

## Free Radical의 측정을 통한 감마선 조사 건조과일의 검지

남혜선 · 이선영\* · 양재승

한국원자력연구소 식품검지실, \*충남대학교 식품영양학과

### Detection of Gamma-Irradiated Dried Fruits by Measuring of Free Radicals

Hye-Seon Nam, Sun-Yung Ly\* and Jae-Seung Yang

Laboratory for Detection of Irradiated Foods, Korea Atomic Energy Research Institute

\*Department of Food and Nutrition, Chungnam National University

Electron spin resonance (ESR) spectroscopy was used to investigate the effect of irradiation dose on irradiated dried fruits. Dried banana, pineapple and pistachio were irradiated with doses of 0, 0.5, 1, 2 and 5 kGy at room temperature using a Co-60 irradiator. Multiplet ESR signals were observed in irradiated dried banana and pineapple, and singlet ESR signal was observed in irradiated pistachio, while these characteristic signals were not detected in non-irradiated samples. Since the amount of free radicals linearly increased with the applied doses (0.5~5 kGy), highly positive correlation coefficients ( $R^2=0.9874\sim0.9974$ ) were obtained between the irradiation doses and the corresponding free radical concentrations. The characteristic ESR signals were observed in irradiated samples even after 40 days of storage at room temperature.

**Key words :** ESR spectroscopy, free radicals, irradiated dried fruits

### 서 론

식품조사는 현재 40여 개국에서 해산물, 닭고기, 곡류, 과채류, 땅콩류, 향신료 등의 식품에 허용되어 있으며, 특히 건조과일의 방사선처리하는 미국, 영국, 프랑스 등을 포함한 18 개국에서 살충 또는 미생물의 생육 억제를 목적으로 각각 0.75~2 kGy 또는 3~6 kGy의 선량을 허가하고 있다<sup>(1)</sup>.

한편 여러 국제기구(WHO, FAO, IAEA)의 안전성에 대한 반복되는 보고에도 불구하고, 소비자들은 방사선 처리 식품에 대한 안전성에 대하여 확신이 없기 때문에 아직까지 이용을 꺼려하고 있다. 그 결과 현재 대부분의 국가에서는 처리 가능한 식품의 종류와 최대 조사선량에 관한 규정들을 마련하고, 일부 국가에서는 그와 같은 식품처리를 금지하거나 표시할 것을 의무화하고 있다. 결국 소비자들에게 그들이 섭취하고 있는 식품에 방사선 처리 여부 및 조사선량을 알려주고, 국제적인 식품교역을 활성화하는 차원에서 방사선 조사 여부의 검지방법이 절실히 요구된다 하겠다.

방사선 조사식품의 검지방법에 관한 연구는 여러 국제기구 및 국가기관의 지원하에 선진국에서 연구가 진행되어 왔으며, 그 결과 방사선 조사시 식품에서 일어나는 물리적, 화학적 및 생물학적 변화에 기초한 검지방법 연구가 계속 진행되고 있다. 방사선 조사식품의 검지방법으로는 thermoluminescence(TL)<sup>(2,3)</sup>, electron spin resonance(ESR)<sup>(4,5)</sup> 등의 분석기기를 이용하는 물리적 방법, 휘발성 물질인 hydrocarbon 및 butanone을 검출<sup>(6,7)</sup>하는 화학적인 방법, direct epifluorescent filter technique/aerobic plate counts(DEFT/APC)<sup>(8,9)</sup> 등의 생물학적인 방법 등을 들 수 있다.

이들 방법 중 ESR spectroscopy는 식품이 방사선 처리되었는지 아닌지를 측정하는 가장 유망한 방법 중의 하나로써, 식품을 구성하는 조성물에서 방사선 처리에 의하여 생성되는 수명이 긴 paramagnetic center를 측정하는 분석법이다<sup>(10)</sup>. 이 방법은 지금까지 방사선 조사된 뼈 포함 식품(육류, 어류)<sup>(11-14)</sup>, 조개류<sup>(15,16)</sup>, 과일류<sup>(17)</sup>, 향신료<sup>(18,19)</sup>, 계류<sup>(20,21)</sup>, 난류<sup>(22)</sup> 등을 검지 하는데 이용되어 왔으며, 각각의 ESR signal의 모양은 방사선 처리에 의해 생성된 free radical의 형태에 따라 다르다.

