

令和 2 年 6 月 8 日現在

機関番号：14303

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K07817

研究課題名(和文) 流通型ESR法による青果物の水溶性および脂溶性成分の活性酸素種の消去活性評価

研究課題名(英文) Development of flow-injection ESR system for evaluation of antioxidant activity of hydrophobic and hydrophilic compounds involved in vegetables

研究代表者

田嶋 邦彦 (Tajima, Kunihiko)

京都工芸繊維大学・分子化学系・教授

研究者番号：50163457

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、青果物に含まれる脂溶性物質の抗酸化活性を数値化するための計測方法と装置開発および評価法について基礎研究を行った。アゾ系ラジカル反応開始剤の熱分解反応で生成するアルコキシラジカル( $RO\cdot$ )がビタミンE誘導体および不飽和脂質との反応でROHに無毒化するラジカル消去反応活性を新規に開発した脂溶性流通型電子スピン共鳴装置(LFI-ESR)で評価した。 $RO\cdot$ ラジカルの消去活性は、抗酸化活性の基準物質であるTRXの濃度に換算したL-AREC値として数値化する解析法を開発した。本研究によって、青果物に由来する脂溶性抗酸化活性物質の活性評価が簡便かつ精度良く数値化できる方法論が確立できた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

近年、青果物に含まれる種々の機能性物質が我々の健康維持と促進に大きな役割を果たすことが広く認識され、有用物質を高濃度で含有する青果物の獲得に向けた品種改良と栽培技術の改良が多方面で研究されてきた。青果物の抗酸化活性はそれらの品質に直結する重要な機能性のひとつであるため、その活性を数値化する方法論に関する研究が継続されてきた。しかし、脂溶性物質の抗酸化活性を簡便かつ精度良く数値化する分析法の開発は立ち遅れていた。本研究では、アルコキシラジカル( $RO\cdot$ )の還元反応の効率を基準物質(TRX)濃度換算値として数値化する計測技術、装置開発および解析技術を確立することができた。

研究成果の概要(英文)：A new lipophilic spin-trapping flow-injection electron spin resonance (LFI-ESR) system was developed for quantitative detection of DMPO spin-adduct of alkoxyl radical ( $RO\cdot$ ), which was produced by thermal decomposition of an azo-initiator (AIBN) in ethyl acetate at 70 °C. The 50% inhibition dose (ID50) of tocopherol derivatives, and unsaturated fatty acids, were determined by monitoring the ESR signal intensity of the DMPO spin-adducts of  $RO\cdot$  radical (DMPO/OR). On the basis of the observed ID50 values, the lipophilic alkoxyl radical eliminating capacities (L-AREC) of these lipophilic antioxidants were determined using TRX as a standard. The L-AREC values estimated by LFI-ESR method are concluded to be a practical and reliable indicator that reflect the inhibiting abilities of lipophilic antioxidants towards the radical chain reaction involved in the autoxidation processes of unsaturated fatty acids.

研究分野：分子構造化学

キーワード：抗酸化活性 脂溶性物質 アルコキシラジカル スーパーオキシドラジカル 電子スピン共鳴

## 様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

本研究では、青果物および穀物に含まれる脂溶性抗酸化物質のアルキシルラジカル (RO $\cdot$ ) およびスーパーオキシドラジカル (O $_2^{\cdot-}$ ) 消去活性を独自に開発した流通型電子スピン共鳴装置 (FI-ESR) で系統的に評価する。高速液体クロマトグラフィーと FI-ESR 装置を融合した HPLC-ESR 法によって青果物等の主要抗酸化活性成分を分離、同定、定量する。さらに、FI-および HPLC-ESR 装置を自動化し、品種、収穫時期、地域および耕作技術が異なる青果物、穀物等の主要含有成分と抗酸化活性を基本データとして網羅的に集積する。本研究の目的は、我が国の農業界に化学、機械、情報系などの異業種企業が積極的に参入するために必要な、青果物、穀物の含有成分、抗酸化活性、耕作条件および食味などを含有するデータベース構築に向けた学術的基盤を確立することである。

### 2. 研究の目的

今日、植物に多く含まれる抗酸化活性物を積極的に摂取して、健康の維持と増進を進めようとする考え方が広く定着してきた。近年、青果物に含まれる抗酸化活性物質を分離・精製し、それらの抗酸化活性を数値化しようとする研究が精力的に行われている。たとえば、ビタミン C やポリフェノールに代表される水溶性抗酸化物質については、種々の活性評価法が提案されている。他方、ビタミン E などに代表される脂溶性抗酸化物質の活性評価法が検討されてきたが、これら多くは光吸収スペクトル測定法を採用しているため、着色性物質の共存によって活性評価が困難になるなどの問題点があった。本研究では、従来法の諸問題を改善するために、電子スピン共鳴法 (ESR) を測定方法とする脂溶性抗酸化物質の活性評価法の開発を試みた。本研究では、検出感度と選択性が優れたフローインジェクション ESR スピントラッピング法 (LFI-ESR) を脂溶性抗酸化物質の活性評価に応用し、種子などに由来する植物油およびビタミン E 誘導体とアルコキシルラジカルの反応を速度論的に数値化することを研究の目的としている。

