

육가공용 향신료의 위생화를 위한 감마선 및 전자선 조사 효과 비교

김병희¹ · 김현주 · 윤요한 · 신명곤¹ · 이주운*

한국원자력연구원 정읍방사선과학연구소, ¹우송대학교 식품생물과학과

Comparison of the Effects of Gamma Ray and Electron Beam Irradiation to Improve Safety of Spices for Meat Processing

Byung-Hee Kim¹, Hyun-Joo Kim, Yohan Yoon, Myung-Gon Shin¹, and Ju-Woon Lee*

Team for Radiation Food Science and Biotechnology, Advanced Radiation Technology Institute,
Korea Atomic Energy Research Institute, Jeongeup 580-185, Korea

¹Department of Food Science and Biotechnology, Woosong University, Daejeon 300-718, Korea

Abstract

This study evaluated the effects of gamma ray and electron beam (E-beam) to improve the safety of spices for meat processing. The spices (garlic powder, curry powder, turmeric powder, black pepper, white pepper, oregano, parsley, laurel leaf powder, basil, and rosemary) were irradiated by gamma ray and E-beam at 0, 2, 4, 6, 8, and 10 kGy. Total bacterial populations were then enumerated on total plate count agar, and bacteria isolated from the samples were identified by polymerase chain reaction (PCR). In addition, D_{10} values for *Bacillus cereus* and *Staphylococcus aureus* inoculated in spices was determined, and the Ames test was conducted for genotoxicity analysis. The contaminated total bacterial populations in spices ranged from 1.5 to 3.8 Log CFU/g, and most of identified bacteria were *Bacillus* spp., and *Staphylococcus* spp. However, the bacterial populations decreased below the detection limit (2 Log CFU/g) after irradiation at 4 kGy except for parsley, which required 6 kGy in gamma ray and 8 kGy in E-beam to decrease total bacterial populations below detection limit. D_{10} values were also higher ($p < 0.05$) in E-beam treated samples than gamma-ray treated samples. No genotoxicity was observed in both conditions with and without metabolic activation. These results indicate that gamma ray (>4 kGy and <6 kGy) could be more useful to improve food safety of meat processing spices compared to E-beam.

Key words : spices, gamma irradiation, electron beam irradiation, food safety

서 론

주로 열대, 아열대 지방에서 생산되는 스파이스와 온대 지방에서 생육하는 향료식물의 총칭을 뜻하는 향신료는 비타민과 미네랄이 풍부하고 각종 약리 성분이 함유되어 있어서 곡물류나 채소, 과일류와는 다른 기능을 가지고 있다(Pszczola, 2001). 향신료의 역할을 간단히 살펴보면 육류나 생선의 냄새를 없애주는 소취제 역할을 하며, 상큼한 향기를 부여해주는 기능이 있다. 또한 색소성분에 의하여 착색작용도 하며, 방부작용과 산화방지 등 식품의 보존성을 높이는 역할을 하게 된다(Choi, 2002).

이와 같이 다양한 기능을 가지고 있는 향신료는 육가공 원료로서 그 사용량은 매년 증가되고 있으며 원료 품질의 균일화와 위생적인 원료의 년중 안정 공급은 육가공의 필수적인 요건이 되고 있다. 특히 수입품 및 국내 생산품으로 충당되고 있는 육가공 향신료는 대부분 미생물 오염이 심하여 제품의 부패 유기체가 되므로 살균처리를 필수적으로 해야만 한다. 향신료의 살균 방법으로는 가열 살균, 자외선 조사, microwave 처리, 훈증제 처리 등이 대부분 이용되고 있으나 살균 효과의 불충분, 고온에 의한 풍미 및 외관 변화, 응결 현상, 재포장에 따른 2차 오염 가능성, 약제성분의 잔류 등 많은 문제점을 내포하고 있다(Cho *et al.*, 1986). 이상의 살균 방법 중 국내에서 상업적으로 가장 많이 이용되고 있는 방법은 훈증 처리(ethylene oxide 등의 화학 약품)인데, 이 방법은 살균 조작성이 복잡하고 가스의 침투성이 나빠서 향신료 고유의 풍미 및 색채에 나쁜 영향을 미칠 뿐만 아니라 유해 성분의 생성 가

*Corresponding author : Ju-Woon Lee, Team for Radiation Food Science and Biotechnology, Advanced Radiation Technology Institute, Korea Atomic Energy Research Institute, Jeongeup 580-185, Korea. Tel: 82-63-570-3204; Fax: 82-63-570-3207, E-mail: sjwlee@kaeri.re.kr

능성이 높아 선진국에서는 점차 사용이 금지되고 있다 (Wetzel *et al.*, 1985). 따라서 육가공용 향신료 살균의 효과적인 대체 방법으로서 방사선의 이용이 다양하게 연구되고 있는 추세이다.

한편, 방사선 조사기술은 식품의 저장 중 영양 및 관능적인 품질의 저하없이 병원성 및 부패성 미생물을 없애는 가장 효율적인 방법으로 알려져 있고(Byun, 1994), 전 세계적으로 그 사용이 증가하고 있다. ^{60}Co 또는 ^{137}Cs 을 에너지원으로 사용하는 감마선이나 기계적으로 발생하는 전자선을 사용하는 방사선 조사는 살균공정상 온도, 습도, 압력의 영향을 받지 않고 연속처리가 가능하여 에너지효율을 높일 수 있을 뿐 아니라 완전 포장된 상태로 포장내 오염미생물을 살균할 수 있어 제품의 품질개선, 저장기간의 연장, 비용절감, 시장확대 등 안전하고 위생적인 식품의 대량공급이라는 측면에서 관심이 되어 왔다(Thayer, 1994). 그러나 감마선 및 전자선을 개별적으로 식품에 조사하여 그 효과를 살펴본 연구는 수차례 발표된 바 있으나(Song *et al.*, 2009), 두 에너지를 이용하여 효과적인 살균 조건을 비교한 연구는 미비한 실정이다. 따라서 본 연구에서는 육가공 산업에서 원료로 이용되고 있는 향신료(마늘분, 순카레분, 강황, 통후추, 통백후추, 오레가노, 파슬리, 월계수잎분, 바질, 로즈마리)의 위생화를 위해 대표적인 살균 기술인 감마선과 전자선의 효과를 비교 연구하고자 하였다.

