

발아법을 이용한 과일류의 방사선 조사 여부 확인

강은경 · 오경남 · 양재승[†]

한국원자력연구소 식품검지실

Identification of Gamma-Irradiated Fruits by using Germination Test

Eun-Kyoung Kang, Kyeung-Nam Oh and Jae-Seung Yang[†]

Detection Lab. of irradiated food, Korea Atomic Energy Research Institute, Taejon 305-353, Korea

ABSTRACT – A germination method was used to detect biological changes in gamma-irradiated apple, orange, and lemon at low doses at 0.1, 0.3, 0.5, 0.7, and 1.0 kGy. Ten fruit seeds of each sample were placed on moistened cotton and germinated at 30°C for 7 days. Shoot lengths of all fruits were gradually grown for 7 days, but the growth was significantly slow down by fifth day. During 7 days of germination, the growth of unirradiated fruits were significantly higher than the irradiated fruits. By examining the gamma-irradiated fruits in this study, a germination method could be possibly one of the screening test to identify irradiated fruits.

Key words: γ -irradiation, germination, shoot length, screening test

식품조사(食品照射)는 1950년대 이후부터 과학적 관심을 끌기 시작하여, 생선, 패류, 닭고기, 해산물, 곡류, 과채류, 땅콩류와 향신료 등 많은 식품에 적용되었다. 조사 식품은 현재 50여개국에서 향신료, 곡류, 과채류, 육류, 그리고 해산물 등 50여개의 식품군에서 허가되어, 28개국에서 상업적으로 조사되고 있다. 주요 조사 식품으로 향신료나 건조야채는 20개국 이상에서 조사되고 있으며 냉동새우나 닭고기의 살균에도 조사가 이루어지고 있다. 우리나라에서도 1기의 조사시설이 가동되고 있으며 조사 물량의 50%정도가 식품으로 가지수로는 18개 식품군 즉 신선 야채류, 과일류, 양송이, 인삼류, 곡류와 잡곡류, 향신료류, 약초와 건조야채류, 생선과 기타 수산물, 육류와 육류 가공품, 발효 식품 그리고 사료가 조사 허용되어 조사되고 있다.

방사선 조사식품에 대한 검지 기술은 수출입 교역시 방사선 조사식품이 제한되어 있거나, 조사 품목에 대해서 표시화가 요구될 경우 필요하다. 이에 대한 기술은 1988년에 FAO/IAEA 공동위원회가 이 방면의 협동을 증진하고, 이중 가능성이 높은 몇가지 실험법을 자세히 조사하기 위하여 조사식품에 관한 분석적 검출법 협동계획을 마련하여 1990년부터 1994년까지 5년간 연구하였다. 유럽에서도 유럽공동체 표준화위원회(BCR)가 1990년부터 조사식품의 검출 기술 개발을 위한 독자적인 프로젝트(BCR프로젝트)를 수행하였다.^{1,2)}

방사선 조사식품을 검지하는 방법은 지방을 함유한 식품에서 hydrocarbon³⁾ 또는 2-alkycyclobutanone과 같은 지방산 유래의 물질을 검사하는 GC분석^{4,5)} 식품의 광물질을 측정하는 thermoluminescence(TL)방법^{6,7)} 뼈가 있는 식품 또는 섬유소가 많은 조사식품의 electron spin resonance(ESR)방법^{8,9)} DNA comet assay^{10,11)} 그리고 발아법^{12,13)} 등이 있다. 이러한 방법들은 정교하지만 복잡하고 비교적 비싼 장비가 요구되며 식품에의 적용성에 문제점을 안고 있다. 발아법(germination)은 식품내의 방사선 조사에 의한 특이적인 변화를 검지하는 생물학적 방법으로 특별한 장비가 요구되지 않으며 저렴한 비용으로 신속하게 방사선 조사여부를 검지할 수 있다. 방사선 조사에 의한 생물학적 검지방법은 발아여제, 뿐리 및 줄기의 생장억제, 그리고 씨활성의 손실과 같은 변화를 검지하는 screening test이다.¹²⁾

