

藻類の産業利用に関する可能性研究（第 2 報） -機能性を有する佐賀県産海藻資源の選抜-

食品工業部

柘植圭介 岩元彬 鶴田裕美

公益財団法人佐賀県地域産業支援センター
さがフード&コスメラボ 山内良子

佐賀県産の海藻類の新たな産業利用を目指し、機能性を有する海藻資源の選抜を試みた。2017～2018 年の 2 年間にわたって唐津市松島沿岸域に生息する海藻類約 60 種を採取し、抽出物の生理機能性及び有用成分の含量を調査した。採取した中で抽出物当たりの抗酸化活性が特に高かった海藻は、クロメやイシゲをはじめとする 8 種であった。また、抗炎症作用が特に高かった海藻は、タマイタダキやユカリをはじめとする 5 種であった。さらに、抗老化化粧品素材としての活用を志向し、皮膚細胞が産生する MMP-1（コラゲナーゼ）の阻害活性を測定したところ、ウミウチワやイシゲをはじめとする 7 種の海藻に強い MMP-1 阻害活性が認められた。固相抽出を用いた分画及び質量分析により、ウミウチワ *Padina arborescens* の MMP-1 阻害化合物は、フロログルシノール 2 量体を構成単位とするフロロタンニン類であることが推定された。これらの結果から、食品や化粧品分野等における機能性素材としての佐賀県産海藻類の活用、なかでもウミウチワが皮膚の抗老化素材として新たな活用につながることを期待された。

1. はじめに

わが国では、海藻類は非常に馴染みの深い食材である。古くから、ノリやワカメをはじめ多くの種類の海藻が食されている。また、海藻類はただ食材としてだけでなく、古くから、アルギン酸やアガロース（寒天）などのゲル化・増粘剤の抽出原料としても活用されている。最近では、コンブなどの褐藻綱に含まれるフコイダンやフコキサンチン等の成分に健康維持に役立つ生理機能が認められ、機能性食品の素材としても注目を集めている。

佐賀県は、有明海と玄界灘の 2 つの海に接している。なかでも玄界灘沿岸の岩礁域には 100 種類近くの藻類が生息¹⁾しているが、そのうち食用とされるのはワカメやヒジキなどごく一部である。一方で、佐賀県では、化粧品原料としての天然資源の供給地化や化粧品産業の集積を目指す「唐津コスメティック構想」²⁾や、機能性食品分野における新技術・新商品の開発を目指す「さが機能性・健康食品開発拠点事業」³⁾を推進している。これらの取り組みによる農林水産資源の有効利用を通じ、新たな産業の創出と地域の活性化が期待されている。

そこで、当センターでは、玄界灘に生息する海藻類の中から、食品や化粧品分野において機能性を有する資源を選抜し、新たな産業利用に結び付けるた

めに、2017 年から 2018 年の 2 年間にわたって唐津市松島沿岸域に生息する海藻類を採取し、抗酸化活性や抗炎症作用等の生理機能や機能性成分に関する調査研究を行った。

既報⁴⁾では、2017 年に採取した海藻類約 20 種のうち、特に強い抗炎症作用が認められた褐藻綱ノコギリモクに着目し、質量分析法によるノコギリモク由来抗炎症化合物 sargahydroquinic acid 及び sargaquinic acid の推定について報告した。本報では、過去 2 年間で採取した海藻類における生理機能の網羅的な調査結果を報告するとともに、肌のシワ・ハリ低下の防止が期待されるコラゲナーゼ（MMP-1）阻害活性が認められた海藻類の中から、特に褐藻綱ウミウチワ *Padina arborescens* について詳細に検討した結果を述べる。併せて、佐賀県産海藻類の産業利用の今後の展望について考察する。

2. 実験方法

2.1 海藻類の採取

佐賀県唐津市松島沿岸及び弁天島潮間帯を採取地とし、2017 年から 2018 年にかけて海藻類を採取した。採取は SCUBA 潜水法もしくは干潮時に潮間帯で採取する方式により実施し、水深 10 m 以浅の海底（松島）及び潮間帯（弁天島）に生息する海藻類

を対象とした。採取した海藻類は陸揚げ 24 時間以内に水道水で洗浄し、減圧乾燥に供した。乾燥物はカッターミルで粗粉碎・均質化し、変質を防ぐため -18°C で保管した。

2.2 試薬類

本研究における試薬は以下のものを用いた：ウシ胎児血清 (FBS; West Bio), Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM 培地; Gibco), リポ多糖 (LPS; *Escherichia coli* 0111:B4 由来; 富士フィルム和光純薬, 以下和光と略す), Cell Counting Kit-8 (同仁化学研究所), Trolox (フナコシ), fluorescein sodium salt (Sigma-Aldrich), 2,2'-azobis (2-amidinopropane) hydrochloride (AAPH; 和光), Folin-Ciocalteu 試薬 (和光), phloroglucinol (東京化成工業), フコキサンチン (和光), interleukin-1 α (IL-1 α human recombinant, フナコシ), epidermal growth factor (EGF, human recombinant, フナコシ), trypsin (Sigma-Aldrich Merck), trypsin inhibitor from soybean (和光), MMP-1 人工基質 (MOCac-Pro-Leu-Gly-Leu-A2pr(Dnp)-Ala-Arg-NH₂, ペプチド研究所)。

マウスマクロファージ様細胞 RAW 264.7 は、理研バイオリソースより入手した。正常ヒト皮膚新生児由来線維芽細胞は、クラボウより入手した。また、有機溶媒及び緩衝液は、特に記載しない限り和光製の特級または LC-MS 用試薬を用いた。

2.3 機能性の評価

2.3.1 海藻類抽出物の調製

試料粗粉末を高速振動粉碎機 ((株) CMT 製 Hi-speed vibrating sample mill T1-100) を用いて微粉化した。微粉末約 1g に 80% (v/v) 含水 ethanol (80% EtOH) 10mL を添加し、攪拌を加えながら 1 時間抽出した。遠心分離 (1,500 x g, 10 min) により抽出液を回収し、抽出残渣に再度同溶媒 10mL を加え、30 分間再抽出した。遠心濃縮により抽出液から溶媒を留去し、乾固物を 10 mg/mL になるよう 80% EtOH に再溶解して、これを試料溶液とした。試料溶液は変質を防止するため、-30°C で保管した。

2.3.2 抗酸化活性

活性酸素吸収能 (ORAC) を指標として抗酸化活性を測定した。国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構食品総合研究所の H-ORAC 分析法標準作業手順⁵⁾に準じ、ORAC を測定した。96 ウェルマイクロプレートにブランク (リン酸緩衝液) 及びリン酸緩衝液で希釈した海藻 80% EtOH 抽出液 (1 試料あたり 4 反復) もしくは Trolox 35 μ L を分注し、各ウェルに 100.7 nM fluorescein sodium salt 溶液 115

μ L を加えた。10 分間のプレインキュベーション後、31.7 mM AAPH 50 μ L を加えて攪拌後、蛍光マイクロプレートリーダー (TECAN 製 Infinite 200 PRO) により蛍光強度を測定した。ORAC 値は、蛍光強度の減衰曲線下面積を算出し、検量線から試料の乾燥重量当たりの Trolox 当量として表した。蛍光測定条件は既報⁴⁾に準じた。

2.3.3 抗炎症作用

抗炎症作用は既報⁶⁾に準じて 96 ウェルマイクロプレートを用いた細胞試験で評価し、エンドトキシンである LPS の誘導によりマウスマクロファージ様細胞 RAW 264.7 が産生する炎症性物質 (一酸化窒素: NO) の産生阻害の程度を抗炎症の指標とした。

細胞は、37°C, 5%CO₂ 環境下, 10%FBS 含有 DMEM 培地で培養した。細胞試験時の細胞密度は 2×10^5 cells/mL, ウェルあたりの培地量は 200 μ L, LPS 添加終濃度は 10 ng/mL とした。また、海藻類抽出物は 80% EtOH で濃度 10 mg/mL になるよう調整し、終濃度 30 μ g/mL になるよう培地に希釈したものを添加した (1 試料あたり 3 反復)。ただし、対照区には、試料添加培地と同一濃度になるよう EtOH を添加した。

NO 産生量は LPS 添加 20 時間後の培地における NO₂ 蓄積濃度を Griess 法⁷⁾で測定することによって算出し、式 (1) により産生阻害率を導いた。

$$\text{NO産生阻害 (\%)} = 1 - \frac{Aa - Ab}{Ac - Ab} \times 100 \quad (1)$$

ここで、Aa は試料添加培地の NO₂ 濃度を、Ab はブランク培地の NO₂ 濃度を、Ac は対照培地の NO₂ 濃度を示している。ただし、ブランク培地は LPS 無添加培地、対照培地は試料添加培地と同一濃度の EtOH を含む培地とする。

