

雑巾の絞り汁中の抗菌作用について

静岡県立浜松西高等学校中部部
科学部生物班 3年 堀尾いぶ希

1 動機と目的

中学2年生の文化祭のときに何気なく、生物室の机を拭いた雑巾が臭いということに気づき、この臭いの原因は、雑巾についている雑菌なのではないかと考えた。そこで、雑巾はなぜ臭いのか、臭いや臭いの原因となっている菌の抑制物質は何かを調べることにし、取り組んだ。しかし、この実験に関する周辺の状況を調べていくうちに、雑巾の臭い物質やその菌について、既に解明されていることが分かった。この実験の途中、雑巾の絞り汁で作った培地では、かえって菌の増殖が抑えられるということが見られたため、雑巾の絞り汁が特定のいくつかの菌の増殖を抑えることについて詳しく調べることにした。

2 方法

(1) 実験に使用する雑巾について

本実験で用いる雑巾は本校生物室の清掃に使われているもので、主に実験台を拭いて乾燥させたものである。18cm×30cmの大きさのものを使う。

(2) 雑巾の菌の採取

ビニール手袋をつけ、雑巾を1枚、消毒済みのトレイにいれた。雑巾に滅菌水約150mLをしみこませ、滅菌済みビーカーに絞り汁（以下、菌液とする）を集めた。菌液は使用まで冷蔵保存した。

(3) 寒天培地（LB培地）の作製

bacto tryptone (1g), yeast extract (0.5g), NaCl (0.5g), Ager (1.5g), 水 (100mL) を正確に量りとり、三角フラスコに入れた。三角フラスコの口をアルミホイルで二重にかぶせ、オートクレーブで高圧蒸気滅菌（121℃で20分）した。滅菌し終わった後、クリーンベンチの中で直径10cmのシャーレ約7枚に移した。寒天が固化するのを待ち、使用まで冷蔵保存した。

(4) 菌の培養

マイクロピペットで菌液100 μ Lを寒天培地に移した。スプレッダーでシャーレ全体に広げた。37℃で一晩培養させた。

(5) 雑巾汁濃縮液の作製

雑巾を1枚あたり500mLの水で絞り、コーヒーフィルターでこした。ろ液を加熱蒸発させて約6倍に濃縮した。さらに遠心分離機（145G, 4分）で残った微粒子を沈殿させ、上澄みを採取した。上澄みはオートクレーブにかけて高圧蒸気滅菌した。

(6) 雑巾汁濃縮液を含んだ培地の調製と雑巾の菌の培養

表1に示すように濃縮液と菌液（雑巾の菌）の混合液をLB培地にまいた。まく時に濃縮液と菌液の割合を変えた。

表 1

	濃縮液+菌液	濃縮液と菌液の割合
a	0 mL + 1 mL	0 : 4
b	0.25 mL + 0.75 mL	1 : 3
c	0.5 mL + 0.5 mL	2 : 2
d	0.75 mL + 0.25 mL	3 : 1

(7) 菌が増殖できる最低限の栄養培地(低栄養培地)の基準の検討

LB 培地 (3) (Agar と水以外の材料の量) を変え, 表 2 に示すように菌が増殖できる低栄養培地の検討を行った。希釈倍率は 5 倍, 10 倍, 20 倍, 40 倍, 80 倍とした。

表 2

	希釈	LB の液	水	Agar
a	5 倍	4 mL	16 mL	0.3g
b	10 倍	2 mL	18 mL	0.3g
c	20 倍	1 mL	19 mL	0.3g
d	40 倍	0.5 mL	19.5 mL	0.3g
e	80 倍	0.25 mL	19.75 mL	0.3g
	0 倍	0 mL	20 mL	0.3g

(8) 低栄養培地における雑巾の菌の増殖に与える雑巾汁濃縮液の影響の検討

40 倍希釈の LB 培地の組成に濃縮液を加え, 表 3 に示すように寒天培地を調製した。その寒天培地に 100 μ L ずつ菌液をまいた。

表 3

	濃縮液	水	LB
a	5 mL (25%)	14.5 mL	0.5 mL
b	2 mL (10%)	17.5 mL	0.5 mL
c	1 mL (5%)	18.5 mL	0.5 mL
d	0.5 mL (2.5%)	19.0 mL	0.5 mL
e	0.2 mL (1%)	19.3 mL	0.5 mL
f	0 mL	19.5 mL	0.5 mL

3 結果

(1) 雑巾汁濃縮液の作製

雑巾から土や砂がたくさん出たため, 2 回に分けて絞った。コーヒーフィルターで絞り汁をこすときもフィルターの目がすぐに埋まってしまったため, 3 枚使った。450 mL 絞れた。加熱蒸発させ濃縮させたところ, 黒いアクがでた。水蒸気からは雑巾の臭いがした。

