

VII-50 海藻アカモク抽出物中の赤潮藻類増殖抑制物質の検索

東北大学工学部 学生会員 ○松尾 智章
 東北大学大学院工学研究科 武田 文彦
 東北大学大学院工学研究科 正会員 中野和典, 西村 修

1. はじめに

既往の研究から、大型真一年生褐藻アカモクが放出する代謝物は赤潮藻類の増殖を抑制するアレロパシー効果を有し¹⁾、図1に示す手法でアカモク抽出液の分画を行った際、主要なアレロパシー物質はWMA画分にあることが示唆されている²⁾。しかし、同定にはいたっていない。本実験ではWMA画分を溶媒抽出により二次分画し、各画分の赤潮藻類 *Skeletonema costatum* に対するバイオアッセイを行うことにより、アレロパシー物質の絞り込みを進めた。

2. 実験方法及び実験材料

実験に用いたWMA画分の物質は2005年6月に宮城県松島湾において採取したアカモクを20日間アセトン浸漬して得たアカモク抽出液を一次分画し減圧濃縮により液体を蒸発させ-30℃で冷凍保存したものを用いた。

このWMA画分の物質を既往の研究を参考に、図2に示すように二次分画した³⁾。WMA画分の物質250mgを蒸留水に溶かし、分液漏斗を用いて酢酸エチルと1-ブタノールで順次溶媒抽出し、それぞれWMA酢酸エチル可溶画分(WMAAc)、WMA1-ブタノール可溶画分(WMABu)及びWMA水可溶画分(WMAH)とした。それぞれの画分は減圧濃縮により液体を蒸発させ-30℃で冷凍保存した。

こうして得た画分のアレロパシー効果を評価するため *S. costatum* に対するバイオアッセイを行った。WMAとWMAHは蒸留水に溶かした後にろ過滅菌海水に添加したが、WMAAcとWMABuは容易に溶けなかったため、それぞれ蒸留水で20%に希釈した酢酸エチル、1-ブタノール溶液に溶かしてろ過滅菌海水に添加した。海水中的酢酸エチルあるいは1-ブタノールの割合は全体の3%とし、それぞれの対照系として同じ割合の酢酸エチルあるいは1-ブタノールが添加されたるろ過滅菌海水を用意した。これに加えて実海水を対照系として7系列で実験を行った。各画分の物質を添加した系は、それぞれ添加量を75mg/lと

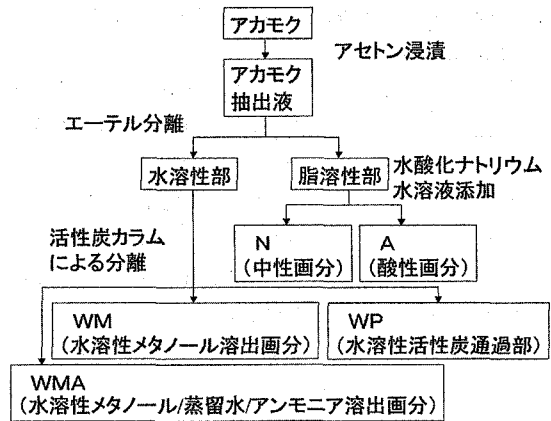


図1 アカモク抽出液の一次分画

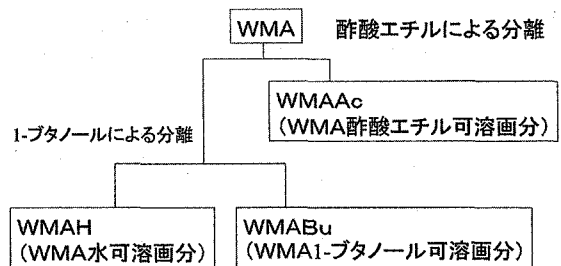


図2 WMAの二次分画

した。これら各系列からそれぞれ5ml採取し滅菌済みの栓付き50ml三角フラスコに入れ、添加後の個体数が10000cells/mlになるように *S. costatum* を添加してインキュベーター内に設置しバイオアッセイを行った。アッセイは温度20℃、照度5000luxの明条件で12時間行い、培養後は直接検鏡により個体数の測定を行った。

