

방사선 조사 건조향신료의 ESR 측정에서 Cellulose Radical의 Parameter 분석

안재준 · 김동길 · 정형욱¹ · 권중호[†]
경북대학교 식품공학과, ¹식품의약품안전청

Parameter Analysis by Electron Spin Resonance Spectroscopy of Cellulose Radicals in Gamma-irradiated Dried Spicy Vegetables

Jae-Jun Ahn, Dong-Gil Kim, Hyung-Wook Chung¹ and Joong-Ho Kwon[†]
Department of Food Science & Technology, Kyungpook National University, Daegu 702-701, Korea
¹Korea Food and Drug Administration, Seoul 122-704, Korea

Abstract

Electron spin resonance (ESR) spectroscopy was used to detect radiation-induced signals from irradiated spices and ESR parameters were analyzed to define specific signals. Four powdered spices (red pepper, garlic, onion, and black pepper) were irradiated with 0, 1, 5, or 10 kGy at room temperature using a [60Co] gamma-ray irradiator prior to ESR analysis. Radiation-induced triplet signals, including those from the cellulose radical, which are center signals ($g_2=2.00673$) within the range of 3.0455 mT, were observed in all irradiated spice samples. The parameters g -value, center field, and signal range of hyperfine triplet ESR signals were constant in all irradiated samples, being specific for cellulose radicals and thereby distinguishing these signals from those of nonirradiated control samples. High positive correlation coefficients ($R^2=0.8452 - 0.9854$) were obtained between irradiation doses and corresponding ESR signal intensities. Thus, reliable detection of irradiated dried spices by measurement of ESR cellulose signals was confirmed by parameter analysis for the cellulose radical.

Key words : electron spin resonance (ESR), spice, irradiation, cellulose radical, parameter analysis

서 론

건조향신료는 특유의 맛과 향으로 인해 우리나라의 식문화에서 빼 놓을 수 없는 필수적인 조미료로 이용되어 왔으며, 또한 capsaicin, alicin, piperin 등 인체의 몸을 이롭게 하는 생리활성물질을 함유하고 있어 건강식품으로도 이용되고 있다. 일반적으로 건조향신료는 수분함량(5~20%)이 낮고 미생물과 해충이 생육하기 적합한 환경을 지니고 있어 생산, 운송, 저장 및 가공 시 오염될 가능성이 매우 높다. 따라서 각 국에서는 향신료의 저장기간을 연장할 수 있는 위생화 처리방법이 요구되고 있으며, 현재 널리 이용되고 있는 위생화 처리로는 동결건조와 감마선 조사방법 등이 있다. 특히 감마선 조사기술은 식품의 이화학적인 변화가

거의 발생되지 않아 향신료의 특성을 그대로 유지하면서 미생물과 해충의 오염을 방지할 수 있다. 또한 국제적으로 식품에 대해 화학적 처리의 규제가 강화되고 있기 때문에 식품에 대한 방사선 조사의 효용성이 날로 증대되고 있다.

이에 대해 각국에서는 방사선 조사 허용 품목과 조사량을 정하고 적절한 표시를 하도록 규정하고 있으며, 현재 56개국에서 230여개 품목에 대해 방사선 조사를 허가하고 있는 실정이다(1). 국내에서는 건조향신료의 살균, 살충의 목적으로 10 kGy까지의 감마선 조사를 허가하는 등 총 26개 품목에 대한 허용기준을 정하고 있다(2). 또한 방사선 조사식품의 상업적인 생산과 유통이 늘어나면서 효과적인 관리를 위하여 조사식품 검지기술이 필요하게 되었으며, 이에 Codex 표준방법(3)으로서 물리적, 화학적 및 생물학적 분석방법이 소개됨으로써 각국에서는 자국의 실정에 알맞은 조사식품 검지법을 마련을 준비하고 있다.

전자스핀공명(ESR) 분석방법은 방사선 조사 시 식품에

[†]Corresponding author. E-mail : jhkwon@knu.ac.kr,
Phone : 82-53-950-5775, Fax : 82-53-950-6772

존재하는 뼈, 각질, 결정형 당, 셀룰로오스 등에서 유래되는 자유라디칼을 측정하는 방법(4)으로서, 전처리가 비교적 간편하고 판별이 용이하므로 이용이 가능한 물리적 방법 중이 하나이다. 방사선 유래의 cellulose spectrum은 Raffi 등(5)에 의해 감마선 조사된 딸기에서 최초로 발견되었다. 이후 파프리카, 망고 등 건조과일, 채소류, 향신료 등에서도 확인되었으며(6-9), 현재에는 Codex 방법으로 채택되었다(3).

