[報文]

照射穀類粉に誘導されるラジカルの ESR による解析

川村翔栄¹⁾, 岸田敬吾¹⁾, 菊地正博²⁾, 小林泰彦²⁾, 鵜飼光子^{1)*}

¹⁾ 北海道教育大学 (〒 040-856 北海道函館市八幡町 1-2)

²⁾ (独) 日本原子力研究開発機構 (〒 370-1292 群馬県高崎市綿貫町 1233)

Analysis of Radicals Induced in Irradiated Cereal Flour Using ESR

Kawamura Shoei¹⁾, Kishita Keigo¹⁾, Kikuchi Masahiro²⁾,

Kobayashi Yasuhiko²⁾ and Ukai Mitsuko^{1)*}

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

²⁾ Japan Atomic Energy Agency, 1223 Watanuki-machi, Takasaki-shi, Gunma 370-1292 Japan

Summary

Using electron spin resonance (ESR) spectroscopy, we revealed radicals induced in cereal flour irradiated with gamma-ray or electron beam. Sample was wheat and rice. We detected a broad singlet signal at $g = 2.0$. It consists of a singlet signal and a triplet signal. It suggested that the singlet signal is originated from organic free radicals and the triplet signal is from ^{14}N . There were no differences of ESR spectra between irradiated wheat flour and rice flour. The signal intensity of radiation induced radical was tend to increase following with the increase of radiation dose level. After radiation treatment, relaxation time of radiation induced radical was changed during storage. T_1 was decreased and T_2 was increased. In this study, the relaxation time is calculated using the parameters obtained from the ESR signal. It is necessary to analyze the relaxation time directly with pulsed ESR spectroscopy in future.

Key words: gamma-ray, electron beam, cereal flour, Electron Spin Resonance Spectroscopy, radical

キーワード: ガンマ線, 電子線, 穀類粉, 電子スピン共鳴分光法, ラジカル

はじめに

放射線照射食品の電子スピン共鳴 (Electron Spin Resonance : ESR) 分光法による検知法は骨¹⁾, セルロース²⁾, 糖結晶³⁾を主成分とする食品について報告されている。

我々はセルロースを含む香辛料や朝鮮人参等を試料としてガンマ線照射処理で誘導される炭素由来のラジカルが, 安定な ESR 信号として観測でき, 放射線吸収線量に依存性を有することが報告した⁴⁾。

また, 照射処理後の照射誘導ラジカルの挙動を詳細に検討すると, 照射処理後 3 時間程度でほとんどが減衰し, その後は穏やかな減衰を示したことから, 照射処理後の ESR 法による検知は有用であると考えた⁵⁾。照射処理方法をガンマ線照射処理や電子線照射処理で比較したが, 線種による ESR 信号挙動に対する影響の差異はなかった⁶⁾。

本研究では炭素だけではなく窒素も含有している食品である穀類粉を試料として用いて, ガンマ線照射処理による照射誘導ラジカルの ESR 信号を解析し, ラジカルの挙動を検討することを目的とした。既に, ガンマ線照射小麦粉の ESR 信号の観測に成

*連絡先: ukai.mitsuko@h.hokkyodai.ac.jp

功しており、 ^{14}N 由来の特徴的な triplet 信号を確認している⁷⁾。

ESRを用いた検知法では骨、セルロース、糖結晶を含有する照射食品に限られており、窒素を含有している照射食品の ESR 検知法についての記載はない。しかし、穀類への照射処理は今後日本での導入が予想されるので、照射穀類粉の検知法として ESR 法が導入できるか否か検討することは有用であると考えた。穀類粉として窒素含有量が多い強力粉を試料とした。また、比較として薄力粉や米粉について検討し、含有する窒素量の差異が ESR 信号に与える影響を検討した。ESR 法が限られた食品試料の検知に用いられるのではなく、穀類の検知法としても導入できることを示すことは有用と考えた。

穀類の照射処理では、製粉前の穀粒への照射処理が一般的であり、電子線照射が用いられると報告されている⁸⁾。そこで、照射処理に用いる線種の違いによる照射誘導ラジカルの差異を検討するため、ガンマ線照射試料と電子線照射試料を用いた。

