

ミカン栄養成分と乳酸菌

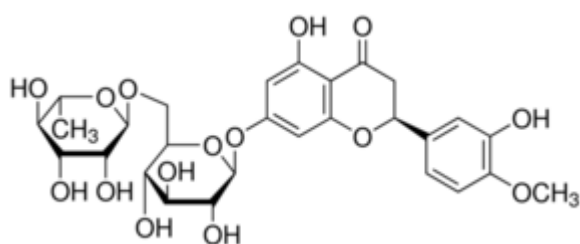
－ ヘスペリジンの抗酸化力への影響 －

桐村 天翔 北川 凌伍 相良 優介 田中 康将 山口 真央
兵庫県立神戸高等学校 総合理学科 2年

乳酸菌によるヘスペリジンの抗酸化力への影響を調べた。結果、ヘスペリジンと乳酸菌を合わせることで、互いに影響し合って抗酸化力は大きくなることが分かった。また、ヘスペリジン水溶液と乳酸菌の混合液で時間を置いたものの抗酸化力もそれぞれ計測したが、ほとんど変化はなく、置く時間は抗酸化力の大きさに無関係であると分かった。

1. 研究の動機

私たちはビタミンに興味を持ち、それについて調べたところビタミンPというビタミン様物質が見つかった。これは身近なものでいうと柑橘系の果物、例えばミカンなどに含まれている。詳しく調べたところ、その中にヘスペリジン(図1)という栄養物質があることが分かった。ヘスペリジンとは、ミカンの白い筋の部分に多く含まれるポリフェノール的一种で、様々な優れた効果を持つと言われている。例えば、免疫調整作用、血圧上昇抑制作用、血流循環改善作用、抗酸化作用、ビタミンC消耗抑制などがある(※1)。中でも抗酸化作用は、老化促進、がん細胞の増殖、動脈硬化など、様々な疾病の原因となる活性酸素の働きを阻止するといった非常に大きな効果をもたらす作用である。そこで、私たちはヘスペリジンの持つ抗酸化力に注目した。



【図1：ヘスペリジンの構造式】

出展：<http://www.sigmaaldrich.com>

2. 研究の目的

ヘスペリジンは、このように様々な優れた効果を持つが、体への吸収率が極めて低いことが分かっている(※1)。そこで、乳酸菌を同時に摂取することでポリフェノールの吸収率を上げることができる(※2)ということに注目した。乳酸菌は、食品を発酵

させたり腸の環境を整えたりする働きを持つ、糖類から乳酸を作る細菌の総称である。乳酸菌とポリフェノール的一种であるヘスペリジンを合わせるとヘスペリジンの吸収率を上げることは期待できるが、乳酸菌がヘスペリジンの効能に何かしらの影響を与えるのではないかと、という疑問が生じた。そこで、主な効能である抗酸化力に対する乳酸菌の影響を調べた。

3. 材料

本実験は、“明治ブルガリアヨーグルト LB81 プレーン 450 g、LB81 “に含まれている乳酸菌を使用した。

※ LB81 乳酸菌とは、*Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*2038 と *Streptococcus thermophilus*1131 を組み合わせたものである。(※3)

3.1 予備実験 1

3.1.1 目的と手順

ヨーグルトをろ過して得られる無色透明の溶液である乳清に、乳酸菌が含まれることを確認する。

- ① ヨーグルトをろ過し、乳清を作る。
- ② 乳清を一滴、スライドガラスに落とす。
- ③ ②に酢酸ダーリア溶液を少量落とす。
- ④ カバーガラスをかけ、顕微鏡で観察する。(倍率は600倍)

