

ESR Spectroscopy를 이용한 방사선 조사 효소분말의 검지와 흡수선량 예측

정형욱 · 정재영 · 권중호
경북대학교 식품공학과

Detection and Absorbed-Dose Estimation of Irradiated Enzyme Powder Using ESR Spectroscopy

Hyung-Wook Chung, Jae-Young Jeong and Joong-Ho Kwon
Department of Food Science and Technology, Kyungpook National University

Abstract

Along with the increasing demands for food irradiation technology in the food industry, a proper detection means for controlling irradiated foods is required. Enzyme powder, which is permitted to be irradiated in Korea, was subjected to a detection trial by ESR spectroscopy. The high correlation coefficients were observed between the absorbed doses ranging from 2.5 to 15.0 kGy and the corresponding ESR signal intensity, such as $R^2 = 0.9904$ in gamma irradiation and $R^2 = 0.9696$ in electron beam. Pre-established threshold values for both non-irradiated control (1.19) and 2.5 kGy-irradiated samples (6.97 in gamma-ray; 7.36 in electron-beam) were successfully applicable to the detection of 30 coded unknown samples of enzyme powder. The calibration curves obtained from the samples irradiated at 2.5 to 15 kGy were expected to be potentially adopted to estimate absorbed doses ranging from 4 to 7 kGy with a quadratic equation.

Key words : enzyme powder, irradiation, ESR spectroscopy, detection

서 론

식품 및 식품관련 품목의 방사선 조사는 현재 40여 개국에서 사용이 허가되어 있고, 선진국과 개발도상국을 포함한 30여 개국에서 상업적으로 방사선 조사식품이 생산되고 있다^(1,2). 따라서 방사선 조사식품이 본격 생산되는 현 시점에서 소비자들이 방사선 조사식품을 잘 이해하고 정확한 판단을 내릴 수 있게 하기 위해서는 식품조사(food irradiation)에 관한 정확하고 포괄적인 정보와 방사선 조사식품을 직접 경험해 볼 수 있도록 기회를 제공하여야 한다. 소비자들에게 식품조사에 관한 정확한 정보를 제공하였을 때 소비자들은 확신을 가지고 방사선 조사식품을 선택할 것이라는 사실이 증명되고 있다⁽³⁾. 방사선 조사식품을 기피하려고 하는 소비자들은 방사선 조사식품의 표시(labeling)와 관계 당국의 규제 강화를 요구하게 된다. 방사선 조사식품의 표시규정 준수는 신뢰성 있고 정

확한 검지방법의 활용으로 가능해질 것이다. 따라서 방사선 조사 기술의 정착과 조사식품(irradiated food)의 원활한 유통·교역을 위해서는 검지방법의 실용화가 필수적이라 할 것이다⁽⁴⁾. 이러한 필요성은 방사선 조사 식품에 대한 각 국가의 허가품목이 다르고 허가기준도 상이할 수 있기 때문에 국가간 교역에 있어서는 관련 규정의 harmonization과 검지기술의 표준화도 요구된다. 조사식품에 대한 검지방법의 적용은 자국내 식품조사의 규제와 시장보호 및 수입식품의 관리를 가능하게 할 것이다. 따라서 실용성이 있는 검지·확인 기술(detection/identification method)의 개발 연구가 시급히 요구되고 있다.

방사선 조사식품의 검지방법에는 방사선 조사시 식품 중에 생성되는 free radical을 측정하는 방법인 electron spin resonance (ESR) spectroscopy의 실용가능성이 가장 높다⁽⁵⁾. 이 방법은 가금류, 어류, 과일, 향신료, 향초류, 건조버섯 등에 적용이 어느 정도 가능하며, 각각 고유한 radical 생성에 의해 특이한 ESR signal을 나타낸다⁽⁶⁻⁸⁾. 또한 이러한 연구들은 ESR signal이 비교적 안정하고 선량에 의존적이어서 흡수선량의

Corresponding author : Joong-Ho Kwon, Department of Food Science & Technol., Kyungpook National University, Taegu 702-701, Korea

예측에도 이용될 수 있을 것이라는 가능성을 제시하고 있다^{7,9)}.

