# 抗菌作用の強い匂袋の作成

和田澪夏

**要旨**

平安時代の匂袋の材料の持つ抗菌効果に着目し、それを用いて、当時の文化を生かしつつより実用性を高めた抗菌剤を作ることを目的とし、その材料であるフランキンセンス、サンダルウッド、クローブ、ベンゾイン、ターメリック、の精油、沈香をそれぞれ単独で用いた場合と複数混ぜ合わせた場合の、枯草菌に対する抗菌効果を、LB 培地とペーパーディスクを用い、できた阻止円の直径が大きいほど抗菌効果が高いとして比較した。結果、精油の種類によって抗菌作用の強さや持続性が異なっていることが確認でき、また複数混合すると、組み合わせによっては抗菌効果が強くなる場合やかえって弱くなる場合があることが示唆された。本実験ではフランキンセンスとクローブを 1：1 で混ぜたものが最も強い抗菌作用を示し、それは当時の調合よりも効果が強かった。

**キーワード：**匂袋、抗菌成分の混合による作用の強化、納豆菌、ペーパーディスク法

## Ⅰ. はじめに

匂袋は平安時代発祥の文化である。当時その用途は香りを楽しむ以外にも、抗菌・殺菌・防虫効果、薫物合わせなどの宮廷遊戯の場や恋文に香りをうつすことで周囲に自分の教養や品位を伝える、厄除けなど、さまざまな目的があったことが示されている（日本香文化研究会,香の文化史,淡交社,2003)。中でも、抗菌や殺菌や防虫は実用的である。そして、当時の代表的な材料の組み合わせであった「六種薫物」に用いられている主な材料たちは、食品保存に関する抗菌作用が確認されている（Sohail Khan ほか,2023）ものが多い。一つの調合に、抗菌効果のあるものが複数用いられているのである。そこで本実験では、似たような作用を持つものを複数入れた意図に目を向けた。

同じ抗菌作用でも要因となる成分は異なっていることから、混ぜることで抗菌効果が強まるのではないかと考えた。Bassolé I.H.N. & Juliani H.R.（2012）では、香油を混ぜ成分を組み合わせて使用することで相乗効果が得られる場合があることが示されている。

匂袋の材料それぞれについては、上記の通り、単独で用いた際の抗菌効果が調べられているが、複数混合した際に抗菌効果がどう変化するかは十分に明らかになっていない。

この研究では、混ぜることで抗菌効果の強さがどう変化するかを「六種の薫物」によく登場する材料である、乳香（フランキンセンス)、白檀（サンダルウッド)、丁子（クローブ)、安息香（ベンゾイン)、鬱金（ターメリック)、沈香（アガーウッド）を使って調べ、当時の文化を生かしつつも、当時のものより実用に向いた抗菌剤としての匂袋を作ることを目的とする。

## Ⅱ. 手法

＜培地の作成＞

研究対象にする菌は

納豆菌 *Bacillus subtilis var.natto* のため、LB 培地を作った。

①

表 1　LB 培地の材料(シャーレ 50 枚分)

| 材料 | 量 |
|---|---|
| NaCl | 10.0g |
| ペプトン | 10.0g |
| 粉末酵母エキス | 5.0g |
| 粉末寒天 | 15.0 g |

