

REHSE「高校生による環境安全とリスクに関する自主研究活動支援事業」

## 2022年度 研究活動報告書

### 農薬に代わる安全な天然由来の除菌剤の探索とその評価

高槻高等学校 2年化学第5班

#### 1. 背景（研究の動機、前年度までの成果）

農作物を病気や害虫から守り、生産性をあげるために、農薬は重要な役割を果たしている。その一方で、農薬には人体に被害がでる物質が含まれており、学校や病院、公園等の近隣にある農地では、農薬の使用回数を制限することが推奨されている。人体の健康被害の例として挙げられるのは、がん、発達障害、免疫疾患、ホルモンの異常などであり、特に小さい子どもに大きなリスクがある。これらの背景から、人体への健康被害を出さずに安全に農作物を育てる方法を考えようと思い、天然由来の食物・植物に注目した。農作物の病害の約8割は植物病原性の糸状菌が原因であることから、食物や植物を用いて病原性糸状菌を殺菌できれば、健康被害を出さずに農作物を育てることができるのではないかと考えた。

#### 2. 目的

農作物の病害の約8割は植物病原性の糸状菌が原因である。これらの糸状菌を殺菌できる成分を含む食物や植物を探索する。そして、それらの食物、植物を用いて、健康被害を最小限にしながら農作物を育てたい。

#### 3. 活動の内容

##### 3.1 出前講義

日時：2022年6月22日（水） 13時10分～14時00分

場所：高槻高等学校コナコピアホール

講義題目：「プレゼンテーションの極意」

講師：山本 仁 教授（大阪大学）

##### 3.2 見学

①日時：2022年11月15日（火）

場所：沖縄科学技術大学院大学（OIST）

見学の目的：英語の講義・研究発表を聴き、英語のスキルを高める。また、施設見学や留学生との交流を通し、世界最先端の研究を肌で感じる。



②日時：2022年11月18日（金）

場所：播磨科学公園都市 Spring-8

見学の目的：大型放射光施設について仕組みを学び、どのような研究に使われているのかを知ること、将来自分たちが関わるであろう大学や企業における研究・ものづくりについて理解を深める。



### 3.3 その他の活動

日時：2023年1月18日（水） 13時10分～15時00分

場所 高槻高等学校 化学教室B

講師：大阪大学 百瀬英毅 先生

内容：研究および発表指導

## 4. 研究の成果

### 【本研究活動で得られた成果】

実験には、カテキン(緑茶)、クロロゲン酸(コーヒー)、メチルグリオキサール(マヌカハニー)、タンニン酸(柿の葉茶)を使用した。また、緑茶、コーヒーに関しては出洩らしも使用した。

※0内はその物質が含まれている食品である

### 【実験1】

上記の4つの物質をそれぞれ水に溶かし、除菌剤を作製した。寒天培地全体に糸状菌を塗り、その上に除菌剤もしくは滅菌水を染み込ませたろ紙を置き、38℃で24時間培養した。ろ紙の周りに菌が生えずに阻止円が形成されていれば、除菌ができていると考えた。(この実験方法をペーパーディスク法と呼ぶ。)

### 結果

コントロール、クロロゲン酸、カテキンを染み込ませたろ紙を置いたシャーレでは、阻止円は確認されず、全体的に糸状菌が繁殖していた。

一方で、メチルグリオキサールを用いたシャーレには、全体的にほとんど菌が繁殖していなかった。また、タンニン酸を用いたシャーレでは、ろ紙の周りに阻止円が観察された。



### 考察

メチルグリオキサールを含ませたろ紙を置いた寒天培地には菌が増殖せず、タンニン酸を含ませたろ紙を置いた寒天培地では阻止円が観察されたことから、この2種類については除菌効果が確認できた。

