海苔微粉末加熱物が食事脂質吸収に及ぼす影響

友 寄 博 子,^{1*} 大田黒香織,¹ 近 藤 昌 次,²
嶋 田 浩 美,¹ 外 村 彩 夏,¹ 浅 川 牧 夫³

(2016 年 10 月 23 日受付, 2017 年 3 月 28 日受理, 2017 年 6 月 21 日 J-STAGE 早期公開)

¹熊本県立大学環境共生学部食健康科学科, ²NPO 法人熊本県産業促進協会, ³NPO 法人植物資源の力Effect of heated *Porphyra yezoensis* powder on lipid absorptionHIROKO TOMOYORI,^{1*} KAORI OTAGURO,¹ SHOJI KONDO,² HIROMI SHIMADA,¹
AYAKA HOKAMURA¹ AND MAKIO ASAKAWA³¹Department of Food and Health Sciences, Faculty of Environmental and Symbiotic Science, Prefectural University of Kumamoto, Higashi-ku, Kumamoto, 862-8502, ²Kumamoto Industrial Promotion Association, Chuo-ku, Kumamoto, 860-0812, ³NPO-Nobel Application of Plant Resources, Minamata, Kumamoto 867-0034, Japan

Porphyra yezoensis (nori) is consumed as part of the traditional Japanese diet, and some studies have reported antihyperlipidemic effects associated with it. However, there has been no demonstration of the effects of nori on lipid absorption in a rat model. The triglyceride concentration of the serum of rats that were administered nori powder heated with oil (NARO) was higher than that of the control rats in the present study. The present study was undertaken to clarify the lipid proabsorptive effect of NARO. The results showed that nori boiled water extract and 75% ethanol extract did not promote pancreatic lipase activity. A polyethylene glycol solution with the same viscosity as NARO did not promote lipid absorption in the rat serum, and the lipid particle size of NARO was not smaller than that of other foods such as milk. Based on these facts, the reason contributing to the lipid proabsorptive effect of NARO remains unclear.

キーワード：海藻，吸収，脂質，海苔，ラット

日本沿岸海域の浅海で栽培されているスサビノリ *Porphyra yezonesis* (海苔) は、板海苔に加工されて食用として広く利用されている。日本一の海苔生産地である有明海は、全国の板海苔収穫量の 56% を占めているが、¹⁾ 海苔の消費量の停滞や生産者の高齢化や後継者の減少による廃業が課題となっている。²⁾ 海苔は古来より日本人に食されてきた食材であるが、その機能性については未解明な部分が多くあり、海苔の付加価値を高めるためにもさまざまな研究が続けられている。^{3,4)} 海苔およびその由来成分の脂質代謝に及ぼす影響については、血中のコレステロール・中性脂肪低減効果、⁵⁾ 胆汁酸吸着作用⁶⁾ などが報告されており、高脂血症の予防に利用可能な素材として期待されているが、実験動物で食事脂質の吸収を直接評価した報告はない。そこで本研究では、海苔微粉末ならびにその加熱物の食事脂質吸収に及ぼす

影響について検討を行ったので報告する。

材料と方法

実験試料 実験試料には、有明産スサビノリを乾海苔に加工したものを用い、この微粉末物を坂田ら⁷⁾の方法で、熱水抽出して得られた上清 (NE) にエタノールを添加し、エタノール濃度が 75% となるように調整後、その沈殿画分 (NP) と非沈殿画分 (NS) とに分けた (Fig. 1a)。スサビノリの微粉末化の方法は、乾海苔および焼海苔に加工した板海苔をマイクロパウダー G015 (有限会社ウエスト) で平均粒径を 18 μm 以下にした。このようにして調整した焼海苔微粉末 3.5 g とナタネ油 (ナカライテスク株式会社) 6.5 g をナイロンポリ袋 (ナイロンポリ R タイプ No. 14CA 210 mm $\times$ 320 mm, 福助工業株式会社) に入れて密封した後に、120°C, 20 分

Fig. 1 Flowcharts for (a) nori extraction and fractionation method and (b) NARO preparation method.

