

表 16 照射したパプリカの生残菌の同定結果

菌株番号	グラム染色性	菌の形態	芽胞形成	同定結果	グループ*
1	陽性	桿菌	する	<i>B.subtilis</i>	①
2	陽性	桿菌	する	<i>B.subtilis</i>	①
3	陽性	桿菌	する	<i>B.licheniformis</i>	②
4	陰性	桿菌	しない	<i>Methylobacterium</i> 属	③
5	陽性	—	胞子形成	酵母菌	④
6	陰性	桿菌	しない	<i>E. sakazaki</i>	⑤
7	陽性	桿菌	する	<i>B.licheniformis</i>	②
8	陽性	桿菌	する	<i>B.licheniformis</i>	②
9	陽性	桿菌	する	<i>B.subtilis</i>	①
10	陰性	桿菌	しない	<i>E.cloacae</i>	⑥
11	陰性	桿菌	しない	<i>E.cloacae</i>	⑥
12	陽性	桿菌	する	<i>B.pumilus</i>	⑦
13	陽性	桿菌	する	<i>B.subtilis</i>	①
14	陽性	桿菌	する	<i>B.licheniformis</i>	②
15	陽性	球菌	しない	<i>M.sedentarius</i>	⑧
16	陽性	球菌	しない	<i>M.sedentarius</i>	⑧
17	陽性	桿菌	する	<i>B.subtilis</i>	①
18	陽性	球菌	しない	<i>M.sedentarius</i>	⑧
19	陽性	桿菌	する	<i>B.licheniformis</i>	②
20	陽性	桿菌	する	<i>B.licheniformis</i>	②
21	陽性	桿菌	する	<i>B.licheniformis</i>	②
22	陽性	—	胞子形成	酵母菌	④
23	陰性	桿菌	しない	<i>Methylobacterium</i> 属	③
24	陽性	桿菌	する	<i>B.subtilis</i>	①
25	陽性	桿菌	する	<i>B.licheniformis</i>	②
26	陽性	桿菌	する	<i>B.subtilis</i>	①
27	陰性	桿菌	しない	<i>Methylobacterium</i> 属	③
28	陽性	—	胞子形成	酵母菌	④
29	陽性	桿菌	する	<i>B.subtilis</i>	①

D 考 察

[平成 18 年度]

供試香辛料 12 種類の一般生菌数とその放射線耐性を調べた結果、7kGy の線量で菌が検出されたものは、12 試料中 7 試料、10kGy の線量で菌が検出されたものは、12 試料中 4 試料であった。このうち、黒胡椒とナツメグについては非照射においても菌が検出されなかったが、黒胡椒については元々滅菌されていたものとする。ナツメグについては原因は

不明であるが、実験操作に問題があった可能性が考えられる。

それ以外の香辛料の一般生菌数の生残曲線は概ね妥当なもので、過去に測定された香辛料の一般生菌数および放射線耐性の報告と合致するものであった(20) (21)。10 k Gy 照射された試料の生菌数は、多くとも数 100cfu / g までであり、十分な殺滅菌効果が得られていた。このため、10 k Gy 照射試料では、実験に必要な数の香辛料で検知に必要な十分な菌数

が得ることが出来ないことが分かった。一方、別の見方をすれば、10 k Gy 以上照射された試料は、非照射の試料に比べて十分菌数が少なくなっている（非照射菌数より  $10^3 \sim 10^5$  減）ために、非照射試料と明らかに判別することができると考えられた。

熱処理による照射検知の可能性では、予備実験の結果、非照射と 7kGy 照射試料の場合で、70°C の熱処理で最も菌数差が大きくなった。このため、本実験では熱処理温度を 70°C とすることを決定した。

また、本実験に用いた香辛料は、非照射および 7kGy 照射試料での菌数が多い香辛料として、セージ、オールスパイス、ターメリック、オレガノ、パプリカの 5 種類の香辛料を用いた。

この実験の結果、非照射試料、3kGy に比べて、7kGy 照射試料の方が熱処理により菌数が少なくなる傾向が見られた。

そこで、熱処理無しでの菌数を A、熱処理を行った場合の菌数を B とし、菌数差（対数表示）を求めたところ、非照射試料で -0.08 から 0.42、7kGy 照射試料で 0.32 から 0.98 であった。また、平均値はそれぞれ、0.11 と 0.68 となり、明らかに 7kGy 照射試料の方が非照射試料に比べて減少率が高かった。このため、5 種類の香辛料については、非照射試料と 7kGy 照射試料の判定は、この菌数差の数値により大部分判定可能であると考えられた。

実際に菌数差（対数表示）で 0.30 を

基準として、この数値未満が非照射試料、この数値以上が 7kGy 照射された試料と考えると、非照射試料 10 検体の内、9 検体は非照射試料として判定可能であった。また、7kGy 照射試料については、菌を確認することができた 8 検体の内、全て照射試料として判定可能であった。

さらに 10 kGy 照射試料についてはほとんどの香辛料で菌が検出できず、検出されたとしても非照射の試料に比べて十分菌数が少なくなっている（非照射菌数より  $10^3 \sim 10^5$  減）ために、非照射試料と明らかに判別することができると考えられた。

一方、真菌については、12 種類の真菌汚染状況と放射線耐性を調べた結果、非照射の試料で真菌コロニーが検出されなかった香辛料は 2 種類であり、1kGy 照射で真菌コロニーが検出されなかった香辛料は 3 種類であった。このうち、黒胡椒の非照射試料については、同じ試料を用いた細菌の菌数測定試験においてもほとんど菌が検出されず、明らかに何らかの滅菌処理が行われていたと考えざるをえない。

それ以上の線量では、3kGy でコロニーが観察された香辛料は 3 種類、5kGy 以上の線量でコロニーが観察された香辛料は 2 種類のみであった。また、3kGy 以上でコロニーが観察された香辛料も菌数は非常に少なく、3kGy 照射試料で  $10^3$  cfu / g 以上の真菌が存在する香辛料はセージのみであった。これらの結果は、過去の香辛料の真菌汚染度および放射線耐性の報告と合致するも

