

Berlin).

und Veterinarmedizin, Berlin).

33) G. A. Schreiber, U. Wagner, N. Helle, J. Ammon, H.-V. Buchholtz, H. Delincee, S. Estendorfer, H.-V. von Grabowski, W. Kruspe, K. Mainczyk, H. Munz, C. Schleich, N. Vreden, C. Wiezorek, C. Wiezorek and K. W. Bogl: Thermoluminescence analysis to detect irradiated fruit and Vegetables — an intercomparison study. Bericht des Instituts für Sozialmedizin und Epidemiologie des Bundesgesundheitsamtes. SozEp-Heft 3/1993, German Federal Health Office (Bundesgesundheitsamtes, Berlin).

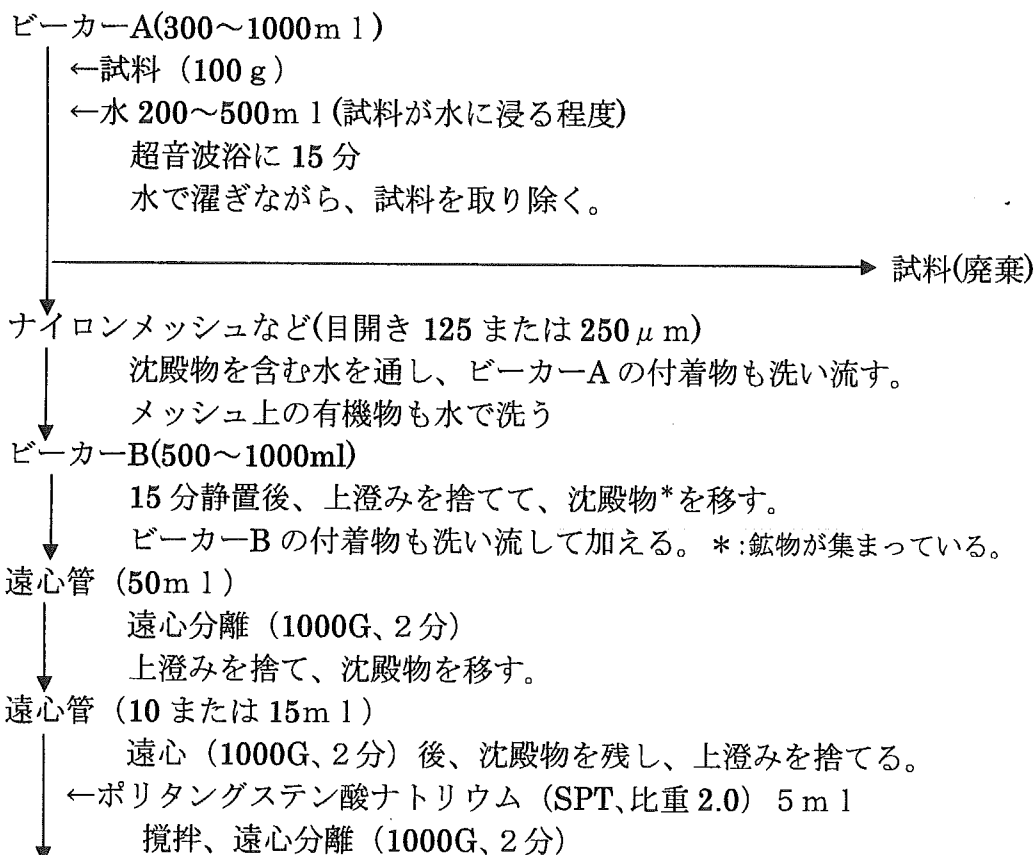
34) G. A. Schreiber, U. Wagner, J. Ammon, J. Brunner, B. Butz, L. A. Carmicheal, H. Delincee, S. Eisen, B. Fienitz, K. Hammerton, N. Helle, D. Jahr, J. Kispeter, H. Klein, W. Kruspe, T. Kuhn, K. Mainczyk, H. Meyer, H. Munz, H. Nootenboom, J. Pfordt, D. C. W. Sanderson, C. Schleich, N. Vreden, U. Zachaus, C. Zoost, and K. W. Bogl: An Interlaboratory Study on Identification of Irradiated Potatoes and on the Estimation of Applied Doses by Thermoluminescence Analysis. Report of the Federal Institute for Health Protection of Consumers and Veterinary Medicine, 1997 BgVV-Hefte 13/1997 (

B u n d e s i n s t i t u t f u r  
gesundheitlichen Verbraucherschutz

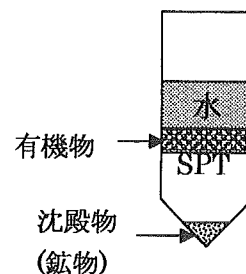
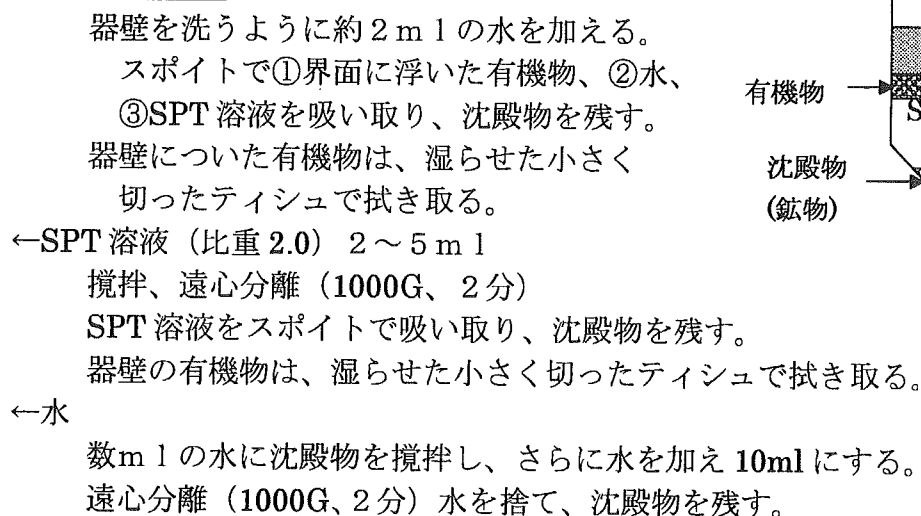
## TL 測定試料の調製法

## 1、粒状試料

## (1) 鉍物の分離



## (2) 鉍物の精製



再度、水を加え、この操作を1回繰り返す。

### (3) 炭酸塩の除去

← 1 mol/l 塩酸 2 ml

鉍物（沈殿物）を攪拌する。15～20分放置する。

← 1 mol/l アンモニア 2 ml

攪拌し、さらに水を加えて、液量を 10 ml にする。

遠心分離（1000G、2分）水を捨て、鉍物を残す。

← 水

数 ml の水に鉍物を攪拌し、さらに水を加え 10 ml にする。

遠心分離（1000G、2分）水を捨て、鉍物を残す。

水を加え、この操作をさらに1回繰り返し、pH試験紙で中性であることを確認する。

### (4) 水分除去

← アセトン 3～5 ml

攪拌し、遠心分離（1000G、2分）

鉍物を残し、アセトンを捨てる。

アセトンを加え、この操作をさらに1回繰り返す。

試料皿（重量  $W_0$  を測定しておく）

← 鉍物（0.5～数 mg）

パスツールピペット（マイクロピペット）で、遠沈管の底から沈殿物を一気に吸い取り、鉍物がピペットの先端に集まるのを待って試料皿に1～2滴落とす。

アセトンが蒸発したら、遮光して、50℃の恒温槽で1晩加熱  
鉍物を乗せた試料皿の重量（ $W_1$ ）を測定する

### TL測定

Glow 1 測定（熱影響による発光量を差し引く場合は続けて2回測定する。）

← 照射（1 kGy）

鉍物を試料皿に載せたまま照射

遮光して、50℃の恒温槽で1晩加熱

Glow 2 測定（熱影響による発光量を差し引く場合は続けて2回測定する。）

判定

① Glow 1 の発光極大の温度を確認する。

② TL 発光比を計算する。

## 2、粉末試料 (ポリタングステン酸ナトリウム溶液による分離)

### (1) 鉍物の分離

遠沈管 (50ml)

