

## 食材の抗菌性について

生物資源科学部 応用生物科学科

1年 鈴木 彩花

1年 高津優里香

指導教員 生物資源科学部 応用生物科学科

助 教 志村洋一郎

准教授 石川 匡子

### 1. 目的

集団食中毒事件などがあり、食品や食品成分に関する抗菌性に興味を持った。また、梅干しには食中毒を予防する効果があると聞いたことがあり、食品あるいは食材の持つ抗菌作用に着目した。そこで、梅干し以外にもそのような効果がある食材があるのではないかと考え、ショウガ、ワサビ、ニンニク、シソ、パセリ、ネギ類、茶など抗菌作用のあると言われる食材について、その抗菌力を調べることにした。

### 2. 方法

使用食材：市販のダイコン、タマネギ、ナガネギ、ニンニク、シソ、パセリ、ショウガ、ワサビ、および緑茶を使用した。

#### 〈実験1〉 食材抽出液の抗菌効果

##### 手順1：食材抽出液の調製

- ・ダイコン、タマネギ、ナガネギ：ダイコン、タマネギおよびナガネギは、小さく刻んだ後、ミキサーで処理しさらに細かくし、得られたペーストを二重ガーゼで絞り抽出液を得た。
- ・ニンニク、シソ、パセリ、ショウガ：水分が少ないことから、小さく刻んだ後、ほぼ同重量の蒸留水とともにミキサー入れ、得られたペーストを二重ガーゼで絞り抽出液を得た。
- ・ワサビ：生ワサビを店頭で見つけることはできなかつたため、粉ワサビを使用した。粉ワサビ 3 g に蒸留水 5 ml を加え、練り状にし、そのまま使用した。

##### 手順2：検定用紙ディスクの調整と抗菌活性測定

それぞれの抽出液を $10^6$  まで10倍階段希釈し、希釈液 50  $\mu$ l を抗生物質検定用紙ディスクにしみ込ませ、10分程度乾燥させた。被検菌は大腸菌 (*Escherichia coli* JCM 5491) と黄色ブドウ球菌 (*Staphylococcus aureus* JCM 2413) の2株を使用した。それぞれの菌の一晚培養液を全面塗布した培地に、抽出液をしみ込ませた紙ディスクを置き、37°Cで一晩培養後、生育阻止円を観察した。阻止円が観察された場合は、その直径を測定した。ワサビは練り状のものを直接培地上に添加した。なお、クロラムフェニコール (30  $\mu$ g) の市販ディスクを標準と使用した。

## 〈実験2〉 茶カテキンの抗菌活性

緑茶の市販茶葉10gに蒸留水140mlを加え10分間煮沸した。火を止め、しばらく放置した後、2重ガーゼでろ過し抽出液を得た。このようにして得た抽出液から、松崎・原(1985)の方法<sup>1)</sup>に従いカテキンを抽出した。即ち、抽出液50mlに等量のクロロホルムを加え、液-液抽出し水相を得た。次に、水相を酢酸エチルで抽出し、粗カテキン画分を得た。粗カテキン画分はエバポレーターで酢酸エチルを除いた。さらに溶媒除去のため、一晚凍結乾燥した。その後、乾燥した粗カテキン画分の重量を測定し、蒸留水を加え、粗カテキン抽出液を得た。これを用い実験1と同様に紙ディスクを作製し、抗菌活性を測定した。また、抽出過程で得られた中間ろ液についても抗菌活性を確認した。

粗抽出画分に含まれるカテキンを確認するため、TSQ Quantum Ultra ESI-FT-MS装置(ThermoFisher Scientific)でのMS分析を行った。

## 〈実験3〉 産地の異なるニンニクによる抗菌活性の違い

実験1からニンニクの抗菌性が顕著に見られたため、産地の異なるニンニクを用いて、希釈倍率を小さくして、さらに詳しく実験を行った。実験1で使用したニンニクの他に、青森県産、中国産、スペイン産の3種類のニンニクを用意した。サンプル調製は実験1に準じ、原液を約50%溶液として、それぞれ $2^4$ 希釈まで2倍階段希釈した。これを実験1と同様の手順で生育阻止円を観察した。

## 3. 結果と考察

### 〈実験1〉 食材抽出液の抗菌活性

これまで、抗菌活性があると考えていた食材抽出液の多くから抗菌活性は観察されず、ニンニク抽出液でのみ生育阻止円が観察された(図1B、2B)。ニンニク抽出液は、被検菌が大腸菌の場合、原液で2.6 cm、10倍希釈液で1.1 cmの阻止円が確認でき、黄色ブドウ球菌の場合、原液で4.5 cmの阻止円が確認でき、10倍希釈では阻止円は観察できなかった。大腸菌よりも黄色ブドウ球菌に対して効果が大きいことが確認できた。ニンニクに含まれるアリシンが抗菌効果の主要因であると考えられるが、食材のもつ抗菌効果を期待して使うとなると、絞り汁をそのまま、あるいは生食のものを使用することが必要となるだろう。



