



研究の動機

お弁当の使い捨て防腐シート

みかんの皮がそのまま捨てられる

もったいない

活用方法ない？

みかんの皮から天然由来の防腐スプレーをつくる

研究の目的

- みかんの外果皮に含まれるリモネンを抽出する
- 腐敗原因微生物に対する抗菌・防腐効果を実験的に検証する
- 天然由来防腐剤としての食品保存への応用可能性を明らかにする

研究の意義

- リモネンの抗菌作用および有効濃度の定量的評価
- 植物由来精油成分の機能解明に関する基礎的知見の提供
- 天然物を用いた抗菌・防腐研究の発展への貢献

研究ゴール：みかんからリモネンを抽出し、防腐効果のあるスプレーを作る！

STEP 1 みかんからリモネンの抽出

<実験方法・結果>

外皮粉碎→溶媒抽出→濃縮→※TLCで存在確認。抽出溶媒と処理方法を段階的に変えながら実験を行い、TLCを中心とした確認によって、みかんの外皮から抽出された成分にリモネンが含まれることを確認した。

<課題>得られるリモネンは極めて微量であり不純物も混在している。

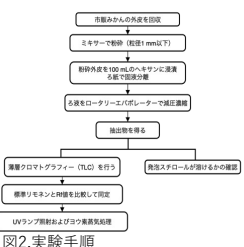
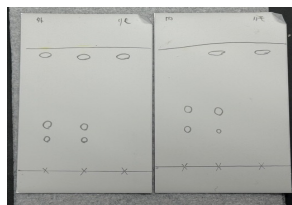


表1.リモネン抽出実験の比較

	使用部位・量	抽出溶媒・条件	主な確認方法	結果・考察
第1回	外皮 45g	水 100mL	TLC (標準品比較)	抽出不可。リモネンは非極性であり、水抽出は不適切だった。
第2回	外皮 48.2g	エチルエーテル 100mL	ヨウ素反応、発色スチロー-3L溶解、TLC	微量抽出。ヨウ素で透明化反応ありリモネン存在確認。ただし量が少なく、TLC・溶解試験は不十分。
第3回	外皮 113.17g (厚皮5g分)、対照：内皮 35.11g	ヘキサン抽出→ろ過→エタノール濃縮	TLC (UV, ヨウ素)、標準リモネン比較	外皮から標準リモネンと同Rf値のスポットを確認。内皮にはスポットなし。スポット位置のずれは他成分の影響と考察。

※TLC(薄層クロマトグラフィー)の結果について



- 外皮から抽出したリモネンとリモネンの試薬のスポットが一致・外皮抽出物は着色している
- TLC上でも余計なスポットが認められた→不純物や色素成分が含まれている可能性が示唆された
- 紫外線観察時とヨウ素呈色時でスポット位置にずれが生じた

図2.実験手順

STEP2 リモネンの防腐効果の検証

<実験方法・結果>

2つのぶどう(デラウェア)を使用し、予備実験を行った。①リモネンスプレーを吹きかけたもの、②水のみ吹きかけたものの2つを用意し、ぶどうを腐敗させ、腐敗の進行の差を見た。腐敗過程では、2つとも25度の室内で4日間観察した。ぶどうを使用した理由は包丁や手での接触がないため、他の細菌が付着する可能性を減らすことができ、腐敗しやすい実験対象であると考えたためである。結果、②のぶどうの方が、腐敗が進んでいるように見受けられた。



