

フニエソ筋原繊維の脱水に伴う水の状態変化と タンパク質変性に及ぼすアルギン酸ナトリウムの添加効果

本村 宏,¹ 野崎 征宣²

(2000年6月16日受付, 2000年11月1日受理)

¹長崎県立大村城南高等学校, ²長崎大学水産学部

Effect of Sodium Alginate on Change in the State of Water and Protein Denaturation Accompanied with Dehydration of Fish Myofibrils

Hiroshi Motomura,^{1*} Yukinori Nozaki²

¹Omura-Jyonan Senior High School, Nagasaki 856-0835, ²Faculty of Fisheries, Nagasaki University, Nagasaki 852-8521, Japan

We added sodium alginate (Na-Alg) from three kinds of the brown algae to lizard fish myofibrils (Mf) and evaluated its effects on the state of water and the denaturation of Mf associated with dehydration.

Na-Alg had the effects of increasing the monolayer and multilayer water around Mf, decreasing water activity, and also had inhibitory effects on Mf dehydration. The inhibitory effects were markedly correlated with the state of the water.

These results suggested that Na-Alg inhibits dehydration-induced denaturation of Mf by stabilizing water around Mf.

キーワード：アルギン酸ナトリウム, 筋原繊維, ヒジキ, ワカメ, コンブ, 変性, 水分活性

アルギン酸（以下、本文中 Alg と略記）は、主として褐藻類の細胞壁に存在している多糖類であり、Alg およびその塩類は、食品、繊維、化粧品、医療・医薬などの分野で広く利用されているが、食品分野においては起泡あるいは乳化安定性、凝集性、保水性、ゲル化性などの特性が活用されている。¹⁾ 近年、食品に対する健康志向などの関心の高まりから、食品に疾病の防止と回復、生体防御や老化防止などの機能性を賦与した、いわゆる機能性食品の研究が推進されており、食物繊維である Alg およびその塩類についても人体に対する種々の効果に関する研究が進展している。²⁾

一方、従来から、魚肉の加工貯蔵の一つの方法として乾燥（脱水）が行われている。しかし、肉中の水はタンパク質の構造維持と機能の発現に密着に関係しているため、³⁻⁶⁾ 脱水により肉質は著しく変化し、保水性の低下やタンパク質の不溶化が引き起こされる。^{7,8)} それ故、種々の魚肉の脱水変性に対する変性抑制物質の探索が行われ、糖類、⁹⁻¹³⁾ アミノ酸、¹⁴⁾ 有機酸、リン酸塩^{11,13)} などが有効であることがみいだされた。アルギン酸ナトリウ

ム（以下、本文中 Na-Alg と略記）は多糖類であることから、Na-Alg は魚肉タンパク質の変性抑制効果あるいは保水性などを有すると推察されるが、これに関する研究例はほとんどみられない。他方、食品中の水の易動度を表す指標の一つとして水分活性 (Water activity, Aw) があり、Aw は食品の保水性に深く関与している。また、最近、食品は Aw に基づいて低水分 (Aw 0.2 以下)、中間水分 (Aw 0.2~0.85) および高水分 (Aw 0.85 以上) 食品に分類されており、特に食品の保存性や食感などが良好とされる Aw 0.6~0.85 の範囲にある食品、いわゆる中間水分食品の開発が行われているが、食品をその Aw 域に移行するためには、水分の脱除あるいは Aw 低下剤（保湿剤）の添加が行われる。後者の場合、脱水により Aw を下げるのではなく、Aw 低下剤の添加により食品中の水の易動度を低下させることで保存性を高めることを目指すものであり、しかも、食品として、官能性、安定性、さらに安全性の面も考慮した天然物由来保湿剤の探索が望まれている。¹⁵⁾

本研究では、長崎県産のヒジキ、ワカメおよびコンブ

* Tel : +81-957-54-3121, Fax : +81-957-27-3056, E-mail : jnan-h@edu-c.pref.nagasaki.jp

