

タンニンの可能性

3601 安保 遥菜 3507 大島 実夕 3516 木村 美咲 3618 鈴木 智尋

要旨

私たちの住む中津川市、恵那市では栗が特産物として有名である。栗は、栗きんとんなどの和菓子に使われる。大量の廃棄物として捨てられる皮を利用できないか着目したところ、渋皮にはタンニンと呼ばれるポリフェノールが含まれており、ビタミンが豊富で抗菌効果や抗酸化作用などさまざまな効果があることが分かった。まず、私たちはタンニンの抽出を行った。アセトン、メタノール、水酸化ナトリウムを用いて対照実験を行い、本当にタンニンが抽出されたか確認するために薄層クロマトグラフィーを行った。最後に抗菌効果があるか調べるため、寒天培地を用いた実験を行った。

1. 目的

渋皮からタンニンを抽出し、抽出したタンニンにどのような効果があるかを調べる。

2. 実験1 タンニンの抽出

2-1 目的

栗の渋皮に含まれるタンニンを抽出する。

2-2 使用器具・材料

- ・アセトン 150mL
- ・メタノール 150mL
- ・水酸化ナトリウム水溶液 150mL
- ・渋皮 15g
- ・塩化鉄(Ⅲ)水溶液

2-3 手順

- ① 3つの溶液それぞれに渋皮を入れ、1週間放置する。
- ② ①の溶液をそれぞれ 3mL ずつとり、塩化鉄(Ⅲ)水溶液を一滴ずつ滴下した。

2-4 仮説

すべての溶液がタンニンを含むのではないかと考えた。

2-5 結果

表1(水溶液の色の変化)

| | 水溶液の色 | FeCl ₃ aq との反応 |
|--------|-------|---------------------------|
| アセトン | こげ茶色 | 黒色 |
| メタノール | 濃い黄土色 | 濃い藍色 |
| NaOHaq | 黄土色 | 藍色 |



図1(タンニンの抽出)

2-6 考察

- ・すべての溶液でタンニンを抽出できた。
- ・水酸化ナトリウム水溶液は塩化鉄(Ⅲ)水溶液を加えたときの色の変化がほかの水溶液と違うので、タンニンの種類が違うと考えた。

3. 実験2 薄層クロマトグラフィー

3-1 目的

実験1で抽出した物質がタンニンかどうか確かめるため。

3-2 使用器具・材料

- ・渋皮
- ・アセトン
- ・メタノール
- ・水酸化ナトリウム水溶液
- ・水
- ・毛細管
- ・TLCプレート
- ・酢酸
- ・ブタノール
- ・ビーカー

3-3 手順

- ① 展開液（ブタノール：酢酸：水=4：1：1）を作った。
- ② TLCプレートに毛細管を使ってアセトン、メタノール、水酸化ナトリウム水溶液で抽出した3つの試薬とタンニン酸水溶液の試薬を1滴ずつ滴下した。
- ③ 展開液に浸してしばらく放置した。
- ④ 紫外線を当て、スポットの移動の様子を観察した。

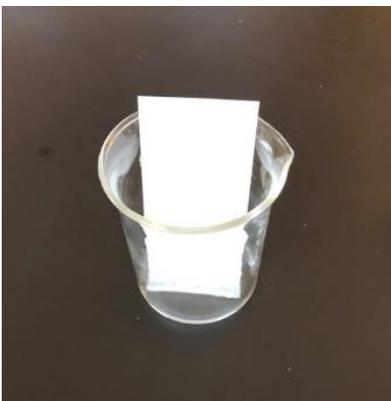


図2(TLCシートを展開液につける)

3-4 仮説

タンニン酸と同じ高さまで展開されれば他の溶液はタンニン酸を抽出できたと言える。

3-5 結果

全て同じように移動した。

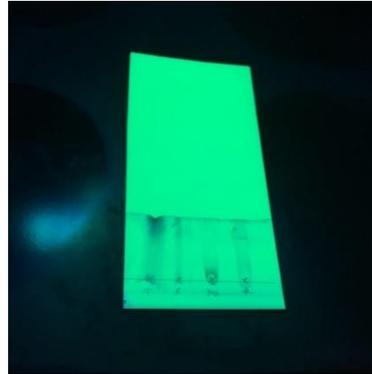


図3(紫外線を当てたTLCプレート)

