

食品分析用 H-ORAC測定用キット

食品から摂取した抗酸化物質が活性酸素種を消去し、生体成分の酸化反応を防ぎ、健康の維持・増進に寄与することが期待されています。Oxygen Radical Absorbance Capacity (以下ORAC)法は広く食品の抗酸化能評価に使用されている手法であり、特に親水成分の抗酸化能を測定する為の手法として、H-ORAC法があります。¹⁾

当社「H-ORAC測定用キット」は、国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構により妥当性の確認された測定方法として確立された標準化法²⁾による測定と同等の性能をもつことを確認しています。食品成分の抗酸化能評価にぜひご活用下さい。

H-ORAC測定用キット

○キット内容

試薬名	容量	数量
フルオレsein	1 mL用	1
トロロックス	1 mL用	2
APPH	15 mL用	2
フェルラ酸	100 mg	2
Assay Buffer	500 mL用	1
96穴マイクロプレート	-	2
プレートシール	-	4

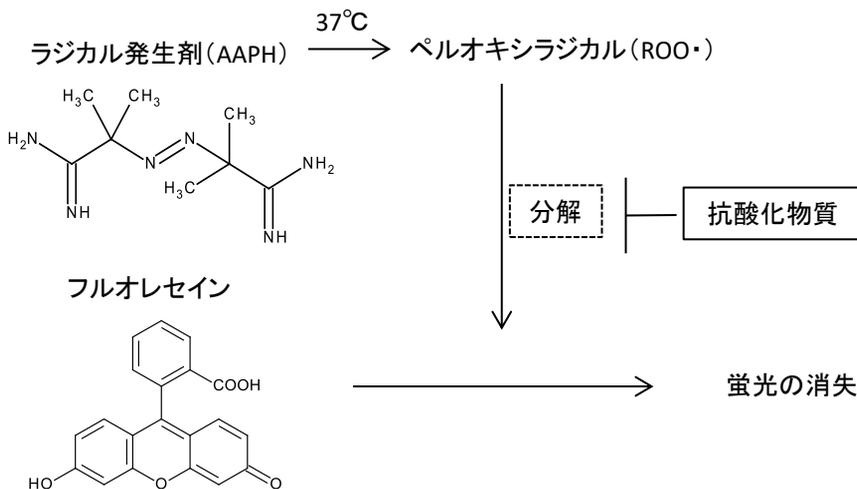


○キット以外に必要な器具・器材

- ・メタノール(試薬特級など)
- ・酢酸(試薬特級など)
- ・プレートリーダー^{※1}
- ・マイクロピペット
- ・コニカルチューブ
- ・恒温槽(37°C)

※1…庫内が37°Cに調整可能であり蛍光強度(励起波長485±20 nm、検出波長530±25 nm)の変化が2分おきに90分間測定可能なもの。推奨プレートリーダーはパンフレットp. 4に記載しています。

