

マコンブおよびワカメから単離したジ(2-エチルヘキシル)フタレート (DEHP) の¹⁴C 濃度測定結果について

Analysis of natural abundance ¹⁴C contents of di(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) isolated from *Laminaria japonica* (Makonbu) and *Undaria pinnatifida* (Wakame)

浪越 通夫・中澤 孝浩・鵜飼 和代

Michio Namikoshi, Takahiro Nakazawa, Kazuyo Ukai

東北薬科大学天然物化学教室

Department of Natural Product Chemistry, Tohoku Pharmaceutical University, Aoba-ku, Sendai 981-8558, Japan.

*Corresponding author. E-mail: mnami@tohoku-pharm.ac.jp

Abstract

Di(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) and unsaturated fatty acids (UFAs), as positive control, were isolated from *Laminaria japonica* (Makonbu) and *Undaria pinnatifida* (Wakame) to investigate a possibility of the isolated DEHP as a natural product by the analysis of natural abundance ¹⁴C contents. Wild *L. japonica* and cultured *U. pinnatifida* were freeze-dried and extracted with dichloromethane. DEHP and UFAs were isolated and purified by GC from the extracts. The ¹⁴C contents (pMC) of DEHP and UFAs from *Laminaria japonica* were 14.8 ± 0.1 and 103.7 ± 0.4 , respectively, and from *Undaria pinnatifida* were 2.32 ± 0.04 and 96.9 ± 0.3 , respectively. Therefore, DEHP isolated from *L. japonica* and *U. pinnatifida* was the industrial origin.

Keywords: dialkyl phthalate; *Laminaria japonica*; *Undaria pinnatifida*; di(2-ethylhexyl) phthalate; ¹⁴C contents

キーワード: フタル酸エステル; マコンブ; ワカメ; ジ(2-エチルヘキシル)フタレート; ¹⁴C 濃度

1. はじめに

ジアルキルフタル酸エステル類は石油を原料にして作られ、プラスチック可塑剤や溶剤などとして数多くの工業製品やその製造に利用されている。最も多く使用されているのが Di(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) で、フタル酸エステル類の6割以上を占める。次いで、diisononyl phthalate (DINP) がおよそ4分の1で、diisodecyl phthalate (DIDP) や di(*n*-butyl) phthalate (DBP) が少量(1~3%)利用されている。これらのフタル酸エステル類はその使用量が多いこともあり、揮発や流出などによって環境中に放出されているため、土壌、海泥、陸水、海水さらには食品や動植物からも検出され、環境汚染物質といわれている。また、一部の化合物には発癌性、変異原性、催奇形性があるとの疑いがあり、水棲生物から人に至る広範囲の生物に対する毒性が懸念されている [1-5]。

一方で、海藻や植物あるいはカビや細菌などの培養液から DEHP が分離されたとの報告がある [6-16]。しかしながら、これらの生物から見つかった DEHP が分離中に混入したものなのか、生物によって環境中から蓄積されたものなのか、あるいは生物自身が作っているのかを判定するのは非常に難しい。興味深いことに、使用量がそれほど多くない DBP が植物、海藻、カビ、細菌などから見つかっている [7, 10, 12, 17-21] のに対し、2、3番目の使用量の DINP と DIDP が生物から

分離されたとの報告はない。また、石油製品としてはあまり作られていないジエチルフタレート (DEP) がピロリ菌 (*Helicobacter pylori*) や南極の海泥から分離された放線菌 *Streptomyces* sp. の培養液から得られている [22, 23]。さらに、石油製品としては製造されていないジ(2-メチルヘプチル)フタレートがオトギリソウ科の植物 *Hypericum hyssopifolium* から単離された [24]。

以上の報告を検討すると、ある種のフタル酸エステルは生物によって生合成されている可能性が考えられた。そこで我々は、生物によるフタル酸エステル類の生合成の可能性を天然物化学的手法によって解明する研究を 2005 年度から行っている。

