

スポンジケーキ中のバニリンの抗菌性について

Antimicrobial Property of Vanillin in the Spongecake

藤田 賞子*
(Takako Fujita)梅谷有紀子*
(Yukiko Umetani)吉川 光一*
(Koichi Yoshikawa)

The antimicrobial property of vanillin added to spongecakes at the concentration ranging from 100 to 1,000ppm was investigated.

The test organisms used in this study were *Aspergillus niger*, *Aspergillus oryzae*, *Penicillium citrinum*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces delbrueckii* and *Bacillus subtilis*.

Incubation of the inoculated samples was put at three different water activities (0.95, 0.90 and 0.87).

The growth of molds was visually estimated. Yeasts were counted their cell numbers by microscope. The growth of *Bacillus* was determined by the agar plate dilution method.

The results indicated that antimicrobial effect of vanillin increased with increase in the concentration of vanillin in the cakes, and also the effect was enhanced markedly with decrease of water activity. The sensitivity of molds against vanillin was in the order of *A. oryzae*, *A. niger* and *P. citrinum*.

Its practical use as preservative for spongecake was not suitable, because the amount of vanillin in spongecake is usually about 200ppm and does not inhibit growth of the test organisms.

1. 緒言

古くから種々の香辛料に防腐効果があることが、よく知られていたが、それらの静菌・殺菌作用について定量的な研究が行われたのは本世紀に入ってからのものである¹⁻⁴⁾。香辛料の微生物に対する研究は1930年代に合成殺菌剤や微生物の生産する抗生物質など、驚異的な効果をもった薬剤の出現により一時中断したかのようにみえたが、近年これらの薬物の副作用などから、香辛料の抗菌性が再び評価しなおされるようになり、最近これらに関する研究報告が、かなり見られるようになってきた⁵⁻¹¹⁾。

このように香辛料の抗菌性について多くの研究があるが、実際に調理を行った食品中の香辛料の抗菌性については、食パンの保存にからしとわさびを用いたカビの抑制効果およびスープ中でのセージや他の香辛料の抗菌性についての報告¹²⁻¹⁴⁾ などであまり見られないようであ

る。

私達は調理食品中に含まれている香辛料が実際に抗菌性を有するか否かについて洋菓子やアイスクリームなどの着香料としてよく用いられているバニリンをとりあげ、数種の微生物を対象として水分活性の異なった環境でその有効性について検討を行うことにした。

始めにスポンジケーキを用いておこなった実験結果について報告する。

2. 方法ならびに材料

1) スポンジケーキの調製法

卵150g、ショ糖100g、および小麦粉75gでスポンジケーキの生地を作り、その生地各50gにバニリン(キシダ化学製、試薬特級)の最終濃度が100~1,000ppmになるよう表1に示す組成のバニリン水溶液をスポンジケーキの生地に加えてよく混和した(1,000ppm添加の材料ではプロピレングリコール濃度が0.2%となるがカップ法での試験の結果抗菌性がないことを認めている。)

* 大阪樟蔭女子大学

表 1. 5種のバニリン水溶液 (10 ml) の組成およびスポンジケーキの添加量 (ml)

バニリン量 (g)	プロピレングリコール (ml)	ケーキへの添加量 (ml)	ケーキ中のバニリンの最終濃度 (ppm)
0.10	0.2	0.5	100
0.10	0.2	1.0	200
0.15	0.3	1.0	300
0.25	0.5	1.0	500
0.50	1.0	1.0	1000

2) 使用菌種および菌の接種

カビとして *Aspergillus oryzae* (米こうじより分離したもの), *Aspergillus niger* (IFO 4414), *Penicillium citrinum* (IFO 4631) を, 酵母として *Saccharomyces cerevisiae* (IFO 0213), *Saccharomyces delbrueckii* (IFO 0421) を, 細菌として *Bacillus subtilis* (IFO 3013) をオープンで焼いたスポンジケーキの表面に接種し, 保存環境の水分活性をそれぞれ 0.87, 0.90 および 0.95 と変化させた条件でカビ・酵母の接種試料では 27°C, 細菌では 35°C で一定期間放置しそれぞれの菌の発育状態を観察してバニリンの効果をしらべた。前記の被験菌 *A. oryzae* 以外はすべて財団法人醸酵研究所より分譲を受けたものである。被験菌としてのカビ類はポテトデキストロース斜面培地に胞子を接種して 27°C で 6 日間培養し生成した胞子を, 酵母はポテトデキストロース斜面培地で 6 日間培養したものを用いた。 *B. subtilis* は普通寒天培地で 3 日間培養したものを用いた。