NaCl 、ペプトン、粉末酵母エキス、粉末寒天をそれぞれ薬さじと電子ばかりを用いて薬包紙にはかりとり、1L 三角フラスコに入れ、純水を注いだ。



図１　LB 培地の材料（30 枚分）を入れ、アルミホイルで蓋をした三角フラスコ

②アルミホイルでフラスコに蓋をし、オートクレーブに滅菌用の水と一緒に入れ、120℃以上で 90 分滅菌した。

③オートクレーブから取り出し、フラスコの中身をシャーレに分注し、平らなところで一晩おいた。



図２ 取り出したフラスコと、分注直後の培地

これ以降、シャーレやマイクロチューブなどの蓋を開くときはガスバーナーで上昇気流を起こし、塵の混入を防いだ。

④寒天が固まったのを確認し、すぐに使わない分は乾燥を防ぐためサランラップで包んだ後冷蔵庫で保管した。

＜試薬の作成＞

①マイクロチューブに以下の試料（香油）をそれぞれ P1000 のマイクロピペットで 500μL ずつ入れた。

(2)のような、混ぜる必要のあるものは、合計が 500μL になるように入れたあと、マイクロピペットで吸ったり出したりを繰り返すことでよく混ぜた。

②沈香 *Aquilaria agallocha* Roxb.の精油は抽出の難易度の高さや揮発性の強さや毒性で、極めて希少なため、とても高額であり、取り扱い店も限られており、入手が難しい。本実験では、沈香のみ精油ではなく刻んだ香木を使い、またそれだけではディスク法に必要なほどの量は用意できないため、体積比で 5 倍に希釈した。

表２　試料一覧と番号

（使用した香油はいずれも濃度 100%）

| 番号 | 試料 |
|---|---|
| (1) | フランキンセンス　*Boswellia carterii* |
| (2) | (1)と(3)を 1:1 で混ぜたもの |
| (3) | サンダルウッド　*Santalum album* |
| (4) | クローブ　*Syzygium aromaticum* |
| (5) | (1)と(4)を 1:1 で混ぜたもの |
| (6) | (3)と(4)を 1:1 で混ぜたもの |
| (7) | (1)と(3)と(4)を 1:1:1 で混ぜたもの |
| (8) | ベンゾイン　*Styrax benzoin* |
| (9) | (1)と(8)を 1:1 で混ぜたもの |
| (10) | (3)と(8)を 1:1 で混ぜたもの |
| (11) | (4)と(8)を 1:1 で混ぜたもの |
| (12) | (1)と(3)と(8)を 1:1:1 で混ぜたもの |
| (13) | (1)と(4)と(8)を 1:1:1 で混ぜたもの |
| (14) | (3)と(4)と(8)を 1:1:1 で混ぜたもの |
| (15) | (1)と(3)と(4)と(8)を 1:1:1:1 で混ぜたもの |
| (16) | ターメリック　*Curcuma longa L.* |
| (17) | (4)と(16)を 1:1 で混ぜたもの |

③比較実験用に、六種薫物の朱雀院「落葉」を参考に試薬を作った。六種薫物に記載されている調合には、現代では入手が不可能なものが含まれている場合が多く、朱雀院「落葉」の材料が最も揃えやすいためである。また、甲香は練り香を作るための保香剤としての役割であり、抗菌効果を持たないため、この実験では使わなかった。

表３　落葉の調合

| 材料 | 沈香 | (4) | (16) | 甲香 |
|---|---|---|---|---|
| 質量の比 | 4 | 2 | 2 | 1 |



図 3 希釈後の落葉（水面の物体は沈香）

〈菌の培養と阻止円の観察〉

①チューブに滅菌水を 10mL 注ぎ、納豆をピンセットで 2 粒入れ、よく振り混ぜたのを P200 のマイクロピペットで 100μL ずつとり、シャーレに滴下し、コンラージ棒でまんべんなく塗り広げた。

②ピンセットで直径 1cm のペーパーディスクを試薬につけ、一枚ずつシャーレの中心に置いた。ディスクをとるとき、他のディスクに試薬がつかないよう都度ピンセットの先を炙って試薬を揮発させた。これをひとつの試薬につき 5 回ずつ繰り返した。



図 4 ②の様子

③ディスクを使わず、落葉のみを 100μL ずつ二枚の培地に滴下し塗布した。

④揮発した精油の成分がシャーレの外に逃げぬようシャーレをラップで包み、37.0℃の恒温機に入れ、23 時間培養した。

⑤恒温機から取り出して、できた阻止円の長径と短径を定規を使い、目分量で最小目盛の 1/10 まで測定し、記録した。

## III. 結果

表 4　できた阻止円の長径と短径の平均(cm、小数第三位で四捨五入)

