

실험동물 사료의 처리방법별 살균효과와 성분변화

양재승 · 권중호 · 변명우 · 조한옥

한국에너지연구소 식품조사연구실
(1987년 2월 12일 수리)

Sterilization and Quality Changes of Laboratory Rodent Diet by Different Treatments

Jae Seung Yang, Joong Ho Kwon, Myung Woo Byun and Han Ok Cho

Division of Food Irradiation, Korea Advanced Energy Research Institute

Abstract

The usual sterilization methods such as fumigation and autoclaving of laboratory rodent diet was compared with a new irradiation treatment in the point of sterilization effect and physico-chemical quality. Under the treatments of 10~20 kGy γ -irradiation and autoclaving at 121°C for 20 min, total microorganisms were eliminated but ethylene oxide fumigation was insufficient to destroy them. Total amino acid content was reduced about 5% in 20 kGy radiation treatment compared with control, while in the ethylene oxide fumigation and the autoclaving, the reducing rate was markedly great as 15% and 20%, respectively. Total sugar and mineral contents were not significantly different among treatment among treatment groups. TBA values were increased in all treatments. The pH of irradiated group was stable in comparison with that of ethylene oxide. In the treatments of ethylene oxide and especially autoclaving, overall appearance was decreased to a great extent as a result of decreasing lightness and increasing redness.

序 論

실험동물 먹이로서 germ free, gnotobiotic, specific pathogen-free 飼料은 殺菌處理가 필수적으로 요구되며 현행의 살균방법으로는 가열처리와 ethylene oxide (E.O.) 등의 燻蒸劑 처리법 등이 이용되고 있으나 가열처리는 飼料의 品溫을 크게 상승시켜 심한 營養素의 파괴와 외관적 품질을 저하시킬 뿐만 아니라 동물의 嗜好性을 저하시킨다. 또한 E.O.와 같은 화학약품처리는 완포장 상태로는 가스의 침투가 곤란하여 완전살균이 안되며 재포장에 따른 2차오염의 가능성이 높을 뿐만 아니라 藥劑成分의 殘留 및 有毒性物質의 生成 등 많은 문제점을 내포하고 있다^{1,2)}. 이러한 문제점을 해결할 수 있는 대체방안으로서 放射線照射에 의한

殺菌方法이 개발되어 외국에서는 飼料에 오염된 病原性 微生物의 殺菌 및 無菌飼料의 생산에 활용되고 있다^{3,4)}.

따라서 본 연구는 飼料의 효과적인 살균에 따른 무균사료의 생산으로 실험동물의 효율적인 사육의 필요성이 크게 증대됨에 따라 방사선에 의한 實驗動物 飼料의 살균기술을 조속히 실용화할 목적에서 국내에서 주로 이용되고 있는 재래적인 사료의 살균방법과 방사선 照射方法과의 살균효과 및 사료의 이화학적 품질 등에 미치는 영향을 비교 평가함으로써 방사선 照射方法의 效率性을 확인하고자 하였다.

材料 및 方法

試 料

실험동물용 사료로서 P사(I), S사(II), J사(III), B사(IV) 등 4종류의 시판사료를 구입하였으며, 사료의 포장은 이중으로 접합된 polyethylene 주머니를 사용하여 소단위로 포장한 다음 살균용 시료로 하였다.

放射線 照射

포장된 사료의 放射線 照射는 1986년 3월 15일에 線源 10,000 Ci의 Co-60 감마선 照射施設을 이용하여 시간당 300Gy의 線量率로서 5, 10, 20 kGy를 각각 照射시켰다.

燻蒸劑 處理

燻蒸處理는 專門業體(T gas 化學)에 의뢰하여 국내에서 가장 많이 이용되고 있는 ethylene oxide (E.O.)를 사용하였는데 가스의 혼합비는 ethylene oxide : CO₂가 30 : 70%(w/w)의 비율로 50~55°C의 온도와 30~50% 상대습도, 0.6~1 kg/cm²G의 gas 압력과 1.77 kg/m³의 gas 밀도의 chamber內에서 8시간 살균처리하고 탈기하여 무균실에서 再包裝을 실시하였다.