写真のようにアセトン、メタノール、水酸化ナトリウム水溶液の順で濃い色のスポットが現れた。

3-6 考察

基準としたタンニン酸と同じ位置に移動したことからタンニン酸が抽出されている。

アセトンからのみ濃い色のスポットが現れたため、アセトンからはタンニン酸以外の物質が抽出されていると考えられる。

3-7 今後の展望

アセトンには他の物質が含まれていたと考えられるように、タンニンだけを抽出しそれを利用するのは難しい。実験を進めるために市販のタンニン酸を利用し、作用について調べる。

次の実験では、タンニンに含まれる、抗菌効果を調べるために寒天培地を用いた実験を行う。

4. 実験3 タンニンの抗菌効果

4-1 目的

タンニンの抗菌効果を調べるため。

4-2 使用器具・材料

- ・純水 200mL
- ・アガー 7g
- ・シャーレ
- ・三角フラスコ
- ・クリーンベンチ
- ・オートクレーブ

4-3 準備

- ・鬼皮 23.30g
- ・渋皮 32.29g
- ・栗の底 7.180g
- ・煮沸した鬼皮 (5分間の煮沸) 18.40g
- ・煮沸した渋皮 36.36g
- ・煮沸した栗の底 8.310g

上記のものをそれぞれ質量の比率を水と同じにしてビーカー内に入れる。

4-4 手順

- ① アガーを三角フラスコに入れ水を少しずつ入れて溶かし、オートクレーブに入れた。
- ② 2時間半経過後、オートクレーブから取り出した。
- ③ クリーンベンチの中で②で作成した寒天をシャーレに入れ、1日放置した。
- ④ 30分間ふたを開けて放置し、そのあと指で菌を付着させた。
- ⑤ ④に4-3で作った溶液をそれぞれ2滴ずつ垂らし、のばす。1週間置く。

4-5 仮説

渋皮に1番抗菌効果が見られる。

4-6 結果

- ・すべての寒天培地にコロニーを形成した。
- ・煮沸した渋皮は形成されたコロニーが少なかった。
- ・タンニン酸にもコロニーを形成した。

4-7 考察

- ・全ての寒天培地でコロニーが形成されたが、放置した期間が長かったためコロニーがより形成されたとも考えられる。
- ・煮沸した渋皮の寒天培地が他の寒天培地に比べコロニーが少なかったことから、わずかには抗菌効果があり渋皮に最も含まれていると考えられる。

4-8 展望

- ・今回は期間を1週間にしてしまい長すぎたため、すべてに菌が生えてしまったと考えられるので次は期間を1日、2日に変えて実験を行う。

5. 実験4 抗菌効果の確認

5-1 目的

実験3で寒天培地を1週間放置したので、放置する期間を短くし、詳細な結果を調べるため。

5-2 使用器具・材料

実験3と同じ。

5-3 手順

実験3の⑤を1週間から2日にする。

5-4 仮説

抗菌効果があるのでコロニーが形成されない。

5-5 結果

- ・タンニン酸は抗菌効果が強かった。
- ・渋皮より鬼皮のほうに抗菌効果が見られた。

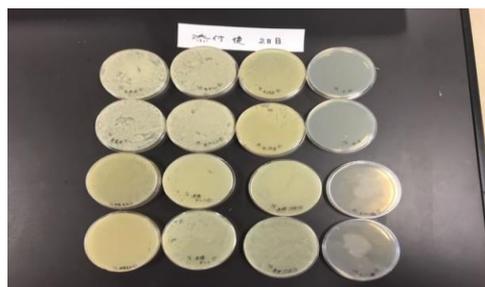


図4(寒天培地の様子2日目)

