

방사선 조사 어류의 ESR Spectroscopy를 이용한 확인

남혜선 · 우시호 · 이선영* · 양재승[†]

한국원자력연구소 식품검지실
*충남대학교 식품영양학과

Identification of Irradiated Fishes by ESR Spectroscopy

Hye-Seon Nam, Si-Ho Woo, Sun-Yung Ly* and Jae-Seung Yang[†]

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

*Dept. of Food and Nutrition, Chungnam National University, Taejon 305-764, Korea

Abstract

To identify irradiated food, study has been carried out with electron spin resonance (ESR) spectroscopy on fish-bones (bone of pacific saury, spanish mackerel, mackerel, cod, frozen pollack, and yellow corbina). The irradiated fish-bones exhibited an asymmetric absorption in shape at $g_1=2.003 \pm 0.001$ and $g_2=1.998 \pm 0.003$, which was different from the non-irradiated ones. The intensity of signal induced in fish-bones increased linearly with irradiation doses in the range from 1.0 kGy to 7.0 kGy, possible to distinguish between samples given low and high doses. The strength of the ESR signals after irradiation was stable even after 12 weeks of storage.

Key words: ESR spectroscopy, fishes, irradiation

서 론

식품의 방사선 조사는 1921년 미국에서 처음으로 제안된 이래, 1950년대 이후부터 많은 나라에서 발아나 속도의 억제, 부패미생물의 살균 등으로 식품의 저장기간을 늘리고, 병원성 미생물을 감소시켜 식품의 위생, 안정성을 증가시키기 위해 사용되고 있다(1,2). 현재 한국을 포함한 40여 개국에서 식품에 방사선 조사가 허용되고(3) 있으며, 대개의 경우에 처리 가능한 식품의 종류와 최대 조사 선량에 관한 규정들을 마련하고 있으나 일부 국가들에서는 그와 같은 처리가 금지되거나 또는 표지할 것을 규정하고 있다. 이와 같이 방사선 조사공정이 확대되고, 조사식품의 대규모 국제교역이 이루어지고 있으며, 조사 기술이용에 관하여 나라마다 규제가 다르고, 조사 식품의 분명한 표지를 바라는 소비자들의 요구로 인하여 식품자체에 적용될 수 있는 방사선 조사검지기술 개발의 필요성이 크게 요구되고 있다.

식품의 방사선 조사 검지 방법에 관한 연구는 FAO/IAEA(ADMIT: Analytical Detection Methods for Irradiation Treatment of Food), 유럽공동체(BCR), 영국의 농수산식품성, 독일연방보전국(BGA), 미국농무성(USDA)

및 식품의약국(FAD) 등과 같은 국제기구 및 국가 기관의 지원 하에 활발히 진행되고 있다. 그러나 현재까지 모든 식품에 적용될 수 있는 검지 방법은 없기 때문에 방사선 조사시 식품에서 일어나는 물리적, 화학적 및 생물학적 변화에 기초한 검지 방법을 개발하고 검지 확률을 높이기 위한 연구가 진행되고 있다. 이들 중 지금까지 연구된 방사선 조사 식품에 대한 검지 방법으로는 식품의 휘발성 hydrocarbon류 또는 2-alkylcyclobutanone류를 검출하는 화학적인 방법(4,5), comet assay(6,7), DEFT/APC(8,9)로 생물학적 변화를 비교하는 방법, TL(thermoluminescence)(10,11), PSL(photostimulated luminescence)(12,13), ESR(electron spin resonance) spectroscopy(14, 15) 등의 분석기기를 이용하여 분석하는 물리적 방법 등이 제시되고 있다.

ESR spectroscopy에 의한 측정방법은 가장 유망한 방법중의 하나로써, 방사선 조사시 입사된 에너지의 일부가 분자결합을 붕괴시켜 방출된 자유 라디칼이나 이온들을 비파괴적으로 검지할 수 있는 잘 알려진 기술이다(16-18). 이 방법에 의해 국외에서는 육류, 어류, 갑각류, 조개류, 향신료, 과일 및 건조 과일류 등에 어느 정도 적용의 가능성을 연구(15,19)하고 있으나, 현재까지 국내에서는

[†]To whom all correspondence should be addressed

ESR spectroscopy를 이용한 방사선 조사 식품에 관한 검지연구는 뼈를 포함한 육류(20)와 효소분말(21)에 관한 것뿐 거의 이루어지고 있지 않은 실정이다.

