

## 감마선조사에 의한 돈육의 위생화 및 유전독성학적 안전성 평가

강일준<sup>†</sup> · 윤정한 · 강영희 · 이효구\* · 변명우\*\*

한림대학교 생명과학부

\*공주대학교 식품공학과

\*\*한국원자력연구소

### Hygienic Quality and Genotoxicological Safety of Gamma Irradiated Pork

Il-Jun Kang<sup>†</sup>, Jung-HY Park, Young-Hee Kang, Hyo-Ku Lee\* and Myung-Woo Byun\*\*

Division of Life Sciences, Hallym University, Chunchon 200-702, Korea

\*Dept. of Food Science and Technology, Kongju National University, Yesan 340-800, Korea

\*\*Korea Atomic Energy Research Institute, Taejon 305-353, Korea

#### Abstract

Gamma irradiation was applied to pork for improving its hygienic quality and evaluating its possible genotoxicity. The effective dose of irradiation was 3 kGy in pork for the sterilization of all contaminated microorganisms tested. After 8 weeks of storage at 5°C, no growth of microorganisms except for *psychrophile* and total aerobic bacteria was observed in the more than 3 kGy irradiated pork. The genotoxicity of high dose irradiated pork(30 kGy) was evaluated by *Salmonella typhimurium* reversion assay, chromosomal aberration test and *in vivo* micronucleus assay. The results were negative in the bacterial reversion assay with *S. typhimurium* TA98, TA100, TA1535, TA1537. In chromosomal aberration tests with CHL cells and *in vivo* mouse micronucleus assay, no significant difference in the incidences of chromosomal aberration and micronuclei was seen between nonirradiated and 30 kGy irradiated porks. These results indicate that 30 kGy irradiated pork did not show any genotoxic effects under these experimental conditions.

Key words: gamma irradiation, pork, hygienic quality, genotoxicity

#### 서 론

소육, 가축육을 포함한 동물성식품은 부패균 및 병원성 세균에 의해 상당히 오염되어 있는 것으로 알려져 있으며, 이것이 원인이 되어 많은 나라에서 식중독이 빈번히 발생하고 있다. 특히 돼지고기에는 기생충인 선모충이 오염되어 있어 완전히 가열하도록 권고하고 있으나, 그럼에도 불구하고 선모충 병으로 사망하는 사례가 종종 일어나며, Tapeworm 및 Toxoplasma 병에 의한 피해도 큰 문제의 하나로 간주되고 있다. 식중독이 증가하는 원인으로는 식용동물 대량사육의 증가, 오염된 환경, 식물성식품의 대량생산, 식품 및 가축용 사료의 국제무역의 증가 등을 열거할 수 있을 것이다. 생산시설의 낙후와 과학적인 위생처리의 부족으로 인한 공중위생상의 많은 문제점을 내포하고 있는 현실 속에서 소비자의 욕구를 충족시켜 주기 위해서는 1차적으로 생산과정의 개선이 요구되고 있으며 추가적으로는 육류의 저장성을 향상시킬 수 있는 방안이 강구되고 있다(1).

식육의 저장기간을 연장하기 위한 방법으로는 온도조절, 포장방법의 개선, 화학보존료의 처리 등 다양한 연구가 시도되어 왔는데, Winger와 Fennema(2), Yamamoto와 Samejima(3) 및 Miller 등(4)은 동결처리 저장은 식육 단백질의 변성을 초래하여 품질저하를 일으킨다고 하였고, Brewer 등(5)은 돼지고기를 냉동저장할 때 포장방법이 지방산패에 미치는 영향을 검토하였으며, Gill과 Harrison(6)은 포장방법에 의한 미생물 생육 억제효과에 대해 보고한 바 있다. 또한, Kim과 Yoo(7)는 육표면에 천연·합성보존제 등의 위생처리가 냉장돈육의 저장성 향상에 미치는 효과를 보고하였다. 한편, 방사선 조사에 대한 연구로써 Mattison 등(8)은 저선량(100 krad)으로 조사된 돼지고기 가공품의 관능평가와 미생물증식 억제 및 지질산패 등에 관한 연구에서 저선량의 조사는 중온성, 저온성 부패균의 증식억제에 효과적이며 관능검사 및 지질산패에 거의 영향을 주지 않는다고 보고하였다. Dickson과 Maxcy(9)는 발효 소시지를 만들기 위한 고기반죽에 500 krad의 방사선을 조사함으로써, 호기성 전세균과 대장균

<sup>†</sup>To whom all correspondence should be addressed

균 및 *Staphylococci*의 증식을 공중보전 개념의 최저수치까지 억제시킬 수 있었다고 보고하였고, Ehioba 등(10)도 진공 포장된 돼지고기를 냉장저장할 때 방사선 조사가 지질산패와 미생물 증식에 미치는 영향을 연구하였다. 그 밖에도 화학 보존제와 유기산 처리 등에 의한 육제품의 저장성 연장 등(11,12) 많은 연구들이 검토되어 왔다.