←試料 (2~5 g)

←ポリタングステン酸ナトリウム (SPT、比重 2.0) 溶液 15~30 ml

攪拌し、溶液中に試料を均一に懸濁させ、遠心分離するためにバランスを取った後、超音波浴に 5 分入れる。

遠心分離 (1000G、2分)

沈殿物 (5 ml)

沈殿物を含む SPT 溶液を遠沈管の底からスポイトで数 ml を吸い取り、数回移す。(合計 5 ml 程度)

遠沈管 (10 または 15ml)

遠心分離 (1000G、2分)。

浮上層(試料)

試料を均一に懸濁させ、遠心分離するためにバランスを取った後、超音波浴に 5 分入れる。

遠心分離 (1000G、2分)

→ 浮上層(廃棄)

沈殿物 (5 ml)

沈殿物を含む SPT 溶液を遠沈の底から数 ml 吸い取り、数回移す。(合計 5 ml 程度)

合わせる。

以下の操作は「1、粒状試料の(2)鉍物の精製」と同じ。

### 3、粉末試料 (比重液による分離)

比重液：飽和タングステン酸ナトリウム ( $\text{Na}_2\text{WO}_4$ )、  
飽和炭酸カリウム ( $\text{K}_2\text{CO}_3$ )、飽和ヨウ化カリウム (KI)

#### (1) 鉍物の分離

遠沈管 (50ml)

←試料 (2~5 g)

←比重液 15~30 ml

攪拌し、溶液中に試料を均一に懸濁させ、遠心分離するためにバランスを取った後、超音波浴に5分入れる。

遠心分離 (1000G、2分)

沈殿物 (5 ml)

沈殿物を含む SPT 溶液を遠沈管の底からスポイトで数 ml を吸い取り、数回移す。(合計 5 ml 程度)

遠沈管 (10 または 15ml)

浮上層(試料)

試料を均一に懸濁させ、遠心分離するためにバランスを取った後、超音波浴に5分入れる。

遠心分離 (1000G、2分)

浮上層(廃棄)

沈殿物 (5 ml)

沈殿物を含む SPT 溶液を遠沈の底から数 ml 吸い取り、数回移す。(合計 5 ml 程度)

合わせる

遠心分離 (1000G、2分)。

スポイトで比重液を吸い取り、沈殿物を残す。

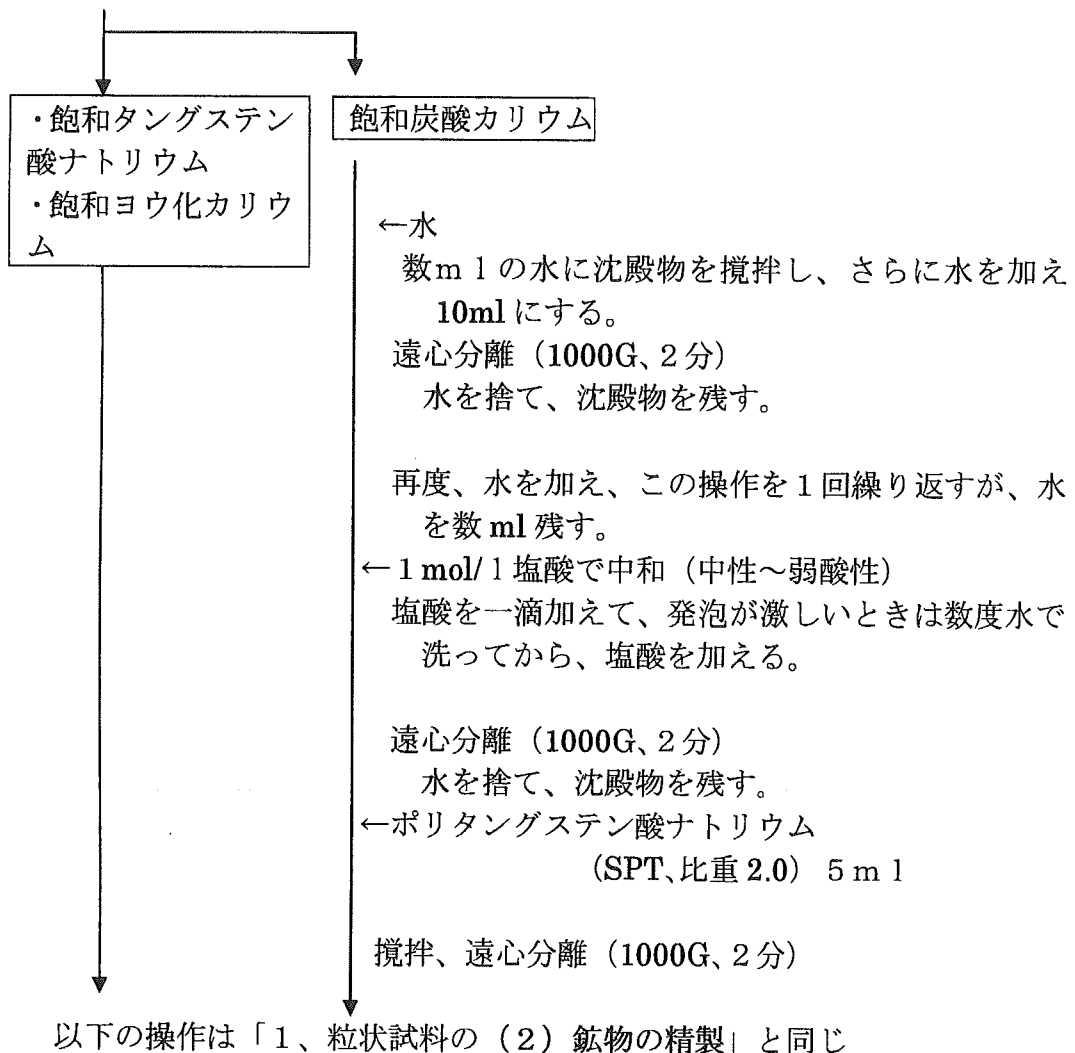
←水

数 ml の水に沈殿物を攪拌し、さらに水を加え 10ml にする。

遠心分離 (1000G、2分)

