

原 著

酸素フリー雰囲気での ESR による γ 線照射で衛生化したアガリクスの分析

亀谷宏美, 鵜飼光子

Reprinted from
RADIOISOTOPES, Vol.56, No.8
August 2007



Japan Radioisotope Association

<http://www.jrias.or.jp/>

原 著



酸素フリー雰囲気での ESR による γ 線照射で衛生化した アガリクスの分析

亀谷宏美, 鶴飼光子*

室蘭工業大学
050-8585 北海道室蘭市水元町 27-1
*北海道教育大学
040-8567 北海道函館市八幡町 1-2

2007 年 2 月 19 日 受理

アガリクス (*Agaricus blazei* Murill) は、日本など東アジア各国で一般的な生薬の一つである。天然成分の生薬は、微生物により容易に汚染される。 γ 線照射は、生薬の殺菌技術として知られている。ESR は照射生薬のラジカルの検知に使用される。著者らは、 γ 線殺菌前後のアガリクスに生成されるラジカルを ESR を用いて調べた。ESR スペクトルでは $g=2.0$ に有機フリーラジカル由来の鋭い 1 本線信号と Mn^{2+} イオンの超微細構造による 6 本線、更に $g=4.0$ に Fe^{3+} と推定される信号を観測した。

アガリクス中のラジカルの緩和時間は、酸素の存在により異なることがわかった。ESR 試料管内の空気を Ar で置換すると、 T_1 の値は空気中と比較して 1 桁大きくなった。逐次飽和曲線は、Ar 存在下では空気中より早い飽和を示した。これらから、アガリクスのラジカルは、酸素の影響をうけることがわかった。同様の緩和挙動は照射アガリクスでもみられた。照射アガリクスを酸素のない状態で ESR 計測することは照射処理時の照射量を検知するのに有用であると結論した。

Key Words : pasteurized agaricus, gamma ray irradiation, agaricus, radical, ESR, relaxation behavior, pasteurization

1. 緒 言

アガリクスは、ブラジル原産のハラタケ科ハラタケ属の和名ヒメマツタケ (*Agaricus blazei* Murill) の俗称である。

このアガリクスは、ブラジルより種菌が日本に持ち込まれた。これを原料とした健康食品が広く販売されている^{1),2)}。その後、抗腫瘍効果や血糖値降下作用が報告され注目が高まった³⁾。

しかし、問題点も明らかにされた。第一に、原料に子実体と菌糸体、抽出方法に酵素処理法と熱水抽出法、どちらがより効果的かは不明である⁴⁾。第二に、アガリクスと称して売られているものの中にはハラタケ属の違う茸が流通し

ている場合もある。第三に、副作用や成分による被害も報告されている。国立医薬品食品衛生研究所は製品によってはがん作用を促進する作用を持つ成分が含まれているものがあることを報告している³⁾。

以上のような問題は存在するが、アガリクスは日本や中国などの東アジア各国では一般的な生薬の一つである。日本国内での栽培も行われている⁵⁾が、輸入量も多い。国際的に流通している生薬は衛生化されていることが予想される。

著者らは、ラジカルの逐次飽和挙動から ESR を用いた分析法を確立し、EU 公定法の改良法として提唱している⁶⁾。この改良法を応用し、照射朝鮮人參の照射量を定量することが可能で

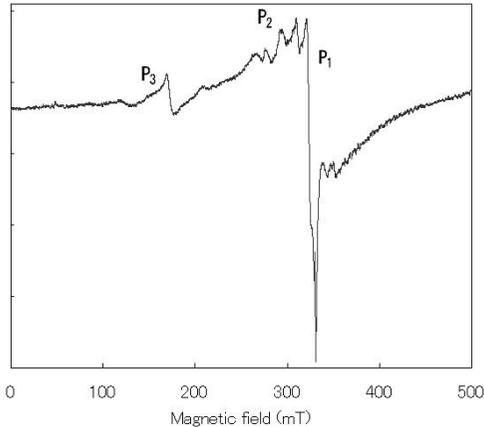


Fig.1 ESR spectrum of Agaricus before γ -ray irradiation.

