

# 3種類の海藻ワカメ、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 $^{14}\text{C}$ 測定結果の解析

浪越通夫<sup>1\*</sup>・西川輝昭<sup>2</sup>・鵜飼和代<sup>1</sup>

1) 東北薬科大学天然物化学教室 ; 2) 名古屋大学博物館

(\*連絡先 : e-mail: mnami@tohoku-pharm.ac.jp; tel/fax: 022-727-0219)

## 1. はじめに

ジ(2-エチルヘキシル)フタレート (DEHP), ジイソノニルフタレート (DINP), ジイソデシルフタレート (DINP) およびジブチルフタレート (DBP) などの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を始め数多くの工業製品やその製造に利用されてきた. これらのフタル酸エステルは環境汚染物質といわれ, 実際, 土壌や海泥, 陸水, 海水などから検出され, また, 動植物や微生物からも見ついている.

DEHP が陸上の植物 [1] や海藻 [2-5] あるいはカビや細菌などの培養液 [6, 7] から分離されたという報告がある. しかしながら, DEHP は工業製品としてかなりの量が製造されているため, 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困難である.

2003 年に日本で使用されたフタル酸エステル類の 65%以上が DEHP で, 次いで DINP (>26%), DIDP (約 3%), および DBP (約 1%) の順である. この比率はここ数年ほとんど変わっていない.

興味深いことに, 2 番目と 3 番目に使用量が多い DINP と DIDP が生物から検出されたという報告はないが, 4 番目の DBP は植物, 海藻, カビ, 細菌などから分離されている [2, 8-11]. 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*) の走化性因子としてその培養液から得られた [12]. また, DEP は南極の海泥から分離された放線菌 *Streptomyces* sp. の培養液からも見ついている [13]. 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 [14]. 最近 Chen は紅藻ウシケノリ (*Bangia atropurpurea*) の無性世代の培養液から DBP と DEHP を検出した [2]. また,  $^{14}\text{C}$  でラベルした  $\text{NaHCO}_3$  を用いて培養した所, DBP で約 171

倍，DEHP で5.7 倍に放射活性が挙げたと報告している。

このような報告を検討すると，ある種のフタル酸エステル類は生物によって作られている可能性が考えられる．そこで，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ことを考えた．すなわち，（1）生物からフタル酸エステル類を抽出，分離してそれらの  $^{14}\text{C}$  濃度を測定し，さらに（2） $^{13}\text{C}$  前駆体を用いる生合成実験により特定の位置の炭素が  $^{13}\text{C}$  でエンリッチされるかどうかを確認する．その第1段階として（1）の実験を行った。

最近，Teuten らはクジラの種類 *Mesoplodon mirus* の脳油から分離したポリ臭化ジフェニルエーテルが人工化学物質由来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  $^{14}\text{C}$  濃度を測定して証明した [15, 16]．工業的に利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， $^{14}\text{C}$  は検出限界以下である．よって，生物から分離したDEHP やDBP も同様の方法 [17, 18] によりその起源を推定することができると考えられる。

そこでまず初めに，Chen が題材とした海藻類について実験を行った．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.) を使用した。

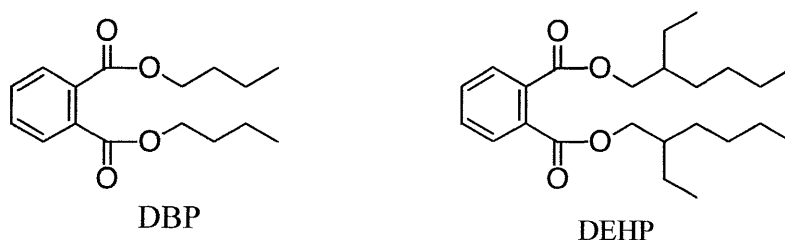


図1 ジブチルフタレート (DBP) とジ(2-エチルヘキシル)フタレート (DEHP) の構造。

Structures dibutyl phthalate (DBP) and di-(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP).