3.1.2 結果

次の二つの写真には、同じようなものが見られる。よって、乳清には乳酸菌が含まれることが確認された。



【図 2：観察できた乳酸菌】



【図 3：乳酸菌の画像（参考文献※4より）】

3.2 予備実験 2

3.2.1 目的と方法

酸化還元滴定により、乳酸菌がヘスペリジンの抗酸化力に及ぼす影響を調べる。

- ① ヘスペリジン水溶液（和光純薬工業株式会社 商品コード 086-07342 以下全て同じものを使用する。）をつくる。このとき、この水溶液は 85℃における飽和水溶液とする。（ヘスペリジンの溶解度は水 100 mL に対し 0.002 g と非常に低いので、可能な限り反応を明確にするため飽和とする。）
- ② ヨーグルトをろ過し、乳清を作る。
- ③ 下のように混合液を作る。

混合液A

- ・ヘスペリジン水溶液（飽和）－8 mL
 - ・乳清－2 mL
- これらを混合し、一日おいたもの

混合液B

- ・ヘスペリジン水溶液（飽和）－8 mL
 - ・乳清－2 mL
- これらを実験の直前に混合したもの

混合液C

- ・ヘスペリジン水溶液（飽和）－10 mL

- ④ ビュレットに過マンガン酸カリウム水溶液（0.0100 mol/L）を入れ、混合液A、混合液B、混合液Cを滴定する。その際、反応速度を速めるため、ホットスターラーと回転子を用いて攪拌しながら滴定する。
- ⑤ 混合液の中で過マンガン酸カリウムの赤色が消えなくなった時点で滴定をやめ、ビュレットのメモリを読み、滴定開始時の目盛りと比較する。

3.2.2 結果

過マンガン酸カリウムを滴下したところ、当量点で赤紫色になると予想した。しかし、溶液の黄色が残っていたため茶色に変色してしまい、赤みを帯びているのかの判断が困難であった。そのため酸化還元滴定による抗酸化力の測定は最適ではないと判断した。

3.3 本実験

3.3.1 目的と方法

予備実験 2 をふまえ、吸光光度計（Thermo Fisher Scientific 社製 SPECTRONIC200・島津紫外可視分光光度計 UVmini-1240）を用いて、正確な変色の識別を行う。

- ① ヘスペリジン水溶液をつくる。このときの水溶液は 85℃における飽和水溶液とする。
- ② ヨーグルトをろ過し、乳清を作る。
- ③ 下のものを合わせた混合液を作る。
 - a、ヘスペリジン水溶液（飽和）
 - b、乳清
 a と b を体積比 4:1(※)で混合した。
- ④ ③を実験の直前に混合したもの（以下 0 日と表記する）、混合してからの日数を変えたものを準備しておく。
- ⑤ 体積比 乳清 1:純水 4 で混合させた溶液を準備する。
- ⑥ 体積比 純水 1:ヘスペリジン水溶液 4 で混合させた溶液を準備する。
- ⑦ 吸光光度計の純水を入れたときの吸光度が 0 になるように設定する。
- ⑧ ④⑤⑥の混合液をそれぞれを 2.5 mL ずつ準備し、それらに過マンガン酸カリウムを 0.25 mL 加える。
- ⑨ ⑥をセルに入れ、セルを吸光光度計の試料室にセット後 5 秒ごとに 3 分間、524.0 nm(#)

の吸光度を測定し、横軸…経過時間、縦軸…吸光度の量のグラフに表す。

(※) …一般的に牛乳からヨーグルトを作るときは割合であるから

(#) …過マンガン酸カリウムの吸光度が最も高い波長が 524.0 nm だったため。

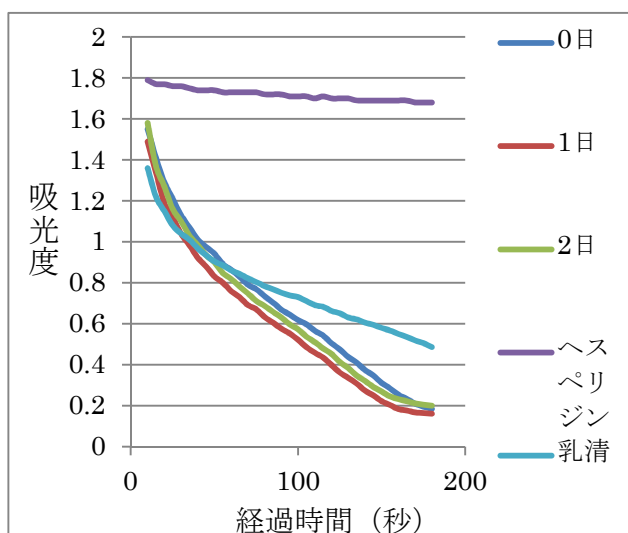
※ この実験系において一定時間における吸光度の減少度は、混合液の還元力と比例している。また、この還元力を抗酸化力とみなすことにした。つまり、吸光度の減少度が大きければ抗酸化力が大きいと考えた。

