

Fig. 1 TL glow curves of black pepper.

a) Glow1 and Glow2 curves of un-irradiated black pepper.

b) Glow1 and Glow2 curves of 5.4 kGy-irradiated black pepper.

Table 1 TL glow ratios and shapes of glow curves for the blend of the 5.4 kGy-irradiated and un-irradiated black pepper

Irradiated ratio	0 %	2 %	5 %	10 %	20 %	100 %
	Ratio	Ratio	Ratio	Ratio	Ratio	Ratio
Sample No.	Shape	Shape	Shape	Shape	Shape	Shape
1	0.041 -	0.053 S	0.11 P	0.12 S	0.20 P	2.0 P
2	0.064 -	0.10 -	0.030 -	0.019 P	0.39 P	2.0 P
3	0.041 -	0.070 S	0.052 S	0.13 -	0.17 P	2.1 P
4	0.042 -	0.070 -	0.060 P	0.060 -	0.16 P	2.0 P
5	0.021 -	0.070 S	0.069 -	0.15 P	0.16 P	2.5 P

Irradiated ratio: The ratio of irradiated black pepper on samples

Ratio: TL glow ratios.

Shape: Shapes of glow1 curves were classified as "S", "P" and "-".

S: Shoulder at 190-220°C

P: Maximum peak at 170-190°C

-: Neither shoulder nor maximum peak appeared.

3. 結果及び考察

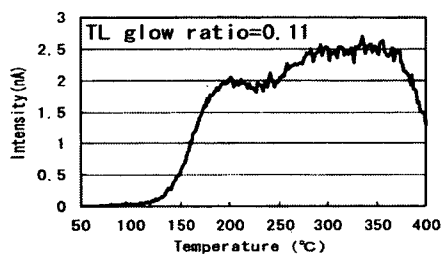
3-1 黒コショウの混合試料

黒コショウの非照射試料、及び5.4 kGy照射試料から分離した鉱物の発光曲線を Fig. 1 に示す。照射試料を2～20%の割合で非照射試料に混合し調製した黒コショウ混合試料の TL 測定結果を Table 1 に示す。

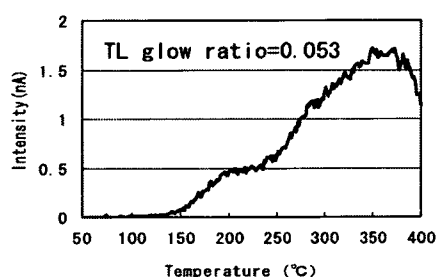
発光曲線 (Glow 1) の形により、次の3種類に分類した。Fig. 1 に示したように、170～190°C に発光極大が認められたものを「P」と

した。また、190～220°C にかけて肩が認められたものを「S」、150～250°C の範囲に肩も発光極大も認められなかったものを「-」とした。Fig. 2 にこれら3種類の発光曲線の例を示す。

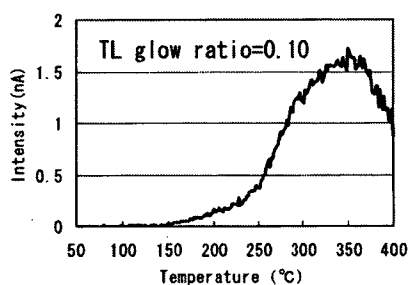
100 g の黒コショウから分離できた鉱物の量は1.1～31.3 mg (平均5.1 mg, 40回測定) とバラツキが大きく、5試料中すべてが「照射」と判定されたものは照射試料を20%混合した場合のみであった。照射試料の割合が5～10%の場合には、「照射」、「一部照射」と判定され



An example of "P" (the blend included 5% of irradiated black pepper)



An example of "S" (the blend included 2% of irradiated black pepper)



An example of "-" (the blend included 2% of irradiated black pepper)

Fig.2 TL glow1 curves of the blend of 5.4 kGy-irradiated and un-irradiated black pepper. Shapes of glow1 curves were classified as "S", "P" and "-".

たものが各1試料ずつ, 他の3試料はいずれにも判定されなかった。また, 混合割合が2%の試料では, 照射されたことを明確に確認するこ

とはできなかった。

3.2 パプリカの混合試料

パプリカの非照射試料と, 5.0 kGy 照射した試料から分離した鉍物の発光曲線を Fig.3 に示す。照射したパプリカの発光曲線には 170°C と 220°C 付近に発光極大が認められた。また, 混合試料の発光曲線 (Glow 1) を Fig.4 に示す。これらのグラフに TL 発光比が最大の例と最小の例を示した。

パプリカでは, 照射試料の割合が高くなるにつれ, TL 発光比は大きくなった。照射試料を 0.2% 混合した場合, TL 発光比 (5 回の平均) は 0.017, 0.5% では 0.037, 2.0% では 0.08, 5.0% では 0.23 であった。照射試料を 0.2~5.0% 混合したいずれの場合も, 5 試料中すべてにおいて 170~220°C 付近に発光極大が認められた。4g の粉末パプリカから分離できた鉍物量は 6.2~9.2 mg (平均 8.3 mg, 20 回) とバラツキが少なく, 鉍物の分布が均一なため黒コショウより照射試料の割合が少なくても, 発光極大が確認できたと考えられる。照射したものを 5% 混合した場合は全ての試料で「照射」と判定され, 0.2~2.0% では「一部照射」と判定された。

K. Malec-Czechowaska ら¹⁰⁾が 4 種類の非照射 flavour blends に 7 kGy 照射したパプリカを混合した報告では, 0.05% でも照射に特有の発光極大が認められ(「一部照射」), TL 発光比が 0.1 以上になる割合は 1.0% 以上とされている。非照射 flavour blends 中の鉍物量が不明であるが, 混合割合に対する判定結果は本研究と類似の関係を示していた。

3.3 発光量の積算温度範囲の TL 発光比への影響

Glow 1 及び Glow 2 について, TLD100 のピーク V (X°C) と VI (X+IS°C) の温度を基に規定した温度範囲 (167~232°C) で積算した TL 発光比と, 70~400°C の範囲で積算した

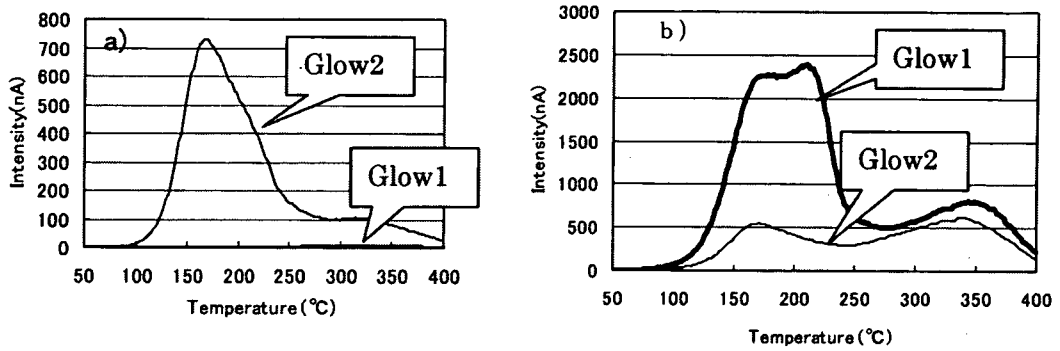
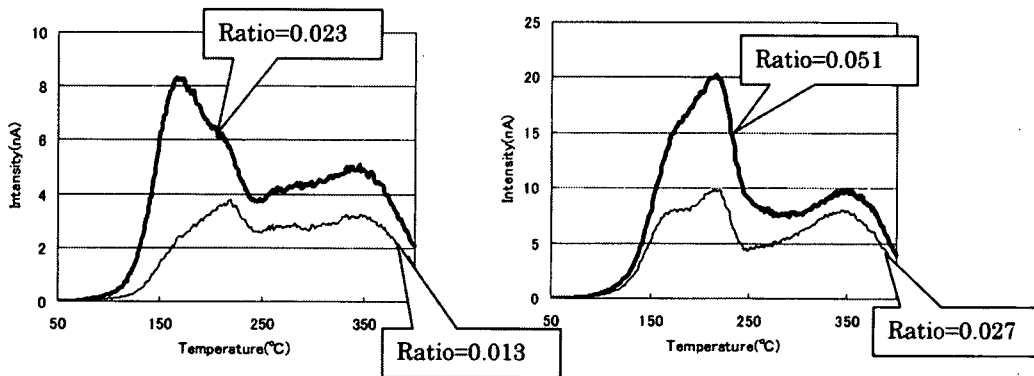


Fig. 3 TL glow1 curves of paprika.

