フェノール関連物質の微生物生育阻害作用について

西山隆造　小崎道雄*

Studies on Phenol Related Compounds Inhibiting the Growth of Microorganisms.

Ryuzo Nishiyama, Michio Kozaki*

Summary

Green tea

Growth of *Leuconostoc mesenteroides* P-60 (*Leuc.* P-60) and other lactic acid bacteria was inhibited by aqueous extract of tea leaves.

On the other hand, extracts of more than 21 species of higher plant had no inhibitory effect on the growth of *Leuc.* P-60

The dialysate, but not dialized residue, showed inhibitory effect. Active factors were extracted by ethyl-acetate or n-butanol from an acidic aqueous solution at pH 2, and the absorption spectra of the active fractions were resembled to those of polyphenols.

Inhibitory patterns of green tea using Tamura & Tsunoda's improved medium and GYP medium for the growth of *Leuc.* P-60 were resembled to those of tannic acid, and the four polyphenols, (−)-epigallocatechin (EGC), (−)-epigallocatechingallate (EGCG), (−)-epicatechin gallate (ECG) and (−)-epicatechin (EC) isolated from green tea were found to be inhibitory for the growth of the lactic acid bacteria.

The growth inhibition of *Leuc.* P-60 by tannic acid and Polyphenols of green tea was recovered by addition of protein in the culture medium.

Damage and recovery of cell wall were observed under the electron microscope. To clarify the mechanism of interaction between protein and polyphenols, proteins denatured by urea or by chemical modification were added to a culture medium containing polyphenols in the threshold amount of growth inhibition. Addition of proteins denatured by urea, modified by carboxymethylation of methionine or histidine residues or modified by di-isopropylfluorophosphoric acid at serine residues recovered the growth inhibition just like the addition of original protein.

With the addition of protein modified by carboxymethylation at ε-amino group of lysine residue, or destruction of N-terminal amino acid and ε-amino group of lysine residue by nitrite, the growth

*東京農業大学農芸化学科

inhibition was not recovered. The growth inhibition of *Leuc.*P-60 was recovered by the addition of ovalbumin having acetylated N-terminal amino acid residue in a medium contained the threshold ammount of polyphenol.

Results showed that combination of polyphenols and proteins assumed to occure at ε-amino group of lysine residue of proteins.

Mangrove bark

In the making of coconut wine at local factories in the Philippines, mangrove bark is added to prevent acidification of the product. This communication deals with the function of the mangrove bark. It was found that the mangrove bark inhibits cell growth of various microorganisms more efficiently than green tea. Solvent extraction, incineration, dialysis and hydrolysis of mangrove bark suggested the inhibitory substances were polyphenols. The growth-inhibitory pattern of mangrove bark in both synthetic and natural media, like that of green tea, resembled that of tannic acid. However, the polyphenols of mangrove bark were proved by liquid chromatography to be quite different from those of green tea.

Kakishibu

Commercial *Kadishibu* (persimmon tannin) , used as a clearing agent in the making of sake, was found to inhibit the cell growth of various microorganisms more efficiently than green tea. The growth-inhibitory substances in *Kakishibu* were proved to be different from those of green tea by dialysis, that is, the dialyzed inner solution showed the inhibitory effect.

Of the 40 strains tested, comprising 23 mold, 9 of lactic acid bacteria, 2 *Pseudomonas* sp., 2 *Acetobacter* sp., 1 of *Escherichia* coli, and 3 of yeast, the cell growth of *Pseudomonas* sp., *Bacillus coagulans*, *Acetobacter aceti* and *Penicillium chrysogenum* were strongly inhibited by the *Kakishibu*.

Hop

In regards to the antimicrobial function of *hop (Humulus lupulus L.)* , which is added to give a refreshing aroma and bitterness in the making of beer, fresh and old *hop* were compared. For this, the growth inhibiting pattern of polyphenols and resins found in *hop* was investigated.

Hop showed an inhibitory pattern in synthetic and natural medimu against *Leuc.*P-60 that was quite similar to that showed by quercetin and *o*-coumaric acid. Old *hop* had a lower inhibiting activity towards lactic acid bacterial growth compared with that of fresh *hop*. Contrary to this, old *hop* showed a higher inhibiting activity against other microorganisms like *Acetobacter* sp., *Pseudomonus* sp., *E.coli* and yeast strains. Results can be attributed to the fact that old *hop* has a lower inhibition activity of resins against *Leuc*, P-60 while the polyphenols in the old hop have a higher inhibition activity against the growth of *Ps.fluorescens* and *S.cerevisiae* studied.

はじめに

わが国の夏は高温多湿であるため、他国に比べて微生物による食品の変敗を起こしやすく、また酸化などによる食品の品質低下も見逃せない。

加えて食品の流通機構は複雑で、消費者の手に商品が届くまでにかなりの日数がかかる。

このため、食品工業における食品保蔵の問題は極めて重要である。食品保蔵の方法にはいろいろあるが、食品保存料は食品をそのままの状態で保存でき、使用法が簡便である点で便利であり、少なくとも冷蔵などの不便さを補う手段として使われている。

しかし、最近は人体への安全性などの理由から消費者は食品中に添加される化学合成物質の在存を嫌う傾向が強くなっており、食品の腐敗防止や品質保持のうえからも、今後は有効な天然物の開発にたいする要望がますます強くなってこよう。

一方、最近の食生活の傾向をみると、消費者は生活の質の豊かさを求め、健康へのニーズが一段と高まりつつある。したがって加工食品にたいしては、より高い品質のもの、健康保持に役立つものなど、個性や感性を求める選択志向がはっきりしている。

そこで、新しい加工食品がいろいろと開発されつつあるが、果汁の乳酸発酵製品や薬用植物のアルコール発酵製品などはその一例といえる。ところでこうした果汁や草根木皮を微生物の発酵に用いる場合は、素材中に普遍的にあるフェノール関連物質の微生物への影響を無視することはできない。

身近な植物中にはフェノール関連物質が広く分布しており、これらの物質のなかには、食品を褐変させたり、醸造中の微生物の正常な発酵を妨げる要因となるものもあるが、一方では食品の酸化を防止するいわゆる抗酸化剤の働きや腐敗防止などの効果を持っている。

最近は、天然に含まれるいろいろな生理活性物質を見直す気運にあり、フェノール関連物質もその1つとして注目されよう。

しかし、植物に含まれるフェノール関連物質は、その種類が多く、不安定で構造が複雑なものもあるため、その抗菌性や微生物の発酵におよぼす影響についての研究はほとんど明らかにされなかった。

著者らは、天然物の中でフェノール関連物質を比較的多く含み、食品または加工素材として利用されている緑茶、マングローブ樹皮、柿渋およびホップについての微生物の生育に及ぼす影響を調べてきた。

そこで、これらに含まれるフェノール関連物質の微生物生育阻害作用についてまとめた。

1　フェノール関連物質

フェノール関連物質の微生物生育阻害作用を述べる前に、まずフェノール関連物質とは何かについて解説する。

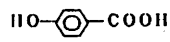
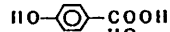
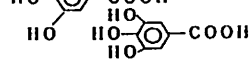
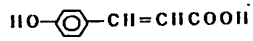
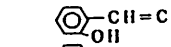
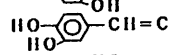
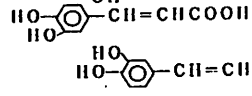
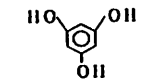
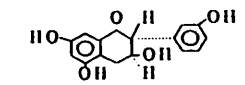
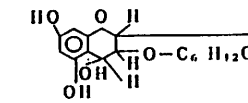
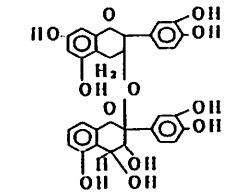
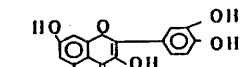
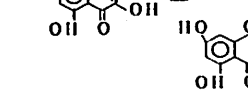
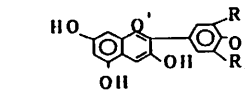
フェノール関連物質は、いうまでもなくフェノール（石炭酸）が基本型となる。フェノールとは「ベンゼン環の水素1箇が水酸基と置換した化合物」のことであるが、水酸基の数は1箇だけとは限らず、2箇以上有する化合物があり、これらをポリフェノール、またはタンニン（後述）と呼ぶことがある。

植物中のフェノール関連物質にはSimple phenolic compoundsとFlavonoidsとがあり、これらはさらに次のように分けられる[1]（Table1.）。

Simple phenolic compoundsには、Hydroxylated benzoic acids（オキシ安息香酸）とその誘導体、Hydroxylated cinnamic acids（オキシ桂皮酸）とその誘導体およびその他nonflavonoid phenols（フラボノイド以外のフェノール類）の3つに分けられる。

