

ブラジル産褐藻Laminaria obyssalisからのアルギン酸の抽出

誌名	日本大学農獣医学部学術研究報告
ISSN	00780839
著者	西出, 英一 老田, 尚弘 安斎, 寛
巻/号	46号
掲載ページ	p. 171-174
発行年月	1989年3月

Extraction of Alginic Acid from a Brazilian Brown Alga, *Laminaria abyssalis*

Eiichi NISHIDE, Naohiro OIDE, Hiroshi ANZAI and Naoyuki UCHIDA

Lab. Marine Biochemistry, Coll. Agr. & Vet. Med., Nihon Univ.

(Accepted Oct. 3, 1988)

ABSTRACT. Alginic acid was extracted from a Brazilian brown alga, *Laminaria abyssalis*, and the relationship between its yield and the concentration of sodium carbonate was investigated.

Extraction at 75°C with 0.17N sodium carbonate for 3 hours, the optimum conditions, gave a maximal yield of alginate, and the yield of alginic acid of *L. abyssalis* under the conditions was remarkably lower than that of *L. brasiliensis*.

The M:G ratio of the *L. abyssalis* alginate was calculated to be 0.7 and the uronic acid sequence in the alginate was found to be MG:MM:GG=30:17:53, respectively.

Key words: Seaweed, Alginate, Yield, M:G ratio, Uronic acid sequence, Brown algae, *Laminaria abyssalis*

ブラジル産褐藻 *Laminaria abyssalis* からのアルギン酸の抽出

西出 英一・老田 尚弘・安 齋 寛
内田 直行

日本大学農獣医学部 水産生物化学研究室

(1988年10月3日受理)

温帯から寒帯にかけての海域で生育しているコンブ属海藻が、熱帯から亜熱帯に位置するブラジルの沿岸海域にも生育していることが、1967年 Joly & Oliveira により認められ¹⁾、1984年には、資源量の調査が Quege & Hwa により行なわれた²⁾。

ブラジル産コンブ属海藻は *Laminaria brasiliensis* と *L. abyssalis* の2種類があり、著者ら³⁾はすでに、*L. brasiliensis* 含有アルギン酸の抽出条件、含有アルギン酸中のウロン酸の分析及び、ウロン酸ブロックの解析等を行った。今回 *L. abyssalis* を入手したので、*L. brasiliensis* 同様、含有アルギン酸の抽出条件、アルギン酸中のウロン酸について検討した結果を報告する。

実 験

1) 試料 *L. abyssalis* は1986年1月27日、南緯21°17'~21°11'、西経40°21'~40°29'、水深60mに生育しているものをドレッヂを用いて採集・風乾した後、約1cm幅に細断し、良く混合して実験に供した。

アルギン酸中のウロン酸ブロック解析時、比較に用いたアルギン酸は、ノルウェー Protan 社の *L. hyperborea* stipes から得られたアルギン酸を用いた。又、標準マンヌロン酸は Sigma Chemical 社製 D-Mannuronic acid lactone (Product Number M5007) を用い、グルロン酸は Larsen & Haug の方法⁴⁾を用いて、Protan 社製アルギンより調製した。

2) アルカリ可溶性アルギン酸の調製

- Algal frond (10g)
- Cut into small pieces
 - Dip in warm distilled water (60°C, 300 ml) for 0.5 hr
 - Filter through a layer of nylon cloth
- Residue
- Add 200 ml of 0.09–0.21 N of Na₂CO₃
 - Stir mechanically at 30–75°C for 1–4 hr
 - Add 800 ml of distilled water, Well mix
 - Filter through a Celite 545 layer
- Filtrate
- Acidify with 10% HCl to pH 1.00
 - Centrifuge
- Precipitate
- Add 200 ml of 50% methanol
 - Neutralize with 10% NaOH
 - Filter through a layer of cotton cloth
- Neutralized gel
- Wash with methanol & acetone
 - Air drying at 30°C for 12 hr
- Sodium alginate

Fig. 1 Preparation procedures of Alginate by Sodium Carbonate Extraction.

Fig. 1 に示すような手順で、炭酸ナトリウムを用いてアルギン酸を調製した。

3) アルギン酸中のマンヌロン酸とグルロン酸の分析
Haug & Larsen の方法⁵⁾を用いてアルギン酸を硫酸加水分解し、その分解液を炭酸カルシウムを用いて中和した後、Gacesa らの方法⁶⁾を用いて、アルギン酸中のマンヌロン酸とグルロン酸（以下、それぞれM、Gと略記する）を分析した。

