

図3-A ゴムシートを貼り付けたスタック袋に牛肝臓を入れ脱気後、シーリング。



図3-B 予め開けたゴムシートの穴から牛肝臓中心部にセンサを差し入れる。

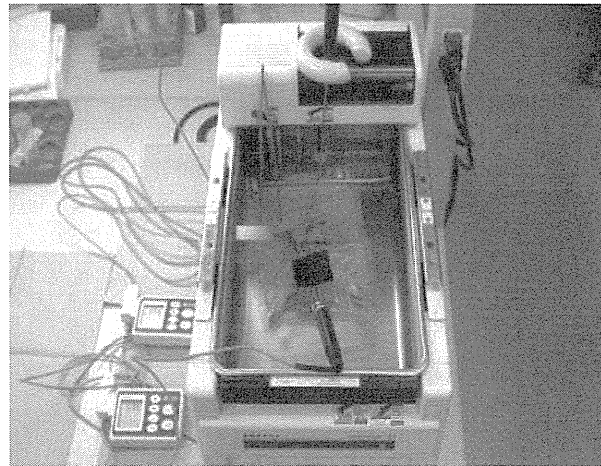


図3-C 60°Cで30分間加熱し、肝臓中心部の温度を計測。

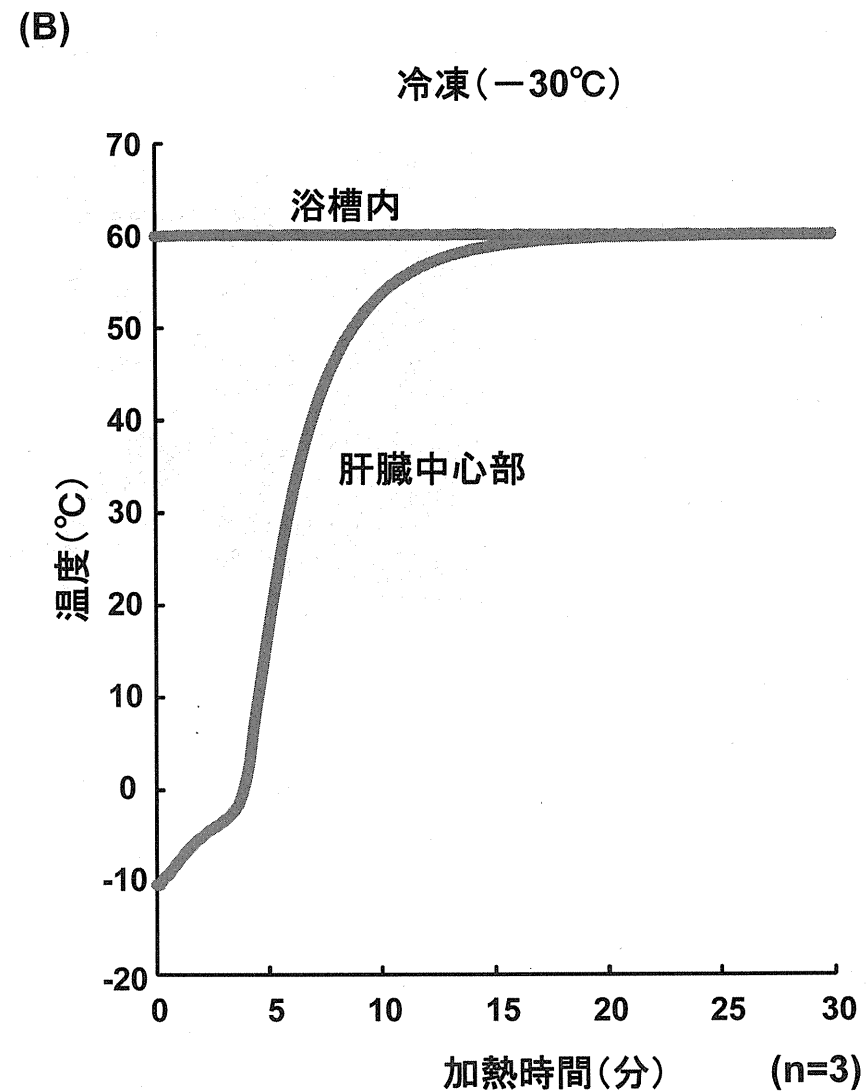
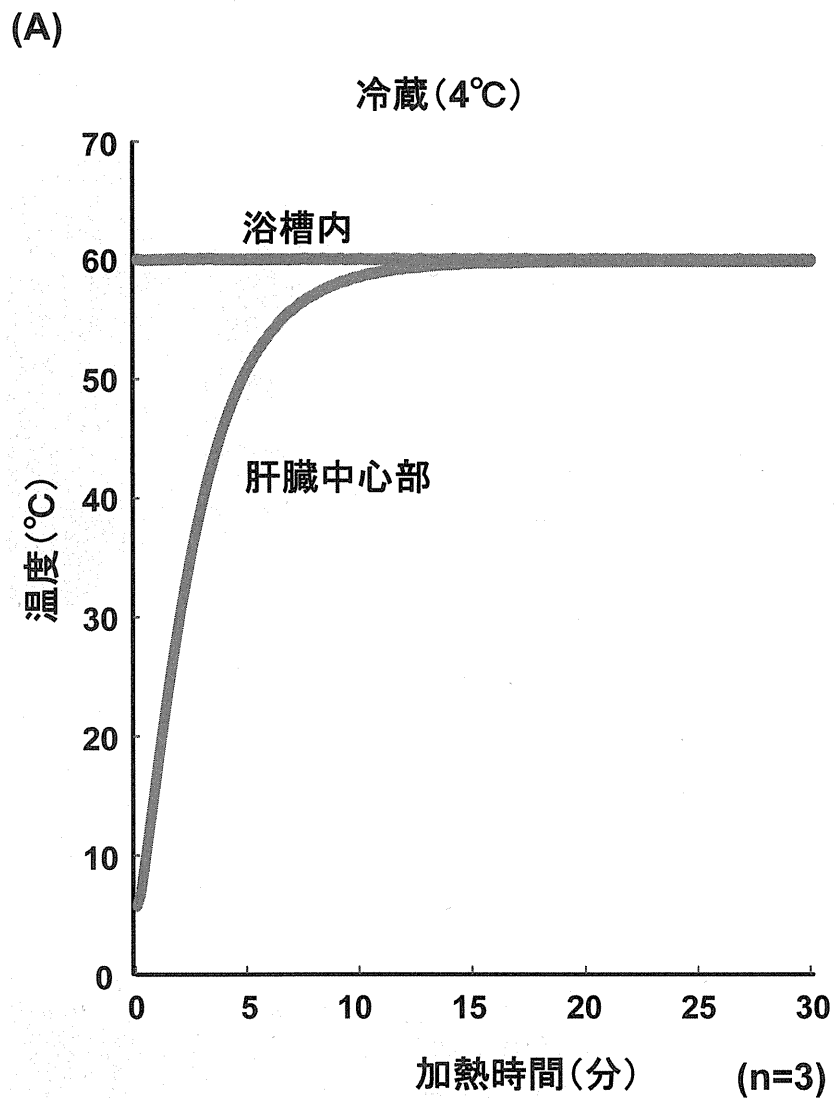
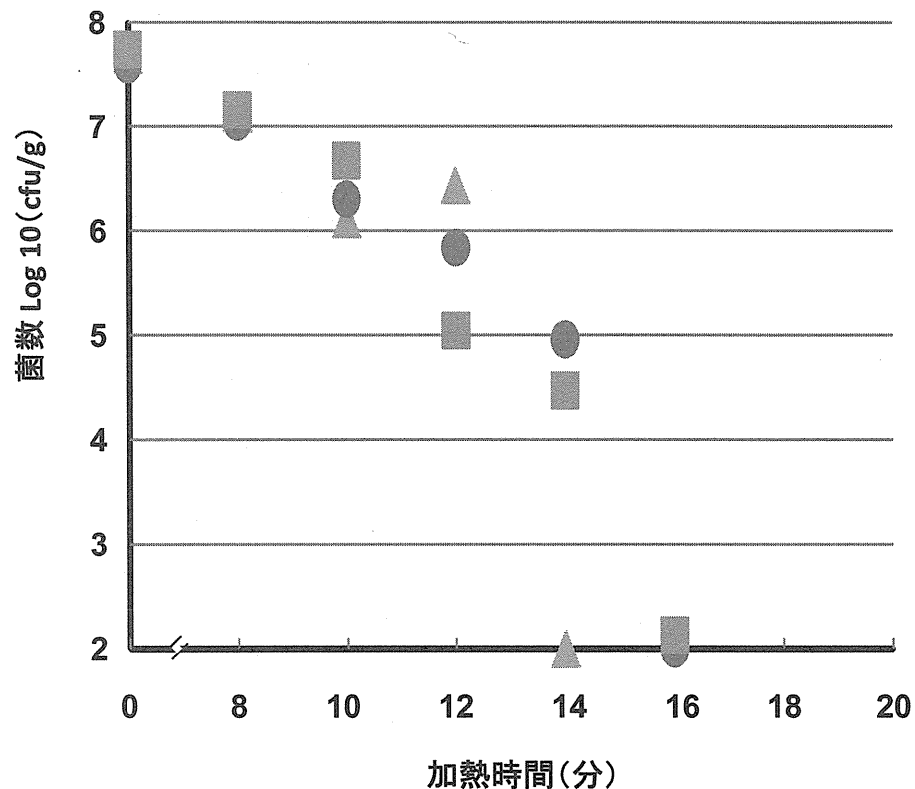


