

JAERI-M

5 2 4 9

放射線照射による無菌動物用飼料の殺菌

1973年5月

伊藤 均, 飯塚 広\*, 佐藤友太郎

日 本 原 子 力 研 究 所  
Japan Atomic Energy Research Institute

この報告書は、日本原子力研究所が JAERI-M レポートとして、不定期に刊行している研究報告書です。入手、複製などのお問い合わせは、日本原子力研究所技術情報部（茨城県那珂郡東海村）あて、お申しこしください。

JAERI-M reports, issued irregularly, describe the results of research works carried out in JAERI. Inquiries about the availability of reports and their reproduction should be addressed to Division of Technical Information, Japan Atomic Energy Research Institute, Tokai-mura, Naka-gun, Ibaraki-ken, Japan.

放射線照射による無菌動物用飼料の殺菌

日本原子力研究所高崎研究所食品照射開発試験室

伊藤 均, 飯塚 広<sup>\*</sup>, 佐藤友太郎

(1973年4月9日受理)

無菌動物およびSPF動物用飼料の滅菌にCo-60 $\gamma$ 線照射を応用する目的で本研究を行った。固型飼料の場合は1.5Mradまでは菌の生残が認められたが、2.0Mradではチオグリコレート培地による生残菌の検出は認められなかった。固型飼料中の微生物で多く生き残っていたのはBacillusなどの有芽胞細菌が中心で、その他球菌などのグラム陽性菌も若干検出された。また医療品の放射線殺菌のマーカー菌として使用されているBacillus pumilus E601およびStreptococcus faecium A<sub>2</sub>-1の乾燥状態での完全殺菌線量は2.5~3.0Mradであった。したがって無菌動物用飼料の完全殺菌線量としては飼料の殺菌曲線より求めた2.5~3.5Mradが妥当であると考えられる。

---

\* 東京大学応用微生物研究所

Sterilization of Laboratory Animal Diets by Ionizing Radiation

Hitoshi ITO, Hiroshi IIZUKA, and Tomotaro SATO

Food Irradiation Development Lab., Takasaki, JAERI

(Received April 9, 1973)

Sterilizations by gamma irradiation of various laboratory animal diets are described, which are intended for specified-pathogen-free (SPF) and germ-free colonies. The sterilization of pellets is successfully achieved with the doses as low as 2 Mrad by an inoculation technique, using thioglycollate medium. A few positive samples are observable at a dose of 1.5 Mrad, the number increasing with decrease of the dosage. The organisms surviving over 1.0 Mrad are mostly spore-forming bacterium such as Bacillus spp; and some gram positive cocci and gram negative in chains or filamentous bacterium are also observed.

A radiation dose of 2.5Mrad is effective for sterilization of dried test pieces such as Bacillus pumilus E601 and Streptococcus faecium A<sub>2</sub>1, which are the recommended microbiological reference standards of medical products. The radiation doses of 2.5~3.5 Mrad, which are obtained from the sterilization curve of animal diets, thus appears to be desirable for sterilization of the animal diets.

## 目 次

1. まえがき	1
2. 実験方法	1
2.1 飼料	1
2.2 照射方法	1
2.3 殺菌効果の判定	1
2.4 マーカー菌での殺菌効果の判定	2
3. 結 果	2
3.1 $\gamma$ 線による飼料の殺菌効果	2
3.2 飼料中の微生物の $\gamma$ 線照射による生存率の変動	3
3.3 マーカー菌の乾燥状態での放射線感受性	3
4. 考 察	4
4.1 完全殺菌線量の検討	4
4.2 無菌照射飼料の実用性	4
5. あとがき・謝辞	5

## 1 ま え が き

近年無菌動物またはSPE (specific pathogen free) 動物を使用した研究<sup>(1)</sup>がさかんに  
なるに伴って与える飼料の完全殺菌方法が問題となってきた。最近まで行なわれてきて  
いる無菌飼料の商業的な生産は高圧蒸気殺菌法で行なわれているが、蒸気殺菌した飼料は不可  
避的にビタミン等の成分の破壊がともなうため、あらかじめビタミン類を余分に添加しておく  
という方法がとられている。また蒸気殺菌法は飼料の硬化および嗜好性の悪化が起こり飼料と  
して問題がある。このほかエチレンオキシドガスなどによる燻蒸の方法があるが、殺菌効果  
が飼料中の水分含量や飼料中へのガス拡散性などの条件によって変動しやすく、味とか臭およ  
び飼育動物に与える毒性等の問題もありあまり好ましくないとされている。またこれら高圧蒸  
気殺菌法およびガス殺菌法は殺菌工程およびその後処理の過程での雑菌混入の防止および包装  
材料等についての問題がある。これに対し $\gamma$ 線照射による処理法の場合はポリエチレン袋等によ  
る包装状態で完全殺菌でき、熱変性の心配もない。そして、熱処理の場合に較べ栄養成分の  
破壊が少ないと思われるし、処理方法が簡単なため今後の実用化が期待される。実験動物用飼  
料の放射線滅菌については最近いくつかの報告<sup>(2)(3)(4)</sup>がみられ、我国においてもすでに放医研<sup>(3)</sup>におい  
て検討がなされている。しかし滅菌線量についてのくわしい検討を行なった試験結果は知られ  
ていない。

本研究は日本原子力研究所高崎研究所とオリエンタル酵母(株)、三共(株)の三者によって協力研  
究が行なわれた時の日本原子力研究所側が分担した飼料の $\gamma$ 線照射による滅菌効果についての  
報告である。

