ノ ー ト

イ (い草) の酸化防止, 抗菌作用について

小柳津 周*・荻原 博和**・成瀬 宇平***

* 武蔵野栄養専門学校 (〒171 東京都豊島区南池袋 3-12-5)

** 日本大学農獣医学部 (〒154 東京都世田谷区下馬 3-34-1)

*** 鎌倉女子大学 (〒247 神奈川県鎌倉市岩瀬 1420)

Antioxidative and Antimicrobial Activities of I
(Igusa, *Juncus effusus* L. var. *decipiens* Buch.)

Makoto OYAIZU*, Hirokazu OGIHARA**, and Uhei NARUSE***

* Musashino Nutrition College

(3-12-5, Minami, Ikebukuro, Toshima-ku, Tokyo, 〒171)

** College of Agriculture and Veterinary Medicine, Nihon University

(3-34-1, Shimouma, Setagaya-ku, Tokyo, 〒154)

*** Kamakura Women's College

(1420, Iwase, Kamakura-shi, Kanagawa-ken, 〒247)

Samples were extracted from igusa with acetone, ethanol and ethyl acetate and assessment was made of antioxidative and antimicrobial activity. Determination was also made of color, α -tocopherol content and absorption spectra.

The following results were obtained; α -tocopherol content was 340 mg in the acetone extract, 54 mg in the ethyl acetate extract and 8.9 mg in the ethanol extract from igusa of 100 g. Thin layer chromatography (solvent system, chloroform : ether : acetic acid at 97 : 2.3 : 0.5, vol/vol) indicated the presence of 9 components in the acetone and ethanol extracts and 7 components in the ethyl acetate extract. The strongest antioxidative activity from igusa was noted for the ethyl acetate extract. Among the fractions in the ethyl acetate extract the fractions 6 and 7 show strong activity. Antimicrobial activity from igusa was observed to have the order, ethyl acetate extracts > acetone extracts > ethanol extracts, the strongest antimicrobial activity being that for fraction 3 in the ethyl acetate extract.

1 緒 言

食品を調理, 加工する際に香辛料, 薬用植物を直, 間接的に作用させ細菌, かび, 酵母などによる食品の変質を防止する習慣がある。また, 香辛料, 薬用植物の抽出物の抗菌^{1), 2)}, 酸化防止性^{3)~5)}について多く報告され, いずれも効果的に作用したとしている。

そこで, 日本の伝統的文化の生活習慣である畳に使用しているイ (い草) は長期間, 微生物的にも化学的にも変質がみられないのでい草の酸化防止, 抗菌性に注目した。

日本の夏は高温でしかも多湿な地域が多く, そんな中でも畳は日常生活の床の敷き物として利用されている。

著者らは, イ (い草) から有機溶媒を用いて抽出した

物質について酸化防止, 抗菌作用を測定した結果, 二, 三の知見を得たので報告する。

2 試料及び実験方法

2.1 試 料

イ (*Juncus effusus* L. var. *decipiens* Buch., 以下, い草と略す)は, 平成2年7月中旬に岡山県で収穫され, 乾燥処理したものをを用いた。

2.2 粗抽出物質の調製

い草からの抽出は, エタノール, アセトン及び酢酸エチルを用いて行った。すなわち, い草を水で洗浄して土を洗い落とし, 乾燥後, 細片にし, 各500 gにエタノール, アセトン及び酢酸エチルをそれぞれ1500 mLを加えて冷暗所に一昼夜放置後, 汙過し, 汙過液は減圧下で

濃縮を行い、ペースト状の粗抽出物質を得た。

2・3 粗抽出物質の TLC 分画

粗抽出物質の分画は薄層クロマトグラフィー（以下、TLC と略す）によって行った。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（24 cm × 25 cm, 厚さ 0.5 mm）に塗布し、110℃で 1 h 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：エーテル：酢酸（97：2.3：0.5 vol/vol）⁶⁾ を用いて分画を行い、分画された画分のシリカゲルをかき取ることに

より分取した。

2・4 粗抽出物質の性状

粗抽出物質は、色調、含有量及び吸収スペクトル、さらに α -トコフェロール含有量を測定した。すなわち、吸収スペクトルは、日立分光光度計により、380 nm～800 nm までの波長を測定した。また、 α -トコフェロール含量の測定は衛生試験法⁷⁾に従って高速液体クロマトグラフィー（以下、HPLC と略す）により測定した。

HPLC の測定条件は次の通りです。

Table-1 Chemical analysis of extracts from Igusa.

