鯉節の香氣に関する研究(第2報)

ペーパークロマトグラフ法による揮発性物質の検索

小幡彌太郎, 俣 野 景 典 (北海道大学農学部農産製造学研究室)

昭和 26 年 12 月 12 日 受 理

Studies on the Flavors of Katsuobushi. Part. 2. Identification of Volatile Substances by Paper Chromatography.

By Yataro OBATA and Kagenori MATANO (Department of Agricultural Chemistry, Hokkaido University).

著者等は第1報⁽¹⁾に於て鯉節の香氣発生に及ぼす因子について研究を試み、魚肉蛋白、魚体油及び燻烟処理が関与することを認めた。今回は鯉節の香氣成分、特に揮発性塩基及び酸性物質をペーパークロマトグラフ法により検索した結果塩基としてアンモニア、トリメチルアミン、ピリジン、ピペリジン(痕跡)等、酸としては蟻酸、醋酸、プロピオン酸、酪酸及びラウリン酸を認めた。

実 験 の 部

I. 装置及び操作 装置は大型円筒(内径 15 cm, 高さ 45 cm)に板硝子を蓋として覆い、接触面はグリースを塗つて気密とする。筒内に小型円筒(内径 7 cm, 高さ 38 cm)を立て、上部に径 9 cm, 高さ 4 cm の硝子製蒸発皿を載せ、之を溶媒槽とした。濾紙は「東洋濾紙 No. 2」2.5 cm×45 cm の短冊状のものを使用、その一端より 8 cm の所に原線を引き、此の線上に試料液を滴下する。尚円筒の壁及び濾紙相互の接触を防止するために短冊状濾紙の左右両端近くに「切れ目」を入れ、長さ 2.5 cm の硝子短棒を挿入し「重り」とした。

II. 試料の調製 焼津産鯉節〔原料真鯉 *Katsuwonus vagans* (Lesson)] を鉤にて薄く削つたもの 155 g. をソックスレー抽出器を用いて殆んど節香氣消失まで(約 48 時間) methanol 抽出を行い、この抽出液に少量の HCl を添加、微酸性となし減圧にて濃縮、黒褐色油状物約 7.5 g. を得た。

III. 揮発性酸性物質の検索 上記黒褐色油状物を水蒸気蒸溜に付し、溜出液約 1 l を得た。KOH 溶液を以て中和、減圧濃縮して得た溶液(約 50 cc)に再び HCl を添加、ether 抽出、脱水、蒸発して淡黄色油状物と白色析出物から成る酸性物質 0.5 g を得た。この物質は蟻酸、醋酸様刺激臭と微かに燻烟臭を有する強酸性物であつた。

(1)* 操作 : Hydroxamic acid 法⁽²⁾により行つた。即ち揮発性酸の hydroxamic acid 液を調製し、之を試料として展開、濾紙を乾燥し、10%塩化第二鉄酒精溶液を噴霧、呈色せしめ風乾後 *R_f* を測定する。尚溶媒は市販 *n*-butanol (b. p. 116~117°) の水飽和溶液を用い、一次元下降法により 20° で約 12 時間展開を行つた。

(2) 検出及び確認 鯉節より分離した揮発性酸物質 50 mg を試験管に採取し、木精 3 cc と濃硫酸 3 滴とを加え、80~85° の湯煎中で還流冷却器を付し 30 分間加熱してエステル化する。反応後 10% 苛性加里木精溶液を滴加、中和したものに 5% hydroxylamine 木精溶液 1.8 cc と 10% 苛性加里木精溶液 1.5 cc を添加、再び 80~85° 湯煎中で約 10 分間加熱濾過し、その濾液を蒸発後酒精—塩酸(2:1)を滴下し微酸性とする。この液を試料として毛細管を用いて短冊状濾紙の原線上に滴下、乾燥後前記操作により展開、風乾後 10% 塩化第二鉄酒精溶液を噴霧すれば発色 spot を生じ、その *R_f* 及び発色は第1表の如くである。この試料の *R_f* 値より各

Table 1. *R_f* Values of Volatile Fatty Acids by Means of the Hydroxamic Acid Method.

Acid	<i>R_f</i>		Color
	Pure	Sample	
Formic	0.43	0.45	P
Acetic	0.53	0.54	P
Propionic	0.69	0.70	P
Butyric	0.80	0.83	P
Lauric	0.95	0.96	RP

P-purple; R-red.

Descending method; temperature, 20°C.

