

天然化合物の抗菌活性に関する研究(第2報)

中 林 みどり・高 野 三 郎

Studies on the Antibacterial Activity of Natural Compounds (2)

by

Midori Nakabayashi, Saburo Takano

結 言

(1) 前回筆者らは天然化合物のうちで良く知られている遊離アミノ酸、特にL-アルギニンとL-リジンなどの塩基性アミノ酸や調味料として使用されている食塩、ショ糖、重ソウなどについてこれらのもつ抗菌活性を検討した。このうちでアミノ酸はL-アルギニンの方に、調味料では重ソウに強い抗菌性を認めたので報告した。

今回はさらに食品の調理、加工上で広く使用されている香辛料についてその抗菌性を検討することとした。さて、大古の時代に人間が肉を保存する時に塵などに汚染されない様に植物の葉に包んでおいたところ、その葉の香りが良い香りとなって肉につく一方、腐敗臭が少ないことを知ったのが食肉への香辛料(スパイス)を利用する発端となった。香辛料は食品などに風味を賦与するばかりでなく抗菌作用、防腐作用、抗酸化作用、生理作用、薬理作用などをもつといわれている。抗酸化作用についても数々の研究がなされており、特に抗菌作用との相関性をみた報告もみられる^{(2)~(4)}。筆者らは食品加工上で使用した香辛料のクローブとセージが極めて高い抗酸化能をもつといわれていることに着目し、これらの抗菌性について検索したところ、若干の知見が得られたので報告する。

実 験 方 法

(1) 供試菌株、前回抗菌試験に用いた菌株のうち一般糸状菌株の一種、フザリウム菌(*Fusarium* sp.)について検討した。

(2) 培地、一般糸状菌の培地として知られているジャガイモ、グルコース寒天培地を使用した。これを常法に従い調製した後、高圧滅菌し、供試用培地とした。

(3) 供試天然化合物、今回用いた試料は香辛料として知

られているセージ(Sage)とクローブ(Clove)を用いた。またこれらの香辛料に食塩を加えた添加効果も検討した。香辛料は市販の粉末製品を用いた。これを直接培地に一定量添加したものと、香辛料の粉末をアルコール(メチルアルコール)で2時間加熱抽出した後減圧濃縮を行ない得られた油状物質を一定量培地に添加したものと、またこの抽出した油状物質の一定量に食塩を一定量混合し、さらにこれらの混合物の一定量を培地に添加したものに分類して抗菌試験を行なった。香辛料そのものを添加する場合の濃度は培地中に500~2,000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ となるようにし、また食塩を添加する場合は香辛料と調味料の添加割合を1:1とし、併せて培地中に500~3,000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ となるように添加した。

(4) 抗菌試験、フザリウム菌をあらかじめ27℃、2週間前培養した後、この一定量を無菌的に滅菌生理食塩水中に懸濁した。次にこの懸濁液を適量に希釈した後供試菌液とした。試験に際しては香辛料無添加の培地を調製し、対照区とし、一方では香辛料などを加えた培地を調製し試験区とした。これらの培地10mlと供試菌液1mlを良く混合させた後、無菌的にペトリ皿中に注入した。10枚のペトリ皿を1組(1区)とし、27℃、72時間培養して発生したコロニー数および径を測定した。次いで香辛料無添加の対照区に対しコロニー発生率および径が小さいもので有意差を示すものに対してはフザリウム菌に対する抗菌性を示す判定基準とした。

実験結果および考察

天然化合物のうち香辛料の抗菌活性に関する報告はあまりみられない。香辛料の化学的性質についての報告中で抗菌性についての記載があり、その中で香辛料は成分の変化がある程度みられるので、菌種の相違による抗菌

活性も異なるといわれている。香辛料の中には前述の様に抗酸化能と抗菌性が相関する物質も認められており、興味深い知見もみられる。一般に香辛料のなかではセージとクロープは中程度の抗菌性を示す物質ではないかと考えられている。筆者らは手持ちのセージとクロープで抗菌活性を検討することとした。ここで用いたフザリウム菌は、一般的に食品に付着して腐敗せしめる糸状菌として知られているのとは他方では、植物の根や茎に付着してその根や茎を腐敗せしめる菌として最近特に注目を集める様になってきたものである。今回はまず、セージについて検討した。セージは1,000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の濃度で本菌に対する抗菌性を示した(第1, 2表)。しかもセージの粉末を直接培地に添加したものより、セージのメチルアルコール抽出物添加区により強い抗菌性が認められた(第1表)。次いでクロープについても検討したところセージと同様な効果が認められ、その1,000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の添加で抗菌性が認められた(第3, 4表)。また粉末試料と

第1表 コロニー数からみたフザリウム菌に対するセージの抗菌活性

区	制	濃度 ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	コロニー数 平均	対照区に 対する %	t 検定
対 照		—	6.0	—	
粉 末 試 料		500	6.5	108.3	
粉 末 試 料		1,000	4.5	75.0	
メチルアルコール抽出物		500	4.4	72.8	
メチルアルコール抽出物		1,000	3.2	53.3	*
メチルアルコール抽出物		2,000	2.3	38.3	**

