

# ORAC 分析試験成績書

国際機関 太平洋諸島センター

〒101-0052

東京都千代田区神田小川町 3-22-14

明治大学紫紺館 1階

電話:03-5259-8419

FAX: 03-5259-8429

試験実施日：2013年（平成25年）5月7日

試験方法：ORAC（Oxygen Radical Absorbance Capacity）分析

試験機関：東和環境科学株式会社

検体：太平洋諸国の3つの異なる産地で生産されたタマヌオイル（A,B,C）と  
国内で市販されているエキストラ・バージン・オリーブオイル

試験結果：以下のとおり。

**Table.1 ORAC<sub>FL</sub> Values\***

Description	Parameter	N	Mean ( $\mu\text{mol TE}$ /100 g)	Well 1 ( $\mu\text{mol TE}$ /100 g)	Well 2 ( $\mu\text{mol TE}$ /100 g)	Well 3 ( $\mu\text{mol TE}$ /100 g)
Tamanu oil, A	H-ORAC**	3	8841	8977	8850	8696
Tamanu oil, B	H-ORAC**	3	9473	9554	9600	9263
Tamanu oil, C	H-ORAC**	3	10456	10530	10386	10451
Olive oil, extra-virgin	H-ORAC**	3	433	436	433	430

\* ORAC(Oxygen Radical Absorbance Capacity)分析は、生体内の代表的な活性酸素種のひとつであるペルオキシラジカルに対する抗酸化能力を測定する試験です。水溶性ビタミンE誘導体であるTroloxが標準物質として使われ、ORAC値はグラムあたりのマイクロモルTrolox等量(Trolox Equivalent)で表示されます。