## 2 実 験 方 法

### 2.1 飼 料

市販のオリエンタル酵母工業株式会社製特殊繁殖用固型飼料を用いた。比較としては船橋  
農場製マウス用固型飼料も用いた。

### 2.2 照射方法

ペレット状固型飼料約100g(約35ヶ)を二重のポリエチレン袋にシールしたものを3  
~6ヶ各試料ごとに用意し、8万キュリーのCo-60板状線源を用い、線量率 $5 \times 10^5 \text{ R/hr}$   
の位置で0.5, 1.0, 2.0, 2.5, 3.0Mradの各線量の $\gamma$ 線照射をした。また、固型飼料を粉  
砕したものを各5gを共栓付試験管に入れ、線量率0.2Mrad/hrの位置で0.05, 0.1, 0.2,  
0.4, 0.6, 0.8Mrad照射して飼料の殺菌曲線を求めた。なお飼料内の線量分布は大線源を  
使用したためほぼ均一で一様に照射されているとみなした。線量率の測定は鉄線量計法によ  
って行なった。

### 2.3 殺菌効果の判定

綿栓した三角フラスコ(200ml容)に約50mlのチオグリコロート培地を入れ、加圧殺

## 1 ま え が き

近年無菌動物またはSPE (specific pathogen free) 動物を使用した研究<sup>(1)</sup>がさかんに  
なるに伴って与える飼料の完全殺菌方法が問題となってきた。最近まで行なわれてきて  
いる無菌飼料の商業的な生産は高圧蒸気殺菌法で行なわれているが、蒸気殺菌した飼料は不可  
避的にビタミン等の成分の破壊がともなうため、あらかじめビタミン類を余分に添加しておく  
という方法がとられている。また蒸気殺菌法は飼料の硬化および嗜好性の悪化が起こり飼料と  
して問題がある。このほかエチレンオキシドガスなどによる燻蒸の方法があるが、殺菌効果  
が飼料中の水分含量や飼料中へのガス拡散性などの条件によって変動しやすく、味とか臭およ  
び飼育動物に与える毒性等の問題もありあまり好ましくないとされている。またこれら高圧蒸  
気殺菌法およびガス殺菌法は殺菌工程およびその後処理の過程での雑菌混入の防止および包装  
材料等についての問題がある。これに対し $\gamma$ 線照射による処理法の場合はポリエチレン袋等によ  
る包装状態で完全殺菌でき、熱変性の心配もない。そして、熱処理の場合に較べ栄養成分の  
破壊が少ないと思われるし、処理方法が簡単なため今後の実用化が期待される。実験動物用飼  
料の放射線滅菌については最近いくつかの報告<sup>(2)(3)(4)</sup>がみられ、我国においてもすでに放医研<sup>(3)</sup>におい  
て検討がなされている。しかし滅菌線量についてのくわしい検討を行なった試験結果は知られ  
ていない。

本研究は日本原子力研究所高崎研究所とオリエンタル酵母㈱、三共㈱の三者によって協力研  
究が行なわれた時の日本原子力研究所側が分担した飼料の $\gamma$ 線照射による滅菌効果についての  
報告である。

## 2 実 験 方 法

### 2.1 飼 料

市販のオリエンタル酵母工業株式会社製特殊繁殖用固型飼料を用いた。比較としては船橋  
農場製マウス用固型飼料も用いた。

### 2.2 照射方法

ペレット状固型飼料約100g(約35ヶ)を二重のポリエチレン袋にシールしたものを3  
~6ヶ各試料ごとに用意し、8万キュリーのCo-60板状線源を用い、線量率 $5 \times 10^5 \text{ R/hr}$   
の位置で0.5, 1.0, 2.0, 2.5, 3.0 Mradの各線量の $\gamma$ 線照射をした。また、固型飼料を粉  
砕したもの各5gを共栓付試験管に入れ、線量率0.2 Mrad/hrの位置で0.05, 0.1, 0.2,  
0.4, 0.6, 0.8 Mrad照射して飼料の殺菌曲線を求めた。なお飼料内の線量分布は大線源を  
使用したためほぼ均一で一様に照射されているとみなした。線量率の測定は鉄線量計法によ  
って行なった。

### 2.3 殺菌効果の判定

綿栓した三角フラスコ(200 ml容)に約50 mlのチオグリコロート培地を入れ、加圧殺

菌後直ちに 25℃前後に冷却した。これに前記各条件で照射した固型飼料を任意抽出して、1個ずつ(約3g)別々のチオグリコレート培地に無菌的に投入して30℃にて7日間培養を行ない、菌の増殖が認められたらさらにその懸濁液 0.2 ml を試験管内のチオグリコレート培地に移し3日間培養して生育の有無を確認した。飼料の細菌曲線を求める場合には、end point 法により照射した粉末飼料 5g を 50 ml の殺菌水に懸濁し、10倍、100倍稀釈液の 0.2 ml を試験管内のチオグリコレート培地各 10本にそれぞれ加え、30℃・7日間培養して菌の増殖の有無より生菌数を求めた。

## 2.4 マーカー菌での殺菌効果の判定

飼料の完全殺菌線量を求めるために、医療用具の放射線滅菌のマーカー菌として用いられている *Bacillus pumilus* E601株、*Streptococcus faecium* A<sub>2</sub>1株についての放射線感受性を求めた。また著者らが米の放射線保蔵を目的とした研究を行なっている際に発見した放射線抵抗性細菌 *Pseudomonas radiora* nov. sp. 0-1株および RP-C株、*Escherichia coli* K-12株も比較に用いた。乾燥した菌体のテストピースの作成方法としては *St. faecium* A<sub>2</sub>1株と *Ps. radiora* nov. sp. 0-1株、RP-C株については通気培養した定常期細胞を集菌し、bovine serum brothに懸濁し、その各1mlを脱脂綿に吸収させ、減圧乾燥させた。*B. pumilus* E601、*E. coli* K-12株については凍結乾燥を行なった。照射後の生残細胞数の測定は、平板培養法<sup>(8)</sup>により行なった。培地は *B. pumilus* E601には Yeast peptone-glucose (Yeast ex. 3g, peptone 10g, glucose 10g, NaCl 3g, agar 20g, 水1ℓ)を用い、*Ps. radiora* nov. sp. 0-1、RP-C株には potato-peptone agar<sup>(7,8)</sup>、*St. faecium* A<sub>2</sub>1株には NYM agar (Difco-nutrient broth 8g, yeast ex. 2g, malt ex. 4g, agar 20g, 水1ℓ)、*E. coli* K-12株には Nutrient agar を用いた。

