

写真3 ベトナム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*

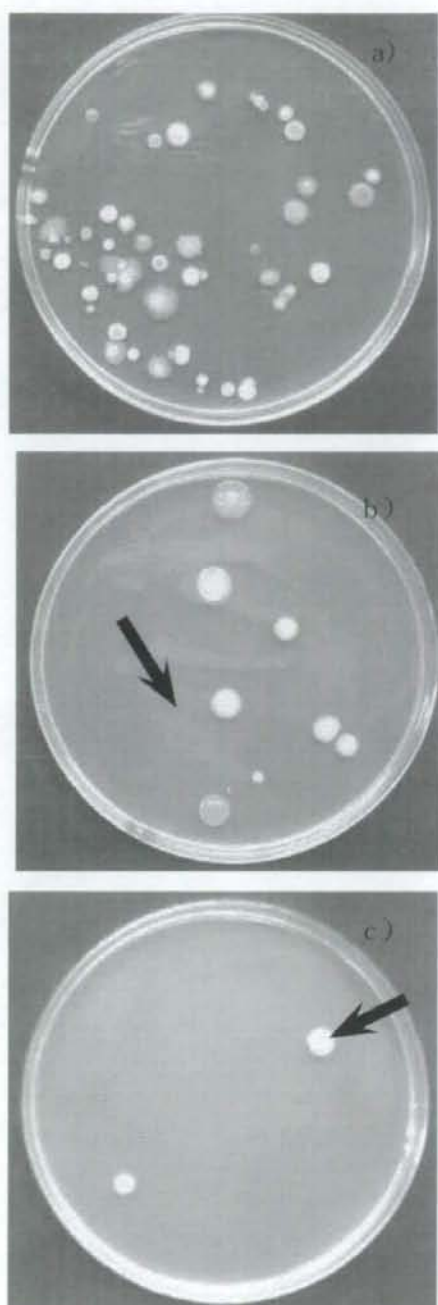


写真4 マレーシア産白胡椒の未照射及び照射の一般生菌数のコロニー

a) 未照射のコロニー, b) 3 kGy 照射のコロニー, c) 5 kGy 照射のコロニー、矢印は *B. megaterium*

表6 未照射白胡椒での主要な菌種と照射白胡椒での生残菌の菌種

産地	吸収 線量 kGy	菌 種					BM+BC (%)
		<i>B. subtilis</i> (%)	<i>B. pumilus</i> (%)	<i>B. megaterium</i> (%)	<i>B. cereus</i> (%)	<i>P. macerans</i> (%)	
マレー シア	0	43 株 (93.5)	2 株 (4.3)	0 株	0 株	1 株 (2.2)	0
	3	6 株 (33.3)	2 株 (11.1)	9 株 (50)	1 株 (5.6)	0 株	55.6
	5	0 株	1 株 (9.1)	10 株 (90.9)	0 株	0 株	90.9

表7 未照射パプリカでの主要な菌種と照射パプリカでの生残菌の菌種

産地	線量 kGy	菌 種					BM+BC (%)
		<i>B. subtilis</i> (%)	<i>B. pumilus</i> (%)	<i>B. licheniformis</i> (%)	<i>B. megaterium</i> (%)	<i>B. cereus</i> (%)	
ス ペ イン	0	20 株 (64.5)	8 株 (25.8)	3 株 (9.7)	0 株	0 株	0
	5	11 株 (61.1)	6 株 (33.3)	1 株 (5.6)	0 株	0 株	0
	7	26 株 (78.8)	4 株 (12.1)	0 株	3 株 (9.1)	0 株	9.1

4) 白胡椒

未照射香辛料の一般生菌数(46株)で主要な菌種は、*B.subtilis* (93.5%)と*B.pumilus* (4.3%)及び*P.macerans* (2.2%)であった。3kGyでの生残菌(18株)の菌種は、*B.subtilis* (33.3%)、*B.cereus* (5.6%)、*B.pumilus* (11.1%)、及び*B.megaterium* (50%)であった。

5kGyでの生残菌(11株)の菌種は、*B.pumilus* (9.1%)及び*B.megaterium* (90.9%)であった(表6)。写真4に未照射、3kGy及び5kGy照射のコロニーを示した。

5) パプリカ

未照射香辛料の一般生菌数(31株)で主要な菌種は、*B.subtilis* (64.5%)、*B.pumilus* (25.8%)及び*B.licheniformis* (9.7%)であった。5kGyでの生残菌(18株)の菌種は、*B.subtilis* (61.1%)、*B.licheniformis* (5.6%)及び*B.pumilus* (33.3%)であった。

7kGyでの生残菌(33株)の菌種は、*B.subtilis* (78.8%)、*B.pumilus* (12.1%)及び*B.megaterium* (9.1%)であった(表7)。

写真5に未照射、5kGy及び7kGy照射のコロニーを示した。

6) コリアンダー

モロッコ産の場合、未照射の一般生菌数(22株)で主要な菌種は、*B.subtilis* (27.3%)と*B.pumilus* (9.1%)、*B.licheniformis* (36.4%)、*B.circulans* (4.5%)、真菌(18.2%)及びグラム陰性菌の*P.agglomerans* (4.5%)であった。