본 연구는 국내에서 처리가 허가된 식품 중 현재 상업적으로 감마선 조사되고 있는 효소분말을 대상으로 하여, ESR spectroscopy에 의해 방사선 조사 여부를 확인하고 흡수선량의 예측가능성을 검토하였다.

재료 및 방법

시료

본 실험에 사용된 시료는 국내에서 감마선 조사가 허가된 품목 중 효소분말(경기비오디아스타제 500, 엔제피아(주))를 구입하여 실험에 사용하였다.

시료의 방사선 조사

시료의 감마선조사는 한국원자력연구소의 ⁶⁰Co 감마선 조사시설을 이용하여 시간당 일정한 선량률로 실온에서 2.5~15 kGy의 총 흡수선량($\pm 5.2\%$)을 얻도록 하였으며, 흡수선량의 확인은 ceric cerous dosimeter를 사용하였다. 또한, 시료의 전자선조사는 electron-beam processing facility(S중공업)를 이용하여, 가속전류 3.13~9.40 mA, beam dimension (98 cm(L) \times 7.5 cm(W)), table speed 16.7~33.3 cm/sec 등으로 하여 실온에서 0.63 Gy \cdot sec⁻¹의 선량률로 2.5~15 kGy의 총 흡수선량($\pm 3.4\%$)을 얻도록 하였으며, 흡수선량의 확인은 cellulose triacetate dosimeter (Fuji film Co., Japan)를 사용하였다. 이상과 같이 조사된 시료는 대조시료와 함께 밀봉하여 실온에서 보관하면서 사용하였다.

ESR 측정

국내에서 감마선 조사가 허가된 효소분말을 대상으로 방사선(감마선, 전자선)을 조사하고 Stewart 등¹⁰⁾의 방법을 응용하여 분말 시료 일정량을 ESR tube에 충전하고 JES-TE300 ESR spectrometer (JEOL Co., Japan)를 사용하여 microwave frequency 9.4 GHz, magnetic centerfield 336 mT, microwave power 1.04 mW, modulation 100 kHz, amplitude 1×10 , time constant 0.03 s, sweep time 0.5 min의 조건으로 반복 측정하였다. 이때 비조사 대조시료와 방사선 조사시료의 spectra를 각각 측정하여 방사선 조사에 의해 유래된 free radical peak를 확인하고 signal strength를 측정하였다.

ESR threshold value 설정 시험

ESR 측정시료에 대한 방사선 조사 여부 확인을 위

한 threshold value 설정시험은 먼저 방사선 조사(2.5 kGy를 살균목적 최저 선량으로 간주) 전후의 시료(n=20)에 대하여 signal intensity (peak-to-peak height)를 구한 다음, 비조사 시료의 평균 signal intensity로 각 측정치를 나누는 방법⁽¹¹⁾으로 방사선 조사 여부 확인을 위한 ESR threshold value로 설정하였다.

미지시료의 조사여부 확인 시험

본 실험에서 설정된 검지방범(ESR)의 신뢰도를 확인하기 위하여 blind test의 일환으로 W연구소와 S중공업으로부터 무작위로 번호를 표기한 다수의 효소분말 미지시료(unknown samples)를 받아서 1차 검지를 실시하고, 그 결과를 미지시료 제공기관에 통지하여 조사여부에 대한 검지 결과를 확인하였다.

흡수선량 예측 시험

시료의 방사선 조사 여부 확인뿐 아니라 방사선 조사선량(흡수선량, absorbed dose)을 시험 예측하고자 효소분말(n=5)을 대상으로 2.5~15 kGy의 방사선(감마선, 전자선)을 각각 조사한 다음, 이들 시료의 ESR signal intensity를 측정하여 dose-effect curve를 작성하고 각각 2가지의 회귀식을 도출하였다. 흡수선량 예측 시험에서는 미지시료 검지시험에 사용된 효소분말(n=10)을 대상으로 이들 시료의 ESR signal intensity 측정값을 회귀식에 대입함으로써 1, 2차 회귀식의 적용가능성을 확인하였다⁽¹²⁾.

