

[報文]

放射線照射漢方薬（エキス剤）の 照射誘導ラジカルの緩和挙動

中村秀夫¹⁾, 高橋 司¹⁾, 太多由依¹⁾, 貝森良彦¹⁾, 亀谷宏美²⁾, 鶴飼光子¹⁾

1) 北海道教育大学 (〒 040-8567 函館市八幡町 1-2)

2) (独)農研機構食品総合研究所 (〒 305-8642 茨城県つくば市観音台 2-1-12)

Electron spin relaxation behavior of radiation induced-radicals of kampo extraction

Nakamura Hideo¹⁾, Takahashi Tsukasa¹⁾, Ohta Yui¹⁾, Kaimori Yoshihiko¹⁾,
Kameya Hiromi²⁾ and Ukai Mitsuko¹⁾

¹⁾ Hokkaido University of Education, 1-2 Hachiman-cho Hakodate-shi Hokkaido 040-8567 Japan

²⁾ National Food Research Institute, 2-1-12 Kannondai, Tsukuba-shi, Ibaraki 305-8642 Japan

Summary

Electron spin relaxation behaviors of radiation induced radicals were studied by the continuous microwave saturation method of electron spin resonance (ESR) spectra. Radiation induced radicals in kampo extractions yielded a sharp and intense ESR signal P1 at $g = 2.0$ and S1, S2 beside P1 signal. By the progressive saturation procedure, we could evaluate relaxation times (T_1 and T_2) of P1 signal. The computer program to analyze the ESR line shape using all data points on a saturation curve was applied. Based on the theoretical analysis, the relaxation behaviors of radicals were revealed. Radiation induced radicals of the specimens yielded relaxation times, T1 in the $\mu\text{-sec}$ and T2 in nsec ranges, respectively. Upon the irradiation, T2 is shortened. And upon the re-irradiation, T2 is not changed.

Key words: gamma ray irradiation, relaxation behavior, Electron Spin Resonance, Kampo extraction

はじめに

食品照射は、放射線を利用した殺虫、殺菌、発芽防止、熟成遅延などにより食品の貯蔵期間を延長する食品の殺菌技術である。照射殺菌は、加熱殺菌に比べて熱上昇が少なく、独特の芳香や薬効を損なわずに殺菌処理ができるため、香辛料や生薬に適している。また、照射処理は処理対象物中で放射線は熱エネルギーに転換して消滅するため、食品添加物のように食品に残存しない。さらに、最終的な出荷包装の状態で照射殺菌処理ができるため、処理後はそ

のまま出荷出来る。そこで微生物や害虫に再び汚染することがない。

生薬は、産地や採取時期、保存法などにより品質が異なる。また、製造工程によってもその品質が異なるとされている。原料生薬は微生物汚染を受けやすく微生物汚染度の測定は医薬品の品質管理と安全性確保の観点から重要である。

放射線処理の有無を検知するための方法として、放射線照射した物質を加熱することで得られる発光を確認することにより検知する熱ルミネッセンス法 (TL 法) や、照射後の生菌数と総菌数 (照射に

よって死んだ菌数+生菌数)との比率を求めて判定する DEFT/APC 法がある。照射食品検知法の中に ESR による検知法もある。ESR 検知法は簡便で、迅速な計測が可能であり、測定試料を破壊することがない非破壊的定量法である。EU 公定法において、ESR 検知法は魚介類や肉類の骨組織、セルロースを含む乾燥野菜や乾燥果実類などが分析対象となっている。

我々はすでに照射朝鮮人参¹⁾、照射スパイス²⁾、照射小麦³⁾及び照射乾燥野菜⁴⁾の放射線処理におけるラジカルの ESR による検知について報告し、照射食品中の放射線誘導ラジカルとラジカルの緩和現象に基づく ESR による検知法を報告した。照射食品のラジカル緩和挙動を明らかにするためにマイクロ波の強度を変えて信号計測を行っている。得られる信号強度の変化から、有機フリーラジカル由来の信号が比較的容易に飽和することを明らかにした。また、常磁性系に対する連続的なマイクロ波の飽和の理論が明らかにした。

