

Free radical의 측정을 통한 감마선 조사된 밀가루와 찹쌀가루의 검지

이은정 · 양재승*

한국원자력연구소 식품검지실

Detection of Gamma-Irradiated Wheat Flour and Glutinous Rice Flour by Measuring Free Radical

Eun-Jeong Lee and Jae-Seung Yang*

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

Electron spin resonance (ESR) spectroscopy was used to detect free radicals in irradiated wheat flour and glutinous rice flour. They were irradiated with doses of 0, 0.1, 0.5, 1 and 2 kGy at room temperature using a Co-60 irradiator. Free radicals detected for irradiated wheat flour and glutinous rice flour were higher than those of unirradiated ones. Since concentration of free radicals linearly increased with applied doses (0.1~2 kGy), highly positive correlation coefficients ($R^2 = 0.9995 \sim 0.9998$) were obtained between irradiation doses and free radical concentrations right after irradiation. Although concentration of free radicals slowly decreased with storage time, the characteristic ESR signals of free radical in irradiated samples were observed even after 4 weeks of storage at room temperature.

Key words: wheat flour, glutinous rice flour, ESR spectroscopy, free radicals, irradiation

서 론

식품의 방사선 조사는 1921년 미국에서 처음으로 제안된 이래, 1950년대 이후부터 많은 나라에서 발아나 속도의 억제, 부패미생물의 살균 등으로 식품의 저장 기간을 늘리고, 병원성 미생물을 감소시켜 식품의 위생, 안정성을 증가시키기 위해 사용되고 있다^(1,2). 현재 50여 개국에서 식품의 방사선 조사를 허가하고 있으며, 우리나라를 포함한 약 40개국에서는 상업적으로 조사식품을 생산하고 있다⁽³⁾.

방사선 조사 식품이 본격적으로 생산되고 있는 현실에서는 방사선 조사 식품에 대한 소비자들의 신뢰를 높이기 위해 표시 규정(labeling)을 확립한 필요가 있으며 표시 규정을 확립하기 위해 방사선 조사 여부 검지 방법이 요구된다⁽⁴⁾.

방사선 조사 식품의 검지방법은 화학적 방법, 물리적 방법, 생물학적 방법으로 나눌 수 있다. 화학적 방법은 휘발성 물질인 hydrocarbon^(5,6) 및 2-alkylcyclobutanone의 정량법^(7,8)이 있으며, 식품의 단백질이 분해되어 새로운 화합물을 생성하거나 응집할 때 이것을 분리, 동정, 정량함으로써 조사유무

를 검출하는 방법이다⁽⁹⁾. 물리적 방법은 ESR(electron spin resonance spectroscopy)⁽¹⁰⁻¹²⁾, TL(thermoluminescence)^(13,14), PSL(photostimulated luminescence)⁽¹⁵⁾ 등의 분석기기를 이용하여 분석하는 방법이다⁽¹⁶⁾. 생물학적 방법은 미생물상의 변화를 비교하는 DEFT/APC법⁽¹⁷⁾, DNA변화를 검출하는 DNA comet assay^(18,19) 등이 알려져 있다⁽⁹⁾. 이 중 ESR spectroscopy는 방사선 조사시 입사된 에너지의 일부가 분자결합을 붕괴시켜 방출된 이온이나 자유라디칼을 측정할 수 있으며, 다른 방법들에 비해 시료준비가 간편하고 신속하여 비파괴적인 검지기술로 알려져 있다^(12,20).

국내 분말식품의 ESR spectroscopy를 이용한 연구로는 효소분말⁽²¹⁾과 건조조미분말식품⁽²²⁾에 관한 보고가 있으나 곡류 분말에 관한 연구는 전무한 실정이다.

본 연구는 국내에서 많이 소비되고 있는 곡류분말 중 밀가루와 찹쌀가루를 ESR spectroscopy를 이용하여 free radical을 측정함으로써 방사선 조사여부 판별과 저장기간에 따른 조사여부 판별의 가능성을 알아보았다.

재료 및 방법

시료 및 전처리

본 실험에 사용된 시료는 시중에 판매되고 있는 밀가루와 찹쌀가루를 100 g씩 pyrex tube에 넣고 밀봉하여 한국원자력연구소의 선원 100,000 Ci Co-60 감마선 조사시설(AECL IR-

*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
E-mail: jsyang2@kaeri.re.kr

79, Canada)을 이용하여 상온에서 각 시료를 0, 0.1, 0.5, 1 및 2 kGy의 총 흡수선량을 얻도록 조사하였으며, 흡수선량은 ceric cerous dosimeter로 확인하였다.

