

総 説

天然香料の分析法に関する研究()

大 野 幸 雄*

1 緒 言

植物の花,葉,茎,根及び果実等から採取される精油は香料工業の骨格をなすものであるが,天然資源に乏しい我が国ではその殆んどを海外産品に依存している現状である。現行関税制度¹⁾においては,植物精油はその種類,偽和物の添加,調合性の有無及び製造法(テルペン性副産油)により関税率表上の取扱いが異なるため,これらの識別が重要な課題となっている。

衆知のように,精油成分は組成的複雑さに加え,原料植物の産地,栽培,採油及び貯蔵などの諸条件の違いで変動を受け易く,精油類の分析を困難にする場合が多い。

また,天然香料の中で工業的に利用されている動物性のものはムスクやシベットなどに限定されているが,合成技術の飛躍的な進歩に伴いシベトンやムスコン類似の芳香を有する大環状ケトンやラクトンが合成され,これらをベースにした調合香料も市場に現れてきている。このため天然物との識別が必要になってきた。

一方,精油成分に関する研究は,従来生合成機構の解明,香気特性あるいは種間の比較を意図とする成分検索または天然有機化合物の構造並びに合成法の研究を目的とする場合が多く,精油の鑑別を目的としたものは少ない。近年,機器分析法の進歩により構成成分と香気特性の関係が次第に解明されるに及び,成分検索は品質管理や製品開発の面からも重要視されるに至っている。

最近特に進歩の著しい食品フレーバーの分野では,香りの分析は食品の品質にかかわる成分の分析としてとらえられてきており,まさに関連する成分の量的,質的变化の問題とされるまでになってきている。

本研究においては,輸入される香料原料の成分を検索することによって天然香料原料の鑑別基準を明らかにし,税関における現場分析として容易に適用できる分析方法の開発並びに迅速,正確な分析のために各種機器分析法の導入について研究した結果をまとめたものである。

2 天然香料の鑑別

2・1 ペパーミント油の種別鑑別^{1,3)}

はっか属植物の精油成分については,主としてその生合成機構の解明及び種間の比較の面から多くの研究が行われている。^{2,3,4)}通常,工業的に利用されているペパーミント油は植物分類学的に種を異にする *M.arvensis* 系と *M.piperita* 系のものである。*M.arvensis* 系ペパーミント油は我が国の貴重な香料原料であるため⁵⁾,貿易政策上関税暫定措置法⁶⁾で保護されている。このため外国産ペパーミント油の輸入にあたっては両種ペパーミント油の識別が必要になっている。しかし,これらのペパーミント油は主要成分の殆んどが類似し,各成分の含有割合にも極端な差がないため主要成分だけによる種の鑑別は難しい問題であった。これまでメントフランが *M.piperita* 系ペパーミント油の特有成分を考えられていたので,このメントフランの呈色を利用した Flückiger 反応⁷⁾が両種の違いを示す唯一の方法とされていた。その後,ペパーミント油の共通成分のうち,メントフランとメントン関連成分の含有量比及びリモネンとシネオールの含有量比とが植物種により特異的に分布をすることが識別に利用されるようになったが⁸⁾,メントフランは *M.arvensis* 系ペパーミント油中にも極めて少量ではあるが存在することと^{9,10)},メントフランの空気酸化に基づく経時変化性^{11,12)}のためメントフランを鑑別の基準とするには問題があった。

* 大蔵省関税中央分析所 271 千葉県松戸市岩瀬531

そこで、ガスクロマトグラフィーを用いて香料原料として輸入される各国産ペパーミント油の成分を詳細に検討した。すなわち、SAIBを固定相液体とする充てん型カラム⁸⁾¹⁷⁾を用いると特にキャピラリーカラム¹⁵⁾¹⁶⁾を必要とせずに *M.piperita* 系からは(+)トランスサビネンハイドレートとメントフランを分離できた。この(+)トランスサビネンハイドレートは米国産ペパーミント油の成分として確認されたものであるが¹⁸⁾、*M.piperita* 系ペパーミント油からは産地に関係なく検出できることと、経時変化でメントフランが全く消失した *M.piperita* 油からも検出でき、経時変化に関係ないことが確認できた。しかも、*M.arvensis* 系からは全く見いだされないため種間雑種を除けば両種ペパー

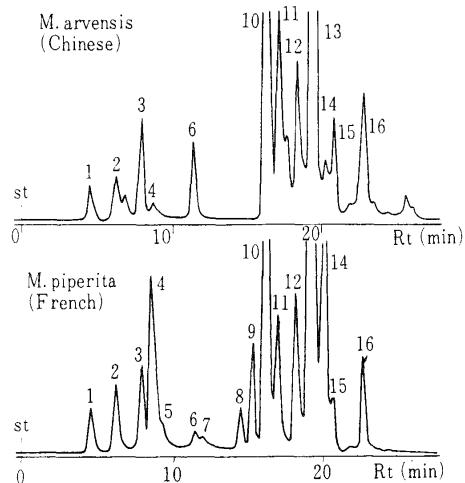


Fig. 1 Gas chromatograms of peppermint oils
Column: SAIB10%, 2m, 80-100 mesh
Temp: 80° - 190°, 4°/min., FID,
Carrier gas: He, 55 ml/min.
Sample size: 0.2 μl

| | |
|------------------------------|---|
| 1. -Pinene | 10.Menthone |
| 2. β-Pinene | 11. iso-Methone |
| 3. Limonene | 12. d-Neomenthol |
| 4. Cineol | 13. l-Menthol |
| 5. p-Cymene | 14. Menthyl acetate |
| 6. 3-Octanol | 15. Sesquiterpene h.c. |
| 7. Unknown | (MW:204) |
| 8. (+)trans Sabinene hydrate | 16. Piperitone + Sesquiterpene h.c. (M.W.204) |
| 9. Menthofuran | |

ント油を区別する指標の一つになるものと考えられた。Fig. 1に両種ペパーミント油の分離例を示したが、SAIBカラムの特徴はメントフランと(+)サビネンハイドレートの相互分離にすぐれていることと、共通した少量成分であるリモネン、シネオール及び3-オクタノールのピーク強度から種間の違いが見られる点である。すなわち、*M.arvensis* 系ではリモネンとシネオールのピーク強度比は常に1より大であり、*M.piperita* 系では1より小である。一方、*M.arvensis* 系の3-オクタノールのピーク強度は*M.piperita* 系のものより相対的に常に大である。この傾向は産地に関係なく同種のペパーミント油に共通し、これらの成分の含有量が種間に於いて相対的に差があることを示すものと考えられる。

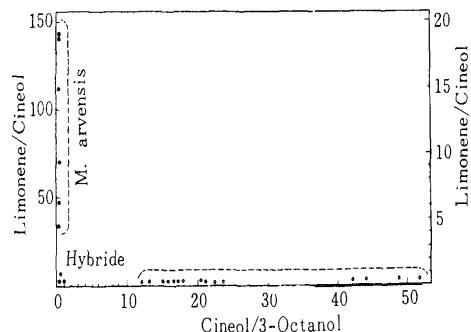


Fig. 2 Correlation between limonene/cineol and cineol/3-octanol

The ratios of constituent were calculated from the chromatographic peak area obtained by digital integrator.

*The ratios of limonene/cineol in *M.piperita* oils are cited at right side.

デジタル積算計で測定したリモネン、シネオール及び3-オクタノールのピーク面積からリモネン:シネオール及びシネオール:3-オクタノールの面積比を計算し、種との相関性を示したのが Fig. 2 である。*M.arvensis* 系の場合はこの比がすべて縦軸側に、*M.piperita* 系では横軸側にそれぞれ近接して分布する。

この関係は Smith らがリモネン：シネオール及びメントフラン：メントン関連成分を用いた場合⁸⁾と一致するが、Fig. 2 の相関性はメントフランの経時変化とは無関係に成立する点に特徴があった。一方、耐病性、高収油率の品質として日本で開発された人工種間雑種“ほうよう”、“しゅうび¹⁵⁾”及び“あやなみ¹⁴⁾”などの場合には、これらの成分比は原点附近に分布し、M.piperita や M.arvensis 系ペパーミント油とは明らかに異なる分布がみられる。又、両種の混合油の場合はリモネン：シネオール、シネオール：3-オクタノールの成分比が Fig. 3 に示すように M.arvensis 系油の含有割合の増加に伴い横軸側を移動して原点附近に分布する。これはシネオールと 3-オクタノールの比が M.arvensis 系ペパーミント油に類似してくるためで、(+)トランスサビネンハイドレートの存在を確認することにより、従来不可能であった混合油の識別にも応用できることを示すものである。

2・2 ペパーミント油の迅速鑑別法¹³⁾²³⁾

GC/MS 法で測定した質量スペクトルでペパーミント油の特徴成分を直接同定すると共に、全イオン検知方式で記録したクロマトグラムを用い Fig. 2 と同様にしてリモネン：シネオール及びシネオール：3-オクタノールのピーク高さ比を求め、この分布と種との相関性が得られれば極めて迅速な鑑別手段となり得る。

ペパーミント油の種別鑑別に必要な特徴成分の質量スペクトルのうち主要な開裂イオンを Table 1 に示した。

3-オクタノールは分子イオンを与えないが最高質量数のイオンとして $m/e 112(M^+ 18)$ を示し、 $m/e 31$ の存在及びオレフィン形の開裂様式を示すことから他のテルペン類と区別できた。メントフランの質量スペクトルには比較的強度の大きい分子イオン ($m/e 150$) が

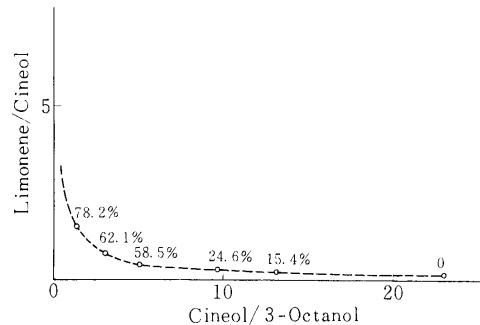


Fig.3 Correlation between limonene/cineol and cineol/3-octanol of blended peppermint oils. The addition of various percentages of a For-mosan M.arvensis oil to a Madras M.piperita oil (U.S.A.) is shown on dotted line.

観察でき、retro-Diels-Alder 形開裂¹⁹⁾に伴うフラグメントイオン、 $m/e 108$ が基準ピークとなる。ペパーミント油の成分で $m/e 108$ を基準ピークとするものはメントフランに限られ、またこの測定条件におけるメントフランの検出限界は約 $2 \mu g$ であるため容易に同定することができた。

(+)トランス・サビネンハイドレートの質量スペクトル (Fig. 4, B) には分子イオン ($m/e 154$) の他に $m/e 139, 136, 121, 111, 93, 71, 43$ などの開裂イオンが特徴的に現れる。この質量スペクトルは標準の (+)トランス・サビネンハイドレート (Fig. 4, A) と

Table 1 Mass spectral data of characteristic constituents in peppermint oils

| Peak No. ^{a)} | Constituent | M.W. | Principal ions in mass spectrum (Relative abundance in parentheses) |
|------------------------|-------------|------|--|
| 3 | Limonene | 136 | 68(100), 93(62), 67(50), 79(20), 121(18), 107(16), 136†(23) |
| 4 | Cineol | 154 | 43(100), 81(58), 71(53), 69(47), 108(46), 93(45), 154†(38) |
| 5 | 3-Octanol | 140 | 59(100), 83(74), 55(70), 41(40), 101(31), 31(27), 112(8) |
| 9 | Menthofuran | 150 | 108(100), 89(18), 41(12), 91(8), 87(8), 121(5), 150†(30) |

a: Peak number are the same as cited in Fig. 1.

† M (Parent ion)

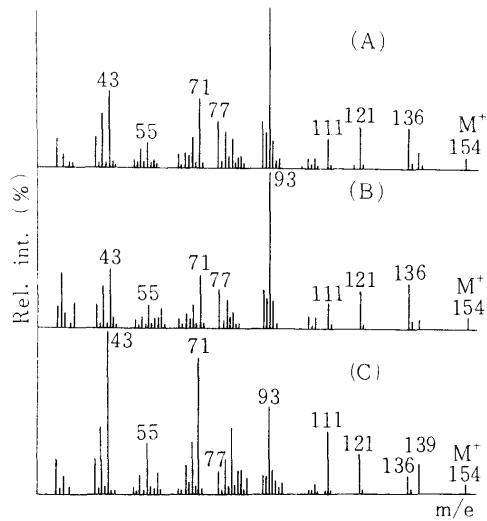


Fig.4 Mass spectra of (+) trans sabinene hydrate
 (A) Standard sabinene hydrate
 (B) Peak 8
 (C) Standard sabinene hydrate
 (Measured by Shimadzu LKB - 9000, glass column)

良く一致するが文献に記載されているもの²⁰⁾²¹⁾と異なる開裂パターンを示していた。この(+)トランス・サビネンハイドレートは水蒸気蒸留中にテルピネン-4-オールに転移することが報告されているので²²⁾、ガスクロマトグラフィーの過程で(+)トランス・サビネンハイドレートの一部が転移し、テルピネン-4-オールを生成する可能性も考えられた。しかし、両成分を分離する条件下でのガスクロマトグラフィーによる検討でもピークの单一性、質量スペクトルの変化は認められなかつた。一方、ガラスカラムを接続した島津 LKB - 9000 質量分析計を用いて測定した結果、m/e43 が基準ピークとなり、テルピネン-4-オールに顕著にみられる m/e71, 111 などの開裂イオンの強度が更に増加する傾向がみられた (Fig. 4, C)。この結果、文献値との質量スペクトルの違いは転移よりはむしろ測定条件に起因するものであり、質量スペクトルで(+)トランス・サビネンハイドレートの同定をする場合は常に測

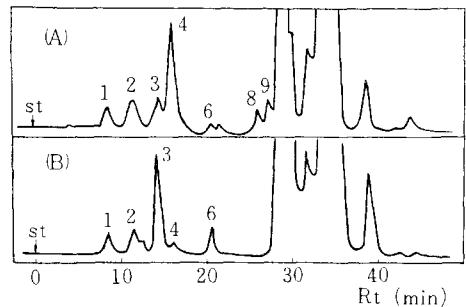


Fig.5 Gas chromatograms of peppermint oils detected by total ionic monitor
 Column: SAIB10%, 2m, 80 - 100 mesh
 Temp: 80 - 180 , 4 /min
 Carrier gas: He 0.2 kgs/cm²
 Sample size: 0.4 μ l
 (A) M.piperita (SEN Midwest, USA)
 (B) M.arvensis (Formosan)
 Peak numbers are the same as cited in Fig.1.