따라서 본 연구는 국내에서 많이 소비되고 또한 수입량이 많은 6종의 어류를 선택하여 방사선을 조사한 후, ESR spectroscopy를 이용하여 방사선 처리되지 않은 시료와의 차이를 검토하였다. 또한 방사선 조사선량에 따라 방사선 처리된 각 어류의 ESR 신호차이를 살펴봄으로써 조사유무와 함께 개략적인 선량판정에 유용한 과학적 근거를 제시하고, 이들 방사선 조사 어류의 표준 검출법으로써 ESR spectroscopy 방법이 어느 정도 가능한지를 알아보았다.

재료 및 방법

재료

신선한 5종의 어류인 쏘가, 삼치, 고등어, 대구, 조기 그리고 냉동된 명태를 대전에 있는 수산시장에서 구입하여 내장과 머리부분을 제거하고 각각 70 g씩 자른 다음 15×12 cm의 PE(polyethylene) film으로 만들어진 bag으로 포장하여 냉동 후, 한국원자력연구소에 있는 방사선동위원소 Co-60를 이용하여 상온에서 각 어종마다 3개씩 0, 1, 3, 5 그리고 7 kGy의 선량으로 감마선을 조사한 것을 실험 재료로 사용하였다.

시료 전처리

감마선 조사 후 살과 골수 그리고 결합조직들을 메스와 끌을 이용하여 제거한 후 등뼈만을 취하였다. 이 등뼈를 50 mL병에 담아 동결건조기(Model: SFDSF12, 삼원공업)에서 18시간 이상 동결 건조한 후 밀폐용기에 담아 5±1°C에서 보관하였다가 분석 전 시료를 작은 조각(약 1.0×2.0 mm)으로 만들어 사용하였다.

ESR 측정

ESR 측정은 ESR X-band spectrometer(Bruker ESP 300 spectrometer, Bruker Instruments Inc., Germany)를 이용하였다. 어종별로 선량마다 3개씩의 시료를 직경 4 mm의 ESR 석영튜브에 각각 0.06 g(높이는 약 2 cm)씩 넣은 후 이 튜브를 spectrometer내 필요한 자장을 걸어 줄 수 있는 강한 전자석의 양극사이의 공명기(cavity)에 넣은 다음 일정한 파장의 마이크로웨이브에서 자장강도를 에너지 흡수가 관찰될 때까지 올려서 측정하였다. 조사된 시료내 자유라디칼의 안정성을 알아보기 위해서는 시료를 5±1°C에서 12주간 저장 후 ESR 신호를 측정하였다

실험에서 사용한 방사선 조사 어류의 ESR spectroscopy 측정시 magnetic center field는 3450 G, microwave frequency는 9.63 GHz, microwave power는 6.3 mW,

signal chan의 time constant는 81.920 ms, receiver gain은 1×10⁵, modulation amplitude는 4.00 G 그리고 modulation frequency는 100 KHz의 조건으로 하여 상온에서 실시하였다.

결과 분석

ESR 측정 결과는 Bruker Win-EPR과 Simponia의 소프트웨어 프로그램을 이용하여 기록하였다. 이 프로그램은 개인용 PC를 이용하여 프로그램 설치 후, spectroscope의 computer에서 즉시 data를 처리하지 않고도 data를 임시 디렉토리에 저장시킨 후 이를 다시 개인 disk에 옮겨 자료를 정리할 수 있으며, ESR 신호의 강도를 정량화할 수 있다. ESR 분광곡선은 적용자장(340~350 mT)에 대한 흡수곡선의 일차미분으로 나타내었다. ESR 신호의 강도는 일차미분 분광의 이중적분(double integration)으로 즉, 흡수 분광곡선 아래의 총면적으로 정량화하여 시료별 선량마다 3개씩을 평균 내어 평균±표준편차로 나타내었다. ESR 신호의 강도와 면적의 단위는 arbitrary unit를 사용하였다. 걸여준 자장(magnetic field)과 microwave frequency의 값들의 비인 g-value로 ESR 특성을 나타내었다.

