

原 著

国内の市販唐辛子と放射線処理唐辛子の ESR によるラジカルの解析

亀谷宏美， 鵜飼光子

Reprinted from
RADIOISOTOPES, Vol.60, No.4
April 2011



Japan Radioisotope Association

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

原 著



国内の市販唐辛子と放射線処理唐辛子の ESR によるラジカルの解析

亀谷宏美, 鶴飼光子*

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

*北海道教育大学

040-8567 北海道函館市八幡町 1-2

2010 年 5 月 25 日 受理

放射線照射唐辛子と、加工処理の異なる市販唐辛子を ESR で解析した。加工処理は天日干し、機械的処理（加熱殺菌、粉末化など）である。一定量の試料で計測した。唐辛子の ESR スペクトルは $g=2.00$ の鋭い 1 本線信号が検出された。これは有機フリーラジカル由来の信号と考えられる。加熱処理のラジカル生成への関与は必ずしも大きくないと考えた。粉末化処理は唐辛子のラジカル生成に大きく関与していると考えた。放射線照射処理した試料では ESR 信号強度は照射量が増すに従い増大した。粉末試料の信号強度と照射処理試料の信号強度とはほぼ同じ値を示した。放射線照射試料と非照射試料の緩和挙動と緩和時間 (T_1 , T_2) には差異があった。照射試料の緩和時間は非照射試料と比較し、 T_1 は増え、 T_2 は減少した。唐辛子は加工処理のうち、放射線照射処理と粉末化処理によるラジカル生成の影響が大きいことがわかった。

Key Words : ESR, red pepper, gamma ray, irradiation

1. 緒 言

唐辛子は、ナス科トウガラシ属 (*Capsicum*) の栽培種の果実から得られる辛味のある香辛料である。栽培種には 5 種あるが日本で栽培、流通しているのは主にトウガラシ (*C. annuum*) である。唐辛子は世界的に広く使用されているが歴史は新しく、15 世紀末にアメリカ大陸からヨーロッパに持ち込まれた。16 世紀には日本に伝来し、後に粉末化した一味唐辛子として料理の香辛料に広く用いられるようになった。

香辛料は、種々の植物の芳香性の葉、茎、樹皮、根、花、蕾、種子、果皮など多種類のものが含まれる。香辛料は通常、熱帯、亜熱帯地域に産する植物を乾燥することによって調製されるため、土壌由来及び生物や害虫による汚染は避けられない¹⁾。そのため香辛料の殺菌処理は不可欠である。香辛料の加熱殺菌は熱による香

味、色調の劣化が起こる可能性が高い。したがって従来は非加熱殺菌法としてエチレンオキシドガスが利用されていたが、処理後残留しているエチレンオキシドの毒性・発がん性のため日本では使用が禁止されている。現在日本では気流式加熱水蒸気殺菌が主に用いられている¹⁾。アメリカ、中国などの諸外国では香辛料への放射線照射処理による殺菌が実施されている²⁾。

著者らは種々の食品及び生薬を電子スピン共鳴 (Electron Spin Resonance ; ESR) 法により計測してきた³⁾⁻⁶⁾。唐辛子の ESR 計測については照射唐辛子について多くの報告⁷⁾⁻¹¹⁾がある。加熱処理によるラジカルの変化については Zhang らが報告¹²⁾している。唐辛子は加熱や放射線照射の殺菌処理だけでなく、天日干しや通風による乾燥処理、粉末化など様々な加工処理が施されている。本研究では、ESR 法を用いて照射唐辛子の解析を行い、他の加工処理が施

Table 1 Specimens

試料名	形状	原産国	加工地	加工処理法
試料 A	種	日本	日本	天日干し
試料 B	皮	日本	日本	天日干し
試料 C	種	中国	日本	天日干し, 加熱殺菌
試料 D	皮	中国	日本	天日干し, 加熱殺菌
試料 E	粉	中国	日本	天日干し, 加熱殺菌
試料 F	粉	中国	日本	天日干し, 加熱殺菌

された市販唐辛子とのラジカルの変化について検討し、市販唐辛子の異なる試料形状を規格化して測定する分析方法の検討を行った。

2. 実験方法

2.1 試料

実験試料 (Table 1) は全て加工済みの市販品を購入して用いた。試料 A, B は埼玉県内の道の駅で購入した収穫後天日干しした唐辛子である。他の試料は北海道函館市内の小売店で購入した中国産の唐辛子を日本国内で加熱殺菌処理したものである。

