

野草抽出物で染色処理した綿布の抗菌性

浦部 貴美子^{1*}, 小塚 智子¹, 道明 美保子², 灘本 知憲¹

¹ 滋賀県立大学人間文化学部生活栄養学科,

² 滋賀県立大学人間文化学部生活デザイン学科

原稿受付 平成 25 年 3 月 12 日; 原稿受理 平成 25 年 9 月 6 日

Antibacterial Activities of Cotton Fabrics Dyed with Wild Grass Extracts

Kimiko URABE^{1*}, Satoko KOZUKA¹, Mihoko DOMYO² and Tomonori NADAMOTO¹

¹ Department of Food Science and Nutrition, School of Human Cultures,

The University of Shiga Prefecture, Shiga 522-8533

² Department of Life Style Studies, School of Human Cultures,

The University of Shiga Prefecture, Shiga 522-8533

We evaluated the antibacterial activities against *Staphylococcus aureus* of cotton fabrics dyed with water extracts from 16 species of wild grasses on the basis of "JIS L-1902 Test Method".

(1) After 18 h of cultivation, the viable counts of the cotton fabrics dyed was from 3.1×10^2 to 3.0×10^5 cells, and fewer than the viable counts (2.9×10^7 cells) of the standard cotton fabrics without dyeing. Above all, the cotton fabrics dyed with extracts from *Vitis saccharifera*, *Oenothera biennis*, *Commelina communis*, *Reynoutria japonica* and *Eupatorium lindleyanum* had high antibacterial activities.

(2) Bacteriostatic activities and bactericidal activities of 16 kinds of cotton fabrics dyed were measured, and so bacteriostatic and bactericidal activities of all samples were more than 3.0, and 0.9, respectively. However, the correlation wasn't shown between these activities and minimum inhibitory concentration of extracts against the growth of *S. aureus*.

Keywords : wild extract 野草抽出物, cotton fabrics 綿布, dyeing 染色, *staphylococcus aureus* 黄色ブドウ球菌, antibacterial activity 抗菌性

1. 緒言

わが国では、古くから植物を原料とした染料が彩色目的に用いられるだけでなく、それらの持っている防虫効果や殺菌効果が経験的に利用されてきた。最近では、人々の天然物志向や環境への負荷軽減の配慮などの面から、天然物由来の素材に関心が寄せられている。食関連分野における保存シートや抗菌剤、衣料分野における高齢者や病人に対応した抗菌防臭加工製品などの開発も進められている。

著者らは、食品保存に関連した研究において、身近に自生している野草に着目し、それら粗抽出物による

Staphylococcus aureus や *Echericia coli* に対する抗菌力の測定を行ってきた。その結果、強い抗菌力をもっている野草粗抽出物が存在することを明らかにした^{1) 2)}。それらの中には、没食子酸やコーヒー酸のような強い抗菌性物質に匹敵するほどの抗菌力を示した野草抽出物も存在していた¹⁾。身近に自生している野草の中には、独特の色彩を醸し出す草木染めの染料として、一般の人たちの間でも広く用いられているものもある。また古くから、植物の持っている薬効を保持したものとして染色物を利用してきている。これまでのところ、生薬や天然の植物染料による染色物^{3) ~ 5)}、ハーブで染色した絹布^{6) 7)}、キダチアロエ乾燥葉の熱水抽出物で処理した布⁸⁾の抗菌性試験などの報告がある。しかし、著者らが報告した高い抗菌性を持った野

*To whom correspondence should be addressed

E-mail : kurabe@shc.usp.ac.jp

草抽出物について、植物染料として染色処理を施した布の抗菌性を報告したものは見あたらず、抽出物が有している高い抗菌活性が染色処理したことによって綿布に付与されるかどうかは明らかではない。

そこで本研究では、植物由来染料の綿布への一般的な染色処理を行なうことにより、*S. aureus* に対して強い抗菌効果を示した野草熱水抽出物¹⁾の吸着布を作成し、それらの抗菌性を評価した。*S. aureus* は、ヒトの皮膚や粘膜等に付着しており、代表的な食中毒菌のひとつであることから、食中毒予防、高齢者や病人を対象とした抗菌性素材としての開発に向け、予備的検討を行ったものである。