| 試薬 | 試行① | ② | ③ | ④ | ⑤ | 平均 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| (1) | 2.88 | 1.76 | 2.10 | 3.07 | 2.82 | 2.52 |
| (2) | 2.87 | 3.12 | エラー | 2.26 | 1.33 | 2.46 |
| (3) | 1.15 | 1.15 | 1.15 | 1.21 | 1.10 | 1.10 |
| (4) | 2.54 | 2.59 | 2.46 | 2.53 | 3.15 | 2.65 |
| (5) | 3.61 | 3.85 | 4.02 | 4.54 | 3.58 | 3.92 |
| (6) | 2.00 | 2.51 | 2.20 | 2.20 | 2.67 | 2.32 |
| (7) | 2.91 | 2.86 | 2.66 | 2.95 | 2.79 | 2.83 |
| (8) | 1.19 | 1.23 | 1.20 | 1.14 | 1.01 | 1.15 |
| (9) | エラー | 1.10 | 1.24 | 1.37 | 1.20 | 1.23 |
| (10) | 1.22 | 1.10 | 1.02 | 1.08 | 1.04 | 1.09 |
| (11) | 2.27 | 2.72 | 3.64 | 1.77 | 2.19 | 2.52 |
| (12) | 0.77 | 1.00 | 1.20 | 1.04 | 0.96 | 0.99 |
| (13) | 1.85 | 2.15 | 1.87 | 1.67 | 1.83 | 1.87 |
| (14) | 1.98 | 1.93 | 1.87 | 1.78 | 2.05 | 1.92 |
| (15) | 1.70 | 1.69 | 1.75 | 1.78 | 1.74 | 1.73 |
| (16) | 1.10 | 1.09 | 1.10 | 1.01 | 1.15 | 1.09 |
| (17) | 1.85 | 1.69 | 1.78 | 1.63 | 1.86 | 1.76 |

