

保存によるクロモジ精油の芳香成分の 変化に関する速度論的解析

坂本 幸司

【要 旨】

等温条件で保存したクロモジ精油について、芳香成分の濃度変化の温度依存性を検討した。葉精油では、SPME-GCMSで測定した気相中のほぼ全ての芳香成分は、保存中に初期濃度から漸減した。葉および枝精油のD-リモネン、葉精油中の α -ピネン、1,8-シネオールおよび γ -テルピネン濃度の漸減過程は、擬1次反応とみなされ、それら反応速度定数の温度依存性は、Arrheniusパラメーターにより記述できた。

【キーワード】

クロモジ精油 芳香成分 SPME-GCMS 反応速度定数 アレニウスパラメーター

はじめに

クスノキ科のクロモジ (*Lindera umbellata Thunb*) は、日本を代表する香木である。この香木は、芳香の良い高級爪楊枝として親しまれているほか、その枝葉と根皮は、釣樟(チョウショウ)や釣樟根皮(チョウショウコンピ)の生薬名を持ち、去痰、胃腸炎や保温材料として利用されてきた⁽¹⁾。さらに、精油は、古くから化粧品香料として使われてきたことに加え、最近では、リラックス効果のある香りとしてアロマセラピーでの人気も高い。

クロモジ精油は、一般に、枝や葉から水蒸気蒸留で分取され、それらを構成する芳香成分の違いが、それぞれの精油の芳香を特徴づける。枝精油はフローラル様の爽やかさを持ち、葉精油は清涼感のあるハーバルな香調である。精油製造後の流通や消費の過程で、これら芳香は時間とともに変化する。この変化は、精油に含まれる芳香成分そのものの化学変化と組成変化とによるものである。定量的な手法により精油中の芳香成分濃度の変化を予想できれば、品質管理条件や消費期限を科学的かつ適切に設定することができる。

食品や化粧品の香りに関する既往の定量的な研究では、速度論、熱力学および物質移動論が、飲料芳香成分の保持と徐放特性⁽²⁾、ビールや食品保存中に生じる成分変化^(3, 4)、およびフレグランス香料材料の蒸発・熱分解課程^(5, 6)へ適用されている。一方、精油の品質に関する研究では、シトラスおよびハーブ精油が、10 Kの保存温度の上昇により2倍の速度で劣化すると指摘されている⁽⁷⁾ものの、科学的手法に基づく報告はそれほど多くない。

本研究は、ヒトが香りを嗅ぐ条件に近づけるため、クロモジ精油から空気へ揮発した芳香成分の濃度変化に焦点を当てる。等温過程で保存したクロモジ精油について、(1)主要芳香成分の経時

変化の特徴を示すこと、(2)速度論に基づきこれら変化を定量的に記述すること、および(3)任意の保存温度における芳香成分の残存濃度を示すことを目的とする。

1. 材料および方法

1.1. クロモジ精油

宮崎県東臼杵郡美郷町で採取したクロモジの葉および枝を美郷町役場の施設で水蒸気蒸留し、葉精油および枝精油の2種を作製した。それぞれの精油を3等分し、精油用褐色ボトルに密封した後、直ちに、クーラーボックスに入れて別府大学へ搬送した。

1.2. 精油の保存試験

精油の到着後、直ちに、各々のクロモジ精油の成分分析を行い、保存時間ゼロにおける各成分の初期濃度 C_0 を測定した。クロモジ精油の蒸留終了からこの測定まで、ほぼ4時間しか経過していない。保存ゼロのサンプリングが終了した直後に、葉および枝精油ボトルを温度278, 293および313 K に設定した遮光恒温槽へそれぞれ静置して、150日間の保存試験を開始した。保存の間、ボトルキャップを密閉し、さらに、パラフィルムでキャップを密封した。次項に記す芳香成分の測定のため、7から35日間隔で精油をサンプリングした。

1.3. 精油芳香成分の測定

所定の保存時間で恒温槽より取り出したボトルから精油20 μl をそれぞれ分取し、内部標準物質 p-ブロモフルオロベンゼン100 ppm (0.1 mg/ml) を含むエタノール溶液5 ml を加えて攪拌した。250倍に希釈された精油1 ml をガスクロマトグラフィ専用スクリーバイアルビンに封入した。サンプリング後、恒温槽から取り出した精油ボトルを所定の恒温槽に戻して、保存試験を継続した。

