

# Pulse-ESRとCW- ESRによる照射黒コショウ中のラジカルの緩和時間解析

誌名	食品照射
ISSN	03871975
著者名	亀谷,宏美 菊地,正博 等々力,節子 古田,雅一 小林,泰彦 原,英之 下山,雄平 鵜飼,光子
発行元	日本食品照射研究協議会
巻/号	47巻1号
掲載ページ	p. 6-10
発行年月	2012年9月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター  
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council  
Secretariat



[報文]

## Pulse-ESR と CW-ESR による照射黒コショウ中のラジカルの緩和時間解析

亀谷宏美<sup>1)\*</sup>, 菊地正博<sup>2)</sup>, 等々力節子<sup>1)</sup>, 古田雅一<sup>3)</sup>,  
小林泰彦<sup>2)</sup>, 原 英之<sup>4)</sup>, 下山雄平<sup>2)</sup>, 鶴飼光子<sup>5)</sup>

<sup>1)</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 2-1-12)

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

<sup>3)</sup> 大阪府立大学 (〒599-8531 堺市中区学園町 1-1)

<sup>4)</sup> ブルカー・バイオスピン株式会社 (〒221-0022 神奈川県横浜市神奈川区守屋町 3-9)

<sup>5)</sup> 北海道教育大学 (〒040-8567 北海道函館市八幡町 1-2)

## Analysis of Relaxation Times of Radicals in Irradiated Black Pepper Using Pulse-ESR and CW-ESR

Kameya Hiromi<sup>1)\*</sup>, Kikuchi Masahiro<sup>2)</sup>, Todoriki Setsuko<sup>1)</sup>, Furuta Masakazu<sup>3)</sup>,  
Kobayashi Yasuhiko<sup>2)</sup>, Hara Hideyuki<sup>4)</sup>, Shimoyama Yuhei<sup>2)</sup> and Ukai Mitsuko<sup>5)</sup>

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

<sup>2)</sup> Japan Atomic Energy Agency, 1233 Watanuki-machi, Takasaki-shi, Gunma 370-1292 Japan

<sup>3)</sup> Osaka Prefecture University, 1-1 Gakuen-cho, Sakai-shi, Oosaka 599-8531 Japan

<sup>4)</sup> Bruker BIOSPIN, 3-9 Moriya-cho Yokohama-shi, Kanagawa, 221-0022 Japan

<sup>5)</sup> Hokkaido University of Education, 1-2 Hachiman-cho, Hakodate-shi, Hokkaido 040-8567 Japan

### Summary

We attempted measurement of radicals in irradiated black pepper using pulse-ESR and CW-ESR. Relaxation times ( $T_1$ ,  $T_2$ ) of radicals in black pepper were measured using pulse-ESR.  $T_1$  and  $T_2$  were also calculated theoretical analysis using CW-ESR parameter. We succeeded in measurement of the field swept echo of irradiated black pepper using pulse-ESR. Pulse-ESR and CW-ESR were able to calculate  $T_1$  and  $T_2$ .  $T_1$  values were showed no dose dependence.  $T_2$  values showed increase according to irradiation. We revealed that  $T_1$  and  $T_2$  from pulse-ESR and CW-ESR were changed similarly before and after irradiation.

**Key words:** CW-ESR, pulse-ESR,  $\gamma$ -ray irradiation ( $\gamma$ 線照射), relaxation time (緩和時間)

### はじめに

ガンマ線の食品への照射は有効な殺菌処理として世界的に広がっている。ヨーロッパ連合は照射

食品の標準検知法として10種の分析法を定めている。その1つに電子スピン共鳴 (Electron Spin Resonance; ESR) 法が採択されている<sup>1),3)</sup>。ESRはラジカルを計測する高性能機器で、観測されるスペクトルの変化から検知を行っている。しかし、照射によるスペクトル変化が極めて微小な低線量域の検

\*連絡先: hkameya@affrc.go.jp

知は困難である。著者らは植物性食品のガンマ線照射誘導ラジカルを連続波 (continuous wave; CW) 電子スピン共鳴法で計測し、スペクトルの変化だけでなく、解析パラメータによる照射検知の可能性を報告してきた<sup>4)~7)</sup>。

ESR 計測で得られる解析パラメータの一つ、ラジカルの緩和時間には、スピン-格子緩和時間 ( $T_1$ ) とスピン-スピン緩和時間 ( $T_2$ ) の 2 種がある<sup>8)</sup>。励起されたスピンのエネルギーが軌道や分子の振動エネルギーに変化し、他の系 (格子) に流れて基底レベルに戻るまでの時間をスピン-格子緩和時間 ( $T_1$ )、ある励起状態のスピンのエネルギーを別なスピンへと流して低準位に分布するまでの時間をスピン-スピン緩和時間 ( $T_2$ ) としている。ラジカル種が異なる場合、ESR 計測で得られる緩和時間に違いが生じる<sup>9)</sup>。照射食品中のラジカルの緩和時間を求めることで、照射による食品中のラジカル変化を捉えることができる。

