

表 5. エゾシカ中の住肉胞子虫検出率とシカの年齢との関連

年齢	検出	年齢	検出
0	6/7	5	7/7
1	6/6	6	1/1
2	2/2		
3	11/11	8	2/2
4	13/14		

陽性数／検体数

平成 26 年度 厚生労働科学研究費 食品の安全確保推進研究事業
畜産食品の安全性確保に関する研究

分担研究報告書

分担研究課題名 牛消化管内の大腸菌群等の分布状況

分担研究者：山崎 伸二 大阪府立大学大学院 生命環境科学研究科
研究協力者：日根野谷淳 大阪府立大学大学院 生命環境科学研究科

研究要旨：牛の肝臓内と胆汁を含む種々の消化管部位における大腸菌群細菌の分布及び陽性率と相関性を明らかにする目的で、牛の消化管内における大腸菌群の分布を調べた。その結果、唾液から牛の消化管内はほぼ 100%大腸菌群が検出され、細菌数は肛門に近づくに従い高くなった。一方、牛の肝臓内を 5 カ所に分けて同様に分布を調べた結果、非可食部位に相当する 3-5 での陽性率が約 52-57%と可食部に相当する 1 と 2 (26-34%) と比べた高かった。さらに、冬場に比べて夏場に高くなる傾向にあった。同様に *stx* 遺伝子を PCR で検出した結果、肛門の組織で 78.3%と最も高かったが、肝臓でも 3.3%の割合で検出されえた。しかし、*stx* 遺伝子陽性となった部位は全て非可食部位の 3-5 であった。

A. 研究目的

牛肝臓内から腸管出血性大腸菌 O157 が検出されたとの報告が切掛けで、生レバーの生食が禁止となった。一方、生レバーの需要は大きく、生レバーの復活が求められている。しかし、現状の牛肝臓を生で食すると腸管出血性大腸菌感染症に罹患する可能性が否定できず、特に小児や老人が感染すると溶血性尿毒症症候群や脳症を併発し重篤化する。

牛肝臓内に腸管出血性大腸菌が存在しているか、存在しているとどこに存在しているかを、牛肝臓内で腸管出血性大腸菌が陽性となる場合、他の消化管部位のどこに生息している可能性が高いかを明らかにすること目的とし、牛消化管内及

び肝臓内における大腸菌群細菌の分布を調べ、牛消化管内及び肝臓内における *stx* 遺伝子を検出し腸管出血性大腸菌の有無について検討した。

尚、牛の消化管の検体採取場所は、唾液、第一胃、十二指腸、盲腸及び直腸内容物又は組織、肝臓と胆汁で、大腸菌群の細菌数を調べた。さらに各消化管組織とその内容物について *stx* 遺伝子の検出を試みた。肝臓については可食部 1 と 2 に分け、非可食部については 3、4、5 に分けて大腸菌群の細菌数及び *stx* 遺伝子の検出を試みた。

B. 研究方法

1. 牛消化管組織内の大腸菌群細菌数の

測定と PCR 法による *stx* 遺伝子の検出

牛の屠畜解体直後に唾液 (n=41)、第一胃 (n=46)、十二指腸 (n=68)、盲腸 (n=69)、直腸 (n=65) のそれぞれの内容物と胆嚢 (n=65)、肝臓 (n=69) と胆汁 (n=69) を採取し直ちに研究室に持ち込み実験に供した。肝臓については約 50 g を同量の滅菌 PBS に加え、ストマッカー処理を 30 秒間行なった。処理が不十分な場合は、さらに 30 秒間処理を行なった。得られた懸濁液と原液の胆汁を直接滅菌 PBS で希釈し、マッコンキー寒天培地に植菌して、37°C で一夜培養し大腸菌群細菌数を測定した。さらに、ストマッカー処理した肝臓検体と胆汁検体をそれぞれ 1 mL を 1.25 倍の TSB 4 mL に加え 37°C、18 時間、浸透培養し、得られた増菌培養液 100 µL を 900 µL の TE buffer (pH 8.0) に加え、100°C、10 分間加熱し、その上清を鋳型 DNA として *stx* 遺伝子の検出するための PCR を行なった。

2. 肝臓内の大腸菌群細菌の分布と *stx* 遺伝子の PCR による検出

牛肝臓を図に示したように可食部に相当する部位 1 と 2、非可食部の 3、4、5 とに分け、1 と同様の方法で胆汁と共に大腸菌群細菌数の測定と PCR 法による *stx* 遺伝子の検出を試みた。

C. 研究結果

1-1. 牛消化管組織内容物の大腸菌群細菌数の測定

表 1 に示した通り、唾液から肛門にかけてほぼ 100% で大腸菌群細菌が検出さ

れた。データには示していないが、検出された細菌数も第一胃から肛門に近づくに従って高くなった。しかしながら、胆汁では 14%、肝臓では 68% で陽性となった。

1-2. 牛消化管組織内容物の *stx* 遺伝子の PCR 法による検出

表 2 に示した通り、*stx* 遺伝子は肛門組織で 78.3% と最も陽性率が高かった。しかしながら、肛門内容物では 45%、盲腸組織では 29%、盲腸内容物で 26%、十二指腸組織で 5.8%、十二指腸内容物で 15%、第一胃内容物で 8.6% であった。

一方、唾液で 22% とやや高めの値を示した。胆汁では調べた 149 検体全てで検出されなかったが、肝臓では 3.3% で陽性となった。

2-1. 肝臓内の大腸菌群細菌の分布

1-1 で肝臓から 68% の割合で大腸菌群細菌が検出されたため、肝臓を 5 つの部位に分けてどの部位で大腸菌群細菌が多く分付するかについて調べた。その結果、表 3 にまとめたように可食部に相当する部位 1 と 2 では、陽性率が 26 と 34% と低かったのに対し非可食部位の 3、4、5 ではそれぞれ 52、57、53% と高かった。さらに、季節性を考慮して比較すると、比較的気温の高い High シーズンでは、非可食部位の陽性率は 70% まで上がるのに対し、可食部位の陽性率は 20% 以下と低くなった。

2-2. 肝臓内の *stx* 遺伝子の分布

1-2 で肝臓から 3.3% の割合で *stx* 遺伝

子が検出されたため、2-1 とどうよう肝臓を5つの部位に分けてどの部位で *stx* 遺伝子が検出されるかについて調べた。その結果、可食部位に相当する 1 と 2 では全く検出されず、*stx* 遺伝子が検出されたのは、非可食部位の 3、4、5 であった。尚、現在得られた PCR 産物が *stx2* に特異的なものであるか確認中である。

