

DB  
395  
1987  
(H)

寄	贈
小川廣男氏	平成 年 月 日

のりの品質保持と水分に関する  
物理化学的研究

小川廣男

89001659

## 目 次

第 1 章	緒 論	1
§ 1	研究の背景	1
§ 2	研究の目的	4
§ 3	研究の方法	7
§ 4	既往の研究	10
第 2 章	のりマトリクスと水	13
§ 1	実 験	13
1. 1.	水分吸着量の測定	13
a	試 料	13
b	調 湿	15
c	含水量の測定	15
1. 2.	吸湿速度の測定	16
a	試 料	16

	b	測定方法	16
§ 2		実験結果	18
	2. 1.	水分活性と乾のり中の水分	18
	a	のり質	18
	b	温度	21
	c	のりの種類	26
	2. 2.	吸湿速度	27
	2. 3.	乾のり中の水の化学ポテン シャル	32
§ 3		考察	35
	a	のりマトリクスの熱力学的 性質	35
	b	のりマトリクスの成分	37
§ 4		第2章の結論	41
第3章		アスコルビン酸の分解と水	44
§ 1		実験	45
	1. 1.	保蔵方法	45

a	乾のりの長期保蔵	45
b	乾のりの短期保蔵 - I	46
c	乾のりの短期保蔵 - II	47
d	焼のりの保蔵	47
1. 2.	アスコルビン酸の定量	48
a	抽出	48
b	薄層クロマトグラフィー	49
§ 2	実験結果	49
2. 1.	長期保蔵の場合	49
a	アスコルビン酸の分解	49
b	最適水分条件の推定方法	52
2. 2.	短期保蔵の場合	55
a	アスコルビン酸の分解	55
b	アスコルビン酸の分解と 酸素	59
c	熱力学的パラメータ	63
2. 3.	火入れのりおよび焼のり中 のアスコルビン酸の分解	76
§ 3	考察	80
a	最適保蔵水分条件	80

b	最適水分条件とMLの関係	81
c	アスコルビン酸の分解原因	86
§ 4	第3章の結論	89
第4章 褐変現象と水		92
§ 1	実験	92
1. 1.	試料と保蔵方法	92
1. 2.	褐変物質の抽出方法	93
1. 3.	紫外部吸収物質	93
§ 2	実験結果	95
2. 1.	比色検液の検討	95
2. 2.	褐変現象と水	98
2. 3.	褐変と熱力学的パラメータ	102
§ 3	考察	105
§ 4	第4章の結論	110
第5章 フィコビリן色素蛋白質の		

		安定性と水分	112
§ 1	実験		113
a	試料		113
b	保蔵方法		113
c	色素蛋白質の抽出方法		113
d	色素蛋白質の定量方法		114
§ 2	実験結果		114
§ 3	考察		119
§ 4	第5章の結論		124
第6章	フィコエリスリンの変性		126
§ 1	実験		126
1. 1	試料		126
a	フィコエリスリン色素蛋白質の精製		126
b	純度の判定および保存		127
1. 2.	変性実験		128
a	各種pHにおける変性		128

b	加熱による変性	129
c	蛋白質変性剤による変性	129
d	光による変性	130
e	有機溶媒による変性	130
f	吸着による変性	131
g	フィコエリスリソンの吸光度	132
§ 2	実験結果	133
a	各種pHにおける変性	133
b	加熱による変性	139
c	蛋白質変性剤による変性	143
d	光による変性	148
e	有機溶媒による変性	148
f	吸着による変性	152
g	フィコエリスリソンの変性度	155
§ 3	考察	160
a	フィコエリスリソンの変性	160
b	フィコエリスリソンの変性度	168
§ 4	第6章の結論	171

第7章	焼き色の発現および色戻り	173
§ 1	実験	174
1. 1.	焼き色の発現	174
1. 2.	色戻り	174
§ 2	実験結果	175
2. 1.	焼き色	175
2. 2.	色戻り	179
§ 3	考察	184
3. 1.	焼き色	184
3. 2.	色戻り	190
§ 4	第7章の結論	194
第8章	総括	196
§ 1	本研究の結論	196
1.	乾のりの単分子層吸着水分 値において、水溶性成分が安 定に保蔵されない原因	197
2.	アスコルビン酸とフィコヒ	



	リン系色素蛋白質の分解・変 性様式の違い	199
3.	乾のり保蔵における二次乾 燥(火入れ)処理の意義	200
4.	フィコエリスリンの安定性 と水分	200
§ 2	今後の研究と展望	202
	謝 辞	205
	文 献	206

## 本論文に用いた主な略語

APC	allophycocyanin
$a_w$	水分活性値 (water activity)
BET式	BRUNAURE・EMMETT・TELLER による多分子吸着理論に基づく吸着等温式
car.	carotenoids
chl. a	chlorophyll a
DNP	2,4-ジニトロフェニールヒドラジン
FOA	free oxygen absorbent, 脱酸素剤
GuHCl	塩酸グアニジン
ML値	単分子層吸着水分 (monolayer) 値
PC	phycocyanin
PE	phycoerythrin
SDS	ドデシル硫酸ナトリウム

## 第1章

## 緒論

## §1 研究の背景

従来、海苔は伝統的な季節食品であり、今日でもなお、新のりは珍重されている。しかし、現在では、少なくとも1年以上の保存性が要求される長期保蔵食品の一つとなっている。

のり製品の保蔵方法としては、乾燥保蔵<sup>1-4)</sup>、低温保蔵<sup>5,6)</sup>、あるいは不活性気体置換法<sup>6,7)</sup>などが知られているが、いずれも製品の品質を保持する目的には有効である。とりわけ、今日でもなお、乾燥保蔵法（火入れと呼ばれている）が、乾のりの保蔵方法として主流を占めているのは、この方法が簡便かつ経済上有利な点が多いからに他ならない。

しかし、乾燥した海苔を保蔵するこの方法は、300年来、乾のりの保蔵方法として

常識化していながら、近年に至るまでに科学的検討が加えられたことがなく、未だに乾燥時の温度や時間の調節は、熟練者の経験に頼っているのが実情である。このため、今日でも、乾燥度が低いために保蔵中に成分の変質をきたしたり、逆に乾燥過多のために製品が脆くなつて砕けたり、香りを失うなどの品質の低下に係わる問題が、しばしば発生している。

ノリの養殖技術が確立された結果、生産高の調節が可能となつた今日、ようやく視点が、生産量から品質に向けられはじめた。このような状況の中で、乾のりの保蔵における適正な水分条件を知る努力がなされる様になつてきた<sup>2, 4, 8-10</sup>)。その結果、安定保蔵のための水分条件が、成分によつて異なることが明らかになり、今では、乾のりを安定に保蔵するために必要な適正水分値を一率に定めることに疑問が持たれている。

たとえば、適正水分条件を水の相対活動

度に基づく水分活性 (Water activity :  $a_w$ ) によって表わせば、ノリの成分のうち、脂溶性色素であるクロロフィル  $a$  では  $a_w$  0.1 ~ 0.2<sup>2,4)</sup>、カロテノイド類では  $a_w$  0.1<sup>4)</sup>、脂質では 0.2<sup>8)</sup>、また水溶性色素のフィコビリソでは  $a_w$  0.2 以下<sup>2)</sup>、アスコルビン酸では  $a_w$  0.05<sup>9)</sup>、更に香気成分の一つであるジメチルサルファイドでは  $a_w$  0.1 以下<sup>10)</sup> 等々の値が報告されている。

今日では、1年以上の長期保蔵に対処するために、乾燥度を極端に高くする傾向にあり、含水率が3%以下、すなわち  $a_w$  0.05 以下の乾のりも珍しくはない。たしかに、乾燥度を上げると、多くの場合、製品の保存性は高まる。しかし、そのために、製品の破碎、失香、あるいは成分の酸化問題が、製品の品質が高級になればなるほど、深刻になってくる。この問題は、食品を安全に保蔵するためには、できるだけ含水量を下げること、また、できるだけ保蔵温度を低くする

ことなど、旧来からの常識が未だに無批判のまま通用していることに起因している。

しかし、旧来とは異なる嗜好や品質が要求される今日、保蔵方法にもそれに見合った対応がなされなければならぬはずである。

そのためには、“できるだけ下げる”のではなく、“ここまで下げる”という保蔵の限界点が明確に確立されていなければならない。

更にそのためには、品質が劣化する原因、あるいはその過程が明らかにされる必要がある。

本研究は、このような背景のもとに、のりに含まれている水の存在状態あるいはその作用を明らかにするために計画された。

## § 2 研究の目的

一般に、食品の成分は、その活性基(極性基)に水分子が単分子層をなして結合している状態のとき、すなわち、単分子層吸着水分値において最も安定であると考えられている<sup>1)</sup>。

確かに、BRUNAUER, EMMETT, TELLER の3人

が提出した多分子層吸着に関する理論式、いわゆる BET 式<sup>12)</sup>に従って計算した乾のりの単分子層吸着水分値 (ML 値) において、脂質は最も安定に存在した<sup>8)</sup>。しかし、その他の成分については、安定保蔵のための最適水分条件は更に低い水分環境を要求している。特に、アスコルビン酸については、 $a_w$  0.05 の極端に低い水分条件が要求され<sup>9)</sup>、本成分に関しては、ML の水が必ずしも最適水分条件を与えていない。

そこで、本研究の第 1 の目的は、乾のり保蔵のための適正な水分条件を知るために、各種成分の安定保蔵に必要な水分条件が、乾のりの ML 値と著しく異なる原因を説明することである。

第 2 の目的は、ともに水溶性物質でありながら、水分の変動に対して比較的安定なフィコビリリン系色素蛋白質と、非常に不安定なアスコルビン酸の変性あるいは分解様式の違

いから、食品成分と水との相互作用の関係を明らかにすることである。

第3の目的は、二次乾燥処理（いわゆる火入れ処理）によって含水率を下げた乾のりと水分との関係を明らかにして、今日ほとんど例外なく乾のりに施される火入れ乾燥の意義を物理的に明らかにすることである。

第4の目的は、乾のりの色素蛋白質の一つであるフィコエリスリンの変性と水分の関係を解明して、「焼き色」および「色戻り」の原因を明らかにすることである。乾のり中の水分は保蔵期間を規定するだけでなく、乾のりに対しては、焙焼しても焼のりに特有な青緑色、いわゆる「焼き色」が出なくなる変化を起させ、焼のりに対しては、鮮かな青緑色を黒褐色に変化させ、巻ずしに用いた場合は赤褐色に変色させる、いわゆる「色戻り」の原因となっていることが予想される。色戻りについては、乾のりに抄製する前の原藻の管理が悪い場合に見られると言われている



が<sup>13)</sup>、高湿度に晒されたり塩分が高い場合も見られることから、色戻り原因物質と水との関係を明らかにする必要がある。

### §3 研究の方法

食品成分の安定性に対する水の作用を明らかにするためには、まず、食品中の水の存在状態を明らかにしなければならぬ。水の状態は、赤外分光やNMR等によって直接測定されることもあるが、本研究の試料のように極度に低い水分を研究対象として、その作用を検討するためには、水の物理的性質、すなわち、物理吸着の現象を理論的に取り扱ったBET式による解析が有効と考えた。

BET式は、吸着分子と吸着媒との間の吸着平衡を多分子層吸着に拡張した理論式で、吸着した水の状態、すなわち結合水、凝縮水、自由水の境界値を知る上で便利な式である。特に $a_w$  0.6以下の中間湿度、および低湿度下の吸着に対して再現性が良いので<sup>2,3)</sup>

本研究では、BET式から得られるデータを解析して、のりマトリクス（以下、のりの細胞構成成分の総称として用いる）と水の関係を明らかにする。

次に、安定保蔵のための水分の限界点を明らかにするためには、成分の分解、あるいは変性を具体的なかつ客観的な数値に変換する必要がある。品質劣化の指標になりうるアスコルビン酸の分解あるいは褐変現象は、温度変化に対して依存性が大きいので、それぞれの反応の熱力学的解析が充分可能であると考へて、熱力学的パラメーターを現象の解明に導入した。これによって、BET式の解析では得られない、反応速度と水あるいは温度との動的な関係が明らかになる。なお、乾のりの褐変は、本研究によって初めて見出された現象である。

次に、水によって引き起される現象として、焼のりの色戻りを取り上げる。また、焼き色の発現は、色素蛋白質の変性を伴なう

ことから、色戻りと関係する現象として、併せて研究対象とした。焼き色が出ない原因、あるいは色戻りする原因は、乾のり抄製以前の問題とする見方もあるが<sup>13)</sup>、それぞれ乾のり、あるいは焼のりを、高湿下に保持した場合にも、この性質が発現することもあるので、これらの現象には基本的に水が関与しているとの視点に立つ。そこで、まず、原因物質とみられるフィコエリスリン<sup>13)</sup>の溶液物性を明らかにしたあと、のり中のフィコエリスリンの変性と比較することによって、焼き色が出なくなる原因、あるいは色戻りの原因を明らかにしてゆく。

低温（冷凍・冷蔵）保蔵やガス置換保蔵は、乾のりの保蔵に有効である。しかし、製品の選別や加工に際して、乾のりは常温に戻され、あるいは大気に曝されるので、常に乾のりの吸湿が問題になり、各種成分に対する水分の影響を無視することができない。

本研究は、のりの変質と水分の関係を明らかにすることによって、品質の保持を計り、もっと乾のりのより良い保蔵方法の確立を目差すものである。

#### § 4 既往の研究

海苔は、古来から日本人が親しんできた食品でありながら、保蔵方法に関する研究の歴史は非常に浅く、1949年に片山ら<sup>14)</sup>によって、のり中のアスコルビン酸が、保蔵中、酵素によって分解する可能性があることが報告されたのが古い方である。それ以前、あるいは以後も、一般海藻の一つとして、のり中に含まれる各種成分が定量されることはあったが、保蔵を目的とした研究は、1966年、土屋ら<sup>5)</sup>による水分およびガス置換を扱った研究、新聞ら<sup>15)</sup>によるガス置換の研究、1973年、村らによる水分<sup>1)</sup>および有機酸<sup>16)</sup>を扱った研究等が散見されるのみである。

近年になり、1981年、平田ら<sup>2)</sup>によつて水分活性を導入した保蔵実験が行なわれて、乾のりの保蔵性と水分の関係が密接であることを報告した。その後1983年に岩城ら<sup>6)</sup>により冷凍保蔵の可能性が調べられた。しかし、これら諸研究の成果は、水分は少なく、温度は低く、できれば酸素のない状態がよいということに帰着した。残念ながら、これでは従来の常識を実験的に裏づけただけにすぎず、業界の急務となつてゐる適正水分値の確立に、僅か近づいただけである。

この問題を解決するためには、成分の分析と平行して、のり中の水の動態、水と成分の相互作用、あるいは各種成分の分解原因と水の関係などの解明が不可欠である。筆者は、このような観点から、1982年以後、一連の研究を継続してきた。

一方、焼き色に関しては、のりの焼き色は、フィコエリスリンがカロテノイド類の存

在下で脱水素されてフィコシアニンに変化した結果だとする1949年の小幡ら<sup>17)</sup>の報告、およびフィコビリן色素が熱変性によつて褪色した結果だとする岩本ら<sup>18)</sup>の報告(1972年)があるのみである。

また、色戻りについては、1980年に天野ら<sup>13)</sup>が原因物質をフィコエリスリンと同定した報告があるのみである。

フィコビリן蛋白質についての一般的総説は、BOGORAD<sup>19)</sup>とOCARRA & OHECCHA<sup>20)</sup>にみられる。

## 第2章

### のりマトリクスと水

のりは、すべて抄製されて乾のりとして流通する。また、その利用に際しては、大部分が焼のりに加工される。そこで、各種成分の保蔵実験に先立ち、乾のり、火入れのり、および焼のりについて、水に対する各マトリクスの性質を、BETの吸着等温式と拡散方程式に基づいて究明する。

#### § 1 実験

##### 1. 1. 水分吸着量の測定

##### a. 試料

本研究に供試したのりは、我が国で養殖されているのりの主要品種であるナラウスサビノリ (*Porphyra yezoensis*) である。

のりには、養殖方法および生産地の別によつて、硬軟2つのテクスチャーがある。そこで、のりマトリクスの性質、すなわちの

り質と水分吸着等温線との関係を知るための実験には、軟らかい質ののりとして佐賀県有明海産の秋芽初回摘み乾のりを、また硬い質ののりとして兵庫県瀬戸内海産の冷蔵網3回摘み乾のりを用いた。

のり質の硬軟は、温水(37℃)に浸漬した乾のり片の葉体が、互いに剝離して外形が崩れるまでの時間(振盪剝離時間)と相関がある<sup>21)</sup>。軟らかいのり質として用いた試料の剝離時間は、約々8秒、また硬いのり質として用いた試料では、約々26秒であった。

次に、温度と水分吸着等温線との関係を知るための実験には、兵庫県瀬戸内海産の冷蔵網初回摘みの乾のりを供試した。振盪剝離時間は、約170秒であった。

次に、のりの加熱程度と水分吸着等温線との関係を知るための実験には、上記の冷蔵網初回摘みの乾のり(一次乾燥のり)に、65℃で3時間の加熱乾燥を施したのりを火入れのり(二次乾燥のり)とした。また、この火



入れのりを  $200^{\circ}\text{C}$  で 30 秒間乾熱焙焼したのりを焼のりとした。

なお、冷蔵網とは、のりの胞子を付着・発芽させた種網のうちで、使用するときまでの 2・3 か月間、冷凍庫内に脱水保管されたのり網のことである。

### b. 調湿

実験系の水分調整は、硫酸水溶液を用いて行った。すなわち、精密分析用濃硫酸（比重 1.834）を水で順次希釈して、 $0, 10, 20, 30 (\pm 0.5)^{\circ}\text{C}$  にそれぞれ対応する水分活柱 ( $a_w$ ) 区を、 $a_w$  0.05 および 0.1 から 0.1 ごとに 0.7 までの計 8 段階用意した。各水分活柱区の硫酸濃度は、WAXLER<sup>22)</sup> の値にしたがい、記載のない中間の濃度については、内挿法によって値を算出した。

### c. 含水量の測定

約  $1.5 \times 2.5 \text{ cm}^2$  に裁断した各 1 g の試

料を、予め、五酸化二磷と濃硫酸を併用したデシケータ内で3日間減圧乾燥したのを、3dlの調湿液が入った1.5l容量の気密式ポリエチレン製容器に収納して、所定の温度で7日間保持して、それぞれの水分活性に平衡させた。この試料に105℃で3時間の乾熱乾燥を施して、含水量を計測した。

## 1.2. 吸湿速度の測定

### a. 試料

火入れのりと焼のりについては、兵庫県瀬戸内海産の冷蔵網初回摘みの乾のりを、前述の方法によつて加熱して調製した。また、軟らかい質ののりとしては佐賀県有明海産の秋芽初回摘みの乾のりを、硬い質ののりとしては兵庫県瀬戸内海産の冷蔵網3回摘みの乾のりを、それぞれ供試した。

### b. 測定方法

相対湿度65% ( $a_w$  0.65に相当)、

30℃に調整した室内において、初期重量が約400 mgの試料を、直示天秤（精度1/20 mg）上に置き自然吸湿させた。計量は、重量の変化が認められなくなり、吸湿が平衡状態に達するまで、30秒または5分ごとに行った。なお、計量を開始する時まで、試料は五酸化二磷と濃硫酸を併用した減圧デシケータの中に収納して、絶乾状態を保持した。

## § 2 実験結果

### 2.1. 水分活性と乾のり中の水分

#### a. のり質

軟らかいのり質の乾のりと硬いのり質の乾のりを用いて、火入れのりと焼のりを作り、それぞれを20℃で各水分活性区に保持したときの水分吸着等温線を、各々 Fig. 2-1 に示した。 Fig. 2-1 によれば、水分活性が同じ場合は、乾のりが焼のりかにかかわらず、軟らかいのり質の方が、含水率は高い。

ところで、BETの水分吸着等温式<sup>12)</sup>は、次式で表わされる。

$$\theta = c x / (1-x) \cdot (1-x + cx) \quad (1)$$

ここで、 $\theta$  は吸着分子の層数、 $x$  は相対圧で、気相の圧を  $P$  とし、同一温度における飽和圧を  $P_0$  とすれば、

$$x = P / P_0 = a_w \quad (2)$$

$$c \simeq \exp. \{ (E_1 - E_L) / RT \} \quad (3)$$

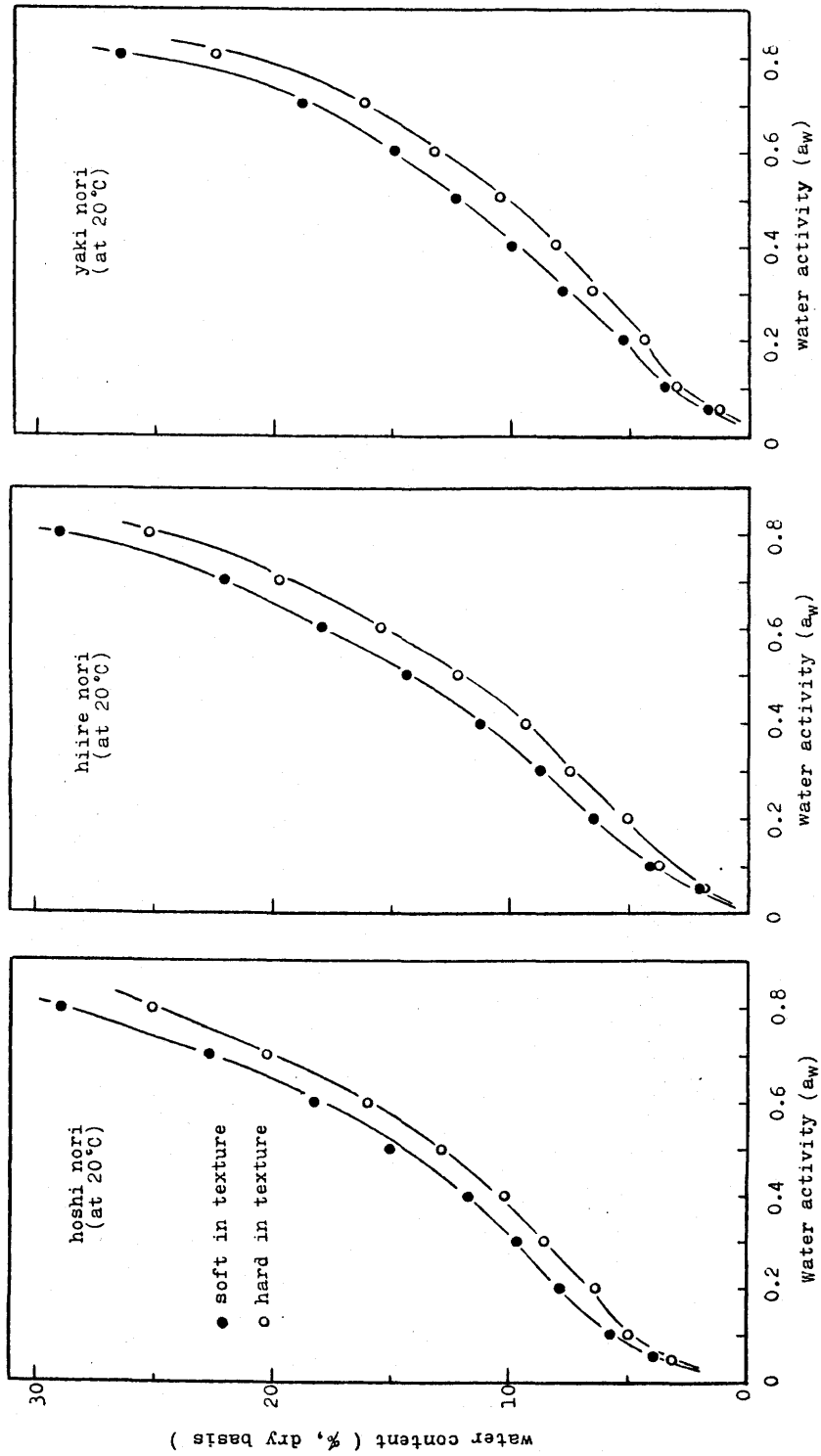


Fig. 2-1

Water sorption isotherms of hoshi-nori (dried laver), hiire-nori (redried laver by heat) and yaki-nori (toasted laver).

ただし、 $E_1$  は第一吸着層における吸着熱、 $E_L$  は第二吸着層以上の吸着層における吸着熱で気化熱に等しい。したがって、 $C$  値は気体分子の吸着力に関係する量である。

$m$  を吸着平衡時の水分吸着量、 $B$  を単分子層吸着水分値とすると、

$$\theta = m/B, \quad \alpha_w = a_w$$

であるから、(1)式は次のように書き改められ、

$$\frac{a_w}{m(1-a_w)} = \frac{1}{BC} + \frac{C-1}{BC} \cdot a_w \quad (4)$$

この(4)式を使えば、右辺の第一項および第二項の $a_w$ の係数の和をとり、その逆数から直ちに単分子層吸着水分値( $B$ )が計算される。

(3)式および(4)式に基づいて、単分子層吸着水分値(以下、monolayer: ML値と呼ぶ)およびML値を与える水分活性値、水分子の吸着力の指標となる $C$ 値と第一吸着層の水分子の吸着熱( $E_1$ )を計算した。その結果を、

Table 2-1 に示した。

この結果、ML 値はのりの種類にかかわらず、軟らかい質ののりにおいて高くなる傾向を示したが、C 値はのり質の硬軟に関係なく、加熱の程度に応じて、すなわち乾のりでは高く、焼のりでは低くなる傾向を示した。 $E_1$  は、すべての試料においてほぼ  $50 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$  となった。

#### b. 温度

各のりとも温度変化に対する水分吸着等温線の傾向が同じであったので、乾のりを例として Fig. 2-2 に水分活性と吸着水の関係を、また Fig. 2-3 に (4) 式で表わされる BET の吸着等温線を、各温度ごとに示した。また、各種ののりの ML 値、C 値および  $E_1$  の値等を Table 2-2 に示した。

Fig. 2-2 と Table 2-2 によれば、含水率が同じであれば、温度が高いほど水分活性値が増加する傾向が見られたが、大きな温

Table 2-1 Adsorption properties of Nori matrix

at 20 °C						
Texture	Matrix	M.L. (%)	$a_w$	c	$E_1 - E_L$ (KJ/mol)	$E_1$ (KJ/mol)
soft	hoshi nori	7.72	0.19	17.9	7.03	51.15
	hiire nori	7.93	0.26	8.0	5.07	49.19
	yaki nori	7.07	0.27	7.4	4.88	49.00
hard	hoshi nori	6.73	0.20	16.1	6.77	50.89
	hiire nori	6.70	0.25	9.1	5.38	49.50
	yaki nori	5.79	0.26	8.3	5.16	49.28

M.L.: monolayer weight of water,  $a_w$ : water activity  
 c: the BET constant,  $c \approx \exp(E_1 - E_L)/RT$ ,  $E_1$ : heat of  
 adsorption,  $E_L$ : heat of vaporization, R: gas con-  
 stant, T: temperature.



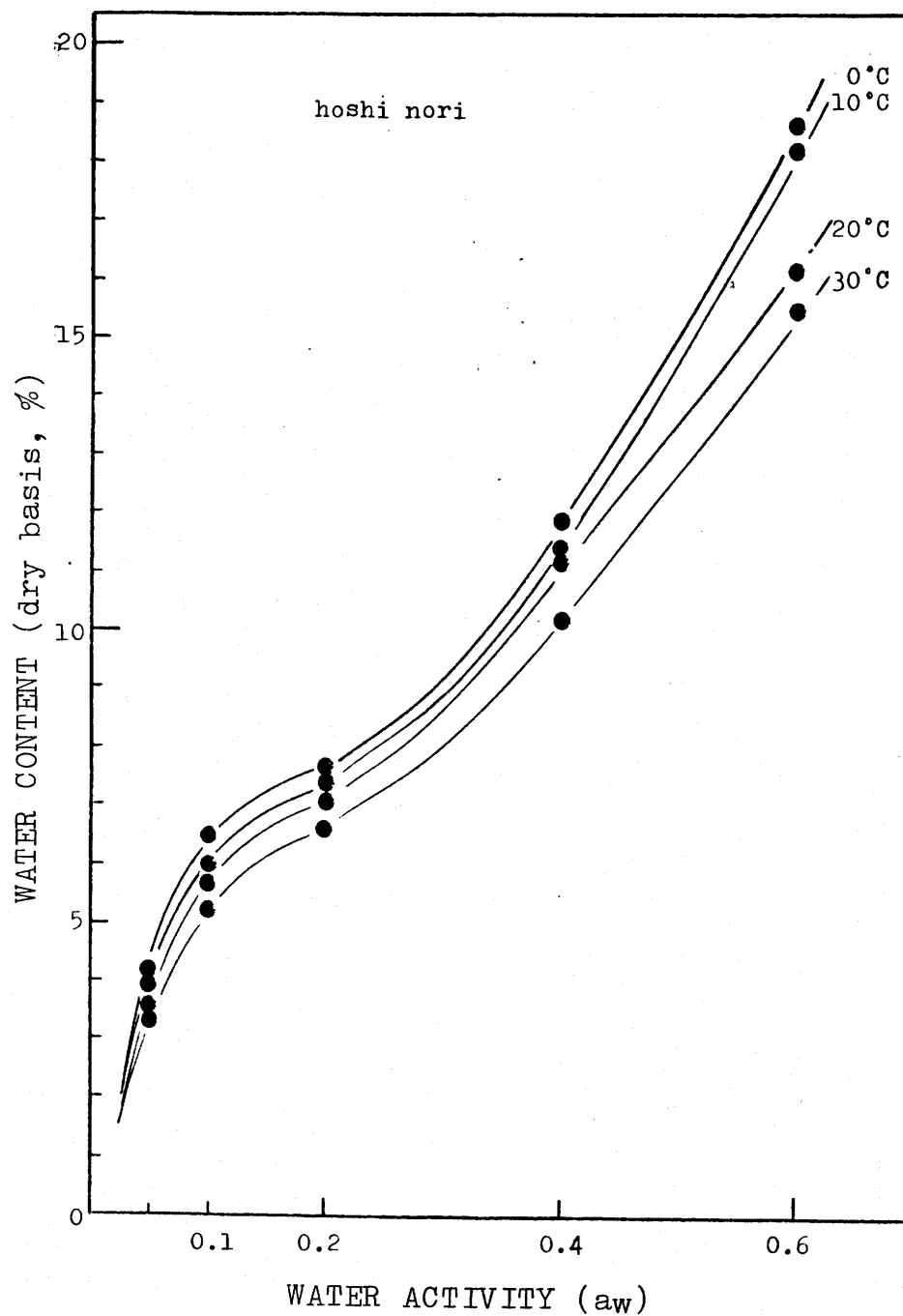


Fig. 2-2

Water adsorption isotherms of hoshi-nori (dried laver).

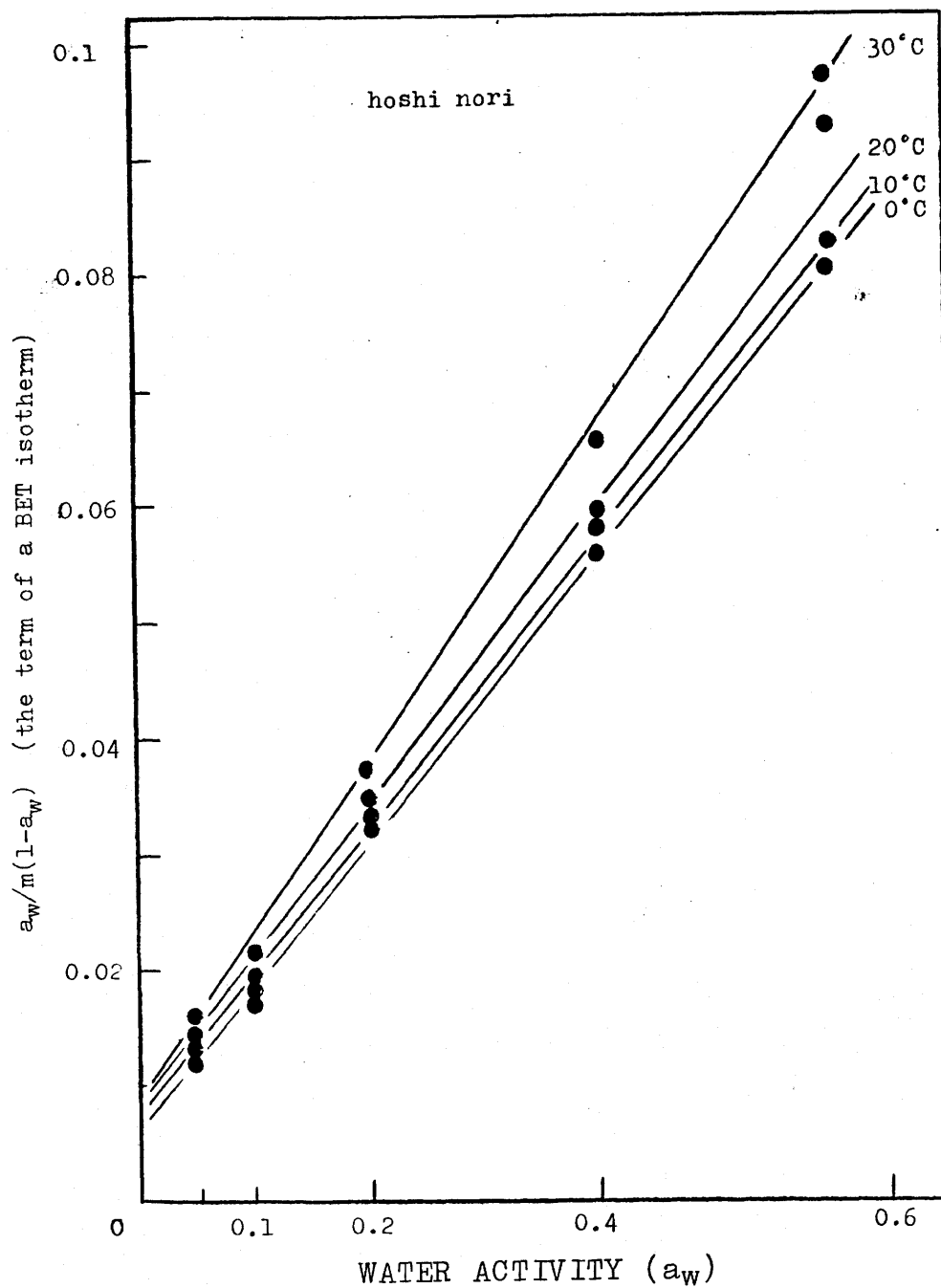


Fig. 2-3

Water adsorption isotherms of hoshi-nori (dried laver).

Equation of a BET isotherm:  $a_w/m(1-a_w) = 1/Bc + (c-1)a_w/Bc$

$m$ : water content,  $B$ : monolayer water content,  $c$ : constant.

Table 2-2 Adsorption properties of Nori matrix

Temp. (°C)	M.L. (%)	$a_w$	c	$E_1 - E_L$ (KJ/mol)	$E_1$ (KJ/mol)
hoshi nori					
0	6.3	0.18	21.0	6.92	51.99
10	6.8	0.20	16.6	6.62	51.20
20	7.0	0.21	14.1	6.45	50.57
30	6.8	0.24	10.1	5.82	49.48
hiire nori					
0	6.9	0.25	9.0	4.99	50.06
10	6.9	0.24	10.6	4.55	50.13
20	7.0	0.24	9.7	5.54	49.66
30	6.8	0.26	8.1	5.27	48.93
yaki nori					
0	6.0	0.25	8.7	4.90	49.97
10	6.4	0.26	7.8	4.83	49.41
20	6.1	0.25	5.8	4.28	48.40
30	6.1	0.29	6.2	4.62	48.28

M.L.: monolayer weight of water,  $a_w$ : water activity  
c: the BET constant,  $c \approx \exp(E_1 - E_L)/RT$ ,  $E_1$ : heat of  
adsorption,  $E_L$ : heat of vaporization, R: gas constant,  
T: temperature.

度依存は認められなかった。ML値も同様に温度依存を示さなかった。

一方、C値の温度依存性は乾のりにおいてのみ認められて、温度が高いほど減少した。また、 $E_1$ は温度の変化に対して依存せず、本実験の温度範囲においては、いづれも、約  $50 \text{ KJ} / \text{mol}$  ほどであった。

### C. のりの種類

Figs. 2-1, 2-2、あるいは Tables 2-1, 2-2 から、同一の含水率にそれぞれ平衡する水介活性値を比較すると、乾のり・火入れのり・焼のりの順に水の活動度が高くなることが介る。また、ML値は乾のりと火入れのりとがほぼ等しい値を示したが、焼のりは前二者よりも0.5~1%ほど低い値を示した。

一方、ML値を与える  $a_w$  値は、火入れのりと焼のりとがほぼ等しい値となり、乾のりのそれよりも0.05ほど低くなった。ま

た、 $C$  値はのりに温度が加わるほど小さくなる傾向を示した。たとえば、実験の温度範囲内で乾のりの  $C$  値は焼のりよりも大きく、火入れのりは両者の間の値を示した。しかし、三者間の  $C$  値の差は、保持温度が高いほど小さくなった。これに対して  $E_1$  値は、乾のり・火入れのり・焼のりのいづれも、ほぼ  $50 \text{ kJ/mol}$  となった。

## 2.2. 吸湿速度

各のりの吸湿速度は、吸湿バのりマトリクス内への水分子の拡散現象であると考え、良く知られた Fick の拡散方程式の解を使って評価した。方程式は次式で与えられる<sup>23)</sup>。

$$\frac{\partial J}{\partial t} = D \left( \frac{\partial^2 J}{\partial x^2} \right) \quad (5)$$

ここでは、拡散定数  $D$  は水蒸気濃度  $J$  にはあまり依存しないと仮定して、さらに、水分子を吸着していない厚さ  $l$  ののりが、急に圧力  $p_0$  の水蒸気中におかれたとき、のり

の両面が  $p_0$  に対応した濃度  $J_0$  に時間差なく到達すると仮定すると、初期条件と境界条件は以下のようなになる。

$$\begin{cases} t = 0, & 0 < x < l & \text{において } J = 0 \\ t > 0, & x = 0, x = l & \text{において } J = J_0 \end{cases}$$

これらのもとに (5) 式を解き、時間  $t$  までのリマトリクス内  $x$  方向に吸着した水蒸気の量を  $W_t$ 、吸着平衡時における吸着量を  $W_\infty$  とおくと

$$\begin{aligned} \frac{W_t}{W_\infty} &= 1 - \sum_{n=0}^{\infty} \frac{8}{(2n+1)^2 \pi^2} \exp\left\{-\frac{D(2n+1)^2 \pi^2}{l^2} t\right\} \\ &= (M_t - M_0) / (M_\infty - M_0) \quad (6) \end{aligned}$$

ここで、 $M_t$  は時間  $t$  における試料の質量、 $M_0$  は試料の乾燥質量、 $M_\infty$  は吸着平衡時の試料の質量である。

(6) 式の右辺は、 $t$  の大きいところを第 2 項以下が第 1 項と比較して無視できると、

$$\frac{W_t}{W_\infty} = 1 - \frac{8}{\pi^2} \exp\left(-\frac{\pi^2 D t}{l^2}\right) \quad (7)$$

拡散定数  $D$  は (7) 式を変形した次式を使っ

と算出できる。

$$\begin{aligned} \ln\left(1 - \frac{W_t}{W_\infty}\right) &= \ln\left(\frac{M_\infty - M_t}{M_\infty - M_0}\right) \\ &= \ln \frac{8}{\pi^2} - \frac{\pi^2 D t}{l^2} \end{aligned} \quad (8)$$

Fig. 2-4 は各試料の吸着平衡時における含水量 ( $W_\infty$ ) をそれぞれ 100 としたときの吸湿曲線である。平衡時の 1/2 の含水量に到達する時間 (半減期) を比較すると、乾のり・火入れのり・焼のりの順に、それぞれ 8 分・10 分・14.5 分となり、のり試料に熱が加えられるほど、吸湿速度が小さくなることが示された。

Fig. 2-5 における直線の傾きは、(8) 式の右辺第 2 項の右の係数  $-\pi^2 D/l^2$  に相当するので、この値から拡散定数  $D$  が求められる。試料の厚さ  $l$  を同一とすると、のりマトリクスに対する水の拡散定数は、乾のりが火入れのりの 1.4 倍、焼のりの 2.4 倍に、また火入れのりは焼のりの 1.7 倍となった。

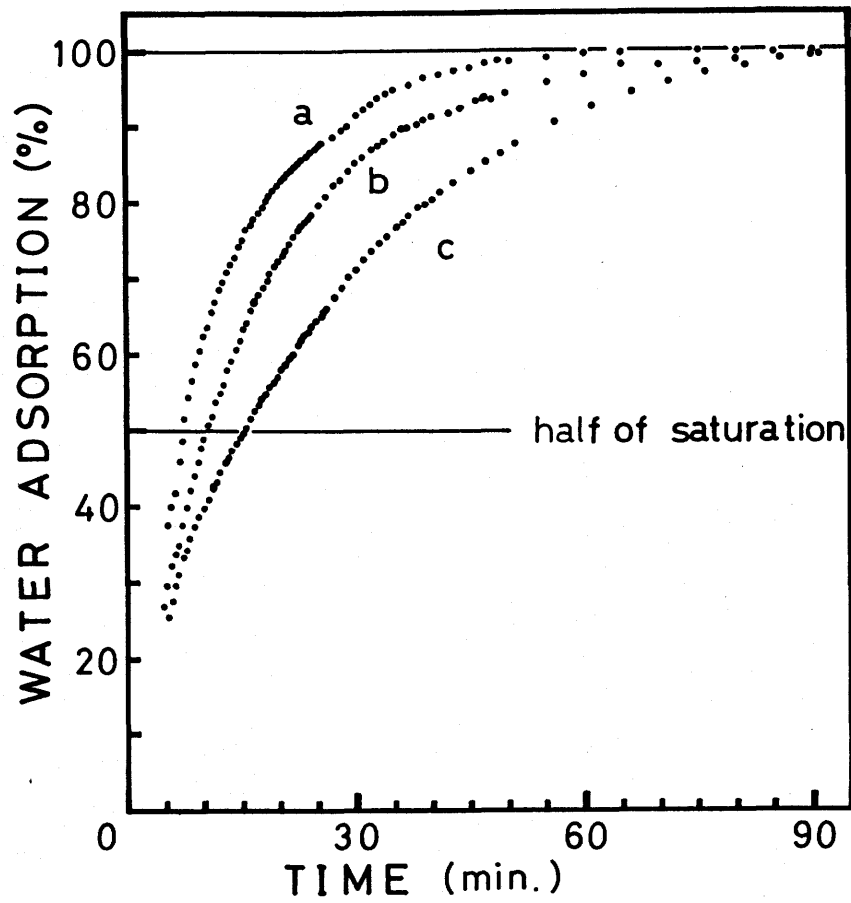


Fig. 2-4

Time course of water adsorption of hoshi-nori (a), hiire-nori (b) and yaki-nori (c) at 30°C of  $a_w$  0.65.