これらのフェノール類は植物中では、遊離型で存在する場合と結合型で存在する場合とがある。遊離型のポリフェノールは、後述のタンニンとし

Table 1 Phenol related compounds の分類

名　　称	構　造　式　（主な所在）
Simple phenolic compounds	
1.Hydroxylated benzoic acids	
p-Hydroxybenzoic acid	 （清酒、ワイン）
Protocatechuic acid	 （エンドウ、ホップ、ワイン、麦芽）
Gallic acid	 （タンニン、ワイン）
2.Hydroxylated cinnamic acids	
p-Coumaric acid	 （ホップ、ワイン、麦芽、ナス、しょう油）
o-Coumaric acid	 （麦芽、ホップ）
Caffeic acid	 （コーヒー豆、麦芽）
Chlorogenic acid	 （ジャガイモ、大麦、ナス、ホップ）
3. Nonflavonoid phenols	
Phloroglucinol	 （ブドウ、カキ、ビール）
Flavonoids(Tannins)	
1.Catechins(Flavan-3-ols,Flavanols)	
d-Epicatechin	 （茶、リンゴ、モモ、ブドウ）
2.Anthocyoanogens	
(Leucoanthocyan,Flavan-3,4-diols)	
Delphinidin monoglucoside	 （柿渋）
3.Proanthocyanins.(Associated tannin)	
Epicatechin と Leucocyanidin の polymer	 （サイカチ果）
4.Flavonols	
Quercetin	 （玉ネギ皮、ホップ）
Rutin	 （ソバ、ホップ、茶、トマト、アスパラガス）
5.Anthocyanogen を酸と加熱した場合に生じる Anthocynin	
Cyanidin	 R_1 =OH R_2 =H （イチジク、アカカブ、ブドウ）
Delphinidin	R_1 =OH R_2 =OH （ナス、シソ、ブドウ）
Pelargonidin	R_1 =H R_2 =H （イチゴ、ザクロ、ブドウ）

ての性質はなく、酸化などによって重合するとタンニン様物質に変わる。

フェノール関連物質は一般に酸化され易く不安定なものが多いが、この性質を生かして他の酸化を防ぐ抗酸化剤として利用される。[2)]

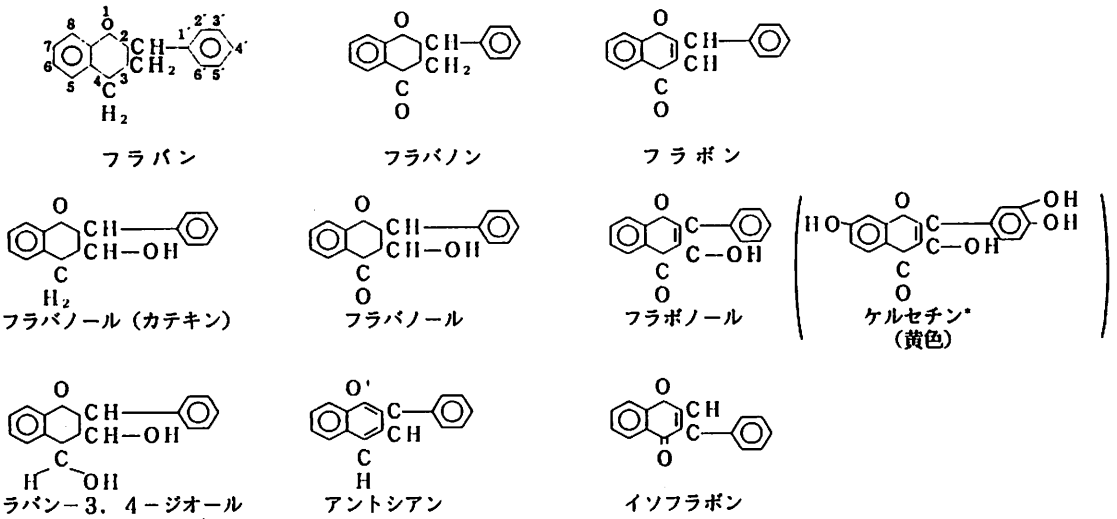
没食子酸、フラボン、コーヒー酸の各誘導体などはその例である。

また、フェノールカルボン酸エステルの中には、発酵食品の香味の特徴を示す重要な構成成分になっているものがあり、安息香酸エチル、バニリン酸[3)]などがその例である。

これにたいし、Flavonoidsはいわゆるタンニンとも呼ばれるもので、Catechins（カテキン類）、Anthocyanogens（アントシアノーゲン）、Proanthocyanins（プロアントシアニン）、Flavonols（フラボノール）およびAnthocyanins（アントシアニン）などが含まれる。

フラボノイドは、C6－C3－C6（◎－C－C－C－◎）を基本構造とする一連の化合物の総称でFig. 1に示したフラバン（非天然）を基準として、例えば3位に水酸基（－OH）がつくとフラバノール（カテキン）、2位と3位が二重結合で4位がケトン（＞CO）になるとフラボン、さらに3位に水酸基がつくとフラボノールなどと呼ぶ。

なお、2と3位の間が一重結合のものは無色、



注)＊2，3位の間に二重結合，3′，4′に2箇の水酸基をもつものは抗酸化性がもっとも強い。

Fig. 1. フラボノイドの構造

二重結合のものは黄色（アントシアンを除く）を呈する。

Catechinsは2位と3位に2箇の不整炭素があるので、4箇の光学異性体が在存する。すなわち、右施性の(+)またはd、左施性の(−)またはℓおよびそのエピ型（2箇の不整炭素のうち、1箇の空間配位の異なるもの）で、天然にはd型とℓエピ型が主である。

茶には3位の水酸基に没食子酸がエステル結合したカテキンガレートやガロカテキンガレートがある。カテキン、ガロカテキンは渋味はなく、苦味を示しゼラチンで濁るだけであるが、それらのガレートは渋味があってゼラチンと結合して沈でんする。塩化鉄(III)によってカテキンは緑色、ガロカテキンやガレートは藍色を呈する。

Anthocyanogensは、ロイコアントシアンとも

いい、果実、野菜のタンニンの主成分をなしているが緑葉中には少ない。これは、塩酸と加熱すると酸化して赤色のアントシアニジンに変わる。柿渋はロイコアントシアンの一種デルフィニジンのモノグルコシドであることが明らかにされている。[4]

Proanthocyaninsは、熱希酸で処理すると短時間にアントシアンの他に、カテキンなどのポリフェノールも同時に生じることから、これらが弱く結合しているものと考えられている。サイカチの類の果実からは、エピカテキンとロイコシアニジンの重合体[5]が、またマングローブの一種の樹皮からも、カテキンとロイコアントシアンの結合体[6]が分離されている。

Flavonolsは植物界に広く分布し、多くは配糖体として在存し、黄色を呈するので容易に区別できる。ケルセチンはルチノースを結合した配糖体となって、タマネギの皮、紅茶、ホップなどの中にある。これは、油脂やアスコルビン酸の酸化を抑制する効果[7]が知られている。

また、ケルセチンを結合する配糖体の中にはルチンがある。これは、ソバ、ホップ、茶などに含まれ血管を強化することで知られている。

Anthocyaninsは、イチゴ、ブドウ、ナスなどの美しい色であるアントシアンが糖と結合した配糖体のことで、この色素はきわめて不安定で加工や貯蔵中にすみやかに変色して褐変する。

アントシアンは、B環の水酸基の数によって、ペラルゴニジン系（橙赤色）、シアニジン系（紅赤色）およびデルフィニジン系（紫赤色）などに大別される。

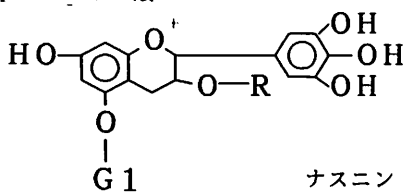
天然にはシアニジン系配糖体が最も多いが *p*－クマル酸、桂皮酸、*p*－オキシ安息香酸、コーヒー酸、フェルラ酸などのフェノール関連物質が直接あるいは糖部にエステル結合したアシル化アントシアンも多い。（Table 2）。[7]

Table 2. おもなアントシアニンの構造

名　　称	構　　造*
シアニジン系（主な所在）	
シソニン（シソ）	C－3－G1－5－G1，pC
デルフィニジン系（D）	
ナスニン**（ナス）	D－3－G1，R，pC－5－G1
ペラルゴニジン系（P）	
カリステフィン（イチゴ）	P－3－G1
フリガリン（イチゴ）	P－3－Ga