D. 考察

当初、牛肝臓内で検出される腸管出血性大腸菌及び大腸菌群細菌は、胆汁に汚染している菌が胆管を通して肝臓内を汚染すると考えていた。しかし、今回得られた結果では、胆汁中の大腸菌群細菌と肝臓内で検出された大腸菌群細菌とは関連性が無く、単純にと畜解体後に胆汁中の菌が肝臓内を汚染しているのではない可能性が示された。*stx* 遺伝子についても同様に、今回調べた範囲で胆汁からは *stx* 遺伝子は全く検出されなかった。肝臓内で *stx* 遺伝子が検出された場合も、非可食部位に相当する 3、4、5 であった。一方、可食部位に相当する 1 と 2 では大腸菌群細菌が検出されたが、その割合は気温の高い夏場に多く、気温の低い冬場に少ない傾向にあった。しかし、*stx* 遺伝子は、夏場、冬場に関わらず検出されな

った。このことは、可食部位に STEC 存在する可能性は低く、何らかの方法で大腸菌群細菌のみならず腸内細菌科菌群を殺菌することができれば、生食用のレバーが提供できる可能性が考えられる。何故、非可食部位の 3、4、5 で *stx* 遺伝子が検出されたかは、今後の課題である。

E. 結論

牛肝臓内の大腸菌群汚染は、単純にと畜解体後の細菌汚染でなく、現在では不明であるが別の理由が考えられる。牛の肝臓内の大腸菌群細菌による汚染は、気温の高い夏場に多く、気温の低い冬場に少ない傾向にあった。さらに、通常生レバーとして提供される可食部位では検出される大腸菌群細菌数、陽性率も低く *stx* 遺伝子は検出されなかった。

F. 健康危機情報

無し

G. 研究発表

無し

H. 知的財産権の出願、登録状況

無し

表 1. 消化管内の大腸菌群細菌陽性率

	陽 性 数 / 検 体 数 (%)
唾液	41/41 (100)
第一胃内容物	46/46 (100)
十二指腸内容物	67/68 (98)
盲腸内容物	69/69 (100)
直腸内容物	65/65 (100)
胆汁	10/69 (14)
肝臓	47/69 (68)
胆嚢	14/65 (21)

表 2. 牛の消化管部位における *stx* 遺伝子の分布

採取部位 (検体数)	<i>stx1</i> 陽性数	<i>stx2</i> 陽性数	<i>stx1/2</i> 陽性数	合計 (%)
舌 (46)	1	1	1	(6,5)
唾液 (41)	1	3	5	6 (21.9)
胆汁 (149)	0	0	0	0 (0)
肝臓 (149)	0	5	0	5 (3.3)
第一胃内容物 (46)	2	1	1	4 (8.6)
十二指腸 (68)	1	2	1	4 (5.8)
十二指腸内容物 (68)	2	6	2	10 (14.7)
盲腸 (69)	4	14	2	20 (28.9)
盲腸内容物 (69)	4	12	2	18 (26)
肛門 (120)	7	61	26	94 (78.3)
肛門内容物 (65)	6	16	7	29 (44.6)

表 3. 季節ごとの肝臓部位別大腸菌群細菌陽性率

月/年	部位 1	部位 2	部位 3	部位 4	部位 5	胆汁
<u>5/13-10/13</u>	<u>10/23 (43)</u>	<u>15/23 (65)</u>	<u>20/23 (87)</u>	<u>16/17 (94)</u>	<u>16/17 (94)</u>	<u>8/23 (35)</u>
11/13-5/14	7/33 (21)	8/33 (24)	16/33 (49)	17/33 (52)	15/33 (45)	4/33 (12)
8/14-11/14	<u>10/35 (29)</u>	<u>12/35 (34)</u>	<u>18/34 (53)</u>	<u>22/35 (63)</u>	<u>21/35 (60)</u>	<u>9/35 (26)</u>
11/14-2/15	1/17 (5.9)	2/17 (12)	2/17 (12)	3/17 (18)	2/17 (12)	1/14 (7.1)
High (計)	<u>20/58 (34)</u>	<u>27/58 (47)</u>	<u>38/57 (67)</u>	<u>38/52 (73)</u>	<u>37/52 (71)</u>	<u>17/58 (31)</u>
Low (計)	8/50 (16)	10/50 (20)	18/50 (36)	20/50 (40)	17/50 (34)	5/47 (11)
合計	28/108 (26)	37/108 (34)	56/107 (52)	58/102 (57)	54/102 (53)	22/75 (29)

下線はハイシーズン（陽性率の高い）夏場を示す

表 4. 肝臓の部位別 *stx* 遺伝子の検出率

部位	陽性数/検体数 (%)
1	0/145 (0)
2	0/149 (0)
3	2*/147 (1.4)
4	3*/135 (2.2)
5	2*/135 (1.5)

*1 検体、3 箇所 で *stx* 遺伝子が検出

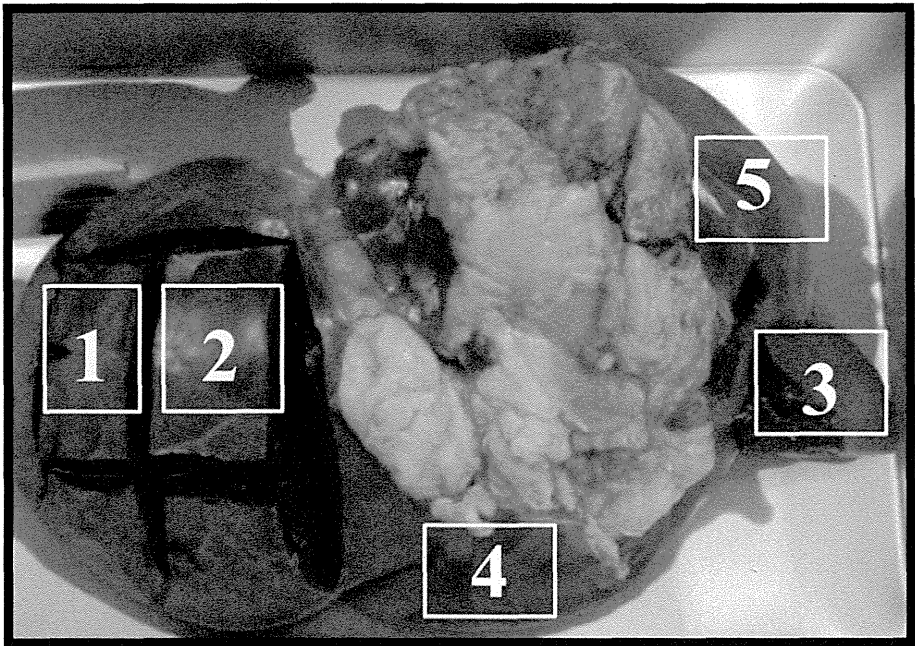


図. 肝臓から採取した部位 1-5 を示す

平成 25 年度 厚生労働科学研究費 食品の安全確保推進研究事業
畜産食品の安全性確保に関する研究 (H25-食品-一般-011)