실험결과 분석

각 시료별 ESR 측정은 2회 반복 또는 그 이상으로 실시하였으며, 측정결과는 Origin⁽¹³⁾에 의해서 분석하였다.

결과 및 고찰

시료의 ESR 특성

효소분말 시료에 선량별로 방사선을 조사하여 측정된 ESR signal은 Fig. 1과 같다. 효소분말은 특유의 ESR signal을 나타내었고, signal의 강도는 선량에 의존적으로 증가하였다. 비조사구의 ESR signal은 특이한 peak를 나타내지 않으면서 조사구의 peak와는 다른 모양의 peak를 약하게 나타내었는데 이 peak는 방사선 조사구에서는 발견되지 않았다. 방사선 조사된 시료의 ESR signal은 3개의 peak를 가지고 있으며, 이 중 가장 높은 peak의 g-value는 2.01389, 2.00932, 1.99866 및 1.99213로 나타났다. ESR signal intensity와 조사선량 간에는 직선적인 상관관을 보이면서 감마선과 전자

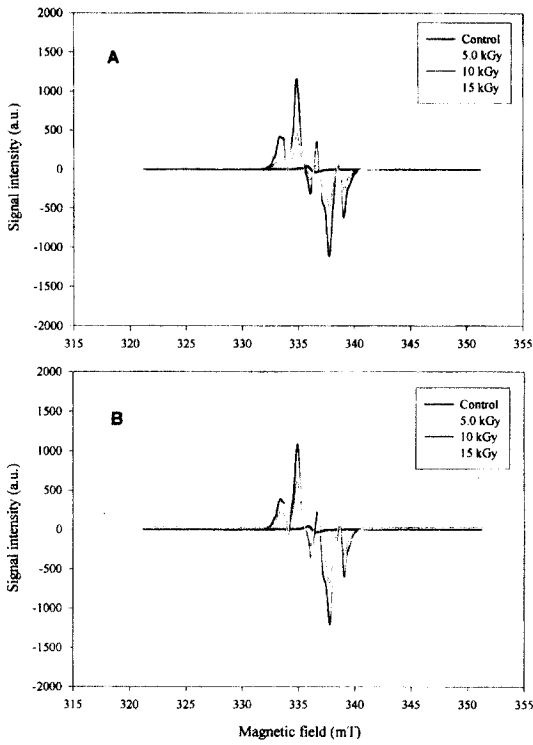


Fig. 1. Typical ESR spectra derived from enzyme powder. A : Gamma-ray, B : Electron-beam.

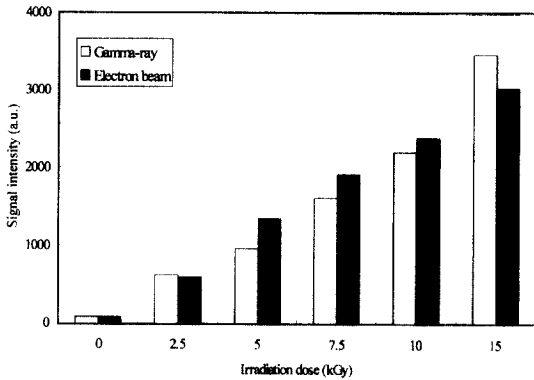


Fig. 2. Histogram for ESR response of irradiated enzyme powder.

선에서 각각 $R^2 = 0.9904$ 과 $R^2 = 0.9696$ 을 보여주었다 (Fig. 2).

ESR threshold value의 설정

효소분말에는 살균을 목적으로 방사선을 처리하므로 2.5 kGy는 최저범위 선량으로 간주할 수 있다. 따라서 비조사 및 2.5 kGy 처리 효소분말 (n = 20)을 대상으로

Table 1. ESR intensity of enzyme powder (n=20) before and after gamma- and electron beam-irradiation