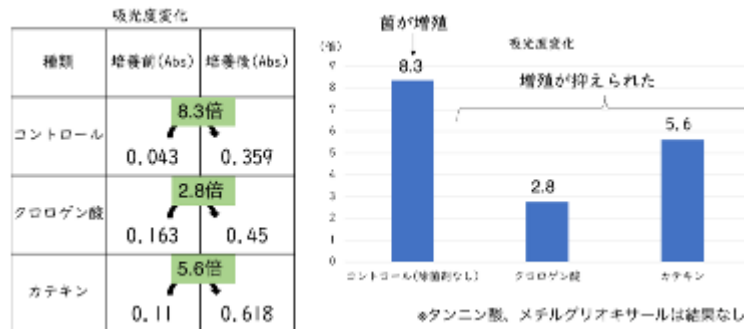
このペーパーディスク法でクロロゲン酸とカテキンについて効果を確認できなかったのは、水への溶解度が低く、作製した水溶液が十分な除菌効果が得られない濃度であったことや、水分を多く含む寒天培地中に分散しにくかったことが原因だと考えられる。

### 【実験2】

実験1で用いた物質をそれぞれ糸状菌が含まれている液体培地に加え、38℃で約5日間培養した。培養前後の660nmの吸光度を比較し、糸状菌の増殖度合いを調べた。吸光度が高いほど培地に含まれる菌が多く、濁っていると考えることができる。

## 結果

培養前後で吸光度の差は、コントロールが 8.3 倍、カテキンが 5.6 倍、クロロゲン酸が 2.8 倍という結果になったので菌の増殖が抑えられたと考えられる。しかし、メチルグリオキサールは培養後に培地全体が褐色化し、タンニン酸は培地との混合直後に白濁したので比較することが出来なかった。



## 考察

実験 1 で効果が見られなかったクロロゲン酸とカテキンでも、コントロールよりも菌の増殖度合いを抑えることができたため、抗菌効果が確認できた。実験 1、2 から、用いた 4 つの物質全てに除菌もしくは抗菌作用があると言える。

メチルグリオキサールを混合した培地の褐色化の原因は、メチルグリオキサールと培地中の糖、タンパク質によってメイラード反応が起こったと考えたが、使用した液体培地中に添加された糖が少なかったことから、メイラード反応が原因と断言はできなかった。また、寒天培地で除菌効果が確認できており、褐色化の原因を特定することは本研究の主旨と異なることから、それが本当に正しいのかを検証するに至らなかった。菌が入っていない状態でも褐色化したことから、培地とメチルグリオキサールが反応した可能性は高いが、その原因は分からないままである。

### 【実験 3】

- ① コーヒー、コーヒーの出廻らし、緑茶、緑茶の出廻らし、柿の葉を細かく粉砕し、寒天培地 30g に対して 0.9 g ずつ混ぜて固め、表面に糸状菌を塗り、38℃で約 24 時間培養した。実験 1、2 で使用した各物質とマヌカハニーについても同様に 0.9 g ずつ寒天培地に混ぜて固め、糸状菌が繁殖するかを調べた。
- ② さらに食品では、寒天培地 30 g に対して 0.1 g、0.3 g、0.6 g と混合する質量を変え、同様に糸状菌が繁殖するかを調べた。

## 結果

① タンニン酸を混合した寒天培地はすぐに白濁し、固まらなかった。次の図のように、緑茶、コーヒー、マヌカハニー、クロロゲン酸、メチルグリオキサールでは、菌の増殖がほとんどみられなかった。柿の葉を混ぜたものは除菌効果がみられなかった。なお、表 1 のとおりに物質が混合されている。

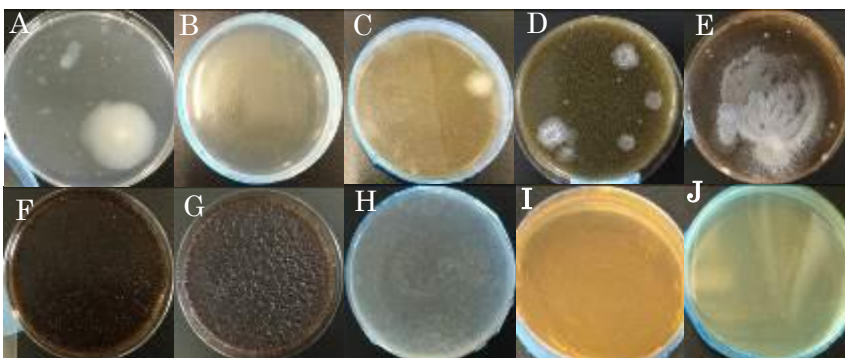


表 1 各シャーレに混ぜた物質

記号	混ぜた物質もしくは食品
A	なし (コントロール)
B	マヌカハニー
C	緑茶 (茶葉)
D	緑茶 (出廻らし)
E	柿の葉
F	コーヒー
G	コーヒー (出廻らし)
H	クロロゲン酸
I	カテキン
J	メチルグリオキサール