図1. 大腸菌に対する食材抽出液の抗菌効果

A、ダイコン; B、ニンニク; C、シソ; D、タマネギ; E、ナガネギ; F、パセリ

1、原液; 2、10倍希釈液; 3、 $10^2$ 倍希釈液; 4、 $10^3$ 倍希釈液; 5、 $10^4$ 倍希釈液;  
6、 $10^5$ 倍希釈液; 7、 $10^6$ 倍希釈液; 8、クロラムフェニコール(30 $\mu$ g)



図2. 黄色ブドウ球菌に対する食材抽出液の抗菌効果

A、ダイコン; B、ニンニク; C、シソ; D、タマネギ; E、ナガネギ; F、パセリ

1、原液; 2、10倍希釈液; 3、 $10^2$ 倍希釈液; 4、 $10^3$ 倍希釈液; 5、 $10^4$ 倍希釈液;  
6、 $10^5$ 倍希釈液; 7、 $10^6$ 倍希釈液; 8、クロラムフェニコール(30 $\mu$ g)

### <実験2> 茶カテキンの抗菌活性

先行研究で、緑茶によるブドウ球菌数の減少傾向が報告されていた<sup>2)</sup>。そのため、抗菌性分と言われる茶カテキン抽出を行い、その活性を確認した。茶葉10gの抽出液から粗カテキン11.8gを得た。これを滅菌水5mlに懸濁し粗抽出液とした(2.36g/ml)。大腸菌では生育阻止円は見られず、黄色ブドウ球菌に対して生育阻止円が見られた(図3)。黄色ブドウ球菌に対し、原液で1.6cmの、そして10および10<sup>2</sup>倍希釈液でも僅かな生育阻止円を観察した。抽出段階で得られた中間ろ液では阻止円は認められなかった。

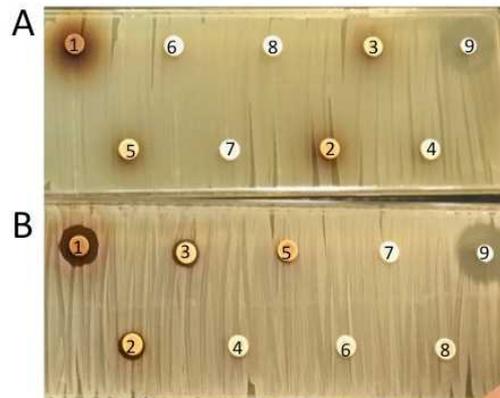


図3. 緑茶由来カテキン粗抽出画分の抗菌活性

A、被検菌 大腸菌 (*E. coli* JCM 5491); B、被検菌 黄色ブドウ球菌 (*S. aureus* JCM 2413)  
1、原液(2.36 g/ml) ; 2、10倍希釈液 ; 3、10<sup>2</sup>倍希釈液; 4、10<sup>3</sup>倍希釈液 ; 5、熱水抽出液  
6、クロロホルム抽出液; 7、酢酸エチル抽出液; 8、蒸留水 ; 9、クロラムフェニコール(30 µg)

本実験で使用したカテキン粗抽出液に含まれるカテキンの種類を知るために、MS測定した。 $m/z$  305.1 (エピガロカテキンとガロカテキン) および 457.1 (エピガロカテキンガラートとガロカテキンガラート) のシグナルが強く、288.9 (エピカテキンとカテキン) および441.2 (エピカテキンガラートとカテキンガラート) のシグナルはその1/3~1/4程度のシグナル強度であった。これによってカテキンの存在が確認できた<sup>3)</sup>。

粗カテキンの黄色ブドウ球菌の最小発育阻止濃度(MIC)は450 ppmで、腸炎ビブリオやウェルシュ菌などの食中毒細菌には MIC 200~600 ppm 以下で抗菌活性を示すこと、一方で、大腸菌やサルモネラ、カンピロバクターなどに対しては、MICが1000ppm以上であることが報告されている<sup>1)</sup>。本実験では、原液のカテキン濃度はおよそ $2.4 \times 10^9$  ppmであったが、今回の実験で得られたカテキン純度が低かったため、10<sup>3</sup>倍希釈液では抗菌効果が見られなかったのではないかと考えた。このため、参考文献の値より遥かに高い濃度のみでしか抗菌効果がみられなかったと考えられる。

