

秋季シンポジウム要旨 (2000.10.27) 21世紀における海藻の研究と利用

西出 英一：褐藻多糖研究の課題

はじめに

褐藻多糖研究の時代考証をしてみると、1883年(明治16年)スコットランドのE.C.C. Stanfordがアルギン酸を、次に1885年(明治18年)ドイツのJ.E.O. Schmiedebergがラミナランを、更に1913年(大正2年)スウェーデンのH.Kylinがフコイダンを発見している。欧米においては前述の三つの物質は発見された翌年から研究報告がある。日本においては、1926年(大正15年)東京大学の厚木勝基・友田宣孝がアルギン酸の研究を(Stanfordの発見から46年後)、次に1937年(昭和12年)東京文理科大学の三輪知雄がフコイダンの研究を(Kylinの発見から24年後)、さらに1939年(昭和14年)東京文理科大学の西澤一俊がラミナランの研究を(Schmiedebergの発見から54年後)始めたのが最初である。しかし日本では褐藻多糖の研究者は非常に少ない。例えば、国際海藻シンポジウム(International Seaweed Symposium)は世界の海藻関係の研究者の研究発表の場として3年に一回世界各地で開催されているが、日本の海藻多糖研究者の出席は少なく残念である。私はこのシンポジウムに第9回から出席し、その研究発表は毎回Proceedingに報告されている。後輩の出席の少ないのは海藻多糖研究に魅力がなく、これは私達の責任でもある。私は1960年(昭和35年)頃から褐藻多糖の研究に携わり今日に至っている。今回、シンポジウム企画責任者の高知大学大野正夫教授より講演依頼があり、私の研究の経過を顧みて、いま考えている「褐藻多糖研究の課題」を述べてみたい。

フコイダン

フコイダンの研究は共存する水溶性アルギンやラミナラン等の分別、純化の研究と言っても過言ではない。褐藻中のフコイダンは藻体内で、図1のようになっていると言われている(Kloareg *et al.* 1986)。褐藻を30℃の蒸留水中に浸出すると粘質物が溶出してくる。これはフコイダンと水溶性アルギンの複合体で、卵白様粘性を有し、極めて取り扱いにくい液体であるが、この粘性はpHを酸性にするか、加熱すると喪失する。褐藻から粗フコイダンを抽出するには一般に熱水あるいは希塩酸抽出の後、CPC(cetylpyridinium chlorid)、

CTAB(cetyltrimethylammonium bromide)等の第4級アンモニウム塩を加えて分画(阿武1972)を行い、溶存しているラミナランや水溶性アルギンを除去する。得られたCP-硫酸多糖複合体を中性塩で複分解して硫酸多糖を得る方法である。

富士川・中島(1975)は、CPCによる硫酸多糖調製法を用いて、21種の褐藻中のフコイダン分布を調べ、その実験経過を詳述している。CP-硫酸多糖複合体より塩化カリウムを用いて硫酸多糖を回収する操作は21種類の褐藻全てに適用できるものではなく、適用できない褐藻は他の分画方法を検討する必要があることを示唆している。このことは、CP-硫酸多糖複合体の塩化カリウムを用いて硫酸多糖が回収できる褐藻のみが研究材料として用いられることを意味する。

そこで著者は第4級アンモニウム塩による分画方法の煩雑性、普遍性の欠如を解消するべく検討した。多くの文献のなかで、Medcalf and Larsen(1977)はフコース含有多糖にマグネシウムの存在下で、各種濃度のエタノールを添加すると分画が可能となり、エタノール濃度が低い画分で得られたフコース含有多糖はウロン酸含有量が多いことを報告した。このことにヒントを得て、予備実験を行った。0.1%熱水抽出物水溶液に同量の0.1M塩化マグネシウムを加え、この溶液にエタノール濃度が20%になる様にエタノールを添加すると溶存しているアルギンがアルギン酸マグネシウムとなって析出、沈殿することを発見し、CP-硫酸多糖複合体より、極めて簡単なアルギンの分別沈澱法(西出・塚山1982)を創案した(図2)。この方法を用いて日本産褐藻類21種のフコース含有多糖量を求めたのが表1である(西出ら1987)。

次に、分別純化したフコース含有多糖の構成糖の研究に移ったのであるが、世界の研究レベルは高く、NMRを用いて行っていた。我々はGCしかない。なんとかGCを用いて糖組成の研究はできないものか検討した。フコース含有多糖にはMori and Nisizawa(1982)は6種類の中性糖の存在を、Larsen *et al.* (1970)は3種類のウロン酸の存在を報告している。GCを用いて糖を分析する場合、糖が多くなると揮発性誘導体の調製いかんによってはクロマトグラムが複雑となり、重なり

