

[報文]

標準添加法による胡椒の ESR による検知

小川聡子, 加恵田庸子, 亀谷宏美, 中村秀夫, 鶴飼光子

北海道教育大学 (〒 040-8567 北海道函館市八幡町 1-2)

ESR detection of black pepper using standard addition method

Ogawa Satoko, Kaeda Youko, Kameya Hiromi, Nakamura Hideo and Ukai Mitsuko

Department of Chemistry, Hokkaido University of Education, 1-2, Hachimann-cho, Hakodate 040-8567 Japan

Summary

ESR techniques for studying the detection of radicals induced in gamma ray irradiated pepper were studied. 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. Using standard addition method for solid sample technique we prepared the experimental samples containing 2.0 ~ 20.0 w/w % irradiated black pepper. 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 standard addition method. This would be called an advanced protocol for the detection of irradiated black pepper.

Key words: Irradiation, black pepper, radical, electron spin resonance, thermoluminescence

はじめに

照射殺菌の有用性や健全性は国際的に認められており、今後、さらにこの殺菌技術は拡大することが予想される。事実、国際原子力機構 (IAEA) によると 2007 年には香辛料や乾燥野菜などの照射が商業規模で行われ、約 50 万トン流通している¹⁾。

昨今の食品由来の病気予防や生活習慣の変化に対応した調理時間の少ない加工食品の増加などにより、照射食品に対する新しいニーズが生まれている。また、殺虫剤や殺菌用薬品などの使用を減少させる環境保全を目的とし照射処理が注目されている。

日本では殺菌を目的とした照射は認められていない。照射処理は馬鈴薯の発芽防止にのみ許可されてきた。しかし、今後は殺菌を目的とした香辛料や乾

燥野菜の照射処理が日本に導入される可能性は大きい。

内閣府は厳密な検知法の検討と、検知法の実用化にむけた取り組みの必要性を示している²⁾。照射食品の検知法としては熱ルミネセンス (Thermoluminescence, TL) 法や電子スピン共鳴 (Electron Spin Resonance, ESR) 法などがある。これらは EU (European Union) の公定法として導入されている³⁾。

TL 法は鉱物が附着している食品に適用できる簡便で検出精度のよい方法である。著者は電子スピン共鳴 (ESR) 法を用いた検知法について報告している^{4,6)}。ESR は放射線照射の電離作用により生成するラジカル (対電子) を直接 ESR 信号として検出し、その信号強度から放射線の吸収線量を求める方法である。ESR 法は試料を ESR 測定管に充填し

てスペクトル測定するだけであり、前処理が不要の簡便な方法である。非破壊分析方法であるのでくりかえして複数回の計測も可能である。照射誘導ラジカルを直接計測できるので、照射履歴の定量が可能である。照射誘導ラジカルを直接 ESR 信号として計測し、EU 公定法を改良した厳密分析法を提唱し、ラジカルの逐次飽和挙動から ESR を用いた新たな分析法を確立した⁴⁾。この ESR 法を応用し、照射量の定量が可能であることを報告している⁵⁾。

TL 法を用いた照射胡椒の検知については、多くの研究成果があり、最新の後藤らの報告⁶⁾によれば、電子線で 5kGy 照射した黒胡椒を未処理の黒胡椒に混合した試料の検知について TL 法を用いた実用的検知法がある。TL 法では、混合割合が低いと再現性が低いことがわかった。混合割合が 2% では照射の有無を確認することはできず、5%、10% の混合割合でも再現性が低かった。本研究では、ESR による照射食品検知法の実用化を目的とし、照射黒胡椒混合試料を用いて検討した。

実験方法

1. 試料

黒胡椒はインドの Kerala 州、Idukki 地方で栽培された胡椒の原体である。殺菌のための照射処理を行っていない。船舶及び陸路にて運搬しており、異物検査の為に X 線照射は受けていないことを確認している。

