

<平成22年度助成>

ESR・化学分析による香辛料の加工・貯蔵履歴の 解明に関する研究

等々力 節子

(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)

1 はじめに

香辛料の多くは海外の産地から輸入されており、その微生物学的な品質を保証のために、過熱水蒸気殺菌などが実施されている。また、海外では、品質劣化が少ないという理由で、ガンマ線や電子線などの電離放射線を使った殺菌処理が実用化しており、米国をはじめEU、オーストラリア、ニュージーランド、アジア諸国などで、放射線照射された香辛料が流通している¹⁾。我が国ではバレイショの発芽防止を目的としたガンマ線照射を除き、食品への放射線照射は許可されていない。香辛料への放射線照射の拡大を要望する声もあるが、その是非に関わらず香辛料への放射線照射の履歴を検証し適正な流通や消費者の選択を保証するために、科学的な検証技術が必要である。

現在、公定法²⁾も含めて香辛料の照射履歴の確認に広く利用されている、ルミネッセンス法(熱ルミネッセンス: TL法、および、光ルミネッセンス)は、香辛料の構成成分そのものではなく、微量混入する鉍物質を測定対象としている。そのため、鉍物を含まない試料については応用が困

難である。厚生労働省が現在通知している照射検知法には、TL法の他、食品中の脂肪の放射線分解生成物である2-アルキルシクロブタノン(以下2-ACBs)を指標とした分析法がある。図1に構造を示す。

脂質含量の多い種子由来の香辛料には、2-ACBsの検出を指標とした照射履歴の検知が適用出来る可能性がある。また、他の原理の検知法としてセルロース含量の多い香辛料についてはセルロース由来の放射線照射生成ラジカルに着目して、それらについて新たな検出方法の開発を進めることも可能と考えられる。ESR法は測定対象から特定成分の抽出を行うこと無く、繰り返し測定が可能であり、TL法が適用出来ない香辛料に適用出来る可能性がある。

そこで、本研究では、最初にモデル油脂を照射した際の2-ACBsの生成量を調べ、さらに食品モデルとして植物種子である大豆試料を照射した際の、2-ACBsの生成とESRスペクトルの変化について検討した。続いてナツメグや唐辛子などの香辛料や植物性原料の放射線照射履歴の検出への応用の観点で、放射線照射によって特徴的に生じる

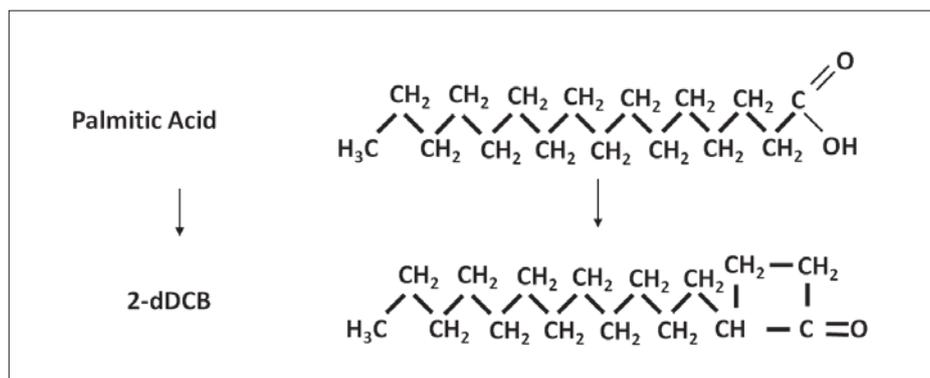


図1 パルミチン酸から2-ドデシルシクロブタノン(2-dDCB)の生成

2-ACB類やラジカル生成を検討した。また、合わせて、これまで報告されている植物性の食品における、2-アルキルシクロブタノン生成量に関する情報を取りまとめた。

2. 方法

2.1 試料

モデル脂質として、4種のトリグリセリド(トリミリスチン、トリパルミチン、トリオレイン、トリステアリン)、大豆種子(エンレイおよびフクユタカ)、香辛料としてナツメグ(インド、インドネシア、スリランカ)、唐辛子(国産および中国産)を用いた。

2.2 ガンマ線照射

トリグリセリドは、20mgをバイアルビンに入れ、大豆および香辛料類はポリエチレン袋に入れ、大気下室温(22~24℃)で、食品総合研究所のコバルト60ガンマ線源(Gamma cell 220 ノーディオン社製)を用いて、線量率80Gy/minで照射した。照射後の試料は分析に供するまで-80℃で貯蔵した。ナツメグについては、ロットの異なるホールナツメグを入手し、コーヒーミルで粉碎後、ポリエチレン袋に入れて、8±2℃で照射した。照射後の試料は8±2℃で30週間保存した。

2.3 2-アルキルシクロブタノン類(2-ACB)の測定

トリグリセリド試料については、照射試料をヘキサンに溶解後、ヘキサン10mlでコンディショニングしたシリカゲル固相抽出カラム(5g/20ml, Grace社製)に負荷し、2%ジエチルエーテル/ヘキサン溶液15mlで溶出し、5ml~15ml画分を回収し、これをGC-MS試料とした。

大豆とナツメグについては、10mLのSFE抽出カートリッジに粉碎した試料1gおよび1.5gと同量のウエットサポート(吸水剤)を良く混合して充填した。これを超臨界流体抽装置、SFE 1220(ISCO Co Ltd, USA)のチャンバーに装

