

# 朴葉の性質

3510 片山 聡志 3522 西尾 和樹 3636 山口 昂佑

**要旨** 朴葉の抗菌性について調べる実験を行った。朴葉の抗菌性について調べるために寒天培地を用いて細菌の発生の有無について調べた。対照実験として柏、ミョウガ、ヒトツバタゴ、蒸留水を用いた。各葉の粉碎液と蒸留水を寒天培地に塗り細菌を付着させ増殖させたところ、朴葉の粉碎液を塗ったものには一度も細菌が生えず、抗菌性があることが分かった。朴葉の抗菌成分の持つ特性の解析を行ったところ、抗菌成分は脂溶性を持つことが分かった。また、発生した細菌についてキットを用いて実験を行ったところ蒸留水、朴葉の粉碎液を塗った寒天培地に発生していた細菌は黄色ブドウ球菌であるという結果が得られ、朴葉は黄色ブドウ球菌に対する抗菌作用があるということが分かった。

## 1. 目的

岐阜県の郷土料理である朴葉ずしに用いられる朴葉について着目し、その性質、主に抗菌性について調べるためにこの実験を行った。



し水 20g を混ぜてすり潰し粉碎液を作った。

寒天培地については寒天培地の粉末 4.7g を蒸留水 200ml に溶かしオートクレーブ内で加熱殺菌を行ったのち滅菌シャーレに分注した。

- それぞれの粉碎液および蒸留水をあらかじめ作っておいた寒天培地に塗る。なおこの作業はクリーンベンチ内で行った。
- インキュベーターの中で 24 時間放置して細菌の増殖の有無を調べた。

## 2. 仮説

朴葉には抗菌成分が存在する。

## 3. 使用した器具, 材料

- クリーンベンチ
- オートクレーブ
- 朴葉
- 柏の葉
- ミョウガの葉
- ヒトツバタゴの葉
- 蒸留水
- 滅菌シャーレ
- ジエチルエーテル
- アセトン
- ペタンチェック 10 卵黄加マンニット食塩培地

## 4. 研究・実験の手順

### 実験①

- 朴葉, ミョウガ, 柏の葉を採取し各葉 3.0g に対



**仮説** 抗菌作用がある朴葉, ミョウガの粉碎液を塗った寒天培地には菌が生えず, 柏の粉碎液, 蒸留水を塗ったものには菌が生える。

### 実験②

- 実験①と同様にして朴葉, ミョウガの粉碎液を作り各粉碎液と蒸留水を寒天培地に塗った。

- ・実験①ではすべての過程をクリーンベンチ内で行ったが今回はより実際の食べ物の状態に近づけるために空気中の細菌を用いて実験を行ったため実験①とは異なり分注以降はクリーンベンチ外で作業を行った。
- ・今回はインキュベーターを用いず寒天培地のふたを開けて生物室に一日放置し、空気中の細菌を付着させてから各粉碎液および蒸留水を塗りふたを閉めさらに一日放置し、細菌の発生の有無について調べた。

仮説 細菌を付着させたため実験①とは違い蒸留水を塗った寒天培地には細菌が生え、ミョウガ、朴葉の粉碎液を塗った寒天培地には細菌が生えない。

#### 実験③

- ・実験①、②と同様に寒天培地を作る。
- ・実験①、②では食べ物を包んだ料理がある葉を用いたが今回は料理に使われていない葉と対照実験をするために校内に生えていたヒトツバタゴの葉を用いた。
- ・実験①、②と同様にして朴葉、ヒトツバタゴの粉碎液を作り各粉碎液と蒸留水を寒天培地に塗った。
- ・実験①、②と同様にして菌の発生の有無について調べた。

仮説 朴葉には抗菌性があるため朴葉の粉碎液を塗った培地には細菌が生えずヒトツバタゴの粉碎液を塗った培地には細菌が生える。

#### 実験④

- ・朴葉の持つ抗菌作用の成分の解析を行った。
- ・抗菌成分が水溶性、脂溶性を持つか調べるために水溶性物質の溶媒としてジエチルエーテル、アセトン、水溶性物質の溶媒として蒸留水を用いて朴葉を一日浸し抽出液を作成した。
- ・作成した抽出液を寒天培地に塗り、細菌の発