## 3 結 果

### 3.1 γ線による飼料の殺菌効果

オリエンタル酵母粉製の製造直後のペレット状固型飼料(平均重量3g)をチオグリコレート培地に無菌的に投入して培養した場合、固型飼料は一晩で水を吸って膨張し、非照射ペレットおよび 0.5 M rad 照射ペレットは5ケのチオグリコレート培地全部に細菌の生育が認められた。また、1.0 M rad 照射ペレットでは2~3日後に10ケ中7ケについて菌体の生育が認められた。また、1.5 M rad 照射ペレットでは7日近く培養することにより、ようやく10ケ中2ケに細菌類の増殖による懸濁が認められた。そして2.0 M rad 以上の照射ペレットでは一切菌類の生育による懸濁は認められなかった。この結果を表にして示すと Table 1 のようになる。糸状菌および酵母菌類については malt extract 液体培地 (PH 5.0) で検出をこころみだが、照射ペレットからは一切検出されなかった。非照射飼料投入後にチオグリコレート培地中に増殖してくる細菌類は *Bacillus* などの有芽胞細菌が多く、その他



菌後直ちに 25℃ 前後に冷却した。これに前記各条件で照射した固型飼料を任意抽出して、1 個ずつ (約 3 g) 別々のチオグリコレート培地に無菌的に投入して 30℃ にて 7 日間培養を行ない、菌の増殖が認められたらさらにその懸濁液 0.2 ml を試験管内のチオグリコレート培地に移し 3 日間培養して生育の有無を確認した。飼料の細菌曲線を求める場合には、end point 法により照射した粉末飼料 5 g を 50 ml の殺菌水に懸濁し、10 倍、100 倍稀釈液の 0.2 ml を試験管内のチオグリコレート培地 各 10 本にそれぞれ加え、30℃・7 日間培養して菌の増殖の有無より生菌数を求めた。

#### 2.4 マーカー菌での殺菌効果の判定

飼料の完全殺菌線量を求めるために、医療用具の放射線滅菌のマーカー菌として用いられている *Bacillus pumilus* E601 株、*Streptococcus faecium* A<sub>2</sub>1 株についての放射線感受性を求めた。また著者らが米の放射線保蔵を目的とした研究を行なっている際に発見した放射線抵抗性細菌 *Pseudomonas radiora* nov. sp. 0-1 株および RP-C 株、*Escherichia coli* K-12 株も比較に用いた。乾燥した菌体のテストピースの作成方法としては *St. faecium* A<sub>2</sub>1 株と *Ps. radiora* nov. sp. 0-1 株、RP-C 株については通気培養した定常期細胞を集菌し、bovine serum broth に懸濁し、その各 1 ml を脱脂綿に吸収させ、減圧乾燥させた。*B. pumilus* E601、*E. coli* K-12 株については凍結乾燥を行なった。照射後の生残細胞数の測定は、平板培養法<sup>(8)</sup>により行なった。培地は *B. pumilus* E601 には Yeast peptone-glucose (Yeast ex. 3 g, peptone 10 g, glucose 10 g, NaCl 3 g, agar 20 g, 水 1 l) を用い、*Ps. radiora* nov. sp. 0-1、RP-C 株には potato-peptone agar<sup>(7,8)</sup>、*St. faecium* A<sub>2</sub>1 株には NYM agar (Difco-nutrient broth 8 g, yeast ex. 2 g, malt ex. 4 g, agar 20 g, 水 1 l)、*E. coli* K-12 株には Nutrient agar を用いた。

### 3 結 果

#### 3.1 γ線による飼料の殺菌効果

オリエンタル酵母粉製の製造直後のペレット状固型飼料 (平均重量 3 g) をチオグリコレート培地に無菌的に投入して培養した場合、固型飼料は一晩で水を吸って膨張し、非照射ペレットおよび 0.5 M rad 照射ペレットは 5 ケのチオグリコレート培地全部に細菌の生育が認められた。また、1.0 M rad 照射ペレットでは 2~3 日後に 10 ケ中 7 ケについて菌体の生育が認められた。また、1.5 M rad 照射ペレットでは 7 日近く培養することにより、ようやく 10 ケ中 2 ケに細菌類の増殖による懸濁が認められた。そして 2.0 M rad 以上の照射ペレットでは一切菌類の生育による懸濁は認められなかった。この結果を表にして示すと Table 1 のようになる。糸状菌および酵母菌類については malt extract 液体培地 (PH 5.0) で検出をこころみだが、照射ペレットからは一切検出されなかった。非照射飼料投入後にチオグリコレート培地中に増殖してくる細菌類は *Bacillus* などの有芽胞細菌が多く、その他

グラム陰性の小桿菌も多く認められた。0.5 M rad の照射ペレットでも同様の傾向を示していたが有芽胞細菌がことに多かった。1.0 M rad, 1.5 M rad の照射ペレットでは各チオグリコレート培地中に生育してくる細菌類は単一の菌種だけで占められているものが多く、*Bacillus*, *Clostridium* などの有芽胞細菌, グラム陽性の球菌, グラム陰性の嫌気性連鎖状桿菌が検出された。なおチオグリコレート培地中のペレットは菌の増殖が激しいと形がくずされてしまったが, 菌の生育が認められない場合には形が崩れずに残っていた。