填し、80℃, 150atmの高純度二酸化炭素(純度99.9990以上)を送り、静止状態で5分間保持した後、流速約、2.3ml/minでCO₂を連続的に送液し、CO₂120ml分に溶出される成分をヘキサン中に捕集した。この抽出物を、5mlに濃縮し、その一部をヘキサン10mlでコンディショニングしたシリカゲル固相抽出カラム(1g/6ml, Grace社製)に負荷し、2%ジエチルエーテル/ヘキサン溶液15mlで溶出し、5ml~15ml画分を回収した。これをエバポレーターで0.5mlまで濃縮し、Sulfoxide SPEカラム(3g/6ml, SUPELCO社)に負荷し、ヘキサン溶液14mlで溶出し、このうちの4ml~14ml画分を集めた。これを、減圧濃縮したのち、0.05μg/mlのシクロヘキシルシクロペキサノン200μlに溶解して分析試料とした。

GC-MSによる分析：以下の条件等を用い2-デシルシクロブタノン(2-DCB), 2-ドデシルシクロブタノン(2-dDCB), 2-テトラデシルシクロブタノン(2-tDCB)および2-テトラデセニルシクロブタノン(2-tDeCB)をEIモードの4重極質量分析計(QMS)で検出した。

(GC-MS分析条件)

カラム: J & W SCIENTIFIC 122-5562 DB-5MS
60 m × 0.250 mm 0.25 μm

GC装置: GC: GC-2101, MS: QP2010+ Shimadzu
インジェクション: 250℃、インターフェース: 280℃
カラム流量(ml/min): 1.00, 注入サンプル量: 1μL
注入モード: SPLITLESS、スプリット比: 1:28.4
(カラムオープンプログラム)

55℃(2min), 20℃/min → 175℃, 2℃/min →
250℃, 10℃/min → 270℃(20min)

(検出器)

MS温度: 200℃、モード: EI(70eV)SIM測定
定量イオン: m/z=98、モニターイオン: m/z=112

2.4 ESRによるガンマ線誘導ラジカルの測定

試料は試料管(ラジカルリサーチ株式会社、RST-5M5STD)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、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。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。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。

ESR 分光器は X-band の EMX-plus (ブルッカー バイオスピニング製) 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 ; 2500 G、Sweep Width ; 5000 G、Frequency ; 9829 ~ 9834 MHz、Modulation frequency ; 100 kHz、Modulation width ; 10 G、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ーを用い補正して求めた。

3. 結 果

3.1 トリグリセリドのガンマ線照射による 2-アルキルシクロブタノン類の生成

表 1 に、食品に多く含まれる脂肪酸 (ミリスチン酸、パルミチン酸、ステアリン酸、パルミチン酸) からなる純品のトリグリセリドを、室温、大気下、

10 kGy 照射した時の 2-アルキルシクロブタノン類 (2-デシルシクロブタノン、2-ドデシルシクロブタノン、2-テトラデシルシクロブタノン、2-テトラデセニルシクロブタノン) の生成量を示した。

1 kGy の照射によって 1 mmole の前駆脂肪酸から 2-ACB への変換される分子数 (nmole) を生成効率として表した。不飽和脂肪酸のオレイン酸から生成する 2-tDeCB の量が、飽和脂肪酸由来の 2-ACBs の生成量に比べてやや大きかったが、脂質の種類によらずいずれも 10^{-6} オーダーであった。

3.2 大豆試料のガンマ線照射による 2-アルキルシクロブタノン類の生成

香辛料のモデル食品として、脂質含量の多い大豆種子を選択し、ガンマ線照射による 2-ACBs 類の生成について検討した。実験に用いた 2 種の大豆試料の脂肪酸組成は、パルミチン酸 ; 11 %、ステアリン酸 ; 2 ~ 3 %、オレイン酸 ; 19 ~ 21 %、リノール酸 52 ~ 56 %、リノレン酸 6 ~ 8 % であった。この脂肪酸組成より 2-dDCB、2-t-DCB および 2-tDeCB が、照射により生成して検出可能と判断し、これらの定量を試みた。

図 2 に、非照射および照射 (5, 10 kGy) 大豆試料の、GC-MS クロマトグラムを示す。非照射 (コントロール) 試料には、標準試料の 2-ACBs のリテンションタイム (R.T) の近傍にピークは観測されなかったが、照射試料では、2-dDCB、2-t-DCB および 2-tDeCB の R.T. の ± 0.02 min 以内に $m/z = 98$ のピークが観測された。これらのピークは、2-ACBs のベースイオンである $m/$

表 1 トリグリセリドのガンマ線照射による 2-ACBs の生成

| トリグリセリド | 2-ACBs | 略号 | 10kGy 照射の 生成量* (ng/mg lipid) | 生成効率 (nmole/mmole/kGy) |
|-------------|----------------------------|---------|------------------------------------|---------------------------|
| Trimyristin | -decylcyclobutanone | 2-DCB | 12.2 \pm 0.47 | 1.40 |
| Tripalmitin | -dodecylcyclobutanone | 2-dDCB | 14.7 \pm 1.6 | 1.65 |
| Tristearin | -tetradecylcyclobutanone | 2-tDCB | 14.8 \pm 0.37 | 1.65 |
| Triolein | -tetradecenylcyclobutanone | 2-tDeCB | 23.9 \pm 0.03 | 2.67 |

