報 文

放射線照射した甲殻類（エビおよびカニ）の検知への
電子スピン共鳴分光法の適用

(平成26年5月13日受理)

亀谷 宏美^{1,*} 高 附 巧² 松田りえ子² 堤 智 昭² 等々力節子¹Application of Electron Spin Resonance Spectroscopy for the Detection of Irradiated Crustaceans
(Prawn, Shrimp, and Crabs)Hiromi KAMEYA^{1,*}, Satoshi TAKATSUKI², Rieko MATSUDA², Tomoaki TSUTSUMI² and Setsuko TODORIKI¹¹ NARO, National Food Research Institute;
2-1-12 Kannondai, Tsukuba-shi, Ibaraki 305-8642, Japan;² National Institute of Health Sciences;
1-18-1 Kamiyoga, Setagaya-ku, Tokyo 158-8501, Japan;

* Corresponding author

Prawn, shrimp and crabs sold in Japan are mostly imported from overseas. Detection of irradiated crustaceans is very important for quality assurance. In this study, we used ESR to detect radiation-induced radicals after irradiation of prawn, shrimp and crabs of major species. No radiation-induced radicals were detected in prawn (black tiger prawn) or shrimp (white leg shrimp). Radiation-induced radicals due to hydroxyapatite were detected in the claws of snow crab, red king crab, and swimming crab. Our results indicate that ESR measurement on the claw parts of these three species of crab can be used to determine their irradiation history.

(Received May 13, 2014)

Key words: 電子スピン共鳴分光法 electron spin resonance spectroscopy; 照射食品 irradiated food; エビ prawn, shrimp; カニ crab

緒 言

「食品照射」は、食品や食品原材料に放射線を照射して、生物学的な作用を利用した殺菌、殺虫および発芽抑制による食品の衛生化や保存期間の延長を行う技術である。放射線を照射された食品を「照射食品」という。現在、世界の食品照射許可国は60か国に上り、230以上の品目が許可されている¹⁾。さらに、2005年の世界における食品照射処理量の総量は40万5千トンであり、経済規模は1兆6,100億円と報告されている¹⁾。

甲殻類のエビ、カニは食材として一般家庭での消費に加えて、加工・調製品としての需要も大きい。日本は世界でも有数のエビ、カニ消費国であり、市場流通量の約9割を国外から輸入している²⁾。エビの輸入の大部分は冷凍のシュリンプ・ブローンで、2005年はエビ類輸入総量の96.2%を占めている²⁾。その多くはASEAN諸国からのプ

ラックタイガーであるが、近年は中国からバナメイエビの輸入量が急増している²⁾。カニは主要対日輸出国であるロシア、カナダ、米国、中国から主にズワイガニ、タラバガニ、ワタリガニが輸入され、2005年はこれら3種でカニ類輸入総量の89.8%を占めた²⁾。

国外ではエビなど冷凍魚介類への照射が認可されている国もある³⁾。しかし日本では食品衛生法11条に基づき、馬鈴薯の発芽抑制を目的とした場合を除き、食品への放射線照射は認められていない。輸入されたエビやカニを検査するためには、検知法が必要となる。

照射食品の検知法の1つに電子スピン共鳴 (Electron Spin Resonance; ESR) 分光法がある。欧州標準化委員会 (CEN) は、これまで骨 (ヒドロキシアパタイト)、糖、セルロースに由来するラジカルを指標としたESRによる検知法を標準化した。この検討過程で行われた研究プロジェクトにおいて、肉と魚の骨のESRによる判定結果には高い再現性が確認されたため、CEN標準分析法 (EN1786) の適用対象とされた⁴⁾。エビやカニについても検討がなされたが、種や生息地域によって検知可能なものと不可能なものがあると報告^{5)~9)}されたため、EN1786

* 連絡先: hkameya@affrc.go.jp

¹ (独) 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2-1-12² 国立医薬品食品衛生研究所: 〒158-8501 東京都世田谷区上用賀1-18-1

Table 1. Samples, relative intensities of main peaks, g -values, and the results of evaluation

