J. Fd Hyg. Safety 12(2), 160 – 174(1997)

– Commentary –

방사선 조사식품의 검출기법

양재승†
한국원자력연구소 식품조사팀

Methods for Identification of Irradiated Foods

Jae-Seung Yang†
Department Food Irradiation, Korea Atomic Energy Research Institute, Taejon, 305-353, Korea

ABSTRACT — Progress in commercialization of the irradiation process, greater international trade in irradiated food, differing regulations relating to use of the technology in many countries, and consumer demand for clear labeling of irradiated food highlighted the need for tests that could be applied to the food itself. Scientists have had to focus on identifying and isolating the minute changes caused in the component food molecules by the process. A number of investigators have reviewed the changes occurring in food after irradiation, detecting and measuring the effects of irradiation. The Joint FAO/IAEA Division of Nuclear Techniques in Food and Agriculture organised a coordinated program on analytical detection methods in irradiation treatment of food (ADMIT) which promoted cooperation in this area and sponsored collaborative testing of some of the most promising methods.

Key words ☐ ESR, TL, GC/MS, Hydrocarbons, 2-Alkyl cyclobutanones, DEFT/APC, DNA comet assay, ELISA

식품조사(食品照射)는 1950년대 이후부터 과학적 관심을 끌기 시작하여, 생선, 패류, 닭고기, 해산물, 곡류, 과채류, 땅콩류와 향신료 등 많은 식품에 조사가 이루어 졌다. 조사식품은 현재 40여개국에서 향신료, 곡류, 과채류, 육류 그리고 해산물 등 50여개의 식품군에서 허가되어, 28개국에서 상업적으로 조사되고 있다. 주요 조사식품으로 향신료나 건조야채는 20개국 이상에서 조사되고 있으며 냉동새우나 닭고기의 살균에도 조사가 이루어지고 있다. 우리나라에서도 1기의 조사시설이 가동되고 있으며 앞으로 2기가 더 세워질 것이다. 조사물량으로는 50% 정도가 식품이며 가지수로는 13개 식품군 즉 신선야채류, 과일류, 양송이, 인삼류, 곡류와 잡곡류, 향신료류, 약초와 건조야채류, 생선과 기타 수산물, 육류와 육류가공품, 발효식품 그리고 사료가 조사허용되어 조사되고 있다.

한편 방사선조사공정이 여러식품에 허가되었지만 식품의 형태나 외관 혹은 온도 등 어떤 뚜렷한 물리적 변화를 보이지 않으므로, 이분야 연구자들은 식품조사에서 일어나는 적은 변화라도 찾아내려 노력하였다. 조사식품이 안전하다는 한가지 이유는 대부분의 조사 생성물(즉 자유라디칼이나 조사분해물 등)이 조사로서만 일어나는 것이 아니고 자연식품에서도 발견된다는 것과 가열같은 보통의 다른 처리를 한 식품에서도 생긴다는 점이다. 조사는 작은 성분변화를 일으킨다. 조사식품의 검출법은 식품조사에 관한 광범한 지식의 축적과 깊숙한 연구결과 상당히 제안되었고 국제기구 즉 IUPAC, ISO, AOAC 그리고 Codex Alimentarius Commission 등의 공동협력 연구가 이어졌다.

모든식품에 적용할 수 있는 일반적 검출방법은 아직 없다. 식품생물분자와 이온화 조사와의 상호작용으로 생기는 중간체 또는 최종산물의 검출이 식품의 조사상태를 알수 있는 가장 확실한 수단이지만 이것은 일상적 분석법으로 검출이 가능하여야 하며 방사선 조사로서만 생성되어야 하고 예상되는 식품의 저장기간동안 안정한 상태로 있어야 한다. 따라서, 조사식품에서 일어나는 생물, 물리, 그리고 화학적 변화에 기초한 실험법을 개발하고 검출확률을 높이기 위해 서로 보완적으로 사용해야 할 것이다.

조사식품 검출기술의 개발을 위한 연구는 1960년대부터 유럽을 중심으로 시작되어 조사식품의 검출에관한 심포지움이 열렸으나 식품에 방사선을 조사하여도 특수한 물질을

† Author to whom correspondence should be addressed.

생성하지 않는다고 결론지어 이에관한 관심이 적어졌다. 그런데 1980년 FAO/IAEA/WHO의 '조사식품의 건전성에 관한 전문가위원회'(JECFI)가 평균 10 kGy 이하의 선량을 조사한 식품의 안정성에 관한 문제는 없다고 함으로서 세계적으로 식품조사의 실용화 기운이 높아지고, 조사식품의 검출기술개발 필요성이 재인식 되게되어 1986년 11월에 독일의 노이에르베르그에서 국제회의가 개최되어 그때까지 보고된 모든 조사식품의 검출기술이 총괄적으로 검토되었다. 이때부터 각국에서 전자스핀공명(ESR), 화학발광 측정, 열발광 측정(TL) 등의 기술을 중심으로 조사식품의 검출기술 연구가 다시 시작되었다.

조사식품의 검출법에 관한 논문중 가장 포괄적인 연구는 Delincee(독일)가 발표한 '조사식품의 분석검출법'과 WHO에서 발표한 '조사후 검출법' 등이 있다. 또한 범 세계적으로, 식품과 농산물의 원자력 기술에 관한 FAO/IAEA 공동위원회가 이방면의 협동을 증진하고, 이중 가능성이 높은 몇가지 실험법을 자세히 조사하기 위하여 '조사식품에 관한 분석적 검출법 협동계획'(ADMIT)을 마련하여 1994년까지 5년간 수행 하였다. 유럽에서도 유럽공동체 표준화위원회가 1990년부터 조사식품의 검출기술 개발을 위한 독자적인 BCR 프로젝트를 수행하였다.[1,2]

현재까지 ADMIT 및 BCR 프로젝트에서 유망한 기술로 확인된 것은 ESR, TL, 휘발성 hydrocarbon, cyclobutanone 분석, 미생물상 관찰(DEFT/APC) 등이다. 이외 몇가지 기술이 더 확립 되었는데 각품목에 대한 주요한 검출기술은 다음과 같다. (1) 향신료의 조사검출법으로는 TL, DEFT/APC 그리고 후추에만 해당하는 점도측정이 있다. (2) 육류의 조사검출법으로는 ESR, 휘발성 hydrocarbon, cyclobutanone분석 그리고 DNA분석이 있다. (3) 냉동, 생선수산물의 조사검출법으로는 ESR, 냉동품에만 해당되는 가스분석, TL 그리고 DNA분석이 있다. (4) 과실의 조사검출법으로는 씨의 발아시험, 씨의 ESR 그리고 TL이 있다. (5) 채소의 조사검출법으로는 TL 그리고 감자에만 해당하는 전기저항이 있다(Table 1).[3-21]

검출법의 개발로 한때 무시되었던 조사식품을 식별검사하여 검사기관이 조사공정을 정확히 규제 할수 있다는 것을 소비자들에게 심어주게 되었다. 특히 수입식품이나 소매상에서 판매되는 식품을 직접 구분할수 있게 됨으로서 이미 시장에 출하된 표지없는 조사식품을 검사하여 정확한 표지를 붙이거나 폐기하도록 할수 있게 되었다. 알맞게 조사된 식품은 안전하고 건전한 것이지만 이제 소비자들이 조사와 비조사 식품을 선택할 수 있게 되었다.

화학적 검출기술

조사식품의 건전성을 측정하기 위하여 광범위한 화학적

Table 1. 조사식품의 검출법과 이에 관련된 식품군

검출 방법	적용 식품군
화학적 방법	
*Hydrocarbons	닭고기, 돼지고기, 쇠고기, 계란류, 생선, 아보카도, 망고, 파파야
2-Alkylcyclobutanones	닭고기, 돼지고기, 계란류, 패류, 망고
o-Tyrosine	패류, 닭고기
Peroxides	돼지고기, 닭고기
가스발생	냉동닭고기, 냉동새우, 후추열매
*DNA 혜성분석	닭고기, 돼지고기, 생선, 패류, 과채류
*미토콘드리아 DNA	닭고기와 쇠고기, 왕참새우, 송어류
SDS-PAGE	계란난백
ELISA방법	
2-Alkylcyclobutanones	닭고기
Dihydrothymidine	곡류
물리적 방법	
*열발광(TL)법	향신료, 약초, 조미료, 패류, 과채류, 곡류
광여기발광(PSL)법	향신료, 약초, 패류
*전자스핀공명(ESR)법	뼈를 함유한 식품, 신선과일과 견과류, 갑각류, 건과류, 건채류, 파프리카, 후추가루, 달걀껍질
점도계	후추류, 계피, 올스파이스
전기저항(임피던스)법	감자
시차열량분석(DSC)	습윤식품
생물학적 방법	
반배아검사법	감귤류, 버찌류, 사과류, 곡류
DEFT/APC법	후추류, 약초류, 닭고기

* 표시는 현재 가장 많이 이용되고 있거나 중요하게 여기는 실험법 임.

정성, 정량분석이 시도되었다. 조사식품에서 일어나는 화학변화는 식품과 방사선의 작용으로 자유라디칼이 형성됨으로 일어난다. 식품조사는 다른 식품보존기술에 비해 강도가 매우낮은 조사하한선으로 조사가 되며 전자기 스펙트럼의 한부분으로 방사 분해형태 변화는 UV나 가시광선에서도 일어날 수 있는 연속적인 것이다. 식품은 많은 성분의 복합체로서 각성분이 서로 이온화 방사선을 흡수하려 하므로 어떤 한성분만의 효과는 뚜렸하지 않으며 조사에 특이적인 것은 많지 않다. 그러나 방사선 조사로 생긴 표지물은 그식품의 조사유무를 알수 있으므로 지방과 아미노산의 전구물질 등을 완전하게 화학분석 할수 있다면 좋을 것이다.[22-37] 비타민, 아미노산 그리고 당과같은 영양소의 변화는 충분히 많은 양이지만 다른 처리공정 즉 냉동이나 가열, 건조나 저장에서도 일어나므로 유용한 검사법이 되지 못한다.