*n = 3 mean \pm SD

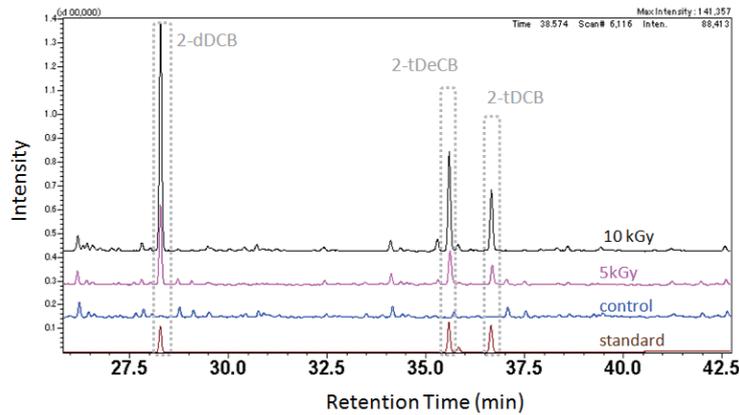


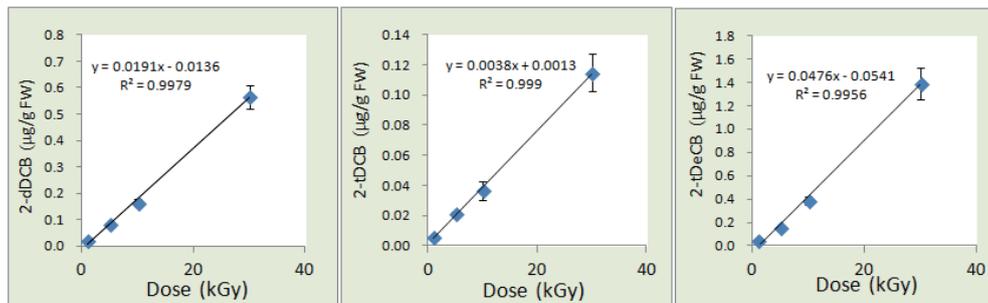
図2 γ 線照射大豆試料(フクユタカ)のGC-MSクロマトグラム($m/z=98$)

$z = 98$ と、モニターイオンである $m/z=112$ のピーク面積の比が、標準試料のそれとほぼ等しく ($\pm 20\%$ 以内)、また、スキャン測定の結果からも該当する2-ACBsのピークであると同定された。大豆からの2-ACBsの抽出、精製の精度を確認する目的で非照射の大豆試料に、2-dDB、2-tDCB、2-tDeCB を $0.025 \mu\text{g/g sample}$, $0.025 \mu\text{g/g sample}$, $0.125 \mu\text{g/g sample}$ 添加し、5回の繰り返し測定の回収率を求めたところ、それぞれ 77.7% 、 80.6% および 77.2% であり、相対

標準偏差はいずれも 10% 未満であった。従って、この分析方法での2-ACBsの定量を妥当なものと考え、線量の異なる試料 ($1, 5, 10, 30 \text{ kGy}$) の、2-ACBs量を検討した。

図3に線量と各2-ACBsの生成量の関係を示す。線量と各2-ACBの生成量には良好な直線性が観測された。この傾きの値は、大豆 1 g を 1 kGy 照射した際に生成するシクロブタノン量 ($\mu\text{g/g/kGy}$) に相当する。これをさらに前駆体となる脂肪酸量と関係付け、先駆脂肪酸 1 mmole

フクユタカ



エンレイ

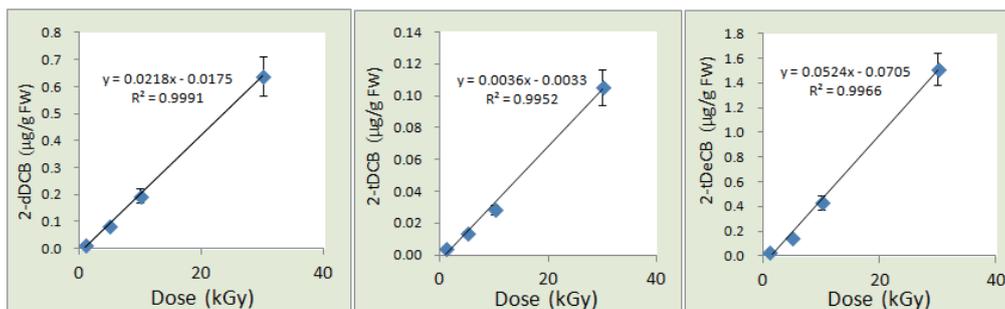


図3 γ 線照射大豆試料の2-ACBs生成量の線量依存性 ($n=4$)

2-dDCB: 2-ドデシルシクロブタノン
 2-tDCB: 2-テトラデシルシクロブタノン
 2-tDeCB: 2-テトラデセニルシクロブタノン

当たり1kGyの照射で生成するモル数で表すと、2-dDCB, 2-tDCB, および2-tDeCBの生成効率は、フクユタカで、1.5, 1.1, 2.2nmole、エンレイで1.7, 1.2, 2.4nmoleであった。これらの値は、純品のトリグリセリドを照射した時とほぼ同様であった。

3.3 ナツメグ試料のガンマ線照射による2-アルキルシクロブタノン類の生成

ガンマ線照射によって、5種類のロットの異なるナツメグ中に生成した2-DCB および2-dDCBの濃度(照射後1日)を表2に示す。ロットにより濃度差があるが、すべてのロットで、2-DCB, 2-dDCBの生成が確認できた。両化合物の生成量の違いは、もともと含有される脂肪酸含量の違いに起因すると考えられた。また、すべての非照射試料で検出下限を上回る2-ACBの生成は確認されなかった。この結果は、天然のナツメグ中にシ

