

フード ケミカル

月刊

食品のおいしさと安心を科学する技術情報誌
A Technical Journal on Food Chemistry & Chemicals.

2016

3

vol.371

Pick Up!
編集部イチ押し

ユニテックフーズ(株)
キウイフルーツパウダー KFPE

特集1 エナジーバーの科学

特集2 おいしくタンパク摂取

世界の食品・原材料・添加物トピックス[®]
食品腐敗に取り組む事

アシタバ(明日葉)抽出物
カルコン類の抗菌特性

宮尾茂雄 Shigeo Miyao

東京家政大学家政学部 短期大学部 食品加工学研究室

みやお・しげお

- 略歴 東京農工大学農学部卒(1973年), 東京都立食品技術センターを経て東京家政大学教授 四川大学客員教授, 全日本漬物協同組合連合会技術顧問。
- 著書 「食品微生物学ハンドブック」, 「漬物の機能と科学」, 「漬物入門(改訂)」, 「中国漬物大事典」, 「漬物の絵本」, 「絶品漬物ブック」, 「日本の伝統食品事典」など

アシタバ(*Angelica keiskei* Koidzumi)は、伊豆諸島、伊豆半島、房総半島、紀伊半島など日本の太平洋岸に自生しているセリ科の多年草で、八丈島が原産地とされている。到る所で自生しているアシタバが見られる八丈島では、江戸時代から野菜、生薬、救荒作物として食されてきた¹⁾。アシタバは、「明日葉」と書かれることからわかるように、今日摘んでも明日には芽が出るといわれるほど生命力の強い植物である。「アシタバを食べると天然痘にかからない」、「皮膚病の治療に効果がある」などの言い伝えがあり、薬草としての利用も古くから行われてきた(写真1)。

アシタバは、おひたしやてんぷらなどに利用される調理野菜として広く知られるようになったが、近年、アシタバに含まれる機能性成分のカルコンが注目され、いわゆる健康野菜としての需要が増加している。アシタバの茎を切断すると切断面から鮮やかな黄色の汁が滲出してくるが、この黄色色素の主成分は、ポリフェノールの一種のカルコンであることが明らかにされている²⁾。アシタバに含有するカルコン類は、10種

類ほどあるが、特にキサントアンゲロール(xanthoangelol)や4-ヒドロキシデリシン(4-hydroxyderricin)が主成分として豊富に含まれている³⁾。

これらのカルコンには、さまざまな生理機能があることが報告されており、馬場は総説⁴⁾のなかで、抗潰瘍、胃酸分泌抑制、抗血液凝固、抗アレルギー、末梢血管拡張、血圧上昇抑制、レトロウイルス増殖阻害作用などをアシタバ抽出物のカルコンが有していることを報告している⁴⁾。抗菌作用については、Inamoriらは、アシタバ抽出物カルコンの主成分であるキサントアンゲロール(xanthoangelol)と4-ヒドロキシデリシン(4-hydroxyderricin)の抗菌活性について検討を行い、グラム陰性菌にはほとんど作用がなく、グラム陽性菌の*Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Micrococcus luteus*に対して活性を有することを明らかにし、特に*M. luteus*に対しては、対照の硫酸ゲンタマイシンとほぼ同程度の活性を示したことを報告している⁵⁾。

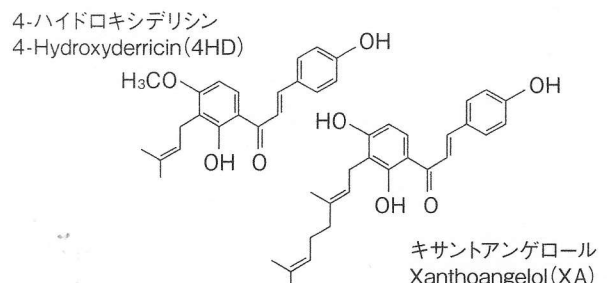
写真1 アシタバ (*Angelica keiskei* Koidzumi)

図1 アシタバ抽出物カルコンの主成分

そこで、数々の機能性を有するアシタバ抽出物であるカルコンを用いた場合の食品微生物に対する抗菌性、食品保存への利用可能性および食品加工操作の影響について検討を加えた。

1. カルコンの抗菌活性

試験に用いたカルコン含有粉末(以降、カルコン剤とする)は宝化成より提供を受けたもので、この粉末に含まれるカルコン含量は約8.0%である。なお、その他にはサイクロデキストリンを含有している。