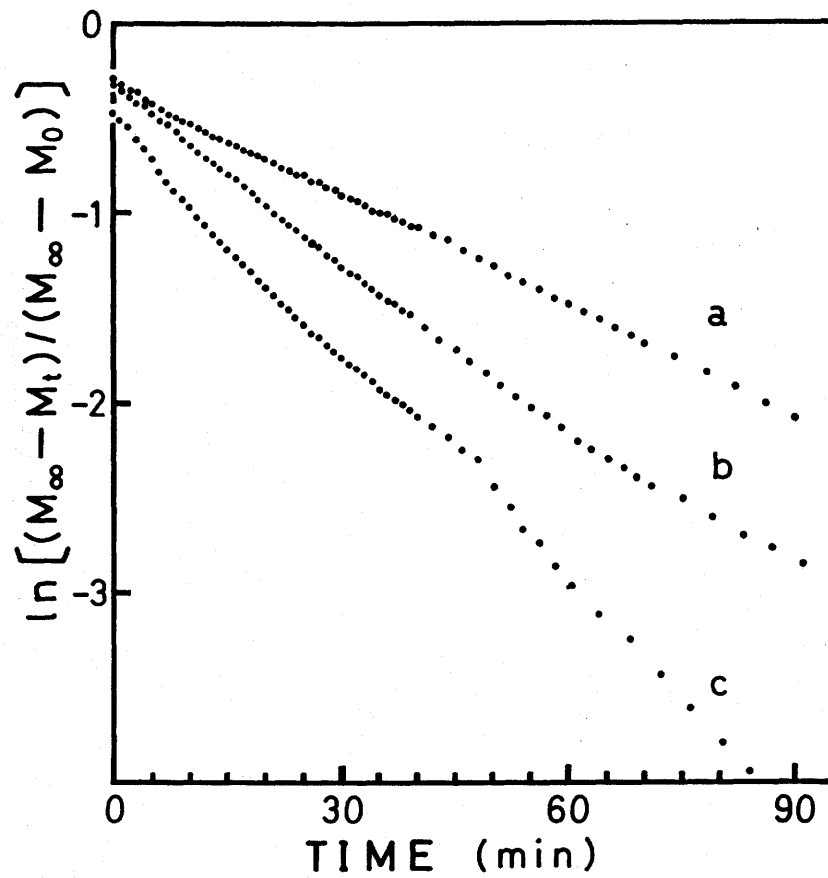


Fig. 2-5

Time course of diffusion of water into yaki-nori (a), hiire-nori (b) and hoshi-nori (c) at 30°C of  $a_w$  0.65.

$D \times 10^{-2} \times 10^{-4} \text{ (s}^{-1}\text{)}$  の値は、乾のり・火入れのり・焼のりの順に 1.52, 1.08, 0.632 となった。

Fig. 2-6 には、軟らかいのり質と硬いのり質の乾のりの吸湿速度曲線を示した。この結果、吸湿速度は軟らかいのり質のマトリクスの方が大きいことが分った。

### 2.3. 乾のり中の水の化学ポテンシヤル

純粋な水（液体）を標準状態としたときの乾のりに含まれる水の化学ポテンシヤル ( $\Phi$ ) を、次式に基づいて、水分吸着等温線のデータから計算した。その結果を Fig. 2-7 に示した。

$$\Phi = \mu_w - \mu_w^* = RT \ln a_w \quad (9)$$

ここで、 $\mu_w$  は試料中の水の化学ポテンシヤル、 $\mu_w^*$  は純水の化学ポテンシヤル、 $a_w$  は水分活量、 $R$  は気体定数、 $T$  は絶対温度である。

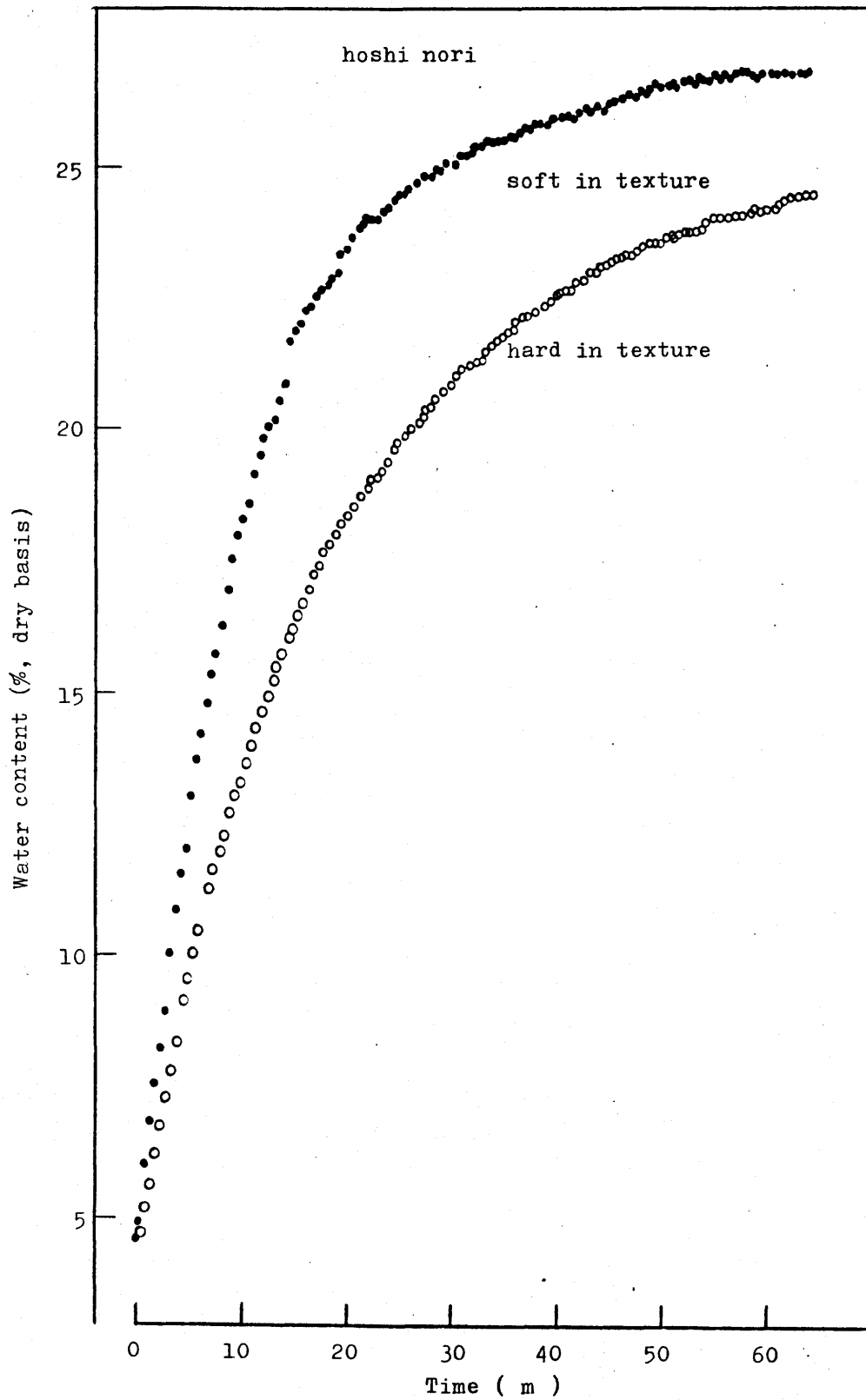


Fig. 2-6

Time course of water adsorption of hoshi-nori (dried laver).

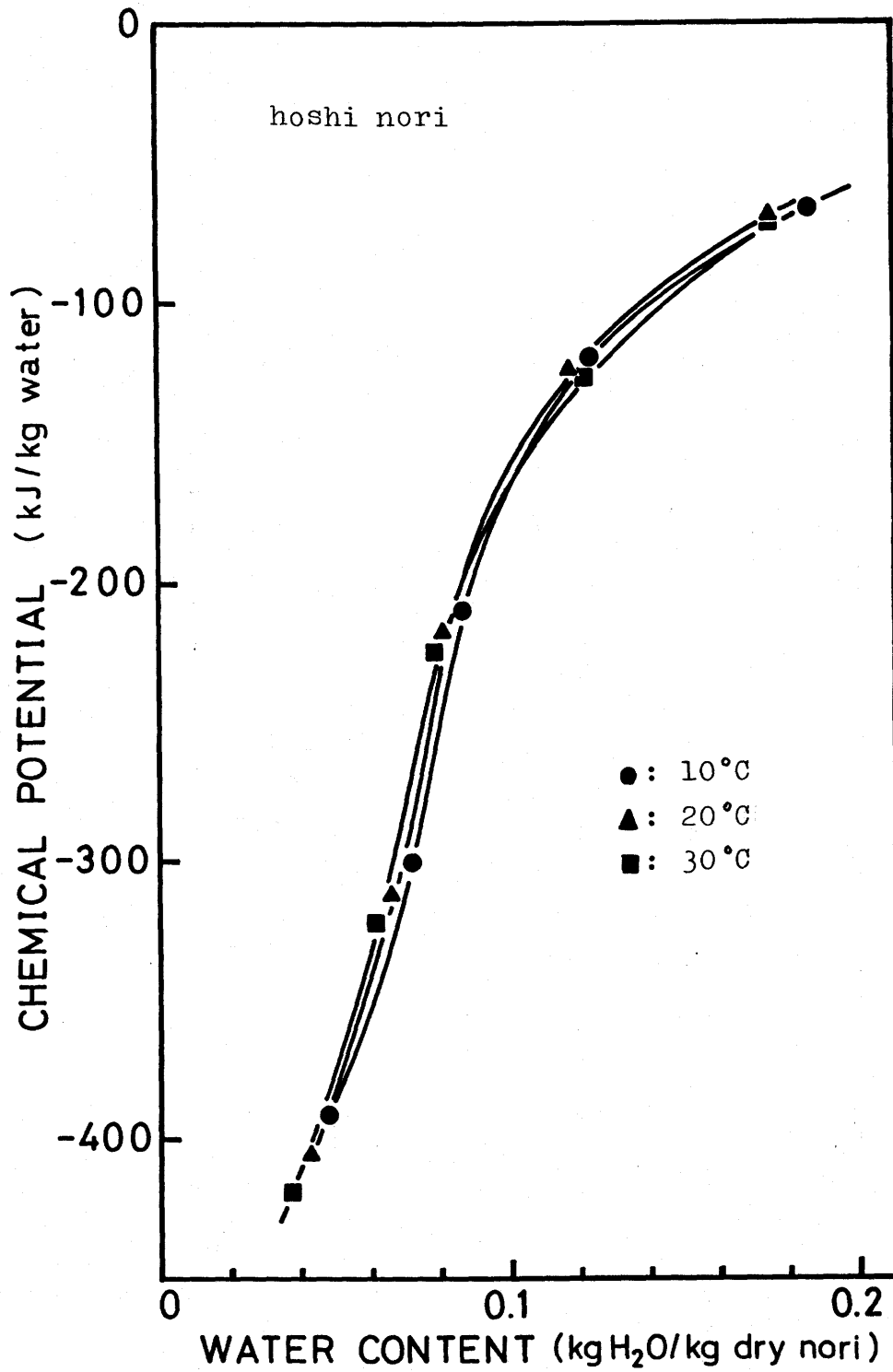


Fig. 2-7

Changes in chemical potential of water in hoshi-nori (dried laver)

$\Phi$ は、乾のりの含水率の増加に伴って単調に増加したが、含水率が12% ( $a_w 0.4$ )以上になると、増加傾向が緩かになった。また、 $a_w 0.4$ よりも低い水分条件では、温度が高いほど  $\Phi$  の値は小さくなるのに対して  $a_w 0.4$ 以上の高水分区においては  $\Phi$  の温度依存性が消失する傾向を示した。

### §3 考察

#### a. のりマトリクスの熱力学的性質

単分子層の水の吸着熱 ( $E_1$ ) は、加熱の有無、亦なわち乾のりや火入れのりあるいは焼のりにかかわらず、また保持温度にも依存せず、ほぼ  $50 \text{ kJ/mol}$  であった。この値は、水素結合の2倍程度の大きさであることから、のりの中の水は、マトリクスの極性基に凝集に似た弱い相互作用（つまり、物理吸着）によって吸着しているものと思われる。また同時に、水が吸着する極性基の性質は、加熱しても、保持温度が変動しても変化しな

いことが示された。

一方、乾のりの $C$ 値は、保持温度が高いほど小さくなる傾向を示した。これに対して焼のりの $C$ 値には、ほとんど温度依存性が認められなかった。

$C$ 値は、 $\exp\{(E_1 - E_L) / RT\}$ の形で表わされるように、吸着媒としてのりのマトリクスに吸着する水分子の第一層と他の層とのエネルギー差に関係する量である。すなわち、 $C$ 値の大小は、水分子の吸着の強弱の原因となる吸着媒の表面エネルギーの大きさに対応する。したがって、 $C$ 値の変動はのりマトリクスの性質が熱力学的に変化したことと意味しており、乾のりのマトリクスが、火入れ処理および焙焼によつて、みかけ上、水分子を吸着する能力を減少させることに対応する。ところで、 $E_1$ は乾のりと焼のりとでほぼ同じ値であるから、水分子の吸着点(極性基)の熱力学的性質は、焙焼時の温度程度では変化しないものと思われる。

このように、吸着点の性質が変わらず、吸着媒の性質が変化する現象は、のりマトリクスに膨潤能が存在することと示唆する。すなわち、加熱されるとのりのマトリクスは凝縮して表面積を縮め、疎水的性質を獲得する。その結果、火入れのりや焼のりのマトリクスは膨潤能を失ない、 $E_1$  の値はそのまま表面エネルギーが減少するものと思われる。膨潤にともない新たな吸着表面が生ずるから、その意味で焼のりのマトリクスは、乾のりと比較して不活性であると言えよう。

#### b. のりマトリクスの成分

乾のりを構成する成分のうち、極性基を有する主要な成分は、乾重量当り約々5%と占める糖質と、約々々%の蛋白質である<sup>24)</sup>。したがって、のりの水分吸着等温線の形を決める成分は、糖質と蛋白質であると考えられる。このうち、火入れ処理や焙焼によって吸着等温線の性質を変化させる中心の成分は

低温部分では蛋白質、高温部分ではそれに糖質が加わるものと考えられる。

すなわち、高々80℃で乾のりを加熱しても、僅か15分ほどで吸着等温線が変化したこと、また、焼のりのML値が、乾のりよりも低い値を示したことがその根拠である。通常、低含水量の糖質は、80℃程度の温度では変化しないが、のりの色素蛋白質の一つであるフィコエリスリンの変性温度から判断して(第6章を参照)、蛋白質は80℃で変性するものと思われる。蛋白質は熱変性すると、その水和量を減少させて疎水的性質を新たに獲得することが知られている<sup>25)</sup>。

一方、糖のカラメル化反応の例があるように、焼のりを製造するときの180~200℃の温度条件は、糖質を十分変化させうる。焼のりは、 $a_w \approx 0 \sim 0.4$  において水分脱着等温線にヒステリシスが認められている<sup>26)</sup>。マトリクスが吸水柱および膨潤柱に乏しい場合、ヒステリシスが大きくなることが、Ca-



コンドロイチン硫酸を使った実験で確かめられている<sup>27)</sup>。このような事例から、焼のりにおいては、糖の熱変性も吸湿に関する性質の変化に関与しているものと思われる。

ところで、硬い質ののりは軟らかい質ののりよりもML値が低かった (Table 2-1)。これは、硬いのりが、のりの多糖成分ポルフィランの疎水性成分である3,6-アンヒドロガラクトースを、より多量に含有することに<sup>21)</sup>関係するものと思われる。ところが、ML値と平衡している $a_w$ 値とC値に関しては、両性質ののりに差異を認めることができない。このことは、少なくとものり中に30%前後存在するポルフィランが、水の吸着現象に対してその性質を変化する成分とはなり得ないことを示している。すなわち、のりマトリクスの水に対する性質は、基本的には蛋白質の水分吸着に関する性質を反映しているものと考えられる。

吸湿速度は、のりマトリクス内部に水が

拡散してゆく速度、あるいは吸湿にともなうそのリマトリクスが膨潤する大きさによって決定される。また、火入れ処理程度の温度（50～80℃）によつてその吸湿速度が明瞭に低下し、かつ持続することは、80℃よりも低い温度において不可逆的な熱変性を起す成分が存在することと意味している。このような性質を持つ成分は、蛋白質であると考えられる。

#### § 4 第2章の結論

乾のり・火入れのり・焼のりについて、水分吸着量と吸湿速度を測定した。その結果をそれぞれ BET の吸着等温式と Fick の拡散方程式に基づいて解析して、のりマトリクスと水分の関係、並びにのりマトリクスの水分特性に対する加熱処理の影響について以下の知見を得た。

まず、乾のり・火入れのり・焼のりの三者とも、同一水分活性における平衡含水量は軟らかいのり質ののりの方が高かった。しかし、BET の単分子層吸着水分値は、のりの硬軟に関わりなく、加熱処理を受けると減少した。

次に、水に対する吸着媒の表面エネルギーの指標となる C 値もまた、のりマトリクスが加熱されると減少した。また、乾のりの C 値は環境の温度が高いほど小さな値を示したが、火入れのりおよび焼のりの C 値は殆んど温度変化に依存しなかった。これらは、

加熱処理によつて、のりマトリクスの表面エネルギーが減少して、水分の吸着能を低下させることを意味している。

一方、第一層吸着分子の吸着熱  $E_1$  は、のりの硬軟および加熱処理の有無、或いは環境温度に関わりなく殆んど一定値を示したことは、水分子とその吸着点の性質の関係でのり質や処理温度に関係しないことを示唆するものと思われる。

以上、 $C$  値と  $E_1$  値との考察から、水分子の吸着点の性質が変らずに吸着表面の性質が変化せる現象は、のりマトリクスに膨潤能があり、加熱処理を受けるとその能力が失なわれることを示しているものと思われる。

すなわち、火入れのりや焼のりは乾のりと比較して、水に対して不活性な性質を持つものと思われる。

水に対するのりマトリクスの性質は、その主要成分である糖質と蛋白質の性質を反映するものである。ところで、 $80^{\circ}\text{C}$  以下の

火入れ処理をしても、のりマトリクスの性質に变化が起ることなどから、その原因成分は蛋白質であろうと思われる。また、焙焼によるのりマトリクスの性質の変化は、熱に対する蛋白質および糖の性質の変化が反映されているものと思われる。

## 第3章

## アスコルビン酸の分解と水

乾のりに含まれるアスコルビン酸は、変動の激しい成分として知られており、保蔵条件のうち、環境水分の増加に伴って急激に分解する<sup>3, 9, 14)</sup>。一般に食品の成分は、単分子層吸着水分状態にあるとき最も安定であるとされるが<sup>11)</sup>、アスコルビン酸の場合は、第2章に示した乾のりの単分子層吸着水分値(含水率6~8%)において、すでに分解が進行中である<sup>3, 9)</sup>。

そこで本章においては、水分条件と温度条件を変えて、乾のりの保蔵実験を実施し、アスコルビン酸の分解挙動、および分解原因を明らかにして、反応速度をもとに、アスコルビン酸を安定に保存するための最適水分条件の検討を行なう。また、BET式による乾のりの単分子層吸着水分値が、アスコルビン酸の最適保存水分条件とはならない原因を

究明して、単分子層最安定の考え方を検討する。

## § 1 実験

### 1. 1. 保蔵方法

#### a. 乾のりの長期保蔵

兵庫県産のナラワスサビノリ (*Porphyra yezoensis*) を原藻として、摘採後直ちに、常法により自動海苔製造機を使用して乾のりとした。乾のりは、二次乾燥処理 (いわゆる火入れ処理) を施さず、石灰のみを用いて予備乾燥したのち供試した。

次に、乾のりは、約  $2 \times 20 \text{ cm}^2$  に裁断したのち、1g を1単位として7単位づつを前章のごとき調湿液の入っている褐色デシケータ (容量、約3L) 内に収納した。保蔵期間は6か月間として、ほぼ1と月ごとに1単位づつのりを取り出して、総了スコルビン酸の定量に供した。保蔵温度は15~18℃であった。調湿区は、水分活性 ( $a_w$ ) の

値で 0, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.6 の 6 段階とし、また酸素遮断性は、ガス遮断性を有するアルミラミネート製のポリエチレン袋 (OPP-Al-PE 系フィルム, 容量は約 1.5 dl) に、鉄系脱酸素剤 (三菱瓦斯化学社製) および乾燥剤の石灰とともに、上記試料を 1 単位ずつ入れて、加熱融着により密封した。

#### b. 乾のりの短期保蔵 - I

佐賀県有明海産のナラワスサビノリを常法により抄製したのを、直ちに実験に供した。亦なわち、一次乾燥のみを施した乾のりを約  $2 \times 3 \text{ cm}^2$  に裁断したのを、 $a_w \approx 0, 0.05, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.6, 0.8$  にそれぞれ調湿した 1.5 l 容量のポリエチレン製密閉容器に収納した。保蔵は  $13 \sim 15^\circ\text{C}$  の暗所において 10 週間続けた。なお、 $a_w 0.2, 0.8$  の両区には酸素遮断区を設けた。



## C. 乾のりの短期保蔵 - II

佐賀県有明海産のナラワスサビノリを常法により抄製したのち、直ちに供試した。試料は、約  $2 \times 3 \text{ cm}^2$  の大きさに裁断したのち、 $a_w \approx 0, 0.05, 0.1, 0.2, 0.4, 0.6$  に調湿した上述の密閉容器に収納して、それぞれを  $10, 20, 30 (\pm 0.5)^\circ\text{C}$  のもとに、8週間保蔵した。短期保蔵実験では、了スコルビン酸（還元型）の定量を1週間ごとに行った。

## d. 焼のりの保蔵

愛知県三河湾産のナラワスサビノリを原藻とした乾のりと、同乾のりを  $150 \sim 180^\circ\text{C}$  で5秒間、赤外線加熱して焙焼した焼のりとを供試した。試料は約  $6 \times 6 \text{ cm}^2$  に裁断したのち、 $a_w 0.1, 0.2, 0.4, 0.6$  に調湿したデシケータ内に収納して、減圧下で各水分活性に平衡させた。4日後、直ちに  $2.5 \text{ dl}$  のブリキ製容器に調湿済みの試料を扱し

を製成し、20℃で3か月間保蔵した。

## 1.2. アスコルビン酸の定量

### a. 抽出および定量

アスコルビン酸の定量は、2,4ジニトロフェニールヒドラジン(DNP)法<sup>28)</sup>に依った。すなわち、試料ののり200~400mgを、5%メタリン酸溶液を用いて、海砂と一緒に磨碎抽出したので、その遠心上澄液を50mlの定容にして、内2mlをDNP試薬との反応に供した。反応条件は、37±0.5℃、180分であった。氷冷によって反応を停止したので、85%硫酸溶液を用いて脱水・発色させ、523.5nmにおける吸光度を測定した。検量線は、特級試薬のL-アスコルビン酸を用いて作成した。なお、定量の都合、標準アスコルビン酸溶液を用いて、DNP反応の発色率を求め、各吸光値を補正した。また、還元型アスコルビン酸は総アスコルビン酸と酸化型アスコルビン酸の

差で表わした。

### b. 薄層クロマトグラフィー

のりの5%メタリン酸抽出液において、アスコルビン酸の比色定量を妨害する物質の有無を、シリカゲル（シリカゲル60:Merck社製）の薄層クロマトグラフィー<sup>29)</sup>によって検索した。すなわち、まずDNP反応の生成物を酢酸エチルで全量抽出した。この抽出液を減圧濃縮したのち、トルエン:アセトン:5%酢酸水溶液(=2:1:1 v/v)の混合液上澄を用いて上昇法で展開した。薄層を風乾後、各スポットを酢酸エチルで抽出し、それぞれを85%硫酸溶液で発色させたのち、吸収スペクトルを比較検討した。

## § 2 実験結果

### 2.1. 長期保蔵の場合

#### a. アスコルビン酸の分解

供試した乾のりのBET単分子層吸着水

分値 (ML 値) は、6.9% ( $a_w$  0.17) であ  
った。また、CAURIE<sup>30-32)</sup> の自然吸着等温  
式から計算した安全含水率は、7.3% ( $a_w$   
0.2) であった。

まず、供試した乾のりのアスコルビン酸  
含有量は、乾のり乾物 100 g 当り 240  
mg であった。この値を 100 として総ア  
スコルビン酸の残存率と水分活性および保蔵  
期間との関係を Fig. 3-1 に示した。すな  
わち、アスコルビン酸の分解は水分活性の増  
加とともに指数函数的に進行した。たとえ  
ば、 $a_w \approx 0$  区では、保蔵開始後 6 か月を経  
過した時点で、約 85% のアスコルビン酸が  
残存したのに対して、 $a_w$  0.1 区では 1 か月  
間に約 40% の、また 3 か月間では約 75%  
のアスコルビン酸が分解した。 $a_w$  0.6 区  
に保蔵した乾のりの場合は、1 か月経過する  
以前に、アスコルビン酸の残存率は、当初の  
1/5 以下になった。また、各水分活性区と  
も保蔵開始後 3 か月以降は、アスコルビン酸

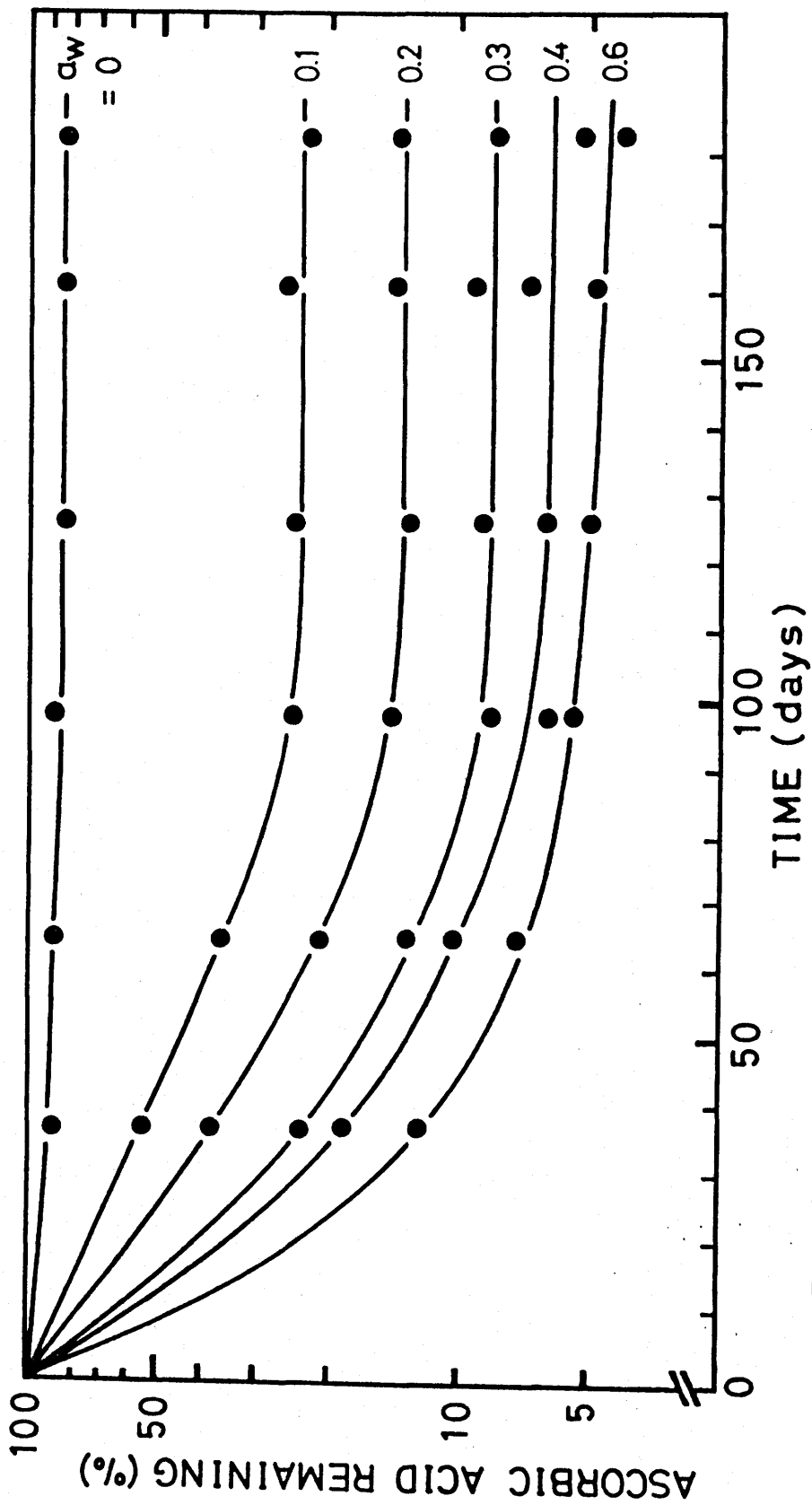


Fig. 3-1

The relationship between the destruction of the total ascorbic acid and different water activities in hoshi-nori (dried laver) stored at 15-18°C.

の分解速度が急激に減少した。

#### b. 最適水分条件の推定方法

乾のり中のアスコルビン酸は、 $M_L$  値以下の水分活性である  $a_w$  0.1 区においても、大きな分解を起した。そこで、アスコルビン酸を最も安定に保蔵するために必要な水分条件の推定を試みた。推定方法は、以下の通りである。

まず、図上 (Fig. 3-1) から各水分活性区における任意のアスコルビン酸残存率について、それぞれに対応する保蔵日数を求める。たとえば、アスコルビン酸の残存率 30% の線が、 $a_w$  0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.6 区におけるそれぞれの分解曲線と交差する点に相對する保蔵期間は、それぞれ 79 日、42 日、29 日、22 日、16 日である。すなわち、これよりも保蔵期間が短かければ、少なくとも 30% のアスコルビン酸は保存されることになる。同様に、40% の場合は順

に、57日、35日、21日、17日、12日となる。同じく、50%、すなわち半減期は順に、41日、26日、16日、12日、9日となる。

次に、このようにして得られた保蔵可能日数の逆数と各水分活性区における乾のりの平衡水分量との関係をプロットして Fig. 3-2 を得た。この逆数プロットは、それぞれが良好な直線性を示したので、最小自乗法によってそれぞれの直線の式を定めて、横軸切片の値を計算した。横軸切片は、各残存率についてアスコルビン酸の保存日数が無限大、すなわち最適保蔵水分量を意味する。たとえば、含水率が4.72%であれば長期保蔵中ぐも、乾のり中のアスコルビン酸の残存率を少なくとも30%以上に保つことが出来る。残存率40%の水準に対しては、含水率が4.60%、同50%に対しては同4.55%が得られる。

このようにして定めた安定保蔵日数と残

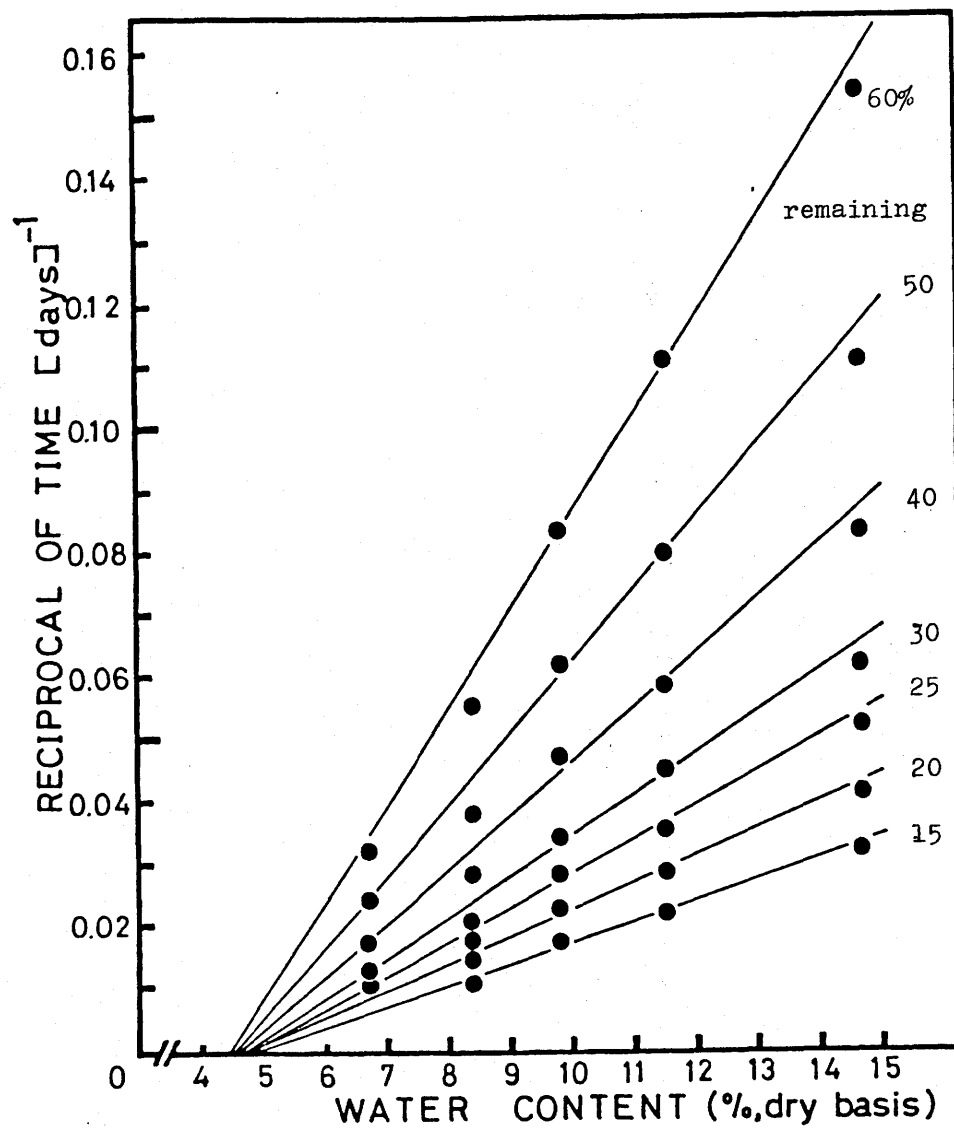


Fig. 3-2

Reciprocal plots of life time of the total ascorbic acid derived from the curves shown in Fig. 3-1 as a function of the equilibrium water content



存率との関係は、Fig. 3-3 に示したように一次の相関を示した。結局、残存率 100% への外挿値は、4.14% となった。この値は、 $a_w$  0.05 と平衡する値である。

## 2.2. 短期保蔵の場合

### a. アスコルビン酸の分解

供試した乾のりの BET 式による ML 値は、7.3% ( $a_w$  0.11) であった。また、実験開始時のアスコルビン酸含有量は、乾のり乾物 100 g 当り 550.3 mg であった。長期保蔵の実験結果から、それぞれのおかれた水分環境にもかかわらず、アスコルビン酸の分解が 2~3 か月の間にはほぼ停止することや、保蔵の最適水分値が約 4.1% ( $a_w$  0.05) にあることが明らかになったので、水分条件に新たに  $a_w$  0.05 区を設けて、10 週間乾のりを保蔵し、1 週間ごとに還元型アスコルビン酸を定量した。その結果を Figs. 3-4, 5 に示した。

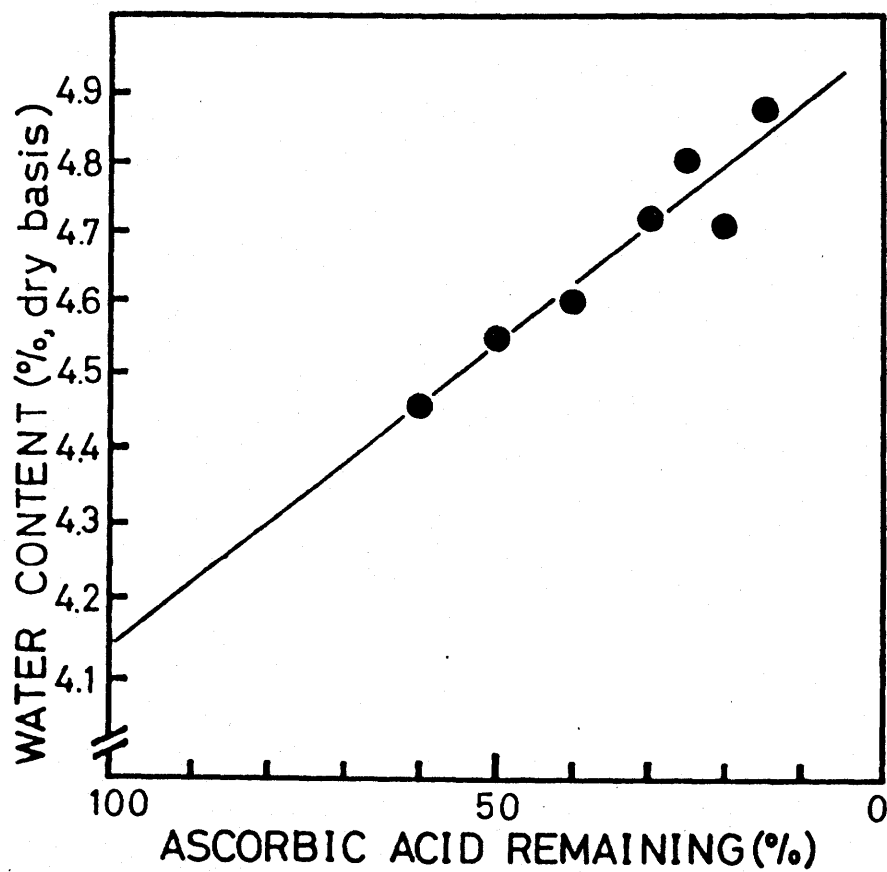


Fig. 3-3

Estimation of the water content for the safe storage of the total ascorbic acid in hoshi-nori (dried laver), which was given by extrapolation to 100% remaining. Logarithm plots of the water content for safe storage as a function of remaining rates were obtained from intercepts of the transversal axis of the linear plots in Fig. 3-2

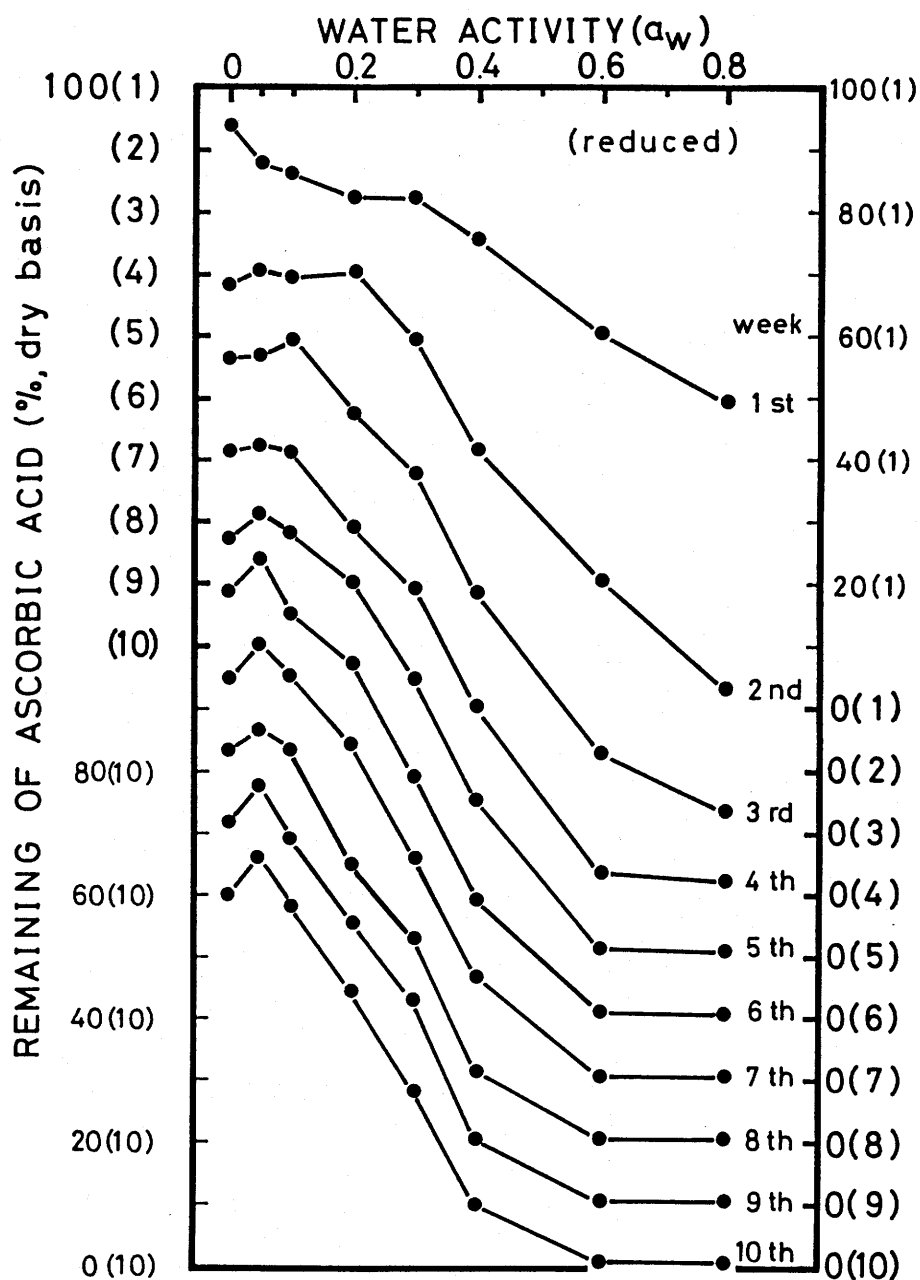


Fig. 3-4

Influence of water activities on the destruction of the reduced ascorbic acid in hoshi-nori (dried laver) stored at 13-15 °C. In this figure, for example, 100% remaining level for the first week of storage is simply written as 100 (1). Other remaining levels and storage time are abbreviated as the same manner.