一般にラジカルの緩和時間 ( $T_1$ ,  $T_2$ ) は pulse-ESR の計測から求められる。しかし、照射食品中に誘導されるラジカルについて、pulse-ESR 計測による報告はない<sup>9)</sup>。食品は非常に複雑な系で解析が困難なためと考えられる。pulse-ESR による計測から緩和時間を求めることができれば、より低線量域の照射検知に応用できる可能性がある。

本研究では pulse-ESR による照射黒コショウの計測を試みた。また、著者らは CW-ESR の飽和曲線から理論解析で算出した照射食品の緩和時間を報告している<sup>10)</sup>。そこで、pulse-ESR で求めた緩和時間と、CW-ESR から求めた計算値の比較を行った。

## 実験方法

### 1. 試料

試料として市販黒コショウを実験に供した。照射は(独)日本原子力研究開発機構高崎量子応用研究所で行った。照射は室温で<sup>60</sup>Co の  $\gamma$  線により処理された。線量は 1, 10, 25, 50 kGy とした。線量率は 2 kGy/h で、照射時間により線量を調整した。照射試料を ESR 試料管 (外径 5mm  $\phi$ ) 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 計測検体とした。

### 2. pulse-ESR 測定

Pulse-ESR 機器は Bruker 社製の ESP-380E を用いた。磁場を安定に保つため、電磁石の冷却水は冷却水循環装置により 20°C にコントロールした。pulse-ESR を起動させ、磁場を安定化させるために 30 分間放置してから測定を開始した。測定は室温で行った。

Echo 測定は  $\pi/2 - \pi$  pulse sequence により計測した。測定パラメータは  $\pi/2$ -pulse width; 16 ns,  $\pi$ -pulse width; 24 ns, Pulse interval; 200 ns, Recycle delay; 1ms とした。本来、 $\pi/2$ -pulse width が 16 ns のとき、 $\pi$ -pulse width は 32 ns となる。しかし、本実験に使用した pulse-ESR のピンダイオード性能では、16 ns のパルスから明瞭な矩形を得ることができないため、実験的に 16 ns, 24 ns を用いた。

緩和時間は echo 測定パラメータに基づき、 $\pi/2 - \tau - \pi$  sequence により計測した。測定パラメータは  $\pi/2$ -pulse width; 16 ns,  $\pi$ -pulse width; 24 ns, Pulse interval; 200 ns, Recycle delay; 1ms とした。 $T_2$  は  $\pi/2$  pulse -  $\tau$  -  $\pi$  pulse -  $\tau$  - (echo) の two pulse spin echo 法、 $T_1$  は  $\pi$  pulse - T -  $\pi/2$  pulse -  $\tau$  -  $\pi$  pulse -  $\tau$  - (echo) の three pulse inversion recovery 法を用いた。

### 3. CW-ESR 測定

ESR 機器は Bruker 社製の EMX-plus を用いた。磁場を安定に保つため、電磁石の冷却水は冷却水循環装置により 20°C にコントロールした。ESR を起動させ、磁場を安定化させるために 30 分間放置してから測定を開始した。測定は室温で行った。

ESR の測定の主なパラメータは、Center Field ; 250 mT, Sweep Width ; 500 mT, Frequency ; 9.849 ~ 9.857 GHz, Modulation frequency ; 100 kHz, Modulation amplitude ; 1 mT とした。マイクロ波強度は 1 ~ 81mW まで変化させた。

CW-ESR による緩和時間の算出は Lund の方法 (ソースコード公開)<sup>11)</sup>、線形理論による計算プログラムの詳細は既報<sup>10)</sup> に依った。

## 実験結果および考察

### 1. pulse-ESR 計測

黒コショウの pulse-ESR 計測から明瞭な field swept echo を観測することに成功した。Fig. 1 に

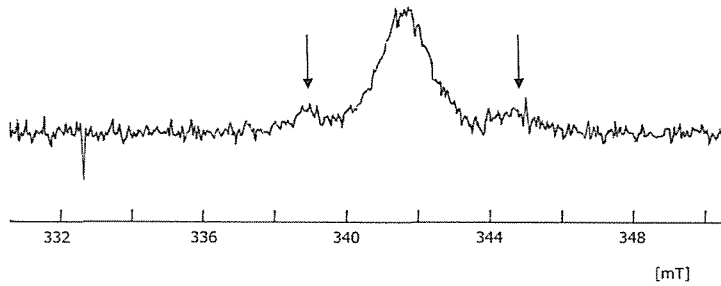


Fig. 1 A field swept (330 to 350 mT) echo induced signal from  $\gamma$ -ray induced radical in irradiated black pepper. Twin peaks were show as arrow.