のであった 22) - 24)。

しかしながら、3kGy 以上の線量でコロニーが観察されるセージとパプリカの D 値は非常に大きく、放射線耐性真菌の存在の可能性が疑われた。

これらの結果から、真菌に汚染されている香辛料の汚染度のばらつきは非常に大きく、真菌を用いて放射線照射の有無が検知可能な香辛料の種類は限られるものと考えられた。

また、培養温度の違いによる照射検知の可能性について調査したが、非照射と 3kGy 照射では、培養温度による差はほとんど無かった。また、非照射と 1kGy 照射の比較では、1kGy 照射の試料の方がやや 30℃での発育が悪いようであったが、ばらつきが大きく明らかな傾向は見られなかった。

一方、培養温度を 30℃よりも高くした場合には、非照射試料においても真菌の生育が悪くなると考えられるため 13)、これ以上の培養温度による検討は実施しなかった。

真菌の熱処理による照射検知の可能性については、最も菌数差が大きい温度は 60℃であった。このため、本実験は熱処理温度を 60℃として実施した。

この実験の結果、1kGy 照射試料の方が非照射試料よりも熱処理により菌数が少なくなる傾向が見られた。そこで、一般生菌と同様、熱処理無しでの菌数を A、熱処理を行った場合の菌数を B とし、菌数を対数表示したときの差を求めたところ、非照射試料で -0.29 から 2.26、1kGy 照射試料で 0.60 から 2.05 であっ

た。また、平均値はそれぞれ、0.82 と 1.24 となり、1kGy 照射試料の方がやや減少率が高い傾向にあったが、全体的には非照射試料はばらつきが大きく、1kGy 照射試料の差の値を包含するような値となった。このことは、非照射試料では、熱処理に対する感度が様々な菌が存在することを示唆している。

以上のように、本実験においても熱処理有/無の菌数差のばらつきが大きく、非照射試料と照射試料との間に数値的に明確な線引きを行うことはできなかった。

しかしながら、3種類の香辛料のうち、白胡椒は照射の有無による熱処理後の菌数は明らかに傾向が異なり、セージにおいても、照射試料の方が熱処理後の菌数減少率が大きかった。このため、本試験を真菌による検知法のための予備実験と位置づければ、さらにデータを収集することによって、本方法を放射線照射の検知に用いることが出来る可能性を示すことはできたと考える。

[平成 19 年度]

「平均値との比率を用いる方法」による外れ値の数はオールスパイスとセージが多かった。オールスパイスは黒胡椒と同様芽胞菌が主と考えられるが、外れ値データのコロニー写真には芽胞菌ではない耐放射線性の菌と思われるコロニーが多く見受けられるものもあった(コンタミの可能性も考えられる)。

一方、セージは明らかに芽胞が主ではなく、放射線照射の有無にかかわらず熱処

理により菌数が少なくなっている。しかしながら 7kGy の照射によっても菌数は 2桁～3桁減少しているにすぎず、耐放射線性は大きい。セージの場合は、試料量と回収液量のバランスの問題と耐放射線性の菌の割合のばらつきの問題があったかもしれない。

しかしながら、全体としてデータのばらつきは小さく、菌数によって判定することは可能なレベルであると考えられた。また、香辛料の付着菌数も平成 18 年度の研究で得られた値とほぼ同等の菌数であり、問題ないレベルであった。なお、黒胡椒の菌数は平成 18 年度の研究では測定できなかったが、今回の測定結果は、過去に測定された香辛料の一般生菌数および放射線耐性の報告 25) 26) と合致するものであった。

一方、各機関の結果については表 6 に示すような差異があったものの、熱処理後のばらつきが大きいという訳ではなく、各機関の熱処理は概ね妥当なものであったと思われる。

照射の有無の判定結果は、一次判定条件が  $< 10^2$  cfu/g の場合黒胡椒とオールスパイスは判定可能なレベルであると考えられる。セージ、パプリカは、一次判定、二次判定とも照射、非照射の区別はできなかった。オレガノは一次判定で非照射と 7kGy 照射の場合に判定できたが、5kGy 照射では判定できなかった。二次判定は照射、非照射ともどちらとも判断しがたい結果であった。

一次判定条件が  $< 10^3$  cfu/g の場

合は、黒胡椒とオールスパイスは殆ど変化なく判定可能なレベルであると考えられる。セージ、パプリカは、一次判定で非照射と 7kGy 照射の場合に判定できたが、5kGy 照射では判定ができないもしくは難しかった。二次判定は照射、非照射の区別はできなかった。オレガノは一次判定で非照射と 5kGy 照射、7kGy 照射とも判定できた。二次判定は照射、非照射ともどちらとも判断しがたい結果であった。

この結果、一次判定条件については、 $< 10^2$  cfu/g の場合、 $10^2$  cfu/g 付近においてコロニー数が少なくばらつきの大きい領域となることと、 $< 10^3$  cfu/g とした方が照射判定率が高くなることから  $< 10^3$  cfu/g とした方が良いのではないかと思われた。また香辛料の種類によって明らかに判定可能なものと不可能なものがあった。これをまとめて結論付けると表 17 のとおりである。(表 17 は一次判定条件が  $< 10^3$  cfu/g)

これらの結果、香辛料の種類によって、一次判定と二次判定を行う必要があるものと、一次判定のみで判定が可能でありかつ二次判定を行うと判定できなくなるものに分けられることが分かった。

一次判定のみで判定が可能でありかつ二次判定を行うと判定できなくなるものは、セージ、パプリカでいずれも芽胞菌よりはグラム陰性菌が優勢な菌叢であると思われた。

表 17 判定結果要約と結論

香辛料種類	判定結果要約	結 論
黒胡椒	一次判定で判定不可。二次判定で判定可能。	一次判定と二次判定が必要
オールスパイス	一次判定で判定可能。二次判定の精度は低いが総合判定可能。	一次判定のみで可。二次判定でより確実。
オレガノ	一次判定で判定可能。二次判定のみでは判定不可。	一次判定のみで可。二次判定でより確実。
セージ	一次判定で判定可能。二次判定のみでは判定不可。	一次判定のみで可。二次判定の使用は不可。
パプリカ	一次判定で非照射と 7kGy 照射は判定可能, 5kGy は判定不可。二次判定のみでは判定不可。	一次判定のみで 7kGy 照射以上可。二次判定の使用は不可。

これらの範疇に入るものであるかどうかの見分け方は、照射されていないことが明らかな試料について熱処理を伴う二次判定を行ったとき、照射済と判定されるような結果が得られることである。すなわち、熱処理後に菌数が大きく減少した場合に、一次判定のみで判定が可能でありかつ二次判定を行うと判定できなくなる範疇の香辛料と判断できる。

