

収穫時期の異なるオキナワモズク(Cladosiphon okamuranus Tokida)に含まれるフコイダン含量の変動と構造の変化

誌名	応用糖質科学 : 日本応用糖質科学会誌 = Bulletin of applied glycoscience
ISSN	21856427
著者名	辻,真喜 須藤,裕介 榎,牧子 田幸,正邦 小西,照子
発行元	日本応用糖質科学会
巻/号	3巻4号
掲載ページ	p. 248-252
発行年月	2013年11月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



収穫時期の異なるオキナワモズク (*Cladosiphon okamuranus* Tokida) に含まれるフコイタン含量の変動と構造の変化

(2013年8月19日受付; 2013年9月3日採択)

辻 真喜¹, 須藤裕介², 榎 牧子³, 田幸正邦¹, 小西照子^{1,*}

¹ 琉球大学農学部 (903-0213 沖縄県西原町千原1番地)

² 沖縄県水産海洋技術センター (901-0354 沖縄県糸満市喜屋武1528)

³ 東京海洋大学海洋科学部 (108-8477 東京都港区港南4-5-7)

Variation in the Contents and Structure of Fucoidan from Cultivated *Cladosiphon okamuranus* Tokida

Maki Tsuji,¹ Yusuke Sudou,² Makiko Enoki,³ Masakuni Tako¹ and Teruko Konishi^{1,*}

¹University of the Ryukyus, Faculty of Agriculture (1 Senbaru, Nishihara, Okinawa 903-0213, Japan)

²Okinawa Prefectural Fisheries Research and Extension Center (1528 Kyan, Itoman, Okinawa 901-0354, Japan)

³Department of Ocean Science, Tokyo University of Marine Science and Technology (4-5-7 Konan, Minato, Tokyo 108-8477, Japan)

要旨: 沖縄県で養殖されているオキナワモズク (*Cladosiphon okamuranus* Tokida) には硫酸化多糖であるフコイタンが含まれる。フコイタンなどの海藻多糖は免疫賦活活性など様々な生理活性を有することから、機能性多糖として利用されている。それゆえ、オキナワモズクは生食として利用されるほか、フコイタンの原料としても利用されている。海藻多糖は海藻の種類、生育場所、採取時期等の違い等によって、その構造や収量が変動することが知られている。そこで、沖縄県で養殖されているオキナワモズクを1月から5月にかけて採取し、収穫時期の異なる藻体から粗フコイタンを抽出し、分析を行った。その結果、フコイタン収量は収穫時期が遅くなるほど増加し、5月に収穫した藻体では、乾燥重量のおよそ30%となった。また、フコイタンの組成分析の結果、構成糖には収穫時期による差はみられないものの、硫酸含量および分子量は収穫時期により変動することがわかった。これらのことより、フコイタンを利用する際には、藻体の収穫時期を考慮する必要があると考えられる。

キーワード: *Cladosiphon okamuranus* Tokida, フコイタン, 変動, 多糖類**

オキナワモズク (*Cladosiphon okamuranus* Tokida) はナガマツ目ナガマツモ科に属する褐藻類で沖縄県本島を中心に生育し、石垣島や奄美大島など南西諸島に分布している^{1,2)}。オキナワモズクは沖縄本島をはじめ、久米島や石垣島などでも養殖され、その生産量は年間2万トンほどである²⁾。オキナワモズクの養殖は「種付け」、すなわち盤状体とよばれる発芽体を養殖網に付着させることから始まり、盤状体を付着させた養殖網は海底に設置される。養殖は海中で行われ、オキナワモズクは海底に設置された養殖網を土台として、造胞体とよばれる大型藻体に成長する。盤状体を付着させてからおよそ100日から120日後、藻体が30 cmほどに成長してから収穫され、藻体は5月下旬以降、水温が高くなるにつれて消失し始める。沖縄県で養殖されているオキナワモズクの収穫は1月以降に始まり、3

