

海藻中の有機化学物質の検索

馬場 強三・古賀 浩光・石崎 修造

Research of Organic Compounds in Seaweed

Tsuyomi BABA, Hiromitsu KOGA, and Syuzou ISHIZAKI

The *Ulva pertusa* KJELLMAN which large arise in Omura Bay are thick and hard, and it has been said that therefore, there is no the utility value. It is unnecessary in order to take the fish for the fisherman.

These emit offensive odor, when it decays, and the complaint has come out of the nearby inhabitant.

In the meantime, this seaweed absorb nitrogen and phosphorus from the sea area, and it is useful for the prevention of the red tide generation. Then, the research of whether it could not utilized this seaweed to food or feed was started.

In present investigation, whether it included what kind of organic compounds and whether there is no a noxious material in the inside was examined in order to confirm the safety of this seaweed.

As the result, the following were detected from the *Ulva pertusa* KJELLMAN : nitrotoluene, benzaldehyde, benzene, and acetophenone chemical compounds, diphenylsulfone, etc.. These compounds were detected from the other seaweeds(*Monostroma nitidum* WITTRICK, *Hizikia fusiforme* OKAMURA, *Ecklonia cava* KJELLMAN, *Zostera marina* LINNE) which was taken in other sea area. At other, indole chemical compound and bromophenols were also respectively detected from *Zostera marina* LINNE and *Monostroma nitidum* WITTRICK, and it seemed to be possible biosynthetic. In the detected chemical substance, the noxious material made industrially was no found.

Key wards: *Ulva pertusa* KJELLMAN, seaweed, organic compound, Omura Bay

キ - ワ - ド: アナアオサ、海藻、有機化合物、大村湾

目 的

大村湾大量に繁殖するアナアオサは、漁場を荒らしたり、腐敗して悪臭を放つなど苦情の原因になり、漁業関係者からは厄介者とされている。

一方、海域から窒素、リンなどの栄養塩を除去し、赤潮発生の防止に貢献しているといえる。そこで、このアナアオサを食用又は飼料へ活用できれば海洋保全に大いに貢献できると考えて研究を始めた。今年度は、アナアオサが持っている化学物質のうち、有害といわれている物質が含まれていないかの検索を行った。

方 法

1. 試 料

アナアオサは 5 月、7 月、9 月の 3 回、大村市杭出津沖で採取した。

対照として、市販されている対馬及び壱岐産のヒトエグサ、対馬産のヒジキ、壱岐産のカジメを購入し検体とした。また、アマモは大村湾でとれたものを用いた。

2. 試料調整

アナアオサはよく水洗いし、砂などを除いた後、精製水で洗い、水を切った。

これを細切し、凍結乾燥機により乾燥試料とし、ブレンダー - で粉末とした後、デシケ - タで保存した。

ヒトエグサ及びヒジキは市販の乾燥試料をブレンダー - で粉末とし、デシケ - タで保存した。

3. 分析方法

(1) GC-MS(Scan)による有機化学物質の検索

粉末試料からの抽出には抽出効率が良い高速溶媒抽出装置を用いた。粉末試料 10g を専用の抽出セルに入れ、アセトンを用い 100 、 1500psi で抽出した。

抽出液はエバポレ - タで濃縮後イソオクタンを加え再度濃縮し、イソオクタン溶液とした。この濃縮液をフロリジルカラム(未活性フロリジル 5g)で表 1 のように分画(F0 ~ F7)し、F0(イソオクタン)分画を捨て、他の各分画を各々濃縮後 GC-MS(Scan)により各ピ - ク成分の同定を行った。GC-MS の測定条件は表 2 のとおりである。

表1 フロリジルによる分画

Fraction	溶 出 溶 媒
F 0	イソオクタン 50ml
F 1	ヘキサン 50ml
F 2	5% エ - テル・ヘキサン 50ml
F 3	15% エ - テル・ヘキサン 50ml
F 4	50% エ - テル・ヘキサン 50ml
F 5	10% アセトン・ヘキサン 50ml
F 6	25% アセトン・ヘキサン 50ml
F 7	50% アセトン・ヘキサン 50ml

表2 GC-MS の測定条件

GC-MS	島津 QP5050
GC 条件	カラム: DB-5MS(0.25mm × 30m) 温度: 50(2)-10-200(5)-10-280(20) カラム流量: He 1.7ml/min
MS 条件	インタ-フェイス温度: 230 検出器電圧: 1.3kV 測定質量数: 60 ~ 420

(2) 内分泌かく乱物質の検索

アルキルフェノ - ル(ノニルフェノ - ル他 6 種)、ビスフェノ - ル A、エストラジオ - ル(17 , 17 体)については個別分析(表)により行った。

