

論文

グルコサミンを含む錠剤の照射履歴検知

関口 正之^{*1)} 中川 清子^{*1)} 柚木 俊二^{*1)} 大藪 淑美¹⁾

Detection of gamma ray irradiated glucosamine-based tablets

Masayuki Sekiguchi^{*1)}, Seiko Nakagawa^{*1)}, Shunji Yunoki^{*1)}, Yoshimi Ohyabu^{*1)}

The main objective of this study was to create a database previously unexamined on food products and associated raw materials in order to identify their irradiation status. Photostimulated luminescence (PSL), thermoluminescence (TL), and electron spin resonance spectroscopy (ESR) were applied to detect whether glucosamine hydrochloride powders and tablets were irradiated or not. The glucosamine powders (Special grade chemical and food additive) and 3 types of tablets of different strengths manufactured with varying composition were irradiated with ¹³⁷Cs gamma rays at 1kGy. The glucosamine powders and a type of tablet had photon counts less than the lower threshold value (700 counts /min) in PSL measurements and also had no significant TL glow curve intensities for irradiation samples, so those had insufficient mineral debris. ESR signal of radiation-induced glucosamine radical was change from ESR triplet spectrum to a quadplex spectrum with storage time and ESR spectra of the tablets were somewhat affected by other components. However, those were stable for about 6 months. The typical cellulosic radicals of the cellulose powders isolated from the tablets were rapidly decreased after irradiation, but were possible to detect in two of three samples after about three months.

キーワード：光刺激ルミネッセンス，熱ルミネッセンス，電子スピン共鳴，グルコサミン，セルロース，照射食品

Keywords : Photostimulated luminescence, Thermoluminescence, Electron spin resonance, Glucosamine, Cellulose, Irradiated food

1. はじめに

国内では平成24年9月10日の食安発0910第2号にてESR法が放射線照射食品の検知法として通知された⁽¹⁾。この通知が対象とするのは放射線照射によりラジカルを生成する食品及び結晶性の糖を含む食品とされている。経口摂取による，変形性関節症，関節リウマチ等に対する有効性について報告事例の多いグルコサミンは，近年注目を受けている。

グルコサミンは動物の皮膚や軟骨，甲骨類（エビ・カニ）の殻に含まれるキチン，またはトウモロコシ由来の原料を微生物で培養して得たキチンから生産される。天然由来のグルコサミンは殺菌のため放射線処理をされる事が考えられるがその検知方法については報告がない。グルコサミン（塩酸塩・硫酸塩）は水溶性であり錠物質が少なく，熱ルミネッセンス（TL）法や光刺激ルミネッセンス（PSL）法での検知が難しいと考えられる。韓国のグループはセサミシード⁽²⁾や薬用ハーブ⁽³⁾について，TL法とPSL法に加えて電子スピン共鳴（ESR）法を併用した照射履歴の判定についての比較研究を実施しており，本研究ではグルコサミン及びそれを含有する健康食品（錠剤）についてもESR法を併用した検知試験が可能かどうかを調べた。

2. 方法

標準試料として試薬（WAKO製）及び食品添加物グレードのグルコサミン塩酸塩粉末，またグルコサミン塩酸塩を

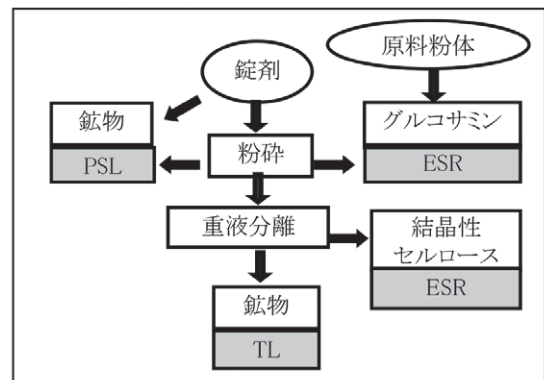


図1. 錠剤とグルコサミン原料粉末の分析の概要

表1. 試験に用いた錠剤の種類とグルコサミン含量

成分	A社	B社	C社
グルコサミン	250mg/錠	150mg/錠	167mg/錠
(結晶性)セルロース	含有	含有	含有
酸化ケイ素	含有	—	—
グルコサミン含有率/錠	56%	45%	67%
TL, PSL 試験の試料量	15 錠/5g	12 錠/5.3g	20 錠/5g

