

# ザクロ果実の抗菌性に関する研究

大阪府立園芸高等学校 バイオサイエンス科 微生物部  
宇山愛月 重岡 茉琴 一穂菜穂

## はじめに

本校の正門横には数本のザクロの木があり、初夏には花が咲き、秋には果実が実る(図1)。先行研究としてザクロの化粧材利用に向けた取り組みの中でザクロ果実の各部位の機能性である抗酸化性をしらべた。その結果、非可食部位に高い抗酸化活性がみられました。さらに果実成分であるポリフェノールの量も非可食部位にポリフェノール量が多く含まれていた。この結果を受け、ザクロ果実にもうひとつの機能性である抗菌性も高いのではないかと考え研究に着手した。その結果を報告する。



図1 本校ザクロ木

## 実験1. ザクロ果実成分の抗菌活性試験

### (1) 試料作成

試料は2021月に収穫したザクロ果実(図2)を可食部位と非可食部位に選別し(図3)、可食部位はミキシング、濾過後の果汁を、非可食部位は50gの10mM酢酸バッファー(100ml)抽出液をφ0.25 μm フィルターで無菌濾過して試料を作成した(図4,5)。



図2 収穫したザクロ



図3 可食部位(左)と非可食部位(右)



図4 ザクロ果汁の精製



図5 ザクロ非可食部位抽出液の精製

### (2) ザクロ果実の抗菌活性測定

方法:測定は寒天穿孔平板法で行った。検定菌はコクリア菌、大腸菌、枯草菌でそれぞれNBRC標準株(図6)の培養液を用意した。



コクリア菌(G+)



大腸菌(G-)



枯草菌(G+)

図6 検定菌 NBRC 標準株

表1 培地組成

肉エキス 0.2%  
サリチン酸 1.75%  
デンプン 0.15%  
(pH7.3)  
寒天 1.7%

ミュラーヒントン寒天培地(表1)に検定菌培養液を100 μl を入れ塗抹した後、直径6 mm 穿孔(3ヶ所)にザクロ果実各部位試料(果汁SA、非可食部位抽出液SB)とコントロールとしての10mM酢酸バッファー(C)の3種類を30 μl 注入し24時間、37°Cで培養した。

### (3) 結果と考察:

培養後の観察(図8)から形成された阻止円の直径(mm)を計測した(表2)。

ザクロ果汁(SA)は弱い抗菌活性を有したがザクロ非可食部位抽出液(SB)は3種検定菌いずれも高い抗菌活性がみられた。グラム陽性菌、陰性菌にかかわらず同程度の活性を有するのが注目すべき点である。非可食部位に含有する抗菌成分の利用に向けて検討する価値があると考えられる。

ザクロ果実非可食部位は抗酸化活性のみならず抗菌活性においても高い値を示した。これらに關与する機能性成分にポリフェノールが考えられる

抗コクリア菌 抗大腸菌 抗枯草菌

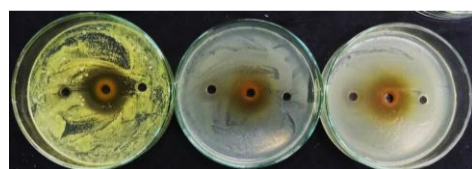


図8 ザクロ果実各部位成分の抗菌活性測定(穿孔位置:左はSA、中央はSB、右はC)

表2 ザクロ果実各部位の抗菌活性測定(阻止円直径計測:直径mm)

試料\検定菌	コクリア菌	大腸菌	枯草菌
SA	8.0	12.0	10.0
SB	24.5	18.0	18.5
C	-	-	-



図7 試料SA(左)とSB(右)

## 実験2. 抗生物質の抗菌活性試験(ザクロ試料との比較)

ザクロの抗菌力はどれくらいの抗生物質量に相当するのか把握するために抗生物質の抗菌活性試験を行った。

### (1) 抗生物質の種類と濃度

ストレプトマイシン(SM)、テトラサイクリン(TC)、アンピシリン(ABPC)の3種類(図9)を使用し溶液濃度を細菌最小発育阻止濃度(MIC)に近い値の64から2 μg/mlに調製した。



図9 使用した抗生物質(左:SM、中央:TC、右:ABPC)

### (2) 抗生物質の抗菌活性測定

方法:実験1と同様の寒天穿孔平板法で行い3種検定菌に対する各抗生物質(濃度:64~2 μg/ml)の抗菌活性を試験した。

### (3) 結果と考察

37°Cで24時間培養後に観察した(図10)。試料64、32 μg/ml濃度に阻止円が形成された。コクリア菌に対するABPCの作用は強く働き濃度

抗コクリア菌



図11 ABPCの抗菌活性測定(穿孔位置の試料濃度は左上4、右上2、左下1、右下0.5 μg/ml)

