

# 正常なワカメと色落ちしたワカメの一般成分および遊離アミノ酸含量の比較

牧野賢治\*<sup>1</sup>, 上田幸男\*<sup>1</sup>

## Comparison of chemical composition and free amino acids between normal wakame, *Undaria pinnatifida* and discolored algae

Kenji MAKINO\* AND Yukio UETA\*

In order to compare the quality between normal wakame, *Undaria pinnatifida* and artificially discolored wakame under laboratory conditions, we investigated the chemical composition (moisture, protein, crude lipid, carbohydrate, ash, energy) and the free amino acids in the blade of wakame. As a result, it was clarified that the protein and crude lipid contents in the discolored algae were decreased, although the carbohydrate content increased, and total free amino acid contents were greatly decreased at the holdfast compared to the tip. In twenty free amino acids, alanine which accounted for over 60% of the total amino acids and had properties including sweetness especially decreased after discoloration. These results show that when dissolved inorganic nitrogen is lacking in the environmental water, wakame utilizes the nitrogen in the algae. As the result, the level of synthesis of the free amino acid and protein were decreased, and discoloration occurred from the holdfast. It is considered that the quality and taste of discolored wakame significantly decrease.

キーワード：ワカメ, 色落ち, SPAD値, タンパク質, 脂質, 遊離アミノ酸, アラニン

近年, 瀬戸内海で海水中の栄養塩不足が原因と思われる色落ちが発生しており, 主にアマノリ養殖に被害を及ぼしている(大山ほか2008, 三好ほか2012)。色落ちが起こると, 藻体の色調が低下し, 単価にも影響を与えることが証明されている(村山ほか2015)。

徳島県においても, アマノリだけでなく, 生産量が全国第3位の生産量を誇るワカメにも色落ちが1996年から発生し, 頻度が上昇している(湯浅ほか1998)。そのため, 徳島県では色落ち対策として, さまざまな研究を進めている。これまで目視で色落ちの程度を判定していたが, 葉緑素計を使用してワカメの色調をクロロフィル量との相関があるSPAD値を利用することで色落ちを数値化する手法を確立した。また, ワカメの色落ちは基部から発生し, 基部から回復することを明らかにし, 早期に色落ちを知るためにワカメの基部の測定部位を決定した(住友, 加藤2011)。さらに, 室内試験でワカメの色落ちと光量に相関があることを検証し(中西, 棚田2012), 養殖漁場で栄養塩が低下している時にワカメを遮光すれば, 色落ちの進行を抑制できることを実証した(牧野, 棚田2015)。現在では, 施肥技術の開発を進め(池脇ほか2016), SPAD値で施肥効果を判定している。施肥技術を開発するためには, ワカメ藻体内の色調に関するさまざまな生体反応についての基礎知識が必要となる。

これまで, 海藻の品質と一般成分, 遊離アミノ酸含量の関係についてはアサクサノリ(土屋, 鈴木1955,

佐藤ほか1959, 野田1971, 吉江ほか1993), マコンブ(大石ほかa 1961, 大石ほかb 1961, 奥村ほか1962)について報告されている。アサクサノリは上級品ほど全窒素に占めるタンパク質の割合が高く, 中, 下級品はその割合が低いこと(野田1971), アサクサノリの呈味成分の量は環境の影響を受けること(土屋, 鈴木1955), およびアサクサノリ培養中の海水中にNH<sub>4</sub>塩やNO<sub>3</sub>塩を添加するとアミノ酸が増加することが報告されている(佐藤ほか1959)。マコンブにおいても品質の優れたものに全窒素とアミノ態窒素の割合が高いこと(大石ほか1961a), 根元に全窒素が多いこと(奥村ほか1962)が報告されている。

ワカメについては, 成分と加工特性に関する研究(小野寺2007)が実施されているが, 環境水中の溶存無機態窒素(以下DIN)の不足に伴う色落ちの観点から藻体中の一般成分および遊離アミノ酸の関係を調べた報告事例はない。

そこで, 野外で養殖された正常なワカメを陸上水槽で人為的に色落ちさせ, 色落ち誘導前後のワカメの一般成分(タンパク質, 脂質, 炭水化物, 水分, 灰分), エネルギー量, ナトリウムおよび遊離アミノ酸組成を分析し, 比較検討した。

### 材料と方法

供試藻体とSPAD値の計測

試験に供したワカメは, 徳島県水産研究課で培養した早生系ワカメのフリー配偶体からの種苗を鳴門庁舎地先

\*<sup>1</sup> 徳島県立農林水産総合技術支援センター水産研究課(Fisheries Research Institute Minami Branch, Tokushima Agriculture, Forestry, and Fisheries Technology Support Center, Dounoura, Seto, Naruto, Tokushima 771-0361, Japan)

