

食品

飲料

化学教育

Laboratory

PiCOEXPLORERを用いた 抗酸化活性測定 (DPPHラジカル消去法)

下記の測定データは、地方独立行政法人鳥取県産業技術センターより提供頂きました。

概要 現代は酸化ストレスを受けやすい環境にあることから、食品から抗酸化性成分を補充し、生体のストレスを緩和・予防させる考え方が浸透しつつある。DPPHラジカル消去法は、食品に含まれている酸化劣化防止機構(食品の抗酸化性)を確認できる方法としてメジャーな測定法の一つである。DPPHは安定なラジカルであり、抗酸化性が高くラジカルを消去できる物質が存在すると、非ラジカル体に変化し、溶液の紫色が退色して黄色に変化する性質を持つ。この性質を利用し、吸光度計を用いて抗酸化性物質の定量を行うことができる。

まず、標準の抗酸化物質としてトロロックスを用い、吸光度計(PiCOEXPLORER PAS-110-YU、以下PiCOEXPLORER)で濃度測定し、検量線を作成した。その検量線を用いて、ハーブの焙煎茶と生茶の抗酸化性を測定した(実験1)。また、紅茶、コーヒー、緑茶、赤ワイン、白ワインのサンプルを用い、PiCOEXPLORERとマイクロプレートリーダー(Tecan, Infinite F200)の相関性を確認した(実験2)。

実験手順

■ 実験1 PiCOEXPLORERを用いた検量線の作成と、サンプル(ハーブ茶)の測定

- ①標準の抗酸化物質としてトロロックス(Calbiochem, 648471)を用い、緩衝液(0.2M MES, pH6.0; Dojindo, 314-01621)、希釈用溶媒(50%エタノール; 和光純薬, 054-07225)、活性酵素発生源(1mM DPPH; 和光純薬, 047-04051)を用いて次の通り濃度を調整した(0, 0.031, 0.062, 0.125, 0.250, 0.5 $\mu\text{mole TE/mL}$)。
- ②①の調整液の濃度をPiCOEXPLORERで測定し、検量線を作成した(測定条件: 測定量200 μL / 測定モード: Green※ / LED出力レベル10%)。※最大吸収波長: 530nm / 測定波長域: 455~630nm
- ③ハーブ茶(地方独立行政法人鳥取県産業技術センター 食品開発研究所オリジナル)の生茶と焙煎茶の茶葉各0.5gを、沸騰させたお湯100mLで淹れ、各250 μL を分取し、緩衝液250 μL と希釈用溶媒500 μL を加えて試料とした。
- ④③の試料1mLに緩衝液1mL、DPPH1mLを加え、サンプルを作製した。濃度と吸光度をPiCOEXPLORER(測定条件: ②に同じ)で測定した。

■ 実験2 PiCOEXPLORERとマイクロプレートリーダーを用いたサンプル(5種)の測定

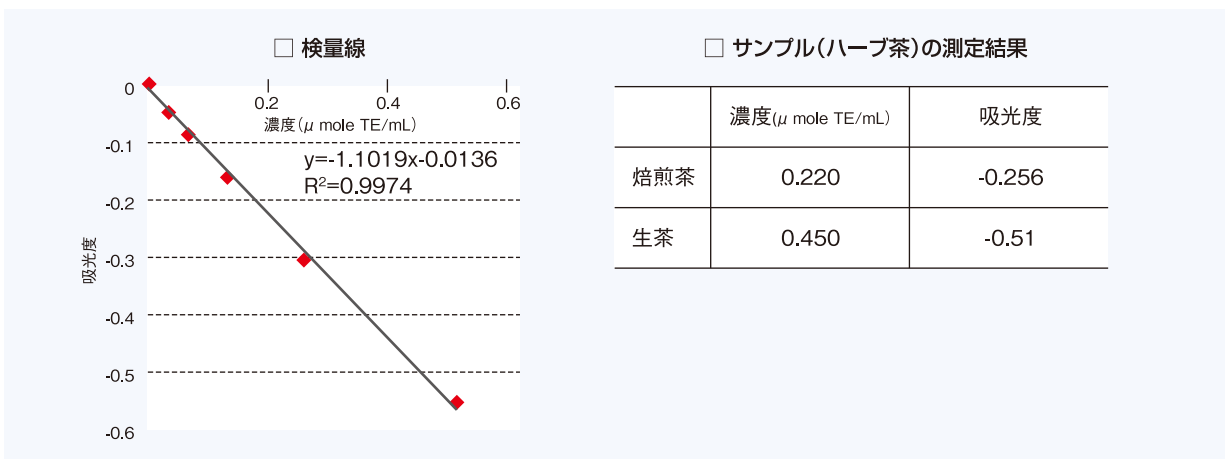
※検量線の作成は、実験1に同じ。

- ①紅茶、コーヒー、緑茶、赤ワイン、白ワインは緩衝液と希釈用溶媒で4倍希釈した。その後の手順は実験1-④に同じ。
- ②また、①の各種サンプルの吸光度を、マイクロプレートリーダーを用いて測定した(測定条件: 測定量150 μL / 測定波長: 520 nm)。

