

전자선 조사에 의한 신선굴(*Crassostrea gigas*) 중 휴먼노로바이러스 GII. 4의 저감화

김지윤^{1,2} · 전은비^{1,2} · 최만석^{1,2} · 박신영^{1,2*}

¹경상대학교 해양산업연구소, ²경상대학교 해양식품생명의학과

Inactivation of Human Norovirus GII. 4 on Oyster *Crassostrea gigas* by Electron Beam Irradiation

Ji Yoon Kim^{1,2}, Eun Bi Jeon^{1,2}, Man-Seok Choi^{1,2} and Shin Young Park^{1,2*}

¹Institute of Marine Industry, Gyeongsang National University, Tongyeong 53064, Korea

²Department of Seafood and Aquaculture Science, Gyeongsang National University, Tongyeong 53064, Korea

This study investigated the reduction in human norovirus (HNV) GII. 4 count in pacific oyster *Crassostrea gigas* using electron beam irradiation. Infectious HNV GII. 4 was detected using RT-qPCR (real time reverse transcription-quantitative polymerase chain reaction) with PMA (propidium monoazide)/sarkosyl. At electron beam doses 1, 5, 7, and 10 kGy, the count of HNV GII. 4 was 2.74, 2.37, 2.06, and 1.55 log copies/ μ L (control, 3.01 log copy/ μ L), respectively, confirming that as the irradiation dose increased, norovirus count reduced significantly ($P < 0.05$). After PMA/sarkosyl treatment, the counts further reduced at the same irradiation dose, and 10 kGy showed significant differences between the non-treated and PMA/sarkosyl-treated samples ($P < 0.05$). The E_d (decimal reduction dose of electron beam) value based on the first-order kinetic model was 7.33 kGy ($R^2 = 0.98$). No significant difference was observed in the pH values of the control (6.2) and electron beam-irradiated samples at all doses (6.1). For sensory evaluation, the non-treated sample scored the highest in all categories (5.25-6.17), while the samples treated with 10 kGy showed the lowest score (4.67-5.33), although without statistical significance ($P > 0.05$). Overall, our results suggest that 7 kGy electron beam is sufficient for the non-thermal sterilization of oysters without causing significant changes in quality.

Keywords: Electron beam, Fresh oyster, Human norovirus, PMA/sarkosyl, RT-qPCR

서 론

노로바이러스(norovirus)는 caliciviridae과에 속하는 원형의 RNA (ribonucleic acid) 바이러스이며, 바이러스성 급성 위장염을 일으키는 대표적인 원인체로 알려져 있다. 노로바이러스는 약 10-100 viron의 소량으로도 인체감염이 가능하며 주로 분변-구강 경로 및 오염된 식수와 식품 섭취를 통해 감염된다. 현재까지 밝혀진 노로바이러스의 유전형은 크게 5개의 그룹으로 분류된다. 그 중 Genogroup I, II 및 IV형은 사람에게서 감염을 일으키며 GIII 및 GV는 동물(소, 쥐)에게서 감염을 유발하는 것으로 알려져 있다(Lee et al., 2014). 노로바이러스는 다양한 환

경조건에 대해 내성을 지니고 있으며 60°C에서 30분의 가열처리에도 감염상태를 유지하므로 식품 중 노로바이러스를 완전히 사멸시키기에는 어려운 실정이다(Duizer et al., 2004).

한편, 굴(*Crassostrea gigas*)은 영양학적으로 우수한 식품소재로써, 지방 함량이 낮으며, 양질의 단백질, 타우린, 비타민, 철분 및 아연 등 미네랄 성분이 다량 함유되어 있다(Son et al., 2014; Park et al., 2018). 그러나 우리나라에서 굴을 생산하는 양식장은 대부분 연안 근처에 위치하고 있어 생활폐수, 분변 등의 오염원으로부터 영향을 받을 가능성이 높으며(Shin et al., 2014), 특히 부유 플랑크톤 등의 먹이생물을 여과섭이 하는 굴, 홍합 등의 이매패류는 유해한 세균이나 바이러스 등이 소화조직에 섭

*Corresponding author: Tel: +82. 55. 772. 9143 Fax: +82. 55. 772. 9149

E-mail address: sypark@gnu.ac.kr



This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

<https://doi.org/10.5657/KFAS.2021.0016>

Korean J Fish Aquat Sci 54(1), 16-22, February 2021

Received 13 November 2020; Revised 10 December 2020; Accepted 14 December 2020

저자 직위: 김지윤(대학원생), 전은비(대학원생), 최만석(대학원생), 박신영(교수)

계 축적될 수 있어 생으로 섭취 시 식중독을 일으킬 위험성이 큰 식품이다(Lees, 2000). 따라서 가공이나 열처리없이 생굴로의 섭취 비율이 높은 굴의 식품특성상 위생학적인 안전성 확보를 위한 구체적 방안이 필요한 실정이다.

