

天然酵母の機能性に関する研究～分離源ザクロの機能性探索～

大阪府立園芸高等学校 バイオサイエンス科 微生物部
 酒井彩那 大益美優 塚田麗 須藤暁 富田悠稀 荻野碧仁
 宇田川翼 東菜々子 大庭匠翔

はじめに：

先輩達の先行研究からザクロ由来酵母菌体エキスは高い抗酸化性を有し、化粧材として高く評価された。(19年度ホスタ発表) その際比較として供試したザクロ果実エキスも高い抗酸化性を有し、タンパク質含有濃度は酵母エキスを凌駕した。ザクロの持つ高機能性は果汁のみならず果実の非可食部位やザクロ葉なども該当すると考え機能性の比較検討を試みた。抗酸化活性測定、さらに抗酸化活性に関与すると考えられるポリフェノール定量の結果を報告する。



校内のザクロの樹

試料作成

- ザクロ果実の可食部位と非可食部位に選別した(図1)。可食部位をミキシングし遠心分離後の上清を試料とした(図2)。又、非可食部位は50gに10mM酢酸バッファー100mlを加えミキシングした後、振とう抽出し遠心分離後の上清を0.45μmのフィルターで濾過して試料とした(図3)。
- ザクロ葉は摘み取った後、自然乾燥後粉体化(図4)した。粉体5gに10mM酢酸バッファー25mlを加えた後、振とう抽出し遠心分離後の上清を0.45μmのフィルターで濾過し試料とした(図5)。



図1 選別作業



図2 果汁(可食部位)



図3 果実(非可食部位)



図4 乾燥葉の粉体化



図5 ザクロ葉

抗酸化活性測定 ABTS法 水溶性・脂溶性抗酸化物質 測定可能



反応：ABTS ラジカル 3ml に試料 30μl 加え 4 分間反応
 試料：果実可食部位・果汁(S1)、果実非可食部位(S2)、ザクロ乾燥葉(S3)
 ブランク：ABTS のかわりにエタノール

結果と考察

試料原液は高い抗酸化活性を有しているため希釈して測定した。測定可能な例(試料の10倍希釈液)を図6に示した。吸光度測定値から吸光度差を求め表1に纏めた。



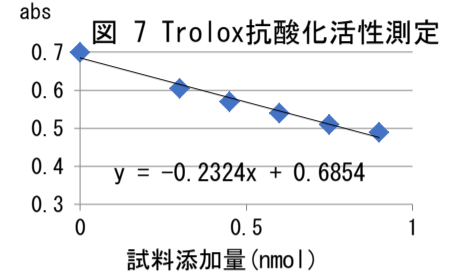
図6 10倍希釈液の反応 (左からコントロール、S1、S2、S3)

表1 ザクロ試料の吸光度(abs)測定 (ABTS法)

試料種類	(希釈倍率)	吸光度		吸光度差 C - (S - B)
		C or S	B	
コントロール		0.698		
S1 果汁	20	0.123	0.012	0.587
S2 果実(非可食部位)	75	0.095	0.002	0.605
S3 ザクロ葉	10	0.340	0.030	0.388

又、試料の抗酸化活性を数値化するために標準の抗酸化物質としてビタミンE誘導体であるトロロックス(6-ヒドロキシ-2,5,7,8-テトラメチルクロマン-2-カルボン酸)を用い、その相当量を求めることで判定し

先と同様の方法でトロロックスの抗酸化活性測定を行い、測定値を基に検量線を作成し(図7)検量線の傾きから添加量と吸光度差は0.2nmolが0.0460absに相当した。



各試料1ml当たりのトロロックス

相当量をABTS法による測定値から算出し、又、固形試料1g当たりのトロロックス相当量を表2に纏めた。試料1ml((g)当たりのトロロックス相当量比較すると、果実非可食部位が他部位にくらべ著しく高い抗酸化活性を有した。ザクロ果実の非可食部位の有効利用について大きな期待がもてる。

表2 ザクロ各部位(試料)のトロロックス相当量

試料	相当量 (nmol/ml)		相当量(nmol/g)
	(希釈倍率)		
S1 果汁	20	51.0	
S2 果実(非可食部位)	75	197	394
S3 ザクロ葉	10	0.776	7.76

ポリフェノール定量

ザクロ試料の高い抗酸化活性はポリフェノール量に相関すると予想しポリフェノールを定量した。ポリフェノールの定量法はタンニン酸濃度5区分の試料0.1mlを10%炭酸ナトリウムアルカリ溶液1ml中のフェノール試薬(図8)1mlと60分間反応させ、反応後の青色に呈した溶液の吸光度を測定し検量線を作成した(図9)。同様の方法でザクロ各部位を供試した。

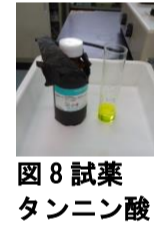
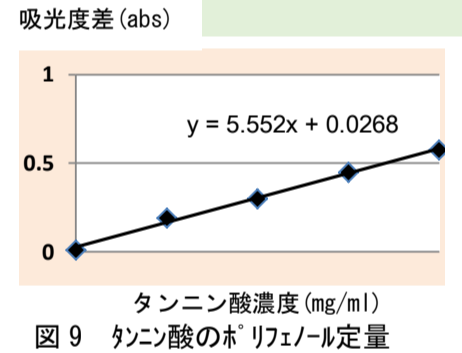


図8 試薬タンニン酸



結果と考察

試料原液はポリフェノールの濃度が高すぎて測定が不能であるために20倍希釈液を試料として測定した(図10)。さらに希釈して測定可能な試料を作成し、非可食部位は最も高い希釈率100倍で測定した(図11)。吸光度差からポリフェノール濃度を算出すると、果汁は1mlあたり0.579mg、非可食部位は14.6mg、ザクロ葉は1.89mgで、又、1グラムあたりでは非可食部位は29.2mg、ザクロ葉は9.45mgと日常に食する果汁以外の部位にポリフェノールが多量に含まれている(図12)。果汁は抗酸化性が高いがポリフェノール量が少なかったがビタミンなどポリフェノール以外の抗酸化物質の存在が示唆される。

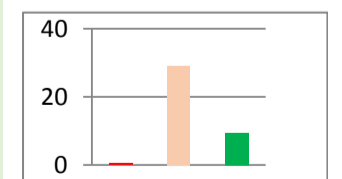
今まで廃棄していたザクロ非可食部位が高抗酸化性、高ポリフェノール含量を有することから、非可食部位抽出エキスを添加した食品補助剤などの利用が期待できる。



図10 反応液(20倍希釈液) 左からコントロール、S1、S2、S3の順



図11 非可食部位反応液 左からコントロール、20倍、50倍、75倍、100倍希釈液



今後の取り組み

- 非可食部位の果肉と果皮における抗糖化作用を加えた機能性試験の実施
- ザクロ各部位の抗菌・抗真菌活性試験の実施
- ザクロを利用した健康菓子等のレシピ作成