

電子スピン共鳴 (ESR) 法を用いた珊瑚パウダーの ヒドロキシラジカルに対する抗酸化能測定

測定機関：神奈川県大バイオベンチャー バイオラジカル研究所

<方法>

1、 サンプル調整 ((株)ファースト提供検体)

通常 1~1.5g/200mL で飲用するため、珊瑚パウダーを 75mg/mL (蒸留水) で懸濁しストック溶液とした。
なお、調整後 0、1、24 時間珊瑚パウダーより水素を溶出させた。

測定ではストック溶液を最終的に活性酸素産生系に添加することで それぞれ 10 倍希釈 (飲用濃度) (7.5mg/mL) とした。

2、 ヒドロキシラジカル産生方法

過酸化水素に紫外線 (UVA) を照射することにより産生。

3、 ESR 測定条件

調整したサンプルを ESR フラットセルに回収し、以下の測定条件で ESR 測定を行った。

Center Field : 335.8mT

Modulation Width : 0.079mT

Sweep Width : 7.5mT

Time constant : 0.03sec

Seep Time : 1.0min

Gain : 320

4、 ヒドロキシラジカル測定条件

ヒドロキシラジカル捕捉剤として 5-(2,2-dimethyl-1,3-propoxycyclophosphoryl)-5-methyl-1-pyrroline N-oxide (CYPMPO) を用い 以下のプロトコルを用いてサンプルのヒドロキシラジカル消去能の測定を行った。

PBS (pH7.2) : 140 μ L

過酸化水素 (100mM) : 20 μ L

CYPMPO (0.5mM) : 20 μ L

サンプル : 20 μ L

UVA 照射 (100mW、10sec)

UVA 照射終了後サンプル回収し、直ちに ESR 測定

5、 評価方法

得られた ESR スピンアダクトの特定シグナル強度から コントロールを 100%とし、各サンプル添加にて得られた値を%of control として評価した。

6、 統計学的方法

個別データを用いて統計学的処理を実施した。各条件におけるデータ数は 3。統計処理は Tukey の分散分析を用い 5%以下を有意差とした。(p<0.05、Tukey 多重検定)

<結果>

調整後 1 時間および 24 時間のサンプルにおいて、有意なヒドロキシラジカル消去が認められた。

% of Control	Control	1h	24h
	103.07	85.74	90.53
	100.62	86.94	90.83
	96.31	88.11	87.52
average	100.00	86.93	89.63
SD	3.42	1.19	1.83

消去率	Control	1h	24h
	-3.07	14.26	9.47
	-0.62	13.06	9.17
	3.69	11.89	12.48
average	0.00	13.07	10.37
SD	3.42	1.19	1.83