以上より、本方法は検知対象香辛料を、前記の分類に従って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けて実施する必要がある、そうした場合には高い正答率が得られることが分かった。

さらに付け加えて、照射香辛料の生残菌の菌種についても同定し、5種類の香辛料について、照射後の生残菌の同定を行い、表 18 に同定結果をまとめた。5種類の香辛料の中で全てに検出される生残菌は芽胞形成菌である *Bacillus* 属の菌であった。菌種から見ると全てに検出さ

れる菌種は存在しなかったが、パプリカを除いて、*B.megaterium* が検出された。この菌は放射線抵抗性の強い菌であり、照射された香辛料の判定の際に有力な候補となる菌種であると思われる 27)。照射香辛料から検出された *B.subtilis*, *B.licheniformis* 及び *B.circulans* の放射線抵抗性は、*B.megaterium*, *B.cereus* 及び *B.pumilus* に比べ弱いので、未照射試料で主流を占めていた菌種と考えられる。照射香辛料の中でオルガノ、セージ及びパプリカの場合、グラム陰性菌が検出されたが、一般にグラム陰性菌は乾燥状態に弱く、放射線抵抗性も弱いことが知られている。*Methylobacterium* 属の菌の中には放射線抵抗性の強い菌も存在する 28)。また、乾燥状態にも強いと思われる。同様に検出された *Enterobacter* 属の *E.sakazaki*, *E.cloacae* 及び *P.agglomerans* も乾燥状態に強く、放射線抵抗性も一般的なグラム陰性菌よりも強いことが予想される 29)。

このことから、照射有無の判定での菌種による判定基準として、熱処理法で判定に迷った場合の解決法の一つとして、一般性菌数の菌種が照射有無の判定基準になる可能性がある。照射香辛料の生残菌の菌種の同定を行った結果、放射線抵抗性の強い菌種である *B. megaterium*, *B. cereus* 及び *B. pumilus* が検出されれば、照射された可能性が強いと推察される。

グラム陰性菌が検出される香辛料では、紅色のコロニーである *Methylobacterium* 属の菌や黄色のコロニーである *Enterobacter* 属の *E. sakazaki*, *E. cloacae* 及び *P. agglomerans* も判定の指標となる菌種と考えられる。この様に、照射の有無の判定に迷った場合や照射された判定の確認に一般性菌数の同定は有用な手段であると思われる。

表 18 照射香辛料の生残菌の菌種のまとめ

香辛料	メインの菌種	マイナーの菌種
オールスパイス	グラム陽性菌	グラム陽性菌
	<i>Bacillus pumilus</i>	<i>Bacillus megaterium</i>
	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Bacillus cereus</i>
		<i>Bacillus circulans</i>
オルガノ	グラム陽性菌	グラム陽性菌
	<i>Bacillus cereus</i>	<i>B.coagulans</i>
	<i>Bacillus megaterium</i>	<i>M.kristinae</i>
	<i>Bacillus circulans</i>	グラム陰性菌
		・ <i>Methylobacterium</i> 属
	・ 菌種不明⇒	
セージ	グラム陽性菌	グラム陽性菌
	<i>Bacillus megaterium</i>	<i>Micrococcus sedentarius</i>
	グラム陰性菌 (ブドウ糖醗酵菌)	
	<i>Enterobacter sakazaki</i>	
	<i>Pantoea agglomerans</i>	
	( <i>Enterobacter agglomerans</i> )	
パプリカ	<i>Escherichia hermannii</i>	
	グラム陽性菌	グラム陽性菌
	<i>Bacillus subtilis</i>	酵母菌
	<i>Bacillus licheniformis</i>	<i>Micrococcus sedentarius</i>
		<i>Bacillus pumilus</i>
		真菌
		グラム陰性菌
		・ <i>Methylobacterium</i> 属
		・ ブドウ糖醗酵菌
	<i>Enterobacter sakazaki</i>	
	<i>Enterobacter cloacae</i>	

## E 結 論

平成 17 年度の研究により、7kGy 以上の放射線が照射された香辛料の菌数は初期菌数がいくらであっても  $10^3$  cfu/g 以下であった。この結果は、初期菌数が  $10^7$  cfu/g 以下である場合にはあてはまることが、平成 18 年度および平成 19 年度の研究結果でも明らかとなった。この 3 年間の研究で多くの種類、産地の香辛料について初期菌数の測定を行ったが、 $10^8$  cfu/g 以上の検体は無く、 $10^3$  cfu/g 以下の判定条件は殆どの種類の香辛料に当てはめられると考える。また、この時同時に芽胞数や大腸菌群数を測定しており、殆どの香辛料は芽胞形成菌が菌叢の大部分を占めているが、一部の香辛料は菌叢の一部を大腸菌群が占めており、恐らくはその他のグラム陰性菌も一定の割合を占めていることが予想される。

このことは、平成 19 年度の研究結果で、熱処理法が適用できる香辛料と適用できない香辛料に分かれたことから明らかであり、熱処理法が適用できないグラム陰性菌がある割合を占める香辛料については、今後その種類を明らかとし、グラム陰性菌に特有な検知法の適用を検討していくことが望ましいと考える。このため、平成 19 年度の研究においては、照射後の生残菌について同定を行い、今後の検討のための基礎データとした。

一方、平成 17 年度に行った食塩加標準寒天培地については、放射線照射試料と非照射試料とでは若干の生育の違いは見られたものの、これをもって判定条件を作成することは困難な結果であった。

このため、平成 18 年度以降は、一般生菌数の判定条件に加えて、熱処理による生育の違いを判定条件とするべく研究を重ねた。この結果、熱処理前後の菌数差によって判別可能であることを見出した。一方、平成 18 年度は一般生菌の他に真菌についても研究を行ったが、一般的に、細菌に比べて真菌の方が放射線に対する感度ははるかに高く、通常の殺菌線量であれば殆どの真菌が死滅してしまうために、真菌を用いることは一般生菌に比べ有効ではなかった。

このことから、平成 19 年度は一般生菌数の熱処理法について 9 機関による実験室間の共同研究を実施した。この結果、芽胞が主流を占める香辛料では熱処理法は有効であり、一般生菌数のみの一次判定と熱処理による菌数差で判定する二次判定の組み合わせで、非常に高い正答率を得ることができた。一方、グラム陰性菌がある程度の割合で存在する香辛料は、一般生菌数の条件では判定可能であるが、二次判定の熱処理法は有効ではなく、さらに高度の判定を行うためにはグラム陰性菌用の検知法が必要であると思われた。しかしながら、平成 17 年度の研究からも大部分の香辛料は芽胞が主流を占めていることが分かっているため、本方法は大部分の香辛料について非常に有効な方法であると考えられる。

