

スサビノリ葉状体から乾海苔への加工過程における 光合成色素量の変化

清水 麻帆¹・吉田 和広²・木村 圭^{2*}

¹ 佐賀大学大学院農学研究科 (〒 840-8502 佐賀県佐賀市本庄町 1)

² 佐賀大学農学部 (〒 840-8502 佐賀県佐賀市本庄町 1)

Maho Shimizu¹, Kazuhiro Yoshida² and Kei Kimura^{2*}: Procedural changes in photosynthetic pigments during processing from raw lavers to a Nori sheet. Jpn. J. Phycol. (Sôru) 72: 89–96, July 10, 2024

The Nori contains the photosynthetic pigments: chlorophyll *a*, phycoerythrin and phycocyanin. These pigments decrease with light and heat exposure, which are possible during the processing raw lavers into dried Nori sheets. It is thus crucial to understand how processing affects the pigment contents. This study aims to compare the pigment content of raw lavers and dried Nori sheets to quantify the procedural effects on sample drying techniques. Raw lavers were collected from 30 different locations from December to February 2021. The raw lavers were processed with “hand-spread” and “machine-processed” techniques. Chlorophyll *a*, phycoerythrin, and phycocyanin contents were calculated from their fluorescence intensity. During the processing, chlorophyll *a* decreased particularly during the machine-processed drying compared with the hand-spread technique, whereas the hand-spread drying decreased the phycoerythrin and phycocyanin levels. The hand-spread drying technique needs sunlight exposure for complete dry-up, while machine-processed drying technique associated with hot-air fanning. These results suggest that light exposure led to the decomposition of phycoerythrin and phycocyanin, while heat induces the decomposition of chlorophyll *a*.

Key Index Words: chlorophyll *a*, Nori laver, phycobilin, pigment degradation, processing

¹Graduate School of Agriculture, Saga University, 1 Honjo, Saga, Saga 840-8502, Japan

²Faculty of Agriculture, Saga University, 1 Honjo, Saga, Saga 840-8502, Japan

*Author for correspondence: kimurak@cc.saga-u.ac.jp

緒言

スサビノリ (ナラワスサビノリ) *Pyropia yezoensis* f. *narawaensis* N. Kikuchi, Niwa et Nakada (以降, ノリと表記する) は大型紅藻類の一種で, 日本, 中国, 韓国で広く養殖されていることで知られている (Zhang *et al.* 2014)。日本において, 養殖場で摘採されたノリ葉状体は, 細断, 乾燥する加工過程を経て, 縦 21 cm, 横 19 cm, 1 枚あたりの重さ 3 g 前後, 水分含量 12% 程度の乾海苔に加工される (二羽 2020)。その後, 乾海苔は, 多くの場合, 検査場で品質による格付けが行われ, 品質に合わせた価格が設定されている。乾海苔の品質は色調, 光沢, 呈味, 香りなどで評価されるが (右田 1979, 川村 2017), 中でも色調はノリの生育状況に応じて変動しやすく, また分かりやすい外観の特徴であることから重視されている。しかしながら, 色調の判断は, 目視による官能評価が中心であり, 客観性に乏しいという現状がある (久野・川村 2007)。そのため, 乾海苔の色調を客観的かつ科学的に判断する指標として, 色調の主要な要因となる光合成色素量を測定することが望ましい。ノリは光合成色素として, ほとんどの植物が所有するクロロフィル *a* やカロテノイドに加え, 紅藻類に特徴的なフィコエリスリンおよびフィコシアニンといったフィ

コピリン色素を含有しており, これらの色素の含有量が乾海苔の色調に反映されている (植木ら 2010, Zhang *et al.* 2012, Kobayashi *et al.* 2020)。そのため, 光合成色素量の多いノリ葉状体ほど黒っぽい乾海苔となり, 海苔産業においては高価値の海苔として取り扱われる。

ノリ葉状体を, 製品である乾海苔へと加工する過程には様々な工程があり, これらの加工処理がノリの色調に影響を与えている可能性が考えられる。古くから行われてきた手すきによる加工法では, 裁断後, 水道水と調合し, 抄製して成形したノリを, 5 h 程度天日干しによって乾燥させる工程を経る。手すきによって加工された乾海苔 (以下, 手すき海苔) の色素は, 天日干しによる光の影響を受けている可能性がある一方で, ノリ摘採時期の気温が 10–15°C であることを考慮すると熱の影響はあまり受けていないと考えられる。また, 現在主流となっている海苔加工機械で作られる海苔 (以下, 機械ずり海苔) は, 上記と同じように成形したノリを, 約 2 h かけて 35–40°C の温風で乾燥させる (川村 2017, 二羽 2020)。そのため, 機械ずり海苔の乾燥の工程では, ノリの採取時期の水温と比較して 20°C 以上高い温度に数時間晒すこととなり, ノリの色素は熱の影響を受けることとなる。このように

ノリ葉状体を乾海苔へと加工する間に、ノリは光や熱に曝されるが、これらがノリ光合成色素へ与える影響は十分に解明されていない。そこで、本研究では、複数地点・時期に採取されたノリ葉状体と、このノリ葉状体由来の手すき海苔、同地点由来の機械ずり海苔の、主要光合成色素クロロフィル *a*、フィコエリスリン、フィコシアニンの量を比較することで、海苔加工がノリの色素含有量へ与える影響の解明に取り組んだ。

また、本研究では、多数のノリ葉状体、手すき海苔、機械ずり海苔試料を対象に、光合成色素量を同一基準で比較する必要があり、簡便かつ安定的に光合成色素を測定することが重要であった。これまでにノリ葉状体の光合成色素について、簡便かつ安定的に抽出する手法は多く存在するが（馬場ら 2006, Sano *et al.* 2020）、その精度を過去の文献と比較評価した報告は無かった。従来より用いられている齋藤・大房（1974）の色素定量法（以降、従来法と称する）には、試料破碎に時間を要することや、破碎が均一にならないことなどの課題点があった。この状況に対して、尾前ら（2022）は、試料破碎の機械化を行い、従来法よりも短時間の作業時間でより均一な定量を実現し、簡便かつ迅速に光合成色素を抽出できる手法を開発した。さらに、尾前ら（2022）は、吸光度によらない、蛍光強度を用いたクロロフィル *a* の定量法を提案した。これらのデータは従来法で用いられた手法と比較・検討したことで、過去の論文のデータと相互比較が可能になった。本論文では、尾前ら（2022）の簡便なクロロフィル *a* の抽出法と蛍光測定法を採用し、さらにこの手法をフィコビリ色素の測定に応用することを検討した。