## 2. 実験方法

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz) および  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz) は日本電子 JEOL AL-400 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) は島津 GCMS-QP5050A 質量分析計，Class-5000 ソフトウェア，カラムに TC-70 (0.25  $\mu\text{m}$   $\times$  30 m) を用いて測定した [キャリアーガス : He (0.4 mL/min)，インターフェースとイオンソース温度 : 300  $^\circ\text{C}$ ]．カラムの温度を初め 100  $^\circ\text{C}$  に設定して5分間溶出し，次に 2  $^\circ\text{C}/\text{min}$  で 300  $^\circ\text{C}$  まで昇温した後，300  $^\circ\text{C}$  でさらに 20 分溶出した．この条件では，DBP と DEHP はそれぞれおよそ 47 分と 60 分に溶出された．高速液体クロマトグラフィー (HPLC) は日立 L-2130 ポンプ，L-2400 UV 検出器 (280 nm に設定)，D-2500 データプロセッサにカラムとしてセンシユパック Pegasil-ODS (10 mm  $\times$  250

mm) を使用した。流速 3 mL/min で溶出すると、DBP は 80%メタノール-水でおよそ 20 分、DEHP は 100%メタノールでおよそ 10 分に溶出した。

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ジーエスター株式会社から提供されたものを使用した。その他の溶媒と試薬類は市販のもっとも高品質のものを用いた。

## 2.1. 海藻の採集と抽出

ワカメは横浜市金澤八景の沿岸域で 2005 年 4 月に採集した（地元の漁師に依頼）。およそ 13.5 kg のワカメを細かく切り、10.5 L のジクロロメタン-メタノール (2:1) で 4 回抽出した。抽出液をエバポレーターで濃縮し、772.6 g の水性残渣を得た。

マコンブは青森県八戸の沿岸域で 2006 年 1 月に採集した（青森県水産総合研究センター増養殖研究所に依頼）。およそ 9.3 kg のマコンブを細かく切り、12 L の上記混合溶媒で 4 回抽出し、濃縮して 780.2 g の水性残渣を得た。

アオサは横浜市海浜公園で 2005 年 5 月（少量）と 12 月に採集した。12 月に採集したおよそ 13.5 kg のアオサを上と同じように 12 L の混合溶媒で抽出して、1.23 kg の水性残渣を得た。

## 2.2. DBP と DEHP の分離

ワカメから得た抽出水性残渣をメタノールに溶解し、ハイフロースーパーセル (1 kg) と良く混合した後、メタノールと水分を蒸発（エバポレーターと真空ポンプを使用）させた。完全に乾燥させた吸着剤を直径 70 mm、長さ 600 mm のガラスカラム管につめ、ジクロロメタン (4 L) で溶出して 32.5 g の脂溶性フラクションを得た。これを濃縮後、再びジクロロメタンに溶解し、100 g のハイフロースーパーセルと混合した後、溶媒を蒸発させた。乾燥させた吸着剤をヘキサンで調整した 700 g のシリカゲルカラムの上に重層し、初め 2 L のヘキサン、次いで各 2 L ずつのヘキサン-酢酸エチル (9:1) および (4:1) の混合溶媒で順次溶出した。溶出液を薄層クロマトグラフィー (TLC) でモニター（溶媒にヘキサン-酢酸エチル = 4:1 を使用）し、3 つのフラクション (Fr. 1 ~3) に分離した。Fr. 1 は DEHP とその他の化合物を含んでいた。Fr. 2 と 3 には DBP と DEHP およびその他の化合物が含まれていた。Fr. 2 (120.2 mg) を 80%メタノール-水で HPLC 分取して DBP フラクションを分離し、次に溶媒を 100%メタノールに変えて DEHP を回収した。Fr. 3 (12.1 mg) も同様に HPLC 分取を行い、DBP と DEHP のフラクションを得た。2 つの DBP フラクションを混合し、再び HPLC (80%メタノール-水) で分離して 1.24 mg の DBP を得た。Fr. 2 と 3 から得た DEHP フラクションを Fr. 1 と混合し、100%メタノールで HPLC 分取して 2.14 mg の DEHP を分離

した。

アオサから得た水性残渣をメタノールに溶解し、1.22 kg のシリカゲルと良く混合した後、メタノールと水分を蒸発させた。これを直径 70 mm、長さ 600 mm のガラスカラム管につめ、ジクロロメタン (3 L) で溶出して 216.8 g の脂溶性フラクションを得た。これを濃縮後、再びジクロロメタンに溶解し、250 g のシリカゲルに吸着させ、ヘキサンで調整したシリカゲルカラム (800 g) の上に重層した。このカラムを初め 1 L のヘキサン、次いで各 1 L のヘキサン-ジクロロメタン = 9:1, 7:3, 1:1, 3:7, 1:4 の混合溶媒で溶出した。溶出液を TLC (ヘキサン-酢酸エチル = 4:1) でモニターし、5つのフラクション(Fr. 1~5)に分離した。DBP と DEHP は Fr. 3 と 4 に含まれていた。Fr. 3 (127.1 mg) と Fr. 4 (240.7 mg) を上と同じように HPLC 分取を行い、1.78 mg の DBP と 3.87 mg の DEHP を得た。

