ユッカ抽出物の抗菌作用に及ぼす 脂質の影響[†]

田村幸吉[§], 三好省三, 神原敏光, 池田孝夫, 乙黒親男*

丸善製薬株式会社

* 山梨県工業技術センター

Effects of Lipids on Antimicrobial Activity of Yucca
(*Yucca schidigera* Roezl ex Ortgies)

(Studies on Antimicrobial Activity of Yucca Part III)

Yukiyoshi Tamura[§], Shozo Miyoshi, Toshimitsu Kambara,
Takao Ikeda and Chikao Otoguro*

Maruzen Pharmaceuticals Co., Ltd., 1089-8 Sagata,
Shin-ichi-cho, Fukuyama-shi, Hiroshima 729-3102

* Yamanashi Industrial Technology Center, 2094

Ohtsu-cho, Kofu-shi, Yamanashi 400-0055

Yucca (*Yucca schidigera* Roezl ex Ortgies) has been used as a food additive and an animal diet in Japan and USA. The extract from yucca is now utilized as an anti-food-deteriorating agent in Japan. In this study, the effects of lipids on antimicrobial activity of yucca were investigated. Antimicrobial activity of yucca was inhibited by free unsaturated fatty acids, palmitoleic acid, oleic acid and linoleic acid. On the other hand, saturated fatty acids (palmitic acid and stearic acid) and oils composed of unsaturated fatty acids (olive oil, soybean oil and egg lecithin) had no effect on the antimicrobial activity of yucca. (Received Jan. 27, 2004; Accepted Mar. 19, 2004)

酵母は、食品原材料や環境中に普遍的に存在し、好気・嫌気性条件下、低 pH 条件下、アルコール存在下及び高浸透圧条件下でも生育が可能な微生物である。特に最近では、食品の低糖化、低塩化、低温殺菌及び脱酸素剤使用包装が増加するに伴い、飲料や固形食品などに酵母が増殖してガス発生による容器の膨張・破損や着色・異臭の発生などの品質低下が問題となっている。酵母に抗菌作用を示す天然物に関して多くの報告が見られる 1) ~ 4) が、味、色及びにおいなど食品の風味へ影響を及ぼすことから、食品の使用範囲が限定されている。

ユッカ (*Yucca schidigera* Roezl ex Ortgies) は、アメリカ南部からメキシコの乾燥地帯に生育するリュウゼツラン科植物で、その幹の搾汁液は、先住民が古来よりリュウマチや関節炎の痛み止めなどの薬用⁵⁾ あるいは食用⁶⁾ に利用してきた。アメリカでは食品添加物及び動物用添加物と

して使用が認められ (21CFR192.510 及び AAFCO Sec. 87.5), 起泡剤としてルートビア等の食品あるいは発育促進作用や悪臭の軽減を目的として畜産分野⁷⁾⁸⁾ へ使用されている。日本においてもアメリカと同様の作用を期待して畜産飼料⁹⁾ に利用されている他、既存添加物名簿に記載され、乳化剤及び製造用剤として食品に利用されている。また最近ではユッカサポニンが血清及び肝臓コレステロール低下作用を有することも報告されている¹⁰⁾。

広く植物に含有されているサポニンは抗真菌作用を有することが報告されている¹¹⁾。我々もサポニンを含有する 20 種の植物抽出物の *Saccharomyces cerevisiae* に対する抗菌作用を検討した結果、ユッカの幹、ムクロジの果皮及びチャの実抽出物が強い活性を有することを確認した¹²⁾。また、ユッカ抽出物が梅漬けから分離された 20 株の産膜酵母に対し最小生育阻止濃度 100~1 000 µg/mL 程度の強い抗菌作用を有し¹³⁾、その有効成分が、フロスタン型サポニン類では無く、スピロスタン型サポニン類であり、主成分が *schidigera-saponin A* である¹⁴⁾ ことを明らかにした。