2. 実験方法

(1) 染色用野草抽出物の調製

染色用抽出物を調製するための16種類の野草を表1に示した。これら16種類の野草抽出物の*S. aureus* に対する最小生育阻止濃度(MIC)については、すでに報告済みである²⁾。野草は、主にそれぞれの花期に合わせて、4月から10月にかけて地上部全草を採取した。流水で洗い、付着物を除去し、ペーパータオルで表面の水分を拭き取った後、細切した。野草重量の約10倍量の蒸留水を加えて加熱し、沸騰後1時間抽出した。冷却後、濾紙(東洋No. 2)を用いて濾過し、得られた濾液をエバポレーター(40℃)で減圧濃縮し、さらに凍結乾燥したものを熱水抽出物とした。

(2) 野草抽出物の吸着処理方法

1) 綿布の前処理

野草抽出物の綿布への吸着処理方法として、一般的な綿布の染色方法を行なうこととした。被染色布として抗菌試験用標準綿布(社団法人繊維評価技術協議会指定、以降「標準綿布」という)を使用した。綿布は、主成分がセルロースであるためアニオンに帯電している。そこで植物由来染料を綿布に染色する際には、前処理として綿布をカチオン化する処理が行なわれる。本研究では、アルカリ反応型カチオン化剤として一般的なKLC-1(田中直染料店製)を用いた。標準綿布をカチオン化剤1%と水酸化ナトリウム0.3%を含む水溶液に80℃で30分間浸漬した。その後、布を十分水洗し、絞って水気を取り除き、0.5%酢酸溶液中に常温で5分間もみ洗いした。最後に軽く水洗して風乾させたものを試験布とした。

2) 吸着処理

野草抽出物を蒸留水で0.2g/lになるよう溶解させた液270mlと、試験布(重量約1.75g、大きさ約10cm×18cm)を染色機(ラボマスター LHD-3121-2ESP)の染色筒に入れた。15分間で80℃に昇温させ、そのまま80℃で1時間加温、その後室温まで冷却させた。布を取

り出し、余分な水分を拭き取り、媒染処理を行った。媒染剤は酢酸アルミニウムを用い、媒染液濃度は2g/lとした。この媒染液87.5ml(試験布1.75gに対する浴比は1:50)に30℃、30分間浸漬し、その後、蒸留水で十分に洗い、さらに自然乾燥させた。これを野草抽出物の吸着布(以後、「吸着布」とする)とした。なお、1つの野草抽出物につき2枚の吸着布を同時に作成した。吸着布は、光による影響を避けるために、黒色ポリエチレン製袋に入れ暗所に保管した。

(3) 抗菌力測定方法

抗菌力測定は、JIS L 1902「繊維製品の抗菌性試験方法・抗菌効果」の定量試験方法(菌液吸収法)⁹⁾に準じて行った。本試験に使用した細菌は、独立行政法人製品評価技術基盤機構より分譲された*S. aureus* (NBRC 12732)である。元株から斜面培地(Nutrient Agar 培地)に移植し37℃で24~48時間培養し、その後5℃で保存した。測定に際し、保存培地上の*S. aureus* を1白金耳鈎し、Nutrient Broth 培地10mlに移植後、37℃で24時間培養した。その後、菌液を一定濃度の菌量になるようにNutrient Broth 培地で希釈し、これを接種用菌液とした。一定重量の吸着布および標準綿布を50ml共栓付三角フラスコに入れ、高圧蒸気滅菌(121℃、1kg/cm²、20分間)した後、試験に供した。三角フラスコ中の各布片に接種菌液0.2mlをまんべんなく接種し、37℃で18時間培養した。培養後の布に洗い出し液(滅菌生理食塩水、Tween 80を0.2%含む)20mlを加え、手振り(振り幅30cm、30回振とう)で布中の生菌を液中に分散させた。Nutrient

