

表5 主催者見直しによる判定結果（正解数および正解率）まとめ

検査機関		A	B	C	D	E	F	G	H	正解数	正解率 (%)	線量別平均 (%)
照射線量	香辛料											
0kGy	黒胡椒	—	2/2	2/2	1/1	2/2	1/1	1/1	1/1	10/10	100	100
	白胡椒	2/2	2/2	—	1/1	1/1	1/1	2/2	1/1	10/10	100	
	ジンジャー	1/1	1/1	2/2	1/1	1/1	2/2	—	—	8/8	100	
	ターメリック	1/1	2/2	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	—	8/8	100	
	コリアンダー	3/3	2/2	1/1	1/1	—	1/1	1/1	1/1	10/10	100	
3kGy	白胡椒	—	1/2	2/3	1/1	1/1	0/1	0/1	0/1	5/10	50	50.0
5kGy	黒胡椒	2/2	0/1	1/1	2/2	1/1	0/1	0/1	1/1	7/10	70	60.8
	白胡椒	1/2	—	1/1	2/2	2/2	1/1	1/1	1/1	9/10	90	
	ジンジャー	0/1	1/1	2/2	0/1	1/1	—	2/2	0/2	6/10	60	
	ターメリック	1/2	—	1/1	0/1	1/1	0/2	0/2	0/2	3/11	27.3	
	コリアンダー	—	1/2	2/2	2/2	1/1	0/1	0/1	0/1	6/10	60	
7kGy	黒胡椒	2/2	0/1	1/1	1/1	1/1	2/2	1/1	2/2	10/11	90.9	70
	ジンジャー	2/2	—	—	—	1/2	2/2	2/2	2/2	9/10	90	
	ターメリック	0/1	1/2	1/1	1/1	1/2	0/1	0/1	1/1	5/10	50	
	コリアンダー	0/1	—	1/1	1/1	2/2	0/2	0/1	0/1	4/9	44.4	
	正解数		15/20	13/18	18/19	15/17	17/19	11/19	11/18	10/17	110/147	
正解率 (%)		75.0	72.0	94.7	88.2	89.5	57.9	61.1	58.8	74.8		

コリアンダーで2点であった。
この結果、ジンジャーのばらつきが若干大きいものの、各機関の一般生菌数測定値は概ね妥当であると考えられた。

2. 照射の有無の判定

2-1 各機関による判定結果

表4に各機関が行った判定について、香辛料別、線量別、機関別の照射の有無の判定結果のまとめとその正解率を示す。また、各機関の詳細な結果については添付2に示す。なお、これらの判定に用いたデータは、前記に示したように外れ値は除いている。

2-2 主催者による判定結果

各機関が行った判定について、その元となった同定の釣菌コロニーの写真およびその顕微鏡写真から、主催者が見直した結果を表5に示す。

2-3 判定結果の比較

各機関が行った判定と主催者が見直した判定結果の比較を表6に示す。ここで、主催者は、同定結果についてコロニーの写真と生菌の顕微鏡写真およびBBLキットのプロファイル番号から見直しを行った。

この結果、A機関とC機関は大幅に正解率が向上したが、その他の機関については殆ど同じであった。

また、正解率についても主催者判定による正解率が高いグループ(A~E)と低いグループ(F~H)に分かれた。

主催者判定による結果との差異が大きいA機関とC機関は、同定結果の違いが大きく、同定手順の問題であると思われる。一方、正解率が低いグループについては、菌の抽出方法および段階希釈の巧拙または一部の検体の良否による可能性が考えられる。

この結果から、検知法手順の見直しおよび検査担当者の2菌種に対する同定の馴れ等により、高い正解率を得る事が期待される。

2-4 本検知法の評価

本検知法による見直し後の香辛料別、線量別の正解率のまとめを表7に、上位5機関の正解率のまとめを表8に示す。この結果、白胡椒は5kGy、黒胡椒とジンジャーは7kGy以上の照射線量について90%以上の正解率(見直し後)であり、これらの線量以上では判定可能と考えられる。一方、ターメリックについては、7kGyの照射線量においても判定が困難であった。コリアンダーについては、上位5機関についてみれば判定が可能であ

表6 判定結果の比較

機関	各機関判定		主催者判定		改善結果 (%)
	正解数	正解率 (%)	正解数	正解率 (%)	
A	11/20	55.0	15/20	75.0	+20.0
B	12/18	66.7	13/18	72.0	+5.3
C	13/19	68.4	18/19	94.7	+26.3
D	14/17	82.4	15/17	88.2	+5.8
E	17/19	89.5	17/19	89.5	0
F	11/19	57.9	11/19	57.9	0
G	10/18	55.6	11/18	61.1	+5.5
H	10/17	58.8	10/17	58.8	0

表7 正解率(%)のまとめ(見直し後)

香辛料	0kGy	3kGy	5kGy	7kGy
黒胡椒	100	—	70	90.9
白胡椒	100	50	90	—
ジンジャー	100	—	60	90
ターメリック	100	—	30	50
コリアンダー	100	—	60	44.4

表8 上位5機関正解率(%)のまとめ(見直し後)

香辛料	0kGy	3kGy	5kGy	7kGy
黒胡椒	100	—	85.7	83.3
白胡椒	100	71.4	85.7	—
ジンジャー	100	—	66.7	75
ターメリック	100	—	40	57.1
コリアンダー	100	—	85.7	80

るとの結果となり、検知スキルの向上により、判定可能となることが期待される。

3. 本検知法の実施により得られた知見

3-1 本検知法の結果からの知見

(1) 非照射試料は全て正解であり、特に一次判定で非照射となったものは、見直し前の判定においても全て正解であった。

これは、香辛料の菌数がある程度以上多い(10^5 cfu/g以上)という判定基準は、少なくとも非照射と判定する上では非常に有効であることを示している。

ただし、通常において菌数の少ない香辛料については、別途考慮する必要がある。

(2) 10^3 cfu/g以下の極めて照射が疑われる試料について、正解率が高かつ自己判断による同定も殆ど間違いのない2機関(R, E)は、すべて照射と判定しており正解であった。

このことから、一次判定で照射と判定される試料については、スキルの高い機関においてはほぼ間違いなく照射と判定されるであろう。

(3) 二次判定で非照射としたものの正解率は8/14の57%であった。これより、

二次判定で非照射と判定してしまう現在のスキームには問題がある。二次判定は限られた香辛料にのみ有効であると考えるべきで、本検知法のスキームからは除いたほうが良いと考えられる。

(4) 香辛料によって、検出できる照射線量が異なる。概ね、白胡椒では5kGy、他の香辛料では7kGyであった。

(5) それぞれの香辛料について本検知法を適用できるかどうか判断するために、判定しようとする香辛料の非照射での通常の菌数データが必要である。本検知法を適用するには、各検査機関がそれらの情報を入手している必要があると思われる。

