

ピーマン種子由来抗菌剤の実用化に関する研究*

寺崎 三季*¹・福山 明子*¹・水谷 政美*²

Study on Practical Use of Antimicrobial Agent from Piment Seed Extract

Miki TERASAKI, Akiko FUKUYAMA and Masami MIZUTANI

既往研究においてピーマン種子水溶性抽出物は、酵母や乳酸菌に抗菌活性があり、特に熟度の高いピーマンの種子水抽出物は抗菌性が高い¹⁾ことが確かめられている。そこで、この抽出物の実用化を図るため、熟度の高い赤ピーマンの種子水抽出物を添加したたくあんの保存試験や、抗菌性の低い緑ピーマン種子抽出物の濃縮法を検討した。その結果、赤ピーマン種子抽出物を添加したたくあんは、30℃保存で3日目までは一般生菌数が抑制され、6日目までは乳酸菌数が抑制されることが確認された。また、緑ピーマン種子抽出物は、Diaion HP20 樹脂を用いて濃縮することにより、酵母に対して抗菌性を示すことが確認された。

キーワード：ピーマン，種子，水抽出物，抗菌，加工残渣

1 はじめに

ピーマンは当県の主要農産物だが、食品工場ではカットピーマンの加工残渣の処理が問題になっている。既往研究においてピーマン種子水抽出物は酵母や乳酸菌に抗菌活性があり、熟度の高い赤ピーマン種子抽出物では抗菌活性が高いことが確かめられている。一方、たくあんは一般的に酵母等の発酵に伴い発生するガスによる包装袋の膨張、破裂を防ぐため加熱殺菌したものが流通しているが、生のまま食した方が菌ごたえなど食味が良いことが知られている。そこで、熟度の高い赤ピーマンの種子を水抽出し、その効果を確認するため非加熱たくあんに添加して抗菌性の評価をした。また、緑ピーマン種子は赤ピーマン種子よりも抗菌性は低いですが、食品工場から排出されるピーマンの大部分を緑ピーマンが占めている。そこで緑ピーマン加工残渣の利用方法についても検討した。

2 実験方法

2-1 赤ピーマン種子抽出物の添加試験

2-1-1 供試材料

平成22年12月に市販の赤ピーマンから採取した種子を用いた。また、未殺菌の塩押したくあんと調味液は平成23年1月に(株)霧島農産から提供いただいたものを試験に供した。

2-1-2 抽出物の調製

赤ピーマンから採取した種子を50℃で熱風乾燥し、ミルを用いて粉碎した。粉碎物に対し20倍量の水を添加後、かくはんによる抽出(室温, 2時間)を行った後、遠心分離(4000rpm, 15分)し、上清を凍結乾燥した。さらにこれを殺菌する目的で再び20倍量の水を添加し、かくはんによる抽出(室温, 2時間)を行った後、水と同量のエタノールを加え、遠心分離(8000rpm, 4℃)後、上清を得た。これを減圧濃縮後、凍結乾燥したものを抽出物とした。

2-1-3 抽出物のたくあんへの添加試験

2-1-2で調製した抽出物を殺菌前たくあんおよび調味液に対して0.3% (w/w) 添加した。この添加量は既往研究¹⁾において有効と確認された濃度である。

* 農畜産物の機能性に関する研究

*1 食品開発部

*2 応用微生物部

また、対照区として未殺菌区、加熱殺菌区を設定し、10℃および30℃で保存試験を行った。

一定期間保存後、細菌検査を行い、抗菌性の評価をした。一般生菌数は標準寒天培地（日水製薬株）、乳酸菌数はBCP加プレートカウント寒天培地（栄研化学株）を用い、サンプリング、前処理、培養温度等は食品衛生検査指針²⁾に従い、混釈法により測定した。

2-2 緑ピーマン加工残渣種子抽出物の抗菌性試験

2-2-1 供試材料

平成22年6月に(株)都城くみあい食品で惣菜用に処理した緑ピーマンの加工残渣を提供いただいたものを試験に供した。

また、*Saccharomyces cerevisiae* MK021（宮崎酵母）は当センター保有株を使用した。

2-2-2 抽出物の調製および濃縮

50℃で熱風乾燥した緑ピーマン加工残渣から種子を採取し、ミルを用いて粉碎した。粉碎物に対し20倍量の水を添加後、かくはんによる抽出（室温、2時間）を行った後、遠心分離（4000rpm、15分）し、その上清を抽出液として得た。次にDiaion HP20樹脂（三菱化学株）を充填したカラムにこの抽出液を注入した後、段階的に濃度を高くしたエタノール水溶液で溶出させた。各エタノール濃度で溶出された画分を減圧濃縮し、凍結乾燥して抽出物とした。

