

방사선 조사된 조개류의 확인을 위한 ESR Spectroscopy의 이용

남혜선 · 양재승*

한국원자력연구소 식품검지실

ESR Spectroscopy for Detecting Gamma-Irradiated Shellfishes

Hye-Seon Nam and Jae-Seung Yang*

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

Abstract

Electron spin resonance (ESR) spectroscopy was used to investigate the effect of irradiation dose on the ESR signal intensity and to identify the stability of radicals after 9 weeks of storage in order to detect irradiated shellfishes. The irradiated shellfishes (short-necked clam, purplish washington clam, freshwater clam, jack-knifed clam, scallop and hard-shell mussel) presented an asymmetric absorption in shape at $g_1=2.002\sim 2.003$ and $g_2=1.998$. The strength of the ESR signal increased linearly with the applied doses (1~7 kGy). A highly positive correlation coefficients ($R^2=0.9136\sim 0.9896$) were obtained between the irradiation dose and corresponding ESR signal intensity. The intensity of the signals after irradiation was stable even after 9 weeks of storage at $5\pm 1^\circ\text{C}$.

Key words: ESR spectroscopy, ESR signal intensity, irradiated shellfishes

서 론

식품의 방사선조사는 발아의 억제 또는 속도 및 숙성지연을 통하여 저장기간을 연장하고, 살충, 살균, 멸균 등으로 식품의 위생과 안전성을 증가시키기 위하여 사용되는 식품처리 방법으로 우리나라를 비롯한 43개국에서 이를 허용하고 있다(1,2). 해산물 중 조개류는 부적절한 생산과 취급으로 *Vibrio*같은 병원균의 오염이 문제 되고 있다. 또 일반 소비자들은 overcooking이 영양소 손실을 가져온다고 생각하여 생식품 또는 반조리 상태를 선호하게 되어 질병의 위험요소를 더욱 증가시키고 있다. 따라서 일부국가에서는 공중보건에 유해한 병원성 미생물들을 감소시키기 위하여 방사선조사 처리를 하고 있다(3,4).

그러나 여러 국제기구(WHO, FAO, IAEA, FDA)의 안전성에 대한 반복되는 보고에도 불구하고, 방사선조사 처리는 식품의 구성성분과 구조에 영향을 주어 새로운 위험요인을 낳을 수 있다고 소비자들은 염려하고 있다. 그 결과 현재 선진국을 비롯한 많은 국가에서는 방사선 조사식품의 구매여부를 소비자가 스스로 결정할 수 있도록 표시제를 마련하고 있으나, 수입식품의 경우 조사식품에 대한 검사를 할 수 없으므로 수출하는 나라의 기록에 의존하고 있을 뿐이다.

이러한 방법은 조사식품의 관리상 중요함에도 불구하고, 조사식품이 바르게 표시되어 있는가를 검사할 수는 없으며,

방사선 조사식품의 수입을 금지하는 나라의 소비자들에게 식품의 조사사실을 숨길 가능성이 있고, 반대로 식품원료로서 부가 가치를 높이기 위하여 비조사 식품을 조사했다고 틀리게 표시할 수도 있다. 그러므로 표시되지 않은 식품이 조사되지 않았는지 또는 표시된 경우 규정된 선량으로 적절히 조사되었는지를 검증하기 위한 과학적인 검지방법이나 분석기술의 개발이 필요하다.

방사선 조사식품의 검지방법에 관한 연구는 여러 국제기구 및 국가기관의 지원하에 선진국에서 연구가 진행되어 왔으며, 그 결과 방사선 조사시 식품에서 일어나는 화학적, 생물학적, 물리적 변화에 기초한 검지방법을 개발하였고 검지확률을 높이기 위한 연구가 계속 진행되고 있다. 지금까지 연구된 방사선 조사식품에 대한 검지방법은 식품의 휘발성 물질인 hydrocarbon류 또는 2-alkylcyclobutanone류를 검출하는 화학적인 방법(5,6), comet assay, DEFT/APC 등의 생물학적 방법(7-17), TL (thermoluminescence)(18-21), PSL (photostimulated luminescence)(22), ESR(electron spin resonance) spectroscopy(23-26) 등의 분석기기를 이용하는 물리적 방법 등이 제시되고 있다.

