

ノート

## 照射害虫の ESR 信号

鵜飼光子, 亀谷宏美, 今村太郎, 宮ノ下明大, 等々力節子,  
下山雄平

Reprinted from  
RADIOISOTOPES, Vol.58, No.12  
December 2009



Japan Radioisotope Association

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

## ノ ー ト



## 照射害虫の ESR 信号

鵜飼光子, 亀谷宏美, 今村太郎\*, 宮ノ下明大\*, 等々力節子\*, 下山雄平\*\*

北海道教育大学

040-8567 北海道函館市八幡町 1-2

\*独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構 食品総合研究所

305-8642 茨城県つくば市観音台 2-1-12

\*\*室蘭工業大学

050-8585 北海道室蘭市水元町 27-1

2009 年 7 月 16 日 受理

電子スピン共鳴 (ESR) 法を用い照射害虫の計測を行った。コクゾウムシ (*Sitophilus zeamais Motschulsky*), コクヌストモドキ (*Tribolium castaneum*), ノシメマダラメイガ (*Plodia interpunctella*), タバコシバンムシ (*Lasioderma serricone*) である。ESR 信号は  $g=2$  の 1 本線と, この 1 本線と同じ  $g$  値を中心とした 6 本線であった。1 本線の信号は有機フリーラジカル信号由来である。6 本線の信号は  $Mn^{2+}$  の超微細構造線による。照射処理により新規信号は発現しなかった。照射誘導ラジカルの緩和時間 ( $T_1$  と  $T_2$ ) は照射処理前後で変化しなかった。

Key Words : insect, gamma ray irradiation, radical, ESR

## 1. 緒 言

食品には多種多様な害虫が寄生, 若しくは附着する。これにより食品が変質する。そこで殺虫を目的として放射線が利用されている。放射線処理は食品の温度変化がきわめて少ないので, 食品の変化を少なくとどめ, 効果的に殺虫する方法として有用である。

輸入食品に対する検疫消毒手段として放射線を使用する研究は, すでに 1956 年より Balock らによって行われている<sup>1)-2)</sup>。放射線を利用した害虫の防除<sup>3)</sup>は食品に寄生している害虫を放射線で不妊化若しくは, 殺虫する方法である。

電子スピン共鳴 (Electron Spin Resonance; ESR) 法は照射誘導ラジカル検知<sup>4)</sup>に有用であることから照射食品検知法となっている。これは照射食品に誘導されるラジカルを直接計測する方法である。本研究では放射線処理した害虫を試料として ESR 計測した。虫での放射線誘導ラジカルの計測が ESR で可能かどうか検討

した。

## 2. 実験方法

## 2.1 試料

試料は食品総合研究所のストックカルチャーから得た。4 種類を用いた。コクゾウムシ (*Sitophilus zeamais Motschulsky*), コクヌストモドキ (*Tribolium castaneum*), ノシメマダラメイガ (*Plodia interpunctella*) 及びタバコシバンムシ (*Lasioderma serricone*) の成虫である。コクゾウムシはイネ科穀類の害虫であり加害食品は米, 麦, トウモロコシなどの穀類である<sup>5)</sup>。コクヌストモドキが加害する食品は穀類の粉で, 飼料工場や製粉工場の床面に多く生息する<sup>5)</sup>。ノシメマダラメイガはノシメコクガ (熨斗目穀蛾) と呼ばれ, 加害する食品は穀類, 小麦粉などの穀粉, 油分の多い乾燥加工食品などである<sup>5)</sup>。タバコシバンムシ成虫は乾燥動植物質の固形物を加害する<sup>5)</sup>。

## 2・2 照射処理

試料は生体を用い、照射処理は食品総合研究所にて $\gamma$ 線を用いた。照射量は不妊化を目的とした場合の最大線量である1 kGyとした。照射処理は室温にて行った。