그러나 이와 같은 활발한 연구에도 불구하고 냉장상태에서도 저온성 세균의 지속적인 증식으로 며칠 정도밖에 저장성을 갖지 못하며, 저장성 연장을 위한 종래의 방법 또한 경제적, 기술적 측면에서 그 이용이 한정되어 있다. 더욱이 1997년부터 냉장육 수입의 허용으로 수입육에 대한 한우육의 경쟁력 제고를 위하여 냉장육의 장기 저장방안의 확립 마련이 매우 시급한 실정이다(13). 이와 같은 상황에서 저온살균법으로 알려져 있는 방사선 살균법은 축산물의 병원성세균 및 기생충 퇴치를 위해 매우 효과적인 것으로 알려져 있다(14). 원초적인 병원성세균 및 기생충에 의한 오염을 방지하는 것은 불가능하나 최종포장의 단계에서의 방사선처리하는 이들을 손쉽게 살균가능할 것으로 기대된다.

따라서 본 연구는 감마선 조사에 의한 돈육의 위생화 및 저장성 향상을 목적으로 조사 선량에 따른 돈육의 미생물 생육 억제능을 측정함과 동시에 단기검색법을 이용한 유전독성시험을 통하여 이들 시료의 안전성을 평가하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 시료 및 감마선 조사

실험에 사용한 돈육은 목살부위를 구입하여 그 즉시 meat chopper(Model MN 22S, Fuji, Japan)로 갈아 500g씩 분취하여 polyethylene 비닐 팩에 포장한 후 ice box에 담아 운송하여 감마선 조사 시료로 사용하였다. 감마선 조사는 상업적 다목적용 감마선조사시설(선원 570,000 Ci Co-60, 그린피아기술 주식회사)을 사용하여 돈육 시료를 ice box에 담아 시간당 0.7 kGy의 선량률로 조사하였으며, ceric cerous dosimeter(USA)를 사용하여 총 흡수선량을 확인하였다. 감마선 조사된 시료는 비조사구와 함께 냉장(5°C) 저장하면서 저장기간별로 미생물 생육시험을 실시하였으며, 시료 일부는 동결건조기(Labconco, USA)를 사용하여 동결 건조시킨 후, 무균상태에서 분말화한 다음 냉장 저장하면서 안전성 평가시험에 사용하였다.

### 미생물 생육시험

각 시료 25g을 멸균희석수(0.3mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, pH 7.2)로 전량을 250ml로 하고 10분간 잘 흔들어서 정지시킨 후 그 상등액을 시험액으로 사용하였다. 각 미생물 검사는 위의 시험용액 1ml를 test tube에 취한 후 멸균희석수로 10배

단위로 희석하여 0.1ml씩 적하 도포하였고, 미생물의 수는 시료 g당 colony forming unit(CFU/g)로 나타내었다.

호기성 전 세균 및 저온성 세균은 APHA표준방법(15)에 따라 plate count agar(Difco Lab.)를 사용하여 호기성 전세균은 35°C에서 2일간, 저온성 세균은 7°C에서 10일간 배양한 후 집락을 계수하였다. 대장균군은 chromocult coliform agar(Merck Co.)를 사용하여 35~37°C에서 24시간 배양한 다음 pink 또는 빨간색은 coliform으로 혹청색 또는 보라색은 *E. coli*로 집락을 계수하였다. *Salmonella*는 Rambach agar(Merck Co.)를 사용하여 35°C에서 18~48시간 배양한 다음 적색의 집락을 계수하였다. *Listeria*는 Palcam *Listeria* selective agar(Merck Co.)를 사용하여 35°C에서 48시간 배양한 후 생성집락을 계수하였다.

### 복귀돌연변이 시험

시험에 사용된 균주는 *Salmonella typhimurium* LT2를 친주로 하는 *S. typhimurium* TA98, TA100, TA1535, TA1537로 국립보건안전연구원으로부터 분양받아 한림대학교 환경·생명과학연구소에서 계대 보존중인 것을 사용하였다. 이들 균주는 사용에 앞서 histidine 요구성, crystal violet 감수성, ampicillin 내성, spontaneous 복귀돌연변이 수 등을 확인하였다. 이들 균주를 nutrient broth에 하룻밤 동안 배양하여 대수기( $2 \times 10^9$  cells/ml)상태에 이르도록 한 다음 배양액 0.1ml에, 시험물질(30 kGy 조사돈육) 멸균증류수 현탁액 0.1ml, S-9 mixture(또는 0.2 M Na-phosphate buffer) 0.5ml을 혼합하여 37°C에서 30분간 pre-incubation하였다. Histidine/biotin을 함유한 top agar 2.5ml을 가하여 minimal glucose agar배지에 부어 고화시킨 다음 37°C에서 48시간 동안 배양한 후 복귀돌연변이 집락을 계수하였다. 양성대조물질로는 2-aminofluorene(2-AF), 2-aminoanthracene(2AA), 2-nitrofluorene(2-NF), N-methyl-N'-nitrosoguanidine(MNNG), 9-aminoacridine(9-AA)을 각 시험균주의 특성에 맞추어 사용하였다(16).