べつに参照のためバニリンの抗菌力試験をカップ法により測定を行った¹⁵⁾。

試料へのカビ・酵母および細菌類の接種は無菌生理食塩水 10 ml に胞子または菌体を 1 白金耳懸濁させ, よく混和したものを無菌ピペットで 0.5 ml とりガラス製コンラージ棒を用いて試料の表面に接種した。

胞子および生菌数は混釈平板法によりその数を測定した。培養は種々の濃度の塩化ナトリウム水溶液で水分活性を調整した大型デシケータ内に試料を入れて前述の温度条件下で 7 日間恒温培養器内で放置し菌の発育状況をケーキの表面積 (22 cm²) をもとにして測定をした。

水分活性の測定は水分活性測定器 (西ドイツ, ルフト社製) で行った。

それぞれの被験菌の発育の測定はカビは肉眼的に, 酵母は一定培養期間後, 試料の表面をけずりと, 生理食塩水で 100 ml としたものをもよく混和したのち, トーマ血球計算器で菌数を求めた。細菌は混釈平板法で菌数を測定した。

3) 吸収スペクトルの測定

スポンジケーキ中のバニリンの濃度を確認するために紫外外部吸収スペクトルによる測定を行った。種々の濃度のバニリンを含有したスポンジケーキの生地を作り, それぞれの生地を 2 等分し, 焼かないものはその一部を, 焼いたものは表面部および中心部分を試料としそれらを約 2g 精秤した後 200 ml のイソプロピルアルコールで乳鉢中で充分混和して抽出し濾過後一定容とした濾液について吸収スペクトルを測定した。

3. 結果ならびに考察

1) バニリンの変化

焼いた後, 試料中のバニリンの変化を紫外外部吸収スペクトルにより測定した結果を示す。

図 1 はバニリンそのものの吸収スペクトルで 233 nm に明確な吸収の極大が見られ, 別に 282 と 312 nm に吸収の山が見られる。

図 2 は 233, 282 および 312 nm でのバニリンの検量線を示したものである。

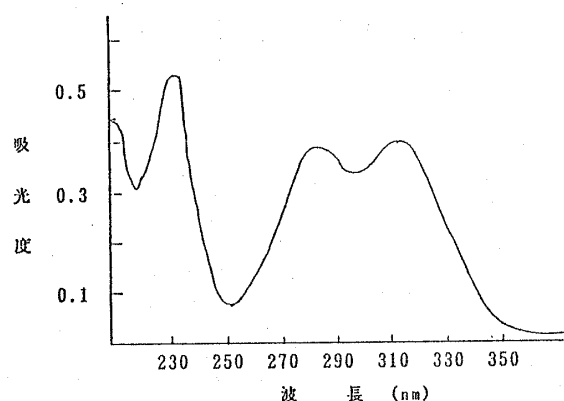


図 1. バニリンの紫外外部吸収スペクトル (5 ppm)

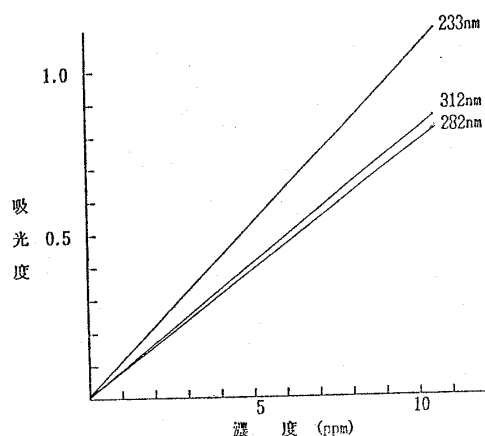


図 2. バニリンの検量線

スポンジケーキ中のバニリンの抗菌性について

図3は焼く前の生地中のバニリン量を見たもの、図4は焼いたものの吸収スペクトルを示したものである。定量には233nmの波長で行うのがよいが、試料の吸収スペクトルからもわかるように、生地自体の吸収が影響するので312nmで比較することにした。また加熱による紫外部での吸収の変化もあまり見られなかった。生地からの溶媒による抽出率は約95%以上で、これらの結果から加熱によるバニリンの損失は約2%程度で、この値は抗菌力試験に大きな影響を与えないものと考えられる。