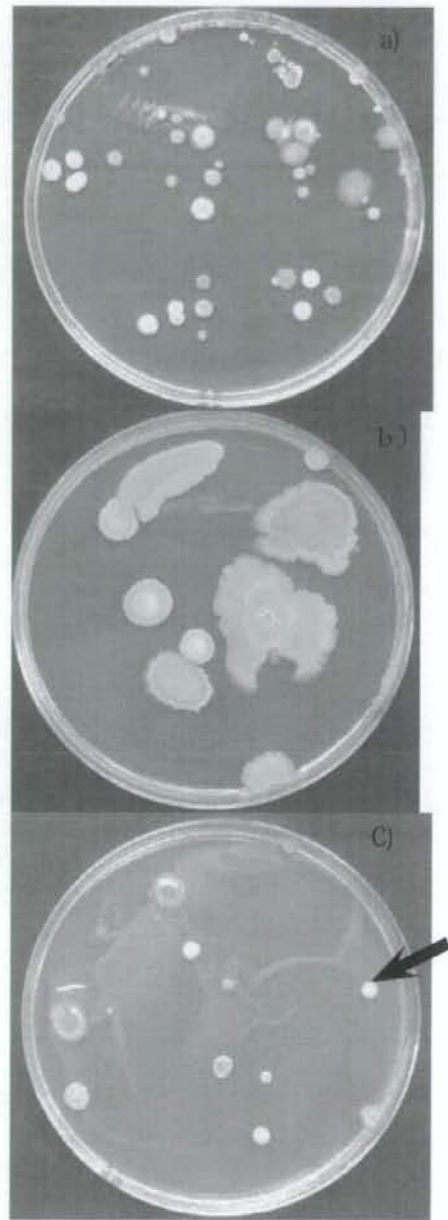


写真5 ス페인産パプリカの未照射及び照射の一般生菌数のコロニー

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*

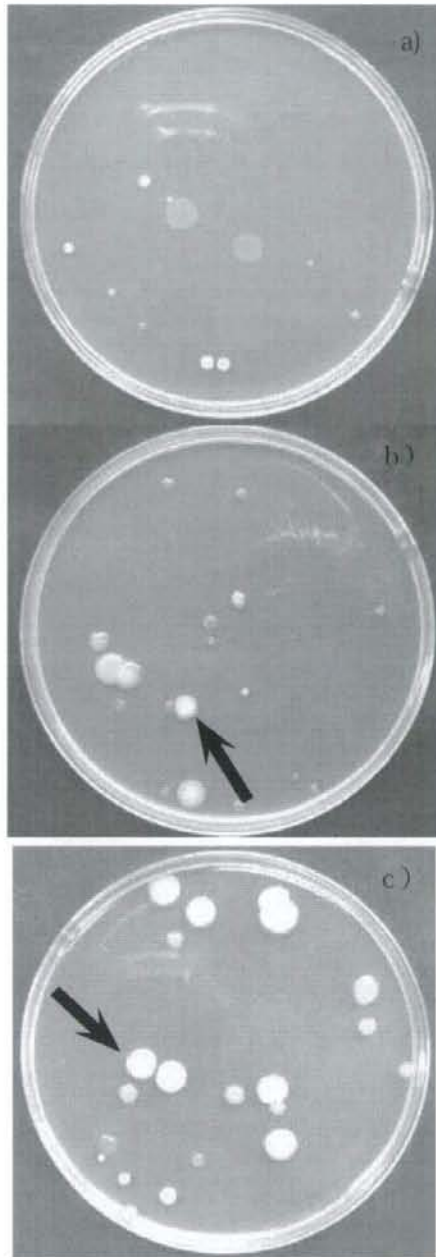


写真6-1 モロッコ産コリアンダーの未照射及び照射の一般生菌数のコロニー
 a) 未照射のコロニー, b) 5kGy 照射のコロニー, c) 7kGy 照射のコロニー、矢印は *B. megaterium* 黄色コロニーは *Pagglomerans*

5kGy での生残菌 (43 株) の菌種は、*B. subtilis* (7%)、*B. licheniformis* (4.7%)、*B. circulans* (7%)、*B. pumilus* (55.8%)、*B. megaterium* (14%)、*B. epiphytus* (4.6%) 及びグラム陰性菌の *Pagglomerans* (2.3%) と *A. lowoffi* (4.6%) であった。

7kGy での生残菌 (50 株) の菌種は、*B. licheniformis* (4%)、*B. pumilus* (4%)、*B. circulans* (2%)、*B. epiphytus* (4%)、*B. megaterium* (48%)、菌種不明 (2%) 及びグラム陰性菌の *Pagglomerans* (34%) と *E. hermannii* (2%) であった (表8)。

写真6-1に未照射、5kGy 及び7kGy 照射のコロニーを示した。

インド産の場合、未照射の一般生菌数 (34 株) で主要な菌種は、*B. licheniformis* (17.1%)、*B. subtilis* (26.5%)、*B. cereus* (11.8%)、*B. sphaericus* (2.9%)、*B. megaterium* (2.9%) 及びグラム陰性菌の *E. sakazaki* (4.5%) であった。

5kGy での生残菌 (43 株) の菌種は、*B. subtilis* (5%)、*B. megaterium* (52.5%)、*B. epiphytus* (5%)、*B. cereus* (12%) 及び *B. sphaericus* (7.5%) であった。

7kGy での生残菌 (2 株) の菌種は、*B. megaterium* (100%) であった (表8)。

写真6-2に未照射、5kGy 及び7kGy 照射のコロニーを示した。

7) ジンジャーホール

未照射 香辛料の一般生菌数 (13 株) で主要な菌種は、*B. pumilus* (46%)、*B. megaterium* (23%)、*B. brevis* (23%) 及び *B. subtilis* (8%) であった。

5kGy での生残菌 (46 株) の菌種は、*B. subtilis* (21.7%)、*B. licheniformis*

表8 未照射コリアンダーでの主要な菌種と照射コリアンダーでの生残菌の菌種

産地	モロッコ			
	線量 (kGy)	0	5	7
B. subtilis (%)	6株 (27.3)	3株 (7)	0株	
B. pumilus (%)	2株 (9.1)	24株 (55.8)	2株 (4)	
B. licheniformis (%)	8株 (36.4)	2株 (4.7)	2株 (4)	
B. megaterium (%)	0株	6株 (14)	24株 (48)	
B. circulans (%)	1株 (4.5)	3株 (7)	1株 (2)	
P. agglomerans (%)	1株 (4.5)	1株 (2.3)	17株 (34)	
A. .lwoffi (%)	0株	2株 (4.6)	0株	
真菌	4株	0株	0株	
B. epiphytus (%)	0株	2株 (4.6)	2株 (4)	
E. hermanii (%)	0株	0株	1株 (2)	
菌種不明 (%)	0株	0株	1株 (2)	
BM+BC (%)		0	14	48

産地	インド			
	線量 (kGy)	0	5	7
B. subtilis (%)	9株 (26.5)	2株 (5)	0株	
B. pumilus (%)	0株	0株	0株	
B. licheniformis (%)	16株 (47.1)	0株	0株	
B. megaterium (%)	1株 (2.9)	21株 (52.5)	2株 (100)	
B. cereus (%)	4株 (11.8)	12株 (30)	7	
B. sphaericus (%)	1株 (2.9)	3株 (7.5)	0株	
E. sakazaki (%)	3株 (8.8)	0株	0株	
B. epiphytus (%)	0株	2株 (5)	0株	
BM+BC (%)		14.7	82.5	100

表9 未照射ジンジャーホールでの主要な菌種と照射ジンジャーホールでの生残菌の菌種

産地	インド		
	線量	0	5
B. subtilis (%)	1株 (8)	10株 (21.7)	0株
B. pumilus (%)	6株 (46)	20株 (43.5)	14株 (82)
B. megaterium (%)	3株 (23)	9株 (19.6)	3株 (18)
B. brevis (%)	3株 (23)	0株	0株
B. licheniformis (%)	0株	7株 (15.2)	0株
BM+BC (%)	23	19.6	18

