J. Fd Hyg. Safety 15(3), 248–251 (2000)

ESR spectroscopy를 이용한 방사선 조사 계란의 확인

남혜선 · 이선영* · 양재승†
*한국원자력 연구소 식품검지실 · *충남대학교 식품영양학과*

Identification of Irradiated Chicken Eggs by ESR Spectroscopy

Hye-Seon Nam, Sun-Yung Ly* and Jae-Seung Yang†
Laboratory for Detection of Irradiated Foods, Korea Atomic Energy Research Institute, 150 Dukjin-dong, Yusong-gu, Taejeon 305-353, Korea
**Department of Food & Nutrition, Chungnam National University,*

ABSTRACT – Electron spin resonance (ESR) spectroscopy was used to detect irradiated chicken eggs, to investigate the effect of irradiation dose on the ESR signal intensity and to identify the stability of radicals under 77 days of storage. Raw chicken eggs were irradiated with doses of 0, 0.5, 1, 2, 3 and 5 kGy at room temperature using a Co-60 irradiator. The samples were prepared by separating, drying and powdering shells from the raw eggs. The irradiated chicken egg shells presented an asymmetric absorption in shape at g_1=2.0023±0.00004 and g_2=1.9979±0.00005, different from the non-irradiated ones. The strength of the ESR signal increased linearly with the applied doses (to 5 kGy). The intensity of the ESR signals after irradiation were stable even after 77-day of storage at 5°C and/or room temperature.

Key words □ ESR spectroscopy, Signal intensity, Irradiated chicken eggs

단백질의 주요한 급원식품 중의 하나인 계란은 생것으로 섭취하거나 조리해서 섭취하기도 하며, 케이크나 쿠키 등에 첨가하는 등 그 사용범위가 매우 광범위한 식품중의 하나이지만 불충분하게 조리되거나 조리하지 않은 형태의 섭취로 인하여 Salmonella 오염원이 될 수도 있다.[1-2] 계란에 방사선을 조사하는 것은 액체, 냉동, 건조된 상태의 계란을 살균하기 위한 과정으로 이용[3-11]되어 왔다. 현재 신선한 계란에 대한 방사선 조사는 허가되어 있지 않지만, 네델란드와 유고슬라비아 등 일부국가에서는 계란 분말에 대해 각각 6 kGy, 10 kGy 이하의 선량을 허가하고 있어[12] 우리나라에서도 이에 대비한 검지기술이 필요하게 되었다.

식품의 방사선 조사 검지 방법 중에 물리적 분석방법으로는 TL(thermoluminescence),[13,14] PSL(photostimulated luminescence),[15,16] ESR(electron spin resonance) spectrometry[17,18] 등을 들수 있다.

ESR (electron spin resonance) spectrometry에 의한 측정방법은 방사선 조사시 입사된 에너지의 일부가 분자결합을 붕괴시켜 방출된 자유라디칼이나 이온들을 비파괴적으로 검지 할 수 있는 기술이다.[19-21] 국외에서는 뼈나 씨, 셀룰로오즈 그리고 sugar를 함유한 저 수분 함유식품에 이 방법을 적용하여 방사선 조사식품의 검지기술로 이용하였으나,[18,22] 국내에서는 거의 이루어지고 있지 않은 실정이다.

본 연구는 국내외적으로 많이 소비되고 있으나 Salmonella의 오염원이 될 수 있는 계란을 방사선 조사한 후, ESR spectrometry을 이용하여 방사선 처리되지 않은 시료와의 차이를 검토하였고 방사선 조사선량에 따라 방사선 처리된 계란의 신호차이를 살펴봄으로써 조사여부와 함께 개략적인 선량판정에 유용한 과학적 근거를 제시함으로서 이들 방사선 조사 계란의 표준 검출법으로 ESR spectroscopy 방법이 어느 정도 가능한지를 알아보았다.

