

실험적 간 발암모델에서 감마선 조사 돼지고기 섭취가 전암성병변의 생성, 약물대사 효소계 및 소포체 막 안정성에 미치는 영향*

김 미 정 · 김 정 희[§]

서울여자대학교 식품과학부 식품영양학전공

Effects of γ -Irradiated Pork Feeding on Preneoplastic Hepatic Lesion, Cytochrome P450 System and Microsome Glucose 6-Phosphatase Activity in Rat Hepatocarcinogenesis*

Kim, Mi Joung · Kim, Jung Hee[§]

Division of Food and Nutrition, College of Natural Sciences, Seoul Women's University, Seoul 139-774, Korea

ABSTRACT

This study was done to investigate effects of γ -irradiated pork feeding on the formation of glutathione S-transferase placental form positive (GST-P⁺) foci, lipid peroxidation, cytochrome P450 system and microsomal glucose 6-phosphatase activity in diethylnitrosamine (DEN)-initiated rat hepatocarcinogenesis. Weaning Sprague-Dawley male rats were fed the diet containing γ -irradiated ground pork at the dose of 0, 3, 10, 30 kGy as a 20% of protein source for 8 weeks. One week after feeding, rats were intraperitoneally injected twice with a dose of DEN (50 mg/kg BW). As a promoter, 0.05% phenobarbital was fed in drinking water from one week after DEN treatment until the end of experiment. At the end of 8th week, rats were sacrificed and hepatic GST-P⁺ foci, microsomal malondialdehyde (MDA) and conjugated diene contents were determined. In addition, cytochrome P450 content and the activities of NADPH cytochrome P450 reductase and glucose 6-phosphatase were also measured. There was no significant effect by gamma irradiation on microsomal MDA content, conjugated diene, cytochrome P450 content and activities of NADPH cytochrome P450 reductase and glucose 6-phosphatase. However with DEN treatment, microsomal MDA content showed a increasing tendency. Cytochrome P450 content was also significantly increased while microsomal glucose 6-phosphatase activity was significantly decreased with DEN treatment. However the activity of NADPH cytochrome P450 reductase was not affected. An interesting finding in this study was that the number and area of hepatic GST-P⁺ foci of rats fed gamma irradiated pork were tended to be decreased by high dose of irradiation, but were not significantly different. These results might imply that the consumption of low dose of gamma irradiated pork does not affect the formation of hepatic GST-P⁺ foci and lipid peroxide and membrane stability. (*Korean J Nutrition* 35(6) : 643~649, 2002)

KEY WORDS: γ -irradiated pork, GST-P⁺ foci, lipid peroxidation, rat hepatogenesis, cytochrome P450, glucose 6-phosphatase.

서 론

최근 국민 소득의 증대와 더불어 질적으로 좋은 품질의 식품을 선호하는 동시에 외관상으로도 보기 좋은 식품을 선호하는 경향이 있어 식품의 저장법에 관한 연구들이 많이 이루어지고 있다. 따라서 보다 효과적이고 안전한 저장·가공기술 확보의 요구에 부응하여 국내의 식품산업에서 새로

접수일: 2002년 5월 16일

채택일: 2002년 7월 8일

*This study was supported by research fund of Seoul Women's Institute of Nature Science in 2000.

[§]To whom correspondence should be addressed.

운 가공·저장기술로 인식되며 모두의 관심의 대상이 되고 있는 것이 바로 식품의 방사선 조사기술이다.

방사선 조사기술은 방사선 에너지를 이용하여 오염된 미생물을 사멸시키는 방법으로,¹⁾ 방사선을 이용한 멸균기술은 의료용 기구나 일회용품의 위생화를 위하여 오랜 기간 이용되어 왔지만 상업적인 목적으로 식품에 방사선 조사를 본격적으로 시작한 것은 1992년이였다.²⁾ 세계적으로 40여개국 이 식품의 방사선 조사와 관련된 허가 또는 금지규정을 가지고 있고, 이들 나라 중 한 품목 이상의 식품에 대하여 방사선 조사를 허가한 국가는 39개국에 이르고 있으며,³⁾ 선진국과 개발 도상국을 포함한 30여 개국에서는 상업적으로 방사선 조사식품이 생산되고 있다.⁴⁾ 이들 30개 국가들이 허가

하고 있는 식품류들은 약 115개로써 주로 감자, 양파, 마늘 등 발아·발근억제 대상식품인 근채류가 가장 많고, 그 다음이 향신료, 조미료를 포함한 건조 식품류의 허가 및 실용화가 활발하다.^{3,4)} 국내에서는 1987년 이래 4차례에 걸쳐 10 kGy 이하의 감마선 조사를 제한된 식품에 사용하도록 허가하고 있는데,⁵⁾ 이는 식품의 발아억제, 살충 및 숙도조절 등의 목적에 한하여 실시하고 있기 때문에 허용식품은 건강보조 식품원료와 기초 향신료 및 가공원료에 편중되어 있어 전반적인 식품 산업의 방사선 조사에 대한 산업적 활성화에는 커다란 효과를 주지 못하고 있다. 특히 육류의 경우에는 도살후 미생물이나 식품내 효소에 의한 부패가 짧은 기간내에 빠른 속도로 진행되고 있어 선도를 유지하기 위한 저장법의 개발은 필수적이라 할 수 있다. 최근 육류제품에서 기인된 병원성 대장균의 오염에 의한 식중독 등은 매우 심각한 공중보건 문제로서 이를 해결하기 위한 대처 방안이 필요하다. 따라서 저온살균법인 방사선 조사법은 육류의 병원성 세균 및 기생충 퇴치에 효과적인 살균법으로 대두되고 있다.^{6,7)}

