

ESRを利用したOHラジカル消去能測定システムの検討

○中川 清子*¹⁾、関口 正之*¹⁾

1. はじめに

OHラジカルをはじめとした活性酸素種は、酸化ストレスとなり発ガンを引き起こすことから、抗酸化物質を含んだ食品が付加価値の高い食品として注目され、抗酸化作用の評価に関する需要が高まっている。活性酸素除去能の測定法の一つに、活性酸素由来のラジカルをESRで測定する方法がある。ESR法は、特定の活性酸素種を生成させて測定できる、実際の生体内での反応系に近い等の理由により、正確な評価法として期待されている。

ESR法において、OHラジカル生成のために、ほとんどの研究例では、水銀ランプの紫外線を過酸化水素水に直接照射している。しかし、抗酸化物質の中には、ヒドロキノン等、水銀ランプの紫外線を吸収し、電子を放出するものがある。放出された電子は、過酸化水素と反応し、OHラジカルを生成するため、正確な評価ができない可能性がある。そこで、抗酸化物質の吸収がない波長領域の紫外線を過酸化水素水に照射し、OHラジカルを生成させるための条件を検討した。

2. 実験方法

過酸化水素水に、キセノンランプからの紫外線を照射して、OHラジカルを発生させた。抗酸化物質(例えば、ヒドロキノン等)による紫外線の吸収を避けるため、フィルターを使用し、300~400nmのUV光を選択的に照射した。生成したOHラジカルはDMPOでスピントラップし、DMPO-OHラジカルとしてESRで観測した。DMPO-OHの生成量は、抗酸化物質の添加により減少する。過酸化水素とDMPOの濃度を変化させて、ヒドロキノンの添加量の増加に伴ってDMPO-OHの生成量が減少する条件を検討した。

3. 結果・考察

過酸化水素:1mM, DMPO:200 μ M、および過酸化水素:1.25mM, DMPO:500 μ Mでのヒドロキノン添加によるDMPO-OHの生成量の変化を、図1に示す。いずれも、ヒドロキノンの添加量の増加に伴い、DMPO-OHの生成量が減少している。また、DMPOの濃度が高い方がDMPO-OHの減少効率が低下する。DMPO-OHの生成量が、ヒドロキノンがない時の半分になるヒドロキノンの濃度(図1中の \rightarrow)は、DMPOの濃度に比例して増加し、OHラジカルとDMPOおよびヒドロキノン二者との反応が競争していると考えられる。

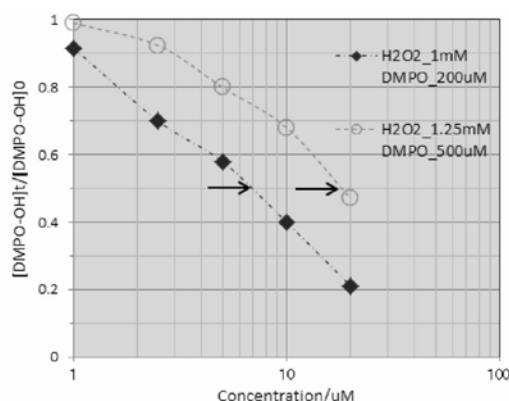


図1. 過酸化水素:1~1.25mM, DMPO:200~500 μ Mでのヒドロキノン添加によるDMPO-OHの生成量の変化

4. まとめ

以上の結果から、U360フィルターで波長選択した場合、過酸化水素:1~1.25mM, DMPO:200~500 μ Mで、ほぼ正確な抗酸化能の評価が可能と考えられる。

*1) バイオ応用技術グループ