

蓼藍成分の抗菌性検証

バイオサイエンス科課題研究微生物専攻

工藤 連 斎藤 潤 木村 駿介 勝本 萌 松永 淳志 押井 嶺真 大石 高久 瓶子 望光
逢坂 絢菜 大野 くるみ 岡崎 宏哉 北原 鼓也 田崎 裕大 加瀬 啓喜 田原 勇輔

はじめに：

昨年度から2年間、藍生葉染めのプロである桑田芳治先生(前神戸芸術工科大学特任教授)の指導のもと蓼藍栽培から絹染色、紫染色、インジカン分解酵素探索、セリシン効果による絹代替染色などについて学び多くの体験をすることができた。最後の課題として蓼藍の抗菌性をとりあげた。古くから藍で染めた布は、肌荒れなどの健康効果や、防虫、抗菌効果が認められ利用してきた歴史がある。以下、蓼藍の抗菌性を検証するにあたって、抗細菌、抗カビ試験を試みた。その結果を報告する。



材料と試料作成：

材料はバイオ科圃場で育てた蓼藍生葉(図1)を夏場に十分常温乾燥し、ミニブレンダーで3分間粉砕(図2)。染料に使用されるインジゴはインド藍粉末でインジゴピュアは合成品顆粒(図3)を使用した。



図1 蓼藍栽培 図2 粉体化 図3 インジゴとインジゴピュア

蓼藍乾燥葉抽出成分作成は粉体2gをエタノール20mlと混合し振とう抽出した(図4)。比較対照としてインジゴ、インジゴピュアは10% (g/ml)濃度の懸濁液を調製した。コントロールはエタノールを使用した。

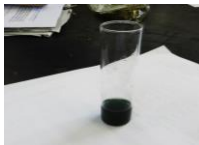


図4 抽出液

抗細菌活性試験：

検定菌：コクリア菌 (*Kocuria rizophilia* NBRC12708) 図5参照 (検出感度が良好で使用頻度が高い)

培養培地：ミューラーヒントン寒天培地

寒天平板拡散法

試料はA(蓼藍エタノール抽出液)、B(インジゴ染料懸濁液)、C(インジゴピュア懸濁液)、図5コクリア菌細胞D(エタノール)をコントロールとして比較した。

ミューラーヒントン寒天培地に検定菌を塗抹した後、ストローを用いた直径5mmの穿孔に試料を30μl添加し35℃で48時間培養した。

結果 図6の阻止円の大きさを測定し表1に纏めた。



図6 蓼藍抽出液抗菌活性試験
上部：A 左部：B 下部：C 右部：D

検定菌	試料	阻止円直径 (mm)
コクリア菌	A 蓼藍抽出液	20
	B インジゴ	16
	C インジゴピュア	20
	D エタノール	0

考察と結論：

蓼藍抽出エキスは、コクリア菌に対して高い抗菌活性を有した。他の多くの細菌の活性試験が急がれる。天然染料インジゴ、合成染料インジゴピュアも同様に高活性であった。大学の研究室では藍植物の抗菌物質をトリプタンスリンと同一インジゴと共通する化学構造を確認したことを報告している。抗カビ作用については、麴カビに効果がなく、青カビに一定の効果がみられた。多種類のカビに対する抗菌性を検証することが求められる。

抗真菌活性試験：

検定菌：麴カビ (*Aspergillus oryzae* 国際標準株) 図7参照



図7 麴カビ細胞

青カビ (*Penicillium chrysogenum* NBRC32030) 図8参照

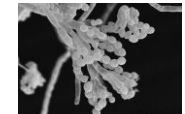


図8 青カビ細胞

培養培地：PDA 寒天培地

試料：コントロールである10mM酢酸バッファをAとし、蓼藍抽出液(粉末1gに10mM酢酸バッファ10mlで振とう抽出)をB、インジゴ懸濁液(0.1g/10ml)をC、インジゴピュア懸濁液(0.1g/10ml)をDとした。

生菌数測定法 (カビ培養液+試料=反応前後の生菌数を測定)

カビ培養液は10³倍に希釈しテトラサイクリン(0.1g/ml)含有のPDA培地に塗抹、30℃、48時間培養し、生育コロニーをカウントし生菌数(cfu/ml)を求めた。

結果1 麴カビに対する各試料(10³倍に希釈液)のコロニー数(図9)から生菌数を測定し表2に纏めた。

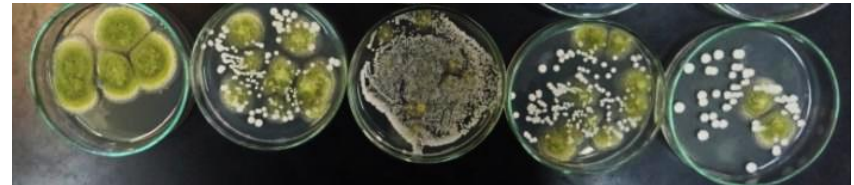


図9 蓼藍などの抗麴カビ作用検証(希釈倍率10³)

シャレ左からコントロール(前)、コントロール(後)、蓼藍、インジゴ、インジゴピュア

表2 蓼藍などの抗麴カビ作用検証(希釈倍率10³)

試料	コントロール(前)	コントロール(後)	蓼藍	インジゴ	インジゴピュア
コロニー数	5	9	15	9	2
生菌数	5×10 ³	9×10 ³	1.5×10 ⁴	9×10 ³	2×10 ³

結果2 青カビに対する各試料(10⁴倍に希釈液)のコロニー数(図10)から生菌数を測定し表3に纏めた。

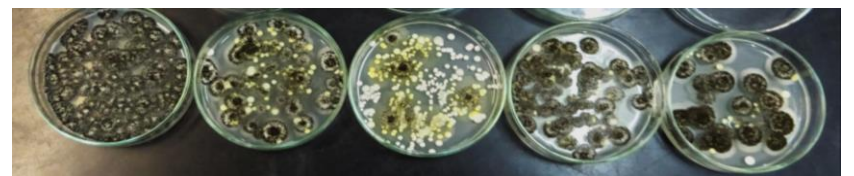


図10 蓼藍などの抗青カビ作用検証(希釈倍率10⁴)

シャレ左からコントロール(前)、コントロール(後)、蓼藍、インジゴ、インジゴピュア

表3 蓼藍などの抗青カビ作用検証(希釈倍率10⁴)

試料	コントロール	コントロール	蓼藍	インジゴ	インジゴピュア
コロニー数	92	32	7	48	19
生菌数	9.2×10 ⁵	3.2×10 ⁵	7×10 ⁴	4.8×10 ⁵	1.9×10 ⁵

結果1・2のグラフ化 反応前後の生菌数を図11、12に表した。