に対応する脂肪酸を推定し、5種の純脂肪酸について同様操作を行つて得た spot の *R_f* 値はほぼ鯉節より分離した揮発性酸と一致する。更に確認するためこれに各種純脂肪酸を添加、混合した試料を同一方法で展開して得た spot は試料と全く重なることから、鯉節より分離した揮発性脂肪酸は、これら5種のものから成ることを確認した。量的には醋酸が甚だ多く蟻酸、ラウリン酸之に次ぎ、プロピオン酸、酪酸は少量であつた。

IV. 揮発性塩基物質の検索 揮発性酸を分離した残留液を減圧濃縮し、之に Na₂CO₃ 溶液を注加、アルカ

リ性となし水蒸気蒸溜を行い、溜出液は直ちに HCl 酸性溶液中に捕集し減圧濃縮して褐色液状物 5 cc を得た。この中和液は SCHIFF 試薬及び *p*-quinone を直ちに赤色及び赤褐色に着色、著陽性であつた。アルカリ性にするとき塩基は遊離し魚腥臭と共に pyridine 様臭を発生した。

(1) 操作：塩基性物質特に amine 類の報告は少いので種々組合せて行つた。

試料は塩酸酸性濃縮液を其の儘用いて展開した。溶媒は *n*-butanol(4)+ethanol(1)+water(1) を使用。一次元下降法により 20°, 12 時間展開した。展開後濾紙を風乾し、次の如き発色剤により呈色せしめ、*Rf* を測定した。

a) 沃度蒸気による方法⁽³⁾

b) 0.1% ninhydrine-butanol 溶液を噴霧、加温する。

c) 0.5% *p*-quinone-ethanol 溶液を噴霧、風乾後 0.5% KOH-ethanol 溶液を噴霧する。

d) NESSLER'S 試薬を噴霧する。

(2) 検出及び確認：試料揮発性塩基物質 5 cc を減圧で更に濃縮し、1 cc とする（この際暫次白色結晶を増加する）。この濃縮液を毛細管を用いて濾紙原線上に滴下、乾燥して前記操作により展開し、各種発色剤により得た spot の発色及び *Rf* は第 2 表として示した。この塩基性物質を遊離した時に発生する臭気及び著者が嘗て

Table 2. *Rf* Values of Volatile Basic Substances and Colors by Means of various Chromogenic Reagents.

Base	Iodine			Ninhydrine			<i>p</i> -Quinone			NESSLER'S reagent		
	<i>Rf</i>		Color	<i>Rf</i>		Color	<i>Rf</i>		Color	<i>Rf</i>		Color
	Pure	Sample		Pure	Sample		Pure	Sample		Pure	Sample	
Ammonia	0.138	0.14	—	0.14	0.13	O	0.14	0.13	O R	0.138	0.135	Y
Monomethylamine	0.21	—	Y	0.20	—	P	0.21	—	RB	—	—	—
Trimethylamine	0.145	0.15	Y	—	—	—	0.15	0.15	RB	—	—	—
Pyridine	0.17	0.175	Y	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Piperidine	0.30	0.31	Y	0.31	?	P	0.31	?	P R	—	—	—

B-Brown; O-Orange; P-Purple; R-Red; Y-Yellow.

Descending method; temperature, 20°C

発表⁽⁴⁾した魚臭成分から推定し、5 種の純塩基性物質について同様操作を行つて得た spot の *Rf* 値はほぼ一致するが monomethylamine の存在は認められなかつた。これらを確認するために脂肪酸の場合と同様に 4 種の純塩基を試料に添加、混和して同一方法により展開して得られた spot は試料と全く重なることが解つた。即ち鯉節より分離した揮発性塩基はこれら 4 種のものから成ることが認められた。尚 spot の形状、発色度から考え ammonia, trimethylamine が最も多く存在し、pyridine が之につき、piperidine は痕跡程度であつた。

本研究に当り試料入手に御援助を賜つた焼津水産高等学校堀田校長、須田教頭に対し深甚の謝意を表する。

(1) 小幡、俣野：日水誌、投稿（未発表）。

(2) 井上、野田：農化，24，291~298 (1951)。

(3) BRANTE. Nature, 163, 651 (1949)。

(4) 小幡、山西、石田：日水誌，15，551 (1950)。

Summary

Volatile basic and acidic fractions obtained from *Katsuobushi* by steam distillation were separated by one-dimensional paper chromatography employing the descending technique.

In this experiment, four basic substances and five volatile fatty acids were identified by comparing the chromatogram of the sample with that of the mixture of pure substances. The basic substances thus identified are ammonia, trimethylamine, pyridine and piperidine and the volatile fatty acids are formic, acetic, propionic, butyric and lauric acids.