加熱殺菌

試料를 약 500ml 광구병에 담아 121°C에서 20分間 殺菌處理하였다. 微生物 측정을 위해서는 무균실에서 시료 일부분을 취하여 바로 實驗에 사용하였으며, 成分등 영양학적 분석을 위해서는 시료를 분쇄하여 소형 polyethylene으로 포장하였고 실온에 저장하면서 실험에 사용하였다.

微生物 檢査

일반세균은 APHA 표준방법에 따라 TGY agar를 이용, 30°C에서 1~2일 배양한 후 계수하였다⁵⁾. 糸狀菌은 MYG-chloramphenicol agar를 사용하여 30°C에서 3~5일간 배양한 후 계수하였다. 耐滲透壓性 곰팡이는 15% NaCl-malt agar를 사용하여 30°C에서 3~5일간 배양한 후 계수하였다. 대장균군은 plate method로 desoxycholate agar를 사용하여 37°C에서 1~2일간 배양하여 형성된 적색의 집락을 계수하였다. 장내 병원성세균은 선택배지인 Salmonella & Shigella agar를 이용하여 37°C에서 1~2일 배양하여 집락을 계수하였다⁶⁾.

일반성분 분석

각 시료의 일반성분으로서 수분과 회분함량은 상법에 의하여 측정하였고⁷⁾ 조단백질은 봉산에 의한 암모니아 흡수법⁸⁾, 조지방은 soxhlet 추출법에 의하여었으며⁹⁾ 전당은 25% HCl로 가수분해시킨 뒤 환원당과 같이 Somogyi 방법으로 분석하였다.

아미노산 분석

시료 3g을 test tube에 취한 뒤 6N HCl을 가하고 15lb, 121°C에서 3시간 가수분해시킨 후 whatman filter paper No. 2로 여과시켰다. 다시 0.45 μM membrane filter로 재여과 한다음 cartridge C₁₈을 사용하여 단백질, 지방질, 색소 등을 제거한 후 아미노산 자동분석기에 주입하여 분석하였다.

무기질 정량

습식 분해법으로 전처리한 후 Ca, Cu, K, Mn, Mg, Fe를 atomic absorption spectrophotometer로 정량하였으며, P는 molybden blue 비색법에 따라 정량하였다¹⁰⁾.

TBA가 측정

Turuer의 추출법¹¹⁾으로 시료 일정량을 50ml 원심분리관에 적량 가하고 2M-phosphoric acid에 용해한 20%-TCA 5ml와 0.01M-TBA (thiobarbituric acid)를 10ml 가하여 열탕조(97~99°C)에서 때때로 흔들어서 주면서 30분간 가열하였다. Ice bath에서 10분간 냉각시켜 solid fat층을 제거하고 isoamyl alcohol-pyridine(2 : 1 v/v) 용액 15ml를 가하여 2분간 강하게 흔들어서 상온에서 15분간 원심분리(2400rpm)하고 emulsion을 파괴시킨뒤 상등액을 spectrophotometer(Bausch & Lomb Spectronic 710)의 538nm에서 isoamyl alcohol-pyridine(2 : 1 v/v)을 blank로하여 吸光度를 측정하였다.

色 度

色度는 試料를 분말화하여 color/color difference meter(Model ND-1001 DP)를 이용 L(명도), a(적색도), b(황색도) 및 ΔE(색차)를 測定하였다.

pH

pH는 pH meter(Corning No. 5)를 사용하여 시료 10g을 탈이온수 20ml에 混和하고 원심분리한 후 상등액을 測定하였다.