Sample	Sample number	Origin	Region	Irradiation dose	Relative intensities of main peaks	g -Value			Evaluation ^a
						$g1$	$g2$	$g3$	
Black tiger prawn (<i>Penaeus monodon</i>)	BS-01	Indonesia	Abdominal appendages	Non-irradiation	1.6	2.0050	—	—	×
				1 kGy	1.8	2.0049	—	—	×
			Tail fan	Non-irradiation	3.2	2.0048	—	—	×
				1 kGy	3.9	2.0050	—	—	×
White leg shrimp (<i>Penaeus vannamei</i>)	WS-01	China	Abdominal appendages	Non-irradiation	1.5	2.0048	—	—	×
				1 kGy	2.2	2.0051	—	—	×
			Tail fan	Non-irradiation	4.7	2.0048	—	—	×
				1 kGy	4.2	2.0048	—	—	×
Snow crab (<i>Chionoecetes opilio</i>)	SC-01	Russia	Claw	Non-irradiation	0.5	—	—	—	×
				1 kGy	6.3	2.0007	1.9973	2.0031	○
			Leg	Non-irradiation	1.5	2.0048	—	—	×
				1 kGy	2.6	2.0040	—	—	×
	SC-02	Russia	Claw	Non-irradiation	0.6	—	—	—	×
				1 kGy	21.9	2.0006	1.9971	2.0030	○
	SC-03	United States		Non-irradiation	0.4	—	—	—	×
				1 kGy	21.9	2.0006	1.9973	2.0031	○
	SC-04	Russia		Non-irradiation	0.5	—	—	—	×
				1 kGy	33.0	2.0006	1.9971	2.0031	○
	SC-05	Russia		Non-irradiation	0.6	—	—	—	×
				1 kGy	11.2	2.0006	1.9970	2.0032	○
Red king crab (<i>Paralithodes camtschaticus</i>)	RC-01	United States	Claw	Non-irradiation	0.4	—	—	—	×
				1 kGy	24.5	2.0007	1.9972	2.0031	○
			Leg	Non-irradiation	1.0	2.0049	—	—	×
				1 kGy	2.1	2.0041	2.0006	—	×
	RC-02	Russia	Claw	Non-irradiation	0.4	—	—	—	×
				1 kGy	12.3	2.0006	1.9973	2.0032	○
	RC-03	Russia		Non-irradiation	0.5	—	—	—	×
				1 kGy	17.8	2.0006	1.9973	2.0033	○
	RC-04	Russia		Non-irradiation	0.4	—	—	—	×
				1 kGy	8.2	2.0006	1.9971	2.0031	○
	RC-05	United States		Non-irradiation	0.5	—	—	—	×
				1 kGy	21.3	2.0007	1.9972	2.0031	○
Swimming crab (<i>Portunus trituberculatus</i>)	BC-01	China	Claw	Non-irradiation	0.4	—	—	—	×
				1 kGy	7.1	2.0006	1.9972	2.0033	○
			Leg	Non-irradiation	1.4	2.0046	—	—	×
				1 kGy	1.4	2.0043	—	—	×
	BC-02	Bahrain	Claw	Non-irradiation	ND ^b	—	—	—	×
				1 kGy	ND	2.0006	1.9973	2.0033	△
	BC-03	China		Non-irradiation	0.8	—	—	—	×
				1 kGy	6.0	2.0010	1.9972	2.0032	○
	BC-04	Russia		Non-irradiation	0.8	—	—	—	×
				1 kGy	6.4	2.0007	1.9972	2.0033	○
	BC-05	Russia		Non-irradiation	ND	—	—	—	×
				1 kGy	ND	2.0008	1.9973	2.0032	△

^a Evaluation categorized as follows: ○: Relative peak intensity (main peak intensity/M3 peak intensity $\times$ conversion value for alanine-absorbed dose (Gy)/30 Gy) >1 and g -values are within the defined ranges. △: It is impossible to calculate the relative peak intensity. g -Values are within the defined ranges. ×: g -Values are not within the defined ranges. ^b ND: not determined (M3 peak height could not be assigned).