材料と方法

ノリ葉状体試料

佐賀県有明海漁業協同組合より提供された 30 サンプルのノリ葉状体試料を使用した（Fig. 1, Table S1）。これらは、有明海の佐賀県海域の異なる養殖地点から、2020–2021 年にかけて、計 3 回に渡って採取された。各ノリ葉状体試料の一部は、ペーパータオルでよく脱水し、実験に使用するまで -80°C で保存した。

手すき海苔試料

上記の各ノリ葉状体試料の一部を使用し、30 サンプルの手すき海苔試料を加工した。ノリ葉状体を細断して水道水に 5 min ほど懸濁し、この懸濁液を海苔簾に薄く広げ、脱水後、 $10\text{--}15^{\circ}\text{C}$ の屋外で約 5 h 天日干した。各手すき海苔試料は、実験に使用するまで -30°C で保存した。

機械ずり海苔試料

上記のノリ葉状体試料と同日、同地点由来の機械ずり海苔試料 29 サンプルを、佐賀県有明海漁業協同組合より提供頂いた。機械ずり試料には、同一漁場より得られたノリ葉状体試料を用いた。手すき海苔試料と比べ、採取時や加工時間にわずかな差があり、葉体の状態に軽微な差異がある可能性がある。

機械ずり海苔試料は、海苔加工機械を用いてノリ葉状体を裁断後、成形し、 $35\text{--}40^{\circ}\text{C}$ で 2 h 乾燥させて加工した。各機械ずり海苔試料は、実験に使用するまで -30°C で保存した。なお、1 試料については、ノリ葉状体が激しく色落ちし、機械ずり海苔へと加工されなかったため、このサンプルの機械ずり海苔試料は欠失している。

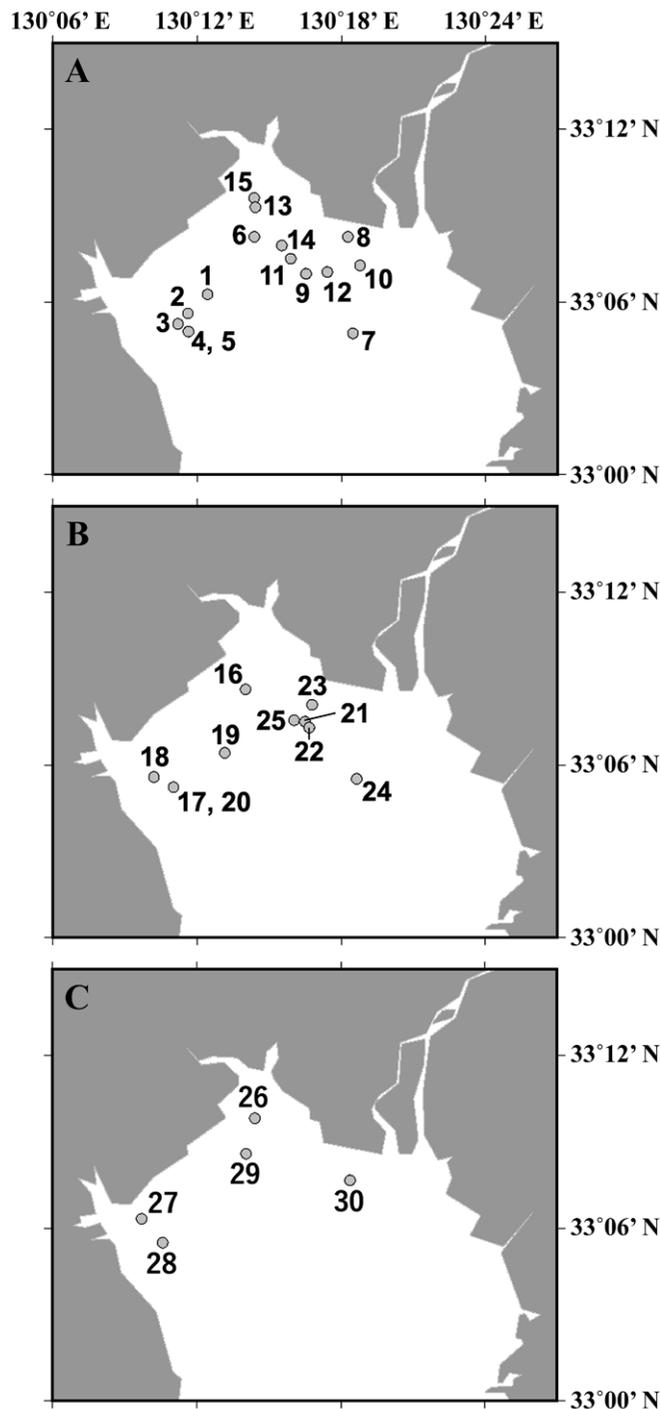


Fig. 1. Sampling points of raw lavers on (A) December 9, 2020, (B) February 8, 2021, and (C) February 22, 2021.

ノリ葉状体・手すき海苔・機械ずり海苔からの光合成色素の抽出

光合成色素の抽出および定量は、尾前ら (2022) の手法に従って実施した。水分含量の多いノリ葉状体試料については、乾海苔同様に破碎できるようにするため、重量を正確に秤量した後に、凍結乾燥機 (VD-250R; TAITEC) によって 2 h 乾燥させた。6 mg のノリ葉状体、機械ずり海苔、手すき海苔試料を、細胞破碎用サンプルチューブ (TM-625S; TOMY) に入れた。5 mm 径のジルコニアボールを 1 粒、0.5 mm 径のジルコニアビーズを 0.5 g 同チューブに加え、細胞破碎装置 (Micro Smash MS-100; TOMY) で 4,000 rpm、20 s 振盪破碎した。振盪後のチューブを 1 min 冷し、再び同様に破碎した。脂溶性色素のクロロフィル *a* の抽出では、*N,N*-ジメチルホルムアミド (DMF) を同チューブに 1 mL 添加し、再度同じ条件で振盪した。サンプルチューブ内の液を 15 mL 遠沈管に移し、さらにメスピペットで正確に定量した溶媒 9 mL で何度も洗い込みながら全ての内容物を移した。これを -20°C で 24 h 静置後、3,000 rpm で 20 min 室温で遠心 (LC-220; TOMY) し、上清を回収し 10 mL のクロロフィル *a* 抽出液とした。

