[報文]

照射牛レバーで計測される ESR シグナル変化

菊地正博*, 小林泰彦

国立研究開発法人日本原子力研究開発機構 原子力科学研究部門 量子ビーム応用研究センター
放射線生物作用研究ディビジョン マイクロビーム細胞照射研究グループ
(〒 370-1292 群馬県高崎市綿貫町 1233)

ESR Signal Changes Recorded in γ -irradiated Bovine Livers

Kikuchi Masahiro* and Kobayashi Yasuhiko

*Microbeam Radiation Biology Group, Radiation Biology Research Division,
Quantum Beam Science Center, Sector of Nuclear Science Research, Japan Atomic Energy Agency,
1233 Watanuki-machi, Takasaki, Gunma 370-1292, Japan*

Summary

After fresh raw livers of bovine were exposed to γ -rays on ice, radiation-induced radicals in the livers were measured in liquid nitrogen using electron spin resonance spectroscopy. In the magnetic field of 320.5 to 335.5 mT, the signals responsible to absorbed doses were found. The signal intensity from a main peak was increased up to 5 kGy. The side peaks existing both low and high magnetic field of the main peak showed linear responses as increasing absorbed doses. Radiation-induced radicals were found in a tissue without bones from animals. Without complicated sample preparations, the raw bovine livers can be easily measured on ESR at liquid nitrogen temperature. The ESR method may be applicable to distinguish irradiated fresh raw livers within a few days after irradiation.

Key words: fresh raw bovine liver (新鮮牛生レバー), electron spin resonance spectroscopy (ESR 法),
main and side peaks (メインピーク・サイドピーク), linear dose response (直線的線量応答),
irradiated food detection method (照射食品検知法)

はじめに

食品などの物質に放射線を照射すると電離が起こり、活性種 (ラジカル) が生成される¹⁾。そこに水が存在すると、放射線による水の分解が起こり、OH ラジカルなどが生成して生体物質と反応する。水の放射線分解で生じた低分子ラジカルのほとんどは反応性が高く、照射後ごく短時間で消滅する。しかし、ドライフルーツや動物の骨では乾燥状態にあ

るため、放射線照射で電離したセルロースラジカルや炭酸ラジカルが比較的安定に存在していることが知られている。

照射食品の検知法として、世界的には認められた Codex 標準分析法や CEN 分析法がある。これは、脂肪の放射線分解により生成する炭化水素をガスクロマトグラフィー (GC) で検出したり²⁾、脂質を構成する脂肪酸から変化した 2-alkylcycrobutanone (2-ACB) を質量分析装置 (MS) で検出したり³⁾、

*連絡先: kikuchi.masahiro@jaea.go.jp

食品中の照射誘導ラジカルを電子スピン共鳴 (ESR) 法で検出したり^{4)~6)} することで検知する。しかし、これらの検知法には一長一短があり、すべての食品に適用可能とされている手法はなく、特定の食品に対して限定的に適用されている。

Codex および CEN の検知法では、ESR 法の適用範囲として、骨付き肉やマス⁴⁾、乾燥香辛料⁵⁾、ドライフルーツ⁶⁾ を検知可能としている。これは、放射線照射により骨の中に誘起されたラジカル、乾燥植物のセルロースラジカル、糖ラジカルが安定であるため、ESR 測定で検知可能とされている。

我々は、照射した熱帯果実の果肉中で照射2週間後でも安定に存在しているラジカルを見出した^{7)~8)}。この照射誘導ラジカルはセルロースラジカルと考えられ、シグナル強度の線量応答曲線を用いると、生鮮果実の吸収線量の推定が可能である。さらに、生鮮果実の ESR 法では、液体窒素温度での ESR 法により、迅速な検知が実現された。

平成 24 (2012) 年の 7 月に、牛レバ刺しの飲食店での提供が禁止され、有効な殺菌法ができるまでは飲食禁止の措置が取られている⁹⁾。ガンマ線やエックス線は高い透過能を有しているの、放射線は、この牛レバ刺しを「生」で殺菌できる有効な手段となると考えられる。照射殺菌が許可される場合、「照射済み」の表示とともに流通・販売されと考えられ、その表示を担保する検知法が必要になる。