の適用対象には含まれなかった⁴⁾。日本でも平成24年に、熱ルミネッセンス法やアルキルシクロブタン法が適用できない食品への検査拡大を目指して、貝殻および結晶性の糖を含む食品を対象としたESR法が通知された^{*1}。エビ

やカニについて、CEN標準分析法の検討過程ではヨーロッパを中心とした先行研究^{5)~9)}が考慮された。しかし、これまでわが国に輸入される品種や海域のエビとカニを対象にした検討は行われていない。そこで、本研究では日本国内に流通する輸入品の約9割を占める品種²⁾のエビとカニを対象を絞り、ESR法による照射誘導ラジカルの検出と同定、照射判定の可能性を検討した。

*1 放射線照射された食品の検知法、平成19年7月6日付け食安発第0706001号（最終改正：平成24年9月10日付け食安発0910第2号）

実験方法

1. 試料および試薬

エビはブラックタイガー (*Penaeus monodon*) とバナメイエビ (*Penaeus vannamei*)、カニはズワイガニ (*Chionoecetes opilio*)、タラバガニ (*Paralithodes camtschaticus*)、ワタリガニ (*Portunus trituberculatus*) を試料とした (Table 1)。試料は購入後、(株)コーガアイソトープにてコバルト 60 を線源とするガンマ線で冷凍状態のまま 1 kGy の照射処理を行った。冷凍庫 (−20℃) で暗所にて保管した試料は、照射 10 日後に試料調製した。照射誘導ラジカルを同定するための比較試料として用いたキチン、キトサン、ヒドロキシアパタイトは和光純薬工業(株)より購入した。

2. 装置

試料調製のための粉碎器は Retsch GmbH (ドイツ) 社製のミルサーミル MM301 を、真空乾燥機はアズワン(株)製の AVO-310NS-D を、真空ポンプはアルバック機工(株)製の G-50DA を用いた。また ESR 試料管はラジカルリサーチ(株)製の RST-SH5TD を、ESR 分光器はブルカーバイオスピン(株)製の EMX-Plus (X-band) を用いた。

3. 試料調製

測定試料として、エビは腹節の殻と尾扇を、カニは脚と蟹の部分の殻を用いた。殻から肉および組織をナイフ・ピンセットで可能な限り除去し、水洗い後、水分を除いた。ESR 測定試料はメッシュぞろえすることで異方性の影響を受けずに信号が大きく、明瞭に観測できる^{(10),(11)}。そのため、本研究でも粉碎器を用いて粉末に調製した。その後、1 kPa 以下の真空下で 40℃ で 3 時間乾燥させた。試料は重量を測定し、それぞれ約 100 mg を ESR 試料管に詰めて ESR 測定に供した。試料管に詰める際には試料の充填を十分に行うため、試料管の底を軽く数回たたきながら、測定に使用する ESR 機器の測定保証範囲 (42 mm) 内である 10 mm 程度の高さまで詰めた。

4. ESR

4.1 作動条件の確認

ESR 装置の感度を確認するために、30 Gy を照射したアラニン素子と同等の信号強度を得られるマンガンピーク (低磁場側から 3 本目) を測定し、その信号強度の S/N 比が 5 以上であることを確認した。アラニン素子の測定条件は、中心磁場 3,480 G、掃引幅 150 G、変調強度 4 G、変調周波数 100 kHz、マイクロ波パワー 1 mW、データポイント数 512、時定数 10.24 msec、ゲイン 1×10^3 、掃引時間 5.2 sec、積算回数 24 回とした。 S/N 比の算出については、シグナル (S) は照射されたアラニン素子の信号強度に相当するマンガンピーク (3 本目) の最大と最小の強度差とし、ノイズ (N) はシグナル (S) から低磁場側に 3 mT 離れた値を中心に 0.3 mT の範囲を対象とし、その最大と最小の強度差とした。

4.2 試料の測定条件

調製試料および比較試料の測定条件は、中心磁場 3,517

Fig. 1. ESR spectra of shellfish with shell (common oriental clam)*1

G, 掃引幅 100 G, 変調強度 1 G, 変調周波数 100 kHz, データポイント数 512, 時定数 10.24 msec, ゲイン 1×10^3 , 掃引時間 5.2 sec, 積算回数 24 回とした。マイクロ波パワーは 0.1~50 mW に変化させて測定した。

