

季節の移り変わりにおける隠岐島産クロモジ(葉および枝)の 香気成分について

野村 正人^{†1}, 牛崎 絢子^{†1}, 武智 遼^{†1},

The Seasonal Changes of Flavor Component of OKI Islands Produced *Lindera Umbellata* (Leaf and Twig)

Masato NOMURA^{†1}, Ayako USHIZAKI^{†1} and Haruka TAKECHI^{†1}

Abstract

Lindera umbellata is known to contain C₁₀ monoterpene alcohol linalool as a major component. In the present study, we examined the variation in aroma constituents and antioxidant activity of the constituents among the flowers of *Lindera umbellata* from Oki islands, Japan, as well as those in its leaves and branches collected in the periods during which seasons change. As a result, flowers and leaves collected around April contained d-limonene, and leaves collected from June to October contained dihydrocarvone and *l*-carvone as the major component. In terms of antioxidant activity, leaves collected from spring to summer showed an increasing DPPH radical scavenging activity. Similarly, leaves showed a gradual increase in the activity to inhibit the production of reactive oxygen species from June to October. These results suggest the leaves of *Lindera umbellata* from Oki islands begin to produce and accumulate a range of compounds exhibiting antioxidant activity around the end of April in preparation for the Summer sunshine.

Keywords: *Lindera umbellata*, antioxidant activity, C₁₀ monoterpene alcohol, Oki islands.

1. 緒言

クロモジ (*Lindera umbellata* Thunb., 黒文字) はクスノキ科クロモジ属の低木性落葉広葉樹であり, 日本固有種の香木とされている。本州, 四国, 九州にかけて広く分布するクロモジはオオバクロモジ, ヒメクロモジ, ケクロモジおよびウスゲクロモジなどに分類されている¹⁾。しかし, これらは形態的に類似しているばかりでなく, 分布している地域や環境によって葉の形態や含有している成分の組成比が異なる^{2~4)}ことが認められているが, 同定が困難であることから, すべてをクロモジと呼んでいるところが多い。新しい枝の樹皮は緑色であり, 生育とともに黒褐色となり, 樹皮の模様が文字のように見えることから, 黒文字(図 1)の和名が付いたと言われている。樹皮を煎じた液で患部を洗浄することで水虫, たむし, および湿疹を和らげ, 煎じ液を服用することで胃腸炎や咳, たん, 喉の痛みなどを抑える効果があることが知られている^{5,6)}。一方, 葉や樹皮は特有の芳香を有しており香水や化粧品, 石鹸などの香料として利用されている^{7,8)}。また, 抗炎症作用および鎮痛作用をもつ 1,8-

シネオールを含んでいることから, 入浴剤として利用することで, 関節痛やリウマチなどの症状の緩和があることから幅広く用いられる^{9,10)}。枝は高級爪楊枝として古くから茶の席で和菓子を食すときに用いられており, 枝や葉を折ると香気を放ち, ローズウッドに似た香りを感じ, その主成分はリナロールであることが確認¹¹⁾されている。その他の成分として, ゲラニオール, カルボン, リモネンおよび α -ピネンなどの成分(図 2)を含むことから, 心を鎮静させるなどのリラックス効果^{12~14)}に優れているため「疲れを癒す木」として山間部に暮らす人や登山者にも親しまれている。

そこで今回, 歴史的にも特別な地域として存在し日本列島からも地理的に離れていることから, 同種の植物間の雑交が少ないことが考えられる島根県の隠岐島に生育しているクロモジの各部位(花, 葉および枝)を季節ごと(4月, 6月, 8月および10月中旬頃)に入手し, それぞれの香気成分と抗酸化能活性などの生理活性に関わる相違についての研究を行ったところ, 興味ある結果を得ることができたので報告する。

^{†1} 近畿大学工学部化学生命工学科



図1 クロモジ（黒文字）の葉および枝

2. 実験

2.1. 試料の調製

実験試料として入手したクロモジの各部位(花, 葉および枝)は, 2017年に島根県隠岐郡海士町付近の山麓に生育(高さ2~3m)しているものを季節ごと(4月, 6月, 8月および10月の中旬頃)に採取したものを使用した花部10g(以下, (1)とする), 葉部については4月80g(以下, (2)とする), 6月100g(以下, (3)とする), 8月100g(以下, (4)とする)および10月200g(以下, (5)とする)を, また, 枝部においては6月85g(以下, (6)とする), 8月100g(以下, (7)とする)および10月180g(以下, (8)とする)をメタノールに3週間浸漬した。濾過後, メタノールを留去し(1)から0.61g, (2)から2.80g, (3)から3.39g, (4)から5.54g, (5)から3.94g, (6)から3.97g, (7)から5.80g および(8)から18.50gの粘稠な油分を得た。

2.2. 季節ごとの各部位の溶媒分画

入手した季節ごとの葉部位(2)~(5)および枝部位(6)~(8)について, メタノールを用いて抽出した粗抽出物に含まれているクロロフィルを取り除く操作として, シリカゲル(Silica gel 60)を充填したカラムクロマトグラフィーを用いて, 展開溶媒としてn-ヘキサン:アセトン=9:1の混合溶液で処理した。葉部位の季節ごとの粗抽出物10gを用いて, (2)から(2a)2.4g, (3)から(3a)2.8g, (4)から(4a)2.6g および(5)から(5a)1.8gを得た。ついで, アセトンのみを展開溶媒として処理し得た留分である(2)から(2b)3.2g, (3)から(3b)3.6g, (4)から(4b)2.9g および(5)から(5b)3.9gを得た。

一方, 枝部位(6)~(8)の各粗抽出物2gについても同様な操作を行い, (6)から(6a)0.3g, (7)から(7a)0.3g および(8)から(8a)0.4gを, また, アセトン溶媒のみで処理した(6b)0.4g, (7b)0.4g および(8b)0.5gを得た。

2.3 SPME法による香気成分の分析

クロモジ花部(1), 季節ごとの葉部(2)から(5)および枝部(6)~(8)の各油分5mg程度をセブタム付きバイアル瓶に取り, アルミブロック恒温槽(IWAKI社製, MG-2000型)を用いて, 40℃で30分間加熱し, SPMEファイバー

(Carboxen / PDMS Stable Flex, Film Thickness : 85μm, Maximum Temperature:320℃)に吸着させた。ついで, GC-MS装置(GC : Agilent 7890A, MSD : Agilent 5975C)を用いて, 分析(Column : J&W DB-WAX (60m × 0.25mm i.d), Column Temperature : 40℃ (5min hold) ~ 5℃/min ~ 220℃ (39 min hold), Injection Temperature : 250℃, Carrier Gas : He)を行なった。

