

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 26 日現在

機関番号：14303

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26450158

研究課題名(和文) HPLC-ESR法による農作物のスーパーオキシドラジカル消去活性物質の精密解析

研究課題名(英文) Flow-injection ESR study for superoxide radical scavenging activity of antioxidants of 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) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では青果物の水溶性成分に含まれる活性酸素種(ROS)の消去活性物質の探索と活性評価を、迅速かつ系統的に実施することを念頭に置いて、流通型ESR測定装置(FI-ESR)の開発、計測・解析方法の開発、基礎研究及び実際の成果物を対象とする応用研究を目指して、流通型ESR装置の開発、測定・解析法の確立、基本的な抗酸化活性物質の反応機構解析および実際の青果物の抗酸化活性評価について研究を進めてきた。まず、装置開発ではスーパーオキシドラジカル(SOR)およびアルコキシルラジカル(RO \cdot)を測定対象とする新規FI-ESR装置の開発とHPLC分析装置と融合した(HPLC-ESR)装置を開発した。

研究成果の概要(英文)：A new flow-injection ESR (FI-ESR) systems special for quantitative spin-trapping ESR detection of alkoxy (RO) radicals were developed to evaluate the alkoxy radical elimination capacity (AREC) of plants derived potent antioxidants. The AREC system was able to observe the DMPO (5,5-dimethyl-1-pyrroline N-oxide) spin adducts of the alkoxy radical produced by thermal decomposition of AAPH (2,2'-azobis(2,4-amidinopropane) dihydrochloride) using the flow-injection ESR (FI-ESR) method. The AREC value of plants derived phenolic compounds, such as caffeic acid, catechine, and rutine, were determined by using Trolox (6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethyl-chroman-2-carboxylic acid, TRX) as a standard sample. The newly defined AREC value is applicable for various biosubstances, and is far more excellent and reliable indicator than the oxygen radical absorption capacity (ORAC) value determined by the well-known ORAC-fluorescein assay methods.

研究分野：ラジカル反応機構解析

キーワード：スーパーオキシドラジカル アルコキシルラジカル 抗酸化活性 青果物 流通型ESR装置

1. 研究開始当初の背景

我国の優れた農作物の品質と機能性を科学的に証明し、農作物の高付加価値化と海外の農作物との差別化を図ろうとする機運が高まりを見せている。その背景には、国産農作物の輸出を促進することで我国の農業を活性化しようとする政府の方針がある。今日の国内市場において流布している農作物の品質に関連するキーワードでは農作物の機能性に関連するものが多い。たとえば、抗メタボ活性として総称される脂肪代謝、糖代謝、免疫賦活化、抗炎症および抗酸化活性などがある。これらの機能性は農作物を食することで期待できる健康維持と健康を改善する効果として理解されている。農作物の機能性の多くは生物学的な実験系で評価されるために活性の数値化は困難であるが、唯一、抗酸化活性は物理化学的な計測による数値化が可能である。このような状況を鑑み、本研究では青果物全般を測定対象とする物理化学的手法に基づく品質・機能性および食味の評価法の確立を目指す。

2. 研究の目的

本研究では、生物化学的な手法に依らない青果物・穀物の品質と機能性評価の確立を目指して、主に抗酸化活性を評価対象とする物理化学的な計測方法を研究開発する。第一の目的として、生体系で普遍的に生産される活性酸素種 (ROS) であるスーパーオキシドラジカル ($O_2^{\cdot-}$) の消去活性評価法を研究する。特に、青果物に含まれる抗酸化物質の分離と活性評価をオンライン化するために HPLC 分析装置と ESR スピントラッピング法を組み合わせた HPLC-ESR の開発と応用研究を推進する。第二の研究目的は、近年、抗酸化活性評価法としての実用性と信頼性が疑問視されている ORAC 法 (oxygen radical absorption capacity) に代わる新規抗酸化活性評価法の開発研究である。具体的には、アルコキシルラジカル ($RO\cdot$) を測定対象とするスピントラッピング ESR 装置の開発と基礎・応用研究である。