ESR 측정

방사선 조사로 생성된 라디칼은 ESR X-band spectrometer (Bruker EPR 300 spectrometer, Bruker Instruments Inc., Germany)를 이용하여 측정하였다. 각각의 시료를 직경 4 mm의 ESR 석영튜브에 100 mg씩 넣은 후 이 튜브를 spectrometer내 필요한 자장을 걸어줄 수 있는 전자석의 양극사이에 있는 공명기에 넣은 다음 일정한 파장의 마이크로웨이브에서 에너지 흡수가 관찰될 때까지 자장강도를 올려서 측정한다. 또한 일정기간 후에도 방사선 조사로 생성된 라디칼을 확인할 수 있는지를 알아보기 위하여 시료를 상온(23°C)에서 4주간 보관하면서 일정기간에 따라 ESR 신호를 측정하였다.

방사선 조사된 밀가루와 찰쌀가루의 ESR spectroscopy는 magnetic center field 3475 G, microwave frequency 9.754 GHz, microwave power 5.065 mW, signal channel의 time constant 0.640 ms, sweep time 10.486 s, receiver gain 74dB, modulation amplitude 5.00 G, 그리고 modulation frequency 100 kHz 등의 조건으로 23°C에서 측정하였다.

결과분석

ESR 측정 결과는 Bruker Win-EPR과 Simponia의 소프트웨어

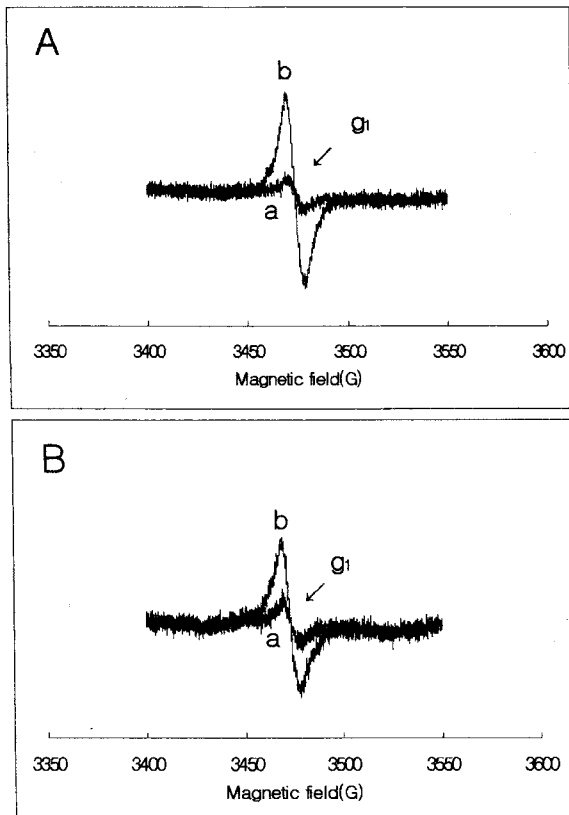


Fig. 1. Characteristic ESR spectra derived from non-irradiated (a) and irradiated (b) wheat flour and glutinous rice flour at 1 kGy.

A: wheat flour, B: glutinous rice flour.

어 프로그램을 이용하여 기록하였으며, ESR 신호는 적용자장에 대한 흡수곡선의 일차미분으로 나타내어 중심 peak의 면적으로 정량화 하였다. 걸어진 자장(magnetic field)과 microwave frequency의 값들의 비인 g-value로 ESR 특성 peak을 나타내었다. 시료별 선량마다 3개씩을 평균내어 평균 \pm 표준편차로 나타내었으며, 단위는 arbitrary unit를 사용하였다.

결과 및 고찰

ESR spectra 및 조사선량에 따른 라디칼 농도

밀가루와 찰쌀가루의 비조사시료와 1 kGy 조사된 시료에 대한 ESR spectra는 Fig. 1과 같다. 비조사시료(a)와 조사시료(b)에서 밀가루는 $g_1 = 2.006 \pm 0.0001$, 찰쌀가루는 $g_1 = 2.006 \pm 0.0002$ 에서 신호를 나타내었으나, 조사시료의 경우 비조사시료와 비교하여 신호의 크기가 매우 커서 비조사시료와 쉽게 구별할 수 있었다. Korkmaz 등⁽²³⁾은 조사전 밀 시료에서 넓고 약한 ESR signal이 보인다고 보고하여 본 연구와 같은 결과를 보였다. 밀가루와 찰쌀가루의 ESR spectra는 Murrieta 등⁽²⁴⁾과 Korkmaz 등⁽²³⁾의 밀의 ESR spectra와 같은 형태를 나타내었다.

