

琉球大学学術リポジトリ

沖縄産香辛野菜の腐敗細菌に対する抗菌作用

メタデータ	言語: 出版者: 琉球大学教育学部 公開日: 2007-08-08 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 東盛, キヨ子, 大城, ちか子 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/20.500.12000/1330

沖縄産香辛野菜の腐敗細菌に対する抗菌作用

東 盛 キヨ子* ・ 大 城 ちか子**

Antibacterial Action of Okinawa-Grown Spices and Herbs against Food-Borne Bacteria

Kiyoko HIGASHIMORI* ・ Chikako OHSHIRO**
(Received oct. 29, 1999)

Summary

Control of the growth of food-borne bacteria is important in lengthening the preservation of foods. The food processing industry in Japan has been endeavoring to develop and utilize non-artificial and safe food-preservatives to meet the consumers'needs.

This study shows the inhibitory effect of the Okinawa-grown spices and herbs against bacteria in an attempt to find the possibility of their use as food-presevatives. Against the food spoilage bacteria, which are separated from food, a strong inhibitory effect was observed in the extracted liquid of the ethanol of Turmeric (*Curcuma domestica* VALETON) (powder) and Hihatu-Modoki (*Piper retrofractum* VHAL) (powder) equal to the extract of ethanol of garlic which was used for comparison. The same effect was identified in the ethanol-liquid of Bird Pepper (*Capsicum frutescens* L.), Mugwort (*Artemisia princeps* PAMP.), Aloe (*Aloe arborescens* MILL.). Turmeric(powder) ethanol-extract, even after being heated for fifteen minutes, controlled the increase of the bacteria. The inhibitory effect of Hihatu-Modoki (powder) ethanol extract against bacteria weakened with the progress of heating time.

1. 緒 言

沖縄では日常の食事の中でヨモギやトウガラシなどの香辛野菜がよく利用されている。それらの有する辛味成分や特有の芳香は、食欲を増進させる効果のほかに薬理作用のあるものもある。また、香辛料の中にはカラシやワサビのように抗菌効果を示す成分を有するものがあり、香辛料としての利用のほかに、加工食品等の保存料としてすでに実用化され、利用されているものがある。食品の保存性の向上には微生物の増殖を抑制することが重要であり、そのために、食品添加物の合成保存料等が用いられているが、保存料の添加という点

では、先のカラシやワサビのような天然物は化学的合成品より安全であるという消費者の認識もあることから、消費者に受け入れられやすい天然素材を原料にした天然添加物の開発や使用に関心が持たれている。

そこで、今回、沖縄に産する香辛野菜を対象に、その水およびエタノール抽出液の腐敗細菌に対する抗菌作用について検討を行い、化学的合成品に代替する天然系保存料としての可能性の有無を検討した。また、エタノール抽出液の抗菌作用におよぼす加熱の影響についても検討したので報告する。

* 生涯健康教育教室

** 琉球大学医学部 栄養管理室

2. 試料および実験方法

1) 試料

キダチトウガラシ (*Capsicum frutescens* L.)、ヨモギ (*Artemisia princeps* P AMP.)、アロエ [キダチロカイ (*Aloe arborescens* MILL.)]、ウコン (*Curcuma domestica* VALETON) 粉末、ヒハツモドキ (*Piper retrofractum* V HAL) 粉末を1996年2月から12月にかけて那覇市、宜野湾市、名護市のスーパーマーケットや公設市場で購入し試料として用いた。ただし、アロエは自宅の庭にて栽培しているキダチロカイを採取し用いた。なお、比較のため、すでに抗菌効果の認められているニンニク (*Allium sativum* L.) およびクローブ (*Eugenia caryophyllata* THUNB.) も用いた。

2) 試料抽出液の調製^{1), 2)}

図1に示すように水抽出液は、試料50gを蒸留水100mlとともにミキサーで磨砕し、ピーカーに移し、2時間室温(23℃)に放置した後、5℃の冷蔵庫で20時間保存した。その後、吸引ろ過を

水抽出液		エタノール抽出液	
試料	50g	試料	50g
蒸留水	100ml	エタノール	100ml (99.5%)