月から5月で最盛期を迎える。収穫されたオキナワモズクは生食として利用されるほか、細胞壁多糖の1つであるフコイタンの原料としても利用されている。

海藻は食資源として利用されるほか、海藻に含まれる細胞壁多糖が様々な機能性を有することから、新規素材の原料などとして化粧品や医薬品など幅広い分野で利用されている³⁾。海藻の細胞壁多糖には褐藻類に含まれるアルギン酸やフコイタン、紅藻類に含まれる寒天などが知られており³⁾、多糖の機能性についてはフコイタンに関する知見が多い。フコイタンは α 1-3結合のフコースを主鎖とし、側鎖にキシロースやグルクロン酸が付加された構造をもつ硫酸化多糖であり、抗血液凝固作用、抗腫瘍作用、コレステロール低下作用、抗アレルギー作用、抗ウイルス作用等の機能性を有する^{3,4-6)}。オキナワモズクは褐藻類ではあるが、

*連絡先 (Tel. 098-895-2847, Fax. 098-895-8734, E-mail: konishi@eve.u-ryukyu.ac.jp)

** Key words: *Cladosiphon okamuranus* Tokida, Fucoidan, variation, polysaccharides

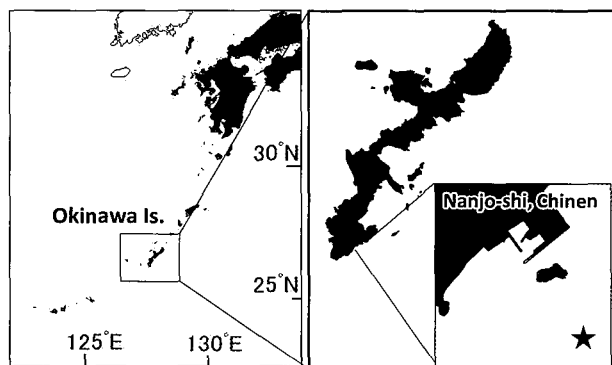
褐藻類に代表される多糖のアルギン酸含量は0.1% (対湿重量), 一方フコイタン含量は1.9~2.3% (対湿重量) であり, アルギン酸よりもむしろフコイタンを多く含む海藻である⁷⁸⁾。そのため, オキナワモズクはフコイタンの重要な原料であり, オキナワモズクから抽出されたフコイタンは, 錠剤や水溶液 (ジュース) に加工され, 健康補助食品として市販されている。

海藻に含まれる多糖は, 品種の違いあるいは同品種でも採取場所, 生育環境, 収穫時期の違いによって, その構造や化学組成が大きく変化することが知られており^{9,10)}, オキナワモズクに含まれるフコイタンも例外ではない。例えば, コンブ (*Laminaria japonica*) のフコイタン含量は4月から9月の間は一定量増加するのに対し, 10月になると藻体の成長とともに急激に増加する¹¹⁾。また, Skriptsovaらはワカメ (*Undaria pinnatifida*) のフコイタン含量が4月から7月にかけて変動すること, 木村らは福岡県大島産のアカモク (*Sargassum horneri*) のフコイタン含量が生育過程で変動し, 生殖器官の出現後に急増することを報告している^{12,13)}。オキナワモズクは沖縄県における養殖漁業の主力産業の一つであるが, これまでにオキナワモズクの収穫時期の違いによるフコイタン分析に関する知見はない。本論文では, 養殖オキナワモズクを1月下旬から2週間ごとに採取し, オキナワモズクに含まれる粗フコイタンの分析を行い, 収穫時期による粗フコイタン含量の変動や構造の変化について検討した。

1. 試料および方法

1) 試料

養殖オキナワモズクの藻体は沖縄県南城市 (旧知念村) 志喜屋地先 (図1) で2006年1月下旬から5月上旬の間, 2週間ごとに採取したものを用いた。種付けは10月下旬に行われ, 1月下旬に収穫したオキナワモズク藻体は種付け後およそ3カ月成長したものである。



採取場所 (★)

