食品の照射化学に関する研究

才2報 モデル2次的ラジカル $\dot{\text{C}}\text{H}_2\text{OH}$ と種々の食品成分との反応性について

東京大学農学部 森田牧朗, 田島 真, 藤巻正生

Radiation Chemistry of Foods

Part II. Reactivity of Some Food Constituents with a Model Secondary Radical, $\dot{\text{C}}\text{H}_2\text{OH}$

Makio MORITA, Makoto TAJIMA and Masao FUJIMAKI

Department of Agricultural Chemistry, Faculty of Agriculture,
The University of Tokyo

An intermediate radical, $\dot{\text{C}}\text{H}_2\text{OH}$, was produced in aqueous methanol solution containing nitrous oxide by γ -irradiation. Yields of ethylene glycol and formaldehyde, the major and the minor product from $\dot{\text{C}}\text{H}_2\text{OH}$, respectively, changed on the addition of some solutes. Cysteine lowered the both product yields to zero even at a low concentration of $5 \times 10^{-5}\text{M}$. Oxygen of low concentrations ($2.5 - 7.5 \times 10^{-5}\text{M}$) changed effectively the major product from ethylene glycol to formaldehyde as shown in Fig. 4. $k(\text{CySH} + \dot{\text{C}}\text{H}_2\text{OH})/k(\text{O}_2 + \dot{\text{C}}\text{H}_2\text{OH})$ was calculated as 0.5 from the straight line in Fig. 5.

Ascorbic acid ($5 \times 10^{-5}\text{M}$) lowered ethylene glycol yield to 48%, cystine (10^{-3}M) to 15%, methionine (10^{-3}M) to 31%, histidine (10^{-3}M) to 42%, tryptophan (10^{-3}M) 46%, tyrosine (10^{-3}M) to 77%, phenylalanine (10^{-3}M) to 73%, hypoxanthine (10^{-3}M) to 37%, adenine (10^{-3}M) to 52%, uracil (10^{-3}M) to 20%, thymine (10^{-3}M) to 10%, cytosine (10^{-3}M) to 49%, rutin (10^{-3}M) to 23%, pyrogallol (10^{-3}M) to 41%, and gallic acid (10^{-3}M) to 78% of the control as shown in Fig. 6 and listed in Table I.

These results suggest that the reactions of the secondary radicals such as $\dot{\text{C}}\text{H}_2\text{OH}$ perform an important role in material change of foods irradiated with γ rays.

(Abstracted from the original paper which appears in Agr. Biol. Chem. 33, 250 (No. 2), 1969).

著者らは先に食品の γ 線照射による物質変化にとって、 e_{aq}^- , $\text{OH}^\cdot$, $\text{H}^\cdot$ などのいわゆる一次活性種の関与する反応以外に、食品成分から生ずる二次的活性種がさらに他の食品成分を攻撃する反応もまた重要な役割を演じているであろうことを指摘した。¹⁾ システインや他のチオール類の放射線防護作用は、主とし

てそれらの二次的ラジカルに水素を供給する作用によるものと考えられている²⁾。チオール類の水素供給性は、光化学・放射線化学・ラジカル反応の各分野であきらかにされている³⁻⁷⁾。アスコルビン酸なども、おそらくチオールに似た二次的ラジカルに対する反応性を持つであろう。しかし、他の成分についてこのような二次的ラジカルに対する反応性はあまり検討されていないので、一つのモデルラジカルとして $\dot{\text{C}}\text{H}_2\text{OH}$ を用い、このものの消滅反応が他の添加溶質によってどのように影響されるかを、このラジカルの本来の生成物であるエチレングリコールとホルムアルデヒドの収量の変化によって観察した。

実験方法

試料；三回蒸留水を全実験に用いた。 $10^{-1} \sim 10^{-2}$ Mのメタノール水溶液に $10^{-5} \sim 10^{-3}$ Mの被検溶質を添加しpHを約6に調整した。試料溶液は15 mm径パイレックスアンプル中で真空ライン(10^{-4} mmHg以下)につないで脱気後、約1気圧の亜酸化窒素を導入して封じ切る。

照射；照射は ^{60}Co γ -線で、 10^5 または $5 \times 10^5 \text{ R} \cdot \text{h}^{-1}$ の線量率でおこなった。

分析；ホルムアルデヒドはアセチルアセトン比色法によって定量した⁸⁾。試料溶液から、Fig. 1の装置を用いて水を昇華法で集め、その中のエチレングリコールは過沃素酸酸化法で次のようにホルムアルデヒドに変えた。

Fig. 1. The Apparatus for water sublimation.