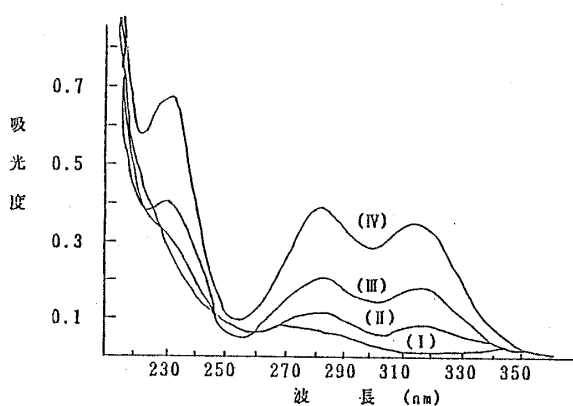


図3. 焼く前の生地のバニリンの吸収スペクトル
(100倍希釈)

(I): 0 (II): 100 (III): 300 (IV): 500 (ppm)

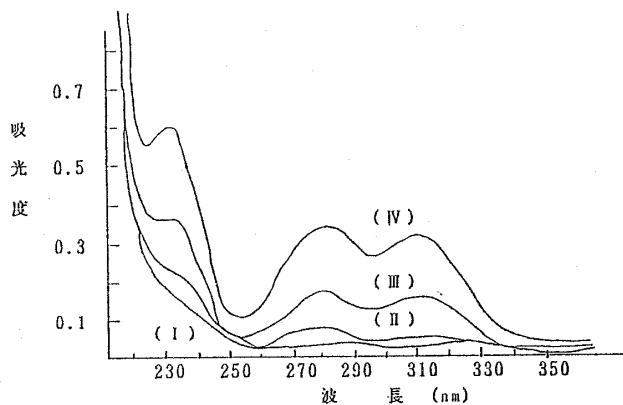


図4. 焼いたスポンジケーキ中のバニリンの吸収スペクトル
(100倍希釈)

(I): 0 (II): 100 (III): 300 (IV): 500 (ppm)

2) 試料の水分活性

調整した試料と市販のスポンジケーキの水分活性値(Aw)を知るため水分活性測定器で測定した値を表2に示す。

これら製品のAwは0.89~0.92と差のあることが認められた。

3) カップ法によるバニリンの抗菌力試験

バニリンの抗菌力について種々の被験菌について報告されているが、本実験に使用した菌種によるバニリンの

表2. 手作りとし販スポンジケーキの水分活性(Aw)

手 作 り	0.89	0.90
A 店	0.89	0.90
B 店	0.90	0.91
C 店	0.92	0.92

表3. カップ法による抗菌力試験(mm)

菌種 濃度 (ppm)	<i>A.ory</i>	<i>A.nig</i>	<i>P.cit</i>	<i>S.cer</i>	<i>S.delb</i>	<i>B.sub</i>
0	9.0	9.0	8.0	9.0	8.0	9.0
50	10.0	11.0	11.0	14.0	13.0	10.0
100	11.0	14.0	14.0	14.0	18.0	11.0
200	12.0	15.0	16.0	16.0	19.0	13.0
500	14.0	20.0	18.0	19.0	21.0	14.0
1000	16.0	24.0	20.0	24.0	25.0	16.0

抗菌性を確認するためカップ法による抗菌力試験を行った。

表3は6種の菌種の阻止円の径を示す。細菌・カビに比べて酵母に対する作用がわずかながら大きいようであった。

4) スポンジケーキでの抗菌性

i) *A. oryzae* を接種したスポンジケーキのAwを0.95, 0.90および0.87と変化させた時の発育状況を表4, 5及び6に示す。

菌の発育は5日頃から観察され水分活性が低くなるに従って菌の発育が遅れる傾向で、0.87では500ppm以上で観察期間の8日めまで発育が認められなかった。

ii) *A. niger* を接種したスポンジケーキのAwを変化させた時の発育状況を表7, 8および9に示す。

表に見る如く菌の発育は3日めから見られ、先の*A. oryzae*と同様水分活性が低下するに従って菌の発育が遅くなるようであった。

表4. 水分活性0.95の時のバニリンの発育抑制効果

<i>A. oryzae</i>						
day \ Vanillin (ppm)	0	100	200	300	500	1000
0	—	—	—	—	—	—
4	—	—	—	—	—	—
5	+	+	+	+	+	+
6	++	+	+	+	+	+
7	+++	+++	+++	+++	+++	+++
8	+++	+++	+++	+++	+++	+++