본 연구는 국내에서 많이 소비되고 있는 건조과일 중 파인애플, 바나나 및 피스타치오를 선택하여 감마선을 조사하고 ESR spectroscopy에 의해 감마선 조사로 생성된 radical을 측정하여 봄으로써 비조사 시료와의 차이를 검토하고, 조사 선량에 의존성과 free radical의 측정 가능 기간을 확인하였다.

Corresponding author : Jae-Seung Yang, Laboratory for Detection of Irradiated Foods, Korea Atomic Energy Research Institute, 150 Dukjin-dong, Yusong-gu, Taejon 305-353, Korea  
Tel: 82-42-868-8064  
Fax: 82-42-868-8064  
jsyang2@nanum.kaeri.re.kr

## 재료 및 방법

### 시료 및 전처리

말린 파인애플(태국산), 바나나(필리핀산) 및 피스타치오(미국산)는 구입하여 1차적으로는 시료의 수입상에 의뢰하였고 그 다음으로는 방사선 조사 전에 ESR spectroscopy를 이용하여 예비 측정을 통하여 조사되지 않은 것으로 50 g씩 14 × 14 cm의 polyethylene(PE) bag에 포장하여 한국원자력연구소의 선원 100,000 Ci Co-60 감마선 조사시설(AECL IR-79, Canada)을 이용하여 상온에서 8.3 Gy/min의 선량률로 각 시료마다 3개씩 0, 0.5, 1, 2 및 5 kGy의 총 흡수선량을 얻도록 조사하였다. 조사된 시료 중 파인애플은 0.3 × 1 cm로 자르고, 피스타치오는 겉껍질만을 취하여 건바나나와 동일한 방법으로 막자사발을 이용하여 분말로 만든 후 이를 시료로 사용하였다.

### ESR 측정

ESR 측정에는 ESR X-band spectrometer(Bruker EPR 300 spectrometer, Bruker Instruments Inc., Germany)를 이용하였다. 각 시료별로 선량마다 3개씩의 시료를 직경 4 mm의 ESR 전용 석영튜브에 각각 100 mg씩 넣은 후 이 튜브를 spectrometer 내의 필요한 자장을 걸어줄 수 있는 전자석의 양극 사이에 있는 공명기에 넣은 다음 일정한 파장의 마이크로웨이브에서 자장강도를 에너지 흡수가 관찰될 때까지 올려서 측정하였다. 또한 일정기간 후에도 방사선 조사로 형성된 라디칼을 확인할 수 있는지를 알아보기 위하여 시료를 ESR 석영튜브에 넣은 후 봉하여 데시케이터에 넣고 상온에서 40일 동안 보관한 후 라디칼 신호를 측정하였다.

조사된 건조과일의 ESR 측정시 사용된 조건에 있어서 magnetic center field는 3440 G, microwave frequency는 9.6 GHz, microwave power는 0.6 mW, signal channel의 time constant는 0.640 ms, sweep width는 200 G, sweep time은 5.243 s, receiver gain은  $1 \times 10^5$ , modulation amplitude는 1.0 G 그리고 modulation frequency는 100 kHz의 조건으로 23°C에서 측정하였다.

### 결과분석

ESR 측정 결과는 Bruker Win-EPR과 Simponia의 소프트웨어 프로그램을 이용하여 기록하였으며, ESR 신호는 적용자장에 대한 흡수곡선의 일차미분으로 나타내었다. ESR 신호의 강도인 radical의 양은 일차미분 분광곡선 중심신호의 높이로 정량화하여 시료별 선량마다 3개씩을 평균하여 평균 ± 표준편차로 나타내었으며, 단위는 arbitrary unit를 사용하였다. 걸어준 자장(magnetic field)과 microwave frequency의 값들의 비인 g-value로 ESR 특성 peak을 나타내었다.

