

감마선 조사 오렌지의 급성 및 아만성 독성 평가

정다운¹ · 황옥화¹ · 최근표² · 강일준¹

¹한림대학교 식품영양학과·한국영양연구소

²강원도립대학 식품가공제과제빵과

Acute and Subchronic Toxicity of Gamma-Irradiated Orange

Da-Woon Jung¹, Yu-Hua Huang¹, Geun-Pyo Choi², and Il-Jun Kang¹

¹Department of Food Science and Nutrition & The Korean Institute for Nutrition, Hallym University

²Department of Food Processing and Bakery, Gangwon Provincial College

ABSTRACT The acute and subchronic toxicity of 1 kGy gamma-irradiated orange was evaluated in ICR mice. For acute toxicity, groups of 30 male and 30 female ICR mice were orally administered 1 kGy gamma-irradiated orange (0, 1,000, and 2,000 mg/kg). The mortality, clinical sign, body weight changes, and necropsy findings of ICR mice were observed for 14 days. No significant changes in body weight or abnormal gross findings were observed in relation to 1 kGy gamma-irradiated orange. Hematological and serum biochemical parameters were within normal ranges. According to the results, 1 kGy gamma-irradiated orange had no special toxic effects in male and female ICR mice at 2,000 mg/kg. For subchronic toxicity, groups of 36 male and 36 female ICR mice were given a diet of 1 kGy gamma-irradiated orange for 13 weeks (control, non-irradiated, and irradiated imported orange). During the experimental period, mortality, clinical signs, body weight change, food consumption, organ weight, and histopathological examination did not show any changes in comparison to the control group. Several hematological and serum biochemical parameters showed statistically significant changes, but these changes were within normal range. These results indicate that 1 kGy gamma-irradiated orange did not cause any toxic effects in male and female ICR mice and therefore can be considered as safe.

Key words: acute toxicity, subchronic toxicity, gamma-irradiation, orange, safety

서 론

오렌지는 감귤류에 속하는 열매의 하나로 beta-carotene, vitamin C, flavonoid 등의 생리활성물질이 많이 함유되어 있어 우리나라를 포함해 전 세계에서 널리 소비되고 있는 과일이다(1). 우리나라에서 소비되는 오렌지의 대부분은 미국에서 수입되고 있으며, 매년 그 양도 증가하고 있다(2).

과실류의 국제교역과 유통 등에서 저장기간을 연장하고 미생물과 해충 감염을 방지하기 위한 방법으로 ethylene oxide(EO)와 methyl bromide(MeBr)를 이용한 훈증살균 기술이 일반적으로 사용되고 있다(3). 그러나 EO는 발암성과 잔류성 등의 문제점이 보고되어 국제적으로 식품에 사용을 제한하였고, MeBr도 오존층을 파괴하는 환경공해물질로 규명되어 사용을 제한하였다(4). 그 밖에 보편적으로 사

용하고 있는 살균 처리에는 가열 처리, 자외선 조사, 화학약품 처리 등이 있지만, 식품성분의 변화 및 손실을 가져오거나 화학성분의 잔류 및 유해물질을 생성하는 등에 의한 문제점으로 인해 효과적인 대체 기술 개발이 필요하다(5,6).

방사선 조사 기술은 국제기구(FAO, IAEA, WHO)에서 유용하고 안전한 식품 및 공중보건 제품의 살균 방법으로 공인되어 이미 여러 분야에서 산업적으로 이용되고 있다(7). 최근 식품산업에서도 방사선 조사 기술은 병원성 미생물 및 유해 미생물의 사멸에 의한 위생화, 식량자원의 장기보존 및 손실방지, 국가 간 식량교역에 따른 검역 관리로써 관심이 높아지고 있으며, 현재 50여 개국에서 허용하였고 30여 개국에서 상업적으로 실용화되고 있다(8,9). 특히 적정 선량의 감마선 조사는 식품 고유의 품질을 유지하면서 미생물을 선택적으로 살균할 수 있고 잔류독성이 없으며, 제품을 완전히 포장한 후 살균이 가능하여 포장 과정에서의 2차 오염을 방지할 수 있다(10). 또한 감마선 조사는 전자선, X-선과 비교했을 때 투과력이 매우 우수하여 과일에 조사할 경우 과피와 과육에 흡수되는 선량이 동일하므로 과실류의 발아 억제와 해충 구제에 유리하다(11).

국제적인 교역이 활발해지면서 각국에서 수·출입 식품의

Received 11 May 2015; Accepted 6 August 2015

Corresponding author: Il-Jun Kang, Department of Food Science and Nutrition & The Korean Institute for Nutrition, Hallym University, Chuncheon, Gangwon 24252, Korea
E-mail: ijkang@hallym.ac.kr, Phone: +82-33-248-2135

검역 방법으로 방사선 조사 처리가 확대되고 있으며, 이에 따라 검역 기준을 규정하여 이행하고 있다(5). 하지만 우리나라는 국제교역의 증대로 식품의 수입량이 증가함에도 불구하고 방사선 조사 식품의 유통에 대한 규정이 갖춰져 있지 않고, 방사선 조사 식품의 안전성에 대한 부정확한 정보로 소비자들의 태도는 여전히 부정적이다(12,13). 또한 국외에서는 검역을 위해 과일의 방사선 조사가 허용되고 있으며 조사량이 1 kGy 이하로 규제되고 있으나, 국내에서는 방사선 조사 허용 식품에 과일이 포함되어 있지 않다(14). 그러므로 방사선 조사 식품에 대한 다양한 연구를 수행하여 규정을 확립하고 안전성을 입증하여 소비자들의 수용성을 증대 시킴으로써 이 기술이 상용화되도록 노력해야 한다.

방사선 조사 식품의 안전성을 입증하고 상용화하기 위해서는 앞서 수행한 Song 등(15)의 감마선 조사 계란의 유전 독성학적 안전성 평가나 Jeon 등(16)의 감마선 조사 닭갈비의 안전성 평가와 같은 연구가 다방면으로 이루어져야 한다. 따라서 본 연구에서는 국제교역이 활발해짐에 따라 식품에 대한 방사선 조사기술이 증대되는데, 이에 안전성을 검토하고자 1 kGy 감마선 조사 오렌지의 급성 및 아만성 독성 평가를 수행하였다.

