

石鹼による精油の滅菌作用に関する調査

梅原航輔* 山崎敬太郎* 中村啓太郎* 山添智暉* 西脇郁弥* 阿部佑貴* 茨木溪太*
大塩愛子** 谷口博*** 大多喜重明****

A Study on the Sterilizing Activity of Pure Botanical Essential Oil Soaps

Kousuke UMEHARA* Keitarou YAMASAKI* Keitarou NAKAMURA* Tomoaki
YAMAZOE* Humiya NISHIWAKI* Yuuki ABE* Keita IBARAKI*
Aiko OSHIO** Hiroshi TANIGUCHI*** Shigeaki OTAKI****

ABSTRACT

We examined a sterilizing activity of an essential oil. One comparative experiment was performed by using our own composition soaps with or without the essential oil extracted by steam distillation method. After hand-wash by their soaps, we made the remaining bacteria in hands growing on the agar mediums for 72-hours. We checked the number of colony of bacteria. The results show that some essential oils can include a disinfection effect against bacteria.

Keywords : essential oil, soap, bacterial colony, antibacterial properties

1. はじめに

精油は、単品で香りを楽しむほかに、それ自体が抗菌作用を持つことから、ろうそく、入浴剤、石鹼などの日用品に混ぜて使われる⁽¹⁾。そこで我々は、抗菌作用のあるヒノキの精油を用いて石鹼を作成し、ヒノキの精油の抗菌作用を確かめることにした。はじめに、精油を混ぜた石鹼と混ぜていない石鹼を作った。それらで手を洗い、生き残った菌を24時間かけて寒天培地上で繁殖させ、寒天培地上に形成された細菌コロニーの数を数え、そこからさらに48時間かけて繁殖させ、コロニーの数を再び数えた。精油を混ぜた石鹼で手を洗った際のコロニー数と、そうでない石鹼で手を洗った際のコロニー数の増加量を比較することで、ヒノキの精油を混ぜた石鹼の抗菌作用を確かめた。

2. 実験方法

2.1. 実験概要

水蒸気蒸留法によりヒノキの精油を抽出し、それを混ぜた石鹼と混ぜていない石鹼で手を洗い、手に残った菌を寒天培地上で24時間かけて繁殖させ、細菌コロニーの数を数えた。そこからさらに48時間かけて繁殖させ、コロニーの数を再び数えた。

2.2. 使用器具、機器

枝付丸底フラスコ、温度計、ゴム栓、スタンド、ガラス管、丸底フラスコ、リービッヒ冷却器、ゴム管、ゴム管コネクター、アダプター、アルミホイル、脱脂綿、三角フラスコ、30,50,100,200,300 mL ビーカー、ガラス棒、電子天秤、薬さじ、プラスチックカップ、アルミカップ、マイクロピペット、駒込ピペット、シャーレ、チップ、コンラージ棒、綿棒、ペーパータオル、輪ゴム、オートクレーブ、孵卵器、クリーンベンチ

2.3. 使用した試薬、材料

ヒノキの木屑、水酸化ナトリウム(個体)、オリーブオイル、塩化ナトリウム、エタノール、純水、寒天培地(酵母エキス、ブドウ糖、カゼイン製ペプトン、カンテン、栄研化学株式会社製)、砂

2.4. 実験操作法

* 本校 自然科学部 部員

** 一般科助教

*** 一般科准教授(自然科学部顧問)

**** 一般科教授(自然科学部顧問)

2.4.1. 精油の抽出

枝付丸底フラスコに純水、沸騰石、丸底フラスコに、ヒノキの木屑を入れ、それらと、温度計、ゴム栓、スタンド、ガラス管、リービッヒ冷却器、ゴム管、ゴム管コネクタ、アダプター、アルミホイル、脱脂綿を、図 1 のように組み立て、水蒸気蒸留法によりヒノキの精油を抽出した。



図 1.装置の組み立て.