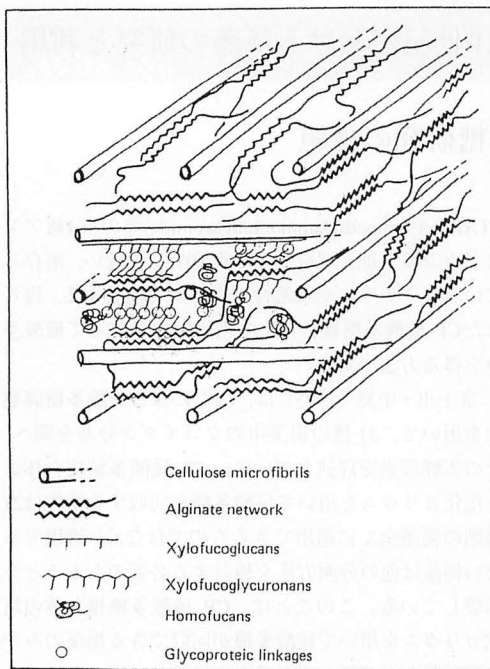


図1 褐藻細胞壁構造の模式図

り会うピークも多くなるので中性糖とウロン酸を分離することが良いと考えられた。そこで、多くの文献のうち、Khyam and Doherty(1952)は陰イオン交換樹脂(Dowex 1x8)を用いて中性糖とウロン酸を分離定量しているの、この方法を修飾してフコース含有多糖中の中性糖とウロン酸を分離し、GCを用いて定量する方法を検討した。さらに、GCによる分析操作も、同一カラムで中性糖とウロン酸の誘導体が分離できないか検討し、カラム液相に1.5%QF-1が最適であることを発見した。この結果、研究は飛躍的に進行し、その成果を第13回ISSで発表したのが表2である(Nishide *et al.* 1990)。

フコイダンの精製、構成糖の研究結果を述べてきたが、塩化マグネシウム・エタノール沈澱法は水溶性アルギンの分離方法として完璧ではなく、ひとつ欠点がある。それは熱水抽出法で抽出した粗フコイダンにしか適用できないことである。

ラミナラン

褐藻中のラミナランは同化産物として知られ、古くから構造研究や生合成機作などの研究も行われている。高純度のラミナランの抽出は、共存するフコイダンおよび水溶性アルギンの除去法であり、フコイダンの場合のラミナランおよび水溶性アルギンの除去と同

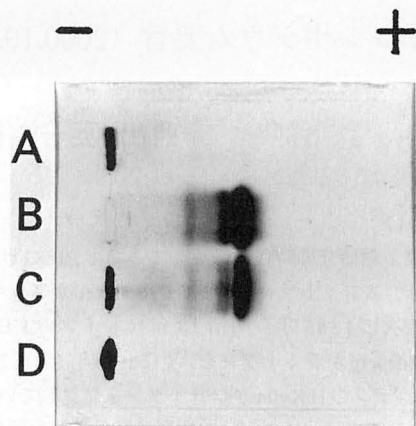


図2 熱水抽出物塩化マグネシウム・エタノール処理の電気泳動図 A:塩化マグネシウム・エタノール処理沈澱物 B:塩化マグネシウム・エタノール処理上清 C:熱水抽出物 D:標準アルギン酸ナトリウム(ケルコアルギン)

じで、塩基性酢酸鉛法(西澤 1939)、イオン交換樹脂法(Black *et al.* 1951)、CPC法(Maeda and Nisizawa 1968)などがある。

前述の塩化マグネシウム・エタノール沈澱法で精製したフコイダンでは水溶性アルギンは除去されているが、ラミナランの混在が考えられる。検討の結果 Schmidt(1962)が、DEAE Sephadex A-25を用いて中性多糖と酸性多糖を分離しているの、この方法を用いてラミナランとフコイダンの分別を検討した。

まず、Sigma社のフコイダンをDEAE-Sephadex A-25を用いて分別し、回収率を求めたところ77%であり、フコイダンの一部が樹脂に吸着していることを知った。回収率が100%でないとは分別が成功したとは言えないので、樹脂に吸着したフコイダンの回収方法を検討した。

Ji Minghou *et al.* (1985)が、寒天のDEAE-Sephadex A-25による分別を試み、寒天の一部が樹脂に吸着することを知り、尿素を用いて、樹脂に吸着した寒天を回収している。このことからDEAE-Sephadex A-25に吸着したフコイダンは適当な方法を用いれば回収されることがわかり、その方法を検討した結果、樹脂を3M塩化ナトリウム溶液を用いて、100℃、3分間の加熱処理をすると吸着していたフコイダンのすべてが回収された(表3)。

次に、Sigma社のフコイダンとラミナランの混合物をDEAE-Sephadex A-25を用いて分別したところ、0.01M塩酸画分にラミナランが、3M塩化ナトリウム含有0.01M塩酸画分にフコイダンが溶出することを認め