(6) 同定については、試験担当者のスキルの差異が大きい。このため、試験担当者は同定対象となる2菌種についてあらかじめ十分な知識を有する必要がある。

(7) 特に 10^3 cfu/g～ 10^5 cfu/gの菌数の場合に言えることであるが、本検知法だけで判定することが危険な場合が考えられる。この場合には、TL法等による再検査が必要な場合がある。

3-2 本検知法の手順についての知見

(1) 菌数測定

・菌数測定時のプレートのコロニーを同定時の菌種割合を算出する時の母数としているが、プレートあたりのコロニー数については観察の点から、10～20程度が望ましいと考える。このことより、菌数測定時と同定時の作業は別にして、同定時は希釈菌液の塗布量も適宜決めれば良い。

・ジンジャーホールおよびターメリックフィンガーの場合、試料の採取によって、菌数が異なるので、採取量を増やす必要がある。当然、照射後の菌数にも影響する。⇒例えば、回収液 100ml に対して 20g、あるいは回収液 200ml に対して 20g を使用してはどうか。

(2) 菌の同定

・*B.megaterium*, *B.cereus* のコロニーの特徴もつかむ。それ以外の菌種 *B.subtilis*, *B.pumilus*, *B.licheniformis* のコロニーの特徴をつかみ、これらの菌種を識別できるようにする必要がある

・グラム染色よりは位相差顕微鏡観察が有効である。特に芽胞形成期細胞を位相差顕微鏡で観察するのが有効である。

・同定での菌の培養温度と培養時間は、25℃では培養時間は72時間以内、30℃では20～48時間以内とする。標準寒天培地での *B.megaterium* のコロニーでは、培養24時間よりも36～40時間の方が、コロニーの色調が黄色くなり、識別が容易となる。しかしながら、拡散性のある *B.subtilis* が共存する場合は、培養時間に注意し、早めに計測する方が良い。

・*B.megaterium* や *B.cereus* は比較的増殖が速く、24～36時間で芽胞形成期細胞

が観察できるので、位相差顕微鏡で観察し、識別することが可能である。

・クリスタルオートリーダーでの判定では、測定は最低2回行い、プロファイル番号が同一であったら、測定を終了。測定毎にプロファイル番号が変わるときは、数回測定し、同じプロファイル番号のものを採用する。同定確率が一番の菌種が目的とする菌名とは限らない。二番目、三番目が目的とする菌種であることもあるので、注意する必要がある。

D 課題および改善点

コラボ実験によって明らかとなった本検知法の問題点および今後の改善点を以下に示す。

(1) さらに適用可能な香辛料についての検討が必要。

(2) 二次判定による非照射の判定は判定率が悪く、適用可能な香辛料に限られるために、結果的に殆ど判定結果の向上に繋がらなかった。このため、今後二次判定は削除する方向で検討すべきである。

(3) 今回実施した同定方法は各機関によってスキルの違いが大きかったことから、同定法については各機関の得意な方法にまかせた方が良い。

(4) ターメリックフィンガーやジンジャーホールなど検体が大きいものがあり、菌の抽出方法を変えざるを得なかった。このため、検体量は検体の形状に応じて変えることを検討する。

E 結論

白胡椒は5kGy、黒胡椒とジンジャー

は7kGy以上の照射線量については判定可能である。一方、ターメリックについては、7kGyの照射線量においても判定が困難であった。コリアンダーは、上位5機関についてみれば判定が可能であるとの結果となり、検知スキルの向上により、判定可能と考えられる。以上より、二次判定を省略するなど、今後スキームを見直す必要があるが、非照射時の一般生菌数が 10^5 cfu/g程度以上の一般的な香辛料について本検知法は広く適用可能であると考えられる。

参考文献

- 1) 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, p669-675(2005)
- 2) Nakauma, M., Saito, K., Katayama, T., Tada, M., Todoriki, S.; Radiat-ion-heat synergism for inactivation of Alicyclobacillus acidoterrestris spores in citrus juice, *Journal of Food Protection*, 67, p2538-p2543 (2004)
- 3) Diehl, J. F.; Effects of combinati-on processes on the nutritive value of food, International Atomic Energy Agency, p349-p366 (1980)
- 4) 宮原誠, 武川哲也;放射線照射食品の微生物学的検知法に関する研究, 放射線照射食品の検知技術に関する研究平成18年度総括・分担研究年度終了報告書, p14-28(2007)
- 5) 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, p27-31(1998)

6) 宮原誠, 武川哲也;放射線照射香辛料の微生物学的検知法に関する研究, 放射線照射食品の検知技術に関する研究平成19年度総括・分担研究年度終了報告書, p65-98(2008)

7) 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な方法

添付表 1-1 黒胡椒測定値検定結果 (グラフス検定, 平均値との比による検定)									
機関	線量	試料番号	一般生菌数結 果 A (CFU / g)	A/AVE	logA	熱処理後の一 般生菌数結果 B (CFU / g)	B / A v e	logB	
B	0	1	5.6E+06	0.70	6.75	—	—	—	
B	0	18	8.9E+06	1.12	6.95	—	—	—	
C	0	13	6.2E+06	0.78	6.79	—	—	—	
C	0	24	8.4E+06	1.05	6.92	—	—	—	
D	0	3	8.3E+06	1.04	6.92	—	—	—	
E	0	23	6.4E+06	0.80	6.81	—	—	—	
E	0	25	9.4E+06	1.18	6.97	—	—	—	
F	0	4	1.3E+07	1.63	7.11	—	—	—	
G	0	8	5.4E+05	0.07	5.73	—	—	—	
H	0	101	1.3E+07	1.63	7.11	—	—	—	
			平均						
			8.0E+06						
A	5	2	1.1E+04	0.96	4.05	5.3E+03	1.03	3.72	
A	5	11	1.3E+04	1.15	4.12	5.5E+03	1.08	3.74	
B	5	6	1.8E+03	0.16	3.26	9.2E+02	0.18	2.96	
C	5	7	7.6E+03	0.66	3.88	4.0E+03	0.78	3.60	
D	5	12	9.4E+03	0.81	3.97	5.3E+03	1.04	3.73	
D	5	21	2.8E+04	2.40	4.44	1.3E+04	2.48	4.10	
E	5	14	1.8E+04	1.56	4.26	3.8E+03	0.74	3.58	
F	5	16	1.2E+04	1.04	4.08	6.8E+03	1.33	3.83	
G	5	5	5.9E+03	0.51	3.77	3.8E+03	0.74	3.58	
H	5	102	8.8E+03	0.76	3.94	3.0E+03	0.59	3.48	
			平均			平均			
			1.2E+04			5.1E+03			
A	7	10	2.7E+03	1.46	3.42	1.2E+03	1.43	3.08	
A	7	17	1.5E+03	0.83	3.18	7.5E+02	0.90	2.87	
B	7	20	3.5E+02	0.19	2.54	—	—	—	
C	7	26	1.8E+03	0.99	3.26	3.5E+02	0.42	2.54	
D	7	19	8.9E+02	0.49	2.95	—	—	—	
E	7	9	2.2E+03	1.21	3.34	2.2E+02	0.27	2.34	
F	7	15	9.2E+02	0.51	2.96	—	—	—	
F	7	27	2.9E+03	1.60	3.46	9.4E+02	1.13	2.97	
G	7	22	2.4E+03	1.33	3.38	8.6E+02	1.04	2.93	
H	7	103	3.1E+02	0.17	2.49	—	—	—	
H	7	104	4.0E+03	2.21	3.60	1.5E+03	1.81	3.18	
			平均			平均			
			1.8E+03			8.3E+02			