観測した ESR 信号の保存中の減衰挙動についても詳細な検討を実施し、照射処理後の保存期間中の変化を検討し、ESR 検知法の導入が可能であるか否かについて検討した。

穀類の照射においては従来、貯穀害虫を対象とした研究がある⁹⁾。しかし、穀類のラジカル挙動についての報告はわずかである⁷⁾。そこで、本研究では照射処理した穀類粉の方に注目して詳細に検討した。殺虫が目的の穀類の照射処理は用いられる線量は 1 kGy 以下である¹⁰⁾。そこで、この実用線量を用いた検討が有用であるが、本研究では穀類の照射処理の影響を的確に把握するため、実用線量より高い実験的な線量である 25 kGy 及び 50 kGy を用いた。本研究で得られた成果をもとにして、次は実用的な低線量処理での照射誘導ラジカルの検討につなげていく計画である。

実験方法

1. 実験試料

試料は、市販の小麦粉（強力粉、薄力粉）及び米粉（上新粉）である。2012 年 8 月に函館市内の小売店で購入した。強力粉は CGC 株式会社の「パン名人 強力粉」、薄力粉は日清製粉株式会社の「日清

フラワー 薄力粉」、上新粉は小澤製粉販売株式会社の「上新粉」をそれぞれ試料として使用した。日本では食品衛生法によりパレイショのみがガンマ線照射処理されて流通している。そこで、試料とした小麦粉及び米粉はいずれも放射線照射処理されていないことが明らかな試料である。

2. 照射処理

試料の放射線照射処理は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 によるガンマ線及び加速器から得られる電子線を用いて照射処理した。吸収線量は、ガンマ線は 25, 50 kGy、電子線は 50 kGy である。

電子線照射においては、CTA フィルムを用いて、その着色の具合から 2 MeV, 1 mA で 1 Pass (1 往復) 当たり 1 kGy であることから、吸収線量を 50 kGy とするため、50 Pass 必要である。しかし、試料は粉であり、厚みがないことから、2 MeV, 2 mA と設定することにより、2 kGy (1 Pass) と設定し、25 Pass で 50 kGy となるように条件設定をした。

照射処理後、迅速に試料調製を行った。

3. 試料調製

CW-ESR においては、ESR 試料管に 10 mm の高さになるように詰めて ESR 測定に供した。試料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。測定に使用する ESR 機器の測定保証範囲が 42 mm であることから、試料が測定範囲内にセットされるようにスケールを用いて合わせた。

4. ESR 測定

CW-ESR 分光器は RE-3X (日本電子株式会社製) を用い、X バンド (9.4 GHz 帯) のマイクロ波で、室温測定した (25 ± 1°C)。磁場強度を実測するため、NMR Field Meter ES-FC5 (日本電子株式会社製) を用い、マイクロ波周波数は Microwave Counter TR 5212 (ADVANTEST 製) で正確に求めた。ESR 測定は起動後、1 時間以上経過し、磁場を安定化させた状態で測定を行った。

ESR の測定条件は中心磁場; 336 mT, 掃引磁場幅; ± 7.5 mT, 磁場変調周波数; 100 kHz, 磁場変調; 1.0 mT, 時定数; 0.03 s, 掃引時間; 2 min. で行った。

ESR 信号強度は、スペクトルのピーク間の高さとした。マイクロ波強度は 0.1 ~ 100 mW まで変化させて測定し、信号強度の緩和挙動を詳細に調べ、信号強度が飽和する閾値を求めた⁴⁾。

実験結果および考察

1. ESR 信号

Fig. 1 に磁場 336 ± 7.5 mT で CW-ESR を用いて測定を行った強力粉、薄力粉、上新粉の照射処理後 30 分及び 7 時間後の ESR 信号を示した。照射処理前には全く信号が観測できなかったが照射処理により明瞭な信号観測ができた。照射試料ではいずれも、 g 値が約 2.0 の付近に幅広で複雑な singlet 信号の観測ができた。小麦を粉砕し 200 mesh で篩別した粉に 50 kGy でガンマ線照射処理した場合に有機フリーラジカル由来の singlet 信号に ^{14}N 由来の triplet 信号が重なって観測されている⁷⁾。このことから、

Fig. 1 ESR spectra of wheat flour and rice flour analyzed after 30 min and 7 hours from treatment of gamma-ray irradiation at 50 kGy.

