

抗酸化性評価 ORAC を用いたパプリカの機能成分の検証

庄子真樹

(宮城県産業技術総合センター)

Validation of Functional Activity of Paprika with Antioxidant Activity Assay ” ORAC”

Naoki SHOJI

(Industrial Technology Institute, Miyagi Prefectural Government)

1 はじめに

近年、食の機能性の関心が高まっており、ポリフェノールなどの抗酸化成分の研究が進んでいる。食品の抗酸化評価には一次スクリーニング的に行う試験管試験と、その後ある程度精製した試料を用いて行う動物試験がある。試験管試験でのスクリーニングは簡便な操作で多検体試料を評価できるため多くの研究報告があるが、試験管試験で得られた結果が必ずしも動物試験で反映されないことがあり、その原因として試験管試験の評価原理が生体内モデルに十分適応していないことが指摘されている。

最近、新たな試験管内抗酸化性評価法である Oxygen Radical Antioxidant Capacity (ORAC) 法¹⁾が注目されており、その利点として生体内モデルにある程度反映できると言われている。このことから、一次スクリーニングとして ORAC 法の活用が期待されるが、既存の抗酸化性評価と ORAC 法にどの程度相関があるか、例えば食品群・食品成分で評価結果が異なるかなどはまだ十分には検討されていない。

そこで、本研究では品種や成熟ステージの異なるパプリカを用い、ORAC 法を基準に試験管試験の抗酸化性評価として多く用いられている DPPH 法と総ポリフェノール量測定のフォーリン・チオカルト法との分析値の比較を行った。また、パプリカの抗酸化成分の一つであるルテオリンに着目し、ORAC 値と成分分析値を比較した。

2 試験方法

試験栽培した品種と成熟ステージが異なる 9 種のパプリカ果実およびパプリカ葉を凍結乾燥し乾燥粉末を各種分析法に供した。各凍結乾燥粉末を 80%エタノールに溶解し、0.45 μm のメンブレンフィルターでろ過し、ろ液を試料抽

出液とした。

ORAC 法は ORAC assay kit (Oxford Biomedical Research) を用いた。試料抽出液に蛍光試薬を加え 30 分静置した。AAPH (2,2'-azobis-2-methyl-propanimidamide, dihydrochloride) を加え、蛍光マイクロプレートリーダー (Ex. 488 nm, Em. 515 nm) で毎分測定し、60 分間の積算値を求めた。このとき、Trolox 溶液により検量線を作成し、抗酸化力を Trolox 相当量 (net AUC) で算出した。

DPPH 法は、試料抽出液にトリス緩衝液、DPPH (diphenylpicrylhydrazyl) 溶液を加え攪拌後、室温、暗所に静置し、20 分後の 517 nm 吸光度を分光光度計で測定した。このとき、没食子酸水溶液により検量線を作成し、抗酸化物質量を没食子酸相当量 (GA $\mu\text{mol/gDry}$) で算出した。

フォーリン・チオカルト法は、試料抽出液に炭酸ナトリウム溶液、フォーリン・チオカルト試薬を加えて攪拌後、室温に静置し、30 分後の 765 nm 吸光度を分光光度計で測定した。このとき、没食子酸水溶液により検量線を作成し、ポリフェノール含量を没食子酸相当量 (GA $\mu\text{mol/gDry}$) で算出した。

ルテオリン量は、パプリカ凍結乾燥粉末に 80%エタノール、6N 塩酸を加え 80 $^{\circ}\text{C}$ 、2 時間反応させ、酸分解した後、遠心分離 (3,000 rpm、10 分) し、上清を 0.45 μm のメンブレンフィルターでろ過し、ろ液を HPLC に供し測定した。

3 試験結果及び考察

パプリカ果実およびパプリカ葉の DPPH 法、総ポリフェノール量、ORAC 法で分析した結果の相関を見たところ (図 1)、ORAC 法と DPPH 法に相関は見られず、ORAC 法と総ポリフェノール量に相関が見られた。先に Sun らが行った研

究では異なる熟期のパプリカ果実の DPPH 法と総ポリフェノール量の抗酸化評価の結果は相関が示された²⁾。本試験結果が Sun らの結果と異なった理由として、今回はパプリカ果実の熟期のみならず品種間での比較も行っており、測定試料が異なったことから、抗酸化性評価間での結果にばらつきが生じ、相関が得づらくなったと考えられた。一方、ORAC 法と総ポリフェノール量の測定値は相関が得られたことから、両者の測定方法は安定して抗酸化評価できる指標であることが示唆された。