図4 加熱に伴う牛肝臓中心部の温度変化  
牛肝臓を一晚冷蔵後、60°Cの浴槽内で加熱した(A)。  
牛肝臓を一晚冷凍後、60°Cの浴槽内で加熱した(B)。

(A)

冷蔵(4°C)で安定化した牛肝臓



(B)

冷凍(-30°C)で安定化した牛肝臓

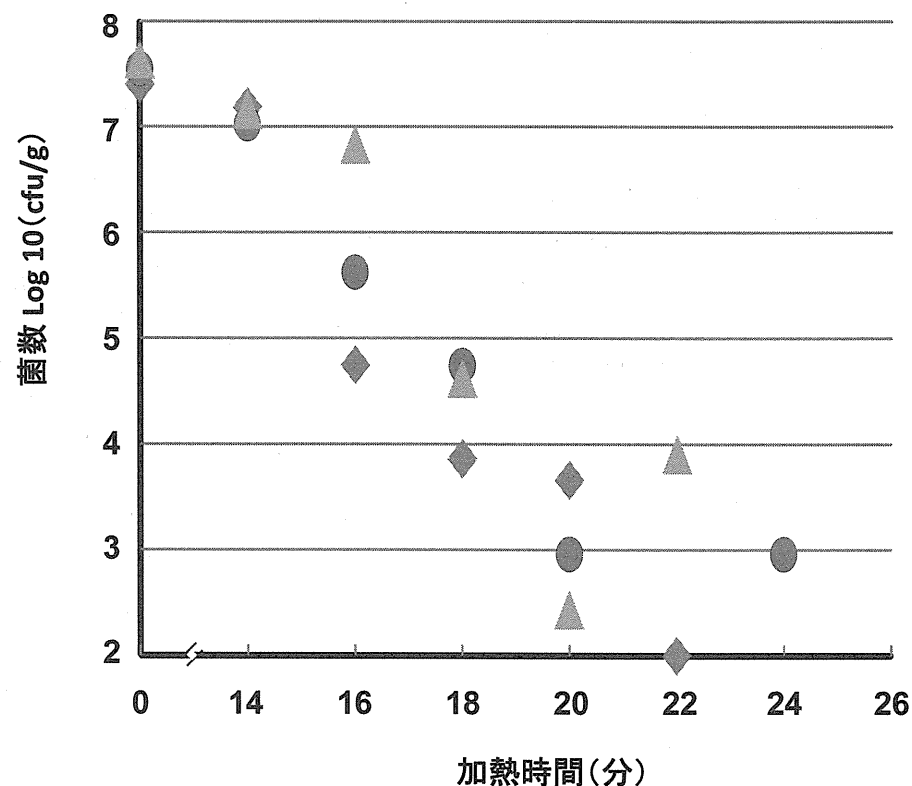


図5 60°C加熱!における牛肝臓中の菌数の消長

(A) 菌接種後、冷蔵(4°C)で一晩安定化した牛肝臓を60°Cで加熱

検体3で各検体につき3枚の寒天培地を使用。

14分の△は1集落の結果。

16分の○は1集落の結果で、△は検出限界以下。

18分、20分は3検体とも検出限界以下。

検出限界以下の検体は増菌培養後すべて陽性を示した。

(B) 菌接種後、冷凍(-30°C)で一晩安定化した牛肝臓を60°Cで加熱

検体3で各検体につき3枚の寒天培地を使用。

22分の◇は1集落の結果の結果で、○は検出限界以下。

24分の△、◇は検出限界以下。

26分は3検体とも検出限界以下。

検出限界以下の検体は増菌培養後すべて陽性を示した。

表1 加熱による牛肝臓中の腸管出血性大腸菌O157の殺菌効果

(A) 冷蔵(4°C)した牛肝臓中の腸管出血性大腸菌O157を60°Cで加熱した時の菌の消長  
回収した菌数(Log10 cfu/g)

保存温度	検体番号	接種						非接種					
		加熱			非加熱			加熱			非加熱		
		1	2	3	4	5	6	13	14	15	16	17	18
冷蔵(4°C)	標準寒天培地	2.00 *)	<2	<2	7.57	7.58	7.63	<2	<2	<2	3.36	2.48	2.60
	VRBG	<2	<2	<2	7.65	7.62	7.62	<2	<2	<2	<2	<2	<2
	CT-SMAC	<2	<2	<2	7.62	7.59	7.74	<2	<2	<2	<2	<2	<2
	クロモアガーO157	<2	<2	<2	7.60	7.62	7.64	<2	<2	<2	<2	<2	<2

加熱において検出限界以下(<2)であった検体は、増菌培養後、すべて陽性を示した。  
非接種において、検出限界以下であった検体は、増菌培養後、すべて陰性(非定型)を示した。  
\*): 非定型を示した。

(B) 冷凍(-30°C)した牛肝臓中の腸管出血性大腸菌O157を60°Cで加熱した時の菌の消長  
回収した菌数(Log10 cfu/g)

保存温度	検体番号	接種						非接種					
		加熱			非加熱			加熱			非加熱		
		7	8	9	10	11	12	19	20	21	22	23	24
冷凍(-30°C)	標準寒天培地	5.73	5.84	4.72	7.64	7.83	7.77	<2	<2	<2	2.00	2.00	2.60
	VRBG	5.51	5.73	4.42	7.78	7.77	7.77	<2	<2	<2	<2	<2	<2
	CT-SMAC	4.01	4.85	2.30	7.85	7.79	7.81	<2	<2	<2	<2	<2	<2
	クロモアガーO157	3.56	4.30	<2	7.75	7.73	7.79	<2	<2	<2	<2	<2	<2

