

[Note]

照射された生鮮果実パイヤにおけるラジカル緩和現象

菊地正博¹⁾, 垣田大介²⁾, 下山雄平¹⁾, 鶴飼光子³⁾, 小林泰彦¹⁾

¹⁾ 独立行政法人日本原子力研究開発機構量子ビーム応用研究部門 (〒370-1292 群馬県高崎市綿貫町 1233 番地)

²⁾ 室蘭工業大学大学院工学研究科 (〒050-8585 北海道室蘭市水元町 27 番 1 号)

³⁾ 北海道教育大学大学院教育研究科 (〒040-8567 北海道函館市八幡町 1 番 2 号)

Relaxation phenomena of radicals induced in irradiated fresh papayas

Kikuchi Masahiro¹⁾, Kakita Daisuke²⁾, Shimoyama Yuhei¹⁾,
Ukai Mitsuko³⁾ and Kobayashi Yasuhiko¹⁾

¹⁾ *Japan Atomic Energy Agency, 1233 Watanuki-machi, Takasaki, Gunma 370-1292 Japan*

²⁾ *Muroran Institute of Technology, 27-1 Mizumoto-cho, Muroran, Hokkaido 050-8585 Japan*

³⁾ *Hokkaido University of Education, 1-2 Hachiman-cho, Hakodate, Hokkaido 040-8567 Japan*

Summary

Electron spin resonance spectrometry of the γ -irradiated fresh papayas followed by freeze-drying and powderization was performed. We found a strong single peak in the flesh was observed at $g = 2.004$ and attributed to organic free radicals. Using the method of Lund *et al.*, relaxation times of the peak from 0 to 14 days-stored samples after γ -irradiation were calculated. T_2 showed a dose response, while T_1 kept almost constant by the increment of doses. The γ -radiation-induced radicals showing progressive saturation behaviors can be caused through a different pathway from indirect effects by the low LET radiations.

Key words: fresh papaya, ESR method, gamma ray irradiation, relaxation time, dose response

はじめに

熱帯地域で生産される熱帯果実を輸入する際には、我が国ではミバエ類の侵入を防ぐため植物検疫が実施される¹⁾。パパイヤの検疫処理として主に蒸熱処理が実施されるが、台湾ソロ種に対しては温湯浸漬後に二臭化エチレンによる燻蒸が用いられている。熱によるダメージを軽減するため、早めに収穫し流通過程で食べ頃を迎えるように工夫されることも多い。海外では非加熱処理である放射線照射による検疫処理も実施されている。オーストラリアと

ニュージーランドでは検疫処理のため 150 Gy ~ 1 kGy の照射が認められており、一方、タイ、コスタリカ及びチリでは、熟度調節と害虫駆除を目的として 1 kGy までの照射が認められている²⁾。現在、日本では放射線照射による検疫処理は許可されていないが、1 kGy 照射しても 0.24℃ しか温度上昇しない照射処理が生鮮果実には適している事を考えると将来的に導入される可能性がある。

照射食品においては、適切な流通過程を担保するとともに消費者の自由な選択を保障するためには照射履歴判別法(検知法)が必要である。EU 標準分

析法や Codex 標準分析法として世界的に認められた検知法として電子スピン共鳴法 (ESR 法) がある^{3)~5)}。この方法は、照射で誘起されたフリーラジカルを簡便かつ無侵襲で測定できる方法として知られている。EU 標準分析法等で検知できる食品は、乾燥食品または低水分の食品部位であり、生鮮果実のような高水分含量の食品は測定が難しいとされ、研究はほとんどなされていなかった^{6),7)}。

しかし、最近、菊地らによって、照射された生マンゴーに誘起されたラジカルの ESR 測定法について報告され⁸⁾、さらに照射マンゴー中のラジカル緩和現象について検討された⁹⁾。これらの結果から、ESR 法が 300 Gy 以上照射された高水分含量の果実や野菜など植物性食品に適用できる可能性が示唆されている。

