

DNA Comet Assay를 이용한 콩류의 방사선 조사 확인

오경남 · 김경은 · 양재승[†]

한국원자력연구소 식품검지실

Detection of Irradiated Beans Using the DNA Comet Assay

Kyeong-Nam Oh, Kyeung-Eun Kim and Jae-Seung Yang[†]

Detection Laboratory of Irradiated Foods, Korea Atomic Energy Research Institute, Taejon 305-353, Korea

Abstract

The single cell-gel electrophoresis assay (comet assay) was used to identify irradiated beans. Soy beans, kidney beans, and red beans were irradiated with ^{60}Co gamma rays at 0.1, 0.3, 0.5, 0.7, and 1.0 kGy. Beans were peeled out, crushed lightly, and treated with phosphate-buffered saline (PBS) to extract cells. The extracted cell suspension was mixed with agarose gel solution and spread on an agarose precoated slide. After lysis of the cells, they were subjected to microgel electrophoresis for 2 minutes, and then silver-stained. We found that the DNA fragments of the irradiated samples were stretched, migrated out of the cells, and formed tails towards the anode giving the appearance of comets, while the unirradiated or the undamaged cells formed very short or no tails. The tail lengths of irradiated samples were significantly increased as irradiation dose increased at the above 0.3 kGy.

Key words: beans, comet assay, irradiation, silver staining

서 론

식품의 방사선 조사는 살균, 살충, 발아억제 및 속도 조절의 목적으로 사용하고 있으며, 1921년 미국에서 처음으로 제안되어 1950년부터 많은 식품에 이용되고 있다. 그 사용 선량은 Co 60(코발트 60)의 임마션으로 1.0 kGy 미만의 저선량, 1~10 kGy 미만의 중선량, 10 kGy 이상의 고선량으로 설정되어 있다.

식품의 방사선 조사는 WHO, FAO, IAEA와 같은 국제기구에서 인정받아 현재 여러 국가에서 사용하고 있다 (1). 방사선 조사 식품은 40여 개국에서 향신료, 곡류, 과채류, 육류, 그리고 해산물 등 50여 개의 식품에 허가되어, 28개국에서 상업적으로 조사하고 있다. 우리나라에서는 1998년 조사 시설이 상업적으로 가동되기 시작하였으며 식품의 조사는 13개 식품군, 즉 신선 야채류, 과일류, 양송이, 인삼류, 곡류와 잡곡류, 향신료, 약초와 건조 야채류, 생선과 기타 수산물, 육류와 육류 가공품, 발효식품 그리고 사료가 허용되어 조사되고 있다(2).

이와 같이 조사식품의 생산 및 유통이 점차 증가하고 있지만, 식품의 방사선 조사로 인한 이화학적 변화, 비타민의 소실, 농약 잔류물의 변환 등의 우려가 있으며, 이들 식품 중에는 조사가 금지된 품목도 있어서 국내로 유통될

경우 이를 통제해야 한다. 또한, 소비자들이 방사선 조사 식품에 대한 자유로운 선택을 할 수 있도록 조사 식품에 대한 표시를 해 줄 필요가 있다. 따라서 식품의 방사선 조사가 허용된 산업시설의 행정관리와 처리식품에 대한 의무적인 확인절차가 있어야 하며 식품의 방사선 처리 여부를 직접 검지할 수 있어야 한다 즉, 방사선 조사 식품에 대한 당국의 규제 강화, 그리고 표시 규정의 준수는 표준화된 분석방법의 검지기술 활용으로 가능해질 것이다.