表1 褐藻中の熱水抽出物である精製フコース含有多糖および水溶性アルギンの含有百分率

Species		Hot-water extract			Fractionation of hot-water extract						
Japanese name	Scientific name	Weight of dry algae (g)	Weight of HWE (g)	Yield*1 (%)	Weight of HWE (g)	PFCP			WSA		
						Weight of PFCP (g)	Recovery*2 (%)	Yield*1 (%)	Weight of WSA (g)	Recovery*2 (%)	Yield*1 (%)
Umluchiwa	<i>Padina arborescens</i>	10	0.284	2.84	10	2.86	28.6	0.81	0.25	2.5	0.07
Okinawamozuku	<i>Cladosiphon okamuranus</i>		1.071	10.71		6.55	65.5	7.01	—	—	—
Ishige	<i>Ishige okamuræ</i>		1.454	14.54		4.50	45.0	6.75	2.85	28.5	4.14
Iroto	<i>Ishige sinicola</i>		1.653	16.53		4.69	46.9	7.75	4.01	40.1	6.62
Iwahige	<i>Myelophycus simplex</i>		0.399	3.99		8.24	82.4	3.29	0.17	1.7	0.07
Makonbu	<i>Laminaria japonica</i>		1.465	14.65		2.27	22.7	3.32	3.00	30.0	4.39
Rijirikonbu	<i>Laminaria ochotensis</i>		1.611	16.11		3.56	35.6	5.74	4.85	48.5	7.81
Hosomekonbu	<i>Laminaria religiosa</i>		1.944	19.44		2.08	20.8	4.04	4.75	47.5	9.23
Hidakakonbu	<i>Laminaria angustata</i>		1.833	18.33		3.15	31.5	5.77	3.57	35.7	6.54
Gagomekonbu	<i>Kjellmaniella crassifolia</i>		1.333	13.33		2.81	28.1	3.75	4.13	41.3	5.51
Arame	<i>Eisenia bicyclis</i>		1.667	16.67		6.57	65.7	10.95	1.67	16.7	2.78
Sagaramé	<i>Eisenia arborea</i>		1.575	15.75		3.37	33.7	5.30	3.61	36.1	5.68
Kajime	<i>Ecklonia cava</i>		1.250	12.50		3.11	31.1	3.88	4.87	48.7	6.08
Hijiki	<i>Hizikia fusiformis</i>		0.569	5.69		5.19	51.9	2.95	2.65	26.5	1.51
Yatsumatomoku	<i>Sargassum patens</i>		0.920	9.20		5.45	54.5	5.03	0.98	9.8	0.90
Akamoku	<i>Sargassum horneri</i>		0.414	4.14		9.27	92.7	3.83	0.33	3.3	0.14
Obamoku	<i>Sargassum ringgoldianum</i>		0.750	7.50		3.43	34.3	2.57	3.31	33.1	2.49
Nejimoku	<i>Sargassum sagamianum</i>		0.638	6.38		4.51	45.1	2.88	2.44	24.4	1.56
Umitoranoo	<i>Sargassum thunbergii</i>		0.244	2.44		2.30	23.0	0.56	0.03	0.3	0.01
Hahakimoku	<i>Sargassum kjellmanianum</i>		0.402	4.02		7.49	74.9	3.01	0.19	1.9	0.08
Isomoku	<i>Sargassum hemiphylum</i>		0.406	4.06		5.41	54.1	2.20	1.43	14.3	0.58