あることを報告している⁷⁾。

本研究では、 γ 線により衛生化したアガリクスの酸素下と Ar 置換後の信号の差異を解析した。ESR 計測時に存在する酸素がラジカルの緩和現象に影響するかどうか詳細に検討した。

2. 実験方法

2.1 試料

アガリクスは(株)ドレンシー (岡山県浅口郡鴨方町六条院西 2320, 電話 0865-44-6655) にて販売されている製品 (4-529276-121302) を用いた。

2.2 照射処理

試料の照射処理は日本原子力研究開発機構にて γ 線を用いて行った。照射量は 0.5, 1, 2, 3, 5, 10, 30, 50 kGy とした。照射処理は一定量の試料を入れた ESR 試料管をそのまま、また、Ar 置換し封じ切ったものを室内にて行った。Ar 置換は、真空ポンプを用いて 5 分間 ESR 試料管内を脱気し、その後 2 分間 Ar を ESR 試験管内に流す作業を 5 回繰り返した。Ar 置換した試料管内の圧力は約 1 mmHg であった。

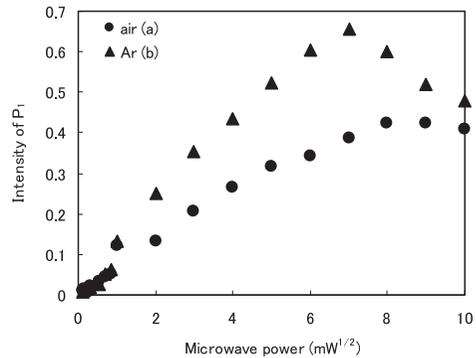


Fig.2 Progressive saturation behavior of the P₁ signal from Agaricus in air (a) and Ar (b).

2.3 ESR 測定

測定条件は既報⁸⁾によった。照射処理により ESR 試料管は変色 (褐変) した。そこで、新しい別の ESR 試料管に測定試料を入れなおした。測定試料は従来法に準じ試料 300 mg を ESR 試料管に入れたものを用いた。照射処理時に Ar 置換した試料は照射後直ちに 300 mg 秤量後、別の ESR 試料管に取り、再度 Ar 置換して無酸素状態で封じ切った。

ESR 分光器は JES-FE1XG 及び JES-FA200 (日本電子株式会社) を用いて行った。照射食品の電子スピン緩和挙動を検討するため、マイクロ波磁場を変化させ逐次飽和曲線を求めた。

3. 実験結果

3.1 ESR 信号

Fig.1 にアガリクスの ESR スペクトルを示した。最も強く鋭い P₁ は、カーボンセンターラジカルと考えられる信号である。P₂ の信号は高磁場側は幅広い信号になっているが明らかに 6 本線であり、Mn²⁺ の超微細構造線による。P₃ は Fe³⁺ 由来の信号である。

3.2 逐次飽和挙動

Fig.2 は、Fig.1 における P₁ の各マイクロ波

Table 1 Relaxation times (T_1 and T_2) of radicals induced in the irradiated Agaricus in various atmosphere

atmosphere	T_1 (μ s)	T_2 (ns)
Air	5.61	3.25
Ar	9.48	2.10

磁場における信号強度の変化を示したものである。a は空気中における変化を、b は Ar 置換した試料での変化を示した。マイクロ波強度を増すに従い P_1 の信号強度は増大した。空気中では 64 mW で飽和し、それ以降はプラトーとなった。Ar 雰囲気では 49 mW で飽和した。それぞれのマイクロ波強度で ESR の信号強度が最も高い値になる。これがそれぞれにおける閾値と考えられる。

3.3 緩和時間の評価

スピン格子緩和時間 (T_1) とスピン-スピン緩和時間 (T_2) を Poole の方法⁹⁾ に従い評価した。Table 1 にその結果を示す。空気中のアガリクスの ESR 信号では、 T_1 では μ s、 T_2 は ns となった。Ar 置換することで、 T_1 は、1桁大きくなった。逐次飽和曲線 (Fig. 2) は、Ar 存在下では空気中より早い飽和を示した。このことから、照射により誘導されるラジカルは、酸素の影響をうけることがわかった。

3.4 照射効果

Fig. 3, 4 に 0 ~ 10 kGy でのアガリクスのスペクトルを示した。Fig. 3 は空気中、Fig. 4 は Ar 雰囲気での信号である。これらを比較すると、空気中も、Ar 雰囲気でも信号は本質的に変わらなかった。 γ 線照射量が増すに従い、有機フリーラジカル由来の P_1 の信号強度は増大した。

3.5 外挿法での評価

照射試料の信号強度 (閾値) を Fig. 5 は低

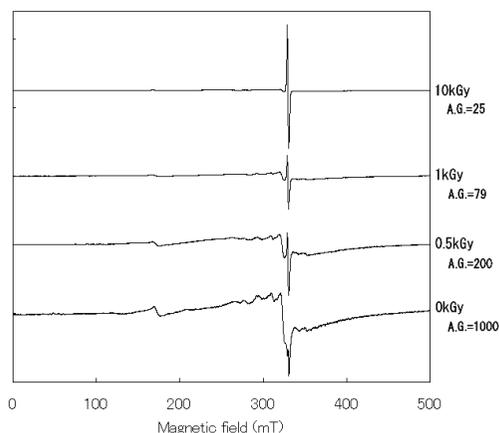


Fig. 3 ESR spectra of Agaricus after irradiation at various dose level (0 - 10 kGy) in air.