: グラフスの検定はずれ値

: 平均値との比の検定はずれ値

添付表 1-2 白胡椒測定値検定結果

(グラブス検定, 平均値との比による検定)

機関	線量	試料番号	一般生菌数結 果 A (CFU /g)	A/AVE	logA	熱処理後の一 般生菌数結果 B (CFU / g)	B / A v e	logB
A	0	9	3.5E+04	0.63	4.54	2.7E+04	0.67	4.44
A	0	27	4.7E+04	0.86	4.67	2.3E+04	0.56	4.36
B	0	3	4.9E+04	0.90	4.69	6.2E+04	1.52	4.79
B	0	4	5.4E+04	0.99	4.73	4.4E+04	1.08	4.64
D	0	25	4.9E+04	0.90	4.69	2.7E+04	0.67	4.43
E	0	24	7.2E+04	1.32	4.86	7.2E+04	1.77	4.86
F	0	12	1.1E+05	2.01	5.04	—	—	—
G	0	10	3.5E+04	0.64	4.54	2.4E+04	0.59	4.38
G	0	22	3.1E+04	0.57	4.49	2.5E+04	0.61	4.39
H	0	103	6.5E+04	1.19	4.81	6.2E+04	1.52	4.79
			平均			平均		
			5.5E+04			4.1E+04		
B	3	1	5.8E+02	0.95	2.76	—	—	—
B	3	7	6.4E+02	1.04	2.81	—	—	—
C	3	2	3.3E+02	0.54	2.52	—	—	—
C	3	5	5.2E+02	0.85	2.72	—	—	—
C	3	20	3.4E+02	0.55	2.53	—	—	—
D	3	26	4.1E+02	0.67	2.62	—	—	—
E	3	17	1.0E+03	1.63	3.00	3.8E+02	0.80	2.58
F	3	15	4.4E+02	0.72	2.64	—	—	—
G	3	18	7.7E+02	1.26	2.89	—	—	—
H	3	102	1.1E+03	1.79	3.04	5.7E+02	1.20	2.76
			平均			平均		
			6.1E+02			4.8E+02		
A	5	6	1.2E+02	2.34	2.08	—	—	—
A	5	11	5.3E+01	1.04	1.73	—	—	—
C	5	21	2.0E+01	0.39	1.30	—	—	—
D	5	8	4.0E+01	0.78	1.60	—	—	—
D	5	19	4.0E+01	0.78	1.60	—	—	—
E	5	13	6.0E+01	1.17	1.78	—	—	—
E	5	14	2.0E+01	0.39	1.30	—	—	—
F	5	16	4.0E+01	0.78	1.60	—	—	—
G	5	23	4.0E+01	0.78	1.60	—	—	—
H	5	101	8.0E+01	1.56	1.90	—	—	—
			平均					
			5.1E+01					

■ : グラブスの検定はずれ値

■ : 平均値との比の検定はずれ値

添付表 1-3 ジンジャー測定値検定結果

(グラブス検定, 平均値との比による検定)

機関	線量	試料番号	一般生菌数結 果 A (CFU / g)	A/AVE	logA	熱処理後の一 般生菌数結果 B (CFU / g)	B / A v e	logB
A	0	3	2.3E+06	0.62	6.35	—	—	—
B	0	8	5.5E+06	1.52	6.74	—	—	—
B	0	17	1.3E+05	0.04	5.11	—	—	—
C	0	16	2.4E+06	0.66	6.38	—	—	—
C	0	20	1.3E+06	0.36	6.11	—	—	—
D	0	4	9.6E+05	0.26	5.98	—	—	—
E	0	14	1.9E+07	5.24	7.28	—	—	—
F	0	18	8.0E+05	0.22	5.90	—	—	—
F	0	21	2.6E+05	0.07	5.41	—	—	—
			平均					
			3.6E+06					
A	5	26	1.7E+02	0.05	2.22	—	—	—
B	5	15	9.8E+02	0.29	2.99	2.4E+02	0.14	2.38
C	5	10	5.0E+03	1.46	3.70	5.1E+02	0.30	2.71
C	5	13	2.2E+04	6.41	4.34	7.6E+03	4.51	3.88
D	5	5	2.0E+03	0.58	3.30	7.6E+02	0.45	2.88
D	5	19	1.1E+02	0.03	2.06	2.6E+01	0.02	1.41
E	5	2	1.7E+03	0.49	3.23	—	—	—
G	5	23	1.9E+03	0.54	3.27	9.7E+02	0.58	2.99
G	5	25	3.7E+02	0.11	2.57	—	—	—
H	5	103	1.5E+02	0.04	2.18	—	—	—
H	6	104	1.8E+03	0.52	3.26	6.0E+02		
			平均			平均		
			3.4E+03			1.7E+03		
A	7	7	3.1E+02	0.26	2.49	—	—	—
A	7	22	8.2E+02	0.69	2.91	—	—	—
B	7	6	4.0E+01	0.03	1.60	2.0E+01	0.04	1.30
E	7	24	5.2E+03	4.39	3.72	—	—	—
E	7	27	1.1E+03	0.93	3.04	—	—	—
F	7	1	1.9E+03	1.61	3.28	6.6E+02	1.43	2.82
F	7	12	1.0E+02	0.08	2.00	—	—	—
G	7	9	1.0E+03	0.87	3.01	7.0E+02	1.51	2.85
G	7	11	1.6E+03	1.35	3.20	4.7E+02	1.02	2.67
H	7	101	3.9E+02	0.33	2.59	—	—	—
H	7	102	5.3E+02	0.45	2.72	—	—	—
			平均			平均		
			1.2E+03			4.6E+02		

: グラブスの検定はずれ値

: 平均値との比の検定はずれ値

添付表 1-4 ターメリック測定値検定結果

(グラフス検定, 平均値との比による検定)