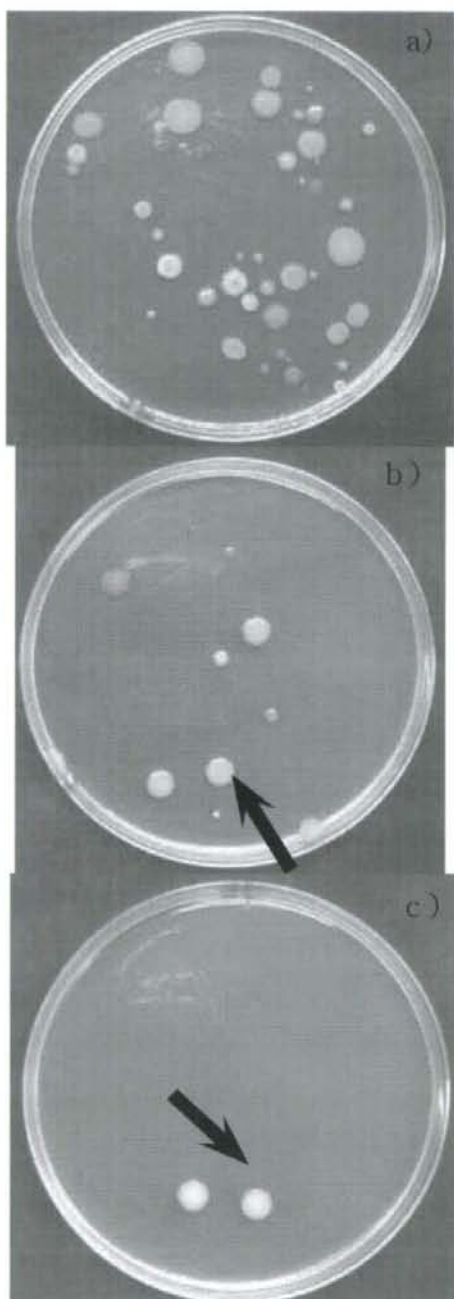


写真6-2 インド産コリアンダーの未照射及び照射の一般生菌数のコロニー
 a) 未照射のコロニー, b) 5kGy 照射のコロニー, c) 7kGy 照射のコロニー、矢印は *B. megaterium*

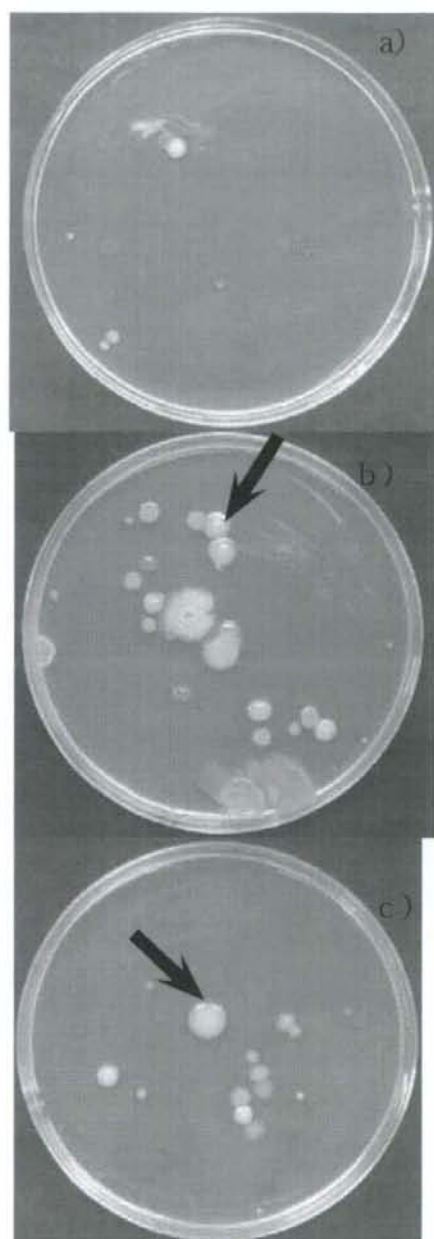


写真7 インド産ジンジャーホールの未照射及び照射の一般生菌数のコロニー
 a) 未照射のコロニー, b) 5kGy 照射のコロニー, c) 7kGy 照射のコロニー、矢印は *B. megaterium*

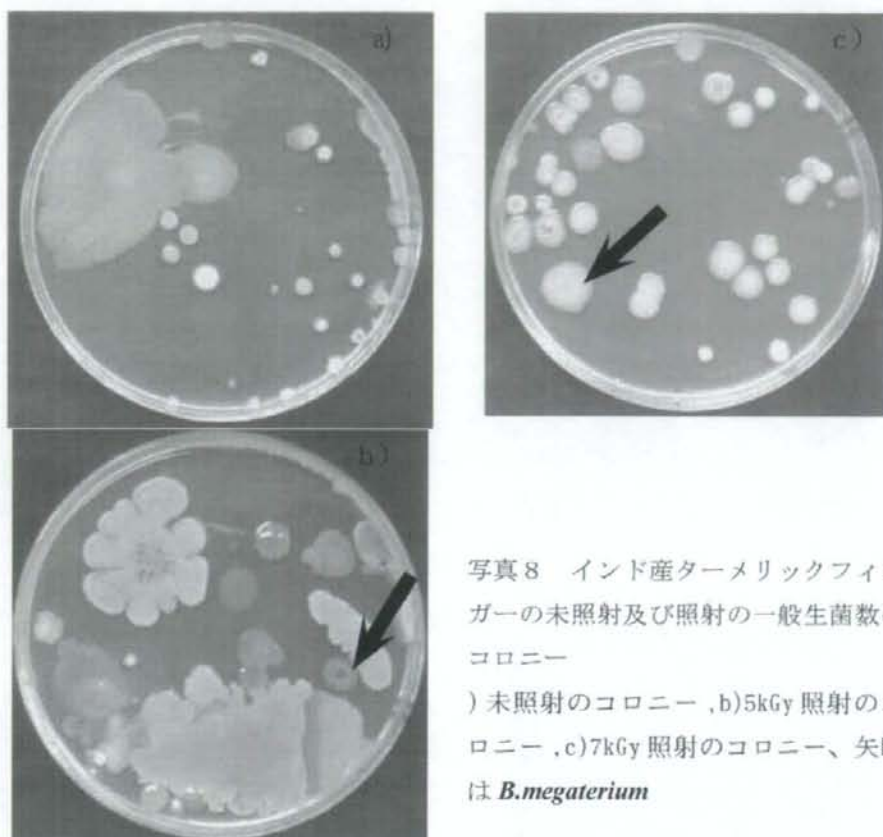
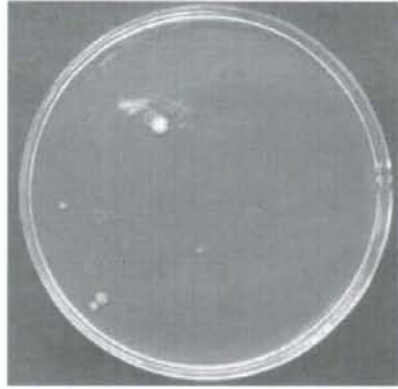
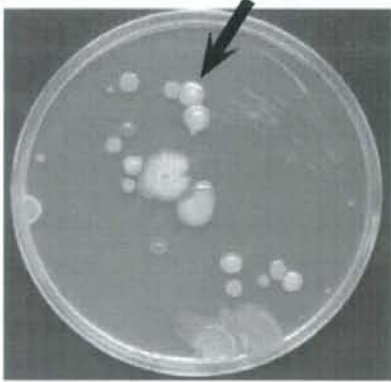