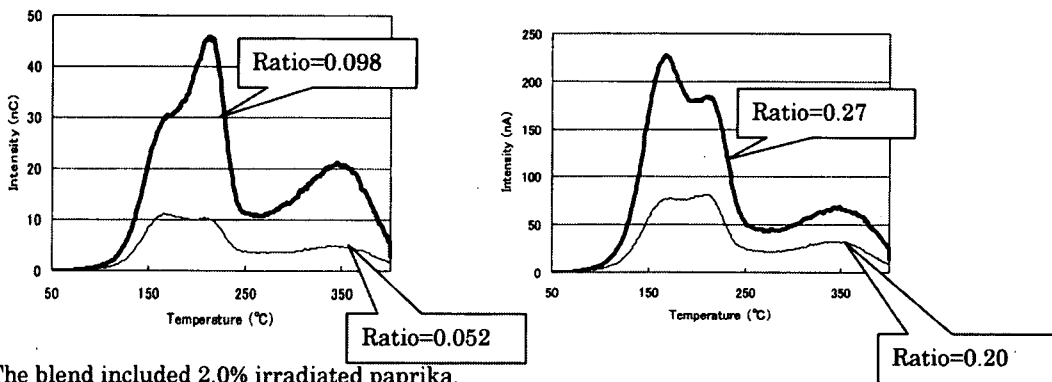
a) Glow1 and Glow2 curves of un-irradiated paprika. TL glow ratio was 0.008.

b) Glow1 and Glow2 curves of 5.0 kGy-irradiated paprika. TL glow ratio was 2.6.



The blend included 0.2% irradiated paprika.

The blend included 0.5% irradiated paprika.



The blend included 2.0% irradiated paprika.

The blend included 5.0% irradiated paprika.

Fig. 4 TL glow1 curves of the blend of 5.0 kGy-irradiated paprika.

Figures of the example of highest TL glow ratio and lowest TL glow ratio.

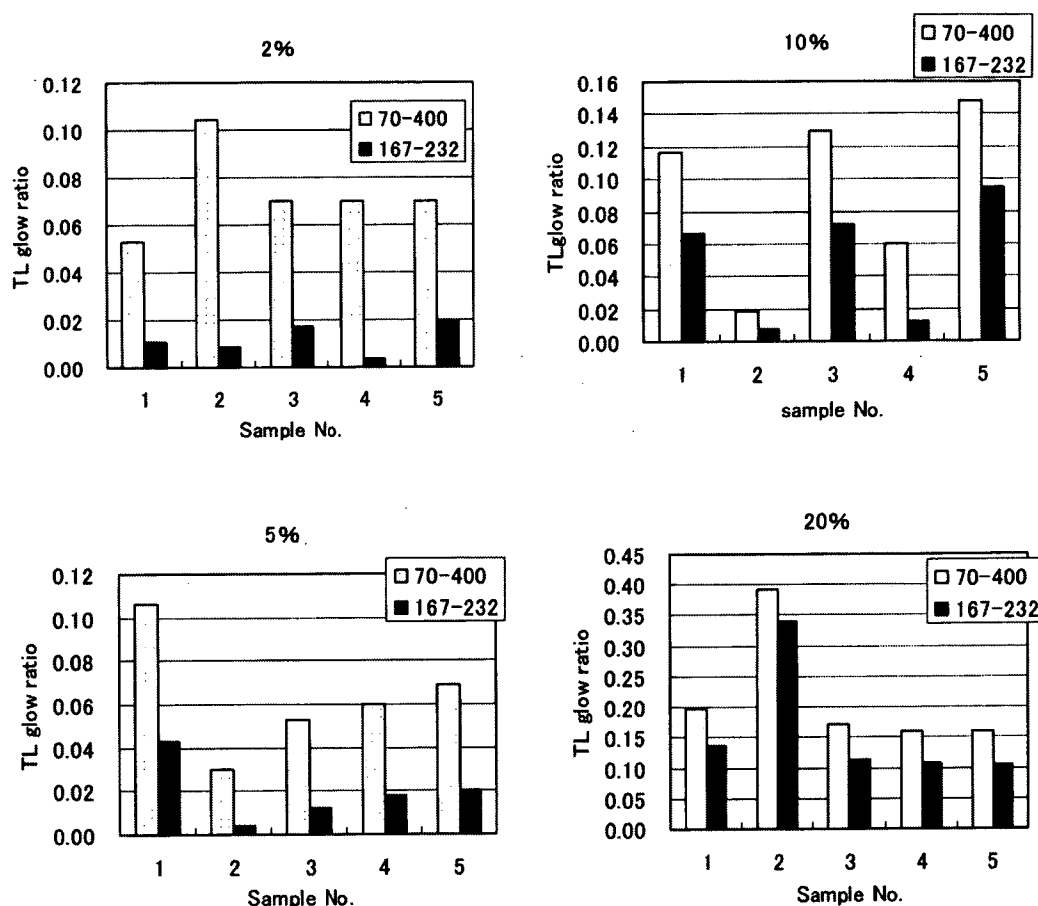


Fig. 5 Effect of temperature range on the TL glow ratios in black pepper.

Quantity of light emission were integrated in the temperature range of 70 - 400 °C and 167 - 232 °C. Value above the top of the figure shows proportion of irradiated black pepper in the blended samples by weight.

TL 発光比を比較したグラフを, Fig. 5 及び Fig. 6 に示す。167 ~ 232 °C の温度範囲で積算した混合試料の結果では, TL 発光比がすべて低下した。

黒コショウでは, 照射したものを 5 又は 10% 混合した試料では, 「照射」と判定されたものが TL 発光比 0.1 未満になり, 「一部照射」と判定された。照射したものを 20% 混合した試料では, TL 発光比が低下したが判定は変わらず「照射」であった。照射試料を 5.0% 混合したパプリカでは, TL 発光比は低下したものの 0.1 以上から 0.1 未満になった例はなく, 判定は変わらなかった。

本研究では 70 ~ 400 °C の範囲で積算するため, 熱影響を差し引いた。しかし, 熱による影響 (TL 発光) は 350 °C 付近から徐々に大きくなり, 300 °C 以下の範囲で積算する場合は熱影響を考慮する必要がない。このため, Glow 1'B や Glow 2'B の測定をする必要がなくなり, Glow 1', Glow 2' の 1 回測定で良いため測定時間の短縮が図れる。