### 3. 研究の方法

脂溶性物質の抗酸化活性評価法の開発では、測定法の選択、モデルラジカルおよび測定溶媒の選定が必要である。本研究では、検出感度が優れた電子スピン共鳴法 (ESR) によるスピントラッピング測定法を採用し、モデルラジカルとしてはアゾ系のラジカル反応開始剤に由来するアルコキシルあるいはペルオキシラジカルの可能性を検討した。アゾ系物質は熱分解反応によって、ペルオキシラジカルとアルコキシルラジカルを生成するが、その生成比率は有機溶媒の極性によって著しく変化する。そこで、予備実験として多数のアゾ系ラジカル反応開始剤の熱分解反応系で生成するラジカル種の ESR スペクトルを DMPO をスピントラッピング試薬とする ESR 測定で検討した。予備実験の結果から、酢酸エチルを測定溶媒として AIBN をアゾ系ラジカル反応開始剤とすると、DMPO のアルコキシルラジカル捕捉体 (DMPO/OR) の ESR 信号のみ観測された。次に、ESR 測定装置の感度と再現性を向上するために、AIBN の熱分解反応と DMPO によるスピントラッピング反応を流路内で実現できる経路を開発した。流通系内における AIBN の熱分解反応は、HPLC 分析に使用されるカラムオープンによって、反応温度を 70°C に設定し、AIBN、DMPO および抗酸化物質を小型ミキサーで混合する LFI-ESR 装置を試作した。

脂溶性物質の抗酸化活性は、系内で生成するアルコキシルラジカルに対する DMPO と抗酸化物質が競争反応として解析した。そのために、反応系内でアルコキシルラジカルに対して DMPO が過剰量存在するように反応温度、AIBN および DMPO の濃度などを最適化した。本研究では、トロロックス (TRX) 基準物質として、脂溶性物質の抗酸化活性を相対的に数値化した。本研究では、LFI-ESR 装置の開発および測定諸条件の最適化を行うとともに、脂溶性物質の抗酸化活性を TRX との比率である LAREC (lipophilic alkoxyl radical elimination capacity) 値として評価する解析法を確立した。

### 4. 研究成果

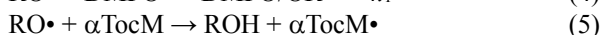
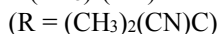
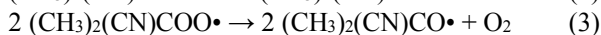
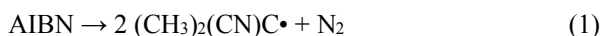
#### (1) 脂溶性抗酸化物質の活性評価に特化した LFI-ESR 装置の開発

ビタミン E に代表される脂溶性抗酸化物質は、不飽和脂肪酸に由来する過酸化ラジカルが誘発するラジカル反応の連鎖を停止する抗酸化反応において中心的な役割を果たしている。過酸化脂質ラジカルは短寿命な化学種であるため、反応速度論的な研究対象とすることは困難である。そのため、脂溶性抗酸化物質と過酸化脂質ラジカルの反応を速度論的に研究することは技術的な難易度が高い。そのため、過酸化ラジカルに分子構造と反応性が近いアルコキシルラジカル (RO $\cdot$ ) あるいはフェノキシルラジカル (ArO $\cdot$ ) などをモデルラジカルとすることで、抗酸化反応の詳細が速度論および分光学的に研究されてきた。たとえば、単離精製と定量的な取り扱いが可能な安定 ArO $\cdot$  を酸化剤として、ビタミン E 誘導体などの 2 次反応速度定数 ( $A^{\cdot}k_2$ ) は、ストップフロー分光法を駆使した向井らによって系統的に研究されてきた。<sup>1)</sup> 本研究では、アゾ系開始剤 (RN=NR) の熱分解反応を経由して生成するアルコキシルラジカル (RO $\cdot$ ) を測定対象とする脂溶性抗酸化物質の活性評価法として、スピントラッピング反応と流通型 ESR 装置を組合せた LFI-ESR 測定装置 (Lipophilic Flow-Injection ESR) による新規評価法 (LAREC; Lipophilic Alkoxyl Radical Elimination Capacity) を開発した。

#### (2) アゾ系開始剤 (RN=NR) の分解機構とスピントラッピング ESR 測定法

アゾ系化合物は熱分解反応を経て窒素分子と炭素中心ラジカルに分解する (1)。<sup>2)</sup> この炭素中心ラジカル (R $\cdot$ ) は素早く溶存酸素と反応して過酸化ラジカル (ROO $\cdot$ ) を生成する (2)。さらに、過酸化ラジカルは 2 量化反応と酸素分子の脱離反応を経由してアルコキシルラジカル (RO $\cdot$ )