から Na-Alg を抽出して魚類筋原繊維（以下、本文中 Mf と略記）に添加し、脱水収着等温線から水の状態を分析し、さらに Mf Ca-ATPase 活性を指標としたタンパク質の変性との関連を検討して、魚肉タンパク質の脱水変性に対する Na-Alg の効果並びに作用機構を明らかにすることを目的とした。

実験方法

試料 ヒジキ *Hizikia fusiformis* は長崎県五島列島近海で加熱後乾燥したもの、ワカメ *Undaria pinnatifida* およびコンブ *Laminaria japonica* は長崎県島原地方で採取した生鮮のものを入手した。ワニエソ *Saurida wanieso* は長崎魚市場から新鮮なものを入手した。

アルギン酸ナトリウムの調製 Na-Alg の調製は、Haug らの方法¹⁶⁾を用いた。まず、試料を凍結乾燥後、粉碎した。試料に 20 倍量の 0.2 N NH_2SO_4 を加え、攪拌しながら 24 時間室温で浸漬し、塩類その他の可溶性不純物を除去した。24 時間後、試料を集め中性となるまで蒸留水で十分洗浄した。次に 20 倍量の 1% Na_2CO_3 を加え、24 時間室温で攪拌し、Alg を可溶性 Na 塩として抽出した。これらを布で濾過し、遠心分離 ($5,000 \times g$, 10 min) を行い、得られた沈殿に 0.1 M NaCl を加えて溶解させ、1% Na_2CO_3 で pH 7.0 に調整した。溶液を活性炭を用いて吸引濾過し、脱色させた。それらに等量のエタノールを加え、遠心分離 ($5,000 \times g$, 10 min) した。その沈殿物にエタノールを加え、遠心分離 ($5,000 \times g$, 10 min) して洗浄した。得られた沈殿物のエタノールをロータリーエバポレーターを用いて除去し、その後凍結乾燥させて粉末状にしたものを Na-Alg とした。ヒジキ、ワカメおよびコンブ由来の Na-Alg の純度は、それぞれ 99.39%, 98.53% および 98.98% であった。

アルギン酸ナトリウムの物理化学的性質 Na-Alg の平均分子量および平均重合度は、Hatanaka ら¹⁷⁾の方法に準じて測定した。

Na-Alg のマンヌロン酸 (M) とグルロン酸 (G) の構成比 (M/G 比) は、円偏光二色性スペクトル分析による Morris ら¹⁸⁾の方法に従って求めた。

筋原繊維の調製 Mf の調製は、加藤ら¹⁹⁾の方法に準じて行った。新鮮なワニエソの筋肉を細切したのち、5 倍量の 0.1 M KCl-20 mM Tris-maleate 緩衝液 (pH 7.0) で 3 回攪拌洗浄した。次に 3 倍量の同緩衝液を加え泡止め式ブレンダーでホモジナイズ (10,000 rpm, 90 s) したのち、ナイロンネット (#16) を通過させて結合組織を除去した。次に 20% Triton X-100 溶液を終濃度が 1% になるように加え、30 分間放置後、遠心分離 ($750 \times g$, 10 min) した。沈殿に 5 倍容の同緩衝液を加えて攪拌後、再び遠心分離を行って沈殿を洗浄する操作を 4 回繰り返した。さらに、著者らは沈殿中の緩衝液

由来の塩類をできるだけ除くため、沈殿に 5 倍量の冷蒸留水を加えて、攪拌洗浄したのち遠心分離 ($5,000 \times g$, 10 min) を行い、上澄を除いた。さらに過剰の水を除去するために遠心分離 ($12,000 \times g$, 20 min) し、得られた沈殿を Mf 試料とした。なお、これらの操作はすべて低温 (約 5°C) 下で行った。Mf 試料中の一般成分は、水分 89.0%, 粗タンパク質 10.5%, 粗脂肪 0.04%, 粗灰分 0.43% であった。

