

蜂蜜のタンパク質分解作用について

2年3組 大野 徳仁 2年3組 中村 亮太 2年3組 武内 聖佑
2年5組 加藤 博大 2年5組 利根 大河 2年5組 兵頭慎一郎
指導者 教諭 窪地 育哉

1 課題設定の理由

蜂蜜は、ミツバチが花から花の蜜を集めてきたものである。蜂は花の蜜をいったん体内に蓄え、巣まで戻ってくると、巣の中にいるハチに渡す。ハチからハチへ蜜のリレーが行なわれて、巣に貯蔵される過程で、花蜜から蜂蜜への精製が行なわれる。すなわち、水分を飛ばすこと、そして、スクロースの分解である。花の蜜の主成分であるスクロースはグルコースとフルクトースに分解される。これは、ミツバチの体内にある酵素によって行なわれるものである。ハチミツは、20%の水分と花の蜜、蜂の消化酵素から成り、消化酵素にはたんぱく質分解酵素であるプロテアーゼなどの約80種を含んでいる^{〔*1〕}。愛媛県宇和島市は、全国的にも有名なみかん畑で養蜂が行われ、宇和島産の蜂蜜も販売されている。

昨年度のSSHの研究^{〔*2〕}により、蜂蜜にタンパク質を分解する働きがあることが示唆された。そこで私たちは紫外吸光度測定により、吸収スペクトルを調べることで、タンパク質が分解されたことを数値的に考察することができるのではないかと考え、この課題を設定した。

2 原理

ニンヒドリン反応とは、ニンヒドリンがアミノ酸と反応して、還元ニンヒドリンとアンモニアが生じ、生じた還元ニンヒドリンとアンモニアとニンヒドリンが反応しルーマン紫と呼ばれる紫色を呈色する反応である^{〔*3〕}。

また、スペクトルとは、光を波長ごとに分けたものであり、物質に光をあてると、一定波長域の光を吸収し、残りの光を反射する。その吸収された光を吸収スペクトルといい、私たちは反射された光をとらえて色を識別している。

今回は、ニンヒドリン反応の呈色の濃さを、吸収スペクトルを測定することにより、その定量的・定性的な考察に用いることとした。

3 実験・研究の方法

(1) 試料の調製

1.0, 3.0, 5.0%のゼラチン水溶液, 2%ニンヒドリン溶液, 蜂蜜水溶液を調整した。蜂蜜には市販のもの(®みかんはちみつ, 宇和島農産株式会社製造)を用いた。

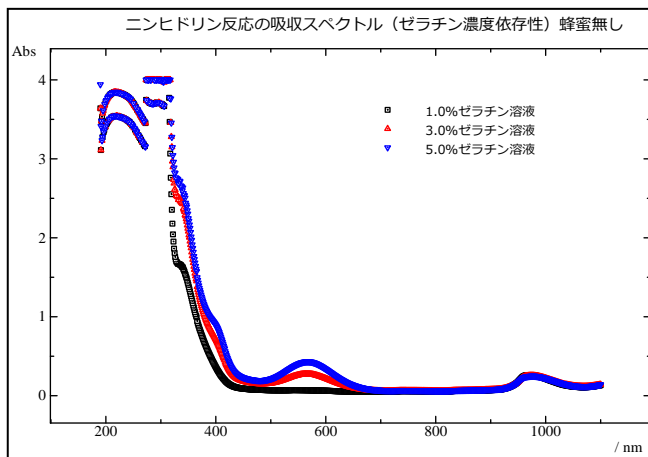
(2) 吸収スペクトルの測定

島津製作所の島津紫外可視分光光度計 UVmini-1240 を用いて、【table-1】に示した各試料の吸収スペクトルを測定した。各溶液混合時から10分間、40℃で湯浴させた後、吸収スペクトルを測定した。

