

## 佃煮変敗かびに対する香辛料および精油成分の抗菌性

中川禎人・岡崎 尚・前重静彦

### Inhibitory Effects of Spices and Essential Oils on Growth of "tsukuda-ni" Spoilage Mold in Culture Media

Sadato NAKAGAWA, Takashi OKAZAKI and Shizuhiko MAESHIGE

The inhibitory effects of 36 kinds of spices and 12 kinds of essential oils on the growth of "tsukuda-ni" spoilage molds were examined. Allspice, cinnamon and cloves significantly inhibited the growth of *Aspergillus* sp. on the culture media in which 2% weight of each spice was added, pH was adjusted to 4.5-6.5 and sodium chloride added to 0-2M. The growth inhibitory effect using the vapor of ethanol solution of essential oils to that of ethanol vapor was compared. On *Aspergillus* sp. salicylaldehyde was most significant, followed by thymol, furfural and eugenol (50, 25, 25 and 10 times that of ethanol vapor, respectively). On *Penicillium* sp. salicylaldehyde was most significant, followed by thymol and carvacrol (40, 20 and 10 times that of ethanol vapor, respectively). On *Cladosporium* sp. thymol, salicylaldehyde, furfural, cinnamaldehyde and carvacrol were 30 times and isoborneol and eugenol were 15 times that of ethanol vapor.

香辛料の用途の一つに食品の保存性向上がある。これまで、香辛料およびその精油成分の抗菌性については、総説<sup>1)~3)</sup>、解説<sup>4),5)</sup>、成書<sup>6),7)</sup>にいくつか報告されている。しかし、昆布佃煮変敗かびに対する保存効果についての報告は見当たらない。本実験では、低塩佃煮の保存性に対する香辛料およびその精油成分の効果を検討するため、変敗昆布佃煮から分離したかびに対する抗菌性について、香辛料添加培地および香辛料精油成分のエタノール溶液の蒸気を用いて調べた。

### 実験方法

#### 1. 供試佃煮変敗かび

まず、佃煮変敗かび採取用の昆布佃煮を次のように調製した。すなわち、乾燥昆布を水洗し、調味液（配合割合は表1）中で30分間煮熟後、液切りして30分間無菌的に放冷した（昆布佃煮重量600g、水分65%、塩分6%、pH5.0）。次いで、この昆布佃煮10gを滅菌したプ

ラスチックカップ（径7cm、深さ5cm）に充填し、広島市内の佃煮製造工場の放冷場で15分間開放後、蓋をして20℃で貯蔵した。昆布佃煮上に発現したコロニーから釣菌して20%スクロース加麦芽寒天培地に移植し、20℃で10日間培養した結果、かび50株、酵母4株が得られた。分離したかびの20%スクロース加麦芽寒天平

表1 変敗かびの採取に用いた昆布佃煮の原料配合 (g)

原 料	配合量 (g)
乾 燥 昆 布	150
醬 油	245
ア ミ ノ 酸 液	105
水	500
ス ク ロ ー ス	80
ア ラ ニ ン	7.5
グルタミン酸ナトリウム	15
総合アミノ酸製剤	7.5
核酸系調味料	0.8
リ ン ゴ 酸	1.07

板上のコロニーの形態的特徴を、肉眼および顕微鏡観察によって調べ、主として *Aspergillus*, *Penicillium* および *Cladosporium* 属菌と推定した。香辛料添加培地上での抗菌試験には *Aspergillus* 属菌を、香辛料精油成分エタノール溶液蒸気での抗菌試験には3種すべてのかびを用いた。

## 2. 供試香辛料

表2に示した市販粉末香辛料36種を用いた。

## 3. 供試香辛料精油成分

リモネン、シナムアルデヒド、チモール、カルバクロール、オイゲノール、バニリン、サリチルアルデヒドおよびケイヒ酸は関東化学株式会社製の試薬を、シナムルアルコール、イソボルネオールおよびフルフラールは東京化成工業株式会社製の試薬を用いた。