アルギン酸ナトリウムの添加並びに脱水処理 Mf を乳鉢にとり、Mf 100 g に対して Na-Alg を 6% (乾燥重量換算) 添加し、0.01 N NaOH あるいは 0.01 N HCl で pH 7.0 に調整したのち、約 5°C に冷却しながら 5 分間混合した。これをセロハン袋に密封し、デシケーター中のシリカゲルに埋没し、低温 (約 5°C) 下で時々シリカゲルを交換して脱水した。なお、水分含量約 10% となったのちは真空デシケーターを用い、減圧下でさらに脱水した。Na-Alg 無添加の Mf を対照とし、同様の操作を行った。なお、対照および Na-Alg 添加区の脱水処理時間は、Aw 0.70 (水分約 30%) 付近までは両者ともに約 18 時間、Aw 0.70~0.10 (水分約 30~10%) までは、前者は約 14 時間、後者は約 22 時間を要した。

水分活性および水分含量の測定、並びに脱水収着等温線の解析 脱水過程中的 Mf を順次にとり、Aw をオイルマノメーターを介した間接平衡蒸気圧法²⁰⁾で測定 (20°C) した。また、試料の水分含量 (以下、W と略記) は 105°C における常圧加熱乾燥法で測定した。

脱水収着等温線は 20°C における Aw に対して W をプロットして作成した。得られた脱水収着等温線より、BET 式²¹⁾による解析から脱水収着等温線上の変曲点 M_1 を求め、この時の水分量を単分子層収着水量とした。また、Bull²²⁾の報告に従って (W/Aw)-Aw 変曲点を M_2 とし、この時の水分量を多分子層収着水量 M_2 とした。Mf 試料の吸着面積 (S) は、次式²³⁾により求めた。 $S = M_1 \cdot Sw \cdot N / (Wm \cdot 10^3)$, ここで S は収着水分 1 mg 当たりの収着面積 (m^2/mg), M_1 は単分子層収着水量, Sw は水分子の断面積 (10.8 \AA^2), N はアボガドロ数 ($6.02 \times 10^{23}/\text{mol}$), Wm は水の分子量 (18 g/mol) である。

筋原繊維 Ca-ATPase 活性の測定 脱水過程中的 Mf に対して 30 倍量の 0.1 M KCl-20 mM Tris-maleate 緩衝液 (pH 7.0) を加えて約 5°C 下で一夜復水させたのちホモジナイズ (日音医理科器械製作所製ヒストロン NS560 型, 約 1,000 rpm) し、遠心分離 ($750 \times g$, 10 min) を行った。さらに沈殿を同緩衝液に懸濁し、Mf Ca-ATPase 比活性を測定した。¹⁹⁾ Mf Ca-ATPase 比活性は、終濃度 100 mM KCl, 5 mM CaCl_2 , 25 mM Tris-maleate (pH 7.0), 1 mM ATP, Mf 0.2-0.4 mg の存在下 25°C で反応させたのち、終濃度が 5% となるようにトリクロロ酢酸を加えて反応を停止させ、遊離する無機リ

ン酸量を比色定量²⁴⁾して求めた。Mf タンパク質の定量は牛血清アルブミン (フラクション V) を標準としてビウレット法²⁵⁾で行った。なお、用いた牛血清アルブミンの純度はケルダール法によって補正した。

結 果

アルギン酸ナトリウムの平均分子量、平均重合度および M/G 比の分析 Na-Alg の平均分子量、平均重合度および M/G 比の測定結果を Table 1 に示した。ヒジキ Na-Alg は、ワカメ Na-Alg およびコンブ Na-Alg より平均分子量、平均重合度および M/G 比は、いずれも小さかった。

本研究で得た Na-Alg の平均分子量および M/G 比を既往の報告²⁶⁾と比較すると、前者は、ヒジキでは約 1/5、ワカメでは約 1/2、コンブでは約 1/4 であったが、後者はいずれもほぼ同じ値であった。