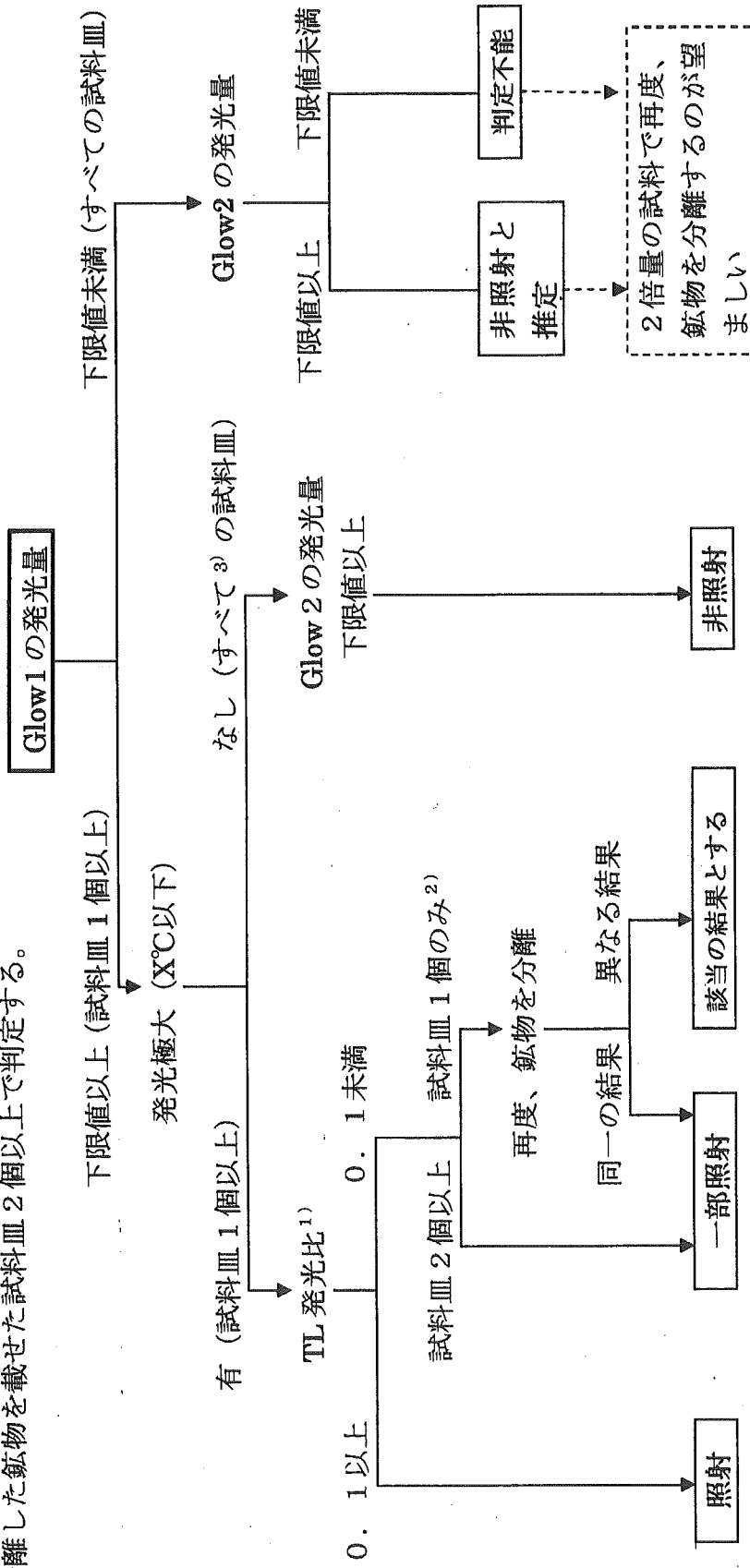
水を捨て、沈殿物を残す。

使用した比重液によって以下の操作をおこなう。



## TL 測定結果の判定方法

分離した鉱物を載せた試験皿 2 個以上で判定する。



1) 通常 Glow2 は下限値以上になる。 2) 照射された鉱物の混入も考えられるので、鉱物を再度分離することが望ましい。

3) Glow1 の発光量が下限値以上のものすべてのことである。

## 粉末コショウの TL 法における前処理法の検討

協力研究者 等々力節子

独立行政法人 食品総合研究所 食品工学部・主任研究官

### 研究要旨

微粉末コショウから TL 測定用の鉱物を精製する際、妨害物質となるデンプンを効率よく除去する方法を検討した。コショウを飽和タングステン酸ナトリウム溶液に懸濁し、その沈降画分中のデンプン粒子をアミラーゼで消化した後に、ポリタングステン酸ナトリウムによる鉱物分離を行うことで、測定試料への有機物混入が低減され判別精度の向上が見込まれた。

### A. 研究目的

香辛料や乾燥野菜類の放射線照射は、日本を除くほとんどの先進国や中国をはじめとする多くのアジア諸国で認可されており、国外では実際にこれらの食品が照射され流通している<sup>1)~3)</sup>。一方、わが国で消費される香辛料の大半や多くの乾燥野菜は、輸入されており、放射線照射処理された乾燥食品原材料の国内流入が懸念されている。そこで、日本国内において輸入食品も含めた放射線照射食品を適切に管理するためには、特に香辛料、乾燥野菜類に関する検査方法の確立が緊要である。

熱ルミネッセンス法（以下 TL 法）は、ヨーロッパ標準化委員会（CEN）が採択した 10 種類の標準分析法の中でも、香辛料、乾燥野菜類の検査において判別精度の高い方法と見なされており、TL 法の CEN 標準分析法（EN1788）<sup>4)</sup> は、EU 加盟国における市場流通食品の実態調査でも利用実績がある<sup>5)</sup>。そこで本報告書

の前項で取り上げた分担研究課題では、香辛料一般に適応できる TL 法の確立を目的とし、TL 法の検査手順を決めるのに必要な基礎的データを集め、検査方法を検討している。

ここで示された TL 法の手順（案）は、食品そのものではなく、混入する鉱物を比重液で分離後に測定するものである。この原理からすると、粉砕されていない（原形を維持した）粒状香辛料を対象とする分析の場合には、検出限界や判別精度は食品の構成成分に影響されにくいと考えられる。また、粉末試料に含まれる鉱物量は比較的多く、前項の報告にあるように、パプリカ粉末については、試料を直接、ポリタングステン酸などからなる比重液に懸濁させて鉱物を沈殿させる手順で十分な量の鉱物が分離できている。

一方、粉末香辛料のなかで流通量の多いものとして粉末白コショウがある。白コショウは黒コショウと同種の植物



(*Piper nigrum*) の果実を完熟後発酵させ外皮を剥離後乾燥したものであり<sup>6)</sup>、鉍物の含有量が黒コショウに比較して少ないと考えられる。さらに粉末化されたコショウでは、多量に含まれるデンプン粒子が、鉍物に混入して擬似発光の原因となりやすい。このような場合、特に非照射の試料における判定が困難となることが予想される。

本研究では、粉末白コショウにおいて、デンプンの夾雑を低減し、容易に鉍物が精製できる前処理法について検討した。これは、前項の分担研究課題報告に示された TL 法手順の「c. 試料調製」の項のうちで、粉末試料を対象とした鉍物分離についてのべた、「(1-2) 鉍物の分離(粉末検体の場合)」の項についてのオプションを提示するためのものである。

## B. 研究方法

輸入量が多く、デンプン含有量が高い粉末白コショウを対象試料とし、前分担研究課題で提示された粉末試料における試料調製手順の問題点の検討と改良をかけた。

### 1. 検討検体 (粉末コショウ) :

食品原材料の卸売販売店より、国内 3 社が製造する粉末白コショウ製品 (業務用) を購入して使用した。すべての実験に先立って、TL 法で放射線照射が行われていないことを確認して用いた。