3. 生理活性試験

3.1. DPPHラジカル消去効果試験方法¹⁵⁾

花の精油留分(1), 葉部位の分画留分(2a)~(5a)をエタノール溶液で0.1mg/mLに調製し試料溶液とした。比較物質であるα-トコフェロールについても同様に0.1mMに調製した。また, DPPH試薬についても同様に0.2mMの濃度に調製した。試験方法は96穴マイクロプレートを使用し, 各試料溶液とα-トコフェロールは8濃度の2倍希釈系列100μLを2系統作成した。この希釈系列にエタノール溶液100μL, DPPH溶液50μLを加え攪拌した。その後, 30分間暗所に静置し, マイクロプレートリーダーを用いて517nmにおける吸光度を測定した(A)。色対照として, DPPH溶液の代わりにエタノール溶液50μLを加え測定した(B)。また, ブランク試験として, 試料溶液の代わりにエタノール100μLを加え測定した(C)。試料溶液の代わりにエタノール溶液100μLをDPPH溶液の代わりにエタノール溶液50μLを加え測定した(D)。これらの測定結果から次式により, DPPHラジカル消去率を算出した。

$$\text{DPPHラジカル消去率 (\%)} = \frac{(C-D) - (A-B)}{(C-D)} \times 100$$

A : 本試験での吸光度

B : 本試験の色対照での吸光度

C : ブランク試験での吸光度

D : ブランク試験の色対照での吸光度

季節の移り変わりにおける隠岐島産クロモジ（葉および枝）の香気成分について

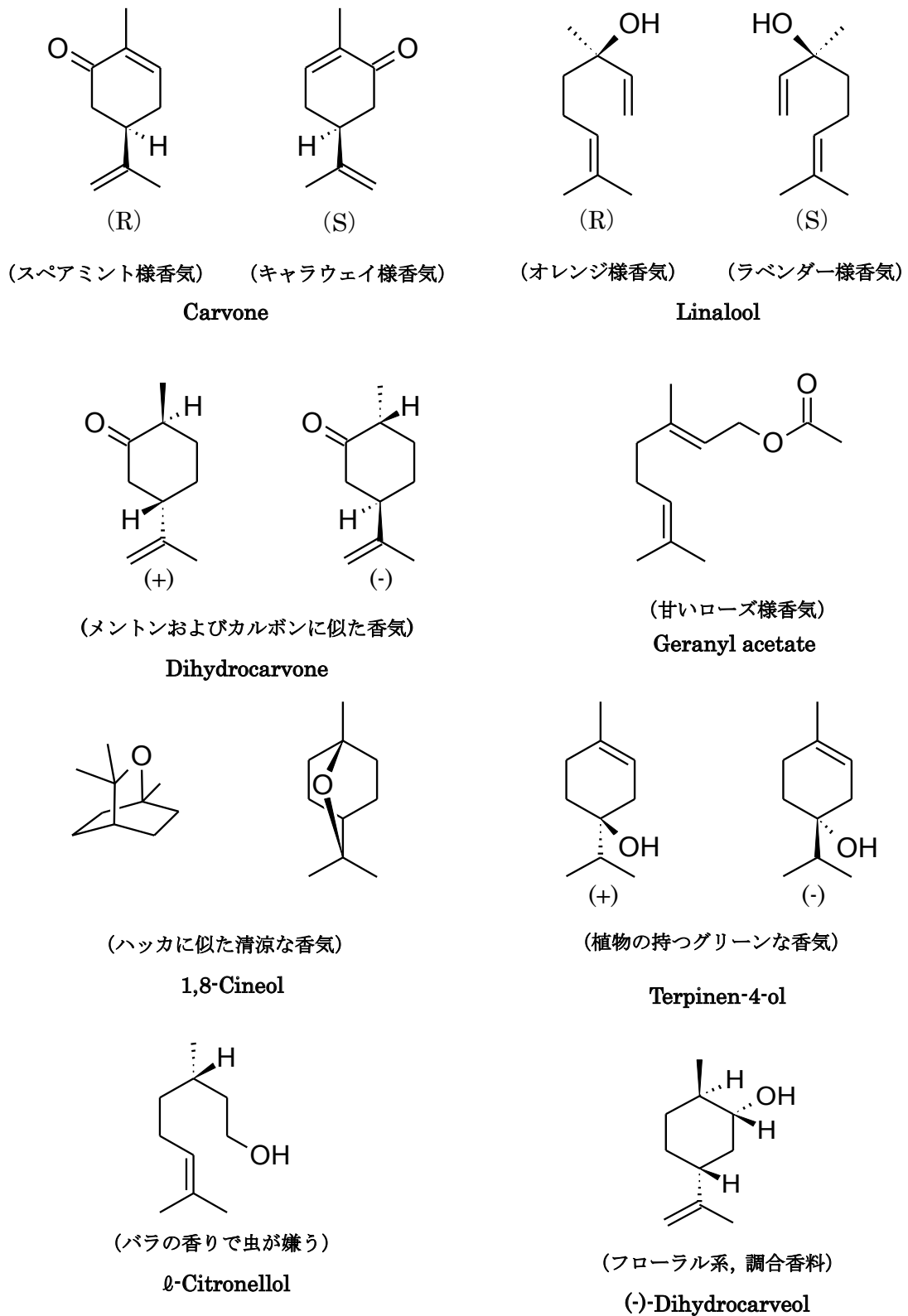


図 2 クロモジ各部位に含まれる主なモノテルペン化合物

3.2. 活性酸素阻害 (SOD) 試験方法¹⁶⁾

花の精油留分(1)および葉部位の分画留分(2a)～(5a)を DMSO 溶媒に溶かして 0.1mg/mL に調製し試料溶液とした。96 穴マイクロプレートに各試料溶液 10 μ L を取った後、発色試薬 100 μ L を加え 1 分間攪拌した。つぎに、酵素反応希釈液 100 μ L を加え 1 分間攪拌し、37 $^{\circ}$ C の恒温槽に 28 分間静置した。その後、反応停止液 20 μ L を加え、5 分間攪拌し、560nm における吸光度測定をマイクロプレートリーダーにより測定した (A)。また、DMSO 溶媒を用いて 0.1mg/mL に調製したアスコルビン酸溶液についても同様の操作を行ない比較物質とした。色対照として、酵素液の代わりにブランク液 100 μ L を加え、同様の操作を行なった (B)。また、ブランク試験として試料溶液の代わりに DMSO 溶液 10 μ L を加え、同様の操作を行なった (C)。ブランク試験の色対照として、試料溶液の代わりに DMSO 溶液 10 μ L、酵素液の代わりにブランク液 100 μ L を加え、同様の操作を行なった (D)。それぞれの阻害率は次式に従って算出した。