マコンブの抽出物も同様に分離を行い、DBP (1.93 mg) と DEHP (2.47 mg) を得た。

海藻から分離した DBP と DEHP は、<sup>1</sup>H NMR と GC-MS を測定し、それぞれの標準試料のスペクトルデータと比較することにより同定した。

### 2.3. <sup>14</sup>C 濃度の測定

海藻から分離した DBP と DEHP、およびこれらの標準試料 (石油化学製品) の <sup>14</sup>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) を表 1 に示した。

## 3. 結果と考察

化学工業で利用されている DBP と DEHP は石油から作られるので、加速器質量分析 (AMS : accelerator mass spectrometry) によっても <sup>14</sup>C は検出されない。もし、フタル酸エステルが生物によって作られているとすると、それらの化合物には現代炭素と同等の <sup>14</sup>C が含まれているはずである。

### 3.1. 海藻からの DBP と DEHP の分離

海藻から得られる DBP と DEHP の <sup>14</sup>C 濃度の測定を行うための予備試験として、一番入手しやすいアオサを用いて実験を行った。2005 年 5 月に少量のアオサを採集し、抽出用の溶媒の種類および脂溶性フラクションを調整するための溶媒と分離方法を検討した。

ワカメの抽出および DBP と DEHP の分離には、少量のアオサで検討した方法を用いた。海藻をジクロロメタン-メタノールで抽出し、濃縮して得た水性残渣をメタノールに溶解してハイフロー

スーパーセルに吸着させた。これをカラム管につめ、ジクロロメタンで脂溶性物質を溶出した。脂溶性フラクションをシリカゲルカラムで分離するため、ハイフロースーパーセルに吸着させてカラムの上に重層し、ヘキサン-酢酸エチルのグラジエント溶出を行った。溶出液を TLC（ヘキサン-酢酸エチル = 4:1）でモニターし、3つのフラクションに分けた。それぞれのフラクションを HPLC で分離し、DBP (1.24 mg) と DEHP (2.14 mg) を得た。

ワカメからの分離にハイフロースーパーセルを用いた際、この吸着剤の粒子が非常に小さいため、溶媒を蒸発させるときに塊を形成したり、激しく飛散したりして非常に扱いにくかった。これは少量の実験では起こらなかったが、大量の抽出物や脂溶性フラクションを吸着させるときに起こり、操作を困難にするとともに試料のロスを招いた。そこで、マコンブとアオサからの分離の時にはハイフロースーパーセルの代わりにシリカゲルを使用した。

ワカメ、マコンブ、アオサから分離した DBP と DEHP の純度は、 $^1\text{H}$  NMR および GC-MS で分析した。ワカメから分離した DBP と DEHP の  $^1\text{H}$  NMR では不純物に由来するシグナルはほとんど観測されなかったため、比較的純度が高いことが分かった。一方、マコンブとアオサにおいては色素や脂溶性の物質が DBP と DEHP の分離の妨げとなった。特に DEHP の極性付近にはそう雑物が多く、HPLC 分取を繰り返す必要があった。マコンブとアオサから分離した DBP と DEHP の  $^1\text{H}$  NMR では、不純物に由来するシグナルが観察された。不純物は不飽和脂肪酸と思われる。これらの不飽和脂肪酸がワカメよりもマコンブとアオサにより多く含まれていた理由は明らかではないが、海藻の種による違いか、採集の時期による違いであると考えられる。マコンブとアオサは冬に採集したが、通常、水温の低いときには不飽和脂肪酸量が多い傾向にある。

選択的イオンモニター (SIM : selected ion monitoring) 法による DBP と DEHP の GC-MS 分析の結果、マコンブから分離した DBP と DEHP の試料はそれぞれ 60% および 70% の含有率で、アオサから分離した DBP と DEHP はそれぞれ 75% および 60% であった。これらの試料をさらに分離しても純度があまり向上しない上に化合物量が著しく減少することが予想された。また、天然物であれば現代炭素と同等の  $^{14}\text{C}$  濃度を持ち、工業製品由来であれば  $^{14}\text{C}$  は検出されないため、これらの試料の純度でも  $^{14}\text{C}$  の測定結果を考察できると判断した。特に、純度の高いワカメ由来の DBP と DEHP の測定結果との比較により判定できると考えた。そこで、マコンブとアオサから分離した DBP と DEHP をこのままの純度で、ワカメから得た DBP と DEHP と一緒に測定を依頼した。