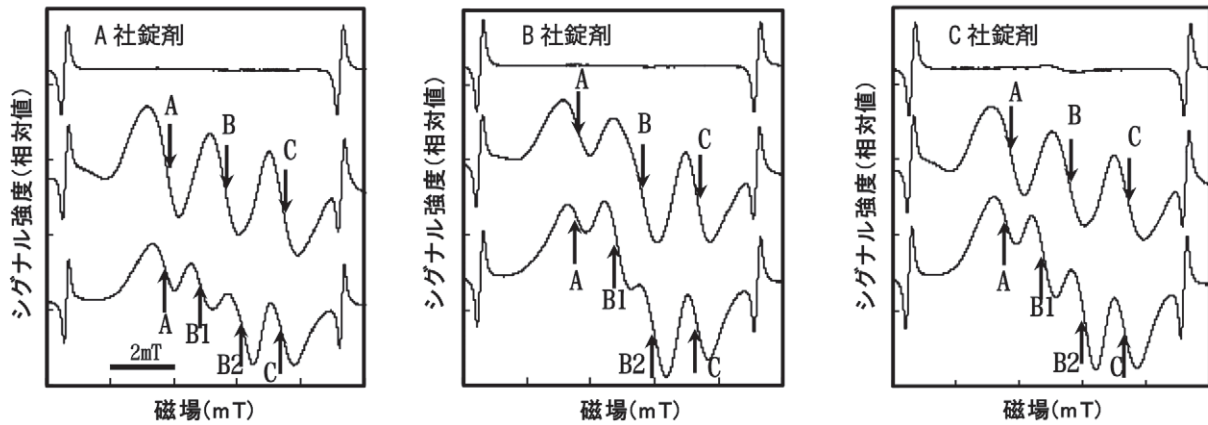


図2. 錠剤のESRスペクトル(実線上:未照射, 実線中央:照射3日後, 実線下:照射120日後)
注:下矢印:照射3日後のシグナル, 上矢印:照射120日後のシグナルの位置

む錠剤3種類を実験試料とした(表1)。測定の詳細は図1に示すフローでESR⁽⁴⁾⁽⁵⁾法及びTL法⁽⁶⁾, PSL法⁽⁷⁾を用いて行い結果を比較した。グルコサミン塩酸塩の場合は水溶性であり試薬, 食品添加物では錠剤物質が含まれずTL法, PSL法で有意な結果が得られなかったためESR法のみ比較に用いた。ESR測定は, グルコサミン塩酸塩の場合は試料量80±1 mg, 錠剤中の結晶性セルロースの場合は試料量150±2 mgとした。錠剤は約5 gをメノー乳鉢で粉碎しTL法及びPSL法の試料とした。錠剤に含まれるセルロースは, TL法において錠剤物質を分離する際の重液分離処理(比重2.0)で上層に浮上したものを採取し純水で5回洗浄, アセトン脱水2回行い風乾後, 一昼夜凍結乾燥してESR測定試料とした。沈降した錠剤物質は所定の回収処理の後TL測定を行った。

ESR測定は日本電子FA-200装置を用い, グルコサミンに対しては中心磁場360 mT, 掃引幅15 mT, 変調幅0.6 mT, 時定数0.03秒, 出力1.01 mW, 掃引時間1分, ゲイン30で行った。分離した結晶性セルロースについては, 中心磁場360 mT, 掃引幅5 mT, 変調幅0.4 mT, 時定数0.1秒, 出力0.796 mW, 掃引時間1分(積算3回), ゲイン50~200で行った。なお, シグナル強度はMn²⁺マーカーと試料シグナルの波高比として求めた。

TL測定はHarshaw QS3500型を用い昇温速度6°C/min, 50~400°Cの温度範囲で測定し150~250°Cの温度範囲で発光量の積算を行った。Glow1測定後の校正照射はポニー工業製¹³⁷Csガンマ線照射装置(約350 Gy/h)で1 kGyを照射した後にGlow2を測定し, TL比(Glow1/Glow2)を求めた⁽²⁾。TL法では, Glow1の発光ピークが150~250°Cの範囲にあり, TL比が0.1より大きい場合に“照射”と判定する。しかし, TL比が0.1以下でもGlow1の発光ピークが150~250°Cの範囲にある場合は, 照射品の混合又は汚染が疑われる。