結果 및 考察

微生物 分布 및 殺菌效果 比較

실험동물 사료는 全細菌이 $5.0 \times 10^3/g \sim 4.9 \times 10^5/g$, 糸狀菌이 $9.0 \times 10^1/g \sim 3.5 \times 10^3/g$, 耐滲透

壓性 곰팡이가 $4.6 \times 10^1/g \sim 2.9 \times 10^3/g$ 이었으며 4종의 사료중 1종만이 대장균군이 $1.3 \times 10^5/g$, 腸內病原性 細菌이 $3 \times 10^2/g$ 이었고 나머지 3종류에서는 大腸菌群만이 양성으로 나타난 것이 2종류였으며 腸內病原性 細菌의 檢出은 없었는데 이는 이들 제품이 어느 정도의 殺菌處理(예로 펠릿사료화

Table 1. Distribution of microorganisms in laboratory rodent diets

(Number of viable cells/g)

Samples	Total bacteria	Fungi	Osmophilic molds	Coliforms	Enteric pathogens
I	4.9×10^5	3.5×10^3	2.9×10^3	1.3×10^5	3.2×10^2
II	1.0×10^4	1.2×10^3	1.1×10^3	+	-
III	5.0×10^3	9.0×10^1	4.6×10^1	+	-
IV	1.6×10^5	2.0×10^2	1.4×10^2	-	-

Table 2. The comparative effect of ethylene oxide (E.O.), autoclaving (Auto.) and gamma irradiation on the microflora of laboratory rodent diets

(Number of viable cells/g)

Samples	Treatments	Total bacteria	Fungi	Coliforms
I	Control	4.9×10^5	3.5×10^3	1.3×10^5
	5 kGy	2.5×10^2	1.0×10^2	-
	10 kGy	+	-	-
	20 kGy	-	-	-
	E.O.	1.2×10^2	-	-
	Auto.	-	-	-
II	Control	1.0×10^4	1.2×10^3	+
	5 kGy	+	+	-
	10 kGy	-	-	-
	20 kGy	-	-	-
	E.O.	-	-	-
	Auto.	-	-	-
III	Control	5.0×10^3	9.0×10	+
	5 kGy	+	-	-
	10 kGy	-	-	-
	20 kGy	-	-	-
	E.O.	-	-	-
	Auto.	-	-	-
IV	Control	1.6×10^5	2.0×10^2	-
	5 kGy	2.6×10^2	-	-
	10 kGy	-	-	-
	20 kGy	-	-	-
	E.O.	1.0×10^2	-	-
	Auto.	-	-	-

공정에서 어느 정도 가열이 됨)를 거친 것으로 생각된다.

제래적인 殺菌方法으로 加熱處理(autoclaving)와 ethylene oxide 처리와 放射線을 線量別로 조사하여본 결과는 Table 2와 같다. 10~20kGy의 放射線照射와 121°C에서 20분간 가열처리한 것은 全微生物을 완전살균시켰고 ethylene oxide 처리는 두 시료에서 전세균이 10²/g 정도 생존되어 殺菌이 불충분함을 알 수 있었는데 본실험의 이러한 결과는 Nadudvari 나 Mossel 및 Ford의 실험결과와 일

치하였다^{12~14}). 일본의 연구결과에 의하면 25~30 kGy의 방사선조사가 실험동물 사료의 살균을 위한 適正線量이라 하였으며 加熱處理에 의한 살균보다 微生物과 營養學的으로 안전하였다고 한다^{1,15~19}). 이상의 결과에서와 같이 방사선 조사에 의한 실험동물 사료의 살균은 사용목적에 따라 차이는 있으나 10~20 kGy의 선량으로 腸內病原性細菌 및 대장균군, 곰팡이 및 일반세균의 살균에 充分하였으며^{20~22}) 이들의 실용화를 위해서는 照射時 飼料의 포장방법과 放射線 照射後 저장환경에 따

