

厚生労働科学研究費補助金

食品の安心・安全確保推進研究事業

放射線照射食品の検知技術に関する研究

総合研究報告書 (2005 年～ 2007 年)

主任研究者 宮原 誠

2008 年 4 月

目次

I 総合研究報告書

放射線照射食品の検知技術に関する研究 3

主任研究者 宮原 誠 国立医薬品食品衛生研究所

II 分担総合研究報告書

1 照射食品検知のための TL 法の確立 11

分担研究者 棚瀬 正和 (財)放射線利用振興協会

2 放射線照射香辛料の微生物学的検知法に関する研究 78

分担研究者 宮原 誠 国立医薬品食品衛生研究所

3 照射食品検知 TL 法の再現性と適用拡大に関する研究 111

分担研究者 宮原 誠 国立医薬品食品衛生研究所

資料 182

別刷り 196

放射線照射食品の検知技術に関する研究

主任研究者 宮原 誠 国立医薬品食品衛生研究所

研究要旨

照射食品の検知法として、香辛料等多くの食品に適用できる熱発光法（TL法）と微生物学的検知法の検討を行った。

TL法については、初年度はTL法の簡略化と精密化をおこない、原法となったヨーロッパ法より優れた原試験法を作成した。次年度はこれのバリデーションを兼ねてコラボ試験をおこない、最終年度には本法の適用拡大を目的に、市販品に本法を適用し、その可否を調べた。本試験法はヨーロッパ法より数段精密化されており、TLの重量補正やTLの検出限界並びに試験検査の管理法など原法では規定されていない点についても数量化をしたので、極めて再現性の高い方法となっている。このため、ヨーロッパ、中国並びにアメリカなどから注目されている。

これらの検討の結果、TL法は食品安全部長通知法となり、我が国の検疫所等で利用され、外国で照射された香辛料の輸入を未然に防止することに役立っている。さらに、本法を用いて出された結果について、輸出業者も納得するなど、国際基準に合った試験法としても、適格性を持っている。

微生物学的な検知法について、初年度は、生菌数と加熱処理試料の菌数との比較による検知法を考案し、次年度これの定量的な解析をおこない、最終年度はこれのバリデーションをおこない、放射性耐性菌同定による確認方法を検討した。今後、菌数、菌種同定等を合わせた総合的な試験法に発展出来る確かな見通しを得た。

研究組織

分担研究者

| | |
|---------------|------|
| 元旧東京都立産業技術研究所 | 後藤典子 |
| 放射線利用振興協会 | 棚瀬正和 |

研究協力者

| | |
|-----------|------|
| 放射線利用振興協会 | 須永博美 |
|-----------|------|

町田予防衛生研究所
原子燃料工業株式会社
日本アイソトープ研究所
食品総合研究所
日本食品分析センター
日本冷凍食品検査協会
日本冷凍食品検査協会

神保勝彦
武川哲也
越川富比古
等々力節子
小木曾基樹
田形 肇
川上宏之

目的

照射香辛料については予てより、照射を疑われる製品が市場にあるとの報告があったが、その試験法に公定法がないことが、問題となっていた。そこで、本研究では照射香辛料の検知に役立つ公定法の開発を行うこととした。香辛料に用いることが可能な試験法はTL法と微生物法である。TL法はヨーロッパにおける開発の経緯から、原理的には放射線照射食品検知の確かな方法として、我が国においてバリデーション（ここでは、この方法を実際に自分たちの手で実行したとき、どれ位正しく検知できるかを知る試験の意味）を行うことを当初目的とした。しかし、検出下限など、本来分析法として備えるべき事項が示されていないため、これらの事項を実験的に確かめさらに、再現性などに関する詳細なデータを収集する目的で実験を行った。一方、微生物法は原理的にスクリーニング法であるが、TL法の結果を補強する意味で重要である。さらに、高価な設備や特別な技術を使用しないのでどこの実験室でも実行可能である。このような観

点から、微生物法の完成を目指した。

B 研究方法

1. 試料 市販の香辛料又は業者から直接購入した。
2. 照射試料の作成 10MeV の電子線又はコバルト 60 のガンマ線を用いた。試料はポリエチレン袋に入れ、常温常圧で行った。線量の精度は目標線量に対して10%以内。
3. 吸収線線量の測定 アラニン線量計を用いて試料の吸収線量を測定し、その線量はNPLにトレーサブルとした。
- 4-1 TL原法の検討 後藤分担研究者が、都立産業技術研究所でおこなった。さらに、日本食品分析センターに依頼し、鉍物量採取量の再現性を確認し、棚瀬分担研究者に鉍物の添加回収試験等を依頼した。
- 4-2 標準線量照射装置と実施機関
(独)日本原子力研究開発機構・高崎量子応用研究所(原子力機構高崎研)食品照射棟第2照射室のコバルト60を線源とする照射装置を用いた。並びに原子燃料工業株式会社の10MeV電子線照射装置も同時に用いた。

4-3 TL 試験法 食品安全部長通知 070002号(2007年7月)等による。

4-4 TL 実験室内再現性の検討 日本食品分析センター永山研究所及び原子燃料工業株式会社 熊取事業所並びに日本冷凍食品検査協会横浜事業所が、TL比等の日間変動等の再現性を調べた。

4-5 TL 実験室間再現性の検討

東京都立健康安全研究所、日本アイソトープ協会、食品総合研究所、日本食品衛生協会、日本食品分析センター、日本冷凍食品検査協会、横浜検疫所、神戸検疫所、原子燃料工業株式会社、放射線利用振興協会の10機関に参加を呼びかけた。0, 0.3, 1kGy 照射した5種類の試料を配布し TL比や T1 などのパラメーターの再現性を確かめると同時に正答率を確かめた。

