

電子スピン共鳴法による照射黒コショウ中に 生じた遊離基の異なる水分環境下での 緩和挙動の解析

亀谷宏美,川内里紗,加恵田傭子,小川聡子,中村秀夫, 鵜飼光子,下山雄平

Reprinted from RADIOISOTOPES, Vol.57, No.8 August 2008

Japan Radioisotope Association http://www.jrias.or.jp/ ノート

電子スピン共鳴法による照射黒コショウ中に生じた遊離基の 異なる水分環境下での緩和挙動の解析

亀谷宏美,川内里紗,加恵田傭子*,小川聡子*,中村秀夫*,鵜飼光子*,下山雄平

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

2008年3月5日 受理

黒コショウは天然物由来の香辛料であるため, 微生物により汚染されやすいので, γ線照射によ る殺菌が行われる。ESR を用いて, 照射黒コショウで検出される ESR 信号強度の飽和挙動に対す る水分の影響について明らかにした。黒コショウの ESR 信号は g=2.0の幅広い 6 本線や同じ g 値の1本線更に g=4.0の1本線から構成されていた。照射処理後, g=2.0の1本線のサイドに新 規信号が発現した。

照射の有無にかかわらず,黒コショウのラジカルに基づく ESR 信号強度は高湿度下に貯蔵する ことにより減衰した。照射黒コショウの ESR 信号強度は貯蔵により減衰し,未照射黒コショウの 信号強度とほぼ同じ値に収束した。

Key Words : black pepper, gamma ray irradiation, radical, moisture, ESR, relaxation behavior

1. 緒 言

黒コショウは代表的な香辛料の一つである。 香辛料は微生物汚染されやすく,安全性の確保 が重要であるため,その殺菌処理について多く の検討がなされてきた。効果的な殺菌を目的と して世界各地で放射線照射殺菌を行っている。

放射線照射殺菌の健全性は国際的に認知され ている。今後更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 2004 年には香辛料や乾燥野菜など約 30 万トンが照射殺菌され全世界に流通してい ると報じられている¹⁾。

流通の拡大により照射食品の検疫所における 検査が必要になっている。電子スピン共鳴法 (Electron Spin Resonance,以下ESR)は照射 食品検知法の一つである。照射誘導ラジカルを 直接はかれる唯一の方法である。著者らは、ラ ジカルの逐次飽和挙動からESRを用いた分析 法を確立した²。この方法を用いると,照射処 理量を定量できる³⁾。

照射誘導ラジカルは,水分の影響を受けると 消滅するが,これは原理的に考えると当然であ ろう。食品のように水分が多いものは照射処理 後,そのまま貯蔵すると時間が経つに従いラジ カルは消滅すると考えられている。

本実験では,保存中のラジカルの変化につい て検討した。異なる水分量になるように調製し た黒コショウを用い約3か月にわたりラジカル の挙動を ESR で計測した。水分がラジカル挙 動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

黒コショウはインドのケーララ州,イドゥッ キ地方で栽培されたコショウの原体を用いた。 この黒コショウは蒸気殺菌や粉砕処理は行われ ていない。また,船便及びトラック便にて運搬 しており,空港での異物検査のためのX線照 射は受けていない。

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高 崎量子応用研究所にてγ線を用いて行った。 照射量は13 kGy とした。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に脱気 して密封したものを室内にて行った。真空脱気 したプラスチックバッグ内の圧力は約1.33× 10² Pa であった。

2・3 試料調製方法及び貯蔵条件

測定試料は従来法⁴に準じ試料 300 mgを ESR 試料管に入れたものを用いた。測定試料 は異なる水分量の存在条件下で貯蔵して水分暴 露するため,照射黒コショウ,未照射黒コショ ウそれぞれを 20,80,290 g·m⁻³の異なる水 蒸気量で満たした ESR 試料管中に封じた。そ のため 25 ℃,50 ℃,80 ℃の飽和水蒸気を用い た。

試料を入れた ESR 試料管を真空ポンプで約 1.33×10² Paまで減圧してから,それぞれ 20,80,290 g·m⁻³の異なる飽和水蒸気で満た したアルゴンガスを吹き込んで置換した。この 操作を3回繰り返してから ESR 試料管を封じ きった。それぞれの飽和水蒸気で満たしたアル ゴンガスは,50 mL 容ナスフラスコに入れた蒸 留水をオイルバスで25℃,50℃,80℃に保ち, ここにアルゴンガスを吹き込んで1時間放置し たガスを使用した。

各温度における厳密な飽和水蒸気量は 25 °C では20.06 g·m⁻³, 50 °C では82.86 g·m⁻³, 80 °C では 292.08 g·m⁻³ であり, ESR 試料管内の圧 力は約 1.01×10⁵ Pa であった。調製した試料 は照射黒コショウ(a)と,未照射黒コショウ(b) である。20, 80, 290 g·m⁻³の水分量で貯蔵し ている試料を 1, 2, 3 とし,合計 6 種 (1a, 1b, 2a, 2b, 3a, 3b)の試料を調製した。

