琵琶湖底泥より分離した放線菌の成分. 臭気成分 Geosmin の確認

Constituents of an Actinomyces isolated from Sediment in Lake Biwa.

Identification of Geosmin, an Earthy-Smelling Compound

最近各地で河川や湖の汚染にともなって水道水の臭気が大きな問題となり, 種々の放線菌および藻類の代謝産物が臭気の原因であることが指摘されている.¹⁾ 一方アメリカにおいては数年前より水道水の異臭成分に関する研究が広く行なわれ,¹⁾ たとえば数種の放線菌および藍藻類から土臭を有する geosmin²⁾ やかび臭を有する mucidone³⁾ が単離, 報告されている. このうち geosmin は I 式の構造を持つことが確認されている.⁴⁾

著者らは京都市上水道の水源である琵琶湖南湖の底泥から, かび臭を発生する 2 種の *Streptomyces* 属の放線菌を分離することに成功し, このうちかび臭の比較的に強い放線菌 (琵琶湖 B 株⁵⁾ と仮称) について検討した.

琵琶湖 B 株を Krainsky 寒天培地を用いて培養すると強いかび臭を発生する. そこで 28° で 10 日間画線培養 (Petri dish, 10 cm, 100 個) を行なった後, 菌体部と寒天部とをできるだけ分別し, それぞれを滅菌蒸留水 (約 5 liter) で一夜浸漬し, 浸出液を数回蒸留してかび臭を有する濃縮水溶液を得た. これをそれぞれ塩化メチレンで抽出すれば微量の油状物 (菌体部より約 1.5 mg, 寒天部より約 3 mg) が得られる.

ここに得た油状物はガスクロマトグラフィー (GC) により両者ほぼ同じパターンを示し, Fig. 1 のごとく 10 数個のピークが認められる.

Fig. 1. Gas Chromatogram of the Odorous Metabolite of an Actinomyces from Lake Biwa

condition: column, 10% PEG 20M on chromosorb WNAW; column temp, 150°; carrier gas, N₂ (30 ml/min)

Fig. 2. Gas Chromatogram of the Odorous Metabolite after Silica Gel Chromatography

condition: column, 10% PEG 20M on chromosorb WNAW; column temp., 150°; carrier gas, N₂ (30 ml/min)

- 1) Report of the AWWA Committee on Tastes and Odors, *J. Am. Water Works Assn.*, **62**, 59 (1970).
- 2) N. N. Gerber, H. A. Lechevalier, *Appl. Microbiol.*, **13**, 935 (1965); N. N. Gerber, *Biotechnology & Bioengineering*, **9**, 321 (1967); A. A. Rosen, R. S. Safferman, C. I. Mashni, A. H. Romano, *Appl. Microbiol.*, **16**, 178 (1968); R. S. Safferman, A. A. Rosen, C. I. Mashni, M. E. Morris, *Environmental Science & Technology*, **1**, 429 (1967); L. L. Medsker, D. Jenkins, J. F. Thomas, *Environmental Science & Technology*, **2**, 461 (1968).
- 3) R. L. Morris, J. D. Dougherty, G. W. Ronald, *J. Am. Water Works Assn.*, **55**, 1380 (1963); J. D. Dougherty, R. D. Campbell, R. L. Morris, *Science*, **152**, 1372 (1966).
- 4) N. N. Gerber, *Tetrahedron Letters*, **1968**, 2971.
- 5) 微生物化学研究所 浜田 雅博士により, 琵琶湖 B 株は *Streptomyces resistomycificus* の一変異株であると判明したが詳細はなお検討中である.