방사선 조사 식품에 대한 검지 방법이 여러 방법으로 연구되고 있고(3-5) 이 중 몇 가지 방법은 European standard로 확립되어 있다. 지방을 함유한 식품에서 hydrocarbon(6) 또는 2-alkylcyclobutanone과 같은 지방-유도 방사선 물질을 검사하는 GC분석(7,8), 그리고 식품의 광물질을 이용하는 thermoluminescence(TL)(9,10)의 방법, 뼈가 있는 식품 또는 섬유조가 많은 조사 식품의 electron spin resonance(ESR) 방법, half-embryo test (11) 및 DNA comet assay 등이 있다. 이러한 방법들은 정교하지만 비교적 비싼 장비가 요구되며 시료의 준비와 분석에 시간이 상당히 소요되는 단점이 있다. DNA comet assay는 소형 전기영동 겔 방법으로 위 방법들에 비해 비교적 간단하고 빠른 시간내에 방사선 조사 여부를 확인할 수 있는 방법이다. 이 방법은 방사선 조사에 의해

* To whom all correspondence should be addressed

가장 민감하게 손상되는 DNA를 지표로서 검지하는 생물학적 방법이다(12). 문자량이 큰 DNA가 방사선 조사에 의해 사슬이 절단되어 문자 크기가 작아지고 유동성이 커져서 전기영동에 의해 미끄러져 나가 혼성(comet) 모양을 띠게 되는데, 이렇게 형성된 comet의 tail 길이를 측정하여 방사선 조사 여부를 판단한다(13-15). 이때 형성된 DNA 절편들은 이중나선의 수소결합의 절단 및 nucleotide의 염기들의 공유결합의 절단으로 각 분획 성분들이 달라도 인산기에 의해 (-)전하를 띠므로 전기장의 힘에 의해 anode 쪽으로 이동하여 comet을 형성한다.

DNA comet assay의 적용은 국내에서 육류, 곡류, 그리고 과일류에 대한 연구가 이루어져 왔다(16,17) DNA comet assay를 이용하여 콩류의 방사선 조사 유무를 확인한 연구는 국외에서도 거의 미흡한 실정이고 국내에서는 전무한 상태이다. 따라서 본 연구에서는 위 연구들에 이어 콩류의 방사선 조사의 목적인 저장해충 및 기생충 구제를 근거하여 1.0 kGy 이하의 저선량으로 방사선 조사하고 DNA comet 방법으로 DNA 손상유무를 확인하고 조사선량에 따른 comet의 양상을 비교하고자 하였다.

재료 및 방법

시료 및 시약

본 실험에 사용된 콩류는 대두(충북 괴산군, 1999년산), 강남콩(국산, 1999년산), 팥(국산, 1999년산)으로 시중 대형 마켓에서 구입하였다. 모든 콩류는 1.0 kGy 이하의 선량으로 방사선 조사하고 comet 분석을 하였다.

사용된 시약 중 sodium chloride, potassium chloride, sodium phosphate, potassium phosphate는 Sigma Chemical(St. Louis, MO, USA)제품을 사용하였으며, normal melting point agarose(Sea Kem GTG)와 low melting point agarose(Sea Plaque GTG)는 FMC Bio Products(Rockland, USA) 제품, ethylenediaminetetraacetic acid(EDTA, disodium salt), Tris-base, boric acid 및 sodium dodecylsulfate(SDS)는 Pharmacia Biotech(Uppsala, Sweden) 제품을 각각 사용하였다.

시료의 방사선 조사

시료의 방사선 조사는 콩류의 경우 저장 해충 및 기생충 구제를 목적으로 하는 선량을 기준하여 1.0 kGy 이하의 저선량으로 정하고(18) 한국원자력연구소의 Co 60 감마선 조사 시설을 이용하여 0.1, 0.3, 0.5, 0.7, 1.0 kGy의 선량으로 시간당 일정한 선량률로 조사하고 총 흡수선량은 ceric cerous dosimeter로 확인하였다.

Precoated agarose 슬라이드 준비

슬라이드와 시료와의 부착성을 주기 위해 precoating

작업으로 슬라이드(76×26 mm, Marienfeld, Superior, Germany)를 methanol에 하룻밤 담근 후 먼지가 없이 깨끗하게 닦고 45°C로 유지되어 있는 0.5% normal melting point agarose 50 µL를 고르게 펴 실온에서 전조시켰다.