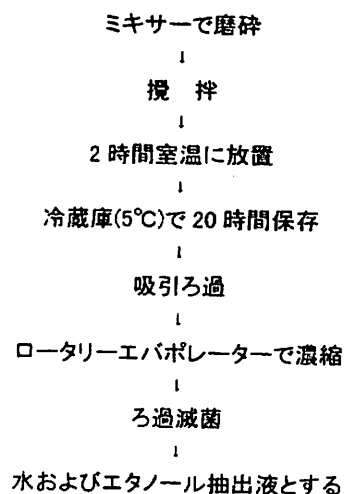


図1 抽出液の調整方法

行い、ロータリーエバポレーター (YAMATO Rotary Evaporator RE 47) でろ液を10mlになるように濃縮した。ろ液を0.45μlのミリポアフィルター (関西化学株式会社 EB-DISK 25 Polysulfone) でろ過滅菌を行い、無菌としたものを検液とした。この検液1mlは各試料の5gの水抽出液に相当する。エタノール抽出液も同様に調整した。

3) 供試菌株

那覇市、宜野湾市のスーパーマーケットで購入したトリ胸肉、牛肉ミンチ、豚もも肉、魚(タカサゴ)、餅菓子を2日間室温に放置後、細菌を分離し、Cowanの方法³⁾ およびバイオテスト1号栄研⁴⁾ で同定し得られた *Pseudomonas putida* および属段階までの同定の *Pseudomonas* spp. (1), *Pseudomonas* spp. (2), *Pseudomonas* spp. (3), *Enterobacter* spp., *Flavobacterium* spp. (1), *Flavobacterium* spp. (2), *Proteus* spp., *Serratia* spp. を用いた。

4) 試薬および培地

リン酸二水素カリウム(無水)、水酸化ナトリウム、エタノール(99.5%)は関東化学(株)製特級試薬を用いた。培地はミュラーヒントンS寒天培地‘栄研’およびハートインフュージョンブイオン培地を用いた。

5) リン酸緩衝液の調製^{5), 6)}

細菌採取用の滅菌リン酸緩衝液は、リン酸二水素カリウム(無水)34gを精製水500mlに溶解後、1N-水酸化ナトリウム溶液175mlを加え、精製水で全量を1,000mlとして、pH7.2に修正した。これを原液とし冷蔵庫に保管して使用時にこの原液1mlを蒸留水800mlに加え、121℃で15分間滅菌し使用した。

6) 抗菌試験(感受性テスト)^{6), 7)}

拡散法であるディスク法を用いた。菌株の接種は感受性ディスク培地(パールコアミュラーヒントンS寒天培地)上に、0.85%滅菌生理食塩水1ml当たり1白金耳の菌(分離培地上の単一コロニーより)を浮遊させた溶液を0.1ml滴下し、コ

ンラージ棒で均一に塗抹した。その後、ペーパーディスク（PAPER DISK ADVAVNTEC TOYO Thin 8mm）を滅菌ピンセットで無菌的に塗抹平板上に置き、平板の表面に軽く接着させた。各試料の抽出液を25 μ lずつマイクロピペットでペーパーディスク表面に滴下吸収させた。35 $^{\circ}$ C、約18時間培養後、出現した阻止円の有無と大きさを測定し、阻止円の直径30mm以上を3プラスとし高度（きわめて）感受性、直径19~29mmを2プラスで中等度（かなり）感受性、直径9~18mmを1プラスで弱（やや）感受性、阻止円の認められないものをマイナスとし耐性と判定した。

7) 抽出液の抗菌作用に及ぼす加熱の影響

図2に示したように、ハートインフュージョンブイオン培地2.70mlにウコン（粉末）、ヒハツモドキ（粉末）の各エタノール抽出液を0.30mlずつ加えた10%抽出液とハートインフュージョンブイオン培地3.00ml（菌のみ接種用）を各6本ずつ小試験管に作った。各濃度の抽出液の入った小試験管2本ずつを沸騰水浴中で、5、10、15分間それぞれ加熱処理した後、急冷したものを検液とし、

10%抽出液		培養液	
各抽出液	0.30ml	ハートインフュージョンブイオン	3.00ml
ハートインフュージョンブイオン	2.70ml		

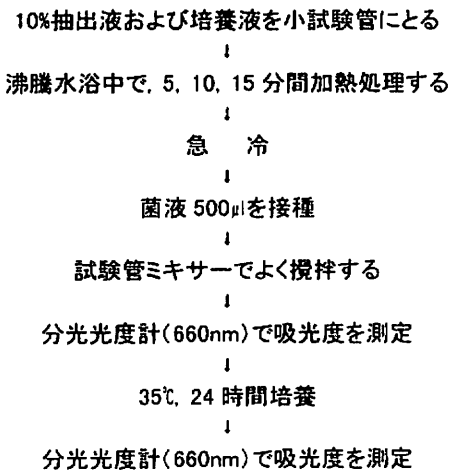


図2 抽出液の抗菌作用に及ぼす加熱影響の測定方法

菌液0.5ml（500 μ l）をマイクロピペットで接種し、攪拌の後、分光光度計（Shimadzu. UV-VISIBLE RECORDING SPECTROPHOTOMETER UV-160）660nmで測定した。その後、24時間35 $^{\circ}$ Cで培養し、分光光度計660nmで測定した。検液が当日よりも24時間後に測定値が上昇した場合は菌の増殖が見られ、数値が下降を示した場合は菌の抑制が見られるので、その変化を検討した。