Fig. 1 (a)~(f) のそれぞれの ESR 信号に共通して、 $g = 2.0$ の位置に有機フリーラジカル由来の singlet 信号に重なって、 ^{14}N 由来の triplet 信号が観測されたと考えられる。

強力粉及び薄力粉では、Fig. 1 に示したように時間経過とともに信号が変化した。しかし、上新粉は ESR 信号の形がほとんど変化しなかった。

試料のタンパク質含量は、強力粉 11.7 g (可食部 100 g 中)、薄力粉 8.0 g (可食部 100 g 中)、上新粉 6.2 g (可食部 100 g 中) である¹¹⁾。このことから、小麦粉と米粉の ESR 信号の差異はタンパク質含量が異なることに起因すると考えた。小麦粉は米粉と比較して、タンパク質含量が多いので、観測された信号がより複雑になっていることが示唆される。上新粉の信号強度が小麦粉と比較して、より大きくなった。炭水化物含量は、強力粉 71.6 g (可食部 100 g 中)、薄力粉 75.9 g (可食部 100 g 中)、上新粉 78.5 g (可食部 100 g 中) である¹¹⁾。このことから、上新粉の信号強度が大きくなることは、炭水化物含量が小麦粉に比べて多いことが要因であると推察した。

穀類粉の ESR 信号強度は、結晶成分に由来していること¹²⁾ が考えられる。ESR の感度は非常に高く、試料中の結晶構造を ESR スペクトルで観測できる¹²⁾。

米のタンパク質にはグルテリン、プロラミンが含まれる。小麦粉のタンパク質には溶媒可溶性や構造等に違いがある。そこで含有成分より、組織内部のラジカルの反応性に差があることも予想される。

今後は、上新粉に薄力粉等の小麦粉を添加したサンプル、または上新粉に小麦グルテンやアミノ酸などを添加したサンプルで ESR 計測し、スペクトルの変化を詳細に調べる必要がある。

Fig. 2 及び Fig. 3 には、照射処理後における強力粉 (25, 50 kGy) の ESR 信号を示した。Fig. 2 は照射処理後 30 分、Fig. 3 は照射処理後 7 時間である。観測された信号は吸収線量の増加に伴い、Fig. 2 及び Fig. 3 に示すように信号強度が増加した。これは、照射誘導ラジカルであることを示している。

吸収線量が 25 kGy、50 kGy と変化しても、ESR 信号の本質的な差異は見られなかった。Fig. 3 に示すように、照射処理してから 7 時間後においても、ESR 信号に本質的な差異は見られなかった。

Fig. 2 ESR spectra of hard wheat flour after 30 min from gamma-ray radiation at 25 and 50 kGy.

Fig. 3 ESR spectra of hard wheat flour after 7 hours from gamma-ray irradiation 25 and 50 kGy.

ESR 計測においてマイクロ波強度を変えると、香辛料のように多種多様な成分を含有する複雑な系の試料では信号強度が変化し、特定の閾値を与える。ESR 信号強度を正確に得るために、マイクロ波強度を変えて計測し ESR 信号強度の緩和挙動 (Progressive Saturation Behavior: PSB) を検討する必要がある⁴⁾。

ESR 信号強度を正確に得るには、閾値を与えるマイクロ波強度で計測することが有用である。また、PSB はラジカル種の違いにより、変化する。

試料の ESR 計測において、マイクロ波強度を 0.1 ~ 100 mW まで変化させて測定し、ESR 信号強度をマイクロ波強度に対してプロットした PSB⁴⁾ を Fig. 4 に示した。閾値を示すマイクロ波強度を Table 1 に示した。いずれの試料でも 6 ~ 14 mW であった。また、照射処理後からの保存中の時間経過に伴い、閾値が変動することはなかった。以上のことから、照射誘導ラジカルは同じ種類のラジカル種であると推察された。試料毎に閾値に顕著な差異は

Fig. 4 PSB of wheat flour and rice flour after gamma-ray radiation 50 kGy.