表 10 未照射ターメリックフィンガーでの主要な菌種と照射ターメリックフィンガーでの生残菌の菌種

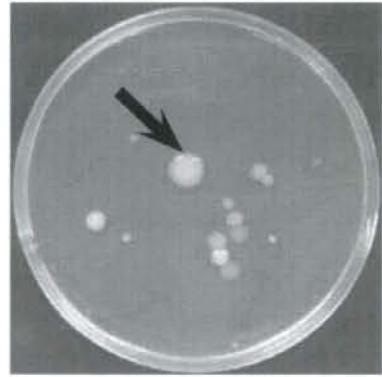
産地	インド		
	0	5	7
線量 (kGy)	0	5	7
<i>B. subtilis</i> (%)	0 25 株 (89.3)	9 株 (25.7)	0 株
<i>B. pumilus</i> (%)	1 株 (3.6)	11 株 (31.5)	0 株
<i>B. megaterium</i> (%)	0 株	2 株 (5.7)	17 株 (94)
<i>B. licheniformis</i> (%)	2 株 (7.1)	0 株	0 株
<i>E. sakazaki</i> (%)	0 株	6 株 (17.1)	0 株
<i>B. firmus</i> (%)	0 株	0 株	1 株 (6)
菌種不明 (%)	0 株	7 株 (20)	0 株
BM+BC (%)	0	5.7	94



未照射のコロニー



5 kGy 照射のコロニー



7 kGy 照射のコロニー

写真9 インド産ジンジャーフィンガーの未照射及び照射の一般生菌数のコロニー

矢印は *B. megaterium*

(15.2%)、

B.pumilus (43.5%) 及び *B.megaterium* (19.6%) であった。

7kGy での生残菌 (17 株) の菌種は、*B.pumilus* (82%) 及び *B.megaterium* (18%) であった (表 9)。写真 7 に未照射、5 kGy 及び 7 kGy 照射のコロニーを示した。

8) ターメリックフィンガー

未照射香辛料の一般生菌数 (28 株) で主要な菌種は、*B.subtilis* (89.3%)、*B.licheniformis* (7.1%) 及び *B.pumilus* (3.6%) であった。

5kGy での生残菌 (35 株) の菌種は、*B.subtilis* (25.7%)、*B.pumilus* (31.5%)、*B.megaterium* (5.7%)、グラム陰性菌の *E.sakazaki* (17.1) 及び菌種不明 (20%) であった。

7kGy での生残菌 (18 株) の菌種は、*B.firmus* (6%) 及び *B.megaterium* (94%) であった (表 10)。

写真 8 に未照射、5 kGy 及び 7 kGy 照射のコロニーを示した。

5. 照射香辛料の生残菌での *B.megaterium* 及び *B.cereus* のコロニーと位相差顕微鏡観察

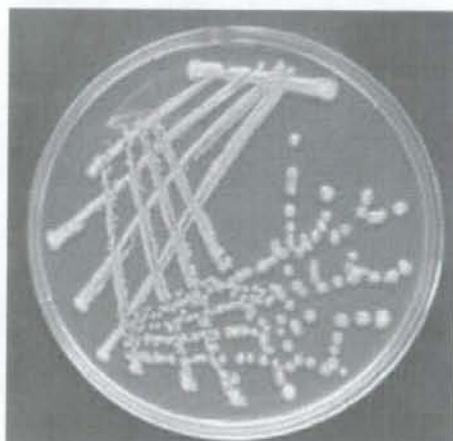
1) *B.megaterium*

照射香辛料の生残菌として検出された *B.megaterium* にはコロニーの色調から 2 種類のタイプが存在した。黄色コロニーのものと淡黄色ないしは白っぽいコロニーのものが存在した。グラム陽性桿菌で芽胞を形成する。コロニーの色調

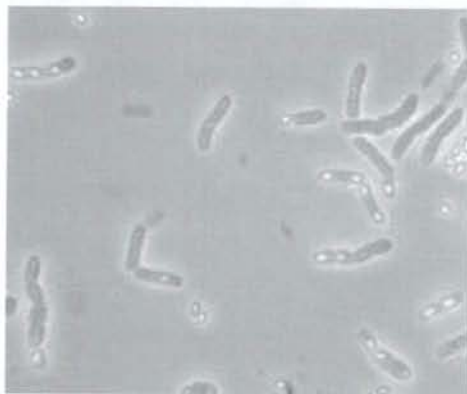
が黄色の場合、栄養型細胞が大きくて太い、幅 1.2 ~ 1.5 μm 、長さ 2 ~ 5 μm である。

芽胞形成期細胞で、前駆芽胞は先端の位置に形成され、膨化しない。芽胞の形は楕円形、または球形に近い形をしている。幅 1.2 ~ 1.5 μm 、長さ 1.6 ~ 1.8 μm である。コロニーの色調が白っぽい色の場合、栄養型細胞がチェーンのようにつながり、芽胞形成期細胞が *B.cereus* に類似している。芽胞の形はシリンダー型 (円筒形) をしていた。

①黄色コロニーのタイプ

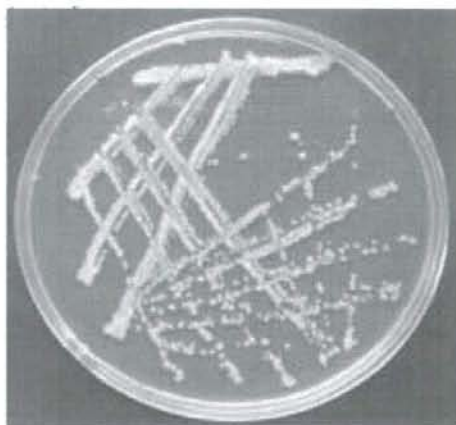


標準寒天培地でのコロニー



位相差顕微鏡観察 (倍率: 1000 倍)

② 淡黄色ないしは白っぽいコロニーの



標準寒天培地でのコロニー



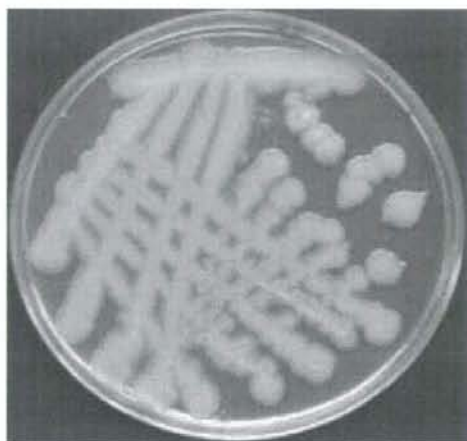
位相差顕微鏡観察 (倍率: 1000 倍)

2) *B.cereus*

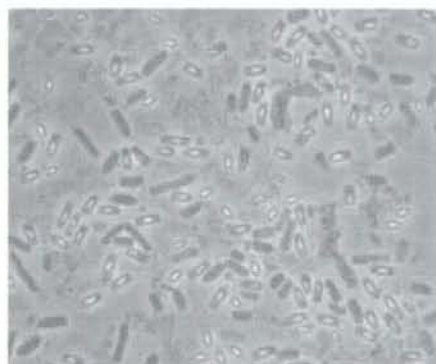
本菌は栄養型細胞と芽胞が大きいのが特徴である。栄養型細胞はチェーンのように連鎖する傾向があり、幅 $1 \sim 1.2 \mu\text{m}$ 、長さ $3 \sim 5 \mu\text{m}$ である。