이들 방법 중 ESR spectroscopy를 이용한 검지방법은 가장 유망한 방법 중 하나로서, 방사선 조사시 입사된 에너지의 일부가 분자결합을 붕괴시켜 방출된 이온이나 자유라디칼들을 검지할 수 있는 방법으로 뼈나 씨, 셀룰로오즈 그리고

*Corresponding author. E-mail: jsyang2@nanum.kaeri.re.kr
Phone: 82-42-868-8064, Fax: 82-42-868-8064

sugar를 함유한 저 수분 함유식품에 방사선 조사식품의 검지기술로 적용하고 있다(27,28).

본 연구는 국내에서 많이 소비되고 있는 6종의 조개류를 선택하여 방사선을 조사한 후, ESR spectroscopy를 이용하여 방사선 처리되지 않은 시료와의 차이를 검토하였고, 방사선 조사선량에 따라 방사선 처리된 조개류의 신호차이를 살펴봄으로써 조사여부와 함께 개략적인 선량판정에 유용한 과학적 근거를 제시함으로써 이들 방사선 조사된 조개류의 검출법으로써 ESR spectroscopy 방법이 어느 정도 가능한지를 알아보았다.

재료 및 방법

재료

모시조개(*Short-neck clam*), 개조개(*Purple washington clam*), 맛조개(*Jack-knief clam*), 바지락(*Freshwater clam*), 홍합(*Hard-shell mussel*)은 신선한 것을, 가리비(*Scallop*)는 냉동된 것을 대전에 소재하는 수산시장에서 구입하여 80~100 g씩 15×15 cm의 PE(polyethylene)로 만들어진 bag으로 포장하여 냉동 후, 한국원자력 연구소의 방사성 동위원소 Co-60을 이용하여 상온에서 16.6 Gy/min의 속도로 각 시료마다 3개씩 0, 1, 3, 5 그리고 7 kGy의 선량이 되도록 감마선을 조사하여 실험재료로 이용하였다.

시료 전처리

감마선 조사 후 조개살들은 메스를 이용하여 완전히 제거한 후 조개 겉표피를 50 mL 플라스틱 병에 넣고 동결건조기(SFDSF12, Samwon Freezing Engineering Co., Korea)에서 18시간 이상 동결건조한 다음 밀폐용기에 담아 5±1°C에서 보관하였다가 분석 전 막자사발을 이용하여 분말로 만들었다.

ESR 측정

ESR 측정은 ESR X-band spectrometer(Bruker ESP 300 spectrometer, Bruker Instruments Inc., Germany)를 이용하였다. 각 종류별로 선량마다 3개씩의 시료를 직경 4 mm의 ESR 전용 석영튜브에 각각 200 mg씩 넣은 후 이 튜브를 spectrometer내 필요한 자장을 걸어줄 수 있는 강한 전자석 양극사이의 공명기에 넣고 일정한 파장의 마이크로웨이브에서 자장강도를 에너지 흡수가 관찰될 때까지 올려서 측정하였다. 또한 일정기간 후에도 방사선 조사로 형성된 라디칼을 확인할 수 있는지를 알아보기 위하여 시료를 5±1°C에서 9주간 보관한 후 ESR 신호를 측정하였다.

방사선 조사된 조개류의 ESR spectroscopy 측정시 사용된 조건에 있어서 magnetic center field는 3480 G, microwave frequency는 9.70 GHz, microwave power는 2.00 mW, signal channel의 time constant는 5.120 ms, receiver gain은 1×10^4 , modulation amplitude는 2.00 G 그리고 modulation

frequency는 100 kHz의 조건으로 상온에서 실시하였다.

결과분석

ESR 측정 결과는 Bruker Win-EPR과 Simponia의 소프트웨어 프로그램을 이용하여 기록하였다. ESR 분광곡선은 적용자장에 대한 흡수곡선의 일차미분으로 나타내었다. ESR 신호의 강도는 일차미분 분광곡선의 이중적분으로 즉 흡수 분광곡선 아래의 총면적으로 정량화하여 시료별 선량마다 3개씩을 평균내어 평균±표준편차로 나타내었다. 걸어준 자장(magnetic field)과 microwave frequency의 값들의 비인 g-value로 ESR 특성 peak를 나타내었다.