재료 및 방법

시험물질 및 감마선 조사

본 연구에 사용한 오렌지는 미국 캘리포니아산으로 시장에서 판매 중인 오렌지를 구입하여 사용하였다. 감마선 조사는 한국원자력연구원(Jeongeup, Korea) 내 선원 11.1 PBq, ⁶⁰Co 감마선 조사시설(Point Source AECL, IR-79, MDS Nordion International Co., Ltd., Ottawa, Canada)을 이용하였다. 수입 오렌지를 실온(14±1°C)에서 시간당 10 kGy의 선량율로 1 kGy의 총 흡수선량을 얻도록 하였다. 흡수선량 확인은 alanine dosimeter(5 mm, Bruker Instruments, Rheinstetten, Germany)를 사용하였다. Dosimetry 시스템은 국제원자력기구(IAEA)의 규격에 준용하여 표준화한 후 사용하였으며, 총 흡수선량의 오차는 2% 이내였다. 감마선 조사된 수입 오렌지는 껍질을 제거한 다음 동결건조기(Vacuum Freeze Dryer, Model SFDSF12, Samwon Freezing Co., Seoul, Korea)에 동결건조 하여 독성시험 시료로 사용하였다.

실험동물 및 사육환경

실험동물은 4주령의 특정병원체 부재(specific pathogen free)의 ICR 계열 마우스를 중앙실험동물(주)(Seoul, Korea)로부터 구입하였다. 7일간의 검역 및 순화과정을 거친 후 체중 감소가 없는 건강한 동물을 선별하여 5주령 때부터 시험에 사용하였다. 사육환경은 온도 23±3°C, 상대습도 60±10%, 환기횟수 및 방식 10~20회/시간, 전배기방식, 조명시간 12시간(08:00~20:00) 및 조도 150~300 Lux로 설정하

였으며, 모든 시험자들은 고압증기멸균(121°C, 20분) 한 작업복과 보호 장구를 착용하여 실험을 수행하였다. 실험기간 동안 동물실의 온도와 상대습도는 자동온습도측정기를 이용하여 측정하였으며, 환기횟수, 조도 등의 환경조건은 정기적으로 측정하였다. 그 결과 시험에 영향을 미칠 것으로 생각되는 변화는 없었다. 실험동물은 폴리카보네이트 사육상자(278×420×200 mm, Three-Shine Inc., Daejeon, Korea)에 사육하였으며, 본 실험은 한림대학교 동물실험윤리위원회의 승인(승인번호: Hallym 2014-1)을 받아 수행하였다.

시험군 구성 및 시험물질 투여

동물의 군 분리는 순화기간 중 건강한 것으로 판정한 동물의 체중을 측정 후 평균 체중에 가까운 동물들을 암수 각각 급성독성은 10마리씩 3개군으로, 아만성독성은 12마리씩 3개군으로 나누었다.

급성독성은 시험물질을 0, 1,000, 2,000 mg/kg 용량으로 설정하고 멸균주사용수에 용해하여 조제하였으며, 실험동물에게 투여하기 전 하룻밤 절식시켜 위 내용물을 비운 후 경구투여용 존대를 이용하여 위 내에 직접 투여하였다. 투여 액량은 투여 당일에 측정된 절식 시의 체중을 기준으로 하여 10 mL/kg으로 하였고, 투여횟수 및 투여기간은 투여 당일 오전에 개체별로 단회 투여하였다.

아만성독성은 AIN-76 식이를 기본으로 투여한 대조군과 감마선 비조사(0 kGy) 오렌지 투여군, 감마선 조사(1 kGy) 오렌지 투여군으로 구성하였다. 사료는 각각의 필수영양소들을 AIN-76 규격에 맞게 혼합하여 pellet을 만들어 3개월간 자유로이 섭취시켰고, 필터와 유수 살균기를 이용하여 여과·살균된 정제수를 자유급식 시켰다. 오렌지의 일반성분 분석 결과 탄수화물, 단백질, 지방 함량이 건물량(dry basis) 기준으로 각각 81.53, 5.17, 0.34 g/100 g으로 확인되었으므로 오렌지 투여 시험군의 경우에는 오렌지를 투여하는 대신 AIN-76 식이를 기본으로 corn starch, casein 및 soy-bean oil의 양을 감소시켜 총 열량을 동일하게 조성한 pellet을 만들어 사용하였다. 이때 오렌지의 투여량은 사람의 섭취량을 고려하여 2.5%로 설정하여 안전성 평가를 실시하였다(Table 1).

사망동물 및 일반증상 관찰

급성독성은 투여 당일에 투여 후 1시간까지는 지속적으로, 투여 후 6시간까지는 매시간, 투여 1일부터 14일까지는 1회 이상 일반증상을 관찰하였다. 체중은 모든 동물에 대하여 투여 전, 투여 후 1, 3, 7 및 14일에 측정하였다.

아만성독성은 투여 및 관찰기간 동안 사망 여부, 일반증상의 정도를 1일 1회 관찰하고, 개체별로 기록하였다. 동물의 체중은 투여개시일, 그 이후에는 주 1회 및 부검일에 측정하였다. 부검일은 절식시킨 체중을 측정하였다. 사료 및 물 섭취량은 주 1회 측정하였다. 측정방법은 사료 및 물을 정량 급여한 후 일주일 되는 날에 사육상자 단위로 측정하여 그

Table 1. Formula of experimental diets

Ingredient	AIN-76	Orange	
		0 kGy	1 kGy
Casein	200	198.7	198.7
AIN-76 mineral mix	35	35	35
AIN-76 vitamin mix	10	10	10
DL-Methionine	3	3	3
Cellulose	50	47.5	47.5
Corn starch	550	529.6	529.6
Sucrose	100	100	100
Corn oil	50	49.9	49.9
Choline bitartrate	2	2	2
Orange	—	25	25
Total (g)	1,000	1,000.7	1,000.7

차이를 계산하고, 마리당 일일 평균 섭취량으로 산출하였다.

동물의 부검 및 장기 무게

사육이 끝난 실험동물을 12시간 동안 절식시키고 tri-bromoethanol(TBE)로 복강 마취하였으며, 혈액은 안와정맥채혈법으로 채취하였다. 급성독성은 모든 내부 장기를 대상으로 육안적인 부검 소견을 관찰하였고, 아만성독성은 간, 비장, 신장, 심장, 폐를 적출하여 중량을 측정하고, 각 장기에 대하여 부검 시 체중에 대한 상대중량을 산출하였다.