***有意水準1%で有意のもの(*5%で有意のもの)

第2表 コロニー径からみたフザリウム菌に対するセージの抗菌活性

区	制	濃度 ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	コロニー径 平均 (mm)	対照区に 対する %	t 検定
対 照		—	24.3	—	
粉 末 試 料		500	16.9	69.6	**
粉 末 試 料		1,000	13.6	56.0	**
メチルアルコール抽出物		500	7.9	32.5	**
メチルアルコール抽出物		1,000	5.6	23.4	**

***有意水準1%で有意のもの

第3表 コロニー数からみたフザリウム菌に対するクロープの抗菌活性

区	制	濃度 ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	コロニー数 平均	対照区に 対する %	t 検定
対 照		—	12.1	—	
粉 末 試 料		500	11.4	94.1	
粉 末 試 料		1,000	9.7	80.1	
メチルアルコール抽出物		500	8.4	69.4	
メチルアルコール抽出物		1,000	6.6	54.6	**

***有意水準1%で有意のもの

第4表 コロニー径からみたフザリウム菌に対するクロープの抗菌活性

区	制	濃度 ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	コロニー径 平均 (mm)	対照区に 対する %	t 検定
対 照		—	16.7	—	
粉 末 試 料		500	13.3	79.6	**
粉 末 試 料		1,000	8.7	52.2	**
メチルアルコール抽出物		500	7.3	43.7	**

***有意水準1%で有意のもの

第5表 コロニー数からみたフザリウム菌に対するセージのメチルアルコール抽出物と食塩との混合物の抗菌活性

区	制	濃度 ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	コロニー数 平均	対照区に 対する %	t 検定
対 照		—	16.0	—	
メチルアルコール抽出物+食塩		500	10.9	68.0	
メチルアルコール抽出物+食塩		1,000	4.5	28.7	**
メチルアルコール抽出物+食塩		2,000	0.7	4.4	**
メチルアルコール抽出物+食塩		3,000	0.2	1.2	**

***有意水準1%で有意のもの

第6表 コロニー径からみたフザリウム菌に対するセージのメチルアルコール抽出物と食塩との混合物の抗菌活性

区	制	濃度 ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	コロニー径 平均 (mm)	対照区に 対する %	t 検定
対 照		—	18.8	—	
メチルアルコール抽出物+食塩		500	6.8	36.3	**
メチルアルコール抽出物+食塩		1,000	6.6	36.1	**
メチルアルコール抽出物+食塩		2,000	2.6	13.8	**
メチルアルコール抽出物+食塩		3,000	0.3	1.5	**

***有意水準1%で有意のもの

メチルアルコール抽出物の差は明らかにメチルアルコール抽出物の方により強い抗菌性が認められた(第3表)。次にセージのメチルアルコール抽出物に等量の食塩を添加した場合は両試薬の合計量1,000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の濃度で抗菌活性が認められた(第5, 6表)。またコロニー径より求められた結果では併せて500 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の濃度で抗菌性が認められ、セージの本菌に対する増殖を抑制する効果が500 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の濃度でみられることが明らかにされた(第6表)。次にクロープのメチルアルコール抽出物についても検討したが、食塩を等量添加した場合、コロニー径より500 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の濃度で抗菌性が認められた(第7, 8表)。

以上よりセージとクロープにはフザリウム菌に対する抗菌活性が少なくとも1,000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の濃度でみられることが明らかとなった。また本菌に対して増殖を抑制する効果は500 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の濃度で認められ、これより低濃度でも

第7表 コロニー数からみたフザリウム菌に対する
クローブのメチルアルコール抽出物と食塩
との混合物の抗菌活性

区 制	濃 度 ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	コロニー数 平 均	対照区に 対する %	t 検 定
対 照	—	15.0	—	
メチルアルコール抽出物+食塩	500	14.1	94.0	

第8表 コロニー径からみたフザリウム菌に対する
クローブのメチルアルコール抽出物と食塩
との混合物の抗菌活性

区 制	濃 度 ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	コロニー径 平 均 (mm)	対照区に 対する %	t 検 定
対 照	—	25.3	—	
メチルアルコール抽出物+食塩	500	14.1	55.7	**

**有意水準1%で有意となるもの

抑制効果がみられる可能性が示唆された。一般に香辛料を食品加工や調理上で使用する場合、操作として煮熟工程を含むことが多い。この場合は香辛料が他の食品と共に煮熟中の水分中に一部溶解するものと考えられる。今後はアルコール抽出物ばかりでなく水抽出物などの挙動なども検討し、その機構も解明していきたいと考えている。

参 考 文 献

- (1) 中林みどり, 高野三郎; 文教大学紀要, 第10集 (1977)。
- (2) 渡辺幸雄, 綾野雄幸; 栄養と食糧, 27, 181 (1974)。
- (3) 斎藤 浩; 食の科学, 13, 62 (1973)
- (4) 斎藤 浩, 木村雄吉, 鈴木克正; 食の科学, 13, 69 (1973)。
- (5) 明日山秀文, 向 秀夫, 鈴木直治; 植物病理実験法, 日本植物防疫協会, 1965, p. 794.