3. 研究の方法

本研究における基盤となる研究手法は、スピントラッピング ESR 法による $O_2^{\cdot-}$ および $RO\cdot$ ラジカルの定量的な検出に特化した流通型 ESR 計測法である。スピントラッピング ESR 法は、極短寿命な $O_2^{\cdot-}$ および $RO\cdot$ をニトロソあるいはニトロ基を有するスピントラッピング試薬との反応で生成する準安定なニトロキシドラジカルを定量的に検出する手法である。流通型 ESR 装置は、 $O_2^{\cdot-}$ あるいは $RO\cdot$ を一定条件で生成する反応系と、それらをスピントラッピング ESR 検出する装置を流路内に有する ESR 装置である。この装置は申請者が独自に開発した独創性の高い ESR 装置である。本研究で開発研究を行う HPLC-ESR 装置は、HPLC 装置のカラムの下

流に $O_2^{\cdot-}$ 生成系とスピントラッピング ESR の検出系を接続した構造を有している。他方、 $RO\cdot$ 消去活性評価装置は、流路系にアゾ系ラジカル反応開始剤から定量的に $RO\cdot$ を生成する機能を付与したフローインジェクション ESR (FI-ESR) 装置である。本研究では、流通型 ESR 装置を基盤として、青果物の機能性・品質を物理化学的に評価する方法論と解析法について研究開発を行う。

4. 研究成果

1) 青果物の水溶性成分に含まれる $O_2^{\cdot-}$ 消去活性物質の HPLC-ESR 測定と解析

青果物の水溶性成分にはタンパク質、酵素、脂質、糖などの高分子量成分の他にアスコルビン酸など低分子量有機物が多数含まれている。これまでは、青果物の水溶性成分の $O_2^{\cdot-}$ 消去活性が従来型のスピントラッピング ESR 測定法によって評価されてきた。一般的に $O_2^{\cdot-}$ の消去反応は電子移動過程を伴う酸化還元反応であるため、 $O_2^{\cdot-}$ 消去活性を有する物質は比較的少ない。たとえば、 $Cu(II)$ あるいは $Fe(III)$ イオンは酸化還元反応で $O_2^{\cdot-}$ を素早く消去し、その 2 次反応速度定数は 10^8 ($M^{-1}s^{-1}$) に達する。他方、 $O_2^{\cdot-}$ を最も素早く消去する有機物質としてケルセチンが知られているが、その反応速度は 10^5 ($M^{-1}s^{-1}$) であり、遷移金属イオンに比べ 3 桁ほど下回る。この他のタンパク質や糖類など、青果物の水溶性成分に大量に含まれる有機物質は $O_2^{\cdot-}$ 消去活性にほとんど寄与しない。すなわち、混合状態で計測した水溶性成分 $O_2^{\cdot-}$ 消去活性は、遷移金属イオンの含有量の僅かな差異 (ppm オーダー) によって顕著に変動するため、青果物の機能性あるいは品質を反映する指標を得ることは難しい。

本研究で開発する HPLC-ESR 装置は青果物の水溶性成分をゲル濾過 (GPC) カラムで分離し、カラム溶出成分の $O_2^{\cdot-}$ 消去活性を流通型 ESR 装置でオンライン計測する。GPC カラムをしようすることで、タンパク質に結合して存在する遷移金属イオンと低分子量機能性有機物と分離して $O_2^{\cdot-}$ 消去活性を評価できる。また、本研究に使用した GPC カラムはフェノール誘導体を相互作用で分離する特性を備えていることから、植物由来の低分子量ポリフェノールを選択的に分離して、それらの活性を正確に評価できる。

