

食品中の健康機能性成分の分析法マニュアル

平成22年3月作成

四国地域イノベーション創出協議会
地域食品・健康分科会 編

s-food@m.aist.go.jp

ワカメの酸性多糖類（組織化学的検出）

作成者：徳島県立工業技術センター主任研究員 吉本 亮子

1. ワカメについて

1. 1 概要

ワカメは、日本近海に広く分布し、また、古くは延喜式にもその名前が登場する、日本人にとって最も馴染み深い海藻のひとつである。

養殖技術の発達と、大量生産を可能にした湯通し塩蔵加工技術の開発により、現在ではそのほとんどが湯通し塩蔵加工されて、さらにこれを原料とした乾燥製品の生産量が増加している。このような現代的な製品とは別に、日本の各地には特色ある伝統的な製品が今も一定の生産量を維持している。

徳島県は、古くからのワカメの生産地であり、年間約6000トン（全国3位）の生産量である。江戸時代末期に今の鳴門地域で考案された「灰干しワカメ」はその名の通り、ワカメに草木灰をまぶし天日乾燥させた製品であるが、現在では灰を活性炭に変えてその製法が受け継がれている。素干しに近く、磯の香りと食感が楽しめる、味わい深い伝統食品である。

一方、新たな取り組みも始まっている。生長初期の新芽ワカメの生鮮流通である。この商品は家庭で湯通しして食べる。普段は食べることが少ない茎もまだ柔らかいためまるごと食することができる。開発段階で、茎部のうまみ成分は湯通ししても多くが残存することが明らかとなり¹⁾、ワカメ本来の旬の味を楽しむことができるとして、需要は増加傾向である。



図1-1 ワカメ

1. 2 食品あるいは含有成分の機能性

ワカメには、アルギン酸やフコイダンと呼ばれる酸性多糖類が多く含まれる。これらは、食品の栄養素の食物繊維に含まれ、コレステロールの上昇を抑制する、血糖値の上昇を抑制するなどと言われている。既に、低分子化したアルギン酸ナトリウムを関与成分とする特定保健用食品が市販されている。また、フコイダンは、抗ガン作用

¹⁾や抗血液凝固作用²⁾、免疫賦活作用やアポトーシス誘導作用³⁾等、様々な生物活性が報告されており、健康食品素材として期待されている。

1. 2. 1 酸性多糖類を含む食品

ワカメの芽株、コンブ、モズク、アラメ、カジメなどの褐藻類に多く含まれる。

<引用・参考文献>

1. M. Ellouali, C. Biosson-Vidal, P. Durand, J. Jozefonvicz : *Anticancer s.*, 13, 2011-2020 (1993)
2. T. Nishino, Y. Aizu, T. Nagumo : *Agric. Biol. Chem.*, 55, 791-796 (1991)
3. 朴今花、池原ゆかり、佐々木努、宮城健、東みゆき : *日本栄養・食糧学会誌*, 58, 273-280 (2005)

2. 酸性多糖類についての説明

フコイダンは、1913年にスウェーデンの H. Z. Kylin によって発見された。L-フコース-4 硫酸の 1,2-結合を主体とする多糖であるが、1,3-、1,4-結合なども含む。その他ガラクトースやマンノース、グルクロン酸、キシロースなども含み非常に不均一な組成である。最も含有量の多いヒバマタで、藻体乾燥重量の 20%程度と言われる。

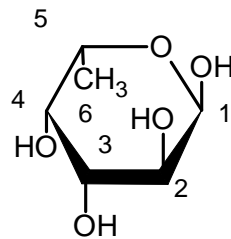


図 2-1 L-フコース

アルギン酸は、マンヌロン酸 (M) とグルロン酸 (G) の 2 種のウロン酸からなる多糖である。分子中には M のみからなるブロックと G のみからなるブロック、両方からなるブロックが存在する。これらブロックの比率は、部位、産地、生長段階などによって変わると言われている。