の小鳴門海峡で養殖したものである。2016年3月16日に養殖したワカメ7本を採取した。採取したワカメの葉長と基部（ワカメ葉長の4分の1の位置）、先端部（ワカメ葉長の4分の3の位置）のSPAD値をコニカミノルタ製葉緑素計SPAD502-Plusにより測定した。採取した2本のワカメを任意に選び、色落ち前の正常なワカメとして一般成分分析用に1本、遊離アミノ酸分析用に1本を基部と先端部に分けて、一般成分（タンパク質、脂質、炭水化物、水分、灰分）、エネルギー量、ナトリウムおよび遊離アミノ酸組成の分析を株式会社生体分子計測研究所に委託した。

#### 色落ちの誘導

残りの5本のワカメを海水が入った1トンパンライト水槽の中に入れて、エアレーションのみで3月24日までの8日間、栄養塩を添加しない止水で培養し、色落ちを誘導した。8日後、陸上水槽で培養した2本のワカメを任意に選び、葉長と基部、先端部のSPAD値を測定した。一般成分分析用に1本、遊離アミノ酸分析用に1本を基部と先端部に分けてそれぞれの葉長、基部および先端部のSPAD値を測定し、分析に供した。

#### 一般成分と遊離アミノ酸の分析方法

タンパク質は燃焼法により全窒素量を求め、6.25を乗じて算出した。脂質についてはソックスレー抽出法、炭水化物は控除法、灰分は直接灰化法、水分は常圧加熱乾燥法、エネルギー量は計算式、ナトリウムは原子吸光法、遊離アミノ酸組成(20種)はアミノ酸自動分析機により分析した。

### 結 果

色落ち誘導前後のワカメの葉長とSPAD値を表1、一般成分と遊離アミノ酸組成の分析結果を表2,3に示した。

#### 色落ち前後の葉長とSPAD値の変化

色落ちの前後で葉長の変化はほとんどみられず、一般分析用および遊離アミノ酸分析用ともに2cm短くなった。誘導前後のSPAD値は基部で10.6と11.9から8.3と8.2に、先端部が16.9と14.6から10.9と11.9に低下した(表1)。基部のSPAD値が色落ちの基準値となる9.0(牧野ほか2015)を下回ったことおよび外観からも軽度の色落ちを確認できたことから、色落ちを誘導できたと判定した。

#### 色落ち前後の一般成分の変化

試験に用いた正常なワカメの基部の一般成分は、水分が90.8%で、灰分3.6%、炭水化物3.4%、タンパク質1.9%、脂質0.3%に対し、色落ち誘導後は水分89%、炭水化物5.2%、灰分4.1%、タンパク質1.6%、脂質0.1%に変化した(表2)。色落ち誘導前より値が下がったのは、タンパク質(0.61倍)、脂質(0.33倍)、水分(0.98倍)、ナトリウム(0.97倍)の4項目で、脂質とタンパク質の減少が顕著であった。一方、増加したのは、炭水化物(1.53倍)、灰分(1.13倍)で、炭水化物の増加が顕著であった。

#### 色落ち前後の遊離アミノ酸の変化

色落ち前の正常なワカメの基部と先端部の遊離アミノ酸総量は137mg/100gと68mg/100gで、色落ち誘導後はそれぞれ75mg/100gと63mg/100gになった。基部で色落ち前の0.55倍、先端部で0.93倍に減少し、基部での低下が顕著であった。

色落ち誘導前の正常なワカメの基部の主要なアミノ酸はアラニン89mg/100g(65%)、グルタミン酸9mg/100g(6.6%)、アスパラギン酸8mg/100g(5.8%)で。先端部はアラニン33mg/100g(48.5%)、フェニルアラニン7mg/100g(10.3%)、ロイシン6mg/100g(8.8%)であった(表3)。基部と先端部ともにアラニンが最も多いが、他のアミノ

表1. 分析に供した色落ち誘導前後のワカメの葉長とSPAD値

	一般成分分析用		遊離アミノ酸分析用	
	色落ち前	色落ち後	色落ち前	色落ち後
葉長 (cm)	143	141	113	111
基部SPAD値	10.6	8.3	11.9	8.2
先端部SPAD値	16.9	10.9	14.6	11.9