連続マイクロ波 ESR 信号の飽和曲線からスピン-格子緩和時間 T1 とスピン-スピン緩和時間 T2 を決定することが出来ることをすでに報告している⁵⁾。

そこで、本論文では生薬の抽出物から作られている漢方エキス剤の放射線照射に対する影響を連続マイクロ波 ESR から求めた緩和時間 T1, T2 から検討した。

実験方法

1. 試料

試料の生薬エキス剤は、1包ごとに包装されている市販品を使用した。低線量照射処理で用いた試料は、ツムラ麻黄附子細辛湯エキス顆粒 (T127)、ツムラ桂枝人参湯エキス顆粒 (T82)、ツムラ当帰建中湯エキス顆粒 (T123)、ツムラ黄耆建中湯エキス顆粒 (T98)、ワクナガ小青竜湯エキス細粒 (W09)、コタロー辛夷清肺湯エキス細粒 (N104)、カネボウ葛根湯エキス細粒 (EK-1) の7種類である。

高線量照射処理で用いた試料は、ツムラ麻黄附子細辛湯 (T127)、ツムラ炙甘草エキス顆粒 (T64)、ツムラ当帰建中湯エキス顆粒 (T123)、ツムラ黄耆建中湯エキス顆粒 (T98)、ツムラ桂枝人参湯エキス顆粒 (T82)、コタロー辛夷清肺湯エキス細粒 (N104)、コタロー排膿散及湯エキス細粒 (N122)、

東洋桂枝加黄耆湯エキス細粒 (TY026)、ワクナガ小柴胡湯エキス細粒 (W24)、ワクナガ半夏瀉心湯エキス細粒 (W30)、マツウラ柴胡桂枝乾姜湯エキス細粒 (M24)、マツウラ五苓散エキス細粒 (M16)、三和麻黄附子細辛湯エキス細粒 (S108) の13種類である。

2. 照射処理

試料の放射線照射処理は独立行政法人日本原子力研究開発機構高崎量子応用研究所に依頼し、低線量照射処理では 0.5kGy, 1kGy, 5kGy, 10kGy を、高線量照射処理では 10kGy, 30kGy, 50kGy, 100kGy を未開封の状態でコバルト 60 によるガンマ線を用いて照射処理をした。また、再照射を行った場合の信号の傾向を確認するため、30kGy の試料に対して約3ヵ月後にコバルト 60 によるガンマ線を用いて 10kGy を再度照射した。

3. ESR 測定

試料は未開封のものを ESR 試料管の下 3cm 程度まで充鎮した後に秤量した。試料管内の空気をアルゴン置換処理し、封じたものを使用した。ESR 測定は X-band 連続波 ESR (日本電子株式会社製, JES-FA100) を用い、測定に用いたマイクロ波の周波数は X-band (9.3GHz) である。ラジカル種の構成成分を全てを同定するため、250 ± 250mT の幅広い掃引磁場で測定し、その後詳細な信号を測定するため 336 ± 7.5mT の磁場領域で測定を行った。次にマイクロ波の強さを変えて測定する連続測定を行った。連続測定によって得られた結果を基に逐次飽和曲線を得た。

4. 計算プログラム

連続測定で得られた信号を Lund らの開発した線形理論プログラム^{5,6)}を使用し、緩和時間 T1, T2 を求めた。

実験結果および考察

1. ESR スペクトルの挙動

照射試料においては、Fig.1 で示すように $g = 2.0$ 付近に有機フリーラジカル由来の強く鋭い 1 本線の信号 P1 が観測された。また、P1 信号の両端に照射試料に特有の S 信号が観測された。