재료 및 방법

시료 준비

실험에 사용된 육가공용 향신료(마늘분, 순카레분, 강황, 통후추, 통백후추, 오레가노, 파슬리, 월계수잎분, 바질, 로즈마리)는 (주)씨즈닝테크(Jochiwon, Korea)에서 구입한 후 low density polyethylene(LDPE) bag(Syunkyong Co., Ltd., Korea)에 3 cm 이하의 두께가 되도록 포장하여 사용하였다.

감마선 및 전자선 조사

감마선 조사는 한국원자력연구원 방사선과학연구소(Jeongeup, Korea) 내 선원 11.1 PBq, ^{60}Co 감마선 조사시설(point source AECL, IR-79, MDS Nordion International Co., Ltd., Canada)을 이용하여 시간당 10 kGy의 선량률로 육가공용 향신료에 대하여 0, 2, 4, 6, 8 및 10 kGy의 총 흡수선량을 얻도록 하였다. 흡수선량 확인은 alanine dosimeter(5 mm, Bruker Instruments, Germany)를 사용하였다. Dosimetry 시스템은 국제원자력기구(IAEA)의 규격에 준용하여 표준화한 후 사용하였으며, 총 흡수선량의 오차는 2% 이내였다. 전자선 조사는 electron-beam(E-beam) accelerator(Model ELV-8, 2.5 MeV, Eb-Tech, Korea)를 이

용하였고 10 MeV의 에너지 세기, 가속 전류 5 mA의 조건으로 총 흡수선량이 0, 2, 4, 6, 8, 10 kGy가 되도록 조사하였다. 이때의 흡수선량은 cellulose triacetate dosimeter로 확인하였다.

미생물 오염도 평가

감마선 조사한 향신료의 미생물 오염도를 측정하기 위하여 시료 1 g에 멸균된 식염수(0.85%, NaCl) 9 mL를 첨가한 다음 혼합하여 10진 희석법으로 희석한 희석액을 total plate count agar(PCA; Difco, Laboratories, USA)에 도말 하였다. 미생물의 증식은 표준한천배양방법으로 각각 30°C에서 48시간 배양한 후 30-300개의 집락을 형성한 배지만 계수하여 시료 Log CFU/g로 나타내었다.

오염 미생물 동정

균주의 분리 및 DNA 추출

향신료 내 미생물의 분리를 위하여 PCA 배지를 사용하였다. 향신료를 멸균 식염수에 희석하여 PCA에 접종한 다음 30°C에서 48시간 배양한 후 생성된 colony를 취하여 순수 분리하였다. 이를 수거하여 genomic DNA kit(Invitrogen, USA)를 이용하여 PCR에 사용될 template DNA를 추출하였다.

PCR primer

원료 향신료 오염 미생물의 유전자를 증폭하기 위해 2종의 PCR primer를 이용하여 실험하였다. 목적 염기서열로는 16S rDNA를 선정하였다. 16S rDNA PCR 분석은 Keyser 등(2003)의 논문에서 기술된 primer로 5'-CCC GCA TCT CTG CAG GAT TCT C-3'과 5'-CTA ATA CCG CAT AAC GTC TAC G-3'을 사용하였다.

중합효소연쇄반응(PCR)

중합효소연쇄반응 용액 20 μL , 증류수 19.2 μL , template DNA 0.5 μL (100 ng/ μL)와 각각의 primer는 0.3 μL (20 pmol)를 취하여 premix(Bioneer, Korea)를 사용하여 PCR을 수행하였다. PCR 수행 조건은 PC-808(ASTEC, Fukuoka, Japan)을 사용하여 denaturation은 94°C에서 30초, annealing은 50°C에서 30초, extension은 72°C에서 1분씩 총 30회를 반복 실시하고 마지막으로 72°C에서 3분간 last extension을 실시하였다.

Agarose gel 전기영동에 의한 증폭산물 확인

PCR 증폭산물의 확인을 위하여 1.2% (w/v) agarose gel을 이용하여 전기영동장치(Advance, Japan)로 분석하였다. Agarose 1.2 g과 1×TBE(tris boric acid EDTA) 완충용액 100 mL를 섞어 1.2% gel을 만든 후 PCR 산물 2 μL 에

10×bromophenol blue dye 0.5 µL를 섞어서 gel에 loading 하고 100 v에서 40분 전기영동 시켰다. Size marker로는 1000 bp DNA ladder(TAKARA, Japan)를 사용하였다. 전기영동이 끝난 후 gel은 SYBR으로 염색하였으며 증폭된 DNA는 Gel image analyzer(Bio-rad, USA)로 관찰하였다. 증폭된 PCR product는 PCR purification kit(Qiagen, Germany)를 이용하여 정제하였으며, 증폭된 DNA는 SolGent사(Daejeon, Korea)에 sequencing을 의뢰하였다.

염기서열 분석

확보된 염기서열은 National Center for Biotechnology Information(NCBI)의 Basic Local Alignment Search Tool와 Ribosomal Database Project II tool에 등록되어 있는 database를 사용하여 검색하였다.

