

柑橘類の皮の有効活用

3609 兼松侑希 3530 林湊人 3611 小木曾蒼太 3617 高木愛樹

本研究の目的は、柑橘類の皮から消毒液を作ることである。柑橘類の皮には、殺菌作用のあるリモネンが含まれている。そこで私たちは、リモネンを用いて消毒液が作れるという仮説を立てた。初めに、蒸留によってオレンジの皮からリモネンを分離できると考え、実験を行った。しかし、確認方法が十分に検討できなかったため、分離した成分がリモネンであると判断できなかった。次に、ヘキサンを用いたソックスレー抽出を行った。課題であった確認方法には、薄層クロマトグラフィー(TLC)を用いた。リモネンを抽出することができたが、他の物質も混ざっていることを確認した。抽出物に殺菌作用があることを確認した。

目的

現代社会において地球環境への配慮が注目される中、私たちは捨てられてしまう柑橘類の皮に着目し、資源の有効活用の観点から柑橘類の皮に含まれるリモネンの抽出とリモネンを活用することを目的とした。

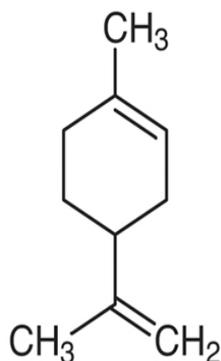


図1 リモネンの構造式

1. 仮説

蒸留水に柑橘類の皮を入れて、蒸留を行うことで、リモネンを抽出できると考えた。また、殺菌効果が確認されているリモネンを用いることで、天然の消毒液を作ることができると考えた。

2. 使用した器具、装置

実験1

蒸留によるリモネンの抽出

- ・枝付き丸底フラスコ
- ・試験管
- ・ビーカー
- ・ガラス管
- ・蒸留水
- ・温度計
- ・スタンド
- ・ガスバーナー
- ・三脚
- ・金網
- ・沸騰石
- ・発泡スチロール
- ・柑橘類の皮(オレンジ)の皮



図2 蒸留の装置

実験2

ソックスレー抽出法によるリモネンの抽出

- リモネン・ソックスレー抽出器
- ・ナスフラスコ
- ・エバポレーター
- ・スタンド
- ・蒸留水
- ・ウォーターバス
- ・薄層クロマトグラフィー
- ・紫外線ランプ
- ・ヘキサン(C₆H₁₄)
- ・アセトン(C₃H₆O)



図3 ソックスレー抽出器

実験 3・4

寒天培地での殺菌作用の確認実験①・②

- ・蒸留水 ・粉末寒天 ・コンソメ ・砂糖
- ・クリーンベンチ ・シャーレ ・電子レンジ
- ・ディスポールプ ・納豆 ・スポイト

3. 研究・実験の手順

実験 1

蒸留によるリモネンの抽出

①実験方法

- (1) 1 cm×1 cm片に切ったオレンジの皮 20g と蒸留水 80mL を量り取り、枝付きフラスコに入れる。
- (2) 枝付きフラスコに温度計を取り付け、沸騰石をいれる。
- (3) 蒸留で液体を取り出す。試験管 1 本あたり 1mL の液体を取り出す。

■リモネンの抽出確認方法

試験管 3 本と蒸留水の入った試験管を見比べ、試験管内のそれぞれの液体の様子を観察する。
また、リモネンは発泡スチロールを溶かす性質があるため、試験管に発泡スチロール片を入れ、発泡スチロールの変化を確認する。

②目的

蒸留でオレンジの皮からリモネンを抽出する。

③結果

1 本目の試験管の液体の水面に水と分離した層が見られた。2, 3 本目の試験管には分離した層は見られず、蒸留水の入った試験管と比べても変化はなかった。また、試験管に入れた発泡スチロールに変化は見られなかった。

表 1 実験 1 の結果

	1本目	2本目	3本目
写真			
目視観察	2層	1層	1層
発泡スチロール	変化なし	変化なし	変化なし

④考察

取り出した液体は二層になっており、蒸留水よりリモネンの方が比重が小さいため、下の層は蒸留水で、上の層はリモネンであると考えられる。しかし、確認方法の検討が不十分だったため、その液体がリモネンかどうかは不明。発泡スチロール片による抽出確認の結果より、リモネンが抽出できなかったと考えられる理由として、溶媒に用いた液体がリモネンより沸点の低い蒸留水であったためであると考えた。