具体的な商品名は以下の通り ;

a) ギャバン : G

(マレーシア産 1 kg 入)

b) マスコットフーズ : M

(産地不明 1kg 入)

c) S & B : S

(産地不明 500g 入)

## 2. 試薬および装置

### (1) 試薬類

- ・ポリタングステン酸ナトリウム : SOMETU 社製
- ・タングステン酸ナトリウム : Sigma 社製
- ・細菌液化型  $\alpha$  アミラーゼ : クライスターゼ T10S (大和化成製) 比活性 : 13,100LJ/g 以上, 耐熱性) ポリタングステン酸ナトリウム ( $d=2.0$ ) に沈降する画分を集め、1kGy で照射した後に TL 測定を行って、酵素液に鉍物が混入していないことを確認して使用した。
- ・アセトン : 試薬特級
- ・塩酸 : 試薬特級
- ・アンモニア : 試薬特級
- ・TLD 素子 : HARSHAW TLD-100 (フッ化リチウム、直径 3.6mm、厚さ 0.1mm)

## 2. 装置

- ・TLD 測定装置 : HARSHAW QS 3500
- ・遠心分離機
- ・超音波浴
- ・電子天秤
- ・遠沈管 (15、50mL) プラスチック製
- ・メッシュ (目開き 125  $\mu$  m、ナイロン製)
- ・恒温槽\*
- \*酵素反応には、回転型振とう装置付属ハイブリダイゼーションオープンを使用)

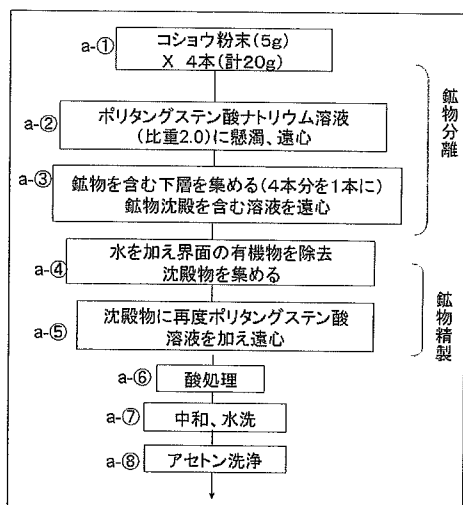


図 1-a. 一般的な粉末試料の鉍物分離方法に従った試料精製手順の概略

### 3. 照射および線量測定

コシヨウおよび分離鉍物の照射は、食品総合研究所のコバルト 60 ガンマ線照射装置（ガンマセル 220 ノーディオン社製、22.5TB q）を用いて行った。予めフリッケ線量計を用いて決定した、セル中心の空間線量率は  $0.75 \pm 0.01$  k Gy であり、セル内の線量分布は中心線量  $\pm 10\%$  以内であった。実験期間内の時間経過を考慮した減衰計算に基づき、照射時間を定めた。

コシヨウの照射は 1kg の袋入りの試料を約 2L 容量の照射容器に入れて行った。また、分離した鉍物の照射は、試料をガンマセルの中心位置において実施した。

### 4. TL 測定試料の調製

試料からの鉍物分離、精製は、図 1-a および 1-b に示すスキームに従う 2 つの方法で行った。1-a に示す方法は、

前項に示された粉末試料の一般的手順を 20g 試料にスケールアップしたもので、比重液としてポリタングステン酸ナトリウム ( $d = 2.0$ ) を用いている。この際、最初の比重液への試料懸濁の割合は変更せず 4 本の遠心管で処理して得られた沈殿物を 1 本の試験管に集め精製のステップへ移した。

このスキームに対応した、鉍物分離の具体的操作を記す。

a) 粉末検体の場合 1 に準じる方法（従来法）

#### (1) 鉍物の分離

粉末コシヨウ 5 g を 50mL の遠沈管に採り、30mL のポリタングステン酸ナトリウム溶液 ( $d=2.0$ ) に加えて軽く攪拌し、溶液中に検体を均一に懸濁させる。これを 4 本分（すなわち検体 20g 分）用意する。遠心分離するためにポリタングステン酸ナトリウム溶液を加えてバランスを取った後、超音波浴に 5 分入れる。

遠心分離 ( $1000 \times g$ , 2 分) した 50mL の遠沈管の沈殿物を含むポリタングステン酸ナトリウム溶液 5mL を 2 回に分け、遠沈管の底からスポイトで一気に吸い取り、10 または 15mL の遠沈管に移し、遠心分離し、上澄みをスポイトで取り除いておく。さきの 50mL の遠沈管に 5 ~ 10mL のポリタングステン酸ナトリウム溶液加えて、浮上物を均一に懸濁させる。遠心分離するためにポリタングステン酸ナトリウム溶液を加えてバランスを取った後、超音波浴に 5 分入れる。遠心分離した 50mL の遠沈管の沈殿物を含

むポリタングステン酸ナトリウム溶液 5mL を 2 回に分け、遠沈管の底からスポイトで一気に吸い取り、先の 10 または 15mL の遠沈管にあわせ、遠心分離をする。4 本の遠心管に分かれた、鉍物を含む下層部分を溶液と一緒に 1 本の遠心管にまとめ、再度遠心分離する。

## (2) 鉍物の精製

2mL の水で静かに遠沈管の器壁を洗うように加え、スポイトで界面に浮いた有機物を吸い取り、水を吸い取った後、ポリタングステン酸ナトリウム溶液も取り除き、沈殿物を残す。器壁についた有機物は、湿らせた小さく切ったティッシュで拭き取る。

再度、2～5 mL のポリタングステン酸ナトリウム溶液を加え、攪拌後、遠心分離する。ポリタングステン酸ナトリウム溶液をスポイトで吸い取り、沈殿を残す。器壁についた有機物は湿らせたティッシュで拭き取る。

次に、数 mL の水に沈殿を攪拌して、さらに水を加え 10mL にする。これを遠心分離した後、水を捨て、沈殿を残す。再度、水を加え、この操作を 1 回繰り返す。

以降分析手順（前項の分担研究報告参照）の（3）の炭酸塩の除去（酸処理）以降の過程に進む。

図 1-b は、今回検討した改良法の概略で、比重 2.0 のポリタングステン酸ナト

リウム溶液より低比重の飽和タングステン酸ナトリウム溶液 ( $d=1.7$ ) を用い、さらにアミラーゼによるデンプン消化の過程を加えている。なお、両方法ともポリタングステン酸ナトリウム溶液を沈殿物に添加して遠心分離した後の操作は基本的に同一である。

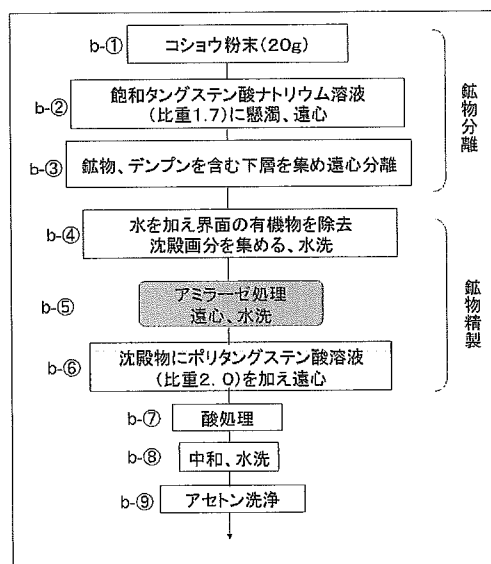


図 1-b、混入デンプンのアミラーゼ処理を取り入れた改良方法の手順の概略

このスキームに対応した、鉍物分離の具体的な操作を記す。

## b) 酵素を用いた改良法（酵素法）

### (1) 鉍物の分離

検体 20g を 200～300mL 容量のガラスビーカーに秤量し、飽和タングステン酸ナトリウム溶液 100mL を加え、攪拌、懸濁させる。超音波浴を 20 分間行った後、ビーカー内の試料を 50mL 遠心管 4 本に均等に移す。（ビーカー内に残った