に変化する。一連の分解反応において R・から RO・に至る反応速度は溶媒の極性と置換基の構造によって著しく変化することが知られている。置換基が異なるアゾ系化合物とスピントラッピング試薬 DMP0 を種々の有機溶媒中で混合・加熱 (60°C 以上、3 分間) して生成するスピニアダクト (4) の ESR を記録した。その結果、酢酸エチルを溶媒としてアゾビスイソブチルニトリル (AIBN) を使用した場合に限って、DMP0 の RO・付加体 (DMP0/OR) の ESR が優先的に観測された。そこで、脂溶性抗酸化物質の活性を評価する LFI-ESR 測定系ではアゾ系ラジカル反応開始剤として AIBN を、溶媒には無水酢酸エチルを使用した。



### (3) LFI-ESR の構成および DMP0/OR ラジカルの ESR

フローインジェクション ESR 法は、反応溶液の流路内でラジカル種の生成、スピントラッピング反応およびスピニアダクトの ESR 検出を実現する流通系 ESR 測定法である。今回開発した LFI-ESR 装置では、AIBN の熱分解反応で RO・ラジカルを定常的に生成する流通系に構築し、その流路に DMP0 と抗酸化活性物質を含む試料溶液を注入する。図 1 に示した LFI-ESR 装置の概観にあるように、AIBN の熱分解反応には HPLC 分析用のカラムオープンを使用し、70°C に加温したミキサーにて AIBN の酢酸エチル溶液とインジェクションバルブから注入された試料溶液を混合する。AIBN の熱分解反応を停止するために、混合溶液はミキサー下流の氷浴 (0°C) を経由してフロー ESR セルに到達する。流路に注入した DMP0 溶液 (30 mM) が ESR セルに到達した時点で送液を停止して ESR を記録すると、6 本線の微細分裂を有する信号 ( $g = 2.0058$ ,  $a^N = 1.285$ ,  $a^H = 0.820$  mT) が観測された (図 1-b)。得られた ESR パラメーターから、このラジカル種は DMP0 の 2 位炭素原子に RO・ラジカルが付加した DMP0/OR スピニアダクトとして帰属できた。<sup>3)</sup>

次に、DMP0/OR の低磁場側のピーク位置に ESR 外部磁場を固定し、インジェクションバルブから DMP0 の酢酸エチル溶液を連続的に注入すると、DMP0/OR の ESR 信号強度が濃度依存的に増加する傾向が観測され、その濃度は DMP0 初濃度が 30 mM 以上では飽和した (図 1-c)。以上の結果から、DMP0 の初濃度を 30 mM 以上に設定して LFI-ESR 測定を実施することとした。

### (4) LFI-ESR 法による脂溶性物質の活性評価

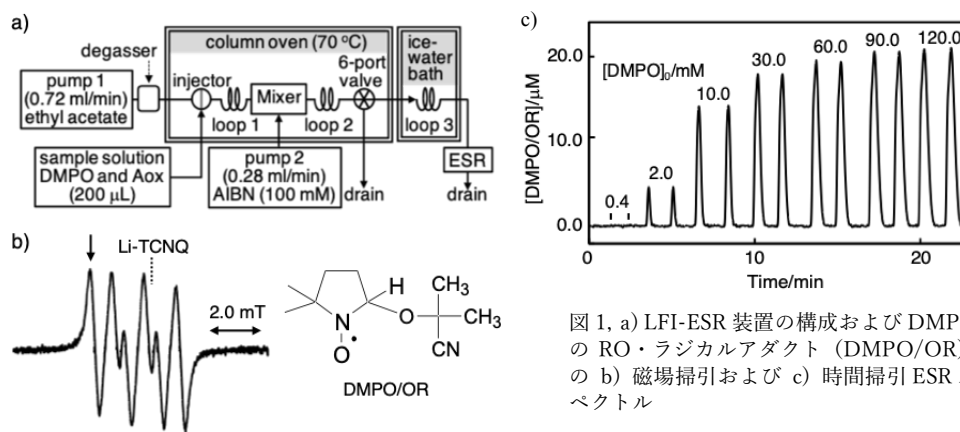


図 1, a) LFI-ESR 装置の構成および DMP0 の RO・ラジカルアダクト (DMP0/OR) の b) 磁場掃引および c) 時間掃引 ESR スペクトル