발아법은 1.0 kGy 이하의 저선량을 검지하는 방법으로 적용되어 왔는데 주로 배아 실험(embryo test)을 중심으로 연구되어져 왔다. 콩류는 병해충 및 저장기간 연장을 목적으로 1.0 kGy 이하의 저선량이 조사되기 때문에 다른 물리화학적 방법으로 미세한 변화가 검지되기 어려워서 발아법에 의해 검지되어 왔다. 곡류에서는 0.5 kGy에서도 발아가 억제되어 쉽게 판정될 수 있다. 이 방법은 열 및 화학처리와 같은 다른 처리에서도 이와 유사한 변화를 보여서 특이성이 없다고 할 수 없다고 할 수 있지만 screening test로써 다른 방법에서 검지하기 어려운 1.0 kGy 이하의 매우 낮은 선량에서 나타나는 미세한 변화를 민감하게 검지할 수

[†]Author to whom correspondence should be addressed.

있다.^{13,14)}

과일류의 방사선 조사 여부 검지에 대한 연구는 일부 수행되어 왔지만 발아법에 관한 연구는 아직 미흡한 상태이고, 국내에서는 곡류나 콩류의 발아특성에 관한 선행연구를 제외하고는 전무하다. 따라서 본 연구는 오렌지, 레몬, 그리고 사과를 병해충 및 저장기간 연장을 목적으로 하는 1.0 kGy 이하로 조사하고 방사선 조사에 의한 특이적인 변화를 검하고자 각 과일류의 발아 특성을 확인하여 발아법에 의한 검지방법을 확립하고자 하였다.

재료 및 방법

재료 및 시약

본 실험에 사용한 과일류는 수입산 오렌지, 레몬, 그리고 국내산 사과로 모두 2002년에 수확된 품종이었고, 대전 유성구 대형 마켓에서 구입하였다.

방사선 조사

시료의 방사선 조사는 저장 해충 및 기생충 구제를 목적으로 하는 선량을 기준하여 1.0 kGy 이하의 저선량으로 정하고 한국원자력연구소의 Co-60 감마선 조사 시설(Nordion International, Ontario, Canada)을 이용하여 0.1, 0.3, 0.5, 0.7, 및 1.0 kGy의 선량으로 20분 동안 $3.0 \times 10^4 \sim 3.0 \times 10^5$ 선량률로 조사하였다. 총 흡수량은 ceric cerous dosimeter (Bruker Instruments, Rjeomstettem, Germany)의 변법으로 확인하였다.

발아방법

각각의 과일류는 과육을 제거하고 씨를 추출한 다음 증류수로 세척하고 탈지면이 깔려있는 petri-dish에 놓았다. 각 선량마다 2개의 petri-dish를 준비하고 각각 5알씩 탈지면 위에 놓아 10일을 실험에 사용하였고 25 m의 증류수를 부어 30°C에서 발아시켰다. 5일 동안 매일 petri-dish, 탈지면, 그리고 증류수를 새로 교체하여 신선한 상태가 유지되도록 하였고 각 선량마다 뿌리의 길이를 측정하여 통계처리하였다. 모든 실험은 3회 반복 실시하였다.

통계처리

3회 반복 실험을 통해 측정된 뿌리의 길이는 PC-SPSS (version 9.0 for windows)를 사용하여 각각 통계분석하였다. 통계분석은 ANOVA 프로그램의 Tukey's Honestly Significant Difference(HSD) test를 이용하여 각 조사선량에서 7간의 길이성장에 대한 유의성과 각 발아일에 대해서(1일~7일) 조사선량에 따른 길이성장의 유의성을 검증하였다.

결과 및 고찰

과일류의 방사선 조사 검지를 위하여 과일씨의 발아특성을 확인해 본 결과, 모든 과일류에서 방사선 조사에 의해 길이성장이 억제되는 것이 관찰되었다. 과일류의 씨는 7일 동안 순이 지속적으로 성장하였지만, 3일부터 길이 성장도가 급격히 감소하였고, 7일 이상부터는 과일의 씨가 부패하기 시작하여 더 이상 길이 측정이 불가능하여 7일 동안 길이 성장에 대한 특성을 살펴보았다.

