

## 藻類の揮発成分に関する化学的研究—XXI\*

クロレラ *Chlorella pyrenoidosa* の揮発成分について

片 山 輝 久\*\*

### Chemical Studies on Volatile Constituents of Algae—XXI

On Volatile Constituents of *Chlorella pyrenoidosa*

Teruhisa KATAYAMA\*\*

#### Abstract

The so-called "tang of the sea", the principle of aromatic and odoriferous compounds of seaweed and the biochemical significance of the volatile constituents of Chlorophyceae, Pheophyceae, and Rhodophyceae have been reported in the preceding papers of this series.

In the present paper, ether extracts obtained from *Chlorella pyrenoidosa* were analysed to determine the fatty acid, the carbonyl, and the neutral fractions utilizing gas chromatographic technique. The following compounds have been identified: capric acid, propionaldehyde, n-valeraldehyde,  $\alpha$ -pinene, d-limonene.

Acrylic acid and dimethylsulfide could not be found in *Chlorella*, it is assumed that the precursor of these two compounds, dimethyl propiothetin, is not present in this alga.

海藻の揮発成分については、香氣並びに臭気成分の本体<sup>1-5)</sup>、揮発成分の生化学的存在意義<sup>6),7)</sup>、また海藻による揮発成分の異同<sup>5-7)</sup>並びに薬理作用のあること<sup>8)</sup>を明らかにして既に報告した。一方淡水藻類の揮発成分については Collins ら<sup>9)</sup>の研究がある。即ち同氏らは *Chlamydomonas globosa* の揮発成分として formaldehyde, acetaldehyde, methyl ethyl ketone の存在を明かにして報告している。

*Chlorella* は最近食品として多く用いられているが、香氣並びに臭気成分の本体については未だその研究はみられない。著者は *Chlorella pyrenoidosa* の揮発成分を抽出して、gas chromatography により、脂肪酸区に capric acid, carbonyl 区に propion aldehyde, n-valeraldehyde, 中性区分に  $\alpha$ -pinene, d-limonene, の存在を確認し得たので茲に報告する。

#### 実験並びに結果

I. *Chlorella* の培養： 実験材料には *Chlorella pyrenoidosa* を用い、次の条件で培養<sup>10)</sup>したものである。(Table 1)

培養液は殺菌後 Fig. 1 の如き装置を用いて培養した。

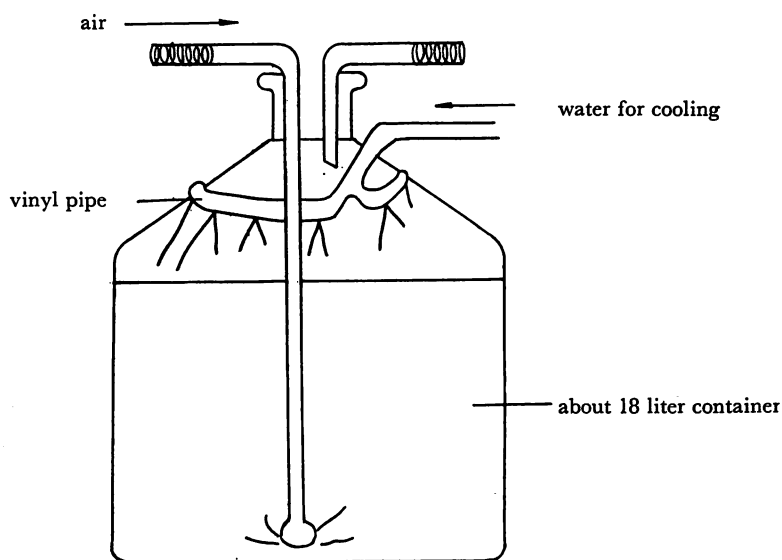
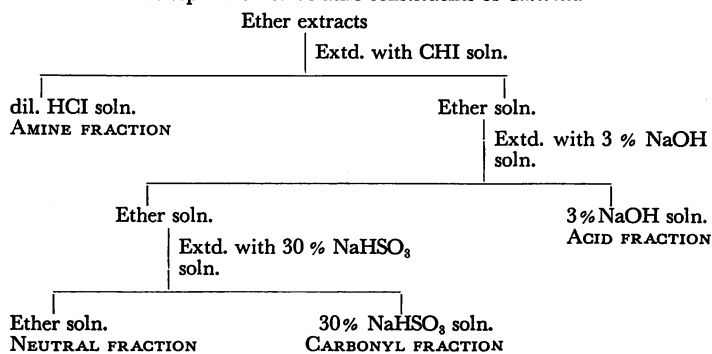
II. 揮発成分の抽出： 約 2 週間通気して培養後遠心分離機により *chlorella* を集め風乾後 ether にて連続抽出した。ether 抽出物は常圧にて ether を溜去後 Table 2 の如き方法により

\* 前報一本誌, 13, 58-72, 1964.