본 연구에서는 ESR spectroscopy를 이용하여 방사선 조사된 4종의 건조향신료에서 free radical을 확인한 다음, 보다 정확한 조사여부 판별을 위하여 ESR spectrum의 parameter를 분석함으로써 ESR 검지법 확립에 필요한 기초 자료를 마련하였다.

재료 및 방법

실험 재료

본 실험에 사용된 건조향신료 분말(고추, 마늘, 양파, 후추)은 조미식품의 원료로 사용되는 것으로서 건조과정을 거친 후 분말상태의 시료를 C사에서 제공받았다. 시료는 폴리에틸렌 필름에 약 10 g 단위로 포장하여 감마선 조사 시료로 사용하였다.

감마선 조사

포장시료의 감마선 조사는 정읍방사선과학연구소에 소재한 ^{60}Co 감마선조사시설(AECL, IR-79, MDS Nordion International Co. Ltd., Ottawa, ON, Canada)을 이용하여 실온($22\pm 2^\circ\text{C}$)에서 0.69 Gy/sec의 선량률로 조사하였으며, 총 흡수선량은 평균 0, 1, 5 및 10 kGy로 하였다.

시료의 전처리

준비된 시료는 동결건조기(Bondiro, Ilshin Lab., Yangju, Korea)에서 16시간 건조한 후 내경 3.7 mm의 pyrex ESR tube에 충전(약 0.28 g)하여 측정에 사용하였다.

ESR 측정

시료의 ESR 측정은 ESR X-band spectrometer(TEs-300, JEOL, Tokyo, Japan)를 이용하였다. 측정 조건은 central field 327 ± 0.6 mT(mili tesla); sweep width 10~15 mT; microwave power 0.4~0.8 mW; modulation frequency 100 kHz; modulation amplitude 10 mT; sweep time 30 sec; time constant 0.3 sec 등으로 하였다. 모든 ESR 분석은 실온에서 실시하였으며, ESR cavity에 동일조건으로 고정시켜 3회 반복 측정하였다.

결과분석

방사선 조사된 건조향신료의 ESR 측정 결과는 Origin

(10)에 의해 분석하였다. ESR 분석에 영향을 미치는 반응변수와 회귀변수 간의 산점도의 분석을 위하여 SAS program (11)을 이용하여 최소제곱법(least square method)과 다중회귀모형(polynomial regression model)으로 나타내었다.

결과 및 고찰

ESR spectra 특성

ESR spectroscopy는 radical과 같은 상자기성 물질을 검출하는데 이용되는 방법으로, 방사선 조사식품을 연속적인 자기장 안에 넣어 두고 고주파의 전자기파를 쬐이게 되면 radical의 특성에 따른 특이한 ESR spectrum을 나타내게 된다(12). 방사선조사로 인해 유도되는 cellulose radical은 center field의 큰 peak를 중심으로 왼쪽(저자장 영역)과 오른쪽(고자장 영역)에서 한 쌍의 작은 peak가 6.0 mT의 간격으로 나타난다(13). 본 실험에서 비조사 시료와 10 kGy 조사 시료에 대한 ESR spectra는 Fig. 1과 같다. 비 조사 건조향신료에서는 4종의 시료 모두 $g=2.00695\pm 0.0037$ 인 singlet signal이 나타나 특이적인 signal이 나타나지 않았다. 반면, 방사선 조사된 시료에서는 triplet signal이 나타났다. 이때 center signal은 $g_2=2.00673\pm 0.00046$ 이었으며, 좌우 특이적인 작은 signal(g_1, g_3)은 center signal(g_2)를 중심으로 3.0455 ± 0.20824 mT의 간격으로 나타나 비 조사 시료와의 구별이 분명하였다. 방사선 조사시료에서 특이적으로 나타난 각 ESR signal의 g-value 및 center field는 Table 1과 같다. 즉, 고춧가루는 $g_1=2.002420, g_2=2.00673, g_3=1.98758$, 마늘 분말은 $g_1=2.02465, g_2=2.00611, g_3=1.98690$, 양파분말은 $g_1=2.02579, g_2=2.00695, g_3=1.98764$, 후추분말은 $g_1=2.02532, g_2=2.00696, g_3=1.98802$ 에서 값을 나타내었다. 또한 4종의 시료의 center field는 g_1 signal 324.25 mT, g_2 signal 327.4 mT, g_3 signal 330.4 mT이었으며, 저자장과 고자장 간의 간격(g_1-g_3)이 6.091 ± 0.1164 mT로 나타나 방사선에 의해 특이적으로 생성되는 cellulose radical임을 확인할 수 있었다. 각 signal의 magnetic field와 사용된 전자기파의 값은 실험적인 조건(시료의 양, ESR tube의 크기 등)에 따라 상대적인 영향을 받게 되므로 실험으로부터 얻은 자기장의 세기와 시료에 주사한 전자기파의 주파수로부터 g-value를 구하여 시료에 대해 여러 정보를 구할 수 있다(14). Raffi와 Agnel(15)은 건조채소류에서 측정된 cellulose radical은 $g=2.0040$ 인 center signal을 중심으로 강도의 비가 1:2:1인 hyperfine triplet signal이 나타났으며, 각 signal의 g-value는 항상 일정한 값을 가진다고 보고하였다. 그러나 본 실험에 나타난 center signal의 g-value는 2.0067로서 다소 차이는 있었으나 cellulose radical의 형태는 동일하였다. 또한 De Jesus 등(16)은 8종의 과일 및 채소류에 대해 ESR spectrum을 측정할 결과, 각 시료의 g-value와 저-고자장 간의 signal