表1. 吸着用試料に用いた野草

No	野草名	学名
1	イタドリ	<i>Reynoutria japonica</i> Houtt. var. <i>japonica</i>
2	オオニシキソウ	<i>Chamaesyce nutans</i> Small
3	オトコブドウ	<i>Vitis saccharifera</i> Makino
4	カキドオシ	<i>Glechoma hederacea</i> L. subsp. <i>grandis</i> (A.Gray) H.Hara
5	ギシギシ	<i>Rumex japonicus</i> Houtt.
6	キジムシロ	<i>Potentilla fragarioides</i> L. var. <i>major</i> Maxim.
7	コメツブツメクサ	<i>Trifolium dubium</i> Sibth
8	サワヒヨドリ	<i>Eupatorium lindleyanum</i> DC.
9	スベリヒユ	<i>Portulaca oleracea</i> L. var. <i>oleracea</i>
10	タカサブロウ	<i>Eclipta prostrata</i> L.
11	ツユクサ	<i>Commelina communis</i> L. var. <i>communis</i>
12	ノブキ	<i>Adenocaulon himalaicum</i> Edgew
13	ハハコグサ	<i>Gnaphalium affine</i> D.Don
14	ヒメジョオン	<i>Erigeron annuus</i> Pers.
15	ヒメヨモギ	<i>Artemisia feddei</i> Lev. et Vaniot.
16	メマツヨイグサ	<i>Oenothera biennis</i> L.

Agar を用いた平板希釈法により 37℃, 24 時間培養して生菌数を測定し, 洗い出し液 20 ml に含まれる菌数で示した. なお, 標準綿布 1 検体については接種直後に洗い出しを行い, 18 時間培養後と同様の方法で生菌数を測定した. 本研究では, 試験に用いる接種菌液濃度と布重量を, 以下の実験①および実験②の 2 通りに設定した. 結果は 3 回の平均値を示した (ただし, 実験①については 2 回の平均値により判定した).

実験① (常法のとおり)

常法に準じ, 接種菌液濃度を $1 \pm 0.3 \times 10^5$ 個/ml, 試験に供した布重量を 0.4 g とした.

実験② (常法を一部改変)

接種菌液濃度を $1 \pm 0.3 \times 10^6$ 個/ml, 試験に供した布重量を 0.1 g とした.

(4) 試験成立の判定と試験結果評価方法

試験成立の判定は菌の増殖値によって行った. 増殖値 (F) を (1) 式のように求め, 増殖値が 1.5 を超える場合を「試験成立」と判定した. なお, この判定は JIS L 1902「繊維製品の抗菌性試験方法・抗菌効果」の定量試験方法に定められている.

$$F = Mb - Ma \dots (1)$$

静菌活性値 (S) と殺菌活性値 (L) は (2) および (3) 式からそれぞれ求めた.

$$S = Mb - Mc \dots (2)$$

$$L = Ma - Mc \dots (3)$$

Ma = 標準綿布の試験菌接種直後の生菌数の常用対数値

Mb = 標準綿布の 18 時間培養後の生菌数の常用対数値

Mc = 吸着布の 18 時間培養後の生菌数の常用対数値

(5) 使用試薬

Nutrient Broth, Nutrient Agar は Difco 社製, 乾燥酵母エキス, 酢酸アルミニウムはナカライテスク株式会社製, Tween 80, ポリペプトン, その他の試薬は和光純薬工業株式会社製のものを使用した.

3. 結果および考察

(1) 野草抽出物による吸着布の *S. aureus* の生育に対する抑制効果

常法に準じた実験①では, 16 種類の吸着布のうち 2 種類以外すべて, 18 時間培養後の生菌数が 20 個以下となり, ほとんどすべての吸着布は大きな抗菌力を有していることが明らかとなった (データ未記載). しかし, 各吸着布の抗菌力を比較することはできなかった.

そこで本研究では, 接種菌濃度を常法の 10 倍である 10^6 個/ml に増加し, さらに布重量を 0.1 g に減量して行った (実験②). その結果を表 2 に示した. 吸着処理をしていない標準綿布では, 接種直後に 2.5×10^5 個であっ

た菌数が, 18 時間培養後には 2.9×10^7 個となり, 約 100 倍にも増加していた. 一方, 16 種の吸着布では, 18 時間培養後の菌数は 3.1×10^2 個 ~ 3.0×10^4 個であり, いずれも標準綿布 18 時間培養後の菌数よりも少なかった. 中でも, オトコブドウ (*Vitis saccharifera*), メマツヨイグサ (*Oenothera biennis*), ツユクサ (*Commelina communis*), イタドリ (*Reynoutria japonica*), サワヒヨドリ (*Eupatorium lindleyanum*) 吸着綿布の菌数は, それぞれ 3.1×10^2 個, 4.0×10^2 個, 5.8×10^2 個, 6.5×10^2 個, 9.5×10^2 個にとどまり *S. aureus* の生育を著しく抑制していた. さらに, 16 種類すべての吸着布における菌数は, 標準綿布における接種直後の菌数よりも減少していた. 野草抽出物による染色処理が *S. aureus* に対する殺菌効果をもたらしたものであると考えられる.