水分暴露試料は約90日間4℃の冷蔵庫内で

貯蔵した。ESR 信号の計測時期は試料調製後 より2週間後,1か月後,2か月後,3か月後 の4回であった。

2·4 ESR 測定

測定条件は既報⁴によった。分析用試料は冷 蔵庫にて一定期間貯蔵後, すみやかに ESR 計 測に供した。

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。ESR 測 定は 20 ℃の室温にて行った。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⁾。

3. 実験結果

3·1 ESR 信号

Fig. 1(a) に黒コショウの ESR スペクトルを 示した。最も強く鋭い1本線 g=2.0 に観測さ れるが、黒コショウ中の有機フリーラジカルと 推定される。6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で報告した市 販黒コショウの場合と同種であった⁴⁾。

全く放射線処理されていない試料であっても ラジカルが明瞭な ESR 信号として観測される ことが確認できた。



Fig. 1 ESR spectra of (a) non-irradiated and (b) irradiated black pepper.



Fig. 2 The saturation behavior of saturated water vapor at 20, 80 and 290 g \cdot m⁻³.

3·2 照射効果

Fig. 1(b) に照射処理を行った黒コショウの ESR スペクトルを示した。g=2.001本線の 信号強度は照射処理をしない黒コショウの信号 強度と比較して著しく増大した。更に,この g=2.001本線の信号のサイドと対称な位置 に新規信号を観測した。これも既報と同じであ った⁴。

3.3 逐次飽和挙動

Fig.2に1回目測定時における各飽和水蒸気 量ごとの有機フリーラジカル由来のESR 信号 の逐次飽和挙動を示した。いずれの場合でも照 射処理したものは未照射の試料よりも高い信号 強度を示した。

実験に使用した黒コショウの逐次飽和挙動は 照射黒コショウ,未照射黒コショウのいずれも 4 mW で飽和し, 閾値を得た。Table 1 にそれ ぞれの試料で得られた飽和時の信号強度, 閾値 を示した。飽和挙動は水分量に影響を受けない ことが示された。

Fig.3に1回目から4回目までのESR計測 における閾値の経時変化を示した。1回目の ESR計測時には飽和水蒸気量や照射の有無に より観測される信号強度に差異が見られた。し かし,貯蔵期間が長くなるに従いESR信号強 度はいずれの場合にもほぼ同じ値に収束した。

4. 考察

4・1 逐次飽和挙動及び閾値の変化

Fig.2で示すように異なる水蒸気量 (20,80,290g·m⁻³)で満たした黒コショウ を試料調製後すぐにESR計測するといずれの 水蒸気量であっても照射黒コショウの信号強度 のほうが最も強い値を示した。水蒸気量が多い 試料の方がより高い閾値を示した。しかし、時 間を経るに従い信号強度は減衰し、Fig.3に示 したように最終的にほぼ同じ値に収束した。

照射の有無や水蒸気量の違いにかかわらず, 信号強度はほぼ同じ値にて収束した。従来,著 者らはラジカルの緩和現象を厳密な照射食品 ESR 検知法を提唱してきた^{5),6)}。ESR 信号は測 定条件によって信号強度が変化する。そこで, 再現性を保証するためにラジカルの飽和挙動を 調べた後に閾値を用いて ESR 信号強度を示し た。しかし本研究結果から,貯蔵中に水分があ ると3か月で ESR 信号が減衰し,ほとんど観 測できないことが判明した。そこで,ESR に よる照射食品検知を確実に行うためには照射後 の貯蔵条件を明記することが必要となる。

4・2 半減期と減衰挙動

試料調製直後には大きな差があった信号強度 は、約3か月後にはほぼ同じ値に収束している (Fig. 3)。そこで、それぞれの条件において、経 時時間の相違にともなう ESR 信号強度の変化 を線型最小二乗法で近似し、半減期を求めた結



Fig. 3 ESR peak intensity of samples during 90 days storage. Storage period 1, 2, 3 and 4 are showed the storage period 2 weeks, 1 month, 2 months and 3 months after sealed in the ESR tube with Ar gas.