혈액학적 검사

급성 및 아만성 독성의 혈액학적 검사는 부검 시 채혈한 혈액을 EDTA-2K가 들어 있는 tube에 주입한 후 자동혈구계측장치(Hemavet 950, Drew Scientific Inc., Oxford, UK)를 이용하여 백혈구(white blood cell, WBC), 호중구(neutrophil, NEU), 림프구(lymphocyte, LYM), 단핵구(monocyte, MONO), 호산구(eosinophil, EOS), 호염구(basophil, BASO) 수치를 측정하였다. 나아가 적혈구(red blood cell, RBC), 헤모글로빈(hemoglobin, Hb), 혈중적혈구비율(hematocrit, HCT), 평균적혈구용적(mean corpuscular volume, MCV), 평균적혈구혈색소량(mean corpuscular hemoglobin, MCH), 평균적혈구혈색소농도(mean corpuscular hemoglobin concentration, MCHC), 적혈구용적분포폭(red blood cell distribution width, RDW), 혈소판(platelet, PLT), 평균혈소판용적(mean plasma volume,

MPV) 수치도 측정하였다.

혈청생화학적 검사

급성 및 아만성 독성의 혈청생화학적 검사는 부검 시 채혈한 혈액을 clot activator가 들어 있는 tube에 주입하고 15~20분간 실온에 방치하여 응고시킨 후 원심분리 하여 얻은 혈청으로, 혈액생화학분석기기(KoneLab 20, Thermo Fisher Scientific, Waltham, Finland)를 이용하여 aspartate aminotransferase(AST), alanine aminotransferase(ALT), alkaline phosphatase(ALP), total bilirubin(TBIL), glucose(GLU), total cholesterol(TCHO), triglycerides(TG), total protein(TP), albumin(ALB), blood urea nitrogen(BUN), creatinine(CRE)을 측정하였다.

조직학적 검사

아만성독성의 조직학적 검사는 간, 신장을 4% para-formaldehyde 용액에 고정시킨 후, Tissue Processor(Leica TP1020, Leica, Wetzlar, Germany)를 이용하여 파라핀 포매를 하였다. 포매된 조직은 Microtome(Leica RM 2255, Leica, Wetzlar, Germany)으로 7 µm 박절한 후 hematoxylin & eosin 염색을 실시하여 광학현미경(Zeiss Axio Imager.M1, Carlzeiss, Oberkochen, Germany)으로 관찰하였다.

통계학적 분석

이상의 실험에서 얻어진 결과는 Statistical Package for Social Sciences 10.0(SPSS Inc., Chicago, IL, USA)을 이용하여 one way ANOVA 분석을 하였으며, 시료 간의 유의성은 Duncan's multiple range test로 $P < 0.05$ 수준에서 비교하였다.

결과 및 고찰

사망동물, 일반증상, 체중 변화, 사료 섭취량 및 장기 무게

급성독성에서 1 kGy 감마선 조사 오렌지를 ICR 마우스에 경구투여 한 후 시험기간 동안 사망동물은 관찰되지 않았다(Table 2). 또한 일반증상에서도 연변, 설사, 항문 주위 오염 등과 관련된 어떠한 변화도 관찰되지 않았다(Table 3). 시험

Table 2. Mortality of ICR mice administered with 1 kGy gamma-irradiated orange for 14 days

Sex	Group (mg/kg)	Mortality	Days after treatment								ALD ¹⁾ value	
			0	1	2	3	4	5	7	8~14		
Male	0	0/10 ²⁾	0	0	0	0	0	0	0	0	0	>2,000 mg/kg
	1,000	0/10	0	0	0	0	0	0	0	0		
	2,000	0/10	0	0	0	0	0	0	0	0		
Female	0	0/10	0	0	0	0	0	0	0	0	>2,000 mg/kg	
	1,000	0/10	0	0	0	0	0	0	0	0		
	2,000	0/10	0	0	0	0	0	0	0	0		

¹⁾ALD: approximate lethal dose.

²⁾Number of dead animals/ Total animals.

Table 3. Clinical signs in ICR mice administered with 1 kGy gamma-irradiated orange for 14 days

Days	Signs	Sex			Female			
		Group (mg/kg)	0	1,000	2,000	0	1,000	2,000
0	Normal		10/10 ¹⁾	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10
	Soft stool		0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
	Diarrhea		0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
	Soiled perineal region		0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
1~13	Normal		10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10
14	Normal		10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10
	Terminal sacrifice		10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10

¹⁾Number of animals observed/ Number of animals examined.

Table 4. Body weight changes of ICR mice administered with 1 kGy gamma-irradiated orange for 14 days

Sex	Group (mg/kg)	Days					Gains ¹⁾ (g)
		0	1	3	7	14	
Male	0	28.40±0.48 ^{NS2)3)}	32.96±1.23 ^{NS}	35.26±1.75 ^{NS}	37.16±2.95 ^{NS}	39.06±4.51 ^{NS}	10.66±4.46 ^{NS}
	1,000	28.28±0.57	33.18±0.87	35.38±1.48	36.50±1.13	36.85±1.80	8.58±1.41
	2,000	28.38±0.87	33.28±1.13	35.58±1.62	36.50±2.26	38.88±3.23	10.50±2.38
Female	0	24.26±0.92 ^{NS}	28.62±0.93 ^{NS}	28.58±0.88 ^{NS}	29.02±0.63 ^{NS}	32.26±1.24 ^{NS}	8.00±1.74 ^{NS}
	1,000	24.20±1.27	27.05±0.96	28.25±1.01	28.8±0.34	31.23±1.73	7.03±1.15
	2,000	24.03±1.31	27.18±1.37	27.68±1.55	28.53±1.12	30.25±2.74	30.25±2.74

¹⁾Weight gains are body weight difference between day 14 and the day 0.

²⁾Values are expressed as mean±SD.

³⁾Not significant at 5% level by Duncan's multiple range test.

Table 5. Necropsy findings of ICR mice administered with 1 kGy gamma-irradiated orange for 14 days

Sex	Group (mg/kg)	Findings	Frequency ¹⁾
Male	0	No gross findings	10/10
	1,000	No gross findings	10/10
	2,000	No gross findings	10/10
Female	0	No gross findings	10/10
	1,000	No gross findings	10/10
	2,000	No gross findings	10/10

¹⁾Number of animals observed/ Number of animals examined.

