

# 琉球大学学術リポジトリ

ゲットウ (*Alpinia speciosa* K.Schum)

抽出液の微生物に対する抗菌作用と変異原試験

メタデータ	言語: 出版者: 琉球大学教育学部 公開日: 2007-08-08 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 東盛, キヨ子, Higashimori, Kiyoko メールアドレス: 所属:
URL	<a href="http://hdl.handle.net/20.500.12000/1334">http://hdl.handle.net/20.500.12000/1334</a>

# ゲットウ (*Alpinia speciosa* K. Schum) 抽出液の微生物に対する抗菌作用と変異原試験

東盛キヨ子 \*

Antibacterial Action and Mutagenicity of Gettou (*Alpinia speciosa* K. Schum) Extract

Kiyoko HIGASHIMORI \*

(Received oct. 31, 1994)

## 1. 緒言

ゲットウ (*Alpinia speciosa* K. Schum) は漢名を月桃、方言名をサンニンといい、高さ2~3mのショウガ科の多年生草本である。全体に芳香があり、葉は二列に互生し、長さ40~70cm、幅5~9cmの楕円状で上面は光沢がある。台湾、中国南部、東南アジアに分布し、わが国では八丈島、小笠原諸島、九州南部から南西諸島などの原野に自生している。<sup>1), 2)</sup> その茎は乾燥させロープとしてサトウキビ等の結束に用いられる。豊富な繊維を利用した紙の開発もなされ、和紙の風合いを生かした紙製品が商品化されている。ゲットウ葉や、根茎、種子成分は香料や防虫剤として、また葉の濃い緑色素は菓子や麺類の着色料として利用されている。ゲットウの葉は餅菓子の包装材として古くから用いられ、特に旧暦12月8日の伝統行事である鬼餅(ムーチー)には欠かせないものである。ゲットウの葉に包んで蒸した餅は香りがよく、他の餅類より保存性がよいように見受けられることから、ゲットウ成分が腐敗細菌等に対して、抗菌作用を有するのではないかと思われる。そこで今回、ゲットウ抽出液の微生物に対する抗菌作用について検討した。また、食品への添加も行われていることから、その安全性の評価の一環としてAmes法による変異原試験も実施したので報告する。

## 2. 実験方法

### 1) 試験液の調製

#### a. ゲットウ水抽出液の調製

学内で採取したゲットウの葉を細切し、3倍量の精製水とともにミキサーで磨砕したのち、吸引ろ過を行なった。ろ液は細菌ろ過器でろ過滅菌を行い試験液とした。

#### b. ゲットウ水抽出濃縮液の調製

上記の方法で得たる液を、ロータリーエバポレーターで1/2量になるまで濃縮した。

#### c. ゲットウエタノール抽出濃縮液の調製

水の代わりにエタノールでゲットウ葉の抽出操作を行い、濃縮したものをゲットウエタノール抽出濃縮液とした。

#### d. ゲットウ水抽出液の熱安定性

ゲットウ水抽出液をろ過滅菌したものとオートクレーブで121℃、15分蒸気滅菌した抽出液の大腸菌群に対する影響を比較した。

### 2) 抗菌試験

試験菌株は市販の無包装餅より分離し、Cowanの方法<sup>3)</sup>で属の段階まで同定した、*Bacillus*、腸内細菌、その他のグラム陰性菌、*Klebsiella aerogenes* I、*Citrobacter freundii* IIを用いた。

実験に際しては、新鮮培養菌を滅菌生理食塩水に懸濁させ、一平板あたり30~300コロニーが

\* Dept. of Home Econ., Coll. of Educ., Univ. of the Ryukyus

生ずる濃度に希釈し被検菌液とした。  
 抗菌試験は上田らの方法<sup>4)</sup>を参考に、ゲットウ抽出液0.5mlまたは2.0mlを添加して固めた標準寒天平板上に、被検菌0.1mlを塗抹し、37℃、24時間培養後、出現したコロニーを観察した。

### 3) 変異原試験

南大東産のゲットウ精油について Ames 法を改良した矢作らのブレインキューション法<sup>5)</sup>により行なった。使用菌株は福岡県衛生公害センターより分与された *Salmonella typhimurium* TA100およびTA98を用いた。これらの菌株はヒスチジン合成酵素の遺伝子に突然変異が起きていて、培地中にヒスチジンがないと増殖できないヒスチジン要求性 (His-) となっている変異株である。