## 2・3 試料調製

照射処理後、試料は冷凍した。また、一部は凍結乾燥処理を行った。冷凍保存試料は液体窒素デュウ（日本電子データム株式会社）を用い凍結状態のままでESR計測したが、明瞭な信号の観測ができなかった。凍結乾燥処理した4種の成虫についてはESR信号の観測ができた。凍結乾燥試料は化学天秤を使用して300 mgはかり取り、試料管（5 m $\phi$ 、日本電子株式会社）に詰めた。計測に用いたESR分光器は、キャビティ内部42 mmの範囲で計測が保証されている。300 mg秤取<sup>6),7)</sup>すれば、使用した5 m $\phi$ の試料管でこの42 mm範囲を満たす。

脱気を行うと有機物質に結合している酸素分子が取り除かれるため、ESRスペクトルがより明確に確認できる<sup>8)</sup>。本研究では明瞭な信号を得るために酸素を脱気した。試料を詰めた試料管をセプタムにて封をした。その後、真空ポンプで2分間脱気（試料管内圧1 mmHg）した後、Arガスを2分間流入した。この操作を3回繰り返す、試料管上部のガラス部位をバーナーにて焼き切った。

## 2・4 ESR測定

ESR測定条件は既報<sup>4)</sup>をもとにして行った。ESR分光器はJES-FA100（日本電子株式会社）を用いた。試料のラジカル種を全て検出するため0から500 mTの広い磁場掃引で測定した。マイクロ波強度を0～200 mWまで変化させ、ESR信号を計測した。得られる飽和曲線から閾値を示すマイクロ波強度を求め、この条件でESR計測を行った。変調幅は0.8～1.2 mTとした。信号解析はWIN-RAD（ラジカルリサーチ株式会社）を用いた。

## 3. 実験及び考察

### 3・1 ESR信号

Fig. 1に未照射及び照射コクゾウムシのESRスペクトルを示した。Fig. 1上図で示すように最も強く鋭い1本線P<sub>1</sub>信号が、未照射試料でも照射試料でもg値が約2の位置に観測された。これは従来の照射食品や照射漢方薬で報告された1本線<sup>6)-8)</sup>と同じg値であることから有機フリーラジカル由来の信号であると考えられる。Fig. 1の下図の照射前やFig. 3下図の照射前の信号に示すようにP<sub>1</sub>信号の近傍に6本線と思われる信号P<sub>2</sub>が観測された。これらの信号の超微細構造定数(hyperfine constant; hfc)を求めた。その結果、hfcは約7.4 mTとなった。分裂幅が8.0～10 mTになるのはMnである。また、Swartz<sup>9)</sup>は9 GHzの簡便ESRを用いて昆虫を計測し、g値が2.00近傍の単純な信号とMn<sup>2+</sup>による信号を観測したと報じている。Fig. 2やFig. 3で示したESR信号を340 ± 50 mTで再計測するとP<sub>2</sub>で示した信号のhfcは約7を示すことから、これらもMn<sup>2+</sup>による超微細構造線と考えられる。このことから、このP<sub>2</sub>信号は6本線であり、Mn<sup>2+</sup>の超微細構造線であると推測された。遷移金属イオンである銅や鉄のg値<sup>10)</sup>を示す信号も微弱ながら観測されていることから、マンガン以外の生体内常磁性物質が存在する可能性もある。

Fig. 2～4はFig. 1で示したコクゾウムシと同様の条件で測定したコクヌストモドキ、ノシメマダラメイガ、タバコシバンムシのESRスペクトルである。得られたP<sub>1</sub>信号のg値をTable 1に示した。いずれの信号でもP<sub>1</sub>信号はg値が約2を示した。一連のg値を比較した場合、化学物質を特定できないので、有機フリーラジカルと考えた。照射前はP<sub>2</sub>がブロードになる傾向が見られた。これは、遷移金属由来のラジカル信号によると推測される。たとえば、銅イオンが観測されることが報告されている<sup>6)</sup>。P<sub>2</sub>信号の再現性については今後の課題である。

