イチジク *Ficus carica* L. 緑葉成分 (第3報)*

フロクマリン類について

福 士 俊 一, 田 中 浩 (鳥取大学農学部)

昭和 33 年 9 月 1 日 受 理

緒 言

著者等は先にイチジク緑葉及び乾燥葉の揮発性成分について検索し^(1,2), プソラレン, パルミチン酸を分離確認, 数種のプロクマリンと覚しい化合物を分離したが, 本報ではプソラレンの外に少量のペルガプテン並びに m. p. 147~148° 及び 138° のフロクマリン類似化合物を分離し, その呈色反応, 紫外吸収スペクトル等について検討を行ったので報告する。

実 験 の 部

フロクマリン類の分別 鳥取大学農学部附属農場の栽培イチジク緑葉 44 kg を試料とし, 常法により水蒸気蒸溜に付し, 石油ベンジン (b. p. 50~70°) で抽出し, 粗結晶 10.5 g (0.02%) と粗精油 15.5 g (0.035%) を得た。

粗結晶はエーテル・醋酸エチル混液 (1:1) に溶解せしめ, 2N-NaOH 溶液で振盪して着色物質を除いた後, 常法に従い水洗, 芒硝で乾燥, ついで濃縮して粗結晶 A 部 7.45 g を得た。これを第1図に示した如く 100 倍容の石油エーテル並びにベンゼンで処理して4個の部分に分別し, 各部分は各々メタノール或は醋酸エチルで再結晶を行った。2N-NaOH 溶液層は硫酸酸性にしてエーテルで抽出し, 得た粗結晶 B 部 0.68 g も同様に石油エーテル及びベンゼンで処理して分別した。各フラクションの融点, 収量, 呈色反応を第1表に示した。

結晶 A III 即ち石油エーテル難溶, 熱ベンゼン易溶部を更に分別する為にメタノールで処理して易溶部と難溶部に分け, 前者より m. p. 149°, 収量 1.1 g, 後

より m. p. 155°, 収量 5 g の結晶を得た。この両者をカラムクロマトグラフィーで更に分離を試みた。吸着剤に活性アルミナを用い, ベンジンを加えて糊状とし直径 1 cm のカラムに下部から 15 cm の層を作り, 更に試料 0.4 g と同量の吸着剤を混合したものを積み重ね, その上に吸着剤を重ねて 5 cm とし, ベンゼン・ベンジン混液 (1:1) で展開するも黄色バンドが 1 cm 流下するのみであったので, 更にベンゼンで展開溶出を行った。最初の 30 cc を除き各流下部の結晶 (メタノール再結) 及び収量を第2図に示した。

かくして得た m. p. 138°, 147~148°, 165°, 190° の針晶は苛性アルカリに冷時不溶, 熱時可溶で酸性にすれば再び原物質に復帰するからラクトン環を有する。各結晶の呈色反応及び濾過紫外線の蛍光を第2表に示した。

第1表 各フラクションの呈色反応

フラクション	A I	A II	A III	A IV	B I	B II	B III	B IV
融 点 (°C)	150	151	155	190	148	163	162	163
収 量 (g)	0.11	0.07	6.5	0.05	0.05	0.05	0.1	0.01
CHCl ₃ 溶液	黄 色	黄褐色	黄緑色	黄 色	黄褐色	青緑色	濃緑色	濃緑色
↓								
硫酸 1 滴	黄緑色	濃緑色	緑 色	暗黄緑色	暗緑色	濃緑色	濃青緑色	濃青緑色
↓								
硫酸内色調	濃黄色	濃黄色	濃黄色	橙 色	暗黄色	黄緑色	黄緑色	黄緑色
↓								
	黄緑色	黄緑色	黄緑色	黄 色	暗黄緑色	黄緑色	濃緑色	濃黄色

* Studies on the Components of the Green Leaves of *Ficus carica* L. Part III. Furocoumarins.
By Shun-ichi FUKUSHI and Hiroshi TANAKA (Department of Agriculture, University of Tottori).

結晶 A III 6.5 g ↓ メタノール										
易溶部 ↓ 0.4g カラムクロマトグラフィー					難溶部 ↓ 0.4g カラムクロマトグラフィー					
ベンゾール (cc)	30~50	50~70	70~90	90~300	30~70	70~90	90~300			
		母液	母液	母液						
融 点 (°C)	165	165	148	189	147	138	147	165	151	147~148
収 量 (g)	0.08	0.04	0.03	0.01	0.02	0.02	0.03	0.16	0.03	0.12