물질 투여 후 14일간 체중 변화에서도 모두 정상적인 체중 증가가 관찰되었으며, 대조군과 비교하여 통계학적으로 유의적인 차이를 나타내지 않았다(Table 4). 시험기간 종료 후 부검 시 모든 장기에서 육안적인 이상소견은 관찰되지 않았다(Table 5). 따라서 사망동물, 일반증상, 체중 변화, 부검소견 등 감마선 조사로 인한 변화로 판단될 만한 요인은 발견되지 않았다.

아만성독성에서 1 kGy 감마선 조사 오렌지를 3개월간 ICR 마우스에 투여하는 동안 암수 모든 시험군에서 사망동물은 관찰되지 않았으며(Table 6), 육안적인 이상소견도 관찰되지 않았다(Table 7). 또한 암수 모든 시험군에서 정상적인 체중 증가가 관찰되었고 감마선 조사 오렌지 투여군을 대조군 및 감마선 비조사 오렌지 투여군과 비교해 볼 때 통계학적으로 유의적 차이가 없는 것으로 나타났으며, 식이섭취량에서도 유의적인 차이를 나타내지 않았다(Table 8). 감

Table 6. Mortality of ICR mice administered with 1 kGy gamma-irradiated orange for 3 months

Sex	Group	Weeks						Mortality ¹⁾
		1	2	3~10	11	12	13	
Male	Control	0	0	0	0	0	0	0/12
	0 kGy	0	0	0	0	0	0	0/12
	1 kGy	0	0	0	0	0	0	0/12
Female	Control	0	0	0	0	0	0	0/12
	0 kGy	0	0	0	0	0	0	0/12
	1 kGy	0	0	0	0	0	0	0/12

¹⁾Number of dead animals/ Total animals.

마선 조사가 주요 장기에 미치는 영향을 조사하기 위해 부검한 결과 암수 모든 시험군의 장기에서 시험물질 섭취로 인한 특이적인 이상증상은 관찰되지 않았으며, 장기 무게도 통계학적으로 유의적인 차이를 나타내지 않았다(Table 9). 따라서 체중 변화, 사료 섭취량 및 장기 무게 모두 감마선 조사로 인한 변화로 판단될 만한 요인이 발견되지 않았다.

혈액학적 검사

급성독성의 혈액학적 검사 결과 암수 ICR 마우스가 모든 수치에서 통계학적으로 유의적인 차이를 보이지 않았다(Table 10).

아만성독성의 혈액학적 검사 결과를 Table 11에 나타내었다. 먼저 수컷의 수치에서 HCT, MCHC 암컷의 수치에서 WBC, Hb, MCHC를 제외하고는 모든 수치가 통계학적으로 유의적인 차이를 나타내지 않았다. HCT, MCHC, WBC, Hb

Table 7. Clinical signs of ICR mice administered with 1 kGy gamma-irradiated orange for 3 months

Weeks	Signs	Sex		Male			Female		
		Group	Control	0 kGy	1 kGy	Control	0 kGy	1 kGy	
1	Normal		12/12 ¹⁾	12/12	12/12	12/12	12/12	12/12	
2~12	Normal		12/12	12/12	12/12	12/12	12/12	12/12	
	Loss of fur		0/12	0/12	0/12	0/12	0/12	0/12	
	Compound-colored stool		0/12	0/12	0/12	0/12	0/12	0/12	
13	Normal		12/12	12/12	12/12	12/12	12/12	12/12	
	Terminal sacrifice		12/12	12/12	12/12	12/12	12/12	12/12	

¹⁾Number of animals observed/Number of animals examined.

Table 8. Body weight change and food consumption of ICR mice administered with 1 kGy gamma-irradiated orange for 3 months

Sex	Group	Initial body weights (g)	Final body weights (g)	Body weight gain (g/d)	Food consumption (g/d)
Male	Control	37.55±1.66 ^{NS1)2)}	56.90±2.26 ^{NS}	0.26±0.07 ^{NS}	4.36±0.17 ^{NS}
	0 kGy	37.37±1.76	50.75±2.73	0.17±0.05	4.49±0.19
	1 kGy	37.58±0.82	53.33±1.59	0.19±0.04	4.41±0.15
Female	Control	29.23±1.27 ^{NS}	44.40±3.04 ^{NS}	0.23±0.08 ^{NS}	3.75±0.32 ^{NS}
	0 kGy	29.28±1.90	43.17±0.19	0.20±0.05	3.94±0.22
	1 kGy	29.92±1.45	45.30±1.54	0.20±0.05	3.93±0.20

¹⁾Values are expressed as mean±SD.

²⁾Not significant at 5% level by Duncan's multiple range test.

Table 9. Relative organ weight of ICR mice administered with 1 kGy gamma-irradiated orange for 3 months

Rel. organ wt. (%) ¹⁾	Sex		Male			Female		
	Group	Control	0 kGy	1 kGy	Control	0 kGy	1 kGy	
Liver		3.74±1.25 ^{NS2)3)}	4.11±0.56	3.74±0.45	3.72±0.24 ^{NS}	4.06±0.73	3.90±0.62	
Spleen		0.23±0.09 ^{NS}	0.28±0.07	0.25±0.05	0.31±0.04 ^{NS}	0.41±0.17	0.34±0.09	
Kidney-left		0.61±0.15 ^{NS}	0.74±0.10	0.63±0.16	0.45±0.09 ^{NS}	0.58±0.16	0.50±0.11	
Kidney-right		0.58±0.13 ^{NS}	0.73±0.07	0.59±0.14	0.41±0.05 ^{NS}	0.55±0.16	0.47±0.11	
Heart		0.43±0.11 ^{NS}	0.47±0.07	0.40±0.07	0.36±0.08 ^{NS}	0.44±0.09	0.36±0.06	
Lung		0.44±0.10 ^{NS}	0.48±0.03	0.43±0.05	0.48±0.14 ^{NS}	0.53±0.18	0.48±0.12	

¹⁾Relative organ weights were expressed as the percentage of organ weights to body weights.

²⁾Values are expressed as mean±SD.

³⁾Not significant at 5% level by Duncan's multiple range test.