結 果 及 び 考 察

アナアオサは、5 月に採取したものは柔らかかったが、7 月に採取したものは大きくて硬く、5 ~ 7 月の間に成長したものと思われる。7 月下旬には漁の邪魔にもなり、一度刈り取られた。そのためか 9 月に

採取したものは緑色で柔らかかった。

1. GC-MS(Scan)による検索

(1) アナアオサ中の有機成分

有機成分の検索は、機器の性能から分子量 420 以下のものについて行い、同定には市販のライブラリ - (NIST:約 13 万物質のマススペクトルが収載)を用い、標準物質が手に入ったものについてはマススペクトルと共に GC の保持時間(リテンションタイム)で確認した。

また、有機成分のうち、脂肪族炭化水素類及びアルコール類は有害性はないとみて対照から除外した。

アナアオサは 7 月に採取したものが大きく成長しており、有機成分も多かった。

5 月採取分については 7 種の物質が検出されたが、7 月のものには 32 種、9 月のものには 13 種検出された。

5 月、9 月に検出されたものの多くは 7 月にも検出された。

検出された物質は、ニトロトルエン類 (o-nitrotoluen)、ベンズアルデヒド化合物 (benzaldehyde, 2-methylbenzaldehyde, 2,4-dimethylbenzaldehyde)、ベンゼン化合物 (benzeneacetoamide, benzene-propanol, ethylphenoxy-benzene)、アセトフェノン化合物 (4-methylacetophenone)、コレスタン化合物、シクロヘキセン化合物、ベンゾフラノン化合物、ジフェニルスルホン、ベンゾチアゾ - ルなどであった。

(2) ヒトエグサ中の有機成分

対照として対馬及び壱岐産のヒトエグサについて有機成分の検索を行った。壱岐産のヒトエグサからは 2 種類の物質しか検出されなかったが、対馬産のヒトエグサからは 14 種の物質が検出された。ブロムフェノ - ル類 (3-bromophenol, 2,4-dibromophenol, 2,4,6-tribromophenol)、アダマンタン化合物以外の物質はアナアオサで検出されたものと同じであった。

(3) ヒジキ及びカジメ中の有機成分

対馬産ヒジキからはニトロトルエン類、ベンゼンアセトアミド、アダマンタン化合物が検出され、壱岐産カジメからはニトロトルエン類が検出された。

表3 検出物質一覧

	物質名	分子式	MW	アナオサ		ヒトエグサ		アマモ		ヒジキ		カジメ	
				GC	MS	GC	MS	GC	MS	GC	MS	GC	MS
(indole類)													
1	5-bromo-indole	C ₈ H ₆ BrN	195										
2	indole-3-aldehyde	C ₉ H ₇ NO	145										
(nitro toluene類)													
3	o-nitro-toluen	C ₇ H ₇ NO ₂	137										
4	m-nitro-toluen	C ₇ H ₇ NO ₂	137										
5	p-nitro-toluen	C ₇ H ₇ NO ₂	137										
6	toluene, 2,6-dinitro-	C ₇ H ₆ N ₂ O ₄	182										
(benzaldehyde類)													
7	benzaldehyde	C ₇ H ₆ O	106										
8	benzaldehyde, 2-methyl-	C ₈ H ₈ O	120										
9	benzaldehyde, 2,4-dimethyl-	C ₉ H ₁₀ O	134										
(benzene化合物)													
10	benzyl alcohol	C ₇ H ₈ O	108										
11	benzeneacetamide	C ₈ H ₉ NO	135										
12	benzene, -propanol	C ₉ H ₁₀ O	134										
13	benzene, ethylphenoxy-	C ₁₄ H ₁₄ O	198										
(phenol類)													
14	phenol, 3-bromo-	C ₆ H ₅ BrO	172										
15	phenol, 2,4-dibromo-	C ₆ H ₄ Br ₂ O	250										
16	phenol, 2,4,6-tribromo-	C ₆ H ₃ Br ₃ O	328										
17	phenol-2,6-bis(1,1-dimethyl,ethyl)-4-ethyl	C ₁₆ H ₂₆ O	234										
(acetophenone類)													
18	acetophenone, 4'-methyl	C ₉ H ₁₀ O	134										
(adamantan類)													
19	adamantan, 1,3-dimethyl	C ₁₂ H ₂₀	164										
20	adamantan, 1,2-dimethyl-5-nitro-	C ₁₂ H ₁₉ NO ₂	209										
(cholestane類)													
21	4-cholesten-3-one	C ₂₇ H ₄₄ O	384										
22	cholestane-3,5-diol,5-acetate	C ₂₉ H ₅₀ O ₃	446										
(cyclohexene類)													
23	3-buten-2-one-4-(2,6,6-trimethyl-1-cyclohexen-1-yl)	C ₁₃ H ₂₀ O	192										
24	3-buten-2-one-4-(2,2,6-trimethyl-7-oxabicyclo[4,1,0]hept-1-yl)	C ₁₃ H ₂₀ O ₂	208										
(その他)													
25	diphenyl sulfone	C ₁₂ H ₁₀ O ₂ S	218										
26	tributyl acetyl citrate	C ₂₀ H ₃₄ O ₈	402										
27	benzothiazole	C ₇ H ₅ NS	135										
28	2(H)-benzofuranone,5,6,7,7a-tetrahydro-4,4,7a-trimethyl	C ₁₁ H ₁₆ O ₂	180										