水溶性色素であるフィコエリスリンとフィコシアニンの抽出では、ノリ/海苔試料を、脂溶性色素と同様に細胞破碎用サンプルチューブ内で破碎し、0.5 M、pH6.5 のリン酸緩衝液を同チューブに 1 mL 添加し、再度同じ条件で振盪した。サンプルチューブ内の液を 15 mL 遠沈管に移し、さらにメスピペットで正確に定量した溶媒 9 mL で何度も洗い込みながら全ての内容物を移した。これを 4°C の暗所で一晩静置後、4°C に設定した高速冷却遠心機 (himac CR21G II; 日立工機) を用い、5,000 rpm で 40 min 遠心し、上清を回収した。最終的にメスフラスコにて 10 mL に定容し、フィコエリスリンとフィコシアニン抽出液とした。

各光合成色素の検量線作成

クロロフィル *a* の蛍光強度測定は、尾前ら (2022) の手法

に準じて実施した。測定には蛍光光度計 (Trilogy Laboratory Fluorometer) とクロロフィル *a* 用モジュール (Chlorophyll *a* Non-Acidification Module, #7200-046, Turner Designs, San Jose) を使用した。クロロフィル *a* 標準品 (富士フィルムワコーケミカル株式会社, 大阪) を濃度が 1 mg mL⁻¹ になるように DMF に溶解して 0.309–4.54 μg mL⁻¹ の 6 段階に希釈し、この溶液の蛍光強度を測定した。得られた蛍光強度から検量線を作成した (Fig. 2A)。

フィコエリスリンとフィコシアニンの蛍光強度も、蛍光光度計 (Trilogy Laboratory Fluorometer) を用いて測定した。フィコエリスリンとフィコシアニンの測定モジュールには、それぞれ蛍光光度計のフィコエリスリン用モジュール (Rhodamine & Phycoerythrin Module, #7200-042, Turner Designs, San Jose) とフィコシアニン用モジュール (Phycocyanin Module, #7200-044, Turner Designs, San Jose) を使用した。濃度が 482 μg mL⁻¹ になるようにフィコエリスリン標準品 (R-Phycoerythrin, コスモ・バイオ株式会社, 東京) をリン酸緩衝液に溶解して 1.41–11.3 μg mL⁻¹ の 6 段階に希釈し、これらの溶液の蛍光強度を測定し、測定値から検量線を作成した (Fig. 2B)。同様に、濃度が 135 μg mL⁻¹ になるようにフィコシアニン標準品 (Phycocyanin from *Spirulina*, 東京化成株式会社, 東京) をリン酸緩衝液に溶解して 1.83–14.6 μg mL⁻¹ の 5 段階に希釈し、これらの溶液の蛍光強度を測定し、測定値から検量線を作成した (Fig. 2C)。なお、蛍光法で測定し算出したフィコエリスリン量およびフィコシアニン量を、それぞれ PE-Fluo と PC-Fluo と称する。

フィコシアニン用モジュールは、測定時の励起光が 400–700 nm と広い波長帯を持つ。このモジュールが検出する蛍光波長では、フィコエリスリンを併せて検出してしまう可能性が考えられる。そこで、フィコシアニン用モジュールによって、段階希釈したフィコエリスリン標準品の蛍光強度 (PE/PC-Fluo) を測定した。そこで、フィコシアニンモジュール測定値 PC-Fluo からフィコエリスリン由来の蛍光強度 (PE/PC-

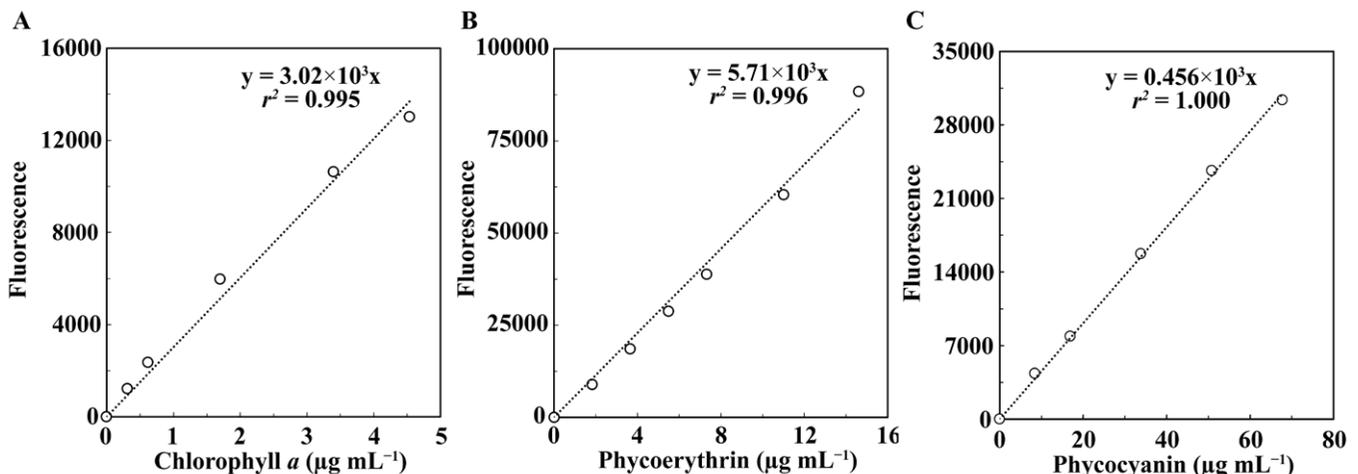


Fig. 2. Standard curves of (A) chlorophyll *a* ($n = 6$), (B) phycoerythrin ($n = 7$), and (C) phycocyanin ($n = 6$).

