東京農大農学集報, 53 (2), 91-95 (2008)

論 文 Articles

スイートバジルの葉の着生位置による 香気成分および精油成分の変化

市村匡史*·野口有里紗*·木村正典**

(平成 19 年 10 月 11 日受付/平成 20 年 3 月 14 日受理)

要約:着生位置を異にするスイートバジルの葉の香りをガスクロマトグラフィーのヘッドスペース法による香気成分と水蒸気蒸留法で得た精油成分で比較検討した。葉の香気成分は、主枝葉、側枝葉とも α -pinene, β -pinene, 1,8-cineol, linalool の 4 成分が検出され、1,8-cineol の割合が最も高かった。低沸点成分である α -pinene と β -pinene は水蒸気蒸留法では極めて少なかったが、ヘッドスペース法では 5% 内外と多かった。同じく低沸点成分である 1,8-cineol は水蒸気蒸留法では 5% 以下であったのに対して、ヘッドスペース 法では 30% 以上と多かった。こうしたことから、生葉の香りに対しては低沸点成分が重要な役割を果たしていることが明らかとなった。

キーワード:スイートバジル、葉の着生位置、ヘッドスペース法、香気成分、精油成分

緒 言

シソ科ハーブ類の香りは植物体表面に分布する腺毛に蓄えられている精油が揮発することによるものである。そのため、香りの評価は、水蒸気蒸留によって得られた精油量や、ガスクロマトグラフによって精油成分を分析することで行われてきたい。また、精油含量は生育のステージによって異なることが、多数報告されている²⁻⁶⁾。著者らもスイートバジルの生育に伴う葉の精油含量を検討し、主枝、第1次側枝の開花期に最も高くなることを明らかにしたが、生育初期には植物体が小さかったため、精油の採取には1回の水蒸気蒸留に230株を供試する必要があったで。葉の着生位置や葉齢による精油含量の比較においても同様であったことから、葉の着生位置の検討では、3節分の葉をまとめて下段葉、中段葉、上段葉として精油を採取する必要があった。精油採取に多くの葉を必要とすることが、植物体中の精油の動態の詳しい検討を困難にしている。

本報では、数枚の葉で香気成分の分析が可能なヘッドスペース法により生葉の香りを分析して、生育に伴う葉の香気成分の変化について詳しく検討するとともに、生葉と精油では香りに差があることから、水蒸気蒸留によって求めた精油成分とも比較検討した。

材料および方法

1. 葉の着生位置による香気成分の差異

供試したスイートバジル (Ocimum basilicum L.) の種子は、オランダから 1985 年に導入し、その後代々自殖を繰り返して採種を続けたほぼ純系に近いものであった。 1994年7月 28 日に無加温のガラス温室で播種し、本葉 2 枚展

開時 (8月12日) に 1/5000 a ワグナーポットに定植して栽 培,育成し,供試株数は220株とした。幼葉が展開し始め, 葉身全体が確認できた日を出葉日とし、この日から8日目 の葉身長が約3~6cm の葉を採取して、直ちに新鮮重を測 定した後、各分析実験に供した。ヘッドスペースガス採取 用には、主枝の第3節から第11節までの8節分の主枝葉 と、主枝の第4節を除く第5節までに発生した各側枝の第 4節葉と、主枝第1節から発生した側枝のみ第7節葉を加 えた5節分の第1次側枝葉を、各節1枚ずつ異なった2株 から採取した。この2枚の葉をバイアル瓶に密封した後、 40℃で30分間保温してバイアル瓶内に香気成分を気化さ せてヘッドスペースガスを得た。精油採取用には主枝では 第4,7,10節の,側枝ではヘッドスペースガス採取用と同 様の節の対生する2枚の葉をヘッドスペースガス採取用と は異なる 180 株から採取した。ヘッドスペースガスおよび 精油は島津14A ガスクロマトグラフで分析した。分析条 件は、カラムは Carbowax 20M, 0.2 mm×25 m, キャリア ガスは He で、流量は 0.62 mL・min⁻¹ であった。検出器温 度は290℃で、カラム温度は55℃から210℃まで、毎分4 ℃ で昇温した。分析結果の表示はこれまでの面積百分率 (%) に加えて、絶対検量線法によって各成分含量 (mg・ kg⁻¹・fw⁻¹) **も求めた**。