分担研究報告書

分担課題名 放射線照射による微生物除去

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

研究協力者：都築和香子 (独) 農研機構 食品総合研究所

研究要旨:牛肝臓内部に接種した *Campylobacter jejuni* 5096 株のガンマ線殺菌を行い、 D_{10} 値として、氷冷 (0°C) 脱気条件で 0.33kGy、凍結 (-80°C) 脱気条件で 0.69 kGy、を得た。凍結融解によって *C. jejuni* は 1 桁程度の死滅することと合わせると、*Salmonella* 属の殺菌を達成出来る条件で十分制御が可能になると判断された。脂質の放射線分解物である 2-アルキルシクロブタノン類(2-ACBs)として、2-dDCB、2-tDCB、2-tDeCB が、冷凍(0°C) 6 kGy、凍結(-80°C)10 kGy までの照射によって線量依存的に生成することを確認した。2-ACBs の生成量は包装条件の違いによる影響は少なく、前駆脂肪酸 1mmole から 1kGy の照射で生成する 2-ACBs の量は、これまでに牛肉で報告されている数 nmole より小さかった。また、照射によるトランス型脂肪酸の僅かな増加が認められたが、これも、包装条件による影響は少なかった。一方、脂質酸化の指標である TBA 値は、含気包装、 0°C での照射では増加が認められたが、脱気包装下や凍結下 (-80°C) の照射では、ほとんど変化が無かった。フランについては、冷蔵(0°C)、冷凍 (-80°C) の照射で、それぞれ 6kGy 、10 kGy 照射をしても、検出されないことを確認した。

A. 研究目的

近年、食習慣の変化や高齢化などの社会状況の変化を反映し、わが国における細菌性あるいはウイルス性の食中毒の発生状況に変化が生じている。2011 年にはユッケを原因食材とする腸管出血性大腸菌による集団食中毒が発生し、それを契

機に畜産物の生食による食中毒リスクが議論された。特に、牛肝臓については、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、それらを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された。この規制には解除の要望も多く、その決定の際には、今後、生食の安全性を確保する新たな知見が得られれば、必要な管理措置を改めて審議することも答申された。¹⁾。

そこで、放射線照射のような新たな微生物制御法についてもその有効性についての検討が必要となり、平成 24 年度より研究が開始された。

本分担当課題では、前研究課題を継続して、放射線照射による牛肝臓の殺菌条件を明らかにし、その際に生成する副産物及びその安全性を検討することを目的とする。

本年度は、牛肝臓中での *C. jejuni* について、殺菌に必要な線量の検討を行った。また、照射による副生成物について、冷凍 10 kGy、冷蔵 6 kGy までの線量で 2-アルキルシクロブタノン類の生成や脂肪酸のトランス異性体の生成量、TBA 値について定量的解析を行った。また、照射によるフランの生成の可能性についても検討した。

B. 研究方法

1. 材料

微生物試験用の牛肝臓試料は、①つくば市内の精肉店より凍結状態の牛肝臓塊（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。これらは購入後、 -80°C で保存した。牛挽肉も①同様に、つくば市内の精肉店より購入し、実験に供した。試料は 25 g 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°C で冷凍保存した。

品質評価用の牛肝臓試料は、東京芝浦食肉処理場より、屠殺した翌日または翌々日に、冷蔵状態で入手した。肝臓は入手日のうちに 50g 程度の塊に切り分けて、ガスバリア袋（PTS 袋、三菱ガス化学製、PB180250P 180×250mm）にいれ、含気状態または脱気状態で包装した。包装後の試料は、冷蔵(0°C)照射では照射水中に 3 時間、凍結(-80°C)照射では超低温槽に一晩保管し、照射前の温度を恒温とした。

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 *C. jejuni* 5096 株を用いた。

供試菌は Brucella Broth(Difco)を用いて、微好気条件下で 41.5°C 一昼夜静置培養した後、遠心分離（4000 g, 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、 10^9 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. ガンマ線照射

ガンマ線照射はコバルト 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°C) および冷凍(ドライアイス下) (-80°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、この中央に予冷した検体を入れ、周囲に氷 (0°C) もしくはドライアイス (-80°C) を封入した。

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。

4. 牛肝臓・挽肉のガンマ線殺菌試験

菌体の接種は、自然解凍後した 25g 塊の牛肝臓あるいは牛挽肉の内部に、供試菌液 100 μ L を注射針により注入することで行った。菌体濃度は終濃度で、 10^8 CFU/g 程度となるように調製した。菌体接種後の試料は、直ちに、ガスバリア袋 (PTS 袋, 三菱ガス化学製、PB180250P 90 $\times$ 120mm)を用いて含気あるいは真空包装を行った。含気条件では、ヘッドスペースに空気を残し、脱気条件では、真空包装機を用いて、袋内の空気を抜いてヒートシールした。包装後の検体は、氷中もしくは-80 $^{\circ}$ Cの冷凍庫内で2時間以上放置して温度を一定にした後、冷蔵では0 $\sim$ 1.2 kGy、冷凍では0 $\sim$ 3.0 kGyの範囲の線量を照射した。照射後の検体は直ちに、もしくは解凍後直ちに菌数計測した。

5. 生菌数測定

ガンマ線照射後の検体は、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製した。各10倍段階希釈試料液は、標準寒天平板 (Merck) および mCCDA 平板 (Oxoid) にスパイラルプレーティング法で塗抹した。標準寒天平板は好気条件で 35 $^{\circ}$ C、mCCDA 平板は 41.5 $^{\circ}$ C で各々 48 時間培養し、その出現集落数から 1 g 当たりの一般生菌数ならびに *C. jejuni* の数を求めた。mCCDA 平板

