

[報文]

## PSL 法による豆類の照射履歴の検知

関口正之<sup>1)</sup>, 中川清子<sup>1)</sup>, 柚木俊二<sup>1)</sup>, 大藪淑美<sup>1)</sup>,  
穂原昌司<sup>2)</sup>, 等々力節子<sup>2)</sup>, 多田幹郎<sup>3)</sup>, 本田克徳<sup>4)</sup>

<sup>1)</sup> (地独) 東京都立産業技術研究センター (〒 115-8586 北区西が丘 3-13-10)

<sup>2)</sup> (独) 農研機構食品総合研究所 (〒 305-8642 茨城県つくば市観音台 2 丁目 1 番地 12)

<sup>3)</sup> 中国学園大学 (〒 701-0197 岡山県岡山市北区庭瀬 83)

<sup>4)</sup> 日本放射線エンジニアリング株式会社 (〒 316-0002 茨城県日立市桜川町 1-5-20)

## Detection of Irradiated Pulses by PSL Method

Sekiguchi Masayuki<sup>1)</sup>, Nakagawa Seiko<sup>1)</sup>, Yunoki Shunji<sup>1)</sup>, Ohyabu Toshimi<sup>1)</sup>,  
Hagiwara Shoji<sup>2)</sup>, Todoriki Setsuko<sup>2)</sup>, Tada Mikirou<sup>3)</sup> and Honda Katsunori<sup>4)</sup>

<sup>1)</sup> *Tokyo Metropolitan Industrial Research Institute, 3-13-10 Nishigaoka Kita-Ku, Tokyo 115-8586 Japan*

<sup>2)</sup> *National Food Research Institute, 2-1-12 Kannondai, Tsukuba, Ibaraki 305-8642 Japan*

<sup>3)</sup> *Chugoku Gakuen University, 83 Hirose, Kita-Ku, Okayama, Okayama 701-0197 Japan*

<sup>4)</sup> *JREC Japan Radiation Engineering Co, Ltd, 1-5-20 Sakuragawa-cho, Hitachi, Ibaraki 316-0002 Japan*

### Summary

Photostimulated luminescence (PSL) as a screening method is very simple and rapid to detect irradiated foods but various disadvantages (light induced fading of PSL signal or response to clean foods with minerals insensitive to PSL measurement).

In this study the characteristics of radiation induced PSL for 10 kinds of pulses (Chinese Soybean and Adzuki bean, Pinto bean, Cowpea, Green gram, Canadian Blue pea and Soybean, American Black-eyed pea and Chickpea, Red Kidney Bean) were investigated. The screening-PSL (s-PSL) cumulate counts of pulses significantly increased with irradiation dose up to 3kGy. The s-PSL cumulate counts of irradiated pulses gradually decreased with increasing storage periods. The s-PSL cumulate counts of all pulse samples irradiated at a minimum dose of 0.5kGy exceeded considerably the upper screening threshold (5000 counts) regardless of storage period. Calibrated PSL (Cal-PSL) were obtained by re-irradiating the pulse samples with a gamma ray dose of 1kGy and the PSL ratios (s-PSL/Cal-PSL) were calculated for normalization of sensitivity of the pulse samples. The PSL ratio at each irradiation dose was almost similar regardless of kind of pulses.

**Key words:** Photostimulated Luminescence(PSL), Irradiated Foods, Pulses, Gamma Rays, PSL Ratio, Calibrated PSL

### はじめに

食品への放射線照射処理は、食中毒菌や寄生虫による健康被害の防止や食品の有効期限の延長、害虫による損傷、防疫対策のために使用される。しかし、

国により食品への放射線処理の許可品目および線量、表示等の規定が異なっており、国際的な食品流通においては未許可の照射食品が国内に流通する可能性がある。わが国では厚労省が通知で熱ルミネッセンス (TL) 法<sup>1)</sup> とアルキルシクロブタン法<sup>2)</sup>