4-6 TL 法の用途拡大の検討

日本食品分析センター並びに日本冷凍食品検査協会が約100試料を分析した。

5-1 微生物学的試験法原案検討

町田予防衛生研究所 神保勝彦博士と日本アイソトープ協会甲賀研究所 越川富比古博士はそれぞれ菌数法と放射線耐性菌法の検討を行った。照射試料と非照射試料を比較し、照射・非照射の判定方法を検討した。照射3, 7kGy と非照射香辛料40種あまり、合計120試料について生菌数、熱処理菌数、加塩培地の影響等を調べた。甲賀研究所の越川博士は照射香辛料に生残する放射線耐性菌の同定法を検討した。原子燃料工業株式会社の武川哲也協力研究者は一般生菌数のほかに真菌類について12種類の香辛料を用い、

1, 3, 5, 7kGy の電子線を照射し検知の指標となるか否か検討した。

5-2 微生物学的試験法の再現性の検討

原子燃料工業株式会社の武川哲也協力研究者は菌数計測法を発展させると同時に、以下の9機関日本アイソトープ協会、日本冷凍食品検査協会、東京顕微鏡院、日本油料検定協会、日本食品衛生協会、日本食品分析センター、日本電子照射サービス、マイコトキシン検査協会、大阪府立大学と共同で5種の香辛料について、それぞれの非照射香辛料、5kGy, 7kGy 照射香辛料の3水準、n=5で1機関75試料について、照射・非照射の判定し、その結果の報告を受けた。

6 ESR 法の予備的検討

TL法が適用できない食品に対する検知法として ESR 法の検討を行い、乾燥果実、健康食品、糖類についての放射線照射、ESR測定を行い、吸収スペクトルの確認、スペクトル高と線量との関係、1ヶ月保存後のスペクトル高の変化等を調べた。

C 研究結果

1. 照射試料の作成

香辛料の照射は原則として電子線を用いる方が安価で迅速に作成できた。線量管理と温度管理が重要で、温度管理は研究者が自ら行う必要があった。電子線照射のビルドアップ等は香辛料のような低密度の試料の場合は問題にならなかった。

2. 吸収線量の測定

従来、低温域用の PMMA 線量計が用いられていたが、温度特性に優れたアラニ

ン線量計を用いるとさらに容易に線量管理が出来た。棚瀬分担研究者はコバルト60のガンマ線を使用するときは、その減衰をきめ細かく計算することにより、5%未満の精度で照射を可能にした。

3. 試験法の検討

試験法の内容は現在公知であるが、それに付随する様々な独自技術が開発された。例えば、宮原及び後藤分担研究者は香辛料から抽出された鉍物質を乗せる試験皿の改良、TL発光量を標準化するために鉍物の重量補正法、標準線量を照射するための輸送容器等を検討し、実用化した。これらは試験法を精密化する上で重要なものであった。国際的な基準に合わせるために、本法の回収率を棚瀬分担研究者は検討し黒コショウに添加すると、鉍物を51~138%回収できる等の結果を得た。さらに、鉍物分離用比重液の検討を行い、高価なポリタングステン酸ナトリウムに代わる比重液として飽和タングステン酸ナトリウムを選定し回収実験を行い、十分に利用可能といえる結果を得た。

4. 実験室内再現性

国際的な基準にあった再現性の良い結果が出せるか検討した。鉍物の抽出量、G1(第一発光量)、T1(第一発光極大温度)、TL比について調べた。鉍物量とG1並びにTL比は試料の種類によって、大きく変動した。T1は試料に依存せず比較的再現性のある結果を与えた。TL比は照射・非照射の重要な判断材料とされているが、検出下限付近では判断できない場合があった。

5. 実験室間再現性

これも国際基準にあった試験法かを調べると同時に、実地に試験を実行できる機関が有るかどうかを見極めた。検討項目のうち再現性の良い判断基準としてTL比とT1を用いて、各機関の正答率を見たところ、ほぼ100%であった。

6 TL法の用途拡大の検討

約100試料についてほぼ問題なく分析可能であったが、ごま類等清浄な物については適用が困難であった。その他試験実施に必要な管理項目についてのデータが得られた。

分析試料の鉍物含量はおおむね85%以上であれば、満足行く結果が得られた。

7 微生物学的検知法の原案

標準寒天培地で計測した香辛料39検体の一般生菌数は $10^3 \sim 10^7$ cfu/gであった。これに対して、放射線を3kGy照射した香辛料の一般生菌数は照射しないものより1~2桁低く、7kGy照射した香辛料の一般生菌数は2~3桁低くなり、いずれも 10^3 cfu /g以下であった。10kGy照射した香辛料の一般生菌数は 10^2 cfu /g以下であった。熱処理した試料に生残する微生物として、芽胞数も同様の傾向が見られ、7kGy照射香辛料の芽胞数は 10^2 cfu /gレベルであった。芽胞菌数と生菌数の差を指標に照射・非照射の区別が可能と判断した。しかし、同様にして真菌を指標とした場合、3種類の香辛料について、非照射試料と1kGy照射試料を明確に判定できる基準は得られなかった。

9 微生物学的試験法の再現性の検討

本方法は検知対象香辛料を、一次判定のみを行うものと、二次判定まで行うものとに分類して実施する必要がある、そうした場合には高い正答率（ほぼ 100%）が得られることが分かった。これは、菌層が異なるためで、グラム陰性菌が多いものは前者、芽胞菌が優勢なものは後者となることが分かった。