5. 照射判定

本研究の照射判定は貝殻付きの貝を対象とした通知法*1の基準を用いた。Fig. 1(a) に示したような、貝殻を含む食品の ESR スペクトルと類似した形状のスペクトルが得られ、規定値以上の信号強度、観測される 3 つのピークの g 値 ($g1$, $g2$ および $g3$) がそれぞれ規定の範囲内の場合に照射されたものと判定することとした。 g 値の算出はマンガンマーカを参照として行った。マンガンマーカは Mn^{2+} を含む粉末の化合物 (MgO) で 6 本の ESR 信号が観測されるものを用いた。この信号の低磁場側から数えて 3 本目および 4 本目のピークをマンガンの M3 ($g=2.0313$) および M4 ($g=1.9816$) の参照信号とし、磁場補正を行って観測される 3 つのピークの g 値を求めた。信号強度比の判定は、メインピークの信号強度を M3 の信号強度 (アラニン 30 Gy 吸収線量換算値) で除した値が 1 以上であること。3 つのピークの g 値は、 $g1$ はメインピークの最大、最小値の磁場の中心値、 $g2$ はメインピークより高磁場側に観測されるピーク信号の最小値、 $g3$ はメインピークより低磁場側に観測されるピーク信号の最大値とした。これら $g1$, $g2$, および $g3$ の値のすべてが次に示す範囲にあるときに試料は照射されていると判定した。 $g1$ の範囲は 2.0006~2.0016, $g2$ の範囲は 1.9968~1.9978, $g3$ の範囲は 2.0027~2.0037 と規定した。

結果と考察

CEN 標準分析法 (EN1786) は骨を含む多くの肉と魚を対象に、マイクロ波パワーを食品ごとに 5~12.5 mW の適切な値で測定するとしている。貝殻付きの貝を対象とした

通知法^{*1}は、貝殻を0.4 mWに固定した測定により照射判定する。

マイクロ波パワーを増加させて測定すると、観測されるESR信号強度も増大するが、ある一定のマイクロ波パ

ワーに達すると、信号強度は飽和して最大値（閾値）になる。さらにマイクロ波パワーを増加させると信号強度は減少もしくはプラトーな挙動を示す。このようなESR信号の挙動を逐次飽和挙動（Progressive Saturation Behav-

Fig. 2. ESR spectra of non-irradiated and 1 kGy irradiated abdominal appendages of prawn and shrimp

Fig. 3. ESR spectra of non-irradiated and 1 kGy irradiated tail fans of prawn and shrimp

ior; PSB)^{12),13)} と言う。Ukai ら^{14),15)} は PSB について、食品試料での検討を行い、有機フリーラジカル由来の信号は低いマイクロ波パワーで飽和して閾値をとるが、マンガンなど無機金属イオン由来の信号が閾値に達するには高いマ

イクロ波パワーが必要と報告している。筆者らは、食品試料で観測された ESR 信号の PSB より飽和するマイクロ波パワーを求め、 g 値と合わせて信号を有機フリーラジカル由来と同定する報告¹⁰⁾ をした。本研究でも、飽和するマ

Fig. 4. Progressive saturation behavior of non-irradiated and 1 kGy irradiated abdominal appendages of prawn and shrimp

Fig. 5. Progressive saturation behavior of non-irradiated and 1 kGy irradiated tail fans of prawn and shrimp

Fig. 6. ESR spectra of non-irradiated and 1 kGy irradiated legs of crabs

マイクロ波パワーの違いから、信号が有機フリーラジカルもしくは無機金属イオン由来であることを推測するため、また、照射判定に適した形状の信号を得るため、マイクロ波パワーを0.1~50 mWまで変化させてPSBを求めた。さらに、試料ごとに適切なマイクロ波パワーを決定して図に示し、 g 値と信号強度を照射判定に用いた。