Fig. 2. Standard curve of ethylene glycol estimation

●—● Not sublimed
○—○ Sublimed.

すなわち、昇華法で得られた水2 mlに0.03 Mメタ過沃素酸ソーダ水溶液0.05 mlを加え、室温で暗所に1時間放置する。その後、10%硫酸0.05 mlと1 M亜硫酸ソーダ0.1 mlを加えてからホルムアルデヒド定量に供した。ただし、メタノール濃度 10^{-1} Mの場合は10倍に希釈してこの酸化法を適用する。エチレングリコールは昇華法でFig. 2で分るよう定量的に水と共に溜出して来ている。

結果および考察

亜酸化窒素共存下の ($2 \sim 3 \times 10^{-2} M$) のメタノール水溶液 ($10^{-2} M$) の放射線分解 (線量: $2 \sim 4.5 \times 10^3 R$) の正常な産物はエチレングリコール ($G = 2.4$) およびホルムアルデヒド ($G = 0.9$) であった (Fig. 3)。

Fig. 3. Ethylene glycol and formaldehyde yield vs. dose plots in the irradiated methanol- N_2O solution.

○—○ Ethylene glycol ($G=2.4$)
 Δ—Δ Formaldehyde ($G=0.9$).

Fig. 4. Product yield vs. dose plots in the solutions containing oxygen.

Formaldehyde {▲—▲ 2.5 and $5.0 \times 10^{-5} M [O_2]$
 Δ—Δ $7.5 \times 10^{-5} M [O_2]$
 Ethylene glycol {●—● $2.5 \times 10^{-5} M [O_2]$
 ○—○ $5.0 \times 10^{-5} M [O_2]$
 ○—○ $7.5 \times 10^{-5} M [O_2]$

この値は, (1)~(6)で示される関係によく合い, 物質収支から(i)式の関係が満足される。エチレングリコールが主として生ずることは, 不均化よりも二量化が主として起っているという既報の結果に一致する。¹¹⁾

$$2 \times \{G(CH_2OHCH_2OH) + G(CH_2O)\} = Ge^-_{aq} + G_{OH} + G_H \quad (i)$$

$$2 \times (2.4 + 0.9) = 6.6 \div 6^{9 \sim 10)}$$

システインを $5 \times 10^{-2} M$ 添加すると, エチレングリコールおよびホルムアルデヒドの生成は共に完全に抑えられる。これは, (7)によって $\dot{C}H_2OH$ にシステインから水素が供与されたことによるであろう。

酸素を $2.5, 5.0, 7.5 \times 10^{-5} \text{ M}$ 加えた場合は、ホルムアルデヒドの生成は $G = 4 \sim 4.5$ の水準に上るが、エチレングリコールの収量は低下する (Fig. 4)。この現象は、 $\dot{\text{C}}\text{H}_2\text{OH}$ が酸素の存在によって種々の経路*によって、最終的には(8)の化学量論的關係に従ってホルムアルデヒドに変化したと考えられる。

(1)~(4)と(8)から、物質収支について(ii)の関係を与えるが、

$$G(\text{CH}_2\text{O}) = G_{e-aq} + G_{\text{OH}} + G_{\text{H}} \quad (\text{ii})$$

$G(\text{CH}_2\text{O}) = 4.5 \sim 4$ は(ii)で予想される値よりも低い。このことから、酸素によって完全にホルムアルデヒドに変換されないで、他の経路に入っていく $\dot{\text{C}}\text{H}_2\text{OH}$ のあることが考えられる。

実験上の制約から、これ以上低い濃度のシステインおよび酸素については研究しなかったが、酸素によって生成されるホルムアルデヒドはシステインによって競争的に生成を抑制されているであろうと考え、速度論的關係を検討した。 $1/G(\text{CH}_2\text{O})$ を $[\text{CysH}]/[\text{O}_2]$ に対してプロットすると Fig. 5 のように直線になる。

Fig. 5. Test for competitive inhibition of cysteine against formaldehyde formation with oxygen.

