

原 著

照射マンゴー中に誘導される ラジカルの緩和挙動と線量依存性

亀谷宏美，垣田大介，貝森良彦，菊地正博，
小林泰彦，鵜飼光子，下山雄平

Reprinted from
RADIOISOTOPES, Vol.59, No.10
October 2010



Japan Radioisotope Association

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

原 著



照射マンゴー中に誘導されるラジカルの緩和挙動と線量依存性

亀谷宏美, 垣田大介*, 貝森良彦**, 菊地正博***,
小林泰彦***, 鶴飼光子**, 下山雄平***

独立行政法人 農研機構食品総合研究所
305-8642 茨城県つくば市観音台 2-1-12

*室蘭工業大学大学院

050-8585 北海道室蘭市水元町 27-1

**北海道教育大学大学院

040-8567 北海道函館市八幡町 1-2

***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

2009年11月10日 受理

日本では温湯浸漬処理されたマンゴーが輸入されている。近年、照射輸入マンゴーはアメリカでは広く利用されている。本研究では照射マンゴーに誘導されるラジカルのESR法による分析について報告する。 γ 線照射されたマンゴーの果肉及び果皮には $g=2.004$ に強い1本線の信号が観測された。これは有機フリーラジカル由来と考えられた。果肉及び果皮において12 kGy以上の照射処理によりセルロース由来の照射誘導ラジカルが現れた。一本線信号の緩和時間(T_1 と T_2)を計算した。 T_1 はほぼ一定であったが、 T_2 は線量の増加とともに変化した。 T_1 及び T_2 の相乗平均を検討したところ、線量依存性が確認された。

Key Words : ESR, mango, gamma ray irradiation, relaxation time, dose dependence

1. はじめに

熱帯果実であるマンゴーの放射線照射による植物検疫がインド、タイなどで許可されている¹⁾。アメリカでは、2007年よりマンゴーの検疫処理のための放射線照射が許可された²⁾。日本では主に温湯浸漬処理による殺菌が用いられているが³⁾、加熱によるダメージが懸念される。

著者らは、すでに照射朝鮮人参⁴⁾、照射スパイス⁵⁾及び照射小麦粉⁶⁾の放射線処理におけるラジカルの電子スピン共鳴法(ESR)による検知について報告した。また、照射生マンゴー中の放射線誘導ラジカルの緩和現象に基づくESRによる検知法を報告した⁷⁾。照射生マンゴーのラジカルの緩和挙動を明らかにするためにマイクロ波の強度を変えて信号計測を行い、得

られる信号強度の変化から、有機フリーラジカル由来の信号が様々な飽和現象を示すことを明らかにした⁷⁾。

常磁性系に対する連続的なマイクロ波の飽和の理論は、すでに明らかにされている⁸⁾。様々なESR信号の飽和曲線から、スピン-格子緩和時間(T_1)とスピン-スピン緩和時間(T_2)を決定することができる⁹⁾。飽和曲線における全てのデータを使用し、ESR信号のマイクロ波強度への依存性を分析する理論解析に基づいて放射線誘導ラジカルの緩和挙動が明らかにされている¹⁰⁾。

本研究では、 γ 線照射によって生マンゴー中に誘起されたラジカルを凍結乾燥した検体中で測定した。0.3 kGyから50 kGyでの線量依存性を調べ、検知への応用を検討した。

2. 実験方法

2.1 試料

生マンゴーは、群馬県高崎市のスーパーマーケットで、傷が少なく熟度がほぼ同じフィリピン産を購入して実験に使用した。照射は室温で線源が⁶⁰Coの γ 線を用いて行い、2 kGy/hの線量率を用いて照射時間を変えて必要線量を照射した。線量は0.3～50 kGyであった。照射処理後、果皮、果肉、種子に切り分け、-80℃で凍結後減圧して5日間凍結乾燥を行った。凍結乾燥後の最終到達真空度は0.4 Pa以下であった。5日間の凍結乾燥処理終了後、すぐに乾燥試料を磁製乳鉢で粉碎し、ESR試料管(外径5 ϕ)に3 cmの高さになるように入れ、パラフィルムで封じてESR検体とし、測定に供した。サンプル重量は、試料を入れたESR試料管重量から風袋重量を引いて求めた。各試料3検体の調製を行った。