の条件でオートクレーブ (HA-240M, 株式会社平山製作所) にて加熱した (Fig. 1b)。この試料を以下 NARO (Nori and rapeseed oil) とした。

供試動物 実験動物には、九動株式会社より購入した 10–12 週齢のウィスター系雄性ラットを用い、室温 23 °C、12 時間のライトサイクルで飼育した。予備飼育は一週間行い、固形飼育用飼料 CE-2 (日本クレア株式会社) を自由摂取させ、自由飲水とした。本動物実験は、熊本県立大学動物実験委員会の承認を受けて実施した。

方法 腭リパーゼ活性に及ぼす影響は、北川ら⁸⁾の方法を用いて上述の方法で調製した実験試料 (NE, NP, NS) を用いて行った。

脂質負荷試験は以下の通り行った。動物は 3 群に分け、海苔試料は蒸留水に懸濁した後に、NARO 群では NARO が 800 mg/kg 体重、乾海苔群はこれと同量になるように乾海苔微粉末を水に懸濁した溶液、コントロール群には蒸留水を経口投与した。調製した試料は北川ら⁸⁾の方法により作製したナタネ油を使用した脂質エマルジョンと混合し、一晚絶食させた供試動物に 8.57 mL/kg 体重となるように投与した。なお、すべての群で脂質投与量および蒸留水が同量になるように調整した。投与後、経時的に 5 時間まで尾静脈採血を行い、血清中の中性脂肪濃度を測定した。次に、投与試料をエマルジョンではなく油脂で投与しても同様の結果を得られるかについて試験するために、コントロール群と NARO 群の 2 群で脂質負荷試験を行い、血中中性脂肪

値を比較した。さらに、NARO 試料は水に懸濁すると粘性を示すことから、粘度が脂質吸収に及ぼす影響についても検討するために、NARO 試料と同程度の粘度を示す溶液をポリエチレングリコール (PEG, PEG2000, ナカライテスク株式会社) を用いて調整し、3 群に分けて脂質負荷試験を行った。試料の粘度測定は、回転粘度計を用いて測定し、NARO 試料が 151 mPa, PEG 溶液が 157 mPa であることを確認した。なお、すべての血中中性脂肪濃度は、トリグリセリド E-テストワコー (和光純薬工業株式会社) で測定した。

脂肪球サイズの測定には以下の試料を用いて行った。脂質負荷用エマルジョン、焼海苔微粉末とナタネ油混合物 (未加熱物)、焼海苔微粉末とナタネ油混合物 (加熱物)、焼海苔微粉末とトリオレイン油混合物 (加熱物)、マヨネーズ (キューピー株式会社)、草原の季節牛乳 (雪印メグミルク株式会社)、みどり豆乳 (九州乳業株式会社)、母乳 (産後約 3 年、授乳中)。これらの試料についてオールインワン蛍光顕微鏡 BZ-9000 (株式会社キーエンス) で脂肪球を撮影した。撮影した画像の脂肪球数を脂肪球の大きさごとに 10 μ m 以下、10–100 μ m、100 μ m 以上に分けてカウントした。

統計解析 各測定値は平均値 $\pm$ 標準誤差で表示した。統計処理において、有意差検定をおこなう前に Bartlett の等分散検定によりデータの等分散性を確認し、非等分散であったものに関しては常用対数または平方根をとって等分散性を保った上で有意差検定を行った。有意差検定は、4 steps エクセル統計の Fisher's PLSD test, Student's *t*-test, により行った。また、 $p < 0.05$ をもって有意差ありと判定した。