第2図 結晶 A III の分別

第2表 フロクマリン類の定性確認

融点 (°C)	結晶形	呈 色 反 応			無水醋酸溶液+硫酸		螢 光			
		CHCl ₃ 溶液 + 硫酸	硫酸内色調	硫酸 + 硝酸	無醋層	硫 酸 層	メタノール 溶液	同 左 濾紙上	同左 1% KOH 処理	
138	針状晶	黄色→濃緑色	橙黄色→黄色	淡緑色	淡黄色	紫色→紫赤色	黄緑色	黄青色	青色	
147~8	針状晶	黄色→黄褐色	橙黄色→黄色	淡緑色	黄色	紫色→青色	黄緑色	黄青色	青色	
165	針状晶	黄緑色→緑色	黄緑色→緑色	淡緑色	無色	紅 色	青紫色	青色	青色	
190	微針状晶	黄色→暗黄緑色	橙色→黄色	淡緑色	淡黄色	淡緑色→青緑色	黄緑色	黄青色	青色

第3図 プソラレン及びベルガブテンの
紫外外部吸収スペクトル
—— プソラレン ---- ベルガブテン

プソラレンの確認 m. p. 165° の針状晶は昇華性を有し、メチル誘導体 m. p. 162°, アセチル化物を与えない。

実験値: C 71.02%, H 3.40%; 計算値 C₁₁H₈O₃: C 70.96%, H 3.22%。

先にイチジク緑葉より分離したプソラレンと混融するも融点の降下を示さない。紫外外部吸収スペクトル (第3図) 及び赤外部吸収スペクトル (nujol 中) (第4図) は何れもイチジク緑葉及び乾燥葉より分離したプソラレンのそれに一致する。

ベルガブテンの確認 結晶 A IV 及び m. p. 189° の結晶は何れも無色微細な針状晶で醋酸エチルより再結晶すれば m. p. 190° に恒定する。

実験値: C 66.95%, H 4.02%; 計算値 C₁₂H₈O₄: C 66.67%, H 3.73%。

アセチル化物を与えず、紫外外部吸収スペクトル (第3図) は 250, 260, 268, 306 mμ に極大を有し、プソラレンの吸収スペクトル (極大, 247, 290, 326 mμ) とは異っており、この吸収スペクトル及び第2表に示した呈色反応及び紫外線下の螢光は藤田等⁽³⁾がシシウド属根より分離し

第4図 プソラレンの赤外部吸収スペクトル

第5図 フロクマリン類の紫外外部吸収スペクトル
 ---- m.p. 138° 針晶 ——— m.p. 147~8° 針晶

第6図 m.p. 138° 針晶の赤外部吸収スペクトル

第3表 フロクマリン類のペーパークロマトグラフィー

溶 剤	m. p. 138°	m. p. 147~8°	プソラ レン	ベルガ ブテン
n-ブタノール・ベンゼン・醋酸・水 (1:5:1:0.5)	0.97	0.97	0.98	0.98
ベンジン・ベンゼン・メタノール (5:4:2)	0.89	0.89	0.87	0.90
ベンジン・ベンゼン (1:1)	0.89	0.89	0.86	0.90

濾紙: 東洋濾紙 No. 50, 発色: 1% KOH, 紫外線照射, 温度: 15~20°

似の反応を示し, 紫外外部吸収スペクトル (第5図) も同様の吸収を示すがフロクマリンとして計算した分子吸光係数は m. p. 138° がやや大きな値を示している。何れも 247, 268, 296mμ に極大を有しプソラレンの如く

326mμ に極大を有しない。m. p. 138° の赤外部吸収スペクトル (nujol 中) は第6図に示した。此等2種の化合物は微量で且つ各種溶剤に対する溶解度も極めて類似しており, 混合物である公算もあるが, 此等の主体はプソラレン, ベルガブテン以外のフロクマリンである様に思われる。

ペーパークロマトグラフィー 前述の如く分離した各結晶のアルコール溶液につきペーパークロマトグラフィーを行った。その R_F 値を第3表に示した。

要 約

イチジク緑葉揮発性成分の中結晶性成分を検索し, 各種溶剤及びカラムクロマトグラフィーによりプソラレン, ベルガブテンを分離確認し, その他のフロクマリン類似化合物についても紫外外部及び赤外部吸収スペクトル等により検討を加えた。

本研究に当り種々御指導戴いた北大教授小幡弥太郎先生に厚く御礼申し上げます。元素分析及び赤外部吸収スペクトルは京大農化分析室にお願いした。厚く御礼申し上げます。研究費の一部は昭和32年度文部省科研費によった。又本報の要約は昭和33年5月農化大会で講演した。

たベルガブテンのそれに類似し, 融点及び分析値よりベルガブテンと認められる。

フロクマリン類の分離 結晶AⅢのカラムクロマトグラフィーにより分離した m. p. 138° 及び 147~148° の針状晶の分析値は次の如くである。

m. p. 138° 実験値: C 68.91%, 68.72%, H 3.63%, 3.84%. 分子量 (Rast 法) 227.

m. p. 147~148° 実験値: C 69.65%, 69.56%, H 3.70%, 3.49%.

m. p. 146~148° 針状晶のメチル誘導体は m. p. 139° を示し, アセチル化物を与えない。呈色反応 (第2表) は CHCl_3 溶液硫酸反応で m. p. 138° は黄色→緑色, m. p. 147~148° は黄色→黄褐色の相異を示す外は類

- (1) 小幡弥太郎, 福士俊一 : 本誌, 29, 451(1955). 593 (1957).
(2) 福士俊一, 西面 操, 堀津浩章 : 本誌, 31, (3) 藤田路一, 古谷 力 : 薬学, 76, 535(1956).