1. エビのESR測定

非照射および照射したブラックタイガー (BS-01) とパナメイエビ (WS-01) から得られた腹節の殻と尾扇のスペクトルをFig. 2, 3にそれぞれ示した。照射、非照射のいずれの試料でも1本線信号 ($g=2.005$) が観測された。1本線信号はマイクロ波パワーを変えても信号形状が変化せず、PSB (Fig. 4, 5) はマイクロ波パワー約3.2 mW^{1/2} (10 mW) で飽和し、その後減少した。Fig. 2, 3は信号強度が最大となる10 mWで測定したスペクトルを示した。先行研究で報告された g 値や飽和するマイクロ波パワー^{10),11),14),15)}と

比較し、1本線信号は有機フリーラジカルに由来する信号と推測した。

照射処理による変化として1本線信号の強度が増大したが、スペクトル構成には照射の有無による違いは見られなかった。つまり、ブラックタイガーとパナメイエビは照射によって特異的に誘導されるラジカルは検出されなかった。

2. カニのESR測定

非照射および照射したズワイガニ (SC-01)、タラバガニ (RC-01)、ワタリガニ (BC-01) の脚の殻と螯をESR測定して得られたスペクトルをFig. 6, 7に示した。

脚の殻は、すべてのスペクトルで g 値が約2.004付近に1本線信号が観測された (Fig. 6)。1本線信号はマイクロ波パワーを変えても形状が変化せず、非照射、照射のいずれの試料でも2 mW^{1/2} (4 mW) で飽和するPSB (Fig. 8) を示した。Fig. 6は、信号強度が最大となる4 mWで測定

Fig. 7. ESR spectra of non-irradiated and 1 kGy irradiated claws of crabs

したものを示した。1本線信号は、 g 値とPSBから有機フリーラジカルに由来する信号と推測した。ズワイガニ、ワタリガニの脚の殻からは、照射によって特異的に誘導されるラジカルは検出されず、照射による信号強度の増大も見られなかった。タラバガニの脚の殻は、照射によって $g=2.0006$ に新たなピークが観測された。しかし、有機フリーラジカル由来の1本線信号が重なって新たなピークのPSBを求めることができず、 g 値から由来となるラジカルを同定することもできなかった。

蟹から得られたスペクトルをFig. 7に示した。非照射カニの蟹のスペクトルでは、M3とM4の間(348~352 mT)にかけてブロードなピークが認められた。ブロードなピークの磁場範囲内(348~352 mT)の最大と最小値の差を信号強度としてPSBを求めた(Fig. 9)。しかし、飽和するマイクロ波パワーを得ることができず、 g 値も算出できないことから由来となるラジカル種を同定できなかった。

照射カニの蟹では、非照射カニの蟹で検出されない新たな信号(g_1, g_2, g_3)が明瞭に観測された。照射誘導ラジカルのうち、最も信号強度が大きいメインピーク(g_1)のPSBはマイクロ波パワーの増加とともに信号強度も増大した(Fig. 9)。メインピーク(g_1)が飽和するには50 mW以上の高いマイクロ波パワーが必要であり、無機金属イオン由来の信号と推測した。また、蟹のスペクトルは、マイクロ波パワーが0.4 mWを超えると、メインピーク(g_1)が g_3 を覆うように観測された。そのため、 g_1, g_2, g_3 が明瞭に観測できるよう0.4 mWで測定したスペクトルを示した。また、すべてのカニの蟹のスペクトルで、マンガンマーカーM4の信号形状が崩れて観測された。ワタリガニではさらに、M3の信号形状も大きく崩れ、マーカーの信号認識が困難なスペクトルが観測された。マーカーを除いてカニの蟹のみを測定したところ、蟹が含有するマンガン由来の信号が観測された。このことから、マンガンマ-

Fig. 8. Progressive saturation behavior of non-irradiated and 1 kGy irradiated legs of crabs

カーを用いて測定すると、蟹中に含有されるマンガンとマンガンマーカの間に相互作用が起こり、信号形状が崩れて観測されたと推測した。

3. 照射誘導ラジカルの確認

照射したカニの蟹で明瞭に検出された照射誘導ラジカルの由来について確認を行った。カニの蟹は、キチン、キトサン、ヒドロキシアパタイトを多く含むとされている¹⁶⁾。そこで、キチン、キトサンおよびヒドロキシアパタイトを照射誘導ラジカルの候補と考え、それぞれにガンマ線を1 kGy照射し、ESRにより測定した。

