

香辛料関連物質の抗菌、抗酸化作用について

近畿職業能力開発大学校 登 成 健之介

Antibacterial and Antioxidative Activity of Spice Related Substances

Kennosuke TONARI

要約 抗菌、抗酸化性が知られている13種類の香辛料関連物質をとりあげ、その抽出物および単品主成分について、光照射によるオレイン酸の過酸化物質価 (POV) の測定とペーパーディスク法による阻止円の測定を行い、活性のある物質の有効構造を論じた。

ジンジャーおよびクローブはその抽出物および単品主成分とも抗酸化性が強く現れ、豊富に含有する3-メトキシ-4-ヒドロキシベンゼン体であるフェノール成分が抗酸化性に寄与しているものと考えられる。

また、タイム、セージ、緑茶のように抽出物と単品主成分に含有差のあるものは抽出物と単品主成分の試験でPOVに差が生じた。

抗菌作用の顕著なものとしてタイム、セージ、クローブが見出されたが、これらも構成フェノール成分が抗菌性に寄与しているものと考えられる。シナモン中のシナムアルデヒドおよびクミン中のクミンアルデヒドの抗菌性は顕著で、両者に共通するベンゼン環に共役するアルデヒド体の構造が有効であると考えられる。また、わさび、からし抽出物にも抗菌性が見いだされており、特有成分であるアリルイソチオシアネート、4-ヒドロキシベンジルイソチオシアネートに共通する化学反応性の強いアリル基 ($\text{CH}_2=\text{CH}-\text{CH}_2-$)、4-ヒドロキシベンジル基 ($4-(\text{HO})-\text{C}_6\text{H}_4-\text{CH}_2-$) および特異なイソチオシアネート基 ($-\text{N}=\text{C}=\text{S}$) が抗菌性に寄与するものと推測される。

I 緒言

香辛料は特有の香味を有するため、古来より宗教的な儀式をはじめ、獣肉の保存や抑臭に用いられ、その持つ食欲増進作用は食物をおいしくさせる大きな主作用である。一方、香りの特徴となるモノテルペン、セスキテルペン、フェノール物質等の特有成分は抗菌、抗酸化作用があるとされ、各種研究報告がある。^{(1)~(7)}

今回取り上げたものは抗菌、抗酸化作用が知られている香辛料および関連物質でその効果を単品主成分の構造より論じた。Table 1にはここで取り扱った香辛料関連物質の植物名、利用部位および構成成分を示す。⁽⁸⁾