原料は市販のものである。店頭販売で賞味期限内のものを購入した。2009年に購入したため2008年に収穫された唐辛子と推察される。試料は4℃の冷蔵庫内で2週間保管したものを計測に用いた。

2.2 照射処理

照射処理は試料 F (Table 1) を用いて独立行政法人日本原子力研究開発機構高崎量子応用研究所にてコバルト 60 を線源とする γ 線で処理した。照射量は1, 3 kGy とし、それぞれ試料 F (1 kGy), 試料 F (3 kGy) と表した。照射処理は室温にて行った。

2.3 試料調製

試料は試料管 (ラジカルリサーチ株式会社, RST-5MSTD) に詰め、ESR 測定に供した。

異なる形状の試料の規格化を行った。測定に使用する ESR 機器の測定保証範囲が 42 mm であるため、試料管の底から 30 mm まで試料を試料管に詰めた。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、全ての試料で約 100 mg であった。本研究で用いた唐辛子は市販品であるため、その水分量は食品成分表より約 1.7%¹³⁾ と推定した。

酸素脱気を行うと ESR スペクトルはより明確に確認できる⁶⁾。ESR 信号を確実に観測するため試料管内の脱酸素処理及びアルゴンガス置換を試料管に試料を詰めた直後に行い、試料管を封管した。各試料、10本の試料管を調製し、実験に供した。

2.4 ESR 測定

ESR 分光器は X-band の JES-FA100 (日本電子株式会社) を用いた。

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 width ; 250 mT, Frequency ; 9 429 ~ 9 434 MHz, Modulation frequency ; 100 kHz, Modulation width ; 1.0 mT, Time constant ; 0.03 s, Sweep time ; 4.0 min。マイクロ波強度は 0.1 ~ 100 mW まで変化させた。測定は室温にて行った。信号解析は WIN-RAD 解析ソフト (ラジカルリサーチ株式会社) を用いた。 g 値はマンガンマーカ (日本電子株式会社) を用い補正して求めた。

3. 実験結果

3.1 ESR 信号

Fig. 1 に唐辛子の種 (試料 C), 皮 (試料 D), 粉末 (試料 E) の ESR スペクトルを同一の計測感度で示した。全ての試料で g 値が約 2.00 に強く鋭い 1 本線 P_1 信号が観測された。皮よりも種の試料において P_1 信号強度は強く観測された。 P_1 信号の低磁場側の g 値が約 2.2 の位置にブロードな信号が確認できた。 g 値が約 4.0 に非常に微弱な信号を観測した。更に、

Fig. 2 に示すように P_1 信号の近傍に 6 本線を観測した。

本実験ではマンガンマーカにより g 値を補正した。マーカは内標準物質であり、マンガンイオン由来の 6 本線のうち低磁場側から 3 本目と 4 本目の信号の g 値を用いて Fig. 3 のように P_1 信号の g 値を詳細に求めた。併せて観測された他の信号の g 値も求めた。Table 2 に得られた信号の g 値を示した。

Fig. 4 に非照射の試料 F と 3 kGy 照射処理した試料 F (3 kGy) の ESR スペクトルを示した。放射線照射した食品を ESR で計測した場合、観測される P_1 信号は減衰することが知ら

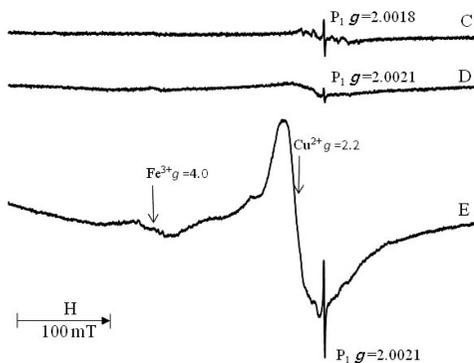


Fig. 1 ESR spectra of sample C (seed), sample D (skin) and sample E (powder) of red pepper. P_1 signal was appeared at $g=2.00$.

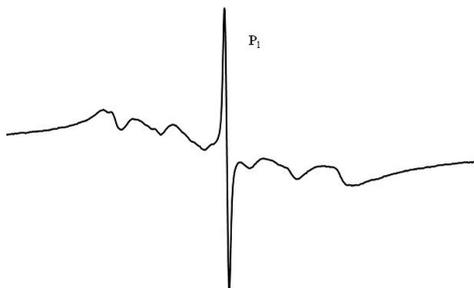


Fig. 2 ESR spectrum of P_1 signal and Mn^{2+} signals of sample C (seed).