加熱において検出限界以下(<2)であった検体は、増菌培養後、すべて陽性を示した。  
非接種において、検出限界以下であった検体は、増菌培養後、すべて陰性(非定型)を示した。

# 厚生労働科学研究費補助金(特別研究事業)

## 分担研究報告書

食品に対する放射線照射による殺菌手法及び効果判定手法の開発

並びに安全性に関する研究

照射線量及び照射形態(生と冷凍の比較、包装形態等)の検討

研究分担者 等々力 節子 (独)農研機構 食品総合研究所

研究協力者 川崎 晋 (独)農研機構 食品総合研究所

### 研究要旨

牛肝臓中での腸管出血性大腸菌の $\gamma$ 線照射による殺菌効果について検討を行い、殺菌に必要なとされる線量と牛肝臓部位差のデータを取得した。その際、望ましい $\gamma$ 線照射形態について検討するため、冷蔵・冷凍および包装条件下での殺菌効果を比較した。牛肝臓中での $\gamma$ 線照射による殺菌には、従来の報告で示された牛挽肉殺菌試験結果よりやや高めの線量が必要で、好気条件下での $D_{10}$ 値は、氷冷(0℃)照射で0.26~0.36kGyだった。この現象は凍結下ではより顕著に観察され、ドライアイス(-80℃)下での $D_{10}$ 値は0.56~0.80kGyと、先の牛挽肉研究例と比較して高い線量照射を必要とした。また牛肝臓を完全に真空包装した場合には、殺菌効果の著しい低下が観察され、 $D_{10}$ 値は好気条件下よりさらに大きくなった。放射線照射時は食品自身の劣化防止のため低温かつ酸素濃度を低下させた環境が望まれるが、牛肝臓中での殺菌を行う場合、上記条件下での照射は品質評価と共に慎重に検討すべきである。

### A. 研究目的

平成23年3月に発生した生食用食肉(ユッケ)による腸管出血性大腸菌食中毒事件を皮切りに生食用牛肉、牛肝臓に対する規制がなされることとなった。特に牛肝臓においては、薬事・食品衛生審議会において、牛肝臓の内部が腸管出血性大腸菌により汚染される可能性があるとともに、除去する手法が見いだせないことから、牛肝臓を生食用として販売することを禁止する規格基準を設定すること及び牛肝臓の生食の安全性を確保する知見が得られた際には改めて審議すること、が答申されたところである。しかしながら、その禁止による経済的影響は100数十億円と試算されており、食肉業者や牛肝臓生食愛好家等からの禁止解除の要望が数多いことから、牛肝臓の生食の安全性確保に関する知見を早急に得る必

要性が生じた。

そのような規制強化と禁止解除の要望の中、非加熱かつ複雑な形状の物質においても均一な殺菌が可能な放射線照射による食肉殺菌技術が注目されている。殺菌技術として放射線照射の活用は、わが国では食品衛生法では認められていない現状にあり、諸外国でも慎重な検討が進められているが、米国では食肉、EU およびオーストラリアでは香辛料に使用されている実績がある。我が国においては、平成17年に食品への放射線照射の活用を検討する旨の閣議決定がなされ、WHOなどの国際的機関においても安全性検証が進められている。

そこで本研究では、食品に対する放射線殺菌技術の活用を検討する一環として、牛肝臓中での腸管出血性大腸菌の $\gamma$ 線照射による殺菌効果について、検討を行い、殺菌に必要な

とされる線量の基礎データと牛肝臓部位差のデータを取得した。また、その際、望ましい $\gamma$ 線照射形態について検討するため、冷蔵・冷凍および包装条件下での殺菌効果の違いを求めた。

## B. 研究方法

### 1. 試料

牛肝臓試料は、①つくば市内の精肉店より冷凍状態の牛肝臓塊(約 1.0 kg)、もしくは②東京芝浦食肉処理場にて屠殺直後に凍結した牛肝臓塊(約 6.0 kg)を用いた。②東京芝浦食肉処理場からの牛肝臓塊は部位差による殺菌効率の差を観察するために、牛肝臓塊を大きく8つに分割し、うち3つの牛肝臓部位を接種試験に使用した。これらは購入後直ちに実験室に輸送し、 $-80^{\circ}\text{C}$ で保存した。上記の試料は 25gの塊となるよう無菌的に切り分け、各々ガスバリア性の袋に移した後、 $-80^{\circ}\text{C}$ で冷凍保存し、以降の接種用検体として用いた。

### 2. 供試菌株

供試菌は、研究機関および研究協力機関が所有する *Escherichia coli* O157 を用い、KE949 (stx-1, 2 陽性), NIAH119 (stx-1, 2 陰性), DT66 (stx-1, 2 陰性) の 3 株を用いた。

これらは、Trypticase Soy Broth(Difco)を用いて、 $37^{\circ}\text{C}$ 一昼夜振とう培養した後、遠心分離(4000g, 5 min)により菌体を収集、培地成分を除去した。菌体はリン酸緩衝溶液に再懸濁し、 $10^{10}$  CFU/mLとなるように調整、これを供試菌液として以降の試験に用いた。

### 3. 接種検体の調製

菌液の接種は、供試菌液 100  $\mu\text{L}$  を注射針により検体内部に注入することで行った。検体を自然解凍後、終濃度が約  $10^8$  CFU/g となるよう供試菌液を接種した。接種した検体は直ちに含気包装もしくは真空包装機にて脱気包装した。接種検体を水中もしくは $-80^{\circ}\text{C}$ の冷凍

庫内で 2 時間以上放置して検体温度を一定にした後、以降、 $\gamma$ 線照射による殺菌試験に用いた。

### 4. $\gamma$ 線照射による殺菌

$\gamma$ 線照射はコバルト 60 線源を装填した Gamma Cell 220 (Nordion, Canada)を用いた。照射時の温度は、氷冷( $0^{\circ}\text{C}$ )および冷凍(ドライアイス下)( $-80^{\circ}\text{C}$ )の 2 条件を設定した。照射中の温度を一定に保つため、照射チャンバーと同形状の筒状型発泡スチロール箱を作成し、この中央に検体を入れ、周囲に氷( $0^{\circ}\text{C}$ )もしくはドライアイス( $-80^{\circ}\text{C}$ )を封入した。線量は、冷蔵では 0~1.2 kGy、冷凍では 0~3.0 kGy の範囲とした。照射後の検体は直ちに、もしくは解凍後直ちに、菌数計測に用いた。

### 5. 線量測定

吸収線量は試料に装着したアラニンペレット(ES200-2106:ブルッカーバイオスピン社製)の信号をESR装置(Bruker EMX-Plus)で測定して決定した。検量線は英国の National Physical laboratory の標準アラニンペレットで作成した。できるだけ均一な線量分布を得るため、殺菌用試料の筒状型発泡スチロール箱への充填は中心部に最大で 6 個までとした。図1に示すように各試料間に線量計を挟み込み、7カ所の吸収線量を測定した。最小線量に対する最大線量の比(公比)は 1.07 で、線量率は、4.1kGy/h (RSD=2.5 %)であった。線量は目標線量の 5%以内となるように調整した。

### 6. 温度の確認

照射中の温度変化の有無を確認するため、熱電対により検体温度の変化を計測した。非接種検体に熱電対を埋め込み、5.と同様に照射の前後での温度変化を計測した。冷凍(ドライアイス下)条件の最大線量 3.0kGy(処理時間 45 分間程度)および、冷蔵条件の最大線

量 1.2kGy (処理時間 18 分程度) の照射を行っても照射前後の温度変化はほとんど認められず、照射中においても検体温度が、氷冷下では 0~1℃、冷凍(ドライアイス下)では-79~-80℃の範囲で保たれていることを確認した。

