するが、Kは調味液より藻体中の方が高濃度なので調味液に拡散する。本研究において、加工前のマツモのNa量はダルスより十分高く、調味液(5%食塩水)のNa量に近い値であることから、加熱後の藻体内外の平衡に達する濃度に差が生じたと考えられる。一方、加工前の藻体のK量についても、マツモはダルスより十分高いことから、加熱後の藻体内外の平衡に達する濃度に差が生じたと考えられる。

加工前後における原材料のEPAは、マツモよりダルスで多く、両海藻で加工後に増加したが、その増加率はマツモよりダルスで高かった。氏家ら¹⁵¹⁾は種々の藻類におけるトコフェロール定量時の抽出率について検討し、藻類の種類や加工法の違いでトコフェロールの抽出効率が異なると報告している。本研究では、ダルスとマツモで加工後の藻体のEPA量が見かけ上増加し、その程度に違いが生じたのは、加工前の藻体における分析時のEPA抽出率が加工後のものよりも低く、それらが藻体の組織の固さや成分組成に影響を受けるためと考えられる。

加工前後における原材料のDPPHラジカル消去活性は、ダルスよりマツモで高く、両海藻で加工後に減少したが、その減少率はマツモよりダルスで低かった。ダルスの抗酸化物質としてフィコビリリン⁵⁶⁾やマイコスポリン様アミノ酸⁵⁵⁾、マツモの抗酸化物質としてフロロタンニン類¹⁵²⁾が知られている。ダルスおよびマツモで加工後の藻体のDPPHラジカル消去活性が減少し、それらの減少率に差が生じたのは、加熱時の

抗酸化物質の熱安定性や調味液への溶出のしやすさの違いによるものと考えられる。

2. 包装条件が海藻レトルト食品の栄養成分および抗酸化力に及ぼす影響

海藻レトルト食品の加工において、包装条件は藻体の水分量のみに影響を及ぼし、水分は窒素充填包装より真空包装で高かった。

パウチ容器における真空包装の場合、使用するパウチ容器の柔軟性により、容器内の減圧空間を保持することができず、内外圧差に応じて容器が内容物に密着する¹³¹⁾。そのため、第2章の魚類を用いたレトルト食品の場合と同様、海藻レトルト食品においても、真空包装により加熱後の藻体の重量および水分量が減少すると推測された。しかし、本研究では真空包装による藻体の重量および水分量の減少は観察されなかった。これは、海藻に含有される炭水化物の水分を保持する力が、加熱後の藻体の水分に影響を与えることで、前述の推測とは異なる結果となったと考えられる。ただし、本研究では包装条件が加工後の藻体の水分量に及ぼす影響の寄与率が0.4%と、他の要因に比べて低いことから、本要因を水分量の制御要因とするのは困難であると考えられた。

3. 調味液が海藻レトルト食品の栄養成分および抗酸化力に及ぼす影響

海藻レトルト食品の加工において、調味液は藻体のタンパク質量およびK量以外の栄養成分量に影響を及ぼし、水分量、灰分量、Na量はサラダ油よりも5%食塩水で、脂質量、炭水化物量、EPA量は5%食塩水よりもサラダ油で高かった。

加工後の藻体の水分量は、5%食塩水で増加したが、サラダ油で減少した。脂質量は両調味液で増加したが、特にサラダ油で顕著に増加した。

一方、加工前後における藻体の重量変化率は、いずれの調味液の場合においても、同程度に増加した。これらの結果から、海藻レトルト食品を加熱することで、藻体の水分は藻体外へ流出するが、一方で調味液の水分または脂質が藻体内に流入するため、加工後の藻体の重量変化率が一様に増加したと考えられる。なお、5%食塩水で藻体の脂質量が増加したのは、加工により藻体の組織が軟化することで、分析時における脂質の抽出率が加工前に比べて向上したためと考えられる。加工後の藻体の炭水化物量は、サラダ油より5%食塩水で少なかった。これは原材料に用いた藻体の主要炭水化物である水溶性多糖類が5%食塩水に溶出しやすいためと考えられる。

加工後の藻体の灰分量およびNa量は、サラダ油より5%食塩水で多く、5%食塩水では加工後にいずれも増加したが、サラダ油ではいずれも減少した。この結果は、海藻レトルト食品の加熱により、5%食塩水の場合、調味液のNaが藻体へ十分に拡散するが、サラダ油の場合、藻体のNaが水分とともにドリップとして藻体外へ流出するためと考えられる。

加工後の藻体のEPA量は、5%食塩水よりサラダ油で多く、両調味液で加工前よりも増加した。その理由として、前述の5%食塩水で加工後の藻体の脂質量が増加したのと同様に、加工により藻体の組織が軟化することで、分析時のEPA抽出率が加工前に比べて向上したためと考えられる。

4. 加熱温度が海藻レトルト食品の栄養成分および抗酸化力に及ぼす影響

海藻レトルト食品の加工において、加熱温度は灰分量、炭水化物量、K量以外の栄養成分量に影響を及ぼし、水分量、タンパク質量、EPA量は115℃よりも120℃で、脂質量、Na量は120℃よりも115℃で高かった。

宮部らは¹⁵³⁾、水産物の缶詰・レトルト食品において、加熱温度は魚肉の重量変化率、脂質残存率、脂肪酸 (EPA, DHA) 残存率に影響を及ぼさないことを報告している。しかし、本研究では魚肉の場合と異なり、加熱温度は種々の栄養成分量に影響を与えた。さらに、水分量と脂質量が逆相関的に変動し、加熱温度が高いほど水分量が多く、脂質量が少なかった。海藻の主要な栄養成分は、魚類の場合と異なり炭水化物であることから、それらの結果に影響を与えたと考えられる。また、高温高压で加熱する食品について、タンパク質の溶出に関する報告は少なく、山本ら¹⁵⁴⁾は、鳥骨スープストックについて検討し、高温高压での加熱時間が長いほど、タンパク質が流出すると報告している。一方、本研究では加工温度が高温であるほどタンパク質の減少率が低いという結果となったが、この理由については不明である。

また、本研究では加熱温度が加工後の藻体の Na 量に及ぼす影響の寄与率が 0.1%と、他の要因に比べて低いことから、本要因を Na 量の制御要因とするのは困難であると考えられた。

加工後の藻体の EPA 量は、115°Cより 120°Cで多く、両加熱温度で増加した。西村ら¹⁵⁵⁾はニンジンのレトルト加工における菜種油へのβ-カロテンの溶出について検討し、加工温度が高いほど溶出率が高くなることを報告している。本研究においても、海藻レトルト食品の加熱温度が高いほど、EPA 量が加工前よりも増加した。これは、加熱温度が高くなるほど藻体の組織が軟化することで、分析時における EPA 抽出率が加工前に比べて向上したためと考えられる。

5. 加熱時間が海藻レトルト食品の栄養成分および抗酸化力に及ぼす影響

海藻レトルト食品の加工において、加熱時間は栄養成分の水分量のみ

に影響を及ぼし, 30 分間より 60 分間で高かった。本研究では加熱時間が加工後の藻体の水分量に及ぼす影響の寄与率が 0.4%と, 他の要因に比べて低いことから, 本要因を水分の制御要因とするのは困難であると考えられた。

