

香辛料によるカビ類の抑制

3525 丹羽美友 3527 原さくら 3532 深谷莉子 3631 原芽生

要旨

香辛料には殺菌効果があるといわれている。そこで私たちは、身近にあり手に入りやすい香辛料を用いてカビを抑制する方法を見つけることを目的とした。結果として、クローブは少量でも抑制できることが分かった。これより、クローブの成分の一つのオイゲノールには殺菌効果があることから、含まれる割合やその抽出の実験を行った。その結果、クローブはオイゲノールが主成分であり、約20%のオイゲノールを抽出できた。またそのオイゲノールを使って最初と同様の実験をした。

1. 香辛料の種類別の実験

1-1. 目的

カビ類の抑制効果のある香辛料を見つけるためこの実験を行った。

1-2. 仮説

殺菌効果のある香辛料にはカビ類を抑制できるものがある。

1-3. 使用した器具・装置

- ・オートクレーブ ・クリーンベンチ
- ・滅菌シャーレ ・寒天培地 20mL
- ・電子天秤 ・人工気象機 ・カビ
(パンに繁殖したカビを純正培養したもの)
- ・各香辛料 3.0g
(バジル、クローブ、クミン、シナモン、からし、ワサビ、ハッカ、にんにく)

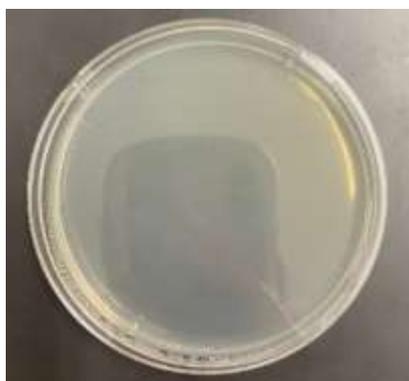


図1 寒天培地 20 mL



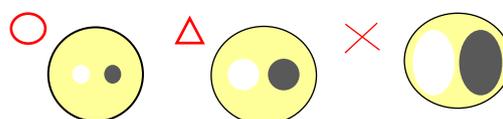
図2 香辛料

1-4. 研究・実験の手順

- ① 液体の寒天 20mL にバジル・クローブ・クミン・シナモン・からし・ワサビ・ハッカ・にんにく、計8つの香辛料を 0.3g ずつ混ぜ込み、香辛料を混ぜ込んだ培地と、何も入っていない培地を作った。
- ② ①の寒天培地に一円玉サイズの黒カビ、白カビを塗って、温度 30°C、湿度 70% に設定した人工気象機で 5 日間観察した。

1-5. 判断の基準

カビが一円玉サイズから変化していないなら抑制できた(○)。少しはみ出していたら少し抑制できた(△)。大きくはみ出していたら抑制できなかった(×)とする。



1-6.結果

	香辛料の名前			
	クローブ	シナモン	からし	にんにく
一回目	○	○	×	×
二回目	○	○	×	×
三回目	○	○	×	×

表1 実験1結果 i

	香辛料の名前			
	わさび	ハッカ	バジル	クミン
一回目	×	×※	×※	×※
二回目	×	×※	×※	×※
三回目	×	×※	×※	×※

表2 実験1結果 ii

※カビを塗る前に細菌が生えてしまった。

- ・クローブ、シナモンは、全くカビの変化が見られない。
- ・からし、にんにく、わさびは何もなしよりカビが繁殖した。
- ・ハッカ、バジル、クミンには、カビを塗る前に、細菌が繁殖した。

