

シークワーサー果汁のラジカル消去活性

沖 智之・永井沙樹¹⁾・太田英明²⁾・須田郁夫
(九州沖縄農業研究センター・¹⁾ 重点研究支援協力員・²⁾ 中村学園大学)

Tomoyuki Oki, Saki Nagai, Hideaki Ohta and Ikuo Suda :
Radical-Scavenging Activity of Juice from *Citrus depressa* HAYATA

シークワーサー (*Citrus depressa* HAYATA) は沖縄に原生するミカン科の柑橘であり、近年、血糖値上昇抑制効果、血圧上昇抑制効果などの生理機能性を有するとして脚光を浴びている。本研究ではシークワーサーの機能性解明を目的にして、市販のシークワーサー果汁を分析試料にして、その果汁の抗酸化活性を ABTS (2,2'-アジノービス (3-エチルベンゾチアゾリナー 6-スルホン酸) 二アンモニウム) ラジカル消去活性測定法にて評価するとともに、抗酸化作用に関与する成分の特定を試みた。

1. 材料および方法

1) 供試材料：シークワーサー果汁は沖縄県の店頭で購入した。

2) 果汁からの溶媒抽出法：シークワーサー果汁 (1.0ml) にジクロロメタン (CH_2Cl_2) 2.0ml を添加し、攪拌後、遠心分離 (3000rpm, 20°C, 10分間) し、下層の CH_2Cl_2 層を回収した。上層に対して、同様な液-液抽出を 2 回繰り返して、得られた CH_2Cl_2 層を全て合わせた後、10ml に定容し、 CH_2Cl_2 抽出画分とした。また CH_2Cl_2 抽出後の果汁に 4 倍量のエタノールを添加し、攪拌後、遠心分離により上清を得た。残渣にはさらに 80% エタノール (5 ml) を加えて再度抽出を行い、先に得られた上清と合わせた後に 10ml に定容し、80% エタノール抽出画分とした。

3) ABTS ラジカル原液の調製：7 mM ABTS 水溶液 (5.0ml) に 140mM ベルオキシソルホン酸カリウム水溶液 (88 μl) を加え、暗所室温で 16 時間放置することにより ABTS ラジカル原液を調製した。ABTS ラジカル消去活性測定時には、その原液をエタノールで 89 倍に希釈して使用した。

4) ABTS ラジカル消去活性測定法：ABTS ラジカル溶液 (1.0ml) に分析試料 (10 μl) を添加し、10 分間放置後、734nm の吸光度を測定した。ABTS ラジカル消去活性は、Trolox を標準物質にして作成した検量線を用いて、果汁 1 ml 当たりの Trolox 相当量として算出した。

5) 高速液体クロマトグラフィー：シークワーサー果汁 80% エタノール抽出画分の高速液体クロマトグラフィー (HPLC) による分析条件は以下のとおりである。

カラム；Cadenza CD - C18 (4.6mm I.D. × 250mm, Imtakt 社製)、溶離液；10% → 30% アセトニトリル / 0.1% トリフルオロ酢酸 (40分間)、流速；0.75ml / min、検出波長；200nm ~ 650nm、カラム温度；35°C

2. 結果および考察

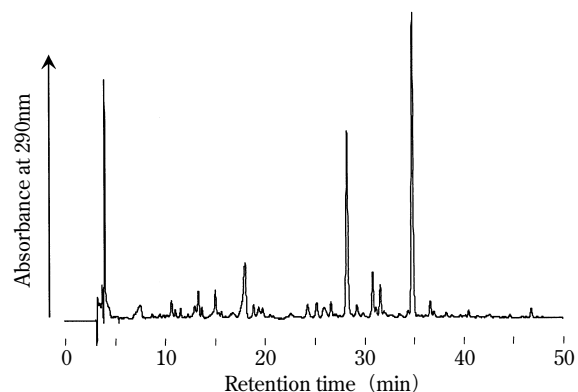
市販されている 3 種のシークワーサー果汁から液-液抽出により脂溶性成分を含む画分 (CH_2Cl_2 抽出画分) と水溶性成分を含む画分 (80% エタノール抽出画分) を調製し、両画分のラジカル消去活性を ABTS ラジカル消

去活性測定法にて評価した。その結果、 CH_2Cl_2 抽出画分と 80% エタノール抽出画分のラジカル消去活性の総和には 3 種の市販品間で約 1.4 倍の差異が認められた (第 1 表)。また、すべての市販品において、その活性は CH_2Cl_2 抽出画分より 80% エタノール画分が高い値を示し、シークワーサー果汁によるラジカル消去には水溶性成分の寄与が高いことが明らかとなった。一方、シークワーサーにはポリメトキシフラボノイドであるノビレチン、タンゲレチン、精油成分であるリナロールが含まれている。今回の実験では CH_2Cl_2 抽出画分、80% エタノール抽出画分のいずれにノビレチン、タンゲレチン、リナロールが存在するかは検討していないために不明であるが、それら標品の ABTS ラジカル消去活性は Trolox の 1000 分の 1 程度もしくはそれ以下と極めて低かった (データ略)。そのため、シークワーサー果汁におけるこれら成分のラジカル消去活性への寄与は低いと考えられたことから、以後の実験では分析対象外とした。

次にシークワーサー果汁に存在するラジカル消去成分を検索することを目的として、水溶性成分を含む 80% エタノール画分を逆相 HPLC に供した。その結果、吸収スペクトルの形状からフラバノン類とフェニルプロパノイド類と推定される複数のピークが確認された (第 1 図)。さらに溶出液を DPPH ラジカル溶液とポストカラムで反応させたところ、フラバノン類、フェニルプロパノイド類に加え、高極性成分溶出部にラジカル消去能が認められ、シークワーサー果汁のラジカル消去活性は複数成分により発現されることが明らかとなった (データ略)。

第 1 表 シークワーサー果汁から得られた溶媒抽出画分の ABTS ラジカル消去活性

	ABTS ラジカル消去活性 (μmol - Trolox 相当量 / ml)		
	CH_2Cl_2 抽出画分	80% エタノール抽出画分	総活性
市販品 A	0.30	0.56	0.86
市販品 B	0.36	0.80	1.16
市販品 C	0.19	0.65	0.84



第 1 図 シークワーサー果汁 80% エタノール抽出画分のクロマトグラム