実験 2

ソックスレー抽出法によるリモネンの抽出

①実験方法

- (1) オレンジの皮 20g をミキサーで細かくして綿を詰めたソックスレー抽出器の中に入れる。
- (2) ヘキサン 160mL をナスフラスコに入れる。
- (3) ウォーターバスの温度を 80℃にしてソックスレー抽出を行う。
- (4) 抽出した液からエバポレーターを用いてヘキサンを除去する。
- (5) 薄層クロマトグラフィー(TLC)を用いて、市販のリモネン、ヘキサンを除去した抽出液、上記 2 つの混合液で分離を行う。
- (6) 紫外線ランプを用いて、3 つの液体の分離を観察する。



図 4 エバポレーターによるヘキサン除去

(補足) 薄層クロマトグラフィーについて
薄層クロマトグラフィー (TLC) とは、物質の極性などの違いを利用して、物質を成分ごとに分離・精製する技法のこと。今回の実験では、展開液に質量比 1:1 のアセトンとヘキサンとの混合液を用いた。

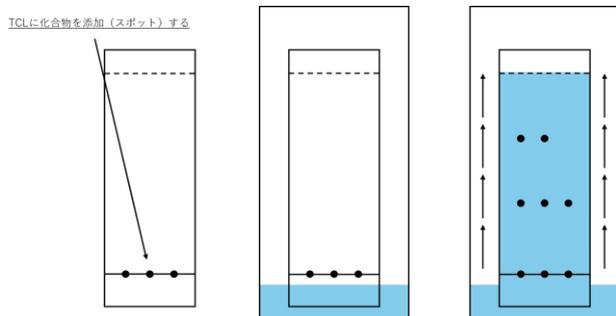


図5 薄層クロマトグラフィー(TLC)

②目的

ソックスレー抽出器でオレンジの皮からリモネンを抽出する。今回の TLC 実験において、ヘキサンを除去した抽出液、2 つの混合液、市販のリモネンを順に s、m、r と印をつけた。

Rf 値の計算式

$$(Rf \text{ 値}) = \frac{\text{原点から資料のスポットの中心までの距離}}{\text{原点から展開液の先端までの距離}}$$

③結果

黄色の液体を抽出することができた。TLC での実験では、すべてにおいて Rf 値 0.80 にスポットを確認した。s、m では Rf 値 0.71 と 0.55 にもスポットを確認した。



図6 抽出した液体

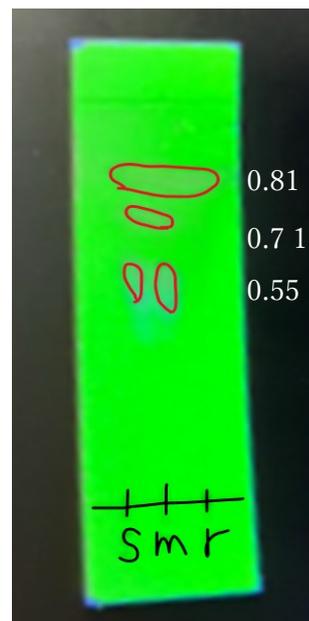


図7 薄層クロマトグラフィーの結果

④考察

TLC の実験において、ソックスレー抽出器を用いて方法で得た物質は市販のリモネンと同じ Rf 値にスポットを示したことからリモネンが抽出できたと考えた。しかし、抽出液ではリモネン以外の物質も混ざっており、リモネンだけを抽出できているとは言えない。リモネン以外の物質が抽出液に含まれている理由として、抽出実験の際にオレンジの皮に含まれるリモネン以外の物質も抽出されてしまったことや、時間の経過に伴って抽出液中の物質が別の物質に変化してしまったことが考えられる。