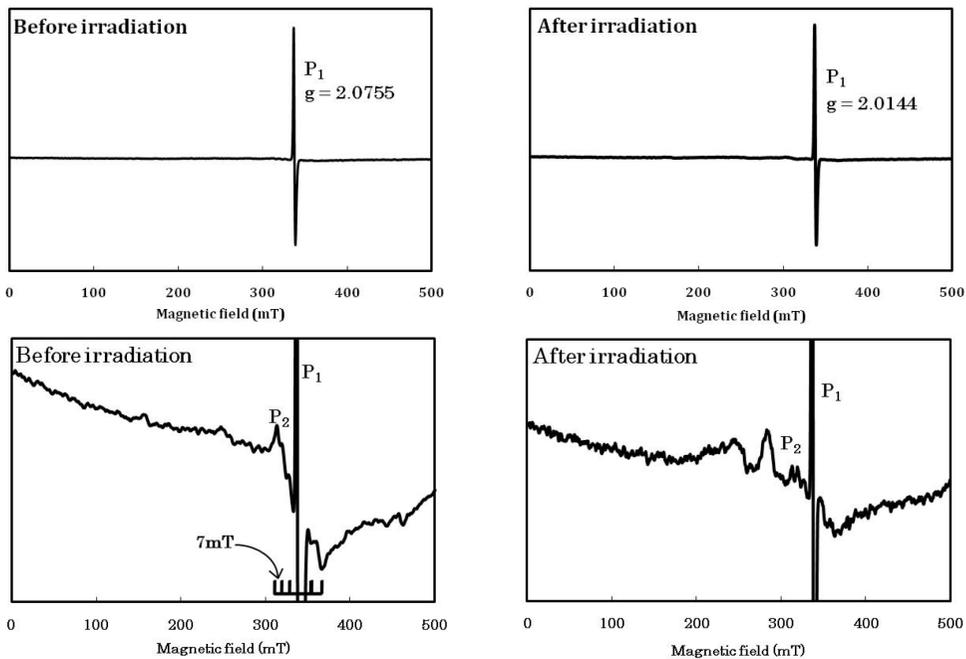


Fig. 1 ESR spectra of maize weevil before and after irradiation. Sextet signal ( $P_2$ ) is due to the hyperfine interactions from  $Mn^{2+}$  ions. The hyperfine constant was ca. 7 mT.