また、Fig. 1には香辛料関連物質の主要成分の構造を示す。

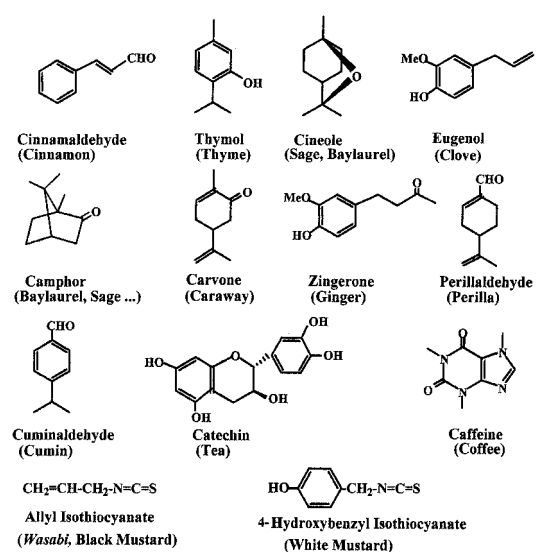


Fig. 1 Structures of Key Compounds in Spice Related Substances

Table 1 Spice Related Substances dealt for the Study⁽⁸⁾

Spices	Plant	Use Part of Plant	Key Component
Cinnamon	Lauraceae (クスノキ科) <i>Cinnamomum</i> , <i>Cassia</i> Blume (ケイ皮)	Leaf, Bark	Cinnamaldehyde (62-75%) Eugenol (6-13%)
Sage	Labiatae (シソ科) <i>Salvia Officinalis</i> L. (サルビア)	Whole	Thujone(41-61%), Cineol, Carvacrol, Borneol, Camphor
Baylaurel	Lauraceae (クスノキ科) <i>Laurus nobilis</i> L. (月桂樹)	Leaf	Cineole(45-50%), Eugenol(0.5-1.9%), Pinene, Linalool, Camphor
Caraway	Umbelliferae (セリ科) <i>Carum carvi</i> L. (キャラウエー)	Leaf, Seed	Carvone(50-60%), Limonen(3-7%)
Ginger	Zigiberaceae (ショウガ科) <i>Zingiber officinale</i> Rose (ショウガ)	Root	Zingiberen, Zingiberol, Phellandrene, Cineol, Zingerone, Shogaol
Cumin	Umbelliferae (セリ科) <i>Cuminum cyminum</i> L. (クミン)	Seed	Cuminaldehyde(30-40%), Thymol, Pinene, Terpeneol
Clove	Myrtaceae (フトモモ科) <i>Eugenia aromatica</i> L. (丁子)	Bud	Eugenol(70-90%), Caryophyllene
Thyme	Labiatae (シソ科) <i>Thymus vulgaris</i> L. (タイム)	Leaf	Thymol (24-40%), Borneol, Carvacrol, Linalool
Perilla	Labiatae (シソ科) <i>Perilla frutescens</i> Crispa (シソ)	Leaf, Bud, Seed	Perillaldehyde(50%), α -Pinene, Limonen (20-30%)
Wasabi (Horseradish)	Brassicaceae (アブラナ科) <i>Wasabi Japonica</i> (山葵)	Root	Sinigrin (Allylisotiocyanate)
Mustard	Brassicaceae (アブラナ科) <i>B.nigra</i> (黒カラシ), <i>B.alba</i> (白カラシ)	Seed	Sinalbin (黒) Allylisotiocyanate, (白) Hydroxybenzylisotiocyanate
Tea	Theaceae (ツバキ科) <i>Camellia sinensis</i> L. (茶)	Leaf	Caffeine, Tannin, Catechin
Coffee	Rubiacea (アカネ科) <i>Coffia arabica</i> L. (コーヒー)	Fruit	Caffeine, Tannin, Catechin

II 実験

1) 試料

香辛料：シナモン、セージ、ベイローレル、キャラウエー、ジンジャー、クミン、クローブ、タイム、赤シソ、からし、わさびは(株)カネカサンスパイスのご好意による。緑茶、コーヒー(インスタント品)は市販品を用いた。

単品主成分：上記香辛料に対応する単品主成分は市販試薬1級品を用いた。()内は由来する香辛料類を示す。

Cinnamaldehyde (シナモン), Carvacrol (セージ), Camphor (ベイローレル), Carvone (キャラウエー), Dehydrozingerone (ジンジャー), Cuminaldehyde (クミン), Eugenol (クローブ), Thymol (タイム), Catechin (緑茶), Caffeine (コーヒー) 赤シソ、からし、わさびは由来する単品成分は入手できなかった。ジンジャーは辛味

成分の一つであるZingeroneの代わりにDehydrozingeroneを用いた。⁽⁹⁾

2) 香辛料関連物質の抽出および調整

- 緑茶、コーヒーを除いて、各香辛料20gをアセトン50mlで1分間振とうし、上澄み液を自然ろ過して抽出液を得、フラスコ残の香辛料はさらにアセトン30ml加えて、1分間振とう後、吸引濾過し、先の抽出液と合わせる。合わせた抽出液は50℃の水浴中で減圧濃縮する。濃縮物の重量を測り、エタノールで各4%溶液とする。

- 緑茶、コーヒーの抽出物については各20gを80℃の熱水100mlで1分間抽出後、吸引濾過し、濾液を濃縮、上と同様処理し、抽出残に50%エタノールを加えて、4%溶液とする。尚、香辛料単品成分溶液は各単品成分にエタノールを加えて、各2%溶液とした。

3) 抗酸化作用の測定(過酸化価(POV)の測定)

シャーレ(9cm径)にオレイン酸を15gとり、香辛料抽出物の場合は4%エタノール溶液0.1ml(約

300ppm)、単品成分の場合は2%エタノール溶液0.15ml(200ppm)を加え、よく混合後、1万ルックス照射下(三洋電気(製)人工気象器)に各時間毎のPOVを測定する。POVの測定法は別途文献^{(9),(10)}を参照する。

4) 抗菌作用の測定

標準寒天培地のプレート(2.4%滅菌培地)に試験菌(プレートに培養した*Bacillus subtilis*(IFO3009)、*Escherichia coli*(IFO3301))各2白金耳を殺菌水5mlに懸濁分散させたもの0.1mlを塗布した後、直径8mmのペーパーディスクを上記調整した各成分(香辛料抽出物:4%エタノール溶液、単品成分:2%エタノール溶液)に約1分浸漬し、風乾後、植菌した標準寒天プレートの1/4円部に置き、37℃、24時間培養する。培養後、形成された阻止円の大きさを測定する。