전자선(electron beam irradiation) 조사는 방사선 조사방법 중의 하나이며, 가열공정이 없는 비가열(non-thermal) 살균으로써 식품 고유의 영양적, 품질적 및 관능적 변화를 최소화하며 미생물만 선택적으로 저감시키는 새로운 살균법으로 제안되고 있다(Jung et al., 2009). 식품에 사용가능한 방사선 조사선원에는 감마선, 전자선 및 엑스선이 있으며, 감마선 조사에 의한 미생물 살균, 식품 저장성 및 품질변화에 관한 연구가 많이 보고되어 왔다(Kim et al., 2009; Song et al., 2009; Je et al., 2015). 한편, 전자선의 경우 국내의 전자선 조사 시설 및 인지 부족 등의 이유로 관련 연구가 미비하였으나, 초단위의 짧은 처리시간으로 인해 식품의 품질변화가 거의 없고, 전기를 사용하여 친환경적이며 감마선 조사보다 비용이 저렴하다는 장점으로 인해 최근 식품의 전자선 조사 관련 연구가 활발하게 진행되고 있다(Kim et al., 2008a; Kim et al., 2013; Kim et al., 2016; Kim et al., 2017). 그러나 신선굴에서 가장 많이 발견되는 노로바이러스의 살균과 관련된 전자선 조사 연구는 매우 미흡하다.

따라서 본 연구에서는 신선굴에 휴먼노로바이러스를 인위적 중 후 전자선을 선량별로 조사하여 휴먼노로바이러스의 저감효과와, 그에 따른 이화학적 및 관능적 특성에 관해 연구함으로써, 신선굴 중 휴먼노로바이러스의 저감화 방안으로써 전자선 조사 처리의 가능성을 제시하고자 한다.

재료 및 방법

시료 준비 및 휴먼노로바이러스(human norovirus, HNV)의 접종

본 실험에 사용된 굴은 경상남도 거제시의 한 양식장(S사)에서 생산된 것을 제공받아 사용하였으며, 흐르는 물로 깨끗하게 세척하여 패각을 제거한 후 알굴상태로 사용하였다. 굴의 중장선을 채취한 후 균질기(homogenizer stirrer, Daihan scientific Co., Wonju, Korea)를 사용하여 균질화 하였고, 펠트리디시(30×30, L×W mm)에 3 g씩 소분하였다. 소분된 시료마다 휴먼노로바이러스 GII. 4를 5 µL씩(3.01 log copy/µL) 접종하였으며 클린벤처(CHC Lab Co. Ltd., Daejeon, Korea)에서 약 1 시간 가량 흡수시켜 샘플로 사용하였다.

본 실험에 사용된 휴먼노로바이러스 GII. 4는 2019년 경기도보건환경연구원(Gyeonggi Institute of Health and Environment, GIHE; Gyeonggido, Korea)에서 노로바이러스에 의한 위장염 증상이 있는 환자로부터 대변샘플을 채취해 분리하였으며, HNV (human norovirus)의 유전자형을 확인한 후 수인성 소재 바이러스 은행(Waterborne Virus Bank, WAVA; Seoul, Korea)에 보관되었다. 본 실험에 사용된 HNV GII. 4는 WAVA

에서 구입하였으며, 드라이아이스가 동봉된 냉동상태로 전달되었다. 구입 후 500 µL의 인산염완충용액(phosphate-buffered saline, PBS; pH 7.2)이 포함된 스톡으로 제조하였으며, -80°C의 냉동고에 보관하며 실험시에 사용하였다.

전자선 조사

전자선 조사(electron beam irradiation)는 원자력연구원 첨단 방사선연구소(Jeongeup, Korea) 내 electron-beam accelerator (Model; MB10/3000, 10 MeV, Mevex corp., Ottawa, Canada)를 사용하여 1, 5, 7 및 10 kGy의 선량별로 처리하였다. 1, 5, 7 및 10 kGy로 처리되는 샘플의 이동속도와 에너지는 1.909 (1 mA), 2.094 (3 mA), 1.494 (3 mA) 및 1.045 (3 mA) m/min 조건으로 진행되었다. 컨베이어 시스템을 이용하여 실온에서 각각의 흡수선량을 얻도록 하였으며, 이 때의 흡수선량은 Cellulose triacetate (CTA) dosimeter로 확인하였다.