3. 結果および考察

1) クローブおよびニンニク抽出液の腐敗細菌に対する抗菌作用

表1は、今回用いた試料との比較を行うために、抗菌力が強いとされるクローブとニンニクの水およびエタノール抽出液のディスク法による感受性テストを行った結果を示したものである。

クローブはフトモモ科チョウジの開花前の蕾を乾燥させたもので、料理に香りづけとして用いられるほかに、鎮痛、鎮吐に用いられている。上田らは、クローブが好気性細菌およびカビ・酵母に対して抗菌力が強いことを明らかにし⁸⁾、Bullermanらは、*Aspergillus*属のカビに対する阻害作用やアフラトキシン生産阻害について報告している⁹⁾。一方ニンニクは古くから利用されている香辛料の一つで、利尿、鎮咳、健胃の効があるといわれ、特に強い抗菌性と強壮作用に注目されている。

表に示すようにクローブは水抽出液では *Pseudomonas putida* と *Flavobacterium* spp. (2) は++と中等度の感受性で、他は+または-であった。しかし、エタノール抽出液では *Pseudomonas* spp. の3種と *Flavobacterium* spp. の2種、*Enterobacter* spp. に対して+++ときわめて高い感受性が見られ、*P. putida*、*Proteus* spp.、*Serratia* spp. は++で中等度の感受性が見られた。

このことより、クローブ抽出液は、今回食品より分離した腐敗細菌に対してもかなり強い抗菌力がみとめられた。特に *Pseudomonas* 属および *Flavobacterium* 属の腐敗細菌に対しては強い抗菌性を有していた。クローブ精油中の主成分はオイゲノール（70~80%）、アセチルオイゲノール（3~13%）、 α -カリオフィレン、 β -カリオフィ

表1 クローブ、ニンニク抽出液の食品分離菌に対する抗菌作用

細菌名	クローブ		ニンニク	
	水抽出液	エタノール抽出液	水抽出液	エタノール抽出液
<i>Pseudomonas putida</i>	++	++	-	-
<i>Pseudomonas</i> spp.(1)	+	+++	+	++
<i>Pseudomonas</i> spp.(2)	+	+++	-	+++
<i>Pseudomonas</i> spp.(3)	+	+++	+	++
<i>Enterobacter</i> spp.	+	+++	+	++
<i>Flavobacterium</i> spp.(1)	-	+++	++	+++
<i>Flavobacterium</i> spp.(2)	++	+++	+	++
<i>Proteus</i> spp.	+	++	-	++
<i>Serratia</i> spp.	-	++	+	+

+++ : 阻止円 $\geq 30\text{mm}$, ++ : $19\text{mm} \leq$ 阻止円 $\leq 29\text{mm}$.
 + : $9\text{mm} \leq$ 阻止円 $\leq 18\text{mm}$, - : 耐性

レン、フルフラールなどである¹⁰⁾。Katayamaらによってオイゲノールとアセチルオイゲノールが *B.subtilis*, *Salmonella enteritidis* などに対して抗菌活性を示すことが明らかにされており¹¹⁾、このオイゲノールおよびアセチルオイゲノールが菌の増殖を抑制したものである。また、ニンニク抽出液は水抽出液では *Flavobacterium* spp.(1) に対して++と最も高く、その他は+または-となっていた。一方、エタノール抽出液では *Pseudomonas* spp.(2)、*Flavobacterium* spp.(1) には+++と感受性が最も高く、*Pseudomonas* spp.(1)、*Pseudomonas* spp.(3)、*Enterobacter* spp.、*Flavobacterium* spp.(2)、*Proteus* spp. には++であり、*P.putida* のみが-の耐性であった。このことより、ニンニク抽出液は今回の供試菌株に対してはかなり強い抗菌性を有することを認めた。さらに、水抽出液よりもエタノール抽出液において、強い抗菌力をみとめた。

