

## ***Salmonella typhi*, Ty 2株에 미치는 電離放射線의 影響**

李康淳·閔鳳熙·張正淳

(韓國原子力研究所, 放射線生物學研究室)

### **Effect of Co<sup>60</sup> γ-Ray on *Salmonella typhi*, Ty2 Cell**

**RHEE, Kang Soon, Bong Hee MIN, and Chung Soon CHANG**

(Radiation Biology Laboratory, Korea Atomic Energy Research Institute)

### **ABSTRACT**

In order to investigate the effect of gamma radiation on *Salmonella typhi*, Ty2, the components of amino acids, proteins, carbohydrates and lipids in irradiated cells were compared with those in unirradiated control cells respectively.

The results obtained were as follows;

- 1) The inactivation curves of *Salmonella typhi* with Co<sup>60</sup> γ-ray irradiation were exponential over a wide range to the irradiated doses.
- 2) Dose for the inactivation factor of 10<sup>8</sup> was 94.0 Krad in physiological saline or in phosphate buffered saline, 104.2 Krad in nutrient broth, 220.4 Krad in frozen state, 552.0 Krad in dried state, 88.3 Krad in the abundance of oxygen and 188.0 Krad in the deficiency of oxygen, respectively.
- 3) Five consecutive irradiation of *Salmonella typhi* suspension at the dose of 90 Krad gave no additional increase in resistance.
- 4) Even at the smallest dose of 500 Krad, compositions of amino acids, proteins, carbohydrates, and lipids were more or less decreased and the distinct banding patterns were also lost possibly due to degradation of the protein molecules.

### **緒 論**

微生物에 對한 放射線의 致死作用을 利用하여 最近에는 生物製劑, 醫療製品 및 食品等에 對한 放射線滅菌 研究가 活潑하게 이루어지고 있다.

이 放射線滅菌 方法은 抗生劑(Pogannin-sky *et al.*, 1962), 백신(Polley, 1961)等과 같은 生物製劑의 痘菌은 勿論 加熱滅菌이 不可能한 易熱性物質 痘菌(Oliver *et al.*, 1960) 또는 長期保存을 要하는 食品의 痘菌(Kempe, 1955)等 在來의 痘菌方法으로는 不可能한 物質에 適用이 可能하여 短時間內

經濟的으로 高度의 痘菌效果를 얻을 수 있는 利點때문에 그 利用度는 漸次 增大되고 있다.

특히 백신과 같은 生物製劑 痘菌에 있어서는 細菌 또는 virus 不活化에 必要한 線量이 大部分 低線量이어서 放射線照射에 依한 成分變化는 輕微하나 放射線 低抗性 細菌의 痘菌에 있어서는 高線量의 放射線 照射에 따른 菌體의 成分變化가 있을 것으로期待된다.

따라서 本 實驗은 *Salmonella typhi*, Ty2株의 放射線 感受性을 實驗하고 放射線 照射에 따른 菌體成分의 變化與否를 實驗하였기에 이를 報告하고자 한다.

## 材料 및 方法

### 1. 菌株 및 細菌培養

本實驗에 使用한 菌株는 國立保健院으로부터 分讓받은 *Salmonella typhi*, Ty 2株로서 寒天斜面培地에서  $37^{\circ}\text{C}$ , 18時間 培養한 後  $4^{\circ}\text{C}$ 에 保管 使用하였으며 增殖培地로서는 nutrient broth 및 nutrient agar를 각各 使用하였다.

### 2. 放射線 照射

#### 1) 照射試料

Nutrient broth ( $37^{\circ}\text{C}$ , 18時間)에서 增殖한 細菌液을 International centrifuge, PR-2로 遠心沈澱( $10,000\text{g}$ , 10分,  $4^{\circ}\text{C}$ )하여 얻은 沈澱物을 生理食鹽水로 3回 反復 洗滌한 後 生理食鹽水, 0.02M PBS 및 nutrient broth (Erdman et al., 1961)에 다시 浮遊시키어 Lechat et al. (1963) 方法으로 細菌濃度를  $10^8\text{cells/ml}$ 도록 調製하여 冷凍乾燥(Christensen et al., 1964), 凍結(Comer et al., 1963) 및 gas處理(Howard-Flanders et al., 1957)等 條件을 달리 하여 放射線을 照射하였다.