1日目

最終日

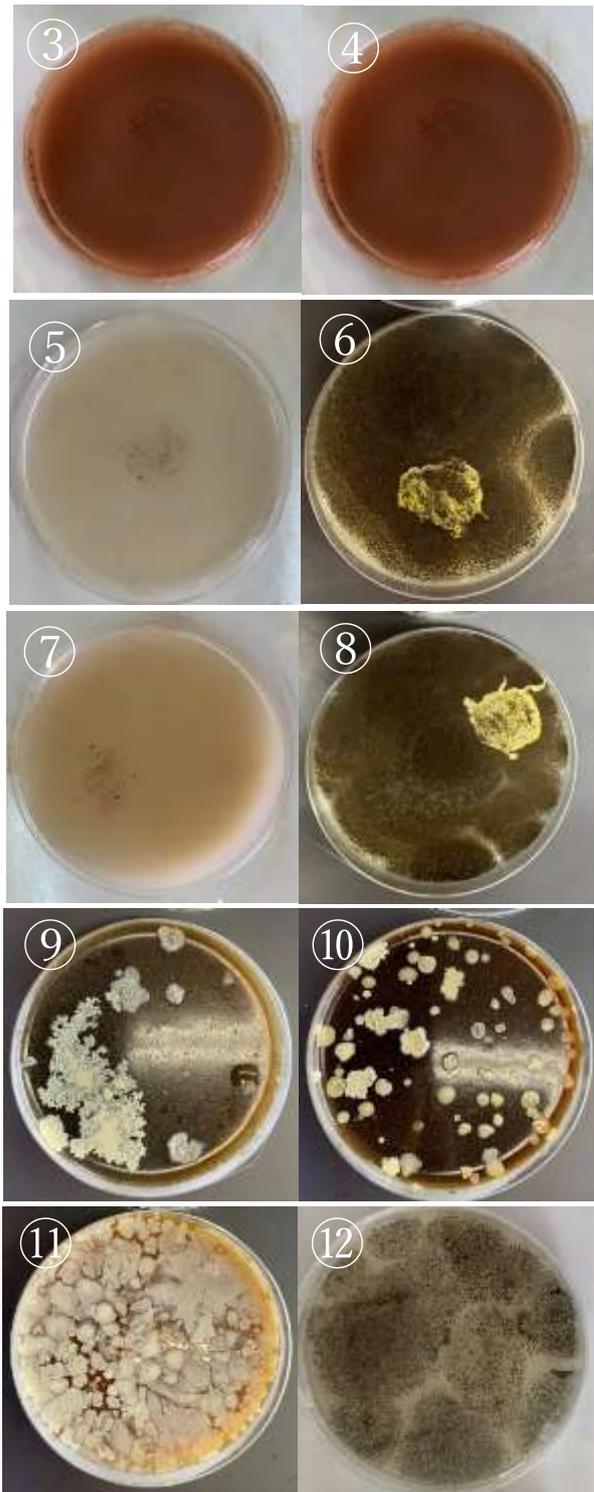


図3

- ① クローブ 1日目、②クローブ 5日目
- ③ シナモン 1日目、④シナモン 5日目、
- ④ からし 1日目、⑥からし 5日目、
- ⑦ にんにく 1日目、⑧にんにく 5日目、
- ⑨ わさび 1日目、⑩わさび 5日目、
- ⑪ ハッカ 1日目、⑫ハッカ 5日目

1-6. 考察

- ・クローブ、シナモンは、抑制効果があり、強いと考えられる。
- ・からし、にんにく、わさびは、からしなどの香辛料が、カビが繁殖する際に栄養になったためカビがより繁殖してしまっただと考えられる。
- ・ハッカ、バジル、クミンは、クリーンベンチを用いて、できるだけ外気に触れないよう、菌が入らないように実験をやり直したが、菌が生えてしまった。また、元の香辛料自体に菌があった可能性も考えられるが、実験の趣旨より、市販の物でできなければいけないため、これらには、カビの抑制効果がないと考えられる。

2. 最小値の実験

2-1. 目的

実験①の結果を踏まえ、繁殖の抑制を確認できたクローブ、シナモンが対象のものに与える影響をできるだけ少なくするため、どれくらい少ない量でカビの繁殖を抑制できるかを調べるために実験を行った。

2-2. 仮説

殺菌効果のある香辛料にはカビ類は 0.05 g で抑制出来る。

2-3. 使用した器具, 材料

- ・寒天培地 20mL
- ・クリーンベンチ
- ・オートクレーブ
- ・香辛料(クローブ、シナモン)
- ・電子天秤
- ・人工気象機
- ・滅菌シャーレ
- ・ループ
- ・カビ(パンに繁殖したカビを純正培養したもの)

2-4 - ① 研究・実験の手段

- ・0.05 g ~ 0.30 g まで 0.05 g ずつ減らした香辛料(クローブ、シナモン)を実験①同様混ぜ込む
- ・培地にパンに生え純正培養させた黒カビ、白カビを塗って、実験①同様カビの抑制の有無について調べた
- ・実験①②同様香辛料を混ぜた培地と対照実験を行うため、なにも混ぜていない培地を用意した

