海藻色素成分の抗酸化性について

小柳津 周*

Antioxidative Activities of Pigments from Dried Marine Algae

Makoto OYAIZU*

*Musashino Nutrition College

3-12-15, Minami, Ikebukuro, Toshima-ku, Tokyo 171

Pigment from dried 6 marine algae (one species of green, three of brown and two of red algae) with acetone were investigated with antioxidative activity by the Warburg method. And at the same time, it was measurement with pH, absorption, thin layer chromatography and reducing power. The following results of this investigation were obtained:

- 1) Antioxidative activities of pigments from dried marine algae were shown with Aonori, Wakame, Asakusanori, Makonbu, Hijiki and Tengusa.
- 2) The yellow and blue absorption maxima of pigments with acetone were in the range of 425—419nm (Chlorophyll a, b) and 672—675nm (Chlorophyll a, b).
- 3) Pigments from dried marine algae with acetone were showed with green by green algae, yellow-green by brown algae and green, gray-green by red algae.
- 4) Thin layer chromatography (the solvent system was CHCl_3 : MeOH: AcOH (90:10:1) of Silicagel-B5 of pigments from dried marine algae was found by 5 fractions in Wakame, 4 fractions in Aonori, Makonbu and Hijiki, and 3 fractions in Asakusanori and Tenguse.
- 5) Strongest antioxidative activities of fractions by thin layer chromatography were showed with higher front fraction in all pigments.

(Received June 27. 1988)

緒 言

油脂や油脂利用食品の酸化防止については、合成の酸化防止剤、香辛料あるいは褐変物質などの効果について報告されている。筆者は、褐変物質およびハウジ茶抽出物質の抗酸化性について、その作用を報告^{1)~5)}した。

そこで、古くから日本人に食され、しかも日常多く消費されている海藻に注目した。

従来、海藻類については、品質や色素⁶⁾あるいは脂肪酸⁷⁾に関するもので抗酸化性⁸⁾についての報告は少ない。

今回、筆者は数種の海藻から抽出した色素の抗酸化性の有無を測定し、あわせてその化学的性質について検討し、若干の知見を得たので報告する。

実験方法

1. 試 料

実験に供した海藻は、緑藻類のアオノリ (*Green Laver*)、褐藻類のマコンブ (*Laminaria Japonica*)、ワカメ (*Undaria Pennatifida*)、ヒジキ (*Porphyra Tennra*)、紅藻類のテングサ (*Gelidium Amansii*) でいずれも塩、灰干品の乾燥品を東京都築地市場で昭和61年2月に入手した。

2. 色素の抽出

海藻は、表面に付着した塩分あるいは不純物を除いたものを10g計り取り、海砂を加え、乳鉢を用いて摩擦した。これにアセトン80%濃度となるように加え冷暗所にて1時間放置し抽出した^{9)~11)}。

抽出は、抽出液がほとんど無色になるまで繰り返し行った。全抽出液は、アセトン除去後、エーテルに溶解し、10% NaCl 溶液と蒸留水で洗浄後、エーテル層を無水硫酸ナトリウムで脱水後、減圧下で溶媒を除き色素分画を得た。

3. 還元力および pH の測定

抽出色素の還元力は、足立の方法により前報⁴⁾と同様に行った。すなわち、抽出色素0.03 gをアセトン1 mlに溶解後、蒸留水で100 mlに定容し、この溶液を用いて測定した。pHは、還元力を測定した溶液を用い堀場社製 pH メーターで測定した。

4. 吸収スペクトルの測定

抽出色素の吸収スペクトルは、370 nm～700 nmの可視部における波長を測定した。測定には、還元力の測定に用いた溶液で行った。

5. 薄層クロマトグラフィー

抽出色素の薄層クロマトグラフィー（以下、TLCと略す）は、以下の条件により分画した。

すなわちTLCは、ワコーゲル（シリカゲル、B-5）をガラスプレート（25 cm×25 cm、厚さ0.5 mm）に塗布し、110℃で1時間加熱活性化したものを使用した。展開溶媒はクロロホルム：メタノール：アセトン（90：10：1、V/V）を用い分画を行い、分画した画分はかき取るにより分取した。

6. 抗酸化性の測定

基質にはリノール酸メチルエステル（東京化成工業社製）を用い、DUGANら¹²⁾の方法により、前報⁴⁾と同様に行った。さらに、ワールブルグ検圧装置を用い、前報⁴⁾と同様に酸素吸収量（ μL ）を求め、抗酸化性を測定した。なお、抽出色素は、基質に対し10%（w/w）添加した。