—: 発育せず +: 一部発育 ++: 部分的発育 +++: 全体的に発育

表 5. 水分活性 0.90 の時のバニリンの発育抑制効果

<i>A. oryzae</i>						
day \ Vanillin (ppm)	0	100	200	300	500	1000
0 5 4	—	—	—	—	—	—
5	+	+	+	—	—	—
6	+	+	+	+	—	—
7	+	+	+	+	+	+
8	+++	+++	++	+	+	+

—: 発育せず +: 一部発育 ++: 部分的発育 +++: 全体的に発育

表 6. 水分活性 0.87 の時のバニリンの発育抑制効果

<i>A. oryzae</i>						
day \ Vanillin (ppm)	0	100	200	300	500	1000
0 5 4	—	—	—	—	—	—
5	—	—	—	—	—	—
6	+	—	—	—	—	—
7	+	+	+	—	—	—
8	++	+	+	+	—	—

—: 発育せず +: 一部発育 ++: 部分的発育 +++: 全体的に発育

表 7. 水分活性 0.95 の時のバニリンの発育抑制効果

<i>A. niger</i>						
day \ Vanillin (ppm)	0	100	200	300	500	1000
0 5 2	—	—	—	—	—	—
3	+	+	+	+	—	—
4	++	+	+	+	—	—
5	++	++	+	++	+	—
6	+++	++	++	++	+	+
7	+++	++	++	+++	+	+

—: 発育せず +: 一部発育 ++: 部分的発育 +++: 全体的に発育

表 8. 水分活性 0.90 の時のバニリンの発育抑制効果

<i>A. niger</i>						
day \ Vanillin (ppm)	0	100	200	300	500	1000
0 5 2	—	—	—	—	—	—
3	+	+	—	—	—	—
4	+	+	+	+	—	—
5	++	+	+	+	+	—
6	+++	++	+	++	+	+
7	+++	+++	+	++	+	+

—: 発育せず +: 一部発育 ++: 部分的発育 +++: 全体的に発育

表 9. 水分活性 0.87 の時のバニリンの発育抑制効果

<i>A. niger</i>						
day \ Vanillin (ppm)	0	100	200	300	500	1000
0 5 2	—	—	—	—	—	—
3	+	+	—	—	—	—
4	+	+	+	—	—	—
5	+	+	+	+	—	—
6	+	+	+	+	—	—
7	+	+	+	+	+	—

—: 発育せず +: 一部発育 ++: 部分的発育 +++: 全体的に発育

iii) 表 10, 11 および 12 に *P. citrinum* の発育状況を示す。

大部分の試料で 4 日めから菌の発育が見られ, Aw が 0.87 で 500 と 1,000 ppm 添加したものでも 5 日めから発育が観察された。この菌種は前 2 者のカビに比べてバニリンに対する感受性が低いようであった。

iv) 酵母菌として *S. cerevisiae* の Aw の異なった条件でのスポンジケーキ上の発育状況を表 13, 14 および 15 に示す。

表 10. 水分活性 0.95 の時のバニリンの発育抑制効果

<i>P. citrinum</i>						
day \ Vanillin (ppm)	0	100	200	300	500	1000
0 5 3	—	—	—	—	—	—
4	+	+	+	+	+	+
5	++	+	+	+	+	+
6	+++	++	++	++	+	++
7	+++	++	+++	+++	++	+++

—: 発育せず +: 一部発育 ++: 部分的発育 +++: 全体的に発育

表 11. 水分活性 0.90 の時のバニリンの発育抑制効果

<i>P. citrinum</i>						
day \ Vanillin (ppm)	0	100	200	300	500	1000
0 5 3	—	—	—	—	—	—
4	+	+	+	+	+	+
5	++	++	+	+	+	+
6	+++	++	++	++	++	++
7	+++	+++	+++	+++	++	+++

—: 発育せず +: 一部発育 ++: 部分的発育 +++: 全体的に発育

スポンジケーキ中のバニリンの抗菌性について

表 12. 水分活性 0.87 の時のバニリンの発育抑制効果

<i>P. citrinum</i>						
day \ Vanillin (ppm)	0	100	200	300	500	1000
0	—	—	—	—	—	—
3	—	—	—	—	—	—
4	+	+	+	+	—	—
5	+	+	+	+	+	+
6	++	++	+	+	+	+
7	++	+++	++	++	++	+