#### 2) $\text{Co}^{60}$ 감마線 照射

韓國原子力研究所 所在  $\text{Co}^{60}$  panoramic irradiator (1,000 ci  $\text{Co}^{60}$   $\gamma$ -ray source) 照射裝置를 利用하여 160Krad/hour의 線量率로 室溫, 大氣壓下에서 照射하였다.

#### 3) 測定方法

照射試料의 溶存酸素量은 Winkler(1955) 方法에 依하여 測定하였으며 放射線 照射後生存菌體數의 測定은 American Public Health Association(1953)에서 定하는 方法으로 生菌集落形成으로 測定하였다.

### 3. 菌體成分 分析

#### 1) 試料의 製造 및 放射線 照射

Nutrient agar에서 24時間 培養한 細菌을 0.02M PBS에 浮遊시키어 遠心沈澱하여 一定量의 菌體를 確保한 後 美國 BNL Shipboard irradiator (25,000ci  $\text{Co}^{60}$   $\gamma$ -ray source)를 利用하여 950Krad/hour의 線量率로 각各 2,500Krad 및 5,000Krad를 照射

하여 分析用 試料로 使用하였다.

### 2) 分析方法

菌體 아미노酸 分析은 Spackman et al. (1958) 方法에 依한 liquid chromatograph (Hitachi 034 liquid chromatograph)를 利用하여 實施하였으며 carbohydrate 量 및 protein 量의 測定은 anthrone方法 및 micro-kjeldahl 方法에 依하여 各各 測定하였다.

Lipid의 分析은 Folch et al. (1957) 및 Kennedy et al. (1964) 方法에 依하여 脂質抽出液을 精製하여 thin layer chromatography로 脂質을 分離한 後 Kenny(1952) 方法으로 cholesterol을, Harvey et al. (1951) 方法으로 glyceride를, 그리고 Biezenski (1964) 方法으로 phospholipid를 各各 定量하였다.

한편 Takayama et al. (1964) 方法에 依한 菌體蛋白의 polyacrylamide gel 電氣泳動을 實施하였다.

## 結果 및 考察

### 1. 細菌의 放射線 感受性實驗

*Salmonella*의 放射線 感受性을 *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* 및

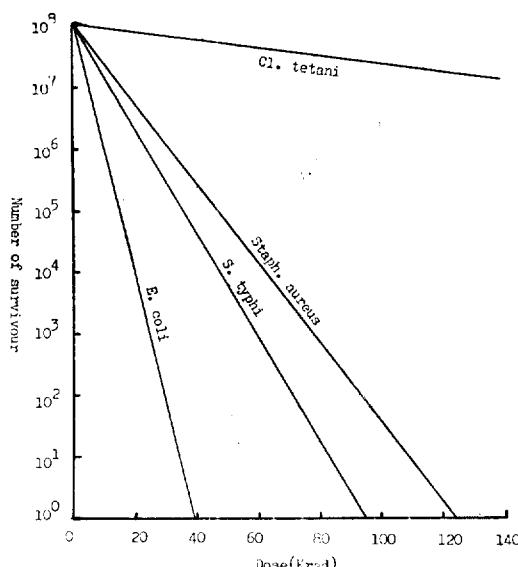


Fig. 1. Radiation sensitivity of non-sporeforming and sporeforming bacterium in 0.02M phosphate buffered saline.

*Clostridium tetani* 等數種細菌과 比較實驗한 結果는 Fig. 1에서 보는 바와 같이 *Escherichia coli*보다는 若干 抵抗性이 있으나 *Staphylococcus aureus*보다는 若干 感受性이 높았으며 *Clostridium tetani*에 比하여는 顯著히 높은 感受性을 나타내었다.

一般的으로 非芽胞形成細菌은 放射線에 對하여 比較的 感受性이 높으나 芽胞形成細菌은 放射線에 對하여 相當한 抵抗性을 나타내는 것으로 報告되고 있으며 本實驗結果에서도 볼 수 있는 바와 같이 非芽胞形成細菌은 200Krad照射로서 完全한 致死를 일으키나 芽胞形成細菌은 約 10倍의 抵抗性을 나타내었다.