Table 3. Proximate composition of laboratory rodent diets

Samples	Moisture	Ash	Crude fat	Total sugar	Crude protein	Crude fiber
I	12.94	7.76	4.33	45.0	23.6	4.5
II	8.35	10.79	4.00	50.0	23.2	4.0
III	13.79	6.46	3.99	48.4	21.9	5.0
IV	12.80	7.59	5.66	45.9	24.1	3.7

Table 4. Comparative effects of different sterilizing treatments on the amino acid content of rodent diet^a

Amino acids	Control	Irradiated		Ethylene-oxide ^b treatment	Autoclaved ^b
		10 kGy	20 kGy		
Aspartic acid	2.14	2.09	2.04	2.02	2.02
Threonine	0.61	0.61	0.64	0.58	0.58
Serine	1.07	1.03	1.14	1.00	1.00
Glutamic acid	3.65	3.56	3.70	3.42	3.24
Glycine	0.95	0.93	1.02	0.89	0.89
Alanine	1.04	1.07	1.08	1.04	1.04
Valine	0.61	0.59	0.66	0.58	0.54
Methionine	0.25	0.22	0.29	0.30	0.07
Isoleucine	1.16	1.16	0.44	0.48	0.30
Leucine	1.41	1.47	1.41	1.53	1.08
Tyrosine	0.34	0.31	0.31	0.29	0.23
Phenylalanine	1.47	1.43	1.37	1.36	1.03
Lysine	0.96	1.02	1.01	0.98	0.74
NH	0.37	0.34	0.38	0.31	0.32
Histidine	0.30	0.31	0.29	0.31	0.06
Arginine	1.29	1.12	1.04	1.09	0.85
Total	17.62	17.26	16.82	15.09	14.17

^a Total amino acid content is expressed as the percentage on het basis of dry weight

^b Treatment conditions are given in the text

른 미생물의 生育에 관한 연구가 더 수행되어야 할 것이다.

일반성분

시료의 일반성분을 분석해 본 결과 수분 함량은 12~13% 내외 全糖이 50% 정도였으며 조단백질의 함량에서 다소 차이가 있을뿐 기타성분에서는 매우 유사한 조성을 보였는데 이는 사료의 一定配合基準에 의거 조제된 사료였기 때문에 생각된다.

아미노산 함량

放射線照射, 燻蒸處理 및 加熱處理에 의한 實驗動物飼料의 아미노산 영향을 본 結果는 Table 4와 같다. 全 아미노산은 대조구보다 殺菌處理區가 전부 조금씩 감소하였는데 감소정도는 放射線照射가 가장 낮았으며 그 다음으로 燻蒸處理 그리고 加熱處理에서는 제일 많이 변화되어 Maillard 반응에 의한 褐變이 촉진되었다²³⁾. 그리고 여러가지 처리에 변하기 쉬운 lysine의 경우 조사구에서는 1.02로서 대조구보다 많거나 비슷하였으나 가열처리되는 0.74%로 아미노산이 심히 파괴되었다. 그의 methionine과 histidine의 감소가 일어나 가열처리구에서는 거의 파괴되었다. Ford²³⁾는 laboratory rodent diet의 구성에 있어서 사료의 단백질과 아미노산에 대한 25 kGy의 감마선 照射와 가열처리 및 ethylene oxide 처리와의 비교에서 감마선 照射는 가장 영향이 작았으나 가열처리된 시료는 total protein, protein quality 및 전 그리고 유효 아미노산의 함량에 가장 큰 영향을 미쳤다고 보고한 바 있다. 따라서 방사선照射가 완전멸균효과 면에서 ethylene oxide보다 나으며 영양소 파괴 정도로 보아 가열살균보다 우수함을 보인다고 말할 수

있겠다.