2. 照射処理

試料の照射処理は(独)日本原子力研究開発機構高崎研究所にて行った。殺菌処理を目的としているため、線を用いた。照射量は 5kGy と 10kGy に設定したが、照射後に厳密に計算したところ 7kGy、13kGy であった。照射処理は一定量の試料を入れたプラスチックバッグを真空中に脱気して密封したものを室温にて行った。真空脱気したプラスチックバッグ内の圧力は約 1mmHg であった。

3. ESR 測定

照射処理試料を、未処理の試料に重量比で一定割合加え、合計 300mg とした。各混合割合(照射黒胡椒含有率: 2%, 5%, 10%, 20%) の試料を ESR 試料管に入れ、Ar 置換をして封じきった⁵⁾。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 1mmHg であった。測定条件は既報⁴⁾によった。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。

実験結果および考察

1. ESR 信号

Fig. 1 に照射前の黒胡椒の ESR スペクトルを示した。最も強く鋭い一本線が $g = 2.0$ に観測される。黒胡椒中の有機フリーラジカルと推定される。六本線は Mn^{2+} の超微細構造線である。Fe³⁺ 由来の信号は $g = 4.0$ 近くに観測される。いずれのラジカル種も既報⁴⁾と本質的に同じであった。

2. 照射効果

Fig. 2 に照射処理を行った黒胡椒の ESR スペクトルを示した。照射処理により ESR 信号挙動は大き

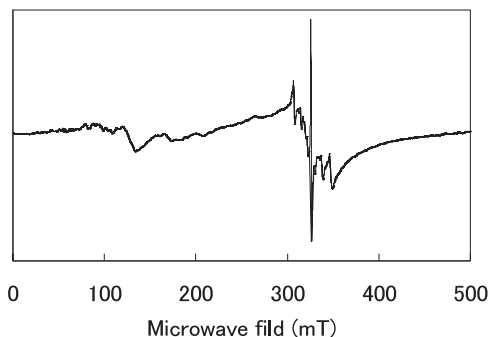


Fig. 1 ESR spectrum of black pepper before irradiation.

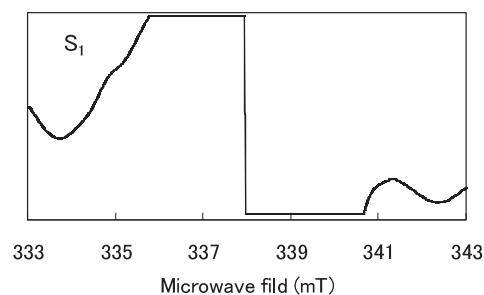


Fig. 2 ESR spectrum of black pepper after irradiation.

く変化した。

第一に $g = 2.0$ の一本線の信号強度が増大した。この一本線の信号強度は非常に強いので、 Mn^{2+} 由来の六本線は見えなくなる。ESR 計測感度を変えると当然のことながら六本線は明瞭になるものの一本線は振り切れる。照射処理により一本線の信号強度が増すので、この信号強度の変化は照射処理量の定量⁴⁾に有効である。混合試料においても一本線の信号強度は増しており、照射の有無の判別に利用できることが示唆された。

第二の変化は照射処理により、新たにサイドピークを観測したことである。Fig. 2 の S_1 で示したサイドピークは 7kGy 処理試料と 13kGy 処理試料のいずれにおいても観測できた。信号解析は ESR 解析ソフト WIN-RAD(株)ラジカルリサーチ)を用いたが、記録紙に直接掃引した結果、 S_1 の他に $g = 2.0$ を中心として対称の位置に S_2 ⁴⁾ の信号を観測できた。

サイドピークを解析ソフトを用いて積算した。 S_1 信号は明瞭になるが、 S_2 信号を得ることはできなかった。

このサイドピークは照射の有無を検知する信号として有用であると報告されている^{4,7)}ので、混合試料での照射の有無の判定にも応用できる。

いずれの混合試料においてもサイドピークの観測ができた。しかし 2% や 5% のような低混合割合の黒胡椒においては、サイドピークは必ずしも明瞭ではなく、10% や 20% 混合試料においてはじめて S_1 信号の確認ができた。ESR 検知法による照射判別をサイドピークの有無で行うことは 2% や 5% のような低混合割合の試料では必ずしも有効ではないようである。