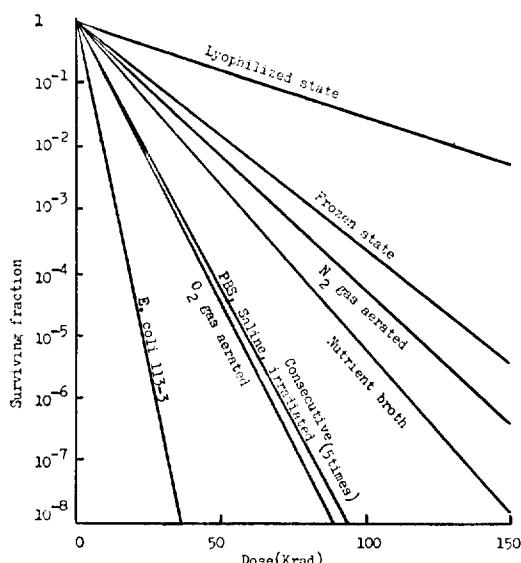


Fig. 2. Sensitivity to irradiation of *Salmonella typhi*, Ty2 under different environmental conditions.

All were irradiated in atmospheric condition except for oxygen ( $16.2\mu M O_2/l$ ) and nitrogen ( $1.8\mu M O_2/l$ ) gas aerated condition.

放射線效果에 미치는 温度, 水分, 酸素의 影響을 實驗코자 食鹽水, 冷凍, 乾燥, 溶存酸素量等을 달리 하여 *Salmonella typhi*의 放射線 感受性을 實驗하였던 바 Fig. 2에서 보는 바와 같이 放射線 照射時에 있어서 環境條件에 따라 크게 影響을 받았으며 특히 冷凍, 乾燥 및 溶存酸素量이 적은 狀態에서 放射線 感受性이 顯著하게 低下하였다.

放射線에 對한 細菌의 感受性을 比較할目的으로  $D_{10}$  value (90% 不活化에 必要한 線量),  $D_0$  value (63% 不活化에 必要한 線量) 및  $10^8$ 의 細菌不活化에 必要한 線量等을 測定한 結果는 Table 1에서 보는 바와 같다.

Table 1에서와 같이 生理食鹽水 또는 PBS에 浮遊시켰을 때는 그 放射線 感受性에는 아무런 差異가 없었으나 nutrient broth 培養液 ( $D_{10}=13.02$ Krad)에서는 若干의 抵抗性을 나타내었으며 冷凍狀態 ( $D_{10}=27.50$ Krad) 또는 乾燥狀態 ( $D_{10}=69.00$ Krad)에서는相當한 放射線 抵抗性을 나타내었다.

또한 同一한 生理食鹽水에 浮遊시켰을 때에도 溶液內에 含有되어 있는 溶存酸素量이 多은 溶液 ( $16.2\mu M O_2/l$ ,  $D_{10}=11.04$ Krad)에서는 溶存酸素量이 적은 溶液 ( $1.8\mu M O_2/l$ ,  $D_{10}=24.00$ Krad)보다 높은 感受性을 나타내었다.

한편 *Salmonella typhi* 溶液을 完全致死線量 以下의 線量 즉 90Krad의 線量을 계속 5回 反復 照射하여 放射線 抵抗性 變異株 形成與否를 實驗한 結果 元來의 細菌과 같은 感受性 ( $D_{10}=11.75$ Krad)을 보이고 있어 放射線 抵抗性의 形成은 없는 것으로 나타났다.

Table 1. Effect of environmental factors on the sensitivity of *Salmonella typhi*, Ty2 to irradiation with gamma ray

Irradiated state	<i>E. coli</i> , 113-3	Physiological saline	Phosphate buffered saline	Nutrient broth	Frozen state	Dried state	Aerated with oxygen	Aerated with nitrogen	Consecutively irradiated (5times)
Inactivation dose(Krad)									
$D_0$ value	2.1	5.1	5.1	5.7	11.9	29.96	4.8	10.4	5.1
$D_{10}$ value	4.88	11.75	11.75	13.02	27.50	69.00	11.04	24.00	11.75
Dose for $10^{-8}$ fold reduction	39.0	94.0	94.0	164.2	220.4	552.0	88.4	188.0	94.0

Ley et al.(1963)에 의하면 *Salmonella* 屬의 放射線 感受性은 serotype에 따라 若干의 差異는 있으나 室溫에서 PBS에 浮遊시키어 照射했을 때  $D_{10}$  value는 13.2~20.8 Krad(aerated state), 36.3~61.9 Krad (anoxic state), 21.1~49.4 Krad (frozen state)로서 冷凍 및 溶存酸素量의 低下로서 細菌의 感受性은 減少하였다고 報告한 바 있다.