照射試料に生残する菌の種類としては *B. megaterium*, *B. cereus* 及び *B. pumilus* などが観察された。

10 ESR 法の予備的検討

乾燥果実や健康食品について、ESR 法のサンプリング法やそれに必要な乾燥条件などを検討し、保存後も十分なシグナル強度を観測することが出来た。本法が照射食品検知法として適用できる可能性を明らかにすることができた。

D 考察

TL 法については、ほぼすべての問題をクリアしており、現在の方法やそれに付随する基準を遵守すれば、極めて再現よく照射・非照射を判別できる。今後さらに、分析対象の拡大と検出下限の引き下げが課題である。

試験に必要な TL 測定装置は何種類も市販されているが、本研究ではサーモ社の TLD3500 を用いて検討したが、特に問題はなかった。しかし、その他の製品については、装置のバリデーションを十分に行って本試験法を実行する必要がある。

標準照射については、その線量を厳密に管理している機関である必要がある。X 線装置や長半減期の放射性物質を用い

た照射装置が市販されているが、その線量は標準機関との校正が必要である。我々の研究する際に利用させていただいた機関同士でも線量が一致しないなどの問題に遭遇している。

現在までに約 800 試料を分析しているが、問題が起きるのは十分な技量を持たない実験者が安易に分析に取り組むときで、鉍物と有機物の分離に失敗しているようだ。見た目ほど容易ではないが、それほど難易度の高い試験ではないので、経験的には 20 試料以上の経験が有れば、ほぼ満足できる技量に達するのが大方のケースである。

照射の有無の判定基準はさらに精密化する必要があるが、行政の要請との絡みがあり、ヨーロッパに匹敵する基準が必要であろう。

微生物学的方法については熱処理菌数法と放射線耐性菌同定を組み合わせ、多くの照射食品が検知できる見通しが出来た段階である。

E 結論

1. 本研究の目的であった行政上役立つ試験法として、再現性の高い TL 法が完成した。ヨーロッパで用いられている方法よりも精密な方法でかつ国際基準に見合った方法でもある。

2. この TL 法は実際の運用に当たっても、大きな問題が生じていない。

3. 今後、この TL 法で得られる結果の判定基準を精密化する必要が生じるかも知れない。

4. 微生物学的な検知法は生菌数と熱処理試料の菌数との差を利用する方法

で、これを利用すると照射食品を検知できる場合がある。

5. 放射線耐性菌を同定することにより、的確に照射香辛料を判別できる可能性があり、今後ともこれを検討するに値する。

F 健康に関する危害情報

G 学会発表

口頭発表

1) MAKOTO MIYAHARA, TAMIO MAITANI, TAKUJI KOJIMA, HIROMI SUNAGA, TAMIKAZU KUME, Dosimetry for Food Irradiation with Alanine and Plastic Dosimeters. A Comparison Study, The 119th Annual AOAC International Meeting and Exposition, オランダ, 2005

2) Makoto Miyahara, Toshiki Mashimizu, Hideyuki Hara, Hiromi Sunaga, Tamio Maitani, ESR Measurement of Three Alanine Dosimeters at Low Level Gamma Irradiation, 28th International EPR Symposium, デンバー, 2005

3) 小嶋拓治、田口光正、春山保幸、羽田徳之、須永博美、宮原誠, アラニン線量計の食品照射工程管理への応用検討, 第11回放射線プロセスシンポジウム, 東京, 2005

4) 宮原 誠、小嶋拓治、小林泰雄 須永博美、米谷民雄, ESR法を用いる放射線照射食品プロセスのための微量放射線測定法, 日本薬学会第126年会, 仙台, 2006

5) 武川哲也、宮原誠、米谷民雄, 微生物数による香辛料への放射線照射の判定に関する検討, 第91回日本食品衛生学会講演会, 東京, 2006

6) 川上宏之、田形肇、森曜子、宮原誠、米谷民雄, 放射線照射魚介類に対するアルキルシクロブタノン法適用の確認, 第91回日本食品衛生学会講演会, 東京, 2006

7) 宮原 誠、後閑麻代、木村崇弘、須永博美、棚瀬正和、米谷民雄, 照射食品のTL法による検知 その2 試験法の基礎的検討, 第43回アイソトープ・放射線研究発表会, 東京, 2006

8) 後藤典子, 等々力節子, 宮原 誠, 米谷民雄, 照射・非照射混合香辛料のTL法による検知, 第43回アイソトープ・放射線研究発表会, 東京, 2006

9) 木村 崇弘、須永 博美、棚瀬 正和、宮原 誠、米谷民雄, 照射食品のTL法による検知 その1 基礎的検討, 第43回アイソトープ・放射線研究発表会, 東京, 2006

10) 等々力節子, 後藤典子, 宮原 誠, 酵素分解法による粉末コショウからのTL測定試料の調製と照射検知への応用, 第43回アイソトープ・放射線研究発表会, 東京, 2006

