

ハーブ類の抗酸化活性と抗菌性に関する研究

平川 良子*¹・柚木崎千鶴子*²・小村 美穂*²

Study on Antioxidant Activity and Antimicrobial Effect of Herbs

Yoshiko HIRAKAWA, Chizuko YUKIZAKI and Miho KOMURA

前報で、8種類のハーブについて一次加工法と保存温度の違いによる抗酸化活性の保持割合と、生葉の抗菌性について検討を行った。本年度は、9種類のハーブについて、DPPHラジカル消去活性とSOSA測定による収穫時期別の抗酸化活性の比較を行ったところ、シソ科に属するハーブ類は特に抗酸化活性が高く、概して夏以降に収穫されたものの方が活性が高かった。さらに、前報で抗菌性を示した4種類のハーブについて、抽出法の違いによる抗菌性を検討したところ、エタノール抽出では、ペパーミントが*Rhizopus microsporus var. chnensis*に、イタリアンパセリが*Escherichia coli*に、ミツバが*Lactobacillus plantarum*にそれぞれ抗菌性を示し、ヘキササン抽出では、ペパーミント、イタリアンパセリ、ローズマリーで、*Escherichia coli*に比較的強い抗菌性を示した。

キーワード：ハーブ、抗酸化活性、抗菌性

1 はじめに

食生活の多様化や高齢化に伴う消費者の健康意識の向上等により、薬用としてだけでなく香辛料や料理用として、様々なハーブ類が一般家庭でも定着してきている。宮崎県では平成13年度より総合農業試験場薬草・地域作物センターを設置し、農産物ブランドの補完的作物として、ハーブ類の栽培推進を図っている。

そこで当センターでは、ハーブ類の持つ特性や機能性について検討を行っている。前報¹⁾²⁾までに、8種類のハーブについて、抗酸化活性、抗菌性並びに香り成分の検討を行った。抗酸化活性は用いたハーブ全てに存在し、さらに一次加工の方法と保存温度の違いで、抗酸化活性の保持割合が異なることを確認した。

今回は、9種類のハーブについて、DPPHラジカル消去活性とSOSA測定による収穫時期別の抗酸化活性の比較、総ポリフェノール含量の測定並びに、前報で抗菌性を示した4種類のハーブにつ

いて、抽出法の違いによる抗菌性について検討を行ったので報告する。

2 実験方法

2-1 材料及び試料の調製

抗酸化活性と総ポリフェノールの試験には、県総合農業試験場薬草・地域作物センターで栽培されたハーブ(表1)を、収穫期に合わせて提供を受け、真空凍結乾燥(真空凍結乾燥機、FTS SYSTEM、Dura-Top MP&Dura-Dry MP)を行った。乾燥した試料は、超遠心粉碎機(MRK & RETSCH、EM-1型)で0.5mmのスクリーンを通して粉碎し、以後の試験に供した。

抗菌性試験は、宮崎市内で栽培されたハーブ(表1)を真空凍結乾燥後ミルを用いて粉碎した。粉碎物10gに対し、水、エタノール、酢酸エチル並びにヘキササンをそれぞれ200mlを加えて、攪拌による抽出(室温・2時間)を行った。水抽出液とエタノール抽出液は、遠心分離(8000rpm、10℃、5分)後得られた上清を真空凍結乾燥し、以後の試験に供した。酢酸エチル抽出液とヘキササン抽出液はろ過後減圧濃縮し、以後の試験に供した。抗

*1 現 児湯農業改良普及センター

*2 食品開発部

表 1 試験用ハーブ

抗酸化活性・総ポリフェノール (学名)
ペパーミント (<i>Mentha piperita</i>)
スペアミント (<i>Mentha spicata</i> L.)
スイートバジル (<i>Ocimum basilicum</i>)
レモンバーム (<i>Melissa officinalis</i>)
イタリアンパセリ (<i>Petroselinum crispum</i>)
レモングラス (<i>Cymbopogon citratus</i>)
ローズマリー (<i>Rosmarinus officinalis</i>)
ステビア (<i>Stevia rebaudiana</i>)
カモミール (<i>Matricaria recutita</i>)
抗菌性 (学名)
ペパーミント (<i>Mentha piperita</i>)
イタリアンパセリ (<i>Petroselinum crispum</i>)
ローズマリー (<i>Rosmarinus officinalis</i>)
ミツバ (<i>Cryptotaenia japonica</i>)

表 2 試験用微生物

<i>Saccharomyces cerevisiae</i> MK 021
<i>Pichia anomala</i> NBRC 0140
<i>Pichia membranifaciens</i> NBRC 0128
<i>Candida tropicalis</i> NBRC 1401
<i>Salmonella typhimurium</i> NBRC 12529
<i>Escherichia coli</i> NBRC 3301
<i>Lactobacillus plantarum</i> NBRC 3070
<i>Bacillus subtilis subsp</i> NBRC 12210
<i>Aspergillus awamori</i> NBRC 6082
<i>Rhizopus microsporus var. chinensis</i> NBRC 30499

