

研 究 主 論 文 抄 録

論文題目 両連続相マイクロエマルジョンを用いた抗酸化物質の評価技術の開発

熊本大学大学院自然科学研究科 産業創造工学専攻 物質生命化学講座  
( 主任指導 國武 雅司 教授 )

論文提出者 藏屋 英介

主論文要旨

近年、人々の健康において機能性食品、特に天然の抗酸化物質が注目されている。食品中の主要な抗酸化物質は、ビタミン C (ascorbic acid)、ビタミン E ( $\alpha$ -tocopherol)、カロテノイド、フラボノイド、およびフェノール化合物であり、植物から抽出されたフラボノイド、アントシアニン、カテキンなども代表的な抗酸化物質として知られている。これらの機能性成分は、生理活性の高いポリフェノール類に起因し、その含有量は機能性食品などの重要な評価基準となっている。しかしながら多くの抗酸化物質が存在するだけでなく、配糖体も含めると数百種類の類縁体を持つものまであり、個々の化合物の分析は困難を極める。そのため、2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) フリーラジカル消去能の測定、2,2'-azobis (2-amidinopropane) dihydrochloride (AAPH) 脂質ペルオキシラジカル捕捉能の測定 (Oxygen Radical Absorbance Capacity, ORAC) あるいは過酸化水素の分解過程において生成するヒドロキシラジカル捕捉能を測定 (HORAC) する方法など、総量的な抗酸化能を評価する手法が開発され用いられている。いずれの方法も標準物質の抗酸化能に換算して還元性物質を一元的に測定しており、弊害も多い。例えば、野菜や果実に含まれる代表的な水溶性還元物質であるアスコルビン酸は、フォーリンチオカルト法によって容易に発色しポリフェノール類の抗酸化能に大きな正の誤差を与える。またこれらの方法は、有機溶媒への抽出プロセスを含むため、対象となるポリフェノール類の溶媒への溶解度がその結果に大きく影響する。特に食用オイルやエッセンシャルオイルに含まれる親油性の抗酸化物質の定量は、従来法では抽出プロセスの最適化や抽出効率による再現性の問題など、多くの課題を有していた。

本論文では、これらの問題を解決するために、両連続相マイクロエマルジョン (Bicontinuous Microemulsion, BME) を反応場として、代表的な抗酸化物質について電気化学的な分析を試みた。水と油がミクロスケールで両連続的に共存した BME 溶液は熱力学的安定系であり、親油性化合物と親水性化合物の両者を同時に溶解し、電気化学測定が可能である。さらに親水性や親油性の高い電極を用いると、同じ溶液から親水性化合物と親油性化合物の酸化還元応答を個別に測定することが可能となることが先行研究で明らかになっていた。本研究では、これらの技術を応用し BME 中で親水性と親油性物質の抗酸化能

を電気化学的な手法を用いて評価可能か検討を行った。

本論文は全 6 章からなっており、第 1 章を序論、第 6 章を総括とした。

第 2 章では、抗酸化物質を評価する特異的な反応場として両連続相マイクロエマルジョンに注目し、親油性の高い化合物と親水性の高い化合物の両者を同時に溶解した溶液中で、電気化学的な手法 (BME-EC 法) によりそれぞれの酸化還元力を分離して測定することを試みた。その結果、モデル物質である ascorbic acid や gallic acid、Trolox、 $\alpha$ -tocopherol などの還元力を、電極の選択により同時にあるいは個別に測定できることを示した。特に両連続相マイクロエマルジョンを用いた抗酸化能測定では、含水量や pH 共存、一定条件下において  $\alpha$ -tocopherol のような親油性化合物の抗酸化能のみを測定できることも示した。

第 3 章ではオリーブオイルを混入した BME 溶液中で電気化学測定することによって、オイル中の  $\alpha$ -tocopherol やポリフェノールのような抗酸化物質の定量分析を検討した。親油性 / 疎水性電極であるフッ素化したナノカーボンフィルム電極 (F-ECR) を使用することで、オリーブオイル中の親油性の抗酸化物質を直接的に測定できることを初めて明らかにした。親水性-親水性のバランスのとれた BME 溶液と極端に親水性 / 親油性の偏った電極の組み合わせにより、オリーブオイルから抽出操作を行うことなく、同じ BME 溶液から親水性ならびに親油性抗酸化物質を個別に測定することが可能であることを示した。さらに、抗酸化物質の酸化ピークより算出した電気量  $Q$  は、Folin-Ciocalteu 法による総ポリフェノール測定ならびに ORAC 法によって得られた抗酸化総量のいずれの値とも良い一致を示した。本論文で提案した BME-EC 法が、オイル中の抗酸化物質を評価法として、従来法を越える簡便かつ迅速な測定方法であることを明らかにした。

第 4 章では、植物精油 (エッセンシャルオイル) の新たな抗酸化能評価法として BME-EC 法の検討を行った。植物精油の機能性探索には、DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) フリーラジカルによる抗酸化能の測定 (DPPH 法) が一般に行われているが、カイネティックな反応であるために、反応時間はもとより酸化体 / 還元体比、溶媒の種類、含水量や pH、遷移金属イオンの影響など受けやすく、測定条件や測定者によるばらつきの問題が指摘されている。本章では、一般に市販されているエッセンシャルオイルについて BME-EC 法により抗酸化能の評価を行った。エッセンシャルオイルの抗酸化能を評価する標準物質、 $\alpha$ -tocopherol, BHA, BHT, Trolox と BME-EC 法による酸化ピークから求めた電気量  $Q$  と良い相関が得られた。また、BME-EC 法によって得られたエッセンシャルオイルの抗酸化活性と従来の DPPH 法とも良い相関があることを明らかにした。

第 5 章では、水中衝撃波により発生する瞬間的高圧によって、化学的ダメージを与えずに植物の細胞や組織に破壊しつつ、BME を抽出溶媒とすることで、固体からの高効率直接抽出を試み、抗酸化能評価の前処理技術としての可能性について検討を行った。SEM 観察から、水中衝撃波による瞬間的高圧の負荷によるスポーリング破壊にともない、植物の細胞壁に無数のクラックが形成しているのが確認された。HS-GC/MS による揮発性成分の分析からも、抽出されたほとんどの成分の気相濃度が、衝撃波処理の回数に応じて増加した。衝撃波処理を行った後、BME 溶液を使用して固体から直接抽出を行い、BME 溶液の抗酸化能を BME-EC 法により評価したところ、衝撃波処理 3.5 kV, 3.6kJ、1 回処理を行う

だけで、親水性ならびに親油性抗酸化物質ともに最大限抽出できることが明らかとなった。

第 6 章では、これらの結果をまとめるとともに、BME 溶液を反応場とした抗酸化活性の評価に関する展望ならびに BME 溶液の抽出溶媒としての可能性について述べた。