세포 추출

대두, 강남콩, 팥을 약 0.9~1.0 g 취하여 껌질을 벗기고 막자 사발로 세포에 손상을 주지 않도록 부드럽게 마쇄한 후 ice bath상에 있는 삼각플라스크에 넣었다. PBS(phosphate buffered saline, pH 7.4) 용액 8 mL를 넣고 magnetic stirrer(Corning PC-410, USA)로 5×g에서 8분 동안 균질화시켜 세포를 추출하였다. 이 혼탁액을 200 µm nylon sieve cloth로 여과시키고 냉장온도에서 각 시료마다 최적시간을 정해 10~20분 동안 방치시켜 침전시킨 후 상층액을 취하여 100 µm nylon sieve cloth로 재 여과시키고 다시 ice-cold상에서 5분 동안 방치시킨 후 상층액을 취하여 comet 분석용으로 사용하였다. 이때 취한 세포 혼탁액에는 세포의 수가 적어도 10⁴/100 µL가 되도록 하였다.

세포의 슬라이드 겔 형성, 단백용해 및 전기영동

세포의 겔 형성, 단백용해(lysis) 및 전기영동은 Cerdá 등(14)의 방법을 약간 수정하여 실시하였다. 제조된 세포 혼탁액의 상층액을 취하여 따로 45°C로 유지된 0.8% low-melting point agarose 용액(PBS 용해)과 1:2의 비율로 혼합하였다. 혼합 용액 100 µL를 취하여 앞서 준비한 pre-coated 슬라이드 위에 놓고 공기방울이 생기지 않도록 서서히 커버 글라스 슬라이드(24×50 mm)로 고르게 펴주었다. 이 슬라이드를 ice-bath상에 놓아 세포 겔이 형성되도록 하여 시료마다 3개의 슬라이드를 준비하였다.

추출된 세포의 겔을 형성한 후 lysis buffer(2.5% SDS dissolved in electrophoresis buffer)에 침지시켜 각각 30분 동안 세포의 핵막과 단백질을 용해시켰다.

단백용해 용액에서 처리된 슬라이드는 SDS가 들어있지 않은 TBE buffer(Tris-borate electrophoresis buffer, pH 8.4)에 5분 동안 담근 후 물기를 제거하고 슬라이드의 agarose end가 전기영동 수조(Horizontal Electrophoresis Apparatus, Model BIA, Owl Scientific Inc., USA)의 anode쪽으로 향하도록 나란히 놓은 후 TBE buffer를 채웠다. 전기영동은 모두 상온에서 2분 동안 2 V/cm의 조건으로 실시하였다. 전기영동 후 슬라이드를 증류수로 5분 동안 흘려 세척하고 상온에서 1시간 동안 전조시킨 후 fixing solution으로 고정시킨 다음 다시 전조시키고 silver staining으로 염색하여 현미경으로 DNA comet을 관찰하였다.

DNA comet의 현미경 관찰

Silver staining으로 염색된 슬라이드상의 DNA comet

을 표준 투과 현미경(Model SL8-1, Seoul Optical Co., Korea)으로 관찰하였다. 40배의 배율로 전체적인 comet의 양상을 살피고 CCD video camera(Model SDC-413 NAD, Samsung Electronics Co., Korea)로 화상을 관찰한 후 100배의 배율로 tail 길이를 측정하였다. Tail 길이의 측정은 각 시료마다 준비된 3개의 슬라이드에서 100개의 세포를 무작위로 선택하여 comet의 머리 중심에서부터 tail 끝까지의 길이를 측정하였다.

통계처리

무작위로 선택되어 측정된 100개의 comet의 tail 길이는 PC-SPSS(version 9.0 for windows)를 사용하여 통계분석하였다. 통계분석은 ANOVA 프로그램의 Tukey's Honestly Significant Difference(HSD) test를 이용하여 조사 선량간의 tail 길이의 유의성을 검정하였고 Pearson product moment correlation coefficient를 사용하여 조사

선량과 tail 길이간의 상관관계도 알아보았다.