방사선 조사는 식품에 변질 또는 부패를 일으키는 미생물, 기생충, 효소 등을 사멸 또는 불활성화함으로써 식품을 보존할 수 있는 장점이 있는 반면, 조사선량이 과다할 경우 아미노산이나 비타민 등 영양소의 변화나 지질의 과산화를 일으키고,^{8,9)} 적색육의 색소나 풍미에도 영향을 미친다는 보고¹⁰⁾도 있다. 그러나, 최근에는 방사선 조사 육류의 경우 더 안정된 색상을 유지하였다¹¹⁾는 연구결과와 고기내의 지질과 산화물의 생성이 차이가 없다는 상반된 보고들도 있다.¹²⁾ 또한 방사선 조사를 실제로 사용할 때는 조사 식품에 대한 소비자들의 안전성에 대한 논란의 여지가 있다. 방사선 조사시 식품 내에 방사능을 남기지 않는다는 보고들^{13,14)}이 있음에도 불구하고 소비자들은 조사 식품 내에 방사능이 남아 있을 것이라는 생각을 하여 꺼려하고 있는 실정이다. 그러므로 방사선 조사 식품에 대한 안전성의 문제는 장기간에 걸쳐 유독성 물질의 유발, 영양소의 파괴, 유전변이 물질의 유발, 발암성 물질의 유발, 방사성 물질의 유발, 잔류 내성 세균에 의한 유해 등과 같은 문제점에 주안을 두어 다각도로 검토되어야 한다. 특히 육류의 방사선 조사는 일부 외국에서는 이미 사용하고 있지만, 우리나라에서의 육류에 대한 사용 기준이 없어 이를 실용화하기 위해서는 방사선 조사량이나 안전성 점검을 위한 다양한 형태의 연구가 선행되어야 한다. 또한 방사선 조사 쇠고기에 대한 본 연구팀의 과거 연구에서는 조사선량이 5 kGy까지의 낮은 선량을 조사한 쇠고기를 섭취한 쥐에서 약물대사효소계나 지질과산화물 생성정도 및 막의 안정성에 변화가 나타나지 않았고, 전암성

병변의 지표는 오히려 3 kGy 조사 쇠고기를 섭취한 군에서 감소하는 것을 보였다.¹⁵⁾

따라서 본 연구는 방사선 조사 육류의 식품 안전성 확보에 대한 연구의 일환으로 고선량 조사에 의한 지질과산화물 증가가 예상된 돼지고기 섭취가 동물의 발암과정에 미치는 영향을 조사하고자 하였다. 그러므로 본 연구에서는 돼지고기에 대한 방사선 조사선량을 30 kGy까지 증가시켰으며, 화학물질 및 방사선에 의해 유발되는 발암과정 및 간 세포암을 쉽게 측정할 수 있는 간암모델을 이용하여, 전암성 병변의 지표나 약물대사효소계, 소포체의 지질과산화물 생성정도 및 막의 안정성에 미치는 효과를 조사하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 실험 동물 및 실험 식이

80~90 g 정도로 이유된 3주령 Sprague-Dawley 중용군간에 차이가 없도록 난괴법을 사용하여 방사선 조사 선량(0 kGy, 3 kGy, 10 kGy, 30 kGy), DEN 투여 여부에 따라 8군으로 나누어 실험을 실시하였다. 방사선 조사는 그린피어 기술주식회사에 설치되어 있는 ⁶⁰Co γ -radiation를 사용하여 간 돼지고기 시료를 아이스 박스에 담아 시간당 0.7 kGy의 선량률로 3, 10 또는 30 kGy를 조사하였으며, ceramic dosimeter (USA)를 사용하여 총 흡수선량을 확인하였다. 감마선 조사 돼지고기는 비조사 돼지고기와 함께 냉동저장 (-40℃)되어 보관되었다가 식이제조시 해동하여 단백질 대용으로 사용되었다.

실험식은 AIN-76을 변형하여 이용하고 각 군의 실험식은 모든 영양소의 함량을 동일하게 하였으며, Table 1에 나열된 모든 영양소와 다진 돼지고기 (목살)를 모두 식이 혼합기에 넣어 혼합한 후 이것을 pellet 제조기로 pellet을 만들어 건조기에서 말린 후 식이로 사용하였다. 식이 혼합시 돼지고기 첨가량은 돼지고기의 단백질량을 조사하여 이 양

Table 1. Diet composition

| Ingredient | Amount (%) |
|-----------------|------------|
| Corn starch | 68.2 |
| Cellulose | 5.0 |
| Pork protein | 20.0 |
| DL-methionine | 0.3 |
| Corn oil | 2.0 |
| Salt mixture | 3.5 |
| Vitamin mixture | 1.0 |
| Vitamin E | 0.015 |
| BHT | 0.01 |

Composition of salt mixture (AIN 76)

Composition of Vitamin mixture (Oriental yeast)

이 전체 식이의 20%가 단백질이 되도록 환산하여 첨가하였고, 필수 지방산 결핍을 고려하여 모든 군에 옥수수유를 2% 첨가하였다. 발암물질의 투여에 따라 식이 섭취량의 감소가 생기게 되므로 각 군별로 섭취 열량의 차이가 생기는 것을 방지하기 위해서 발암물질 투여군의 섭취량에 맞추어 제한 식이를 실시하였고, 물의 섭취는 제한하지 않았다.