Teuten らは、クジラ的一种 *Mesoplodon mirus* の脳油に含まれるポリ臭化ジフェニルエーテルが人工の化学物質の濃縮されたものではなく、天然物であることを分離した化合物と工業製品の ^{14}C 濃度を測定することによって証明した [25, 26]。工業で使用されているフタル酸エステル類もこれらの人工化学物質と同様に石油から製造されているので、 ^{14}C は検出限界以下であるので、生物から分離した DEHP や DBP も同様の方法 [27, 28] によりその起源を推定できると考えた。

我々はまず、日本で食用としている褐藻のワカメ (*Undaria pinnatifida*) とマコンブ (*Laminaria japonica*) および沿岸域で大繁殖するアオサ (*Ulva* sp.) から DEHP と DBP を分離し、それらの ^{14}C 濃度測定を行った [29, 30]。工業製品の DBP と DEHP の標準試料の ^{14}C 濃度は検出限界以下であった。3 種類の海藻から得られた DBP はそれぞれ高い ^{14}C 濃度の値を示したので、これらの海藻によって作られている可能性が示唆されたが、DEHP の値は DBP の 20% 程度であった。次に我々は、酒、ビール、醤油の醸造に利用されている酵母と麹 (糸状菌) の液体培養液からフタル酸エステル類を単離して ^{14}C 濃度を測定する実験を行い、酒酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) から DEHP を単離して ^{14}C 濃度を測定した。海藻の実験ではコントロールの測定を行わなかったことが原因で DEHP のデータの解釈ができなくなってしまうので、酒酵母からはポジティブコントロールとしてオレイン酸を単離して ^{14}C 濃度を測定した。その結果、オレイン酸は適正な値を示したが、DEHP の ^{14}C 濃度 (pMC) は 0.778 ± 0.029 であった [31]。

そこで今回は、マコンブとワカメから得られる DEHP の再検討を行った。前回は、分離した DEHP の純度が高くなかったことが、データの解釈を困難にした一因であったので、今回は GC 分取により 99% 以上の純度を確保した。

2. 実験方法

^1H および ^{13}C NMR は日本電子 JEOL JNM-AL-400 (^1H , 400 MHz; ^{13}C , 100 MHz) あるいは JNM-LA-600 (^1H , 600 MHz; ^{13}C , 150 MHz) NMR 測定機を用い、重クロロホルム溶液で測定した。ガスクロマトグラフィー-質量分析 (GC-MS) は日本電子 JMS-K9 UltraQuad GC/MS 質量分析計を用いて測定した [カラム: TC-70 (内径 0.32 mm、長さ 30 m、膜厚 0.25 μm)、キャリアーガス: He (1 mL/min)]。高速液体クロマトグラフィー (HPLC) には、東ソーのシステム (ポンプ CCMP-II、コントローラー PX-8020、フォトダイオードアレイ検出器 PD-8020、オンラインデガッサー SD-802、カラムオープン CO-8010) を使用した。分取ガスクロマトグラフィーには、島津 Gas Chromatograph GC-8A を用いた。

DBP と DEHP の標準試料 (化学工業製品) はそれぞれ昭和エーテル株式会社およびシーエスター株式会社から提供されたものを使用した。抽出と分離には全て特級の有機溶媒を使用し、その他の試薬類は市販のもっとも高品質のものを用いた。

2.1. 抽出用試料 (海藻)

実験に使用した海藻は、石巻市の漁師に依頼して石巻沖の天然マコンブおよび養殖ワカメを採取して頂いた。

マコンブ (*Laminaria japonica*) : 2009年9月30日採取 (約8 kg)

ワカメ (*Undaria pinnatifida*) : 2010年1月16日採取 (約12 kg)