機関	線量	試料番号	一般生菌数 結果 A (CFU / g)	A/AVE	logA	熟処理後の 一般生菌 数結果 B (CFU / g)	B / A v e	logB
A	0	9	7.3E+06	0.82	6.87	—	—	—
B	0	12	9.8E+06	1.09	6.99	—	—	—
B	0	21	1.2E+07	1.33	7.08	—	—	—
C	0	15	1.1E+07	1.22	7.04	—	—	—
D	0	7	1.3E+07	1.48	7.12	—	—	—
D	0	10	1.6E+06	0.18	6.21	—	—	—
E	0	3	1.3E+07	1.45	7.11	—	—	—
F	0	24	7.6E+06	0.85	6.88	—	—	—
G	0	16	9.6E+06	1.06	6.98	—	—	—
H	0	101	4.7E+06	0.52	6.67	—	—	—
			平均					
			9.0E+06					
A	5	1	1.5E+04	1.00	4.17	7.6E+03	0.88	3.88
A	5	19	2.3E+03	0.15	3.35	2.2E+03	0.26	3.35
C	5	6	4.7E+03	0.32	3.67	4.1E+03	0.48	3.61
D	5	20	4.1E+04	2.75	4.61	1.5E+04	1.75	4.18
E	5	4	7.3E+03	0.49	3.86	4.0E+03	0.46	3.60
F	5	18	1.8E+03	0.12	3.26	1.5E+03	0.17	3.18
F	5	25	3.5E+04	2.37	4.54	1.5E+04	1.74	4.18
G	5	2	1.7E+04	1.14	4.23	1.6E+04	1.80	4.19
G	5	5	1.8E+04	1.23	4.26	1.6E+04	1.85	4.20
H	5	102	6.2E+03	0.42	3.79	5.2E+03	0.60	3.72
H	5	104	1.3E+03	0.09	3.11	9.6E+02	0.11	2.98
			平均			平均		
			1.5E+04			8.6E+03		
A	7	27	7.3E+02	0.32	2.86	—	—	—
B	7	8	3.5E+03	1.56	3.54	2.9E+03	2.25	3.46
B	7	13	3.5E+02	0.16	2.54	1.6E+02	0.12	2.20
C	7	17	5.9E+02	0.26	2.77	—	—	—
D	7	26	9.5E+02	0.42	2.98	—	—	—
E	7	11	9.1E+03	4.04	3.96	1.2E+03	0.93	3.08
E	7	22	4.2E+03	1.87	3.62	9.0E+02	0.70	2.95
F	7	14	6.2E+02	0.28	2.79	—	—	—
G	7	23	1.5E+03	0.65	3.17	—	—	—
H	7	103	9.9E+02	0.44	3.00	—	—	—
			平均			平均		
			2.3E+03			1.3E+03		

：グラフスの検定はずれ値

：平均値との比の検定はずれ値

添付表 1-5 コリアンダー測定値検定結果

(グラフス検定, 平均値との比による検定)

機関	線量	試料番号	一般生菌 数結果 A (CFU / g)	A/AVE	logA	熱処理後 の一般生 菌数結果 B (CFU /g)	B / A v e	logB
A	0	13	6.5E+04	0.73	4.81	2.3E+04	1.12	4.36
A	0	15	6.9E+04	0.78	4.84	4.3E+04	2.06	4.63
A	0	25	4.1E+04	0.46	4.61	1.9E+04	0.91	4.28
B	0	20	1.3E+04	0.15	4.11	1.2E+04	0.58	4.08
B	0	22	1.7E+04	0.19	4.23	1.3E+04	0.63	4.11
C	0	1	9.0E+04	1.01	4.95	3.4E+04	1.64	4.53
D	0	16	6.0E+04	0.68	4.78	2.1E+04	1.01	4.32
F	0	2	4.3E+05	4.85	5.63	—	—	—
G	0	17	1.3E+04	0.14	4.10	1.0E+03	0.05	3.02
H	0	104	1.3E+04	0.15	4.11	1.1E+04	0.53	4.04
			平均			平均		
			8.9E+04		2.1E+04			
B	5	23	6.0E+01	0.13	1.78	—	—	—
B	5	24	1.2E+02	0.27	2.08	—	—	—
C	5	8	7.4E+01	0.16	1.87	—	—	—
C	5	9	1.1E+03	2.43	3.04	2.5E+02	0.66	2.40
D	5	5	1.3E+02	0.28	2.10	—	—	—
D	5	26	9.4E+01	0.21	1.97	—	—	—
E	5	21	2.4E+02	0.53	2.38	—	—	—
F	5	27	2.4E+03	5.31	3.38	5.1E+02	1.34	2.71
G	5	12	7.4E+01	0.16	1.87	—	—	—
H	5	102	2.3E+02	0.51	2.36	—	—	—
			平均			平均		
			4.5E+02			3.8E+02		
A	7	10	7.3E+01	0.30	1.87	—	—	—
C	7	14	6.6E+01	0.27	1.82	—	—	—
D	7	18	1.7E+02	0.69	2.23	—	—	—
E	7	3	1.6E+03	6.54	3.20	—	—	—
E	7	4	8.0E+01	0.33	1.90	—	—	—
F	7	7	5.6E+02	2.29	2.75	—	—	—
F	7	11	5.3E+01	0.22	1.72	—	—	—
G	7	6	2.0E+01	0.08	1.30	—	—	—
G	7	19	2.7E+00	0.01	0.43	—	—	—
H	7	101	6.0E+01	0.25	1.78	—	—	—
H	7	103	6.0E+00	0.02	0.78	—	—	—
			平均					
			2.4E+02					

: グラフスの検定はずれ値

: 平均値との比の検定はずれ値

放射線照射検知の微生物学的検知法に関する研究

(照射香辛料の微生物学的検知法の確立)

研究協力者 社団法人アイソトープ協会甲賀研究所 越川富比古

研究要旨

未照射及び照射香辛料の一般生菌数、 $\{ \log_{10}(\text{一般生菌数}) - \log_{10}(\text{熱処理後の一般生菌数}) \} = A$ 値及び一般生菌数に対する *B.megaterium* と *B.cereus* の存在率を指標として、照射の有無を検知する微生物学的方法の開発について検討した。一般生菌数が 10^5 cfu/g 以上の場合を非照射と判定した。次に一般生菌数が 10^3 から 10^5 cfu/g の場合は、更に A 値の評価と一般生菌数の同定を行った。A 値の評価として A 値が 0.1 以下は非照射、0.1 から 0.3 の場合は分からない、0.3 以上は照射と判定し、更に一般生菌数の同定結果から、一般生菌数に対する *B.megaterium* と *B.cereus* の存在率が 30% 以下のときは非照射、あるいは分からないと判定し、30% 以上の場合を照射と判定した。一般生菌数が 10^3 cfu/g 以下の場合も同様に A 値の評価と一般生菌数の同定を行い、一般生菌数に対する *B.megaterium* と *B.cereus* の存在率が 30% 以上の場合を照射と判定した。放射線抵抗性の強い *B.megaterium* と *B.cereus* の存在率の合計が高い割合を示した場合、香辛料が放射線照射された履歴があることを判明できる微生物学的検知法を確立した。