GCの欄: ガスクロマトにより標準物質のリテンションタイムと一致したもの

MSの欄: ライブラリ - のマススペクトルと一致したもの、標準物質があるものはそのマススペクトルとも一致したもの、

(4) アマモ中の有機成分

大村湾産のアマモからインド - ル化合物 (5-bromoindole, 3-aldehydeindole)、ベンゼンアセトアミド、コレスタン化合物、ジフェニ - ルスルホンなどが検出された。

2. 内分泌かく乱物質の検索

内分泌かく乱物質は微量でも生体に影響があるといわれているため、アナオサ、ヒトエグサについては個別の検索を行った。

7月及び9月採取のアナオサからビスフェノール A が各々 50、20ng/g(乾燥物)検出されたが、ヒトエグサからは検出されなかった。また、近くの海水から 4ng/l 検出されたが、本多ら¹⁾は大村湾の各水域

で 8 ~ 32ng/l 検出したという報告があり、大村湾全体が汚れていると思われる。

アルキルフェノール、エストラジオールは検出されなかった。

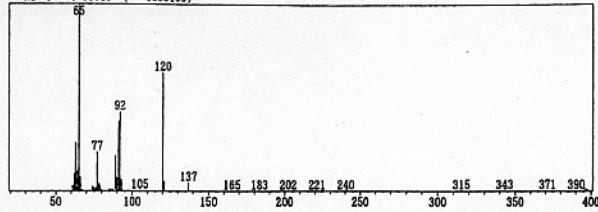
海藻類中の有機化合物については、Gordon W.Gribble²⁾、William Fenical³⁾らの報告にあるように生合成によりピロール類、インドール類、ステロイド類、フェノール類などが生成し、海水中の塩素、臭素を取り込んでそれらの塩素及び臭素化合物ができることを報告している。また、アナアオサで検出された有機成分は他の海藻にも存在し、生合成で出来たものと思われる。その他、人工的に合成されたと思われる化学物質及び農薬などは検出されなかった。環境汚染物質といわれている化学物質はビスフェノール A 以外は検出されなかったが、ビスフェノール A については生物濃縮が考えられ今後検討が必要と思われる。

なお、この研究は地域結集型共同研究として行った。

文 献

- 1) 本多隆, 他; 長崎県下におけるビスフェノール A の水質汚染状況調査, 長崎県衛生公害研究所報, 45, 9-11(1999)
- 2) Gribble, G.W.; natural production chlorinated compounds, Environ.Sci.Technol., 28(7), 310-319 (1994)
- 3) William Fenical; natural products chemistry in the marine environment, Science, 215(4535), 923-928 (1982)

テ-#1 1111.D02
 スタック番号: 529
 ピーク数: 58 保持時間: 9.400
 ベースピーク: 65.10 (135108)



テ-#2 NIST107.LIB
 エンTRY番号: 8841 CAS番号: 88-72-2 分子量: 137
 分子式: C7H7NO2
 化合物名: Benzene, 1-methyl-2-nitro- \$\$ Toluene, o-nitro- \$\$ o-Methylnitroben

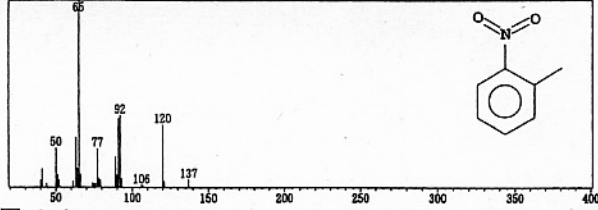
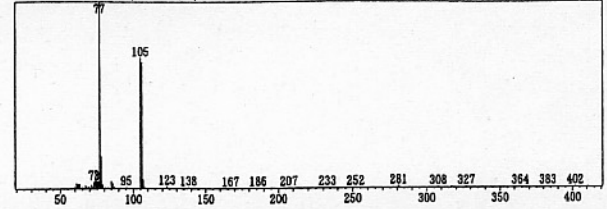