$$\text{活性酸素阻害率 (\%)} = \frac{(C-D) - (A-B)}{(C-D)} \times 100$$

- A: 本試験での吸光度
- B: 本試験の色対照での吸光度
- C: ブランク試験での吸光度
- D: ブランク試験の色対照での吸光度

3.3. 総ポリフェノール量の定量方法 (酒石酸鉄比色法)¹⁷⁾

DMSO 溶媒を用いて、花の精油(1)およびシリカゲルを充填したカラムクロマトグラフィーに展開溶媒としてアセトン溶媒を用いて分離した油分 (2b) ～ (5b) を 1.0 mg/mL に調製し試料溶液とした。また、没食子酸プロピルも同様に 0.5, 0.25, 0.1, 0.05 および 0.025 mg/mL に調製し、没食子酸プロピル標準溶液とした。さらに、硫酸鉄 (II) 七水和物 50mg と酒石酸カリウムナトリウム 250mg を蒸留水 50mL に溶解し酒石酸鉄試薬とした。また、1/15 M リン酸水素二ナトリウム溶液と 1/15 M リン酸二水素カリウム溶液を 84 : 16 の割合で混合し、pH 7.5 のリン酸緩衝液を調製した。ついで、試験管に各濃度の没食子酸プロピル標準溶液 2mL、酒石酸鉄試薬 2mL およびリン酸緩衝液 6mL を入れ攪拌した。その後、分光光度計を用いて 540nm における吸光度測定を行なった。また、没食子酸プロピル標準溶液の代わりに試料溶液を入れ、同様の操作を行なった。色対照として酒石酸鉄試薬の代わりに蒸留水を加え、同様の操作により吸光度測定を行なった。これらの結果をもとに検量線を作成し、検量線から没食子酸プロピル相当量として試料に含まれる総ポリフェノール量を算出した。

3.4. 総フラボノイド量の定量方法¹⁸⁾

総ポリフェノール量を定量した(1)および分離油分(2b)～(5b)を 1.0mg/mL に調製し試料溶液とした。また、カテキン水和物についても同様に 0.2, 0.1, 0.05 および 0.02 mg/mL に調製し、カテキン標準溶液とした。試験管に蒸留水 1250 μ L を取り、各濃度のカテキン標準溶液を 250 μ L、5% 亜硝酸ナトリウム水溶液 75 μ L 加えて攪拌し 5 分間静置した。つぎに、10% 塩化アルミニウム水溶液 150 μ L を加え攪拌し 6 分間静置した後、1M 水酸化ナトリウム水溶液 500 μ L を加えた。その後、蒸留水 275 μ L を加えて攪拌し反応を止めた。分光光度計にて 510nm における吸光度測定を行なった。また、カテキン標準溶液の代わりに試料溶液を取り同様の操作を行なった。また、色対照として、5% 亜硝酸ナトリウム水溶液、10% 塩化アルミニウム水溶液および 1M 水酸化ナトリウム水溶液の代わりに蒸留水を加え同様の操作を行なった。これらの結果をもとに検量線を作成し、検量線からカテキン水和物相当量として試料に含まれる総フラボノイド量を算出した。

3.5. 抗菌試験方法¹⁹⁾

ペーパーディスク法 (ϕ 8mm 濾紙) に準じて測定を行なった。葉部位および枝部位の n-ヘキサン抽出部 (2) ～ (8) 20mg および乳化剤 (Tween 40) 10mg を滅菌水 1mL で溶解し試験液とした。試験液はそれぞれ 60 μ L 滴下し、35 $^{\circ}$ C で 24 時間培養した後、生育阻止円の半径 (ディスクの内径を減じたもの) を測定した。また、ブランク試験として試験液を滴下せず培養させた生育阻止円の半径を測定した。供試菌株として枯草菌 (*Bacillus subtilis* ATCC6633)、大腸菌 (*Escherichia coli* ATCC8739)、黄色ブドウ球菌 (*Staphylococcus aureus* ATCC6538)、緑膿菌 (*Pseudomonas aeruginosa* ATCC9027) を使用した。培地はそれぞれ標準寒天培地 (ニッスイ製)、デゾキシコレート寒天培地 (ニッスイ製)、マンニット食塩培地 (ニッスイ製) および NAC 寒天培地 (ニッスイ製) を使用し、菌液 (50mL) を平板塗抹した。

4. 結果および考察

4.1. クロモジ花部 (1) および枝 (2) ～ (8) の精油成分について

クロモジ花部 (1) の精油中に存在する香気成分について、SPME 法による GC-MS 分析を行ったところ、35 種類の成分を確認することができた。その結果を表 1 に示す。主成分は D-リモネン (38.62%) であり、その他に同じモノテルペン炭化水素類である p-シメン (7.14%), (1R)-(+)- α -ピネン (3.16%), γ -テルピネン (3.86%), β -ミルセレン (1.51%) およびテルピノーレン (1.31%) が含まれていることを確認した。一方、含酸素化合物としては (+)-ジヒドロカルボン (2.79%) が含まれていることを確認することができた。つぎに、季節ごとに入手した葉部位 (2) ～ (5) について、SPME 法による GC-MS 分析を行い香気成分

の確認と季節ごとの成分比較を行った結果を表2に示す。その結果、4月の葉部位(2)ではd-リモネンを、6月の葉部位(3)ではネオジヒドロカルベオールを、8月の葉部位(4)では青葉アルコールを、また、10月の葉部位(5)ではジヒドロカルボンが主成分として含まれていることを明らかにした。このことから季節ごとに入手した葉(2)~(5)に共通に含まれている成分として、d-リモネン、1,8-シネオール、 γ -テルピネン、青葉アルコール、p-シメン、ジヒドロカルボンおよびカラメネンを確認することができた。d-リモネンおよび γ -テルピネンは4月の葉部位(2)に最も多く含まれており、8月(4)にかけて含有量が減少し、10月(5)になると増加する傾向が認められた。また、青葉アルコールは8月(4)に最も多く含まれ、p-シメンは10月(5)に最も多く含まれていることを確認した。一方、ジヒドロカルボンは6月(3)および10月(5)に多く含まれ、4月(2)では最も少ないことを明らかにすることができた。また、1,8-シネオールは年間を通じて含有量がほぼ一定の割合で存在していることを確認した。また、季節ごとに入手した葉部位(2)~(5)から抽出した粗油分中にクロロフィルが含まれていることから除去するために、粗油分をジエチルエーテル溶媒で抽出し、ついで、シリカゲル(Silica gel 60)を充填したカラムクロマトグラフィーを用いて、展開溶媒としてn-ヘキサン：アセトン=9:1の混合溶媒で処理し、(2)から(2a)、(3)から(3a)、(4)から(4a)および(5)から(5a)の留分を、ついで、アセトン溶媒のみで処理し、(2)から(2b)、(3)から(3b)、(4)から(4b)および(5)から(5b)の留分に分画した。留分(2a)~(5a)については、SPME法によるGC-MS分析で香気成分の特定を行い、その結果を表3に示す。その結果、(2a)、(4a)および(5a)の留分には、ジヒドロカルボンが主成分として含まれており、(3a)の留分ではテルピネン-4-オール、ジヒドロカルボン、ネロリドール、フィトールなどを確認した。リナロールやテルピネン-4-オールは年間を通じて、ほぼ一定の割合で含まれており、ジヒドロカルボンは8月に、ネロリドールは4月に多く含まれていることを確認した。また、フィトールは6月や10月頃の季節の移り変わりめに多く含まれることが分かった。一般に本島(日本列島)のクロモジはリナロールや1,8-シネオールが主成分として確認されているが、隠岐島産のクロモジはジヒドロカルボンやカルボンなどのケトン基を持つモノテルペン化合物が多く含んでいることを明らかにすることができた。