一般的으로 放射線에 依한 細菌의 損傷은 酸素의 存在로서 增加되며 특히 増殖型 *Salmonella typhi*에 있어서는 酸素의 存在로서 感受性은 顯著히 增加하여 酸素가 전혀 없는 狀態에서 보다 約 3倍의 放射線에 依한 損傷을 받는다고 한다.

Howard-Flanders et al.(1957)에 의하면 *Shigella flexneri*는 少量( $4.0\mu M O_2/l$ )의 酸素存在로서 完全한 酸素效果를 일으켜 酸素를 飽和시켰을 時遇와 거의 같은 放射線效果를 實驗함으로써 이 같은 酸素效果는 少量存在로서 充分하며 그 以上的 多量의 酸素가 存在할지라도 放射線效果에는 크게 影響을 주지 않았다고 報告한 바 있다.

本 實驗에 있어서 生理食鹽水와 PBS에서 는 같은 感受性을 나타내고 있음을 이들 溶液의 性狀이 거의 같으며 放射線效果를 潛害하는 다른 物質이 存在하고 있음을 보여주고 있다.

Table 1에서 볼 수 있는 바와 같이 生理食鹽水( $5.04\mu M O_2/l$ ,  $D_{10}=11.75$ Krad)에 室素 gas를 注入시키어 溶存酸素量을 低下( $1.8\mu M O_2/l$ ,  $D_{10}=24.00$ Krad)했을 때는 約 2倍의 抵抗性을 나타내었으나 酸素 gas로서 溶存酸素量을 增加( $16.2\mu M O_2/l$ ,  $D_{10}=11.04$ Krad)했을 때는 若干 感受性이 增加하였다.

이로서 溶存酸素量의 增加는 放射線效果를 上昇시키며  $5.0\mu M O_2/l$ 의 溶存酸素量으로서 그 effect는 充分하며 그 以上的 濃度에서는 放射線效果에 크게 影響을 주지 못했음을 알 수 있었다.

또한 放射線效果에 크게 影響을 주는 温

度는 氷點附近( $0^{\circ}C$ 上下)에서는 크게 影響을 주지 않지만 液體狀態( $0^{\circ}C$ 以上)와 凍結狀態( $0^{\circ}C$ 以下)에서는 크게 差異가 있었다.

實際로 달걀에 汚染된 *Salmonella typhimurium*을  $10^7$ 의 factor로 不活化하는데 必要한 線量은 280Krad(Proctor et al., 1953)였으나 凍結狀態의 달걀(frozen egg)에서는 420Krad(Comer et al., 1963), 乾燥狀態의 달걀(dried state)에서는 370Krad(Brogue et al., 1957)로서 凍結 또는 乾燥狀態에서는 感受性이 低下하였음을 實驗한 報告가 있다.

放射線 保護物質로서는 여러 가지가 있으나 細菌致死에 關與하는 保護物質로서는 cysteine, cysteamine, methionine, histidine等 여러 가지 物質들을 들 수 있다.

이 같은 保護物質에 依한 放射線 防禦作用은 食品에 存在하는 細菌의 汚染을 除去하기 위하여 放射線을 利用할 때 顯著하게 나타나며(Fuld et al., 1957), nutrient broth 培養液에서도 같은 保護作用이 있다는 報告(Erdmann et al., 1961)도 있다.

著者들의 實驗成績에서 보는 바와 같이 nutrient broth 培養液, 凍結狀態 및 乾燥狀態에서 照射했을 때 PBS에서 보다 각각 1.11倍, 2.34倍 및 5.87倍의 放射線抵抗性을 나타내었으며 이 成績은 放射線 保護作用이 nutrient broth 培養液에 있음을 알 수 있었으며 温度의 低下 또는 水分의 除去로서 放射線效果는 非常 抑制되었음을 알 수 있었다.