バイアルビンに自動サンプラー (Gester MPS 3) にセットし、313 K · 3 min の固相マイクロ抽出 (Solid Phase Micro Extraction: SPME) により、希釈精油の芳香成分をファイバーへ吸着させた。種々の化学成分を捕集するため、ファイバーとして無極性から高極性まで広範に吸着する Divinylbenzene, Carboxen と Polydimethylsiloxane の複合ポリマー (DVB / Carboxen / PDMS) を選定した。

ガスクロマトグラフ質量分析計 (Gas Chromatograph Mass Spectrometer: GCMS. Agilent GC 5977A および MSD7890B) の注入口で10 min 間、吸着物質 (芳香成分) を温度523 K で熱脱着しながら GCMS へ導入した。ガスクロマトグラフィ条件は、以下のとおりである：

キャリアガス	He (純度 99.9%) ;
注入モード	split less ;
注入温度	523 K ;
キャピラリーカラム	DB-WAX (カラム長 30 m, 内径 0.25 mm, 膜厚 0.25 μm) ;
昇温速度	10 K/min (313–413 K) および 8 K/min (413–503 K) ;
カラム流量	55 ml/min.

1.4. 芳香成分の濃度変化の解析

精油に含まれるある成分が他の物質に変化する時、反応速度定数 k は、温度に依存する。この反応を擬1次反応とみなすと、温度 T が一定 (等温過程) のとき、物質濃度 C の変化速度は、

$$\left(\frac{\partial C}{\partial t}\right)_T = -kC \quad (\text{Eq. 1})$$

で表される。濃度 C の変化が時間 t のみに依存するとみなすと、 t と $-\ln(C/C_0)$ の関係は線形となる。

$$-\ln \frac{C}{C_0} = kt \quad (\text{Eq. 2})$$

この傾きから、保存温度 T における反応速度定数 k を決める。この値 k が Arrhenius 型 ($k = A \exp\left(\frac{-E_a}{RT}\right)$) として記述できるとすると、

$$\ln k = \ln A - \frac{E_a}{R} \frac{1}{T} \quad (\text{Eq. 3})$$

となり、保存温度の逆数 $1/T$ に対する $\ln k$ のプロットは線形となる。この直線の傾きおよび切片より、Arrhenius パラメーター⁽⁸⁾である活性化エネルギー E_a と頻度因子 A をそれぞれ決める。

2. 結果および考察

2.1. 保存時間ゼロにおける精油芳香成分の特徴

保存時間ゼロ（保存なし）におけるクロモジの葉および枝精油のガスクロマトグラムを図1に示す。保持時間4 minに現れる幅広のピークは希釈溶媒であるエタノールに、そのほかのピークは芳香成分にそれぞれ相当する。葉と枝精油とを比較すると、ピークの大きさ（芳香成分濃度）と組成バランスは異なるものの、ピーク No. 1から11の芳香成分は同一の化学種である。いずれの精油でも、 α -ピネン、D-リモネンおよびユーカリプトールなどが主成分となる。これらに加えて、枝精油は、リナロール（No. 12）、酢酸ゲラニル（No. 17）およびゲラニオール（No. 18）を含む。

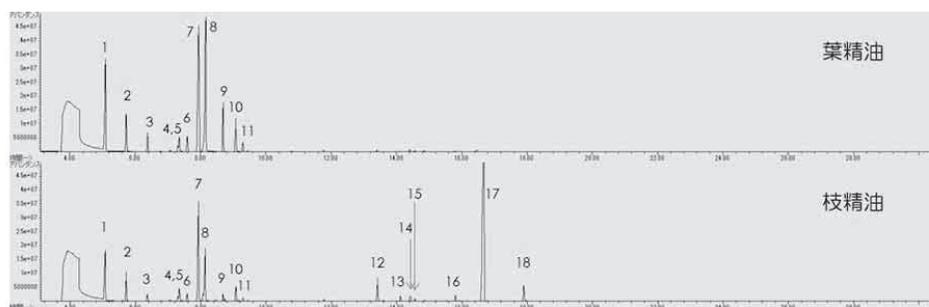


図1. 保存時間ゼロにおけるクロモジ精油のクロマトグラム.

1. α -ピネン, 2. カンフェン, 3. β -ピネン, 4. β -ミルセン, 5. α -フェランドレン, 6. α -デルピネン, 7. D-リモネン, 8. ユーカリプトール, 9. γ -デルピネン, 10. p-シメン, 11. テルピノレン, 12. リナロール, 13. 酢酸ボルニル, 14. カリオフィレン, 15. ジヒドロカルボン, 16. テルピネオール, 17. 酢酸ゲラニル, 18. ゲラニオール.

