琉球大学学術リポジトリ

イオン液体を用いた天然ポリイソプレンの抽出実験 ―ガジュマル産出ラテックス―

メタデータ	言語: ja 出版者: 琉球大学理学部 公開日: 2022-06-21 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 仲宗根, 早海, 志津, 貴大, 仲宗根, 桂子 メールアドレス: 所属:
URL	https://doi.org/10.24564/0002019325

イオン液体を用いた天然ポリイソプレンの抽出実験
ーガジュマル産出ラテックスー

仲宗根早海・志津貴大・仲宗根桂子

琉球大学理学部物質地球科学科

Extraction of Rubbery Material from the Stem of *Ficus microcarpa* L.f. by use of Ionic Liquid

Hayami Nakasone, Takahiro Shizu, Keiko Nakasone

Abstract

In this letter, we report the method of extraction of rubbery material from stem of *Ficus microcarpa* L. f. produced latex. The rubber component was extracted by using an ionic liquid as a solvent. The obtained rubber component was 1.7%. It is considerably less compared to 30-40 % of latex contained in *Hevea brasilliensis*. Natural rubber consists of *cis*-1,4-polyisoprene. The *F. microcarpa* rubber was suggested to be closely similar to *cis*-1,4-polyisoprene by comparison of its ^{1}H and ^{13}C-NMR and infrared absorption spectra with those of authentic 97% *cis*-1,4-polyisoprene. On the TG curve, a mass loss of 96.8 % was observed around 381 ℃. These analysis results indicate that the rubber component of *F. microcarpa* consists of *cis*-1,4-polyisoprene.

緒言

ガジュマル（学名 *Ficus microcarpa* L.f.）は種子島から沖縄・熱帯アジアを原産地とするクワ科の常緑高木である [1]。本学における研究成果として，ガジュマルの葉や果実から多くの生理活性物質が単離されてきた [2-9]。

さて，天然ゴムを産出する植物は多数あるが，主要な供給源は南米原産のヘベア・ブラジリエンシス（*Hevea brasiliensis*）である。新たな天然ゴム資源として，実用化に向けての研究開発が進められている植物として，乾燥地帯で育つグアユールと温帯地域で育つロシアタンポポが注目されているが，大量生産には至っていない [10]。

ヘベア・ブラジリエンシスが産出するラテックス中にはゴム粒子が 30～40%含まれている。そのゴム粒子の表面は脂質とタンパク質の膜によって安定化されている。この樹が産出する天然ゴムは，高重合度のシス-1, 4 ポリイソプレンである [11]。

天然ゴムの精製法については，既に確立されている。ラテックスにタンパク質分解酵素と界面活性剤とを加え，反応後に遠心分離して分解物を除去するという方法である [12, 13]。一方で，有機溶媒の替わりにイオン液体 [14]を溶媒として分離・精製に利用する研究が急速に広がってきた。タンパク質は一般に水（緩衝水溶液）以外には不溶であるが，加熱することでイオン液体に溶解するものがある。

著者らは，2012 年より，いくつかの植物に対して，イオン液体を用いたポリイソプレンの抽出実験を行い，成果を得てきた [15]。従来の抽出法との違いは，最初にイオン液体を用いてタンパク質等の除去を行うことにある。今回，ガジュマルが産出するラテックスに対して，同様な抽出法を適用し，ポリイソプレン成分の探索を行った。

実験

1. 材料等

2020 年 11 月に，琉球大学理学部周辺に植栽されたガジュマルの木の幹からラテックスを採集した。

2. 抽出

常法に従い，ラテックスに含まれているタンパク質, 糖類, 脂質等の除去とゴム成分の精製を行った。

(1) イオン液体（Emim Ac, Sigma-Aldrich）を投入したサンプル管瓶に新鮮なガジュマルから採集したラテックスを注いで，A および B の二種類の濃度(重量パーセント）の溶液を調整し，それぞれ試料 A および B とした。それぞれの溶液中のラテックスの濃度は，試料 A の溶液では 12.93%，試料 B 溶液では 20.35%であった。