### 소핵시험

한림대학교 실험동물부에서 분양받은 ICR 마우스(웅성; 5~6주령)를 사용하여 약 1주일간의 순화기간을 거친 후 시험물질(30 kGy 조사돈육)을 투여하였다. 투여량은 현탁하여 경구투여가 가능한 최고농도를 고용량으로 설정하였고, 이를 1/2로 희석하여 저용량으로 하였다. 시험 최고 농도는 kg당 2,500mg이었으며, 검체 현탁액을 24시간 간격으로 2회 경구투여하고, 마지막 투여 후 24시간이 경과한 후, Hayashi(17)의 방법에 따라 acridine orange 용액(0.5mg/ml)을 slide glass에 도포하여 공기 중에 건조시킨 다음, 마우스의 골수로부터 채취한 혈액 약 5μl를 slide glass위에 떨어뜨리고 cover glass로 덮었다. 세포

를 고정시킨 후 형광현미경 하에서 마우스 1마리당 1,000개의 망상적혈구(reticulocyte; RET)를 관찰하여 그 중에서 초록색 형광을 띠는 소핵을 가진 망상적혈구(micronucleated reticulocyte; MNRET)를 측정하여 소핵생성 빈도를 계산하였다. 그 후 Hayashi(17)의 방법에 따라 3단계의 통계처리법을 적용하여 결과를 분석하였다.

#### 포유류의 배양세포를 이용한 염색체 이상 시험

Chinese hamster lung fibroblast(CHL)를 사용하여 30 kGy 조사된 돈육의 염색체 이상시험을 실시하였다. 배지는 minimal essential medium에 fetal bovine serum을 5% 되게 첨가하여 사용하였으며, 음성대조물질로는 시험물질의 용매인 phosphate buffered saline(pH 7.4)을, 양성대조물질로는 대사활성 조건하에서는 benzo(a)pyrene을 dimethylsulfoxide에 용해시켜 사용하였으며, 대사활성 부재 하에서는 mitomycin C를 멸균증류수에 용해시켜 사용하였다. 먼저 본 시험에 적용하기 위한 50% 증식억제농도를 추정한 다음, 이 농도를 기준으로 공비 2로 3단계의 농도를 설정하여 본 실험을 하였다. 즉, S-9 mixture(20%, v/v), 시험물질 및 양성대조물질이 포함된 배양액으로 6시간 배양한 후 보통의 배양액으로 교환하여 16시간 동안 더 배양한 후 colcemid를 처리한 다음 0.05% trypsin-EDTA로 세포를 모아 염색체이상시험을 위한 표본을 제작하였다. 염색체이상시험 결과의 판정은 광학 현미경하에서 1000배의 배율로 각 시험군당 100개의 잘 퍼진 분열 중기 상을 관찰한 다음 처리군에 대한 구조이상의 총출현빈도를 음성(-): 5% 미만, 의양성(±): 5% 이상 10% 미만, 양성(+): 10% 이상의 기준에 따라 판정하였다.

#### 결과 및 고찰

##### 시료의 초기 미생물 오염도 및 감마선 살균효과

육류는 도살과정의 비위생화와 복잡한 유통과정 등으로 인하여 쉽게 변질될 수 있으며, shelf-life가 짧아 선도 유지가 어려운 단점을 지니고 있다. 이러한 현상은 특히 하절기에 일어나기 쉬워 계절성 또한 무시할 수 없으며, 미생물의 증식이 주된 원인으로 작용한다. 미생물의 증식

은 이화학적 변패를 촉진시킬 수 있으므로 초기 미생물 오염도는 육류의 저장성을 결정짓는 중요한 요소로 작용한다.

본 시험에 사용한 돈육시료의 초기 미생물의 오염도는 호기성세균  $1.1 \times 10^4$  CFU/g, 저온성균  $5.3 \times 10^3$  CFU/g, 대장균군  $3.8 \times 10^3$  CFU/g, *Listeria*  $3.2 \times 10^3$  CFU/g으로 비교적 높은 초기 오염도를 나타내었다(Table 1). 또한 식품위생지표 세균인 대장균군의 오염이 나타나 이에 대한 적절한 위생처리 방법 등의 품질관리 체계가 필요한 것으로 나타났다.

이들 오염미생물에 대한 감마선 조사의 살균효과를 살펴보면, 호기성세균의 경우 0.5 kGy 조사에 의해  $3.0 \times 10^3$  CFU/g으로 감소되었고, 1 kGy 이상의 조사선량으로 검출한계 이하로 감소되었다. *Listeria*의 경우도 0.5 kGy 조사선량으로 약 1.3 log cycle 정도 감균되었으며, 1 kGy 이상의 조사선량으로 사멸가능 하였다. 한편, 대장균군의 경우에는 감마선에 대한 감수성이 높아 0.5 kGy 조사선량으로도 검출한계 이하로 감소시킬 수 있었다. 저온성균은 1 kGy 조사선량으로  $5.0 \times 10^2$  CFU/g을 나타내어 약 1 log cycle 정도밖에 감균되지 않았으며, 검출한계 이하의 사멸을 위해서는 3 kGy 이상의 선량이 요구되었다(Table 1). Mattison 등(8)은 육제품의 경우 중온성균과 저온성균이 변패를 일으키는 가장 주요한 요인이라 하였으며 진공 포장된 돼지등심을 1 kGy 조사하였을 때, 저온성균과 중온성균, 혐기성세균, 포도상구균 수를 감소시킬 수 있었고, 그 중에서도 저온성균과 중온성균의 감수성이 가장 높게 나타났다고 보고하여 본 연구와 유사한 결과를 나타내었다.