단백질의 전기영동 검출법[38-45]

Polyacrylamide 겔 전기영동—75 g kg^{-1} acrylamide의 겔판과 Tris-glycine전기영동 완충액을 준비한다. Laemmli 방법대로 sodium dodecyl sulphate-polyacrylamide겔 전기영동(SDS-PAGE; 150 g kg^{-1} acrylamide)을 한다. 즉 0.1 M sodium phosphate, 0.1% SDS, pH 7.2의 전기영동 완충액과 0.01 M sodium phosphate, 1% SDS, 2% β-mercaptoethanol, pH 7.2의 시료 완충액을 사용하여 SDS가 있는 polyacrylamide 겔 전기영동(SDS-PAGE)을 한다. 시료는 시료완충액에서 100°C로 2분간 가열하며 식힌후 6 M의 urea를 가한다. 판의 크기는 넓이 130 mm, 길이 100 mm, 두께 0.7 mm이다. 전기영동조건은 50V에서 1시간 한 후, 계속하여 100V에서 약 4~5시간 걸어줌으로서 첨가한 bromophenol blue전선이 약 9 cm까지 내려오게 한다. 겔 막은 water/2-propanol/acetic acid(5:5:1, v/v/v)의 2 g $litre^{-1}$ Coomassie Brilliant Blue R-250용액으로 염색하며 70 g $litre^{-1}$ methanol로 탈색한다.

항혈청의 준비—단백질을 phosphate buffered saline (PBS)에 녹여, 같은양의 Freund's complete adjuvant에 분산시킨후, 토끼등쪽의 피하에 주사한다. 면역조치한 이 토끼에 Freund's incomplete adjuvant에 분산시킨 같은 항원을 14일과 35일 2번에 걸쳐 효력유지 접종을 한다. 채혈은 마지막 접종 10일 후에 한다. 원심분리로 혈청을 분리하여 사용전까지 -80°C로 저장한다. 정제단백질에 대한 혈청항체의 반응성을 agar gel-immunodiffusion과 immunoblotting으로 측정한다.

Immunoblotting—전기영동으로 분리된 단백질을 Towbin 등의 방법에 따라 0.45 μm의 nitrocellulose sheet에 전기영동식으로 이동시킨다. 반응정지를 위해서 이 nitrocellulose sheet를 30 g $litre^{-1}$ bovine serum albumin(BSA)이 들어있는 PBS하에서 4°C로 하루밤 정치한다. 이 종이를 PBS로 씻은 후 37°C에서 2시간 동안 토끼 항혈청을 천천히 교반한다. 이어서 0.2 g $litre^{-1}$ Tween-20를 함유한 PBS로 씻은후 이종이를 peroxidase-coupled anti-rabbit IgG와 함께 37°C에서 1시간 동안 보존한다. PBST로 다시 씻은후 특이적인 항체에 반응성을 가진 단백질띠를 4-chloro-1-naphthol을 이용하여 peroxidase로 활성 착색시켜 육안으로 볼수있게 한다. 전기영동과 얼룩은 재현성을 알아보기 위하여 최소한 3번 반복실험 한다.

지질중 hydrocarbon분석법[46-54)]

재료와 기기—1) 화학약품: Pentane, isopropanol, 1-tridecene, silica gel(100~200 mesh), Florisil(100~200 mesh), silicone oil.

2) 지방추출용매: pentane/isopropanol(3:2 v/v).

3) 내부표준 저장용액: 250 m*l* pentane에 100 mg 1-tridecene을 녹인것.

4) 지질 용매추출을 위한 균질기나 분쇄기.

5) Buchner 깔대기, 내직경 60 mm, 중간구멍크기(10~15 ζm).

6) Cold-finger 증류장치.

7) 가스 크로마토그래피: 휘발성물질의 분석은 불꽃이온화기, 실리카 캐피라리 컬럼(내경 30 m×0.32 mm) 부착 Supelcowax 10 그리고 적분기를 장착한 가스 크로마토그래피로 함.

지질추출—동결시료를 녹여 일정량(마쇄육류는 약 150 g)을 균질기로 옮긴다. 용매 150 m*l*(pentane/isopropanol, 3:2 v/v)를 가하여 1.5분 동안 균질화한다. 이 혼합물을 원심분리병으로 옮겨 900 G에서 10분간 돌린다. 후에 기름을 피펫으로 취하고 남은 잔사에 50 m*l* 용매를 추가로 넣어 재추출한다. 지질추출물을 플라스크에 채운다. 35°C에서 40분간 로다리증류기로 용매를 증류한다.

휘발성물질의 포집—증류 플라스크에 추출기름 약 5 g을 정확히 재서 놓는다. 내부 표준물 25 μ*l*와 교반막대를 넣는다. 이때 시료는 얼음상자 등에 넣어 시료를 고체화 하는게 좋다. Cold-finger 증류기를 붙여서 밸브를 바람직한 진공상태(<10^{-3} torr)로 될때까지 닫아 놓는다. 고체화된 시료에 밸브를 조심스럽게 그리고 천천히 연다. 이로서 습기와 CO_2가 상부간격에서 제거되는 것을 확인한다. 밸브를 닫는다. 저류조를 액체 N_2로 채우고 시료를 상온까지 올리고 계속해서 기름수조에서 80°C까지 천천히 올린다. 이때 시료의 가열과 밸브조절은 거품이나 튀김을 막기위해 세심

히 다뤄야 한다. 밸브는 증류 동안 닫아둔다. 밸브를 닫은 상태에서 cold-finger장치를 조인트에서 조심스럽게 떼어낸다. 증류 플라스크에서 cold-finger를 제거하고 액체 N_2를 재빨리 붓는다.

분취—휘발성 pentane용액을 5 g silica gel(pre-activated at 110°C overnight)이 들어있는 50 m*l* 비이커에 옮기고 foil로 뚜껑을 한다음 20분 동안 흔든다. 실리카겔 찌꺼기를 Buchner 깔대기로 옮겨 걸러낸다. 필터를 10 m*l* pentane을 잔사에 가하여 반복하여 필터액을 채운다. N_2가스를 조심스럽게 흘려 0.2 m*l* 정도로 농축한다.

Florisil에서 휘발성 hydrocarbon의 분리법—앞의 두 단계 즉 cold-finger 증류와 실리카 분취의 다른 방법으로 휘발성 hydrocarbon을 Florisil 칼럼으로 분리할 수 있다. Florisil은 10 cm 높이에 내경이 20 mm인 유리칼럼에 pentane을 채운 것이다. 추출기름 1 g에 내부표준물 5 μl를 가하고 이시료를 칼럼에 건다. hydrocarbon은 5 m*l*/min의 유속에서 150 m*l* pentane과 함께 유출된다. 이어서 3 m*l*까지 증류농축한다. 증류계는 유리섬유로 채워져 냉수 응축기에 연결된 긴 목이 있는 증류 플라스크로 되어있다. 질소가스를 조심스럽게 흘림으로서 이용액의 용량을 0.2 m*l* 정도로 감소시킬수 있다.

가스 크로마토그라피 분석—Pentane 농축액 1 μ*l*를 주사한다. 분당 40~250°C의 오븐온도 프로그램이 바람직하다. 상승곡선 동정은 표준물질의 체류시간을 비교함으로서 가능하며 질량분석기로 확인할 수가 있다. 3개의 중요한 hydrocarbon 즉 1-tetradecene, 1,7-hexadecadiene 그리고 8-heptadecene의 양을 다음식으로 계산할 수가 있다.

$$\mu g\ \text{hydrocarbon}/100\ g\ \text{기름} = \frac{\text{hydrocarbon의 상승곡선 면적} \times g\ \text{내부표준물}/g\ \text{기름}}{\text{내부표준물의 상승곡선 면적}}$$

준비된 표준곡선을 사용하여 3가지 hydrocarbon 각각의 양에 따라 조사선량을 계산한다. 계산된 3선량을 평균하여 측정선량으로 한다.

주의사항—분석을 손상시킬 인위적 조작을 최소화 해야 한다. 조작원으로는 용매, 초자기구, 진공펌프, 펌프보호에 사용되는 냉각트랩, 실리카겔, GC주사구 격막 그리고 칼럼누출을 들수 있다. 자주 적당한 공시료와 대조시료를 사용 작동해야 한다. 액체 추출과 휘발성물질 농축에서 용매의 제거는 천천히 그리고 휘발성물질의 손실을 최소화 하기위해 아주 주의해야 한다. 휘발성물질 농축액은 완전 건조를 막아야 한다. 내부표준물의 양과 측정되는 hydrocarbon을 비교할 수 있도록 GC 상승정점 크기를 조절해야 한다.

휘발성 hydrocarbon측정기술의 진보—Biedermann 등이 개발한 개선된 시료세척법이 휘발성 hydrocarbon의 검출에 효과적으로 이용될수 있다. 이방법은 지질에서 hydrocarbon을 분리하는데 정상위상 HPLC(LC)를 사용하며 이 LC는 GC에 직접연결된다. LC-GC연결은 hydrocarbon 분석을 위하여 전부 자동화 할수 있다. 이장치는 분리효과가 더 크다. 이계에 2번째 LC-칼럼을 넣으면 높은 효율의 LC 분리가 된다(LC-LC). 이것으로 GC로 옮길수 있는 보다 높은 비포화 방사선 유도 hydrocarbon(diene, triene)을 분획화 할수 있다. Florisil 보다 좋은 점은 LC칼럼에 이용할 수 있는 지질추출물이 더 많아 감도를 증가시킬수 있다는 점이다.

지질중 2-dodecylcyclobutanone과 2-tetradecylcyclobutanone의 검출법[55-58]

방법—이 방법으로 조사육류에서 2-dodecylcyclobutanone과 2-tetradecylcyclobutanone을 검출 할수 있다. 이 물질은 각각 조사된 palmitic acid와 stearic acid에서 생긴다. cyclobutanone은 육류에서 지방과 함께 추출되며 Florisil column을 사용하여 분리한 후 GC/MS로 검출한다.

시약과 재료—유리로 증류한 hexane, 무수 sodium sulphate, 재 증류한 diethyl ether, 농약잔류물 이용에 적합한 Mesh 60-100PR의 Florisil, cyclohexylcyclohexanone(2-dodecylcyclobutanone, 2-tetradecylcyclobutanone), cellulose 추출 고리통(길이 80~100 mm, 내경 30 mm), 비흡착 솜양모.

유리기구—Soxhlet 장치, Teflon rotaflo stopcock에 맞는 크로마토그라피 칼럼, 기타 유리기구(사용전에는 최소한 4시간 Decon 90이나 비슷한 세척제에 담근다. 이것을 수도물로 완전히 씻은후 40% nitric acid에 4시간 담갔다가 증류수로 완전히 씻는다. 사용후에는 Florisil을 버리고 칼럼과 soxhlet추출기를 Decon 90에 1시간 담가 깨끗이 씻은후 건조하기 전에 수도물과 증류수로 씻는다. 사용전에 hexane으로 칼럼과 funnel을 세척한다.).