表2 5kGy 照射ナツメグ試料中の2ACBs濃度

| 試料ロット | 2-DCB ($\mu\text{g/g}$ ナツメグ) | 2-dDCB ($\mu\text{g/g}$ ナツメグ) |
|------------|----------------------------------|-----------------------------------|
| A (スリランカ) | 1.52 \pm 0.18* | 0.21 \pm 0.02 |
| B (インドネシア) | 1.37 \pm 0.16 | 0.31 \pm 0.02 |
| C (インドネシア) | 2.14 \pm 0.17 | 0.33 \pm 0.01 |
| D (インドネシア) | 2.19 \pm 0.12 | 0.33 \pm 0.01 |
| E (インド) | 1.26 \pm 0.10 | 0.55 \pm 0.04 |

*mean \pm SD n=4

クロブタノンの存在を報告したVariyerらは³⁾、その濃度を2-DCB;2.67 $\mu\text{g/g}$, 2-dDCB;0.58 $\mu\text{g/g}$ としており、今回の未照射品の分析結果とは大きく異なっていた。

照射により生成した、2-DCBおよび2-dDCBの8~10 $^{\circ}\text{C}$ での貯蔵による濃度変化を追跡すると、これらの2-ACBsは貯蔵期間に応じて減少したが、30週後も検出が可能であった。従って、照射ナツメグの検知指標として、2-DCBおよび2-dDCBが有用と考えた。なお、本研究では、脂質含量の高い香辛料として、唐辛子の2-ACBsの検出も試みたが、夾雑ピークが除けず検出には成功しなかった。

本研究に用いたナツメグ試料(A)についての脂肪酸含量の分析結果から、先駆脂肪酸1mmoleより1kGyの照射で生成する2-ACBsの量を見積ると、2-DCBが1.3nmole、2-dDCBが3.8nmoleであった。

3.4 植物性試料における放射線照射時2-ACBsの生成量

表3に、既報と本研究における植物種子等を放射線照射した際に生成する2-ACBsの量(モル数)を、脂肪酸1mmole, 1kGyあたりとしてまとめた。

表3 植物性食品の照射による2-アルキルシクロブタノン類の生成効率

| 食品 | 照射条件 | nmole/mmole | | | | 脂肪酸 /kGy | 備考 |
|-------------|--------------------------|-------------|--------|--------|---------|--------------------------|-------|
| | | 2-DCB | 2-dDCB | 2-tDCB | 2-tDeCB | 文献 | |
| ヘーゼルナッツ | 6-8 $^{\circ}\text{C}$ | - | 2.44 | 2.74 | 1.8 | Horvatovich | |
| カカオ豆 | 好気 | - | 6.14 | 12.21 | 0.71 | 2002 ⁴⁾ | |
| アボカド | | - | 1.7 | - | 1.0 | | |
| マンゴ(種子) | | - | 1.1 | 1.0 | - | Ndiaye1999 ⁵⁾ | |
| ブラックメロン(種子) | | - | 2.2 | 1.5 | - | | |
| レッドメロン(種子) | 室温 | - | 4.6 | 4.2 | - | Sin 2006 ⁶⁾ | 推定値* |
| カボチャ(種子) | 好気 | - | 0.9 | 0.6 | - | | |
| ヒマワリ(種子) | | - | 3.7 | 3.2 | - | | |
| ゴマ | | - | 2.6 | 3.0 | 0.7 | Lee 2008 ⁷⁾ | 推定値** |
| カシューナッツ | 8 $^{\circ}\text{C}$ 大気 | - | 1.3 | 1.3 | 1.7 | Chen 2012a ⁸⁾ | |
| ナツメグ | 8 $^{\circ}\text{C}$ 大気 | 1.3 | 3.8 | - | - | Chen 2012b ⁹⁾ | |
| 大豆(フクユタカ) | 20 $^{\circ}\text{C}$ 大気 | - | 1.5 | 1.1 | 2.2 | | |
| 大豆(エンレイ) | 20 $^{\circ}\text{C}$ 大気 | - | 1.7 | 1.2 | 2.4 | | |

- :測定せず

* 10kGy照射の2-ACBs生成量($\mu\text{g/g}$ lipid), 脂質含量, 脂肪酸組成の報告値に、脂質の90%が脂肪酸との仮定で算出

** 4kGy照射の2-ACBs生成量($\mu\text{g/g}$ lipid), 脂質含量, 脂肪酸組成の報告値に、脂質の95%が脂肪酸との仮定で算出

3.5 大豆試料のガンマ線照射による ESR スペクトルの変化

図4に非照射大豆の皮と実のESRスペクトルを示した。いずれの部位においても、 $g = 2.00$ の有機フリーラジカル由来の信号 P_1 が観測された。その両側に、幅広の6本線信号が観測されたが、これはマンガン由来の信号と考えられ、皮よりも実で明瞭に観測された。さらに、図5に照射試料のESRスペクトルを示す。皮においては、 $g = 4.0$ 付近に、鉄由来と考えられる信号が観測された。ガンマ線照射したところ、大豆の実では有機フ

リーラジカル由来の P_1 信号の強度が増大したが、信号構成は変化しなかった。一方、大豆の皮では、5kGy以上の線量で、有機フリーラジカル由来の信号の両サイドに、照射セルロース由来の新たな信号を確認したが、セルロースの含有量の少ない子実ではサイドピークは観測されなかった。