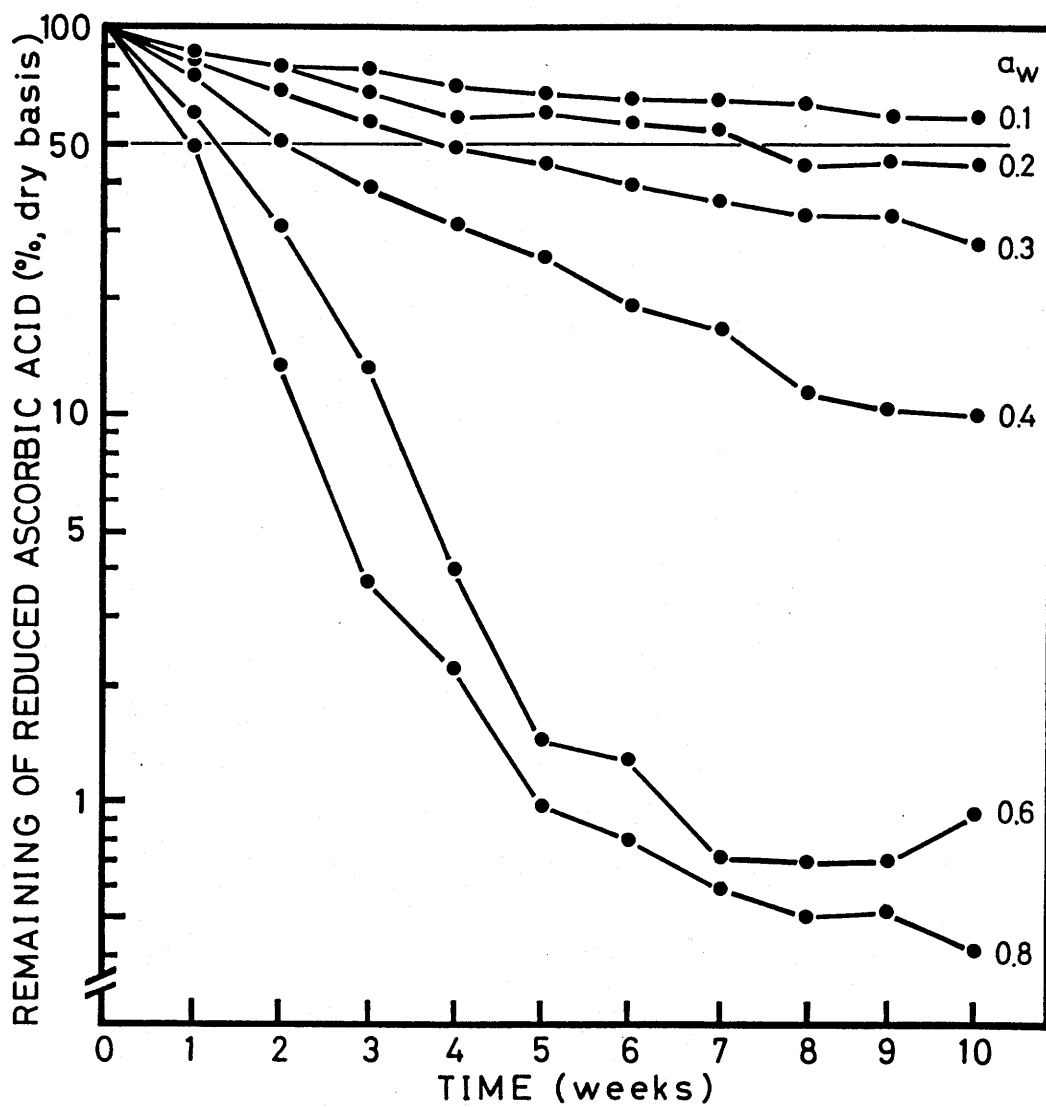


Fig. 3-5

The relationship between the destruction of the reduced ascorbic acid and different water activities in hoshi-nori (dried laver) stored at 13-15°C.

Fig. 3-4 によれば、保蔵期間を通して最も高い残存率を示した水分活性区は、 $a_w$  0.05 区であった。この傾向は、保蔵期間を経るほど顕著になった。

短期保蔵における最適水分条件は、長期保蔵の項で述べた逆数プロットの手法を用いて、含水率として 4.16% ( $a_w$  0.02) と推定された。本項の逆数プロットおよび最適水分量への外挿プロットを、それぞれ Fig. 3-6 と Fig. 3-7 に示した。

#### b. アスコルビン酸の分解と酸素

脱酸素剤 (free oxygen absorbent : FOA) の有無によるアスコルビン酸の残存率の変化を、Fig. 3-8 に示した。FOA を封入した系の酸素分圧は、最大で 0.001 であった。

$a_w$  0.2 および 0.8 の両水分区とも、脱酸素状態下では、アスコルビン酸の分解は大きく抑制された。しかし、この抑制効果は

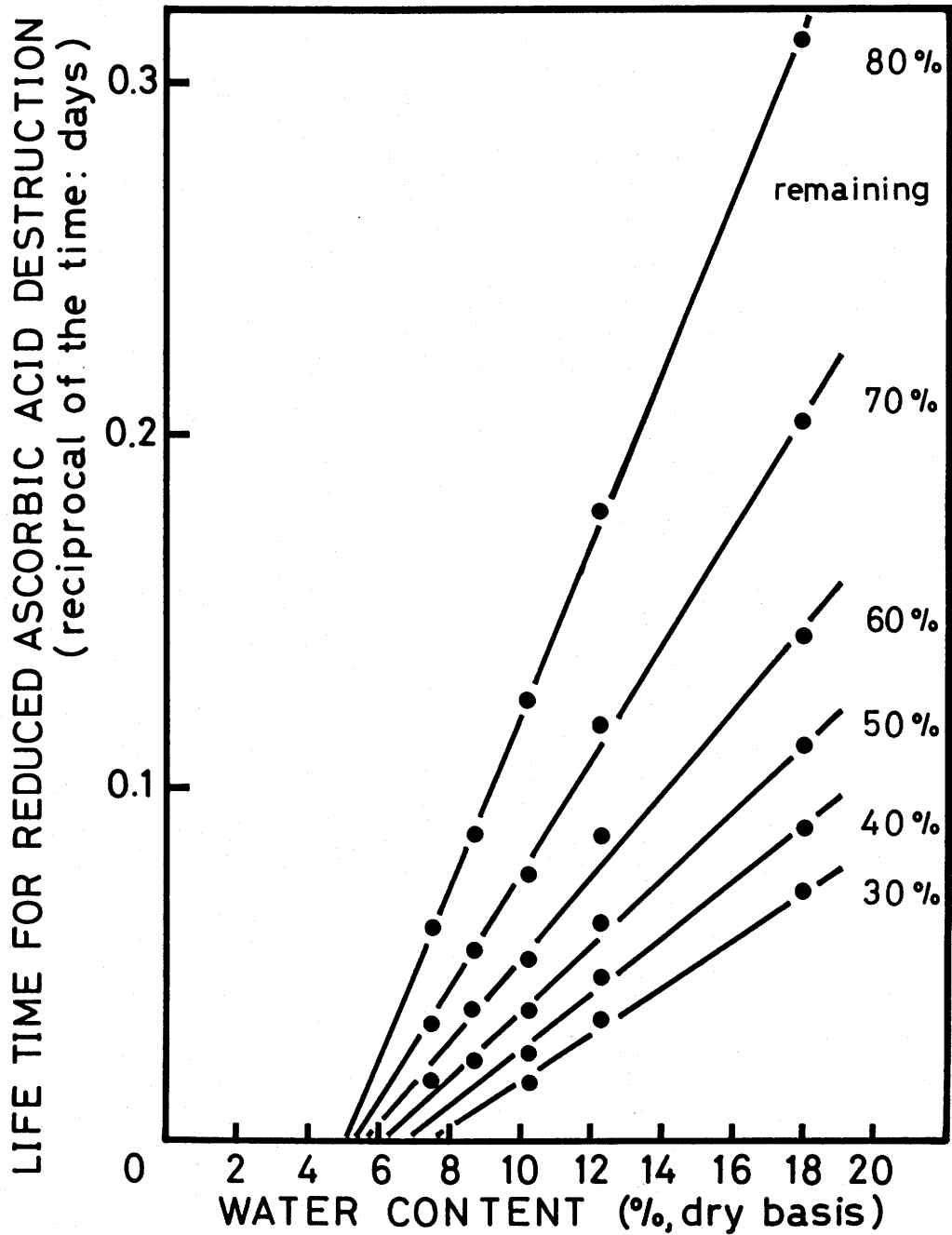


Fig. 3-6

Reciprocal plots of life time of the reduced ascorbic acid derived from the curves shown in Fig. 3-5 as a function of the equilibrium water content.

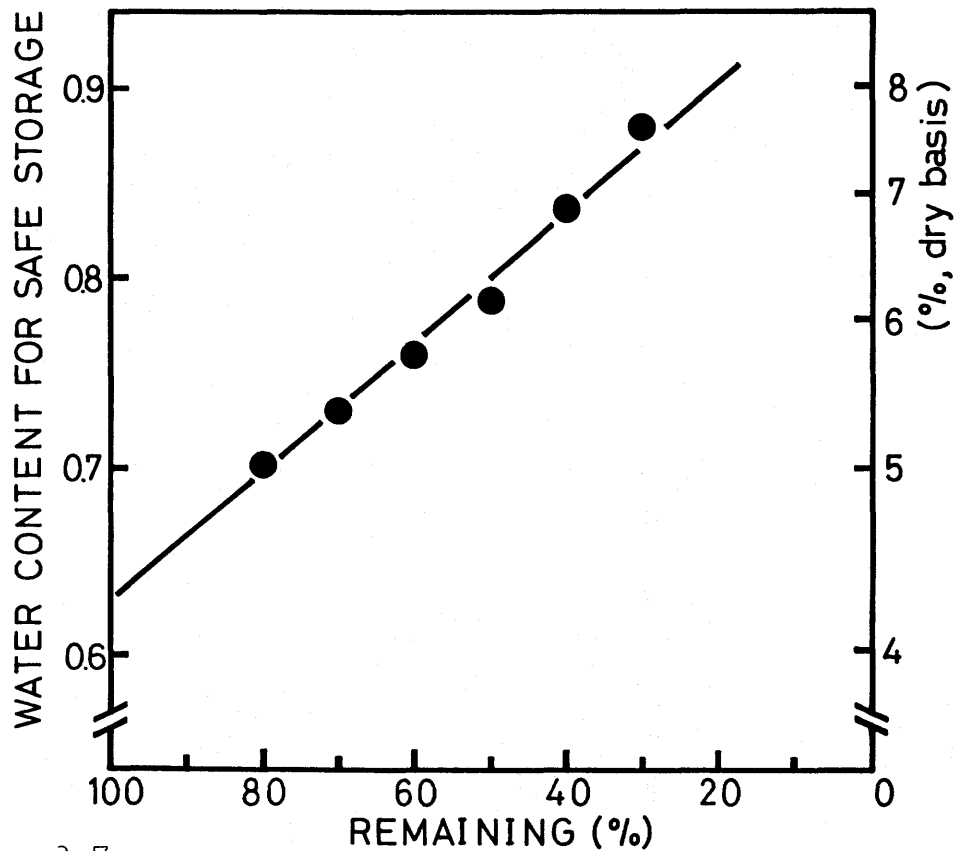


Fig. 3-7

Estimation of the water content for the safe storage of the reduced ascorbic acid in hoshi-nori (dried laver), which was given by extrapolation to 100% remaining. Logarithm plots of the water content for safe storage as a function of remaining rates were obtained from intercepts of the transversal axis of the linear plots in Fig. 3-6.

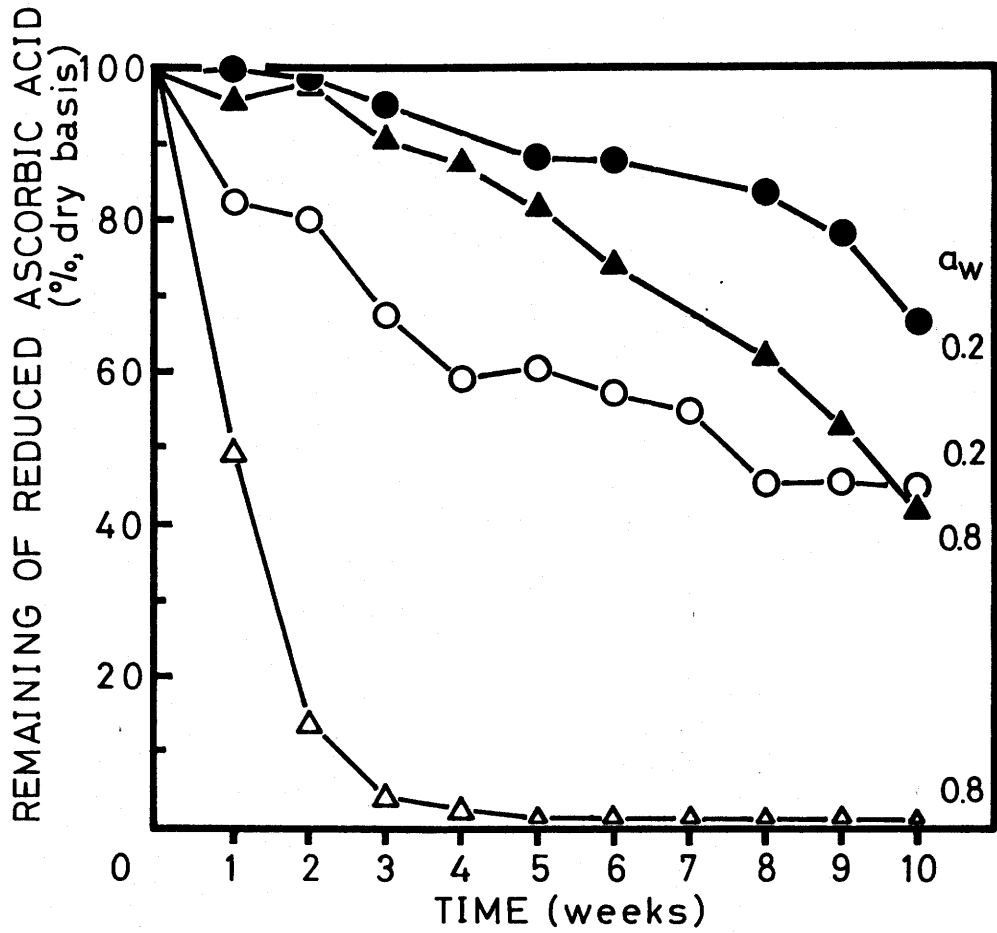


Fig. 3-8

Destruction of the reduced ascorbic acid in hoshi-nori (dried laver) stored in air (open symbols) and in an oxygen free atmosphere (closed symbols) at 13-15°C.



完全ではなかった。すなわち、FOAを併用した $a_w$  0.2区は、未使用の $a_w$  0.05区と0.1区よりも保蔵性は優れていたが、それでも10週間には、約33%のアスコルビン酸が分解した。また、 $a_w$  0.8区においては、10週間に約58%のアスコルビン酸が分解した。

このように、FOAを使用した場合にもアスコルビン酸の安定性は、水分の多寡に左右された。

### C. 熱力学的パラメータ

Figs. 3-9~11に、保蔵温度10、20、30℃におけるアスコルビン酸の分解速度を水分活性区ごとに表示した。ここで、各温度におけるBETのML値は、それぞれ7.5% ( $a_w$  0.12)、7.2% ( $a_w$  0.13)、7.3% ( $a_w$  0.15)となっており、温度変化に対する依存性は、ほとんど認められなかった。

アスコルビン酸の分解速度は、温度およ

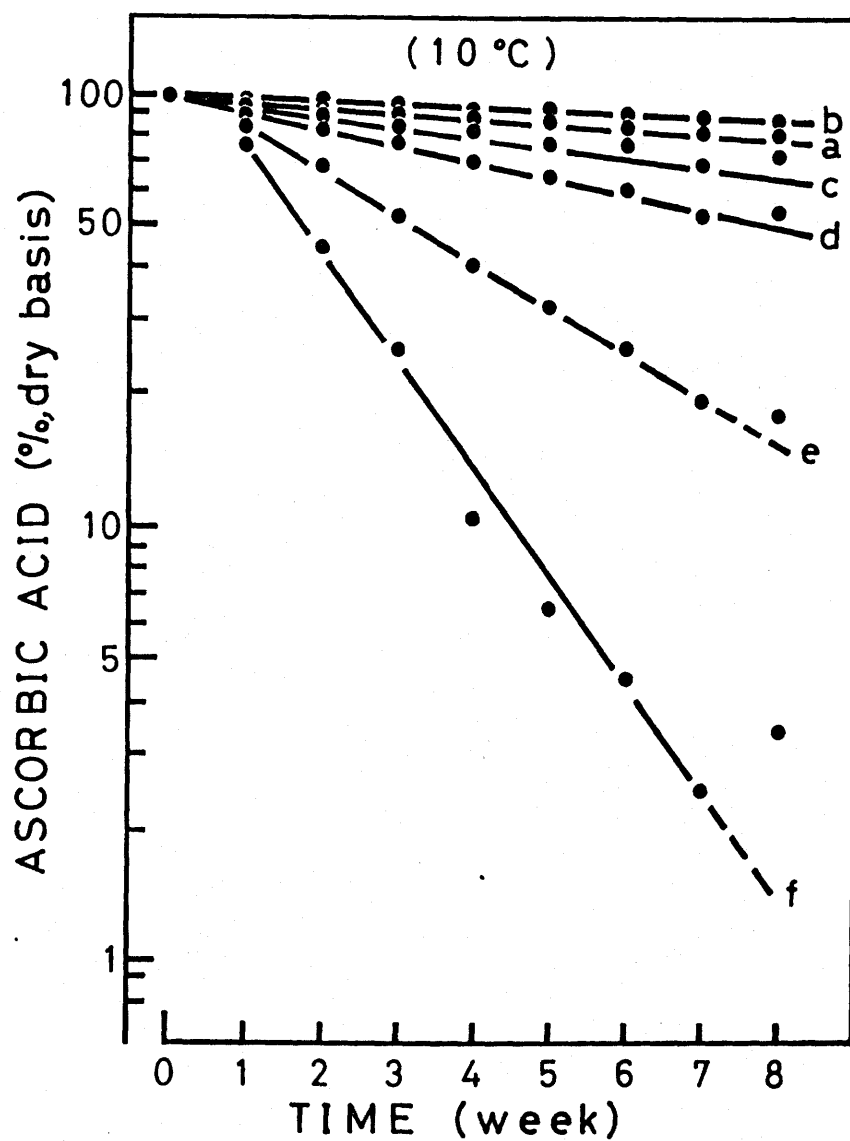


Fig.3-9

The relationship between the destruction of reduced ascorbic acid in hoshi-nori (dried laver) and different water activities ( $a_w$ ), stored at  $10 (\pm 0.5) ^\circ\text{C}$ .

$a_w$ : a $\approx$ 0, b=0.05, c=0.1, d=0.2, e=0.4, f=0.6

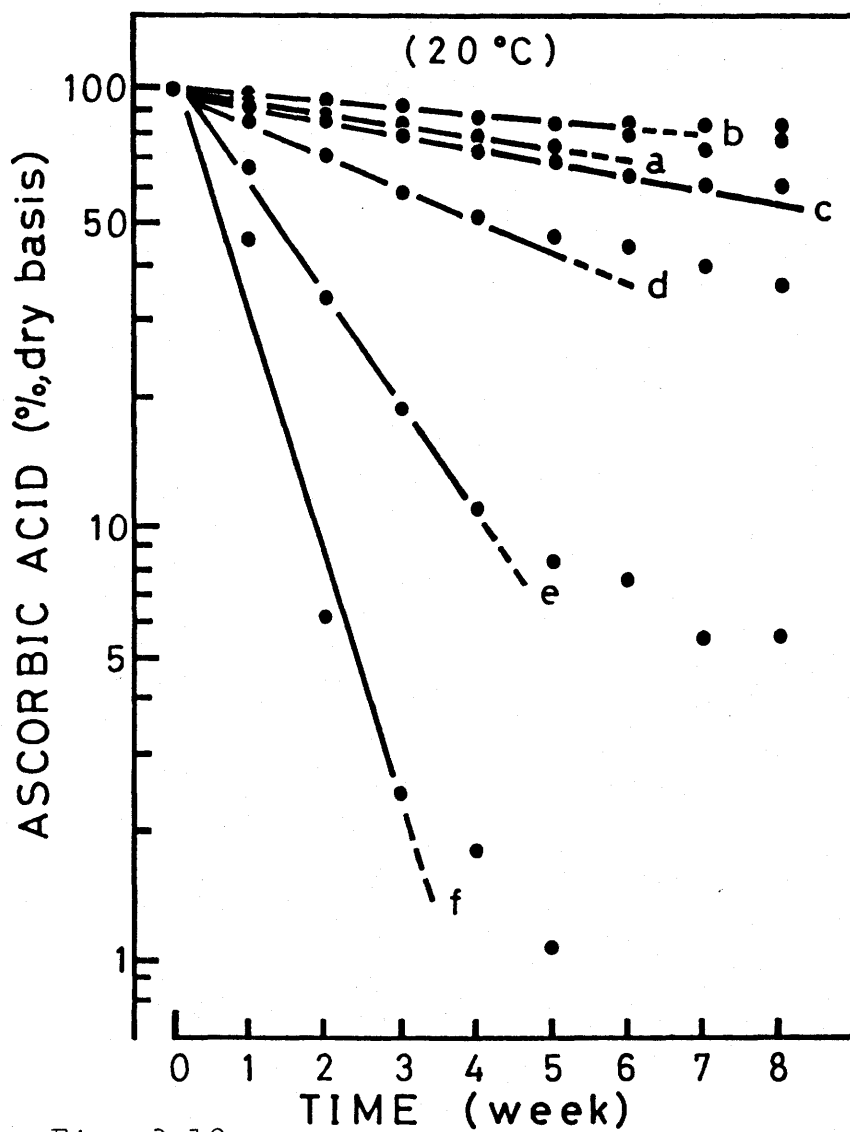


Fig. 3-10

The relationship between the destruction of reduced ascorbic acid in hoshi-nori (dried laver) and different water activities ( $a_w$ ), stored at 20 ( $\pm 0.5$ ) °C.

$a_w$ : a  $\approx$  0, b = 0.05, c = 0.1, d = 0.2, e = 0.4, f = 0.6.

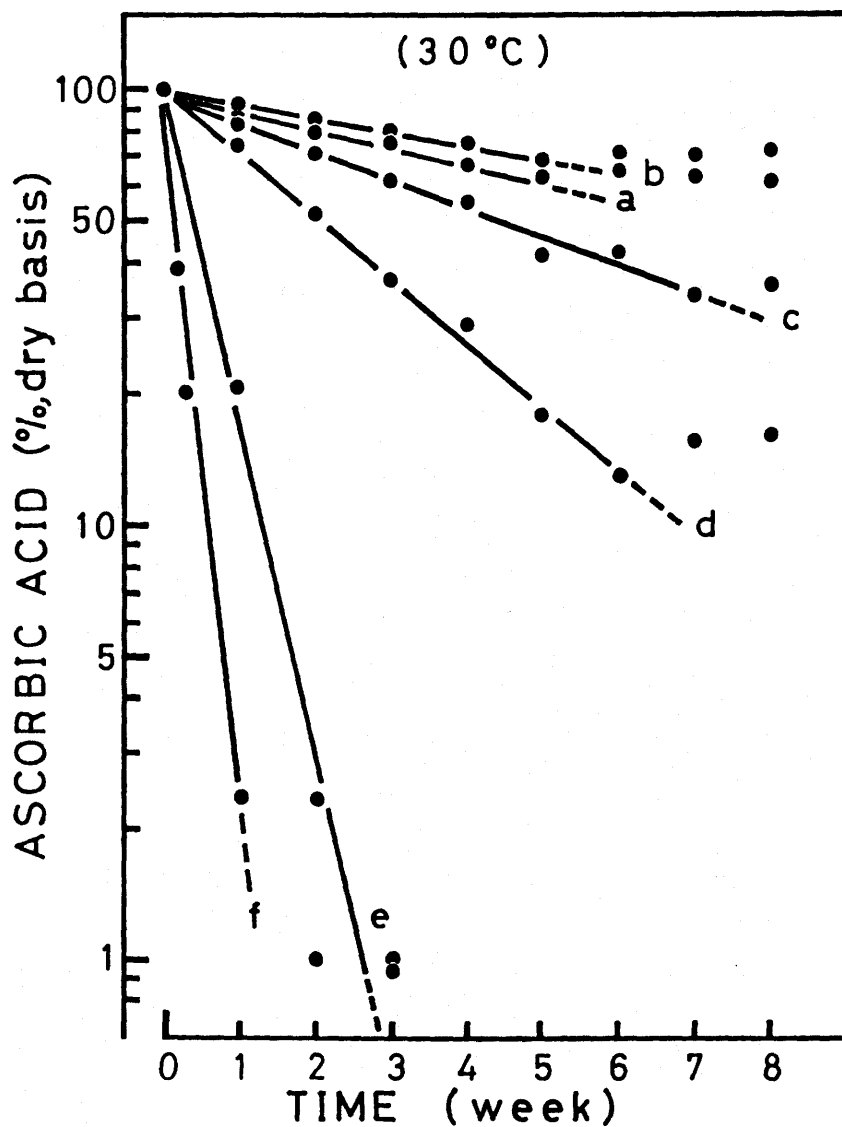


Fig. 3-11

The relationship between the destruction of reduced ascorbic acid in hoshi-nori (dried laver) and different water activities ( $a_w$ ), stored at 30 ( $\pm 0.5$ ) °C.

$a_w$ : a $\approx$ 0, b=0.05, c=0.1, d=0.2, e=0.4, f=0.6

は水分活性の上昇に伴って増大した。この分解は、Figs. 3-9 ~ 11 が示すように時間に対して直線性を表わすことから、一次反応様式に従うものとみなせた。そこで、直線の傾きから反応速度定数 ( $k$ ) を求めた。

Table 3-1 に、 $k$  と  $Q_{10}$  ( $= k_{T+10} / k_T$  :  $T$  は温度) の値を示した。この結果、いづれの水分活性区とも、保蔵温度が  $10^\circ\text{C}$  上昇するごとに反応速度が 2 ~ 3 倍になることが分った。

Fig. 4-12 は、いわゆる ARRHENIUS プロットである。  $\ln k$  と温度 ( $T^{-1}$ ) の間に一次式の関係がみられたので、アスコルビン酸の分解反応に関する、みかけの活性化エネルギー ( $E_a$ ) を、よく知られた ARRHENIUS の式

$$\ln k = \ln A - E_a / RT$$

から計算した。ここで、 $A$  は定数、 $R$  は気体定数、 $T$  は絶対温度である。

この値をもとに各水分活性区におけるア

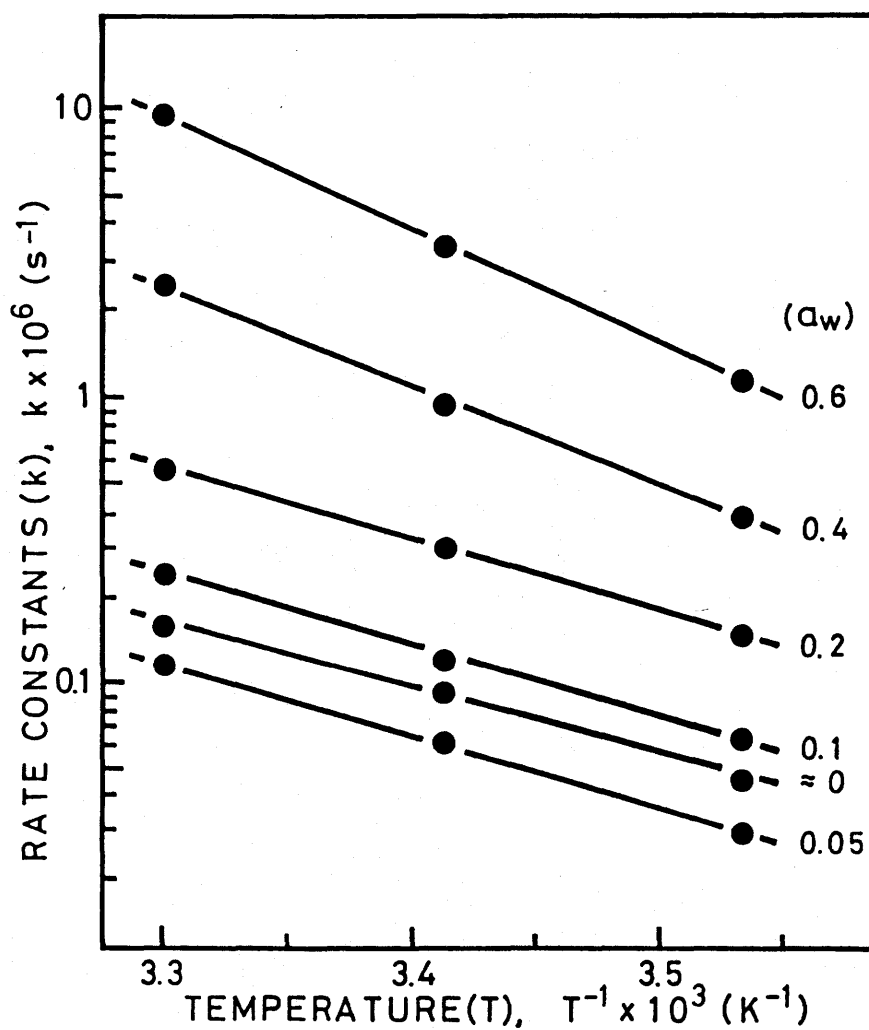


Fig. 3-12

Arrhenius plots for the rate constants of the reduced ascorbic acid destruction in hoshi-nori (dried laver) stored at different water activities ( $a_w$ ).

Table 3-1 Dependence of the specific rate constants on temperature and the activation energy for destruction of ascorbic acid

$a_w$	Rate constants ( $k \times 10^6 \text{ s}^{-1}$ )			Ratio ( $Q_{10}$ )		$E_a^*$ (KJ/mol)
	10 °C	20 °C	30 °C	$k_{20}/k_{10}$	$k_{30}/k_{20}$	
$\approx 0$	0.0436	0.0921	0.156	2.11	1.73	45.5
0.05	0.0285	0.0619	0.114	2.17	1.84	49.5
0.1	0.0620	0.120	0.244	1.94	2.03	48.9
0.2	0.148	0.304	0.567	2.05	1.87	48.1
0.4	0.374	0.932	2.51	2.49	2.69	67.9
0.6	1.11	3.38	9.75	3.05	2.88	77.6

\* Apparent activation energy for destruction of ascorbic acid was calculated from the slope obtained by a least squares method fit of the Arrhenius plots as shown in Figure 3-12.

スコルビン酸の分解反応に関する活性化エンタルピー変化 ( $\Delta H^\ddagger$ )、活性化エントロピー変化 ( $\Delta S^\ddagger$ )、および活性化自由エネルギー変化 ( $\Delta G^\ddagger$ )を、次式にしたがって計算した。

$$\Delta H^\ddagger = E_a - RT$$

$$\Delta S^\ddagger = (\Delta H^\ddagger - \Delta G^\ddagger) / T$$

$$\Delta G^\ddagger = RT \cdot \ln(k_B \cdot T / k h)$$

ここで、 $k_B$  は BOLTSMANN 定数、 $h$  は、PLANCK 定数、 $R$  は気体定数、 $T$  は絶対温度、 $k$  は反応速度定数である。

この結果を Table 3-2 にまとめて示した。また、各温度における  $\Delta S^\ddagger$  と含水率の関係を Fig. 3-13 に、20℃における  $\Delta G^\ddagger$  と水分活性の関係を Fig. 3-14 に示した。

Fig. 3-13 によれば、 $\Delta S^\ddagger$  の大きさは乾のりの含水率に依存して、温度変化には殆んど影響されなかった。 $\Delta S^\ddagger$  は、本実験



Table 3-2 Thermodynamic parameters for the reaction  
of ascorbic acid destruction in hoshi nori

	$a_w$	10 °C	20 °C	30 °C
$\Delta H^\ddagger$ (kcal/mol)	0	10.3	10.3	10.3
	0.05	11.3	11.2	11.2
	0.1	11.1	11.1	11.1
	0.2	10.9	10.9	10.9
	0.4	15.7	15.6	15.6
	0.6	18.0	18.0	18.0
$\Delta G^\ddagger$ (kcal/mol)	0	26.1	26.6	27.2
	0.05	26.3	26.8	27.4
	0.1	25.9	26.4	26.9
	0.2	25.4	25.9	26.4
	0.4	24.9	25.2	25.5
	0.6	24.3	24.5	24.7
$\Delta S^\ddagger$ (e.u.)*	0	-55.6	-55.5	-55.8
	0.05	-53.1	-53.1	-53.3
	0.1	-52.1	-52.3	-52.3
	0.2	-51.1	-51.1	-51.2
	0.4	-32.5	-32.7	-32.7
	0.6	-22.1	-22.2	-22.3

\* e.u.: cal/deg/mol.

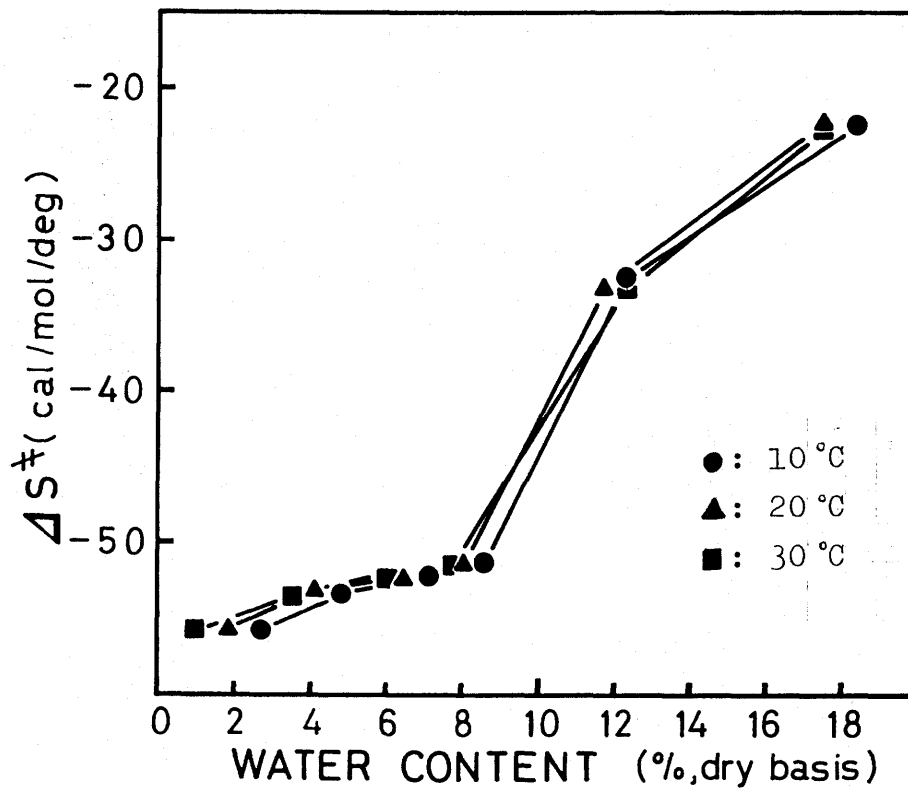


Fig. 3-13

Effect of water content on the change of the entropy of activation for the reaction of ascorbic acid destruction.

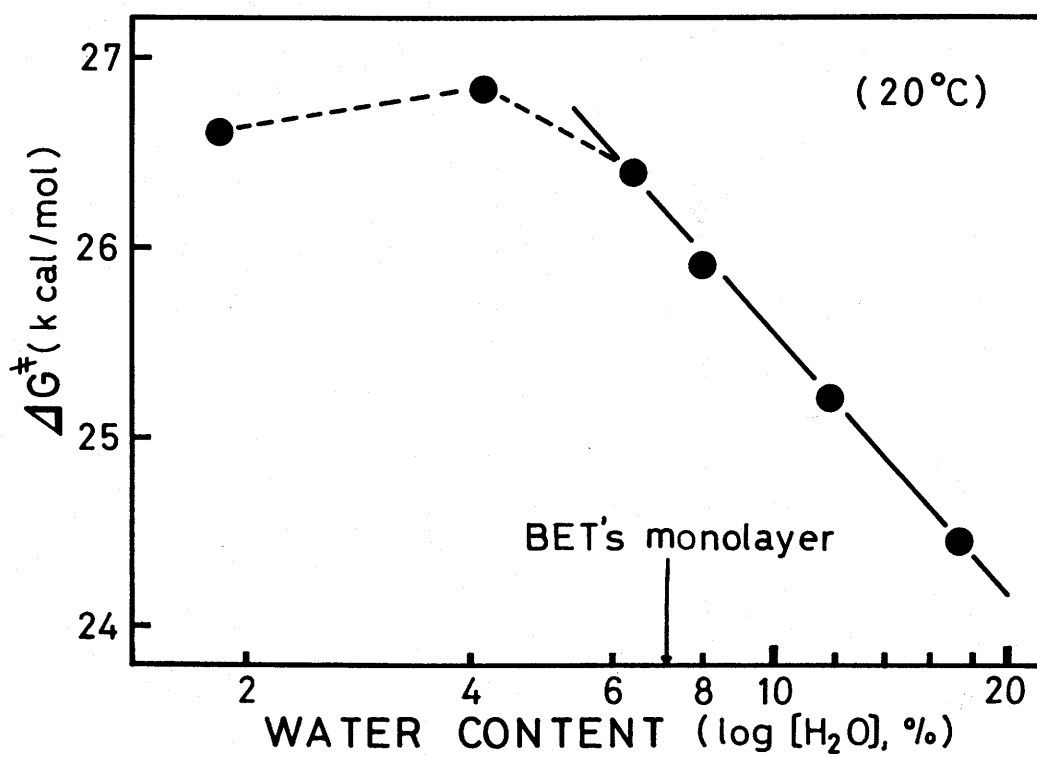


Fig. 3-14

Effect of water content on the change of the free energy of activation for the reaction of ascorbic acid destruction.

の水分条件においては、常に負であった。  
また、 $a_w$  0.2 を境にして水分の増加とともに急激に増大した。

$\Delta S^\ddagger$  と  $\Delta H^\ddagger$  は水分の変動に対して同じ傾向の挙動を示した。両者の関係は、次式に示すように係数正の一次式で表わされた。この結果、 $\Delta G^\ddagger$  の変化が、3 kcal/mol 程度のせまい範囲に押し込められる、いわゆる補償関係が認められた。

$$\Delta S^\ddagger = 0.00406 \cdot \Delta H^\ddagger - 9.80 \quad (20^\circ\text{C})$$

$\Delta G^\ddagger$  は最大値を  $a_w$  0.05 (平衡含水率 4%) に示し、 $a_w$  0.1 (同 6.3%) から  $a_w$  0.6 (同 17.3%) にかけて直線的に減少した。

アスコルビン酸の安定性に対する温度と水分の関係を Fig. 3-15 に示した。この図では、分解速度に及ぼす温度と水分の影響がそれぞれに単調ではないことが示された。すなわち、 $a_w$  0.2 を境にして高水分領域では、温度および水分の上昇に伴って、アスコルビ

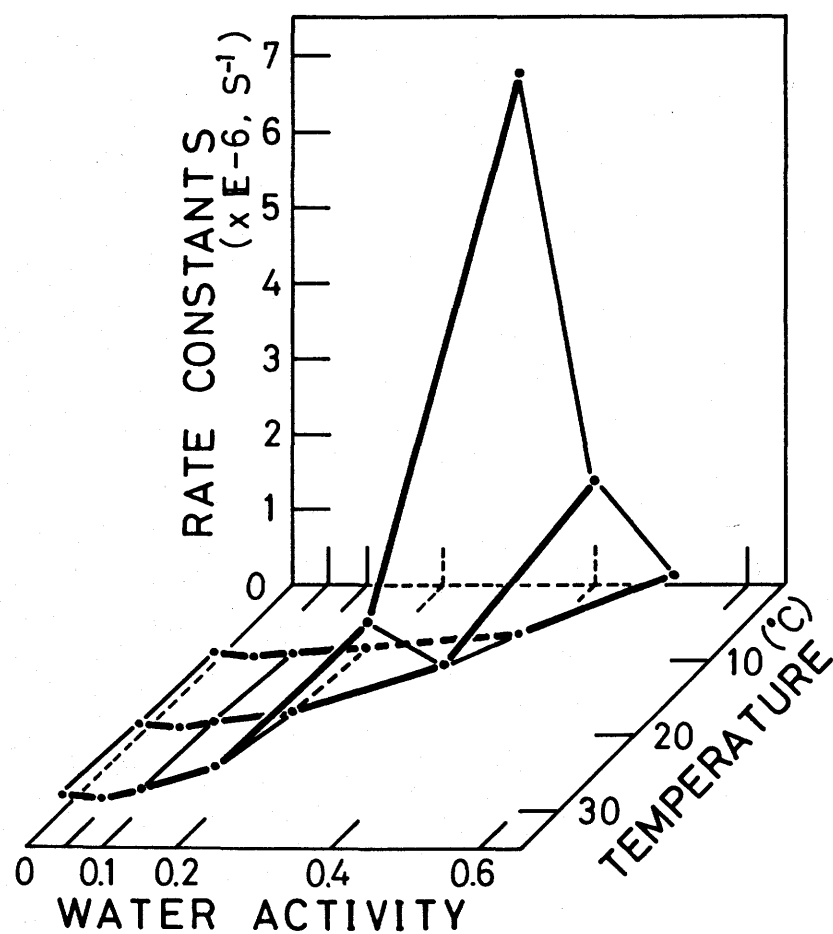


Fig. 3-15

The relationship between water activity, temperature and rate constants for the destruction of ascorbic acid in hoshi-nori (dried laver).

ン酸の分解が著るしく促進された。

Table 3-3 に各温度ごとの  $a_w$  0.05 におけるアスコルビン酸の分解速度定数を 1 としたときの、各水分活性区における分解速度定数の比を示した。これによると、 $a_w$  0.2 以下の水分活性区では、比の値は各温度とも同じ大きさであったが、高水分区においては、温度の上昇とともに急激に増大した。たとえば、30℃においては、 $a_w$  0.6 区のアスコルビン酸は  $a_w$  0.05 区よりも 85 倍の速度で分解した。

### 2.3. 火入れのりおよび焼のり中のアスコルビン酸の分解

Fig. 3-16 に、 $a_w$  0.1 における乾のりと火入れのりのアスコルビン酸の残存率を温度の関数として示した。また、Fig. 3-17 に保蔵1か月目と3か月目における乾のりと焼のりのアスコルビン酸の残存率の変化を、水分の関数として示した。

Table 3-3 Ratio of  $k_x$  to  $k_{0.05}$ \*

$a_w$	Temperature ( $^{\circ}\text{C}$ )		
	10	20	30
0	1.5	1.5	1.4
0.05	1	1	1
0.1	2.2	1.9	2.1
0.2	5.2	4.9	5.0
0.4	13.1	15.0	22.0
0.6	38.8	56.6	85.6

\*)  $k_x$ : rate constant of ascorbic acid destruction at water activity of "x".

