

水生植物ヒシからのポリフェノール類抽出 ～抽出方法と刈り取り時期の検討～

環境計画研究室 小川 陽介

1. はじめに

近年、湖山池では水生植物であるヒシが大量に繁茂している。ヒシが枯死することで悪臭の発生や水質悪化を招き、近隣住民から苦情が出るため、鳥取県はヒシを有償で刈り取りを行っている。刈り取られたヒシは堆肥として有効活用されているが、さらなる有効活用方法が必要とされている。一方、ヒシから抽出したポリフェノール類がアオコの原因であるシアノバクテリアに対して抑制効果を示したという報告がある。そこでヒシからポリフェノールを抽出し、シアノバクテリアに対する増殖抑制剤を作成する。本研究では①複数の抽出方法によりポリフェノール抽出②ヒシの最盛期から枯死に至るヒシからポリフェノール抽出を行うこととした。ヒシ抽出液を培養試験に添加し、シアノバクテリアに対する増殖抑制効果のある抽出方法と、ポリフェノール抽出量の多い時期を検討する。

2. 研究方法

ヒシは7月28日、8月25日、10月4日に採取し、水道水で洗浄後、5cm程度に裁断して湿潤状態で抽出に用いた。抽出はヒシ湿潤状態 50g に対し溶媒 300ml で行った。有機溶媒を用いた抽出方法では80%アセトン(室温, 5日間), 80%メタノール(室温, 5日間), 蒸留水を抽出溶媒として用いたものは温水処理(100℃, 30分)と水(室温, 30分)による抽出を行った。別途、ジューサーでの破碎による抽出を行った。いずれも静置状態で抽出, 抽出後にろ過(GF/F)を行った。有機溶媒を用いた抽出液は、培養試験の際に有機溶媒がシアノバクテリアの増殖に影響を及ぼすことを考慮し、有機溶媒の除去(遠心濃縮機, -0.1 MPa, 50℃)を行い、減量した溶媒の相当分を蒸留水で置換した。なお、特にアセトン抽出液の有機溶媒を除去、水置換した際に沈殿物が生成された。培養試験にメタノールとアセトンの抽出液(水置換)を添加する際はよく攪拌し、沈殿物を含めて添加を行った。

シアノバクテリアの培養試験(50rpm, 3000lux)では使用株として継代培養していた *Microcystis aeruginosa* NIES-87 を使用し、2週間培養を行った。100ml 三角フラスコに MA 培地 30ml, 植種 1ml, 抽出液(水置換含む)を設定量添加した。また、比較系として抽出液無添加のものを用意した。増殖判定は色見により行った。繰り返し回数はすべて2回行い、2系列用意した(一部サンプル欠損により1系列)。

3. 結果及び考察

7月28日に採取したヒシから作成した抽出液の総ポリフェノール量測定結果を図1に示す。またシアノバクテリアに対し増殖抑制効果があるとされる gallic acid(GA)と pyrogallol acid(PA)を測定した結果を図2に示す。メタノール(水置換), アセトン(水置換), 温水処理, 蒸留水, 破碎処理の各抽出液を MA 培地に対し 0.5%(0.15ml)添加し、培養試験を行った。温水, 蒸留水, 破碎処理は抽出液無添加と同様の増殖過程を示した。メタノール(水置換)とアセトン(水置換)は増殖抑制あるいは遅延効果を示したが、メタノール(水置換)と温水の総ポリフェノール量を比較した際に、総ポリフェノール量の大小がそのまま増殖抑制効果の有無に繋がるではないことが確認された。つまり、シアノバクテリアの増殖抑制は総ポリフェノール量では判断できないことが分かった。なお、今回の添加量では GA と PA の濃度が低いためこれらによる抑制効果はほとんどないと考えられる。

7月28日, 8月25日, 10月4日のメタノール(水置換)とアセトン(水置換)の時期別に作成した抽出液を作成し、培養試験に供した。メタノール(水置換)は培養14日目まで2系列ともシアノバクテリアが増殖したものが10月4日採取の抽出液だけであった。アセトン(水置換)の10月4日採取の抽出液による培養は、培養8日目にはシアノバクテリアの増殖が確認され、同じ溶媒の早い刈り取り時期のものよりも比較系に近い増殖経過を示した。このことから刈り取り時期が遅いと増殖抑制効果が減少すると考えられる。時期別に作成した抽出液の総ポリフェノール量を図3, GAとPAの濃度を図4に示す。総ポリフェノール量が時期が遅くなるにつれて減少していくことを確認した。最盛期から枯死にかけてヒシの衰退と共に増殖抑制効果のあるポリフェノール類の体内濃度も減少していくことを確認した。

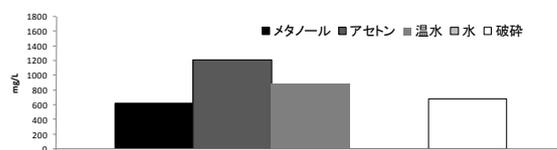


図1 7月28日抽出方法別の総ポリフェノール量

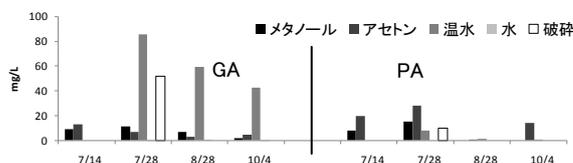


図2 7月28日抽出方法別のGAとPA

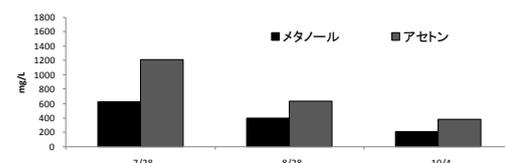


図3 時期別の総ポリフェノール量

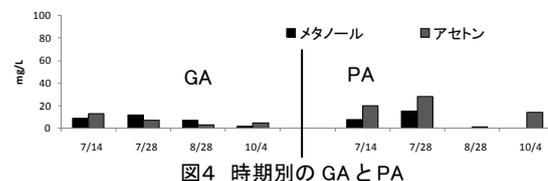


図4 時期別のGAとPA

4. まとめ

シアノバクテリアである *Microcystis aeruginosa* に対し、水置換を行ったメタノール, アセトンの抽出液による増殖抑制効果を確認した。温水や破碎による抽出液では抑制効果を持たなかったため、総ポリフェノール量では増殖抑制効果は判断できず、今後は抽出したポリフェノール類の種類を見ていく必要がある。またヒシ最盛期から枯死にかけて抽出液を作成し、培養試験とポリフェノールを測定することで、増殖抑制効果と総ポリフェノール量は減少していくことを確認した。このことから、増殖抑制効果のあるポリフェノール回収を観点においてヒシ回収を行う際は、最盛期までにヒシを刈り取った方がよい。