



Title	身近な植物の抗菌作用
Author(s)	
Citation	令和3（2021）年度学部学生による自主研究奨励事業 研究成果報告書．2022
Version Type	VoR
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/85621">https://hdl.handle.net/11094/85621</a>
rights	
Note	

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

## 令和3年度大阪大学未来基金「学部学生による自主研究奨励事業」研究成果報告書

ふりがな 氏名	しろやま よしき 城山 佳輝	学部 学科	薬学部薬学 科	学年	1年
ふりがな 共同 研究者氏名	どろ さつき 泥 咲月	学部 学科	薬学部薬学 科	学年	1年
	たにぐち こうたろう 谷口 倅太郎		薬学部薬学 科		1年
	さきむら しゅうこ 崎村 柊子		薬学部薬学 科		1年
	きたがわ じゅり 喜多川 珠吏		薬学部薬学 科		1年
アドバイザー 教員 氏名	辻野 博文	所属	薬学研究科		
研究課題名	身近な植物の抗菌作用				
研究成果の 概要	研究目的、研究計画、研究方法、研究経過、研究成果等について記述すること。必要に応じて用紙を追加してもよい。(先行する研究を引用する場合は、「阪大生のためのアカデミックライティング入門」に従い、盗作剽窃にならないように引用部分を明示し文末に参考文献リストをつけること。)				

**[研究目的]**

雑草のように人に害を与えていたり、外来種として日本の生態系を脅かす恐れがあったりする、駆除されることが望ましい植物の活用法を見つけることを目的とする。新型コロナウイルス感染症の拡大により、人々の消毒や抗菌といった効果に対する関心が高まっていることから、消毒、抗菌という観点で植物の有効な活用方法を調べる。それらの植物の中から抗菌作用を有するものが見出されれば、需要が創出され、それらの植物の除去を促進するインセンティブへと繋がることが期待される。実際に、エノコログサには抗菌作用があることから（参考文献-[2]）、これまでに検討されていない様々な溶媒で抽出することでさらなる抗菌効果が見つかる可能性がある。また、菊花にはグルタチオンという殺菌物質が含まれることから（参考文献-[3]）、同じキク科であるタンポポやハルジオンも抗菌作用を示す可能性が期待される。検討対象植物として、繁殖力の強い植物や、生態系に悪影響を及ぼす外来性の植物を想定して実験を実施した。また、根や茎は植物を支え、養分や水分の運搬を担い、葉は光合成による養分の生成を担う器官であることから、根、茎、葉のうち葉に最も抗菌作用がみられると予想した。

**[研究方法]**

本研究では、試験対象植物の選出、選出した植物の抽出液の調製、抽出液の抗菌作用の有無の検証に取り組んだ。対象植物は、有用な活用法が発見されていないもの、繁殖力が強いもの、という二つの観点から選出した。

植物抽出液の調製は、脂溶性の物質を抽出するための極性有機溶媒（アセトン）、親水性の物質を抽出するための親水性有機溶媒（エタノール）、水の三種類の溶媒を用いて行った。

抗菌作用の有無は、ペーパーディスク法による阻止円の大きさによって確認した。

具体的な研究方法は以下のとおり。

**研究方法**

- 1 タンポポ、エノコログサ等の複数種類の植物を他品種との取り違えがないように十分に確認をしながら採集した。
- 2 植物を各部位に分けた（根、茎、葉）
- 3 それぞれを乳鉢で破砕した。
- 4 各試料を適量取り分け、Milli-Q水、80%エタノール、80%アセトンの各種溶媒に混合した。
- 5 それぞれを抽出した後、遠心機で遠心分離した。
- 6 寒天培地に試験対象の細菌を全面塗抹した。
- 7 寒天培地の上に抽出液を浸み込ませたペーパーディスクを載せ、一定温度、時間で培養した。
- 8 ペーパーディスク周囲の細菌の発育阻止帯の大きさから、抗菌物質の有無を評価した。

