

ESR・放射線照射法によるスーパーオキシドアニオン及びOHラジカル消去能の評価

○中川 清子^{*1)}、関口 正之^{*1)}

■キーワード ESR、スピントラップ、放射線照射、抗酸化能評価

1. 水の放射線分解を利用したスーパーオキシドアニオン (O_2^-) 及びOHラジカル消去能の評価
2. OHラジカル消去能の相対比が、反応速度定数の相対比を再現
3. 既存の装置を利用したシステムの構築が可能

■研究の目的

OHラジカルやスーパーオキシドアニオンなどの活性酸素種は発がんリスクがあり、食品や化粧品の抗酸化能を正しく評価する手法が求められている。そこで、水の放射線分解とラジカルをトラップ剤に捕獲してESR（電子スピン共鳴）で測定する方法を組み合わせ、正確な抗酸化能評価をするための条件を検討した。

■研究内容

(1) OHラジカル消去能の評価

スピントラップ剤 DMP0 (5,5-ジメチル-1-ピロリン N-オキシド) と抗酸化物質を溶解した水溶液を亜酸化窒素でバブリングしながらフローし、直径1cmの穴をあけた厚さ5cmの鉛製コリメーターを通してX線(電圧:450kV、電流:10mA)を照射した(図1参照)。照射した溶液はESR測定用の扁平セルに導入し、生成したDMP0-OHラジカルを定量した。

抗酸化物質を添加すると、DMP0-OHの生成量が減少した。DMP0-OHの減衰率を抗酸化物質とDMP0の濃度比に対してプロットすると一次の直線が得られ、傾きがOHラジカル消去能に比例する値となる。得られた傾きの比を表1に示す。得られたOHラジカル消去能の比(第3カラム)は、パルスラジオリシス法で求められているOHラジカルとの反応速度定数の比(第5カラム)とよく一致していることがわかる。X線照射を利用して、OHラジカル消去能の評価が可能であることが示された。

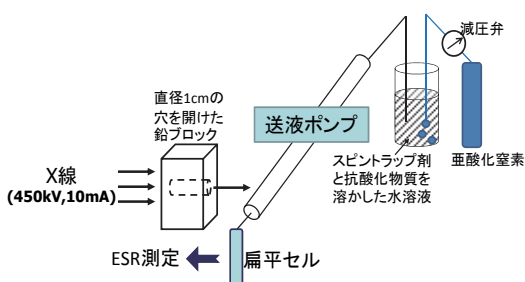


図1. OHラジカル消去能評価システム

表1. 抗酸化物質のOHラジカルとの相対反応速度比

抗酸化物質	求められたOHラジカル消去能 ^a	OHラジカル消去能の相対値 ^b	反応速度定数 ^c / $10^6 M^{-1} s^{-1}$	速度定数の相対値 ^d
p-クマリン酸	6.3	1.00	8.7	1.00
ヒドロキノン	15.6	2.48	20	2.30
カテコール	7.3	1.16	11	1.26
チミジン	3.6	0.57	4.8	0.55
マニトール	1.2	0.19	1.5	0.17

- DMPOと抗酸化物質の競争反応プロットの傾きから得られた値
- p-クマリン酸に対するOHラジカル消去能の相対値
- パルスラジオリシス法で測定されたOHラジカルとの反応速度定数¹⁾
- p-クマリン酸に対する反応速度定数の相対値

(2) スーパーオキシドアニオン消去能の評価

ギ酸ナトリウム、スピントラップ剤 CYPMP0 (5-(2,2-ジメチル-1,3-プロポキシシクロホスホリル)-5-メチル-1-ピロリン N-オキシド) と抗酸化物質を溶解した水溶液を高さ2mmのステンレス容器に入れ、アルミ箔で覆った試料に電子線(電圧:250kV、電流:1mA、照射速度:60m/min)を照射した。照射した溶液は毛細管に採取し、生成したCYPMP0- HO_2 ラジカルを定量した。コーヒー酸を添加すると、CYPMP0- HO_2 の生成量が減少した。CYPMP0- HO_2 の減衰率をコーヒー酸とCYPMP0の濃度比に対してプロットすると一次の直線が得られ、本手法によりスーパーオキシドアニオン消去能の評価が可能であると考えられる。

■研究の新規性・優位性

酵素反応や光照射で活性酸素種を生成すると、二次反応の影響で正確な評価が困難である。本手法により、抗酸化能評価の精度が向上する。

■産業への展開・提案

- ① 抗酸化能評価法の確立及び普及
- ② ESRを利用した依頼試験の拡充
- ③ ESRを利用した測定システムの共同開発

参考文献

- [1] G. V. Buxton, C. L. Greenstock, W. P. Helman, and A. B. Ross, J. Phys. Chem. Ref. Data, Vol.17, p.513 (1988)

*1) バイオ応用技術グループ

H26.4 ~ H27.3【基盤研究】ESR・放射線照射法によるスーパーオキシドアニオンおよびOHラジカル消去能の評価