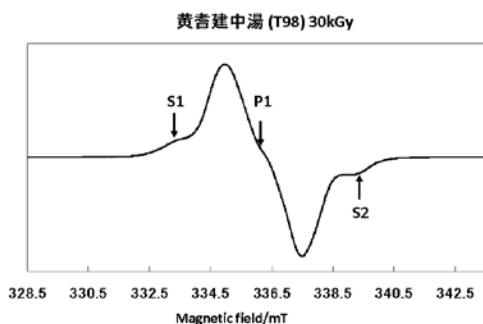


Fig. 1 照射試料 (T98) の ESR 信号

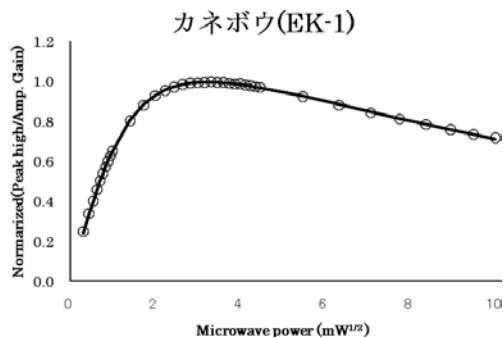


Fig. 2 照射誘導ラジカル P1 の逐次飽和挙動

2. 照射誘導ラジカルの飽和挙動

照射によって増大する P1 信号について照射誘導ラジカルの飽和挙動を観察した。図 2 に代表的な測定例を示す。いずれの試料でもマイクロ波強度が増すごとに信号強度は増大し、一定のマイクロ波強度で飽和し、それ以降は減少した。閾値を示すマイクロ波強度は、表 1 で示すように照射前は 5.0 ~ 10mW であり、照射後は 8.5 ~ 18mW であった。

3. 緩和挙動の解析と緩和時間

Lund らの方法^{5,6)}により、スピナー格子緩和時間 T1 とスピンスピン緩和時間 T2 を求めた。T1 は 10・sec, T2 は nsec オーダーであった。(表 1, 2) 照射量の違いによる緩和時間の変化は、高線量照射、低線量照射ともに T1 は照射量との相関は見られなかった。T2 は 1kGy 以上の照射では未照射の値に比べて減少した。また、T1 と T2 の相乗平均の値も 1kGy 以上の照射では未照射の値よりも減少した。

すでに 30kGy 照射してある試料に対して 10kGy 再照射した試料の緩和時間 T1, T2 を計測した。表 3 に示すように g=2 付近の P1 信号強度は照射によりさらに増大したが、T1, T2, 相乗平均については再照射の前後で変化しなかった。

いずれの試料においても放射線照射により g = 2 付近の信号強度が増加した。照射量が増大するにつれて信号強度も増大した。放射線照射処理によりラジカルが増大することがわった。ただし、照射量に対して必ずしも比例して増加せず、高線量になるにしたがってその信号強度の増加割合は減少した。

Lund らの解析プログラムを用いて緩和時間 T1,

T2 を求めた。緩和時間 T1 では照射量との相関はみられなかった。緩和時間 T2 および T1, T2 の相乗平均ではすべての試料で 1kGy 以上の照射試料では未照射の試料よりも減少した。これは Kevan らの照射有機ガラスで見られた照射誘導ラジカルと同じ挙動であり⁷⁾、このことから食品中に生じた照射誘導ラジカルが不均一に分散していると考えられる。

照射試料に対して再照射した場合には照射前後で T2 の値が変化しなかった。このことから照射後に生じるラジカルは、その緩和時間 T2 及び T1, T2 の相乗平均の値が、照射前のそれらの値と比較することによって、照射の有無の検知に利用できる可能性があることが示された。

まとめ

照射生薬エキス剤の照射による影響を検討した。照射により g = 2.0 付近に有機フリーラジカル由来の強く鋭い 1 本線の P1 信号および照射試料に特有の S 信号を観測した。Lund らの解析プログラムから求めた P1 信号のスピンスピン緩和時間 T2 および、スピナー格子緩和時間 T1 とスピンスピン緩和時間の相乗平均値は放射線照射することで未照射試料の値よりも減少すること、放射線の再照射では大きく減少することが無いことを見出した。