## G 研究発表

### 1. 論文発表

1) 武川哲也, 宮原誠; 微生物による香

辛料の放射線スクリーニング法の検討,  
防菌防黴, 35, 251-257(2007)  
2) 武川哲也, 宮原誠, 越川富比古; 照  
射食品検知のための微生物法の開発と実  
験室間再現性について, 防菌防黴 (予定)  
3) 越川富比古, 宮原誠, 武川哲也; 香  
辛料の微生物学的検知法に関する研究  
(照射香辛料から検出された生残菌の同  
定), 防菌防黴 (予定)

## 2. 学会発表

1) 神保勝彦, 小林芳生, 横田悦子, 太  
田建爾, 宮原誠, 米谷民夫: 第 27 回日  
本食品微生物学会学術総会 2006, 「放射  
線照射食品の微生物学的検知法の検討」  
2) 武川哲也, 宮原誠, 米谷民夫: 第 91  
回日本食品衛生学会学術講演会 2006, 「微  
生物数による香辛料への放射線照射検知  
法の検討」  
3) 武川哲也, 宮原誠, 米谷民夫: 第 93  
回日本食品衛生学会学術講演会 2007, 「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」  
4) 武川哲也, 宮原誠: 第 95 回日本食品  
衛生学会学術講演会 2008, 「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」 (予定)  
5) T. Takekawa, T. Koshikawa, M.  
Furuta, M. Miyahara: International  
Process Meeting 2008, Verification  
of the new detection method for  
irradiated spices based on microbial  
survival by collaborative blind  
trial (予定)

## 参考文献

1) 厚生省告示第 285 号, 昭和 47 年 8 月  
30 日, 官報第 13707 号, 1972  
2) 宮原誠; 世界における放射線殺滅菌  
技術の展開と現状, 防菌防黴, 30 (4),  
233-248, 2002  
3) 宮原誠; 食品照射検知法の現状, 食  
品照射, 37 (1, 2), 29-47, 2002  
4) 宮原誠; 照射食品安全性検証の歴史,  
食品照射, 38 (1, 2), 31-48, 2003  
5) 宮原誠; 照射食品安全性検証の歴  
史 (2), 食品照射, 39 (1, 2), 28-49,  
2004  
6) 新谷英晴; 微生物の成育に与える種々  
因子のバリデーションについて, 防菌防  
黴, 33, 669-675 (2005)  
7) Nakauma, M. , Saito, K. ,  
Katayama, T., Tada, M. , Todoriki  
, S. ; Radiation-heat synergism for  
inactivation of Alicyclobacillus  
acidoterrestris spores in citrus  
juice, *Journal of Food Protection*, **67**,  
2538-2543 (2004)  
8) Diehl, J. F. ; Effects  
of combination processes on  
the nutritive value of food,  
International Atomic Energy Agency ,  
349-366 (1980)  
9) A. . ヘレール, Y. . ヨンゲン, M. .  
アブス, M. . ファン・ラネケル, 大越正  
和, 梅津透; IBA 社工業用高電圧・高出  
力電子線加速器ロードトロン, 放射線と  
産業, 78, 27-31 (1998)  
10) 新谷英晴, 数馬昂始; 日本に於ける  
滅菌保証達成に於ける問題点と解決法 7



- (上), 防菌防黴, 30, 749-758(2002)
- 11) Klein, D.A. ; Stress: a Factor to be considered in heterotrophic microorganism enumeration from aquatic environments., *Appl. Microbiol.*, 27, 429-431(1974)
- 12) Ray, B., Speck, M.L. ; Discrepancies in the enumeration of *Escherichia coli.*, *Appl. Microbiol.*, 25, 494-498(1973)
- 13) 太田利子, 朴鐘喆, 徐潤, 村松芳多子, 高鳥浩介; 真菌試験における培養温度の影響, 防菌防黴, 27, 309-313(1999)
- 14) ISO14161:2000 保健製品の滅菌—生物指標—結果の選択, 使用及び解釈の指針
- 15) 越川富比古; 放射線滅菌における微生物試験法 (I) —細菌の同定における一般的な知識と操作技術—, *RADIOISOTOPES*, 53, 223-243, (2004)
- 16) (社)日本アイソトープ協会甲賀研究所編; 好気性芽形成菌の図鑑, 日本ベクトン・ディキンソン(株), (2004)
- 17) 越川富比古; 放射線滅菌における微生物試験法 (II) —BBLクリスタルG P同定キットによるグラム陽性菌の同定手順—, *RADIOISOTOPES*, 53, 317-329, (2004)
- 18) 廣庭隆行, 山本陽子, 越川富比古; 放射線滅菌における微生物試験法 (III) —  
BBLクリスタルG P同定キットによる芽胞形成菌の同定ソフトの開発—, *RADIOISOTOPES*, 53, 361-368, (2004)
- 19) JIS Z 8402-2:1999 測定方法及び測定結果の精確さ (真度及び精度) —第2部: 標準測定方法の併行制度及び再現精度を求めるための基本的方法
- 20) 林徹, Mamun, 等々力節子; 香辛料の殺菌技術としての電子線照射とガンマ線照射の比較, 食総研報, 57, 1-6(1993)
- 21) Vajudi, M., Pereira, P.P. ; Comparative Effects of Ethylene Oxide, Gamma Irradiation and Microwave Treatments on Selected Spices., *Journal of Food Sci.*, 38, 893-895 (1973)
- 22) 宇田川俊一; 食品のカビ汚染と危害, (宇田川俊一編集, 幸書房, 2004), 128-134
- 23) Blank, G.B., Corrigan, D ; Comparison of resistance of fungal spores to gamma and electron beam radiation., *International Journal of Food Microbiology*, 26, 269-277 (1995)
- 24) LebaiJuri, M., Omar, M., Yusof, N. ; Sensitivity of the conidia of plant pathogenic fungi to Gamma-rays, electron particles and X-ray (Bremsstrahlung) irradiation., *World Journal of Microbiology*, 11, 610-614 (1995)
- 25) 林徹, Mamun, 等々力節子; 香辛料の殺菌技術としての電子線照射とガンマ線照射の比較, 食総研報, 57, 1-6(1993)
- 26) Vajudi, M., Pereira, P.P. ;