結果

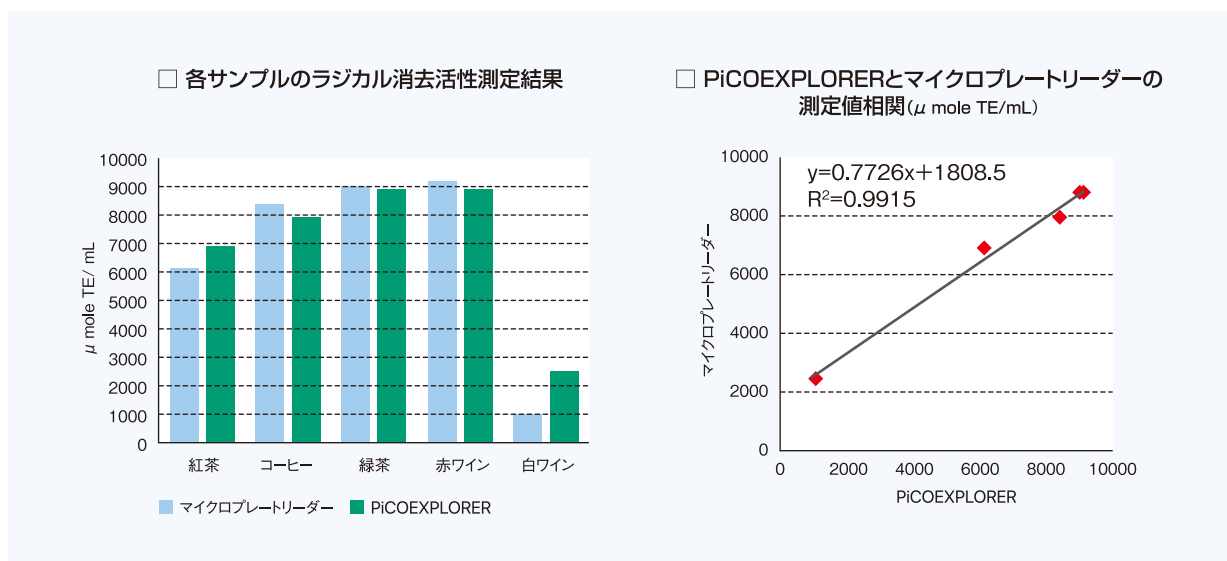
■ 実験1 PiCOEXPLORERを用いた検量線の作成と、サンプル(ハーブ茶)の測定

- 検量線は、良好な直線性を得られた($R^2=0.9974$)。
- 焙煎茶と生茶の2種類の抗酸化性を測定し、抗酸化性は生茶の方が高かった。



結 果 ■ 実験2 PICOEXPLORERとマイクロプレートリーダーを用いたサンプル(5種)の測定

- 紅茶、コーヒー、緑茶、赤ワイン、白ワインの抗酸化性を測定し、PICOEXPLORERとマイクロプレートリーダーの測定値に高い相関があった($R^2=0.9915$)。



測定者からのコメント

(地独) 鳥取県産業技術センター食品開発研究所 バイオ技術科 杉本 優子 様
 (データご提供当時)

(地独)鳥取県産業技術センター食品開発研究所では、県内の食品メーカー等を技術支援、共同研究や分析受託等の分析化学の面からサポートしています。また、独自研究として、試験管内試験による機能性評価の開発を行っています。

食品の抗酸化性はホットな分野の一つで、たとえば近年のトレンドとしては、食品が体内に取り込まれた後にどのような作用をするか(生体内抗酸化性測定)の研究が進められています。また、個別の食品だけではなく、「食事」全体の抗酸化性測定値に注目する動きもあります。

日ごろ、当センターが技術支援を行っている企業からは「自社製品の優位性を自分たちの手で確かめたい」という声が聞かれます。試薬キット類は、品質管理の現場や分析初心者が試しやすいような製品が展開されている傾向にあると感じますが、一方で測定装置は県内企業にとって高額であることから、当研究所所有のマイクロプレートリーダーが活用されています。

今回の実験では、ポータブルなPICOEXPLORERを用いた各食品サンプルの抗酸化性の測定結果が得られ、PICOEXPLORERとマイクロプレートリーダーの測定結果の相関が示されました。