後藤らの TL 法では検知に必要な範囲に熱影響が少なく、1 回測定で良いため時間短縮が図れる利点がある。さらに、照射の判定基準が EU 公定法の規格が用いられているため信頼性が高い。しかし、TL 法での照射検知は、混合割合が 2%、(すなわち 5.4kGy 照射試料を 2% 含むので 0.1kGy に相当)では照射の有無を判定することはできなかった。5%、10% の混合割合でも再現性が低い結果となった。これは試料調製の際に黒胡椒から分離される鉱物量のバラツキが原因と考えられるが、TL 法は一回測定なので、くりかえし計測できない。

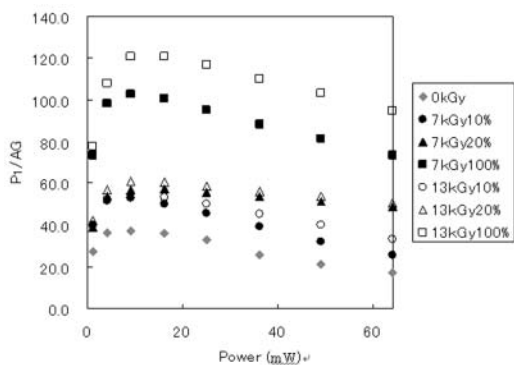


Fig. 3 Progressive saturation behavior of the P_1 signal of the black pepper before and after irradiation of 7kGy and 13kGy.

3. 逐次飽和挙動⁴⁾

ESR 信号強度を精度よく計測するために測定マイクロ波を変化させ、有機フリーラジカルの信号強度の変化を計測した。

Fig. 3 に、7kGy 処理試料と 13kGy 処理試料、その混合試料の P_1 信号強度の変化を示した。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。未処理試料と 7kGy 処理試料、及び 13kGy の信号強度は当然のことながら異なったが、飽和挙動は本質的に同一であり、9mW で閾値を得た。混合試料は、未処理試料と比較し飽和挙動に差は見られなかった。混合黒胡椒はいずれの混合割合の試料でも 9mW で飽和し、閾値を得た。

一定のマイクロ波強度のときに閾値が観測されたことから、照射処理や混合処理により飽和点が変動しないことがわかった。このことは、照射黒胡椒混合比が未知の試料でも ESR 信号の飽和挙動には本質的な差異はない事を示唆している。

4. 混合試料の ESR 信号強度

混合黒胡椒は ESR 測定ごとに ESR 試料管を十分に振とうさせ試料管内で均一混合した後に測定を行った。この振とう操作を 5 回繰り返して、ESR 測定した。Table 1 に混合試料の ESR 計測結果を示した。

Fig. 4 にマイクロ波強度を変化させて得た閾値の ESR 信号強度を、それぞれの混合試料についてプロットした。ほぼ直線で近似することが可能であっ

Table 1 Threshold value was determined with progressive saturation behavior of ESR signal at various microwave powers. Five samples were analyzed and the peak intensity was showed as average \pm standard deviation.

Sample (n = 5)	Threshold	
	Microwave Power (mW)	Peak Intensity (Peak high/Amp. Gain)
non-irradiated	9	38.3 \pm 1.2
7kGy	2 %	47.8 \pm 0.7
	5 %	48.7 \pm 3.3
	10 %	55.6 \pm 4.9
	20 %	55.6 \pm 4.6
	100 %	109.7 \pm 5.7
13kGy	2 %	56.5 \pm 3.7
	5 %	56.4 \pm 1.3
	10 %	62.8 \pm 5.0
	20 %	66.3 \pm 4.1
	100 %	130.1 \pm 8.4