2.2 ESR測定

ESR測定は日本電子製RE-3Xを用いた。変調磁場周波数は100 kHzで、Xバンド(9.3 GHz)のマイクロ波を用いて25℃で測定した。ESRの測定は主に次のパラメータ設定により行った。Center Field; 250 mT, Sweep range; 250 mT, Frequency; 9 428～9 433 MHz, Modulation frequency; 100 kHz, Modulation width; 0.5 mT, Time constant; 0.3 s, Sweep time; 1.0 min, Amplitude; 400xである。更に詳細なスペクトルを得るためにCenter Field; 336 mT, Sweep range; 5 mTのパラメータ設定での測定も行った。

正確な磁場強度とマイクロ波周波数を知るため、NMR Field Meter ES-FC5(日本電子製)及びMicrowave Counter TR5212(ADVANTEST製)で測定した。

2.3 線形理論による計算プログラム

緩和時間(T_1 と T_2)の算出はLundの方法

(ソースコード公開)¹¹⁾によった。

ローレンツ型のスピンパケットに関するESRの線形を表現できるガウス型包絡線の理論は次式で表わされる。

$$g(r) \propto \frac{B_0 \beta}{\Delta B_G} \int_{-\infty}^{\infty} \frac{e^{-(a^2 r'^2) dr'}}{r^2 + (r-r')^2} \quad (1)$$

ここで、ガウス型の線幅 t/a とローレンツ型の線幅 t の組み合わせがポイト線型をもたらす。 β は B_0 を中心とした線型関数 $g(r)$ の推移確率である。変数 r と r' は次式のように磁場 B と B' と一致することによって定義される。

$$r = \frac{B - B_0}{\Delta B_L} \quad r' = \frac{B' - B_0}{\Delta B_L} \quad (2)$$

緩和曲線の形状に影響を及ぼす変数 a と t^2 は次式のように与えられる。

$$a = \frac{\Delta B_L}{\Delta B_G} \quad r^2 = 1 + \gamma^2 B_1^2 \beta T_1 T_2 = 1 + s^2 \quad (3)$$

ここで、 γ は電子の磁気回転比、 s はいわゆる飽和因子である。 ΔB_L と ΔB_G は飽和に達していないローレンツ型やガウス型の各線形の半値幅であり、一次導関数に相当するピーク間の線幅 λ_L と λ_G の条件を次式のように表現することができる。

$$\Delta B_L = (\sqrt{3}/2) \lambda_L \quad \Delta B_G = \lambda_G / \sqrt{2} \quad (4)$$

飽和因子 s は、磁気回転比 γ 、空洞共振器内におけるマイクロ波の磁場成分の回転量 B_1 、そしてスピン-格子緩和時間 T_1 とスピン-スピン緩和時間 T_2 をそれぞれ含んでいる。 B_1 の大きさは、共鳴装置内における直線偏光した B_1 の大きさの1/2である。マイクロ波共振器の試料位置におけるマイクロ波の磁場成分の回転量 B_1 の大きさは、以下の式により、入力されるマイクロ波強度が関係する。

$$B_1 = K \sqrt{Q_L P} = K \sqrt{P} \quad (5)$$

ここで定数 K は共鳴装置すなわちキャビティの形状により異なり、通常は1として計算する。

実験的に測定されたマイクロ波強度 P とスピン緩和依存定数 P_0 を代入すると,

$$P_0 = \frac{1}{K^2 \gamma^2 \beta T_1 T_2} \quad (6)$$

式(1)の吸収線の形状は式(7)に計算しなおすことができる。

$$g(r) \propto C \frac{\beta \sqrt{P}}{T} u(ar, at) \quad (7)$$

ポイト関数 u は, 複素関数 w の実数部分である。

$$w(z) = \exp(-z^2) \operatorname{erfc}(-iz) \\ (w = u + iv, z = at + iar)$$

線型関数 $g(r)$ (式(7)) による評価法は, 複素関数の実数部分である関数 $u(ar, at)$ を拡大して算出した。複素関数の実数部分を計算するため, ガウスタイプの求積は従来の手順で行った。1本線や不均一に広げられた線の緩和挙動を計測するため, 遷移確率 β は単純な二準位系の中で不変であると設定した。Lundはこの手法において, 変調周波数を 1.5 kHz 以下としているが, 一般機器では困難な条件であると報告している¹¹⁾。磁場掃引と ESR 信号の緩和時間との関係性は次式に表される。

$$2\pi V_m B_m \ll \lambda_L / T_1 \quad (8)$$

ここで, V_m は変調周波数, λ_L はローレンツ型でのピークの線幅, T_1 はスピン格子緩和時間を表している。本研究では B_m を 0.01 mT レベルに, λ_L を 0.1 mT レベルに設定し, 変調周波数 100 kHz での測定を可能とした。