\*\* hydrophilic-ORAC(水溶性ORAC) 検体は80%メタノールで抽出しました。

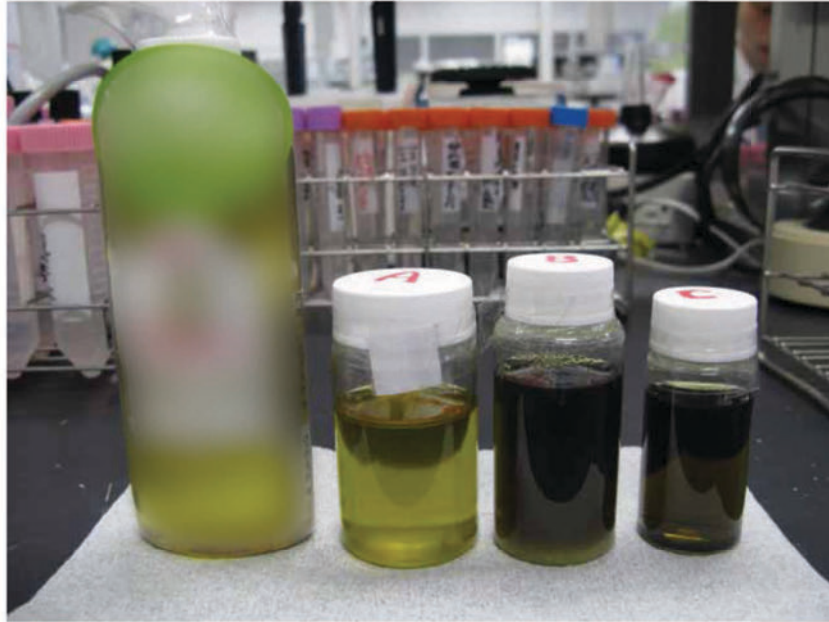


Figure 1. samples

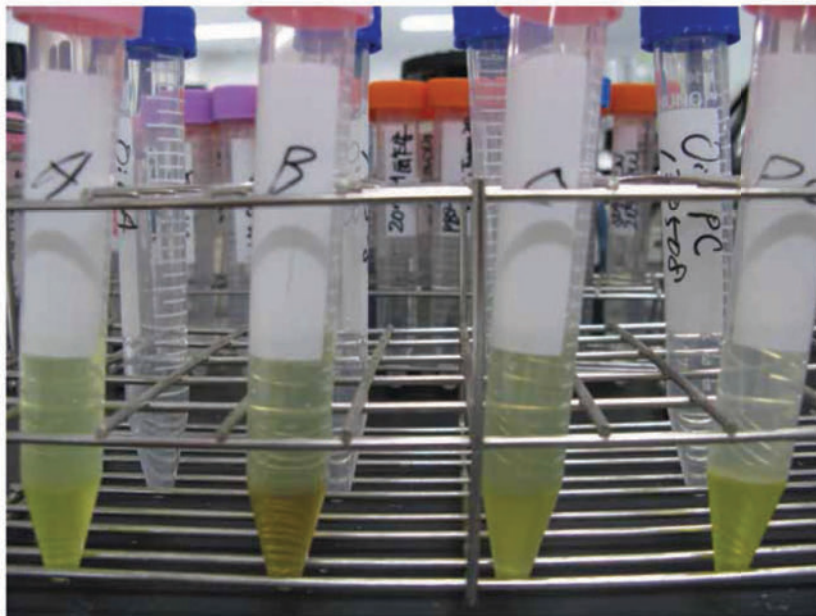


Figure 2. sample extracts

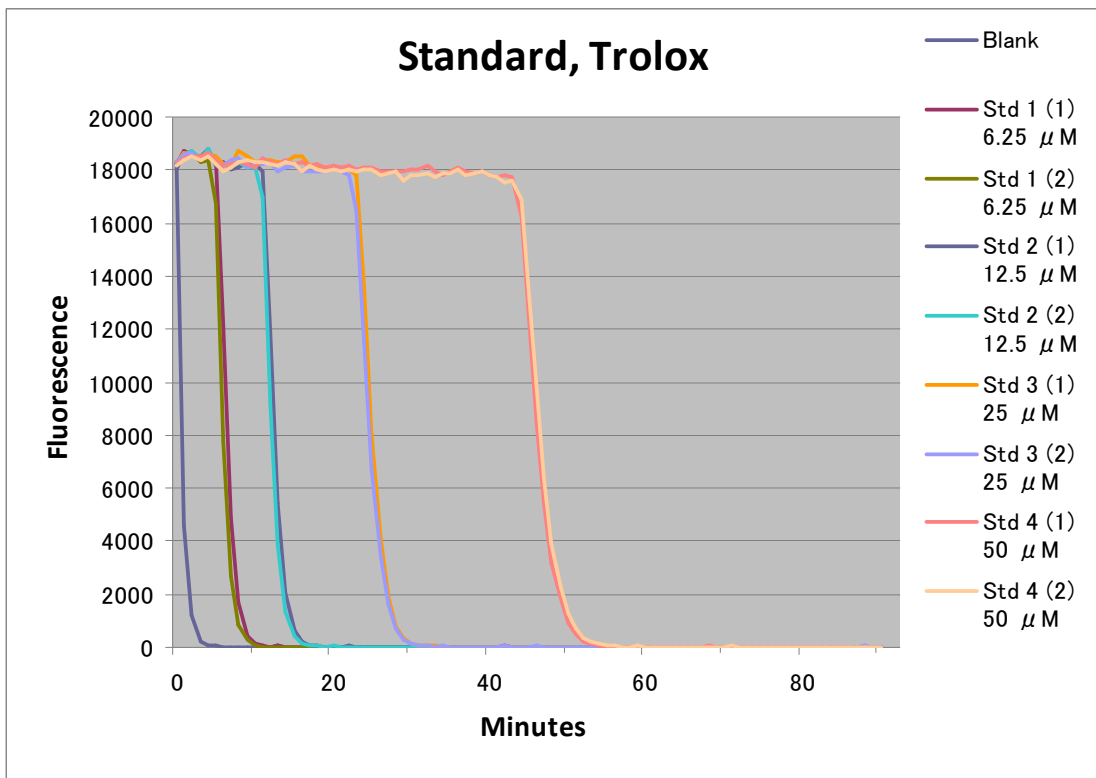


Figure 3. Trolox Kinetic Curves

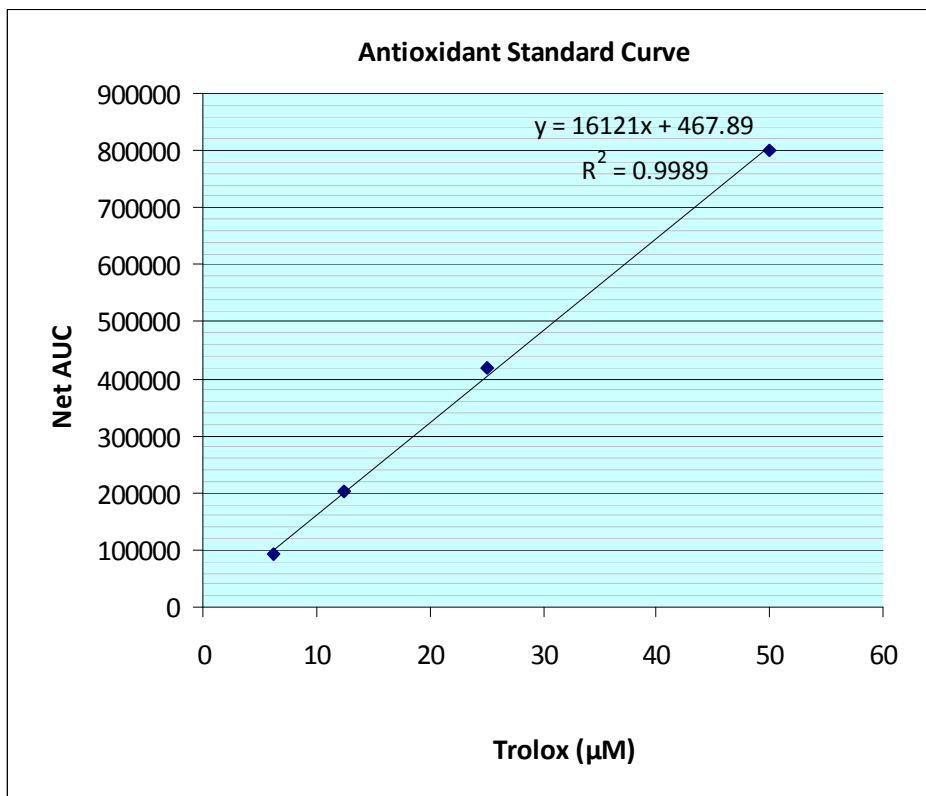


Figure 4. Trolox Standard Curve