検査対象とする細菌には、大腸菌、常在菌を用いた。

対照実験のため、使用した溶媒のみを用いて同様の実験を行った。

対象植物：タンポポ、エノコログサ、ハルジオン、ドクダミ、クズ、スズメノカタビラ、アレチヌスビトハギ

溶媒：Milli-Q水（常温）、80%エタノール、80%アセトン

細菌：大腸菌（グラム陰性菌）、常在菌

**[実験 1](2021/8/16~17 実施)**

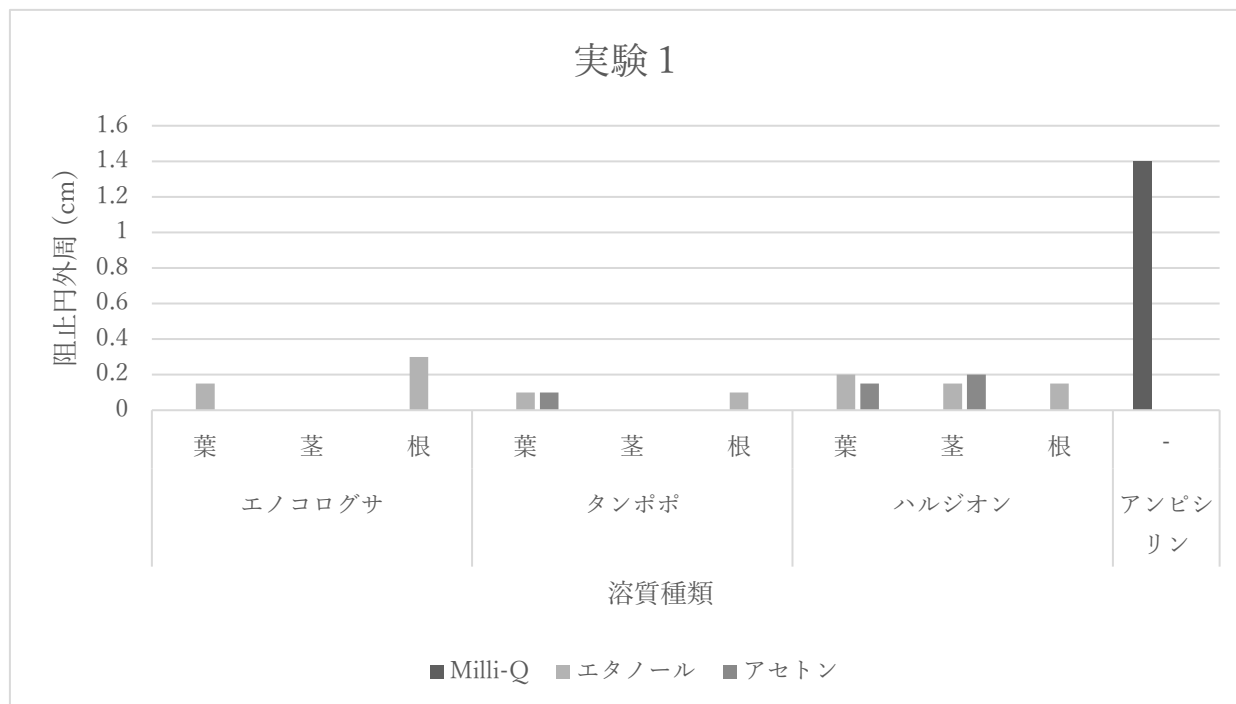
エノコログサ、タンポポ、ハルジオンを根、茎、葉に分けて Milli-Q 水、エタノール、アセトンで抽出した。なお、試料は 30 分程度溶媒に浸して抽出した。

対照実験としてアンピシリンのみを用いて同様の実験を行った。

**<結果 1>**

エノコログサの根、ハルジオンの葉、ハルジオンの茎の阻止円外周が比較的大きかった。

また、エノコログサの葉と茎、タンポポの葉と茎と根、ハルジオンの根には阻止円が見られない、または比較的小さかった。



**[実験2](2021/9/10~11 実施)**

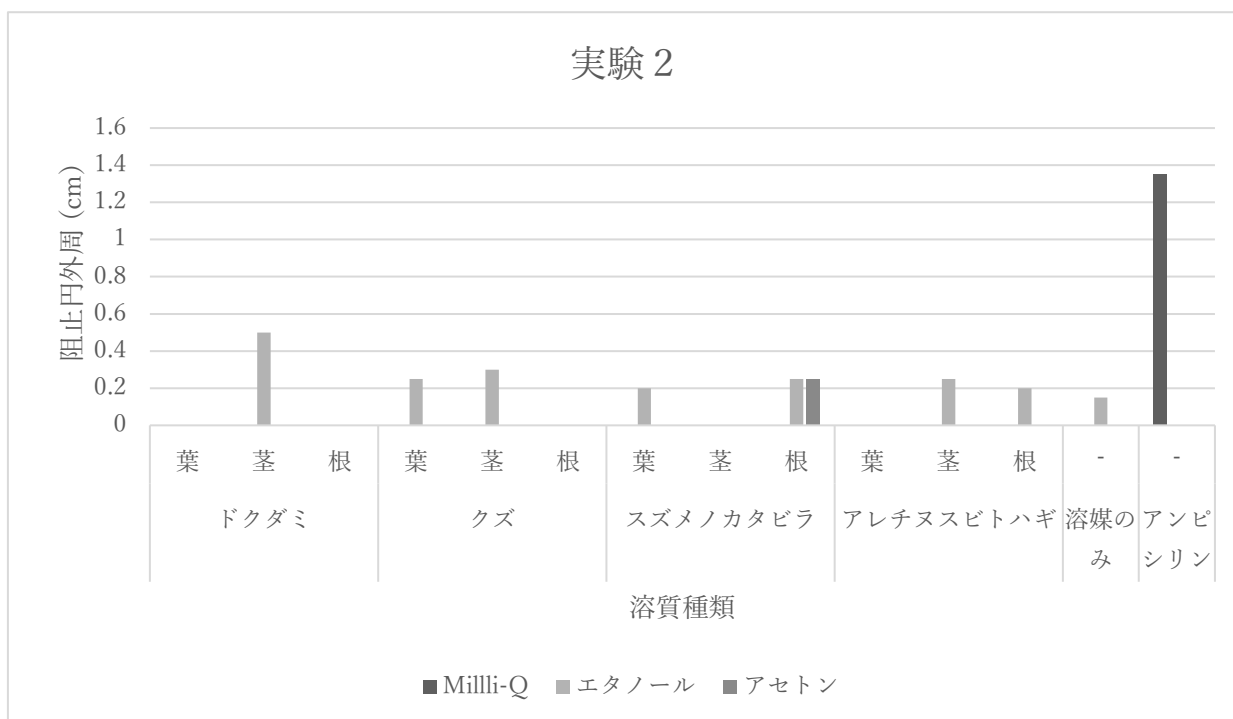
ドクダミ、クズ、スズメノカタビラ、アレチヌスビトハギを根、茎、葉に分けて Milli-Q 水、エタノール、アセトンで抽出した。なお、試料は 30 分程度溶媒に浸して抽出した。

対照実験としてアンピシリン、エタノール、アセトンのみを用いて同様の実験を行った。

**<結果2>**

ドクダミの茎、クズの葉と茎、スズメノカタビラの根、アレチヌスビトハギの茎の阻止円外周は溶媒のみの実験で得られた阻止円よりも大きかった。

また、ドクダミの葉と根、クズの根、スズメノカタビラの葉と茎、アレチヌスビトハギの葉と根の実験で得られた阻止円は溶媒のみで行った実験で得られた阻止円よりも小さかった。