Fig. 3. Gas Chromatogram of Methyl Ester of the Acid Fraction from an Actinomyces Isolated from Lake Biwa

condition: column, 15% PEGS on chromosorb WNAW; column temp., 180°; carrier gas, N₂ (30 ml/min)

これらの油状物中には geosmin (I) が存在することが予想されるので、著者らは Marshall らの報告⁶⁾ に準じて *dl*-geosmin (I) を合成し、これと 3 種のカラム (10% PEG 20M, 10% SE-30 および 15% Reoplex 400) により GC を比較したところ、ピーク-A が geosmin (I) に対応することが判明した。なおその含量は、*dl*-geosmin の標準溶液の GC における面積強度との比較から、両油状物中にそれぞれ約 10 μg であった。

さらに菌体部よりの油状物を精製するために silica gel column (0.7×8.5 cm) でクロマトを行ない、ether-pentane (1:99) で溶出される部分からごく微量のかび臭物質の混合物を得た。本品の臭気は合成 *dl*-geosmin (I) と全く同じであり、⁷⁾ また GC でも Fig. 2 に示すように *dl*-geosmin (I) と保持時間が一致することがわかった。

一方本菌を種々の条件で液体培養を試みたが、かび臭をほとんど発生しないか、あるいはごくわずかに臭気を発生するのみで、不成功に終わった。しかし Waksman 培地 (1 liter) で培養した時比較的多量の菌体 (湿菌約 1 g) が得られたので、菌体の成分も検討した。

上記菌体を直ちに塩化メチレンで抽出し、油状物 (35 mg) を得た。これを preparative thin-layer chromatography (TLC) で分別し、ester fraction (約 10 mg), IR $\nu_{\text{max}}^{\text{CHCl}_3}$ cm⁻¹: 1733, と acid fraction (約 5 mg) IR $\nu_{\text{max}}^{\text{CHCl}_3}$ cm⁻¹: 3500—2400, 1703, とを得た。後者は diazomethane で反応後 preparative TLC で精製し methyl ester (3 mg) に導いた。また上記 ester fraction はアルカリ加水分解し、得られた酸性部を同様にメチル化して methyl ester (4 mg) に導いた。ここに得た両 methyl ester は GC により、ほぼ同じ組成の混合物と考えられる。

本 methyl ester は核磁気共鳴 (NMR) スペクトルおよびマススペクトル⁸⁾ から、主に C₁₄H₂₉CO₂CH₃ (M⁺: *m/e* 256), C₁₅H₃₁CO₂CH₃ (M⁺: *m/e* 270) および C₁₆H₃₃CO₂CH₃ (M⁺: *m/e* 284) なる分子式の鎖状飽和脂肪酸エステルの混合物 (ほぼ 2.5:3:1) であると考えられる。その GC は Fig. 3 に示すように数個のピークを示すが、ピーク-B は methyl palmitate 標品と GC を比較した結果同定された。その他のピークについては検討中である。⁹⁾

以上の実験の結果、琵琶湖 B 株の産生するかび臭物質の一つは geosmin (I) であり、これが水道水の臭気とも大きな関係があるものと考えられる。

Faculty of Pharmaceutical
Sciences, Kyoto University
(京都大学薬学部)
Yoshida-shimoadachi-cho,
Sakyo-ku, Kyoto

TOHRU KIKUCHI (菊池 徹)
TETSUTARO MIMURA (三村鉄太郎)

6) J.A. Marshall, A.R. Hochstetler, *J. Org. Chem.*, **33**, 2593 (1968).

7) 合成 *dl*-geosmin の水溶液 (20°) は約 0.001 ppm の濃度であきらかにかび臭を感じる。

8) NMR スペクトルは Varian Associates A-60 NMR 測定装置 (60 Mc) を用い、CDCl₃ 溶液で測定。マススペクトルは日立質量分析計 Model RMU-6D で測定。

9) 数種の *Streptomyces* 属放線菌の脂肪酸は Ballio らによって研究されている (A. Ballio, S. Barcellona, L. Boniforti, *Biochem. J.*, **94**, 11c (1965)).

Water Supply Bureau, Kyoto City
(京都市水道局)
Awataguchi-kacho-cho,
Higashiyama-ku, Kyoto

Otsu Hydrobiological
Station of Kyoto University
(京都大学大津臨湖実験所)
Shimosakamoto-cho, Otsu

Kyoto College of Pharmacy
(京都薬科大学)
Yamashina-misasagi,
Higashiyama-ku, Kyoto

YOSHIHISA MORIWAKI (森脇祥寿)

KEN-ICHIRO NEGORO (根来健一郎)

SHOZO NAKAZAWA (中沢昭三)

HISAKO ONO (小野尚子)

Received July 23, 1971