注＊G1：グルコース、Ga：ガラクトース、R：ラムノース
pC：p－クマリン酸

**



ナスニン（R：p－クマリールルチノース）

以上がフェノール関連物質の概要であり、次にタンニンについて触れる。

タンニンは、フラボノイドのような化学的呼び名ではなくそのなかには化学構造のかなり異なった物質が多く含まれている。

タンニンの語源は、〝タン（tan、皮をなめす）の成分ということ〟から由来している。

Perkin-Everestは、タンニンの全体構造から加

水分解型タンニンと縮合型タンニンに分類している（Table 3）。

前者は酸、アルカリまたは酵素タンナーゼで加水分解されて没食子酸、エラーグ酸あるいはさらに複雑なポリフェノールカルボン酸、糖、多価アルコールなどを生ずる。これには、ガロタンニンとエラーグタンニンがある（Fig. 2）。

Table 3. タンニンの分類

A．加水分解型タンニン：
酸、アルカリまたはタンナーゼで加水分解されるもの

1．ガロタンニン　分解産物：没食子酸

(例)
- 五倍子（支那ガロタンニン）
  ヌルデ葉に五倍子虫が寄生でできる虫えい（約70%タンニン含有）
- 没食子（トルコガロタンニン）
  カシの小枝に没食子蜂が寄生でできる虫えい

2．エラーグタンニン　分解産物：エラーグ酸

(例)
- ミロバラン
  北部インド産豆科のテルミナリア属の果実（乾物中約50%タンニン含有）
- ジビジビ
  南米ハイチ、メキシコ産ケザルピニア・コリアリアの豆の莢（乾燥、タンニン剤）
- ゲラニイン
  ゲンノショウコ全草（ゲラニウム属）、ナンキンハゼ根皮（トリアゲイカ属）

B．縮合型タンニン（フラボノイドタンニン、非加水分解型タンニン）*
希酸と加熱すると加水分解されずに水に不溶の赤褐色のフロバフェンを生ずるもの

1．カテキン（茶、亜仙薬）
2．アントシアノーゲン（柿渋）
3．プロアントシアン（マングローブ樹皮、サイカチ果）
4．フラボノール、フラボン（玉ネギ皮、茶、ホップ）

注）*詳しくはTable 1参照

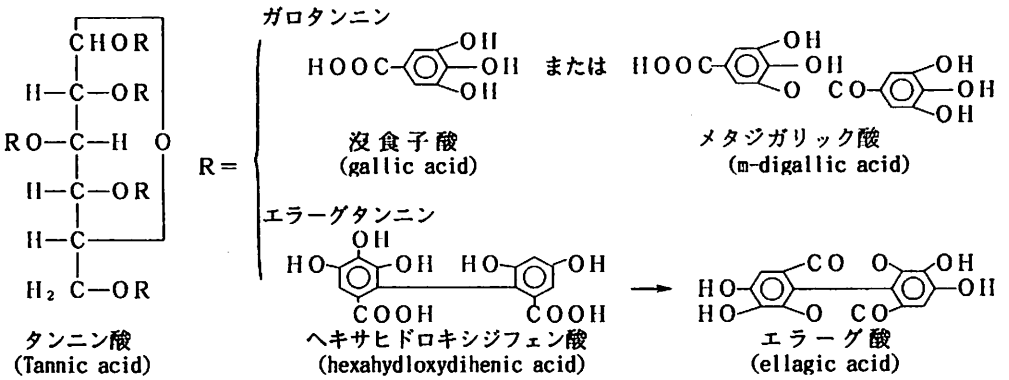


Fig. 2. タンニンの構造（加水分解型）

ガロタンニンは五倍子、没食子などの虫えいから得られる局方のタンニン酸のように没食子酸またはメタジガリック酸と糖を生成する。

これにたいし、エラーグタンニンは加水分解でその他にヘキサヒドロキシジフェン酸を経て、エラーグ酸を生じる点が異なる。

例として、ミロバランからはコリラギン、ケブラグ酸およびケブリン酸の3種のタンニンが分離されている。[8] また、ジビジビからのタンニン剤からもコリラギンとケブラグ酸が検出された。[9]

さらにゲンノショウコ、ナンキンハゼなどからは、黄色のゲラニインが単離がされている。[10]

ゲラニインは他と異なり渋味を感じないタンニンで、加水分解によって没食子酸、ヘキサヒドロキシジフェン酸、エラーグ酸、コリラギンなどを生成する。

一方、後者の縮合型タンニンは、フラボノイド骨格をもつカテキンおよびロイコシアニジンその他水酸基の数、位置などを異にする類似化合物の縮合体からなる。このタンニンは、カテキン、アントシアノーゲン、プロアントシアンおよびフラボノール・フラボンがあるが、分子構造はさまざまで分子量の大小による性質の違いも大きい。

ただ共通していることは、希酸と加熱するとフェノール性の分離産物は得られずに不溶性の褐色物質のフロバフェンを生ずることである。

昔からタンニンは、タンパク質と結合し易い性質を利用して皮なめし剤や清酒おり下げ剤などに、また鉄などの金属と塩を形成する性質を利用してインクや染料媒染剤の原料に使用されている。さらにタンニンのもつ収斂性を利用して止瀉薬、整腸薬、止血薬などの医薬品の原料にも用いられている。

2．緑茶の抗菌性などに関する研究

従来、出がらしの緑茶が腐り易いのは、防腐効果のあるタンニンが溶出されたためであると言われてきた。緑茶の抗菌性などに関する科学的研究は、次に述べる、いくつかの事例が知られているのみであった。

梶本[11]は、緑茶抽出液、エピガロカテキンガレートおよび没食子酸の大豆油に対する酸化防止性と*Staphyrococcus aureus*に対して阻害性を示すことを明らかにした。

また、岡田ら[12]は茶のカテキン4種によるタバコ、トマトなどの植物ウィルス感染に対する阻害作用を検討し、エピカテキン（以下EC）、エピガロカテキン（EGC）の遊離型カテキンに比べて、エピカテキンガレート（ECG）およびエピガロカテキンガレート（EGCG）のエステル型カテキンの阻害効果が大きいことを認めた。

以上述べてきたように、緑茶に抗菌性効果があることは認められたが、その抗菌性の詳細については殆ど明らかにされなかった。

そこで、著者らの行なった緑茶の乳酸菌生育阻害作用について、次に述べることにする。

3．緑茶抽出液の乳酸菌生育阻害作用[13)14)]

著者らは、緑茶抽出液の各種乳酸菌に対する生育阻害作用を調べた。ついで、緑茶抽出液を分画し阻害成分がポリフェノールによることを確認した。さらに、緑茶から主要なポリフェノールを分離し、同定を行なうとともにその各区分について乳酸菌の生育阻害性を調べた。

以下、これらの実験結果について述べることにする。

1）　乳酸菌に対する緑茶抽出液の阻害性

緑茶抽出液を田村、角田改良培地（以下、TT培地）またはGYP培地に添加すると、*Leuconostoc mesenteroides* P-60 （*Pediococcus acidilactici*以下、*Leuc*.P-60）をはじめ、各種乳酸菌の生育が阻害されることを認めた（Table 4）。

2）　緑茶抽出液中の乳酸菌生育阻害物質

そこで、乳酸菌生育阻害物質は緑茶のいかなる

Table 4 Inhibiting Action of Green Tea Exerting upon the Growth of Lactic Acid Bacteria

Lactic acid bacteria	Minimum amount of arresting (mg/ml)	Temperature (℃)
Leuconostoc mesenteroides P-60	55	37
Pediococcus lindneri	35	37
Pc. pentosaceus IFO 3892	50	37
Pc. acidilactici TP	50	37
Pc. hennebergi 1	40	37
Lactobacillus plantarum 11	25	30
L. plantarum 256	43	30
L. pentosus D-23	48	30
L. pentosus D-27	35	30
L. sake ATCC 15578	75	30
L. fermentum	34	37
L. brevis TS	20	30
L. cucumeris	48	30
L. mannitopoeum	6	37
L. casei 512	20	30
L. arabinosus β. A	70	30
L. xylosus D-28	50	30
L. batatas α	20	37
L. lactis	10	37
Streptococcus faecalis IFO 3128	40	37
Sc. thermophilus	40	37
Sc. liquefaciens	28	37
Leuconostoc citrovorum ATCC 8081	35	30
Leu. dextranicum IFO 3347	55	30
Leu. mesenteroides ATCC 8042	32	30
Leuc. mesenteroides var. sake α BO 7	38	30

GYP medium 4ml, 72hr.