Erdmann et al.(1961)에 의하면 *Salmonella gallinarum*은 0.3% yeast extract를 添加한 nutrient broth에선 PBS에서 보다 2倍 以上的抵抗性을 나타내었다고 報告하여 本 實驗成績에 比하여 높은抵抗性을 報告한 바 있으나 이 같은抵抗性的增加는 serotype에 따른 差異도 있겠으나 yeast extract 添加에 크게 起因된 것으로 생각된다. 凍結 또는 乾燥狀態에서 *Salmonella*去除에 必要한 線量에 關한 報告는 많으나 그 成績은 각각 다르며 一般的으로  $10^7$ 의 factor

로 不活化시키는 데 必要한 線量은 凍結狀態에서는 212~540Krad, 乾燥狀態에서는 370~585Krad였다고 한다.

本 實驗成績에서는 凍結狀態에서 220.4 Krad로서 Nickerson *et al.*(1957)의 成績과 類似하였으며 乾燥狀態에서는 552.0Krad로서 Brogle *et al.*(1957)의 成績과 잘一致하고 있다.

細菌이 完全致死線量 以下의 線量을 反復하여 數回 照射받았을 때 이 細菌은 放射線에 對하여 抵抗力이 形成되어 一種의 變異를 일으키는데 *Escherichia coli*(Witkin, 1946; Alper *et al.*, 1960), *Streptococcus fecalis*, *Staphylococcus aureus* 및 *Clostridium botulinum* type A等(Erdmann *et al.*, 1961)에서는 放射線 抵抗性 變異株

가 形成되었다는 報告가 있는 反面, Erdmann *et al.*(1961)은 *Salmonella gallinarum*을 200,000 r.e.p.로 14回 反復 照射한 結果 變異株의 形成은 없었다고 한다.

著者들의 實驗에 있어서도 90Krad의 放射線을 5回 照射함으로써 放射線 抵抗性 變異株의 形成을 觀察할 수 없었다.

放射線에 依한 細菌의 致死作用은 直接作用과 間接作用에 依하여 일어나며 兩者가 다같이 致死作用을 나타내고 있다.

특히 間接作用에는 酸素效果, 물의 效果等이 크게 關與하고 있으며 放射線 效果에 미치는 이들의 影響을 一律的으로 論하기는 힘들다.

一般的으로 水分의 存在는 放射線의 化學作用에 依하여 遊離基가 生成되고 이들 遊

Table 2. The amino acid compositions of irradiated and non-irradiated *Salmonella typhi*, Ty2

Amino acid	Non-irradiated	Irradiated (Mrad)	
		2.5	5.0
mole/100moles of total amino acid			
Aspartic acid	12.72	15.04	16.31
Threonine	2.95	4.17	4.79
Serine	2.82	3.80	5.59
Glutamic acid	13.65	18.47	15.33
Proline	3.82	3.48	4.60
Acidic total	35.96	44.96	46.62
Glycine	12.15	12.16	12.12
Alanine	15.40	15.54	16.40
Valine	4.02	3.60	2.84
Methionine	2.86	3.03	0.72
Isoleucine	4.44	3.77	3.18
Leucine	7.78	6.35	7.86
Tyrosine	1.26	0.80	0.33
Phenylalanine	1.74	1.06	0.42
Neutral total	49.65	46.34	43.87
Lysine	9.27	6.76	8.50
Histidine	0.90	0.34	0.20
Arginine	4.23	1.60	0.72
Methylated lysine	Tr.	Tr.	Tr.
Basic total	14.40	8.70	9.42
Total	100.00	100.00	99.91

離基間의 再結合 및 遊離基와 他分子와의 化學結合을 誘發하여  $H_2O_2$  및  $-O_2H$ 와 같은 毒性物質이 生成되어 細菌의 致死現象을 加速시키는 것으로 解釋되고 있다.

또한 酸素의 存在는 이들 遊離基와의 化學結合으로 毒性物質의 生成을 增加시키며 더욱이 細菌의 旺盛한 新陳代謝를 誘發하여 致死效果를 增大시키는 것으로 알려져 있다.

本 實驗에 있어서도 冷凍 또는 乾燥狀態에 있어서는 이같은 毒性物質의 生成 또는 運動力의 制限을 받게 되어 放射線에 對한 防禦效果를 나타내어 抵抗性을 나타내었으며 nutrient broth 培養液에서의 若干의 感受性 低下는 培養液內에 存在하는 放射線

防禦物質에 起因되는 것으로 생각된다.