Comparative Effects of Ethylene Oxide, Gamma Irradiation and Microwave Treatments on Selected Spices., *Journal of Food Sci.*, 38, 893-895 (1973)

27) 越川富比古、新谷英晴；バイオバーデン測定の問題点，防菌防黴誌，26, 511-520, (1998)

28) 廣庭隆行，山本陽子，松島昌子，染川憲一，越川富比古；累加線量照射後の無菌試験で検出された放射線抵抗性の強いグラム陰性菌について，日本防菌防黴学会第32回年次大会要旨集，101, (2005)

29) 伊藤均，鎌倉浩之，関田節子；生薬中の微生物分布と放射線殺菌効果，食品照射，34, 第1・2号，16-22, (1999)

照射食品検知 TL 法の再現性と適用拡大に関する研究

分担研究者 宮原 誠

研究要旨

行政目的の照射食品検査方法が求められており、その構築が現在急務とされている。行政目的の試験法に求められている最も重要なことは試験法の信頼性でこれを担保する科学的な証左は主に再現性である。照射食品の検知法のうち香辛料など多くの食品に適用でき、判別精度の高い熱ルミネッセンス（TL）法による検査方法を検討した。

2006年度は昨年の研究成果をもとに、鉍物抽出量と TL 比について TL 法の室内再現性を調べた。定性試験法なので、照射・未照射の判定が可能であればよく、その確率が高いほど優れた試験法である。予試験を行い、鉍物抽出量は 100 g の試料を用いて、TL 分析方法原案に従って処理するとターメリック（粉末・ホール）、黒胡椒、赤唐辛子、フェネグreek、クミン、セロリ、オールスパイス、黒ごま、パプリカ、オレガノ、コリアンダー、生姜、シナモンなどについては必要な鉍物量を確保できた。タマネギ、ニンニクなどからは鉍物質は抽出できなかった。

本試験では、単位重量あたりの抽出量（鉍物率、試料 1 g あたりの鉍物量 mg）を調べる試行を各試料 1 日 3 回試行し、これを 3 日繰り返して、その再現性を精査したところ、平均試料率はセロリシードが最高で 3.4mg/g、最低がフェネグreekで 0.002mg/g であった。再現性のもっと悪かったのはコリアンダーで 3 日間の CV% は 66% で、もっと良かったのはクミンで 10% であった。

TL 比は日による変動が大きく、安定しないが、照射・非照射の判定はある程度可能である。TL 比 0.1 を照射の基準とすれば、今回検討したすべての試料の TL 比は 0.1 以上であり、正しく判定できたことになり、極めて正確な試験法として採用が可能と判断した。

2006年度はさらに、TL 法の実験室間の再現性について調べた。香辛料 5 種類（黒胡椒（BP）、オレガノ（OR）、赤唐辛子（RP）、パプリカ（PA）、ウコン（TA）（ターメリック））に電子線照射して放射線の線量が 3 水準の未知試料（合計 350 個予備試料を含む）を作成し、これを 10 試験研究機関に送付し、試験を実施した。分析された試料は 269 個で正答率は 98% であった。極めて正確な結果が得

られる試験法であることを示した。

2007年度は2006年度の検討結果をもとに、照射食品検知試験法として、唯一我が国で公定法となった。TL通知法は当初13品目の香辛料を対象としていた。さらに適用食品を拡大するべく検討を行った。検討対象は既に通知に含まれる物あるいはそれ以外のものを合わせて、96試料とした。入手法は世田谷及び台東地域のスーパーマーケット並びに主な香辛料メーカーから直接購入した。用いた試料数はそれぞれ中粒香辛料13、唐辛子系香辛料9、樹皮系香辛料7、根菜系香辛料9、葉物系香辛料11、ごま系香辛料6、微少香辛料10、その他5、健康食品26であった。96品目の一部の試料(25試料)を照射して、その発光極大等を調べたところ、通常の200℃付近に観測され、かつTL比も0.1を超えた。これらのことから、これらの試料が照射された場合も十分に検知できることを確かめた。

一方、鉍物が十分に採取出来ないために分析が困難であったのは、ごま類の4試料、微少香辛料等の1試料、その他の2試料、健康食品の7試料であった。

なお、この試験の結果に基づき、2007年末に通知法に品目が4品目追加された。

## 研究組織

### 1. 照射食品検知 TL 法の実験室内再現性に関する研究 (2006 年度)

分担研究者	宮原 誠	国立医薬品食品衛生研究所
協力研究者	小木曾基樹	日本食品分析センター
協力研究者	武川哲也	原子燃料工業株式会社
協力研究者	田形 肇	日本冷凍食品検査協会
実験協力者	加藤毅	日本食品分析センター
実験協力者	尾作浩司	日本食品分析センター
実験協力者	永田理恵	日本食品分析センター
実験協力者	柿平僚	日本食品分析センター
実験協力者	高橋なつき	日本食品分析センター
実験協力者	山田 瑠美子	日本食品分析センター
実験協力者	吉田哲生	原子燃料工業株式会社
実験協力者	川上宏之	日本冷凍食品検査協会
実験協力者	竹歳史紀、	日本冷凍食品検査協会

### 2. 照射食品検知 TL 法の室間再現性に関する研究 (2006 年度)

分担研究者	宮原 誠	国立医薬品食品衛生研究所
実験協力者	広門雅子	東京都立健康安全研究所
実験協力者	藤沼賢司	東京都立健康安全研究所

実験協力者	染川憲一	日本アイソトープ協会
実験協力者	廣庭隆行	日本アイソトープ協会
実験協力者	等々力節子	食品総合研究所
実験協力者	斉藤希巳江	食品総合研究所
実験協力者	小林一夫	食品衛生研究所
実験協力者	小木曾基樹	日本食品分析センター
実験協力者	加藤毅	日本食品分析センター
実験協力者	尾作浩司	日本食品分析センター
実験協力者	酒井 耶須子	日本食品分析センター
実験協力者	山田 瑠美子	日本食品分析センター
実験協力者	川上宏之	日本冷凍食品検査協会
実験協力者	田形 肇	日本冷凍食品検査協会
実験協力者	武田 寿	横浜検疫所
実験協力者	八木俊幸	神戸検疫所
実験協力者	武川哲也	原子燃料工業株式会社
実験協力者	吉田哲生	原子燃料工業株式会社
実験協力者	杉 恵理子	放射線利用振興協会
実験協力者	清水隆志	放射線利用振興協会
実験協力者	竹歳史紀、	日本冷凍食品検査協会

