

原 著

照射ナツメグ (*Myristica fragrans*) の ESR による検知

亀谷宏美, 小川英之, 中村秀夫, 下山雄平, 鵜飼光子

Reprinted from
RADIOISOTOPES, Vol.58, No.5
May 2009



Japan Radioisotope Association

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

原 著

照射ナツメグ (*Myristica fragrans*) の ESR による検知

亀谷宏美, 小川英之*, 中村秀夫, 下山雄平*, 鶴飼光子

北海道教育大学

040-8567 北海道函館市八幡町 1-2

*室蘭工業大学

050-8585 北海道室蘭市水元町 27-1

2008 年 12 月 26 日 受理

ESR を用いて γ 線照射ナツメグの検知法について検討した。照射ナツメグは PSL 装置の光刺激により全く信号挙動に変化がなかった。ESR 分析により鋭い信号を観測した。照射処理前ナツメグの ESR 信号は $g=2.0$ を中心とする 6 本線, 同じ g 値の 1 本線, $g=4.0$ の 1 本線から構成された。照射処理により $g=2.0$ の 1 本線の ESR 信号強度が増加した。新しい信号も観測された。照射誘導ラジカルや照射効果を解明すると, 脱脂ナツメグを用いた ESR は照射ナツメグの検知法となると考えられる。

Key Words : nutmeg, gamma ray irradiation, radical, sterilization, ESR, relaxation behavior, photo-stimulated luminescence

1. 緒 言

ナツメグ (*Myristica fragrans*) は, ニクズク科の一種の常緑高木で, 和名はニクズク (肉荳蔻) である。一般にはこの高木の種子全体又は種子の仁を取り出し, 石灰液に浸して乾燥, 粉碎させたものが香辛料のナツメグとして広く知られている¹⁾。ナツメグは独特の甘い香りを有している。この香りの主体はミリスチシン (Allyl-3,4,5-trihydroxybenzene-methylene-methyl ether) という有毒物質である。また, 多量のナツメグは毒となり, 痙攣を起こす。摂取量が多い場合, 肝臓障害を引き起こすことがある²⁾。通常の使用量では生薬として利用できる。収斂, 止瀉, 健胃作用などを有する³⁾。香辛料としては, ハンバーグやミートローフなどの挽き肉料理や魚料理の臭みを消すために広く用いられる。また, クッキーやケーキなどの焼き菓子にも用いられる。

現在, 多くの香辛料や生薬は衛生化されて流

通している。衛生化において, 品質や特性を損なわない加工方法として放射線照射がある。厚生労働省通達による放射線照射食品検知法³⁾は熱ルミネッセンス法 (Thermo luminescence; TL) である。検知対象食品として種々の香辛料, 生薬があげられているが, ナツメグは記載されていない³⁾。TL 法よりも感度の高いルミネッセンス法として光刺激ルミネッセンス法 (Photo-stimulated luminescence; PSL) がある。感度の高い PSL を用いることにより TL で検知できない試料が分析できる可能性がある。著者らは, 照射誘導ラジカルの逐次飽和挙動から電子スピン共鳴法 (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⁴⁾。この改良法を応用し, 照射処理した朝鮮人参, 香辛料や小麦の照射量を定量することが可能であることを報告している⁵⁾⁻⁹⁾。

本研究では, 放射線照射処理したナツメグが ESR 法により検知できるかどうかについて検討した。

2. 実験方法

2.1 試料

ナツメグは、市販品を使用した。購入後直ちに冷所（4℃）にて保存し、実験に供した。

本市販ナツメグは独立行政法人農研機構食品総合研究所より提供されたものであり、全く照射はされていないことが明らかな試料である。これを脱脂処理した試料を調製した。脱脂処理は、試料に蒸留したベンゼンを加え、一晩冷所にて保存し、ろ過後、ベンゼンとベンゼン溶解成分を除去した。十分に乾燥させ、脱脂ナツメグとして実験に供した。