図1. オキナワモズク藻体の採取場所

沖縄県南城市で養殖された藻体を収穫した。採取場所を★で示した。

2) 養殖オキナワモズクの水分含量

収穫時期の異なる藻体を凍結乾燥し, 凍結乾燥前後の重量を図り, 重量の差から算出した。

3) 粗フコイタンの抽出

粗フコイタンの抽出は Honya ら¹⁴⁾の方法を改変して行った。試料を凍結乾燥後, ミキサーで破碎し粉末化した。オキナワモズク粉碎物 (5.0 g) に70% エタノール水溶液を加え, 室温で1.5時間攪拌後, 濾過した (東洋濾紙^株, 東京, No. 2)。次いで, 濾過残渣にアセトンを加え, 脱脂・脱色素後, 乾燥させたものをアルコール不溶性画分 (AIR) として回収した。AIR に0.1 M 塩酸水溶液を加え室温で16時間攪拌した後, 遠心分離 (2,150 × G, 15 min, 室温) により遠心上清を回収し, 濾過した。濾液を回収し1 M 水酸化ナトリウム水溶液で中和後, 3倍量 (v/v) のエタノールを加え多糖を沈殿させた。遠心分離 (23,000 × G, 15 min, 4°C) による遠心残渣を凍結乾燥後, 粗フコイタンとして回収し, 以下の実験に用いた。

4) 粗フコイタンの糖分析および硫酸含量

フコイタンの全糖量およびウロン酸含量はそれぞれフェノール硫酸法¹⁵⁾および *m*-ヒドロキシビフェニル法¹⁶⁾で測定した。その際, フェノール硫酸法ではフコース, *m*-ヒドロキシビフェニル法ではガラクトuron酸をそれぞれ標準物質として用い, 定量を行った。硫酸含量測定は田幸ら⁷⁾の方法を用いて行った。すなわち, 試料を2 M トリフルオロ酢酸存在下で100°C, 1.5時間の加熱加水分解を行った後, 乾固させ, 蒸留水で再溶解させたものをHPLC (日本ダイオネクス^株, 大阪, IonPac AS 4 A-SC カラム, 4 × 250 mm) に供し, 測定した。測定は室温にて行い, 溶離液に1.8 mM 炭酸ナトリウム水溶液と1.7 mM 炭酸水素ナトリウム水溶液の混合液を用い, 1分間に1.0 mLの流速でカラム溶出を行い, 検出は電気伝導度検出器を用いて行った。構成糖分析は硫酸含量測定時と同様に, 2 M トリフルオロ酢酸存在下で100°C, 1.5時間の加熱加水分解を行った試料を乾固させ, 水で懸濁後HPAEC (日本ダイオネクス^株, CarboPac PA-1 カラム, 4 × 250 mm) で測定した。カラムの溶出は35°C, 2 mM NaOHを1分間に1.0 mLの流速で行った。糖の検出にはパルスドアンペロメトリー検出器 (日本ダイオネクス^株) を使用した。

5) 分子量測定

フコイタンの分子量はゲルろ過クロマトグラフィーにより測定した。粗フコイタン溶液を水に懸濁後, TSK gel G 5000 PWXL カラム (東ソー^株, 東京, 4 × 300 mm) を装備したHPLC (株島津製作所, 京都) に供した。溶出は0.1 M リン酸緩衝液 (pH 6.5) で行い, 多糖の検出にはRI検出器 (株島津製作所) を用いた。分子量は分子量の異なるプルラン (昭和電工^株) を用いた検量線から算出した。

2. 結 果

1) 養殖オキナワモズクの水分含量

沖縄県南城市で養殖されたオキナワモズク藻体を2006年1月26日から5月10日までの間、2週間ごとに採取した。それぞれ収穫時期の異なるオキナワモズクの平均的な藻体の水分含量を測定した結果、1月、2月に収穫されたオキナワモズク藻体の水分含量は95%であったが、3月17日に収穫された藻体では93.8%となり、3月以降わずかではあるが減少に転じ、5月10日に収穫された藻体の水分含量は92.2%にまで減少した。