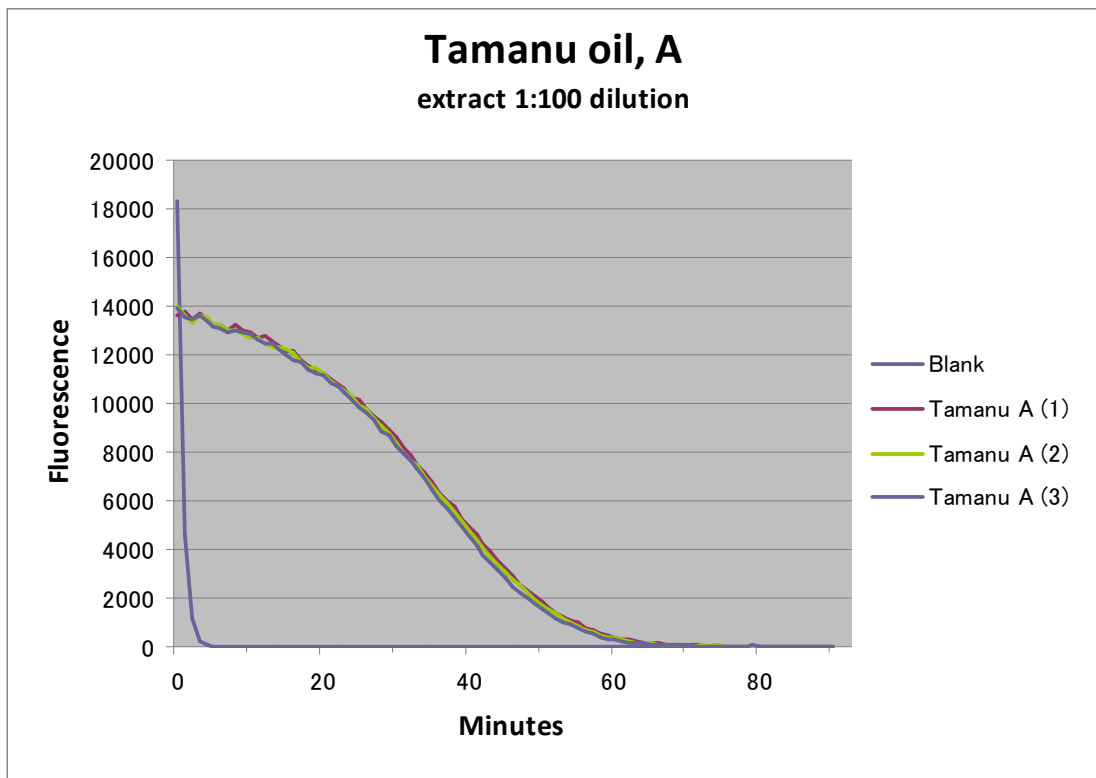


Figure 5. タマヌオイルA のKinetic Curves  
検体抽出物をアッセイバッファで100倍希釈した。

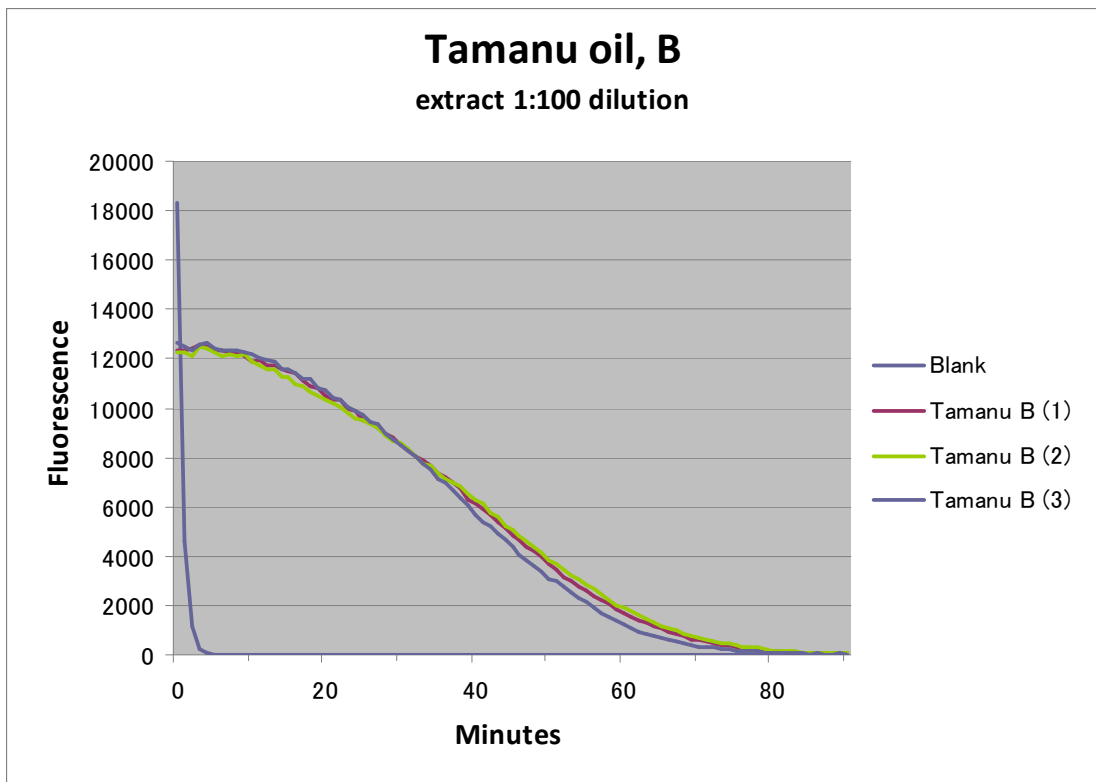


Figure 6. タマヌオイルB のKinetic Curves  
検体抽出物をアッセイバッファで100倍希釈した。

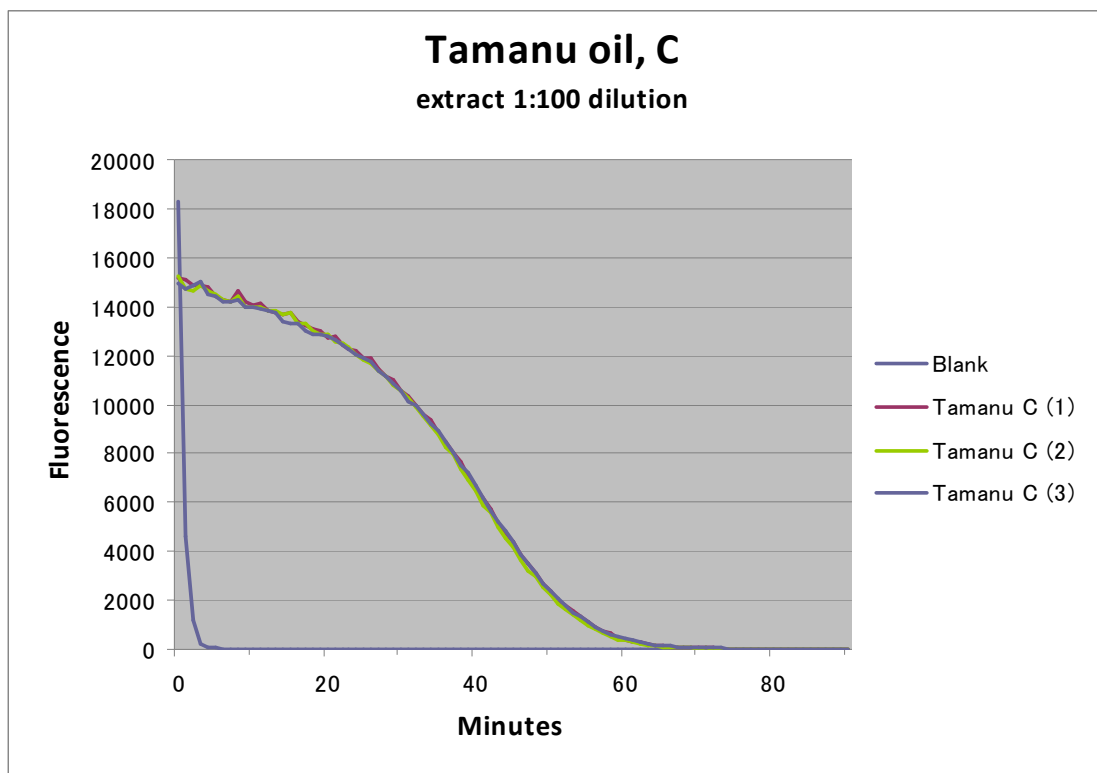


Figure 7. タマヌオイルC のKinetic Curves  
検体抽出物をアッセイバッファで100倍希釈した。