결과 및 고찰

1.0 kGy 이하의 저선량을 조사한 방사선 조사 시료와 비조사 시료의 세포를 추출하여 단백용해와 전기영동을 한 후 전기장에 의한 DNA 이동양상(comet)을 살펴보았다. 방사선 조사의 선량은 콩류에서 해충구제를 목적으로 하는 조사선량을 기준하여 1.0 kGy 이하의 저선량으로 조사하였다.

조사 선량에 따른 시료의 comet 양상을 현미경으로 관찰한 결과 (Fig. 1) 비조사 시료보다 조사시료의 tail 길이가 더 길고, 조사 선량이 증가할수록 tail 길이가 길어지거나 tail 부분의 색이 더 진하게 관찰되었다. 비조사 시료에서는 DNA가 거의 절단되지 않아서 짧은 tail을 가진 comet이 관찰된 반면, 조사 시료에서는 DNA가 더 많이 절단되어 핵으로부터 더 많이 이동하고 비교적 긴

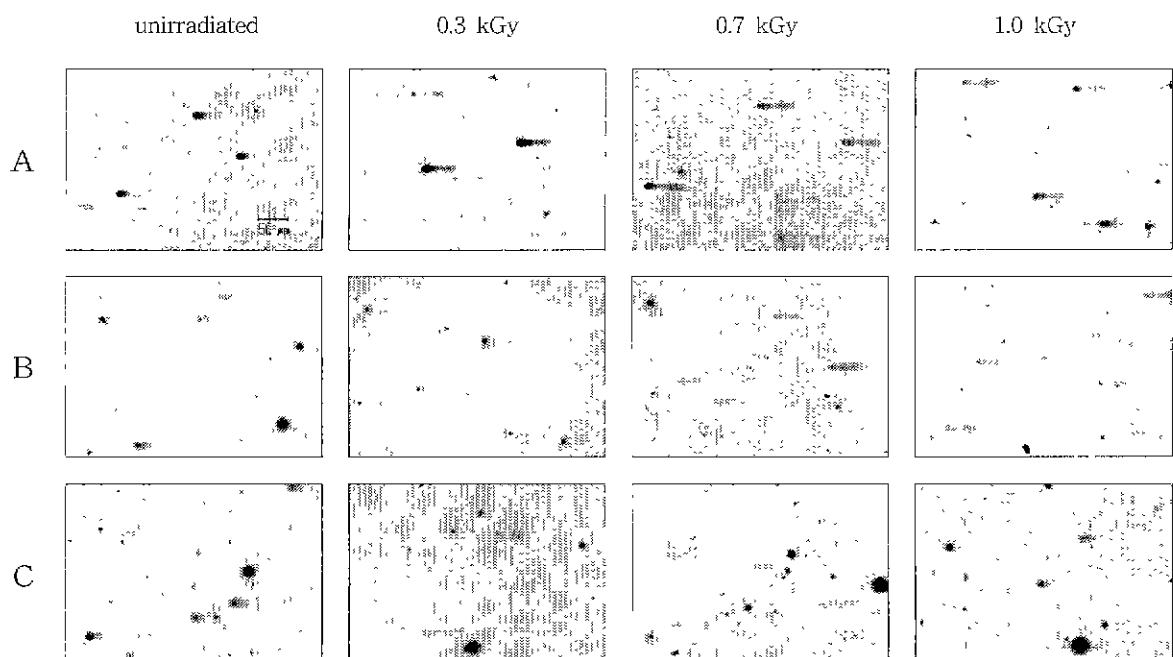


Fig. 1. DNA comets from beans (silver staining).

Microscope objective $\times 10$ A. Soy beans, B. Kidney beans, C. Red beans (row).