2) 粗フコイダン含量

採取したオキナワモズク藻体から粗フコイダンを抽出し、得られた粗フコイタン量を藻体の乾燥重量当たりで算出した(図2)。フコイタン含量は1月26日、2月14日、2月28日に収穫された藻体ではそれぞれ18、17、18%と一定であったのに対し、3月以降、収穫時期が遅くなるにつれて粗フコイタン量は徐々に増加し、5月10日に収穫された藻体ではフコイタン含量は28%となり、最も高い値を示した。

3) 粗フコイダンの糖分析および硫酸含量

収穫時期の異なる藻体から得られた粗フコイダンの糖定量を行った。その結果、すべてのサンプルで全糖量が約

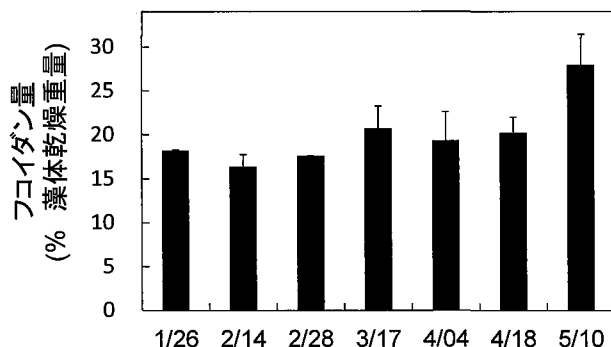


図2. 粗フコイタン含量

藻体の乾燥重量当たりの粗フコイタン量で示した。平均値 ± SD (n = 3)。

50%を占めていることがわかった(図3)。また、すべてのサンプルにおいて、ウロン酸含量は全糖量の約30%であった。このことより、全糖量およびウロン酸含量については、収穫時期での差はみられず、どの時期でも一定量含まれていることがわかった(図3)。

4) 粗フコイダンの構成糖分析

構成糖分析の結果、オキナワモズクのフコイタンは主にL-フコース (Fuc)、D-キシロース (Xyl) およびD-グルクロン酸 (GlcA) から構成されており⁷⁾、それら3種の糖の比率は、それぞれ1.00 : 0.17~0.21 : 0.14~0.19と算出され、サンプルの違いによる差は認められなかった(表1)。また、D-グルコース (Glc) や微量のD-ガラクトース (Gal) が検出されたことから、粗フコイダンの画分は主としてフコイタンではあるものの、わずかではあるが澱粉などフコイタン以外の多糖が混入していることが示唆された。また、すべてのサンプルでL-グルロン酸 (GulA) およびD-マンヌロン酸 (ManA) が検出された。この両者のウロン酸はすべてのサンプルに一定量含まれ、その割合は全糖量の約20%であった。

粗フコイタン中の硫酸含量を求めたところ、1月から4月4日までに収穫された藻体では約20%であったが、4月18日以降減少し、5月10日に収穫された藻体では16.8%にまで減少した(図4)。また、Fucと硫酸基のモル比は1月から4月まではそれぞれ1.00 : 2.0~2.2であったのに対し、5月10日では1.00 : 1.75となった(表1)。

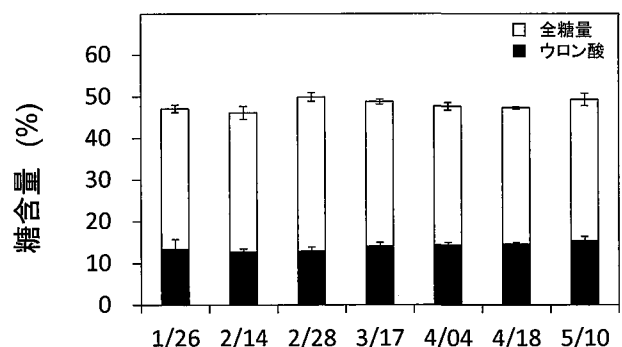


図3. 粗フコイタン中の糖含量

全糖量およびウロン酸量を示した。平均値 ± SD (n = 3)。

表1. 粗フコイダンの構成糖分析

(モル比)