**[実験 3](2021/10/14~15 実施)**

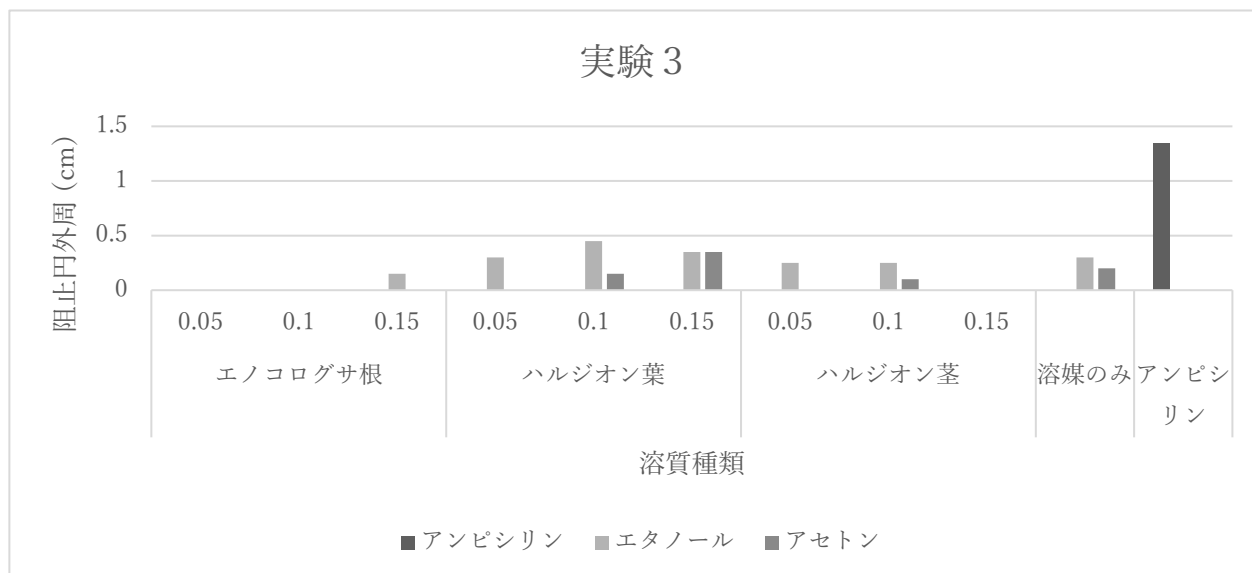
実験 1 で阻止外周が比較的大きかった物（エノコログサ根、ハルジオン葉、ハルジオン茎）のみを選び、実験をした。エノコログサの根はエタノールで抽出し、ハルジオンの葉と茎はエタノールとアセトンの両方で抽出した。Milli-Q を用いた試料は実験 1、2 いずれにおいても顕著な抗菌作用が確認できなかったことから、今後は用いていない。抽出液の濃度は 0.05g/ml、0.1g/ml、0.15g/ml の三種類にして実験を行った。なお、試料は 30 分溶媒に浸して抽出した。

対照実験としてアンピシリン、エタノール、アセトンのみを用いて同様の実験を行った。

**<結果 3>**

エタノール溶媒での実験においてはハルジオンの葉の 0.1g/ml、0.15g/ml、0.05g/ml の濃度で得られた阻止円の大きさが溶媒のみの実験で得られた阻止円の大きさを上回った。エノコログサの根の 0.15g/ml の濃度と、ハルジオンの茎の 0.05g/ml、0.1g/ml の濃度での実験では阻止円はみられるものの、溶媒のみの実験で得られた阻止円よりも小さかった。エノコログサの根の 0.05g/ml、0.1g/ml の濃度と、ハルジオンの茎の 0.15g/ml の濃度での実験では阻止円は見られなかった。

また、アセトン溶媒での実験では、ハルジオンの葉の 0.15g/ml の濃度で得られた阻止円のみが溶媒のみの実験で得られた阻止円よりも大きく、ほかのいずれの濃度においても溶媒のみの実験で得られた阻止円よりも小さかった。