総合考察

水産物は日本人の食生活の中で古くから主要な役割を果たし、調理法や加工法も多彩をきわめている。その中でも日本人と海藻の関係は深く、古来より 100 種余りの海藻を食生活の中に取り入れてきた⁷⁾。さらに、海藻には健康機能を有する成分が様々含まれており、これらを多く含有する未・低利用海藻の探索や研究・加工品開発が全国的に行われている。しかし、近年、海藻をはじめとする水産物の消費量は減少傾向にある⁶⁸⁾。農林水産省の調査⁷²⁾において、水産物は調理する際に手間がかかることから、消費者はその購入を控える傾向にあると示している。海藻は伝統的に乾物や塩蔵品として流通しているため、海藻を調理する際に水戻しや塩抜きなどを行う必要が生じる。このような理由から、海藻は調理工程が多い。そのため、消費者の海藻へのアクセスを改善するには、海藻を簡便に食することができ、かつその栄養成分や健康機能の損失を抑えた加工品の研究開発が必要である。水産物を簡便に食することができる加工品として、レトルト食品が注目を集めている⁷¹⁾。そこで本研究では、北日本地域に分布する低利用海藻の有効利用を目的として、ダルスおよびマツモの主要成分について分析を行い、これらのレトルト食品の栄養成分および健康機能に加工工程が及ぼす影響の解明を試みた。また、水産物のレトルト食品について、原材料の個体差が大きく、加工工程が多いことから、その栄養成分や健康機能に関する研究事例はほとんど見られない。そこで本研究では、前述の海藻レトルト食品の検討を行うため、加工工程の諸要因が水産物レトルト食品の栄養成分に及ぼす影響を定量的に数値化する評価法の確立を試みた。

第 1 章では、北海道産ダルスおよび青森県産マツモの主要成分の分

析を行い、それらの成分特性を把握した。まず、北海道産ダルスの主要成分はフィコビリタンパク質の PE であり、その含有量は市販のアマノリ属よりも少ないが、他の北海道産の紅藻類よりも多いことを示した。そして、北海道産ダルスの葉緑体 DNA の全塩基配列を決定することで、PE 遺伝子の塩基配列および演繹アミノ酸配列を明らかにした。この演繹アミノ酸配列を他の藻類のものと比較した結果、北海道産ダルスの PE はスサビノリと類似した一次構造であった。さらに、北海道産ダルス PE を結晶化し、立体構造を決定した。この結果から、北海道産ダルス PE の立体構造は、紅藻類の PE に特徴的な構造を有していることを示した。次に、青森県産マツモについて、色素、タンパク質、炭水化物の分析を行い、それらの主要分子種を把握した。マツモから水抽出物および有機溶媒抽出物を調製し、それらを可視光吸収スペクトル分析および TLC に供した。その結果、青森県産マツモの主要な色素はクロロフィル a、フコキサンチン、クロロフィル c であることを示した。青森県産マツモの水抽出物を SDS-PAGE に供した結果、光合成に関連すると考えられるタンパク質のバンドが複数検出された。さらに、青森県産マツモの水抽出物を加水分解し、HPLC に供した。その結果、フコイダンに特徴的にみられる L-フコース、ガラクトース、マンノース、キシロース、ラムノースが、青森県産マツモの水抽出物の加水分解物に含有されることを示した。

第 2 章では、水産物レトルト食品の栄養成分に及ぼす加工工程の影響を定量的に数値化する評価法の確立を試みた。レトルト食品は複数の加工工程を有することから、従来の総当たりで試験区を設定する要因配置実験では、試験区数が膨大になり、実験を行うことが困難であった。そこで、直交表による実験計画法による部分配置実験により、最低限の

試験区設定による実験を行った。本研究では、水産物レトルト食品の包装条件、原料魚、調味液が実験結果に影響を与える要因と仮定し、加工前後における魚肉の一般成分（水分、脂質）、脂肪酸（EPA, DHA）、ミネラル（Na, Mg）を調べた。その結果、包装条件は DHA および Mg 以外の栄養成分の残存率に影響を及ぼし、水分の残存率は窒素・透明パウチ > 真空・缶詰 > 真空・透明パウチ、脂質および EPA の残存率は真空・缶詰 > 窒素・透明パウチ > 真空・透明パウチ、Na の残存率は窒素・透明パウチ > 真空・透明パウチ > 真空・缶詰の順で高かった。原料魚は Mg 以外の栄養成分の残存率に影響を及ぼし、水分および Na の残存率はマサバ > マイワシ > アイナメ、脂質、EPA および DHA の残存率はマサバ > アイナメ > マイワシの順で高かった。調味液は脂質および DHA 以外の栄養成分の残存率に影響を及ぼし、水分および Na の残存率は 5%食塩水 > 味噌調味液 > サラダ油、EPA の残存率は味噌調味液 > 5%食塩水 > サラダ油、Mg の残存率はサラダ油 > 味噌調味液 > 5%食塩水の順で高かった。これらの結果から、水産物レトルト食品における魚肉の水分、脂質、脂肪酸（EPA, DHA）、ミネラル（Na, Mg）を保持するには原材料、調味液、加熱温度の制御が重要であることが明らかになった。従来 of 要因配置実験で本章の実験の試験区を設定した場合、その組み合わせ数は 27 であり、実験を 3 回反復すると、実験回数は 81 となる。一方、部分配置実験の場合、試験区の組み合わせ数は 9 であり、実験を 3 回反復すると、実験回数は 27 となる。直交表による実験計画法を用いることで、水産物レトルト食品の加工工程における諸要因が魚肉の各種成分に影響することを、従来法に比べて少ない回数で定量的に数値として評価することができた。

第 3 章では、第 2 章で有効性を示した直交表による実験計画法を用

いて、海藻レトルト食品の栄養成分および健康機能に及ぼす加工工程の影響の解明を試みた。本研究では、海藻レトルト食品の原材料、包装条件、調味液、加熱温度、加熱時間が実験結果に影響を与える要因と仮定し、加工前後における藻体の一般成分（水分、脂質、灰分、タンパク質、炭水化物）、脂肪酸（EPA）、ミネラル（Na, K）、抗酸化力（DPPH ラジカル消去活性）を調べた。その結果、原材料は藻体のタンパク質以外の栄養成分と抗酸化力に影響を及ぼし、水分量および EPA 量はダルス > マツモ、脂質量、灰分量、炭水化物量、Na 量、K 量および DPPH ラジカル消去活性はマツモ > ダルスの順で高かった。包装条件は藻体の水分量のみに影響を及ぼし、水分量は真空包装 > 窒素充填包装の順で高かった。調味液は藻体のタンパク質および K 以外の栄養成分に影響を及ぼし、水分量、灰分量および Na 量は 5%食塩水 > サラダ油、脂質量、炭水化物量および EPA 量はサラダ油 > 5%食塩水の順で高かった。加熱温度は灰分量、炭水化物量、K 量以外の栄養成分に影響を及ぼし、水分量、タンパク質量および EPA 量は 120℃ > 115℃、脂質量および Na 量は 115℃ > 120℃で高かった。加熱時間は栄養成分の水分量にのみ影響を及ぼし、水分量は 60 分間 > 30 分間で高かった。ただし、本研究では、包装条件および加熱時間が加工後の藻体の水分量に及ぼす影響の寄与率が共に 0.4%と、他の要因に比べて低いことから、本要因は水分の制御要因ではないと考えられる。これらの結果から、海藻レトルト食品における藻体の栄養成分および抗酸化力を保持するには、原材料、調味液および加熱温度の制御が重要であることが明らかになった。なお、海藻レトルト食品における藻体の栄養成分および抗酸化力は原材料に大きな影響を受けた。ダルスの主要成分は抗酸化力を有するフィコピリンが多数結合したフィコピリタンパク質であるのに対し、マツモの主