Fig. 6. Product yield vs. dose plots in the solution containing $5 \times 10^{-5} \text{ M}$ ascorbic acid.

○—○ Ethylene glycol ($G=1.1$)
 Δ — Δ Formaldehyde ($G=1.1$).

酸素存在下では生成するホルムアルデヒドは酸素と $\dot{\text{C}}\text{H}_2\text{OH}$ との反応によって生じ、この反応は単純な競争関係でシステインによって(7)の反応で阻害されると仮定すると、(iii)式が成立って、Fig. 5のような直線が得られるはずである。

$$\frac{1}{G(\text{CH}_2\text{O})} = \frac{1}{G(\text{CH}_2\text{O})_0} \times \left(1 + \frac{k_1}{k_2} \times \frac{[\text{CySH}]}{[\text{O}_2]} \right) \quad (\text{iii})$$

(ただし、 K_1 , K_2 はそれぞれシステインと酸素の $\dot{\text{C}}\text{H}_2\text{OH}$ に対する反応速度定数。 $G(\text{CH}_2\text{O})_0$ はシステインの入っていない場合のG値)

この関係とFig. 5の直線の勾配と切片から $K_1(\text{CySH} + \text{CH}_2\text{OH}) / K_2(\text{O}_2 + \text{CH}_2\text{OH}) = 0.5$ が計算された。

アスコルビン酸を $5 \times 10^{-5}\text{M}$ 添加した場合は、エチレングリコールのG値は対照の約46%の1.1に低下し、ホルムアルデヒドのG値は1.1であまり変らなかった (Fig. 6)。

アスコルビン酸の場合に、添加濃度と生成物G値の速度論的關係は明瞭でなかったが、添加濃度が高くなるとエチレングリコール収量が減少すると云う傾向は認められた。

他のより低反応性と考えられるいくつかの溶質についての結果はTable Iにまとめられている。

この場合、添加溶質濃度は 10^{-3}M にしてあるので、メタノール濃度は 10^{-1}M にして、一次活性種の添加溶質による捕捉による効果を抑えてある。したがって、定量時に10倍に希釈するので、定量上の要請から線量を10倍の $5 \times 10^4\text{R}$ に上げてある。G値はこの線量の一点から計算されたものである。システインとルチンは室温では 10^{-3}M は溶解度よりも高い濃度であるので温めて過飽和状態のまま照射を行なった。

Table I. Effects of various additional solutes on changes of $\dot{\text{C}}\text{H}_2\text{OH}$ radicals to ethylene glycol and formaldehyde

Solute Added (M)	Ethylene glycol yield		Formaldehyde yield	
	G	%	G	%
Without Solute	2.1	100	0.3	100
L-Cystine 10^{-3}	0.3	15	0.6	200
L-Methionine "	0.7	31	1.1	360
L-Histidine "	0.9	42	0.6	190
L-Tryptophan "	1.0	46	0.4	140
L-Tyrosine "	1.6	77	0.4	140
DL-Phenylalanine "	1.5	73	0.3	90
Hypoxanthine "	0.8	37	1.4	460
Adenine "	1.1	52	0.5	170
Uracil "	0.4	20	0.5	170
Thymine "	0.2	10	0.6	200
Cytosine "	1.0	49	0.3	110
Rutin "	0.5	23	0.5	160
Pyrogallol "	0.9	41	1.5	500
Gallic acid "	1.6	78	0.4	130

表の、エチレングリコールの減少はあきらかに $\dot{\text{C}}\text{H}_2\text{OH}$ の二次的反応による減少を反映すると考えられる。しかし、ホルムアルデヒドの変化は簡単には解釈できない。一般的にはホルムアルデヒドの収量は増加しているので溶質のラジカル捕捉反応には、 $\dot{\text{C}}\text{H}_2\text{OH}$ からの水素移動も含まれると考えられよう。