III 結果と考察

(1) 抗酸化作用

Table2にみるように、香辛料抽出物の内、既存抗酸化剤(BHA、トコフェロール)と比べ、抗酸化効果の認められるのはジンジャー、クローブであり、セージ、タイム、緑茶には認められなかった。しかし、単品成分における抗酸化効果はTable3に示すように、Dehydrozingerone(ジンジャー辛味成分代用品)、Eugenol(クローブ特有香)、Carvacrol、Thymol(タイム、セージの特有成分)、Catechin(緑茶中のフェノール成分)といずれも認められた。

Table 2 POV(meq./Kg) of Oleic Acid added with the Extracts of Spice Related Substances

Extracts	0h	3h	5h	10h	15h	20h	30h
Cinnamon	0	20	24	110	186	250	296
Sage	0	26	35	109	167	208	261
Baylaurel	0	40	58	144	205	296	371
Caraway	0	26	36	107	193	233	288
Ginger	0	7	17	23	41	48	55
Cumin	0	24	40	120	203	241	277
Clove	0	10	12	18	25	28	31
Thyme	0	11	31	86	181	226	266
Perilla	0	72	117	255	365	438	510
Wasabi	0	21	24	110	187	239	284
Mustard	0	20	30	108	191	236	274
Tea	0	21	25	71	168	214	262
Coffee	0	31	26	107	178	253	284
BHA	0	3	8	16	18	20	21
Tocopherol	0	5	10	15	20	23	26
Blank	0	24	30	117	191	255	294

Table 3 POV(meq./Kg) of Oleic Acid added with the Components of Spice Related Substances

Components	0h	3h	5h	10h	15h	20h	30h
Cinnamaldehyde	0	27	35	48	151	169	218
Carvacrol	0	11	18	22	23	25	31
Camphor	0	26	42	54	149	171	213
Carvone	0	34	51	62	177	182	230
Dehydrozingerone	0	10	10	12	15	21	27
Cuminaldehyde	0	20	36	62	149	153	220
Eugenol	0	10	15	18	20	22	25
Thymol	0	8	11	16	18	29	32
Catechin	0	3	8	10	12	15	20
Caffeine	0	14	40	60	141	161	205
BHA	0	6	10	14	15	16	17
Tocopherol	0	2	6	10	12	24	26
Blank	0	14	33	64	153	174	225

このちがいはおそらく含有量を比べるとクローブは抽出物中にEugenolを平均80%も含んでおり(Table1)、4%エタノール溶液中では $4\% \times 0.8 = 3.2\%$ のEugenolを含有していることになる。これをオレイン酸15gに0.1ml加えた場合、 $3.2\% \times 0.1 / 15 =$ 約213ppmである。

一方、単品成分では2% Eugenolのエタノール溶液を15gオレイン酸に0.15ml添加しているので $2\% \times 0.15 / 15 = 200\text{ppm}$ となり、オレイン酸中の抽出物も単品成分もほぼ同量のEugenolを含むことになり、近接したPOVの結果になったと考えられる。

タイムは抗酸化性を有する香辛料であるが、抽出物中にはThymolを平均32%含有しており(Table1)、4%エタノール溶液中では $4\% \times 0.32 = 1.3\%$ のThymolを含み、この0.1mlをオレイン酸15gに添加した場合、オレイン酸中の濃度は $1.3\% \times 0.1 / 15 = 87\text{ppm}$ となる。

これに対して、単品成分のThymolは2%溶液を15gのオレイン酸に0.15ml添加したので、 $2\% \times 0.15 / 15 = 200\text{ppm}$ となり、オレイン酸中の香辛料抽出物と単品成分の含有差が歴然としており、POVの違いに反映したものと考えられる。

セージはカンファ様の清涼感ある香辛料で主成分はThujoneという3員環を有する2環性ケトンおよびCineolというエーテル型化合物である。抗酸化性にはこれらの中性化合物は直接関与しないと思われるが、同抽出物中にはフェノール成分の存在は明白で(セージ抽出物の塩化第二鉄反応は陽性)、例えばThymolやCarvacrol(Thymolの異性体)の存在が予測でき、これらの物質による抗酸化性が当然考えられる。本物質のセージ中の含有率が不明で詳細は判らないが、おそらくタイムと同様、オレイ