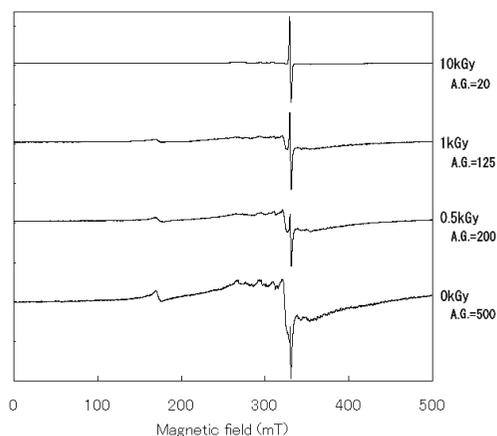


Fig. 4 ESR spectra of Agaricus after irradiation at various dose level (0 - 10 kGy) in Ar.

線量領域 (0 ~ 10 kGy)、Fig. 6 は中線量領域 (0 ~ 30 kGy) ごとに示した。a は空気中、b は Ar 置換した試料でのそれぞれの結果である。照射処理量と ESR の信号強度をプロットするとほぼ直線になり、比例関係がある。空気中の試料と、Ar 雰囲気下に差はなかった。

4. 考 察

4.1 逐次飽和挙動の変化

空気中、及び Ar 置換した試料でそれぞれ

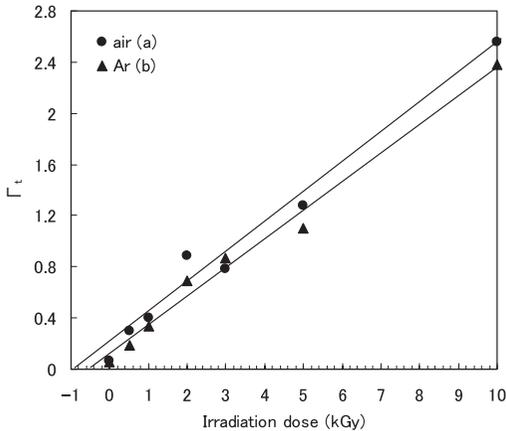


Fig. 5 The threshold value of radicals of irradiated Agaricus in air(a) and Ar(b), Γ_t versus the irradiation dose by 0–10 kGy.

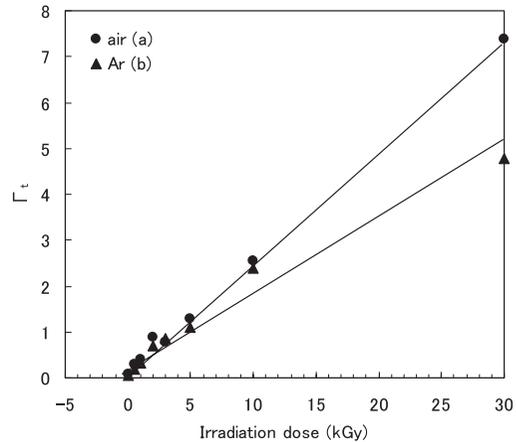


Fig. 6 The threshold value of radicals of irradiated Agaricus in air(a) and Ar(b), Γ_t versus the irradiation dose by 0–30 kGy.

ESR 測定した結果, その飽和挙動の違いがわかった。Ar 雰囲気下では, 酸素の影響がないため飽和しやすく, 閾値の特定も容易であった。しかし, 空気中では酸素の影響によって本来飽和するマイクロ波強度よりも強い強度が必要となっている。

これらの結果から, ESR 測定における信号の緩和現象に酸素が大きく影響するといえる。より厳密な測定には, 酸素による影響を受けない条件で測定を行うことが必要である。試料調製をできるだけ酸素の影響を受けないようにして行うことが ESR 信号を明瞭に観測する為には重要である。従来, 著者らはラジカルの緩和現象を検討することにより明瞭な信号を観測するという方法を提唱してきた。本研究により試料調製時に酸素の影響を抑えた酸素フリー雰囲気での ESR 分析法が有用であると結論した。

4.2 外挿法による照射量の評価と酸素の影響

ESR は化石中の安定なラジカルを検出することが可能である。そのため従来より, 化石の年代測定に ESR が用いられてきた。この手法を用いれば照射誘導ラジカルのうち比較的安定