2. 실험설계

3주령 Sprague-Dawley 종을 사용하여 발암물질 투여군은 각 군당 11마리, 발암물질 비투여군은 9마리로 나누었다. 발암물질 투여는 실험개시 1주에 DEN을 체중 kg당 50 mg을 생리식염수에 녹여 2회 복강 투여하고 1주일 후부터 물에 0.05% phenobarbital을 섞어서 공급하였다. 총 사육 기간은 8주로 하였다 (Fig. 1).

3. 시료 수집

실험 동물은 8주 사육하여 단두법으로 희생하고, 희생 후 즉시 간을 절제하여 중량을 측정한 후 좌·우엽에서 일부분을 절제하여 조직면역학적 분석에 이용하고, 나머지 간 중 5 g씩 동일한 간엽을 취하여 균질화한 후 Masmoudi 등¹⁶⁾의 방법에 따라 원심분리하여 cytosol과 microsome을 수집하였다. 수집된 시료는 소량씩 나누어 액체 질소에 급속 동결시켜 -80℃에 보관하였다가 분석시 사용하였다.

4. GST-P⁺ foci 측정

GST 태반형 양성 증식성 병소를 면역조직화학적 염색법¹⁷⁾으로 확인한다. 즉, 간을 좌, 우엽에서 5 mm 두께로 절제하여 cold-acetone에 고정하고 파라핀 블록을 만들어 ABC법 (Vectastain ABC kit, Vector Labs., Burlingame, CA)에 따라 GST-P⁺ foci를 검색하는 면역염색법을 시행하였

다. GST-P⁺ foci 수와 면적은 영상분석장치 (VIDEOPLAN, Carl Zeiss, Germany)를 이용하여 측정하였다.

5. 소포체의 지질과산화물 측정

Conjugated diene은 Recknagel와 Glende 등¹⁸⁾의 방법으로 측정하였다. 즉, microsome에서 지방을 추출한 후 그 추출액에서 conjugated diene의 함량을 233 nm에서 흡광도로 측정하여 지방 1 mg당 흡광도로 표시하였다.

Microsome의 지질과산화물은 Bidlack 등¹⁹⁾의 TBA 방법으로 생성된 MDA의 양을 측정하였다. Microsome 현탁액을 1.2 mg protein/ml가 되도록 10 mM phosphate buffer (pH 7.4)로 희석하여 1 ml를 취해 37℃에서 90분간 진탕 가온하고 여기에 15% TCA 1 ml, 0.75% 2-TBA를 2 ml 첨가하여 혼합한 후 10분간 중탕하였다. 이것을 얼음물에서 5분간 급속히 냉각하고 4000 rpm에서 20분간 원심분리하여 단백질을 제거한 후 상층액의 흡광도를 532 nm에서 측정하였다. 표준용액으로는 1,1,3,3-tetraetaoxypropane (TEP)을 사용하여 nmoles MDA produced/mg protein으로 계산하였다.

6. 약물대사 효소계 및 glucose-6-phosphatase 활성도 측정

Cytochrome P-450은 Omura와 Sato 등²⁰⁾의 방법을 이용하여 측정하였다. microsome fraction을 0.1 M phosphate buffer (pH 7.0)으로 희석시켜 단백질농도가 1 mg/ml가 되게 하여 3~4 mg sodium dithionite를 첨가한 후 400~500 nm에서 scanning하여 base line을 설정한 다음 CO gas를 1 bubble/sec 속도로 30~40초간 bubbling시킨 후 400~500 nm에서 rescanning하여 450 nm와 490 nm의 최대 흡광도 간의 차이로 계산하였다.

NADPH-cytochrome P-450 reductase의 활성도는 microsome을 단백질 농도가 1 mg/ml가 되도록 50 mM phosphate buffer (10⁻⁴ M EDTA 포함, pH 7.7)로 희석하여 dichloroindophenol (DCIP)을 첨가하고 30℃에서 20초간 활성화시킨 후 10⁻³ M NADPH를 가하여 600 nm에서 1분간 흡광도의 감소를 측정하였다. DCIP의 molar extinction coefficient는 21 mM⁻¹cm⁻¹로 하여 효소의 활성도를 계산하였다.

Microsome glucose 6-phosphatase 활성도는 Baginiski 등²¹⁾의 방법을 이용하여 glucose 6-phosphate를 기질로 840 nm에서 microsome 단백질 1 mg당 1분 동안 생성되는 무기인산의 양으로 계산하였다.