無機質

본 실험에 사용된 실험동물 사료의 무기질 성분에 대한 감마선照射와 ethylene oxide 처리 및 가열살균의 영향을 비교한 結果는 Table 5와 같다. 무기질 성분 중 Na, K, Ca, Mg, Cu, Fe, Zn 등 8가지가 검토되었는데 가열처리구에서 Na과 Ca의 함량이 조금 감소되었을 뿐 유의적인 차이가 없었다. 이는 각처리가 무기질함량에 별변화를 일으키지 않음을 말하는 것이며 특히 무기질 성분에 대한 방사선조사에의 영향은 거의 검토되지 않은바 추후의 구체적인 연구가 요망된다.

TBA價 변화

사료의 산패척도로 TBA가를 측정해 본 결과 조사선량의 증가에 따라, TBA價가 약간씩 상승하였다. 즉 malonaldehyde로 표시한 TBA價는 sample 1에서 대조구가 5×10^{-6} mole인데 비하여 5 kGy 照射區에서는 8.21×10^{-6} mole, 10 kGy 照射區에서는 9.08×10^{-6} mole, 20 kGy 照射區에서는 1.6×10^{-5} 으로 증가하였으나 ethylene oxide 處理區는 8.42×10^{-6} mole로 약간 증가하였으며 加熱處理에서는 7.27×10^{-6} mole로 거의 증가하지 않았다. 이러한 경향은 다른 시료에서도 같았다. 이로서 너무 高線量의 照射는 다른 처리보다 산패를 비교적 잘 일으키므로 고선량에서는 지방의 산패를 최대한 억제할 수 있는 진공포장 방법등의 개선이 필요하였다. 또한 동일한 방사선 吸收線量에서는 照射時間이 짧고 照射時의 溫度가 낮을 수록 산패방지효과가 커 품질변화를 최대한 줄일 수도 있다고 보고되고 있다²⁴⁾.

Table 5. Comparative effects of ethylene oxide (E.O), autoclaving and gamma irradiation on the mineral contents of laboratory rodent diet^a

Treatments	Mineral content (mg/100g dry wt.)						
	Na	K	Ca	Mg	Cu	Fe	Zn
Control	222.3	728.9	428.5	185.6	1.59	432.8	23.69
10 kGy	223.4	727.5	425.7	184.6	1.55	432.8	22.75
E.O.	221.0	728.9	424.3	186.0	1.55	432.8	20.79
Auto.	216.4	730.0	420.9	185.6	1.58	443.0	21.48

^a Minerals were analyzed with A.A. immediately after treatments and each value is the mean of triplicate experiments

Table 6. Comparative effects of ethylene oxide (E.O), autoclaving and gamma irradiation on the physicochemical properties of laboratory rodent diet.

Sample	Treatments	Total sugar(%)	TBA (mole/g)	pH	Color parameters			
					Lightness (L)	Redness (a)	Yellowness (b)	E
I	Control	42.73	5.20×10^{-6}	6.62	74.1	3.2	20.4	0.0
	5 kGy	42.81	8.21×10^{-6}	6.61	72.3	4.5	20.1	2.2
	10 kGy	42.82	9.08×10^{-6}	6.62	73.7	3.6	18.9	1.5
	20 kGy	43.10	1.60×10^{-5}	6.60	70.9	4.3	19.4	3.5
	E.O.	43.57	8.42×10^{-6}	6.89	70.1	3.8	21.8	4.3
	Auto.	43.20	7.27×10^{-6}	6.71	64.7	7.2	20.8	10.2
II	Control	44.98	4.90×10^{-5}	6.10	63.2	3.4	17.3	0.0
	5 kGy	44.92	5.71×10^{-5}	6.07	62.7	3.5	16.9	0.7
	10 kGy	44.63	7.40×10^{-5}	6.08	62.5	3.5	16.5	1.0
	20 kGy	44.28	8.05×10^{-5}	6.08	64.1	3.3	16.5	1.2
	E.O.	44.90	5.20×10^{-5}	6.69	61.6	3.6	18.1	1.8
	Auto.	44.04	5.84×10^{-5}	6.25	56.0	6.2	18.1	7.7

pH 변화

放射線照射에 의한 pH변화는 거의 없는 반면 ethylene oxide 처리구에서는 대조구에 비하여 높이가 나타났다. 가열처리에서도 약간 증가하였으나 ethylene oxide 처리구보다 심하지는 않았다. 이로서 사료에 있는 pH가 변하므로서 실험동물의 먹이습관에 변화를 줄 우려가 있어 ethylene oxide 처리가 바람직하지 않았다.