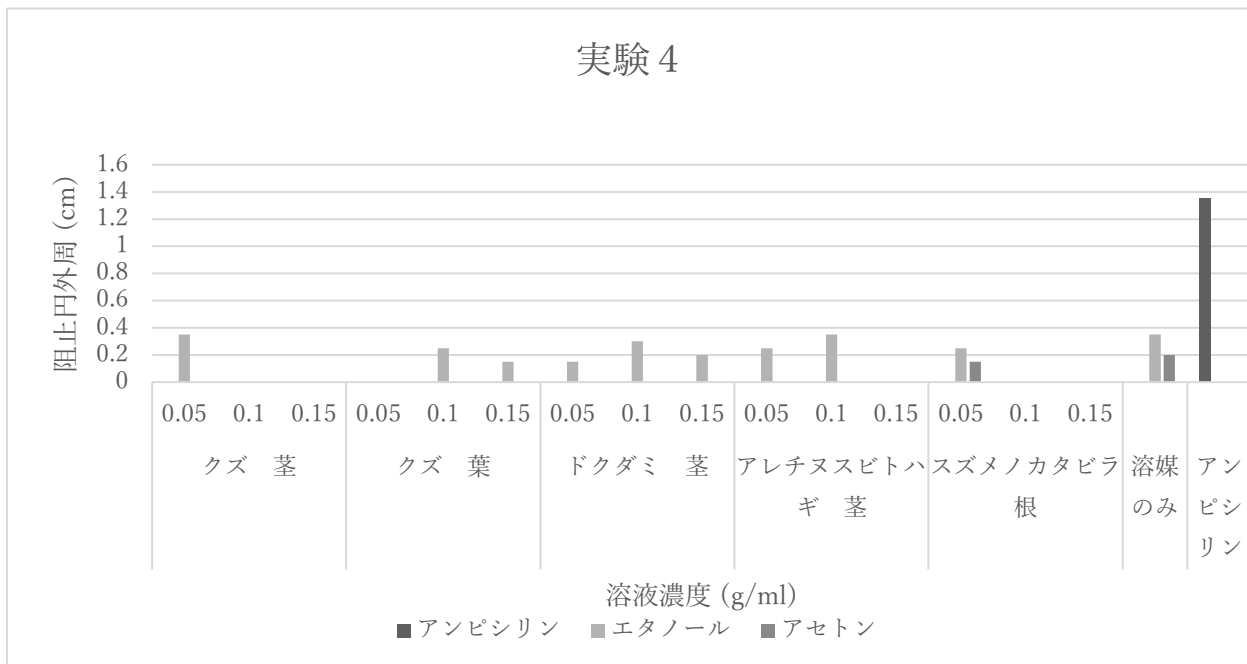
**[実験4] (2021/10/21~22 実施)**

実験2で阻止外周が比較的大きかった物(クズ茎、クズ葉、ドクダミ茎、アレチヌスビトハギ茎、スズメノカタビラ根)のみを選び、実験をした。クズの葉と茎、ドクダミの茎、アレチヌスビトハギの茎はエタノールで抽出し、スズメノカタビラの根はエタノールとアセトンの両方で抽出した。抽出液の濃度は0.05g/ml,0.1g/ml,0.15g/mlの三種類にして実験を行った。なお、試料は30分溶媒に浸して抽出した。

対照実験としてアンピシリン、エタノール、アセトンのみを用いて同様の実験を行った。

**<結果4>**

エタノール溶媒では、0.1g/ml アレチヌスビトハギの茎、0.05g/ml クズの茎の実験で得られた阻止円の大きさが溶媒のみの実験で得られた阻止円の大きさと等しく、それ以外は小さかった。



**[実験5] (2021/10/28~29 実施)**

実験3と実験4で使用した植物を用いて再現性の確認のため、実験をした。エノコログサの根、アレチヌスビトハギの茎、クズの葉と茎、ドクダミの茎はエタノール、ハルジオンの茎と葉、スズメノカタビラの根はエタノールとアセトンの両方で抽出した。抽出液の濃度は 0.05g/ml,0.1g/ml,0.15g/ml の三種類にして実験を行った。なお、試料は 30 分溶媒に浸して抽出した。

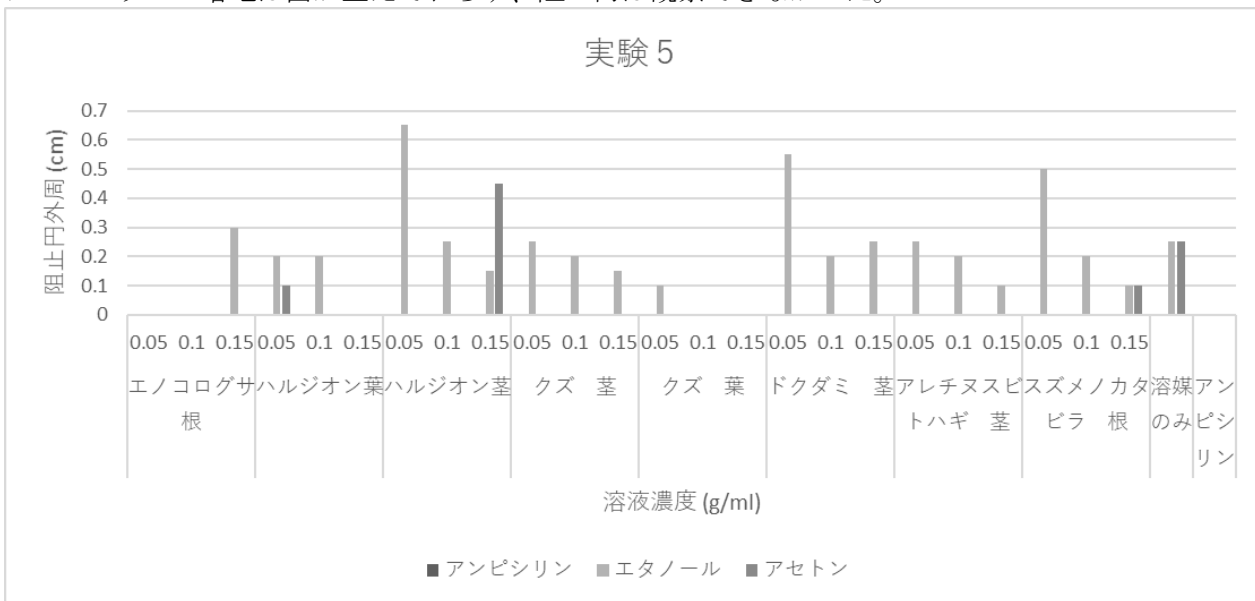
対照実験としてアンピシリン、エタノール、アセトンのみを用いて同様の実験を行った。

**<結果5>**

エタノール溶媒では、0.15g/ml エノコログサの根、0.05g/ml ハルジオンの茎、0.05g/ml ドクダミの茎、0.05g/ml スズメノカタビラの根の実験で得られた阻止円の大きさが、溶媒のみの実験で得られた阻止円の大きさを上回った。