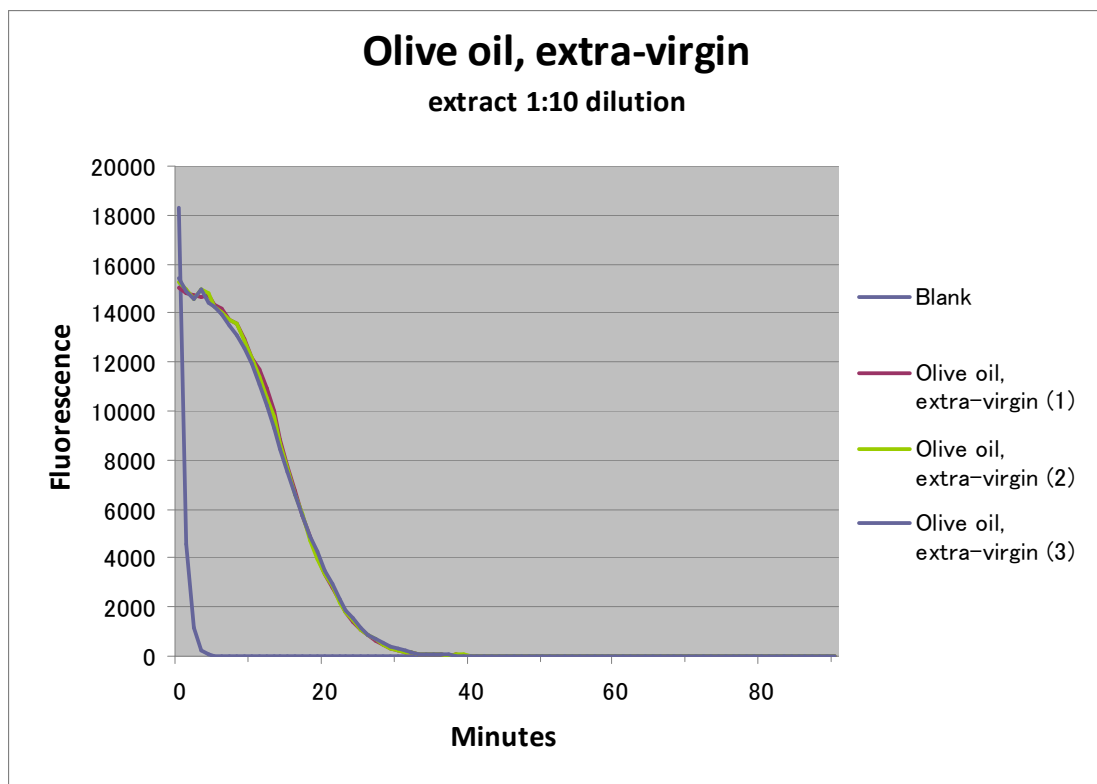


Figure 8. エクストラバージン オリーブオイル のKinetic Curves  
検体抽出物をアッセイバッファで10倍希釈した。

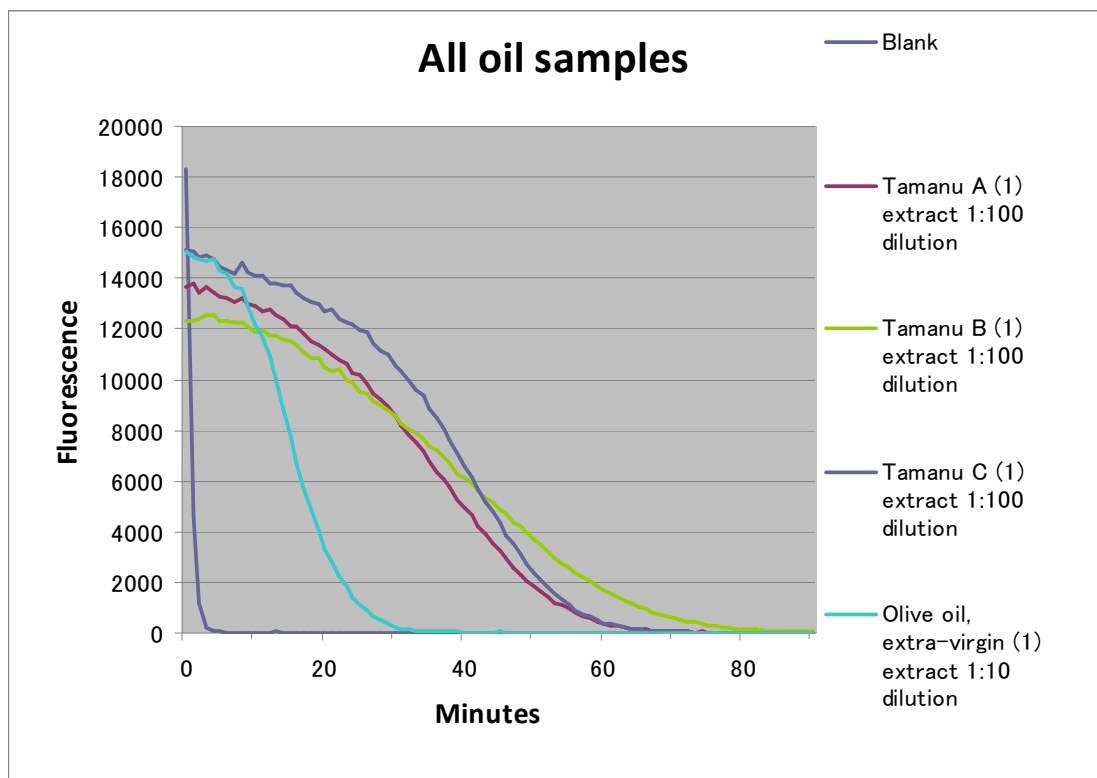


Figure 9. 全サンプルのKinetic Curves (n = 1)

(余白)

[備考]

## 【ORAC オイル\_メソッド】

(抽出)

試料 1 g に 80% メタノールを 2 mL 加え、2 分間 vortex で振とうした。

37°C の温浴バス中で 5 分間超音波をかけ、室温で 10 分間静置した。