ニンニクの主な抗菌成分は、ジアリルスルファイドであり、ニンニク中のアリインが組織破壊の

際に、共存するアリイナーゼの作用でアリシンとなり、これが自然に還元されて生成する^{12), 13)} ものである。今回の結果でエタノール抽出液で強い抗菌性が認められたのは、アリシンは揮発性のチオエーテル系に属し、一般に水に溶けにくく、アルコールなどには可溶なものであるためだと思われる。

2) キダチトウガラシ、ヨモギ、アロエ抽出液の腐敗細菌に対する抗菌作用

キダチトウガラシはナス科トウガラシの果実であり、沖縄では泡盛に漬け、トウガラシの成分のとけ込んだ泡盛を沖縄そばの風味付けに利用しているが、その他に漬物にも防腐目的で利用されている。トウガラシの辛味成分はカプサイシンおよびジヒドロカプサイシンであり、宮本によってカプサイシンが *Bacillus cereus* に抗菌性を有することが認められている¹⁴⁾ ことから、今回食品より分離した腐敗細菌についてのキダチトウガラシの水およびエタノール抽出液の抗菌性を表2に示し

表2 キダチトウガラシ、ヨモギ、アロエ抽出液の食品分離菌に対する抗菌作用

細菌名	キダチトウガラシ		ヨモギ		アロエ	
	水抽出液	エタノール抽出液	水抽出液	エタノール抽出液	水抽出液	エタノール抽出液
<i>Pseudomonas putida</i>	-	-	+	++	-	-
<i>Pseudomonas</i> spp.(1)	-	+	-	+	-	-
<i>Pseudomonas</i> spp.(2)	-	-	-	-	-	-
<i>Pseudomonas</i> spp.(3)	-	-	-	+	-	+
<i>Enterobacter</i> spp.	+	+	-	+	+	+
<i>Flavobacterium</i> spp.(1)	-	+	-	+	+	-
<i>Flavobacterium</i> spp.(2)	+	+	-	+	+	+
<i>Proteus</i> spp.	+	+	-	-	-	-
<i>Serratia</i> spp.	-	-	-	-	-	-

+++ : 阻止円 ≥ 30mm.

++ : 19mm ≥ 阻止円 ≥ 29mm.

+ : 9mm ≥ 阻止円 ≥ 18mm,

- : 耐性

た。水抽出液では、抗菌力がほとんど認められなく、エタノール抽出液においても *Pseudomonas* 属に耐性が多くなっていた。ニンニクやクローブ抽出液より抗菌力が弱いことを認めた。

ヨモギはキク科の山野によく繁茂する多年草で、沖縄では炊き込みご飯や魚汁、山羊汁などの薬味として、また、薬草として用いられ、日常的に利用される植物である。

ヨモギ抽出液は今回の供試菌株に対して、エタノール抽出液で抗菌性が認められた。特に、*P. putida* に対しては、ニンニク抽出液では全く抗菌性を示さなかったが、ヨモギ抽出液で強い抗菌力を示した。Katayamaらはヨモギ精油の成分であるボルネオールの異性体であるイソボルネオールに *B. subtilis* などに対して強い抗菌性を認めた¹⁵⁾ ことから、ヨモギの精油成分のボルネオールが抗菌作用に何らかの影響を与えているのではないかと考えられる。

アロエはユリ科のキダチロカイを用いた。健胃、切傷、火傷等に対する民間薬や化粧品原料として、

また、健康食品としても利用されている南アフリカ原産の多肉質の草本である。表に示すように、*Enterobacter* spp. と *Flavobacterium* spp. では水およびエタノール抽出液で+を示したが、*P. putida* や *Proteus* spp.、*Serratia* spp. に対しては抗菌力を示さなかった。

3) ウコンおよびヒハツモドキ粉末抽出液の抗菌作用

ウコンはショウガ科のウコンの根茎でターメリックとも呼ばれ、カレーパウダーの主要な成分である。着色料として利用されたり、健康食品としてウコン入り飲料等が開発されている。表3に示すように、ウコン(粉末)抽出液の腐敗細菌に対する感受性は、水抽出液では *Flavobacterium* spp. のみ+を示し、他はすべて耐性であり、抗菌性が認められなかった。エタノール抽出液では *Serratia* spp. で-の耐性で、他は抗菌性を示し、特に *Pseudomonas* 属で強い抗菌性が認められた。 *Pseudomonas* spp. (1) と *Pseudomonas*