2.2. マコンブからの DEHP と 11Z-hexadecenoic acid の単離

マコンブを適当な大きさに切り、凍結乾燥して1.2 kgの乾燥藻体を得た。これを4つに分け、抽出と分離方法の検討および各分離段階での定量を行った。¹⁴C濃度測定用の試料の単離精製方法を以下に示す。

乾燥藻体 (約300 g) を細かく粉砕し、ジクロロメタン (3 L) で4日間抽出した。抽出液をエバポレーターで濃縮して2.3 gの抽出物を得た。これをヘキサン-酢酸エチルの混合溶媒でシリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し、4つのフラクション [Fr. K1 (ヘキサン 100%), 198.3 mg; Fr. K2 (ヘキサン-酢酸エチル = 9:1), 497.7 mg; Fr. K3 (ヘキサン-酢酸エチル = 4:1), 584 mg; Fr. K4 (酢酸エチル 100%)] に分離した。DEHPはFr. K2に検出されたので、ガスクロマトグラフィーにて分取を行った。Fr. K2を100 mg/mLの濃度でHPLC用ヘキサンに溶解し、GC (島津 GC-8A) に注入した。

GC 条件

カラム : 島津ガラスカラム内径 3.2 mm、長さ 3.0 m

ゲル : GL サイエンス Uniport HP

TCD 検出器感度 : 90 mV

カラム温度 : 250 °C

注入量 : 50~80 µL

ガスクロマトグラムのピークに従って、5つのフラクション (Fr. K2-1~Fr. K2-5) に分離した。DEHPはFr. K2-5に検出され、試料注入7回 (約50 mgのFr. K2) で、16.3 mgを得た。Fr. K2-5には不飽和脂肪酸が含まれていたため、(trimethylsilyl)diazomethane エーテル溶液でメチルエステル化を行い、DEHPをGCで精製した。Fr. K2-5をジアゾメタン処理して得た反応物 (16.9 mg) をHPLC用ヘキサンに溶解し、上と同じ条件でGC分取を行い、2.8 mgの精製DEHPを得た。

ポジティブコントロールとして使用する不飽和脂肪酸は、Fr. K2-3から単離した。Fr. K2-3 (26.9 mg) をシリカゲルカラム (22 g、ヘキサン-酢酸エチル) で分離し、ヘキサン-酢酸エチル (95:5) 溶出部から3.1 mgの不飽和脂肪酸を得た。質量分析およびNMRスペクトルの解析により、この不飽和脂肪酸を11Z-hexadecenoic acid (ヘキサデセン酸) と同定した。

2.3. ワカメからの DEHP と オレイン酸 の単離

ワカメを適当な大きさに切り、凍結乾燥して805 gの乾燥藻体を得た。このうち210 gを細かく粉砕してジクロロメタン (3 L) で4日間抽出し、得られた抽出物をヘキサン-酢酸エチルの混合溶媒のシリカゲルカラムクロマトグラフィーで6つのフラクション [Fr. W1 (ヘキサン 100%), 99 mg; Fr. W2 (ヘキサン-酢酸エチル = 95:5), 162 mg; Fr. W3 (ヘキサン-酢酸エチル = 9:1), 660 mg; Fr. W4 (ヘキサン-酢酸エチル = 1:1); Fr. W5 (酢酸エチル 100%); Fr. W6 (メタノール 100%)] に分離した。DEHPはFr. W2に検出されたので、マコンブと同様にガスクロマトグラフィーにて分取を行った。Fr. W2を5つのフラクション (Fr. W2-1~Fr. W2-5) に分け、DEHPを含むFr. W2-4 (4.2 mg) をジアゾメタン処理後、再びGCで分取して、3.0 mgのDEHPを精製した。

マコンブと同様に、ワカメからもポジティブコントロールの不飽和脂肪酸を単離し、質量分析およびNMRスペクトルからoleic acid (オレイン酸) と同定した。

2.4. GC-MS による単離 DEHP の分析

マコンブおよびワカメから単離した DEHP は、GC-MS による定量によりそれぞれの純度を算出した。DEHP の base peak として検出される m/z 149 のピークを selected ion monitor (SIM) により定量に利用した。検量線は、DEHP の標準試料を用いて作成した。