定条件を考慮しなければならない。

全イオン検知方式で記録したペパーミント油のガスクロマトグラムの一例は Fig. 5 である。FID 方式のガスクロマトグラムに比べてピーク相互間の分離性は僅かに低下しているが、ほぼ類似したクロマトグラムが得られる。リモネン、シネオール及び 3-オクタノールのピーク高さから成分比を求めた結果、これらの成分比と種間には相関性が認められた。したがって、GC/MS 法の場合はペパーミント油成分の確認と成比の分布を同時に考察できる点に特徴があり、ペパーミント油の迅速鑑別法として応用できた。

しかし、GC/MS 法は迅速さの点では優れた方法であるが高価な機器の設置という点からは必ずしも一般的でなく、更に簡便な方法を考える必要がある。以下、この点に重点を置いた迅速分析法について述べる。

ペパーミント油中のメントフラン及びシネオールの

含有量は経時変化のない場合には種によって著しい違いがあり、またバニリン-硫酸試液に対するこれら成分の呈色が特異的であることに着目して、顕色剤の検出感度を考慮した薄層クロマトグラフィーによるペパーミント油の簡易、迅速鑑別法を見いだした^{2,3)}。

各種展開溶媒による主要成分の Rf 値を Table2 に示した。ペパーミント油成分のうち、種により含有量に違いのあるメントフランはいずれの展開溶媒を用いても他成分と重複しないが、シネオールを同時に検出するにはベンゼン - 酢酸メチル (95:5) が適している。この溶媒系でもシネオールと d - ネオメントールの分離は十分でないが、呈色の相違と d - ネオメントールの含有量は 3 ~ 5 %⁷⁾ と低いことがシネオールを識別するのに有効であった。

Table2 Rf value of main components in peppermint oil

| Compounds | Solvent System | | | | |
|----------------------|----------------|---------|------------|-----------------------------------|---------------------------------|
| | Pet. ether | Benzene | Chloroform | Benzene : Methyl acetate (95 : 5) | Pet. ether : Chloroform (9 : 1) |
| R _f value | | | | | |
| <i>L</i> -Menthol | 0.00 | 0.06 | 0.25 | 0.15 | 0.03 |
| Menthofurane | 0.30 | 0.57 | 0.67 | 0.62 | 0.50 |
| Methyl acetate | 0.05 | 0.35 | 0.50 | 0.45 | 0.12 |
| Menthone | 0.00 | 0.05 | 0.20 | 0.12 | 0.00 |
| <i>d</i> -Neomenthol | 0.05 | 0.17 | 0.35 | 0.28 | 0.10 |
| Cineol | 0.07 | 0.17 | 0.37 | 0.35 | 0.15 |
| <i>α</i> -Pinene | 0.60 | 0.62 | 0.75 | 0.65 | 0.75 |
| <i>β</i> -Pinene | 0.55 | 0.62 | 0.70 | 0.63 | 0.70 |
| <i>d</i> -Limonene | 0.45 | 0.62 | 0.70 | 0.65 | 0.67 |

顔色剤によるメントフラン及びシネオールの検出限界濃度は $0.3 \mu\text{g}$ と $5 \mu\text{g}$ である。ペパーミント油中のメントフラン及びシネオールの含有量は *M.piperita* 系が $1 \sim 10\%$, $6 \sim 8\%$ ⁸⁾ であるのに対し, *M.arvensis* 系はメントフランが $0.01 \sim 0.04\%$, シネオールは $0.1 \sim 1.2\%$ 程度で, ^{8) 24) 25)}明らかに種間に差異が認められる。したがって, 薄層クロマトグラフィーで分離する場合, 試料の塗布量を $0.5 \sim 1.0 \mu\text{g}$ とするとメントフランとシネオールの検出限界及びこれらの含有量の相異から *M.*

piperita 系からは両成分のスポットが検出できることになり、両種ペパーミント油の区別が可能となる。

一方、メントフランはオキシラクトンを経て、不飽和ラクトンにまで空気酸化されることが知られている。¹¹⁾¹²⁾実際、約6ヶ月間室温で放置した *M.piperita* 系ペパーミント油の一部にはメントフランが完全に消失したものもあり、貯蔵状態によってはメントフランは経時変化するものと考えられる。このような場合もシネオールには全く影響がみられないため、シネオールのスポットの有無によって種間の違いを知ることができる。Fig.6に各国産ペパーミント油の分離例を示した。

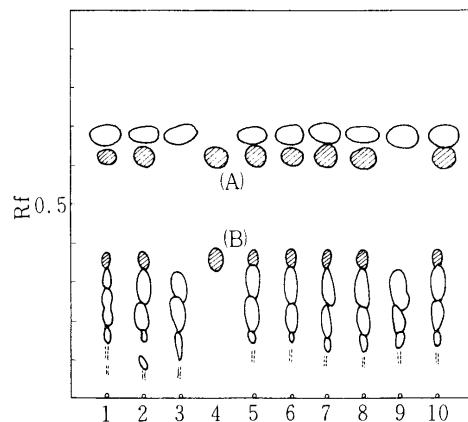


Fig. 6 Thin - layer chromatograms of peppermint oils

Solvent: Benzene: Methyl acetate (95:5)

Spray reagent: 5% Vanillin - conc. sulfuric acid

| | |
|--------------------------------|--|
| 1: Pep. oil, Bulgaro rectified | 6: Pep. oil, Italo mitcham, distilled |
| 2: Pep. oil, Midwest, USA | 7: Pep. oil, French |
| 3: Pep. oil, Formosan | 8: Pep. oil, Yakima(USA) |
| 4: Menthofuran (A), Cineol (B) | 9: Pep. oil, Brazilian crude |
| 5: Pep. oil, Madras | 10: Pep. oil, USSR |

ソ連産ペパーミント油は一般には *M.piperita* 系とされているが^{26,27)}、輸入されたものの物理定数は比重(15): 0.9046, n_D^{20} : 1.4591, n_D^{21} : -45.25°, 工ステル価: 37.0, 総メントール(酢化法): 47.6%と *M.arvensis* 系ペパーミント油に近い値を示した。また、メントフランに起因する吸収が出現する領域の赤外吸収スペクトルを比較すると Fig.7 で, 726 cm^{-1} , 730 cm^{-1} 附近の吸収波形は *M.arvensis* のものに類似する。これに対し、ソ連産ペパーミント油のガスクロマトグラムからは、*M.arvensis* 系に多い 3-オクタノールのピークは弱く、(+)-トランス・サビネンハイドレートやメントフランに対応するピークの強度は米国産やフランス産のものに比べて極めて小さい点に問題がある。しかし、これを薄層クロマトグラフィーで分離するとメ

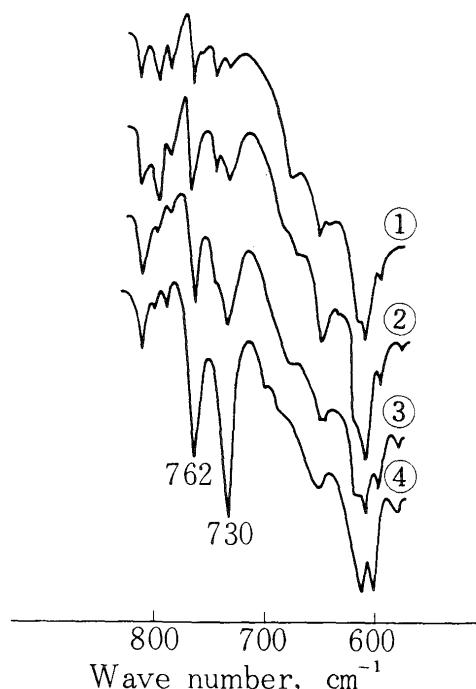


Fig.7 Characteristic region in infrared spectra of peppermint oils (Liquid film, 0.1mm)

Japanese Hakka Hakuyu (*M. arvensis* L.)
Pep. oil, USSR
Pep. oil, Midwest USA (*M. piperita* L.)
Pep. oil, Bulgari Rectified (*M. piperita* L.)

ントフランとシネオールのスポットが明瞭に確認でき、輸入されたソ連産ペパーミント油は *M.piperita* 系と認定することができた。

このように、薄層クロマトグラフィーによる検出感度の違いを利用してメントフラン及びシネオールの同時確認法はガスクロマトグラフィーによるペパーミント油の種別鑑定の際に補助手段とし、また、精油の簡易、迅速鑑別法としても有効に利用できるものと考える。

2・3 クローブ油の精油成分と赤外吸収スペクトル³⁵⁾

植物精油の鑑別手段として赤外吸収スペクトルを用いるパターン比較の方法は信頼できる標準品が入手できる場合には簡易かつ迅速に行える特徴がある。一部の精油についてはスペクトル集も見られる²⁸⁾、精油成分の含有量に変動がある場合には利用する上に細心の注意を要することになる。

Eugenia Caryophyllata Thunb の花蕾を水蒸気蒸留して得られるクローブ油はオイゲノールを主成分とし、薬用及び食品フレーバーに用いられる他、ワニリンの合成原料としても貴重なものである²⁹⁾。

輸入されるクローブ油の赤外吸収スペクトルには 1765 cm^{-1} にカルボニル基の吸収を顕著に示すものと殆んど示さないものがあり、標準品の選択の仕方でこの吸収は偽和物によるものと認定される可能性が生じていた。クローブ油の主要成分はすでに明らかにされてきたが^{30)~34)}赤外吸収スペクトルとの相関性は解明されていない。²⁸⁾そこで、GC/MS 法で精油成分を検索し、赤外吸収スペクトルと対比しこのカルボニル基の起因を究明してみた。

米国産及びオランダ産のクローブ油の赤外吸収スペクトルを Fig.8 に示した。1765 cm^{-1} のカルボニル基の吸収を除けば主成分のオイゲノールの吸収が殆んどで、これらは Bellanato ら²⁸⁾の測定したものと一致している。このカルボニル成分はアルカリ分別法で中性画分中に完全に移行するので、中性成分を同定してこの吸収との対応を行った。

クローブ油及びその中性画分のガスクロマトグラムは Fig.9 である。GC/MS 法などで同定した各ピーク成分を Table3 に示した。Peak10 の質量スペクトル

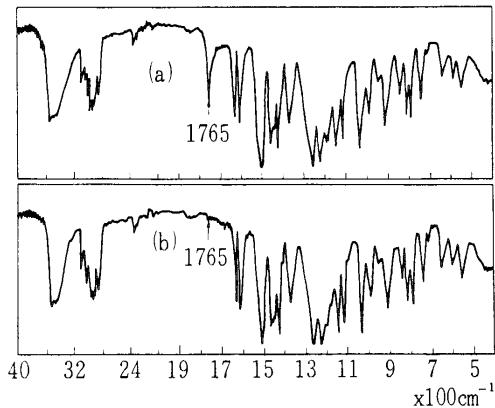


Fig.8 Infrared spectra of clove oils

(a) Clove oil (U.S.A)

(b) Clove oil (Holland)

All spectra were measured by liquid film method (0.025mm).

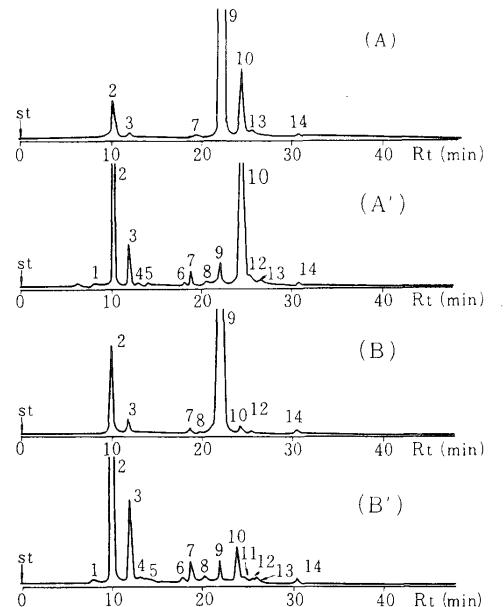


Fig.9 Gas chromatograms of clove oil

A: Clove oil (USA) A : Neutral fraction

B: Clove oil (Holland) B : Neutral fraction

Column: PEG - 20M, 5% Chromosorb GAW DMCS, 80 - 100 mesh, 2m. Temp: 80 - 240 °C, 5 °C/min, Carrier gas: He, 55ml/min. Sample size: 0.2 μl.

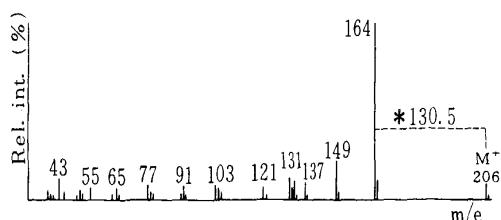
Table 3 Compounds identified in clove oil

| Peak no* | M^+ | Compound | Method |
|-----------------------|-------|---------------------------|--------------------|
| 2 | 204 | β -Caryophyl lene | MS, GC |
| 3, 5 | 204 | Sesquiterpene hydrocarbon | MS |
| 1, 6, 8, 9, 11, 12 | 220 | Sesquiterpene alcohol | MS |
| 7 | 178 | Methyleugenol | MS, GC |
| | 220 | Sesquiterpene alcohol | MS |
| 9 | 164 | Eugenol | MS, GC, IR |
| 10 | 206 | Eugenol acetate | MS, GC, IR, NMR |

* Peak numbers are the same as cited in Fig. 9.