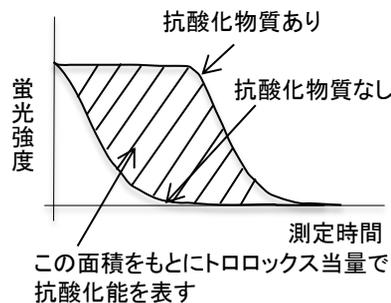
○測定原理



測定試料,フルオレsein,AAPH



マイクロプレートリーダーを用いて96穴プレート中で蛍光強度を測定



測定手順

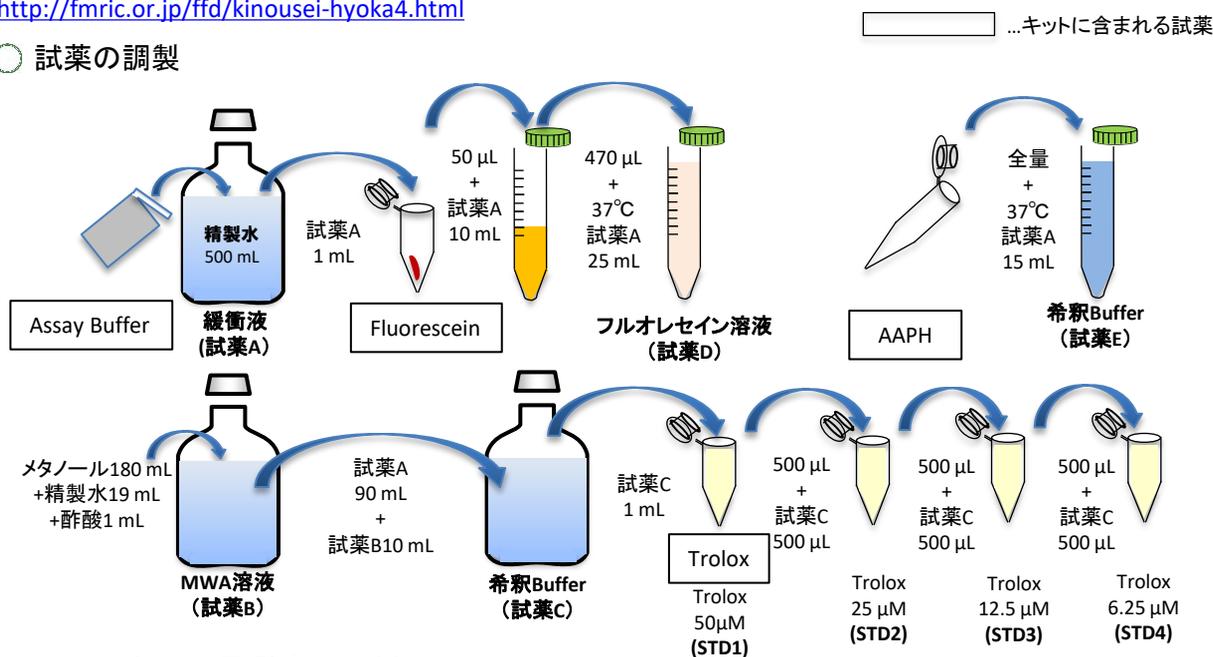
本キットを用いた測定では、始めに「ORAC予測値の算出」を行い、測定サンプルの最適な希釈倍率を決定します。次に「ORAC予測値の算出」から得られた希釈倍率のサンプルを用いて「ORAC値の算出」(本試験)を行います。

<参考情報>

「食品研究等データベース」の食品機能評価マニュアルより「食品の抗酸化能値測定法(H-ORAC分析法)」にて解析処理用のエクセルシートが掲載されています。

<http://fmric.or.jp/ffd/kinousei-hyoka4.html>

○ 試薬の調製



(ORAC予測値の算出)

蛍光測定条件
 励起波長：485±20 nm
 検出波長：530±25 nm
 検出方向：プレート底面側(上面側でも可)
 測定温度：37°C

	プレート位置※2		
	Sample1~10	STD1~4	Blank
サンプル希釈溶液	35 μL	-	-
STD	-	35 μL	-
試薬C	-	-	35 μL
試薬D	115 μL		
-	プレートシールで蓋をし、プレート庫内に入れる		
-	振とう攪拌し、蛍光強度(f_{0min})を測定		
-	37°C、10 min加温		
-	マイクロプレートを取り出し、プレートシールを剥がす		
試薬E	50 μL		
-	プレートシールで蓋をし、プレート庫内に入れる		
-	蛍光強度の経時変化を2分間隔で45回(90分間)測定($f_{2min} \sim f_{90min}$)		
-	解析処理		

ORAC予測値の算出ではSampleの希釈系列を10倍、50倍、250倍、1,250倍希釈として下さい。
 最大10種のSampleを測定可能です。
 Sampleを加えなかったウェルには試薬C分注して下さい。

※2...各試料を分注するプレート位置は商品添付の取扱い説明書に記載されています。

○ ORAC値の算出(本試験)

- ① ORAC予測値を25で除した値を求める
- ② Sample10倍希釈溶液を試薬Cで①の倍率に希釈する(希釈倍率 I)
- ③ ②を試薬Cで2倍希釈する。(希釈倍率 II)
- ④ 希釈倍率 I 及び II を「ORAC予測値の算出」と同様に測定する。

○ 測定例

当社「H-ORAC測定用キット」は、国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構により妥当性の確認された測定方法として確立された標準化法による測定と同等の性能をもつことを確認しています。(Fig.1)

【方法】

- ・各食品の凍結乾燥粉末から高速溶媒抽出装置を用いてMWA(メタノール:水:酢酸=90:9.5:0.5)溶液で抽出した検体をサンプルとして使用。³⁾
- ・H-ORAC測定用キット及び標準化法に基づく方法で測定した。
- ・測定は2機関(農研機構食品研究部門及び和光純薬)にて2回並行で実施した。

【測定結果】

・2機関による測定の結果キットを用いた際の測定値は標準化法に基づいた場合の測定値と同等であった。(Table 1, 2)

Table 1 和光純薬での測定値 (μmol TE^{※3}/L)