7. 단백질 함량 측정

Microsome의 단백질 함량은 표준물질로 bovine serum

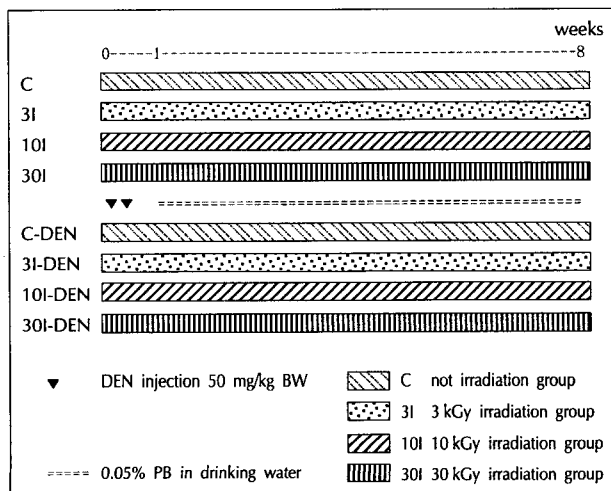


Fig. 1. Experimental design.

albumin을 사용하여 Lowry법²²⁾으로 측정하였다.

8. 통계처리

모든 실험 결과는 평균값과 표준오차로 나타내었으며 통계처리는 Statistical Analysis System (SAS) program을 이용하였다. 방사선 조사 유무, 발암물질 투여에 따른 효과를 보기 위하여 실험결과를 2-way analysis of variance (ANOVA)로 분석하여 $\alpha = 0.05$ 수준에서 Duncan's multiple range test로 유의성을 검증하였다.

결과 및 고찰

1. 실험 동물의 체중 및 간 무게

Fig. 2와 Table 2에 제시된 것처럼 8주간의 동물사육 동안 체중변화는 방사선 조사정도나 발암물질 투여에 따른 차이를 보이지 않았다. 이런 결과는 과량의 열량 섭취가 암의

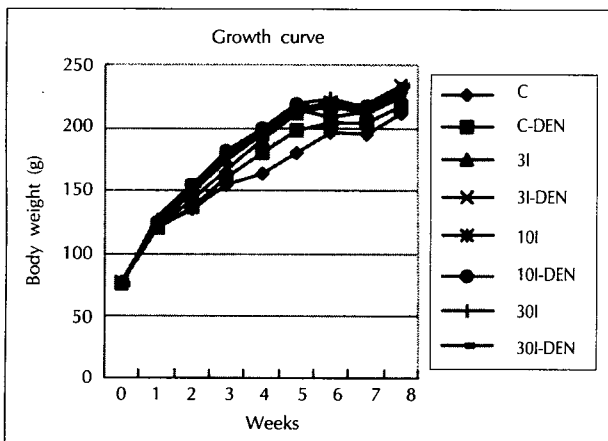


Fig. 2. Growth curve of rats fed γ -irradiated pork.

Table 2. Effect of γ -irradiated pork feeding on body weight and liver weight of rats treated with DEN¹

| Group | N | Body weight (g) | Liver weight (g) | Liver weight/Body weight (%) |
|---------|------|--------------------------------|----------------------------|------------------------------|
| C | (9) | 212.0 \pm 24.5 ^{NS} | 5.4 \pm 0.7 ^b | 2.5 \pm 0.1 ^b |
| C-DEN | (11) | 218.0 \pm 31.3 | 8.2 \pm 1.6 ^a | 3.7 \pm 0.3 ^a |
| 3I | (9) | 225.4 \pm 19.4 | 5.8 \pm 0.6 ^b | 2.6 \pm 0.1 ^b |
| 3I-DEN | (11) | 233.9 \pm 19.7 | 8.5 \pm 1.0 ^a | 3.6 \pm 0.3 ^a |
| 10I | (9) | 226.8 \pm 12.5 | 5.7 \pm 0.5 ^b | 2.5 \pm 0.1 ^b |
| 10I-DEN | (11) | 229.0 \pm 26.4 | 8.0 \pm 1.1 ^a | 3.5 \pm 0.2 ^a |
| 30I | (9) | 229.6 \pm 20.2 | 5.9 \pm 0.8 ^b | 2.5 \pm 0.2 ^b |
| 30I-DEN | (10) | 233.3 \pm 37.5 | 8.7 \pm 1.6 ^a | 3.7 \pm 0.3 ^a |

C: not irradiation, 3I: 3 kGy irradiation, 10I: 10 kGy irradiation, 30I: 30 kGy irradiation

¹Values are mean \pm SD. Means with different superscripts within a column are significantly different at $p < 0.05$. N: number of animal, NS: not significant

발생에 영향을 미친다는 연구결과에 따라, 이를 배제하기 위해 발암물질 투여군의 섭취량에 맞춰 제한식이를 실시하였기 때문으로 생각된다. 특히 본 연구에서 사용된 선량의 방사선조사 돼지고기 섭취에 따른 동물의 성장과 간의 무게는 차이가 없었다. 이는 방사선 조사군이 비조사군에 비해 성장률이 약간 느리기는 하지만 결국 두 군이 같은 체중에 도달하였다는 Richardson 등²³⁾의 보고나, 방사선 조사 식이를 섭취시킨 쥐와 대조군 간에 체중 차이가 없었다는 Reads 등²⁴⁾과 Blood 등²⁵⁾의 연구 결과와 유사한 결과를 보였다. 방사선 조사군과 비조사군 간의 체중의 변화가 없다는 것은 실험 쥐에서 뿐만이 아니라 실험 닭, 개 등에서도 일치된 결과를 보였다.^{26,27)} 간 무게는 방사선 조사량에 의한 효과는 나타나지 않았고 발암물질 투여에 따라 유의적으로 증가하였다 (Table 2). 체중에 대한 상대적인 간 무게에 대한 결과도 간 무게의 결과와 유사하였다.