PSL測定は, 日本放射線エンジニアリング株式会社ES-7340A型を用いた。錠剤(約5g)をそのまま測定し, 90秒間の積算発光量が700 counts未満を“未照射”, 700から5000 countsの間を“照射の疑い”, 5000 countsを超える場合を“照射”として判定を行い, 発光曲線の特徴と検出の可能性を検討した。

3. 結果と考察

3.1 グルコサミン塩酸塩及び錠剤のESR測定 グルコサミン塩酸塩の試薬及び添加物, 各錠剤についてESR測定を行った結果, いずれの試料のESRスペクトルでも照射直

表2. 照射直後の試薬グレード及び錠剤グルコサミンのESRシグナルのG値

シグナル	グルコサミン	A社錠剤	B社錠剤	C社錠剤
A	2.0143 ±0.0001	2.0140 ±0.0003	2.0141 ±0.0001	2.0141 ±0.0001
B	2.0021 ±0.0002	2.0019 ±0.0011	2.0015 ±0.0016	2.0026 ±0.0001
C	1.9912 ±0.0006	1.9918 ±0.0002	1.9917 ±0.0003	1.9916 ±0.0002

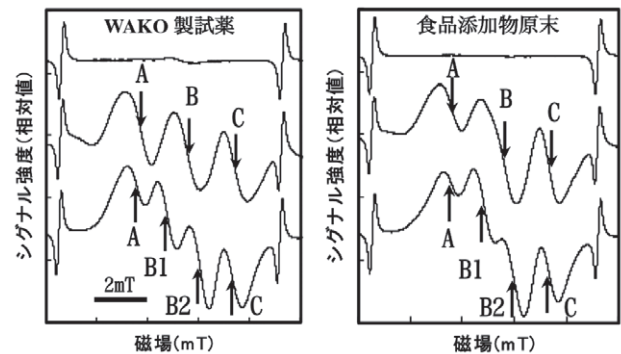


図3. 試薬WAKO及び食品添加物原末のESRスペクトル
(実線上:未照射, 実線中央:3day, 実線下:170及び190day)

表3. 照射数週間以上経過後の試薬グレード及び錠剤グルコサミンのESRシグナルのG値

シグナル	グルコサミン	A社錠剤	B社錠剤	C社錠剤
A	2.0147 ±0.0004	2.0141 ±0.0002	2.0143 ±0.0002	2.0144 ±0.0001
B1	2.0073 ±0.0002	2.0071 ±0.0001	2.0069 ±0.0001	2.0067 ±0.0002
B2	1.9996 ±0.0003	1.9995 ±0.0003	1.9995 ±0.0002	1.9999 ±0.0002
C	1.9918 ±0.0001	1.9920 ±0.0001	1.9919 ±0.0001	1.9919 ±0.0001

後では3つのシグナルが観測されたが、照射後次第に4つのシグナルへと変化した(図2, 図3)。ラジカルを持つ化合物は、分子の形や方向によって固有のg値を持つため、g値は分子構造を推定する指標である。照射直後の3本のシグナルのg値を表2に、数週間以上経過し4本に変化したシグナルのg値を表3に示す。時間経過後もAとCのシグナルにほとんど変化はなく、BのシグナルがB1とB2へ変化した。分子の構造の変化を示唆するが本研究では検討していない。グルコサミン塩酸を主剤とする錠剤では照射に特異的なシグナルを確認する事で照射の判定が可能であり、この様なシグナルの変化は照射後の経過時間を推定する上で有益と考えられる。一方、照射後のスペクトルの変化に伴い全体のシグナル強度の増加が認められ、スペクトルの変化が落ち着いた2週間~40日以降ではシグナル強度はほぼ一定の値を示した(図4)。また、同一重量の試薬のラジカル強度と比較して錠剤のラジカル強度はグルコサミン含有量に比例した強度を示さず、これは他の有機成分(コンドロイチン硫酸等)の影響が考えられる。