抗炎症試験の妥当性確認のため、細胞活性測定キット (Cell Counting Kit-8) を用いて試料の細胞障害性を測定した。NO 産生試験と同一条件で試料及び LPS の存在下 20 時間培養し、培地を一旦除去後、Cell Counting Kit-8 を含む培地 (2 μ L reagent/98 μ L medium) で 6 時間培養し、マイクロプレートリーダー (Molecular Devices 製 M5) にて波長 450 nm と 650 nm における吸光度差 (ΔA) を測定した。細胞傷害性の程度は、対称区における ΔA に対する試料添加区の ΔA の比で表した。

2.3.4 コラゲナーゼ (MMP-1) 阻害活性

皮膚の抗老化作用の指標として、石橋の方法⁸⁾に準じてコラゲナーゼ (MMP-1) 阻害活性を測定した。

酵素源として、正常ヒト新生児皮膚由来線維芽細胞の培養上清を用いた。ただし、MMP-1 の酵素活性を上げるため、細胞をサイトカインで刺激して MMP-1 合成を促した。すなわち、細胞を 37°C、5%CO₂ 環境下、5%FBS 含有 DMEM 培地を用いてほぼコンフルエントになるように播種し、37°Cにて 24 時間培養後に PBS(-)で 1 回洗浄した。100 ng/mL IL-1 α 及び 100 ng/mL EGF を含有した FBS 不含 DMEM を添加後、37°C、5%CO₂ 環境下で 48 時間培養して培養上清を回収した。培養上清 8 vol に対して 50 μ g/mL trypsin 溶液 1 vol を添加して 37°Cにて 15 分反応させ、MMP-1 を活性化させた。反応後 0.25 mg/mL trypsin inhibitor 溶液 1 vol を添加し trypsin を失活し、MMP-1 溶液とした。MMP-1 溶液は、所定の酵素活性になるように Tris-HCl 緩衝液 (pH7.4, 50 mmol/L) で希釈して使用した。

10 mg/mL の濃度で 80% EtOH に溶解させた海藻類抽出物を、反応時の終濃度が 100 μ g/mL になるよう Tris-HCl 緩衝液 (pH7.4, 50 mmol/L) で希釈し、96 ウェルマイクロプレートの所定のウェルに 50 μ L 添加した (1 試料あたり 3 反復)。さらに MMP-1 溶液 50 μ L を添加して 10 分間 37°Cでプレインキュベートした後、10 μ mol/L 人工基質溶液を添加して 37°Cにて 60min 反応させ、蛍光マイクロプレートリーダーにより蛍光強度 (Ex 320nm, Em 405nm) を測定した。ただし、海藻類抽出物の代わりに、抽出物と同一濃度の EtOH を含む Tris-HCl 緩衝液を対照区とし、両区において MMP-1 溶液の代わりに Tris-HCl 緩衝液を添加したウェルをブランクとした。MMP-1 の人工基質として、合成ペプチド [MOCac-Pro-Leu-Gly-Leu-A2pr(Dnp)-Ala-Arg-NH₂] を 10 μ mol/L で Tris-HCl 緩衝液に溶解させたものを用いた。

MMP-1 活性の阻害率は式 (2) により導いた。

$$\text{MMP-1阻害 (\%)} = 1 - \frac{Aa - Ab}{Ac - Ad} \times 100 \quad (2)$$

ここで、Aa はそれぞれ試料添加区 (MMP-1 添加)、Ab は試料添加区 (ブランク)、Ac は対照区 (MMP-1 添加)、Ad は対照区 (ブランク) における蛍光強度とする。

2.4 成分分析

2.4.1 総ポリフェノール

総ポリフェノール量の測定は既報⁹⁾に準じ、Folin-Ciocalteu 法¹⁰⁾を一部改良して行った。すなわち、96 ウェルマイクロプレートに 10 μ L の試料溶液を加え、

10 倍希釈した Folin-Ciocalteu 試薬 75 μ L を加えて攪拌し、室温で 5 分間静置した。さらに、2%炭酸ナトリウム溶液 75 μ L を加え、攪拌し、室温で 15 分間静置後、マイクロプレートリーダーにて 750 nm の吸光度を測定した。試料溶液は各海藻試料の 80% EtOH 抽出液とし、phloroglucinol を標準物質として検量線を作成した。総ポリフェノール含量は、抽出物の乾燥重量当たりの phloroglucinol 当量として表した。

2.5 抗老化作用に関与する成分の分画と推定

2.5.1 関与成分の溶媒分画

海藻類抽出物のうち、強い MMP-1 阻害活性を認めたウミウチワ *Padina arborescens* を対象に、固相抽出による関与成分の分画を行った。1 g のウミウチワ乾燥微粉末に 40 mL の EtOH を添加し、90°Cで 5 分間処理した後に 30 分攪拌抽出した。遠心分離により抽出液を回収した後、残渣に再度同量の EtOH を添加して抽出を繰り返し、得られた抽出液を減圧濃縮して抽出物を得た。

抽出物を 20 mg/mL の濃度になるよう EtOH に再溶解後、カラム式固相抽出樹脂を用いて表 1 に示すようにカラム素通り画分、第 1 溶出画分及び第 2 溶出画分に分画し、総ての画分を所定量に定容して MMP-1 阻害活性測定に供した。阻害活性が最も強い画分については、溶出溶媒の組成を段階的に変えてより細かい分画を行い、活性物質の特定化を試みた。

2.5.2 MMP-1 阻害画分の LC-MS による質量分析

MMP-1 阻害活性が強い画分について、高速液体クロマトグラフィー (HPLC) -エレクトロスプレーイオン化イオントラップ質量分析 (LC-ITMS, LC ; Agilent 製 1100 series, ITMS ; Bruker 製 HCT Ultra) に供し、活性物質の分子構造の特定化を試みた。LC-ITMS の条件は表 2 に示した。

表 1 固相抽出法による分画条件

樹脂	素通り画分	第1溶出画分	第2溶出画分
Sep-Pak [®] C18	水	50% aq. EtOH	EtOH
OASIS [®] WAX	水	0.5% aq. Formic acid	5% aq. Formic acid
OASIS [®] MAX	水	0.5% aq. Formic acid	5% aq. Formic acid
OASIS [®] WCX	水	0.5% aq. Ammonia	5% aq. Ammonia
OASIS [®] MCX	水	0.5% aq. Ammonia	5% aq. Ammonia

%表示は総てv/v

表 2 LC-ITMS によるウミウチワ分画物の分析条件

	項目	条件
HPLC	装置	1100 series (Agilent Technologies)
	カラム	Cadenza CD-C18, ϕ 2 X 250 mm with guard (Imtakt Corp.)
	移動相	A: acetonitrile/water/formic acid = 95/5/0.1 (v/v), B: acetonitrile/formic acid = 100/0.1 (v/v), 0→40 min: B0-100% with linear gradient, 40→45 min: hold at B100%
	流量	0.2 mL/min
	検出	Photodiode array at 200-400 nm
	カラム温度	40°C
	注入量	3 μ L
	MS	装置
イオン源		electrospray ionization
極性		negative & positive modes
イオン源温度		350°C
ネブライザーガス圧		45 psi
ネブライザーガス流量		8 L/min
キャピラリー電位		4 kV
End plate offset		-0.5 kV
スキャン範囲		50-1,600 m/z
スキャン速度		8,100 m/z/sec

3. 結果及び考察

3.1 採取した海藻類

本研究により採取した海藻類のうち、種の同定に至ったものを表 3 にまとめた。褐藻綱 33 種、アオサ藻綱 7 種、真正紅藻綱 19 種、計 59 種の藻類が同定された。採取した海藻類のうち、目視により資源量が比較的多いと判断された種は、松島沿岸においてはアラメ、クロメ、ノコギリモク、ワカメ、アオワカメ、アカモク、ホンダワラの 7 種で、これらは大型の褐藻類に属する。また、弁天島においてはアナアオサ、イロロ、イシゲ、ウミウチワ、ウミトラノオの 5 種がよく見られ、これらは潮間帯に生息する比較的小型の海藻類である。

