

ホヤ抽出物の O_2^- ラジカルおよび OH ラジカル除去活性の検討

東北学院大学大学院 学生員 ○齋藤 敏之
東北学院大学 正会員 宮内 啓介
東北学院大学 正会員 韓 連熙

1. はじめに

活性酸素とは反応性の高い酸素のことである。活性酸素には一重項酸素 (1O_2)、スーパーオキシドアニオン (O_2^-) ラジカル、過酸化水素 (H_2O_2)、ヒドロキシル (OH) ラジカルの4種があり、これらの活性酸素を抑制する作用を抗酸化作用という。

活性酸素は生体内のミトコンドリア内で生成されるが、生体内の抗酸化作用をもつ酵素により除去される。ところが、老化とともに生体内の抗酸化酵素が減少し、活性酸素が過剰になってしまう。また、飲酒、喫煙、ストレスなども活性酸素が過剰になる要因として知られる。活性酸素が過剰になると、細胞のタンパク質や脂質を酸化し、生活習慣病のリスクを高めるとされる⁽¹⁾。したがって、過剰に生成された活性酸素を除去する必要がある。特に、生体内で生成量の多い O_2^- ラジカルや酸化力の強い OH ラジカルに対する抗酸化力を補うためには、抗酸化作用を持つ抗酸化物質を体外から摂取する必要がある。

そこで、本研究では、宮城県の特産品であるホヤから抗酸化物質を抽出することを試みた。ホヤは栄養を豊富に含むことで知られ、ホヤの生産量は宮城県が全国でトップである。ところが、東日本大震災の影響で外国に輸出できなくなり、国内で大量に余り廃棄されている。このホヤの抗酸化作用を研究することで、新たな有用性を見出させる可能性がある。

本研究ではホヤ抽出物を作製し、試験管内で生成した O_2^- ラジカルおよび OH ラジカルにホヤ抽出物を添加することで、ホヤ抽出物の O_2^- ラジカルおよび OH ラジカル除去活性を検討した。

2. 実験方法

ホヤ抽出物は、ホヤを身、内臓、皮に分け、それぞれの部位 100 g を超純水で抽出した後、ロータリーエバポレーター(RE200;ヤマト科学株式会社)で濃縮して 100 mL とした。

ラジカル生成量の定量には、ラジカル標準物質である 4-hydroxy-tempo (和光純薬工業) で検量線を作製し、これを用いた。

O_2^- ラジカルはヒポキサンチン(Hx)とキサンチンオキシターゼ(XOD) (共に Sigma-Aldrich) を混合して発生させた。OH ラジカルは硫酸鉄($FeSO_4$)と過酸化水素(H_2O_2) (共に和光純薬工業) を用いるフェントン反応により生成させた。 O_2^- ラジカルおよび OH ラジカルはスピントラップ剤の CYPMPO (ラジカルリサーチ株式会社) を用いてそれぞれ CYPMPO-OOH および CYPMPO-OH の形で補足して測定に用いた。CYPMPO 存在下でラジカルを発生させ、さらにホヤ抽出物を添加し、5 min 反応させた後、電子スピン共鳴装置(ESR) (JES-TE300; 日本電子株式会社) でラジカル除去活性を測定した。

3. 実験結果および考察

図1は 5 μ M の 4-hydroxy-tempo の ESR スペクトルである。

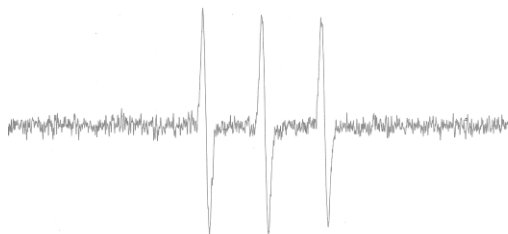


図1. 4-hydroxy-tempo 5 μ M の ESR スペクトル

キーワード：活性酸素 廃棄物 抗酸化作用 ホヤ

住所：多賀城市中央一丁目 13-1 TEL：022-368-7418 FAX：022-368-7070

4-hydroxy-tempo 濃度とスペクトルの高さとの関係を表したグラフが図2である。ESRで観測されるスペクトルの高さとは4-hydroxy-tempo濃度の相関係数が $R^2=0.99$ となった。したがって、ESRスペクトルの高さはラジカル濃度に依存することが強く示唆された。