阻止円が現れず、大きさが測定できなかったものはエラーと表記している（コンラージ棒に消毒液がついたままであり、菌が死んでしまったと推測できるため）。

また、沈香や落葉ではディスクが菌に尽くされ、阻止円ができなかった。

落葉を塗布した培地には、コロニーが形成されていた。

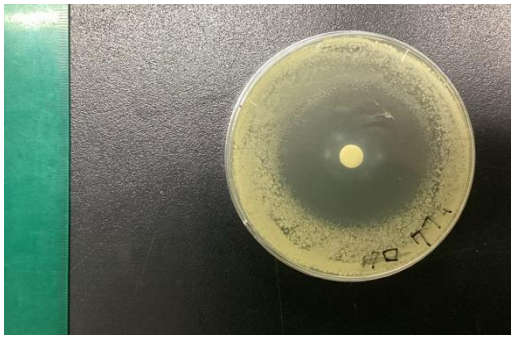


図 5 阻止円が見られたもののうち、最大となったもの（5）

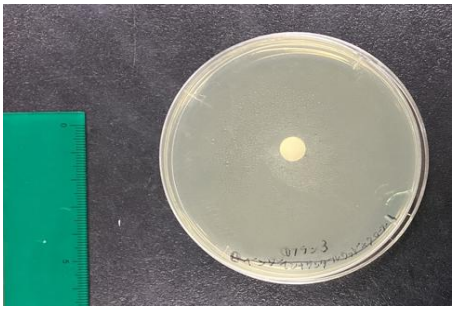


図 6 エラーとなったもの

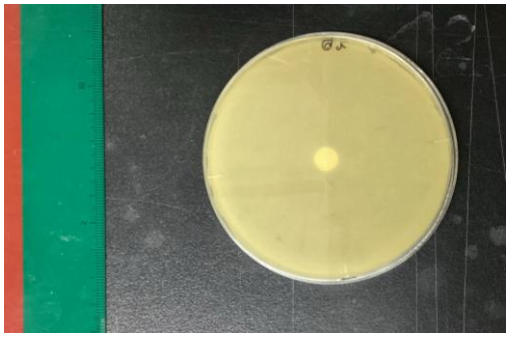


図 7 沈香のみの場合

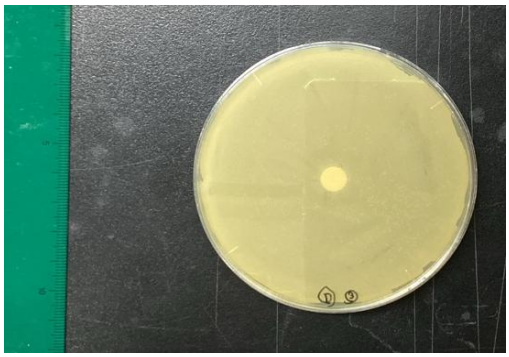


図 8 落葉の場合



図 9 落葉を塗布した場合

## IV. 考察

表 2 の(1),(3),(4),(8),(16)より、これらの材料が単独で抗菌効果を持つという結果が得られた。これは Sohail Khan ほか(2024)で示されているとおりである。

また、阻止円の直径の平均が大きいほど抗菌効果が強いとして、比較した。

〈グループ A　混ぜたことによる効果の増強が見られなかったもの〉

(6)、(9)、(10)、(11)、(13)、(14)、(17)

(3)と(4)を混ぜたものである(6)の抗菌作用は、(3)単独のときと(4)単独のときとの間の強さである。これは (1)と(8)を混ぜた(9)や、(4)と(8)を混ぜた (11)、(1)と(4)と(8)を混ぜた(13)、(3)と(4)と(8)を混ぜた(14)、(4)と(16)を混ぜた(17)でも同様である。 (3)単独と(8)単独の差があまりないため、(10)でも同じとみなせる。

つまり、これらは混ぜたことによる効果の増強は見られなかったと言える。

〈グループ B　混ぜたことによる効果の増強が見られたもの〉

(2)、(5)、(7)

(1)の阻止円は(2)より大きいものの、あとからコロニーが円に侵入して円のふちがぼやけているので、効果の持続性が弱いといえる一方で、(3)は阻止円が(2)より小さいが円のふちがはっきりしていて、菌があとから侵入していないため、持続性があるといえる。そして (2) は、阻止円が(1)よりは小さいものの僅差であり、更にコロニーの侵入は見られなかったため、抗菌効果が持続力の面で増強されたといえる。

(1)と(4)を混ぜた(5)の阻止円の大きさは(1)と(4)の両方を上回っている。

(1)と(3)と(4)を混ぜた(7)の阻止円の大きさは、(1)、(3)、(4)のいずれの阻止円よりも大きい。

しかし、(1)と(3)を混ぜた (2)、(3) と (4) を混ぜた (6)、(1) と (4) を混ぜた (5) と比較するとグループ A である

〈グループ C　混ぜたことによる効果の減衰が見られたもの〉(12)、(15)

(12)は (2) や (9)や(10)よりも阻止円が小さい。

(1)と(3)と(4)と(8)を混ぜた(15)は、

・(1)と(3)と(4)と(8)と比較したとき

・(1)と(4)を混ぜた(5)、(3)と(8)を混ぜた(10)と比較したとき

・(3)と(4)を混ぜた(6) 、(1)と(8)を混ぜた(9)と比

較したとき
はグループ A だが、(1)と(3)を混ぜた(2)、(4)と(8)を混ぜた(11)と比較したときのみ効果が減弱したと言える。減弱したのは 2 つの精油を混ぜたときではひとつひとつは 50%ずつであり、 4 つ混ぜた時では 25%ずつで濃度が低くなっているので、希釈されたことによるものとも考えられるが、希釈されているのは(2)と （11） の場合だけではないため、理由はそれだけではないと考えられる。