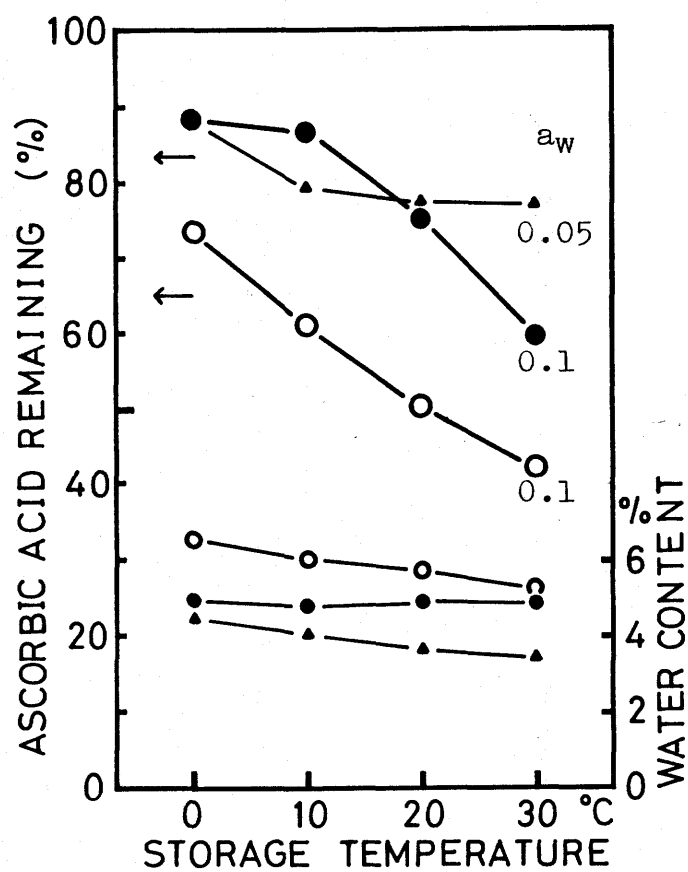


Fig. 3-16

Destruction of ascorbic acid in hoshi-nori (dried laver, open symbols) and hiire-nori (hoshi-nori redried by heat, closed symbols).



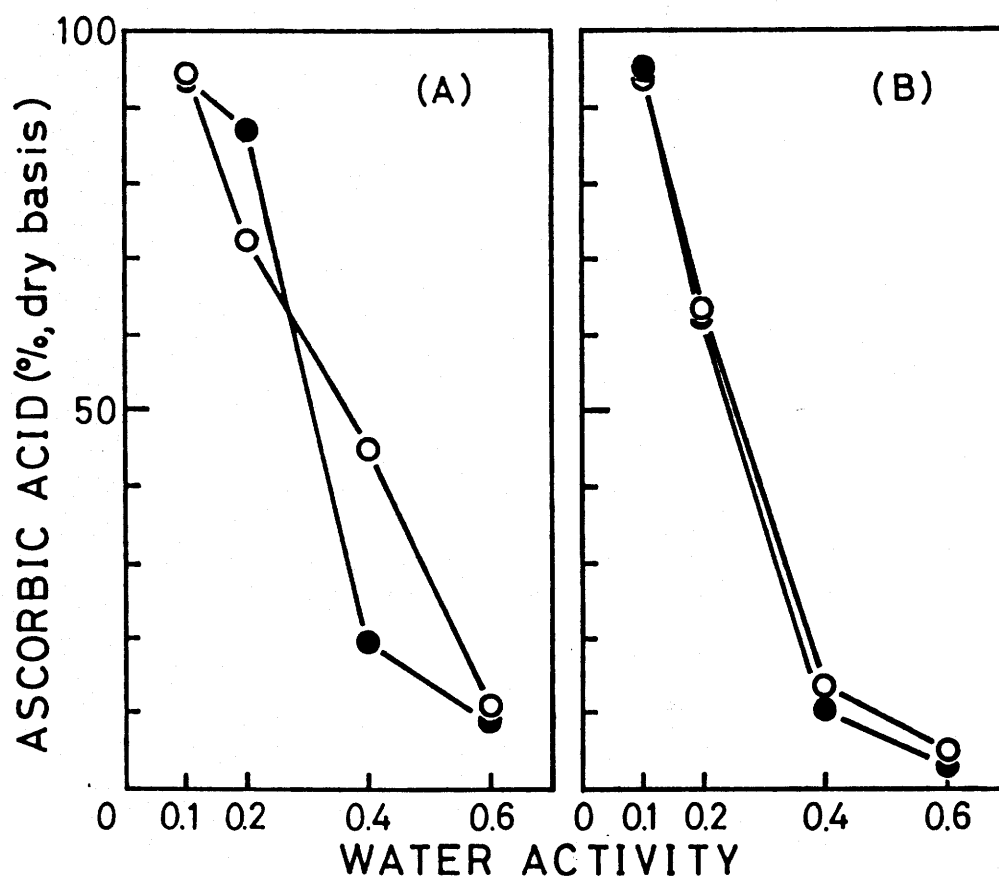


Fig. 3-17

Destruction of ascorbic acid in hoshi-nori (dried laver, closed symbols) and yaki-nori (toasted laver, open symbols) stored at 20°C.

- A: 1 month storage,
- B: 3 months storage.

Fig. 3-16によれば、 $0 \sim 30^{\circ}\text{C}$ の範囲において、火入れのりは乾のりよりも約20%ほど、アスコルビン酸の残存率が高い。ただし、含水率は、火入れのりの5%に対して、乾のりでは5.3~6.6%と高かった。

また、Fig. 3-17によれば、長期の保蔵においては、焼のり中のアスコルビン酸も乾のり中のそれと同じ水分依存性を示し、残存率（保存性）に関しては、両者の間に差異は認められなかった。

### § 3 考 察

#### a. 最適保蔵水分条件

SALWIN<sup>11)</sup>によれば、食品はその含水量が単分子層吸着水分量（ML値）に等しいとき、最も安定に保存される。本実験の場合ML値は6.9%および7.5%（ $a_w$  0.11~0.17）の範囲であるから、保蔵期間中の環境の水分を $a_w$  0.1~0.2程度に保持すれば乾のり中のアスコルビン酸を分解から保護で

きることになる。しかし、粉末オレンジ・ジュース中のアスコルビン酸の場合<sup>33)</sup>と同様に、乾のりの場合もML値程度の乾燥では保存に不十分であり、安定な保存のためには、水分環境をそれ以下にする必要があった。

この最適水分条件を推定するために、筆者が考案した方法によると、その値は $a_w$  0.02 ~ 0.05 となった。実際に、アスコルビン酸は $a_w$  0.05 において、 $a_w \approx 0$  や 0.1 よりも安定であり、筆者の推定方法の有効性が示された。

#### b. 最適水分条件とMLの関係

食品中の成分の多くは、ML値のもとで最も安定である。しかし、BETによるML値はみかけの値であって、アスコルビン酸に限っても、安定保蔵のための水分条件としては、目安にならないことが示された。そこで、本考察では、まずアスコルビン酸の保蔵最適水分条件とML値との関係を検討する。

Fig. 3-14 が示すように、 $\Delta G^\ddagger$  は、実験的に  $a_w$  0.05 (含水率約4%) のとき最大になるので、アスコルビン酸の分解反応は  $a_w$  0.05 において最も抑制されることが分る。すなわち、ML状態において食品の成分が最も安定であるとするならば、供試した乾のりのML値は、アスコルビン酸に関する限り4%近傍にあると言える。

ML状態の水分子は、その吸着点との相互作用によって、強い束縛をうけている<sup>25)</sup>。このとき、水のエントロピーは極小になることが予想される。すなわち、水が直接に関与する反応系の $\Delta S^\ddagger$ もまた、ML値において最小になるものと思われる。Fig. 3-13によれば、分解反応の $\Delta S^\ddagger$ は含水率約8% ( $a_w$  0.2) を屈曲点として、含水率が低いほど小さな値を示した。実験の精度や試料が単一の成分系でないことを考慮すれば、含水率0~8%の間に、 $\Delta S^\ddagger$ の極小値が存在するものと思われる。すなわち、試料の

リマトリクスに膨潤が存在しなければ、アスコルビン酸の分解に関与する水分子は、BETのML値以下の水分状態において束縛されることか、 $\Delta S^\ddagger$ の挙動から示される。

一方、Fig. 3-14 はまた、 $\Delta G^\ddagger$ が、 $a_w$  0.1 よりも高い水分区において直線的に減少することを示している。これは、 $a_w$  0.1 以上の高湿環境においては、水分活性の上昇に伴って増加する反応系の水が、いずれの水分活性区においても同じ状態、すなわち、自由水状態にあることを意味している。また、 $\Delta S^\ddagger$ も  $a_w$  0.2 より高い水分域で急激に増大したが、この現象は、自由水の増加によつて反応分子種の運動に乱雑さが加わった結果と考えることができる。

以上の考え方に立つならば、乾のり中のアスコルビン酸は、 $a_w$  0.1 ~ 0.2 (含水率 7 ~ 9%) 以上の水分環境においては、自由水の雰囲気に取り囲まれているものと思われる。この値は、アスコルビン酸が最も安定

に保存される水分条件のほぼ2倍に相当する。極性基に吸着した水分子は、第一層のみが強い束縛をうけて、第二層ないし第三層の水分子からは、ほぼ自由水に近い性質を示すことが知られている<sup>25)</sup>。乾のり中のアスコルビン酸の安定性と水の関係もまた、この状況を反映しているように思われる。

それでは、BET式によって計算されたM<sub>L</sub>値は何を意味するのであろうか。Fig. 2-7 に示したように、乾のり中の水の化学ポテンシャルは、水分の上昇とともに単調に増加するが、乾物1kg 当り0.12~0.16 kgの水、すなわち含水率12~14% ( $a_w$  0.4) よりも高い水分領域においては、その増加の傾きが、 $\Phi (= \mu_w - \mu_w^*) = 0$  に近づくとつれて緩やかになった。言うまでもなく、試料中の水が純粋な水と同じ化学ポテンシャルを持つならば  $\Phi = 0$  である。つまり、乾のり中の水は、含水率が14~16%以上になると、自由水としての挙動をとる

ことが分る。この値は、BET式によるML値のほぼ2倍であった。このように、乾のり全体の水分についても、束縛水は高々1~2分子層の吸着水によって構成されることが示唆された。

乾のりの一成分であるアスコルビン酸の分解速度から推定した保蔵最適水分値(約3%)と、反応系に自由水の出現する水分条件(約7%)が、BETのML値(約7%)と乾のり中に自由水が現われる水分条件(約15%)と同じ量比の関係を示したことは、アスコルビン酸の安定保蔵についても、単分子層の吸着水が成分の最安定に関係していることを意味している。

このように、BETのML値は4かけの値にすぎない。しかし、個々の成分について、それがアスコルビン酸のように反応の活性部位が単純な構造であるならば、ML=最安定、の図式が有効であるように思われる。亦なわち、乾のりにおいてアスコルビン酸が

分解する反応系にMLが存在するものとすれば、ML値は3~4% ( $a_w$  0.05) である。

### C. アスコルビン酸の分解原因

アスコルビン酸の分解反応には、PH 2以下でフルフラールを誘導する非酸化的分解反応<sup>34)</sup>と、アスコルビン酸の酸化物であるデヒドロアスコルビン酸が生成物質となる通常の酸化反応とが知られている。後者は、金属触媒、PH、酸素分圧等に依存する<sup>35)</sup>フリーラジカル反応<sup>36)</sup>であるとされている。

乾のりでは、薄層クロマトグラム上に分離したヒドラジン誘導体が、クロマトグラムの上でも、また吸収スペクトルの上でも、アスコルビン酸の酸化標品のそれと一致したこと<sup>3)</sup>あるいは酸素分圧の低下に伴って、アスコルビン酸の分解が抑制されることなどから、この分解反応は酸化に起因するものと考えられる。

一、アスコルビン酸を酸化させるには



酵素による酸化と化学酸化が考えられる。

乾のり中のアスコルビン酸については、片山ら<sup>14)</sup>が酵素による酸化の可能性を提出したが、通常では酵素作用がみられないような低水分域<sup>37)</sup>においても、アスコルビン酸が分解したことや、乾のりにおけるアスコルビン酸の分解速度が、酵素が失活していると思われる焼のりの場合と同じであったこと (Figs. 3-16, 17)、また反応速度の温度依存性を  $Q_{10}$  ( $= k_{T+10} / k_{10}$ :  $k_T$  は温度  $T$  における反応速度) 値で見ると、水分活性あるいは温度の高低にかかわらず、2~3を示し、活性化エネルギーの大きさが、化学変換に基づく反応の場合と同程度であることなどから、アスコルビン酸の分解は、化学酸化によるものと考えられる<sup>9)</sup>。

いま、のり中のアスコルビン酸の分解が化学酸化によるものとすれば、Figs. 3-9~11に示したように、初期反応においてアスコルビン酸が、一次反応様式にしたがう挙動

をとったことは、アスコルビン酸が酸素分子と直接反応をみる二分子反応によって分解することと示唆している。この場合、反応物質の活性部位を保護することによって、反応を直接に阻止することが可能である。すなわち、単分子層をなす吸着水の存在が、反応の進行を抑制する効果を現わすことになる。

#### § 4 第3章の結論

乾のり中のアスコルビン酸は、水分に対して非常に不安定なために、他の成分に変質が認められない時点において、すでに分解反応が開始している。本章では、乾のりの保蔵実験の結果から、その原因を究明し、保蔵の最適水分条件に関する知見を得ることができた。

乾のりの長期保蔵実験の結果、各水分条件ともアスコルビン酸の分解反応は、それぞれ約3か月で終了することが分った。そこで、温度と水分条件を変えて1か月の短期保蔵実験を行なった。その結果、アスコルビン酸の分解は、水分と温度の上昇に伴って増大するとともに、一次反応様式に似たがうものと思われた。熱力学的パラメータを計算して、 $\Delta S^\ddagger$  および  $\Delta G^\ddagger$  の変化と水分の関係を検討した結果、アスコルビン酸の最適保蔵水分条件は  $a_w$  0.05 (含水率3~4%) であった。この値は、BETの単分子層吸

着水分値のほぼ  $1/2$  であった。また、反応系に自由水が出現する水分条件は  $a_w 0.2$  (7~8%) で、これは水の化学ポテンシャルエネルギー - 変化から推定されるのりマトリクス内の自由水出現条件  $a_w 0.4$  (約15%) のほぼ  $1/2$  であった。このように、アスコルビン酸の最適水分条件と自由水の関係が、単分子層吸着水分値と自由水出現条件の関係に同じくなったことは、アスコルビン酸の安定性に、単分子層最適の考え方が適用できることを示すものと思われる。

ところで、アスコルビン酸の最適保蔵水分条件は  $a_w 0.05$  であった。この値は、筆者が考案した逆数プロット法で推定した水分条件と一致したが、BETの単分子層吸着水分値とは一致しなかった。これは、のりマトリクスの吸着表面の性質が均一ではなく、疎水性表面と親水性表面とから構成されることの原因であろうと思われる。すなわち、水の分布が局在するため、BETの単分子層

吸着水分値においても、すでに親水性表面は多分子層吸着水分状態になっているために、水溶性のアスコルビン酸は分解を開始するものと思われる。

このようにアスコルビン酸の分解反応は一次反応の化学酸化によって進行した。したがって、アスコルビン酸の活性部位を水分子等で保護することによって、分解反応を阻止することができるものと思われる。

## 第4章 褐変現象と水

乾のり中のアスコルビン酸を定量する過程において、アスコルビン酸量の減少に伴って抽出検液が着色する、いわゆる褐変現象を見出した。この現象は、乾のり保蔵の初期から観察されることから、保蔵中の乾のりの水分状態を反映するものと考えられる。

そこで本章では、この褐変現象を利用して、アスコルビン酸の場合と同様に、水分条件および温度条件を変えて乾のりの保蔵実験を行ない、褐変の反応速度をもとに、褐変現象と水分の関係を明らかにして、乾のり中の水の存在状態を究明する。

### § 1 実験

#### 1. 1. 試料と保蔵方法

佐賀県有明海産のナラワスサビノリを常法により抄製して乾のりとし、直ちに供試し

た。

おなわち、約  $2 \times 3 \text{ cm}^2$  に裁断した乾のり片を、 $a_w \approx 0, 0.05, 0.1, 0.2, 0.4, 0.6$  (一部に  $a_w 0.3$  と  $0.8$  を加える) に調湿した  $1.5 \text{ l}$  容量のポリエチレン製密閉容器に収納して、 $10, 20, 30 (\pm 0.5)^\circ\text{C}$  のもとに、8週間保蔵した。また、 $a_w 0.2$  と  $0.8$  の両区には、鉄系脱酸素剤(三菱瓦斯化学社製)を使用して酸素遮断区を設けた。

## 1.2. 褐変物質の抽出方法

褐変物質は、1週間ごとに乾のりを少量の海砂とともに磨砕したのち、除蛋白質をかねて、5%メタリン酸溶液で抽出した。この遠心上澄液 ( $2 \times 10^4 \text{ g}$ , 30分) について、 $420 \text{ nm}$  における吸光度を測定した。

1.3. 紫外部吸収物質(ポルフィラ330: P-330)の抽出および精製は、

SIVALINGAM ら<sup>38)</sup>の方法に準じた。

まず、試料の乾のりを海砂とともに充分磨砕したのち、0.05Mのリン酸緩衝液を用いて、P-330の粗抽出液を得る。次に、5%トリクロル酢酸を用いて除蛋白をしたのち、ジエチルエーテルを加えてトリクロル酢酸を油層に転溶して除去する。一方、水層画分は、減圧濃縮したのち、ゲル濾過法 (Sephadex G-50, G-25; 溶離液は水) を実施して、紫外部吸収画分を得る。さらに、薄層クロマトグラフィー (Avicel SF; 展開剤は、フェノール:水=10:4 v/v) により、P-330を分離した。



## § 2 実験結果

### 2.1. 比色検液の検討

Fig. 4-1 に示したように、抄製直後の新鮮な乾のりから抽出したメタリン酸溶液の吸収スペクトルは、 $330\text{ nm}$  にのみ単一の吸収極大を示した。 $330\text{ nm}$  の吸収は、紫外部吸収物質として知られる、ポルフィラ<sup>38)</sup>によるもので、 $370\text{ nm}$  よりも長波長帯に吸収が認められなかった。したがって本研究では、通常の褐変と同様に、 $420\text{ nm}$  における吸光度をもって褐変度とした。

この褐変物質は、 $420\text{ nm}$  における吸光度が、O.D. 0 から 0.6 までの範囲において、溶液濃度と比例関係にあることを示した (Fig. 4-2)。また、褐変が進行した乾のりの抽出液には、フィコビリニン系色素蛋白質やクロロフィル a およびカロテノイド類の分解物由来とみられる吸収が認められたが、実験中で最も高いとみられたときにおいても、

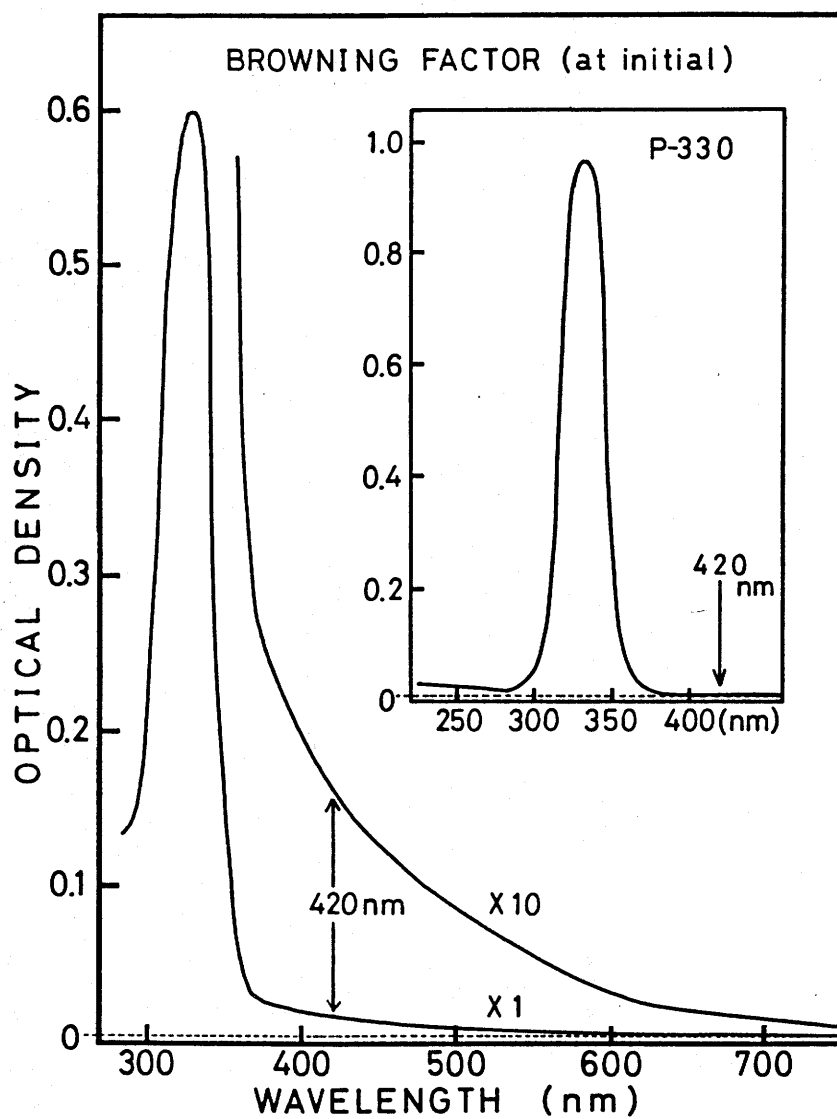


Fig. 4-1

Absorption spectra of 5% metaphosphoric acid extract from hoshi-nori (dried laver), which was composed of browning substances and an UV-absorbing substance.

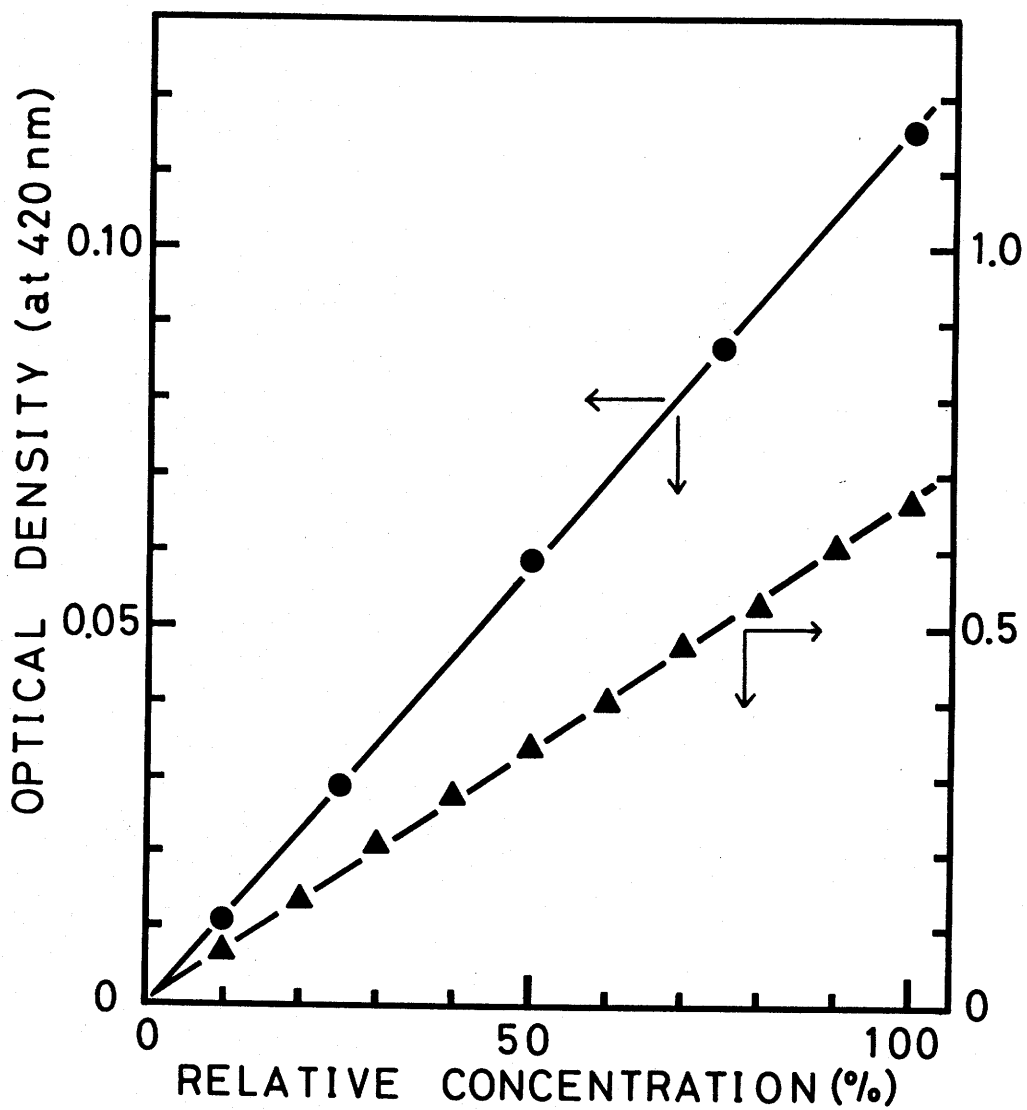


Fig. 4-2

The relationship between optical density and relative concentration of browning extracted from hoshi-nori.

- :at low concentration,
- ▲:at high concentration.

褐変度の測定を妨害するほどの吸光度を示さなかつたので、420 nmにおける吸光度の値をそのまま実験値とした。

以上の結果から、乾のりのメタリン酸抽出液を遠心分離するのみで、比色検液を得た。褐変度は、乾のり1 mg から褐変物質を1 ml の溶液に抽出したときの吸光度として表わした。すなわち、

$$\text{褐変度} = \text{O.D.}_{420} \times 10^2 / \text{mg/ml}$$

## 2.2. 褐変現象と水

Fig. 4-3 に、保蔵期間と褐変度の関係を温度ごとに示した。この結果、保蔵日数の経過とともに、すべての水介活性区において褐変度は増大した。また、温度の上昇も褐変度の増加を促進した。ただし、10℃と20℃においては  $a_w$  0.2 以下の、または30℃においては  $a_w$  0.1 以下の各低水分区において、褐変物質の生成が抑制された。

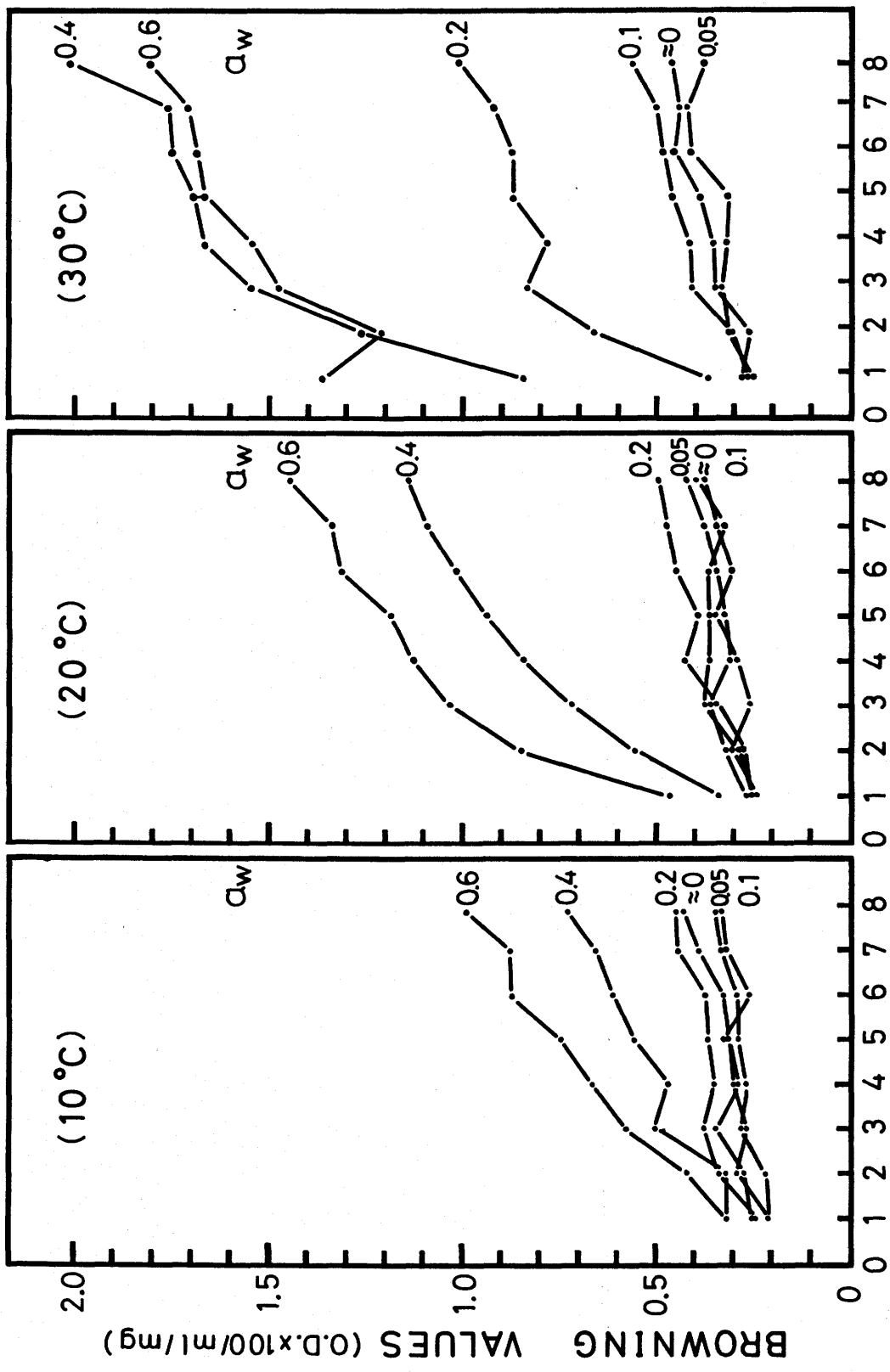


Fig. 4-3  
Changes in browning values during storage of hoshi-nori.

Optical density was measured at 420 nm.

この水分区における褐変度は、保蔵開始後、8週間が経過しても、初期の値の2倍にすぎなかった。

また、保蔵温度が高いほど褐変現象に与える水分の影響が顕著になった。たとえば、 $a_w$  0.6 (10℃)、 $a_w$  0.4 (20℃)、および  $a_w$  0.2 (30℃) は、それぞれ同じ程度の褐変度を示した。

Fig. 4-4 に、保蔵第1週と第2週、および第4週と第8週における、褐変度と水分活性の関係を示した。この図によると、第1週においては、10℃および20℃ともに褐変に対する水の影響は、まだ顕著ではない。30℃においては、 $a_w$  0.6における褐変度が、10℃のときの5倍に到達していた。

第2週目からは、30℃において褐変度の上昇に飽和が認められて、褐変物質の生成極大が  $a_w$  0.4 以上に現われた。その後、第4週までは、各温度とも第2週とほぼ同様の褐変パターンを示した。

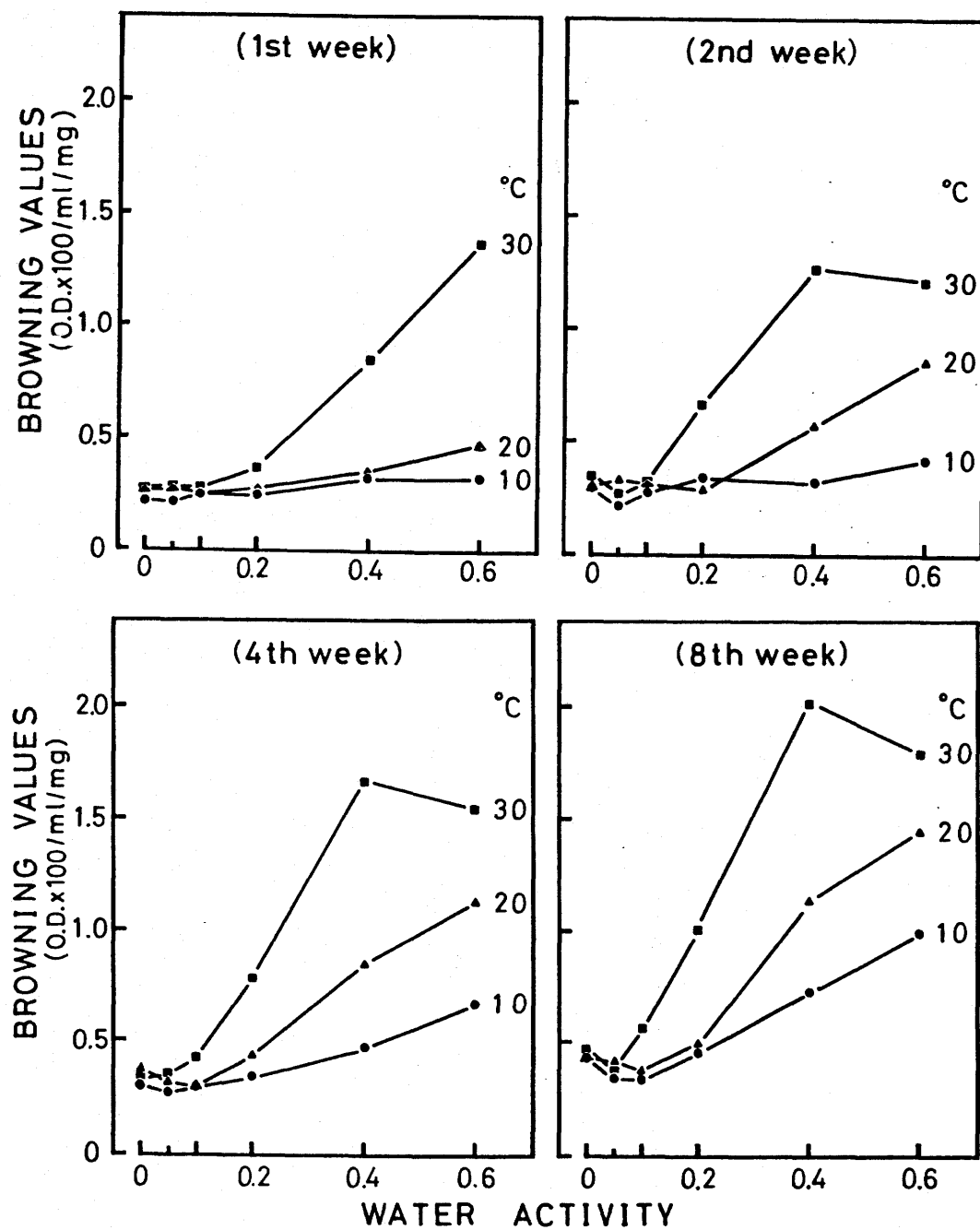


Fig. 4-4

Influence of water activity on browning of hoshi-nori stored at 10-30°C. Optical density was measured at 420 nm.

ところで、 $20^{\circ}\text{C}$ においては、水分の増大に伴ない褐変度の増加が緩やかになった。このため、 $20^{\circ}\text{C}$ においては  $a_w$  0.6 以上の高水分活性区に、褐変度の極大が存在するものと考えられたので、 $a_w$  0.8 まで水分条件を拡張したところ、Fig. 4-5 に示したように、 $a_w$  0.6 に褐変の極大値が認められた。

なお、本褐変現象は、酸素分圧を下げることによつて抑制することができた。

### 2.3 褐変と熱力学的パラメータ

褐変の速度と温度の間に一次式の関係が認められたので、褐変反応に関する熱力学的パラメータを、第3章 (P. 70) に挙げた関係式を使って計算した。その結果を、Table 4-1 に表した。また、 $20^{\circ}\text{C}$ における各熱力学的パラメータの水分依存性を、Fig. 4-6 に示した。

これらによると、 $\Delta S^{\ddagger}$ 、 $\Delta H^{\ddagger}$  および  $\Delta G^{\ddagger}$  のいずれも、同一水分活性区において



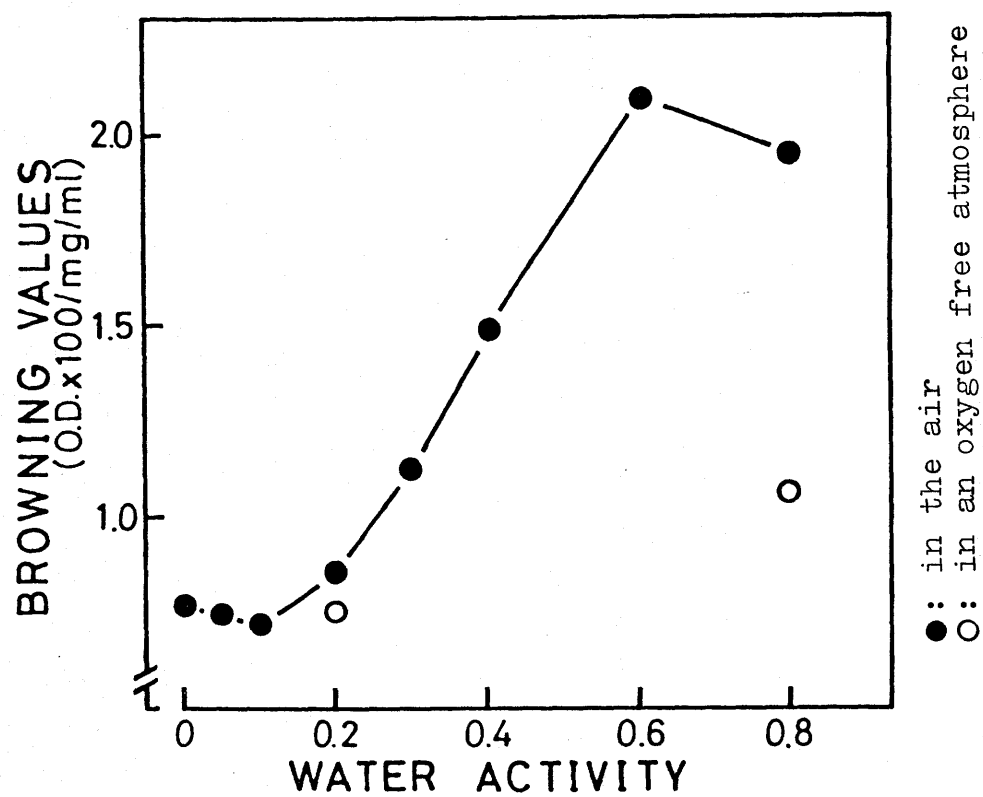


Fig. 4-5

Changes in browning values during storage of hoshi-nori. Optical density was measured at 420 nm.

Table 4-1 Thermodynamic parameters for the browning reaction in hoshi nori<sup>\*1</sup>

	$a_w$	10 °C	20 °C	30 °C
$\Delta H^\ddagger$ (kcal/mol)	$\approx 0$	5.4	5.4	5.4
	0.05	5.1	5.0	5.0
	0.1	2.9	2.9	2.9
	0.2	8.6	8.5	8.5
	0.4	16.3	16.3	16.3
	0.6	10.8	10.8	10.8
$\Delta G^\ddagger$ (kcal/mol)	$\approx 0$	25.4	26.0	26.8
	0.05	25.5	26.1	26.9
	0.1	25.2	26.0	26.8
	0.2	25.3	26.0	26.5
	0.4	25.0	25.3	25.6
	0.6	24.7	25.1	25.6
$\Delta S^\ddagger$ (e.u.) <sup>*2</sup>	$\approx 0$	-70.5	-70.4	-70.6
	0.05	-72.0	-71.8	-72.1
	0.1	-78.7	-78.9	-78.9
	0.2	-59.0	-59.4	-59.2
	0.4	-30.6	-30.9	-30.7
	0.6	-48.9	-48.9	-48.9

\*1 The experimental energy of activation ( $E_a$ ) was calculated from the slope of the line obtained by a least-square analysis of Arrhenius plots.

\*2 e.u.: cal/deg/mol.

は、それぞれ温度変化にもとづく差異は認められなかった。一方、Fig. 4-6 が示すように、各パラメータは、水分の変動に対して大きく変化した。すなわち、 $\Delta S^{\ddagger}$  と  $\Delta H^{\ddagger}$  は、 $a_w$  0.1 に極小を示したのを急激に増大して、 $a_w$  0.4 区において極大となり再び減少した。また、 $\Delta G^{\ddagger}$  は、 $a_w$  0.05 において極大を示したあと、水分の増加とともに直線的に減少した。

### § 3 考 察

乾のり中の水分と環境水分の関係を、褐変現象から解明する。

一般に、食品の褐変は、水分、温度あるいは pH などに依存する<sup>39)</sup> 複雑な反応によつて進行する。乾のりにおいても、水分と温度の両方に依存する褐変現象が、保蔵初期から認められた<sup>40)</sup>。通常、反応系において、温度は反応する分子自体の活性化に、また水は、自由水領域の拡大に伴つて反応物質

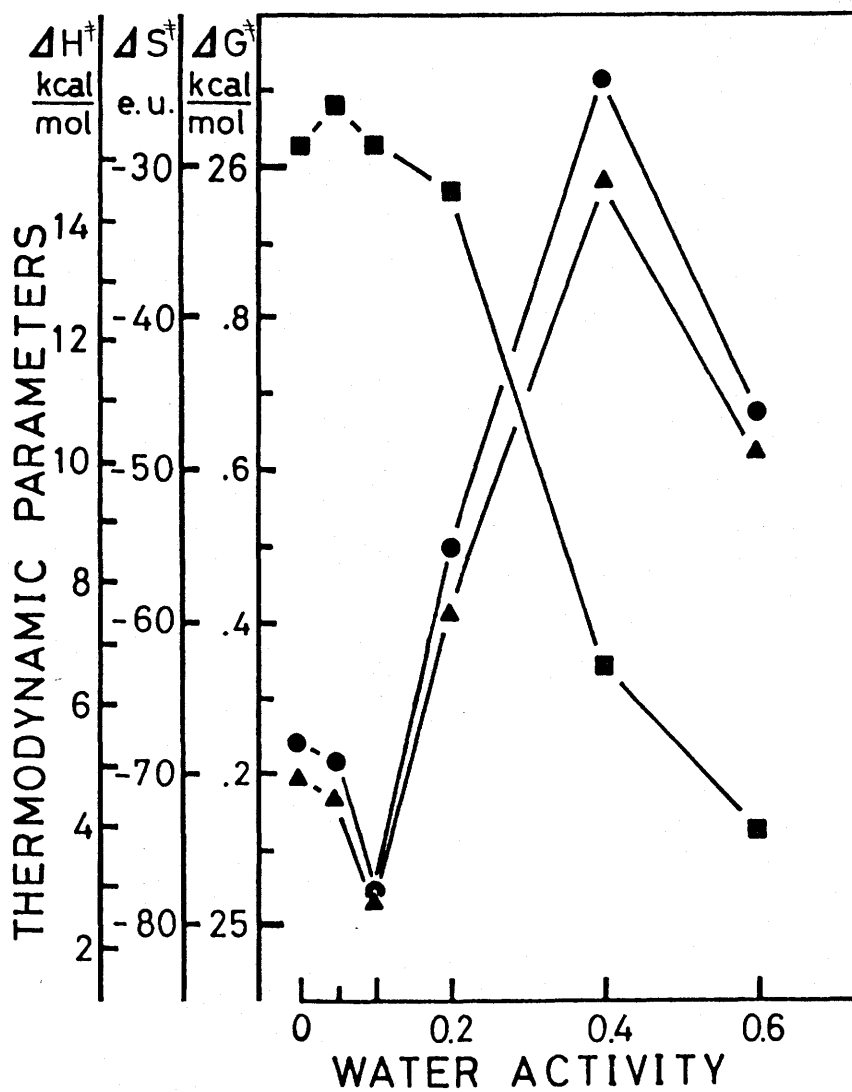


Fig. 4-6

Effect of water activity on the thermodynamic parameters of the browning reaction in hoshi-nori at 20°C.

