

〈平成18年度〉

## 放射線照射香辛料の照射履歴検査法の確立

鵜飼 光子

(北海道教育大学)

### 1. 緒 言

香辛料は収穫時及び保存時において微生物汚染されやすく、安全性の確保が重要である<sup>1~2)</sup>。加工工程での殺菌処理について多くの検討がなされてきたが殺菌技術として放射線照射が近年注目されている<sup>3~6)</sup>。照射殺菌の安全性が国際的に認知されるようになり照射量の評価も行われている。照射食品の流通の拡大が予想されている<sup>7)</sup>。放射線照射は食品の殺菌を効果的に行うことができるが、放射線照射によるラジカルの発生が危惧されている。日本では殺菌を目的とした照射は許可されていない。

照射の有無を検知する方法<sup>8,9)</sup>が検討されているが、電子スピン共鳴 (electron spin resonance, ESR) 法は照射食品の検知法に应用されている。EU (European Union) では公定法としてすでに導入している<sup>10)</sup>。ESRは操作が簡便であり、ラジカルの迅速な計測が可能である<sup>11)</sup>。しかし、食品の種類や保存条件などによって信号の検出が出来ないこともあり、食品への応用は限られている。EU公定法では魚介類や肉類の骨組織<sup>12)</sup>、セルロースを含む乾燥野菜や乾燥果実類<sup>13,14)</sup>などが分析対象である。

本研究では香辛料として胡椒を試料として用い、セルロースに補足されたラジカル種をESR法により測定し、ESR信号が食品の種類によって変化するか否かについて検討した。さらにESRスペクトルの飽和挙動について解析しラジカル種の同

定を行った。

### 2. 実験方法

#### 2.1 試料

胡椒は市販のものを用いた。胡椒は粉末状の白胡椒、黒胡椒を用いた。いずれも函館市内で購入したものである。購入後直ちに冷蔵保存し、実験に供した。

#### 2.2 ESR測定

試料は300mgを秤量後、ESR試料管 (99.9%石英ガラス, 英光社製) に封入した。

すべてのESR測定は、ESR分光器 (JES-FE1XG, 日本電子KK) を用いて行った。測定に用いたマイクロ波の周波数は、Xバンド (9.3GHz) である。共鳴磁場は、250と320mTとし掃引磁場は500と100mTを用いた。胡椒中の電子スピン緩和挙動を検討するためにマイクロ波磁場を変化させ逐次飽和曲線を求めた。ESR測定の検出温度は、すべて室温 (20℃) である。