결과 및 고찰

ESR spectra

비조사된 조개류(a)와 5 kGy에서 조사된 조개류(b)에 대한 전형적인 ESR spectra는 Fig. 1과 같다. 모시조개, 개조개, 바지락, 맛조개는 A type에서처럼 서로 같은 모양이었으며, 홍합과 가리비는 B type에서처럼 또 다른 모양의 ESR spectra를 나타내었다. 모시조개 등의 조사된 시료(b)는 $g_1=2.003 \pm 0.00070$, $g_2=1.998 \pm 0.00002$, 홍합 등의 조사된 시료(b)는 $g_1=2.002 \pm 0.00010$, $g_2=1.998 \pm 0.00006$ 에서 특유의 비

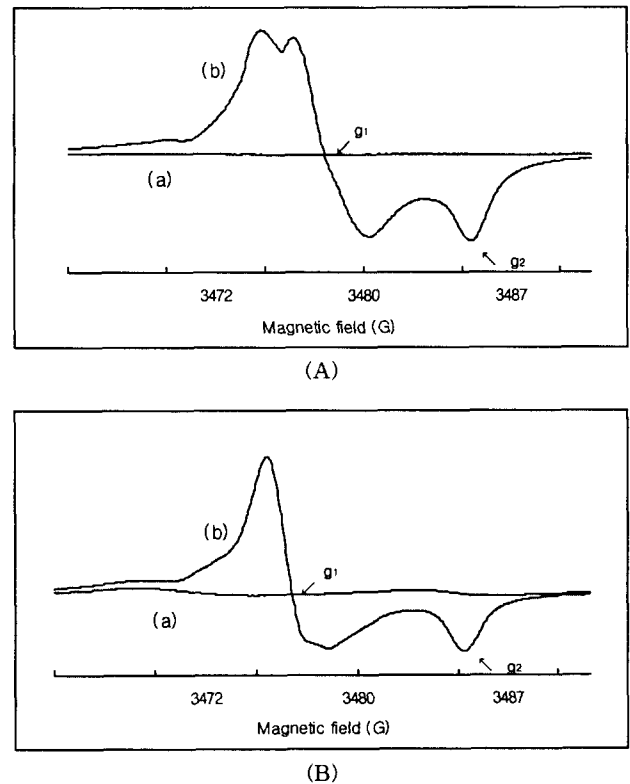


Fig. 1. Typical ESR signal spectra derived from (a) non-irradiated and (b) irradiated shellfishes at 5 kGy.

A: $g_1=2.003 \pm 0.00070$, $g_2=1.998 \pm 0.00002$.

B: $g_1=2.002 \pm 0.00010$, $g_2=1.998 \pm 0.00006$.

대칭 신호를 나타내었다. 한편, 비조사된 시료(a)에서는 이러한 비대칭 신호가 나타나지 않아 조사시료와 비조사시료의 구별이 가능하였다. 본 연구의 최저선량 범위인 1 kGy에서도 검지가 가능하였는데 Dodd 등의 연구 결과(29)에서는 5 Gy까지 검지가 가능한 것으로 보고하였다.

조사선량의 변화에 따른 ESR 신호

Fig. 2는 조사선량에 따른 조개류 즉 모시조개, 개조개, 맛조개, 바지락, 홍합, 가리비의 ESR 신호의 총면적을 나타낸 것이고, Table 1은 조사선량에 따른 조개류의 ESR 면적 사이의 회귀식과 coefficient(R²)를 나타낸 것이다. 각 조사선량에서 종류간의 ESR 신호 크기를 비교하여 보았을 때, 모시조개, 바지락, 개조개는 맛조개보다, 가리비는 홍합보다 같은 조사선량에서 신호크기가 적게 나타남을 알 수 있었다. 가리비와 홍합에서는 1~7 kGy의 적용선량 범위에서 조사선량의 증가에 따라 ESR 신호의 크기는 증가하였고, 회귀식은 각각 $y=7.46 \times 10^7 x^{0.5873}$ (R²=0.9652), $y=8.96 \times 10^7 x^{0.6879}$ (R²=0.9896)로 나타났다. 반면, 모시조개($y=6.24 \times 10^7 x^{0.3286}$, R²=0.9136), 바지락($y=4.98 \times 10^7 x^{0.4944}$, R²=0.9868), 맛조개($y=8.18 \times 10^7 x^{0.5125}$, R²=0.9158), 개조개($y=4.53 \times 10^7 x^{0.6064}$, R²=0.9251)는 5 kGy와 7 kGy의 선량간에 신호크기는 크게 차이를 나타