3. 実験結果

二次分画によって得た物質の収量を表1に示す。WMAHが最も多く全体の76.8%を占めた。全体の収量は243.3mgであり回収率は97.3%であった。

バイオアッセイの結果を比増殖速度で表したもの

を図3に示す。WMAとWMAHを添加した系ではそれぞれほぼ同様に ($p=0.159>0.05$) *S.costatum* の増殖が抑制された。WMABuを添加した系も *S.costatum* の増殖が抑制されたがWMABu対照系もほぼ同様に増殖が抑制され、WMABuの比増殖速度と同程度 ($p=0.446>0.05$) になった。WMAAc対照系には全体の対照系 (実海水) と比べ有意な差はなく ($p=0.308>0.05$)、酢酸エチルが *S.costatum* の増殖に与えた影響は微小であった。WMAAc対照系に比べWMAAcを添加した系にはWMAやWMAHよりも弱いながらも、*S.costatum* の増殖に対する抑制 ($p=0.0061<0.01$) が見られた。

4. 考察

WMA と WMAH それぞれを添加した系の比増殖速度より、WMAH には WMA とほぼ同様のアレロパシー効果があることがわかる。WMAAc にも若干ながらアレロパシー効果があるといえるが、WMAAc の収量はWMAHの収量の約7分の1であり、今回のバイオアッセイで使用した各画分の添加濃度は等しいため、その効果の小ささと収量の少なさからアカモク抽出溶液のもつアレロパシー効果の中で主だった働きをするものではないと考えられる。WMABu については *S.costatum* に対する強い増殖抑制が見られたが対照系においても *S.costatum* の増殖が抑制され、WMABu の結果と対照系の結果に有意な差がなかったため、WMABu の物質を溶かすために添加された 1-ブタノールが *S.costatum* の増殖に与える影響が大きく、この実験では正確な評価が行えられなかったと考えられる。しかし、WMABu の収量も WMAH の収量の約 6.5 分の 1 程度であり WMABu の対照系と比べて際立った抑制効果も見られなかったため、アカモク抽出液の中で主なアレロパシー効果を発揮する物質は二次分画の中では WMAH にある可能性が高い。

WMAH に主要なアレロパシー物質があるとする、主なアレロパシー物質は一次分画及び二次分画の際、分配による分離を行ったときに水溶性画分の中にあるため、極性及び親水性の高い物質であることが考えられる。また二次分画では WMAH が全体の画分の 76.8% を占めたが、このことは二次分画で共雑物の排除がさほど行われず WMAH にアレロパシー物質以外の共雑物が多く含まれている可能性が

表 1 二次分画収量

単位:mg

WMAAc	WMABu	WMAH
27.6	28.8	186.9

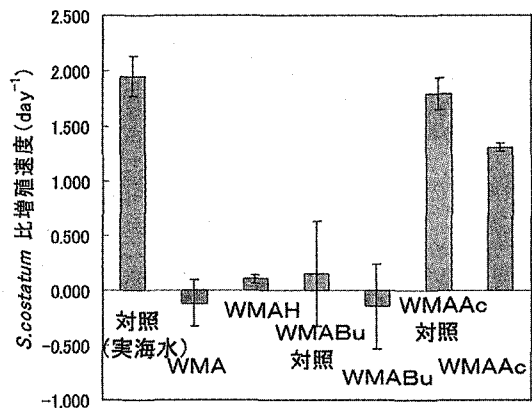


図3 各画分の *S.costatum* に対するアレロパシー効果の比較

あることを示す。そのため今後の分画では吸着クロマトグラフなどの極性や親水性の影響の少ない分画が効率的と考えられる。

5. まとめ

二次分画を行って得た3つの画分のうち、アカモクの主要なアレロパシー物質は WMA 水可溶画分 (WMAH) に存在し、親水性 (極性) の高いことが示唆された。本実験では WMABu 画分の評価はできなかったため、そのバイオアッセイを今後行う必要がある。

<参考文献>

- 梶浦建樹：大型海藻アカモクの水質浄化機能の評価，東北大学修士論文，pp.40-53, 1999.
- Fumihiko TAKEDA, Takashi SAKAMAKI, Kaiqin XU, Nobuo CHIBA, Osamu NISHIMURA, Ryuichi SUDO : EFFECT OF POTENTIAL ALLELOCHEMICALS EXTRACTED FROM *SARGASSUM HORNERI* ON THE GROWTH OF RED TIDE MICROALGAE, J. Environ. Syst. and Eng., JSCE, No. 748/VII-29, pp.25-32, 2003.
- 谷口和也, 藤多一哉, 鈴木稔：褐藻ソルアラメのポリフェノール化合物によるエゾアワビに対する摂食阻害作用, 日本水産学会誌, 57 (11) , pp.2065-2071, 1991.