3. 2 錠剤セルロースのESR測定 錠剤セルロースの照射によるラジカルを調べた結果、TL法による水洗、重液分離、アセトン脱水処理にもかかわらず、照射試料ではセルロースに特異的なシグナルが観測され、照射錠剤の検知指標となる事がわかった。マンガンマーカ無の条件で測定した場合、照射直後よりセルロースに特異的な2つのサテライトシグナルが観測された。EN1787(2000)ではシグナル間の磁場間隔 6.05 ± 0.05 mTである事が判定基準である(図5)。錠剤のサテライトシグナル間の磁場間隔は、それぞれA社錠剤 6.09 ± 0.01 mT, B社錠剤 6.02 ± 0.03 mT, C社錠剤 6.08 ± 0.02 mTであった。また、平成21年度厚生労働科学研究報告書「放射線照射食品の検知技術に関する研究」⁽⁶⁾では、カーボンラジカルピーク(Pca)から低磁場側 $2.8 \sim 3.4$ mTにセルロースラジカルピーク(Pce)がある事をセルロース照射品の判定基準としている(図5)。1 kGyを照射した錠剤のセルロースラジカルは、錠剤Aのセルロースシグナルは1ヵ月以内に急速に消失し判別不能となった。錠剤B及びCは、照射3ヵ月後でもサブシグナルは確認できた。錠剤のセルロースにより非常に異なった減衰挙動を示す事がわかった(図6)。錠剤のセルロースラジカルのシグナル(Pce)とPca

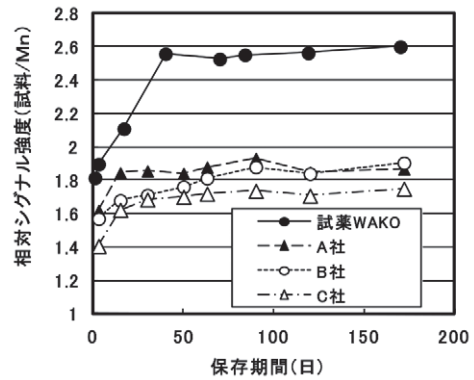


図4. 試薬及び錠剤グルコサミンのシグナル強度の経時変化

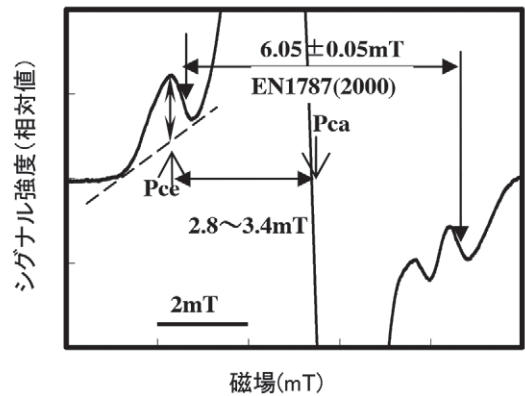


図5. セルロースラジカルの同定と判定基準

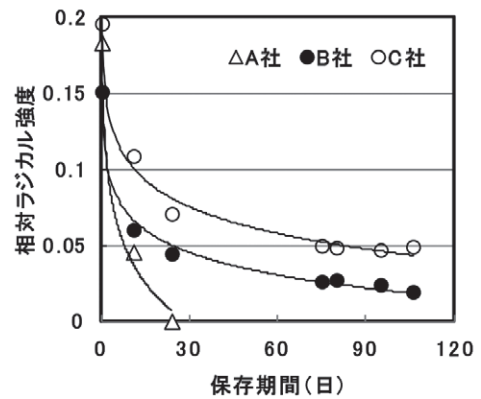


図6. セルロースラジカルの照射後の経時変化(1kGy照射)