秤量値は，試料 A の溶液ではラテックス 0.6297 g に対しイオン液体 4.8683 g，試料 B 溶液ではラテックス 1.2869 g に対しイオン液体 6.3242 g であった。

(2) これらの溶液を真空恒温槽内で，段階的に 85℃まで加熱した。

(3) 次に，分液ロートを使用して試料 A および B のイオン溶液からトルエンを用いて脂溶性のゴム成分と脂質等を抽出した。

(4) ソックスレー抽出器を使用してトルエン抽出物からアセトンを用いて約 6 時間かけて脂質などの脂溶性成分を脱脂し，残渣のアセトン不溶部を得た。これをガジュマルの幹から抽出・精製されたゴム成分とした。

3. 機器分析

(1) フーリエ変換赤外線吸収 (FT-IR) スペクトルは，フーリエ変換赤外分光光度計 FT-IR-6100（日本分光株式会社）を使用し，4,000～550 cm^{-1} の範囲で ATR 法を用いて測定した。

(2) ^{1}H (500MHz) - および ^{13}C-NMR(125MHz) スペクトルは, BRUKER AVANCE III 500 装置で測定した。測定溶媒は重クロロホルムを使用し，化学シフトはδ値で示した。

(3) 熱重量測定は，TG-DTA8122（株式会社リガク）を使用し，窒素雰囲気下で室温から 480℃まで，10℃/min の昇温走査にて行った。試料質量は，5.60mg であった。

(4) CHN 元素分析装置は，JM11（株式会社ジェイ・サイエンス）を使用した。

なお，市販品のシス-1,4 -ポリイソプレン（97% Cis-1,4；Scientific Polymer Products, Inc.）を標品として用い，同様な測定を行い，抽出物との比較・検討を行った。

実験結果

1. 抽出

Fig. 1 に，ラテックスとイオン液体との混合直後（左）と加熱後（右）の様子を示す。混合させた直後，白濁してイオン液体に溶解しなかったラテックスは，加熱後は着色しているもののほぼ透明となり，イオン液体に溶解した。

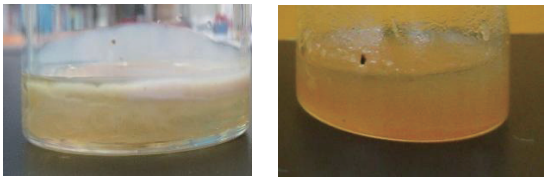

Fig. 1. Mixture of latex from *F. microcarpa* and the ionic liquid. Left side; immediately after mixing. Right side: after heated at 85 °C.

ガジュマルの幹から抽出・精製されたゴム成分は，弾性を示す固体として得られ，天然ゴムと同様な伸びを示した。得られた天然ゴムの量は，試料 A 溶液からは 0.010524g (1.7%)，試料 B 溶液からは 0.021830g (1.7%)であった。

Table 1 に，ガジュマルの幹から産出したラテックスの成分組成を示す。イオン液体中に主なタンパク質や糖類が溶解したものと仮定して，成分組成は全ラテックスに対する質量割合 (%) として記載した。

なお, 試料 A および B 溶液とも未回収量が, 各々,

1.98 および，0.39%であったが，これは抽出・精製の過程で有機化合物が蒸発，揮発等で消失したためであると推定される。

Table 1. Compositions of the constituents in the latex from *F. microcarpa*.

Constituent	w/w% by weight of latex	
	sample A	sample B
Rubber material	1.67	1.70
Proteins	35.94	45.88
Lipids	12.01	8.73
Water	48.40	43.30

2. 機器分析の結果

ガジュマルの幹から抽出・精製されたゴム成分に対して，以下の機器分析を行った。

2-1) FT-IR 分析

ガジュマルの幹から抽出・精製されたゴム成分の IR スペクトルを Fig. 2 に示した。横軸は波数を，縦軸は透過率（%）を示す。Table 2 に，IR スペクトルで得られた吸収帯の位置とその帰属を示した。比較のために，97% Cis-1,4 の測定値も同時に示した。