カルコンの抗菌性試験は、グラム陽性菌、グラム陰性菌、酵母、カビを対象に検討を加えたが、その際に使用した培地は細菌の場合はトリプトケースソイブロス、酵母、カビの場合はYMブロスである。カルコン剤を含む各培地に供試菌を接種し、細菌は30℃、2日間、真菌は25℃、5日間培養後、増殖の有無を目視で観察した。細菌に対する抗菌効果に関する試験結果を表1に示した。*Staphylococcus aureus*、*Bacillus subtilis*に対しては、カルコン剤濃度80μg/mL以上の濃度において増殖を抑制した。カルコン剤のカルコン含有量が約8.0%であることから、カルコンとしては、約6.4μg/mLで増殖を抑制していることになる。Inamoriらによると*Staphylococcus aureus*に

対するキサントアンゲロールと4-ヒドロキシデリシンのMIC(最小生育阻止濃度)がそれぞれ6.25μg/mL、*Bacillus subtilis*に対するMICは同様に各1.56μg/mLであることを報告⁵⁾しており、今回の試験においてもほぼ同様の結果を得ることができた。また、*Bacillus cereus*に対しては、より低濃度のカルコン剤濃度20μg/mL以上の濃度において増殖を抑制していることから、芽胞菌に対してカルコンは高い抗菌活性を有していることが確認できた。一方、グラム陰性菌の*Escherichia coli*、*Salmonella Enteritidis*、*Enterobacter aerogenes*、*Pseudomonas fluorescens*に対してはカルコン剤濃度500μg/mLにおいても増殖を抑制することができないことから、グラム陰性菌に対してはほとんど抗菌力を有しないものと考えられた。また、酵母に対しては、糖濃度の高い和菓子などの変敗酵母として知られる*Zygosaccharomyces bailii*に対しては、カルコン剤濃度100～200μg/mL以上で増殖を抑制していたが、その他の酵母(未同定)に対しては、200～400μg/mL以上で増殖を抑制する場合や500μg/mLでも増殖がみられる場合もあることから、酵母に対してはカルコン剤は抗菌力を有するものの種類により抗菌力が異なることが推定された。

食品の変敗において乳酸菌が原因となるこ

表1 カルコン剤抗菌活性

	カルコン剤濃度 (μg/mL)									
	0	20	40	60	80	100	200	300	400	500
<i>Staphylococcus aureus</i> S1	+	+	±	±	-	-	-	-	-	-
<i>Bacillus subtilis</i> B1	+	+	±	±	-	-	-	-	-	-
<i>Bacillus cereus</i> B2	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Salmonella Enteritidis</i> S2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Escherichia coli</i> E1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Enterobacter aerogenes</i> E2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Pseudomonas fluorescens</i> P1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Zygosaccharomyces bailii</i> 3019	+	+	+	±	±	-	-	-	-	-
Yeast HR21	+	+	+	+	+	±	±	±	-	-
Yeast Nar.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

増殖あり：+ 増殖なし：-

表2 カルコン剤の乳酸菌に対する抗菌活性

	カルコン剤濃度 (μg/mL)						
	0	25	50	75	100	150	200
<i>Lactobacillus plantarum</i> 1041	+	-	-	-	-	-	-
<i>Lactobacillus brevis</i> 1082	+	+	-	-	-	-	-
<i>Lactobacillus sake</i> 10077	+	+	-	-	-	-	-
<i>Leuconostoc mesenteroides</i> 2001	+	-	-	-	-	-	-

増殖あり：+ 増殖なし：-

とが多いことから、代表的な乳酸菌として、*Lactobacillus plantarum*, *L. brevis*, *L. sake*, *Leuconostoc mesenteroides* に対する増殖抑制効果について検討を加えた結果を表2に示した。結果から明らかなように、*Bacillus* 属細菌に対する場合と同様にカルコン剤濃度が25~50μg/mL以上で乳酸菌の増殖を抑制することから乳酸菌に対しては強い抗菌活性を有することが明らかとなった。

表1, 表2の結果から、カルコンはグラム陽性菌、特に芽胞菌や乳酸菌に対して高い抗菌活性を有するが、グラム陰性菌に対してはほとんど抗菌力を有していないこと、また、酵母では*Zygosaccharomyces* 属酵母などに対しては抗菌性を有するが、他の供試した酵母に対しては抗菌力が低いかほとんどないことから、酵母に対する抗菌力にはばらつきがあるものと思われた。なお、本報告では示していないが、数種のカビに対する抗菌力についても検討を加えたが、カルコン剤の抗菌効果はあまり認められなかった。

