

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 8 月 3 日現在

機関番号：10102

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26350141

研究課題名(和文) ESRを活用した食品の新たな機能性評価法の確立

研究課題名(英文) New detection method of food function using ESR.

研究代表者

鵜飼 光子(Ukai, Mitsuko)

北海道教育大学・教育学部・教授

研究者番号：20160228

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：電子スピン共鳴分光法により、ヒドロキシラジカル、スーパーオキシドラジカル、アルコキシラジカルなどの活性酸素種に対する捕捉活性を計測した。実験室での合成に成功したラジカル剤CYPMP0 (2-(5,5-dimethyl-2-oxo-2,5-[1,3,2]dioxaphosphinan-2-yl)-2-methyl-3,4-dihydro-2H-pyrrole 1-oxide)は活性酸素種を捕捉し安定な物質を形成、明瞭なESR信号として検出できた。この分析法を食品試料に応用し、得られた捕捉活性値を抗酸化成分含有量、ORAC値、DPPHラジカル捕捉活性値と比較し、食品の機能性を包括的に評価できた。

研究成果の概要(英文)：Using Electron Spin Resonance (ESR) Spectroscopy radical scavenging activity of different reactive oxygen species, such as hydroxyl radical, superoxide radical and alkyl-oxy radical, was measured. Radical reagent CYPMP0 (2-(5,5-dimethyl-2-oxo-2,5-[1,3,2]dioxaphosphinan-2-yl)-2-methyl-3,4-dihydro-2H-pyrrole 1-oxide), synthesized in our laboratory, trapped each reactive oxygen species effectively and formed stable materials that can be detected as clear ESR signal. Food specimens were analyzed using this method. Comparing this radical scavenging activity value of different reactive oxygen species with antioxidant contents, ORAC value and DPPH radical scavenging activity value, it is possible to evaluate food function comprehensively.

研究分野：食品学

キーワード：食品分析 機能性 活性酸素種

1. 研究開始当初の背景

(1) 活性酸素種には様々な種類があり、生活習慣病の発症に深く関わっている。食品が有する抗酸化能については多くの報告があるが、評価基準が異なるため食品と食品を厳密に比較できないという問題があった。対策として、Oxygen Radical Absorption Capacity (以下、ORAC) による評価が注目され、日本でも活発な研究活動が始まっていた。ORAC法は、水溶性だけでなく脂溶性成分の抗酸化能も測定できる他、従来広く用いられてきたDPPH法と比べ生体内の反応に近いという利点がある一方、弱点もあり、カロテノイド類や不飽和脂肪酸等の脂溶性成分のORAC値は、ポリフェノール類等水溶性成分のそれと比較することができない。

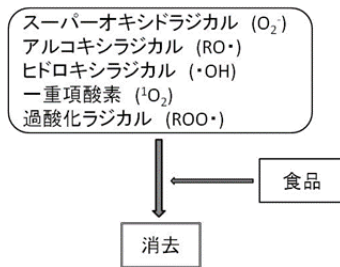


図1 活性酸素種と食品

(2) 評価法ごとに数値の違いを生じる理由として、生体内酸化の原因物質である活性酸素種は複数存在し、捕捉されるラジカルの種類が評価法ごとに異なる点が挙げられる。すなわち、従来の分析法では、食品に含まれるどの成分がどのラジカルを除去するのに有効かを判定することはできない。

(3) 電子スピン共鳴分光法を用いたスピントラップ法は、活性酸素種ごとに食品の抗酸化能測定が可能であり、含有成分との対応関係がわかり易い。新しいスピントラップ試薬 CYPMPO の実験室での大量合成に成功し、食品の抗酸化能評価の基礎研究を行っていた。食品成分の共存系において CYPMPO と各活性酸素種が形成する安定なアダクトのスペクトルの観測に成功し、その抗酸化能力を評価していた。ESR スピントラップ法は、短寿命の活性酸素種を捕捉して直接的に測定する唯一の手法であるが、統一化された測定プロトコルがなく、複数の異なる活性酸素種に対する抗酸化能を求めて総合的に評価する方法もまとめられていなかった。

CYPMPO: 2-(5,5-dimethyl-2-oxo-2,5-[1,3,2]dioxaphosphinan-2-yl)-2-methyl-3,4-dihydro-2H-pyrrole 1-oxide

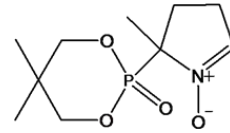


図2 CYPMPO の化学構造

2. 研究の目的

ESR スピントラップ法を適用し、複数の異なる活性酸素種に対応した食品の抗酸化能評価法を確立し、新たな食品の機能性評価法を目指す。

3. 研究の方法

(1) スーパーオキシドラジカル、アルコキシラジカル、ヒドロキシラジカル、一重項酸素、過酸化ラジカルなどの発生系を UV 照射の系で検討する。ESR 測定条件(測定パラメータ)を検討する。各活性酸素種に対する抗酸化能力を表す標準物質を選択し、基準物質を定める。