결과 및 고찰

조사된 어류의 ESR spectra

방사선 조사된 시료와 비조사된 시료에 대한 두 가지의 전형적인 ESR spectra는 Fig. 1과 같다. 조사된 어류 뼈의 ESR 신호는 $g_1=2.003\pm 0.0001$, $g_2=1.998\pm 0.0009$ 에서 특유의 비대칭 신호를 나타내었고, 비조사된 시료는 이러한 비대칭 신호를 나타내지 않아 조사시료와 비조사시료의 구별이 가능하였다. 이 g-value는 조사된 고등어, 뱀장어등의 어류를 대상으로 한 Helle 등(22)의 연구결과

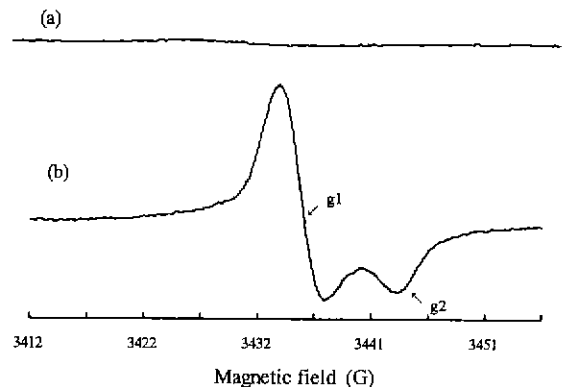


Fig. 1. Characteristic ESR spectra of non-irradiated (a) and irradiated fish (b). $g_1=2.003$, $g_2=1.998$

인 $g_1=2.0020 \pm 0.0010$, $g_2=1.9981 \pm 0.0010$ 나 Raffi(23)의 연구 결과인 $g_1=2.0021$, $g_2=1.9981$ 과 비슷하였다. 그리고 조사된 chicken bone을 대상으로 한 Polat 등(24)의 연구 결과인 $g_1=2.0024$, $g_2=1.9976$ 이나 Desrosiers와 Simic(25)의 연구 결과인 $g_1=2.0022$, $g_2=1.9980$ 과도 거의 일치하였고 어류와 육류의 ESR spectra의 모양도 비슷하였다. 이와 같이 조사시료에서 비대칭적인 신호를 보인 것은 이러한 시료의 뼈 주성분인 hydroxyapatite[Ca(PO₄)₆(OH)₂]에 방사선 조사로 생성된 라디칼이 포획되어 일어난 것으로 생각된다(26).

조사선량에 따른 신호차이

조사선량에 따른 핑치의 ESR 신호크기의 변화를 Fig. 2에 나타내었다. 다른 5종의 어류 뼈의 경우에서도 Fig. 2의 경우처럼 모든 적용선량(1~7 kGy)의 범위에서 조사선량이 증가함에 따라 ESR 신호의 크기는 비례적으로 증가하는 것을 알 수 있었다. 이 결과들은 여러 어종을 이용한 Helle 등의 연구(22)와 고등어를 이용한 Jose 등(27)의 연구 결과들과 일치하였다.

또한 각 시료에 따른 방사선 조사 선량과 ESR 신호 크기와의 상관 관계를 알아보기 위해 각 선량마다 신호크기를 면적으로 정량화하여 평균값±표준편차로 나타낸 후 상관식에 의해 상관계수(R²)값을 구하였다(Table 1). 조사선량에 따른 각 어류 뼈의 ESR 신호의 면적은 핑치의 경우 1 kGy에서는 9,947±1,802, 3 kGy에서는 15,602±945,

5 kGy에서는 22,167±658, 7 kGy에서는 28,617±11,255로 증가하였으며 동태, 고등어, 대구, 삼치 그리고 조기의 경우에도 조사선량의 증가에 따라 신호의 면적이 증가하는 것을 알 수 있었다. 방사선 적용선량(1~7 kGy)과 ESR 신호크기의 면적간의 상관계수(R²)의 경우 핑치는 0.9989, 동태는 0.9868, 대구는 0.9515, 고등어는 0.9503, 삼치는 0.9414, 그리고 조기는 0.9077로 범위가 0.9077~0.9989의 높은 값을 나타내 조사선량에 비례하여 ESR 신호의 면적이 증가하는 것을 알 수 있었다. 따라서 ESR spectroscopy를 이용하여 반(semi)정량적인 측정도 할 수 있었다.