表3 ウコンとヒハツキモドキの粉末抽出液の食品分離菌に対する抗菌作用

細菌名	ウコン		ヒハツモドキ	
	水抽出液	エタノール抽出液	水抽出液	エタノール抽出液
<i>Pseudomonas putida</i>	-	+	-	-
<i>Pseudomonas</i> spp.(1)	-	+++	-	++
<i>Pseudomonas</i> spp.(2)	-	+	-	+
<i>Pseudomonas</i> spp.(3)	-	+++	-	++
<i>Enterobacter</i> spp.	-	++	-	++
<i>Flavobacterium</i> spp.(1)	-	+	-	+
<i>Flavobacterium</i> spp.(2)	+	++	+	+++
<i>Proteus</i> spp.	-	+	-	+
<i>Serratia</i> spp.	-	-	-	+

+++ : 阻止円 ≥ 30mm, ++ : 19mm ≥ 阻止円 ≥ 29mm,
 + : 9mm ≥ 阻止円 ≥ 18mm, - : 耐性

spp.(3)に対する抗菌力はニンニクエタノール抽出液より強く、クローブと同等の抗菌力を示した。

コショウ科のヒハツモドキの果実粉末は沖縄料理の中味の吸い物や沖縄そばの香辛料として用いられ、胃腸病、腹痛、強壯剤としての薬効がある¹⁶⁾とされている。同じコショウ科のコショウが *Bacillus* 属や *Clostridium* 属などに抗菌性があることが Galli らによって明らかにされている¹⁷⁾。表3にはヒハツモドキの抗菌性を示した。水抽出液では *Frabobacterium* spp.(2)のみで認められ、その他の腐敗細菌に対しては抗菌性が認められなかった。しかし、エタノール抽出液ではすべての菌に対して抗菌性を示し、特に *Frabobacterium* spp.(2)にはクローブと同等の強い抗菌力が認められた。宮本らはコショウの精油成分のβ-カリオフィレン、リモネン、α-フェナンドレン、ピネンに抗菌性があることを明らかにしている¹⁸⁾ことから、同じコショウ科に属するヒハツモドキにもこれらの成分が含まれ、抗菌性を発現したもの

と考えられる。

以上の結果より、ウコン粉末およびヒハツモドキ粉末のエタノール抽出液に強い抗菌力が認められたので、この2試料の抗菌作用に及ぼす加熱の影響を検討した。

4) ウコンおよびヒハツモドキ抽出液の抗菌作用に及ぼす加熱の影響

図3に示すように、ウコン(粉末)エタノール10%抽出液は未加熱および5分間加熱では変化率が-9%で、10分および15分間加熱では、3%および6%で菌の弱い増殖を認めた。さらに、未加熱で検液を加えてない菌液のみと比較すると、菌液のみは変化率344%で菌の増殖が著しいが、加熱15分後でも6%と、加熱の影響をほとんど受けない。

一方、ヒハツモドキ(粉末)は加熱時間0分および5分後ではウコン(粉末)よりも菌の抑制力は強いが、加熱時間10分、15分後では菌の増殖を示し、加熱の影響を受けることが示唆された。