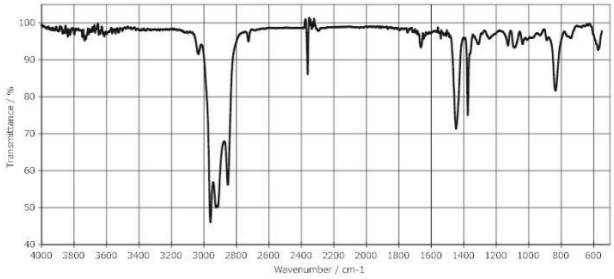

Fig. 2. IR spectrum of the rubber material from *F. microcarpa*.

高波数側の 2962 cm^{-1} の強い吸収ならびに 1380 cm^{-1} の中程度の強度の吸収帯は，$-CH_3$ 基の C－H 結合の逆対称伸縮振動ならびに H－C－H 結合の変角振動に由来するものでメチル基の存在を示唆する。また，2928 cm^{-1} と 2854 cm^{-1}の強い吸収帯および 1450 cm^{-1} の中程度の強度の吸収帯は，$-CH_2-$

Table 2. Absorption bands data in the IR spectrum of the rubber material from *F. microcarpa* and authentic 97% *cis*-1,4-polyisoprene (Cis-1,4) and their assignments.

Wavenumber / cm^{-1}		Functional group modes
F. microcarpa	97 % Cis-1,4	
3033	3034	C-H stretching
2962	2962	CH_3 stretching
2928	2928	CH_2 asymmetric stretching
2854	2854	CH_2 symmetric stretching
1665	1664	C=C stretching
1449	1449	CH_2 deformation
1376	1376	CH_3 deformation
839	841	C-H bending

基の C－H 結合の伸縮振動および H－C－H 結合の変角振動に由来するものでメチレン基の存在を示唆する。さらに，3033 cm^{-1} の鋭い吸収帯はオレフィンの C－H 結合の伸縮振動に，1660 cm^{-1} の弱い吸収帯は C＝C 結合の伸縮振動に，840 cm^{-1} の中程度の強度の吸収帯はオレフィンの C－H 結合の面外変角振動にそれぞれ由来し，部分構造として三置換オレフィン構造 ＞C=CH－の存在を示唆する。

以上の結果から，ガジュマルの幹から抽出・精製されたゴム成分は，1, 4-ポリイソプレン重合体と推定され，標品の 97% Cis-1,4 の IR スペクトルと比較した結果，両者はほぼ一致した。

2-2) NMR 分析

下図のように，イソプレンの各炭素原子に(1)～(5)と番号をつけて，以下の表に化学シフト値とその帰属を示した。

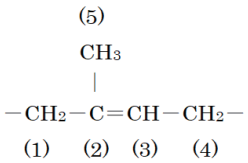

Fig 3 に，ガジュマルの幹から抽出・精製されたゴム成分（上）と 97% Cis-1,4（下）の ^{1}H NMR スペクトルを示す。なお，7.26 ppm は重クロロホルム由来のシグナルである。また，Table 3 に両者のシグナルの化学シフト値を示した。両者の化学シフト値は

一致した。

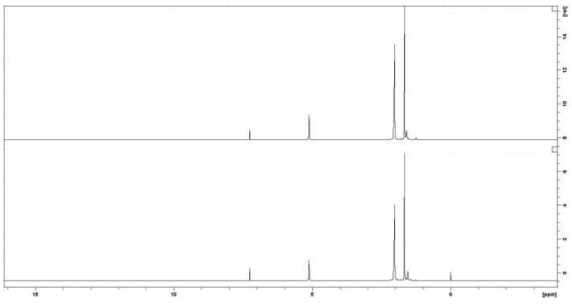

Fig. 3. ^{1}H NMR spectra of the rubber material from *F. microcarpa* (upper spectrum) and authentic 97% *cis*-1,4-polyisoprene (97% Cis-1,4, lower spectrum).