방사선 감수성

멸균 및 균주 접종

병원성 미생물의 방사선 감수성을 측정하기 위하여 향신료를 멸균시킨 후 미생물을 접종하였다. 향신료는 각각 10 g씩 PE nylon bag에 넣은 다음 합기 포장한 후 40 kGy 선량의 감마선을 조사하여 멸균하였다. 시험 균주로는 향신료 내 오염 미생물 동정 결과 중 대표적인 병원성 미생물인 *Bacillus cereus* KCTC 1012 및 *Staphylococcus aureus* KCTC 1916를 이용하였으며, 한국생명공학연구원 생물자원센터(Korean Collection for Type Cultures, KCTC)에서 구입하여 실험에 사용하였다. 2종류의 병원성 미생물들은 이들이 접종된 tryptic soy agar(TSA; Difco)에서 1 백금이를 취해 같은 tryptic soy broth(Difco) 10 mL에 접종하여 24시간 배양시킨 배양액 0.1 mL를 취해 새로운 배지 10 mL에 접종하여 18시간 동안 2차 배양한 후 그 배양액을 실험에 사용하였다. 균주 접종 시 배양배지에서 오는 오차를 줄이기 위해 2차 배양액을 원심분리(698.8 g, 15 min)한 후 상등액을 제거하여 0.85% 멸균식염수로 2회 세척하였다. 실험에 사용된 2균주의 초기농도는 7-8 Log CFU/mL 수준이 되도록 하였으며 균주를 멸균된 향신료에 2%(v/v)농도로 접종하였다.

감마선 조사

감마선 조사는 한국원자력연구원 정읍 방사선과학연구소(Jeongeup, Korea) 내 선원 11.1 PBq, ⁶⁰Co 감마선 조사 시설을 이용하여 시간당 10 kGy의 선량율로 각각 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 및 10 kGy의 총 흡수선량을 얻도록 하였다.

미생물 분석

접종 후 조사한 시료 10 g에 멸균된 식염수(0.85%, NaCl)

90 mL를 첨가한 다음 혼합하여 10진 희석법으로 희석한 희석액을 TSA에 도말 하였다. 미생물의 증식은 표준한천 배양방법으로 각각 37°C에서 48시간 배양한 후 30-300개의 집락을 형성한 배지만 계수하여 Log CFU/g로 나타낸 후 회귀분석을 이용하여 D_{10} 값을 계산하였다.

유전독성학적 안전성 평가

향신료의 유전독성학적 안전성 평가는 Ames test(Ames *et al.*, 1975; Maron and Ames, 1983)를 이용하여 측정하였다. 시험에 사용된 균주는 *Salmonella* Typhimurium LT2를 친주로 하는 *S. Typhimurium* TA98과 TA100이었고, 이들 균주는 사용에 앞서 필요시 균주의 유전자형 확인을 위해 histidine 요구성 여부, UV에 대한 민감도(*uvrB* 돌연변이), *rfa* 돌연변이의 유지여부 및 R-factor에 의한 ampicillin 또는 tetracycline 내성 등의 유전형질을 확인한 후 시험에 사용하였다.

본 실험에 사용된 균주는 Molecular Toxicology Inc. (Boone, USA)에서 구입하여 형질을 확인한 후 한국화학연구소 안전성센터에서 계대 배양 중인 것을 시험에 사용하였다. 유전형질이 확인된 균주는 nutrient broth No. 2(Oxoid Ltd., UK)에 접종하여 37°C에서 200 rpm으로 약 10시간 진탕배양(Vision Scientific Co., Korea)한 후 시험에 사용하였다.

대사활성을 위한 간 균질액(S9 fraction)은 Sprague-Dawley rat의 간으로부터 분리한 것으로 Oriental Yeast Co.(Tokyo, Japan)에서 구입하였으며, 5%(v/v)의 S9 mixture를 제조하여 사용하였다. S9 mixture는 0.5 mL/plate로 처리했으며, 그의 활성은 2-aminoanthracene(2-AA, Sigma, USA)의 돌연변이 유발로 확인하였다. 음성대조물질로는 시험물질의 조제에 사용한 증류수를 사용하였으며, 양성대조물질로는 4-nitroquinoline-1-oxide(4-NQO), sodium azide(SA) 및 2-AA를 Sigma사(USA)로부터 구입하여 이용하였다.

시험물질의 처리는 대사활성계 적용(+S) 및 미적용(-S)하여 direct plate incorporation 방법으로 하였으며, 각 농도군당 2개 plate를 사용하였다. 시험물질 0.1 mL과 S9 mixture(또는 멸균증류수) 0.5 mL에 배양액 0.1 mL을 top agar에 혼합하여 minimal glucose agar plate에 부어 고화시킨 다음, 37°C에서 48시간 배양한 후 복귀돌연변이 집락수를 계수하였다.

시험 결과는 복귀돌연변이 집락수의 평균과 표준편차로 나타내었으며, 돌연변이 유발성의 판정은 복귀변이 집락수가 용매 대조군의 2배 이상이면서 용량 의존성을 갖는 경우를 양성으로 하였다.

통계 분석

모든 실험은 3회 반복 실시하였으며, 얻어진 결과들은

SPSS software(1997)에서 프로그램에 의한 ANOVA test를 이용하여 분산분석을 한 후 Duncan의 다중위검정을 실시하였다.

결과 및 고찰

미생물 오염도 평가

감마선 및 전자선 조사한 향신료의 총세균수를 측정하였다(Table 1). 대부분의 시료에서 1.5 to 3.8 Log CFU/g의 일반호기성 미생물이 나타났으나, 강황 및 로즈마리에서는 미생물이 검출되지 않았다. 강황 및 로즈마리에는 curcumin과 같은 항균활성을 지닌 화합물이 함유되어 있는 것으로 발표된 바 있다(Park *et al.*, 2007). 파슬리를 제외한 모든 시료는 감마선은 2 kGy, 전자선의 경우 4 kGy 이상의 선량에서 미생물이 검출되지 않았다. 그러나 파슬리의 경우 미생물을 사멸하기 위해 감마선의 경우 6 kGy, 전자선의 경우 8 kGy의 선량을 필요로 하였다($p<0.05$). 이는 감마선이 전자선에 비해 시료의 투과도가 높기 때문에 각각의 향신료 내부에 오염된 미생물 제어에 보다 효과적이기 때문이라고 사료된다(Thakur, 1994).