* 1 Based on a dry algae
* 2 Based on a hot-water extract

表2 各種精製フコース含有多糖中の中性糖とウロン酸の相対含有量

Species	Distribution of neutral sugars (%) ^a							Distribution of uronic acids (%) ^a			
	Rha	Fuc	Ara	Xyl	Man	Glc	Gal	GalUA	GulUA	GlcUA	ManUA
<i>Cladosiphon okamuranus</i> Tokida	1	92	—	2	2	2	1	—	—	100	—
<i>Ecklonia cava</i> Kjellman	2	53	—	5	21	10	9	—	8	36	56
<i>Eisenia arborea</i> Areschoug	1	75	—	3	9	2	10	—	2	45	53
<i>E. bicyclis</i> (Kjellman) Setchell	2	35	—	4	27	24	8	—	12	19	69
<i>Hizikia fusiformis</i> (Harvey) Okamura	16	33	—	2	11	15	23	28	—	61	11
<i>Ishige okamuræ</i> Yendo	8	59	1	10	9	2	11	2	20	38	40
<i>I. sinicola</i> (Setchell et Gardner) Chihara	2	83	—	5	7	—	3	—	13	33	54
<i>Kjellmaniella crassifolia</i> Miyabe	—	79	—	1	13	—	7	—	—	69	31
<i>Laminaria angustata</i> Kjellman	2	48	—	3	12	8	27	—	4	52	44
<i>L. japonica</i> Areschoug	2	65	—	1	8	1	23	—	5	37	58
<i>L. ochotensis</i> Miyabe	2	80	1	1	7	1	8	—	5	42	53
<i>L. religiosa</i> Miyabe	2	58	—	3	20	5	12	—	10	30	60
<i>Myelophycus simplex</i> (Harvey) Papenfuss	5	39	2	13	11	10	20	—	20	32	48
<i>Padina arborescens</i> Holmes	11	42	1	10	14	8	14	2	4	66	28
<i>Sargassum hemiphylum</i> (Turner) C. Agardh	8	55	—	5	10	4	18	4	15	46	35
<i>S. horneri</i> (Turner) C. Agardh	2	86	—	2	3	1	6	—	28	31	41
<i>S. miyabei</i> Yendo	2	64	—	4	6	2	22	—	11	40	49
<i>S. patens</i> C. Agardh	13	31	—	4	17	11	24	14	14	43	29
<i>S. ringgoldianum</i> Harvey	1	60	—	2	16	2	18	—	15	15	70
<i>S. sagamianum</i> Yendo	5	44	—	4	13	4	30	1	15	33	51
<i>S. thunbergii</i> (Mertens et Roth) Kuntze	14	33	2	8	10	12	20	13	—	87	—

^a Calculated from gas-liquid chromatograms, taking the total area of the peaks as 100%.

た(表4, 図3)。塩化マグネシウム・エタノール沈澱法で水溶性アルギンを除いた5種の褐藻の粗フコイタンを、この方法を用いて分別したところ、5種中、3種にラミナランが存在し、残る2種には存在しないことがわかった(表5)。この結果DEAE-Sephadex A-25の

分別法はラミナランの存在の有無を判定する方法として用いることのできる方法であることもわかった。このとき得られたラミナラン画分の硫酸加水分解物をグルコースを標品としてTLCを行ったところ粗フコイタンより分別された画分はラミナランであることが確認

表3 DEAE-Sephadex A-25によるフコイダンの分離

Sample	Sample weight (mg)	Fraction B		Fraction C		Total	
		(mg)	(%)	(mg)	(%)	(mg)	(%)
Fucoidan	200.0	155.0	77.5			155.0	77.5
Fucoidan	200.0	158.6	79.3	49.4	24.7	207.9	104.0

フコイダン：市販品（シグマ化学）
 画分B：3M 塩化ナトリウム含有0.01M 塩酸
 画分C：樹脂を3.0M 塩化ナトリウム中で3分間加熱

表4 DEAE-Sephadex A-25によるフコイダンとラミナランの分離 ラミナラン、フコイダン：市販品（シグマ化学）

Sample	Sample weight (mg)	Fraction A		Fraction B		Fraction C		Total	
		(mg)	(%)	(mg)	(%)	(mg)	(%)	(mg)	(%)
Laminaran	30.0	26.7	89.0					26.7	89.0
Fucoidan	200.0			158.6	79.3	41.8	20.7	198.0	99.0
Laminaran+Fucoidan	200.0								
Laminaran	40.0	35.4	88.5					35.4	88.5
Fucoidan				160.0	130.2	81.4	29.1		

画分A：0.01M 塩酸
 画分B：3.0M 塩化ナトリウム含有0.01M 塩酸
 画分C：樹脂を3.0M 塩化ナトリウム中で3分間加熱

された(図4)(西出ら1994)。このようにして粗フコイダン中のラミナランの分別純化の方法を創出したのである。

アルギン

アルギン酸は水に不溶性であると信じられてきた(Percival and McDowell 1967)。しかし、フコイダンの抽出操作の課程でフコイダンの不純物の一つに水溶性アルギンの存在を知った(西出・塚山1982)。このことは古くから知られていたようであるが(Percival and Ross 1950),それを回収して定量するという事は行われていなかった。そこで、フコイダンの精製法の一つとして創設した塩化マグネシウム・エタノール法を用いて褐藻熱水抽出物中の水溶性アルギンの分画を行い、得られた水溶性アルギンの電気泳動を行った結

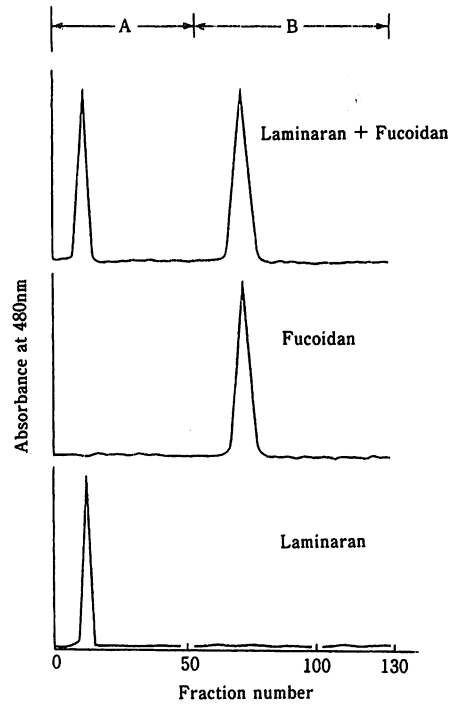


図3 DEAE-Sephadex A-25 (30 × 350mm)による多糖の分離
 画分A：0.01M 塩酸 画分B：3.0M 塩化ナトリウム含有0.01M 塩酸