재료 및 방법

시료준비

신선한 계란을 대전에 있는 대형매장에서 구입하여 3개씩 PE (Polyethylene) film bag으로 포장한 후 한국원자력연구소에 있는 방사선 동위원소 Co-60을 이용하여 상온에서 0, 0.5, 1, 2, 3 그리고 5 kGy의 선량으로 방사선을

†Author to whom correspondence should be addressed.

조사하였다. 조사 후 난백과 난황 그리고 겉껍질 안쪽내부의 막을 완전히 제거하였다. 이 겉껍질만을 취하여 50 ml 병에 담아 동결건조기(삼원공업, Model : SFDSF2)에서 18시간 이상 동결건조 한 후 밀폐용기에 담아 5°C 이하와 상온에서 각각 보관하였다. 분석을 위하여 막자와 막자사발을 이용하여 분말 형태로 만들어 사용하였다.

ESR 측정

측정은 ESR X-band spectrometer(Bruker ESP 300 spectrometer, Germany)를 이용하였다. 시료를 직경 4 mm의 ESR 석영튜브에 각각 0.1 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 마이크로 웨이브선에서 자장강도를 에너지 흡수가 관찰 될 때까지 올려서 측정하였다. 조사된 시료내 자유 라디칼의 안정성을 알아보기 위해서는 5°C와 상온에서 77일 후 ESR 신호를 측정하였다. 실험에서 사용한 방사선 조사 계란의 ESR 분광기 조건은 Field : center field 3400 G, sweep width 200 G, Microwave: frequency 9.573 GHz, power 0.2 mW, Signal Chain : time constant 40.960 ms, sweep time 41.943 s, Receiver: receiver gain 2.83×10^4, modulation amplitude 2.00 G, modulation frequency 100 KHz, 그리고 Temperature : room temperature로 하였다.

결과 분석

ESR측정 결과는 Bruker Win-EPR과 Simponia의 소프트웨어 프로그램을 이용하여 기록하였다. ESR 분광곡선은 적용자장(337-345 mT)에 대한 흡수곡선의 일차미분으로 나타내었다. ESR 신호의 강도는 일차미분 분광의 이중적분(double integration)으로 즉 흡수 분광곡선 아래의 총면적으로 정량화 하여 평균±표준편차로 나타내었고 단위는 arbitrary unit를 사용하였다. 걸어준 자장(magnetic field)과 microwave frequency의 값들의 비인 g-value로 ESR 특성을 나타내었다.

결과 및 고찰

ESR spectra

비조사된 시료(a)와 2 kGy로 조사된 시료(b)에 대한 두 가지의 전형적인 ESR spectra는 Fig. 1과 같다. 계란에서 방사선 조사로 유도된 ESR 신호는 본 연구에서 사용된 가장 낮은 적용선량인 0.5 kGy에서까지도 비조사된 시료와 쉽게 구별 할 수 있었다. 즉 조사된 시료는 g_1=2.0023±0.00004, g_2=1.9979±0.00005에서 특유의 비대칭 신호를 나타내었고, 비조사된 시료는 이러한 비대칭 신호를 나타내지 않아 조사시료와 비조사 시료의 구별이 가능하였다. 이 결과는 Rossi 등[23]의 연구결과나 Desrosiers[24]의 연구결과와도 비슷하였다. 이와 같이 조사시료에서 비대칭적인 ESR 신호를 보인 것은 시료의 주성분인 apatite에 방사선 조사로 생성된 carbonate 라디칼($CO_3^{3-}\cdot$)이 포획되어 일어난 것으로 생각된다.[25,26]

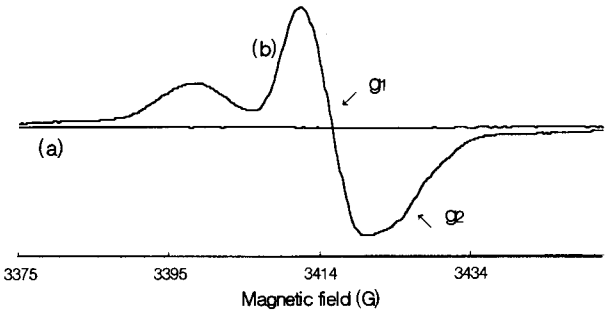

Fig. 1. Characteristic ESR spectra derived from (a) non-irradiated and (b) irradiated chicken egg at 2 kGy.