	中性糖				ウロン酸		硫酸
	Fuc	Gal	Glc	Xyl	GlcA	GulA/ManA*	
1/26	1.00	0.08	0.31	0.21	0.19	0.93	2.05
2/14	1.00	0.03	0.50	0.20	0.17	1.00	2.08
2/28	1.00	0.04	0.73	0.17	0.18	0.92	2.08
3/17	1.00	0.03	0.44	0.18	0.17	1.05	2.04
4/04	1.00	0.03	0.27	0.17	0.14	1.15	2.17
4/18	1.00	0.04	0.24	0.17	0.16	1.14	1.88
5/10	1.00	0.05	0.19	0.20	0.17	1.12	1.75

*GulA/ManA; GulA and/or ManA.

表2. 粗コイダンの分子量

	1/26	2/14	2/28	3/17	4/4	4/18	5/10
分子量 (× 10 ⁴)*	84.5 ± 2.1	86.5 ± 6.4	88.0 ± 6.9	95.5 ± 4.9	107 ± 1.4	77.5 ± 10.6	46.0 ± 5.7

*平均値 ± SD (n = 3)。

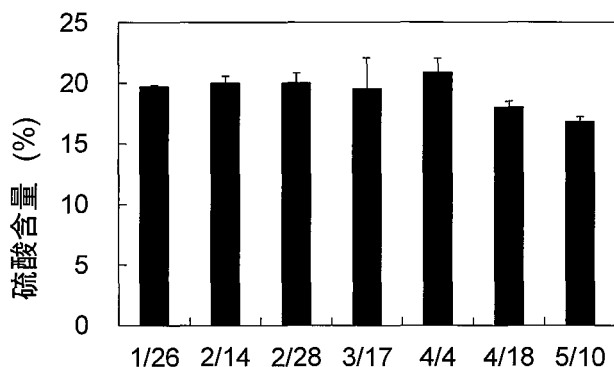


図4. 粗コイダン中の硫酸含量

平均値 ± SD (n = 3)。

5) 分子量測定

表2にコイダン分子量の測定結果を示した。コイダンの分子量は1月26日に収穫された藻体で84.5 × 10⁴であったが、徐々に高分子化し、4月4日で最大値107 × 10⁴を示した。それ以降低分子化され、5月10日に収穫されたサンプルでは46.0 × 10⁴であり、1月26日に収穫された藻体のコイダンの分子量の半分にまで低分子化していた。

3. 考 察

海藻は水分含量が高いことが知られており、田幸ら⁷⁾によると、オキナワモズク藻体の平均水分含量は94%である。水分含量を測定した結果、収穫時期による水分含量に大差はみられなかったものの、1月26日に収穫された藻体では水分含量が95%であったのに対し、5月10日の藻体では92%となった。この結果より、水分含量は収穫時期が遅くなるにつれてわずかではあるが減少する傾向にあることがわかった。本調査海域でのオキナワモズクの収穫の最盛期は3月から4月であり、5月に入ると藻体がもろくなり始め、5月下旬を過ぎると断片化し、消失する。1月26日に収穫された藻体は約3カ月成長した藻体であり、一方、5月10日に収穫された藻体は約4.5カ月成長したもので、消失する直前の藻体である。このことから、水分含量の低下は、藻体の老化に伴って起こる可能性が考えられる。

粗コイダンの量は収穫時期が遅いサンプルになると増加し、5月10日に収穫された藻体では28% (対藻体乾燥重量) であった (図2)。この時期の藻体の水分含量は92%であることから、粗コイダンの量は藻体湿重量当たりで換算すると2.2%である。また、収穫最盛期の3月から4月に収穫したオキナワモズクでは粗コイダンの量は約