Propidium monoazide (PMA)와 sodium lauroyl sarcosinate (Sarkosyl) 처리

감염력 있는 HNV의 검출을 위해 RNA 추출 전 단계에서 PMA (propidium monoazide)와 Sarkosyl을 사용하였다. 이를 위해 전자선 조사된 시료(700 µL)와 PMA (Biotium, Hayward, CA, USA) 200 µM 를 혼합하였으며, 시료와 PMA의 균질화 및 흡수를 위해 실온(25°C)의 암실에서 10분간 방치하였다. 그 후 혼합물에 Sarkosyl (MIAMI L30, Miwon corp., Ansan, Korea)을 100 µM 추가로 투입하여 실온의 암실에서 UV LED 조명(460 nm, 40W; Dynebio, Seongnam, Korea)에 전후면으로 위치를 변경하며 각각 10분간 노출하였다. PMA와 Sarkosyl 처리가 감염력 있는 바이러스 검출에 효과가 있는지 확인하기 위해 대조군은 무처리로 진행하였다.

휴먼노로바이러스 RNA 추출

HNV의 RNA를 추출하기 위해 QIAamp viral RNA mini kit (Qiagen, Hilden, Germany)를 사용하였으며, 제조사의 지침에 따라 RNA의 추출과 정제를 진행하였다. Proteinase K 추출 활성은 ISO 15216-1:2017의 방법을 참고하여 처리하였다. 전자선 처리된 굴 시료에 Proteinase K (Sigma, St. Louis, MO, USA)를 첨가하여 인큐베이터(37°C)에서 1시간동안 진탕한 후, 항온수조(60°C)에서 15분간 불활성화 하였다. 또한 원심분리기(SUPRA22K, Hanil Science Industrial Co., Gimpo, Korea)를 사용하여 10분간 원심분리(5,400 rpm, 4°C) 한 후, 상층부의 맑은 용액(약 3.0 mL)을 멸균된 conical tube에 수집하였다. 이 용액은 -80°C의 냉동고에 보관하며, HNV GII. 4의 검출 및 정량을 위한 분석에 사용하였다.

RT-qPCR을 사용한 휴먼노로바이러스의 정량 분석

HNV의 정량 분석을 위해 RNeasy mini kit (Qiagen, Hilden, Germany)를 사용하였으며, 제조사의 지침에 따라 실험을 진행

하였다. HNV GII.4의 유전자를 증폭시키기 위해 RNase free water, enzyme mix (5 units/ μ L), 5X RT-PCR buffer, 10 mM dNTP, RNase inhibitor (5 units/ μ L), 10 μ M primer (Forward and Reverse)를 첨가하여 조성한 후, RNA 추출법에 따라 추출된 5 μ L의 RNA를 포함한 총 용량이 25 μ L가 되게 하였다. RT-qPCR (real time reverse transcription-quantitative polymerase chain reaction)을 사용한 실시간 역전사중합효소연쇄반응의 정량적 분석은 TP800-Thermal cycler dice real-time system (TaKaRa) 장치를 사용하였다. Primer와 Probe는 HNV GII. 4의 ORF-1 및 ORF-2 중첩 영역에 맞게 제작되어 민감도와 특이성을 증가시켰으며, Primer와 Probe의 염기서열은 Table 1과 같다. 또한 HNV GII. 4의 RNA를 양성 대조군으로 하였으며, RNase free water를 음성 대조군으로 사용하였다.

First-order kinetics model을 사용한 E_d 값의 정량적 측정

전자선 조사에 의한 신선굴 중 휴먼노로바이러스의 저감화 결과 중, E_d 값을 측정하기 위해 first-order kinetics model을 사용하여 계산하였다. E_d 값은 전자선 처리에 의해 휴먼노로바이러스가 90% 이상 사멸되는 선량(kGy)을 의미한다. E_d 값의 계산식과 그에 따른 설명은 아래와 같다.

$$\log \frac{N_0}{N} = \frac{k}{2.303} \cdot e$$

N_0 , 굴에 접종된 초기 휴먼노로바이러스의 titer (log copy/ μ L)

N , 전자선 조사 후 휴먼노로바이러스의 titer (log copy/ μ L)

e , 노출된 전자선의 양(kGy)

k , 감소율 상수

따라서, E_d 값은 감소율 상수 " k " 및 " E_d " 값으로 정의될 수 있으며, 이는 전자선 조사에 의해 감소된 휴먼노로바이러스의 정량적인 측정값을 의미한다.

pH 측정

pH 값 측정을 위해 굴 3 g과 희석수 12 mL를 혼합 후 실온에서 5분간 교반하여 사용하였으며, pH meter (Orion Star A211, Thermo Scientific, MI, USA)를 사용하여 pH 값을 3회 반복 측

정하여 결과를 도출하였다.