(Fig.10) は分子イオン ($m/e 206$) 及び基準ピーク ($m/e 164$) 以下の開裂イオンやその強度がオイゲノールやイソオイゲノールに近似し酢酸オイゲノールを示唆した。中性画分からこの成分をカラムクロマト法で単離し、赤外、NMRスペクトルを測定した結果酢酸オイゲノールに一致した。

酢酸オイゲノールの $V_{C=O}$ は 1765cm^{-1} に出現し、中

Fig.10 Mass spectrum of peak 10
(Eugenol acetate)

性画分中にはこの成分以外にカルボニル基を有する成

分は見出されないため、クローブ油の赤外吸収スペクトルに現れる $V_{c=0}$ は酢酸オイゲノールによるものと認めた。クローブ油中に酢酸オイゲノールが存在することは既に知られているが²⁹⁾³³⁾ガスクロマトグラフィーによる相対面積比法で酢酸オイゲノールを定量した結果、米国産は 6.2%、オランダ産のものは 0.3%、またマダガスカル産は 0.1% で産地により著しく変動することが判明した。これらの結果から、クローブ油の赤外吸収スペクトルにみられる $V_{c=0}$ の吸収強度の違いは酢酸オイゲノールの含有量に直接関係し、産地によるこの含有量の変化はクローブ油の産地別鑑別の可能性も示唆するものである。

なお、酢酸オイゲノールの質量スペクトルにおいて、分子イオン $m/e206$ から $m/e164$ の生成はアセチル基の脱離とプロトンの再配列で起ることが予想されるが、酢酸オイゲノールにみられる $m/e43$ のイオン強度は 13% で、他の酢酸エステル類例えば桂皮油中の酢酸シンナミルや 0-メトキシ酢酸シンナミル に比べてはるかに小さい。したがって、このような単純開裂が優先するものとは考え難く、酢酸オイゲノールの場合はむしろ酢酸ベンジルや酢酸フルフリルが脱ケテンを行い、相当するアルコールの M^+ を顕著に示すような中性分子の脱離によって起る開裂³⁷⁾が優先するのであろう。すなわち、酢酸オイゲノールの脱ケテン ($O=C=CH_2$) で $m/e164$ が生成し、次にメトキシ基の開裂 ($m/e149$ 、133、121) 及びイソプロペニル基の開裂 ($m/e137$) が進行すると考えれば $m/e164$ 以下の開裂パターンがオイゲノールに類似することになる。実際、準安定イオンが $m/e130.5$ に観察されることも $206^+ - 164^+ + 42$ の開裂様式を裏づけている。

2・4 天然シベットの鑑別⁴⁴⁾

天然香料の中で工業的に利用されている動物性のものはムスク、シベット、海狸香、龍涎香の 4 種に過ぎないが³⁸⁾³⁹⁾、何れも強い保香性を有するため古くから調合香料には必須のものになっている。このうち、大環状ケトン類を香氣成分とするものはムスクとシベットである。

近年、シベトンやムスコン類似の芳香を有する大環状ケトンやラクトン類が次々に合成できるようになり⁴⁰⁾⁴³⁾、また化学構造と香氣特性の関係⁴¹⁾⁴³⁾も⁴³⁾次第に明らかにされるに至り、これをベースにした調合品が市販

されてきたため天然物との識別が問題になっている。

しかし、植物精油と異なり動物性香料は生体の一部又は分泌物で、揮発性の低い脂質との複雑な混合物のために棗器分析に先立ち試料の前処理が必要となる。ここでは天然シベットの分析において、不飽和大環状ケトンであるシベトンの濃縮分離、シバトンに選択的な顕色剤及び大環状ケトン類の質量スペクトルなどを比較考察し、天然シベットを分析する際の問題点を述べる。

() シベトンの濃縮分離法

ジャ香猫の分泌物シベット中に存在するシベトンは多量の脂肪酸、油脂、炭化水素、高級アルコール及び種々のステロール類などと共存する。このうち、高級アルコールや炭化水素あるいはアブソリュートの場合、遊離脂脂酸と抽出溶剤に用いたエタノールとの反応で生成したエチルエステル類は薄層クロマトグラフィーやガスクロマトグラフィーにおいてはシベトンの R_f 値や保持時間に近接又は重複する傾向にあたるため、シベトンの直接検出を阻害する要因になっている。また、市販のシベットには偽和物として大豆油、みつら、バタ油などの脂溶性物質が添加される場合もある。⁴⁵⁾ Fig.11 はこれら偽和物の検索も考慮して作成したシベトンの濃縮分離法である。

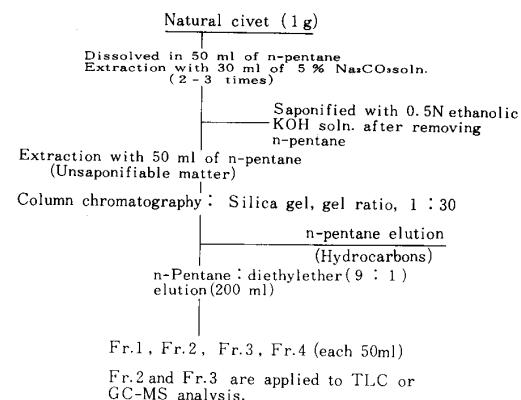


Fig.11 Procedure for separation of civetone from natural civet

この分離操作で, 5%炭酸ナトリウム抽出液から遊離脂肪酸を, けん化液からグリセリド構成脂肪酸を分取し, 添加された油脂類の検索に用いる。また, 不けん化物のカラムクロマトグラフィーにおける n-ペンタン画分はパラフィン類の検索に供する。この操作の過程でシベトンを含む大環状ケトン類は、n-ペンタン: ジエチルエーテル(9:1)画分中に濃縮分離され, 不けん化物中に共存した高級アルコールやステロール類との分離が可能になる。

() 薄層クロマトグラフィーによるシベトンの確認と検出限界

大環状ケトン類の検出に薄層クロマトグラフィーを応用した例は極めて少なく, 僅にジャ香中のムスコンの確認⁴⁶⁾が報告されているにすぎない。この理由の一つとして特異的な顯色剤が見出されないことがあげられる。しかし, 10%リンモリブデン酸メタノール溶液(1 ml)を p-アニスアルデヒド: 醋酸: 硫酸: メタノール(1:10:20:200)の混合溶液 49 ml に溶解した顯色剤を噴霧し, 105°で5分間加熱するとシベトンは黄緑色に発色する。この呈色はエキザルトンやムスコンなどの飽和大環状ケトン類がすべて青紫色を呈するのに比べ極めて特徴的であるため, Rf 値及び色調の違いからシベトンのスポットを容易に識別することができる。Fig.12 は天然シベット及び飽和大環状ケトン類薄層クロマトグラムである。

シベットの構成成分にはこの顯色剤で黄緑色に呈色するものは見られず, また共存成分の殆んどのスポットが青色~桃紫色であるためシベトンの呈色は極めて選択的である。しかし, 大環状ケトン類相互の分離に適した展開剤は見出し難いので, 飽和大環状ケトン類が偽和された場合はこれらがシベトンの Rf 値に近接又は重複することと, 強い青紫色のためにシベトンの呈色が不明瞭になる傾向があった。この顯色剤によるシベトンの検出限界は 1 μg である。したがって, 天然シベットやアブソリュートの場合, 試料を 0.1~0.2 mg 塗布すれば直接シベトンのスポットが確認できるので薄層クロマト法は簡易, 迅速なシベットの鑑別手段といえよう。

() GC 及び GC/MS 法によるシベトンの確認

シベット中に飽和大環状ケトン類が偽和された場合には薄層クロマトグラフィーによるシベトンの検索に障害となるので, Fig.11 の前処理法で得た分離画分を

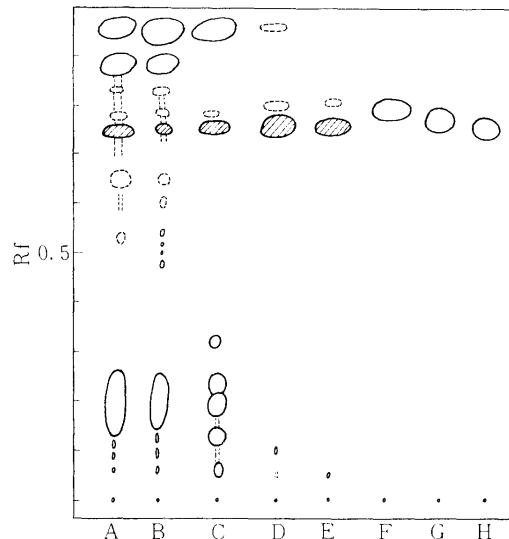


Fig.12 Thin-layer chromatograms of natural civet and fractions of column chromatography

A: Natural civet absolute, B: Natural crude civet, C: Unsaponifiable matter of B, D: Fraction 2 of C, E: Fraction 3 of C, F: Cyclopentadecanone, G: Cyclotridecanone, H: Cycloundecanone, Spot of oblique lines shows civetone; Solvent: n-Pentane: Diethylether (9:1), Spray reagent - Mixed soln. of 1 ml of 10% phosphomolybdic acid methanol soln. and 49 ml of p-anisaldehyde: acetic acid: sulfuric acid: methanol (1:10:20:200) mixture, Plate: Silica gel, E. Merck, 250 μ, 20×20cm

GC 又は GC/MS 法で検討する方法が効果的である。天然シベットの不けん化物及び n-ペンタン: ジエチルエーテル(9:1)画分のガスクロマトグラムを Fig.13 に示した。

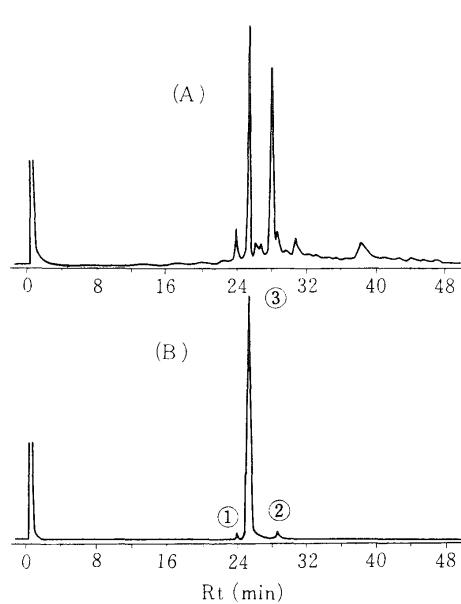


Fig.13 Gas chromatograms of natural civet

(A) Unsaponifiable matter; (B)
 n - Pentane: diethylether (9:1)
 fraction; Column: PEG - 20M, 5%
 Chromosorb GAW DMCS, (80 ~ 100)
 mesh, 2m; Temp.: (100 ~
 200) °C, 5 °C/min; Carrier gas:
 He, 55ml/min

前処理で大環状ケトン類は濃縮分離され、この画分のクロマトグラムは極めて単純化し GC/MS 法によるピークの同定が容易になる。さらに、このパターンは試料を異にしても変らず再現性が良好であるためパターン比較で偽和物の存在が予知できる。また、側鎖を有しない飽和大環状ケトン類のガスクロマトグラムからは環の大きさと保持時間の対数値に Fig.14 に示すような直線関係が見出され、この関係もガスクロマトグラフィーによるこれらの定性分析に利用できる。

GC - MS 法で測定した飽和大環状ケトン類及びシベトンの質量スペクトルは Fig.15, Fig.16 である。シベトンの分子イオン強度は基準ピーク (m/e55) の約 50

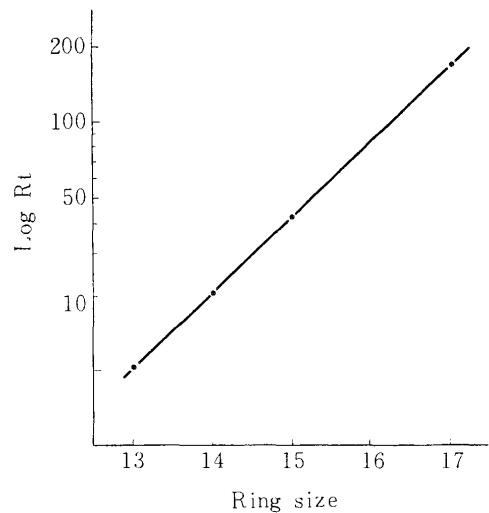


Fig.14 Relation between retention time and ring size of saturated macrocyclic ketones
 Column: PEG - 20M, 5%, Chromosorb GAW DMCS, (80 ~ 100) mesh, 2m; Temp. : 170 °C; Carrier gas: He, 55ml/min

%で、シクロヘキサデカノン (18%) 及びムスコン (28%) などの飽和大環状ケトン類に比べ顕著に現れる。m/e235, 232 は $M^+ - 15$, $M^+ - 18$ に相当し、前者はカルボニル基の 1 位プロトンの転移による転移イオンがメチルラジカルを失って生成するものであり、後者はシクロヘキサノンの脱水構造に準じ⁴⁸⁾⁴⁹⁾カルボニル基の両側の水素 (シベトンでは C - 2, C - 16 位) の転移に伴う水分子の脱離によるものと考えられる。このような開裂イオンはいずれも強度は弱いが大環状の飽和单環ケトンや側鎖をもつムスコン、4 - メチルシクロペンタデカノン⁴⁷⁾などにも共通してみられる。しかし、シベトンの質量スペクトルには飽和大環状ケトンに顕著にみられた 水素の転移で生成する m/e58 ($-\overset{11}{C} - OH$)⁴⁷⁾ の開裂イオンの強度が極めて小さく、また、この開裂に対応して生成する $M^+ - 58$ も殆んど現れなくなる点に特徴がある。この起因は明らかでないが、シベトンの接触還元で得られるジヒドロシベトン (シクロヘプタデカノン) の質量スペクトルには m/e58 及び m/e194 が明瞭に現れることから、シベトン

の9位にある二重結合がこのフラグメンテーションに大きく寄与しているものと考えられる。また、低質量部にみられる m/e 55, 67, 81, 95, 109などの開裂イオンのパターンは飽和大環状ケトン類と異なるため分子イオンの質量数と共にこれらの化合物を識別するのに利用できる。