Kwon 등(2006)은 식품에 사용하는 대부분의 향신료는 각각 유용성분이 함유되어 있어 항균활성을 포함한 다양한 기능성이 보고되고 있으나 각 시료 수확 후 가공하는데 있어 미생물에 쉽게 오염될 가능성이 높고 수출입 시

에는 위생적 품질확보의 중요성이 지적되고 있다고 보고하였다. McKee(1995)와 Banerjee 등(2003)은 육가공용 향신료에 *Bacillus cereus* 등과 같은 미생물이 검출되었다고 발표하였으며, Farkas(1998)는 육가공용 향신료에 방사선 조사를 적용하면 미생물을 효과적으로 살균할 수 있다고 발표하였다. 실험 결과, 강황 및 로즈마리를 제외한 각각의 향신료에 방사선 조사기술을 적용하였을 때 위생화가 확보되는 것으로 확인하였으며, 감마선 조사가 전자선 조사에 비해 효과적으로 위해 미생물을 사멸하는 것을 확인하였다.

오염 미생물 동정

각각의 향신료 내의 미생물로부터 확보한 PCR product는 정제한 후 염기서열의 확인을 통해 세균 동정과 함께 육가공용 향신료 내 오염 미생물의 군집을 조사하였다. 이때 확인된 염기서열은 NCBI의 Blast search를 통하여 유사도가 높은 gene을 검색한 결과, 향신료에 따라 서로 다른 오염 미생물이 동정되었다(Table 2). 앞선 실험에서 미생물이 검출되지 않은 강황 및 로즈마리는 실험 대상에서 제외하였다. 그 결과 통흑후추를 제외한 향신료에서 *Bacillus* spp.가 검출되었으며, 특히 대표적인 병원성 위해 미생물인 *B. cereus*가 마늘과 통백후추에서 검출되었다. 또한 통흑후추에서는 *Staphylococcus* spp.가 검출되어 향신료의 위생화가 절실히 요구되었다. 향신료에 *B. subtilis*, *Clostridium*

Table 1. Total bacterial populations (Log CFU/g) in the meat processing spices treated by gamma ray and electron beam

Sources	Sample	Irradiation dose (kGy)					
		0	2	4	6	8	10
Electron beam	Basil	1.5 ^a	ND ¹⁾	ND	ND	ND	ND
	Laurel leaf powder	1.8 ^a	1.3 ^b	ND	ND	ND	ND
	Black pepper	3.2 ^a	2.2 ^b	ND	ND	ND	ND
	Curry powder	3.2 ^a	2.2 ^b	ND	ND	ND	ND
	Garlic powder	2.5 ^a	1.5 ^b	ND	ND	ND	ND
	Oregano	2.4 ^a	1.9 ^b	ND	ND	ND	ND
	Parsley	3.8 ^a	2.1 ^b	1.8 ^c	1.5 ^d	ND	ND
	Rosemary	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	Turmeric powder	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	White pepper	2.2 ^a	1.3 ^b	ND	ND	ND	ND
Gamma ray	Basil	1.5 ^a	ND	ND	ND	ND	ND
	Laurel leaf powder	1.8 ^a	1.0 ^b	ND	ND	ND	ND
	Black pepper	3.2 ^a	1.9 ^b	ND	ND	ND	ND
	Curry powder	3.2 ^a	1.9 ^b	ND	ND	ND	ND
	Garlic powder	2.5 ^a	1.5 ^b	ND	ND	ND	ND
	Oregano	2.4 ^a	ND	ND	ND	ND	ND
	Parsley	3.8 ^a	1.6 ^b	1.5 ^c	ND	ND	ND
	Rosemary	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	Turmeric powder	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	White pepper	2.2 ^a	1.7 ^b	ND	ND	ND	ND

¹⁾Viable colony was not detected at detection limit <2 Log CFU/g.

^{a-d}Means within the same row with different letters are significantly different ($p<0.05$).

Table 2. Identification of isolated bacteria from irradiated meat processing spices using PCR method - 16S rDNA

Sample	Microorganisms
Basil	<i>Bacillus subtilis</i>
Laurel leaf powder	<i>Bacillus</i> spp. CK8, <i>Bacillus</i> spp. MDS07, <i>Bacillus</i> spp. LS11
Black pepper	<i>Staphylococcus saprophyticus</i> , <i>Staphylococcus xylosus</i>
Curry powder	<i>Bacillus subtilis</i> , <i>Bacillus amyloloquefacien</i>
Garlic powder	<i>Weissella confusa</i> , <i>Bacillus subtilis</i> , <i>Bacillus cereus</i>
Oregano	<i>Bacillus megaterium</i> , <i>Bacillus subtilis</i>
Parsley	<i>Bacillus megaterium</i> , <i>Bacillus endophyticus</i>
White pepper	<i>Bacillus cereus</i>

perfringens, *Campylobacter* spp., *Listeria monocytogenes* 등이 검출되어 이를 제거하기 위한 연구가 지속되어야 한다는 내용이 발표된 바 있다(Farkas, 1998). 또한 본 연구에서 검출된 *Bacillus* spp. 및 *Staphylococcus* spp. 모두 식중독을 유발하는 원인균으로 발표된 바 있으며, 또한 이들을 사멸하는 데 있어서 방사선 조사 기술이 효과적이라는 연구 또한 보고되어 있다(Choi *et al.*, 2009). 따라서 다양한 기능성을 가진 육가공용 향신료 역시 위생적 측면에서 절대 안심할 수 없으며, 효과적으로 미생물을 살균할 수 있는 방법이 필요하다고 사료된다.

방사선 감수성

앞선 오염 미생물 동정의 실험결과를 토대로 하여 각각의 육가공용 향신료에 *B. cereus* 및 *S. aureus*를 접종한 후 감마선 및 전자선 조사에 의한 방사선 감수성을 Table 3에 나타냈다. 그 결과 미생물의 종류 및 향신료에 따라 방사선 감수성이 다른 것으로 나타났다. 미생물 오염도 측정 시 항균력이 있는 것으로 나타난 강황 및 로즈마리는 0.19-0.23 kGy로 가장 낮은 것으로 나타났다($p<0.05$). *B.*

*cereus*를 바질에 접종하였을 때 다른 향신료보다 방사선에 대한 내성이 강한 것으로 확인되었으며, *S. aureus*의 경우 마늘에 접종하였을 때 내성이 강한 것으로 나타났다. 바질, 월계수잎, 순카레, 오레가노 및 파슬리의 경우 전자선 조사가 감마선 조사 처리군 보다 방사선에 대한 저항성이 강한 것으로 나타났다($p<0.05$).