次に製造日の異なった同じオリエンタル酵母俵製のペレットを粉碎してから各3gの粉末飼料をポリエチレンの袋に密封して,  $\gamma$ 線による殺菌効果をしらべたところ Table 2 のような結果が得られた。この場合は1.0 M rad 照射ペレットでも残存菌数は非常に少なかった。また同じ飼料を2年間室温で放置しておいたものについて再度固型ペレットのままに殺菌効果をしらべた場合にも差はほとんど認められなかった。比較として船橋農場俵製造のマウス用の小型ペレットについて殺菌効果をしらべた場合には1.0 M rad 照射ペレット20ケ中からわずか1ケに *Bacillus* の生育が認められただけであった。

### 3.2 飼料中の微生物の $\gamma$ 線照射による生存率の変動

固型飼料1g中の総菌数の $\gamma$ 線照射線量による変動をしらべるために end point 法によって得られた生存率の変動をグラフにすると Fig.1 のようになった。この場合に用いた飼料は Table 1 に使用したのと同じ試料である。総菌数は非照射の飼料で1gあたり  $4.0 \times 10^4$  個あり, 生存菌数の減少は3つの異なった部分の曲線となって示されていた。すなわち0~0.2 M radの間では放射線感受性の強い細菌群による死滅曲線であり, 0.2~1.0 M radの間では *Bacillus* などの有芽胞細菌類を中心とした菌類の死滅曲線であると思われる。1.0 M rad 以上でのテーリングは有芽胞細菌または栄養細胞型の放射線抵抗性細菌による死滅線であろう。なおこのグラフでの1.0 M rad および1.5 M rad の生存菌数は Table 1 の結果より算出した。このグラフから1gあたりの生存菌数を  $10^{-5}$ ~ $10^{-6}$ に減少させるのに必要な線量を推測すると2.5~3.5 M rad 必要ということになる。

### 3.3 マーカー菌の乾燥状態での放射線感受性

ジスポーザブル医療用具の放射線滅菌の場合,<sup>(9)</sup>放射線抵抗性の強い細菌をマーカー菌として使用して殺菌線量をきめている。英国では *Bacillus pumilus* E601株の芽胞をマーカー菌として使用しており, デンマークでは *Streptococcus faecium* A<sub>2</sub>1株を使用している。無菌飼料の場合にも完全殺菌線量を決定するのに Fig.1の結果だけで殺菌線量を決定するのは不十分と思われる。そこで固型飼料より多く検出された有芽胞細菌類のマーカー菌として *B. pumilus* E601株を使用した。また1.0 M rad 照射ペレットから検出されたグラム陽性球菌およびグラム陰性連鎖状桿菌等の栄養細胞型細菌類のマーカー菌としては *St. faecium* A<sub>2</sub>1 および *Pseudomonas radiora* 0-1, RP-C株を用いた。比較として大腸菌の *Escherichia coli* K-12株を用いた。Fig.2は *E. coli* K-12株の定常期細胞ならびに *B. pumilus* E601株の芽胞の懸濁液(5%ラクトース+0.1%グルタミン酸ソーダ水溶液)を凍結乾燥したときの放射線感受性と0.067M磷酸緩衝液懸濁細胞とを比較して示したものである。この図から見ると *B. pumilus* は放射線抵抗性が強く,  $\log N/N_0 = -12$  (Nは生存率)になる値を完全殺菌線量とすると *B. pumilus*

E601株の完全殺菌線量は2.0Mradである。なおこの場合、*B. pumilus* E601株の乾燥芽胞の放射線感受性は磷酸緩衝液中にくらべ差はほとんど認められなかった。*E. coli* K-12株は大腸菌類の中では普通の放射線抵抗性を示す菌株であるが、乾燥状態では0.4~0.5Mrad照射することにより完全殺菌が可能である。そして磷酸緩衝液中にくらべ乾燥細胞は約5倍の抵抗性の増大が認められた。

次に *St. faecium* A<sub>2</sub>1株および *Ps. radiora* 0-1, RP-C株<sup>(7,8)</sup>の乾燥細胞についての放射線感受性をしらべると Fig.3 のような結果が得られた。この場合は室温で減圧乾燥してから乾燥剤と共に密封した状態で各線量照射した。図にみられるように

*St. faecium* A<sub>2</sub>1株と *Ps. radiora* 0-1株はほぼ同じ放射線感受性を示しており、完全殺菌線量は2.5~3.0Mradである。この値はデンマークで発表されている

*St. faecium* A<sub>2</sub>1株の値より小さいが、これはテストピースがまだ完全に脱水されていなかったためと思われる。

## 4 考 察

### 4.1 完全殺菌線量の検討

無菌動物およびSPF動物用飼料の滅菌線量を正確に決定することは、固型飼料内の総菌数が製品ごとに異なっているし、ミクロフローラも製品ごとに異なっているので非常に困難である。例えばこの研究に用いた同じオリエンタル酵母粉の製品でも製造日が異なれば1.0Mrad照射された固型飼料の殺菌効果も異なっている。したがって2.0Mrad照射された飼料がどの製品の場合でも10ケ中10ケともチオグリコレート培地中で生存菌が検出できないからといって、2.0Mradを完全殺菌線量と決定することはできない。普通、食品類の完全殺菌線量を決定するためには1gあたり $10^{-5}$ ~ $10^{-6}$ 個の残存菌数になるまでの線量をひとつの目安としているので、Fig.1の飼料の殺菌曲線から完全殺菌線量を求めると2.5~3.5Mradとなる。また医療品のマーカー菌として使用されている *Bacillus pumilus* E601株 および *Streptococcus faecium* A<sub>2</sub>1株、*Pseudomonas radiora* 0-1株より完全殺菌線量を求めると2.5~3.0Mradとなった。これらのマーカー菌の放射線抵抗性は乾燥菌体の水分含量や酸素効果による影響も大きいので、それらの条件をさらにきびしくすれば完全殺菌線量は3.0~4.0Mradあたりまで増大すると思われる。しかし、飼料自体が乾燥状態とはいえ水分を10%前後含んでいるのでそのようなきびしい条件を考える必要はないと思われる。したがってこれらの諸結果を考慮して飼料の殺菌曲線から求めた2.5~3.5Mradの線量が完全殺菌線量として妥当だと思われる。なおこの場合ウイルスについても検討する必要があると思われるが、ここでは実験しなかった。しかし、Baldelliの報告<sup>10</sup>では乾燥状態のFoot-and-Mouth Disease Virusは3Mradで約 $10^{-3}$ %までに死滅することができるとしているのでウイルスの残存について心配する必要はないと思われる。すなわち乾燥ウイルスの放射線感受性は一般に有芽胞細菌よりいくらか抵抗性が強い程度とみなしてよいといわれている。