## 2. 菌體成分 分析 實驗

菌體蛋白의 아미노酸 組成에 미치는 放射線의 影響은 Table 2에서 보는 바와 같이 酸性아미노酸은 2.5Mrad 照射群에서 25.02%, 5.0Mrad 照射群에서 29.46%의 增加를 나타내었으나 中性아미노酸에서는 6.67%, 11.65% 그리고 鹽基性아미노酸에서는 39.59%, 34.59%의 減少를 나타내었다.

이와같이 放射線 照射에 依한 酸性아미노酸의 增加 또는 中性 및 鹽基性 아미노酸의 減少等 아미노酸 組成의 增減現像是 蛋白質 polypeptide를 構成하는 中性 및 鹽基性아미노酸의 側鎖가 放射線에 依하여 酸化 또

Table 3. The chemical composition of irradiated and non-irradiated *Salmonella typhi*, Ty2

Composition	Non-irradiated	2.5Mrad irradiated	5.0Mrad irradiated
mg/100mg dry wt.			
Nitrogen <sup>1)</sup>	13.46mgN	9.68mgN	7.46mgN
Carbohydrate <sup>2)</sup> as glucose	22.41	14.72	10.65

1) Micro-kjeldahl method

2) Anthrone method

Table 4. The lipid compositions of irradiated and non-irradiated *Salmonella typhi*, Ty2

Lipid	Non-irradiated	2.5Mrad irradiated	5.0Mrad irradiated
mg/g dry weight			
Free sterol <sup>1)</sup>	1.899	1.223	1.000
Esterified sterol	1.351	1.181	0.957
Total sterol	3.250	2.404	1.957
Monoglyceride <sup>2)</sup>	1.840	3.004	2.802
Diglyceride	1.681	2.491	0.879
Triglyceride	3.746	1.401	1.416
Total glyceride	7.267	6.899	5.097
Phosphatidyl inositol <sup>3)</sup>	0.322	0.374	0.217
Phosphatidyl choline	0.250	0.429	0.419
Phosphatidyl ethanolamine	1.308	0.097	0.376
Unidentified phospholipid	0.566	0.544	1.005
Total phospholipid	2.446	2.254	2.117

1) Liebermann-Burchard method

2) Harvey and Higby method

3) Biezenski method



**Fig. 3.** Polyacrylamide gel electrophoretic pattern of normal *Salmonella typhi*, Ty2 and its densitometric representation.



**Fig. 4.** Polyacrylamide gel electrophoretic pattern of 2.5Mrad irradiated *Salmonella typhi*, Ty2 and its densitometric representation.



**Fig. 5.** Polyacrylamide gel electrophoretic pattern of 5.0Mrad irradiated *Salmonella typhi*, Ty2 and its densitometric representation.



는 分解되어 酸性아미노酸으로 轉換된 것으로 解析된다.

菌體 總蛋白量 및 糖含量의 分析結果는 Table 3 에서와 같이 總蛋白量은 對照群에서는  $13.46\text{mgN}$ 이었으나 2.5Mrad照射群에서는  $9.68\text{mgN}$ , 5.0Mrad照射群에서는  $7.46\text{mgN}$ 으로 각각 28.09%, 44.6%의 減少를 나타내었으며 糖含量에 있어서도 對照群에

서  $22.41\text{mg}\text{\AA}$  2.5Mrad照射群에서는  $14.72\text{mg}$ , 5.0Mrad照射群에서는  $10.65\text{mg}$ 으로 34.32%, 52.5%의 減少를 各各 나타내었다. 菌體 脂肪成分은 Table 4에서 보는 바와 같이 glyceride가 脂肪成分의 大部分을 차지하고 있으며 sterol, phospholipid의 順으로 그 含量은 低下하였다.

Table 4에서 볼 수 있는 바와 같이 放射

線照射로서 sterol量은 2.5Mrad照射群에서는 sterol 26.04%, glyceride 5.07%, phospholipid 7.85%의減少를 나타내었으며 5.0Mrad照射群에서는 sterol 39.79%, glyceride 29.87%, phospholipid 13.46%의减少를 나타내어 放射線照射에 依한 脂肪量의减少를 알 수 있었다.

특히 glyceride量에 있어서 2.5Mrad照射로서 mono-, diglyceride量이 對照群에 比하여 增加하였고 triglyceride量은 急激히减少하였다.