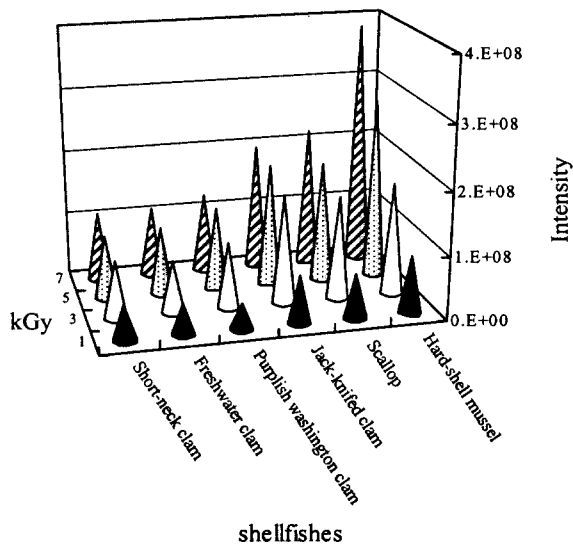


Fig. 2. ESR signal areas derived from dose-dependent ESR signal responses in irradiated shellfish.

Table 1. Linear regression of irradiation dose and ESR signal area in irradiated shellfishes

Shellfish	Regression equation ¹⁾	R ²
Short-Necked Clam (<i>Cyclina sinensis</i>)	$y=6.24 \times 10^7 x^{0.3286}$	0.9136
Purplish Washington Clam (<i>Saxidomus purpuratus</i>)	$y=4.53 \times 10^7 x^{0.6064}$	0.9215
Freshwater Clam (<i>Amygdalum</i>)	$y=4.98 \times 10^7 x^{0.4944}$	0.9868
Jack-Knifed Clam (<i>Sinonovacula constricta</i>)	$y=8.18 \times 10^7 x^{0.5125}$	0.9158
Scallop (<i>Patinopectin yessoensis</i>)	$y=7.46 \times 10^7 x^{0.5873}$	0.9652
Hard-Shell Mussel (<i>Mytilus crassitesta</i>)	$y=8.96 \times 10^7 x^{0.6879}$	0.9896

¹⁾x: irradiation dose, y: ESR signal area.

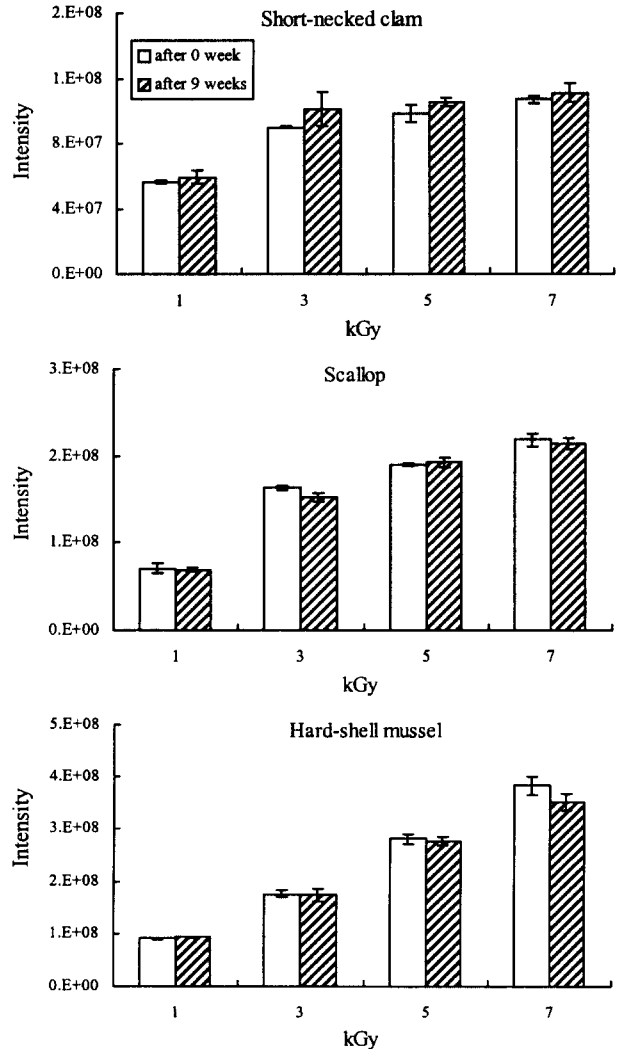


Fig. 3. ESR signal changes of short-neck clam, scallop and hard-shell mussel stored at 5°C.