- :  $\Delta H^\ddagger$  (the enthalpy change of activation),
- ▲ :  $\Delta S^\ddagger$  (the entropy change of activation),
- :  $\Delta G^\ddagger$  (the free energy change of activation).

の易動性の大小に、それぞれ関係する。その結果として、反応系に水の粘性率の変化と物質交換の難易が生ずる。

いま、乾のりの褐変を30℃と18℃とで比較すると、18℃における褐変度の最大値は、30℃の場合よりも高い水介領域に認められる。褐変度の最大値を与える水介条件が、温度の変化とともに移動する現象は、褐変反応に水が密接に関係していることを示唆する。亦なわち、乾のりの褐変度は、始め水介活性の上昇にともなつて増加するが、高水介区に至つては逆に反応が抑制されて、却つて低い値を示すようになる。この現象は、アスコルビン酸の分解反応にはみられなかったもので、本褐変反応に水介の増加にともなつて反応系の基質が希釈され、その結果反応速度が減少する、いわゆる希釈効果<sup>41)</sup>が存在することの意味している。一方、Table 4-1に示したように、同一の水介活性区においては、各熱力学的パラメーターは

温度変化に対して依存を示さない。そして、MIZRAHI ら<sup>42)</sup>の報告にもあるように、各熱力学的パラメータは、水分条件の変化に対して大きく変動した。これらの事實は、本褐変現象には水の存在が不可欠であつて、かつまた、水が直接褐変反応に関与していることを示唆している。

次に、本褐変反応の  $\Delta S^\ddagger$  は、 $a_w$  0.1 に最小値があつた。この水分条件は、BET式による4かけの単分子層吸着水分値 (ML値)  $a_w$  0.2 と一致しない。 $\Delta S^\ddagger$  の最小値は、ML値に關係する<sup>43)</sup>から、のりのマトリクスが膨潤を起せば、 $\Delta S^\ddagger$  の最小値を与える水分条件は、ML値と異なる。乾のりのマトリクスが、水分の増加とともに活性化される結果、膨潤あるいは凝縮を起しているのか、あるいはアスコルビン酸の場合のように、律速段階の反応分子に關するML値と4かけのML値とが一致しないことに関係するのは、褐変現象のみでは決定できない。

なお、本褐変反応の  $\Delta S^\ddagger$  は負の値である。 $\Delta S^\ddagger$  が負になる現象は、蛋白質（ヘモグロビン）の酸変性反応について EYRING<sup>44)</sup> が、また、酵素（リボヌクレオラーゼ）の失活化反応について MULTON<sup>45)</sup> が報告しているが、その理由についてはまだ不明な点が多い。

本研究によつて、初めて乾のりに褐変現象が認められたが、本褐変反応は、Fig. 4-5 が示すように、中間水分域に褐変度の極大がくることから典型的な非酵素的褐変反応（いわゆる MAILLARD 反応）に属するものと思われる。

#### § 4 第4章の結論

著者は、保蔵中の乾のりが環境水分の上昇に伴って褐変物質を生成することを見出した。この褐変は、アスコルビン酸の場合と同様に、保蔵のごく初期から観察されることから、のりの変質の指標になりうるものと考えた。そこで、その性質を調べるために、水分並びに温度条件を変えて保蔵実験を行なった結果、のりマトリクス内の水に関して、アスコルビン酸の場合とは異なる知見を得た。

まず、本褐変現象はアスコルビン酸の場合と同様に  $a_w$  0.05 の水分条件が最も安定であったが、中間水分域において褐変度が極大になることが認められた。これは、アスコルビン酸の場合には認められなかった現象である。この褐変度の極大位置は、温度が高くなるにつれて低水分側に移動することが認められた。

中間水分域に褐変反応の極大が存在する現象は、非酵素的褐変反応（いわゆる、



MAILLARD 反応)によく知られた現象で、中間水分条件において、再びに反応分子種の稀釈効果が生じていることを示している。すなわち、乾のりのマトリクス内に、 $a_w$  0.6 (20°C) あるいは  $a_w$  0.4 (30°C) の水分条件のとき、褐変の反応系を稀釈するほどの水が存在する部分のあることを示唆している。

なお、本褐変現象は一次反応様式にしたがって進行した。また、反応の  $\Delta S^\ddagger$  はアスコルビン酸の場合と同様に常に負の値を示した。水分の増加とともに増大した  $\Delta S^\ddagger$  および  $\Delta H^\ddagger$  は、高水分域で逆に減少するなど興味深い挙動を示した。

## 第5章

## フィコビルン色素蛋白質の安定性と水分

乾のりの品質を左右する重要な因子の一つは色彩である。乾のりの色は、脂溶性の光合成色素であるクロロフィルの緑とカロチノイド類の黄、および水溶性の光合成色素蛋白質であるフィコエリスリソンの紅色とフィコシアニンの藍色、或いはアロフィコシアニンの藍色とが重なって呈色したものである。このうち水溶性の3フィコビルン系色素蛋白質は、アスコルビン酸などと比較して、水分の変動に対し安定だとされている。

そこで本章では、水分条件および温度条件を変えて乾のりの保蔵実験を行ない、フィコビルン系色素蛋白質の変性挙動をそれぞれについて明らかにする。その上で同じ水溶性成分であるアスコルビン酸の安定性に関する第3章の実験結果と比較することによって、水に対するフィコビルン系色素蛋白質の安定

性と変性の原因を究明する。

## § 1 実験

### a. 試料

佐賀県有明海産のナラワスサビノリを常法により抄製して乾のりとし、直ちに供試した。

### b. 保蔵方法

乾のりを約  $2 \times 3 \text{ cm}^2$  に裁断したのち、硫酸水溶液を用いて  $a_w \approx 0, 0.05, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6$  の8段階に調湿した1.5 l容量のポリエチレン製密閉容器に収納して、暗所のもと、 $20 \cdot 30 \cdot 40$  °Cにそれぞれ3か月間保蔵した。

### c. 色素蛋白質の抽出方法

約100 mgののり試料を海砂とともに磨碎したのち、リン酸緩衝液(0.05 M,

pH 6.5) を加えて懸濁させ、冷蔵庫内 (4 ~ 8 °C) に 48 時間放置し、フィコビリニン色素蛋白質の抽出を行った。抽出液は、 $3 \times 10^4$  g で 30 分間遠心分離を 2 回繰り返したのち、50 ml の定容にした上澄液を比色検液とした。

#### d. 色素蛋白質の定量方法

フィコビリニン色素蛋白質の定量は、比色法で行った。

フィコビリニン系の 3 色素蛋白質 (フィコエリスリン: PE, フィコシアニン: PC, アロフィコシアニン: APC) の吸光係数は、研究者によつてそれぞれ異つてゐる。そこで、FUJIWARA<sup>46)</sup> の方法に準じて、硫酸分画を重ねて得た 3 つの色素蛋白質の結晶標品を用いて、それぞれの吸光係数を決定した。

この結果に基づき以下の定量式を定めた。

なお、吸光係数を定めるに際して必要な色素蛋白質の濃度は、マイクロケルダール法および

重量秤量法によって決定した。

$$PE (\mu g/ml) \\ = 125.1 E_{565.3} - 57.1 E_{615} + 1.3 E_{650}$$

$$PC (\mu g/ml) \\ = -1.1 E_{565.3} + 152.4 E_{615} - 60 E_{650}$$

$$APC (\mu g/ml) \\ = -0.2 E_{565.3} - 10.9 E_{615} + 157.9 E_{650}$$

ここで、 $E_{\lambda}$  は、波長 $\lambda$ における吸光度である。

## § 2 実験結果

Figs. 5-1~3に、のりの光合成色素蛋白質である3種の蛋白質（フィコエリスリン、フィコシアニン、アロフィコシアニン）の保蔵性について、水分と温度の影響を示した。なお、3色素蛋白質の初期含有量は、乾のり乾物100g当り、5.30g（PE）、2.18g（PC）、0.82g（APC）であ

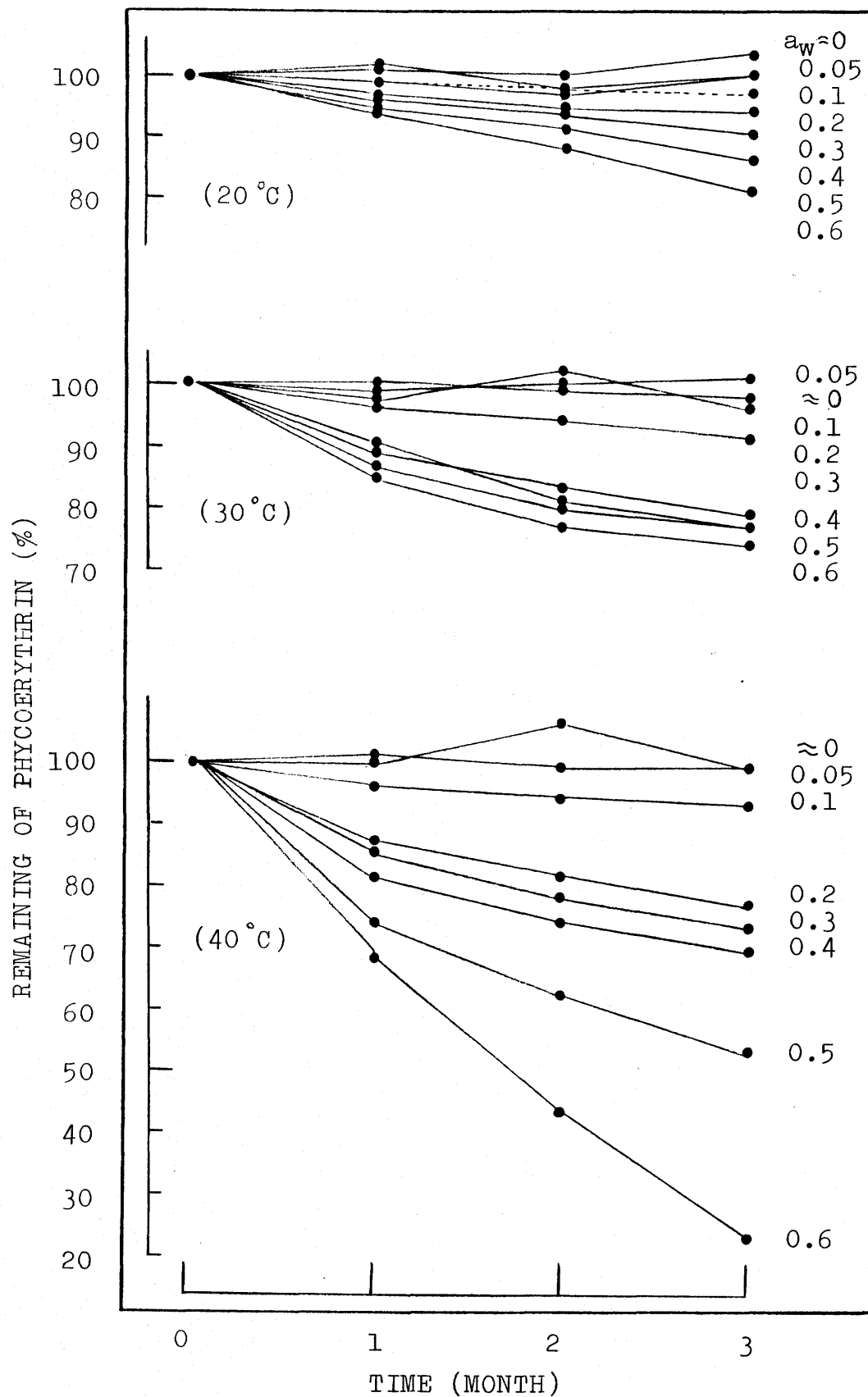


Fig. 5-1

Relationship between the destruction of phycoerythrin and different water activities in hoshi-nori.

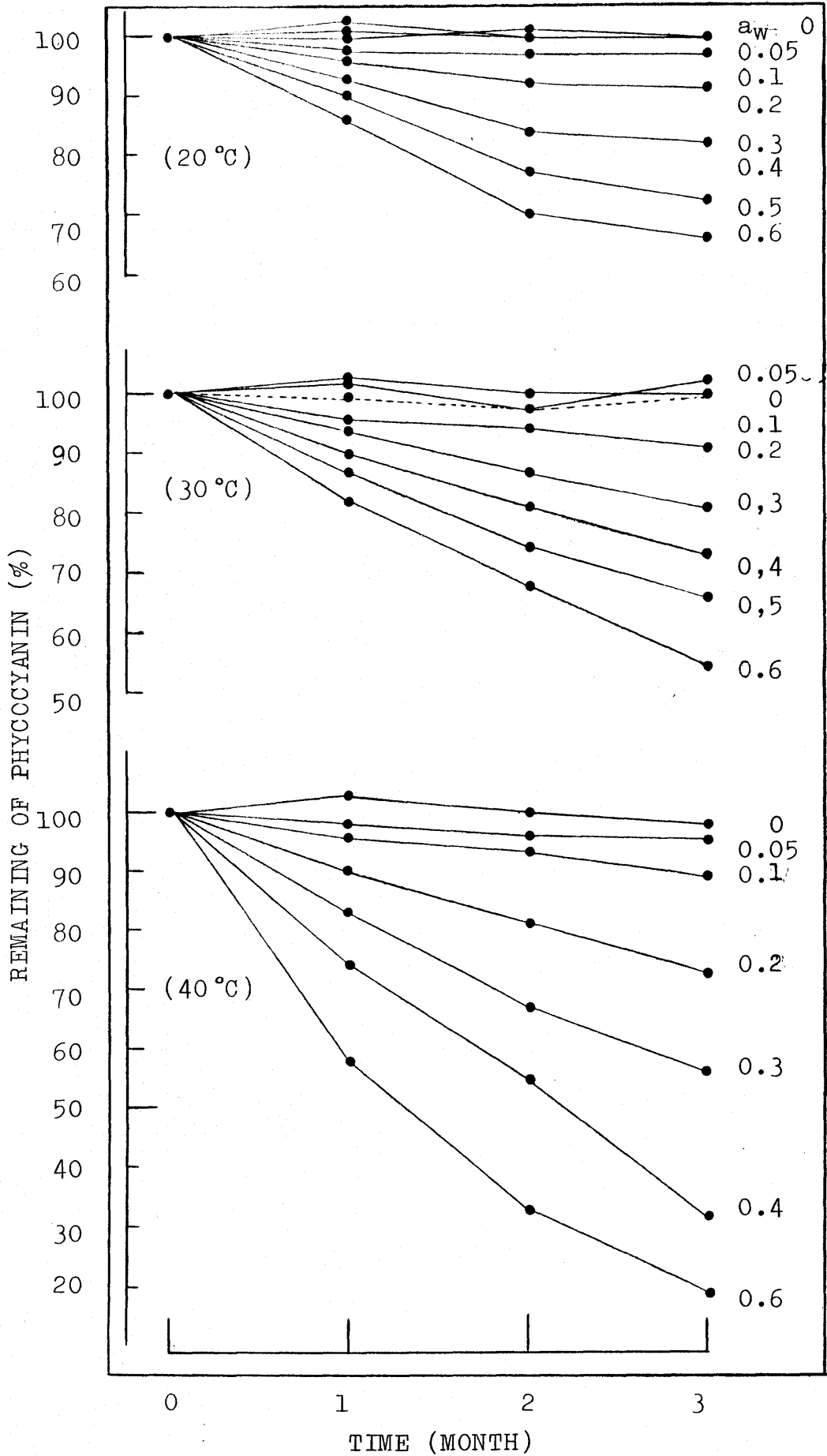


Fig. 5-2

Relationship between the des ruction of phycocyanin and different water activities in hoshi-nori.

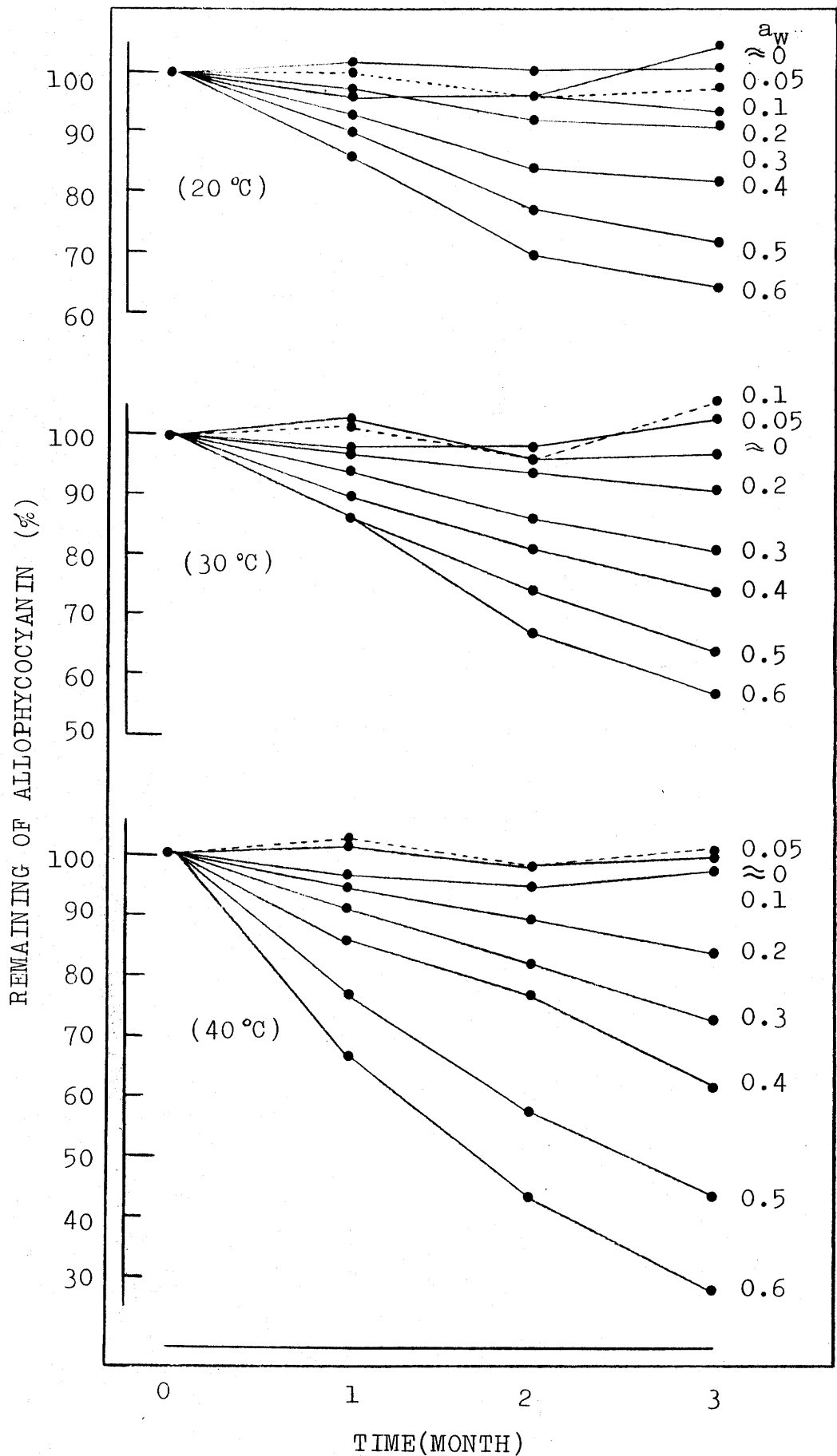


Fig. 5-3

Relationship between the destruction of allophycocyanin and different water activities in hoshi-nori.



った。

Figs. 5-1~3 によれば、3色素とも温度および含水率の上昇とともにその残存率を減少させた。各色素蛋白質の安定性は、20℃と30℃の高水分区 ( $a_w$  0.4 - 0.6) において、PEがPCやAPCよりもやや安定であったことを除けば、3色素蛋白質はいずれも殆んど同じ挙動を示した。すなわち、低水分領域において、3色素蛋白質は非常に安定であった。たとえば、20℃においては  $a_w$  0.3、30℃では  $a_w$  0.2、40℃では  $a_w$  0.1 よりも低い水分条件であれば、3色素蛋白質とも3か月の保蔵期間中に半減することにはなかった。しかし、40℃においては、PEが  $a_w$  0.6 区で、PCが  $a_w$  0.4 区で、また APCが  $a_w$  0.5 区でそれぞれ3か月以内に残存率は50%以下となった。

### § 3 考 察

同じ水溶性成分ではあるが、アスコ

ルビン酸とフィコビリニン系色素蛋白質とでは、安定保蔵のための最適水分条件が異った。最適水分値は、アスコルビン酸の場合は約3%にあったが、フィコビリニン系色素蛋白質については、いずれも明確な水分値を定めることが出来ず、より低い水分条件の方が安定であるようであった。

この違いは、両成分の分解もしくは変性の機作が異なることが原因であろうと思われる。

第3章の考察において、乾のりあるいは焼のり中のアスコルビン酸の分解反応は、単純な二分子反応による化学酸化であることを示した。

一方、Figs. 5-1~3に明らかなように、フィコビリニン系色素蛋白質には安定保蔵のための最適水分値が認められず、環境の水分は低いほど蛋白質は安定であった。また一方では、3つの色素蛋白質の変性が大きく抑制される水分条件は、 $a_w$  0.2の前後である。

この値は乾のりのML値に相当して、アスコルビン酸の場合よりも水分過剰の状態である。また、温度の上昇に伴ってこの水分条件は、より低い水分値を要求する。乾のりのML値が温度変化に対して殆んど依存しないことから考えて、フィコビリンの安定性について、アスコルビン酸の場合のような単分子層の吸着水による活性基の保護作用を想定するのみでは不十分であろう。

上平<sup>47)</sup>によれば、尿素による蛋白質の変性作用は、尿素によって構造を破壊された水分子がその運動速度を高めた結果、蛋白質の結合水に対する衝突の頻度を増やすために、蛋白質の三次構造が崩壊するという。すなわち、環境の水分が増加して、のりのマトリクス内の水分活性が上昇し、自由水が増えれば水の運動速度が増せば（たとえば温度の上昇に際して）、尿素が存在した場合と同様の蛋白質変性効果が生ずるものと思われる。こ

の場合は、反応系の温度が上昇することによって、更に顕著な変性を伴うはずである。Figs. 5-1~3に示した三種の色素蛋白質とも、安定保蔵に際して、温度が高いほど低い水分条件を要求しているのはこのためであるように思われる。

すなわち、蛋白質の変性は、反応の活性部位が存在して、その部分が反応分子種の攻撃を受けて化学修飾されることが原因ではなく、比較的弱い力で保たれている蛋白質の高次構造が水分子によって破壊されるため、蛋白質分子のコンフォメーションが変化して起るものと考えられる。したがって、蛋白質の側鎖が未修飾のままに、蛋白質の変性が進行する。これについては、第6章で述べる。

つまり、本実験のようにフィコビリソン系蛋白質が、保蔵時間の経過に伴って減少する場合も、同じく蛋白質の高次構造が変化して起るものと考えることが出来る。したがって、フィコビリソン系色素蛋白質の減少を防止する

ためには、少なくとも自由水が存在しない程度に水分量を調節すればよいことになる。

このように、同じ水溶性成分ではあってもアスコルビン酸のような低分子成分と、蛋白質とでは、分解や変性に関与する水的作用が異なるものと思われる。

#### § 4 第5章の結論

のりの品質に最も重要な因子の一つとされる色素蛋白質は、アスコルビン酸と比較して安定であると言われている。そこで、水溶性の色素蛋白質である3種のフィコビリニンについて、その安定性と水分との関係を調べた。すなわち、水分および温度条件を変えて、乾のりの保蔵実験を行なった。

その結果、水分並びに温度の上昇とともに、PE・PC・APCとも減少することやわかった。しかし、その速度はアスコルビン酸の場合よりも遅く、水に対して比較的安定であることが示された。また、三者ともに最適水分条件は認められず、フィコビリニン色素蛋白質は、環境水分が低いほど安定性が高くなるものと思われる。すなわち、フィコビリニンは、アスコルビン酸と同じ水溶性の成分ではあっても、低分子化合物と蛋白質とでは、分解や変性に関与する水的作用が異なるものと考えられる。この原因は次のよう

に考えることができる。

蛋白質の変性は、蛋白質の高次構造が変化して起る。したがって、変性する際は、蛋白質がそのコンホメーションを変形させるために必要な水分、あるいは自由水の存在が不可欠であると思われる。ただし、この場合の自由水は、蛋白質分子の全体を浸す必要はなく、変性に関係する部分が自由水の雰囲気下にあればよいことが推定される。したがって、フィコビルリン系色素蛋白質の変性を防止するためには、環境水分と自由水が出現する条件以下にしなければならぬが、褐変の場合のように、その条件は温度の上昇とともにより低水分になる傾向が認められた。

なお、従来、PEよりもPCの方が安定性が高いと言われてきたが、本研究においては、3色素蛋白質の間に安定性の差は認められなかった。

## 第6章

### フィコエリスリソンの変性

次章で検討する「焼き色」および「色戻り」の原因物質と考えられている<sup>13, 18)</sup> フィコエリスリン色素蛋白質について、各種の変性実験を実施して、主に吸光度と吸収スペクトルの上から、色素蛋白質の変性と変色との関係、および蛋白質の変性と水分との関係を究明する。

#### § 1 実験

##### 1. 1. 試料

a. フィコエリスリン色素蛋白質の精製  
 フィコエリスリンは、FUJIWARA<sup>46)</sup>の方法に準じて、硫酸分画を繰り返して精製したので、Sephadex G-100ゲル濾過法により、更に精製した。

すなわち、火入れ処理をしていない乾のり(ナラフスサビノリ: *Porphyra yezoensis*)



を、4℃で7日間、水に浸漬したのち、色素蛋白質を圧搾抽出した。この遠心上澄液( $2 \times 10^4$  g, 30分)について、硫酸による塩析と溶解を繰り返して、25%飽和硫酸濃度で沈殿する画分をフィコエリスリンとした。最終的には、ゲル濾過法によつて精製したフィコエリスリンの溶液(酢酸緩衝液: pH 5.6, イオン強度 0.1)は、280 nmの吸光度に対する565.3 nmの吸光度比が常に5.4以上の値を示した。

#### b. 純度の判定および保存

本実験では、280 nmに対する565.3 nmの吸光度比が、5.0を越えるものを純品として<sup>48)</sup> 供試した。

フィコエリスリン標品は、使用時まで35%飽和の硫酸沈殿物として、4℃で保存した。なお、使用時には透析によつて脱塩を充分に行つたのち、所定のpHに調整した。

## 1. 2. 変性実験

### a. 各種 pH における変性

pH 5.6 を基準にして、pH 2.4 ~ 11.5 の範囲で、フィコエリスリン溶液の吸光度変化を調べた。供試した溶液の初発条件は、pH 5.6、イオン強度 (I) 0.1 の酢酸緩衝溶液、および pH 4.4、I 0.1 の蟻酸緩衝溶液とした。フィコエリスリンの濃度は、ミクロケルダール法によつて決定し、0.0117 g/dl であった。

溶液の pH は、5.6 ~ 4.4 は 1M 酢酸、4.4 ~ 2.4 は 2M 蟻酸を、またアルカリ側は 1M 水酸化ナトリウム溶液を、ミクロビュレットによつて所定の pH になるまで滴定して調整した。

吸光度および吸光スペクトルは、自記分光光度計 (UV-210: 島津製作所製) を用いて記録した。測定点は、フィコエリスリンの吸収特性波長である、565, 540, 497 および 280 nm の5点とし、分光

光度計の有効波長幅は、 $1\text{ nm}$  で測定した。  
また、吸光度の値に温度依存性が認められたので、測定時の溶液温度を  $7 \pm 1^\circ\text{C}$  と定めた。

### b. 加熱による変性

$\text{pH } 5.6$ 、 $I 0.1$  の酢酸緩衝液に対して透析したフィコエリスリン溶液（濃度  $0.0392\text{ g/dl}$ ）を  $10\text{ ml}$  づつ試験管にとり、所定の温度で  $30$  分間加熱したのち、直ちに吸光度を測定した。温度範囲は、 $15 \sim 65 (\pm 0.3)^\circ\text{C}$  であった。次に、同試料を  $30$  分間氷冷したのち  $7 \pm 1^\circ\text{C}$  における吸光度を測定した。測定波長は、 $565$ 、 $497$ 、 $308$  および  $280\text{ nm}$  とした。

### c. 蛋白質変性剤による変性

$\text{pH } 5.6$ 、 $I 0.1$  の酢酸緩衝液に対して透析したフィコエリスリン溶液（濃度  $0.0197\text{ g/dl}$ ）について、塩酸グアニジン ( $\text{GuHCl}$ ) は  $0 - 6\text{ M}$ 、尿素は  $0 - 8\text{ M}$ 、またドデシル

硫酸ナトリウム (SDS) は 0 ~ 0.1 % の範囲でそれぞれを添加したのち、吸光度の変化を計測した。測定波長は、加熱による変性の場合と同様に、565, 497, 308 および 280 nm とした。

#### d. 光による変性

pH 5.6, I 0.1 の酢酸緩衝液に対して透析したフィコエリスリン溶液 (濃度 0.0197 g/dl) を石英管内に封じ、氷水中に保持して液温を 4 ~ 5 °C に保つながら、太陽の直射光 (直達日射量:  $5.4 \text{ J} \cdot \text{cm}^2 \cdot \text{min}^{-1}$ ) と、総計 6 時間照射した。すなわち、第 1 日目は 3 時間照射したのち試料を冷蔵し、第 2 日目は更に 3 時間直射日光を照射した。吸光度の測定波長は、565, 497 および 280 nm とした。

#### e. 有機溶媒による変性

pH 5.6, I 0.1 の酢酸緩衝液に対して

透析したフィコエリスリン溶液を、以下に述べる有機溶媒と混合して蛋白質と溶媒を振盪接触させた後、変性した不溶成分を6Mの尿素液に溶解させ、565 nmと497 nmにおける吸光度と吸収スペクトルの変化を調べた。

使用した有機溶媒は、極性の大きい順に、エチルアルコール、*n*-ブチルアルコール、アセトン、酢酸エチルとシメジメチルエーテルの5種類とした。

#### f. 吸着による変性

純水に対して透析したフィコエリスリン溶液(濃度20 g/dl)を、口紙(東洋濾紙製No. 2)1 g当り1 mlの割合で、均一に浸み込ませたのを、減圧乾燥したものを試験紙とした。この試験紙を赤外線加熱により160℃で最長5分間焙焼して、焙焼前後の吸収スペクトルの変化をオパールグラス法<sup>49)</sup>によって記録した。また、吸着変性と極性

基との関係を調べるために、ガラス板とテフロン膜上にフィコエリスリン溶液を塗布して、乾燥後に吸収スペクトルの変化を調べた。なお、有効波長幅は  $1\text{ nm}$  とした。

#### g. フィコエリスリンの変性度

pH 5.6、 $I 0.1$  の酢酸緩衝液に対して透析したフィコエリスリン溶液  $2.5\text{ ml}$  に、 $1\text{ M}$  水酸化ナトリウム溶液  $0.5\text{ ml}$  を加え、直ちに  $2\text{ M}$  グリシン  $2.0\text{ ml}$  を添加すると、アルカリ変性によって消失した  $565\text{ nm}$  および  $497\text{ nm}$  の吸収と蛍光特性が回復することを見出した<sup>50)</sup>。この現象を利用して、吸光度の回復の違いからフィコエリスリンの変性程度を調べた。

グリシンの添加に先立つ変性因子は、酸 ( $1\text{ M}$  酢酸) 熱 ( $80^\circ\text{C}$ 、 $20$  分)、蛋白質変性剤 ( $0\sim 7\text{ M}$  塩酸グアニジン) とした。なお、上記の量比でグリシンを添加すると、溶液の pH は  $9.0$  に低下した。

## § 2 実験結果

### a. 各種 pH における変性

Fig. 6-1 に pH を 5.6 から 2.4 に降下させたときの吸光度の変化を示した。また Fig. 6-2 に未変性状態 (pH 5.6) と変性状態 (pH 3.0) のフィコエリスリソンの吸収スペクトルおよびその差吸収スペクトルを示した。

その結果、pH を降下させた場合、280 nm における吸光度の変化は僅かであった。また、497 nm および 565 nm の可視部吸収も比較的安定で、pH 4.4 においても pH 5.6 における吸光度の 5~10% の減光に留まり、沈殿はなく、蛍光特性も保持された。

フィコエリスリソンの酸による変性は、紫外部および可視部の吸光度変化から判断して pH 4.0 付近から始まり pH 3.0 で完結した。特に、紫外部の吸収変化は蛋白質の構造変化と関係があることは良く知られているが、280 nm の吸収変化に対して 308 nm の

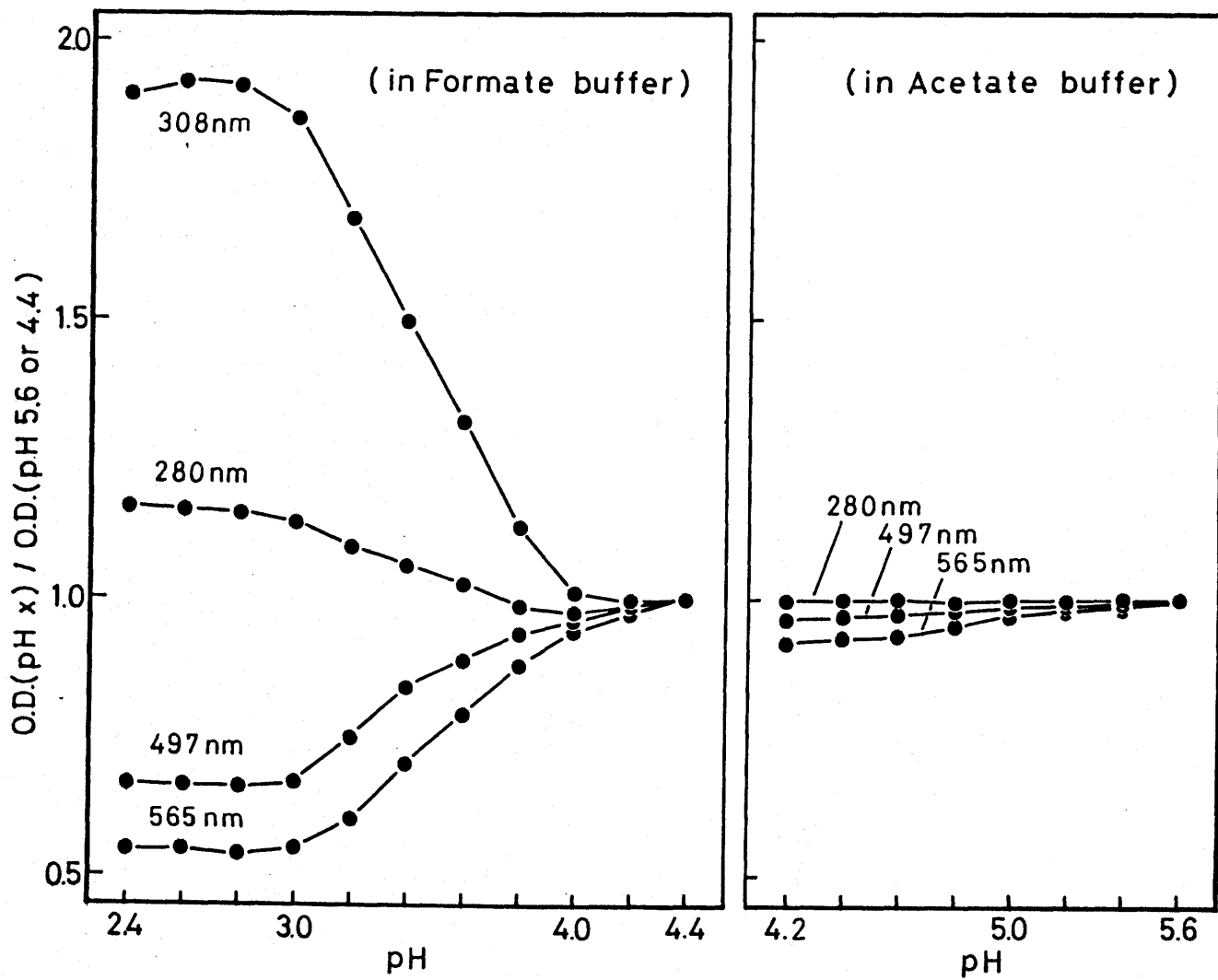


Fig. 6-1

Influence of  $p^H$  change ( $p^H 5.6-2.4$ ) on the optical density of phycoerythrin solution. ✓



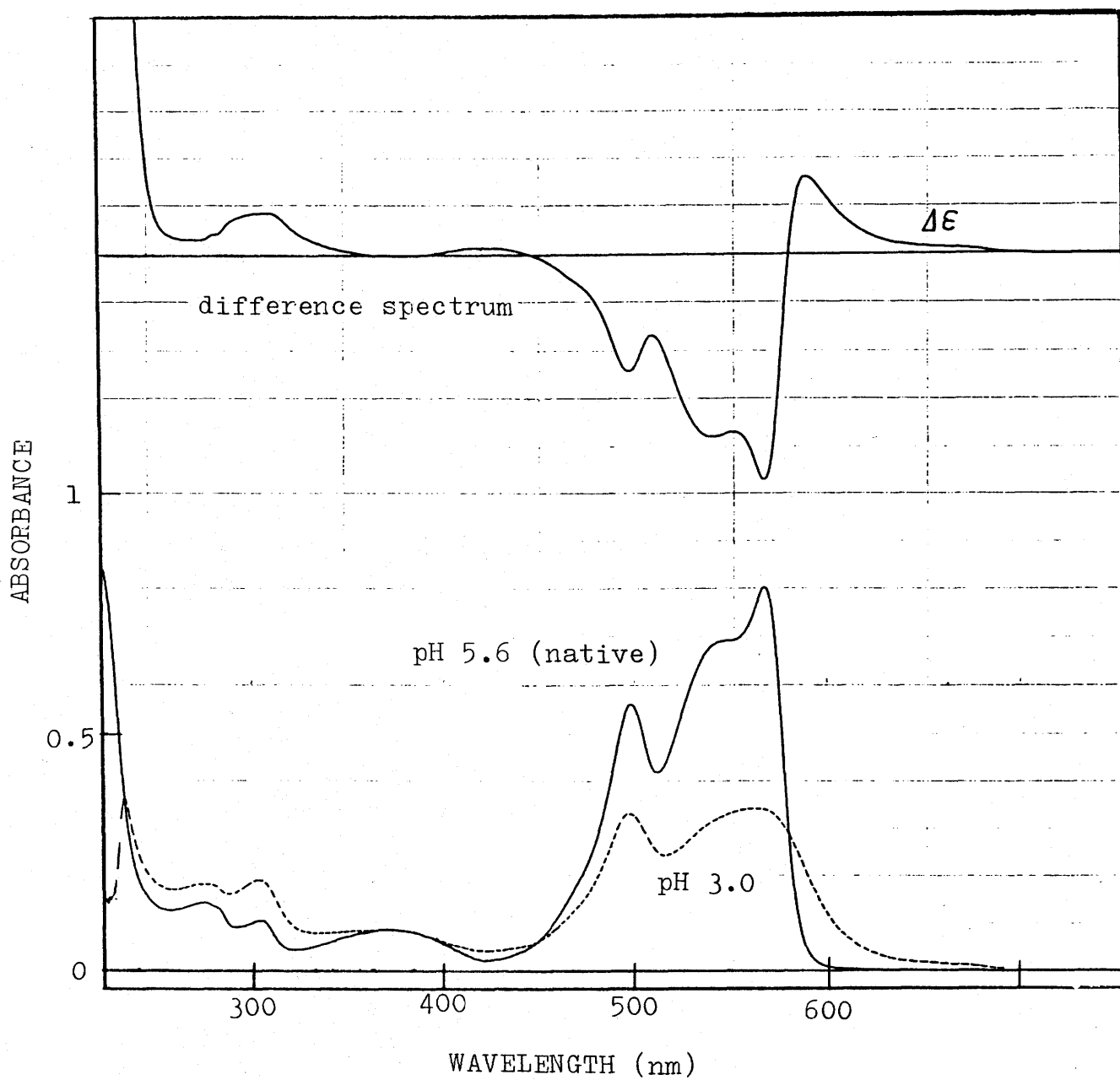


Fig. 6-2

Absorption spectra of phycoerythrin solution in pH 5.6 and 3.0.