Table 1. Mean tail length of the comets from unirradiated and irradiated beans¹⁾

(unit : μm)

Irradiation dose (kGy)	Unirradiated	0.1	0.3	0.5	0.7	1.0
Soy beans	$40.41 \pm 13.68^{\text{ab}2)}$	$55.06 \pm 11.25^{\text{b}}$	$85.41 \pm 6.21^{\text{c}}$	$88.94 \pm 6.46^{\text{c}}$	$93.38 \pm 6.39^{\text{d}}$	$96.86 \pm 7.13^{\text{d}}$
Kidney beans	$48.45 \pm 7.73^{\text{a}}$	$57.28 \pm 16.43^{\text{b}}$	$72.10 \pm 11.91^{\text{c}}$	$81.74 \pm 6.52^{\text{d}}$	$81.11 \pm 5.47^{\text{d}}$	$87.65 \pm 9.99^{\text{e}}$
Red beans	$54.75 \pm 11.72^{\text{a}}$	$63.11 \pm 12.17^{\text{b}}$	$83.28 \pm 9.76^{\text{c}}$	$88.72 \pm 9.00^{\text{d}}$	$88.70 \pm 7.22^{\text{d}}$	$86.02 \pm 10.04^{\text{cd}}$

¹⁾Mean value and standard deviation of tail length from 100 comets.

²⁾Means with different superscripts in the same row differ significantly ($p < 0.01$).

tail을 가진 comet이 관찰되었다.

DNA comet tail 길이는 100개의 세포를 무작위로 선택하여 표준투과 현미경에서 100배의 비율로 측정한 결과, 모든 시료에서 비조사 시료보다 조사 시료의 tail 길이가 더 길었다(Table 1).

대두의 comet 양상

대두의 comet을 현미경으로 관찰한 결과(Fig. 1, A) 전반적으로 조사 선량이 증가할수록 tail 길이가 길어져 비조사 시료와 조사시료의 comet 양상을 육안으로 구분할 수 있었다. 비조사 시료와 0.1 kGy 조사시료에서는 comet의 양상이 다양하고 tail 길이가 균일하게 나타나지 않아서 tail 길이의 평균값에 대한 표준 편차값이 크게 나타난 반면, 0.3 kGy 이상의 조사시료에서는 tail 길이가 비교적 균일하게 관찰되어 표준 편차값이 적었다(Table 1). 비조사 시료의 경우에도 저장 조건 및 시료의 처리 등에 대한 외부 충격을 받으면 세포의 DNA가 손상될 우려가 있으므로 이러한 위험을 최소화시켜 주어야 한다(19). 본 연구에서는 이러한 조건을 고려하여 polyethylene film (PE film)으로 진공포장하고 4°C 냉장 운송에서 보관하면서 사용하였다. 0.3 kGy 이상의 시료에서는 방사선 조사에 의해 대부분의 세포가 손상되었기 때문에 핵의 comet 모양도 일정하게 나타났다. 비조사 시료에서는 방사선 조사에 의해 DNA가 절단되지 않고 전기장에 의해 이동하지 않았기 때문에 원형 모양의 핵 또는 짧은 tail 길이의 comet이 대부분 관찰되었다. 조사 시료에서는 DNA가 절단되고 전기영동에 의해 핵으로부터 미끄러져 나가 comet의 tail 길이가 길어지거나 끊어진 것이 관찰되었고 DNA 이동이 많아서 tail 부분의 색이 더 진하게 관찰되었다.

현미경으로 comet의 양상을 관찰한 후 준비된 3개의 슬라이드에서 무작위로 100개의 세포를 선택하여 tail 길이를 측정하고 조사 선량간의 유의성을 검정한 결과(Table 1), 선량이 증가할수록 전반적으로 tail 길이가 유의적으로 증가하는 경향이었지만($p<0.01$) 0.3 kGy와 0.5 kGy 그리고 0.7 kGy와 1.0 kGy간에는 유의적인 차이가 없었다. 한편, 0.3 kGy까지는 tail 길이가 급격히 증가하였고 이후에서는 완만한 증가를 나타내었다.