### 3. TL法の適用照射食品拡大に関する研究(2007年度)

分担研究者	宮原 誠	国立医薬品食品衛生研究所
研究協力者	関 龍雄	日本冷凍食品検査協会
研究協力者	小木曾基樹	日本食品分析センター
実験協力者	川上宏之	日本冷凍食品検査協会
実験協力者	竹歳史紀、	日本冷凍食品検査協会

## A. 研究目的

照射食品<sup>1,2,3)</sup>は我が国に置いては原則的に禁止されており、照射ジャガイモ以外は流通が禁止されている。諸外国における規制緩和の影響で我が国に照射食品の輸入されるリスクが高まっていると考えられている。EUでは照射食品の検知法として10種類の方法をヨーロッパ標準法<sup>4~13)</sup>に制定している。このうち、TL法<sup>10)</sup>は香辛料をはじめとする多くの食品に適用でき、判別精度は高いとされている。2005年度から照射食品に関する試験法の検討<sup>14)</sup>を行い、2006年度はその改良と再現性に関する検討を行うこととした。今回の検討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。2007年度はその実際上の使用方法を調べた。

従来、TL法については東京都産業技術研究所が中心になって、我が国で研究されてきた。<sup>15~17)</sup>しかし、それらは基礎的な研究の域をでなかったが、そのよ

うな研究の成果として、市場に出回る食品の中に照射を疑うような食品があったことが報告された。<sup>17)</sup>そのほか諸外国ではTL法の応用を広げる研究や試験法としての再現性を確かめる試験などが報告され、データは充実してきた<sup>18~22)</sup>。

しかし、本法の持っている潜在的な再現性のない点に関する報告はなかった。

### 1. 照射食品検知 TL法の室内再現性に関する検討(2006年度)

始めに照射食品の検査法として、TL法の確立が望まれるため、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、検査方法を検討した。2005年度の研究で100gの香辛料からとれる鉍物の量を後藤らは報告している(表A-1)。

一般に流通している香辛料から抽出可能な鉍物量は、TL測定に十分であると考えられている。2006年度これをさらに試料の種類を多くして調べ、いくつかの香辛料については、抽出量についての実験室内の再現性を検討し、これを予試

表A-1 各種香辛料から分離できた鉍物量

品名	産地	形状	試料採取量 (g)	鉍物量 (mg)
オールスパイス	ジャマイカ	ホール	100	2.4
黒コショウ	インド	ホール	100	1
黒コショウ	マレーシア	ホール	100	4~6.5
黒コショウ	マレーシア	ホール(選別)	100	5.7~8.7
黒コショウ	ブラジル	ホール	100	1.2
黒コショウ	ベトナム	ホール	100	3.2
黒コショウ	(イエロー)	ホール	100	2.3
セロリ	インド	ホール(種子)	100	630
ローレル	トルコ	ホール	50	0.95
パプリカ	スペイン	粉末	5	2.7~11
パプリカ	チリ	粉末	5	9.8~13
ショウガ	中国	ホール	100	0.87
ターメリック	中国	フィンガー	100	4.9
ターメリック	マドラス	フィンガー	100	22
ガーリック	米国	チョップ	100	2.3

験とした。同時に検体の TL を調べ、バックグラウンドの様子を観察した。

さらに、照射試料を作成し、再現性を調べるパラメーターとして抽出量と TL 比を調べ、室内再現性の本試験とした。

## 2. 照射食品検知 TL 法の室間再現性に関する検討 (2006 年度)

本試験法はもとの照射線量を正確に測定できないことから、定性分析法に位置づけられている。

しかし、本来 TL 法は被爆線量を定量するための試験として現在でも利用されている方法である。従って、放射線量とそれを与えられた鉱物の TL 発光量は厳密に比例関係にあるので、決められた同一検体については定量性・再現性が高い分析手段である。このような優れた測定技術を照射食品の検知として適用するとなぜ定性的な扱いになるのか原因・理由を表 A-2 列挙した。

表 A-2 定性試験 TL の再現性に影響する因子

- 
1. 照射後 TL 測定までの期間
  2. 照射された鉱物の結晶度・粒度
  3. 照射された後の熱履歴
  4. 照射された後の光の量
  5. TL 測定時の鉱物の形・粒径
  6. TL 測定時の発光量
  7. TL 測定時の昇温条件
- 

これらの因子のうち、発光量に大きな影響を及ぼすのが目的照射の不均一性と照射後の期間で、ふつうはその吸収線量と共に不明である。鉱物質の結晶度や粒度は畑や乾燥場・保存場所ごとに同じと考えられるので、ロットで決まるが、他のロットについては異なった性質のものとなる。照射後の滅菌などで加熱されるとアニールされたとの同じ結果となり、その条件次第では TL 発光量が減少するので、この時点で吸収線量と発光量との直接的な関係は崩れ、元の放射線量は不明となる。天日などの当たるところに保存展示されるとここでも減光することが知られており、元の線量と発光量の関係は無くなる。さらに、TL 測定時にも定量性が無くなる要素があり、試料から抽出された鉱物質は粉体あるいは粒状で、試料皿上での厚さや平面的な広がり有一定にできないので、受光部が平面である測定器に対する受光効率が常に変化する。これでは定量性を確保できない。広く使用されている発光の読み取り器は微量の発光を測定するために、フォトンカウンティングの手法を用いている。これは大量の発光があるとすぐに飽和してしまい、正確な測定ができない。さらにこの方法ではフッ化リチウムを用いて、一定波長、一定の形をした塊の発光回数を調べて、発光量と関連づけており、任意の物質の発光量を正確に示すものではない。昇温条件により、発光量が変わることが知られており、ヒーター温度の校正、試料量(多いと温度が上がりにくい)、

単位時間あたりの発光量などの因子により定量性が変化する。

これらの多くの原因から定性試験とされているが、注意深く試験をすることにより、再現性を高めた試験法案が策定されており、この再現性がどれくらい在るのか調べる必要がある。