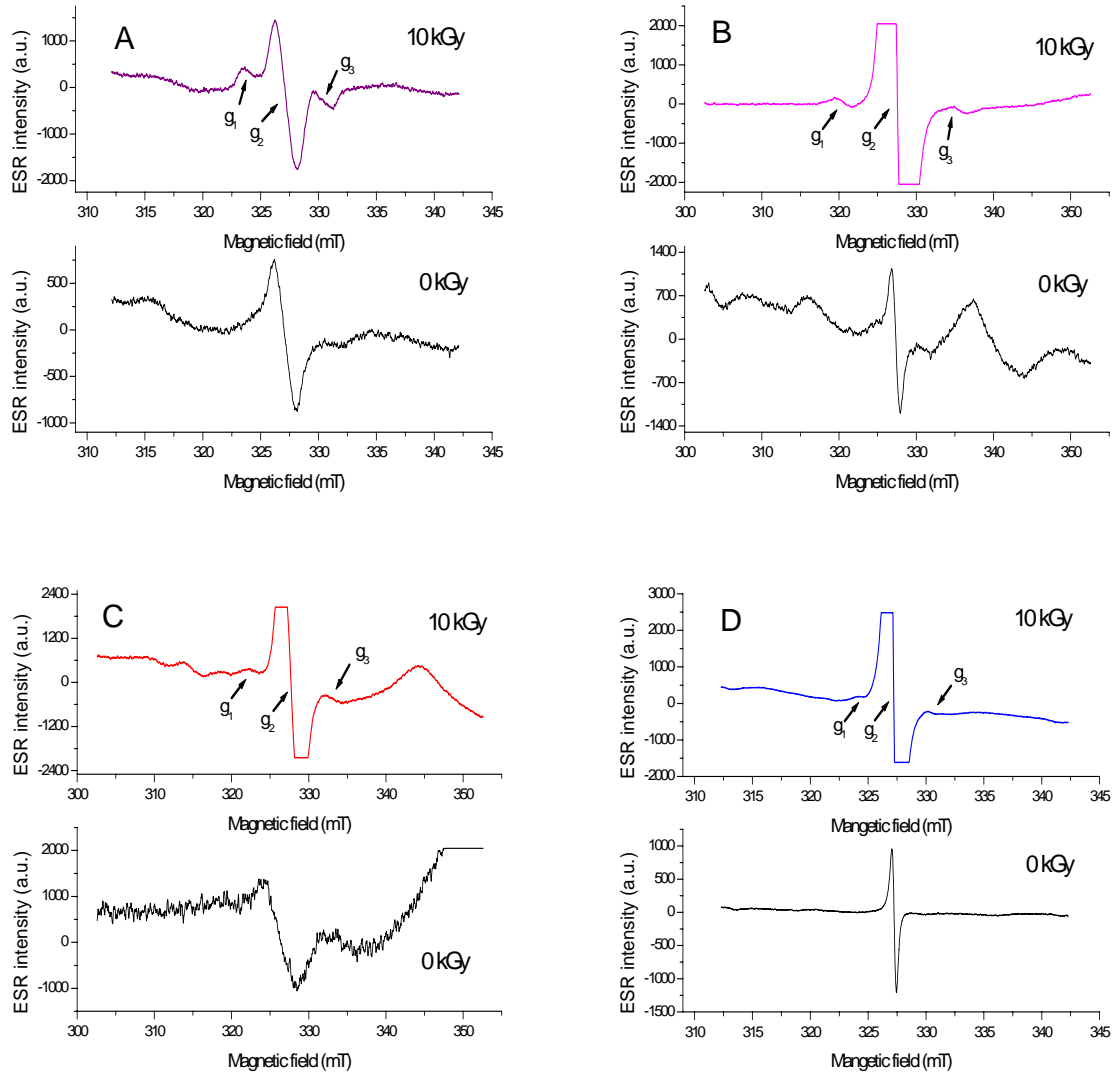


Fig. 1. The typical ESR spectra of irradiated powdered spices.

A, red pepper; B, garlic; C, onion; D, black pepper.

간격은 조사선량에 상관없이 거의 일정하게 나타났다고 보고하여 본 실험의 결과와 일치하였다.

조사선량에 따른 ESR spectra 변화

Cellulose 함유식품은 조사 시료와 비 조사 시료 모두 공통적으로 central line을 나타내며, 조사선량이 증가함에 따라 신호의 크기 역시 증가하게 되나, 이는 시료가 지니는 수분함량에 크게 영향을 받게 된다(17). 감마선(10 kGy)이 조사된 건조향신료 4종은 모두 cellulose radical을 나타내면서 ESR 분석방법이 방사선 조사여부의 판별에 효과적임을 보여주었다. 하지만 마늘, 양파, 후추 등은 저 선량(1 kGy)에서는 signal이 매우 낮게 나타나 cellulose radical의 확인이 어려웠다. 방사선 조사식품의 cellulose radical을 측정할

ESR 분석연구에서 고추는 1 kGy 이상에서, 칠리는 3 kGy 이상에서 특이적인 signal을 각각 나타내었으나, 그 이하의 선량에서는 확인하기 어렵다고 하였다(18). 또한, 후추 역시 3 kGy 이하에서 cellulose radical을 확인하기 어려웠다고 보고하였으며(19). Nam 등(20)은 감마선 조사된 차 잎에서 10 kGy 이하의 선량에는 특이적인 signal이 발견되지 않았다고 하였다. 그리고 Desrosiers 등(19)은 건조향신료, 채소류, 차류 등에 존재하는 Mn^{2+} ion으로 인해 저선량 조사시료에서는 cellulose radical의 확인이 어렵다고 하여 이상의 연구결과를 잘 뒷받침해 주었다.

한편, 방사선 조사선량에 따른 4종의 건조향신료의 ESR intensity는 Fig. 2와 같다. 고춧가루, 마늘분말 및 후추분말은 10 kGy의 범위에서 조사선량에 따라 signal intensity가