2.2 照射処理

試料の照射処理は独立行政法人農研機構食品総合研究所にて γ 線を用いて行った。照射量は1, 3, 5 kGyとし、室温で照射した。

2.3 ESR測定

測定条件は既報⁴⁾によった。測定用試料は300 mg試料をESR試料管に入れ、試料管内の空気をアルゴンで置換処理し封じたものを用いた⁹⁾。ESRはJES-FE3XG（日本電子株式会社）を用い、Xバンド（9.3 GHz）で信号計測を行った。ESR信号強度はピークの高さから求めた。著者らはすでに各種の食品を用いてESR計測を行い、マイクロ波強度が変化すると有機フリーラジカルの信号強度が変化することを観測している⁴⁾⁻⁹⁾。これは典型的な有機フリーラジカルの緩和挙動である。そこでナツメグの有機フリーラジカルの緩和挙動を検討するため、マイクロ波強度を変化させ逐次飽和曲線を求めた。逐次飽和曲線から有機フリーラジカル信号が一定のマイクロ波強度で示す閾値と線幅を用い、Lundの解析ソフトにより緩和時間（ T_1 , T_2 ）を求めた¹⁰⁾。

2.4 光刺激ルミネッセンス測定¹¹⁾⁻¹²⁾

試料をステンレスシャーレ（径50 mm、深

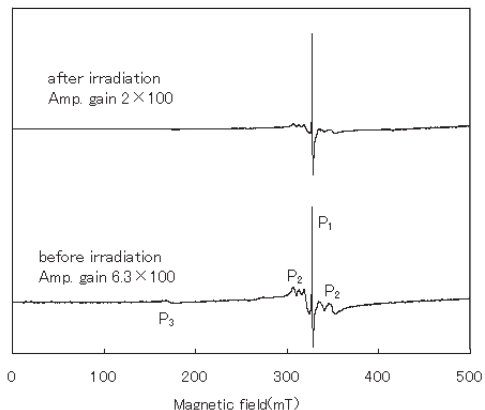


Fig. 1 Typical spectrum of nutmeg before and after irradiation.

さ15 mm)の底表面を覆うように入れ、日本放射線エンジニアリング株式会社製ES-3740S型で測定した。測定時間は100 sとした。

3. 実験結果

3.1 ESR信号

Fig. 1にナツメグのESRスペクトルを示した。照射前のナツメグのESRスペクトルは3成分により構成された。P₁で示した最も強く鋭い信号は、有機フリーラジカルの信号である。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本線を示し、超微細構造定数(hyper fine constant; hfc)が約6.6 mTであったことから、Mn²⁺の超微細構造線によると考えた。ナツメグは成分としてMnを2.68 mg/100 g含有する¹³⁾。この含有成分由来の信号と推察される。P₃は $g=4$ を示し、Fe³⁺由来の信号である。照射処理ナツメグのESRスペクトルをFig. 1の上を示した。図から明らかなように照射処理によりP₁の信号強度が増加した。更に $g=2$ の1本線の近くに新たな信号を観測した。これは、照射により観測されたサイド信号⁴⁾⁻⁹⁾であると考えられた。サイド信号の有無により照射処理の判別が可能になる。

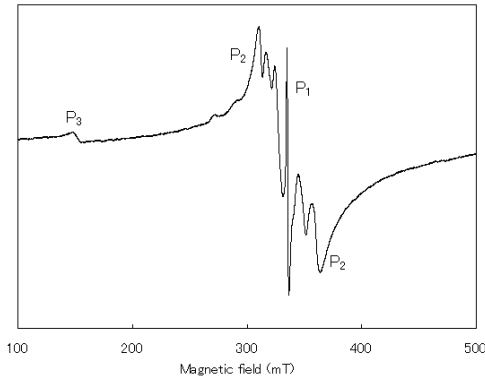


Fig. 2 ESR spectrum of defatted nutmeg.