—: 発育せず +: 一部発育 ++: 部分的発育 +++: 全体的に発育

表 13. 水分活性 0.95 の時のバニリンの発育抑制効果

<i>S. cerevisiae</i> ×10 ⁶ ※						
day \ Vanillin (ppm)	0	100	200	300	500	1000
0	2.60	2.59	2.59	2.60	2.59	2.60
1	4.47	3.98	3.25	3.13	2.89	2.60
2	7.64	6.58	5.82	5.34	4.72	4.32
3	9.20	7.25	6.32	5.81	5.14	4.40

※ 菌数

表 14. 水分活性 0.90 の時のバニリンの発育抑制効果

<i>S. cerevisiae</i> ×10 ⁶ ※						
day \ Vanillin (ppm)	0	100	200	300	500	1000
0	2.60	2.59	2.60	2.60	2.59	2.60
1	4.43	4.16	3.18	3.11	2.70	2.60
2	7.52	7.15	5.09	4.83	3.48	3.32
3	9.05	8.32	5.87	5.26	3.72	3.51

※ 菌数

表 15. 水分活性 0.87 の時のバニリンの発育抑制効果

<i>S. cerevisiae</i> ×10 ⁶ ※						
day \ Vanillin (ppm)	0	100	200	300	500	1000
0	2.60	2.59	2.59	2.60	2.60	2.60
1	4.45	3.88	3.11	3.12	2.69	2.60
2	7.54	5.05	4.36	4.45	2.95	2.81
3	8.95	5.92	5.42	5.18	3.62	2.97

※ 菌数

約 2.60×10^6 個を接種した試料で、 A_w が 0.90 ではバニリン無添加のもので 3 日めで約 3 倍以上に繁殖した。添加量が増加するに従って菌数は低下し、1,000 ppm では無添加のものに比べて約 1/2 程度であった。 A_w が 0.90, 0.87 と低下するに従って発育が抑制されていくことが認められた。

v) *S. delbrueckii* の発育状況を表 16, 17 および 18 に示す。

先の *S. cerevisiae* と同様な発育経過が見られ A_w の低下とバニリンの添加の併用は、この菌の増殖防止に有効である。

表 16. 水分活性 0.95 の時のバニリンの発育抑制効果

<i>S. delbrueckii</i> ×10 ⁶ ※						
day \ Vanillin (ppm)	0	100	200	300	500	1000
0	1.50	1.51	1.51	1.50	1.50	1.50
1	3.85	2.87	2.42	2.75	2.25	1.50
2	7.29	4.52	3.94	3.69	3.40	3.14
3	8.21	5.16	4.51	4.28	3.88	3.62

※ 菌数

表 17. 水分活性 0.90 の時のバニリンの発育抑制効果

<i>S. delbrueckii</i> ×10 ⁶ ※						
day \ Vanillin (ppm)	0	100	200	300	500	1000
0	1.50	1.50	1.50	1.51	1.50	1.50
1	2.91	2.79	2.75	2.03	1.76	1.50
2	4.75	3.84	3.51	3.28	2.43	1.94
3	5.15	4.33	4.10	3.62	2.72	2.14

※ 菌数

表 18. 水分活性 0.87 の時のバニリンの発育抑制効果

<i>S. delbrueckii</i> ×10 ⁶ ※						
day \ Vanillin (ppm)	0	100	200	300	500	1000
0	1.50	1.51	1.50	1.50	1.51	1.50
1	2.19	2.14	2.10	1.89	1.67	1.50
2	3.54	3.45	2.74	2.36	2.66	1.87
3	3.97	3.82	3.55	3.24	2.81	2.19

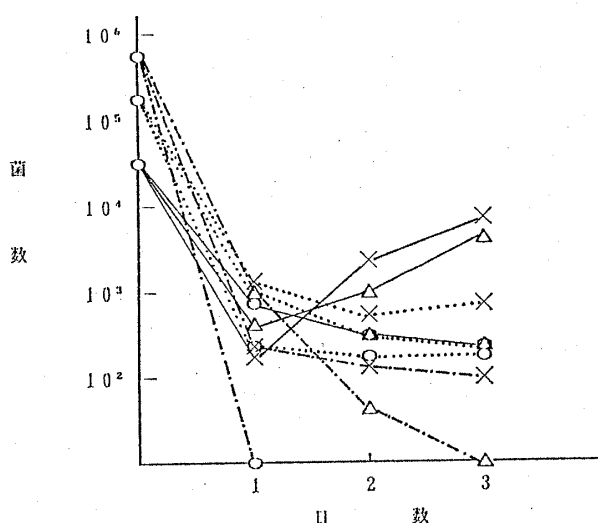
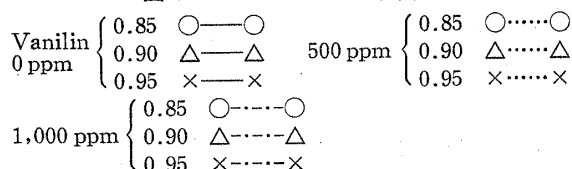
※ 菌数