\*\* 鹿児島大学水産学部生物化学研究室 (Laboratory of Biochemistry, Faculty of Fisheries, Kagoshima University)

**Table 1.** Culture medium for *Chlorella pyrenoidosa*

Urea	1.05 g.
MgSO <sub>4</sub>	1.20
KH <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	1.22
*Ferric Potassium EDTA	1.0 ml.
**Arnon's A <sub>4</sub> micronutrient solution	1.0 ml.
	make up to 1 liter.
*Ferric potassium EDTA stock solution	
Disodium EDTA	26.1 g.
FeSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	24.9
	make up to 1 liter.
**Arnon's A <sub>4</sub> micronutrient solution	
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	2.86 g.
MgCl <sub>2</sub> · 4H <sub>2</sub> O	1.81
ZnSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	0.222
CuSO <sub>4</sub> · 5H <sub>2</sub> O	0.079
	make up to 1 liter.

**Fig. 1.** The culturing apparatus for *Chlorella*.**Table 2.** The separation of volatile constituents of *Chlorella*

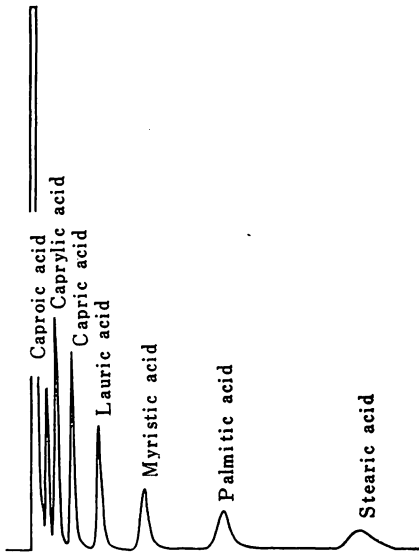


Fig. 2. The separation of caproic, caprylic, capric, lauric, myristic, palmitic and stearic acids. Column: 2.25 m. DEGS +  $H_3PO_4$  Carrier: He, Column temp. 225°C, Flow rate 40.

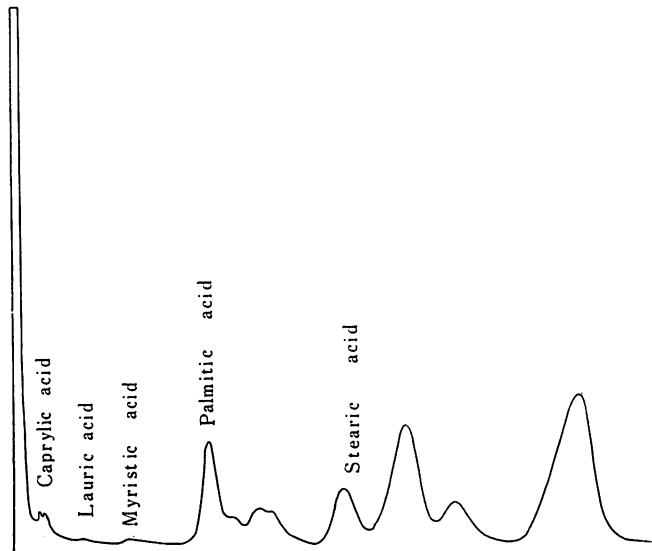


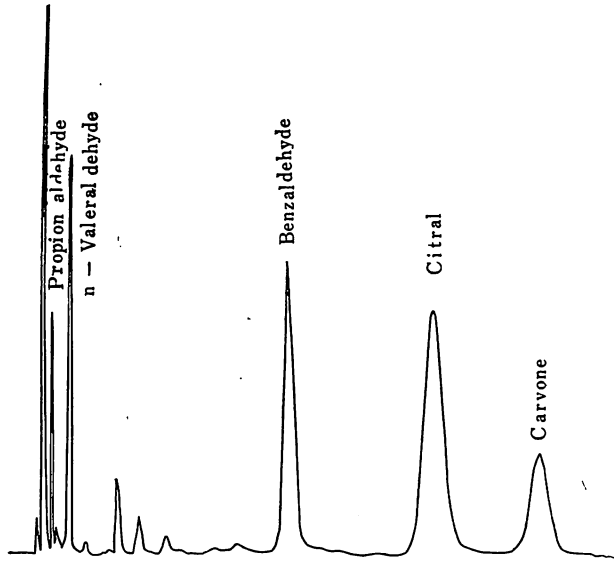
Fig. 3. The separation of the fatty acid fraction in *Chlorella pyrenoidosa*. Column: 2.25 m. DEGS +  $H_3PO_4$ , Carrier: He, Column Temp. 225°C, Flow rate 40.