Table 10. Hematological test of ICR mice administered with 1 kGy gamma-irradiated orange for 14 days

Test	Units	Sex		Male			Female		
		Group (mg/kg)	0	1,000	2,000	0	1,000	2,000	
WBC	K/μL		5.01±0.88 ^{NS1)2)}	2.58±1.04	3.71±2.16	2.72±0.93 ^{NS}	2.89±1.81	2.17±0.99	
NEU	K/μL		1.59±0.53 ^{NS}	0.79±0.30	1.04±0.54	0.43±0.17 ^{NS}	0.47±0.09	0.39±0.16	
LYM	K/μL		3.28±0.67 ^{NS}	1.74±0.79	2.54±1.54	2.13±0.81 ^{NS}	2.96±1.97	1.69±0.86	
MONO	K/μL		0.12±0.08 ^{NS}	0.05±0.02	0.08±0.07	0.12±0.04 ^{NS}	0.10±0.03	0.05±0.02	
EOS	K/μL		0.02±0.02 ^{NS}	0.01±0.01	0.02±0.03	0.02±0.01 ^{NS}	0.03±0.02	0.03±0.03	
BASO	K/μL		0.00±0.01 ^{NS}	0.01±0.01	0.01±0.01	0.01±0.01 ^{NS}	0.03±0.04	0.01±0.03	
RBC	M/μL		10.34±0.52 ^{NS}	10.37±0.70	10.83±0.50	9.63±0.86 ^{NS}	10.02±0.42	10.38±0.38	
Hb	g/dL		14.62±0.80 ^{NS}	14.37±0.59	14.57±0.97	13.80±1.32 ^{NS}	14.30±0.36	14.40±0.52	
HCT	%		60.82±3.41 ^{NS}	57.27±3.18	59.03±4.72	59.13±2.65 ^{NS}	57.68±2.76	57.65±3.91	
MCV	fL		58.84±1.63 ^{NS}	55.13±1.63	54.80±3.09	57.92±4.14 ^{NS}	56.55±0.9	55.53±2.17	
MCH	pg		14.16±0.21 ^{NS}	13.18±1.53	13.35±0.44	14.32±0.41 ^{NS}	14.03±0.39	13.88±0.33	
MCHC	g/dL		24.02±0.49 ^{NS}	23.88±2.54	24.33±1.14	24.80±1.16 ^{NS}	24.83±0.65	25.05±0.82	
RDW	%		15.38±0.64 ^{NS}	15.08±0.66	15.23±1.14	15.28±0.41 ^{NS}	15.20±0.58	15.88±0.88	
PLT	K/μL		653.33±106.91 ^{NS}	648.33±110.29	622.33±139.23	652.03±107.45 ^{NS}	524.25±87.73	558.75±125.26	
MPV	fL		5.04±0.13 ^{NS}	4.83±0.22	4.90±0.10	4.96±0.22 ^{NS}	4.88±0.28	5.05±0.10	

¹⁾Values are expressed as mean±SD.

²⁾Not significant at 5% level by Duncan's multiple range test.

Table 11. Hematological test of ICR mice administered with 1 kGy gamma-irradiated orange for 3 months

Test	Units	Sex		Male			Female		
		Group	Control	0 kGy	1 kGy	Control	0 kGy	1 kGy	
WBC	K/ μ L		4.93 \pm 0.99 ^{NS1)2)}	4.49 \pm 1.47	3.80 \pm 1.18	2.38 \pm 0.33 ^b	3.73 \pm 1.03 ^a	4.00 \pm 0.62 ^a	
NEU	K/ μ L		0.81 \pm 0.36 ^{NS}	1.03 \pm 0.67	1.07 \pm 0.48	0.51 \pm 0.22 ^{NS}	0.63 \pm 0.32	1.00 \pm 0.32	
LYM	K/ μ L		2.67 \pm 1.01 ^{NS}	2.91 \pm 1.25	2.47 \pm 0.83	1.71 \pm 0.17 ^{NS}	2.13 \pm 0.69	2.44 \pm 0.49 ^a	
MONO	K/ μ L		0.16 \pm 0.02 ^{NS}	0.11 \pm 0.04	0.09 \pm 0.06	0.10 \pm 0.05 ^{NS}	0.10 \pm 0.08	0.10 \pm 0.05	
EOS	K/ μ L		0.02 \pm 0.02 ^{NS}	0.02 \pm 0.01	0.02 \pm 0.01	0.05 \pm 0.03 ^{NS}	0.02 \pm 0.01	0.02 \pm 0.02	
BASO	K/ μ L		0.01 \pm 0.01 ^{NS}	0.01 \pm 0.01	0.01 \pm 0.01	0.03 \pm 0.01 ^{NS}	0.01 \pm 0.01	0.02 \pm 0.02	
RBC	M/ μ L		10.61 \pm 0.15 ^{NS}	9.74 \pm 2.72	10.75 \pm 1.01	10.03 \pm 0.52 ^{NS}	10.74 \pm 1.36	11.01 \pm 0.80	
Hb	g/dL		12.33 \pm 0.17 ^{NS}	13.23 \pm 3.39	14.69 \pm 1.33	11.53 \pm 1.16 ^b	14.53 \pm 1.64 ^a	14.90 \pm 0.72 ^a	
HCT	%		54.43 \pm 1.40 ^b	53.85 \pm 3.11 ^a	55.03 \pm 5.86 ^a	50.88 \pm 3.07 ^{NS}	51.39 \pm 6.98	55.48 \pm 2.13	
MCV	fL		52.50 \pm 3.07 ^{NS}	51.29 \pm 2.55	54.39 \pm 2.82	50.70 \pm 1.66 ^{NS}	50.93 \pm 4.05	52.54 \pm 2.96	
MCH	pg		12.88 \pm 1.30 ^{NS}	13.48 \pm 0.42	13.58 \pm 0.31	12.73 \pm 1.11 ^{NS}	13.26 \pm 0.90	13.19 \pm 0.30	
MCHC	g/dL		22.20 \pm 1.25 ^b	26.30 \pm 0.92 ^a	25.20 \pm 1.28 ^a	22.63 \pm 1.03 ^b	26.75 \pm 1.80 ^a	25.85 \pm 1.26 ^a	
RDW	%		16.70 \pm 0.57 ^{NS}	16.81 \pm 0.48	16.20 \pm 0.72	18.18 \pm 1.03 ^{NS}	17.52 \pm 1.02	17.41 \pm 1.17	
PLT	K/ μ L		655.33 \pm 119.27 ^{NS}	701.80 \pm 120.99	668.75 \pm 134.35	571.00 \pm 74.36 ^{NS}	662.33 \pm 12.93	674.33 \pm 128.54	
MPV	fL		5.23 \pm 0.35 ^{NS}	4.90 \pm 0.43	4.68 \pm 0.44	5.08 \pm 0.29 ^{NS}	5.00 \pm 0.42	4.85 \pm 0.52	

¹⁾Values are expressed as mean \pm SD.