## 결과 및 고찰

### ESR 스펙트럼

비조사 건조과일과 5 kGy로 조사된 건조과일에 대한 ESR spectra는 Fig. 1과 같다. 비조사 시료(a)의 ESR spectra는 peak를 나타나지 않아 라디칼이 검지 되지 않았으나, 조사

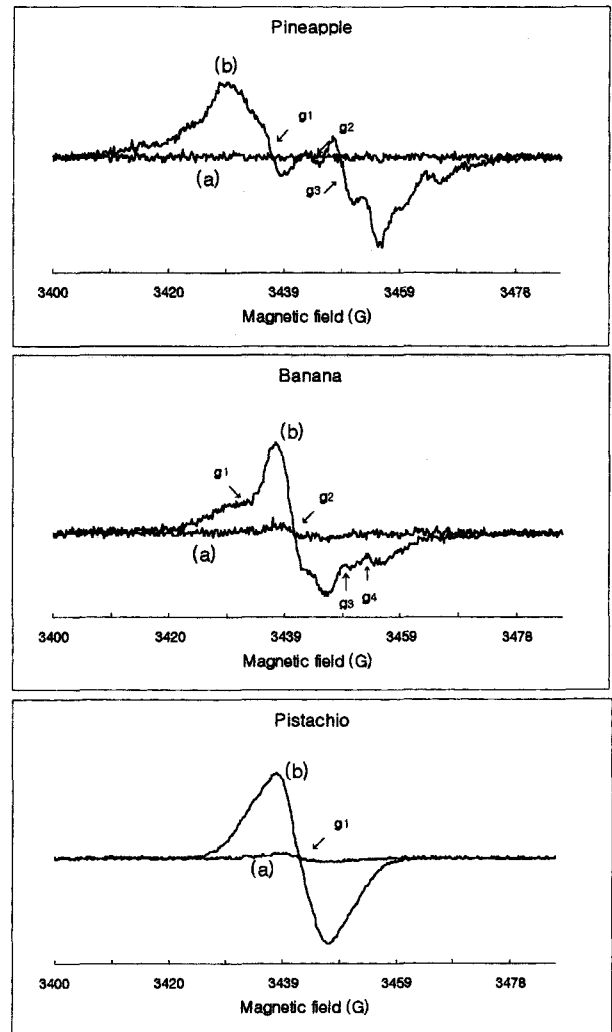


Fig. 1. Characteristic ESR spectra derived from (a) non-irradiated and (b) irradiated pineapple, banana and pistachio at 5 kGy

Pineapple:  $g_1=2.009$ ,  $g_2=2.004$ ,  $g_3=2.001$

Banana:  $g_1=2.011$ ,  $g_2=2.006$ ,  $g_3=2.001$ ,  $g_4=1.999$

Pistachio:  $g_1=2.005$

시료(b)에서 파인애플은  $g_1=2.009 \pm 0.0001$ ,  $g_2=2.0048 \pm 0.00010$ ,  $g_3=2.0016 \pm 0.00011$ , 바나나는  $g_1=2.011 \pm 0.00009$ ,  $g_2=2.0064 \pm 0.00009$ ,  $g_3=2.0011 \pm 0.00009$ ,  $g_4=1.999 \pm 0.00009$ , 피스타치오는  $g_1=2.005 \pm 0.0002$ 에서 라디칼 특유의 신호를 나타내었으며, 최저 적용 선량인 0.5 kGy에서도 이 peak을 확인할 수 있어 비조사 시료와 뚜렷하게 구별할 수 있었다. 이들 시료는 종류에 따라 서로 다른 모양의 spectra를 나타내었는데, 파인애플과 바나나의 신호형태는 매우 복잡하였다. 파인애플에서 보여진 신호 모양은 Raffi 등<sup>(23)</sup>의 연구결과에서 보여준 파파야의 신호모양과 같았는데 이는 Goodman 등<sup>(24)</sup>과 Bustos<sup>(25)</sup> 등에 의하면 시료내 존재하는 sugar에 라디칼이 포획된 것으로 sugar의 함량이 높을수록 더 복잡하고 더 큰 신호를 나타낸다고 하였다. 따라서 본 연구에 사용된 파인애플과 바나나는 sugar를 포함하고 있으며, 피스타치오는 single line의 신호를 나타내어 sugar를 포함하고 있지 않은 것으로 나타났다. 피스타치오의 신호형태는 Esteves 등<sup>(26)</sup>