芽胞形成期細胞で前駆芽胞は中央の位置に形成され、膨化しない。芽胞の形はシリンダー型 (円筒形) であるのが一般的であるが、楕円形をしているものもある。芽胞の大きさは、幅 $1 \sim 1.2 \mu\text{m}$ 、長さ $1.8 \sim 2.5 \mu\text{m}$ である。本菌のコロニーは拡散する傾向があり、色調は白っぽいクリーム色をしている。コロ

ニーは不透明で盛り上がり、光沢がある。表面にシワのあるものもある。



標準寒天培地でのコロニー



位相差顕微鏡観察 (倍率: 1000 倍)

6. 照射香辛料の生残菌での *B.megaterium* 及び *B.cereus* の存在率放射線抵抗性の強い菌種の芽胞は *B.megaterium*、*B.cereus* 及び *B.pumilus* であるが、*B.pumilus* はインド産コリアンダーを除いて未照射香辛料の一般生菌数中にも存在し、存在比率は $3.6 \sim 46\%$ であったので、照射判定の指標菌としては使用できなかった。未照射香辛料の

表 1 1 未照射及び照射香辛料での *B. pumilus*、*B. megaterium* 及び *B. cereus* の存在比率

香辛料	産地	線量 k Gy	<i>B. pumilus</i>	<i>B. megaterium</i>	<i>B. cereus</i>	BM + BC
黒胡椒	マレーシア	0	44	0	0	-
		5	10.2	28.2	0	28.2
		7	0	46	8	54
	インド	0	20	0	0	-
		5	3.7	33.3	3.7	37
		7	0	83.7	0	83.7
	ベトナム	0	12	8	0	-
		5	13.7	13.7	0	13.7
		7	0	66.7	0	66.7
白胡椒	マレーシア	0	4.3	0	0	-
		5	11.1	50	5.6	55.6
		7	9.1	90.9	0	90.9
パプリカ	スペイン	0	4.3	0	0	-
		5	33.3	0	0	0
		7	12.1	9.1	0	9.1
コリアンダー	モロッコ	0	9.1	0	0	-
		5	55.8	14	0	14
		7	4	48	0	48
	インド	0	0	2.9	11.8	-
		5	0	52.5	30	82.5
		7	0	100	0	100
ジンジャー ホール	インド	0	46	23	0	-
		5	43.5	19.6	0	19.6
		7	82	18	0	18
ターメリック フィンガー	インド	0	3.6	0	0	-
		5	31.5	5.7	0	5.7
		7	0	94	0	94

ジンジャーホールでの *B. megaterium* の存在率は 23%であったが、他の香辛料での存在率は比較的少なかった。未照射香辛料のインド産コリアンダーでの *B. cereus* の存在率が 11.8%であったが、他の未照射香辛料では存在しなかった。5kGy 照射されたインド産コリアンダーでの *B. cereus* の存在率は 30%に上昇していたが、他の照射香辛料の生残菌の中の *B. cereus* の存在比率は 10%未満であった。照射されることにより *B. megaterium*

の存在比率が上昇する傾向が認められるので、*B. megaterium* の存在比率が照射判定の指標になることが判明した(表 1 1)。しかしながら、5kGy 照射されたインド産コリアンダーでの *B. cereus* の存在比率の上昇も考慮して、照射の判定には *B. megaterium* 及び *B. cereus* の存在比率の合計を指標とした。また、未照射ジンジャーホールでの *B. megaterium* の存在比率が 23%であったので、*B. megaterium* 及び *B. cereus* の存在比率

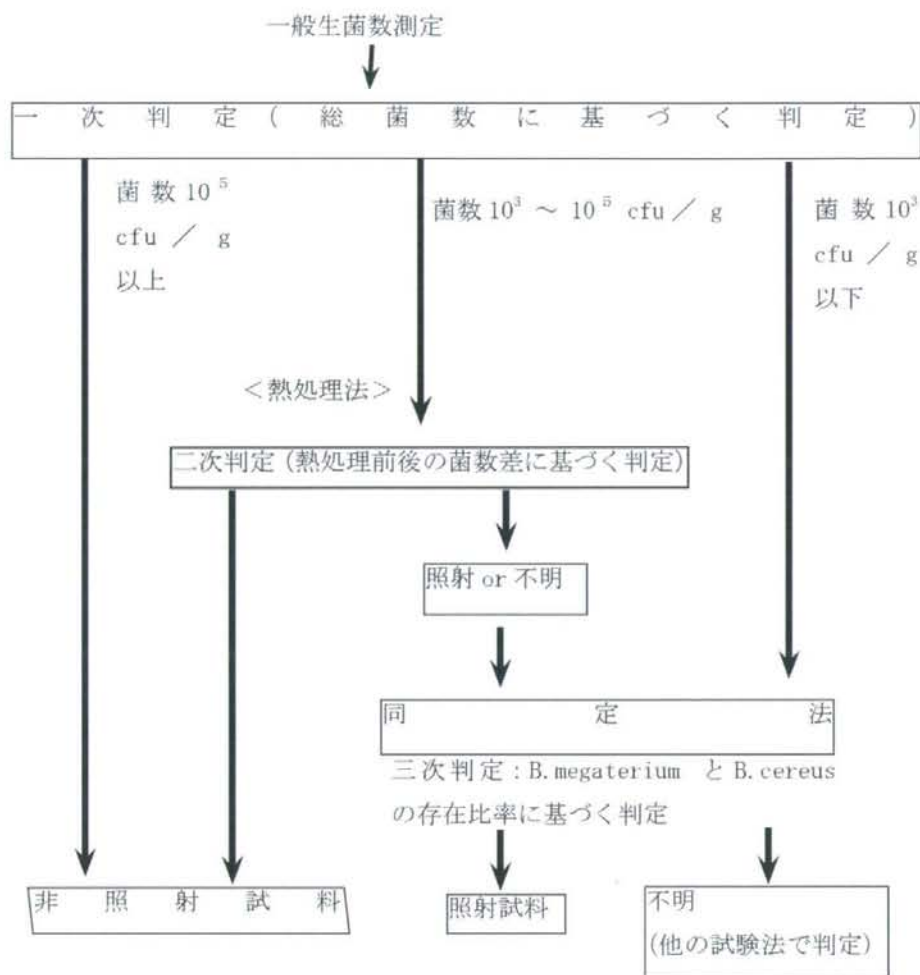


図1 香辛料の検知法の手順

の合計が30%以上の場合を照射の判定基準とした。

B. megaterium 及び *B. cereus* の存在比率は、一般生菌数測定でのシャーレ1枚当りのコロニー数が20個以上の場合は1枚のシャーレを対象とした。シャーレ1枚当りのコロニー数が20個以下の場合、3枚のシャーレを対象とした。

7. 香辛料の検知法の確立

1) 未照射香辛料の判別

未照射香辛料を非照射と判別するための条件は、一般生菌数の菌数レベルである(一次判定)。表1に示したように黒胡椒、パプリカ、モロッコ産コリアンダー、ジンジャーホール及びターメリックフィンガーは 10^5 cfu/g 以上であった。白胡椒及びインド産コリアン