Sample No.	ESR Signal intensity ¹⁾		
	Before-irradiation	Post-irradiation ²⁾	Post-irradiation ³⁾
1	0.91	7.45	7.44
2	0.81	8.02	7.86
3	1.01	7.57	7.59
4	0.83	7.45	8.07
5	1.19	7.22	7.94
6	1.07	7.80	7.95
7	0.93	7.31	7.47
8	1.10	7.51	8.29
9	1.11	6.97	7.90
10	0.96	7.32	7.53
11	1.05	8.06	8.20
12	1.01	7.68	7.36
13	1.15	8.49	8.11
14	1.00	8.61	7.99
15	0.98	7.72	8.14
16	0.89	7.65	7.80
17	0.83	7.42	7.72
18	1.14	7.51	7.89
19	1.07	8.12	7.99
20	0.96	7.83	7.73

¹⁾Each signal intensity/mean signal intensity of non-irradiated samples.

²⁾2.5 kGy irradiation with gamma-ray.

³⁾2.5 kGy irradiation with electron-beam.

ESR signal intensity를 각각 측정하고 ESR threshold value를 산출하였다. 즉, Table 1과 같이 비조사 시료들의 ESR threshold value 최대값은 1.19이었고, 방사선 조사된(2.5 kGy) 시료의 최저값은 감마선 6.97, 전자선 7.36으로 비조사구와 대단히 큰 차이임을 알 수 있었다. 그리하여 미지시료에서 ESR 측정값이 1.19보다 작을 경우에는 방사선 조사되지 않은 것으로 간주하고, 감마선 조사된 시료의 경우 6.97보다 클 경우에는 감마선 조사된 것(2.5 kGy 이상)으로 판단하며, 전자선 조사된 시료의 경우 7.36보다 클 경우 전자선 조사된 것(2.5 kGy 이상)으로 판단하였다.

ESR 측정에 의한 미지시료 확인

이상에서 설정된 비조사구와 감마선 및 전자선 조사구에 대한 ESR threshold value를 바탕으로 미지시료에 대한 조사여부 확인시험(blind test)을 실시한 결과는 각각 Table 2 및 3과 같다. 감마선 조사된 미지시료의 ESR 측정 결과의 경우, 본 실험에서 설정한 threshold value(비조사군 max. 1.19, 조사군 min. 6.97)를 적용하여 조사여부를 판정해 보면 30개의 감마선 조사 미지시료 중 19개 시료의 ESR intensity는 6.97보

Table 2. ESR intensity of gamma-irradiated enzyme powder for blind test¹⁾

Sample No.	ESR intensity	Sample No.	ESR intensity
1	10.86	16	20.21
2	21.25	17	0.91
3	0.81	18	9.79
4	0.83	19	10.04
5	10.44	20	1.17
6	1.07	21	17.44
7	21.32	22	20.11
8	1.05	23	0.96
9	0.93	24	20.66
10	20.29	25	1.10
11	10.14	26	21.41
12	9.93	27	10.53
13	0.90	28	1.01
14	19.98	29	20.35
15	10.04	30	9.62

¹⁾Each signal intensity/mean signal intensity of non-irradiated samples.

Table 3. ESR intensity of electron beam-irradiated enzyme powder for blind test¹⁾

Sample No.	ESR intensity	Sample No.	ESR intensity
1	24.51	16	23.21
2	13.91	17	1.10
3	0.93	18	14.31
4	15.35	19	0.83
5	14.82	20	13.49
6	23.36	21	22.93
7	14.10	22	23.97
8	0.92	23	0.89
9	24.55	24	24.67
10	13.65	25	13.52
11	23.88	26	23.52
12	13.26	27	0.98
13	25.36	28	23.65
14	22.13	29	14.45
15	14.58	30	1.14

¹⁾Each signal intensity/mean signal intensity of non-irradiated samples.

다 크게 나타나 감마선 조사된 것으로, 나머지 11개 미지시료는 ESR intensity가 1.19보다 작아서 감마선 조사되지 않은 것으로 각각 판정하였다. 이 판정결과는 미지시료 제공기관의 조사기록과 대조 확인하여 본 결과 100%의 정확도가 인정되었다.