れている。そこで、照射直後からの P_1 信号強度を計測した。その結果、照射直後から P_1 信号強度は急激に減衰し、2 日でほぼ一定となった。本実験では照射 10 日後の試料で計測を行っている。そのため、比較的安定なラジカルを計測した。

3・2 飽和挙動

ラジカル種の同定にはマイクロ波強度を変え ESR 計測し、信号強度の飽和現象を検討することが有用である^{3), 10)}。いずれの試料においてもマイクロ波強度が増すに従い P_1 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

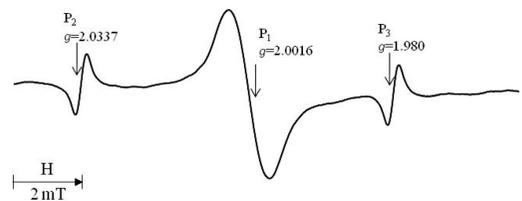


Fig. 3 ESR spectrum of sample C (seed). P_1 is singlet signal of organic free radicals of sample. P_2 is the 3rd signal and P_3 is the 4th signal of internal Mn marker of ESR machine. ESR measurement parameters: Center Field 337 mT; Sweep Width: 7 mT, Frequency; 9 429 ~ 9 434 MHz, Modulation frequency; 100 kHz, Modulation width; 2.0 mT, Time constant; 0.03 s, Sweep time; 2.0 min.

Table 2 g -values of samples

	P_1 signal	Fe^{3+}	Cu^{2+}
試料 A	2.0015 ± 0.0003	4.0	2.2
試料 B*	—	—	—
試料 C	2.0017 ± 0.0001	4.0	2.2
試料 D	2.0021 ± 0.0001	4.0	2.2
試料 E	2.0022 ± 0.0003	4.0	2.2
試料 F	2.0022 ± 0.0001	4.0	2.2

Values are shown as means \pm S.D. (n=10)

* Singlet signal at $g=2.00$, Fe^{3+} and Cu^{2+} signal were not detected.

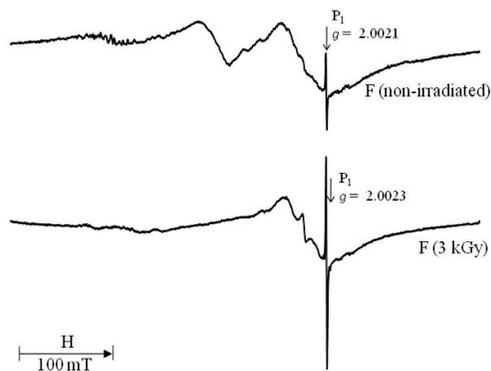


Fig. 4 ESR spectra of non irradiated sample F and irradiated sample F. P₁ signal was appeared at $g = 2.00$.

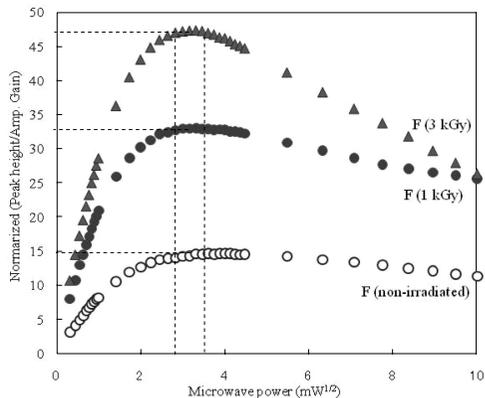


Fig. 6 Progressive saturation behaviors of P₁ signal of sample F.

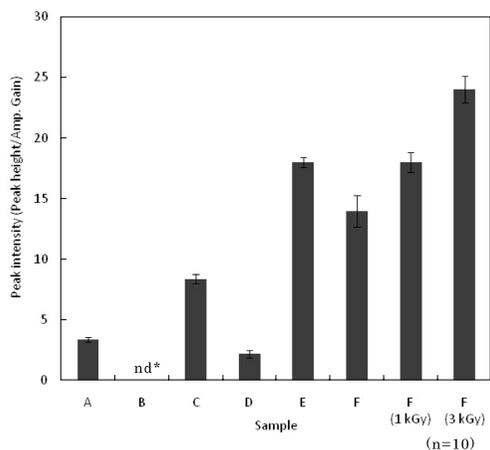


Fig. 5 Threshold values (P₁ peak intensity of red pepper). nd* means that singlet signal at $g = 2.00$ was not detected.