4) アルギン酸中のウロン酸ブロックの解析
Haug らの方法⁷⁾を用いて行った。

結果および考察

1) アルギン酸の抽出条件

① 抽出温度

Fig. 2 に、抽出時間を4時間と一定にし、アルギン酸収量に対する抽出温度依存性ならびに炭酸ナトリウム濃度依存性を示す。

同図に認められるように、抽出温度30°Cの場合、炭酸ナトリウム濃度0.09Nのとき、約2%程度のアルギン酸収量であったが、炭酸ナトリウム濃度の増加とともにアルギン酸の収量は増加し、炭酸ナトリウム濃度0.21Nのとき、約7%であった。

抽出温度45°Cの場合、30°Cの場合と比較してアルギン酸の収量が若干向上している。すなわち、炭酸ナトリウム濃度0.09Nのとき、6%程度のアルギン酸収量が炭酸ナトリウム濃度の増加とともにアルギン酸収量も増加し、

炭酸ナトリウム濃度0.21Nのとき、約16%で、抽出温度30°Cの場合の約2倍の値である。

抽出温度60°Cの場合、30、45°Cの場合と比較してアル

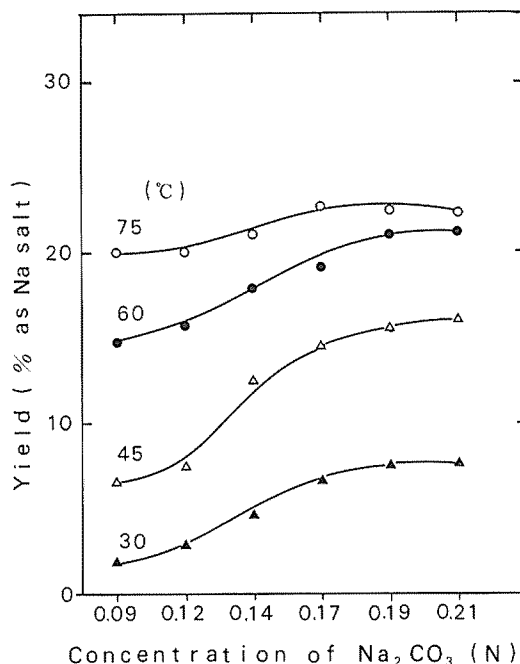


Fig. 2 Effects of various concentrations of Sodium carbonate on the yield of alginic acid from *L. abyssalis*. Extraction time: 4 hrs.

ギン酸の収量が更に向上している。すなわち、炭酸ナトリウム濃度0.09Nのとき、アルギン酸収量は約15%を示すが炭酸ナトリウム濃度の増加とともにアルギン酸収量も増加し、炭酸ナトリウム濃度0.21Nのとき、約21%であった。この値は、抽出温度30°Cの場合の約3倍の値である。

抽出温度75°Cの場合、30、45及び50°Cの場合と比較して特異な変化を示す。すなわち、炭酸ナトリウム濃度が0.09Nから0.21Nと変化しても、アルギン酸収量の変動幅が約2%くらいで、しかも、炭酸ナトリウム濃度0.17N以上ではアルギン酸収量約22%とほぼ一定となることがわかった。

以上の結果、*L. abyssalis* よりアルギン酸を抽出する場合、抽出時間を4時間と一定とし、抽出温度30~75°C炭酸ナトリウム濃度0.09~0.21Nと変化させると、抽出温度と炭酸ナトリウム濃度によってアルギン酸収量は変化し、高温・高炭酸ナトリウム濃度になるにしたがって

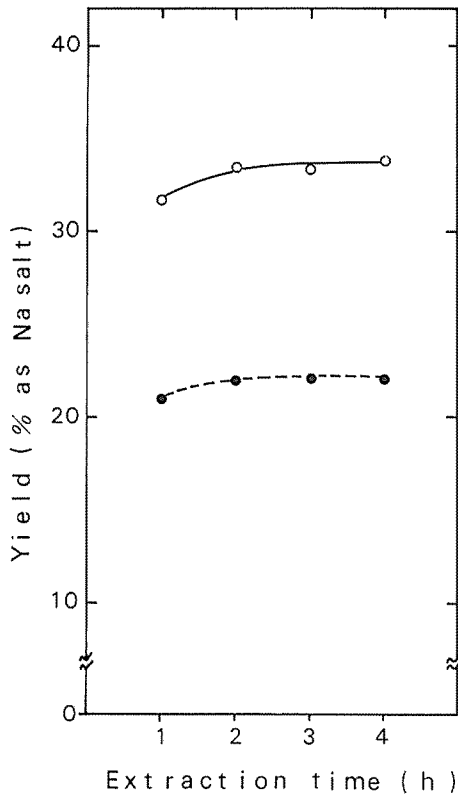


Fig. 3 Effects of extraction times on the yield of alginic acid.
 ----: *L. abyssalis*. —: *L. brasiliensis*.
 Concentration of Na₂CO₃: 0.17 N.
 Extraction temperature: 75°C.