表2. 色落ち誘導前後のワカメ藻体の一般成分の分析結果と色落ち前後の変化率

分析項目	色落ち前(A)	色落ち後(B)	変化率(B/A)
タンパク質 (g/100g)	1.9	1.6	0.84
炭水化物 (g/100g)	3.4	5.2	1.53
脂質 (g/100g)	0.3	0.1	0.33
水分 (g/100g)	90.8	89	0.98
灰分 (g/100g)	3.6	4.1	1.14
ナトリウム (mg/100g)	737	722	0.98
エネルギー (kcal/100g)	12	14	1.17

酸の組成は先端部と基部で異なる傾向がみられた。

色落ち誘導後の基部はアラニン45mg/100g(60%)、グルタミン酸6mg/100g(8%)、アスパラギン酸2mg/100g(2.7%)でいずれも減少が顕著であった。先端部はアラニン20mg/100g(31.7%)、フェニルアラニン11mg/100g(17.4%)、チロシン9mg/100g(14.2%)で、基部ではアラニンが0.51倍、グルタミン酸が0.67倍、アスパラギン酸が0.25倍に大きく減少した。先端部ではアラニンが0.61倍に減少したのに対し、チロシンが4.5倍、グルタミン酸が3倍、トリプトファンが2.5倍、フェニルアラニンが1.57倍、リジンが1.5倍に増加した。

### 考 察

色落ち前後の一般成分の変化

色落ちに伴い、藻体のタンパク質が0.61倍に減少したのは海水中のDINが減少したことを反映したものと考えられる。脂質が0.33倍に減少したのは、色落ちの影響でSPAD値(葉緑素)の減少を反映したものと考えられる。

一方、炭水化物は1.53倍に増加した。スサビノリで色落ちを誘導させた結果、細胞質内でデンプン粒の増加が見られたという(植木ほか2010)。また、褐藻類のジャイアントケルプを栄養塩が低い海域に移植した結果、藻体内の窒素含量は減少したが、マンニトールは、増加したという(Gerard1982)。本研究のワカメで

も同様に、DIN不足の状況下ではワカメの細胞質内においても炭水化物の割合が増加したものと考えられる。しかしながら、本研究における炭水化物は控除法で求められたものであり、炭水化物の詳細は明らかでない。今後、ワカメの炭水化物が具体的にどのような物質が明らかになる必要がある。

色落ち前後の遊離アミノ酸の変化

小野寺(2007)は岩手県大槌産養殖生ワカメ葉状体の遊離アミノ酸分析した結果、アラニンが遊離アミノ酸総量の35~63%、グルタミン酸が16~27%であったことから、アラニンとグリシンが多いという点においては本研究の結果と一致した。しかしながら、本研究の基部のアラニンの割合は正常な基部で65%とさらに多く、大槌産養殖生ワカメのアラニンは本島の基部と先端部の中間的な値を示した。

佐藤ほか(1959)はアサクサノリの遊離アミノ酸のうちアラニン、アスパラギン酸、グルタミン酸が環境的に最も変動が大きく窒素代謝の中心的な役割をなすこと(土屋、佐々木1957)に着目し、室内実験から培地にNH<sub>4</sub>塩を添加した場合、吸収された窒素の相当量が速やかにアサクサノリの葉体に吸収され、アラニンに合成されることを報告している。このことから、遊離アミノ酸は海藻の窒素代謝のタンパク質合成に関わる中間代謝物であり、遊離アミノ酸含量の多寡は窒素代謝の活発さを示す基準と考えられる。