青果物の水溶性成分の測定試料は以下の手順で調製した。たとえば、産地、品種および収穫時期が明らかなトマトを同重量の水を加えてミキサーで粉碎し、繊維質などの不溶部分を慮別して水溶性試料を得る。この溶液を 5.0 g を凍結乾燥して粉末試料を分離した。この粉末を測定溶媒であるリン酸緩衝液 (pH 7.4) に溶解し、不溶成分を遠心分離した上澄み液を測定試料とした。HPLC-ESR クロマトグラムは、スピントラッピング試薬 (DMPO) の $O_2^{\cdot-}$ スピンアダクト (DMPO/ $O_2^{\cdot-}$)

ラジカルを測定対象とし、DMPO/O₂の時間変化曲線として記録した。すなわち、カラム溶出成分がO₂^{•-}消去活性を有すると、O₂^{•-}に対してDMPOと抗酸化物質が競争的に反応するため、DMPO/O₂ラジカルの信号強度が減少する。その信号強度の減少は、溶出成分とO₂^{•-}の2次反応速度定数と溶出する濃度に関する情報を含んでいる。

下図は、トマトの水溶性成分について観測したHPLC-ESRクロマトグラムである。横軸等溶出時間、第1縦軸は262 nmの吸光度で記録したクロマトグラムである。第2軸はDMPO/O₂の消去率であり、下に凸の線形がESRクロマトグラムに特徴的である。ここで、ESRクロマトグラムはガウス線形としてのシミュレーション(実線)が可能で、その面積強度からカラム溶出成分のO₂^{•-}消去活性を基準物質であるコーヒー酸の換算濃度([CA]eq)として解析できる。

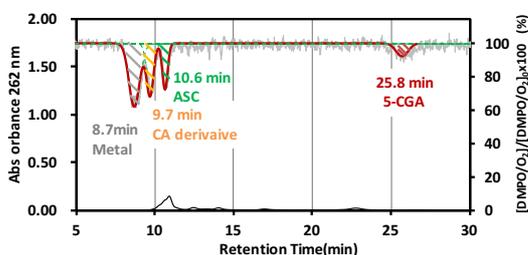


図1 トマト水溶性成分のHPLC-ESR

溶出時間に沿って、O₂^{•-}消去活性が見出されたカラム溶出成分の含有成分を述べる。まず、8.7分の強いピークの溶出成分を分取してESR測定(77K)を行うとCu(II)およびMn(II)イオンの信号が明瞭に検出されたことから、このピークは高分子量成分に配位したCu(II)およびMn(II)イオンに起因するESRクロマトグラムである。溶出時間9.7分の領域は単糖やオリゴ糖などが大量に溶出するが、分取後にNMR測定によってコーヒー酸のリンゴ酸エステルなどが含まれることが判明し、その溶出時間も9.7分も一致したことから、9.7分に溶出する主要な抗酸化活性物質はコーヒー酸のオキシ酸エステルとして推定した。さらに、10.5分に溶出する主要な抗酸化活性成分は基準物質との比較からアスコルビン酸(Asc)と帰属した。最後に、25.8分の溶出成分は分取後のNMRおよび質量分析によってクロロゲン酸誘導体(5-CGA)として結論した。このように、HPLC-ESR法では遷移金属イオンと低分子量有機物のO₂^{•-}消去活性を分離して評価できる。

ESRクロマトグラムの面積強度を評価するためにガウス線形としてESRクロマトグラムの線形を近似し、各溶出ピーク的面積強度を基準物質であるCAの換算濃度として解析し、その総和を総活性、各成分の比率を比活性として評価した。図2はトマトのHPLC-ESR測定から求めた溶出成分の比活性に基づく円グラフである。遷移金属イオンの

寄与が51%を占めること、さらに残りの約70%がコーヒー酸誘導体であることが明らかにされた。この結果は、青果物の水溶性成分においてO₂^{•-}の消去反応に寄与する物質はごく僅かな化学種に限られることを示唆している。本研究によって、青果物の水溶性成分を被検物質とするHPLC-ESR装置の最適化、ESRクロマトグラムの解析法および試料調製法が確立できた。今後は、HPLC-ESR分析法で青果物の水溶性成分に含まれるO₂^{•-}消去活性物質の探索と同定を中心に、比活性に基づく青果物の機能性評価に関する研究を進める予定である。