を公式な照射食品検知法として認めている。PSL(光刺激ルミネッセンス)法は、スクリーニング法としてEN規格<sup>3)</sup>になっているが国内では公定法ではない。しかし、簡便で短時間に測定できるので多数の食品を効率良く検査する手段として検査機関や食品企業に普及が進んでいる。

本研究が対象とした豆類の光刺激ルミネッセンスによる研究例としては韓国で照射許可されている大豆ペースト粉末(加工品)を使用したSang-Dukら<sup>4)</sup>の報告があるが、加工前の豆類についての研究例はほとんどない。豆類は発展途上国においてはタンパク質源として重要な位置を占め、殺虫や保存期間延長を目的とした放射線処理(一般的には1kGy以下の照射)が行われている。このように低線量照射される豆類の照射履歴の検査には、DNAコメットアッセイ法、TL法、発芽試験(germination test)、電子スピン共鳴(ESR)法等による研究が行われてきた。H.Khanら<sup>5)</sup>はTL法で0.3kGy以上照射された6種類の豆類(パキスタン産)の判別ができることを示した。またA.Khan<sup>6)</sup>らはDNAコメットアッセイにより7種類の豆の照射履歴を判別できることを報告している。A.Khawar<sup>7)</sup>らは2kGy以上照射した種子と豆類の発芽試験で発芽が認められないことを観察している。Villavicencio<sup>8)</sup>らは2種類の豆(ブラジル産)についてTL法、電子スピン共鳴(ESR)法、コメットアッセイ、発芽試験による比較試験を行い、ESR法以外の方法では照射6ヶ月後も1kGy照射した豆類の判別が可能としている。ESR法ではOliveiraら<sup>9)</sup>が大豆、Brasoveanu<sup>10)</sup>らがグリーンコーヒーを用い照射後のESRスペクトルの特性を検討しているが低線量照射したものについては有用な結果は得られていない。

PSL法では、食品に付着している鉱物質からの発光を捉えて判定を行うため、豆類のように平滑で鉱物質の付着が少ないと考えられる食品では校正PSL測定やTL法を併用するのが望ましい<sup>11)~12)</sup>。

本研究では低線量を照射された豆類の照射履歴の判別について、国内に輸入される代表的な10種類の豆類を対象に、著者らが開発した光刺激ルミネッセンス測定装置<sup>13)</sup>を使用して、PSL積算発光量の経時変化と線量応答、校正PSL測定によるPSL発光比による検討を行った。

## 実験方法

### 1. 試料

中国産の大豆(Soybean)、小豆(Adzuki bean)、うずら豆(Pinto bean)、ささげ(Cowpea)、緑豆(Green gram)、カナダ産の青エンドウ(Blue pea)、大豆(Soybean)、米国産の黒目豆(Black-eyed pea)、ひよこ豆(Chickpea)、レッドキニー豆(Red Kidney Bean)の10種類の豆を上野の市場から入手した。

### 2. 照射と線量測定

豆類は、プラスチックシャーレ( $\phi$  50mm × H15mm)に小分けして入れアルミホイルで遮光後回転照射台(大黒堂製:MM-45B,約6回転/分)に重ねて並べ、東京都立産業技術研究センターのホットセル(<sup>60</sup>Co:185TBq)で線量率0.5kGy/hの条件で約0.5, 1, および3kGyの $\gamma$ 線照射を行った。校正照射(1kGyの再照射)の場合は、PSL測定用ステンレスシャーレ( $\phi$  50mm × H15mm)に入れた状態の試料を同様に回転照射台に載せ照射を行った。校正照射に関しては株式会社アトックス技術開発センターの $\gamma$ 線照射施設(約1.0PBq:線量率約1kGy/h)も使用した。なお、豆類はシャーレに一層に並べ(重量で規格化)、目標線量の $\pm$ 5%以内となるよう照射した(Fig. 1)。

試料への照射線量は、試料を入れたシャーレの中央および外縁部にNPL(英国物理研究所)のアラニン基準線量計で校正したアラニンペレット線量計(Gamma Services社製, 64.0mg  $\pm$  0.5mg)を配置し、照射後に電子スピン共鳴装置(日本電子(株)製FA-200)でESRスペクトルを求め、そのシグナル強度から算出した。

