

# 摘果みかんの有効利用

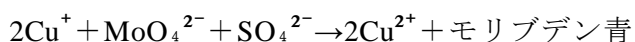
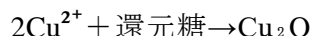
2年4組 飯田 彩友美 2年4組 藤田 媛 2年4組 八十島 歩  
指導者 窪地 育哉

## 1 課題設定の理由

愛媛県はみかんで有名である。みかんの栽培過程では、より品質の良いみかんを作るために未成熟なものは摘み取るという過程がある。このような摘み取られたみかんは、摘果みかんと呼ばれ、大半が処分されているという現状がある。そこで、私たちは、皮の部分に着目し、有効利用することができないだろうかと考えた。先行研究(家藤ら,2018)では、酵素I及び塩酸による処理により、摘果みかんの各部分(薄皮、甘皮、外皮)から糖類が得られるということを明らかにしている。私たちは、ソモギーネルソン法を使うことで、還元糖の定量を行った後、ネルソンを用い、島津製作所の島津紫外可視分光光度計UVmin-1240で吸光度を測定し、グルコース検量線と比較して、具体的な糖濃度を明らかにしようと考え、本研究を行った。

## 2 糖濃度測定法の原理

ソモギーネルソン法は銅試薬による還元糖の定量法である。ネルソンの発色試薬を用いて、最終的には比色計(分光光度計)で吸光度を測定する。この方法は、比色法として考案された糖定量法の最初のもので、糖-銅試薬の反応で生じた $\text{Cu}_2\text{O}$ を硫酸酸性下で、リンモリブデン酸と反応させて、モリブデン青として比色する。ネルソン法はリンモリブデン酸のかわりにヒ素モリブデン酸塩を用いたアルカリ性銅試薬との反応を利用するので、ソモギーの定量法と同様にアルカリ度と加熱時間との間に密接な関係がある。



660nmにおける吸光度を測定することにより、糖を定量することができる。

## 3 実験・研究の方法

(1) ソモギー試薬、ネルソン試薬の調整(図1)。

ア ソモギー試薬の調製

$\text{Na}_2\text{CO}_3$  24g

Rochelle salt 12g,

10% $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  40mL

$\text{NaHCO}_3$  16g

$\text{Na}_2\text{SO}_4$  18g に蒸留水を加え全容を1Lとした。

イ ネルソン試薬の調製

Ammonium molybdate 50g in 900 mL water

conc  $\text{H}_2\text{SO}_4$  42mL

$\text{Na}_2\text{HAsO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  6g in 50 mL に蒸留水を加え全容を2.4Lとした。



図1 ソモギー試薬(左)、  
ネルソン試薬(右)

(2) グルコース検量線の作成

5つの異なる濃度(0.01 g/L, 0.05 g/L, 0.09 g/L, 0.12 g/L, 0.18 g/L)のグルコース溶液を

調整し、それぞれの 1.0 mL にソモギー試薬 1.0 mL を加えた。試験管にアルミホイルでふたをして、沸騰した水で 10 分間加熱し、その後、5 分間急冷した。その後ネルソン試薬 1 mL を加え、8 分間放置し、島津製作所の島津紫外可視分光光度計 UVmini-1240 を用いて、それぞれの 660 nm の吸光度を測定した。

### (3) 糖濃度の測定

ブラッドオレンジ、摘果みかんの皮をフラベド・アルベドと維管束・じょうのうに分け、1 日乾燥させた。乾燥させたみかんの試料 1.0 g につき 0.12 L の溶液（蒸留水、0.6 mol/L 塩酸、3.0 mol/L 塩酸、0.6 mol/L 硫酸、3.0 mol/L 硫酸、0.15 g/L セルラーゼ水溶液）を加え、混合物を作った（**図 2**）。混合物 1.0 mL にソモギー試薬 1.0 mL を加えた（**図 3**）。試験管にアルミホイルでふたをして、沸騰した水で 10 分間加熱し、その後、5 分間急冷した（**図 4**）。ネルソン試薬 1 mL を加え、8 分間放置した（**図 5**）。それぞれの 660 nm の吸光度を測定した（**図 6**）