代謝活性化による場合、各種濃度の試験溶液0.1mlに0.5mlのS9 mix (ラット肝誘導酵素系)を加え、代謝活性化によらない場合には0.1Mリン酸ナトリウム緩衝液を加え、さらに0.1mlのTA100又はTA98の菌液を加える。直ちに37℃で20分間振盪しながらブレインキューバートしたのち、軟寒天2mlを加えて混合し、最小グルコース寒天平板培地上に均一に注ぎ、37℃、48時間培養後、復帰異変コロニー数を計数した。溶媒対照として蒸留水およびジメチルスルホキサイド(DMSO) (Cica-MERCK社製)を、また変異原陽性対照として2-(2-furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide (AF-2) およびbenzo[a]pyrene (B[a]P) (いずれも和光純薬工業(株)製)をDMSOに溶解して用いた。

変異原性の有無の判断は、試験液のいずれかの濃度でコロニー数が対照のコロニー数の2倍に達しなければ陰性とし変異原性は検出されなかったと判定する。

### 3. 結果および考察

#### 1) 一般細菌に対するゲットウ各種抽出液の影響

*Bacillus*、腸内細菌、その他のグラム陰性菌の被検菌液に対し、ゲットウ水抽出液、水抽出濃縮液およびエタノール抽出液の菌叢発現比率を表1に示した。水抽出液0.5ml添加では

*Bacillus*、腸内細菌は無添加区(対照として1.00とする)とほとんど差が見られず、その他のグラム陰性菌は菌叢発現比率1.2と生育の促進が見られた。2.0ml添加区では、いずれの菌も対照よりわずかに低い値を示した。

表1 各種ゲットウ抽出液の細菌の生育に及ぼす影響  
 添加量別の細菌叢の発現割合(%)

細菌	抽出液 添加量(ml)			水抽出液			水抽出濃縮液			エタノール抽出液		
	0	0.5	2.0	0	0.5	2.0	0	0.5	2.0	0	0.5	2.0
<i>Bacillus</i>	100	97	102	100	78	80	100	82	90			
腸内細菌	100	103	67	100	95	97	100	87	50			
その他の グラム陰性菌	100	122	98	100	88	92	100	95	0			

一方、水抽出濃縮液ではいずれの添加区においてもわずかながら菌の増殖が抑制された。抗菌物質に対する感受性が一般に高いことが知られている *Bacillus*<sup>6)</sup>は、発現比率が0.8前後に抑制された。香辛料はグラム陰性菌に対するよりもグラム陽性菌に対して強い阻害作用を示すとの報告もあり<sup>7)</sup> *Bacillus*の生育が抑制されたのは、このことによるものと思われる。加藤<sup>8)</sup>は微量の抗菌物質の存在下ではかえって増殖速度が促進されると述べており、このことが今回の水抽出液0.5ml添加区のグラム陰性菌数が対照より多くなっている理由ではないだろうか。

エタノール抽出液については0.5ml添加ではいずれの被検菌についてもその抑制効果はわずかである。2.0ml添加区の腸内細菌の菌叢発現比率は0.5で、その他のグラム陰性菌ではまったく発現してなく、水抽出液に比べ、抗菌作用は大きいと言える。

池間<sup>9)</sup>らはゲットウ精油の化学処理により中性部画分の成分中に、抗菌作用の認められているゲラニオール、 $\alpha$ -ピネン、ボルネオール等を確認しており、これらの成分が菌の増殖を抑制したものである。

大腸菌群に対する作用を *K.aerogenes* I, *C.freundii* II の被検菌液にゲットウの水抽出液を添加して培養した際の菌叢発現比率を表2に示した。*K.aerogenes* I については、0.5ml および2.0mlの両添加区とも菌の生育に影響は

見られなかった。*C. freundii* II については 0.5ml 添加では変化は見られなく、2.0ml 添加区で菌叢発現比率が1.12とわずかに増えている。しかし、ゲットウ抽出液を添加していない対照区平板上のコロニー直径が約5mmに対し添加区平板上のコロニーは約2mmとなっており、ゲットウ水可溶区分が、大腸菌群の生育に少なからず影響を及ぼしていることがうかがえる。

表2 ゲットウ水抽出濃縮液の大腸菌群の生育に及ぼす影響  
添加量別の細菌叢の発現割合(%)