2-5 - ① 結果②

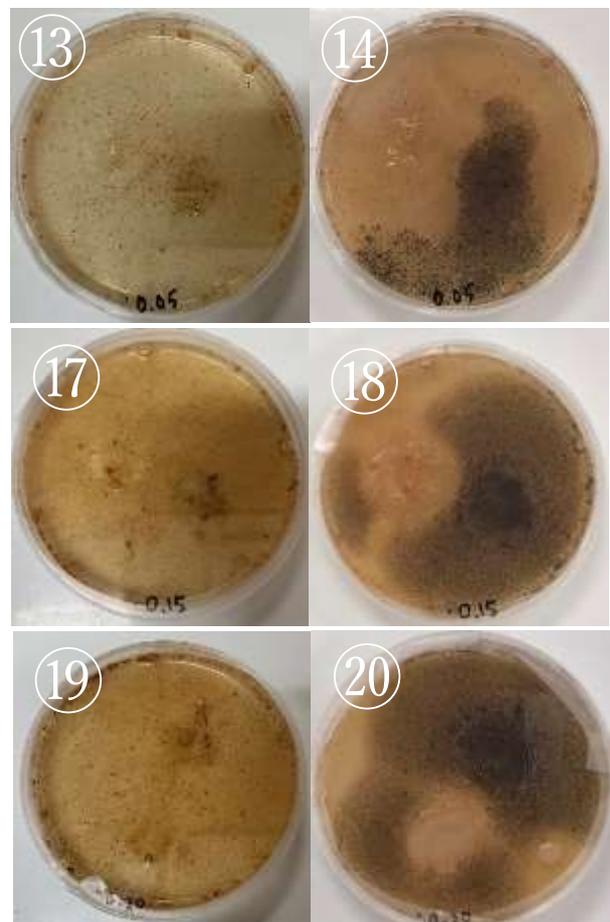
	シナモンの質量 (g)					
	0.05	0.10	0.15	0.20	0.25	0.30
一回目	×	×	×	×	○	○
二回目	×	×	×	×	△	△
三回目	×	×	×	×	×	○

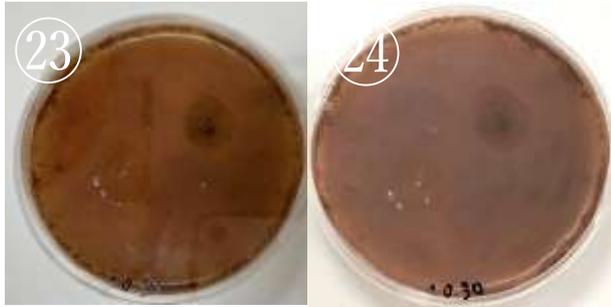
表3 実験②シナモン

・0.05~0.30 g では、完全にカビを抑制できない。

1日目

5日目





⑬0.05 g 1 日目、⑭0.05 g 最終日、⑮0.10 g 1 日目、⑯0.10 g 最終日、⑰0.15 g 1 日目、⑱0.15 g 最終日、⑲0.20 g 1 日目、⑳0.20 g 最終日、㉑0.25 g 1 日目、㉒0.25 g 最終日、㉓0.30 g 1 日目、㉔0.30 g 最終日

	クローブの質量 (g)					
	0.05	0.10	0.15	0.20	0.25	0.30
一回目	○	○	○	○	○	○
二回目	○	○	○	○	○	○
三回目	○	○	○	○	○	○