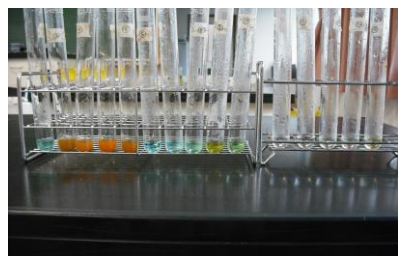
**図 2 溶液と皮の混合物**



**図 3**



**図 4**



**急冷後の様子**



**図 5**



**図 6 島津紫外可視分光光度計 UVmini-1240**

表 1 に示す試料について、混合 1 時間後、混合 1 日後、混合 3 日後の吸光度を測定した。

**表 1 試料番号**

	蒸留水	HCl 0.6mol/L	HCl 3.0mol/L	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 0.6mol/L	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 3.0mol/L	セルラーゼ水
ブランク	①	⑥	⑪	⑯	⑳	㉔
ブラッドオレンジ / フラベド・アルベド	②	⑦	⑫	⑰	㉑	㉕
ブラッドオレンジ / 維管束・じょうのう	③	⑧	⑬	⑱	㉒	㉖
摘果みかん / フラベド・アルベド	④	⑨	⑭	⑲	㉓	㉗
摘果みかん / 維管束・じょうのう	⑤	⑩	⑮	⑲	㉔	㉘