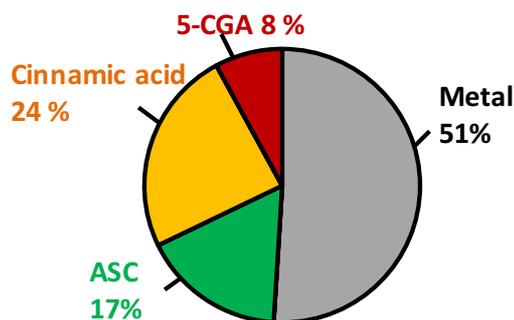


図2 トマトのO₂^{•-}消去活性物質と比活性

2) ORAC法(oxygen radical absorption capacity)に代わる新規抗酸化活性評価法(AREC法)の新規開発と有効性

1990年代に考案されたORAC法は米国農務省の推奨を受けて、食品の抗酸化活性評価法として食品業界に広く普及した。ORAC法が抗酸化活性評価法として認識されると共に、その解析値が対象物質の抗酸化活性を反映していないケースが散見されるようになり、今日では、ORAC法は抗酸化活性評価法としての信頼性と有用性を失いつつある。このような状況において、申請者はORACに代わる新規抗酸化活性評価法の開発に取り組み、流通型ESR装置を基盤とするAREC(Alkoxy radical elimination capacity)法を開発した。

AREC法はアルコキシルラジカル(RO[•])をROSのモデルラジカルとする抗酸化活性評価法である。AREC法では、水溶性のアゾ系ラジカル開始剤であるAAPH(2,2'-azobis(2,4-amidino-propane dihydrochloride)の熱分解反応によって生成するRO[•]をスピントラッピングESR法で検出する。具体的には、流通型ESR装置の流路内でAAPHの熱分解反応によるRO[•]の生成とスピントラッピングESR検出する。ORAC法とAREC法の相違点は、前者が蛍光試薬の蛍光強度の減衰から抗酸化活性を数値化したのに対して、AREC法ではRO[•]に対するDMPOと抗酸化物質の競争反応から、その抗酸化活

性を解析する。蛍光分析法に比べて、スピントラッピング ESR 法は選択性が高く、解析値に影響するような副反応の寄与が少ない。さらに、RO \cdot は反応性の高い短寿命ラジカル種であるので、先に述べた O $_2^{\cdot-}$ に比べて広範な抗酸化物質が測定対象となる利点がある。

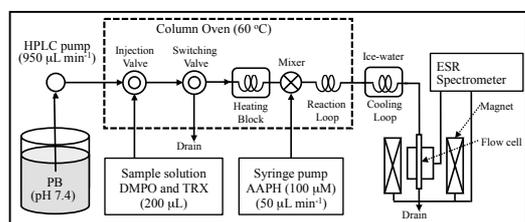


図3 AREC 法の装置構成図

図3に示すように、AREC 装置は DMPO と抗酸化物質を送液するキャリア溶液ポンプと AAPH を送液するシリンジポンプおよび恒温槽 (60°C) で構成される。混合溶液が恒温槽を経由して氷浴に到達するまでの約 20 秒間で AAPH の熱分解、RO \cdot の生成と DMPO による捕捉、さらには抗酸化物質との競争反応が進行する。DMPO 溶液をインジェクションバルブから注入し、ESR セルに到達した時点で送液を停止すると、図4に示す DMPO の RO \cdot スピンアダクト (DMPO/OR) の ESR 信号が観測できる。

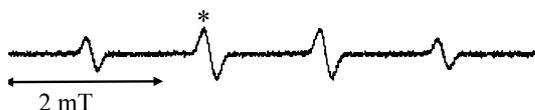


図4 DMPO/OR の ERSR 信号

次に、ESR 信号のピーク位置 (*) に外部磁場を固定して時間掃引 ESR 測定を実施すると、試料溶液の注入毎に DMPO/OR の FI-ESR 信号が得られる。次に、基準物質である水溶性ビタミン E のモデル化合物 (Trolox ; 6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid) の濃度を段階的に変えて FI-ESR 測定を行うと、図5に示すように DMPO/OR の信号強度が Trolox の濃度に依存して減少する。この減少率 (Y%) を RO \cdot 消去活性として抗酸化物質の濃度に対して片対数プロットすると典型的なシグモイド曲線を有する抗酸化曲線が得られる (図6)。