Fluo) を差し引き、補正值 PC-Fluo' を算出した。

$$\text{PC-Fluo}' = \text{PC-Fluo} - \text{PE/PC-Fluo}$$

算出された PC-Fluo' を用いて、真のフィコシアニン検量線を作成した。

各光合成色素量の測定

ノリ葉状体、手すき海苔、機械ずり海苔試料のクロロフィル *a* 量は、蛍光強度を用いて定量した。各試料のクロロフィル *a* 抽出液の蛍光強度を、上記の手法に従って測定した。作成した検量線から、測定値をノリ/海苔試料に含まれるクロロフィル *a* 質量に換算した後、ノリ/海苔試料重量当たりのクロロフィル *a* 量を算出した。

ノリ葉状体、手すき海苔、機械ずり海苔試料のフィコビルン色素についても、蛍光強度を用いて定量した。各試料のフィコビルン抽出液の蛍光強度を、上記の手法に従って測定した。フィコエリスリンについては、作成した検量線から、測定値をノリ/海苔試料に含まれる量に換算した後、ノリ/海苔重量当たりの量を算出した。フィコシアニンについては、作成した PC-Fluo' に対する検量線から、PC-Fluo' 値をノリ/海苔試料に含まれる真の量に換算した後、ノリ/海苔重量当たりの真の量を算出した。

フィコエリスリンとフィコシアニン蛍光強度測定と吸光度測定と比較

蛍光強度に基づくフィコエリスリンとフィコシアニン量の測定法について、吸光度から算出していた従来法 (斎藤・大房 1974) との比較検証を行った。蛍光値については、上記

で取得したノリ葉状体のフィコエリスリン、フィコシアニンの蛍光強度測定値を利用した。吸光度測定については、上記のノリ葉状体からのフィコエリスリンとフィコシアニンの色素抽出試料を対象に、紫外可視分光光度計 (V-650, JASCO, Tokyo) にて各色素に対応する波長の吸光度を測定した。測定した吸光度から、従来法と同様に、ノリ葉状体重量当たりのフィコエリスリン量およびフィコシアニン量を算出した (斎藤・大房 1974)。なお、吸光度で測定し算出したフィコエリスリン量およびフィコシアニン量を算出した値をそれぞれ PE-Abs と PC-Abs と称する。

結果

フィコシアニン蛍光測定の補正、およびフィコエリスリンとフィコシアニン蛍光強度測定と吸光度測定と比較

フィコエリスリン由来の蛍光強度 PE/PC-Fluo は、全体的に PC-Fluo よりも小さいが、同桁の値を示した (Tables S2, S3)。PC-Fluo と PC-Fluo' を比較すると、補正後にはフィコシアニン標準品の PC-Fluo' は、PC-Fluo よりもフィコシアニン量が平均で 26.75% 減少した。

また、ノリ葉状体試料のフィコエリスリンの PE-Fluo と PE-Abs の回帰直線係数は 2.31、得られる回帰線の決定係数は $r^2 = 0.923$ であった (Fig. 3A, Table S2)。同様に、フィコシアニンの PC-Fluo と PC-Abs の回帰直線係数は 7.74 であったが、フィコエリスリン由来蛍光を補正した後の真のフィコシアニンである PC-Fluo' と PC-Abs では回帰直線係数が 3.63、得られる回帰線の決定係数は $r^2 = 0.899$ となった (Fig. 3B, Table S3)。

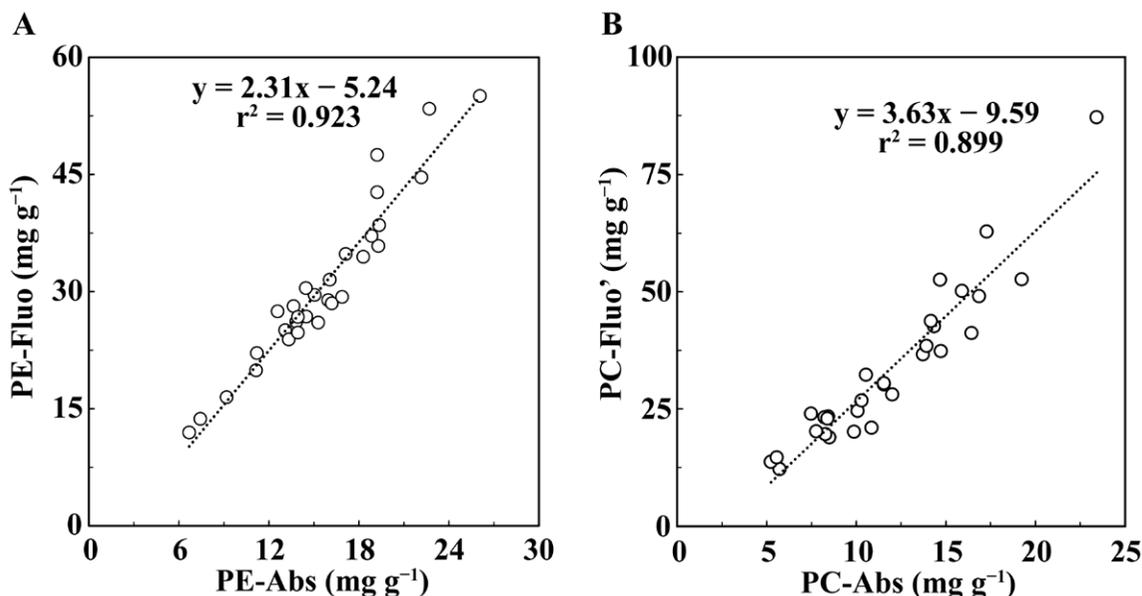


Fig. 3. (A) A correlation between phycoerythrin content measured with the absorption-based method (PE-Fluo) and by the fluorescence-based methods (PE-Abs) ($n = 30$), and (B) a correlation between phycocyanin content measured with the absorption-based method (PC-Fluo') and by the fluorescence-based methods (PC-Abs) ($n = 30$).