フィッティングを行うため, 非線形形の最小二乗法のフィッティングプログラムに組み込んだ。

3. 実験結果

3.1 ESR 信号の特徴

Fig.1 に照射マンゴーの果肉及び果皮の ESR スペクトルを示した。有機フリーラジカルに

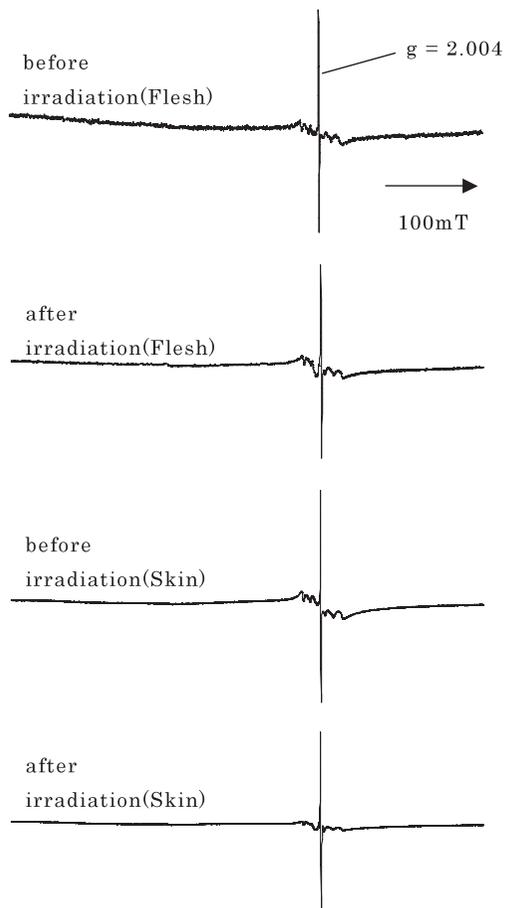


Fig. 1 ESR spectra of Mango before and after γ -irradiation. The horizontal axis in the magnetic field (in mT), and the vertical axis is the magnetic susceptibility (x'').

よるピークの g 値は, 果肉では $g = 2.0041 \pm 0.0002$, 果皮では $g = 2.0038 \pm 0.0003$ であった。これは, 植物の乾燥部位又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) - 17)}。

Fig.1 のような広範囲の磁場領域のスペクトルでは, 照射前後の違いは明瞭とはいえないので, 拡大した磁場領域のスペクトルを Fig.2 に示した。果肉の照射量が 12 kGy, 25 kGy, 50 kGy の試料においてのみサイドピークが観測された。果皮については, サイドピークと考えられる線幅の広がり観測された。いずれも