	Color	Extracts content	α -Tocopherol (mg/100 g)	Absorption wave (800 nm~380 nm)
Acetone extract				
Crude drug	Green	0.30* ¹	340	665, 594, 560, 532, 470, 428, 409
TLC fraction				
No. 1	Yellow	2.88* ²		
No. 2	Light yellow	12.3		
No. 3	Black green	3.89		
No. 4	Black green	23.1		
No. 5	Light yellow	18.9		
No. 6	Yellow	13.8		
No. 7	Black green	14.1		
No. 8	Black green	2.88		
No. 9	Light brown	7.94		
Ethanol extract				
Crude drug	Green	0.40	8.90	665, 594, 560, 532, 470, 409
TLC fraction				
No. 1	Yellow	5.87		
No. 2	Light yellow	2.09		
No. 3	Black green	3.98		
No. 4	Black green	7.54		
No. 5	Green	6.07		
No. 6	Yellow	6.70		
No. 7	Black green	8.17		
No. 8	Yellow green	8.80		
No. 9	Light brown	50.7		
Ethyl acetate extract				
Crude drug	Green-Yellow	0.15	54.0	665, 594, 560, 532
TLC fraction				
No. 1	Yellow	16.1		
No. 2	Black green	4.04		
No. 3	Light green	13.6		
No. 4	Yellow	13.9		
No. 5	Black green	8.08		
No. 6	Black green	17.6		
No. 7	Black brown	26.4		

*1 %, *2 wt%

Absorbent ; Silica gel (Wako gel B-5)
 Solvent ; Chloroform : Ether : Acetic acid (97 : 2.3 : 0.5 vol/vol)
 No.1~No.9 : See Table-1

Fig.-1 Thin layer chromatogram of extracts from Igusa.

HPLC : 島津製作所製, LC-3A 型 ; カラム : Zorbax Sil, 4.6 mm×250 mm ; 移動相 : *n*-ヘキサン : 1,4-ジオキサン : 99.5 vol% エタノール (490 : 10 : 1 vol/vol) ; 流速, 1.0 mL/min ; 蛍光検出器 : 島津製作所製, RF, 510LC 型, 励起波 298 nm, 蛍光波長 325 nm で行った。

2・5 酸化防止性の測定

抽出物質の酸化防止性は, ワールブルグ検圧装置により酸素吸収量 (μ L) を求め, これを対照区に対しての防止力 (%) で示した。すなわち, 前報⁸⁾ に従い基質の油脂 (リノール酸) に対して抽出物質を 10% 添加し測定を行った。

2・6 抗菌性の測定

抽出物質の抗菌性は, 阻止円を測定するディスク法により, グラム陽性菌として黄色ブドウ球菌 (*Staphylococcus aureus*), グラム陰性菌として大腸菌 (*Escherichia coli*) を使用し, これらに対する感受性を測定した。すなわち, 抽出物質は, 0.5% 濃度になるように各溶媒に溶解した溶液の中にペーパーディスク (8 mm/mm) を浸し, 各菌を接種した培地に ディスクを接触した後, 37℃, 16~18 h 培養後, 発生した阻止円を測定した。なお, 発生した阻止円の距離を測定し, 次のように判定

を行った。(−) : 感受性なし (0 mm), (+) : 感受性 (2 mm), (++) : 中度の感受性 (4 mm), (+++) : 強い感受性 (6 mm)。

3 結果及び考察

3・1 抽出物質の性状

粗抽出物質の性状測定 (色調, 抽出量, α -トコフェロール量, 吸光スペクトル) の結果を Table-1 に示した。すなわち, 色調は, アセトン及びエタノール抽出物質が緑色, 酢酸エチル抽出物質は黄緑色を示した。吸光スペクトルについては, アセトン抽出物質, エタノール抽出物質及び酢酸エチル抽出物質の 3 試料に共通の波長として, 665, 594, 560, 532 nm でピークを示し, 他にアセトン抽出物質で 470, 428, 409 nm, エタノール抽出物質では 470, 409 nm でピークを認めた。また, 粗抽出物質の含有量については 3 試料共に, 0.5% 以下と少ない量であった。さらに, 粗抽出物質を TLC により分画した画分の色調と含有量の結果も Fig.-1 と Table-1 に示した。アセトン及びエタノール抽出物質で 9 画分, 酢酸エチル抽出物質で 7 画分を分画した。色調は, 3 試料の画分とも黄, 緑・薄褐色が主であった。また, 画分の含有量は, アセトン抽出物質で No. 4>No. 5>No. 7>

Table-2 Antioxidative activity of extracts from Igusa.