3.4 紫外線照射の影響

400 °C で 2 時間アニールした後, 紫外線を 60 分間照射した黄砂の発光曲線を Fig. 7 に示す。自然放射線による発光がないので, 紫外線

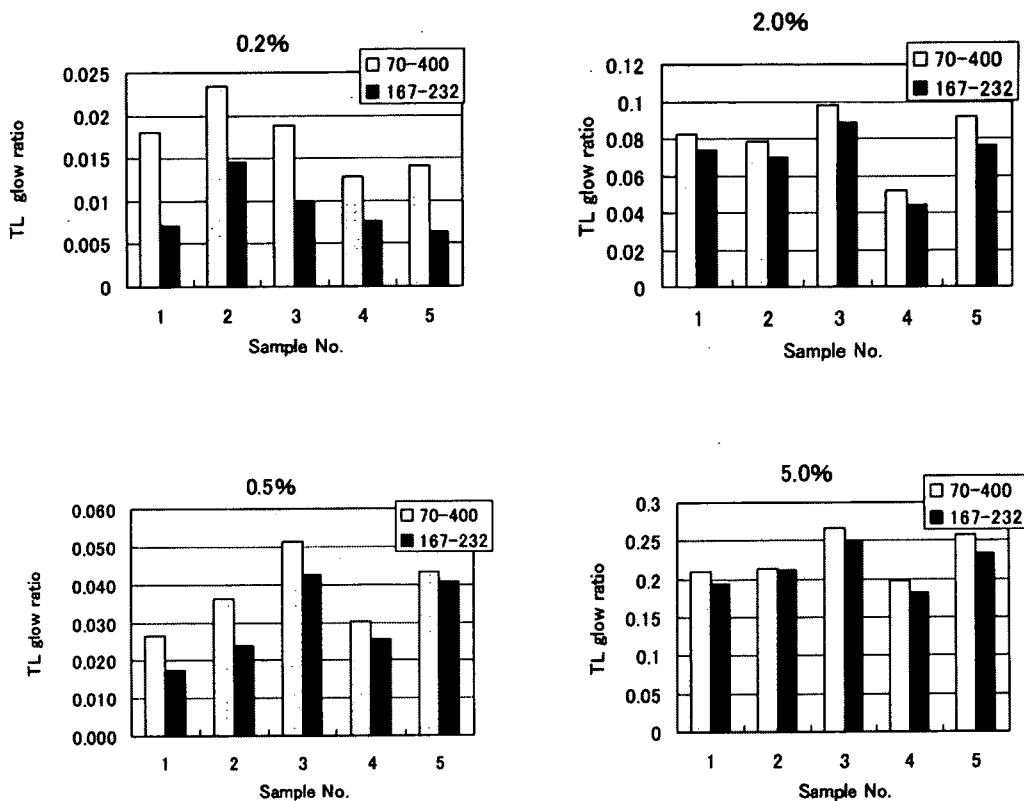


Fig. 6 Effect of temperature range on the TL glow ratios in paprika. Quantity of light emission were integrated in the temperature range of 70 - 400 °C and 167 - 232 °C. Value above the top of the figure shows proportion of irradiated paprika in the blended samples by weight.

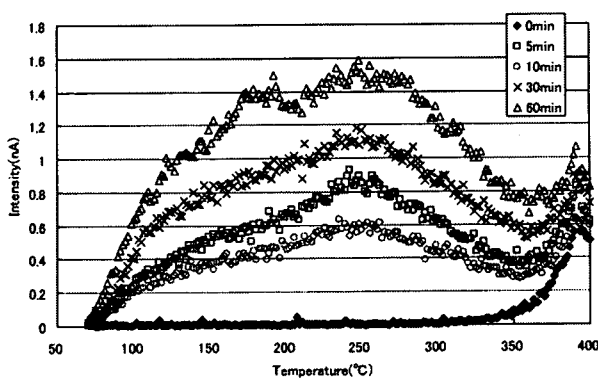


Fig. 7 The effects of differences in irradiation time of ultraviolet ray to TL glow curves of yellow sand. Numerical number in the column shows the minutes of ultraviolet rays irradiation. Yellow sand was annealed at 400 °C before UV irradiation.

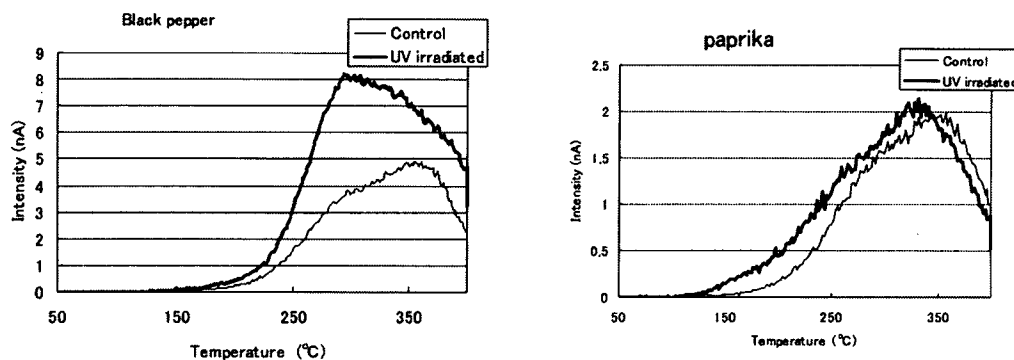


Fig. 8 TL glow curves of ultraviolet rays irradiated black pepper (left) and paprika (right). Samples were irradiated with ultraviolet rays for 60 minutes, and after 4 days TL glow curves were measured.

Table 2 Effect of ultraviolet ray irradiation on the TL glow ratio in black pepper and paprika

	Black pepper		Paprika	
	Control	UV irradiated	Control	UV irradiated
Average	0.061	0.038	0.0065	0.0069
Standard deviation	0.008	0.008	0.0015	0.0007

Control: Un-irradiated neither by γ ray nor ultraviolet rays

の影響がはっきりと現れている。発光極大は250℃付近にあり、放射線照射による発光極大に類似していた。

そこで、放射線非照射の黒コショウとパプリカに紫外線を照射した。黒コショウとパプリカに紫外線を照射し、4日後にTL測定した結果をFig. 8及びTable 2に示した。TL発光比について、紫外線を照射したものと非照射試料(control)の平均値の差の検定(t-検定)を行ったところ、パプリカでは危険率5%で有意差がなかったが、黒コショウでは有意差があった。黒コショウでは平均値に差があったが、紫外線を照射することによって、TL発光比が大きくなることはなく、0.1以下であった。

Fig. 8に示すように、紫外線を照射すると、未照射試料により低温側に発光極大が出現したが、250℃より高温側であり、放射線を照射したときのように250℃以下ではなかった。紫

外線照射により、放射線照射と類似の発光が得られる懸念があったが、以上の結果から黒コショウとパプリカでは、紫外線照射が放射線照射による「照射」又は「一部照射」と誤判定されることはないと考えられる。

しかし、Göksu-Ögelmanら¹³⁾はハーブの一種であるセージに付着している鉱物について紫外線と γ 線を照射後のTL発光曲線の特徴を検討し、 γ 線で照射した場合(照射条件は不明)は225~250℃に発光極大があり、紫外線を照射した場合は175℃に発光極大があると報告している。食品の種類や生産地が判定に及ぼす影響を評価することも重要と考えられる。

4. 結 論

本研究では、一つの混合割合に対して5試料を測定した。

5.4 kGy照射した黒コショウを2%混合し

た場合では、すべての試料において照射による発光極大が認められなかった。照射試料を5又は10%混合した場合は、「照射」、「一部照射」、「どちらでもない」と判定された。これは黒コショウに付着している鉱物量に大きなバラツキがあるためと推定された。照射したものを20%混合した場合はすべてで「照射」と判定された。

粉末パブリカでは、5.0 kGy 照射した試料を5.0%混合した場合はすべて「照射」と判定された。照射試料を0.2%以上混合したものは、明瞭な発光極大が認められ、すべての試料で照射試料の混入を確認できた。粉末パブリカにおいては、同一の混合割合で判定結果に差がなく、試料に含まれる鉱物質の均一性が関与していると推定された。

照射試料を混合した香辛料では、種類によって照射されたことを確認できる割合に違いが認められた。

TL発光量の積算範囲を70~400℃とTLD100に基づく150~250℃に近い範囲(本研究では167~232℃)にすると、すべての混合試料でTL発光比は低くなったが、「照射」と判定されるものはほぼ同じ判定であった。