抗コクリア菌 抗大腸菌 抗枯草菌

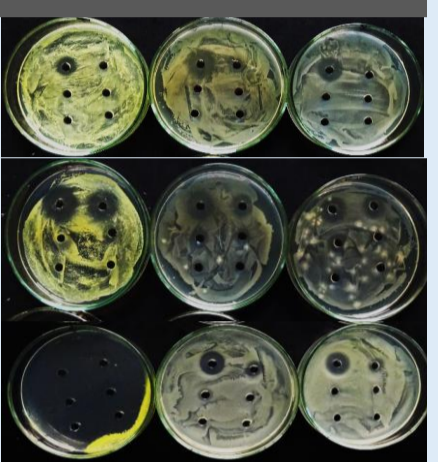


図10 抗生物質の抗菌活性測定(穿孔位置の試料濃度は左上64、右上32、左中央16、右中央8、左下4、右下2 μg/ml)

4 μg/ml以下で再実験した(図11)。計測した阻止円の大きさとザクロ果実試料の阻止円の大きさを比較しザクロ試料に対応する抗生物質濃度を求めた(表3)。

表3 ザクロ試料阻止円に対応する抗生物質濃度

試料	抗菌性阻止円(mm)	抗生物質SM(μg/ml)	抗生物質TC(μg/ml)	抗生物質ABPC(μg/ml)
SA	コクリア菌 8.0	64~32	8	2<
	大腸菌 12.0	32	16	32
	枯草菌 10.0	32	16	32
SB	コクリア菌 24.5	>64	64	2
	大腸菌 18.0	64	64	>64
	枯草菌 18.5	64	64	>64

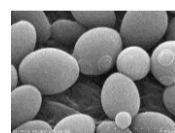
SA(可食部位)では抗生物質の16から32、SB(非可食部位)では64 μg/ml濃度に相当した。大部分の細菌の最小発育阻止濃度いわゆるMICは2から4なので、ザクロ成分は高い抗菌力を有するといえる。

## 実験3. ザクロ果実成分の抗真菌活性試験

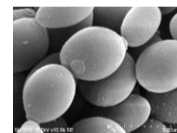
ザクロ果実成分の人体に対する影響を調べるために、同じ真核細胞である酵母とカビに対する抗真菌活性を測定した。

### (1) 方法

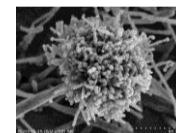
2種類の酵母は市販パンイースト、検定用酵母(NBRC標準株)、2種類のカビはコウジカビ(NBRC標準株)、クモノスカビ(NBRC標準株)を検定真菌(図12)として前培養液を用意した。



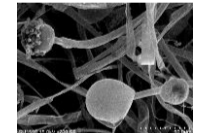
市販パンイースト



検定用酵母



コウジカビ



クモノスカビ

図12 検定真菌4種

酵母はYM寒天、カビはPDA寒天を検定培地として使用し、実験1,2と同様の寒天穿孔平板法で行い4種検定菌に対する抗真菌活性を試験した

### (3) 結果と考察

試料SAは2種酵母、2種カビに対して活性はなく、試料SBはカビに対して活性はなかったが、酵母に対して20 mmの阻止円が形成され

抗パンイースト 抗検定用酵母 抗コウジカビ 抗クモノスカビ

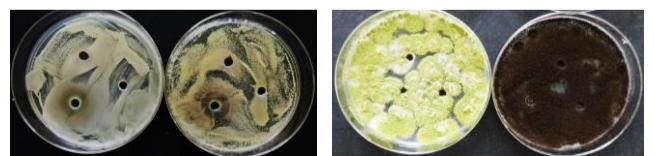


図13 ザクロ果実試料の抗真菌活性測定(穿孔位置:上部SA、左下はSB、右下はC)

## 考察と展望

ザクロ果実成分は微生物生育阻害作用として細菌に対して強く働き、非可食部位成分は酵母に対しても強く働くので、ヒト細胞に影響を与える可能性が高いと考えられる。文献(「ザクロ」植物雑学事典)に「毒性成分(ペレチエリン)が含まれ、糸虫駆除に使用されていた」と記されており人体への投与は困難であるが、廃棄するにはもったいないので土壌消毒に向けた土壌改良剤、環境美化製品などの利用が考えられる