試料は飽和タングステン酸ナトリウムで何回か洗い流しながらすべてチューブに移し、この際に各チューブの重さを合わせる。) 遠心分離の後、沈殿物(4本分)をスポイトで吸い取り、50mLの遠心管1本に集める。これを再度遠心分離して沈殿物を含む溶液を15mLの遠心管に移し入れる。これを遠心後、上層の飽和タングステン酸ナトリウム溶液に蒸留水2mLを静かに加え、界面に浮いた試料を蒸留水と一緒に吸い取る(1)、さらに飽和タングステン酸ナトリウム溶液も吸い取り、沈殿物を残す。次に、数mLの水にこの沈殿物を攪拌して、さらに水を加え10mLにする。これを遠心分離した後、水を捨て、沈殿物を残す。この操作をもう1度繰り返す。

(分担研究の(1-3)で示された方法では、飽和タングステン酸ナトリウム等の比重液に沈降する鉍物含有画分にポリタングステン酸ナトリウム溶液を加えて遠心し、鉍物に精製の操作に移る。ここでは、精製操作に先立って、飽和タングステン酸ナトリウムに沈殿する鉍物とデンプンの混合物の浮遊有機物の除去と水洗を行ったのち、アミラーゼ処理を含む鉍物精製の段階(2)に移す。)

#### (2) 酵素反応によるデンプン除去を含む鉍物精製

水洗後の沈殿物に蒸留水5mLと酵素(クライスターゼTS500 $\mu$ L(約6500LJ))を加え、70°Cの恒温槽中で、30分回転攪拌しながら、反応を行なわせる。

遠心分離後上清を捨て、さらに沈殿物を10mLの蒸留水で水洗する。この操作を2回繰り返す。

さらに沈殿物にポリタングステン酸ナトリウム3mLを加え、ミキサーで攪拌後、遠心分離する。

ここで、酵素反応で溶け残ったデンプン白色沈殿のほとんどが上層に浮き上がる。ポリタングステン酸ナトリウム溶液を浮き上がったデンプンとともにピペットで吸い取り沈殿物を残す。

次に、数mLの水に沈殿物を攪拌して、さらに水を加え10mLにする。これを遠心分離した後、水を捨て、沈殿物を残す。再度、水を加え、この操作を1回繰り返す。

以降分析手順(前項の分担研究報告参照)の(3)の炭酸塩の除去(酸処理)以降の過程に進む。

#### (3) 炭酸塩の除去と水洗い

1N塩酸2mLを加え鉍物を攪拌する。15~20分間放置する。

1mol/Lアンモニア水2mLを加え、攪拌し、水を加えて、液量を10mLにする。遠心分離後、水を捨て、鉍物を残す。数mLの水に鉍物を攪拌して、さらに水を加え10mLにする。遠心分離後、水を捨て、鉍物を残す。

再度、水を加え、この操作をさらに1回繰り返す。pH試験紙で中性であることを確認する。

#### (4) 水分除去

アセトン3~5mLを加え、攪拌して、

遠心分離後、鉍物を残し、アセトンをパスツールピペットで吸い取り、捨てる。このとき、溶液が白濁した場合はポリタングステン酸ナトリウムが除去されていないので、水洗いを数回おこなってからアセトンを加える。

再度、アセトンを加え、この操作をさらに1回繰り返すが、最後は0.2～0.5mLのアセトンを残す。この鉍物をTL用試料とする。

## 5. TL測定

精製後の鉍物のTL測定は、基本的に前項の分担研究課題報告に示された手順にしたがった。すなわち、アセトン懸濁TL試料を試料皿に移し（この場合鉍物量が少ないので、すべての沈殿物を1つの試料皿に移し）、50℃で一晩加熱してからTL測定(Glow1)を行う。この試料(鉍物)に1kGy照射し、50℃で一晩加熱し、TL測定(Glow2)を行う。これらの結果から、TL発光比(Glow1/Glow2)を算出する。本研究では、50℃の加熱は条件をそろえるため16時間にし、発光量の積分範囲は70-400℃とした。また、鉍物測定のための試料皿はステンレス(SUS304-2D)製丸形(直径6.0mm、厚さ0.2mm、縁の高さ1mm)を使用した。

TL昇温プログラム条件は、以下の様に設定した。

測定開始 70℃ 5sec  
終了温度 400℃  
昇温 6℃/sec  
測定時間 54秒

なお、TL比の算出方法は、前項の分担研究報告と同様で、以下のようにする。

$$\text{TL 発光比} = \text{Glow 1} / \text{Glow 2}$$

ただし、

$$\text{Glow 1} = \text{Glow 1}' - \text{Glow 1}' \text{ B}$$

$$\text{Glow 2} = \text{Glow 2}' - \text{Glow 2}' \text{ B}$$

## 6. 検出限界の検討

前述した2つの試料分離手順；従来法(a)および酵素法(b)の操作を、コシヨウを添加せずに6回ずつ実施し、Glow1およびGlow2の値を求め、平均値と標準偏差を求めた。これらの値からそれぞれの方法における検出限界と発光量の下限値を求めた。

## C. 研究結果

### 1. 2つの方法の操作性の比較と工程検討

#### 1-1. 最初に用いる比重液

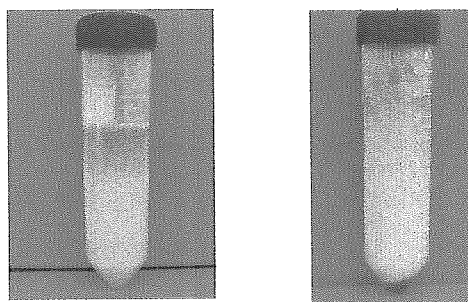


図2 粉末コシヨウ試料の比重溶液への懸濁、遠心後の写真

ポリタングステン酸ナトリウム (d=2.0) (a) ,  
飽和タングステン酸ナトリウム (d=1.7) (b)

図2に、異なる鉍物分離法 (a) および (b) において、検体Gの粉末コショウをポリタングステン酸ナトリウム溶液 (d=2.0) または飽和タングステン酸ナトリウム溶液 (d=1.7) に懸濁した後に遠心した状態の写真を示す。これらはそれぞれ、図1-aのa-②および、図1-bのb-②のステップに相当する。

この試料の場合 a の方法では、上層に低比重の試料の部分が層状に分かれたが、下層は明確な沈殿物が沈降せず、デンプンが分散していた。本実験では、下層部分 5mL を 2回にわけて分取して先の操作に進んだ。一方、飽和タングステン酸ナトリウムを用いた場合には、黒っぽい沈殿がみられた。この部分には、鉍物の他、デンプンが混在していた。他の2つの試料では、ポリタングステン酸による分離でも、明確に沈殿物が観測出来た。