アルギン酸ナトリウム添加筋原繊維の脱水収着等温線 脱水過程の Na-Alg 添加 Mf 試料の A_w (20°C) を W に対してプロットして得た脱水収着等温線を Fig. 1 に示した。なお、無添加のものを対照として示した。Fig. 1 によると、対照および Na-Alg 添加区の脱水収着等温線はいずれも A_w 0.04~0.20 と 0.50~0.70 に変曲点をもつ逆 S 字曲線 (シグモイド曲線) を示した。この曲線について、同一 W における A_w の関係をみると、対照と比較して、ヒジキ Na-Alg、ワカメ Na-Alg およびコンブ Na-Alg 添加区では、いずれも A_w 0.95 以下で A_w の顕著な低下が認められた。また、ヒジキ Na-Alg 添加区の A_w は、 A_w 0.7 以下では、ワカメ Na-Alg およびコンブ Na-Alg 添加区に比べて高かったが、 A_w 0.7 以下の領域では、後 2 者より低くなった。次に、これらの脱水収着等温線から M_1 および M_2 、 M_2/M_1 並びに S を求めた。それらの結果を Table 2 に示した。Na-Alg 添加区の M_1 および M_2 は、いずれも対照のそれと比べて大きかった。Na-Alg の種別効果をみると、ヒジキ Na-Alg の M_1 は、コンブ Na-Alg 添加区のそれよりも大きく、ワカメ Na-Alg 添加区のそれとはほぼ同程度であった。また、ヒジキ Na-Alg 添加区の M_2 は、コンブ Na-Alg 添加区より大きく、ワカメ Na-Alg 添加区より小さかった。次に、Bull²²⁾が求めた各種タンパク質の M_1 と M_2 の比 (M_2/M_1) は 1.5~2.0 の範囲であり、本実験の結果のそれも 1.83~2.52 を示しており、ほぼ一致がみられた。また、 S は M_1 と同様の傾向が認められた。

脱水変性に及ぼすアルギン酸ナトリウムの影響 各種 Na-Alg を添加した Mf の脱水に伴う変性を Mf Ca-ATPase 活性を指標として検討した。脱水前の Mf 試料の Mf Ca-ATPase 活性値に対する相対値を A_w に対してプロットし、Fig. 2 に示した。

Table 1. Average molecular weight (\overline{M}_n), average degree of polymerization (\overline{DP}), and M/G ratio of sodium alginate from hijiki, wakame and konbu

| | \overline{M}_n | \overline{DP} | M/G |
|--------|------------------|-----------------|------|
| Hijiki | 20.342 | 103 | 1.68 |
| Wakame | 44.834 | 226 | 2.19 |
| Konbu | 44.363 | 224 | 2.05 |

M/G, Mannuronic acid: guluronic acid ratio.

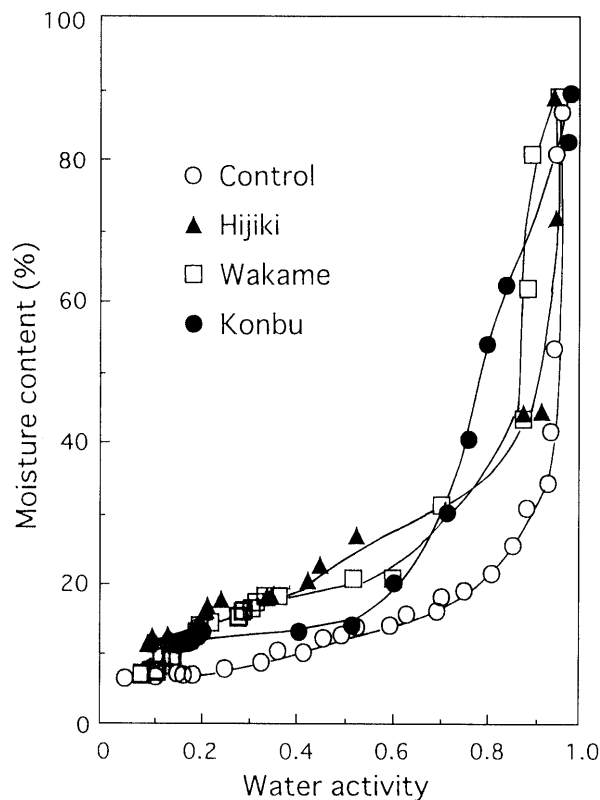


Fig. 1. Effect of sodium alginate (Na-Alg) on desorption isotherms of lizard fish myofibrils at 20°C. Na-Alg added is 6 g (dried matter) to 100 g of myofibrils. Control is myofibrils in the absence of Na-Alg.