果、これがアルギン酸であることを確認した。カゴメコンブ類の水溶性アルギンは分子量約50万で、マヌロン酸画分の多いアルギンであることが判明した(Nishide et al. 1984)。

この方法を用いて日本産褐藻16種の水溶性アルギンとアルカリ可溶性アルギンの含有量およびM/G比を求めたのが表6である。この結果、褐藻中に含有されるアルギンは、イシゲ科2種では含有アルギンの35%が、ホンダワラ科8種では9%が、コンブ科6種では28%が水溶性アルギンであることがわかった(Nishide et

表5 DEAE-Sephadex A-25による粗フコイダンの分離

Sample	Sample weight (mg)	Fraction(A) (Laminaran) (mg)	Fraction(B+C) (Fucoidan) (mg)
<i>Ecklonia cava</i> Fucoidan	200.0	33.0	111.3
<i>Eisenia bicyclis</i> Fucoidan	200.0	81.4	90.6
<i>Laminaria angustata</i> Fucoidan	200.0	70.5	103.0
Cultivated <i>L. japonica</i> Fucoidan	200.0		178.3
Natural <i>L. japonica</i> Fucoidan	200.0		195.3
<i>L. religiosa</i> Fucoidan	200.0		189.2

分離条件は表4を参照



図4 ラミナラン硫酸加水分解物の薄層クロマトグラフィー
A: グルコース, B: 標準ラミナラン, C: アラメ粗フコイダンより得られたラミナラン

al. 1987)。次に、熱水法で硫酸多糖を抽出した残留海藻中のアルギンの性質を調べてみた。その結果、硫酸多糖の抽出時間が長くなると、(1)残留海藻中のアルギンの収量が減少する、(2)含有アルギンの粘度が低下する、(3)含有アルギンのM/G比が低下する、すなわちグルロン酸量が増加する、ことなどがわかった(西出ら1992)。硫酸多糖を熱水法で抽出する場合、硫酸多糖抽出後の海藻の利用が問題となる。含有アルギンの利用ができなくなると海藻の価格がぜんぶ硫酸多糖に上乗せとなり硫酸多糖の価格が高くなる。そこで、硫酸多糖抽出後の海藻から市場性のあるアルギンの抽出ができる様な硫酸多糖抽出方法の案出が課題となる。

さらに、褐藻を長時間加熱すると含有アルギンの含有量が低下し、M/G比も低下することが判明したので、この理由について検討した。表7～9に認められるように、100℃で長時間加熱すると熱水可溶性アルギンが増加し海藻中に残留するアルギンが減少することがわかった。次に、熱水可溶性アルギンのM/G比をみると加熱時間が長くなるとM画分が増加しM/G比が高くなる。一方、海藻中に残留するアルギンのM/G比はM画分が減少しM/G比が低くなる。この結果、褐藻を長時間加熱すると、褐藻中のアルギン酸のM画分が熱により切れて溶出することがわかった(Nishide et al. 1996)。

最後に、日本のアルギン工業のおかれている現状について述べる。四面環海の日本では工業用に用いられる海藻資源は無尽蔵と考えられているがこれは誤りである。アルギン工業に用いられる海藻資源は皆無と

表6 各種日本産褐藻の水溶性アルギンとアルカリ可溶性アルギンの収量とM/G比

Species	WSA		ASA	
	Yield(%) [*] (as Mg salt)	M/G	Yield(%) [*] (as Na salt)	M/G
Ishigeaceae				
<i>Ishige okamurae</i>	4.14	0.80	8.20	0.34
<i>Ishige sinicola</i>	6.62	0.81	11.20	0.71
Laminariaceae				
<i>Laminaria japonica</i>	4.39	1.86	17.20	1.58
<i>Laminaria ochotensis</i>	7.81	3.15	15.80	1.68
<i>Laminaria religiosa</i>	9.23	2.42	17.30	1.78
<i>Kjellmaniella crassifolia</i>	5.51	1.75	13.50	1.41
<i>Eisenia bicyclis</i>	2.78	1.74	14.20	1.22
<i>Ecklonia cava</i>	6.08	1.85	13.60	1.50
Sargassaceae				
<i>Hizikia fusiformis</i>	1.51	1.90	2.20	0.83
<i>Sargassum patens</i>	0.90	5.28	10.50	0.44
<i>Sargassum horneri</i>	0.14	0.93	21.20	0.36
<i>Sargassum ringgoldianum</i>	2.49	0.63	16.20	0.26
<i>Sargassum sagamianum</i>	1.56	0.76	22.50	0.44
<i>Sargassum thunbergii</i>	0.01	2.10	8.00	0.42
<i>Sargassum kjellmanianum</i>	0.08	0.66	31.80	0.39
<i>Sargassum hemiphylum</i>	0.58	1.17	17.30	0.65

* Based on sun-dried materials.