#### 1-2. 酵素反応によるデンプンの消化

飽和タングステン酸ナトリウム溶液に沈降する鉍物とデンプンの混在部分から、デンプンを効率的に除去する試みとして、酵素処理を導入した。ここで用いた酵素処理の条件には、予備検討により、70°C 30分間の反応時間で、5mLの蒸留水に懸濁した白コショウ由来の粗デンプン 200mg が消化出来る添加量 (500・1) を選択した。使用酵素には、1 kGy 照射した際 TL 発光を与えるような鉍物が混入していないことを予め確認して用いた。

図3にS社の白コショウ粉末について、酵素処理の前後とポリタングステン

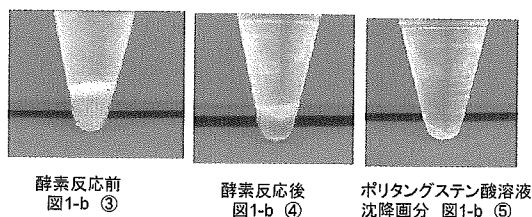


図3. 酵素処理及びポリタングステン酸による精製過程

(方法b：図1-bの各ステップに相当)

酸ナトリウムに懸濁、水洗後に得られた沈殿物の写真を図3に示す。

酵素反応により③のステップでみられた白色デンプンの層は消失する。さらにポリタングステン酸ナトリウム溶液に沈殿を懸濁させて、遠心すると消化出来なかったデンプン (白色粒子) が液の上層に浮き上がり⑤のステップで鉍物質が沈殿として残った。

酵素法 (b) に従い、炭酸塩除去、中和、脱水の過程を経て TL 測定用の試料皿にのせた TL 測定試料の例を図4に示す。また、図5には、従来法 (a) (ポリタングステン酸ナトリウムによって分離、酵素処理無し) にしたがって分離した TL 試料も参考として示した。

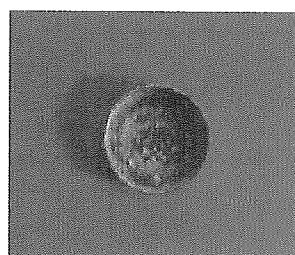
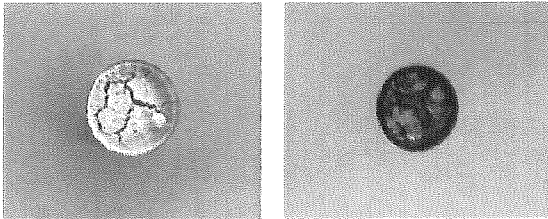


図4. 酵素法 (b) によって調製した TL 測定サンプルの例



TL 加熱前

TL 加熱後

図5. デンプンが多量に混入した測定試料の例

(方法 a で試料調製し、鉍物と共に沈降してくるデンプンを機械的にピペットで除去することはしていない。)

図5に示すように、従来法 (a) の場合、意識的にピペット等を用いてデンプンを除去しないと最終測定試料に多量のデンプンが混入してしまう。これを TL 測定の昇温条件で加熱すると焦げを生じた。

## 2. 従来法 (a) と酵素法 (b) で調製した試料の TL 測定結果の比較

予備的な検討の結果、鉍物含量が少なく試料調製が難しいと予想された検体 G を用い、未照射と 1kGy 照射試料について従来法 (a) , 酵素法 (b) の 2 つの方法で試料調製し、TL 測定を行った。

### 2-1. 検出限界

従来法 (a) と酵素法 (b) の操作をコシヨウ粉末試料を使わずに実施した空試験 (6 回) の結果からそれぞれの方法における発光量の下限値を求めた。

表 1-a 空試験からの判定の限界：従来法 (a) (単位:nC)

	平均	標準偏差	下限値
Glow1	0.026	0.055	1.9
Glow2	0.47	0.47	18.8

n = 6

表 1-b 空試験からの判定の限界：酵素法 (b) (単位:nC)

	平均	標準偏差	下限値
Glow1	-0.009	0.033	0.9
Glow2	0.54	0.26	13.2

n = 6

判定の限界：

$$MDL = \text{平均} + 3 \times \text{標準偏差}$$

$$\text{発光量の下限值} : MDL \times 10$$

### 2-2. TL 測定結果

表 2 に従来法 (a) と酵素法 (b) のそれぞれの方法で 1 k Gy (照射後 1 週間) および非照射の試料について発光量、TL 比を求めた結果を示す。また、図 6 に代表的な TL 発光曲線 (Glow1' および Glow2' ブランクを差し引いていない) を示す。

ここでは、予備検討で鉍物分離量が少ないと見なされ検体 G 用いた。なお、従来法 (a) の操作で、あまり多量のデンプンを測定に持ち込むと、焦げやすさが多くなるので、遠心分離後に明確にデンプンの白色の層が鉍物層の上に観察できた場合はピペットで吸い上げて、除去してある。

従来法 (a) では、未照射、1 kGy 照射でも分離試料量は酵素法 (b) に比べると多い場合があったが、見た目でもデンプンの混入があった。従来法 (a) での Glow2 の値は、方法 (b) に比べて小さく、発光量の下限値に満たない場合もみられた。例えば、図 6-a の発光曲線では、1 つの試料では 259°C に微小ではあるが発光曲大が認められた。これは、夾雑物の影響と考えられる。また、別の試料では、鉍物分離量が十分では無く Glow2' の発

表 2, 従来法 (a)、酵素法 (b) で試料調製した際の TL 測定結果の比較

方法 (a)

未照射

	Glow 1 (nC)	Glow 2 (nC)	試料量 (mg)	TL 比	Glow1/ 重量 (nC/mg)
1	1.54	15.0	0.6	0.10	2.57
2	1.07	11.1	0.4	0.10	2.68
3	1.84	6.0	0.5	0.31	3.69
4	4.15	51.5	0.7	0.09	5.94
平均	2.15	20.9	0.6	0.15	3.72
S. D.	1.37	20.7	0.13	0.11	1.56

方法 (b)

未照射

	Glow 1 (nC)	Glow 2 (nC)	試料量 (mg)	TL 比	Glow1/ 重量 (nC/mg)
1	2.59	60.1	0.2	0.04	12.9
2	4.38	99.9	0.6	0.04	7.3
3	7.37	82.7	0.5	0.09	14.7
4	4.68	174.6	0.3	0.03	15.6
平均	4.75	104.3	0.4	0.05	12.6
S. D.	1.97	49.6	0.18	0.03	3.73

1 kGy\*

	Glow 1 (nC)	Glow 2 (nC)	試料量 (mg)	TL 比	Glow1/ 重量 (nC/mg)
1	125.2	26.7	5.7	4.68	21.9
2	21.9	13.6	0.7	1.61	31.3
3	57.8	33.4	0.8	1.73	72.3
平均	68.3	24.6	2.4	2.67	41.9
S. D.	52.4	10.1	2.9	1.74	26.8

1 kGy\*

	Glow 1 (nC)	Glow 2 (nC)	試料量 (mg)	TL 比	Glow1/ 重量 (nC/mg)
1	99.93	85.8	0.9	1.16	111.0
2	106.7	135.9	0.5	0.79	213.4
3	76.7	99.2	0.4	0.77	191.7
平均	94.4	106.9	0.6	0.91	172.0
S. D.	15.7	25.9	0.3	0.22	53.9