²⁾Not significant at 5% level by Duncan's multiple range test.

수치는 Wolford 등(17)의 연구에서 제시한 실험동물의 혈액 기초 자료 측정치인 HCT(35.1~55.4%), MCHC(20.2~34.2 g/dL), WBC(1.8~10.7 K/ μ L), Hb(11.0~15.1 g/dL)와 비교하였을 때 모두 정상 범위 내에 속하였고, 감마선 비조사 오렌지군과 감마선 조사 오렌지군은 통계학적으로 유의적인 차이를 나타내지 않았으므로 감마선 조사에 기인한 독성은 없는 것으로 나타났다.

혈액생화학적 검사

급성독성의 혈액생화학적 검사 결과 암수 ICR 마우스가 모든 수치에서 통계학적으로 유의적인 차이를 보이지 않았다(Table 12).

아만성독성의 혈액생화학적 검사 결과를 Table 13에 나타내었다. 암수 ICR 마우스의 모든 수치는 통계학적으로 유의적인 차이를 보이지 않았다. 다만 수컷의 ALT 수치가 유의적인 차이를 나타냈는데 이는 Wolford 등(17)의 연구에서 제시한 실험동물의 혈액 기초자료 측정치인 ALT(30~

170 U/L)와 비교하였을 때 모두 정상 범위 내에 속하였고, 감마선 비조사 오렌지군과 감마선 조사 오렌지군은 통계학적으로 유의적인 차이를 나타내지 않았으므로 감마선 조사에 기인한 독성은 아닌 것으로 나타났다. 따라서 1 kGy 감마선 조사 오렌지는 혈액생화학적 측면에서 독성이 없는 것으로 판단되었다.

조직학적 검사

아만성독성에서 1 kGy 감마선 조사 오렌지를 3개월간 섭취한 ICR 마우스의 병리학적 조직검사를 위해 우선 장기를 육안으로 관찰한 결과 모든 동물에서 장기의 형태, 크기, 색조, 경도 및 기타 병변 등의 육안적 이상소견이 관찰되지 않았다. 이에 따라 간장 및 신장을 채취하여 고정한 후 염색하여 관찰한 결과를 Fig. 1과 Fig. 2에 나타내었다. 간의 경우 대조군, 감마선 비조사 오렌지 투여군과 감마선 조사 오렌지 투여군 모두에서 염증, 괴사 bilirubin 침착 및 iron 침착 등의 병적인 변화를 보이지 않았고, 간세포의 구조도 모

Table 12. Serum biochemistry test of ICR mice administered with 1 kGy gamma-irradiated orange for 14 days

Test	Units	Sex		Male			Female		
		Group (mg/kg)	0	1,000	2,000	0	1,000	2,000	
AST	U/L		135.60 \pm 51.89 ^{NS1)2)}	140.87 \pm 24.29	86.13 \pm 2.75	131.02 \pm 27.03 ^{NS}	118.98 \pm 27.50	131.68 \pm 35.37	
ALT	U/L		54.93 \pm 22.21 ^{NS}	70.42 \pm 26.45	37.07 \pm 0.66	36.01 \pm 2.38 ^{NS}	48.93 \pm 24.69	44.82 \pm 9.86	
ALP	U/L		297.60 \pm 71.14 ^{NS}	322.83 \pm 126.64	379.43 \pm 91.92	332.21 \pm 42.33 ^{NS}	393.12 \pm 23.78	326.76 \pm 43.88	
TBIL	mg/dL		0.11 \pm 0.03 ^{NS}	0.13 \pm 0.03	0.11 \pm 0.02	0.10 \pm 0.02 ^{NS}	0.10 \pm 0.03	0.11 \pm 0.04	
GLU	mg/dL		108.80 \pm 26.99 ^{NS}	118.13 \pm 41.46	84.80 \pm 17.67	112.03 \pm 31.83 ^{NS}	87.40 \pm 13.69	109.23 \pm 14.47	
TCHO	mg/dL		144.46 \pm 19.45 ^{NS}	122.24 \pm 20.75	149.42 \pm 14.86	102.97 \pm 13.82 ^{NS}	82.83 \pm 10.89	91.78 \pm 18.72	
TG	mg/dL		207.40 \pm 30.16 ^{NS}	153.59 \pm 32.86	205.73 \pm 38.00	152.50 \pm 34.64 ^{NS}	164.72 \pm 74.84	179.28 \pm 68.26	
TP	g/dL		4.60 \pm 0.42 ^{NS}	4.59 \pm 0.26	4.76 \pm 0.09	4.93 \pm 0.08 ^{NS}	4.57 \pm 0.17	4.92 \pm 0.37	
ALB	g/dL		3.35 \pm 0.32 ^{NS}	3.32 \pm 0.33	3.41 \pm 0.15	3.57 \pm 0.23 ^{NS}	3.40 \pm 0.24	3.53 \pm 0.17	
BUN	mg/dL		22.41 \pm 3.98 ^{NS}	24.94 \pm 5.66	23.41 \pm 1.67	16.10 \pm 2.59 ^{NS}	16.80 \pm 4.11	19.50 \pm 5.04	
CRE	mg/dL		0.38 \pm 0.04 ^{NS}	0.37 \pm 0.05	0.43 \pm 0.01	0.36 \pm 0.02 ^{NS}	0.36 \pm 0.02	0.36 \pm 0.03	

¹⁾Values are expressed as mean \pm SD.

²⁾Not significant at 5% level by Duncan's multiple range test.