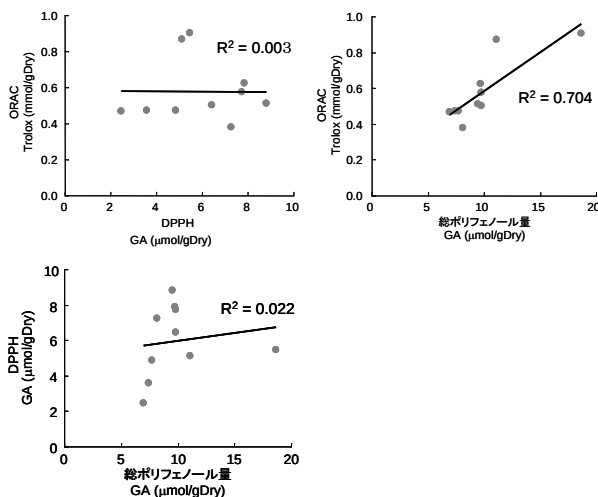


図1 ORAC 法、DPPH 法、総ポリフェノール量の相関

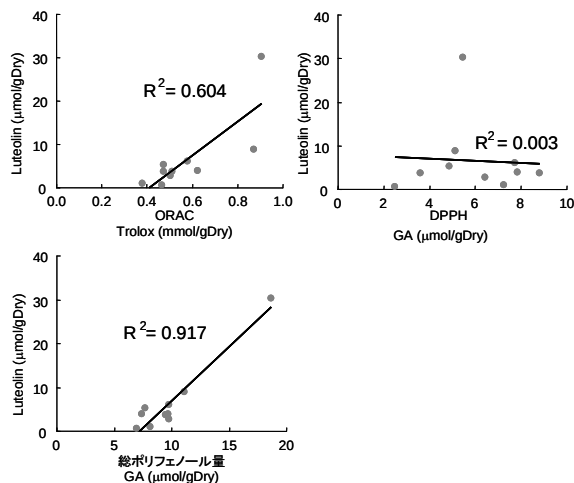


図2 ルテオリン量と抗酸化性評価の相関

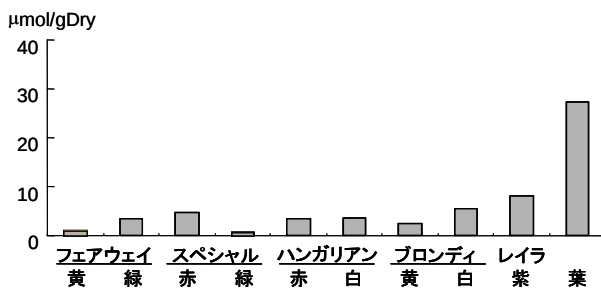


図3 パプリカ果実および葉のルテオリン量

ルテオリン量を分析しその結果を ORAC 法、DPPH 法、総ポリフェノール量と比較したところ(図2)、ルテオリン量と総ポリフェノール量との相関が最も高かった。次いで、ルテオリン量と ORAC 法の相関が高かった。ルテオリンはシソ科植物などに多く含まれているが、野菜一般にも広く含まれている抗酸化成分でありパプリカには配糖体として存在する³⁾。本試験の結果から、パプリカ果実および葉にはルテオリンが含まれており、ORAC 法との相関も見られたことから、ORAC 法が機能成分の含量を反映し評価していることが示唆された。また、ルテオリンはパプリカの葉に特に多く含まれており(図3)、今後、パプリカ葉を用いた新たな機能性素材の開発が期待された。

4 ま と め

本試験では、パプリカ果実および葉を試料として ORAC 法、DPPH 法、総ポリフェノール量分析を行い、ORAC 法と DPPH 法には相関が無く、ORAC 法と総ポリフェノール量が相関することを認めた。パプリカのルテオリン含量を分析し、各抗酸化指標との相関を調べたところ、ルテオリン量と ORAC 法、総ポリフェノール量が相関することを認めた。パプリカの品種、熟期により機能性評価は異なり、パプリカ葉に高い抗酸化性があることが示された。

引 用 文 献

- 1) Cao, G., Alessio, H.M., Cutler, R.G. 1993. Oxygen-radical absorbance capacity assay for antioxidants. Free Radic Biol Med, 14(3): 303-311.
- 2) Sun, T., Xu, Z., Wu, C.T., Janes, M., Prinyawiwatkul, W., No, H.K. 2007. Antioxidant Activities of Different Colored Sweet Bell Peppers (*Capsicum annuum* L.). J Food Sci, 72(2):S98-102.
- 3) Materska, M., Perucka, I., 2005. Antioxidant activity of the main phenolic compounds isolated from hot pepper fruit (*Capsicum annuum* L.). J Agric Food Chem, 53(5):1750-1756.