조사선량과 tail 길이 간의 상관관계를 살펴본 결과, 상관계수(r : correlation coefficient)가 0.808($p<0.01$)로 매우 높아서 조사선량이 tail 길이에 상당한 영향을 미침을 알 수 있었다.

강남콩의 comet 양상

강남콩의 comet을 현미경으로 관찰한 결과(Fig. 1, B), 비조사 시료보다 조사시료의 tail 길이가 더 길고, 선량이 증가할수록 길이가 증가하였다. 비조사 시료에서

손상된 세포의 comet 모양의 핵이 관찰되기도 하였지만 비 손상된 원형모양의 핵이 항상 동반되었고 0.3 kGy 이상에서는 원형모양의 핵이 관찰되지 않고 대부분의 세포가 방사선에 의해 손상되어 핵으로부터 DNA 절편이 이동한 comet 모양의 핵이 관찰되었다. 이 결과는 비조사 시료에서 comet 모양의 핵이 관찰되기는 하였지만 주로 원형모양의 핵이 관찰되고 조사시료에서는 comet 모양의 핵만 관찰되었다는 Delncean(20)의 연구결과와 같았다. 강남콩의 comet 분석에서는 Fig 1B에 나타나 바와 같이, 0.3 kGy 이상부터는 육안으로 선량간의 길이 차이를 정확히 구분하기는 어려웠으나, 통계분석으로 이의 구분이 가능하였다.

강남콩의 comet을 현미경으로 육안 관찰한 후 100개의 세포를 무작위로 선택하여 tail 길이를 측정하고 tail 길이와 조사선량간의 유의성을 검정한 결과 (Table 1), 조사선량이 증가할수록 tail 길이가 유의적으로 증가하는 경향이었지만 ($p<0.01$) 0.5 kGy와 0.7 kGy간에는 유의적인 차이를 보이지 않았다. 강남콩의 비조사 시료는 대두나 팔의 비조사 시료보다 핵의 모양이 균일하여 표준편차의 값이 7.73으로 비교적 낮게 나타났다.

Cerdá(21)에 의하면 식물성 세포는 동물성 세포에 비해서 비교적 외부의 영향을 쉽게 받고 DNA도 쉽게 손상되어 핵의 모양이 다양하게 나타나고 시료의 종류마다 comet의 양상도 다양하게 나타난다고 하였다. 본 연구에서는 선행 연구였던 과일의 comet 분석결과(17)와 달리 같은 식물성 세포지만 콩류는 세포가 과일의 세포보다 외부 요인에 안정하여 비교적 확인이 용이하였다. 한편, 이미지 분석기와 같은 정밀한 시스템이 동반되면 저선량으로 조사된 시료들간의 comet 양상을 정확하게 확인하는 것이 가능하다고 생각된다.

본 실험에서는 비조사 시료의 경우, 강남콩에서 comet 양상이 비교적 균일하여 표준 편차값이 가장 낮았고, 이후의 조사 선량에서는 대두에서 전반적으로 comet 양상이 균일하여 표준편차 값이 낮게 측정되었다. 팔의 경우는 비조사 시료 및 조사시료 모두에서 대두와 강남콩에 비해 표준 편차값이 높아 비교적 comet 양상이 일정하지 않은 것으로 나타났다.

조사선량과 tail 길이와의 상관관계를 살펴본 결과, 상관계수(r)가 0.749로 매우 높아서 강남콩에서도 조사 선량이 tail길이에 상당한 영향을 미치는 것을 알 수 있었다.