Table 1 Influence of defatting process on P₁ peak intensity of nutmeg

nutmeg	peak intensity (P ₁ /Mn ²⁺)	
not-irradiated	not-treated	5.1
	defatted	1.0
irradiated	not-treated	7.4
	defatted	1.9

3・2 脱脂処理

脱脂処理を行ったナツメグの ESR 信号挙動を、Fig. 2 に示した。Fig. 1 の脱脂処理を行う前のナツメグと比較すると ESR 信号挙動に大きな違いは生じないことがわかった。しかし、P₁ の信号強度は著しく変化した。Table 1 に P₁ 信号の強度を示した。信号強度は信号の高さで求め、P₂ の Mn²⁺ 信号との比率⁴⁾で示した。脱脂試料の P₁ 信号強度は脱脂前の試料と比較して低値を示した。また、照射試料においても脱脂処理により P₁ の信号強度が低値を示した。脱脂処理により約 75 ~ 80% 信号強度が低くなっており、脱脂による信号強度の明確なる減衰が認められた。

3・3 逐次飽和挙動

Fig. 3 は、P₁ 信号の各マイクロ波磁場における信号強度の変化を示したものである。マイクロ波強度が増すに従い P₁ の信号強度は増大し、いずれの照射線量の試料でも 4 ~ 8 mW で飽和し、それ以降は減衰した。一定のマイクロ波

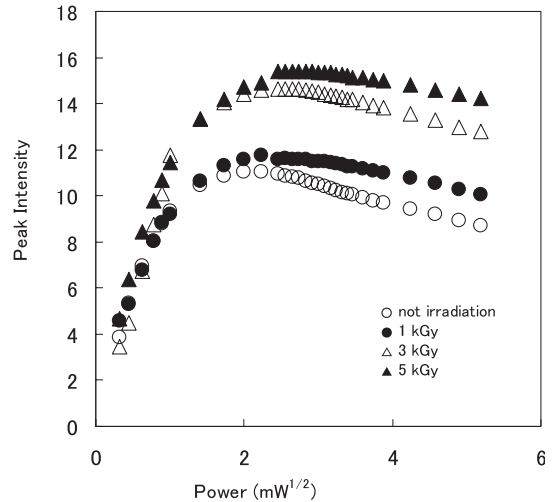


Fig. 3 PSB of nutmeg (*Myristica fragrans*) before and after irradiation by gamma ray with dose of 1, 3 and 5 kGy.

Table 2 Threshold value of nutmeg (*Myristica fragrans*) before and after irradiation by gamma ray with dose of 1, 3 and 5 kGy

nutmeg	Power (mW)	Peak Intensity (Peak height/Amp. Gain)
not-irradiated	4.0	11.0
1 kGy	6.5	11.6
3 kGy	6.5	14.7
5 kGy	8.0	15.4

Peak intensity was showed as ESR peak height / Amp. Gain.

強度で信号強度が閾値を示すことがわかった。Table 2 に各試料の閾値を示すマイクロ波強度とその信号強度を示した。信号強度は信号の高さで示した。照射処理により P₁ の信号強度が著しく増大したので感度を下げて計測した。そのため Mn²⁺ の 6 本線は観測できなくなった。Mn²⁺ 信号強度との比率で表せないために P₁ 信号強度は信号の高さで示している。照射処理量が増すに従い、信号強度は高くなった。

3・4 緩和挙動の解析

Lund らの方法¹⁰⁾により、スピン-格子緩和時間 T₁ とスピン-スピン緩和時間 T₂ を求めた。T₁ と T₂ の算出は次式を用いた。

Table 3 Relaxation time (T_1 and T_2) of nutmeg (*Myristica fragrans*)

Irradiation	$T_1(\mu\text{s})$	$T_2(\text{ns})$
not-irradiated	16	93
1 kGy	7	134
3 kGy	7	134
5 kGy	7	130