成分によるかについて実験を行なった結果、低分子の有機酸性物質であり、280nm付近で明瞭な紫外部吸収がみられること、塩化鉄(III)溶液により暗紫色を呈することなどから、阻害物質はポリフェノールであることを推定した（Fig. 3～5）。

3) 緑茶ポリフェノールの乳酸菌生育阻害性

そこで、セルロースカラムクロマトグラフィーにより緑茶のポリフェノールを分別し、赤外吸収スペクトル、融点測定などによって確認し、各区分の抗菌力をタンニン酸などを対照として調べた。結果はEGCG、ECG、EGCおよびECのいずれも *Leuc.* P-60の生育を阻止し、とくにEGCGが強いことがわかった（Fig. 6～7）。

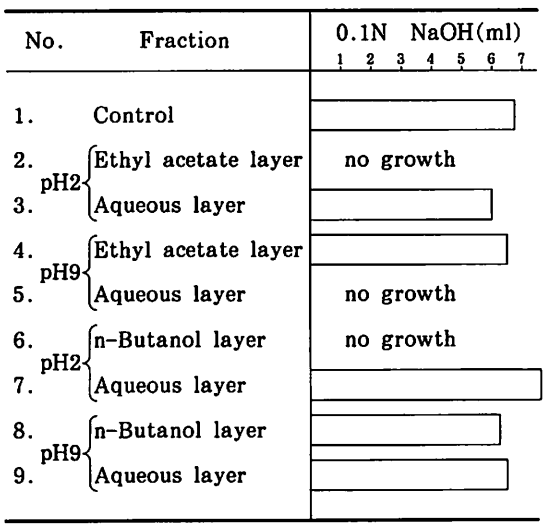


Fig.3 Growth Inhibition of *Leuc*.P-60 with Soluble Components in Organic Solvents. Tamura & Tsunoda's improved medium 4ml.37℃,72hr.dose of sample:25mg/ml.

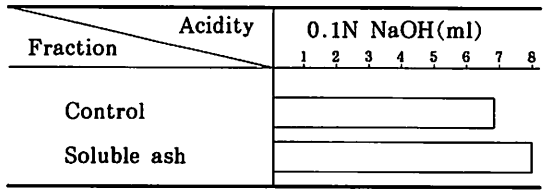


Fig.4.Influence on the Growth of *Leuc*.P-60 by Addition of Soluble Ash of Green Tea. Tamura & Tsunoda's improved medium 4ml,37℃,72hr.dose of sample:25mg/ml.

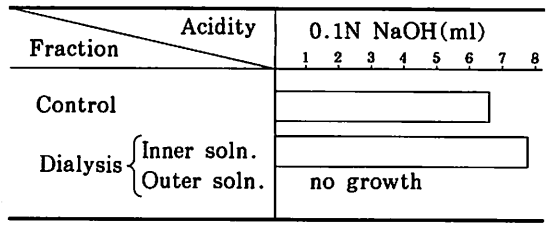


Fig.5,Growth Inhibition of *Leuc*.P-60 by Dialysate of Aqueous Extract from Green Tea. Tamura & Tsunoda's improved medium 4ml,37℃,72hr.dose of sample:25mg/ml.

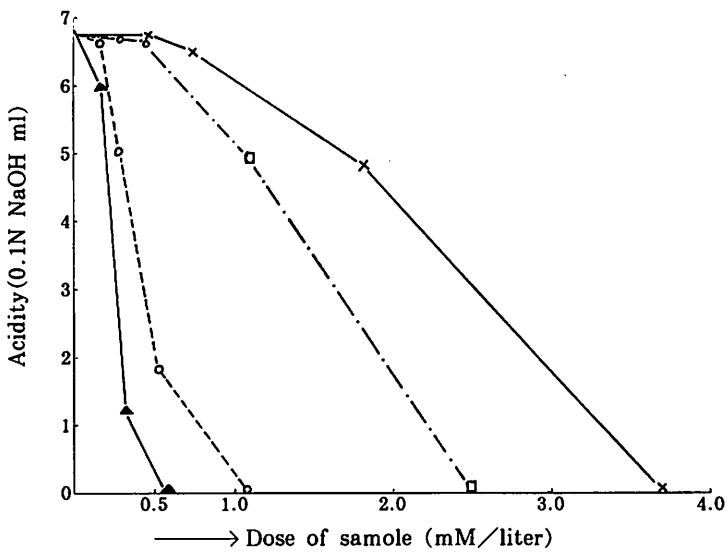


Fig.7 Influence of Concentration of Polyphenols on the Growth Inhibition of *Leuc*.P-60.
Tamura & Tsunoda's improved medium 4ml.37℃,72hr.
▲−−▲ECG,○···○EGCG,□−·−□EGC,
×−−×EC.

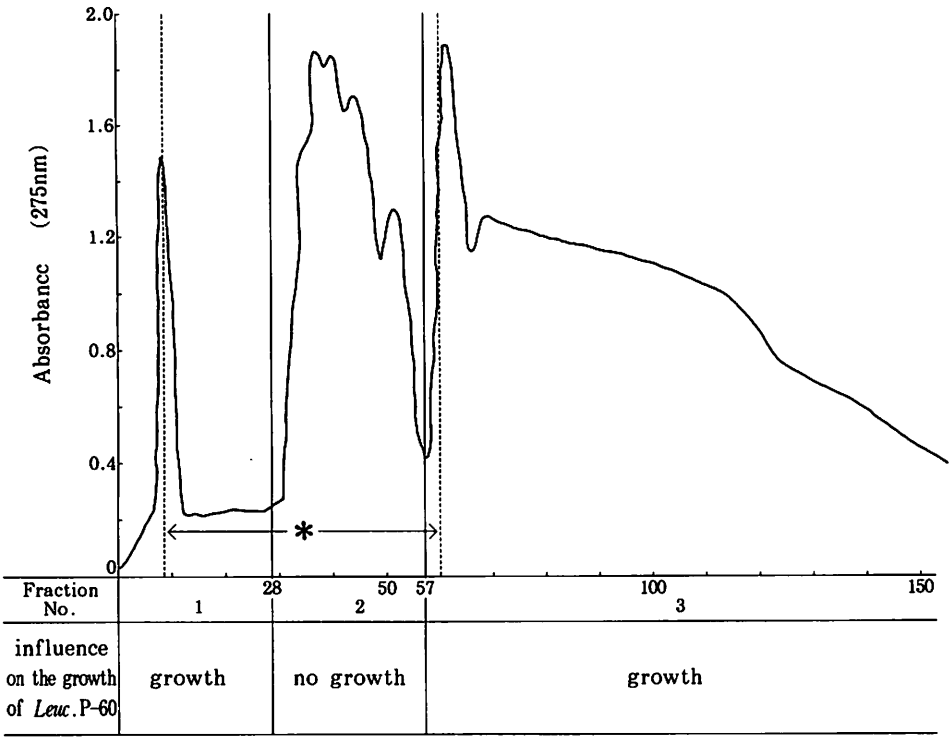


Fig.6 Measurement of Ultraviolet Absorbance on Aqueous Extract of Green Tea by Cellulose Column Chromatography(1).
Condition of fractionation;dose of sample:soluble in ethylacetate of green tea 1g,eluent:distilled water,flow rate:1ml/min,fraction rate:1ml/min.
Condition of measurement on the growth inhibition of *Leuc*.P-60, culture:Tamura & Tsunoda's improved medium 4ml,37℃,72hr,dose of sample:1 ml added from each fraction.
*Mesurements of absorbance were carried out with diluted solution (50 folds) in these fractions.

4．ポリフェノールの乳酸菌生育阻害とタンパク質による回復機構[15,16]

緑茶は牛乳培地中では乳酸菌の growth factor として作用[14]するがGYP培地のときはTT培地に比べると緑茶の阻害性は弱くなっている。このことは、GYP培地中のタンパク質が阻害物質のポリフェノールと結合することによると考えられる。そこで、タンパク質による阻害の回復のメカニズムについて調べた。

結果は、TT培地にタンパク質を添加したとき阻害作用は停止する。また、阻害を受けた乳酸菌体をゼラチン含有培地に移すと、その阻害は回復することを認めた（table5•6）。

そこで、ポリフェノールはタンパク質のどの部分と結合するかについて調べるために、タンパク質（血清アルブミン）のN末端、SH基およびOH基を特異的に修飾した。

これらの修飾タンパク質を緑茶ポリフェノールおよびタンニン酸の阻止量を含むTT培地に添加したときの*Leuc*.P-60の生育阻害の停止について無処理タンパク質と比較検討した。

結果は、カルボキシメチル化によるメチオニン、

Table 5. Comparison of the Inhibitory Action of Green tea Extract and Various Phenolic Substances on the Growth of *Leuc*.P-60

Phenolic substances	Green tea extract			Tannic acid				Pyrocatechol			Phenol		
Multiple dilution	1/2.5* (1/20)	1/5.0 (1/40)	1/7.0 (1/60)	1/7.5	1/10	1/15	1/20	1/50	1/60	1/70	1/140	1/150	1/160
Reaction time (min)													
60	+	+	+	+	+	+	+	−	+	+	+	+	+
120	−	+	+	−	−	−	+	−	+	+	−	−	+
180	−	−	−	−	−	−	−	−	−	+	−	−	−

*Concentration of green tea polyphenols.
Tamaura & Tsunoda medium (recovery culture) ,37℃,72hr.+,growth;−,no growth.