表4 実験②クローブ

・調べた最小値である0.05 gでもカビの繁殖を抑制させられた。

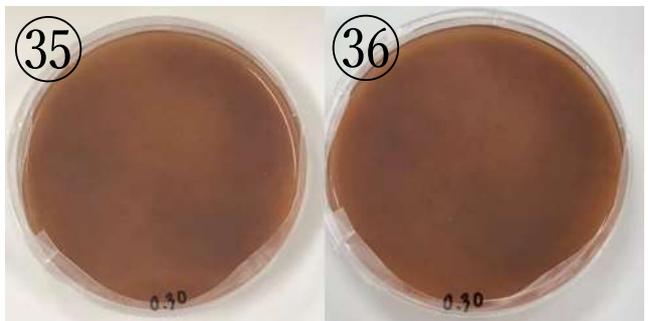
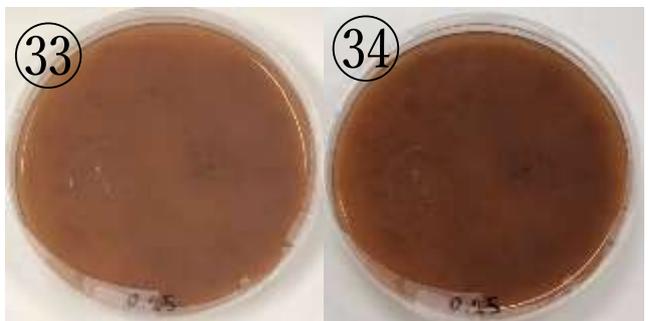
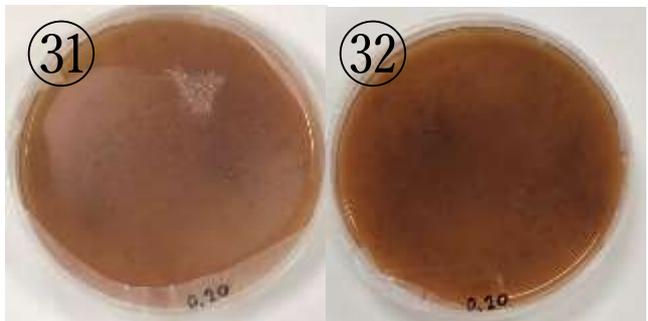
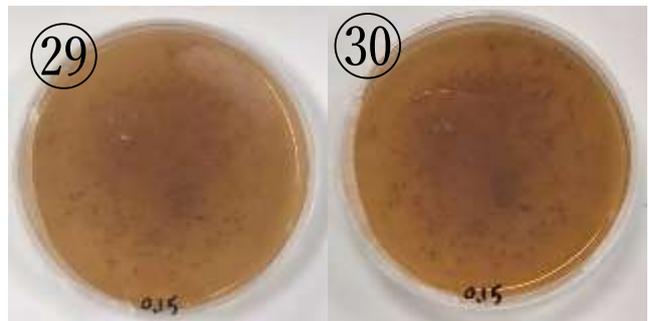
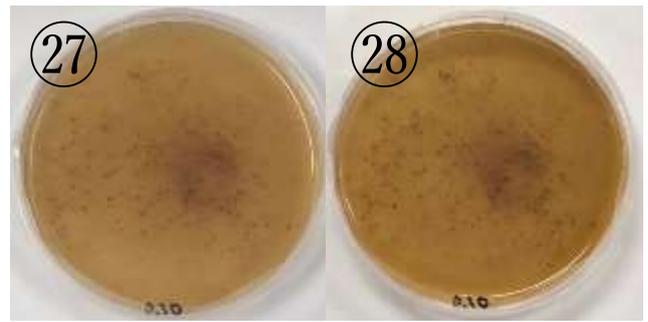
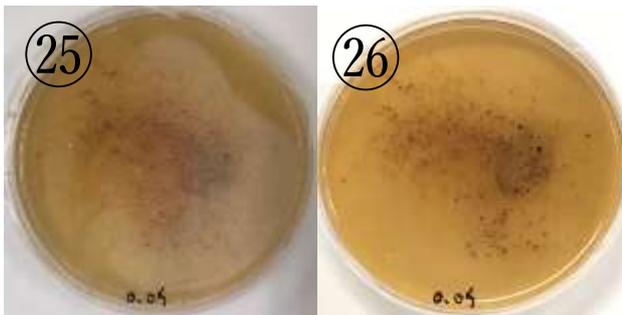


図5 以下クローブの分量

㉕0.05 g 1 日目 ㉖0.05 g 5 日目 ㉗0.10 g 1 日目
 ㉘0.10 g 5 日目 ㉙0.15 g 1 日目 ㉚0.15 g 5 日目
 ㉛0.20 g 1 日目 ㉜0.20 g 5 日目 ㉝0.25 g 1 日目
 ㉞0.25 g 5 日目 ㉟0.30 g 1 日目 ㊱0.30 g 5 日目