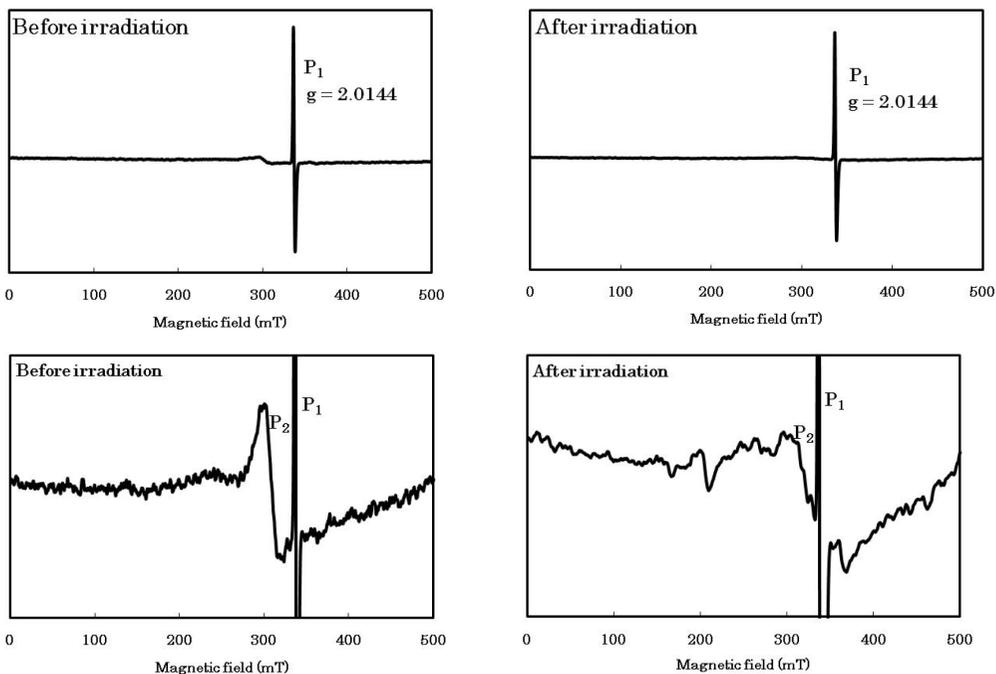


Fig. 2 ESR spectra of red flour beetle before and after irradiation.

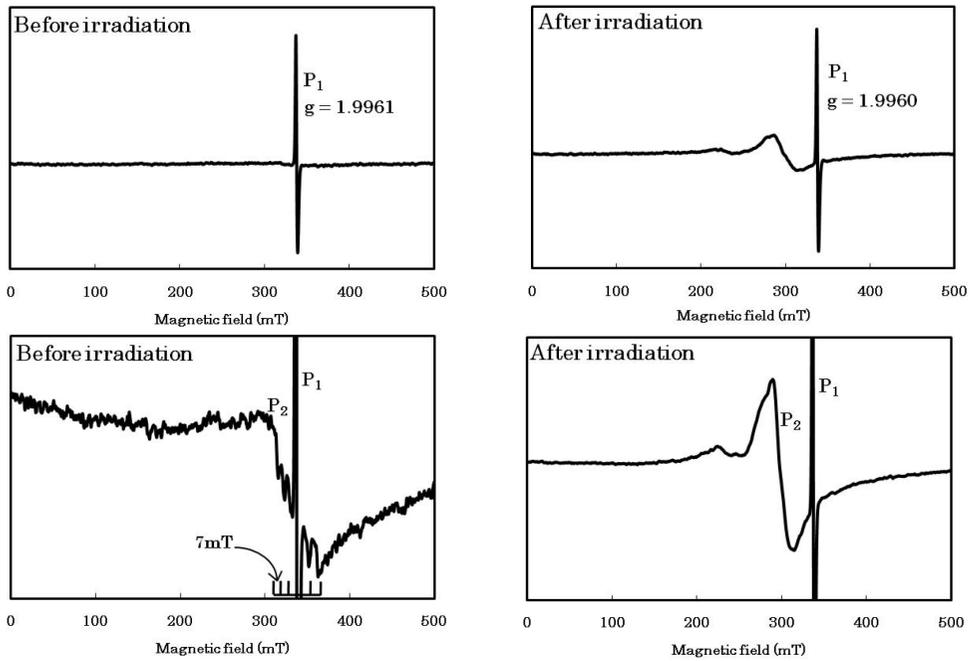


Fig. 3 ESR spectra of cigarette beetle before and after irradiation. Sextet signal ( $P_2$ ) is due to the hyperfine interactions from  $Mn^{2+}$  ions. The hyperfine constant was ca. 7 mT.