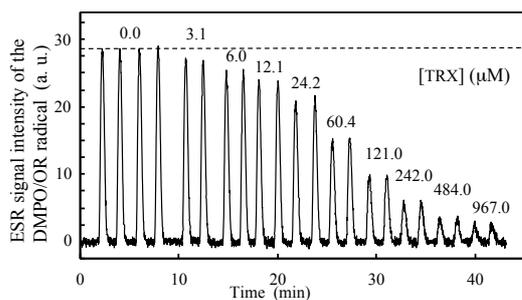


図5 DMPO/OR の FI-ESR 信号

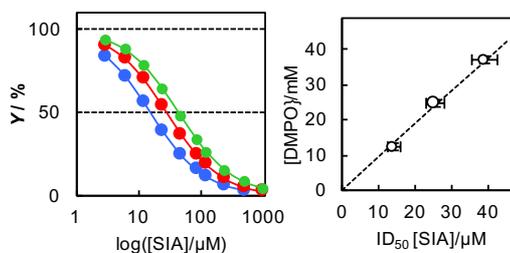


図6 抗酸化曲線および ID $_{50}$ の DMPO 濃度依存性 (左は抗酸化曲線の DMPO 濃度依存性) (右は ID $_{50}$ と DMPO 初濃度の直線関係)

抗酸化プロットを非線形最小自乗法によるシミュレーション解析によって消去率 Y が 50% に達する抗酸化物質の濃度 (ID $_{50}$) を解析した。図6はシナピン酸の抗酸化プロットとシミュレーション (実線) 結果であり、両者に良好な一致が認められる。ここで、抗酸化曲線は DMPO 濃度が上昇するにつれて右方向、すなわち ID $_{50}$ が増加する方向にシフトする。これは、抗酸化物質の ID $_{50}$ が測定条件に依存して変化するスピントラッピング ESR 測定に特徴的な現象である。ここで、抗酸化物質に特異的な ID $_{50}$ を正確に評価するために、ID $_{50}$ と DMPO 濃度をプロットすると、原点を通過する直線関係が認められた (図6)。この直線の傾き ([DMPO]/ID $_{50}$) を抗酸化物質に特有の指標として γ_{50} 値と定義した。同様の測定と解析法によって種々の生体関連抗酸化物質 (Aox) の $^{Aox}\gamma_{50}$ 値を評価した (表1)。

式1は DMPO と RO \cdot のスピントラッピング ESR 反応であり、その 2 次反応速度定数 (k_1) は評価されていない。式2は RO \cdot と Aox の抗酸化反応であり、その 2 次反応速度定数を k_s と定義する。FI-ESR の反応系では OR \cdot に対して DMPO と Aox が競争的に反応することから、 k_s と k_1 には式3の関係が成立する。ここで、式3に含まれる [DMPO]/ID $_{50}$ は $^{Aox}\gamma_{50}$ 値に相当する。本研究では、ID $_{50}$ の DMPO 濃度依存性から $^{Aox}\gamma_{50}$ 値を実験的に評価している (図6)。すなわち、 $^{Aox}\gamma_{50}$ 値は k_s と k_1 の比率 (k_s/k_1) に等しいことから、 $^{Aox}\gamma_{50}$ 値は反応速度論的に意味のある実験値として位置づけられる。表1にまとめたように、 $^{Aox}\gamma_{50}$ 値は 10^2 から 10^{-1} の広い範囲に分布することがわかる。



$$k_s = k_1 [\text{DMPO}] / ^{Aox}\text{ID}_{50} = k_1 ^{Aox}\gamma_{50} \quad \text{Eq. 3}$$