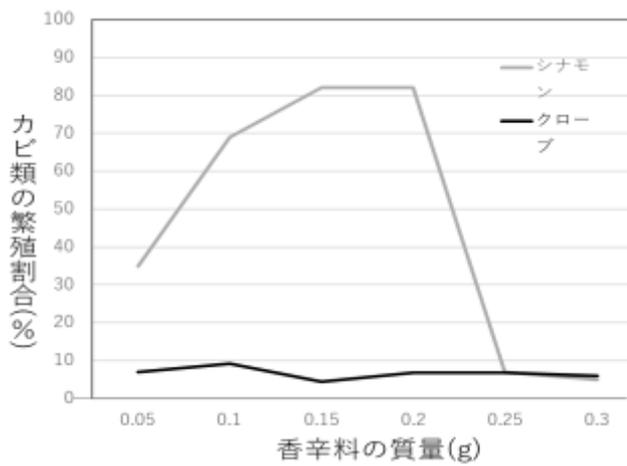


図6 クローブ、シナモンにおけるカビの繁殖割合

クローブは、0.05 gでも完全にカビを抑制できたため、更に少量にして調べる。

2-4-② 研究・実験の手段

実験2同様、クローブ 0.01 g~0.05 gで調べる。

2-5-② 結果

	クローブの質量(g)				
	0.01	0.02	0.03	0.04	0.05
一回目	×	×	×	○	○
二回目	×	×	△	○	○
三回目	×	×	△	○	○

表5 実験②クローブ

- 0.04 gまではカビの繁殖を抑制できる。
- 0.03 gから少ない質量では完全にカビの繁殖を抑制することはできない。

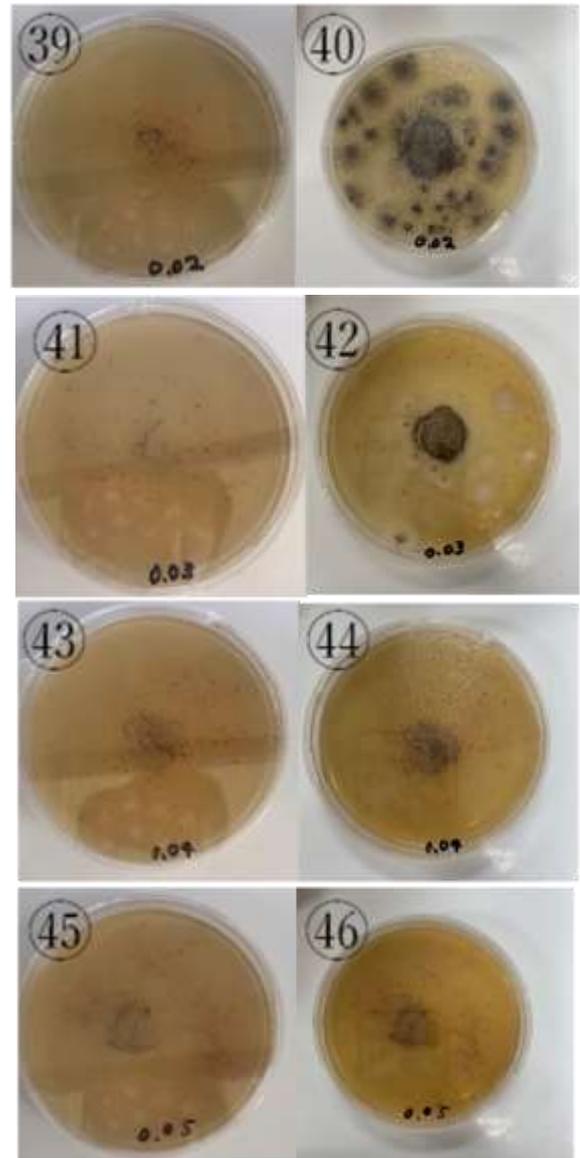
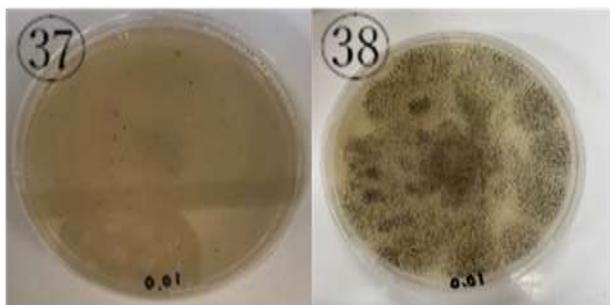