アセトン溶媒では、0.15g/ml ハルジオンの茎の実験で得られた阻止円の大きさが、溶媒のみの実験で得られた阻止円の大きさを上回った。

アンピシリンの培地は菌が生えておらず、阻止円は観察できなかった。

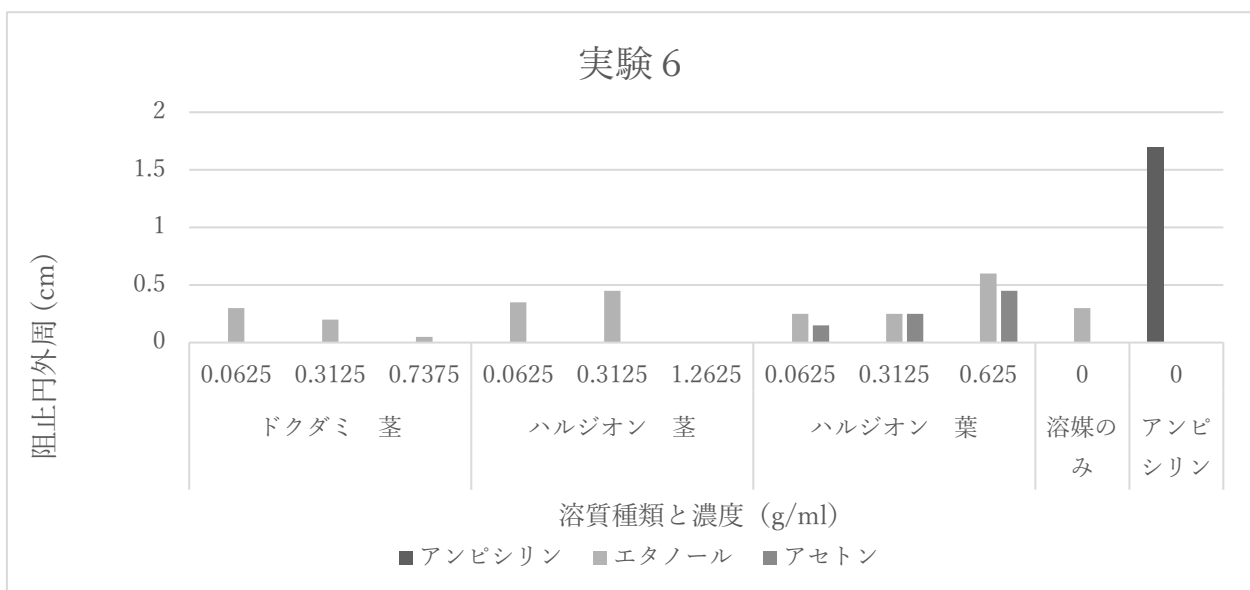


**[実験 6] (2021/11/11~12 実施)**

濃度依存性の確認のため、抽出液の濃度勾配を大きくし、実験 5 で比較的抗菌作用が見られた植物（ドクダミ茎、ハルジオン茎、ハルジオン葉）を用いて実験を行った。ドクダミの茎はエタノールで抽出し、濃度は 0.0625g/ml, 0.3125g/ml, 0.7375g/ml。ハルジオンの茎はエタノールで抽出し、濃度は 0.0625g/ml, 0.3125g/ml, 0.505g/ml。ハルジオンの葉はエタノールとアセトンの両方で抽出し、濃度は 0.0625g/ml, 0.3125g/ml, 1.5625g/ml。なお、試料は一週間溶媒に浸して抽出した。対照実験としてアンピシリン、エタノール、アセトンのみを用いて同様の実験を行った。

**<結果 6>**

ハルジオンの葉では濃度が大きくなるほど阻止円が大きくなった。その他の植物では濃度依存性は見られなかったが、濃度 0.505g/ml で抽出したハルジオンの茎以外の植物では阻止円が観察された。特に濃度 0.0625g/ml で抽出したドクダミの茎、濃度 0.0625g/ml と 0.3125g/ml で抽出したハルジオンの茎は溶媒のみの場合よりも阻止円が大きかった。