近年、果汁飲料などの容器詰酸性飲料が変敗する事例が報告されるようになり、問題となっている。本原因菌は耐熱性を有し、高温、酸性条件を好むため、ホットベンダーにより加温状態で販売されている酸性飲料

でも変敗を起こすことがある。そのため、飲料業界ではそれらに対する対応策が求められている。原因菌となる耐熱性好酸性菌は、元来土壌に生息している細菌で果汁を製造する段階で混入するものと考えられている。なかでも*Alicyclobacillus acidocardarius* や *Alicyclobacillus acidoterrestris* などが知られている。それらの細菌は、55℃でも良好に増殖し、pH3~6の酸性条件下においても増殖する。カルコンは*Bacillus* 属のような耐熱性芽胞菌に対して抗菌活性を有していることから*A. acidocardarius* と *A. acidoterrestris* に対する抗菌活性を調べた特許事例⁶⁾を表3に示した。本試験はアシタバ抽出物の黄汁乾燥粉末を用いたものであるが、粉末の本体はカルコンである。表からも明らかなように、*A. acidocardarius*, *A. acidoterrestris* のいずれに対しても、0.01mg/mLで増殖を抑制しており、われわれの*Bacillus* 属に対する試験結果とほぼ同様の結果となったことから、カルコンが果汁飲料などの容器詰酸性飲料における耐熱性好酸性菌の増殖抑制に有効であることが示唆された。

2. カルコンの食品保存への利用

カルコンは、グラム陰性菌に対する抗菌力

表3 アシタバ黄汁粉末の耐熱性好酸性菌に対する抗菌活性

	アシタバ黄汁粉末濃度 (mg/mL)					
	0	0.001	0.005	0.01	0.05	0.1
<i>Alicyclobacillus acidocardarius</i> IFO323	+	+	+	-	-	-
<i>Alicyclobacillus acidoterrestris</i> ATTC49025	+	+	+	-	-	-

増殖あり：+ 増殖なし：- 特許/日本生物科学(2004.7.14) 抗菌剤. 公開番号2006-28068

は弱いものの、耐熱性芽胞菌や乳酸菌を含むグラム陽性菌や酵母などに対しては良好な抗菌活性を有すること、またアシタバといういわゆる健康野菜からの抽出物であることから消費者にも受け入れやすく、食品へ添加することにより保存性を向上させることが期待される。カルコンの抗菌特性から、耐熱性芽胞菌が残存しやすいおにぎり、弁当などのご飯類を主とした食品、煮物などシェルフライフの短い惣菜類、耐熱性好酸性菌が問題となる果汁飲料や乳酸菌が主要な原因菌となって変敗する食品など広範囲にわたる食品の日持ち向上が期待される。

カルコンを応用した食品の日持ち向上剤の具体例として、炊き込みご飯とポテトサラダを対象にした利用事例を表4、表5⁷⁾に示した。本試験に用いられている日持ち向上剤には、アミノ酸のグリシンやpH調整剤として豆腐の凝固剤にも使用されているグルコノデルタラクトンが加えられているので、それらの保存効果も考慮する必要があるが、それぞれ日持ち向上効果が見られている。

炊き込みご飯への使用例では、25℃で保存した場合、一般生菌数は無添加のものは24時間後は 8.3×10^4 、48時間後には 2.0×10^5 に達しているが、カルコンを含む日持ち向上剤を0.35%添加した場合は、24時間後は300以下、48時間後は 3.0×10 にとどまっており、日持ち向上効果が認められる。これは、炊き込みご飯の変敗原因菌の多くが耐熱性芽胞菌であることから理解できる。ただし、炊き込みご飯製造後の容器詰めや流過程において十分な衛生管理が必要なことは言うまでもない。

ポテトサラダへの使用例では、25℃で保存した場合、一般生菌数は無添加のものは24時間後は 3.2×10^6 、48時間後には 1.1×10^7 に達しているが、カルコンを含む日持ち

表4 カルコン含有日持ち向上剤の炊き込みご飯に対する保存効果(25℃保存)

保存時間	一般生菌数/g	
	対照(無添加)	カルコン含有日持ち向上剤 0.35%添加
0	300>(0)	300>(0)
24	8.3×10^4	300>(0)
48	2.0×10^5	3.0×10
72	3.7×10^6	6.0×10
96	6.2×10^7	8.0×10

宝化成資料より

表5 カルコン含有日持ち向上剤のポテトサラダに対する保存効果(25℃保存)