脂肪酸区, carbonyl 区, 中性区分に分別した。

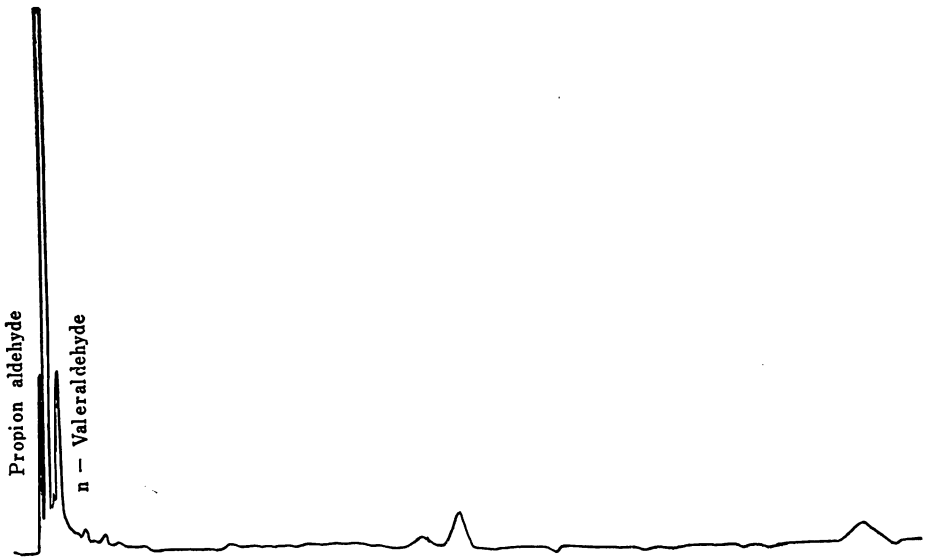
a. 脂肪酸区の gas chromatography: Amine 区を除去した ether 可溶区分は 3% NaOH 培液により抽出した。3% 苛性カリ可溶区分は 3% 塩酸にて酸性として ether にて抽出し, 飽和食塩水にて 3 回洗滌し脱水後 ether を除去した。斯様にして得た脂肪酸区は DEGS +  $H_3PO_4$  を充填剤とする gas chromatography により, 純粹の脂肪酸の gas chromatography により得られた retention time と比較して capric acid の存在を確認した。(Fig. 2, 3)

b. Carbonyl 化合物の gas chromatography: Amine 区, 脂肪酸区を除去した ether 溶液は 飽和食塩水にて洗滌後 30% 酸性亜硫酸ソーダ溶液と振盪して carbonyl 区を分取した。30% 酸性亜硫酸ソーダ可溶区分は 飽和炭酸ソーダ溶液にてアルカリ性として ether にて抽出した。ether 可溶区分は 飽和食塩水にて 3 回洗滌して, 脱水後 ether を常圧で溜去し

gas chromatography により, 純物質の retention time と比較して, propion aldehyde と n-valer aldehyde の存在を確認した. (Fig. 4, 5).



**Fig. 4.** The separation of propion aldehyde, n-valeraldehyde, benzaldehyde, citral and carvone. Column 3m, DEGS+H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>, Carrier He, Column temp. 195°C, Flow rate 40.



**Fig. 5.** The separation of the carbonyl fraction in *Chlorella pyrenoidosa*. Column 3m. DEGS+H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>, Carrier He, Column temp. 195°C, Flow rate 40.

c. 中性区分の gas chromatography: Amine 区, 脂肪酸区 carbonyl 区を除去した ether 可溶区分は, 飽和食塩水にて 3 回洗滌して脱水後常圧にて ether を溜去して gas chromatography により得た retention time と純中性物質の retention time と比較して  $\alpha$ -pinene, d-limonene, の存在を明らかにした.

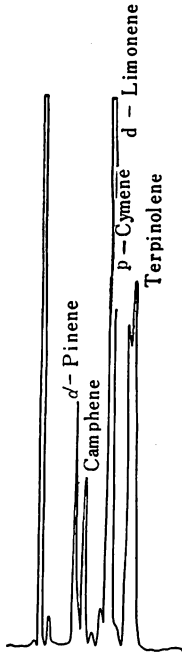


Fig. 6. The separation of  $\alpha$ -pinene, camphene, d-limonene, p-cymene and terpinolene. Column 4m, PEG 6000, Column temp. 195°C, Flow rate 40, Carrier He,