表2 佃煮変敗かび *Aspergillus* sp. に対する香辛料の抗菌性

香 辛 料	発 徴 時 間 ( $T_5$ , h)						
	pH*			塩化ナトリウム (M) **			
	4.5	5.5	6.5	0	0.5	1.0	2.0
対照 (無添加)	67	64	64	64	42	43	64
オールスパイス	>250	>250	>250	>250	>250	>250	>250
アニシード	79	74	74	74	32	37	53
バジル	71	70	74	70	39	44	57
ブラックペパー	223	208	217	208	62	64	79
キャラウェイ	71	74	80	74	42	38	60
カルダモン	78	78	78	78	42	45	59
セロリ	186	162	139	162	74	74	112
シナモン	>250	>250	>250	>250	>250	>250	>250
グローブ	>250	>250	>250	>250	>250	>250	>250
コリアンダー	73	78	76	78	40	37	58
クミン	92	91	91	91	53	47	58
デイル	76	79	82	79	46	46	71
フェンネル	75	73	72	73	41	39	54
フェネグリーク	68	73	69	73	36	27	59
ガーリック	72	71	71	71	40	41	55
ジンジャー	125	134	137	134	59	64	88
ホースラディッシュ	72	75	80	75	41	41	54
サンショウ	75	78	79	78	42	43	60
ローレル	83	75	80	75	45	46	66
メース	130	130	138	130	60	50	96
マジヨラム	82	78	81	78	41	39	59
マスタード	73	73	75	73	42	39	53
ナツメグ	159	162	191	162	72	70	108
オニオン	63	61	54	61	34	34	45
オレガノ	202	194	186	194	102	90	237
パブリカ	73	68	69	68	35	35	46
パセリ	72	65	66	65	42	42	58
レッドペパー	114	106	106	106	45	46	71
ローズマリー	113	95	93	95	50	50	68
セージ	104	111	105	111	50	51	66
セイボリー	100	95	95	95	49	53	77
スターアニス	99	86	87	86	46	49	—
トラゴン	92	87	85	87	47	49	74
タイム	96	88	83	88	48	51	86
ターメリック	243	239	254	239	66	64	92
ホワイトペパー	244	253	27	253	78	69	98

\*塩化ナトリウム濃度: 0 M

\*\* pH: 5.5

>250: 250時間以上の培養で全く発徴が認められない

4. かびに対する抗菌試験法

(1) 香辛料添加培地平板の調製

pHの影響を検討する場合は、麦芽寒天培地に香辛料をそれぞれ単独で2%添加して、121℃、15分間滅菌した後、0.1N塩酸または0.1N水酸化ナトリウムでpH4.5, 5.5, 6.5に調整し、ペトリ皿(径9cm)に注いで平板を作成した。

塩化ナトリウム濃度の影響を検討する場合は、麦芽寒天培地に香辛料をそれぞれ2%添加した後、塩化ナトリウムを0, 0.5, 1.0, 2.0M添加して、121℃、15分間滅菌した後、0.1N塩酸でpH5.5に調整し、ペトリ皿(径9cm)に注いで平板を作成した。

(2) 抗菌試験法

i) 供試かび孢子懸濁液の調製

供試かびを20%スクロース加麦芽寒天斜面に25℃、14日間前培養した。この斜面培地試験管に径3mmのガラス玉および湿潤剤として0.005%スルホコハク酸ジイソオクチルナトリウム(エアロゾルOT)<sup>8)</sup>を添加した生理食塩水を入れてよく攪拌した後あらかじめガラス玉を入れた三角フラスコ中に滅菌ガーゼでろ過した。三角フラスコをよく攪拌した後血球計算板でろ液中の孢子数を計測し、0.005%エアロゾルOT添加生理食塩水で希釈して10<sup>6</sup>孢子/mlの懸濁液を調製した。

ii) 香辛料添加培地上における抗菌試験法

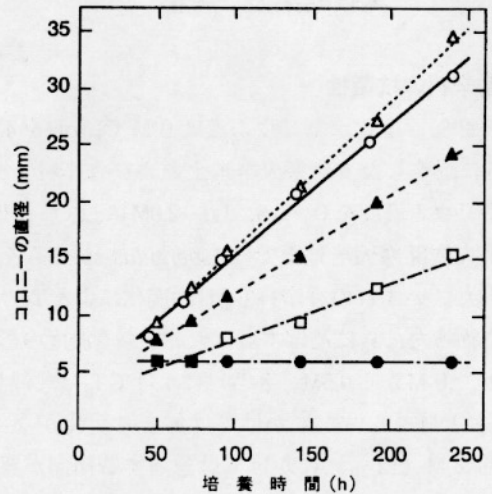
岡ら<sup>9)</sup>のろ紙法に準じて行った。すなわち、*Aspergillus* sp.孢子懸濁液に、乾熱滅菌した径6mmのWhatman製抗生物質力価検定用ろ紙を浸して攪拌した後、滅菌ろ紙上で余分の水分を除いてこれを香辛料添加培地平板上に3枚宛置いた。ペトリ皿に蓋をして防湿性プラスチックテープで封をした後25℃で培養し、経時的に発育コロニーの直径を測定した。図1に、いくつかの香辛料添加培地(塩化ナトリウム0M, pH5.5)上でのコロニーの生長曲線を示した。生長速度は香辛料の種類によって異なるが、コロニーの直径と培養時間との間には、香辛料の種類、塩化ナトリウム濃度、pHに関係なく直線関係が認められた。ここに図示しなかった他の香辛料についても同様であった。この直線関係を岡らの用いた式<sup>9)</sup>で次のように表すことができる。

$$T = (D/A) + B$$

ここで、

T: 培養時間 (h)