방사선에 대한 미생물의 감수성은 방사선 조사 시의 온도, 산소, 수분, 미생물의 성장단계 및 배지조성과 같은 인자들에 영향을 받는다고 발표된바 있다. 즉 동일한 미생물이라 할지라도 식품의 종류와 특성에 따라 방사선에 대한 미생물의 감수성은 변화하게 된다(Molins, 2001). Song 등(2009) 및 Waje 등(2009)은 일반적으로 감마선 조사 처리군 보다 전자선 조사 처리 시 방사선에 대한 저항성이 낮다고 발표하였으며, 이는 본 연구결과와 일치하였다. 이는 감마선이 전자선에 비해 투과도가 높기 때문에 향신료 내부에 오염된 미생물의 제어에 보다 효과적이기 때문이라고 사료된다.

유전독성학적 안전성 평가

본 연구에서 이용한 유전독성학적 안전성 평가방법으로 사용한 Ames test는 *S. Typhimurium* LT2 strain에서 유래한 histidine 요구성 돌연변이주를 이용하여 간단히 복귀돌연변이를 검출할 수 있는 시험법으로 TA100은 base pair substitution mutation을 TA98은 frameshift mutation을 검출하기 위해 만든 균주이다(Ames *et al.*, 1975). 이 시험법은 발암성 물질에 대해 높은 감수성을 나타내어 일본의 경우, 노동성의 노동안전위생법 또는 후생성통산성의 화심법 등에도 채택되고 있다(Kim *et al.*, 2008). 감마선 및 전자선 조사한 향신료를 첨가하였을 때 *S. Typhimurium* TA98과 TA100에 대한 복귀돌연변이 집락수를 조사한 결과를 Table 4에 제시하였다. 실험에 사용된 두 균주의 생균수는 1.8×10^9 /mL 수준이었으며, 예비시험결과에 따라 모든 시료는 5,000 µg/plate를 최고농도로 설정하여 복귀돌연변이 시험을 수행하였다. 우선 대사활성 부재 시의 경우, 모든 시험균주에서 시험 적용 농도인 1,250-5,000 µg/plate의 범위에서 복귀돌연변이 집락수가 용매대조군과 비교하였을 때 유의적인 차이가 없는 것으로 나타났다. 또한 대

Table 3. D_{10} value (kGy) of the different pathogens inoculated in meat processing spices treated by gamma ray and electron beam

	D_{10} value (kGy)			
	<i>Bacillus cereus</i>		<i>Staphylococcus aureus</i>	
	Gamma ray	Electron beam	Gamma ray	Electron beam
Basil	0.53 ^b	0.63 ^a	0.37 ^b	0.46 ^a
Laurel leaf powder	0.35 ^b	0.53 ^a	0.35 ^b	0.45 ^a
Black pepper	0.56 ^a	0.52 ^a	0.35 ^b	0.50 ^a
Curry powder	0.53 ^b	0.58 ^a	0.34 ^a	0.34 ^a
Garlic powder	0.41 ^a	0.41 ^a	0.49 ^b	0.53 ^a
Oregano	0.49 ^b	0.52 ^a	0.47 ^a	0.46 ^a
Parsley	0.39 ^b	0.60 ^a	0.35 ^b	0.44 ^a
Rosemary	0.20 ^a	0.19 ^a	0.23 ^a	0.23 ^a
Turmeric powder	0.20 ^a	0.20 ^a	0.23 ^a	0.23 ^a
White pepper	0.51 ^a	0.56 ^a	0.35 ^b	0.45 ^a

^{a-b}Means within the same row with different letters are significantly different ($p<0.05$).

Table 4. Revertant colonies (mean \pm standard deviation) recovered from the *Salmonella* Typhimurium reversion assay for meat processing spices treated by gamma ray and electron beam