## 7. 生菌数測定

γ線照射後の検体は、滅菌緩衝ペプトン水 (BPW: Difco)を加えて 10 倍乳剤とし、必要に応じてその 10 倍段階希釈試料液を調整した。各 10 倍段階希釈試料液は、標準寒天平板 (Merck)および VRBG 寒天平板にスパイラルプレーティング法で塗抹した。35℃24 時間培養し、その出現集落数から 1g 当たり的一般生菌数ならびに腸内細菌科数を求めた。

## 8. 出現集落の確認

VRBG 寒天平板上で出現した腸内細菌科典型集落が *E. coli* O157 であることを確認するため、平板上での典型集落を 5 つ選択し PCR 法により確認した。PCR による確認は [TA10] pathogenic bacteria detection kit を用いて行った。核酸抽出ならびに PCR 条件は付属資料に従った。電気泳動法にて所定の増幅産物が確認できたものを *E. coli* O157 集落と判定した。

## C. 研究結果及び考察

### 1. 牛肝臓検体からの *E. coli* O157 数の計測

菌数計測時において、非接種検体では一般生菌数・腸内細菌科典型集落数共に 10<sup>2</sup> CFU/g 以下と *E. coli* O157 接種菌量と比べて極めて少ないことを確認した。また接種区において、培養後の VRBG 平板上の腸内細菌科典型集落を PCR 法により確認したところ、全てが PCR 法により *E. coli* O157 陽性と判定されたことから、VRBG 平板上の典型集落数をほぼ *E. coli* O157 数とみなして計測できることを確認した。以降、非接種区の牛レバーは全て

10<sup>2</sup> CFU/g 以下であったことから、PCR 法による典型集落の確認は省略した。

### 2. 冷蔵および冷凍下における γ線照射での殺菌効果と菌株差の検討

牛肝臓検体中において *E. coli* O157 KE949, NIAH119, DT66 株を接種し、冷蔵および冷凍下で γ線照射を行った際の殺菌効果を表 1 に示した。それぞれの菌株について D<sub>10</sub> 値を求めたところ、冷凍下では NIAH119, KE949, DT66 の順に γ線照射に対する抵抗性が (0.56kGy, 0.76kGy, 0.80kGy) 強く得られた。本試験結果から、γ線照射における殺菌効果について菌株差が認められ、菌株により抵抗性が大きく異なる可能性があることがわかった。また、stx 生産能による違いは認められなかった。先の研究において NIAH119 株は他株と比較して耐熱性が高い結果を研究報告者より得ていたが、γ線照射の抵抗性と耐熱性との関連性は認めなかった。それゆえ、γ線照射による殺菌効果試験や照射形態などに関する試験においては、stx 非産生株を指標菌株として使用できる可能性を示唆した。冷蔵条件において γ線照射した検体の外観を写真 1 に示した。冷蔵・冷凍条件ともに、γ線照射後の外観について大きな色調変化は観察されなかった。

部位ごとでの殺菌効果の比較結果を図 2, 3 に示す。KE949 株を用いて冷蔵条件にて 3 部位による比較を行ったところ、D<sub>10</sub> 値は 0.27kGy, 0.24kGy, 0.26kGy と得られ、牛肝臓部位での殺菌効果の差は観察できなかった。同様に、冷凍条件下では D<sub>10</sub> 値は 0.78kGy, 0.69kGy, 0.82kGy と得られ、多少部位差を認めるものの菌株による相違ほど大きく異ならないと考えられた。さらに、牛肝臓を長期冷凍保存した検体についても、同様な殺菌効率比較試験を試みたが、殺菌効率に差は認めなかった (Data 示さず)。ただし、牛肝臓毎での個体差については、繰り返し試験による検討が必要である。

一般に、冷凍条件では冷蔵条件と比較して、 $\gamma$ 線照射による殺菌効率は低下することが知られている。過去文献でも、牛挽肉を用いた実験系において、 $\gamma$ 線照射時の温度により殺菌効率が顕著な差が認められ<sup>1)</sup>、低温下では殺菌効果が低下することが報告されている。牛肝臓を検体として用いた本試験結果も同様の結果を示した。これまでの牛挽肉での $\gamma$ 線照射における殺菌効果研究では、冷蔵下では  $D_{10}$  値 0.251~0.241kGy、冷凍下では 0.307~0.305kGy<sup>2)</sup>と報告されているものがあり、これと比較して、牛肝臓ではほぼ同等もしくはやや高めの  $D_{10}$  値が得られた。しかし、冷凍下においては過去文献の結果と大きく異なり、牛挽肉と比較して著しく高い  $D_{10}$  値が観察された。

冷蔵・冷凍区いずれの実験結果においても DT66 株は KE949 株と比較して、 $\gamma$ 線照射に対する抵抗性が強いいため、以降、DT66 株を用いて検討を行った。

#### 4. 含気および脱気条件下での $\gamma$ 線照射による殺菌効果の検討

気層条件を変化させた際の、 $\gamma$ 線照射による殺菌効率を求めた結果を表2に示す。牛肝臓検体を脱気して照射殺菌した場合、冷蔵区では  $D_{10}$  値として 0.43kGy、冷凍区では 1.13 kGy と得られ、冷蔵・冷凍区共に、含気条件と比較して殺菌効率の著しい低下が観察された。

一般に、 $\gamma$ 線殺菌において脱気は、脂質酸化の抑制などの品質保持のために行われるが、牛肝臓に $\gamma$ 線照射殺菌を行う場合、完全な脱気はかえって殺菌効果を低下させる結果となった。ただし、上記の脱気包装を行った場合、その気圧差から検体が押しつぶされてしまい、食肉としての市場価値は失われている状態にある。とはいえ、脱酸素剤の活用や窒素置換包装等さまざまな包装形態が存在することから、包装時の気層条件については、今後さら

なる条件検討が必要であろう。

#### D. 結論

1) *E. coli* O157 の $\gamma$ 線殺菌による効果については菌株毎での差異が観察されることから、 $\gamma$ 線照射殺菌試験に適した指標菌の選択が重要になると考えられる。この菌株差については、熱耐性や毒素産生能に依存しないことから、毒素非産生株が $\gamma$ 線照射殺菌の指標菌として活用できる可能性を示した。

2) 牛肝臓中での $\gamma$ 線照射による殺菌効果については、従来報告で示されている挽肉での殺菌試験結果よりやや高めの照射が必要であった。さらに、冷凍下ではより顕著に観察され、挽肉での事例と比較して高い線量の照射が必要であった。

3) 真空包装下での $\gamma$ 線照射による殺菌効果も検討したが、完全な真空包装下では殺菌効果は著しく低下したため包装形態によって殺菌効果が異なる可能性を認めた。現在、様々な包装形態で食品が流通しており、特にガス置換包装や脱酸素剤を用いた場合での影響等、さらなる検討が必要と考える。

4) 一般に、放射線照射は食品自身の劣化防止のため低温かつ酸素濃度を低下させた環境での照射が望まれるが、殺菌効果を含めて考慮した場合、上記条件下での照射は品質評価と共に慎重に検討すべきである。

#### E. 参考文献

- 1) Donalo W. Thayer, and Glenn Boyd, Elimination of *Escherichia coli* O157:H7 in meats by gamma irradiation. Appl. Environ. Microbiol. 59, 1030-1034 (1993)
- 2) M. Rocelle S. Clavero, J. David Monk, Larry R. Beuchat, Michael P. Doyle, and Robert E. Brackett, Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonellae*, and *Campylobacter jejuni* in raw ground beef by gamma irradiation. Appl. Environ.