2.4.2. 石鹸の作成

(a)精油を加えていない石鹸

純水 15 mL に水酸化ナトリウム(固体)7 g を溶解させ、そこに 40 °C まで湯煎した 25 mL のオリーブオイルを少しずつ加え、液の分離がなくなるまでガラス棒でかき混ぜた⁽²⁾。エタノールを 1 mL 加えてさらにかき混ぜ、プラスチックカップに移して風通しの良い日陰に約一か月放置した。

(b)精油を加えた石鹸

精油 15 mL に水酸化ナトリウム(固体)7 g を溶解させ、そこに 40 °C まで湯煎した 25 mL のオリーブオイルを少しずつ加え、液の分離がなくなるまでガラス棒でかき混ぜた。エタノールを 1 mL 加えてさらにかき混ぜ、プラスチックカップに移して風通しの良い日陰に約一か月放置した。

2.4.3. 細菌の繁殖

- ① 寒天培地粉末 3.8 g を三角フラスコに入れて精製水 160 mL を加え、アルミホイルでふたをし、ペーパータオル、綿棒とともにオートクレーブに入れて滅菌した。
- ② ガスバーナーを音が鳴るくらいまで強くした(こうすると、ガスバーナー周辺は無菌状態となる。)。そのガスバーナーで、滅菌した①の三角フラスコの口を加熱して水滴を除いてから、ガスバーナー周辺でフラスコ内の液をシャーレに注ぎ、固まるまでその場に放置した。
- ③ 30,50,100 mL ビーカーにアルミホイルでふたをし、純水とともにオートクレーブに入れて滅菌

した。

- ④ 手をエタノールで消毒してから菌を付着させるために砂を付け、まずは水で手を洗った。
- ⑤ 滅菌した綿棒を、滅菌したビーカーに入れた生理食塩水(0.9%食塩水)1 mL に浸した。その綿棒で左手中指の第二関節を 9 回こすり、3 回こするたびに生理食塩水に浸してビーカーの壁にこすり付けた⁽³⁾。
- ⑥ ⑤の操作をした生理食塩水の 20 μ L をマイクロピペットでチップにとり、素早くチップのふたを閉じた。再び手に砂を付け、今度は作成した石鹸で手を洗い、同じことを繰り返した。6 人が④~⑥の操作をした。
- ⑦ ⑥の操作をしたチップすべてに、マイクロピペットを用いて 180 μ L の滅菌した純水を加え、その溶液の 20 μ L をマイクロピペットでとり、固まった②の寒天培地上に滴下しコンラージ棒で全体に伸ばした。
- ⑧ シャーレを 37 °C に保った孵卵器に入れ、24 時間放置した。ガスバーナーを②と同じくらいまで強くし、その周辺でコロニー数を数えた。そこからさらに 48 時間放置し、同じようにしてコロニー数を再び数えた。
- ⑨ 基本①~⑧を繰り返したが、2 回目は、②で液をシャーレに注ぐ操作をクリーンベンチ内で行い、④で手に付ける砂を小袋ごとに分け(一つの袋に入れた砂をみんなが使うと、菌が減少してしまうと考えられるため。) 、人数を 8 人にした。

3. 結果

表 1 は、1 回目の実験で 24 時間放置した時のコロニー数とその平均ある。この数が、48 時間後には表 2 のように変化していた。表 2 では、コロニー数とその平均のほかに、表 1 からのコロニー数の平均値の増加量も示した。表中の(a), (b)は 2.4.2 石鹸の作成に対応する。これ以後の表についても同様である。

表 1. シャーレのコロニー数とその平均
(1 回目、24 時間後).

	水洗い	精油なし(a)	精油あり(b)
班員 1	0	0	0
班員 2	0	0	0
班員 3	0	0	0
班員 4	0	8	0
班員 5	15	2	1
班員 6	0	0	3
平均	2.5	1.7	0.67

表 2. シャーレのコロニー数とその平均
(1 回目、24+48 時間後).