本稿では、ガンマ線照射された生パパイアについて、凍結乾燥後に ESR 法でラジカルの測定結果を述べる。発生した照射誘導ラジカルの緩和現象について検討し、ラジカル生成メカニズムと検知法への適用について考察する。

実験方法

1. 試料調製

試料とした生パパイアは市販品を用い、フィリピン産パパイアを別々に 3 個購入して実験に供した。

照射は室温で⁶⁰Co γ 線を用いて線量率 2 kGy/h の位置で行った。1 個のパパイアを 4 つに切り分け、それぞれの照射時間を変えて、3 kGy までの線量を照射した。照射後保管する場合は 4°C で保管し、経時的にそれぞれ別の部位をサンプリングして ESR 測定に供した。

パパイア凍結乾燥検体の作製は、 -80°C で 2 時間凍結後、減圧下で一晩、凍結乾燥することにより行った。乾燥試料は速やかに粉碎し、ESR 試料管に 3 cm の高さで封入した。

2. ESR 測定

ESR 試料管は直径 5 mm (内径: 約 4 mm) の高純度石英製 (99.9% purity) の試料管を用いた。

ESR 装置は RE-3X (日本電子製) を用いて、変調磁場の周波数 100 kHz で X バンド (9 GHz 帯) のマイクロ波を用いて室温で測定した。

ESR 測定条件は、磁場掃引を 336.8 ± 5 mT とし

て、変調磁場幅 0.5 mT, 時定数 0.3 秒, 掃引時間 1 分で、マイクロ波強度を 0.01 mW から 30 mW まで変化させて測定した。

測定された ESR スペクトルの解析は、ESR 制御・解析ソフトウェア ES-IPRIT (日本電子データム製) を用いて解析した。

正確な測定条件を知るため、磁場強度は NMR Field Meter ES-FC5 (日本電子製) を用いて、また、マイクロ波周波数は Microwave Counter TR5212 (ADVANTEST 製) を用いて実測した。

3. シミュレーションによる緩和時間解析

パパイア中の有機フリーラジカルの緩和挙動を検討するために、マイクロ波強度を変化させることにより逐次飽和曲線を求めた。逐次飽和曲線から、各試料の信号強度が閾値を示すマイクロ波強度および線幅の値を用いて、Lund らの解析プログラム¹⁰⁾ により、理論曲線および緩和時間 (T_1, T_2) を計算した。

実験結果および考察

1. 照射により生パパイアに誘起されたラジカルの ESR 測定

生パパイアで測定される ESR シグナルを全般的に把握するため、0 ~ 500 mT の磁場範囲で測定した (Fig. 1)。その結果、生パパイアから調製された検体で測定された ESR シグナルは、照射/非照射ともに 336.5 mT 近傍で 1 本線の信号が観察され、照射された生マンゴーの凍結乾燥検体で測定されたシグナルとよく類似していた。完熟パパイアは遷移金属の Fe, Cu, Mn を可食部 100 g 当たりそれぞれ 0.2 mg, 0.05 mg, 0.04 mg 含んでいる¹¹⁾。しかし、パパイア検体で観測されたピークは 336.5 mT 近傍で共鳴する不対電子が主たるシグナル (メインピーク) であり、内在性の遷移金属からのシグナルは Mn^{2+} の 6 本線が弱く観察される以外ほとんど観察されなかった。したがって、検体内に存在するラジカルのほとんどはメインピークとして測定されており、ラジカル中の不対電子からのエネルギー移動に関係した物理的相互作用の程度を示す緩和時間は、メインピークの不対電子に依存すると考えられる。そこでメインピークの逐次飽和挙動から緩和時間について検討した。