3.6 照射および粉碎によって唐辛子に生成するラジカル¹⁰⁾

図6に粉末唐辛子のガンマ線照射10日後のESRスペクトルを示す。広域の磁場掃引を行った左側のスペクトルでは、 g 値が約2.00に強く鋭い

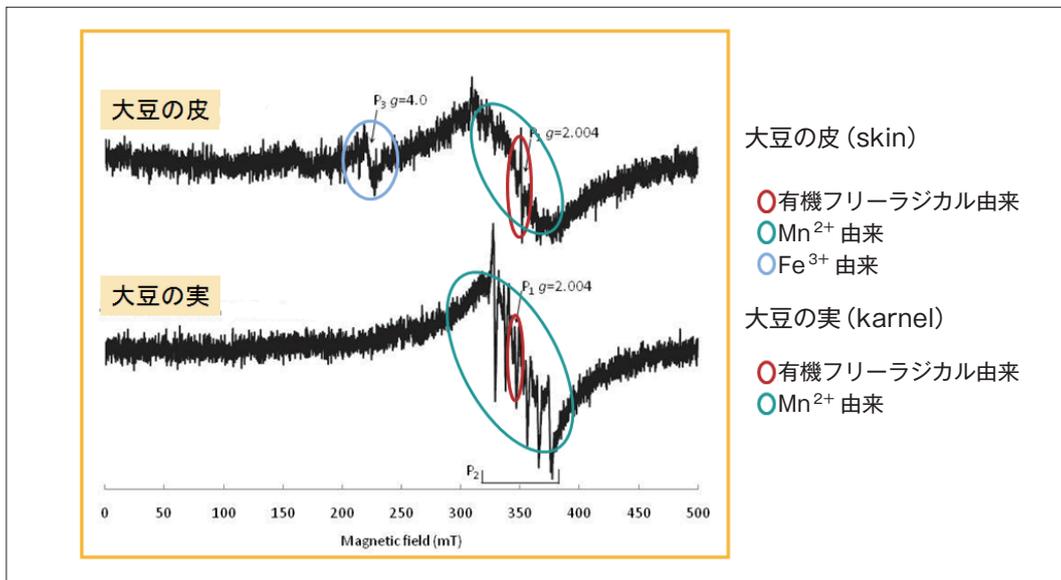


図4 非照射大豆の皮および実のESRスペクトル

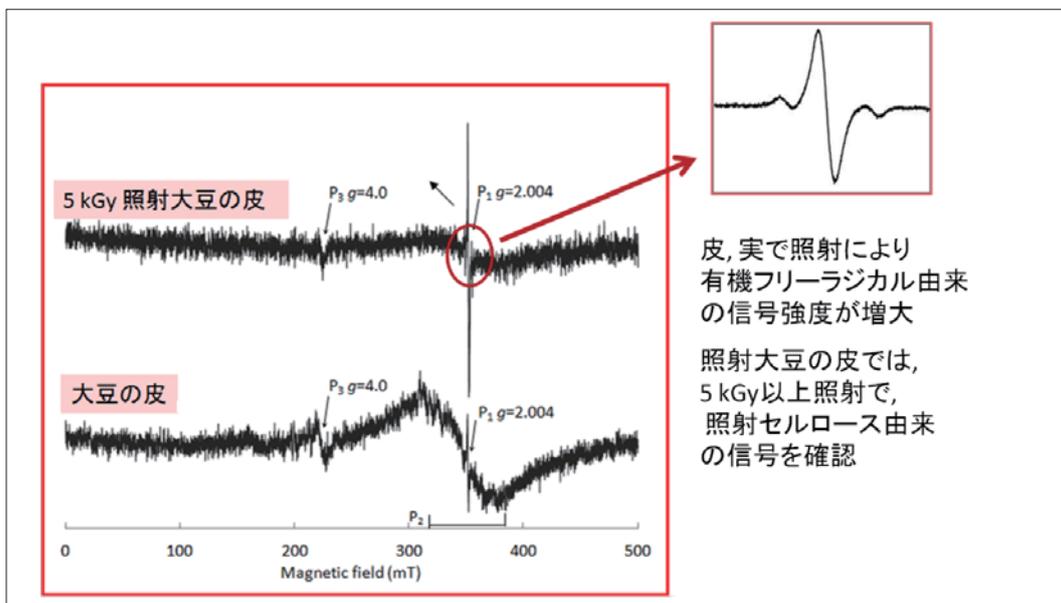


図5 照射により大豆種皮に生成するラジカル

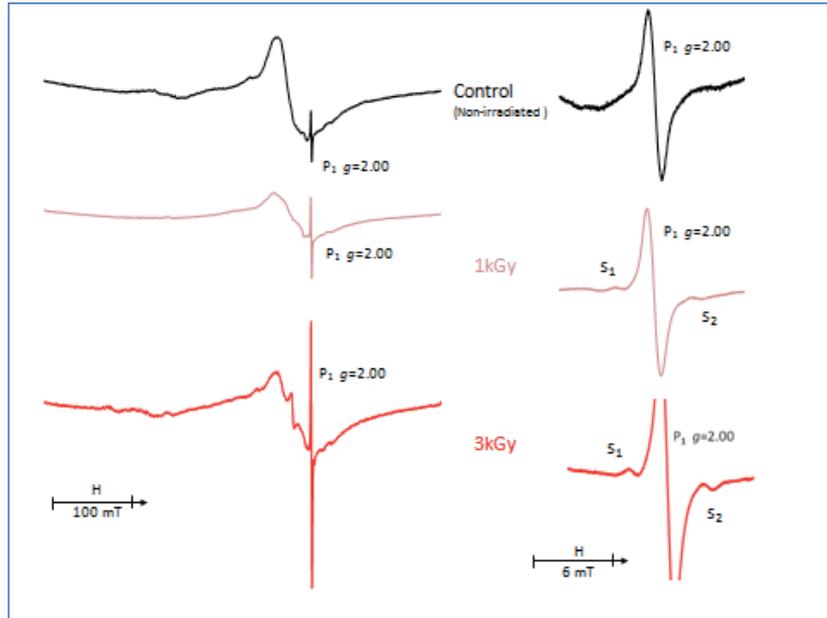


図6 粉末唐辛子のガンマ線照射によるスペクトルの変化

1本線 P_1 信号が、その近傍に Mn イオン由来と考えられる6本線信号、 g 値が約2.2の銅イオンに由来すると考えられるブロードな信号、 g 値が約4.0の鉄イオン由来と推察される信号を観測した。これらのスペクトルは同一スケールで描かれており、有機フリーラジカル由来と考えられる P_1 信号の強度は、ガンマ線照射により増大した。図6の右側は P_1 信号の極近傍の拡大スペクトルで、照射試料においては、 P_1 信号の両サイドに S_1 及び S_2 のサイドピークが観測された。