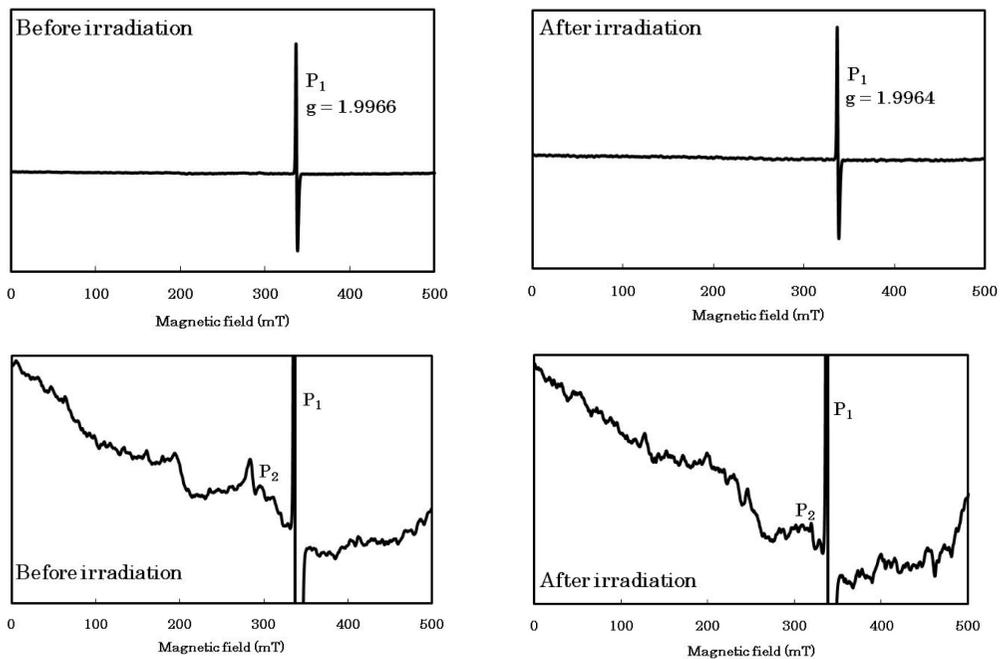


Fig. 4 ESR spectra of Indian meal moth before and after irradiation.

Table 1 g value and hfc of maize weevil, red flour beetle, Indian meal moth and cigarette beetle

	Maize weevil		Red flour beetle		Cigarette beetle		Indian meal moth	
	Before	After	Before	After	Before	After	Before	After
g-value	2.0755	2.0144	2.0144	2.0144	1.9961	1.9960	1.9966	1.9964

### 3.2 逐次飽和挙動<sup>4)</sup>

P<sub>1</sub> 信号を特定の化学物質と判断できないので、ラジカルの定量時にはマイクロ波強度を変えて ESR 計測し、飽和現象に注意する必要がある。そこで、逐次飽和挙動を検討し、マイクロ波のパラメータを決定した。

P<sub>1</sub> 信号の各マイクロ波強度における信号強度の変化を Fig. 5 の白点で示した。マイクロ波強度が増すに従って P<sub>1</sub> の信号強度は増大し、あるマイクロ波強度以降は信号強度が減少、若しくはプラトーとなり一定の閾値を得る飽和挙動を示した。P<sub>1</sub> の信号強度が最高値を示すマイクロ波強度を Table 2 に示した。閾値を示すマイクロ波強度は 5.0 ~ 7.0 mW となった。照射による信号強度の顕著な増大<sup>4)</sup>はみられず、1 kGy 照射では閾値に照射依存性はないと考えられた。

### 3.3 シミュレーションと緩和時間

Lund らの解析ソフト<sup>11)</sup>を用いて逐次飽和挙動についてシミュレーションを行った。Fig. 5 の実線はシミュレーション結果を示した。Lorentzian で高い適合性を示した。このシミュレーションを用い、スピンの緩和時間を算出し、Table 3 に示した。いずれの試料でも T<sub>1</sub> は 10 μsec オーダー、T<sub>2</sub> は 100 nsec オーダーになった。照射によって T<sub>1</sub> と T<sub>2</sub> の値に大きな変動は見られなかった。このことから照射依存性はないことが示唆された。