Table 13. Serum biochemistry test of ICR mice administered with 1 kGy gamma-irradiated orange for 3 months

Test	Units	Sex		Male			Female	
		Group (mg/kg)	Control	0 kGy	1 kGy	0	1,000	2,000
AST	U/L		116.72±51.01 ^{NS1)2)}	172.07±49.62	171.17±32.24	145.77±32.10 ^{NS}	151.28±31.12	155.89±30.60
ALT	U/L		42.38±7.36 ^b	75.11±21.59 ^a	77.47±14.84 ^a	48.80±15.21 ^{NS}	50.00±15.14	50.63±18.71
ALP	U/L		164.03±27.47 ^{NS}	159.54±25.60	159.76±28.42	201.16±21.02 ^{NS}	174.18±36.58	173.49±27.86
TBIL	mg/dL		0.14±0.01 ^{NS}	0.16±0.04	0.17±0.05	0.10±0.02 ^{NS}	0.11±0.02	0.11±0.02
GLU	mg/dL		145.85±27.20 ^{NS}	122.61±27.77	121.43±15.04	111.79±11.62 ^{NS}	106.40±18.09	108.40±16.06
TCHO	mg/dL		168.17±72.94 ^{NS}	167.94±34.70	175.11±31.67	95.15±20.02 ^{NS}	92.73±34.24	96.87±18.87
TG	mg/dL		122.15±15.44 ^{NS}	101.72±27.14	111.00±17.87	77.66±10.65 ^{NS}	77.80±25.33	77.61±27.67
TP	g/dL		5.38±0.36 ^{NS}	5.02±0.19	5.12±0.41	5.15±0.61 ^{NS}	5.01±0.53	5.00±0.42
ALB	g/dL		3.47±0.34 ^{NS}	3.21±0.27	3.38±0.34	3.68±0.25 ^{NS}	3.41±0.38	3.39±0.23
BUN	mg/dL		22.68±2.22 ^{NS}	22.84±5.15	22.40±3.59	16.79±2.49 ^{NS}	20.50±5.00	19.34±2.59
CRE	mg/dL		0.45±0.00 ^{NS}	0.41±0.07	0.44±0.05	0.45±0.04 ^{NS}	0.42±0.04	0.43±0.05

¹⁾Values are expressed as mean±SD.

²⁾Not significant at 5% level by Duncan's multiple range test.

두 정상이었다(Fig. 1). 또한 신장에서도 염증 및 괴사 등의 병적인 변화를 보이지 않았고, 면역학적 요인이나 독성물질

에 기인하는 괴사도 관찰되지 않았다(Fig. 2). 따라서 1 kGy 감마선 조사 오렌지를 3개월간 암수 ICR 마우스에게 섭취시

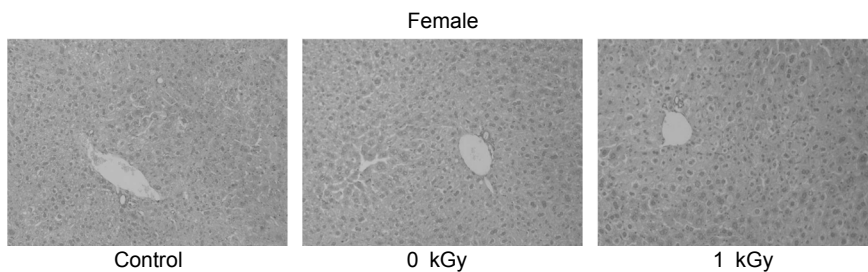
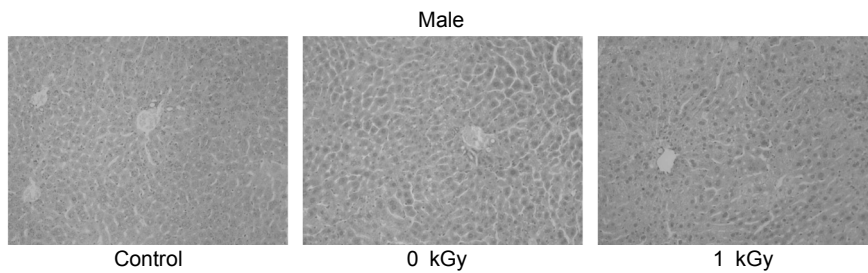


Fig. 1. Histopathological examination of liver in the ICR mice administered with 1 kGy gamma-irradiated orange for 3 months, ×20.

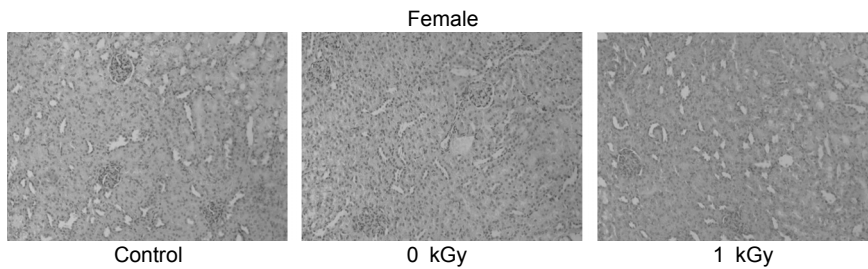
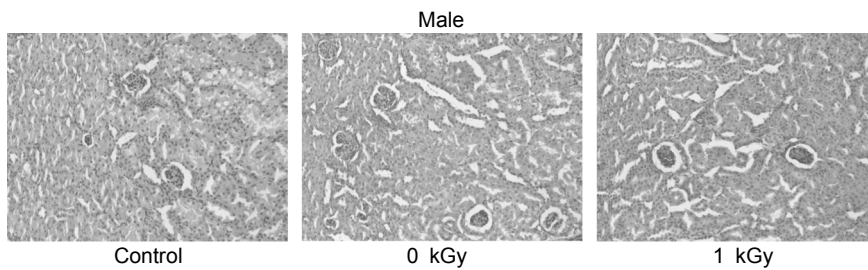


Fig. 2. Histopathological examination of kidney in the ICR mice administered with 1 kGy gamma-irradiated orange for 3 months, ×20.

커도 조직학적 측면에서는 독성이 나타나지 않는 것으로 사료된다.

이상의 독성시험 결과 1 kGy 감마선 조사 오렌지를 ICR 마우스에 투여했을 때 어떤 유의할만한 변화를 나타내지 않았음을 관찰할 수 있었다. 즉 1 kGy 감마선 조사 오렌지를 이용하여 암수 ICR 마우스에 급성, 아만성독성 평가를 수행한 결과 독성이 없는 것으로 판명되었다. 이는 이온화 에너지를 조사한 수입오렌지의 유전독성학적 안전성 평가에서 이온화 에너지 조사 수입오렌지가 돌연변이원성이 없고 염색체 이상을 나타내지 않았으며, 소핵을 유발하지 않아 유전독성학적 측면에서 안전성이 확인된 Huang 등(18)의 연구와도 잘 일치하였다. 또한 오렌지를 2.97 kGy로 감마선 조사한 후 rat에게 160일간 섭취시켜 번식시험과 최기형성시험을 수행한 결과 체중이 약간 감소한 것을 제외하고는 감마선 조사의 독성이 관찰되지 않았다(19). 그 밖에 감마선 조사 타락죽의 독성평가를 수행한 Yin 등(20)과 감마선 조사 곡류 분말의 독성평가를 수행한 Jeon 등(21)의 연구에서도 감마선 조사로 인한 비조사군과 조사군 사이의 변화가 나타나지 않아 독성이 없다고 보고하였으며, 이는 본 시험의 결과와 유사한 결과를 나타내었다.