### 4.2 無菌照射飼料の実用性

放射線滅菌した飼料が無菌動物またはSPF動物飼料として適当かどうかを決定するためには

E601株の完全殺菌線量は2.0Mradである。なおこの場合、*B. pumilus* E601株の乾燥芽胞の放射線感受性は磷酸緩衝液中にくらべ差はほとんど認められなかった。*E. coli* K-12株は大腸菌類の中では普通の放射線抵抗性を示す菌株であるが、乾燥状態では0.4~0.5Mrad照射することにより完全殺菌が可能である。そして磷酸緩衝液中にくらべ乾燥細胞は約5倍の抵抗性の増大が認められた。

次に *St. faecium* A<sub>2</sub>1株および *Ps. radiora* 0-1, RP-C株<sup>(7,8)</sup>の乾燥細胞についての放射線感受性をしらべると Fig.3 のような結果が得られた。この場合は室温で減圧乾燥してから乾燥剤と共に密封した状態で各線量照射した。図にみられるように

*St. faecium* A<sub>2</sub>1株と *Ps. radiora* 0-1株はほぼ同じ放射線感受性を示しており、完全殺菌線量は2.5~3.0Mradである。この値はデンマークで発表されている

*St. faecium* A<sub>2</sub>1株の値より小さいが、これはテストピースがまだ完全に脱水されていなかったためと思われる。

## 4 考 察

### 4.1 完全殺菌線量の検討

無菌動物およびSPF動物用飼料の滅菌線量を正確に決定することは、固型飼料内の総菌数が製品ごとに異なっているし、マイクロフローも製品ごとに異なっているので非常に困難である。例えばこの研究に用いた同じオリエンタル酵母粉の製品でも製造日が異なれば1.0Mrad照射された固型飼料の殺菌効果も異なっている。したがって2.0Mrad照射された飼料がどの製品の場合でも10ケ中10ケともチオグリコレート培地中で生存菌が検出できないからといって、2.0Mradを完全殺菌線量と決定することはできない。普通、食品類の完全殺菌線量を決定するためには1gあたり $10^{-5}$ ~ $10^{-6}$ 個の残存菌数になるまでの線量をひとつの目安としているので、Fig.1の飼料の殺菌曲線から完全殺菌線量を求めると2.5~3.5Mradとなる。また医療品のマーカー菌として使用されている *Bacillus pumilus* E601株 および *Streptococcus faecium* A<sub>2</sub>1株、*Pseudomonas radiora* 0-1株より完全殺菌線量を求めると2.5~3.0Mradとなった。これらのマーカー菌の放射線抵抗性は乾燥菌体の水分含量や酸素効果による影響も大きいので、それらの条件をさらにきびしくすれば完全殺菌線量は3.0~4.0Mradあたりまで増大すると思われる。しかし、飼料自体が乾燥状態とはいえ水分を10%前後含んでいるのでそのようなきびしい条件を考える必要はないと思われる。したがってこれらの諸結果を考慮して飼料の殺菌曲線から求めた2.5~3.5Mradの線量が完全殺菌線量として妥当だと思われる。なおこの場合ウイルスについても検討する必要があると思われるが、ここでは実験しなかった。しかし、Baldelliの報告<sup>10</sup>では乾燥状態のFoot-and-Mouth Disease Virusは3Mradで約 $10^{-3}$ %までに死滅することができるとしているのでウイルスの残存について心配する必要はないと思われる。すなわち乾燥ウイルスの放射線感受性は一般に有芽胞細菌よりいくらか抵抗性が強い程度とみなしてよいといわれている。

### 4.2 無菌照射飼料の実用性

放射線滅菌した飼料が無菌動物またはSPF動物飼料として適当かどうかを決定するためには

さらに動物試験を行なって飼育および繁殖に与える影響をしらべなければならない。これらの飼料を使つての飼育・繁殖試験は三共<sup>(1)</sup>の岩藤ら<sup>(1)</sup>によって行なわれ良好な結果が得られている。この場合には Wistar-Imamichi ラットを用いて、3.0 Mrad と 6.0 Mrad、および蒸気滅菌したものについて比較したわけであるが、3.0 Mrad 群は繁殖成績および生後の発育成績には異常は全く認められず、6.0 Mrad 照射群および蒸気滅菌群と比べ良好な結果が得られたと報告されている。またオリエンタル酵母<sup>(2)</sup>からの報告では照射中におこるビタミン類の破壊による損失は各ビタミンとも無視してよい程度であり、蒸気滅菌の場合にはビタミン B<sub>1</sub>、B<sub>2</sub> の損失が著しいという。一方、放医研<sup>(3)</sup>の実験によれば、マウスで照射群と高圧蒸気滅菌群との間に、体重増加、飼料消費量、飼料効果のいづれについても有意差を認めていない。したがってこれらの報告からも放射線による飼料の滅菌は充分実用化できることを保障しているといえよう。

## 5 あとがき・謝辞

この研究は1969~1971年に行なわれたものであり、協力研究者の三共<sup>(1)</sup>が担当した部分の動物実験の結果が先に報文になってしまい、殺菌効果を担当した原研側のまとめがおくってしまった。しかし、今後ますます実験用動物飼料の無菌化および一般動物用飼料の殺菌が重要となってくると思われるので、飼料の放射線殺菌の参考資料としてこの報文を発表することにした。