Table 6. Growth Inhibition of *Leuc*.P-60 by Green Tea Extract and Various Phenolic Sudstances in the Presence of Added Protein

Phenolic substances	Green tea extract						Tannic acid				Pyrocatechol									Phenol		
Gelatine (mg/ml)	1			3			1～5				1			3			5			1～5		
Multiple dilution	1/2.5	1/5.0	1/7.5	1/2.5	1/5.0	1/7.5	1/7.5	1/10	1/15	1/20	1/50	1/60	1/70	1/50	1/60	1/70	1/50	1/60	1/70	1/140	1/150	1/160
Reaction time(min)																						
60	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	−	+	+	(+)	+	+	(+)	+	+	+	+	+
120	−	+	+	(+)	+	+	(+)	(+)	(+)	+	−	+	+	−	+	+	(+)	+	+	−	−	+
180	−	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	−	(+)	+	−	(+)	+	−	(+)	+	−	−	−

Recovery culture medium:Tamura & Tsunoda medium using 10ml,37℃,72hr.
(+),growth recovered by the addition of gelatine in the culture medium.

ヒスチジン、ジイソプロピルフルオロリン酸（DFP）化によるセリンを修飾したタンパク質をそれぞれ添加しても、無処理タンパク質と変わらぬ阻害の停止を示した。

しかし、亜硝酸処理によるN末端およびリジンのε－アミノ基の修飾をしたタンパク質を添加した培地では、ほとんど阻害の停止を示さなかった（Table 7）。 そこで、ポリフェノールとタンパク質の結合はN末端であるかどうかを調べた。結果は、血清アルブミンのN末端がアスパラギン酸であり、オボアルブミンのN末端はアセチル化していて何れもリジンではなかった。

以上の結果、ポリフェノールとタンパク質の結合は、N末端以外の他の部分でリジンのε－アミノ基が主に関与していることを証明した（Fig. 8）。

Table 7. Effeet of Original or Modified Proteins on the Growth Inhibition of *Leuc*.P-60 by Polyphenols

Modified protein (mg/ml)	Polyphenols (mg/ml) [a]				
	Green tea polyphenols				Tannic acid (0.3)
	EGCG (0.5)	ECG (0.6)	EGC (0.8)	EC (0.1)	
1. Control[b]	6.50	6.50	6.50	6.50	6.50
2. Original albumin					
0.05	5.01	5.03	5.02	4.95	3.20
0.10	6.02	6.01	6.00	5.98	4.45
0.15	6.52	6.48	6.50	6.51	6.50
3. Modified albumin					
(1) Deaminonation					
0.05					
0.10		no growth			
0.15	3.20	2.80	2.50	2.30	3.85
(2) Iodoacelic acid					
① Treatment at pH 2.8					
0.05	5.00	4.95	4.87	4.93	2.10
0.10	6.02	6.01	6.00	6.12	4.14
0.15	6.52	6.50	6.50	6.51	6.52
② Treatment at pH 5.5					
0.05	4.50	4.48	4.52	4.43	1.85
0.10	5.20	5.10	5.02	5.35	5.02
0.15	6.52	6.51	6.49	6.48	6.51
③ Treatment at pH 9.0					
0.05					
0.10		no growth			
0.15	3.85	3.53	3.25	3.18	3.01
(3) Treatment at DFP[c]					
0.05	5.02	5.01	4.98	4.99	1.98
0.10	6.01	6.05	6.15	6.14	4.50
0.15	6.48	6.49	6.50	6.51	6.55
4. Denaturated albumin					
(1) Dematuration by urea					
0.05	4.80	4.55	4.67	4.37	3.75
0.10	5.20	5.25	5.30	5.26	4.67
0.15	6.51	6.49	6.48	6.52	6.51

Tamura & Tsunoda medium 4 ml, 37℃, 72hr.
Cell growth were expressed in volume (ml) of 0.1 N NaOH solution equivalent to acid formed.
[a] EGCG : cpigallocatcchin gallate, ECG : cpicateehin gallatc, EGC : cpigallocatcchin, EC:epicatechin.
[b] Polyphenols at its minimum amount for growth inhibition (mg/ml) of *Leuc*.P-60
[c] Control:only TT medium, no addition of albumin and polyphenols.
DFP:di-isopropylfluorophosphoric acid.

tert-amylalcohol phthalate (pH 6)

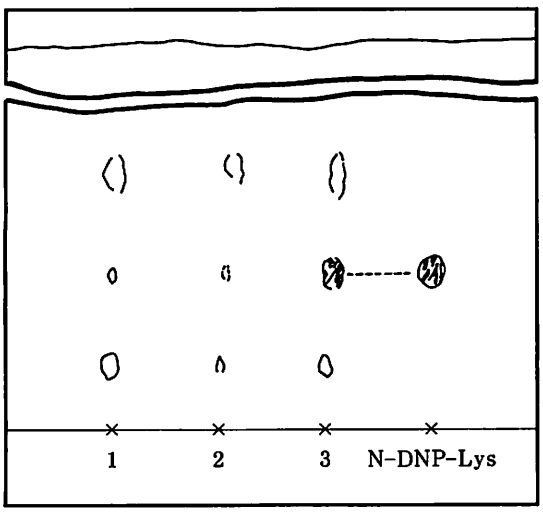


Fig.8 Detection of N'-DNP-Lysine from Bovine Albumin. 1, after deamination ;2,after treatment with iodoacetic acid (pH 9.0) ;3,control.

5．ポリフェノール阻害を受けやすい乳酸菌と受けにくい乳酸菌

著者らは、緑茶ポリフェノールの乳酸菌生育阻害について検討中に、供試した乳酸菌には緑茶ポリフェノールによって容易に生育が阻止されるものと、そうでないものとが在存することを見出した。

乳酸菌の細胞壁ペプチドグリカンには、リジン（Lys）型のものと、ジアミノピメリン酸（DAP）型の2つに分けられることはすでに明らかにされている。[17] 多くの乳酸菌はLys型ペプチドグリカンをもっており、供試したLys型の*Leuc*.P-60, *Lactobacillus acidophilus*などはいずれも少量のポリフェノールによって生育が阻止されるが、DAP型の*L.plantarum*, *L.arabinosus*では生育阻止が起こりにくかった。[18] これらの事実は岡田ら[19]がタイの茶葉発酵食品ミアンから分離した乳酸菌は、DAP型の*L.plantarum*が主要菌であることを明らかにしたが、このことからも説明がつく。

6．マングローブ樹皮の微生物生育阻害作用[20]

以上のように、緑茶抽出液が乳酸菌の生育を阻害することを知り、その阻害物質は緑茶中のポリフェノールであることを知った。従来外傷や昆虫、病害により損傷を受けた植物の樹皮にポリフェノールの分泌が多いことが知られている。[21] また、この物質は抗菌性も有することから伝承的に食品保蔵などに活用することが考えられてきた。

フィリピンでは、やし酒（tuba）をつくるとき、酸敗防止のため竹筒の容器にマングローブ樹皮（Tangal bark）の粉を少量加えて発酵させる。マングローブ樹皮の中にはエピカテキンとロイコアントシアンの結合体であるプロアントシアニンの存在が知られていることから、おそらく樹液中に混入してくる細菌類の生育は阻止され、酵母の生育が容易となり、順調に発酵が進行するものと考えられる。

そこで、微生物の生育に及ぼすマングローブ樹皮の阻害について、緑茶の阻害とあわせて比較検討を行った。

結果は、各種微生物の生育に対して、マングローブ樹皮は緑茶以上の阻害を示した。

Table 8．に示したように、とくに酵母にはさほど影響を与えなかったが、酢酸菌には強い阻害が見られた。すなわち、ヤシ酒醸造でマングローブ樹皮は雑菌の増殖を阻止し、正常な発酵を手助けしていることがわかる。

また、マングローブ樹皮の溶媒抽出、灰化、透析および加水分解などにより阻害物質はポリフェノールであることが示唆された。

さらに、液体クロマトグラフィーにより、マングローブ樹皮と緑茶中のポリフェノールについて比較すると、Fig. 9 に示したように異なる成分であることがわかった。

7．柿渋の微生物生育阻害作用[22,23]

次に、清酒製造時の清澄剤として現在用いられ

Table 8. Inhibition by Mangrove Bark and Green Tea of the Growth of Microorganisms.