表7 海藻葉状部中の熱水可溶性アルギンと残留アルギンの収量

Heating time (h)	Boiling water-soluble alginate (%) [*]	Remaining alginate in algal frond (%) [*]	Total (%) [*]
0			27.07
1	0.60	26.00	26.60
2	2.44	24.40	26.84
3	4.73	21.70	26.43
4	6.74	19.83	26.57
5	6.77	19.50	26.27
6	7.04	19.90	26.94

* : Based on dry weight.

表8 熱水可溶性アルギンのブロック構造とそのM/G比

Heating time (h)	Block structure ratio (%)			M : G ratio
	MM :	MG :	GG	
0	51.2	32.0	16.8	2.17
1	53.0	33.0	14.0	2.23
2	57.0	30.5	12.5	2.67
3	61.5	28.5	10.0	3.12
4	63.0	27.7	9.3	3.34
5	65.1	28.9	6.0	3.90
6	66.2	29.8	4.0	4.50

表9 海藻葉状部中に残留しているアルカリ可溶性アルギンのブロック構造とそのM/G比

Heating time (h)	Block structure ratio(%)			M : G ratio
	MM :	MG :	GG	
0	51.2	32.0	16.8	2.17
1	49.2	31.8	19.0	1.70
2	46.0	30.0	24.0	1.56
3	42.5	32.5	25.0	1.42
4	39.2	32.8	28.0	1.25
5	35.3	35.7	29.0	1.10
6	34.7	35.8	29.5	1.16



図5 南アフリカ産褐藻 *Ecklonia maxima* の茎部粉碎物

言ってもよいであろう。その理由は沿岸海域の褐藻の生育している場所、即ち、藻場には、沿岸海域の多種多様な有用魚介類が、生活史のある期間、とくに幼生期、幼魚期、稚魚期、若令魚期に棲息しており、海藻群落で生産される底生物、葉上生物を摂食して成長する。このため水産業では、いわゆる保育場として藻場を考えており、その保護、造成を積極的に行っている。(日本水産学会 1981)。このような藻場を構成している褐藻を採集することは水産業関係者の理解が得られないのが実情である。そこで、海外の褐藻資源に目が向けられるのであるが、海外でも、資源保護の立場から海藻の採集は制約が多い。国によっては海岸に漂着した海藻のみ採集が認められているのが実情である。日本が南アフリカから輸入している海藻は図5にみられるように非常に硬いチップ状である。この形態は海藻の葉状部ではなく、茎部を乾燥、粉碎したもので、我々の見慣れているアラメ、カジメ、コンブ等の葉状部とは大いに異なっている。海藻の葉状部からのアルギンの抽出は容易であるが、茎部からの抽出は非常に困難を伴うことを我々は経験的に認識している。この困難を伴う茎部が100%を占める抽出原料ともなると、その抽出方法はどのように行えばよいか検討が必要である。以下に、チップ状海藻を用いてアルギンの抽出を試みた結果を紹介する(西出・古川 1980)。

チップ状海藻を扱う場合二つの考え方がある。一つは粉碎して細粒化する方法である。海藻茎は弾性があるため粉碎しにくい。また、海藻の含水率によっては粉碎効率が低下するので、このような形態の海藻を粉碎するという操作は大変な作業で簡単ではない。粉碎機の保守管理も大変である。他の方法は膨潤軟化法である。この方法は葉状部からのアルギンの抽出工程で常時用いられている方法である。乾燥状態の葉状部を