殺菌に紫外線を利用することも予想されるが、今回試料とした黒コショウとパブリカに関して、紫外線照射は放射線を照射したと判定されることはなかった。

本研究の一部は平成17年度厚生労働科学研究費によるものである。

文 献

- 1) 田邊寛子, 市販香辛料の熱ルミネセンス特性, 東京都立産業技術研究所研究報告, 4, 149-150 (2001)
- 2) 澁谷智見, 香取佳子, 淵野清彦, 柳 哲郎, 放射線照射食品の探知調査, 食品衛生研究, 55, 57-62 (2005)
- 3) Sanderson, D. C. W., Carmichael, L. A. and Fisk, S., Photostimulated luminescence detection of irradiated herbs, spices, and seasonings: international interlaboratory trail, *J. AOAC Int.*, 86, 990-997 (2003)
- 4) 後藤典子, 山崎正夫, 照射粉末食品の TL 測定における試料調製, 食品照射, 39, 8-12 (2004)
- 5) 中馬 誠, 斉藤希巳江, 等々力節子, TL 法による照射馬鈴薯の検知, 日本食品科学工学会, 51 (6), 298-303 (2004)
- 6) 平成17年度厚生労働科学研究費補助金(食の安心・安全確保事業) 研究報告
- 7) Schreiber, G. A., Wagner, U., Leffke, A., Helle, N., Ammon, J., Buchholtz, H.-V., Delincée, H., Estendorfer, S., Fuchs, K., von Grabowski, H.-U., Kruspe, W., Mainczyk, K., Münz, H., Nootenboom, H., Schleich, C., Vreden, N., Wiezorek, C. and Bögl, K. W., Thermoluminescence analysis to detect irradiated spices, herb and spice-and-herb mixtures—an intercomparison study. Bericht des Instituts für Sozialmedizin und Epidemiologie des Bundesgesundheitsamtes, 1993, SozEp-Heft 2/1993, German Federal Health Office (Bundesgesundheitsamtes, Berlin)
- 8) Schreiber, G. A., Wagner, U., Helle, N., Ammon, J., Buchholtz, H.-V., Delincée, H., Estendorfer, S., von Grabowski, H.-U., Kruspe, W., Mainczyk, K., Münz, H., Schleich, C., Vreden, N., Wiezorek, C. and Bögl, K. W., Thermoluminescence analysis to detect irradiated fruit and vegetables—an intercomparison study. Bericht des Instituts für Sozialmedizin und Epidemiologie des Bundesgesundheitsamtes, SozEp-Heft 3/1993, German Federal Health Office (Bundesgesundheitsamtes, Berlin)
- 9) Schreiber, G. A., Wagner, U., Ammon, J., Brunner, J., Butz, B., Carmichael, L., Delincée, H., Eisen, S., Fienitz, B., Frohmuth, G., Hammerton, K., Helle, N., Jahr, D., Kispéter, J., Klein, H., Krütspe, W., Kuhn, T., Mainczyk, K., Meyer, H., Münz, H., Nootenboom, H., Pfordt, J., Sanderson, D. C. W., Schleich, C., Vreden, N., Zachäus, U., Zoost, C. and Bögl, K. W., An Interlaboratory Study on Identification of Irradiated Potatoes and on the Estimation of Applied Doses by Thermoluminescence Analysis. Report of the Federal Institute

- for Health Protection of Consumers and Veterinary Medicine, 1997 BgVV-Hefte 13/1997 (Bundesinstitut für gesundheitlichen Verbraucherschutz und Veterinärmedizin, Berlin)
- 10) Malec-Czechowska, K. and Stachowicz, W., Detection of irradiated components in flavour blends composed of non-irradiated spices, herbs and vegetable seasonings by thermoluminescence method, *Nukleonika*, 48, 127-132 (2003)
- 11) Göksu-Ögelman, H. Y. and Regulla, D.F., Detection of irradiated food, *Nature*, 340, 23 (1989)

Abstract

Detection of Irradiated Spice in Blend of Irradiated and Un-Irradiated Spices Using Thermoluminescence Method

Michiko GOTO, Masao YAMAZAKI*, Masayuki SEKIGUCHI*,
Setsuko TODORIKI** and Makoto MIYAHARA***

Tokyo Metropolitan Leather Technology Center
3-3-14 Higashisumida, Sumida-ku, Tokyo, 131-0042, Japan

*Tokyo Metropolitan Industrial Technology Research Institute
2-11-1 Fukazawa, Setagaya-ku, Tokyo, 158-0081, Japan

**National Food Research Institute

2-1-2 Kannondai, Tsukuba-shi, Ibaraki Pref. 305-8642, Japan

***National Institute of Health Sciences

1-18-1 Kamiyoga, Setagaya-ku, Tokyo, 158-8501, Japan

Five blended spice sample were prepared by mixing irradiated and un-irradiated black pepper and paprika at different ratios. Blended black pepper containing 2% (w/w) of 5.4 kGy-irradiated black pepper showed no maximum at glow1. Irradiated black pepper samples, mixed to 5 or 10% (w/w), were identified as "irradiated" or "partially irradiated" or "un-irradiated". All samples with un-irradiated pepper up to 20% (w/w) were identified as "irradiated". In the case 5.0 kGy-irradiated paprika were mixed with un-irradiated paprika up to 5% (w/w), all samples were identified as "irradiated". The glow1 curves of samples, including irradiated paprika at 0.2% (w/w) or higher, exhibited a maximum between 150 and 250 °C.

The results suggest the existence of different critical mixing ratio for the detection of irradiation among each spices. Temperature range for integration of the TL glow intensity were compared between 70 – 400 °C and approximate 150 – 250 °C, and revealed that the latter temperature range was determined based on the measurement of TLD100. Although TL glow ratio in 150 – 250 °C was lower than that of 70 – 400 °C range, identification of irradiation was not affected. Treatment of un-irradiated black pepper and paprika with ultra-violet rays had no effect on the detection of irradiation.

(Received September 20, 2006)

■ 資 料 ■

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

武川 哲也^{1*}, 宮原 誠², 米谷 民夫²

1. 緒 言

食品に放射線を照射し、食品に存在する菌を殺滅する技術は、現在、海外において着実に実用化が進み、2003年4月現在、53の国及び地域で230品目が許可され、32の国及び地域で40品目が実用化されている¹⁾。一方、我国においては、じゃがいもの芽止め以外の照射は食品衛生法で禁止されており、海外で照射された食品を国内で販売することも禁止されている。このように、海外で広く使われている技術が国内で禁止されている状況で、照射輸入食品の流入が懸念される。

他方、将来食品照射の流通が許可され、消費者の選択権の保護や、二重照射を防ぐために照射食品の表示が義務付けられた時、その表示ラベル等が毀損または判別不能になった場合などに、実験的に照射の有無を調べる方法が求められる可能性があり、このためにも照射食品の検知法の確立は必要であると考えられている²⁾。

現在ヨーロッパ等で用いられている一般的な方法はESR法、TL法、コメットアッセイ法などであるが、これらの方法は分析を実行する上で高価な機器を必要とするので、特殊な検査機関においてのみ実行可能である。そこで、一般的な設備や技術を持っている機関であれば実行可能であり、かつ迅速に結果が得られる検知技術の開発が急務である。そこで、比較的簡便に照射食品のスクリーニングが可能と考えられており、各種検査機関でも新たな設備投資をすることなく実行可能な方法として微生物学的方法を本研究で試みることとし

た。

一般に、食品に付着している細菌類は、香辛料の種類、部位、産地、前処理法などにより異なっていると考えられる。従って、食品衛生の分野では、あらかじめ決められた培地で発育する一般生菌数、大腸菌群数などを調べており、その中の菌の種類は検査段階では重要ではない。

このことは放射線照射検知においても同じで、数種の指標菌を用いて検知するよりも、総菌数の変化を検出して判断する方が適切かつ簡便であると考えられる。

香辛料は抗菌成分を含有することがあり、種類や部位、加工方法（ホールか粉末か）が、菌数に影響を与える可能性は否定できない。このため、本研究では抗菌成分の影響を可能な限り少なくするためにホールの香辛料を対象として調べた。一方、放射線照射は香辛料の抗菌活性にほとんど影響を与えないと言われており³⁾、非照射香辛料と照射香辛料の菌数を比較する上で抗菌成分の作用を考慮する必要はないと考えられる。

また、食品中には放射線により損傷を受けやすい付着菌と、そうでない菌が共存している。本研究では、それぞれの生菌数と照射された放射線量との関係を調べ、それぞれの菌群のD値の変化から、照射の有無の判定の可能性を調べた。なお、本研究の初期の段階では放射線感受性菌として一般生菌群を、耐放射線菌として耐熱性芽胞菌群をとりあげた。

¹原子燃料工業(株) NFI 照射サービス室 〒590-0481 大阪府泉南郡熊取町朝代西1-950 ☎072-452-1948

²国立医薬品食品衛生研究所 〒158-8501 東京都世田谷区上用賀1-18-1 ☎03-3700-1141

0385-5201/2007/0410-0251 \$2.00/0© 2007 Soc. Antibact. Antifung. Agents, Jpn.

