アサクサノリの生化学的研究—I.

窒素源添加培養による窒素成分の変化

佐藤孜郎・佐藤美和・伊藤啓二・松本文夫

(1959 年 7 月 8 日受理)

BIOCHEMICAL STUDIES ON THE EDIBLE SEAWEED,
Porphyra Tenera—I.CONTENTS OF VARIOUS NITROGENOUS COMPONENTS IN THE FROND
AS AFFECTED BY THE TYPE OF THE NITROGEN SOURCE

Shiro SATO, Yoshikazu SATO, Keiji ITO and Fumio MATSUMOTO*

Porphyra tenera was cultured for a period of 1 to 6 days in the media containing NH_4Cl , NH_4NO_3 , urea or NaNO_3 as the nitrogen source (0.01% as N), and the changes in the amounts of the total nitrogen, extractive nitrogen and extractive amino acids (alanine, aspartic acid and glutamic acid) in the frond were determined.

The results are shown in Tables 1 and 2, and are summarized as follows:

(1) With NH_4 -salts as the nitrogen source, the total-N, ext.-N and alanine increased very rapidly, and 20 to 30% of the increment of ext.-N was accounted for by alanine. The increase of aspartic and glutamic acids was not so marked as that of alanine.

(2) With urea, the absorption of nitrogen was slow for the first 4 days, turned to be very rapid thereafter, and almost the same amount of nitrogen was absorbed in 6 days as in the case when NH_4NO_3 was used as the nitrogen source. It is noted, however, that the glutamic acid content increased markedly during the first 2 days.

(3) With NaNO_3 , the total-N content did not increase so rapidly as with NH_4 -salts, but there was considerable increase in the contents of the three amino acids.

(4) It seems that in *Porphyra tenera* the amount of extractive alanine is more easily affected by the nitrogen condition of the environmental sea water than that of aspartic or glutamic acid.

アサクサノリの含窒素栄養塩の吸収はきわめて速やかであつて、窒素源を添加した海水中にノリを浸漬培養する時は急速に窒素含量が増加し、品質の改善が行われるという¹⁾²⁾。このようにして窒素源の吸収が行われた場合にノリの窒素成分に如何なる変化をもたらすかを測定することは、アサクサノリの窒素吸収機構の一端の解明に重要な意義をもつものと考え本研究を行つた。

窒素成分としては全窒素、エキス窒素、および遊離アミノ酸のうちの alanine, aspartic acid, glutamic acid の3種の定量を行つた。これらのアミノ酸を選んだ理由はアサクサノリの遊離アミノ酸中、季節的にも、また環境的にもこれらが最も大きく変動を示す³⁾ものであり、かつ窒素代謝においても中心的役割をなしているものと考えたからである。

実験方法

(1) 試料および培養方法

実験は 1959 年 1 月より 3 月上旬にわたる期間に行つたもので、試料ノリはいづれも実験開始の当日福山

* 広島大学水産学部 (Fac. Fish., and Ani. Hus., Hiroshima Univ., Fukuyama, Japan).

市箕島漁場で養殖試験中の正常に生育したものを、つぎのように培養した。すなわち、その約 350 g を実験区分に従い、それぞれ 30 l 容の樽に入れ、これに満潮時同所で採水戸過し、所定の窒素源 (NH_4Cl , NH_4NO_3 , 尿素および NaNO_3) を N として 0.01% になるごとく添加した海水 20 l を満たし、葉体の受光が一樣となるよう注意しながら、上下運動式攪拌を行つた。光線照射は上記装置を戸外におき自然光線によることとし、換水は行わなかつた。そして所定時間後、約 100 g ずつ取りだし、常法に従い水洗、風乾し、これをデシケーター中に保存して分析に用いた。

(2) 定 量 方 法

全窒素は上記乾燥試料について micro-Kjeldahl 常法により分析し、エキス窒素および遊離アミノ酸の定量は次のように行つた。すなわち、試料はできる限り細切し、80°C 1 時間乾燥した後、正確に 1 g を秤取し、70% アルコール 50 cc と石英砂を加えて乳鉢で十分磨砕後三角フラスコに移し、15 分間 80°C で温浸した。冷却後、遠心分離の操作を 3 回繰り返して、抽出液を合して減圧濃縮を行つた。これを蒸留水にて 50 cc 定容フラスコに移し、冷蔵庫中に保存してエキス窒素およびアミノ酸の定量に供した (この方法では多少の Chlorophyll の混入は避けられないが、別に検討したところによるとアミノ酸の定量には影響がなかつた)。アミノ酸の定量は microbioassay 法によつた。すなわち、alanine は *Leuconostoc citrovorum* 8081, aspartic acid は *Leuc. mesenteroides* P-60, glutamic acid は *Lactobacillus arabinosus* 17-5 を