生の有無を調べた。

- \*各溶媒自体が細菌の育成に影響を与えないことは確認済みである。

#### 仮説

- ・水溶性が存在し、脂溶性は存在しない。

#### 実験⑤

- ・ここまでの実験から朴葉には抗菌性があると思われるため、その抗菌性が特定の細菌に対するものなのかどう調べるために以下の実験を行った。
- ・また、発生していた細菌は黄色ブドウ球菌であると仮説を立てたため発生した細菌が黄色ブドウ球菌であるかどうかを調べた。
- ・細菌の生えた寒天培地を用意し、それらぺたんチェック 10 卵黄加マンニット食塩培地を用い、発生した細菌が黄色ブドウであるかどうかを調べた。
- ・あらかじめ細菌の生えている寒天培地にぺたんチェック 10 卵黄加マンニット食塩培地を押し付けて培地に細菌が発生したら寒天培地には黄色ブドウ球菌が生えていたと判断できる。
- ・ぺたんチェック 10 卵黄加マンニット食塩培地とは平状な物体表面に直接接触させて付着菌を移し取り、培養後に発生したコロニーを計測することができるものである。

#### 仮説

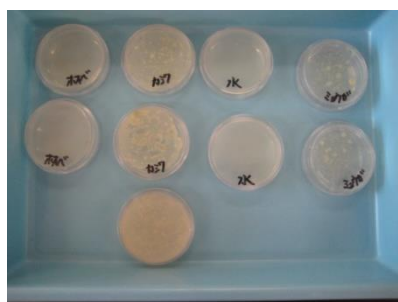
- ・寒天培地に発生した細菌は黄色ブドウ球菌であるため、ぺたんチェック 10 卵黄加マンニット食塩培地に反応が見られる。

## 5. 結果

#### 実験①について

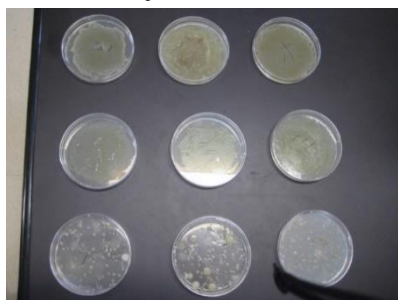
- ・朴葉の粉碎液、蒸留水を塗った寒天培地には細菌が生えず、柏、ミョウガの粉碎液を塗った寒天培地には細菌が生えた。特に柏の粉碎液を塗ったものは細菌が多く発生していた。

どちらのコロニーも黄色の丸い形をしたコロニーが発生していた。



#### 実験②について

- ・ 朴葉, ミョウガの粉碎液を塗った寒天培地には細菌が生えず, 蒸留水を塗った培地には細菌が生えた。実験①と同様に発生したコロニーは黄色の丸いコロニーだった。コロニーの量は実験①の柏の粉碎液を塗ったものよりは少なかった。



#### 実験③について

- ・ 朴葉の粉碎液を塗った寒天培地には細菌が生えずヒトツバタゴの粉碎液, 蒸留水を塗った寒天培地には細菌が生えた。今回の実験ではコロニーの様子が実験①, ②とは異なり小さなコロニーが列をなしているようだった。

