

抗菌活性を有する混合茶原料の検索

中尾 浩, 遠田 昌人, 松井 智江, 吉本 周

Search on Antibacterial Activities of Raw Materials for a Canned Blend Tea Drink

Hiroshi Nakao, Atsuhito Enda, Tomoe Matsui and Itaru Yoshimoto

In previous papers, the authors reported that the canned blend tea drink G had antibacterial activity for the *Bacillus stearothermophilus* BLT, which was isolated from a canned blend tea drink stored at high temperature. This study was carried out to search on antibacterial activities of raw materials for the canned blend tea drink G. Eleven kinds of the raw materials were examined. It was shown that three of them didn't have antibacterial activities, while eight of them did have. These results indicated that the latter raw materials contained antibacterial substances. Especially, extracts of mugwort leaf, green tea and oolong tea had stronger antibacterial activities for the isolated bacteria BLT than the canned blend tea drink G had.

Key words : blend tea, canned drink, antibacterial activity, thermophilic bacteria,
Bacillus stearothermophilus, mugwort leaf, green tea, oolong tea

既報¹⁻²⁾にて混合茶飲料缶詰Gの内容物が, 高温保存の混合茶飲料缶詰から分離された *Bacillus stearothermophilus* BLT に対する抗菌作用を有することを報告した。また, 抗菌作用は, polyvinylpolypyrrolidone (PVPP) に吸着される抗菌活性物質によることを推定した。しかし, 混合茶は複数の原料より調製されるため, 抗菌活性物質の由来は不明であった。

そこで本試験において, 抗菌活性を有する混合茶飲料缶詰Gの原料を検索することを目的とした。そのため, 混合茶飲料缶詰Gの11種類の原料抽出液に対し, 分離菌BLTの増殖適性試験¹⁾を行い, 増殖曲線の傾向から, 抗菌活性の有無を評価したので報告する。

実 験 方 法

1. 使用菌株

予め調製した, 高温性細菌 *Bacillus stearothermophilus* BLT の孢子懸濁液 4.6×10^7 CFU/ml を使用した。菌株BLTは高温保存の混合茶飲料缶詰から分離された。

2. 試 料

混合茶原料抽出液の調製に用いた原料および原料の状態を以下に記した。よもぎ, 霊芝, およびミカンの皮は漢方薬品店にて購入した。それ以外の原料は市販品を用いた。

よもぎ	乾燥, 切断
霊 芝	乾燥, スライス

ミカンの皮	乾燥, 切断	
クコ (葉)	乾燥, 切断	(株)ウチダ和漢薬TU
アマチャヅル	乾燥, 切断	吉見製薬(株)
ハブ茶	焙焼	(株)小谷穀粉
熊 笹	ティーバッグ	(株)大和薬品
ハトムギ	焙焼, 粉碎, ティーバッグ	(株)宇治香園
柿の葉	ティーバッグ	(株)小谷穀粉
ウーロン茶	市販茶飲料缶詰	
緑 茶	市販茶飲料缶詰	

よもぎ, クコ, ミカンの皮, アマチャヅル, ハブ茶, 霊芝, 熊笹, ハトムギおよび柿の葉をそれぞれ適当量採取し, 水500mlを加え昇温し, 100℃にて適当時間加熱した. 得られた抽出液を急冷し, グラスウールにて濾過した. 抽出条件を Table 1 に記した. 濾液を0.8 μm , 次いで0.45 μm のメンブランフィルタにて除菌し, 使用した.

Table 1. Extraction conditions of canned blend tea drink G raw materials

Raw materials for canned blend tea drink G		Weight (g)	Heating time (min)
Oriental senna	"HABUCHA"	20	90
Unshiu orange peel	"MIKAN NO KAWA"	20	10
Mugwort leaf	"YOMOGI"	20	10
Mugwort leaf ^{a, b}	"YOMOGI"	7.5	3
AMACHADURU ^a	"AMACHADURU"	7.5	3
Chinese matrimony-vine leaf ^a	"KUKO"	7.5	3
Kaki leaf	"KAKI NO HA"	2.8	5
Bamboo grass	"KUMAZASA"	2.0	5
Job's tear	"HATOMUGI"	3.6	3
REISHI	"REISHI"	2.5	30

^aHeat-treated in an oven at 120℃ for 20 minutes before extraction.