上の集落については、平板あたり 5 つの集落を選択し、これらをイムノクロマト法による *Campylobacter* 同定キット (Singlepath *Campylobacter*, Merck) に供し、典型集落が *Campylobacter* 属であることを確認した。

6. TBA 価の測定

TBA (チオバルビツール酸) 価の測定は、衣巻らの方法²⁾に従い、水蒸気蒸留法により、(一財)日本食品分析センターに委託して実施した。

7. 牛肝臓の脂肪酸分析

照射および非照射の牛肝臓 (約 50g) から、約 3g の肝臓を秤量し、メタノール 50mL を加えてホモジナイザー (AM-8 型, Nissei) で 2 分間攪拌後、抽出液をろ過した。さらに残渣を 50 mL のクロロホルム/メタノール (2:1) (C/M) 溶液で 2 回抽出し、最後に 20mL の C/M 溶液で洗浄した。集めた抽出液に 0.88% KCl 溶液 93 mL を加えて分液ロト中で混和し、1 晩放置後、クロロホルム層を集め、硫酸ナトリウムで脱水した後に濃縮し、Hexane/2-prpopanol(3:2)溶液で 20mL に定容した。

脂質溶液から 25mg 分の脂質を秤取り、2mg のトリデカン酸を内部標準として添加し、3 フッ化ホウ素メタノール試薬 (和光純薬 (株)) により脂肪酸をメチルエステル化し、GC で分析した。³⁾

<GC 条件>

装置: Shimadzu GC-2010

カラム: SP-2560 (100m×0.25mm×0.2μm, SUPELCO Inc.)

カラム温度: 175 °C (60min)→1 °C /min→215°C

注入口温度: 250°C

検出器温度: 250°C

注入量: 1μL

スプリット比: 1/100

キャリアガス流量: 1mL/min

8. 2-アルキルシクロブタノン分析

牛肝臓 5g を秤量し、硫酸ナトリウム 20g を加え乳鉢中で均一に混和し、氷上で 30 分放置した。これをステンレス製遠心チューブに移し、40mL のヘキサンを加え、高速ホモジナイザー(ヒスコトロン NS-52 型, マイクロテック社製)で 1 分間攪拌後、10,000 x g で 10 分間遠心し、ヘキサン画分を集めた。この抽出操作をもう一度繰り返し、集めたヘキサン溶液に硫酸ナトリウムを加えて脱水した。ヘキサン抽出液の溶媒を留去後、抽出物をアセトン 2mL に再溶解し、さらにアセトニトリル 2mL を加えて-20°Cで 30 分以上冷却して脂肪分を析出させた。これを 0°C、1,680 x g で 10 分間遠心して取り除き、2-アルキルシクロブタノン類 (2-ACBs) が含まれる上清を濃縮して、2mL のヘキサンに再溶解した。この溶液を 1mL ずつ、ガラス製の 1g のシリカゲルカラム (Merck Shilica gel 60 70-230 mesh) 2 本に添加し、10mL のヘキサンで洗浄後、ヘキサン/ジエチルエーテル (98 : 2) 15mL で溶出し、その 5-15mL 画分を集めた。⁴⁾ この試料を濃縮して GC-MS で分析し、2-ドデシルシクロブタ

ノン (2-dDCB) および 2-テトラデシルシクロブタノン (2-tDCB)、2-テトラデセニルシクロブタノン (2-tDeCB) を定量した。

<GC-MS 条件>

GC 装置: GC : GC-2101,

検出器 : MS : QP2010+ Shimadzu 200°C

カラム : DB-5MS (60m × 0.25mm 0.25μm)

カラム温度 : 55°C (2min)→20°C/min→175°C, 2°C/min→250°C, 10°C/min→270°C (20min)

注入口 250°C

注入モード : パルスドスプリットレス

注入サンプル量 1μL

モード : EI (70eV) SIM 測定

定量イオン : m/z = 98

確認イオン m/z = 112

9. フランの分析

牛肝臓は、左葉部分を約 100g の塊に切り分け、ガスバリア袋 (PTS 袋, 三菱ガス化学製、PB180250P 180×250mm) にいれ、含気状態のままヒートシールし、予冷の後、3 kGy (0°C)、または 10kGy (-80°C) を照射した。照射後の試料は分析に供するまで、-80°C で凍結保管した。

フランの分析は、Yoshida⁵⁾ らの方法により、(一財) 日本食品分析センターに委託して実施した。ポリエチレンバックに含気状態で包装した牛肝臓 (50g 程度) を、氷冷状態 (0°C) で 6kGy、ドライアイス下 (-80°C) で 10kGy の 2 条件でガンマ線照射し、照射後の試料は -80°C で保管した。分析時には、未開封の状態の試料を冷蔵庫 (約 4°C) 中に移して解凍し、冷蔵

庫から取り出した後、速やかに塩化ナトリウム 4 g を入れた 20 ml ヘッドスペースバイアルに 1 g 採取した。このバイアルに、あらかじめ氷冷した精製水を 10 ml 加えた後直ちに密栓し、d4-フラン 50 ng(内標準物質)を添加し試験溶液とした。バイアル中のヘッドスペースガスを、ヘッドスペースサンプラーによりガスクロマトグラフ・質量分析計に注入し、得られたピーク高比から、予め作成した検量線を用いて試料中のフラン濃度を求めた。GC-MS の操作条件は以下による。

<ヘッドスペースサンプラー操作条件>

機種：7694 (Agilent Technologies, Inc.)

オープン温度：60℃

バイアル加熱時間：30 min

ループ温度：100℃

トランスファーライン温度：130℃

加圧時間：0.3 min

<GC-MS 操作条件>

機種：6890N/5973N

カラム：DB-WAX

φ 0.25 mm×60 m, 膜厚 0.25 μm

導入系：スプリット(1:40)

温度：試料注入口 200℃, カラム 40℃

ガス流量：He 1 ml/min

イオン源温度：230℃

イオン化電圧：70 eV

イオン化法：EI

設定質量数：フラン m/z 68, 39

d4-フラン m/z 72

C. 研究結果および考察

1. 牛肝臓中の *C. jejuni* の殺菌効果

過去研究事例から、*Campylobacter* 属

はガンマ線に対する抵抗性は低いことが示唆されてきた。牛肝臓および牛挽肉中において *C. jejuni* を接種し、ガンマ線照射を行った際の殺菌効果を表 1 に示した。