このサイドピークは、1kGyから30kGyまでのすべての照射試料で観測され、その強度は線量に依存して大きくなった。表4に各線量のスペクトルで観測したサイドピークの g 値を示す。

表4 ガンマ線照射した唐辛子の S_1 および S_2 ピークの g 値

| 線量 (kGy) | 1 | 5 | 10 | 30 |
|----------|--------|--------|--------|--------|
| S_1 | 2.0198 | 2.0180 | 2.0208 | 2.0208 |
| S_2 | 1.9810 | 1.9815 | 1.9815 | 1.9811 |

S_1 ピークは $g=2.02$ 、 S_2 ピークは $g=1.98$ 付近となり、これは、多くの植物性食品の放射線照射において報告されているセルロース由来のラジカルと考えられた¹¹⁾。この特長的なラジカルを指標として1kGy照射の試料であっても、その履歴

の検知が可能と判断された。

照射により強度が変わる P_1 信号について、より詳細解析を行うため、マイクロ波強度を変化させてその信号の飽和挙動を観測した。図7に非照射及び照射唐辛子試料の P_1 信号の逐次飽和挙動を示す。

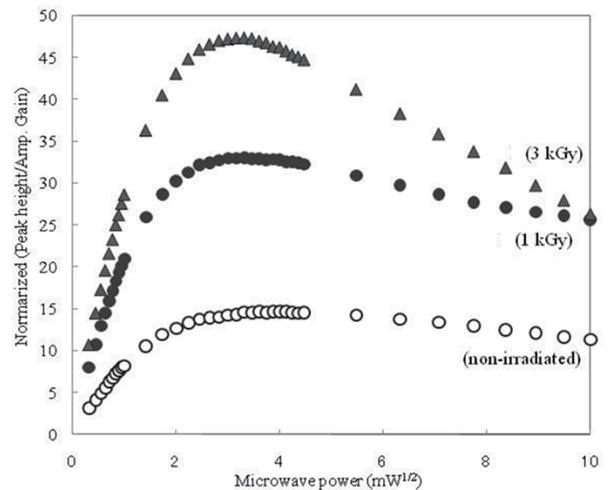


図7 ガンマ線照射処理した粉末唐辛子試料の P_1 信号強度のマイクロ波強度依存性

非照射と照射 (1kGy、3kGy) 試料のいずれも、 P_1 信号の強度はマイクロ波強度とともに増大し、あるマイクロ波強度以降は信号強度が減少している。この強度が飽和する時の 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、また、閾値を与えるマイクロ波強度を評価することで、 P_1 信号に寄与するラジカル種について考察することができる。照射量が増すに従い観測される P_1 信号の強度は増大した。また、閾値を与えるマイクロ波強度は、照射試料が 1kGy および 3kGy とともに 11mW であるのに対し、非照射試料では 16mW と差異が認められ、照射で誘導されて P_1 信号に寄与する有機フリーラジカルは、照射前に観測されるものと質的に異なる可能性が示唆された。

表 5 に Lund ら¹²⁾ の解析ソフトを用いて、算出した P_1 ピークの緩和時間 (T_1 、 T_2) を示した。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。本実験では非照射試料に対して照射試料では T_1 は照射量が増すに従い増大し、 T_2 は減少した。 T_1 、 T_2 の変化から照射により多種多様なラジカルが生成したことを示された。 T_1 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。照射により T_1 が増大したという事は、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。 T_2 は不対電子のスピン間の相互作用を反映している。照射量に応じて T_2 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。

表 5 照射唐辛子の P_1 ピークの緩和時間

| | T_1 (ms) | T_2 (ns) |
|------|------------|------------|
| 非照射 | 3 | 120 |
| 1kGy | 4 | 100 |
| 3kGy | 7 | 70 |

図 8 に、上述の唐辛子とは来歴や部位の異なる非照射唐辛子試料の ESR スペクトルを示した。それぞれのスペクトルに観測されるピークは、前述の非照射試料と同様の構成で、 $g=2.00$ の有機フリーラジカル (P_1 信号) の他、Mn イオン、鉄、銅イオンに由来するラジカルと考えられるピークが観測され、照射試料に観測されるサイドピークは検出されなかった。 P_1 信号はいずれの試料にも認められたが、その強度は種子と種皮、粉末試料の間で大きく異なり、唐辛子の部位による成分の違いや、粉末化する際の機械的なストレスと酸素への暴露などが、この有機ラジカルの生成に関与していることが示唆された。

そこで、加熱(殺菌)、粉末化およびガンマ線照射など異なる前処理をした唐辛子の各試料の飽和挙動から求めた P_1 信号強度の最高値を算出し、結果を図 9 に示した。有機ラジカル由来の P_1 信