図 1-1

上: ヒトエグサ抽出物から得られた成分のマススペクトル
 下: ライブラリーから得られたマススペクトル

テ-#1 1216.D05
 スタック番号: 137
 ピーク数: 68 保持時間: 6.133
 ベースピーク: 77.05 (559118)



テ-#2 NIST107.LIB
 エンTRY番号: 2439 CAS番号: 100-52-7 分子量: 106
 分子式: C7H6O
 化合物名: Benzaldehyde \$\$ Artificial Almond Oil \$\$ Benzaldehyde FFC \$\$ Benzen

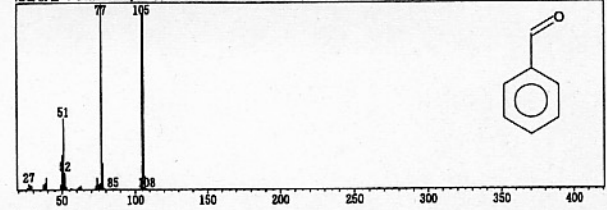
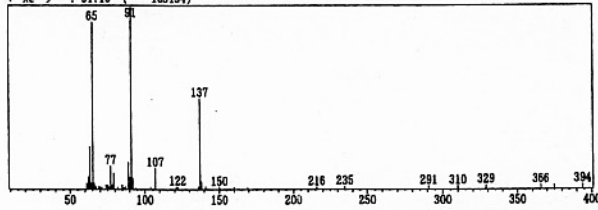


図 1-4

上: アナアオサ抽出物から得られた成分のマススペクトル
 下: ライブラリーから得られたマススペクトル

テ-#1 1111.D02
 スタック番号: 601
 ピーク数: 44 保持時間: 10.000
 ベースピーク: 91.10 (103134)



テ-#2 NIST107.LIB
 エンTRY番号: 8828 CAS番号: 99-08-1 分子量: 137
 分子式: C7H7NO2
 化合物名: Benzene, 1-methyl-3-nitro- \$\$ Toluene, m-nitro- \$\$ m-Methylnitroben

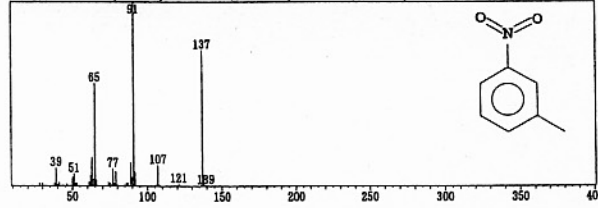
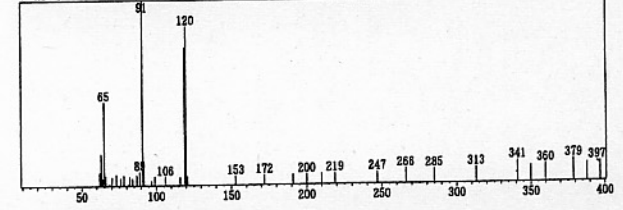


図 1-2

上: ヒトエグサ抽出物から得られた成分のマススペクトル
 下: ライブラリーから得られたマススペクトル

テ-#1 1104.D05
 スタック番号: 347 保持時間: 7.883
 ピーク数: 42 保持時間: 7.883
 ベースピーク: 91.10 (25083)



テ-#2 NIST107.LIB
 エンTRY番号: 4768 CAS番号: 529-20-4 分子量: 120
 分子式: C8H8O
 化合物名: Benzaldehyde, 2-methyl- \$\$ o-Tolualdehyde \$\$ o-Methylbenzaldehyde \$

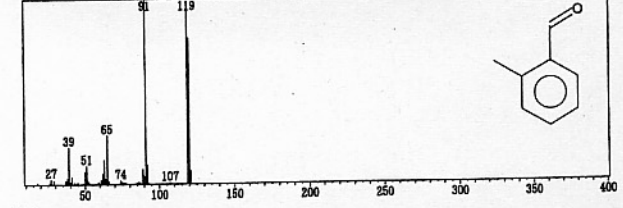
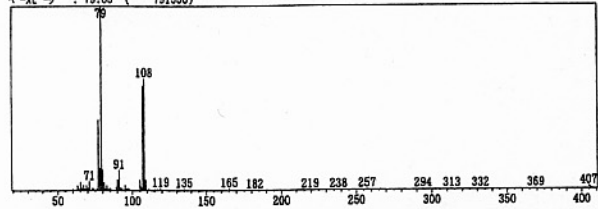


図 1-5

上: アナアオサ抽出物から得られた成分のマススペクトル
 下: ライブラリーから得られたマススペクトル

テ-#1 1216.D05
 スタック番号: 1023
 ピーク数: 101 保持時間: 13.517
 ベースピーク: 79.05 (791550)