表 2(コロニーの形成の様子)

| | 1日 | 2日 | 1週間 |
|---------|-------|---------|---------|
| 生の栗の底 | なし | 多い | 減る |
| 煮沸した栗の底 | 生える | 大量になる | 少し減る |
| 生の鬼皮 | なし | 多い | コロニーが拡大 |
| 煮沸した鬼皮 | なし | 広範囲に広がる | コロニーが拡大 |
| 生の渋皮 | なし | 多い | 急に減る |
| 煮沸した渋皮 | 薄く生える | 濃く生える | 減る |
| タンニン酸 | なし | なし | 1つ何か生える |

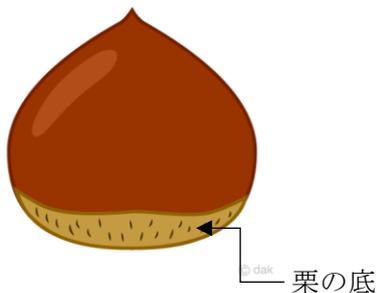


図 5(栗の部位)

5-6 考察

- ・タンニンには抗菌効果がある。
- ・渋皮だけでなく栗の鬼皮、栗の底にも抗菌効果があると考えられる。
- ・水以外の寒天培地において、1日、2日後より1週間の方がコロニーの密度が小さくなっているため、時間が経つほど抗菌効果が強くなると考える。しかし、寒天培地の栄養がなくなったことで菌が死んでしまったとも考えられる。

5-7 展望

- ・タンニンを含む渋皮の量を増やすなど、タンニンの濃度を高くして実験を行う。
- ・今回はタンニンが含まれる寒天培地に菌を付着させコロニーの形成の仕方で抗菌効果を調べた

が、今後は、タンニンが含まれる寒天培地にカビ菌を添付させたものと、タンニンを含まない寒天培地にカビ菌を添付させたものを用意し、対照実験を行い、カビ菌の繁殖を抑止できるのかで抗菌効果を調べる。

6. 実験 5 抗菌効果の確認 2

6-1 目的

より正確にタンニンの抗菌効果を確認する。

6-2 使用器具・材料

- ・寒天培地 8個
- ・渋皮 100g
- ・タンニン酸
- ・タンニン酸水溶液 10%
- ・純水 300mL (茹でる用)
- ・純水 170mL (漬ける用)
- ・煮汁
- ・マグネチックスターラー
- ・カビ菌 (パン)

6-3 準備

- ① 渋皮を5分煮沸する。
- ② 煮汁と渋皮に分ける。
- ③ 渋皮は、純水 170mL につけておく。
- ④ 寒天培地をつくる。
- ⑤ カビ菌を純水に溶かす。

6-4 手順

- ① 寒天培地を半分に区切った。
- ② 右側には、カビ菌を塗り、8枚中4枚の左側には何も塗らず、残りの4枚にはそれぞれ、煮汁、タンニン酸、煮沸渋皮、10%のタンニン酸水溶液を満遍なく塗った。
- ③ 常温で放置し、カビの広がりを観察する。

6-5 仮説

左側に塗ったものはカビが広がらない。

煮汁より煮沸渋皮のほうがカビの広がりを抑えられる。

6-6 結果

・カビが試料の有無関係なく、左側にうまく広がらなかった。

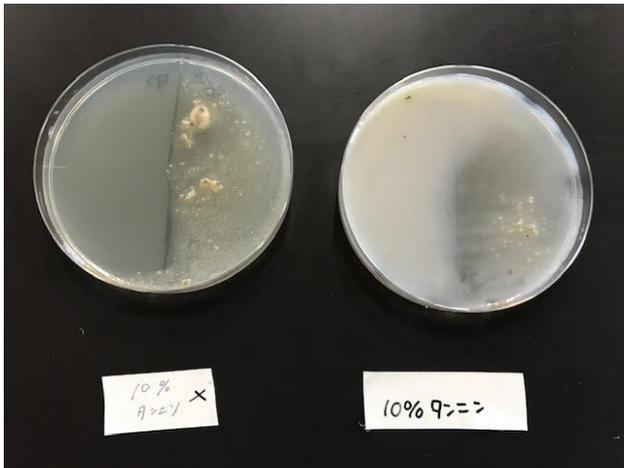


図 6 (10%タンニン)