\* 1kGy 照射 1 週間後に試料調製測定した

光ピークが非常に小さく、この分離試料の中には、発光に寄与する鉱物がほとんど分離出来きていなかった。このような場合 TL 比を求めることは無意味であるが、得られた Glow2 の値で TL 比を計算すると未照射の試料では、0.1 を大きく上回った。また、1 kGy 照射の試料では、理論的に考え得る TL 比の最大値である 1.0 を大きく上回る値が算出される場合もあった。ただし、図 6-a にみられるように 1kGy 照射の試料ではいずれの場合も、175°C 付近に明確な発光のピークが観察された。

一方、酵素法 (b) を用いた場合の Glow2 はすべて下限値よりも大きな値を示し、未照射試料の TL 比は 0.1 を下回っ

た。また、1 kGy 照射試料では、すべて 0.1 を超えていた。単位試料重量あたりの発光量は、従来法の 1 kGy 照射試料のものよりはるかに大きかった。この場合にも図 6-b にみられるように、170°C 付近に明瞭な発光ピークが観測された。

### 3. 各試料での酵素法 (b) による試料測定

酵素法 (b) による試料調製の有効性を確認するため、由来の異なる各種粉末白コショウ試料 (G、M、S) を用い、非照射試料と 1 kGy 照射試料 (室温 1 週間) の判別を試みた。

各試料について 6 回の分析を行った時の各試料の Glow 1 および Glow2 の関係



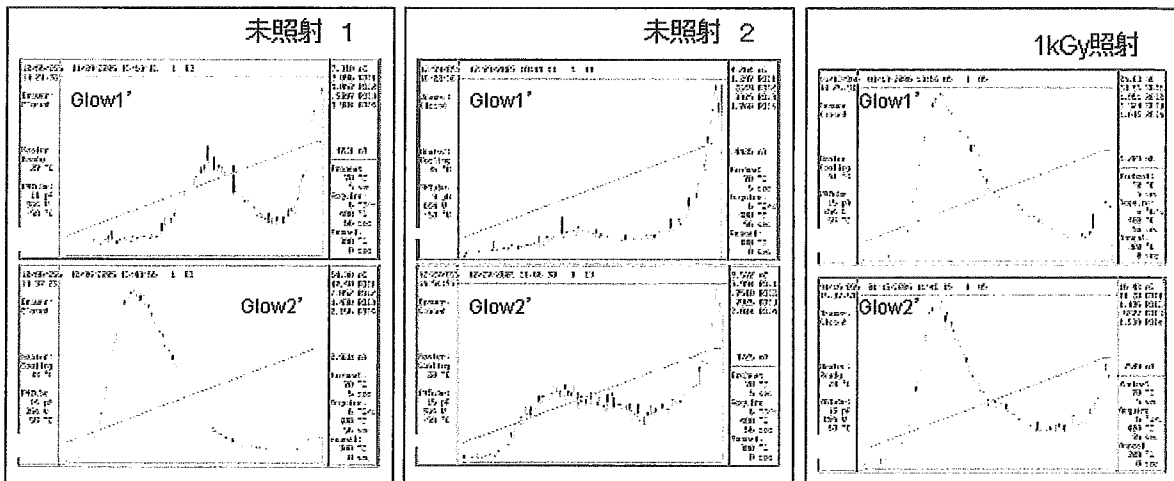


図 6-a 従来法 (a) で調製した試料の TL 発光曲線の例

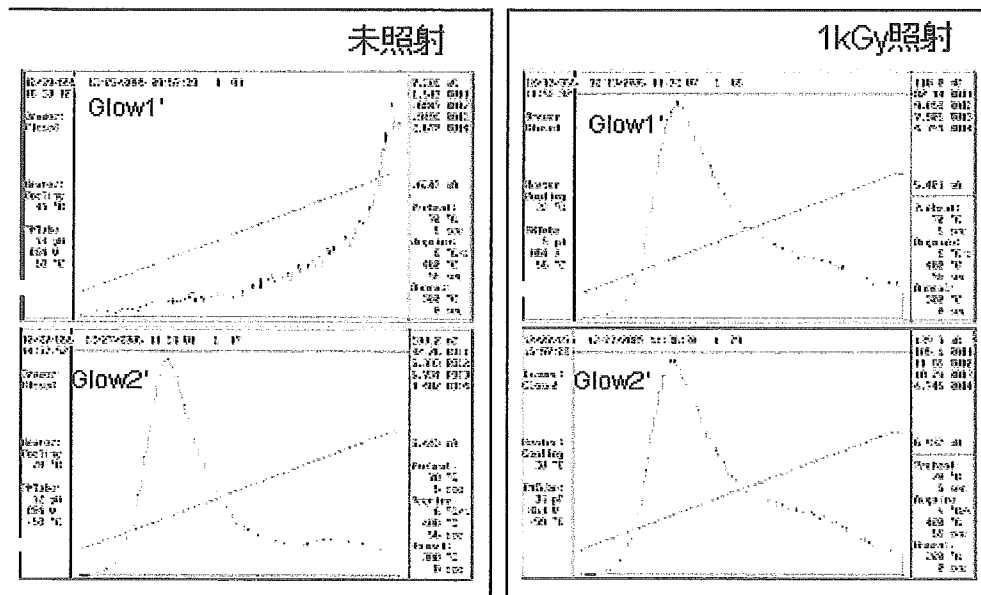


図 6-a 酵素法 (b) で調製した試料の TL 発光曲線の例

図の縦のスケールはその曲線中の最大電流値 (nA) で規格化されている

図中の直線は 70°C から 400°C までの昇温プログラムを示す。

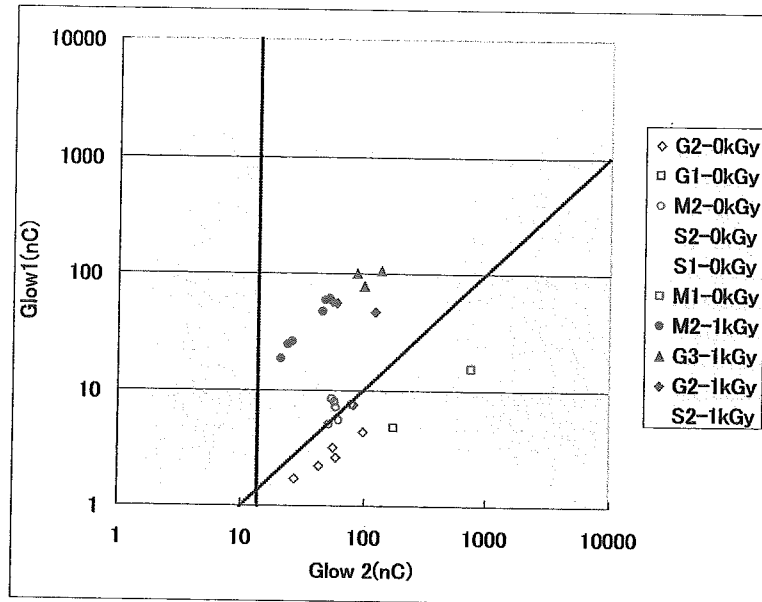


図7. 酵素法 (b) を用いて前処理した粉末白コショウの TL 測定

Glow1 (nC) および Glow 2 (nC) のプロット

図中の斜線は TL 比 = 0.1 の境界

図中の縦線は Glow2=13.2 (下限値) の境界を示す

図中の各シンボルの説明: 試料の種類 (記号) - 線量、

同色のシンボルは同じ種類の製品、記号の違いは包装単位が異なる

を図7にまとめてプロットした。

酵素を用いた試料調製法では分析したすべて試料の Glow2 が下限値 (13.2 nC, 表 1. b 参照) を超えており、TL 比を求めることができると判断された。また、検体 M の非照射試料で TL 比が 0.1 をわずかに超える試料が存在したものの、ほとんどの非照射試料は TL 比が 0.1 より