GC-MS の条件

カラム : TC-70 (内径 0.32 mm、長さ 30 m、膜厚 0.25 μm)

キャリアーガス : He (1 mL/min)

注入量 : 各試料 5 μL

昇温 : ① 150 $^{\circ}\text{C}$ (6 分) \rightarrow (3 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$) \rightarrow 250 $^{\circ}\text{C}$ (20 分) \rightarrow 300 $^{\circ}\text{C}$

② 100 $^{\circ}\text{C}$ (6 分) \rightarrow (2 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$) \rightarrow 210 $^{\circ}\text{C}$ (2 分) \rightarrow (30 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$) \rightarrow 300 $^{\circ}\text{C}$

DEHP は、①の条件でおよそ 25 分および②の条件でおよそ 50 分に溶出した。単離した DEHP を HPLC 用ヘキサンに溶解して、検量線を作成した濃度範囲の中間の濃度に調整し、ピーク面積から調整した試料溶液の濃度を定量した。定量値を調製した濃度 (理論値) で割って純度を算出した。マコンブ抽出物から単離した DEHP は①の条件で 3 回の測定を行い、平均で 99.0% の値となった。ワカメ抽出物由来 DEHP は②の条件で検討し、99.3% (3 回の平均値) であった。

2.5. ^{14}C 濃度の測定

マコンブおよびワカメから分離した DEHP とコントロール (不飽和脂肪酸) の ^{14}C 濃度は、名古屋大学年代測定総合研究センターにて測定して頂いた。得られたデータ (pMC) は、表 1 (マコンブ) および表 2 (ワカメ) に示した。

3. 結果と考察

今回の実験に使用した石巻産のマコンブとワカメの粗抽出物の GC-MS 分析では DBP の存在が確認できたが、含有量が少なかったため、DBP を単離することができなかった。2010 年 2 月 7 日に採取した東京湾産のワカメの粗抽出物も、石巻産と同様の分析結果を示した。そこで今回は、DEHP についてのみ単離精製を行った。

標品の DEHP は石油から作られた工業製品であるので、 ^{14}C は検出されなかった [29, 30]。マコンブとワカメから単離した DEHP が、これらの海藻によって生合成されているものであれば、現代炭素と同等の ^{14}C が含まれているはずである。

3.1. 海藻からの DEHP と不飽和脂肪酸 (コントロール) の分離

マコンブとワカメは石巻市の漁師から購入した。マコンブは天然のものを 2009 年 9 月 30 日に採取、ワカメは養殖ものを 2010 年 1 月 16 日に採取した海藻を宅配便で輸送した。

生の海藻からの抽出と分離は難しいので、抽出の前に凍結乾燥を行った。乾燥した海藻を細かく砕き、ジクロロメタンで抽出し、濃縮乾固して粗抽出物を得た。粗抽出物のシリカゲルカラムクロマトグラフィー、ついで GC 分取により、DEHP を分離した。このフラクションを ^1H NMR で分析したところ、DEHP のシグナルの他に、不飽和脂肪酸と思われるピークが観察された。このままで DEHP を精製することが非常に難しかったので、ジアゾメタンで不飽和脂肪酸をメチルエステル化して GC リテンションタイムを短くし、GC 分取によって DEHP の精製を達成した。単離した DEHP はいずれも 99% 以上の純度であったので、 ^{14}C 濃度測定に十分であると判断した。

これらの海藻が生合成していることが確実な化合物をポジティブコントロールとして使用するため、それぞれの海藻から不飽和脂肪酸を単離した。質量分析と NMR スペクトルの解析により、