照射された生パパイアから調製した凍結乾燥検

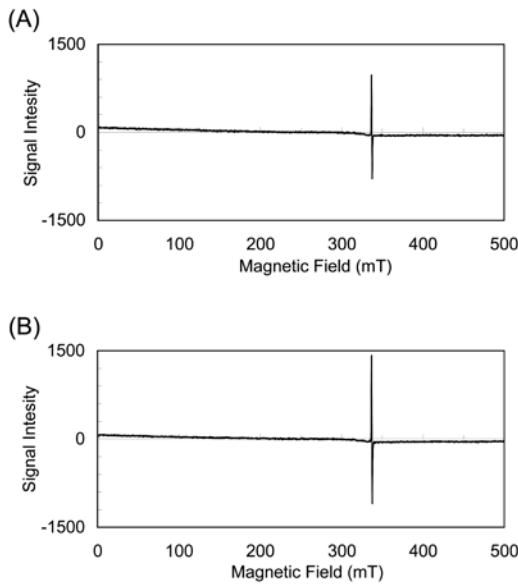


Fig. 1. ESR spectra measured from (A) non-irradiated and (B) 3kGy γ -irradiated specimens of papaya flesh.

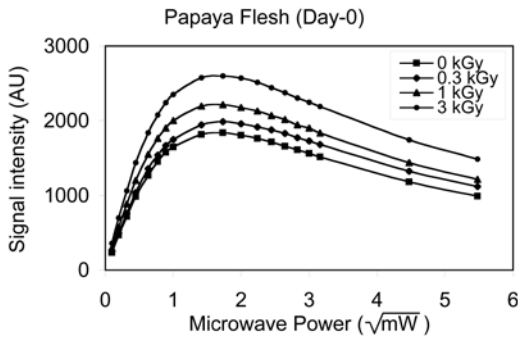


Fig. 2. Progressive saturation behaviors of fresh papayas at various irradiation doses.

体について 336.8 ± 5 mT の磁場範囲を ESR 測定した時、メインピークは $g = 2.004$ であり、これまで植物の乾燥部位または低水分部位で測定されたピークの g 値とよく一致していた^{12)~14)}。マイクロ波強度を変化させた時のメインピークシグナルの逐次飽和挙動 (Progressive Saturation Behavior: PSB) を Fig. 2 に示す。生パパイヤ果肉の凍結乾燥検体のメインピーク高は 3 mW 近傍で閾値となり、その後減

少した。一般に、遷移金属由来のシグナルはマイクロ波強度を増加しても飽和しにくい。データは示さないが、マンゴーの内在性 Mn^{2+} に由来するシグナルは 100 mW でも飽和せずシグナル強度は単調増加している。それに比べて、3 mW 近傍で飽和した生パパイヤ果肉のメインピークの飽和曲線の特徴は、照射された生マンゴーで測定されたメインピークが 3 mW 近傍で飽和した結果と一致しており⁹⁾、シグナルの g 値を考えあわせると、生パパイヤで測定されたメインピークも有機フリーラジカル由来のシグナルであると考えられる。

2. メインピークの緩和現象と線量依存性

Lund らは、パルス ESR 法による飽和シグナルの磁気的緩和の直接的な測定ができない (あるいは、あまり適さない) 場合に緩和時間を求める代替法として、飽和曲線の全データの最小二乗近似から算出する方法を提案した¹⁰⁾。それに基づき、小川らは、ESR のシグナル飽和曲線からラジカルのスピン-格子緩和時間 (T_1) とスピン-スピン緩和時間 (T_2) を決定する方法について検討した。乾燥食品であるナツメグ検体の緩和現象を報告している¹⁵⁾。

そこで、0 kGy, 300 Gy, 1 kGy, 3 kGy で照射された生パパイヤの凍結乾燥検体について、ESR 測定で求められたメインピーク強度から PSB を求め、Lund らの方法¹⁰⁾に従って緩和時間 T_1 , T_2 を求めた。この T_1 と T_2 について吸収線量に対してプロットしたものを Fig. 3 に示す。シミュレーションで計算した T_1 及び T_2 に最小二乗法を適用して回帰直線を求めた。 T_1 は線量に影響されずほぼ一定であるのに対して、 T_2 は線量依存的に変化する傾向がある事が示唆された ($R = 0.566$)。

