



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	ベンジルイソチオシアネートの抗菌効果
Author(s)	上井, 恵理; 一色, 賢司
Citation	食品衛生学雑誌, 50(6), 311-314 https://doi.org/10.3358/shokueishi.50.311
Issue Date	2009-12-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/42528
Type	journal article
File Information	isshiki_JFHSJv50.pdf



[ノ ー ト]

ベンジルイソチオシアネートの抗菌効果

上井恵理，一色賢司*

Antimicrobial Efficacy of Benzyl Isothiocyanate

Eri KAMII and Kenji ISSHIKI*

Faculty of Fisheries Sciences, Hokkaido University:

3-1-1 Minatocho, Hakodate, Hokkaido 041-8611 Japan

* Corresponding author

*連絡先

北海道大学大学院水産科学研究院：〒041-8611 北海道函館市港町 3-1-1

[ランニングタイトル]

ベンジルイソチオシアネートの抗菌効果

[Key words]

アリルイソチオシアネート allyl isothiocyanate; 抗菌力 antibacterial action; ベンジルイソチオシアネート benzyl isothiocyanate; 食品保蔵 food preservation

和文抄録

ベンジルイソチオシアネートの抗菌効果

上井恵理，一色賢司*

*北海道大学大学院水産科学研究所

Benzyl isothiocyanate (BIT) 蒸気を利用した食品保存の可能性を Allyl isothiocyanate (AIT) 蒸気と比較して検討した。細菌および真菌に対する最小発育阻止濃度(MIC)から、BIT 蒸気は乳酸菌を含むグラム陽性細菌に対して AIT 蒸気よりも高い抗菌効果を示した。グラム陰性細菌および真菌類に対しては AIT とほぼ同等の抗菌性を示した。マグロと豚挽肉の一般生菌数および餅に接種したカビに対して、AIT 蒸気は抗菌効果がみられたが、BIT 蒸気では効果は弱かった。BIT の食品保存効果を期待するには、対象食品と作用方法の選択、他の添加物との併用等も含めて、使用条件の検討が必要であると考えられた。

緒 言

近年、我が国を含め世界各国で物流の発達などを受け、食中毒被害の広域化が懸念されている。わが国では 2008 年に 24,303 人が食中毒による被害を受けたことが報告されている*¹。腐敗やその怖れから廃棄される食品も多く、食品の加工条件の見直しや流通の改善など、食品の安全性や資源としての有効利用を保つための様々な努力がなされている。食品中の微生物を制御するために、食品由来精油成分の抗菌力を応用する研究も盛んに行われている^{1, 2)}。ワサビやカラシ由来の抗菌成分である allyl isothiocyanate (AIT) は、細菌や酵母、カビへの高い抗菌力が知られており、食品の保存効果についても報告されている^{3, 4)}。この AIT は強い抗菌力を持つ反面、特有の刺激臭を有するため、使用対象の制約を受ける場合がある。

パパイアの精油成分である benzyl isothiocyanate (BIT)⁵⁾ は、AIT と同じく isothiocyanate 類特有の臭気を有するが、AIT に比べて刺激臭は強くはない。BIT の抗菌力については、Aspergillus niger、Penicillium cyclopium、Rhizopus oryzae に対してのみ報告されており⁶⁾、細菌等に対する抗菌力は不明である。本研究では、BIT の蒸気状態における抗菌力について AIT と比較し、日持ち向上成分としての応用可能性について

*¹ 厚生労働省ホームページ食中毒統計資料 2008 年食中毒発生状況

<http://www.mhlw.go.jp/topics/syokuchu/04.html#4-2>

検討した。

試料と方法

1. 供試菌と前培養条件

本実験では、Table 1 に示す細菌 11 株、乳酸菌 7 株、酵母 5 株、カビ 8 株を使用した。細菌および乳酸菌は BactoTM Tryptic Soy Broth (BD) において 30℃ で 24 時間前培養した。酵母は YM Broth (BD) において 25℃ で 48 時間前培養した。カビはポテトデキストロース培地 (PDA、栄研) において 27℃ で 7 日間前培養した。