マコンブから単離した化合物を 11Z-ヘキサデセン酸、ワカメ由来の化合物をオレイン酸と同定した。

3.2. マコンブおよびワカメから単離・精製した DEHP と不飽和脂肪酸の ^{14}C 濃度測定

マコンブから単離精製した DEHP と 11Z-ヘキサデセン酸の ^{14}C 濃度は、2009 年度第 3 期に測定して頂いた (表 1)。

表 1. マコンブから単離した DEHP および 11Z-ヘキサデセン酸の ^{14}C 測定結果
Natural abundance ^{14}C contents of di(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) and
11Z-hexadecenoic acid isolated from *Laminaria japonica*

compound	^{14}C content (pMC)
DEHP	14.8 ± 0.1
11Z-hexadecenoic acid	103.7 ± 0.4

ワカメから単離精製した DEHP とオレイン酸の ^{14}C 濃度は、2010 年度第 2 期に測定して頂いた (表 2)。

表 2. ワカメから単離した DEHP およびオレイン酸の ^{14}C 測定結果
Natural abundance ^{14}C contents of di(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) and
oleic acid isolated from *Undaria pinnatifida*

compound	^{14}C content (pMC)
DEHP	2.32 ± 0.04
oleic acid	96.9 ± 0.3

この結果、ポジティブコントロールとして単離した不飽和脂肪酸はそれぞれ適正な ^{14}C 濃度の値を示したが、DEHP は工業製品の混入と判断できる。

使用した有機溶媒やシリカゲルからの混入量を検討した (空試験) が、単離された DEHP の重量は混入の可能性のある量を遥かに超えていた。また、粗抽出物や分離途中のフラクションの定量においても、DEHP は検出 (ブランク (空試験) の差引後) されていた。よって、海藻抽出物から単離された DEHP は、海水などに混入していた化合物を海藻が蓄積していたか、あるいは藻体表層の粘液中に吸着していた可能性もある。いずれにしろ、マコンブとワカメは DEHP を生合成していないと結論できる。

我々は引き続き、DEHP を単離したとの報告のある微生物を試料に使用して ^{14}C 濃度測定のための単離精製および ^{13}C 前駆体の取り込み実験を行っている。

謝辞

^{14}C 濃度測定をして頂いた名古屋大学年代測定総合研究センターの中村俊夫教授ならびに池田晃子さんに御礼申し上げます。また、DBP と DEHP の標準試料を提供して頂いた昭和エーテル株式会社とシージーエスター株式会社に感謝致します。