2. 実験方法

1) 実験材料

実験に使用した香辛料は次のとおりである。なお、下記香辛料は輸入時の検疫段階での検査を想定し、収穫から2ヶ月以内と特に指定して輸入業者より直接購入したものである。

- ・黒胡椒 マレーシア産
- ・ローレル トルコ産
- ・パプリカ スペイン産
- ・オレガノ トルコ産
- ・オールスパイス ジャマイカ産
- ・オールスパイス メキシコ産
- ・シナモン スリランカ産
- ・カシア ベトナム産
- ・コリアンダー モロッコ産
- ・パセリ アメリカ産

2) 微生物試験用試料調整

非照射と照射済試料からそれぞれ25gを秤量してストマッカー用の滅菌ポリ袋に移し、これに0.1%ペプトン加生理食塩水(回収液)225mlを加えて1分間ストマッキングを行い、この回収液を試料原液とした。この時の香辛料はホールを用い、これが振盪により破碎されないよう注意した。

3) 生菌数測定

試料原液はその1mlを0.1%ペプトン加生理食塩水(希釈液)9mlに加えて10倍希釈し、さらに必要に応じて同様の希釈操作を繰り返して10倍段階希釈系列を作成し、試料液系列を調整した。

これらの希釈試料液の系列から、一平板培地に30から300個までの集落が得られる試料液を選択し、生菌数等の測定を行った。

生菌数の測定には、標準寒天培地を用い、各希釈系列毎に2枚の滅菌ペトリ皿を使用した。希釈液は0.5mlずつペトリ皿に分注し、コンラージ棒で培地表面に均一に塗抹した。

その後32~35℃で48±3時間培養し集落数を計測した。

4) 芽胞菌数測定

生菌数測定と同時に、同一の試料原液を用いて芽胞菌数測定を行った。芽胞菌数の測定には、試料原液を中試験管に20ml分注し、70℃20分間加熱した後急冷し、この試料液中には芽胞のみが存在するとみなし、この加熱・急冷した試料液を芽胞菌試料液として生菌数測定と同様の方法で測定した。

5) 電子線照射および線量分布測定

実験材料の項に示した各香辛料試料を100gずつ採取し、ポリ袋に入れて、3kGy、7kGyおよび10kGyの照射線量となるように電子線を照射した。電子線照射用試料の作製にあたっては、線量ができるだけ均一となるように前記試料入りポリ袋を金属製のトレーに1袋ずつ並べて照射した。

電子線照射は、原子燃料工業(株)NFI照射サービス室のロードロン型10MeV電子加速器⁹⁾から発生する10MeV電子線を用い、常温常圧の空气中で、袋表面の目標線量が3kGy、7kGyおよび10kGyとなるようにコンベヤスピードを調整した。

また、線量測定には、コダック社製アラニンフィルム線量計を用い、事実上の国際標準である米国国立標準技術研究所(NIST)の線量計測標準に遡及可能とした。

3. 実験結果

1) 生菌数と芽胞菌数測定結果

Fig. 1に、今回調べた10種類の香辛料に付着していた一般生菌群数と芽胞菌群数の測定値と照射線量の関係を示す。

この結果、当初の予想に反し、ほとんどの試料において、一般生菌群に比較して、芽胞菌群の方が放射線に弱く、低線量での菌数の減少が大きかった。

非照射試料の菌数は試料ごとに異なっているが、菌数が $10^6 \sim 10^8$ cfu/gの範囲にある黒胡椒、パプリカ、オールスパイス ジャマイカ産とメキシコ産、コリアンダー並びにパセリが含まれる高菌数群と、菌数が $10^3 \sim 10^4$ cfu/gの範囲にあるロー

レル、オレガノ、シナモン、カシアが属する低菌数群に分けられた。前者の高菌数群のうち、黒胡椒、パプリカ並びにコリアンダーのグループは10 kGy の照射においても、芽胞群・一般生菌群共に $10^1 \sim 10^3$ cfu/g 生残し、各試料についてそれぞれの菌数の差は10倍程度と僅かであった。(高菌数・高芽胞群)

一方、オールスパイスのジャマイカ産とメキシコ産、並びにパセリは、10kGy 照射において、芽胞群と一般生菌群の差が $10^2 \sim 10^3$ 倍と、高菌数・高芽胞群に比較してその開きは大きかった。(高菌数・低芽胞群)

非照射試料の菌数が少ない群では芽胞群・一般生菌群の差は小さく、7 kGy で10倍程度の差であった。(低菌数群)

これらのグラフから分かるように、生残曲線は3つの型に分類可能で、Type 1 は下に凸で線量の増加と共に菌数の減少率が小さくなるもの、Type 2 は上に凸で3 kGy まで菌数の変わらないもの、Type 3 は線量の増加と共にほぼ一定の割合で菌数が減少するものである。3 kGy を境にType 1, Type 2 は二相性を示した。一般的に、熱処理を行わない香辛料に付着する微生物の中には、放射線感受性の高い栄養型細胞も多く含まれるため、低線量域における菌数減少は大きく、D 値も小さい値を示す。今回得られたこれらの結果から、全体的に芽胞菌数よりも一般生菌数による生残曲線の方が、線量の増加に伴う D 値の変化がより明瞭であった。

2) 生菌数による D 値の変化

Fig. 1 に示した一般生菌群の生残曲線を、それぞれ上記のような形の違いにより3つにグループ分けして Fig. 2 ~ Fig. 4 に示した。図の曲線の傾きから、Fig. 2 のグループは処理線量 3 kGy を境に D 値が大きくなり、7 kGy 以上でその増加は明らかである。また Fig. 3 は照射線量 3 kGy までは殆ど菌数に変化が見られないが、3 kGy を境にして急減している(カシアに関しては、7 kGy で生残菌が検出されなくなったため、3 kGy 以上での D 値を算出できなかった)。

各図のそれぞれの線量範囲での D 値を Table

1 に示す。

なお、Fig. 4 のグループについては、照射線量による D 値の大きな変化を見ることはできなかった。

4. 考 察

1) 生菌数と芽胞菌数の比較

Fig. 1 の一般生菌数と芽胞菌数を比較したところ、高菌数・高芽胞群に属する香辛料にも抗菌成分を含むものがあるが、それらの成分の作用は弱く、多くの菌に対してその数を減少させる効果はほとんどなく、多数の付着菌が存在したものと考えられる。本群の香辛料の非照射試料において、一般生菌数と芽胞菌数との差がないことから、一般生菌数に数えられている菌の大部分は芽胞菌であると推定される。ほとんど芽胞だけの菌相になった原因は、殺菌のための加熱処理が行われた可能性が最も高いが、天日干し、放射線処理の可能性も否定は出来ない。

高菌数・低芽胞群の非照射試料の菌数は、一般生菌群と芽胞菌群とで $\sim 10^2$ 倍程度の差があり、一般生菌数の方が多かった。放射線の照射後、生残する一般生菌数は芽胞菌数に対し $10^2 \sim 10^3$ 倍程度の差になっており、一般生菌群に放射線耐性の菌が多数含まれていたことを示唆する。一方、芽胞菌ははじめの菌数が少ないこともあって、10kGy では生残しない。このような結果から、このグループの試料は本研究で照射する前に $10^2 \sim 10^3$ cfu/g 程度の放射線耐性の一般生菌群を含有していたことになる。高菌数・高芽胞群の試料でもほぼ同じ放射線耐性菌を数えたが、その多くは芽胞菌であって、一般生菌群ではない。従って、高菌数・低芽胞群は特に放射線耐性一般生菌群の割合が高いことから、その原因として放射線照射等の処理が行われていた可能性も考えられる。

低菌数群に属する香辛料はシナモン、オレガノ、カシアならびにローレルであるが、いずれも抗菌・抗かび成分を含有するかその作用があるとされており、これらの作用の結果、いずれの非照射試料の菌数も少なかったものと考えられる。また、このグループの非照射試料では一般生菌群と芽胞菌