対照は A_w 0.7 までに、Mf Ca-ATPase 活性の約 90% が失活するという急激な低下がみられ、さらに A_w 0.7 以下では Mf Ca-ATPase 活性は除々に低下した。これに対して、Na-Alg 添加区では、いずれの添加区も Mf Ca-ATPase 活性は A_w の低下に伴って毛管凝縮域 (M_2 より高 A_w 域) から多分子層域 ($M_1 \sim M_2$) にかけて徐々に低下するが、その程度は対照に比べて小さかった。同一 A_w における Mf Ca-ATPase 活性をみると、Na-Alg 添加区は、全 A_w 域で対照に比べて高かった。特に、ヒジキ Na-Alg 添加区の活性は、ワカメ Na-Alg 添加区およびコンブ Na-Alg 添加区に比べて著しくゆる

Table 2. A comparison of the amount of monolayer water estimated by BET analysis, monolayer water estimated by Bull's analysis and sorption surface area from desorption isotherm at 20°C for lizard fish myofibrils added 6% of various sodium alginates

| System | Monolayer Water (M_1) | | Multilayer Water (M_2) | | M_2/M_1 | S^{*1} |
|---------|---------------------------|---------------------|----------------------------|---------------------|-----------|----------|
| Control | 6.5 ^{*2} | 0.069 ^{*3} | 16.4 ^{*2} | 0.196 ^{*3} | 2.52 | 0.24 |
| Hijiki | 13.5 | 0.156 | 24.8 | 0.329 | 1.83 | 0.55 |
| Wakame | 12.3 | 0.141 | 26.0 | 0.351 | 2.11 | 0.49 |
| Konbu | 9.7 | 0.107 | 18.0 | 0.219 | 1.85 | 0.38 |

*¹ Sorption surface area (m²/mg) of sample.

*² Moisture content (g/100 g of sample).

*³ Moisture content (g/g of dried matter).

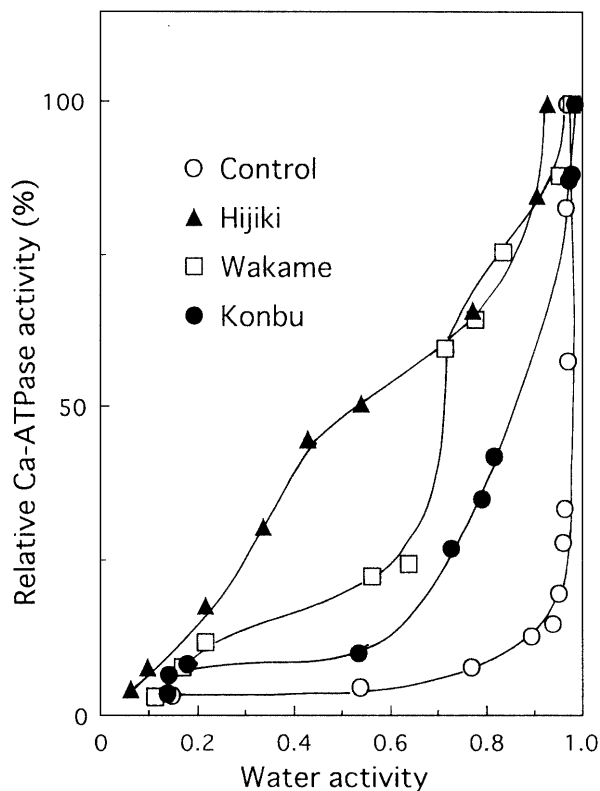


Fig. 2. Effect of sodium alginate (Na-Alg) on change in myofibrillar Ca-ATPase activity of lizard fish myofibrils during dehydration process. Ca-ATPase activity of the myofibrils during dehydration process indicated as a relative (%) to that before dehydration.