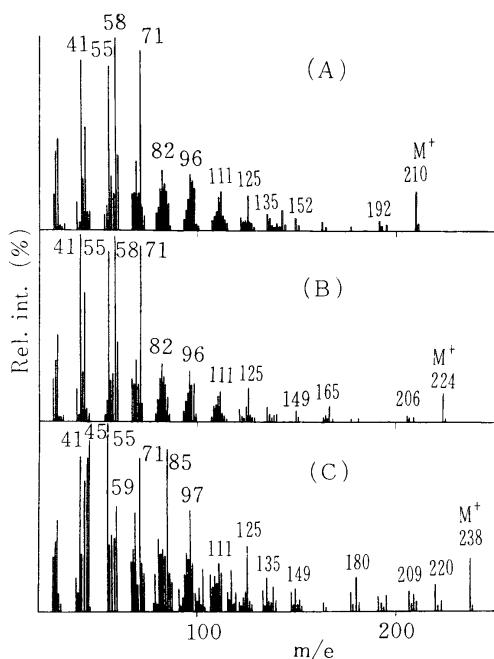


Fig.15 Mass spectra of saturated macrocyclic ketones

A: Cyclotetradecanone, B: Cyloopen-Tadecanone (Exaltone), C: 3-Methyl cyclopentadecanone (Muscone)

Fig.13 に示した天然シベットの分離画分のガスクロマトグラムにはシベトンのピークの前後に微少なピー

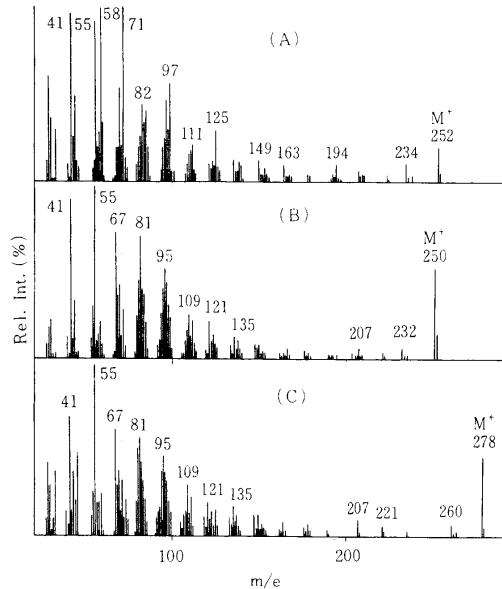


Fig.16 Mass spectra of macrocyclic ketones

A: Cycloheptadecanone (peak 1), B: Civetone (peak2), C: Cyclononadecanone (Peak3), Peak numbers are the same as cited in Fig. 13 (B).

クが常に現れる。Peak1 の質量スペクトル (Fig.16, A) は $M^+ = 252$, 基準ピークは m/e 71 で, m/e 58 の強度も大きく, 且つ $M^+ - 58$ に対応する m/e 194 が存在する。この開裂イオンのパターンはシクロペニタデカノンやシクロヘキサデカノンに完全に一致した。また, Fig.14 を応用してこのピークの保持時間の対数値から環の大きさを求めるに 17員環になり, Peak 1をシクロヘプタデカノンと推定できた。これに対し Peak 3 の質量スペクトル (Fig.16, C) は, $M^+ = 278$, m/e 55 を基準ピークとし, 開裂イオンのパターンはシベトンに全く一致したのでシクロノナデセンと推定した。これらの微量成分は天然シベットの香気成分としてはこれまで報告されていないが, 実験に用いた全試料から検出できることより生体の分泌物であるシベット中にはシベトン関連

成分として存在するものと考えられ、天然シベットを識別する際の指標としても利用できよう。

3 精油成分の確認と偽和物の検索

GC/MS 法で植物精油の成分検索を行う場合、共存するセスキテルペン炭火水素の多くは香気成分の主体をなす含酸素成分の出現領域に現れるため、ピークの重複により質量スペクトルの解析を困難にする場合が多い。実際、充てん型カラムを利用して分離する際にはこのような問題がしばしば起る。また、ガスクロマトグラムの比較で精油を同定する場合にもセスキテルペン類の組成比は精油の産地、採取法、貯蔵条件などの差異で変り易く、本来は精油の一成分であるものが偽和物ピークと認定される可能性もあり、鑑別上重要なことになる。このような事はセスキテルペン類のみならず含酸素成分についても言えることで、産地や品種により或る種の成分の含有量が極端に増加している場合は認定上同様な問題が起り得る。したがって、文献等に記載がない場合は精油成分の十分な精査が必要となってくる。

本章では、これらに関連した精油の分析について具体的に述べる。

3・1 ゼラニウム油の成分と偽和物⁵⁰⁾

セスキテルペン炭化水素と含酸素成分のピークとの重複性は香料品香料の重要な原料であり、国産精油とも競合するゼラニウム油に多くみられる。そこで、採油条件の明らかになっている瀬戸産ブルボン種ゼラニウム油を基準にし、外国産ゼラニウム油との比較分析を行い、ガスクロマトグラムの差異、脱テルペン法など分析上の諸問題を明らかにし、外国産ゼラニウム油中の偽和物検索法として応用した。

() 試料調製法とガスクロマトグラム

ゼラニウム油のガスクロマトグラムをFig.17に示した。標準品との対応で主要ピークを同定した場合、クロマトグラムの違いはシトロネロール、ゲラニオール及びこれらのギ酸エステル、メントン、リナロールなどの含有割合を別にすると共に存する少量成分であるメントール、-テルピネオール、酢酸シトロネロール及びセスキテルペン類などの相対比にみられる。このような相異は天然精油のガスクロマトグラムには必然的

に伴われるもので、原料植物の系統、成育環境、採油法などに起因する場合が多い。従って、比較の基準とするゼラニウム油の選び方で含有量に著しい違いのあるピークは特異成分と見なされる可能性が生ずる。

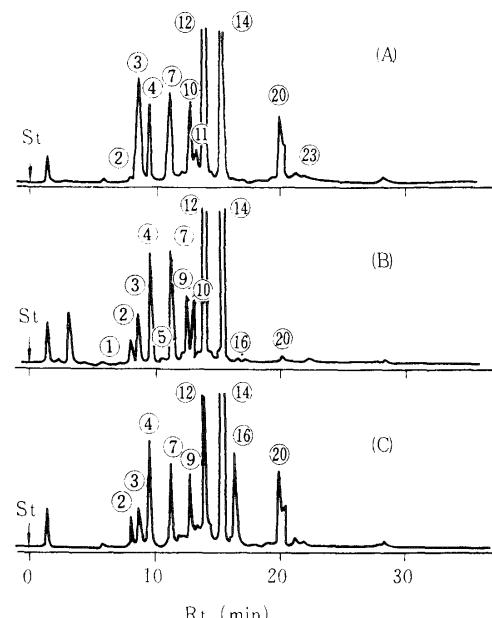


Fig.17 Gas chromatograms of geranium oils
column: PEG - 20M, 5%, Chromosorb
GAW/DMCS, (80~10) mesh, 2m; Temp.
: (80~240) , 6 / min; A: Geranium
oil Seto bourbon, B: Geranium oil
bourbon, C: Geranium oil (B),
imported, The peak numbers are the
same as cited in Table 4

一方、精油を直接 GC/MS 系に導入して記録した全イオンモニター検知クロマトグラムを Fig.18 に示した。各ピークの頂点で測定した質量スペクトルの分子イオンを考察すると、含酸素成分の多くはセスキテルペン

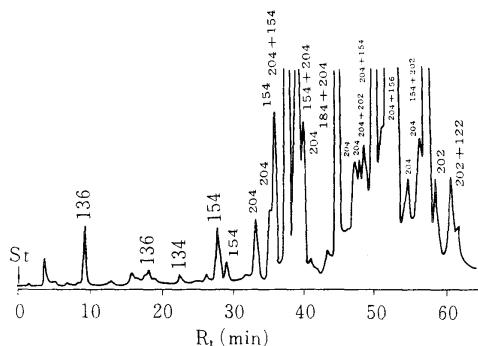


Fig.18 Gas chromatogram of geranium oil Seto bourbon detected by total ionic monitor

Column: PEG-20M, 10%, Chromosorb GAW DMCS (80 ~ 100) mesh, 4m; Temp. : (80 ~ 220) , 2 /min; Chamber vol. : 70eV; The mass numbers of parent ions in each peaks are expressed as 154, 156, 184, 202, 204,

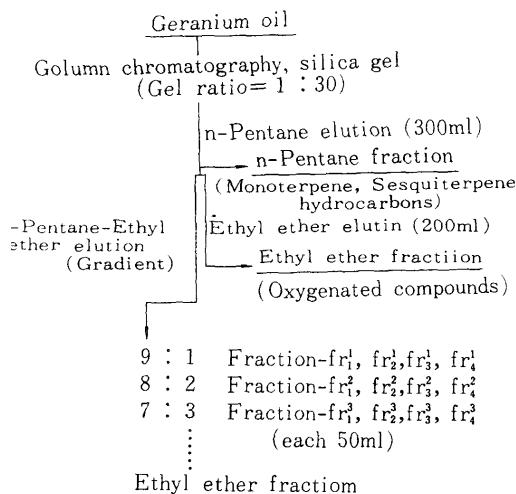


Fig.19 Procedure for separation of terpenic hydrocarbons and oxygenated compounds in geranium oil

炭化水素 ($M^+ = 204$) と重複又は近接するため, ガスクロマトグラム上は単一ピークを示していても実際はセスキテルペン類と重複した質量スペクトルを与えることが判明した。従って, セスキテルペン類と含酸素成分が完全に分離する測定条件を選ばない限り, 充てん型カラムを用いた GC/MS 法では精油成分の検索が困難となる。また, ガスクロマトグラフィーで精油成分の組成比を知る場合にセスキテルペン類との重複の程度が結果に大きく影響することにもなる。そこで, 成分検索に当たりセスキテルペン類の影響を除く方法として Fig.19 に示したカラムクロマトグラフィーによ

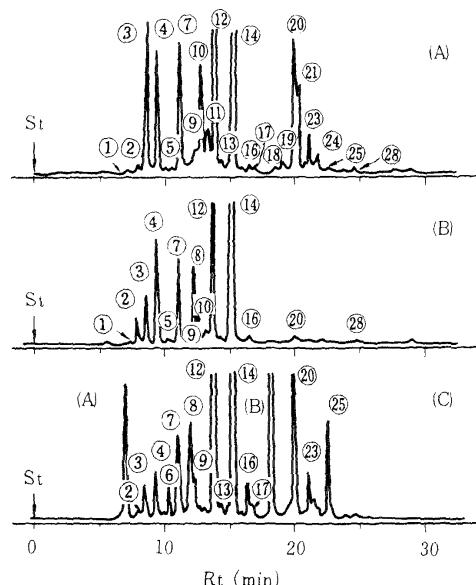


Fig.20 Gas chromatograms of ether fraction

Column: PEG - 20M,5%, Chromosorb GAW/DMCS 80/100 mesh, 2m; Temp. : (80 ~ 240) , 6 /min; (A) Geranium oil Seto bourbon; (B) Geranium oil bourbon; (C) Geranium oil (C), imported; The peak numbers are the same as cited in Table 4.

る脱テルペン法を試みた。この前処理法でゼラニウム油中のモノ及びセスキテルペン炭化水素の殆んどが n-ペンタン画分中に、含酸素成分はエーテル画分中にそれぞれ濃縮分離できた。

エーテル画分のガスクロマトグラムは Fig.20 であり、また、この各ピーク成分を GC/MS 分析及び標準品の Rt と対照して同定し Table4 に示した。この結果、瀬戸産ゼラニウム油を基準にすると外国産ゼラニウム油の含酸素成分はピーク強度に差がみられるが成分的には違いがなく、エーテル画分を精油の比較分析や偽和物の検索に利用すれば良いことが判明した。

Table4 Oxygenated compounds identified in geranium oil

| Peak No. ^{a)} | Compound | Method for identification |
|------------------------|---|---------------------------|
| 1 | <i>cis</i> -Rose oxide ^{b)} | MS, GLC |
| 2 | Menthone | MS, GLC |
| 3 | <i>iso</i> -Menthone | MS, GLC |
| 4 | Linalool | MS, GLC |
| 5 | Unidentified | |
| 6 | Menthol | MS, GLC |
| 7 | Citronellyl formate | MS |
| 8 | Citronellyl acetate | MS, GLC |
| 9 | α -Terpineol | MS, GLC |
| 10 | Geranyl formate | MS |
| 11 | Geranial | MS, GLC |
| 12 | Citronellol | MS, GLC |
| 13 | Nerol | MS, GLC |
| 14 | Geraniol | MS, GLC |
| 15 | Sesquiterpene alcohol m/e 202 (M ⁺ -18) | MS |
| 16 | β -Phenyl ethyl alcohol | MS, GLC |
| 17~20 | Sesquiterpene alcohol (M ⁺ =220) | MS |
| 21 | Sesquiterpene alcohol (M ⁺ =222) | MS |
| 22, 23 | Sesquiterpene alcohol (M ⁺ =220) | MS |
| 24 | Eugenol | MS, GLC |
| 25 | Sesquiterpene alcohol (M ⁺ =222) | |

a) The peak numbers are the same as cited in Fig. 20. b) The peak of *trans*-rose oxide is appeared after *cis*-rose oxide peak.