アルギン酸収量は増加し、75°C、0.17N以上になるとほぼ一定の収量を示すことがわかった。

一方、*L. brasiliensis* の場合、著者ら³⁾ が既に述べたように *L. abyssalis* の場合と同様、抽出温度と炭酸ナトリウム濃度によりアルギン酸収量は変化するが、変化の度合いが著しい。すなわち、高温・高炭酸ナトリウム濃度になるにしたがってアルギン酸の収量は増加し、75°C、0.17Nの時、最高収量を示し、その収量は *L. abyssalis* より約12%も高い値を示すことがわかった。

② 抽出時間

Fig. 3 に抽出温度75°C、炭酸ナトリウム濃度 0.17Nと一定にした場合の抽出時間とアルギン酸収量との関係を示す。

L. abyssalis の場合、抽出時間が2時間以上になるとアルギン酸収量が一定値を示すようになることが分かった。

一方、*L. brasiliensis* の場合、*L. abyssalis* の場合とは異なり、抽出時間が長くなるにしたがいアルギン酸収量は漸増し、抽出時間4時間で最高値を示すことがわかり対象的である。

2) アルギン酸中のウロン酸について

① M : G比

アルギン酸の化学的性質はアルギン酸中に含まれるMとGの比によって左右される。炭酸ナトリウム濃度0.17N、抽出温度75°Cおよび抽出時間4時間の条件で調製したアルギン酸のM : G比を求めた結果、Table 1 にみられるように、0.7という値を示し、MよりGの多いアルギン酸であることがわかった。この傾向は前記と同じ抽出条件で調製した *L. brasiliensis* 由来のアルギン酸も同様であった。

② ウロン酸の結合状態

アルギン酸中のMとGとの結合状態を調べた結果は、Table 1 にみられる通りで、M : G比の結果を良く反映し、GG 画分の多いことがわかった。

Table 1 Distribution of different blocks in alginates from different species of brown algae

Species	M : G ratio	MG ^{a)}	MM ^{a)}	GG ^{a)}
<i>L. hyperborea</i>	0.5	25	14	61
stipes	(0.6) ^{b)}	(25	15	60) ^{b)}
<i>L. abyssalis</i>	0.7	30	17	53
<i>L. brasiliensis</i>	(0.5) ^{c)}	(30	33	37) ^{c)}

a) Figures show the percentage of each block in their sum.

b) Haug et al (7).

c) Nishide et al (3).

結 論

ブラジル産褐藻 *L. abyssalis* からのアルギン酸抽出時における炭酸ナトリウム濃度とアルギン酸収量との関係を検討した。

その結果、抽出温度75°C、炭酸ナトリウム濃度0.17Nの時、アルギン酸の最高収量が得られることがわかった。また、最適抽出温度・最適炭酸ナトリウム濃度の時、抽出時間3時間でアルギン酸の最高収量が得られることがわかった。

最適抽出温度・最適炭酸ナトリウム濃度・最適抽出時間でアルギン酸を抽出した時、*L. abyssalis* は *L. brasiliensis* よりアルギン酸の収量が低いことがわかった。

次に、アルギン酸中のM:G比を求めたところ、0.7という値を示し、ウロン酸結合状態を調べたところ、GG画分が多いことがわかった。

本研究は、著者の一人である西出英一が、昭和60年度日本大学・協定校間の学術交流計画に基づいて、サンパウロ大学に派遣された時企画され、その後海藻の採集等、一連の実験計画が実行に移され、今回ここに発表するまでにいたったものである。このような機会を与えて下さった日本大学並びにサンパウロ大学関係者各位に厚く感謝致します。

文 献

- 1 A. B. Joly and E. C. de Oliveira Filho 1967: Two Brazillian Laminarias. Inst. Pesq. Maringa, Rio de Janeiro. 4, 1-13.
- 2 N. Quege and C. M. F. Hwa 1984: Problemas metodologicos na estimativa de biomassa de macrofitas bentonicas de Profundidade. Cien Cult., 36, 1188-1193.
- 3 E. Nishide, H. Anzai and N. Uchida 1987: Extraction of alginic acid from a Brazillian brown alga, *Laminaria brasiliensis*. Hydrobiologia 151/152, 551-555.
- 4 B. Larsen and A. Haug 1961: Separation of Uronic acids on exchange columns. Acta chem. Scand., 15, 1397-1398.
- 5 A. Haug and B. Larsen 1962: Quantitative determination of the Uronic acid composition of alginates. Acta chem. Scand., 16, 1908-1918.
- 6 P. Gacesa, A. Squire and P. J. Winterburn 1983: The determination of the Uronic acid composition of alginates by anionexchange liquid chromatography. Carbohydr. Res., 118, 1-8.
- 7 A. Haug, B. Larsen and O. Smidsroed 1974: Uronic acid sequence in alginate from different sources. Carbohydr. Res., 32, 217-225.