やかな活性の低下が認められた。また、ワカメ Na-Alg 添加区の活性は、コンブ Na-Alg 添加区のそれに比べほぼ全 A_w 域で高かった。言い換えると、Na-Alg 添加区は対照と同じ A_w ，すなわち水の易動度が同じ領域で Mf の変性の程度が対照と比べて小さいことを示している。

以上のように、脱水に伴う Mf Ca-ATPase 活性の失活に対する抑制効果には Na-Alg の種類によって相違がみられたが、Mf Ca-ATPase 活性に与える効果と前述の脱水収着等温線の変化に与える効果は関連性を有することが示唆された。すなわち、Na-Alg 添加 Mf では、 A_w 0.7 以下の毛管凝縮域 Na-Alg あるいは多分子および単分子域において、 A_w の大きな低下をもたらす Na-Alg 添加区ほど高い Mf Ca-ATPase 活性を保持した。

考 察

脱水に伴う Mf の変性抑制効果に及ぼす各褐藻類の Na-Alg の影響を脱水収着等温線の解析から検討した。本実験結果のエソ Mf および各種 Na-Alg 添加 Mf の脱水収着等温線の形状は、種々の条件、例えば、試料の pH，イオン強度などにより変化し、またタンパク質の性状によって異なることが知られている²⁷⁾が、本実験結果のエソ Mf ではホッケ肉²⁸⁾、コイアクトミオシン²⁹⁾および晒肉²⁷⁾、碎肉²⁷⁾について得られたものと同じ形状をしており、柴崎ら³⁰⁾の分類によるタンパク食品の曲線の B 型に属するものであった。

タンパク質分子の構造の維持と機能の発現には、分子内水素結合などと共に、非極性基間の疎水結合や極性基間の種々の型の水和が重要な役割を果たしていると推定されている。脱水はまずタンパク質の水和あるいは疎水結合の崩壊および分子内水素結合の攪乱を引き起こし、さらにタンパク質の形態の破壊、構造上の再配列をまねく。従って、脱水によるタンパク質の変性抑制のため、種々の変性抑制物質を添加し、その効果に関する研究がなされてきた。その中で、タンパク質の脱水変性に対する糖類の抑制効果については、カタラーゼ、³¹⁾ 卵アルブミン、³¹⁾ ミオシン、^{9,10,31,32)} アクトミオシン、³³⁾ 筋原繊維、^{11,34)} 魚肉^{13,35,36)} を用いて検討した報告があり、その効果は糖の種類により差異がみられるが、単糖類であるグルコース、2 糖であるシュクロースなどで大きな効果が認められている。本研究では、シリカゲルを用いた脱水による魚類 Mf の変性に対する Na-Alg の変性抑制効果を水の状態との関わりで検討した。本実験結果が示すように、脱水に伴う Mf Ca-ATPase 活性の失活に対する抑制効果は Na-Alg の由来によって相違するが、Na-Alg の Mf Ca-ATPase 活性と脱水収着等温線の変化に与える効果は、同じ傾向を示した。すなわち、ヒジキ、ワカメおよびコンブの 3 種の Na-Alg の変性抑制効果は、ヒジキ Na-Alg が顕著な抑制効果を示し、ワカメ、コンブ Na-Alg が、これに次ぐというように類別できた。そして、Mf の脱水変性に対する抑制効果が大きな Na-Alg ほど、 A_w の大きな低下効果を有し、 M_1 および M_2 を多くしていることが認められた。言い換えると、Na-Alg 添加区は対照と同じ A_w ，すなわち水の易動度