テ-#2 NIST107.LIB
 エンTRY番号: 2581 CAS番号: 100-51-6 分子量: 108
 分子式: C7H8O
 化合物名: Benzyl Alcohol \$\$ Benzenemethanol \$\$.alpha.-Hydroxytoluene \$\$.alp

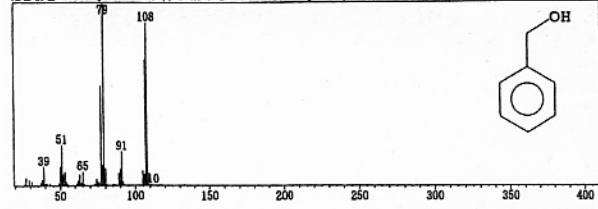
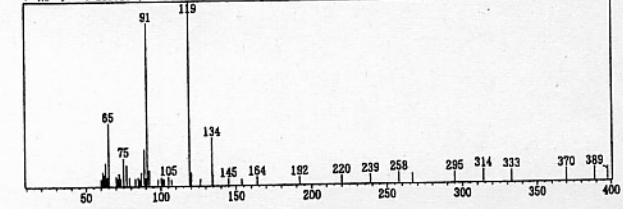


図 1-3

上: アナアオサ抽出物から得られた成分のマススペクトル
 下: ライブラリーから得られたマススペクトル

テ-#1 1112.D02
 スタック番号: 578
 ピーク数: 46 保持時間: 9.808
 ベースピーク: 119.15 (33266)



テ-#2 NIST107.LIB
 エンTRY番号: 8053 CAS番号: 122-00-9 分子量: 134
 分子式: C8H10O
 化合物名: Ethanone, 1-(4-methylphenyl)- \$\$ Acetophenone, 4'-methyl- \$\$ p-Acet

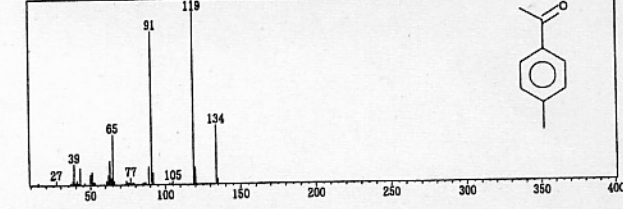


図 1-6

上: アナアオサ抽出物から得られた成分のマススペクトル
 下: ライブラリーから得られたマススペクトル

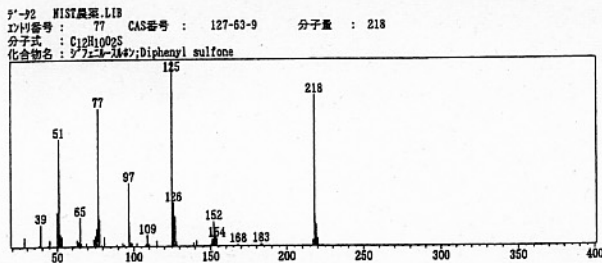
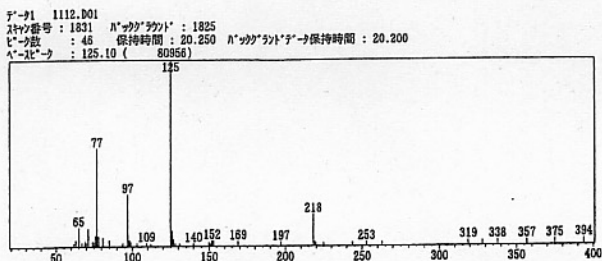


図 1-7

上: アナアオサ抽出物から得られた成分のマススペクトル
下: ライブラリーから得られたマススペクトル

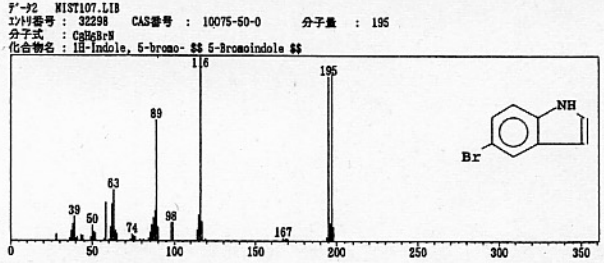
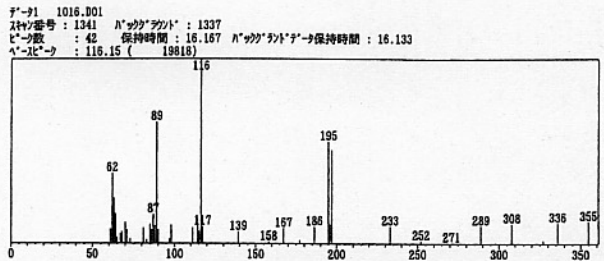