カニの蟹で確認された信号の g 値、PSBと比較検討するため、蟹と同じマイクロ波パワー0.4 mWで測定したスペクトルを示した (Fig 10)。キチンおよびキトサンでは、非照射と照射の両方で g 値が約2.005となる1本線信号のみが観測された。1本線信号のPSBは、4～10 mWで飽和した (Fig. 11)。 g 値とPSBから、1本線信号は有機フリー

ラジカル由来の信号と推測した。これらの結果から、照射したキチンとキトサンで観測された信号は、照射カニの蟹のスペクトルで検出された照射誘導ラジカルとは異なることが示された。

非照射のヒドロキシアパタイトでは明瞭な信号を観測することはできなかった。しかし、照射によって複数の信号が観測された (Fig. 10 下段)。ヒドロキシアパタイトは照射によって斜方晶の炭酸ラジカル (CO_2^-) が誘導される^{17),18)}。この照射誘導ラジカルの g 値は $g=2.0036, 2.0023, 2.0007, 1.9975$ と報告^{17),18)}されている。本研究で測定したヒドロキシアパタイトの g 値 ($g=2.0032, 2.0022, 2.0008, 1.9972$) とほぼ一致した。

照射ヒドロキシアパタイトと照射カニの蟹のスペクトルを比較した結果、ヒドロキシアパタイトのスペクトル形状と g 値 ($g=2.0008, 1.9972, 2.0032$) は、照射カニの蟹で観測された信号の形状および g 値 ($g=2.0007\sim 2.0008$,

Fig. 9. Progressive saturation behavior of non-irradiated and 1 kGy irradiated claws of crabs

$g_2 = 1.9972 \sim 1.9973$, $g_3 = 2.0031 \sim 2.0033$) と一致した。またメインピーク ($g = 2.0007 \sim 2.0008$) の PSB (Fig. 11) は、信号強度がマイクロ波パワーとともに増加した。照射カニの蟹で観測された照射誘導ラジカルと同様の傾向が認められた。信号の形状、 g 値、PSB から、照射カニの蟹で誘導された信号は、主に照射ヒドロキシアパタイトに由来する信号と同定した。

4. 照射判定

CEN 標準分析法 (EN1786) はエビやカニを適用対象に含んでいないが、魚と肉の骨の検知では、検出される照射ヒドロキシアパタイト由来の信号の 2 つの g 値から照射判定を行う。一方、わが国で通知されている、貝殻付きの貝を対象とした通知法^{*1}も照射ヒドロキシアパタイト由来の信号を検知に利用している。その判定では 3 つの g 値を用い、さらに、信号強度についても、同時測定したマンガンマーカ-との相対強度を基準とし、十分な大きさの信号

が得られた場合に照射判定することで、偽陽性率の低下を図っている。本研究は貝殻付きの貝を対象とした通知法^{*1}の照射判定基準を用いた。Table 1 に、貝殻付きの貝を対象とした通知法と同様の判定基準である、メインピークとマンガンマーカ- M3 との信号強度比、3 つのピークの g 値、および、これらに基づいた照射判定の結果を示した。

エビの照射判定について、Stewart ら^{8),9)} は照射したボタンエビ、ブラックタイガー、スジエビ、キングエビの尾扇を ESR で測定し、スジエビでヒドロキシアパタイト由来の照射誘導ラジカルを観測している。しかし、それ以外のエビでは照射誘導ラジカルは観測されず、検知には種ごとに検討する必要があるとしている。また、Morehouse ら⁶⁾ は照射したブラックタイガー、パナメイエビを含む 7 種のエビの殻を ESR で計測したが、種や生息地域によるスペクトル差が大きく、検知に利用するには大いに問題があると報告している。本研究で使用した、日本で一般的に流通

Fig. 10. ESR spectra of non-irradiated and 1 kGy irradiated chitin, chitosan, and hydroxyapatite