用いた。

実 験 結 果

(1) 添加窒素源による差異

添加窒素源として NH_4Cl , NH_4NO_3 , 尿素、および NaNO_3 を用いた場合の窒素成分の変化を Table 1 に示した。本実験は 7 日間 (1 月 10 日～16 日) の培養であつて、肉眼的には 4 日目まではいづれもほとんど変化が認められず、6 日目に至つて窒素源を添加したもので多少黒味の増加が認められた程度であつた。しかし、これを窒素成分の変化についてみると、それぞれかなり顕著な特長の傾向を示している。すなわち測定結果を図示した Fig. 1～Fig. 5 に明らかなである。

まず Total-N (Fig. 1) についてみると対照のものは日が終るにしたがい徐々に減少するが、窒素源を加えたものはいづれも増加し、 NH_4Cl 区、 NH_4NO_3 区では 2 日間ですでに 1.5% 近い増加を示し、 NH_4NO_3 区ではその後もなおその傾向をつづける。尿素区および NaNO_3 区では前二者に比べれば緩やかではあるが同様に増加し、尿素区においては 4 日

Table 1. Total-N, ext.-N, alanine, aspartic acid and glutamic acid contents of *Porphyra tenera* cultured with different nitrogen sources. (Culture period: 6 days)

N-source added	Duration of Culture (Days)	0	2	4	6
Control	Total-N %	4.55	4.50	4.41	4.20
	Ext.-N mg%	540	510	510	490
	Alanine "	311	365	338	164
	Aspartic acid "	200	55	118	54
	Glutamic acid "	293	500	360	130
NH_4Cl	Total-N %		5.81	5.79	5.82
	Ext.-N mg%		1290	1770	1200
	Alanine "		1400	2400	1940
	Aspartic acid "		94	126	122
	Glutamic acid "		393	613	487
NH_4NO_3	Total-N %		6.16	6.13	6.87
	Ext.-N mg%		1400	1770	1870
	Alanine "		1390	2240	3060
	Aspartic acid "		150	241	180
	Glutamic acid "		572	570	633
Urea	Total-N %		5.04	5.39	7.70
	Ext.-N mg%		780	880	2000
	Alanine "		1270	1690	3090
	Aspartic acid "		159	221	240
	Glutamic acid "		1205	555	607
NaNO_3	Total-N %		5.18	5.39	5.95
	Ext.-N mg%		710	630	730
	Alanine "		872	1230	1453
	Aspartic acid "		262	240	313
	Glutamic acid "		1035	495	585

目以降に急激に前二者以上となつた。このような傾向はエキス-N (Fig. 2) の増加についてもみられるもので 4 日目までは NH_4Cl , NH_4NO_3 区において著しく増加し、尿素区では 4 日以後に急上昇している。しかし NaNO_3 区では 6 日目に至つてもわずかな増加が認められたにすぎない。

次にアミノ酸組成についてみるに, alanine (Fig. 3) では NH_4Cl 区を除く他の3者は6日目までほとんど直線的に増加し, 特に尿素および NH_4NO_3 区ではその量 3000 mg% 以上にも達し, 実に増加エキスの約 30% が alanine として現れたことになる。これに対し NH_4Cl 区では4日目に 2400 mg% までに達したが以後減少した。一方 NaNO_3 区の増加は他の3者に比べれば少ないものの, しかしエキスの増加量から見れば, 2日目で約 50%, 4日, 6日目ではそのほとんどが alanine で占められている。

aspartic acid (Fig. 4) では含量の変動が著しく, 窒素源添加による影響以外に培養条件, その他の原因による増減が大ききようであるが, NaNO_3 区の

Fig. 1. Total-N in %

Fig. 2. Ext.-N in mg %

Fig. 3. Extractive alanine in mg %

Fig. 4. Extractive aspartic acid in mg %

Fig. 5. Extractive glutamic acid in mg %

みが、明瞭に増加の傾向を示していることは興味深い。

glutamic acid (Fig. 5) の場合は、2日目までは対照区をも含めていずれも増加し、特に NaNO_3 および尿素区では 1000~1200 mg% にも達している。しかし4日目至ると窒素源添加の4者とも 500~600 mg% とはほぼ一定の値を示し、一方対照区は急速に含量が低下している。

(2) NH_4Cl 添加後 48 時間の変化

(1) の実験において NH_4 塩を窒素源として用いた場合はその窒素の吸収がきわめて急速であることを認めたので、 NH_4Cl について培養 48 時間内における変化をたどつてみた。同時に比較として NaNO_3 についても行つた。それらの結果が Table 2 および Fig. 6~10 である。本実験は2月24日の7.30 a.m. より26日の同時刻まで行つたものである。

Table 2. Total-N, ext.-N, alanine, aspartic acid and glutamic acid contents of *Porphyra tenera* cultured with different nitrogen sources. (Culture period: 48 hours)