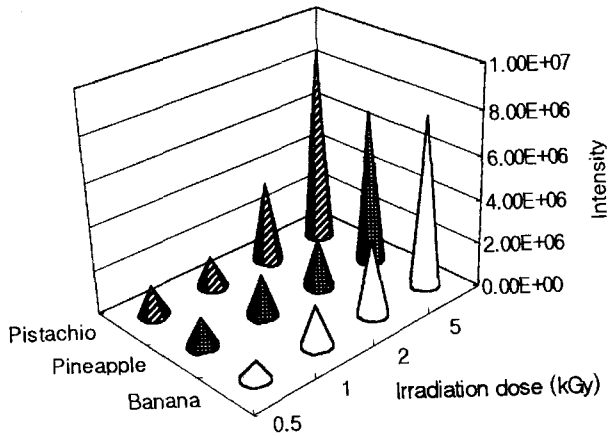


Fig. 2. ESR signal heights derived from irradiated dried fruits

Table 1. Linear regression between irradiation doses and free radical concentrations of dried fruit (unit: arbitrary unit)

Dried fruit	Regression equation <sup>1)</sup>	R <sup>2</sup>
Banana	$y=1.55 \times 10^6 x$	0.9974
Pineapple	$y=1.33 \times 10^6 x$	0.9874
Pistachio	$y=1.73 \times 10^6 x$	0.9926

<sup>1)</sup>x=irradiation dose, y=free radical concentration

과 McMurray 등<sup>(27)</sup>의 연구 보고와 일치하였다.

조사선량에 따른 유리 라디칼의 농도

파인애플, 바나나 및 피스타치오의 방사선 조사선량에 따른 라디칼 량의 변화를 Fig. 2에 나타내었다. 파인애플과 바나나는 모든 적용 선량(0.5~5 kGy)의 범위에서 조사선량이 증가함에 따라 라디칼의 농도가 증가하는 것을 알 수 있었으며, 피스타치오는 1~5 kGy의 적용범위에서 조사선량이 증가함에 따라 라디칼의 농도가 증가함을 알 수 있었다. Table 1은 조사선량과 생성된 라디칼 농도간의 회귀식과 상관계수를 나타낸 것으로 바나나의 회귀식은  $y = 1.55x \times 10^6$ 이었고, 파인애플의 회귀식은  $y = 1.33x \times 10^6$ , 피스타치오는  $y = 1.73x \times 10^6$ 로 나타났으며, 이때 R<sup>2</sup>값은 0.9874~0.9974의 높은 값을 나타내었다.

유리라디칼의 안정성

저장 중 라디칼의 안정성을 알아보기 위하여 일정기간 후 조사된 건조바나나, 건조파인애플 및 피스타치오에 대한 라디칼의 농도 변화를 알아 본 결과는 Fig. 3과 같다. 상온에서 40일 저장후 신호의 높이를 0주제와 비교하여 보았을 때, 2 kGy에서 피스타치오는 85.9%, 바나나는 59.8%, 파인애플은 96.1% 남아 있었다. 이때 건조바나나의 회귀식은  $y = 9.27 \times 10^5 x (R^2 = 0.9938)$ , 건조파인애플의 회귀식은  $y = 1.28 \times 10^6 x (R^2 = 0.9871)$ , 피스타치오는  $y = 1.31 \times 10^6 x (R^2 = 0.9877)$ 로 나타나 피스타치오와 파인애플은 일정기간 후에도 조사여부의 검지가 가능하였다. 3가지 시료 모두에서 일정기간 후에도 감마선 조사로 생성된 라디칼이 남아있어 상온에서 40일 후에도 ESR spectroscopy를 이용하여 방사선 조사의 여부를 확인 할 수 있었다.