終りに本研究を行なうに際しいろいろと御協力下さった当研究所の柴部禎己氏、渡辺宏氏、久米民和氏ならびに飼料を提供して下さい下さったオリエンタル酵母株式会社の仲川憲一氏、動物実験の立場から様々な御助言を下された三共株式会社の岩藤誠吾氏に厚くお礼を申し上げる。

## 引用文献

- (1) 野村達次：化学と生物，7，(1)，35 (1969)
- (2) Richard E. Horton, John L. S. Hickey : Proc. Anim. Care Panel, 11, 93 (1961)
- (3) 放射線医学総合研究所年報 P.220 (昭和42年度)
- (4) F. J. Ley, J. Bleby, Marie E. Coates, and J. S. Paterson : Lab. Anim. 3, 221 (1969)
- (5) 飯塚 広，伊藤 均：農化誌，41，578 (1967)
- (6) H. Iizuka and H. Ito : Cereal chem. 45，503 (1968)
- (7) H. Ito and H. Iizuka : Agr. Biol. Chem., 35，1566 (1971)
- (8) 伊藤 均，飯塚 広，岡沢精茂，渡辺 宏：農化誌，46，127 (1972)
- (9) 田辺 俊，小島満子：Minophagen Medical Review, 15，241 (1970)
- (10) B. Baldelli : Microbiological Problems in Food Preservation by Irradiation, printed by the IAEA in Austria, P.77 (1967)
- (11) 岩藤誠吾，飯塚 広，柴部禎己，仲川憲一：実験動物，19，77 (1970)
- (12) 佐藤友太郎：食品工業，12，89 (1970)

さらに動物試験を行なって飼育および繁殖に与える影響をしらべなければならない。これらの飼料を使つての飼育・繁殖試験は三共<sup>(1)</sup>の岩藤らによって行なわれ良好な結果が得られている。この場合には Wistar-Imamichi ラットを用いて、3.0 M rad と 6.0 M rad、および蒸気滅菌したものについて比較したわけであるが、3.0 M rad 群は繁殖成績および生後の発育成績には異常は全く認められず、6.0 M rad 照射群および蒸気滅菌群と比べ良好な結果が得られたと報告されている。またオリエンタル酵母<sup>(2)</sup>からの報告では照射中におこるビタミン類の破壊による損失は各ビタミンとも無視してよい程度であり、蒸気滅菌の場合にはビタミン B<sub>1</sub>、B<sub>2</sub> の損失が著しいという。一方、放医研<sup>(3)</sup>の実験によれば、マウスで照射群と高圧蒸気滅菌群との間に、体重増加、飼料消費量、飼料効果のいづれについても有意差を認めていない。したがってこれらの報告からも放射線による飼料の滅菌は充分実用化できることを保障しているといえよう。

## 5 あとがき・謝辞

この研究は1969~1971年に行なわれたものであり、協力研究者の三共<sup>(1)</sup>が担当した部分の動物実験の結果が先に報文になってしまい、殺菌効果を担当した原研側のまとめがおくってしまった。しかし、今後ますます実験用動物飼料の無菌化および一般動物用飼料の殺菌が重要となってくると思われるので、飼料の放射線殺菌の参考資料としてこの報文を発表することにした。

終りに本研究を行なうに際しいろいろと御協力下さった当研究所の柴部禎己氏、渡辺宏氏、久米民和氏ならびに飼料を提供して下さったオリエンタル酵母株式会社の仲川憲一氏、動物実験の立場から様々な御助言を下された三共株式会社の岩藤誠吾氏に厚くお礼を申し上げる。

## 引用文献

- (1) 野村達次：化学と生物，7，(1)，35（1969）
- (2) Richard E. Horton, John L. S. Hickey：Proc. Anim. Care Panel, 11, 93（1961）
- (3) 放射線医学総合研究所年報 P.220（昭和42年度）
- (4) F. J. Ley, J. Bleby, Marie E. Coates, and J. S. Paterson：Lab. Anim. 3, 221（1969）
- (5) 飯塚 広，伊藤 均：農化誌，41，578（1967）
- (6) H. Iizuka and H. Ito：Cereal chem. 45，503（1968）
- (7) H. Ito and H. Iizuka：Agr. Biol. Chem., 35，1566（1971）
- (8) 伊藤 均，飯塚 広，岡沢精茂，渡辺 宏：農化誌，46，127（1972）
- (9) 田辺 俊，小島満子：Minophagen Medical Review, 15，241（1970）
- (10) B. Baldelli：Microbiological Problems in Food Preservation by Irradiation, printed by the IAEA in Austria, P.77（1967）
- (11) 岩藤誠吾，飯塚 広，柴部禎己，仲川憲一：実験動物，19，77（1970）
- (12) 佐藤友太郎：食品工業，12，89（1970）

Table 1. The lethal effect of ionising radiation on microorganisms of diets.

Each randomly sampled pellet was introduced into a glass vial flask containing 50 ml of tioglycolate broth and incubated for 7 days.

Dose(Mrad)	number of pellets	positive pellets number	pellets %
0.5	5	5	100
1.0	10	6	60
1.5	10	2	20
2.0	20	0	0
2.5	20	0	0
3.0	30	0	0

Table 2. Comparison of lethal effects on microorganisms of different samples of diets.