D: かびのみによる真のコロニーの直径 (mm) (ろ紙



粉末香辛料添加濃度: 2% 塩化ナトリウム濃度: 0 M  
pH: 5.5 培養温度: 25℃

○対照(香辛料無添加) △オニオン  
▲タイム □セロリ ●オールスパイス

\*変敗昆布佃煮から分離

図1 香辛料を添加した麦芽寒天培地上での *Aspergillus* sp.\*の生長曲線

円周の見かけのかびのコロニーの直径からろ紙の直径を差し引いたもの)

A: 生長速度定数 (mm/h)

B: 誘導期の長さ (h)

いま、発徴時点をDが肉眼で認めうるコロニーの大きさに達した時点として仮定すれば、この式から発徴に要する時間Tを求めることができる。ここでは、岡らに従ってコロニーの安定性や測定の精度を考慮して、Dが5mmに達する時間を発徴時間T<sub>5</sub>として表すことにした。抗菌効果の評価はこのT<sub>5</sub>によって行った。

iii) 精油成分エタノール溶液蒸気による抗菌試験法

ペトリ皿(径9cm)の中央にミニピーカー(径1.0cm, 深さ1.5cm)を置き、周囲に15%スクロースおよび5%塩化ナトリウム加麦芽寒天培地15mlを注いで平板を作成した。次いで、*Aspergillus* sp., *Penicillium* sp.および*Cladosporium* sp.のそれぞれの孢子懸濁液に浸した径6mmの円形ろ紙3枚をミニピーカーのまわりに均等に置いた後、ミニピーカー中に精油成分を10%含有したアルコール溶液をそれぞれ0.01, 0.02, 0.03, 0.04, 0.05, 0.10ml加えた。このペトリ皿を防湿性プラスチックテープで封をして25℃で3日間貯蔵し、コロニーの発生を肉眼的に調べた。抗菌効果は最小発育阻止濃度(便宜上、かびの発育を完全に阻止する精油成分のアルコール溶液のml数を用いた)で示した。



## 実験結果及び考察

### 1. 香辛料の抗菌性

香辛料 2%, 塩化ナトリウム濃度 0 M で、pH を 4.5, 5.5, 6.5 に調整した麦芽寒天培地上および香辛料 2%, 塩化ナトリウム濃度を 0, 0.5, 1.0, 2.0 M にして、pH 5.5 に調整した麦芽寒天培地上での *Aspergillus sp.* の  $T_5$  を表 2 に示した。いずれの香辛料も pH の変化による  $T_5$  の変化は小さかった。 $T_5$  に及ぼす塩化ナトリウム濃度の影響をみると、0 M から 0.5 M (3%) にかけて  $T_5$  は急減し、0.5 M から 1 M (6%) にかけてはあまり変化がなく、1 M から 2 M (12%) にかけては急増する傾向が認められた。これらの結果から、供試した *Aspergillus sp.* は塩化ナトリウム濃度 0 M, pH 4.5 ~ 6.5 の条件下では発育程度に差がなく、塩化ナトリウム濃度 0.5 ~ 1 M (3 ~ 6%) で発育が旺盛であることがわかった。これは、供試した *Aspergillus sp.* が塩化ナトリウム濃度 6% の昆布佃煮を用いて佃煮製造工場で採取された好塩性ないしは耐塩性のかびであるためと考えられる。低塩佃煮の塩分に近い発育最適塩分濃度を有するこのかびに対して、オールスパイス、シナモンおよびクローブは pH や塩化ナトリウム濃度に関わりなく顕著な抗菌性を示し、250 時間以上培養してもコロニーが発現しなかった。塩化ナトリウムを添加しない場合には、pH の変化に関わらずオールスパイス、ブラックペパー、セロリ、シナモン、クローブ、オレガノ、ターメリック、ホワイトペパーに強い抗菌効果が認められた。塩化ナトリウム濃度が 2 M と高い場合には (pH 5.5), オールスパイス、シナモン、クローブ、オレガノに強い抗菌効果が認められた。これまでの結果は培地に添加後高圧滅菌した香辛料の抗菌性を調べたものである。非加熱の香辛料の抗菌性との違いを調べるため、エチレンオキシドガスで滅菌処理を行った供試香辛料を滅菌培地に添加した後  $T_5$  を測定した。結果は示さなかったが、高圧滅菌した場合には抗菌性が認められなかったガーリック、ホースラディッシュに对照と比較して 10 倍以上の  $T_5$  が得られた。他の香辛料は高圧滅菌の有無にかかわらずほぼ同結果が得られた。ことから、製造工程における香辛料の加熱履歴はそれほど考慮しなくてもよいことがわかった。かびに対する香辛料の抗菌性についてはいくつかの報告<sup>10)~13)</sup>があるが、本実験における結果はそれらに示された結果とほぼ同様であった。