ここでは香辛料 5 種類香辛料 5 種類 (黒胡椒 (BP)、オレガノ (OR)、赤唐辛子 (RP)、パプリカ (PA)、ウコン (TA) (ターメリック)) に電子線照射して放射線の線量が 3 水準の未知試料 (合計 350 個予備試料を含む) を作成し、これを 10 試験研究機関に送付し、いくつかのパラメーターについての再現性を調べ、分析が再現性よく実行できるか調べた。

### 3. TL 法の適用照射食品拡大に関する研究 (2007 年度)

2007 年 TL 法は通知法となり、一応の完成を見た。しかし、その適用範囲は狭く、100 種以上あると言われている香辛料の内僅かに十数種にすぎず、さらにその対象を拡大するべきであるとの声があり、その試みを行った。試料は未加工の香辛料や乾燥野菜等とし、未加工品は入手が困難であるので、世田谷地区や香辛料メーカー等で一般に入手可能な市販品とした。これを 1 k Gy 照射グループと非照射グループに分け、それぞれを実験協力者に依頼して、TL 通知法に従い分析し、分析可能であるか、判定が確実にできるかを検証した。

食品中の残留農薬や残留動物用医薬品等の公定法作成の例に従い、上記の要領

で検討した食品について、通知法に順次採用する方向で検討した。

## B. 研究方法

### 1. 照射食品検知 TL 法の室内再現性に関する検討 (2006 年度)

#### 1-1 予試験

##### 1-1-1 目的

本検討においては、測定に必要な香辛料の量を調べ、得られた鉍物の発光曲線を測定した。

- 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。(表 B-1 参照)
- b. 予試験であるので一カ所の試験研究機関に試験を依頼して実施した。依頼先を日本食品分析センターとした

#### c. 試料の調製

##### ① 鉍物の分離

検体 2) 及び 3) は約 2 g, 検体 7) は約 50 g, それ以外の検体については約 100 g を 1 L のポリビーカー (以下「ビーカー A」という。) にとり、検体が十分に浸る程度の水を加え、必要に応じて攪拌しながら超音波浴に 15 分間入れた。別の 1 L のポリビーカー (以下「ビーカー B」という。) の口に目開き 125  $\mu$  m のナイロンメッシュを取り付け、ビーカー A 内の検体及びビーカー A に残っている沈殿物を含む水を通した。さらにメッシュ上の検体を水で洗った後、ビーカー B を 15 分間静置し、上澄みをデカンテーションした。残った沈殿物を水とともに 50 mL の遠沈管に移し、遠心分離した。



上澄みを捨て、ポリタングステン酸ナトリウム溶液（ポリタングステン酸ナトリウム 250 g を水 150 ml に溶解する。）を 15 mL 加え、超音波浴に 5 分間入れ、遠心分離し、再び上澄みを捨てた。この沈殿物を 10 mL 試験管に移し、遠心分離後、上澄みを捨て、5 mL のポリタングステン酸ナトリウム溶液を加え、攪拌させたのち遠心分離した。

② 鉍物の精製

10 mL の水を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、沈殿物を残した。

次に、10 mL の水を加え沈殿物を攪拌して、これを遠心分離した後、水を捨て、沈殿物を残した。再度、水を加え、この操作を 1 回繰り返した。

③ 水分除去

アセトン 3 mL を加え、攪拌して、遠心分離後、鉍物を残し、アセトンをパスター

表 B-1 各香辛料から得られた鉍物量

検体番号	品名	結果 (mg)		採取量 (g)
		1 回目	2 回目	
1)	黒胡椒	1.77	—	100
2)	パプリカ	1.1	—	2
3)	セロリ (種)	1.17	—	2
4)	トウガラシ	1.01	1.27	100
5)	トウガラシ	1.61	1.6	100
6)	トウガラシ	22.55	34.78	100
7)	パセリ	0.17	0.07	50
8)	ショウガ	5.55	10.67	100
9)	オレガノ	5.45	3.89	100
10)	オレガノ	1.24	2.09	100
11)	オールスパイス	1.05	0.88	100
12)	オールスパイス	2.17	2.13	100
13)	ガーリック	0.01	0.01	100
14)	シナモン (Zeylanicum)	0.47	1.16	100
15)	シナモン (Cassia)	1.25	1.44	100
16)	シナモン (Cassia)	0.78	0.68	100
17)	マスターシード	0.01	0.01	100
18)	マスターシード	0.42	0.21	100
19)	白ごま	0.23	0.37	100
20)	黒ごま	2.83	1.11	100
21)	たまねぎ	0.03	0.01	100
22)	たまねぎ	0.04	0	100
23)	たまねぎ	0	0.02	100
24)	ターメリック	14.06	—	100
25)	フェヌグリーク	0.93	0.37	100
26)	コリアンダー	2.12	1.73	100
27)	クミン	39.05	44.37	100
28)	桂皮	0.06	0.09	100

ルピペットで吸い取り、捨てた。

#### ④ 重量測定

あらかじめ重量を測定したバイアル瓶に残留物を移し、窒素気流下で残留物を乾固した。さらに、このバイアル瓶の重量を測定し、この重量から、あらかじめ測定したバイアル瓶重量を差し引いたものを、残留物の重量とした。結果を表-1に示した。

なお、検体 1) ~ 3) 及び検体 24) については試行数 1 回で、その他ものについては試行数 2 回で試験を行った。

#### 2) 熱ルミネッセンス測定

3-1)-④で 1 mg 以上の残留物が得られたものについて、熱ルミネッセンス測定を行った。

なお、検体 16) 及び 25) に関しては、2 回分の残留物を合わせて測定した。

<熱ルミネッセンス測定装置操作条件>

熱ルミネッセンス測定装置：TL-3500(Thermo 社)

試料室雰囲気：窒素ガス

昇温条件：開始温度 70 °C

終了温度 490 °C

昇温スピード 6 °C / 秒

#### 1-2 本試験の実験概要

##### 1-2-1 試料

市販の香辛料をスーパーマーケットで購入した。

##### 1-2-2 分析実施機関

一機関ですべてを実行するのが理想であるが、負担が大きすぎるとの指摘から、3つの機関に分担した。日本食品分析センター永山研究所、原子燃料工業株式会

社 熊取事業所、日本冷凍食品検査協会 横浜事業所

#### 1-2-3 電子線照射

原子燃料工業株のロードトロン型電子加速器 8) を用い、各試料 100g に対して 10MeV 電子線で下記目標線量まで照射した。

#### 1-2-4 実験手順

##### i. 装置

熱ルミネッセンス測定装置

試料室雰囲気：窒素ガス (G3)