結 果

NARO 試料の脂質負荷試験 血中トリグリセリド濃度を各群で比較したところ、NARO 群は他の 2 群に比べて、投与 60 分後および 120 分後で有意に高い値を示した (Fig. 2a)。また、脂質負荷試験で血中に輸送されたトリグリセリド量を曲線下面積 (AUC) で算出し、比較したところ 3 群間に有意な差は見られなかった (Fig. 2b)。このことから、NARO 試料は、脂質吸収を迅速に促進する可能性が示された。なお、この実験で用いた油脂は消化・吸収されやすいエマルジョンに加工して投与したことから、さらに脂質吸収促進作用を確認するために、油脂をエマルジョンに加工せず、そのまま投与し、同様の結果を示すかどうかについて検討した。その結果、先の実験結果と同様にコントロール群に比較して NARO 群で有意に高い結果を示した (Fig. 3a)。さらに、AUC においては先の実験と異なり、NARO 群で有意に高い値を示した (Fig. 3b)。

海苔成分の腭リパーゼ活性への影響 この NARO 試

Fig. 2 (a) Effect of nori powder and NARO on serum triglyceride concentrations during the oral lipid tolerance test. Lipid was administered in an emulsion. Data indicate mean $\pm$ SE from 6–7 rats in each group. Significantly different from NARO, * p < 0.05, ** p < 0.01. (b) AUC triglyceride concentrations during the oral lipid tolerance test. Lipid was administered in an emulsion. Data indicate mean $\pm$ SE from 6–7 rats in each group.

Fig. 3 (a) Effect of NARO on serum triglyceride concentrations during the oral lipid tolerance test. Data indicate mean $\pm$ SE from 10 rats in each group. Significantly different from control, * p < 0.05, ** p < 0.001. (b) AUC triglyceride concentrations during the oral lipid tolerance test. Data indicate mean $\pm$ SE from 10 rats in each group. Significantly different from control, * p < 0.05.

料投与によって血中中性脂肪濃度が高くなった原因を解明するために、まず脂質の消化・吸収に関与する膵リパーゼ活性に及ぼす海苔の影響を検討した。その結果、予想と反して、海苔熱水抽出物と75%エタノール不溶性画分で強く膵リパーゼ活性を阻害した (Fig. 4)。この結果から、本実験では膵リパーゼ活性を促進する成分を見出すことはできなかった。

脂質吸収への粘性の影響 海苔は水に膨潤すると粘性を示すことから、この粘性に着目し、この脂質吸収促進作用がNARO試料の流動性によるものかどうか検討を行った。その結果、NAROと同程度の粘性を示すPEGを投与した群では血中中性脂肪濃度が投与後60分において低い値を示したが (Fig. 5a), AUCには3群間で有意な差は見られなかった (Fig. 5b)。したがって、海苔の脂質吸収に及ぼす影響については、その流動性によ

Fig. 4 Effect of the extract of nori on pancreatic lipase activity. Data indicate mean $\pm$ SE from 3 times in each group. Significantly different from NE, * p < 0.01, ** p < 0.001. Significantly different from NP, † p < 0.001.

Fig. 5 (a) Effect of the viscosity of NARO on serum triglyceride concentrations during the oral lipid tolerance test. Data indicate mean $\pm$ SE from 9 rats in each group. Significantly different from NARO, * $p < 0.05$, ** $p < 0.001$. (b) AUC triglyceride concentrations during the oral lipid tolerance test. Data indicate mean $\pm$ SE from 9 rats in each group.

るものではない可能性が示された。

NARO 試料の脂肪球サイズ 牛乳は通常、殺菌の前に原料乳の脂肪球を機械によって細分化するが、均質化されることで消化・吸収も良くなることが知られており、母乳でも消化・吸収が未成熟な新生児期になるほど脂肪滴は小さいことが報告されている。⁹⁾ そこで、NARO 試料の脂肪球サイズを市販食品等と比較した。その結果、他の市販食品等と比較して NARO 試料が特に小さい脂肪球サイズを示していることはなかった (Figs. 6, 7)。

考 察

小林¹⁰⁾の報告によると海苔細胞の平均の大きさは 20–30 μm であり、糖質溶出量では、海苔微粉末が 30 μm までは直線的な増加を示し、それ以下の粒径ではさほど溶出量は増加しないこと、これと同様の傾向をメタノール抽出物を用いた抗酸化作用においても示したことなどを報告している。つまり、海苔を微細加工して細胞壁を破壊することで、海苔の有する栄養成分を効率よく活用

Fig. 6 Oil drops of NARO (a) and milk (b).