() ゼラニウム油成分の質量スペクトル

ゼラニウム油中に存在する特徴成分の質量スペクトルは Fig.21 である。ゲラニオールとシトロネロールのギ酸エステルは特有成分の一つであるが⁵¹⁾、質量スペクトルで観測できる分子イオン及び m/e47 (HCOOH₂⁺) の強度が極めて弱く、対応するテルペンアルコールとの識別にはピークの保持時間の違いと両者の質量スペクトルに開裂様式の差異の結果として現れる準安定イオンの違いが指標になる。 - フェニルエチルアルコールは含有量が少なく、セスキテルペン炭化水素と重複するため精油の直接分析では確認できないが、エーテル画分の GC-MS 分析では同定が容易であった。 - 体はトロピリウムカチオン (m/e91) が基準ピークになるのに対し、 - 体ではベンジンアルコール⁵²⁾と同様にメチル基の脱離で生じた m/e107 が基準ピークになり、 - 錯合体を経てベンゾニウムカチオン (m/e79) を生成し、フェニルカチオン (m/e77) となる。このような - 体との開裂様式の違いは準安定イオン (m/e58.0) から容易に推定できる。

ローズオキシドもゼラニウム油の特徴成分で、ブルボン種ゼラニウム油中にはシス、トランス体の存在が知られている。⁵³⁾⁵⁴⁾シス・ローズオキシドの質量スペクトルは類似構造をもつジヒドロシトロネロールオキシドやテトラヒドロシトロネロールオキシド⁵⁵⁾と異なり、複素環内での retro-Diels-Alder 開裂や、含酸素異節環状化合物にみられる酸素に対し、 - 位置換基が脱離する開裂よりもメチルラジカルが脱離しやすく m/e 139 が基準ピークになる。これに対し、トランス体では逆に酸素に対し - 位置換基の脱離による m/e69 が基準ピークとなるため質量スペクトルによるシス、トランス体の識別は容易である。

() 輸入ゼラニウム油中の偽和物の検索

輸入されたフランス産ゼラニウム油の含酸素成分 (Fig.20, C) には標準油にみられない特異ピーク A, B があり、偽和物の可能性を示唆した。質量スペクトルからは A, B 共に非テルペン系化合物と推定されたが、分子イオンが不明瞭で確認には他の分光学的方法の併用が必要になった。Fig.19 に示したグラジェントカラムクロマトグラフィーで A, B 成分は Fr₂画分中に濃縮分離されるので、これを GC 法で単離した。

A 成分の同定: A 成分は無色透明、テルペン類似臭の液体、[]_{D²⁰}: 0, IR, NMR 及び MS を Fig.22 に示し

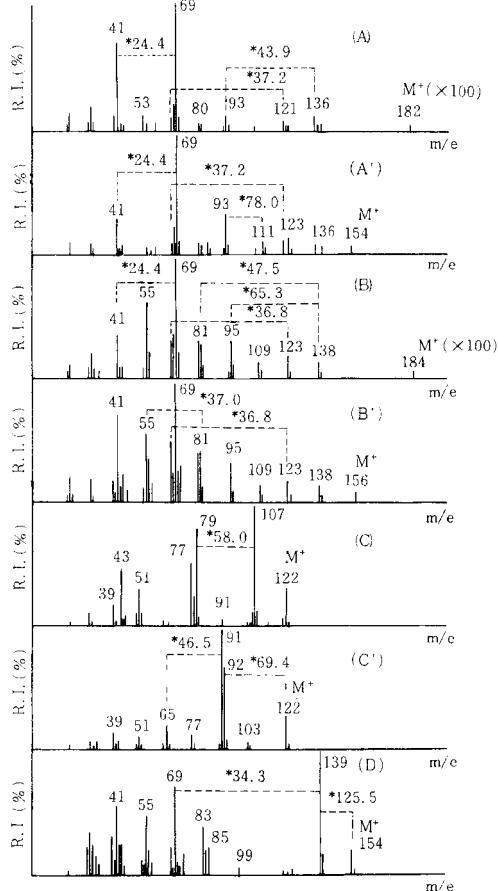


Fig.21 Mass spectra of characteristic constituents in geranium oil

- (A) Geranyl formate, (A') Geraniol,
- (B) Citronellyl formate; (B') Citronellol,
- (C) -Phenyl ethylalcohol, (C') -phenyl ethylalcohol (peak 16), (D) cis-Rose oxide (peak 1)

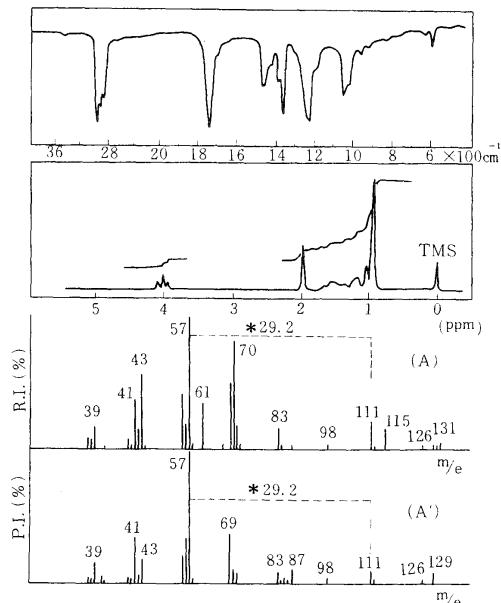
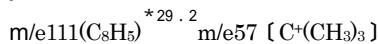


Fig.22 IR, NMR and mass spectra of "A" compound

IR: Liquid film method, NMR:
Carbon tetrachloride solution,
Mass: (A) Ester, (A') Alcohol

た。IR(cm^{-1}) : 1740($\text{V}_{\text{C}=\text{O}}$) , 1240 , 1050($\text{V}_{\text{C-O}}$) ; NMR (ppm) : 4.02 2H triplet(- $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$ - , $\text{J} = 10\text{cps}$), 1.94, 3H (- OCOCH_3), 2.0 ~ 1.0 , 5H (- CH - , - CH_2 -), 1.0 , 3H (- CH - CH_3 , doublet の高磁場側ピークは 0.91ppm の吸収と重複), 0.91 , 9H{ - $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ } ; また , 高分解能質量分析計により開裂イオンの元素組成を求めて構造解析を行った。A 成分の最高質量数として現れる $\text{m/e} 131$ ($\text{C}_7\text{H}_{15}\text{O}_2$) はエステル結合を含む再配列イオン , $\text{m/e} 126$ (C_9H_{18}) は炭化水素の開裂イオンのうち最大質量数のもので $\text{M}^+ - \text{CH}_3\text{COOH}$ 及びエステル構成アルコールの脱水で生成しオレフィンイオンに相当する。エステル構成アルコール (A') の最大質量数イオン $\text{m/e} 129$ ($\text{C}_8\text{H}_{17}\text{O}$) はメチル基の脱離で

生成することが推定された。 $m/e 61$ は酢酸エステル類に特徴的に現れる再配列イオン ($CH_3COOH_2^+$) で, 1.94 ppm のメチルプロトンに対応する。基準ピーク $m/e 57$ (C_4H_9) は準安定イオンより $m/e 111$ (C_8H_5) から生成したカルボニウムカチオン [$C^+(CH_3)_3$] と考えられた。



一方, アルコールの TMS 化物の質量スペクトルから $RCH_2OSi(CH_3)_2^+$ として, $m/e 201(M^+ - 15)$, RCH_2O^+ ($m/e 143$) の生成が確認でき, エステル構成アルコールの元素組成を $C_9H_{20}O$ と決定した。この結果, A 成分を 3, 5, 5-トリメチル-1-ヘキシリーエテートと推定し, 合成物と赤外, NMR 及び質量スペクトルを比較し A 成分を決定した。

B 成分の同定: B 成分はゼラニウム油に類似した芳香をもつ液体で, $[]_{D^{20}} : 0$, 赤外, NMR 及び質量スペクトルを Fig.23 に示した。B 成分は PEG-20M の他, SE-30, OV-101, DEGS, SAIB カラムを用いたガスクロマトグラフィーにおいても単一のピークを示すが, シリカゲルを固定相としベンゼン:クロロホルム (1:1) を展開溶媒に用いた薄層クロマトグラフィーで分離すると R_f 値 0.7 に重複した形のスポットを示した。

一方, 質量スペクトル(A)は $m/e 168$, $m/e 170$ に 2 成分の分子イオンとみられるピークが存在し, $m/e 91$ 以下の開裂イオンはすべてベンゼン核の開裂で生成したもので, B 成分は芳香族化合物と考えられた。

次に, B 成分を PEG-20M(10%), 4m カラムを接続した GC/MS 系に注入し, カラム温度 80~180, 3 /min で昇温しピークの出現とともに順次質量スペクトルを測定した結果, $m/e 168$ のイオン強度の増加は, $m/e 153$, 91 の増加を伴い, 増減の少ない開裂イオンは $m/e 77$, 65, 39 などである。したがって, $m/e 168$ を分子イオンとするものはトロピリウムイオン ($m/e 91$) を形成しやすく, $m/e 170$ を分子イオンとするものはベンズトロピリウムイオン ($m/e 141$) の形成^{5,6} が容易であることを示唆する。また, NMR スペクトルではアルキル基連鎖がないこと, 赤外吸収スペクトルではモノ置換フェニル基及びフェニルエーテル結合を含むこと, さらに質量数の差が 2 であることを考慮すると前者は - CH_2 -, 後者は - O - を介してフェニル基と結合しているジフェニルメタンとフェニルエーテルの混合物と推定された。そこで, 4.0 ppm のメチレン基吸収

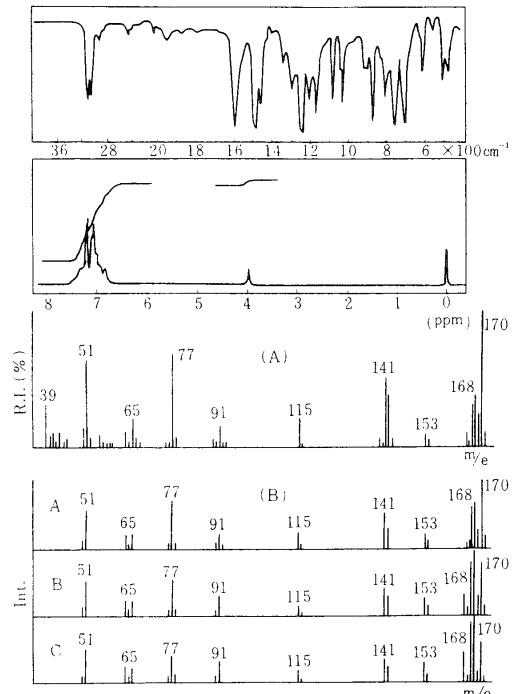


Fig.23 IR, NMR and mass spectra of "B" compound
IR: Liquid film method, NMR: Carbon tetrachloride solution, Mass:
(A) Measured by indirect inlet system, (B) Measured in order(A→B→C) between beginning and ending of peak A on total ion monitor chromatogram

を基準にし, NMR 法で両成分の混合比を求めるジフェニルメタン:フェニルエーテル = 26.4 : 73.6 となる。この比率で標準混合試料を調製して赤外, NMR 及び質量スペクトルを測定した結果, B 成分のものと完全に一致し, B 成分はジフェニルメタンとフェニルエーテルと決定した。

なお、3, 5, 5-トリメチル-1-ヘキシリアルアセテート、ジフェニルメタン及びフェニルエーテルは天然ゼラニウム油の成分^{51)57)~63)}としてこれまで見出されていないもので、精油の変調剤として添加された偽和物と認定できた。

3・2 中国産ローズ油の香気成分⁷⁰⁾

Rosa centifolia (フランス産、モロッコ産)、Rosa damascena (ブルガリヤ産)に代表されるローズ油は香料原料として貴重な精油であり、その成分については数多くの研究が成されている。^{64)~66)}しかし、中国産ローズ油は在来種のものと異なる香気特性をもつことは知られていたが⁶⁷⁾種の系統や精油成分に関する報告はみられなかった。たまたま輸入された Rose concrete crimson glory の香気成分を検索する際、ガスクロマトグラムの高沸点部に在来種のものには見られない強度の大きいピークが存在し、偽和物の可能性を示唆したため、この成分を単離して構造決定をすると共に在来種ローズ油及び日本産ハマナス油 (Rosa rugosa Thumb)⁶⁸⁾⁶⁹⁾の成分及び組成比を比較検討して鑑別基準を明確にしたものである。

() 芳香成分の分離

ローズコンクリートやアブソリュート類は一般に抽出方法の違いで含有量は異なるが C₁₇~C₂₅ 程度のパラフィン系炭化水素成分を含むため GC 分離の際には含酸素成分のピークと重複して障害になる。このような精油試料からの芳香成分の分離に Fig.24 で示すように、先ず試料を水蒸気蒸留し、留出油分を抽出後シリカゲルカラムクロマトグラフィーにより炭化水素成分 (n-ペンタン画分) と含酸素成分 (エーテル画分) にそれぞれ一括して分取する方法を採用した。このエーテル画分の一部は再びシリカゲルカラムクロマトグラフィーを行い、n-ペンタン:エーテル (9:1, 8:2, 7:3) で順次溶出して微量成分並びにピークの重複成分の同定に供した。このようにして得た中国産ローズ油の含酸素成分のガスクロマトグラムは Fig.25 である。

() 芳香成分の同定

Fig.25 に示した中国産ローズ油の芳香成分を GC-MS 法及び標準品の保持時間と対照させて同定した結果は Table 5 のとおりである。

主要成分としてシトロネロール、ネロール、ゲラニオール、フェネチルアルコール、メチルオイゲノール

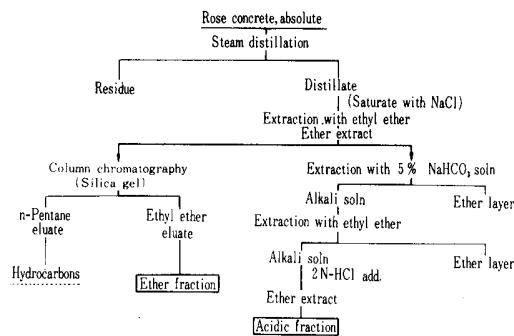


Fig.24 Procedure for separation

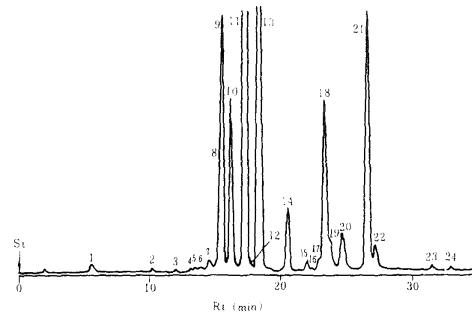


Table 5 Main aroma components identified

| Peak No ^a | Compound | Method of identification |
|----------------------|--|--------------------------|
| 1 | Rose oxide | MS, GLC |
| 2 | Linalool | MS, GLC |
| 3 | Sesquiterpene hydrocarbon ($M^+ = 204$) | MS, GLC |
| 4 | Citronellyl acetate | MS, GLC |
| 5 | Neral | MS, GLC |
| 6 | Geranyl formate | MS, GLC |
| 7 | Geranial+Neryl acetate | MS, GLC |
| 8 | Geranyl acetate | MS, GLC |
| 9 | Citronellol | MS, GLC |
| 10 | Nerol | MS, GLC |
| 11 | Geraniol | MS, GLC |
| 12 | Benzyl alcohol | MS, GLC |
| 13 | Phenethyl alcohol | MS, GLC |
| 14 | Methyl eugenol | MS |
| 15, 16, 17 | Sesquiterpene hydrocarbon ($M^+ = 204$) | MS |
| 18 | Eugenol | MS, GLC |
| 19, 20 | Sesquiterpene alcohol ($M^+ = 222$) | MS |
| 21 | Geranic acid | MS, IR, NMR, GLC |
| 22 | Sesquiterpene alcohol ($M^+ = 222$) | MS |
| 23 | Benzyl benzoate | MS, GLC |
| 24 | Sesquiterpene alcohol ($M^+ = 222$) | MS |

a) Peak numbers are the same as in Fig. 25.