多くの植物染料については, セルロース繊維に対する染色性がタンパク質繊維に対する染色性よりも低い. そのため, 綿布への植物染料の染色では一般的にカチオン化処理が施される. 本研究では, その抽出物の抗菌活性が著しく高いオオニシキソウ (*Chamaesyce nutans*, MIC が 0.0625%) と, 16 種の中では低い抗菌活性であったカキドオシ (*Glechoma hederacea*, MIC が 0.5%) について, カチオン化処理を行わずに染色したものを準備し, *S. aureus* に対する抗菌効果をみた. その結果, 18 時間後の菌数は, それぞれ 1.0×10^7 個, 3.1×10^6 個であった. これらの菌数は標準綿布に比べると少なかったものの, カチオン化処理した綿布に比べると著しく多く, *S. aureus*

表 2. 吸着綿布の生菌数, 静菌活性値および殺菌活性値

No	野草名	生菌数 (cells/vial)	生菌数の常用対数値	静菌活性値	殺菌活性値
1	イタドリ	6.5×10^2	2.8	4.7	2.6
2	オオニシキソウ	2.8×10^4	4.4	3.0	1.0
3	オトコブドウ	3.1×10^2	2.5	5.0	2.9
4	カキドオシ	1.1×10^3	3.0	4.4	2.4
5	ギシギシ	1.2×10^3	3.1	4.4	2.3
6	キジムシロ	2.3×10^3	3.4	4.1	2.0
7	コメツブツメクサ	2.3×10^3	3.4	4.1	2.0
8	サワヒヨドリ	9.5×10^2	3.0	4.5	2.4
9	スベリヒユ	3.2×10^3	3.5	4.0	1.9
10	タカサブロウ	3.0×10^3	3.5	4.0	1.9
11	ツユクサ	5.8×10^2	2.8	4.7	2.6
12	ノブキ	1.5×10^4	4.2	3.3	1.2
13	ハハコグサ	1.4×10^3	3.1	4.3	2.3
14	ヒメジョオン	5.0×10^3	3.7	3.8	1.7
15	ヒメヨモギ	3.0×10^4	4.5	3.0	0.9
16	メマツヨイグサ	4.0×10^2	2.6	4.9	2.8
	未加工標準綿布	2.9×10^7	7.5	—	—
	未加工標準綿布 (接種直後)	2.5×10^5	5.4	—	—

に対する抗菌効果はほとんど認められなかった。このことは、野草抽出物に含まれている抗菌成分が十分に染着されるためには、染料の染着と同様のカチオン化処理が必要であることを示している。さらに、染料を布に固着させるための工程として媒染処理が行われる。この媒染処理には金属塩溶液が用いられるが、金属イオンには抗菌力を示すものがある。澤らは、1%酢酸アルミニウム媒染処理は *S. aureus* に対して抗菌性を発現しないと述べている⁶⁾。また、小柴も細菌の生育を抑制することのない金属媒染としてアルミニウムを取り扱っている³⁾。したがって、本研究での1%酢酸アルミニウムの使用は、*S. aureus* の生育に対して影響がないものと考えられる。

以上の結果から、一般的な染色工程を経て作られた野草抽出物の吸着布は、16種類すべて *S. aureus* に対する高い抗菌力を保持していることが明らかとなった。