2. BIT と AIT 希釈液の調製

BIT および AIT は、和光純薬工業(株)製の試薬を用いた。それぞれを菜種油 (日清 oilio) で希釈した溶液を試験に供した。

3. 抗菌スペクトルの測定

前培養の後、細菌、乳酸菌および酵母は 10^5 CFU/ml になるように生理食塩水に懸濁した。カビは PDA 上に形成した胞子を 0.05% Tween80 溶液に分散させ、 10^5 CFU/ml の胞子懸濁液を作成した。それぞれの懸濁液 100 μ l をポリスチレンシャーレ (ϕ 90mm) の各寒天培地に塗抹した。シャーレ蓋内側には BIT あるいは AIT の菜種油希釈液 100 μ l を染み込ませた濾紙

(Advantec No.1, ϕ 55mm) を付着させた。これを 12cm × 12cm のプラスチックフィルム (PF: 大成ラミック製透明蒸着 PET¹²/透明蒸着 NY¹⁵/PE⁴⁰) 袋に入れて密封 (ヒートシール) した。細菌は BactoTM Tryptic Soy Agar (TSA, BD) において 37℃ で 48 時間 (*Pseudomonas fluorescens* JCM 59637 は 30℃ で 48 時間)、乳酸菌は TSA において 30℃ で 48 時間、酵母は YM Agar (BD) において 27℃ で 48 時間、カビは PDA において 27℃、7 日間培養後の最小発育阻止濃度 (MIC: Minimum inhibitory concentration) を求めた。

4. 食品の保存試験

(1) 一般生菌数に及ぼす影響

スーパーマーケットから購入したメバチマグロ刺身および豚挽肉を使用した。シャーレに試料 5g を BIT あるいは AIT の菜種油希釈液を添加した濾紙とともに入れ、12cm × 12cm の PF 袋に密封して 10℃ および 30℃ におき、経時的に生菌数を普通寒天 (栄研) を用いた混釈平板培養法 (37℃、48 時間) により測定した。

(2) カビの発育に及ぼす影響

市販の無菌包装モチを使用し、シャーレに移したモチの表面に *Aspergillus sojae* JCM2251 もしくは *Penicillium expansum* IAM 13777 の胞子液 50 μ l (10^6 CFU/ml) を塗布し、さらに BIT あるいは AIT の菜種油希釈液を添加した濾紙を入れた。これを十分量の水を

染み込ませた厚手濾紙 (No.526 10×10cm, Advantec) とともに 12cm×12cm の PF 袋に密封し、27℃ で経時的にカビの発育を観察した。

結果と考察

1. BIT と AIT の抗菌スペクトル

各種の微生物に対する BIT と AIT の MIC を Table 1 に示す。BIT 蒸気の MIC は、乳酸菌を含むグラム陽性細菌に対しては概して AIT よりも小さく、特に *Bacillus cereus* NBRC 13597 では BIT の抗菌力は大きかった。乳酸菌では *Pediococcus acidilactic* NBRC 12231 が BIT、AIT の両者に対する感受性が低かった。また、グラム陰性菌に対しては、特に *Pseudomonas fluorescens* JCM 59637 に対する BIT の MIC が AIT より著しく大きいことが特徴的であった。酵母やカビの真菌類に対しては、BIT は AIT とほぼ同等の抗菌力を示した。

AIT はグラム陽性菌や乳酸菌よりもグラム陰性菌に対して高い抗菌力を示すことを報告されており⁵⁾、本実験でも同じような傾向が観察された。BIT ではそのような傾向は認められず、前述のように BIT に感受性を有するグラム陽性細菌も認められた。抗菌力を持つ精油成分の中でも、構造中にベンゼン環をもつ物質はグラム陰性菌よりも、グラム陽性菌に対する抗菌力が高いことが報告されており^{7), 8)}、また、BIT は AIT よ

りも沸点が 100℃程高いために揮発しにくい。これらのことが BIT と AIT の抗菌特性の違いに反映されているのかもしれない。

真菌類に対する MIC は、BIT、AIT とともに細菌に対するものよりも小さく、特に酵母に対して強い抗菌活性を示した。Isshiki et al³⁾は、AIT の抗菌力が細菌よりも真菌類に対して高いことを報告しており、本実験でも同様の傾向を示した。