### 3. 光刺激ルミネッセンス(PSL)測定と試料の保存

PSL測定は、日本放射線エンジニアリング株式会社製の光刺激ルミネッセンス測定装置(JREC ES-7340A型)を使用し、1条件3測定を行い結果は平均値と標準偏差で示した。

試料は測定用ステンレス製シャーレに入れ、励起光照射後90秒間における試料からの発光を積算発光量として求めた。

照射した試料は暗所常温保存した。大豆(中国産)



Fig. 1. Different kind of pulses (standard quantity: g) in the stainless steel petri dishes used for PSL measurements

と小豆（中国産）は6ヶ月間，その他の豆類については3ヶ月間，経時的にPSL積算発光量の変化を調べた。

試料について最初のPSL測定をスクリーニングPSL (screening PSL : s-PSL) 測定と表し，測定後同じ試料に1kGyの校正線量を再照射して一昼夜放置後に実施するPSL測定を校正PSL (Calibrated PSL: Cal-PSL) 測定とした。

s-PSLは，積算発光量が下限閾値 (700 counts) 未満は「照射の証拠がない」，700以上5000 counts以下の場合は「照射の疑いあり」，上限閾値 (5000

counts) を超える場合は「照射の可能性が高い」と判定を行った。Cal-PSLはEN13751<sup>3)</sup>や国際研究室間試験<sup>12)</sup>で照射履歴の判定および追加の試験を行う場合に重要な指標となっている。s-PSLとCal-PSLの積算発光量からPSL発光比を求め比較を行った。

### 実験結果および考察

#### 1. 中国産大豆および小豆のPSL発光特性

0.5～3kGyを照射した中国産大豆と小豆のs-PSLの線量応答の変化を照射後6ヶ月間調べた結果をFig. 2に示す。

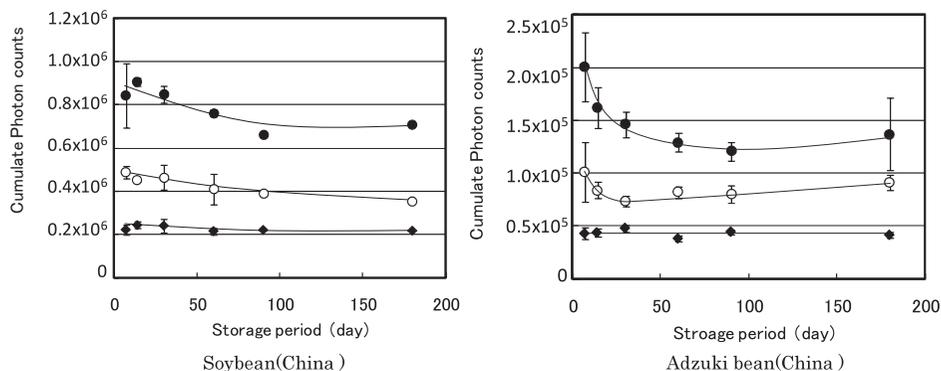


Fig. 2. Time and dose dependences in cumulate photon counts of s-PSL of irradiated soybean (China) and adzuki bean (China) during storage for 6months under dark condition (◆: 0.5kGy, ○: 1.0kGy, ●: 3.0kGy)

中国産大豆および小豆ともに、未照射試料の s-PSL 積算発光量はそれぞれ  $169 \pm 295$  counts および  $87 \pm 39$  counts であり、照射試料に比べ著しく小さかった。1kGy までの照射線量に対して s-PSL 積算発光量は直線的に増加したが、1kGy を超えると飽和する傾向を示した。大豆および小豆とも 0.5kGy 照射されたものでも、6ヶ月経過後の積算発光量は上限閾値 (5000 counts) を大きく超えるので照射履歴の判定は充分可能である。

また、照射後の時間経過により s-PSL の積算発光量は徐々に減少し、特に 3kGy を照射した試料でその傾向が顕著に認められた。しかし、照射 2ヶ月後以降ではほぼ安定した値を示すことがわった。