3.2 機能性評価

海藻類 80% EtOH 抽出物の ORAC 値、NO 産生阻害活性、MMP-1 阻害活性及び総ポリフェノール含量を表 4 に示す。ORAC においては、褐藻綱が一様に高い値を示し、なかでもクロメ、イシゲ、アラメ、イソモク、ヤナギモク、シワヤハズ、ウスバノコギリモク、ヨレモクの 8 種は ORAC 値が 1,000 μ mol TE / g を超える高値を示した。また、NO 産生阻害においては、細胞への添加濃度 30 μ g/mL でシワヤハズ、

タマイタダキ、ユカリ、フダラク、ケヤリ、ノコギリモクの 6 種に 20% を超える強い阻害活性が認められ、特に、シワヤハズ、タマイタダキ、及びユカリについては 50% を超える阻害率を示した。ただし、シワヤハズについては、抽出物の添加により細胞生存率が顕著に低下（対照区に比して 64%）し、抽出物の細胞障害性が疑われた。シワヤハズの抗炎症作用は、細胞障害性が現れない低濃度域での再試験の結果を待って判断すべきと思われる。なお、シワヤハズ以外の総ての試料において、細胞生存率は対照区に比して 98~106% の範囲内であり、抽出物による細胞障害性を認めなかった（データ示さず）。

MMP-1 阻害活性においては、終濃度 100 μ g/mL でウミウチワ、イシゲ、イロロ、ヨレモク、シワヤハズ、クロメ、ノコギリモクの 7 種に 70% を超える強い阻害が認められた。MMP-1 は、真皮や表皮の細胞が産生するコラーゲン分解酵素（コラゲナーゼ）として知られている。皮膚の構造の大部分を占める真皮は、皮膚の弾力性やハリを保つ役割を担っており、その主要成分はコラーゲン等の膠原線維である。皮膚の老化は、真皮コラーゲンの減少や変性に起因することが多いと考えられる。一方、コラーゲン分解

表 3 唐津市沿岸で採取した海藻類の一覧

和名	学名	分類
1 サキブトミル	<i>Codium contractum</i>	アオサ藻綱ハネモ目ハネモ亜目ミル科ミル属
2 ミル	<i>Codium fragile</i>	アオサ藻綱ハネモ目ハネモ亜目ミル科ミル属
3 タマミル	<i>Codium minus</i>	アオサ藻綱ハネモ目ハネモ亜目ミル科ミル属
4 イトミル	<i>Codium tenue</i>	アオサ藻綱ハネモ目ハネモ亜目ミル科ミル属
5 ウチワサボテングサ	<i>Halimeda discoidea</i>	アオサ藻綱ハネモ目ハネモ亜目サボテングサ科サボテングサ属
6 ヒラアオノリ	<i>Ulva compressa</i>	アオサ藻綱アオサ目アオサ科アオサ属
7 アナアオサ	<i>Ulva pertusa</i>	アオサ藻綱アオサ目アオサ科アオサ属
8 フクロノリ	<i>Colpomenia sinuosa</i>	褐藻綱ヒバマタ亜綱シオミドロ目カヤモノリ科フクロノリ属
9 ヒラムチモ	<i>Cutleria multifida</i>	褐藻綱ヒバマタ亜綱チロブテリス目ムチモ科ヒラムチモ属
10 シワヤハズ	<i>Dictyopteris undulata</i>	褐藻綱アミジグサ亜綱アミジグサ目アミジグサ科シマオウギ連ヤハズグサ属
11 クロメ	<i>Ecklonia kurome</i>	褐藻綱ヒバマタ亜綱コンブ目コンブ科カジメ属
12 アラメ	<i>Eisenia bicyclis</i>	褐藻綱ヒバマタ亜綱コンブ目コンブ科カジメ属
13 ヒジキ	<i>Hizikia fusiformis</i>	褐藻綱ヒバマタ亜綱ヒバマタ目ホンダワラ科ホンダワラ属バクトロフィクス亜属ヒジキ節
14 カゴモノリ	<i>Hydroclathrus clathratus</i>	褐藻綱ヒバマタ亜綱シオミドロ目カヤモノリ科カゴモノリ属
15 イロロ	<i>Ishige foliacea</i>	褐藻綱イシゲ亜綱イシゲ目イシゲ科イシゲ属
16 イシゲ	<i>Ishige okamurae</i>	褐藻綱イシゲ亜綱イシゲ目イシゲ科イシゲ属
17 ムチモ	<i>Mutimo cylindricus</i>	褐藻綱ヒバマタ亜綱チロブテリス目ムチモ科ムチモ属
18 ジョロモク	<i>Myagropsis myagroides</i>	褐藻綱ヒバマタ亜綱ヒバマタ目ホンダワラ科ジョロモク属
19 ウミウチワ	<i>Padina arborescens</i>	褐藻綱アミジグサ亜綱アミジグサ目アミジグサ科シマオウギ連ウミウチワ属
20 セイヨウハバノリ	<i>Petalonia fascia</i>	褐藻綱ヒバマタ亜綱シオミドロ目カヤモノリ科セイヨウハバノリ属
21 シワノカワ	<i>Petrospongium rugosum</i>	褐藻綱ヒバマタ亜綱シオミドロ目シワノカワ科シワノカワ属
22 ヤナギモク	<i>Sargassum coreanum</i>	褐藻綱ヒバマタ亜綱ヒバマタ目ホンダワラ科ホンダワラ属バクトロフィクス亜属ハクロア節
23 イソモク	<i>Sargassum hemiphylum</i>	褐藻綱ヒバマタ亜綱ヒバマタ目ホンダワラ科ホンダワラ属バクトロフィクス亜属テレティア節
24 アカモク	<i>Sargassum horneri</i>	褐藻綱ヒバマタ亜綱ヒバマタ目ホンダワラ科ホンダワラ属バクトロフィクス亜属スボンゴカルプス
25 シマウラモク	<i>Sargassum incanum</i>	褐藻綱ヒバマタ亜綱ヒバマタ目ホンダワラ科ホンダワラ属バクトロフィクス亜属ハクロア節
26 ノコギリモク	<i>Sargassum macrocarpum</i>	褐藻綱ヒバマタ亜綱ヒバマタ目ホンダワラ科ホンダワラ属バクトロフィクス亜属ハクロア節
27 トゲモク	<i>Sargassum micracanthum</i>	褐藻綱ヒバマタ亜綱ヒバマタ目ホンダワラ科ホンダワラ属バクトロフィクス亜属ハクロア節
28 タマハハキモク	<i>Sargassum muticum</i>	褐藻綱ヒバマタ亜綱ヒバマタ目ホンダワラ科ホンダワラ属バクトロフィクス亜属テレティア節
29 ヤツマタモク	<i>Sargassum patens</i>	褐藻綱ヒバマタ亜綱ヒバマタ目ホンダワラ科ホンダワラ属ホンダワラ亜属
30 マメタワラ	<i>Sargassum pihliferum</i>	褐藻綱ヒバマタ亜綱ヒバマタ目ホンダワラ科ホンダワラ属ホンダワラ亜属
31 ウスパノコギリモク	<i>Sargassum serratifolium</i>	褐藻綱ヒバマタ亜綱ヒバマタ目ホンダワラ科ホンダワラ属バクトロフィクス亜属ハクロア節
32 ヨレモク	<i>Sargassum siliquastrum</i>	褐藻綱ヒバマタ亜綱ヒバマタ目ホンダワラ科ホンダワラ属バクトロフィクス亜属ハクロア節
33 ホンダワラ	<i>Sargassum sp.</i>	褐藻綱ヒバマタ亜綱ヒバマタ目ホンダワラ科ホンダワラ属
34 ウミトラノオ	<i>Sargassum thunbergii</i>	褐藻綱ヒバマタ亜綱ヒバマタ目ホンダワラ科ホンダワラ属バクトロフィクス亜属テレティア節
35 エンドウモク	<i>Sargassum yendoi</i>	褐藻綱ヒバマタ亜綱ヒバマタ目ホンダワラ科ホンダワラ属ホンダワラ亜属
36 エゾノネジモク	<i>Sargassum yezoense</i>	褐藻綱ヒバマタ亜綱ヒバマタ目ホンダワラ科ホンダワラ属バクトロフィクス亜属レベンティア節
37 カヤモノリ	<i>Scytosiphon lomentaria</i>	褐藻綱ヒバマタ亜綱シオミドロ目カヤモノリ科カヤモノリ属
38 アオワカメ	<i>Undaria peterseniana</i>	褐藻綱ヒバマタ亜綱コンブ目チガイソ科ワカメ属
39 ワカメ	<i>Undaria pinnatifida</i>	褐藻綱ヒバマタ亜綱コンブ目チガイソ科ワカメ属
40 ケヤリ	<i>Sporochnus radiciformis</i>	褐藻綱ヒバマタ亜綱ケヤリモ目ケヤリモ科ケヤリ属
41 カニノテ	<i>Amphiroa dilatata</i>	真正紅藻綱サンゴモ亜綱サンゴモ目サンゴモ科イシゴロモ亜科カニノテ属
42 イギス	<i>Ceramium kondoi</i>	真正紅藻綱マサゴシバリ亜綱イギス目イギス科イギス連イギス属
43 ユナ	<i>Chondria crassicaulis</i>	真正紅藻綱マサゴシバリ亜綱イギス目フジマツモ科イトグサ亜科ヤナギノリ連ヤナギノリ属
44 タマイタダキ	<i>Delisea japonica</i>	真正紅藻綱マサゴシバリ亜綱カギノリ目カギノリ科タマイタダキ属
45 ギボウシガラガラ	<i>Galaxaura apiculata</i>	真正紅藻綱マサゴシバリ亜綱ウミゾウメン目ガラガラ科ヒラガラガラ属
46 マクサ	<i>Geldidium elegans</i>	真正紅藻綱マサゴシバリ亜綱テングサ目テングサ科テングサ属
47 フクロフノリ	<i>Gloiopeltis furcata</i>	真正紅藻綱マサゴシバリ亜綱スギノリ目フノリ科フノリ属
48 ムカデノリ	<i>Grateloupia filicina</i>	真正紅藻綱マサゴシバリ亜綱イソノハナ目ムカデノリ科ムカデノリ属
49 マルバフダラク	<i>Grateloupia kurogii</i>	真正紅藻綱マサゴシバリ亜綱イソノハナ目ムカデノリ科ムカデノリ属
50 フダラク	<i>Grateloupia lanceolata</i>	真正紅藻綱マサゴシバリ亜綱イソノハナ目ムカデノリ科タンバノリ属
51 カバノリ	<i>Hydroclathrus clathratus</i>	真正紅藻綱マサゴシバリ亜綱オゴノリ目オゴノリ科オゴノリ属
52 イバラノリ	<i>Hypnea asiatica</i>	真正紅藻綱マサゴシバリ亜綱スギノリ目シストクロニウム科イバラノリ属
53 ミツデソソ	<i>Laurencia okamurae</i>	真正紅藻綱マサゴシバリ亜綱イギス目フジマツモ科ソソ連ソソ属
54 フジツナギ	<i>Lomentaria catenata</i>	真正紅藻綱マサゴシバリ亜綱マサゴシバリ目フシツナギ科フシツナギ属
55 エツキイワノカワ	<i>Peyssonnetta caulifera</i>	真正紅藻綱マサゴシバリ亜綱イワノカワ目イワノカワ科イワノカワ属
56 ユカリ	<i>Plocamium telfairiae</i>	真正紅藻綱マサゴシバリ亜綱ユカリ目ユカリ科ユカリ属
57 ショウジョウケノリ	<i>Polysiphonia senticulosa</i>	真正紅藻綱マサゴシバリ亜綱イギス目フジマツモ科イトグサ連イトグサ属
58 フサノリ	<i>Scinaia japonica</i>	真正紅藻綱ウミゾウメン亜綱ウミゾウメン目ガラガラ亜目フサノリ科フサノリ属
59 ニセフサノリ	<i>Scinaia okamurae</i>	真正紅藻綱ウミゾウメン亜綱ウミゾウメン目ガラガラ亜目フサノリ科フサノリ属