要成分は水溶性の食物繊維のフコイダンである。海藻レトルト食品は高温高圧下での殺菌工程を有するため、これらの主要成分の熱安定性や保水性の違いが、その栄養成分および抗酸化力に大きく影響したと考えられる。

本研究では、第1章において、北海道産ダルスの葉緑体 DNA の全塩基配列を決定し、遺伝子領域のアノテーションを行い、紅藻類の主要タンパク質である PE をはじめ、光合成に関与する種々のタンパク質の演繹アミノ酸配列を明らかにした。近年、ゲノム解析やプロテオーム解析などの技術的進歩により、*in silico* 評価による食品の機能性成分に関する検討が行われている¹⁵⁶⁾。Furuta ら²⁸⁾ は、北海道産ダルスの水抽出物の加水分解物から ACE 阻害活性を有する複数のペプチドを同定し、それらが PE に由来することを大腸菌で発現させた組替え体 PE を使用した実験により示した。さらに熊谷ら¹⁵⁷⁾ は、北海道産ダルスの葉緑体 DNA 上の複数のタンパク質遺伝子について、それらの演繹アミノ酸配列に、古田ら²⁸⁾ が同定した ACE 阻害活性を有するペプチドが存在することを示した。このように、機能性成分の活性や構造に関する情報が蓄積されることで、*in silico* 評価による食品の健康機能の評価が可能となる。本研究の成果により、低利用海藻の栄養成分に関する詳細な情報が蓄積されたことで、*in silico* 評価による食品の機能性成分に関する研究の発展が大いに期待できる。

さらに本研究では、第2章および第3章において、水産物レトルト食品の栄養成分に及ぼす加工工程の影響を定量的に数値化する評価法の有効性を示し、海藻レトルト食品に適用した。その結果、海藻レトルト食品における藻体の栄養成分および抗酸化力は、原材料、調味液および加熱温度に影響を受けることを示した。食生活における食品の役割は、

栄養面での一次機能、味や匂いなどの嗜好面での二次機能、生体調節による疾病予防などの生理機能面での三次機能に類型化される¹⁵⁸⁾。生活習慣病の顕在化を背景とし、食品の三次機能が注目されている¹⁵⁹⁾。そのため、種々の食品から機能性成分が同定され、その健康機能について多くの知見が蓄積されている。人々の健康を維持・向上させるために、日本をはじめ世界各国で機能性成分に関する種々の食品表示制度が制度化されている¹⁶⁰⁾。一方、機能性成分の多くは苦味や渋味などの不快な味を呈することから、二次機能も重視した嗜好性の高い製品開発を目指した研究が進められている¹⁶¹⁾。このような背景から、食品に含まれる機能性成分を把握し、調理・加工後の成分量や健康機能の変化率を把握することは重要であると考えられる。しかし、食品中の機能性成分は調理・加工工程において、熱や酵素などの作用により様々な変化を受ける¹⁶²⁾。特に水産物を用いた調理・加工品については、原材料の個体差が大きいなどの理由から、その調理・加工工程における機能性成分の変化を詳細に把握するのは困難であった。本研究の成果により、水産物加工品の加工工程における栄養成分および健康機能の変化を定量的に数値化することが可能となったことにより、機能性成分に着目した食品の調理・加工に関する研究の発展が大いに期待できる。

以上、本研究では、低利用海藻のダルスおよびマツモの主要成分の特性を把握し、それらのレトルト食品の栄養成分および健康機能に及ぼす加工工程の影響を解明した。すなわち、本論文の種々の知見は、学術的新規性と同時に実用性を兼ね備えている。このため、本論文の知見を活用することで、未・低利用海藻の有効利用、水産物の新規加工品の開発が大いに期待できる。また、加工品に限らず、調理品についても本論文の知見を活用することが期待できる。

謝 辞

本研究を遂行するにあたり、終始貴重なる御助言および御指導を頂き、また、本論文の御校閲の労を賜りました北海道大学大学院水産科学研究院 岸村 栄毅 教授ならびに熊谷 祐也 准教授に深甚なる謝意を表します。さらに本論文の作成にあたり、主査の労を賜りました北海道大学北方生物圏フィールド科学センター 清水 宗敬 教授、また、副査の労を賜りました北海道大学大学院水産科学研究院 関 秀司 特任教授に心より厚く御礼申し上げます。

実験試料である北海道産の紅藻類を御恵与いただいた北海道大学大学院水産科学研究院 水田 浩之 教授、北海道大学北方生物圏フィールド科学センター白尻水産実験所 宗原 弘幸 教授ならびに宮島 侑也 技術専門職員に心より感謝いたします。また、北海道産ダルスダルスの葉緑体 DNA の次世代シーケンサーによる塩基配列分析を行なっていただいた高知大学農林海洋科学部 足立 亨介 教授、PE の結晶の X 線結晶構造解析を行なっていただいた東北大学大学院生命科学研究科 田中 良和 教授に心より感謝いたします。海藻の葉緑体 DNA の遺伝子解析法に関して貴重なる御助言をいただいた北海道大学大学院水産科学研究院 宇治 利樹 助教、北海道立工業技術センター 清水 健志 研究主幹ならびにマツモの有機溶媒抽出物の調製に関して貴重なるご助言をいただいた青森県産業技術センター 弘前工業研究所 機能性素材開発部 岩間直子 研究管理員に心よりお礼申し上げます。さらに、本研究の遂行にあたり、青森県産の海藻の分布および生態について貴重なる御助言をいただいた弘前大学 地域戦略研究所 桐原 慎二 教授に心よりお礼申し上げます。

最後に、本研究の遂行にご協力いただきました北海道大学大学院水産科学研究院 水産資源開発工学講座 食品工学研究室および青森県産業技術センター 食品総合研究所の皆様には深く感謝いたします。また、本研究の水産物加工品の製造に関して貴重なる御助言をいただきました青森県産業技術センター 下北ブランド研究所 加工技術部 角 勇悦 部長、青森県総合販売戦略課 白川 慎一 主幹ならびに水産物の無機質の分析に関して貴重なる御助言をいただきました青森県産業技術センター 食品総合研究所 水産食品化学部 落合 瞳子 主任研究員に心よりお礼申し上げます。