しているブラックタイガーとバナメイエビの腹節の殻と尾扇は、照射によって特異的に誘導されるラジカルは検出されず、ESRによるエビの照射判定は困難であると結論した。

カニについては、日本への輸入量が多い品種としてズワイガニ、タラバガニ、ワタリガニを選定し、脚と殻の殻をESRで計測した。ズワイガニ、ワタリガニの脚の殻からは照射によって特異的に誘導されるラジカルは検出されず、ESRによる照射判定が不可能であった。タラバガニの脚の殻からは照射によって誘導されたと考えられる新たな信号 ($g=2.0006$) が観測されたが、有機ラジカル由来の1本線信号が重なることから g 値の算出が困難で、照射判定に利用するには不応であった。

3種のカニの殻 (SC-01, RC-01, BC-01) は照射によって特異的に誘導されるラジカルを検出することができた。この照射誘導ラジカルは、貝殻付きの貝を対象とした通知法^{*1}の照射判定に用いられているのと同様の、照射ヒド

ロキシアパタイトに由来すると同定した。そこで、ズワイガニ、タラバガニ、ワタリガニの殻を、それぞれ5検体まで追加して照射判定を試みた。ただし、非照射試料の信号強度比は、ブロードなピークが認められる348~352 mT内の最大、最小値の強度差から算出した。

照射試料のスペクトルの g 値は、検討した全15試料で判定基準の範囲に算定された。信号強度比は照射ズワイガニ、タラバガニの殻、各5検体で規定を満たす値を得た。ワタリガニはM3信号に試料中のマンガン由来と推測される信号が重なり、2検体で信号強度比を算定することが不可能であった。これら2検体については、ピーク近傍のノイズ (メインピークから低磁場側に3 mT離れた付近) と比較した S/N 比が176 (BC-02)、152 (BC-05) であった。2検体のメインピークは、信号強度比の算定はできなかったが、十分な信号強度は得られており、総合的な判定を「△」と記載した。今後、マンガンマーカースとの信号強度

Fig. 11. Progressive saturation behavior of non-irradiated and 1 kGy irradiated chitin, chitosan, and hydroxyapatite

比を判定基準とすることについて検討を行う必要がある。しかし、本研究の結果から、日本に多量に輸入されているズワイガニ、タラバガニ、ワタリガニの蟹を ESR 測定することで、照射の有無を判定できる可能性が示された。

本研究で測定した非照射ズワイガニ、タラバガニ、ワタリガニの蟹のスペクトル (Fig. 7) は貝殻付きハマグリ (Fig. 1(b)) に比べてノイズが高く、ブロードなピークも認められた。これらのノイズやピークは、照射判定に利用する信号検出に影響する場合は予想される。実際、本研究で測定した照射カニの蟹のスペクトル (Fig. 7) は、ズワイガニ、タラバガニ、ワタリガニのすべてで、 g_3 と g_1 の間にノイズもしくは非照射で観測されたようなピークが確認された。Fig. 1(a) に示す照射ハマグリのスペクトルは g_3 と g_1 の間にノイズや他のピークが観測されないため g_3 の判定は容易である。しかし、本研究で測定した照射カニの蟹、全 15 試料で、 g_3 の判定には十分な注

意が必要であった。

Maghraby ら⁵⁾ は照射したイチョウガニ属のカニの蟹、脚、甲などの 6 部位を ESR で計測し、蟹や脚などの外骨格は照射ヒドロキシアパタイト由来の信号が観測されることから照射判定に利用可能である。しかし、カニの ESR スペクトルは種や地理的分布への依存性が大きいためそれぞれの調査が必要と報告した。ESR によるカニの検知法を確立するためには、今後、来歴の異なる検体についてさらに例証を進めるとともに、試験室共同試験などの実施により、 g 値算出の再現性の検証などを進める必要がある。

結 論

国内市場に流通するエビ、カニの多くは、国外からの輸入品である²⁾。本研究は、日本に輸入されたエビやカニの品種を対象に、ESR による照射誘導ラジカルの同定と照射判定の可能性を検討した。エビ (ブラックタイガー、バ

ナメイエビ)の腹節の殻と尾扇は照射によって特異的に誘導されるラジカルは検出されず, ESRによる照射判定は不可能であった。カニ(ズワイガニ, タラバガニ, ワタリガニ)では, 蟹を利用したとき照射によって特異的に誘導される照射ヒドロキシアパタイト由来の信号が検出された。貝殻を含む食品と同等の g 値を判定条件^{*1}に用いることにより照射判定できる可能性が示された。しかし, カニのスペクトルはノイズやブロードなピークが観測されるため, 判定に利用する信号の特定は注意が必要であり, 今後より多くの試料や試験室で検討する必要がある。