밀가루와 찰쌀가루의 감마선 처리선량에 따른 라디칼 농도의 변화를 Fig. 2에 나타내었다. 모든 선량 (0.1~2 kGy)의 범위에서 조사선량이 증가함에 따라 라디칼의 농도가 증가함을 알 수 있었다. 이러한 결과는 Korkmaz 등⁽²³⁾의 연구결과, 조사후 ESR signal 강도는 0.3~2.4 kGy 범위에서 조사선량이 증가함에 따라 비례적으로 증가한다는 보고와 일치하였다. Table 1은 조사선량과 생성된 라디칼의 농도와의 회귀식과 상관계수를 나타낸 것으로 밀가루에서는 $y = (8.45x + 1.75) \times 10^6$, 찰쌀가루에서는 $y = (6.00x + 3.71) \times 10^6$ 으로 나타났고, 선량의 증가에 따른 free radical 농도의 증가를 나타낸 R² 값은 각각 0.9995와 0.9998의 높은 값을 나타내었다.

저장기간에 따른 라디칼 농도의 변화

감마선 조사후 저장유통기간 중에도 방사선 조사로 생성된 라디칼의 측정이 가능한지를 알아보기 위하여 ESR 신호 크기의 변화를 알아본 결과는 Fig. 3과 같다. 이들 신호크기

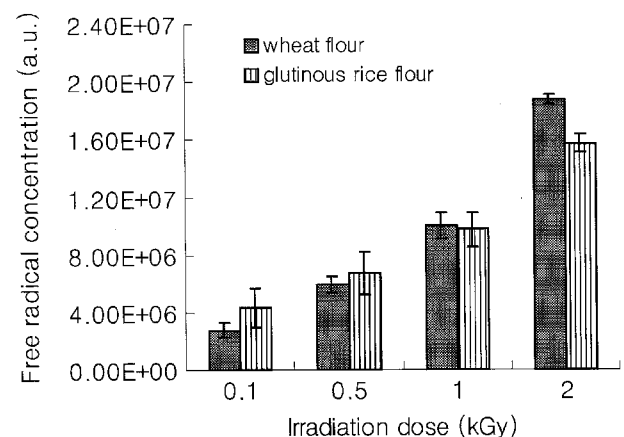


Fig. 2. Free radical concentration derived from irradiated wheat flour and glutinous rice flour.

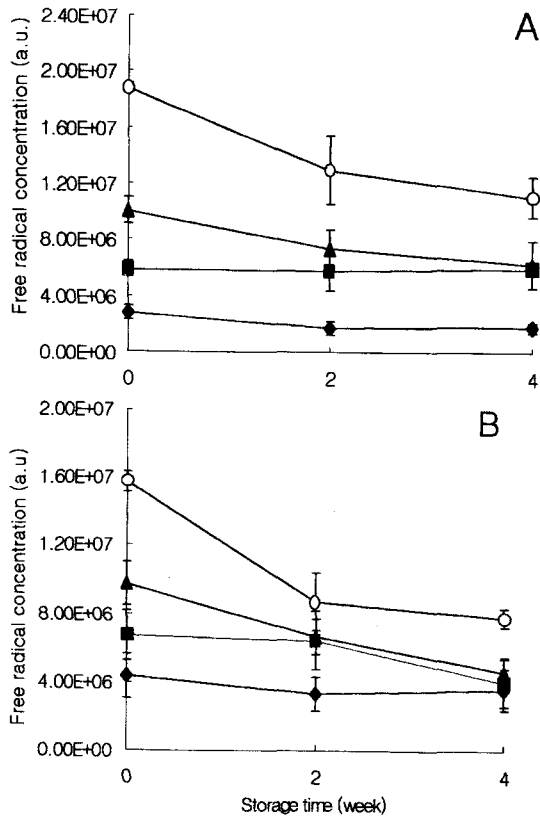


Fig. 3. Changes in free radical concentrations of irradiated wheat flour and glutinous rice flour during storage at room temperature (23°C).

A: wheat flour, B: glutinous rice flour.

-◆-; 0.1 kGy, -■-; 0.5 kGy, -▲-; 1 kGy, ○-; 2 kGy.