Microorganism	Minimum amount for growth inhibition (mg/ml) mangrove bark(M)	green tea (GT)	ratio (GT/M)	Temperature (℃)
Leuconostoc mesenteroides P-60[a]	15	25	1.7	37
Lactobacillus plantarum 256[a]	30	43	1.4	〃
L.arabinosus β.A[a]	50	70	1.4	〃
L.brevis TUA 100B[a]	10	20	2.0	30
Leu.mesenteroides ATCC 8042[a]	5	32	6.4	〃
Streptococcus faecalis IFO 3128[b]	6	40	6.7	37
Saccharomyces cerevisiae TUA 456Y[b]	30	100	3.3	〃
Acetobacter aceti TUA 390B[c]	5	100	20	30
A.xylinum TUA 380B[c]	4	100	25	〃
Pseudomonus aureofaciens TUA 301B[d]	3	75	25	〃
P.fluorescens IAM 3903[d]	5	15	5.0	37
Escherichia coli 215[d]	5	25	5.0	〃

Culture media: a,GYP medium;b, YP medium;c,beer medium;d,meat extract peptone medium.
Four-ml portions of inoculated medium were incubated for 72hr.

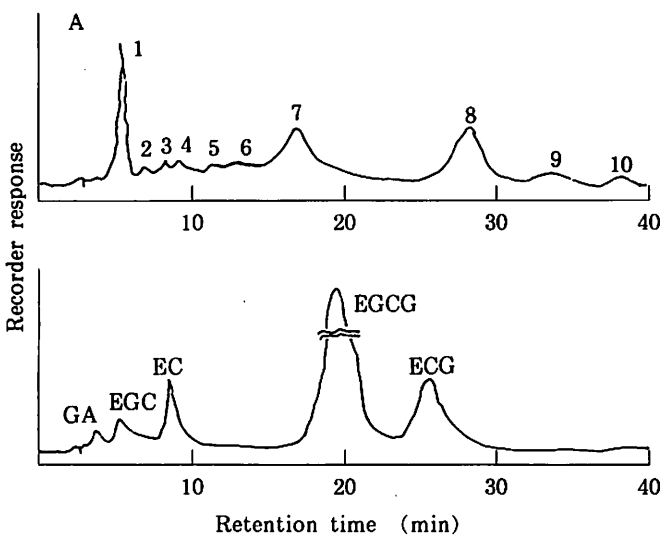


Fig.9. Liquid chromatograms of Mangrove Bark and Green Tea.
Column (0.4×30cm) packing, μ-Bondapak C18 resin;solvent,MeOH-5%AcOH (5:95) ;sample size,10ml (2mg) ;detection,absorbance at 254 nm. A shows components of mangrove bark soluble in ethyl acetate and B shows components of green tea soluble in ethyl acetate (GA,gallic acid;EGC.epigall-ocatechin;EC,epicatechin;EGCG ,epigallocatechin gallate and ECG,epicatechin

ている柿渋は、緑茶やマングローブ樹皮に比べると含有量は少ないが縮合型のポリフェノール（ロイコデルフィニジン－3－グルコシド）を含んでいる（Table. 9）。そこで柿渋ポリフェノー

Table 9. Total polyphenol of *Diospyros kaki* Thunb. and *Kakishibu* (Persimmon tannin).

Sample		Moisture (%)	Total polyphenol* (%)
Diospyros kaki Thunb. (unripe *Kaki*)	1	88.3	1.08
	2	88.6	1.92
	3	88.5	0.48
Kakishibu (persimmon tannin)		96.5	1.75
Green tea		6.0	5.40

Variety 1. "*Hiratanenashi*;"2. "*Hachiya*";3, "*Fuyu*".
*The total polyphenol of *Diospyros kaki* Thunb. and *Kakishibu* showed as epicatechin by Folin-Denis method.

ルは微生物の生育にどのような影響を与えるかを調べる目的で、緑茶の阻害と合わせて検討した。

その結果、柿渋の微生物生育阻害物質は緑茶と異なり高分子であり、各種微生物の生育に対して緑茶以上の阻害を示した。すなわち、Table10に示したように、とくに *Pseudomonus aureofaciens*, *Ps. fluorescens*, *Bacillus coagulans*, *Acetobacter aceti* および *Penicillium chrysogenum* などに対しては少量の柿渋添加で、これらの菌の生育を阻止することがわかった。

さらに、柿渋の阻害性について検討中に、未熟柿を自然発酵させてつくった柿酢中からは数株の柿渋耐性酵母が分離された（Table11）。

当初柿酢の生育について、酵母は柿タンニンの影響を受けにくく、他の雑菌の生育が抑えられているうちに先ずアルコール発酵が進み、生育したアルコールの一部と柿タンニンが結びついてタンニンが不溶性になると、酢酸菌がバトンタッチしてアルコールを酢にするものと予想していた。

しかし、実際に調べてみるとアルコール性酵母は柿タンニンにそれ程に強くなかったことから耐性酵母の存在を知った。

なお、乳酸菌はいずれも柿タンニンの耐性をもっていなかった。

8．ホップの微生物生育阻害作用[24,25,26,27]

次に、古くからビールに爽快な苦味と香りなどを与えるホップ（*Humulus lupulus* L.）中には、α酸、β酸などの樹脂とともに各種のポリフェノールを含んでいる。ホップポリフェノールの構成成分は複雑であるが、ロイコシアニジン、ロイコディルフィニジンなどのアントシアノーゲンと、ルチン、ケルセチンなどのフラボノールを主とし、その他にクロロゲン酸およびクマリン酸系の各種ポリフェノールの在存が明らかにされている（Figll, Table12）。

これまでに、ホップ樹脂の抗菌性についての研究は多いが、ポリフェノールの影響については知られていない。

またホップは、低温で貯蔵してもとくに樹脂が酸化変性を受けやすいが、劣化したホップ抗菌性の変化についての知見も見あたらない。

そこで、著者らは新鮮なホップと劣化したホップとを比較しながら、ホップのポリフェノールが微生物の生育にどのような影響を与えるかを樹脂との関連において解明を行った。

結果は、*Leuc.* P-60によるホップの合成および天然培地での阻害のパターンは、ケルセチンおよびo－クマリン酸に近似していた（Fig12）。

新鮮なホップと劣化したものとの微生物生育に対する阻害を比較すると、ホップの劣化にしたがって乳酸菌の生育阻害性は弱まるが、*Acetobacter aceti*, *A-Xylinum*, *Pseudomonus aureofaciens*, *Ps. fluorescens*, *Escherichia coli*, *Saccharomyces cerevisiae*, *S. carlsbergensis* および *Hansenula* anomala に対しては、逆に阻害性が増した（Table13）。これはホ

Table 10. Inhibition by *Kakishibu* (Persimmon tannin) and Green Tea of the Growth of Microorganisms.

Mecroorganism	Minimum amount for growth inhibition (mg/ml) *			Temperature (℃)	Culture media
	Kakishibu (K)	green tea (GT)	ratio (GT/K)		
Asp.oryzae TUA 076M	1.38	5.40	3.9	30	a
Asp.oryzae TUA 110M	1.10	18.0	16		
Asp.oryzae TUA 112M	0.68	24.0	35		
Asp.niger TUA 068M	2.20	24.0	11		
Asp.niger TUA 105M	3.60	36.0	10		
Asp.meleus TUAQ 109M	0.68	36.0	53		
Asp.sojae TUA 089M	1.65	2.70	1.6		
Pen,chrysogenum TUA 060M	0.27	2.70	10		
Pen.spinosus NAKAGAWA	1.10	10.8	9.8		
Pem.Cyclopium TUA 074M	1.10	10.8	9.8		
Pen.funiclosum TUA 104M	1.10	11.0	10		
M.jansseni TUA 079M	2.20	13.4	6.1		
M.spinosus TUA 061M	1.65	2.70	1.6		
M.spinosus TUA 186M	1.65	2.70	1.6		
M.lamprosporus TUA 194M	1.10	2.70	2.5		
M.hiemalis IFO 8448	0.55	2.70	4.9		
M.psuedolamprosporus TUA 194M	1.10	2.70	2.5		
M.javamicus TUA 081M	2.20	2.70	1.2		
R.delemar TUA 056M	0.68	10.8	16		
R.arrhizas TUA 059M	1.38	20.0	14		
R.niveus TUA 205M	2.75	2.75	1.0		
R.chinensis TUA 088M	1.10	5.30	4.8		
Ab.glauca SANK 31672	2.20	8.10	3.7		
L.mesenteroides P-60	1.40	6.40	4.6	37	b
L.plantarum ATCC 8041	5.50	27.5	5.0	30	
L.plantarum ATCC 8014	3.24	12.0	3.7		
L.arabinosus B.A	3.60	25.0	6.9		
L.brevis TUA 404L	1.26	14.0	11		
L.fermentum TUA 023L	0.90	9.60	11		
L.acidophilus TUA 0021	0.90	6.40	7.1	37	
Sc.faecalis IFO 3128	0.72	4.50	6.3		
B.coagulans IFO 3886	0.41	5.30	13		
A.aceti TUA 390B	0.45	3.40	7.6	30	c
A.xylium TUA 380B	0.54	8.10	15		
Ps.aureofaciens TUA 301B	0.14	4.10	29		
Ps.fluorescens IAM 9903	0.14	0.81	5.8		d
E.coli 215	0.62	1.40	2.3		
K.japonica TUA 082Y	9.80	8.70	0.9		e
S.cerevisiae TUA 465Y	8.10	7.50	0.9		
H.anomala IFO 0138	8.10	7.60	0.9		

Culture media: a,synthetic medium [glucose 4.0%,$KH_2PO_4$0.5%,$MgSO_4$0.25%,$FeCl_3$0.001%, $(NH_4)_2SO_4$1.7%]; b, GYP medium;c,beer medium;d,meat extract peptone medium;e,YM medium.Four-ml portion of inoculated medium were incubated for 72h (mould for 240 h). epicatechin

Table 11 Growth Inhibition by *Kakishibu* of Isolated Yeast and Lactic Acid Bacteria from Fermented Unripe *Kaki*.