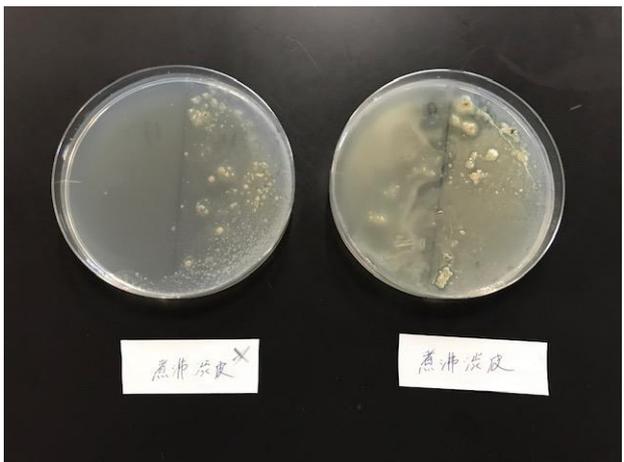


図 7 (煮沸渋皮)

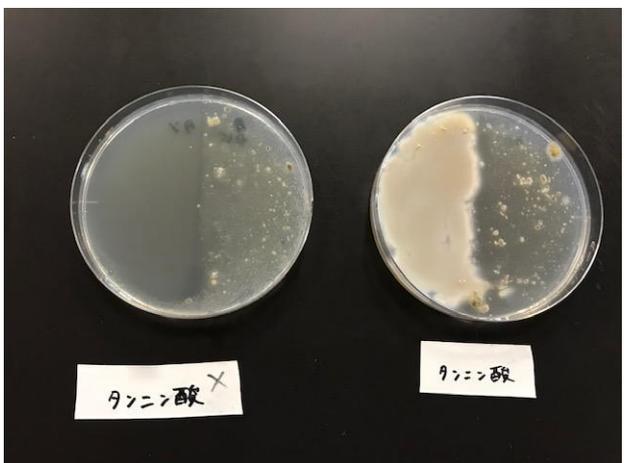


図 8 (タンニン酸)

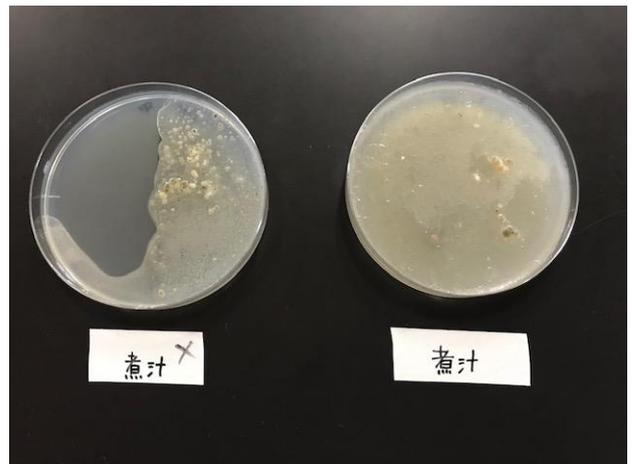


図 9 (煮汁)

(左：カビのみ 右：試料をそれぞれ塗った)

6-7 考察

・カビと試料をきれいに半分に分けられなかったため、結果を得られなかった。

・試料の添付量が正確ではなかったため、結果を得られなかった。

6-8 展望

・カビと試料をきれいに半分に分けられるようにする。

・カビが広がる方法を考える。

7. 全体の展望

実験 3・4 からタンニンには抗菌効果があると考えられるので栗の渋皮を使って除菌スプレーに利用する。しかし、実験 6 では抗菌効果を証明する根拠が得られなかった。容器内に渋皮を含む溶液を入れ吹きかけてテーブルなどを吹けば除菌が期待でき、環境にも優しい除菌スプレーができると考えられる。

8. 謝辞

実験を手伝ってくださった先生方、栗の提供をしてくださった皆さんありがとうございました。

9. 参考文献・引用文献

・テウチグルミおよびオニグルミのタンニン成分

<http://id.nii.ac.jp./1118/00000407//>

・カラダスタイル

<http://karadastyle.com/chesnut01/>