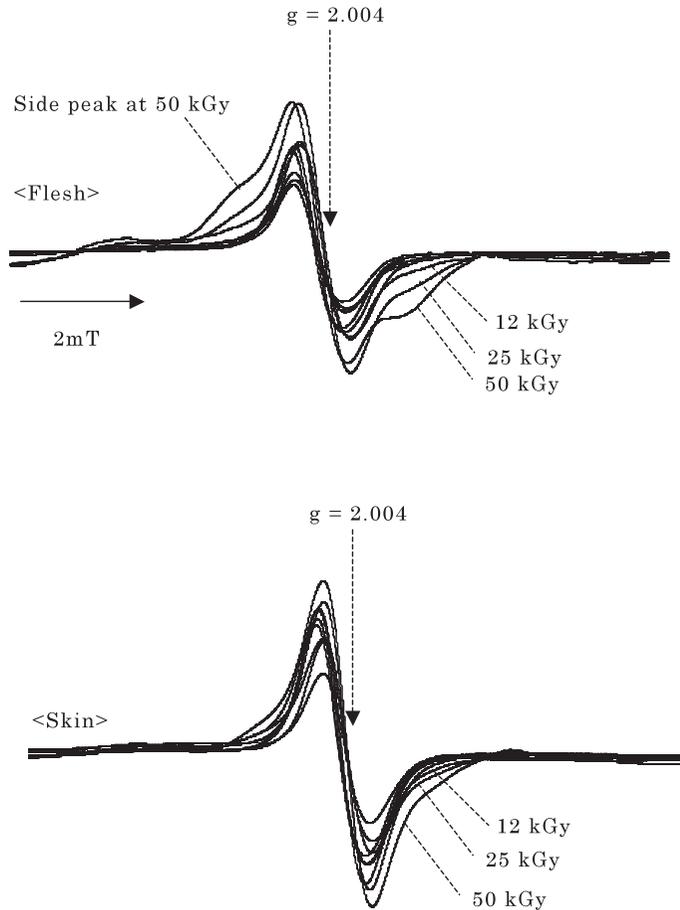


Fig. 2 ESR spectra of Mango before and after γ -irradiation at various dose level. The horizontal axis in the magnetic field (in mT), and the vertical axis is the magnetic susceptibility (χ'').

12 kGy 以降の照射量の時にセルロース由来の照射誘導ラジカル¹⁸⁾が現れたといえよう。

3・2 逐次飽和挙動と緩和時間

Fig. 3 に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) を示した。果肉 (Fig. 3) 及び果皮 (表示しない) ではいずれも約 3 mW で飽和して閾値を示し、その後信号強度は減少した。信号強度の異なる変化を正規化 (Normalized) した結果、Fig. 3 下で示したようにいずれもほとんど同じ緩和挙動であることがわかった。

Lund は、PSB を利用することによりラジカルのスピン-格子緩和時間 (T_1) 及びスピン-スピン緩和時間 (T_2) を高い精度で求められることを報告した¹¹⁾。Table 1 にこの方法によって求められた T_1 及び T_2 、そして両者の相乗平均を示した。 T_1 と T_2 の物理誤差すなわち標準偏差は T_1 が $\pm 1 \mu\text{sec}$ であり、 T_2 では $\pm 2 \text{nsec}$ であった。相乗平均について吸収線量に対してプロットしたものを Fig. 4 に示した。照射による緩和時間の相乗平均は、 T_1 及び T_2 を別々に評価するよりも、試料の持つ緩和機構の照射量依存性を総合的に評価できることが示された。

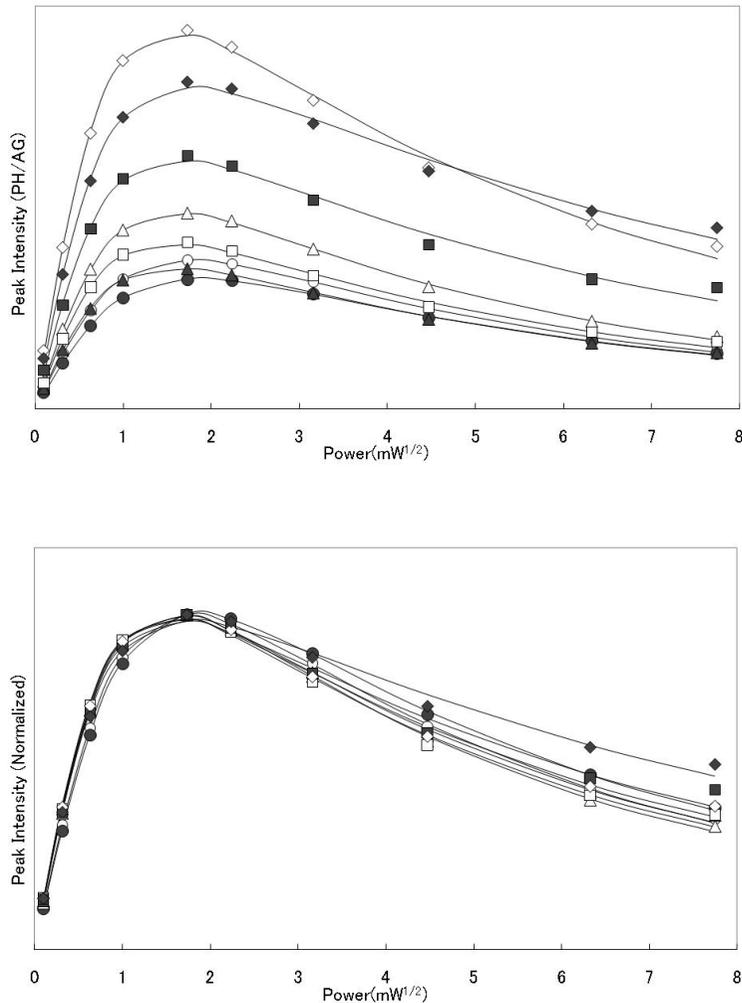


Fig. 3 The saturation curve of ESR signals of flesh Mango at various dose level from 0.3 – 50 kGy.