Microbiol. 60, 2069-2075 (1994)

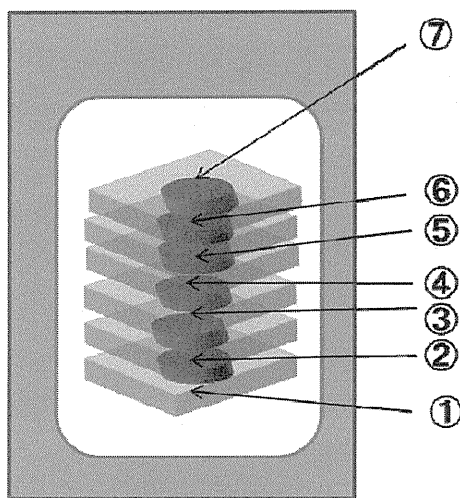
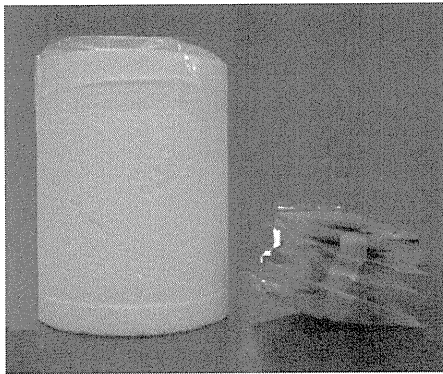
F.研究業績

1.論文発表

なし

2.学会発表

なし



**線量計位置**

- ① ⑦ サンプル上下
- ②～⑥ サンプル間

線量計 No	線量 (目標1kGy)	相対値 ④を1.0として
①	1.02	0.96
②	1.05	0.99
③	1.07	1.01
④	1.06	1.00
⑤	1.02	0.96
⑥	1.03	0.97
⑦	1	0.94

殺菌試験用(25g)包装試料最大で6個を  
装填するとして、線量分布を測定  
2013年1月18日 15min照射

平均線量:  $1.04 \pm 0.026$  kGy (RSD= 2.5%)  
線量率: 4.14 kGy/h  
最大/最小=1.07/1.0=1.07

図1. 殺菌用肝臓試料の照射容器への装填状態と線量分布の測定

上: 容器と試料6個の外観

(試料は、公比が大きくなるよう最大でも6個までとし、間隙には砕ドライアイスを含めた。)

下: 試料と線量計位置の模式図と線量分布の測定結果

表 1. 冷蔵および冷凍した牛肝臓中での *E. coli* O157 の殺菌効果

供試菌株	毒素遺伝子の保有		D <sub>10</sub> 値 (kGy)	
	stx-1	stx-2	氷冷下(0°C)	冷凍下(-80°C)
	NIAH119	-	-	0.29
KE949	+	+	0.26	0.76
DT66	-	-	0.36	0.80

写真 1. 氷冷下(0°C)でγ線照射した際の牛肝臓の外観



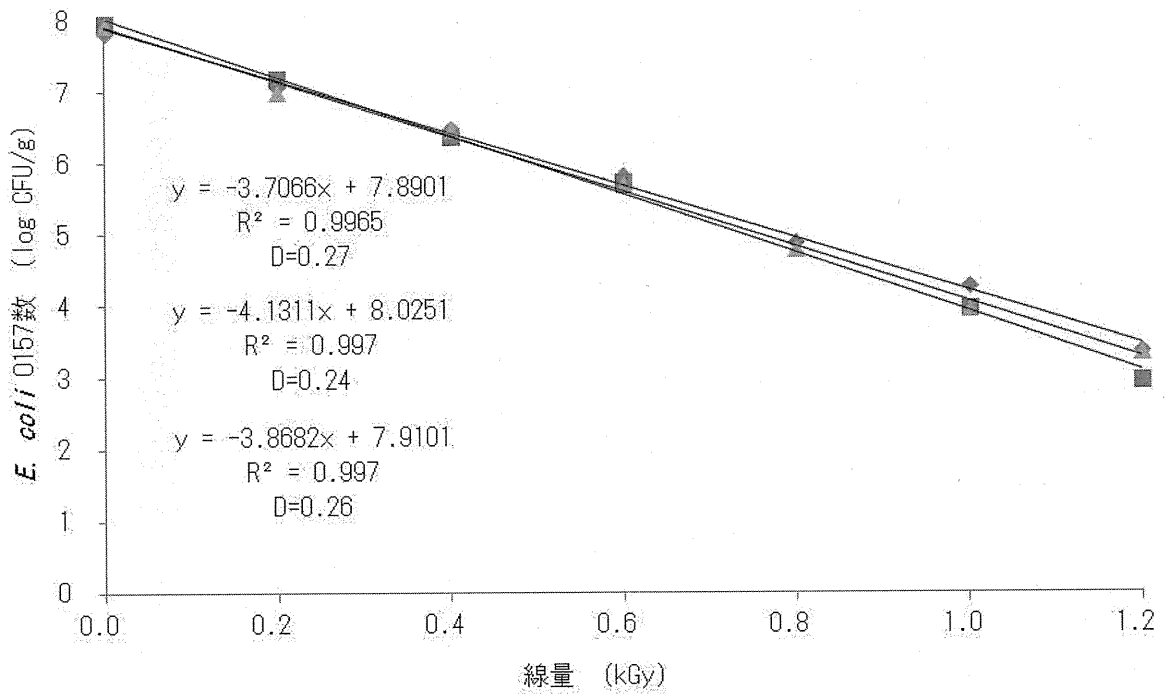


図2. 冷蔵 (0°C) 条件下でγ線照射を牛肝臓部位別で行った際の殺菌効果の比較

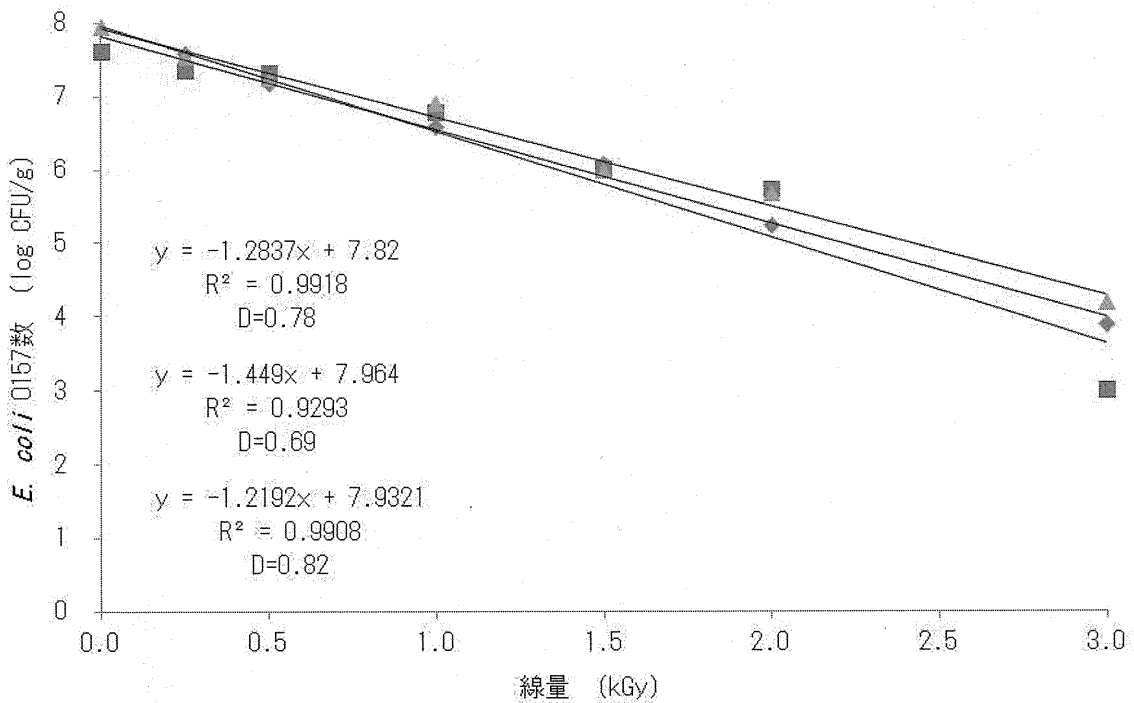


図3. 冷凍 (-80°C) 条件下でγ線照射を牛肝臓部位別で行った際の殺菌効果の比較

表 2. 牛肝臓を含気および脱気包装した際の *E. coli* O157 DT66 の殺菌効果

照射時の温度	D <sub>10</sub> 値 (kGy)	
	含気包装	脱気包装
冷蔵(0°C)	0.36	0.43
冷凍(-80°C)	0.80	1.13

厚生労働科学研究費補助金(特別研究事業)