図 2-a に示すように、DMP0 の酢酸エチル溶液 (30.0 mM、コントロール溶液) を注入すると 19.2  $\mu\text{M}$  (ピークの濃度) の DMP0/OR が生成し、上に凸の線系を有する LFI-ESR 信号が得られる。次に、DMP0 と  $\alpha\text{TocM}$  の混合溶液を流路系に注入すると  $\alpha\text{TocM}$  の濃度に依存して DMP0/OR の濃度が減少する。これは、系内で生成する RO・に対して DMP0 と  $\alpha\text{TocM}$  が競争的に反応した結果であり、DMP0/OR の濃度がコントロール溶液の 50% に減少する  $\alpha\text{TocM}$  の濃度が TRX の ID<sub>50</sub> である。コントロール溶液の DMP0/OR の濃度を基準にとり、 $\alpha\text{TocM}$  の共存下で得られた DMP0/OR 濃度の比率を消去率  $Y$  (%) として  $\alpha\text{TocM}$  の濃度の対数値とプロットすると、抗酸化プロットが得られる (図 2-b)。非線形最小自乗法で抗酸化プロットを式 8 にしたがってカーブフィッティングすることで  $\alpha\text{TocM}$  の ID<sub>50</sub> 値を 5.60 mM と評価した。さらに、DMP0 の初濃度を 60 mM および 90 mM に変えて同様の LFI-ESR 測定を続けると、DMP0 の初濃度の増加に伴って、抗酸化プロットは右方向にシフトし、ID<sub>50</sub> 値が DMP0 濃度に依存して変化する ST-ESR に特徴的な現象が認められた。<sup>4)</sup> DMP0 初濃度と ID<sub>50</sub> 値をプロットすると原点を通過する直線関係が得られ、その傾き ( $\gamma_{50} = 5.36$ ) から RO・と  $\alpha\text{TocM}$  の 2 次反応速度定数 ( $k_5$ 、式 5) は式 7 で求めることができる。ここで、 $k_1$  は酢酸エチル中における RO・と DMP0 の 2 次反応速度定数である。同様の LFI-ESR 測定と  $\gamma_{50}$  値の解析を図 3 に示したトコフェロール誘導體 (5 種類)、トコフェロールモデル分子 (5 種類)、基準物質

(TRX) および合成抗酸化物質 (BHT) および不飽和脂肪酸 (3 種類) について実施した。12 種類のフェノール誘導体の LFI-ESR 測定結果を表 1 にまとめた。また、3 種類の不飽和脂肪酸の測定結果を表 2 に示した。

$$Y(\%) = 100 \times 1 / (1 + [Aox]_0 / ID_{50}) \quad (6)$$

$$k_{RO\cdot} = k_1 ([DMPO]_0 / ID_{50}) = k_1 \gamma_{50} \quad (7)$$

### (5) TRX を基準物質とする LAREC 値の算出方法

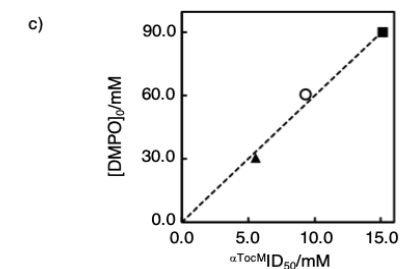
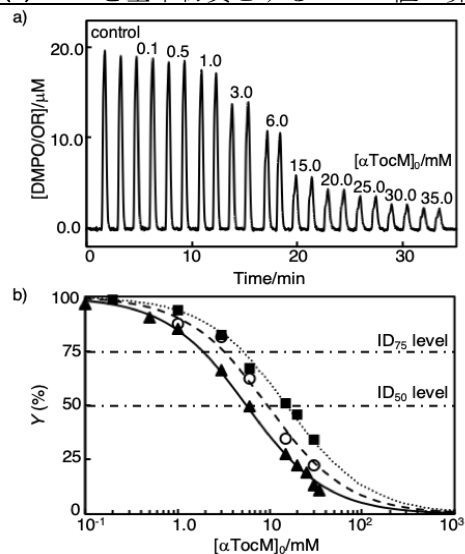


図 2, a) DMPO(30 mM) と  $\alpha$ TocM の混合溶液を LFI-ESR 装置に注入して得られた DMPO/OR ラジカルの濃度変化, b) DMPO/OR ラジカルの減衰率 (Y%) の  $\alpha$ TocM 濃度依存性 ( $\blacktriangle$ ,  $[DMPO]_0=30$  mM,  $\circ$ ,  $[DMPO]_0=60$  mM,  $\blacksquare$ ,  $[DMPO]_0=90$  mM) および抗酸化曲線の計算値, c)  $ID_{50}$  と  $[DMPO]_0$  のプロット、直線の傾きが  $\alpha$ TocM の  $\gamma_{50}$  値に相当する。