2. マグロおよび豚挽肉の一般生菌数に及ぼす BIT と AIT の影響

マグロおよび豚挽肉における貯蔵中の一般生菌数の変化をそれぞれ Fig. 1, 2 に示す。いずれの試料においても、BIT 蒸気存在下で貯蔵しても BIT や AIT を含まない対照と同様の生菌数増加を示し、BIT の一般細菌増殖抑制効果はほとんど認められなかった。一方、AIT 蒸気では、保存効果が認められ AIT の濃度が高くなるほど一般細菌増殖抑制効果は強くなり、低温ではマグロ肉試料において顕著に効果が高かった。BIT と AIT は、ともに揮発性があり、水に不溶であるため、食品の表面において抗菌効果を示すと考えられる。本実験に用いた食品試料では AIT は保存効果を示したが BIT は保存効果を示さなかった。畜肉や魚肉の低温貯蔵時に検出される細菌は主にグラム陰性細菌と乳酸菌であることが知られている^{9), 10), 11)}。BIT の抗菌

力がグラム陰性菌、特に *Pseudomonas* などの腐敗細菌に対して弱いことが、これらの試料における BIT の低い一般細菌増殖抑制効果の一因と考えられる。また、試料形態としてマグロ肉は小片、豚肉は挽肉状であり、これは貯蔵時の生菌数増加速度と AIT による増殖抑制効果に反映されていると考えることができる。

3. モチに接種したカビの発育に及ぼす BIT と AIT の影響

モチに接種した *Aspergillus sojae* JCM2251 および *Penicillium expansum* IAM 13777 の発育状態について、それぞれ Table 2, 3 に示す。*Aspergillus sojae* JCM2251 は、BIT 1mg, 5mg 添加では発育遅延効果がみられず、2 日後にはすでに胞子の形成が認められたが、10mg ではわずかに発育遅延効果が認められた。AIT では、1mg, 5mg 添加で発育抑制は認められなかったが、10mg 添加で菌糸の発育を試験期間中（4 日間）完全に阻止した。*Penicillium expansum* IAM 13777 の発育に対しては、BIT 1mg, 5mg の添加で菌糸の発育を 1 日遅らせることができ、10mg 添加では菌糸の発育を 3 日間阻止した。一方、AIT を作用させると、1～10mg のいずれの濃度においても 3 日間菌糸の発育が阻止された。

BIT と AIT はともに *Aspergillus sojae* JCM2251 に対する MIC は 1.56 mg/dish、*Penicillium expansum* IAM 13777 に対する MIC は 1.00mg/dish であり、食品に応

用した場合も両者は同等の抗カビ効果を有することが期待された。しかし、BITはAITほどカビの発育を抑制することができなかった。このことに対しても、BITがAITよりも揮発しにくいことが影響しているかもしれない。

まとめ

寒天平板培地表面に塗抹した微生物に対して、BITは、部分的に異なるもののAITとほぼ同等の抗菌スペクトルを有していた。そこで、BITの食品保存効果について、生鮮魚肉と豚挽肉の一般細菌の増殖とモチ表面に接種したカビの発育を指標として評価した。いずれの試験においても、本実験の条件ではBITはAITほどの抗菌力を示さなかった。BITの食品保存効果を期待するには、対象食品の種類、BIT濃度、他の添加物とや包装手段との併用など、使用条件の検討が必要である。

謝辞

本研究を行うにあたり、御指導と御鞭撻を賜りました北海道大学大学院水産科学研究院川合祐史教授、山崎浩司准教授に深甚なる謝意を表します。実験に御協力をいただいた三菱化学フーズ株式会社 城戸浩胤様、井伊重雄様、PF袋を提供していただいた、大成ラミック株式会社 木暮秀則様に深謝申し上げます。