果を Table 1 に示した。照射の有無,水分量に かかわらず,黒コショウの半減期は 45 日程度 であることがわかった。半減期に差はなかった。

Fig.3に示されるラジカルの減衰について、 時減衰定数(τ)を、次式⁷¹より求めた。

$$\boldsymbol{\Phi} = \boldsymbol{\Phi}_0 e^{-\frac{\tau}{\tau}} + \boldsymbol{\Phi}_{\infty}$$

減衰の時定数(τ)は照射黒コショウでは1.9 日,未照射黒コショウでは7.7日となり,照射 黒コショウと未照射黒コショウでは,値に差異 があった。照射黒コショウの方がラジカルの減 衰定数が小さい値を示すことから,短期間に急 激に減衰することが示された。

samples —	Peak intensity of ESR signal				Half life (days)
	1st	2nd	3rd	4th	— Hall life (days)
1a	0.163	0.093	0.026	0.027	44
1b	0.080	0.075	0.013	0.013	46
2a	0.193	0.120	0.038	0.021	43
2b	0.115	0.075	0.016	0.016	43
3a	0.319	0.123	0.048	0.043	44
3b	0.168	0.100	0.029	0.009	45

Table 1 Peak intensity of ESR signal and half life during 3 months storage

4·3 実用的検知法

ESR 信号はいかなる水分暴露条件下でも観 測された。つまり,信号強度は0にはならず, 必ず信号を観測できたのである。ただし,保存 条件が変化し,例えば水分が非常に多い状態で は,ESR 信号が減衰するという現象が明らか になった。

ESR 法は照射誘導ラジカルを直接計測する ので,照射の有無や照射履歴を判別するのに有 効であることは言うまでもない³⁾。照射食品は 照射直後にすぐに摂食するわけではなく,一定 の流通段階を経て消費者に届く。今日、食品の 流通は厳しく管理されているので、流通段階で の食品の変質は少ない。しかしながら、コショ ウの場合、インドのような熱帯地方の遠隔地か ら輸入される場合は,湿度が高い条件下で雰囲 気に曝されることもあろう。そこで、本研究で はこのような条件下での貯蔵を想定し、モデル 系としてこの水分暴露の実験を行った。この水 分暴露実験を行い、

ラジカルの減衰定数を定め ることができたので、いかなる貯蔵条件であっ てもラジカルの変化挙動を推定できることが判 明した。

ESR 計測においては一般に試料中の水分は ESR 信号に影響を与える。当然のことながら, 本実験で用いた連続波 X-バンド ESR 計測にお いては, ラジカルは試料中の水分に吸収されて しまうので ESR 信号を厳密に捉えることがで きない。また,電子スピンの飽和挙動にも水分 は影響を与えるので,ESR 信号を検出するこ とが難しくなる。水とラジカルの相互作用も当 然のことながら予想できる。著者らの実験の系 では,この相互作用に論及することはできない ので,今後に詳細な検討を加えたいと考えてい る。

文 献

- 1)等々力節子,食品照射の海外の動向,食品照射, 40(1,2),49-58(2005)
- Ukai, M. and Shimoyama, Y., Free radicals in irradiated pepper: An electrum spin resonance study, *Appl. Magn. Reson.*, 24, 1-11 (2003)
- 中村秀夫,鵜飼光子,下山雄平,γ線照射した 朝鮮人参の電子スピン共鳴法による解析, RADIOISOTOPES, 53, 501-506 (2004)
- Ukai, M., Nakamura, H. and Shimoyama, Y., An ESR Protocol based on relaxation phenomena in irradiated foods, *Spectrochimica Acta*, A63, 879-882 (2006)
- 5) 亀谷宏美, 鵜飼光子, 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 (Agaricus blazei Murill)の分析, RADIOISOTOPES, 56, 437-441 (2007)
- 6) 亀谷宏美,鵜飼光子,ESR による照射殺菌朝鮮 人参の検知, RADIOISOTOPES, 55, 451-455 (2006)
- 7) 安部あいか,小寺直子,高橋望,鈴木沙恵,鵜飼 光子,加熱調理中によるセルロースを多く含ん だ照射食品中のラジカル減衰挙動,食品照射,38, 1-5(2003)

Abstract

Relaxation Behavior of Radicals Produced in Irradiated Black Pepper under Various Moisture Conditions by ESR

Hiromi KAMEYA, Risa KAWAUCHI, Yoko KAEDA*, Satoko OGAWA*, Hideo NAKAMURA*, Mitsuko UKAI* and Yuhei SHIMOYAMA: 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

Black pepper is easy to be contaminated by microorganism and often processed to γ -irradiation. ESR has been used for the detection of radicals induced in irradiated spices. Using ESR, we revealed the effects of moisture condition during storage of irradiated black pepper on the saturation behavior of ESR signal. The ESR spectrum of black pepper consists of a broad sextet centered at g = 2.0, a singlet at same g-value and a singlet at g = 4.0. The irradiation causes two new signals, one is the strong and sharp singlet signal at g = 2.0 and the other is the side signal.

We found that the signal intensity originated by the radicals of black pepper with and without radiation decayed in the high humidity condition during storage. The ESR signal intensity of irradiated black pepper decayed during storage and showed almost the same intensity level as that of non-irradiated black pepper during storage.

(Received March 5, 2008)