	水洗い	精油なし(a)	精油あり(b)
班員 1	0	1	0
班員 2	0	0	0
班員 3	0	1	0
班員 4	0	9(図 2 右)	0
班員 5	32(図 2 左)	2	2(図 3)
班員 6	2	0	8
平均	5.7	2.2	1.7
増加量	3.2	0.50	1.0

1 回目の実験の⑧で、24+48 時間、つまり合計 72 時間放置したとき、図 2, 3 のように特徴的な細菌コロニーを持つシャーレがあった。

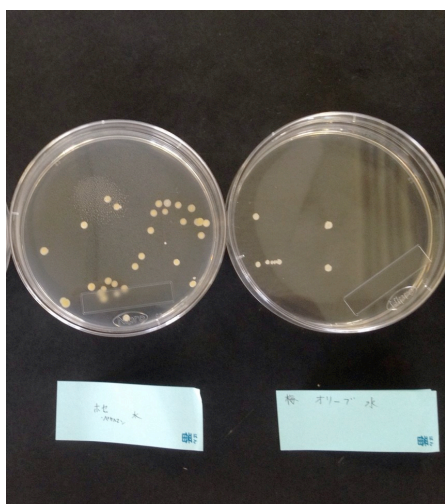


図 2. 特徴のある細菌コロニー
(その 1、1 回目、24+48 時間後).



図 3. 特徴のある細菌コロニー
(その 2、1 回目、24+48 時間後).

表 3. シャーレのコロニー数とその平均
(2 回目、24 時間後).

	水洗い	精油なし(a)	精油あり(b)
班員 1	0	0	0
班員 2	0	1	0
班員 3	5	0	1(図 5 中央)
班員 4	0	1	0
班員 5	1	0	1
班員 6	2(図 5 右)	66(図 5 左)	0
班員 7	0	0	2
班員 8	0	0	1
平均	1.0	0.29 *	0.63

表 4. シャーレのコロニー数とその平均
(2 回目、24+48 時間後).

	水洗い	精油なし(a)	精油あり(b)
班員 1	0	0	1
班員 2	0	1	2
班員 3	6	0	1
班員 4	1	1	0
班員 5	1	0	0
班員 6	2	62	0
班員 7	0	1	4
班員 8	0	2	1
平均	1.3	0.71*	1.1
増加量	0.30	0.42	0.47

表 3 は、2 回目の実験で 24 時間放置した時のコロニー数とその平均である。この数が、48 時間後には表 4 のように変化していた。表 4 では、コロニー数とその平均のほか、表 3 からのコロニー数の平均値の増加量も示した。

図 4 は、2 回目の実験の⑧で 24 時間放置した寒天培地である。この時のシャーレの細菌コロニーの様子は、図 5 のようになった。図 5 の左のシャーレは、細菌コロニーの数が一番多かった。図 5 の中央と右のシャーレは、コロニー数が 1 個のシャーレであるが、このようなシャーレが一番多く見られた。

4. まとめと考察

今回のような、効果を比較検証する実験では、被験者の数が多くなければ統計を取って正確な比較は出来ない。しかし、部活動として行うには人員及び物品に限界があり、今回は 8 人という少人数での検

* コロニー数が 60 以上の場合、それは相対的に異常とみなし、平均を取る際は除いている。

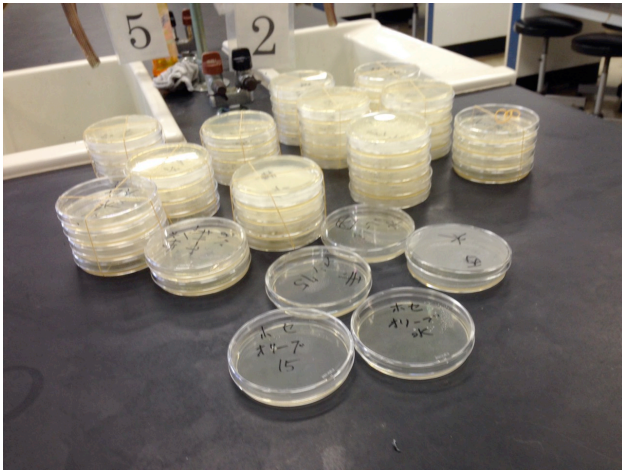


図 4.⑧での寒天培地
(2 回目、24 時間後).

