

香辛料の新機能 —バイオフィーム形成阻害—

日本大学 生物資源科学部
古川 壮一

1. 研究の目的と背景

バイオフィームは微生物が固液界面に形成するフィルム状構造物であり、近年、洗浄困難な微生物汚染源として、食品衛生において題視されている。我々はこれまで、いくつかの香辛料がバイオフィーム形成阻害活性を有することを見出した。そこで、本研究では、多様な香辛料を対象としてバイオフィーム形成阻害作用のスクリーニングを行い、香辛料中の高活性成分及び阻害機構の解明を目的とする。

なお、本研究は、同学科所属の松藤寛准教授との共同研究である。また、同森永康教授、荻原博和教授にもご協力を頂いている。

2. 研究の方法

バイオフィーム形成阻害活性を有する香辛料の探索については、国内で流通している香辛料を対象として、黄色ブドウ球菌、虫歯菌、大腸菌などを供試菌としてスクリーニングを行った。また、バイオフィーム形成阻害活性を有す

る香辛料中有効成分の分離・同定については、活性を示した香辛料中の活性成分を対象に、継続して分析を行っている。

国内で流通している香辛料、57種類（賦香作用：30、脱臭作用：13、辛味作用：11、着色作用：3）を用いた。供試菌株としては *Streptococcus mutans* MT8148（以下 *S. mutans*）、*Pseudomonas aeruginosa* PAO1（以下 *P. aeruginosa*）、*Staphylococcus aureus* A7510（以下 *S. aureus*）、*E. coli* MG1655 を用いた。香辛料を 1.5% (w/v) から抽出した熱水抽出物を含む培地を用いて、上記菌株のバイオフィーム形成に及ぼす影響について検討を行った。また、興味深い傾向を示した香辛料についてはエーテルで分画後、LC-MS/MS 解析を試みた。

3. 研究の実施経過

多くの香辛料が供試菌株に対して BF 形成抑制効果を示した。これらの中には、BF 抑制効果のみを示すものと、BF 抑制効果と生育抑制効果を併せて示すものがあった（表 1）。

表 1 香辛料による BF 抑制効果

菌名/作用	<i>P. aeruginosa</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>S. mutans</i>
賦香	10 (1)	11 (5)	18 (2)	8 (3)
脱臭	0	8 (6)	11 (6)	5 (1)
辛味	3	5 (4)	7 (3)	6 (0)
着色	0	3 (2)	3	0
合計	13 (1)	27 (17)	39 (11)	19 (4)

数字は BF 阻害作用を示したサンプル数。() 内は生育抑制作用も同時に示したサンプル数を示す

上記の香辛料の中で賦香作用を示すタイム、サボリ、クローブ、オールスパイスは高い活性を示した。そこで、タイム、サボリの有効成分であるとされているカルバクロール、及びクローブ、オールスパイスの有効成分であるとされているオイゲノールを用い、上記菌株に対するバイオフィーム形成阻害活性について検討を行った。その結果、いずれも高いバイオフィーム形成阻害活性を示したものの、同時に高い抗菌活性も示した。したがって、上記有効成分は、抗菌性を示すことにより、バイオフィーム形成を

阻害すると考えられた。

そこで次に、抗菌性がなく、かつ幅広い菌株に対して高い BF 抑制効果を示していたディールについて検討を行うこととした。食品への残留の可能性もあることから、バイオフィーム形成阻害物質は、安全であり、また食品の品質へ影響を及ぼさない無味・無臭の成分であることが望ましい。そこで、ディール熱水抽出物に含まれる香気成分の除去を試みた。まず、香気成分の吸着剤としてよく利用される Porapak Q による処理を試みたところ、香気成分ととも