参考文献

- 1) 外務省 (2021). 「東京栄養宣言 (グローバルな成長のための栄養に関する東京コンパクト)」。外務省, 東京, pp. 1-4.
- 2) 日本政策金融公庫 (2022). 消費者動向調査 (令和 4 年 1 月調査). 日本政策金融公庫, 東京, pp. 3-5.
- 3) 内閣府 (2020). 「日本経済 2019-2020」。内閣府, 東京, pp. 162-169.
- 4) Stengel, D. B., Connan, S., and Popper, Z. A. (2011). Algal chemodiversity and bioactivity: sources of natural variability and implications for commercial application. *Biotechnol. Adv.*, **29**, 483-501.
- 5) Lozano Muñoz, I., and Díaz, N.F. (2020). Minerals in edible seaweed: Health benefits and food safety issues. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, **62**, 1592-1607.
- 6) 大野正夫 (2020). 世界の海藻食. 日本食育学会誌, **14**, 3-7.
- 7) 奥田弘枝 (1995). 海藻の調理. 日本調理科学会誌, **28**, 50-58.
- 8) 桑本千賀子, 増田久子, 西村輝子, 奥野元子 (1988). 海藻に関する調査と調理法. 調理科学, **21**, 57-64.
- 9) 文部科学省科学技術・学術政策局政策課資源室 (2015). 日本食品標準成分表 2015 年版 (七訂), 全国官報販売協同組合, 東京.
- 10) 辻浩司, 宮崎亜希子 (2005). 未利用海藻からの新規食品素材の開発. 釧路水試だより, **85**, 13-15.
- 11) 藤原孝之, 栗田修 (2007). 未利用海藻の食品への利用 (第 1 報). 三重県科学技術振興センター工業研究部研究報告, **31**, 90-93.
- 12) 藤原孝之, 苔庵泰志, 栗田修 (2008). 未利用海藻の食品への利用

- (第 2 報). 三重県科学技術振興センター工業研究部研究報告, **32**, 154–159.
- 13) 雫石志乃舞, 成田清一 (2004). 未利用海藻の成分特性について. 青森県ふるさと食品研究センター研究報告, **2**, 17–22.
 - 14) 公益財団法人いわて産業振興センター (2022). キラリ輝くいわての企業. 産業情報いわて, **215**, 2–5.
 - 15) 株式会社さかもと (2019/4/26). 日本初! 海のスーパーフード「海藻ダルス」国産品の量産化を実現, <https://www.atpress.ne.jp/news/181427>, (2022/10/6).
 - 16) 函館新聞 (2016/10/17). 道新技術・新製品開発賞「ダルス佃煮」が大賞, <https://digital.hakoshin.jp/business/food/12700>, (2022/10/6).
 - 17) STRAIGHT PRESS (2022). 海藻専門店 SEASON から, バターと優しい海の香りが余韻に残る新感覚サブレが新発売, <https://straightpress.jp/20220919/757367>, (2023/2/1).
 - 18) 木下康宣 (2020). 紅藻ダルスの色調特性に関する研究. 北海道立工業技術センター研究報告, **16**, 6–13.
 - 19) 宮城県商工会連合会 (2021/4/22). 希少海藻「まつも」の陸上養殖事業化からの新提案「海藻バター」開発による新しいチャレンジがスタート, <https://newscast.jp/news/6310301>, (2022/10/6).
 - 20) 白井一茂 (2021). 水産物の有効利用と機能性成分の活用. *Funct. Food Res.*, **17**, 37–43.
 - 21) Skriptsova, A. V., Suzuki, M., and Semenchenko, A. A. (2022). Morphological variation in Northwest Pacific *Devaleraea mollis* and description of *D. inkyuleei* sp. nov. (Palmariaceae, Rhodophyta). *Phycologia*, **61**, 606–615.

- 22) Mouritsen, O. G., Dawczynski, C., Duelund, L., Jahreis, G., Vetter, W., and Schröder, M. (2013). On the human consumption of the red seaweed dulse (*Palmaria palmata* (L.) Weber and Mohr). *J. Appl. Phycol.*, **25**, 1777–1791.
- 23) 田中次郎解説, 中村庸夫写真 (2004). 「日本の海藻」, 平凡社, 東京, p.54
- 24) 佐藤純一 (2002). 海藻加工品, 「21世紀初頭の藻学の現況」, 堀輝三, 大野正夫, 堀口健雄編, 日本藻類学会, 山形, p. 142.
- 25) 青森県庁 (2013). 「青森おさかな自慢」, 青森県庁, 青森県, pp. 30–31, pp. 54–55.
- 26) Allsopp, P., Crowe, W., Bahar, B., Harnedy, P. A., Brown, E. S., Taylor, S. S., Smyth, T. J., Soler-Vila, A., Magee, P. J., Gill, C. I. R., Strain, C. R., Hegan, V., Devaney, M., Wallace, J. M. W., Cherry, P., FitzGerald, R. J., Strain, J. J., O'Doherty, J. V., and McSorley, E. M. (2016). The effect of consuming *Palmaria palmata*-enriched bread on inflammatory markers, antioxidant status, lipid profile and thyroid function in a randomised placebo-controlled intervention trial in healthy adults. *Eur. J. Nutr.*, **55**, 1951–1962.
- 27) Yuan, Y. V., Bone, D. E., and Carrington, M. F. (2005). Antioxidant activity of dulse (*Palmaria palmata*) extract evaluated in vitro. *Food Chem.*, **91**, 485–494.
- 28) Furuta, T., Miyabe, Y., Yasui, H., Kinoshita, Y., and Kishimura, H. (2016). Angiotensin I converting enzyme inhibitory peptides derived from phycobiliproteins of dulse *Palmaria palmata*. *Mar. Drugs*, **14**, 32.
- 29) Kuda, T., Nishizawa, M., Toshima, D., Matsushima, K., Yoshida, S.,

- Takahashi, H., Kimura, B., and Yamagishi, T., Antioxidant and anti-norovirus properties of aqueous acetic acid macromolecular extracts of edible brown macroalgae. *LWT-Food Sci. Technol.*, **141**, 110942.
- 30) 井上勲 (2007). 「藻類の 30 億年史」第 2 版, 東海大学出版, 神奈川県.
- 31) 村上明男 (2010). 水と光を操る海の光合成生物—藻類—. 日本海水学会誌, **64**, 268–274.
- 32) 鈴木雅大 (2014). 藻類学最前線 激変する真正紅藻綱の分類. 藻類, **62**, 166–171.
- 33) Pradhan, B., Bhuyan, P. P., Patra, S., Nayak, R., Behera, P. K., Behera, C., Behera, A. K., Ki, J. S., and Jena, M. (2022). Beneficial effects of seaweeds and seaweed-derived bioactive compounds: Current evidence and future prospective. *Biocatal. Agric. Biotechnol.*, **39**, 102242.
- 34) Nakhate, P., and Van Der Meer, Y. (2021). A systematic review on seaweed functionality: a sustainable bio-based material. *Sustainability*, **13**, 6174.
- 35) Denis, C., Morançais, M., Li, M., Deniaud, E., Gaudin, P., Wielgosz-Collin, G., Barnathan, G., Jaouen, P and Fleurence, J. (2010). Study of the chemical composition of edible red macroalgae *Grateloupia turuturu* from Brittany (France). *Food Chem.*, **119**, 913–917.
- 36) Garcia-Vaquero, M., Rajauria, G., Miranda, M., Sweeney, T., Lopez-Alonso, M., and O’Doherty, J. (2021). Seasonal variation of the proximate composition, mineral content, fatty acid profiles and other phytochemical constituents of selected brown macroalgae. *Mar. Drugs*, **19**, 204.