牛レバーは骨を含まない臓器であり、Codex や CEN において骨を用いた ESR 法の適用範囲ではない。さらに動物性食品であるため、植物性食品でセルロースラジカルを検出する ESR 法とも異なっている。これまで、牛レバーを対象としたラジカルの検出については報告がない。そこで、照射された牛レバー中に誘導されるラジカルを ESR 法で探索した。実用的には冷凍状態の生レバーが照射されと考えられるが、今回は主にラジカル検出が可能であるか否かを検討課題としているため、氷上 (冷蔵状態) での照射後にラジカルを探索し、検知法として適用可能であるか検討した。

実験方法

1. 試料と照射処理

試料は牛レバーを用い、市中で加熱用として販売

されている生レバーを購入した。照射時は、牛レバーをポリエチレン袋に入れ、コバルト 60 の γ 線を氷上で照射した。線量は、線源からの距離を一定 (2.6 kGy/h) として照射時間を変えて制御し、1 kGy, 2.6 kGy, 5.2 kGy, 7.8 kGy 照射した。照射後すみやかにサンプリングを行なった。ラジカル減衰の有無を見るため、牛レバーを冷蔵庫で 6 日間保管した。

2. ESR 測定

ESR 試料管は高純度石英製 (外径 5 mm, 内径 4 mm) の試料管を使用した。牛レバーのサンプリングは直径 3.5 mm のポリエチレン製ストローを用いて、肝臓の太い血管を避けるようにストローを突き刺してストロー内に肝臓小断片を分取して、検体が 3 cm となるように調整した。ESR 試料管へはストローごとレバー検体を落とし込んだ。ESR 測定は、X-バンドの ESR 装置 RE-3X (日本電子製) を用いて液体窒素温度で行ない、高純度窒素ガスを流してキャピティー内の結露を防止した。測定条件は、掃引磁場範囲と掃引時間を 250 ± 250 mT, 8 min または 328 ± 7.5 mT, 2 min として、変調磁場周波数 100 kHz, 変調磁場幅 0.5 mT, 時定数 1 s, 積算回数 2 回または 4 回として、マイクロ波出力 0.01 mW で測定した。ESR 測定の g 値を正確に求めるため、NMR Field Meter ES-FC5 (日本電子製) と Microwave Counter TR5212 (Advantest 製) を用いた。ESR スペクトル解析は ES-IPRIT で行なった。

実験結果および考察

照射および非照射の牛レバーで測定される ESR スペクトルの違いを広範囲で把握するため、照射当日にサンプル調製して 0 ~ 500 mT の範囲で ESR 測定を行なった (Fig. 1)。その結果、牛レバー試料では、328 mT 付近に観測されるシグナル以外に顕著な信号がないことが明らかとなった。非照射の牛レバーの ESR スペクトルは、比較的ピーク強度の揃った弱いピークとその中央付近に強い 1 本線の信号が観測された。等間隔の 6 本線ピークは内在性 Mn 由来のシグナルの可能性がある。一方、照射した試料では、非照射同様に 6 本線シグナルと強い 1 本線が存在し、線量増加により 1 本線のシグナル強度の増加が観察された。

そこで、牛レバーの照射によるシグナル変化を詳

Fig. 1 ESR spectra recorded from bovine livers. Specimens were irradiated with the doses of (a) 0 kGy, and (b) 5.2 kGy.

細に検討するため、 328 ± 7.5 mT の範囲で ESR 測定したところ、線量増加による 1 本線信号 ($g = 2.002$) の増加の他に、その低磁場側と高磁場側に照射によって変化するシグナル領域が見出された (Fig. 2)。

強い 1 本線信号であるメインピークのシグナル強度を線量に対してプロットすると、単調増加の傾向が見られたが、5 kGy を超えると、増加の割合が減少した (Fig. 3a)。メインピークの低磁場に見出されたシグナル変化について 320.8 ~ 322.1 mT の磁場範囲で、また高磁場側のシグナル変化について 331.5 ~ 334.1 mT の磁場範囲でシグナル強度の変化を計測すると、どちらのサイドピークも線量に対して、ほぼ直線的に増加することが明らかとなった (Fig. 3b)。

これまでに照射された生鮮果実のマングローやパパイヤを ESR 測定した時のサイドピーク ($g = 2.018$ と $g = 1.982$) は、1 週間以上安定で、直線的な線量応答性を利用することで、照射・非照射果実の検知法となる可能性があると報告してきた。今回、牛レバーで見出されたサイドピーク ($g = 2.036$ と $g =$

Fig. 2 ESR spectra from irradiated bovine livers. The gray, dotted and solid lines indicate 0, 2.6 and 7.8 kGy, respectively. The left and right insets are enlarged for left and right side peaks, respectively.