図 1-10

上: アマモ抽出物から得られた成分のマススペクトル
下: ライブラリーから得られたマススペクトル

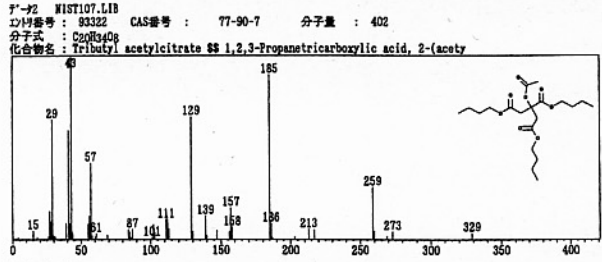
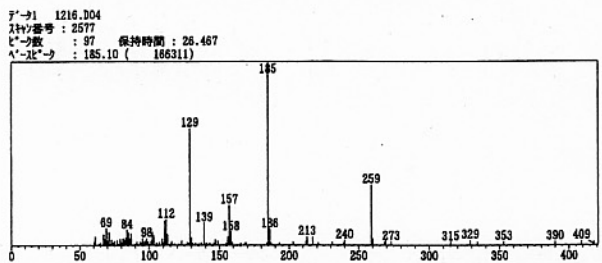


図 1-8

上: アナアオサ抽出物から得られた成分のマススペクトル
下: ライブラリーから得られたマススペクトル

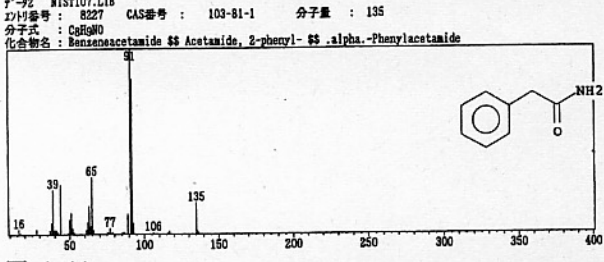
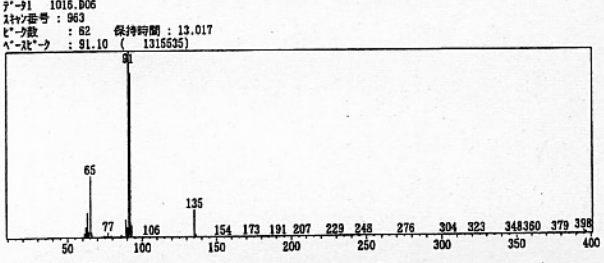


図 1-11

上: アナアオサ抽出物から得られた成分のマススペクトル
下: ライブラリーから得られたマススペクトル

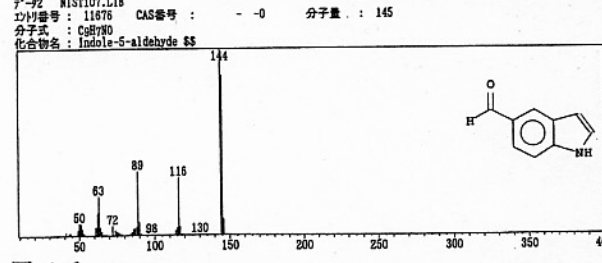
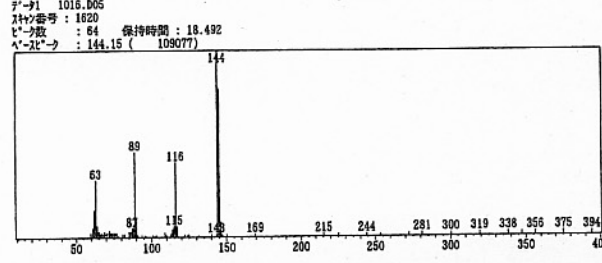