조사선량에 따른 신호차이

계란의 조사선량에 따른 ESR 신호크기의 변화를 Table 1에 나타내었다. 조사선량에 따른 난각의 ESR 신호의 면적은 0.5 kGy에서는 (15,410±1,835)×10^3, 1 kGy에서는 (27,900±1,059)×10^3, 2 kGy에서는 (51,377±3,749)×10^3, 3 kGy에서는 (75,013±3,436)×10^3 그리고 5 kGy에서는 (102,000±9,503)×10^3으로 나타나 회귀식은 $y=2.23\times10^7x$ (r^2=0.9661)이었다. 본 연구결과 0.5~5 kGy 방사선 적용선량 범위에서 조사선량이 증가함에 따라 ESR 신호의 크기는 비례적으로 증가하는 것을 알 수 있었다. 이러한 결과는 6 kGy까지의 적용선량범위에서 ESR신호의 크기가 비례적으로 증가하였다는 Desrosiers 등의 연구결과[24]나 1 kGy에

Table 1. ESR signal areas derived from irradiated chicken eggs and linear regression of irradiation dose and ESR signal area

(arbitrary unit×10^3)

		Signal area
Irradiation dosea (kGy)	0.5	15,410±1,835[1)]
	1	27,900±1,059
	2	51,376±3,749
	3	75,013±3,436
	5	102,000±9,502
Regression equation		$y=2.23\times10^7x$
r_2		0.966

[1)]Mean±SD.

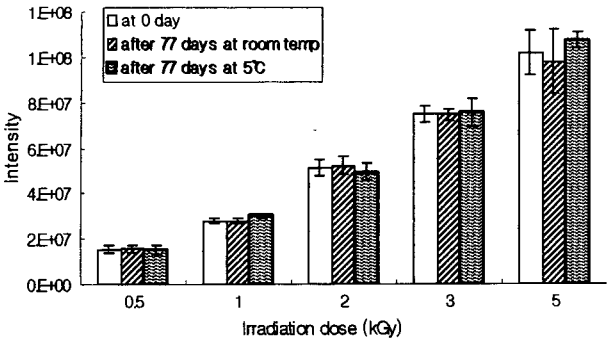

Fig. 2. ESR signal changes of irradiated chicken egg stored at room temperature and 5°C.

서 10 kGy의 조사선량범위로 조사된 계란을 대상으로 한 앞선 연구결과[27]와도 일치하였다. 따라서 ESR spectroscopy를 이용하여 정량적인 측정도 할 수 있었다.

저장동안의 라디칼의 안정성

포획된 라디칼의 안정성을 알아보기 위해 일정기간 후, 조사된 난각에 대한 ESR 신호크기 변화를 알아보았다(Fig 2). 상온에서 77일간의 저장기간 후, ESR 신호는 0주째와 비교하여 약 99.98±2.4 %로 남아 있어 거의 변화하지 않았으며, 회귀식은 $y=2.27\times10^7x$ ($r^2=0.951$) 이었다. 5°C 이하의 온도에서는 77일간의 저장기간 후에도 0주째와 비교하여 101.7±5.0 % 로서 ESR 신호는 거의 변화가 없었으며 회귀식은 $y=2.39\times10^7x$ ($r^2=0.9791$) 이었다. 이러한 결과는 4°C에서 349일 후에도 ESR 신호가 안정하게 남아 있었다는 Desrosiers 등[24]에 의한 결과와 거의 일치하였다. 본 연구결과 0.5~5 kGy의 적용선량 범위에서 상온과 5°C 이하에서 각각 77일간의 저장기간 후에도 신호가 안정하게 남아있어 계란의 유통기간동안(1개월)에 방사선 조사의 여부확인이 가능하였으며, 선량예측도 가능하였다.