本研究のワカメにおいても色落ち誘導後のタンパク質と

表3. 色落ち誘導試験に使用したワカメの遊離アミノ酸の分析結果と色落ち前後の変化率

遊離アミノ酸	基部			先端部		
	色落ち前(A) mg/100g	色落ち後(B) mg/100g	変化率 (B/A)	色落ち前(A) mg/100g	色落ち後(B) mg/100g	変化率 (B/A)
アスパラギン酸	8 ( 5.8 )	2 ( 2.7 )	0.25	3 ( 4.4 )	4 ( 6.3 )	1.33
スレオニン	3 ( 2.2 )	2 ( 2.7 )	0.67	2 ( 2.9 )	1 ( 1.6 )	0.50
セリン	2 ( 1.5 )	2 ( 2.7 )	1.00	1 ( 1.5 )	-	
アスパラギン	4 ( 2.9 )	3 ( 4.0 )	0.75	-	2 ( 3.2 )	
グルタミン酸	9 ( 6.6 )	6 ( 8.0 )	0.67	2 ( 2.9 )	6 ( 9.5 )	3.00
グルタミン	1 ( 0.7 )	-		-	-	
プロリン	4 ( 2.9 )	1 ( 1.3 )	0.25	-	-	
グリシン	-	2		2 ( 1.5 )	1 ( 1.6 )	0.50
アラニン	89 ( 65.0 )	45 ( 60.0 )	0.51	33 ( 48.5 )	20 ( 31.7 )	0.61
バリン	2 ( 1.5 )	1 ( 1.3 )	0.50	3 ( 4.4 )	-	
シスチン	-	-		-	-	
メチオニン	-	-		2 ( 2.9 )	-	
イソロイシン	1 ( 0.7 )	-		1 ( 1.5 )	-	
ロイシン	3 ( 2.2 )	1 ( 1.3 )	0.33	6 ( 8.8 )	1 ( 1.6 )	0.17
チロシン	2 ( 1.5 )	2 ( 2.7 )	1.00	2 ( 2.9 )	9 ( 14.3 )	4.50
フェニルアラニン	2 ( 1.5 )	3 ( 4.0 )	1.50	7 ( 10.3 )	11 ( 17.5 )	1.57
ヒスチジン	-	-		-	-	
リジン	4 ( 2.9 )	3 ( 4.0 )	0.75	2 ( 2.9 )	3 ( 4.8 )	1.50
トリプトファン	-	-		2 ( 2.9 )	5 ( 7.9 )	2.50
アルギニン	3 ( 2.2 )	2 ( 2.7 )	0.67	-	-	
合計	137 ( 100 )	75 ( 100 )	0.55	68 ( 100 )	63 ( 100 )	0.93

遊離アミノ酸総量が明らかに減少していることから、海水中のDINの減少に伴いワカメ藻体内の一定量の藻体内窒素を消費し、その結果として遊離アミノ酸、タンパク質の合成も低下しているものと考えられる。ワカメの遊離アミノ酸の中でもアサクサノリ同様にアラニンが代謝の中心的な役割を果たしていると思われる。

#### 品質とタンパク質含量, 遊離アミノ酸量の関係

アサクサノリでは上級品ほどタンパク質含量が多く、下級品ほど炭水化物が多くなることが報告されている(野田1971)。本研究のワカメにおいても色落ちしたワカメは商品価値が乏しい。色落ちしたワカメはアサクサノリと同様に正常な藻体に比べてタンパク質が少なく、炭水化物が多いと考えられる。

乾ノリにおいても価格が高く評価が高いものほど遊離アミノ酸総量が多くなること(吉江ほか1993)、高価な乾ノリほどタウリン, アラニンが多く、アミノ酸総量が多くなること(玉野ほか1992)が報告されている。また、ワカメと同じ褐藻類のコンブにおいても全窒素, アミノ態窒素と価格, 品質の間に著しい相関があることが報告されている(大石ほか1961a)。ただし、コンブの主要なアミノ酸はグルタミン酸, アスパラギン酸, アラニン, プロリンで、アスパラギン酸とグルタミン酸は品質と正の相関が、アラニンとプロリンは負の相関があることが報告されている(大石ほか1961b)。

本研究の正常なワカメの遊離アミノ酸についてはタウリンは調べられていないが、色落ちしたワカメに比べてアラニンおよびアミノ酸総量が多いことがわかった。ワカメについてもコンブ同様に全窒素とアミノ態窒素と品質の間に相関があることは一致するが、アミノ酸組成がワカメとコンブで異なり、個々のアミノ酸と品質の関係についてはコンブと異なる様相を呈した。

アサクサノリの呈味アミノ酸としてはグルタミン酸が重要な役割を果たし、特に甘味にはアラニンが重要な役割を果たしていることが報告されていることから(土屋, 鈴木1955)、ワカメにおいても遊離アミノ酸を調べることによって品質評価が可能と考えられる。

最後に今回の正常なワカメと色落ちしたワカメの一般成分と遊離アミノ酸の分析結果から、ワカメの生育には窒素代謝, とりわけ遊離アミノ酸が重要な役割を果たしていることが明らかになった。また、色落ちしたワカメの色彩のみならず、栄養や味にも影響を及ぼしていることが示された。

しかしながら、今回の結果は、わずか1個体のワカメを調べたもので、しかも軽度の色落ちのみを調べたものである。本来なら、栄養塩収支を明らかにしつつ、重度の色落ちしたワカメやより多くの品種や産地が異なる正常なワカメの一般成分と遊離アミノ酸を収穫時期毎に調べて、品質と漁場環境の関係について比較検討する必要がある。

#### 謝 辞

本研究のワカメの培養, 計測等に御尽力いただいた

徳島県立農林水産総合技術支援センター水産研究課の平野匠主任, ワカメフリー配偶体の培養, 種苗生産に御協力いただいた同主任棚田教生博士に記して謝意を申し上げます。

#### 文 献

Gerard, V. A. (1982) : Growth and utilization of internal nitrogen reserves by the giant kelp *Macrocystis pyrifera* in a low-nitrogen environment. *Mar. Biol.*, **66**, 27-35.