A 研究目的

香辛料を対象とした微生物学的な食品照射検知法の開発として、平成 19 年度の厚生労働科学研究において、5 種類の香辛料（黒胡椒、オールスパイス、オレガノ、セージ及びパプリカ）を用いて放射線照射により損傷を受けた微生物（特に芽胞）は、ある条件下での熱処理（70℃で 10 分間）によって感受性になる性質を利用した微生物学的検知法（熱処理法という）のスクリーニング法が確立された¹⁾。この方法において照射された場合の一次判定条件は、①一般生菌数（総菌数）が 10^3 cfu/g 以下であること。二次判定条件は、② $\log(\text{一般生菌数}) - \log(\text{熱処理菌数}) > 0.3$ を示す場合であった。照射された香辛料の種類によって一次判定条件のみで照射されたことと判定できたのはオールスパイスとオレガノであった。これらの香辛料の場合、二次判定条件を加えると更に照射されたことがより確実となった。黒胡椒では一次及び二次の両判定条件で照射されたことと判定できた。しかしながら、セージとパプリカの場合、セージでは一次判定条件で、パプリカでは 7 kGy 照射したものは一次判定条件で判定可能であったが、二次判定条件 2 を加味すると未照射試料でもこの条件に適合するものがあり、二次判定条件はこの場合に使用できないことが分

数) - log(熱処理菌数) > 0.3 を示す場合であった。照射された香辛料の種類によって一次判定条件のみで照射されたことと判定できたのはオールスパイスとオレガノであった。これらの香辛料の場合、二次判定条件を加えると更に照射されたことがより確実となった。黒胡椒では一次及び二次の両判定条件で照射されたことと判定できた。しかしながら、セージとパプリカの場合、セージでは一次判定条件で、パプリカでは 7 kGy 照射したものは一次判定条件で判定可能であったが、二次判定条件 2 を加味すると未照射試料でもこの条件に適合するものがあり、二次判定条件はこの場合に使用できないことが分

かった。熱処理法での判定基準の他に新たな判定基準を加味することによって照射判定をより確実にするために、照射香辛料の生残菌について検討した。生残菌は放射線抵抗性菌であると考えられるので、生残菌の菌種を把握し、生残菌の菌種が照射判定の三次基準として使用できるか否かについて検討した結果、生残菌の菌種として *B. megaterium*、*B. cereus* が照射判定の基準になる指標菌として使用できることが判明した(2,9)。

今年度は、照射有無の判定において信頼性のある検知法を確立することを目的として、6種類(黒胡椒、白胡椒、コリアンダー、ジンジャーホール、ターメリックフィンガー及びパプリカ)の香辛料を対象として、熱処理法と同定法を組合せた検知法の確立を行った。

B 実験方法

1. 未照射及び照射香辛料の一般生菌数及び熱処理後の一般生菌数測定

1) 供試材料

実験に供試した香辛料は未照射及び電子線で 3 kGy、5 kGy、あるいは 7 kGy 照射した黒胡椒(マレーシア産、インド産、ベトナム産)、白胡椒(マレーシア産)、コリアンダー(インド産、モロッコ産)、ジンジャーホール(インド産)、ターメリックフィンガー(インド産)及びパプリカ(スペイン産)である。

2) 菌の回収

未照射及び照射した香辛料を 10 g 秤量して、フィルター付きホモジナイザー袋に移し、0.05% Tween80 を含む 0.1% ペプトン水 100ml を加えた。バッグミキ

サーで 1 分間処理した(ストローク回数: 8回/秒)。

3) 未照射及び照射香辛料の一般生菌数及び加熱処理後一般生菌数の測定

未照射及び照射試料から回収した菌液を 10 倍の段階希釈後、各希釈液の 0.1ml を標準寒天培地に塗抹した。培養は 30°C で 3 ~ 5 日間行った。培養後、コロニーを計測し、一般生菌数とした。加熱処理後の一般生菌数は 70°C で 10 分間熱処理(70°C に菌液の温度が到達後、10 分間)後の菌数とした。

2. 未照射香辛料の耐熱菌数及び非耐熱菌数の測定 耐熱菌数は菌液を 70°C で 35 分間熱処理後の菌数とした。非耐熱菌数は総菌数から耐熱菌数を差し引いた菌数とした。

3. 未照射香辛料のグラム陰性菌数の測定 3)

1) 試薬・培地 3

ポリペプトンは日本製薬製、酵母エキスは Difco 製、肉エキスは入手できなかったため、ニュートリエントブロス(Difco 製)を代用した。ミルク寒天培地は Oxoid CM21 を使用した。Nisin は Sigma 製、ペニシリン G カリウム(1430 単位/mg)は和光純薬製、クリスタルバイオレットはナカライテスク製のものを使用した。

2) 培地の調製

① 希釈液

塩化ナトリウム 8.5 g、ポリペプトン 1 g を秤量し、蒸留水 1000ml に溶解し、試験管に 4.5ml ずつ分注し、121°C で 15 分間高圧蒸気滅菌した。

②ニュートリエント寒天培地 (NA 培地) EN145694) ではポリペプトン 5 g、肉エキス 1 g となっていたが、肉エキスが入手できなかったので、ニュートリエントブロス 8 g を代用した。酵母エキス 2 g、塩化ナトリウム 5 g 及び寒天末 15 g を秤量して、蒸留水 1000ml に溶解後、121°C で 15 分間高圧蒸気滅菌した。滅菌後、滅菌シャーレに 20ml ずつ分注し、平板培地を作成した。

③グラム陰性菌選択培地 (GNBSM 培地)

1) 基本培地

ミルク寒天培地 (Oxoid CM21) 24 g、Nisin 40mg を秤量し、蒸留水 997ml に溶解し、121°C で 15 分間高圧蒸気滅菌した。滅菌後、55°C の温浴で保温した。

2) クリスタルバイオレット溶液

クリスタルバイオレット 10mg を秤量し、蒸留水 10ml に溶解後、濾過滅菌し、滅菌した容器に保存した。この溶液を基本培地に 2ml 加えた。

3) ペニシリン G カリウム 溶液 (20,000IU/L)

ペニシリン G カリウム 280mg 秤量し、蒸留水 10ml に溶解後、濾過滅菌し、滅菌した容器に保存した。この溶液を基本培地に 1.2ml 加えた。

3) グラム陰性菌数の測定

バッグミキサーで処理した菌液を滅菌した 5ml のメスピペットで回収し、滅菌した試験管に移した。この菌液を 10 倍の段階希釈を行った。原液及び各希釈液について NA 培地の入ったシャーレ 4 枚に 0.1ml ずつ培地の上に塗布し、コンラージ棒で培地表面に塗布した。

シャーレ 4 枚の内 2 枚を総菌数測定用に用いた。残りの 2 枚はグラム陰性菌測定用とし、90 分間室温に置いた後、培地の上に GNBSM 培地 10ml を積層した。培養は 30°C で 3 日間行った。培養後、菌数を計測した。

4. 未照射香辛料の一般生菌数と照射香辛料の生残菌の同定

1) 未照射香辛料の一般生菌数と照射香辛料の生残菌の単離

バッグミキサーで処理した菌液を滅菌した 5ml のメスピペットで回収し、滅菌した試験管に移した。この菌液を標準寒天培地の入ったシャーレ各 3 枚に 0.1ml 及び 0.5ml ずつ培地の上に塗布し、コンラージ棒で培地表面に塗布した。培養は 30°C で 3~5 日間行った。培養後、コロニーの形態や色調を基に菌を釣菌し、ソイビーンカゼインダイジェスト寒天培地 (SCDA) に画線培養し、菌を単離した。