過去の研究事例報告からも示唆された通り、*C. jejuni* の D_{10} 値は大腸菌株よりも低い結果を得た。Rocelle ら⁹⁾によれば、低脂肪の牛挽肉条件下で本菌の冷蔵下 (3~5℃) および凍結 (-17~-15℃) でガンマ線を照射した場合、その D_{10} 値は 0.175、0.235 と報告されており、本研究ではそれと比較して若干高めに観察された。これは本研究で用いた供試菌の抵抗性が高いというよりも、現在の *Campylobacter* 検出培地の高性能化および微好気培養条件の発達により検出率が改善したためと予想された。しかしながら過去の牛挽肉での研究事例にもあるように、大腸菌 O157 株よりも本菌の抵抗性は低く、牛肝臓においてはガンマ線抵抗性の試験指標菌として詳細に検討する必要はないと現時点では考えられた。

加えて-80℃で凍結した検体では、凍結および解凍の時点で本菌の菌数が 1 ケタ低下し、これは牛肝臓・挽肉共に観察された。すなわち、*Campylobacter* 属については凍結融解ストレスによる死滅も加えて考慮でき、適切に凍結融解がなされるのであれば、表 1 に述べた D_{10} 値の効果に加えての死滅効果が期待されると考えられた。

4. ガンマ線照射による牛肝臓脂質の変化

4.1 TBA 価 および脂肪酸含量

表 2 に包装条件と温度を変えてガンマ線照射した肝臓の TBA 価とトランス及

びシス体の不飽和脂肪酸含量をまとめた。また、表 3 に主要な脂肪酸の含量をまとめた。

一般的に脂質の過酸化と相関があるとされる TBA 価は、0℃、含気状態の照射で線量に応じて増加したが、0℃、脱気包装の照射では、統計的に有意な増加は見られなかった。また、-80℃凍結状態の照射でも、TBA 価は非照射のコントロールに比べてやや増加する傾向はみられ、含気包装では 10 kGy の照射で、統計的に有意な増加がみられたがその変化量は非常に小さく、また、脱気包装では、10kGy の照射でも有意な増加は検出されなかった。

今回の試験で用いた牛肝臓は、主な構成脂肪酸として、ステアリン酸(18:0)、オレイン酸(18:1-9c)、パルミチン酸(16:0)、リノール酸(18:2-9c,12c)、アラキドン酸(20:4)などが含まれていた。また、含有量は少ないが、不飽和脂肪酸では、バクセン酸(18:1-11t)のほか 18:1,18:2 などの C18 のトランス異性体の他、C14~C17 のトランス型のモノエン酸も非照射及び照射のいずれの検体にも含まれていた。

ガンマ線照射によって、いずれの照射条件の試料でもトランス異性体がわずかに増加した。特に 0℃の照射では線量に応じた増加が顕著で、6 kGy の照射では 18:1 および 18:2 のトランス酸の総量や炭素数 18 のトランス酸の総量、より短鎖のトランス酸も加えた総トランス脂肪酸量について、非照射試料と比較して統計的な有意差が認められた。凍結下の照射でも 10kGy では統計的に有意なトランス酸の増加が認められた。含気包装と脱気包装の同一温度、同一線量でのトランス異

性体の量は統計的には有意な差は認められず、TBA 価の場合と異なり、包装条件による影響はほとんど認められなかった。

これまでの研究の成果から、微生物の殺滅に必要なガンマ線の量は、冷蔵 6 kGy、凍結(-80℃)で 10 kGy を超えることは無いと見通せる。トランス異性化については、牛肝臓の脂質含量が 5%未満であることも考慮すると、今回の研究の範囲の最大変化量でも、国際機関の推奨するトランス脂肪酸摂取量（総摂取エネルギーの 1%未満⁷⁾、1800kcal 摂取する人のトランス脂肪酸摂取推奨量は 2g 未満）を考慮すると、照射による牛肝臓のトランス脂肪酸量の増加は、一日のトランス脂肪酸摂取量に大きな影響を与えないと考えられる。

また Li らは、常温(20℃)での牛挽肉のガンマ線照射において、6.74kGy 以上の照射でアラキドン酸(20:4)等の多価不飽和脂肪酸の含量の有意な低下を報告しているが⁸⁾、表 2、3 の結果から、今回の照射条件の範囲内では、飽和脂肪酸の割合の増加や、多価不飽和脂肪酸の減少は認められなかった。

4.2 2-アルキルシクロブタノン類(2-ACBs)の生成

2-アルキルシクロブタノン類(2-ACBs)は照射より特異的に生成する脂質の放射線分解物^{9),10)}であるとして、照射食品の検知の指標物質として利用されている。^{11),12)} この化合物の照射食品中の安全性に関しては多くの議論もあるが、その含量が微量であること、エームス試験等の変異原性試験が陰性であるこ

と等を理由に、ヨーロッパ食品安全機関 (EFSA) では、照射食品摂取の際の健康影響は無視できると結論している。¹³⁾ また、最近、Yamakage らは 2-ドデシルシクロブタノン (2-dDCB) および 2-テトラデシルシクロブタノン (2-tDCB) の遺伝毒性を否定した論文を公表し¹⁴⁾、Sato らも、2-tDCB の発がんプロモーション活性を検出出来なかったとの報告¹⁵⁾している。ただし、わが国では、照射食品の安全性に関する評価が定まっていないことから、照射により生成する可能性のある 2-ACBs を定量的に把握する必要があると考えた。

分析方法の精度確認として、分析に用いた肝臓と同ロットの試料に標準試薬をスパイクして添加回収率を求めた。この試験は、実試料の分析期間の最初と最後及び中間の期間の 3 日に分けて 3 併行で実施した。低濃度添加として、2-dDCB および 2-tDCB を 2 ng/g FW、2-テトラデセニルシクロブタノン (2-tDeCB) を 5 ng/g FW で、スパイクして行った際の回収率は、 64.7 ± 10.3 , 68.3 ± 9.8 および $62.7 \pm 9.8\%$ (n=9)であった。また、高濃度添加として 2-dDCB、2-tDCB、2-tDeCB を 20 ng/g FW, 20 ng/g FW, 51 ng/g FW で添加した際の回収率は 59.6 ± 4.1 , 59.9 ± 4.3 および $61.8 \pm 5.1\%$ (n=9) であった。

表 4 に、3 種の異なる温度包装条件で照射した際の 2-ACBs の定量結果を示す。非照射のコントロール試料からはいずれの 2-ACBs も検出されなかった。また、同一の温度と包装条件下の照射では、線量にほぼ比例して、3 種の 2-ACBs が検出