菌性試験に使用した微生物を、表 2 に示した。なお、*Saccharomyces cerevisiae* MK021 は当センター保有株を用いた。その他の微生物については、(独)製品評価技術基盤機構バイオテクノロジー本部生物遺伝資源部門 (NBRC) の分譲株を購入し、指定された復元・培養方法により増殖後、試験に使用した³⁾。

2-2 DPPHラジカル消去活性

試料に適量の80%エタノール溶液を加えてスターラーで攪拌しながら10分間抽出し、0.45 μm フィルターでろ過し試料抽出液とした。既報⁴⁾に準じ、DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, 和光純薬) 溶液の520nmにおける吸光度を96穴マイクロプレート法 (マイクロプレートリーダー、ナルジェヌクインターナショナル、Immuno Mini NJ-2300) にて測定した。DPPHラジカル消去活性は、

粉末試料絶乾物 1g 当たりの Trolox (Aldrich) 相当量として、測定 2 回の平均値として表示した。

2-3 SOSA測定

試料に適量の蒸留水を加えてスターラーで攪拌しながら10分間抽出し、0.45 μm フィルターでろ過し試料抽出液とした。SOD (スーパーオキシドディスムターゼ) アッセイキット (同仁化学研究所) を使用し、キサンチン/キサンチンオキシダーゼ系で発生した O₂⁻ と試料抽出液を反応させ、反応液の450nmにおける吸光度を96穴マイクロプレート法にて測定した。SOSAは、粉末試料絶乾物 1g 当たりの50%阻害率を示す SOD (EC.1.15.1.1; 3000units/mg) 等価活性で測定 3 回の平均値として表示した。

2-4 総ポリフェノール含量測定

試料 1g に80%メタノール100mlを加え15分間振盪後、フォーリン-チオカルト法⁵⁾で総ポリフェノールを定量し、粉末試料絶乾物 1g 当たりの没食子酸 (関東化学) 相当量として表示した。

2-5 抗菌性試験

滅菌シャーレに、各培地 (真菌類はポテトデキストロース寒天培地、*Escherichia coli* はデソキシコレート寒天培地、その他細菌類は標準寒天培地) を流し乾固後、培地表面に培養後にコロニー数が 10⁵ 個/ml になるように希釈した各微生物を、0.2 ml 滴下し塗抹した。滅菌したペーパーディスク抗生物質検定用ろ紙 (直径 8 mm、厚さ 1 mm、アドバンテック(株)) に、滅菌水に対し 0.05g/100 ml 溶解したハーブ抽出物を 0.2ml しみ込ませた後、培地に静置させた。各微生物の培養温度 (真菌類は 27℃、細菌類は 30℃) で培養 (*Escherichia coli* と *Rhizopus microsporus var. chinensis* は 24 時間、その他微生物は 48 時間) 後、ろ紙ディスク周囲の菌の発育阻止帯を測定した。

3 結果及び考察

今回の抗酸化活性及び総ポリフェノールの測定結果を図 1、図 2 並びに図 3 に示した。シソ科に属するハーブ類は、特に抗酸化活性が高く、特にレモンバームは、一般的に抗酸化活性が高いといわれる⁶⁾ 茶に匹敵する値を示した。収穫時期の違いによる抗酸化活性を比較すると、概して夏以降