なラジカル種を指標として, 照射量を推定することができる。Fig. 5, 6 に横軸に照射線量, 縦軸に ESR 信号強度をとって外挿法が応用できるかどうかの検討結果を示した。a は空気中, b は Ar 雰囲気下の結果である。

Fig. 5 の低線量領域の相関係数は, a で 0.9800, b は 0.9877 となった。中線量領域では Fig. 6 で示すように a は 0.9979, b が 0.9753 となった。空気中, Ar 雰囲気下で相関係数に多少の差は存在するものの, あまり大きな差があるとはいえない。これらの結果から, 外挿法による検知では, 酸素の影響は認められなかった。

また, 本試料の外挿量はほぼ 0.3 kGy となった。この 0.3 kGy という量は, すでに WHO/FAO にて健全性が立証されている¹⁰⁾。

文 献

- 1) Okamura, T., Ogata, T., Minamimoto, N., Takeno, T., Noda, H., Fukuda, S. and Ohsugi, M., Characteristics of wine produced by mushroom fermentation, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **65**(7), 1596–1600(2001)
- 2) Okamura-Matsui, T., Tomoda, T., Fukuda, S. and

- Ohsugi, M., Discovery of alcohol dehydrogenase from mushrooms and application to alcoholic beverages, *J. Mol. Catal. B Enzym.*, **23**(2-6), 133-144(2003)
- 3) 厚生労働省
<http://www.mhlw.go.jp/houdou/2006/02/h0213-3.html>
- 4) Kawagishi, H., Kanao, T., Inagaki, R., Mizuno, T., Shimura, K., Ito, H., Hagiwara, T. and Nakamura, T., Formolysis of a potent antitumor(1 \rightarrow 6)- β -D-glucan-protein complex from *Agaricus blazei* fruiting bodies and antitumor activity of the resulting products, *Carbohydrate Polymers.*, **12**(4), 393-403(1990)
- 5) Higaki, M., Eguchi, F. and Watanabe, Y., A stable culturing method and pharmacological effects of the *Agaricus blazei*, *Nippon Yakurigaku Zasshi*, **110** Suppl. 1, 98-103(1997)
- 6) Ukai, M. and Shimoyama, Y., Free radicals in irradiated pepper: An electron spin resonance study, *Appl. Magn. Reson.*, **24**, 1-11(2003)
- 7) 中村秀夫, 鶴飼光子, 下山雄平, γ 線照射した朝鮮人參の電子スピン共鳴法による解析, *RADIOISOTOPES*, **53**, 501-506(2004)
- 8) 浜谷成樹, 鶴飼光子, 下山雄平, 電子スピン共鳴分光法による放射線照射黒胡椒中の有機フリーラジカルの加熱時における減衰挙動の研究, *RADIOISOTOPES*, **52**, 367-373(2003)
- 9) Poole, Jr., C. P., *Electron Spin Resonance*, Wiley-Interscience, Canada(1983)
- 10) FAO : CAC/VolXV-Ed.1(1984)

Abstract

Analysis of γ -ray Irradiated Pasteurized *Agaricus* (*Agaricus blazei* Murill) by ESR in Oxygen-Free Atmosphere

Hiromi KAMEYA and Mitsuko UKAI*

Muroran Institute of Technology
 27-1 Mizumoto-cho Muroran-shi, Hokkaido 050-8585, Japan
 *Hokkaido University of Education
 1-2 Hachiman-cho Hakodate-shi, Hokkaido 040-8567, Japan

Agaricus (*Agaricus blazei* Murill) is one of a popular crude drug in Japan and East Asia countries. The crude drugs originating from natural raw products are easy to be contaminated by microorganism. Radiation method has been introduced as the sterilization technology for crude drugs. ESR has been used for the detection of radicals in irradiated drugs. Using ESR, we detected radical species in *Agaricus* before and after the gamma ray pasteurization. The ESR spectrum consists of a broad sextet centered at $g=2.0$, a singlet at same g -value and a singlet at $g=4.0$.

We found that relaxation times of radicals in *Agaricus* varied by the presence of oxygen. Upon substitution of air by Ar, i.e., the absent of oxygen in the ESR sample tube, the T_1 value became 10 times larger than the presence of oxygen. Accordingly, the progressive saturation curve indicates more immediate saturation under the Ar than air atmosphere. Radicals, produced by the γ -ray irradiation to *Agaricus*, are very sensitive to oxygen. We concluded that ESR spectrum of irradiated *Agaricus* sample in the absence of oxygen is useful for the detection of dose level of γ -ray irradiation.

(Received February 19, 2007)