Table 1. Parameters of ESR signal for irradiated powdered spices

Sample	Parameter	Calculated parameter values			
		Non-irradiated	Irradiated (10 kGy)		
			left (g ₁)	central (g ₂)	right (g ₃)
Red pepper	g-value ¹⁾	2.00771	2.02420	2.00673	1.98758
	central field (mT)	327.16	324.18	327.22	330.42
	spectral range (mT)	324.88-329.71	322.54-324.49	325.35-329.64	329.64-331.90
	intensity (a.u.)	593	344	2320	312
Garlic	g-value	2.00684	2.02465	2.00611	1.98694
	central field (mT)	327.15	324.45	327.35	330.573
	spectral range (mT)	324.93-329.96	322.78-324.76	325.81-329.69	329.81-331.74
	intensity (a.u.)	378	241	3283	277
Onion	g-value	2.00652	2.02579	2.00695	1.98764
	central field (mT)	327.04	324.26	326.98	330.284
	spectral range (mT)	324.56-329.80	322.83-324.89	324.95-329.18	329.56-331.85
	intensity (a.u.)	814	130	3704	211
Black pepper	g-value	2.00714	2.02532	2.00696	1.98802
	central field (mT)	327.20	324.307	327.24	330.284
	spectral range (mT)	324.62-329.75	322.66-324.53	324.77-329.46	329.58-331.79
	intensity (a.u.)	640	101	3344	83

¹⁾g-value = [(71.448 × microwave GHz)/magnetic field].

