

ESR と放射線照射を利用した OH ラジカル消去能評価法

○中川 清子^{*1)}、関口 正之^{*1)}

1. 目的・背景

生体内では、代謝の過程や紫外線の暴露などにより、OH ラジカルなどの活性酸素種が生成され、発ガンを引き起こすことが知られている。このため、活性酸素種を除去する機能を持つ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。DMPO (5,5-ジメチル-1-ピロリン-N-オキシド) などのスピントラップ剤で活性酸素種をトラップし、抗酸化物質の添加によるラジカル量の減少を ESR (電子スピン共鳴) で測定する手法は、特定の活性酸素種を生成させて測定できること、実際の生体内での反応系に近いことなどの理由により正確な評価法と期待されている。ESR による抗酸化能評価では、一般的に過酸化水素水を水銀ランプなどの紫外線で光分解して OH ラジカルを生成させる。しかし、ポリフェノール類などの抗酸化物質が 300 nm 以下の紫外線を吸収すると正確な評価ができない。そこで、水の放射線分解を利用して OH ラジカルを生成する手法を検討した。

2. 研究内容

(1) 実験方法

DMPO 水溶液及び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た後、液体クロマトグラフのポンプで混合してフローし、直径 1 cm の照射野で X 線照射した。X 線は 450 kV、10 mA とし、照射時間と線量は送液の速度で制御した。照射した試料は、扁平セルに導入後 ESR 測定し、生成した DMPO-OH ラジカルを定量した。

(2) 結果及び考察

送液速度:4 mL/min (照射線量:0.5 Gy 程度)、DMPO 濃度:50 uM の条件で、抗酸化物質として p-クマリン酸・チミジン・マンニトールを添加したところ、添加量の増加に伴って DMPO-OH の生成量が減少した。

DMPO と OH ラジカルの反応速度を k_1 、抗酸化物質と OH ラジカルの反応速度を k_2 、抗酸化物質無添加及び濃度 $[S]$ で添加した時の DMPO-OH の生成濃度をそれぞれ $[DMPO-OH]_0$ 、 $[DMPO-OH]_t$ とすると、 $[DMPO-OH]_0/[DMPO-OH]_t = 1 + k_2[S]/k_1[DMPO]$ と表される。図 1 に $[DMPO-OH]_0/[DMPO-OH]_t$ を抗酸化物質と DMPO の濃度比に対してプロットした。図 1 の傾きから抗酸化物質の OH ラジカルとの反応速度比が得られ、パルスラジオリシス法で得られた反応速度定数の比とほぼ同様の傾向が認められた。

3. 今後の展開

水の放射線分解と組み合わせたスピントラッピング ESR 法において、パルスラジオリシス法と同等な精度で OH ラジカル消去能の評価が可能であることが分かった。今後、さらに照射系を改良し、活性酸素消去能測定が可能な試験の実施につなげていく予定である。

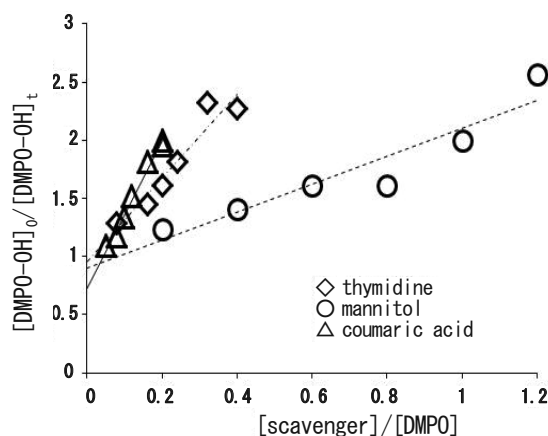


図 1. 抗酸化物質添加による DMPO-OH 生成の競争反応プロット

*1) バイオ応用技術グループ