#### 実験④について

- ・ ジエチルエーテル, アセトンの各抽出液をぬった寒天培地には細菌の育成が確認されず, 蒸留水を塗った寒天培地には細菌の育成が確認できた。



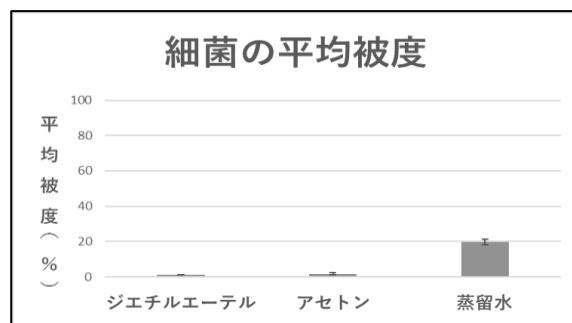
ジエチルエーテル



アセトン

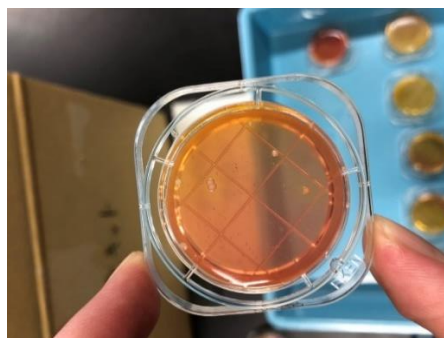


蒸留水



#### 実験⑤について

- ・ ペたんチェック 10 卵黄加マンニット食塩培地の培地に細菌が発生した。
- ・ このことから発生した細菌は黄色ブドウ球菌であると思われる。



#### 6. 考察・わかったこと

- ・ 実験①では分注や粉碎液を塗る工程をクリーンベンチ内の無菌の環境下で行ったため発生した細菌はもともと葉に含まれていた細菌と思われる。
- ・ 蒸留水を塗ったものに細菌が生えなかったのも無菌の状態で作業を行ったためだと思われる
- ・ 朴葉, ミョウガの粉碎液を塗った培地に細菌が生えなかったのは朴葉, ミョウガに抗菌作用が存在した。もしくは各葉にそもそも細菌が存在していなかったことが考えられる。
- ・ 実験②では空気中の細菌を利用したため蒸留

水を塗ったものに細菌が発生した。

- ・実験①ではミョウガの粉砕液を塗ったものに細菌が生えたが実験②では細菌が生えなかった。このことはミョウガが特定の細菌に対する抗菌性を持ち実験①と実験②では付着した細菌が違うのではないかと思われる。
- ・実験①と同様に実験②でも朴葉の粉砕液を塗ったものには細菌が生えなかったので朴葉には抗菌作用があると考えられる。
- ・実験③では実験②と同様に空気中の細菌を利用したので蒸留水を塗ったものに細菌が発生した。
- ・ヒトツバタゴの粉砕液を塗ったものには蒸留水を塗ったものと同様に細菌が生えなかった。実験①, ②と同様に朴葉の粉砕液を塗ったものには細菌が生えなかった。
- ・3 回の実験を通して朴葉の粉砕液を塗ったものに一度も細菌が生えなかったので朴葉には抗菌性があると考えられる。
- ・発生した細菌は黄色ブドウ球菌であるため、ここまでの実験から朴葉には黄色ブドウ球菌に対する抗菌作用があると考えられる。

## 7. 今後の展望

- ・朴葉の枯れた葉と枯れてない葉などでも成分に差があるのかなどについて調べる。
- ・今回の実験では朴葉には黄色ブドウ球菌に対する抗菌性があると分かったため、その他の細菌に対する抗菌作用があるかどうかについて調べる。
- ・今回の実験では朴葉の抗菌成分は脂溶性を持ち、水溶性を持たないことが確認できたため、今後はその他の特性について解析を行いたい。

## 8. 参考 URL

西岡舜, 文谷有里, 滝澤有美「わさびの抗菌効果」金光学園 SSH ホームページ, 平成 25 年  
[http://konkougakuen.net/ssh%20hp/2013bio\\_38.pdf](http://konkougakuen.net/ssh%20hp/2013bio_38.pdf)

「黄色ブドウ球菌検査」関東化学株式会社ホームページ

[https://products.kanto.co.jp/uploads/pj46\\_m\\_pdf/361/pdf1.pdf](https://products.kanto.co.jp/uploads/pj46_m_pdf/361/pdf1.pdf)