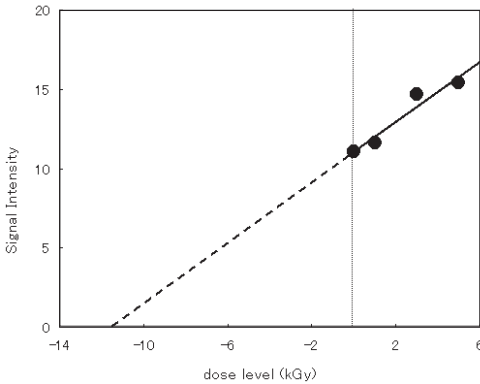


Fig. 4 Relationship of dose level and ESR signal intensity of nutmeg.

$$g(r) \propto C \frac{\beta \sqrt{P}}{t} u(ar, at)$$

Table 3 に試料の T_1 と T_2 を示した。 T_1 は 10 μs , T_2 は 100 ns オーダーであった。 T_1 と T_2 は照射量によって変化した。

3.5 外挿法での評価⁴⁾⁻⁹⁾

閾値を示した ESR 信号強度を照射処理量ごとにプロットして Fig. 4 に示した。照射処理量と ESR の信号強度の関係はほぼ直線関係を示し、比例関係があることがわかった。これにより、照射線量の定量が可能になることが示された。

4. 考 察

4.1 ナツメグの ESR 信号と逐次飽和挙動

植物性食品を試料として ESR 計測した場合、シャープな信号が観測されることは稀である。

数種類の信号が同時に検出された報告も少ない。著者らは、すでに黒コショウ、朝鮮人参、アガリクスと小麦の ESR 信号計測試験においてナツメグ試料と同様の信号を明瞭に観測し、信号の同定に成功している⁴⁾⁻⁹⁾。明瞭な信号の観測に成功した要因は、ラジカルの飽和現象を検討したのちに、ESR 信号強度の計測を行っていることによる。飽和前後の ESR 信号強度は Fig. 3 に示したように低くなり、一定ではない。閾値を示す ESR 信号強度は最高値であり定数となる。閾値を用いることにより信号強度を厳密に計測できる。ナツメグで確認された信号は、 g 値や hfc 値などにより、著者らがすでに報告したラジカル種と同一であると考えられた。

4.2 脱脂ナツメグの信号強度

P_1 信号 g 値が約 2 の 1 本線であり、有機フリーラジカル由来の信号である。ナツメグは含有成分として不飽和脂肪酸が多いので、不飽和脂肪酸由来のラジカルを信号として観測している可能性がある。そのため、脱脂試料を調製し、不飽和脂肪酸の関与を検討した。ベンゼンによる脱脂処理した試料を調製して ESR 計測を行った。ベンゼンに溶解した部分が除去されるので、脱脂試料では P_1 信号強度が減少すると予想された。

P_1 の信号強度は Table 1 で示したように、照射試料(7.4) > 未照射試料(5.1) > 照射試料の脱脂処理(1.9) > 未照射試料の脱脂処理(1.0) の順であった。脱脂処理により、信号強度は 1.9 や 1.0 と低値を示した。未処理の 7.4 や 5.1 に比較し減少した。有機フリーラジカル信号から油由来のラジカルが除かれるので信号強度が低くなったと考えられる。

4.3 外挿法による照射量の評価

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ので外挿法により、化石の年代測定に用いられてきた。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、この

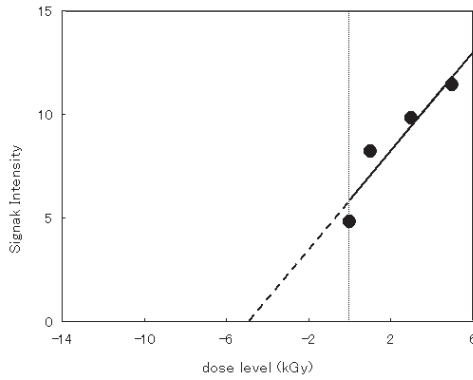


Fig.5 Relationship of dose level and ESR signal intensity of defatting nutmeg. These are correlation between dose level and signal intensity.