##### 냉장저장 기간에 따른 미생물 생육 변화

냉장저장 중(-5°C) 미생물의 생육변화를 살펴본 결과는 Table 2와 같다. 먼저, 호기성 전세균의 생육변화를 살펴보면, 비조사군의 경우 초기 호기성 전세균수는  $1.1 \times 10^4$  CFU/g 정도였으며, 저장기간이 경과됨에 따라 크게 증식하여 냉장저장 4주째에는 초기 부패단계인  $9.2 \times 10^5$  CFU/g을 나타내었다. 3 kGy 조사군에서는 저장 8주째  $2.9 \times 10^5$  CFU/g 내외였으며, 5 kGy조사로 저장말기까

Table 1. Effect of gamma irradiation on the inactivation of microorganisms in pork

(unit: CFU/g)

Microorganism	Irradiation dose(kGy)				
	0	0.5	1	3	5
Total bacteria	$1.1 \times 10^4$ <sup>1)</sup>	$3.0 \times 10^3$	ND <sup>2)</sup>	ND	ND
Psychrophile	$5.3 \times 10^3$	$3.8 \times 10^3$	$5.0 \times 10^2$	ND	ND
<i>Listeria</i>	$3.2 \times 10^3$	$1.8 \times 10^2$	ND	ND	ND
Coliforms	$3.8 \times 10^3$	ND	ND	ND	ND
<i>E. coli</i>	ND	ND	ND	ND	ND
<i>Salmonella</i>	ND	ND	ND	ND	ND

<sup>1)</sup>Each value represents the mean of triplicate determinations.

<sup>2)</sup>ND: not detected.

Table 2. Effects of gamma irradiation on the growth of microorganisms in pork during storage at 5°C (unit: CFU/g)

Irradiation dose(kGy)	Microorganisms	Storage period (weeks)			
		0	2	4	8
0	Coliforms	$3.8 \times 10^{3,1)}$	$1.4 \times 10^5$	$2.8 \times 10^6$	$1.4 \times 10^7$
	<i>E. coli</i>	ND <sup>2)</sup>	ND	ND	ND
	<i>Salmonella</i>	ND	$2.7 \times 10^2$	$3.8 \times 10^4$	$9.3 \times 10^6$
	Total bacteria	$1.1 \times 10^4$	$5.2 \times 10^4$	$9.2 \times 10^5$	$7.7 \times 10^7$
	Psychrophile	$5.3 \times 10^3$	$2.6 \times 10^5$	$6.6 \times 10^7$	$1.2 \times 10^9$
	<i>Listeria</i>	$3.2 \times 10^3$	$1.5 \times 10^4$	$8.7 \times 10^4$	$3.3 \times 10^5$
0.5	Coliforms	ND	$1.0 \times 10^2$	$2.5 \times 10^4$	$2.0 \times 10^6$
	<i>E. coli</i>	ND	ND	ND	ND
	<i>Salmonella</i>	ND	ND	$3.5 \times 10^2$	$4.6 \times 10^4$
	Total bacteria	$3.0 \times 10^3$	$4.3 \times 10^4$	$8.5 \times 10^5$	$6.3 \times 10^7$
	Psychrophile	$3.8 \times 10^3$	$1.2 \times 10^5$	$3.3 \times 10^6$	$2.5 \times 10^8$
	<i>Listeria</i>	$1.8 \times 10^2$	$5.0 \times 10^2$	$3.7 \times 10^3$	$7.5 \times 10^3$
1	Coliforms	ND	ND	$1.1 \times 10^4$	$1.9 \times 10^5$
	<i>E. coli</i>	ND	ND	ND	ND
	<i>Salmonella</i>	ND	ND	ND	ND
	Total bacteria	ND	$7.3 \times 10^2$	$4.6 \times 10^4$	$5.7 \times 10^6$
	Psychrophile	$5.0 \times 10^2$	$2.3 \times 10^3$	$5.7 \times 10^4$	$6.4 \times 10^6$
	<i>Listeria</i>	ND	$2.7 \times 10^1$	$1.7 \times 10^2$	$8.1 \times 10^2$
3	Coliforms	ND	ND	ND	ND
	<i>E. coli</i>	ND	ND	ND	ND
	<i>Salmonella</i>	ND	ND	ND	ND
	Total bacteria	ND	$1.2 \times 10^1$	$7.3 \times 10^3$	$2.9 \times 10^5$
	Psychrophile	ND	$0.6 \times 10^1$	$2.8 \times 10^3$	$4.8 \times 10^4$
	<i>Listeria</i>	ND	ND	ND	ND
5	Coliforms	ND	ND	ND	ND
	<i>E. coli</i>	ND	ND	ND	ND
	<i>Salmonella</i>	ND	ND	ND	ND
	Total bacteria	ND	ND	$1.1 \times 10^1$	$2.3 \times 10^2$
	Psychrophile	ND	ND	$2.6 \times 10^2$	$1.8 \times 10^3$
	<i>Listeria</i>	ND	ND	ND	ND

<sup>1)</sup>Each value represents the mean of triplicate determinations.