Isolates	Minimum amount for growth inhibiteion (mg/ml) *	Culture media
1. Yeast		
F-1	9.80	a
HI-1	8.80	
HI-2	14.5	
HI-3	16.8	
HI-4	20.3	
HA-1	9.8	
S.cerevisiae TUA 465Y	8.80	
2. Lactic Acid Bacteria		
F-1	3.30	b
F-2	3.85	
HI-1	1.40	
HI-2	1.40	
HA-1	4.40	
HA-2	2.80	
L.plantarum ATCC 8041	5.50	

Culture madia:a,YM medium;b,GYP medium. *Four-ml portion of inoculated medium were incubated for 72h. *Kakishibu* variety F, "*Fuyu*",HI, "*Hiratanenashi*",HA, "*Hachiya*"

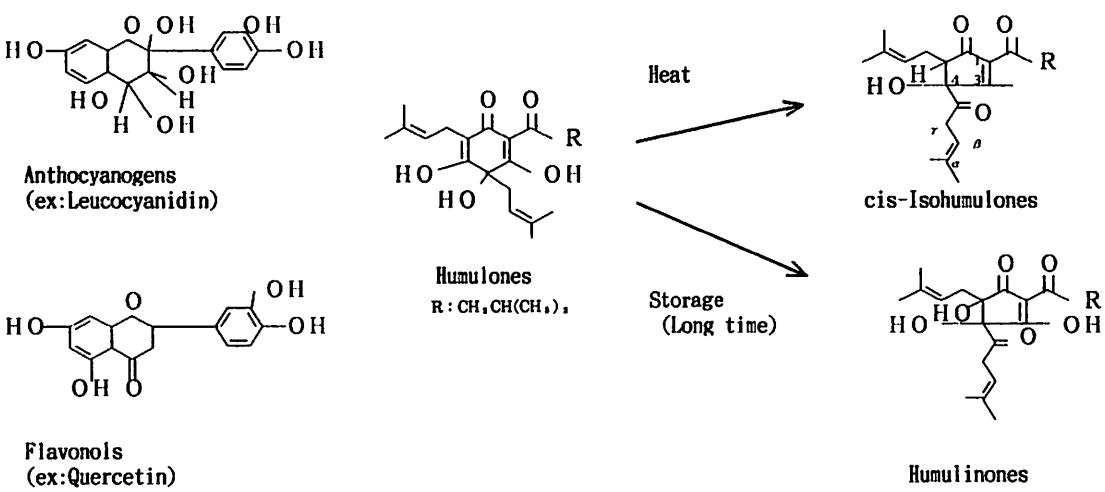


Fig.11 Polyphenols and Isomerized Humulones of *hop*

Table 12. Resins and polyphenols of *Hop (Humulus lupulus L.)* .

*Sample	Water (%)	**HST	α-Acids (%)	β-Acids (%)	***Total Polyphenols (%)
1. Fresh bitter *hop*	7.17	0.14	6.42	5.16	2.93
2. Fresh aromatic *hop*	7.40	0.12	2.67	7.99	3.20
3. Old unknown *hop*	9.02	0.49	0.17	0.98	2.48
4. Oxidized bitter *hop*	7.56	0.18	5.25	4.78	2.93

*variety 1 and 4 "Yakima" (bitter *hop*) ,3. "Hallertau. (aromatic *hop*) **The *hop* storage index (HSI) is expressed as ultraviolet absorbance (A 275/A325) .
***The total polyphenol of *hop* shown as epicatechin by Folin-Denis method.

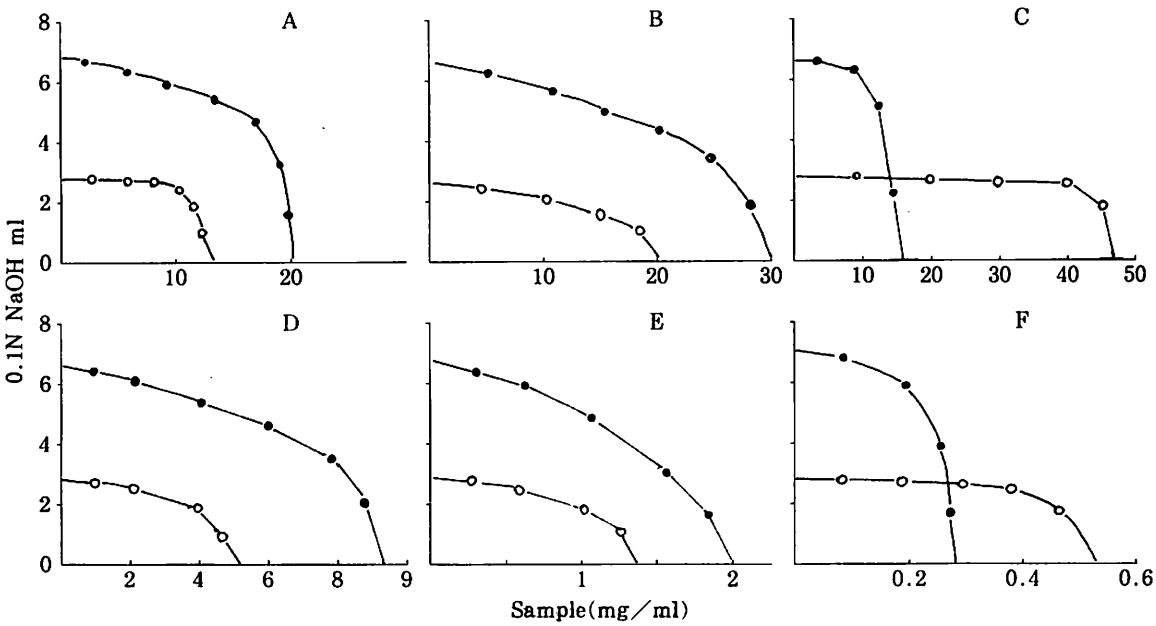


Fig.12. Inhibitory Pattern of *Hop (Humulus lupulus* L.)and Various Inhibitory Substances by Synthetic or Natural medium. . TT medium: -o- GYP medium. A,B,C,D,E and F are fresh bitter *hop*(variety *"Yakima")*,oxidized bitter *hop*,green tea,Quercetin, *o*-Coumaric acid and tannic acid, respectively. Cells of *Leuc*.P-60 cultivated on TT or GYP medium at 37℃ for 24h were inoculated on 4ml TT or GYP medium in 1 drop of suspension(inoculum size 1:100)and cultivated at 37℃ for 72 h. Cell growth is expressed as volume (ml) 0.1 N NaOH solution equivalent to acid formed.

Table 13. Growth Inhibition by Methanol Extracts of *Hop (Humulus lupulus L.)* of Microorganisms.