酢酸エチル中における  $RO\cdot$  と DMPD の 2 次反応速度定数 ( $k_1$ ) が既知であれば、式 7 から抗酸化活性物質の  $k_s$  を直接評価できる。しかし、 $k_1$  値の実験的な評価は困難であるため、これまでに報告例はない。そこで、TRX を基準物質として、TRX の  $\gamma_{50}$  あるいは  $ID_{50}$  値 ( $^{TRX}\gamma_{50}$ ) と抗酸化物質の比率 (LAREC 値) として脂溶性物質の  $RO\cdot$  消去活性を評価した (式 8)。表 1 にまとめたように、天然の  $\alpha$ -Toc 誘導体の LAREC 値は、メチル基の置換数の低下につれて低下する傾向を有している。同様の傾向はモデル分子である  $\alpha$ -TocM 誘導体にも認められた。合成抗酸化物質である BHT の LAREC 値は  $\alpha$ -Toc に比べて約 2 桁小さいことが明らかになった。向井らは一連のフェノール誘導体のアロキシルラジカル ( $ArO\cdot$ ) の 2 次反応速度定数 ( $k_{ArO\cdot}$ ) をストップフロー分光法によって評価している。そこで、TRX の  $^{TRX}k_s$  値を基準としてフェノール誘導体の  $k_{ArO\cdot}$  値との比率をと LAREC 値とプロットすると、傾きが 1 の原点を通過する直線関係が認められた (図 4-a)。これは、 $RO\cdot$  と  $ArO\cdot$  とフェノール誘導体の抗酸化反応機構が良好に相関していることを意味している。したがって、LFI-ESR 法では  $k_s$  値の実験値を評価できなかったが、TRX と基準として求めた LAREC 値は脂溶性物質のラジカル消去反応活性の指標として有効である。同様に、脂溶性の抗酸化活性評価法である L-ORAC 法によるフェノール誘導体の活性 (L-ORAC 値) と LAREC 値をプロットすると、両者に全く相関性が存在しないことが明らかになった (図 4-b)。

$$L\text{-AREC} = k_{RO\cdot} / ^{TRX}k_{RO\cdot} = \gamma_{50} / ^{TRX}\gamma_{50} = ^{TRX}ID_{50} / ID_{50} \quad (8)$$

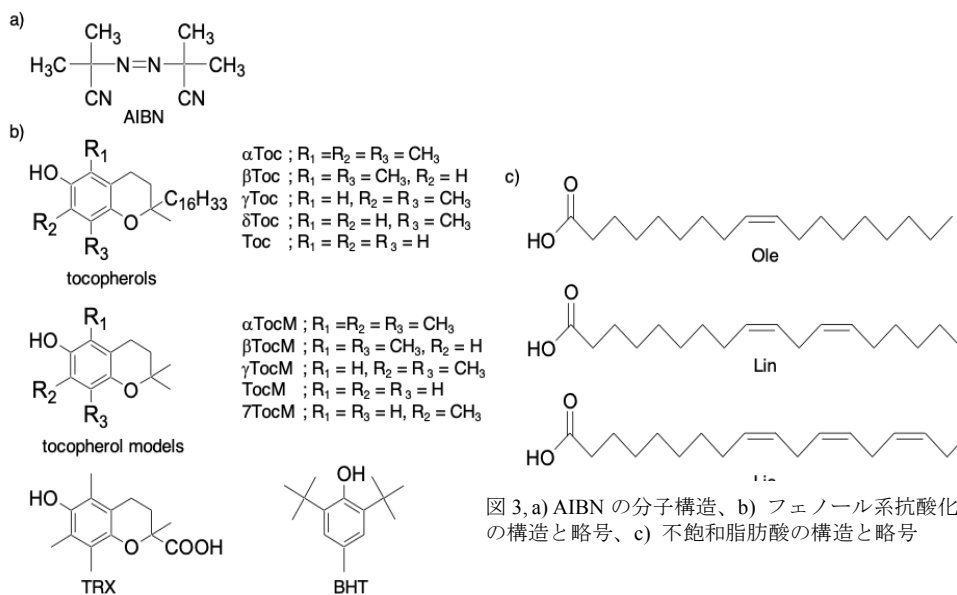


図 3, a) AIBN の分子構造, b) フェノール系抗酸化物質の構造と略号, c) 不飽和脂肪酸の構造と略号

図 1, ID<sub>50</sub>,  $\gamma_{50}$ , L-AREC values of phenolic antioxidants determined by LFI-ESR method, and relating second order rate constants ( $k_{ArO\cdot}$ ), oxidation peak potentials ( $E_p$ ), and L-ORAC values.