<sup>2)</sup>ND: not detected.

지  $2.3 \times 10^2$  CFU/g 정도의 낮은 수준을 유지시킬 수 있어, 조사선량이 증가함에 따라 호기성 전세균의 증식이 현저히 감소됨을 알 수 있었다. 이 결과는 Kim과 Yoo(7)의 냉장돈육에 관한 연구와 유사한 경향이었으며, Ehioba 등(10)이 보고한 1 kGy의 조사선량으로 돼지고기 등심의 저장기간에 따른 호기성 전세균의 증식을 약 1.5 log cycle 정도 감소시켰다는 결과와도 잘 일치하고 있다.

저온성균의 경우는 비조사군과 0.5 kGy군이 비슷한 수준으로 냉장저장 4주째 초기부패 단계에 도달하여 각각  $6.6 \times 10^7$  CFU/g과  $3.3 \times 10^6$  CFU/g이었고, 저장 8주째에는 각각  $1.2 \times 10^9$  CFU/g과  $2.5 \times 10^8$  CFU/g을 나타내었다. 반면 1 kGy조사군에서는 저장 4주후에도  $5.7 \times 10^4$  CFU/g 수준이었으며, 3 kGy군에서는 냉장저장 8주째  $4.8 \times 10^4$  CFU/g을 나타내었다. 5 kGy군의 경우 냉장저장 2주까지도 균이 검출되지 않았으나 4주후부터 약간씩 증식되어 저장말기에 약  $1.8 \times 10^3$  CFU/g 정도를 나타내었다. 이와 같은 결과는 Ehioba 등(10)의 연구에서 보고한 저온성균의 초기오염 정도와 비슷한 수준이었으며, 감마

선 조사군이 비조사군에 비해 저온성 세균의 느린 증식으로 1~2 log cycle정도의 증식차이를 보인 결과와 유사하였다. 또한 Mattison 등(8)도 조사직후에는 비조사군과 감마선 조사군간의 저온성균수의 차이가 없었으나 저장기간이 경과함에 따라 비조사군은 급격한 증가를 보이는 반면 1 kGy 조사군의 경우 완만히 증가하여 냉장저장 3주째 약 2.5 log cycle 정도의 차이를 나타내었다고 보고한 바 있다.

대장균군은 일반적으로 감마선 감수성이 높아 저선량 조사에 의해서도 사멸이 가능한 것으로 알려져있다. 냉장저장중 돼지고기에 대한 대장균군과 *E. coli*의 생육상태를 살펴보면, 우선 *E. coli*는 초기 시료뿐 아니라 저장기간 동안 모든 시험군에서 검출되지 않았으며 대장균군의 경우 비조사군은 냉장저장 4주후 약  $10^6$  CFU/g을, 8주후에는  $1.4 \times 10^7$  CFU/g을 나타내었다. 0.5 kGy조사로 조사직후 대장균군은 검출되지 않았으나 저장 2주째부터 서서히 증식하여 저장 8주째  $2.0 \times 10^6$  CFU/g을 나타내었으며, 1 kGy 조사군에서는 냉장저장 2주까지 검출되지 않다가

저장 4주후부터 서서히 증식하여 저장말기에는 약  $10^5$  CFU/g 수준이었다. 한편, 3 kGy 이상의 선량에서는 저장 기간 동안 대장균군이 검출되지 않았다.

*Salmonella*는 비조사군의 경우 저장초기 신선한 상태에서는 검출되지 않았으나 냉장저장 2주후부터 검출되어 8주후에는  $9.3 \times 10^6$  CFU/g의 높은 오염도를 나타내었다. 0.5 kGy군에서는 냉장 4주째부터는 서서히 증식하기 시작하였고 8주후에는 비조사군보다 약 2 log cycle 감소된  $4.6 \times 10^4$  CFU/g을 나타내었다. 1 kGy 이상의 조사군에는 저장말기까지 균의 증식은 없었다. *Listeria*는 1 kGy 조사로 조사직후에는 검출되지 않았으나 냉장저장 2주후부터 서서히 증식하여 8주째에  $8.1 \times 10^2$  CFU/g 수준에 도달하였고, 역시 3 kGy 이상의 선량에서는 저장말기까지 검출되지 않았다.