採取日：2017～2018年，採取場所：佐賀県唐津市松島及び弁天島。

種の同定は海藻研究所及び玄海地区海藻研究会による。また、海藻の分類は、神戸大学内海域環境教育研究センター 鈴木雅大特命助教が運営する「生きもの好きの語る自然史」(<http://natural-history.main.jp/indexs.html>)より引用した。

表 4 唐津市沿岸で採取した海藻類抽出物における機能性及び成分含量

測定項目	抽出物の 回収率	ORAC	NO産生阻害		MMP-1阻害		総ポリフェノール
			平均値	SD	平均値	SD	
単位	%	μmol Trolox当量 /g抽出物	%		%		mg phloroglucinol当量 /g抽出物
1 サキブトミル	44.3	49.8	-8.7	2.6	34.3	5.4	6.7
2 ミル	40.0	34.5	4.1	1.2	17.0	3.6	4.5
3 タマミル	46.7	91.4	1.5	3.8	24.3	3.6	3.1
4 イトミル	36.9	0.0	-12.4	16.7	未測定		4.8
5 ウチワサボテングサ	11.5	228.3	5.3	0.9	29.6	2.1	8.5
6 ヒラアオノリ	14.2	416.4	5.2	1.5	39.4	2.8	11.9
7 アナアオサ	14.2	175.6	9.2	0.1	35.4	1.2	7.8
8 フクロノリ	22.9	127.3	2.3	3.8	24.7	0.6	7.2
9 ヒラムチモ	30.1	138.1	0.4	3.0	36.2	2.2	8.1
10 シワヤハズ	26.2	1367.4	85.5	5.2	78.1	0.4	85.3
11 クロメ	39.6	3206.9	1.9	4.1	71.6	3.1	217.1
12 アラメ	41.8	1683.4	-6.9	1.8	65.5	4.1	175.2
13 ヒジキ	40.5	456.6	2.7	2.4	50.1	1.6	50.6
14 カゴメノリ	30.6	164.2	6.8	3.6	22.0	1.5	7.8
15 イロロ	11.1	748.0	1.3	1.2	83.0	0.8	80.9
16 イシゲ	20.9	2008.3	3.9	1.8	83.5	1.2	146.1
17 ムチモ	36.1	204.3	7.5	1.7	30.5	2.2	11.0
18 ジョロモク	18.7	218.1	-0.8	0.5	14.5	3.7	10.0
19 ウミウチワ	30.4	530.0	-14.9	1.5	89.7	0.3	87.3
20 セイヨウハバノリ	29.8	361.8	-0.3	3.1	35.1	2.5	19.3
21 シワノカワ	30.1	173.3	-0.9	3.0	68.8	1.2	20.6
22 ヤナギモク	37.0	1391.6	5.5	1.5	59.6	3.5	115.0
23 イソモク	30.7	1393.7	5.8	2.7	44.6	2.9	44.1
24 アカモク	34.8	507.4	3.7	1.8	57.5	2.2	29.7
25 シマウラモク	26.0	353.7	-0.9	6.8	未測定		9.4
26 ノコギリモク	38.4	918.8	20.0	4.3	70.6	3.1	61.1
27 トゲモク	32.4	760.4	2.3	2.4	61.8	2.1	62.2
28 タマハハキモク	37.4	535.1	-2.6	2.2	53.9	0.6	39.7
29 ヤツマタモク	30.9	280.3	8.2	0.5	40.4	2.3	19.0
30 マメタワラ	25.8	555.9	-6.0	1.1	63.5	2.6	26.7
31 ウスバノコギリモク	63.7	1140.2	7.5	1.6	18.5	5.0	12.8
32 ヨレモク	26.2	1124.2	14.0	2.4	81.9	1.2	117.1
33 ホンダワラ	35.2	260.7	9.5	0.2	24.5	3.7	16.7
34 ウミトラノオ	29.6	930.9	13.4	2.1	60.1	1.3	70.2
35 エンドウモク	33.4	533.5	4.8	1.2	66.0	5.0	39.1
36 エゾノネジモク	30.0	412.2	18.0	2.6	55.8	2.4	42.0
37 カヤモノリ	33.4	159.1	0.1	1.8	64.9	1.8	17.6
38 アオワカメ	33.4	147.5	8.9	0.9	62.9	1.8	20.1
39 ワカメ	31.8	155.7	-0.5	0.2	11.5	6.5	6.3
40 ケヤリ	29.3	266.7	30.6	4.6	未測定		24.4
41 カニノテ	4.0	152.8	4.7	3.5	23.1	2.4	10.1
42 イギス	26.5	162.2	9.9	3.9	30.6	1.4	14.2
43 ユナ	30.7	174.0	-6.8	2.8	20.5	2.3	11.6
44 タマイタダキ	31.1	0.0	75.7	3.0	未測定		6.6
45 ギボウシガラガラ	25.4	219.1	8.9	1.6	19.3	2.2	8.0
46 マクサ	10.3	267.9	14.7	1.8	25.4	2.4	13.7
47 フクロフノリ	8.5	154.0	2.1	2.5	8.8	2.0	20.7
48 ムカデノリ	9.7	198.9	4.5	3.2	19.8	5.0	13.0
49 マルバフダラク	2.9	94.8	2.6	2.9	13.8	6.0	9.1
50 フダラク	12.5	508.4	33.8	0.4	60.3	0.7	35.2
51 カバノリ	7.8	206.8	8.1	1.2	32.1	1.1	14.8
52 イバラノリ	22.0	113.4	6.4	3.6	17.5	5.5	9.2
53 ミツデソソ	29.5	196.4	1.7	2.4	24.3	3.1	10.9
54 フジツナギ	14.2	60.3	-3.1	2.3	25.6	2.5	7.0
55 エツキイワノカワ	7.0	160.7	18.9	2.4	15.6	3.7	10.2
56 ユカリ	10.6	286.8	67.8	2.9	34.1	5.5	9.8
57 ショウジョウケノリ	35.1	162.6	16.7	3.6	26.4	3.3	8.2
58 フサノリ	60.4	144.7	-3.9	5.9	15.1	1.4	3.8
59 ニセフサノリ	60.9	0.0	-8.3	13.2	未測定		2.4