(2) 雑巾汁濃縮液を含んだ培地による雑巾の菌の培養

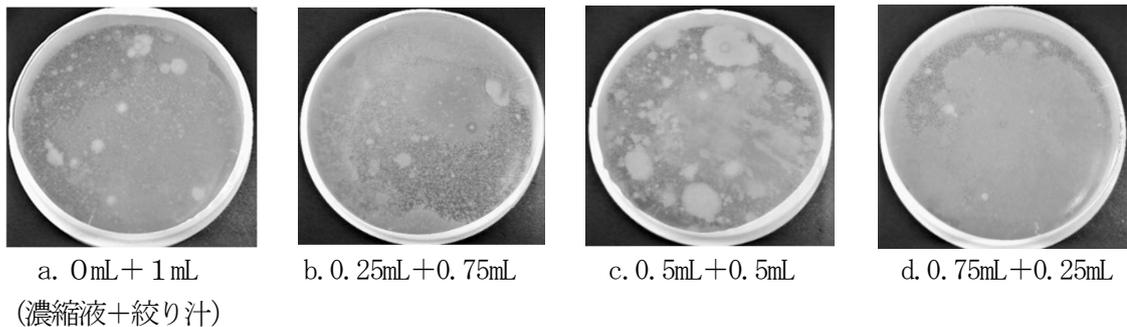


図1 雑巾汁濃縮液を含む培地による雑巾の菌のコロニー

どの培地にもたくさんの菌が出た。

(3) 低栄養培地の検討

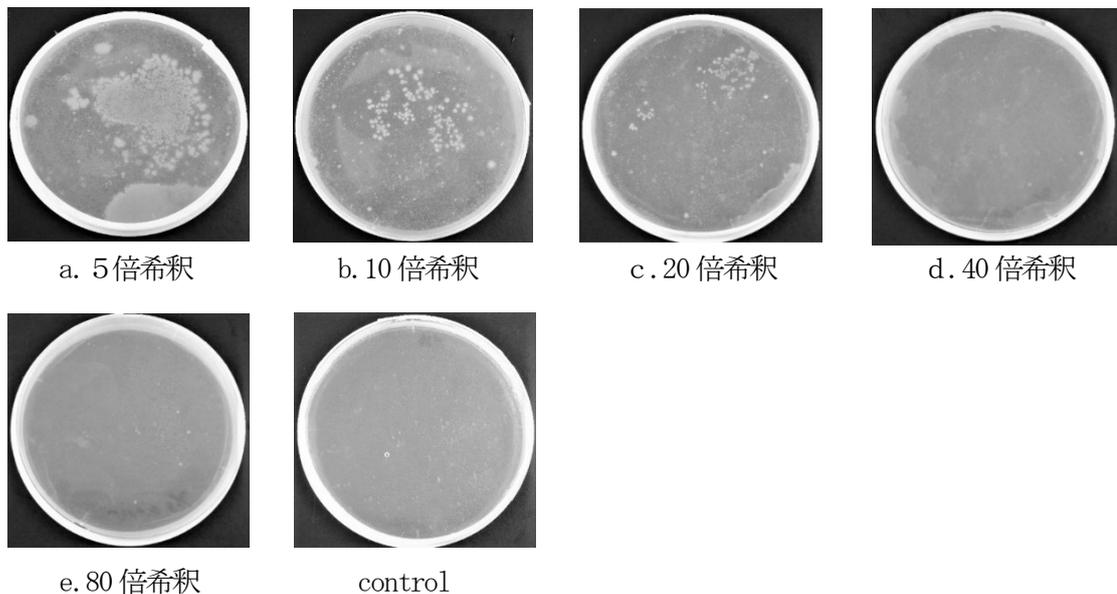


図2 希釈LB培地 (低栄養培地) による雑巾の菌のコロニー

濃度依存的に全ての培地にコロニーが現れた。40倍希釈のLB培地は比較的多種の菌が増殖できた。

(4) 低栄養培地における雑巾の菌の増殖に与える雑巾汁濃縮液の影響の検討

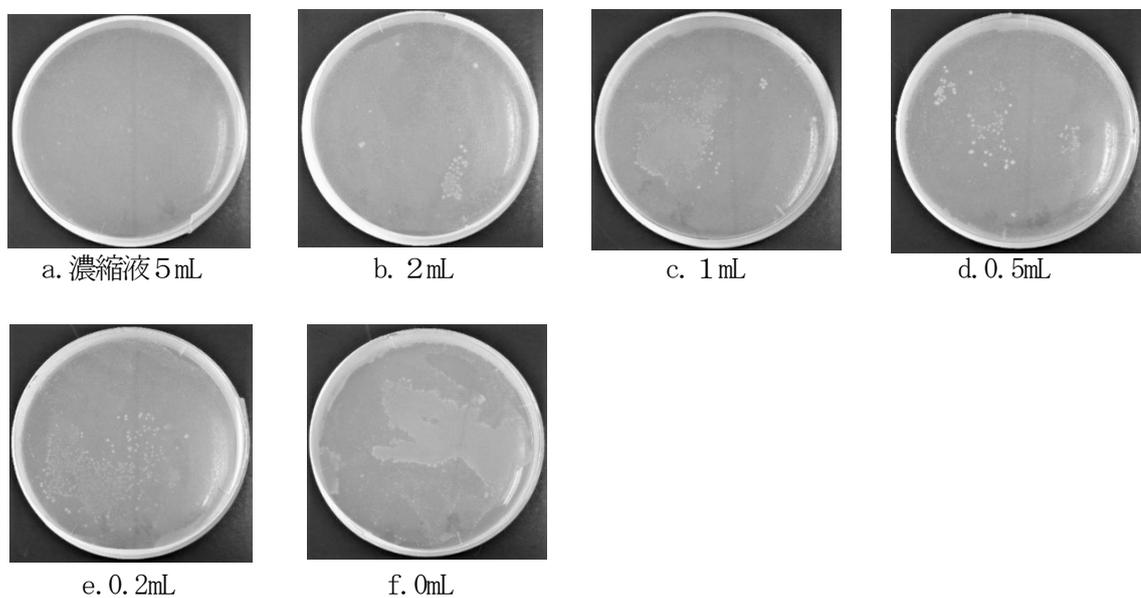


図3 雑巾汁濃縮液を含む低栄養培地における雑巾の菌の培養

濃縮液の濃度が高いほど、出た大きなコロニーが少なかったが濃縮液の濃度に関わらず、小さな白いコロニーは数多く確認できた。また、大きな白いコロニーと小さな白いコロニーでは種類が違っていた。(fではコロニーとして分離できないほどの菌の増殖がみられた。)

4 考察

図1より、どの培地にもたくさん菌が出たのは、LB培地の栄養が多すぎたため、抗菌効果がかき消されたからだと考える。そのため、図2では抗菌効果が確認できる程度の低栄養培地の基準を検討した。その結果に基づき、低栄養培地は40倍希釈のLB培地とした。図3で出た、大きな白いコロニーの様子はどの培地でも似ていたため、これらは同じ菌だと考えられる。(以下、大きな白い菌をWとする)Wのコロニーの数は、培地に含ませる濃縮液の量が多いほど少なかったことから、雑巾の濃縮液にはWに対する抗菌作用があるといえる。しかし、いくら雑巾の絞り汁にWに対する抗菌作用があるにしても、図1より雑巾には多数の菌が生息している。雑巾が汚いことに変わりはない。