감사의 글

본 연구는 과학기술부 중장기 연구과제의 일부로 수행된 것으로 지원에 감사드립니다. 아울러 ESR 측정에 도움을 주신 한국원자력 연구소 조영환 박사님께 감사드립니다.

국 문 요 약

본 연구는 ESR spectroscopy를 이용하여 계란의 방사선 조사여부와 조사선량에 따른 ESR 신호의 크기 및 신호의 안정성을 알아보았다. 신선한 계란을 0, 0.5, 1, 2, 3 그리고 5 kGy로 방사선을 조사한 후, 난백과 난황 및 내막을 제거한 겉껍질만을 이용하여 신호의 특성을 알아보았다. 실험결과 방사선 조사된 계란은 $g_1=2.0023\pm0.00004$, $g_2=1.9979\pm0.00005$에서 특유의 비대칭적인 ESR 신호를 나타내어 비조사 시료와 확실하게 구별되었으며, 조사선량의 증가에 따른 ESR 신호에 대한 회귀식은 $y=2.23\times10^7x$ ($r^2=0.9661$)로서 조사선량에 따라 ESR 신호의 크기는 비례적으로 증가하였다. 또한 이들 신호의 크기는 상온과 5°C 이하에서 77일간의 저장기간 후에도 안정하게 남아있어 방사선 조사여부의 판별은 장기간의 저장에서도 가능하였다. 따라서 ESR spectroscopy를 이용한 방사선 조사 계란의 검지방법은 빠르고 확실하며 정량적인 방법으로써 유용한 검지기술임을 알 수 있었다.

참고문헌

1. St Louis, M.E., Morse, D.L., Potter, M.E., DeMelfi, T.M., Guzewish, J.J., Tauxe, R.V., and Blake, P.A.: The emergence of grade a eggs as a major source of salmonella enteritidis infections. *J. Am. Med. Assoc.* **259**, 2103-2107 (1988).
2. PHLS: Memorandum of evidence to the agricultural committe inquiry on salmonella in eggs. *Public Health Laboratory Service Microbiol. Digest.* **6**, 1 (1989).
3. Brogle, R.C., Nikerson, J.T.R., Proctor, B.E., Pyne, A., Campbell, C., Charm, S., and Lineweaver, H.: Use of high-voltage cathode rays to destory bacteria of the salmonella group in whole egg solids, egg yolk solids, and frozen egg yolk. *Food Res.* **22**, 572-589 (1957).
4. Nickerson, J.T.R., Charm, S.E., Brogle, R.C., Lockart, E.E., Proctor, B.E., and Lineweaver, H.: Use of high-voltage cathode rays to destoy bacteria of the salmonella group in liquid and frozen egg white and egg white solids. *Food Technol.* **11**, 159-166 (1957).
5. Brooks, J., Hannan, R.S., and Hobbs, B.C.: Irradiation of eggs and egg products. Int. *J. Appl. Radiat. Isotopes.* **6**, 149-154 (1959).
6. Mossel, D.A.: The destruction of salmonella bacteria in refrigerated liquid whole egg with gamma irradiation. Int. *J. Appl. Radiat. Isotopes.* **9**, 109-112 (1960).
7. Ijichi, K., Hammerle, O.A., Lineweaver, H., and Kline, L.: Effects of ultraviolet irradiation of egg liquids on