文 献

- 1) Vrinda, K., Garg, S. R. Inhibitory effect of clove oil in *Listeria monocytogenes* in meat and cheese. Food Microbiology, **18**, 647-650 (2001).
- 2) Belletti, N., Lanciotti, R., Patrignani, F., Gardini, F. Antimicrobial efficacy of citron essential oil on spoilage and pathogenic microorganisms in fruit-based salads. Journal of Food Science, **73**, M331-M338 (2008).
- 3) Isshiki, K., Tokuoka, K., Mori, R., Chiba, S. Preliminary examination of allyl isothiocyanate vapor for food preservation. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, **56**, 1476-1477 (1992).
- 4) Tokuoka, K., Isshiki K., Possibility of application of allyl isothiocyanate vapor for food preservation. Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi, **41**, 595-599 (1994).
- 5) Tang, C.-S., Takenaka, T. Quantitation of a bioactive metabolite in undisturbed rhizosphere – Benzyl isothiocyanate from *Carica papaya* L. Journal of Chemical Ecology, **9**, 1247-1253 (1983).
- 6) Drobnica, L., Zemanova, M., Nemec, P., Antos, K., Kristian, P., Stullerova, A., Knoppova, V., Nemec, P.

Antifungal activity of isothiocyanates and related compounds. *Applied Microbiology*, **15**, 701-709 (1967).

- 7) Smith-Paler, A., Stewart, J., Fyfe, L. Antimicrobial properties of plant essential oils and essences against five important food-borne pathogens. *Letters in Applied Microbiology*, **26**, 118-122 (1997).
- 8) Inoue, S., Takizawa, T., Yamaguchi, H. Antibacterial activity of essential oils and their major constituents against respiratory tract pathogens by gaseous contact. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, **47**, 565-573 (2001).
- 9) Okubo, Y., Umeki, F., Haruta, M. Studies on the psychrotrophic bacteria contaminating raw pork. *Shokuhin Eiseigaku Zasshi*, **12**, 164-169 (1971).
- 10) Horie, S., Okuzumi, M., Kimura, M., Akahori, M., Kawamae. bacterial flora of frozen fish, *Shokuhin Eiseigaku Zasshi*, **13**, 22-29 (1972).
- 11) Fujii, T. Food Preservation and Microorganism (Shokuhin no hozen to biseibutsu) Tokyo, Saiwaishobou, 2001, pp.16-53. (ISBN 4-782-10180-5)

Table 1. Minimum inhibitory concentrations (mg/dish) of BIT and AIT against various microorganisms.

Microbial strains	BIT	AIT
Gram positive bacteria		
<i>Bacillus cereus</i> NBRC 13597	0.78	3.12
<i>Bacillus subtilis</i> IAM 12118	1.56	3.12
<i>Staphylococcus aureus</i> JCM 2413	1.56	6.25
<i>Staphylococcus aureus</i> NBRC 16057	1.56	6.25
<i>Listeria monocytogenes</i> IID 581	3.12	6.25
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 7644	3.12	6.25
<i>Listeria innocua</i> ATCC 19119	3.12	6.25
Gram negative bacteria		
<i>Salmonella</i> Enteritidis NBRC 3313	3.12	3.12
<i>Salmonella</i> Typhimurium IID 1000	3.12	3.12
<i>Escherichia coli</i> NBRC 3301	3.12	15.6
<i>Pseudomonas fluorescens</i> JCM 5963	7	25.0
Lactic acid bacteria		
<i>Pediococcus acidilactis</i> NBRC 1223	1	12.5
<i>Tetragenococcus halophilus</i> JCM 5888	6.25	12.5
<i>Carnobacterium maltaromaticum</i> JCM 5348	3.12	6.25
<i>Enterococcus durans</i> JCM 8725 ^T	3.12	6.25
<i>Lactobasillus rhamnosus</i> JCM 1136 ^T	6.25	12.5
<i>Lactobasillus plantarum</i> JCM 1149	6.25	12.5
<i>Lactococcus lactis</i> . subsp. <i>lactis</i> NBRC 12007	3.12	

12.5

Yeast

<i>Candida albicans</i> NBRC 1542 ^T	0.39	0.39
<i>Candida krusei</i> NBRC 1935 ^T	0.39	0.39
<i>Yarrowia lipolytica</i> NBRC 1548 ^T	0.39	0.39
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> NBRC 10175 ^T	0.39	0.39
<i>Torulaspora delbruekii</i> NBRC 0955 ^T	0.39	0.39