された。そこで、同一条件での分析値を線量に対して直線回帰した傾きから、1 kGy あたりに換算した 2-ACBs の生成量を求めて表 5 にまとめた。この際の相関係数は、0.87~0.97 であった。

肝臓生重量・1 kGy あたりの 2-dDCB および 2-tDCB の生成量は、2-tDCB の含量が 2-dDCB の含量に比べて大きく、-80℃に比べて 0℃の照射の方がやや大きな値となった。一方、オレイン酸を前駆体とする 2-tDeCB は、-80℃ 照射における生成量が 0℃ 照射の場合に比べて著しく大きくなった。なお、包装条件により同一温度内での 2-ACBs 生成量には若干の差がみられるものの、分析値の変動を考慮すると有意な差としては検出されないと考えられた。

Ndiaye らは 6-8℃で照射牛肉中の 2-dDCB および 2-tDCB の生成効率として、1.0 および 1.0 nmole/mmmole FA/kGy を報告している¹⁰⁾。また、Marchioni らは、6-8℃で照射した牛肉の、2-dDCB、2-tDCB、2-tDeCB の生成効率を、1.33, 1.59, 1.67 nmol/mmmole/kGy と報告している。¹⁵⁾ 今回の肝臓の分析結果は、回収率を 60%程度と見込んでも、これらの報告値に比べて、生成効率はやや低めであった。この理由としては、照射温度の違いが大きく影響していることが予測される。いずれにせよ、今回の実験で用いた条件下の牛肝臓の 1 kGy の照射で、多くの畜肉類で報告されている前駆脂肪酸 1mmole あたり 1~2 nmole という生成効率を大きく超えるようなことは無いと判断された。

以上より、牛肝臓の脂質含量が牛挽肉等の畜肉に比べて低いことを考慮すると、殺菌に必要な線量が牛挽肉に比べて小さくなったとしても、すでに米国等で許可されている牛挽肉に比べて多量の 2-ACBs が照射牛肝臓中に生成することは無いものと予測された。

5. フラン生成の可能性の確認

今回採用した分析条件において、繰り返し測定標準偏差に基づいて求めた、フランの定量下限値 (LOQ) および検出限界値 (LOD) はそれぞれ 2 ng/g FW および 0.5ng/ g FW であった。⁵⁾ 牛肝臓を分析した結果、照射(6kGy 0℃, 10 kGy-80℃)および未照射試料のいずれにおいても、定量下限を超える濃度のフランは検出されなかった。

D. 結論

牛肝臓内部に接種した *C. jejuni* 5096 株の D₁₀ 値は、氷冷 (0℃) 脱気条件で 0.33 kGy、凍結 (-80℃) 脱気条件で 0.69 kGy であった。また、非照射試料を凍結し融解する操作で約 1 桁の菌数低減があった。これらの結果を前年までの結果と合わせると、ガンマ線殺菌の効果を判定する指標菌としては、その放射線感受性の点から *Salmonella* を選択することが適切と判断された。

冷蔵 6kGy、冷凍 10 kGy までの照射で、不飽和脂肪酸の有意な減少は無かったが、照射によるトランス異性化が認められ、トランス酸含量は僅かに増加した。含気包装と脱気包装の違いによる影響は少なかった。脂質の放射線分解物である 2-アルキルシクロブタノン類として、

2-dDCB、2-tDCB、2-tDeCB の照射による線量依存的な生成を確認した。生成量は包装条件の違いによる影響は少なく、前駆脂肪酸 1mmole から 1kGy の照射で生成する 2-ACBs のこれまでに牛肉で報告されている効率と同程度かそれ以下であった。

フランについては、冷蔵(0℃)、冷凍(-80℃)の含気条件かで、殺菌効果を得るより十分大きな線量である 6kGy、10 kGy で照射をしても、定量下限を超える濃度のフランは検出されないことを確認した。

E. 文献

- 1) 厚生労働省、薬事・食品衛生審議会、食品衛生分科会 2012 年 6 月 12 日, <http://www.mhlw.go.jp/stf/shingi/2r9852000002fsbi.html>
- 2) 柴田, 衣巻, 水産食品油脂の TBA 測定法の検討, 日水誌 45(4)499-503(1979).
- 3) 日本油化学会編, 基準油脂分析試験法 (2013 年度版) 2.4.4.3-2013 トランス脂肪酸含量(キャピラリークロマトグラフ法)
- 4) Kitagawa, Y., *et al.*, A Rapid and Simple Method for the Determination of 2-Alkylcyclobutanones in Irradiated Meat and Processed Foods. *Food Analytical Methods in press*. DOI 10.1007/s12161-013-9714-5
- 5) Yoshida, I. *et al.*, Rapid and Improved Determination of Furan in Baby Foods and Infant Formulas by

- Headspace GC/MS. *J. Food Hyg. Soc. Japan* 48(4). 48, 83-89 (2007)
- 6) Rocelle, M. et al, Inactivation of *Escherichia coli* 0157:H7, *Salmonellae*, and *Campylobacter jejuni* in raw ground beef by bamma irradiation, *Appl. Env. Microbiol.* 60, 2069-2075, (1994)
- 7) WHO, Diet, Nutrition and the prevention of chronic diseases. Report of a joint WHO/FAO expert consultation. WHO Technical Report Series (No.916), 2003.
WHO(2003) 食事、栄養、慢性疾患予防に関するWHO/FAO 合同専門家会合報告書)
http://www.who.int/nutrition/topics/dietnutrition_and_chronicdiseases/en/
- 8) A. Li et al., Formation of trans fatty acids induced by radicals in irradiated ground beef and liquid egg. *J Am. Oil Chem*, 89, 2207-2213(2012).
- 9) Elvis M. K. et al., Analysis of 2-Alkylcyclobutanones in Cashew Nut, Nutmeg, Apricot Kernel, and Pine Nut Samples: Re-evaluating the Uniqueness of 2-Alkylcyclobutanones for Irradiated Food Identification *J. Agric. Food Chem.*, 61 (41), 9950-9954 (2013).
- 10) Ndiaye, B. et al, 2-Alkylcyclobutanones as markers for irradiated foodstuffs II. The CEN method: field of application and limit of utilization., *Radiation Physics and Chemistry* 55437-445 (1999).
- 11) EN1784, Foodstuffs - Detection of irradiated food containing fat -. Gas chromatographic analysis of hydrocarbons (2003)
- 12) 厚生労働省医薬食品局食品安全部長, 放射線照射された食品の検知法について (食安発第 0706001 号、平成 19 年 7 月 6 日、最終改正平成 24 年 9 月 10 日)
- 13) EFSA, Statement summarising the Conclusions and Recommendations from the Opinions on the Safety of Irradiation of Food adopted by the BIOHAZ and CEF Panels, *EFSA Journal* 9(4): 2107 (2011).
- 14) Yamakage, et al, Genotoxic potential and in-vitro tumour-promoting potential of 2-dodecylcyclobutanone and 2-tetradecylcyclobutanone, two radiolytic products of fatty acids. *Mutat Res Genet Toxicol Environ Mutagen.* 770, 95-104 (2014).
- 15) Sato, M. et al, Toxicities and Modifications on Azoxymethane-induced Carcinogenesis of 2-Tetradecylcyclobutanone as a Radiolytic Product of Stearic Acid in F344 Rats, *J. Toxicologic Pathology* in press
- 16) Marchioni, E. et al, Production Yields of 2-alkylcyclobutanones in irradiated foods. Proceedings of International Nuclear Atlantic Conference - INAC 2009.
<http://www.iaea.org/inis/collection/NCL>