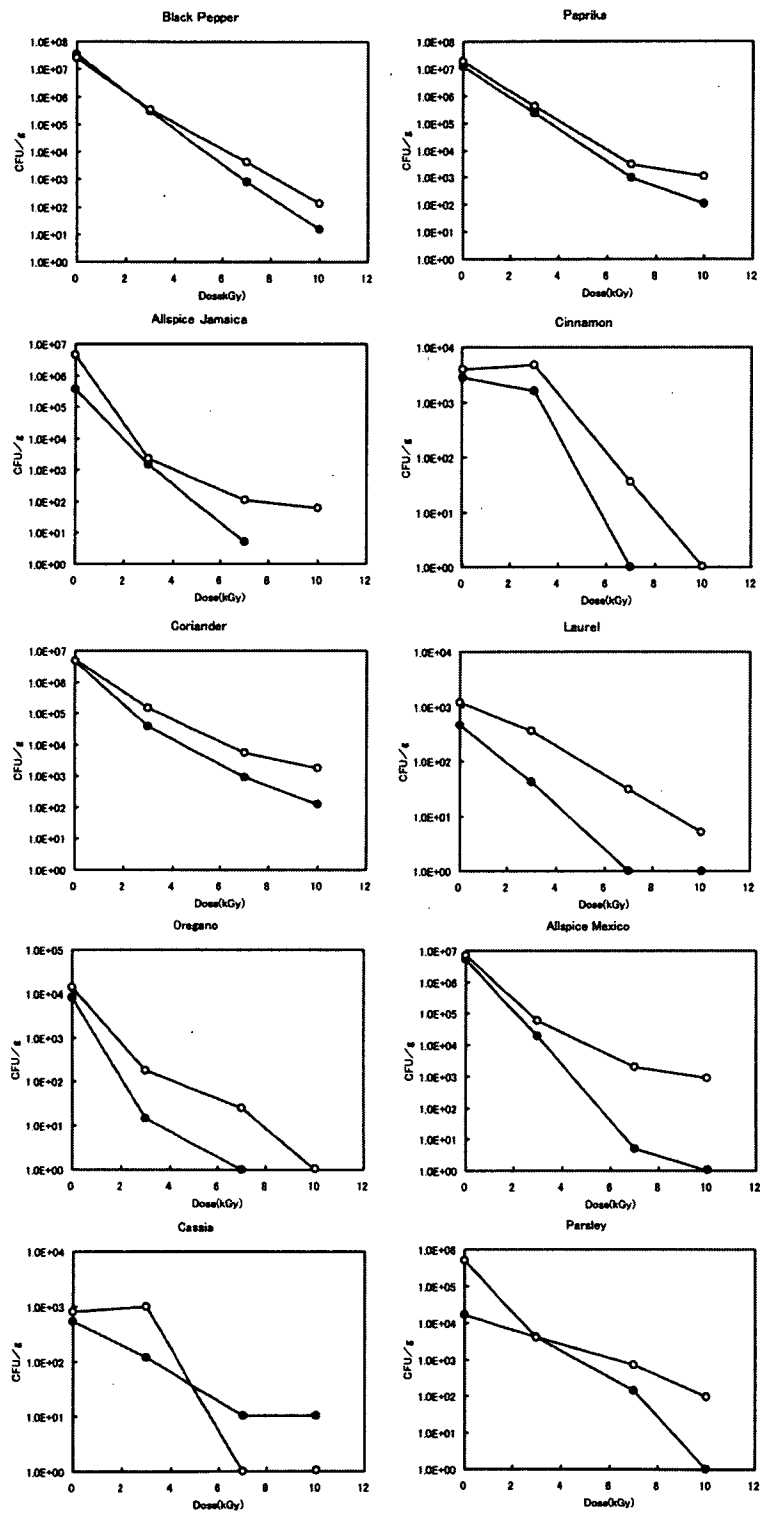


Fig.1. Electron Beam sensitivity of on spices (○); viable bacteria, (●); spore forming bacteria

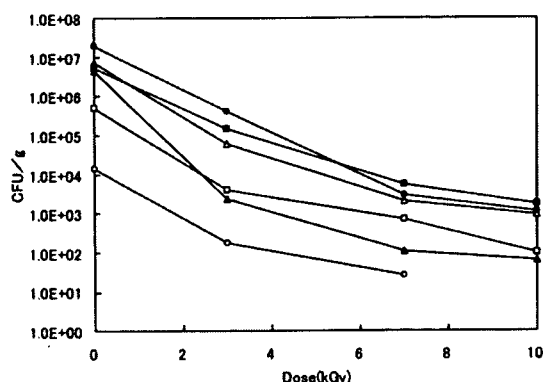


Fig.2. Electron Beam sensitivity of viable bacteria on spices
 (●); Paprika, (▲); Allspice Jamaica, (■); Coriander, (○); Oregano, (△); Allspice Mexico, (□); Parsley

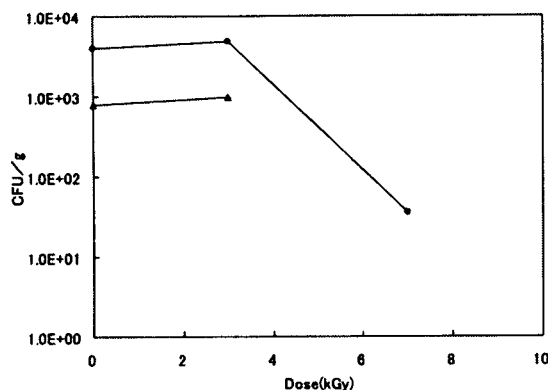


Fig.3. Electron Beam sensitivity of viable bacteria on spices
 (●); Cinnamon, (▲); Cassia

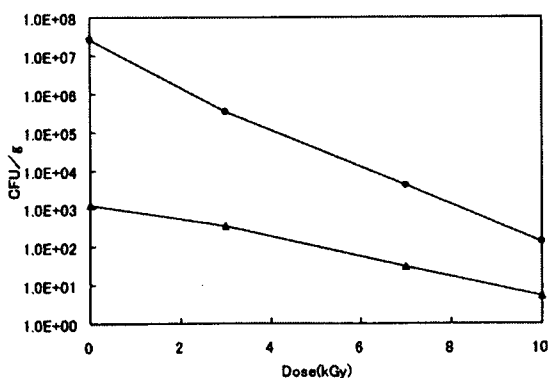


Fig.4. Electron Beam sensitivity of viable bacteria on spices
 (●); Black pepper, (▲); Laurel

Table 1. D-value of viable bacteria on spices

Spices	Dose range (kGy)	D-value
Black pepper	0 - 3	1.6
	3 - 7	2.1
	7 - 10	2.0
Paprika	0 - 3	1.8
	3 - 7	1.9
	7 - 10	7.0
Allspice Jamaica	0 - 3	0.9
	3 - 7	3.0
	7 - 10	12.3
Cinnamon	0 - 3	-
	3 - 7	1.9
	7 - 10	-
Coriander	0 - 3	1.9
	3 - 7	2.8
	7 - 10	5.9
Laurel	0 - 3	5.6
	3 - 7	3.8
	7 - 10	3.9
Oregano	0 - 3	1.6
	3 - 7	4.7
	7 - 10	-
Allspice Mexico	0 - 3	1.4
	3 - 7	2.7
	7 - 10	8.7
Cassia	0 - 3	-
	3 - 7	-
	7 - 10	-
Parsley	0 - 3	1.4
	3 - 7	5.3
	7 - 10	3.5

群との差はほぼ無いにも関わらず 7 kGy で10倍程の差がみられた。さらに 3 kGy に肩を持つ生残曲線を示すシナモン、カシアなどは強い放射線耐性菌の存在を暗示する。しかし、菌数が少ないところでの観察なので、照射の有無を断じることは困難であろう。

以上一般生菌数と芽胞菌数の検討では、放射線照射の有無を判別するには十分でない。そこで D 値の検討を行い、さらに論を深める。

これらのグラフ全体の傾向として、先にも述べたように一般生菌群の方が放射線耐性が強く、線量の増加に伴い D 値が大きくなる傾向にあった。

このことは、一般生菌群に芽胞菌よりも放射線耐性の強い菌が混在していることを示唆している。このため、線量による D 値の変化を検知に用いる場合には、一般生菌群数を用いる方がより適切であると考えられる。

2) 高線量域で D 値が増加する香辛料

Fig. 2 のグループは、3～7 kGy の範囲での D 値が増加している、パプリカ、オールスパイス、コリアンダー、オレガノ、パセリのグループである。線量の増加と共に D 値が増加する現象は、線量の増加と共に放射線耐性の弱い菌が死滅し、強い菌のみが生残することによるものと考えられる。

本グループについては、このような線量増加に対する D 値の変化を利用することで、照射香辛料をスクリーニングすることができる。

スクリーニングを行うための判別は、通常全香辛料の殺滅菌目的では 5～10 kGy 程度の線量が照射されていることを前提とすると⁵⁾、対象試料に 1～2 kGy の線量を照射し、非照射試料と照射試料のそれぞれの一般生菌群数を測定して D 値を求める。それが 3 kGy 以上であれば照射が行われた可能性が高いと判定し、反対に D 値が 3 kGy を明らかに下回る場合は未照射である可能性が高いと判定する。

3) 低線量域で D 値の高い香辛料

Fig. 3 のグループは、比較的初期菌数が少なく、3 kGy を境にして D 値が急減するシナモンとカシアのグループである。Fig. 3 のような生残曲線は、放射線耐性の強い単一菌の生残曲線に良く見られる形で、生残曲線にショルダーを有することが多い⁶⁾。