^bNot used for *growth curve assay*.

ウーロン茶および緑茶は, 350ml容量の市販茶飲料缶詰の内容物を, 0.80 μm 次いで0.45 μm のメンブランフィルタにて除菌し, 使用した.

火入れしたよもぎより調製したよもぎ抽出液 (MLE) に対し, PVPP処理²⁾ (PVPP: 試料= 2~4 g: 100ml) を2回繰り返して行った. 得られた試料をMLEpvpp2とした.

それぞれの試料のpHおよび糖濃度を Table 2 に記した.

Table 2. Conditions of samples

Extracts of raw materials	Brix (%)	pH
Oriental senna	0.3	4.8
Unshiu orange peel	1.4	4.7
Mugwort leaf	1.0	5.7
AMACHADURU	0.2	5.8
Chinese matrimony-vine leaf	0.3	5.1
Kaki leaf	0.0	6.0
Bamboo grass	0.0	8.7
Job's tear	0.0	8.3
REISHI	0.2	5.0
Green tea	0.0	6.1
Oolong tea	0.6	7.0

3. 分離菌に対する混合茶原料抽出液の抗菌作用

調製したそれぞれの混合茶原料抽出液を増殖適性試験 (*growth curve assay*)¹⁾ に供した.

既報²⁾と同様の方法にて, 異なる濃度の試料MLEを含むSMA (dcMLE-SMA) 培地および異なる濃度の試料MLEpvpp2を含むSMA (dcMLEpvpp2-SMA) 培地をそれぞれ調製し, 静菌作用評価平板試験²⁾を行った.

結果および考察

それぞれの混合茶原料抽出液の状態および増殖適性試験の結果を Table 3 および Fig. 1~4 に記した。増殖曲線の増減の傾向より、それぞれの混合茶原料抽出液を I~III 型¹⁾ に層別し、Table 4 に記した。

その結果、3種の混合茶原料抽出液は、分離菌 BLT の菌数が増加する傾向の増殖曲線を示す I 型に層別され、分離菌に対する抗菌活性は認められなかった。一方、8種の混合茶原料抽出液は、分離菌の菌数が減少する傾向の増殖曲線を示す III 型に層別され、分離菌に対する抗菌活性を有することが判明した。

以上より、混合茶飲料缶詰 G に存在すると推定された抗菌活性物質が、III 型の 8 種の原料に由来する可能性が示唆された。特に、混合茶飲料缶詰 G より速く菌数が減少した、よもぎ、緑茶、およびウーロン茶は、混合茶飲料缶詰 G の抗菌作用に寄与する可能性が高いと思われた。

さらに、分離菌に対する強い抗菌作用が認められたよもぎ抽出液の抗菌作用の特性を調査するため、MLE および MLEpvpp2 に対し、静菌作用評価平板試験を行った。結果を Fig. 5 に示した。

その結果、よもぎ抽出液が有する抗菌作用は、よもぎ抽出液の濃度に依存することが判明した。また、PVPP 処理を行うことにより、よもぎ抽出液の抗菌作用が著しく低下することが判明した。以上の抗菌作用の特性は、混合茶飲料缶詰 G のそれと同様である²⁾。

以上より、混合茶飲料缶詰 G と同様、よもぎ抽出液に、PVPP に吸着される性質を有する、分離菌 BLT に対する抗菌活性物質が存在することを推定した。

一方、緑茶およびウーロン茶に含まれるカテキン類が *B. stearothermophilus* などに対する抗菌活性を有すること³⁻⁶⁾、また、一般にポリフェノール類は PVPP に吸着されること⁷⁾ が知られている。そのことから、緑茶およびウーロン茶が分離菌に対して示す抗菌作用は、カテキン類に由来し、PVPP 処理により消失すると推測される。従って、PVPP 処理により抗菌作用が消失する特性において、よもぎ、緑茶およびウーロン茶は同様の範疇に概括されると推定される。