図6 以下クローブの分量

- ③7 0.01 g 1日目、③8 0.01 g 5日目、③9 0.02 g 1日目、④0 0.02 g 5日目、④1 0.03 g 1日目、④2 0.03 g 5日目、④3 0.04 g 1日目、④4 0.04 g 5日目、④5 0.05 g 1日目、④6 0.05 g 5日目

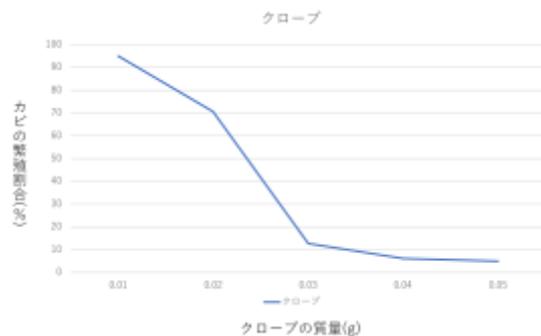


図7 クローブ (0.01 g~0.05 g) におけるカビの繁殖割合

2-5. 考察

- ・実験②ではシナモンは0.30gでも抑制できない。
- ・実験③では、0.04gでカビの繁殖を抑制することができたため、クローブがカビの繁殖を抑制させられる最小値は0.04gだということが考えられる。

3. オイゲノールの抽出

クローブの成分の成分に着目する。クローブには殺菌剤として働くオイゲノールが多く含まれており、実験3ではオイゲノールがカビを抑制していたとして実験を行う。

3-1. 目的

クローブからオイゲノールを抽出する。

3-2. 仮説

クローブと有機溶媒を攪拌した溶液の上澄みの透明液部分には、不純物は少なく、構成成分はオイゲノールがほとんどを占める。そのため、減圧蒸留などでオイゲノールのみを抽出できる。

3-3-① 使用した器具・装置

- ・クローブ・オイゲノール
- ・酢酸エチル
- ・展開溶媒（アセトン：ヘキサン＝2：1）
- ・TCL板
- ・マグネットスターラー
- ・ろうと

① クローブの成分の確認

3-4. 実験の手順

- ① 酢酸エチルとクローブを5分間攪拌し、ろ過する。
- ② アセトン：ヘキサン＝2：1の展開溶媒、クローブ、オイゲノールを試料とし、TCL分析を用いてクローブの構成成分、オイゲノールの多寡を調べる。

3-5-① 結果

- ・オイゲノールとクローブの濃い色の部分はほぼ等しくなった。
- ・クローブはオイゲノールと等しい位置以外には上がらなかった。
- ・クローブは展開位置に有色部分が残った。

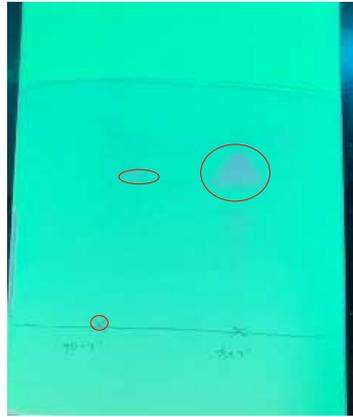


図8 TCL分析の結果

（左：クローブ 右：市販のオイゲノール）

3-6-① 考察

クローブと有機溶媒を攪拌した溶液には、不純物はほとんどなく、オイゲノールが多く含まれている。有色部分が多少残っているが、カラムクロマトグラフィーを用いてこれらを分け、蒸留することで、オイゲノールを抽出できる。

②抽出実験

3-3. 使用した器具・装置

- ・カラム管 ・アセトン
- ・スタンド
- ・酢酸エチル
- ・ナス型フラスコ
- ・駒込ピペット
- ・展開溶媒（アセトン：ヘキサン＝2：1）
- ・シリカゲル
- ・脱脂綿
- ・減圧蒸留装置
- ・TCL板