이와같이 mono-, diglyceride量의增加 및 triglycerid量의减少는 放射線에 依하여 triglyceride가 mono-, diglyceride로 分解하여 轉換된 것으로 推測된다.

以上의 結果로 미루어 sterol의 放射線에 對하여 가장 敏感하게 量의减少를 나타내었으며 phospholipid는 가장 安定하였다.

한편 polyacrylamide gel 電氣泳動法에 依하여 菌體蛋白에 미치는 放射線의 影響을 實驗한 結果 Fig. 3, Fig. 4, Fig. 5에서 보는

바와 같이 對照群에 있어서는 12~13個의 明確한 菌體蛋白分劃을 나타내었으나 2.5 Mrad 및 5.0Mrad照射群에 있어서는 5~6個의 蛋白分劃만을 볼 수 있었다.

이같은 蛋白分劃의 消失은 放射線照射로 因한 蛋白質分子의 分解에 따라 活動度의 變化 乃지 消失을 일으키기 때문인 것으로 생각된다.

細菌菌體成分에 對한 放射線의 影響에 關한 報告는 DNA, 細胞膜의 透過性, enzyme의 不活化 等에 關한 報告가 大部分이며 菌體構成成分의 變化를 實驗한 報告는 아직 없다.

放射線照射에 依하여 菌體成分의 變化를 일으키는 誘發機作, 나아가 菌體成分의 變化 또는 分解로 因한 毒性物質의 生成如否等에 關한 問題는 앞으로 研究 檢討되어야 할 問題라 생각되며 이들 問題들이 研究 紛明됨으로써 放射線을 利用한 生物製劑의 滅菌 또는 食品貯藏 分野에 커다란 貢獻을 줄 것으로 期待된다.

## 摘

## 要

放射線을 照射하여 *Salmonella typhi*, Ty2株의 不活化에 需要한 放射線 線量을 測定하고 放射線 照射에 따른 細菌成分의 變化를 實驗한 結果 다음과 같은 結論을 얻었다.

- (1) *Salmonella typhi*, Ty2 菌體의 完全致死에 需要한 放射線 線量은 200Krad 以上이었으며 溶存酸素量 및 水分의减少 또는 除去로서 이 線量은 增加하였다.
- (2) *Salmonella typhi*, Ty2 菌體를  $10^8$ 의 factor로 不活化 시키는데 需要한 線量은 生理食鹽水 및 PBS에서 94.0Krad, nutrient broth에서 164.2Krad, 冷凍 및 乾燥狀態에서는 220.4Krad 및 552.0Krad였으며 溶存酸素量  $16.2\mu M O_2/l$ 에서 88.3Krad,  $1.8\mu M O_2/l$ 에서 188.0Krad였다.
- (3) *Salmonella typhi*, Ty2 菌體에 90Krad의 線量을 5回反復 照射하였으나 菌體의 放射線 抵抗力의 形成은 없었다.
- (4) 菌體蛋白 아미노酸組成은 放射線에 對하여 酸性아미노酸은 比較的 安定하였으나 中性 및 鹽基性아미노酸은不安定하였다.
- (5) 菌體總蛋白 및 糖含量은 5.0Mrad照射로서 44.58% 및 52.48%가减少하였고 脂肪은 sterol, glyceride, phospholipid의順으로减少하였으며 phospholipid가 가장 安定하였다.
- (6) 菌體蛋白의 電氣泳動結果 對照群에서는 12~13개의 蛋白分劃을 認知할 수 있었으나 放射線照射로서 分劃의减少를 일으켰다.