静置 5 分後に 1 分間 vortex で振とうした。

3500 回転、室温で 10 分間遠心し、上清を回収した。

当該抽出手順をもう一度繰り返し、抽出物を 4 mL に定容したものを分析試料とした。

(測定)

(1) 測定はグレーティングマイクロプレートリーダー SH-9000Lab (CORONA ELECTRIC) で行った。

プレートリーダー内を 37°C に設定し、一般的な ORAC 法の条件で測定を行った。

すなわち、AAPH をペルオキシラジカル発生源とし、Trolox をスタンダードとした。

Trolox は 75 mM リン酸緩衝液 (pH 7.4) で溶解し、50, 25, 12.5, 6.25 microM の各濃度になるよう調製した。

試料抽出液はリン酸緩衝液で 10 倍および 100 倍に希釈し、1 プレートに 3 ウェルずつ分注して行った。

フルオロセインナトリウム塩、AAPH はリン酸緩衝液で溶解し、それぞれ 30.6 nM、31.25 mM となるように調製した。

(2) 96 ウェルマイクロプレートの各ウェルに 25 microL のサンプル、Trolox 溶液、ブランク (リン酸緩衝液) を分注し、150 microL のフルオロセインナトリウム塩溶液を加えた。

各ウェルに 25 microL の AAPH を加えて攪拌したのち、直ちに蛍光強度を測定した。

その後各ウェル 60 秒ごとに蛍光強度を記録して、その減衰を観察した。

プレートリーダーのパラメーターは次の通り。

測定法：カイネティック

励起波長：485 nm

蛍光波長：528 nm

半値幅：12 nm

測定回数：90 回

測定間隔：60 秒

攪拌時間：10 秒間 (初回のみ直線)

(統計学的解析)

ORAC 分析のデータ集計や解析にはエクセル統計を用いた。

親水性 ORAC 値は試料濃度に対する蛍光強度の減衰曲線下面積 (net AUC) の回帰直線を用いて計算した。

値は Trolox 相当量として得られ、単位は micromol TE/100 g (TE : Trolox 相当量) とした。

net AUC は Trolox または試料の曲線下面積 AUC からブランクの AUC を減じて得た。