요 약

본 연구에서는 방사선 조사식품의 규정을 확립하고 안전성을 입증하기 위해 1 kGy 감마선 조사 오렌지를 ICR 마우스에 투여 또는 섭취시켜 급성 및 아만성 독성시험을 실시하였다. 급성독성의 경우 시험물질을 0, 1,000, 2,000 mg/kg의 용량으로 설정하여 단회 투여한 후 14일간 사망동물, 일반증상, 체중 변화, 부검조건, 혈액학적 및 혈액생화학적 검사를 수행한 결과 어떠한 이상도 관찰되지 않았으며, 통계학적으로도 유의적인 차이를 나타내지 않았다. 따라서 1 kGy 감마선 조사 오렌지의 대략의 치사량(approximate lethal dose)은 암수 ICR 마우스 모두 2,000 mg/kg을 상회하는 것으로 판명되었다. 아만성독성은 시험물질을 식이에 함유하도록 하여 3개월간 섭취시킨 후 사망동물, 일반증상, 체중 변화, 사료 섭취량, 장기 무게, 조직학적 검사, 혈액학적 및 혈액생화학적 검사를 수행하였다. 시험기간 동안 암수 ICR 마우스 모두에서 사망동물이나 이상증상은 발견되지 않았으며, 체중 변화, 사료 섭취량 및 장기 무게에서도 통계학적으로 유의적인 차이를 보이지 않았다. 혈액학적 및 혈액생화학적 검사에서도 암수 ICR 마우스 모두 정상적인 수치를 나타냈다. 또한 조직학적 검사에서 간, 신장 조직은 모두 정상적인 구조를 유지하고 있었으며, 염증, 괴사 등의 유의할만한 병적 변화도 관찰되지 않았다. 따라서 1 kGy 감마선 조사 오렌지를 ICR 마우스에 3개월간 섭취시켜도 본 시험조건에서는 독성이 없는 것으로 판명되었다.

감사의 글

본 연구는 농림수산식품부 수출전략기술개발사업의 위탁과 제에 의하여 수행되었으며 지원에 감사드립니다.

REFERENCES

1. Pala CU, Toklucu AK. 2013. Microbial, physicochemical and sensory properties of UV-C processed orange juice and its microbial stability during refrigerated storage. *LWT - Food Sci Technol* 50: 426-431.
2. Moon H, Lee HK, Park H. 2013. Impacts of the KORUS FTA's orange import tariff-cut on domestic fruit prices. *Korean J Agricultural Economics* 54: 15-38.
3. Kang HJ, Chung HS, Jo DJ, Byun MW, Choi SJ, Choi JU, Kwon JK. 2003. Effects of gamma radiation and methyl bromide fumigation on physiological and chemical quality of apples. *Korean J Food Preserv* 10: 381-387.
4. UNEP. 1994. Montreal protocol on substances that deplete the ozone layer. Report of the Methyl Bromide Technical Options Committee, Nairobi, Kenya. p 294.
5. Kyung EJ, Kim KH, Yook HS. 2014. Quality characteristics of gamma irradiated-imported orange during storage at room temperature (20°C). *Korean J Food & Nutr* 27: 183-193.
6. Ko J, Ma Y, Song KB. 2005. Effect of electron beam irradiation on the microbial safety and quality of sliced dried squid. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 34: 433-437.
7. Byun MW, Yook HS. 2003. Internal and external situation of irradiation technology utilization in the food and public health industry. *Korean J Food Preserv* 10: 106-123.
8. Byun MW, Yook HS, Jo SK, Chong YJ. 1996. Status and prospects of food irradiation technology in Korea. *J Food Sci Nutr* 1: 262-268.
9. Kume T, Furuta M, Todoriki S, Uenoyama N, Kobayashi Y. 2009. Status of food irradiation in the world. *Radiat Phys Chem* 78: 222-226.
10. Byun MW. 1997. Application and aspect of irradiation technology in food industry. *Food Science and Industry* 30(1): 89-100.
11. Jo DJ, Kwon JH. 2003. Detection of radiation induced markers in oranges imported from united states of America. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 32: 1-7.
12. Lee JW. 2009. International cooperation for establishing SOP on quarantine management of irradiated food in international trade. Korea Atomic Energy Research Institute, Daejeon, Korea. p 1-3.
13. Nam HS, Kim KE, Yang JS, Ly SY. 2000. Food majoring college students' knowledge and acceptance of irradiated food. *Korean J Dietary Culture* 15: 269-277.
14. Delincee H. 1998. Detection of irradiated food: DNA fragmentation in grapefruits. *Radiat Phys Chem* 52: 135-139.
15. Song HP, Shin EH, Yun HJ, Jo C, Kim D. 2009. Establishing the genotoxicological safety of gamma-irradiated egg white and yolk. *Korean J Food Preserv* 16: 782-788.
16. Jeon YE, Yin XF, Kim TK, Kang IJ. 2013. Safety evaluation of 30 kGy-irradiated *Dakgalbi*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 42: 1475-1481.
17. Wolford ST, Schroer RA, Gohs FX, Gallo PP, Brodeck M, Falk HB, Ruhren R. 1986. Reference range data base for serum chemistry and hematology values in laboratory animals. *J Toxicol Environ Health* 18: 161-188.
18. Huang YH, Jung DW, Kang IJ. 2014. Genotoxicological

- safety evaluation of imported oranges irradiated with ionizing energy. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 43: 909-915.
19. WHO. 1994. *Safety and nutritional adequacy of irradiated food*. Geneva, Switzerland. p 150.
20. Yin XF, Jeon YE, Kim TK, Shim JH, Kang IJ. 2012. Toxicity evaluation of irradiated *Tarakjuk* for three months. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 41: 1534-1539.
21. Jeon YE, Kim HM, Lee JW, Byun MW, Kang IJ. 2008. Toxicity of 30 kGy irradiated cereal powders for three months. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 37: 1264-1270.