sample	ID <sub>50</sub> <sup>a</sup> (mM)	$\gamma_{50}$ <sup>b</sup>	L-AREC <sup>c</sup> ( <sup>TRX</sup> ID <sub>50</sub> /ID <sub>50</sub> )	L-AREC <sup>d</sup> ( $\gamma_{50}$ / <sup>TRX</sup> $\gamma_{50}$ )	$E_p$ <sup>e</sup> mV (Ag/Ag <sup>+</sup> )	$k_{ArO\cdot}$ <sup>f</sup> (M <sup>-1</sup> s <sup>-1</sup> )	$k_{ArO\cdot}$ <sup>j</sup> <sup>TRX</sup> $k_{ArO\cdot}$	L-ORAC
TRX	15.8	1.90	1.0	1.0	563	$2.2 \times 10^3$ <sup>g</sup>	1.0	1.0
$\alpha$ Toc	5.40	5.56	2.9	2.9	451	$5.1 \times 10^3$ <sup>h</sup>	2.3	0.5
$\beta$ Toc	24.0	1.48	0.7	0.8	540	$2.2 \times 10^3$ <sup>h</sup>	1.0	----
$\gamma$ Toc	16.2	1.25	1.0	0.7	560	$2.4 \times 10^3$ <sup>h</sup>	1.1	0.7
$\delta$ Toc	82.3	$3.60 \times 10^{-1}$	$1.9 \times 10^{-1}$	$1.9 \times 10^{-1}$	624	$1.0 \times 10^3$ <sup>h</sup>	$4.5 \times 10^{-1}$	1.4
Toc	125	$2.90 \times 10^{-1}$	$1.3 \times 10^{-1}$	$1.5 \times 10^{-1}$	688	$5.6 \times 10^2$ <sup>h</sup>	$2.5 \times 10^{-1}$	----
$\alpha$ TocM	5.60	5.36	2.8	2.8	457	$4.2 \times 10^3$ <sup>i</sup>	1.9	1.0
$\beta$ TocM	21.7	1.41	0.7	0.7	537	$2.2 \times 10^3$ <sup>i</sup>	1.0	----
$\gamma$ TocM	13.9	2.16	1.1	1.1	575	$2.1 \times 10^3$ <sup>i</sup>	$9.5 \times 10^{-1}$	----
TocM	$1.34 \times 10^2$	$2.24 \times 10^{-1}$	$1.2 \times 10^{-1}$	$1.2 \times 10^{-1}$	669	$4.1 \times 10^2$ <sup>i</sup>	$1.9 \times 10^{-1}$	----
7TocM	34.9	$8.60 \times 10^{-1}$	$4.5 \times 10^{-1}$	$4.5 \times 10^{-1}$	609	----	----	----
BHT	$6.25 \times 10^2$	$4.80 \times 10^{-2}$	$2.5 \times 10^{-2}$	$2.5 \times 10^{-2}$	837	$3.5 \times 10^i$	$1.6 \times 10^{-2}$	0.2

a) 50% inhibition value determined by LFI-ESR method ([DMPO]<sub>0</sub> = 30.0 mM), b) ratio of ID<sub>50</sub> and [DMPO]<sub>0</sub> determined as the slope of the plot of both values (Figure 4-c), c) L-AREC values estimated by ratio of ID<sub>50</sub> of antioxidants and TRX (<sup>TRX</sup>ID<sub>50</sub>) determined by LFI-ESR methods ([DMPO]<sub>0</sub> = 30.0 mM) (Equation 9-b), d) L-AREC values estimated by ratio of  $\gamma_{50}$  of antioxidants and TRX (<sup>TRX</sup> $\gamma_{50}$ ) (Equation 9-a), e) The peak oxidation potential recorded by CV method in acetonitrile, f) second order rate constants defined for radical reaction between ArO $\cdot$  and phenolic antioxidants in ethanol (Equation 1), g) ref. 4a), h) ref. 4b), i) ref. 4c), and j) the ratio of  $k_{ArO\cdot}$  values of antioxidants and TRX (<sup>TRX</sup> $k_{ArO\cdot}$ ).

#### (6) 不飽和脂肪酸の LAREC 値

不飽和脂肪酸の RO $\cdot$  消去活性はフェノール誘導体 (図 1) に比べて少なくとも 2 桁低いため、LFI-ESR 法によって ID<sub>75</sub> 値を評価した (図 2)。不飽和脂肪酸の LAREC 値は 2 重結合の置換数に相関して増加する傾向が顕著であり、シス型 2 重結合を 3 個有するリノレン酸 (Lic) の LAREC 値が最大であった。この結果は、不飽和脂肪酸と RO $\cdot$  の反応ではシス型 2 重結合に隣接するメチレン水素の引き抜きが重要であることを示唆している。

本研究では、新規開発した LFI-ESR 法によって、酢酸エチルを溶媒として AIBN の熱分解で精製する RO $\cdot$  ラジカルと脂溶性抗酸化物質の反応を速度論的に解析し、TRX を基準物質とする LAREC 値として数値化する方法論を確立した。この手法は、植物由来の使用性抗酸化物質の活性を数値化する簡便かつ正確な評価法として重要である。本法と HPLC 分析技術の融合を目指した研究を進めることで、将来的には植物に由来する脂溶性抗酸化物質の探索と機能評価をポストカラム-オンライン分析などの開発が実現すると期待される。