図3.実験開始時の状態

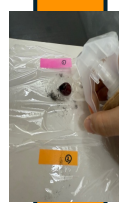


図4.吹きかける



図5.4日放置後の様子

<課題>

- 簡易実験であるため、リモネンによって得られた結果であるとは言い切れない。
- エタノールの効果が作用している可能性
- ブドウの個体差が元々あった可能性

※リモネンスプレーの構成要素 リモネン(1):エタノール(49):精製水(50)の割合で100ml作成。

STEP3.1 リモネンの防腐効果の検証・仮実験

<実験方法・結果>

リモネン、エタノール、精製水の3つの試薬を使用して実験した。表皮ブドウ球菌のプレートには、リモネンにアンピシリン耐性があることが阻止円から分かる。1日経過すると表皮ブドウ球菌に対するリモネンの抗菌作用が弱くなっているのか、クリアゾーンがなくなっていた。黄色ブドウ球菌では阻止円は見られなかった。

<課題>

リモネンは揮発性が高い拡散しにくい物質をディスク法とは異なるウェル拡散法(カップ法)で評価するべきであった。揮発性の高いリモネンの効果をどのように防腐効果があると評価するのが阻止円の具体的な半径などの定義が必要。

黄色ブドウ球菌

善玉菌。肌を弱酸性に保つ。食材に付着して増殖し、エンテロトキシンという毒素をつくりだす。

表皮ブドウ球菌

悪玉菌で皮膚や鼻に存在し常在は問題ないが、数が増えるとその毒性から感染を起こす可能性がある。

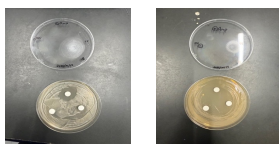


図6 表皮ブドウ球菌の寒天培地(右) 黄色ブドウ球菌の寒天培地(左)

STEP3.2 リモネンスプレーの制作

<実験方法・結果>

リモネン1~2%となるように調合した。完全に混ざった(乳化)状態にさせるために界面活性剤(食器洗剤)を使用した結果、白濁が起こった。

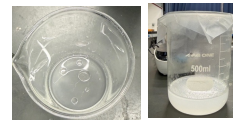


図7 エマルジョン化前(左) エマルジョン化後(右)

<課題>

水(極性) ↔ エタノール(極性あり) → 混ざり
リモネン(無極性) ↔ 水(極性) → 混ざらない

結果

- みかん外皮からリモネンを抽出
- 表皮ブドウ球菌で抗菌効果を確認
- 菌種により効果に差がある

リモネンは菌種によって効果が異なる抗菌成分であることが示唆された

考察

- リモネンの揮発性により抽出量が制限された
- 菌種により抗菌効果に差が生じた
- 実験条件(乳化・溶媒)が結果に影響をもたらした
- エタノールが影響してしまう

みかんからリモネンを抽出し、防腐効果のあるスプレーを作る！

証明済み

<来年度の動き>

- 抽出法改良
- 抗菌効果の定量化
- 廃棄資源を用いた検証

今後の課題

- 揮発を抑えたりリモネン抽出法の改良
- 画像解析による抗菌効果の定量化
- 対象食品の拡張と腐敗評価基準の明確化
- エタノールの影響を排除したリモネン単独作用の検証

参考文献

愛媛県産業技術研究所. (2006). 防虫シートの防虫効果についての試験報告 [PDF]. https://paper.iri.pref.ehime.jp/report/2006/12_insectproofing_sheet.pdf 日本理科教育学会. (2012). 理科教育研究, 32(2), 170-178. https://www.jstage.jst.go.jp/article/sser/32/2/32_No_2_170204/pdf/170204 玉川大学. (n.d.). 発表資料: 柑橘類の成分を利用した防虫スプレーの研究 [PDF]. https://science.tamagawa.edu.jp/online_presentation/R2/chem/9_%.pdf 化学と教育編集委員会. (2000). 化学と教育, 48(4), 236-239. https://www.jstage.jst.go.jp/article/kakyoshi/48/4/48_KJ00003521285/ pdf 宇土中学校. (n.d.). 柑橘類の皮を使った防虫スプレーの効果検証 [PDF]. <https://sh.higo.edu.jp/utosh/wysiwyg/file/download/24/264/impact>. (n.d.). IMPACT Limonene [ウェブサイト]. <https://www.impact-online.com/impact-limonene>