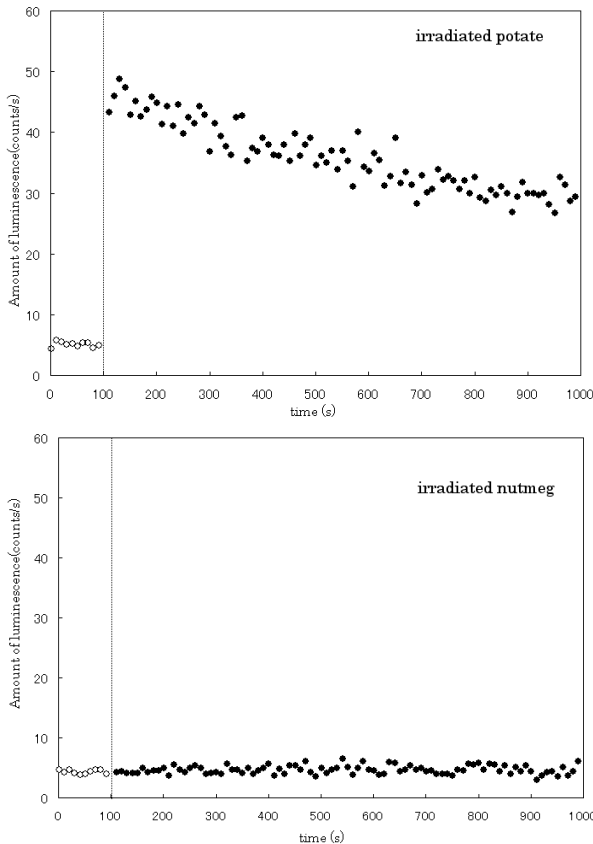


Fig. 6 PSL spectrum of irradiated potato and irradiated nutmeg.

化石の年代測定の原理を応用すれば照射量を推定することができる。すなわち、照射履歴の定量法となる。

Fig.4に、照射線量と ESR 信号強度との関係を示した。外挿法¹⁾⁻⁹⁾が本試料のナツメグに適用できるかどうか検討した結果、最小二乗法により最適化が可能であった。相関係数は 0.94 と高い値を示す検量線が得られた。そこで、この外挿法を用い、試料の照射量を求めた。

試料の照射量は、直線で示した検量線を補外して得られる測定値がゼロとなる点から外挿濃度がゼロまでの照射量に対応する。本試料ナツメグの照射処理量は約 12 kGy となる。この値は、すでに WHO/FAO にて健全性が立証されているレベルである¹⁴⁾。しかし、試料は市販品であり、照射処理されていないので、この値はバックグラウンドとなる。つまり、加工中の乾燥処理や粉碎処理などにより生じたラジカルに起因すると考えられる。

ナツメグは脂質の含有量が他の香辛料に比較して特に高いことから含有脂質由来のラジカル成分の関与が予想される。当然のことながら脱脂処理により、Fig.2 で示したように照射試料の ESR 信号強度は著しく減少していた。脱脂試料を用い外挿法を適応した結果を Fig.5 に示した。これにより、照射量は約 5 kGy と推定された。この値は、これまでに報告した生薬の分析結果^{5)-7),9)}とほぼ同じ値であった。加工処理により生ずるラジカルのバックグラウンドとして妥当レベルである。このことから成分中に油を多く含む試料における ESR による照射線量の定量法においては、分析試料の脱脂処理は必須であると考えられた。