#### < 参考論文 >

1. a) K. Mukai, A. Tokunaga, S. Itoh, Y. Kanesaki, K. Ohara, S. Nagaoka, and K. Abe, *J. Phys. Chem. B*, **2007**, *111*, 652; b) S. Mitani, A. Ouchi, E. Watanabe, Y. Kanesaki, S. Nagaoka, and K. Mukai, *J. Agric. Food Chem.*, **2008**, *56*, 4406.
2. A. G. Kraiev, and D. J. Bigelow, *J. Chem. Soc. Perkin Trans 2*, **1996**, 747.
3. G. R. Buettner, *Free Radic. Biol. Med.*, **1987**, *3*, 259.
4. a) A. Nakajima, T. Yamashita, T. Yamaguchi, K. Kawai, Y. Miyake, K. Kanaori, and K. Tajima, *Chem. Lett.*, **2015**, *44*, 752; b) A. Nakajima, T. Yamaguchi, G. Hattori, Y. Sakurai, M. Kawamura, K. Kawai, Y. Miyake, K. Kanaori, and K. Tajima, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **2017**, *90*, 223; c) Y. Sakurai, S. Yamaguchi, N. Yamamoto, T. Yamashita, Y. Lu, K. Kuwabara, T. Yamaguchi, Y. Miyake, K. Kanaori, and K. Tajima, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **2020**, Vol. 93, 730-744.
5. a) K. Mukai, S. Yokoyama, K. Fukuda, and Y. Uemoto, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **1987**, *60*, 2163; b) K. Mukai, Y. Kageyama, T. Ishida, and K. Fukuda, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **1986**, *59*, 3113; c) K. Mukai, K. Daifuku, K. Okabe, T. Tanigaki, and K. Inoue, *J. Org. Chem.*, **1991**, *56*, 4188.

図 2, ID<sub>75</sub>, and L-AREC values of selected unsaturated fatty acids, and relating second order rate constants ( $k_{BO\cdot}$ ).

sample	ID <sub>75</sub> <sup>a</sup> (mM)	L-AREC <sup>b</sup>	$k_{BO\cdot}$ <sup>c</sup> (M <sup>-1</sup> s <sup>-1</sup> )	$k_{BO\cdot}$ <sup>d</sup> <sup>TRX</sup> $k_{BO\cdot}$
Pal	n. d.	----	----	----
Ole	1454	$3.6 \times 10^{-3}$	$6.8 \times 10^7$	$6.2 \times 10^{-2}$
Lin	746	$7.1 \times 10^{-3}$	$1.3 \times 10^8$	$1.2 \times 10^{-1}$
Lic	351	$1.5 \times 10^{-2}$	$1.6 \times 10^8$	$1.5 \times 10^{-1}$
TRX	5.3	1.0	$1.1 \times 10^9$	1.0

a) 75% inhibition value determined by LFI-ESR method ([DMPO]<sub>0</sub> = 30 mM), b) L-AREC values estimated by ratio of ID<sub>75</sub> of antioxidants and TRX (<sup>TRX</sup>ID<sub>75</sub>), c) second order rate constants ( $k_{BO\cdot}$ ) defined for radical reaction between BO $\cdot$  and antioxidants in aqueous media at pH 6.1 M. E.-Russ, C. Mitchel, W. Bors, and M. Saran, *J. Phys. Chem.*, **1987**, *91*, 2362; d) the ratio of  $k_{BO\cdot}$  values of antioxidants and TRX (<sup>TRX</sup> $k_{BO\cdot}$ ).