ダーの一般生菌数は 10^4 cfu/g であった。また、5kGy 照射した場合の一般生菌数は 10^2 g ~ 10^4 cfu/g のレベルであり、未照射の白胡椒及びインド産コリアンダーの一般生菌数がこのレベルに属するので、白胡椒及びインド産コリアンダーは未照射、あるいは照射されたものの識別ができない。しかしながら、他の香辛料の一般生菌数が 10^5 cfu/g 以上であったものを未照射（あるいは非照射）とする基準を設定した。この基準を適用することにより、二次判定の A 値 [$\log(\text{一般生菌数}) - \log(\text{熱処理後の菌数})$] が 0.3 以上を示した未照射香辛料の場合には、照射と誤判定することが回避できる利点がある。即ち、一般生菌数が 10^5 cfu/g 以上であった場合を未照射（あるいは非照射）香辛料と判定する。

2) 照射香辛料の判別

照射香辛料を照射と判定する条件は、一般生菌数の菌数レベルである（一次判定）。表 4 に示したように 3 ~ 7kGy 照射した香辛料では、一般生菌数が 10^3 cfu/g 以下のものを照射と判定する基準を設定した。熱処理法での照射の確認には、A 値の評価（二次判定）で 0.3 以上の値を示すものを照射とし、0.1 ~ 0.3 の範囲を示したものを分からないと判定した。両者の場合の最終的な照射判定は、一般生菌数の同定を行い、新に三次判定として *B.megaterium* 及び *B.cereus* の存在比率の合計が 30% 以上の場合を照射と判定する基準を設定した。

3) 未照射あるいは照射の判別が分からない香辛料

一般生菌数が 10^4 cfu/g 台であった未照射の白胡椒及びインド産コリアンダーの場合と照射後の一般生菌数が 10^3 ~ 10^5 cfu/g レベルの香辛料がこのグループに該当する。この場合も熱処理法での照射有無の確認には、A 値の評価（二次判定）で 0.3 以上の値を示すものを照射と判定し、0.1 ~ 0.3 の範囲を示したものを分からないと判定した。両方の場合も最終的な判定は、一般生菌数の同定を行い、三次判定である *B.megaterium* 及び *B.cereus* の存在比率の合計が 30% 以上の場合を照射と判定する。

以上の一次判定、二次判定及び三次判定結果を考慮して香辛料の検知法を確立し、その手順概略を図 1 に示した。

4) 香辛料の検知法の手順

[手順 1]

一般生菌数及び 70°C 10 分間熱処理後の菌数を測定する。

[手順 2]

① 一般生菌数が 10^5 cfu/g 以上の場合、未照射（あるいは非照射）と判定する。

② 一般生菌数が 10^3 ~ 10^5 cfu/g の場合、手順 1 の A 値 [$\log(\text{一般生菌数}) - \log(\text{熱処理後の菌数})$] を評価し、一般生菌数の同定（手順 3 と 4 へ進む）を行う。

③ 一般生菌数が 10^3 cfu/g 以下の場合、手順 1 の A 値 [$\log(\text{一般生菌数}) - \log(\text{熱処理後の菌数})$] を評価し、一般

生菌数の同定（手順3と4へ進む）を行う。

[手順3]

一般生菌数の同定では、菌を分離培養し、単離菌について位相差顕微鏡観察（グラム染色）して *B.megaterium* 及び *B.cereus* に該当する菌を検索する。

B.megaterium 及び *B.cereus* に該当する菌が判明したら、BBL クリスタル GP 同定システムを用いて同定する。

[手順4]

一般生菌数に対する *B.megaterium* 及び *B.cereus* の菌数の存在比率の合計が30%以上の場合、照射と判定する。照射と判定された場合は確実に放射線照射の履歴が確定される。

両菌種の存在比率は、一般生菌数測定でのシャーレ1枚当りのコロニー数が20個以上の場合には1枚のシャーレを対象とする。シャーレ1枚当りのコロニー数が20個以下の場合には3枚のシャーレ

を対象とする。

8. 確立した香辛料の検知法の検証

確立した香辛料の検知法を適用して、未知試料を用いて検知法の検証を5種類の香辛料（黒胡椒、白胡椒、コリアンダー、ジンジャー及びターメリックフィングー）について実施した。

1) 黒胡椒

黒胡椒の検証結果を表12に示した。試料番号3は一次判定の一般生菌数が 10^5 cfu/g 以上であったので非照射と判定された。また、二次判定のA値の評価でも非照射と判定された。

試料番号19では一次判定の一般生菌数が 10^3 cfu/g 以下であり、二次判定のA値の評価では分からないと判定されたが、三次判定の *B.megaterium* と *B.cereus* の存在比率の合計が63.3%であったので、照射と判定された。

試料番号12では一般生菌数が 10^3 cfu/g 台であり、A値の評価では分

表12 黒胡椒での確立した検知法の検証

試料番号	3	12	19	21
一般生菌数 A (cfu/g)	8.27E+06	9.40E+03	8.94E+02	2.77E+04
一次判定	非照射	△	○	△
熱処理菌数 B (cfu/g)	8.74E+06	5.33E+03	4.74E+02	1.27E+04
log A - log B	-0.024	0.246	0.276	0.337
二次判定	×	△	△	○
<i>B.megaterium</i> 菌数	N/A	28	19	13
<i>B.cereus</i> 菌数	N/A	0	0	0
総菌数	N/A	28	30	21
BM+BC の総菌数に対する割合 (%)		100	63.3	61.9
三次判定	非照射	照射	照射	照射

一次及び二次判定の注：BM：*B.megaterium*；可能性あり；△：どちらとも判定できない
生菌数が 10^5 cfu/g 以上；非照射

BC：*B.cereus*；○：照射されている；×：非照射と判定される；一般

表13 白胡椒での確立した検知法の検証

試料番号	8	19	25	26
一般生菌数 A (cfu/g)	4.00E+01	4.00E+01	4.93E+04	4.14E+02
一次判定	○	○	△	○
熱処理菌数 B (cfu/g)	0.00E+00	6.60E+00	2.72E+04	2.94E+02
log A - log B	1.602	0.783	0.258	0.149
二次判定	○	○	△	△
<i>B.megaterium</i> 菌数	5	4	1, 1, 0	8, 7, 1, 1
<i>B.cereus</i> 菌数	0	0	0	0
総菌数	6	6	58, 42, 48	20, 19, 23
BM+BCの総菌数に対する割合 (%)	83.3	66.7	0 ~ 2.4	30.8 ~ 47.8
三次判定	照射	照射	非照射	照射

一次及び二次判定の注：BM：*B.megaterium*；BC：*B.cereus*；○：照射されている可能性あり；△：どちらとも判定できない；×：非照射と判定される；一般生菌数が 10^5 cfu/g 以上：非照射

からないと判定されたが、三次判定の *B.megaterium* と *B.cereus* の存在比率の合計が100%であったので、照射と判定された。

試料番号 21 では一般生菌数が 10^4 cfu/g 台であり、A値の評価では照射されている可能性がありと判定された。三次判定の *B.megaterium* と *B.cereus* の存在比率の合計が61.9%であったので、照射と判定された。