謝 辞

本研究の一部は、文部科学省原子力基礎基盤戦略研究イニシアティブにより実施された「実用化が予想される食品への放射線利用に関する基礎研究」の成果である。

表1 高線量照射試料の閾値の信号強度と緩和時間 T1, T2 と緩和時間 T1, T2 の相乗平均

No.	Sample	dose (kGy)	Peak High	T1 (μ s)	T2 (ns)	相乗平均 (μ s)
1	<i>麻黄附子細辛湯 (T127)</i>					
	non-irradiation	0	39	1.82	809.40	1.210
	10kGy	10	4133	17.07	37.95	0.805
	30kGy	30	10980	19.53	28.15	0.741
	50kGy	50	14195	17.35	32.37	0.749
	100kGy	100	24571	19.00	23.39	0.667
2	<i>炙甘草湯 (T64)</i>					
	non-irradiation	0	93	15.41	85.24	1.146
	10kGy	10	3478	18.64	35.10	0.809
	30kGy	30	4520	13.57	43.83	0.771
	50kGy	50	8360	15.09	33.75	0.714
	100kGy	100	11000	15.04	30.90	0.682
3	<i>当帰建中湯 (T123)</i>					
	non-irradiation	0	17	2.07	451.60	0.967
	10kGy	10	3384	9.66	43.05	0.645
	30kGy	30	8347	9.36	33.79	0.562
	50kGy	50	10643	8.34	29.00	0.492
	100kGy	100	17263	7.37	27.04	0.446
4	<i>黄耆建中湯 (T98)</i>					
	non-irradiation	0	14	1.15	734.30	0.919
	10kGy	10	4060	11.60	31.97	0.609
	30kGy	30	9660	10.57	32.16	0.583
	50kGy	50	12403	10.23	26.67	0.522
	100kGy	100	21920	9.79	26.92	0.513
5	<i>桂枝人参湯 (T82)</i>					
	non-irradiation	0	37	3.80	287.40	1.045
	10kGy	10	2444	15.68	40.10	0.793
	30kGy	30	9295	16.47	35.73	0.767
	50kGy	50	15240	5.47	90.18	0.702
	100kGy	100	23307	14.64	27.71	0.637
6	<i>辛夷清肺湯 (N104)</i>					
	non-irradiation	0	106	9.61	118.10	1.066
	10kGy	10	3118	6.61	101.20	0.818
	30kGy	30	3867	8.08	67.21	0.737
	50kGy	50	6416	3.37	118.30	0.631
	100kGy	100	8722	8.92	40.82	0.604
7	<i>排膿散及湯 (N122)</i>					
	non-irradiation	0	40	8.45	102.50	0.931
	10kGy	10	1681	6.38	89.78	0.757
	30kGy	30	3309	12.65	38.70	0.700
	50kGy	50	4862	10.89	31.15	0.582
	100kGy	100	6612	9.55	33.00	0.561