本グループの生残曲線の形がこのような形になった原因は、シナモンとカシアの付着菌が放射線に耐性があるため、放射線あるいは熱処理・化学処理等が行われた可能性も考えられる。

上に凸の生残曲線を示す本グループをスクリーニングするためには、検知対象試料に 1～2 kGy の線量を照射し、未照射試料と照射試料のそれぞれの一般生菌群数を測定して D 値を求める。それが 2 kGy 以下であれば照射を疑い、反対に D 値が 2 kGy を明らかに上回る場合は未照射である可能性が高いと判断する。

4) 線量により D 値が殆ど変化しない香辛料

Fig. 4 のグループは、殆ど D 値の変化が無い

黒胡椒とローレルのグループである。このような生残曲線を示すものは、放射線に耐性のある菌が主流を占めていることを意味しており、放射線または加熱処理がなされていた可能性も考えられる。しかしながら、本グループ中の黒胡椒の一般生菌群数およびその生残曲線は、過去に多くの調査が行われており、文献で明らかになっている一般生菌群数や生残曲線の形及び D 値は今回の実験結果とほぼ同じであった⁷⁻¹⁰⁾。このことから、本試料が何らかの前処理がなされている可能性は低い。以上より、本グループの香辛料試料については、D 値の変化により照射の有無を検知することは困難であると考えられる。

5) 本スクリーニング法の適用

一般生菌数の放射線に対する D 値を測定することにより、香辛料の照射の有無のスクリーニングを行うことができる可能性を示した。しかしながら、本法を実際に適用するためには、さらに香辛料の収穫後の期間、部位、産地、前処理の違い等による本実験法に基づいたデータの収集が必要であると考えられるため、今後データの収集を行っていく予定である。また、細菌よりも放射線耐性が強いものがあることが知られている真菌についても、これを対象とした簡便なスクリーニング法を検討中である。

5. 結論

収穫から 2 ヶ月以内の 10 種類の香辛料を対象とし、電子線を照射してその芽胞菌数および生菌数の D 値の変化を調べた結果、大部分の香辛料は線量に従って生菌数の D 値が変化することが分かった。この結果、パプリカ、オールスパイス、コリアンダー、オレガノ、パセリは、生菌数 D 値が 3 kGy 以上の場合に照射されている可能性が高いことが分かった。また、カシア、シナモンは逆に、生菌数 D 値が 2 kGy 以下の場合に照射されている可能性が高いことが分かった。一方、黒胡椒とローレルは芽胞菌数および生菌数の D 値共に照射線量による変化は殆どなく、D 値による照射の有無の判定は困難であった。

文 献

- 1) 多田幹郎 (2006), 食品照射技術の現状と課題, 2006年日本食品照射研究協議会学術講演会, 1-6.
- 2) 宮原 誠(2002), 食品照射検知法の現状, 食品照射, 37, 29-47.
- 3) 渡辺 宏, S. Bagiawati, 田村直幸 (1985), 香辛料の抗菌性と抗酸化性に対する γ 線照射の影響, 食品照射, 20, 27-30.
- 4) 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 (1998), 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.
- 5) J. Farkas (1985) Radiation Processing of Dry Food Ingredients - A Review, *Radia. Phys. Chem.*, 25, (1-3), 271-280
- 6) 越川富比古 (1994), 放射線滅菌における芽胞形成菌の取扱技術 (II), *RADIOISOTOPES*, 43, 791-797.
- 7) M. Vajdi, R. R. Pereira (1973) Comparative Effects of Ethylene Oxide, Gamma Irradiation and Microwave Treatments on Selected, *J. Food Sci.*, 38, (5), 893-895
- 8) M. L. Juri, H. Ito, H. Watanabe, N. Tamura (1986) Distribution of Microorganisms in Spices and Their Decontamination by Gamma Irradiation, *Agric. Biol. Chem.*, 50, (2), 347-355
- 9) 伊藤 均, M. S. Islam (1993), 電子線による香辛料の殺菌効果, 食品照射, 28, 16-20.
- 10) I. Kiss, JFarkas (1988) Irradiation as a Metod for Decontamination of Spices, *Food Reviews International*, 4, (1), 77-92

2007 年度論文別刷り

- 1) 宮原 誠 食品照射検知法の現状 2007 食品衛生研究
57 33-48 2007
- 2) 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
- 3) 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、大腸菌群と生菌数の菌数消長について
防菌防黴 35 779-783 2007

平成 18 年度 厚生労働科学研究(食品の安心・安全確保推進研究) 食品照射検知の現状 2007

Recent Developments in Detection Methods for Irradiated Food in Japan

国立医薬品食品衛生研究所

宮原 誠

National Institute of Health Sciences

Makoto MIYAHARA

I はじめに

2007 年はわが国の照射食品の歴史において画期的な年となった。それは、従来輸入者の申告だけを頼りに照射食品の対策を行ってきたが、輸入香料を対象に、照射食品であるか否かを判別することが試験検査によって可能となったことだ¹⁾。

ここでは今までの照射食品の開発の経緯と検知法開発の歴史を振り返りつつ、2002 年以降の検知法の開発状況について述べる。まず、そもそもなぜ検知法が必要なのかという議論が必要である。それは、複数の照射食品担当者から、“WHO の報告書によると安全であるはずなのに、なぜ取締りをする必要があるか、検知法が必要なのか？”と再三にわたり質問がきたからである。数年前ある専門紙に“照射で有害な物質ができるとする科学者もいるので、照射食品の正しい表示が求められている”という意見が掲載されていた²⁾。現在このような考え方は一般的ではなくなり、単なる加工製造上の表示義務のように受け取られている。例えば

ある自治体の衛生研究所が発行したパンフレット³⁾にわが国の照射パレイショ生産は年間 1 万トン、照射食品に放射能は残らない、照射食品は無菌だ、照射食品は栄養素に問題ないと記載されており、これを読む限り照射食品はまったく問題がなく、したがって、取締りや表示の必要もないような印象を受けた。

しかし、実際には、各国政府は照射食品について放射線量を制限し、表示を義務づけ、その検知法を作って取締りを行うなど規制を引いており、危険性がまったくないはずの照射食品の取扱いとしては矛盾している。少なくとも食品衛生に関係する人はたとえ照射食品について論じる場合であっても、これの正確な知識をもつ必要があろう。さもなくば、納税者の納得が得られないばかりか、その健康を守ることはできない。

照射食品の表示はその安全性と大きな関わり合いをもつもので、それを担保する検知法はきわめて重要である。その理解のためは照射食品の開発の経緯を見る必要がある。

表1 照射食品製造時の線量^{a)}

目的	対象	食品	線量域(kGy)
発芽防止		ジャガイモ, タマネギ, ニンニク	0.01~0.15
熟度調整		果物, 野菜	0.01~1.0
殺菌		穀物, シリアル製品, 生鮮・乾燥果実, 干物	0.2~1.0
寄生虫の防除	糸虫, 線虫, 肝吸虫など	魚, 肉	0.1~1.0
病原性細菌の減菌	サルモネラ, O-157	鶏肉, 肉, 魚介類	2.0~8.0
腐敗性菌の殺菌		肉, 魚, 果実, 野菜, 香辛料	0.4~10.0
保存食品の殺菌	完全減菌	携行食, 軍用食, 宇宙食, 病人食	10.0~50.0
加工性の向上		果物からのジュース取量の向上, 乾燥野菜の調理時間の短縮	1.0~10.0

a) IAEA(1991) Analytical detection methods for irradiated foods, IAEA-TECDOC-587, Vienna, pp7.