한편 Table 3은 전자선 조사된 미지시료의 ESR 측정 결과를 나타내었으며, 이들을 본 실험에서 설정한 threshold value(비조사군 max. 1.19, 조사군 min. 7.36)를 적용하여 조사여부를 판정한 결과, 30개의 전자선 조사 미지시료 중 23개 시료의 ESR intensity는 7.36보다 크게 나타나 전자선 조사된 것으로, 나머지 7개 미지시료는 ESR intensity가 1.19보다 작아서 전자선 조

Table 4. Two mathematical fits for estimating the absorbed doses for enzyme powder

Irradiation source	Three mathematical fits	R ²
Gamma-ray	Y=217.2X+80.6	0.9904
	Y=3.2677X ² +178.09X+80.6	0.9980
Electron-beam	Y=216.2X+73.8	0.9696
	Y=-5.5089X ² +282.14X+73.8	0.9959

Table 5. Estimation of absorbed doses for the blind-trial samples using 2 mathematical fits

	Actual irradiation dose (kGy)	Estimated dose (kGy)	
		Linear	Quadratic
Gamma ray	4.00	3.21 ± 0.13 ¹⁾	3.66 ± 0.14
	(%RSD) ²⁾	(4.05)	(3.83)
Electron beam	7.00	6.76 ± 0.40	7.28 ± 0.39
		(5.92)	(5.36)
Gamma ray	4.00	4.65 ± 0.22 ¹⁾	3.86 ± 0.20
		(4.73)	(5.18)
Electron beam	7.00	8.10 ± 0.33	7.23 ± 0.35
		(4.07)	(4.84)

¹⁾Mean of 10 samples ± standard deviation.

²⁾Mean of 10 samples/standard deviation.

사되지 않은 것으로 각각 판정하였다. 이 판정결과는 미지시료 제공기관의 조사기록과 대조하여 보았을 때 역시 100%의 정확도가 인정되었다.

ESR 측정에 의한 흡수선량 예측

미지시료의 검지시험에 사용된 효소분말 (n = 10)을 대상으로 ESR 측정 데이터를 Table 4의 2가지 예측 모델식에 대입하여 보았다. 먼저 1차 회귀식을 적용해서 효소분말(4 kGy, 7 kGy)의 흡수선량을 예측하여 본 결과, 감마선 조사시료의 경우 3.21 ± 0.13 kGy 및 6.76 ± 0.40 kGy의 선량으로 예측되었다. 그리고 2차 회귀식의 경우에는 3.66 ± 0.14 kGy 및 7.28 ± 0.39 kGy로 나타났다(Table 5). 이상의 결과에서 볼 때 4 kGy, 7 kGy 모두 2차 회귀식의 적용가능성이 높은 것으로 나타났다. 또한, 전자선 조사 시료를 대상으로 1차 회귀식을 적용해서 효소분말(4 kGy, 7 kGy)의 흡수선량을 예측하여 본 결과, 4.65 ± 0.22 kGy 및 8.10 ± 0.33 kGy의 선량으로 예측되었다. 2차 회귀식의 경우에는 3.86 ± 0.20 kGy 및 7.23 ± 0.35 kGy로 나타났다(Table 5). 이상의 결과에서 볼 때 효소분말의 경우에는 방사선 조사 선원에 관계없이 4 kGy 및 7 kGy 모두 2차 회귀식의 적용가능성이 높은 것으로 나타났다. Gray와 Hilary²⁾는 ESR을 이용하여 방사선 조사된 칠면조고기의 실험에서 조사선량을 0, 3, 5, 7 kGy로 하여 1차 회귀식을 구하고 선량을 예측하였을 때 95% 수준에서 유의성이 인정되었다고 보고하였고, Desrosiers와 Simic¹⁴⁾, Lea

등⁽¹⁵⁾은 10 kGy 이하의 선량에서는 조사선량과 ESR signal intensity 사이에는 직선적인 관계를 나타낸다고 보고하였다. 그리고 Stevenson과 Stewart⁽¹²⁾는 방사선 조사된 Norway lobster를 대상으로 한 실험에서 2차회귀식이 가장 좋은 선량예측을 할 수 있었다고 보고하여 본 실험과 일치하는 결과였다. 이상과 같이 본 실험에 사용된 효소분말은 국내에서 감마선 조사가 허가된 품목으로, ESR spectroscopy를 이용하였을 때 방사선 조사선원에 관계없이 방사선 조사 여부 뿐만 아니라 흡수선량의 예측 가능성이 확인되었다.