3.3.2 仮説

ヘスペリジンと乳酸菌を混合すると、吸収率は上がるが抗酸化力は下がると予想した。根拠としては、乳酸菌がヘスペリジンを取り込み、分解する可能性があるからだ。乳酸菌は従属栄養生物であり、有機物を外部から取り込み簡単な物質に分解して、その際生じるエネルギーを利用している。よって、有機物であるヘスペリジンは何らかの形で乳酸菌に取り込まれ分解されることによって、ヘスペリジンの抗酸化力は低下するのではないかと考えた。

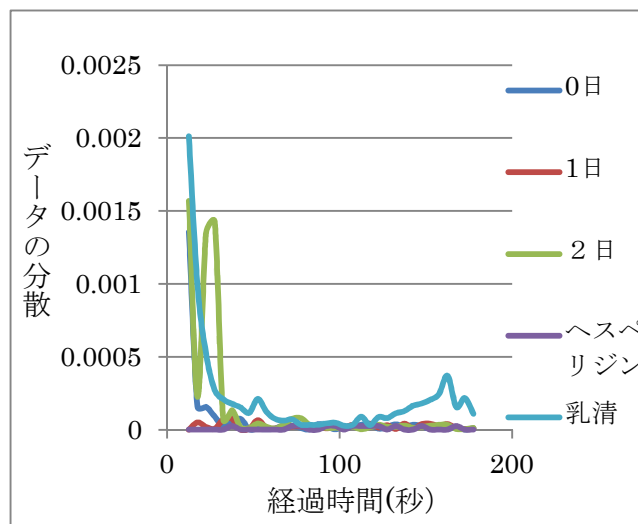
3.3.3 結果

まず、時間の経過を追って変化する吸光度の大きさをグラフ化した。



【図4：吸光度の時間経過】

次に、信頼性の高いデータの範囲を調べるために時間の経過を追って変化する吸光度の大きさの分散をグラフ化した。

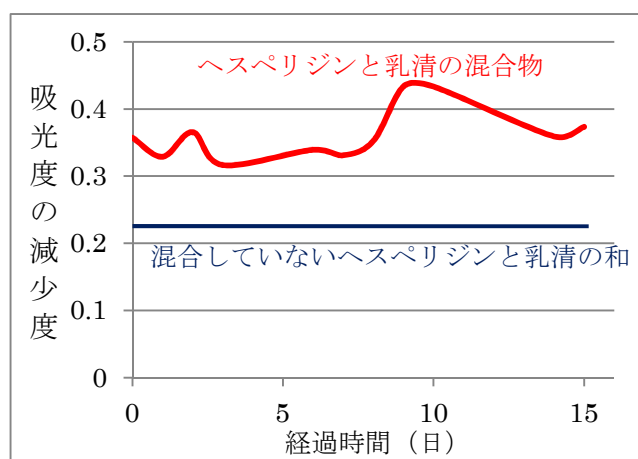


【図5：データの分散のグラフ】

図5のグラフより、過マンガン酸カリウムを加えて70秒から130秒までの分散が小さく、値が安定していると考えられる。ここから、70秒後と130秒後の吸光度の差の平均をとりグラフ化した。また、ヘスペリジン水溶液と乳清の混合液(④)の吸光度の差を、乳清のみ(⑤)とヘスペリジン水溶液のみ(⑥)の吸光度の差の和と比較した。ただし、吸光度の減少度と抗酸化力の大きさは比例するため吸光度の差の和は抗酸化力の和と考えられる。