vi) 細菌の一種である *B. subtilis* の発育状況を図 5 に示す。

図に見る如く無添加の試料では菌数が 1 日めに急激に低下し、2 日めになって A_w が 0.90 以上では再び増加していくことが見られた。 A_w が 0.85 と低いものでは減少する傾向が見られた。500 ppm, 1,000 ppm と添加した試料では 1 日めで急激に低下するのは無添加のものと同じであったがその後いずれの試料においても菌数は減少の傾向を示した。

特に 1,000 ppm 添加したものでは A_w が 0.85 で 1 日めに、0.90 では 3 日めにほぼ生菌数が 0 になった。

以上 3 種のカビ, 2 種の酵母, 1 種の細菌を用いて種

図 5. *B. subtilis* の生育曲線

々の濃度のバニリンを添加し、 A_w を変化させた環境条件下でスポンジケーキの表面での発育状況を観察した。

被験菌の種類によってバニリンに対する感受性は異なったが、いずれも添加濃度が高くなるに従って静菌効果が見られたが、細菌の例で明瞭に見られるように A_w がバニリンの効果に大きく関与していることが認められた。

通常ケーキ類には 200 ppm 程度添加されているが、この程度の濃度では静菌性はほとんど期待できないものと考えられる。500 ppm 以上となれば嗜好性からみて到底食べられたものではなく、実用性はないと考えられる。

4. 総括

実際に調理された食品中の香辛料の抗菌性についてスポンジケーキ中のバニリンを最初にとりあげ検討を行った。被験菌としてカビ・酵母および細菌を用い、水分活性を変化させた時の環境条件下でスポンジケーキ上での発育状況を観察した。それぞれの被験菌によりバニリン

に対する感受性は異なるが、いずれもバニリンの添加量が増加するに従って試験したカビおよび酵母では静菌的に、細菌では濃度の増加に従って静菌的から殺菌的に移行する傾向がみられた。これらの抗菌性は A_w が低い環境下で強くなるようであった。しかしバニリンの着香料としての使用量は約 200 ppm で、これ以上の濃度では食品としての価値が低下するため、実際的には抗菌力は期待できないものと考えられる。

終わりに本実験の初期に協力された本学元研究室員の、岡田 昌、澤 照子の両氏に感謝いたします。

文 献

- 1) 神田豊輝, 山本忠敬, 斉藤 浩: 食品工業, 2 下, 73 (1971)
- 2) 斉藤 浩, 木村雄吉, 鈴木克正: 食の科学, 13 号, 69 (1973)
- 3) Shelef, L. A.: *J. Food Safety*, 6, 29 (1983)
- 4) 岡村 博: 香料, 108, 9 (1974)
- 5) 星野伸一: *New Food Ind.*, 19, 19 (1977)
- 6) Janssene, A. M., Schaffer, J. J. C. and Baerheim Svendssen, A.: *Planta Med.*, 53, 395 (1987)
- 7) Singh, A. K., Dikshit, A., Sharma, M. L. and S. N. Dixit, S. N.: *Economic Botany*, 34, 186 (1980)
- 8) Kurita, N., Miyaji, M., Kurane, R. and Takahara, Y.: *Agric. Biol. Chem.*, 45, 954 (1981)
- 9) 上田成子, 山下晴美, 中島真理子, 桑原祥吉: 日食工誌, 29, 111 (1982)
- 10) 宮本悌次郎: 防菌防霉, 14, 517 (1986)
- 11) 吉川真央, 三原 智: *J. Soc. Cosmet. Chem. Japan*, 21, 104 (1987)
- 12) 吉田静代: 金城学院論集, 17, 87 (1977)
- 13) Shelef, L. A., Jyothi, E. K. and Bulgarelli, M. A.: *J. Food Sci.*, 49, 737 (1984)
- 14) 宮本悌次郎, 山崎医美, 松田生恵, 山本由喜子: 調理科学, 21, 274 (1988)
- 15) 梅沢純夫: 抗菌性物質, 培風館, 192 (1954)