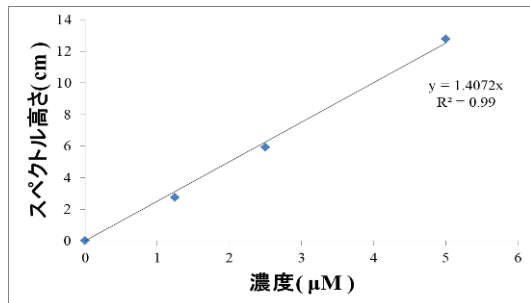


図2. 4-hydroxy-tempo を用いた検量線

ホヤを身、内臓、皮に分け抽出液を作製し、それぞれの抽出物を O_2^- ラジカルに添加した際の O_2^- ラジカル除去活性を測定した。結果を図3に示す。原液は3つの部位の原液には同等のラジカル除去活性があり、特に内臓抽出物が3つの部位で最も高いラジカル除去率を示した。

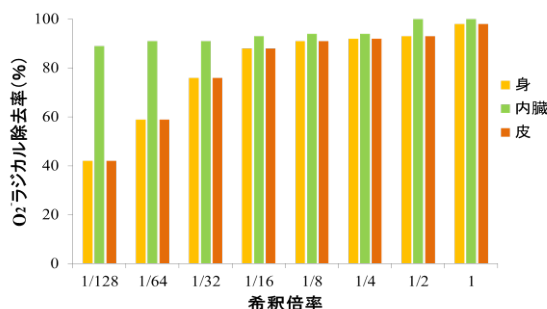


図3. ホヤ抽出物の O_2^- ラジカル除去活性

次にホヤ抽出物のOHラジカル除去活性を測定した（図4）。身と内臓は同等のラジカル除去率を示した。皮は身と内臓よりOHラジカル除去率が低かった。3つの部位すべてにOHラジカル除去活性があることが明らかとなった。

ホヤに含まれる抗酸化物質としてバナジウムが知られている。ホヤ抽出物の抗酸化物質がバナジウム由来であるかを検討するため、様々な濃度のバナジウム溶液を作製して両ラジカル除去活性を測定した。図5に3価のバナジウムを添加した際の O_2^- ラジカル除去率を示す。内臓には0.007 mmol/Lのバナジウムが含まれているとされるが、内臓抽出液原液の O_2^- ラジカル除去率(100%, 図3)は

0.007 mmol/Lのバナジウム溶液の O_2^- ラジカル除去率(13.7%, 図5)と比較して高い。同様に身についても、 O_2^- ラジカル除去率(98%, 図3)は身のバナジウム濃度とされる0.001 mmol/Lの除去率(7.6%, 図5)よりも高い。また、皮についても、 O_2^- ラジカル除去率(98%, 図3)は皮のバナジウム濃度とされる0.1 mmol/Lの O_2^- ラジカル除去率(49%, 図5)と比較して高い。以上の結果からホヤ抽出物にはバナジウム以外のラジカル除去活性を持つ物質が含まれることが強く示唆された。

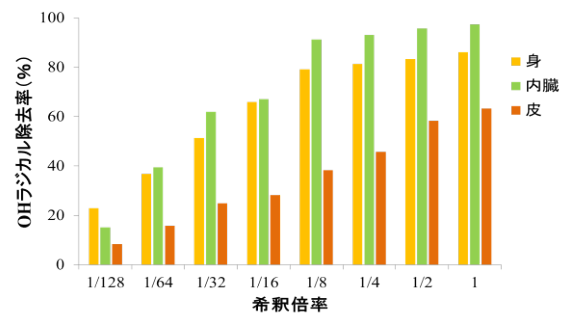


図4. ホヤ抽出物のOHラジカル除去活性

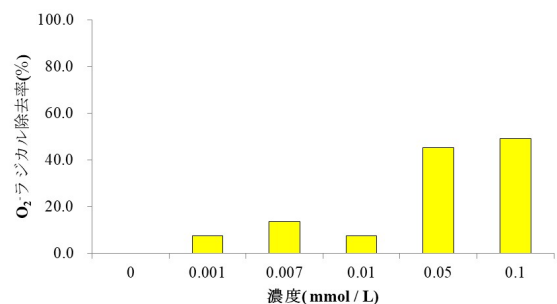


図5. 3価のバナジウム添加時の O_2^- ラジカル除去率

4. まとめ

本研究でホヤ抽出物の各部位が O_2^- ラジカルおよびOHラジカル除去活性を示すことが明らかとなった。特に食すことの少ない内臓と皮で両ラジカル除去活性が示されたので廃棄部位の再利用の可能性を見出すことができた。また、各ホヤ抽出物にラジカルを除去する独自の成分が含まれる可能性が示されたので、更なる成分の特定をおこなっていき

参考文献

- (1) 藤田 直：活性酸素，過酸化脂質，フリーラジカルの生成と消去機構並びにそれらの生物学的作用，YAKUGAKU ZASSHI, Vol 122, PP203-218, 2002