### <実験3> 産地の異なるニンニクによる抗菌活性の違い

食材を選ぶ際に産地の異なるニンニクが店頭にあり、実験1ではその中でも知名度から青森産を選んだ。実験1の結果から、ニンニク抽出液に抗菌効果を確認した。そのため、産地の異なるニンニクで抗菌性に違いがあるのか興味が湧き、抽出液の希釈倍率も見直し実験を行った。結果を図4と図5に示す。大腸菌に対して、スペイン産では、原液で3.1 cm、2倍希釈液で2.5 cm、4倍希釈液で2.1 cm、8倍希釈液で1.4 cm、16倍希釈液で1.1 cmの阻止円が確認できた。青森県産では、原液で2.3 cm、2倍希釈液で1.9 cm、4

倍希釈液で1.5 cm、8倍希釈液で1.1 cmの阻止円が確認できた。中国産では、原液で2.6 cm、2倍希釈液で2.2 cm、4倍希釈液で1.3 cm、8倍希釈液で1.1 cmの阻止円が確認できた。また、黄色ブドウ球菌では、大腸菌と同様の傾向を示すとともに、大腸菌よりも大きな生育阻止円が確認され、より高い抗菌活性を示すことがわかった。

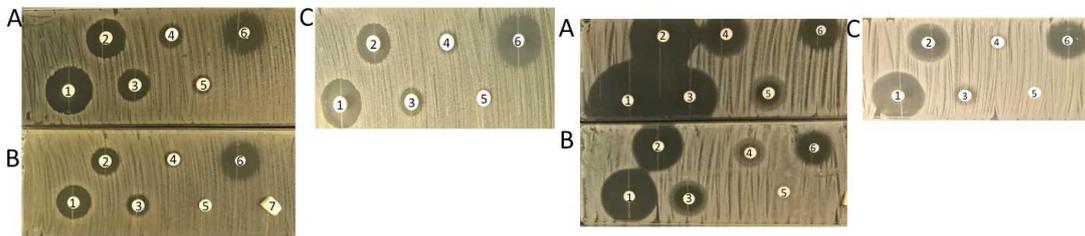


図4. 産地の異なるニンニク由来抽出液の大腸菌に対する抗菌効果

図5. 産地の異なるニンニク抽出液の黄色ブドウ球菌に対する抗菌効果

A、スペイン産；B、青森産；C、中国産

1、原液；2、10倍希釈液；3、10<sup>2</sup>倍希釈液；4、10<sup>3</sup>倍希釈液；  
5、10<sup>4</sup>倍希釈液；6、クロラムフェニコール(30 µg)；7、ニンニク片

A、スペイン産；B、青森産；C、中国産

1、原液；2、10倍希釈液；3、10<sup>2</sup>倍希釈液；4、10<sup>3</sup>倍希釈液；  
5、10<sup>4</sup>倍希釈液；6、クロラムフェニコール(30 µg)；7、ニンニク片

ニンニクの抗菌成分は含硫化合物アリインから変化したアリシンおよびその分解物であるジアリルスルフィドが主であり<sup>4)</sup>、抗菌効果に差が見られたのは品種や産地によってアリシン含有量が異なるためではないかと推測している。

#### 4. まとめと今後の展望

今回調査した食材の中で、抗菌性が確認できたのはニンニクと緑茶であった。ニンニクには含硫化合物アリインが含まれており、これが変化して生じたアリシンやその分解物であるジアリルスルフィドによって抗菌効果がもたらされ、緑茶ではカテキンが抗菌効果を示したものと考えられる。

ニンニクは産地によって抗菌効果の大きさに違いが見られた。外観も多少異なることから、品種によってアリシンの含有量に差があると推測された。また、希釈倍率を下げていくにつれて、アリシン濃度が低下するため、阻止円の大きさもそれに伴って小さくなったと考えている。

アリシンやカテキンは、天然の化合物である為、利用しやすく害も少ないと考えられる。そのため、食品を安全に保存することなどへの応用が期待できる。

#### 参考文献

- 1) 原征彦、石上正 (1989) 茶ポリフェノール類の食中毒細菌に対する抗菌活性、日本食品工業学会誌36 (12) 996-999.
- 2) 芝古都美、佐藤有里華、村山果菜、滝内明日香、福田まみ (2015) 食に関する抗菌性の探求、学生自主研究報告書第17号 221-224.
- 3) 緑茶中カテキンのLC/MS/MS分析、一般財団法人材料科学技術振興財団 (<https://ls.ipros.jp/product/detail/2000245881/>)
- 4) <http://garlicnow.com/benefits/sterilization/>