2. 간의 GST-P⁺ foci 생성에 미치는 영향

태반형 glutathione S-transferase 병소는 쥐의 정성 간조직에서는 발견되지 않고 간세포 암화과정 중 전암성 병변에서 현저히 발견되어 간세포 암화과정의 지표로 이용되고 있다. GST-P 항체를 이용한 면역조직학적 검사로 GST-P 양성병소의 숫자나 면적을 조사한 결과 발암물질을 투여하지 않은 군에서는 GST-P 양성병소가 전혀 나타나지 않았으나 발암물질을 투여한 군에서는 나타났다 (Fig. 3). 특히 예상과는 달리 방사선을 조사한 돼지고기를 섭취한 쥐에서 GST-P 양성병소의 생성이 대조군에 비하여 유의적이지는 않지만 감소하는 경향을 보였다. 이런 결과는 쇠고기를 이용한 선행연구¹⁵⁾와 유사한 결과로 조사선량의 증가에 따른 차이는 보이지 않았다. 일반적으로 GST-P 양성병소의 숫자나 면적을 셀 때 크기가 0.2 mm/cm² 이상인 것만을 측정하나 본 연구에서는 크기가 작아서 0.2 mm/cm² 이하인 것도 포함시켰다. 이런 결과는 간암 모델을 이용한 다른 연구들^{28,29)}에서는 식이지방의 함량을 총 식이의 15% 정도로 공급한 반면 본 연구에서는 돼지고기 목살에 포함된 지방 함량과 필수지방산 결핍을 방지하기 위하여 첨가해준 약 2%의 옥수수유를 합한 양의 저지방 식이를 주었고, 지방산의 종류도 팔미트산이 주를 이루고 있기 때문에 사료되며, 이는 식이지방의 함량과 지방산의 종류가 GST-P 양성병소 생성에 영향을 미치는 것으로 해석된다. 또한 방사선 조사 돼지고기의 섭취가 GST-P 양성병소의 생성에 유의적인 영향을 미치지 않았으나 오히려 대조군에 비하여 감소하는 경향을 보인 것은 방사선 조사 육류의 섭취가 간의 발암과정을 억제하거나 발암과정을 지연할 가능성을 시사함으로써 이

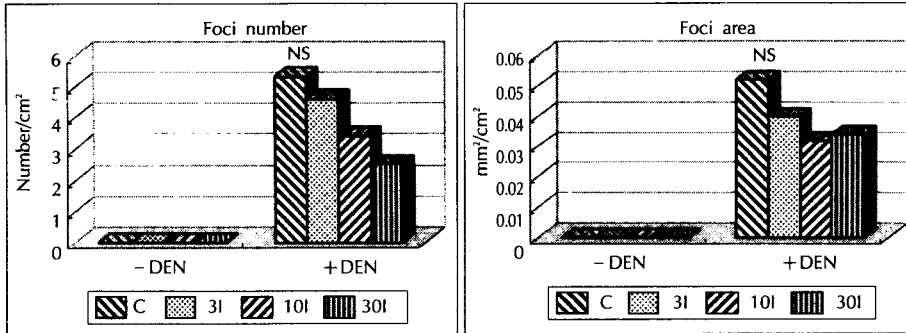


Fig. 3. Effect of γ -irradiated beef feeding on hepatic GST-P⁺ foci number and area in rats treated with DEN¹.

에 대한 더 많은 연구가 수행되어야 할 것으로 생각된다.

3. 지질과산화물 함량

지질과산화물의 함량은 간 소포체의 thiobarbituric acid 에 의해서 발색되는 MDA의 함량과 conjugated diene의 함량을 측정하였다. 방사선 조사유무나 조사정도에 따라서는 유의적인 차이가 없었으나 발암물질 투여에 의해 MDA 함량은 증가하는 경향이 있고, conjugated diene은 감소하는 경향을 나타내어 (Table 3) 쇠고기를 이용한 선행연구¹⁵⁾에서의 결과와 비슷하였다. Lankin 등³⁰⁾의 연구에 의하면 암화과정 초기에 TBARS 함량이 증가한다고 하였으며, Horton와 Fairhurst³¹⁾에 의하면, 이는 외인성 약물, 독성물질 또는 발암물질 등이 체내에서 대사될 때 자유라디칼의 생성이 증가되거나 이를 제거하는 능력이 감소되어 지질과산화가 촉진되기 때문이라고 하여 본 연구에서 발암물질 투여시 TBARS 함량이 증가한 것과 일치하였다.

일반적으로 TBARS 함량은 저장 초기에는 지방산화에 의하여 MDA가 다량 생성되어 그 값이 높아지나, 일정 시간이 경과한 후에는 반응성이 강한 MDA가 다른 물질과 반응하므로 장기간 저장시에는 그 함량이 오히려 감소하는 것으로 알려져 있다. Kwak 등⁸⁾에 의하면 감마선 조사 돈육의 저장중 지방산패정도를 측정한 연구에서 감마선 조사량이 증가하거나 저장기간이 길어질수록 돼지고기의 TBARS가 증가하였으나 일정 기간이 지난 후에는 오히려 TBARS가 감소하였다고 한다. 또한 방사선 조사에 의해 육류의 지방산화가 촉진되었다는 다른 보고³²⁾도 있는 반면, 다진 쇠고기에 저선량 감마선을 조사했을 경우 고기내의 과산화물가가 증가하는 유의적인 차이를 보이지는 않았다는 보고^{33,34)}도 있다. 본 실험에서 감마선 조사 돼지고기를 섭취한 동물의 간 소포체의 비조사 돼지고기를 섭취한 대조군과 간 지질과산화물 함량에는 차이가 없었다.