表1には、19 種類の生体関連物質の AREC および ORAC (Trolox 基準として表記) 値をまとめて示している。これらの AREC 値が Trolox を上回るのは SIA, GSH, CGA, CA 等の 4 種類であるが、ORAC 値では 10 種類が Trolox を上回る抗酸化活性有する結果が得られた。ORAC と AREC をプロットしたところ、図7に示すように、両者に相関性は認められないことが判明した。試みとして、RO \cdot と同

表1 生体関連物質の AREC、ORAC 値

sample	γ_{50} value	AREC	ORAC
TRX (1)	3.45×10^2	1	1
SIA (2)	9.29×10^2	2.69	1.69
GSH (3)	8.77×10^2	2.54	0.317
CA (4)	8.07×10^2	2.34	8.44
CGA (5)	8.00×10^2	2.32	2.29
SA (6)	2.94×10^2	0.852	0.911
FA (7)	2.83×10^2	0.82	1.88
HGA (8)	2.34×10^2	0.777	2.46
DHCA (9)	2.13×10^2	0.617	4.67
TRP (10)	1.53×10^2	0.444	2.23
CAT (11)	1.50×10^2	0.436	—
EP (12)	1.47×10^2	0.426	0.203
4HBA (13)	8.90×10^1	0.258	3.22
VA (14)	5.79×10^1	0.168	1.51
HCA (15)	5.45×10^1	0.158	3.04
RTN (16)	2.90×10^1	8.40×10^{-2}	3.84
MET (17)	1.24×10^1	3.59×10^{-2}	0.436
HIS (18)	2.03×10^0	5.88×10^{-3}	0.0399
GLU (20)	1.76×10^{-1}	5.10×10^{-3}	1.35×10^{-5}
MAN (19)	1.46×10^{-1}	4.23×10^{-4}	8.61×10^{-6}

試薬の略号は以下の通り ; Trolox (TRX), 4-hydroxybenzoic acid (4HBA), 4-hydroxycinnamic acid (*p*-coumalic acid), (*E*)-3-(4-hydroxy-phenyl)-2-propenoic acid (HCA), homogentisic acid (HGA), *trans*-ferulic acid (FA), sinapic acid (SIA), vanilic acid (VA), syringic acid (SA), caffeic acid (CA), chlorogenic acid (CGA), dehydrocaffeic acid (DHCA), epinephrine (adrenaline, (*R*)-4-(1-hydroxy-2-(methyl-amino)-ethyl)-benzene-1,2-diol) (EP), rutin (quercetin- 3-*O*-rutinoside) (RTN), L-glutathione (GSH), L-methionine (MET), L-tryptophane (TRP), L-serine (SER), L-histidine (HIS), D-mannitol (MAN), and D-glucose (GLU)

様の中性ラジカル (フェノキシルラジカル) と CA (4), CGA (5), FA (7) および HCA (15) の反応速度定数の文献値を AREC 値に対してプロットすると良好な直線関係が認められた。しかし、これら 4 種類の試料についても AREC と ORAC 値に相関関係は認められない。これらの結果は、ORAC 法と AREC 法は AAPH から生成する RO \cdot を測定対象とするにも関わらず、上記 19 種類の抗酸化活性物質の評価結果は相関しないことが示された。