醤油諸味の微生物に関する研究 (第 1 報)*

醤油諸味の主要乳酸菌

山 里 一 英, 飯 塚 広 (東京大学応用微生物研究所)

昭和 33 年 9 月 2 日 受 理

醤油醸造は製麹より出諸味に至る長期間の製造工程を通じて開放的に行われるので、諸味中には多種類の微生物が存在するが、その増殖活動は諸味の高濃度の食塩 (約 18%) によって当然大きく規制されていると考えられる。このような諸味の中で活潑な増殖活動を行っている耐塩性細菌群が存在するか否かは、諸味成分の変化、各種微生物の生態、細菌生理の上から興味ある問題である。醤油細菌に関しては西村⁽¹⁾、高橋⁽²⁾、斎藤⁽³⁾、梶野⁽⁴⁾、松本⁽⁵⁾、石丸⁽⁶⁾、小原⁽⁷⁾、好井、中野⁽⁸⁾、坂口⁽⁹⁾等の研究があるが、未だかかる耐塩性細菌群の存在は確認されていない。

一方、醤油の有機酸の主体は乳酸であり麹を塩水と仕込むと諸味酸量が増加し、pH が低下する。従って醤油諸味中で乳酸菌が増殖活動している事は明らかに予想され、それは少なくとも耐塩性細菌群の一つであると考えられる。

我々は醤油諸味の醗酵熟成と各種微生物との関係を解明せん事を目的として研究を行っているが、本報に於ては先ず耐塩性細菌群の存在を探索しその結果、耐塩性四球乳酸菌群の存在を知ったので以下に報告する。

実 験 方 法

試料諸味 天然醸造諸味 (千葉県銚子市) より 1957 年 4 月 4 日, 24 日, 及び 10 月 24 日 ~ 12 月 14 日の期間に亘って試料を採取した。諸味タンクの中央、表面より 10 cm の部位より滅菌フラスコに試料を採取、その日の内に細菌の分離を行った。

分離方法 試料諸味を 15% 食塩水で 10 倍, 100 倍……希釈を行い、dilution plate 法により分離菌数を測定した。分離培地には細菌の選択分離剤 Eurocidine⁽¹⁰⁾ を加え、実験 (I) 及び (II) では CaCO₃ 添加麹汁肉汁寒天、実験 (III) には次の組成の培地を用いた。polypeptone 1.0%, yeast extract 0.5%, KH₂PO₄ 1.0%, グルコース 1.0%, 生醤油 5.0%, 寒天 2.0%, CaCO₃ 添加。両培地共食塩濃度は 0, 7, 15% の三段階を用いた (後者の培地では生醤油に由来する食塩とは別にそれぞれの濃度を加えた)。培養は好井、中野⁽⁸⁾により減圧培養法と pyrogallol-KOH 法を併用、30° で 10 日 ~ 20 日間行った。

分離菌の識別 各食塩濃度の培地に分離される菌数を比較し、耐塩性細菌群の動きを観察すると共に、各培地に出現した集落より at random に 10 又は 20 の菌を分離し、分離菌の内容を調べた。分離菌については集落の色、形状、穿刺培養での表面生育、カタラーゼの有無、検鏡による形態、食塩 18% の液体培地での生育を調べ、分離菌を一応次のように分けた。i) カタラーゼ陰性の四球生酸菌 : 集落は白色、円形又はレンズ状、食塩 18% の液体培地によく生育。双球、四球又は clump をなして観察される。分離菌の一部は純粋にした後、更に二、三の性質を調べた。ii) i) 以外の球菌及び桿菌 : 主として好気性細菌であるが嫌氣的培養でもかなり分離される。食塩 18% の液体培地での生育は認められない。イ) 球菌。好気性球菌及び双球生酸菌。i) 群に属する球菌で特に双球が多く観察されるものはこの双球生酸菌と見分け難いが、双球生酸菌は 5% 食塩培地に穿刺培養すると連鎖をなすので両者は形態的にも容易に識別し得る。ロ) 桿菌。Bacillus 属の菌を主体とする。

実 験 結 果

(I) 1957 年 4 月 4 日試料採取 (第 1 表) 分離菌数は A (14 日) 及び C (345 日) 諸味では食塩 0, 7,

* Studies on Microorganisms in "Shōyu Moromi". Part I. Main Lactic Acid Bacteria in "Shōyu Moromi".

By Kazuhide YAMASATO, and Hiroshi IIZUKA (Institute of Applied Microbiology, University of Tokyo)