図 1-9

上: アマモ抽出物から得られた成分のマススペクトル
下: ライブラリーから得られたマススペクトル

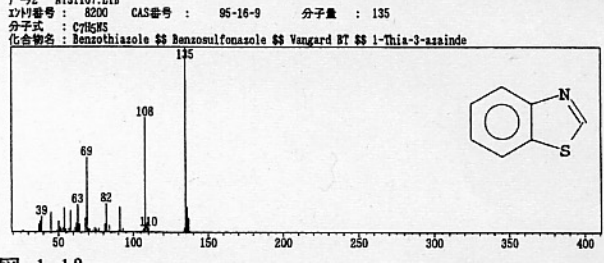
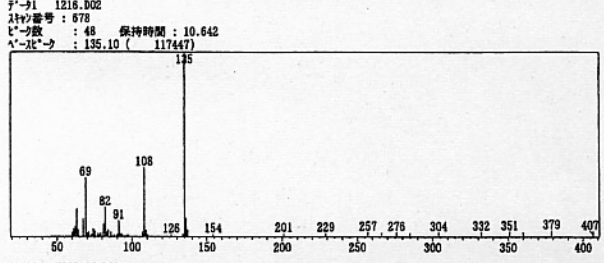
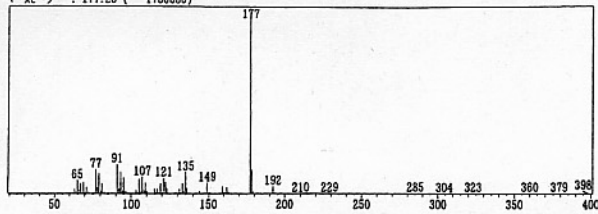


図 1-12

上: アナアオサ抽出物から得られた成分のマススペクトル
下: ライブラリーから得られたマススペクトル

F-1 1216.002
 検体番号: 1108
 ピーク数: 111 保持時間: 14.225
 ベースピーク: 177.20 (1786886)



F-2 NIST107.LIB
 検体番号: 31187 CAS番号: 79-77-6 分子量: 192
 分子式: C₁₃H₂₀O
 化合物名: 3-Buten-2-one, 4-(2,6,6-trimethyl-1-cyclohexen-1-yl)-, (E)-\$ trans

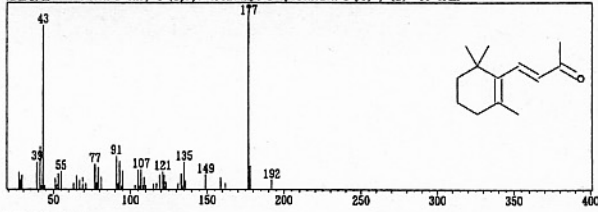
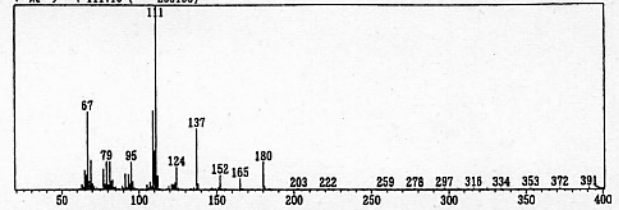


図 1-13

上: アナアオサ抽出物から得られた成分のマススペクトル
 下: ライブラリーから得られたマススペクトル

F-1 1104.002
 検体番号: 1178
 ピーク数: 82 保持時間: 14.808
 ベースピーク: 111.10 (265190)



F-2 NIST107.LIB
 検体番号: 25012 CAS番号: 17082-92-1 分子量: 180
 分子式: C₁₁H₁₆O₂
 化合物名: 2-(6)-benzofuranone, 5,6,7,7a-tetrahydro-4,4,7a-trimethyl-, (R)-\$

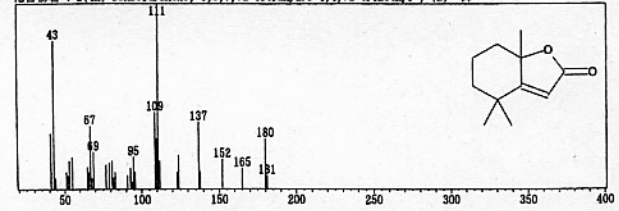
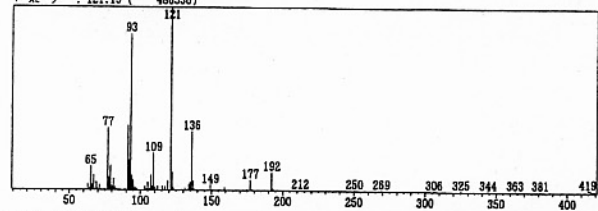


図 1-16

上: アナアオサ抽出物から得られた成分のマススペクトル
 下: ライブラリーから得られたマススペクトル

F-1 1216.002
 検体番号: 1017
 ピーク数: 88 保持時間: 13.467
 ベースピーク: 121.15 (486536)



F-2 NIST107.LIB
 検体番号: 31171 CAS番号: 127-41-3 分子量: 192
 分子式: C₁₃H₂₀O
 化合物名: 3-Buten-2-one, 4-(2,6,6-trimethyl-2-cyclohexen-1-yl)-, (E)-\$ alip