Microorganism	Minimum amount for growth inhibition (mg/ml)			Temperature	Culture media
	Fresh better *hop*(FBH)	Old unknown *hop*(OUH)	retio (FBH/OUH)		
Leuc.p-60	11.5	22.5	0.5	37	a
L.plantarum ATCC 8041	15.0	50.0	0.3	30	a
L.plantarum ATCC 8014	25.0	55.0	0.5	30	a
L.arabinosus β.A	35.0	67.5	0.5	30	a
L.brevis TUA 404L	22.5	52.5	0.4	30	a
L.farmentum TUA 023L	20.0	70.0	0.3	30	a
L.acidophilus TUA 002L	10.0	32.5	0.3	30	a
Sc.faecalis IFO 3128	3.0	12.5	0.2	37	a
B.coagulans IFO 3886	23.0	12.0	1.9	37	a
A.aceti TUA 390B	335	200	1.7	30	b
A.xylinum TUA 380B	295	23.5	12.6	30	b
Ps.aureofaciens TUA 310B	198	49.0	4.0	37	c
Ps.fluorescens IAM 3903	196	30.0	6.5	37	c
E.coli 215	340	78.8	4.3	37	c
S.carevisiae TUA 465Y	335	40.0	8.4	30	d
H.anomala IFO 0138	340	50.0	6.8	30	d
S.carlsbergensis TUA 132Y	338	49.0	6.9	30	d

Culture media:a,GYP medium;b,beer medium;c,meat extract peptone medium;d,YM medium. Four-ml portion of inoculated medium were incubated for 72h

ップの劣化につれて*Leuc.*P-60では樹脂区分の阻害性が弱まることにあり、一方、*Ps.fluorescens*および*S.cerevisiae*の場合は、ポリフェノール区分の阻害性が増すことに起因することがわかった（Table15）。

9．フェノール関連物質の総合利用と今後の展望

これまで述べてきたように、緑茶、マングローブ樹皮、柿渋およびホップの微生物生育阻害作用からみて、これらの各抽出液はいずれも抗菌性がある。したがって植物フェノール関連物質は、食品の腐敗防止に役立つと思われるが実際は充分ではない。

その理由として、第1は褐変の問題である。

例えばポリフェノール含量が20数%とかなり多いマングローブ樹皮の褐変ははげしい。酸敗防止のためにこれを添加してつくられる赤褐色のやし酒は、この色に慣れている熱帯域の人以外には利用されにくいように思う。

現在、少量のフェノール関連物質を含む加工食品の変色防止には、機構に応じて還元性をもつアミノ酸のシスティン、アスコルビン酸、キレート剤などが有効として利用されているが、濃い褐変には不充分である。

第2は味の問題である。フェノール関連物質には特有の渋味や苦味などがある。そのため、これらを保存料としてのみ用いるとすれば、限定され

Table 14. Growth Inhibition of *Leuc*.P-60 under Addition of Ether Extracts of Fresh or Oxidized *Hop*.

Sample (mg/ml)		Ether extracts: Soluble parts in n-hexane	Ether extracts: Insoluble parts in n-hexane	Ether extracts: Mixture of soluble and insoluble parts in n-hexane	Ether residue 70% alcohol extracts	Mixture of ether extracts and residue
Fresh bitter *hop* (*Yakima*)	0	3.05	3.04	3.05	3.05	3.05
	10	1.70	2.90	1.05	2.12	1.60
	20	no growth	2.85	no growth	1.50	no growth
	30		2.75		1.45	
	40		2.70		1.25	
	50		2.70		no growth	
	60		2.70			
Oxidized better *hop* (*Yakima*)	0	3.04	3.05	3.03	3.05	3.05
	10	2.10	2.80	1.95	2.40	2.20
	20	1.10	2.70	1.22	2.25	1.70
	30	no growth	2.61	no growth	1.15	no growth
	40		2.42		no growth	
	50		2.34			
	60		2.30			
Old unknown *hop*	0	3.04	3.04	3.04	3.04	3.02
	10	2.02	2.50	2.40	1.60	1.90
	20	1.95	2.45	2.20	1.10	1.60
	30	1.70	2.40	2.10		1.10
	40	1.05	2.38	1.80	no growth	no growth
	50	no growth	2.20	1.75		
	60		2.10	1.70		

Cells cultivated on GYP medium at 37℃ for 24th were inoculated on 4ml GYP medium in 1 drop of suspension (inoculum size 1.100) and incubated at 37℃ for 72h. Cell growth on the GYP medium (4ml) was expressed in volume (ml) of 0.1N NaOH solution equivalent to acid formed.

た食品だけになるであろう。

しかしながら、フェノール関連物質は植物中にあっては、少ない濃度でさほどの抗菌力でなくても、菌の侵入と生育を遅らせる保護的な役割を果たしていると思われる。

先に、乳酸菌のうちLys型のペプチドグリカンを持つものは、緑茶ポリフェノールの生育阻害を受けやすいが、DAP型の乳酸菌は阻害を受けにくかった。

また、酢酸菌は緑茶ポリフェノールの影響は受けにくいが、少量のマングローブ樹皮で阻止された。

そこで、フェノール関連物質はうまく使うことによって微生物を選択的に分離したり、その生育を制御することができるだろう。

次に、フェノール関連物質は酸化防止性を有するところから、油脂、バター、魚介乾製品などにジブチルヒドロキシアニソール（BHA）に代わる食品添加物として没食子酸エステル類が用いられている。

また、一般にフェノールカルボン酸エステルは重味のある砂糖様香気を有するものが多いことか

Table 15. Growth Inhibition of *Sc.cerevisiae* under Addition of Ether Extracts of Fresh or Oxidized *Hop*.

Sample (mh/ml)	Fresh bitter *hop*			Oxidized bitter *hop*			Old unknown hop		
	Ether extracts	Ether residue	Mexture of ether extracts and residue	Ether extracts	Ether residue	Mixture of ether extracts and residue	Ether extracts	Ether residue	Mixture of ether extracts and residue
0	+	+	+	+	+	+	+	+	+
40	+	+	+	+	+	+	+	+	+
60	+	+	+	+	+	+	+	+	+
80	+	+	+	+	+	+	+	−	−
100	+	+	+	+	+	+	+	−	−
200	+	+	+	+	+	+	+	−	−
300	+	+	+	+	+	+	+	−	−
350	+	+	+	+	−	−	+	−	−

Cells cultivated on YM medium at 37℃ for 24h were inoculated on 4ml YM medium in 1 drop of suspension(inoculum size 1:100) and inoculated at 37℃ for 72h. Cell growth on the meat extract peptone medium(4ml) was expressed in phenol index.

ら、食品の芳香成分として重要な役割りを果たしていることも、すでに触れた。

さらに考えられることとしては、フェノール関連物質耐性菌の分離と利用がある。

フェノール関連物質が原因で起こる発酵阻害は、原因物質の除去よりもむしろ耐性菌を用いることで防げるものと思われる。

以上のような観点から、植物中のフェノール関連物質は、(1)抗菌性成分、(2)選択培地、(3)香り成分、(4)酸化防止成分、(5)耐性菌の分離・活用など、食品工業において総合的に利用することが望まれる。さらに、個々のフェノール関連物質の効果をより有効にするために、相剰的な効果の検討も必要と考えられる。

引 用 文 献

1) Singleton V.L.& Esau: Phenolic Substances in Grapes and Wine,and their Significance,1969 , Academic Press.

2) 小柳達男：調理化学 P.214、共立出版 (1971)

3) 横塚 保：農化、41, 434 (1970)

4) Ito,s.,Oshima,Y,:Agr,Biol,chem,26,156 (1962)

5) Weinges,K,:Ber,94,3022 (1961)

6) Ghoch,D.et al :C.A.58.7054 (1962) Bull.Central Leather Res,Inst,Madras (India) 9,55-9 (1962)

7) 中村敏郎、木村進、加藤博道：食品の変色とその化学、P.35、光琳書院 (1972)

8) Schmidt,O.Th,et al,:Ann.576,67 (1952)

9) Schmidt.O.Th,et al.:Ann,569,149 (1950) :571,232 (1951)

10) Okuda,t.,Yoshida,T.,Nayeshiro,H.:Chem. Pharm.Bull. 25,1862 (1977)

11) 梶本五郎：食品工、10.365 (1963)

12) 岡田文雄、古谷弘三：茶技研報、42,39 (1971)

13) 西山隆造、小崎道雄：農化、48,83 (1974)

14) 西山隆造、小崎道雄：農化、49,12 (1975)

15) 西山隆造、食品工、10,12 (1963)

16) 西山隆造、小崎道雄：農化、52.599 (1978)

17) Schleifer,K,H.& Kandler,O.:Bacteriol,Rev, 36,407 (1972)
18) 西山隆造、東京農業大学博士論文 (1978)
19) Okada,S.Suzuki,Y.& Kozaki,M.:J,Gen Appl.Microbiol.,25,215 (1979)
20) 西山隆造、小崎道雄：醗酵工、56,6,712 (1978)
21) 大島康義、合馬輝夫：農化、9.948 (1933)
22) 西山隆造、小崎道雄：醗酵工,62,1,9 (1984)
23) 西山隆造、小崎道雄：日本農芸化学大会講演要旨集 P.223 (1982)
24) Shimwell,J.L.:J,Inst,Brew.,43,111 (1937)
25) Hough.J.S.:J,Inst.Brew.63,331 (1957)
26) 西山隆造、小崎道雄：日本醗酵工学会大会講演要旨集 P.11 (1985)
27) 西山隆造、小崎道雄：防菌防徴.19,5,217 (1991)