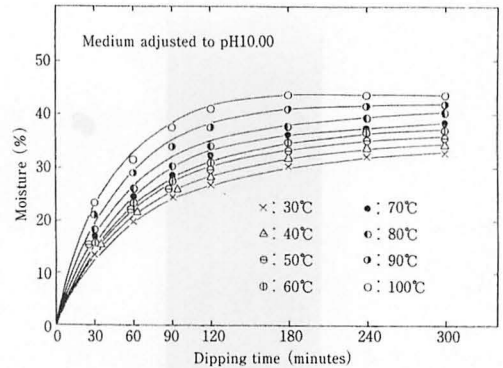


図6 *Ecklonia maxima* の膨潤曲線

水に浸すと短時間で乾燥前の状態に戻る。この状態で炭酸ナトリウムを加えるとアルギンが浸出してくるのである。この二つの方法のうち、膨潤軟化法はアルギンの抽出工程で常用化しているので設備等を考慮してチップ状海藻からのアルギンの抽出は膨潤軟化法で行うこととした。チップ状海藻を水に浸けても葉状部とは異なり膨潤軟化は非常に困難である。そこで、思案の結果、木材のパルプ化にアルカリ蒸解法という古典的な方法(荒木 1952)があるので、この方法を修飾することとした。pHを10.00に設定し、浸出時間と温度を変化して実験を行ったのが図6である。この結果、100°C、3時間以上の処理で膨潤が平衡に達することがわかった。このような処理を行ったチップ状海藻からアルギンを抽出した結果が図7である。この結果をみると、アルギン収量と抽出温度との関係は不規則である。この原因は試料の不均一性と考えられたので、試料の均一化をはかるために膨潤処理海藻をミキサーで摩砕後、アルギンを抽出した結果が図8である。図に認められるようにチップ状海藻よりアルギンを抽出する場合海藻の膨潤を充分に行い、なおかつ、試料の均一化を行うと抽出率は向上し、抽出温度とアルギン収量との間には極めて良好な相関関係が認められ、チップ状海藻からのアルギンの抽出実験は一応の目的を果たした。

この方法は南アフリカ産の海藻を用いてのアルギン抽出方法であって、他国の海藻の場合に適用できるかは不明である。新しいアイデアのもとに新抽出法を検討する必要があるものと考えられる。

おわりに

海藻多糖研究の経過を述べた。これといった独創的な研究もなく、落ち穂拾いに終始した感じがする。フ

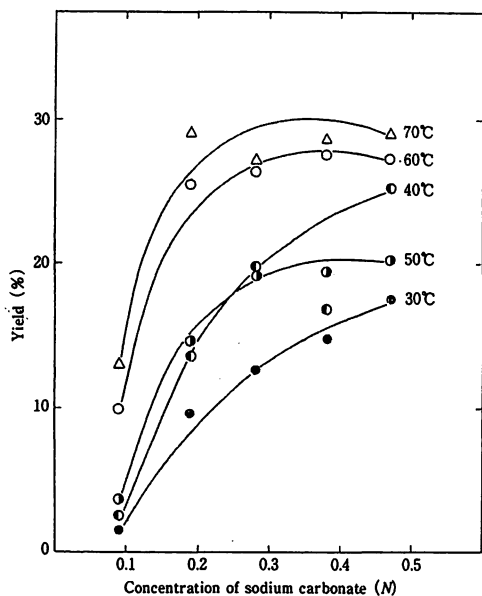


図7 アルギン酸の収量に及ぼす炭酸ナトリウム濃度の影響
膨潤処理：100℃，3時間，pH10.00 抽出時間：4時間

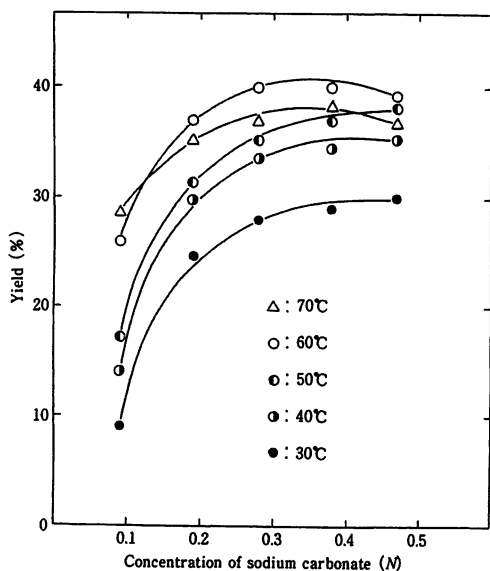


図8 膨潤、磨砕処理海藻中のアルギン酸収量に及ぼす炭酸ナトリウム濃度の影響 膨潤処理：100℃，3時間，pH10.00
抽出時間：4時間

コイダン，ラミナラン，アルギンの各項目で述べた問題点は，今後解決されなければならない。新しいアイデア，実験方法，実験機器を用いて再検討することで，

新しい研究課題および成果が生まれると思う。

最後に，絶えずご指導，ご鞭撻を頂いた東京教育大学名誉教授，元日本大学教授西澤一俊先生に感謝申し上げます。また日本大学生物資源科学部水産生物化学研究室内田直行教授，安斎寛助教授，塚山貴以子副手をはじめとする共同研究者，実験を共にした卒業生および在校生の方々に感謝申し上げます。