見られなかった。ESR 信号挙動の変化 (Fig. 1) は必ずしも異なるラジカル種によるものではないと考えた。

2. 減衰挙動

Fig. 5 に吸収線量 50 kGy 試料の照射処理後の保存時間約 30 分から 7 時間での ESR 信号強度の変化を示した。ESR 信号は感度 (Amp. Gain) と試料重量で補正して示した。

いずれの試料においても時間経過に伴い、信号強度が減衰することが分かった。照射処理後約 3 時間までは信号強度が急激に減衰した。それ以降は緩や

Table 1 Microwave power of the ESR measurement at each storage time after radiation with gamma-ray at 50 kGy. At this microwave power the strongest peak intensity (threshold value) was detected.

	Microwave power / mW		
	hard wheat flour	soft wheat flour	rice flour
20 min.	8	8	12
1 h	10	8	12
2 h	10	7	14
3 h	9	9	12
4 h	10	9	14
5 h	8	7	12
6 h	8	7	12
7 h	9	6	12

Fig. 5 Decay process of an ESR signal intensity during storage.

かな減衰であった。吸収線量 25 kGy の試料も同じような減衰挙動を示した。

上新粉では信号強度の変化が最も明瞭であった。他の試料も減衰挙動には本質的な差異は見られな

かった。

3. 線種の違いによる比較検討

Fig. 6 に照射処理から 2 時間後の強力粉の ESR 信

Fig. 6 ESR spectra of hard wheat flour after 2 hours from gamma-ray and electron beam radiation.

号を示した。ガンマ線照射試料と電子線照射試料のESR信号には本質的な差異は見られなかった。

4. 緩和時間

ラジカルの減衰過程を詳細に検討するために、緩和時間を求めた。緩和時間はスピン格子緩和時間である T_1 及びスピン-スピン格子緩和時間である T_2 が存在する。 T_1 は励起されたスピンのエネルギーが他の格子系に流れ、スピンのエネルギー準位が元に戻る時間であり、 T_2 は2つの異なるスピンの間にエネルギーの授受を行いそれらが入れ替わる時間を示している。これらの緩和時間は、物質によって異なることが知られている¹³⁾。

緩和時間は、CW-ESRを用いて、ESR信号の飽和挙動と線幅から求められるLundらの方法で間接的に算出した¹⁴⁾。

Fig. 7に保存中の時間経過におけるCW-ESRにより緩和時間を測定した結果を示した。試料は吸収線量50 kGyのものである。これらの結果からいずれの試料においても照射処理からの時間経過に伴って緩和時間が変化していることが分かった。

Fig. 8には吸収線量25 kGyの結果を示した。50 kGyの試料と同様に、照射処理から時間経過に伴って緩和時間が変化した。吸収線量の違いによる緩和時間の顕著な差異はなかった。

緩和時間の時間経過に伴う変化はいずれの試料及び吸収線量においても、 T_1 は減少し、 T_2 は増加していく傾向にあった。 T_2 の増加は、照射処理からの時間経過によって照射誘導ラジカルの減衰が起これ、ラジカル間の距離が大きくなるため相互作用にかかる時間がかかると考えられた。 T_1 の減少は、スピンのエネルギー準位が元に戻る時間が少なく

Fig. 7 Relaxation time after gamma-ray radiation at 50 kGy.

なることを示している。 T_1 が変化していることは、時間経過に伴って、異なる照射誘導ラジカルが生じている可能性を示唆している。

緩和時間の測定はLund法ではシャープなsinglet信号が緩和挙動をとり、閾値を与える信号強度を示すということが前提となる。そこで、小麦粉や上新粉のような固体試料では、観測されるESR信号が幅広で複雑になり、Lund法に用いるパラメータが変動しやすいことが問題になる。しかし、本研究により照射穀類粉でも緩和時間の算出が可能であることが示された。今後はpulsed ESRで測定するこ

Fig. 8 Relaxation time after gamma-ray radiation at 25 kGy.