2) 単離菌のグラム染色性と位相差顕微鏡による観察 (5-6)

単離菌をグラム染色し、グラム染色性と菌の形態を調べた。また、位相差顕微鏡による観察で、芽胞形成菌であるか否かを芽胞の形成有無を基に識別した。芽胞形成菌である *B.cereus*、*B.megaterium*、*B.subtilis*、*B.pumilus*、*B.circulans* 及び *B.licheniformis* はコロニーや栄養型細胞の大きさ、芽胞の形や前駆芽胞の形成する位置に特徴があるので、この方法で識別した。

3. 同定キットによる同定 (7-8)

グラム陽性菌は BBL クリスタル G P 同

定キットを、グラム陰性菌はBBL クリスタルE/NF 同定キットを適用した。キットに接種する菌濃度は、グラム陽性菌がマックファーランド0.4～0.6、グラム陰性菌がマックファーランド0.3～0.4になるように調整した。キットに菌液を接種し、37℃で24時間培養し、BBL クリスタルオートリーダーで判定し、得られたプロファイル番号をコンピュータコードブック(検索ソフト)で菌名を検索した。

C 実験結果

1. 未照射香辛料の一般生菌数と細菌叢

未照射香辛料の一般生菌数とその細菌叢について調査した。細菌叢は耐熱菌数、非耐熱菌数及びグラム陰性菌数に分類して測定した。その結果を表1に示した。

1) 一般生菌数

未照射香辛料での一般生菌数は黒胡椒とターメリックフィンガーが 10^6 から 10^7 cfu/g 台、パプリカ及びコリアンダー(モロッコ産)が 10^6 cfu/g 台、ジンジャーホールが 10^5 cfu/g 台、コリアンダー(インド産)が 10^4 から 10^5 cfu/g 台、白胡椒が 10^4 cfu/g 台であった。

2) 耐熱菌数と非耐熱菌数

未照射香辛料では測定したすべての香辛料に耐熱性菌が存在していたが、その存在率は香辛料の種類によって異なっていた。特にモロッコ産のコリアンダーの場合は耐熱性菌(8.1～24.7%)よりも非耐熱性菌(75.3～91.9%)の存在率の方が多かった。

3) グラム陰性菌数

グラム陰性菌が存在した香辛料はパプリカ、コリアンダー(モロッコ産とインド産)、ジンジャーホール及びターメリックフィンガーであった。特にモロッコ産コリアンダーはグラム陰性菌数が 10^6 cfu/g 台であった。他の3種類の香辛料では 10^2 から 10^4 cfu/g 台であった。

2) 熱処理後の生菌数と $\log(\text{生菌数}) - \log(\text{熱処理後の菌数})$

香辛料が照射されたときの判定基準の一つとして、 $\log(\text{生菌数}) - \log(\text{熱処理後の菌数})$ の値(A値と略記した)が指標となる。表2に熱処理後の菌数とA値を示した。A値が0.1以下の場合が非照射と判定し、0.1から0.3のときは分からない、0.3以上は照射と判定する。A値の評価で非照射と判定できるか否かを検討した

結果、黒胡椒、ターメリックフィンガーと白胡椒は比較的的非照射と判定できたが、パプリカ、コリアンダー及びジンジャーホールはわからない、あるいは照射と評価され、A値の評価では非照射と判定できなかった。

2. 照射香辛料の一般生菌数(生残菌数)

香辛料を3kGy、5kGy及び7kGyを目標に電子線で照射した場合の生残菌数を表3に示した。7kGy照射した黒胡椒とジンジャーホールの生残菌数は 10^3 cfu/g 台に減少した。7kGy照射したパプリカ、モロッコ産コリアンダー及びターメリックフィンガーの生残菌数は 10^2 cfu/g 台に減少した。白胡椒で

表1 未照射香辛料の一般生菌数と細菌叢

香辛料の種類	産地	生菌数	生菌数耐熱菌数	生菌数耐熱菌数 (%)	非耐熱菌数 (%)	グラム陰性菌数
黒胡椒	マレーシア	2.93E+07	2.03E+07	69.3	30.7	0
		3.37E+07	2.23E+07	66.2	33.8	0
		1.72E+07	1.51E+07	87.8	12.2	0
	インド	6.37E+06	5.77E+06	90.6	9.4	0
		8.80E+06	7.17E+06	81.5	18.5	0
		6.37E+06	7.10E+06	111	0	0
	ベトナム	2.23E+07	3.73E+07	167	0	0
		7.47E+06	6.87E+06	92	8	0
		1.13E+07	6.63E+06	58.7	41.3	0
白胡椒	マレーシア	5.83E+04	3.73E+04	64	36	0
		3.70E+04	4.23E+04	114	0	0
		5.73E+04	4.77E+04	83.2	16.8	0
パプリカ	スペイン	4.83E+06	3.93E+06	81.4	18.6	2.53E+04
		4.63E+06	1.90E+06	41	59	1.20E+04
		4.87E+06	3.93E+06	80.7	19.3	1.87E+04
コリアンダー	モロッコ	3.00E+06	7.40E+05	24.7	75.3	1.02E+06
		5.53E+06	8.87E+05	16	84	1.61E+06
		2.53E+06	2.05E+05	8.1	91.9	1.40E+06
	インド	1.41E+05	1.82E+04	13	87	4.80E+04
		1.89E+04	1.12E+04	59.3	60.7	0
		2.13E+04	1.67E+04	78.4	21.6	0
		1.86E+04	1.03E+04	55.4	44.6	1.36E+04
		1.28E+05	9.10E+04	71.1	28.9	9.00E+02
		2.10E+04	6.30E+03	30	70	8.30E+02
2.05E+04	1.10E+04	53.7	46.3	0		
1.66E+04	1.46E+04	88	12	0		
ジンジャー	インド	5.33E+05	2.87E+05	53.8	46.2	2.30E+02
		6.26E+05	1.90E+05	30.4	69.6	0
		9.09E+05	4.68E+05	51.5	48.5	0
		1.74E+05	1.44E+04	83.1	16.9	0
ターメリック フィンガー	インド	5.78E+06	5.38E+06	93.1	6.9	5.40E+02
		1.04E+07	8.71E+06	83.8	16.2	4.31E+04
		1.75E+06	1.46E+06	83.3	16.7	1.06E+04