が減少する飽和挙動を示した。各試料の飽和挙動から求めたP₁信号強度の最高値をFig. 5に示した。粉末化処理が施されている試料Eは照射試料と同じく非常に大きな信号強度を示した。また、有機ラジカル由来のP₁信号は種で大きく、皮で小さいことが試料Aと試料B、試料Cと試料Dの信号強度の関係からも示された。Fig. 6に試料F（非照射）と照射を行った試料F（1 kGy）及び試料F（3 kGy）の飽

Table 3 Relaxation times (T₁ and T₂)

	T ₁ (μs)	T ₂ (ns)
試料 F	3	120
試料 F (1 kGy)	4	100
試料 F (3 kGy)	7	70

和挙動を示した。点線で示すように、非照射試料Fと比較して1 kGy、3 kGyと照射量が増すに従い観測されるP₁信号強度も増大し、飽和挙動に差異があることがわかった。

3.3 緩和時間

Table 3にLundらの解析ソフト¹⁴⁾を用いP₁信号の飽和挙動から算出した電子スピンの緩和時間(T₁, T₂)を示した。試料F（非照射）ではT₁が3 μs, T₂が120 nsであった。照射試料F（1 kGy）はT₁が4 μs, T₂が100 ns, 照射試料F（3 kGy）はT₁が7 μs, T₂が70 nsであった。

4. 考 察

4.1 照射による唐辛子の ESR スペクトルの変化

植物性食品を ESR で計測した場合、明瞭な信号が観測され、同定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、朝鮮人参³⁾、黒こしょう⁴⁾、小麦⁵⁾、アガリクス⁶⁾の ESR 信号計測において唐辛子で観測された P₁ 信号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。従来の食品や生薬で報告された 1 本線³⁾⁻⁶⁾と同じ g 値が約 2.00 であることからハイドロキノン類に由来すると考えられる。更に、唐辛子は油脂を含み、辛味成分としてカプサイシン、赤色色素としてカロチノイド色素などを含む。唐辛子のラジカルとしてはこれらが主要構成化学物質である。そこで、唐辛子で確認された P₁ 信号は、これらの物質由来のラジカルである可能性が考えられる。

植物性食品に照射した場合、 $g=2.00$ の 1 本線信号近傍にセルロース由来の新規信号の観測が報告されている³⁾。本実験においても照射唐辛子で P₁ 信号の左右に照射セルロースラジカル由来のツインピークが検出された。

4.2 唐辛子の遷移金属イオン ESR スペクトルの同定

唐辛子の ESR スペクトルで観測された g 値が約 2.2 のブロードな信号は銅イオンに由来する信号と考えられる。また、 g 値が約 4.0 の信号は鉄イオン由来の信号と推察した。Fig. 2 に示される信号は 6 本線であることからマンガンイオン由来と考えられた。天然物由来の食品は多種多様な成分により構成されているため、マンガンイオンの多くは構成物質に取り込まれた状態となる。そのため、純粋なマンガンイオンの粉末やマンガンイオンを取り込んだ単純な有機化合物とは異なり、多くの信号のピークツーピークは広がり、必ずしも hfc は等しくならな

い。そこで、1 本目と 6 本目の両端からピークツーピークの磁場範囲を求め、6 本線の hfc の平均として約 7.1 mT を算出した。食品成分表¹³⁾によると、唐辛子には鉄、銅、マンガンが含まれており、観測された信号はこれら含有成分に由来する信号であろう。

一般的に食品では加熱¹⁵⁾・切断・圧力などで容易にラジカルは生成する¹⁶⁾。そのため当然のことながら加熱条件によりラジカル生成は影響を受ける。更に、加工処理を行う器具(切断用のナイフ類であればその金属の種類)によるラジカル生成の可能性もあろう。本研究で用いた試料は市販品であり粉末化に用いられた器具の特定はできない。ESR の検出感度は非常に高いので、遷移金属イオン由来の ESR 信号計測による金属の同定は今後検討したい。

4.3 照射による緩和時間への影響

Lund らの解析ソフトを用いて、緩和時間(T₁, T₂)を算出した。著者らは食品中に含有する成分が異なると、算出される緩和時間が異なることを報告している¹⁷⁾。本実験では非照射試料に対して照射試料では T₁ は照射量が増すに従い増大し、T₂ は減少した。T₁, T₂ の計測は多種多様なラジカルが生成したことを示すことができた。