11) 後藤典子, 等々力節子, 宮原 誠, 照射・非照射混合香辛料のTL法による検知, H18年度東京都産業技術センター研究発表会, 東京, 2006

12) 等々力節子, 後藤典子, 宮原 誠, 酵素分解法による粉末コショウからの

- TL測定試料の調製と照射検知への応用，H18年度東京都産業技術センター研究発表会，東京，2006
- 13) Makoto Miyahara, Toshiki Mashimizu, Hideyuki Hara, Hiromi Sunaga, Tamio Maitani, ESR Dosimetry for Food Irradiation at Low Dose Level Gamma Irradiation by Three Alanine Dosimeters A Collaboratory Trial, 49th Rocky Mountain Conference on Analytical Chemistry, Breckenridge, Co, USA, 2006
- 14) 神保勝彦、小林芳生、横田悦子、佐々木睦美、太田健爾、宮原誠、米谷民雄，放射線照射食品の微生物学的検知法の検討，第27回日本食品衛生微生物学会，堺，2006
- 15) 川上宏之、田形 肇、森 曜子、宮原 誠、米谷民雄，放射線照射魚介類中のアルキルシクロブタノンの分析，日本食品衛生学会第92回学術講演会，春日井，2006
- 16) 尾作浩司、加藤 毅、小木曾基樹、渡井正俊、宮原 誠，TL法による放射線照射香辛料の検知に関する検討，日本食品衛生学会第92回学術講演会，春日井，2006
- 17) 宮原 誠、後藤典子、等々力節子、米谷民雄，照射食品のTL法による検知，第43回全国衛生化学技術協議会，米子，2006
- 18) 宮原誠、神保勝彦、小林芳生、横田悦子、佐々木睦美、米谷民雄、微生物学的方法による照射香辛料の検知に関する基礎的検討 1，日本薬学会第125年会，富山，2007
- 19) 杉恵理子、清水隆志、須永博美、棚瀬正和、宮原誠、米谷民雄，照射食品のTL法による検知のための基礎的検討 - 4 - 発光量に及ぼす種々の要素と条件 - ，日本食品衛生学会第93回学術講演会，東京，2007
- 20) 武川哲也、宮原誠、米谷民雄，微生物による香辛料への放射線照射スクリーニング法（熱処理法）の検討，日本食品衛生学会第93回学術講演会，東京，2007
- 21) 宮原誠，米谷民雄、杉 恵理子、清水隆志、須永博美、棚瀬正和，照射食品検知のためのTL法の再現性について，日本食品衛生学会第93回学術講演会，東京，2007
- 22) 越川富比古、松島昌子、廣庭隆行、宮原 誠，微生物学的放射線照射検知のLAL/GNB法の検討，日本防菌防黴学会第34回年次大会，吹田，2007
- 23) 宮原美知子、露木英理子、宮原 誠，食品中のサルモネラと腸炎ビブリオの検査法と殺菌法の検討，日本防菌防黴学会第34回年次大会，吹田，2007
- 24) Miyahara, M. Sugi, E., Sunaga, H., Tanase, K., Maitani, T., Interlaboratory trial of new detection procedure for irradiated spices using thermal luminescence, 234th American Chemical Society National Meeting & Exposition, Boston, 2007
- 25) 川上宏之、竹歳史紀、関 龍雄、宮

- 原 誠、米谷民雄， TL 法による香辛料
および健康食品の照射判別， 日本食品
衛生学会第 94 回学術講演会， 東京，
2007
- 26) 宮原 誠、棚瀬正和、米谷民雄， 照
射食品検知のための TL 法の再現性， 第
44 回全国衛生化学技術協議会， 津，
2007
- 27) 杉恵理子・川島郁男・須永博美・棚
瀬正和・宮原誠， 照射食品の TL 法によ
る検知技術の検討， 第 12 回 放射線プ
ロセスシンポジウム， 2007
- 川島郁男・杉恵理子・須永博美・棚瀬正和・
宮原誠， 放振協における照射食 7 品の
TL 法による検知サービスへの取り組み，
第 12 回 放射線プロセスシンポジウム，
2007
- 28) 宮原 誠・杉恵理子・須永博美・棚
瀬正和， T L 法における再現性につい
て， 第 12 回 放射線プロセスシンポジ
ウム， 2007
- 29) 渡辺章夫、近藤桂子、森光昭、宮原
誠， 照射アラニン線量計の測定法の
検討， 第 12 回 放射線プロセスシンポ
ジウム， 2007
- 30) 宮原 誠， 照射食品の検知の現状，
第 12 回 放射線プロセスシンポジウム，
2007
- 3) 武川哲也、宮原 誠、米谷民雄，
微生物による香辛料の放射線照射検知
スクリーニング法の検討， 防菌防黴，
35, 251-257, 2007
- 4) 後藤典子、山崎正夫、関口正之、等々
力節子、宮原 誠， 非照射香辛料に混
合した照射香辛料の熱ルミネッセンス
法による検知， Radioisotopes , 56,
103-113, 2007
- 5) 宮原 誠 ， 食品照射検知法の
現状 2 0 0 7， 食品衛生研究， 57,
33-48, 2007
- 6) 宮原 誠 ， X 線並びに γ 線を
照射した食品に生じる誘導放射能，
Bulletin of National Institute of
Health Sciences, 125, 107-118, 2007
- 7) 宮原 美知子 宮原 誠， 塩漬
け野菜の保存と電子線照射における腸
管性出血性大腸菌、大腸菌群と生菌数
も菌数消長について， 防菌防黴， 35,
779-783, 2007

H. 知的財産権の出願・登録状況

杉恵理子、木村崇弘、清水隆志、須
永博美、棚瀬正和、宮原誠；照射食品
検知用熱発光試料の輸送及び照射用容
器（特許出願中）

論文発表

- 1) 宮原 誠， 照射食品検知を巡る
最近の動向 2 0 0 6， 放射線と産業，
111, 31-35, 2006
- 2) 宮原 誠， 誘導放射能の確認とそ
の安全性， 食品照射， 41, 32-48, 2006