조사된 어종에 따른 ESR 신호차이

각 시료 어종 간 ESR 신호의 크기 경향을 비교해 본 결과는 Fig. 3과 같다. 조기를 제외한 5종의 어종들은 3 kGy 이상의 적용선량에서 핑치<삼치<대구<고등어<동태 순의 경향이였다. Jose 등(27)에 의한 연구에서처럼 Bluc Jack mackerel 한 종의 어류만으로는 알 수 없었던 시료들 간의 차이를 알 수 있었다. 또한 Table 1에 의하여 각 조사선량에 따른 어종간의 ESR 신호의 면적을 좀더 구체적으로 살펴보면, 1 kGy의 선량에서 핑치는 9,947±1,802, 동태는 5,496±913, 고등어는 9,754±4,850, 대구는 789±660, 삼치는 9,766±2,142 그리고 조기는 10,092±1,316로써 대구<동태<고등어와 삼치<핑치, 조기 순으로 나타났다 3 kGy에서는 대구<핑치와 삼치<동태, 조기, 고등어 순으로, 5 kGy에서는 핑치 22,167±658, 삼치 23,356±

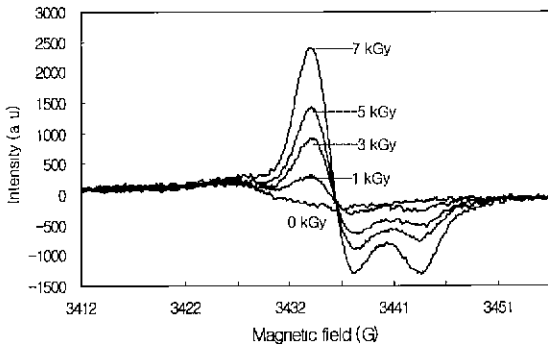


Fig. 2. ESR signal responses to doses in irradiated pacific saury.

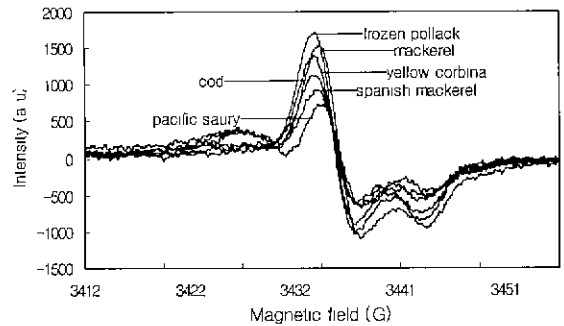


Fig. 3. ESR signal responses from different fishes irradiated at 3 kGy.

Table 1. ESR signal responses and correlation coefficients (R²) between irradiated doses and ESR intensity of irradiated fishes (Arbitrary units×10³)

Sample (fishes)	Irradiated doses (kGy)				R ²
	1	3	5	7	
Pacific saury	9,947±1,802 ¹⁾	15,602± 945	22,167± 658	28,617±11,255	0.9989
Frozen pollack	5,496± 913	23,038±5,727	46,122±5,374	58,038± 6,160	0.9868
Mackerel	9,754±4,850	25,321±8,861	41,965±7,140	46,161± 7,332	0.9503
Cod	789± 660	11,897± 389	35,647±2,839	41,407± 3,115	0.9515
Spanish mackerel	9,766±2,142	15,886±2,290	23,356±1,710	39,819± 3,753	0.9414
Yellow corbina	10,092±1,316	24,984±4,435	34,099±1,655	72,112±14,192	0.9077

¹⁾Values. Mean ±SD.

1,710, 조기 $34,099 \pm 1,655$, 대구 $35,647 \pm 2,839$, 고등어 $41,965 \pm 7,140$, 동태 $46,122 \pm 5,374$ 의 값으로써 꽂치, 삼치 < 조기와 대구 < 고등어, 동태 순이었다. 7 kGy에서는 꽂치 < 삼치 < 대구와 고등어 < 동태 < 조기 순으로 나타났다.

따라서 3 kGy 이상의 조사선량에서는 고등어와 동태의 신호크기 면적이 꽂치, 삼치, 그리고 대구의 값보다 더 크게 나타난 반면, 조기의 경우는 다른 어류에 비해 변화의 폭이 커서 한 종내에서도 변이가 고려되어야 할 것으로 생각된다.