이상의 결과를 종합해 보면, 돼지고기는 1 kGy 이상의 감마선 조사로 호기성 세균 및 저온성 미생물을 제외한 병원성 세균의 생육을 검출한계 이하로 감소시킬 수 있었으

며, 모든 미생물의 살균을 위해서는 5 kGy 이상의 선량이 요구됨을 알 수 있었다.

#### *Salmonella typhimurium*을 이용한 복귀돌연변이 시험

감마선 조사(30 kGy) 및 비조사 돈육의 현탁액을 첨가 하였을 때 *S. typhimurium* TA 98, TA100, TA1535 및 TA1537에 대한 복귀변이 집락수를 조사한 결과는 Table 3과 같다. 예비시험결과에 따라 모든 시료는 8.3 mg/plate를 최고농도로 설정하여 본시험을 수행하였다. 이는 용매인 멸균증류수에 현탁하여 본시험을 수행하는데 있어서 적용 가능한 최고농도로서, 그 이상의 농도에서는 현탁액의 점도로 인한 조작상의 문제가 있었고, 결과 판독시 복귀변이 집락과 구별이 어렵게 되는 등의 문제를 야기하였다.

먼저 대사활성 부재시의 경우,  $\gamma$ 선으로 조사한 돈육은 모든 시험군주에서 시험적용 농도인 0.1~8.3mg/plate의 범위에서 복귀변이 집락수의 농도 의존적인 증가 혹

Table 3. Mutagenic effects of gamma irradiated pork at 30 kGy

Test compound	Conc. (mg/plate)	S-9 mix	No. of His+ revertants per plate				
			TA98	TA100	TA1535	TA1537	
Pork (control)	8.3	+	16 ± 2 <sup>1)</sup>	149 ± 15	24 ± 1	5 ± 1	
	2.8	+	22 ± 3	212 ± 33	24 ± 0	8 ± 5	
	0.9	+	27 ± 3	172 ± 19	28 ± 7	15 ± 5	
	0.3	+	25 ± 7	149 ± 25	22 ± 8	17 ± 1	
	0.1	+	35 ± 5	131 ± 33	25 ± 2	14 ± 4	
	0	+	31 ± 4	131 ± 2	26 ± 8	13 ± 0	
	8.3	-	14 ± 2	92 ± 3	13 ± 1	7 ± 1	
	2.8	-	18 ± 9	186 ± 1	43 ± 22	6 ± 1	
	0.9	-	30 ± 6	123 ± 15	30 ± 6	18 ± 13	
	0.3	-	19 ± 5	120 ± 8	32 ± 2	16 ± 6	
	0.1	-	22 ± 11	131 ± 3	29 ± 6	14 ± 8	
	0	-	22 ± 8	187 ± 12	21 ± 4	11 ± 3	
	Pork (30 kGy)	8.3	+	15 ± 3	139 ± 58	11 ± 5	6 ± 6
		2.8	+	18 ± 1	147 ± 5	19 ± 1	9 ± 1
0.9		+	24 ± 5	158 ± 8	17 ± 4	10 ± 0	
0.3		+	22 ± 3	112 ± 4	22 ± 6	9 ± 4	
0.1		+	42 ± 6	125 ± 13	25 ± 5	15 ± 4	
0		+	31 ± 4	131 ± 2	26 ± 8	8 ± 1	
8.3		-	13 ± 8	179 ± 31	23 ± 5	8 ± 6	
2.8		-	18 ± 1	201 ± 35	39 ± 16	7 ± 1	
0.9		-	17 ± 1	176 ± 22	24 ± 2	13 ± 3	
0.3		-	25 ± 11	155 ± 9	19 ± 2	17 ± 8	
0.1		-	22 ± 4	125 ± 9	21 ± 6	14 ± 6	
0		-	22 ± 8	187 ± 12	21 ± 4	11 ± 3	
2-AF <sup>2)</sup>		0.01	+	2,323 ± 88	1,056 ± 249	ne <sup>3)</sup>	ne
2-AA		0.002	+	ne	ne	285 ± 16	243 ± 12
2-NF	0.01	-	1,532 ± 23	ne	ne	ne	
MNNG	0.01	-	ne	1,138 ± 28	786 ± 89	ne	
9-AA	0.08	-	ne	ne	ne	849 ± 94	

<sup>1)</sup>Each value represents the mean ± SD of three plates and expressed of revertant colonies per plate.

<sup>2)</sup>2-AF, 2-Aminofluorene; 2AA, 2-Aminoanthracene; 2-NF, 2-Nitrofluorene; MNNG, N-methyl-N'-nitrosoguanidine; 9-AA, 9-Aminoacridine were used as positive controls for the corresponding strains.

<sup>3)</sup>Not examined.