Fungi

<i>Aspergillus oryzae</i> JCM 2228	1.00	3.12
<i>Aspergillus sojae</i> JCM 2251	1.56	1.56
<i>Aspergillus parasiticus</i> IAM 13888	1.00	1.56
<i>Aspergillus ochraceus</i> NBRC 31221	1.00	1.56
<i>Penicillium expansum</i> IAM 13777	1.00	1.00
<i>Cladosporium shc-1</i>	1.00	1.00
<i>Trichoderma sht-1</i>	1.56	1.56
~~<i>Aureobasidium sha-1</i>~~	~~1.00~~	~~1.00~~

Table 2. Hyphal growth and conidial formation of *Aspergillus sojae* JCM2251 on rice cakes during storage with BIT and AIT at 27°C.

Storage		Control BIT (mg/dish)			AIT		
(mg/dish)							
period (d)		1	5	10	1	5	
10							
1	–	–	–	–	–	–	–
2	+	+	+	±	+	+	–
3	+	+	+	+	+	+	–
4	+	+	+	+	+	+	–

Abbreviations: –, no growth; ±, hyphae and no conidia; +, hyphae and conidia.

Table 3. Hyphal growth and conidial formation of *Penicillium expansum* IAM 13777 on rice cakes during storage with BIT and AIT at 27°C.

Storage		Control BIT (mg/dish)			AIT		
(mg/dish)							
period (d)		1	5	10	1	5	
10							
1	±	–	–	–	–	–	–
2	±	±	±	–	–	–	–
3	+	+	+	–	–	–	–
4	+	+	+	±	±	±	±

Abbreviations: –, no growth; ±, hyphae and no conidia; +, hyphae and conidia.

図の説明文

Figure Legend

Fig. 1. Changes in aerobic plate count of tuna meat during incubation with BIT and

AIT at 10°C (A) and 30°C (B).

Symbols: ■, control; ●, BIT 10 mg/dish; ▲, BIT 50 mg/dish; ○, AIT 10 mg/dish; △, AIT 50 mg/dish.

Fig. 2. Changes in aerobic plate count of during incubation with BIT and AIT at 10°C (A) and 30°C (B).

Symbols: ■, control; ●, BIT 10 mg/dish; ▲, BIT 50 mg/dish; ○, AIT 10 mg/dish; △, AIT 50 mg/dish.