사과

사과를 방사선 조사한 후 씨를 분리하고 순을 발아 시켜 순의 길이를 측정한 결과 방사선 조사에 의해 순의 길이 성장이 억제되었다. 각 조사 선량에 대한 사과의 7일 동안 순의 길이의 성장을 살펴보면, 비조사 시료는 7일동안 유의적인 길이성장을 하였고($p<0.05$), 0.5 kGy에서 1.0 kGy 조사 시료는 3일까지 유의적인 길이 성장을 하다가 3일부터 5일 까지는 유의적인 길이 성장을 하지 않았다(Table 1). 각 발아일에서 방사선 조사선량간에 순의 길이 성장을 비교해 보면, 발아 3일째 비조사 시료는 0.2 cm 이상의 길이 성장을 한 반면, 0.3 kGy 이상 조사시료들은 0.15 cm 이하의 길이 성장을 하여서 발아 3일부터 비조사 시료와 조사 시료간에 0.1 cm 단위 차이를 보여 구분이 가능하였다. 발아 5일째는 조사 선량간 길이 성장이 더 뚜렷하였는데, 비조사 시료는 길이가 0.3 cm 정도로 0.3 kGy 이상 조사 시료들간과 뚜렷한 유의적인 차이를 보이지 않았다($p>0.05$). 발아 7일째 비조사 시료는 0.5 cm에 가까운 길이 성장을 한 반면, 0.1 kGy 이상 조사시료들은 0.3 cm 이하의 길이 성장을 하면서 비조사 시료와 조사 시료의 평균값의 차이는 보였지만 통계적인 유의적인 차이는 없었다(Table 1).

본 연구에서는 다른시료와 같은 조건으로 실험을 하였으나 발아 및 길이 성장이 다른 시료에 비해 매우 저조하였으며, 조사 선량에 따른 길이 성장 차이를 나타내지 못하였습니다. 사과의 경우는 발아 및 성장조건을 달리하여 향후 보충실험을 해야 할 필요성이 있습니다.

오렌지

오렌지를 방사선 조사한 후 씨를 분리하여 발아시키고 순의 길이를 측정해 본 결과, 방사선 조사에 의해 순의 길이 성장이 억제되었다. 오렌지의 순은 모든 선량에서 7일 동안 지속적인 길이성장을 하였지만 방사선 조사에 의한 길이 성장정도는 모든 시료에서 3일부터 현저히 감소하였다.

각 조사 선량의 발아 특성을 살펴보면, 비조사 시료와 0.3 kGy 이하 조사 시료는 7일까지는 유의적인 성장을 하였으

Table 1. Shoot length^{*} of gamma irradiated apple at 0 kGy to 1.0 kGy
(unit : cm)

dose(kGy) \ days	1	3	5	7
0 kGy	^A 0.12 ^{ab} ±0.015	^A 0.2 ^b ±0.039	^{AB} 0.339 ^a ±0.084	^B 0.492 ^a ±0.12
0.1 kGy	^A 0.129 ^{ab} ±0.013	^A 0.196 ^b 0.058	^A 0.248 ^a ±0.082	^A 0.288 ^a ±0.12
0.3 kGy	^A 0.097 ^{ab} ±0.012	^A 0.15 ^b ±0.025	^A 0.169 ^a ±0.024	^A 0.169 ^a ±0.024
0.5 kGy	^A 0.08 ^a ±0.012	^{AB} 0.114 ^b 0.018	^B 0.169 ^a ±0.027	^B 0.181 ^a ±0.029
0.7 kGy	^A 0.11 ^{ab} ±0.013	^{AB} 0.192 ^b 0.021	^A 0.205 ^a ±0.026	^{AB} 0.19 ^a ±0.027
1.0 kGy	^A 0.137 ^b ±0.011	^{AB} 0.195 ^b ±0.021	^{AB} 0.223 ^a ±0.042	^B 0.25 ^a ±0.015

*Mean value and standard error of shoot length.

^{A-B} Means with different superscripts in the same row differ significantly ($p<0.05$).

^{a-b} Means with different superscripts in the same column differ significantly ($p<0.05$).

나($p<0.05$), 0.5와 0.7 kGy 조사 시료는 3일부터 7일까지 유의적인 차이를 보이지 않았다(Table 2).

각 발아일에서 방사선 조사선량간에 순의 길이 성장을 비교해 보면, 발아 1일째는 비조사 시료와 조사시료간에 유의

적인 차이를 나타내었다. 발아 3일부터는 조사시료들 간에는 뚜렷한 유의적인 차이를 나타내지 않았다.