Table 4. Chromosomal aberration tests of 30 kGy irradiated pork using a Chinese hamster lung cell line<sup>1)</sup>

Treatment	Concentration (mg/μl)	with(+) or without(-) S-9 mixture	ctg	ctb	cte	csg	csb	cse	nor	Total
PBS	-	-	1						99	100
pork (30 kGy)	5	-	1						99	100
	2.5	-	2						98	100
	1.25	-							100	100
MMC	0.0002	-	13	5	14	3	1		70	100
PBS pork (30 kGy)	-	+	1						99	100
	5	+	1	1					98	100
	2.5	+							100	100
	1.25	+							100	100
B(a)p	0.05	+	11	6	2	3	1		78	100

<sup>1)</sup>PBS: phosphate buffered saline, MMC; mitomycin C, B(a)p: benzo(a)pyrene, ctg: chromatid gap, ctb: chromatid breakage, cte: chromatid exchange, csg: chromosome gap, csb: chromosome breakage, cse: chromosome exchange, nor: normal.

은 감소를 보이지 않았으며 용매대조군과 비교해서도 통계적으로 유의한 차이를 보이지 않았다. 고농도 군에서 약간의 집락수가 감소한 것은 시험물질의 입자들에 의한 집락형성의 방해에 기인하는 것으로 추정되며 이와 같은 현상은  $\gamma$  선 조사시료와 비조사시료 모두에서 나타났다. 대사활성계를 도입한 즉 S-9 mix.를 가한 상태에서도 시험한 모든 검체는 각각의 시험적용 농도에서 복귀변이 집락수의 증가를 보이지 않았다.

일반적으로 돌연변이원성의 판정은 음성대조군 복귀변이 집락수의 2배 이상인 경우를 양성으로 한다. 예를 들어 TA98의 양성대조물질로 사용한 2-AF 및 2-NF는 각각 약 100 배 및 60배의 복귀변이 집락수의 증가를 보여 강한 돌연변이원성을 나타낸 반면 시험물질로 사용한 30 kGy 조사 돈육은 전 시험적용농도에서 복귀변이를 유발하지 않는 것으로 보아  $\gamma$  선 조사에 의한 돌연변이원성은 없는 것으로 판단되었다. 이와 같은 결과는 초파리를 이용한 햄의 변이원성시험에서 감마선 조사가 돌연변이를 유발하지 않았다는 Mittler(18)의 실험과도 잘 일치하였다.

염색체 이상 시험 및 소핵시험

감마선 조사 돼지고기(30 kGy)에 대한 예비독성시험을 수행한 결과 독성을 나타내지 않아, 적용가능한 최고농도인 5mg/μl를 시험적용 최고농도로 설정하여 염색체 이상시험을 실시하였다. 즉, 시험적용 농도는 5, 2.5, 1.25 mg/μl이었으며, 모든 시험농도에서 5% 미만의 염색체 이상 유발능을 보여 대사활성 존재 및 부재하에서 본 시험물질은 염색체 이상을 나타내지 않는 것으로 판정되었다 (Table 4). 또한 소핵시험 결과에서도 본 시료는 전 시험용량 단계를 걸쳐 소핵을 가진 망상적혈구의 출현율이 음성대조군과 유의한 차이를 나타내지 않았다 (Table 5). 즉,  $\gamma$  선 조사돈육(30 kGy)을 시험동물 kg당 1,250~2,500mg의 범위로 경구투여한 결과 용매 대조군에 비해 소핵발현 빈도가 증가하지 않아, 소핵 형성을 유발시키지 않음

Table 5. Frequency of micronuclei from marrow in mice treated with 30 kGy-irradiated pork

Test compound	Dose (mg/kg)	No. of mice tested	MNRET/1,000 RET <sup>1)</sup>
D.W. pork (30 kGy)		5	3.1±1.4 <sup>2)</sup>
	2,500	5	2.4±0.8
	1,250	5	4.6±1.9
MMC <sup>3)</sup>	0.5	5	26.4±4.9

<sup>1)</sup>MNRET: micronucleated reticulocyte, RET: reticulocyte.

<sup>2)</sup>Each value represents the mean±SD of three plates.

<sup>3)</sup>MMC: mitomycin C.

을 알 수 있었다. 이상의 결과를 종합해 볼 때 감마선조사 돈육은 본 시험조건에서 30 kGy의 고선량에서도 변이원으로서 작용하지 않았음을 알 수 있었다. Renner(19)도 마우스와 랫드를 이용한 골수의 염색체이상, 소핵, 골수 및 정원세포에서 조사식품은 자매염색분체교환을 일으키지 않았다고 보고하고 있다.

방사선 조사식품의 안전성을 평가하는데 있어 복귀돌연변이시험, 염색체 이상시험 및 소핵시험만으로 결론을 내리기에 부족하지만 본 연구결과는 장기 독성연구를 수행하기 위한 기초연구로 활용되리라 생각된다.