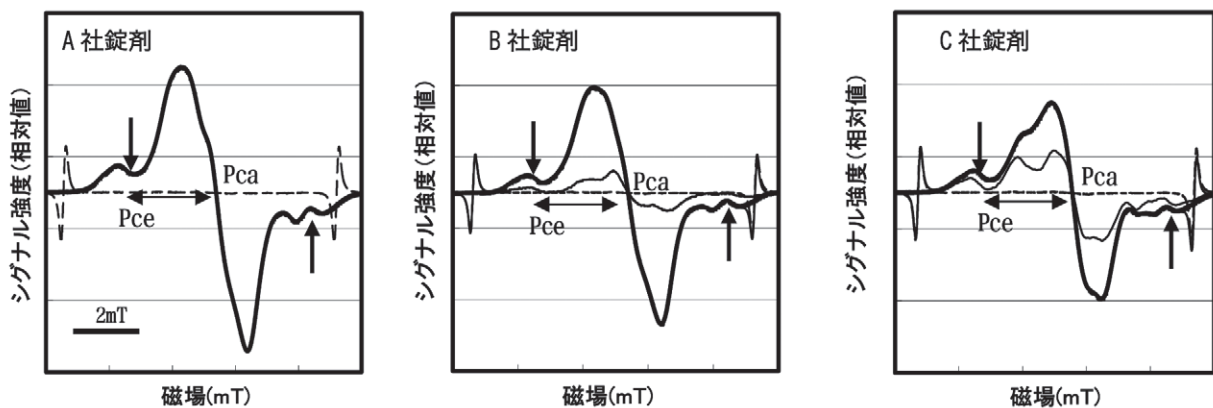


図7. 錠剤から比重液分離したセルロースの照射ラジカル(破線: 未照射, 太実線: 照射1日後, 細実線: 照射80日後)

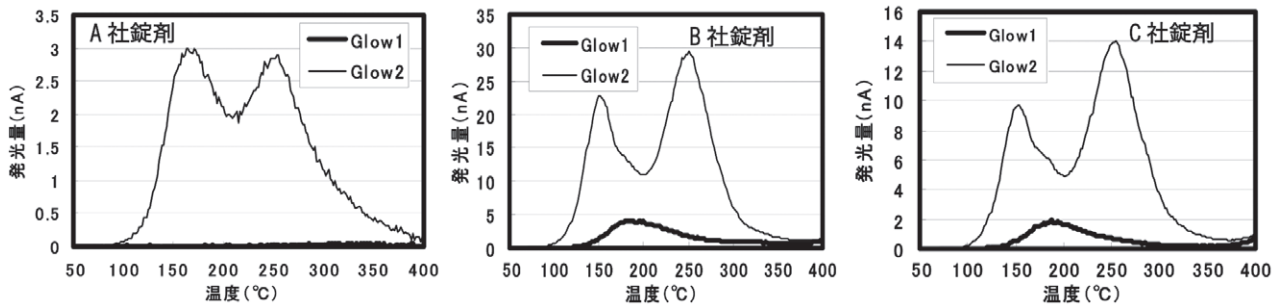


図8. 照射 (1kGy) した錠剤の代表的TL発光曲線(Glow1及びGlow2) : 照射後80日後

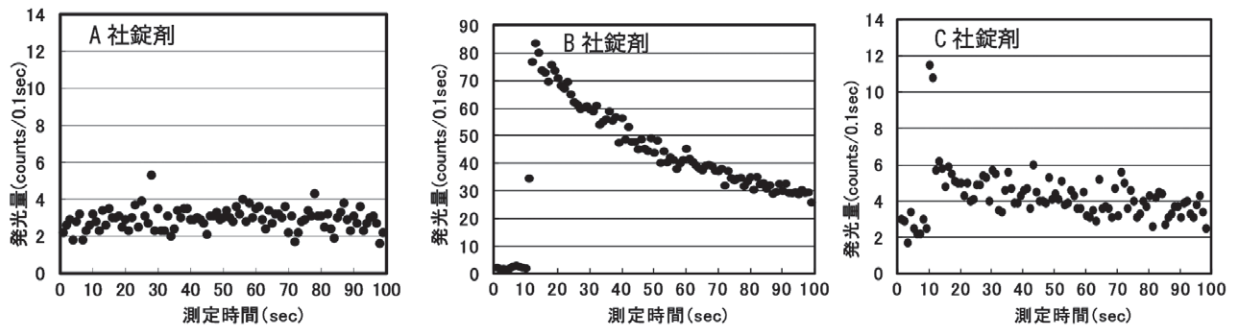


図9. 照射 (1kGy) した錠剤の代表的PSL発光曲線 : 照射後80日後

の磁場間隔は、それぞれA社錠剤 3.17 ± 0.08 mT, B社錠剤 3.18 ± 0.05 mT, C社錠剤 3.17 ± 0.15 mTとなり照射品の条件を満たしていた(図7)。