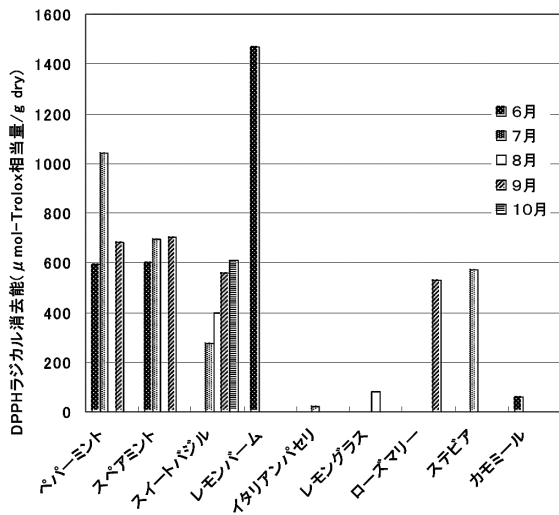


図1 DPPHラジカル消去活性による抗酸化活性

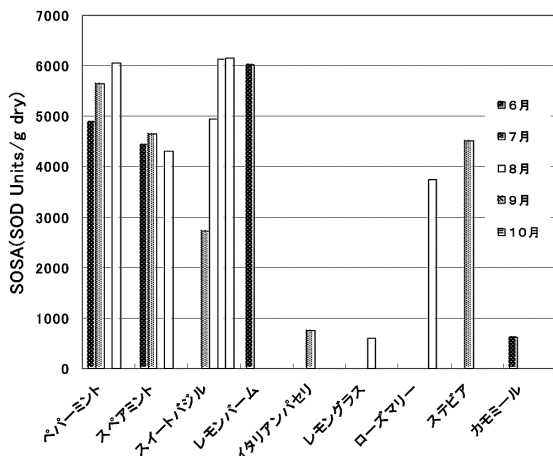


図2 SOSA測定による抗酸化活性

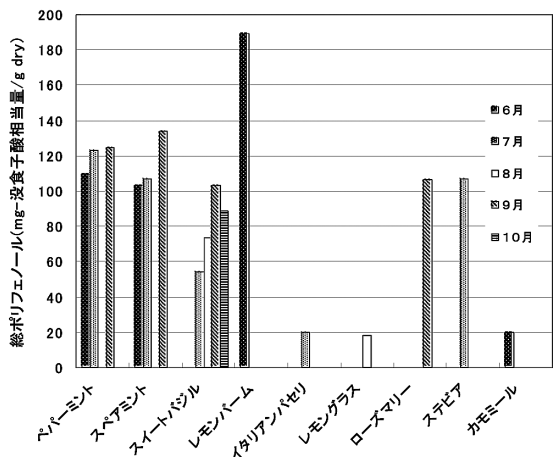


図3 総ポリフェノール含量

に収穫されたものの方が活性が高かった。

抽出法の違いによる各ハーブの抗菌性の結果を表3に示した。*Salmonella tyhimurium*、*Pichia anomala*、*Pichia membranifaciens*、*Candida tropicalis*、*Aspergillus awamori*に対しては、各ハーブともどの抽出法でも、抗菌性を示さなかった。しかし、エタノール抽出では、ペパーミントが*Rhizopus microsporus var. chnensis*に、イタリアンパセリが*Escherichia coli*に、ミツバが*Lactobacillus plantarum*にそれぞれ抗菌性を示した。ヘキサン抽出では、ペパーミント、イタリアンパセリ、ローズマリーで、*Escherichia coli*に比較的強い抗菌性を示した。なお、酢酸エチル抽出では、ペパーミント、ローズマリー並びにミツバで、*Bacillus subtilis subsp.*、*Escherichia coli*、MK021に対し弱いながらも抗菌性を示した。以上のことから、*Escherichia coli*に対し抗菌効果を持つ成分は、ペパーミントでは酢酸エチルとヘキサンに可溶であり、イタリアンパセリではエタノールとヘキサンに可溶であり、ローズマリーではヘキサンに可溶な物質であると考えられた。

4 まとめ

表3 発育阻止帯の大きさによる抗菌性

抽出法	種類	A	B	C	D	E
水	ペパーミント					+
	イタリアンパセリ	0.19				+
	ローズマリー					+
	ミツバ					+
エタノール	ペパーミント				1.03	
	イタリアンパセリ		1.15			+
	ローズマリー					0.06
	ミツバ			2.25		
酢酸エチル	ペパーミント		0.98	+		0.06
	イタリアンパセリ					
	ローズマリー	0.07				0.12
	ミツバ	0.06	0.89	+		0.12
ヘキサン	ペパーミント		2.04			
	イタリアンパセリ		1.56			
	ローズマリー		1.82			+
	ミツバ				+	

*A *Bacillus subtilis subsp*

*B *Escherichia coli*

*C *Lactobacillus plantarum*

*D *Rhizopus microsporus var*

*E MK021

*発育阻止帯の単位はセンチメートルで表示

*発育阻止帯の大きさは測定不可であったが確認できた場合は+で表示

- 1) シソ科に属するハーブ類は、特に抗酸化活性が高く、中でもレモンバームは、一般的に抗酸化活性が高いといわれる³⁾茶に匹敵する値を示した。
- 2) 収穫時期の違いによる抗酸化活性を比較すると、概して夏以降に収穫されたものの方が活性が高かった。
- 3) 前報で*Escherichia coli*に抗菌効果が確認されたハーブの抗菌成分は、ペパーミントでは酢酸エチルとヘキサンに可溶であり、イタリアンパセリではエタノールとヘキサンに可溶であり、ローズマリーではヘキサンに可溶性物質であると考えられた。

5 参考文献

- 1) 平川良子他, 宮崎県工業技術センター・食品開発センター研究報告, **46**, 119 (2001)
- 2) 平川良子他, 宮崎県工業技術センター・食品開発センター研究報告, **47**, 93 (2002)
- 3) L-乾燥標品の開封と復元方法, (独)製品評価技術基盤機構
- 4) 須田郁夫, 食品機能研究法, 光琳2000, p 218-221
- 5) 津志田藤二郎, 食品機能研究法, 光琳2000, p318-322
- 6) 柚木崎千鶴子他, 宮崎県工業技術センター・食品開発センター研究報告, **48**, 89 (2003)