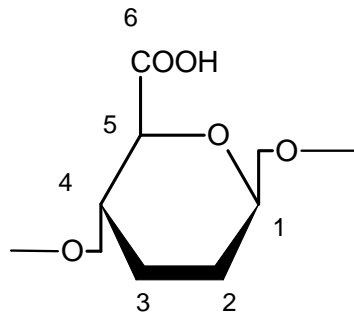


図 2-2 マンヌロン酸

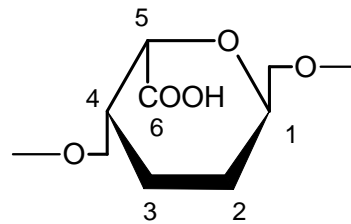


図 2-3 グルロン酸

3. 組織化学的検出方法について

ワカメ生鮮品を用いての凍結切片の作製方法と、酸性粘質多糖類がトルイジンブルーに対し異調染色（メタクロマジー）を示す性質を利用した、酸性多糖類の染色方法等について述べる。

3. 1 準備する器具など

- 1.デュワー瓶
- 2.凍結マイクロトーム
- 3.切片採取用テープ(Cryfilm Type II 等)
- 4.スライドグラス
- 5.染色バット
- 6.染色ラック
- 7.光学顕微鏡（100～1000 倍）

[試薬]

- 1.ヘキサン
- 2.ドライアイス
- 3.包埋剤：4%カルボキシメチルセルロースナトリウム溶液
- 4.固定液：10%ホルムアルデヒド/海水（海水は0.22 μm フィルターろ過後滅菌したもの）
- 5.染色液：0.02%トルイジンブルーpH7.0。0.1mol/l クエン酸溶液 3.5ml、0.2 mol /L リン酸水素二ナトリウム溶液 16.5ml の混合液にトルイジンブルーを溶解した。
- 6.30%グリセリン

3. 2 凍結切片の作製

- 1.凍結マイクロトーム内の温度を-25℃に設定する。
- 2.試料の付着物を水洗し、水を拭き取る。
- 3.ステンレス製の包埋容器に包埋剤を入れ試料を入れる。このとき試料の薄切面は底にする。
- 4.デュワー瓶にドライアイスとヘキサンを入れ（-75℃）、3を凍結する。
- 5.完全に凍ったら、試料を凍結マイクロトーム内に1時間程度放置し、試料温度を上昇させる。
- 6.ステージに固定し、面出し後、切片採取用テープを貼り付け、5～10 μm に薄切する。
- 7.6をスライドグラスに両面テープで貼り付ける。

3. 3 固定、染色、封入

- 1.凍結切片を貼付けたスライドグラスをラックに並べ、固定液に60分間入れて固定する。
- 2.水道水をオーバーフローさせながら、5Lポリ容器底に沈め10分間水洗する。
- 3.染色液で30秒間処理する。

4. 染色の程度を確認しながら、10～20 分間水洗する。
5. 両面テープから切片の付着したテープを切り離し、封入液を載せたスライドグラス上にかぶせ封入する。

4. 分析例

ワカメの葉状部は図4-1に示すように、藻体が海水と接する部位である1、2層の表層、それより内側の皮層、更に内側の髓層から成るサンドイッチ構造をしており、ラミナリア構造と呼ばれている。図4-2では、表層の最外部位がトルイジンブルーにより紫色に染まっている。一方、表層近くに濃い青色に染色された粘液腺が観察される。この中に含まれる粘質物質はアルギン酸にフェノール化合物が結合したものであると言われており¹⁾、髓層から皮層の広い範囲に存在し表層から分泌される。