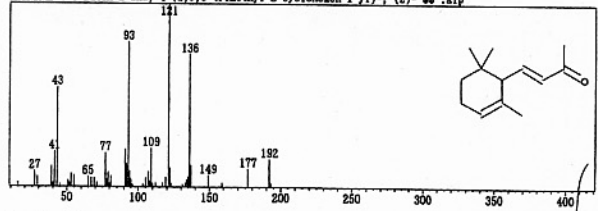
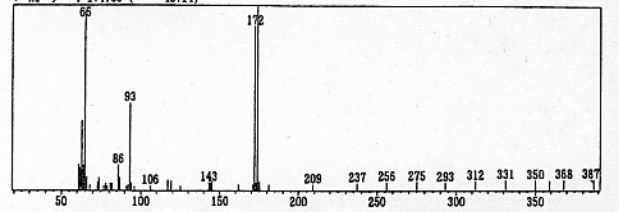


図 1-14

上: アナアオサ抽出物から得られた成分のマススペクトル
 下: ライブラリーから得られたマススペクトル

F-1 1111.004
 検体番号: 776
 ピーク数: 45 保持時間: 11.458
 ベースピーク: 174.05 (43714)



F-2 NIST107.LIB
 検体番号: 22335 CAS番号: 591-20-8 分子量: 172
 分子式: C₆H₅BrO
 化合物名: Phenol, 3-bromo-\$ Phenol, m-bromo-\$ m-Bromophenol \$ 3-Bromophe

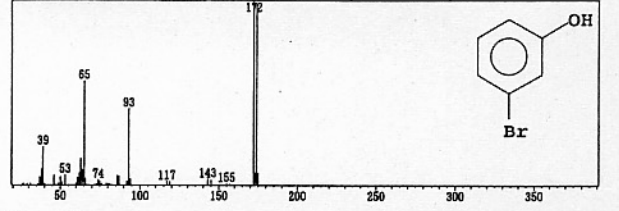
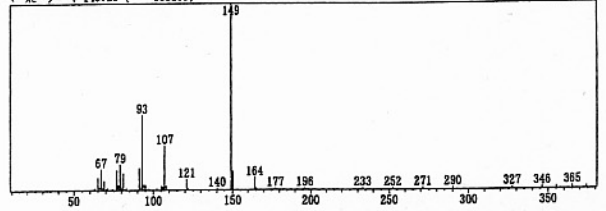


図 1-17

上: ヒトエグサ抽出物から得られた成分のマススペクトル
 下: ライブラリーから得られたマススペクトル

F-1 1111.003
 検体番号: 448
 ピーク数: 46 保持時間: 8.725
 ベースピーク: 149.25 (168896)



F-2 NIST107.LIB
 検体番号: 19175 CAS番号: 702-79-4 分子量: 164
 分子式: C₁₂H₂₀
 化合物名: Adamantane, 1,3-dimethyl-\$ Tricyclo[3.3.1.1.3,7]decane, 1,3-dimeth

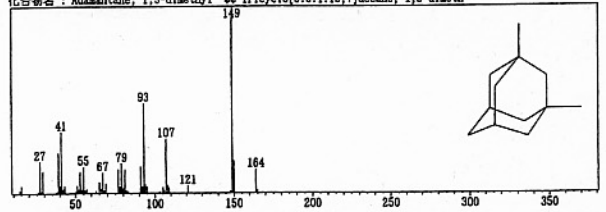
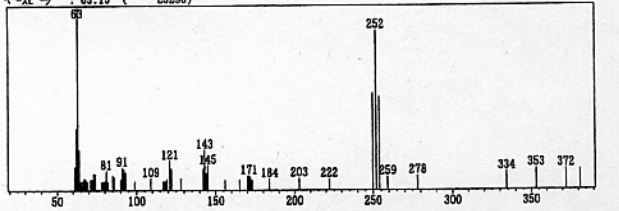


図 1-15

上: ヒトエグサ抽出物から得られた成分のマススペクトル
 下: ライブラリーから得られたマススペクトル

F-1 1112.001
 検体番号: 875
 ピーク数: 64 保持時間: 12.283
 ベースピーク: 63.15 (23298)



F-2 NIST107.LIB
 検体番号: 54411 CAS番号: 608-33-3 分子量: 250
 分子式: C₆H₄Br₂O
 化合物名: Phenol, 2,6-dibromo-\$ 2,6-Dibromophenol \$

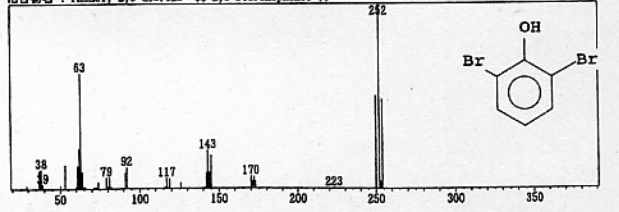


図 1-18

上: ヒトエグサ抽出物から得られた成分のマススペクトル
 下: ライブラリーから得られたマススペクトル