保存時間	一般生菌数/g	
	対照(無添加)	カルコン含有日持ち向上剤 0.5%添加
0	8.8×10	7.6×10
24	3.2×10^6	4.4×10^4
48	1.1×10^7	9.5×10^4
72	2.2×10^7	3.4×10^5
96	2.4×10^7	9.6×10^5

宝化成資料より

向上剤を0.5%添加した場合は、24時間後は 4.4×10^4 、48時間後は 9.5×10^4 にとどまっており、日持ち向上効果が認められている。ポテトサラダの場合、原料のジャガイモやニンジンなどの野菜に付着している耐熱性芽胞菌や比較的耐熱性がある乳酸菌などが変敗原因となることが予想されるが、キュウリなどの生鮮野菜を加える場合や調理器具類を使用することが多いので製造工程における衛生管理が重要と考えられる。

3. カルコンに対する加工処理の影響

カルコンを食品の保存性向上に応用する場合、食品加工操作による影響を考慮する必要がある。そこで、一般的な食品加工操作として、加熱、pH、食塩の影響について検討を加えた。カルコンはエタノールや酢酸エチルなどの有機溶媒には易溶であるが、水には難溶であることからカルコン粉末を蒸留水に懸

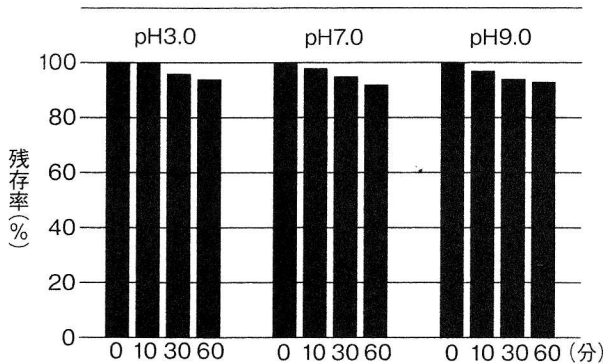


図2 カルコンの残存性に及ぼす加熱処理とpHの影響 (60°C)

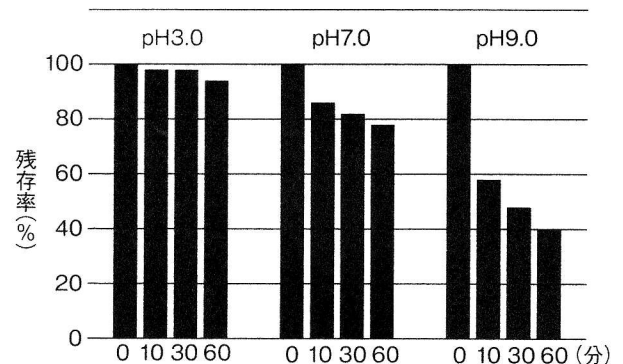


図3 カルコンの残存性に及ぼす加熱処理時間とpHの影響 (100°C)

濁させ、それを遠心分離することによってカルコン溶液を調製した。カルコン溶液に対し、塩酸あるいは水酸化ナトリウムを加えてpHを調整後、加熱操作を行い、カルコン溶液に残存するカルコン類を定量した。食塩の場合は、0～10%となるようにカルコン溶液に食塩を加えた後、100°C、60分加熱後のカルコンの残存量を測定した。残存カルコンの定量の際は、酢酸エチルを用いて抽出を行い高速液体クロマトグラフで分析した。

加熱およびpHの影響がカルコン残存率に及ぼす影響について調べたところ、図2、図3に示す結果を得た。60°Cの加熱操作を行った場合、pH3.0の方がpH9.0よりもカルコンの残存率がやや高い傾向がみられ、いずれも90%以上残存していた。したがって、60°C前後の比較的温和な加熱では、pHによる影響を

あまり受けないものと考えられる。一方、100°Cの加熱操作を行った場合は、カルコンの減少がみられた。pH3.0では、60分加熱後においては、90%以上のカルコンが残存していたが、pH7.0の中性付近では80%以下に減少し、pH9.0では40%近くまで減少した。このことから100°Cの加熱処理を長時間行った場合、酸性下ではカルコンの減少はみられるもののそれほど大きな影響は受けないが、アルカリ下では、かなりの影響を受けることが明らかとなった。しかし、多くの食品は酸性～中性域にあることや加熱処理時間を考慮すると通常の食品加熱操作によってカルコンの保存効果が減少することはあまりないと思われる。