参考文献

1. Howdeshell, K. L.; Furr, J.; Lambright, C. R.; Rider, C. V.; Wilson, V. S.; Gray, L. E. Jr. Cumulative effects of dibutyl phthalate and diethylhexyl phthalate on male rat reproductive tract development: altered fetal steroid hormones and genes. *Toxicol. Sci.* **2007**, *99*, 190–202.
2. Lovekamp-Swan, Davis, B. J. Mechanisms of phthalate ester toxicity in the female reproductive system. *Environ. Health. Perspect.* **2003**, *111*, 139–145.
3. Mylchreest, E.; Sar, M.; Cattley, R. C.; Foster, P. M. Disruption of androgen-regulated male reproductive development by di(n-butyl) phthalate during late gestation in rats is different from flutamide. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **1999**, *156*, 81–95.
4. Jobling, S.; Reynolds, T.; White, R.; Parker, M. G.; Sumpter, J. P. A variety of environmentally persistent chemicals, including some phthalate plasticizers, are weakly estrogenic. *Environ. Health Perspect.* **1995**, *103*, 582–587.
5. Ganning, A. E.; Brunk, U.; Dallner, G. Phthalate esters and their effect on the liver. *Hepatology* **1984**, *4*, 541–547.
6. 山本裕, 犬塚俊康, 瀬瀬守, 原宏和, 安藤香織. 渦鞭毛藻が産生する抗酸化作用物質の研究. 第51回天然有機化合物討論会(名古屋)2009, 講演要旨集 pp. 587-592.
7. Hoang, V. L. T.; Li, Y.; Kim, S.-K. “Cathepsin B inhibitory activities of phthalates isolated from a marine *Pseudomonas* strain.” *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2008**, *18*, 2083–2088.
8. Mavar-Manga, H.; Hadda, M.; Pieters, L.; Baccelli, C.; Penge, A.; Quetin-Leclercq, J. “Anti-inflammatory compounds from leaves and root bark of *Alchornea cordifolia* (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg.” *J. Ethnopharmacol.* **2008**, *115*, 25–29.
9. Al-Bari, M. A.; Bhuiyan, M. S.; Flores, M. E.; Petrosyan, P.; Garcia-Varela, M.; Islam, M. A. *Streptomyces bangladeshensis* sp. nov., isolated from soil, which produces bis-(2-ethylhexyl)phthalate. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* **2005**, *55*, 1973–1977.
10. Chen, C. Y. Biosynthesis of di-(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) and di-n-butyl phthalate (DBP) from red alga—*Bangia atropurpurea*. *Water Res.* **2004**, *38*, 1014–1018.
11. Lee, K. H.; Kim, J. H.; Lim, D. S.; Kim, C. H. Anti-leukemic and anti-mutagenic effects of di(2-ethylhexyl) phthalate isolated from *Aloe vera* Linne. *J. Pharm. Pharmacol.* **2000**, *52*, 593–598.
12. El-Naggar, M. Y. M. Dibutyl phthalate and the antitumor agent F5A1, two metabolites produced by *Streptomyces nasri* submutant H35. *Biomed. Lett.* **1997**, *55*, 125–131.
13. Sastry, V. M. V. S.; Rao, G. R. K. Dioctyl phthalate, and antibacterial compound from the marine brown alga—*Sargassum wightii*. *J. Appl. Phycol.* **1995**, *7*, 185–186.
14. Amade, P.; Mallea, M.; Bouaicha, N. Isolation, structural identification and biological activity of two metabolites produced by *Penicillium olsonii* Bainier and Sartory. *J. Antibiot.* **1994**, *47*, 201–207.
15. Stefanov, K.; Konaklieva, M.; Brechany, E. Y.; Christie, W. W. Fatty acid composition of some algae from the black sea. *Phytochemistry* **1988**, *27*, 3495–3497.
16. Noguchi, T.; Ikawa, M.; Uebel, J. J.; Andersen, K. K. Lipid constituents of the red algae *Ceramium rubrum*. A search for antimicrobial and chemical defense substances. In *Marine algae in pharmaceutical science*; Hoppe, H. A.; Levring, T.; Tanaka, Y., Eds.; Walter de Gruyter & Co.: New York, 1979; pp. 711–718.