細菌	抽出液 添加量 (ml)	水抽出濃縮液		
		0	0.5	2.0
<i>Klebsiella aerogenes</i> I		100	98	101
<i>Citrobacter freundii</i> II		100	100	114

ゲットウ抽出液の熱安定性について、試験液添加による大腸菌群の発現比率で検討した。表3に示したように、*K. aerogenes* I, *C. freundii* II とも加熱した抽出液を添加した方で菌の発現比率が高くなっていた。これはゲットウ水抽出液を滅菌のため121℃、15分間の比較的高い温度で加熱したため、抗菌有効成分が揮散したものと考えられる。

表3 ゲットウ水抽出液の熱安定性

加熱及び未加熱抽出液添加の細菌叢発現割合(%)

細菌	抽出液 添加量 (ml)	水抽出液(未加熱)		水抽出液(加熱)	
		0	2.0	0	2.0
<i>Klebsiella aerogenes</i> I		100	95	100	118
<i>Citrobacter freundii</i> II		100	90	100	106

## 2) 変異原試験結果

ゲットウは包装材としての利用のほか抽出液や粉末が食品へ添加され利用されている。しかし天然の食品添加物として利用されてはまだまだ浅い。そこでこれらの食品添加物としての安全性を確認するための一方法である変異原試験を実施し、その結果を表4に示した。試験液としてゲ

ットウ水抽出液、ゲットウ葉の水蒸気蒸留により得られた精油を用いた。

表4 ゲットウ葉水抽出液及び精油の変異原試験結果  
復帰変異コロニー数

試料	検体濃度 ( $\mu$ l/plate)	復帰変異コロニー数/平板			
		TA100		TA98	
		+S9 mix	-S9 mix	+S9 mix	-S9 mix
ゲットウ葉抽出液	100	154	135	57	29
対照(精製品)	10	130	82	38	24
ゲットウ精油	0.01	65	77	78	50
	0.001	65			
対照(DMSO)	0	113	105	62	24
AF-2	0.01 $\mu$ g	-	254	-	-
B[a]P	5.0 $\mu$ g	982	-	406	-

今回の試験結果では遺伝子のフレームシフト型変異を確認するサルモネラ TA98より塩基対置換型のためのサルモネラ TA100の方でコロニー数が多く検出された。またS9 mixを加えた方で多く検出された。しかし、今回用いた試験液はいずれの濃度においても対照の2倍以上のコロニー数を示すものは無く変異原性は認められなかった。

## 4. 要約

沖縄の山野に広く分布し、餅の包装材や食品の着香、着色の目的で利用されているゲットウの抽出液の微生物に対する抗菌作用について検討した。さらに安全性確認の一環として変異原試験を実施し次の結果を得た。

- 1) ゲットウ水抽出液の餅より分離した *Bacillus*、腸内細菌、その他のグラム陰性菌に対する抗菌作用は濃縮液で若干効果が見られた。
- 2) 大腸菌群に対するゲットウ水抽出濃縮液の抗菌作用は顕著でなかったものの、抽出液添加の平板上のコロニー直径が対照より小さくなっていった。
- 3) ゲットウ水抽出液は加熱することにより抗菌作用は弱くなった。
- 4) ゲットウ水抽出液およびゲットウ精油の変異原性は認められなかった。

本研究の一部は沖縄県産業振興基金により実施したものであり、関係各位に感謝申し上げます。

す。最後に、変異原試験用菌株を御供与くださいました福岡県衛生公害センターの堀川和美博士と実験に協力して下さった重盛優子さんにお礼を申し上げます。

#### 引用文献

- 1) 刈米達夫ほか：薬用植物分類学、廣川書店、東京322 (1983)
- 2) 池原直樹：沖縄植物野外活用図鑑5、新星図書出版、沖縄270 (1979)
- 3) S.T.Cowan、坂崎利一：医学細菌同定の手引き第2版、近代出版 (1983)
- 4) 上田成子ほか、：日本食品工業学会誌、29,2,111~116 (1982)
- 5) 矢作多貴江：蛋白質、核酸、酸素、20、1178~1182 (1975)
- 6) 相磯和嘉ほか：食品衛生学事典、医歯薬出版、東京、553 (1972)
- 7) 前掲書4)
- 8) 前掲書6)、70
- 9) 池間洋一郎ほか：沖工試業務報告、16、146 (1988)