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 8件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Keiko Kuwabara, Yasuhiro Sakurai, Hodaka Sanuki, Chie Morimoto, Yong Li, Yusuke Miyake, Kenji Kanaori, Kunihiko Tajima	4. 巻 49
2. 論文標題 Application of a Stopped-Flow EPR Method for the Detection of Short-Lived Flavonoid Semiquinone Radicals Produced by Oxidation Using 15N-Labeled Nitrosodisulfonate Radical (Fremy's Salt)	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Applied Magnetic Resonance	6. 最初と最後の頁 911-924
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00723-018-1012-3	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 該当する
1. 著者名 Yasuhiro Sakurai, Tomoko Yamaguchi, Kai Ando, Keiko Kuwabara, Hiroki, Nakajima, Chie Morimoto, 2 Shinichi Yoshikawa, Masumi Niwa, Yusuke Miyake, Kenji Kanaori, Akira Nakajima, Kunihiko Tajima	4. 巻 印刷中
2. 論文標題 Development of a Flow-injection ESR system for Evaluating the Lipophilic Alkoxy Radical Eliminating Capacities (L-AREC) of Tocopherol Analogues and Unsaturated Fatty Acids	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Bulletin of Chemical Society Japan	6. 最初と最後の頁 印刷中
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1246/bcsj.20190059	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Kazuma Matsui, Yuko Nishihara, Tomoko, Yamaguchi, Yasuhiro Sakurai, Yusuke Miyake, Tohru Ikegami, Kenji Kanaori, and Kunihiko Tajima	4. 巻 90
2. 論文標題 Rapid flow-and spin-trapping ESR study on carbonyl-conjugated radicals of modified poly(vinyl alcohol) bearing 1,2-propanediol pendant moiety as intermediates of graft polymerization	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Bulletin of Chemical Society Japan	6. 最初と最後の頁 1293-1308
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1246/bcsj.20170235	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Y. Sakurai, T. Yamaguchi, K. Ando, K. Kuwabara, H. Nakajima, C. Morimoto, S. Yoshikawa, M. Niwa, Y. Miyake, K. Kanaori, A. Nakajima, and K. Tajima,	4. 巻 92
2. 論文標題 Development of a Flow-Injection ESR System for Evaluating the Lipophilic Alkoxy Radical Eliminating Capacities (L-AREC) of Tocopherol Analogues and Unsaturated Fatty Acids	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Bulletin of Chemical Society Japan	6. 最初と最後の頁 1218 - 1225
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1246/bcsj.20190059	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 S. Watanabe, F. Fukumori, H. Nishiwaki, K. Tajima, Y. Watanabe,	4. 巻 9
2. 論文標題 Novel non-phosphorylative pathway of pentose metabolism from bacteria	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 155
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-018-36774-6	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 M. Shimizu, T. Kinoshita, R. Shigitani, Y. Miyake, K. Tajima,	4. 巻 2
2. 論文標題 Use of silyl-methoxy groups as inducers of efficient room temperature phosphorescence from precious-metal-free organic luminophores,	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 M. Shimizu, T. Kinoshita, R. Shigitani, Y. Miyake, K. Tajima,	6. 最初と最後の頁 347-354
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/C7QM00524E	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Y. Sakurai, S. Yamaguchi, N. Yamamoto, T. Yamashita, Y. Lu, K. Kuwabara, T. Yamaguchi, Y. Miyake, K. Kanaori, and K. Tajima	4. 巻 93
2. 論文標題 Development of Flow-Injection Spin-Trapping ESR Methods for Kinetic Study of the O <sub>2</sub> -• Radical Scavenging Reaction with Mixtures of Phenolic Antioxidants,	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Bulletin of Chemical Society Japan	6. 最初と最後の頁 730-744
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1246/bcsj.20200046	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 K. Kuwabara, R. Nakano, Y. Sakurai, T. Yamaguchi, Y. Miyake, K. Kanaori, and K. Tajima	4. 巻 49
2. 論文標題 Stopped-flow-optical Absorption and -electron Spin Resonance Studies on Short-lived Quercetin Semiquinone Radical Produced by Redox Reactions with O <sub>2</sub> - • Radical in DMSO,	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Chem. Lett.	6. 最初と最後の頁 260-263
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1246/cl.190898	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計8件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 田嶋邦彦
2. 発表標題 HPLC-ESR装置による青果物水溶性成分の抗酸化活性オンライン分析
3. 学会等名 第65回日本分析化学会 (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 山口智子, 櫻井康博, 中島 暉, 三宅祐輔, 丹羽真清, 金折賢二, 田嶋邦彦
2. 発表標題 LFI-ESR 法による非水溶媒中における食品関連脂溶性成分のアルコキシルラジカル消去活性評価
3. 学会等名 第65回日本食品科学工学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 田嶋邦彦, 吉田啓佑, 桑原慶子, 櫻井康博, 三宅祐輔, 金折賢二
2. 発表標題 非水溶媒系における O <sub>2</sub> -• とトコフェロールの反応中間体ラジカルの検出
3. 学会等名 日本食品科学工学会
4. 発表年 2018年



1. 発表者名 増水章季 1, 田嶋邦彦 2, 櫻井康博 2, 丹羽真清
2. 発表標題 自動化 ESR の開発と活性酸素測定法の確立
3. 学会等名 第65回日本食品科学工学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 山口智子, 中島 暉, 櫻井康博, 三宅祐輔, 金折賢二, 丹羽真清, 田嶋邦彦
2. 発表標題 流通型 ESR 法による有機溶媒中におけるアルコキシラジカル消去活性評価法の開発(LFI-ESR 法)
3. 学会等名 第64回日本食品科学工学会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 山口智子, 田嶋邦彦, 櫻井康博, 三宅祐輔, 金折賢二, 丹羽真清, 中島 暉
2. 発表標題 LFI-ESR 法で評価した脂溶性生体関連物質とアルコキシラジカルの反応機構と抗酸化活性
3. 学会等名 第64回日本食品科学工学会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 櫻井康博, 山口智子, 中島 暉, 吉川真一, 三宅祐輔, 金折賢二, 田嶋邦彦
2. 発表標題 LFI-ESR 法による脂溶性物質とアルコキシラジカルの反応機構解析
3. 学会等名 第66回日本食品科学工学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 田嶋邦彦 , 櫻井康博 , 盧 瑶 , 三宅祐輔 , 金折賢二
2. 発表標題 カテキン誘導体のスーパーオキシラジカル消去活性と反応機構
3. 学会等名 第66回日本食品科学工学会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考