(2) 野草抽出物による吸着布の *S. aureus* に対する抗菌力の評価

S. aureus に対する高い抗菌性が明らかとなった16種の吸着布について、それらの抗菌力を評価するために静菌活性値と殺菌活性値を求めた。その結果を表2に示した。社団法人繊維評価技術協議会 (JTETC) では「抗菌防臭加工繊維製品認証基準 (JEC301)」として、静菌活性値2.2以上のものについて抗菌防臭効果を認め、また殺菌活性値0以上であるものに制菌効果を認めている。JTETC が設けたこの基準は、JIS L 1902「繊維製品の抗菌性試験方法・抗菌効果」の定量試験方法により、接種菌数 10^5 個/m ℓ 、試験布0.4gで行った試験に基づいたものである。しかし常法に比べて接種菌数を10倍の 10^6 個/m ℓ に増加し、さらに布重量を0.1gに減量するという条件で行った本研究では、すべての吸着布から得られた静菌活性値が3.0以上、殺菌活性値が0.9以上となった。このことは、吸着布に非常に強い抗菌作用があることを示している。本研究で用いた野草熱水抽出物は、*S. aureus* に対する強い抗菌力を有しているものであり、この抽出物に含まれる抗菌成分が染色工程で綿布に吸着されたことを示唆する結果となった。

そこで、野草熱水抽出物の抗菌性と吸着布に付与された抗菌効果の関係を、抽出物のMICと吸着布の静菌活性値から調べ、その結果を図1に示した。MICについては、著者が既に報告した値²⁾を用いた。その結果、メマツヨイグサ (*Oenothera biennis*)、オトコブドウ (*Vitis saccharifera*) については、その抽出物のMICがそれぞれ0.0312%、0.125%と高い抗菌活性を持ち、吸着布の静菌活性値もそれぞれ4.9、5.0と高い値を示していた。一方、イタドリ (*Reynoutria japonica*)、サワヒヨドリ (*Eupatorium lindleyanum*) のように抽出物の抗菌活性は

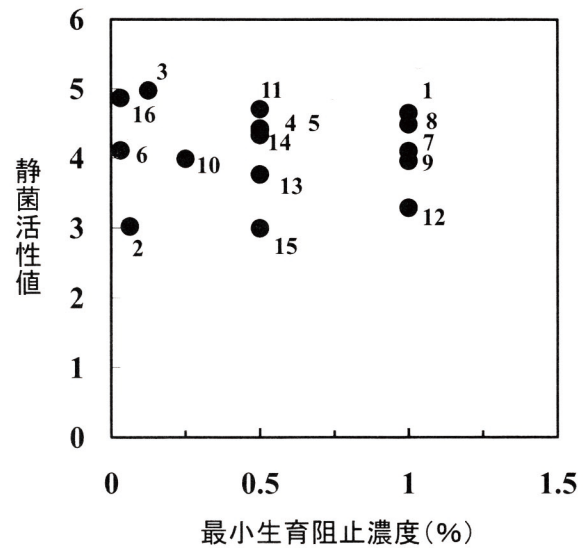


図1. 吸着綿布の静菌活性値と野草抽出物の最小生育阻止濃度の関係

低い (いずれも MIC が 1.0%) にもかかわらず、吸着布の静菌活性値がそれぞれ 4.7、4.5 といった高い値を示していたものもある。したがって、抽出物の MIC に対応した布の静菌活性値が必ずしも認められない結果であり、また殺菌活性値との関係についても同様の結果であった。野草の熱水抽出物は概してポリフェノール含量が高く¹⁰⁾、抗菌活性の高い野草についても、概してポリフェノールを多く含む。また、植物に含まれるポリフェノールは配糖体として存在しているものも多い。著者は、これまでに高い抗菌性を示した野草から抗菌活性成分としてクエルセチン配糖体を分離している¹¹⁾。横山らは、フラボノールの配糖体とアグリコンでは、前処理されたセルロース繊維に対する親和力が異なり、アグリコンの方が大きいと報告している¹²⁾。本研究において、野草熱水抽出物の *S. aureus* に対する MIC と吸着布の静菌活性値 (あるいは殺菌活性値) との間に相関性が見られなかったことは、抽出物中の抗菌活性成分の構造、そしてそれらの存在比によって抽出物の吸着性に違いが生じたことも考えられる。また、野草熱水抽出物に含まれる各種成分が染色工程に変化して抗菌性が発現あるいは消失した、という可能性も考えられる。今回の実験では、染色処理工程中の染色浴および処理後における残浴について抗菌力を測定していない。そのため、吸着性の程度、あるいは抗菌力の増減などについては不明である。今後、この点については明らかにする必要がある。