2. 香気成分発現におけるバイアル瓶の保温温度の影響 1994 年 11 月 20 日に最低温度を 20℃ に保ったガラス温室で播種し、12 月 20 日に 1/5000 a ワグナーポットに定植後、人工光ファイトトロン(昼温 30℃、夜温 25℃、12 時間日長、PPFD400 μmol·m⁻²·S⁻¹)に搬入して栽培し、24 株を供試した。1 の実験と同様に、出葉日から 8 日目の同

^{*} 東京農業大学農学部農学科

^{**} 東京農業大学農学部バイオセラピー学科

一着生位置(第2次側枝第2節)の葉を採取し、表6のようにバイアル瓶の保温温度を40℃から100℃まで10℃毎に7段階に変えて分析した。

結 果

1. 葉の着生位置による香気成分および精油成分の差異 生育は旺盛で、栽培を打ち切った第1次側枝開花期の10 月1日には、草丈は90cmを越え、主枝葉数は9月上旬の 花序着生期にはほぼ22枚に達し、側枝葉数は側枝の開花 最盛期である9月下旬まで著しく増加した(図1)。

主枝の各節位葉のヘッドスペース法による香気成分(以下香気成分)割合は表1に示した4成分を検出したが、1,8-cineolが最も多かった。いずれの成分とも下位節で低く、上位節になるにつれて高くなったが、側枝の発生が盛んになった生育中期の第7節以後にいったん低下した後、上位節で再び高くなった。

側枝葉においても、主枝上位節から発生した第1次側枝で高い傾向にあったが、主枝葉と同様に主枝第5節から発生した第1次側枝の葉でわずかに低く、この主枝第5節から発生した第1次側枝の第4節葉に比べてほぼ同時期に展開した主枝第1節から発生した第1次側枝の第7節葉で高かった(表2)。

精油含量は、主枝葉においては上位節の葉ほど多く、側枝葉では主枝上位節から発生した側枝葉で、また、同じ側枝では上位節葉で多かった。精油成分割合はいずれの葉でも eugenol が50% 内外を占めて最も高く、主枝、側枝とも下位節葉で高く、上位節葉で低い傾向がみられ、同じ側枝では上位節葉で低かった(表3)。

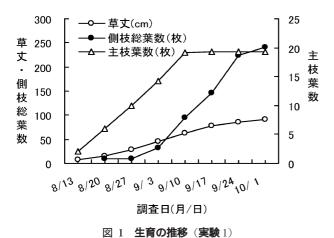


表 1 主枝葉の香気成分割合 (%/新鮮葉2枚) に及ぼす 葉の着生位置の影響

	主枝節位								
香気成分-	3	4	5	6	7	8	9	10	11
α-pinene	1.3	2.7	3.4	3.5	3.2	2.5	3.1	3.4	2.3
eta –pinene	1.7	2.8	4.3	5.2	4.7	3.4	5.2	5.5	4.5
1,8-cineol	6.6	7.2	12.4	24.5	17.5	9.8	25.2	31.6	32.9
linalool	0.4	tr.	3.8	3.7	2.0	4.8	5.5	10.2	10.3

香気成分と精油成分濃度の比較では、精油成分では低沸 点成分の α -pinene や β -pinene が検出されず、逆に香気 成分では高沸点成分の eugenol が検出されなかった(表 4,5)。

2. 香気成分発現におけるバイアル瓶の保温温度の影響 生育は実験 1 とほぼ同様であったが、主枝葉数が 18 枚 と少なかった(図 2)。

バイアル瓶の保温温度を上げた時、 α -pinene, β -pinene, 1,8-cineol の含有割合にはほとんど変化が認められなかったが、linalool はバイアル瓶の保温温度を上げるほど含有割合が高く、eugenol は 60° までは検出されなかったが、

表 2 側枝葉の香気成分割合 (%/新鮮葉2枚) に及ぼす 葉の着生位置の影響

————— 香気成分 -	主枝節位一側枝節位						
日 X ()及力 -	1-4	2-4	3-4	5-4	1-7		
α−pinene	2.6	2.7	3.4	3.1	3.3		
β -pinene	4.5	4.3	5.5	4.8	5.4		
1,8-cineol	24.8	18.3	32.7	30.7	37.3		
linalool	4.7	3.2	9.2	4.4	8.3		