Sample	Irradiation dose (kGy)	Concentration ($\mu\text{g}/\text{plate}$)	Number of revertant colonies (His+) per plate			
			TA98 (-S9)	TA98 (+S9)	TA100 (-S9)	TA100 (+S9)
Basil	0	1,250	28 \pm 7	38 \pm 2	187 \pm 3	253 \pm 1
		2,500	22 \pm 0	32 \pm 8	214 \pm 4	202 \pm 1
		5,000	30 \pm 4	25 \pm 9	191 \pm 2	219 \pm 19
	30 (gamma ray)	1,250	30 \pm 1	35 \pm 4	180 \pm 8	225 \pm 25
		2,500	20 \pm 1	35 \pm 2	160 \pm 3	193 \pm 6
		5,000	21 \pm 11	36 \pm 4	159 \pm 6	181 \pm 6
	30 (E-beam)	1,250	33 \pm 2	24 \pm 8	193 \pm 8	243 \pm 13
		2,500	18 \pm 6	21 \pm 3	222 \pm 5	261 \pm 3
		5,000	22 \pm 4	25 \pm 2	222 \pm 42	283 \pm 14
Laurel leaf powder	0	1,250	30 \pm 6	27 \pm 8	184 \pm 7	184 \pm 4
		2,500	21 \pm 2	23 \pm 1	186 \pm 11	163 \pm 31
		5,000	17 \pm 1	26 \pm 1	205 \pm 39	210 \pm 1
	30 (gamma ray)	1,250	21 \pm 4	29 \pm 6	159 \pm 5	175 \pm 4
		2,500	21 \pm 2	26 \pm 2	147 \pm 23	180 \pm 24
		5,000	17 \pm 3	21 \pm 6	164 \pm 6	164 \pm 16
	30 (E-beam)	1,250	12 \pm 4	18 \pm 9	132 \pm 16	192 \pm 13
		2,500	14 \pm 2	25 \pm 3	193 \pm 17	213 \pm 11
		5,000	29 \pm 9	21 \pm 12	228 \pm 10	247 \pm 6
Negative control	H ₂ O		31 \pm 3	39 \pm 6	218 \pm 1	221 \pm 2
Positive control	4-NQO	0.5	748 \pm 53			
	2-AA	2		1808 \pm 215		
	SA	0.5			555 \pm 18	
	2-AA	2				1338 \pm 116
Sample	Irradiation dose (kGy)	Concentration ($\mu\text{g}/\text{plate}$)	Number of revertant colonies (His+) per plate			
			TA98 (-S9)	TA98 (+S9)	TA100 (-S9)	TA100 (+S9)
Black pepper	0	1,250	12 \pm 1	14 \pm 1	193 \pm 13	224 \pm 5
		2,500	20 \pm 4	33 \pm 3	191 \pm 11	196 \pm 1
		5,000	19 \pm 6	31 \pm 8	155 \pm 3	269 \pm 37
	30 (gamma ray)	1,250	16 \pm 3	25 \pm 3	182 \pm 9	251 \pm 13
		2,500	17 \pm 1	26 \pm 2	156 \pm 4	167 \pm 19
		5,000	17 \pm 1	27 \pm 7	163 \pm 5	278 \pm 5
	30 (E-beam)	1,250	20 \pm 1	26 \pm 2	232 \pm 19	250 \pm 40
		2,500	25 \pm 4	25 \pm 0	244 \pm 18	261 \pm 4
		5,000	21 \pm 2	25 \pm 8	270 \pm 8	236 \pm 28
Curry powder	0	1,250	32 \pm 5	24 \pm 1	210 \pm 42	193 \pm 60
		2,500	24 \pm 4	28 \pm 1	203 \pm 3	219 \pm 25
		5,000	23 \pm 4	29 \pm 0	207 \pm 23	216 \pm 8
	30 (gamma ray)	1,250	22 \pm 4	23 \pm 4	207 \pm 22	183 \pm 55
		2,500	24 \pm 1	22 \pm 1	211 \pm 13	220 \pm 21
		5,000	24 \pm 4	24 \pm 5	215 \pm 22	215 \pm 18
	30 (E-beam)	1,250	22 \pm 7	14 \pm 3	171 \pm 9	181 \pm 6
		2,500	21 \pm 1	18 \pm 2	169 \pm 12	173 \pm 14
		5,000	23 \pm 4	24 \pm 1	180 \pm 0	183 \pm 20
Negative control	H ₂ O		31 \pm 3	39 \pm 6	218 \pm 1	221 \pm 2
Positive control	4-NQO	0.5	748 \pm 53			
	2-AA	2		1808 \pm 215		
	SA	0.5			555 \pm 18	
	2-AA	2				1338 \pm 116

Table 4. Continued

Sample	Irradiation dose (kGy)	Concentration ($\mu\text{g}/\text{plate}$)	Number of revertant colonies (His+) per plate			
			TA98 (-S9)	TA98 (+S9)	TA100 (-S9)	TA100 (+S9)
Garlic powder	0	1,250	23 \pm 9	24 \pm 6	201 \pm 32	208 \pm 4
		2,500	29 \pm 5	25 \pm 7	190 \pm 8	188 \pm 7
		5,000	27 \pm 7	31 \pm 1	161 \pm 9	178 \pm 1
	30 (gamma ray)	1,250	18 \pm 1	24 \pm 2	110 \pm 4	203 \pm 7
		2,500	14 \pm 1	25 \pm 5	172 \pm 29	259 \pm 13
		5,000	19 \pm 1	28 \pm 5	196 \pm 56	227 \pm 1
	30 (E-beam)	1,250	19 \pm 1	29 \pm 4	197 \pm 26	199 \pm 16
		2,500	28 \pm 1	32 \pm 6	186 \pm 3	209 \pm 2
		5,000	16 \pm 1	28 \pm 2	233 \pm 18	206 \pm 23
Oregano	0	1,250	23 \pm 1	17 \pm 6	180 \pm 1	152 \pm 21
		2,500	23 \pm 6	25 \pm 2	158 \pm 1	180 \pm 1
		5,000	22 \pm 10	26 \pm 11	188 \pm 30	212 \pm 25
	30 (gamma ray)	1,250	23 \pm 6	22 \pm 5	158 \pm 11	177 \pm 56
		2,500	19 \pm 2	24 \pm 1	205 \pm 12	219 \pm 22
		5,000	16 \pm 1	28 \pm 2	233 \pm 18	206 \pm 23
	30 (E-beam)	1,250	23 \pm 2	35 \pm 2	185 \pm 25	185 \pm 45
		2,500	19 \pm 2	30 \pm 5	195 \pm 6	200 \pm 6
		5,000	28 \pm 5	18 \pm 3	185 \pm 4	204 \pm 8
Negative control	H ₂ O		31 \pm 3	39 \pm 6	218 \pm 1	221 \pm 2
Positive control	4-NQO	0.5	748 \pm 53			
	2-AA	2		1808 \pm 215		
	SA	0.5			555 \pm 18	
	2-AA	2				1338 \pm 116
Sample	Irradiation dose (kGy)	Concentration ($\mu\text{g}/\text{plate}$)	Number of revertant colonies (His+) per plate			
			TA98 (-S9)	TA98 (+S9)	TA100 (-S9)	TA100 (+S9)
Parsley	0	1,250	14 \pm 7	20 \pm 0	167 \pm 25	224 \pm 28
		2,500	11 \pm 6	19 \pm 6	215 \pm 6	225 \pm 5
		5,000	12 \pm 4	20 \pm 7	214 \pm 11	293 \pm 29
	30 (gamma ray)	1,250	20 \pm 5	27 \pm 1	185 \pm 3	225 \pm 15
		2,500	30 \pm 1	35 \pm 4	180 \pm 8	225 \pm 25
		5,000	20 \pm 6	28 \pm 5	187 \pm 2	229 \pm 15
	30 (E-beam)	1,250	10 \pm 4	13 \pm 1	98 \pm 20	167 \pm 45
		2,500	11 \pm 4	18 \pm 7	196 \pm 4	246 \pm 21
		5,000	14 \pm 5	26 \pm 1	200 \pm 1	263 \pm 15
Rosemary	0	1,250	20 \pm 6	25 \pm 7	175 \pm 16	103 \pm 9
		2,500	20 \pm 6	28 \pm 4	187 \pm 1	229 \pm 20
		5,000	15 \pm 8	24 \pm 13	180 \pm 6	180 \pm 1
	30 (gamma ray)	1,250	23 \pm 8	33 \pm 2	112 \pm 23	160 \pm 44
		2,500	21 \pm 1	30 \pm 3	125 \pm 28	171 \pm 25
		5,000	28 \pm 11	23 \pm 3	138 \pm 8	152 \pm 3
	30 (E-beam)	1,250	12 \pm 2	10 \pm 3	185 \pm 19	223 \pm 6
		2,500	23 \pm 13	20 \pm 8	178 \pm 13	184 \pm 12
		5,000	18 \pm 1	20 \pm 6	181 \pm 28	243 \pm 13
Negative control	H ₂ O		31 \pm 3	39 \pm 6	218 \pm 1	221 \pm 2
Positive control	4-NQO	0.5	748 \pm 53			
	2-AA	2		1808 \pm 215		
	SA	0.5			555 \pm 18	
	2-AA	2				1338 \pm 116