データベース (aroma office) および香料便覧⁽⁹⁾を参照して、これら芳香成分のにおい特徴を表1にまとめた。ピーク No. 1から11には、ハーブ、フレッシュ、樟脳や刺激のような記述子が多い。一方、枝精油のみに含まれる No. 12, 17および18の香調は、フローラルあるいはスイート様である。精油の成分分析とデータベースの記述子から、枝精油の芳香は、シャープでハーブ様

の強い葉精油の香りに加えて、花のような甘い香りも併せ持つことがわかる。実際に、この香調表現は、それぞれの精油の官能評価とよく一致していた。

表 1. 芳香成分のにおい特徴.

ピークNo.	物質名	におい特徴*
1	α -ピネン	テレピン油、マツの木、シャープ、爽やか
2	カンフェン	樟脳、ハーブ、テレピン油
3	β -ピネン	刺激のある、フレッシュグリーン、樟脳
4	β -ミルセン	松、ライム、苔用、濡れた土、プラスチック
5	α -フェランドレン	シトラス、グリーン、ペッパー
6	α -テルピネン	シトラス、ミント、グリーン、ハーブ、スパイス
7	D-リモネン	シトラス、レモン、フレッシュ
8	ユーカリプトール	樟脳、フレッシュ、爽快、ハーブ
9	γ -テルピネン	松、ミント、オイリー、ハーブ
10	p-シメン	オレンジ、木、サワー、ミント、樹脂、ハーブ
11	テルピノレン	シトラス、フルーティ、グリーン、ハーブ
12	リナロール	スズラン、フローラル
17	酢酸ゲラニル	フローラル、ローズ、ラベンダー、草
18	ゲラニオール	ローズ、ハーブ、フレッシュ、ハチミツ、フローラル

* "Aroma office"および"合成香料(化学工業日報社)"より引用

2.2. 保存中の芳香成分の変化および芳香の変化

保存した葉精油のクロマトグラムでは、いずれの保存温度でも主要成分のピーク面積は経時により漸減し、保存温度が高いほど、これらピークの漸減速度、つまり芳香成分濃度の減少速度は増大した。一方、枝精油でも、成分ピークの面積は経時に伴い減少傾向を示したものの、そのばらつきは大きかったため、 γ -terpineneのみを解析に適用した。さらに、温度313 Kにおいて105日間以上保存した枝および葉の精油には、微量のゲラニオールおよびカリオフィレンオキシドを新たに検出した。これらは、元来精油に含まれていたゲラニオールおよびカリオフィレンが酸化されたものと推定できる。

精油の芳香も、経時とともに変化するものの、温度278 Kの保存では芳香の変化は小さく、保存終了後も使用可能な香り立ちを保持した。一方、保存温度が高いほど、芳香の変質は著しいことはもちろん、枝と葉精油のいずれも、経時とともにハーバル様のシャープさが失われた。この官能の変化は、ハーバル様の芳香である No. 1 から11の成分濃度の漸減と一致し、蔵置による芳香の変化も、精油の主成分濃度の変化に起因することを示した。

2.3. 保存中の芳香成分変化の推算

葉精油に含まれる多くの主要成分濃度は、保存中に漸減する。この一例として、 γ -テルピネン濃度の経時変化を図2に示す。丸印で表した実測値は、内部標準物質 p-プロモフルオロベンゼン (濃度100 ppm) のピーク面積を基準として求めた換算濃度である。いずれの温度でも、保存により γ -テルピネン濃度は減少し、313 K・35日以上では未検出となった。

ゲラニオール、カリオフィレンや γ -テルピネンなど、芳香成分の濃度の減少は、実際には、他物質への化学変化あるいは密閉系からの揮発によるものである。一方、本実験手法では、化学反

応経路および揮発量をそれぞれ特定することはできないため、便宜上、成分濃度の変化を擬反応として扱うことにした。図3に示すとおり、いずれの温度でも保存日数と $-\ln(C/C_0)$ との関係は、ほぼ線形性（直線の傾き：速度定数 k ）を示したことから、葉精油の γ -テルピネン濃度の漸減は擬1次式とみなすことができた。さらに、保存温度の逆数（ $1/T$ ）と $\ln k$ との関係も線形を示したことから（図4）、速度定数 k はArrhenius型で規定されると判断できた。表2に示したArrheniusパラメーターより各保存温度における γ -テルピネンの反応速度定数を求めた後、Eq. 2を適用して推算した濃度曲線を図2に併記した。温度278から313 Kの領域では、濃度変化の実測値と推算値がほぼ一致することを確認した。