### 3.4 ESR による照射害虫の検知

ESR 法は照射食品中に誘導されるラジカルを直接計測する有用な計測方法として報告<sup>4)</sup>されている。そこで、照射食品検知法として用い

られている。Fig. 1 から 4 で示したように、虫では ESR 信号の観測は可能であった。つまり、真空脱気と Ar ガス充填という酸素がない状態で ESR 計測を行ったので鋭い信号を観測できた。

1 kGy 照射処理で ESR 信号強度は変化せず、照射依存性は認められなかった。Fig. 5 で示すように飽和挙動を詳細に計測し閾値を得たが、この飽和曲線にも照射依存性は見られなかった。試料の保存や運搬中、あるいは室内光散乱などにおいて、試料は過酸化反応により有機物のラジカルが生成することが推測される。そこで、γ線照射前の P<sub>1</sub> 信号が鋭く観測された。しかし照射誘導ラジカルは非常に不安定であり ESR 計測時にはすでに消滅したことを示唆している。

EU 公定法では ESR 法を肉類の検知に用いる際は骨をはかる<sup>12)</sup>こととなっている。つまり照射した肉に誘導されるラジカルは ESR では検出し難いと考えられる。虫は主に肉の部分で計測しているので ESR では検知できないようである。

4 種の虫の ESR 測定で観測される信号は、強く鋭い一本線の P<sub>1</sub> 信号と、6 本線の信号、更にブロードな信号であった。著者らは、すでにコショウや漢方薬のような植物性食品を試料として ESR 計測している<sup>4), 6) - 8)</sup>。虫の試料で観測された 1 本線の ESR 信号は、g 値から植物性食品で同定したラジカル種と同じカーボンセンタードラジカル由来と予想した。しかしながら、照射後に信号強度はほとんど変化せず、消滅したと考えられた。このことから照射した虫に誘導されるラジカルはカーボンセンタードラジカルのように安定ではない別のラジカル種と考えられる。