が同じ領域にあっても、対照と比べて収着水量が多く、このことは Na-Alg の水の束縛効果を有することを示している。以上の結果は、Na-Alg と Mf 混合系の水と考えられる。すなわち、脱水収着等温線は Mf と水との相互作用のみならず Na-Alg と水との相互作用も反映していると考えられる。このことから、Mf に対する Na-Alg の保護機構としては、Na-Alg が Mf タンパク質周囲で水を捕捉して、水の構造を安定化し、その結果として Na-Alg が Mf の脱水変性を抑制しているという Mf-水-Na-Alg の三者間の相互作用が予想される。Alg は D-マンヌロン酸 (M) と L-グルロン酸 (G) から構成される多糖類であり、その分子量や M/G 比あるいは M および G の配列様式は褐藻類の種類、部位、採取季節や場所、あるいは抽出方法、測定方法などで変動することが知られている。^{1,2)} 本研究で用いた Na-Alg は分子量が小さく低分子化していると推察され、この原因について上述のいずれかに起因するものと考えられるが特定できない。また、Mf に対する Na-Alg の水和効果や変性抑制効果は、構造中の OH 基などの親水基との作用によるものと考えられ、さらに、それらの効果は Na-Alg の分子量や M/G 比などの物理化学的特性とも深く関与するものと考えられるが、本実験結果から十分な説明ができず、今後の検討課題である。最近、食品に対する天然志向が高まっていることから、天然物由来である Na-Alg は食物繊維を始めとする機能性の優れた食品素材として広範な利用が注目されている³⁷⁾が、本実験結果が示すようなタンパク質変性抑制効果という機能性も今後の活用が示唆される。

