

黄色ブドウ球菌に対する紫蘇の抗菌作用

川崎光希, 甲斐菜々心, 内田陽菜
延岡高等学校 Nobeoka High School

Abstract

黄色ブドウ球菌が引き起こす食中毒を防ぐために、紫蘇に含まれるペリルアルデヒドが強い抗菌作用を持っていると知り、興味をもった。そこで、ペリルアルデヒドは黄色ブドウ球菌に対して抗菌作用があるのではないかと考え、研究した。結果として、黄色ブドウ球菌は最も人の鼻の粘膜に多いと分かったが、黄色ブドウ球菌に対する紫蘇の抗菌作用の有無は判断し難かった。

Keyword 紫蘇 / 黄色ブドウ球菌 / ペリルアルデヒド

1. 序論

(1) 研究背景

紫蘇はよく刺し身に添えられている。その理由の一つとして抗菌作用があるということが挙げられる。そして、インターネットで調べていく中で紫蘇には強い抗菌作用があり、紫蘇の匂いの原因ともなっているペリルアルデヒドが含まれているということがわかった。また、2024年7月末に横浜市で黄色ブドウ球菌が原因の食中毒が発生したことから、黄色ブドウ球菌の増殖を抑える方法があるのではないかと興味をもった。これらを踏まえ、紫蘇に含まれるペリルアルデヒドは黄色ブドウ球菌に対して抗菌作用があるのではないかと考えたから。

(2) 研究の目的

黄色ブドウ球菌が引き起こす食中毒を防ぐ。ペリルアルデヒドは黄色ブドウ球菌に対して抗菌作用を示すのか、黄色ブドウ球菌が身体のどの部位に多く存在しているのかを明らかにする。その結果から、紫蘇は食中毒の防止に有効なのか、食事中や調理中に触れないように気を付けておくべき部位を考察する。

(3) 研究仮説

黄色ブドウ球菌に対してペリルアルデヒドは抗菌作用を持ち、ペリルアルデヒドの含有量が多いほど抗菌作用は強まる。また、黄色ブドウ球菌は鼻の粘膜に多い。

2. 調査方法

(1) 装置のモデル名

薬剤感受性試験

(2) 実験方法

1 高校で紫蘇を栽培し、収穫
実験を行った紫蘇の種類は、赤ちりめん紫蘇、青ちりめん紫蘇、芳香赤紫蘇、芳香うら赤紫蘇、丸葉青紫蘇、丸葉赤紫蘇、天神赤紫蘇の7種類である。

日当たりの良い南向きの葉と頂点を収穫する。収穫時に袋を分けるなどして株毎に収穫する。

2 クロモアガースタッフアウレウスの培地の作成

(1)クロモアガーを82.5g/Lで三角フラスコ内で懸濁する。

(2)オートクレーブ内で、圧力をかけないようにして、110°C、5分で加熱する。

(3)約48°Cまで冷却し、滅菌シャーレに分注して表面を乾燥させる。

3 黄色ブドウ球菌の採種

(1)4人分の皮膚、髪、鼻の粘膜、2時間使用後のマスク(内外)、手(消毒前後)、スマホから黄色ブドウ球菌を滅菌綿棒で採種する。

(2)滅菌綿棒を生理食塩水が入ったエッペンドルフチューブに入れて搅拌する。

(3)(2)の生理食塩水をクロモアガーが固まった滅菌シャーレの端に500 μL分注し、白金耳で画線描画する。

(4)37°C、24時間培養する。

4 シソの乾燥

シソを乾燥機に種類ごとに入れ、45°Cで一日乾燥させる。

5 ミューラー・ヒントン培地の調製

ミューラー・ヒントン培地をプロトコール通りに調製する。

6 シソからの成分抽出

(1)乾燥したシソの葉を乳鉢・乳棒を用いて粉碎し、各検体約10gを秤量する。

(2)検体に対して10mLのメタノールを加えて30分間超音波抽出を行う。

(3)5mLを正確にとり、エバポレーターで溶媒を留去する。

(4)各抽出液に何mgの成分が入っているかを量り、ペーパーディスクに抽出液を乗せて自然乾燥させる。

7 黄色ブドウ球菌の単離

(1)クロモアガーによって藤色に染色されたコロニーを確認し、どの部位が最も黄色ブドウ球菌が多くあったかを評価する。

- (2)コロニーのうち、採種し易いものを選んで白金耳で採種し、生理食塩水で1mlに希釈する。
 (3)希釈したコロニーのうち、 $500\mu\text{L}$ をミューラー・ヒントン培地に乗せ、白金耳で広げる。
 (4)ペーパーディスクを培地の上4箇所に均等に置く。
 (5)37°C、24時間培養する。
- 8 HPLCによるペリルアルデヒドの測定
 (1)(2)で抽出したメタノール抽出液をフィルターろ過を行う。(必要に応じて希釈)
 (2)日本薬局法の方法に従ってHPLCにセットする。
 9 HPLCのデータ整理をする。
 10 ミューラー・ヒントン培地を確認して、阻止円の大きさを測定する。