そのほかでは、フランキンセンスが試薬に含まれるときのみ、阻止円の外の菌の色が他のものより薄かった。例えば以下の図。

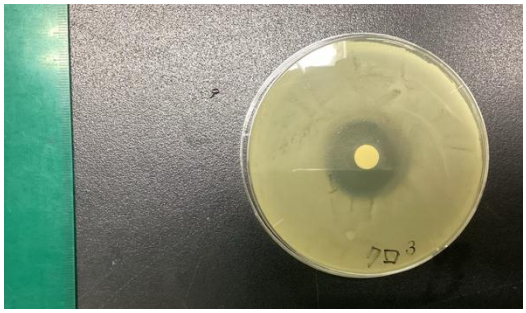


図 10 クローブ単独の場合

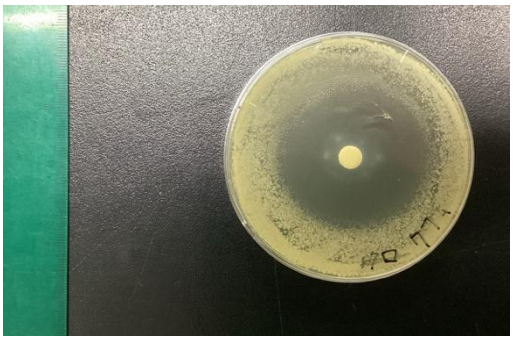


図 5 クローブとフランキンセンス 1:1 の場合（再掲）

これはフランキンセンスに含まれる抗菌作用を持つ成分、α ピネンが揮発性であるため、シャーレ全体に拡散しやすかったからだと考えられる。

これらのことから、複数の抗菌作用を持つ成分を混ぜることによって、抗菌効果が強くなる・または弱くなる組み合わせは十分にあり得るといえる。

特に、(5) の抗菌作用が最も強かったのは、フランキンセンスに含まれる α-ピネンやリモネン(モノテルペン類)とクローブ中のオイゲノール(フェノール類)は各材料の抗菌作用の要因となる成分が異なっていて、抗菌作用のしくみが異なる(Sara Bart(2004)によると、モノテルペン類は疎水性で、細菌の細胞膜に入り込んで膜の透過を促し細胞内の物質を漏出させる。一方、Morten Hyldgaard *et al.*(2012)によるとオイゲノールは細胞膜のタンパク質を変性させ細胞膜を破壊し、細菌の増殖を阻害する)ため、互いに効果を補い合った結果だと考えられる。

また、この結果は、抗菌作用の相対的な比較だが、それぞれの精油によって揮発しやすさが異なるため、成分の拡散のしやすさに影響を受けている可能性がある。

沈香や落葉で抗菌効果が見られなかったのは、希釈したせいで効果が薄まった事も考えられるが、落葉のみを塗布した培地にコロニーが発生したことや、そもそも沈香自体がジンチョウゲ科の木が菌や傷によるダメージに対する防衛で分泌した樹脂が固まってできる香木であることを考えると、沈香自体に菌が住み着いている可能性のほうが高い。

## V. 結論

精油をそれぞれ一種類ずつで用いた場合と複数の種類を混ぜ合わせた場合、またその混ぜる材料の組み合わせで、枯草菌に対する抗菌効果は、強さや持続性が変化することがあると示された。

本実験の中で、最も抗菌効果が強かったのは、フランキンセンスとクローブを 1：1 で混ぜたものであった。

そしてそれは、当時実際に調合されていたもの(本実験では、朱雀院の「落葉」が比較対象であった)よりも抗菌効果が強かった。

**謝辞**

本研究において、実験環境を整えてくださった学校やご指導いただいた先生方、特に実験の方針や考察について多くの助言をしてくださった小芝先生に深く感謝いたします。

## 文　献

日本香文化研究会（2003）：香の文化史,淡交社.

Sohail Khan, Adullah A. A. Abdo, Ying Shu, Zhisheng Zhang and TIeqiang Liang(2023):

The Extraction and Impact of Essential Oils on Bioactive Films and Food Preservation, with Emphasis on Antioxidant and Antibacterial Activities,Foods,**12**(22),41-69.

Imaël Henri Nestor Bassolé and H. Rodolfo Juliani （2012）:Essential oils in combination and their antimicrobial properties. Molecules,**17**(4),3989-4006.

Sara Burt (2004):Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods Food Microbiology, **21**(3), 253–263.

Morten Hyldgaard,Tina Mygind,Rikke Louise Meyer. (2012):The antimicrobial mechanism of action of essential oils. International Journal of Food Microbiology, **141**(1–2), 1–17.