ン酸における抽出物と単品成分の含有量に差があるためPOVに差が生じたものと推測される。

ジンジャーについては特有香として、Zingiberene、Camphor、Phellandrene等の炭化水素の他、Borneol(アルコール体)、Cineol(エーテル体)を含むが、辛味成分として知られる Zingerone や Gingerol および Shogaol は3-メトキシ-4-ヒドロキシベンゼン環を有する化合物で抗酸化性に寄与するフェノール成分である。これらフェノール成分含量が不明であるため、これも比較はできないが、おそらくジンジャー中にこれらフェノール成分が優位に存するため、単品成分としてとりあげた Zingerone と比較しても遜色のないPOV値になったものと考えられる。

緑茶は抗酸化成分として、ビタミンC、タンニン、カフェイン等知られているが、今回の実験のような熱水抽出物とした時にはビタミンC、タンニン、カフェインいずれも数十ppmと予測され⁽¹¹⁾、Catechin 単品に比べ、オレイン酸の抗酸化作用にはほとんど寄与できないものと考えられる。

その他の香辛料抽出物については構成主成分にフェノール成分を含まないか、含んでも少ないため、抗酸化性が認められなかったと思われる。このことは各抽出物に対応する単品成分の抗酸化性データ(Table 3)からも明らかである。フェノール成分が抗酸化性を示す理由の一つとして、油脂の酸化で生じたラジカルの吸収剤としてフェノール成分が働くものとされている。⁽¹²⁾

(2) 抗菌作用

B.subtilis、*E.coli* に対する抗菌作用はほとんどの香辛料抽出物に認められた。中でもシナモン、タイム、クローブ、セージ、わさびが強い抗菌作用を示した。

Table 4 Inhibitory Zone Sizes of the Extracts of Spice Related Substances against *B.subtilis* and *E.coli*

Extracts	<i>B.subtilis</i>	<i>E.coli</i>
Cinnamon	20(mm)	10(mm)
Sage	18	12
Baylaurel	12	8
Caraway	10	8
Ginger	13	8
Cumin	10	8
Clove	15	12
Thyme	9	9
Perilla	10	8
Wasabi	10	10
Mustard	10	8
Tea	9	8
Coffee	8	8
Salicylic Acid	15	11
Sorbic Acid	13	10

Table 5 Inhibitory Zone Sizes of the Components of Spice Related Substances against *B.subtilis* and *E.coli*

Components	<i>B.subtilis</i>	<i>E.coli</i>
Cinnamaldehyde	17(mm)	12(mm)
Carvacrol	12	10
Camphor	9	8
Carvone	8	8
Dehydrozingerone	11	9
Cuminaldehyde	11	9
Eugenol	15	11
Thymol	12	10
Catechin	10	8
Caffeine	9	8
Salicylic Acid	15	15
Sorbic Acid	16	11

対応する単品成分では抗菌作用が一層明白で、タイム、セージ、クローブに見られる主成分はThymol、Carvacrol、Eugenolで、いずれもベンゼン環に水酸基を有するフェノール成分である。

また、シナモンにみられるCinnamaldehydeはベンゼン環に共役する不飽和アルデヒド構造を有し、この構造が抗菌作用に有効であることが判る。(Table 4、5)

シソの抽出物は芳香主成分にPerillaldehydeを有するが、本物質はベンゼン環と共役してない不飽和アルデヒドでシナムアルデヒドと比較すると抗菌性は弱く現れている。(Table 4)

また、キャラウエーの特有成分であるCarvoneはベンゼン環と共役しない不飽和ケトン体であるため抗菌作用は弱くなっている。(Table 4、5)

クミンの特有成分であるCuminaldehydeはベンゼン環に直結したアルデヒド体で、部分的に不飽和アルデヒド体と考えられるため比較的強く抗菌作用が現れている。(Table 4、5)

わさび、からしについてはそれぞれシニグリン(わさび、黒からし)、シナルピン(白からし)という辛味発現成分があり、酵素(ミロシナーゼ)あるいは外的刺激によりアリルイソチオシアネート(わさび、黒からし)およびヒドロキシベンジルイソチオシアネート(白からし)という鼻にぬける刺激臭を発生させる。これら特有成分はアリル基(CH₂=CH-CH₂-) 4-ヒドロキシベンジル基(4-(HO)-C₆H₄-CH₂-) およびイソチオシアネート基(-N=C=S)という化学反応性の強い官能基を有し、これらが生体成分に何らかの反応をしかける結果、蛋白質、酵素の不活性化を招き、抗菌作用として出現してくるものと推測される。