は紫外線や酸化ストレスにより誘導するコラゲナーゼによって引き起こされ、コラゲナーゼの活性を抑制することは皮膚の老化防止のための有効な方法の一つであると考えられる。本研究においては多くの海藻類に MMP-1 阻害活性が認められ、なかでもウミウチワ、イシゲ、イロロ等、潮間帯に生息する未利用の小型海藻類に強い活性を認めた。実際に人に適用したときの有効性、肌への安全性や真皮への吸収性等、商品化にあたって検討すべき課題はあるが、抗老化化粧品の原料としての利用可能性を拓く有用な知見と考えられる。

3.3 総ポリフェノール量及び機能性との関連性

海藻類抽出物の乾燥重量あたりの総ポリフェノール含量を表 4 に示す。総ポリフェノールについては、褐藻綱が一様に高い値を示し、中でもクロメ、アラメ、イシゲ、ヨレモク、ヤナギモクの 5 種は、100 mg phloroglucinol 当量/g を超える高い値を示した。

今回調査した機能性と総ポリフェノール含量との間の相関性をみた結果、図 1 に示すように ORAC 値と総ポリフェノール含量との間に非常に高い正の相関 ($r=0.916$) が認められた。また、MMP-1 阻害活性との間にも高い相関性 ($r=0.713$) が認められた。一方で、NO 産生阻害作用との間には相関性が認められなかった ($r=0.004$)。この結果は前報⁴⁾と同様であり、抗酸化活性及び MMP-1 阻害活性の主たる作用因子としてのポリフェノール類を示唆している。

3.4 カジメ属の産業利用

本調査における海藻類の機能性及び成分含量の結果を表 5 にまとめた。強力な抗酸化活性及び MMP-1 阻害活性を示したクロメ *Ecklonia kurome* やアラメ *Eisenia bicyclis* などのカジメ属 (図 2) は、食用海藻として利用され、目視調査の限りでは資源量も比較的多かった。カジメ属については、抗酸化活性¹¹⁻¹³⁾、抗糖尿病作用¹⁴⁻¹⁶⁾、肝臓保護作用^{17,18)}、抗肥満作用¹⁹⁾など、多数の健康維持機能が報告され、その作用メカニズムとして、eckol, dieckol, phlorofucofuroeckol-A 等、phlorotannin と呼ばれる褐藻由来のポリフェノール類の関与が示唆されている。図 1 に示したように、抗酸化活性及び MMP-1 阻害活性においても、ポリフェノール類の関与は明確である。これまでの報告¹¹⁻¹⁹⁾と同様に、phlorotannin 類がカジメ属をはじめとする褐藻綱における抗酸化活性及び MMP-1 阻害活性の主たる関与化合物であると推察される。

カジメ属は、道の駅等の地場産品売場で、湯通し品や乾燥品等、比較的シンプルな加工品として販売

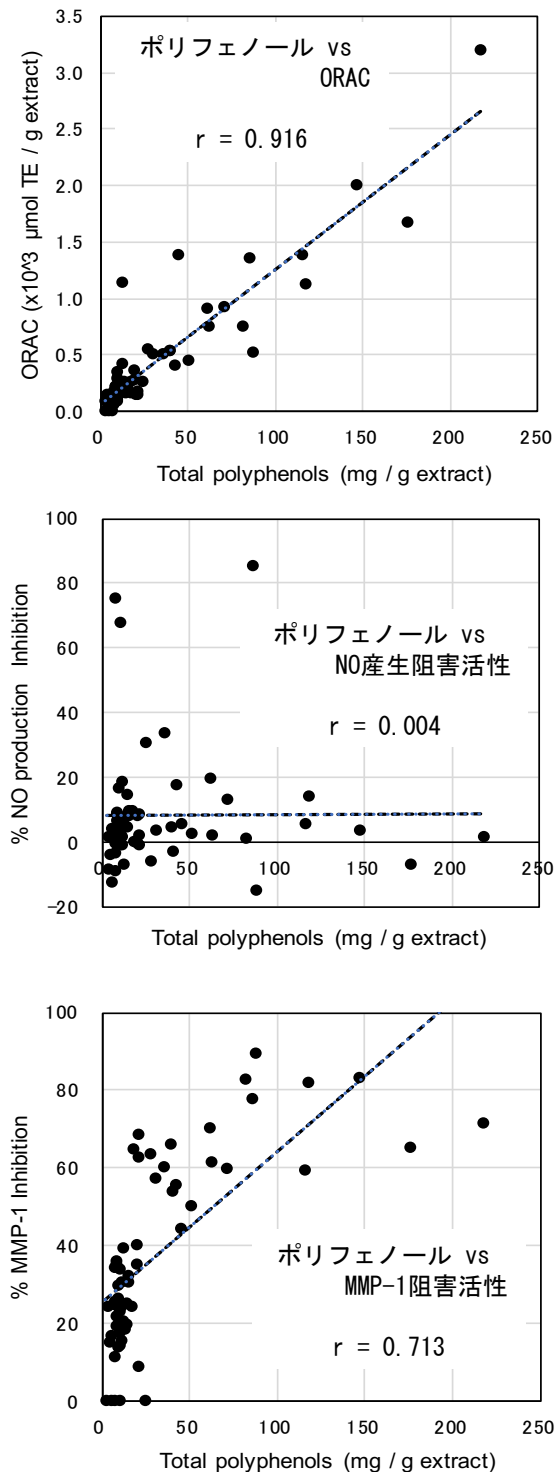


図1 海藻類抽出物における機能性—ポリフェノール量の相関

されている。また、加工品として販売する場合、美味しさを追求するために原料藻の選別や不可食部位の除去を行う場合が多い。本研究の結果は、機能性食品や化粧品等におけるカジメ属の新たな用途を提示する有用な知見と考えられ、風味の点で劣る原料

表 5 高い機能性を有する海藻類の一覧

機能性	評価指標	活性が高かった海藻		
		褐藻綱	紅藻綱	緑藻綱
抗酸化作用	ORAC : 1,000 $\mu\text{mol TE/g}$ 抽出物 以上	クロメ、イシゲ、アラメ、イソモク、ヤナギモク、シワヤハズ、ウスバノコギリモク、ヨレモク	—	—
抗炎症作用	NO産生阻害 : 20%以上	シワヤハズ ¹ 、ケヤリ、ノコギリモク	タマイタダキ、ユカリ、フダラク	—
皮膚の抗老化作用	MMP-1阻害 : 70%以上	ウミウチワ、イシゲ、イロロ、ヨレモク、シワヤハズ、クロメ、ノコギリモク	—	—

¹細胞障害性が見られたため、より低濃度域での再試験が必要



図 2 褐藻綱カジメ属

左 : クロメ (採取場所 : 佐賀県唐津市松島, 採取日 : 2018.3.4)
 右 : アラメ (採取場所 : 佐賀県唐津市松島, 採取日 : 2018.3.4)



図 3 褐藻綱ノコギリモク

採取場所 : 佐賀県唐津市弁天島,
 採取日 : 2018.7.12



図 4 潮間帯の海藻類

左上 : 褐藻綱ウミウチワ (2018.5.29 採取)
 右上 : 褐藻綱シワヤハズ (2018.5.29 採取)
 左下 : 褐藻綱イロロ (2018.3.17 採取)
 右下 : 褐藻綱イシゲ (2018.3.17 採取)
 佐賀県唐津市弁天島にて採取