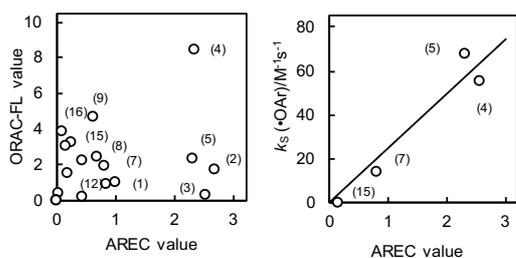


図7 (左) AREC と ORAC 値の相関性 (右) AREC とフェノキシルラジカル消去活性の相関性

前者の ORAC 法は蛍光強度の減衰曲線を解析の対象とし、後者の AREC 法はスピントラッピング ESR 法で得た抗酸化曲線を測定対象としている。図 8 に示すように、AREC が顕著に異なる CA と HIS の抗酸化曲線はいずれも典型的なシグモイド曲線を示し、両者共に式 1、2 に示した競争反応の取り扱いから $^{Aox}\gamma_{50}$ が合理的に評価されたことが支持された。他方、ORAC 法の解析対象である蛍光強度の時間変化曲線の線形は CA と HIS で顕著に異なり、CA では誘導期が認められるのに対して、HIS では反応開始から単調に蛍光強度が減衰する線形が観測された。このように顕著な線形の相違は、蛍光強度の時間変化曲線には抗酸化反応の他に蛍光試薬に特有の副反応が関与する可能性が考えられる。

以上の結果から、AREC 法は ORAC 法に比べて生体関連物質の RO \cdot 消去活性を正確に反映する新規抗酸化活性評価法として有用であることが結論できる。

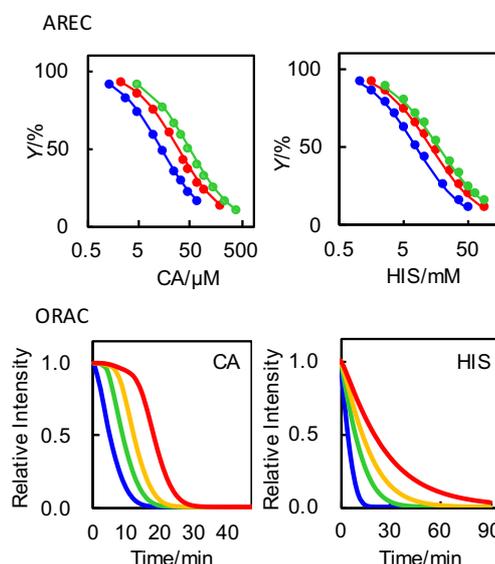


図8 CA および HIS に観測された抗酸化曲線の線形 (AREC 法) および蛍光強度変化曲線の線形 (ORAC 法)

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

- ① Y. Nishihara, K. Matsui, K. Kuwabara, N. Murata, T. Yamaguchi, Y. Miyake, T. Ikegami, K. Kanaori, and Kunihiko Tajima, Molecular Structure of Poly(vinyl alcohol)-Derived Carbon-Centered Radicals Studied by Rapid-Flow and Spin-Trapping ESR Measurements: A Short-Lived Intermediate Radical in the Initial Stage of the Graft Polymerization Reaction, Bull. Chem. Soc. Jpn. Vol. 90, (2), 2017, 244-253.
- ② A. Nakajima, T. Yamaguchi, G. Hattori, Y. Sakurai, M. Kawamura, K. Kawai, Y. Miyake, K. Kanaori, Kunihiko Tajima, Accuracy and Validity of AREC (Alkoxy