Table 3. ^{1}H NMR Chemical shifts of the rubber material from *F. microcarpa* and authentic 97% *cis*-1,4-polyisoprene (97% Cis-1,4)

	^{1}H NMR Chemical shift (ppm) in $CDCl_3$	
proton	*F. microcarpa*	97% Cis-1,4
olefinic proton (3)	5.12	5.12
methylene proton (1), (4)	2.04	2.04
methyl proton (5)	1.68	1.68

次に，ガジュマルの幹から抽出・精製されたゴム成分（上）と 97% Cis 1,4（下）の ^{13}C NMR スペクトルを Fig. 4 に示す。なお，77.0ppm の鋭いシグナルは重クロロホルム由来のシグナルである。また，Table 4 に両者のシグナルの化学シフト値を示した。両者の化学シフト値は良い一致を示した。

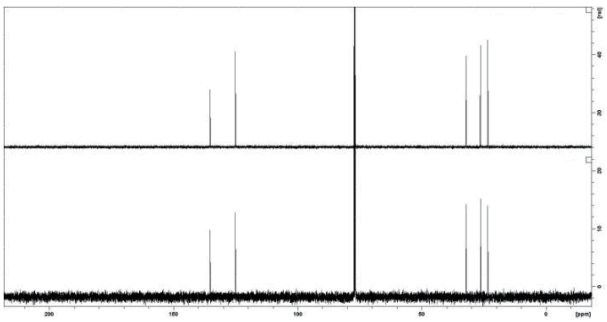

Fig. 4. ^{13}C NMR spectra of the rubber material from *F. microcarpa* (upper spectrum) and authentic 97% *cis*-1,4-polyisoprene (97% Cis-1,4, lower spectrum).

Table 4. ^{13}C NMR Chemical shifts of the rubber material from *F. microcarpa* and authentic 97% *cis*-1,4-polyisoprene (97% Cis-1,4).

	^{13}C NMR Chemical shift (ppm) in $CDCl_3$	
carbon atom	*F. microcarpa*	97% Cis-1,4
(2)	135.21	135.22
(3)	125.03	125.03
(1)	32.21	32.21
(4)	26.40	26.40
(5)	23.42	23.43

以上の結果から，ガジュマルの幹から抽出・精製されたゴム成分はシス-1,4-ポリイソプレンであることが分かった。

2-3) TG 分析

ガジュマルの幹から抽出・精製されたゴム成分の TG 曲線を Fig. 5 に示す。縦軸は質量変化率（%）である。TG 曲線において，熱分解による急激な質量減少（96.8%）が 381℃付近で観測された。一方，97% Cis-1,4 では，376℃付近で 99.4%の質量減少が観測された（試料量 0.78mg）。TG 曲線より，抽出したゴム成分の純度は比較的良いと思われる。

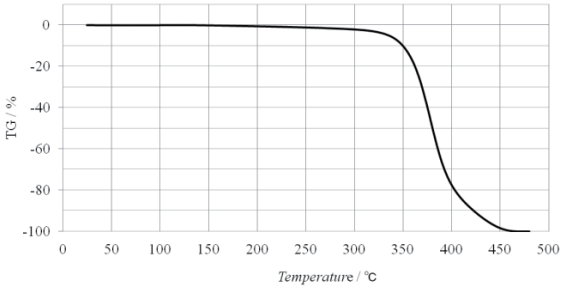

Fig. 5. TG curve of the rubber material from *F. microcarpa*.

2-4) CHN 分析

Table 5 に CHN 元素分析の結果を示す。イソプレンは分子式 C_5H_8 と表せるので，炭素 C を 5mol として換算した値で示した。ガジュマルの幹から抽出・精製されたゴム成分の質量は，各々，一回の測定であったが，試料 A では 1.942 mg，試料 B では 2.556 mg であった。

Table 5. CHN elemental analysis of the rubber material from *F. microcarpa*

Sample	H mol	C mol	N mol
F. microcarpa , sample A	8.098	5	0.019
F. microcarpa , sample B	7.200	5	0.018
97% Cis-1,4	8.083	5	0.015