藻や未利用部位の有効活用につながることを期待される。

一方で、近年、西日本では、南方系の藻食性魚類によるカジメ属の食害が報告²⁰⁾され、カジメ属を供給する藻場の衰退が懸念されている。カジメ属資源の活用にあたっては、天然資源の供給に依存しすぎること、資源の枯渇を招く懸念がある。今後、養殖技術の開発や藻場環境の整備など、海藻資源の持続的な活用に関する技術の進展が強く望まれる。

3.5 ノコギリモクの産業利用

褐藻綱ノコギリモク *Sargassum macrocarpum* (図3) は食履歴もなく現在全く活用されていないが、松島南岸や弁天島の浅場には比較的良好に見られる海藻である。これまでノコギリモクの生理機能や活用に関する研究はほとんどなかったが、われわれの研究では、ノコギリモク抽出物がマクロファージによる NO/TNF- α 産生を抑制する⁴⁾ことを明らかにし、その関与化合物として、ノコギリモクに特徴的に含まれるユニークな meroterpenoid 類 sargahydroquinic acid 及び sargaquinic acid を推定している。今回の調査では、表4に示すように、新たにノコギリモク抽出物の MMP-1 阻害活性が明らかとなった。この知見は、抗老化化粧品素材としてのノコギリモクの新たな用途を提案するものである。

3.6 潮間帯の小型海藻類の産業利用

3.2 項で述べたように、潮間帯に生息する小型海藻類 (図4) には強い抗酸化活性や MMP-1 阻害活性が認められたが、これらの資源は現在ほとんど活用

されておらず、機能性に関する報告も少ない。そこで、MMP-1 阻害活性が最も高く、潮間帯や浅場での生息密度も比較的高かった褐藻綱ウミウチワ *Padina arborescens* に着目し、MMP-1 阻害因子の特定化を試みた。

固相抽出樹脂を用いて分けた画分のうち、MMP-1 阻害活性が最も強かったのは、図5に示すように Sep-pak[®] C18 樹脂における 50% EtOH 溶出画分であった。そこで、Sep-pak[®] C18 樹脂を用いて EtOH 濃度を 10% 間隔で 0% から 50% まで段階的に上げて溶出させた。各画分の MMP-1 阻害活性を測ったところ、すべての溶出画分において MMP-1 阻害が認められたが、図6に示すように活性が最も強かったのは 20% EtOH 溶出画分であった。また、EtOH 抽出物に含まれるポリフェノール類は各画分に分配され、30% EtOH 溶出画分が最も高い分配率を示した。

溶出画分に含まれる化合物を特定すべく、LC-ITMS による解析を行った。10% EtOH 溶出画分において、保持時間 12~18 分でマスペクトルを平均化したところ、m/z 497 から 1241 の範囲で m/z 248 の等間隔に並ぶマスペクトル ([M-H]⁻) が観察された (図7)。また、20% EtOH 溶出画分において、保持時間 16.5~20 分でマスペクトルを平均化したところ、m/z 744.5 から 1365 の範囲で m/z 124 の等間隔に並ぶマスペクトル ([M-2H]²⁻) が観察された (図8)。

これらの結果より、両画分に含まれる化合物群の質量 (M) が表6のように求められる。これらの化

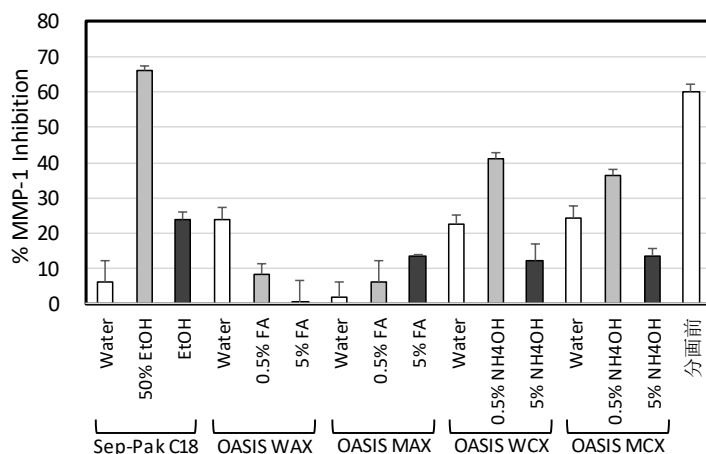


図5 ウミウチワ抽出物由来固相抽出分画物の MMP-1 阻害活性

ウミウチワ Ethanol 抽出物を 5 種類の固相抽出樹脂で分画し、MMP-1 阻害活性を測定した。
EtOH: ethanol, FA: aq. formic acid, NH4OH: aq. ammonia.

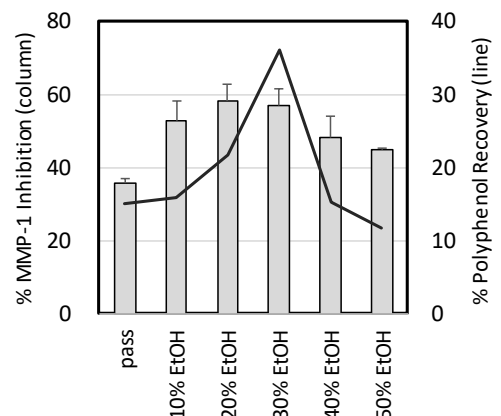


図6 ウミウチワ抽出物由来 Sep-Pak C18 分画物の MMP-1 阻害活性

ウミウチワ Ethanol 抽出物を Sep-Pak C18 で細分画し、MMP-1 阻害活性及びポリフェノール含量を測定した。
棒グラフ: MMP-1 阻害活性, 折れ線グラフ: ポリフェノール量, EtOH: ethanol.