Table 2. Determination of coefficients (R²) between irradiation dose and ESR signal intensity in irradiated powdered spices at 0 to 10 kGy

Function ¹⁾	Sample	Calculated parameters			R ²
		a	b	c	
Y=ax+b	red pepper	157.73	856.1		0.9098
	garlic	271.31	1213.5		0.9159
	onion	261.58	948.93		0.8452
	black pepper	245.19	928.73		0.9529
Y=ax ² +bx+c	red pepper	-15.39	312.12	723.3	0.9680
	garlic	-28.815	560.39	964.88	0.9854
	onion	-37.254	635.33	627.46	0.9604
	black pepper	-15.39	312.12	723.3	0.9680

¹⁾x: irradiation dose, y: ESR signal intensity, a-c: constants.

유의적으로 증가하였다. 그리고 이를 1차함수와 2차함수의 각 회귀식을 도출한 결과, 고춧가루는 $y=157.73x+856.1$, $y=-15.39x^2+312.12x+723.3$, 마늘분말은 $y=271.31x+1213.5$, $y=-28.815x^2+560.39x+964.88$, 양파분말은 $y=261.58x+948.93$, $y=-37.254x^2+635.33x+627.46$, 후추분말은 $y=245.19x+928.73$, $y=-15.39x^2+312.12x+723.3$ 으로 나타났다(Table 2). 이같이 ESR intensity와 조사선량은 비교적 높은 상관관계를 보였으며(R²=0.8452~0.9854), 이 같은 결과는 방사선 조사 향신

료 cumin의 ESR 분석결과에서 조사선량과 signal intensity의 비례적으로 증가하였다는 Abdel-Fattah(21)의 보고와 유사한 경향을 나타내었다.

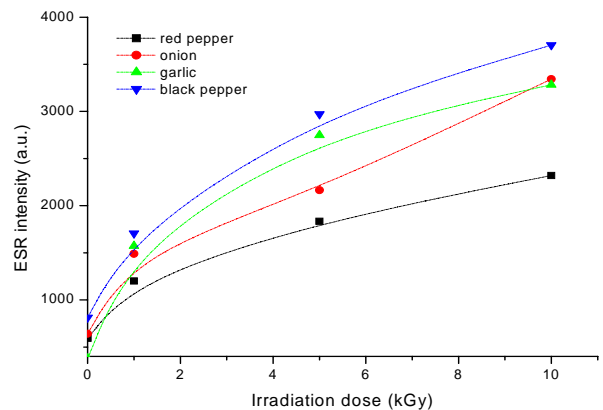


Fig. 2. ESR intensity of irradiated powdered spices.

요 약

ESR spectroscopy에 의한 방사선 조사 건조향신료의 조사여부의 정확한 판별에 필요한 기초자료를 얻고자 방사선

조사 유래의 cellulose radical에 대한 parameter를 분석하였다. 건조향신료 분말 4종(고추, 마늘, 양파, 후추)에 대하여 0, 1, 5, 10 kGy의 ^{60}Co 감마선을 조사한 후 ESR signal을 분석하였다. 방사선 조사된 4종의 건조향신료는 모두 방사선 조사 유래의 triplet signal인 cellulose radical을 나타내면서 center signal($g=2.00673$)은 좌우 3.0455 mT 간격의 특이적인 signal을 보였다. 조사시료에서 나타난 hyperfine triplet signal(cellulose radical)의 g-value, center field 및 저-고자장 signal의 간격은 조사선량이 변화하여도 일정하였으므로 이들 parameter들은 cellulose radical의 고유 특성임을 확인하였다. 이로써 감마선 조사시료와 비조사 시료 간의 구별이 분명하였다. ESR signal intensity는 조사선량이 증가함에 따라 유의적으로 증가하였다($R^2=0.8452\sim0.9854$). 이상의 결과에서 cellulose radical의 parameter 분석은 건조향신료의 ESR 분석에서 조사여부의 판별에 대한 신뢰성을 뒷받침해 주었다.