II 照射食品とは

照射食品とは表1に示すような殺菌、害虫の防除、発芽防止などを目的に、コバルト60のガンマ線、10MeV以下のエネルギーをもつ電子線、5MeV以下のX線を照射した食品のことである。放射線のエネルギーが大きいことからさまざまな変化が照射食品中に起きるとされ、その研究は60年以上の研究の歴史がある。照射効果を示すのに必要な吸収線量も表1に示したが、照射障害の現れやすい生鮮野菜果実は1kGy以下、肉・香辛料の殺菌目的には10kGy以下、保存食などは50kGy以下であることがわかる。

III 照射食品開発の歴史と安全性

照射食品とその安全性に関する歴史的な考察や最近の動向についてはすでにいくつかの総説で述べた⁴⁻⁹⁾。また、照射食品推進の立場で書かれているが、科学的な客観性を保ち、食品照射特定総合研究などについては詳しい総説もある¹⁰⁻¹²⁾。

照射食品は、1954年頃から米国陸軍が中心になって開発が進められ、その後、同商務省の研究を経て、1980年代にIAEAなどの国際機関が中心となり、その民生への技術移転が行われたものである。この間、そのリスク評価が大きく変化した。当の米国は実験の欠陥や失敗のため評価の難し

かった動物実験のデータを用いず、放射線分解物の量で、その安全性を評価した。一方、WHOなどの国際機関は米国が否定し用いなかった動物試験結果を用いて、従来危険とされてきた要素も危険でなく安全であるとの結論を導いている。各時期のおもな評価の結果を表2に示した。

1957年米国陸軍補給部隊¹³⁾が検討したとき、おもな課題は誘導放射能の抑止と、照射食品中に生成する過酸化水素による食品の酸敗防止であった。さらに、糖、アミノ酸、脂肪酸エステルなどの食品成分の溶液を照射した実験からさまざまな有害物質がその中に生成することがわかり、照射食品には潜在的な危険性があるとされた。それ以外の実験は数カ月程度の短期の動物実験だったので大きな問題は見つからなかった。

1963年の米国陸軍ネイティック研究所の検討¹⁴⁾では、最も重要な検討課題は栄養成分の喪失であった。放射線照射により、当時その作用が十分わかっていないビタミンなどが失われ、長期毒性試験の多くが失敗に終わった。このため発がん性などは十分に検討できなかったようだ。さらにこのような状況から、FDAはいったん許可した照射ベーコンなどの許可を取り消した。

その後、同陸軍は1970年頃、照射食品の開発を中止しようとした。その理由として照射技術を使わなくても、陸軍の兵糧基準に合わせられるとの

表2 照射食品の危険性の認識と回避策

年代	認定者	危険性の項目	有無	対 策
1957	米国陸軍補給部隊	誘導放射能	有	線源の制限
		有害物の生成	有	さらに検討
		酸敗	有	抗酸化剤の添加
		潜在的な危険性	有	さらに検討
		栄養成分の分解	有	栄養素の添加
1963	米国陸軍ネイテック研究所	栄養成分の分解	有	栄養素の添加
		毒性物質の生成	有	さらに検討
		誘導放射能	有	線量の制限
		発ガン物質の生成	有	さらに検討
1980	米国FDA	毒性物質の生成	有	摂取量で評価
1981	WHO/IAEA/FAO	有害物質の生成	有	線量制限
		栄養成分の分解	有	ほかの食品で補給可
		有害微生物	無	
		ポツリヌス	有	保存条件の厳守
		毒性物質	無	
1984	名古屋高等裁判所	1981年WHOの見解	有	照射ベビーフード事件 被告の有罪確定
1991	日本アイソトープ協会	誘導放射能	無	
		栄養成分の分解	無	
		免疫化学的变化	有	さらに検討
		ビタミンCの分解	無	
		糖分解の変異原性	無	
		ポツリヌス	有	保存条件の厳守
		アフラトキシン	有	さらに検討
1994	WHO	毒性物質	無	
		ポツリヌス	有	保存条件の厳守
		誘導放射能	無	
		栄養素の分解	有	ほかの食品で補給可

技術的な見解を示した¹⁵⁾。アポロ・ソユーズ計画の宇宙食に照射食品は用いられたが、その後の技術改良で、現在の国際宇宙ステーション計画でも照射食品がほとんど使用されなくなったことから、この陸軍の見解は裏づけられている⁵⁾。

しかし、米国議会の勧告を受けて、米国陸軍は照射食品の開発を中止せず、1975年頃、動物実験専門の会社に3期目の照射食品安全性試験を委託した。当時GLP等が整備されていないために、いくつかの実験は失敗したが、照射鶏肉の試験¹⁶⁾だけはなんとか成功したようだ。結局、同FDAはこ

の動物試験研究の成果は実際の安全性評価には用いず、放射線分解生成物の量を照射食品について個別に推定し、それら放射線分解化合物について1人当たりの摂取量から安全性を確認した¹⁷⁾。そのもとになった食品はベーコンと牛肉でこれを照射し、有機溶媒で分解物を抽出し、これをGC/MSで分離・同定したので、不揮発成分の評価は残されたままだ。

1981年にWHO/IAEA/FAOは上述の米国のデータやヨーロッパ各国で出されたとするデータ(このデータは一般には入手できない)をもとに照

射食品の安全性を評価し、10kGy以下の照射食品はなんら問題がないと結論した¹⁸⁾。この内容を原子力産業協会がパンフレットにして、一般の人に配布している¹⁹⁾。この団体は原子力発電所の立地対策をおもな任務としている。その団体がどうして、照射食品の安全性をアピールしなくてはならないのかは不明だ。原子力発電所周囲で生産される食品中の放射能との関係で照射食品に関心があるのかもしれない。

1984, 1985年に照射ベビーフード事件の判決があった^{20, 21)}。この事件の概要は次のとおりである。

N食品原材料メーカーはベビーフード用の原料の乾燥野菜等をR放射線照射受託社において照射殺菌し、これを出荷した。照射食品の研究をしていた当時の原子力研究所の職員はその予備実験を行い、N食品会社をR照射会社に紹介したとされる。これを使用した離乳食が大手食品メーカーから販売された²²⁾。この事件は食品衛生法違反事件として立件、起訴、二審名古屋高裁で、N社、R社の担当者の有罪が確定した。一審および二審とも判決理由のなかで、前述の1981年のWHO/IAEA/FAOによる包括的な照射食品の安全性評価を否定²³⁾、個々の照射食品の安全性を確認する義務が国にあるとした。本裁判の証人として当時の国立衛生研究所の職員が出廷したとの記録も見える。さらに、この裁判の過程で、原子力研究所の当時の所長は司法警察員(いわゆる刑事)に対する供述調書中で、「……、近年の冷凍食品等低温流通網(コールドチェーン)の普及によりわが国においては食品に対する放射線照射の禁止を解除する必要性はむしろ減少している……」と述べ、照射食品の必要性まで否定された印象を受ける。また、余談ではあるが、この事件に巻き込まれた某乳幼児食のメーカーはそれ以来、原材料が照射されているか否かの検査を行っているとの噂もある。

1991年日本アイソトープ協会は照射食品の安全

であることを確かめるために、実験的な研究を行い多くの点で照射食品に問題がないとしたが、微生物学的危険性として、ポツリヌスとアフラトキシンの危険性を個々の研究者は指摘している²⁴⁾。

1994年になるとWHOは前述の1950年代から1970年代に実施された米国陸軍、商務省の研究を再評価した。個別の文章中でポツリヌスの危険性だけを指摘したが、その危険性はほかの加工食品と同程度のものだとして、1981年の勧告とほぼ同じ内容の技術的な情報をまとめた²⁵⁾。時代が変わるとともにその評価がさらに変わったようだ。

2000年末、照射食品の安全は確かめられたとする考え方にに基づき、香辛料の業界団体は照射香辛料の流通を認める要請が旧厚生省に提出された。

これを受けてわが国の内閣府食品安全委員会は照射食品の安全性についての調査を民間のシンクタンクと食品総合研究所に委託して、2003年²⁶⁾と2004年²⁷⁾に実施した。これを踏まえて、同委員会は独自にその安全性を検討する事項の候補に2度も選んでいるが、そのつど採択されなかった。その提案理由に、1984年のベビーフード事件で否定された1981年のWHO/IAEA/FAOの報告書が含まれている。また、2004年の照射食品の安全性についての調査をとりまとめた人が次に述べる原子力委員会照射食品専門部会の部会員に選任され、2006年照射食品推進の提案をしている。

2006年、同じ内閣府の原子力委員会は照射食品推進のための方策を立てるよう農林水産省、厚生労働省、文部科学省の三省に通知した。同時にその根拠になった同委員会の諮問機関である照射食品専門部会の報告書²⁸⁾を公表した。内容的には1981年WHOの勧告に沿ってまとめられており、これを補強するため1991年のアイソトープ協会が行った評価に関わった人びとの多くが参考として意見が述べている。

検知法が必要だとの見解を強調しているが、そ