葉精油の主要な芳香成分では、 γ -テルピネンに加えて、 α -ピネン、D-リモネンおよびユーカリプトール、さらに、枝精油中のD-リモネンが、同様に記述できた。これら芳香成分の活性化エネルギーおよび頻度因子を決定係数とともに記す（表2）。一方、D-リモネンを除く枝精油の芳香主成分では、実測値のばらつきが大きいため、保存中に生じる経時変化を定量的に記述できなかった。一例として、枝精油に含まれる酢酸ゲラニルの経時変化を図5に示す。最大成分である酢酸ゲラニルを含め、枝精油の多くの構成成分に大きなばらつきが生じた明確な原因は不明であるもの、SPME条件（吸着条件およびポリマーの吸着特性など）が関与した可能性は高い。

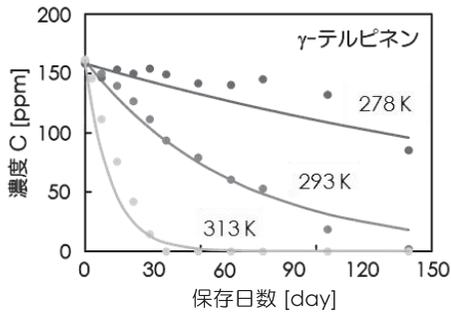


図2. γ -テルピネン（葉精油）の濃度変化.

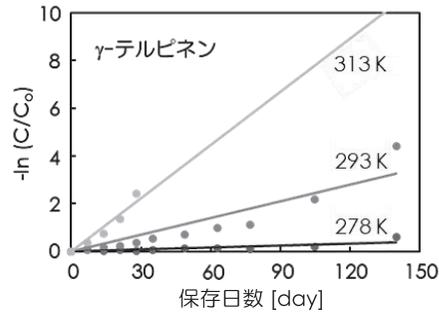


図3. 保存日数と $-\ln(C/C_0)$ の関係.

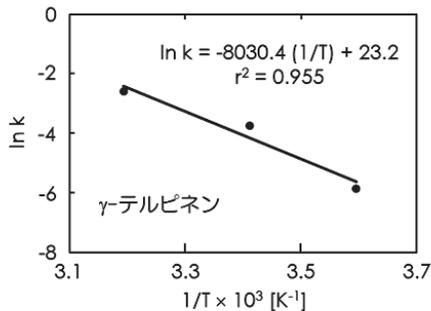


図4. 保存温度の逆数 $1/T$ と $\ln k$ の関係.

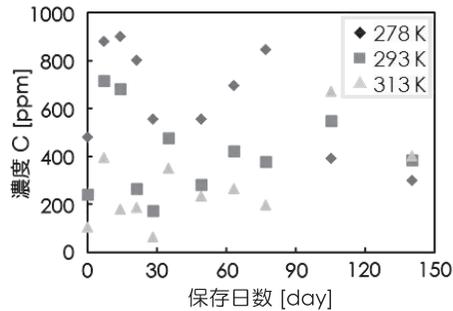


図5. 酢酸ゲラニルの濃度変化（枝精油）.

表2のパラメーターおよび保存温度（278, 288, 298, 308 K）より求めた k をEq. 2へ適用して、葉精油中のD-リモネンおよびユーカリプトールの経時変化をそれぞれ推算した（図6）。図のy軸は、保存後の濃度 C を初期濃度 C_0 で除した残存率として表記している。多くのシトラス類の主芳香成分であるD-リモネンの残存率は、保存温度が上昇するほど、ユーカリプトールのものより低下する。これは、D-リモネンの温度依存性がユーカリプトールより大きいことを表し、D-リモネンは変質しやすいという一般的な事実に対応する。これら反応速度定数は、この温度領

域で10 Kの上昇によりほぼ2倍となり、Clarkeの与えたシトラスの劣化速度に一致した。測定した成分では、 γ -ターピネンの温度依存性が最も大きく、その反応速度定数は、10 Kの上昇で約2.5倍に達した。

以上のように、等温過程における速度解析により、精油に含まれる芳香成分濃度の変化を推算できることを示した。

表2. 芳香主成分の活性化エネルギーおよび頻度因子.