一方、クロモジ枝部位についても6月(6)、8月(7)および10月(8)に採取した枝に含まれている成分についてもSPME法によるGC-MS分析を行い、それぞれの香気成分を明らかにした。その結果を表4に示す。その結果、6月(6)に入手した枝部位には(+)-ジヒドロカルボンとリナロールが主成分として、8月(7)では(+)-ジヒドロカルボンとリモネンが主成分として、また、10月(8)ではリモネンとp-シメンなどのモノテルペン炭化水素類が主成分と

して含まれていたが、(+)-ジヒドロカルボンの含有量は減少する傾向を確認した。

4.2. 各部位における抗酸化能発現について

花の精油成分(1)に対する抗酸化能の発現について、DPPHラジカル消去効果試験および活性酸素阻害(SOD)試験を行い評価した。その結果を表5に示す。花の精油(1)には比較物質として用いた α -トコフェロールの値に近いDPPHラジカル消去効果が認められ、約80%以上の値を示した。また、活性酸素阻害効果も比較物質として用いたアスコルビン酸に近い値を示すなど高い抗酸化能があることを確認することができた。つぎに、クロロフィルを除去した葉部位の油分(2a)~(5a)に対する抗酸化能の効果²⁰⁾についても検討した。DPPHラジカル消去効果試験では季節が春から夏および秋に移り変わるごとに、その効果が高くなり、夏期に入手した葉部位に最も高いDPPHラジカル消去効果が認められ、比較物質である α -トコフェロールとほぼ同等の数値(約93%)が得られることを明らかにした。また、活性酸素阻害効果も季節の移行に従って、高くなるのではないかと考え試験を行ったところ、梅雨時期前の6月に入手した葉部位(3a)に活性阻害があることを認めた。このことから、植物は春から夏に向かって高い気温や強い日差しに備えて抗酸化物質を蓄積しているものと考察した。

一方、枝部位に対する抗酸化能発現についても検討した。季節ごとに入手(6月、8月および10月頃)した枝部位をメタノール溶媒で抽出し、粗油分をn-ヘキサン、クロロホルム、酢酸エチルおよびn-ブタノール溶媒を順次用いて分画した。ついで、それぞれの分画部に対する抗酸化能試験を行い、その結果を表6に示す。季節ごとに入手した枝部位を極性の異なる溶媒で分画し、それぞれの抗酸化能の相違を検討したが、DPPHラジカル消去効果は比較物質である α -トコフェロールと同等の値が酢酸エチル部、n-ブタノール部および水層部に季節に関わらず認められた。また、活性酸素阻害効果についても季節ごとと各溶媒分画部について検討したが、著者らが期待した阻害効果を確認することはできなかった。以上のことから、季節ごとに入手したクロモジの枝部位の抗酸化能発現については、季節ごとの環境の変化によっても大きく影響を受けないものであると考察した。

4.3. 総ポリフェノール量および総フラボノイド量について

抗酸化能発現に関与しているポリフェノールおよびフラボノイドの含有量について検討した。すなわち、季節ごとに入手した葉部位の中に含まれている総ポリフェノール量および総フラボノイド量を定量した結果を表5に示す。季節ごとに抽出した粗油分について、シリカゲル(Silica gel 60)を充填したカラムクロマトグラフィーを用いて、アセトン溶媒で分離した(2b)~(5b)の油分中に含ま

表1 クロモジ花卉(1)の香気成分

No.	R.T. ^{a)}	Compound	Peak Area (%)
1	7.35	Silvan	1.59
2	11.32	(1R)-(+)- α -Pinene	3.16
3	12.88	Camphene	1.08
4	14.14	β -Pinene	0.25
5	15.78	β -Myrcene	1.51
6	15.86	α -Phellandrene	0.60
7	16.02	Pseudolimonene	0.18
8	16.37	Terpinolene	1.31
9	17.08	D-Limonene	38.62
10	17.43	β -Thujene	0.95
11	17.84	Cineole	0.78
12	18.75	γ -Terpinene	3.86
13	18.90	(Z)- β -Ocimene	0.48
14	19.43	Styrene	0.84
15	19.72	<i>p</i> -Cymene	7.14
16	20.08	(+)-4-Carene	0.79
17	25.17	<i>p</i> -Cymenene	1.52
18	25.56	Acetic acid	0.77
19	27.88	Benzaldehyde	1.41
20	27.98	(-)- α -Gurjunene	0.39
21	29.83	2-Isopropyl-4-methylanisole	0.17
22	29.92	β -Caryophyllene	0.49
23	29.99	4-Terpineol	0.57
24	30.55	Methyl benzoate	2.79
25	30.82	(+)-Dihydrocarvone	2.79
26	31.68	Ethyl benzoate	0.22
27	32.48	(+)-Ledene	0.16
28	33.17	Benzyl acetate	1.18
29	33.35	4-Methoxybenzaldehyde oxime	1.91
30	34.52	Methyl salicylate	1.42
31	39.49	Phenol	0.62
32	40.31	Anisaldehyde	0.21
33	41.19	Heneicosane	1.61
34	41.35	Methyl cinnamate	0.33
35	50.77	Benzoic acid	0.56
-	-	Others	17.74
		Total	100.00

a) Retention Time (min).