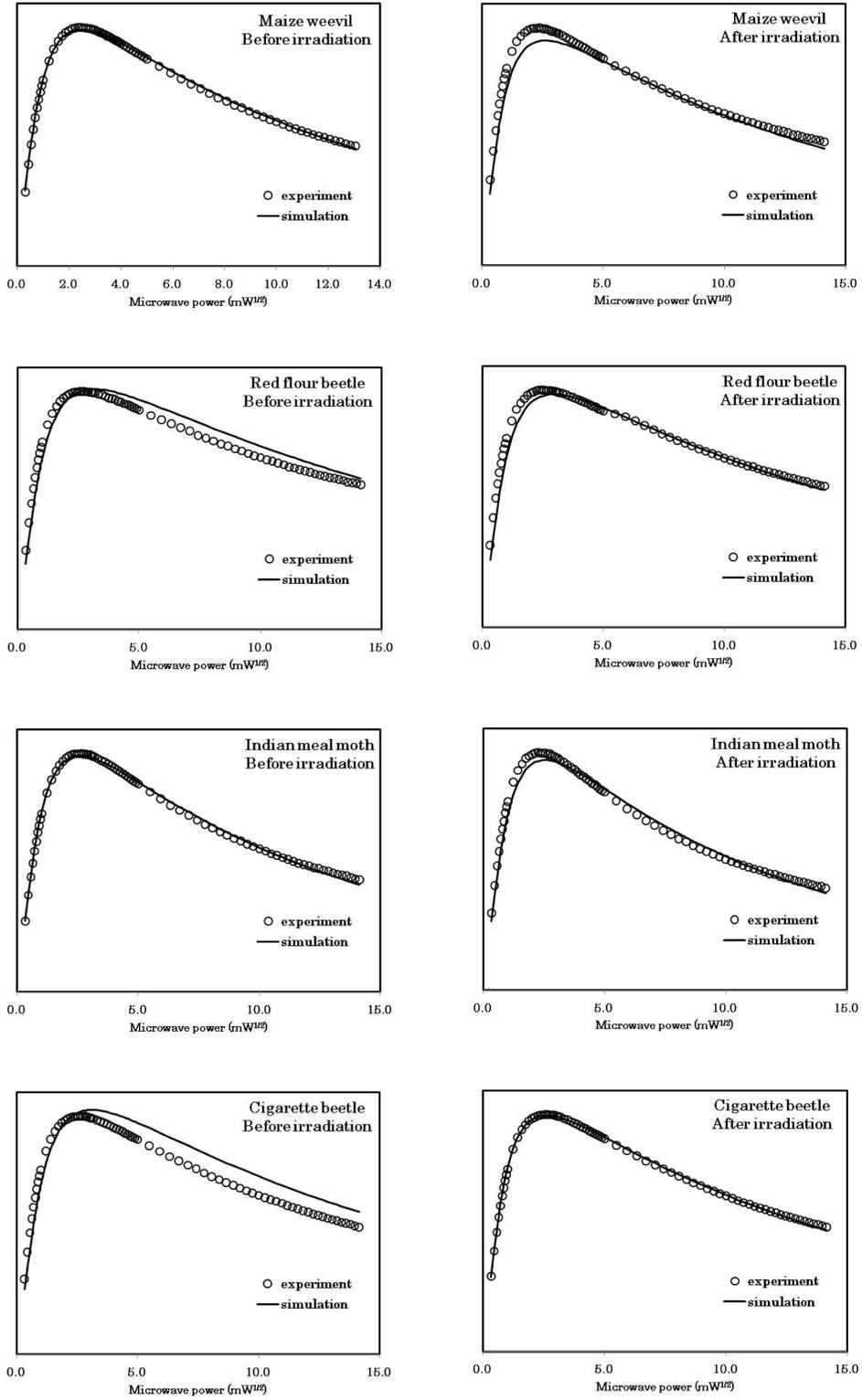


Fig. 5 Simulation curve.

Table 2 Threshold power (mW) of maize weevil, red flour beetle, Indian meal moth and cigarette beetle

	Maize weevil		Red flour beetle		Cigarette beetle		Indian meal moth	
	Before	After	Before	After	Before	After	Before	After
Threshold power (mW)	6.0	5.5	7.0	6.0	7.0	5.0	7.0	7.0

Table 3 Relaxation time ( $T_1$  and  $T_2$ ) of  $P_1$  signal of insects before and after irradiation

	Maize weevil		Red flour beetle		Cigarette beetle		Indian meal moth	
	Before	After	Before	After	Before	After	Before	After
$T_1$ ( $\mu$ sec)	10.0	7.1	5.5	5.4	7.2	6.9	6.2	8.6
$T_2$ (nsec)	110	170	160	180	130	130	130	130

生体成分は放射線照射により価数の変化が予想される。例えば、鉄の場合は非ヘム鉄は high-spin, ヘム鉄は low-spin であり,  $g$  値が異なる<sup>10)</sup>。酸素がない状況での ESR 計測であれば明瞭な信号観測ができるので, 放射線処理による価数の変化を遷移金属イオンで評価できる可能性がある。

#### 4. ま と め

害虫の ESR による計測を行い, 照射処理による ESR 信号の変化を検討した。害虫はコクゾウムシ, コクヌストモドキ, ノシメマダラメイガ, タバコシバンムシである。害虫の ESR 信号は数種類のラジカルに由来する信号であった。一本線の信号は  $g$  値が約 2 であり, 有機フリーラジカルと考えられる。6 本線の信号は  $Mn^{2+}$  由来の信号と推察された。また, ブロードな信号が観測された。これは遷移金属由来の信号と考えられた。

照射処理によって照射前と同じような数種類のラジカル信号が検出された。ESR 信号強度には照射依存性は見られなかった。ラジカル信号のスピン緩和時間 ( $T_1$ ,  $T_2$ ) を算出した。 $T_1$  と  $T_2$  は一定の値を示し, 照射依存性はみられなかった。