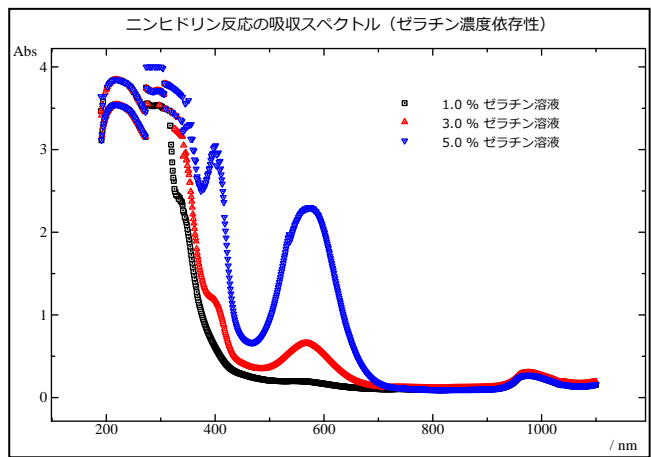
【table-1】 測定試料

試料 No	ゼラチン水溶液 5mL / %	蜂蜜水溶液 / mL	蜂蜜水溶液 (100°Cで 15 分間加熱) / mL	ニンヒドリン溶液 / mL
1	1.0	1.0	0	0
2	3.0	1.0	0	0
3	5.0	1.0	0	0
4	1.0	0	0	2.0
5	3.0	0	0	2.0
6	5.0	0	0	2.0
7	1.0	1.0	0	2.0
8	3.0	1.0	0	2.0
9	5.0	1.0	0	2.0
10	1.0	0	1.0	2.0
11	3.0	0	1.0	2.0
12	5.0	0	1.0	2.0
13	1.0	3.0	0	2.0
14	3.0	3.0	0	2.0
15	5.0	3.0	0	2.0
16	1.0	5.0	0	2.0
17	3.0	5.0	0	2.0
18	5.0	5.0	0	2.0

4 結果と考察



【図-1】 蜂蜜無しの場合

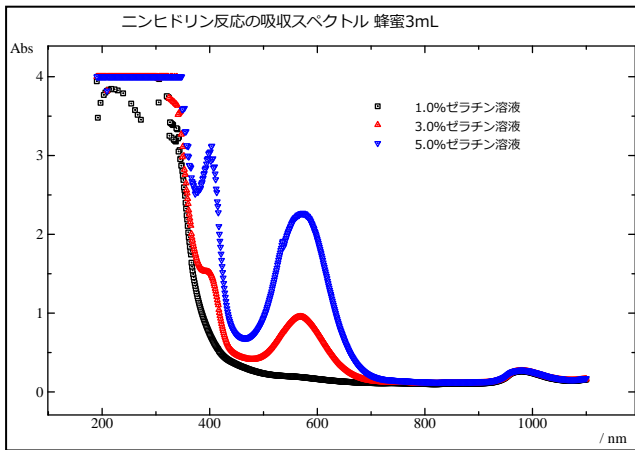


【図-2】 蜂蜜有の場合

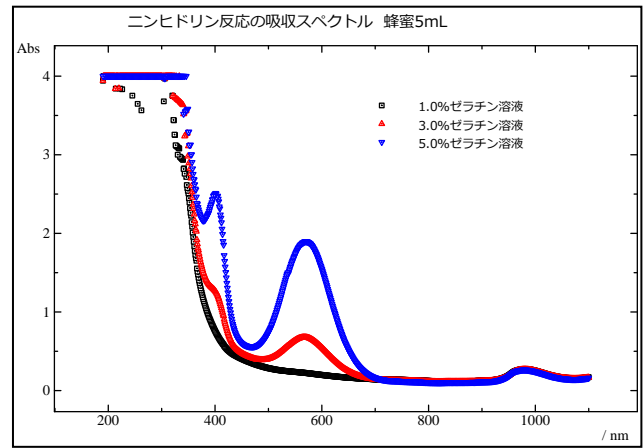
ゼラチンに何も加えずにニンヒドリン溶液を加えた場合の吸収スペクトルを【図-1】に示した。400 nm 付近と 560 nm 付近に少し吸収があるのが分かる。ニンヒドリン反応はタンパク質のアミノ基に対しても鋭敏な反応であることから、ゼラチン自体に含まれるタンパク質のアミノ基によるものと思われる。次に、蜂蜜水溶液を加えた場合の吸収スペクトルを【図-2】に示した。400nm 付近、550nm 付近の吸収が大きくなっている。このことは、蜂蜜の添加が、アミノ基の増加に関与していることを示唆している。