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

Irradiated sample (kGy)	Pulse-ESR value		CW-ESR value	
	$T_1$ ( $\times 10 \mu\text{sec}$ )	$T_2$ ( $\times 10^2 \text{nsec}$ )	$T_1$ ( $\mu\text{sec}$ )	$T_2$ ( $\times 10^2 \text{nsec}$ )
0	3.0	2.8	3.7	1.4
1	3.0	2.9	3.3	1.5
10	3.0	3.5	3.3	1.5
25	3.2	3.5	3.4	1.5
50	3.3	4.2	3.4	1.6

25 kGy 照射黒コショウの field swept echo スペクトルを示した。main peak のサイドに矢印で示す twin peak が観測され、hfc は 6 mT であった。

Field swept echo が観測できたため、緩和時間 ( $T_1$ ,  $T_2$ ) の計測を行った。得られた値を Table 1 に示した。 $T_1$  の照射による値の変化は小さく、 $T_2$  は顕著な値の増加が確認された。

## 2. CW-ESR のスペクトル

Pulse-ESR 計測と同一の試料を CW-ESR で計測した。Fig. 2 に非照射試料と 25kGy 照射試料のスペクトルを同倍率で示した。黒コショウのスペクトルは著者らの報告<sup>4)-7)</sup>と同様に 3 成分から構成された。 $g$  値が約 2.00 に位置する有機フリーラジカル由来の 1 本線信号, 1 本線信号の近傍に観測されたマンガニオン超微細構造に由来する 6 本線信号,  $g$  値が約 4 の位置に観測された鉄イオン由来の微小な信号である。有機フリーラジカル由来の 1 本線は照

射により信号強度が増大した。また、照射試料では 1 本線信号の両サイドに、照射セルロース由来 twin peak が観測された。twin peak の hfc は 6 mT であり、field swept echo で観測された twin peak の hfc と同値であった。そのため、field swept echo で観測された twin peak は CW-ESR 計測で観測された twin peak と同じ照射セルロース由来の信号と結論した。

## 3. CW-ESR の逐次飽和挙動と緩和時間

Fig. 3 に有機フリーラジカル由来の 1 本線信号の逐次飽和挙動 (Progressive Saturation Behavior; PSB) を示した。照射量の増加とともに各試料の信号強度最大値が増した。

常磁性系に対する連続的なマイクロ波照射での飽和理論はすでに明らかにされている<sup>11)</sup>。Lund らは、PSB を利用することによりラジカルの緩和時間 ( $T_1$ ,  $T_2$ ) を高い精度で求める手法を報告した<sup>12)</sup>。Table 1 に Lund の方法によって求めた黒コショウ中のラ

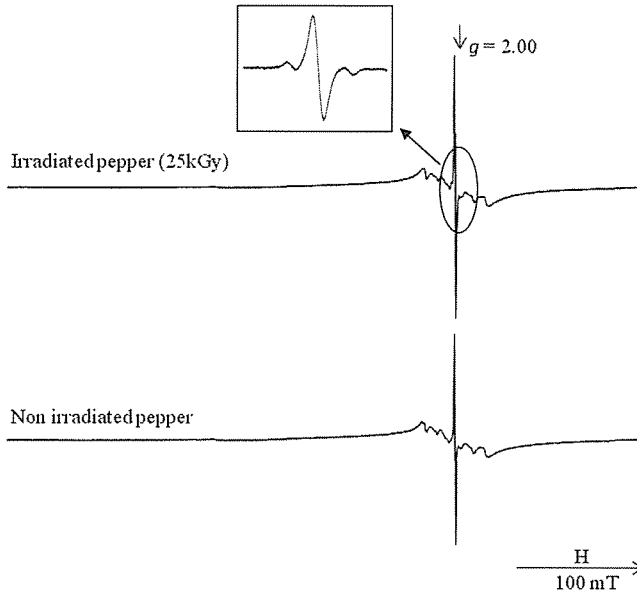


Fig. 2 CW-ESR spectra before and after the  $\gamma$ -irradiation. The horizontal axis in the magnetic field (mT).

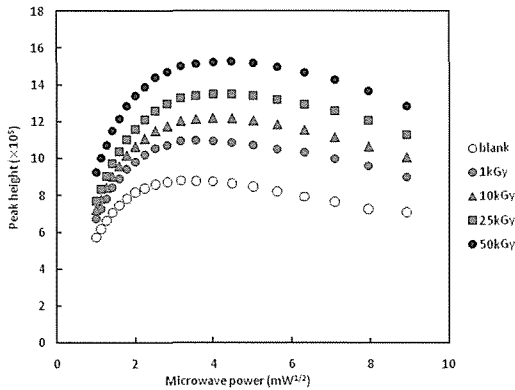


Fig. 3 The saturation curve of ESR signals of black pepper at various dose level from 0 to 50 kGy.