分担研究報告書

食品に対する放射線照射による殺菌手法及び効果判定手法の開発  
並びに安全性に関する研究

対象食品における照射後に生成する副産物及びその安全性に関する検討

研究分担者 等々力 節子 (独)農研機構 食品総合研究所  
研究協力者 亀谷 宏美 (独)農研機構 食品総合研究所  
研究協力者 川崎 晋 (独)農研機構 食品総合研究所

研究要旨

殺菌可能なレベルの放射線照射を行った牛肝臓について、食品としての健全性（栄養適性、毒性学的安全性）や品質（フレーバー、色調）などを調査することが必要である。本研究では、フィルム包装したと畜直後の新鮮な肝臓（約 550g 塊）を、氷冷（0～2℃）3kGy およびドライアイス凍結下（-76～-80℃）5 kGy で照射し、一般栄養成分、脂質酸化指標（TBA 値、過酸化物質価）、ビタミン含量、色調変化を検討した。その結果、氷冷照射の方が凍結照射に比べて成分変化の度合いが大きく、0℃ 3kGy 照射の試料ではチアミン（ビタミン B1）含量が 87%に、総アスコルビン酸（ビタミン C）およびビタミン B6 含量も僅かに減少した。凍結（ドライアイス下；-80℃）5kGy 照射では、チアミンの微少な減少を除き一般栄養成分やビタミン含量に非照射試料との差は認められなかった。TBA 値については、氷冷（0℃）3kGy 照射で値がやや大きくなる傾向が認められた。色差計および肉眼観測の結果、牛肝臓の照射による明瞭な色調変化は認められず、照射牛挽肉に見られるような赤色の退色もなかった。

A. 研究目的

食品の放射線照射は非加熱処理であり、食品の成分変化が比較的少ないとされている。しかしながら、放射線照射により脂質成分の酸化分解反応<sup>1)</sup>やデンプンなど高分子多糖類の分子切断<sup>2)</sup>などの反応が起こることも見いだされており、これらの化学的な反応が照射食品の色調や食味など品質の低下、栄養素の損失、あるいは健康危害の懸念のある副産物の生成などを引き起こす可能性がある。そこで、殺菌可能なレベルの放射線照射を行った牛肝臓について、食品としての健全性（栄養適性、毒性学的安全性）や品質（フレーバー、色調）などを調査することが必要である。

前項の研究により、牛肝臓中に *E. coli*

0157 を接種した場合での  $D_{10}$  値(kGy)は氷冷照射で 0.25～0.45、凍結照射で 0.56～1.1 程度と推定された。そこで、本研究では、十分な殺菌効果が見込める条件として、氷冷 3kGy、凍結下 5 kGy を選択した。

牛肝臓の放射線照射による品質変化や副産物生成の指標としては、これまでの畜肉（牛挽肉など）の研究例<sup>3)</sup>から脂質成分の酸化反応が重要と考えられた。そこで検討項目に、過酸化脂質生成の指標である TBA 値および過酸化物質価を取り上げた。また、牛肝臓は、ビタミン類が豊富に含まれるため、主な脂溶性ビタミンおよび水溶性ビタミンの照射による損失の有無の可能性について検討を行い放射性感受性の高い栄養成分の特定と変化の程度を

検討した。

さらに照射牛挽肉の品質評価においては、色調変化が報告されているため<sup>3)</sup>、牛肝臓の放射線照射が、色調や風味を著しく損なう可能性があるか否かについても検討を行った。

## B. 研究方法

### 1. 試料

牛肝臓試料（1頭分：重量 6.5kg）は、東京芝浦臓器（株）より入手した。と畜当日に氷冷状態で直ちに実験室に移送、1晩冷蔵庫（4℃）に保管することにより試料温度を均一にした後、約 480~600g のブロックに切り分けた（図 1、表 1）。これを、ガスバリア袋（PTS 袋：三菱ガス化学製 PB220300P）に入れ、卓上自動真空包装機 V380 G（東静か電気株式会社）で、90%脱気条件でヒートシールした。包装した肝臓ブロックは氷冷、または-80℃の凍結庫で直ちに冷却した。

### 2. ガンマ線照射

**氷冷照射：**包装した肝臓ブロックを砕水中に浸漬して 2 時間 30 分以上放置し、品温が 0~2℃となるよう氷冷した。なお、温度測定用の肝臓試料を別途用意し、この中心に熱電対温度計（データロガー ZR-RX25 オムロン 温度センサ：ST-50 理研科学工業）を差し込んで氷冷開始後からの温度変化を追跡した。その結果、氷冷開始後 2.5 時間で、肝臓ブロックの中心温度が 1.3℃に低下するのを確認した。包装した試料は直径 7.5 cm 高さ 12.5 cm 程度の円柱状に形を整え、内径 11cm 高さ 14cm 厚さ 2cm の円柱形発砲スチロール製照射容器の中心に入れ、容器と試料の間には砕氷を詰め、発砲スチロール製の蓋をした。これをガンマセルの照射チャンバーに搭載して、3 kGy を目標線量として 45 分間のガンマ線照射を行った。

**凍結照射：**肝臓ブロックを上記と同様に包装し、形を円柱状に整えて発砲スチロール照射

容器に入れ、直ちに-80℃の超低温槽中に入れ一晩保管した。この貯蔵時間で温度測定用の肝臓ブロックの中心温度が-80℃に達することを確認した。照射直前に容器と試料の間には砕いたドライアイスを含め、発砲スチロール製の蓋をし、これをガンマセルの照射チャンバーに搭載して、5kGy を目標線量として 75 分間のガンマ線照射を行った（図 2）。

なお、氷冷照射、凍結（ドライアイス）照射ともに終了時に固体状の氷およびドライアイスが残存していることを確認した。また、温度測定用の肝臓ブロックを照射用の発砲スチロール容器に入れて、氷冷して 45 分間、ドライアイスで冷却して 75 分間保管した際の温度上昇は、氷中で+0.5℃、ドライアイス下で+3.3℃であった。

照射後の試料は、-80℃で分析を行うまで貯蔵した。同一の照射条件について 3 試料を用意し、3 反復の照射処理を行った。

### 3. 線量測定

照射時の吸収線量は、アラニンペレット（ES200-2106:ブルッカーバイオスピ社製）を用い、検量線は、英国 National Physical laboratory で標準線量照射した標準アラニンペレットを用いて作成した。重量 550g（比重 1g/cm<sup>3</sup>）の円筒形ファントムの中心および側面、上底面に線量計を埋め込んで線量分布を測定した結果は図 3 の通りであった。最小線量に対する最大線量の比（公比）は 1.15 で、試料中の平均的な線量率は、4.1 kGy/h（RSD = 4.4%）であった。