食塩がカルコン残存率に及ぼす影響をみたところ、図には示さなかったが、食塩を10%添加した場合においてpH3.0の条件で100°C、

表6 カルコン剤の抗菌活性に及ぼす食塩の影響

	カルコン剤濃度 (μg/mL)	食塩濃度 (%)				
		0	2	4	6	8
<i>Lactobacillus plantarum</i> 1041	0	+	+	+	+	-
	40	-	-	-	-	-
	60	-	-	-	-	-
<i>Lactobacillus brevis</i> 1082	0	+	+	+	+	-
	40	+	-	-	-	-
	60	-	-	-	-	-
<i>Leuconostoc mesenteroides</i> 2001	0	+	+	+	+	-
	40	-	-	-	-	-
	60	-	-	-	-	-

増殖あり：+ 増殖なし：-

60分間加熱を行った後の残存率は食塩無添加で処理を行ったものの95%にとどまり、食塩の影響はほとんどないものと思われた。また、乳酸菌を対象に、カルコン剤の抗菌活性に及ぼす食塩の影響について検討を加えたものを表6に示した。結果からも明らかなようにカルコン剤が無添加の場合、本条件下では食塩濃度が0~6%でいずれの乳酸菌も生育が認められ、一方、カルコン剤が40,60 $\mu\text{g}/\text{mL}$ では食塩濃度に影響されることなく、乳酸菌の生育を抑制していた。したがって、食塩を含む食品においてもカルコンの保存効果にはほとんど影響はないものと思われた。

加熱、pH、食塩の影響に加え、数種類の食品添加物の影響についても調べたが、抗菌力に及ぼす影響はほとんどみられなかった。しかし、グリセリン脂肪酸エステルにおいてカルコンの抗菌力をやや低下させる事例がみられた。カルコン剤とグリセリン脂肪酸エステルを加えた培養液に乳酸菌の *L. plantarum* を接種し、増殖に及ぼす影響をみたところ、グリセリン脂肪酸エステル自体に抗菌性があることから、カルコン剤が無添加の場合、グリセリン脂肪酸エステルが0.1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 以上の存在下で乳酸菌の増殖は抑制されている。しかし、グリセリン脂肪酸エステルが無添加の場合、カルコン剤が40 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の存在下で乳酸菌の増殖が抑制されているが、グリセリン脂肪酸エステルが0.1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 共存した場合、カルコン剤が40 $\mu\text{g}/\text{mL}$ で増殖が見られ、抗菌力の低下が認められた。ただ、カルコン剤の濃度が50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 以上では、抗菌力の低下が見られないことから、影響は限定的なものと思われる。

古くから野菜や生薬として利用されてきたアシタバから抽出されたカルコン類の抗菌活性の食品保存への利用について検討したところ、グラム陽性菌の耐熱性芽胞菌や乳酸菌に

表7 *Lactobacillus plantarum* 1041のカルコン剤による抗菌性に及ぼすグリセリン脂肪酸エステルの影響

培養日数	カルコン剤濃度 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	グリセリン脂肪酸エステル濃度 (%)			
		0	0.1	0.2	0.4
1	0	+	-	-	-
	40	-	-	-	-
	50	-	-	-	-
2	0	+	-	-	-
	40	-	+	-	-
	50	-	-	-	-
3	0	+	+	-	-
	40	-	+	-	-
	50	-	-	-	-

増殖あり: + 増殖なし:- (トリプチケースブロス 30 $^{\circ}\text{C}$, 培養)

対して強い抗菌活性を有することや一般的に行われる食品加工操作におけるpH、加熱、食塩の影響をほとんど受けないことから食品の保存性向上に対してカルコン類の利用が期待される。なお、グラム陰性菌などを含めた幅広い微生物に対する抗菌性を高めるには、他の天然由来抗菌物質との併用も必要と考えられる。

最後に、カルコン剤の抗菌活性に関する検討を行うにあたって、アシタバ抽出物のカルコン剤を快く提供していただきました宝化成株式会社に感謝いたします。

参 考 文 献

- 1) 近藤富蔵:『八丈實記第1巻』(八丈実記刊行会編),(緑地社, 1976).
- 2) Kozawa, M et al: *Chem. Pharm. Bull.*, **25**, 515-516 (1977).
- 3) 馬場きみ江ら: *Foods Food Ingredients J. Jpn.*, **178**, 52-60 (1998).
- 4) 馬場きみ江: *Bull. Osaka Univ. Pharmaceutical Sci.*, **7**, 55-87 (2013).
- 5) Inamorira et al: *Chem. Pharm. Bull.*, **42**, 723-726 (1990).
- 6) 特許 日本生物科学 (2004.7.14) 抗菌剤. 公開番号 2006-28068.
- 7) 宝化成株式会社資料