照射食品検知のための TL 法の確立

分担研究者 棚瀬 正和（財）放射線利用振興協会 高崎事業所長

分担研究者 後藤 典子 元旧東京都立産業技術研究所 主任研究員

協力研究者 等々力節子（独）農業食品産業技術総合研究機構
食品総合研究所

協力研究者 須永 博美（財）放射線利用振興協会

実験協力者 杉 恵理子（財）放射線利用振興協会

実験協力者 川島 郁男（財）放射線利用振興協会

実験協力者 清水 隆志（財）放射線利用振興協会

研究要旨 平成 17 年度から 19 年度にわたり、照射食品の検知法として、香辛料等多くの食品に適用できる熱発光法の検討を行った。まず、黒コショウ、ターメリックを対象とした検討から始め、含まれている鉍物の分離回収、TL 測定、発光量の標準化のための標準線量照射など一連の作業を行い、その過程の各要素について検討した。照射試料から分離できる鉍物の発光曲線は一山の単純な形を示すことが一般的であるが、特徴的な曲線もあった。非照射鉍物を照射した黒コショウに添加すると、鉍物を 51～138%回収できたが、回収した鉍物に 190℃付近の発光極大が認められ、照射黒コショウ由来の鉍物も分離された。測定に用いる試料皿について、TLD 素子を用いた検討を行い、適切な板厚、形状、材質を明らかにした。数ヶ月の保存期間では、TL 発光比が低下するが、明所に保存したものでも判別できた。照射、非照射の黒コショウを混合して、鉍物を分離したところ、照射試料を 20%混合した場合は 5 検体測定したところ、すべてに発光極大が認められた。

微粉末コショウから鉍物を分離する際、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鉍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。これらの手法を実用化する目的でさらに検討を進めた結果、多くの成果が得られた。鉍物の回収率を高めるための検討では、試料袋に付着している鉍物の回収が重要であるなどいくつかのノウハウを得ることができた。標準線量照射の精度と再現性の向上を目指し、試料照射台の作製、照射位置の決定方法の

再検討等を行い、精度、再現性の良い標準線量照射が可能となった。マジヨラム、タイム、ミントなど、平成19年7月に制定された通知法には含まれない新規試料について回収実験を行い、回収物中に含まれる炭酸塩など考慮する必要があるが、これまでの回収方法により TL 法が適用できる見通しが得られた。鉍物分離用比重液の検討を行い、高価なポリタングステン酸ナトリウムに代わる比重液として飽和タングステン酸ナトリウムを選定し回収実験を行い、十分に利用可能といえる結果を得た。また、TL 法が適用できない食品に対する検知法として ESR 法についての予備的検討を行い、乾燥果実、健康食品、糖類についての放射線照射、ESR 測定を行い、吸収スペクトルの確認、スペクトル高と線量との関係、1ヶ月保存後のスペクトル高の変化等を調べた。その結果、本法が照射食品検知法として適用できる可能性を

明らかにすることができた。

A 研究目的

食品の殺菌、殺虫、発芽防止を目的として放射線照射を行う食品照射は世界的には2004年（平成16年）現在、50ヶ国余りで許可されており、特に香辛料については先進国のほとんどが許可している。1)。しかし日本では1972年（昭和47年）に発芽防止を目的としたバレイショの食品照射が許可されて以来30年余りにわたって許可された品目がない状態が続いている。このようにほとんどの食品の照射が許可されていない日本においては照射食品の流入を防ぐことが求められており、そのためには食品が放射線照射されたものかどうかを検知することが必要である。また、日本では香辛料の食品照射について、日本スパイス協会が平成12年に許可申請を行い、原子力委員会は平成17年に食品照射専門部会を設置し、平成18年には食品照射に取り組むに当たっての検知技術の実用化を図るなど環境整備の必要性、社会受容性の向上を図る取り組みが必要であることを

勧告している。

香辛料に適用できる検知法としてはヨーロッパ標準法2)としても制定されている熱発光法（TL法）が高精度で検知できる方法として知られている。

日本における TL 法の技術的確立についての検討はこれまで散発的に行われてきたが、厚生労働省は平成17年度から厚生労働科学研究「放射線照射食品の検知技術に関する研究」の中でとりあげた。この「放射線照射食品の検知技術に関する研究」では「照射食品の検知のための微生物学的方法に関する研究」とともに後藤ら3)により「照射食品検知のための TL 法に関する研究」が開始され、これに関連し「粉末白コショウの TL 法における前処理法の検討」が等々力4)により行われた。この研究はさらに18年度、「照射食品検知のための TL 法の確立に関する研究」、19年度、「照射食品検知のための TL 法適用の拡大と ESR 法の確立に向けて」として棚瀬ら5, 6)に引き継がれた。この19年度の研究では TL 法では対応できない試料に対する予

備的な検討として、ESR法の検討も含めている。そして、平成19年7月には“放射線照射された食品の検知法について”食安発0706002“として厚生労働省から通知された。

本報告はこの平成17年度から19年度までの3年間に実施された「放射線照射食品の検知技術に関する研究」のうちのTL法に関するものをまとめたものである。

17年度の後藤らの研究では香辛料一般に適用できるTL法の確立を目的とし、以下の項目について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、検査方法が検討された。

- (1) 香辛料から分離できる鉍物量の確認
- (2) 鉍物の添加回収実験による回収量の把握、
- (3) 試料皿の形状の適否
- (4) 照射試料の経時変化
- (5) 混合実験による検知確認
- (6) 高温加熱処理によるTL発光への影響
- (7) 再照射線量の影響
- (8) 照射線源の影響
- (9) 発光量の下限值

また等々力は、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く判定が困難となることが予想されるとし、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。

18年度の棚瀬らの研究では具体的に検知を実用化すること目指し、種々の項目・要素について以下の検討を進めた。

- (1) 標準線量の照射の精度と再現性を目指す、
- (2) 鉍物の結晶化度とTL量の関係を調べる、
- (3) 鉍物の粒度とTL量との関係を調べる、
- (4) 照射後の時間経過とTL量の変化に関するこれまでのデータへの追加試験を行う、
- (5) アニール温度とTL量の関係を調べる、
- (6) 検出下限の検討、
- (7) 標準線量の最適化の検討、
- (8) 添加回収実験による鉍物の回収技術の確認、