参考文献

- 阿武喜美子 1972. 第4級アンモニウム塩による分画. P.37-41. 阿武喜美子・長谷川栄一(編) ムコ多糖実験法 I, 南江堂, 東京.
- 荒木綱男 1952. 木材繊維. p.4-8. 繊維素化学, 産業図書, 東京.
- Black, W.A.P., Cornhill, W.J., Dewar, E.T. and Woodward, F.N. 1951. Manufacture of algal chemicals. III. laboratory-scale isolation of laminarin from brown marine algae. J. appl. Chem. 1: 505-517.
- 富士川龍郎・中島克子 1975. 褐藻におけるフコイダン様多糖の分布. 農化 49: 455-461.
- Ji Minghou, Lahaye, M. and Yaphe, W. 1985. Structure of agar from *Gracilaria* spp. (Rhodophyta) collected in the People's Republic of China. Bot. Mar. 28: 521-528.
- Khym, J.X. and Doherty, D.G. 1952. The analysis and separation of glucuronic and galacturonic acids by ion exchange. J. Am. Chem. Soc. 74: 3199-3200.
- Kloareg, B., Demarty, M. and Mabeau, S. 1986. Polyanionic characteristics of purified sulphated homofucans from brown algae. Inst. J. Biol. Macromol. 8: 380-386.
- Larsen, B., Haug, A. and Painter, T. 1970. Sulphated polysaccharides in brown algae III The native state of fucoidan in *Ascophyllum nodosum* and *Fucus vesiculosus*. Acta Chem. Scand. 24: 3339-3352.
- Maeda, M. and Nisizawa, K. 1968. Fine structure of laminaran of *Eisenia bicyclis*. J. Biochem.(Tokyo) 63: 199-206.
- Medcalf, D.G. and Larsen, B. 1977. Fucose-containing polysaccharides in the brown algae *Ascophyllum nodosum* and *Fucus vesiculosus*. Carbohydr. Res. 59: 531-537.
- Mori, H. and Nisizawa, K. 1982. Sugar constituents of sulfated polysaccharides from the fronds of *Sargassum ringgoldianum*. Nippon Suisan Gakkaishi 48: 981-986.
- 日本水産学会 1981. 藻場・海中林, 水産学シリーズ 38, 恒星社厚生閣, 東京.
- 西出英一・古川正 1980. 南アフリカ産褐藻 *Ecklonia maxima* からのアルギン酸の抽出について-III, アル

- ギン酸収量におよぼす前処理の影響. 日本大学農獣医学部学術研究報告 37: 289-294.
- 西出英一・塚山貴以子 1982. カゴメコンブのフコース含有多糖からの水溶性アルギンの除去. 日水誌 48: 1771-1773.
- Nishide, E., Tsukayama, K., Uchida, N. and Nisizawa, K. 1984. Isolation of water-soluble alginate from brown algae. *Hydrobiologia* 116/117: 557-562.
- 西出英一・安斎寛・内田直行 1987. 日本産褐藻類中のフコース含有多糖量について. 日水誌 53: 1063-1088.
- Nishide, E., Anzai, H. and Uchida, N. 1987. A comparative investigation on the water-soluble and the alkali-soluble alginates from various Japanese brown algae. *Nippon Suisan Gakkaishi*. 53: 1215-1219.
- Nishide, E., Anzai, H., Uchida, N. and Nisizawa, K. 1990. Sugar constituents of fucose-containing polysaccharides from various Japanese brown algae. *Hydrobiologia* 204/205: 573-576.
- 西出英一・三島明子・安斎寛・内田直行 1992. 熱水法で硫酸多糖を抽出した残留海藻中のアルギン酸の性質. 日本大学農獣医学部学術研究報告 49: 140-142.
- 西出英一・吉原正美・加藤正・箱根保・鎌田裕・安斎寛・内田直行 1994. DEAE-セファデックスカラムクロマトグラフィーによるラミナランとフコイダンの分別. 日本大学農獣医学部学術研究報告 51: 103-107.
- Nishide, E., Anzai, H., Uchida, N. and Nisizawa, K. 1996. Changes in M/G ratios of extracted and residual alginate fractions on boiling with water the dried brown alga *Kjellmaniella crassifolia* (Laminariales, Phaeophyta). *Hydrobiologia* 326/327: 515-518.
- 西澤一俊 1939. Laminarin の研究 (第一報) アラメ (*Eisenia bicyclis*) よりの単離並に其の化学的性質に就いて. 日化誌 60: 1020-1024.
- Percival, E. and Ross, A.G. 1950. Fucoidin. part I. The isolation and purification of fucoidin from brown seaweed. *J. Chem. Soc.* 717-720.
- Percival, E. and McDowell, R.H. 1967. Algin. pp.99-126. In *Chemistry and enzymology of marine algal polysaccharides*. Academic Press, London.
- Schmidt, M. 1962. Fractionation of acid mucopolysaccharides on DEAE-Sephadex anion exchanger. *Biochem. Biophys. Acta.* 63: 346-348.

(日本大学生物資源科学部)