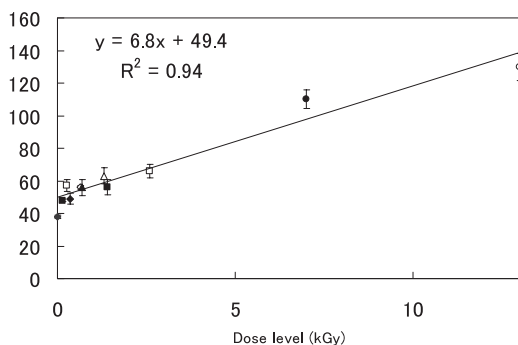


Fig. 4 Peak intensity of ESR signals at various dose levels.

た。これにより混合試料において、ESR 法を用いることで、照射履歴の定量は可能であると考えられた。標準添加法として有用であるので、実用的検知法²⁾として ESR 法が導入できると結論した。

後藤らの TL 法⁶⁾では、黒胡椒は照射黒胡椒を 20% 混合した試料において TL 発光比が 0.1 以上かつ 150 ~ 250 に発光極大が認められたので照射と判定された。2% の混合では照射を確認することができなかった。5%、10% の混合では結果にバラツキが生じ、判定は出来ないと結論された。ESR 法では 2%、5% 混合試料でもバラツキは少なかった。信号

強度は混合比が増すに従って一定割合で増大するので低割合混合試料でも ESR 法は有用な検知法といえる。パプリカを用いた TL 法⁶⁾ 計測結果では 5% 混合した試料で照射と判定された。スパイスの種類によって照射と判定できる混合割合が異なることを示している。パプリカについては ESR 測定を行っていないため、黒胡椒と同様に検討を行う必要がある。

ESR 法は TL 法に比較すると、混合割合が低くてもバラツキが少なく照射の履歴が定量できるので実用的検知法としても ESR 法が導入できると結論した。

まとめ

電子スピン共鳴 (ESR) 分光法を使用して照射黒胡椒混合試料を用いて、照射履歴定量法の検討を行った。

黒胡椒の ESR スペクトルは、 $g = 2.0$ の有機フリーラジカル由来の一本線、 $g = 2.0$ を中心とする Mn^{2+} の超微細構造による六本線、 $g = 4.0$ の Fe^{3+} 由来の一本線である。照射処理により、 $g = 2.0$ の一本線の信号強度は増大した。また、 $g = 2.0$ の一本線に対称の位置にサイドピークが発現した。

混合試料を用いて、マイクロ波強度を変化させて

閾値の ESR 信号強度を得た。これらの値は、それぞれの混合割合でほぼ直線で近似する事が可能であった。

これらの結果から、ESR による検知法は混合割合が低くても、バラツキが少なく照射の履歴が定量できるので実用的検知法として有用であると結論した。

文 献

- 1) Rubio, T.C. World wide status of food irradiation, Proceeding of Japanese Research Association for Food Irradiation (JRAFI) Meeting. p.6-14 (2007).
- 2) 内閣府原子力委員会.“食品への放射線照射について”. p.32-34 (2006).
- 3) 等々力節子.食品照射の海外の動向. *食品照射*, **40** (1, 2), p.49-58 (2005).
- 4) Ukai, M. et al. An ESR Protocol based on relaxation phenomena in irradiated foods, *Spectrochimica Acta*, **A63**, 879-882 (2006).
- 5) Nakamura, H. et al. Electron Spin Resonance Spectroscopy of gamma Ray Irradiated Ginseng. *Spectrochimica Acta*, **63**(4), p.883-887 (2006).
- 6) 後藤典子 ほか. 非照射香辛料に混合した照射香辛料の熱ルミネセンス法による検知. *RADIOISOTOPES*, **56**, p.103-113 (2007).
- 7) Raffi, J.; Stocker, P. Electron paramagnetic resonance detection of irradiated foodstuffs. *Appl. Magn. Reson.*, **10**, p.357-373 (1996).

(2008年6月12日受理)