表2 季節ごとのクロモジ葉(2)~(5)の香気成分

No.	R.T. ^{a)}	Compound	Peak Area (%)			
			(2)	(3)	(4)	(5)
1	4.24	1-Pentene	-	-	0.04	-
2	4.66	<i>cis</i> -3-Hexene	-	-	0.07	-
3	4.74	<i>trans</i> -1,3-Pentadiene	-	-	0.41	-
4	4.81	1,3-Pentadiene	-	-	-	0.02
5	4.85	1,4-Pentadiene	-	-	0.35	-
6	5.41	Dimethyl sulfide	0.72	0.07	-	0.04
7	5.58	2-Cyclopropylidenepropane	-	-	5.07	-
8	5.64	1,3-Hexadiene	-	-	0.15	0.22
9	6.54	2,4-Hexadiene	-	-	0.68	-
10	6.60	(Z,Z)-2,4-Hexadiene	-	-	0.11	0.03
11	7.64	Methyl propionate	0.37	-	-	-
12	9.90	2-Ethylfuran	-	0.05	0.44	0.13
13	10.68	2-Pentanone	-	-	1.81	-

季節の移り変わりにおける隠岐島産クロモジ（葉および枝）の香気成分について

14	10.91	Methyl 2-methylbutyrate	0.31	-	-	-
15	11.48	α -Thujene	0.27	-	-	-
16	12.22	(1R)-(+)- α -Pinene	2.27	0.08	-	-
17	13.83	Camphene	1.55	0.02	-	-
18	14.39	Hexanal	-	-	0.30	-
19	14.56	Sabinene	0.09	-	-	-
20	15.11	β -Pinene	0.83	0.02	-	-
21	16.22	<i>trans</i> -2-Pentenal	-	-	-	0.04
22	16.31	Pseudolimonene	0.20	-	-	-
23	16.93	β -Myrcene	-	0.30	0.12	0.83
24	17.25	α -Phellandrene	0.99	0.13	-	0.11
25	17.34	Methyl tiglate	3.14	-	-	-
26	17.79	(+)-4-Carene	3.52	-	0.09	-
27	17.81	α -Terpinene	-	0.46	-	0.30
28	17.78	β -Phellandrene	1.92	-	-	-
29	18.36	<i>n</i> -Dodecane	-	-	0.06	0.13
30	18.51	D-Limonene	31.98	2.98	1.46	6.25
31	18.77	Limonene	-	-	-	0.20
32	18.91	2-Thujene	-	0.25	-	0.24
33	19.09	1,8-Cineole	2.39	1.33	3.06	2.17
34	19.44	<i>trans</i> -2-Hexenal	-	-	1.67	1.62
35	19.72	(<i>E</i>)- β -Ocimene	-	-	-	0.09
36	20.22	γ -Terpinene	5.10	0.48	0.08	0.69
37	20.33	(<i>Z</i>)- β -Ocimene	0.68	0.08	-	0.13
38	20.58	Benzocyclobutene	-	0.04	-	-
39	21.18	<i>p</i> -Cymene	-	1.08	-	6.68
40	21.34	Terpinolene	1.61	0.19	-	0.38
41	22.66	(<i>Z</i>)-2-Pentenol	-	-	0.49	0.11
42	23.27	6-Methyl-5-hepten-2-one	-	-	0.16	0.18
43	23.71	1-Hexanol	-	-	8.78	0.74
44	24.04	<i>trans</i> -3-Hexen-1-ol	-	-	1.14	-
45	24.30	Alloocimene	0.11	-	-	0.08
46	24.70	Leaf alcohol	0.15	0.08	24.45	8.31
47	25.03	<i>n</i> -Tetradecane	-	-	-	0.30
48	25.20	1-Methylcyclohexene	-	-	0.19	0.07
49	25.34	<i>trans</i> -2-Hexen-1-ol	-	-	5.42	1.04
50	25.59	<i>cis</i> -2-Hexen-1-ol	-	-	0.59	0.08
51	25.91	2-Methyl-6-hepten-1-ol	0.10	-	-	-
52	26.29	Isodene	0.24	-	-	-
53	26.39	<i>p</i> -Cymenene	0.45	0.27	0.32	0.89
54	26.60	1,5,5-Trimethyl-6-methylenecyclohexene	0.24	-	-	-
55	26.60	<i>trans</i> -Linalool oxide	-	0.08	-	-
56	26.74	α -Elemene	0.24	-	-	-
57	26.92	Sulcatol	-	-	-	0.05
58	27.02	α -Cubebene	0.28	0.03	-	-
59	27.44	<i>cis</i> -Linalool oxide	-	0.03	-	-
60	27.78	<i>cis</i> -3-Hexenyl isovalerate	-	-	-	0.12
61	27.93	D-Camphor	0.19	-	-	-
62	28.06	(4 α ,5 β ,6 α ,7 α ,10 α)-1-Aromadendrene	0.07	-	-	-
63	28.15	(-)- α -Gurjunene	1.67	-	-	-
64	28.61	(3 <i>Z</i>)-3,5-Hexadien-1-ol	-	-	0.09	-
65	29.27	Benzaldehyde	-	-	-	0.44
66	29.33	Linalool	-	0.27	0.11	0.98
67	29.52	γ -Maaliene	0.45	-	-	-
68	29.96	(+)-Calarene	0.13	-	-	-
69	30.08	β -Caryophyllene	10.69	-	-	-
70	30.35	(+)-Aromadendrene	2.22	-	-	-
71	30.47	(-)-Aromadendrene	1.04	-	-	-
72	30.56	(-)-Alloaromadendrene	0.55	-	-	-
73	30.59	DL-Isobornyl acetate	-	0.05	-	-
74	30.74	β -Elemene	-	0.19	-	-
75	30.79	<i>n</i> -Hexadecane	-	-	-	0.10