## 4 結果と考察

### (1) グルコース濃度検量線の作成

図7に、各グルコース濃度における吸光度を示した。近似直線は

$$y = 5.8717x - 0.027$$

と表され、

吸光度  $y$  のとき、グルコース濃度  $c$  [g/mL] は、

$$c = \frac{y + 0.027}{5.8717} \times 1000$$

と表すことができる。

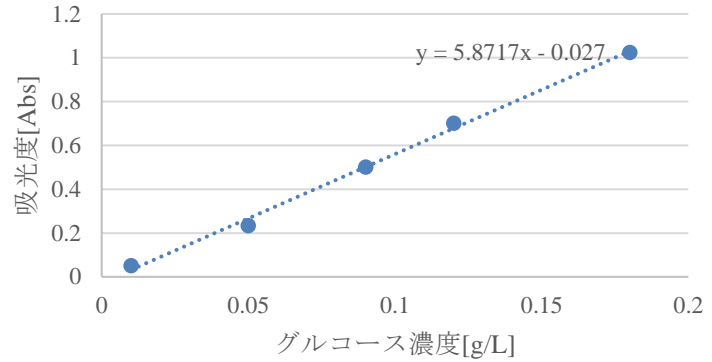


図7 グルコース濃度検量線

### (2) 試料の糖濃度測定結果

各試料の吸光度を測定し、式1より得た糖濃度についてまとめたものを図8に示す。

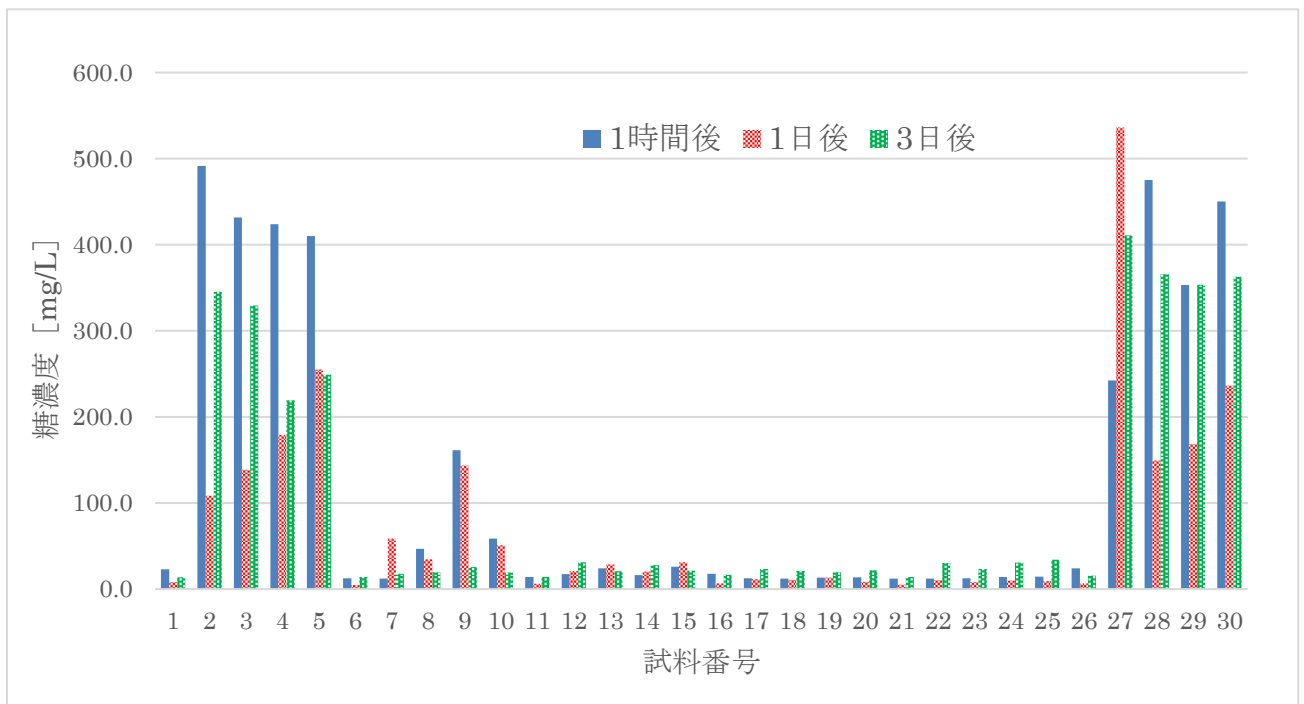


図8 各試料の糖濃度

試料番号②③ (ブラッドオレンジの果皮に何も分解を促進させる触媒を加えないもの)、④⑤ (摘果みかんの果皮に何も分解を促進させる触媒を加えないもの) ⑳㉑ (ブラッドオレンジ果皮にセルラーゼを加えたもの) ㉒㉓ (摘果みかん果皮にセルラーゼを加えたもの) で糖が多く検出されている。一方で、以上の試料においても、分解を促進する塩酸や酵素を加えたにも関わらず、糖の量が経過時間に伴って増加するという傾向が見られていない。

試料番号⑨ (摘果みかんのフラベド・アルベドに 0.6 mol/L HCl を添加) は、一時間後で

最も糖濃度が高く、時間が経つごとに低くなっていることから、少なくとも1日の間で最も高い時間があると考えられる。3.0 mol/L HCl , 3.0 mol/L H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>を加えた試料は全体的に糖濃度が低いいため、H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>は糖の抽出には使えないと分かった。セルラーゼ水を加えた試料では、糖濃度の値にばらつきがあるが、3日経っても抽出されることが分かり、実験日数をさらに増やすことでより多くの糖が得られるのではないかと期待できる。

酸がネルソン試薬の発色に影響しているのではないかと考え、以下の実験を行った。すなわち、ソモギー試薬と酸との混合による色調の変化、ソモギー試薬を混合した後ネルソン試薬を加えずに色調の変化を観察するというものである。その結果を以下に示す。

蒸留水、あるいはセルラーゼを加えた場合オレンジ色になったのに比べて、塩酸や硫酸を加えた場合、青緑色あるいは無色になった。

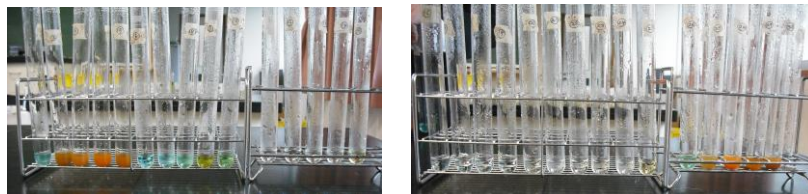


図9 ソモギー試薬による色の変化

このことは、ソモギーネルソン法において、糖の定量に影響があったことを示唆している。

また、ソモギー試薬を試料①～⑩に加えた場合、日数が経つごとに混合物の溶媒の色はオレンジ色に変化し、半固体化した。2週間後にはカビがついていたことから時間を2週間までに設定し、糖の定量において最もよい溶媒と時間を研究しようと考えた。

## 5 まとめと今後の課題

ソモギーネルソン法により糖の定量を試みた結果、還元糖の存在を確かめることができた。セルロースを酸や酵素で分解し、糖を増やすという試みについては、酸の影響により正確な糖濃度を測定することが難しいという結果となった。酸以外の触媒を見つける必要がある。

自分たちが用意したグルコース検量線より試料の値がはるかに上回っており、また導き出したグルコース検量線の関数も調べた数が少なく正確性に欠けるため、より高い濃度のグルコースの660nmにおける吸光度を測定する必要がある。今回の実験ではカビなどの発生により、2週間以上の実験日数が確保できなかったため、滅菌処理などにより実験日数を延ばしていく必要がある。

## 参考文献

- ・家藤香澄・石田優・梅崎美冬・蔵谷さくら(2017)「摘果みかんを生分解性プラスチックへII 一部位別の糖類抽出」『平成29年度SSH生徒課題研究論文集』愛媛県立宇和島東高等学校 p105~108
- ・愛媛県理科学習資料「探究」p80~82, 愛媛県高等学校教育研究会理科部会
- ・北村進一著(2012), 「糖の定量法」, 生物工学第90巻 p790~793, 公益社団法人日本生物工学会発行