추출—추출 thimble에 무수 sodium sulphate(Na_2SO_4) 20 g과 잘섞은 균질시료 20 g(액상 계란의 경우 추출전에 100°C에서 12시간 건조함)을 넣고 섞는다. 250 m*l* 플라스크에 hexane 100 m*l*를 붓고 꼭대기에 추출기를 놓는다. 추출기에 추출 thimble을 놓고 40 m*l* hexane을 가한다. 가열 mantle에 플라스크를 놓고 추출기 위에 응축기를 단다. 조심스럽게 6시간 동안 환류와 추출을 행한다. 열원에서 플라스크를 제거하고 추출기에서 hexane과 thimble을 떼어낸다. hexane을 플라스크에서 100 m*l* 마개가 있는 실린더에 옮겨 hexane으로 100 m*l*까지 채운다. 무수 Na_2SO_4 5~10 g을 가하고 마개를 하여 섞은후 하룻밤 정치한다.

지질 결정—두벌의 50 m*l* flask를 100°C에서 하룻밤 건조한다. 식힌후 무게를 잰다. 지질추출물 5 m*l*를 피펫으로 취하여 각 플라스크에 넣고 회전 증류기로 건조시킨다. 100°C에서 하루밤 건조시키고 다시 무게를 잰다. 약 200 mg의 지질을 추출하는데 필요한 추출물 양을 계산하여 칼럼에 넣는 지질의 양을 계산한다.

2-alkylcyclobutanone의 분리—1) 비활성화된 florisil의 준비

2) Florisil 크로마토그라피: 크로마토그라피 칼럼(높이 약 20 cm)에 hexane을 붓는다. Florisil 칼럼이 20~21 cm가 될 때까지 공기방울을 빼내기 위해 옆을 두드리면서 20% 비활성화된 Florisil을 칼럼에 붓는다. 지질 약 200 mg에 해당하는 추출물을 취하여 필요하다면 5~10 m*l*까지 농축한다. hexane 수준을 Florisil 위끝까지 떨어 뜨리기 위하여 분당 2~5 m*l*를 흘려 250 m*l* 플라스크에 모은다. 지질 추출물을 사용하며 약 5 m*l*의 hexane으로 플라스크를 씻고 칼럼을 사용한다. hexane 수준을 Florisil 위끝까지 떨어뜨리고 5~10 m*l* hexane을 가한다. 칼럼위에 있는 분리 funnel에 남아있는 hexane(150 m*l* total)을 넣고 분당 2~5 m*l*씩 흘린다. funnel이 비었을 때, 포집 플라스크를 바꾸고 1% diethyl ether이 들어있는 hexane 150 m*l*를 흘린다. 1% diethyl ether 분획을 5~10 m*l*까지 회전 증류하고 시험관에 옮긴다. 한번 건조할 때 질소흐름에 시료가 날라가지 않도록 40°C에서 조심스럽게 질소가스를 흘려 농축건조 시킨다. 이것을 0.5 μg/m*l* 2-cyclohexylcyclohexanone의 내부표준액 200 μ*l*에 재분산 시킨다. GC/MS로 분석한다.

3) 표준 및 대조시료: 비조사 대조시료와 10 μg/m*l* 2-dodecylcyclobutanone과 2-tetradecylcyclobutanone이 각각 들어있는 hexane에 200과 100 μ*l* 넣은 비조사 대조시료를 이용하여 미지의 시료와 같은 방법으로 이들 시료를 처리하고 표준시료를 사용하여 회수 %를 계산한다.

휘발성 물질의 결정—1) GC-MS: 질량선택검출기(MSD)에 연결된 GC를 질량분광기에 연결한다.

2) 동정: 내부표준액은 Ultra 1 capillary 칼럼을 이용하여 이온 m/z 98 피크를 만들며 전개후 약 2.6분에 2-dodecylcyclobutanone 피크를 그리고 4분후에 2-tetradecylcyclobutanone 피크를 만든다. 2-dodecylcyclobutanone은 약 4.0~4.5 대 1의 비율로 이온 m/z 98과 m/z 112의 피크를 만드는데 비하여 2-tetradecylcyclobutanone의 비는 3.8~4.2대 1이다. 시료의 비는 동시에 분석된 표준물에서 보이는 것을 반영한다. 이온 m/z 98과 112 모두는 있어야 하며 양성검출이 되기 위해서는 정확한 비가 되어야 한다.

3) 표준물: 내부표준물 0.5 μg/m*l*을 가진 2 μg/m*l*, 1 μg/m*l* 그리고 0.5 μg/m*l*의 2-dodecyl-cyclobutanone과 1.0 μg/m*l*, 0.5 μg/m*l* 그리고 0.25 μg/m*l* 2-tetradecylcyclobutanone.

유기 peroxide의 결정[59)]

시료의 유기 peroxide를 acetic acid와 chloroform(3:2, v/v)의 혼합용매로 추출하고, 추출액을 산소가 없는 상태에서 2시간 동안 50% KI 용액으로 반응 시킨다. 그런후 유리된 iodine을 0.0025 N $Na_2S_2O_3$로 적정한다.

핵산(DNA)의 ELISA 실험법[60-66)]

변형 DNA의 준비—Osmium tetroxide(OsO_4)를 사용하여 DNA에서 thymidine glycol을 얻는다.

Thymidine glycol이 있는 DNA 항체의 준비—단일클론 항체를 만드는데 Kohler와 Milstein의 방법을 사용한다. OsO_4 처리된 DNA(1 mg cm^{-3} in NaCl, 0.15 mol dm^{-3})를 메틸화된 소혈청 알부민(1 mg cm^{-3})과 1:1로 섞는다. 이액을 완전한 Freund 면역보강제와 1:1로 섞는다. 새앙쥐에 5개부위 즉 4개는 피하에 1개는 복강에 부위당 0.05 cm^3씩 전부 0.25 cm^3의 항원을 주사한다. 두번째 면역주사는 1달 후에 하며 이때 항원을 만들때는 불완전 Freund면역보강제를 사용한다. 1달 후에 혈액을 취하여 ELISA의 항체로 한다. 2차면역과 시료채취는 성공적일 때까지 반복한다. 융합은 보통 처음 주사한 때부터 12주 후에 생긴다. 선발된 새앙쥐 정맥에 마지막으로 OsO_4-DNA-메틸화된 소혈청 알부민을 주사한다.

DNA의 thymidine glycol에 대한 효소면역 측정—Polystyrene 소형적정 ELISA판을 OsO_4 처리된 DNA 항원으로 덮는다. 항원 5 mg을 carbonate/bicarbonate 피복 완충액(0.05 mol dm^{-3}, pH 9.6)에 녹여 판에 0.375 cm^3/well씩 분배한 후 실온에서 3시간 보존한다. 피복판을 피복완충액으로 3번 씻어 37°C에서 하룻밤 놓아둔 후 사용때까지 4°C로 덮어 보관한다. 시료는 NaCl(0.5 mol dm^{-3}), 0.5% Tween 80, 0.01% Merthiolate 그리고 1% BSA가 함유된 sodium phosphate 세척 완충액(0.01 mol dm^{-3})으로 희석한다. 희석시료는 4반복으로 피복된 구멍에 0.1 cm^3씩 넣고 그 판을 실온에서 1시간 흔든다. 판을 세척 완충액으로 5번 씻고 200배 희석한 peroxidase 접합(0.1 cm^3) 항 새앙쥐 IgG(whole molecule)를 가한다. 보존과 세척을 반복한후 기질 0.1 cm^3을 가한다. 사용된 기질은 0.05% H_2O_2를 함유한 citrate 완충액(0.1 mol dm^{-3}, pH 4.0)에 들어있는 2,2'-azino-bis-(3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid)(ABTS)(0.6 mg cm^{-3})이다. 흡광도는 405 nm에서 측정한다. 부의 대조구로는 시료용액을 세척 완충액으로 대체한다.

미토콘드리아 DNA 실험법[67,68)]

미토콘드리아 DNA 추출—시료를 250 m*l* 설탕완충액,

pH 7.4(sucrose 0.25 M, Tris-HCl 10 mM, EDTA-EGTA 1 mM)에 넣고 50 m*l* Thomas potter(500 rpm)으로 갈아서 세포성 찌꺼기를 없애기 위하여 2,500 rpm에서 10분간, 그리고 미토콘드리아 펠렛을 회수하기 위하여 10,000 rpm에서 10분간 원심분리 한다. 미토콘드리아를 20 m*l* PBS 완충액, pH 7.4(140 mM NaCl, 3 mM KCl, 1.5 mM KH_2PO_4, 8 mM Na_2HPO_4)에 분산시킨다. 모든 조작은 +4°C에서 하며 잔류 세포성 DNA는 20 g ml^{-1} DNase(5 mM의 $MgCl_2$에서 +4°C, 1시간 동안 연속 교반)로 소화한다. 그후 EDTA-EGTA(20 mM final)를 가하여 효소반응을 정지시킨다. 10,000 rpm(10 min)으로 원심분리 한후 침전물을 10 m*l* PBS로 회수한다. 미토콘드리아 벽을 최종농도가 0.5%인 sodium dodecyl sulphate(SDS)로 부순다. 그런후 핵산을 phenol (2×10 m*l*)과 chloroform(2×10 m*l*)으로 연속 추출하여 정제하고 95% ethanol로 희석시킨 0.15 M ammonium acetate 15 m*l*로 하룻밤 침전시킨다. 10,000 rpm(10 min)에서 원심분리한 후 잔류물을 진공건조시켜 1.5 m*l* Tris-HCl 50 mM, EDTA-EGTA 1 mM(TE 50/1)에 녹인다. 미토콘드리아 RNA는 RNase(50 μg ml^{-1}, 1 h, 37°C)로 소화시킨다. 그런후 시료를 +4°C로 냉각시킨다. 미토콘드리아 DNA는 phenol(2×1.5 m*l*)과 chloroform(2×1.5 m*l*) 추출로 정제하고 ethanol과 ammonium acetate로 하룻밤 침전시킨다. 원심분리(10,000 rpm, 10 min)와 진공건조후, DNA를 100 μ*l* TE로 회수한다. 핵산농도는 U.V. 분광분석기로 260 nm에서 측정한다.

Agarose 겔 전기영동에 의한 미토콘드리아 DNA의 분리—시료 중화액(5 m*l* glycerol, 3 m*l* SDS 10%, 1 m*l* bromophenol blue 1%, 0.5 m*l* EDTA-EGTA 0.2 M for 10 m*l* buffer)을 DNA용액에 가한다. 이 최종용액을 0.8% agarose 겔에 놓는다. 이동조건은 이동 완충액으로 tris 40 mM, sodium acetate 20 mM, EDTA-EGTA 1 mM, pH 8이고, 연속전장은 2.5 V cm^{-1}, 14 h, 14°C이다. 그런후 겔을 ethidium bromide 용액(1 μg ml^{-1})으로 적셔, U.V. transilluminator에 놓고 사진을 찍는다. 필름을 영상작업기로 분석한다. 포화된 것을 피하기 위하여 사진을 여러번 찍어 분석한다.