実験結果および考察

1. 抽出色素の化学的性状

抽出色素の化学的性状の結果を Table 1 と 2 に示した。抽出色素の色調は緑藻類は緑色、褐藻類は黄緑色と褐緑色、紅藻類は灰緑色と緑色であった。pHは、4.98～6.00とすべて酸性側であり、緑藻類と褐藻類はpHにあまり大きな違いを示さなかった。

この時、吸収スペクトルは、黄色側および青色側で最大波長を認め、両極大波長からクロロフィル a、b¹³⁾と推察し、青緑色系を示すクロロフィル a と黄緑色系を示すクロロフィル b¹³⁾が主であると推察された。さらに抽出色素中に含まれるクロロフィルの一部はpHの低下にともないフェオフィチンに分解するものと推察された。

Table 1 Chemical analysis of pigments from dried marine algae

Sample	Color	pH	Absorption maximum (nm)	
			Yellow	Blue
Green Algae				
Aonori	Green	5.90	418	673
Brown Algae				
Makonbu	Yellow-Green	5.72	415	675
Wakame	Yellow-Green	5.60	419	674
Hijiki	Brown-Green	5.51	416	673
Red Algae				
Tengusa	Gray-Green	4.98	416	672
Asakusanori	Green	6.00	417	674

Table 2 Antioxidative activities and reducing power of pigment from dried marine algae

Sample	Reducing power*1	Antioxidative activities*2 (μL)	
Green Algae		Control*3	13.4
Aonori	0.009		7.60
Brown Algae			
Makonbu	0.013		9.15
Wakame	0.027		7.91
Hijiki	0.011		9.35
Red Algae			
Tengusa	0.010		10.3
Asakusanori	0.012		8.26

*1 Optical density at 700 nm, *2 Antioxidative activities value were measurement at 90 minutes, *3 Blank

還元力は各色素とも0.009～0.027を示し、ワカメの抽出色素がもっとも高い値を示し、逆にアオノリでは低かった。

2. 色素成分のTLCによる分画

色素成分のTLCによる分画の結果を Fig. 1 に示した。各画分は、ワカメで5画分、アオノリ、マコンブ、ヒジキで4画分、テングサ、アサクサノリで3画分を認めた。また、ワカメ、マコンブはオレンジ系の色素を示し、アオノリとアサクサノリは黄色を示した。抽出色素の構成色素では、それぞれ異なった色素構成を示した。

また、TLC分画は、ワカメ、マコンブでオレンジ色の色素を検出し、アオノリとアサクサノリで黄色の色素を検出したが、クロロフィル以外の色素としては、 β -カロチン¹³⁾が含まれるものと推察した。

一方、TLC分画した各画分の量を Table 3 に示した。アオノリは、画分IV（緑色）で50.73 (Wt % 以下同様)、ワカメは、画分IV（オレンジ色）で26.78、マコン

Fig. 1 Silicagel TLC of pigments from dried marine algae

G: Green, Y: Yellow, B: Brown, O: Orange, Y:G: Yellow-Green, B:G: Black-Green

The solvent system was CHCl_3 : MeOH: AcOH (90:10:1, V/V)

ブは、画分IV (オレンジ色)で43.66, ヒジキは、画分III (緑黄色)で52.82, テングサは、画分II (緑色)で61.60, アサクサノリは、画分III (緑色)で45.69を示し、構成色素中の画分では、緑色が色素量の大部分を占めた。

3. 抽出物質の抗酸化性

抽出色素の抗酸化性を Table 2 に示した。

抗酸化性は、すべての抽出物質で認めた。アオノリ、ワカメで強い抗酸化性を示し、逆に、アサクサノリ、マコンブ、ヒジキでは弱い作用を示した、テングサでもごく弱い作用を認めた。さらに、TLCにより分画した画分の抗酸化性をFig.2 に示した。

ワカメ、ヒジキのすべての画分では、未分画よりも強い作用を認めた。逆にマコンブの画分Iテングサの画分I, アサクサノリの画分I, II, アオノリの画分Iでは、未分画よりも、弱い抗酸化性であり、また、すべての試料の最上限位の画分で強い作用を認めた。