小さかった。一方 1kGy 照射試料では、TL 比が全て 0.1 を大きく越えた。表 3 に試料ごとの TL 比の平均値をまとめた。さらに、発光曲線 (Glow 1) については、非照射試料には明確な発光極大は認められず、照射試料 (1 kGy) のすべてについて、明確な発光極大が認められた。これらの発光極大温度を、表 4 にまとめた。

表 3 粉末白コショウ 3 試料の TL 比

		試料		
		G	M	S
未照射	平均値	0.05	0.10	0.03
	S. D.	0.02	0.04	0.01
1 k Gy	平均値	0.84	1.04	0.98
	S. D.	0.27	0.12	0.12

n = 7 (未照射) n = 6 (1 k Gy)

表 4. 照射試料の Glow1 の発光極大温度 (°C)

試料	G	M	S
平均値	178.6	190.8	167.3
標準偏差	10.4	6.1	1.4
最低値	168.3	186.0	166.2
最高値	195.7	201.3	169.2

n = 7 (コントロール) n = 6 (1 k Gy)

TL法における判別基準として、前項の分担研究の結果から、フッ化リチウム製 TL 素子 (TLD-100) を照射した際に得られる発光曲線の最大ピーク温度を基準として、Glow 1 の発光曲線のピーク温度を検討することが提案されている。

本研究の測定条件で、TLD-100、10 個を照射後、試料皿にのせ、同一の昇温プログラムで TL 測定したさいに得られた最大発光ピークの温度は、表 5 に示す通りであった。

表 5. TLD100 の発光ピーク温度の測定結果 (°C)

平均値	234.9
標準偏差	4.6
最低値	229.3
最高値	243.2

n = 10

この最高温度 243.2°C と比較すると、照射試料の発光ピークはすべてこの温度より低温側であった。このように、1kGy 照射した 3 種類の粉末白コショウについては、前項の分担研究の中で後藤らが提案している判定基準の 2 つの項目、① TLD-100 素子の最大発光極大の最高温度よりも低温側に発光極大がある、② TL 比が 0.1 以上であるの) の両方の条件をみたしていた。

## D. 考察

### 1. 比重液の選択

粉末試料の場合、水洗による高比重物質の濃縮を実施することは不可能である

ので、採取試料を、直接、高比重の溶液に懸濁させる必要がある。そこで、一般的な粉末試料では、最初から比重 2.0 のポリタングステン酸溶液を用いた精製を行っている。ところが、粉末白コショウの場合、他の粉末香辛料の試料量と同じ 5 g からでは鉍物が充分とれない場合が予想された。実際、本研究で用いた検体では、20g の粉末コショウからでも、分離出来た TL 用試料の量は 1mg に満たない場合も多かった。従って、粉末白コショウについては、採取試料量を増やして鉍物分離量を多くする必要があり、最初に用いる比重液の量も増加する必要があると考えられた。ただし、多量の粉末試料を扱うために、多量のポリタングステン酸ナトリウム溶液を用いることは、この試薬が高価であることを考慮すると現実的でない。また、粉末コショウの場合、試料によっては、図 2 に示すようにデンプンが中間層に分散してしまい、沈殿部分に鉍物が充分に落ちてこない場合があった。そこで、比重が 2.0 よりもやや小さく、価格も経済的な溶液を最初の段階で使うことが効果的であると考えられた。

後藤らは、ポリタングステン酸ナトリウム溶液の代替として、ヨウ化カリウム、炭酸カリウム、タングステン酸ナトリウムの飽和溶液が利用出来ると報告している<sup>7)</sup>。しかし、デンプンを多量に含む粉末コショウの場合、ヨウ化カリウム溶液では、デンプンとヨウ素の反応が起こり溶液の粘性が増す。また、炭酸カリウム溶液では、炭酸塩の除去を充分に行う必

要がある。飽和タングステン酸ナトリウム溶液は、価格的には他の2種類の試薬より高価であるが、本研究で数種の粉末コショウを試したところ、初期段階で鉍物を含む高比重成分を沈降させる際の分離操作で特段の問題は生じなかった。

## 2. 酵素反応条件

図3に示す様に、鉍物と共に沈降してくるデンプンをアミラーゼにより消化、除去することが出来た。この際、作業手順を簡略にすることを考え、反応に緩衝液等を使うことはしなかった。また、試薬の取り扱いや、不純物の混入の確認がしやすいということを考え、液体状の耐熱性酵素を用いた。実際の操作に用いた $\alpha$ アミラーゼの特性は、製造元のデータシートによると、至適温度 $90^{\circ}\text{C}$ 、安定温度 $90^{\circ}\text{C}$ 以下、至適 $\text{pH} = 6.0 \sim 7.0$ 、安定 $\text{pH} = 6.0 \sim 10.0$ であった。

酵素反応の効率を最適にするための詳細な条件検討は、本研究の中で行っていない。ただし、酵素反応の条件設定には、前処理過程が1日の作業で終了し、鉍物のTLシグナルも極端な減衰が無いようにと考えた。そこで、予備検討で、試料20gから飽和タングステン酸ナトリウムに沈降してくるデンプン量を約200mgと予測し、これが、酵素添加量 $500\ \mu\text{L}$ 、 $70^{\circ}\text{C}$ 、30分間の反応で消化できることを確認した上で、コショウ試料からのデンプン消化に用いた。ここで用いた反応温度、時間でTLシグナルが減衰することは予想できるが、正確な影響は評価していない。

Carmicahelらは、貝類からのTL測定鉍物試料の分離に $110^{\circ}\text{C}$ 、2hの塩酸、加熱分解処理を行い、 $0.5\text{kGy}$ 照射試料のTL発光ピークの観測と照射の判定に成功している。また、石英閃緑岩や中国黄土のTLシグナルについて照射後の加熱温度と時間の影響を検討した関口らの研究では、 $70^{\circ}\text{C}$ 1時間加熱での発光ピークの高さが、照射直後の70～50%に減少したと報告されている<sup>9)</sup>。本実験の1kGy試料のTL比は $0.77 \sim 1.16$ の範囲で、 $166^{\circ}\text{C} \sim 201^{\circ}\text{C}$ の範囲に明確な発光極大が観測され、すべて照射と判定することができた。従って、これより高い線量の照射を行った場合でも、シグナルの減衰があっても照射についての判別は可能と考えられる。

酵素反応の温度条件と使用する酵素量については、採取試料量のことも含めてさらに検討する必要がある。

## 3. 判別精度

表2および図7に示される様に、酵素による試料調製法では、従来法に比較するとGlow 2の発光量が大きく、下限値を下回ることもなかった。従って、測定に必要な鉍物試料を従来法に比べ容易に分離できるようになった。表2の従来法との比較においては、照射試料についての単位重量あたりの発光量が増加し、非照射試料のTL比が低下していることより、酵素を用いてデンプン除去することで高純度の鉍物が分離できたといえる。

本研究において、1kGy照射試料は、酵素を用いた鉍物分離法によりすべて、