### 3.2. 海藻から分離した DBP と DEHP の $^{14}\text{C}$ 濃度

各試料の  $^{14}\text{C}$  濃度は名古屋大学年代測定総合研究センターにおいて測定して頂いた。その結果を表 1 に示した。 $^{14}\text{C}$  濃度は pMC (percent modern carbon) で表している [19]。

表1 海藻から分離した DBP と DEHP および化学工業製品の  $^{14}\text{C}$  測定結果

Natural abundance  $^{14}\text{C}$  content of dibutyl phthalate (DBP) and di-(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) of marine algal and industrial origins

compound	source <sup>a</sup>	$^{14}\text{C}$ content (pMC)	compound	source <sup>a</sup>	$^{14}\text{C}$ content (pMC)
DBP	<i>U. pinnatifida</i>	249.4 ± 0.6	DEHP	<i>U. pinnatifida</i>	49.8 ± 0.2
DBP	<i>L. japonica</i>	281.2 ± 0.6	DEHP	<i>L. japonica</i>	85.6 ± 0.2
DBP	<i>Ulva</i> sp.	138.9 ± 0.4	DEHP	<i>Ulva</i> sp.	87.2 ± 0.2
DBP	industrial	0.21 ± 0.02	DEHP	industrial	0.11 ± 0.02

<sup>a</sup>*U. pinnatifida* : ワカメ ; *L. japonica* : マコンブ ; *Ulva* sp. : アオサ ; industrial : 工業製品.

工業製品の DBP と DEHP の標準試料の  $^{14}\text{C}$  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 の  $^{14}\text{C}$  濃度が高い値を示しているが、1つの可能性として 1950 年代から 1960 年代に行われた大気圏核実験で増加した  $^{14}\text{C}$  が影響していると考えられる [20]。現在の大气中の濃度は核実験以前の 15%増のレベルに下がっているが [21, 22]、増加した  $^{14}\text{C}$  が海水あるいは海泥に蓄積されている可能性がある。ワカメとマコンブは海底の岩などに固着していたものを採集したが、アオサは切れ藻となって浮遊しながら生長していたものを採集した。この生活様式の違いも  $^{14}\text{C}$  濃度の差として現れているとも考えられる。いずれにしろ、DBP はこれらの海藻によって作られている可能性が高いと言える。

一方、DEHP の測定においては不確実性を残す結果となった。最も純度が高いワカメ由来の DEHP で約 50%の  $^{14}\text{C}$  濃度が検出されたので、海藻によって蓄積されたか分離操作中に混入した DEHP に天然物の DEHP が含まれている可能性が推測される。しかしながら、同じ海藻から得られた DBP の  $^{14}\text{C}$  濃度を基準にして考えると、DEHP の  $^{14}\text{C}$  濃度は 20%程度になるので、ワカメ由来の DEHP に天然物か含まれるかどうかの判定は難しくなる。マコンブとアオサから分離した DEHP の  $^{14}\text{C}$  濃度がワカメ由来のものよりも高い値を示しているのは、不純物の寄与によると思われる。よって、DEHP が海藻によって作られているかどうかは、今回の実験結果だけでは明らかにできなかった。

### 3.3. 今後の研究

今回の実験から DBP は天然物である可能性が高いと考えられるが、DEHP が海藻によって作られているかどうかを検証するには、分離した DEHP の純度を極限まで高める必要がある。そのため、GC による分取が必要であろう。また、 $^{13}\text{C}$  ラベルした前駆体を用いた生合成実験も行う

必要がある。

しかしながら、海藻から微量の脂溶性物質を分離するのは操作上の困難をとまなう。海藻の培養も非常に難しく、時間も掛かり、また、一次生産生物であるので  $^{13}\text{C}$  ラベル体の取込み実験も行いにくい。

そこで、現在は微生物の培養液から DBP と DEHP を分離する実験を行っている。フタル酸エステル類が微生物培養液から検出されたという報告がある [6-13]。微生物を利用した生合成実験は海藻に比べてはるかにやり易く、有利である。また、今回の海藻の結果を踏まえ、DBP と DEHP は GC による精製を行うつもりである。

#### 4. まとめ

ワカメ、マコンブ、アオサから分離した DBP の  $^{14}\text{C}$  濃度の測定の結果、DBP は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。DEHP もこれらの海藻によって作られている可能性があるが、今回の実験では明確な結論が出せなかった。