Dose(Mrad)	powdered rat diets		rat diets stored 2 years		mouse diets	
	number of samples	positive samples	number of pellets	positive pellets	number of pellets	positive pellets
1.0	10	3	10	2	20	1
1.5	10	0	10	0	20	0
2.0	10	0	20	0	40	0

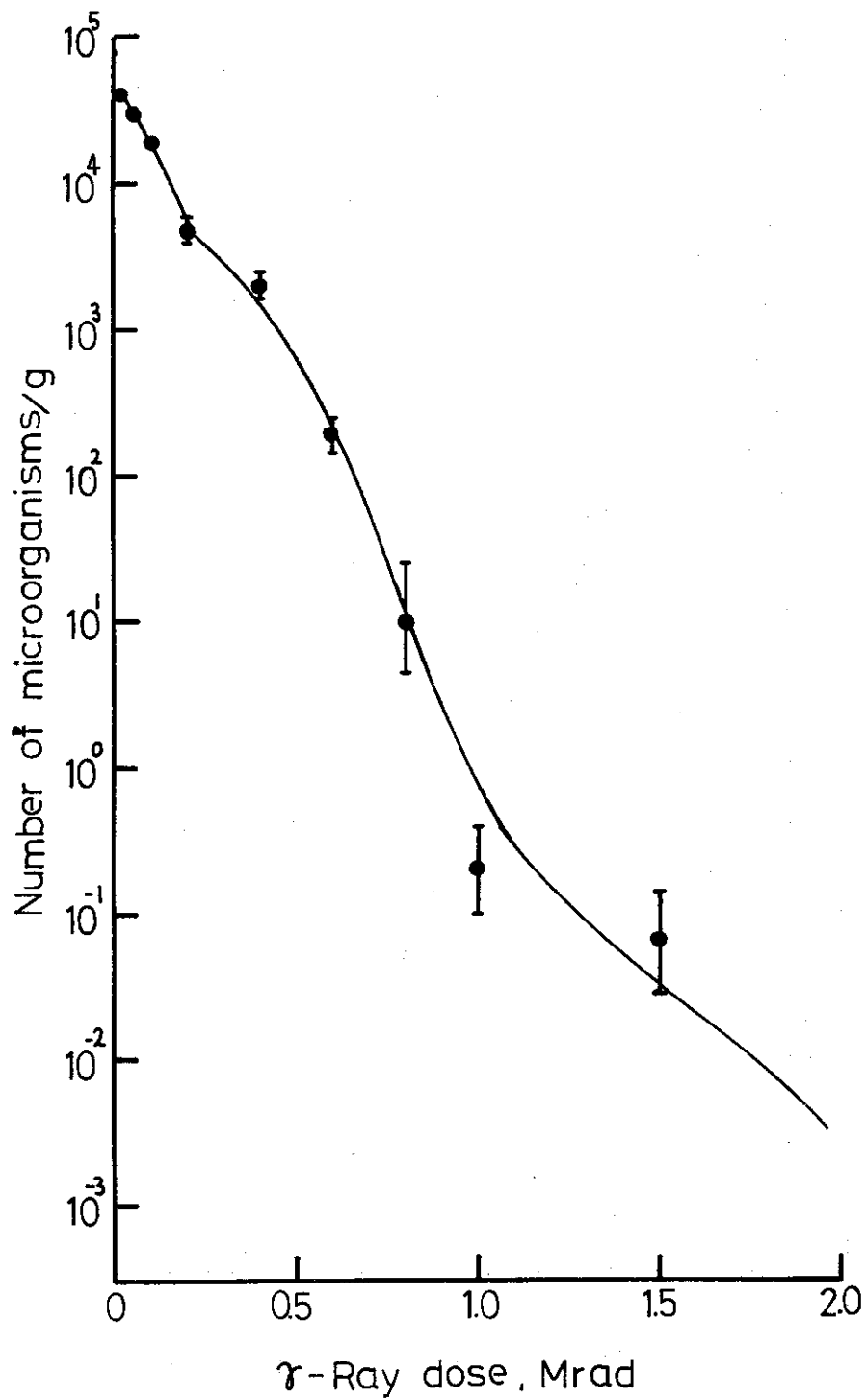


Fig. 1. Sterilization curve of animal diets by gamma-radiation.