できることを示している。本実験では同様の効果を期待した加工食品を開発するために、海苔を 18 μm 以下に微粉末化することに加えて、油とオートクレーブ加熱することで、海苔に含まれる栄養成分だけでなく、機能性成分の吸収率向上の可能性について検討した。この試料の実験動物での評価として本研究では、脂質吸収に及ぼす影響について検討を行った。海苔は、先に示したように粉末を 28 日間投与すると正常ラットで血中中性脂肪値が有意に下がることが報告されている。⁵⁾ この実験は 5% 添加食を約 1 か月投与した結果であり、単回投与試験である我々の研究と直接比較することはできないが、我々の実験で海苔微粉末を投与した場合には血中中性脂肪値に影響はなかった。しかし、海苔微粉末を脂質と加熱した NARO 試料を投与した場合には、油脂形態を消化しやすいエマルションの形状にしても、油脂そのままの状態で投与しても、有意に中性脂肪値を上げる結果を示した。以上の結果は、Ren ら⁵⁾の報告とは異なることから、まず脂質の消化・吸収に主要な役割を果たす膵臓リパーゼへの影響を検討した。海苔から熱水ならびに 75% エタノールにて抽出した画分の消化酵素活性への影響を検討した。その結果、熱水抽出物溶性画分 (NE 画分) ならびに 75% エタノール不溶性画分 (NP 画分) で活性を抑制する結果を示した。NP 画分には海苔に含まれている水溶性食物繊維であるポルフィランを多く含有している。大住ら¹¹⁾は、ポルフィランオリゴ糖を 23 日間正常マウスに摂取させたところ、血中中性脂肪値が下がったことを報告している。つまり、本実験で用いたポルフィランを含む画分は膵臓リパーゼ活性を抑制した

Fig. 7 The oil drops of NARO were not smaller than those of other food samples.

ことから、大住らの報告を裏付ける結果を示した。海苔の加熱後の成分変化の一つとして水溶性食物繊維の増加が報告されている。¹²⁾ Suzuki ら¹²⁾は、海苔を加熱沸騰した調味液で1または2時間蒸煮することで水溶性食物繊維量が増加することを報告している。このことから、NARO 試料はオートクレーブ処理以前の焼海苔に比べて、水溶性食物繊維量が増加することが予想される。したがって水溶性食物繊維の点からみれば、脂質吸収を抑制する可能性が示唆されるが、本研究結果からは促進する作用が示された。

次に、海苔の物性による影響を検討した。一般に脂質の消化・吸収は、胃からの移動速度により影響を受けることが分かっている。海苔は水に懸濁すると粘性を示し、本研究で用いた NARO 試料はそれよりも強い粘性を示すことから、水溶液がもつ粘性が脂質吸収に及ぼす影響について検討した。その結果、NARO 試料と同程度の粘性を持つ PEG 群においては単位時間当たりの血中中性脂肪値が低い結果を示したことから、粘性も説明できる理由とはならなかった。さらに、脂質吸収に強く影響を及ぼす因子として、投与される脂肪球サイズが重要で、その大きさが小さいほど消化酵素との界面が増えることから、消化が良いとされている。そこで、NARO 試料を含めた市販食品等について脂肪球サイズを比較した。その結果、海苔を含有する試料が他の試料に比べ特段脂肪球サイズが小さいということはなく、むしろ他の食品に比べて大きい傾向にあることが示された。

脂質は消化・吸収されたのちに、カイロミクロンに取り込まれてリンパ管を經由して全身に配られる。今回の実験では、絶食後の動物を用いていることから、脂質負

荷後血中に放出されるトリグリセリドは主に経口投与由来であり、キロミクロンで輸送された脂質と考えている。本研究で、NARO 試料が消化・吸収のどの過程に影響を及ぼしているかを明らかにすることはできなかったが、その作用成分を明らかにすることで、その作用機序も示すことができると考えている。また、今回は血中に放出されたトリグリセリド量で評価を行ったが、より正確な脂質吸収への影響を評価するために、今後は胸管リンパ管手術を施した実験動物を用いて採取したリンパ液中の脂質濃度を測定することで、より厳密な脂質吸収への影響を検討していきたいと考えている。