DNA 혜성분석법[69,70]

세포분산물질의 준비—단세포에서 DNA의 미소전기영동이 수 gray에서 조사한 후 혹은 화학약품 처리후 DNA 손상연구에 사용되고 있다.

1) 닭고기뼈 골수: 고기에서 뼈를 깨끗이 발라내고 선날로 뼈를 부순다. 뼈골수 시료 50 mg을 재서 조심스럽게 유리봉을 이용하여 3 m*l*의 찬 phosphate saline(PBS) 중화액에 푼다. 큰 조각들은 가라앉고 기름 덩어리는 시험관 벽에 달라붙거나 떠다닌다. 이 분산물을 Pasteur 피펫으로 뽑아 25 μm mesh 네트로 걸러낸다.

2) 닭고기육질: 근육세포를 근육섬유 방향으로 외과용 칼로 잘게 자른다. 약 2 μg의 얇은 조각들을 8 m*l*의 찬 PBS와 자석교반 막대가 들어있는 작은 비이커에 넣는다. 냉욕조에서 500 rpm으로 5분 동안 균질화 한다. 분산물의 일부는 100 μm와 25 μm mesh 네트로 걸러낸다.

3) 양파: 양파를 뿌리에서 위끝까지 나눈다. 얇은 부분 약 2 μg을 메스로 잘라서 8 m*l*의 찬 PBS에서 자석막대를 이용하여 500 rpm에서 5~10분간 균질화 한다. 분산액은 25 μm 네트로 걸러낸다.

4) 감자: 양파와 같은 과정으로 한다. 거르기 전에 분산물질을 2~3분간 따라낸다.

전기영동—깨끗한 현미경 슬라이드의 한쪽면을 증류수에 녹인 0.5%의 따뜻한 agarose용액으로 덮는다. 공기건조 후 슬라이드를 상온에서 먼지없는 상자에 보관한다. 이 피복은 슬라이드에 붙은 세포가 있는 겔을 보존하기 위하여 필요한 것이다. 일정량(0.1 m*l*)의 세포 분산물을 40°C에서 PBS에 녹인 0.75% 용해 agarose 1 m*l*와 섞는다. 미리 피복된 슬라이드에 이 혼합물의 얇고 균일한 층을 만들고 겔을 형성하도록 차게 한다. 세포분산은 상온에서 TAE(40 mM Tris-acetate, 1 mM EDTA pH 8.0)의 0.1% SDS안에서 10분간 한다. 그런 후 분산 완충액하에서 4 V/cm에서 2.5분간 전기영동을 한다. 증류수로 씻은후 슬라이드를 공기건조 한다. 이 슬라이드를 acridine orange(10 μg/m*l* PBS)로 10분간 염색하고 증류수로 재빨리 씻은후 올려놓고 타자기 정정액이나 손톱용 락커로 밀봉한다. HBO 50 Watt 수은램프와 청색 여기필터가 장착된 형광 현미경으로 관찰한다. acridine orange가 이중나선 DNA에 삽입되어 푸른색을 발한다.

수소[71]

이상의 화학적 방법외에 H_2와 CO 같은 가스 이용방법이 있다. 식품조사로 이들 성분이 현저하게 증가한다. 조사로 생기는 H_2와 CO 가스는 동결육류나 후추같은 건조곡물과 통조림같은 식품포장물에 잡힌다. 이들 가스는 빠른 가열로 유리되며 가스크로마토그래피나 센서로 검출할 수가 있다.[33]

물리적 검출

시차열량분석(DSC: Differential Scanning Calorimetry)[72-74]

이온화 방사선에 의한 식물세포벽의 손상은 식품에 공용

효과를 포함한 많은 물리적 성질변화를 가져온다. 조사와 비조사구 간에 물-얼음전이가 서로다른 온도에서 일어나는데 조사구가 더욱 빙점이하로 내려갔다. 조사시료에서 관찰된 공융점하강은 빙핵부위수가 감소한데 따른 것이다. DSC방법은 습윤식품의 조사이력을 알아볼수 있는 유력한 수단이다. 비록 이방법은 작동이 단순하지만 해석은 복잡하다. 안정한 라디칼은 TL이나 ESR로 고체모체에서 찾을수 있으나 DSC기술은 액상환경에서 조사변화를 찾는 것이다.

전기저항(임피던스)이용 조사감자 검출법[75-80]

전기기기—5 kHz와 50 kHz, 그리고 80 Hz와 12 kHz 주파수 범위의 교류전기저항(임피던스)을 측정할 수 있는 기기.

전극—스텐레스 철 전극(2-전극계, 직경 1 mm, 길이 10 mm, 간격 10 mm)

측정전 감자처리—15°C 이상으로 저장한 감자를 5℃에서 7일간 배양한다. 이어서 23~25°C에서 3일간 배양한다.

측정—23~25°C의 방에 있는 전기기기에 연결된 전극으로 감자 위부분을 뚫는다. 5 kHz와 50 kHz에서 임피던스 크기를 측정한다. 80 Hz와 15 kHz에서 위상각을 측정한다.

인자의 결정—50 kHz에 대한 5 kHz에서의 임피던스 크기비를 계산한다. 15 kHz에 대한 80 Hz에서의 위상각비를 계산한다.

기타—조사처리 판단을 위한 인자기준은 인자값이 감자 품종에 따라 다르므로 측정전에 각품종에 따라 설정해야 한다. 전극의 크기는 위의 것과 다를수 있으나 감자에 비하여 너무 커서는 안된다.

점도를 이용한 조사후추가루 검출법[81-87]

시료준비—1) 마쇄기로 후추알맹이 시료를 마쇄한다.

2) 후추시료를 체로 걸러 크기가 500 μm 보다 작은시료를 모은다.

점도측정—1) 유리그릇에 액상분산액을 준비한다. 분산액의 농도는 사용할 수 있는 각 점도계의 가장높은 수준으로 한다.

2) 균질기로 분산액을 균질화한다.

3) 33% NaOH로 pH를 13.5 이상으로 조정한다.

4) 끓는 물에서 30분동안 분산액을 가열한다. 분산액을 때때로 저어주어 일정하게 젤라틴화된 시료를 준비한다. 가열동안의 증발은 나사뚜껑이나 유리판으로 유리그릇을 덮어 막는다. 분산액은 과도한 진탕으로 점도가 감소되지 않도록 심하게 흔들지 말아야 한다.

5) 젤라틴화된 시료를 20에서 30°C 사이의 일정한 온도에서 3시간 동안 배양한다.

6) 전단율을 조절할 수 있으면 350과 600 s^{-1} 사이의 일정한 전단율과 20과 30°C 사이의 일정한 온도에서 30초간 점도계를 작동시켜 분산물질의 외견점도(mPa.s)를 측정한다.

기타—1) 측정은 2반복으로 한다.

2) 젤라틴화의 조건(분산물의 pH, 가열온도와 기간)은 점도값에 크게 영향을 미친다.

3) 이 공정법에서 다른 점도측정 조건은 점도측정 조건에 독립적인 인자 A와 B를 얻도록 한 것이다.

전자스핀공명법(ESR: Electron Spin Resonance)[88-112]

원리—물질과 방사선의 상호작용은 분자결합의 붕괴로 자유라디칼이나 이온을 형성한다. 식품조사에 허용된 상한선 10 kGy는 1 kg의 식품에서 5×10^{-3} mol의 자유라디칼을 형성한다. 라디칼은 동결시료나 뼈나 각피같은 결정구조 고체모체에 잡힌다. 전자는 보통 화학결합으로 짝지워진 2가지 스핀상태를 가진다. 자유라디칼이나 다른 반자성에서 짝없는 전자가 있을수 있는데 자장하에서 줄을서서 자기모멘트가 자장에 수평이거나 반수평으로 있다. 이들 두상태는 다른에너지로 있어 단파장에너지의 흡수로 낮은 상태에서 높은상태의 에너지로 여기된다. 이것이 전자스핀공명의 기초로서 시료를 전자선의 극점사이에 놓고 전자장이 변함에 따라 전자기스펙트럼의 9 GHz대역에서 단파장 흡수를 조사한다. 짝이없는 전자의 분자정보는 이스펙트럼의 위치와 형태로 유도된다.

시료—1) 신선/동결 육류: 육류의 ESR 검출법은 뼈광물(과산화 인회석)의 방사선유기 ESR신호에 기초함.

2) 뼈를 발라낸 육류(MRM): 길이가 mm이하의 뼈가루를 뼈를 발라낸 육류에서 얻을수 있으므로 통뼈와 같이 조사유기 ESR신호를 얻을수 있슴.

3) 생선: 조사된 생선뼈나 이빨에서 육류뼈와 같은 ESR분광을 얻을수 있슴. 조사된 뼈가시나 비늘의 ESR분광은 비조사구와 확실히 구별되나 감도는 어종에 따라 서로 다름.

4) 패류: 새우, 참새우, 바다가재, 게와 연체동물이 연구되었슴. 방사선유기 ESR신호는 갑각 즉 조개껍질이나 새우껍질에서 검출됨. 연구된 조류의 대부분은 장수명 조사유기 ESR신호를 보임. 신호유형은 시료종류나 선량, 조사조건 그리고 다른 환경요인에 따라 서로 달랐슴.

5) 건과채류: ESR은 껍질, 씨, 돌, 속씨 등에도 적용되었슴. 셀룰로스나 당유기 자유라디칼이 발견되었슴. 여러 건과채류 즉 양파, 마늘, 양송이, 살구, 건포도, 씨없는 포도, 파파야, 피스타치오 열매, 말린자두, 바나나, 코코넛, 무화과, 딸기류, 대추야자, 파인애플, 오렌지 그리고 알이작은 건포도 등에도 ESR신호를 검사하였슴.

6) 신선과일: 셀룰로스 유도 라디칼을 조사과일 즉 망고, 키위, 서양오얏, 살구, 알이작은 포도, 월귤나무, 검은딸기,

나무딸기, 덩굴월귤, 감, 금귤, 포도, 무화과 그리고 딸기 등의 씨로 측정하였습.

7) 향신료: 여러 향신료에서 셀룰로스 라디칼을 측정하였습. 어떤 향신료에서는 전이금속이온이 같이 잡히기도 함. 셀룰로스신호는 향신료의 종류에 따라 5주에서 1년까지 변함. ESR로 검출 가능한 조사 향신료는 고추, 후추, 파프리카, 올스파이스, 계피, 정향, 월계수, 고수풀, 미나리, 백리향, 차조기, 세이지, 로스메리, 노간주나무, 카레이, 회향풀, 육두구, 고추가루, 시라 등이 있습.