2) 白胡椒

白胡椒の検証結果を表13に示した。

試料番号 25 は一次判定の一般生菌数が 10^4 cfu/g 台であり、二次判定のA値の評価でも分からないと判定され、照射の有無の判定ができなかったが、三次判定の *B.megaterium* と *B.cereus* の存在比率の合計が0~2.4%であったので、非照射と判定された。

試料番号 8 と 19 は一般生菌数が 10^1 cfu/g 台であり、A値の評価でも照射されている可能性がありと判定された。更

に三次判定の *B.megaterium* と *B.cereus* の存在比率の合計が、それぞれ83.3%、66.7%であったので照射と判定された。

試料番号 26 は一般生菌数が 10^2 cfu/g 台であったが、A値の評価は分からないと判定された。三次判定の *B.megaterium* と *B.cereus* の存在比率の合計が、30.8~47.8%であったので照射と判定された。

3) ジンジャーホール

ジンジャーホールの検証結果を表14に示した。

試料番号 4 は一次判定の一般生菌数が 10^5 cfu/g 以上であったので非照射と判定された。また、二次判定のA値の評価でも非照射と判定された。

試料番号 5 は一般生菌数が 10^3 cfu/g 台であり、A値の評価では照射された可能性がありと判定された。しかしながら、三次判定の *B.megaterium* と *B.cereus* の存在比率の合計が、0.8~

表14 ジンジャーホールでの確立した検知法の検証

試料番号	4	5	19
一般生菌数 A (cfu/g)	9.57E+05	1.99E+03	1.14E+02
一次判定	非照射	△	○
熱処理菌数 B (cfu/g)	8.38E+05	7.60E+02	2.60E+01
log A - log B	0.058	0.417	0.642
二次判定	×	○	○
B. megaterium 菌数	NA	1, 1, 1	6
B. cereu 菌数	NA	0	0
総菌数	NA	9 1, 1 2 5, 8 2	17
BM+BC の総菌数に対する割合 (%)	NA	0.8 ~ 1.2	35.5
三次判定	非照射	非照射	照射

一次及び二次判定の注：BM：*B. megaterium*；BC：*B. cereus*；○：照射されている可能性あり；△：どちらとも判定できない；×：非照射と判定される；一般生菌数が 10^5 cfu/g 以上：非照射

1.2%であったので非照射と判定された。

試料番号 19 は一般生菌数が 10^2 cfu/g 台であり、A値の評価でも照射された可能性がありと判定された。更に三次判定の *B. megaterium* と *B. cereus* の存在比率の合計が、35.5%であったので照射と判定された。

4) ターメリックフィンガー

ターメリックフィンガーの検証結果を表15に示した。

試料番号7は一次判定の一般生菌数が 10^5 cfu/g 以上であり、二次判定のA値の評価では照射されている可能性ありと判定されたが、一般生菌数が 10^7 cfu/g 台であったので非照射と判定し

表15 ターメリックフィンガーでの確立した検知法の検証

試料番号	7	10	20	26
一般生菌数 A (cfu/g)	1.33E+07	1.62E+06	4.07E+04	9.54E+02
一次判定	非照射	非照射	△	○
熱処理菌数 B (cfu/g)	5.70E+06	1.48E+06	1.51E+04	4.00E+02
log A - log B	0.368	0.031	0.431	0.377
二次判定	○	×	○	○
B. megaterium 菌数	NA	NA	4, 3, 4	22
B. cereu 菌数	NA	NA	0	0
総菌数	NA	NA	4 6, 4 0, 3 6	33
BM+BC の総菌数に対する割合 (%)	NA	NA	7.5 ~ 11.1	66.7
三次判定	非照射	非照射	非照射	照射

一次及び二次判定の注：BM：*B. megaterium*；BC：*B. cereus*；○：照射されている可能性あり；△：どちらとも判定できない；×：非照射と判定される；一般生菌数が 10^5 cfu/g 以上：非照射

た。

試料番号 10 は一般生菌数が 10^5 cfu/g 以上であり、A 値の評価でも非照射と判定された。

試料番号 20 は一般生菌数が 10^4 cfu/g 台であり、A 値の評価では照射されている可能性ありと判定された。しかしながら、三次判定の *B.megaterium* と *B.cereus* の存在比率の合計が、7.5 ~ 11.1% であったので非照射と判定された。

試料番号 26 は一般生菌数が 10^2 cfu/g 台であり、A 値の評価でも照射されている可能性ありと判定された。更に三次判定の *B.megaterium* と *B.cereus* の存在比率の合計が、66.7% であったので照射と判定された。

5) コリアンダー

コリアンダーの検証結果を表 16 に示した。

試料番号 5 と 18 は一次判定の一般生菌数が 10^2 cfu/g 台であり、二次判定

の A 値の評価でも照射されている可能性ありと判定された。更に三次判定の *B.megaterium* と *B.cereus* の存在比率の合計が、それぞれ 73.7%、60% であったので照射と判定された。

試料番号 16 は一般生菌数が 10^4 cfu/g 台であり、A 値の評価では照射されている可能性ありと判定された。しかしながら、三次判定の *B.megaterium* と *B.cereus* の存在比率の合計が、8.3 ~ 13.2% であったので非照射と判定された。

試料番号 26 は一般生菌数が 10^1 cfu/g 台であり、A 値の評価でも照射されている可能性ありと判定された。更に三次判定の *B.megaterium* と *B.cereus* の存在比率の合計が、それぞれ 71.4% であったので照射と判定された。

D 考察

1. 香辛料の検知法を確立するための判定基準の設定
香辛料の微生物学的検知法の開発研究

表 16 コリアンダーでの確立した検知法の検証

試料番号	5	16	18	26
一般生菌数 A (cfu/g)	1.26E+02	6.03E+04	1.70E+02	9.40E+01
一次判定	○	△	○	○
熱処理菌数 B (cfu/g)	3.40E+01	2.08E+04	4.00E+01	4.60E+01
log A - log B	0.569	0.462	0.628	0.31
二次判定	○	○	○	○
<i>B.megaterium</i> 菌数	11	3, 2, 2	3	10
<i>B.cereus</i> 菌数	3	3, 4, 5	0	0
総菌数	19	5, 6, 7, 2, 5, 3	5	14
BM+BC の総菌数に対する割合 (%)	73.7	8.3 ~ 13.2	60	71.4
三次判定	照射	非照射	照射	照射

一次及び二次判定の注：BM：*B.megaterium*；BC：*B.cereus*；○：照射されている可能性あり；△：どちらとも判定できない；×：非照射と判定される；一般生菌数が 10^5 cfu/g 以上：非照射

が行われ、平成19年度に一次判定として一般生菌数の菌数範囲を基準にし、更に70℃で10分間熱処理後の菌数求め、二次判定として $\log(\text{一般生菌数}) - \log(\text{熱処理後の菌数}) = A$ 値を算出し、A値の評価により照射の有無を判定する熱処理法がスクリーニング法として開発された1)。

更に照射香辛料の生残菌は放射線抵抗性が強いと考えられ、これらの菌種が照射判定の指標菌として採用できるか否かを検討した結果、*B. megaterium*、*B. cereus*、*B. pumilus*等の放射線抵抗性の強い菌9)が照射判定の指標菌として適用できることが判明した(同定法2))。