- 37) 渡邊智子, 鈴木亜夕帆, 熊谷昌士, 見目明継, 竹内昌昭, 西牟田守, 萩原清和 (2003). 五訂成分表収載食品の調理による成分変化率表. 栄養学雑誌, **61**, 251–262.
- 38) 畑明美 (2001). 伝統的調理と食品中の無機成分の挙動に関する研究—とくに山野菜類並びに海藻類を中心として. 日本調理科学会誌, **34**, 124–135.
- 39) 鈴木健, 中井清典, 吉江由美子, 白井隆明, 平野敏行 (1993). 加熱加工処理による海藻食品の食物繊維の変化. 日本水産学会誌, **59**, 1371–1375.
- 40) 吉江由美子, 鈴木健, 白井隆明, 平野敏行 (1994). 乾のりの加工工程における成分変化. 日本水産学会誌, **60**, 117–123.
- 41) 荒木葉子, 小野寺宗伸, 吉江由美子, 鈴木健 (2005). アカモクの加熱によるミネラル, 遊離アミノ酸および脂肪酸の変化. 日本調理科学会誌, **38**, 72–76.
- 42) 関本邦敏, 遠藤昭夫, 片峯伸一郎 (1986). 素干し, 灰干し, および塩蔵ワカメの水戻し処理による 6 種のミネラル類溶出の比較. 日本栄養・食糧学会誌, **39**, 67–70.
- 43) Bölek, S. (2020). Effects of different drying methods on the chemical properties and antioxidant activity of edible algae *Cystoseira barbata*. *Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi*, **7**, 848–854.
- 44) Rodríguez-Bernaldo de Quirós, A., and López-Hernández, J. (2021). An overview on effects of processing on the nutritional content and bioactive compounds in seaweeds. *Foods*, **10**, 2168.
- 45) Gamero-Vega, G., Palacios-Palacios, M., and Quitral, V. (2020). Nutritional composition and bioactive compounds of red seaweed: A

- mini-review. *J. Food Nutr. Res*, **8**, 431–440.
- 46) 山田信夫. (2004). 「海藻利用の科学」改訂2版.成山堂書店, 東京.
- 47) 三室守, 村上明男, 菊池浩人 (1997). シアノバクテリアの集光性超分子会合体, フィコビリソーム. 蛋白質 核酸 酵素, **42**, 2613–2625.
- 48) 西澤一俊, 大野正夫 (2004). 海藻由来の水溶性食物繊維の化学構造と薬理学的機能. 日本食物繊維学会誌, **8**, 1–12.
- 49) Li, B., Lu, F., Wei, X., and Zhao, R. (2008). Fucoidan: structure and bioactivity. *Molecules*, **13**, 1671–1695.
- 50) Kloareg, B., and Quatrano, R. S. (1988). Structure of the cell walls of marine algae and ecophysiological functions of the matrix polysaccharides. *Oceanogr. Mar. Biol.*, **26**, 259–315.
- 51) Schiener, P., Black, K. D., Stanley, M. S., and Green, D. H. (2015). The seasonal variation in the chemical composition of the kelp species *Laminaria digitata*, *Laminaria hyperborea*, *Saccharina latissima* and *Alaria esculenta*. *J. Appl. Phycol.*, **27**, 363–373.
- 52) Fletcher, H. R., Biller, P., Ross, A. B., and Adams, J. M. M. (2017). The seasonal variation of fucoidan within three species of brown macroalgae. *Algal Res.*, **22**, 79-86.
- 53) 村上海, 的場由美子, 野田耕作, 山口容子, 藤井高任, 篠原直哉, 秋本恒基, 片山 (須川) 洋子, 片山眞之 (2009). 福岡県筑前海産褐藻アカモク *Sargassum horneri* の栄養成分の季節変動. 水産増殖, **57**, 549–556.
- 54) Ortiz-Viedma, J., Aguilera, J. M., Flores, M., Lemus-Mondaca, R., Larrazabal, M. J., Miranda, J. M., and Aubourg, S. P. (2021).

- Protective effect of red algae (Rhodophyta) extracts on essential dietary components of heat-treated salmon. *Antioxidants*, **10**, 1108.
- 55) Nishida, Y., Saburi, W., Miyabe, Y., Kishimura, H., and Kumagai, Y. (2022). Characterization of Antioxidant Activity of Heated Mycosporine-like Amino Acids from Red Alga Dulse *Palmaria palmata* in Japan. *Mar. Drugs*, **20**, 184.
- 56) Sato, N., Furuta, T., Takeda, T., Miyabe, Y., Ura, K., Takagi, Y., Yasui, H., Kumagai, Y., and Kishimura, H. (2019). Antioxidant activity of proteins extracted from red alga dulse harvested in Japan. *J. Food Biochem.*, **43**, e12709.
- 57) 江口裕伸, 藤原範子, 大河原知水, 鈴木敬一郎, 谷口直之 (2009). 酸化ストレスと健康. 生物試料分析, **32**, 247–256.
- 58) 柴田均 (2003). 活性酸素はすべて悪玉か?. 日本農芸化学会誌, **77**, 573–575.
- 59) 高村仁知 (2007). 食品中の脂質の酸化生成物による風味変化. オレオサイエンス, **7**, 231–235.
- 60) 中谷延二 (1990). 最近の天然抗酸化性物質の研究. 日本食品工業学会誌, **37**, 569–576.
- 61) Trigo, M., López, M., Dovale, G., Ortiz, J., Rodríguez, A., and Aubourg, S. P. (2019). Enhancement of sensory acceptance of frozen mackerel by alga-extract glazing. *Bulg. Chem. Commun.*, **51**, 216–223.
- 62) Miranda, J. M., Trigo, M., Barros-Velázquez, J., and Aubourg, S. P. (2016). Effect of an icing medium containing the alga *Fucus spiralis* on the microbiological activity and lipid oxidation in chilled megrim (*Lepidorhombus whiffiagonis*). *Food Control*, **59**, 290–297.