76	31.17	Terpinen-4-ol	-	4.20	0.49	1.59
77	31.41	Humulen-(v1)	0.43	-	-	-
78	31.67	Dihydrocarvone	2.15	19.13	12.71	19.08
79	32.04	Humulene	0.73	-	-	-
80	32.64	(+)-Ledene	1.05	-	-	-
81	32.89	L-Camphene	-	-	0.42	0.15
82	32.90	α -Bergamotene	0.49	-	-	-
83	33.13	γ -Selinene	-	0.11	-	0.09
84	33.29	(+)- γ -Gurjunene	0.53	-	-	-
85	33.29	3-Isopropylidene-6-methyl- cyclohexene	-	0.67	-	-
86	33.55	2-Isopropyl-5-methyl-3- cyclohexen-1-one	0.29	-	-	-
87	33.56	α -Terpineol	-	1.13	0.11	0.26
88	33.64	γ -Pyronene	0.30	-	-	-
89	33.74	<i>m</i> -Mentha-1,8-diene	-	-	0.14	0.05
90	33.81	DL-Isoborneol	-	0.15	-	-
91	34.09	δ -Cadinene	0.45	0.15	-	-
92	34.24	3,8- <i>p</i> -Menthadiene	-	2.51	1.16	-
93	34.26	γ -Muurolene	0.28	-	-	-
94	34.43	α -Selinene	-	0.20	-	-
95	34.58	β -Selinene	-	0.15	-	0.10
96	34.59	(+)-Neoisodihydrocarveol	0.25	-	-	-
97	34.81	Methyl (2 <i>E</i> ,4 <i>Z</i>)-2,4-decadienoate	0.15	-	-	-
98	34.87	D-Carvone	-	13.66	1.03	0.42
99	34.90	1,6-Dihydrocarveol	0.31	-	0.96	-
100	35.52	α -Curcumene	-	-	-	0.13
101	35.73	Dihydrocarveol	-	11.60	1.98	2.93
102	35.99	(2 <i>Z</i>)-2-(3,3-Dimethyl cyclohexylidene) ethanol	-	0.18	-	-
103	36.30	Neodihydrocarveol	-	28.07	1.81	10.02
104	36.89	(-)- <i>cis</i> -Carveol	-	0.33	-	-
105	37.10	Methyl cumate	0.20	-	-	-
106	37.10	Dihydro- β -ionone	-	0.12	-	-
107	37.20	Calamenene	0.36	0.12	0.08	0.15
108	37.57	2-Hydroxycineole	-	0.47	-	0.07
109	37.72	Dicyclobutylidene	-	-	0.47	-
110	37.74	Bicyclo[3.2.0]hept-3-en-2-one	-	0.21	-	0.20
111	37.91	Benzyl Alcohol	-	-	-	0.05
112	38.16	1-(2-Methylenecyclopropyl) cyclopentanol	-	0.09	-	-
113	38.80	2-Phenylethyl alcohol	0.07	-	-	0.11
114	39.81	Calamene	-	-	-	0.05
115	41.18	Nerolidol	-	0.11	-	0.05
116	45.39	Carvacrol	-	0.08	-	-
117	45.39	Thymol	-	-	0.39	-
118	45.40	Biosol	-	-	-	0.10
119	46.42	Cadalinene	-	-	-	0.09
120	46.82	Limonene-1,2-diol	-	0.06	-	-
121	47.81	Paeonol	-	0.46	-	-
-	-	Others	15.20	7.48	20.54	30.52
Total			100.00	100.00	100.00	100.00

a) Retention Time (min).

表3 溶媒分画した季節ごとのクロモジ葉(2a)~(5a)

No.	R.T. ^{a)}	Compound	Peak Area (%)			
			(2a)	(3a)	(4a)	(5a)
1	17.24	1,8-Cineole	-	1.02	-	-
2	21.54	Linalool	1.71	0.86	1.27	1.62
3	25.93	Terpinen-4-ol	1.53	2.47	2.18	2.09

季節の移り変わりにおける隠岐島産クロモジ（葉および枝）の香気成分について

4	26.77	Dihydrocarvone	26.77	18.21	40.46	32.96
5	27.87	Dihydrocarveol	-	-	0.89	1.06
6	28.87	Carvone	-	19.74	7.66	1.55
7	34.80	Dihydrocarveol acetate	1.69	0.60	-	-
8	36.13	Geranyl acetate	3.61	1.71	1.20	-
9	38.00	<i>n</i> -Undecane	1.70	-	-	-
10	38.82	(<i>Z,E</i>)- β -Farnesene	-	-	1.27	-
11	38.84	Farnesol	2.80	-	-	-
12	41.75	(<i>Z,E</i>)- α -Farnesene	-	1.34	-	-
13	42.20	α -Serinene	-	0.79	-	-
14	44.64	Nerolidol or <i>cis</i> -Nerolidol	5.59	2.86	3.72	2.33
15	45.40	(-)-Spathulenol	3.54	-	-	-
16	45.60	Caryophyllene oxide	2.88	-	-	-
17	46.70	2-Methylheptadecane	2.07	-	-	-
18	49.51	Benzalacetylacetone ^{b)}	-	-	3.06	1.82
19	60.89	4- <i>tert</i> -Butylcyclo-hexanone diethyl acetal	4.81	-	-	-
20	63.93	9,12,15-Octadecatrienal	-	-	1.24	4.71
21	64.71	Phytol	3.86	26.76	11.12	24.02
22	72.19	Pinostrobin chalcone	12.69	10.28	8.53	11.16
23	73.39	Octadecanal	-	1.64	1.20	1.76
24	76.76	Unknown	18.71	1.46	1.03	1.07
-	-	Others	6.04	10.26	15.17	13.85
Total			100.00	100.00	100.00	100.00

a) Retention Time (min). b) Similarity 70.

表4 季節ごとのクロモジ枝(6)~(8)の香気成分

No.	R.T. ^{a)}	Compound	Peak Area (%)		
			(6)	(7)	(8)
1	12.31	(\pm)- α -Pinene	0.06	0.57	0.79
2	13.88	Camphene	-	-	0.28
3	14.86	(+)-4-Carene	-	0.16	-
4	15.10	<i>cis</i> -2,6-Dimethyl-2,6-octadiene	0.02	-	-
5	15.16	(\pm)- β -Pinene	-	-	0.19
6	16.50	<i>o</i> -Xylene	-	0.17	-
7	16.67	Carene	0.22	1.16	1.66
8	16.77	7,7-Dimethyl-2-methylenenorbornane	-	-	0.11
9	17.18	β -Myrcene	2.91	4.19	1.98
10	17.25	α -Phellandrene	-	-	0.36
11	17.66	4-Carene	0.22	1.70	-
12	18.74	(\pm)-Sabinene	0.33	-	0.72
13	18.78	Limonene	3.07	14.13	17.77
14	19.17	1,8-Cineol	3.73	3.29	4.69
15	19.79	<i>trans</i> - β -Ocimene	0.41	0.59	0.27
16	20.29	γ -Terpinene	0.19	0.88	0.61
17	20.40	(<i>Z</i>)- α -Ocimene	-	1.21	-
18	20.88	<i>m</i> -Cymene	0.04	0.46	-
19	21.00	<i>o</i> -Cymene	0.93	-	-
20	21.20	<i>p</i> -Cymene	-	-	10.21
21	21.26	3-Isopropenyl-5-methylcyclohexene	-	9.93	-
22	21.56	Terpinolene	0.23	0.19	0.82
23	21.64	α -Terpinene	-	1.42	0.76
24	21.73	Isoamyl isovalerate	0.04	-	-
25	24.22	(4 <i>E</i> ,6 <i>E</i>)-Allocimene	0.48	-	-
26	24.34	(4 <i>E</i> ,6 <i>Z</i>)-Allocimene	0.13	0.67	0.53
27	24.70	3-Hexen-1-ol	0.18	-	-
28	24.80	4-Methyl-3-penten-1-ol	-	0.14	0.05
29	25.08	1,3,8- <i>p</i> -Menthatriene	0.06	-	-
30	26.43	2- <i>p</i> -Tolyl-1-propene	0.54	1.45	0.81