表 1（続き）

No.	Sample	dose (kGy)	Peak High	T1 (μ s)	T2 (ns)	相乗平均 (μ s)
8	桂枝加黄耆湯 (TY026)					
	non-irradiation	0	21	5.02	100.90	0.712
	10kGy	10	2589	7.09	59.48	0.649
	30kGy	30	5138	8.38	47.93	0.634
	50kGy	50	6340	7.48	45.18	0.581
	100kGy	100	6833	7.87	41.00	0.568
9	小柴胡湯 (05)					
	non-irradiation	0	51	5.74	171.60	0.993
	10kGy	10	1528	8.05	65.61	0.727
	30kGy	30	3860	9.95	54.48	0.736
	50kGy	50	3343	12.27	41.50	0.714
	100kGy	100	4746	10.08	33.86	0.584
10	麻黄附子細辛湯 (S108)					
	non-irradiation	0	238	4.12	146.00	0.775
	10kGy	10	4176	5.84	71.26	0.645
	30kGy	30	8253	7.59	52.72	0.632
	50kGy	50	13243	7.68	37.53	0.537
	100kGy	100	14972	8.13	38.65	0.561
11	半夏瀉心湯 (W30)					
	non-irradiation	0	23	8.63	146.10	1.123
	10kGy	10	2871	15.11	41.89	0.796
	30kGy	30	3837	18.33	30.54	0.748
	50kGy	50	5946	15.37	35.34	0.737
	100kGy	100	11808	15.15	28.37	0.656
12	五苓散 (M16)					
	non-irradiation	0	51	12.27	68.62	0.918
	10kGy	10	1811	4.92	179.30	0.940
	30kGy	30	6833	10.76	44.60	0.693
	50kGy	50	8448	11.03	37.91	0.647
	100kGy	100	11333	12.05	31.16	0.613
13	柴胡桂枝乾姜湯 (W24)					
	non-irradiation	0	140	21.62	52.61	1.067
	10kGy	10	3420	10.96	41.15	0.672
	30kGy	30	7334	10.75	37.79	0.637
	50kGy	50	9113	11.54	33.72	0.624
	100kGy	100	11377	15.62	3.80	0.244

表2 低線量照射試料の閾値の信号強度と緩和時間 T1, T2 と緩和時間 T1, T2 の相乗平均

No.	Sample	dose (kGy)	Peak High	T1 (μ s)	T2 (ns)	相乗平均 (μ s)
1	麻黄附子細辛湯 (T127)					
	non-irradiation	0	118	15.53	30.21	0.685
	0.5kGy	0.5	352	31.67	4.31	0.369
	1kGy	1	664	30.76	3.10	0.309
	10kGy	10	5755	32.09	6.40	0.453
2	桂枝人参湯 (T82)					
	non-irradiation	0	33	12.45	25.89	0.568
	0.5kGy	0.5	345	19.86	4.05	0.284
	1kGy	1	624	26.62	6.09	0.403
	10kGy	10	5195	27.39	4.30	0.343
3	当帰建中湯 (T123)					
	non-irradiation	0	18	8.82	60.02	0.728
	0.5kGy	0.5	398	6.81	94.55	0.803
	1kGy	1	694	17.34	5.15	0.299
	10kGy	10	4400	15.31	5.47	0.289
4	黄耆建中湯 (T98)					
	non-irradiation	0	15	10.35	46.50	0.694
	0.5kGy	0.5	380	7.53	66.18	0.706
	1kGy	1	746	17.25	9.17	0.398
	10kGy	10	4988	16.54	3.88	0.253
5	小青竜湯 (W09)					
	non-irradiation	0	54	7.27	29.60	0.646
	0.5kGy	0.5	397	2.86	138.00	0.628
	1kGy	1	652	6.58	7.28	0.219
	10kGy	10	2984	16.54	3.88	0.253
6	辛夷清肺湯 (N104)					
	non-irradiation	0	106	11.27	119.90	1.162
	0.5kGy	0.5	400	8.13	101.90	0.910
	1kGy	1	704	16.94	10.57	0.423
	10kGy	10	3945	6.36	98.17	0.790
7	葛根湯 (EK-1)					
	non-irradiation	0	126	6.84	173.30	1.089
	0.5kGy	0.5	514	7.43	114.30	0.921
	1kGy	1	706	14.19	18.96	0.519
	10kGy	10	4210	6.82	96.73	0.812