CollectionStore/ Public/41/072/4107262

8.pdf

F. 健康危機情報

なし

G. 研究発表

論文発表

1. 等々力節子, 川崎晋, 放射線殺菌,
食品衛生学雑誌、55(6)J215-218(2014)

学会発表

なし

講演・研修会等

1. 等々力節子, 放射線殺菌, 第 107 回
日本食品衛生学会学術講演会シンポジ
ウム H26. 5.16

H. 知的財産権の出願, 登録状況

なし

表 1. 牛挽肉・肝臓に接種した *C. jejuni* 1221 株のガンマ線照射による殺菌効果

照射条件	D ₁₀ 値 (kGy)			
	氷 冷		ドライアイス	
	含 気	脱 気	含 気	脱 気
挽 肉	0.21	0.29	0.46	0.46
牛肝臓	0.26	0.33	0.58	0.69

表 2. 牛肝臓のシス／トランス型脂肪酸含量と TBA 価

	非照射	氷冷(0℃)照射				凍結(ドライアイス下 -80℃)照射				
		脱気包装(-O2)		含気包装(+O2)		脱気包装(-O2)		含気包装(+O2)		
		Control	3 kGy	6 kGy	3 kGy	6 kGy	5 kGy	10 kGy	5 kGy	10 kGy
脂肪酸 (g/100g lipid)										
総飽和脂肪酸	26.9 ± 0.7	26.6 ± 1.0	26.6 ± 1.1	26.4 ± 1.5	26.7 ± 0.2	27.3 ± 0.2	27.4 ± 0.3	27.7 ± 0.7	27.3 ± 0.3	
シス型モノエン酸	14.3 ± 0.4	14.2 ± 0.5	14.1 ± 0.6	14.1 ± 0.8	14.0 ± 0.2	14.7 ± 0.1	14.7 ± 0.2	14.9 ± 0.4	14.5 ± 0.2	
シス型ポリ塩酸	21.9 ± 0.7	21.4 ± 0.8	21.1 ± 0.9	21.4 ± 1.1	21.3 ± 0.3	22.1 ± 0.2	22.1 ± 0.3	22.4 ± 0.6	21.9 ± 0.2	
総シス型不飽和脂肪酸	36.2 ± 1.0	35.5 ± 1.3	35.3 ± 1.5	35.4 ± 1.9	35.3 ± 0.5	36.8 ± 0.3	36.8 ± 0.5	37.2 ± 1.0	36.5 ± 0.4	
トランス型モノエン酸	2.05 ± 0.11	2.07 ± 0.07	2.17 ± 0.11	2.05 ± 0.12	2.10 ± 0.07	2.10 ± 0.01	2.20 ± 0.04 *	2.15 ± 0.05	2.13 ± 0.07	
トランス型ポリエン酸	0.13 ± 0.02	0.22 ± 0.03 *	0.34 ± 0.02 **	0.20 ± 0.02 **	0.32 ± 0.02 **	0.16 ± 0.04	0.22 ± 0.03 *	0.20 ± 0.02 **	0.20 ± 0.01 **	
総トランス型不飽和脂肪酸	2.18 ± 0.12	2.29 ± 0.07	2.51 ± 0.10 **	2.25 ± 0.14	2.42 ± 0.08 *	2.27 ± 0.04	2.42 ± 0.07 **	2.35 ± 0.07 *	2.32 ± 0.08 *	
トランス 18:1	0.92 ± 0.07	0.96 ± 0.02	1.06 ± 0.04 **	0.95 ± 0.09	1.02 ± 0.02 *	0.96 ± 0.01	1.04 ± 0.03 **	0.98 ± 0.01	0.98 ± 0.04	
トランス 18:2	0.13 ± 0.02	0.22 ± 0.03 *	0.34 ± 0.02 **	0.20 ± 0.02 **	0.32 ± 0.02 **	0.16 ± 0.04	0.22 ± 0.03 *	0.20 ± 0.02 **	0.20 ± 0.01 **	
トランス 18:3	ND	ND	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	
C18 総トランス型 不飽和脂肪酸	1.04 ± 0.08	1.18 ± 0.02 **	1.40 ± 0.03 **	1.15 ± 0.10	1.33 ± 0.03 **	1.12 ± 0.04	1.26 ± 0.05 **	1.18 ± 0.02 **	1.18 ± 0.05 *	
TBA 価 (nmole/g FW)	1.55 ± 0.14	2.17 ± 0.36	1.84 ± 0.24	3.34 ± 0.05 **	6.68 ± 0.46 **	1.73 ± 0.19	1.76 ± 0.16	2.09 ± 0.17 *	1.93 ± 0.12 *	

mean values ± SD (n=3)

Statistically significance were determined by t test compared with the control values (*; p < 0.05, **; p < 0.01)