次に、中国産大豆および小豆の PSL 発光比の結

果を Table 1 および Table 2 に示す。大豆は小豆に比べ s-PSL の発光量が 5 倍近く大きく、また色や形に大きな違いがあるにも関わらず、PSL 発光が安定した照射後 2ヶ月以降では照射線量に対応する PSL 発光比はほぼ類似した値を示した。

## 2. その他の豆類の s-PSL 発光の経時変化

0.5kGy から 3kGy を照射した中国産のうずら豆、ささげ、緑豆、カナダ産の青エンドウ、大豆、米国産の黒目豆、ひよこ豆、レッドキニー豆の s-PSL 積算発光量の経時変化を Fig. 3 に示す。

s-PSL の 3ヶ月間の経時変化は、0.5kGy を照射したものでは大きな変化認められなかったが、1kGy 以上照射した試料の s-PSL は徐々に減少した。中

Table 1. Time and dose dependences of PSL ratio (s-PSL/Cal-PSL) of soy bean (China) during storage for 6months under dark condition

| Storage periods | Irradiated dose (kGy) |                   |                   |                   |
|-----------------|-----------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
|                 | 0                     | 0.5               | 1.0               | 3.0               |
| 1week           | $0.0003 \pm 0.0005$   | $0.377 \pm 0.012$ | $0.689 \pm 0.047$ | $1.100 \pm 0.071$ |
| 2 weeks         | —                     | $0.368 \pm 0.007$ | $0.619 \pm 0.036$ | $1.043 \pm 0.020$ |
| 1 month         | —                     | $0.370 \pm 0.002$ | $0.642 \pm 0.021$ | $1.059 \pm 0.063$ |
| 2 months        | —                     | $0.320 \pm 0.018$ | $0.590 \pm 0.031$ | $0.929 \pm 0.067$ |
| 3 months        | —                     | $0.349 \pm 0.020$ | $0.516 \pm 0.040$ | $0.835 \pm 0.021$ |
| 6 months        | $0.0006 \pm 0.0002$   | $0.379 \pm 0.018$ | $0.542 \pm 0.036$ | $0.836 \pm 0.074$ |

Mean value  $\pm$  standard deviation for 3 measurements

Unit: PSL ratio (s-PSL/Cal-PSL\*),

\* Cal-PSL is measured after re-irradiating with a gamma ray dose of 1 kGy for normalization of sensitivity of pulse samples.

Table 2. Time and dose dependences of PSL ratio (s-PSL/Cal-PSL) of adzuki bean (China) during storage for 6months under dark condition

| Storage periods | Irradiated dose (kGy) |                   |                   |                   |
|-----------------|-----------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
|                 | 0                     | 0.5               | 1.0               | 3.0               |
| 1week           | $0.0008 \pm 0.0004$   | $0.362 \pm 0.001$ | $0.769 \pm 0.165$ | $1.107 \pm 0.024$ |
| 2week           | —                     | $0.346 \pm 0.028$ | $0.608 \pm 0.012$ | $1.056 \pm 0.088$ |
| 1month          | —                     | $0.344 \pm 0.008$ | $0.627 \pm 0.015$ | $0.945 \pm 0.061$ |
| 2months         | —                     | $0.316 \pm 0.025$ | $0.645 \pm 0.039$ | $0.906 \pm 0.039$ |
| 3months         | —                     | $0.372 \pm 0.012$ | $0.606 \pm 0.022$ | $0.795 \pm 0.109$ |
| 6months         | $0.0024 \pm 0.0006$   | $0.312 \pm 0.025$ | $0.559 \pm 0.017$ | $0.821 \pm 0.019$ |

Mean value  $\pm$  standard deviation for 3 measurements

Unit: PSL ratio (s-PSL/Cal-PSL\*)

\* Cal-PSL is measured after re-irradiating with a gamma ray dose of 1 kGy for normalization of sensitivity of pulse sample.