는 0주째와 비교하여 2주까지는 감소량이 컸지만 2주 이후에는 비교적 감소량이 적었다. 또한 0.1 kGy의 선량에 비해 2 kGy의 선량에서는 라디칼 농도의 감소가 크게 나타나 선량이 높을수록 라디칼 농도의 감소폭이 컸음을 알 수 있었다. Murrieta 등⁽²⁴⁾의 연구결과에서 방사선 조사된 oat, corn 및 wheat에서 free radical이 15~40일 사이에 거의 안정적인 결과를 나타낸다고 보고하여 본 연구결과와 유사하였다. 밀가루와 찰쌀가루는 4주간의 저장기간 후에도 ESR 특성신호를 나타내어 조사시료와 비조사시료를 확실히 구별할 수 있었다. 4주간의 저장기간 동안에 측정된 라디칼 농도와 조사선량과의 관계는 회귀식(Table 1)에서 밀가루는 0주째와 비교하여 2주 후 $y = (8.45x + 1.75) \times 10^6$ 에서 $y = (5.59x + 1.87) \times 10^6$ 으로, 4주 후인 $y = (4.44x + 2.25) \times 10^6$ 에 비해 라디칼 농

도의 감소 폭이 컸다. 찰쌀가루는 0주째 $y = (6.00x + 3.71) \times 10^6$ 에서 2주 후 $y = (2.49x + 4.03) \times 10^6$, 4주 후 $y = (2.25x + 2.94) \times 10^6$ 으로 2주까지는 라디칼 농도가 크게 감소하였지만 2주 이후로는 거의 변화가 없었다. 4주 후 조사선량과 생성된 라디칼 농도 간의 상관계수인 R² 값은 밀가루와 찰쌀가루가 0.9217, 0.9378의 높은 상관관계를 보였다.

밀가루와 찰쌀가루 모두에서 일정기간 후에도 감마선 조사로 생성된 라디칼이 남아있어 상온에서 4주 후에도 ESR spectroscopy를 이용하여 방사선 조사의 여부를 확인 할 수 있었다.

요 약

본 연구는 ESR spectroscopy를 이용하여 free radical 농도를 측정함으로써 밀가루와 찰쌀가루의 방사선 조사여부를 일정기간 후에도 확인할 수 있는지를 알아보았다. 밀가루와 찰쌀가루를 0, 0.1, 0.5, 1 및 2 kGy로 Co-60 감마선을 조사한 후, 이를 시료로 Bruker-EPR spectroscopy를 이용하여 측정하였다. 실험결과 비조사시료와 조사시료 모두에서 밀가루는 $g_1 = 2.006 \pm 0.0001$, 찰쌀가루는 $g_1 = 2.006 \pm 0.0002$ 에서 신호를 나타내었으나, 조사시료의 경우 비조사시료와 비교하여 신호의 크기가 매우 커서 비조사시료와 쉽게 구별할 수 있었다. 적용선량의 범위에서 (0.1~2 kGy) 조사선량이 증가함에 따라 free radical 농도는 비례적으로 증가하였으며, 선량의 증가에 따른 free radical 농도의 증가를 나타낸 R² 값은 0.9995~0.9998의 높은 값을 나타내었다. 또한 이들 신호는 4주간의 저장기간 후에도 관찰할 수 있어 ESR spectroscopy를 이용한 밀가루와 찰쌀가루의 방사선 조사여부 판별은 4주간의 저장후에도 측정 가능한 방법임을 알 수 있었다.

감사의 글

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

문 헌

1. Diehi, J.F. Potential and current applications of food irradiation, pp. 291-339. In: Safety of Irradiated Foods. 2nd ed., Marcel Dekker Inc., New York, USA (1995)
2. Schreiber, G.A., Helle, N. and Bögl, K.W. Detection of irradiated food methods and routine application. Int. J. Radiat. Biol. 63: 105-130 (1993)

Table 1. Linear regression between irradiation doses (0.1~2 kGy) and free radical concentrations of wheat flour and glutinous rice flour (unit: arbitrary unit)

Storage time(week)	Wheat flour		Glutinous rice flour	
	Regression equation ¹⁾	R ²²⁾	Regression equation	R ²
0	$y = (8.45x + 1.75) \times 10^6$	0.9995	$y = (6.00x + 3.71) \times 10^6$	0.9998
2	$y = (5.59x + 1.87) \times 10^6$	0.9736	$y = (2.49x + 4.03) \times 10^6$	0.8363
4	$y = (4.44x + 2.25) \times 10^6$	0.9217	$y = (2.25x + 2.94) \times 10^6$	0.9378

¹⁾x=irradiation dose, y=free radical concentration.