にデイル熱水抽出物中の様々な成分も吸着され、香气成分のみの除去は困難であった。そこで、エーテルによる液液分配を試みた。結果、デイル中の水溶性成分 (Fr.D-W) と香气成分 (Fr.D-O) の分離が可能となり、活性測定の結果、デイル中のバイオフィーム形成阻害物質は無香气である Fr.D-W に含まれていることが判明した。本 Fr.D-W を LC-MS/MS にて分析したところ、3つの主要なピークに加え、大小 10 以上のピークが検出された (図 1)。MS/MS 分析の結果、主要な 3つのピークはいずれもフラボノ

イドのグルクロン酸配糖体であり、これらが主要活性成分である可能性が示された。これまでの我々の検討から、両親媒性の界面活性剤、すなわち疎水基と親水基を両方有する化合物中に顕著なバイオフィーム形成阻害活性を有するもの多く見出されている。上記フラボノイド配糖体も、疎水部であるアグリコン部と親水部である糖部を有することから、上記結果も理にかなっていると考えられる。これらグルクロン酸配糖体は市販されていないことから、上記化合物を精製・単離し、今後更に検討を進めていく。

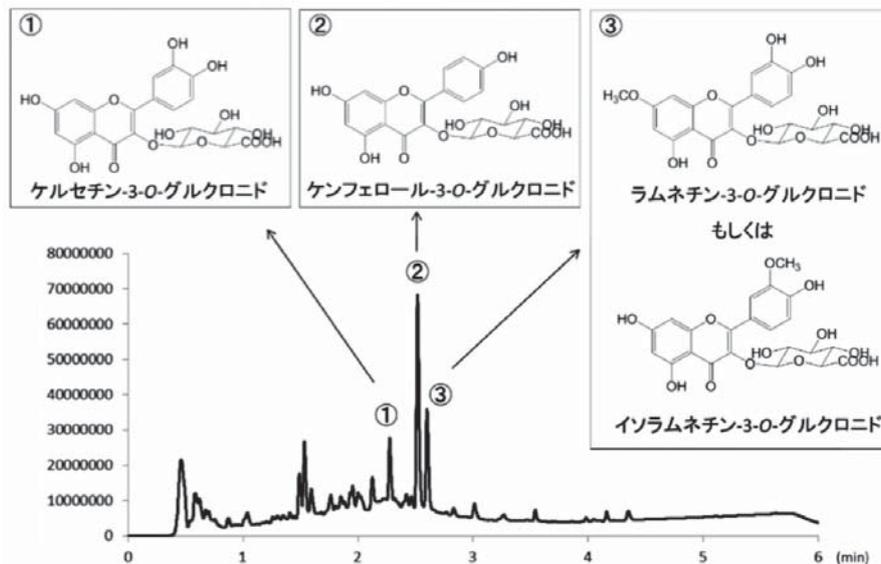


図 1 デイル抽出物由来 Fr.D-W の HPLC クロマトグラムと MS からの推定化合物

4. 研究から得た結論・考察

今回、広いバイオフィーム形成阻害スペクトルを有するデイルの有効成分は、フラボノイドのグルクロン酸配糖体である可能性が示された。これまでの我々の検討から、シヨ糖脂肪酸エステルなどの界面活性剤の中に顕著なバイオフィーム形成阻害活性を有するもの多く見出されているシヨ糖脂肪酸エステルは、細菌細胞の担体への初期付着を阻害していることから、香辛料に含まれるバイオフィーム形成阻害活性物質も、細菌細胞の担体への初期付着を阻害している可能性があることを示唆する。

5. 残された問題、今後の課題

今回、デイルに含まれるバイオフィーム形成阻害活性物質を推定し、そのバイオフィーム形成阻害機構についても推測することができる結果を得ることができた。このことは、天然物由来のバイオフィーム形成阻害物質の実用化に向けて、価値ある知見であると考えている。今後は、さらに多様なバイオフィーム形成阻害活性を有する香辛料活

性成分、中でも無味・無臭成分について検討を行いながら、併せてその機構等についても検討する必要があると考えている。

最後に、中間報告ではございますが、これまでの本研究遂行についてご支援を頂きました、公益財団法人東洋食品研究所には、心より感謝申し上げます。