#### 2.3 照射

試料の照射はガンマ線を用い線量は10, 30, 50kGyとした。胡椒は日本原子力研究開発機構高崎研究所にて照射した。

### 3. 実験結果

#### 3.1 ESR信号のスペクトル挙動

Fig.1に黒胡椒試料のESR信号を示す。常圧下でも減圧下においてもスペクトルの挙動に有意の差異は認められなかったので、本研究における

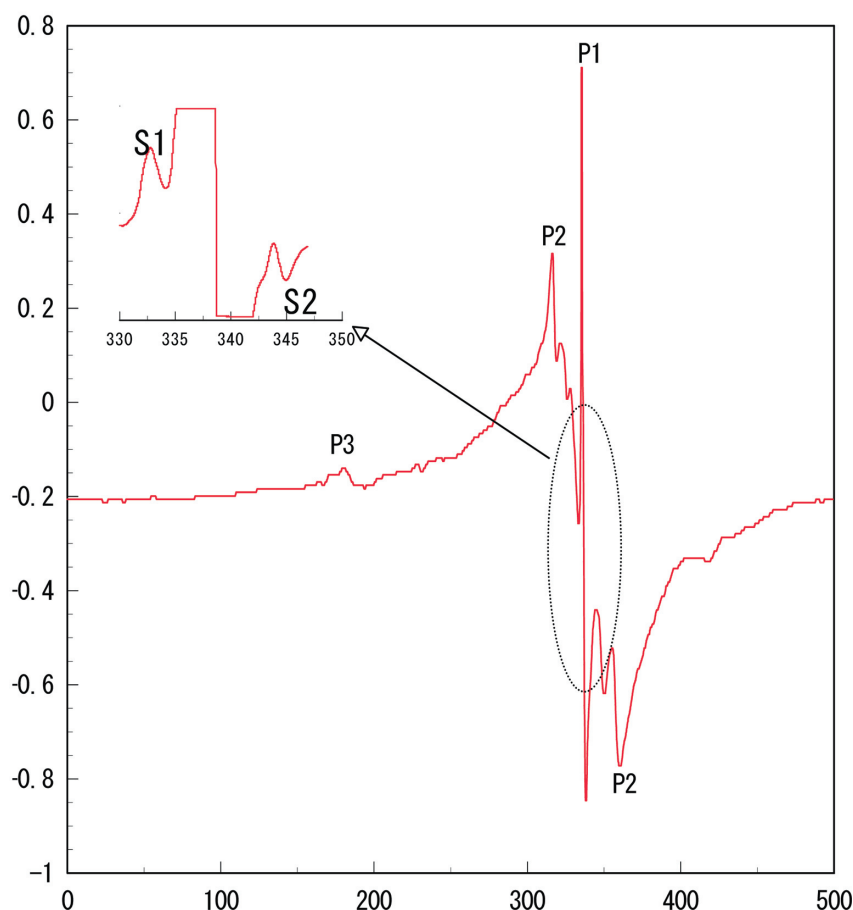


Fig. 1 ESR spectra of black pepper before and after gamma ray irradiation of 50kGy. The spectrum was recorded over the field swept of 500mT. The inserted spectrum shows twin peak signals ( $S_1$  and  $S_2$ ) induced in black pepper by gamma irradiation.

ESR測定は常圧下で行っている。ESR信号は胡椒の種類に関わらず、本質的に同一であった。得られた黒胡椒のESR信号は3成分であった。第一に、 $P_1$ で示した $g = 2.0$ における鋭く強い信号である。これは有機フリーラジカルによるものと推定できる。第二に $g = 2.0$ を中心とする六本線( $P_2$ )が観測された。これは、 $Mn^{2+}$ イオンによる超微細構造線と同定できる。 $P_3$ で示した $g = 4.0$ の信号は $Fe^{3+}$ による遷移金属イオンによるものと推定できる。

### 3.2 $Mn^{2+}$ イオンの超微細構造(hfc)

$Mn^{2+}$ イオンのhfcを評価するため、二つの方法を用いた。信号の頂点ないし最大傾斜点を採用した。いずれの方法によっても、各々の胡椒試料中の $Mn^{2+}$ イオンは、約7.4mTのhfc値を与えた。

### 3.3 $Fe^{3+}$ 信号

$g = 4.0$ の信号は $Fe^{3+}$ による遷移金属イオンに由来するが、食品類では希少なESR信号の検出である。

### 3.4 逐次飽和挙動<sup>15)</sup>

Fig.2にマイクロ波強度を変化させたときの黒胡椒のESRスペクトルを示した。マイクロ波強度を増加させるにしたがってA)で示したようにスペクトルの $g = 2.0$ 近傍の信号が変化する。即ち、有機フリーラジカルと推定される一本線の信号強度がマイクロ波の増加にしたがって顕著に減少している。これは飽和現象の典型的な例である。マイクロ波強度を196mWにすると傾斜基線を呈した。マイクロ波強度の増大による酸素の影響であると思われる。この現象以外、信号全体の質的变化は見られなかった。