2-2-3 酵母に対する抗菌性試験

宮崎酵母を用いて、比濁法による抗菌性試験を行った。培地は、グルコース10%、ペプトン0.5%、酵母エキス0.3%及びマルトエキス0.5%とした。この培地にピーマン種子抽出物を添加した。培地9mLを121℃で20分間滅菌し、 10^3 個/mLになるように希釈した酵母を1mL植菌した。培養装置は温度勾配培養装置（アドバンテック東洋株TN-2612）を用い、27℃、30rpmで振とうし、10分間隔で酵母増殖に伴う660nmの吸光度を測定して、抗菌性を評価した。

3 結果および考察

3-1 赤ピーマン種子抽出物の添加試験

保存試験を実施したたくあんについて細菌検査

を行い、一般生菌数と乳酸菌数を調べた。

10℃で保存したたくあんの一般生菌数については、未殺菌区と試料添加区の間では菌数に差が見られなかった（図1）。

乳酸菌数についても、未殺菌区と試料添加区の間では菌数の差が見られなかった（図2）。

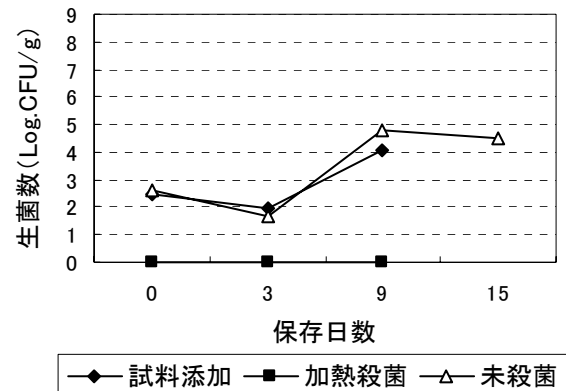


図1 10℃保存におけるたくあんの一般生菌数

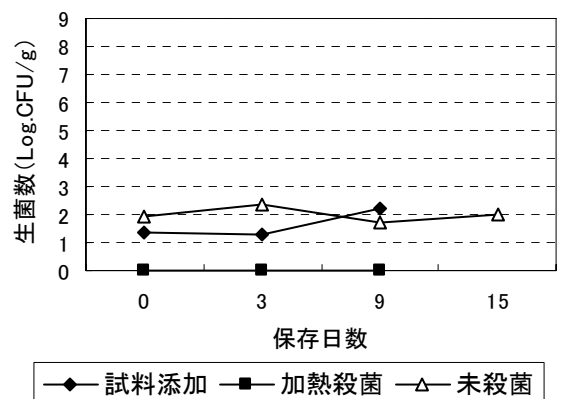


図2 10℃保存におけるたくあんの乳酸菌数

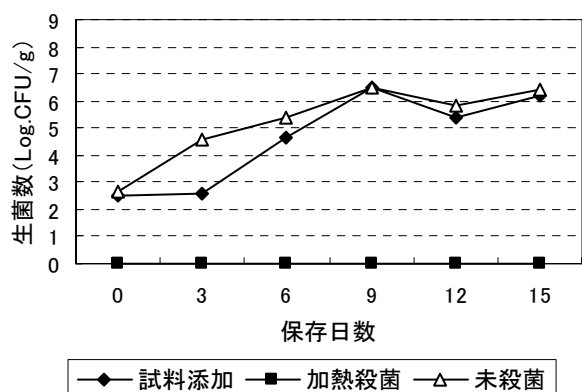


図3 30℃保存におけるたくあんの一般生菌数

一方、30℃で保存したたくあんの一般生菌数について、試料添加区では未殺菌区と比較して3日目まで菌数が抑えられていることが確認できた(図3)。また乳酸菌数については6日目まで菌数が抑えられていることが確認できた(図4)。

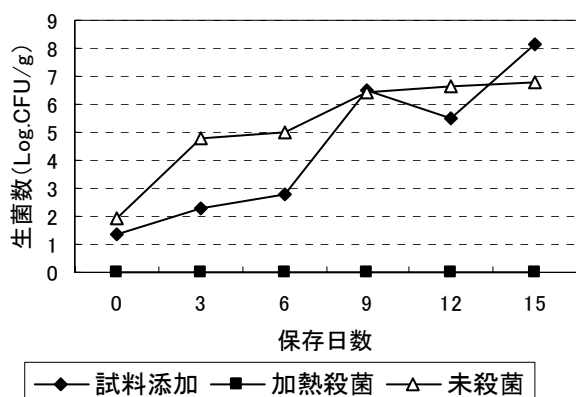


図4 30℃保存におけるたくあんの乳酸菌数

3-2 緑ピーマン加工残渣種子抽出物の抗菌性試験

3-2-1 緑ピーマン種子抽出物の濃縮

緑ピーマン種子抽出物は抗菌性が低いため、樹脂に吸着させて、抽出物の濃縮を試みた。

まず、Diaion HP20 樹脂を充填したカラムに種子抽出液を注入した。その後、非吸着液と水洗したものとの合わせ、非吸着画分とした。次に10%エタノール水溶液で溶出させた画分を10%EtOH画分とした。その後20, 30%とエタノール濃度を上げて溶出させた各エタノール濃度の画分を回収し、減圧濃縮した後凍結乾燥させた抽出物の重量を回収量として表1に示した。