表2 未照射香辛料での熱処理後の生菌数と

$$\log(\text{生菌数}) - \log(\text{熱処理後の菌数})$$

香辛料の種類	産地	生菌数	熱処理後の生菌数	A値	A値の評価	未照射の判定
黒胡椒	マレーシア	2.93E+07	2.77E+07	0.025	非照射	適合
		3.37E+07	2.77E+07	0.086	非照射	適合
		1.72E+07	1.92E+07	-0.047	非照射	適合
	ベトナム	6.37E+06	4.80E+06	0.123	不明	不適合
		8.80E+06	8.03E+06	0.039	非照射	適合
		6.37E+06	6.00E+06	0.026	非照射	適合
	インド	2.23E+07	3.37E+07	-0.18	非照射	適合
		7.47E+06	8.20E+06	-0.041	非照射	適合
		1.13E+07	5.87E+06	0.284	不明	不適合
白胡椒	マレーシア	5.83E+04	4.33E+04	0.13	不明	不適合
		3.70E+04	4.33E+04	-0.068	非照射	適合
		5.73E+04	4.83E+04	0.083	非照射	適合
パプリカ	スペイン	4.83E+06	3.53E+06	0.136	不明	不適合
		4.63E+06	1.40E+06	0.52	照射	不適合
		4.87E+06	3.40E+06	0.157	不明	不適合
コリアンダー	モロッコ	3.00E+06	7.77E+05	0.587	照射	不適合
		5.53E+06	5.43E+05	1.008	照射	不適合
		2.53E+06	1.53E+05	1.218	照射	不適合
	インド	1.41E+05	1.87E+04	0.877	照射	不適合
		1.89E+04	1.30E+04	0.162	不明	不適合
		2.13E+04	1.61E+04	0.121	不明	不適合
		1.86E+04	1.13E+04	0.217	不明	不適合
		1.28E+05	8.90E+04	0.158	不明	不適合
		2.10E+04	1.07E+03	1.293	照射	不適合
		2.05E+04	1.65E+04	0.095	非照射	適合
1.66E+04	1.44E+04	0.062	非照射	適合		
ジンジャー	インド産	5.33E+05	3.30E+05	0.208	不明	不適合
		6.26E+05	3.37E+05	0.29	不明	不適合
		9.09E+05	5.62E+05	0.209	不明	不適合
		1.74E+05	1.67E+05	0.026	非照射	適合
ターメリック クフィン ガー	インド産	5.78E+06	5.85E+06	-0.005	非照射	適合
		1.04E+07	8.33E+06	0.096	非照射	適合
		1.75E+06	1.20E+06	0.164	不明	不適合

A値： $\log(\text{生菌数}) - \log(\text{熱処理後の生菌数})$

A値の判定：0.1以下は非照射と判定

0.1～0.3は不明と判定

0.3以上は照射と判定

表3 照射試料の生残菌数

香辛料	産地	吸収線量		
		3 k Gy	5 k Gy	7 k Gy
黒胡椒	マレーシア	3.97E+05	3.93E+04	1.15E+03
黒胡椒	インド	9.30E+04	3.17E+04	3.42E+03
黒胡椒	ベトナム	4.53E+05	6.33E+04	2.42E+03
白胡椒	マレーシア	5.54E+02	5.40E+01	0.00E+00
パプリカ	スペイン	9.57E+04	6.73E+03	7.60E+02
コリアンダー	モロッコ	9.10E+04	1.16E+04	3.40E+02
コリアンダー	インド	1.17E+03	2.60E+02	1.34E+01
ジンジャーホール	インド	8.19E+04	4.50E+03	1.06E+03
ターメリックフィンガー	インド	9.48E+04	5.74E+03	8.40E+02

表4 照射香辛料の生残菌数、熱処理後の菌数及び $\log(\text{生残菌数}) - \log(\text{熱処理後の菌数})$

香辛料	産地	照射線量	生残菌	数熱処理後の菌数	A値	A値の評価	照射の判定
黒胡椒	マレーシア	5 kGy	1.02E+05	7.23E+04	0.15	不明	不適合
		7 kGy	5.53E+03	2.10E+03	0.421	照射	適合
	インド	5 kGy	2.30E+04	9.00E+03	0.408	照射	適合
		7 kGy	2.17E+03	1.40E+03	0.19	不明	不適合
	ベトナム	5 kGy	6.63E+04	5.13E+04	0.112	不明	不適合
		7 kGy	1.03E+04	5.50E+03	0.273	不明	不適合
白胡椒	マレーシア	3 kGy	5.94E+02	2.86E+02	0.318	照射	適合
		5 kGy	6.00E+01	4.60E+01	0.115	不明	不適合
パプリカ	スペイン	5 kGy	6.83E+03	5.50E+03	0.094	不明	不適合
		7 kGy	9.00E+02	3.80E+02	0.374	照射	適合
コリアンダー	モロッコ	5 kGy	6.83E+03	3.40E+01	2.303	照射	適合
		7 kGy	4.00E+01	6.60E+00	0.782	照射	適合
	インド	3 kGy	3.50E+03	1.45E+03	0.383	照射	適合
		5 kGy	2.20E+03	1.17E+03	0.33	照射	適合
ジンジャーホール	インド	5 kGy	9.30E+02	6.70E+01	1.142	照射	適合
		7 kGy	5.54E+02	0.00E+00	2.744	照射	適合
ターメリックフィンガー	インド	5 kGy	1.08E+04	7.77E+03	0.143	不明	不適合
		7 kGy	1.52E+03	4.06E+02	0.573	照射	適合

A値： $\log(\text{生菌数}) - \log(\text{熱処理後の生菌数})$

A値の判定：0.1以下は非照射と判定

0.1～0.3は不明と判定

0.3以上は照射と判定

は5kGy 照射で101cfu/g 台に減少し、7kGy の照射では生残菌が検出されなかった。7kGy 照射したインド産コリアンダーは101cfu/g 台に減少した。

3 . 照射香辛料の生残菌の熱処理後の生菌数と $\log(\text{生菌数}) - \log(\text{熱処理後の菌数})$

香辛料が照射されたときの判定基準の一つとして、 $\log(\text{生菌数}) - \log(\text{熱処理後の菌数})$ の値 (A 値) が指標となる。表4に生残菌の熱処理後の菌数とA 値を示した。A 値が0.3 以上の場合を照射と判定し、0.1 から0.3 のときはわからない、0.1 以下は非照射と判定する。A 値の評価で照射と判定できるか否かを検討した結果、インド産コリアンダーは3kGy 及び5kGy で、モロッコ産は5kGy 及び7kGy で照射と判定できた。ジンジャーホールは5kGy 及び7kGy で照射と判定できた。

白胡椒は 3kGy で照射と判定できたが、5kGy ではわからないと判定された。ターメリックフィンガーは5kGy ではわからないと判定されたが、7kGy で照射と判定できた。黒胡椒とパプリカは殆どがわからないと判定された。