내지 않았으나, 1~5 kGy의 적용선량 범위에서 조사선량의 증가에 따라 신호크기가 증가하였다. 이 결과는 0.05~10 kGy의 적용선량으로 연구한 결과 0.05~4 kGy까지 비례적으로 증가하였다는 Bögl의 연구결과(30)와 비슷하였다.

일정기간 후 ESR signal의 변화

저장 중 라디칼의 안정성을 알아보기 위하여 일정기간 후, 조사된 모시조개, 가리비, 홍합에 대한 ESR 신호 크기의 변

화를 알아본 결과는 Fig. 3과 같다. $5\pm 1^\circ\text{C}$ 에서 9주 후, ESR 신호는 0주째와 비교하여 볼 때 모시조개, 가리비, 홍합의 신호크기는 거의 변화가 없었다. 따라서 $5\pm 1^\circ\text{C}$ 에서 9주 후에도 ESR spectroscopy를 이용하여 방사선 조사의 여부 및 개략적인 선량측정이 가능하였다.

요 약

본 연구는 ESR spectroscopy를 이용하여 조개류의 방사선 조사 여부와 조사선량에 따른 ESR 신호의 크기 및 신호의 안전성을 확인하였다. 실험결과 방사선 조사된 모시조개, 개조개, 맛조개, 바지락은 $g_1=2.003\pm 0.00070$, $g_2=1.998\pm 0.00002$, 홍합과 가리비는 $g_1=2.002\pm 0.00010$, $g_2=1.998\pm 0.00006$ 에서 특유의 비대칭 신호를 나타내어 비조사시료와 확실하게 구별되었다. 조사선량의 증가에 따라 R^2 값이 0.9136~0.9896의 범위로 거의 모든 시료에서 조사선량의 증가에 따라 ESR 신호의 크기는 비례적으로 증가하였다. 또한 이들 신호의 크기는 $5\pm 1^\circ\text{C}$ 에서 9주간 저장한 시료에서도 안정하게 남아있어 방사선 조사여부의 판별은 저장 후에도 가능하였다. 따라서 방사선 조사된 조개류에 대한 ESR spectroscopy를 이용한 검지 방법은 빠르고 확실한 방법으로써 유용한 검지기술임을 알 수 있었다.

감사의 글

본 연구는 2000년도 과학기술부 중장기 연구과제의 일부로 수행된 것으로 지원에 감사드립니다.