ジカルの  $T_1$ ,  $T_2$  を示した。

#### 4. スピン - 格子緩和時間 ( $T_1$ )

pulse-ESR で計測した黒コショウの  $T_1$  は、照射による変化が小さかった。 $T_1$  はスピンと軌道の相互作用から化学結合に沿ってエネルギーが流れ、スピンからエネルギーが失われる過程に依存してい

る<sup>13)</sup>。照射による  $T_1$  の変化が小さいということは、放射線による化学結合の切断からラジカルが生成した後でも、別な結合からエネルギーが流れていく経路が存在していると考えられる。

CW-ESR から算出した  $T_1$  も、pulse-ESR の結果と同様に照射による変化が小さかった。これは、PSB の信号強度が最も高い値 (閾値) を支えるマイクロ波強度が、照射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<sup>11)</sup> では閾値を支えるマイクロ波強度を  $T_1$  算出の最重要条件としている。

#### 5. スピン - スピン緩和時間 ( $T_2$ )

Pulse-ESR から算出した  $T_2$  は、照射量の増大と共に増加し、照射依存性が非常に強く表れた。 $T_2$  はスピン間の相互作用を反映している<sup>14)</sup>。照射量に応じて  $T_2$  が長くなることは、照射による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ためと推察される。

CW-ESR による  $T_2$  算出結果も pulse-ESR の計測結果と同様に照射処理量と共に増加する傾向にあっ

た。Lundの方法<sup>11)</sup>では線幅を $T_2$ 算出の要件としている。そのため、照射量の増大に伴う信号線幅の変化が $T_2$ に反映されたと考えられる。

#### まとめ

これまで報告されたことのない pulse-ESR による照射黒コショウ中のラジカルの field swept echo 観測に成功した。 $T_1$ の値は照射による変化が小さかった。 $T_2$ の値は照射によって増大した。pulse-ESR と CW-ESR から求めた  $T_1$ ,  $T_2$  は、同様の傾向を示すことがわかった。pulse-ESR の計測から得られる  $T_2$  の値は照射依存性が非常に強かった。今後、低線量照射試料での検討を行うことで、新たな照射検知に応用できる可能性を示すことができた。

#### 謝辞

本研究の一部は、文部科学省原子力基礎基盤戦略研究イニシアティブにより実施された「実用化が予想される食品への放射線利用に関する基礎研究」の成果である。

#### 参考文献

- 1) EN1786. Foodstuffs-detection of irradiated food containing bone-method by ESR spectroscopy. European Committee for standardization (1997).
- 2) EN1787. Foodstuffs-detection of irradiated food containing cellulose-method by ESR spectroscopy. European Committee for standardization (2000).
- 3) EN13708. Foodstuffs-detection of irradiated food containing sugar-method by ESR spectroscopy. European Committee for standardization (2002).
- 4) 浜谷成樹ほか. 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**, p.367-373 (2003).
- 5) Ukai, Mitsuko; Shimoyama, Yohei. Free radicals in irradiated pepper: an electron spin resonance study. *Applied Magnetic Resonance*. **24**, p.1-11 (2003).
- 6) Ukai, Mitsuko; Shimoyama, Yohei. An electron spin resonance study of radical decay in  $\gamma$ -ray irradiated pepper by thermal treatment. *Applied Magnetic Resonance*. **25**, p.95-103 (2003).
- 7) Ukai, Mitsuko; Shimoyama, Yohei. Decay of organic free radicals in  $\gamma$ -ray irradiated pepper during thermal treatment as detected by electron spin resonance spectroscopy. *Radiation Physics and Chemistry*. **71**, p.177-180 (2004).
- 8) 石津和彦. 実用 ESR 入門-生命科学へのアプローチ-. 東京, 講談社, p.19-24 (1981).
- 9) Schweiger, A.; Jeschke, G. Principles of pulse electron paramagnetic resonance. New York, Oxford Univ. Pr. on Demand, p.1-8 (2001).
- 10) 亀谷宏美ほか. 照射マンゴー中に誘導されるラジカルの緩和時間と線量依存性. *Radioisotopes*. **59**, p.607-614 (2010).
- 11) Swartz, M. H. et al. Biological applications of electron spin resonance. New York, John Wiley and Sons Inc., p.82-85 (1972).
- 12) Lund, A. Relaxation time determination from continuous-wave microwave saturation of EPR spectra. *Radiation Research*. **172**, p.753-760 (2009).
- 13) 石津和彦. 実用 ESR 入門-生命科学へのアプローチ-. 東京, 講談社, p.302 (1981).
- 14) Alger, R. S. Electron paramagnetic resonance: technique and applications. John Wiley and Sons, New York, p.508 (1968).

(2012年7月26日受理)