Figure 1

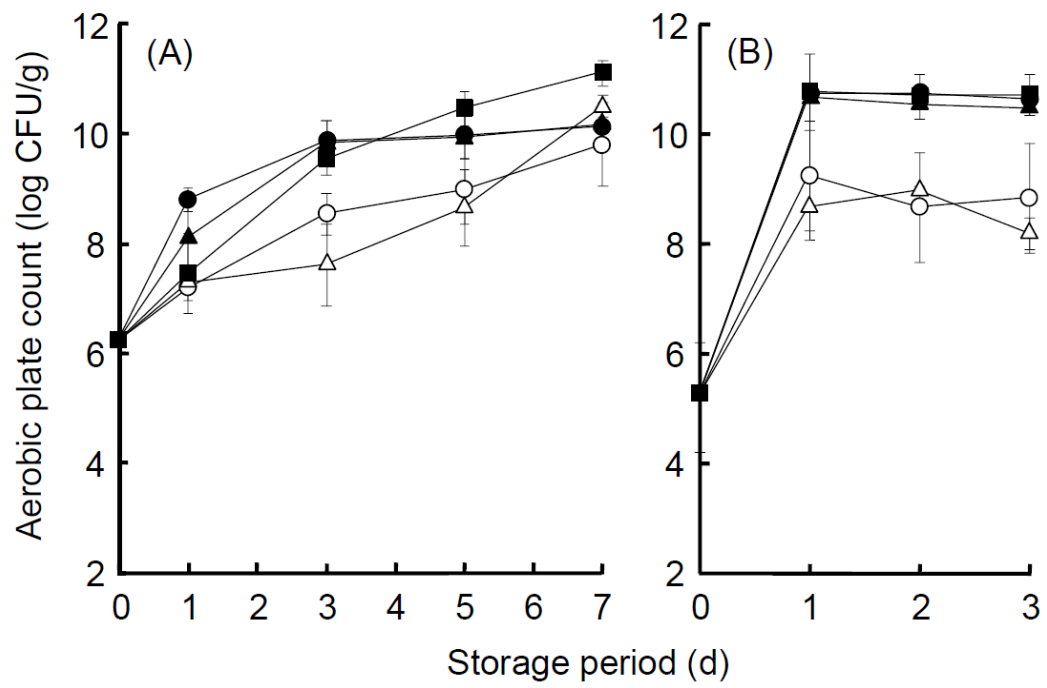
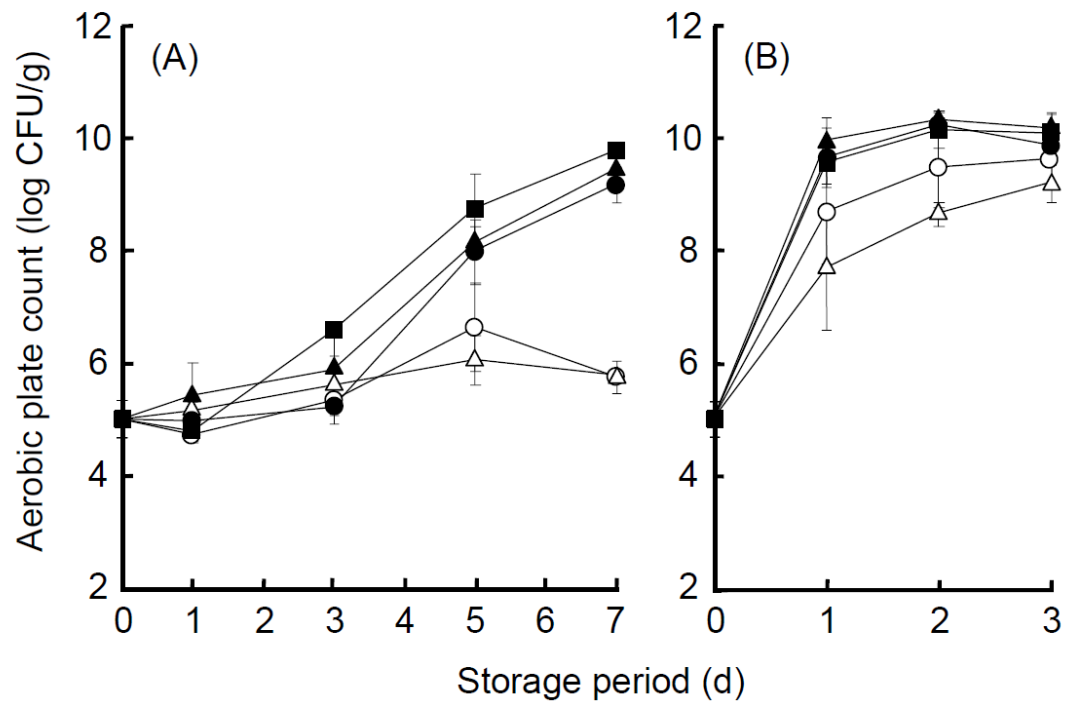


Figure 2



The potential activity of benzyl isothiocyanate (BIT) vapor for food preservation was investigated by comparison with allyl isothiocyanate (AIT) vapor. As minimum inhibitory concentration (MIC) against various bacteria and fungi, BIT vapor shows higher antibacterial activity for Gram-positive bacteria including lactic acid bacteria than AIT vapor. BIT has similar inhibitory effect as AIT against Gram-negative bacteria, yeast and fungi, except that BIT was not so effective against *Pseudomonas fluorescens* JCM 59637. Both BIT and AIT have a stronger inhibitory activity against yeast and fungi. AIT vapor suppressed increased growth of

total aerobic bacteria of bigeye tuna meat and porcine mince during storage at 10°C and 30°C, while BIT vapor showed no inhibition. Also, AIT vapor strongly inhibited mycelial development of *Aspergillus sojae* JCM2251 and *Penicillium expansum* IAM 13777 inoculated on rice cakes, while BIT vapor slightly suppressed their growth. BIT has a antimicrobial activities, but further studies are needed for application to food preservation.