문 헌

1. 변명우: 방사선 조사식품. 국민영양, **3**, 9-17 (1999)
2. Yang, J.S.: Food irradiation: An alternative technology for an emerging need. *J. Korean Nuclear Society*, **30**, 75-82 (1998)
3. Raffi, J., Hasbany, C., Lesgards, G. and Ochin, D.: ESR detection of irradiated seashells. *Appl. Radiat. Isot.*, **47**, 1633-1636 (1996)
4. Kilgren, M.B.: Economic benefits of irradiation of molluscan shellfish in Louisiana. In *cost benefit aspects of food irradiation processing*, IAEA, Vienna, p.89-101 (1993)
5. Morehouse, K.M. and Ku, Y.: Identification of irradiated foods by monitoring radiolytically produced hydrocarbons. *Radiat. Phys. Chem.*, **42**, 359-362 (1993)
6. Choi, C.R. and Hwang, K.T.: Detection of hydrocarbons in irradiated and roasted sesame seeds. *JAOCs*, **74**, 469-472 (1997)
7. Fairbairn, D.W., Olive, P.L. and O'Neill, K.L.: The comet assay: a comprehensive review. *Mutat. Res.*, **339**, 37-59 (1995)
8. Cerda, H., Delincee, H., Haine, H. and Rupp, H.: The DNA 'Comet assay' as a rapid screening technique to control irradiated food. *Mutat. Res.*, **375**, 167-181 (1997)
9. Betts, R.P., Farr, L., Banked, P. and Stringer, M.F.: The detection of irradiated foods using the direct epifluorescent filter technique. *J. Appl. Bacteriol.*, **64**, 329-335 (1988)
10. 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. *Food Sci. Technol.*, Today, **8**, 106-107 (1994)
11. Kawamura, Y., Miura, A., Sugita, T., Yamada, T. and Saito, Y.: Application of half-embryo test to irradiated apples and cherries. *Radiat. Phys. Chem.*, **46**, 371-375 (1995)
12. Kawamura, Y., Murayama, M., Uchiyama, S. and Saito, Y.: Development of half-embryo test germination test for detection of irradiated fruits and grains. In *Detection methods for irradiated foods: Current status*, McMurray, C.H., Stewary, E.M., Gray, R. and Pearce, J. (eds.), The Royal Society of Chemistry, Cambridge, U.K., p.383-391 (1996a)
13. Kawamura, Y., Sugita, T., Yamada, T. and Saito, Y.: Half-embryo test for identification of irradiated citrus fruit: Collaborative study. *Radiat. Phys. Chem.*, **48**, 665-668 (1996b)
14. Zhu, S.: Detection of irradiated wheat by germination. *Radiat. Phys. Chem.*, **42**, 421-424 (1993)
15. Hamilton, L., Elliot, C.T., Boyd, D.R., McCaughey, W.J., McEvoy, J.D.G. and Stevenson, M.H.: The use of cyclobutanones in the development of an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for the detection of irradiated food. *Food Sci. Technol.*, Today, **8**, 100-101 (1994)
16. Hamilton, L., Elliot, C.T., Boyd, D.R., McCaughey, W.J. and Stevenson, M.H.: The use of 2-substituted cyclobutanones in the development of an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for the detection of irradiated foods. In *Detection methods for irradiated foods: Current status*, McMurray, C.H., Stewart, E.M., Gray, R. and Pearce, J. (eds.), The Royal Society of Chemistry, Cambridge, U.K., p.285-292 (1996a)
17. Hamilton, L., Elliot, C.T., Boyd, D.R., McCaughey, W.J. and Pearce, J.: The use of cyclobutanones in the development of an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for the detection of irradiated lipid-containing foods. *Food Sci. Technol.*, Today, **10**, 180-181 (1996b)
18. Oduko, J.M. and Spyrou, N.M.: Thermoluminescence of irradiated foodstuffs. *Radiat. Phys. Chem.*, **36**, 603-607 (1990)
19. Schreiber, G.A., Hoffmann, A., Helle, N. and Bögl, 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)
20. Mamoon, A., Zaheer, A. and Abu-Abdullah, S.: Variation in thermoluminescence of irradiated brans of food stuffs: A test for hygienic quality. *Radiat. Phys. Chem.*, **48**, 683-687 (1996)
21. Anderle, N., Steffan, I., Wild, E. and Hille, P.: Radiolytic chemiluminescence of bones and seafood shells: A new promising method for the detection of food irradiation. *Fresenius J. Anal. Chem.*, **354**, 925-928 (1996)
22. Sanderson, D.: Photostimulated luminescence (PSL): A new approach to identifying irradiated foods. BCR workshop, 13-15, February (1990)
23. Raffi, J. and Stocker, P.: Electron paramagnetic resonance detection of irradiated foodstuffs. *Appl. Magn. Reson.*, **10**, 357-373 (1996)
24. Raffi, J., Belliardo, J.J. and Agnel, J.P.: Application of ESR to identification of irradiated foodstuffs. *J. Chem. Phys.*, **91**, 1913-1929 (1994)
25. Raffi, J.J. and Benzaria, S.M.: Identification of irradiated foods by electron spin resonance techniques. *J. Radiat. Ster.*, **1**, 282-304 (1993)
26. Desrosiers, M.F.: Current status of the EPR method to detect irradiated food. *Appl. Radiat. Isot.*, **147**, 1621-1628 (1996)

27. Gray, R. : *New physico-chemical techniques for the characterization of complex food system*: Electron spin resonance spectroscopy for detection of irradiated food. Glasgow (United Kingdom), Blackie, p.86-108 (1995)
28. Yang, J.S. : General survey detection methods for irradiated foods. *J. Korean Nuclear Society*, **29**, 500-507 (1997)
29. Dodd, N., Lea, J. and Swallow, A. : ESR detection of irradiation of irradiated food. *Nature*, **334**, 387 (1988)
30. Ziegelmann, B., Bögl, K.W. and Schreiber, G.A. : TL and ESR signals of molluscan shells correlations and suitability for the detection of irradiated foods. *Radiat. Phys. Chem.*, **54**, 413-423 (1999)

(2000년 12월 1일 접수)