本研究で得られた抗菌活性の高い綿布を抗菌性素材として利用していくためには、吸着布の抗菌力を増大させ、抗菌性を保持させる方法を開発していくことが、今後の課題である。

4. まとめ

代表的な食中毒菌のひとつである *S. aureus* に対して、強い抗菌効果を示した 16 種類の野草熱水抽出物を試料とし、染色処理工程を経た綿布（吸着布）の抗菌性を評価した。いずれの吸着布も標準綿布に比べて、*S. aureus* の生育を著しく抑制していた。中でも、オトコブドウ (*Vitis saccharifera*)、メマツヨイグサ (*Oenothera biennis*)、ツユクサ (*Commelina communis*)、イタドリ (*Reynoutria japonica*)、サワヒヨドリ (*Eupatorium lindleyanum*) 吸着布の菌数は $2.5 \sim 9.5 \times 10^2$ 個にとどまり、それら吸着布は著しく高い抗菌性を示した。さらに、すべての吸着布について「抗菌防臭加工繊維製品認証基準 (JEC301)」に基づく静菌活性値と殺菌活性値を算出したところ、それぞれ 3.0 以上、0.9 以上という値を示した。本研究で用いた 16 種の野草熱水抽出物の吸着綿布は、*S. aureus* に対して非常に強い抗菌作用を示すことが明らかであり、抽出物に含まれる抗菌成分が染色工程で綿布に染着されたことを示唆する結果となった。

謝 辞

布の染色処理にあたり、染色機（ラボマスター）を使用させていただきました滋賀県東北部工業技術センターに、ならびに、ご助言いただきました三宅肇博士に感謝申し上げます。

引用文献

- 1) 浦部貴美子, 北尾幸子, 香山佳代子, 灘本知憲, 川村正純, 西川善之. 野草抽出物による *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* および *Bacillus subtilis* の生育抑制. 日本食品科学工学会誌. 2003, vol.50, no.8, p.350-355
- 2) Ono, K.; Urabe, K.; Sumiyoshi, A.; Nadamoto, T.; Nishikawa, Y. Growth inhibition of food spoilage bacteria by wild-grass extracts. *Food Pr. Biol. Chem. Food Preser. Sci.* 2006, vol.32, no.6, p.269-273
- 3) 小柴辰幸. 草木染の薬用効果. 染織 α . 1994, no.4, p.31-35.
- 4) 八尋俊子, 池田美智代, 上村元子. 植物染料による染色布の抗菌性 (第 4 報). 西南女学院短期大学研究紀要. 1999, no.46, p.139-144
- 5) 三村温子, 中島健一, 田村泰盛. 植物染料の抗菌性に関する研究. 長野県情報技術試験場研究報告. 2001, no.17, p.12-15
- 6) 澤裕子, 園田律也, 甫天正靖. 植物染料で染色した絹布とその抗菌性. 武庫川女子大紀要 (自然科学). 1997, vol.45, p.5-12
- 7) 澤裕子, 山林智映, 甫天正靖. ハーブで染色した絹布の抗菌活性について. 武庫川女子大紀要 (自然科学). 1999, vol.47, p.21-28
- 8) 恩田紘樹, 久保田博夫, 篠沢隆雄. キダチアロエ抽出物で処理した繊維の染色堅ろう性及び抗菌性効果. 繊維学会誌. 2005, vol.61, p.303-308
- 9) 佐藤賢三. 繊維製品の抗菌性試験方法. 加工技術. 2003, vol.38, no.5, p.309-312
- 10) 浦部貴美子, 灘本知憲, 平 尚子, 田尾桃子, 西川善之. Folin-Denis 法により測定した野草中の総ポリフェノール量. 家政誌. 2006, vol.56, p.405-408
- 11) 横井健二, 浦部貴美子, 灘本知憲. オオニシキソウ酸性画分中の抗菌活性物質. 日本食品科学工学会第 57 回大会講演集. 2010, p.153
- 12) 横山早美, 道明美保子, 木村光雄, 浦川宏. 木綿の染色における濃染固着効果に関する研究 (第 2 報). 繊維製品消費科学. 2009, vol.50, p.76-81