国産大豆や小豆も同様の傾向が得られた (Fig. 2)。0.5kGy 照射されたものでも3ヶ月経過後の時点で積算発光量が上限閾値 (5000 counts) を大きく超えるので照射履歴の判定は充分可能である。

### 3. 豆類の s-PSL と PSL 発光比による照射履歴判定 照射1週間後に測定した s-PSL 積算発光量の線量

応答を Table 3 に示す。カナダ産青エンドウと大豆は、未照射で s-PSL 積算発光量が下限閾値をわずかに超え「照射の疑いあり」と判定された。また、照射したものは豆の種類により s-PSL 発光量は著しく異なっていた。s-PSL 発光量は、うずら豆、青エンドウ、ひよこ豆>中国産大豆、黒目豆、カナダ産大豆>ささげ、レッドキニー豆、中国産小豆、緑豆

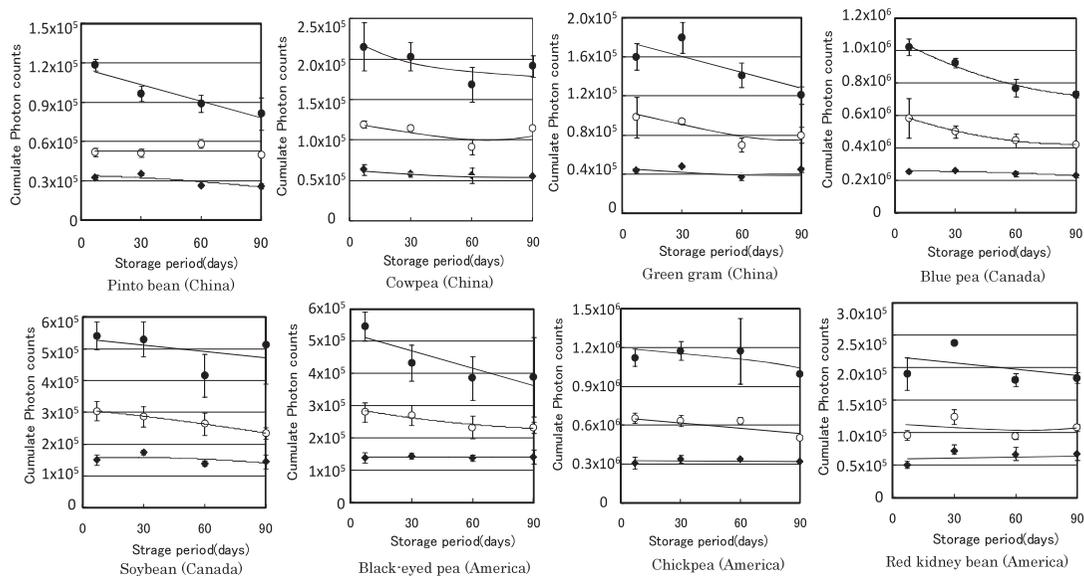


Fig. 3. Time and dose dependences of s-PSL of different kinds of irradiated pulses during storage for 3 months under dark condition (◆: 0.5kGy, ○: 1kGy, ●: 3kGy)

Table 3. Dose dependences of s-PSL cumulate photon counts of different kinds of pulses at one week after irradiation under dark condition

| Pulse samples             | Irradiated dose (kGy) |                |                 |                 |
|---------------------------|-----------------------|----------------|-----------------|-----------------|
|                           | 0                     | 0.5            | 1.0             | 3.0             |
| Soybean, China            | 169 ± 295             | 223579 ± 25379 | 490402 ± 28416  | 843347 ± 146845 |
| Adzuki bean, China        | 87 ± 39               | 42979 ± 5754   | 101174 ± 28064  | 200639 ± 32845  |
| Pinto bean, China         | 105 ± 157             | 326019 ± 14604 | 519659 ± 64339  | 1183490 ± 7308  |
| Cowpea, China             | 256 ± 100             | 63648 ± 6305   | 119574 ± 4680   | 215588 ± 30033  |
| Green gram, China         | 474 ± 168             | 43585 ± 2295   | 98392 ± 20722   | 160014 ± 13466  |
| Blue pea, Canada          | 748 ± 133             | 255272 ± 8677  | 585843 ± 122578 | 1021671 ± 51610 |
| Soybean, Canada           | 1090 ± 289            | 150707 ± 16078 | 304187 ± 30123  | 541204 ± 44245  |
| Black-eyed pea, America.  | -23 ± 217             | 138865 ± 19677 | 281150 ± 15853  | 547199 ± 32765  |
| Chickpea, America.        | 652 ± 23              | 308991 ± 44961 | 655739 ± 39303  | 1124023 ± 64474 |
| Red kidney bean, America. | 257 ± 33              | 50988 ± 5711   | 104362 ± 7477   | 191120 ± 25677  |