8) 신선게란: 방사선 유기 ESR신호는 껍질에 있는 탄산이온 라디칼의 작용으로 나타남.

9) 기타: 옥수수, 보리, 달팽이, 마카로니, 과즙음료 가루, 젤라틴에도 ESR이 응용되었습.

다음의 검출법은 후추가루, 파프리카, 피스타치오 견과껍질에 대한 것이다.

시료준비—시판상태의 것을 사용한다. 분석에는 각시료 약 0.5 g이 필요하다. 이것을 직경 3~4 mm의 ESR튜브에 넣고 표시를 한다.

측정—조사와 비조사시료 모두는 피크에서 피크간 0.7~0.9 mT(7~9 G)의 넓이를 가지고 g-factor가 약 2.004인 대칭흡수 ESR신호를 낼것이다. 그신호는 일반적으로 조사로 증가하며 약간 넓어진다. 그러나 가장 분명한 이온화 방사선 표지는 중앙피크(g=2.004)의 양쪽에 약 3.0 mT(30 G)의 작은 부수체 ESR신호이다. 조사와 비조사시료의 ESR 분광의 예를 첨부하였다. 이들 분광은 참고시료에서 얻은 것과 같을 필요는 없다. 중앙신호가 최대와 최소표시의 충분한 눈금가까이 있도록 gain을 조절하고 이분광을 기록한다. 필요하다면 gain을 더욱 늘린다. 특히 pistachio 껍질에서는 중앙공명이 위성 피크에 비하여 매우 강하므로 gain을 50이나 100배로 늘릴 필요가 있다. 비조사 및 조사 참고시료의 분광에 미지의 분광을 비교한다. 분광은 같은 분광기 조건과 시료위치 그리고 같은 차원의 관에 시료를 같은양으로 넣어 측정해야 한다.

열발광(TL: Thermoluminescence)을 이용한 실험법[113-121]

열발광은 식품에 붙어있는 규산염금속에서 조사공정때 잡히거나 저장된 에너지가 가열로 유리되는 빛의 방출에 기초한다. 향신료, 건조야채, 약초, 감자나 딸기 등 많은 식품에 이방법이 이용되고 있다. 발광곡선의 수학적 분석으로 조사로 인한 열발광 피크를 기저선에서 분리하여 특이성이 높은 광자계수-온도곡선을 얻는다. 향신료에 관하여는 ADMIT나 BCR의 프로젝트에서 열발광에 대한 크로스체크가 이루어져 믿을만한 기술임이 확인되었다.

약초와 향신료—이방법은 여러나라에서 상업적 제품을 측정하는데 이용되고 있으며 이들 조건하에서 조사와 비조사 약초/향신료의 일련의 시료나 혼합물을 구별할 수 있다. 선별목적으로 향신료와 약초를 체로걸러서 나오는 광물질을 분리하여 실험을 단순화 시킬수 있다.

패류—TL에 의한 조사패류의 선별은 패류광물로 할수 있다.

감자, 과채류—감자의 발아억제에 사용되는 조사량을 검출할 수 있다.

TL판독—이기기는 광증폭기, 열흡수필터 그리고 질소로 씻어낼 수있는 가열실로 이루어 진다. 불꽃곡선은 3°Cs^{-1}의 가열율과 질소공기하에서 실온부터 300°C까지 기록한다. 불꽃피크의 적분이 통계적 불확실성을 줄이고 가열율과 열접촉에 따라 변하는 피크형태에 덜 의존적이라 피크높이 보다 더 좋다. 이적분은 시료무게로 표준화 한다.

광여기 발광법(PSL: Photostimulated luminescence)[122-126]

TL에 연관된 몇가지 단점을 열대신 빛을 사용함으로서 극복할 수 있다. 조사시료는 여기용 빛보다 유출된 빛의 진동수가 큰 반Stokes 발광을 보인다. 에너지 보존의 법칙에 위반하는 이러한 현상은 포획된 하전 운반체에 저장된 에너지 유출의 결과로 TL보다 PSL에 관련된 보다큰 특이성이 있을수 있다.[127] 약초와 향신료는 가시와 적외선 파장(450~950 nm)의 범위에서 여기되었으며 반Stokes 발광은 근자외선 부근(300~350 nm)에서 관찰되었다. PSL은 열에 의해 생기는 유기물의 발광을 피함으로서 시료에 오염된 광물을 분리할 필요가 없다. PSL은 개선된 TL로서 향신료의 좋은 측정법이다.

생물학적 검사

식물과 동물의 세포조직은 이온화 조사로 영향을 받는다.[128-138] 즉 조직은 연화되며 점도는 감소하고 전기전도도는 증가한다. 몇가지 변화(셀룰로스와 펙틴물질의 변화, 미토콘드리아 활성변화 등)가 현미경으로 발견되는데 이를 조사 검출수단으로 이용할수 있다. 또 DEFT/APC 방법, 반배아검사 등 생물학적 방법이 조사식품의 검사방법으로 개발되었다.

과일의 반배아 검사[139-143]

반배아실험은 밀감속(포도, 오렌지, 레몬 등), 사과 그리고 버찌속에 이용할 수 있다.

재료 및 기기—뚜껑있는 Petri-dish, 배양기.

시료준비—과일에서 씨를 빼내 증류수로 씻는다. 집게로 외종피(씨의 바깥부분)와 포피(씨의 안쪽부분)을 제거한

다. 버찌의 경우 구멍이 있는 뺀찌를 사용하여 외종피를 잘 벗겨낸다. 씨가 몇개의 배아를 가지고 있다면 각 배아를 분리하여 이중 제일 큰것을 선택한다. 배아에서 보다적은 떡잎을 제거한다. 씨에서 남아있는 하나의 떡잎과 배아축을 반배아라고 한다.

발아—증류수를 적신 여과지가 있는 뚜껑이 있는 Petri-dish에 최소한 10개의 반배아를 놓는다. 최적온도(밀감: 35°C, 사과: 30°C, 버찌: 25°C)에서 배양한다. 1에서 4일 후 반배아의 새싹수를 센다.

평가—새싹이 4일안에 40% 보다 크다면 그과일은 비조사 되었다고 판정하며 4일 후에 40% 보다 적다면 그과일은 조사된 것으로 한다. 사과의 경우 평가는 3일안에 할수있다.

주의—1) 작은 떡잎이나 손상된 옆축이 있는 어떠한 반배아도 버려야 한다.

2) 새싹이라 함은 싹의 길이 1 mm로 정의한다.

DEFT/APC(Direct epifluorescent filter technique/aerobic plate count)법

원리—조사 향신료의 검출을 위한 미생물학적 선별방법은 DEFT와 APC에 기초한다. DEFT계수는 향신료에 오염된 미생물전체를 세는 것이며 APC는 agar평판에 군락을 형성할 수 있는 생균수(군락형성단위, cfu)를 말한다. 두계수의 지수 [log(DEFT/APC)]로 향신료의 처리유무를 판정한다. 흡수선량 ≥5 kGy로 조사된 향신료에서 두계수의 지수 log(DEFT/APC)는 >4.0이다. 조사처리의 결정은 향신료가 열처리나 훈증처리 되지 않았다는 사전지식에 달렸다.[144-147]

시약과 희석액—DEFT와 APC결정에 사용되는 모든 시약은 0.2 m 세공크기의 막여과지 여과나 121±1°C에서 15분 동안 고온멸균한다.

1) 희석액: peptone-saline [0.1%(m/v) peptone, 0.85%(m/v) sodium chloride, pH 7.2].

2) Agar: Plate Count Agar(Difco, Merck, Oxoid).

3) 중화액: 0.1 M citrate-NaOH, pH 3.0; 0.1 M citrate-NaOH, pH 6.6.

4) 염색용액: 0.025%(m/v) acridine orange(AO)가 포함된 중화액, pH 6.6; AO는 변이원성 물질이므로 시판 농축 AO 용액을 추천한다.

5) 기타 시약: 95% isopropanol; 94.5% ethanol; 증류수.

호기성균의 평판계수—peptone-saline 희석액에 여과액의 10배수 희석을 준비한다. 적당한 희석액의 1 m*l*를 살균된 프라스틱 Petri dish에 넣고 45°C로 맞춘 평판계수 agar 15 m*l*를 붓는다. 각 희석액에 따라 2개씩의 plate를 한다. 비조사 여과액을 사용할 때는 5개의 plate를 준비한다. 30±1°C에서 2내지 6일 동안 plate를 배양한다. 가장 적당한 희석(30~100 cfu/plate)의 군락을 세고 cfu/시료 g을 사용된 시료의 희석인자로 군락수를 나눔으로서 계산한다.

DEFT 슬라이드의 준비—peptone-saline 희석액에 여과액의 10배수 희석(10^{-1} to 10^{-3})을 준비한다. 여과기에 밝은 쪽을 위로해서 0.4 m 하얀 polycarbonate 막을 올려 놓는다. 적당한 희석의 2 m*l*를 여과한다. 그액을 가한후 진공을 연결한다. 2 m*l*의 AO용액을 여과탑으로 옮겨 2분간 막위에 놓아둔다. 진공을 걸고 염색액을 빨아낸다. 진공상태를 유지하고 긴급히 2 m*l* pH 3.0 중화액으로 씻고 2 m*l* isopropanol로 계속해서 빠르게 씻는다. Isopropanol 세척은 미생물 탈색을 막기위해 빠르게 해야한다. 진공연결을 끊고 집게 짝으로 막을 이동시켜 공기중에서 말린다. 막을 밝은 쪽이 위로가게 하여 현미경 슬라이드위에 놓는다. 침윤기름방울을 막의 위 아래에 놓는다. 기름칠된 막위에 덮개조각을 놓고 슬라이드쪽으로 덮개조각을 밀어서 두께를 감소시킨다. DEFT 슬라이드는 시험준비되지 않았으므로 암실의 실온에 최소한 2달간 저장할 수 있다.

DEFT 계수—100 배의 기름 침적 대물렌즈를 사용하여 발광 현미경에서 DEFT 슬라이드를 검사한다. 임의로 선택한 현미경 현장에서 그리고 DEFT수가 현장당 20~100일때는 10개 현장에서 오렌지색, 약오렌지색 그리고 오렌지-황색으로 빛나는 미생물(DEFT 계수)을 센다. 만일 현장당 계수가 100을 넘어가면 여과물을 더욱 희석하여 이과정을 반복한다. 각 분리된 미생물이나 가장작은 미생물 직경이 둘이 안되도록 서로분리된 미생물집단을 1 DEFT수로 센다. 실험한 현미경 현장의 DEFT의 평균수(N/n)를 희석인자(DF)와 현미경인자(MF)로 곱하여 시료의 DEFT count/g를 계산한다.

$$\text{DEFT count/g} = (N \times MF \times DF)/n$$

여기서 N은 n의 현미경 현장의 DEFT수를 합한 것이며 n은 실험한 현미경 현장의 수이고 MF는 현미경 인자=FA/(MA×V)이다. FA는 여과한 시료에 노출된 막의 면적이며 MA는 시야의 현미경 현장 면적이고 V는 시료용량이다.