さらにユッカ抽出物の抗菌作用に及ぼす物理的、化学的条件を検討した結果、低 pH、低温において、また食塩との併用により効果が強くなることが認められた¹³⁾。一方、ユッカ抽出物の抗菌作用の有効成分であるユッカサポニン類は、界面活性作用を有することから、脂溶性成分が存在するとミセルを形成し、抗菌作用が低下する可能性が考えられる。そこでユッカ抽出物の抗菌作用に及ぼす脂質の影響を検討した結果について報告する。

1. 実験方法

(1) 供試菌株

本研究では、*Saccharomyces cerevisiae* IFO0203 を用いた。YM 液体培地 (DIFCO) を用いて、30℃ で 1 晩振盪培養した培養液を希釈して、接種菌液とした。

(2) ユッカ抽出物の調製

Desert King 社 (メキシコ) より入手したユッカ (*Yucca schidigera*) の幹粉碎物 (1 000 g) を 10 L の熱水で 2 回抽出し、得られた抽出液を減圧濃縮して、ユッカ抽出物 (203 g) を得た。この抽出物を以下の抗菌試験に使用した。なお、本抽出物の *S. cerevisiae* IFO0203 に対する最小生育阻止濃度 (MIC) は、YM 液体培地を使用する液体培地希釈法を用いて、接種菌濃度 10⁶ CFU/mL、30℃ で 2 日間培養の条件で、500 µg/mL であった。

(3) 供試脂質

脂質としては、油脂 (オリーブ油、大豆油)、脂肪酸 (パルミチン酸、パルミトレイン酸、ステアリン酸、オレイン酸、リノール酸) 及び卵レシチンを試験に使用した。これらの試薬は全て、和光純薬工業(株)ら購入した。

(4) 抗菌試験

脂質の影響を検討する試験は、MIC の 2 倍量であるユッカ抽出物 1 000 µg/mL 及び脂質 100 µg/mL を含有する

[†] ユッカ抽出物の抗菌作用に関する研究 (第 3 報) (前報, 文献 14) 〒729-3102 広島県福山市新市町相方 1089-8

* 〒400-0055 山梨県甲府市大津町 2094

[§] 連絡先 (Corresponding author), y-tamura@maruzenpcy.co.jp

YM 寒天培地表面に、 10^7 CFU/mL に調整した接種菌液 1 μ L を塗布した。培養は 30°C で 5 日間行い、酵母の生育を肉眼で観察した。

オレイン酸濃度の影響を検討する試験には、バイオフォトレコーダー TN-1506 (Advantec 東洋(株)) を使用した。ユッカ抽出物 1000 μ g/mL 及び所定濃度のオレイン酸を含有する YM 液体培地 5 mL を分注した L 字型試験管に、 10^8 CFU/mL に調整した接種菌液 0.1 mL を加え、30°C で振盪培養 (60 rpm) を行い、60 分おきに 660 nm の吸光度 (OD_{660}) を 48 時間まで測定した。

ユッカ抽出物とオレイン酸を組み合わせた試験では、所定濃度のユッカ抽出物とオレイン酸を含有する YM 液体培地 2 mL を分注した試験管に、接種菌液 0.1 mL を加え、30°C で 3 日間静置培養し、酵母の増殖量を OD_{660} で測定した。

2. 実験結果及び考察

(1) 抗菌作用に及ぼす脂質の影響

脂質には、酵母の生育に影響を及ぼすものがあることが知られているが、本試験で使用した脂質を単独で添加した

表 1 ユッカ抽出物の抗菌作用に及ぼす脂質の影響

脂質	<i>S. cerevisiae</i>
無添加	—
パルミチン酸	—
パルミトレイン酸	+
ステアリン酸	—
オレイン酸	+
リノール酸	+
オリーブ油	—
大豆油	—
卵レシチン	—