4. 약물대사효소 및 소포체 막 안정성 측정

약물대사효소 중 phase I reaction에 중요한 역할을 하는 cytochrome P-450 함량과 NADPH-cytochrome P-

Table 3. Effect of γ -irradiated pork feeding on hepatic microsomal malondialdehyde and conjugated diene contents in rats treated with DEN¹

| Group | Malondialdehyde (nmoles MDA/mg protein) | Conjugated diene (optical density/mg lipid) |
|---------|--|--|
| C | 0.30 ± 0.11 ^{ab} | 1.10 ± 0.82 ^{NS} |
| C-DEN | 0.30 ± 0.11 ^{ab} | 0.76 ± 0.56 |
| 3I | 0.27 ± 0.10 ^{ab} | 1.28 ± 1.31 |
| 3I-DEN | 0.32 ± 0.14 ^{ab} | 0.84 ± 0.61 |
| 10I | 0.25 ± 0.07 ^b | 1.10 ± 0.79 |
| 10I-DEN | 0.27 ± 0.09 ^{ab} | 0.86 ± 0.63 |
| 30I | 0.28 ± 0.10 ^{ab} | 1.07 ± 0.93 |
| 30I-DEN | 0.36 ± 0.12 ^a | 0.79 ± 0.50 |

C: not irradiation, 3I: 3 kGy irradiation, 10I: 10 kGy irradiation, 30I: 30 kGy irradiation

¹Values are mean ± SD. Means with different superscripts within a column are significantly different at p < 0.05. NS: not significant

450 reductase의 활성도를 조사한 결과 cytochrome P-450 함량은 발암물질 투여에 의해 유의적으로 증가하였으나 방사선 조사에 의한 효과는 없었고, NADPH-cytochrome P-450 reductase는 방사선 조사나 발암물질 투여에 대한 효과가 나타나지 않아 방사선 조사 쇠고기를 이용한 선행연구¹⁵⁾와 같은 결과를 나타냈다.

Glucose 6-phosphatase (G6Pase)의 활성도를 측정할 결과 역시 방사선 조사에 의한 효과는 나타나지 않았으나 발암물질 투여에 따라 유의적으로 감소하여 쇠고기를 이용한 선행연구¹⁵⁾의 결과와 비슷하였다 (Table 4).

일반적으로 G6Pase 활성도는 막의 안정성을 나타내는 지표로 많이 이용되고 있으며,²¹⁾ 암화과정에 의해 지질과산화물의 생성이 증가되면 소포체 막의 유동성과 안정성을 저해하여 G6Pase와 약물대사효소계 등에 영향을 주는 것으로 알려지고 있다.³⁰⁾ 본 연구에서도 DEN 투여시에 G6Pase 활성도가 감소하는 것으로 나타나 발암물질 투여시 막의 유동성과 안정성이 감소하는 것으로 사료된다.

이상의 결과를 종합해 보면 3, 10 또는 30 kGy의 감마선 조사를 한 돼지고기를 섭취할 경우 동물의 간 소포체의 지

Table 4. Effect of γ -irradiated pork feeding on hepatic microsomal cytochrome P-450 content, NADPH-cytochrome P-450 reductase and glucose 6-phosphatase activity in rats treated with DEN¹

| Group | Cytochrome P450 content (nmoles/mg protein) | NADPH-cytochrome P-450 reductase activity (nmole DCIP reduced/mg protein/min) | Glucose 6-phosphatase activity (nmole inorganic phosphate liberated/mg protein/min) |
|---------|--|--|--|
| C | 0.82 \pm 0.18 ^c | 103.3 \pm 32.4 ^{NS} | 582.8 \pm 145.9 ^{abc} |
| C-DEN | 1.71 \pm 0.42 ^{ab} | 100.0 \pm 22.0 | 406.5 \pm 166.5 ^{bcd} |
| 3I | 0.85 \pm 0.38 ^c | 119.3 \pm 78.4 | 597.2 \pm 313.7 ^{ab} |
| 3I-DEN | 1.80 \pm 0.37 ^{ab} | 105.3 \pm 31.1 | 390.8 \pm 150.7 ^{cd} |
| 10I | 0.88 \pm 0.23 ^c | 90.1 \pm 39.5 | 568.8 \pm 129.4 ^{abc} |
| 10I-DEN | 1.55 \pm 0.33 ^b | 98.5 \pm 31.8 | 401.2 \pm 149.3 ^{bcd} |
| 30I | 0.86 \pm 0.16 ^c | 96.1 \pm 60.2 | 622.3 \pm 250.1 ^a |
| 30I-DEN | 1.90 \pm 0.20 ^a | 113.4 \pm 38.5 | 371.8 \pm 178.4 ^d |

C: not irradiation, 3I: 3 kGy irradiation, 10I: 10 kGy irradiation, 30I: 30 kGy irradiation

¹Values are mean \pm SD. Means with different superscripts within a column are significantly different at $p < 0.05$. NS: not significant