저장중 라디칼의 안정성

포획된 라디칼의 안정성은 일정기간 후 조사된 꽂치, 고등어, 동태에 대한 ESR 신호크기 변화로 나타내었다 (Fig. 4). 각 선량별로 평균값으로 나타냈으며, 표준 편차는 error bar로 나타내었다. 꽂치, 고등어, 동태의 신호 크기는 5°C에서 12주간의 저장기간 후 1~5 kGy까지는 비

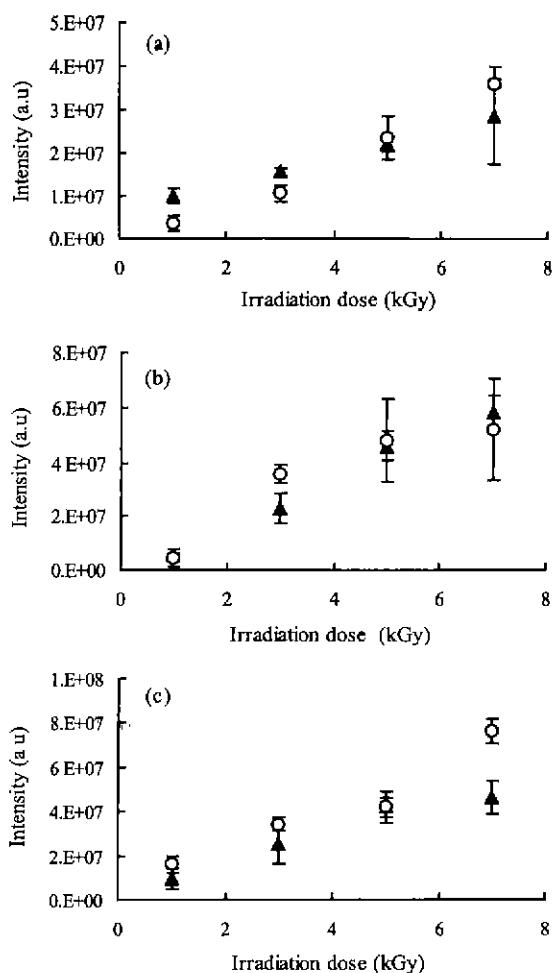


Fig. 4. ESR signal change of pacific saury (a) frozen pollock (b) and mackerel (c) stored at 5°C for 12 weeks. ▲: 0 week, ○: 12 weeks.

교적 약간 감소하였고, 7 kGy에서는 꽂치와 고등어의 경우 오히려 약간 증가하였다. 이 결과들은 -20°C에서 4개월 동안의 저장기간에서도 ESR 신호가 안정하다는 Jose 등(27)의 연구결과와 4~5°C에서 5개월 이상의 저장기간에서도 ESR 신호가 안정하다는 Raffi와 Stocker(28)의 연구 결과와 일치하였다. 따라서 적용된 모든 선량 범위(1~7 kGy)에서 5°C에서 12주간 저장한 시료에서도 ESR 신호가 안정하게 남아 있어 방사선 조사의 여부 확인이 가능하였다.

요 약

본 연구는 ESR spectroscopy를 이용하여 어류의 방사선 조사 여부와 조사선량에 따른 ESR 신호의 크기 및 신호의 안정성을 확인하였다. 실험결과 방사선 조사된 어류는 $g_1=2.003 \pm 0.001$ 과 $g_2=1.998 \pm 0.003$ 에서 특유의 비대칭적인 ESR 신호를 나타내어 비조사시료와 확실하게 구별되었다. 조사선량의 증가에 따른 ESR 신호의 상관성에 있어서는 R^2 값이 0.9077~0.9989의 범위로 거의 모든 시료에서 조사선량에 따라 ESR 신호의 크기는 비례적으로 증가하였다. 또한 이들 신호의 크기는 5°C에서 12주간 저장한 시료에서도 안정하게 남아 있어 방사선 조사여부의 판별은 장기간의 저장에서도 가능하였다. 따라서 ESR spectroscopy를 이용한 방사선 조사 어류의 검지 방법은 빠르고 확실하며 반(semi) 정량적인 방법으로써 유용한 검지기술임을 알 수 있었다.

감사의 글

본 연구는 과학기술부 중장기 연구과제의 일부로 수행된 것으로 지원에 감사드립니다. 아울러 ESR 측정에도움을 주신 한국원자력연구소 조영환 박사님께 감사드립니다.