照射された生マンゴー果肉の凍結乾燥検体でも同様に緩和時間が計算され、 T_1 は線量に関係なく一定であり T_2 は線量の増加とともに線量依存的に増加することが示されている⁹⁾。パパイヤの回帰直線の y 切片は 62 ns であり、マンゴーの y 切片 (59 ns) とほぼ等しいが、傾きは、マンゴーの回帰直線の傾きの約 1/4 になっており、食品によってラジカルスカベンジャー量や分子運動に影響する水分含量などのラジカルが存在する周囲の環境が異なっているため線量応答も異なると考えられる。

緩和時間 T_2 に関係する物理作用は不対電子 - 不

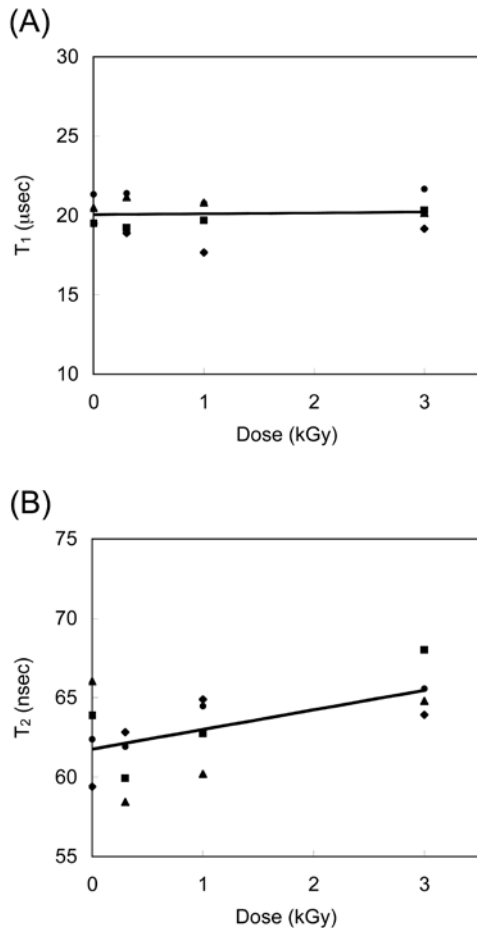


Fig. 3 Relaxation behavior of (A) T_1 and (B) T_2 at various irradiation doses.

Symbols of ■, ◆, ▲ and ● indicate day-0, 3, 7 and 14, respectively.

Regression lines were calculated from the average values of three different samples at day-0, 3, 7 and 14.

対電子間のエネルギー移動である。このような相互作用が起こるためには、不対電子同士が近接して存在していなければならない。しかし、 γ 線では放射線損傷の空間分布は局在性がほとんどなくランダムであると考えられる。これは、水分を多く含む生パパイアでは放射線照射により水の分解が起こり、多くの低分子ラジカルが生成して、水の放射線分解産物であるヒドロキシラジカル ($\cdot\text{OH}$) や水和電

子が生体高分子の損傷を引き起こすことによる¹⁶⁾。このように考えると、不対電子同士の相互作用が生じるような近接したラジカルを生成するメカニズムは、ヒドロキシラジカル等が関与する放射線の間接作用とは異なるメカニズムが関与しているのかもしれない。

今回、照射された生パパイア果肉の凍結乾燥検体から求められた緩和時間 T_2 の回帰直線は、実験誤差を考慮すると傾きを持つことに対して有意ではない。しかし、照射マンゴー果肉で得られた T_2 が線量依存的に増加したという結果⁹⁾ と考え合わせると、照射パパイアも緩和時間 T_2 の回帰直線が線量依存的に変化していることが示唆される。このような回帰直線の線量応答を照射食品の検知法として利用するためには、緩和時間 T_2 を精度よく求める必要がある。そのためにはパルス ESR 装置による緩和時間の直接測定が有効な手段となるかもしれない。