Table 3. Results of growth curve assay^a

Extracts of raw materials	Incubation time(days)	pH final	Cell density (CFU/ml)		
			initial	final	
Oriental senna	26	4.6	6.2×10^3	ND	(ND)
Unshiu orange peel	35	4.1	3.8×10^3	ND	(ND) ^b
Mugwort leaf	10	5.2	6.2×10^3	ND	(ND)
AMACHADURU	35	5.3	4.4×10^3	2.0×10^2	(2.4×10^2)
Chinese matrimony-vine leaf	35	4.9	4.1×10^3	ND ^b	(ND)
Kaki leaf	30	4.6	5.5×10^3	1.0×10^1	(5.0×10^{-1})
Bamboo grass	36	8.7	5.9×10^3	3.4×10^6	(3.1×10^6)
Job's tear	36	5.8	5.7×10^3	6.9×10^6	(3.9×10^6)
REISHI	35	NA	6.6×10^3	7.4×10^6	(5.9×10^6)
Green tea	15	4.5	6.2×10^3	ND	(ND)
Oolong tea	22	5.0	7.5×10^3	ND	(ND)

^aSymbols: NA, Not available; ND, Not detected; (), Samples heat-treated at 100°C for 10 minutes before inoculation for counting spore numbers.

^bNot detected on the 30th day.

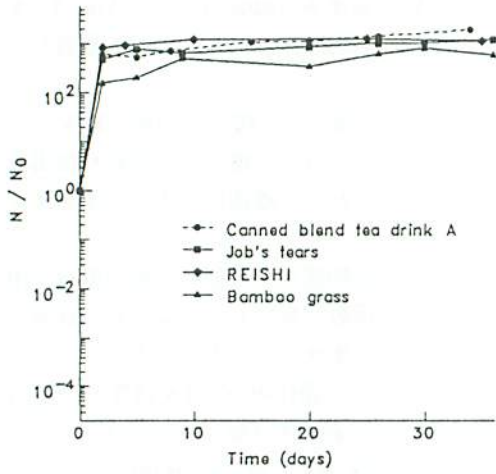


Fig. 1 Inhibitory effects of extracts of raw materials for canned blend tea drink G against *B. stearothermophilus* BLT spores and vegetative cells

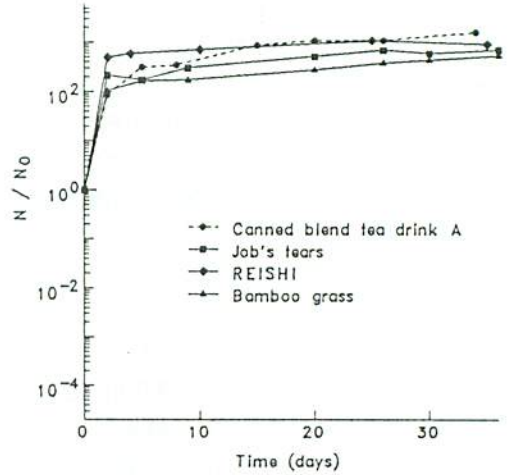


Fig. 2 Inhibitory effects of extracts of raw materials for canned blend tea drink G against *B. stearothermophilus* BLT spores

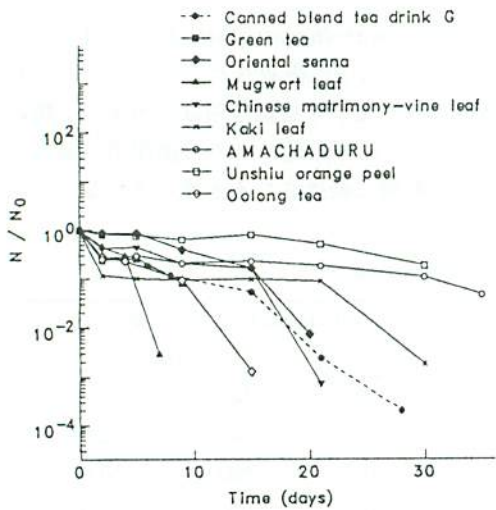


Fig. 3 Inhibitory effects of extracts of raw materials for canned blend tea drink G against *B. stearothermophilus* BLT spores and vegetative cells