実験3

寒天培地での殺菌作用の確認実験①

①実験方法

- (1) 蒸留水 200mL、粉末寒天 2g、コンソメ 1g をすべて水に溶かし沸騰するまで電子レンジで加熱。
- (2) 砂糖を加えて、再度加熱し、透明になったら冷ます。
- (3) (2)の液体をクリーンベンチの中で、シャーレ1個あたり 20mL 入れて、固める。
- (4) 蒸留水 50mL に納豆一粒を入れて、軽くかき混ぜたものをディスポールで培地に塗り広げる。
- (5) 培地が完成した後、実験対象となる液体をスポイトで垂らす。

(6) 恒温器に入れて、37℃で一週間保管する。

・実験対象となる液体について

シャーレ1：リモネンのみの液体

シャーレ2：ヘキサンのみの液体

シャーレ3：体積比1:1のリモネンとヘキサンの混合液

シャーレ4：操作なし

・ヘキサンを塗布した理由

ソックスレー抽出器で抽出した抽出液にはリモネンが含まれているのに加えて、実験の過程でヘキサンも混ざってしまっている。今の段階では、抽出液からヘキサンを除去することが難しいため、ヘキサンを実験3シャーレ2で塗布し、それを殺菌効果がリモネンによるものかを確認するための対照実験とした。

②目的

リモネンの殺菌作用を調べるため。

③結果

リモネンとヘキサンの混合液を塗布したシャーレ3では、菌の繁殖が少し確認された。しかし、シャーレ3以外のシャーレでは培地が乾燥してしまい正確な結果を得ることができなかった。

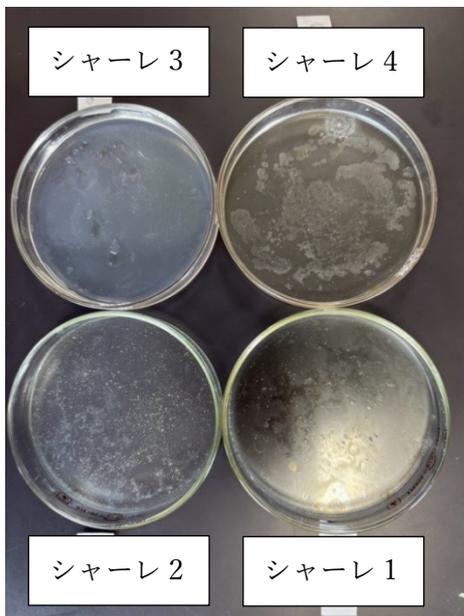


図8 実験3のシャーレ

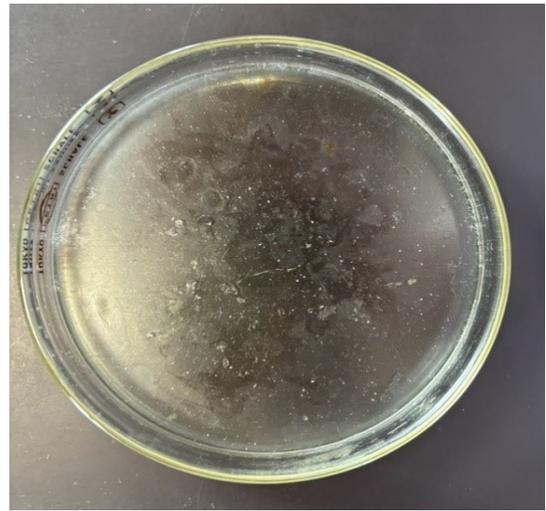


図9 実験3のシャーレ3

④考察

今回の実験ではシャーレのサイズが合わなかったため、シャーレ1, 2, 4では培地が乾燥してしまい正確な結果を得ることができなかったと考えられる。リモネンとヘキサンの混合液を塗布したシャーレ3では、菌の繁殖を抑えることができたのでリモネン、もしくはヘキサンには殺菌作用があるということが考えられる。次の実験では寒天培地の乾燥を防ぎ、手の菌に対しての効果も調べることにした。