色度變化

대조구와 放射線照射區, ethylene oxide 처리구 및 가열처리구의 색도변화를 본 결과는 明도가 대조구에서 74.1인데 비하여 조사구는 조금 감소하여 20 kGy에서 70.9인 반면, ethylene oxide 처리구는 70.1로 조금 낮았으며 가열처리는 64.7로 크게 감소하여 시료의 갈변이 심하였다. 赤色度 또한 조사에 의해서 선량에 따라 조금씩 증가하였으나 가열처리에서는 제일 크게 변하여 가열처리가 변질이 많이 되었음을 시사하였다. 黃色度에 대한 영향은 시료간에 차이는 별로 없었는데 전체적으로 대조구에 비하여 방사선 처리구가 조사선량에 따라 약간씩 증가하였으나 제일變化가 적었으며 그 다음이 ethylene oxide 처리구 그리고 가열 처리구는 심하게 변화되어 사료의 외관적 품질을 크게 손상시켰다. 이는 아미노산과 탄수화물이 반응

하여 褐變化 현상을 일으켜 영양분이 파괴된 것이 아닌가 생각된다.

Nadudvari¹²⁾는 실험동물 사료에 대한 가열처리 (121°C, 25 min)와 ethylene oxide 처리(570 g/m³, 16 hrs) 및 방사선조사(25 kGy)와의 비교연구에서 필수 아미노산과 주요 비타민은 조사구에서는 비교적 안정하였으나 ethylene oxide 처리구와 가열처리구에서는 심한 감소현상이 나타났고 과산화물가의 생성량도 상당히 증가되었다고 보고하여 적정선량의 감마선照射는 飼料의 효과적인 살균방법임을 시사하였으며 specific pathogen free 동물용 사료는 15~25 kGy, germ-free 동물용 사료는 40~45 kGy, mouse, rat 등의 살균을 위해서는 15~25 kGy 범위의 감마선照射가 가장 효과적이라고 보고한 바 있다. 또 Eggum¹³⁾은 70 kGy의 고선량照射는 동물사료의 protein quality와 아미노산 조성에 유의적인 변화를 주지 않았으나 102°C에서 5분간의 가열처리는 사료의 영양가에 유의적인 손상을 가져왔다고 보고한 바 있어 적당한線量의 감마선은 가열살균보다 시료의 이화학적 품질면에서 상당히 안전한 것으로 고려된다.

이상의 결과에서 볼 때 실험동물 사료의 살균을 위한 방사선의 이용은 현행 살균방법에 비해 미생물 살균효과뿐만 아니라 사료의 품질에 관련된 이화학적 특성에 있어서도 우수한 효과를 나타내어 사료의 장기 안전저장은 물론 specific pathogen

free 사료와 germ free 사료의 생산에 크게 활용 될 것으로 생각되어 보다 구체적인 연구와 관심이 필요하다고 생각된다.