ノリ葉状体, 手すき海苔, 機械ずり海苔のクロロフィル *a* 量
 クロロフィル *a* 量をもっとも高かった試料は, ノリ葉状体では試料 8 (12月9日の杉町) の 7.50 mg g^{-1} , 手すき海苔では, 試料 24 (2月8日の遠江) の 6.12 mg g^{-1} , 機械ずり海苔では, 試料 23 (2月8日の藤川) の 5.27 mg g^{-1} となった。クロロフィル *a* 量が最高値を示す試料は, ノリ葉状体, 手すき海苔, 機械ずり海苔で時期も地点も異なっていた。クロロフィル *a* 量をもっとも低かった試料は, ノリ葉状体, 手すき海苔では試料 28 (2月22日の北海山側) の, それぞれ 2.84 mg g^{-1} , 2.40 mg g^{-1} , 機械ずり海苔では, 試料 5 (12月9日の北海山側) の 2.46 mg g^{-1} となった。ノリ葉状体, 手すき海苔と, 機械ずり海苔で時期は異なるものの, 全て北海山側でクロロフィル *a* 量が最低値を記録していた。

また, 機械ずり海苔試料から抽出したクロロフィル *a* については, 手すき海苔試料から抽出したものに比べて, 量が低い傾向が確認された (Fig. 4, Table S4)。

ノリ葉状体, 手すき海苔, 機械ずり海苔のフィコエリスリン量
 フィコエリスリン量をもっとも高かった試料は, ノリ葉状体では試料 24 (2月8日の遠江) の 55.0 mg g^{-1} , 手すき海苔では, 試料 13 (12月9日の杉町) の 45.1 mg g^{-1} , 機械ずり海苔では, 試料 24 (2月8日の遠江) の 49.6 mg g^{-1} となった。フィコエリスリン量が最高値を示す試料は, ノリ葉状体と機械ずり海苔で同じであったが, 手すき海苔のみ異なっていた。またこの結果はクロロフィル *a* の結果と異なっていた。フィコエリスリン量をもっとも低かった試料は, ノリ葉状体, 手すき海苔では試料 28 (2月22日の北海山側) の, それぞれ 11.9 mg g^{-1} , 11.8 mg g^{-1} , 機械ずり海苔では, 試料 5 (12月9日の北海山側) の 12.4 mg g^{-1} となった。フィコエリスリンの最低値試料は, クロロフィル *a* 同様の結果となり, ノリ葉

状体, 手すき海苔と, 機械ずり海苔で, 時期は異なるものの, 北海山側で最低値を記録した。

また, 手すき海苔試料から抽出したフィコエリスリンについては, 機械ずり海苔試料から抽出したものに比べて, 高含量の試料ほど含有量が低い傾向が確認された (Fig. 5, Table S5)。

ノリ葉状体, 手すき海苔, 機械ずり海苔のフィコシアニン量
 フィコシアニン量は, ノリ葉状体, 手すき海苔, 機械ずり海苔で, 全て試料 24 (2月8日の遠江) において最も高い値を示し, それぞれ 190.1 mg g^{-1} , 111.4 mg g^{-1} , 171.4 mg g^{-1} となった。またこの結果はクロロフィル *a* の結果とは異なっていたが, ノリ葉状体, 機械ずり海苔のフィコエリスリン量が, 試料 24 で最高値を示したことと似た傾向を示した。フィコシアニン量をもっとも低かった試料は, ノリ葉状体, 手すき海苔では試料 28 (2月22日の北海山側) の, それぞれ 32.7 mg g^{-1} , 36.4 mg g^{-1} , 機械ずり海苔では, 試料 5 (12月9日の北海山側) の 43.6 mg g^{-1} となった。フィコシアニンの最低値試料は, クロロフィル *a*, フィコエリスリンの結果と同様であり, ノリ葉状体, 手すき海苔と, 機械ずり海苔で, 北海山側において最低値を記録した。

フィコエリスリンと同様に, 手すき海苔試料から抽出したフィコシアニン濃度については, 機械ずり海苔試料から抽出したものに比べて, 高含量の試料ほど含有量が低い傾向が確認された (Fig. 6, Table S6)。

考察

蛍光強度によるフィコビルン色素含有量の測定の有効性

本研究の結果から, PE-Fluo と PE-Abs, PC-Fluo' と PC-Abs の値から得られる回帰直線の決定係数は, それぞれ $r^2 = 0.923$,

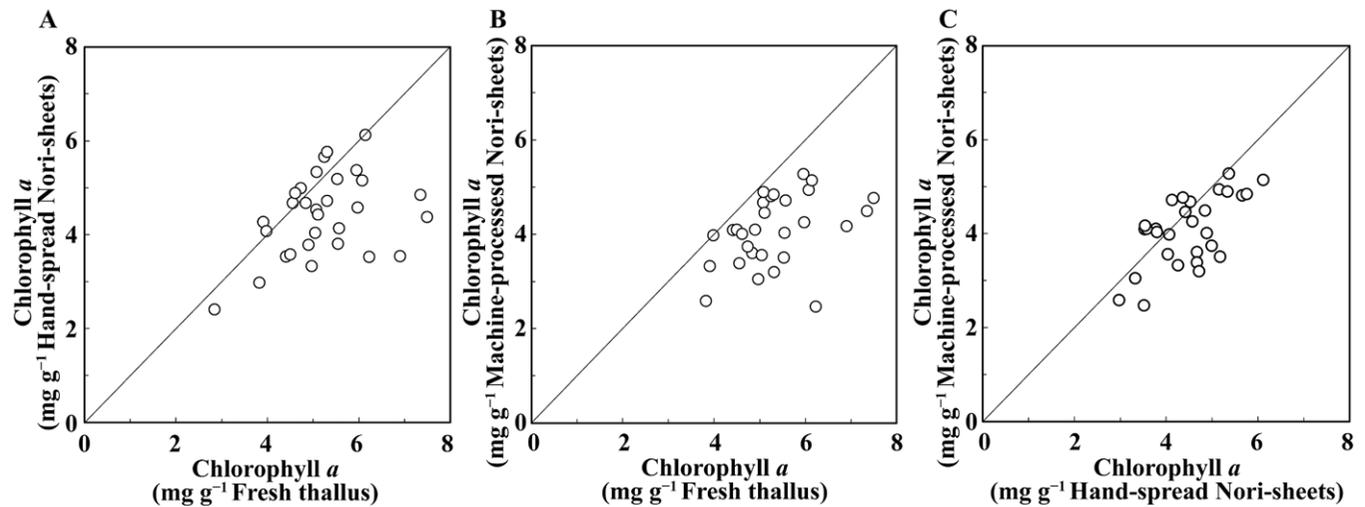


Fig. 4. Chlorophyll *a* content. (A) Comparison of raw lavers with hand-pulped Nori sheets ($n = 30$). (B) Comparison of raw lavers with machine-assisted Nori sheets ($n = 29$). (C) Comparison of hand-pulped Nori sheets with machine-assisted Nori sheets ($n = 29$). If the data are plotted below the 1:1 line in the figure, there is a decrease in pigmentation or less pigmentation.