○non-irradiated, ●0.3 kGy, △1 kGy, ▲3 kGy, □4 kGy, ■12 kGy, ◇25 kGy, ◆50 kGy.

4. 考 察

4.1 スピン-格子緩和時間 (T_1) の照射量依存性

Table 1 より, マンゴーより計測された T_1 は一定であった。果肉及び果皮はいずれについても照射量依存性が確認されなかった。これは, 閾値を支えるマイクロ波強度が照射量によって変化しなかったことに起因する。閾値を支えるマイクロ波強度では, 電子スピンの励起及び緩

和が等しい状態にあり, 試料のスピンの状態が最も顕著にスペクトルに現れる。そのため, Lund の方法¹¹⁾では閾値の時のマイクロ波強度を T_1 算出の最重要条件としている。

T_1 はスピンと軌道の相互作用により化学結合に沿ってエネルギーが流れてエネルギーを失う過程に依存している¹⁹⁾。照射により T_1 が変化しないということは, 放射線で化学結合が切断されてラジカルが生成した後でもまだ別の結合からエネルギーが流れていく経路が存在して

Table 1 Relaxation times (T_1 and T_2) and their geometrical average of Mango radicals. The errors of measurements i.e. standard deviations for T_1 and T_2 were $\pm 1 \mu\text{sec}$ and $\pm 2 \text{nsec}$, respectively

<Flesh>			
Dose level (kGy)	$T_1(\mu\text{s})$	$T_2(\text{ns})$	$\sqrt{T_1 T_2} (\mu\text{s})$
non-irradiation	18	56	1.00
0.3	16	61	0.99
1.0	21	62	1.14
3.0	21	72	1.23
4.0	22	75	1.28
12	18	99	1.33
25	20	86	1.31
50	15	130	1.40

<Skin>			
Dose level (kGy)	$T_1(\mu\text{s})$	$T_2(\text{ns})$	$\sqrt{T_1 T_2} (\mu\text{s})$
non-irradiation	16	69	1.05
0.3	15	71	1.03
1.0	19	51	0.98
3.0	17	70	1.09
4.0	20	62	1.11
12	19	79	1.23
25	19	96	1.35
50	20	97	1.39

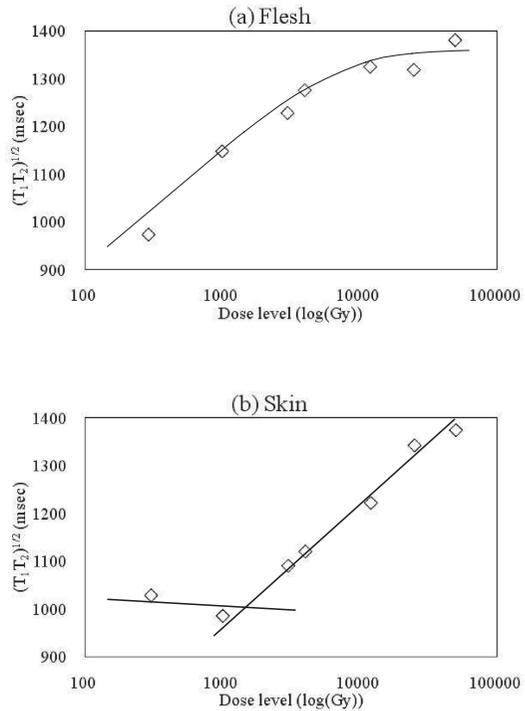


Fig. 4 Relation dose level vs geometrical averages of relaxation times T_1 and T_2 of radicals in Mango a) flesh and b) skin.