雑巾汁濃縮液のWに対する抗菌作用は、オートクレーブにかけても失活しない、熱に強い物質であるといえる。この抗菌物質の由来を考えたとき、次の3つの可能性が考えられる。

1つ目は、Wの増殖が他の菌の出す物質によって抑制されているという可能性である。

2つ目は、雑巾の繊維由来という可能性であるが、実験に使用している雑巾は綿製であるため、この可能性は極めて低いと思われる。

3つ目は、雑巾に付着した汚れそのものに抗菌作用があるという可能性である。この実験に使っている雑巾は生物室の机を主に拭くものであるため、人間の皮脂や水回りの汚れである。

これら3つの中でも、特に1つ目の可能性に注目している。

5 結論

生物室の雑巾の絞り汁には特定の菌に対する抗菌作用があった。雑巾に含まれる抗菌物質は図3で出た大きな白い菌(W)と栄養や場所を争う菌が出す物質である可能性に注目している。

6 今後の課題

今後はWに対する抗菌物質について調べていきたい。Wに対する抗菌物質はW以外の菌が出す抗菌物質であるという仮説の下、W以外の菌を液体培地で培養し、その上澄みを使って実験を進めていきたい。

7 謝辞

本研究を進めるにあたり、浜松西高等学校鈴木満先生には実験道具の調達や操作方法の享受など多大な指導を賜りました。厚く感謝を申し上げます。

8 参考文献

- (1)「ここがおかしい菌の常識 え！ホントはそうなの清潔・不潔」青木阜著，ダイヤモンド社，2000年7月6日発行
- (2)「主婦が選ぶ洗濯洗剤 | (公式) NANOX ニオイ専用」
https://top.lion.co.jp/products/nanox-nioi/?utm_source=yahoo_sem&utm_medium=cpc&utm_term=3&utm_content=big_5titles&utm_campaign=nanox-nioi