オトギリソウの一種 *H. hyssopifolium* から分離されたジ(2-メチルヘプチル)フタレートは、化学工業では製造されていないので、間違いなく天然物であろう [14]。また、微生物の培養液から得られた DBP と DEP もおそらくこれらの微生物によって作られていると思われる [8-13]。よって、このようなフタル酸エステル類は、人が工業的に生産する遥か以前から地球上に存在していたと考えられる。ピロリ菌の走化性に DEP が関係していることが報告されている [12] が、フタル酸エステル類の生産生物における存在意義はまだほとんど分かっていない。1つの可能性としてこれらの物質が細胞膜に存在し、その流動性に影響を及ぼしているとも考えられる [2]。フタル酸エステル類の天然物としての生理的機能の解明は、興味ある研究課題である。

#### 謝辞

$^{14}\text{C}$  の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。

#### 引用文献

1. 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.
1. 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.

2. 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.
3. 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.
4. 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.
5. 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.
6. 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.
7. 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.
8. Lee, D. -S. Dibutyl phthalate, an  $\alpha$ -glucosidase inhibitor from *Streptomyces melanosporofaciens*. *J. Biosci. Bioeng.* **2000**, *89*, 271–273.
9. 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.
10. 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.
11. 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.
12. 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.
13. 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.
14. Teuten, E. L.; Xu, L.; Reddy, C. M. Two abundant bioaccumulated halogenated compounds are natural products. *Science* **2005**, *307*, 917–920.
15. 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.
16. 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.



17. Nakamura, T.; Niu, E.; Oda, H.; Ikeda, A.; Minami, M.; Ohta, T.; Oda, T. High precision  $^{14}\text{C}$  measurements with the HVEE Tandatron AMS system at Nagoya University. *Nucl. Instr. Meth.* **2004**, *B223-224*, 124–129.
18. Stuiver, M.; Polach, H. A. Discussion: reporting of  $^{14}\text{C}$  data. *Radiocarbon* **1977**, *19*, 355-363.
19. Nydal, R. Further investigation on the transfer of radiocarbon in nature. *J. Geophys. Res.* **1968**, *73*, 3617–3635.
20. Levin, I.; Kromer, B. Twenty years of atmospheric  $^{14}\text{CO}_2$  observations at Schauinsland station, Germany. *Radiocarbon* **1997**, *39*, 205–218.
21. Levin, I.; Kromer, B.; Schoch-Fischer, H.; Bruns, M.; Münnich, M.; Berdau, D.; Vogel, J. C.; Münnich, K. O. 25 years of tropospheric  $^{14}\text{C}$  observations in central Europe. *Radiocarbon* **1985**, *27*, 1–19.
22. Kitagawa, H.; Masuzawa, T.; Nakamura, T.; Matsumoto, E. A batch preparation method for graphite targets with low background for AMS  $^{14}\text{C}$  measurements. *Radiocarbon* **1993**, *35*, 295–300.

Analysis of natural abundance  $^{14}\text{C}$  contents of dibutyl phthalate (DBP) and di-(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) isolated from three marine algae, *Undaria pinnatifida*, *Laminaria japonica*, and *Ulva* sp.

Michio NAMIKOSHI<sup>1,\*</sup>, Teruaki NISHIKAWA<sup>2</sup> and Kazuyo UKAI<sup>1</sup>

1) Department of Natural Product Chemistry, Tohoku Pharmaceutical University.

2) The Nagoya University Museum.

Abstract:

Analysis of the natural abundance  $^{14}\text{C}$  content of dibutyl phthalate (DBP) obtained from two edible brown algae, *Undaria pinnatifida* and *Laminaria japonica*, and a green alga, *Ulva* sp., revealed that the DBP was naturally produced. The natural abundance  $^{14}\text{C}$  content of di-(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) from the same algae was about 50–80% of the standard sample and the  $^{14}\text{C}$  content of the petrochemical (industrial) products of DBP and DEHP were below the detection limit.

発表論文

Michio Namikoshi, Takeshi Fujiwara, Teruaki Nishikawa and Kazuyo Ukai. (2006) Natural Abundance  $^{14}\text{C}$  Content of Dibutyl Phthalate (DBP) from Three Marine Algae. *Marine Drugs*, **4**, 290–297.

(浪越通夫, 藤原健史, 西川輝昭, 鵜飼和代)