발아 3일째 비조사 시료는 0.3 cm정도의 길이 성장을 한 반면, 0.1 kGy 이상 조사시료들은 0.15 cm 이하의 길이 성장을 하여서 발아 3일부터 비조사 시료와 조사 시료들의 구분이 가능하였다. 발아 5일째는 조사 선량간 길이 성장이 더 뚜렷하였는데, 비조사 시료는 길이가 0.5 cm정도로 조사 시료들과 유의적인 차이를 보였다($p<0.05$).

따라서, 오렌지의 방사선 조사 여부의 선별 검지는 발아 3일부터 비조사 시료는 0.3 cm 이상의 길이 성장을 하고, 조사 시료는 0.15 cm 이하의 길이 성장을 하는 것과 비조사 시료는 7일동안 유의적인 길이 성장을 하였기 때문에 이로써 오렌지의 방사선 조사 여부의 확인이 가능하였다.

레몬

레몬의 방사선 조사에 대한 발아 특성은 발아 기간 동안 모든 선량에서 순의 길이가 점차적으로 증가하는 경향을 보였지만 조사선량이 증가할수록 성장정도는 감소하였다. 특히 발아 5일부터 성장정도가 급격히 감소한 반면 비조사 시료의 성장정도는 매우 커다(Table 3).

각 발아일에서 조사 선량간에 순의 길이의 성장을 비교해 보면, 발아 3일째부터 비조사 시료와 조사 시료들간에 유의적인 차이를 보였다($p<0.05$). 발아 5일째 비조사 시료는 0.2 cm 이상의 길이 성장을 한 반면, 0.3 kGy 이상 조사시료들

Table 2. Shoot length^{*} of gamma irradiated orange at 0 kGy to 1.0 kGy
(unit : cm)

dose(kGy) \ days	1	3	5	7
0 kGy	^A 0.037 ^b ±0.098	^B 0.3 ^c ±0.034	^C 0.5 ^c ±0.057	^D 0.84 ^c ±0.067
0.1 kGy	^A 0.0052 ^a ±0.028	^{AB} 0.15 ^b ±0.027	^B 0.23 ^b ±0.046	^C 0.389 ^b ±0.059
0.3 kGy	^A 0.0052 ^a ±0.036	^B 0.066 ^{ab} ±0.0085	^B 0.1 ^{ab} ±0.012	^C 0.15 ^a ±0.019
0.5 kGy	^A 0.019 ^a ±0.047	^B 0.0691 ^{ab} ±0.009	^B 0.09 ^a ±0.016	^B 0.095 ^a ±0.016
0.7 kGy	^A 0.005 ^a ±0.027	^A 0.036 ^a ±0.0716	^B 0.074 ^a ±0.014	^B 0.087 ^a ±0.013
1.0 kGy	^A 0.0096 ^a ±0.056	^B 0.0538 ^a ±0.0819	^{BC} 0.072 ^a ±0.065	^C 0.1 ^a ±0.01

*Mean value and standard error of shoot length.

^{A-D}Means with different superscripts in the same row differ significantly ($p<0.05$).

^{a-c} Means with different superscripts in the same column differ significantly ($p<0.05$).

Table 3. Shoot length^{*} of gamma irradiated lemon at 0 kGy to 1.0 kGy
(unit : cm)

dose(kGy) \ days	1	3	5	7
0 kGy	^A 0.0095 ^a ±0.0055	^A 0.135 ^b ±0.023	^B 0.276 ^b ±0.04	^C 0.43 ^c ±0.049
0.1 kGy	^A 0 ^a ±0.0	^A 0.053 ^a ±0.02	^B 0.181 ^{ab} ±0.03	^B 0.242 ^b ±0.044
0.3 kGy	^A 0.0055 ^a ±0.0038	^A 0.05 ^a ±0.01	^B 0.116 ^a ±0.024	^B 0.086 ^a ±0.0213
0.5 kGy	^A 0.0062 ^a ±0.0045	^A 0.02 ^a ±0.0069	^B 0.081 ^a ±0.131	^B 0.086 ^a ±0.0136
0.7 kGy	^A 0.0 ^a ±0.0	^A 0.016 ^a ±0.011	^B 0.1 ^a ±0.114	^B 0.097 ^a ±0.012
1.0 kGy	^A 0.0 ^a ±0.0	^A 0.014 ^a ±0.013	^B 0.092 ^a ±0.0076	^B 0.088 ^a ±0.083

*Mean value and standard error of shoot length.