前報^{(9),(10)}で述べたように、各化合物の分子軌道エネルギー(HOMO,LUMO)から各化合物の絶対

電気陰性度 (χ)、絶対的ハードネス (η) が計算でき、それぞれ各化合物のイオンの成りやすさや電子密度変化のしやすさに関する情報がわかり、これらと生物活性量 (例えば抗酸化性なら過酸化物質価 (POV)、抗菌性なら最小阻止濃度 (MIC)) との相関性があれば、活性の強い化合物間の構造を χ 、 η の観点より比較できる。さらに、抗菌活性の評価として、生体成分とのモデル反応を考え、蛋白質、酵素のアミノ酸残基によく見られるリジン、システイン、ヒスチジン等のアミノ酸と試験物質との反応予測として、 χ 、 η から導ける電荷移動数 (ΔN) や安定化エネルギー (ΔE) を反応性指標として加えることにより、さらに満足のゆく評価ができるものと考えこれまでとり入れてきた。

しかし、今回取り上げたものは構造に関するバリエーションが大きいいためか、POVと χ 、 η との相関性および抗菌性と χ 、 η および ΔN 、 ΔE との相関性はほとんど認められなかった。

IV 結 論

1. 香辛料抽出物のオレイン酸に対する抗酸化作用で強いものはジンジャー、クローブであり、これらの単品主成分での試験結果と一致するものである。これはそれぞれの豊富なフェノール成分が抗酸化性に寄与するものと考えられる。

また、セージ、タイムおよび緑茶中の各単品主成分には抗酸化性が認められるが、抽出物中には認められなかったのは各抗酸化成分が抽出物中に少ないためと推測される。

2. 抗菌作用について効果のあるものはタイム、セージおよびクローブで、これら単品成分であるThymol、CarvacrolおよびEugenolはベンゼン環に水酸基を持つフェノール物質である。

また、シナモン中のCinnamaldehydeおよびクミン中のCuminaldehydeのようにベンゼン環と共役する不飽和アルデヒド構造を有する化合物は抗菌性に有効であることが判った。

わさび抽出物のようにアリル基およびイソチオシアネート基のような反応性の強い官能基を有する化合物は生体成分と何らかの反応が考えられ、抗菌性につながるものと推定される。

謝 辞

本実験にご協力をいただきました本校卒業生の安里歩さん、藤原梨加さんに深謝いたします。

【引用文献】

- (1) 森一雄、山本泰男、福田雄一 香辛料について (その2) i) 香辛料の成分 ii) 香辛料の副次的性質 (抗酸化性、抗菌性) iii) 香辛料の矯臭性 魚肉ソーセージNO.166 1~17p (1969)
- (2) 松倉十一 スパイスの微生物と分析 化学と生物 Vol.8No.4 217-224p (1970)
- (3) 上田成子、山下晴美、中島真理子、桑原祥治 香辛料および香辛料の抗微生物作用 日本食品工業学会誌 29巻2号111-116p (1982)
- (4) 中谷延二 天然抗酸化性物質とその検索、構造解析 フードケミカルNo.936-41p (1985)
- (5) 松崎妙子、原衛彦 茶葉カテキン類の抗酸化作用 日本農芸化学会誌59.129-134p (1985)
- (6) 成瀬治己、庄司禎 現状における抗菌性物質とその応用 月刊フードケミカル 4、53-99p (1989)
- (7) 太田静行 抗菌抗酸化物質の検索と応用 月刊フードケミカル 2、48-61p (1990)
- (8) 天然物便覧第11版 外山章夫編纂 食品と科学社 (平成3年1月25日第11版)
- (9) 登成健之介 ベンザルアセトン型化合物の抗菌、抗酸化性について 職業能力開発報文誌15 (2) 23-27p (2003)
- (10) 登成健之介 フェノール及びポリフェノール類の抗酸化能について 職業能力開発報文誌15 (2) 65-68p (2003)
- (11) 図説食品成分表 科学技術庁資源調査会編 一橋出版 (1992)
- (12) 食品化学 櫛田寿恵、辻美保子、豊沢功、中川昌平、宮川金次郎著 化学同人 (第8刷1990)