さらに19年度では、このTL法について検知精度の向上を目指すとともに、このTL法では対応できない他の食品への検知技術として有望なESR法の予備的検討を含め、次の項目を研究の目的とした。

- (1) 鉍物の回収率を高めるための検討(添加回収実験)
- (2) 標準線量照射の精度と再現性の向上
- (3) TL測定器の性能確認及び校正用標準試料の探索
- (4) 通知で対象となった以外の新規香辛料についての添加回収実験
- (5) 鉍物分離用比重液の検討
- (6) TL法の簡略化についての検討
- (7) ESR法の検討

B. 研究方法

1. 17年度、後藤らによる研究(研究方法)

17年度の後藤らによる検討における対象は放射線照射許可の要請も出されている香辛料とした。

(1) 検討のための TL 法検知手順

a. 検討試料 (香辛料) : 海外で収穫後殺菌の行われていないと推定されるものを輸入者から購入した。

黒コショウ (イエロー) とターメリック (中国産) を主に実験試料にした。

b. TL 測定手順

i. 装置、器具

- ・ TLD 測定装置 : HARSHAW QS 3500
- ・ 試料皿 (ステンレス製) 底面が TL 測定装置のヒータに密着する大きさとする。使用前に アセトンに浸漬して超音波浴で洗浄し、密閉容器に保存する。
- ・ 遠心機
- ・ 恒温槽
- ・ 超音波浴
- ・ 電子天秤 (0.01mg まで測定できるもの)
- ・ 遠沈管 (15、50ml) プラスチック製
- ・ 鉍物分離用メッシュメッシュ (目開き 125 μ m、ナイロン製)

ii. 試薬・試液など

- ・ ポリタングステン酸ナトリウム : SOMETU 社製 (ポリタングステン酸ナトリウム溶液 (比重 2.0) はポリタングステン酸ナトリウム ($\text{Na}_6[\text{HW}_{12}\text{O}_{40}] \times \text{H}_2\text{O}$) 250 g を水 150ml に溶かして作成。)
- ・ アセトン : 試薬特級
- ・ 塩酸 : 試薬特級 (1mol/l 塩酸調製する場合は、塩酸 (35~37%) 8.8ml を水に加え 100ml にする。)

・ アンモニア : 試薬特級 (1mol/l アンモニア水

調製する場合は、アンモニア水 (28%) 6.8ml を水に加え 100ml にする。)

・ TLD 素子 : HARSHAW TLD-100 (フッ化リチウム、直径 3.6mm、厚さ 0.1mm)

・ 黄砂 : 国立環境研究所提供の黄砂エアゾル標準物質 (CJ-2)

・ シリコンスプレー : 信越化学工業製、KF96SP

・ アラニン線量計 : BRUKER 製、ペレット、使用した電子スピン共鳴装置 (ESR) は日本電子製、JER-RE2X

・ 炭酸カリウム : 試薬特級

・ タングステン酸ナトリウム : 試薬特級

・ ヨウ化カリウム : 試薬特級

飽和溶液は褐色ビンに保存する。

・ 水 (蒸留水、またはイオン交換水)

iii. 試料の調製

・ 鉍物の分離を次のイ、ロ、ハのいずれかにより行う。

イ. 鉍物の分離-1 (粒状検体の場合)

検体約 100 g を 300 ~ 1000 ml のビーカー (検体の容積の 2 倍程度) に入れ、水 200 ~ 500 ml (検体が十分浸る程度) を加え超音波浴に 15 分入れる。目開 125 または 250 μ m のナイロンメッシュまたはステンレスメッシュを篩の枠に取り付ける。その後、別の 500 ~ 1000ml ビーカーで水などを受け、ナイロンメッシュの上で検体を洗びんの水で濯ぐ。検体は取り除き、廃棄する。ビーカーに残っている沈殿物を含む水もナイロンメッシュを通し、ビーカーの器壁の付着物も洗ビ

ンの水で流してながら加える。さらにナイロンメッシュ上の有機物も洗びんの水でよく洗う。

ビーカーの水を15分間静置し、上澄みをデカンテーションまたは減圧ポンプで水面からゆっくりと吸引し、沈殿物を残す。デカンテーションの場合はビーカーをゆっくりと傾け、序々に水を捨てる。途中で止めると、沈殿物が舞い上がるので、一度の水を捨てる。

ビーカーに残った沈殿物を水とともに50 mlの遠沈管に移す。このとき、ビーカーに鉍物が残るので、遠沈管の上でビーカーを傾けて洗びんの水で洗い流す。一度で集めきれないときは、遠心分離し、上澄みを捨て、残りの沈殿物を集める。これを遠心分離後、上澄みを捨て、10または15 mlの遠沈管に沈殿物を持ち、遠心分離後、上澄みを捨てる。ポリタングステン酸ナトリウム溶液5 mlを加え、攪拌させたのち遠心分離をする。以下、「鉍物の精製」の操作を行う。

ロ. 鉍物の分離-2 (粉末検体の場合1)
検体約2~5 gを50 mlの遠沈管に採り、15~30 mlのポリタングステン酸ナトリウム溶液を加えて軽く攪拌し、溶液中に検体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50 ml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5 ml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15 ml

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50 mlの遠沈管に5~10 mlのポリタングステン酸ナトリウム溶液を加えて、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50 ml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5 ml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15 mlの遠沈管にあわせ、遠心分離をする。以下、「鉍物の精製」の操作を行う。