^{A-D}Means with different superscripts in the same row differ significantly ($p<0.05$).

^{a-c} Means with different superscripts in the same column differ significantly ($p<0.05$).

은 0.1 cm 이하의 길이 성장을 하여서 발아 5일부터 비조사 시료와 조사 시료들의 구분이 가능하였다. 발아 7일째는 조사 시료들과 비조사 시료들간에 유의적인 길이 차이를 보여 방사선 조사 선량에 의해서 길이 성장이 매우 억제됨을 알 수 있었다. 과일류의 방사선 조사에 의한 발아특성은 방사선 조사에 의해서 순의 길이가 억제된 것으로 관찰되어 발아법으로 방사선 조사여부의 선별검지가 가능한 것이 확인되었다.

Kawamura¹⁵⁾ 등은 곡류의 방사선 조사에 의한 발아 특성을 살펴본 결과, 0.15 kGy 이상부터 뿌리의 길이성장이 지연되다가 0.3 kGy 이상부터는 3일 이후에도 0.1 cm 이상 자라지 않아서 비조사 시료와 조사 시료의 판정이 가능하다고 하였다. 본 연구는 과일류에 대한 것으로 사과를 제외한 오렌지와 레몬은 곡류보다 뿌리의 길이가 더 길었고 3일째 비조사 시료는 0.3 cm 이상, 오렌지는 0.5 cm, 레몬은 0.3 cm 이상의 길이성장을 하였다. 그러나 본 연구에서도 방사선 조사에 의해서 7일 동안 길이 성장이 저조한 것으로 나타났고, 발아 3일부터 조사시료와 비조사 시료간에 순의 길

이 성장 차이를 보여서 위 연구와 비슷한 결과를 나타내었다. 본 연구의 선행연구¹⁵⁾에서는 국내산 콩류의 방사선 조사 여부를 발아법으로 확인하였는데, 대두는 발아 2일째 비조사 시료는 0.2 cm 이상, 강낭콩과 팥은 발아 3일째 0.2 cm 이상 길이를 보여 조사시료와 구분되었다. Sadhan¹⁶⁾은 lentil seed의 방사선 조사 여부를 확인하기 위해서 발아 특성을 살펴본 결과 2일째 발아가 시작되었고, 비조사 시료와 조사시료들간에 길이차이를 볼 수 있었다고 하였다. 본 연구는 과일류에 대한 연구로 사과를 제외하고, 오렌지와 레몬은 조사 선량에 대한 순의 길이에 유의적인 차이를 보이며, 발아 7일째 0.5 cm 이상 성장하였으면 비조사시료이고, 0.1 cm 이하 성장하였으며 적어도 0.3 kGy 이상 조사된 것으로 발아법의 선별검지가 가능한 것을 확인하였다.

감사의 글

본 연구는 2002년도 과학기술부의 원자력 중장기 연구비 지원으로 수행된 연구결과의 일부로서 이에 감사드립니다.

국문요약

본 연구는 과일류의 방사선 조사 여부를 검지하기 위해서 생물학적 방법인 발아법으로 방사선 조사여부를 확인하였다. 과일류는 사과, 오렌지, 그리고 레몬으로 0.1, 0.3, 0.5, 0.7, 1.0 kGy의 조사선량으로 방사선 조사하고 7일 동안 순의 길이를 측정하여 방사선 조사에 의한 발아 특성을 살펴보았다. 모든 시료는 7일 동안 지속적인 길이 성장을 하였지만, 방사선 조사에 의해서 길이 성장이 억제되어 3일에서 5일부터는 순의 길이에 유의적인 차이를 보이지 않았다. 사과를 제외하고, 오렌지는 5일째 각각 비조사 시료는 0.5 cm 이상 길이를 보여 비조사 시료와 조사 시료의 구분이 가능하였다. 레몬은 발아 5일째 0.2 cm 이하의 길이를 보여 비조사 시료와 조사시료의 구분이 가능하였다. 또한 오렌지와 레몬은 3일부터 길이 성장정도가 현저히 낮아지고 발아 5일동안 비조사 시료의 성장정도가 가장 큰 것으로 나타났다. 과일류의 방사선 조사여부는 발아 7일 동안 순 길이의 유의적인 길이성장과 비조사 시료와 조사 시료들의 성장정도를 측정함으로써 확인 가능하였다.