吸収増大が注目された。色素蛋白質の変性を考える場合、蛋白質部分の構造変化と色素部分の変化とを分離して取り扱うことの必要性を上例は示している。この問題については、次の考察の章で検討する。

一方、pHが上昇すると、紫外・可視部とも、ともに著しい吸光度の変化を示した。すなわち、紫外部の吸光度は増大し、可視部の吸光度は逆に減少した。特に、565 nmにおける吸光度の減少は顕著であった。

pH 5.6 からアルカリ側に pH 11.5 まで pH を変化させた場合の、フィコエリスリン溶液の吸光度変化を Fig. 6-3 に、また吸収スペクトルの変化を Fig. 6-4 に示した。これによると、紫外部の吸収は pH 7.0 にかけて増大したのを暫く一定の値を保ったが、pH 9.5 から再び増加した。これに対して、可視部の吸収は、pH 7.0 付近で僅かに減少したのを pH 9.5 に至って急激に減少した。

Fig. 6-4 の差スペクトルが示すように、

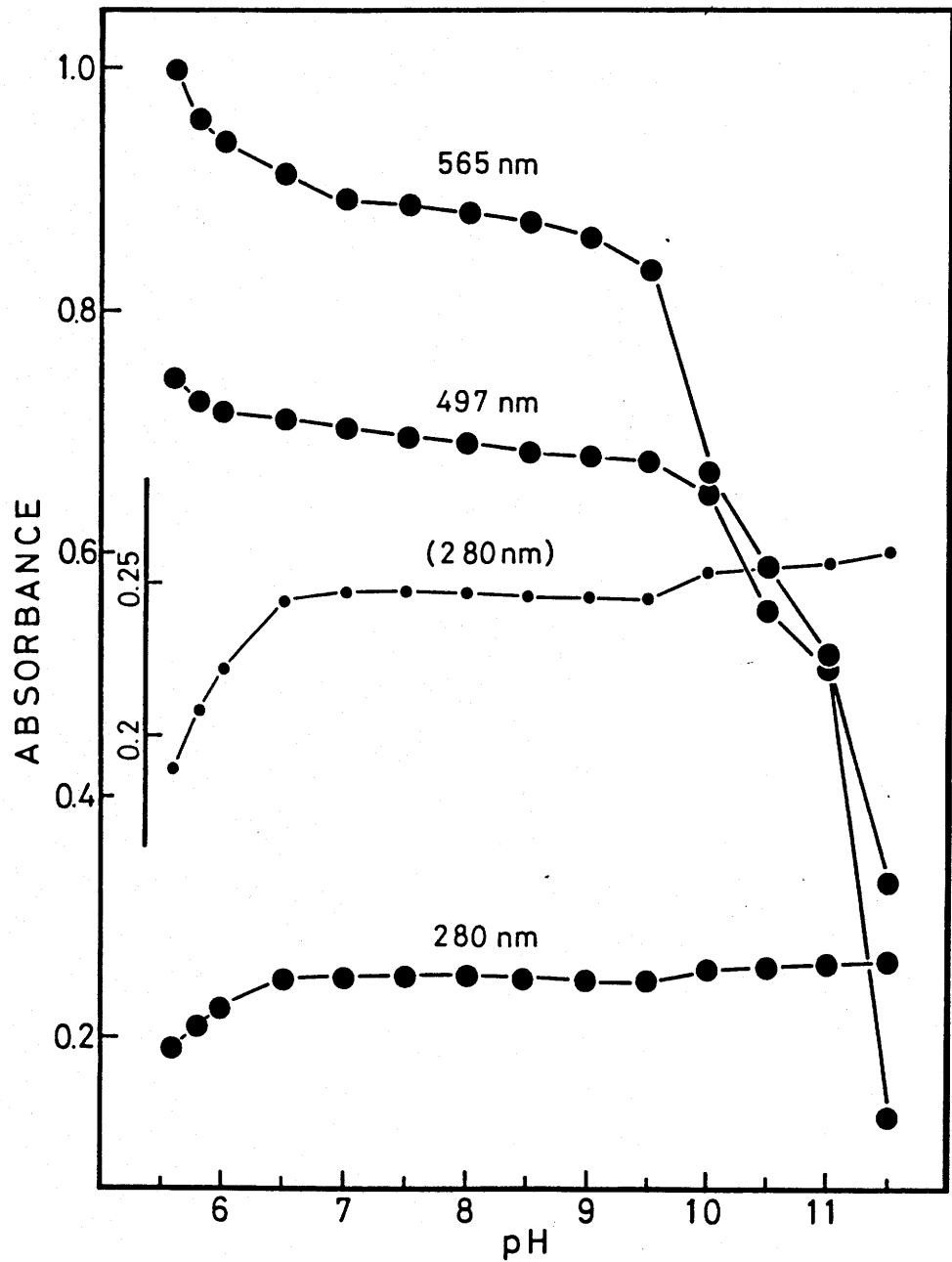


Fig.6-3

Influence of pH change (pH 5.6-11.5) on the optical density of phycoerythrin solution.

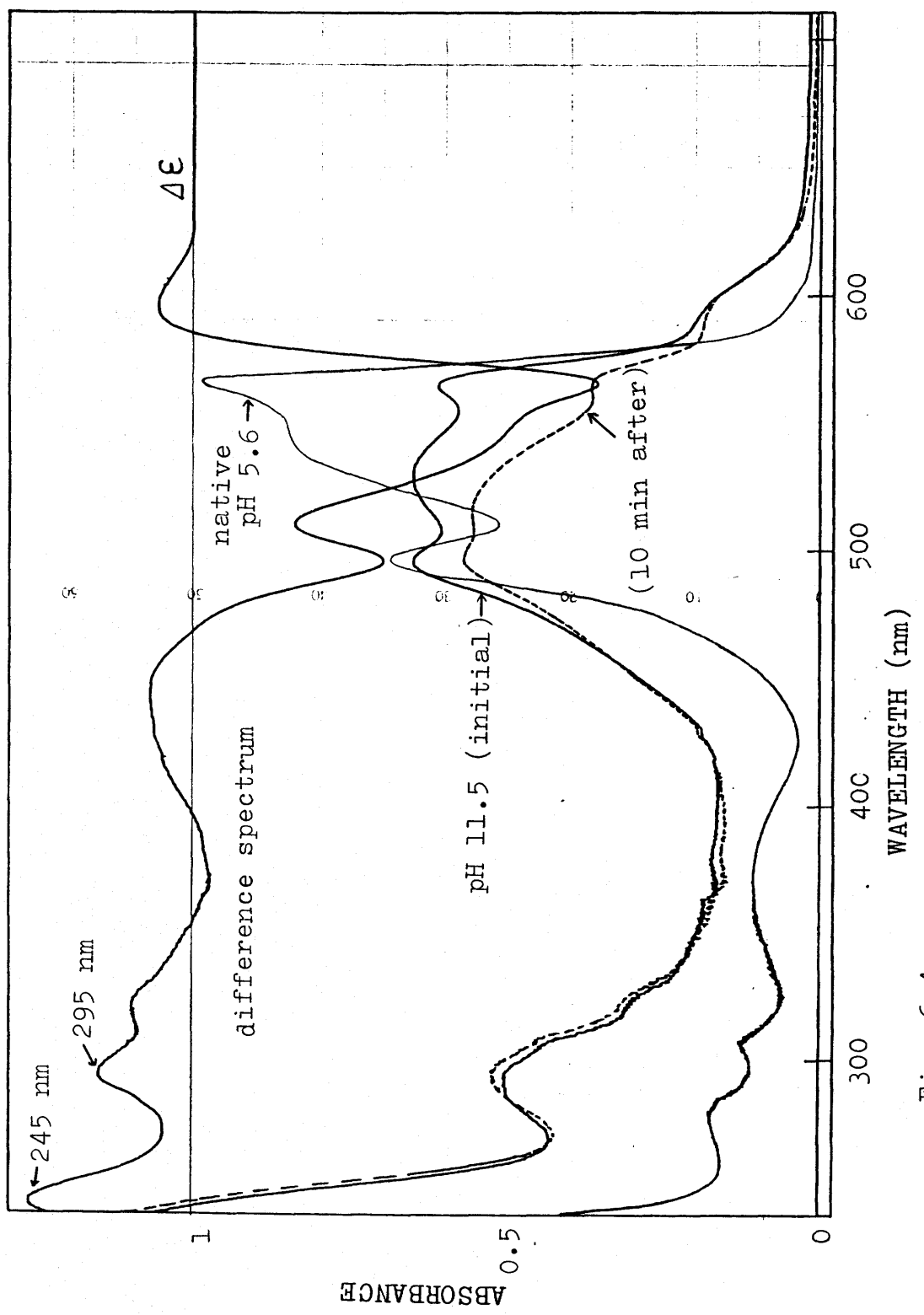


Fig. 6-4  
Absorption spectra of phycoerythrin solution in pH 11.5.  
The absorbance in pH 11.5 was dependent on the time course.

フィコエリスリンのアルカリ溶液は、295 および 245 nm 近傍に極大をもつ。これは、pH の上昇とともに解離したチロシンのフェノール性水酸基による<sup>51)</sup>。そこで、蛋白質の変性度の指標として、pH 5.6 と 5.8 の差吸収を 1 とし、各 pH における pH 5.6 との差吸収の大きさを、295 および 245 nm について Fig. 6-5 に示した。その結果、チロシンの解離は pH 9.5 以上で起ることが示された。

#### b. 加熱による変性

Fig. 6-6 において、565 nm の吸光度変化が示すように、可視部の吸光度は溶液の加熱温度に依存して、高温になるほど減少した。ところが、Fig. 6-7 では、紫外部の吸光度は、加熱温度が 45 °C 以上になるまで殆んど変化を示さなかった。

Fig. 6-6 には、加熱後氷冷した場合の吸光度も示した。冷却後の吸光度は、当初

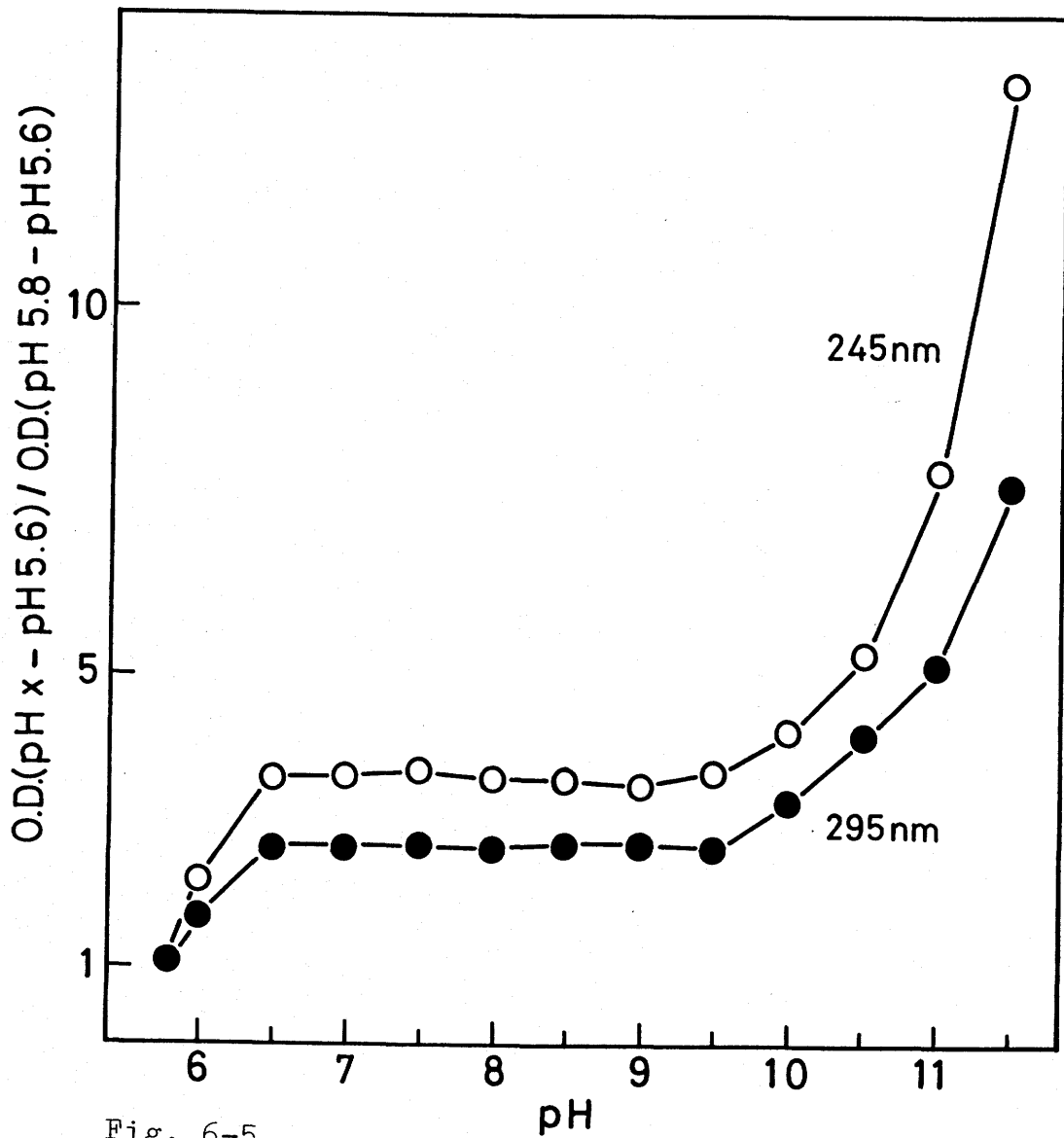


Fig. 6-5

Influence of  $p^H$  change on the ratio of optical density of phycoerythrin solution at 245 and 295 nm.

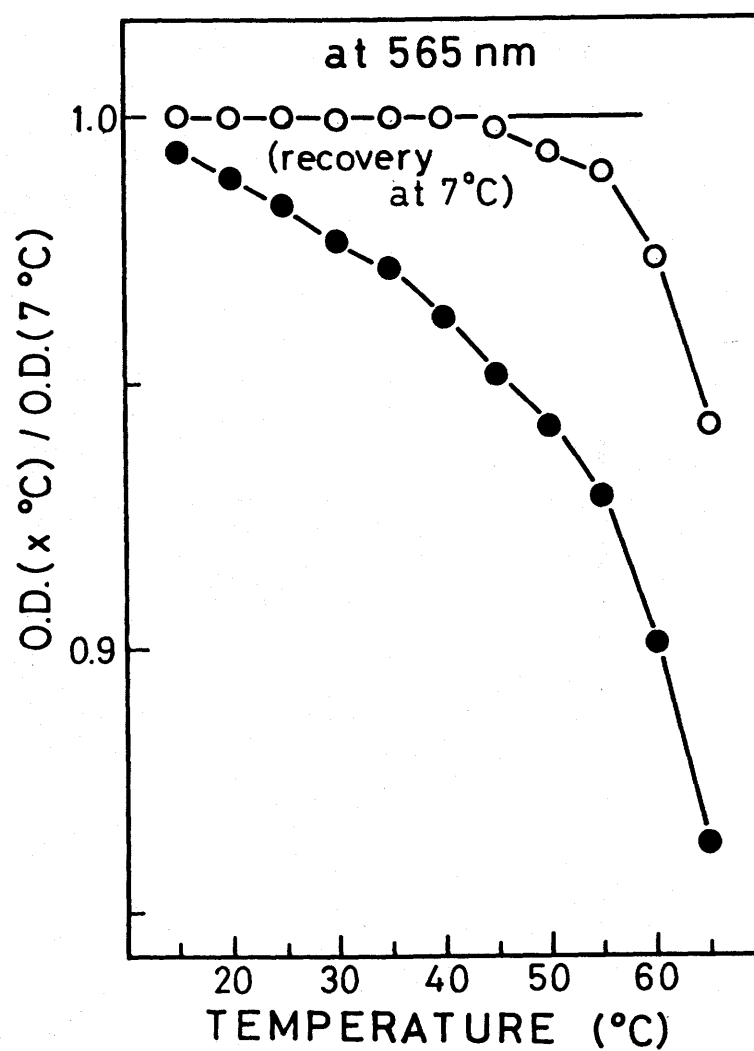


Fig. 6-6

Influence of the temperature on the optical density of phycoerythrin solution in pH 5.6 (closed symbols) and the recovery after cooling (open symbols).

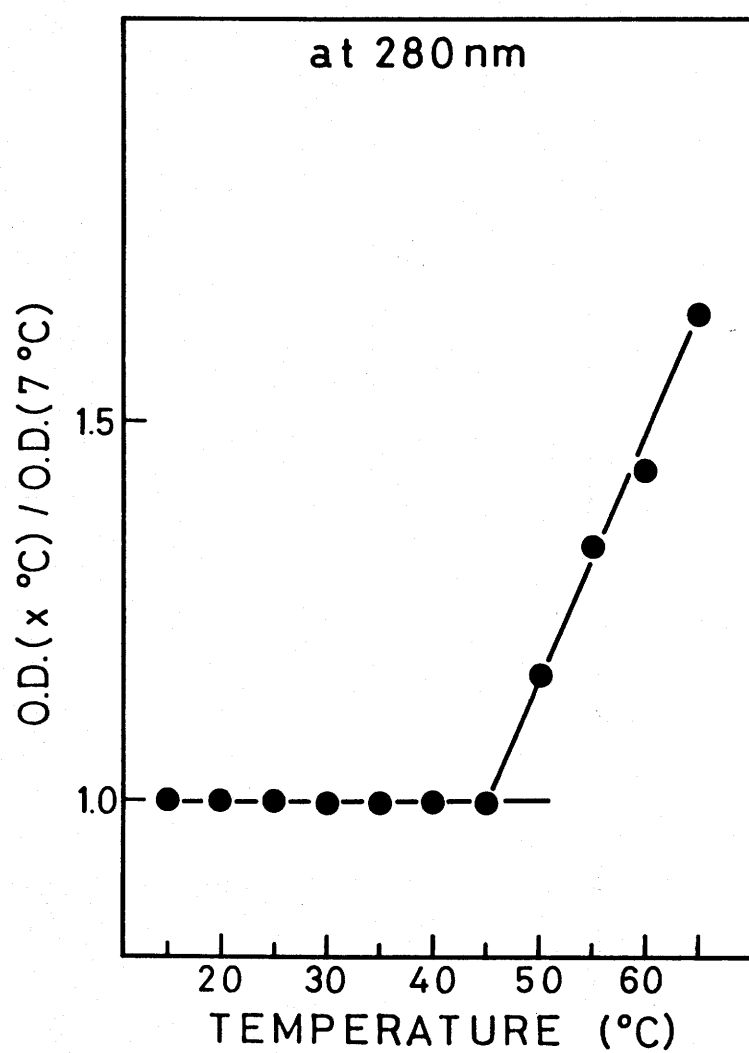


Fig. 6-7

Influence of temperature on the optical density of phycoerythrin solution at 280 nm.



の加熱温度が  $497 \text{ nm}$  については  $50^\circ\text{C}$ 、 $565 \text{ nm}$  については  $40^\circ\text{C}$  以下であれば、完全に回復した。

一方、 $280 \text{ nm}$  および  $375 \text{ nm}$  における吸光度は、 $45^\circ\text{C}$  を境にして高温側で増大したが、冷却による吸光度のもどりはまったく認められなかった。なお、フィコエリスリンは蛍光をもつが、この蛍光特性も紫外部吸収の場合と同様に、 $45^\circ\text{C}$  以上で消失し、再び溶液の温度を下げても回復は認められなかった。

フィコエリスリンの吸光度変化には、温度依存の他に時間依存が認められた。Fig. 6-8 に示したように、たとえば  $50^\circ\text{C}$  において、 $497 \text{ nm}$  の吸光度は約5分で平衡に到達したのに対して、 $280 \text{ nm}$  の吸収は、少なくとも30分を要した。

### C. 蛋白質変性剤による変性

フィコエリスリンの吸光度は、蛋白質変

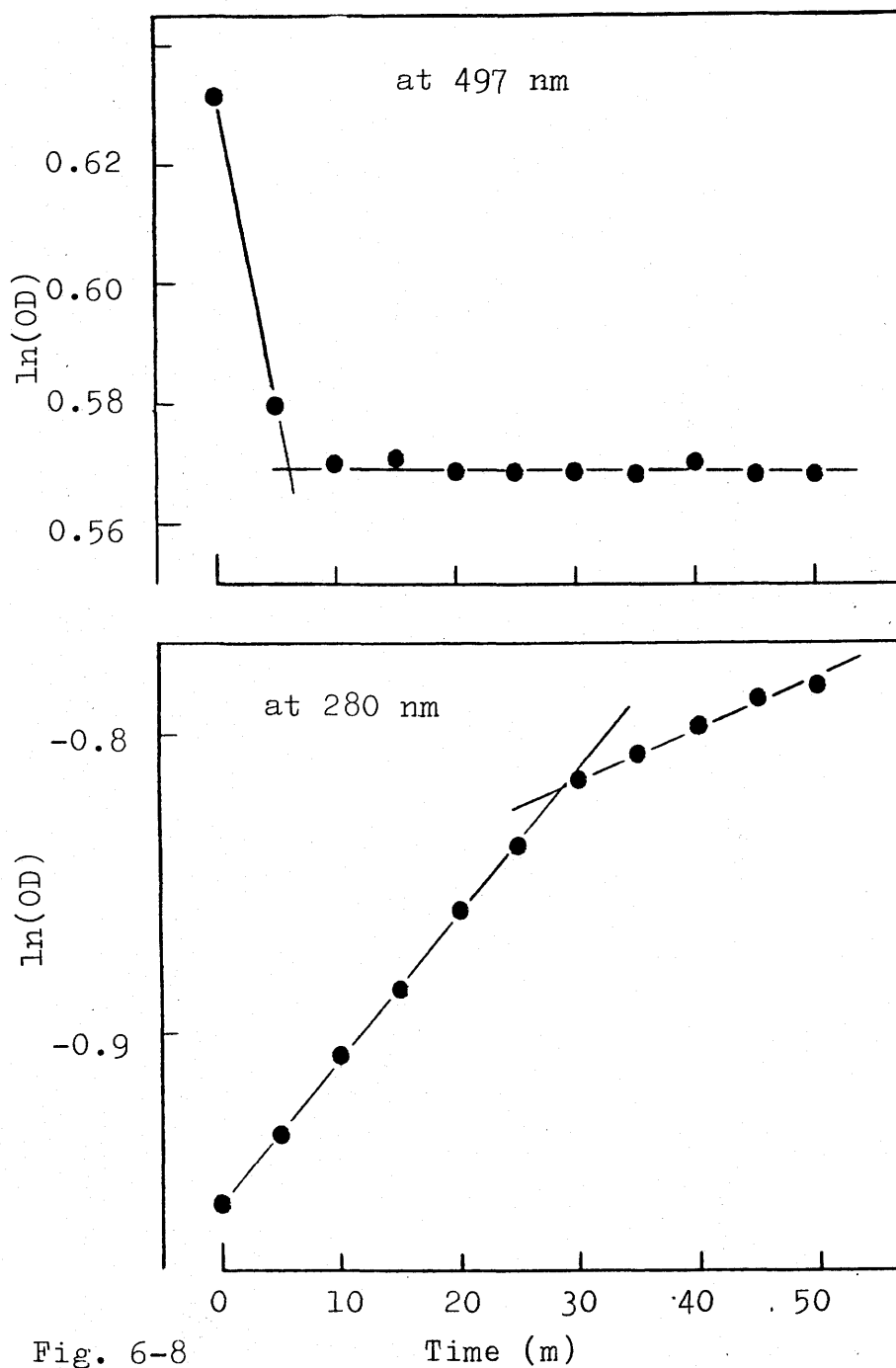


Fig. 6-8

Time (m)

Changes in optical density of phycoerythrin solution with time course at 50°C.

性剤として知られている塩酸グアニジン (GuHCl)、尿素およびドデシル硫酸ナトリウム (SDS) を添加することにより変化した。

まず、Fig. 6-9 に GuHCl 濃度と吸光度との関係を示した。この結果、GuHCl 濃度が 1 M を境に紫外部および可視部の吸光度に変化が始まり、ほぼ 2.5 M において平衡に達した。なお、308 nm における吸光度変化は、特に顕著であった。一方、尿素の変性効果は、GuHCl ほど大きくはなく、3~4 M 濃度付近から変化が認められた。尿素および GuHCl によって変性したフィコエリスリンは、透析により変性剤を除去すれば一部可逆的に、吸光度を回復させることができた。

次に、Fig. 6-10 に、SDS 濃度と吸光度との関係を示した。フィコエリスリンの各吸収極大における吸光度は、SDS 濃度 0.1 ~ 0.01 % の間で大きく変化した。透

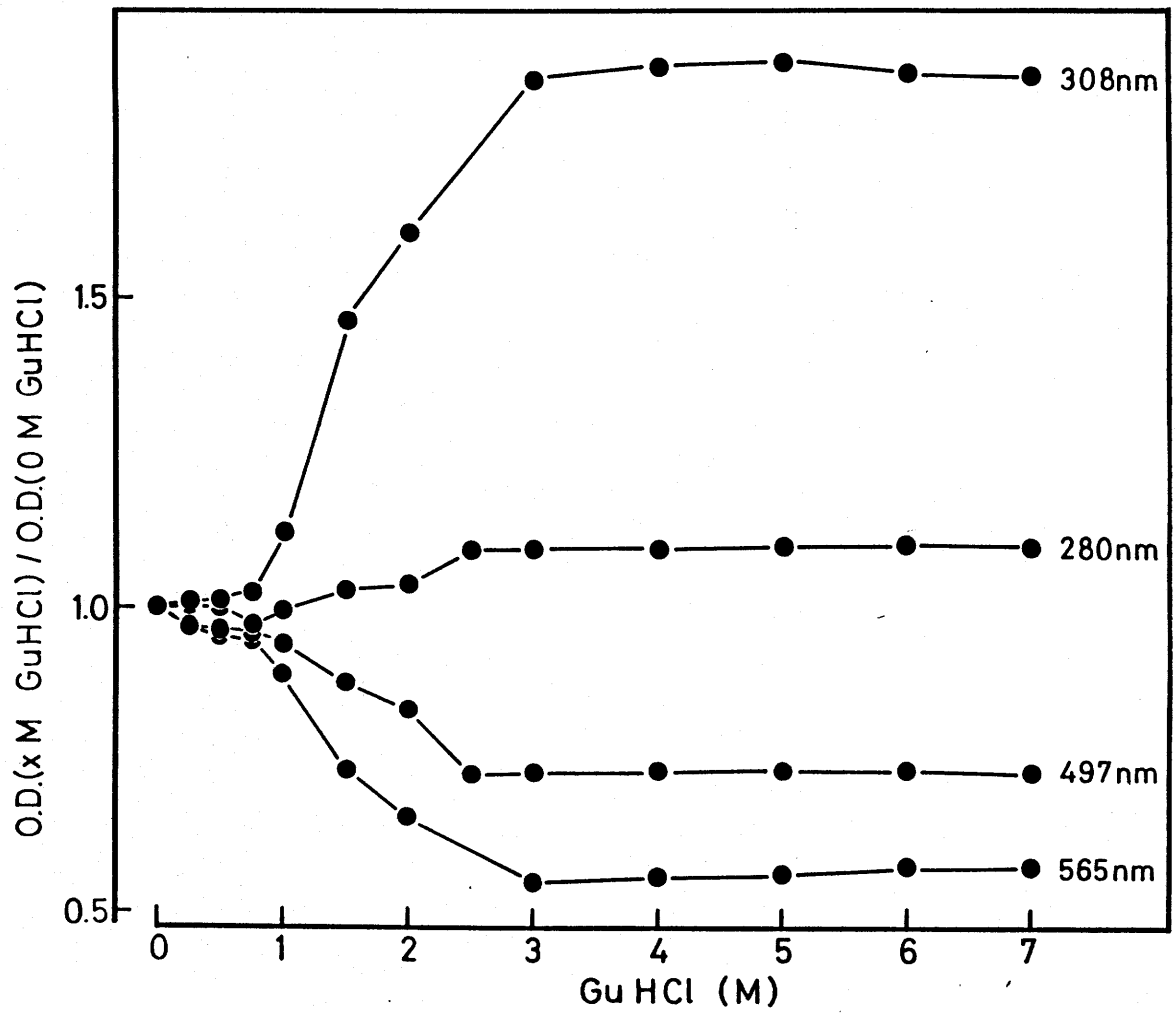


Fig. 6-9

Influence of Guanidine-HCl concentration on the optical density of phycoerythrin solution.

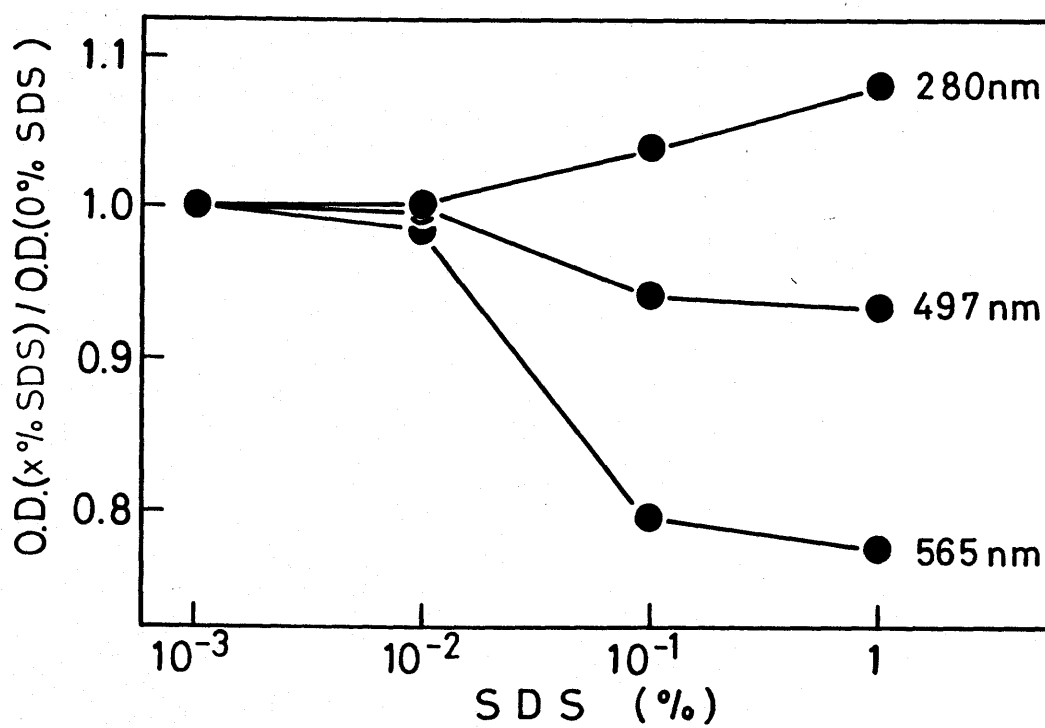


Fig. 6-10

Influence of SDS concentration on the optical density of phycoerythrin solution.

析による吸光度の回復は認められなかった。

#### d. 光による変性

Fig. 6-11 に、太陽光の照射時間と吸光度との関係を示した。また、Fig. 6-12 に吸収スペクトルの経時変化を示した。これによると、可視部の吸収は、照射時間の経過とともに減少したが、紫外部の吸収は照射後4時間までは、殆んど変化を示さなかった。この間の照射エネルギー（直達日射量）は、4時間で約  $78 \text{ kJ/cm}^2$  であった。

#### e. 有機溶媒による変性

極性の大きさが異なる各種有機溶媒に接触させて変性したフィコエリスリンを、更に6Mの尿素によって溶解させたときの吸収スペクトルを Fig. 6-13 に示した。これによると、 $497 \text{ nm}$  における吸光度の変化は、 $565 \text{ nm}$  におけるそれよりも小さいことから、 $497 \text{ nm}$  の吸収を与える色素団（フィ

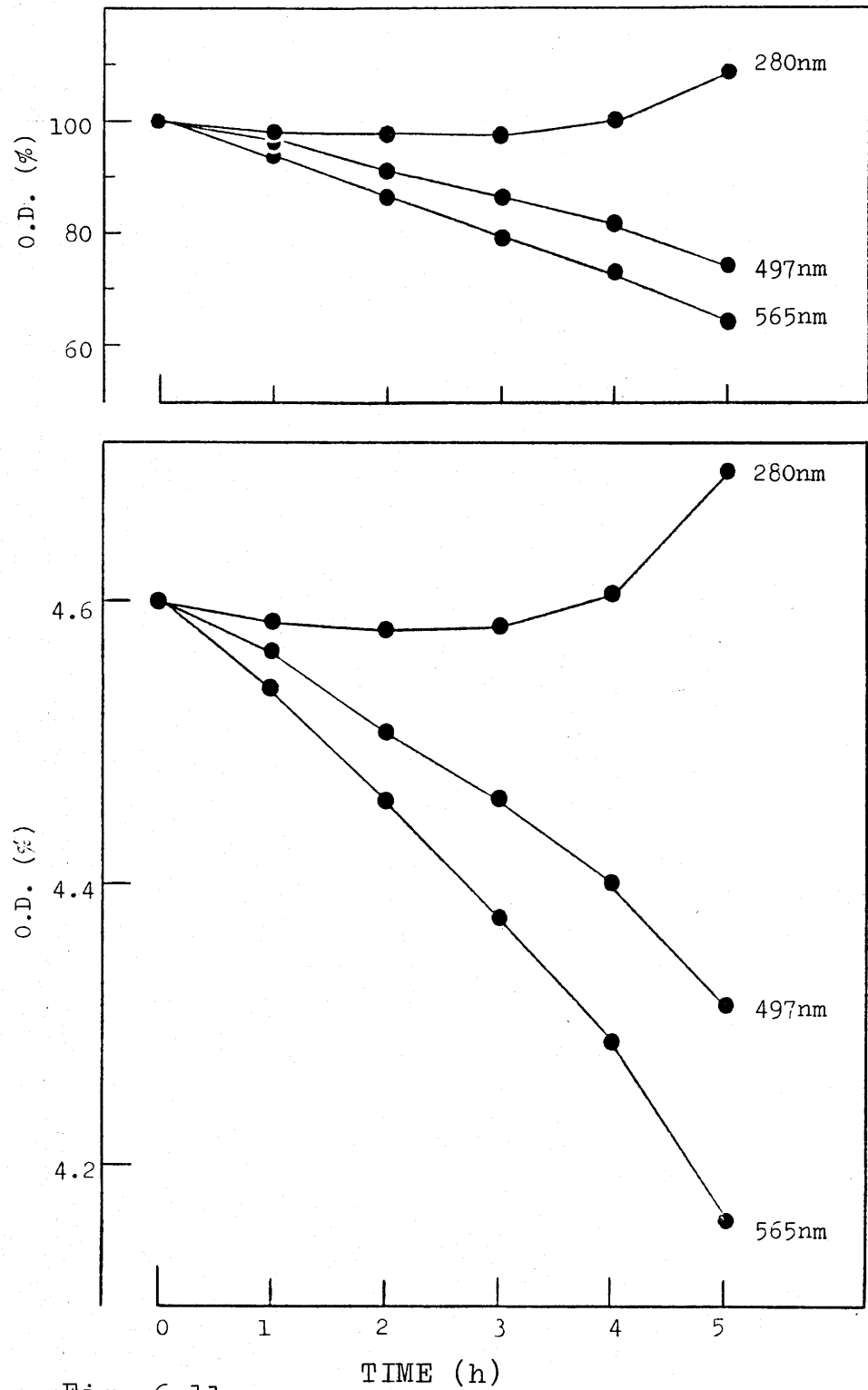


Fig. 6-11

Influence of sun light on the optical density of phycoerythrin solution at 4°C.

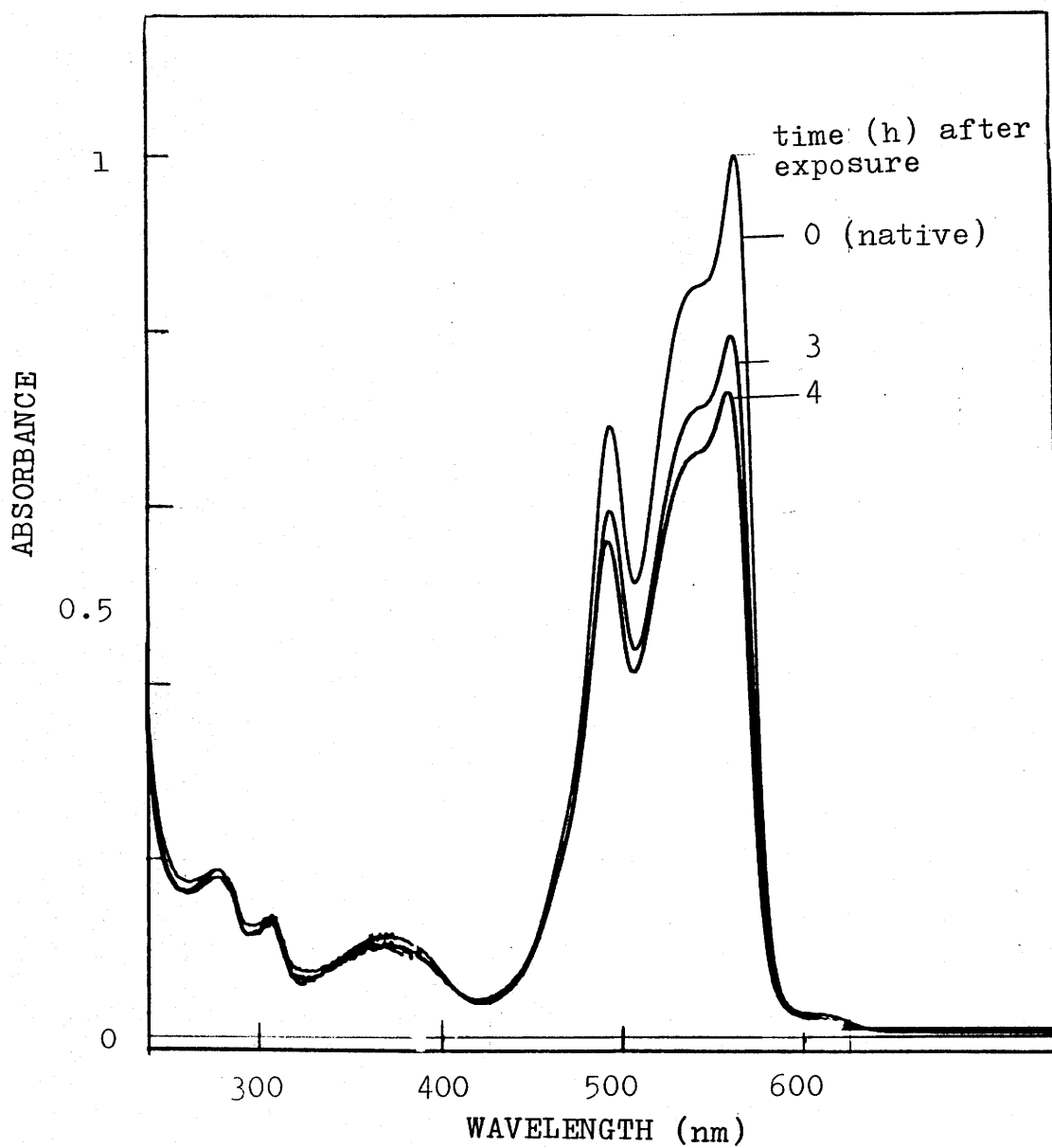


Fig. 6-12

Changes in absorption spectra of phycoerythrin solution with exposure of the sun light at 4°C.



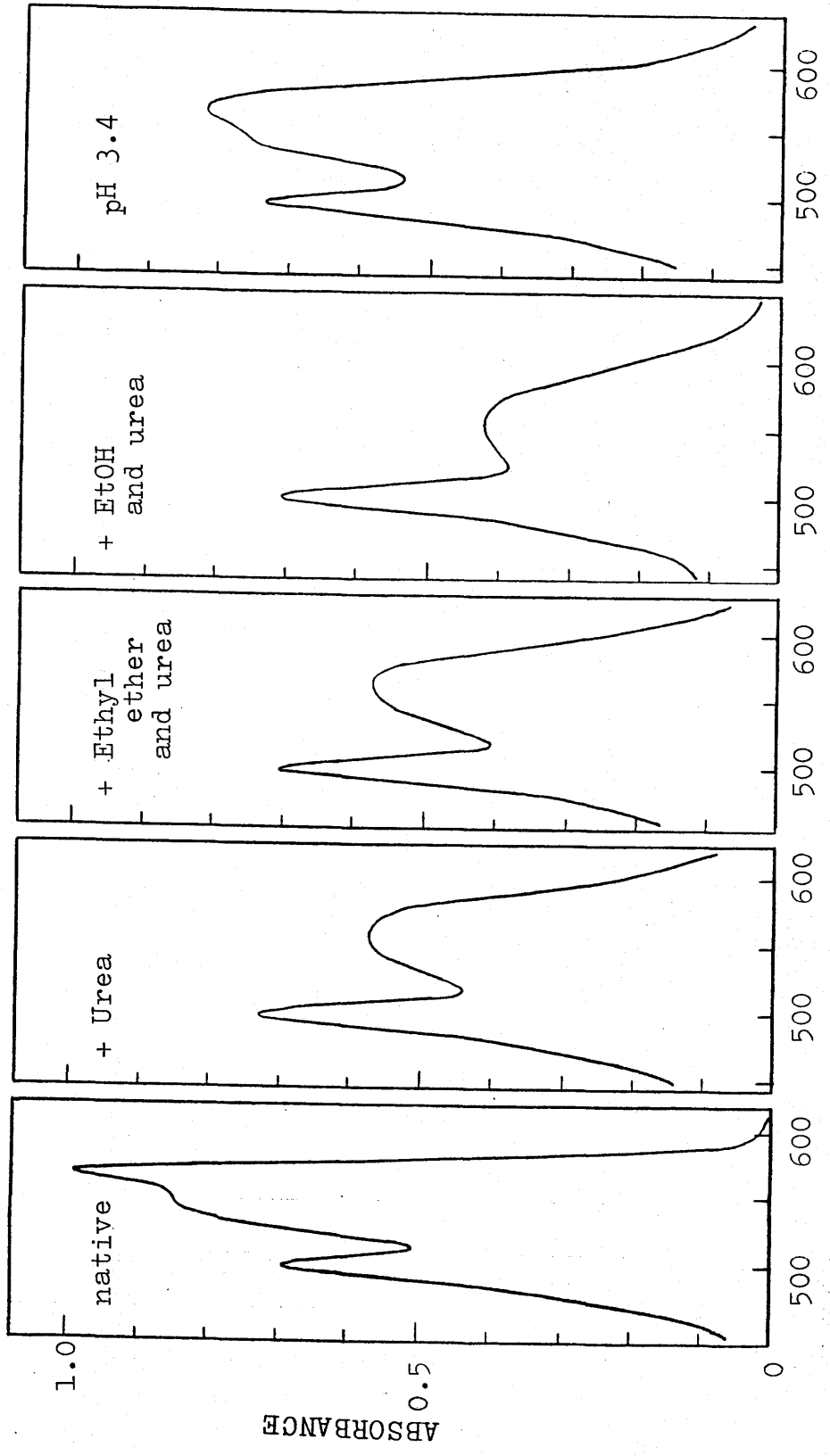


Fig. 6-13

Absorption spectra of phycoerythrin solution treated with organic reagents.