### 4. 栄養成分の測定

非照射コントロール（-80℃貯蔵）、氷冷 3kGy 照射処理、凍結（ドライアイス下） 5kGy 照射処理 の 3 試験区を設定し、各区 3 試料について、脂質をソックスレー抽出法、たんぱく質をケルダール法、水分を常圧加熱乾燥法で測定した。ビタミン E（ $\alpha$ -トコフェロール）

を高速液体クロマトグラフ法で測定した。また、ビタミン A(レチノール当量)、チアミン(ビタミン B1)および総アスコルビン酸(総ビタミン C)を高速液体クロマトグラフ法、ビタミン B6、ビタミン B12、葉酸及びナイアシン(ニコチン酸相当量)を微生物定量法、鉄を ICP 発光分析法で測定した。分析は、(財)日本食品分析センターに依頼して実施した。

## 5. 脂質酸化指標および分解物の測定

脂質酸化の指標と考えられる TBA(チオバルビツール酸)価は水蒸気蒸留法、ソックスレー抽出した抽出油の過氧化物価を酢酸-クロロホルム法より測定した。分析は、(財)日本食品分析センターに依頼して実施した。

## 6. 色差測定

150 g 程度の肝臓ブロックを上記と同様に包装し、氷冷中(0~2°C)で 3 kGy または、凍結(ドライアイス)下(-80°C)で 5kGy の照射を行った。照射後-80°Cで保管した後、4°Cの冷蔵庫に移して 24 時間放置して解凍し、ブロックの外側(肝臓の被膜のある部分および肝臓組織の切断面が出ている部分)を 8 か所、また肝臓ブロックを 8 mm 程度の厚さの切り身にし、各切断面の 3 か所、5 枚について簡易分光色差計(簡易分光色差計 NF333 日本電色工業)を用いて L\*、a\*、b\* 値の測定を行った。メトリック彩度は次式で求めた。メトリック彩度 =  $\sqrt{((a^*)^2 + (b^*)^2)}$ 。コントロールは、-80°C で同期間保存後、冷蔵庫に移して上記と同様に解凍した試料とした。

## C. 研究結果及び考察

### 1. 栄養成分の分析

照射および非照射肝臓試料について一般成分、主な水溶性および脂溶性ビタミン、鉄含量を分析した結果を示す。(表 2)。分析の結果、脂質、タンパク質、水分などの一般成分の含量に照射による影響は認められなかった。

水溶性ビタミンのうち、チアミン(ビタミン B1)含量は、3kGy(氷冷)照射でコントロールの 87%、5kGy(-80°C)照射で 94%と、有意な減少が認められた。また、3kGy 照射では、ビタミン B6、総アスコルビン酸(ビタミン C)の含量も片側 5%の有意水準でわずかな減少が認められた。脂溶性ビタミンでは、ビタミン A(レチノール当量)についても 3kGy 照射で、コントロール試料より低い値となったが統計的な有意差は認められなかった。

放射線に対するビタミン類の感受性については、Diehl らにより脂溶性ビタミンはビタミン E > カロテン > ビタミン A > ビタミン D > ビタミン K の順番に感受性が高く(=この順番で放射線耐性が低く)、水溶性ビタミン類では、ビタミン B1(チアミン) > ビタミン C(アスコルビン酸) > ビタミン B6 > ビタミン B2 > 葉酸 > ニコチン酸(ナイアシン) > ビタミン B12 の順に感受性が高いとまとめられている<sup>4)</sup>。今回の牛肝臓の試験においてガンマ線照射の影響が一番明確に認められたビタミンはチアミンであり、ビタミン類の放射線感受性については既報と同様の傾向であった。また、氷冷照射の方が凍結照射よりも影響が大きいと考えられ、凍結(ドライアイス)下 5kGy 照射の牛肝臓の栄養成分は、チアミンのごくわずかな減少を除き照射の影響は認められなかった。

### 2. 脂質に対する影響

脂質酸化の指標である TBA(チオバルビツール酸)価は、非照射、5kGy(ドライアイス下)、3kGy(氷冷)の順に高くなる傾向が認められたが、統計的な有意差は検出されなかった。また、抽出油の過氧化物価については、照射処理により増加する傾向は認められず、その絶対値も脂質成分の酸化劣化を示すものではなかった。(表 3)

Ismail らは、4°C で 2.5 kGy の電子線照射を行った牛挽肉の TBA 値について、照射直後



は照射による増加の程度が少ないが、貯蔵中に脂質酸化が進行して TBA 値が上昇し、その度合は照射試料の方が非照射のコントロール試料より大きいと報告している。また、この酸化反応の進行は、アスコルビン酸(ビタミン C) や  $\alpha$  トコフェロール(ビタミン E)、セサモールなどの抗酸化物質の添加により抑制されるとしている。<sup>5)</sup> 牛肝臓には、筋肉組織と比較して多量の抗酸化物質が含まれることから、これらが照射後の TBA 値の増加を抑制する可能性も考えられるが、生食を想定した貯蔵条件における TBA 値の変化については、今後さらに検討を行う必要がある。

### 3. 色調に対する影響

表 4 に照射による色調変化を CIE L\*a\*b\*色空間の値として測定した結果を示す。3 kGy(氷冷)照射試料においては、皮膜の上から測定した b\*値がやや小さくなった。一方、切り身の表面色では、3kGy(氷冷) において a\*値が有意に大きくなったが、5kGy(凍結)照射では、色調への影響は認められなかった。

牛挽肉においては、好気条件の放射線照射により a\*値の低下(赤色から茶褐色への変化)が認められ、この変化はアスコルビン酸などの抗酸化剤の添加により抑制されることが報告されている。<sup>3),5)</sup> 今回の実験条件で照射を行った牛肝臓では、a\*値の低下は認められなかった。

また、色差計での測定試料を用いて 10 人のパネルにより外観と臭いの変化を感知できるか否かについて予備的に調査した結果、色調について照射によりコントロールと明確な差異を感知した人はいなかったが、臭気については 10 人全員がコントロール試料と照射試料の差異を感知したと報告した。従って、放射線照射殺菌が、牛肝臓に適用出来るか否かを品質の観点で評価する際には、フレーバーや臭気についての検討が重要であることが示唆された。

### D. 結論

- 1) 牛肝臓のガンマ線照射による栄養成分およびビタミン類の含量、脂質酸化指標(TBA 値、過酸化値)を調査した。氷冷(0~2°C) 3kGy 照射によりチアミン(ビタミン B1) 含量が 87%に、総アスコルビン酸(ビタミン C) およびビタミン B6 含量も僅か減少した。凍結(ドライアイス下; -80°C) 5kGy 照射では、チアミンの微少な減少を除き非照射試料との差は認められなかった。
- 2) 牛肝臓の照射による明瞭な色調変化は認められず、赤色の退色もなかった。

### E. 参考文献

- 1) Nawer, W. W., Volatiles from food irradiation Food Reviews International, 2, 45 - 78(1986).
- 2) Hayashi, T., Todoriki, S. and Kohyama K., Irradiation Effects on Pepper Starch Viscosity Journal of Food Science, 59(1), 118-120 (1994).
- 3) Ahn, D.U and Lee, E.J. Mechanisms and prevention of quality change in meat by irradiation, in Food Irradiation Research and Technology 2<sup>nd</sup> ed, Fan, X and Sommers C.H. ed, Wiley Blackwell pp209-226 (2013).
- 4) WHO, in High Dose irradiation: Wholesomeness of food irradiated with doses above 10 kGy. -Report of a Joint FAO/IAEA/WHO Study Group. (WHO Technical Report Series, No.890) pp38-50 (1999).
- 5) Ismail, H., Lee, E. J., Ko, K. Y., and Ahn, D. U., Fat Content Influences the Color, Lipid Oxidation and Volatiles of Irradiated Ground Beef, *Animal Industry Report: AS 656, ASL R2497*. (2010)  
[http://lib.dr.iastate.edu/ans\\_air/vol656/iss1/18](http://lib.dr.iastate.edu/ans_air/vol656/iss1/18)