② 寒天培地 30 g に対して 0.6 g、0.3 g の食品を混合したものは、ほぼ①と同様の結果が得られた。マヌカハニーの実験において、0.6 g 混合した際は菌の増殖は抑えられたが、0.3 g では除菌効果は確認できなかった。しかし、混合する食品の質量を 0.1 g にしたときには、すべてのシャーレで糸状菌が繁殖した。次の図は混合する食品の質量を 0.1 g にしたときのもので、表 2 のとおりに物質が混合されている。

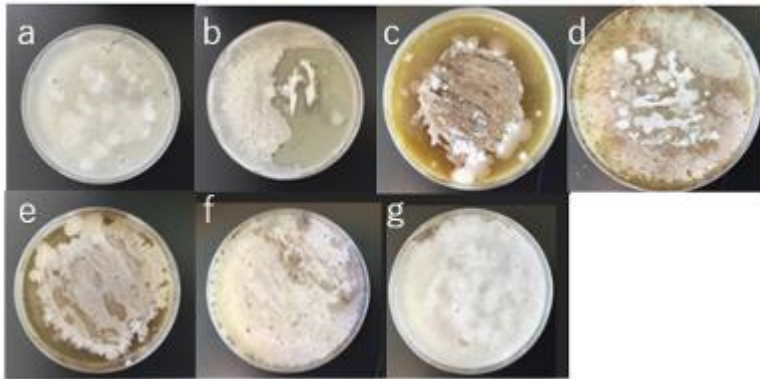


表 2 各シャーレに混ぜた物質

記号	混ぜた物質もしくは食品
a	なし (コントロール)
b	マヌカハニー
c	緑茶 (茶葉)
d	緑茶 (出涸らし)
e	柿の葉
f	コーヒー
g	コーヒー (出涸らし)

### 考察

- ・培地とタンニン酸を混合した際に白濁し、寒天培地が固まらなかったことから、タンニン酸はアガロースなどの糖と結合することが考えられる。柿の葉を寒天培地に混合しても効果が得られなかったのは、柿の葉に含まれるタンニン酸がアガロースなどと結合し、本来の作用が発揮されなかった可能性がある。
- ・マヌカハニー、緑茶、コーヒー (出涸らしを含む) を土に混ぜることによって、土壤中の糸状菌の増殖を抑えられる可能性がある。特にコーヒーは出涸らしでも効果が見られたことから、環境にも低負荷で有用だと言える。
- ・緑茶、コーヒー、コーヒーの出涸らしは培地に対して 1 % 以上、マヌカハニーは 2 % 以上混合すると、除菌効果が確認できたため、この値を目安にして土に混合すると、糸状菌の除菌や増殖を抑える効果が期待できる。

### 【実験 4】

実験 3 の寒天培地を土に変えて、細かく粉碎した食品 (土 30 g に対してコーヒー、コーヒーの出涸らし、緑茶、緑茶の出涸らし、柿の葉は 0.3 g、マヌカハニーは 0.6 g) を混合し、糸状菌を塗ったシャーレに入れて、48 時間培養し、糸状菌が増殖するかを調べた。

### 結果

マヌカハニーを混ぜた土には糸状菌が繁殖していた。コントロールやその他の食品を混ぜた土に関しては、48 時間では糸状菌は繁殖せず、大きな差はみられなかった。

### 考察

実験 1 より、メチルグリオキサールの除菌効果は高いことが分かったが、それを含む食品であるマヌカハニーははちみつ的一种であり、糖分が多く含まれている。マヌカハニーを混ぜたことにより、エネルギー源として糸状菌の繁殖を促進してしまった可能性があり、それがメチルグリオキサールの除菌効果を上回ったため、このような結果になったと考えられる。その他の食品については、今回の結果からは除菌効果がないとも言いきれないので、今後培養時間を延ばし、コントロールと差がみられるか検証するべきである。