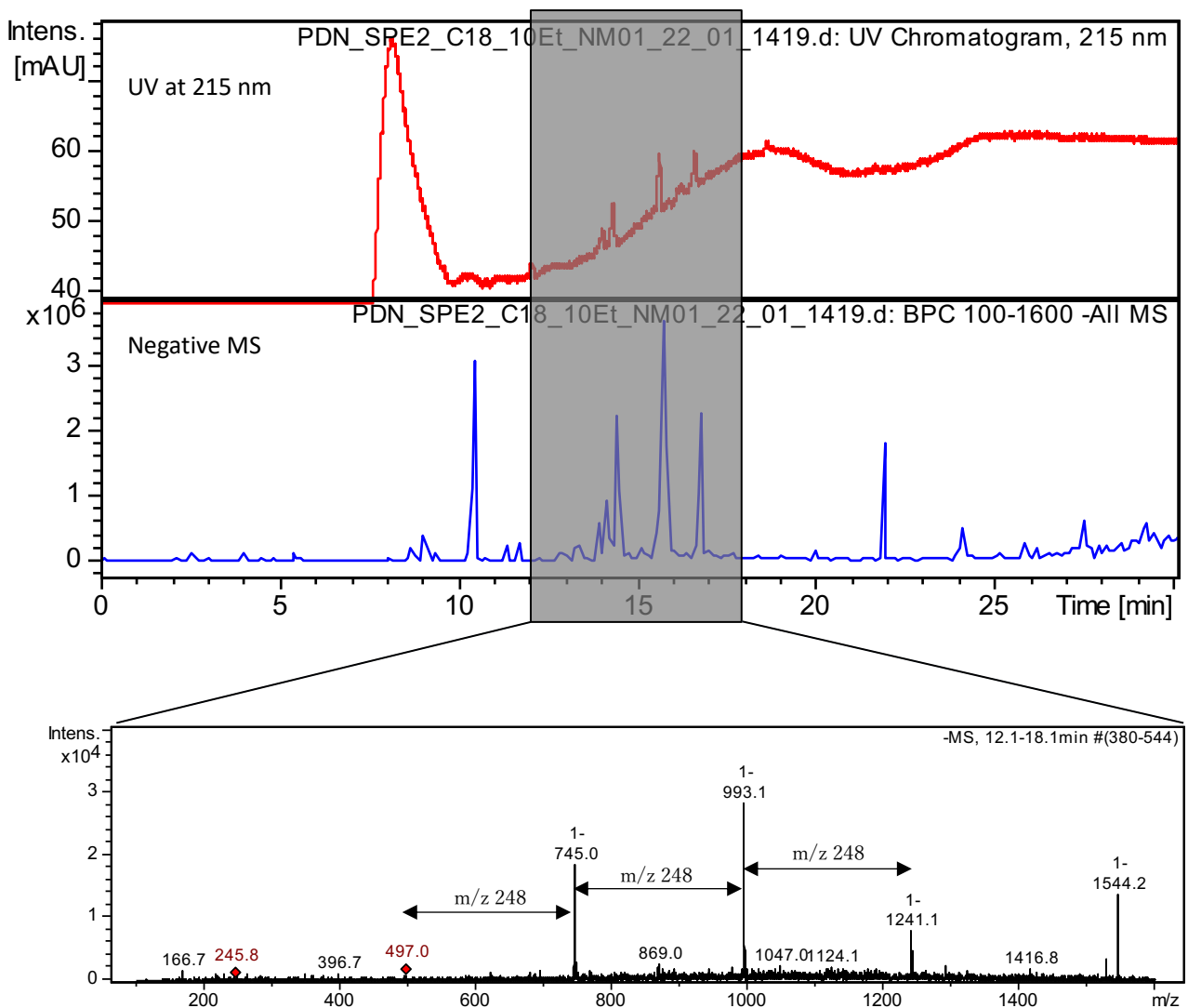


図7 ウミウチワ由来 MMP-1 阻害画分 (Sep-Pak C18 10% EtOH 溶出画分) の LC-ITMS 保持時間 12~18 分における平均化マスペクトルにおいて、等間隔 (m/z 248) に並ぶプロトン脱離分子 $[M-H]^+$ を検出。

化合物群は、その特徴的なマスペクトルのパターンから、phloroglucinol (図9) の脱水素 2 量体 (質量: 250) を構成単位とする脱水素ポリマー型の phlorotannin と予測する。なお、HPLC における UV 検出の結果から、30% EtOH 溶出画分にも質量 2,500 を超える高重合型 phlorotannin が含まれる可能性があるが、高質量側の MS の検出性能の問題により、本条件では MS のピークを観測することができなかった (データ示さず)。また、調査の限りでは、ウミウチワ属由来 phlorotannin 類に関する報告もないため、MMP-1 阻害活性を有するウミウチワ由来 phlorotannin 類の分子構造を決定するためには、核磁気共鳴分析等を用いた詳細な構造解析が必要と思われる。

3.6 海藻の産業利用の展望

本研究における採取地の松島は人口 50 人余の小さな島で、海士 (あま) によるサザエやアワビなどの漁が盛んである。しかしながら、これらの漁獲は不安定で、安定した収入を得るための「稼げる島」への転換が模索されている。その取組の一つが、島民が 10 年ほど前から続けているアカモクやワカメなどの海藻類の加工²¹⁾である。また、漁獲だけに頼らず、余った海藻を肥料にした無農薬の野菜栽培にもチャレンジ²²⁾し、良質な農産物の生産にも成功している。水産資源の中でも安定した漁獲と収入が見込まれる海藻を軸にした島の漁業経営が、島民の収入を安定化させ、ひいては地域の活性化や島民の若返りにつながる好循環を生みつつある。

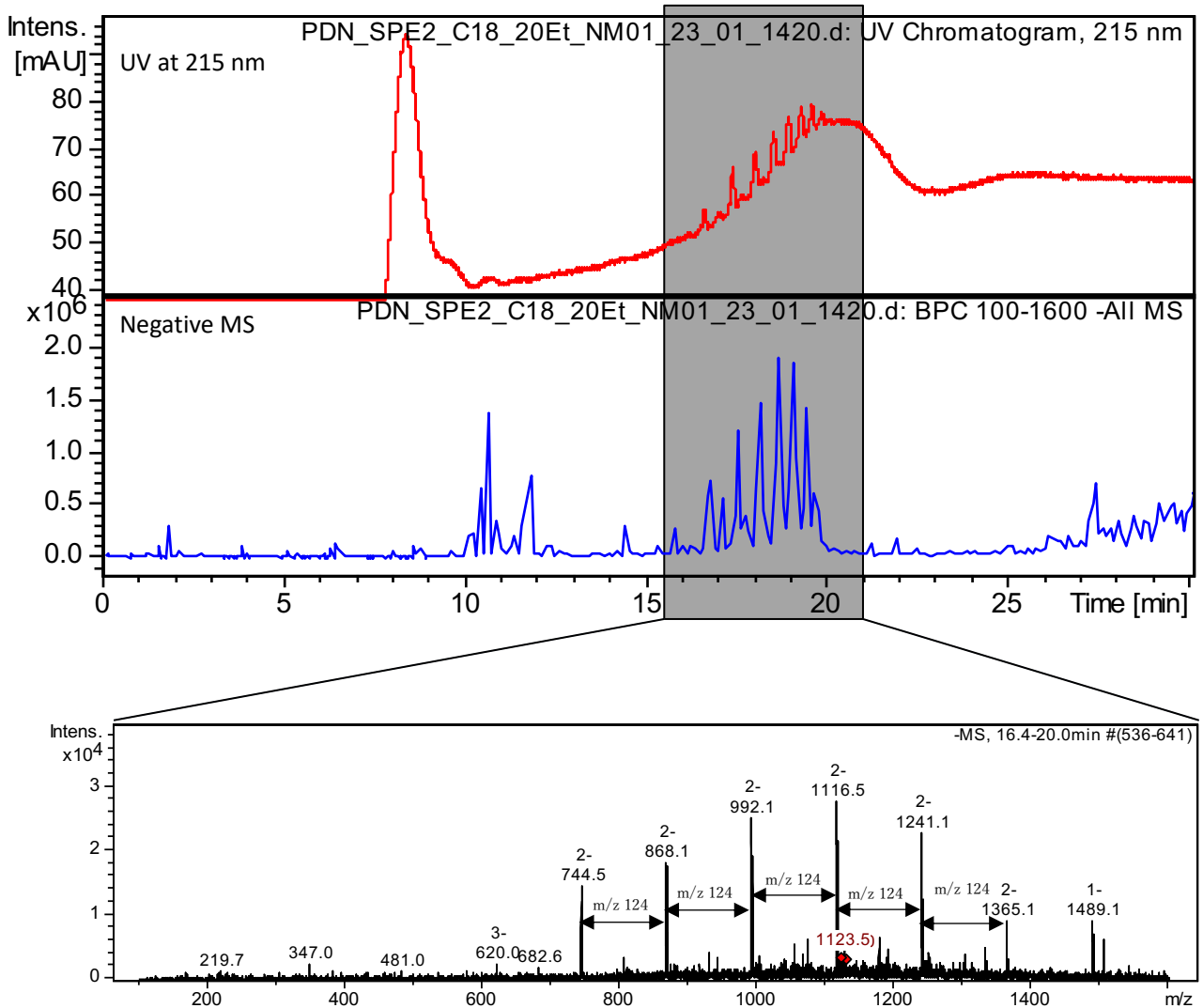


図 8 ウミウチワ由来 MMP-1 阻害画分 (Sep-Pak C18 20% EtOH 溶出画分) の LC-ITMS 保持時間 16.5~20 分における平均化マススペクトルにおいて、等間隔 (m/z 124) に並ぶプロトン脱離分子 $[M-2H]^{2-}$ を検出

表 6 Sep-Pak C18-10%EtOH 溶出画分の化合物プロファイル

Dp	M	m/z			
		[M-H] ⁻		[M-2H] ²⁻	
		Calculated	Found	Calculated	Found
2	250.0	249.0		124.0	
4	498.1	497.1	497.0	248.0	
6	746.1	745.1	745.0	372.0	
8	994.1	993.1	993.1	496.1	
10	1242.2	1241.2	1241.1	620.1	
12	1490.2	1489.2		744.1	
14	1738.2	1737.2		868.1	
16	1986.3	1985.3		992.1	
18	2234.3	2233.3		1116.1	
20	2482.3	2481.3		1240.2	
22	2730.4	2729.4		1364.2	

表 7 Sep-Pak C18-20%EtOH 溶出画分の化合物プロファイル

Dp	M	m/z			
		[M-H] ⁻		[M-2H] ²⁻	
		Calculated	Found	Calculated	Found
2	250.0	249.0		124.0	
4	498.1	497.1		248.0	
6	746.1	745.1		372.0	
8	994.1	993.1		496.1	
10	1242.2	1241.2		620.1	
12	1490.2	1489.2	1489.1	744.1	744.5
14	1738.2	1737.2		868.1	868.1
16	1986.3	1985.3		992.1	992.1
18	2234.3	2233.3		1116.1	1116.5
20	2482.3	2481.3		1240.2	1241.2
22	2730.4	2729.4		1364.2	1365.1