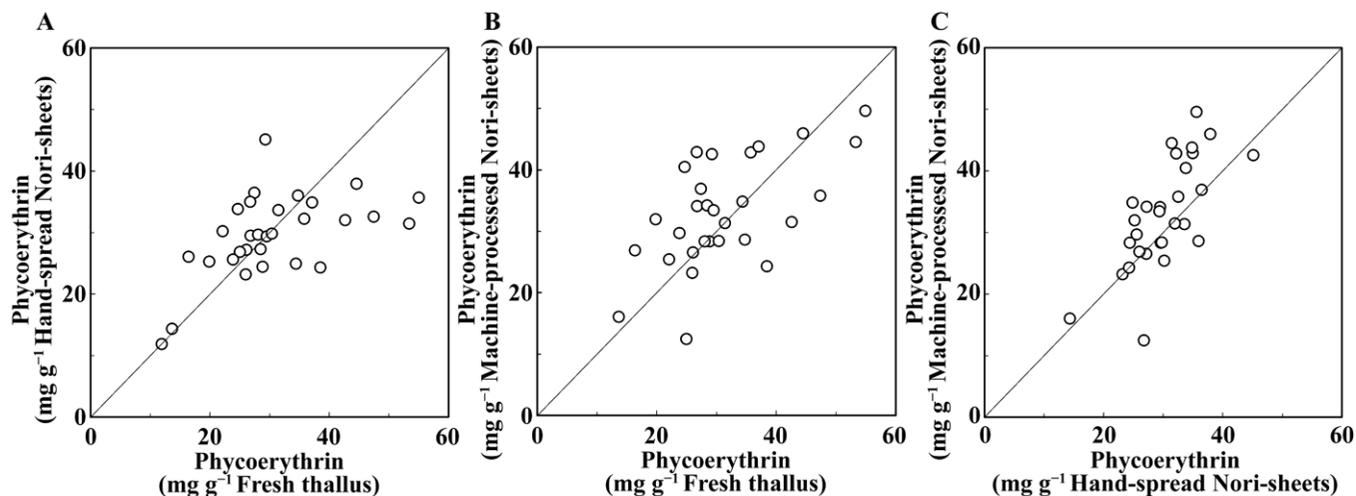


Fig. 5. Phycoerythrin content. (A) Comparison of raw lavers with hand-pulped Nori sheets ($n = 30$). (B) Comparison of raw lavers with machine-assisted Nori sheets ($n = 29$). (C) Comparison of hand-pulped Nori sheets with machine-assisted Nori sheets ($n = 29$). If the data are plotted below the 1:1 line in the figure, there is a decrease in pigmentation or less pigmentation.

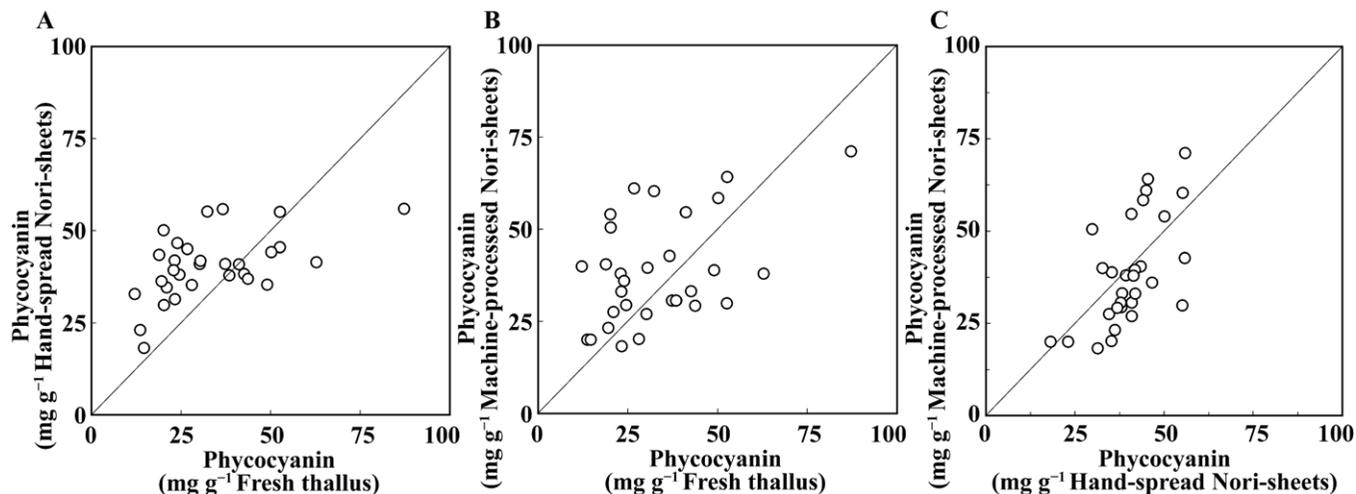


Fig. 6. Phycocyanin content. (A) Comparison of raw lavers with hand-pulped Nori sheets ($n = 30$). (B) Comparison of raw lavers with machine-assisted Nori sheets ($n = 29$). (C) Comparison of hand-pulped Nori sheets with machine-assisted Nori sheets ($n = 29$). If the data are plotted below the 1:1 line in the figure, there is a decrease in pigmentation or less pigmentation.

$r^2 = 0.899$ と高い値を示し (Fig. 3), フィコビルン色素において蛍光法と吸光法が比較可能であることが明らかになった。尾前ら (2022) によると, クロロフィル *a* の蛍光法と吸光法の値は 1:1 の関係を示したが, 本研究の結果では, PE-Fluo は PE-Abs の 2.31 倍, PC-Fluo' は PC-Abs の 3.63 倍となり, 蛍光測定の値がより高い値を示していた。従来法 (斎藤・大房 1974) では, フィコエリスリンおよびフィコシアニン量の計算に 565 nm および 615 nm の吸光度を用いている。この波長では, フィコエリスリンおよびフィコシアニンの対象波長に, それぞれ別のフィコビルン色素の吸光値が重なる可能性がある。また, スサビノリに含まれる 3 種類のフィコビルン色素 (フィコエリスリン, フィコシアニン, アロフィコシ