31	26.62	α -Linalyl oxide	0.50	-	-
32	26.92	2-Methyl-6-hepten-1-ol	-	0.08	-
33	27.43	<i>cis</i> -Linaloloxide	0.11	0.31	-
34	27.45	β -Linalyl oxide	-	-	0.16
35	28.00	Ylangene	-	0.10	-
36	28.27	Copaene	-	0.26	0.10
37	29.10	Benzaldehyde	-	-	2.25
38	29.42	Linalool	19.13	5.62	5.69
39	30.38	(-)- α -Chamigrene	0.11	-	-
40	30.76	Patchoulene	-	0.36	-
41	31.25	4-Terpineol	1.98	1.16	2.24
42	31.44	(-)- β -Caryophyllene	0.10	-	2.24
43	31.71	(+)-Dihydrocarvone	21.37	15.14	9.51
44	32.55	(<i>E</i>)- β -Farnesene	0.80	-	-
45	33.27	α -Caryophyllene	0.47	-	-
46	33.34	1,5,5-Trimethyl-6-methylene cyclohexene	-	-	0.79
47	33.57	(S)-(-)- α -Terpineol	-	0.31	-
48	33.73	Carvestrene	-	0.31	-
49	33.74	2-Carene	-	-	0.14
50	33.86	Isoborneol	-	0.17	0.20
51	34.17	α -Elemene	-	0.26	0.21
52	34.29	<i>p</i> -Menth-3-ene	1.28	1.56	3.39
53	34.39	(S)- β -Bisabolene	1.77	-	-
54	34.47	α -Muurolene	-	-	0.80
55	34.50	4-Isopropyl-6-methyl-2- cyclohexen-1-one	-	2.77	-
56	34.67	α -Bergamotene	0.52	-	-
57	34.75	2-Isopropyl-5-methyl-3- cyclohexen-1-one	-	0.18	-
58	34.93	(-)-Dihydrocarveol	1.81	4.83	8.00
59	35.02	(R)-(+)-Citronellol	2.35	-	-
60	35.33	D-Cadinene	0.32	0.64	0.58
61	35.50	Curcumene	2.03	-	0.66
62	35.95	Nerol	0.91	-	-
63	36.37	(+)-Neodihydrocarveol	1.42	-	5.40
64	36.89	(+)- <i>cis</i> -carveol	1.02	-	-
65	37.01	Geraniol	4.36	-	0.10
66	37.22	L-Calamenene	0.26	0.97	0.75
67	37.59	2-Hydroxy-1,8-cineole	-	-	0.09
68	37.74	Bicyclobutylidene	0.07	0.47	0.07
69	38.31	Benzyl isovalerate	0.05	-	-
70	38.62	Geranyl acetate	0.34	-	-
71	39.18	α -Calacorene	-	0.12	0.09
72	42.35	1,3-Cyclododecadiene	0.08	-	-
73	45.40	<i>o</i> -Cymen-5-ol	-	0.44	-
74	45.72	α -Bisabolol	0.13	-	-
75	46.42	Cadalin	-	0.10	0.11
76	47.81	Paeonol	0.32	-	-
-	-	Others	22.60	21.53	13.82
Total			100.00	100.00	100.00

a) Retention Time (min).

季節の移り変わりにおける隠岐島産クロモジ（葉および枝）の香気成分について

表 5 クロモジ花弁(1)、溶媒分画した季節ごと葉(2a)~(5b)の抗酸化能活性、総ポリフェノールおよびフラボノイド量

Sample ^{a)}	DPPH Radical Scavenging Assay	SOD-Like Activity Assay	Total Polyphenol (g-PGE ^{f)} /100g-Leaf)	Total Flavonoid (g-CE ^{g)} /100g-Leaf)
	Scavenging Rate (%) ^{b)}	Inhibition Rate (%) ^{c)}		
(1)	81.9	23.8	0.29	0.20
(2a)	39.2	7.3	-	-
(3a)	46.7	10.7	-	-
(4a)	93.7	7.4	-	-
(5a)	91.4	5.5	-	-
(2b)	-	-	0.03	0.12
(3b)	-	-	0.08	0.12
(4b)	-	-	0.13	0.25
(5b)	-	-	0.05	0.09
α -Tocopherol ^{d)}	93.1	-	-	-
Ascorbic acid ^{e)}	-	38.1	-	-

a) Concentration : 1.0 mg/mL. b) Final concentration : 0.4 mg/mL. c) Final concentration : 0.04 mg/mL.
d) Concentration : 0.04 mg/mL. e) Concentration : 0.1 mg/mL. f) Propyl Gallate Equivalents.
g) Catechin Equivalents.

表 6 季節ごとのクロモジ枝を溶媒分画した油分(6)~(8)の抗酸化能活性

Sample ^{a)}	DPPH Radical Scavenging Assay	SOD-Like Activity Assay
	Scavenging Rate (%) ^{b)}	Inhibition Rate (%) ^{b)}
(<i>n</i> -Hexane•Ext.)		
(6)	57.9	23.6
(7)	51.4	22.0
(8)	52.9	21.5
(CHCl ₃ •Ext.)		
(6)	59.3	19.8
(7)	62.9	24.5
(8)	57.4	20.7
(EtOAc•Ext.)		
(6)	94.2	20.5
(7)	94.0	22.8
(8)	94.8	21.1
(<i>n</i> -BuOH•Ext.)		
(6)	94.0	16.3
(7)	95.7	19.5
(8)	95.3	24.4
(Water Layer)		
(6)	91.8	29.9
(7)	92.8	30.1
(8)	93.5	30.7
α -Tocopherol ^{c)}	93.1	-
Ascorbic acid ^{d)}	-	38.1

a) Concentration : 0.1 mg/mL. b) Final concentration : 0.04 mg/mL.
c) Final concentration : 0.016 mg/mL. d) Final concentration : 0.004 mg/mL.