3-4-② 実験

- ① クローブをアセトン、酢酸エチルの2種類の有機溶媒と攪拌する。
- ② カラムクロマトグラフィーを用いて有色部分とオイゲノールが含まれている無色部分を分ける。
- ③ 減圧蒸留をする。
- ④ TLC 分析をし、不純物がないかどうか、オイゲノールが抽出できたか確認する。

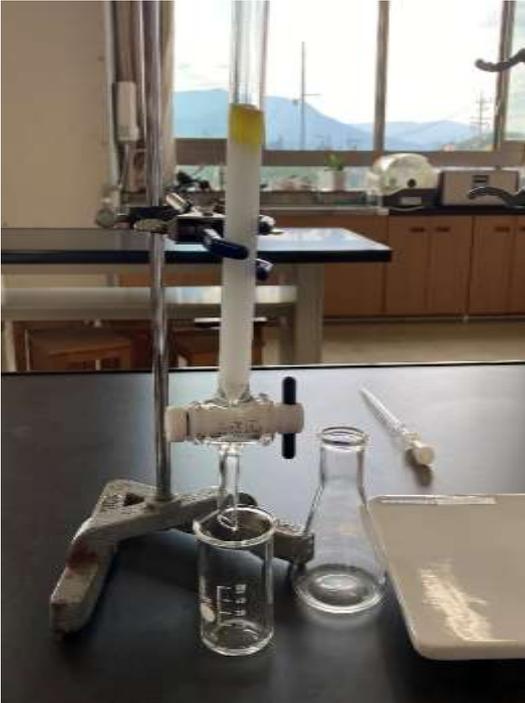


図9 カラムクロマトグラフィー

3-5-② 結果

クローブ 5.0 g から、抽出できたオイゲノール

1 本目

(酢酸エチル) 0.90 g (18%)

2 本目

(アセトン) 0.75 g (15%)

この実験において、カラムクロマトグラフィーを使って有色部分と透明部分を分けたが透明部分からはTCL分析においてオイゲノールの抽出が確認出来なかった。その次に取れた少し色のついていいる部分からは抽出できた。



図10 抽出したオイゲノール

3-6-② 考察

オイゲノールが無色にもかかわらずオイゲノールが抽出出来なかったのは、展開溶媒の比率が間違いであったためだと考えられる。アセトン：ヘキサン=1；3にすることにより、吸着率に差ができて、オイゲノールと有色部分を分けられると考えられる。

この抽出方法における、18%の収率が多いと考えられ、クローブからはたくさんオイゲノールが抽出でき、成分はほとんどオイゲノールと考えられる。

またカビ類を抑制することの出来たクローブ 0.04g には約 0.0072g のオイゲノールが含まれると考えられ、この少量でカビが抑制出来たと考えられる。

4. これまでの実験のまとめ

香辛料で、カビを抑制する効果を持つものはクローブである。クローブの構成成分の大半はオイゲノールであり、オイゲノールが殺菌剤として働いている可能性があると考えられ、オイゲノールは抽出できる。

5. 今後の展望

実験3の結果を得て、抽出したオイゲノール、クローブ、市販のオイゲノールの3つでカビの抑制に対する対象実験を行っている。オイゲノールは殺菌剤として働き、日常生活でも消毒液や殺生物剤にも使われている。そこで、カビ類の抑制にも効果があり、極少量で効果があると考えられる。今回抽出出来たオイゲノールにも、不純物を取り除くことが出来たと考えられるので、同様のことが言えると考えられる。今行っているこの有効性の実験が予想通りになるとしたら、クローブを用いる際に有機溶媒と同じ役割を持つアルコールに溶かしてその上澄みを用いてみるなど、身近で、体に害のない抑制方法を更に探していきたい。

6. 謝辞

オイゲノールの抽出という専門的な実験に協力してくださった中島先生、抽出方法や実験の進め方についてアドバイスしてくださりありがとうございました。そして、約2年間、私たちの実験を監督してくださった北村先生ありがとうございました。

7. 参考文献

- ・ 香辛料の抗菌性と食品保蔵への応用
w.stawwge.jst.go.jp
- ・ カビを抑制する食材に関する研究
www.pref.fukushima.lg.jp
- ・ 気象庁 過去の気象データ
www.data.jma.go.jp
- ・ 独立行政法人 医薬品医療機器総合機構
000228250.pdf