- Radical Elimination Capacity) Assay in Evaluating the Antioxidant Abilities of Various Biosubstances, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* Vol. 90 (2), 2017, 223-230.
- ③ S. Watanabe, Kunihiko Tajima, K. Matsui, Y. Watanabe, Characterization of iron-sulfur clusters in flavin-containing opine dehydrogenase, *Bioscience, Biotech. Biochem.* Vol. 80 (12), 2017, 2371-2375.
- ④ S. Watanabe, Kunihiko Tajima, S. Fujii, F. Fukumori, R. Hara, R. Fukuda, M. Miyazaki, K. Kino & Y. Watanabe, Functional characterization of aconitase X as a cis-3-hydroxy-L-proline dehydratase, *Scientific Reports*, 08 December 2016, DOI; 10.1038/srep38720.
- ⑤ A. Nakajima, Y. Sakurai, Kunihiko Tajima, Reactive oxygen species inhibitory diagrams and their usability for the evaluation of antioxidant ability, *Oxid Antioxid Med Sci.* Vol., 5 (1), 2016, 1-7.
- ⑥ M. Shimizu, R. Shigitani, M. Nakatani, K. Kuwabara, Y. Miyake, Kunihiko Tajima, H. Sakai, and T. Hasobe, Siloxy Group-Induced Highly Efficient Room Temperature Phosphorescence with Long Lifetime, *J. Phys. Chem. C*, Vol., 120 (21), 2016, 11631-11639.
- ⑦ A. Nakajima, T. Yamaguchi, T. Yamashita, K. Kawai, Y. Miyake, K. Kanaori, Kunihiko Tajima, Quantitative Spin-trapping ESR Investigation of Alkoxy Radical Derived From AAPH: Development of a Flow-injection Spin-trapping ESR System for the Oxygen Radical Absorbance Capacity Assay, *Applied Magnetic Resonance*, Vol. 46 (9), 2015, 1013-1022.
- ⑧ A. Nakajima, T. Yamashita, T. Yamaguchi, K. Kawai, Y. Miyake, K. Kanaori, and Kunihiko Tajima, Application of a Flow-injection Spin-trapping ESR Method for Evaluating the Alkoxy Radical Elimination Capacity (AREC) of Selected Antioxidants, *Chem. Lett.* Vol., 44 (5), 2015, 752-754.
- ⑨ Y. Sakurai, A. Nakajima, K. Kanaori, K. Tajima, Development of Flow-injection Spin-trapping ESR System for Estimation of Second Order Rate Constants for Reactions of a Superoxide Anion Radical and Selected Phenolic Compounds, *Chem Lett.* Vol., 43 (5), 2014, 527-529.

[雑誌論文] (計 9 件)

- ① HPLC-ESR 法による米酢および紅芋酢に含まれる $O_2^{\cdot -}$ 消去活性物質の評価、山口智子, 川村雅樹, 三宅祐輔, 金折賢二, 飯尾毅, 田嶋邦彦, 2016, (第 63 回日本食品科学工学会) 他 1 件
- ② ストップフローESR 法による電解還元

- 法で調製した $O_2^{\cdot -}$ とフラボノイド誘導体の反応解析、桑原慶子・山口智子・三宅祐輔・金折賢二・田嶋邦彦, 2016 (第 55 回電子スピンサイエンス学会) 他 3 件
- ③ HPLC-ESR 法による青果物の水溶性成分に含まれる $O_2^{\cdot -}$ 消去活性物質の検索、山口智子・三宅祐輔・金折賢二・田嶋邦彦, 2016 (第 96 回日本化学会春期年会) 他 2 件
- ④ HPLC-ESR 法によるほうれん草に含まれる水溶性成分の $O_2^{\cdot -}$ 消去活性評価、山口智子・服部玄・三宅祐輔・金折賢二・中島暉・田嶋邦彦, 2015 (第 62 回日本食品科学工学会) 他 1 件
- ⑤ HPLC-ESR 法による青果物に含まれる水溶性成分の $O_2^{\cdot -}$ 消去活性物質の探索、山口智子・服部玄・三宅祐輔・金折賢二・田嶋邦彦, 2015 (第 54 回電子スピンサイエンス学会) 他 3 件
- ⑥ HPLC-ESR 法によるカラム溶出成分の $O_2^{\cdot -}$ 消去活性評価方法、山口智子, 田中宏治, 三宅祐輔, 金折賢二, 田嶋邦彦, 2015 (日本化学会第 95 春季年会) 他 2 件
- ⑦ HPLC-ESR 法による炊飯米の水溶性成分の $O_2^{\cdot -}$ 消去活性評価、山口智子, 服部玄, 金折賢二, 田嶋邦彦, 舘本 勲武, 2014 (61 回日本食品科学工学会) 他 1 件
- ⑧ Superoxide radical scavenging activity of cooked rice as studied by HPLC-ESR spin-trapping measurements, T. Yamaguchi, G. Httori, K. Kanaori, K. Tajima, I. Tachimoto, 2014 (APES-IES-SEST) 他 2 件

[学会発表] (計 22 件)

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

[その他]

ホームページ等

6. 研究組織

(1)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