表 3 主枝葉と側枝葉の精油含量*と精油成分割合*に及ぼす 葉の着生位置の影響

 精油成分	主枝節位			Ė	主枝節位一側枝節位				
一种/田/火刀	4	7	10	1-4	2-4	3-4	5-4	1-7	
精油含量 精油成分割	0.2 合	0.9	1.4	0.3	0.5	0.7	1.5	0.6	
lpha –pinene	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.	
β-pinene	tr.	tr.	0.0	tr.	tr.	tr.	0.1	tr.	
1,8-cineol	0.1	0.6	1.0	0.1	0.2	1.5	3.4	0.6	
linalool	5.8	21.1	19.3	4.3	13.8	22.0	25.4	11.9	
eugenol	54.5	51.7	50.0	54.3	57.4	49.6	49.1	50.0	
z:mL·kg ⁻¹ ·fw ⁻¹ .				v:精油	当たり	J%			

表 4 主枝葉の香気成分と精油成分含量 $(mg \cdot kg^{-1} \cdot fw^{-1})$ に及ぼす葉の着生位置の影響

成 分 -	Ī	§ 気成:	分	精油成分			
192 71	4節	7節	10節	4節	7節	10節	
α−pinene	1.3	0.6	1.6	tr.	tr.	tr.	
eta –pinene	1.8	0.9	2.5	tr.	tr.	0.2	
1,8-cineol	5.1	4.7	18.4	0.1	5.8	21.7	
linalool	tr.	1.4	14.1	6.6	162.2	357.2	
eugenol	tr.	tr.	tr.	61.5	399.8	734.1	

表 5 **側枝葉の香気成分と精油成分含量** $(mg \cdot kg^{-1} \cdot fw^{-1})$ **に及ぼす葉の着生位置の影響**

 成 分		季気成 節位-側	:分 枝節位)	精油成分 (主枝節位-側枝節位)			
	1-4	2-4	3-4	1-4	2-4	3-4	
α-pinene	0.8	1.1	1.5	tr.	tr.	tr.	
eta –pinene	1.4	1.7	2.3	tr.	tr.	tr.	
1,8-cineol	8.9	8.5	16.8	0.2	1.1	8.7	
linalool	3.2	3.2	11.2	12.1	60.2	101.9	
eugenol	tr	tr	tr	155.3	2520	2313	

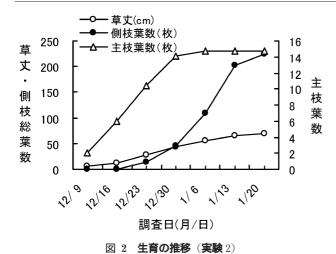


表 6 葉の香気成分割合 (%) に及ぼすパイアル瓶の保温 温度の影響 (実験 2)

———— 香気成分·	保 温 温 度								
百 火()火刀	40°C	50°C	60°C	70°C	80°C	90°C	100°C		
α−pinene	1.9	2.8	0.9	0.9	1.0	2.0	2.0		
eta –pinene	3.0	9.5	2.8	1.4	1.4	2.7	2.0		
1,8-cineol	26.0	40.9	27.0	19.2	22.2	38.7	34.2		
linalool	4.4	9.2	13.5	13.3	18.8	27.2	25.5		
eugenol	tr.	tr.	tr.	1.4	6.6	4.3	7.5		