- 63) El Shafay, S. M., Ali, S. S., and El-Sheekh, M. M. (2016). Antimicrobial activity of some seaweeds species from Red sea, against multidrug resistant bacteria. *Egypt. J. Aquat. Res.*, **42**, 65–74.
- 64) Ortiz, J., Vivanco, J. P., and Aubourg, S. P. (2014). Lipid and sensory quality of canned Atlantic salmon (*Salmo salar*): Effect of the use of different seaweed extracts as covering liquids. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, **116**, 596–605.
- 65) Cho, K. S. (2017). ABTS+ radical, hydroxy radical (OH), nitric oxide (NO), and ferric ion reducing antioxidant power (FRAP) effects of ethanol extracts from four seaweed species for noodles. *J. Life Sci.*, **27**, 1121-1129.
- 66) 西堀すき江, 並木和子 (1985). 海そう脂質の抗酸化性および食品抗酸化剤としての利用について. 家政学雑誌, **36**, 845–850.
- 67) Kindleysides, S., Quek, S. Y., and Miller, M. R. (2012). Inhibition of fish oil oxidation and the radical scavenging activity of New Zealand seaweed extracts. *Food Chem.*, **133**, 1624–1631.
- 68) 総務省 (2022/2/8). 家計調査 家計収支編 二人以上の世帯, https://www.e-stat.go.jp/stat-search/database?page=1&layout=datalist&stat_infid=000032167631, (2023/2/4).
- 69) 日本政策金融公庫 (2022). 消費者動向調査 (令和 4 年 7 月調査), 日本政策金融公庫, 東京, pp. 3–5
- 70) 農林水産省 (2021). 令和 2 年度 食料・農業・農村白書, 農林水産省, 東京, pp. 69–73.
- 71) 日高優一郎 (2021). 調理・冷凍食品市場の成長と変遷する家族一家族と市場, マーケティングの関係の理解にむけてー. 岡山大

- 学経済学会ディスカッションペーパーシリーズ, **86**, 1–38.
- 72) 水産庁 (2022). 「令和 3 年度水産白書」, 水産庁, 東京, pp. 42–43.
- 73) 森田浩 (2021). 「実験計画法の基礎知識 1: 実験計画法とは」, 株式会社イプロス Tech Note 編集部, 東京, p. 1–8.
- 74) 浜田和孝, 鴨下隆志, 矢野宏 (2017). 品質工学研究の歴史と発展 (III) 参考文献と謝辞の分析を通じた研究の発展と普及に関する一考察. 品質工学, **25**, 3–20.
- 75) 佐藤景子, 喜多正幸, 野口真己, 杉浦実 (2019). 低温条件下での酵素剥皮がカンキツ果肉品質と機能性成分含量に及ぼす影響ならびに煮沸滅菌温度とシロップ糖濃度が瓶詰酵素剥皮果肉の実崩れに及ぼす影響. 園芸学研究, **18**, 305–312.
- 76) 加藤司郎, 石間紀男 (1978). 袋詰たくあんに添加された調味料の効果の直交表による検討. 日本食品工業学会誌, **25**, 485–490.
- 77) 高辻英之, 水野健一郎, 中森三智, 若野真 (2015). むき身カキの鮮度保持技術への品質工学の適用 (1). 品質工学, **23**, 31–37.
- 78) 森下達雄, 宇野和明, 松本好央, 高橋喬 (1988). 養殖マダイ一般成分組成の産地別, 養殖方法別並びに天然魚との比較. 日本水産学会誌, **54**, 1965–1970.
- 79) 岡崎孝博, 吉本亮子, 上田幸男, 浜野龍夫. (2014). 徳島産および韓国産ハモの体成分の比較. 日本水産学会誌, **80**, 2–8.
- 80) 塚本研一, 戸枝一喜, 船木勉, 和田芙美子, 松本祥子, 松永隆司 (2007). 秋田県沿岸海域で漁獲されたハタハタ *Arctoscopus japonicus* の肉および生殖巣中の脂質成分の季節的変動. 日本水産学会誌, **73**, 897–904.
- 81) 五十川章子, 山岡耕作 森岡克司 (2008). 清水さばの脂質含量と

- 生態形質の季節変動—旬の解明の一考察—. 日本水産学会誌, **74**, 207–212.
- 82) 木村稔, 今村琢磨, 成田正直, 潮秀樹, 山中英明 (2002). ホタテガイ貝柱成分の季節変化. 日本水産学会誌, **68**, 72–77.
- 83) 松原利光, 吉野功, 黒沢静男, 泉庄太郎, 垣田誉志史, 鈴木紘子, 新井 肇, 吉澤和具 (2009). ギンヒカリ (大型サイズ) 未成熟魚, 成熟魚の肉質成分の相違. 群馬県水産試験場研究報告, **15**, 10–15
- 84) 高本修作 (1998). スルメイカの大きさ, 雌雄, 成熟度, 漁期, 漁場によるエキス成分の違い. 石川県水産総合センター研究報告, **1**, 37–41.
- 85) 森下達雄, 宇野和明, 井村直樹, 高橋喬 (1987). 養殖マダイの成長に伴う一般成分組成の変動. 日本水産学会誌, **53**, 1601–1607.
- 86) 小関聡美, 北上誠一, 加藤登, 新井健一 (2006). 魚介類の死後硬直と鮮度 (K 値) の変化. 東海大学紀要, **4**, 31–46
- 87) 日本缶詰びん詰レトルト食品協会 (2021). 水産缶詰びん詰, 「国内生産数量統計」, 日本缶詰びん詰レトルト食品協会, 東京都.
- 88) 青木隆子, 菅原龍幸 (1999). 魚類の栄養成分に対する調理方法の影響—特に EPA, DHA および Taurine 含量について. 日本食生活学会誌, **10**, 81–100.
- 89) Kumar, K. S., Kumari, S., Singh, K., and Kushwaha, P. (2021). Chapter 2 Influence of seasonal variation on chemical composition and nutritional profiles of macro- and microalgae, In “Recent Advances in Micro and Macroalgal Processing,” ed. By Rajauria, G., Yuan, Y.V., Wiley-Blackwell Publisher, New Jersey, pp. 14–71.
- 90) Lahaye, M., Michel, C., and Barry, J. L. (1993). Chemical, physicochemical

- and in-vitro fermentation characteristics of dietary fibres from *Palmaria palmata* (L.) Kuntze. *Food Chem.*, **47**, 29–36.
- 91) Fleurence, J. (1999). Seaweed proteins: biochemical, nutritional aspects and potential uses. *Trends Food Sci. Technol.*, **10**, 25-28.
- 92) 宮下和夫 (2008). 海藻カロテノイド, フコキサンチンの多機能性. *化学と生物*, **46**, 483–490.
- 93) Apt, K. E., and Grossman, A. R. (1993). Characterization and transcript analysis of the major phycobiliprotein subunit genes from *Aglaothamnion neglectum* (Rhodophyta). *Plant. Mol. Biol.*, **21**, 27–38.
- 94) Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.*, **72**, 248–254.
- 95) 文部科学省科学技術・学術政策局政策課資源室 (2016), 日本食品標準成分表2015年版 (七訂) 分析マニュアル・解説, 建帛社, 東京.
- 96) Tada, S., and Innami, S. (2007). A simplified modification of the AOAC official method for determination of total dietary fiber using newly developed enzymes. *J. AOAC Int.*, **90**, 217–224.
- 97) Kanaya, K., Tada, S., Mori, B., Takahashi, R., Ikegami, S., Kurasawa, S. I., Okuzaki, M. Mori, Y. Innami, S. and Collaborators: Hori, H., Negishi, Y., Nunobiki, M., Onuki, J., Umeki, M., Yoshii, N. (2007). A simplified modification of the AOAC official method for determination of total dietary fiber using newly developed enzymes: preliminary interlaboratory study. *J. AOAC Int.*, **90**, 225–237.
- 98) Laemmli, U. K. (1970). Cleavage of structural proteins during the

- assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, **227**, 680–685.
- 99) Lohse, M., Drechsel, O., Kahlau, S., and Bock, R. (2013). Organellar Genome DRAW—a suite of tools for generating physical maps of plastid and mitochondrial genomes and visualizing expression data sets. *Nucleic Acids Res*, **41**, W575–W581.
- 100) 千原光雄監修 (2002). 「日本の海藻」, 学習研究社, 東京.
- 101) AlgaeBase (2020/12/8), *Analipus japonicus* (Harvey) M. J. Wynne, https://www.algaebase.org/search/species/detail/?species_id=3874, (2023/2/18).
- 102) Ficner, R., and Huber, R. (1993). Refined crystal structure of phycoerythrin from *Porphyridium cruentum* at 0.23 nm resolution and localization of the γ subunit. *Eur. J. Biochem.*, **218**, 103–106.
- 103) Malairaj, S., Muthu, S., Gopal, V. B., Perumal, P., and Ramasamy, R. (2016). Qualitative and quantitative determination of R-phycoerythrin from *Halymenia floresia* (Clemente) C. Agardh by polyacrylamide gel using electrophoretic elution technique. *J. Chromatogr. A*, **1454**, 120–126.
- 104) Ulagesan, S., Nam, T. J., and Choi, Y. H. (2021). Extraction and purification of R-phycoerythrin alpha subunit from the marine red algae *Pyropia yezoensis* and its biological activities. *Molecules*, **26**, 6479.
- 105) Yokono, M., Murakami, A., and Akimoto, S. (2011). Excitation energy transfer between photosystem II and photosystem I in red algae: larger amounts of phycobilisome enhance spillover. *Biochim. Biophys. Acta (BBA)-Bioenerg.*, **1807**, 847–853.

- 106) Zuorro, A., Leal-Jerez, A. G., Morales-Rivas, L. K., Mogollón-Londoño, S. O., Sanchez-Galvis, E. M., García-Martínez, J. B., and Barajas-Solano, A. F. (2021). Enhancement of phycobiliprotein accumulation in thermotolerant *Oscillatoria* sp. through media optimization. *ACS omega*, **6**, 10527–10536.
- 107) Saluri, M., Kaldmäe, M., Rospu, M., Sirkel, H., Paalme, T., Landreh, M., and Tuvikene, R. (2020). Spatial variation and structural characteristics of phycobiliproteins from the red algae *Furcellaria lumbricalis* and *Coccotylus truncatus*. *Algal Res.*, **52**, 102058.
- 108) Wong, P. F., Tan, L. J., Nawi, H., and AbuBakar, S. (2006). Proteomics of the red alga, *Gracilaria changii* (Gracilariales, Rhodophyta) 1. *J. Phycol.*, **42**, 113–120.
- 109) Cho, C. H., Choi, J. W., Lam, D. W., Kim, K. M., and Yoon, H. S. (2018). Plastid genome analysis of three Nemaliophycidae red algal species suggests environmental adaptation for iron limited habitats. *Plos one*, **13**, e0196995.
- 110) Thiviya, P., Gamage, A., Gama-Arachchige, N. S., Merah, O., and Madhujith, T. (2022). Seaweeds as a source of functional proteins. *Phycology*, **2**, 216–243.
- 111) Mišurcová, L., Buňka, F., Ambrožová, J. V., Machů, L., Samek, D., and Kráčmar, S. (2014). Amino acid composition of algal products and its contribution to RDI. *Food Chem.*, **151**, 120–125.
- 112) Marrion, O., Schwertz, A., Fleurence, J., Guéant, J. L., and Villaume, C. (2003). Improvement of the digestibility of the proteins of the red alga *Palmaria palmata* by physical processes and fermentation.

Food/Nahrung, **47**, 339–344.

- 113) Rawiwan, P., Peng, Y., Paramayuda, I. G. P. B., and Quek, S. Y. (2022). Red seaweed: A promising alternative protein source for global food sustainability. *Trends Food Sci. Technol.*, **123**, 37–56.
- 114) Maehre, H. K., Edvinsen, G. K., Eilertsen, K. E., and Elvevoll, E. O. (2016). Heat treatment increases the protein bioaccessibility in the red seaweed dulse (*Palmaria palmata*), but not in the brown seaweed winged kelp (*Alaria esculenta*). *J. Appl. Phycol.*, **28**, 581–590.
- 115) Sá, A. G. A., Moreno, Y. M. F., and Carciofi, B. A. M. (2020). Food processing for the improvement of plant proteins digestibility. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **2**, **60**, 3367–3386.
- 116) 高市真一編集 (2006). 「カロテノイド—その多様性と生理活性—」, 裳華房, 東京.
- 117) Yotsukura, N., Nagai, K., Kimura, H., and Morimoto, K. (2010). Seasonal changes in proteomic profiles of Japanese kelp: *Saccharina japonica* (Laminariales, Phaeophyceae). *J. Appl. Phycol.*, **22**, 443–451.
- 118) Bilan, M. I., Zakharova, A. N., Grachev, A. A., Shashkov, A. S., Nifantiev, N. E., and Usov, A. I. (2007). Polysaccharides of algae: 60. Fucoidan from the pacific brown alga *Analipus japonicus* (Harv.) winne (Ectocarpales, Scytosiphonaceae). *Bioorg. Khim.*, **33**, 38–46.
- 119) Domiszewski, Z. (2021). Effect of sterilization on true retention rate of eicosapentaenoic and docosahexaenoic acid content in mackerel (*Scomber scombrus*), herring (*Clupea harengus*), and sprat (*Sprattus sprattus*) canned products. *J. Food Process. Preserv.*, **45**, e15461.
- 120) 青森県庁 (2021). 青森県海面漁業に関する調査結果書 (令和 2

年), 青森県庁, 青森県.

- 121) 青森県庁 (2016). 「続青森おさかな自慢」, 青森県庁, 青森県, pp. 20–21, pp. 28–29.
- 122) デーリー東北 (2020/3/29). 町の魚「アブラメ」ブランド化推進へ協議会設立/階上, <https://www.daily-tohoku.news/archives/33299>, (2021/6/20).
- 123) 青森県水産物加工研究所 (2003). 「青森県水産加工品製造の手引き」, 青森県水産物加工研究所, 青森県.
- 124) Garcia, T., Cardoso, C., Afonso, C., Gomes, A., Mesquita, C., Tanni, S. and Bandarra, M. N (2019). A study of lipid bioaccessibility in canned sardine (*Sardina pilchardus*) and chub mackerel (*Scomber japonicus*). *J. Aquat. Food Prod. Technol.*, **28**, 402–412.
- 125) Wada, S., and Dimici, L. (1994). Effects of fill oil in canning on the lipid composition of bonito (*Euthynnus pelamis*) muscle during storage. *J. Jpn. Oil Chem. Soc.*, **43**, 213–219.
- 126) Dhanapal, K., Basu, Venkateshwarlu, G. S. and Nayak, B. B. (2016). Changes in the fatty acid profile of thermal processed tilapia sandwich paste with PUFA in retortable pouches. *Int. J. Sci. Environ. Technol.*, **5**, 1604–1614.
- 127) Byun, Y., Bae, J. H., Cooksey, K. and Whiteside, S. (2010). Comparison of the quality and storage stability of salmon packaged in various retort pouches. *LWT--Food Sci. Technol.*, **43**, 551–555.
- 128) Cheung, Y. K. L., Tomita, H. and Takemori, T. (2016). Mechanisms of docosahexaenoic and eicosapentaenoic acid loss from pacific saury and comparison of their retention rates after various cooking methods.