試料	H-ORAC測定用キット		標準化法	
	1回目	2回目	1回目	2回目
タマネギ	1,729	1,672	1,814	1,798
リンゴ	1,446	1,301	1,841	1,735
ナス	9,252	8,419	9,835	9,545
Trolox ^{※4}	4,047	4,073	3,989	4,089
フェルラ酸 ^{※4}	17,678	18,732	17,642	18,408

Table 2 農研機構食品研究部門での測定値 (μmol TE/L)

試料	H-ORAC測定用キット		標準化法	
	1回目	2回目	1回目	2回目
タマネギ	1,618	1,626	1,701	1,700
リンゴ	2,086	2,027	2,170	2,165
ナス	8,560	8,003	8,901	8,544
Trolox ^{※4}	3,919	4,138	3,823	4,031
フェルラ酸 ^{※4}	16,735	16,670	17,365	17,276

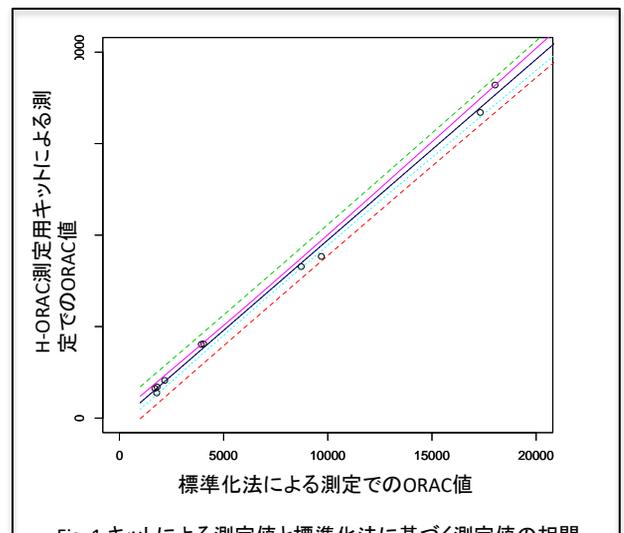


Fig. 1 キットによる測定値と標準化法に基づく測定値の相関回帰直線および95%信頼区間と予測区間

※3...TEはTrolox Equivalent(トロロックス当量)を示します。
 ※4...1g/LのMWA溶液としての測定値を記載しています。

Table 3 和光純薬での測定値(詳細)

試料のORAC値 (μmol trolox equivalent/L)	希釈倍率	検量線範囲	ORAC	ぶれ	H-ORAC (μmol TE/L)	(μmol TE/g) H-ORAC
フェルラ酸	640	OK	18804.29	2.0%	17781.0	889.1
	1280	OK	16712.16	1.1%		
トロロックス	170	OK	4078.87	0.9%	4096.3	204.8
	340	OK	4144.59	2.9%		
タマネギ	69	OK	1784.29	1.4%	1729.2	86.5
	138	OK	1620.48	2.2%		
ナス	380	OK	9207.76	4.4%	9252.3	462.6
	760	OK	9370.31	3.4%		
リンゴ	72	OK	1447.32	2.2%	1445.6	72.3
	144	OK	1179.67	0.4%		
フェルラ酸	640	OK	19337.53	0.2%	18840.3	942.0
	1280	OK	18455.01	0.3%		
トロロックス	170	OK	4075.76	0.0%	4121.9	206.1
	340	OK	4244.43	0.9%		
タマネギ	69	OK	1686.27	6.4%	1671.9	83.6
	138	OK	1636.33	1.5%		
ナス	380	OK	8403.78	0.5%	8418.7	420.9
	760	OK	8505.86	1.3%		
リンゴ	72	OK	1274.83	2.0%	1301.4	65.1
	144	OK	1106.75	1.0%		