ハ. 鉍物の分離-3 (粉末検体の場合2)
パプリカの場合は上記(1-2)の工程を次のようにすることができる。ポリタングステン酸ナトリウム溶液の代わりに、飽和炭酸カリウム溶液、飽和タングステン酸ナトリウム溶液または飽和ヨウ化カリウム溶液を加えて、おこなう。最終の遠沈管の溶液を捨て、数 mlの水に鉍物を攪拌して、さらに水を加え10 mlにする。これを遠心分離した後、水を捨て、鉍物を残す。(飽和炭酸カリウム溶液を使用した場合は、水洗いを更に2回繰り返す、数 mlの水を残したところに1 mol/l塩酸を加え、中性もしくは弱酸性にする。塩酸を加えるときは、1滴加えて激しく発泡するようであれば数回水洗いを繰り返す。これを遠心分離した後、水を捨て、鉍物を残す。)

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。以

下、「鉍物の精製」の操作を行う。

・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。この時点で、沈殿物の大部分は鉍物になる。

再度、2～5ml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、鉍物を残す。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の水に鉍物を攪拌して、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、鉍物を残す。

再度、水を加え、この操作を1回繰り返す。

・炭酸塩の除去と水洗い

1mol/l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。

・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。

ターメリック、パプリカは色素が鉍物に付着しているため、アセトン溶液が着色する。この場合は着色がなくなるまで、アセトンで加えて遠心分離する。

iv. TL測定

1試料につき2～3個の試料皿の重量 W_0 (mg)を測定し、蓋つきの容器(ペトリ皿等)に入れておく。パスツールピペット(または25～50 μ l分取できるマイクロピペット)で、遠沈管の底のわずから鉍物を吸い上げ、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。試料皿に載った鉍物が少ないようであれば、再度、鉍物を吸い上げ、鉍物を滴下する。同様に残りの1～2個の試料皿に鉍物を載せる。これらの試料皿を容器に入れ蓋をし、遮光して、50℃に保った恒温槽に入れ1晩放置する。

鉍物を乗せた試料皿の重量 W_1 (mg)を測定しておく。

熱ルミネセンス測定装置の加熱板に鉍物を載せた試料皿を置き、発光を測定する。

この発光量を Glow 1' とする。熱による影響を測定するため、そのまま、発光を再度測定し、この発光量を Glow 1' B とする。この後鉍物をこぼした試料皿は廃棄する。

鉍物を試料皿に載せたまま照射 (1 k Gy) し、遮光して、50℃に保った恒温槽に入れ1晩放置する。

熱ルミネセンス測定装置の加熱板に照射した試料皿を置き、発光を測定する。この発光量を Glow 2' とする。熱による影響を測定するため、そのまま、発光を再度測定し、この発光量を Glow 2' B とする。

次の式により、鉍物量と TL 発光比を計算する。

鉍物量 W (mg)

$$W = W_1 - W_0$$

TL 発光比 = Glow 1 / Glow 2

ただし、Glow 1 = Glow 1' - Glow 1' B

Glow 2 = Glow 2' - Glow 2' B

v. 放射線照射の判定

0.5Gy 照射した TLD100 を 10 回測定し、一番強いピークの温度の平均 (X℃) を出す。

① Glow 1' の発光曲線において、X℃より低温側に発光極大がある。

② TL 発光比が 0.1 以上である。

上記の①と②が測定される場合は「照射された」と判定する。ただし、検体の一部が照射された場合または非照射検体に照射検体が混入した場合は①のみの可能性がある。

vi. 発光量の下限值

数回の空試験を行い Glow 1 と Glow 2 を測定する。それぞれの平均値 (M)、標準偏差 (SD) を算出する。

$$\text{検出限界 (MDL)} = M + 3 \times \text{SD}$$

とすると

発光量の下限値は検出限界の 1.0 倍とする。

c. 測定回数

測定は 5 試料から鉍物を分離し、鉍物の一部を試料皿に載せ、それぞれを 1 回測定した。測定回数は 5 回としたが、これ以外の場合のみ測定回数を記した。

d. 照射施設

・原子燃料工業株式会社 電子線 (10MeV)
・東京都立産業技術研究所 60Co γ 線源 (185TBq、129.5TBq)

本研究で、分離した鉍物へ 1kGy 照射した時の線量率は約 0.70 ~ 0.75kGy/h であった。アラニン線量計で測定した線量は平均 0.93 k Gy、標準偏差 0.022kGy であった。

(2) 検討項目と内容

上記の手順を用いて以下の各項目についての検討を行った。

1) 香辛料から分離できる鉍物量の確認

香辛料のうち本研究ではわが国への輸入量の多いものを検査対象とした。中でもこれらの代表として、粒状の試料では照射した黒コショウとターメリックにつ

いて詳細に検討した。

検査試料の量を決定するため、香辛料から分離できる量を確認した。TL測定には、1mg程度の鉍物を分離する必要がある、所定のTL測定手順に従い、香辛料から鉍物を分離し、その重量を測定した。香辛料から分離した鉍物に1kGy照射しTL測定をした発光曲線に特徴的なものがある。また、発光量も産地などの違いによって差があるので、鉍物単位重量当たりの発光量を求めた。

2) 鉍物の添加回収

香辛料などから分離できる鉍物は発光量、形状などから粘土鉍物が多いと推定される。そこで、100gの照射した黒コショウに土壌（東京都立産業技術研究所駒沢分室敷地内）を風乾後、篩った後、粒度75～173 μ mに調整したものの約30mgを添加し、TL測定手順に従い鉍物を分離した。黒コショウから分離した鉍物のうち一部はTL測定用試料とし、残りを別のステンレス皿に取り、それぞれ50℃で16時間加熱後秤量した。試料皿の縁の高さの影響を検討するために、アルミニウム製の示差熱計用セルも用いた。