要 約

실험동물 먹이의 재래적인 살균방법인 燻蒸劑處理 및 加熱處理와 새로운 방법인 放射線 照射와의 殺菌效果 및 飼料의 理化學的 品質등에 미치는 영향을 비교 평가해본 결과 10~20kGy의 放射線 照射와 121°C에서 20분간 加熱處理로서 全微生物을 完全 殺菌시켰으나 ethylene oxide 처리는 10²/g 정도 생존되어 살균이 불충분하였다. 총아미노산 함량은 20kGy 照射區가 대조구에 비해 약 5% 정도 감소되었으나 ethylene oxide 처리와 가열처리 는 각각 15%와 20%의 감소율을 보였으며 전당 및 무기질 함량은 처리구간에 유의적인 차이를 나타내지 않았다. TBA價는 20kGy 照射區와 ethylene oxide 처리구 및 가열처리구에서 다같이 증가되었으나 照射區의 pH 값은 매우 안정하였으며 ethylene oxide 처리구와 특히 가열처리구는 감마선 照射區에 비해 시료의 색도에서 명도를 저하시킨 반면 적색도를 크게 상승시켜 외관적 품질을 상당히 저하시켰다.

참 고 문 헌

1. Ito, H. and Iizuka, H.: Decontamination of animal feeds by irradiation(Proc. Advisory Group Meeting, Sofia, October 1977) IAEA, Vienna p.15 (1979)
2. Markovic, V.: Radiation technology at national executive management seminar on radiation sterilization of medical products, February, Seoul (1986)
3. Eggum, B.O.: Decontamination of animal feeds by irradiation (Proc. Advisory Group Meeting, Sofia, October 1977) IAEA, Vienna p.67 (1979)
4. Ford, D.J.: Decontamination of animal feeds by irradiation(Proc. Advisory Group Meeting, Sofia, October 1977) IAEA, Vienna p.67 (1979)
5. American Public Health Association: Standard method for the examination of dairy products 14th ed., New York (1978)

6. 서울특별시 보건연구소: 병원 미생물 검사 요원 교재, p.18 (1976)
7. Osborne, D.R. and Voogt, P.: The analysis of nutrients in foods, Academic Press, New York (1981)
8. AOAC: Official method of analysis, p.805 (1985)
9. 京都大學 農學部 食品工學教室編: 食品工學實驗書, Vol. 1, p.45 (1970)
10. 小林, 田淵: 日本農藝化學會誌, 28: 171(1954)
11. Turner, E.W., Paynter, W.D. and Montie, E.T.: Food Technol., 8: 324 (1954)
12. Nadudvari, I.: Decontamination of animal feeds by irradiation (Proc. Advisory Group Meeting, Sofia, October 1977) IAEA, Vienna p.33 (1979)
13. Ford, D.J.: Br. J. Nutr., 35: 267 (1976)
14. Mossel, D.A.A.: Decontamination of animal feeds by irradiation (Proc. Advisory Group Meeting, Sofia, October 1977) IAEA, Vienna p.3 (1979)
15. 渡邊宏, 伊藤均, 柴部禎己, 飯塚廣: 日本農藝化學會誌, 45: 500 (1971)
16. Iizuka, H. and Ito, H.: Irrad. Aliments, 8: 21 (1967)
17. Ito, H., Shibabe, S. and Iizuka, H.: Cereal Chem., 48: 140 (1971)
18. Watanabe, H., Ito, H., Shibabe, S. and Iizuka, H.: Nippon Nogeikagaku Kaishi, 45: 500 (1971)
19. Ito, H., Iizuka, H. and Sato, T.: Agric. Biol. Chem., 37: 789 (1973)
20. Umeda, K., Takano, H., Sato, J., Totsuka, K., Takahashi, Y. and Aso, K.: Jpn J. Zootech. Sci., 42: 617 (1971)
21. Adamiker, D.: Food Irrad. Inform., No. 5: 19 (1975)
22. Conning, D.M.: Recent advances in food irradiation, Elias, P.S. and Cohen, A.J. (Ed) Elsevier Biomedical Press p.247 (1983)
23. Öste, R.E., Dahlqvist, A., Sjöstrom, H., Noren, O. and Miller, R.: J. Agric. Food Chem., 34: 355 (1986)
24. Takiyawa, A., Danbara, H. and Ohyama, Y.: Jap. J. Zootech. Sci., 47: 292 (1976)