요 약

국내의 식품산업에서 방사선 조사 기술이 본격적으로 이용됨에 따라 방사선 조사식품의 조사 여부 검지(detection)와 조사/흡수선량(absorbed dose)의 확인 방법이 필요하게 되었다. 본 연구는 상업적으로 처리되고 있는 효소분말을 대상으로 감마선과 전자선을 조사하고(2.5~15 kGy) ESR signal intensity와의 상관관계를 구해 본 결과, 높은 유의성을 보여 주었다(감마선 $R^2=0.9904$; 전자선 $R^2=0.9696$). 조사 여부 검지에 필요한 threshold value는 비조사구($n=20$)가 1.19(최대값), 2.5 kGy 조사구($n=20$)가 최소값으로 6.97(감마선) 및 7.36(전자선)으로 나타났다. 이상의 threshold value를 이용하여 30개의 미지시료(unknown samples)에 대한 검지시험(blind test)을 실시하여 본 결과, 방사선 조사된 것과 조사되지 않은 시료의 판정이 정확하였다. 한편 dose-effect curve로부터 2가지 회귀식을 구하여 흡수선량 예측에 적용하여 보았을 때 2차회귀식이 4~7 kGy 범위의 감마선 및 전자선 조사 시료에 대하여 적용가능성이 높았다.

감사의 글

본 논문은 한국과학재단 핵심전문연구(과제번호 : 981-0609-045-2)의 일부 결과이며 지원에 감사드립니다

문 헌

1. 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)
2. Gray, R. and Hilary, S.M. Detection of irradiated deboned turkey meat using electron spin resonance spectroscopy. *Radiat. Phys. Chem.* 34: 899-902 (1989)
3. Bruhn, C.M. Consumer attitudes and market response to irradiated food. *J. Food Protect.* 58: 175-181 (1995)
4. Anonymous. International document on food irradiation in acceptance, control of and trade in irradiated food, pp. 135-143. IAEA. Vienna, Austria (1989)
5. Dodd, N.J.F., Lea, J.S. and Swallow, A.J. The ESR detection of irradiated food. *Appl. Radiat. Isot.* 40: 1211-1214 (1989)
6. Kiyak, N. Identification of irradiated lentils. *J. Biological Physics.* 19: 15-18 (1993)
7. Hargreaves, J., Meste, M.L., Cornec, M. and Popieau, Y. Electron spin resonance studies of wheat protein fractions. *J. Agric. Food Chem.* 42: 2698-2702 (1994)
8. Chosdu, R., Erizal, Iriawan, T. and Hilmy, N. The effect of irradiation on curcumin component of *Curcuma domestica*. *Radiat. Phys. Chem.* 46: 663-667 (1995)
9. IAEA. Analytical detection methods for irradiated foods. A review of current literature. pp. 1-172. *IAEA-TECDOC-587*, Vienna, Austria (1991)
10. Stewart, E.M., Strvenson, M.H. and Gray, R. Use of ESR spectroscopy for the detection of irradiated Crustacea. *J. Sci. Food Agric.* 65: 191-197 (1994)
11. Chung, H.W. and Kwon, J.H. Detection of irradiation treatment for seasoned- powdered foods by thermoluminescence measurement. *Korean J. Food Sci. Technol.* 30: 509-516 (1998)
12. Stevenson, M.H. and Stewart, E.M. Identification of irradiated Norway lobster using ESR spectroscopy and estimation of applied dose using re-irradiation. Paper presented at 9th IMRP, Istanbul, Turkey (1994)
13. Origin. Origin tutorial manual, version 3.5, p. 45. Microcal Software, Inc., Northampton, MA., USA (1994)
14. 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)
15. Lea, J.S., Dodd, N.J.F. and Swallow, A.J. A method of testing for irradiation of poultry. *Int. J. Food Sci. Tech.* 23: 625-632 (1988)

(1999년 5월 11일 접수)