【図-3,4】は、蜂蜜そのものが、ニンヒドリン反応の呈色に影響を与えるものかどうかということについて調べるため、加える蜂蜜水溶液の量を変えて吸収スペクトルを測定したも

のである。どちらも 400nm 付近、550nm 付近に吸収が見られ、加えた蜂蜜水溶液が 3mL の時のほうがより大きな吸収を示す結果となった。



【図-3】蜂蜜 3mL の場合



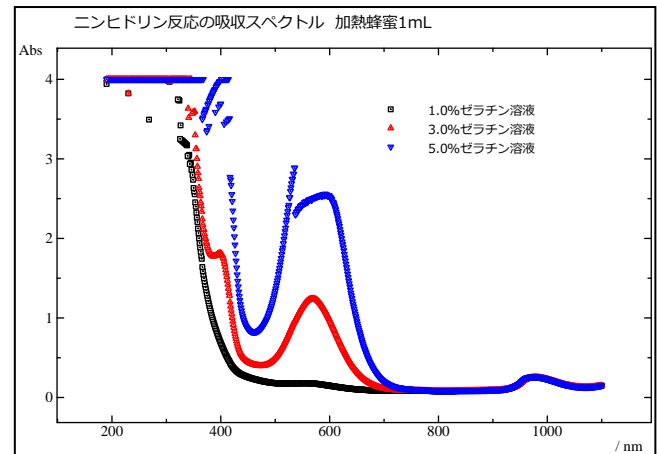
【図-4】蜂蜜 5mL の場合

蜂蜜水溶液を加熱したものを加えたゼラチン溶液のニンヒドリン反応については、その吸収スペクトルは、【図-5】のようになった。もし、ニンヒドリン反応の呈色が、蜂蜜中に含まれる何らかの酵素によりゼラチン中のタンパク質が分解されたことによるものなのであれば、蜂蜜を加熱することにより、酵素の失活、従ってタンパク質が分解されず、ニンヒドリン反応の呈色が抑えられるものと期待されたが、そのような結果とならなかった。

加熱した蜂蜜を加えたことでもニンヒドリン反応の呈色が見られたことについては、次のようなことが原因として考えられる。

- ① 蜂蜜自体がすでにアミノ酸を多く含んでいて、ニンヒドリン反応を示した。
- ② 加熱が十分でなく、タンパク質分解作用を持つ酵素あるいは菌などが、機能した。

①については、【図-5】における 1%ゼラチン溶液の吸収スペクトル結果で、ニンヒドリン反応陰性であることから、否定されるものと考えた。今後測定条件をより精査することで、タンパク質分解機構が明らかになることを期待したい。



【図-5】加熱蜂蜜の場合

5 まとめと今後の課題

ゼラチン溶液に蜂蜜を添加することで、ニンヒドリン反応が陽性になること、ゼラチンの量により、呈色が強くなることが明らかになった。しかし、そのことが、タンパク質分解酵素によるものだという事の特定には至らなかった。反応条件を変えて実験を行い、より明確な反応機構の特定が期待される。

6 参考文献

- [*1] ローワン=ジェイブセン著，“ハチはなぜ大量死したのか”，株式会社 文藝春秋，2009年1月
- [*2] 平成25年度SSH生徒課題研究論文集，愛媛県立宇和島東高等学校，P11～14，113～115
- [*3] 卜部吉庸著，“化学の新研究”，三省堂，2013年，東京