

電子スピン共鳴装置を用いた SOD 様活性測定法

食品技術部門

食品の機能性成分のひとつとして抗酸化能が注目され、様々な食品開発が活発に進められています。その評価法として、有機ラジカルである DPPH の分解を指標とする比色法が用いられていますが、着色試料の分析ができないという欠点があります。着色試料でも測定できる方法としては、電子スピン共鳴装置を用いたスーパーオキシドディスムターゼ (SOD) 様活性測定法があります。当所では、SOD 様活性測定手順を見直し、初心者でも比較的再現性よく測定する方法を確立しましたので、その概要を紹介します。

電子スピン共鳴装置

当所の装置本体は、日本電子製フリーラジカルモニター JES-FR30EX で、測定には専用の水溶液測定用扁平セルを用います。ESR の測定条件は、出力 4mW、挿引巾 5mT、挿引時間 1 分、MOD 幅 0.079mT、ゲイン 100、時定数 0.1 秒、中心磁場 335.5mT で行います。

試薬類

DMPO (ラジカルトラップ剤)、ヒポキサンチン及びヒポキサンチンオキシダーゼ (XOD ラジカル発生用)、DTPA (pH 安定剤) 及び標準品 SOD が必要です。

測定手順及び原理

DMPO 15 μ l、5mM ヒポキサンチン 50 μ l、試料若しくは標準 SOD 50 μ l および 5.5mM DTPA 35 μ l を小試験管に採り、これに 20U/ml の XOD を 50 μ l 添加混合し、スペクトル測定用の扁平セルに吸引し、ESR のセルホルダーに装着します。XOD 添加時にフットスイッチを踏むことにより、自動的に一定時間後に測定が開始できるようプログラムされています。

ESR スペクトル

測定スペクトルは、DMPO がラジカルと反応して

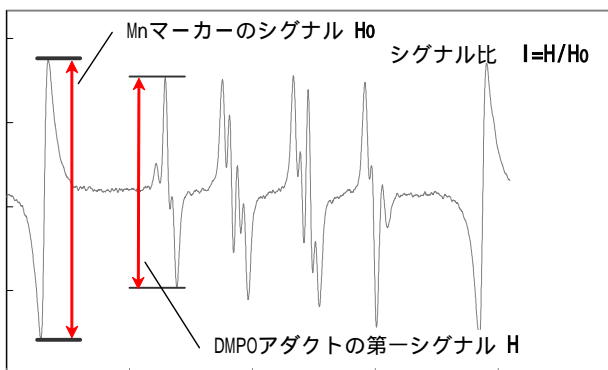


図1 O₂-DMPO アダクトの ESR スペクトル

生じる DMPO アダクトと呼ばれる準安定な化合物のもので、SOD が存在しない場合、スペクトル強度は最大となり、SOD 濃度に依存してスペクトルは弱くなります。SOD 様活性がある試料は、活性に応じてスペクトルが弱まりますので、図 2 に示すような検量線を作成し、試料の抗酸化能として SOD ユニット相当量を算出します。

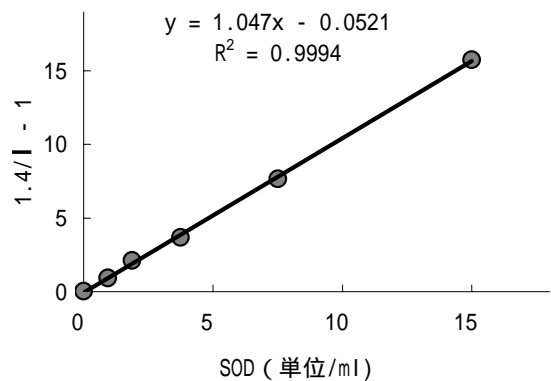


図2 SOD 様活性測定のための検量線
測定例

市販の70点のしょうゆのSOD様活性を測定したところ、SOD様活性は21~170単位/mlに分布し、濃口しょうゆの平均が70.2単位/ml、淡口しょうゆ37.76単位/mlと、色の濃いものほどSOD様活性が高い結果が得られました。

手数料・使用料

依頼試験手数料と機器貸付の使用料は、
依頼試験は、12,000円/件 (県外 24,000円)
機器貸付は、4,300円/件 (県外 8,600円)
となっています。ご利用をご希望の方は下記まで
お問合せください。

工業技術総合センター 食品技術部門
食品バイオ部 近藤君夫
TEL 026-227-3132 FAX 026-227-3130
shokuhinshiken@pref.nagano.jp