T₁ 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¹⁶⁾。照射により T₁ が増大したということは、放射線で化学結合が切断されてラジカルが生成した後、エネルギーが流れていく経路の一部が遮断されたためエネルギーの流れが遅くなったためと考えられる。

T₂ は不対電子のスピン間の相互作用を反映している¹⁸⁾。照射量に応じて T₂ が減少することは、照射により新たなラジカルが生成され、ラジカル間の距離が短くなり、相互作用が強くなったことを示していると考えられる。

著者らは照射マンゴーを ESR 測定し、Lund らの解析ソフトから算出した緩和時間を報告し

た¹⁹⁾。その結果、 T_1 はほぼ一定であったが、 T_2 は照射量の増加とともに変化した。このことから、唐辛子やマンゴーなどの食品に放射線照射した場合、線量の増加と共に緩和時間が変化することが示された。

4.4 照射及び加工処理による唐辛子へのラジカル生成への影響

Fig. 6 に示したように、 P_1 信号の信号強度はマイクロ波強度が増すに従い増大し、あるマイクロ波強度以降は信号強度が減少しており、必ずしも一定ではない。そこで、この ESR 信号の飽和挙動を計測した後に、飽和する時の P_1 信号強度 (閾値) を用いることにより ESR 信号強度を厳密に議論することができる。

P_1 信号強度は皮よりも種の方が大きくなった。一般に種には油脂が多いので、これは種に含有される油脂に由来すると考えた。加熱処理された市販唐辛子の P_1 信号強度は非加熱の市販唐辛子と比較して変化が少ないため、加熱処理は唐辛子のラジカル生成への関与が小さくないと考えた。一方、粉末化処理された市販唐辛子の P_1 信号強度は 14 ~ 18 であった。処理前の値は 0 ~ 8 であり、比較すると非常に大きな値となった。食品の粉末化は衝撃が大きく、酸素への暴露以外にも成分へ様々な影響が与えられる¹⁶⁾。そのため、唐辛子は粉末化処理の際に多量のラジカルが生成され、ESR により強い信号として観測されたと考えた。

放射線照射による信号強度の増大についてはこれまでも報告³⁾⁻⁶⁾がある。放射線照射試料は照射量が増すに従い放射線照射に誘導されて生成するラジカルが増えるので、結果として ESR 信号強度が増大する。照射処理試料の ESR 信号強度は粉末化処理された試料の ESR 信号強度とほぼ同じ値を示した。そのため、唐辛子は加熱処理によるラジカル生成よりも、粉末化及び照射処理によるラジカル生成への影響が大きいと結論した。

本実験により市販唐辛子について、異なる試

料形状を規格化して測定する手法を示すことができた。今後は加工処理法及び放射線吸収線量の違いなどによるラジカルの生成について検討したい。

5. 結 論

唐辛子の ESR スペクトルでは鋭い 1 本線が観測された。 g 値は約 2.0 であったことから有機フリーラジカルすなわちカーボンラジカル由来と考えた。植物由来の試料に放射線を kGy レベルの吸収線量で照射すれば、様々な有機ラジカルが生成し、安定なラジカル種だけが室温で観測される。観測される有機ラジカル由来の信号は吸収線量依存的に増大した。

緩和時間 (T_1 , T_2) は、非照射・照射と吸収線量で変化した。これは生成されるラジカル種が有機ラジカル、無機ラジカル、更にそれらのラジカル種を取り巻く環境 (結合や分子の状態) が異なるためと推測される。

更に、粉末化処理により g 値が約 2.0 の 1 本線の ESR 信号強度が増大するのは、これまでの報告例と同様に粉末化による酸素暴露化によるものと考えられる。

測定試料の試料管中の長さ・重量は乾燥した皮・種・粉末の 3 種類ではほぼ同じであり、乾燥試料は測定試料の規格化を容易にすることができた。そのため、本研究において試料管に充填された試料の量による変化は ESR 信号強度に反映されない。