70[°]C 以上で検出され、バイアル瓶の保温温度が高いほど含 有割合が高かった (表 6)。

考察

1. 葉の着生位置による香気成分および精油成分の差異 既報"と同様に、 着生位置を異にした葉の精油含量なら びに成分を分析するとともに、ヘッドスペース法による香 気成分を分析した。既報においては、主枝葉は3節ごとに、 第1次側枝は基部葉と先端葉に、第2次側枝葉はまとめて 分析したのに対し、本報ではヘッドスペース法と供試葉を あわせるため特定節位に限定して分析した。さらに、出葉 日から8日目に供試葉を採取したが、精油の含量ならびに 成分は既報とほぼ同様な傾向が認められ、上位節葉で精油 含量が多かった。精油成分でも、1,8-cineol と linalool は 上位節葉で多く、eugenol は最も多い成分であるがいずれ の着生位置の葉でも大差がなく、既報とほぼ同様な傾向が 認められた。しかし、香気成分については、検出できた成 分が α -pinene, β -pinene, 1,8-cineol, linalool σ 4 成分の みで、methyl eugenol や eugenol は検出されず、既報の 結果と異なった。いずれの成分割合とも上位節葉で高かっ たが、1,8-cineol が 30% 内外と極めて高かった。新鮮重あ たりの成分含量でもほぼ同様な結果が得られたことから、 品質評価に当たっては、面積百分率での成分割合で十分評 価ができるものと考えられた。

精油成分と香気成分では結果が異なったことから、従来精油含量や精油成分で行われてきたハーブの品質評価法を

ハーブによっては再検討する必要がある。スイートバジルにおいては精油と生葉で香りが異なることから、生葉を加熱調理しない利用場面では本報におけるヘッドスペース法や咀嚼を考慮した野口らのガラスビーズ振動処理法⁸⁾で評価すべきである。

香気成分発現におけるバイアル瓶の保温温度の影響 香気成分と精油成分で検出成分が異なったことについて は、両方法ともガスクロマトグラフで分析しており、精油、 ヘッドスペースガスとも、ガスクロマトグラフに注入後 は,290℃の気化室,55℃から210℃まで昇温されるカラ ムを経由して、検出器で検出され、同一経路をたどるため、 両方法に相違点は存在しなかったので、この結果の相違は ガスクロマトグラフにかけるまでの試料の調整の相違によ るものと考えられた。精油成分は、収穫した生葉を沸騰し ている蒸留釜で3時間水蒸気蒸留することにより生葉組織 中の精油を加熱し、蒸発させ、冷却管に誘導して冷却して、 精油として回収し、液体状の精油をガスクロマトグラフに 注入して分析した。一方、香気成分としては、生葉を採取 直後にパイアル瓶に密封し、ガスクロマトグラフの保温室 にバイアル瓶ごと挿入して 40℃ で 30 分加温し、バイアル 瓶内に生葉組織中の精油を気化させ、充満した精油気化ガ スをヘッドスペースサンプラーによって、ガスクロマトグ ラフに注入して分析した。ガスクロマトグラフの気化室は 290℃ の設定であり、この温度は液体状の少量の精油を気 化させるのに十分な温度であることから、ヘッドスペース ガスでも、精油でも差がないと考えられた。このように、 精油は100℃で沸騰している水蒸気蒸留によって得た精油 を分析しているが、香気成分は40℃で加温されて気化し た精油ガスを分析している点が異なっていた。精油成分と しては検出され、香気成分としては検出されなかった eugenol は、スイートバジルの精油の昇温分析において は、カラム内温度が約200℃まで上昇した後に検出される 高沸点成分であることから、100℃では気化できるが、 ヘッドスペース法の40℃の加温では十分に気化できな かったものと考えられた。

1の実験では、 香気成分として高沸点成分の検出ができ なかったことから、2の実験ではヘッドスペース法のバイ アル瓶の保温温度を 40° C から 10° C ずつ 100° C まで上げて 分析した結果,1 の実験では検出ができなかった eugenol が70℃以上の保温温度で検出でき、保温温度を上げるほ ど成分割合が増加した。また、ヘッドスペース法によって 検出された各成分の割合は、主枝、側枝のいずれの葉にお いても 1,8-cineol が最も多く、次いで linalool であった が、同じ着生位置の葉の精油分析の結果では、linalool の 割合が5%以上と eugenol に次いで多く、1,8-cineol が1 % 程度と少なかった。これは linalool が 1,8-cineol より高 沸点の成分であるため、100℃で気化させる精油では精油 中に容易に回収できるが、バイアル瓶の保温温度が40℃ のヘッドスペース法では、気化の程度が小さかったために 成分割合が低かったものと考えられた。このように気化さ せる温度で検出できる成分が異なったことから、成分の沸 点によっては検出できないものがあったり、検出できる成分であっても、その成分割合が変化するものと考えられた。