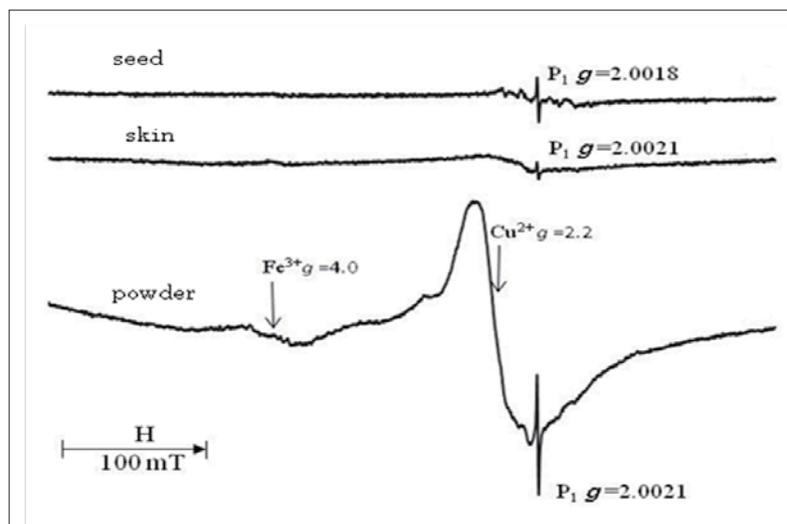


図 8 加熱殺菌(非照射)唐辛子の ESR スペクトル
上から種子、皮、粉末試料

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示された。この強度の違いは、種に含有される油脂が皮に比べて多いことに由来すると考えた。加熱処理された市販唐辛子の P₁ 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大きいと考えた。一方、粉末化処理された市販唐辛子の P₁ 信号強度は 14 ~ 18 であった。処理前の値は 0 ~ 8 であり、両者を比較すると非常に大きな違いが認められた。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。そのため、唐辛子の粉末化処理では、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。ガンマ線照射した試料では、線量に応じた P₁ 信号強度の増加が観測された。ただし、P₁ 信号の生成には、粉碎などの加工処理の寄与も大きいいため、非照射のコントロール試料との比較によらず、P₁ 信号強度に基準(閾値)を設けて、照射の有無を検知することは困難である。よって、照射検知の目的では、サイドピークの有無を判断の基準とすることが望ましいと結論された。

4. まとめ

超臨界流体抽出 (SFE) とスルフォキシド固相抽出カラムを用いた効率的な試料精製をおこなうことで、大豆やナツメグからの 2-ACBs の検出が可能になった。ガンマ線照射による 2-ACBSs の生成量は、線量と先駆体となる脂肪酸含量に依存し、これら植物性食品での 2-ACBs は、前駆脂肪酸 1 ミリモル 1 kGy の照射で数ナノモルが生成し、純粋なトリグリセリドと同程度の、 $10^{-6} \sim 10^{-5}$ のオーダーの生成効率であった。また、ナツメグ中の 2-dDCB および 2-DCB は、照射後の貯蔵中に漸減したが、30 週後も検出することができた。

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。この試料に殺菌線量のガンマ線(数 kGy のレベル)を照射すると、他の植物試料の場合と同様に吸収線量に依存してラジカル量の増加による信号強度の増大が認められた。さらに、粉末化処理によっても、*g* 値が約 2.0 の 1 本線の ESR 信号の増大が観測され、この原因は、粉末化による酸素暴露によるものと考えられた。唐辛子の 1 kGy 以上の照射で、セルロース由来とされる、有機フリー

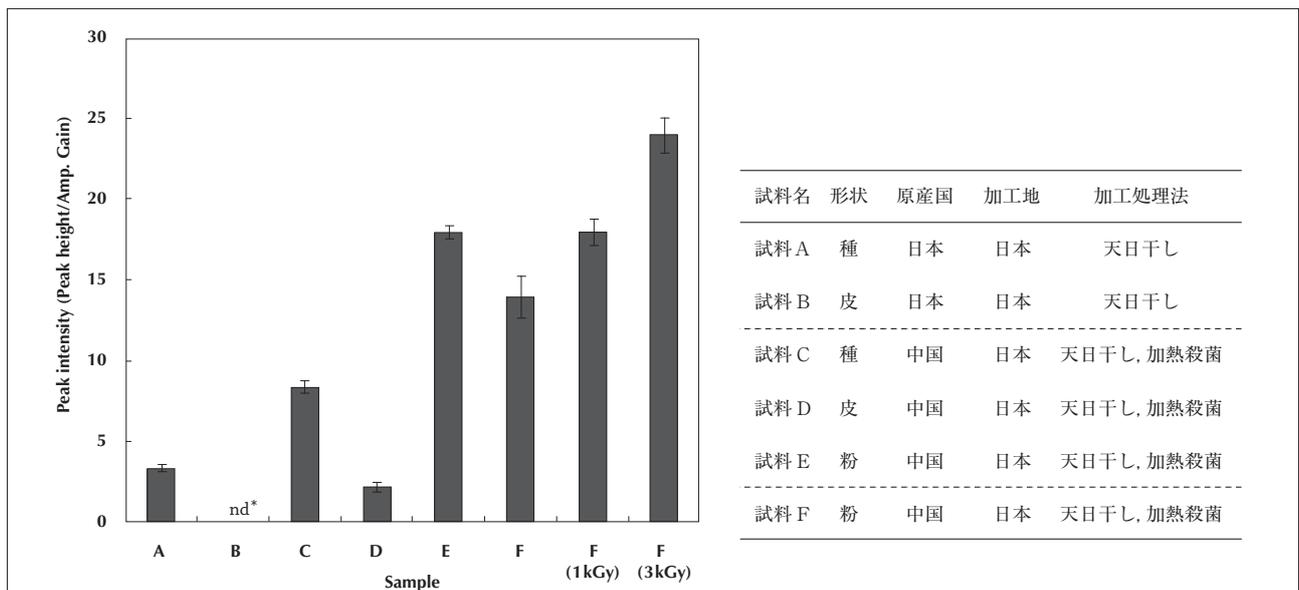


図 9 異なる加工処理をした唐辛子の P₁ 信号強度(閾値)