## 引用文献

1. Alper, T., and Gilles, N.E., 1960. The relationship between growth and survival after irradiation of *E. coli* strain B and two resistant mutants. *J. Gen. Microbiol.*, **22**, 113.
2. American Public Health Association, 1953. Standard methods for the examination on daily products, 10th edition. American public health association Inc., N.Y.
3. Biezenski, J.J., 1964. Quantitative and preparation of phospholipids by elution following improved thin layer chromatography separation. *Federation Proc.*, **23**, 503.
4. Brogle, R.C., Nickerson, J.T.R., Proctor, B.E., Pybne, A., Campbell, C., and Charm, S., 1957. Use of high voltage cathod rays to destroy bacteria of the *Salmonella* group in whole egg solids, egg yolk solids, and frozen egg yolk. *Food Res.*, **22**, 572.
5. Christensen, E.A., and Holm, N.W., 1964. Inactivation of dried bacteria and bacterial spores by means of ionizing radiation. *Acta Path. Microbiol. Scand.*, **60**, 253.
6. Comer, A.G., Anderson, G.W., and Gerrard E.H., 1963. Gamma irradiation of *Salmonella* species in frozen whole egg. *Can. J. Microbiol.*, **9**, 321.
7. Erdman, I.E., Thatcher, F.S., and MacQueen, K.F., 1961. Studies on the irradiation of microorganisms in relation to food preservation. I. The comparative sensitivities of specific bacteria of public health significance.
8. Erdman, I.E., Thatcher, F.S., and MacQueen, K.F., 1961. Studies on the irradiation of microorganisms in relation to food preservation. II. Irradiation resistant mutants. *Can. J. Microbiol.*, **7**, 207.
9. Folch, J., Lees, M., and Sloane Stanley, G.H., 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.*, **226**, 497.
10. Fuld, G.J., Proctor, B.E., and Goldblith, S.A., 1957. Some microbiological aspects of radiation sterilization. *Int. J. Appl. Rad. Isotopes*, **2**, 35.
11. Hart, E.J., 1954. Molecular product and free radical yields of ionizing radiation in aqueous solutions. *Rad. Res.*, **1**, 53.
12. Harvey, S.C., and Higby, V., 1951. A microcolorimetric method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.*, **226**, 497.
13. Howard-Flanders, P., and Alper, T., 1957. The sensitivity of microorganisms to irradiation under controlled gas conditions. *Rad. Res.*, **7**, 518.
14. Kempe, L.L., 1955. Combined effects of the heat radiation in food sterilization. *Appl. Microbiol.*, **3**, 346.
15. Lechat, M.F., and Hanks, J.H., 1963. The concentration of *M. leprae* in lepromins in currently available lepromine. *Internat. J. Leprosy*, **31**, 348.
16. Ley, F.J., Freeman, B.M., and Hobbs, B.C., 1963. Studies on the use of ionizing radiation for the cultivation of *Salmonellae* from various feeds, to be published.
17. Nickerson, J.T.R., Charm, S.E., Brogle, R.C., Lockhart, E.E., Proctor, B.E., and Lineweaver, H., 1957. Use of high voltage cathod rays to destroy bacteria of the *Salmonella* group in liquid and frozen egg white solids. *Food. Tech. Champaign*, **11**, 159.
18. Oliver, R., and Tomlinson, A.H., 1960. The sterilization of surgical rubber gloves and plastic tubing by means of ionizing radiation. *J. Hyg. Camb.*, **58**, 465.
19. Poganinsky, V.I., Ermolev, Z.V., and Breger, A.Kh., 1962. Radiation sterilization of antibiotic preparations. *Antibiotiki*, **9**, 786—789.
20. Polley, J.R., 1961. Preparation of non-infective antigens with gamma radiation. *Can. J. Microbiol.*, **7**, 135.
21. Spackman, D.H., Stein, W.H., and Moore,

- S., 1958. Automatic recording apparatus for use in the chromatography of amino acids. *Anal. Chem.*, **30**, 1190.
22. Takayama, K., MacLennan, D.H., Tzagoloff, A., and Stoner, C.O., 1964. Studies on the electron transfer system LXVII. Polyacrylamide gel electrophoresis of the mitochondrial electron transfer complexes. *Arch. Biochem. Biophys.*, **114**, 223.
23. Thornley, M.J., 1963. Microbiological aspects of the use of radiation for the elimination of *Salmonellae* from foods and feeding stuffs. Radiation Control of *Salmonellae* in Food and Feed Products, IAEA, Vienna.
24. Trevelyan, W.E., and Harrison, J.S., 1956. Studies on yeast metabolism 7 yeast carbohydrate fraction. Separation from nucleic acid, analysis, and behavior during anaerobic fermentation. *Biochemistry*, **63**, 23.
25. Winkler, D.W., 1955. Determination of absorbed oxygen in water. Analy. Chemistry (II), p. 700.
26. Witkin, E., 1946. Inherited differences in sensitivity to irradiation in *E. coli*. *Proc. Natl. Acad. Sci., U.S.*, **32**, 59.