文 献

- 小林良生. アルギン酸の製造および利用工業. 「海藻の科学」(大石圭一編) 朝倉書店, 東京, 1993; 187-193.
- 辻 啓介. アルギン酸, 低分子アルギン酸. 「食物繊維の科学」(辻 啓介・森 文平編) 朝倉書店, 東京, 1997; 60-67.
- Kauzman W. Some factors in the interpretation of protein denaturation. *Adv. protein Chem.* 1959; **14**: 1-63.
- Nemethy G, Scheraga HA. The structure of water and hydrophobic bonding in proteins-I. *J. Chem. Phys.* 1962; **36**: 3382-3400.
- Nemethy G, Scheraga HA. The structure of water and hydrophobic bonding in proteins-II. *J. Chem. Phys.* 1962; **36**: 3401-3417.
- Nemethy G, Scheraga HA. The structure of water and hydrophobic bonding in proteins-III. *J. Phys. Chem.* 1962; **66**: 1773-1789.
- 右田正男, 松本重一, 最首とみ子. 乾燥による魚肉蛋白質の変性について. 日水誌 1956; **22**: 433-439.
- 鈴木たね子. 脱水中に伴う魚肉たん白の変性. 日食工誌 1971; **18**: 167-171.
- Hashimoto Y, Yasui T. Protective effect of some neutral solutes on the inactivation of myosin A-adenosine-triphosphatase. *Nature*. 1966; **211**: 194-195.
- Yasui T, Hashimoto Y. Effect of freeze-drying on denaturation of myosin from rabbit skeletal muscle. *J. Food Sci.* 1966; **31**: 293-299.
- 松田由美子. 凍結乾燥筋原繊維タンパク質の変性に及ぼすスクロースの影響. 日水誌 1979; **45**: 573-579.
- 松田由美子. 凍結乾燥筋原繊維タンパク質の変性に及ぼすソルビトールの影響. 日水誌 1979; **45**: 581-584.
- 仁木 弘, 五十嵐清一郎. 鮮魚活性肉粉末 (AFPP) の鮮肉性におよぼす製造上の諸要因. 日水誌 1982; **48**: 1133-1137.
- 松田由美子. 凍結乾燥筋原繊維タンパク質の変性に及ぼすグルタミン酸ナトリウムの影響. 日水誌 1979; **45**: 733-736.
- Troller JA, Christion JHB. 水分活性の基本的概念. 「食品と水分活性」(平田 孝, 林 徹訳) 学会出版センター, 東京, 1981; 1-14.
- Haug A. Alginic acid. In: Whistler RL (ed) *Methods in Carbohydrate Chemistry* Vol. 5, Academic Press, New York, 1965; 69-63.
- Hatanaka C, Kobara Y. Determination of glucose by a modification of Somogyi-Nelson Method. *Agric. Biol. Chem.* 1980; **44**: 2943-2949.
- Morris ER, Ress DA, Thom D. Characterization of alginate composition and block-structure by circular dichroism. *Carbohydr. Res.* 1980; **81**: 305-314.
- 加藤 登, 内山 均, 塚本志郎, 新井健一. 魚類筋原繊維 ATPase の生化学的研究. 日水誌 1977; **43**: 857-867.
- 秋場 稔. 水分活性の測定. 「水産生物化学・食品学実験書」(斎藤恒行, 内山 均, 梅本 滋, 河端俊治編) 恒星社厚生閣, 東京, 1974; 341-351.
- Brunauer S, Emmet PH, Teller W. Adsorption of gases in multimolecular layers. *J. Am. Chem. Soc.* 1938; **60**: 309-319.
- Bull HB. Adsorption of water vapor by proteins. *J. Am. Chem. Soc.* 1944; **66**: 1499-1507.
- 関田吉泰. 気体吸着による表面積決定法. 「高分子と水」(宮部 宏, 岸本 昭, 仲川 勤編) 幸書房, 東京, 1972; 29-30.
- 新井健一. 魚類筋肉タンパク質の特性の測定. 「水産生物化学・食品学実験書」(斎藤恒行, 内山 均, 梅本 滋, 河端俊治編) 恒星社厚生閣, 東京, 1974; 189-202.
- 梅本 滋. タンパク質の迅速定量. 「水産生物化学・食品学実験書」(斎藤恒行, 内山 均, 梅本 滋, 河端俊治編) 恒星社厚生閣, 東京, 1974; 203-217.
- 五十嵐美貴. 数種の海藻から分離したアルギン酸の化学構造に関する研究. 修士論文, 長崎大学, 長崎, 1994.
- 秋場 稔. たんぱく質変性と水分活性. 「食品と水」(日本水産学会編) 恒星社厚生閣, 東京, 1973; 101-116.
- Akiba M. Studies on bound water in fish muscle. *Mem. Fac. Fish. Hokkaido Univ.* 1961; **9**: 85-179.
- 中野 広. たんぱく質食品の水分活性よりみた品質安定性に関する研究. 博士論文, 北海道大学, 1973.
- 柴崎一雄, 大谷史郎, 深野駿一. 食品の凍結および凍結乾燥に関する研究 (第6報). 日食工誌 1967; **14**: 298-303.
- 花房尚房. 凍結乾燥による酵素蛋白の変性 I. 低温科学 1969; **B27**: 11-22.
- 花房尚房. 酵素蛋白の凍結乾燥における保護物質の役割. 低温科学 1974; **B32**: 1-8.
- 新井健一, 高橋英明, 斎藤恒行. 魚類筋肉構成たんぱく質に関する研究-III. 日水誌 1970; **36**: 232-236.
- 松田由美子. 凍結乾燥筋原繊維タンパク質の変性に及ぼす各種糖の影響. 日水誌 1979; **45**: 737-743.

- 35) 上岡康達, 岡 弘康, 末光栄充, 杉本 剛. 凍結乾燥魚肉に関する研究 (第5報). 日食工誌 1966; **13**: 475-480.
- 36) 神名孝一, 桜庭正広, 相原康行. 魚肉たん白の乾燥変性について-V. 東海区水産研究所報告 1974; **77**: 69-76.
- 37) 西澤一俊, 村杉幸子. 主な海藻多糖類. 「海藻の本」, 研成社, 東京, 1988; 23-30.