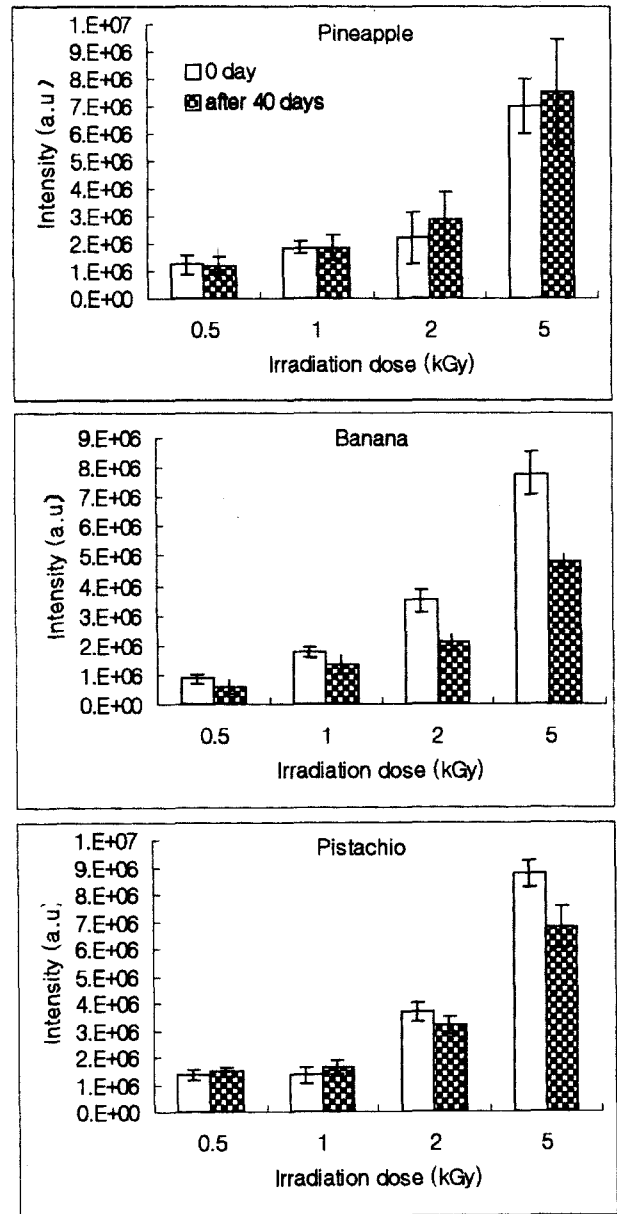


Fig. 3. ESR signal changes of irradiated dried fruits stored at room temperature

요 약

건조과일의 방사선 조사여부를 확인하기 위하여 감마선 조사로 생성된 라디칼을 ESR spectroscopy를 이용하여 측정하였다. 건조된 바나나, 파인애플 및 피스타치오를 0, 0.5, 1, 2, 5 kGy의 Co-60 감마선을 조사한 후 이를 시료로 Bruker Win-EPR spectrometer를 이용하여 측정하였다. 방사선 조사된 파인애플과 바나나는 sugar radical의 전형적인 매우 복잡한 multiplet을 나타내었으며, 피스타치오의 신호형태는 singlet을 나타내어 비조사 시료와 확실히 구별되었다. 적용선량의 범위에서(0.5~5 kGy) 조사선량이 증가함에 따라 라디칼의 농도는 직선적으로 증가하였으며, 이때 R<sup>2</sup>값은 0.9874~0.9974의 범위로 매우 높았다. 또 이들 라디칼들은 상온에서 40일간 저장 후에도 관찰이 가능하여 건조과일의 유통 중 방사선 조

사여부의 판별에 ESR spectroscopy의 이용 가능성이 확인되었다.

## 감사의 글

본 연구는 과학기술부 원자력 중장기 연구과제의 일부로 수행된 것으로 지원에 감사드립니다.