表 3. 牛肝臓の主要脂肪酸含量

g/100g lipid									
非照射		氷冷(0℃)照射				凍結(ドライアイス下,-80℃)照射			
		脱気包装(-O2)		含気包装(+O2)		脱気包装(-O2)		含気包装(+O2)	
		Control	3 kGy	6 kGy	3 kGy	6 kGy	5 kGy	10 kGy	5 kGy
14:0	0.25 ± 0.09	0.21 ± 0.01	0.22 ± 0.01	0.22 ± 0.01	0.21 ± 0.01	0.22 ± 0.01	0.22 ± 0.00	0.22 ± 0.01	0.21 ± 0.01
15:0	0.42 ± 0.02	0.41 ± 0.02	0.42 ± 0.02	0.41 ± 0.03	0.42 ± 0.01	0.42 ± 0.01	0.43 ± 0.01	0.44 ± 0.01	0.42 ± 0.01
16:0	8.32 ± 0.24	8.28 ± 0.28	8.28 ± 0.35	8.22 ± 0.47	8.21 ± 0.08	8.48 ± 0.10	8.51 ± 0.11	8.57 ± 0.23	8.21 ± 0.08
16:1 9c	0.61 ± 0.03	0.62 ± 0.02	0.60 ± 0.03	0.60 ± 0.02	0.59 ± 0.01	0.64 ± 0.01	0.64 ± 0.01	0.63 ± 0.01	0.59 ± 0.01
17:0	0.38 ± 0.01	0.38 ± 0.01	0.38 ± 0.02	0.38 ± 0.02	0.39 ± 0.002	0.39 ± 0.01	0.39 ± 0.003	0.39 ± 0.01	0.39 ± 0.002
16:1 13c	0.16 ± 0.01	0.15 ± 0.01	0.15 ± 0.01	0.15 ± 0.002	0.16 ± 0.004	0.16 ± 0.01	0.15 ± 0.004	0.17 ± 0.01	0.16 ± 0.004
17:1 9c	0.20 ± 0.01	0.20 ± 0.01	0.20 ± 0.01	0.20 ± 0.01	0.20 ± 0.01	0.20 ± 0.003	0.21 ± 0.01	0.21 ± 0.00	0.20 ± 0.01
18:0	16.7 ± 0.5	16.5 ± 0.6	16.4 ± 0.7	16.4 ± 0.9	16.6 ± 0.2	16.9 ± 0.1	17.0 ± 0.2	17.1 ± 0.4	16.6 ± 0.2
18:1 11t	0.48 ± 0.02	0.48 ± 0.01	0.50 ± 0.02	0.47 ± 0.04	0.48 ± 0.01	0.50 ± 0.01	0.52 ± 0.01	0.51 ± 0.01	0.48 ± 0.01
18:1 9c	11.7 ± 0.3	11.6 ± 0.4	11.6 ± 0.5	11.5 ± 0.6	11.5 ± 0.2	12.0 ± 0.1	12.0 ± 0.1	12.2 ± 0.3	11.5 ± 0.2
18:1 11c	1.11 ± 0.05	1.08 ± 0.06	1.06 ± 0.04	1.07 ± 0.10	1.06 ± 0.04	1.12 ± 0.01	1.12 ± 0.01	1.12 ± 0.03	1.06 ± 0.04
18:2 9c 12c	11.4 ± 0.4	11.2 ± 0.4	11.0 ± 0.4	11.1 ± 0.6	11.1 ± 0.1	11.5 ± 0.1	11.6 ± 0.1	11.6 ± 0.3	11.1 ± 0.1
18:3	0.37 ± 0.03	0.36 ± 0.02	0.35 ± 0.03	0.37 ± 0.03	0.35 ± 0.01	0.38 ± 0.02	0.37 ± 0.01	0.38 ± 0.01	0.35 ± 0.01
21:0	0.31 ± 0.01	0.31 ± 0.01	0.30 ± 0.02	0.30 ± 0.02	0.29 ± 0.01	0.32 ± 0.01	0.30 ± 0.01	0.32 ± 0.01	0.29 ± 0.01
20:3	2.27 ± 0.06	2.17 ± 0.08	2.19 ± 0.08	2.20 ± 0.13	2.20 ± 0.03	2.27 ± 0.02	2.28 ± 0.03	2.31 ± 0.07	2.20 ± 0.03
20:4	5.10 ± 0.15	4.95 ± 0.17	4.92 ± 0.22	4.95 ± 0.28	4.99 ± 0.06	5.08 ± 0.05	5.10 ± 0.09	5.17 ± 0.16	4.99 ± 0.06
20:5	0.15 ± 0.01	0.15 ± 0.001	0.15 ± 0.01	0.15 ± 0.00	0.15 ± 0.01	0.15 ± 0.01	0.14 ± 0.01	0.15 ± 0.00	0.15 ± 0.01
22:4	1.22 ± 0.03	1.18 ± 0.06	1.16 ± 0.04	1.18 ± 0.06	1.18 ± 0.02 *	1.23 ± 0.02	1.23 ± 0.02	1.25 ± 0.04	1.18 ± 0.02
22:5	0.99 ± 0.03	0.95 ± 0.03	0.94 ± 0.04	0.96 ± 0.05	0.95 ± 0.02	0.98 ± 0.02	0.98 ± 0.01	1.01 ± 0.04	0.95 ± 0.02
22:6	0.16 ± 0.01	0.16 ± 0.02	0.15 ± 0.005 *	0.16 ± 0.01	0.15 ± 0.01	0.16 ± 0.004	0.15 ± 0.01	0.17 ± 0.01	0.15 ± 0.01

mean values ± SD (n=3)

Statistically significance were determined by t test compared with the control values (*; p < 0.05, **; p < 0.01)

表 4. ガンマ線照射した牛肝臓中の 2-アルキルシクロブタノン含量

処理	dDCB (ng/g FW)	tDeCB (ng/g FW)	tDCB (ng/g FW)
脱気包装(- O2)0 °C			
3 kGy	4.04 ± 0.26	4.63 ± 0.72	8.43 ± 0.12
6 kGy	7.89 ± 0.36	9.40 ± 1.09	17.5 ± 1.80
含気包装(+O2) 0 °C			
3 kGy	3.31 ± 0.07	4.04 ± 0.14	7.66 ± 0.21
6 kGy	6.97 ± 0.57	8.43 ± 1.40	15.8 ± 1.67
	-	-	-
脱気包装 (- O2)-80 °C			
5 kGy	4.72 ± 0.33	17.2 ± 1.1	12.1 ± 1.4
10 kGy	10.9 ± 0.8	34.7 ± 2.1	28.7 ± 1.8
	-	-	-
含気包装 (+ O2) -80 °C			
5 kGy	4.01 ± 0.34	18.9 ± 1.1	11.3 ± 1.4
10 kGy	9.47 ± 0.94	37.1 ± 3.3	25.7 ± 2.1
Mean ± SD (n = 3)			