20% (対藻体乾燥重量) であり (図2)、この時期の藻体の水分含量は95%であることから、藻体湿重量当たりで換算すると粗コイダンの量は1.0%となる。このことより、コイダンの量はオキナワモズクの収穫時期によって変動し、5月に収穫された藻体のコイダンの量は3月に収穫された藻体に比べて、湿重量で換算すると2倍高いことがわかった。構成糖分析の結果、オキナワモズク由来コイダンの主構成糖である Fuc : Xyl : GlcA の比率はそれぞれ 1.00 : 0.17~0.21 : 0.14~0.19 であり、1月から5月までのサンプル全てでほぼ一定であった (表1)。コイダンは硫酸化多糖であることから、硫酸含量について測定したところ、硫酸含量は4月18日までは約20%とほぼ一定であったのに対し、4月18日以降減少し、5月10日には16.8%となり、4月4日での値に比べて20%の減少となった。これらの結果より、コイダンの構成成分のうち、構成糖に関しては藻体の収穫時期により大きな変動はみられないが、硫酸含量は収穫時期が遅くなるにつれて減少傾向にあることが明らかとなった。また、粗コイダンの分子量は1月26日から4月にかけて高分子化し、4月4日のサンプルで最高値を示した後減少に転じ、5月10日のサンプルでは4月4日のサンプルのおよそ半分にまで低分子化した (表2)。このことより、コイダンの分子量は藻体の収穫時期により変動し、収穫時期が遅い、すなわち、藻体の老化に伴い低分子化することが明らかとなった。オキナワモズクのぬめりはコイダンによるものであり、収穫最盛期の4月前後では藻体のぬめりが増加するが、収穫最盛期を過ぎて消失直前の藻体ではぬめりがなくなり、ばさつくことが観察されている。しかし、コイダンの量は収穫時期が遅い藻体ほど高くなった。このことから、オキナワモズクのぬめり気はコイダンに起因するものの、コイダンの量はぬめりよりもむしろ、コイダンの硫酸含量や分子量の大きさに起因するものと推察される。

コイダンが有する生理活性はしばしば硫酸化度や分子量に影響されることが知られている¹⁶⁻¹⁹⁾。コイダンの抗血液凝固作用や抗腫瘍活性は硫酸含量に影響され、硫酸含量が高いコイダンほど高い生理活性を示すとの報告がある^{18,20)}。また、コイダンを酸処理し、低分子化させたものは抗腫瘍活性を高めたとの報告がある¹⁹⁾。それゆえ、硫酸含量や分子量は、機能的な多糖としてのコイダンの質を考える際には重要な要素である。今回、収穫最盛期を過ぎた5月10日のサンプルでは、他のサンプルに比べてコイダンの量は高いものの、硫酸化度は低く、また分子量も他の時期に比べて低分子化しているという結果が得られた (図2, 表1, 2)。このことから、高分子のコイダンや硫

酸含量の高いフコイダンを抽出する際には、3月から4月に収穫されたオキナワモズクを原料とするのが適切であり、オキナワモズクのフコイダンを利用する際には、原料となる藻体の収穫時期を考慮する必要があると考えられる。