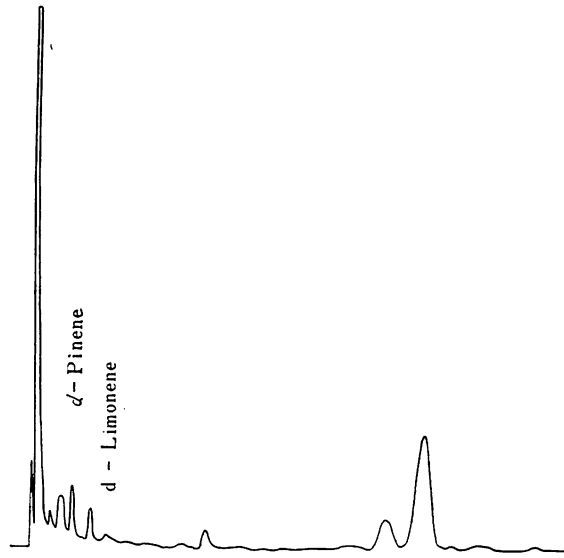
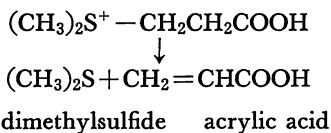


Fig. 7. The separation of the neutral fraction in *Chlorella pyrenoidosa*. Column 4m. PEG 6000, Column temp. 195°C, Flow rate 40.

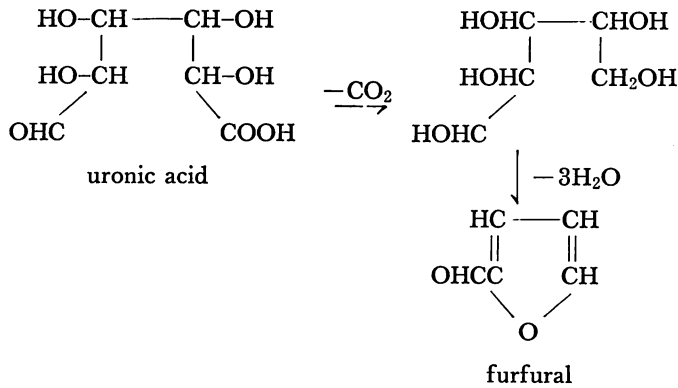
## 考 察

dimethylsulfide の存在をみるため約 200 g の *chorella* を水蒸気蒸溜して, 蒸溜気相を  $\text{HgCl}_2$  の飽和溶液に導き dimethylsulfide の捕集を試みたが<sup>3)</sup> その存在はみられず, また脂肪酸区に acrylic acid の存在もみられなかったので, その前駆物質である dimethylpropiothetin は存在しないものと推定された.



また furfural, 5-methylfurfural の存在は見られなかったが, これ等は水蒸気蒸溜の際, 加熱により furfural は藻体内の pentose, uron 酸より, 5-methylfurfural は hexose より生

成されたもので、本研究に於いては ether により抽出した為めこれ等 furfural, 5-methyl-furfural は生成されなかったものと考えられる。



*Chlorella* の臭気成分は capric acid, propion aldehyde で、香氣成分は n-valeraldehyde,  $\alpha$ -pinene, d-limonene,  $\alpha$ -terpineol であることを明らかにした。

#### 総 括

1. *Chlorella pyrenoidosa* を培養して風乾後 ether にて抽出し、脂肪酸区, carbonyl 区, 中性区分に分割した。
2. 脂肪酸区を gas chromatography により capric acid を, carbonyl 区に propion aldehyde, n-valeraldehyde を, 中性区分に  $\alpha$ -pinene, d-limonene, の存在を確認した。
3. *Chlorella pyrenoidosa* の臭気成分として capric acid, propion aldehyde, 香氣成分として n-valeraldehyde,  $\alpha$ -pinene, d-limonene, であることを明らかにした。

本研究を実施に当り協力された本学部石川信義氏に謝意を表す。

#### 文 献

- 1) 片山輝久 (1955) : 日本水産学会誌 21, 412.
- 2) 片山輝久 (1955) : 日本水産学会誌 21, 420 : (1955) : 21, 425. (1956) : 22, 244. (1958) : 24, 205.
- 3) 片山輝久 (1961) : 日本水産学会誌 27, 703. (1961) : 27, 710.
- 4) KATAYAMA T. (1958) : *J. Fac. Fish. Anim. Husb. Hiroshima Univ.*, 2, 67. (1958) : *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, 24, 346.
- 5) KATAYAMA T. (1962) : "Volatile Constituents of Algae" A chapter in "Physiology and Biochemistry of Algae" edited by R. A. Lewin, Academic Press, New York, U. S. A.
- 6) 片山輝久 (1961) : 日本水産学会誌 27, 75.
- 7) 片山輝久 (1964) : 本誌, 13, 58.
- 8) 片山輝久 (1956) : 日本水産学会誌 22, 251. (1956) : 22, 253.
- 9) COLLINS R. P. and G. H. BEAN (1963) : *Phycologia*, 3, 55.
- 10) BURLEW J. S. (1954) : *Carnegie Institute of Washington Publication* 600, 94, "Algae Culture from Laboratory to Pilot Plant".