N-source added	Duration of Culture (Hours)	0	3	6	10	24	48
Control	Total-N %	5.40		5.06		5.35	5.53
	Ext.-N mg%	607		697		740	740
	Alanine "	858		1165		1075	1000
	Aspartic acid "	185		149		168	197
	Glutamic acid "	594		608		690	754
NH_4Cl	Total-N %		5.83	6.55	7.29	7.21	7.11
	Ext.-N mg%		1010	1460	2120	2390	2120
	Alanine "		1011	1835	2550	3200	3120
	Aspartic acid "		136	227	306	217	315
	Glutamic acid "		392	360	339	429	834
NaNO_3	Total-N %		5.28	5.42	5.45	5.49	5.49
	Ext.-N mg%		668	725	740	811	811
	Alanine "		924	1022	850	1055	1060
	Aspartic acid "		220	236	214	216	256
	Glutamic acid "		487	589	535	719	920

Total-N 量 (Fig. 6) についてみると NH_4Cl 区では浸漬後ほぼ 10 時間で最高に達しているが、その増加量はほとんどエキス-N の増加として現われている (Fig. 7)。そしてこれが alanine 量の急増として現われることは前回の実験と同様であるが (Fig. 8)、ただ最高に達する時期は Total-N の場合よりやや遅れるようである。aspartic acid がかなりの変動を示していることも前実験と同様の様相であるが、この場合には僅かに増加の傾向がよみとれた (Fig. 9)。これに対し glutamic acid (Fig. 10) は浸漬後急速に減少し、当初 600 mg% のものが 10 時間後には 340 mg% と半量近くになつたが、その後は増加して 48 時間後には対照区を上廻る量となつている。

Fig. 6. Total-N in %

Fig. 7. Exu.-N in mg %

Fig. 8. Extractive alanine in mg %

Fig. 9. Extractive aspartic acid in mg %

らず、6日目に至つていづれをも凌駕する状態を示し、また glutamic acid の増加には明らかに NH_4 塩と違つた好影響を与えている。 NaNO_3 の利用は最も遅く、(2)の実験において 48 時間内にはほとんどその影響がなかつたことから、硝酸還元能力の季節的な異同も併せ考えねばならぬが、比較的徐々に吸収されるものであり、しかも他の三者に比べエクス-N の増加として現われること少く、aspartic acid, glutamic acid の増加にはやや好影響を与えている。これらの事実はノリの培養実験に際し、窒素源として硝酸塩が推奨される⁴⁾こととなんらかの関連あるものと思われる。

aspartic acid, glutamic acid の含量がいづれの場合にもはげしく変動することは窒素源添加以外の他の要因による影響が大きいようであり、また alanine 以外のエクス-N の増加が如何なる状態の窒素成分によるものかについては今後検討を続ける予定である。

要 約

(1) アサクサノリを NH_4Cl , NH_4NO_3 , 尿素および NaNO_3 を添加した (N として 0.01%) 海水中にそれぞれ浸漬培養した場合の Total-N, エクス-N, 遊離 alanine, aspartic acid, glutamic acid 含量に現われた変化を測定した。

(2) NH_4 塩では Total-N, エクス-N および alanine の増加はきわめて急速でかつ著しく、増加エクス-N の 20~30% が alanine として示されるが、aspartic acid, glutamic acid はそれほど増加しなかつた。

(3) 尿素有の窒素は 4 日目までは遅かつたが、6 日目には NH_4 塩同様よく吸収され、かつ glutamic acid の増加にも好影響を与えた。

(4) NaNO_3 では NH_4 塩程急速ではないが、alanine, aspartic acid, glutamic acid のいづれをも増加せしめた。

Fig. 10. Extractive glutamic acid in mg %

NaNO_3 区ではこの期間内においては添加の影響はあまり明瞭にあらわれていない。

考 察

以上の実験結果によると NH_4 塩を用いた場合、ノリ葉体の N 吸収はきわめて速やかであり、吸収された N の相当量が、alanine に合成されるものとみられる。しかし、 NH_4Cl と NH_4NO_3 の比較によると、前者では 4 日目にすでに Total-N, エクス-N, alanine がいずれも最高に達するに反し、後者では 6 日目までなお増加をつづけている。尿素の場合にはその吸収は当初 NH_4 塩程急激でないにもかかわらず

(5) 藻体中の遊離 alanine 含量は培養海水中の窒素含量の如何により甚だしく影響を受けるようであるが, aspartic acid, glutamic acid 含量は窒素以外の他の要因により左右されることも大きいようである。

終りに本研究費の一部は文部省科学研究費によつたものであることを附記する。

文 献

- 1) 佐野 孝: 東北海区水研報告, No. 4, 246 (1955).
- 2) 佐野 孝: 東北海区水研報告, No. 5, 56 (1955).
- 3) 土屋靖彦・佐々木勘: 本誌, 23, 230 (1957),
- 4) 富士川瀧, 他: 朝鮮水試報告, 101 (1932).