²⁾R²=correlation between irradiation doses and free radical concentrations.

3. Lee, E.Y., Jeong, J.Y., Noh, J.E., Jo, D.J. and Kwon, J.H. Detection characteristics of TL, ESR and DNA Comet for irradiated soybeans. *Korean J. Food Sci. Technol.* 34: 18-23 (2002)
4. Kim, H.K., Kang, D.S., Choi, M.G. and Kwon, J.H. Detection of irradiated dried cereals from Korea and China by viscometric method. *Korean J. Food Sci. Technol.* 33: 645-650 (2001)
5. Morehouse, K.M., Kiesel, M. and Ku, Y. Identification of meat treated with ionizing radiation by capillary gas chromatographic determination of radiolytically produced hydrocarbons. *J. Agric. Food Chem.* 41: 758-763 (1993)
6. Schreiber, G.A., Schulzki, G., Spiegelberg, A., Helle, N. and Bögl, K.W. Evaluation of a gas chromatographic method to identify irradiated chicken, pork and beef by detection of volatile hydrocarbons. *J. AOAC Int.* 77: 1201-1217 (1994)
7. 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-dodecylcyclobutanone as a marker for irradiated chicken. *J. Agric. Food Chem.* 39: 789-792 (1991)
8. Stevenson, M.H., Crone, A.V.J., Hamilton, J.T.G. and McMurray, C.H. The use of 2-dodecylcyclobutanone for the identification of irradiated chicken meat and eggs. *Radiat. Phys. Chem.* 42: 363-366 (1993)
9. Yang, J.S. Methods for identification of irradiated foods. *J. Food Hyg. Safety*, 12: 160-174 (1997)
10. Desrosiers, M.F. and McLaughlin, W.L. Examination of gamma-irradiated fruits and vegetables by electron spin resonance spectroscopy. *Radiat. Phys. Chem.* 34: 895-898 (1989)
11. Stewart, E.M., Stevenson, M.H. and Gray, R. Detection of irradiation-in scampi tails-effects of sample dose and storage on ESR resonance in the cuticle. *Int. J. Food Sci. Technol.* 27: 125-132 (1992)
12. Raffi, J.J. and Benzaria, S.M. Identification of irradiated foods by electron spin resonance techniques. *J. Radiat. Steril.* 1: 281-304 (1993)
13. Schreiber, G.A., Ziegelmann, B., Quitzsch, G., Helle N. and Bögl, K.W. Luminescence techniques to identify the treatment of food by ionizing radiation. *Food Structure* 12: 385-396 (1993)
14. Schreiber, G.A., Helle N. and Bögl, K.W. An interlaboratory trial on the identification of irradiated spices, herb and spice-herb mixtures by thermoluminescence analysis. *J. AOAC Int.* 78: 88-93 (1995)
15. Sanderson, D. Photostimulated luminescence (PSL). A new approach to identifying irradiated foods. *BCR workshop*: 13-15 (1990)
16. 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: 425-429 (2000)
17. Wirtanen, G., Sjöberg, A.M., Boisen, F. and Alanko, T.: Microbiological screening method for indication of irradiation of spices and herb. A BCR Collaborative study. *J. AOAC Inc.* 76: 674-681 (1993)
18. Fairbairn, D.W., Olive, P.L. and O'Neill, K.L. The comet assay: a comprehensive review. *Mutat. Res.* 339: 37-59 (1995)
19. Cerda, H., Delincée, 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)
20. Stachowicz, W., Strzelozak-Burlinska G. and Michalik, J. Application of electron paramagnetic resonance (EPR) spectroscopy for control of irradiated food. *J. Sci. Food Agric.* 58: 407-415 (1992)
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. Nam, H.S., Ly, S.Y. and Yang, J.S. Effect of irradiation dose and storage time on the free radical concentrations in gamma-irradiated dried seasoning powder. *J. Food Sci. Nutr.* 7: 57-61 (2002)
23. Korkmaz, M. and Polat, M. Free radical kinetics of irradiated durum wheat. *Radiat. Phys. Chem.* 58: 169-179 (2000)
24. Murrieta, H.S., Munoz, E.P., Adem, E., Burillo, G., Vazquez, M. and Cabrera, E.B. Effect of irradiation dose, storage time and temperature on the ESR signal in irradiated oat, corn and wheat. *Appl. Radiat. Iso.* 47: 1657-1661 (1996)

(2002년 2월 5일 접수)