팔의 comet 양상

팔의 comet을 현미경으로 관찰한 결과(Fig. 1, C), 대두와 강남콩과는 달리 육안으로 선량에 따른 뚜렷한 차이를 볼 수 없었다. 비조사 시료보다 조사 시료의 tail 길이는 길었지만 0.7 kGy와 1.0 kGy의 tail 길이가 유사한 것으로 관찰되었고 비손상된 세포의 원형모양의 핵이

관찰되었다. 이는 팔에 다량 존재하는 전분과 팔 껍질의 파원조각과 같은 이물질이 핵막의 단백분해를 저해하여 손상된 DNA가 전기영동의 힘을 받지 못하고 이동하지 않아서 원형모양의 핵이 관찰된 것으로 사료된다. Cox 와 Goldberg(22)는 세포 추출 시 핵의 노출을 방해하는 주요 이물질인 전분 입자를 발견하여 이를 제거해 주기 위해 원심분리하고 순수 핵만이 존재하는 상동액만 취하여 실험을 실시하였다고 하였다.

현미경으로 comet의 양상을 살핀 후 준비된 3개의 슬라이드에서 100개의 세포를 무작위로 선택하여 tail 길이를 측정하고 이를 통계분석한 결과(Table 1), 0.5 kGy 까지는 유의적으로 증가하였으나($p<0.01$). 0.5 kGy 이상에서는 오히려 감소하는 경향이었지만 유의적인 차이는 없었다. 팔의 comet assay에서는 더 정확한 DNA 분석을 위해서 팔에 존재하는 전분 및 작은 파편 조각들을 충분히 제거해 주어 선량에 따른 정확한 DNA 양상을 살펴볼 필요가 있는 것으로 사료된다.

한편, 조사선량과 tail 길이간의 상관관계를 살펴본 결과, 상관계수(r)가 0.647로 대두와 강남콩에 비해서 낮았지만 팔에서도 조사선량이 tail 길이에 영향을 미침을 알 수 있었다.

요 약

콩류의 방사선 조사 여부를 DNA comet assay로 확인하였다. 대두, 강남콩, 그리고 팔을 각각 0.1, 0.3, 0.5, 0.7, 그리고 1.0 kGy의 저선량으로 조사하고 비조사 시료와 조사시료간의 DNA 손상정도를 현미경으로 육안 검사 및 comet의 tail 길이를 측정하여 상호 비교하였다. 모든 시료에서 비조사 시료보다 조사시료의 tail 길이가 더 길었으며 조사 선량이 증가할수록 tail 길이가 길게 나타났다. 비조사 시료에서도 손상된 세포의 comet 모양의 핵이 관찰되기는 하였으나 대부분 비손상된 세포의 원형모양의 핵이 관찰되었으며 조사된 시료에서는 comet 모양의 핵이 주로 관찰되는 경향이어서 비조사 시료와 조사시료간에 comet 양상을 비교할 수 있었다. 한편 100개의 세포를 무작위로 선택하여 comet tail 길이를 측정하고 통계분석한 결과, 비조사 시료와 조사시료간의 유의적인 차이가 있었고 조사선량이 증가할수록 tail 길이가 유의적으로 증가함을 확인하였다. DNA comet assay로 간단하고 비교적 저렴한 비용으로 짧은 시간 내에 콩류의 방사선 조사 여부를 확인할 수 있었다.

감사의 글

본 연구는 2000년도 과학기술부의 원자력 중장기 연구비 지원으로 수행된 연구결과의 일부로서 이에 감사드립니다.