C と H のモル比から，ポリイソプレンであることが確認できた。イオン液体に対して調整濃度の低い，すなわち試料 A のほうが，純度が良いという結果になった。なお, 何れの試料にも N が含まれているが，ガジュマルの幹から抽出・精製されたゴム成分に含まれるタンパク質の量は，市販品である 97% Cis-1,4 の CHN 分析結果との比較から，市販品と同程度の含有量であった。このことから，今回用いたラテックスからゴム成分を精製する方法は，ほぼ市販品と同程度の精製能力を有していることを示唆している。

考察

ガジュマルが産出するラテックス中には，僅か 1.7%程度であるが，シス型のポリイソプレンが含まれていることが明らかとなった。

天然ポリイソプレンを抽出できたことから，ラテックス中の主たるタンパク質等はイオン液体に溶解したものと思われる。今回，比較的純度の良いポリイソプレンが得られたので，新しく用いた抽出・精製操作方法は有効であり，他の植物が産出するラテックスからゴム成分を精製する際にも，本操作方法が応用されることを期待している。

今後の課題は，ゴム成分中のイソプレンの重合度を明らかにするためにゴム成分の平均分子量と分子量分布を調べること，また，ゴム成分中のポリイソプレン鎖のα末端とω末端の構造を解明するために，^{13}C NMR スペクトルの詳細な検討（ω末端）とアセトンで脱脂したアセトン可溶物に含まれる脂質等の成分（α末端）を調べること等が挙げられる。

結論

ガジュマルが産出するラテックスからゴム成分を抽出し，市販品程度の純度まで精製した。機器分析の結果から，シス型ポリイソプレンが，ラテックス中に約 1.7%含まれていることを明らかにした。

イオン液体を用いた新たな抽出法は，ゴム成分に含まれるたんぱく質等の除去に対し有益であることが分かった。

謝辞

分析機器を使用するにあたりご配慮を頂きました琉球大学研究基盤センターのスタッフに感謝します。

本論文の校閲にあたり，有益なご助言を頂いた理学部海洋自然科学科の荻原和仁教授に感謝致します。

引用文献

1) 沖縄園芸植物大図鑑 3 有用植物，白井祥平，沖縄教育出版（1980）． 琉球の植物，初島住彦・中島邦雄，講談社（1979）.

2) 比嘉松武・与儀誠一・外間宏三，琉球大学理学部紀要，**44**，75（1987）.

3) 比嘉松武・横田恵次郎・荻原和仁・与儀誠一，琉球大学理学部紀要，**62**，45（1996）.

4) H. Yamasaki, R. Heshiki, and N. Ikehara, *Journal of Plant Research*, **108**, 171 (1995).

5) H. Yamasaki, S. Takahashi, and R. Heshiki, *Plant and Cell Physiology*, **40** (6), 640 (1999).

6) T. Taira, A. Ohdomari, N. Nakama, M. Shimoji, and M. Ishihara, *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry,* **69** (4), 811 (2005).

7) Ao, CW; Li, AP; Elzaawely, AA, Xuan, TD; Tawata, S, *Food Control*, **19** (10), 940 (2008).

8) Ao, CW; Deba, F; Tako, M; Tawata, S, *International Journal of Food Science and*

Technology, **44** (2), 349 (2009).

9) Ao, C; Higa, T; Ming, H; Ding, YT; Tawata, S, *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, **25** (3), 406 (2010).

10) 西敏夫，高分子，**70**(7)，387（2021）.

11) 河原成元，日本ゴム協会誌，**91**(5)，143（2018）.

12) 田中康之，日本ゴム協会誌，**74**(12)，468（2001）.

13) 河原成元・田中康之, 日本ゴム協会誌, **82**(10)，417（2009）.

14) イオン液体，日本化学会(編)，西川恵子・伊藤敏幸・大野弘幸，共立出版（2021）．イオン液体，高分子学会(編集)，共立出版（2012）.

15) 仲宗根桂子・高田晃彦・高橋良彰・高野敦志，第 63 回レオロジー討論会 講演要旨集，146（2015）.