謝 辞

本研究は, 厚生労働科学研究費補助金 食品の安全確保推進研究事業「電子スピン共鳴法による放射線照射食品の検知法の開発に関する研究」の助成によって行われた。

文 献

- 1) Kume, T. Quantity and economic scale of food irradiation in the world. *Shokuhin Syousya* (Food Irradiation, JAPAN), **43**, 46–54 (2008).
- 2) 日本アセアンセンター. ASEAN輸出業者のためのマーケティングガイド. 国際機関日本アセアンセンター(東南アジア諸国連合貿易投資観光促進センター). 東京, 2007, p. 76–94.
- 3) Kume, T., Todoriki, S. Food Irradiation in Asia, the European Union, and the United States: A Status Update. *Radioisotopes*, **62**(5), 291–299 (2013).
- 4) Raffi, J., Stocker, P. Electron paramagnetic resonance detection of irradiated foodstuffs. *Appl. Magn. Reson.*, **10**, 357–373 (1996).
- 5) Maghraby, A. Identification of irradiated crab using EPR. *Radiation Meas.*, **42**, 220–224 (2007).
- 6) Morehouse, K. M., Ku, Y. Gas chromatographic and electron spin resonance investigations of gamma-irradiated shrimp. *J. Agric. Food Chem.*, **40**, 1963–1971 (1992).
- 7) Goodman, B. A., Donald, B. M., Donald, M. L. D. Electron spin resonance spectroscopy of some irradiated foodstuffs. *J. Sci. Food Agric.*, **47**, 101–111 (1989).
- 8) Stewart, E. M., Stevenson, M. H., Gray, R. Use of ESR spectroscopy for the detection of irradiated crustacean. *J. Sci. Food Agric.*, **65**, 191–197 (1994).
- 9) Stewart, E. M. The application of ESR spectroscopy for the identification of irradiated Crustacea. *Appl. Magn. Reson.*, **10**, 375–393 (1996).
- 10) Kameya, H., Ukai, M. Detection of irradiated ginseng using ESR spectrometry. *Radioisotopes*, **55**, 451–455 (2006).
- 11) Kameya, H., Ukai, M. Analysis of gamma-ray irradiated pasteurized *Agaricus* (*Agaricus blazei* Murill) by ESR in oxygen-free atmosphere. *Radioisotopes*, **56**, 437–441 (2007).
- 12) Poole, P. C. Jr., Farach, A. H. Relaxation in magnetic resonance, New York, USA, Academic Press, Inc., 1971, p. 17–29. (0124313817)
- 13) Ikeya, M. New applications of electron spin resonance, Shingapore, World Scientific Publishing Co., Ltd., 1993, p. 57–60. (ISBN 981-02-1199-6)
- 14) Ukai, M., Shimoyama, Y. Free radicals in irradiated pepper: An electron spin resonance study. *Appl. Magn. Reson.*, **24**, 1–11 (2003).
- 15) Ukai, M., Nakamura, H., Shimoyama, Y. An ESR protocol based on relaxation phenomena of irradiated Japanese pepper. *Spectrochimica Acta*, **63**, 879–882 (2006).
- 16) Chudhuri, B., Bhadra, D., Dash, S., Sardar, G., Pramanik, K., Chaudhuri, B. K. Hydroxyapatite and chitin-chitosan composite from crab shell. *J. Biomater. Tissue Eng.*, **3**, 653–657 (2013).
- 17) Costa, Z. M., Pontuschka, W. M., Campos, L. L. Study of the ESR signal of gamma irradiated hydroxyapatite for dose assessment. *Nucl. Instr. Meth. Phys. Res. B*, **218**, 283–288 (2004).
- 18) Ikeya, M. New applications of electron spin resonance, Shingapore, World Scientific Publishing Co., Ltd., 1993, p. 241–252. (ISBN 981-02-1199-6)