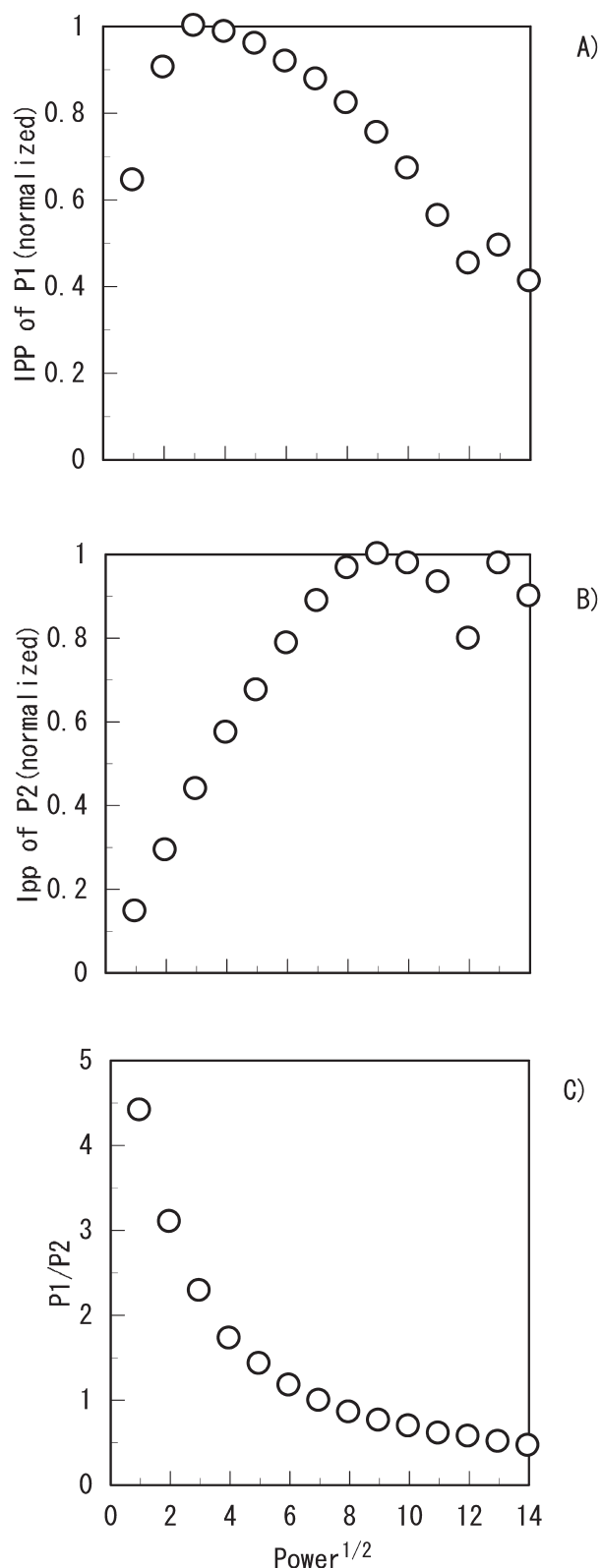


Fig. 2 Progressive saturation behaviors of an ESR signal  $P_1$  from the un-irradiated black pepper. A)  $P_1$ , B)  $P_2$  signals and C) a ratio of  $P_1/P_2$  are plotted against the root of microwave power.

**Fig.2B)**  $P_2$ の信号の変化を示している。**Fig.2**における $P_1$ と $P_2$ の各マイクロ波磁場におけるピーク強度の変化を比較すると $P_1$ が $P_2$ 信号より、迅速に飽和することを示している。このことは、 $P_1$ が有機フリーラジカル由来の信号であることを意味する。つまり、 $\text{Mn}^{2+}$ イオンの超微細構造に起因する信号である $P_2$ よりも $P_1$ が長い緩和時間を保持するからである。**Fig.2C**に $\text{Mn}^{2+}$ イオンと有機フリーラジカル由来のピーク比 ( $P_1/P_2$ )を示した。 $P_1/P_2$ は有機フリーラジカルの飽和にともない、マイクロ波強度の増加によって信号強度が顕著に減少する。即ち $P_1/P_2$ 比によって飽和現象が明瞭に示された。