### 2. 香辛料精油成分の抗菌性

香辛料の抗菌作用はその精油成分に由来する。本実験では、炭化水素類、アルコール類、アルデヒド類、フェノール類、酸類などに分類される精油成分のうち、抗菌性に関与する主要な化合物をいくつか選択してそれらの抗菌性を調べた。3 種の佃煮変敗かび *Aspergillus sp.*, *Penicillium sp.* および *Cladosporium sp.* に対する精油成分の抗菌性を表 3 に示した。对照 (エタノール) と比較すると、*Aspergillus sp.* に対してはサリチルアルデヒドが 50 倍と最も効果が大きく、次いでチモールおよびフルフラールが 25 倍、オイゲノールが 10 倍の順であった。*Penicillium sp.* に対してはサリチルアルデヒドが 40 倍、チモールが 20 倍、カルバクロールが 10 倍の効果を示した。*Cladosporium sp.* に対してはチモール、サリチルアルデヒド、フルフラール、シナムアルデヒドおよびカルバクロールが 30 倍、イソボルネオールおよびオイゲノールが 15 倍の効果を示した。このようにフェノール化合物 (チモール、カルバクロール、オイゲノール、サリチルアルデヒド)、カルボニル化合物 (フルフラール) に強い抗菌性が認められた。特に効果が大きいサリチルアルデヒドはシナモンに、チモールはタイムに主として含有されている<sup>7)</sup>。これらに次ぐ効果を有するフルフラールはクローブやカルダモンに<sup>7)</sup>、オイゲノールはオールスパイスやクローブに<sup>7)</sup>、イソボルネオールはタイムに主として含有されている<sup>7)</sup>。表 2 の結果と対比すると、オールスパイス、シナモン、クローブの場合は主として含有する精油成分と同様大きな抗菌性を示し、カルダモ

表 3 佃煮変敗かびに対する香辛料精油成分の抗菌性

精油成分	最小発育阻止濃度 (mg)*		
	<i>Aspergillus sp.</i>	<i>Penicillium sp.</i>	<i>Cladosporium sp.</i>
エタノール	0.5 (1)	0.4 (1)	0.3 (1)
チモール	0.02 (25)**	0.02 (20)	0.01 (30)
シナミルアルコール	>0.1 (<5)	>0.1 (<4)	0.1 (3)
イソボルネオール	>0.1 (<5)	>0.1 (<4)	0.02 (15)
サリチルアルデヒド	0.01 (50)	0.01 (40)	0.01 (30)
オイゲノール	0.05 (10)	0.05 (8)	0.02 (15)
パニリン	>0.1 (<5)	>0.1 (<4)	>0.1 (<3)
フルフラール	0.02 (25)	0.4 (1)	0.01 (30)
シナムアルデヒド	>0.1 (<5)	>0.1 (<4)	0.01 (30)
カルバクロール	0.1 (5)	0.04 (10)	0.01 (30)
リモネン	>0.1 (<5)	>0.1 (<4)	0.1 (3)
シナム酸	>0.1 (<5)	>0.1 (<4)	0.1 (3)

\* かびの発育を完全に阻止する精油成分 10% 含有アルコール溶液量  
 \*\* 括弧内の数値はエタノールの抗菌効果を 1 とした場合の相対的抗菌効果を示す

培養: 25°C, 3 日間

ン、タイムの場合は精油成分単独の場合よりやや弱い抗菌性を示し、また、セロリの場合は、含有するリモネン単独の場合よりも大きな抗菌性を示した。このことは、香辛料の抗菌性は含有される精油成分のみに影響されるのではなく、他の因子も関与していることを示唆している。