—, 生育が認められない; +, 生育が認められる。

ユッカ抽出物濃度, 1000 μ g/mL; 脂質濃度, 100 μ g/mL。

培地には接種菌が良く発育することを確認した。表 1 にユッカ抽出物の抗菌作用に及ぼす脂質の影響を検討した結果を示す。不飽和脂肪酸であるパルミトレイン酸, オレイン酸やリノール酸を添加した場合, 酵母の生育が認められ, ユッカ抽出物の抗菌作用が阻害された。一方飽和脂肪酸であるパルミチン酸やステアリン酸あるいは上記の不飽和脂肪酸を構成成分とする油脂や卵レシチンを添加した場合は, 酵母の生育が認められず, ユッカ抽出物の抗菌作用を阻害しなかった。このことは, ユッカ抽出物の抗菌成分であるユッカサポニン類が界面活性剤として働き, 脂質とミセルを形成することにより抗菌作用が阻害されるのではなく, 遊離の不飽和脂肪酸と特異的に作用することにより抗菌作用が阻害されると推測された。そこでこの阻害作用を詳細に検討するため, 不飽和脂肪酸としてオレイン酸を用いて, 以下の実験を行った。

(2) 抗菌作用に及ぼすオレイン酸濃度の影響

ユッカ抽出物 1000 μ g/mL にオレイン酸の濃度を 12.5 ~ 100 μ g/mL に変化させて培養した結果を図 1 に示す。オレイン酸 12.5 μ g/mL 添加では増殖が認められなかったが, 25 μ g/mL 以上の濃度では増殖が認められ, ユッカ抽出物の抗菌作用を阻害した。増殖パターンから, 誘導期間及び初期の増殖速度には差は認められないが, 増殖量に差が認められた。オレイン酸 100 μ g/mL 添加の増殖量を 100 とすると, 50, 25 μ g/mL 添加でそれぞれ増殖量が 50, 20 程度と, オレイン酸添加濃度に比例して, 増殖量が低下することが認められた。一方, MIC 以下のユッカ抽出物を含有する場合の酵母の増殖パターンは, 誘導期間が延長されるが, 増殖量には影響しないことから, オレイン酸の阻害作用は, ユッカサポニン類と結合し, 培地中の有効サポニン濃度を低下させる作用だけではないと推測された。

ユッカ抽出物濃度及びオレイン酸濃度を共に変化させた場合の結果を表 2 に示す。オレイン酸とユッカ抽出物の比

図 1 ユッカ抽出物の抗菌作用に及ぼすオレイン酸濃度の影響

オレイン酸濃度 (μ g/mL); ○ 100, ■ 50, △ 25, ● 12.5.

ユッカ抽出物濃度; 1000 μ g/mL.

表 2 ユッカ抽出物の抗菌作用に及ぼすオレイン酸の影響

ユッカ抽出物 ($\mu\text{g/mL}$)	オレイン酸 ($\mu\text{g/mL}$)				
	0	12.5	25	50	100
0	1.99*	1.84	1.72	1.89	1.91
500	0	0.44	1.16	1.56	1.73
1000	0	0.03	0.47	1.00	1.81
2000	0	0	0.09	0.36	0.86

*, 表中の数値は OD660 の平均値 (n=3).

率が抗菌作用に影響することが認められた。ユッカ抽出物が、オレイン酸の 80 倍以上存在すれば、抗菌作用が阻害されず、80 倍以下の場合、比率が低いほど阻害が強くなることが認められた。またユッカ抽出物/オレイン酸の比率が 40, 20, 10 の場合、それぞれ OD₆₆₀ が約 0.4, 1.0, 1.7 と、ユッカ抽出物/オレイン酸の比率が一定の場合、増殖量が一定となり、オレイン酸が、ユッカ抽出物の抗菌作用を拮抗的に阻害することが認められた。

不飽和脂肪酸を多量に含有する培地で増殖する酵母細胞膜は不飽和脂肪酸を豊富に含むことが報告されている¹⁵⁾。今回の実験において、オレイン酸を多量に含有する培地での結果は、培地中のオレイン酸濃度が高くなると同時に、増殖する酵母の細胞膜のオレイン酸量が多くなったために、ユッカ抽出物の抗菌作用を阻害したと考えられる。このことから、ユッカ抽出物の抗菌作用機構として、酵母の細胞膜の不飽和脂肪酸部と結合し、細胞膜に何らかの作用をして、抗菌作用を示すことが推測される。なおユッカ抽出物の詳細な抗菌作用機構については、現在検討中である。