### 3.5 照射による新規ラジカルの発現

**Fig.1**左上に照射胡椒のESR信号を示した。照射により、 $g=2$ の有機フリーラジカルに対称な位置に2本のペアーピークを観測した。

## 4. 考 察

### 4.1 市販胡椒でのESR信号のスペクトル挙動

**Fig.1**に示したように、胡椒のESRのスペクトルの挙動から3成分を得た。シャープな $P_1$ 、 $P_2$ 及び $P_3$ の3種類のシグナルの同時検出は食品のESR測定法においては新知見である。従来、胡椒では $P_1$ と $P_3$ のピークの確認<sup>10)</sup>はなされているが、 $P_1$ と $P_3$ の同時観測はなされていない。 $P_3$ は赤唐辛子とシナモンやオールスパイスで検出<sup>16)</sup>されているに過ぎない。 $P_3$ の胡椒での信号検出の報告はない。

### 4.2 CEN (Committee de Europe Normalization) のESR定量条件との比較

EU公定法におけるESR法<sup>12~14)</sup>では異なる実験室間のESR測定の定量性を保障するために、**Table 1**で示したような一定のマイクロ波強度、例えば0.4mWでのESR計測を推奨している。しかし、マイクロ波磁場は胡椒試料の種類により、ま

**Table 1** Comparison between the new protocol and CEN protocol fixed for ESR of irradiated foods

	<i>New protocol</i>	<i>N1787 protocol (1996)</i>
<i>Sample preparation</i>	300mg	100mg
<i>Magnetic field</i>	250 ± 250mT 330 ± 100mT	348 mT center field
	Center field at 9.5 GHz microwave frequency (g~2.00)	
<i>Microwave power</i>	Variable 0~196mW	0.4mW for pistachio nuts. 0.8mW for paprika powder

た含水量によっても変化を受け、同一試料であってもESR信号が検出されない場合もありうる。従って、マイクロ波を一定の値に決めることは合理的でない。このことは、逐次飽和法による観測結果（実験結果の参照）よりも明らかになった。

この点を改良すべく、本研究では、同一のESRスペクトル中でのMn<sup>2+</sup>と有機ラジカルのピークの比を用いた。ピーク比 ( $P_1/P_2$ ) は同一のスペクトル上で定義されることになり、恒定常数 (universal constant) としての取り扱いができる。食品毎の種類の相互比較が可能となり、測定条件に左右されない厳密な指標を与えると結論した。

ピーク比 ( $P_1/P_2$ ) はマイクロ波磁場強度により変化する。 $P_1/P_2$ のうちの最大値を採用することにより絶対値尺度を設定できる。 $P_1/P_2$ の最大値を与えるマイクロ波磁場強度をESR測定における最適強度として用いることを提唱するものである。

#### 4.3 照射によるラジカル種の変化と消長

**Fig.1**に示したように照射によりペアーピークが新規に発現した。照射の有無を検知する信号としてに有用と考えられる。しかし、ペアーピークは不安定であり、特に低磁場側の信号は減衰しやすいために、高磁場側をシグナルを照射の有無の検知に応用している<sup>9)</sup>。黒胡椒では一ヶ月にわたる長期冷蔵保存においてペアーピークが残っていることを観測している（未発表）ので、ESRの測定条件を詳細に検討することで低磁場側のシグナルも照射有無の検知に利用できると考えている。