及びオイゲノールが、少量成分としてローズオキシド、リナロール、ゲラニール、ネラール及びシトロネロール、ネロール、ゲラニオールの酢酸エステルなどの存在が確認できた。中国産ローズ油にみられるこれらの成分は定性的には在来種のローズ油成分^{64)~66)71)}と違いはみられないが、最も特徴的なピークは相対面積比で13%を占めるpeak21である。この成分の質量スペクトルは分子イオン m/e 168 を示し、 m/e 69 が基準ピークとなる。このような質量数を示す含酸素成分は天然ローズ油の主要成分としてこれまで報告がみられないで、この成分をGC法で分取し構造決定を行った。単離物は nD^{20} = 1.4845、 $D^{20}=0$ の無色透明特異芳香を有する液体で、赤外、NMR 及び質量スペクトルを Fig.26 に示した。

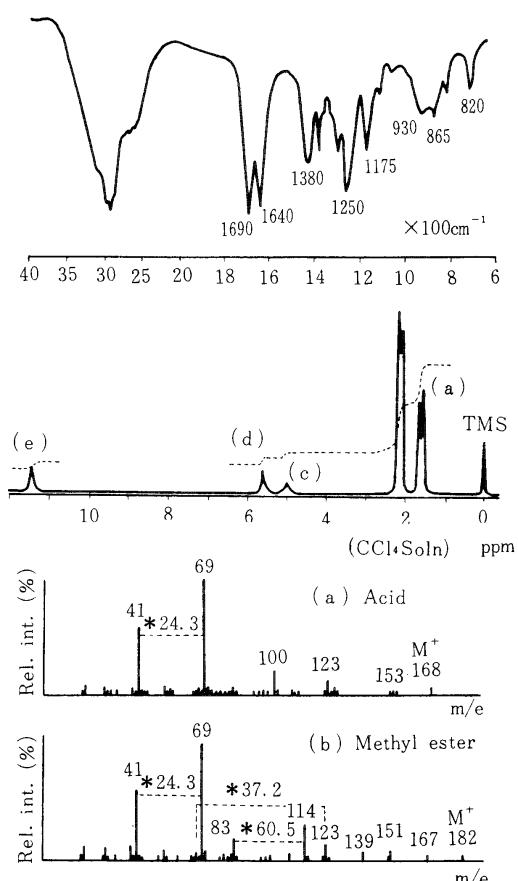


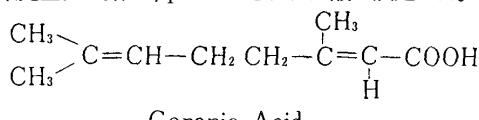
Fig.26 IR, NMR, Mass spectra of Peak 21

IR (cm^{-1}) : 3500~2500, 1690, 930 (α, β -不飽共役酸), 1640 ($\text{V}_{\text{C}=\text{C}}$).

NMR δ (ppm): 1.62 (3 H, s, $\text{CH}_3-\text{C}=\text{C}-$), 1.69 (3 H, s, $\text{CH}_3-\overset{\text{CH}_3}{\text{C}}=\text{C}-$), 2.0~2.5 (7 H, = $\text{CH}-\overset{\text{CH}_3}{\text{CH}_2}-\overset{\text{CH}_3}{\text{CH}_2}-\overset{\text{CH}_3}{\text{C}}=\text{C}-$, $-\overset{\text{CH}_3}{\text{C}}=\text{CH}-$, 2.19), 5.0 (1 H, s, broad, $>\text{C}=\text{CH}-$), 5.63 (1 H, s, $=\overset{\text{CH}_3}{\text{CH}}-\text{COOH}$), 11.4 (1 H, broad, $-\text{COOH}$).

2.19 ppm の吸収はシトラールa やゲラン酸メチル⁷²の炭素のメチルプロトンに対応し, シトラールb のメチルプロトンと異にするので二重結合につくメチル基とメチル基は相互にトランス型配置をとるものと考えられた。

一方, 单離物及びジアゾメタン法によるメチルエステルの質量スペクトルにみられる準安定イオン24.3はm/e69 m/e41 に相当し, この開裂はゲラニオールやシトロネロールなどの鎖状テルペン化合物に特徴的に現れるもので, 位の開裂で生成したイソプロピレン型構造をもつ m/e69 がエチレンを離脱しイソプロペニル (m/e41) の生成を示す。したがって, 单離物はイソプロピレン型末端構造をとる, - 不飽和共役酸 ($C_{10}H_{16}O_2$), ゲラン酸と推定した。单離物はゲラニオールの酸化銀酸化法で合成したゲラン酸と赤外, NMR, 質量スペクトル及びガスクロマトグラムを対比した結果完全に一致し, peak21 をゲラン酸と決定した。



ゲラン酸はユーカリ油 (Eucalyptus australiana Baker et Smith)⁷³ タバコ(Nicotiana tabacum L)⁷⁴ 及びレユニオン産ゼラニウム油⁷⁶ の成分として見出されているが, 蒸留したブルガリヤ産ローズ油⁷⁶ を除き一般にローズ油成分としてはこれまで報告されていない。そこで, 各国産ローズ油の酸性画分を GC - MS 法で検索したところ, 1% 以下であるがいずれのローズ油からもゲラン酸の存在が確認でき, ゲラン酸は天然ローズ油の成分と結論した。

() 各国産ローズ油の香気成分の比較

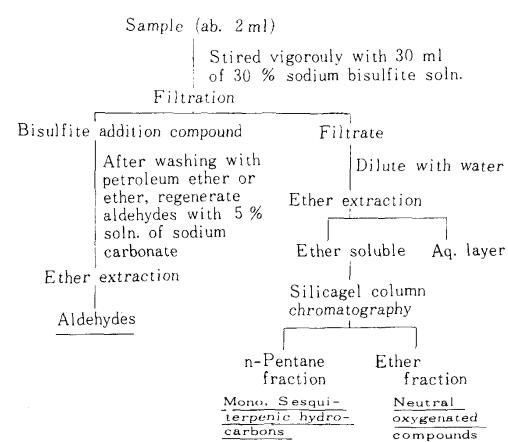
中国産ローズ油と各国産ローズ油の含酸素成分の組成を比較し Table 6 に示した。この結果, 中国産ローズ油の成分はブルガリヤ産, フランス産, モロッコ産のローズ油及びハマナス油の成分^{68,69}と本質的には同一であるが, 中国産のものにはゲラン酸, オイゲノール及びフェネチルアルコールなどの組成比の違いが著しいことが判明した。特に多量に存在するゲラン酸の成因については現在のところ明らかにし得ないが, 中国産ローズ油を特徴づける成分であり, また, ゲラン酸は特徴的な香りを有することを考慮すると含酸素成分中に多量に存在することは中国産ローズ油の芳香に著しく寄与していると考えられる。

3・3 桂皮油の成分と偽和物

桂皮油 (Chinese cinnamon oil) は Cinnamomum cassia の葉より水蒸気蒸留で得られる代表的な熱帯産天然精油の一つで, 医薬, 食品香料として良く知られている。桂皮油はシンナミックアルデヒドを 70% 以上含有するため知名度に比して構成成分についての報告が少なく, 微量成分を含めその構成成分が判明してきたのは最近のことである。^{77,78,79} また, 近年食品香料用として合成桂皮油や調合品が市場に出現しており, 天然精油との識別も難しくなってきた精油の一つである。本節では偽和物検索法を中心にして述べることにする。

() 精油成分検索のための前処理法

桂皮油中のアルデヒド成分は 80% を占めるため, 精油を直接 GC - MS 系に導入して成分検索を行っても, 少量成分の感度低下, ピークの重複をきたし良好な結果は得にくい。特に偽和物の検索を主目的とする税関分析においては Fig.27 に示すような酸性亜硫酸ナトリウム付加法を用い, 主成分のアルデヒド類を結晶性付加物として分離し, 中性成分を比較することによって偽和物の存在を予知できる場合が多い。



For the separation of free acids or phenols, extraction with alkalic soln. (5% NaOH soln. or 5% NaHCO soln.) is recommended.

Fig.27 Procedure for separation of aldehydes

() 桂皮油の成分

Table 6 Oxygenated compounds identified from Chinese, Bulgarian,
French, Moroccan rose oils and hamanasu oil,
and their compositions estimated
by peak area measurement

| Peak No. | Compound identified | China (%) | Bulgaria (%) | France (%) | Morocco (%) | Hamanasu (%) |
|------------|---|-----------|--------------|------------|-------------|--------------|
| 1 | Rose oxide | 0.62 | 0.10 | trace | 0.07 | 0.07 |
| 2 | Linalool | 0.20 | 0.19 | 0.18 | 0.06 | 0.15 |
| 3 | Sesquiterpene hydrocarbon ($M^+ = 204$) | 0.13 | 0.10 | 0.10 | — | — |
| 4 | Citronellyl acetate | | | | | |
| 5 | Neral | 1.30 | 0.21 | 0.24 | 0.30 | 0.21 |
| 6 | Geranyl formate | | | | | |
| 7 | Geranial, Neryl acetate | 0.87 | 0.13 | 0.08 | 0.10 | 0.10 |
| 8 | Geranyl acetate | | | | | |
| 9 | Citronellol | 11.45 | 9.55 | 5.71 | 9.67 | 4.52 |
| 10 | Nerol | 7.80 | 1.23 | 3.22 | 1.51 | 1.78 |
| 11 | Geraniol | 24.25 | 2.92 | 4.30 | 4.20 | 5.23 |
| 12 | Benzyl alcohol | trace | trace | trace | trace | trace |
| 13 | Phenethyl alcohol | 15.85 | 82.22 | 83.48 | 81.08 | 84.83 |
| 14 | Methyleugenol | 2.93 | 0.74 | 0.24 | 0.60 | 0.21 |
| 15, 16, 17 | Sesquiterpene hydrocarbon ($M^+ = 204$) | 0.90 | 0.02 | 0.22 | 0.07 | 0.02 |
| 18 | Eugenol | 10.22 | 0.91 | 0.39 | 1.30 | 0.51 |
| 19 | Sesquiterpene alcohol ($M^+ = 222$) | 2.50 | — | 0.10 | — | 0.06 |
| 20 | Sesquiterpene alcohol ($M^+ = 222$) | 2.92 | 0.02 | 0.29 | — | 0.19 |
| 21 | Geranic acid | 12.49 | 0.05 | 0.10 | 0.15 | 0.26 |
| 22 | Sesquiterpene alcohol ($M^+ = 222$) | 1.39 | 0.23 | 0.29 | 0.30 | 0.25 |
| 23 | Benzyl benzoate | 0.98 | trace | 0.28 | trace | trace |
| 24 | Sesquiterpene alcohol ($M^+ = 222$) | 0.86 | 0.10 | 0.24 | 0.24 | 0.68 |

Peak numbers are the same cited in Fig. 25.