### F. 研究業績

1.論文発表

なし

2.学会発表

なし

図1. 肝臓試料の切り分けと分析部位

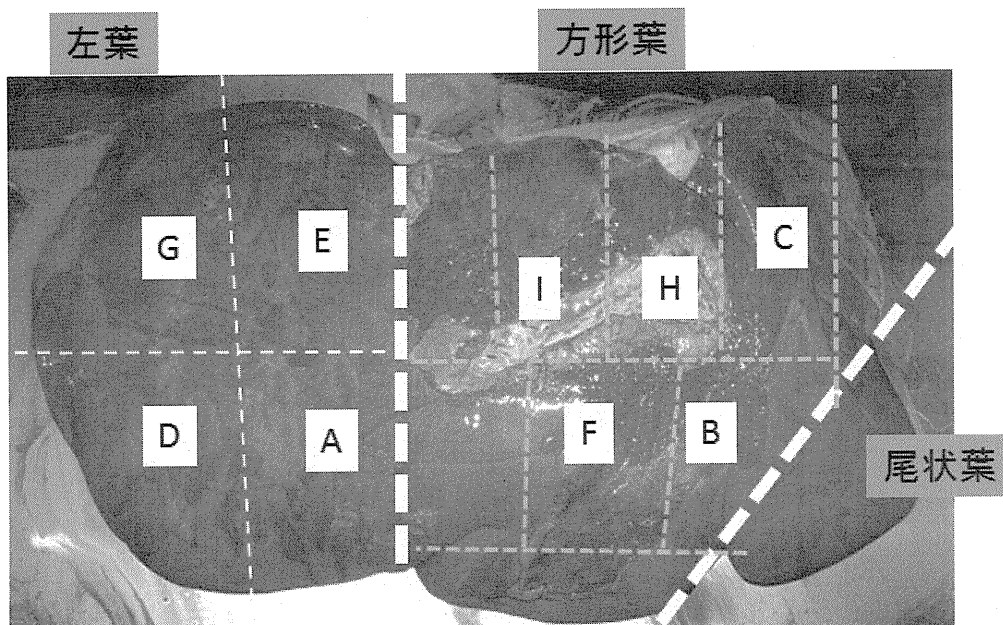
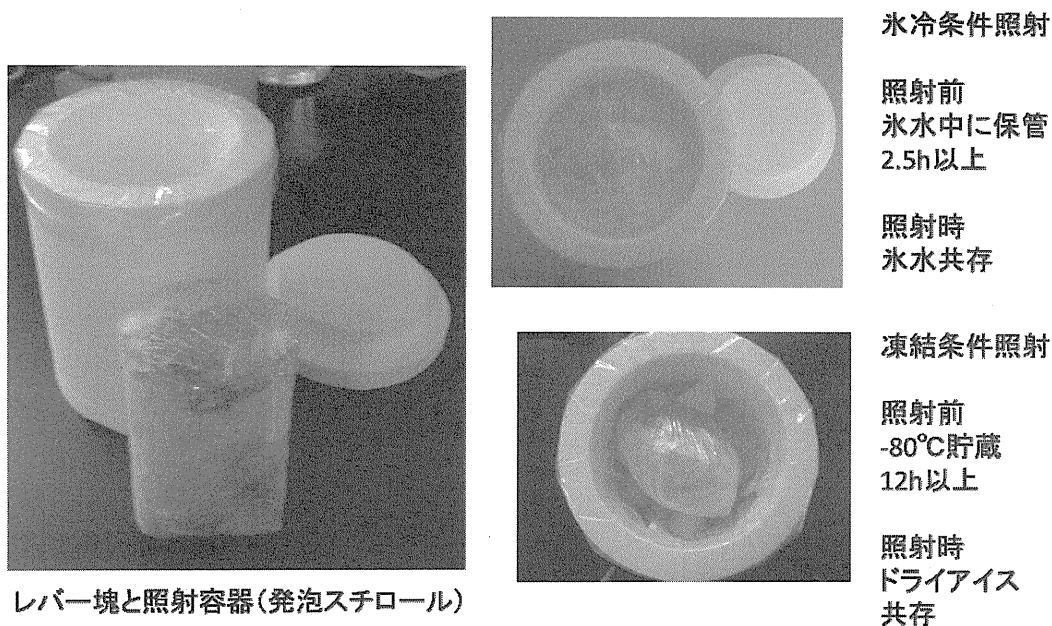


表1. 分析試料の部位と重量

処理	検体部位	重量(g)	部位
コントロール-1	A	599.0	左葉
コントロール-2	B	558.0	方形葉
コントロール-3	C	486.0	方形葉
氷冷3kGy -1	D	537.0	左葉
氷冷3kGy -2	E	489.0	左葉
氷冷3kGy -3	F	562.0	方形葉
凍結5kGy -1	G	506.4	左葉
凍結5kGy -2	H	530.0	方形葉
凍結5kGy -3	I	558.0	方形葉

試料はガンマセル中への装填可能な大きさのブロックとなるよう切断した。  
各処理3反復の試料を部位が偏らないように、左葉と方形葉からサンプリングを行った。  
筋や膜組織は、切りはがして分析対象から外した。

図2 試料の照射形体



重量 500~600g の肝臓ブロックを包装後円筒状に成形して発泡スチロール容器中に装填した。

図3 線量分布の測定

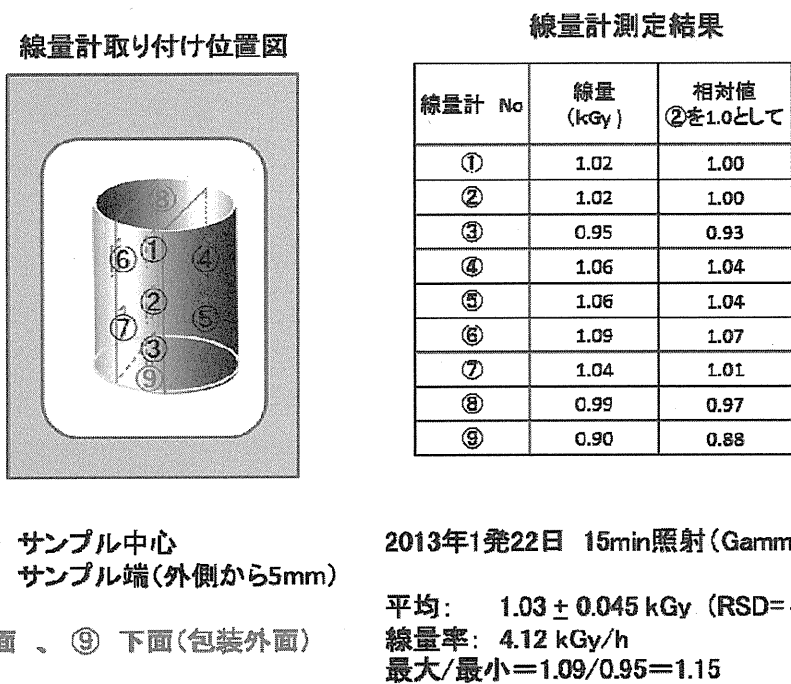


図2に示すような肝臓塊と同等の比重のファントムを用意し、図に示す位置にアラニンペットを埋め込んで照射を行った。