- J. Food Sci.*, **81**, 1899–1907.
- 129) 田口玄一 (1976). 「第 3 版 実験計画法 上」, 丸善, 東京.
- 130) Folch, J., Lees, M. and Sloane Stanley, H. G. (1956). A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. *J. Biol. Chem.*, **226**, 497–509.
- 131) 渡辺 渉, 小林 晃, 竹村 邦夫, 久末 寿昭 (1965). 真空包装に関する研究. 日本食品工業学会誌, **12**, 125–128.
- 132) Durance, D. T. and Collins, S. L. (1991). Quality enhancement of sexually mature chum salmon *Oncorhynchus keta* in retort pouches. *J. Food Sci.*, **56**, 1282–1286.
- 133) 橋場 浩子 (2018). 調理における食材中のNaClの二元収着拡散. 日本調理科学会誌, **51**, 307–314.
- 134) 畑江 敬子, 奥本 牧子 (2012). 食品の保温温度が食塩の拡散に及ぼす影響. 日本調理科学会誌, **45**, 133–140.
- 135) Kent, M. (1990). Hand-held instrument for fat/water determination in whole fish. *Food Control*, **1**, 47–53.
- 136) 山口 邦子, 中村 孝, 豊水 正道 (1984). 丸のままの魚の皮における選択的脂質酸化. 日本水産学会誌, **50**, 869–874.
- 137) 上柳 當美子 (1984). 魚肉における食塩の浸透について一魚の種類による相違一. 家政学雑誌, **35**, 371–378.
- 138) 星野 忠彦 (1972). 食品の食品組織学的研究 (IV) 肉の調理・加工に伴う変化. 調理科学, **5**, 150–157.
- 139) 星野 忠彦 (1978). 食品の食品組織学的研究 (VII) 魚肉の調理および貝類. 調理科学, **11**, 239–247.
- 140) 田中 宗彦 (1998). 食品加工・貯蔵における塩の機能と役割. 日本

海水学会誌. **52**, 352–358.

- 141) 鈴木和枝, 篠原久恵, 坂本真弓, 鈴木一正, 藤波襄二 (1990). 食品中のマグネシウムに与える調理操作の影響. 聖徳栄養短期大学紀要, **21**, 43–53.
- 142) 青森県庁, 青森県産業技術センター水産総合研究所 (2022). 「未来につなぐ資源管理2022年版」, 青森県庁, 青森県
- 143) 宮部好克, 小向貴志 (2017). 海藻マツモ及びダルスにおける一般成分及び抗酸化力の把握. (地独) 青森県産業技術センター下北ブランド研究所試験研究報告, **17**, 30–37.
- 144) 森口貴代 (1993). 佃煮調味加工条件下でのヒトエグサ酢酸エチル可溶部の抗酸化活性の維持. 日本食品工業学会誌, **40**, 64–68.
- 145) Ge, M., Shen, J., Liu, C., Xia, W. and Xu, Y. (2022), Effect of acidification and thermal treatment on quality characteristics of high-moisture laver (*Porphyra spp.*). *J. Food Process. Preserv.*, **46**, e16762.
- 146) 成田正直, 坂東忠男, 眞岡孝至, 麻生真悟, 佐藤暁之, 宮崎亜希子, 清水茂雅 (2014). 宗谷産イシモズクを用いた冷凍食品の開発. 水産技術, **6**, 185–192.
- 147) 小野寺宗仲, 吉江由美子, 鈴木健 (2008). 生ワカメの貯蔵条件による成分変化. 日本冷凍空調学会論文集, **25**, 35–46.
- 148) 沖智之 (2008). DPPHラジカル消去活性評価法, 「食品機能性評価マニュアル集第II集」, 食品機能性評価支援センター技術普及資料等検討委員会編, 日本食品科学工学会, 茨城, pp. 71–78.
- 149) 松本和来, 山本文子, 山本千恵子, 玉川栄子 (1973). 献立に関する基礎研究 (第1報): 揚げ物の吸油量について. 高知学園短期大学紀要, **4**, 49–53.

- 150) Morgan, K. C., Wright, J. L., and Simpson, F. J. (1980). Review of chemical constituents of the red alga *Palmaria palmata* (Dulse). *Econ. Bot.*, **34**, 27–50.
- 151) 氏家隆, 田中愛子, 近藤あゆみ, 廣江玲子, 武山哲茂 (1992). 藻類中トコフェロール定量時の抽出率に対する加熱膨潤効果. *ビタミン*, **66**, 447–450.
- 152) Fernando, I. S., Kim, M., Son, K. T., Jeong, Y. and Jeon, Y. J. (2016). Antioxidant activity of marine algal polyphenolic compounds: a mechanistic approach. *J. Med. Food*, **19**, 615–628.
- 153) 宮部好克, 落合瞳子, 熊谷祐也, 岸村栄毅 (2022). 水産加工食品の ω 3脂肪酸残存率に及ぼす製造条件の影響. *日本調理科学会誌*, **55**, 19–29.
- 154) 山本由喜子, 冨森温子 (1998). 高圧調理による鶏骨スープストックの調製. *日本調理科学会誌*, **31**, 293–298.
- 155) 西村敬子, 今里祥子, 川崎球子, 森山三千江, 村山淑子 (1984). 家庭科・食物領域のビタミンに関する研究 (3): カロチンの油脂への溶解について. *日本家庭科教育学会誌*, **27**, 39–44.
- 156) Dullius, A., Fassina, P., Girolodi, M., Goettert, M. I., and de Souza, C. F. V. (2020). A biotechnological approach for the production of branched chain amino acid containing bioactive peptides to improve human health: A review. *Food Res Int.*, **131**, 109002.
- 157) Kumagai, Y., Miyabe, Y., Takeda, T., Adachi, K., Yasui, H., and Kishimura, H. (2019). *In silico* analysis of relationship between proteins from plastid genome of red alga *Palmaria* sp. (Japan) and angiotensin I converting enzyme inhibitory peptides. *Mar. Drugs*, **17**, 190.

- 158) 矢野俊正 (1987). 「食品機能の系統的解析と展開」について. 化学と生物, **25**, 110–113.
- 159) 山本 (前田) 万里 (2015). 食品の機能性を活用した疾病予防. 日本内科学会雑誌, **104**, 1819–1824.
- 160) 消費者庁食品表示企画課 (2019). 令和元年度 疾病リスクの低減に関する表示に係る 調査事業報告書, 消費者庁, 東京
- 161) 成川真隆 (2022). 機能性食品成分の嗜好特性に関する研究. 日本食品科学工学会誌, **69**, 31–37.
- 162) 高村仁知 (2021). 食品の調理過程における嗜好性および健康増進機能の変化に関する研究. 日本調理科学会誌, **54**, 73–78.