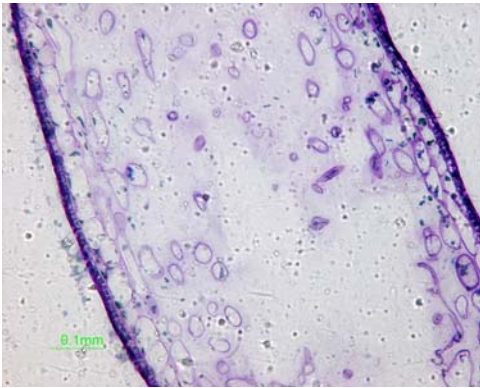


図4-1 生鮮ワカメ葉状部断面

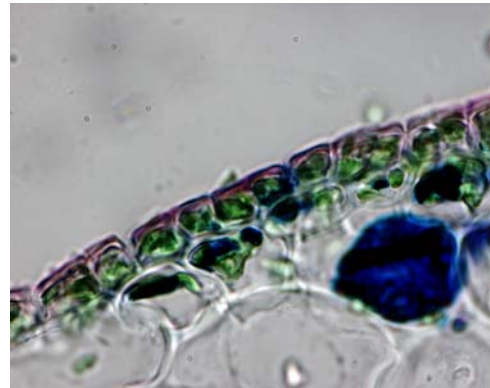


図4-2 生鮮ワカメ葉状部断面

5. 食品の分析結果例

トルイジンブルー染色液は、図4-3に示したように、硫酸多糖の濃度によって紫から青色に発色する。この異調性から硫酸多糖の多少を相対的に判別することが出来る。

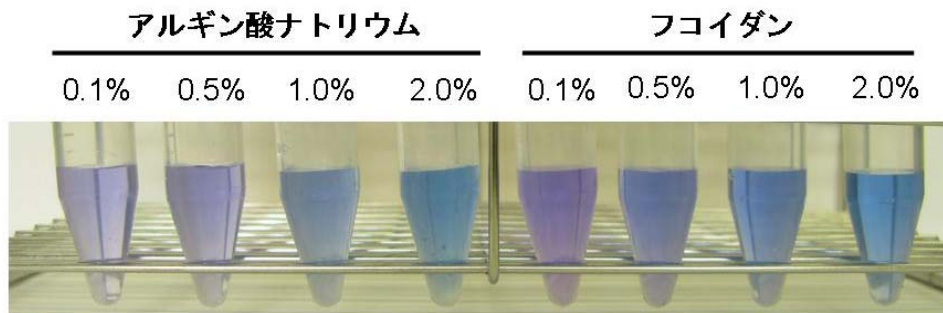


図5-1 酸性多糖濃度とトルイジンブルー染色液の発色

図5-2、5-3にワカメの芽株断面の顕微鏡像を示す。ワカメの孢子葉である芽株には、硫酸多糖が多く含まれると言われている。図5-2の表層付近が青色に染まっており、酸性多糖が多く存在することがわかる。これに比較して、葉状部（図4-1）ではこのような発色は観察されない。図5-3は、遊走子を形成する子嚢班の像である。先端の部分と皮層細胞に多くの酸性多糖が存在している。

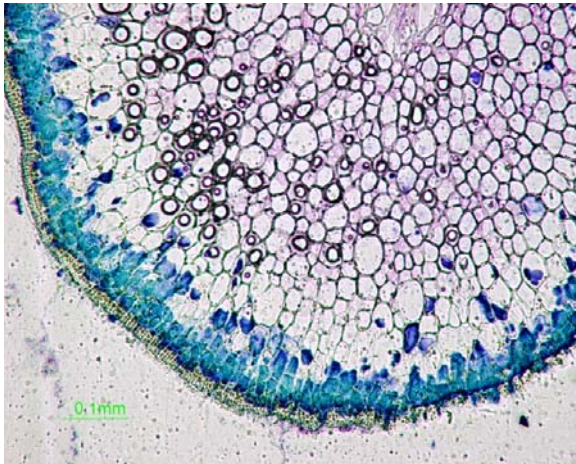


図5-2 ワカメ芽株断面

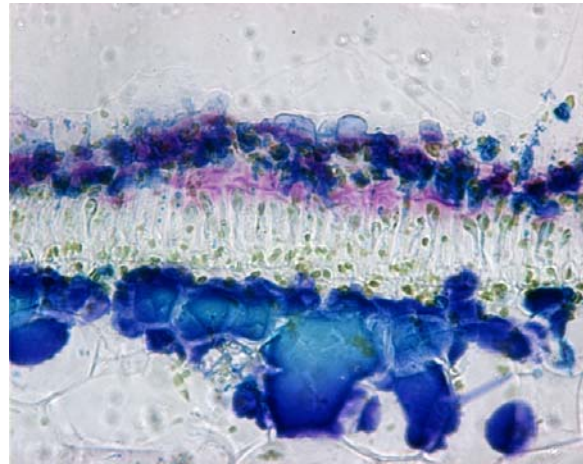


図5-3 ワカメ芽株の子嚢班

6. 分析上の留意、注意点

加工品あるいは鮮度低下により藻体が軟化しているものについては、良好な切片が得られないことがある。その場合、固定液に塩化カルシウムを加えることにより改善される可能性がある。

7. その他

特になし。

8. 定量法に関する引用・参考文献

1. 田村咲江監修、食品・調理・加工の組織学（学窓社）83-97

——以上——

[トップページに戻る](#)