まとめ

γ 線照射された生パパイアを凍結乾燥して粉碎後 ESR 測定を行なった。その結果、果肉検体を用いて $g=2.004$ に 1 本線のメインピークが観測された。Lund らの方法で、そのピークの緩和時間を計算したところ、 T_1 はほぼ一定であったが、 T_2 は吸収線量の増加とともに増加する傾向を示し、線量依存性が示唆された。このような緩和時間 T_2 に影響するラジカルの生成メカニズムは、放射線の間接作用による生成経路と異なっている可能性がある。

謝 辞

本研究の一部は、文部科学省原子力基礎基盤戦略研究イニシアティブにより実施された「実用化が予想される食品への放射線利用に関する基礎研究」の成果である。

参考文献

- 1) “植物防疫法施行規則.” http://www.pps.go.jp/law_active/Notification/basis/4/12/html/12.html, (参照 2010-07-16).
- 2) “Food Irradiation Clearances Database.” IAEA. <http://nucleus.iaea.org/FICDB/Browse.aspx>, (参照 2010-07-16).

- 3) "Foodstuffs-Detection of irradiated food containing bone-Method by ESR spectroscopy." European Committee for Standardization, Brussels (1996).
- 4) "Foodstuffs-Detection of irradiated food containing cellulose-Method by ESR spectroscopy." European Committee for Standardization, Brussels (2000).
- 5) "Foodstuffs-Detection of irradiated food containing crystalline sugar by ESR spectroscopy." European Committee for Standardization, Brussels (2001).
- 6) Desrosiers, M. F.; McLaughlin, W. L. Examination of gamma-irradiated fruits and vegetables by electron spin resonance spectroscopy, *Radiat. Phys. Chem.*, **34**(6), p.895-898 (1989).
- 7) Adem, E. et al. Electron paramagnetic resonance studies of γ -irradiated corn. *Appl. Radiat. Isot.*, **44**(1-2), p.419-422 (1993).
- 8) 菊地正博 ほか. 照射された生マンゴーに誘起されたラジカルのESR測定. *RADIOISOTOPES*, **58**(12), p.789-797 (2009).
- 9) 菊地正博 ほか. 照射マンゴーに誘起されるラジカルの緩和現象. *食品照射*, **44**(1,2), p.9-13 (2009).
- 10) Lund, A. et al. Relaxation time determination from continuous-wave microwave saturation of EPR spectra. *Radiat. Res.*, **172**, p.753-760 (2009).
- 11) 文部科学省科学技術学術審議会資源調査分科会. "五訂増補日本食品標準成分表." 東京, 国立印刷局, 508p. (2008).
"食品成分データベース." <http://fooddb.jp/>, (参照 2010-07-16).
- 12) Raffi, J. J. ; Agnel, J. P. L. Electron spin resonance identification of irradiated fruits, *Radiat. Phys. Chem.*, **34**(6), p.891-894 (1989).
- 13) Tabner, B. J. ; Tabner, V. A. An electron spin resonance study of gamma-irradiated grapes. *Radiat. Phys. Chem.*, **38**(6), p.523-531 (1991).
- 14) Maloney, D. R. et al. An electron spin resonance study of some gamma-irradiated fruits, *Radiat. Phys. Chem.*, **39**(4), p.309-314 (1992).
- 15) 小川英之 ほか. 照射誘導ラジカルの緩和現象. *食品照射*, **44**(1,2), p.5-8 (2009).
- 16) Sonntag, C. von. "The Chemical Basis of Radiation Biology." Taylor & Francis, London, 515p. (1987).

(2010年7月26日受理)