平成 27 年国民健康・栄養調査結果¹³⁾によると、男性の 29.5%、女性の 19.2% が肥満者であることが報告されている。肥満はメタボリックシンドロームの必須項目であり、その他の生活習慣病対策もあわせて社会的に大きな問題となっている。このことから、糖質や脂質の吸収を阻害することで、体重減少や血糖値を正常化するなどの健康増進に寄与する食品の開発が大きく進められている。一方で、20 歳代女性の 22.3% は BMI が 18.5 未満のやせ状態にあり、¹³⁾ 栄養素の適正摂取が必要とされている。また、同様に 65 歳以上の高齢者の 16.7% が低栄養状態にあり、¹³⁾ このような状態を改善する食品の開発が求められている。しかし、先に述べた生活習慣病対策食品に比較するとあまり注目されていないのが現状である。本研究で使用した NARO 試料の脂質吸収促進作用は、先に示した低栄養状態の改善のみならず、脂溶性栄養素や機能性成分の吸収補助剤としての活用が期待される。したがって、今後は海苔に含まれる脂質吸収促進作用を示す成分についてさらに検討を進め、その作用機

序についても明らかにしていく予定である。

謝 辞

本研究は, JSPS 科研費 JP 21700768 の助成を受け, 行った。

文 献

- 1) 農林水産統計データ海面漁業生産統計調査, 平成 25 年漁業・養殖業生産統計, 農林水産省, 東京. 2013.
- 2) 農林水産統計データ 2013 年漁業センサス, 農林水産省, 東京. 2013.
- 3) Tomoyori H, Asakawa M. Insulin-like effects in rats of a constituent of seaweed. *Nippon Suisan Gakkaishi* 2009; doi:10.2331/suisan.75.261 (in Japanese with English abstract).
- 4) 萩野浩志. 海苔由来の健康機能性成分とその利用. *ジャパンフードサイエンス* 2007; **46**: 44-53.
- 5) Ren D, Noda H, Amano H, Nishino T, Nishizawa K. Study on antihypertensive and antihyperlipidemic effects of marine algae. *Fish. Sci.* 1994; **50**: 83-88.
- 6) Yoshie Y. Studies on the dietary fibers in seaweed from the stand point of food and nutrition. *Nippon Suisan Gakkaishi* 2001; doi:10.2331/suisan.67.619 (in Japanese with English abstract).
- 7) 坂田美保, 恵良聖子, 浅川牧夫. 海藻多糖類のレオロジー特性と食品への利用. 熊本大学教育学部紀要 2005; **54**: 69-74.
- 8) 北川孝江, 韓 立坤, 奥田拓道. ラットにおける脂質エマルジョンの腸管吸収に及ぼすにがりの影響. *栄養学雑誌* 2004; **62**: 91-94.
- 9) 安部恭子, 島田達生. ヒト母乳の顕微鏡観察と乳質. 形態・機能 2009; **7**: 51-58.
- 10) 小林 孝. 超微粉末海苔の開発とその応用. *食品工業* 2006; **4906**: 26-31.
- 11) Osumi Y, Kawai M, Amano H, Noda H. Effect of oligosaccharides from porphyran on in vitro digestions, utilizations by various intestinal bacteria, and levels of serum lipid in mice. *Nippon Suisan Gakkaishi* 1998; doi:10.2331/suisan.64.98 (in Japanese with English abstract).
- 12) Suzuki T, Nakai K, Yoshie Y, Shirai T, Hirano T. Changes in dietary fiber in seaweed foods during commercial heat processing. *Nippon Suisan Gakkaishi* 1993; doi: 10.2331/suisan.59.1371 (in Japanese with English abstract).
- 13) 平成 27 年国民健康・栄養調査結果, 厚生労働省, 東京. 2016.