Table 4. Continued

Sample	Irradiation dose (kGy)	Concentration ($\mu\text{g}/\text{plate}$)	Number of revertant colonies (His+) per plate			
			TA98 (-S9)	TA98 (+S9)	TA100 (-S9)	TA100 (+S9)
Turmeric powder	0	1,250	15 \pm 1	23 \pm 10	256 \pm 6	195 \pm 1
		2,500	17 \pm 2	16 \pm 2	146 \pm 56	205 \pm 34
		5,000	13 \pm 1	15 \pm 1	277 \pm 6	303 \pm 13
	30 (gamma ray)	1,250	22 \pm 5	29 \pm 1	147 \pm 26	196 \pm 26
		2,500	22 \pm 4	31 \pm 3	186 \pm 8	189 \pm 7
		5,000	20 \pm 3	27 \pm 1	158 \pm 11	168 \pm 8
	30 (E-beam)	1,250	23 \pm 2	39 \pm 0	256 \pm 2	231 \pm 16
		2,500	24 \pm 1	34 \pm 2	220 \pm 6	232 \pm 57
		5,000	26 \pm 7	26 \pm 6	263 \pm 15	300 \pm 38
White pepper	0	1,250	7 \pm 4	11 \pm 3	204 \pm 2	233 \pm 14
		2,500	19 \pm 2	24 \pm 1	205 \pm 12	219 \pm 22
		5,000	16 \pm 4	19 \pm 4	149 \pm 4	189 \pm 1
	30 (gamma ray)	1,250	12 \pm 3	19 \pm 5	153 \pm 16	170 \pm 11
		2,500	16 \pm 2	23 \pm 5	177 \pm 8	216 \pm 4
		5,000	17 \pm 1	25 \pm 3	194 \pm 6	237 \pm 24
	30 (E-beam)	1,250	23 \pm 1	17 \pm 0	140 \pm 1	156 \pm 8
		2,500	22 \pm 9	20 \pm 1	153 \pm 8	146 \pm 7
		5,000	191 \pm 11	8 \pm 4	219 \pm 29	255 \pm 4
Negative control	H ₂ O		31 \pm 3	39 \pm 6	218 \pm 1	221 \pm 2
Positive control	4-NQO	0.5	748 \pm 53			
	2-AA	2		1808 \pm 215		
	SA	0.5			555 \pm 18	
	2-AA	2				1338 \pm 116

4-NQO: 4-Nitroquinoline-1-oxide, SA: Sodium azide, 2-AA: 2-Aminoanthracene.

사활성계(S-9 mixture)를 도입하였을 때 시험물질에 대해 *S. Typhimurium*을 이용한 복귀돌연변이 시험 결과에서 시험한 모든 검체는 적용 농도에서 복귀돌연변이 집락수 간의 유의적인 차이가 없었다. 일반적으로 돌연변이원성의 판정은 음성대조군 복귀변이 집락수의 2배 경우를 양성으로 하므로 각각의 향신료에 대한 시험적용농도에서 복귀변이를 유발하지 않는 것으로 보아 감마선 및 전자선 조사에 의한 돌연변이원성은 없는 것으로 나타났다. 이 상의 결과로 볼 때 방사선 조사가 돌연변이원성이 되지 않는 것으로 사료된다. 이와 같은 결과는 유전독성학적 변이원성 시험에서 감귤 정유(Kim *et al.*, 2005) 및 김밥(Lee *et al.*, 2005)에 대한 감마선 조사는 돌연변이를 유발하지 않았다는 결과와 일치하였다. 또한 Jung 등(2002)은 카레 분 및 향신료 추출물을 이용하여 돌연변이원을 측정하는 결과 향돌연변이 효과가 있었다고 발표하였다.

본의 시료에서 1.5 to 3.8 Log CFU/g의 일반호기성 미생물이 나타났으나, 강황 및 로즈마리에서는 미생물이 검출되지 않았다. 검출된 시료에서는 조사에 의해 효과적인 것으로 미생물이 감소하였으며, 감마선이 전자선보다 효과적으로 미생물을 사멸하였다. 검출된 미생물을 동정한 결과 *Bacillus* spp. 및 *Staphylococcus* spp.으로 확인하였다. *B. cereus* 및 *S. aureus*에 대한 방사선 감수성 측정 결과 0.19-0.63 kGy로 확인되었으며, 전자선 보다 감마선에 대한 내성이 약한 것으로 확인되었다. Ames test를 이용하여 방사선 조사에 의한 향신료의 유전독성학적 안전성을 평가한 결과, 조사에 의한 돌연변이원성은 관찰되지 않았다. 이상의 결과를 종합하여 볼 때, 향신료의 위생화를 위한 살균방법으로 방사선 조사기술이 효과적으로 판단되며, 감마선(>4 kGy, <6 kGy)이 전자선보다 효과적으로 미생물을 제어하는 것으로 나타났다.