次にヘスペリジンと乳清を混合してからの日数と、吸光度の減少度の関係をグラフ化した。

また、ヘスペリジンと乳清を混合させなかった場合の吸光度の減少度の和も直線にしてグラフに描き込んだ。



【図6：吸光度の減少度の時間経過】

図6のグラフより、

- ・ヘスペリジンのみと乳酸菌のみのそれぞれの吸光度の差の和よりも、ヘスペリジンと乳酸菌の混合液の方が吸光度の差が大きいと分かった。
- ・ヘスペリジン水溶液と乳清を合わせてから日数を

経過させても、値はほとんど変化しないと分かった。

4. 結論・考察

結果より、ヘスペリジンと乳清が別々のときよりも、混合させたときの方が抗酸化力が大きくなることが分かった。

また、ヘスペリジンと乳清を混合させて時間を置いても、抗酸化力に変化はないと分かった。これはヘスペリジン水溶液に含まれるヘスペリジン量がごく少量であったため、混合してから乳酸菌がヘスペリジンに影響を与えた時間が短時間であったことに起因すると考えた。つまり、乳酸菌による影響が短時間であるので、1日以上時間を置いてもそれ以上の変化はないとした。

よって、以下のように結論付けた。

- ・ミカンとヨーグルトは、それぞれで食べるよりも、一緒に食べたほうがより大きな抗酸化作用が得られる。
- ・このとき、ミカンとヨーグルトを混ぜてから時間を置いても抗酸化作用には影響しない。

5. 今後の展望

今回はヨーグルトによるヘスペリジンへの影響を抗酸化作用のみに絞って実験した。抗酸化作用のみにおいては、ヨーグルトとヘスペリジンをともに摂取すべきだと分かった。しかしヘスペリジンの持つほかの様々な作用についてはどのような影響があるのか分かっていない。それらについてより深く研究することが、ミカンヨーグルトのさらなる有用性につながるだろう。

また、先行研究では乳酸菌によってポリフェノールの吸収率が上がっていた。よって、それがポリフェノールの一種であるヘスペリジンにも共通しているかを確認することが課題となるだろう。

そして、今回の研究では乳酸菌がヘスペリジンに影響を与える正確な時間が測定できなかったため、そのことについても解明していきたい。

6. おわりに

ポリフェノールには様々な効能があるが、安全面から大量摂取は懸念されている。ゆえに私たちはポリフェノールの少量摂取によってより大きな効果を得ることが求められており、今回の実験によってそれに多少なりとも寄与できたと思われる。

中間発表の後から大幅に研究テーマが変わり、さらに実験の一回一回に時間がかかってしまい、時間的にはかなり厳しいものとなった。また、データの値にかなりばらつきがあり、時間をかけて実験の数をこなせなかったことを残念に思う。しかし、班員一人一人の知識を出し合い、多くの議論を重ね、一つの結果として残せたことに大きな達成感を感じている。この貴重な経験を、将来の社会で生かしていきたいと思う。

最後に、本研究を進めるにあたり、ここまで指導して下さい本校教諭中澤先生、また、サンプルの提供にご協力して下さい林原（株）の皆様から感謝の意を表します。

7. 参考文献・参考 URL

※1 糖転移ヘスペリジン・ビタミンP研究会

<http://www.ghes.jp/ghes/hesperidin/effects09/>
(2017/2/2 閲覧)

※2 林多恵子, 大澤朗, 水野雅史. スマート乳酸菌 (*Lactobacillus plantarum* 22A-3) におけるポリフェノール吸収促進及びプロバイオティクス効果について, FRAGRANCE JOURNAL, 2014-5

※3 明治ブルガリアヨーグルト

<http://catalog-p.meiji.co.jp/products/dairies/yogurt/020201/4902705104167.html>
(2017/2/2 閲覧)

※4 ヨーグルトを使った乳酸菌の観察

<http://d.hatena.ne.jp/gzutetsu/20110518/p1>
(2017/2/2 閲覧)