문 헌

1. Diehi, 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)
2. Schreiber, G.A., Helle, N. and Bögl, K.W.: Detection of irradiated food methods and routine applications. *Int. J. Radiat. Biol.*, **63**, 105-130 (1993)
3. Kwon, J.H.: The international approval state and practical application of food irradiation. *Food Industry*, **133**, 18-49 (1996)
4. Morehouse, K M and Ku, Y.: Identification of irradiated foods by monitoring radiolytically produced hydrocarbons *Radiat. Phys. Chem.*, **42**, 359-362 (1993)
5. Choi, C.R. and Hwang, K.T.: Detection of hydrocarbons in irradiated and roasted sesame seeds. *JAOCS*, **74**, 469-472 (1997)
6. Fairbairn, D.W., Olive, P.L. and O'Neill, K.L.: The comet

- assay: a comprehensive review. *Mutation Research*, **339**, 37-59 (1995)
7. Cerda, H., Delincee, H., Haine, H. and Rupp, H : The DNA 'comet assay' as a rapid screening technique to control irradiated food. *Mutation Research*, **375**, 167-181 (1997)
 8. 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)
 9. Scotter, S.L., Bearwood, K. and Wood, R. : Limulus amoebocyte lysate test/gram negative bacteria count method for the detection of irradiated poultry: results of two interlaboratory studies. *J. Sci. Technol. Today*, **8**, 106-107 (1994)
 10. Oduko, J.M. and Spyrou, N.M. : Thermoluminescence of irradiated foodstuffs. *Radiat. Phys. Chem.*, **36**, 603-607 (1990)
 11. 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)
 12. Sanderson, D. : Photostimulated luminescence (PSL): A new approach to identifying irradiated foods. *BCR workshop*, 13-15, February (1990)
 13. Anderle, N., Steffan, I., Wild, E. and Hille, P. : Radiolychemiluminescence of bones and seafood shells. A new promising method for the detection of food irradiation. *Fresenius J. Anal. Chem.*, **354**, 925-928 (1996)
 14. Raffi, J.J., Belliardo, J.J. and Agnel, J.P. : Application of ESR to identification of irradiated foodstuffs. *J. Chem. Phys.*, **91**, 1913-1929 (1994)
 15. Raffi, J.J. and Stocker, P. : Electron paramagnetic resonance detection of irradiated foodstuffs. *Appl. Magn. Reson.*, **10**, 357-373 (1996)
 16. Gray, R. : *New physicochemical techniques for the characterization of complex food systems*. Electron spin resonance spectroscopy for detection of irradiation food. Glasgow (United Kingdom), Blackie, p.86-108 (1995)
 17. Morazzoni, F., Scotti, R. and Leonardi M : On the use of ESR for the identification of irradiated food. *Chimicaoggi-chemistry today-Int. J. Chem. Biotechnol.*, **Dec.**, 37-4J (1990)
 18. Raffi, J. and Agnel, J.P. Identification of ionized foodstuffs. In *ESR applications in organic and bioorganic materials* Catoire, B. (ed), Springer-Verlag, Berlin, p.135-143 (1992)
 19. Desrosiers, M.F. : Current status of EPR method to detect irradiated food. *Appl. Radiat. Isot.*, **47**, 1621-1628 (1996)
 20. Yang, J.S., Kim, C.K. and Lee, H.J. : Detection of irradiated chicken, pork and beef by ESR spectroscopy. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **31**, 606-611 (1999)
 21. Chung, H.W., Jeong, J.Y. and Kwon, J.H. : Detection and absorbed-dose estimation of irradiated enzyme powder using ESR spectroscopy. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **31**, 1159-1163 (1999)
 22. Helle, V.N., Ballin, U., Etzcl, V. and Kruse, R. : Etablierung analytischer methoden zur identifizierung bestrahlter fische und krebstiere. *Archiv für Lebensmittelhygiene*, **47**, 1-32 (1996)
 23. Raffi, J. : Proposed standard method of EPR detection of irradiated fish. *Int. J. Food Sci. Technol.*, **27**, 111-124 (1992)
 24. Polat, M., Korkmaz, M., Dulkan, B. and Korkmaz, Ö. : Detection of irradiated chicken and dosimetric properties of drumsticks bones. *Radiat. Phys. Chem.*, **49**, 363-369 (1997)
 25. 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)
 26. Geoffroy, M. and Tochandanguy, H.K. : ESR identification of radiation damage in synthetic apatites. *Calcific Tissue Int.*, **34**, 599 (1982)
 27. Jose, M.A., Empis, H.A., Silva, M.L. and Nunes, E.M.A. : Detection of irradiated fish using EPR of fish bone: Signal intensity and stability. *Fisheries Research*, **21**, 471-475 (1995)
 28. Raffi, J. and Stocker, P. : Electron paramagnetic resonance detection of irradiated foodstuffs. *Appl. Magn. Reson.*, **10**, 357-373 (1996)

(2000년 3월 7일 접수)