4・4 まとめ

TL 法は照射馬鈴薯の検知法として有用である。馬鈴薯に付着した土壤中の鉍物を発光させて計測するからである。ナツメグは仁であるため¹⁾、土壌由来の鉍物を含む

ことは稀である。そのため、ナツメグはTL法で発光しない。TL法と同様の原理であるが、PSLは非常に感度が高い。そこでPSLで計測するとパブリカ¹¹⁾や葉菜粉末¹²⁾は発光が得られる。ナツメグのPSL計測結果をFig.6に示した。馬鈴薯では発光が明瞭に現れるのに反し、ナツメグでは全く観測できなかった。ESR法ではナツメグの照射誘導ラジカルの信号観測ができた。そこで、PSL法はナツメグの検知法にならないことが明らかになった。食安発第0706002号³⁾で提唱されたTL法による検知を補足する意味で、PSLは有用であるが、ナツメグではESR法による検知が有用であると考えられた。ESRを用いた外挿法はナツメグの照射履歴の定量ができ、脱脂処理により照射履歴の定量性が向上した。

文 献

- 1) 中薬大辞典, 3, 2005-2006, 小学館(1998)
- 2) 中毒情報データベース, M70183, 財団法人日本中毒センター
- 3) 食安発第0706002号, 放射線照射された食品の検知法について
- 4) Ukai, M. and Shimoyama, Y., Free radicals in irradiated pepper: An electron spin resonance study, *Appl. Magn. Reson.*, **24**, 1-11 (2003)
- 5) 中村秀夫, 鶴飼光子, 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)
- 6) Nakamura, H., Ukai, M. and Shimoyama, Y., An Electron Spin resonance Study of ginseng irradiated by gamma ray, *Spectrochimica Acta*, **63**(4), 883-887 (2006)
- 7) 亀谷宏美, 鶴飼光子, ESRによる照射殺菌朝鮮人参の検知, *RADIOISOTOPES*, **55**, 451-455 (2006)
- 8) Shimoyama, Y. and Ukai, M., Free radicals in Irradiated Wheat flour detected by Electron Spin Resonance spectroscopy, *Spectrochimica Acta*, **63**(4), 888-890 (2006)
- 9) 亀谷宏美, 鶴飼光子, 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の分析, *RADIOISOTOPES*, **56**, 437-441 (2007)
- 10) Lund, A., Sagstuen, E., Sanderud, A. and Maruani, J., Relaxation time determination from continuous-wave microwave saturation of EPR spectra, *Jour. Magn. Reson.* (in press)
- 11) 関口正之, 山崎正夫, 後藤典子, 光刺激ルミネッセンス技術を用いた照射食品の検知, *食品照射*, **43**, 19-24 (2008)
- 12) 後藤典子, 萩原昌司, 等々力節子, 本田克徳, 山崎正夫, 関口正之, 水野弘明, 照射粉末食品の光ルミネッセンス法による検知, *食品照射*, **40**, 11-14 (2005)
- 13) 食品成分研究調査会, 五訂日本食品成分表, p.274, 医歯薬出版株式会社 (2001)
- 14) FAO: CAC/VolXV-Ed.1 (1984)

Abstract**Detection of Irradiated Nutmeg (*Myristica fragrans*) by ESR**

Hiromi KAMEYA, Hideyuki OGAWA*, Hideo NAKAMURA, Yuhei SHIMOYAMA* and Mitsuko UKAI

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

The detection method of gamma ray irradiated nutmeg was studied with photo-stimulated luminescence (PSL) and electron spin resonance (ESR) spectroscopy. The irradiated nutmeg showed no change to photo-stimulated luminescence spectrum. Sharp signals were detected with ESR method. The representative ESR spectrum of the nutmeg 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 nutmeg before irradiation. Upon gamma ray irradiation, ESR peak intensity of a singlet signal at $g=2.0$ was increased. Furthermore, a new signal was appeared. The evaluation of radiation-induced radicals and irradiation effects suggested a new detection method. This would call for an advanced method for the detection of irradiated nutmeg using the defatted nutmeg by ESR.

(Received December 26, 2008)