4 . 未照射香辛料の一般生菌数で主要な菌種と照射香辛料の生残菌の菌種の同定

1) マレーシア産黒胡椒

未照射香辛料の一般生菌数 (48 株) で主要な菌種は、*B.subtilis* (56%) と

B.pumilus (44%) であった。5kGy での生残菌 (39 株) の菌種は、*B.subtilis*

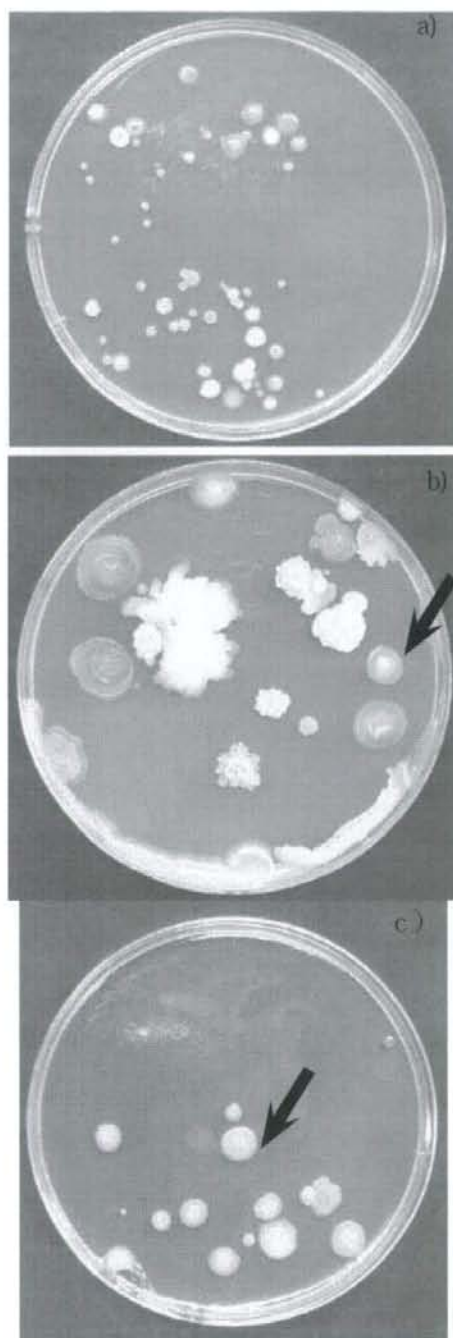


写真1 マレーシア産黒胡椒の未照射及び照射の一般生菌数のコロニー

a) 未照射のコロニー、b)5kGy 照射のコロニー、c)7kGy 照射のコロニー、矢印は *B.megaterium*

(48.7%)、*B. licheniformis* (12.8%)、*B. pumilus* (10.2%) 及び *B. megaterium* (28.2%) であった。7kGy での生残菌 (13 株) の菌種は、*B. subtilis* (46%)、*B. megaterium* (46%) 及び *B. cereus* (8%) であった (表5)。

写真1に未照射、5kGy 及び7kGy 照射のコロニーを示した。

2) インド産黒胡椒

未照射 香辛料の一般生菌数 (20 株) で主要な菌種は、*B. subtilis* (80%) と *B. pumilus* (20%) であった。5kGy での生残菌 (27 株) の菌種は、*B. subtilis* (59.3%)、*B. pumilus* (3.7%)、*B. cereus* (3.7%) 及び *B. megaterium* (33.3%) であった。7kGy での生残菌 (49 株) の菌種は、*B. subtilis* (16.3%) 及び *B. megaterium* (83.7%) であった (表5)。

写真2に未照射、5kGy 及び7kGy 照射のコロニーを示した。

3) ベトナム産黒胡椒

未照射 香辛料の一般生菌数 (25 株) で主要な菌種は、*B. subtilis* (80%) と *B. pumilus* (12%) 及び *B. megaterium* (8%) であった。5kGy での生残菌 (22 株) の菌種は、*B. subtilis* (63.6%)、*B. firmus* (4.5%)、*B. pumilus* (13.7%)、*B. licheniformis* (4.5%) 及び *B. megaterium* (13.7%) であった。7kGy での生残菌 (49 株) の菌種は、*B. subtilis* (33.3%) 及び *B. megaterium* (66.7%) であった (表5)。

写真3に未照射、5kGy 及び7kGy 照射のコロニーを示した。

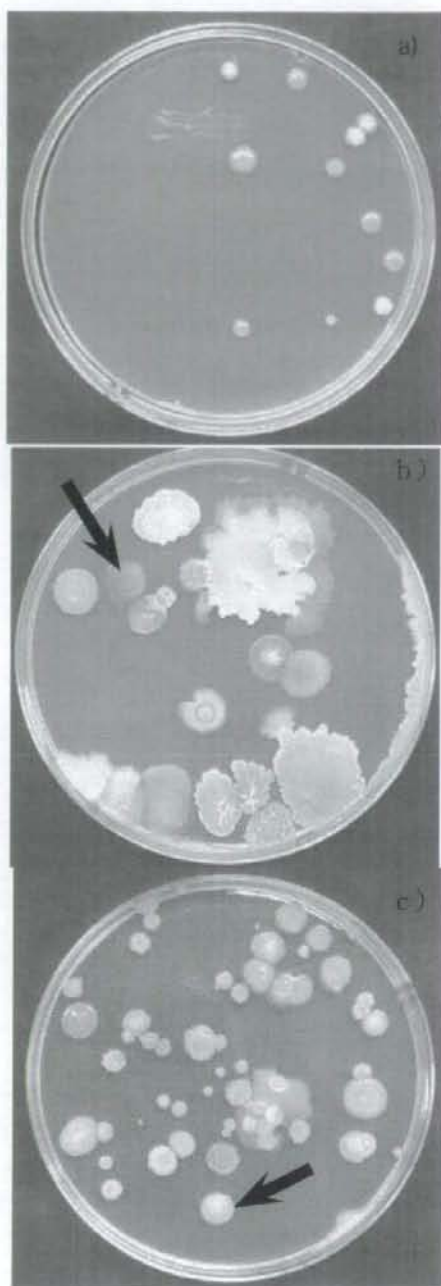


写真2 インド産黒胡椒の未照射及び照射の一般生菌数のコロニー

a) 未照射のコロニー、b) 5kGy 照射のコロニー、c) 7kGy 照射のコロニー、矢印は *B. megaterium*

表5 未照射黒胡椒での主要な菌種と照射黒胡椒での生残菌の菌種

産地	線量 kGy	菌 種						
		<i>B.subtilis</i> (%)	<i>B.pumilus</i> (%)	<i>B.licheniformis</i> (%)	<i>B.megaterium</i> (%)	<i>B.cereus</i> (%)	<i>B.firmus</i> (%)	<i>BM+BC</i> (%)
マレーシア	0	27株 (56)	21株 (44)	0株	0株	0株	0株	0
	5	19株 (48.7)	4株 (10.2)	5株 (12.8)	11株 (28.2)	0株	0株	28.2
	7	6株 (46)	0株	0株	6株 (46)	1株 (8)	0株	54
インド	0	16株 (80)	4株 (20)	0株	0株	0株	0株	0
	5	16株 (59.3)	1株 (3.7)	0株	9株 (33.3)	1株 (3.7)	0株	37
	7	8株 (16.3)	0株	0株	41株 (83.7)	0株	0株	83.7
ベトナム	0	20株 (80)	3株 (12)	0株	2株 (8)	0株	0株	8
	5	14株 (63.6)	3株 (13.7)	1株 (4.5)	3株 (13.7)	0株	1株 (4.5)	13.7
	7	6株 (33.3)	0株	0株	12株 (66.7)	0株	0株	66.7

BM:*B.megaterium*

BC:*B.cereus*