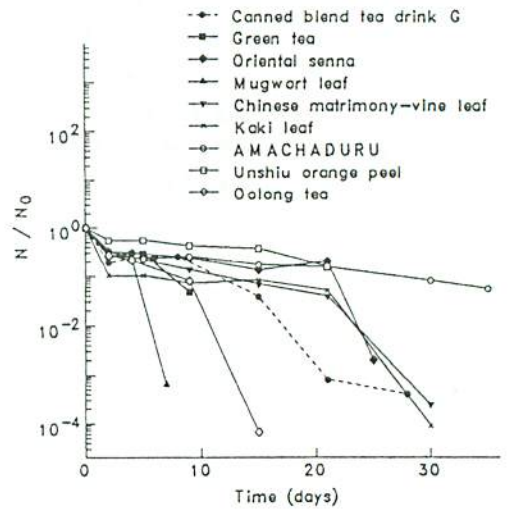


Fig. 4 Inhibitory effects of extracts of raw materials for canned blend tea drink G against *B. stearothermophilus* BLT spores

Table 4. Grouping of extracts of raw materials for canned blend tea drink G

Type	Extracts of raw materials
I	REISHI, Job's tear, Bamboo grass
III	Mugwort leaf, Green tea, Oolong tea, Chinese matrimony-vine leaf, Oriental senna, Kaki leaf, AMACHADURU, Unshiu orange peel

要 約

高温保存の混合茶飲料缶詰から分離した *Bacillus stearothermophilus* BLT に対し、抗菌活性を有する混合茶飲料缶詰Gの原料を検索した。そのため、混合茶飲料缶詰Gの11種の混合茶原料抽出液に分離菌を接種、培養し、経時的に菌数を測定した。

その結果、3種の混合茶原料抽出液は分離菌の菌数が増加する傾向の増殖曲線を示すI型、8種の混合茶原料抽出液は分離菌の菌数が減少する傾向の増殖曲線を示すIII型に層別された。従って、混合茶飲料缶詰Gに存在すると推定された抗菌活性物質が、III型の8種の原料に由来する可能性が示唆された。一方、よもぎ、緑茶、およびウーロン茶における分離菌BLTの菌数減少速度は、混合茶飲料缶詰Gにおけるそれより速かった。また、よもぎ抽出液にpolyvinylpolypyrrolidoneに吸着される抗菌活性物質が存在することを推定した。

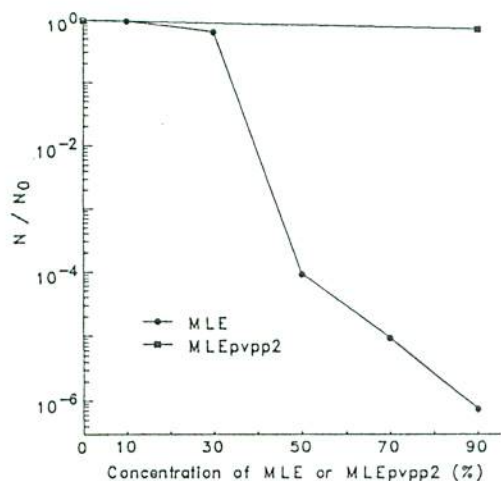


Fig. 5 Inhibitory effects of MLE and MLEpvpp2 against *B. stearothermophilus* BLT

文 献

- 1) 中尾 浩, 遠田昌人, 松井智江, 吉本 周: 東洋食品工業短大・東洋食品研究所研究報告書, 22, 129~132 (1998).
- 2) 中尾 浩, 遠田昌人, 松井智江, 吉本 周: 東洋食品工業短大・東洋食品研究所研究報告書, 22, 133~140 (1998).
- 3) 寺田志保子, 前田有美恵, 増井俊夫, 鈴木裕介, 伊奈和夫: 日食工誌, 34, 20-27 (1987).
- 4) 戸田真佐子, 大久保幸枝, 生貝 初, 島村忠勝: 日細菌誌, 45, 561-565 (1990).
- 5) 原 征彦, 石上 正: 日食工誌, 36, 996-999 (1989).
- 6) 吉田衛市, 植松英治, 西山重幸: 缶詰時報, 74, 1000-1006 (1995).
- 7) 池ヶ谷賢次郎: 日食工誌, 32, 61-66 (1985).