요 약

감마선 조사에 의한 돈육의 위생화 및 저장성 향상을 목적으로 조사 선량에 따른 돈육의 미생물 생육 억제능을 측정함과 동시에 단기검색법을 이용한 유전독성시험을 통하여 이들 시료의 안전성을 평가하고자 하였다. 돈육은 3 kGy의 감마선 조사로 초기 미생물 오염도를 검출한계 이하로 감소시킬 수 있었다. 냉장저장(-5°C) 8주 동안 호기성 전세균 및 저온성 미생물을 제외한 병원성 세균의 생육을 검출한계 이하로 억제체를 위해서는 3 kGy 이상의 선량이 요구되었다. 30 kGy 조사돈육의 *S. typhimurium* TA 98, TA100, TA1535 및 TA1537에 대한 복귀변이 집

락수를 조사한 결과, 대사활성제 도입 및 부재시 모두, 시험적용 농도인 0.1~8.3mg/plate의 범위에서 복귀변이 집락수의 농도 의존적인 증가 혹은 감소를 보이지 않았다. 또한, 포유류 배양세포를 이용한 염색체 이상시험 및 설치류 망상적혈구를 이용한 소핵시험에서도 감마선 조사돈육(30 kGy)은 시험적용 용량에서 염색체이상 유발 능이 없었으며, 소핵을 가진 망상적혈구의 출현율이 음성 대조군과 유의한 차이를 나타내지 않음을 확인하였다.

### 감사의 글

본 연구는 1998년도 과학기술처 원자력 연구개발과정의 일부이며 지원에 감사드립니다.

### 문헌

- Smith, J. L. : Foodborne toxoplasmosis. *J. Food Safety*, **12**, 15-57(1991)
- Winger, R. J. and Fennema, O. : Tenderness and water holding properties of beef muscle as influenced by freezing and subsequent strage at -3 or 15°C. *J. Food Sci.*, **41**, 1433-1437(1976)
- Yamamoto, K. and Samejima, K. : A comparative study of the change in hem pectoral muscle during storage at 4°C and -2°C. *J. Food Sci.*, **42**, 1642-1645(1977)
- Miller, A. J., Ackerman, S. A. and Palumbo, S. A. : Effect of frozen storage on functionality of meat for processing. *J. Food Sci.*, **45**, 1466-1470(1980)
- Brewer, M. S., Ikins, W. G. and Harberts, C. A. Z. : TBA values sensory characteristics and volatiles in ground pork during long-term frozen storage: Effect of packaging. *J. Food Sci.*, **57**, 558-562(1992)
- Gill, C. O. and Harrison, J. C. L. : The storage life of chilled pork packaged under carbon dioxide. *Meat Sci.*, **26**, 313-317(1989)
- Kim, Y. S. and Yoo, I. J. : Effects of sanitary treatment of port cut surface on shelf-life of chilled pork. *Korean, J. Anim. Sci.*, **36**, 403-408(1994)
- Mattison, M. L., Kraft, A. A., Olson, D. G., Walker, M. W., Rust, R. E. and James, D. D. : Effect of low dose irradiation of pork loins on the microflora, sensory characteristics and fat stability. *J. Food Sci.*, **51**, 284-287(1986)
- Dickson, J. S. and Maxcy, R. B. : Irradiation of meat for the production of fermented sausage. *J. Food Sci.*, **50**, 1007-1012(1985)
- Ehioba, R. M., Kraft, A. A., Molins, R. A., Walker, H. W., Olson, D. G., Subbaraman, G. and Skowronski, R. P. : Effect of low-dose(100 krad) gamma radiation on the microflora of vacuum-packaged ground pork with and without added sodium phosphates. *J. Food Sci.*, **52**, 1477-1480(1987)
- Surve, A. V., Sherkar, A. T., Bhiagaonkar, K. N. and Karkare, U. D. : Preservative effect of combination of acetic acid with acetic acid or propionic acid on buffalo meat stored at refrigeration temperature. *Meat Sci.*, **29**, 309-322(1991)
- Papadopoulos, L. S., Miller, R. K., Ringer, L. J. and Cross, M. R. : Sodium lactate effect on sensory characteristic, cooked meat color and chemical composition. *J. Food Sci.*, **56**, 621-635(1991)
- Kim, D. G., Lee, S. H., Kim, S. M., Seok, Y. S. and Sung, S. K. : Effects packaging method on physico-chemical properties of Korean beef. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **25**, 944-950(1996)
- Kampelmacher, E. H. : Prospects of eliminating pathogens by the process of food irradiation. In "Combination processes in food irradiation" Proceedings of a symposium held in Columbo., November 1980, Vienna, IAEA, pp.265-289(1981)
- APHA : *Compendium of methods for the microbiological examination of foods*. Speck, M.(ed.), American Public Health Association, Washington, D.C., p.57(1976)
- Maron, D. M. and Ames, B. N. : Revised methods for the Salmonella mutagenicity test. *Mutat. Res.*, **113**, 173-215(1983)
- Hayashi, M. : *The micronucleus test*. Scientist Press, Tokyo, pp.44-48(1991)
- Mittler, S. : Failure of irradiated beef and ham to induce genetic aberrations in drosophila. *Int. J. Radia Biol.*, **35**, 583-588(1979)
- Renner, H. W. : Chromosome studies on bone marrow cells of Chinese hamsters fed a radiosterilized diet. *Toxicology*, **8**, 213-222(1977)

(1999년 6월 19일 접수)