また、藤本⁷⁾は、海藻中の抗酸化性物質について、アサクサノリ、アラメなどのリン脂質区などで抗酸化性を示すことや、褐藻類に効果を示すものが多いと報告している。本報でも褐藻類で抗酸化性を認める結果を得たが、これがリン脂質区によるものかは不明である。

TLCによる画分の抗酸化性では、テングサを除く最上限画分に極めて効果的な抗酸化性を認め、他にマコン

ブ、ワカメの上限画分についても強い抗酸化性を示した。

本実験で抽出した色素の抗酸化性は、単一物質によるものでなく数種の成分によるものと推察した。さらに、アオノリとアサクサノリの上限画分は、抗酸化性を示すものと示さないものとに分かれ、下部の画分では、あまり強い抗酸化性を示す色素は検出されなかった。このことから抗酸化性は、単一物質による作用でなく数種の成分の相乗作用¹⁴⁾によるものと考えられる。

要 約

緑藻類; アオノリ, 褐藻類; ワカメ, マコンブ, ヒジキ, 紅藻類; テングサ, アサクサノリの塩, 灰干品を用いアセトンにより抽出した物質についてリノール酸に対する抗酸化性やpH, 吸収スペクトル, 還元力, 薄層クロマトグラフィーによる分画について測定し, 次のような結果を得た。

1. すべての抽出色素で抗酸化性を示した。
2. 吸収スペクトルは, クロロフィル a, b で極大波長を示した。
3. 抽出色素は緑藻類で緑色, 褐藻類で黄緑色, 褐緑色, 紅藻類で緑色, 灰緑色を示した。
4. 薄層クロマトグラフィーによる分画では, 緑藻類のアオノリで4画分, 褐藻類のマコンブで4画分, ヒジ

Fig. 2 Antioxidative activities of fractionation by silicagel TLC of pigments from dried marine algae
*1. See Fig. 1, *2. Antioxidative activities (Oxygen uptake (μ l))

Table 3 Pigment compositions from dried marine algae (wt%)

Sample	Fraction*	wt%
Green Algae		
Aonori	I	25.85
	II	14.89
	III	8.45
	IV	50.73
Brown Algae		
Wakame	I	20.93
	II	20.41
	III	2.88
	IV	26.77
	V	25.02
Makonbu	I	38.83
	II	2.69
	III	14.82
	IV	43.66
Hijiki	I	19.19
	II	8.56
	III	52.82
	IV	19.42
Red Algae		
Tengusa	I	10.94
	II	61.60
	III	27.51
Asakusanori	I	31.86
	II	23.28
	III	45.69

* See Fig. 1

キで4画分, ワカメで5画分, 紅藻類のアサクサノリで3画分, テングサで3画分を分画した。

5. 薄層クロマトグラフィーによる画分の最上限画分は, 極めて強い抗酸化性を示し, 未分画と分画後の画分では, 分画後に強い抗酸化性を示した。

本実験の一部は昭和62年9月11日, 第34回日本栄養改善学会大会に於いて発表した。

参考文献

- 1) 小柳津 周: 栄養学雑誌, **44**, 307 (1986)
- 2) 小柳津 周: 栄養学雑誌, **46**, 35 (1988)
- 3) 小柳津 周・田村 弘: 未発表, 日本食品工業学会投稿中
- 4) 小柳津 周: 日本食品低温保蔵学会, **14**, 114 (1988)
- 5) 小柳津 周: 日本食品工業学会, **35**, 771 (1988)
- 6) WALKER J. C.: *J. Food Sci.*, **29**, 389 (1964)
- 7) CHUECUS L., RIREY J. P.: *Mar. Biol. Ass. U. K.*, **46**, 153 (1966)
- 8) 蔵本健四郎・金田尚志: 日水誌, **46**, 1125 (1980)
- 9) JEFFREY S. W.: *Biochem. J.*, **80**, 336 (1961)
- 10) SCHANDER S. H., LINN D. Y. C.: *J. Food Sci.*, **31**, 141 (1966)
- 11) 広田 望: 日水誌, **44**, 1009 (1978)
- 12) DUGAN L. R.: *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **25**, 153 (1948)
- 13) 中林敏朗・木村 進加藤博通: 食品の変色とその化学, (光琳書院・東京) p116, (1972)
- 14) 太田静行ら: ニューフードインダストリー, **27**, 63 (1985)

(昭和63年6月25日受理)