	活性化エネルギー E_a [kJ mol ⁻¹]	頻度因子 A [day ⁻¹]	決定係数 R^2	
葉精油	α -ピネン	40.7	7.48×10^4	0.821
	D-リモネン	59.5	2.26×10^8	0.884
	ユーカリプトール	33.0	2.19×10^3	0.967
	γ -テルピネン	66.8	1.23×10^{10}	0.955
枝精油	D-リモネン	48.0	1.13×10^6	0.896

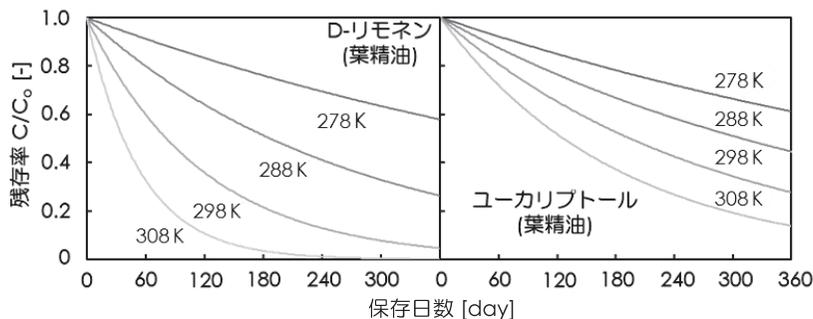


図6. D-リモネンおよびユーカリプトールの推算残存率 (葉精油).

おわりに

3つの温度による等温保存をとおして、クロモジの葉精油に含まれる主要芳香成分の濃度変化が擬一次反応とみなされ、これら反応速度定数が Arrhenius パラメーターにより記述されることを示した。さらに、速度論の適用は、任意の温度履歴を与えた精油の成分濃度を推算することを可能とした。この手法は、精油の変質を抑制する保存温度の設定のみならず、精油製造後のサプライチェーンにおける品質管理基準、あるいは、消費者サイドでの消費期限の設定などに適用できる。一方、葉精油よりも芳香成分を多く含む枝精油では、測定データのばらつきが大きく、D-リモネンを除いて定量的な解析にまで至らなかった。濃度変化の推算精度を向上させるために、SPME ファイバーの耐久性、ファイバーへの芳香成分の吸脱着特性、および、成分の抽出条件を再検証する必要がある。併せて、SPME 法に起因するこれら誤差要因を完全に排除するために、精油を GC へ直接導入する方法も試行する必要がある。

記号

A :	頻度因子	$[\text{day}^{-1}]$
C :	濃度	$[\text{ppm}]$
C_0 :	初期濃度	$[\text{ppm}]$
E_a :	活性化エネルギー	$[\text{J mol}^{-1}]$
k :	速度定数	$[\text{day}^{-1}]$
R :	ガス定数	$[\text{J K}^{-1} \text{mol}^{-1}]$
T :	温度	$[\text{K}]$
t :	時間	$[\text{day}]$

謝辞

本研究は、みさとの森活性化協議会の支援を受けて実施しました。関係者の皆様に心よりお礼申し上げます。

引用文献

- (1) https://www.pharm.or.jp/flowers/post_50.html
- (2) Ali Ammari, Karin Schroen. Flavor retention and release from beverages: A kinetic and Thermodynamic perspective. *J. Agric. Food Chem.*, **66**, 9869–9881 (2018).
- (3) Inês M. Ferreira, Flávia Freitas, Sara Pinheiro, Maria Filipa Mourão, Luís Ferreira Guido, Marco Gomes da Silva. Impact of temperature during beer storage on beer chemical profile. *LWT-Food Science Technology*, **154**, 112688 (2022).
<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112688>
- (4) Maureen Sherlock, Bin Fu, Petros S. Taoukis, Theodore P. Labuza. A systematic evaluation of time-temperature indicators for use as consumer tags. *J. Food Prot.*, **54** (11), 885–889 (1991).
- (5) P. Aggarwal, D. Dollimore, K. Alexander. The use of thermogravimetry to follow the rate of evaporation of an ingredient used in perfumes. *J. Therm. Anal.*, **49**, 595–599 (1997).
- (6) Xie Wanci *et al.* Thermal decomposition kinetics analysis of citronellol- β -glucopyranoside. *Advances in Engineering Research*, **63**, 815–820 (2016).
- (7) Sue Clarke. *Essential chemistry for aromatherapy* 2nd ed., Elsevier Ltd., 2008, p. 233.
- (8) Peter Atkins. *Physical Chemistry* 6th ed., Oxford Univ. Press, New York, 1999, pp. 775–86.
- (9) 合成香料編集委員会編集. 合成香料—科学と商品知識—, 化学工業日報社, 2016.

The temperature dependance of changes in aroma constituents was examined for the essential oils of *Lindera umbellata* Thunb stored under isothermal conditions. The measurements of SPME-GCMS showed that almost all constituents existed in a gas phase of the leaf oil decrease gradually from each initial concentration during the storage. The degreasing curves for some constituents such as the D-limonene contained in both oils, and the α -pinene, eucalyptol and γ -terpinene in the leaf oil were regarded as the pseudo first order reaction, the Arrhenius parameters of which enabled us to describe the temperature dependance of each reaction rate constant.