 α -pinene や β -pinene は 40° C のヘッドスペース法において、それぞれ $2\sim4\%$ の割合を占め、十分検出されていたにもかかわらず、精油法では全く検出されなかった。これは水蒸気蒸留によって精油を抽出する際、低沸点成分である α -pinene や β -pinene は低い温度で気化するため、今回用いた還流冷却管では完全に冷却しきれず、捕集が不完全で気散した可能性が高いと考えられた。

以上の結果、香気成分割合は生育の旺盛になる時期に低下すること、低沸点成分の α -pinene や β -pinene, 1,8-cineol は生葉の香りを構成する重要な成分であることが明らかになった。また、生葉と精油の香りの差は高沸点成分と低沸点成分の有無によって生じているものと思われた。さらに、気化する温度によってその香気成分の組成が異なること、生葉の香気成分と抽出した精油の精油成分では異なったことから、これまでの精油法によってなされてきた香りの評価は、高温での加熱調理や精油で利用する場合に限定するべきであり、生葉で利用する場合には、ヘッドスペース法による新たな評価が必要であると考えられた。

3. まとめ

香気成分と精油成分濃度の比較では、精油成分では低沸点成分の α -pinene や β -pinene が検出されず、逆に香気

成分では高沸点成分の eugenol が検出されなかった。しかし、いずれの成分とも含有割合は下位節で低く、上位節になるにつれて高くなることが明らかとなった。

引用文献

- 1) MARRIOTT, P.J., R. Shellie and C. CONEWELL, 2001. Gas chromatographic technologies for the analysis of essential oils. *J. Chromatgr. A.*, **936**, 1–22.
- 2) 坂田 功, 小清水弘一, 1980. 日本ハッカの各部位における メントール配糖体およびその他関連精油成分の分布と季節 的消長. 日本農芸化学会誌. 54 (12), 1037-1043.
- Duriyaprapan, S. and E.J. Britten, 1982. The effect of age location of leaf on quantity and quality of Japanese mint oil production. *J. Exper. Botany*, 33 (135), 810–814.
- Jogia, M.K., 1984. Essential oil composition at different stages of growth in two Fiji Ocimums. Fiji Agric. J., 46 (2) 9-12
- RAVID, U. and E. PUTIEVSKY, 1984. The influence of harvest dates leaf location on the essential oil content and major components of *Pelargonium Graveolens* L. Acta Horticulturae, 144, 159–165.
- 6) SINGH, R.S. and D.N. BORDOLOI, 1991. Changes in the linalool and methyl cinnamate amounts in a methyl cinnamate-rich clone of *Ocimum basilicum* at different growth stages. *J. Ess. Oil Res.*, 3, 475–476.
- 7) 市村匡史, 木村正典, 冨高弥一平, 1989. バジルの生育に伴 う葉の精油含量と成分の変化. 園学雑, 58 (別) 2, 332-333.
- 8) 野口有里紗, 市村匡史, 池田富喜夫, 2004. ガラスビーズの 振動処理で生じるスイートバジル葉の香気成分. 日本食品 保蔵誌, 30 (2), 65-68.

Changes in Flavor and Essential Oil Components by Location of Leaf in Sweet Basil (Ocimum basilicum L.)

By

Masashi Ichimura*, Arisa Noguchi* and Masanori Kimura**

(Received October 11, 2007/Accepted March 14, 2008)

Summary: The flavor of fresh sweet basil ($Ocimum\ basilicum\ L$.) leaves from different locations was investigated by the comparison between flavor components in head space method and essential oil components in steam distillation method for gas chromatography. Four flavor components which were α -pinene, β -pinene, 1,8-cineol and linalool were identified in the fresh leaves on the main stem and lateral branch by head space method and 1,8-cineol showed the highest percentage. α -pinene and β -pinene with low boiling point which were detected only very little by steam distillation method, were detected about 5% by head space method. Similarly, 1,8-cineol which occupied under 5% of essential oil, was detected above 30% by head space method. Therefore, these components with low boiling point had on important role in the flavor of fresh leaves.

Key words: sweet basil, head space method, steam distillation method, essential oil, flavor

^{*} Department of Agriculture, Faculty of Agriculture, Tokyo University of Agriculture

^{**} Department of Applied Biophilia, Faculty of Agriculture, Tokyo University of agriculture