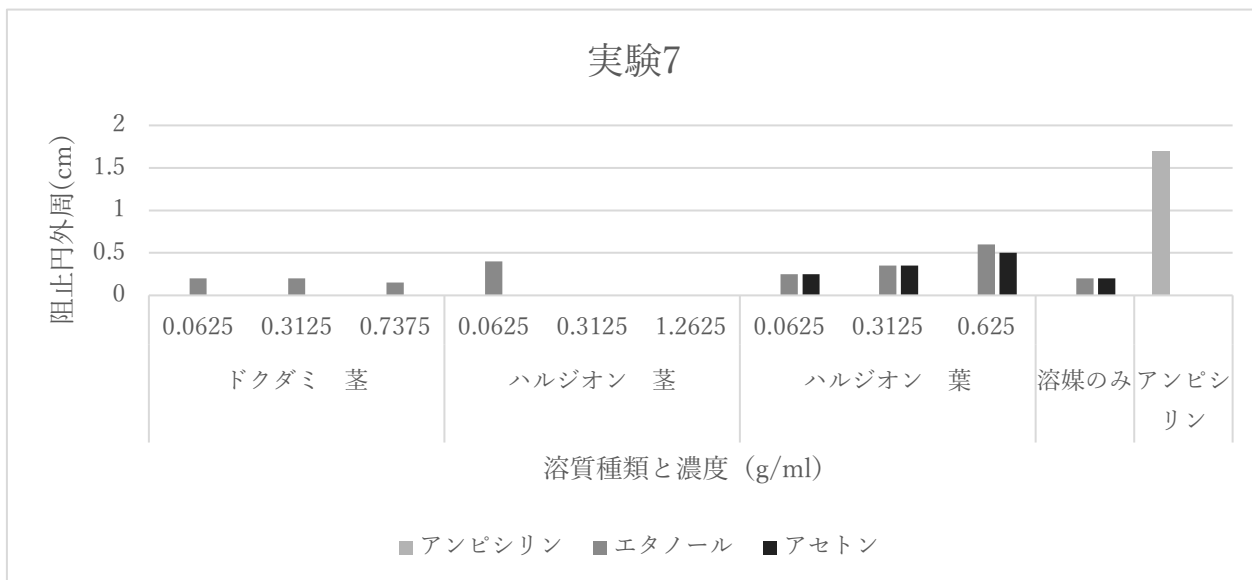


**[実験 7] (2021/11/18~19 実施)**

実験 6 の再現性の確認のため、実験 6 と同じ実験を行った。なお、試料は二週間溶媒に浸して抽出した。

**<結果 7>**

実験 6 と同様にハルジオンの葉は濃度が大きくなるほど阻止円が大きくなった。ドクダミの茎と濃度 0.0625g/ml で抽出したハルジオンの茎では阻止円が観察された。特にハルジオンの葉とハルジオンの茎は溶媒のみの場合よりも阻止円が大きかった。

**[実験 8] (2021/11/25~26 実施)**

実験 6 と同じ濃度の試料を用い、大腸菌以外の菌に対する抗菌活性を調べるために、手のひらに生息する常在菌を用いた。手のひらに生息する常在菌に対する抗菌活性が認められれば、より有用なものであることが証明できると考えたためである。寒天培地に手のひらを付着させ、繁殖した常在菌を 6 個、A1、A2、A3、B1、B2、B3 とラベル付けし、ブレインキュベーションした。6 個のうち特に繁殖した A1、A2、B2、B3 を実験に用いた。試料は三週間溶媒に浸して抽出した。

**<結果 8>**

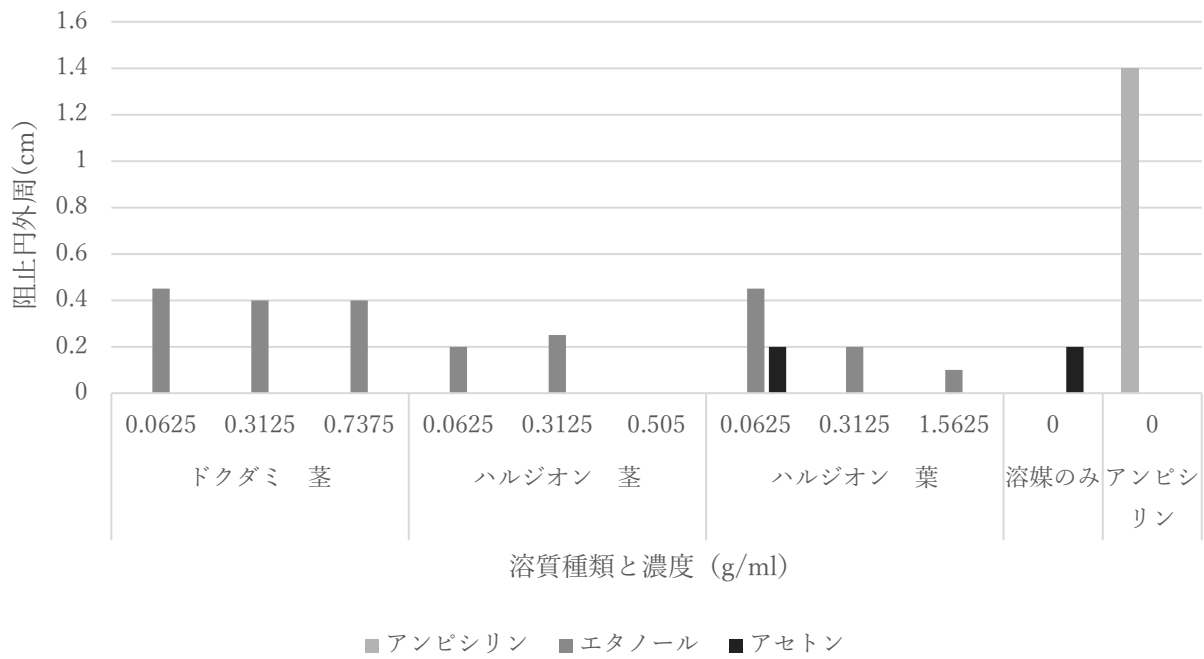
**常在菌 A1...**エタノール溶媒では、0.0625g/ml, 0.3125g/ml, 0.7375g/ml ドクダミの茎、0.0625g/ml, 0.3125g/ml ハルジオンの茎、0.0625g/ml, 0.3125g/ml, 1.5625g/ml ハルジオンの葉が、溶媒のみの実験で得られた阻止円の大きさを上回った。

**常在菌 A2...**エタノール溶媒では、0.0625g/ml ドクダミの茎が、溶媒のみの実験で得られた阻止円の大きさを上回った。アセトン溶媒では、0.0625g/ml, 0.3125g/ml, 1.5625g/ml ハルジオンの葉が、溶媒のみの実験で得られた阻止円の大きさを上回った。