コウロビリン)が、 $565\text{ nm}$ のそれ(フィコエリスロビリン)よりも安定であることが介った。そこで、Table 6-1に、 $497\text{ nm}$ に対する $565\text{ nm}$ における吸光度の比を、他の変性剤による値とともに表わした。これによれば、酸や蛋白質変性剤による値がほぼ、1であるのに対して、極性の乏しい溶媒ほど、尿素のみを使って変性させた場合の値(0.78)に近くなった。両性溶媒の場合、吸光度比は尿素のみによる場合よりも更に小さな値を示した。これにより、フィコエリスリンの変性度合が尿素のみによる場合よりも大きくなることが示唆された。

#### f. 吸着による変性

Fig. 6-14は、フィコエリスリン溶液を口紙、ガラス板、テフロン膜それぞれの上で減圧乾燥したとき、フィコエリスリン(固体)が示す吸収スペクトルである。3種の吸着媒とともに、 $565\text{ nm}$ における吸光度の減少

Table 6-1 Changes in absorbance of Phycoerythrin  
by denaturants

Reagent	Ratio of absorbance ( $E_{565}/E_{497}$ )
Native	1.51
Urea	0.78
Urea and Ethyl acetate	0.79
Urea and Ethyl ether	0.71
Urea and Ethyl alcohol	0.60
Urea and Buthyl alcohol	0.71
Urea and acetone	0.44
pH 4.4	1.15
GuHCl	1.09
SDS (1%)	0.99

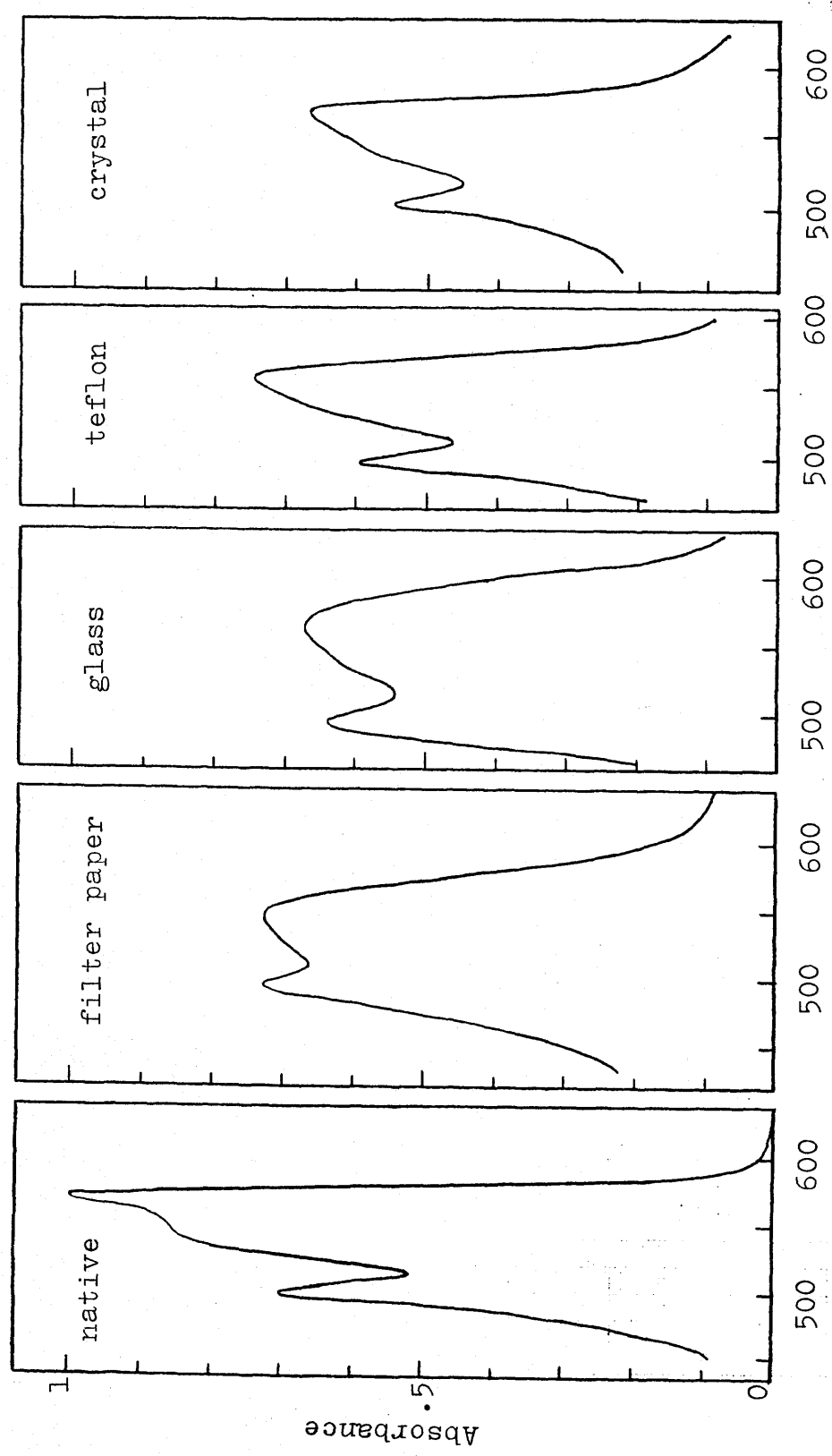


Fig. 6-14 Absorption spectra of phycoerythrin after absorbed on the different matrix.

が著しく、酸や  $\text{GuHCl}$  によるフィコエリスリンの変性物と酷似した吸収スペクトルを与えた。この3種の吸着媒に吸着（もしくは口付着）したフィコエリスリンは、全量水抽出され、かつその抽出液は未変性のフィコエリスリン溶液の与える吸収スペクトルと、まったく同一のスペクトルを示した。

また、口紙に吸着させて乾燥したフィコエリスリンには、耐熱性が認められた。

160℃で加熱した結果を、Fig. 6-15 に示した。フィコエリスリンの結晶が、加熱によつてスペクトル全体の吸光度を低下させ、褪色するのに対し、口紙に吸着させた場合は、565 nm の吸収が減少するものの、褪色には至らなかつた。

#### g. フィコエリスリンの変性度

本研究を遂行する途上、酸および熱によつて変性し、凝固沈殿したフィコエリスリンを、強アルカリによつて可溶化したのち、グ

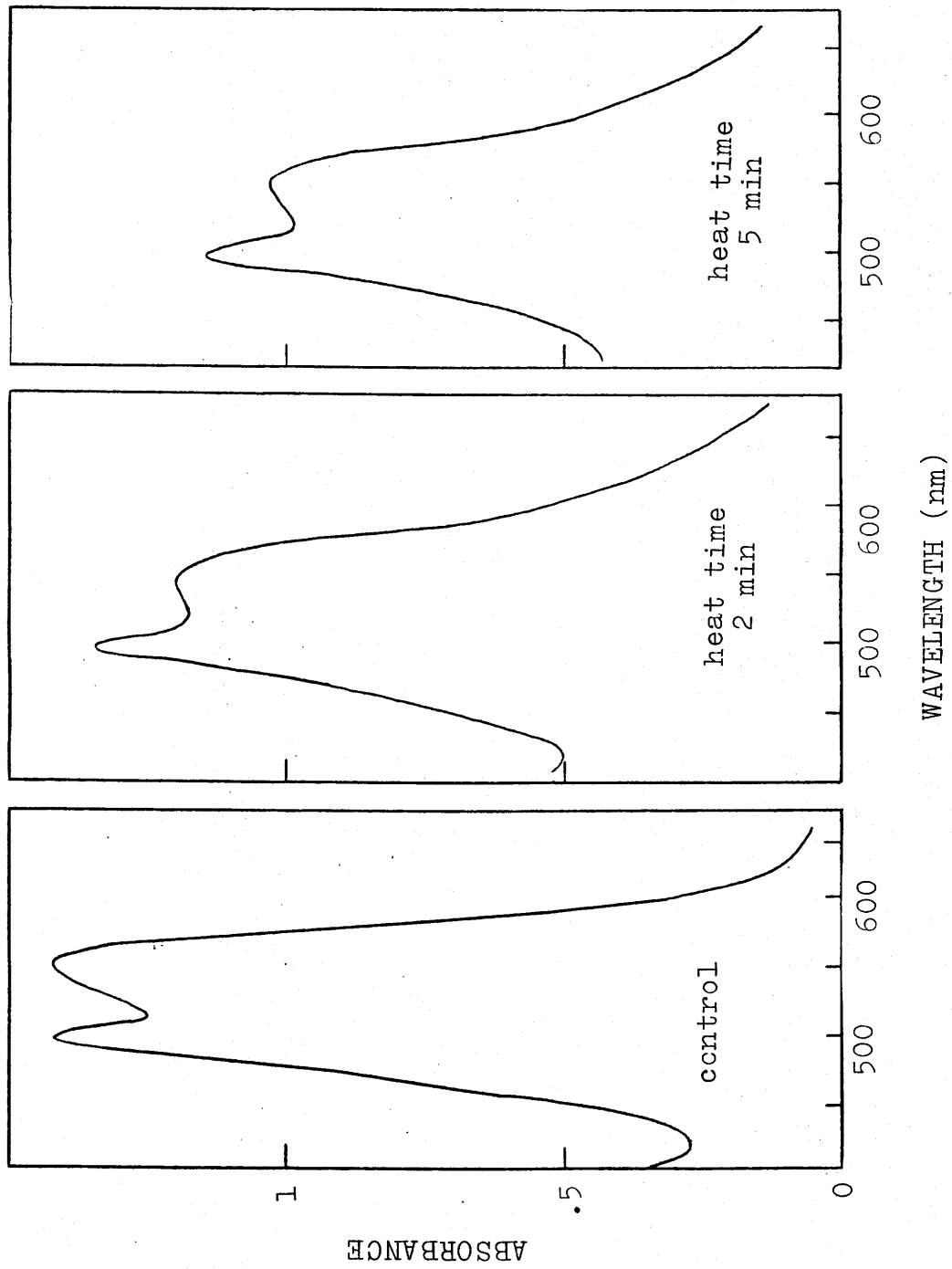


Fig. 6-15  
Absorption spectra of phycoerythrin denatured by heat  
after absorbing on the filter paper.

リシンを添加すると、フィコエリスリン本来の極大吸収の吸光度がそれぞれ回復することを発見した。吸収スペクトルの回復は、とりも直さず蛋白質の構造回復と関係があると考えて、アルカリ、酸、 $\text{GuHCl}$ 、熱によつて変性させたフィコエリスリンについてそれぞれ上記の処理をしたところ、Fig. 6-16に示す結果を得た。亦存わろ、 $\text{GuHCl}$  変性物は、まったく吸光度を回復せず、酸および熱変性物では、吸光度は減少するものの、そのスペクトルはフィコエリスリン本来の特徴を示すまでに回復した。565 nmにおける吸光度の回復に着目すると、アルカリ変性物は、酸変性と熱変性の間の回復を示した。ただし、回復度はアルカリ可溶化処理からグリシン添加までの時間が短いほど良好であった。Fig. 6-17は、フィコエリスリン溶液をアルカリ化(pH 10)したのを、直ちに吸収スペクトルの変化を経時的に記録した図である。フィコエリスリンは、290, 332

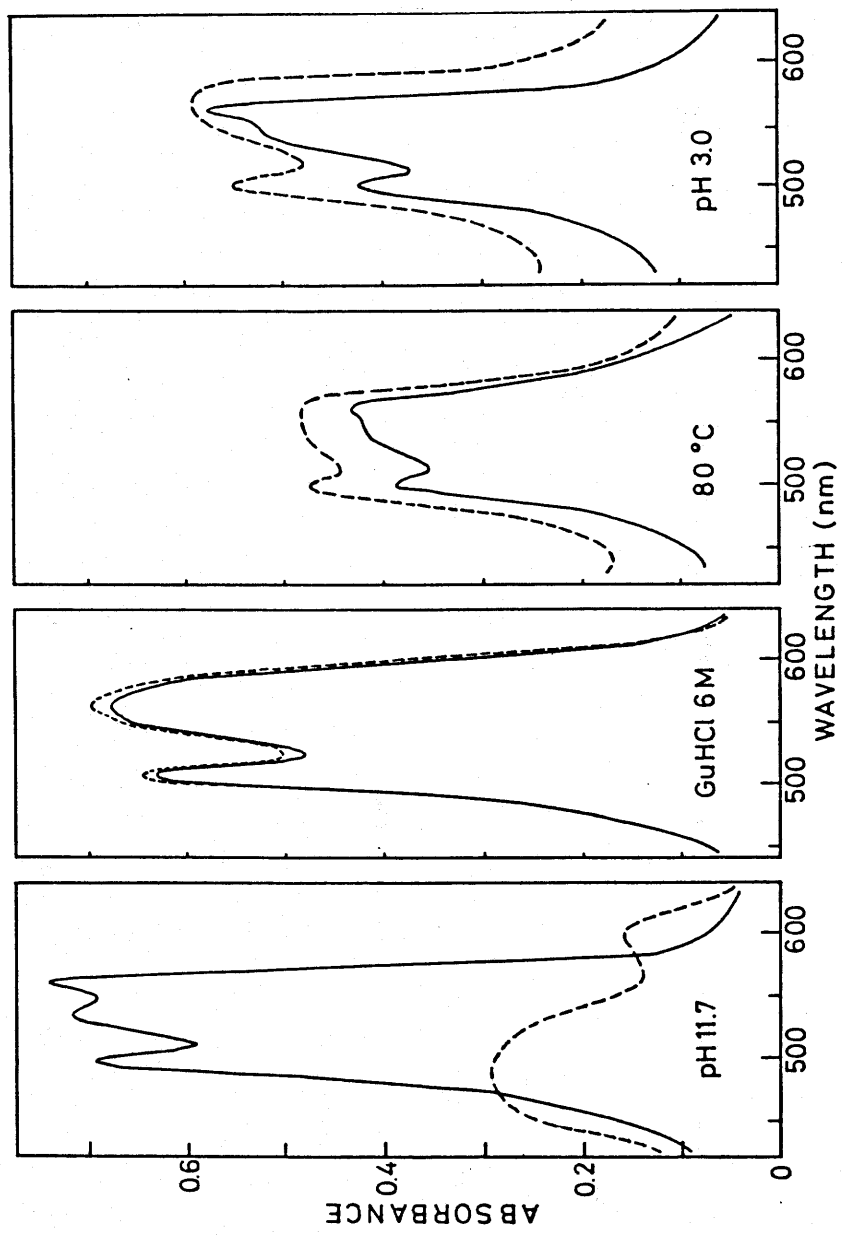


Fig. 6-16 Recovery of absorption spectra of denatured phycoerythrin treated with glycine. Denatured phycoerythrin solutions (broken lines) and the solutions reduced to pH 9.0 by adding glycine immediately after alkalin treatment (solid lines).



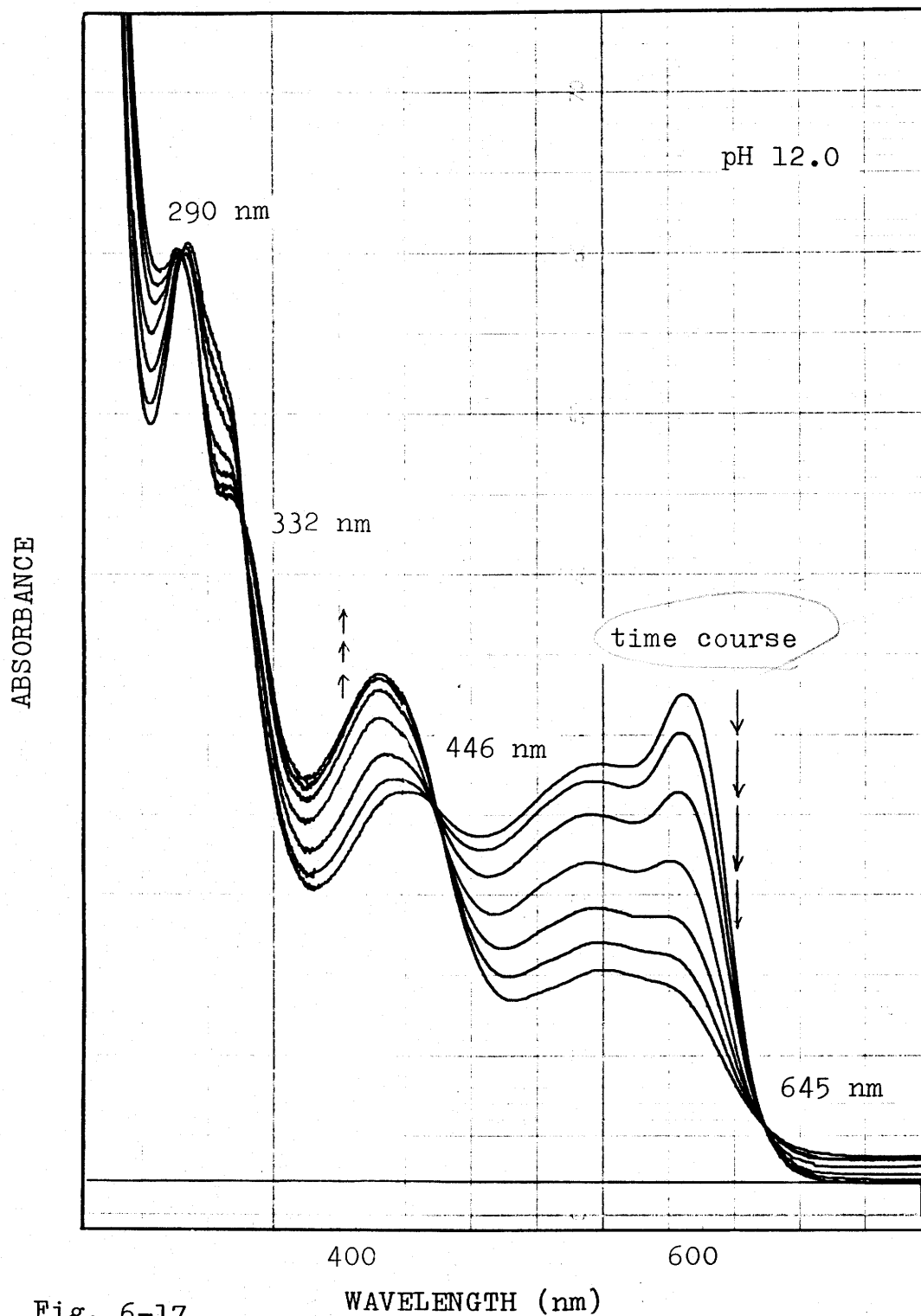


Fig. 6-17

Changes in absorption spectra of phycoerythrin solution treated with alkaline solution with time course.

・446, 465 nm の4つの等吸収点を通りながら、可視部の吸収を次第に減少させた。しかし、蛋白質の構造と関係する280 nm 近傍の吸収は、アルカリ化した時点に示した吸光度のまま殆んど変化しなかった。

Fig. 6-18 は、フィコエリスリン溶液にアルカリを加えた直後から、経時的に溶液の粘度変化を記録した図である。溶液は、pH 10, 濃度 2.65 (g/dl), 粘度計は動粘度係数 0.00441 (cS/s) のキャノンフェンスケ型動粘度計を用いた。温度は 20℃ とした。この結果、アルカリ化直後から、100分の範囲で、フィコエリスリン溶液の流下時間（すなわち、粘性率）は、まったく変化しなかった。

### § 3 考 察

#### a. フィコエリスリンの変性

フィコエリスリンは、ポルフィリン環が酸化的に開裂した胆汁系色素と蛋白質とが共

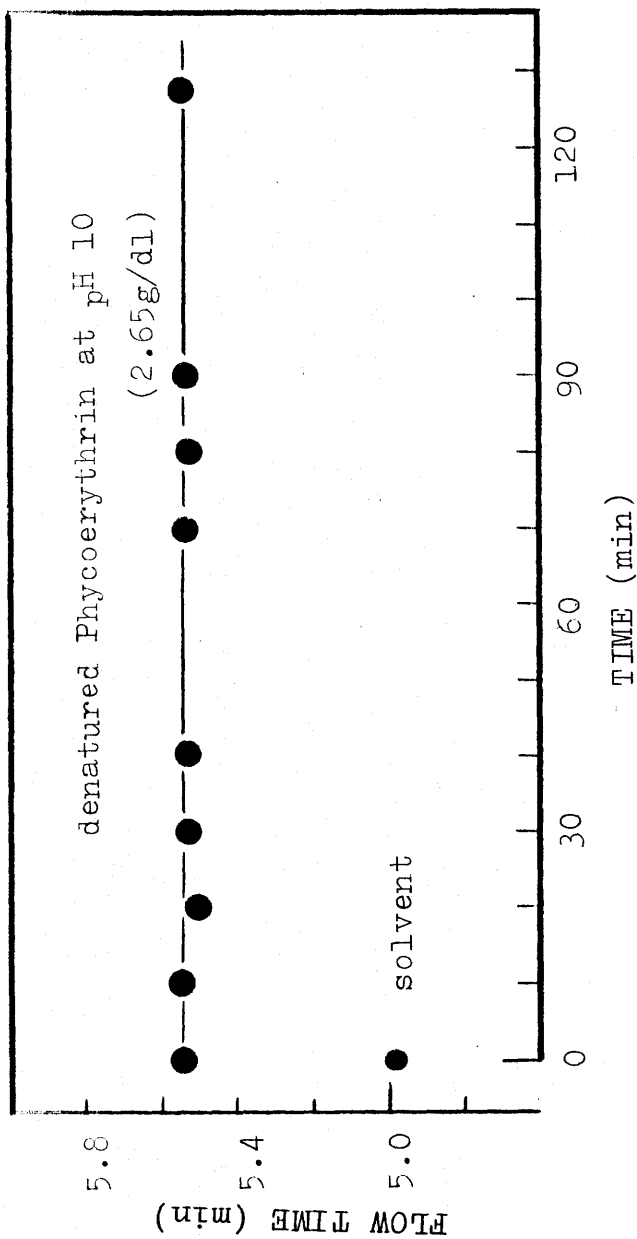
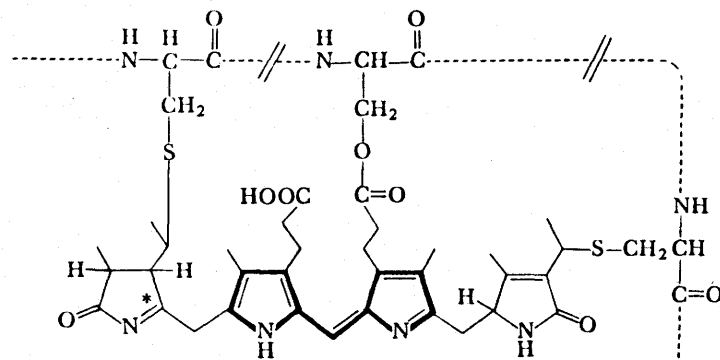


Fig. 6-18  
Changes of flow time of denatured phycoerythrin  
solution at pH 10.0 treated with NaOH.

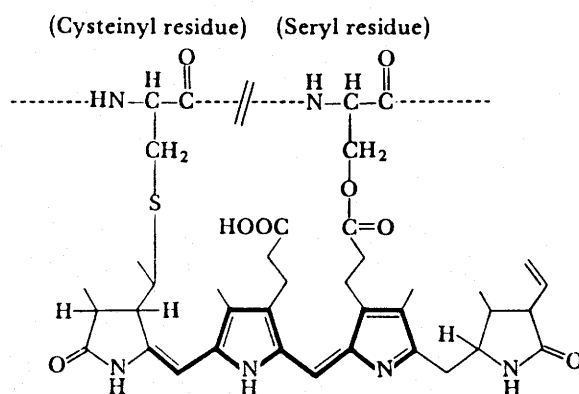
有結合をした光合成色素蛋白質、フィコビリ  
 ンの一種であり、色素団として、374 nm  
 および497 nmに極大吸収をもつフィコウ  
 ロビリソと、307 nmと565 nmに極大  
 吸収を、また540 nm付近に肩をもつフィ  
 コエリスロビリソの2種類を有している<sup>20)</sup>。  
 フィコウロビリソは、3本の共有結合で蛋白質  
 と結ばれており<sup>20)</sup>、Fig. 6-1 以下に示  
 したように、pH、温度あるいは各種の変性  
 剤に対して、比較的安定である。



phycourobilin

一方、フィコエリスロビリソは、蛋白質と2  
 本の共有結合で結ばれているが<sup>20)</sup>、容易に  
 外部の環境の影響を受けて、主として565

$n m$  における吸光度を減少させる。



phycoerythrobilin

フィコエリスリンの変性は、酸、熱、各種の蛋白質変性試薬、あるいは吸着など様々の変性因子に対して、いずれも  $497 nm$  と  $540 \sim 570 nm$  の2か所に吸収極大を残りような変化を示す。これは、蛋白質の変性原因に関係なく、フィコビリן色素の変化が同一原理で起ること示唆するものである。

ここで、蛋白質の変性と色素部分の変化とが、互いに連関するものであるか否かの問題が起る。pH変化とフィコエリスリンの変性の関係を見ると (Figs. 6-1, 2)、pH 4.0 以下では、 $308 nm$  の吸収が著し

く増大している。O. CARRA ら<sup>20)</sup>によれば、308 nm の吸収はフィコエリスリンの色素部分であるフィコウロビリンが、酸変性によって蛋白質から離脱するようなときに増大する。したがって、308 nm の吸収が増加することは、色素部分が破壊的影響を受けている可能性を示唆するものと思われる。

また、GuHCl によってフィコエリスリンを変性させた場合にも、308 nm における吸光度は、他の吸収波長帯と同様にグアニジン塩の濃度に依存した。蛋白質は、塩酸グアニジンによってランダムコイルにまで構造変化をするが、このとき、フィコエリスロビリンが蛋白質から離脱することは知られていない。したがって、308 nm における吸光度の増大は、蛋白質の構造変化に連動して起るものと考えることが出来る。

pH を下げる場合、および pH をそこから再び上げて初発の pH に戻す場合をみると、蛋白質に特徴的な吸収波長である 280 nm

と可視部の極大吸収である565と497 nmの吸光度は、同一のPHにおいて変動を  
生じている。同じ関係は、GuHClやSDS  
等の変性剤でフィコエリスリンを変性した場  
合にもみられて(Figs. 6-9, 10)、蛋白質  
部分の吸収と色素部分の吸収とは、それぞれ  
同一濃度において吸光度が変化した。した  
がって、紫外部における吸光度の変化が蛋白  
質の構造変化と対応すると考えるならば、フ  
イコエリスリンの蛋白質部分の変性と、色素  
部分の変化とは不可分の現象であると言える。

フィコエリスリンの吸光特性は温度の影  
響を受ける。すなわち、蛋白質の変性が起  
らない温度範囲(45~50℃以下)であれ  
ば、280 nmにおける吸光度に変化は認め  
られないが、可視部の吸光度は可逆的な温度  
依存性をみせる。しかし、280 nmの吸光  
度が増大する温度領域においては、もはや可  
逆的性質は、可視部において認められなくな  
る。すなわち、蛋白質の変性と色素部分の

変化は、熱変性の上からも不可分な関係にあることが分る。

一方、Fig. 6-8 が示すように、50℃におけるフィコエリスリソンの吸光度変化は、時間依存を示したが、紫外部と可視部とでは異なる挙動をとった。すなわち、497 nm における吸収は5分で平衡に達したが、280 nm では30分付近に屈曲点を持つ2段階の時間依存を示す。この事實は、色素部分の変化は蛋白質部分の僅かな変化によつて引き起こされるものと思われる。

ところで一般に吸光度は温度が高いほど低下する<sup>52)</sup>。フィコエリスリソンの場合、可視部の吸光度は温度の上昇とともに低下するが、紫外部の吸光度は、45℃まで温度の変化にまったく依存しない (Figs. 6-6, 7)。これは、45℃以下の温度では、蛋白質の構造変化が、芳香族アミノ酸に關係しない程度の変化であることを示唆している。すなわち、45℃以下の温度では、フィコエリスリ



ンの蛋白質は、その疎水基を外に出すような大变形を起さず、色素部分近傍のミクロな変化によつて、可視部の吸光度変化が引き起こされることを示唆するものと思われる。

Figs. 6-11, 12は、光による吸光度の変化が、可視部にのみ起ることを示している。フィコエリスリンは光合成色素であるから、色素団が光エネルギーに対応した結果であろう。この変化は不可逆的であり、かつ紫外部吸収の変化を伴わないこと、また、変色ではなく、褪色現象であることから、クロロフィルaの光分解と同じように、色素部分のみ破壊された場合の吸光度変化を示すものと思われる。

色素部分が独立に変化する例は、アルカリ変性の場合である。Fig. 6-18が示すように、フィコエリスリンのアルカリ性溶液の粘性は、可視部の吸光度が変化している間も常に一定値を示した。すなわち、この間に蛋白質の新たな構造変化がなかったことを示

唆するものである。

一 例、Fig. 6-17 は、フィコエリスリンのアルカリ溶液が、時間に依存する等吸収点を有することと示す。これは、アミノ酸残基に何らかの解離平衡が成立していることを示すとともに、蛋白質の解離性アミノ酸残基近傍の構造が、時間の経過に伴って、ゆるやかに変化していることを示唆している。

#### 6 フィコエリスリンの変性度

フィコエリスリンの変性の程度について知ることは、第7章で論議する「焼き色」および「色戻り」に関連する重要な問題である。そこで、色素蛋白質の変性度について、グリシンによる吸光度の回復を指標として検討する。

フィコエリスリンのアルカリ溶液 (0.1 M · NaOH, pH 13) にグリシンを添加して pH を下げると、可視部において吸光特性および螢光を回復する現象を見出したので、

この現象を利用して、酸、熱、あるいは塩酸  
グアニジンによって変性させたフィコエリス  
リンの吸収回復を調べた。その結果、酸や  
熱変性物は吸光度を回復したが、 $\text{GuHCl}$  変性  
物に対しては効果がなかった。また、イオ  
ン強度が低いときは、酸変性物であっても吸  
光度の回復は認められなかった。これらは  
イオン強度が高い場合の酸変性、あるいは熱  
変性は、変性の程度が小さいことを示すもの  
と思われる。一般に、 $\text{GuHCl}$  や尿素によ  
る変性では、変性の度合が非常に強く、完全  
なランダムコイルに近い状態にまで蛋白質は  
変性している<sup>53)</sup>。イオン強度が低い酸性  
で変性したフィコエリスリン溶液は、 $\text{GuHCl}$   
変性させた場合と非常によく似た吸収スペク  
トルを示した。したがって、吸収スペクト  
ルのみから蛋白質の高次構造を論ずるのは早  
計であるが、少なくとも、低いイオン強度にお  
ける変性物の構造は、低いイオン強度を反映  
して、分子の広がりを表わす回転慣性半径が

大きくなるために、ランダムコイルもしくはそれに類似した構造をとっているものと思われる。この溶液に塩(NaCl)を添加してイオン強度を高めると直ちにフィコエリスリンの沈殿を生ずることから、静電的反発による広がった構造をとっているものと思われる。

また、有機溶媒による変性実験の結果は、酢酸エチルやジエチルエーテルのような極性の乏しい溶媒には、フィコエリスリンを変性させる能力のないことを示した。つまり、フィコエリスリンが変性するためには、蛋白質の極性部分が破壊される必要がある。これは、フィコエリスリン蛋白質の構造の安定化に必要な因子として、水素結合を考慮することが最も妥当であることを示唆している。

#### § 4 第6章の結論

「焼き色」や「色戻り」の問題の原因物質と思われるフィコエリスリンについて、各種の変性実験を実施して、蛋白質部分の変性と色の変化との関係を、吸光スペクトルの上から明らかにした。

変性因子としては、pHの変化、熱、蛋白質変性剤、光、有機溶媒、あるいは吸着を取り上げた。また、各変性因子に対する蛋白質の変性程度を筆者の考案した、グリシン処理法で比較した。

まず、蛋白質部分の変化を280nmで、また色素部分の変化を、フィコエリスリンの特性吸収波長である497, 565nmの吸光度で測定した結果、フィコエリスリンは、pH・熱・変性剤のいずれとも蛋白質部分と色素部分とが同じ条件で変化を生ずることが分った。

有機溶媒を使った変性実験から、極性の大きい溶媒ほど蛋白質の変性度がよることや

示された。また、吸着変性については吸着媒の極性が高いほど、吸収スペクトルに与える影響が大きかった。フイコエリスリンの吸光度は、溶媒の温度に依存した。しかし、蛋白質部分が変性しない限り、温度を下げれば、吸光度は可逆的に回復した。すなわち、フイコエリスリンの色（吸収スペクトル）の変化は、色素団近傍の部分的な蛋白質の変化によっても生ずるが、蛋白質の高次構造変化（いわゆる大変形）を伴わない場合の変色は可逆的である。蛋白質の変性の大きさは、変性因子によっても異なる。すなわち、フイコエリスリンの熱変性による変性度は、比較的弱い。また、フイコエリスリンの安定性は水素結合によっても維持されており、変性は極性基の破壊によっても起るものと思われる。

## 第7章

## 焼き色の発現および色戻り

乾のりの中には、焙焼しても焼のり特有の青緑色を呈さず、黒褐色を維持するものがある。一方、焼のりを巻ずしに用いた場合焼のりの青緑色が赤褐色に変化するところがある。前者の現象を「焼き色」が出ないと呼び、後者の現象を「色戻り」と呼び、共にのりの商品価値を著るしく低下させる要因となっている。しかし、乾のりの段階で焼き色が出ないのりを選別し、巻ずしに使用する以前に「色戻り」の有無を予測する手段は、現在のところ知られていない。

本章では、これらの異なる現象の原因物質を、ともにフィコエリスリンと定め、実験的に焙焼のりを製して、種々のモデル実験を行ない、焼き色が出ない原因と色戻りの原因について、それぞれ吸光スペクトルの上から究明し、その防止対策を検討する。

## § 1 実験

### 1. 1. 焼き色の発現

乾のりと焼のりの吸収スペクトルを、オパールガラス法<sup>49)</sup>によって記録し、比較検討した。すなわち、

i) 焼き色が正常に発現する乾のり

ii) 焼き色が異常を示す乾のり

を試料として、160℃で60秒間、赤外線加熱をして焙焼し、その前後の吸収スペクトルを、二波長自記分光光度計(UV 210, 島津製作所製)を使用して測定した。

### 1. 2. 色戻り

正常な焼き色を呈する乾のりを試料として、赤外線加熱により200℃で30秒間、および60秒間焙焼した2種類の焼のりを調製した。

次に、色戻り現象に対する水分の影響を調べるために、水分活性( $a_w$ )  $\approx 0, 0.2, 0.4, 0.6$ に調湿した環境に、上述の焼のり



をそれぞれ減圧下で24時間保持したのち、吸収スペクトルを測定した。保持温度は、20℃とした。

次に、焙焼時間の異なる2種類の焼のりを、それぞれ

a) 無処理

b) aを室内放置して吸湿させたのり

c) aを水に浸漬したのち乾燥したのり

d) aを1M酢酸に浸漬したのり

以上4種の処理をしたのち、オパールガラス法によつて、吸収スペクトルを測定した。

## § 2 実験結果

### 2.1. 焼き色

Fig. 7-1 に、焼き色の出る乾のりと、焼き色の出ない乾のりや示す吸収スペクトルを示した。特徴的な差は、赤色の色素蛋白質であるフィコエリスリソンの吸収帯に認められた。すなわち、焼き色が出る乾のりでは、フィコエリスリソンの主吸収波長(565nm)

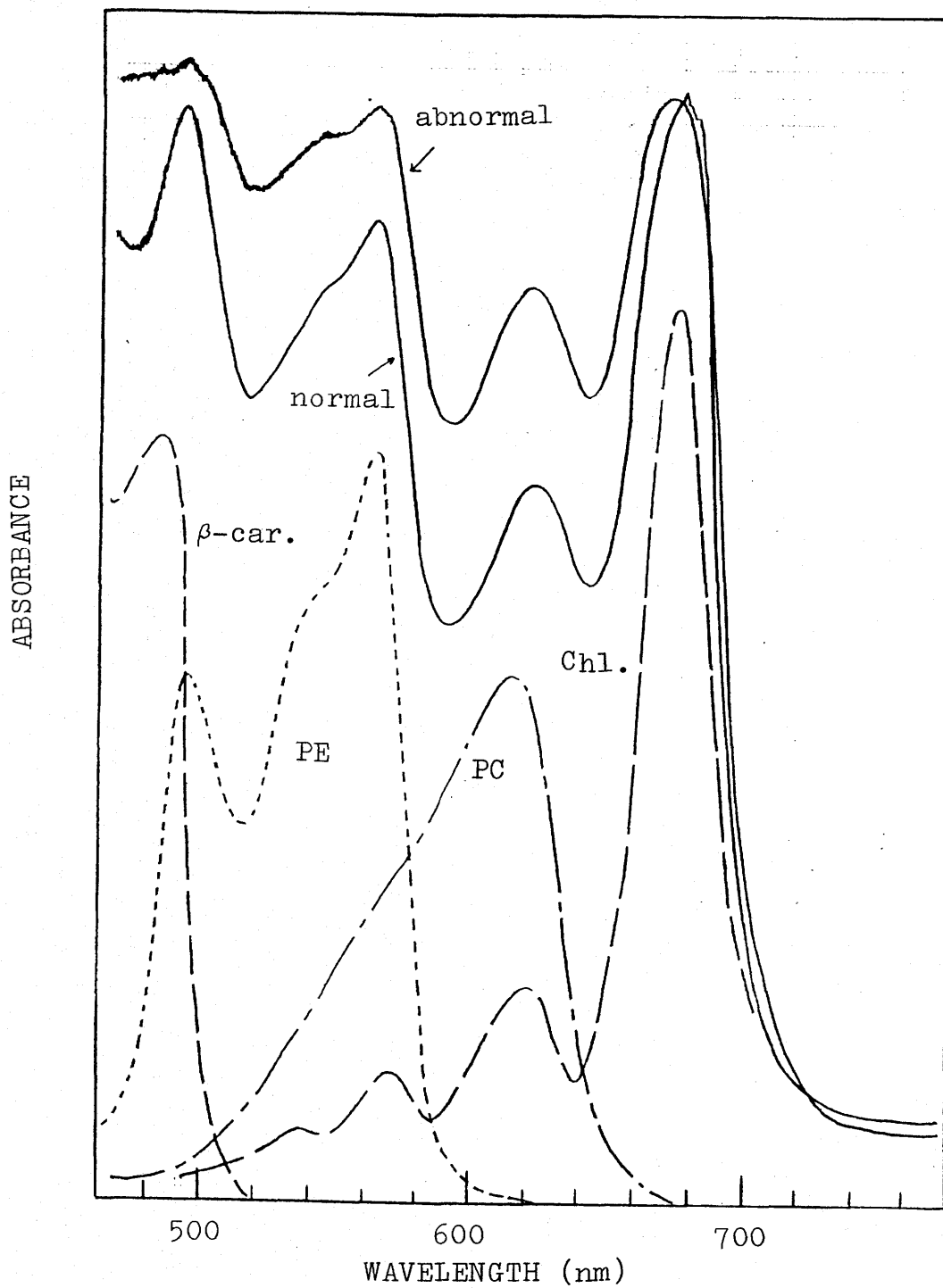


Fig. 7-1

Absorption spectra of hoshi-nori by the opal-glass method and of photosynthesis pigments.

に対応する部分に、溶液状態のフィコエリスリンが示す吸収スペクトルと相同のスペクトルが得られた。一方、焼き色の出ない乾のりでは、前者と比較して  $565 \text{ nm}$  における吸収が、他の吸収帯と比較して相対的に低くなっている。なお、Fig. 7-1 には、のりに含まれる光合成色素（クロロフィル  $a$ 、 $\beta$ -カロテン、フィコエリスリン、およびフィコシアニン）の吸収スペクトルも示した。

Fig. 7-2 は、 $160^\circ\text{C}$  で  $60$  秒間、乾のりを焙焼して得られた焙焼のりが示す吸収スペクトルである。青緑色の焼き色を発現した焙焼のりの吸収スペクトルはフィコエリスリンの吸収波長帯の内、 $520 - 580 \text{ nm}$  と  $615 \text{ nm}$  を中心とするフィコシアニンの吸光度を、減少させるために、可視光領域の示す吸収スペクトルは、あたかもクロロフィル  $a$  のそれに類似した。これに対して、焼き色を発現しない焙焼のりでは、フィコエリスリンおよびフィコシアニンに特徴的な吸収

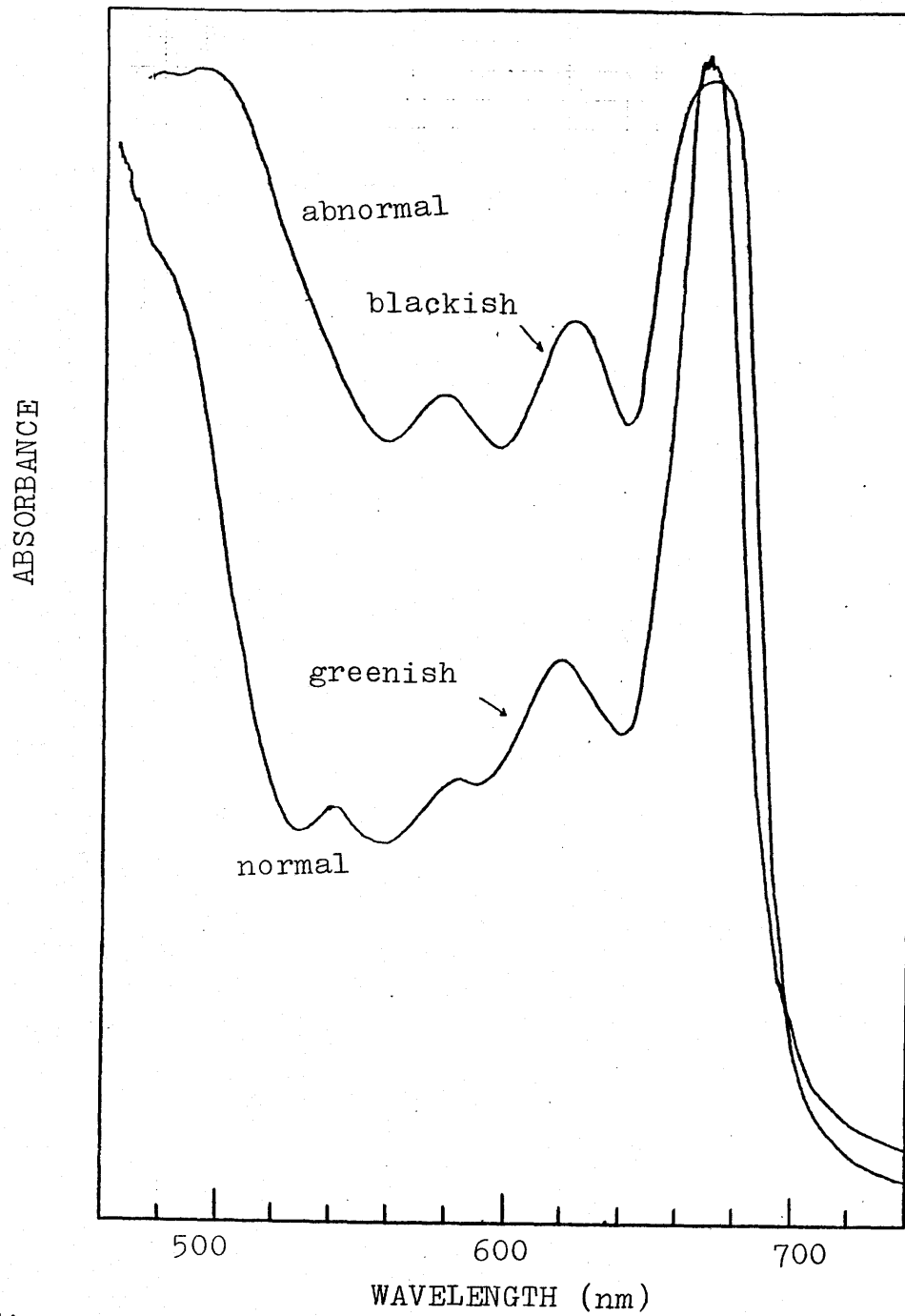


Fig. 7-2

Absorption spectra of yaki-nori by the opal-glass method.