アニン) 中のアロフィコシアニンの吸収 (吸収極大: 650 nm, Bennet & Bogorad 1973) が, 他の色素に含まれてしまう可能性がある。さらに, 色素抽出液中に混入した他の植物色素や有機物が, 光を吸収・散乱し, 吸収光学特性を変化させる可能性も考えられる (Jeffrey *et al.* 1997, Babin *et al.* 2003, Hulatt *et al.* 2009)。よって, 吸光度による測定は, 蛍光法に対して値が過小評価される可能性が考えられる。

一方で, 蛍光法では, 用いた測定モジュールでアロフィコシアニン (吸収極大 652 nm, 蛍光波長 660 nm) を検出してしまいう可能性がある (Bennet & Bogorad 1973, Glazer & Stryer 1983)。蛍光法の場合は, 同時検出される色素の分だけ値が大きくなるため, 測定値が過大になる可能性が考えられる。

このように吸光法、蛍光法いずれであっても、光学特性上、アロフィコシアニンや他の植物色素の値を、フィコシアニンやフィコエリスリンと分けることは難しいため、これらの色素は同時に検出されてしまう。そのため、蛍光法の値が、吸光法の値と 1:1 の関係にならないことは避けられない。しかしながら、蛍光法と吸光法が比較可能であることと、蛍光法では、励起光と蛍光の二段階で測定物質を絞り込めるため、他の有機物の影響をより低く抑えられることを考慮すると、海苔の光合成色素量測定において、蛍光法は、吸光法よりも有効であると考えられる。

なお、本研究では、フィコシアニン測定用モジュールでフィコエリスリン標準品を測定した結果、フィコエリスリン由来の蛍光強度は、本来のフィコシアニン由来の蛍光強度とほぼ同等に検出されることが明らかになった。このことから、本モジュールを使用する際はフィコエリスリン由来の蛍光を差し引きする必要があると結論づけた。そのため、本研究においては、フィコシアニンモジュール測定値からフィコエリスリン由来の蛍光強度を差し引き、補正した値 PC-Fluo' をフィコシアニンの蛍光測定値とした。

ノリ葉状体、手すき海苔、機械ずり海苔のクロロフィル a 量の比較

クロロフィル a に関して、手すき海苔よりも機械ずり海苔の方が大きく減少していた (Fig. 4)。この結果から、クロロフィル a が大きく減少するのは、機械ずりによる海苔加工過程の影響によるものと考えられる。手すきによる加工と機械ずりによる加工の大きな違いは、成形後のノリの乾燥方法にある。機械ずりで海苔を加工する際には、約 2 h かけて 35–40°C の温風をあて熱によって乾燥させるため、光合成色素の熱変性が起こる可能性が考えられる。一方で、手すき加工では、5 h 程度ノリを天日干しによって乾燥させる。天日干しでは、ノリの採取時期の気温が 10–15°C であることから、色素の熱変性が起こる可能性は低いと考えられるが、太陽光に 5 h 程度曝される環境であることから、色素の光分解が起こる可能性が考えられる。本研究の結果から、機械ずり海苔の方がクロロフィル a が大きく減少していることから、クロロフィル a は加工時の熱により分解された可能性が示唆された。ハウレンソウのクロロフィル a は、本色素が熱に曝されると減少することが報告されており、熱がクロロフィル a の維持に重要な要素であると考えられている (Schwartz & von Elbe 1983, Canjura *et al.* 1991, Schwartz & Lorenzo 1991)。こうした例からも、加工時の熱がクロロフィル a 量の減少に影響している可能性が考えられる。他にも、海苔加工過程時に、海水から採取したノリ葉状体を淡水 (水道水) で洗浄する過程が、クロロフィル a 量の減少に影響する可能性も無視できない。海藻を淡水に晒す過程で、細胞膜内のクロロフィル a 分解酵素が放出され、クロロフィル a の分解が進行し (Jeffrey & Hallegraef 1987)、さらに熱により酵素活性が上昇することで、クロロフィル a がより分解 (減少) した可能性も考え

られる。本研究で明らかにされた、海苔加工過程におけるクロロフィル a の減少が、どのような機構で裏打ちされているのかは明らかではない。これを解明するためには、細胞学、化学分析学的なアプローチが必要であろう。

本研究の結果では、よりクロロフィル a 量の多いノリ葉状体ほど、加工により失われるクロロフィル a 量が多くなる傾向がみられた。これらの結果から、熱によってクロロフィル a 量が減少する可能性を考慮し、さらにより色素量の多いノリ葉状体を活かして加工できるように、加工方法を改善する余地があるかもしれない。今後は、クロロフィル a 量の減少を抑えた加工法についても、さらなる研究が必要であると考えられる。

ノリ葉状体、手すき海苔、機械ずり海苔のフィコピリン量の比較

フィコエリスリンに関しては、ノリ葉状体を手すき加工した場合の方が、機械ずり加工の場合よりも高含有量の試料の含有量が減少していた (Fig. 5)。上記のように、手すきによる加工の場合、天日干し工程において、ノリは光に曝される。よって、フィコエリスリンは、加工時の光の影響を受けて分解された可能性が考えられた (Rinalducci *et al.* 2008)。同様に、フィコシアニンに関しても、ノリ葉状体を手すきで加工した場合の方が、機械ずり加工の場合よりも高含有量の試料の含有量が減少していた。これについても、天日干しによる光分解の可能性が考えられた (Fig. 6)。Rastogi *et al.* (2015) は、シアノバクテリア由来のフィコピリン色素が、可視光や紫外線により分解されることを示し、とくにフィコエリスリンの方が光分解を受けやすいことを示唆した。同時に、光曝露によりフィコピリンが構造変化を受け、フィコピリン量は変化しなくとも、蛍光が減少することを明らかにした。そのため、手すき加工の天日干しの工程により、フィコピリンが光分解を受けていた可能性が考えられた。クロロフィル a と同様に、海苔加工過程におけるフィコピリン色素の減少の機構は、本研究の結果からは明らかにできない。この機構解明には、さらなる研究の進展が必要であろう。