とにより、緩和時間を厳密に求め、Lund 法による算出値を検証することが必要になる。これにより、電子スピンの挙動が新たに解明され、このことが ESR を用いた照射検知の精度向上に寄与できると考えている。

まとめ

ガンマ線及び電子線を照射した小麦粉（強力粉、薄力粉）及び米粉を用いて、CW-ESR 測定を行った。放射線照射誘導ラジカル由来の信号についての信号強度の解析及び緩和時間の検討を行った。また、照射処理に用いる線種や穀類の種類の違いによる ESR 信号の差異を比較検討した。

照射穀類粉の ESR 信号は g 値が約 2.0 の位置に観測され、非常に複雑な singlet 信号であった。有機フリーラジカル由来の singlet 信号に ^{14}N 由来の triplet 信号が重なっていると考えられた。この singlet 信号の強度は吸収線量に依存して増大した。そこで、照射誘導ラジカルであり、検知法に適用できると考えた。

照射処理後の時間経過とともに、いずれの試料においてもこの信号強度は減衰することが確認された。しかし、7 時間後にはほぼ一定になった。そこで、この singlet 信号は検知に有用であることが示された。

照射処理に用いる線種（ガンマ線、電子線）によって照射試料で観測された ESR スペクトラムには本質的な差異がないことを確認した。

穀類粉の種類により ESR 信号が異なった。これは含有するタンパク質や炭水化物等の成分含有量の違いや結晶成分等に起因すると考えた。

照射試料は照射処理後の保存時間の経過に伴い緩和時間 (T_1) は減少、緩和時間 (T_2) は増加することが分かった。そこで、照射穀類粉の検知においては singlet 信号の計測のみならず、信号強度や緩和時間等を計測することで、より厳密に検知できると結論した。

要 旨

ESR を用いて、ガンマ線及び電子線を照射した穀類粉を計測し、照射誘導ラジカルについて明らかにした。試料穀類は小麦と米である。 $g = 2.0$ の位置に幅広の singlet 信号を観測した。この信号は singlet 信号と triplet 信号からなり、singlet 信号は有機フリーラジカル由来の信号、triplet 信号は ^{14}N 由来の信号であると推察された。ガンマ線または電子線照射処理された小麦や米の穀類粉の ESR スペクトルには違いはなかった。照射により誘導された信号の強度は照射処理量の増加に伴い増加する傾向を示した。緩和時間は照射処理後、時間経過に伴い変化し、 T_1 は減少し、 T_2 は増加した。本研究では緩和時間は ESR 信号から得られるパラメータを用いて算出したが、今後は、pulsed ESR で直接分析することが必要である。

参考文献

- 1) EN 1786, 1997. Detection of Irradiated Food Containing Bone: Analysis by Electron Paramagnetic Resonance. European Committee for Standardization, Brussels.
- 2) EN 1787, 2000. Determination of Irradiated Food Containing Cellulose: Analysis by EPR. European Committee for Standardization, Brussels.

- 3) EN 13708, 2001. Detection of Irradiated Food Containing Crystalline Sugar: Analysis by EPR. European Committee for Standardization, Brussels.
- 4) 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**, p.437-441 (2007).
- 5) 岸田敬吾 ほか. 照射処理により食品に誘導されるラジカルの解析. *食品照射*. **47**, p.1-5 (2012).
- 6) 貝森良彦 ほか. ガンマ線や電子線照射により食品中に誘導されるラジカルの保存中の減衰. *アイソトープ・放射線研究発表会要旨集*. **49**, p. 13 (2012).
- 7) Shimoyama, Yuhei et al. ESR detection of wheat flour before and after irradiation. *Spectrochimica Acta*. **63**, p.888-890 (2006).
- 8) 世界保健機関. 照射食品の安全性と栄養適正. 東京, コープ出版. p. 57 (1996).
- 9) 鶴飼光子 ほか. 照射害虫のESR信号, *RADIO-ISOTOPES*. **58**, p.799-806 (2009).
- 10) 世界保健機関. 照射食品の安全性と栄養適正. 東京, コープ出版. p. 62 (1996).
- 11) 文部科学省科学技術・学術審議会資源調査分科会報告. 五訂増補カラーチャート食品標準成分表. 東京, 教育図書株式会社. p.60, p.68 (2006).
- 12) 山内淳. 磁気共鳴-ESR電子スピンの分光学. 東京, サイエンス社. p. 201 (2009).
- 13) Kikuchi, Masahiro. et al. ESR detection procedure of irradiated papaya containing high water content. *Radiat. Phys. Chem.*. **80**, p.664-667 (2011).
- 14) Lund, A. et al. Relaxation-time determination from continuous-microwave saturation of EPR spectra. *Radiat. Res.*. **172**, p.753-760 (2009).

(2013年7月1日受理)