実験4

寒天培地での殺菌作用の確認実験②

①実験方法

実験3の(1)から(4)と同様に行った。

(5) (1)～(4)の操作の後、手の菌をつけた培地を作製した。

(6) 培地が完成した後、実験対象となる液体をスポイトで垂らす。

(7) 恒温器に入れて、37℃で一週間保管する。

・実験対象となる液体について

納豆菌をつけた培地

シャーレ1：リモネンのみの液体

シャーレ2：ヘキサンのみの液体

シャーレ3：体積比1:1のリモネンとヘキサンの混合液

シャーレ4：操作なし

手の菌をつけた培地

シャーレ5：リモネンのみの液体

シャーレ6：ヘキサンのみの液体

シャーレ7：体積比 1:1 のリモネンとヘキサンの混合液

シャーレ8：操作なし

②目的

リモネンの納豆菌と手の菌に対する殺菌作用を調べるため。

③結果

納豆菌の培地も手の菌の培地も、リモネンを塗布したシャーレ1とシャーレ5では、菌の繁殖を抑制することができた。

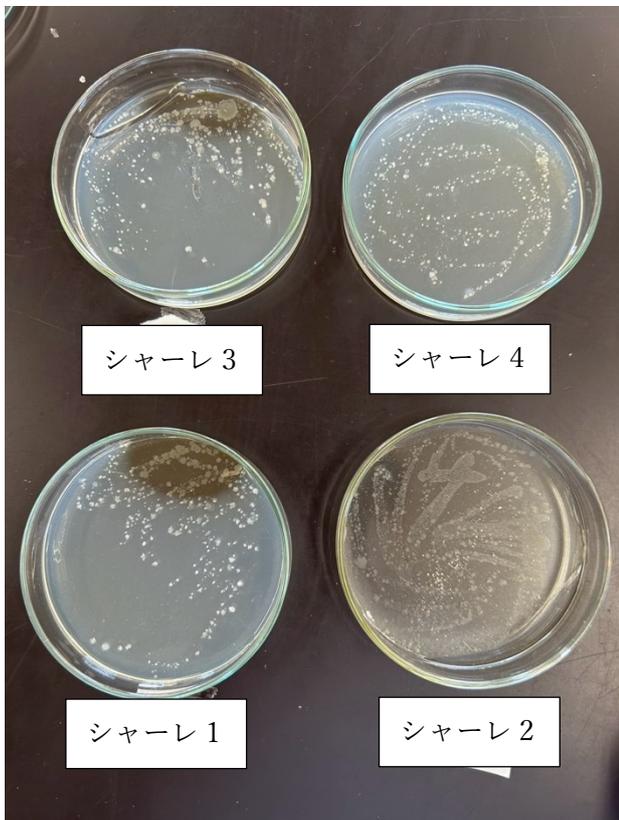


図10 実験4 納豆菌の培地の写真



図11 実験4 手の菌の培地の写真

④考察

納豆菌の培地のシャーレ1とシャーレ4ではリモネンを塗布したシャーレ1の方が、なにも操作していないシャーレ4より菌の繁殖が抑えられていた。また、ヘキサンを塗布したシャーレ3は菌の繁殖が顕著に表れたため、シャーレ1の菌の繁殖の抑制はリモネンによるものだと考えられる。手の菌の培地のシャーレ1とシャーレ4では納豆菌の培地の時と同じようにシャーレ1の方が菌を抑制することができていた。ヘキサンのみを塗布したシャーレ6では菌の繁殖がみられ、手の菌に対してもヘキサンは殺菌作用をもっていないということが考えられる。納豆菌に対しても、手の菌に対してもリモネンには殺菌作用があるということが考えられる。加えて、菌の繁殖の抑制の作用の大きさという点で見れば、手の菌に対する殺菌作用の方が大きく、リモネンの使用した消毒液は手指消毒としての活用がより適していると考えられる

4. 展望

現段階では、リモネンの抽出において、リモネンを少量しか抽出することができないため、多量にリモネンを抽出できる抽出方法を確立したい。

また、抽出液を消毒液として使うときにリモネンの濃度による殺菌作用の変化や、人体に対する影響に関して調べたい。加えて、抽出液は黄色でにおいが強いため、消毒液として使えるように無色でにおいが抑えられるようにしたい。

5. 謝辞

本研究を行うにあたり、様々なご支援をしてくださった化学科の先生方、ありがとうございました。

6. 参考文献

オレンジの皮からリモネンを取り出す
身近な素材から学ぶ物質の分離
横田知美 歌川晶子 (2000年)

https://www.jstage.jst.go.jp/article/kakyoshi/48/4/48_KJ00003521285/_pdf