Fig.28 は標準として用いている中国産桂皮油のガスクロマトグラムで、各ピークの成分は Fig.27 によるアルデヒド画分及び中性画分を用いて GC-MS 法及び標準添加法で同定したものである。試料の直接導入による桂皮油の含酸素高沸点成分の分析では、ピーク相互の分離性の悪さも手伝って重複した質量スペクトルが得られる場合が多く解析に苦労するが、分離画分を用いればかなり改善される。この理由は含酸素成分が濃縮される点と高沸点部に分布しているセスキテルペン炭化水素類がクロマト処理で除去できることによる。

この効果は特に少量成分については著しく、質量スペクトルのみでも各成分の同定が可能であった。すなわち、高沸点部に出現する特徴成分のうちシンナミックアセテートの質量スペクトルでは $M^+ = 176$, $M^+ - 43$ ($M^+ - \text{CH}_3\text{CO}$), $M^+ - 59$ ($M^+ - \text{CH}_3\text{COO}$) の他にベンゼン核に関連した m/e 92, 91, 77 及び 51 の開裂イオンが見られる。また、 $0 - \text{メトキシ・シンナミックアルデヒド}$ は $M^+ = 162$ からメトキシ基の脱離した m/e 131 が基準ピークとなる。一方、 $0 - \text{メトキシシンナミカルデヒド}$ は $M^+ = 206$, m/e 163 ($M^+ - \text{CH}_3\text{CO}$), m/e 147

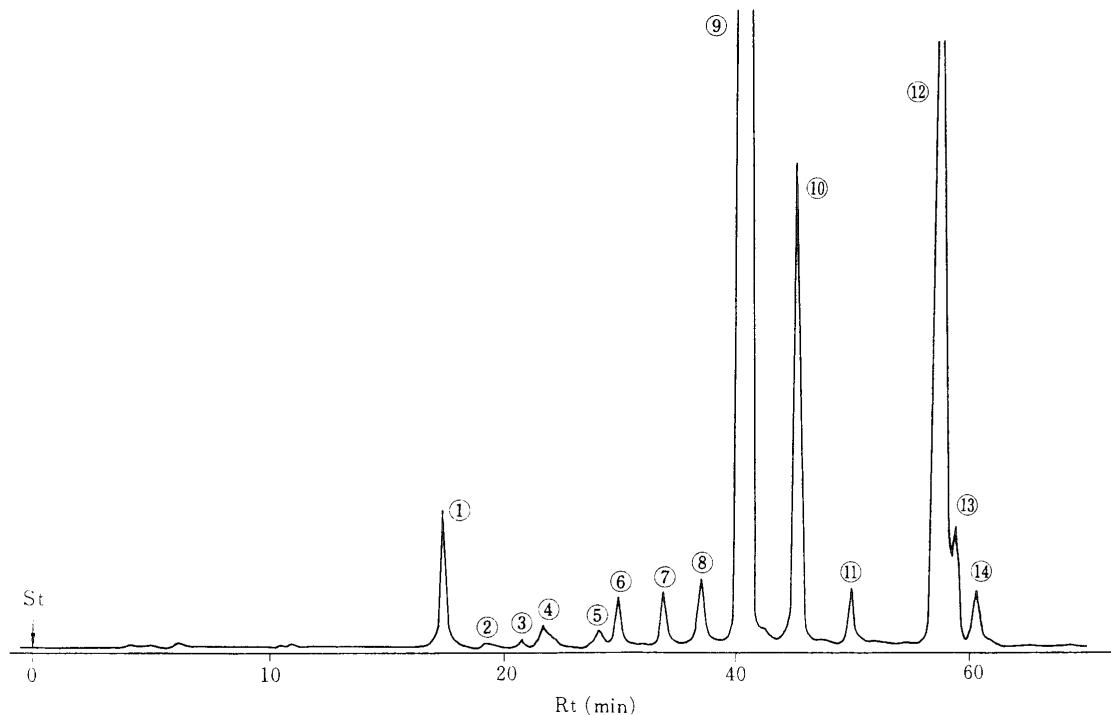


Fig.28 Gas chromatogram of Chinese cassia oil

Column : PEG-20M, 5% 2m x 3 mm

Chromosorb GAW DMCS, 100-

200 mesh

Temp : 80~240, 5 /min

Detector : FID, Sample size : 0.41 μ l

| | | | |
|------|-----------------------|------|----------------------------|
| peak | Benzaldehyde | peak | Cinnamyl acetate |
| | Phenethyl acetate | | Not identified |
| | -Phenylethyl alcohol | | o-Methoxycinnamic aldehyde |
| | o-Methoxybenzaldehyde | | Coumarine |
| | Cinnamic aldehyde | | o-Methoxy cinnamyl acetate |

($M^+ - \text{CH}_3\text{COO}$)を示し, 低質量部は $M^+ = 206$ を示す類似化合物イソオイゲニルアセテートの開裂パターンに

類似してくる。著者はすでに桂皮油中にこの成分が存在することを確認していたが,⁸⁰⁾ 文献に報告されたのは

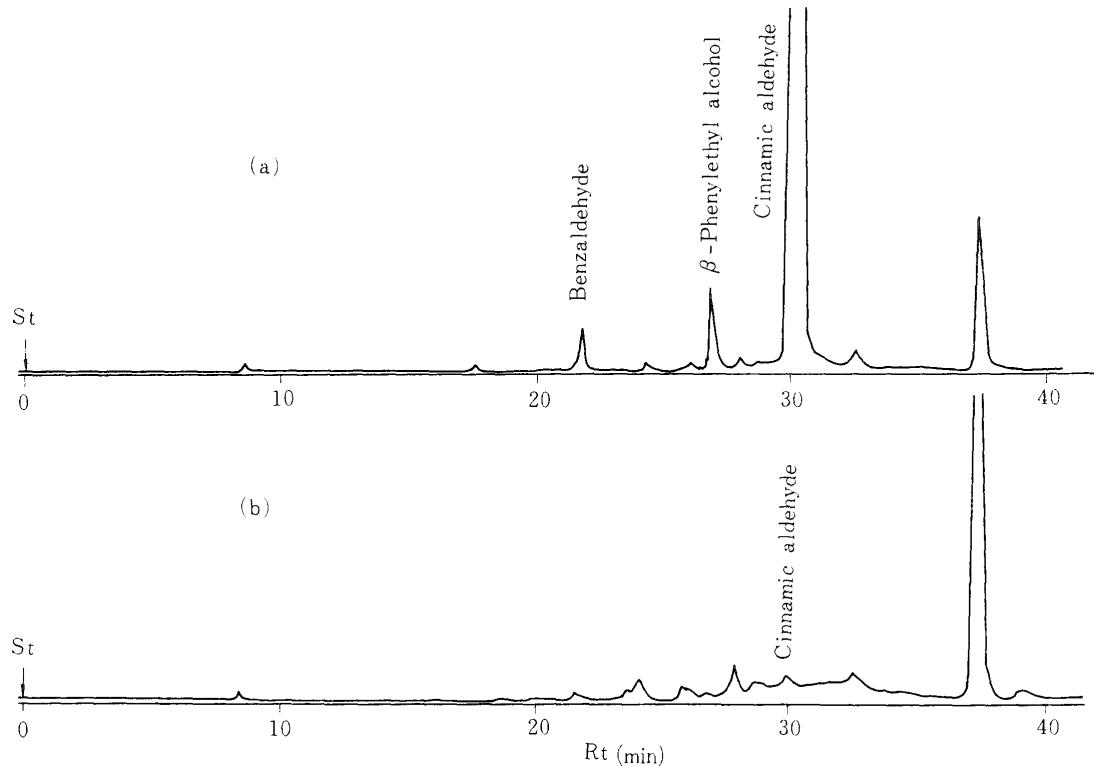


Fig.29 Gas chromatograms of Cassia synthetic oil

Column : PEG-20M, 5% 2m × 3 mm
chromosorb GAW DMCS, 100-200 mesh

Temp : 80 ~ 240, 5 /min

Detector : FID, Sample size : 0.4 μ l

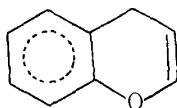
(a).....Cassia synthetic Oil

(b).....Oxygenated compound fraction

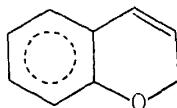
obtained by the procedure in Fig.27

比較的最近のことである。⁷⁷⁾

なお, PEG-20M カラムで分離する場合, ベンツアルデヒドとフェニルエチルアルコールのピーク間に, シンナミックアルデヒドと類似する質量スペクトルを示し, シンナミックアルデヒドやシンナミックアルコールが閉環した構造をもつクロメン-2やクロメン-3も微量特徴成分の一つとして見出されている。⁷⁸⁾



Chromene-2



Chromene-3

() 桂皮油中の偽和物の検索

Fig.29(a)はチューインガムの着香料として輸入された合成桂皮油のガスクロマトグラムである。このものは天然桂皮油として輸入申告されたため天然物か否か

を認定する必要があった。

この鑑別の基準として(1)主成分以外の含酸素成分の分布がFig.28に対応するか否か,(2)シンナミックアルデヒドの含有量,(3)少量成分であるセスキテルペン炭化水素の分布などがあげられる。含酸素成分のパタン (Fig.29, b) は 3・2 で述べたように桂皮油の特徴的な高沸点含酸素成分であるシンナミルアセート, 0-メトキシンナミックアルデヒド, クマリン, 0-メトキシンナミルアセテートなどのピークは全く検出されず, 逆に標準油にない成分のピークが存在した。しかも, この成分は主成分となっている点に標準油との違いが認められた。また, シンナミックアルデヒドの含有量も相対面積比法で測定した場合 94.6%と極めて高い値を示し, Leaf oil: 70%, Bark oil: 87%, Commercial oil: 77%程度の含有量と対比しても異常値であり, 天然桂皮油とは認め難いものであった。

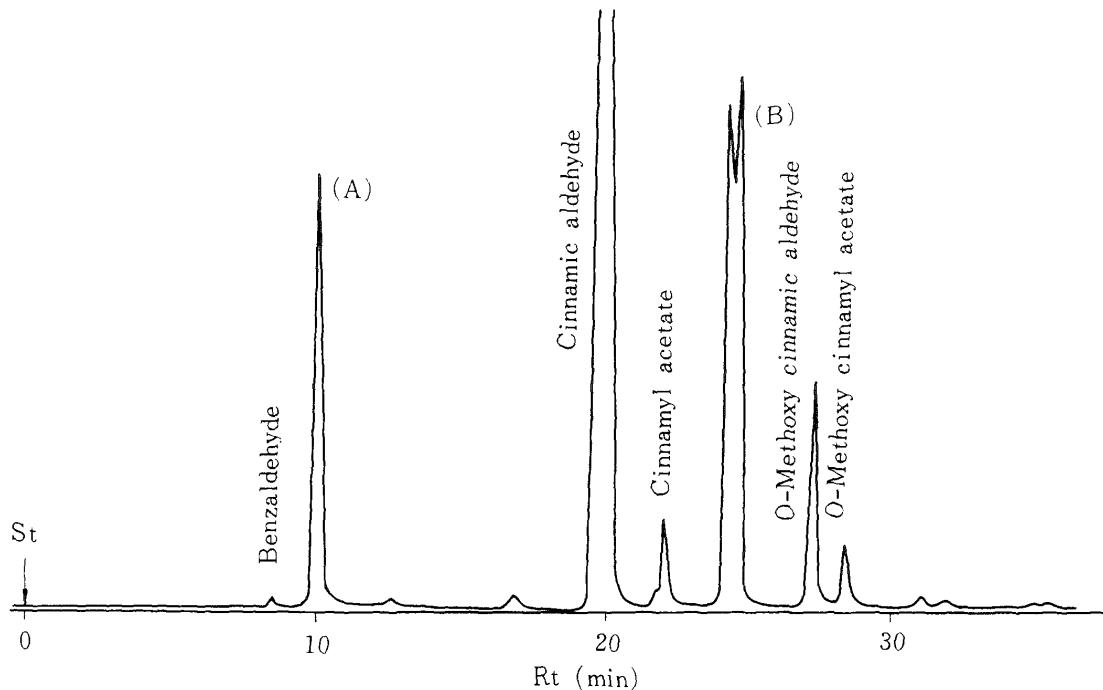


Fig.30 Gas chromatogram of Cinnamon cassia oil resin

Column : PEG-20M, 5% 2m × 3 mm, Chromosorb GAW-DMCS

Temp : 80 - 240, 5 /min

Detector : FID, Sample size : 0.1 μl

一方, Fig.30 は Cinnamon cassia oil resin なる品名で輸入された食品香料のガスクロマトグラムである。この試料には標準品にない peak A, B (保持時間の近接した 2 本のピークが重複) が存在し、偽和物の存在が推定された。A, B 成分は水蒸気によって消失し、また、B 成分は酸性亜塩酸ナトリウム付加法で処理した場合、アルデヒド画分、含酸素成分にも出現しなくなる。しかし、含酸素画分のガスクロマトグラムではシンナミルアセテート、0-メトキシンナミックアルデヒド、0-メトキシンナミルアセテートのピークは明瞭に存在し、主成分は桂皮油であることは明らかであ

った。

A 成分については試料を水で抽出すると水層に完全に移行し、赤外吸収スペクトルよりプロピレングリコールと同定できた。しかし、B 成分を質量スペクトル法で検索すると二つのピークはいずれも $M^+ = 190$ を示し、開裂パターンも全く有意差がなかった。開裂イオンのうち、 $m/e 131, 103, 91, 77, 51$ はシンナミックアルデヒドの質量スペクトルに見られるフラグメントイオンに対応し、イオン強度比もほぼ一致することから分子内に c1ccccc1-CH=CH-(*)CO の構造単位をもつことが予想された。

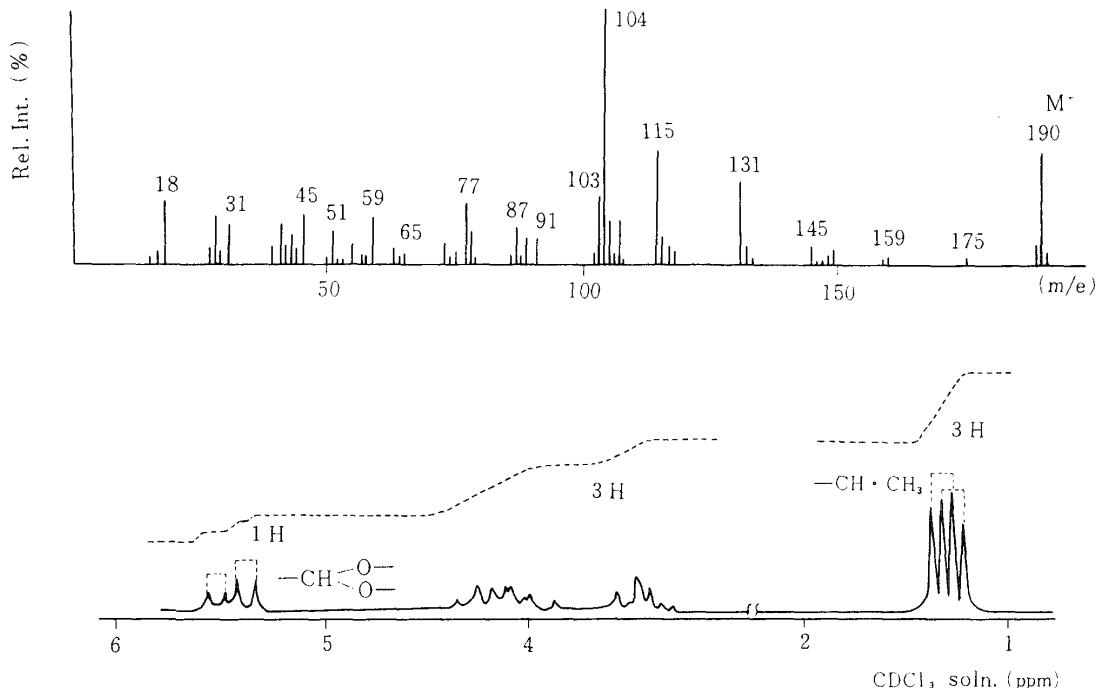
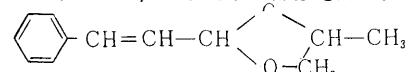