전 망

IUPAC(International Union of Pure and Applied Chemistry) 방법과 같은 국제적인 표준 측정법의 선상에 있는 건전하고 적절한 분석법은 조사식품의 수용성을 증진시키는데 도움이 될 것이다. ADMIT 및 BCR 프로젝트에서 유망한 기술로 확인된 것은 ESR, TL, 휘발성 hydrocarbone, cyclobutanone분석, 미생물상 관찰(DEFT/APC) 등이다. 이외

몇가지 기술이 더 확립 되었는데 각품목에 대한 주요한 검출기술은 다음과 같다. (1) 향신료의 조사검출법으로는 TL, DEFT/APC 그리고 후추에만 해당하는 점도측정이 있다. (2) 육류의 조사검출법으로는 ESR, 휘발성 hydrocarbone, cyclobutanone분석 그리고 DNA분석이 있다. (3) 냉동, 생선수산물의 조사검출법으로는 ESR, 냉동품에만 해당되는 가스분석, TL 그리고 DNA분석이 있다. (4) 과실의 조사검출법으로는 씨의 발아시험, 씨의 ESR 그리고 TL이 있다. (5) 채소의 조사검출법으로는 TL 그리고 감자에만 해당하는 전기저항이 있다. 이들 방법에 대하여는 이미 검출법이 작성되었다. 따라서 조사식품의 검출기술은 이제 어느정도 확립되었다고 할수 있다.

참고문헌

1. Henon, Y.M.: Food irradiation in perspective. *Radiation Physics Chemistry,* **46**, 647-651 (1995).
2. Nawar, W.W. and Balboni, J.J.: Detection of irradiation treatment in foods. *J. Ass. Offic. Anal. Chem.,* **53**, 726-729 (1970).
3. Belliardo, J.J.: Methods for the detection of foodstuffs treated by irradiation. *Radiat. Phys. Chem.,* **42**, 377-382 (1993).
4. Stevenson, H.: Identification of irradiated foods. *Food Technol.,* **48**, 141-144 (1994).
5. Stevenson, M.H. and Stewart, E.M.: Identification of irradiated food: The current status. *Radiat. Phys. Chem.,* **46**, 653-658 (1995).
6. Taub, I.A., Kaprielian, R.A., Halliday, J.W., Walker, J. E., Angelini, P. and Merrit, C. Jr: Factors affecting radiolytic effect in food. *Radiat. Phys. Chem.,* **14**, 639-653 (1979).
7. Farkas, J.: Radiation processing of dry food ingredients-A review. *Radiat. Phys. Chem.,* **25**, 271-280 (1985).
8. Findlay, D.J.S., Parsons, T.V. and Sene, M.R.: Irradiation of food and the induction of radioactivity. *Radiat. Phys. Chem.,* **42**, 417-420 (1993).
9. Schreiber, G.A., Helle, N., Schulzki, G., Spiegelberg, A., Linke, B., Wagner, U. and Bogl, K.W.: Intercomparisons to evaluate the suitability of gaschromatographic, electron-spin-resonance spectrometric and thermoluminescence methods to detect irradiated foods in routine control. *Radiat. Phys. Chem.,* **42**, 391-396 (1993).
10. Bradford, W.R.: Aspects of implementation of food irradiation and identification of irradiated products. *Food Irr. Newsletter,* **13**, 55-57 (1989).
11. Brynjolfsson, A.: Future radiation sources and identification of irradiated foods. *Food Technol.,* **43**, 84-89, 97 (1989).
12. Delincee, H.: Rapid and simple screening tests to detect the radiation treatment of foods. *Radiat. Phys. Chem.,* **46**, 677-680 (1995).
13. Delincee, H. and Ehlermann, D.A.E.: Recent advances in the identification of irradiated food. *Radiat. Phys. Chem.,* **34**, 877-890 (1989).
14. Farkas, J.: Radiation processing of dry food ingredients-A review. *Radiat. Phys. Chem.,* **25**, 271-280 (1985).
15. Glidewell, S.M., Deighton, N., Goodman, B.A. and Hillman, J.R.: Detection of irradiated food: A review. *J. Sci. Food Agric.,* **61**, 281-300 (1993).
16. Goksu-Ogelman, H.Y. and Regulla, D.F.: Detection of irradiated food. *Nature,* **340**, 23 (1989).
17. Grunewald, Th.: Electron irradiation of dry food products. *Radiat. Phys. Chem.,* **22**, 733-741 (1983).
18. Hayashi, T.: Identification of irradiated foods: Review. *J. Food Sci. Technol. Japan,* **26**, 547-560 (1979).
19. Hayashi, T.: Detection of irradiated foods. *New Food Industry,* **28**, 11-16 (1986).
20. Kilcast, D.: Food irradiation: current problems and future potential. *International Biodeterioration Biodegradation.,* **36**, 279-296 (1995).
21. Murano, E.A.: Detection of irradiated foods in Food irradiation: A sourcebook. Ames Iowa State University Press, pp. 78-80 (1995).
22. Adam, S.: Radiolysis of α α'-trehalose in concentrated aqueous solution; the effect of co-irradiated proteins and lipids. *Int. J. Radiat. Biol.,* **42**, 531-544 (1982).
23. Anglemier, A.F., El-Badawi, A.A. and Chain, R.F.: Effect of irradiation and pre-irradiation treatment on beef muscle proteins. *J. Food Sci.,* **29**, 837-842 (1964).
24. Chuaqui-Offermanns, N. and McDougall, T.: An HPLC method to determine o-tyrosine in chicken meat. *J. Agric. Food Chem.,* **39**, 300-302 (1991).
25. Dizdaroglu, M., Gajewski, E., Simic, M.G. and Krutzsch, H.C.: Identification of some OH radical-induced products of lysozyme. *Int. J. Radiat. Biol.,* **43**, 185-193 (1983).
26. Dizdaroglu, M., Gajewski, E. and Simic, M.G.: Enzymatic digestibility of peptides crosslinked by ionizing radiation. *Int. J. Radiat. Biol.,* **45**, 283-295 (1984).
27. Dizdaroglu, M., Simic, M.G. and Karam, L.R.: Chemical analysis of irradiated foods. *Trans. Am. Nucl. Soc.,* **49**, 10-13 (1985).
28. Gajewski, E., Dizdaroglu, M. and Simic, M.G.: OH radical-induced crosslinks of methionine peptides. *Int. J. Radiat. Biol.,* **46**, 47-55 (1984).
29. Karam, L.R. and Simic, M.G.: Detecting irradiated foods: Use of hydroxyl radical biomarkers. *Anal. Chem.,*

60, 1117A-1119A (1988).
30. Krishna, C.M., Kondo, T. and Riesz, P.: Sonochemistry of aqueous solutions of amino acids and peptides: A spin trapping study. *Radiat. Phys. Chem.*, **32**, 121-128 (1988).
31. Scherz, H.: Formation of deoxy compounds and malondialdehyde in irradiated aqueous solutions of carbohydrates and related compounds. *Radiat. Res.*, **43**, 12-24 (1970)
32. den Drijver, L., Holzapfel, C.W. and van der Linde, H. J.: High-performance liquid chromatography determination of D-arabino-hexos-2-ulose (D-glucosone) in irradiated sugar solutions: Application of the method to irradiated mango. *J. Agric. Food Chem.*, **34**, 758-762 (1986).
33. Raffi, J., Agnel, J.P., Thiery, C.J., Frejaville, C.M. and Saint-Lebe, L.R.: Study of gamma-irradiated starches derived from different foodstuffs: A way for extrapolating wholesomeness data. *J. Agric. Food Chem.*, **29**, 1227-1232 (1981).
34. Jona, R. and Fronda, A.: Rapid differentiation between gamma-irradiated and non-irradiated potato tubers. *Radiat. Phys. Chem.*, **35**, 317-320 (1990).
35. Boguta, G. and Dancewicz, A.M.: Radiolytic and enzymatic dimerization of tyrosyl residues in insulin, ribonuclease, papain and collagen. *Int. J. Radiat. Biol.*, **43**, 249-265 (1983).
36. Dizdaroglu, M. and Simic, M.G.: Radiation induced conversion of phenylalanine to tyrosine. *Radiat. Res.*, **83**, 437 (1980).
37. Meier, W., Burgin, R. and Frohlich, D.: Analysis of o-tyrosine as a method for the identification of irradiated chicken and the comparison with other methods (Analysis of volatiles and ESR-spectroscopy). *Radiat. Phys. Chem.*, **35**, 332-336 (1990).
38. Taub, I.A., Robbins, F.M., Simic, M.G., Walker, J.E. and Wierbicki, E.: Effect of irradiation on meat proteins. *Food Technol.*, **33**, 184-193 (1979)
39. Hajos, G., Kiss, I. and Halasz, A.: Chemical changes of proteins of irradiated egg-white. *Radia. Phys. Chem.*, **36**, 639-643 (1990).
40. Kume, T., Ishii, T. and Matsuda, T.: Immunochemical identification of irradiated chicken eggs. *J. Sci. Food Agric.*, **65**, 1-4 (1994).
41. Karam, L.R., Dizdaroglu, M. and Simic, M.G.: OH radical-induced products of tyrosine peptides. *Int. J. Radiat. Biol.*, **46**, 715 (1984).
42. Simic, M.G., Gajewski, E. and Dizdaroglu, M.: Kinetics and mechanisms of hydroxyl radical-induced crosslinks between phenylalanine peptides. *Radiat. Phys. Chem.*, **24**, 465-473 (1985).
43. Chuaqui-Offermanns, N. and McDougall, T.: An HPLC method to determine o-tyrosine in chicken meat. *J. Agric. Food Chem.*, **39**, 300-302 (1991).
44. Adriaanse, A.: A technique for the detection of low-dose -irradiation in cooked Dutch shrimp (Crangon crangon) by disc protein patterns. *J. Sci. Food Agric.*, **22**, 498-499 (1971).
45. Bogl, K.W.: Methods for identification of irradiated food. *Radiat. Phys. Chem.*, **35**, 301-310 (1990).
46. Vajdi, M., Nawar, W.W. and Merritt, C. Jr: Identification of radiolytic compounds from beef. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **56**, 611-615 (1979).
47. Merrit, C. Jr, Vajdi, M. and Angelini, P.: A quantitative comparison of the yields of radiolytic products in various meats and their relationship to precursors. *J. Amer. Oil Chem. Soc.*, **62**, 708-713 (1985).
48. Vajdi, M. and Merrit, C. Jr: Identification of adduct radiolysis products from pork fat. *J. Amer. Oil Chem. Soc.*, **62**, 1252-1260 (1985).
49. Morehouse, K.M. and Ku, Y.: Identification of irradiated foods by monitoring radiolytically produced hydrocarbons. *Radiat. Phys. Chem.*, **42**, 359-362 (1993).
50. Champagne, J.R. and Nawar, W.W.: The volatile components of irradiated beef and pork fats. *J. Food Sci.*, **34**, 335-339 (1969)
51. Delincee, H.: Control of irradiated food: Recent developments in analytical detection methods. *Radiat. Phys. Chem.*, **42**, 351-357 (1993).
52. Grootveld, M. and Jain, R.: Methods for the detection of irradiated foodstuffs: Aromatic hydroxylation and degradation of polyunsaturated fatty acids. *Radia. Phys. Chem.*, **34**
53. Merritt, C. Jr, Angelini, P. and Graham, D.A.: Effect of radiation parameters on the formation of radiolysis products in meat and meat substances. *J. Agric. Food Chem.*, **26**, 29-35 (1978).
54. Morehouse, K.M. and Ku, Y.: A gas chromatographic method for the identification of gamma-irradiated frog legs. *Radiat. Phys. Chem.*, **35**, 337-341 (1990).
55. Crone, A.V.J., Hamilton, J.T.G. and Stevenson, M.H.: Effect of storage and cooking on the dose response of 2-dedecylcyclobutanone, a potential marker for irradiated chicken. J. Sci. Food Agric., 58, 249-252 (1992).
56. Boyd, D.R., Crone, A.V.J., Hamilton, J.T.G., Hand, M. V., Stevenson, M.H. and Stevenson, P.J.: Synthesis, characterization, and potential use of 2-dodecylcyclobutanone as a marker for irradiated chicken. *J. Agric. Food Chem.*, **39**, 789-792 (1991).
57. Stevenson, M.H., Crone, A.V.J., Hamilton, J.T.G. and