いると考えられる。

4.2 スピン-スピン緩和時間 (T_2) の照射量依存性

Table 1 より, マンゴーより計測された T_2 は果肉及び果皮いずれについても照射量依存性が確認された。特に, 果肉の照射量依存性が高かった。これは, Fig. 2 に示す拡大した磁場領域のスペクトルからもわかる。照射量の増加に伴い, ピークの線幅が増加し, 特に 12 kGy 以降の変化が著しかった。50 kGy で顕著に見られるセルロース由来のサイドピークの影響によりピーク全体の線幅が広がったことも T_2 の増加に反映されたと考えられる。

T_2 は不対電子のスピン間の相互作用を反映している²⁰⁾。照射量に応じて T_2 が長くなることは, 照射誘導ラジカルが生成したことを示し

ている。また, 化学結合の切断によってラジカル間の距離が離れ, 相互作用が弱くなったことも示していると考えられる。

4.3 T_1 及び T_2 の相乗平均の照射量依存性

Fig. 4 より, マンゴーで計測された $\sqrt{T_1 T_2}$ は果肉及び果皮について照射量依存性が確認された。Kevan らは $\sqrt{T_1 T_2}$ が液体窒素温度で有機ガラスの照射量の増加によって小さくなることを報告している²¹⁾。 $\sqrt{T_1 T_2}$ が小さくなる現象は, 照射により遊離したラジカル内の電子が有機ガラスの中で不均一に分布することによる T_1 と T_2 の変化であるという結論を導き出している。乾燥状態で照射処理を施したナツメグでは $\sqrt{T_1 T_2}$ が照射量の増加によって小さくなる照射量依存性を示した²²⁾。

しかし, マンゴーでは有機ガラスやナツメグ

の報告とは異なる傾向を示し, $\sqrt{T_1 T_2}$ は照射量の増加に伴い増大した。本研究においてマンゴーは生の状態, つまり試料中に水分が含有された状態で照射処理されている。凍結乾燥状態で照射した試料と異なり, 含水量が多いマンゴーでは照射処理により遊離したラジカル内の電子が均一に分布したと考えられる。

5. ま と め

γ 線照射された生マンゴーを凍結乾燥して粉碎後 ESR 測定を行った。果肉及び果皮に $g=2.004$ に 1 本線のメインピークが観測された。果肉及び果皮において 12 kGy 以降の照射量の時にセルロース由来の照射誘導ラジカルが現れ, スペクトルに変化が見られた。ピークの緩和時間 (T_1 と T_2) を計算したところ, T_1 はほぼ一定であったが, T_2 は線量の増加とともに変化した。 T_1 及び T_2 の相乗平均を検討したところ, 線量依存性は 1 kGy から 50 kGy の範囲で確認された。今後は, 生マンゴーに対する照射の実用線量レベルである 400 Gy での, 詳細な線量依存性への応用を検討し, 実際に ESR を検知法として利用する際に必要となる実用的な知見の蓄積を行う。