참고문헌

1. IAEA. (2008) International Atomic Energy Agency homepage, <http://nucleus.iaea.org/NUCLEUS/nucleus/Content/Applications/FICdb/FoodIrradiationclearances.jsp?module=cif>. Accessed on July 5.
2. KFDA. (2008) Korea Food Standard Code. Korea Food & Drug Administration, p.2-1-9~2-1-10
3. FAO/WHO CODEX STAN. (2003) General Codex Methods for The Detection of Irradiated Foods, CODEX STAN 231-2001, Rev.1
4. Desrosiers, M.F. (1996) Current status of the EPR method to detect irradiated food. *Appl. Radiat. Isotopes*, 47, 1621-1628
5. Raffi, J., Agnel, J.P.L., Buscarlet, L.A. and Martin, C.C. (1988) Electron spin resonance identification of irradiated strawberries, *J. Chem. Soc. Faraday T.*, 184, 3359-3362
6. Desrosiers, M.F., Le, F.G. and McLaughlin, W.L. (1989) Examination of gamma-irradiated fruits and vegetables by electron spin spectroscopy. *J. Agric. Food Chem.*, 34, 895-898
7. Helle, N., Linke, B., Bögl, K.W., and Schreiber, G.A. (1992) Elektronen-spin- resonanz-spektroskopie an Gewürzproben. Nachweis einer Behandlung mit Ionisierenden Strahlen. *Z. Lebensm. Unters. For.*, 195, 129-132
8. Raffi, J., Yordanov, N.D., Chabane, S., Douifi, L., Gancheva, V. and Ivanova, S. (2000) Identification of irradiation treatment of aromatic herbs, spices and fruit by electron paramagnetic resonance and thermoluminescence. *Spectrochim. Acta A*, 56, 409-416
9. Stevenson, M.H. and Gray, R. (1995) The use of ESR spectroscopy for the identification of irradiated food. *Annual Reports on NMR Spectroscopy*, 31, 123-142
10. Origin (1999) Origin Tutorial Manual, version 6.0, Microcal Software, Inc., Northampton, MA., U.K., p.20-45
11. SAS (1998) SAS User's Guide Statistics, 3th ed., Statistical Analysis System Institute Inc., Cary, NC, U.S.A.
12. Raffi, J.J. (1998) Identifying irradiated foods. *Trac-Trend. Anal. Chem.*, 17, 226-233
13. Johnston, D.E. and Stevenson, M.H. (1990) *Food Irradiation and the Chemist*. Royal Society of Chemistry, Cambridge, U.K. p.89-90
14. CEN. (2000) Detection of irradiated food irradiated food containing cellulose, method by ESR spectroscopy. European Committee for Standard. English version of EN 1787, Brussels, Belgium
15. Raffi, R. and Agnel, J.P.L. (1989) Electron spin resonance identification of irradiated fruits. *Radiat. Phys. Chem.*, 34, 891-894
16. De Jesus, E.F.O., Rossi, A.M. and Lopes R.T. (2000) Identification and dose determination using ESR measurements in the flesh of irradiated vegetables products. *Appl. Radiat. Isotopes*, 52, 1375-1383
17. Deighton, N., Glidwell, S.M., Goodman, B.A. and Morrison, I.M. (1993) Electron paramagnetic resonance of gamma-irradiated cellulose and lignocellulosic material. *Int. J. Food Sci. Tech.*, 28, 45-55
18. Bayram, G. and Delinceé, H. (2004) Identification of irradiated Turkish foodstuffs combining various physical detection methods. *Food Control*, 15, 81-91
19. Desrosiers, M.F., Yacko, D.M., Basi, A. and McLaughlin, W.L. (1996) Interlaboratory trials of the EPR method for the detection of irradiated spices, nutshell and eggshell. In *Detection methods for irradiated foods-current status*, McMurray, C.H., Stewart, E.M., Gray, R. and Pearce, J.(Editors), Royal Society of Chemistry, Cambridge, U.K., p.108-118
20. Nam, H.S., Suh, C.S. and Yang, J.S. (2001) Identification of gamma-irradiated teas by ESR spectroscopy. *Food Sci. Biotechnol.*, 10, 602-605
21. Abdel-Fattah, A.A. (2002) Identification and dose assessment of irradiated cumin by EPR spectrometry. *Appl. Radiat. Isotopes*, 56, 557-562