今年度は熱処理法と同定法を組合せた検知法の確立を行った。

この検知法の確立に当って、未照射香辛料を非照射と判定でき、更に熱処理法でのA値(二次基準)の評価で0.3以上の値を示した場合に照射された可能性がありと判定されるので、未照射香辛料が照射と誤判定されないことが必要であった。

次に表1に示した未照射香辛料の一般生菌数とその細菌叢の調査、更に表2に示したA値の測定とその評価結果を解析した結果、一般生菌数のレベルに基準を設定することで、未照射香辛料のA値の評価において照射と誤判定されることが回避できた。即ち、一般生菌数が 10^5 cfu/g以上であった場合を非照射とする基準を設定した。照射の有無の判定においての一次基準を一般生菌数レベルとし

た。

Sri Bagiawati10)らは、26種類の未照射香辛料中24種類について生菌数を測定した結果を報告した。生菌数のレベルは $10^2 \sim 10^7$ cfu/gであった。生菌数が一般生菌数熱処理菌数*B. megaterium* *B. cereus* 総菌数 10^5 cfu/g以上が9種類、 10^4 台が10種類、 10^3 台が4種類、 10^2 台が1種類であった。

次に一般生菌数のレベルが 10^3 cfu/g以下の場合、照射された可能性が十分にあるので、A値(二次基準)の評価を行い、更に一般生菌(生残菌)の菌種の同定を実施した。その結果(表5～表11)、新に三次基準として*B. megaterium*と*B. cereus*の存在比率が30%以上を示した場合を照射と判定する基準を設定した。この三次基準により、確実に照射された履歴があることが証明できた。

一般生菌数のレベルが $10^3 \sim 10^5$ cfu/gにある場合は、未照射と照射された香辛料が存在する菌数のレベルである。この場合は二次基準のA値の評価を行い、更に一般生菌(生残菌)の菌種の同定を行い、三次基準である*B. megaterium*と*B. cereus*の存在比率を指標にすることで、照射の有無の判定ができた。即ち、三次基準では30%以下は非照射、30%以上が照射と判定する。

以上の三つの判定基準を設定することにより、香辛料の微生物学的検知法を確立することができた。

2. 確立した検知法での照射判定ができる香辛料と照射範囲

1) 一次、二次及び三次判定基準の適

表17 三次基準で照射判定ができる香辛料と照射線量

線量 kGy	香辛料名	産地	BM+BC (%)	判定 可否
3	白胡椒	マレーシア	55.6	○
5	黒胡椒	マレーシア	28.2	△
		インド	37	○
	白胡椒	インド	13.7	×
		マレーシア	90.9	○
	パプリカ	スペイン	0	×
	コリアンダー	モロッコ	14	×
		インド	82.5	○
	ジンジャーホール	インド	19.6	×
	ターメリックフィンガー	インド	5.7	×
7	黒胡椒	マレーシア	54	○
		インド	66.7	○
		ベトナム	90.9	○
	パプリカ	スペイン	9.1	×
	コリアンダー	モロッコ	8	○
		インド	100	○
	ジンジャーホール	インド	18	×
	ターメリックフィンガー	インド	94	○

○：判定できる

△：判定可能

×：判定不可

用

確立した検知法での三次判定 (*B.megaterium* と *B.cereus* の存在比率) を指標として、照射判定ができる香辛料と照射範囲をまとめたものを表17に示した。白胡椒では3kGy及び5kGy照射されれば、照射判定(検知できた)ができた。

5kGy照射された場合、インド及びマレーシア産黒胡椒とインド産コリアンダーが検知できた。

7kGy照射された場合、検知できる香辛料は、マレーシア、インド及びベトナム産黒胡椒、モロッコ及びインド産

コリアンダー及びターメリックフィンガーであった。ジンジャーホールの場合、*B.megaterium* と *B.cereus* の存在比率の合計が約20%であったので、検知できないと判定したが、未知試料を用いた測定では検知することができた。表18に示したようにパプリカの場合、*B.megaterium* と *B.cereus* の存在比率の合計が約10%程度であり、三次基準のみでは検知できないと考えられるが、一次基準の一般生菌数と二次基準のA値の評価を考慮すれば、パプリカも検知できる。

確立した検知法で7kGy照射されている場合、三つの判定基準を組合わせて判

表18 3種類の判定基準で照射と判定できる香辛料と吸収線量

線量 k Gy	香辛料名	産地	一般生菌 数	一次 判定	A値	二次 判定	BM+BC (%)	三次 判定	総合判 定
3	白胡椒	マレーシア	5.94E+02	○	0.318	○	55.6	○	○
5	黒胡椒	マレーシア	1.02E+05	×	0.15	不明 ×	28.2	△	判定可能△
		インド	2.30E+04	×	0.408	○	37	○	○
		ベトナム	6.63E+04	×	0.112	×	13.7	×	×
	白胡椒	マレーシア	6.00E+01	○	0.115	×	90.9	○	○(◎)
	パプリカ	スペイン	6.83E+03	×	0.094	×	0	×	×
	コリアンダー	モロッコ	6.83E+03	×	2.303	○	14	×	×
		インド	2.20E+03	×	0.33	○	82.5	○	○(◎)
	ジンジャー ホール	インド	9.30E+02	○	1.142	○	19.6	×	×
	ターメリック フィンガー	インド	1.08E+04	×	0.143	×	5.7	×	×
7	黒胡椒	マレーシア	5.53E+03	×	0.421	○	54	○	○(◎)
		インド	3.17E+03	×	0.19	×	66.7	○	○(◎)
		ベトナム	1.03E+04	×	0.273	×	90.9	○	○(◎)
	パプリカ	スペイン	9.02E+02	○	0.374	○	9.1	×	○
	コリアンダー	モロッコ	4.00E+01	○	0.782	○	48	○	○(◎)
		インド	9.40E+01	○	0.31	○	100	○	○(◎)
	ジンジャー ホール	インド	5.54E+02	○	2.744	○	18	×	○
	ターメリック フィンガー	インド	1.52E+03	×	0.573	○	94	○	○(◎)

○：判定できる △：判定可能 ×：判定不可 (◎)：確実に照射されている

BM：*B.megaterium* BC：*B.cereus*

定すれば、検知できると考えられる(表18)。また、5種類の未知の香辛料についてこの検知法を適用した結果からも、照射された履歴の検知ができたので、実際に適用できる香辛料の検知法が確立された。

参考文献

1) 武川哲也, 越川富比古, 宮原誠(防菌防黴誌に受理) 照射食品検知のための

微生物法(熱処理法)の開発と実験室間再現性について.

2) 越川富比古, 松島昌子, 廣庭隆行, 武川哲也, 宮原誠(2009) 照射香辛料の生残菌の同定による照射判定の向上, 防菌防黴誌, 37, 印刷中.

3) 越川富比古, 松島昌子, 廣庭隆行, 宮原誠(2008) 食品照射検知のLAL/GNB法の測定条件の検討, 防菌防黴誌, 36, 213-221.