McMurray, C.H.: The use of 2-dodecylcyclobutanone for the identification of irradiated chicken meat and eggs. *Radiat. Phys. Chem.*, **42**, 363-366 (1993).
58. Champagne, J.R. and Nawar, W.W.: The volatile components of irradiated beef and pork fats. *J. Food Sci.*, **34**, 335-339 (1969).
59. Shengchu, Q., Jilan, W. and Yan, Z.: Possible role of organic peroxides in the detection of irradiated food. *Radiat. Phys. Chem.*, **42**, 371-375 (1993).
60. Dizdaroglu, M. and Bergtold, D.S.: Characterization of free radical induced base damage in DNA at biologically relevant levels. *Anal. Biochem.*, **156**, 182-188 (1986).
61. Jabir, A.W., Deeble, D.J., Wheatley, P.A., Smith, C.J., Parsons, B.J., Beaumont, P.C. and Swallow, A.J.: DNA modifications as a means of detecting the irradiation of wheat. *Radiat. Phys. Chem.*, **34**, 935-940 (1989).
62. Symons, M.C.R.: Direct and indirect damage to DNA by ionising radiation. *Radiat. Phys. Chem.*, **43**, 403-405 (1994).
63. Fuciarelli, A.F., Miller, G.G. and Raleigh, J.A.: An immunochemical probe for 8,5'-cycloadenosine-5'-monophosphate and its deoxy analog in irradiated nucleic acids. *Radiat. Res.*, **104**, 272-283 (1985).
64. Freemann, S.E., Blackett, A.D., Monteleone, D.C., Setlow, R.B., Sutherland, B.M. and Sutherland, J.C.: Quantitation of radiation-, chemical-, or enzyme-induced single strand breaks in nonradioactive DNA by alkaline gel electrophoresis: Application to pyrimidine dimers. *Anal. Biochem.*, **158**, 119-129 (1986).
65. Hajos, G. and Delincee, H.: Structural investigation of radiation-induced aggregates of ribonuclease. *Int. J. Radiat. Biol.*, **44**, 333-342 (1983).
66. Schellenberg, K.A. and Shaeffer, J.: Formation of methyl ester of 2-methylglyceric acid from thymine glycol residues: A convenient new method for determining radiation damage to DNA. *Biochemistry*, **25**, 1479-1482 (1986).
67. Marchioni, E., Tousch, M., Zumsteeg, V., Kuntz, F. and Hasselmann, C.: Alterations of mitochondrial DNA: A method for the detection of irradiated beef liver. *Radiat. Phys. Chem.*, **40**, 485-488 (1992).
68. Marchioni, E., Tousch, M., Zumsteeg, V., Kuntz, F. and Hasselmann, C.: Alterations of mitochondrial DNA: A method for the detection of irradiated beef liver. *Radia. Phys. Chem.*, **40**, 485-488 (1992).
69. Cerda, I., Hofsten, B.V. and Johanson, K.J.: Identification of irradiated food by microelectrophoresis of DNA from single cells. In *Recent advances on detection of irradiated food, Ancona, 24-26 Sept. 1991*, EUR 14315, Commission of the European Communities, Luxembourg, p.401 (1993).
70. Delincee, H.: Rapid and simple screening tests to detect the radiation treatment of fat containing foods in New developments *in* food, feed and waste irradiation (G.A. Schreiber *et al.*), Sozep Heft 16/1993 Bundesgesundheitsamt, Berlin, 99-102 (1993).
71. Dohmaru, T., Furuta, M., Katayama, T., Toratani, H. and Takeda, A.: Identification of irradiated pepper with the level of hydrogen gas as a probe. *Radiat. Res.*, **120**, 552-555 (1989).
72. Farkas, J., Koncz, A. and Sharif, M.M.: Identification of irradiated dry ingredients on the basis of starch damage. *Radiat. Phys. Chem.*, **35**, 324-328 (1990).
73. Farkas, J., Sharif, M.M. and Koncz, A.: Detection of some irradiated spices on the basis of radiation induced damage of starch. *Radia. Phys. Chem.*, **36**, 621-627 (1990).
74. Sharif, M.M. and Farkas, J.: Analytical studies into radiation-induced starch damage in black and white peppers. *Radiat. Phys. Chem.*, **42**, 383-386 (1993).
75. Hayashi, T. and Ehlermann, D.: Identification of irradiated potatoes by means of electrical conductivity. *Rept. Natl. Food Res. Inst. Japan*, **36**, 91-97 (1980).
76. Hayashi, T., Iwamoto, M. and Kawashima, K.: Identification of irradiated potatoes by impedance measurements. *Agric. Biol. Chem. Tokyo*, **46**, 905-912 (1982).
77. Hayashi, T. and Kawashima, K.: Impedance measurement of irradiated potatoes. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkai-Shi*, **30**, 51-54 (1983).
78. Ehlermann, D.: The possible identification of an irradiation treatment of fish by means of electrical (ac) resistance measurement. *J. Food Sci.*, **37**, 501 (1972).
79. Hayashi, T., Todoriki, S., Otobe, K. and Sugiyama, J.: Applicability of impedance measuring method to the detection of irradiation treatment of potatoes. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi*, **40**, 378-384 (1993).
80. Jona, R. and Fronda, A.: Rapid differentiation between gamma-irradiated and non-irradiated potato tubers. *Radiat. Phys. Chem.*, **35**, 317-320 (1990).
81. Hayashi, T., Todoriki, S. and Kohyama, K.: Applicability of viscosity measuring method to the detection of irradiated spices. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi*, **40**, 456-460 (1993).
82. Heide, L., Nurnberger, E. and Bogl, K.W.: Investigations on the detection of irradiated food by measuring the viscosity of suspended spices and dried vegetables. *Radia. Phys. Chem.*, **36**, 613-619 (1990).
83. Hayashi, T., Todoriki, S. and Kohyama, K.: Applicability of viscosity measuring method to the de-