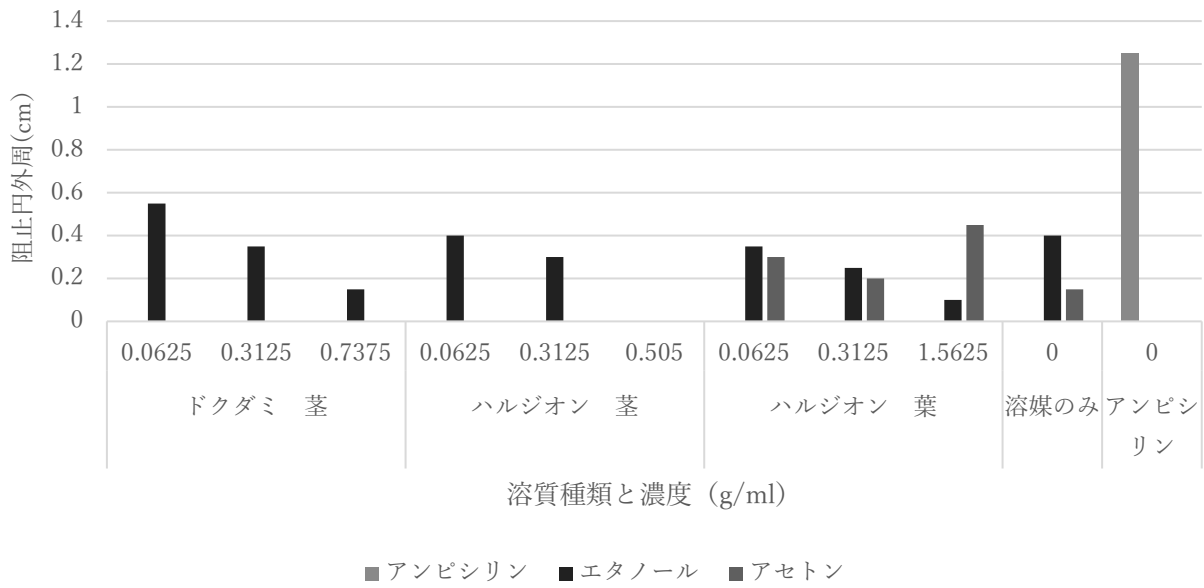
**常在菌 B2...**エタノール溶媒では、0.0625g/ml, 0.3125g/ml, 0.7375g/ml ドクダミの茎、0.0625g/ml, 0.3125g/ml, ハルジオンの茎、0.0625g/ml, 0.3125g/ml ハルジオンの葉が、溶媒のみの実験で得られた阻止円の大きさを上回った。

**常在菌 B3...**エタノール溶媒では、0.0625g/ml, 0.3125g/ml, 0.7375g/ml ドクダミの茎、0.0625g/ml, 0.3125g/ml ハルジオンの茎、1.5625g/ml ハルジオンの葉が、溶媒のみの実験で得られた阻止円の大きさを上回った。アセトン溶媒では、1.5625g/ml ハルジオンの葉が、溶媒のみの実験で得られた阻止円の大きさを上回った。