Mean value ± standard deviation for 3 measurements

Unit: cumulate photon counts(s-PSL)

の順に小さくなった。発光量の小さい、0.5kGy 照射した中国産小豆および緑豆でも 40000 counts 程度の発光を持つため時間経過による減衰を考慮しても s-PSL による照射履歴の検知は十分可能と考えられる。

同じ試料の PSL 発光比の算出結果を Table 4 に示す。s-PSL 測定で「照射の疑いあり」と判定された未照射のカナダ産青エンドウと大豆の PSL 発光比は、他の未照射豆と同様に 0.01 以下の非常に小さい値を示し明確に未照射と判断できる。また、照射線量毎の s-PSL は豆の種類により大きな違いがあったが、PSL 発光比で比較した場合は豆の形や色、種類にほとんど依存せず線量に応じた類似の値を示すことがわかった (Table 4, 総平均と変動係数を参照)。以上より、PSL 発光比の情報は豆類に照射された線量の推定に役立つ可能性がある。

#### まとめ

照射した豆類の s-PSL 積算発光量は時間とともに緩やかに減少したが、0.5kGy 照射し 3～6 ヶ月保存したのもでも s-PSL 測定の上限閾値を大きく上回り鉍物質の付着の少ないと考えられる豆類でも照射履歴の判定ができた。低線量を照射される豆の場合

も暗所・常温保存されていれば、s-PSL 測定で感度良く照射履歴の判定が可能である。うずら豆や青エンドウ、ひよこ豆は、中国産小豆、緑豆に比べ 5 倍以上大きい s-PSL 発光を持ち、豆の種類による積算発光量の違いが大きかった。また、カナダ産青エンドウと大豆は未照射にもかかわらず s-PSL が下限閾値 (700counts) を越えて「照射の疑いあり」の判定を示すが、PSL 発光比で再評価することで「未照射」と正しい判定ができた。

照射した豆類の PSL 発光比は、豆の色や形、種類に関係なく照射された線量に対応する類似の値を与えた。豆類の PSL 発光比の経時変化と線量応答性の情報を蓄積することにより、照射された線量を推定できる可能性があった。

#### 参考文献

- 1) 厚生労働省医薬食品局安全部長通知“放射線照射された食品の検知法について”平成 19 年 7 月 6 日食安発第 0706001 号 (2007).
- 2) 厚生労働省医薬食品局安全部長通知“放射線照射された食品の検知法について”平成 22 年 3 月 30 日食安発第 0330 号 (2010).
- 3) Foodstuffs – Detection of irradiated food using

Table 4. Dose dependences of PSL ratios of different kinds of pulses for one week storage under dark condition