Fig. 3 Dose response of ESR signal intensity. The intensities were measured from (a) main peak and (b) side peaks. On the plot (b), the left and right scales shows the intensities of left side peak (●) and right side peak (◆), respectively.

1.973) でも、そのシグナル変化は線量依存性があり、検知法に利用できる可能性があるので、ラジカルの安定性を見るため、照射後冷蔵庫で6日間保管した牛レバーをESR測定した。その結果、照射後6日経過した牛レバーでは、メインピーク・サイドピークともに照射によるシグナル変化がほとんど消失し、照射・非照射を識別するのは困難になっていた。

牛レバーのサイドピークの g 値は、生鮮果実のそれとは異っており、動物組織に特有の成分から照射誘導されたラジカルに起因するシグナルであることが示唆された。

まとめ

非加熱の牛レバーを氷上でガンマ線照射した後、生成したラジカルについてESRを用いて液体窒素温度で検出した。その結果、照射によりメインピークと2つのサイドピークでシグナル変化が確認され、サイドピークのシグナル強度を計測すると、線量増加に応じて直線的に増加する線量応答性を示すことが明らかとなった。これらのラジカル信号は照射後6日以内にほとんど消失し、動物組織に誘導されたラジカルが不安定であることが示唆された。

要 旨

生の牛レバーを氷上でガンマ線照射した後、牛レバーに残存する照射誘導ラジカルを液体窒素温度の電子スピン共鳴法で計測した。その結果、 328 ± 7.5 mTの磁場範囲で吸収線量に応じてピーク強度が変化するシグナルを見出した。メインピークの線量応答曲線は、5 kGy程度まで直線的に増加し、その後増加率は小さくなった。メインピークの低磁場側と高磁場側に存在するサイドピークは、約8 kGyまで直線的な線量応答を示した。動物の骨以外の組織から、照射誘導されるラジカルを直接検出できた。液体窒素温度でのESR法は、面倒なサンプル処理が不要で、すぐにESR計測が可能であるため、照射

直後の牛レバーでは、照射の有無を判別する検知法として利用できる可能性がある。

参考文献

- 1) C. von Sonntag. The Chemical Basis of Radiation Biology. London. Taylor & Francis, 515p. (1987).
- 2) European Committee for Standardization. Foodstuffs-Detection of irradiated food containing fat-Gas chromatographic analysis of hydrocarbons. EN1784. (1996).
- 3) European Committee for Standardization. Foodstuffs-Detection of irradiated food containing fat-Gas chromatographic/Mass spectrometric analysis of 2-alkylcyclobutanone. EN1785. (2003).
- 4) European Committee for Standardization. Foodstuffs-Detection of irradiated food containing bone-Method by ESR spectroscopy. EN1786. (1996).
- 5) European Committee for Standardization. Foodstuffs-Detection of irradiated food containing cellulose-Method by ESR spectroscopy. EN1787. (2000).
- 6) European Committee for Standardization. Foodstuffs-Detection of irradiated food containing crystalline sugar by ESR spectroscopy. EN13708. (2001).
- 7) 菊地正博ほか. 照射された生マンゴーに誘起されたラジカルのESR測定. *Radioisotopes*. **58** (12), p.789-797 (2009).
- 8) 菊地正博ほか. 照射された生鮮果実パパイアの迅速ESR検知法. *Radioisotopes*. **60** (4), p.163-171 (2011).
- 9) 厚生労働省. 食品、添加物等の規格基準の一部を改正する件. 平成24年厚生労働省告示第404号 (2012).

(2015年8月10日受理)