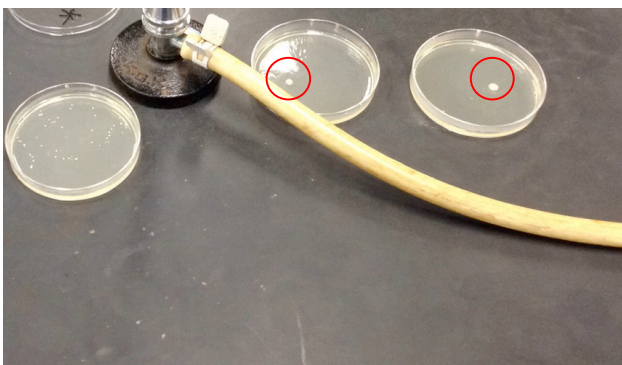


図 5.コロニーが確認できたシャーレの一部
(2 回目、24 時間後).

討となった。

表 1、2 を見ると、一人だけ水洗いのときの細菌コロニーの数が多人数がいる。これはおそらく、この人が最初に手を洗った、つまり、一番菌が多い状態の砂を触ってから手を洗ったからだと考えられる。図 5 の巨大な細菌コロニーは、操作⑦で溶液を完全に伸ばし切れていなかったからだと考えられる。

表 4 を見ると、班員 6 の精油なし(a)での値は、表 3 のときに比べて減っているが、コロニーが消えることはない。これはおそらく、コロニーの数が多すぎることにより計測に誤差が含まれることや、48 時間の間にコロニーが成長して合体したことが原因だと考えられる。表 3 と表 4 の増加量のところを見ると、精油なし(a)の方が、精油あり(b)より増加量は少ない。表 4 に至っては、精油あり(b)の増加量が一番多い。ヒノキの精油を混ぜた石鹼に抗菌作用があるなら、精油あり(b)の方が増加量は少なくなるはずである。よって今回の実験結果から、ヒノキの精油を混ぜた石鹼には抗菌作用があるとは言えない。

今回の実験では、コロニーが合体したことで、コ

ロニーの増加だけでヒノキの精油を混ぜた石鹼の抗菌作用を比較することができなかった。これは、実験に使用した手洗い後の菌液の濃度が高かったからだと考えられる。生物実験では、こういったことを防ぐために、どのくらいの濃度の菌液が一番適しているかを決める予備実験を行うのだが、今回の実験ではしていない。これは、先のような結論に至った原因の一つだと考えられる。

補遺

図 6 は、水蒸気蒸留法により精油を抽出する際に、脱脂綿とアルミホイルによる保温があるときと、ないときの温度上昇を表すグラフである。保温をしたときのほうが、断熱効率が良いことがわかる。

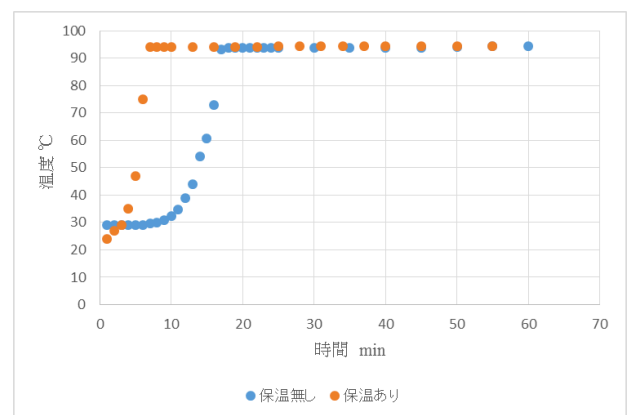


図 6. 水蒸気蒸留法による精油の抽出において、脱脂綿とアルミホイルによる保温が有る場合と無い場合による温度上昇の違い。水色とオレンジ色の点はそれぞれ、保温が無い場合と保温がある場合の結果を示している。

謝辞

本実験を行うにあたり、下村憲司朗准教授、佐藤洋俊准教授には実験器具や試薬、実験場所の提供をしていただきました。この場をお借りして感謝申し上げます。査読者の方には有益なコメントを頂きました。お礼申し上げます。

参考文献

- (1) アロマセラピーのすべてがわかる事典、グリーンプラス監修、ナツメ出版企画株式会社、2009年7月13日発行、pp21-22、p60
- (2) 最新化学工業体系第13巻、三雲次郎/桑田勉著者、誠文堂新光社出版、昭和29年4月1日発行、p53
- (3) 示指細菌数の測定と手洗い効果判定について、竹久洋子、前田環、中田裕二、藍野学院紀要(2007): 21, 17-22, <http://ci.nii.ac.jp/naid/110007126688>