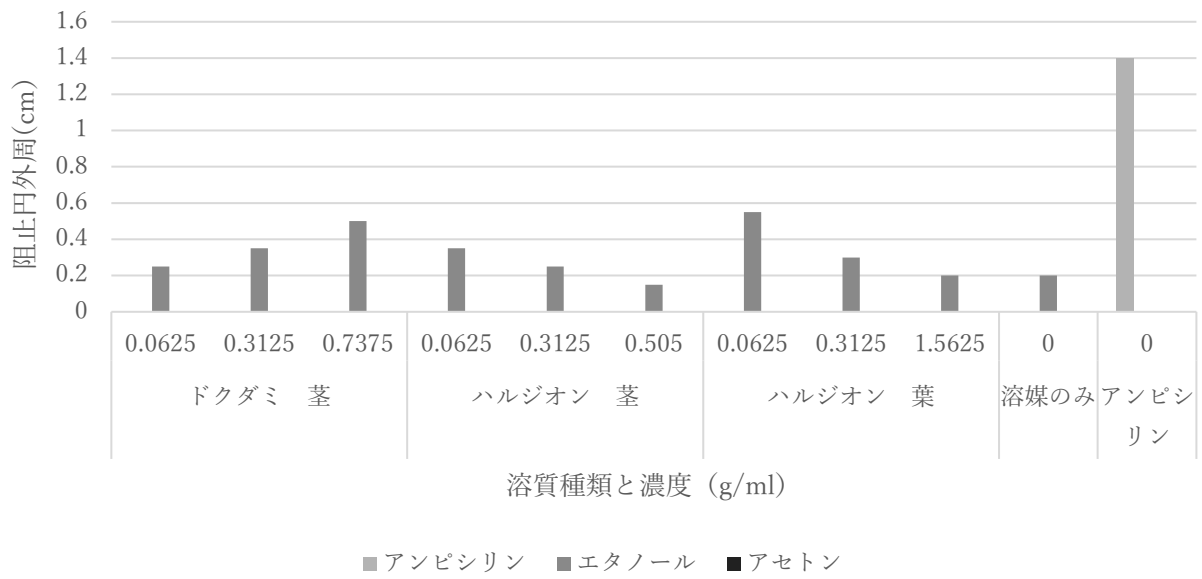
### 実験8 常在菌A1



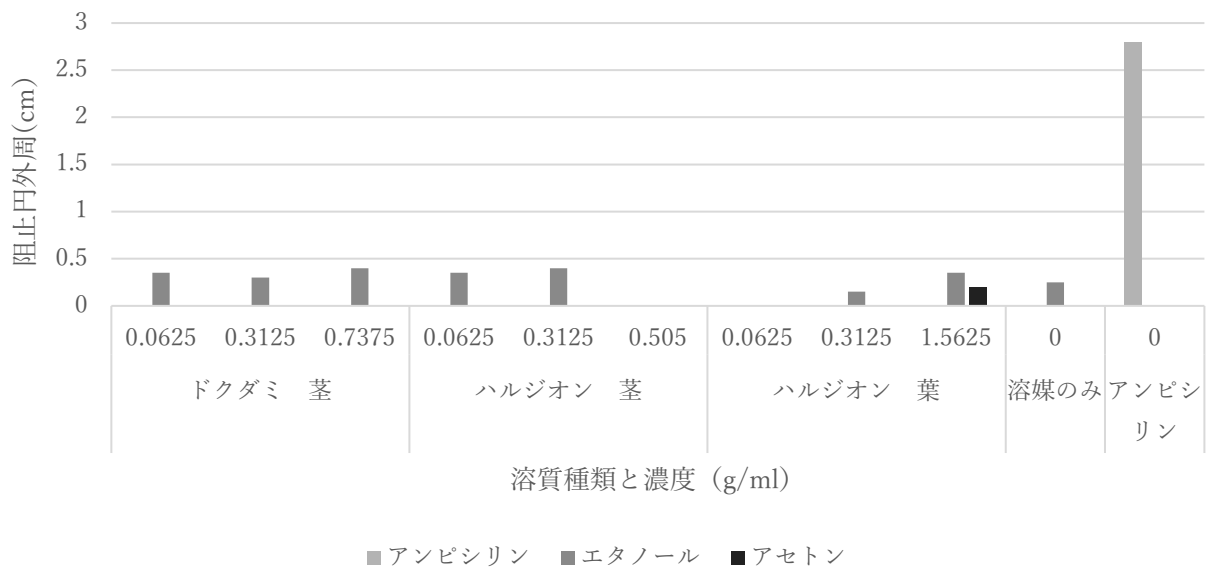
### 実験8 常在菌A2



### 実験8 常在菌B2



### 実験8 常在菌B3



**【考察】**

実験から葉の抗菌作用が最も強いと予想していたが、葉に加えて茎でも抗菌作用が確認された。一方で根では抗菌作用は確認されなかった。植物は病原菌の感染や物理的な障害を受けるとフィトアレキシンという抗菌物質を産生する（参考文献-[4]）。よって地上では地中よりも物理的な障害や病原菌にさらされやすく、葉や茎には根よりも多くの抗菌物質が産生されると考えられる。このような理由から根よりも葉や茎に抗菌作用があると考えられる。また、エノコログサの茎など、水分の少ない部位は抗菌作用が見られにくかった。

本実験では濃度依存がみられなかったが、その原因として、高濃度であるほど溶媒に対して溶質が多く、溶媒が溶質に吸収され、ペーパーディスクに十分な抽出液を浸すことができなかったことが考えられる。

また、30分ほどしか抽出していない実験（実験3～5）は、一週間以上かけて十分に抽出した実験（実験6, 7）よりも濃度依存や抗菌活性が見られず、短い時間ではうまく抽出できなかったと考えられる。

ドクダミの茎は、大腸菌と常在菌両方で抗菌作用が見られ、ハルジオンの葉では大腸菌で強い抗菌作用が見られたことから、ドクダミの茎とハルジオンの葉には抗菌作用があると推測できる。

実際にドクダミの葉にはデカノイルアセトアルデヒドが殺菌成分として有用であることが確認されている（参考文献-[5]）。まだ知られていないがハルジオンにも同程度の抗菌作用があると考えられる。

タンポポ、エノコログサに抗菌作用がみられると予想していたが、本実験では有効な抗菌作用は確認できなかった。これは先行研究との抽出方法の違いなどによるものだと考えられる。

また、タンポポには抗菌作用がみられず、ハルジオンには抗菌作用がみられたことから、同じキク科の植物であっても共通の物質を含むとは限らないと考えられる。

**【今後の展望】**

本実験では、実験を実施した時期の問題から植物の入手が一部困難であり、十分量の試料が得られなかったため、植物の繁殖時期を考慮した実験の遂行が重要であると考えられる。また、植物不足により濃度設定が統一できなかったことや、抽出時間に注意して再実験を行うことで、より確かな結果を得ることができると予想する。

一方で、本実験では、濃度依存性こそ確認できなかったが、多くの実験でハルジオンの葉とドクダミの茎に抗菌作用がみられたため、これら植物は抗菌物質を有している可能性が非常に高い。今後は①植物に含まれる抗菌物質の特定をする。②常在菌の種類を特定し、抗菌物質と菌の関連性を調べる。③ハルジオンと同じキク科の植物や、ドクダミと同じドクダミ科の植物にも抗菌作用がないかを調べる。などのアプローチにより、身近な植物の抗菌作用をより詳細に明らかにできると考えている。

**【参考実験、参考文献】**

[1] イチョウの葉の抽出物質による抗菌作用

[https://katosei.jsbba.or.jp/download\\_pdf.php?aid=398](https://katosei.jsbba.or.jp/download_pdf.php?aid=398)

[2] 種々の植物に含まれる抗菌性物質に就いて

[https://www.jstage.jst.go.jp/article/jsb1944/9/7/9\\_7\\_475/pdf](https://www.jstage.jst.go.jp/article/jsb1944/9/7/9_7_475/pdf)

[3] 伝統生薬「菊花」の解毒作用を解明

[www.pola-rm.co.jp/pdf/release-2008-6.pdf](http://www.pola-rm.co.jp/pdf/release-2008-6.pdf)

[4] 植物の自己防御物質フィトアレキシンの多様性

[https://www.jstage.jst.go.jp/article/kagakutoseibutsu/55/8/55\\_547/pdf](https://www.jstage.jst.go.jp/article/kagakutoseibutsu/55/8/55_547/pdf)

[5] 独特の匂いで解毒・殺菌！「ドクダミ」

<https://www.yomeishu.co.jp/genkigenki/crudem/150226/index.html>