以上の結果から、本実験においてはかびに対する精油成分の抗菌性に関するこれまでのいくつかの報告<sup>13), 14)~21)</sup>とはほぼ同じ結果が得られた。本実験の供試かびは、前述のように好塩性ないしは耐塩性を有する菌と思われるが、精油成分に対する挙動はこれら報告にみられる供試かびのそれとほとんど変わらなかった。

このことから、香辛料および精油成分は種類による差はあるが、佃煮変敗かびに対しても抗菌性を有することが確認された。佃煮製造企業においては、塩分が5~10%の低塩佃煮における強い抗菌性が特に求められるが、これに応えられる香辛料のあることがわかった。実際に使用するに当たっては、香辛料や精油成分は特有の香味を有しているので、製品に対する香味の適合性を検討する必要がある。

## 要 約

佃煮変敗かびに対する香辛料および精油成分の抗菌性を調べた。

- (1) pH4.5~6.5, 塩化ナトリウム濃度0~2 Mに調整した香辛料添加培地上での*Aspergillus* sp. の発育に対して、オールスパイス、シナモンおよびクローブはpHや塩化ナトリウム濃度の変化に関わりなく顕著な抗菌効果を示した。
- (2) 香辛料精油成分のエタノール溶液蒸気による抗菌性は、*Aspergillus* sp. に対してサリチルアルデヒドが最も効果が大きく(50倍)、次いでチモールおよびフルフラール(25倍)、オイゲノール(10倍)などであった。*Penicillium* sp. に対してサリチルアルデヒド(40倍)、チモール(20倍)、カルバクロール(10倍)の順であった。*Cladosporium* sp. に対してチモール、サリチルアルデヒド、フルフラール、シンナムアルデヒドおよびカルバクロール(30倍)、イソボルネオールおよびオイゲノール(15倍)の順であった。

## 文 献

- 1) 栗田啓幸：防菌防黴, **10**, 301 (1982).
- 2) 宮本悌次郎：防菌防黴, **14**, 517 (1986).
- 3) 宮本悌次郎：調理科学, **25**, 159 (1992).
- 4) 神田豊輝・山本忠敬・斉藤 浩：食品工業, **14** (4), 73 (1971).
- 5) 川岸舜朗：食品の包装, **19**, 64 (1987).
- 6) 桑原祥浩：天然物による食品の保蔵技術, 芝崎 勲・笹島正秋監修(お茶水企画, 東京), p.75 (1985).
- 7) 岩井和夫・中谷延二責任編集：香辛料成分の食品機能(光生館, 東京), p.69 (1989).
- 8) 飯塚 広：農化, **31**, A87 (1957).
- 9) 岡 智・小西隆三：広島県食品工業試験場報告, **5**, 23 (1958).
- 10) MARUZZELLA, J. C. and LIGUORI, L.: *J. Am. Pharm. Assoc. Sci. Ed.*, **47**, 250 (1958).
- 11) BULLERMAN, L. B.: *J. Food Sci.*, **39**, 1163 (1974).
- 12) HITOKOTO, H., MOROZUMI, S., WAUKE, T., SAKAI, S. and KURATA, H.: *Appl. Environ. Microbiol.*, **39**, 818 (1980).
- 13) 上田成子・山下晴美・中島真理子・桑原祥浩：日食工誌, **29**, 111 (1982).
- 14) 岡崎寛蔵・大島壮一：薬誌, **72**, 564 (1952).
- 15) SUBRAHMANYAN, V., SREENIVASAMURTHY, V. and SWAMINATHAN, M.: *J. Sci. Res., Sect. C*, **16**, 240 (1957).
- 16) BULLERMAN, L. B., LIUE F. Y. and SEIER, A. S.: *J. Food Sci.*, **42**, 1107 (1977).
- 17) RITA, N., MIYAJI, M., KURANE, R. and TAKAHARA, Y.: *Agric. Biol. Chem.*, **45**, 945 (1981).
- 18) AZZOUZ, M. A. and BULLERMAN, L. B.: *J. Food Prot.*, **45**, 1298 (1982).
- 19) BENJILALI, B., TANTAOU, E. A., AYADI, A. and IHLAL, M.: *J. Food Prot.*, **47**, 748 (1984).
- 20) GUELDNER, R. C., WILSON, D. M. and HEIDT, A. R.: *J. Agric. Food Chem.* **33**, 411 (1985).
- 21) 河野又四・吉田靖彦・板谷恭史・下坊和也・吉川賢太郎・寺下隆夫・獅山慈孝：近畿大学農学部紀要, **28**, 11 (1995).