昇温：開始温度 70°C、終了温度 490°C

昇温スピード：6 °C / 秒

照射施設  $\gamma$  線 (コバルト 60)

超音波浴

恒温槽 (50 ± 5 °C)

遠心分離器

運転条件：1000 G、2 分間

遠沈管攪拌器

セミ・マイクロ天秤 (0.01mg 程度まで測定可能なこと)

台秤 (200g から 0.5g まで秤量可能なこと)

除電気

##### ii. 試薬・試液など

ポリタングステン酸ナトリウム溶液 (比重 2.0)

ポリタングステン酸ナトリウム (Na<sub>6</sub>[HW<sub>12</sub>O<sub>40</sub>] x H<sub>2</sub>O) 250 g を水 150ml に溶かす。

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。

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。

アセトン：試薬特級

蒸留水、またはイオン交換水

鉍物分離用ナイロンメッシュ

目開き 125  $\mu$ m

試料皿 (ステンレス製)

底面が TL 測定装置の加熱板に密着する大きさ (6mm id、2mm 高)。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。

### iii. 試料の調製

(1-1) 鉍物の分離 (粒状検体の場合)  
(水抽出) 試料約 100 g (SLW、g) を 300 ~ 1000 ml のビーカー (試料の容積の 2 倍程度) に入れ、水 200 ~ 500 ml (試料が十分浸る程度) を加え超音波浴に 15 分入れる。

(濾過) 新しい目開 125 のナイロンメッシュを篩の枠に取り付ける。ナイロンメッシュは試料ごとに毎回取り替える。

超音波処理の終わった懸濁液をそのメッシュで濾過し、別の 500 ~ 1000ml ビーカーで濾液を受ける。ナイロンメッシュ上の残渣を蒸留水で洗う。メッシュ上の残渣を廃棄する。

(洗い込み) 試料を入れたビーカーに残っている濾液はナイロンメッシュでろ過し、ビーカーの器壁の付着物は蒸留水で流しながら、メッシュで濾過し、これらの濾液を合わせる。さらにナイロンメッシュ上の有機物も蒸留水でよく洗い、濾液に合わせる。

(デカンテーション) 合わせた濾液を 15 分間静置し、上澄みをデカンテーション

で捨て、沈殿物を残す。デカンテーションするときにはビーカーをゆっくりと傾け、序々に水を捨てる。沈殿物が舞い上がるので、途中で止めずに上清を捨てる。(遠沈管への洗い込み) デカンテーションの終わったビーカー中の残留物を 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蒸留水で洗い流す。一度で集めきれないときは、遠心分離時、上澄みを捨て、残りの沈殿物を集める。

(遠心分離) これを遠心分離後、上澄みを捨て、15 ml の遠沈管に沈殿物を移す。これを遠心分離後、上澄みを可能な限り捨てる。

(比重液による遠心分離) ポリタングステン酸ナトリウム溶液 5 ml を加え、懸濁させた後、遠心し、鉍物質を沈殿させ、上清を捨てる。

以下、(2) 鉍物の精製 の操作を行う。

(1-2) 鉍物の分離 (粉末検体の場合 1)  
(鉍物質の抽出) 試料は約 2 ~ 5 g (SLW) とする。50 ml の遠沈管に採り、ポリタングステン酸ナトリウム溶液 15 ~ 30 ml 加えて軽く攪拌し、溶液中に試料を均一に懸濁させる。

(超音波処理) 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) 遠心分離した後、遠沈管の底からスポイトで一気にポリタングステン酸ナトリウム溶液約 5ml とともに沈殿物を吸い取り、15ml の遠沈管に移す。

これを合計2回繰り返す。

(残渣からの鉍物質抽出) 最初に試料を入れた遠沈管(50 mL)の残渣にポリタングステン酸ナトリウム溶液5~10 mL加えて、浮上物を均一に懸濁させる。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。

前の操作と同様に、遠心分離の終わった遠沈管の底からスポイトで一気に沈殿物を吸い取り、先の15 mLの遠沈管の懸濁液にあわせる。(抽出液の再遠心) すべての懸濁液を15 mLの遠沈管合わせた後、バランスをとり、沈殿物を遠心分離をする。

(上清の除去) 遠心後、上層をスポイトで取り除く。

上清を取り除いた遠沈管の器壁を洗うように水2 mLを静かに加え、界面に浮いた有機物をスポイトで除去した後、上層の水を吸い取ってのぞく。ついで、ポリタングステン酸ナトリウム溶液もスポイトで取り除き、沈殿物を残す。遠沈管の器壁についての有機物は、小さく切って湿らせ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。

総量およそ2 mgの沈殿物が抽出できるまで、(1-2)の操作を繰り返すこと。この場合同じ袋から、サンプリングすること。また、10g以上の試料が必要と予想されるときは(1-1)の実行を考慮する。

以下、(2) 鉍物の精製の操作を行う。

## (2) 鉍物の精製

(遠心分離) 再度、ポリタングステン酸ナトリウム溶液2~5 mLをこの沈殿に加え、攪拌し、懸濁後、これを遠心し、沈殿を分離する。

(上清の除去) 上層の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除去し、鉍物を残す。器壁についての有機物は湿らせたティッシュで拭き取る。

(水洗) 次に、蒸留水数mLを加え、攪拌した後、さらに蒸留水を加え10 mLにする。これを遠心分離した後、デカンテーションまたはピペットで水を捨て、鉍物を残す。

再度、蒸留水を加え、この水洗操作を1回繰り返し、合計2回水洗浄する。

(3) 炭酸塩の除去と蒸留水による洗浄(塩酸処理) 1 mol/L塩酸2 mLを加え鉍物を攪拌する。15~20分間放置する。

(中和) 1 mol/Lアンモニア水約2 mLを加え、攪拌し、蒸留水を加えて、液量を10 mLにする。

(水洗) 遠心分離後、上清を捨て、鉍物を残す。数mLの蒸留水に鉍物を懸濁し、さらに蒸留水を加え10 mLにする。遠心分離後、上層を捨て、鉍物を残す。再度、蒸留水を加え、この操作をさらに1回繰り返し、合計2回水洗浄する。

(中和の確認) pH試験紙で中性であることを確認する。

## (4) 水分除去

(アセトン洗浄) アセトン3~5 mLに懸濁し、遠心分離後、鉍物を残し、アセ