

# 乳酸菌高抗酸化活性株の選抜

高抗酸化活性を有する食品・化粧品等の開発に有用と期待される乳酸菌の選抜とその選抜方法の検討を目的として、当センターが保有する乳酸菌の菌体破砕液、人工消化液処理試料を作製し、ORACおよび細胞内活性酸素発生率試験による抗酸化活性の評価を行いました。

## 評価方法① ORAC

ORAC(Oxygen Radical Absorbance Capacity)は、米国国立老化研究所のCaoらによって確立された抗酸化能評価法であり、広く食品の抗酸化能評価に使用されています。日本では(国研)農業・食品産業技術総合研究機構の渡辺らによって標準化の検討がなされ、「H-ORAC 分析法標準作業手順書」が公開されています<sup>1)</sup>。

化学分析として比較的簡便に抗酸化能評価ができ一次スクリーニングに適しています。一方で、ORAC値とヒトの健康との関連性は低いと考えられます。

## 評価方法② 細胞内活性酸素発生率試験

細胞内活性酸素発生率試験<sup>2),3)</sup>は、培養細胞を用いた評価系であり、生体内に近い状態での抗酸化物質の作用の評価に有用とされています。本研究では、試料を添加した正常ヒト皮膚繊維芽細胞にラジカル発生剤を用いて活性酸素を発生させ、活性酸素検出蛍光試薬を導入し、蛍光強度を測定することで細胞内活性酸素発生率を算出しました。

さらに機能的評価を行うには動物実験、ヒト臨床試験といった試験が必要ですが、これらはコストが高く多検体を必要とすることから実施が困難であるため、本研究では上述の2つの評価方法によるスクリーニングを試みました(図1)。

## 結果の概要

### 1 乳酸菌の菌体破砕液

当センターが保有する乳酸菌89株を培養し、その菌体破砕液を作製して試験に供しました。

ORACによる評価では49.8 $\mu$ mol TE/gと比較的高い抗酸化能を示すものもありましたが、細胞内活性酸素発生率試験による評価では抗酸化能を示す結果は得られず、むしろ活性酸素の発生を促す結果となりました。このことから「ORACによる評価で抗酸化能を示した成分が細胞内に取り込まれていない」、「細胞内で活性酸素の発生を促す成分が存在する」という可能性が示唆されました。

### 2 乳酸菌の人工消化液処理試料

ORAC値の高かった乳酸菌(10株)の菌体破砕液を人工消化液(0.2gのペプシンを100mLの0.02N塩酸に溶かしたもの)で処理し、人工消化液処理試料として試験に供しました。

ORACによる評価ではいずれも破砕液よりも高い抗酸化能を示す結果が得られました(図2)。細胞内活性酸素発生率試験による評価でも人工消化液処理を行うことによって細胞内活性酸素発生率が小さくなり、3つの菌株で抗酸化能を示す結果が得られ

ました(図3)。

これらの結果から人工消化液処理によって破砕液に含まれる「タンパク質等の成分の分解により細胞に吸収される抗酸化成分が新たに生成」および「活性酸素の発生を促進する成分の分解」という可能性が示唆されました。

## まとめ

ORACと細胞内活性酸素発生率試験の組み合わせによる抗酸化活性乳酸菌株の選抜において、ORACで抗酸化能を示す検体であっても細胞内活性酸素発生率試験で抗酸化能を示すとは限らない結果が得られました。このように2つの評価方法を組み合わせることで有望な乳酸菌株を絞り込むことができました。細胞内活性酸素発生率試験で抗酸化活性を示した検体が、生体内においてどの程度の抗酸化活性を示すかについては、今後の検討課題です。

なお、経口摂取を想定した人口消化液処理により抗酸化能に変化が見られました。このことにより試料の前処理を生体内に近づけることで、より実効性の高い評価を得ることが可能になることが示唆されました。

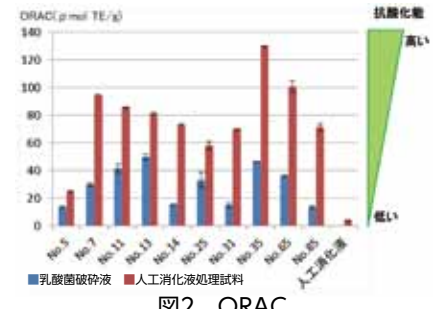


図2 ORAC

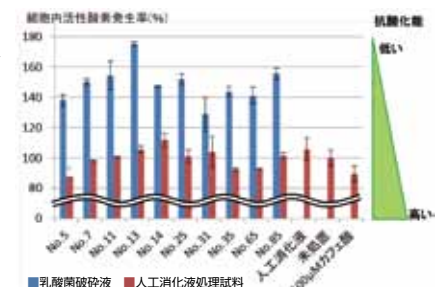


図3 細胞内活性酸素発生率

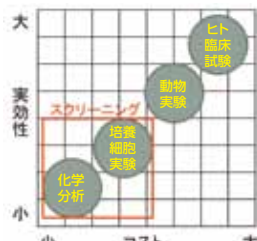


図1 機能的評価区分

参考文献 1)渡辺 純, H-ORAC 分析法標準作業手順書(2013)  
2)津田愛子, J.Soc.Cosmet.Chem.Jp., vol.45, No.3, p.207-211(2011)  
3)Satoru Horigome, Eur J Nutr, vol.56, No.3, p.949-964(2017)

※詳細は、当センター発行「技報 No.46 2018」をご参照ください。  
[http://www.kptc.jp/gihou/no\\_46/](http://www.kptc.jp/gihou/no_46/)

**植村 亮太(うえむら りょうた)**  
中丹技術支援室 副主査

【一言】今年、本所(KRP)から中丹技術支援室(綾部)に異動しました化学職です。GC-MS、SEM-EBSDなど中丹にしかない機器等も活用して様々な技術相談にお応えします。ご近所の方も、遠方の方もお気軽にご相談ください。

【横顔】山登り、サイクリング、マラソン等何でも挑戦し、所内の皆を巻き込むムードメーカーです。クロマトグラフ分析では一目置かれています。