3. 3 錠剤のTL及びPSL測定 1 kGyを照射した錠剤についてTL及びPSL測定を行った結果を図8及び図9に示す。TL測定のため錠剤約5 gから分離できた鉍物質はいずれも0.05 mg以下と微量であった。Glow2のTL発光曲線はいずれの錠剤も2つの極大を持ち類似した特徴ある形状を示したが、積算発光量の違いは大きかった。また、150~250℃範囲でのTL発光比 ($n=3$) は、それぞれ 0.005 ± 0.004 , 0.526 ± 0.38 , 0.568 ± 0.39 となり、錠剤BとCについてはGlow1の発光極大が150~250℃の範囲にあり、またTL比が0.1を超えるため照射を正しく判定できた。しかし、A社錠剤は鉍物質が非常に少なく、また照射後の発光量の減衰も大きい可能性がありGlow1では照射に特異的な発光ピークも確認できず、TL比も0.1より小さかった。次に、錠剤(約5g)を破砕せずそのままPSL測定(スクリーニング測定)をした結果、A社錠剤の積算発光量は 163 ± 323 counts/90 sec, B社錠剤は 26272 ± 1417 counts/90 sec, C社錠剤 3683 ± 3077 counts/90 secとなり、それぞれNegative, Positive, Intermediateと判断は分かれた。しかし、JRECのPSL測定装置では、励起光照射直後の“発光の増加”及び“励起後からの発光の減衰”という判定モードを持ち、その規準に基づき判定を行った場合、錠剤CもPositiveとなった。特にC社錠剤は、励起光照射直後のみ強い発光を示すため積算発光量で判定した場合に、照射を適切に判定できない可能性があった。

4. まとめ

食品添加物及び試薬グレードのグルコサミン塩酸粉末

は、鉍物質が少ないのでTL法及びPSL法で照射履歴を検知する事は難しいが、ESR法は錠剤への適用も含め有効と考えられる。また、一部の錠剤ではTL, PSL法が適用可能であり、セルロースのラジカルも一部については一定期間安定して検知する事が可能であった。

(平成25年7月22日受付, 平成25年8月14日再受付)

文 献

- (1)食安発0910第2号 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」
- (2)Lee, T. Kausar, B. Kim, and J. Kwon : “Detection of γ -irradiated Sesame Seeds before and after Roasting by Analyzing Photostimulated Luminescence, Thermoluminescence, and Electron Spin Resonance”, J.Agric. Food. Chem., 56, No.16, pp.7185-7188 (2008)
- (3)S. Pal, B. K. Kim, W. Y. Kim, M. J. Kim, H. A. Ki, K-H. Lee, W. S. Kang, I. H. Kang, S. J. Kang, J. M. Song : “Identification of γ -irradiated medicinal herbs using pulsed photostimulated luminescence, thermoluminescence, and electron spin resonance spectroscopy.”, Anal. Bioanal. Chem, 394, pp.1931-1945 (2009)
- (4)EN1787 : 「Foodstuffs-Detection of Irradiated Food Containing Cellulose by ESR Spectroscopy」, European Committee of Standardization (CEN). Brussels, Belgium (2001)
- (5)EN13708 : 「Foodstuffs-Detection of Irradiated Food Containing crystalline sugar by ESR Spectroscopy」, European Committee of Standardization (CEN). Brussels, Belgium (2002)
- (6)EN1788 : 「Foodstuffs-Thermoluminescence Detection of Irradiated Food from Which Silicate Minerals Can Be Isolated,」, European Committee of Standardization (CEN). Brussels, Belgium (2001)
- (7)EN13751 : 「Foodstuffs-detection of Irradiated Food Using Photostimulated Luminescence,」, European Committee of Standardization (CEN). Brussels, Belgium (2009)
- (8)宮原 誠, 増水章季, 堤 智昭, 松田りえ子, 平成21年度厚生労働科学研究報告書 「放射線照射食品のESR検知試験に関する研究-資料3 セルロースを含む食品」(平成22年5月)