## 문헌

- 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)
- Oduko, J.M. and Spyrou, N.M. Thermoluminescence of irradiated foodstuffs. *Radiat. Phys. Chem.* 36: 603-607 (1990)
- Schreiber, G.A., Hoffmann, A., Helle, N and B gl, 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)
- 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)
- Raffi, J.J. and Stocker, P. Electron paramagnetic resonance detection of irradiated foodstuffs. *Appl. Magn. Reson.* 10: 357-373 (1996)
- Morehouse, K.M. and Ku, Y. Identification of irradiated foods by monitoring radiolytically produced hydrocarbons. *Radiat. Phys. Chem.* 42: 359-362 (1995)
- Choi, C.R. and Hwang, K.T. Detection of hydrocarbons in irradiated and roasted sesame seeds. *JAOCs*, 74: 469-472 (1997)
- 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)
- 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)
- 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 86-108 (1995)
- Gray, R. and Stevenson, M.H. The effect of post-irradiation cooking on the ESR signal in irradiated chicken drumsticks. *Int. J. Food Sci. Technol.* 24: 447-450 (1989)
- Nam, H.S., Ly, S.Y. and Yang, J.S. ESR signal in different cuts of irradiated chicken, pork and beef. *J. Korean Nuclear Society.* 32(3): 254-260 (2000)
- Jose, M.A., Helena E.A., Nunes, M.L. and Andrade, E.M., Detection of irradiated fish using EPR of fish bone. Signal intensity and stability. *Fisheries Research.* 21(3-4): 471-475 (1995)
- Nam, H.S., Woo, S.H., Ly, S.Y. and Yang, J.S. Identification of irradiated fishes by ESR spectroscopy. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 29(3): 425-429 (2000)
- Ziegelmann, B., B gl, K.W. and Schreiber, G.A. TL and ESR signals of mollusc shells correlations and suitability for the detection of irradiated foods. *Radiat. Phys. Chem.* 54: 413-423 (1999)
- Nam, H.S. and Yang, J.S. ESR spectroscopy for detecting gamma-irradiated shellfishes. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 30(1): 43-47 (2001)
- Tabner, B.J. and Tabner, V.A. Stable radicals observed in the flesh of irradiated citrus by electron spin resonance spectroscopy for the first time. *Radiat. Phys. Chem.* 47(4): 601-605 (1996)
- Uchiyama, S., Sugiki, A., Kawamura, Y., Murayama, M. and Saito, Y. Radical unogue to irradiated allispice and cinamon and its utility for detection of irradiated foods. *J. Food Hyg. Soc. Jap.* 34: 128-134 (1993)
- Nam, H.S. and Yang, J.S. Detection of gamma-irradiated spices by ESR spectroscopy. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 30(2): 239-242 (2001)
- Stewart, E.M. The application of spectroscopy for the identification of irradiated crustacea. *Appl. Magn. Reson.* 10: 375-393 (1996)
- Nam, H.S., Ly, S.Y. and Yang, J.S. Identification of irradiated crabs by ESR spectrometry. *J. Food Hygiene and Safety.* 15(1): 1-4 (2000)
- Nam, H.S., Ly, S.Y. and Yang, J.S. Identification of irradiated chicken eggs by ESR spectroscopy. *J. Food Hygiene and Safety.* 15(3): 248-251 (2000)
- Raffi, J. Belliardo, J.J. and Agnel, J.P. Application of ESR to identification of irradiated foodstuffs. *J. Chem. Phys.* 91(11): 1913-1929 (1994)
- Goodman, B.A., Mcphail, D.B. and Duthie, D.M.L. Electron spin resonance spectroscopy of some irradiated food stuffs. *J. Sci. Food Agri.* 47: 101-111 (1989)
- Bustos, M.E., Romew, M.E., Gutierrez, A. and Azorin, J. Identification of irradiated mangoes by means of ESR spectroscopy. *Appl. Radiat. Isot.* 47: 1655-1657 (1996)
- Esteves, M.P., Andrade, M.E., Empis, J. Detection of prior irradiation of dried fruits by electron spin resonance(ESR). *Radiat. Phys. Chem.* 55: 737-742 (1999)
- McMurray, C.H., Strwart, E.M., Gray, R. and Pearce, J. Detection methods for irradiated foods. In ESR detection of free radicals in gamma irradiated spices and other foodstuffs. The Royal Society of Chemistry. Cambridge, UK.: 70-84 (1996)

(2001년 6월 1일 접수)