3) 試料皿の形状

試料皿の熱容量が大きいとTL測定時の発光極大の温度に影響を与える可能性があったので、照射したTLD素子を用いて、素材の異なる各試料皿について比較検討した。試料皿の材質は表1のとおりであった。

表1 試料皿の材質（JIS規格による）

| | ステンレス | アルミニウム | 銅 |
|----|-----------|---------------|--------|
| 角型 | SUS304 | A1050 (A1N30) | C1100P |
| 丸型 | SUS304-2D | A1050-H18 | — |

()は0.1mmの素材である。

試料皿の形状は角型（5.9mm×5.9mm、縁なし）と丸型（直径6.0mm、厚さ0.2mm、縁の高さ1mm）を使用した。

TLD素子は400℃で1時間加熱し、さらに100℃で2時間加熱したものを東京都立産業技術研究所の60Co（129.5TBq）線源、線量率1.0Gy/hで0.5Gy照射し、半日後に測定した。本研究において、鉍物を測定するときには、丸型ステンレス製のものを使用した。

試料皿の縁の高さのTL測定に対する影響を検討するために、0.5Gy照射したTLD素子のほかに、5kGy照射した黄砂を試料に用いた。入手した黄砂は試料調製時に滅菌のため60Coの γ 線を照射されていたので、400℃で2時間アニールした後、東京都立産業技術研究所の60Co（185TBq） γ 線源で5kGy照射したものを試料とした。

縁なしの試料皿では傾けると、黄砂がこぼれるので、試料皿にシリコンをスプレしたのち黄砂を載せ、軽く揺すって黄砂を試料皿全体に広げた。縁がある試料皿には、黄砂を載せた後、アセトンを数滴たらして、試料皿全体に広げた。

4) 照射試料の経時変化

同一ロットのターメリックと黒コショウをポリ袋に500g（おおよそ20×

22cm、厚さ 2cm) に小分けし、電子線 (10 MeV) で 1kGy、5 k Gy を目標に片面照射した。このときの照射線量はラジオクロミック線量計 (FWT-60-1P) で裏表 2ヶ所測定した平均値は表 2 に示す。実験開始前に、それぞれの試料を袋から出し、混合したのち数 10g ずつ取り分け 500g にし、ポリ袋に入れ暗所に保存した。一部のものは蛍光灯の元に置いた。

表 2 試料へ照射した吸収線量 (k Gy)

| 目標線量 | 黒コショウ | ターメリック |
|------|-------|--------|
| 1 | 1.1 | 1.1 |
| 5 | 5.4 | 5.8 |

TL測定において、鉍物を分離後速やかに実施した場合でも、50℃で一晩加熱、Glow1 の測定、照射、50℃で一晩加熱、Glow2 の測定の一連の作業に 3 日間を要する。照射施設を持たない検査機関では、試料 (鉍物) を照射施設に運搬し、照射した後 Glow2 を測定することが予想される。また、休日がこの途中に入ることも予想されるので、照射後 50℃で一晩加熱し、直後と 1 週間後に Glow2 を測定した場合について検討した。

5) 混合実験

黒コショウを対照 (非照射) と 5.4kGy 照射したものを合計量が 100g のなるように様々な割合で取り、TL 測定手順に従い鉍物を分離し、TL 測定を行った。

6) 高温加熱処理による TL 発光への影響

照射した香辛料などを加熱処理した場合の影響を検討するために黄砂をモデルとして検討した。「3、試料皿の形状」で調整した 5 kGy 照射した黄砂 1 ~ 2 mg 試料皿に乗せ、アセトンを滴下して、黄砂を試料皿上で薄く広げた。50℃で 16 時間アニールしたものを 180℃、150℃に加熱した後、TL 測定をした。

加熱処理の方法は 180℃ 8 分以下の加熱の場合は TL 測定装置で行い、30 分以上の試料は TLD 素子アニール用の加熱装置で加熱した。150℃の加熱は TLD 素子アニール用の装置で加熱した。

7) 再照射線量の影響

標準化のために照射する線量が分離した鉍物への影響を検討するために、 ^{60}Co (185TBq) 線源で 1kGy 前後の線量を照射した。モデル鉍物として「3、試料皿の形状」で調整した 5 kGy 照射した黄砂を試料皿に取り、アセトンを滴下して、試料皿に広げたものを 50℃で 16 時間加熱した。鉍物が移動しないように黄砂を載せた試料皿にシリコンスプレーを吹き付けてから、TL 測定を行った。この場合の線量率は 0.35 ~ 1.2kGy/h であった。

8) 照射線源の影響

本研究で使用したものと同一ロットの黒コショウとターメリックで原子燃料工業の電子線 (10MeV) およびと東京都立産業技術研究所の

^{60}Co γ 線源 (185TBq) で 3kGy、7kGy 照射した。

照射した試料を 3ヶ月暗所で保存後、

それぞれ 100 g から鉍物を分離し、これを 5 つの試料皿に分けて、TL 測定を行った。

9) 発光量の下限值

TL 発光量の検出限界を確認するために、空試験を実施した。空試験は試料があるものとして、試料から鉍物を分離し、TL 測定を行うのと同じの器具、試薬を用いておこなった。

上記の空試験のほかに、試料皿だけを TL 測定し、1kGy 照射して再度 TL 測定を行った。

2. 17 年度、等々力による研究(研究方法)

17 年度の等々力の検討における研究方は以下の通りである。ここでは輸入量が多く、デンプン含有量が高い粉末白コショウを対象試料とし、後藤らによる研究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はかった。

(1) 検討試料 (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。

(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 α 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 μ 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)

3) 照射および線量測定

コショウ試料および分離鉍物の再照射は、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、セル中心の線量率は 0.75 + 0.01 kGy であり、セル内の線量分布は中心線量 + 10% 以内であった。実験期間内の