表1 加工残渣(緑ピーマン)種子抽出物の分画

画分	回収量(g)	画分	回収量(g)
非吸着	不明	50%EtOH	0.13
10%EtOH	2.2	60%EtOH	不明
20%EtOH	0.24	70%EtOH	0.05
30%EtOH	6.4	80%EtOH	0.03
40%EtOH	0.1	90%EtOH	0.05

3-2-2 酵母に対する抗菌性試験

3-2-1で得られた抽出物をそれぞれ500mg/Lの濃度になるよう培地に添加し、酵母を植菌して行った増殖抑制試験の結果を図5に示した。素通り画分には抗菌性が見られなかった。さらに、40%以下のエタノール溶出画分では抗菌性がないことが確かめられた(データ未掲載)。50%, 60%, 70%のエタノール溶出画分では抗菌性が高く、抗菌成分が分離濃縮されていることが示唆された。

つづいて、50~70%エタノール画分を回収し、その最小阻止濃度を決定することとした。そこで、新たに緑ピーマン種子抽出液を調製し、カラムに注入し、水洗と、40%エタノール溶出を行った後に70%エタノールで溶出させた画分を集めた。これを減圧濃縮後、凍結乾燥したものを抽出物とし、最小阻止濃度決定試験を行った。結果を図6に示す。抽出物の添加量を変えて試験を行ったところ、抽出物を添加していない対照と比較して50mg/Lでは全く差が見られず、100mg/Lでは対照の1日後に吸光度が増加し、抗菌性が低いことが示された。一方、200mg/L以上の濃度では吸光度が増加せず、増殖抑制効果を期待するには200mg/Lの添加が必要であると推察された。

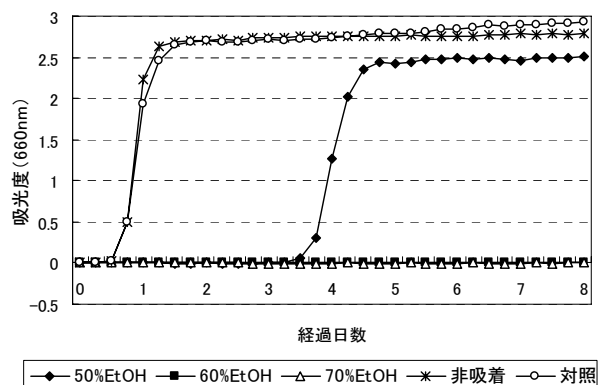


図5 宮崎酵母に対する各エタノール濃度画分抽出物の抗菌性試験

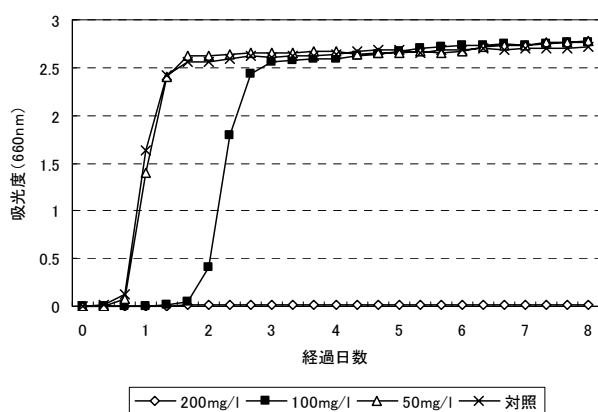


図6 70%エタノール画分の最小阻止濃度決定試験

4 まとめ

赤ピーマン抽出物をたくあんへ添加して保存試験を実施した結果、30℃保存で3日目までは一般生菌数が抑制され、6日目までは乳酸菌数が抑制されることが確認された。

また、加工残渣（緑ピーマン）種子抽出物は、HP20樹脂を用いて濃縮することにより宮崎酵母に対して抗菌性を示すことが確認された。

5 参考文献

- 1) 平川良子, 水谷政美, 小窪正人: 宮崎県食品開発センター研究報告, **48**, 105-110(2003)
- 2) 内山充, 食品衛生検査指針, 社団法人日本食品衛生協会