表3 再照射試料の閾値の信号強度と緩和時間 T1, T2 と緩和時間 T1, T2 の相乗平均

No.	Sample	Peak High	T1 (μ s)	T2 (ns)	相乗平均 (μ s)
1	麻黄附子細辛湯 (T127)				
	non-irradiation	39.00	1.81	809.40	1.210
	30kGy	10980	19.53	28.15	0.741
	10kGy 再照射	15835	18.21	30.80	0.749
2	炙甘草湯 (T64)				
	non-irradiation	93.00	15.41	85.24	1.146
	30kGy	4520	13.57	43.83	0.771
	10kGy 再照射	12832	9.35	44.30	0.644
3	当帰建中湯 (T123)				
	non-irradiation	17.00	2.07	451.60	0.967
	30kGy	8847	9.36	33.79	0.562
	10kGy 再照射	15064	7.19	42.93	0.555
4	黄耆建中湯 (T98)				
	non-irradiation	14.00	1.15	734.30	0.919
	30kGy	9680	10.57	32.16	0.583
	10kGy 再照射	18448	8.77	34.49	0.550
5	桂枝人參湯 (T82)				
	non-irradiation	37.00	3.80	287.40	1.045
	30kGy	9295	16.47	35.73	0.767
	10kGy 再照射	16765	16.48	31.10	0.716
6	辛夷清肺湯 (N104)				
	non-irradiation	108.0	9.61	118.10	1.066
	30kGy	3847	8.08	67.21	0.737
	10kGy 再照射	11143	9.31	38.52	0.599
7	排膿散及湯 (N122)				
	non-irradiation	40.00	8.45	102.50	0.931
	30kGy	3309	12.65	38.70	0.700
	10kGy 再照射	7320	10.81	39.68	0.655
8	桂枝加黄耆湯 (TY026)				
	non-irradiation	21.00	5.02	100.90	0.712
	30kGy	5136	8.38	47.93	0.634
	10kGy 再照射	8380	7.74	37.35	0.538
9	小柴胡湯 (W05)				
	non-irradiation	51.00	5.74	171.60	0.993
	30kGy	3860	9.95	54.48	0.736
	10kGy 再照射	8432.5	9.71	36.43	0.595
10	麻黄附子細辛湯 (S108)				
	non-irradiation	238	4.12	146.00	0.775
	30kGy	8253	7.59	52.72	0.632
	10kGy 再照射	13387	7.58	36.79	0.528
11	半夏瀉心湯 (W30)				
	non-irradiation	23.00	8.63	146.10	1.123
	30kGy	3837	18.33	30.54	0.748
	10kGy 再照射	9700	16.87	29.79	0.709

表3 (続き)

No.	Sample	Peak High	T1 (μ s)	T2 (ns)	相乗平均 (μ s)
12	五苓散 (M16)				
	non-irradiation	51.00	12.27	68.62	0.918
	30kGy	6833	10.76	44.60	0.693
	10kGy 再度照射	10372.5	10.35	34.83	0.600
13	柴胡桂枝乾姜湯 (M24)				
	non-irradiation	140.0	21.62	52.61	1.607
	30kGy	7334	10.75	37.79	0.637
	10kGy 再度照射	11870	10.93	31.98	0.591

参考文献

- 1) Nakamura, H. et al. An Eelectron Spin Resonance Study of Ginseng Irradiated by gamma Ray. *Spectrochimica Acta Part A*, **63**, p.883-887 (2006).
- 2) Ukai, M. et al. An ESR protocol based on relaxation phenomena in irradiated foods. *Spectrochimica Acta Part A*, **63**, p.879-882 (2006).
- 3) Shimoyama, Y. et al. Free Radical Irradiated Wheat Flour Detected by Electron Spin Resonance Spectroscopy. *Spectrochimica Acta Part A*, **69**, p.888-890 (2006).
- 4) Ukai M. et al. An Electron Spin Resonance Study of Dry Vegetables before and after Irradiation. *Spectrochimica Acta Part A*, **69**, p.1417-1422 (2008).
- 5) 小川英之 ほか. 照射誘導ラジカルの緩和減少. *食品照射*. **44**, p.5-8 (2009).
- 6) A. Lund et al. Relaxation-Time Determination from Continuous-Microwave Saturation of EPR Spectra. *Radiation Research*, **172**, p.753-760 (2009).
- 7) Kevan, L.; Chen, D. H.. Spatial distribution of trapped electrons in γ -irradiation organic glasses. *J. Chem. Phys.* **49**(4), p.1970-1971 (1968).

(2010年7月16日受理)