17. Roy, R. N.; Laskar, S.; Sen, S. K. Dibutyl phthalate, the bioactive compound produced by *Streptomyces albidoflavus* 321.2. *Microbiol. Res.* **2006**, *161*, 121–126.
18. Shi, D. Y.; Han, L. J.; Sun, J.; Wang, Y.; Yang, Y. C.; Shi, J. G.; Fan, X. Chemical constituents from marine alga *Chaetomorpha basiretorsa*. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi* **2005**, *30*, 347–350.
19. Lee, D. -S. Dibutyl phthalate, an α -glucosidase inhibitor from *Streptomyces melanosporofaciens*. *J. Biosci. Bioeng.* **2000**, *89*, 271–273.
20. El-Naggar, M. Y. M. Dibutyl phthalate and the antitumor agent F5A1, two metabolites produced by *Streptomyces nasri* submutant H35. *Biomed. Lett.* **1997**, *55*, 125–131.
21. Savard, M. E.; Miller, J. D.; Blais, L. A.; Seifert, K. A.; Samson, R. A. Secondary metabolites of *Penicillium bilaii* strain PB-50. *Mycopathologia* **1994**, *127*, 19–27.
22. Keire, D. A.; Anton, P.; Faull, K. F.; Ruth, E.; Walsh, J. H.; Chew, P.; Quisimoro, D.; Territo, M.; Reeve, J. R., Jr. Diethyl phthalate, a chemotactic factor secreted by *Helicobacter pylori*. *J. Biol. Chem.* **2001**, *276*, 48847–48853.
23. Ivanova, V.; Oriol, M.; Montes, M. J.; Garcia, A.; Guinea, J. Secondary metabolites from a *Streptomyces* strain isolated from Livingston Island, Antarctica. *Z. Naturforsch.* **2001**, *56*, 1–5.
24. Cakir, A.; Mavi, A.; Yildirim, A.; Duru, M. E.; Harmandar, M.; Kazaz, C. Isolation and characterization of antioxidant phenolic compounds from the aerial parts of *Hypericum hyssopifolium* L. by activity-guided fractionation. *J. Ethnopharm.* **2003**, *87*, 73–83.
25. Teuten, E. L.; Xu, L.; Reddy, C. M. Two abundant bioaccumulated halogenated compounds are natural products. *Science* **2005**, *307*, 917–920.
26. Reddy, C. M.; Xu, L.; Eglinton, T. I.; Boon, J. P.; Faulkner, D. J. Radiocarbon content of synthetic and natural semi-volatile halogenated organic compounds. *Environ. Pollut.* **2002**, *120*, 163–168.
27. 中村俊夫. ライフサイエンスのためのアイソトープ測定機器 (第四シリーズ) <加速器質量分析法 AMS> I. 加速器質量分析 (AMS) による環境中およびトレーサ放射性同位体の高感度測定. *Radioisotopes* **2003**, *52*, 145–171.
28. Nakamura, T.; Niu, E.; Oda, H.; Ikeda, A.; Minami, M.; Ohta, T.; Oda, T. High precision ^{14}C measurements with the HVEE Tandem AMS system at Nagoya University. *Nucl. Instr. Meth.* **2004**, *B223-224*, 124–129.
29. 浪越通夫, 西川輝昭, 鶴飼和代. 3種類の高藻ワカメ, マコンブおよびアオサから分離したジブチルフタレート (DBP) およびジ(2-エチルヘキシル)フタレート (DEHP) の ^{14}C 測定結果の解析. 名古屋大学加速器質量分析計業績報告書(XVIII), 2007, pp. 236–246.
30. Namikoshi, M.; Fujiwara, T.; Nishikawa, T.; Ukai, K. Natural abundance ^{14}C content of dibutyl phthalate (DBP) from three marine algae. *Mar. Drugs* **2006**, *4*, 290–297.
31. 浪越通夫, 中澤孝浩, 鶴飼和代. 酒酵母培養液から単離したジ(2-エチルヘキシル)フタレート (DEHP) の ^{14}C 測定結果について. 名古屋大学加速器質量分析計業績報告書(XXI), 2010, pp. 152–158.

日本語要旨

マコンブ (*Laminaria japonica*) およびワカメ (*Undaria pinnatifida*) から単離された di(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) が、これらの海藻によって生合成されている天然物であるかを検討した。天然マコンブと養殖ワカメを凍結乾燥後、ジクロロメタン抽出と分離を行い、DEHP およびコントロールとして不飽和脂肪酸をそれぞれの海藻から単離し、GC 分取により精製した。これら DEHP と不飽和脂肪酸の ^{14}C 濃度測定結果 (pMC) はそれぞれ 14.8 ± 0.1 と 103.7 ± 0.4 (マコンブ) および 2.32 ± 0.04 と 96.9 ± 0.3 (ワカメ) であった。この結果から、マコンブとワカメから単離された DEHP は工業製品であったと考えられる。