*nd: P₁ 信号不検出。

ラジカルの両側のサイド信号が観測されたが、これは加熱や粉碎処理では観測されなかった。

以上のことから、ナツメグに対して2-ACBsの検出、唐辛子に対してESRによるサイドピークの検出を指標に、殺菌線量の放射線照射の履歴の検知が可能と結論した。

謝 辞

本研究を実施するに当たり、多大な研究助成を賜りました(公財)浦上食品・食文化振興財団並びに関係者の各位に心より御礼を申し上げます。

文 献

- 1) Kume, T., Furuta, M., Todoriki, S., Uenoyama, N., Kobayashi, Y., Status of Food Irradiation in the World, *Radiat. Phys. Chem.*, 78, 222-226 (2009)
- 2) 食安発第0706001号(最終改正平成24年9月10日)「放射線照射された食品の検知法について」
- 3) Variyar PS, Chatterjee S, Sajilata MG, Singhal RS, Sharma A, Natural existence of 2-alkylcyclobutanones. *J Agric Food Chem.* Dec 24;56(24):11817-23 (2008).
- 4) Marchioni, E *et al.* Determination of 2-alkylcyclobutanones in irradiated Food. In “Etude toxicologique transfrontalière destinée à évaluer le risque encouru lors de la consommation d'aliments gras ionizes. (2002).” p.46.
- 5) Ndiaye, B.*et.al.* 2-alkylcyclobutanones as markers for irradiated foodstuffs. II. The CEN (European Committee for Standardization) method: field of application and limit of utilization. *Radiat. Phys. Chem.*. 55(4), 437-445 (1999).
- 6) Sin DW, Wong YC, Yao WY., Analysis of gamma-irradiated melon, pumpkin, and sunflower seeds by electron paramagnetic resonance spectroscopy and gas chromatography-mass spectrometry. *J. Agric. Food Chem.*. 54(19), 7159-7166 (2006).
- 7) Lee, J.E. *et al.* Characteristic hydrocarbons and 2-alkylcyclobutanones for detecting gamma -irradiated sesame seeds after steaming, roasting, and oil extraction. *J. Agric. Food Chem.*. 56(21), 10391-10395 (2008).
- 8) Chen, S., Tsutsumi, T., Takatsuki, S., Matsuda, R., Kameya, H., Saito, K., Furuta, M., Todoriki, S., Identification of 2-Alkylcyclobutanones in cashew nut (*Anacardium occidentale*), 食品照射47巻 pp.19-28 (2012).
- 9) Chen, S., Tsutsumi, T., Takatsuki, S., Matsuda, R., Kameya, H., Saito, K., Furuta, M., Nakajima, M., Todoriki, S., Identification of 2-Alkylcyclobutanones in Nutmeg (*Myristica fragrans*) *Food Chemistry* 134 (1) 359-365 (2012).
- 10) 亀谷宏美, 鶴飼光子 国内の市販唐辛子と放射線処理唐辛子のESRによるラジカル解析, *Radioisotopes*, 60(4), 173-180 (2011).
- 11) Kameya, H., Ukai, M., Shimoyama, Y., An ESR study of radiation induced radicals in glucose polymers, *Radit. Phys. Chem.*, 84, 232-234 (2013).
- 12) Lund, A., Relaxation time determination from continuous-wave microwave saturation of EPR spectra, *Rad. Res.* 172, 753-760 (2009).

Chemical and ESR analyses for the detection of processing history of spices

Setsuko Todoriki

National Food Research Institute, NARO

Irradiation of fat-containing food generates a family of molecules, namely 2-alkylcyclobutanones (2-ACBs). These compounds contain the same number of carbons (n) as their fatty acid precursors, and an alkyl chain of ($n-4$) carbons, branched at ring position 2. These molecules have been found exclusively in irradiated fat-containing food, and are thus considered as unique markers for food irradiation.

In the present study, 2-ACBs were extracted from 2 varieties of soybean (*Glycine max*) and nutmeg (*Myristica fragrans*) using supercritical fluid extraction (SFE) and purified with solid-phase extraction (SPE) column. 2-dodecylcyclobutanone (2-dDCB), 2-tetradecylcyclobutanone (2-tDCB) and 2-tetradecenylcyclobutanone (2-tDeCB) were detected in irradiated soybeans at 1 kGy or greater, both 2-decylcyclobutanone (2-DCB) and 2-dDCB were successfully detected and identified in the irradiated nutmeg at 5 kGy or greater. However, neither was present in the non-irradiated samples. Moreover, although the concentrations of 2-DCB and 2-dDCB in irradiated were significantly reduced, a positive identification was obtained in irradiated nutmeg even after 30 weeks of storage. Radiation production yields of these 2-ACBs were 1.1 – 3.8 nmole/ mmole precursor fatty acids, same order as model lipid triglycerides.

ESR analysis of gamma ray irradiated and being treated with different processing red pepper was studied. All the red peppers were commercial available except 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. We concluded that the radical formation of the red pepper is mainly depended on the powdering treatment and irradiation. Two peaks $g = 1.98$ and 2.02 at both sides of the singlet peak were observed in irradiated red pepper at 1 kGy or greater, which are specific for radiation treatment and useful for the detection.