波長帯に吸収が残存して、のりの色も黒褐色のまま変化しなかった。

## 2.2. 色戻り

200℃で60秒間焙焼した焼のりは、 $a_w \approx 0$ から0.6までの水分環境のいずれの区においても、それぞれ実験開始当初の吸光度を維持した。一方、同温度で30秒間焙焼した焼のりでは、Fig. 7-3に示したように $a_w$  0.4区および0.6区において、500-650 nmにかけるとの吸光度が著しく回復した。この波長帯は、Fig. 7-1によれば、フィコエリスリンとフィコシアニン両色素蛋白質による吸収波長帯に一致する。 $a_w \approx 0$ 区においては、Fig. 7-2に示した焙焼時間30秒ののりの吸収スペクトルと比較すれば、吸光度の回復はまった起らなかった。さらに、単分子層吸着水分条件に相当する $a_w$  0.2区においても、吸光度の回復は僅かであった。なお、Fig. 7-4は、焼のり中の水の化学ポ

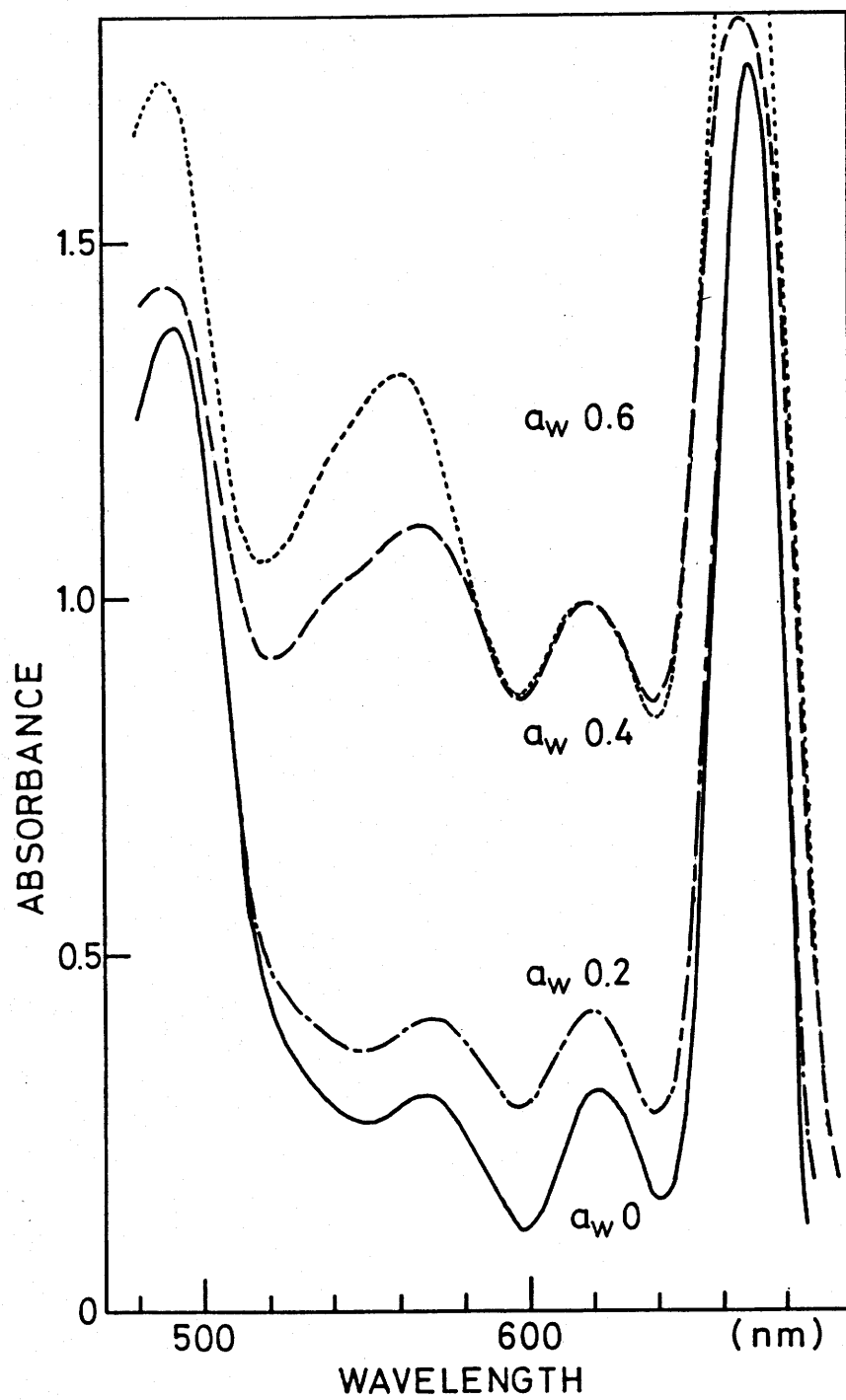


Fig. 7-3

Influence of water activities on the recovery of absorption spectra of yaki-nori (toasted at 200°C, 30 s).

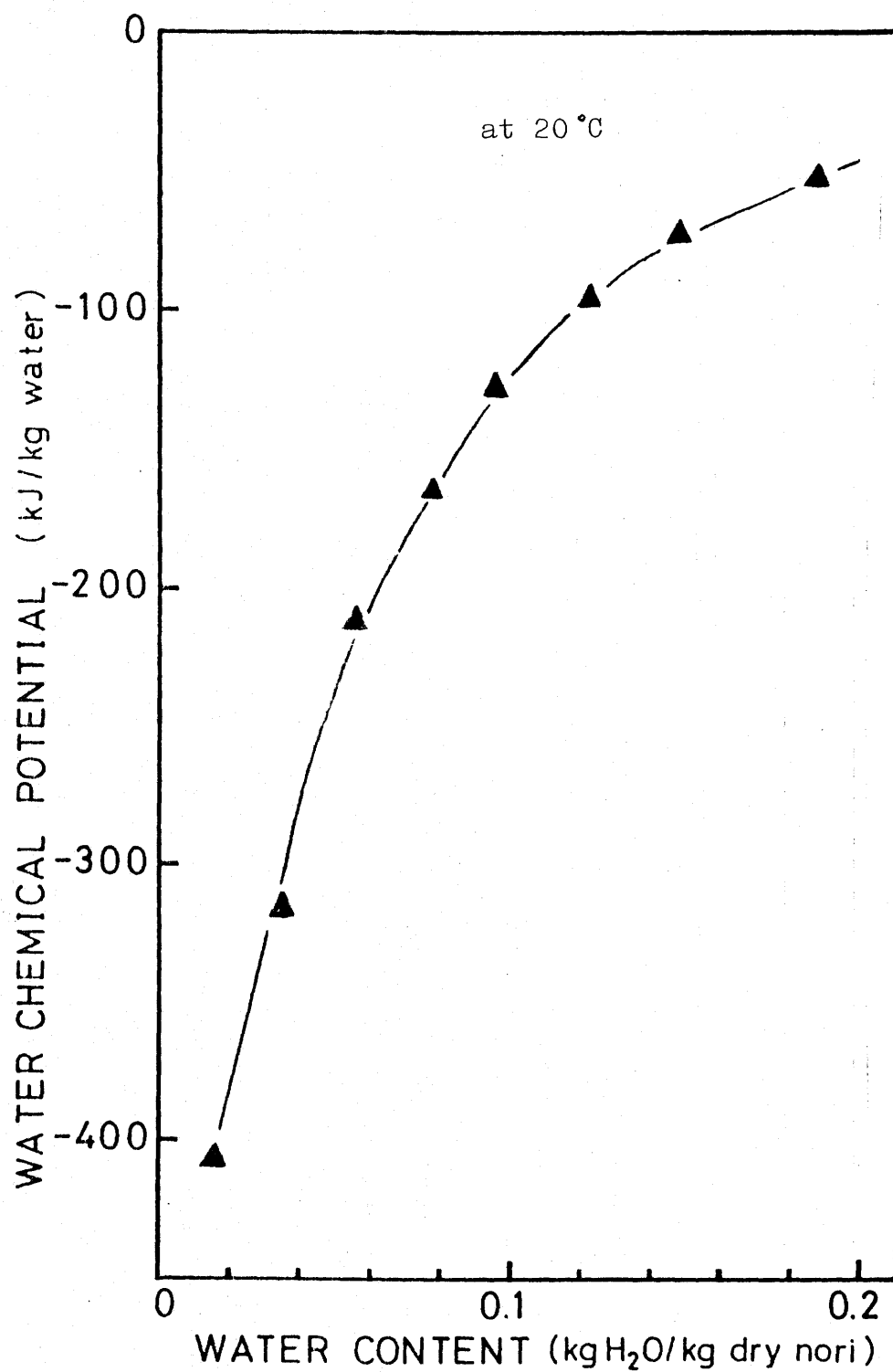


Fig. 7-4

Changes in chemical potential of water in yaki-nori.

ポテンシャルを示した図である。この図は、ポテンシャルエネルギーの増加が緩やかになる  $0.1$  ( $\text{kg H}_2\text{O}/\text{kg}$  乾物)、すなわち  $a_w$   $0.4$  付近から、焼のり中に自由水が存在することを示している (第2章 2.3, Fig. 2-7 参照)。

次に、Fig. 7-5 に60秒間加熱して充分焙焼したのり (a) を吸湿 (b)、水に浸漬 (c)、酸に浸漬 (d) した場合の吸収スペクトルを示した。(b) および (c) ののりの吸収スペクトルは、(a) すなわち焙焼直後ののりが示す吸収スペクトルと比較して、殆んど差が認められなかった。しかし、(d) の処理を施すと、充分焙焼した焼のりの  $540 \text{ nm}$  付近に、新たな吸収帯が生ずるとともに、 $620 \text{ nm}$  の吸収極大が  $610 \text{ nm}$  に遷移した。この特徴は、クロロフィルの酸変性物質であるフェオフィチン a と一致した。(d) の処理によつてのりの色は、青緑色 (焼き色) から黄緑色に変化した。

一方、 $200^\circ\text{C}$  で30秒間加熱した焙焼



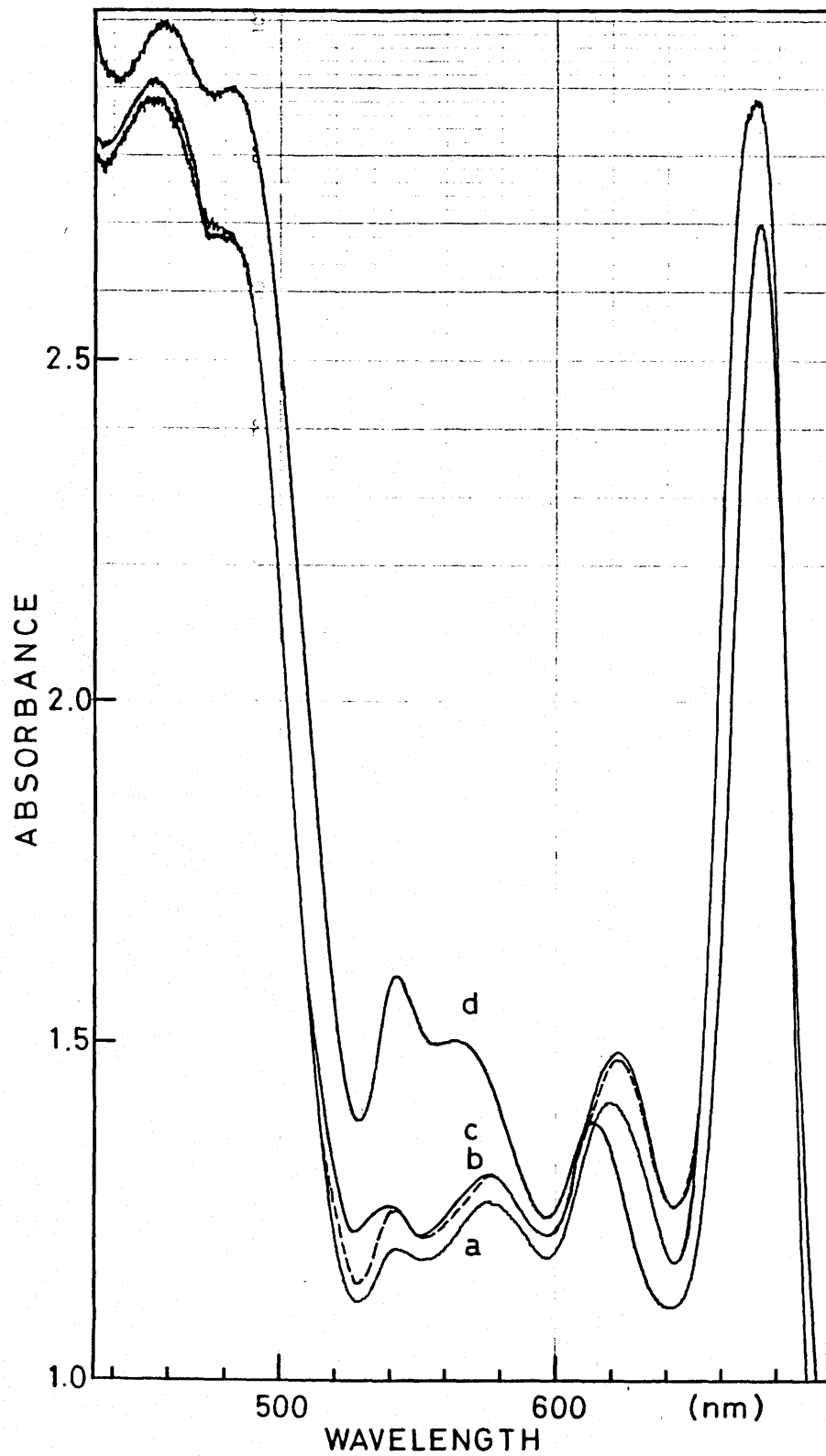


Fig. 7-5

Changes in absorption spectra of yaki-nori (toasted at 200°C, 60 s) treated with vapour (b), water (c), acetic acid (d) and (a) is control.

不充介な焼のりについて、前記 (b) ~ (d) の処理をした結果、Fig. 7-6 に明らかなように、いずれの処理によっても 500 ~ 600 nm における吸光度が増大した。すなわち、焙焼不充介な焼のり (a) は、吸湿のみで 560 nm 付近の吸光度を増加させた (b)。この傾向は (a) を水に浸漬した場合に、更に顕著になり (c)、焼のり (a) は黒褐色に変色した。また、(a) を 1 M 酢酸に浸漬すると、540 nm 付近の吸収が著しく増大して、赤褐色を呈した。なお、対照の焼のり (a) と、酢酸蒸気中に保持しても、色の変化は認められなかった。

### § 3 考 察

#### 3.1. 焼き色

焼のりの鮮やかな青緑色は、クロロフィル a とカロテノイド類の呈色によるもので、焙焼によつてフィコビリニン系色素の色が消失した結果である<sup>18)</sup>。ところで、乾のりの

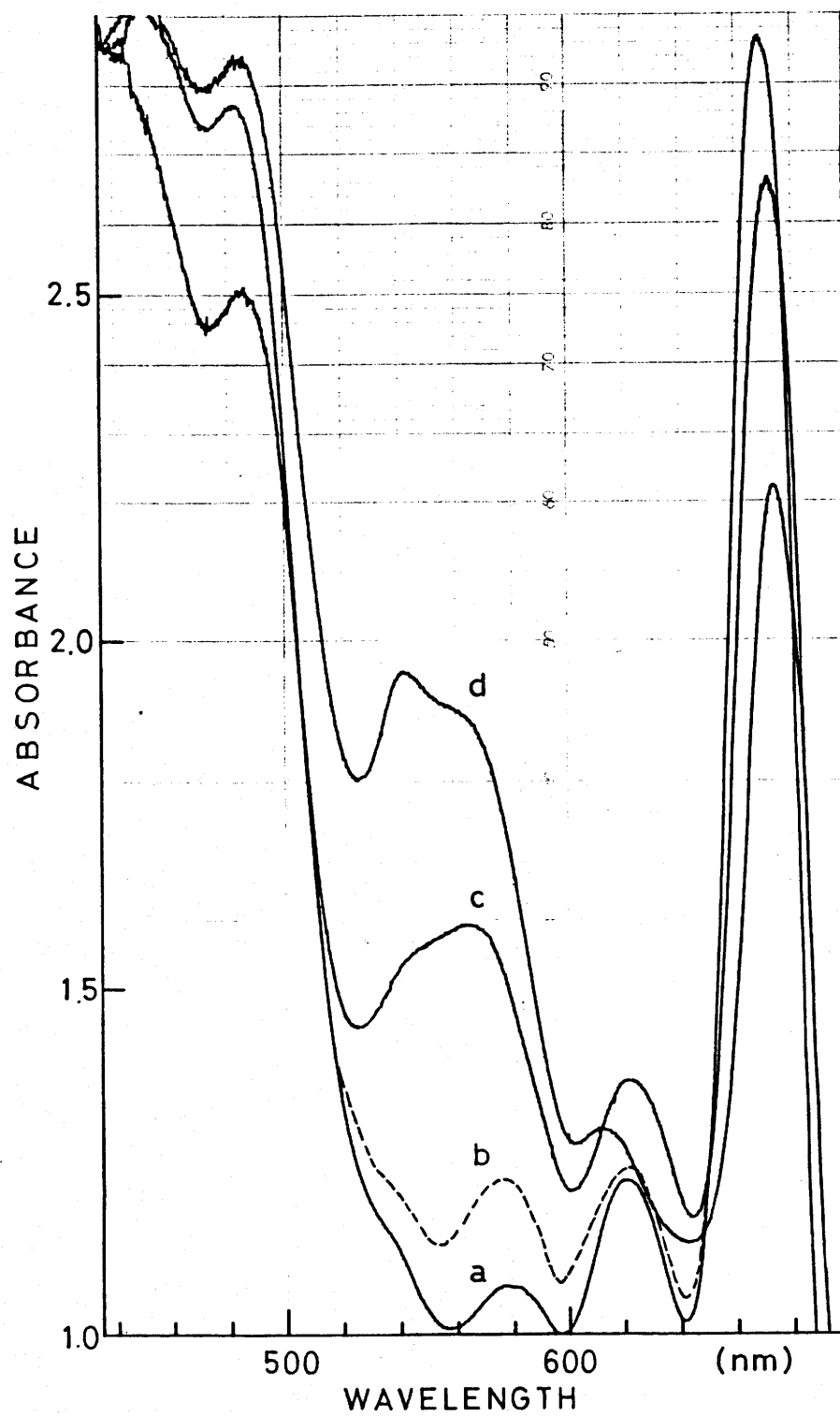


Fig. 7-6

Changes in absorption spectra of yaki-nori (toasted at 200°C, 30 s) treated with vapour (b), water (c), acetic acid (d), and (a) is control.

中には、充分と思われる焙焼を施しても焼のりにならない、いわゆる「焼き色」の出ないのりが存在する。いま、Figs. 7-1, 2によれば、正常な焼のりと焼き色の出ない焼のりの違いは、フィコビリニン系色素の吸収波長帯に、焙焼の後も依然としてそれらの吸収が残存しているか否かに関係する。

焙焼前の吸収スペクトルを比較すると、焼き色の出る乾のりでは、溶液状態のフィコエリスリン（色素蛋白質）を示す吸収スペクトルに類似した吸光特性が観察されたが、焼き色の出ない乾のりでは、前章の Fig. 6-14 (P. 154) に見られるように、吸着もしくは凝集乾固したフィコエリスリンの場合によく似た吸光特性が認められた。このような吸収スペクトルの差異を示すフィコエリスリンは、乾のりの中でどのような状態で存在しているのだろうか。従来から、焼き色を出すことが困難な乾のりは、不健全なおり、すなわち生理状態の悪い原藻を使用して抄製し

た乾のりに発生しやすいと言われている<sup>13)</sup>ので、人為的にそのような乾のりを調製して供試した。すなわち、焼き色の出る正常な乾のりを水に浸漬して葉体をほぐしたのを、再び抄製して得られた乾のりの示す吸収スペクトルは、焼き色の出ない乾のりが呈する吸収特性を示すだけでなく、焙焼による焼き色の発現もみられなかった。しかし、フィコエリスリンの含有量は、再乾燥の前後でほぼ等しく、抽出したフィコエリスリン溶液の吸収スペクトルにも差異が認められなかったことから判断して、この乾のりのフィコエリスリンは、蛋白質の高次構造に関わる変性はないものと考えられる。

前章の Fig. 6-14 には、硫酸溶液中に得られたフィコエリスリンの微結晶による吸収スペクトルが示されている。この吸収スペクトルは、あたかも溶液状態の未変性フィコエリスリンが示す吸収特性を備えており、加熱すれば容易に褪色を起す。一方、吸着状

態にあるフイコエリスリンは、熱に対して非常に安定であった。この安定性は、吸着や凝固にあずかっている力に由来する。吸着媒としての口紙（セルコース）あるいは蛋白質同士の間相互作用を考慮すると、両者に豊富に存在する水素結合を想定することは、この場合最も合理的である。すなわち、吸着および凝集乾燥したフイコエリスリンが、水によって容易に溶解し、この溶液が示す吸収スペクトルが、紫外部および可視部とも未変性溶液の場合と同一であることから判断して、吸着状態のフイコエリスリンの熱安定性は、化学吸着によるものではなく、物理吸着によるものと考えられる。

のりの細胞内では、フイコビリジン分子はそれぞれが相互に会合して分子集合体（フイコビリゾーム）を造り、それが光合成膜に吸着している<sup>55,56</sup>。フイコビリゾームに働く力は小さく、細胞の生理活性が失われると、フイコビリジン系色素蛋白質は、容易に解

離して溶離する。乾のりを抄製する際、抄き水の中にフイコビリン色素が大量に溶出することがある。このような原藻に由来する乾のりは、「クモりのり」あるいは「スミのり」と呼ばれ、焼き色がきわめて出にくいとされている。

未変性のフイコエリスリンを単に乾燥させるだけでは、焼き色の出る乾のりにみられる吸収スペクトルを得ることができなかった。しかし、結晶状態にあるフイコエリスリンは焼き色の出る乾のりの吸収スペクトルのフイコエリスリンに相当する部分によく似た吸光特性を示すことから、焼き色の出ないのりのフイコエリスリンは、フイコビリン組内に結晶として閉じ込められた状態で乾燥されたものであり、一方、焼き色の出ないのりの場合は、その一部又はかなりの量のフイコビリン色素が、フイコビリン組内から溶離して、細胞のマトリクスに吸着した状態にあるものと考えられる。

## 3. 2. 色戻り

色戻りとは、巻ずしに使用した焼のりが、赤褐色に変色する現象である。天野ら<sup>13)</sup>は、食酢の酸によって変性したフィコエリスリンが色戻りの本体で、フィコエリスリンが原因物質であるとした。しかし、色戻りは巻ずしに使用した焼のりに必ず発現する現象ではなく、よく焼き込んだ焼のりを使用すれば、防止することが可能である。本研究では以下の考察から、色戻りが、完全に変性していないフィコエリスリンを原因物質として、水の存在のもとに発生するものと結論した。

すなわち、Figs. 7-3, 7-6 が示すように、焼のりにおいて、フィコエリスリンの可視部吸収帯に吸光度の回復が認められる条件は、焙焼時間が短かく、環境水介が  $a_w$  0.4 以上の場合であった。また、焙焼時間が充分長い場合は、焼のりに強制的に水を吸収させても、当該波長帯に吸光度の回復は認められなかった (Fig. 7-5) ことから判断



して、色戻りの条件は、

- 1) フイコエリスリン色素蛋白質が完全に熱変性をしていないこと。
- 2) 自由水が存在する水分環境に置かれること

の2点である。なお、各種水分環境に焼のりを保持して色戻りの有無を調べる実験では、真空ポンプで系内を排気したので、色戻り現象に酸素が関与している可能性は少ない。

ところで、Fig. 7-6 に示したごとく、不十分な焙焼をした焼のりが吸水すると540~570 nmの吸光度が増大する。更に、酸(pH 2.4)によつて吸収の回復が進むとともに赤褐色に変色し、最終的には、フイコエリスリンの変性物にみられる吸光特性を示した(第6章参照)。

一方、充分焙焼した焼のりでは、酸処理による吸光度の回復は537 nmのみに認められた(Fig. 7-5)。これは、クロロフィルaの酸変性物質が示す吸収スペクトルと一

致することから、フェオフィチン $a$ に由来する現象であると思われる。このとき、焼のりの色は、クロロフィル $a$ が無彩色に近いフェオフィチンに転る結果、カロテノイド類による黄色に依存するようになる。フィコエリスリンの変性物の色は、500~560 nm に吸収のある紫色であるから、巻ずしにみられる赤褐色の色戻りは、酸によつてフィコエリスリンが変性した結果ではなく、むしろ酸によつてクロロフィル $a$ が褪色するため、カロテノイド類(黄)とフィコエリスリンの変性物(紫)の色が残った結果であろう。

したがつて、酸による色戻り現象は、第一に水による変性蛋白質の構造回復、第二にそれに引き続く色素組成の変化(クロロフィル $a$ の褪色)によつて完結するものと考えられる。

では、色素蛋白質にどのような構造回復が起るのであろうか。第6章(蛋白質の安定性と水分)において触れたように、蛋白質

の高次構造は、水素結合や疎水結合、あるいは  
5  
は静電的相互作用などの比較的弱い力によっ  
て保たれている。したがって、環境の水介  
条件と適当に変えることによつて、上記の非  
共有結合が破壊され、蛋白質のコンフォメー  
ションが変化する<sup>54)</sup>。ここで、当然のこ  
10  
とであるが、これらの相互作用は、水の中で  
作用するのであるから、媒体としての水との  
関連なしには考えられない。

フィコエリスリン色素蛋白質の色素部  
の変化は、蛋白質部分の変性に関連があるこ  
15  
と、また、熱変性は蛋白質の変性としては弱  
い変性であることと、第6章で示した、水  
は、このような不完全な熱変性蛋白質に対し  
ては、形態変化の場を提供して、破壊された  
水素結合の再生、および疎水結合の修復など  
に関与するものと思われる

## § 4 第7章の結論

乾のりの中には、焙焼しても青緑色（焼き色）にならず焼のりの態をなさないのりがある。本章では、焼き色の問題はフイコビリン色素蛋白質の吸着変性の問題に帰着できることを示した。また、「色戻り」とは焼のりが巻ずしに使用された場合、焼のりの青緑色が赤褐色に変化する現象を指すが、本研究は、色戻りの原因が酸の作用ではなく、本質的には、水と色素蛋白質との関係に帰着できることを示した。

おなわろ、焼き色の出ない原因は、フイコビリン系色素蛋白質が、のりマトリクスに吸着して、耐熱性を獲得することによるものと思われる。吸着変性を起したフイコエリスリンは、565 nmの吸光度が相対的に減少するので、乾のりの吸光スペクトルを検討することによって、焼き色の出にくい乾のりを発見することが可能である。

色戻りは、不充分的焙焼をされたために

不完全な変性状態にある蛋白質が、自由水の存在によつて何らかの構造回復を起す結果、色素部分が再び呈色をして起すものと思われる。巻がしに見られる赤褐色の色戻りは、蛋白質が構造回復をしたのち、更に酸変性によつて赤褐色に変化するものと思われる。このときクロロフィルaも酸処理によつて、フェオフィチンaに変化し、535付近の吸光度を更に上昇させる。したがつて、色戻りを防止するためには、焼き色の出る乾のりを原材料として、充分に焙焼を行つてフィコビリニン系色素蛋白質を完全に変性させることが必要である。

## 第8章 総括

### §1 本研究の結論

のりの品質を保持するためには、保蔵環境の水とのりの各種成分との関係を明らかにした上で、保蔵のための最適水分条件を決める必要がある。本研究ではそのために4つの目的を掲げ、第2章以下に示した各種の実験を遂行した。すなわち、まず各種成分が存在するのりマトリクスの性質をBETの物理吸着の理論<sup>12)</sup>を使って解析し、水との関係を明らかにした。そして次に、水に対して非常に不安定な成分として、アスコルビン酸を選び、その分解反応を熱力学的に解析して、単分子層最安定理論<sup>11)</sup>の有効性と限界を明らかにした。また、同様の手法を使って、本研究で初めて認められた乾のりの褐変現象<sup>40)</sup>と水との関係を明らかにした。そして、やはり水溶性成分であるが、のりの品

質を直接左右する物質として、フィコビルリン系色素蛋白質と水分との関係を明らかにした上で、アスコルビン酸と水分との関係と比較して、互いの分解および変性機構の違いを論じた。

次に、現在業界で問題になっている「焼き色」と「色戻り」をとり上げ、水との関係を明らかにしてその原因を解明した。

以上各実験の結果は各章に示した通りであるが、これらと統合して検討した結果、初期の研究の目的に対する4つの結論を得た。

1. 乾のりの単分子層吸着水分値において水溶性成分（アスコルビン酸や色素蛋白質）が安定に保蔵されない原因

この原因は、乾のりのマトリクスが、水の吸着媒として親水性領域と疎水性領域とから構成されているからであると考えられる。すなわち、親水性領域には極性基が高い密度で分布しているために、水に対

ある吸着媒の表面エネルギー（ $C$ 値）は、疎水性領域よりも高くなっている。そのため、単分子層吸着水分値近傍の低水分状態においては、両領域の間に蒸気圧の差が生ずることになる。その結果、任意の水分条件において、親水性領域の極性基には、水分子がより吸着、あるいは凝縮し易くなっているために、親水性領域に分布する水溶性成分は、乾のりのBET単分子層吸着水分値においてすでに多分子層吸着の状態になっている。したがって、乾のりではBETの値は4かけの値にすぎず、アスコルビン酸の保蔵に関するかぎり、更に低い水分条件が要求される。

他方、乾のり中に自由水が出現する水分条件は、乾のりの単分子層吸着水分値の2倍である。アスコルビン酸の場合、最適水分条件は、熱力学的解析から得られた自由水出現のための水分条件の $1/2$ であった。このように、自由水の出現する水分条件が、ともに保蔵上最も安定性を与えるとされる水分



条件に対して同一比を示したことは、アスコルビン酸についても、単分子層吸着の状態が最も安定な水分条件を提供することと示している。

## 2. アスコルビン酸とフィコビリリン系色素 蛋白質の分解・変性様式の違い

アスコルビン酸の分解は、単純な2分子反応による化学反応であるから、活性基を保護することによって、その分解反応を抑制することができる。したがって、保護物質として水分子を想定すれば、単分子層吸着の状態が最も安定である。

一方、フィコビリリン蛋白質の場合、蛋白質の変性と色素部分の変化とは、密接に関連している。そのため、乾のりの変色はすなわち蛋白質の変性を伴っている。蛋白質の変性は、非共有結合によって安定化している高次構造が変化して起る。そのため、蛋白質が変性するためには、蛋白質が溶解する

水の存在が必需である。すなわち、フィコ  
 ビリンが安定化するためには、自由水が存在  
 しなければよいので、アスコルビン酸の場合  
 よりも、比較的高い水分条件で安定である。

### 3. 乾のり保蔵における二次乾燥(火入れ) 処理の意義

乾のりの二次乾燥処理は、単に乾のり  
 の含水率を低下させるためではなく、加熱す  
 ることにより、乾のりマトリクスの水分吸  
 着等温線を変化させる。すなわち、乾のり  
 は火入れ処理により、マトリクスの表面エ  
 ネルギーを低下させ、水との相互作用能を減  
 少させる。また、マトリクスは膨潤能を失  
 ったため、水に対して不活性となる。したが  
 って、二次乾燥処理により、火入れしたの  
 りは吸湿しにくくなり、より保蔵性が増加す  
 る。

### 4. フィコエリスリンの安定性と水分

水は、焼のりに対しても不都合な性質を付与する。すなわち、のりの原藻段階で細胞が生理活性を失った場合、フィコビリן蛋白質がフィコビリゾームから溶離して、のりマトリクスに吸着する。吸着したフィコエリスリンは熱に対して安定性を増すので、このような状態の乾のりを焙焼しても「焼き色」は出ない。

また、「色戻り」の現象は、不完全な変性状態にあるフィコエリスリンが、水（自由水）の存在下で、何らかの構造回復を起すことが原因となって発生する。フィコエリスリン蛋白質の構造が回復するのに伴って、可視部の吸光度も回復し、変色と起す。

巻きずしののりにみられる赤褐色の色戻りは、フィコエリスリンが酸変性を起した結果といふよりも、クロロフィルaが酸変性して無彩色のフェオフィテンaに存するためカロチノイド類の黄が強調される。これと変性したフィコエリスリンの紫とが合成する

色である。本来、焼き色の出るのりであれば、色戻りは、乾のりを充分焙焼することにより、フイコビリン系色素蛋白質を完全に変性させれば防止することが可能である。また、焙焼が不十分であつても、BETの単分子層吸着水分値程度の低い水分環境で焼のりを保蔵するならば、色戻り現象の発現を防止することが出来る。

## § 2 今後の研究と展望

本研究によつて、のりの中の水の存在状態が明らかになり、品質の劣化に関わる成分と水との相互作用が、かなりはつきりしてきた。しかし、本研究の成果を実際の保蔵に応用するためには、まだ多くの問題が残されている。たとえば、食品を最も安定に維持する水分条件は、単分子層吸着水分であると言われてきた。しかし、個々の成分については成立しても、水に対して性質を異にする多くの成分が混在する食品（海苔）において

は、そのすべてを一律に単分子層の水で保護  
することはできない。すなわち、のりの保  
蔵に際しては、保蔵上の優先順位を成分に与  
える必要がある。確かに単分子層条件以下  
の低水分下では、脂質は不安定になる。し  
かし、湿ったために、のりが変色したり異臭<sup>にお</sup>  
を発生したりすることに比較すれば、品質保  
持の立場からは、脂質の保護よりも後者の保  
蔵を第一に考慮すべきである。しかし、一  
年以上の長期保蔵もみられる今日、やはり脂  
質酸化も大きな問題である。したがって、  
のりの保蔵は、成分と水との関係をよく理解  
した上で、低温保蔵やガス置換法、あるいは  
酸素遮断法などの他の保蔵法の積極的な併用  
が、今後望まれる。

一方、「焼き色」および「色戻り」も、  
のりの品質には重要である。しかし、品質  
の検査において、官能のみに検査を頼って  
いる現状では、焙焼加工の以前に、焼き色の出  
にくいのりをみつけることは不可能に近い。

本研究によれば、フィコエリスリン部分の吸光特性を調べれば、ある程度の予測はつくが、大量ののりを扱う検査現場において応用することは困難である。しかつて、「焼き色」の問題は、今、その原因が明らかにできなかった。その対策も含め、今後の研究が待たれる。色戻りについても、品質の保持の場合と同様に相反する問題に直面する。あなわち、のりを十分に焙焼すれば色戻りは防止できるが、過度に焙焼することによって成分が分解したり、好ましくない物質が生成されたりする不都合が生ずる。本研究は、色戻りの原因を明らかにしたが、産業現場における対策に解答を与えることはできなかった。今後の研究に色戻り原因物質であるフィコピリンの変性機序を解明して、その具体的な防止策を確立することが望まれる。

## 謝 辞

本研究をまとめるに際して、ご懇篤なるご指導とご鞭撻を賜わるとともに、本論文のご校閲を賜わった、筑波大学教授の守井恒男博士、並びに同教授の今川 弘博士、片岡 廣博士、吉崎 繁博士に、衷心より御礼を申し上げる。また、本研究を進めるに際して、ご指導並びに貴重なるご助言を賜わった、山本海苔研究所所長の大房 剛博士と、主任研究員の荒木 繁氏に、深甚の謝意を表する。また、本研究を通じて、終始貴重なるご助言と暖かいお励ましを賜わった、東京水産大学教授の齋藤隆英博士、並びに同助教授の磯 直道博士、同助手の水野治夫博士に、厚く御礼を申し上げるとともに、衷心より謝意を申し上げる。

## 文 献

- 1) 朴 栄浩・小泉千秋・野中順三九：日  
水誌, 39, 1045 - 1049 (1973).
- 2) 平田 孝・石谷孝佑・山田 毅：日水  
誌, 47, 89 - 93 (1981).
- 3) 荒木 繁・小川廣男・大房 剛・齋藤  
実・上野順士・鹿山 光：日水誌, 48,  
643 - 646 (1982).
- 4) 荒木 繁・小川廣男・大房 剛・上野  
順士・齋藤 実・今吉純司・鹿山 光：  
日水誌, 48, 647 - 651 (1982).
- 5) 土屋靖彦・鈴木芳夫・佐々木 劭：日  
水誌, 27, 919 - 933 (1961).
- 6) 岩城美智代・福田則郎・松井かほろ・  
野田宏行・天野秀臣：日水誌, 49,  
933 - 938 (1983).
- 7) 大谷武夫・廣澤 裕：日水誌, 5,  
195 - 198 (1936).
- 8) 鹿山 光・今吉純司・荒木 繁・小川



- 廣男・大房 剛・上野順士・齋藤 実：  
日水誌，49，787 - 793 (1983).
- 9) 小川廣男・荒木 繁・大房 剛・鹿山  
光：日水誌，49，1143 - 1147  
(1983).
- 10) 荒木繁・小川廣男・大房 剛・鹿山  
光・小林彰夫：日水誌，49，1717 -  
1720 (1983).
- 11) H. SALWIN : *Food Technol.*, 13 , 594  
- 595 (1959).
- 12) S. BRUNAUER , P. H. EMMETT , and E. TELLER  
: *J. Am. Chem. Soc.*, 60 , 309 - 319,  
(1938).
- 13) 天野秀臣・野田宏行・堀口吉重：日水  
誌，46，1279 - 1282 (1980).
- 14) 片山輝久・矢吹耀男・富山哲夫：日水  
誌，15，415 - 418 (1949).
- 15) 新聞彌一郎・田口脩子：日水誌，32，  
1037 - 1042 (1966).
- 16) 朴 榮浩・小泉千秋・野中順三九：日

- 水誌, 39, 1051 - 1054 (1973).
- 17) 小幡彌太郎・山西 貞: 日水誌, 16,  
199 - 202 (1949).
- 18) 岩本康三・有賀祐勝・大藪 健: 東水  
大研報, 58, 1 - 7 (1972).
- 19) L. BOGORAD: *Ann. Rev. Plant Physiol.*,  
26, 369 - 401 (1975).
- 20) P. ÓCARRA and C. ÓHEOCHA: in "Chemistry  
and Biochemistry of Plant Pigment." (ed. by T. W.  
GOODWIN), 2nd ed., Vol. 1, Academic press,  
New York, 1976, pp. 328 - 376.
- 21) 荒木 繁・大房 剛・齋藤宗勝・桜井  
武麿: 藻類, 25, 19 - 23 (1977).
- 22) A. WEXLER, and W. G. BROMBACHER: *Natl.*  
*Bur. Stand. (U.S.) circ.* 512, 1951.
- 23) 八野 泰: 「高分子の物性工学」, 和  
田八三九 他7名共著, 才一社, 東京,  
1967, pp. 245 - 268.
- 24) 科学技術庁資源調査会編, 三訂補・日  
本食品標準成分表「いも及でんぷん類他

- 十類」、大蔵省印刷局、東京、1980.
- 25) I. D. KUNTZ, and W. KAUFMANN : *Adv. Protein Chem.*, 28, 239 - 345 (1977).
- 26) 荒木 繁・馬 家海・小川廣男・大房剛・鹿山 光 : *日水誌*, 51, 1109 - 1114 (1985).
- 27) F. A. BETTELHEIM and S. H. EHRLICH : *J. Phys. Chem.*, 67, 1948 - 1953 (1963).
- 28) 鈴木隆雄 : 「食品分析ハンドブック」(小原哲二郎・鈴木隆雄・岩尾裕之編), 第2版、建帛社、東京、1966, pp. 303 - 305.
- 29) 藤田秋治・広瀬福子・内山由子 : *ビタミン*, 40, 17 - 26 (1969).
- 30) M. CAURIE : *J. Food Technol.*, 5, 301 - 307 (1970).
- 31) M. CAURIE : *J. Food Technol.*, 6, 85 - 93 (1971).
- 32) M. CAURIE : *J. Food Technol.*, 6, 193

- 201 (1971).
- 33) M. KAREL and J. T. R. NICKERSON : *Food Technol.*, 18, 1214 - 1218 (1964).
- 34) T. KURATA, and Y. SAKURAI : *Agr. Biol. Chem.*, 31, 170 - 176 (1967).
- 35) A. E. MARTELL : in "Autoxidation in Food and Biological Systems" (ed. by M. G. SIMIC, and M. KAREL), Plenum Press, New York, 1980, pp. 89 - 118.
- 36) C. LAGERCRANTZ : *Acta Chem. Scand.*, 18, 562 (1964).
- 37) L. W. ACKER : *Food Technol.*, 23, 1257 - 1270 (1969).
- 38) P. M. SIVALINGAM, T. IKAWA, and K. NISHIZAWA : *Botanica Marina*, 14, 1 - 7 (1976).
- 39) K. EICHNER and M. KAREL : *J. Agric. Food Chem.*, 20, 218 - 233 (1972).
- 40) 小川廣男・荒木 繁・大房 剛・鹿山 光 : *日本誌*, 51, 433 - 438 (1985).

- 41) T. P. LABUZA, S. R. TANNENBAUM, and M. KAREL : *Food Technol.*, 24, 543 - 550 (1970).
- 42) S. MIZRAHI, T. P. LABUZA, and M. KAREL : *J. Food Sci.*, 35, 804 - 807 (1970).
- 43) L. M. DORMANT and A. W. ADAMSON : *J. Coll. Interf. Sci.*, 75, 23 - 33
- 44) H. EYRING and A. E. STEARM : *Chem. Rev.*, 24, 253 (1939)
- 45) E. MULTON : in "Water Relations of Food" (ed. by R. B. DUCKWORTH), Academic Press, London, 1975.
- 46) T. FUJIWARA : *J. Biochem. (Tokyo)*, 42, 411 - 417 (1955).
- 47) H. UEDAIRA : in "Water and Metal Cations in Biological Systems." (ed. by B. PULLMAN and K. YAGI), Japan Sci. Soc. Press, Tokyo, 1980, pp. 47 - 56.
- 48) R. MACCOLL, D. S. BERNS, and O. GIBBONS : *Arch. Biochem. Biophys.*, 177, 265

(1976).

- 49) 柴田和雄：「生化学領域における光電比色法（総論）、南江堂、東京、1965、PP131-149.
- 50) 昭和60年度日本水産学会秋季大会講演要旨集、P.143 (No.626).
- 51) 浜口浩三：「蛋白質機能の分子論」、東京大学出版会、東京、1976、PP.94-101.
- 52) C.N.R. RAO：「紫外・可視スペクトル（中川正澄訳）第2版、東京化学同人、東京、1970、PP.260-261.
- 53) K. HAMAGUCHI and H. SAKAI：J. Biochem., 57, 721-732 (1965).
- 54) 鈴木啓三：「水および水溶液」、共立出版、東京、1980、PP.237-234.
- 55) E. GANTT and S.F. CONTI：J. Cell Biol., 27, 423 (1966).
- 56) M.R. EDWARDS, and E. GANTT：J. Cell Biol., 50, 896 (1971).