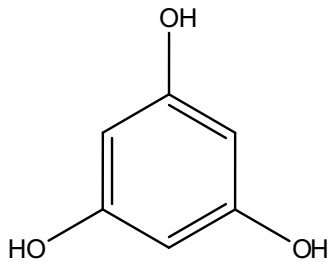


図 9 Phloroglucinol の分子構造

また、唐津市の化粧品産業においては、地元産の褐藻アカモクから硫酸化多糖類フコイダン抽出し、保湿性の高い化粧品として商品開発する企業²³⁾も生まれている。本研究によりその機能的価値が明らかとなったノコギリモクやウミウチワ等の新たな海藻資源が、地域における海藻の利用技術の創出につながるるとともに、地域の安定した暮らしと産業振興を繋ぐ貴重な財産となることを強く期待する。

4. おわりに

本研究では、佐賀県の玄海灘沿岸域に生息する海藻類の産業利用を志向し、唐津市松島産海藻類 59 種の機能性及び有用成分の含量を調査した。その結果、

- 1) 機能性食品や化粧品につながる生理機能が期待される海藻類が複数見出された。特に、採取した海藻類のうち、クロメ、イシゲ、アラメ、イソモク、ヤナギモク、シワヤハズ、ウスバノコギリモク、ヨレモクの 8 種に、ORAC を指標とする酸化活性が認められた。
- 2) タマイタダキ、ユカリ、フダラク、ケヤリ、ノコギリモクの 5 種に、マクロファージの NO 産生阻害を指標とする抗炎症作用が認められた。
- 3) ウミウチワ、イシゲ、イロロ、ヨレモク、シワヤハズ、クロメ、ノコギリモクの 7 種に、コラゲナーゼ (MMP-1) 阻害活性を指標とする皮膚の抗老化作用が認められた。
- 4) 抗酸化作用及び皮膚の抗老化作用とポリフェノール含量との間には高い相関が認められ、これらの作用がポリフェノールに起因すると考えられた。
- 5) 皮膚の抗老化作用が認められた褐藻綱ウミウチワ *Padina arborescens* の関与化合物として、phloroglucinol の脱水素 2 量体を構成単位とする脱水素ポリマー型 phlorotannin が推定された。

なお、本研究に使用したマイクロプレートリーダー、蛍光マイクロプレートリーダー及び高速液体クロマトグラフ-エレクトロスプレーイオン化-イオントラップ型質量分析装置は電源立地地域対策交付金により導入した。

本研究の遂行にあたり海藻採集に多大なるご協力を賜った、松島の海士 宗勇氏、海藻研究所 新井章吾所長、玄海地区海藻研究会 飯田勇次会長、及び佐賀県立厳木高等学校 前田修之教頭に深謝の意を表す。新井所長及び飯田会長には、海藻の種の同定に際してもご指導いただいた。重ねて感謝申し上げる。

5. 参考文献

- 1) 大津安夫, 金丸彦一郎, 佐賀県玄海域における藻場の現状と変動傾向, 佐賀県玄海水産振興センター研究報告, 6, 81-88 (2013).
- 2) 内閣府まち・ひと・しごと創生本部第 4 回地域しごと創生会議配布資料 3-6 (http://www.kantei.go.jp/jp/singi/sousei/meeting/chiiki_shigoto/h28-03-12-siryoushi-3-6.pdf) (2016).
- 3) <https://www.pref.saga.lg.jp/kiji00336234/index.html>
- 4) 柘植圭介, 岩元彬, 鶴田裕美, 山内良子, 藻類の産業利用に関する可能性研究 (第 1 報) -機能性を有する佐賀県産海藻資源の選抜-. 平成 29 年度佐賀県工業技術センター報告, 35-46 (2018).
- 5) 渡辺純, 沖智之, 竹林純, H-ORAC 分析法標準作業手順書, 国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構食品総合研究所 (2013).
- 6) 柘植圭介, 鶴田裕美, 佐藤真佐恵, 吉村臣史, 海藻由来脂質における抗炎症作用の解明とその活用 (2) -スサビノリにおける抗炎症性脂質の特定-. 平成 25 年度佐賀県工業技術センター報告, 19-28 (2014).
- 7) Ding AH, Nathan CF and Stuehr DJ, Release of reactive nitrogen intermediates and reactive oxygen intermediates from mouse peritoneal macrophages. Comparison of activating cytokines and evidence for independent production. *J. Immunol.*, 141, 2407-2412 (1988).
- 8) 石橋正巳 コラゲナーゼ抑制作用をもつ天然物の探索, コスメトロジー振興財団報告, 12, 31-34 (2004).
- 9) 鶴田裕美, 吉村臣史, 澤田和敬, 柘植圭介, 農産物の機能性を強化する加工条件の構築と応用, 平成 28 年度佐賀県工業技術センター報告, 49-53

- (2017).
- 10) Sun T., Tang J., Powers J. R., Effect of pectolytic enzyme preparations on the phenolic composition and antioxidant activity of asparagus juice, *J. Agric. Food Chem.*, 53 (1), 42-48 (2005).
 - 11) Kuda T., Ikemori T., Minerals, polysaccharides and antioxidant properties of aqueous solutions obtained from macroalgal beachcasts in the Noto Peninsula, Ishikawa, *Japan. Food Chem.*, 112, 575-581 (2009).
 - 12) Shibata T., Ishimaru K., Kawaguchi S., Yoshikawa H., Hama Y., Antioxidant activities of phlorotannins isolated from Japanese Laminariaceae, *J. Appl. Phycol.*, 20, 205-711 (2008).
 - 13) Nakamura T., Nagayama K., Uchida K., Tanaka R., Antioxidant activity of phlorotannins isolated from the brown alga *Eisenia bicyclis*, *Fisheries Science*, 62(6), 923-926 (1996).
 - 14) Xu H.L., Kitajima C., Ito H., Miyazaki T., Baba M., Okuyama T., Okada Y., Anti-diabetic effect of polyphenols from brown alga *Ecklonia kurome* in genetically diabetic KK-Ay mice. *Pharm. Biol.*, 50, 393-400 (2012).
 - 15) Dwiranti F., Hiraoka M., Taguchi T., Konishi Y., Tominaga M., Tominaga A., Effects of gametophytes of *Ecklonia Kurome* on the levels of glucose and triacylglycerol in db/db, prediabetic C57BL/6J and IFN-c KO mice, *Int. J. Biomed. Sci.*, 8, 64-75 (2012).
 - 16) Kang M., Wijesighe W.A.J.P., Lee S., Kang S., Ko S., Yang X., Kang N., Jeon B., Kim J., Lee D., Jeon Y., Dieckol isolated from brown seaweed *Ecklonia cava* attenuates type II diabetes in db/db mouse model, *Food Chem. Toxicol.*, 53, 294-298 (2013).
 - 17) Kang M., Ahn G., Yang X., Kim N., Kan S., Lee S., Ko S., Ko J., Kim D., Kim Y., Jee Y., Park S., Jeon Y., Hepatoprotective effects of dieckol-rich phlorotannins from *Ecklonia cava*, a brown seaweed, against ethanol induced liver damage in BALB/c mice, *Food Chem. Toxicol.*, 50(6), 1986-1991 (2012).
 - 18) Li S., Liu J., Zhang M., Chen Y., Zhu T., Wang J., Protective effect of eckol against acute hepatic injury induced by carbon tetrachloride in mice, *Mar. Drugs*, 16, 300 (2018).
 - 19) Park E.Y., Kim E.H., Kim M.H., Seo Y.W., Lee J.I., Jun H.S., Polyphenol-rich fraction of brown alga *Ecklonia cava* collected from Gijang, Korea, reduces obesity and glucose levels in high-fat diet-induced obese mice, *Evid. Based Complement. Alternat. Med.*, 2012, 418912 (2012).
 - 20) 桐山隆哉, 長崎県沿岸の近年における大型褐藻群落の衰退現象に関する研究, 長崎県水産試験場報告, 35, 15-78 (2009).
 - 21) 平成 29 年度 豊かなむらづくり全国表彰事業九州ブロック受賞団体資料 (<http://www.maff.go.jp/kyusyu/keikaku/murazukuri/attach/pdf/murazukuri-17.pdf>).
 - 22) 新井章吾, アカモク増養殖の利用の動向と展望, 第 17 回 海の森づくりシンポジウム講演要旨集 (2018).
 - 23) 公益財団法人佐賀県地域産業支援センター平成 29 年度事業報告書 (2018).