池脇義弘, 牧野賢治, 西岡智哉, 平野 匠, 上田幸男 (2016) ゼラチンを用いた藻類養殖用施肥剤の開発. *日本水産学会誌*, **82**, 917-922.

牧野賢治・棚田教生 (2015) ワカメの色落ち現象機構の解明と対策. 平成26年度海面養殖業振興対策事業のうち新たなノリ色落ち対策技術開発のうち「沿岸海域の栄養塩管理技術の開発委託事業」成果報告書, 66-76.

牧野賢治, 住友寿明, 中西達也, 加藤慎治, 平野匠, 上田幸男 (2015) 養殖ワカメの色落ちのメカニズムと対策. *海洋と生物*, **218**, 254-260.

三好順也, 高橋 暁, 三島史 (2012) 備讃瀬戸における栄養塩動態とノリ養殖被害との関係. *陸水学雑誌*, **73**, 199-206.

村山史康, 清水泰子, 高木秀蔵 (2015) 岡山県ノリ漁場における栄養塩濃度とノリの色調および乾海苔単価との関係. *日本水産学会誌*, **81**, 107-114.

中西達也, 棚田教生 (2012) ワカメの色落ち現象機構の解明と対策. 平成23年度海面養殖業振興対策事業のうち新たなノリ色落ち対策技術開発のうち「沿岸海域の栄養塩管理技術の開発委託事業」成果報告書, 56-75.

野田宏行 (1971) 海藻の生化学的研究 - . あさくさのりの品質と一般成分との関係. *日本水産学会誌*, **37**, 30-34.

奥村彩子, 田村祐子, 大石圭一, 村田喜一 (1962) 昆布の品質 - . 昆布葉体の厚みと全窒素との分布 *日本水産学会誌*, **28**, 1123-1127.

小野寺宗伸 (2007) ワカメ (*Undaria pinnatifida*) の成分と加工特性に関する研究. *東京水産大学大学院博士論文*, 1-98.

大石圭一, 田村祐子, 親松 厚, 金井英治, 奥村彩子, 村田喜一 (1961a) 昆布の品質 - . エキス全窒素およびアミノ態窒素との関係. *日本水産学会誌*, **27**, 598-600.

大石圭一, 田村祐子, 金井英治, 親松 厚, 奥村彩子, 村田喜一 (1961b) 昆布の品質 - . エキスのアミノ酸組成との関係. *日本水産学会誌*, **27**, 601-605.

大山憲一, 吉松定昭, 本田恵二, 安部享利, 藤沢節茂 (2008) 2005年2月に播磨灘から備讃瀬戸に至る香川県沿岸域で発生した大型珪藻 *Chaetoceros densus* のブルーム: 発生期の環境特性とノリ養殖への影響. *日本水産学会誌*, **74**, 660-670.

佐藤孜郎，佐藤美和，伊藤啓二，松本文夫(1959)アサクサノリの生化学的研究 - . 日本水産学会誌，**25**, 661-666.

住友寿明，加藤慎二(2011)ワカメの色落ち現象機構の解明と対策．平成22年度海面養殖業振興対策事業のうち新たなノリ色落ち対策技術開発のうち「沿岸海域の栄養塩管理技術の開発委託事業」成果報告書，78-81.

玉野まり子，北村廣志，佐々木裕，番場康夫，横山栄司，田中秀幸，野田宏行(1992)乾のりの品質評価．日食工誌，**39**，357-362.

土屋靖彦，鈴木芳夫(1955)アサクサノリの風味に就て - . 呈味アミノ酸中特にアラニン，グリシン含量に就て．日本水産学会誌，**20**, 1092-1098.

土屋靖彦，佐々木(1957)アサクサノリの風味に就て - . 呈味アミノ酸中特にアラニン，グリシン含量に就て．日本水産学会誌，**23**, 230-1098.

植木知佳，村上明男，加藤敏朗，嵯峨直恆，木村泰三(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．日本水産学会誌，**76**, 375-382.

吉江由美子，鈴木 健，白井隆明，平野敏行(1993)生産地ならびに価格の異なる乾のりの遊離アミノ酸および脂肪酸組成．日本水産学会誌，**59**, 1769-1775.

湯浅明彦，酒井基介，宮田 匠(1998)海域藻類養殖漁場環境調査．平成10年度徳島県水産試験場事業報告書，141-145.