질과산화물 생성이나 cytochrome P450 system, 소포체 막의 안정도 등이 비조사 돼지고기를 섭취한 군과 전혀 차이가 없는 것으로 나타났다. 이러한 결과는 40 kGy까지는 감마선 조사가 쇠고기의 단백질 변화에 영향을 미치지 않는다고 한 Yook 등³⁵⁾의 연구나 5 kGy 감마선 조사 쇠고기의 유전 독성 및 급성독성학적 안전성을 평가한 연구^{15,36)}에서도 비조사 대조군과 비교하여 아무런 차이가 없음을 증명한 연구와 비슷한 결과를 나타내는 것으로 비록 조사선량을 30 kGy까지 증가시켰어도, 그 조사된 식품의 섭취가 생체 약물대사계 효소나 소포체 막 안정성 등에 영향을 미치지 않는 것으로 사료된다. 더구나 본 연구에서 간 발암과정에서 전암성 병변의 생성이 감마선 조사군에서 오히려 감소되는 경향을 보이고 있어 Kim 등¹⁵⁾의 연구 결과와 비슷한 효과를 나타내었다.

요약 및 결론

본 연구는 방사선 조사 돼지고기의 안전성 평가의 일환으로 방사선 조사 돼지고기 섭취가 동물의 간 발암과정에 미치는 영향을 조사하고자, 실험적 간 발암모델에서 방사선조사 유무나 조사선량 (3, 10 또는 30 kGy)이 다른 돼지고기를 섭취했을 경우 전암성 병변의 지표나 약물대사효소계, 소포체의 지질과산화물 생성정도 및 막의 안정성 평가를 실시하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1) 성장기간 동안 체중의 변화는 감마선 조사정도, 조사 유무 및 발암물질 투여에 의한 유의적인 차이를 나타내지 않았고, 간무게는 감마선 조사에 따른 차이는 없었으나 발암물질 투여에 의하여 유의적으로 증가하였다.

2) 전암성 병변의 지표인 GST-P 양성병소는 예상외로

감마선을 조사한 군들이 비조사 대조군에 비하여 그 숫자나 크기가 감소하는 경향을 나타내었고, 조사 선량이 증가할수록 전암성 병변의 수와 크기가 감소하는 경향을 보였다.

3) 지질과산화물은 감마선 조사유무나 조사정도에 따라서는 유의적인 차이가 없었으나, 발암물질 투여에 의해서는 소포체의 TBARS 함량은 증가하는 경향이 있고 conjugated diene 함량은 감소하는 경향을 나타냈다.

4) 주요 약물대사효소인 cytochrome P-450 함량은 발암물질투여에 의해 유의적으로 증가하였으나, 감마선 조사에 의한 효과는 없었다. NADPH-cytochrome P-450 reductase는 방사선 조사나 발암물질 투여에 대한 효과가 나타나지 않았다.

5) 막 안정성의 지표인 소포체의 glucose 6-phosphatase의 활성도를 측정된 결과 감마선 조사에 의한 효과는 나타나지 않았으나, 발암물질 투여에 따라 유의적으로 감소하였다.

이상의 결과에서는 감마선 조사 돼지고기의 섭취가 비조사 돼지고기의 섭취시보다 전암성 병변의 생성을 감소시킨 점으로 보아 발암을 억제할 수 있는 가능성이 있는 것으로 사료되나 유의적인 차이는 아니어서 그 타당성을 본 연구에서 발견하지 못하였다. 따라서 명확한 결론을 내기기 위해서는 육류의 종류를 달리하거나 방사선 조사 식품의 발암성에 관련된 더 많은 연구가 다각도로 지속되어야 할 것으로 생각된다.

Literature cited

- 1) Greenpia Co. Food Irradiation - A technique for preserving and improving the safety of food. pp.25-43, Gangin press., Chun-