3. 要 約

ユッカ抽出物の抗菌作用に及ぼす脂質の影響を検討した結果、遊離の不飽和脂肪酸により、拮抗的に阻害されることが認められた。一方、飽和脂肪酸及び不飽和脂肪酸を構成成分とする脂質には影響されなかった。

文 献

- 1) 徳岡敬子, 森理三郎, 一色賢司, カラン抽出物製剤による酵母の生育抑制, 日食工誌, **39**, 68-71 (1992).
- 2) Isshiki, K., Tokuoka, K., Mori, R. and Chiba, S., Preliminary examination of allyl isothiocyanate vapor for food

preservation, *Bioscie. Biotech. Biochem.*, **56**, 1476-1477 (1992).

- 3) 小川哲郎, 一色賢司, 食用植物, 特にハーブの揮発性成分による微生物の増殖抑制, 食科工誌, **43**, 535-540 (1996).
- 4) Shimoyamada, M., Suzuki, M., Santa, H., Maruyama, M. and Okubo, K., Antifungal activity of the saponin fraction obtained from *Asparagus officinalis* L. and its active principle, *Agric. Biol. Chem.*, **54**, 2553-2557 (1990).
- 5) Bingham, R., Bellew, B.A. and Bellew, J.G., Yucca plant saponin in the management of arthritis, *J. Appl. Nutr.*, **17**, 45-51 (1975).
- 6) Oser, B.L., An evaluation of *Yucca mohavensis* as a source of food grade saponin, *Fd. Cosmet. Toxicol.*, **4**, 57-61 (1966).
- 7) Johnston, N.L., Quarles, C.L., Fagerberg, D.J. and Caveny, D.D., Evaluation of Yucca saponin on broiler performance and ammonia suppression, *Poultry Sci.*, **60**, 2289-2292 (1981).
- 8) Hussain, I. and Cheeke, P.R., Effect of dietary *Yucca schidigera* extract on rumen and blood profiles of steers fed concentrate-or roughage-based diets, *Animal Food Sci. Technol.*, **51**, 231-242 (1995).
- 9) 平井輝生, ユッカ抽出物の畜産分野への応用 (1) *Feeding*, **31**, 39-42 (1991).
- 10) 辻原命子, 谷由美子, 高脂肪高コレステロール食飼育ラットの脂質代謝に及ぼすユッカサポニンおよびコンニャク精粉の影響, 栄食誌, **51**, 157-163 (1998).
- 11) Tschesche, Von R. and Wulff, G. In Die antibiotische wirksamkeit, In "Progress in the chemistry of organic natural products," eds. Zechmeister, L., Herz, W., Griesbach, H. and Kirby, G.W. (Springer-Verlag, New York), p. 569 (1973).
- 12) Tamura, Y., Mizutani, K., Ikeda, T., Ohtani, K., Kasai, R., Yamasaki, K. and Tanaka, O., Antimicrobial activity of saponins of pericarps of *Sapindus mukurossi* on dermatophytes, *Natural Medicines*, **55**, 11-16 (2001).
- 13) 乙黒親男, 田村幸吉, 横塚弘毅, 後藤昭二, 梅漬けから分離した産膜酵母に対するユッカ抽出物の抗菌性, 日本食品保蔵学会誌, **24**, 3-10 (1998).
- 14) Miyakoshi, M., Tamura, Y., Masuda, H., Mizutani, K., Tanaka, O., Ikeda, T., Ohtani, K., Kasai, R. and Yamasaki, K., Antiyeast steroidal saponins from *Yucca schidigera* (Mohave Yucca), a new anti-food-deteriorating agent, *J. Nat. Prod.*, **63**, 332-338 (2000).
- 15) 溝口晴彦, 池田 朋, 原 昌道, 生醗における枯らし中の酵母生存率に及ぼす酵母の生理的性質, 生物工学, **72**, 355-361 (1994).

(平成 16 年 1 月 27 日受付, 平成 16 年 3 月 19 日受理)