tection of irradiated spices. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi*, **40**, 456-460 (1993).
84. Hayashi, T., Todoriki, S. and Kohyama, K.: Irradiation effects on pepper starch viscosity. *J. Food Sci.*, **59**, 118-120 (1994).
85. Schreiber, G.A., Leffke, A., Mager, M., Helle, N. and Bogl, K.W.: Viscosity of alkaline suspensions of ground black and white pepper samples: An indication or an identification of high dose radiation treatment? *Radiat. Phys. Chem.*, **44**, 467-472 (1994).
86. Hayashi, T., Todoriki, S. and Kohyama, K.: Irradiation effects on pepper starch viscosity. *J. Food Sci.*, **59**, 118-120 (1994).
87. Raffi, J., Agnel, J.P., Thiery, C.J., Frejaville, C.M. and Saint-Lebe, L.R.: Study of gamma-irradiated starches derived from different foodstuffs: A way for extrapolating wholesomeness data. *J. Agric. Food Chem.*, **29**, 1227-1232 (1981).
88. Ikeya, M. and Miki, T.: Electron spin resonance dating of animal and human bones. *Science*, **207**, 977-979 (1980).
89. Shieh, J.J. and Wierbicki, E.: Interaction of radiation-generated free radicals with collagen and metallo-proteins using cesium-137 gamma source. *Radiat. Phys. Chem.*, **25**, 155-165 (1985).
90. Desrosiers, M.F. and Simic, M.G.: Postirradiation dosimetry of meat by electron spin resonance spectroscory of bones. *J. Agric. Food Chem.*, **36**, 601-603 (1988).
91. Dodd, N.J.F., Swallow, A.J. and Ley, F.J.: Use of ESR to identify irradiated food. *Radiat. Phys. Chem.*, **26**, 451 (1985).
92. Dodd, N.J.F., Lea, J.S. and Swallow, A.J.: ESR detection of irradiated food. *Nature*, **334**, 387 (1988).
93. Dodd, N.J.F., Lea, J.S. and Swallow, A.J.: The ESR detection of irradiated food. *Int. J. Appl. Radiat. Isotop.*, **40**, 1211 (1989).
94. Fodd, N.J.F., Lea, J.S. and Swallow, A.J.: The ESR detection of irradiated food. *Appl. Radiat. Isot.*, **40**, 1211-1214 (1989).
95. Goodman, B.A., McPhail, D.B. and Duthie, D.M.L.: Electron spin resonance spectroscopy of some irradiated foodstuffs. *J. Sci. Food Agric.*, **47**, 101-111 (1989).
96. Desrosiers, M.F.: Assessing radiation dose to food. *Nature*, **345**, 485 (1990).
97. Bordi, F., Fattibene, P., Onori, S. and Pantaloni, M.: ESR dose assessment in irradiated chicken legs. *Radiat. Phys. Chem.*, **43**, 487-491 (1994).
98. Desrosiers, M.F. and Simic, M.G.: Postirradiation dosimetry of meat by electron spin resonance spectroscopy of bones. *J. Agric. Food Chem.*, **36**, 601-603 (1988).
99. Desrosiers, M.F. and McLaughlin, W.L.: Examination of gamma-irradiated fruits and vegetables by electron spin resonance spectroscopy. *Radiat. Phys. Chem.*, **34**, 895-898 (1989).
100. Desrosiers, M.F.: Estimation of the absorbed dose in radiation-processed food-2. Test of the EPR response function by an exponential fitting analysis. *Appl. Radiat. Isot.*, **42**, 617-619 (1991).
101. Desrosiers, M.F., Wilson, G.L., Hunter, C.R. and Hutton, D.R.: Estimation of the absorbed dose in radiation-processed food-1. Test of the EPR response function by a linear regression analysis. *Appl. Radiat. Isot.*, **42**, 613-616 (1991).
102. Desrosiers, M.F.: γ-irradiation seafoods: identification and dosimetry by electron paramagnetic resonance spectroscopy. *J. Agric. Food Chem.*, **37**, 96-100 (1989).
103. Gray, R. and Stevenson, M.H.: Detection of irradiated deboned turkey meat using electron spin resonance spectroscopy. *Radia. Phys. Chem.*, **34**, 899-902 (1989).
104. Gray, R. and Stevenson, M.H.: The effect of post-irradiation cooking on the ESR signal in irradiated chicken drumsticks. *Int. J. Food Sci. Techn.*, **24**, 447-450 (1989).
105. Gray, R., Stevenson, M.H. and Kilpatrick, D.J.: The effect of irradiation dose and age of bird on the ESR signal in irradiated chicken drumsticks. Radiat. *Phys. Chem.*, **35**, 284-287 (1990).
106. Gray, R. and Stevenson, H.: Effect of dose rate and length of storage on the ESR signal strength in irradiated chicken bone. *Int. J. Food Sci. Tech.*, **26**, 669-672 (1991).
107. Lea, J.S., Dodd, N.J.F. and Swallow, A.J.: A method of testing for irradiation of poultry. *Int. J. Food Sci. Technol.*, **23**, 625-632 (1988).
108. Morishita, N., Kume, T., Kawakami, W. and Ishigaki, I.: Identification of irradiated pepper by ESR measurement. *Food Irrad. Japan*, **23**, 28-32 (1988).
109. Raffi, J. and Agnel, J-P.L.: Electron spin resonance identification of irradiated fruits. *Radia. Phys. Chem.*, **34**, 891-894 (1989).
110. Sanderson, D.C.W., Slater, C. and Cairns, K.J.: Detection of irradiated food. *Nature*, **340**, 23-24 (1989).
111. Hayashi, T., Kawakishi, S., Namiki, M., Nara, S. and Komiya, T.: Formation and disappearance of radiation-induced radicals in foods. *Food Irrad. Japan*, **7**, 15-19 (1972).
112. Hayashi, T., Yano, M. and Namiki, M.: Formation and disappearance of radiation-induced radicals in foods: II. Rice and wheat. *Food Irrad. Japan*, **8**, 95-99 (1973).

113. Dangl, T., Leitner-Wild, E., Hille, P. and Nowotny, R.: Detection of irradiated mushrooms and kiwi fruits by thermoluminescence measurement. *Radiat. Phys. Chem.*, **41**, 447-452 (1993).
114. Heide, L. and Bogl, W.: Identification of irradiated spices with thermo and chemiluminescence measurements. *Int. J. Food Sci. Tech.*, **22**, 93-103 (1987).
115. Mamoon, A., Zaheer, A. and Abu-Abdullah, S.: Variation in thermoluminescence of irradiated brands of foodstuffs: A test for hygienic quality. *Radiat. Phys. Chem.*, **48**, 683-687 (1996).
116. Moriarty, T.F., Oduko, J.M. and Spyrou, N.M.: Thermoluminescence in irradiated foodstuffs. *Nature*, **332**, 22 (1988).
117. Sanderson, D.C.W., Slater, C. and Cairns, K.J.: Thermoluminescence of foods: Origins and implications for detecting irradiation. *Radiat. Phys. Chem.*, **34**, 915-924 (1989).
118. Oduko, J.M. and Spyrou, N.M.: Thermoluminescence of irradiated foodstuffs. *Radia. Phys. Chem.*, **36**, 603-607 (1990).
119. Schreiber, G.A., Hoffmann, A., Helle, N. and Bogl, K. W.: Methods for routine control of irradiated food: Determination of the irradiation status of shellfish by thermoluminescence analysis. *Radiat. Phys. Chem.*, **43**, 533-544 (1994).
120. Mamoon, A., Abdul-Fattah, A. and Abulfaraj, W.H.: Thermoluminescence of irradiated herbs and spices. *Radiat. Phys. Chem.*, **44**, 203-206 (1994).
121. Sharifzadeh, M. and Sohrabpour, M.: Investigation of the irradiation history of the Iranian dates and pistachio nuts using thermoluminescence technique. *Radiat. Phys. Chem.*, **42**, 407-411 (1993).
122. Anderle, N., Steffan, I., Wild, E. and Hille, P.: Radiolyo-chemiluminescence of bones and seafood shells; A new, promising method for the detection of food irradiation. *Fresenius J. Analytical Chemistry*, **354**, 925-928 (1996)
123. Bogl, W. and Heide, L.: Chemiluminescence measurements as an identification method for gamma-irradiated foodstuffs. *Radiat. Phys. Chem.*, **25**, 173-185 (1985).
124. Ettinger, K.V. and Puite, K.J.: Lyoluminescence dosimetry: Part I. Principles. *Int. J. Appl. Radiat. Isot.*, **33**, 1115-1138 (1982).
125. Narvaiz, P.: Chemiluminescence measurements on irradiated garlic powder by the single 126. Sattar, A., Delincee, H. and Diehl, J.F.: Detection of gamma irradiated pepper and papain by chemiluminescence. *Radiat. Phys. Chem.*, **29**, 215-218 (1987).
127. Sanderson, D.: Photostimulated luminescence (PSL); A new approach to identifying irradiated foods. *BCR Workshop 13-15 February* (1990).
128. Perng, F.S. and Yang, J.S.: Ultrastructural effect of gamma irradiation on grass shrimps. *Radiat. Phys. Chem.*, **35**, 258-262 (1990).
129. Magauda, G.: Possibility of recognizing irradiated and non-irradiated potatoes by their weight loss. *J. Food Sci.*, **38**, 1253-1254 (1973).
130. Chachin, K., Tatsumi, Y. and Ogata, K.: Effects of gamma irradiation on morphological changes and nucleic acid content in buds of potato tubers. *Engei Gakkai Zasshi*, **43**, 194-198 (1974).
131. Desrosiers, M.F. and McLaughlin: Onion skin as a radiation monitor. *Radiat. Phys. Chem.*, **35**, 321-323 (1990).
132. Dizdaroglu, M., Gajewski, E. and Simic, M.G.: Enzymatic digestibility of peptides cross-linked by ionizing radiation. *Int. J. Radiat. Biol.*, **45**, 283-295 (1984).
133. Lakritz, L. and Maerker, G.: Effect of ionizing radiation on cholesterol in aqueous dispersion. *J. Food Sci.*, **54**, 1569-1572 (1989).
134. Magauda, G.: Possibility of recognizing irradiated and non-irradiated potatoes by their weight loss. *J. Food Sci.*, **38**, 1253-1254 (1973).
135. Mathur, P.B.: Reversal of gamma-ray induced dormancy of potato tubers by gibberelic acid. *Nature*, **190**, 547-548 (1961).
136. Mathur, P.B.: Reversal of gamma-ray induced susceptibility of potato tubers and tomato fruit by methyl ester of indolyl-3-acetic acid. *Nature*, **199**, 1007-1008 (1963).
137. Natarajan, A.T., Kim, C. and Lofroth, G.: Identification of irradiated strawberries. *Int. J. Appl. Radiat. Isot.*, **20**, 614-615 (1969).
138. Chachin, K., Matsuzuka, M., Honjo, H. and Ogata, K.: Sprout inhibition of Sappro-ki onions and the changes of nucleic acids in their inner buds by gamma radiation. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi*, **20**, 158-162 (1973).
139. Atsumi, T. and Matano, K.: Studies on the practical methods for identification of irradiated foodstuffs: III. Morphological and histological studies on the methods for identification of irradiated wheat and rice seeds. *Shokuhin Shosha*, **8**, 1-10 (1973).
140. Kawamura, Y., Uchiyama, S. and Saito, Y.: Improvement of the half-embryo test for detection of gamma-irradiated grapefruit and its application to irradiated oranges and lemons. *J. Food Sci.*, **54**, 1501-1504 (1989).
141. Kawamura, Y., Uchiyama, S. and Saito, Y.: A half-embryo test for identification of gamma-irradiated gra-

pefruit. *J. Food Sci.,* **54**, 379-382 (1989).
142. Kawamura, Y., Suzuki, N., Uchiyama, S. and Saito, Y.: Germination test for identification of gamma-irradiated wheat. *Radia. Phys. Chem.,* **40**, 17-22 (1992).
143. Qiongying, L., Yanhua, K. and Yuemei, Z.: Studies on the methods of identification of irradiated food: I. Seedling growth test. *Radiat. Phys. Chem.,* **42**, 387-389 (1993).
144. Tjaberg, T.B., Underdal, B. and Lunde, G.: The effect of ionizing radiation on the microbiological content and volatile constituents of spices. *J. Appl. Bacteriol.,* **35**, 473-478 (1972).
145. Betts, R.P., Farr, L., Bankes, P. and Stringer, M.F.: The detection of irradiated foods using the direct epifluorescent filter technique. *J. Appl. Bacteriol.,* **64**, 329-335 (1988).
146. Scotter, S.L., Wood, R. and McWeeny, D.J.: Evaluation of the limulus amoebocyte lysate test in conjunction with a gram negative bacterial plate count for detecting irradiation of chicken. *Radiat. Phys. Chem.,* **36**, 629-638 (1990).
147. Hewamanna, R. and Boteju, L.W.: Microbiological and chemical studies on irradiated black pepper. *Int. J. Appl. Radiat. Isot.,* **36**, 989-990 (1985).