現在の海苔加工の大半は機械ずりとなっており、短時間で大量の乾海苔を加工することが可能となった。この海苔加工機械による加工では、加工中の熱によってクロロフィル a が減少する可能性が示唆された。一方で、海苔加工機械による加工では、手すき海苔加工よりも、加工中に光に曝露される時間は少ないため、フィコピリン色素の光分解リスクは少ないと考えられる。しかしながら、ノリの摘採から輸送、保管時には、光に曝される機会もあり、このような工程でフィコピリン色素が減少するリスクは考えられる。これらの可能性を考慮し、できるだけ光や熱に曝さない手法の検討は、良い色調の海苔を生産する上で重要であると考えられる。

謝辞

本研究を実施するにあたり、佐賀大学川村嘉応招聘教授、佐賀県有明水産振興センター、佐賀県有明漁業協同組合より

データおよびノリ試料の提供を受けた。ここに厚く御礼申し上げます。本研究は、佐賀大学のプロジェクト「地域の農水圏生物生産・利用技術等の高度化」および「地域特化型農水産研究開発による佐賀地域の一次産業の安定化と振興」の支援、JSPS 科研費 22K05801 の助成を受けて実施された。

引用文献

- 馬場祐太・富松亮介・高橋潤・遠藤博寿・北出幸広・嵯峨直恒 2006. スサビノリ（紅色植物門・ウシケノリ目）の野生型および色彩変異株 2 株における光量と光合成色素含有量の関係. 水産育種 36: 57–61.
- Babin, M., Stramski, D., Ferrari, G. M. *et al.* 2003. Variations in the light absorption coefficients of phytoplankton, nonalgal particles. *J. Geophys. Res.* 108: C7.
- Bennet, A. & Bogorad, L. 1973. Complementary chromatic adaptation in a filamentous blue-green alga. *J. Cell Biol.* 58: 419–435.
- Canjura, F. L., Schwartz, S. J. & Nunes R. V. 1991. Degradation kinetics of chlorophylls and chlorophyllides. *J. Food Sci.* 56: 1639–1643.
- Glazer, A. N. & Stryer, L. 1983. Fluorescent tandem phycobiliprotein conjugates. *Biophys. J.* 43: 383–386.
- Hulatt, C. J., Thomas, D. N., Bowers, D. G., Norman, L. & Zhang, C. 2009. Exudation and decomposition of chromophoric dissolved organic matter (CDOM) from some temperate macroalgae. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* 84: 147–153.
- Jeffrey, S. W. & Hallegraeff, G. M. 1987. Chlorophyllase distribution in ten classes of phytoplankton: a problem for chlorophyll analysis. *Mar. Ecol.* 35: 293–304.
- Jeffrey, S. W., Mantuora, R. F. C. & Wright, S. W. 1997. Phytoplankton pigments in oceanography: guidelines to modern methods. UNESCO Publishing, Paris.
- 川村嘉広 2017. 新・海苔ブック 基礎編. 海苔産業情報センター, 福岡.
- Kobayashi, K., Osawa, Y., Yoshihara, A., Shimojima, M. & Awai, K. 2020. Relationship between glycerolipids and photosynthetic components during recovery of thylakoid membranes from nitrogen starvation-induced attenuation in *Synechocystis* sp. PCC 6803. *Front. Plant Sci.* 11: 432.
- 久野勝利・川村嘉広 2007. 養殖ノリにおける生ノリと乾ノリの色調評価およびその相互関係. 佐賀県有明水産振興センター研究報告 23: 5–10.
- 右田清治 1979. 乾海苔の光沢. 長崎大学水産学部研究報告 46: 11–16.
- 二羽恭介 2020. ノリの科学. 朝倉書店, 東京.
- 尾前優希・吉田和広・川村嘉広・木村圭 2022. 乾海苔が含有する光合成色素の新定量法開発. 藻類 70: 99–108.
- Rastogi, R. P., Sonani, R. R. & Madamwar, D. 2015. Effects of PAR and UV radiation on the structural and functional integrity of phycocyanin, phycoerythrin and allophycocyanin isolated from the marine cyanobacterium *Lyngbya* sp. A09DM. *Photochem. Photobiol.* 91: 837–844.
- Rinalducci, S., Pedersen, J. Z. & Zolla, L. 2008. Generation of reactive oxygen species upon strong visible light irradiation of isolated phycobilisomes from *Synechocystis* PCC 6803. *Biochim. Biophys. Acta Bioenerg.* 1777: 417–424.
- 斎藤宗勝・大房剛 1974. 乾海苔に含まれる光合成色素の簡易定量法. 藻類 22: 130–133.
- Sano, F., Murata, K. & Niwa, K. 2020. Identification, growth, and pigment content of a spontaneous green mutant of *Pyropia kinositae* (Bangiales, Rhodophyta). *J. Appl. Phycol.* 32: 1983–1994.
- Schwartz, S. J. & Lorenzo, T. V. 1991. Chlorophyll stability during continuous aseptic processing and storage. *J. Food Sci.* 56: 1059–1062.
- Schwartz, S. J. & von Elbe, J. H. 1983. Kinetics of chlorophyll degradation to pyropheophytin in vegetables. *J. Food Sci.* 48: 1303–1306.
- 植木知佳・村上明男・加藤敏朗・嵯峨直恒・本村泰三 2010. 紅藻スサビノリの光合成色素と葉緑体微細構造における栄養欠乏応答. 日水誌 76: 375–382.
- Zhang, T., Li, J., Lu, Q., Shen, Z. & Zhu, J. 2014. Study of photosynthetic characteristics of the *Pyropia yezoensis* thallus during the cultivation process. *J. Appl. Phycol.* 26: 859–865.
- Zhang, T., Shen, Z., Xu, P. *et al.* 2012. Analysis of photosynthetic pigments and chlorophyll fluorescence characteristics of different strains of *Porphyra yezoensis*. *J. Appl. Phycol.* 24: 881–886.

補足資料

日本藻類学会のWEBサイト上で論文と同時に公開される。佐賀大学機関リポジトリ (<https://doi.org/10.34551/0002000024>) でも公開している。

Table S1 生ノリ採取日・地点.

Table S2 吸光度と蛍光強度により算出したフィコエリスリン量.

Table S3 吸光度と蛍光強度により算出したフィコシアニン量.

Table S4 蛍光強度により算出したクロロフィル *a* 量.

Table S5 蛍光強度により算出したフィコエリスリン量.

Table S6 蛍光強度により算出したフィコシアニン量.

(2023年9月21日受付, 2024年4月5日受理)

通信担当編集委員: 芹澤(松山)和世