試料は市販品であり加工処理は第三者が行っているため、特定の金属イオン由来のラジカル信号の観測については今後の課題とした。

文 献

- 1) 古田雅一, 香辛料の放射線殺菌の必要性 (香辛料照射のニーズ, 個別の健全性試験の必要性), 放射線と産業, 115, 12-19(2007)
- 2) 伊藤 均, 食品照射を巡る最新の状況, 放射線と産業, 121, 38-42(2009)
- 3) 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)
- 4) Ukai, M. and Shimoyama, Y., Free radicals in irradiated pepper: An electron spin resonance study, *Appl. Magn. Reson.*, **24**, 1-11 (2003)
 - 5) Shimoyama, Y. and Ukai, M., Free radicals in irradiated wheat flour detected by electron spin resonance spectroscopy, *Spectrochimica Acta*, **63**, 888-890 (2006)
 - 6) 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)
 - 7) Uchiyama, S., Kawamura, Y. and Saito, Y., Identification of γ -irradiated spices by electron spin resonance (ESR) spectrometry, *食品衛生学雑誌*, **31**, 499-507 (1990)
 - 8) Uchiyama, S., Sugiki, A., Kawamura, Y., Murayama, M. and Saito, Y., Radical unique to γ -irradiated allspice and cinnamon and its utility for detection of irradiated foods, *J. Food Hyg. Soc. Japan*, **34**, 128-135 (1993)
 - 9) Pilbrow, J. R., Troup, G. J., Hutton, D. R. and Hunter, C. R., ESR detection of free radicals in gamma-irradiated spices and other foodstuffs, *Special Publication-Royal Society of Chemistry*, **171**, 70-84 (1996)
 - 10) Korkmaz, M. and Plot, M., Radical kinetics and characterization of the free radicals in gamma irradiated red pepper, *Rad. Phys. Chem.*, **62**, 411-421 (2001)
 - 11) Bayram, G. and Delincee, H., Identification of irradiated Turkish foodstuffs combining various physical detection methods, *Food Control*, **15**, 81-91 (2004)
 - 12) Zhang, M., Ding, X., Gu, Z. and Li, C., Pigmental improvement of green vegetables by controlling free radicals during heat dehydration, *Peop. Rep. China Drying Technology*, **16**, 333-339 (1998)
 - 13) 食品標準成分表, 社団法人 全国調理師養成施設協会 (2001)
 - 14) Lund, A., Sagstuen, E., Sanderud, A. and Maruani, J., Relaxation time determination from continuous-wave microwave saturation of EPR spectra, *Rad. Res.*, **172**, 753-760 (2009)
 - 15) 鶴飼光子, 浜谷成樹, 加熱時における放射線照射黒胡椒中有機フリーラジカル増加の電子スピン共鳴法による解析, *RADIOISOTOPES*, **52**, 374-377 (2003)
 - 16) 石津和彦, 実用 ESR 入門, pp.264-302, 講談社サイエンティフィック, 東京 (1981)
 - 17) 鶴飼光子, 亀谷宏美, 乳児用成型ミルクの ESR による分析, *食品科学工学会誌*, **57**(6), 257-262 (2010)
 - 18) Alger, R. S., *Electron Paramagnetic Resonance: Technique and Applications*, p.508, John Wiley and Sons, New York (1968)
 - 19) 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, 照射マンガール中に誘導されるラジカルの緩和挙動と線量依存性, *RADIOISOTOPES*, **59**, 607-614 (2010)

Abstract**ESR Analysis of Irradiated Red Peppers
and Commercial Red Peppers in Japan**

Hiromi KAMEYA and Mitsuko UKAI*

National Agriculture and Food Research Organization
2-1-12 Kannondai, Tsukuba-shi, Ibaraki Pref. 305-8642, Japan*Hokkaido University of Education
1-2 Hachiman-cho, Hakodate-shi, Hokkaido 040-8567, Japan

ESR analysis of γ -ray irradiated and being treated with different processing red pepper was studied. All the red peppers were commercial expect irradiated one. Processing treatment of red pepper was sun drying, mechanical processing (heating sterilization and powdering treatment). All the samples were weighted and analyzed. The ESR spectrum of the red pepper is composed of a singlet at $g=2.00$. This signal was originated from organic free radical. It is suggested the effect of heating treatment on the radical formation is not so large and powdering treatment will promote the radical formation of red pepper. ESR singlet signal of the irradiated red pepper showed the large signal intensity and the dose-dependence. The singlet signal intensity of irradiated powder sample showed the almost same value as compared with that of the powder sample with heating treatment. Relaxation times (T_1 and T_2) of the singlet signal were calculated. The relaxation behavior and relaxation times of the irradiated sample were different from that of the non-irradiated sample. The value of T_1 , the spin lattice relaxation time, of irradiated sample was increased and T_2 , the spin-spin relaxation time, of irradiated sample was decreased. We concluded that the radical formation of the red pepper is mainly depended on the powdering treatment and irradiation.

(Received May 25, 2010)