3. 結果

(1)結果1

上から、ペリルアルデヒドを含んだペーパーディスク(緑色)とセファレキシンを含んだペーパーディスク(白色)を置き、黄色ブドウ球菌を培養させた培地の写真(図1)、各種類ごとの紫蘇1gあたりのペリルアルデヒドの含有量を表した図2、各種類ごとのHPLCで計算した値を表した表1である。

ペリルアルデヒドのペーパーディスク周辺には阻止円が見られなかった。

また、ペリルアルデヒドの含有量が最も多いのは赤丸葉紫蘇だった。

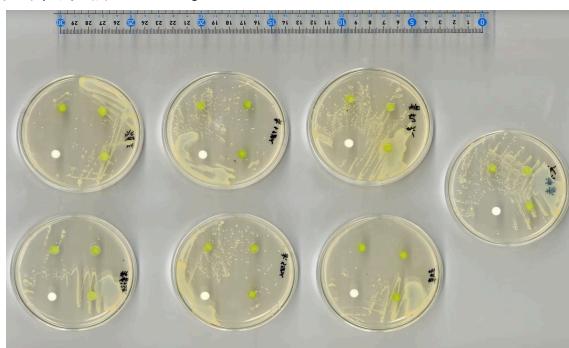


図1 各種の紫蘇ごとの阻止円

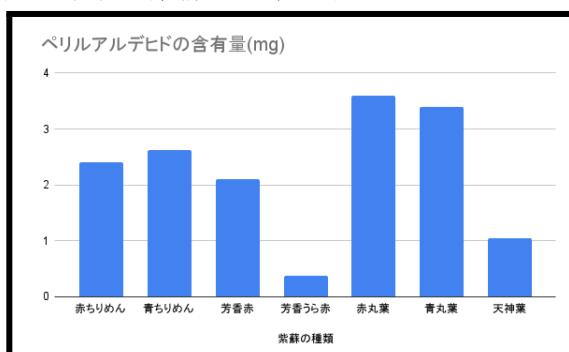


図2 1gの紫蘇に含まれるペリルアルデヒドの含有量

表1 紫蘇に含まれるペリルアルデヒド

	濃度 (ug/mL)	average	AREA1	AREA2
青ちりめん	10.5	535070.5	531762	538379
赤ちりめん	9.4	480669	485952	475386
芳香うらシソ	1.5	76393	73053	79733
芳香赤	8.4	427787.5	437391	418184
青丸葉	13.6	692986.5	701778	684195
赤丸葉	14.4	732816	739093	726539
天神赤	4.2	213225	213512	212938

(2)結果2

クロモアガーより藤色に染色されたコロニーを確認し、鼻の粘膜に最も黄色ブドウ球菌が多かったと評価した。

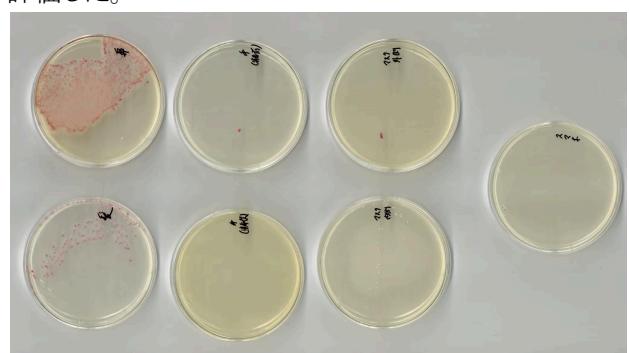


図3 各部位の黄色ブドウ球菌の培養状況

4. 考察

図1より、紫蘇は黄色ブドウ球菌に対する抗菌作用を持たなかった。実験で使用した紫蘇中のペリルアルデヒドの量が不十分だった可能性が考えられる。ある一定量以上で抗菌作用があると仮定すれば、図2、表1より、この7種類の紫蘇の中では赤丸葉紫蘇が食中毒を防止するのに最も適している。また、図3から、黄色ブドウ球菌は鼻の粘膜に多く、手の消毒後にはコロニーは見られなくなった。料理前に鼻の粘膜に触らないこと、手の消毒を行うことが食中毒の防止に有効であると考えられる。

5. 結論

黄色ブドウ球菌に対するペリルアルデヒドの抗菌作用の有無は判断し難い。実験で使用した7種類の紫蘇の中で、ペリルアルデヒドが最も多く含まれているのは、赤丸葉紫蘇である。また、黄色ブドウ球菌は鼻の粘膜に最も多い。

6. 展望

紫蘇の量を変えて実験する。また、紫蘇は他の菌、具体的には腸炎ビブリオ菌やカンピロバクターに対し

ては抗菌作用がある可能性があるため、黄色ブドウ球菌同様に調べたい。

7. 謝辞

九州医療科学大学の渥美聰孝准教授に大学内の設備を貸して頂き、実験の準備や実験時の補助をして頂きました。ご協力ありがとうございました。

8. 参考文献

シソの納豆菌に対する抗菌作用

<https://jonan-hs.tokushima-ed.jp/wysiwyg/file/16/5819>