- chun, Korea, 1997
- 2) Derr DD. International regulatory status and harmonization of food irradiation. *J Food Protect* 56: 882-886, 1993
 - 3) ICGFI. Summary report on eleventh meeting of the international consultative group on food irradiation. Denpasar, Bali, Indonesia, 2-4 November, 1994
 - 4) IAEA. Clearance of item by country. Intl Atomic Energy Agency, Vienna, Austria, 1997
 - 5) Kim JH, Jin YL, Kang IJ, Byun MW. Effects of γ -irradiated beef feeding on antioxidative defense systems in experimental hepatocarcinogenesis. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 28(3): 646-653, 1999
 - 6) Thayer DW, Boyd G. Elimination of Escherichia coli O157: H7 in meats by gamma irradiation. *Appl Envir Microbiol* 59: 1030-1034, 1993
 - 7) Kim S, Yook HS, Lee JW, Choi C, Byun MW. Sterilization of Escherichia coli O157: H7 contaminated beef by gamma irradiation. *Korean J Food Sci Technol* 30: 1209-1213, 1998
 - 8) Kwak HJ, Kang IJ, Kim HK, Chang HG, Park SA. Changes of physicochemical properties of gamma irradiated porks during storage. *Korean J Food Sci Technol* 30: 1267-1272, 1998
 - 9) Merritt C, Angelini P, Wierbicki E, Shults GW. Chemical changes associated with flavor in irradiated meat. *J Agric Food Chem* 23: 1037-1041, 1975
 - 10) Yook HS, Lee JW, Lee KH, Kim S, Byun MW. Effects of gamma irradiation on pigments of beef. *Korean J Food Sci Technol* 30: 1184-1188, 1998
 - 11) Dempster JF, Hawrysh ZJ, Shand P, Lahola-Chomiak L, Corletto L. Effect of low-dose irradiation (radurization) on the shelf life of beefburgers stored at 3°C. *J Food Technol* 20: 145-154, 1985
 - 12) Mattison ML, Kraft AA, Olson DG, Walker MW, Rust RE, James DD. Effect of low dose irradiation of pork loins on the microflora sensory characteristics and fat stability. *J Food Sci* 51: 284-287, 1986
 - 13) Shay BJ, Egan AF, Wills PA. The use of irradiation for extending the storage life of fresh and processed meats. *Food Technol Aust* 40: 310-313, 1988
 - 14) Thayer DW. wholesomeness of irradiated foods. Food Technology, May, 1994
 - 15) Kim JH, Kim MJ, Kang IJ, Byun MW. Effects of γ -irradiated beef feeding on preneoplastic hepatic lesion, cytochrome P450 system and microsome glucose 6-phosphatase activity in rat hepatocarcinogenesis. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 28(3): 638-645, 1999
 - 16) Masmoudi A, Labourdette G, Mersel M, Huang FL, Huang KP, Vincendon G, Malviya AN. Protein kinase C located in rat liver nuclei. *J Biol Chem* 264: 1172-1179, 1989
 - 17) Hsu SM, Raine L, Fanger H. Use of avidine-biotin peroxidase complex (ABC) in immunoperoxidase techniques: a comparison between ABC and unlabeled antibody (PAP) procedure. *J Histochem Cytochem* 29: 577-580, 1981
 - 18) Recknagel RO, Glende EA. Spectrophotometric detection of lipid conjugated dienes. *Methods Enzymol* 105: 331-337, 1984
 - 19) Bidlack WT, Tapple AL. Damage to microsomal membrane by lipid peroxidation. *Lipids* 8: 177-182, 1973
 - 20) Omura T, Sato R. The carbon monoxide binding pigment of liver microsome. *J Biol Chem* 239: 2370-2377, 1964
 - 21) Baginiski ES, Foa PP, Zak B. Glucose-6-phosphatase. In: methods of enzymatic analysis. Bergmeyer 2nd ed., pp.876, 1983
 - 22) Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RT. Protein measurement with the Folin-Phenol reagent. *J Biol Chem* 193: 265-275, 1951
 - 23) Richardson LR, Ritchey SJ, Rigdon RH. Along-term feeding study of irradiated foods using rats as experimental animals. *Federation Proc* 19: 1023-1027, 1960
 - 24) Read MS, Kray HF, Witt NF. Short term rat feeding studies with γ -irradiated food products. *J Nutr* 65: 39-51, 1958
 - 25) Blood FR, Darby WJ. Feeding of irradiated beef to rats. *Toxicol Appl Pharm* 8: 235-240, 1966
 - 26) Burns CH, Brownell Le, Eckstein HC. Wholesomeness of a γ -irradiated diet fed to chickens. *Federation Proc* 15: 910-917, 1956
 - 27) McCay CM, Rumsey GL. Effect of irradiated meat upon growth and reproduction of dogs. *Federation Proc* 19: 1027-1030, 1960
 - 28) Kim JH, Yoon HJ, Jang JJ. Effects of sardine oil feeding and vitamin E supplement on the preneoplastic hepatic lesion and cholesterol metabolism in hepatocarcinogenesis of rat. *J Food Sci Nutr* 1: 214-219, 1996
 - 29) Kim JH, Ju ES, Lee MS, Jang JJ. Anticarcinogenic effects of d-limonene on DEN-induced rat hepatocarcinogenesis system. *J Korean Assoc Cancer Prev* 1: 90-98, 1997
 - 30) Lankin VZ, Polyakov VM, Askhangel SV, Gurevich SM. Metabolism of lipid peroxide during chemical carcinogenesis. *Bull Exp Biol Med* 87: 270-273, 1979
 - 31) Horton AA, Fairhurst S. Lipid peroxidation and mechanism of toxicity. *CRC Critical Rev Toxicol* 18: 27-79, 1987
 - 32) Lea CH, Macfarlane JJ, Parr LJ. Treatment of meats with ionizing radiations. - V. Radiation pasteurization of beef for chilled storage. *J Sci Food Agric* 11: 690-694, 1989
 - 33) Lefebvre N, Thibault C, Charbonneau R, Piette JPG. Improvement of shelf-life and wholesomeness of ground beef by irradiation. - 2. Chemical analysis and sensory evaluation. *Meat Sci* 36: 371-380, 1994
 - 34) Koster JF, Slee RG. Lipid peroxidation of rat liver microsomes. *Biochim Biophys Acta* 620: 489-499, 1980
 - 35) Yook HS, Kim MR, Kim JO, Lim SI, Byun MW. Effects of γ -irradiation on meat proteins. *Korean J Food Sci Technol* 30: 407-412, 1998
 - 36) Kang IJ, Kwak HJ, Lee BH, Kim KH, Byun MW, Yook HS. Genotoxic and acute toxicological safeties of gamma irradiated beef. *Korean J Food Sci Technol* 30: 775-780, 1998