| Pulse samples             | Irradiated dose (kGy) |               |               |               |
|---------------------------|-----------------------|---------------|---------------|---------------|
|                           | 0                     | 0.5           | 1.0           | 3.0           |
| Soybean, China            | 0.0003 ± 0.0005       | 0.377 ± 0.012 | 0.689 ± 0.047 | 1.100 ± 0.071 |
| Adzuki bean, China        | 0.0008 ± 0.0004       | 0.362 ± 0.001 | 0.769 ± 0.165 | 1.107 ± 0.024 |
| Pinto bean, China         | 0.0001 ± 0.0002       | 0.376 ± 0.009 | 0.654 ± 0.024 | 1.095 ± 0.037 |
| Cowpea, China             | 0.0016 ± 0.0009       | 0.383 ± 0.012 | 0.700 ± 0.032 | 1.115 ± 0.136 |
| Green gram, China         | 0.0051 ± 0.0018       | 0.386 ± 0.008 | 0.630 ± 0.068 | 1.119 ± 0.041 |
| Blue pea, Canada          | 0.0011 ± 0.0003       | 0.393 ± 0.004 | 0.766 ± 0.135 | 1.124 ± 0.030 |
| Soybean, Canada           | 0.0027 ± 0.0004       | 0.349 ± 0.008 | 0.632 ± 0.033 | 1.042 ± 0.087 |
| Black-eyed pea, America.  | -0.0001 ± 0.0007      | 0.396 ± 0.035 | 0.743 ± 0.018 | 1.163 ± 0.028 |
| Chickpea, America.        | 0.0008 ± 0.0001       | 0.377 ± 0.017 | 0.663 ± 0.003 | 1.083 ± 0.022 |
| Red kidney bean, America. | 0.0019 ± 0.0003       | 0.391 ± 0.017 | 0.726 ± 0.010 | 1.059 ± 0.041 |
| Overall average ± SD*     | 0.0014 ± 0.0015       | 0.379 ± 0.015 | 0.697 ± 0.052 | 1.101 ± 0.034 |
| Coefficient of variation  | 106%                  | 3.8%          | 7.5%          | 3.1%          |

Mean value ± standard deviation for 3 measurements

Overall average: the averages of PSL ratios for ten kinds of pulses

Unit: PSL ratio(s-PSL/Cal-PSL\*)

\* Cal-PSL is measured after re-irradiating with a gamma ray dose of 1 kGy for normalization of sensitivity of pulse sample.

- photostimulated luminescence: EN13751 (2002).
- 4) Sang-Duk, Yi ; Man-Jin, Oh. Pulsed Photostimulated Luminescence (PPSL) of Gamma Irradiated Soybean Paste Powder. *J. Food Sci. Nutr.* **10**, p.145-150 (2005).
  - 5) Khan, H. M. et al. Food irradiation – Detection of irradiated food Identification of irradiated pulses by thermoluminescence of the contaminating minerals. *Radiat. Phys. Chem.* **52**, p.145-149 (1998).
  - 6) Khan, A.A. et al. Detection of radiation treatment of beans using DNA comet assay. *Radiat. Phys. Chem.* **63**, p.407-410 (2002).
  - 7) Khawar, A. et al. A germination test: An easy approach to know the irradiation history of seeds. *Pak. J. Agri. Sci.* **47**(3), p.279-285 (2010).
  - 8) Vilavicencio, A. L. C. H. Application of different techniques to identify the effects of irradiation on Brazilian beans after six months storage. *Radiat. Phys. Chem.* **52**, p.161-166 (1998).
  - 9) Marcos, R. R. de Oliveira et al. Nélida L. del Mastro. Electron paramagnetic resonance study of some varieties of gamma-irradiated soybean. *Radiat. Phys. Chem.* **76**, p.1459-1462 (2007).
  - 10) Brasoveanu, M. et al. Electron paramagnetic resonance study on irradiated green coffee. *Rom. Journ. Phys.* **51**, p.147-150 (2006).
  - 11) Sanderson, D. C. W.; Carmichael, L. A. Naylor. Photostimulated luminescence and thermoluminescence techniques for the detection of irradiated food. *Food Sci. Technol. Today* **9** (3), p.150-154 (1995).
  - 12) Sanderson, D. C. W. et al. Photostimulated luminescence detection of irradiated herbs, and Seasonings: International interlaboratory trial. *J. AOAC International*. **86**(5), p.990-997 (2003).
  - 13) 関口正之. 展望 照射食品検知用光ルミネッセンス装置の開発と実用化. *ISOTOPE NEWS*. **5**, p.2-6 (2007).

(2011年7月22日受理)