## 5. 研究成果の発表

①日時：2022年10月22日（土） 13時30分～17時00分

発表の場：大阪サイエンスデイ

発表題目：「農薬にかわる安全な天然由来の除菌剤の探索とその評価」

発表形態：ポスター発表



②日時：2022年11月17日（木） 13時10分～15時00分

発表の場：高槻高校サイエンスツアーII 学内発表会

発表題目：「農薬にかわる安全な天然由来の除菌・抗菌剤の探索とその評価」

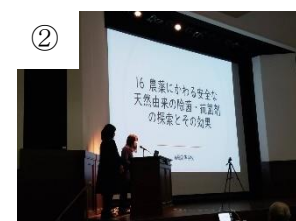
発表形態：口頭発表

③日時：2022年12月26日（月） 9時50分～17時40分

発表の場：第39回高等学校・中学校化学研究発表会

発表題目：「農薬にかわる安全な天然由来の除菌・抗菌剤の探索とその効果」

発表形態：口頭発表



④日時：2023年2月18日（土） 8時40分～12時30分

発表の場：高槻中学校高等学校 校内成果発表会

発表題目：「農薬にかわる安全な天然由来の除菌剤の探索とその評価」

発表形態：1月23日時点で未定（口頭発表かポスター発表のいずれかを予定）

## 6. 「環境安全とリスク」に関する意見と感想

・私たちの生活と密接に関わっている農業という分野は環境との直接的な関わりも深いので、私たち自らが農業分野における環境への影響を最小限に抑える努力をする必要があると考えた。現在、農作物の生産性向上のために欠かせない存在となっている農薬1つを例にとっても、未だに環境負荷、健康被害が存在している。環境、人体にとって100%安全なものが存在しないとしても、限りなく100%に近づける工夫を継続していく必要があると感じた。

・今までよりも環境安全に目を向けるようになった。身近なものでも環境に貢献していることが知れたので、周りの人たちにも環境安全への意識を広めることができればよいと思う。しかし、私たちの実験からも分かるように、良い面と悪い面を持ち合わせているもの(実験内では糸状菌が当てはまる)があるということを忘れてはならないと思う。環境を守るためには、生態系を崩さないことが一番良いのではないかと考えた。したがって、一部の生物を殺生する化学物質、殺虫剤や、大気汚染、土壌汚染の原因となる物質などは生態系を崩しかねないので、それらの使用を減らすためにも、身近なもので代用できないか、その物質は本当に使う必要があるのか、などと一人一人が意識して考えることが環境安全につながるのではないかと考えた。

## 7. 今後の課題

コーヒーや緑茶、それらの出涸らしを土に混ぜ込み、48時間で区切らずに経過を観察し、糸状菌の繁殖を抑えることができるかを確認したい。また、その土で実際に植物を育て、病気の発症を抑える効果がどれだけあるかを確認し、現在使用されている農薬とも比較したい。

糸状菌は農作物の病気を引き起こすものも多く存在するが、病原性をもたない糸状菌も多く、土壌内で農作物の育成にも関与しているので、除菌しすぎると逆に農作物が育ちにくくなる可能性がある。実験結果からは培地に対して1%～2%以上を混ぜると除菌効果が得られたが、土においてもこの割合が適しているのかを検証したい。

## 8. まとめ

糸状菌の除菌効果と環境への負荷を考慮し、私たちは、農薬に代わることのできる食品として、現段階ではコーヒーの出涸らしが最も適していると結論付けた。コーヒーの出涸らしはクロロゲン酸による糸状菌の除菌効果があり、なおかつ捨ててしまうものでもあるので、ごみを減らす効果も期待できる。

メチルグリオキサールの除菌効果は非常に高いことが分かったが、それを含む食品であるマヌカハニーは、土に均等に混ぜ込むことがむずかしく固まってしまうことや、土に応用した際にメチルグリオキサールの除菌力よりもエネルギー源として糸状菌の繁殖を促進する効果の方が高いことも示唆され、最適な除菌剤ではないという結論に達した。また、マヌカハニーはメチルグリオキサールを多く含むものほど高価になるため、コーヒーの出涸らしの方がコストの面でも優れている。今後はこのコーヒーの出涸らしを応用することによって、農作物の病気を抑えることができるかを検証したい。