요 약

육가공 산업에서 원료로 이용되고 있는 향신료의 위생화를 위하여 대표적인 살균 기술인 감마선과 전자선의 조사효과를 비교하였다. 미생물 오염도를 측정하는 결과 대부

감사의 글

본 연구는 원자력연구기술개발사업의 지원을 받아 수행하였으며 이에 감사 드립니다.

참고문헌

- Ames, B. N., McCann, J., and Yamasaki, E. (1975) Methods for detecting carcinogens and mutagens with the *Salmonella*/mammalian-microsome mutagenicity test. *Mutat. Res.* **31**, 347-364.
- Banerjee, M., and Sarkar, P. K. (2003) Microbiological quality of some retail spices in India. *Food Res. Int.* **36**, 469-474.
- Byun, M. W. (1994) Application of irradiation techniques to food industry. *Radioisotope News* **9**, 32-37.
- Cho, H. O., Kwon, J. H., Byun, M. W., Kim, Y. J., and Yang, J. S. (1986) Effects of ethylene oxide fumigation and gamma irradiation on the quality of ground red and black peppers. *Korean J. Food Sci. Technol.* **18**, 294-300.
- Choi, S. G. (2002) Food and spice. *J. East Asian Soc. Dietary Life* **12**, 461-470.
- Choi, J., Kim, Y. J., Kim, J. H., Chun, B. S., Ahn, D. H., Kwon, J. H., Hwang, Y. J., Byun, M. W., and Lee, J. W. (2009) Characteristics of microorganisms contaminating seafood cooking drips exposed to gamma irradiation. *Korean J. Food Preserv.* **16**, 286-291.
- Farkas, J. (1998) Irradiation as a method for decontaminating food. A review. *Int. J. Food Microbiol.* **44**, 189-204.
- Jung, S. H., Chung, M. S., Lee, J. S., and Park, K. M. (2002) Antimutagenic effects of extracts of curry powder and its individual spice. *Korean J. Food Sci. Ani. Resour.* **22**, 352-357.
- Keyser, M., Withuhn, R. C., Ronquest, L. C., and Britz, T. (2003) Treatment of winery effluent with upflow anaerobic sludge blanket (UASB)-granular sludges enriched with *Enterobacter sakazakii*. *Biotechnol. Lett.* **25**, 1893-1898.
- Kim, H. J., Choi, J., Lee, H. S., Kim, J. H., Byun, M. W., Chun, B. S., Ahn, D. H., Yook, H. S., Kim, K., and Lee, J. W. (2008) Genotoxicological safety of the ethanol extract from seafood cooking drips by gamma irradiation. *J. Radiat. Ind.* **2**, 21-26.
- Kim, H. J., Jo, C., Lee, N. Y., Son, J. H., An, B. J., Yook, H. S., and Byun, M. W. (2005) Effect of gamma irradiation on physiological activity of citrus essential oil. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **34**, 797-804.
- Kwon, J. H., Kim, M. Y., Kim, B. K., Lee, J. E., Kim, D. H., Lee, J. W., Byun, M. W., and Lee, C. B. (2006) Identification characteristics of irradiated dried-spicy vegetables by analyzing photostimulated luminescence (PSL), thermoluminescence (TL) and electron spin resonance (ESR). *Korean J. Food Preserv.* **13**, 50-54.
- Lee, N. Y., Jo, C., Jung, H. J., Kang, H. J., Kim, J. K., Kim, H. J., and Byun, M. W. (2005) Prediction of the origin of microbial contamination in *kimbab* and improvement of microbiological safety by gamma irradiation. *Korean J. Food Sci. Technol.* **37**, 279-286.
- Maron, D. M., and Ames, B. N. (1983) Revised methods for *Salmonella* mutagenicity test. *Mutat. Res.* **113**, 1013-1030.
- McKee, L. H. (1995) Microbial contamination of spices and herbs: A Review. *Lebensm. Wiss. Technol.* **28**, 1-11.
- Molins, R. A. (2001) Food irradiation: Principles and applications (pp. 131-191). John Wiley & Sons Inc., New York.
- Park, K. N., Jeong, E. J., and Lee, S. H. (2007) Antimicrobial activity of Turmeric (*Curcuma aromatica* Salab.) extracts against various pathogens and spoilage bacteria isolated from Tofu. *Korean J. Food Preserv.* **14**, 207-212.
- Pszczola, D. E. (2001) A spice odyssey. *Food Technol.* **55**, 36-44.
- Song, B. S., Park, J. G., Kim, W. G., Kim, J. H., Choi, J., Yoon, Y., Byun, M. W., Kim, C. J., and Lee, J. W. (2009) Comparison of the quality of gamma ray- or electron beam-irradiated minced pork and pork patties. *Korean J. Food Sci. Ani. Resour.* **29**, 194-202.
- SPSS (1997) Statistical Package for the Social Sciences, Norman.
- Thakur, B. R., and Singh, R. K. (1994) Food irradiation. Chemistry and applications. *Food Rev. Int.* **10**, 437-473.
- Thayer, D. W. (1994) Wholesomeness of irradiated foods. *Food Technol.* **48**, 132-136.
- Waje, C. K., Jun, S. Y., Lee, Y. K., Kim, B. N., Han, D. H., Jo, C., and Kwon, J. H. (2009) Microbial quality assessment and pathogen inactivation by electron beam and gamma irradiation of commercial seed sprouts. *Food Control* **20**, 200-204.
- Wetzel, K., Huebner, G., and Baer, M. (1985) IAEA/FAO International Symposium on Food Irradiation Processing (pp. 13), Washington, D.C., USA, 4-8 March.

(Received 2009.12.2/Revised 2010.2.11/Accepted 2010.2.12)