samonella destruction and performance quality with emphasis on egg white. *Food Technol.* **17**, 1628-1632 (1964).
8. Grim, A.C. and Goldblith, S.A.: The effect of ionizing radiation on the flavor of whole egg magma. *Food Technol.* **18**, 1594-1596 (1965)
9. Bomar, M.R.: Salmonella eradication in egg powder by irradiation. *Arch. Lebensmittelhygiene.* **21**(5), 97-103 (1970)
10. Parson, R.W. and Stadelman, W.J.: Ionizing radiation of fresh shell eggs. *Poultry Sci.* **36**, 319-322 (1957)
11. Morgan, B,H. and Siu, R.G.H.: Action of ionizing radiation in individual foods. In: Bailey, S.D., Davies, J.M., Morgan, B.H., Pomerantz, R., Siu, R.G.H. and Tischer, R.G.(eds), *Radiation preservation of food.* U.S. Government Printing Office, Washington, DC. 268-294 (1957)
12. Paisan Loaharanu: International developments of food irradiation and consumer acceptance of irradiated food. In: *Acceptance and trading on irradiated foods.* Cherl-Ho-Lee, Korea university press, 162-185 (1998)
13. Oduko, J. M and Spyrou, N. M.: Thermoluminescence of irradiated foodstuffs. *Radiat. Phys. Chem.* **36**, 603-607 (1990)
14. Schreiber, G. A., Hoffmann, A., Helle, N. and Bögl, K. W.: Methods for routine control of irradiated food: Determination of the irradiation status of shelfish by thermoluminescence analysis. *Radiat. Phys. Chem.* **43**, 533-544 (1994)
15. Sanderson, D.: Photostimulated luminescence(PSL): A new approach toidentifying irradiated foods. *BCR workshop*, 13-15, February (1990)
16. 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 Chem.* **354**, 925-928 (1996)
17. Raffi, J.J., Belliardo, J.J. and Agnel, J.P.: Application of ESR to identification of irradiated foodstuffs. *J. Chem. Phys.* **91**(11), 1913-1929 (1994)
18. Raffi, J.J., and Stocker, P.: Electron paramagnetic resonance detection of irradiated foodstuffs. *Appl. Magn. Reson.* **10**(1-3), 357-373 (1996)
19. Gray, R.: *New physicochemical techniques for the characterization of complex food systems.* Electron spin resonance spectroscopy for detection of irradiation food. Glasgow (Unitied Kingdom): Blackie. 86-108 (1995)
20. Morazzoni F., Scotti, R., and Leonardi, M.: On the use of ESR for the identification of irradiated food. Chimicaoggi-chemistry today-Int. *J. Chem. Biotechn.* December, 37-41 (1990)
21. Raffi J., Agnel, J-P.: Identification of ionized foodstuffs. In : *ESR applications in organic and bioorganic materials.* catoire B., Editer, Springer-Verlag, Berlin, 135-143 (1992)
22. Desrosiers, M.F.: Current status of EPR method to detect irradiated food. *Appl. Radiat. Isot.* **47**, 1621-1628 (1996)
23. Rossi, A. M., Poupeau, G., Jeunet, A.: On the nature of the asymmetric line in the ESR spectrum of irradiated bioapatites. *Bull. Magn. Reson.* **11**, 226-228 (1989)
24. Desrosiers, M.F., Le, F.G., Harewood, P. M., Josephson, E.S., and Montesalvo, M.: Estimation of the absorbed dose in radiation-processed food. 4. EPR measurements on eggshell. *J. Agric. Food Chem.* **41**, 1471-1475 (1993)
25. Miki, T., Kai, A.: Rotating CO_2- centers in coral and related materials. *J. Appl. Phys.* **29**, 2191-2192 (1990)
26. Serway R.A., Marshall, S.A.: Electron spin resonance absorption spectra of CO_3- and CO_3^3- molecular ions in irradiated singlecrystal calcite. *J. Chem. Phys.* **46**, 1949-1952 (1967)
27. Kiyak, N.: Electron spin resonance and thermoluminescence detection of irradiated eggs. Turk. *J. Nucl. Sci.* **17**, 33-90 (1990)