文献

- 1) 田中次郎：日本の海藻。平凡社，東京 (2004).
- 2) 当真 武：沖縄の海藻と海草。出版舎 Mugen，沖縄 (2012).
- 3) 山田信夫：海藻利用の科学。成山堂書店，東京 (2000).
- 4) A. Cumachi, N.A. Ushakova, M.E. Precobrazhenskaya, A. D'Incecco, A. Piccoli, L. Totani, N. Tinari, G.E. Morezevich, A.E. Berman, M.I. Bilan, A.I. Usov, N.E. Ustyuzhanina, A.A. Grachev, C.J. Sanderson, M. Kelly, G.A. Rabinovich, S. Iancobelli and N.E. Nifantiev: A comparative study of the anti-inflammatory, anticoagulant, anti-angiogenic, and antiadhesive activities of nine different fucoidans from brown seaweeds. *Glycobiology*, **17**, 541-542 (2007).
- 5) K. Tanaka, M. Ito, M. Kodama, M. Tomita, S. Kimura, M. Hoyano, W. Mitsuma, S. Hirono, H. Hanawa and Y. Aizawa: Sulfated polysaccharide fucoidan ameliorates experimental autoimmune myocarditis in rats. *J. Cardiovasc. Pharmacol. Ther.*, **16**, 79-86 (2011).
- 6) B. Li, F. Lu, X. Wei and R. Zhao: Fucoidan: structure and bioactivity. *Molecules*, **13**, 1671-1695 (2008).
- 7) 田幸正邦, 上原めぐみ, 川島由次, 知念 功, 本郷富士弥: オキナワモズクからフコイダンの分離・同定. 応用糖質科学, **43**, 143-148 (1996).
- 8) M. Tako, E. Yoza and S. Tohma: Chemical characterization of acetyl fucoidan and alginate from commercially cultured *Cladosiphon okamuranus*. *Bot. Mar.*, **43**, 393-398 (2000).
- 9) L.E. Graham and L.W. Wilcox: *Algae*. Prentice-Hall, Upper Saddle River (2000).
- 10) T.I. Imbs, N.M. Shevchenko, S.V. Sukhoverkhov, T.L. Semenov, A.V. Skriptsova and T.N. Zvyagintseva: Seasonal variations of the composition and structural characteristics of polysaccharides from the brown alga *Costaria costata*. *Chem. Nat. Comp.*, **45**, 786-791 (2010).
- 11) M. Honya, H. Mori, M. Anzai, Y. Araki and K. Nishizawa: Monthly changes in the content of fucans, their constituent sugars and sulphate in cultured *Laminaria japonica*. *Hydrobiologia*, **398/399**, 411-416 (1999).
- 12) A.V. Skriptsova, N.M. Shevchenko, T.N. Zvyagintseva and T.I. Imbs: Monthly changes in the content and monosaccharide composition of fucoidan from *Undaria pinnatifida* (Laminariales, Phaeophyta). *J. Appl. Phycol.*, **22**, 79-86 (2010).
- 13) 木村太郎, 上田京子, 黒田理恵子, 赤尾哲之, 篠原直哉, 後川龍男, 深川敦平, 秋元恒基: 福岡県大島産アカモク *Sargassum horneri* 中に含まれる多糖類の季節変動. 日本水産学会誌, **73**, 739-744 (2007).
- 14) M. Dubois, K.A. Gilles, J.K. Hamilton, P.A. Rebers and F. Smith: Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal. Chem.*, **28**, 350-356 (1956).
- 15) N. Blumenkrantz and G. Asboe-Hansen: New method for quantitative determination of uronic acids. *Anal. Biochem.*, **54**, 484-489 (1973).
- 16) T. Nishino and T. Nagumo: The sulfate-content dependence of the anticoagulant activity of a fucan sulfate from the brown seaweed *Ecklonia kurome*. *Carbohydr. Res.*, **214**, 193-197 (1991).
- 17) J.S. Park, A. Kim, E.H. Kim, H.S. Suh and W.C. Choi: Increased anticancer activity by the sulfated fucoidan from Korean brown seaweeds. *J. Korean Chem. Soc.*, **46**, 151-156 (2002).
- 18) T. Teruya, T. Konishi, S. Uechi, H. Tamaki and M. Tako: Anti-proliferative activity of oversulfated fucoidan from commercially cultured *Cladosiphon okamuranus* Tokida in U 937 cells. *Int. J. Biol. Macromol.*, **41**, 221-226 (2007).
- 19) V.K. Morya, J. Kim and E.K. Kim: Algal fucoidan. Structural and size-dependent bioactivities and their perspectives. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **93**, 71-82 (2012).
- 20) S. Koyanagi, N. Tanigawa, H. Nakagawa, S. Soeda and H. Shimeno: Oversulfation of fucoidan enhances its anti-angiogenic and antitumor activities. *Biochem. Pharmacol.*, **65**, 173-179 (2003).