文 献

- 1) IAEA, Food Irradiation Clearances Database, <http://nucleus.iaea.org/NUCLEUS/nucleus/Content/Applications/FICdb/BrowseDatabase.jsp>
- 2) Department of Agriculture, Animal and Plant Health Inspection Service, Importation of Mangoes from India, pp.10902-10907, Office of Federal Register, Washington D. C., USA (2007)
- 3) 植物防疫法施行規則, 別表 2 (第 9 条関係) 付表 第 2, 第 36, 第 43, 第 50, 第 15, 第 17, 第 16, 第 48. (平成 21 年 6 月 3 日農林水産省第 38 号 [第 214 次改正])
- 4) 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)
- 5) 浜谷成樹, 鶴飼光子, 下山雄平, 電子スピン共鳴分光法による放射線照射黒胡椒中の有機フリーラジカルの加熱時における減衰挙動の研究, *RADIOISOTOPES*, **52**, 367-373 (2003)
- 6) 安部あいか, 余湖五月, 鶴飼光子, γ 線照射小麦中の電子スピン共鳴法による解析, *RADIOISOTOPES*, **53**, 355-360 (2004)
- 7) 菊地正博, Mohammad S. Hussain, 森下憲雄, 鶴飼光子, 下山雄平, 小林泰彦, 照射された生マンゴーに生じたラジカルの ESR 測定, *RADIOISOTOPES*, **58**, 789-797 (2009)
- 8) Swartz, M. H., Bolton, R. J. and Borg, C. D., Biological Applications of Electron Spin Resonance, pp.82-85, John Wiley and Sons Inc., New York (1972)
- 9) Swartz, M. H., Bolton, R. J. and Brog, C. D., Biological Applications of Electron Spin Resonance, pp.19-20, John Wiley and Sons Inc., New York (1972)
- 10) Lund, A., Olsson, S., Bonora, M., Lund, E. and Gustafsson, H., New materials for ESR dosimetry, *Spectrochimica. Acta A*, **58**, 1301-1311 (2002)
- 11) Lund, A., Relaxation time determination from continuous-wave microwave saturation of EPR spectra, *Rad. Res.*, **172**, 753-760 (2009)
ML_Fit 1 la.for/.exe
- 12) Boshard, J. A. P., Holmes, D. E. and Piette, L. H., An inherent dosimeter for irradiated foods: papayas, *Int. J. Appl. Radiat. Isot.*, **22**, 316-318 (1971)
- 13) Raffi, J. J., Agnel, J. P. L., Buscarlet, L. A. and Martin, C. C., Electron spin resonance identification of irradiated strawberries, *J. Chem. Soc. Faraday Trans. 1*, **84** (10), 3359-3362 (1988)
- 14) 後藤典子, 田辺寛子, 照射セルロースに特有なラジカルの ESR ピークによる照射イチゴの検知, 食品照射, **37** (1, 2), 12-16 (2002)
- 15) Raffi, J. J. and Agnel, J. P. L., Electron spin resonance identification of irradiated fruits, *Radiat. Phys. Chem.*, **34** (6), 891-894 (1989)
- 16) Tabner, B. J. and Tabner, V. A., An electron spin resonance study of gamma-irradiated grapes, *Radiat. Phys. Chem.*, **38** (6), 523-531 (1991)
- 17) Maloney, D. R., Tabner, B. J. and Tabner, V. A., An electron spin resonance study of some gamma-irradiated fruits, *Radiat. Phys. Chem.*, **39** (4), 309-314 (1992)

- 18) 亀谷宏美, 加恵田庸子, 中村秀夫, 鶴飼光子, 二種のグルコースポリマーの照射処理により新規に誘導されるラジカルの解析, 食品照射, **42**, 4-8(2007)
- 19) 石津和彦, 実用 ESR 入門-生命科学へのアプローチ-, p.302, 講談社, 東京(1981)
- 20) Alger, R. S., Electron Paramagnetic Resonance: Technique and Applications, pp.508, John Wiley and Sons, New York(1968)
- 21) Kevan, L., Chen and D. H. J., Spatial distribution of trapped electrons in γ -irradiated organic glasses, *J. Chem. Phys.*, **49**(4), 1970-1971(1968)
- 22) 小川英之, 鶴飼光子, A. Lund, 下山雄平, 照射誘導ラジカルの緩和現象, 食品照射, **44**, 5-8(2009)

Abstract

Relaxation Behaviour and Dose Dependence of Radiation Induced Radicals in Irradiated Mango

Hiromi KAMEYA, Daisuke KAKITA*, Yoshihiko KAIMORI**, Masahiro KIKUCHI***, Yasuhiko KOBAYASHI***, Mitsuko UKAI** and Yuhei SHIMOYAMA***

National Food Research Institute

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

**Hokkaido University of Education

1-2 Hachiman-cho, Hakodate-shi, Hokkaido 040-8567, Japan

***Japan Atomic Energy Agency

1233 Watanuki-cho, Takasaki-shi, Gunma Pref. 370-1292, Japan

Mangoes are imported to Japan after treated with hot water. Recently, irradiated mangoes imported to U. S. are widely used. This paper reports on the ESR method for analyzing the radiation induced radicals of irradiated mangoes. Upon the γ ray irradiation, a strong single peak in the flesh and skin of mangoes was observed at $g=2.004$. This singlet peak may be attributed to organic free radicals. The ESR spectra of the flesh and skin of mangoes showed the radiation induced radicals due to cellulose by irradiation over 12 kGy. The relaxation times (T_1 and T_2) of the singlet signal were calculated. T_2 showed dose response according to increasing the irradiation dose levels, while T_1 was almost constant. The value of $(T_1T_2)^{1/2}$ showed the dependence of irradiation dose level.

(Received November 10, 2009)