Fig.31 Mass and NMR spectra of peak B

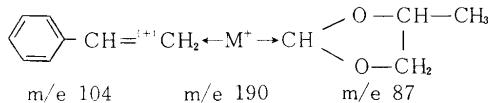
また、 $m/e 31$ の開裂イオンはシンナミックアルデヒドの構造からは直接生成し難いが、この残基が $-\overset{13}{C}H_2=OH$ ($m/e 31$) を生成し易い構造例えはアセタール結合を持つ場合にはエチレングリコールより誘導される環状アセタール^{8,1}に類似して電子衝撃で Dioxolane 環に開環が起り、 $m/e 31$ の生成も容易になる。したがって、分子イオン ($m/e 190$)、 $m/e 103$ の生成及び Isotope abundance table より求めた元素組成 $C_{12}H_{14}O_2$ を考慮すると

次の様な平面構造をもつシンナミックアルデヒド環状プロピレン-1,2-アセタールが考えられる。



基準ピーク ($m/e 104$) の生成は準安定イオンが検知できないため明らかにし得ないが、 $m/e 87$ のフラグメントイオンも明瞭に出現していることから、次式のような開裂、すなわち、-水素の転移に伴う-開裂が

起き易いのではないかと考えている。



一方カラムクロマト法で分取した B 成分の NMR スペクトルは環状プロピレン-1,2-アセタールの部分構造を持ち、しかも、二重結合のプロトンと cis-trans 型配置をとることを示している。このことは B 成分が保持時間の近接した 2 本のピークを示す理由にもなっている。

天然桂皮油の成分としてアセタール類が確認された報告はない。通常、果実の香気成分の一つとして見出されているアセタール類はアセトアルデヒドの単純又は混合型アセタールが大部分で、他には C₃ ~ C₈ 程度の脂肪族アルデヒドとメタノール、エタノール、プロパノール、ブタノール、アミルアルコール、3-ヘキセノール等とのアセタールが知られているにすぎない。⁸²⁾ その他のタイプにはアップル⁸³⁾ グレープ⁸⁴⁾ の香気成分として知られているアセトアルデヒドと 1,3-ブタンジオールのアセタールである 2,4,5-トリメチル-1,3-ジオキ

ソラン、アーモンド、チェリー、ナツツのフレーバーとして使用されているベンツアルデヒドとグリセリンのアセタールがあるがこれらは合成品である⁸²⁾。したがって、試料中に存在するシンナミックアルデヒド環状プロピレン-1,2-アセタールは明らかに合成品で偽和物と認定されたわけである。

以上、天然精油の鑑別及び精油成分の確認と偽和物の検索法について述べたが、精油は種類が多い上にその成分さえ十分究明されてないものまで輸入される現状で、必ずしも画一的方法で分析することはできないが、基本的には上述の諸方法を組合せて検討すれば関税行政上の問題点の多くは解決できるのではないかと考えられる。なお、レジノイドの認定、テルペン性副産油の分析、各種合成精油の鑑別など検討すべき問題は残されているので、これらについては別に述べる予定である。

本研究にあたり種々ご指導、ご助言を戴いた東京大学工学部教授、田中誠之博士、弘前大学理学部教授、土井孝蔵博士に厚く感謝します。

文 献

- 1) 実行関税率表：日本関税協会(1977).
- 2) J. L. Simonsen : The Terpenes Vol 1, 230 (1953) Cambridge Univ. Press.
- 3) 清水純夫：化学，22, 67 (1966).
- 4) 清水純夫：化学と生物，12, 659 (1974).
- 5) 奥田治：香料化学総覧〔1〕, P.315 (1972) 広川書店.
- 6) 関税暫定措置法：(昭和35.3, 法36).
- 7) F. A. Fluckiger: Pharm. J., 3, 682, (1871).
- 8) D. M. Smith, L. Levi: J. Agr. Food Chem., 9, 230, (1961).
- 9) 波田野秀穎, 金子雄三: 香料, No39, 32 (1956).
- 10) I. G. Nigam, L. Levi: J. Pharmaceutical Sci., 53, 1008 (1964).
- 11) R. W. Woodward, R. H. Eastman: J. Amer. Chem. Soc., 72, 399 (1950).
- 12) 村木繁：第12回香料・テルペン・精油化学討論会要旨集, 12 (1969).
- 13) 大野幸雄, 出来三男, 田中誠之: 分化, 24, 589 (1975).
- 14) 笠野秀雄: 北農, 41, 3 (1974).
- 15) 中山孟郎, 東山龍雄, 阪田功, 橋爪誠: 香料, No97, 47 (1970).
- 16) B. M. Lawrence, J. W. Hogg, S. J. Torhune: The Flavour Ind., 407 (1972).
- 17) D. M. Smith, J. C. Bartlet, L. Levi: Anal. Chem., 32, 568 (1960).

- 18) J. W. Daly, F. C. Green, R. H. Eastman: *J. Amer. Chem. Soc.*, **80**, 6380 (1958).
- 19) 北原喜男, 佐々木慎一, 村田一郎: マススペクトルの見方, P. 47 (1965) 広川書店.
- 20) 湯川泰秀, 伊藤椒: テルペンスペクトル集成, P. 199 (1973) 広川書店.
- 21) S. Kusumoto, A. Ohsuka, H. Kotake: *Bull. Chem. Soc. Jap.*, **41**, 1950 (1968).
- 22) 清水純夫, 唐沢伝英: 第 12 回香料・テルペン・精油化学討論会要旨集, 23 (1969).
- 23) 大野幸雄, 田中誠之: 分化, **24**, 267 (1975).
- 24) 手塚七五郎, 神公潔, 清水純夫: 香料, No. 81, 17 (1966).
- 25) R. Jaspersen-Schib: *Pham. Acta Helv.*, **36**, 141 (1961).
- 26) H. Schmidt: *Ber.*, **80**, 538 (1947).
- 27) S. Arctander: *Perfume and Flavor Materials of Natural Origin*, P. 513 (1960) Elizabeth N. J.
- 28) J. Bellanato, A. Hidalgo: *Infrared Analysis of Essentioil*, P. 104 (1971) Heyden & Son.
- 29) 奥田治: 香料化学総覧, [1] P. 275 (1972) 広川書店.
- 30) Y. R. Naves: *Helv. Chim. Acta*, **31**, 378 (1948).
- 31) J. M. Robertson, G. Todd: *Chem. & Ind.*, 437 (1953).
- 32) T. Johns: *Gas Chromatog. Prog. Symposium 3rd Edinburgh*, 242 (1960).
- 33) 出山武, 堀口貞次郎: 薬誌, 91, 1383 (1971).
- 34) 正田芳郎: ガスクロマトグラフィー, マススペクトロメトリーによる天然香料の分析, P. 124 (1975) 広川書店.
- 35) 大野幸雄, 田中誠之: 分化, **25**, 478 (1976).
- 36) C. Lozzi: *Perf. Ess. Oil Rec.*, **55**, 179 (1963).
- 37) 北原喜男, 佐々木慎一, 村田一郎: マススペクトルの見方, P. 47 (1969) 共立出版.
- 38) 奥田治: 香料化学総覧, [1] P. 85 (1972) 広川書店.
- 39) S. Arctander: *Perfume and Flavor Materials of Natural Origin*, P. 136, P. 422 (1960) Elizabeth N. J.
- 40) L. Ruzicka: *Helv. Chim. Acta*, **9**, 230 (1926).
- 41) M. Stoll, J. Hulstkamp, A. Rouvé: *Helv. Chim. Acta*, **31**, 543 (1948).
- 42) 阿部正三: 香料, No. 96, 19 (1970).
- 43) 阿部正三, 江藤武顯, 辻戸義明: 香料, No. 101, 53 (1972).
- 44) 大野幸雄, 田中誠之: 分化, **26**, 232 (1977).
- 45) S. Arctander: *Perfume and Flavor Materials of Natural Origin*, P. 174 (1960), Elizabeth N. J.
- 46) 福岡正道, 名取信策: 衛試報告, **50**, 87 (1969).
- 47) K. H. Schulte-Elte, B. Willhalm, A. F. Thomas, M. Stoll, G. Ohloff: *Helv. Chim. Acta*, **54**, 1759 (1971).
- 48) D. H. Williams, H. Budzikiewicz, Z. Delah, C. D. Dierassi: *Monatsh.*, **95**, 166 (1964).
- 49) J. H. Beynon, R. A. Saunders, A. E. Williams: *App. Spectroscopy*, **14**, 95 (1960).
- 50) 大野幸雄, 田中誠之: 分化, **24**, 776 (1975).
- 51) 林修一, 是沢儀明, 石塚彰治, 松浦多聞: 第 5 回香料・テルペン・精油化学討論会要旨集, 115 (1962).
- 52) J. S. Shannon: *Austral. J. Chem.*, **15**, 265 (1962).
- 53) C. F. Seidel, M. Stoll: *Helv. chim. Acta*, **44**, 598 (1961).
- 54) Y. Ohta, K. Nishimura, Y. Hirose: *Agr. Biol. Chem.*, **28**, 5 (1964).
- 55) E. Sundt, B. Willhalm, M. Stoll: *Helv. Chim. Acta*, **4**, 408 (1964).
- 56) 北原喜男, 佐々木慎一, 村田一郎: マススペクトルの見方, P. 74 (1965) 共立出版.
- 57) H. J. Petrouitz Jr., F. Nerdol, G. Ohloff: *Reichstoff and Aromen*, , 389 (1961).
- 58) R. Suffis, D. E. Deen: *Anal. Chem.*, **34**, 480 (1962).

- 59) 是沢儀明, 林修一: 香料・テルペン・精油化学討論会要旨集 P. 26 (1963).
- 60) L. Peyron: *Parfume Cosmet. Savon*, **5**, 270 (1962).
- 61) T. Kami, S. Otaishi, S. Hayashi, T. Matsuura: *Agr., Biol. Chem.*, **33**, 502 (1969).
- 62) R. Timmer, R. ter Heide, P. J. Valois, H. J. Wobben: *J. Agr. Food Chem.*, **19**, 1066 (1971).
- 63) 直木秀夫, 酒井勉, 納谷洋子, 広瀬善雄: 香料・テルペン・精油化学討論会要旨集, P. 12 (1974).
- 64) I. Ognynov: *Perf. Ess. Oil Rec.*, **56**, 653 (1964).
- 65) C. F. Seidel, D. Felix, A. Eschenmosar, K. Biemann, E. Pally, M. Stoll: *Helv. Chim. Acta*, **44**, 598 (1961).
- 66) Y. R. Naves: *Perf. Ess. oil Rec.*, **50**, 290 (1958).
- 67) K. Horiuchi: *The TAKASAGO times*, **19**, No53 (1973).
- 68) 酒井勉, 西村驥一, 広瀬善雄: 日化, **83**, 745 (1962).
- 69) K. Nishimura, T. Sakai, M. Ogawa, Y. Hirose: *Bull. Chem. Soc. Jap.*, **37**, 1407 (1964).
- 70) Y. Ohno, S. Tanaka: *Agr. Biol. Chem.*, **41**, 401 (1977).
- 71) E. Demole, P. Enggist, U. Säuberli, M. Stoll: *Helv. Chim. Acta*, **53**, 541 (1970).
- 72) J. W. K. Burrel, L. M. Sackman, B. C. L. Weedon: *Proc. Chem. Soc.*, 263 (1959).
- 73) Ralph: *J. Proc. Roy. Soc. N. S. W.*, **80**, 208 (1946).
- 74) E. Demole, D. Berthet: *Helv. Chim. Acta*, **55**, 6 (1972).
- 75) R. ter Heide, P. J. Valois, H. J. Wobben, R. Timmer: *J. Agr. Food Chem.*, **23**, 57 (1975).
- 76) E. Guenther: *The Ess. Oil*, Vol4, 429 (1950).
- 77) Roelof ter Heide: *J. Agr. Food Chem.*, **20**, 747 (1972).
- 78) 服部鍊三, 村木繁, 吉田利男: 香料・テルペン・精油化学に関する討論会講演要旨集 P. 35 (1975).
- 79) U. M. Senanayake, T. H. Lee, R. B. H. Will: *J. Agr. Food Chem.*, **26**, 822 (1978).
- 80) 大野幸雄: 税關分析月報, No. 55, P. 46 (1969).
- 81) R. A. Friedel, A. G. Sharkey, Jr.: *Anal Chem.*, **28**, 940 (1956).
- 82) 高島靖弘: 香料, No. 103, 45 (1973).
- 83) R. A. Flath, D. R. Black, R. R. Forrey, G. M. McDonald, T. R. Mon, R. Teranishi: *J. Chromat. Sci.*, **7**, 508 (1969).
- 84) K. L. Stevens, R. A. Flath, A. Lee, D. J. Stern: *J. Agr. Food Chem.*, **17**, 1102 (1969).

Studies on the Analysis of Perfume and Flavor materials of natural Origin

Yukio OHNO*

* Central Customs Laboratory, Ministry of Finance,
531, Iwase, Matsudo - shi, Chiba - ken, 271 Japan

This review covers the basic studies on the identification of important essential oils and analysis of adulterants in the oils using instrumental method. Descriptions and evaluations of the method were discussed.

The chief subjects included here are as follows:

- 1 Discrimination of the species of peppermint oils by gas chromatography and GC-MS method
- 2 Simultaneous detection of menthofuran and cineol in peppermint oils by thin-layer chromatography (Rapid discrimination of the species of peppermint oils)

- 3 The constituents and infrared spectra of clove oils
- 4 Detection and identification of civetone in natural civets by thin-layer chromatography and GC-MS method
- 5 Analysis of geranium oils and detection of adulterants by GC-MS method
- 6 On the constituents of a chinese rose oil
- 7 On the constituents of cassia oil and detection of adulterant in imported oils

- Recieved Oct. 9, 1979 -