(2) 確立した方法で食品を計測し、抗酸化成分含有量、ORAC 値、DPPH 値などの関連から、食品機能を総合的に評価する。

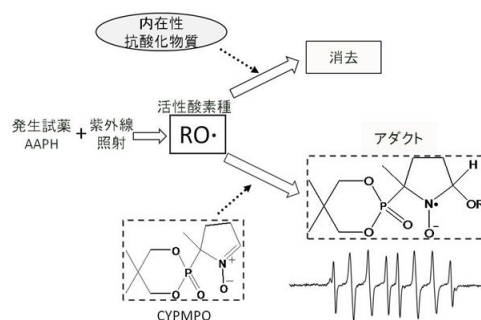


図3 ESR スピントラップ法

4. 研究成果

(1) 活性酸素種の発生系：ヒドロキシラジカルは過酸化水素、スーパーオキシドラジカルはヒポキサンチン-キサンチンオキシダーゼ、アルコキシラジカルは AAPH による発生系で再現性が確認された。他の活性酸素種については継続した検討が必要である。

(2) ESR 測定条件を検討し、最適条件を確立できた。各活性酸素種に対する抗酸化能力を表す標準物質を選択し、基準物質を定めることができた。

(3) 確立した方法を用いて抗酸化物質を多く含有し機能性が高いと報告されている食品を計測した。抗酸化成分含有量、ORAC 値、DPPH 値などとプロットして示し、食品機能を総合的に評価することが可能になった。

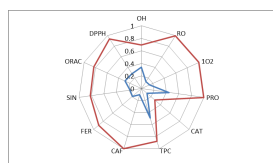


図4 レーダーチャート

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計4件)

菅野友美、亀谷宏美、鶴飼光子、キノコ粉末を添加した衛生ボートの電子スピン共鳴解析、日本調理科学会誌、48(6)、392-397、2015

菅野友美、岡本祥一、山本久美子、原田栄津子、亀谷宏美、鶴飼光子、大澤俊彦、多種フリーラジカルの消去活性計測によるきのこの新規抗酸化評価法、日本きのこ学会誌、22(4)、153-158、2015

菅野友美、亀谷宏美、鶴飼光子、衛生ボートの性状と嗜好の及ぼす機能性キノコ粉末添加影響、日本家政学会誌、67(3)、161-167、2016

菅野友美、亀谷宏美、谷本憂太郎、鶴飼光子、調理過程におけるキノコ抽出液の抗酸化効果、日本調理科学会誌、50(2)、54-59(2017)

[学会発表](計10件)

Mitsuko Ukai, Hydroxy Radical Scavenging Activity of Cereals, 15th International Nutrition & Diagnostics Conference, 2015.10.5-8, Prague, Czech

Republic

Hiromi Kameya, Mitsuko Ukai, Hydroxy Radical Scavenging Activity of Foods, 15th International Nutrition & Diagnostics Conference, 2015.10.5-8, Prague, Czech Republic

菅野友美、長田亜梨沙、山本久美子、原田栄津子、亀谷宏美、鶴飼光子、大澤俊彦、キノコ抽出液のラジカル捕捉活性に及ぼす pH、加熱の影響、第 54 回電子スピンサイエンス学会(SEST2013)、2015.11.2-4、新潟県、新潟市

Mitsuko Ukai, ESR method of antioxidants in medicinal plant foods, The 49th Annual International Meeting of the ESR Spectroscopy Group of the Royal Society of Chemistry, 2016.04.3-7, Colchester, United Kingdom

谷本憂太郎、長田亜梨沙、菅野友美、鶴飼光子、黒米の抗酸化活性に及ぼす加工処理の影響、日本家政学会第 68 回大会、2016 年 5 月 27-29 日、奈良県、奈良市

菅野友美、山本久美子、長田亜梨沙、谷本憂太郎、原田栄津子、亀谷宏美、鶴飼光子、大澤俊彦、調理条件下でのキノコ抽出液のラジカル捕捉活性、日本食品科学工学会第 63 回大会、2016 年 8 月 25-27 日、愛知県、名古屋市

Hiromi Kameya, Tomomi Kanno, Mitsuko Ukai, Radical Scavenging Activities of Plant Food of Alkyl-oxy and Superoxide Radicals, The 4th Awaji International Workshop on Electron Spin Science & Technology: Biological and Materials Science Oriented Applications, AWEST2016, 2016 年 6 月 19-21 日、兵庫県、淡路市

Tomomi Kanno, Yutaro Tanimoto, Etsuko Harada, Hiromi Kameya, Mitsuko Ukai, Toshihiko Osawa, Studies on Medicinal mushrooms using ESR Spin Trap Method, The 4th Awaji International Workshop on Electron Spin Science & Technology: Biological and Materials Science Oriented Applications, AWEST2016, 2016 年 6 月 19-21 日、兵庫県、淡路市

菅野友美、山本久美子、長田亜梨沙、谷本憂太郎、原田栄津子、亀谷宏美、鶴飼光子、大澤俊彦、調理条件下でのキノコ抽出液のラジカル捕捉活性評価、日本食品科学工学会第 63 回大会、平成 2016 年 8 月 25~27 日、愛知県、名古屋市

菅野友美、谷本憂太郎、原田栄津子、亀谷宏美、鶴飼光子、大澤俊彦、中澤重顕、佐藤和信、工位武治、キノコの ESR によるラジカル消去能と抗酸化物質の関係、電子スピンサイエンス学会(SEST2016)、2016 年 11 月 10-12 日、大阪府、大阪市

6 . 研究組織

(1)研究代表者

鵜飼光子 (UKAI, Mitsuko)
北海道教育大学・教育学部・教授
研究者番号：20160228

(2)連携研究者

亀谷宏美 (KAMEYA, Hiromi)
国立研究開発法人農業食品産業技術総合
研究機構・食品研究部門・主任研究員
研究者番号：20585955