참고문헌

1. Henon, Y.M.: Food irradiation in perspective, *Radiation Physics Chemistry*, **46**, 647-651 (1995).
2. Nawar, W.W. and Balboni, J.J.: Detection of foodstuffs treated by irradiation treatment in foods. *J. Ass. Anal. Chem.*, **53**, 726-729 (1970).
3. Schreiber, G.A., Helle, N., and Bögl, K.W.: Detection of irradiated food method of routine applications. *Int. J. Radiat. Biol.* **63**, 105-107 (1993).
4. Boyd, D.R., Crone, A.V.J., Hamilton, J.T.G., Hand, M.V., Stevenson, M.H., and Stevenson, P.J.: Synthesis, characteriza-
- tion, and potential use of 2-dodecylcyclobutanone as a marker for irradiated chicken. *J. Agric. Food Chem.* **39**, 789-793 (1991).
5. Crone, A.V.J., Hamilton, J.T.G., and Stevenson, M.H.: Effect of storage and cooking on the dose response of 2-dodecylcyclobutanone, a potential marker for irradiated chicken. *J. Sci. Food Agric.* **58**, 249-257 (1992).
6. Schreiber, G.A., Ziegelmann, B., Quitzsch, G., Helle, N., and Bögl, K.W.: Luminescence techniques to identify the treatment of foods by ionizing radiation. *Food Structure*. **12**, 385-396 (1993).
7. Schreiber, G.A., Helle, N., and Bögl, K.W.: An interlaboratory

- trial on the identification of irradiated spices, herbs and spice-herb mixtures by thermoluminescence analysis. *J. AOAC Int.* **78**, 88-93 (1995).
8. Raffi, J.J. and Benzaria, S.M.: Identification of irradiated foods by electron spin resonance techniques. *J. Radiation sterilization.* **1**, 282-304 (1993).
9. Nam, H.S., Lee, S.Y., and Yang, J.S.: Utilization of ESR spectrscopy for the detection of crabs. *J. Food. Hyg. Safety.* **15**, 1-4 (2000).
10. Cerda, H., Delincée, H., Haine, H., and Rupp, H.: The DNA Comet Assay as a rapid screening technique to control irradiated food. *Mutation Res.* **375**, 167-181 (1997).
11. Oh, K.N., Kim, K.E., and Yang, J.S.: DEtection of irradiated beans using the DNA comet assay. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **29**, 843-848 (2000).
12. Raffi, J., Delincée, H., Marchioni, E., Hasselmann, C., Sjöberg, A.M., Leonardi, M., Kent, M., Bögl, K.W., Schreiber, G., Stevenson, H., and Meier, W.: Concerted action of the Community Bureau of Reference on methods of identification of irradiated food. Final Report, EUR-15261, European Commission, Luxembourg. 1-119 (1994).
13. Delincée, H., Marchioni, E., and Hasselmann, C.: Changes in DNA for the detection of irradiated food. EUR-15012, Commission of the European Communities, Luxembourg. 1-24 (1993).
14. Kawamura Y., Murayama, M., Uchiyama, S., and Saito, Y.: Development of Half-Embryo Test and Germination Test for Detection of Irradiated Fruits and Grains. Detection Method for Irradiated Foods - Current Status. 383-391 (1996).
15. Kawamura Y., Uchiyama, S. and Saito, Y.: Improvement of the half-embryo test for detection of gamma-irradiated grapefruit and its application to irradiated oranges and lemons. *J. Food Sci.*, **54**, 1501 (1989).
16. Sadhan, K.C.: A simple and reliable method to detect gamma irradiated lentil(*Lens culinaris* Medik) seed by germination efficiency and seeding growth test. *Radiation Phy. Chem.* **64**, 131-136 (2002).