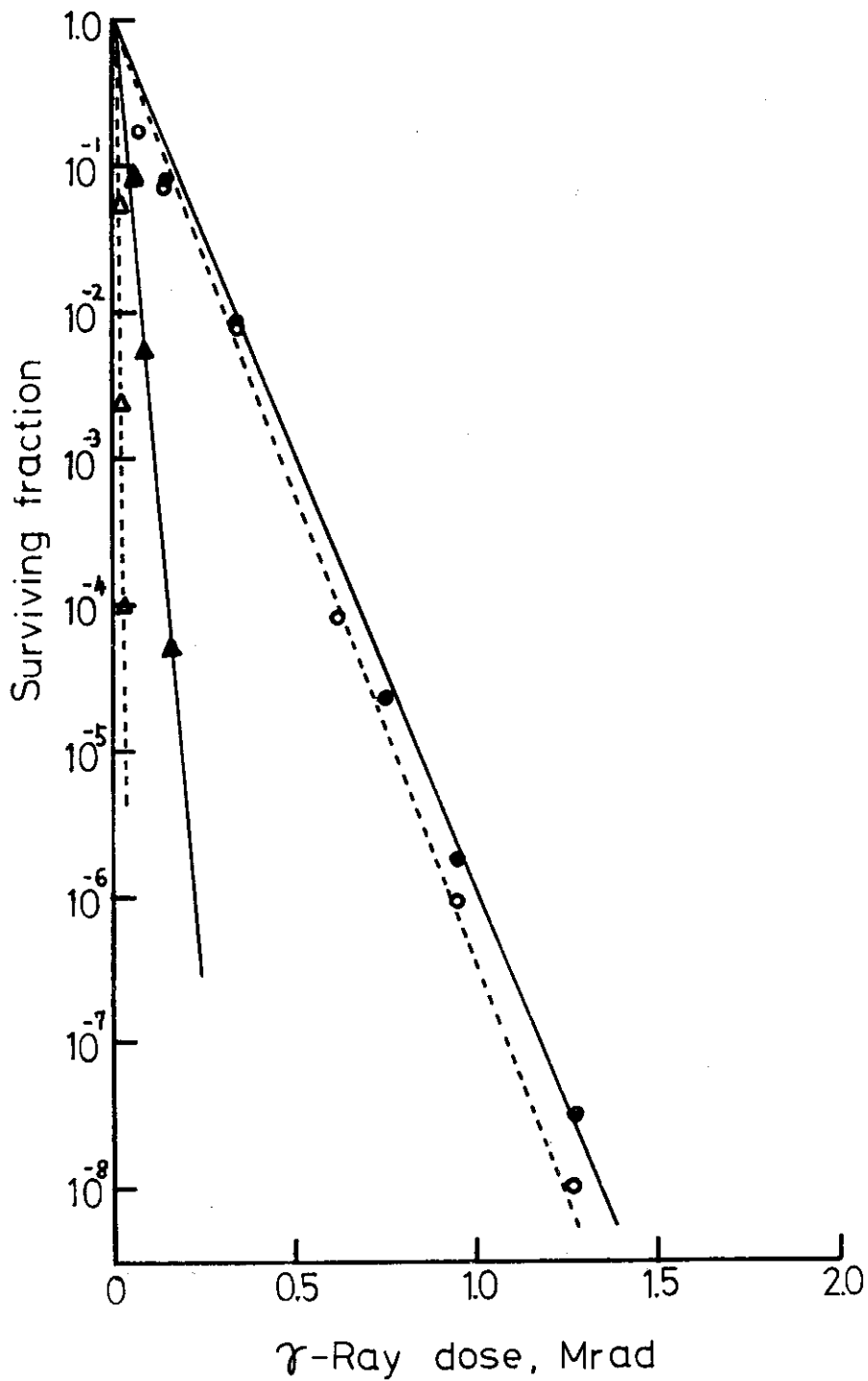


Fig. 2. Comparative sensitivity of *B. pumilus* E601(● ○) and *E. coli* K-12(▲ △) under the dry(—) and wet(---) conditions.

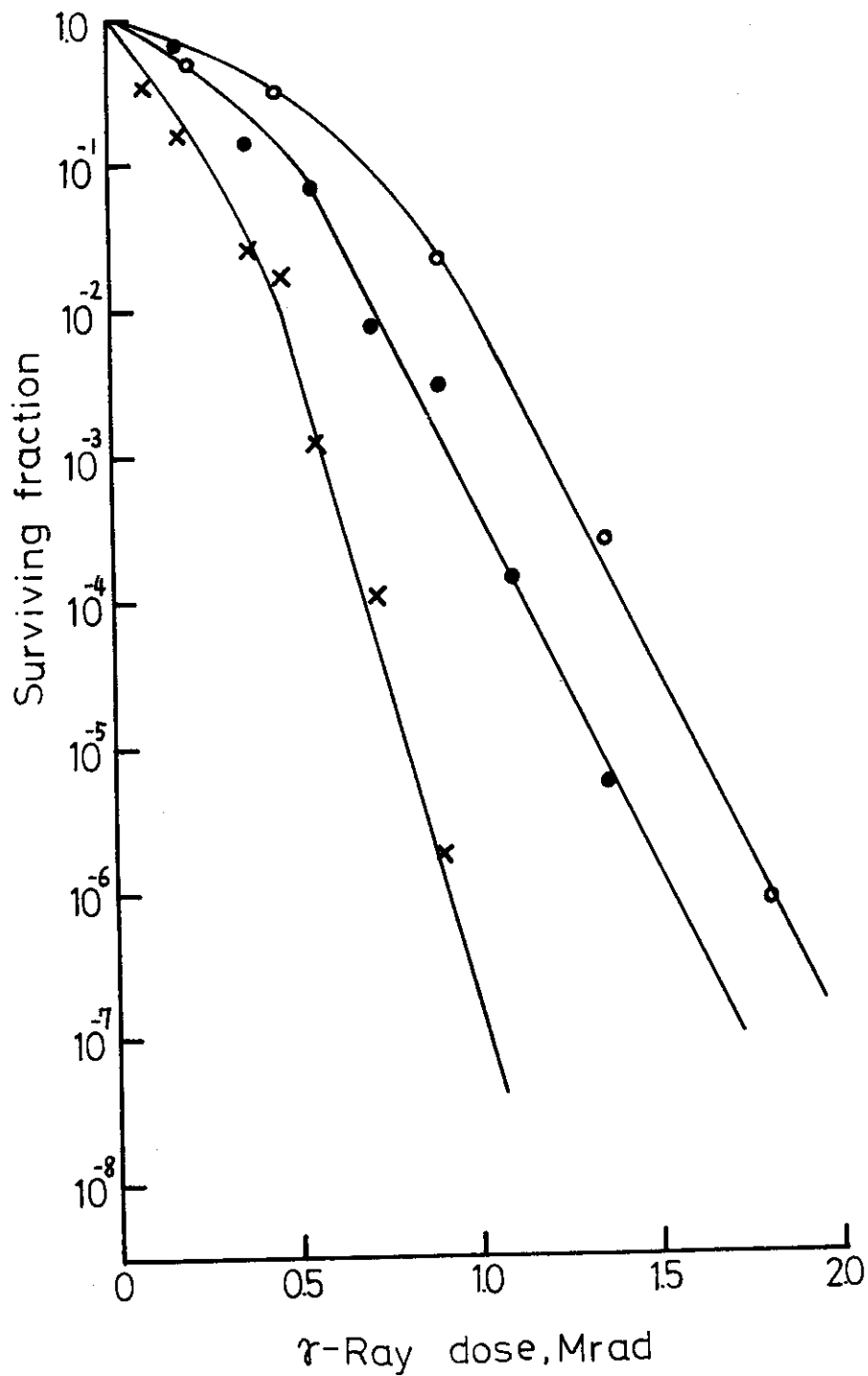


Fig. 3. Inactivation curves of *Ps. radiora* 0-1(●), RP-C(x), and *St. faecium* A<sub>2</sub>1(o) under the dry condition.