この系では、一次活性種の添加溶質による直接変化は10%程度以内と考えられるので、それを越えた変動は二次的反応によるものと考えてよい。アミノ酸類の中では、システインが高い反応性を持つが、メチオニン、ヒスチジン、トリプトファンが次の段階の高い反応性を持つ。これらのアミノ酸は $\dot{\text{C}}\text{H}_2\text{OH}$ ラジカルの半分以上を 10^{-3}M の低濃度で何らかの他の型に変える。核酸塩基類ではチミンとウラシルが特に高い反応性を持つが他のものも反応性がある。フラボノイド類は天然抗酸化剤として知られてい

るが、その一例としてルチンを調べた所、やはり反応性は高い。また、ポリフェノール類として、ピロガロールおよび没食子酸を調べた所、前者は反応性が高いが後者はやや低かった。

これらの結果は、 $\dot{\text{C}}\text{H}_2\text{OH}$ のようなラジカルは食品成分にかなり反応しうることを示した。ガンマ線あるいは他のイオン化放射線が食品に吸収されると水あるいは食品成分から第一次的なラジカル等の活性種が生ずる。

水からの OH , e^-_{aq} , H 等は食品成分を攻撃することはよく知られているが、ラジカル反応性の比較的低い溶質の稀薄溶液ではこれらの活性種と食品成分との反応とで生じた二次的ラジカルは、他のラジカルと二量化あるいは不均化で反応して消滅する経路をたどる。しかし、溶液が濃厚あるいはラジカル反応性に富む溶質を含む場合は溶質はさらに二次的ラジカルで反応を受けて、ラジカル連鎖が長くなるであろう。長いラジカル連鎖が存在する場合には、ラジカル反応性の高い溶質は当然繰返えされて集中的な反応を受けることが予想される。一般的には、ある溶質の分解は他の一次活性種捕捉剤 (e^-_{aq} , OH , H に対する捕捉剤) が存在すれば抑制されると考えてよいが、 $\dot{\text{C}}\text{H}_2\text{OH}$ のようなこれらの一次活性種よりも一般的には反応性の低いラジカルとでも十分に反応するような溶質では、他の溶質の共存による放射線防護作用はあまり期待できない。シスチンあるいは他のチオール類は、ほとんどすべてのラジカルと反応するので、これらの物質が全溶質中僅かの比率しか存在しなくても $G(-\text{solute})$ はかなり高い値を示す。アスコルビン酸、シスチン、あるいはこの報告で検討された成分などもかなりの二次的ラジカルへの反応性を示している。このような結果から、反応性の低下した二次的ラジカルがさらに他の溶質を攻撃すると云うような反応も、食品照射における全物質変化の中では決して少くない部分を占めていると推察される。

(本報は、*Agr. Biol. Chem.* 33, 250, (No.2), 1969からの和訳再録である。)

文 献

- 1) Fujimaki, M. and Morita, M. *Agr. Biol. Chem.*, 32, 574 (1968).
- 2) Ormerod, R. and Alexander, P., *Radiation Res.*, 18, 495 (1963).
- 3) Cohen, S.G., Orman, S. and Laufer, D.A. *J. Am. Chem. Soc.*, 84, 3905 (1962).
- 4) Sherman, W.V. and Cohen, S.G., *J. Am. Chem. Soc.*, 86, 2390 (1964).
- 5) Cohen, S.G., Laufer, D.A. and Sherman, W.V., *ibid.*, 86, 3060 (1964).
- 6) Wilkening, V.G., Lal, M., Arends, M. and Armstrong, D.A., *Can. J. Chem.*, 45, 1209 (1967).
- 7) Kerr, J.A. and Trotman-Dickenson, A.F. *J. Chem. Soc.*, 3322 (1957).
- 8) "Method in Carbohydrate Chemistry" Vol.1, ed. by R.L. Whistler and M.L. Wolfrom, Academic Press, New York, N.Y., p. 443 (1962).
- 9) Hayon, E., *Trans. Farad. Soc.*, 61, 723 (1965).
- 10) Adams, G.E., J.W. Boog and B.D. Michael, *ibid.*, 61, 492 (1965).
- 11) Allan, J.T. *J. Phys. Chem.*, 68, 2697 (1964).