Fraction.	Antioxidative activity (%) ^{*1}
Acetone extract	
Crude drug	76.3
TLC fraction ^{*2}	
No. 1	2.08
No. 2	-12.5
No. 3	22.2
No. 4	-1.80
No. 5	44.4
No. 6	62.8
No. 7	35.4
No. 8	68.1
No. 9	66.6
Ethanol extract	
Crude drug	66.1
TLC fraction	
No. 1	12.9
No. 2	1.85
No. 3	61.1
No. 4	14.5
No. 5	58.1
No. 6	41.8
No. 7	25.4
No. 8	38.1
No. 9	43.6
Ethyl acetate extract	
Crude drug	83.0
TLC fraction	
No. 1	1.66
No. 2	31.6
No. 3	75.0
No. 4	73.3
No. 5	46.6
No. 6	85.4
No. 7	79.1

*1 Antioxidative activity value were measurement at 60 min.

$$= \frac{\text{Control}[\text{oxygen uptake}(\mu\text{L})] - \text{Sample}[\text{oxygen uptake}(\mu\text{L})]}{\text{Control}[\text{oxygen uptake}(\mu\text{L})]} \times 100$$

*2 See Fig.-1

No. 6>No. 2>No. 9>No. 3>No. 1=No. 8, エタノール抽出物質で No. 9>No. 8>No. 7>No. 4>No. 6>No. 5>No. 1>No. 3>No. 2, 酢酸エチル抽出物質で No. 7>No. 6>No. 1>No. 4>No. 3>No. 5>No. 7 の順で多

Table-3 Antimicrobial activity of extracts from Igusa.

Fraction.	Strains	
	<i>E. coli</i>	<i>Staph. aureus</i>
Acetone extract		
Crude drug	-	++
TLC fraction*		
No. 1	-	-
No. 2	-	-
No. 3	-	-
No. 4	-	-
No. 5	-	+
No. 6	-	+
No. 7	-	-
No. 8	-	-
No. 9	-	-
Ethanol extract		
Crude drug	-	+
TLC fraction		
No. 1	-	-
No. 2	-	-
No. 3	-	-
No. 4	-	++
No. 5	-	+
No. 6	-	+
No. 7	-	-
No. 8	-	-
No. 9	-	-
Ethyl acetate extract		
Crude drug	-	+++
TLC fraction		
No. 1	-	-
No. 2	-	-
No. 3	-	+++
No. 4	-	+
No. 5	-	+
No. 6	-	-
No. 7	-	-

* See Fig.-1, (-) : Negative (0 mm), (+) : Positive (2 mm), (++) : Medium positive (4 mm), (+++) : High positive (6 mm)

かった。

各波長からクロロフィル a(青緑色) 及び b(黄緑色)⁹⁾ の存在が推定でき、さらに、クロロフィルの一部からフェオフィチン a, b (褐色あるいは褐緑色) が生成しているものと考えられる。また、黄-赤の色調からカロテノイド系の色素の存在も推測できる。色素では、ヒドロキシ基の存在しないカロテン類、存在するもののキサン

トフィル類などが考えられ、フェノール性ヒドロキシル基を有する色素は極性溶媒に幅広く溶け、非極性溶媒には溶けにくいので波長及びTLCによる分画数に違いを示したものと考えられる。一方、 α -トコフェロール含有量は、アセトン>酢酸エチル>エタノール抽出物質の順で多かった。

3・2 酸化防止性

粗抽出物質のリノール酸に対する酸化防止性の結果はTable-2に示した。

酸化防止性は、酢酸エチル抽出物質>アセトン抽出物質>エタノール抽出物質の順で強い作用を示した。特に、酢酸エチル抽出物質で強い作用を得た。しかし、 α -トコフェロールと酸化防止性においては比例的关系を示さなかったが、酸化防止性に少なからず影響を与えたものと推察した。さらに、粗抽出物質をTLCにより分画(Fig.-1)して得た画分の酸化防止性の結果もTable-2に示した。