ペアーピークの逐次飽和挙動は異なっており<sup>17)</sup>、異なるラジカル種であると推察される。

#### 文献

- 1) 伊藤 均, 武久正昭, 食品の放射線処理と殺菌, ファインケミカル, 18-30 (1982)
- 2) Frarkas, J., Radiation processing of dry food ingredients. A review, *Radiat. Phys. Chem.* **25**, 271 2 - 280 (1985) .
- 3) Farkas, J., *Irradiation of Dry Food Ingredients* (CRC Press, Boca Raton, FL., 1988) .
- 4) Farkas, J., The Microbiological Quality and Safety of food *in Spices and herbs I* (ed.13.Lund, B. M., Baird-Parker. A.C., Gould, G. W.) 897-918 (Aspen Publishers, Gaithersburg, MD, 2000)
- 5) Farkas, J., Kalman, B., Bencze- Bocs, J., Jauernig, A., *Experiments for improving the quality of dried vegetables by ionizing radiation* (in Hungarian) (1-3) , 21-40 (Kiserletugyi Kozlemenyek, LXIII-E, Elelmszeripar, 1970) .
- 6) Muhamad, L. J., Ito, H., Watanabe, H., Tamura, N., Distribution of Microorganisms in Spices and Their Decontamination by Gamma- irradiation, *Agaric. Biol. Chem.* **50** (2) , 347-355 (1986) .
- 7) 久米民和, 世界における食品照射の現状, *RADIOISOTOPES*, **51**, 522-532 (2002)
- 8) 等々力節子, 照射食品の検知法について, *RADIOISOTOPES*, **49**, 467-469 (2002)
- 9) 宮原 誠, 食品照射検知法の現状, *食品照射*, **37**, 29-47 (2002)
- 10) Raffi J., Stocker P., Electron Paramagnetic Resonance Detection of Irradiated Foodstuffs, *Appl. Magn. Reson.*, **10**, 357-373 (1996) .
- 11) Stewart, E., M., Detection Methods for Irradiated *Foods, in Food Irradiation: Principles and Applications* (Eds., R. A. Molns) , *Chap. 14*, 347-386 (John Wiley & Sons, Inc., New York, 2001) .

- 
- 12) EN 1786 Food stuffs-Detection of irradiated food containing bone - Method by ESR spectroscopy, European Committee for standardization, Brussels, Belgium (1996)
- 13) EN 1787 Food stuffs - Detection of irradiated food containing cellulose - Method by ESR spectroscopy, European Committee for standardization, Brussels, Belgium (1996)
- 14) EN 1787 Food stuffs - Detection of irradiated food containing cellulose by ESR spectroscopy, European Committee for standardization, Brussels, Belgium (2000).
- 15) Poole, Jr. C. P., Electron Spin Resonance (Wiley-Interscience, Canada, 1983) Chap.12
- 16) Uchiyama, S., Kawamura, Y., Saito, J., Identification of  $\gamma$ -irradiated spices by electron spin resonance (ESR) spectrometry, *J. Food Hyg. Soc. Jpn.* **31**, 499-507 (1990) .
- 17) M, Ukai, Y. Shimoyama, Free Radicals in Irradiated Pepper: An Electron Spin Resonance Study, *Appl. Magn. Reson.* **24**, 1-11 (2003) .

## An Advanced Protocol for Detection of Irradiated Spices

Mitsuko Ukai

(Department of Environmental Science Hokkaido University of Education)

The use of sterilization technologies such as electromagnetic irradiation and elementary particle rays enables the shelf life of food to be extended. Electron spin resonance (ESR) spectroscopy has been applied to evaluate irradiation effects. It has been accepted as an international standard method for irradiated foods. We have already reported about decay of radicals in gamma ray irradiated pepper during thermal treatment (Ukai, 2004) . In the present study, we will report on the relaxation behavior of free radicals in irradiated pepper using ESR spectroscopy, thereby determining the existence of radiation-induced free radicals. Using ESR, we found various free radicals in a pepper before and after irradiation. The representative ESR spectrum of the pepper composed of a sextet centered at  $g= 2.0$ , a singlet at the same  $g$ -value and a singlet at  $g = 4.0$ . This reflects the evidence of three independent radicals in the pepper before irradiation. Upon gamma ray irradiation, a new pair of signals appeared. The progressive saturation behavior (PSB) at various microwave power levels indicated quite different relaxation behaviors of those signals. For the evaluation of radiation-induced radicals and irradiation effects we proposed a new protocol using the PSB method. This would call for an advanced protocol for the detection of irradiated foods.

References; Ukai, M., Shimoyama, Y., 2004. Radiation Physics and Chemistry 71, 177-180

Keywords: electron spin resonance (ESR) ; gamma-ray irradiation; relaxation phenomena, protocol