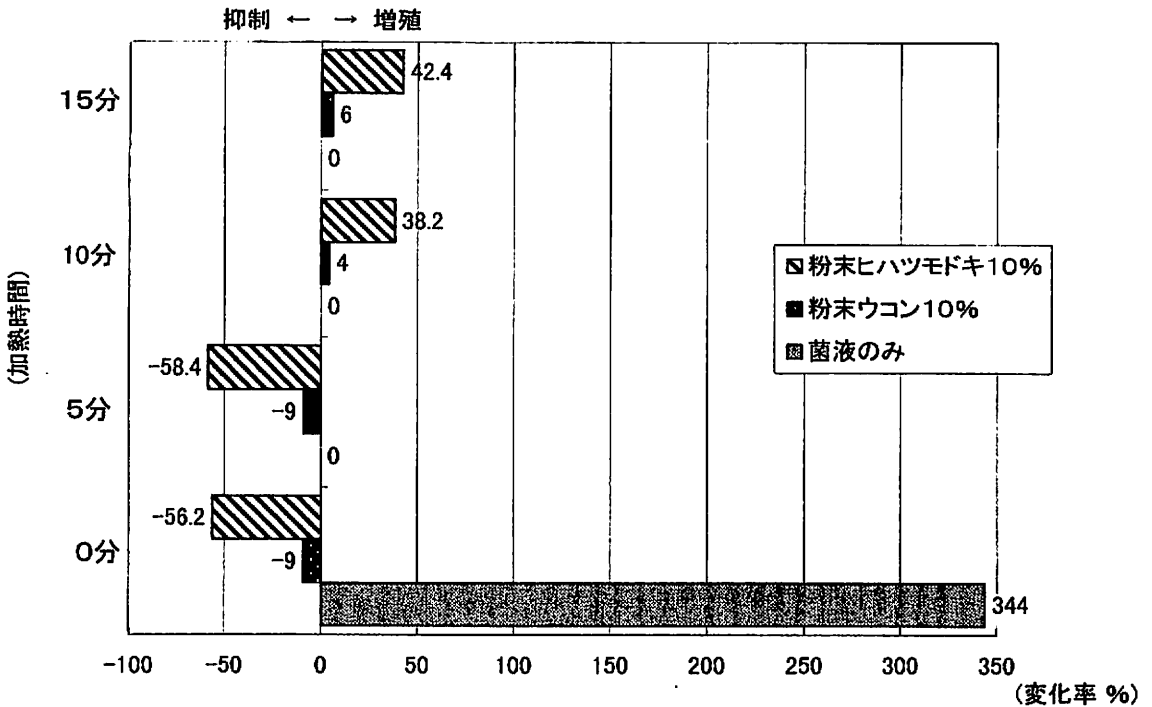


図3 ウコン（粉末）およびヒハツモドキ（粉末）エタノール抽出液の加熱による腐敗細菌の生育への影響

佐藤らは *B. subtilis* に対するニンニク抽出液の抗菌活性が100℃、10分間の加熱で半減し、20分間の加熱で完全に失活すると述べている。しかし、今回用いたウコン（粉末）が加熱による影響を受けないことは、ニンニク以上に天然系保存料として期待できるのではないかと考える。

4 要約

沖縄に産する香辛野菜や薬草の抗菌力を測定し、食品保存料としての可能性の有無を検討し、次の結果を得た。

食品から分離した腐敗細菌に対して、ウコン（粉末）およびヒハツモドキ（粉末）の各エタノール抽出液で強い抗菌力が認められ、比較に用いたニンニクのエタノール抽出液と同等の抗菌力が認められた。トウガラシ、ヨモギ、アロエのエタノール抽出液でも抗菌性を認めた。ウコン（粉末）エタノール抽出液は15分間加熱した後でも菌の増殖を抑制した。ヒハツモドキ（粉末）エタノール抽

出液は加熱時間の経過とともに抗菌活性は低下した。

本論文は、大城の修士論文（1996、琉球大学教育学部）の一部を加筆訂正したものである。

なお、概要を日本民族衛生学会第27回沖縄地方会大会において発表した。

引用文献

- 1) 佐藤昭子、寺尾通徳、本間ゆかり：食衛誌、31、4、328～332（1990）
- 2) 佐藤昭子、昆美也子、小鼻満子：日食微誌、13、3、121～125（1996）
- 3) S. T. Cowan、坂崎利一：医学細菌同定の手引き第2版、近代出版（1983）
- 4) 栄研化学（株）：腸内細菌・グラム陰性発酵性桿菌同定用バイオテスト1号‘栄研’、栄研化学（株）、3～8（1992）
- 5) 厚生省生活衛生局監修：食品衛生検査指針微

- 生物編、日本食品衛生協会、71 (1990)
- 6) 前掲書 5)
- 7) 前掲書 5)、49~52
- 8) 上田成子、山下晴美、中島真理子、桑原祥浩：
日食工誌、29, 2, 111~116 (1982)
- 9) L. B. Bullerman, F. Y. Lieu, S. A. Seier : J.
Food Sci., 42, 1107 (1977)
- 10) 岩井和夫、中谷延二 編：香辛料の成分の食
品機能、光生館、15~16 (1989)
- 11) T. Katayama, I. Nagai: Bull Japanese Sci.
Fish., 26, 29 (1960)
- 12) 宮本悌二郎：調理科学、25, 2 (1992)
- 13) 前掲書 10)
- 14) 宮本悌二郎：最新殺菌技術とその利用、工業
技術会、418 (1990)
- 15) 前掲書 9)
- 16) 多和田真淳、大田文子：誰にでもできる薬草
の利用法 沖縄の薬草百科、新星図書出版、
312~313 (1988)
- 17) A. Galli, L. Franzetti, D. Briguglio : Indu-
strie Alimentari, 24, 463 (1985)
- 18) 前掲書 14)