れる総ポリフェノール量は、(2b)に 0.03g、(3b)に 0.08g、(4b)に 0.13g および(5b)に 0.05g が含まれていることを定量した。また、総フラボノイド量は(2b)に 0.12g、(3b)に 0.12g、(4b)に 0.25g および(5b)に 0.09g が含まれていることを定量した。このことから、最も多くのポリフェノールおよびフラボノイドが含まれているのは 8 月に入手した葉部位であり、4 月から 8 月頃にかけてポリフェノール量およびフラボノイド量が増加し、10 月頃には減少することを確認した。一般的にポリフェノールおよびフラボノイドは抗酸化物質として知られており、これらの結果から葉部位では夏時期の気温や日差しに備えて、植物はポリフェノールおよびフラボノイドを蓄積しているものと考察した。

4.4. 抗菌活性について

一般的に C₁₀ のモノテルペニルアルコール類であるリナロールなどには抗菌活性があることが報告²¹⁾されている。著者らが今回行った葉部位のカラムクロマトグラフィー処理で得た油分(2a)～(5a)に対する抗菌活性試験(枯草菌, 大腸菌, 黄色ブドウ球菌および緑膿菌)を行ったが、期待した抗菌活性は認められなかった。その要因としては、リナロールおよびカルボンなどのテルペノイドを含む割合が低い油分であったことが考えられ、また、従来から著者らが報告²²⁾している抗菌活性発現の濃度を 60μL に限定して抗菌活性試験を行っていることから、このような結果が得られたものと考えられる。抗菌活性が発現するモノテルペノイドを含む試料については、試料濃度による依存性の傾向を検討する必要があるものと考察した。

以上、本研究により香气成分は季節ごとに主成分や含有量に大きく異なった結果が得られ、リラックス効果を示すリナロール、d-リモネンおよびジヒドロカルボンが多く含まれていることを明らかにした。また、クロモジの枝の抗酸化能活性は季節の変化による影響を受けないことを確認した。本研究で入手した隠岐島のクロモジについては、4 月頃に入手した花部位および葉部位には、経皮吸収促進効果あるいは抗炎症効果を持つ d-リモネンが主成分であることから、湿布薬などに利用することが考えられる。また、8 月頃に入手した葉部位はより高い抗酸化能活性を発現したことから、さまざまな分野(化粧品および食品関係)での用途開発が期待される。

5. 謝辞

本研究を行なうにあたり、隠岐島町海士町付近に生育している貴重な天然物資源であるクロモジ各部位を季節ごとに、ご恵与していただきました社会福祉法人・だんだん「さくらの家」(島根県隠岐郡海士町)の本田美智子様

6. 参考文献

- 1) 加藤雅啓, 海老原淳, “日本の固有植物”, 東海大学出版会, pp.49-50(2011).
- 2) 仁井皓迪, 古川 靖, 岩切三男, 久保田尚志, クロモジ果実の成分について, *Nippon Nogeikagaku Kaishi*, Vol.57, No.2, pp.151-154(1983).
- 3) 中田辰雄, クロモジ精油, *Aroma Research*, No.62, (Vol.16/No.2, 2015), pp.17-20.
- 4) 瀧口晶子, 喜多江理香, 千葉良子, インターネット上で流通している国内産クロモジ油, スギ精油およびヒノキ精油の品質調査, *Aroma Research*, No.62, (Vol.16/No.2, 2015), pp.28-33.
- 5) 河野昭一, “植物の世界・樹木編”, ニュートンプレス, pp.231-235(2001).
- 6) 増田和夫, “自分で採れる薬になる植物図鑑”, 柏書房株式会社, p.91 (2006).
- 7) 澤田昌治, クロモジ香料組成物及び新規化合物の製造方法, 特願 2009-283397(2009).
- 8) 北澤宏明, 北川 優(東洋紡績株), 化粧品組成物, 公開特許公報(JP2010043040).
- 9) 古畑光治, 堀口貞次郎, 加藤正秀, 烏樟の薬学的研究(第 1 報)クロモジ油の季節的变化について, 86(8), pp.683-687 (1966).
- 10) 井上重治, 安部茂, “抗菌アロマセラピーへの招待”, フレグランスジャーナル社, pp.99-223 (2011).
- 11) 上川智弘, 赤壁善彦, クロモジ(*Lindera umbellata*)の香气成分について, 第 52 回香料・テルペンおよび精油化学に関する討論会講演要旨集, pp.81-83, (2008 年 10 月 25 日発行).
- 12) 赤壁善彦, 上川智弘, クロモジ精油のリラックス効果, 日本味と匂学会誌, Vol.18, No.3, pp.591-594 (2011).
- 13) 斎藤あけみ, 佐藤和恵, 千葉良子, 精油の香りに対する嗜好が生理反応に与える影響 —スギ葉精油とクロモジ枝葉精油の比較—, *Aroma Research*, No.63, (Vol.16/No.3, 2015), pp.60-65.
- 14) 稲本 正, クロモジが発する香りの機能はどこまで追跡されているか, *Aroma Research*, No.66, (Vol.17, No.1, 2016), pp.31-36.
- 15) H.Tominaga, M.Kobayashi, T.Goto, K.Kasemura, M.Nomura, DPPH Radical-scavenging Effect of Several Phenylpropanoid Compounds and Their Glycoside Derivatives, *YAKUGAKU ZASSHI*, 125(4), pp.371-375 (2005).
- 16) T.Tada, M.Nomura, K.Shimomura, Y.Fujihara, Synthesis of Karahanaenone Derivatives and Their Inhibition Properties toward Tyrosinase and Superoxide Scavenging Activity, *Biosci. Biotech. Biochem.*, 60, pp.1421-1424(1996).

- 17) 岩浅潔, 鳥井秀一, 酒石酸鉄による茶タンニンの比色定量法, 茶業研究報告, 19, pp.104-108(1962).
- 18) Xincheng Yao, Ling Zhu, Yuxin Chen, Jun Tian, Youwei Wang, In vivo and in vivo antioxidant activity and α -glucosidase, α -amylase inhibitory effects of flavonoids from *Cichorium glandulosum* seeds, Food Chemistry, 139, pp.59-66(2013).
- 19) 松下雪郎, 油脂とタンパク質との相互作用, 日本油化学会, Vol.20, No.4, pp.195-204(1971).
- 20) M.Kuroda, K.Sakurai, Y.Mimaki, Chemical constituents of the stems and twigs of *Lindera umbellata*, J. Nat.Med., 65, pp.198-201(2011).
- 21) 上村繁樹, 山口菜摘, 大久保 努, 吉井文子, 香りの抗菌活性の評価の改変と香り分子の組み合わせによる抗菌活性の向上, におい・かおり環境学会誌, 44(6), pp.397-404(2013).
- 22) 邊見篤史, 小路美紀, 沖田明日香, 横野一步, 岡田芳治, 野村正人, ヤマモモ (*Myrica rubra* SIEB. et ZUCC.VC)種子中の油脂成分とその生理活性について, 近畿大学工学部研究報告, No.50, pp.7-13(2016).