不妊化において用いられる最大照射線量 1 kGy 処理において ESR 信号の観測は可能であった。しかし, 信号強度には照射依存性は見られなかった。今後は照射量を変え, 試料数を増

やした検討を行い, 照射依存性を詳細に検討する必要がある。有機フリーラジカルの照射による変化だけでなく, 遷移金属イオンの挙動も詳細に調べ, ESR 法による照射害虫の検知を検討することが重要である。

#### 文 献

- Balock, J. W., Burditt, A. K. Jr. and Christenson, L. D., Effects of gamma radiation of various stages of three fruit fly species, *J. Econ. Ent.*, **56** (1), 42-46 (1963)
- Balock, J. W., Burditt, A. K. Jr., Stanley, S. T. and Akamine, K. E., Gamma radiation as a quarantine treatment for Hawaii fruit flies, *J. Econ. Ent.*, **59**(1), 202-204 (1966)
- 団野皓文, 食品に放射線を照射した場合の貯蔵, 衛生化等の効果, 農業および園芸, **59**(3), 69-76 (1984)
- Shimoyama, Y., Ukai, M. and Nakamura, H., Advanced protocol of detection for irradiated food by ESR, *Rad. Phys. Chem.*, **76**, 1837-1839 (2007)
- <http://nfri.naro.affrc.go.jp/>
- 中村秀夫, 鶉飼光子, 下山雄平,  $\gamma$  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)
- 安部あいか, 余湖五月, 市井 茜, 鶉飼光子, 電子スピン共鳴法によるセルロースを多く含んだ照射食品のラジカルの検出, 食品照射, **38**, 1-5 (2003)
- 亀谷宏美, 鶉飼光子, 酸素フリー雰囲気での ESR による  $\gamma$  線照射で衛生化したアガリクスの分析, *RADIOISOTOPES*, **56**, 437-441 (2007)

- 9) Swartz, H. M., Bolton, J. R. and Borg, D. C., Biological Applications of Electron Spin Resonance, pp.175, John Wileyz Sons, Inc. (1972)
- 10) Swartz, H. M., Bolton, J. R. and Borg, D. C., Biological Applications of Electron Spin Resonance, pp.24, John Wileyz Sons, Inc. (1972)
- 11) Lund, A., Sagstuen, E., Sanderud, A. and Maruani, J., Relaxation time determination from continuous-wave microwave saturation of EPR spectra, *Rad. Res.*, in press (2009)
- 12) EN 1786 Foodstuffs-detection of Irradiated Food Containing Bone by ESR Spectroscopy, European Committee for Standardization, Belgium (1996)

## Abstract

### ESR Signals of Irradiated Insects

Mitsuko UKAI, Hiromi KAMEYA, Taro IMAMURA\*, Aki-

hiro MIYANOSHITA\*, Setsuko TODORIKI\* and Yuhei SHIMOYAMA\*\* : Hokkaido University of Education, 1-2 Hachiman-cho, Hakodate-shi, Hokkaido 040-8567, Japan, \*National Agriculture and Food Research Organization, 2-1-12 Kannondai, Tsukuba-shi, Ibaraki Pref. 305-8642, Japan, \*\*Muroran Institute of Technology, 27-1 Mizumoto-cho, Muroran-shi, Hokkaido 050-8585, Japan

*Analysis of irradiated insects using Electron Spin Resonance (ESR) spectroscopy was reported. The insects were maize weevil, red flour beetle, Indian meal moth and cigarette beetle that are hazardous to crops. The ESR spectra were consisted of a singlet at  $g=2$  and a sextet centered at the similar  $g$ -value. The singlet signal is due to an organic free radical. The sextet signal is attributable to the hyperfine interactions from  $Mn^{2+}$  ions. Upon irradiation, new signals were not detected. The relaxation times,  $T_1$  and  $T_2$ , showed no variations before and after irradiation.*