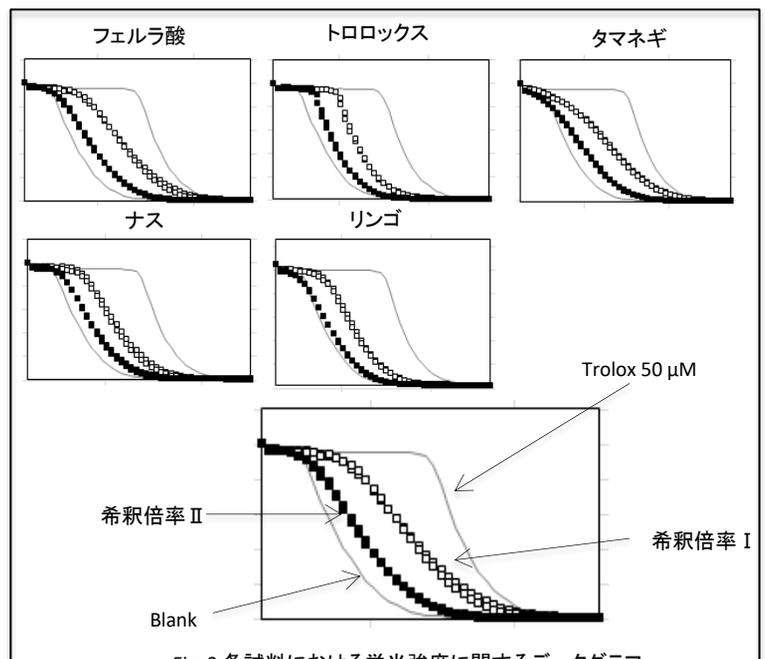


Fig. 2 各試料における蛍光強度に関するデータグラフ

出典:「食品研究等データベース」の食品機能評価マニュアル
 「食品の抗酸化能値測定法(H-ORAC分析法)」(Excel)

注:各試料のH-ORAC値及びデータグラフ等は参考データであり、商品を保証するデータではありません。

製品一覧

◆H-ORAC測定用キット

製品コード	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
295-79501	F H-ORAC Activity Assay Kit	食品分析用	1キット	28,000

◆別売りプレート・プレート用シール※5

製品コード	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
638-28501	Multi Well Plate for Suspension Culture 96F with lid		60枚	25,200
630-27341	Seal for 96 wells plate		200枚	13,000

※5…プレート及びプレート用シールはキットに含まれています。追加で使用する場合に上記製品をご活用下さい。記載価格は17年6月現在の価格です。予告なく変更する場合がございますがご了承ください。

◆推奨プレートリーダー

TECAN.

品名	メーカー	希望納入価格(円)
Spark®	TECAN	照会
Infinite®200PRO	TECAN	照会

※上記製品の吸光波長範囲等の仕様詳細は下記からご確認いただけます。
当社HP→機器・機材→マルチファンクショナルプレートリーダー

<http://www.wako-chem.co.jp/siyaku/kiki/multi/index.htm>

<参考>

パンフレット記載の当社データはSpark®を用いた際の測定結果です。



R…2~10℃保存 **F**…-20℃保存 **80**…-80℃保存 表示が無い場合は室温保存です。
 特定 **I**…特定毒物 **I** **II**…毒物 **I** **II** **III**…劇物 **毒**…毒薬 **劇**…劇薬 **危**…危険物 **精**…向精神薬 **特麻原**…特定麻薬向精神薬原料 **カルタヘナ法**
審1…化審法 第一種特定化学物質 **審2**…化審法 第二種特定化学物質 **化兵1**…化学兵器禁止法 第一種指定物質 **化兵2**…化学兵器禁止法 第二種指定物質
 覚せい剤取締法…「覚せい剤原料研究者又は取扱者」の免許を取得して、ご購入に際しては、譲受証及び譲渡証による受け渡しが必要となります。**覚**
 国民保護法…生物・毒素兵器の製造、使用防止のため、「毒素等」を試験研究用に使用することを確認する証を頂戴しております。**毒薬等**
 上記以外の法律及び最新情報は、siyaku.com (<https://www.siyaku.com/>) をご参照下さい。

- 本文に記載しております試薬は、試験・研究の目的にのみ使用されるもので、「医療品」、「食品」、「生活用品」などとして使用できません。
- 希望納入価格には消費税等が含まれておりません。

富士フイルム 和光純薬株式会社

本社 〒540-8605 大阪市中央区道修町三丁目1番2号 TEL 06-6203-3741 (代表)
 東京本店 〒103-0023 東京都中央区日本橋本町二丁目4番1号 TEL 03-3270-8571 (代表)

- 九州営業所
- 中国営業所
- 東海営業所
- 横浜営業所
- 筑波営業所
- 東北営業所
- 北海道営業所



フリーダイヤル 0120-052-099
 フリーファックス 0120-052-806
 試薬URL : <https://labchem.wako-chem.co.jp>

■ FUJIFILM Wako Chemicals U.S.A. Corporation 1600 Bellwood Road, Richmond, VA 23237, USA TEL: +1-804-714-1920 FAX: +1-804-271-7791
 ■ FUJIFILM Wako Chemicals Europe GmbH Fuggerstraße 12, 41468 Neuss, Germany TEL: +49-2131-311-0 FAX: +49-2131-311-100

Online Catalog: www.e-reagent.com