문 헌

- Loaharanu, P.: Food irradiation : Current status and future prospects. In *New Methods of Food Preservation*. Gouldm, G.W. (ed.), Blackie Academic & Professional, Glasgow, p.90-111 (1995)
- Diehl, J.F.: Potential and current applications of food irradiation. In *Safety of Irradiated Foods*. 2nd ed., Marcel Dekker Inc., New York, p.291-339 (1995)
- Delincée, H.: Introduction to DNA methods for identification of irradiated foods. In *Detection Methods for Irradiated Foods Current Status* McMurray, C.H., Stewart, E.M., Gray, R. and Pearce, J. (eds.), Royal Society of Chemistry, Cambridge, UK, p.345-348 (1996)
- Raffi, J., Delincée, H., Marchioni, E., Hasselmann, C., Sjoberg, A.M., Leonardi, M., Kent, M., Bögl, K.W., Schreiber, G., Stevenson, H. and Meier, W.: Concerted action of the Community Bureau of Reference on methods of identification of irradiated food. Final Report, EUR-15261, European Commission, Luxembourg, p.1-119 (1994)
- McMurray, C.H., Stewart, E.M., Gray, R. and Pearce, J.: Detection methods for irradiated foods current status. Royal Society of Chemistry, Cambridge, UK (1996). Moy, J.H. (ed.), *Radiation Disinfection of Food and Agricultural Products*, University of Hawaii at Manoa, Honolulu, USA (1985)
- Schreiber, G.A., Helle, N. and Bögl, K.W.: Detection of irradiated food method of routine applications. *Int. J. Radiat. Biol.*, 63, 105-107 (1993)
- 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 2-2-dodecylcyclobutanone as a marker for irradiated chicken. *J. Agric. Food Chem.*, 39, 789-793 (1991)
- Crone, A.V.J., Hamilton, J.T.G. and Stevenson, M.H.: Effect of storage and cooking on the dose response of 2-dodecylcyclobutanone, a potential marker for irradiated chicken. *J. Sci. Food Agric.*, 58, 249-257 (1992)
- Schreiber, G.A., Ziegelmann, B., Quitzsch, G., Helle, N. and Bögl, K.W.: Luminescence techniques to identify the treatment of foods by ionizing radiation. *Food Structure*, 12, 385-396 (1993)
- Schreiber, G.A., Helle, N. and Bögl, K.W.: An inter-laboratory trial on the identification of irradiated spices, herbs and spice-herb mixtures by thermoluminescence analysis. *J. AOAC Int.*, 78, 88-93 (1995)
- Kawamura, Y., Sugita, T., Yamada, T. and Saito, Y.: Half-embryo test for identification of irradiated citrus fruit: Collaborative study. *Radiat. Phys. Chem.*, 49, 665-668 (1996)
- Delincée, H., Marchioni, E. and Hasselmann, C.: Changes in DNA for the detection of irradiated food EUR-15012, Commission of the European Communities, Luxembourg, p.1-24 (1993)
- McKelvey-Martin, V.J., Green, M.H.L., Schmeizer, P., Pool-Zobel, B.L., De Méo, M.P. and Collmans, A.: The single cell gel electrophoresis assay (comet assay) : A European review. *Mutation Res.*, 288, 47-63 (1993)
- Cerda, H., Delincée, H., Haine, H. and Rupp, H.: The DNA comet assay as a rapid screening technique to control irradiated food. *Mutation Res.*, 375, 167-181 (1997)

15. Fairbairn, D.W., Olive, P.L. and O'Neill, K.L. : The comet assay : A comprehensive review. *Mutation Res.*, **339**, 37-59 (1995)
16. Kim, C.K., Yang, J.S. and Lee, H.J. : Detection of irradiated grains using the DNA 'comet assay'. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **31**, 906-911 (1999)
17. Oh, K.N., Park, J.Y., Kim, K.E. and Yang, J.S. : Detection of irradiated fruits using the DNA comet assay. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **32**, 351-357 (2000)
18. 변명우 : 방사선 조사 식품. *국민영양*, **3**, 9-17 (1999)
19. Koppen, G. and Cerda, H. Identification of low-dose irradiated seeds using the neutral comet assay. *Food Sci. Technol.*, **30**, 452-457 (1997)
20. Delincée, H. : Detection of irradiated food - DNA fragmentation in grapefruits. *Radial. Phys. Chem.*, **52**, 135-139 (1998)
21. Cerda, H. : Detection of irradiated frozen food with the DNA comet assay. *Radial. Phys. Chem.*, **52**, 141-144 (1997)
22. Cox, K.H. and Goldberg, R.B. : Analysis of plant gene expression. In *Plant molecular biology - A practical approach*. Shaw, D. (ed.), IRL Press Oxford, p.1-35 (1989)

(2000년 7월 18일 접수)