TLC分画による画分は、アセトン抽出物質では、No. 8, No. 9, No. 6で強い効果を示したが、逆にNo. 2, No. 4で酸化を促進した。エタノール抽出物質ではNo. 3, No. 5で強い酸化防止性を示し、酢酸エチル抽出物質では、No. 6, No. 7, No. 3, No. 4で強い酸化防止性を示した。3試料の画分のうち酢酸エチル抽出物質の画分が強い効果を示すものが多かった。

極性の違いにより酸化防止性にも違いを示すものと推定され、極性の高い酸化防止性化合物を単離^{10), 11)}したとする報告がある。植物中の酸化防止性物質の種類は、多岐にわたるが、主にフェノール系化合物質であると考えられる。

本実験から、 α -トコフェロール量の違いが酸化防止性の強弱に少なからず影響を及ぼすと考えられるが、酢酸エチル及びエタノール抽出物質の酸化防止性の主体は α -トコフェロール以外、あるいは α -トコフェロールと混在していると考えられる含窒素化合物質などの相乗効果によるものと考えられる。さらに、TLC画分の酸化防止性からも数種の画分の相乗作用により酸化防止性が構成されているものと考えられる。

3・3 抗菌性

抽出物質の黄色ブドウ球菌、大腸菌に対する抗菌性の結果はTable-3に示した。

粗抽出物質はグラム陽性菌である黄色ブドウ球菌に対して感受性を示し、特に、酢酸エチル抽出物質が顕著な作用を示した。逆にグラム陰性菌である大腸菌に対しては感受性を示さなかった。さらに、TLC画分では、アセトン抽出物質の画分No. 5, No. 6とエタノール抽出物質のNo. 4, No. 5, No. 6そして酢酸エチル抽出物質

のNo. 3, No. 4, No. 5がいずれもグラム陽性菌に対して感受性を示した。特に酢酸エチル抽出物質のNo. 3で極めて強い効果を示した。

合成の酸化防止剤がグラム陽性菌に対して抗菌性¹²⁾を示すことが知られ、これらの効果がフェノール性ヒドロキシル基を持つ物質に影響されると考えられる。従って、本実験での抗菌性もフェノール性ヒドロキシル基を持つ化合物による作用が大きいものと推定された。

4 ま と め

い草(*Juncus effusus* L. var. *decipiens* Buch)をアセトン、エタノール及び酢酸エチルにより抽出した抽出物質の酸化防止性及び抗菌性を測定した結果、次のような結果を得た。

- 1) 粗抽出物質の酸化防止性、抗菌性は、いずれも酢酸エチル抽出物質で強く、特にグラム陽性菌の黄色ブドウ球菌に対して抗菌性を示した。
- 2) TLC分画による画分においても酸化防止性、抗菌性は、いずれも酢酸エチル抽出物質の画分に極めて強い作用が認められた。
- 3) 粗抽出物質では、強い酸化防止性を示す物質が強い抗菌性を示したが、TLC画分では、それは一致しなかった。

終わりに臨み、本研究に用いたイ(い草)の入手には、岡山県い業振興協会、友杉勝美氏に御配慮を賜り深く謝意を表します。

[平成2年(1990年)10月25日受理]

文 献

- 1) 宮本悌次郎, 防菌防黴, 14, 517 (1986)
- 2) 上田成子, 山下晴美, 中島真理子, 桑原祥治, 日食工誌, 29, 111 (1982)
- 3) S. Toda, H. Tanizawa, H. Arichi, Y. Takino, *Yakugaku Zasshi*, 104, 394 (1984)
- 4) J.D. Su, T. Osawa, M. Namiki, *Agric. Biol. Chem.*, 50, 199 (1986)
- 5) H. Kikuzaki, N. Nakatani, *Agric. Biol. Chem.*, 53, 519 (1989)
- 6) 西堀すき江, 並木和子, 家政学雑誌, 36, 845 (1985)
- 7) 日本薬学会編, 衛生試験法注解, 金原出版, 東京 (1983) p. 206
- 8) 小柳津 周, 栄養学雑誌, 44, 307 (1986)
- 9) 加藤博通, 木村 進, 中林敏郎, “食品の変色とその化学” 光琳書院, 東京 (1970)
- 10) N. Nakatani, H. Kikuzaki, *Agric. Biol. Chem.*, 51, 2727 (1987)
- 11) H. Kikuzaki, N. Nakatani, *Agric. Biol. Chem.*, 53, 519 (1989)
- 12) P. Turcott, S.A. Saheb, *J. Microbiol.*, 24, 1306 (1978)