관능평가

관능평가를 위해 선량별로 전자선 처리한 굴 시료를 패널에 제공하였다. 관능검사 패널은 경상대학교 해양과학대학 해양식품생명과학과 대학생과 대학원생으로 구성된 20대 성인 20명(남 10명, 여 10명)을 선정하여 평가를 실시하였다. 굴에 대한 관능 평가 항목은 외관(appearance), 색(color), 향미(flavor), 전반적인 선호도(overall acceptability)이며 이에 대한 결과를 7점 척도법(7점, 매우 좋음; 1점, 매우 나쁨)으로 평가하였다. "1점"은 매우 나쁨, "4점"은 매우 좋지도, 매우 나쁘지도 않은 식품 본질로써 허용가능한 범위 및 "7점"은 식품으로써 어떠한 결함도 없고 품질이 매우 좋음을 의미한다. 따라서 4점 이상의 점수는 샘플에 대한 높은 선호도를 나타낸다. 관능평가 전 소정의 훈련을 실시하여 각 평가항목에 대한 설명을 하였고, 패널들은 동일한 환경에서 독립적으로 샘플을 평가하였다.

통계처리

실험 결과의 통계 처리는 모든 실험에 대해 각 시료당 3회 반복을 통하여 얻은 평균값과 표준편차를 이용하여 진행하였으며, 선량별 전자선 조사에 의한 휴먼노로바이러스 측정 결과 및 품질평가(pH, 관능평가)에서 결과간의 유의차를 확인하기 위해 실시하였다. 통계 프로그램은 SPSS version 12.0 software program (SPSS Inc., Chicago, IL, USA)를 사용하였으며, 일원배치 분산분석(one-way ANOVA) 및 Student t-test 실시 후 Duncan's 다중범위검정(multiple range test)으로 유의성 차를 5% ($P < 0.05$) 수준에서 검증하였다.

결과 및 고찰

PMA+sarkosyl/ RT-qPCR 검출법을 사용한 전자선 조사에 의한 신선굴 중 휴먼노로바이러스의 감염력 평가

본 연구에서 사용된 RT-qPCR (real time reverse transcription-quantitative polymerase chain reaction)은 실시간 역전사 중합효소연쇄반응으로써, DNA (deoxyribonucleic acid)의 염기서열이 우선 진행되는 일반 PCR과는 달리 RNA가 먼저 역전사 된 후 cDNA를 만들어 중합효소연쇄반응을 통해 실시간으로 증폭되는 원리이다(Nolan et al., 2006). 하지만 이 기술은 감염력이 있는 바이러스와 감염력이 없는 손상된 바이러스의 DNA가 모두 증폭되어 검출된다는 단점이 있으며(Rudi et al.,

Table 1. Sequence of primers and probe for RT-qPCR to quantitate human norovirus (GII.4)

Genotype	Type	Component	Sequence
GII	Primer	COG1F	5'-CAR GAR BCN ATG TTY AGR TGG ATG AG-3'
		COG2R	COG2R: 5'-TCG ACG CCA TCT TCA TTC ACA-3'
	Probe	RING2	5'-TGG GAG GGC GAT CGC AAT CT-3'

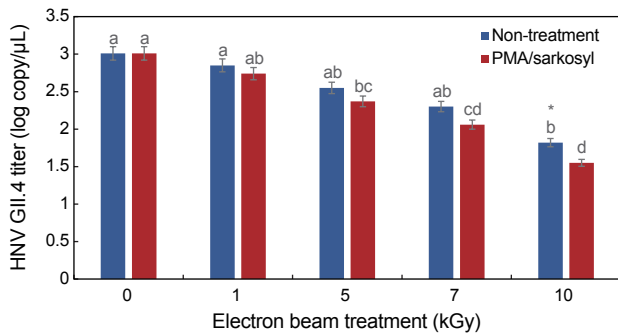


Fig. 1. Comparison of HNv GII. 4 values between non-treatment and PMA/sarkosyl treatment of electron beam irradiation. HNv, human norovirus; PMA, propidium monoazide; Sarkosyl, sodium lauroyl sarcosinate. The letters indicate significant differences ($P<0.05$) at non-treated samples (a-b) or PMA/sarkosyl treated samples (a-d) by 0-10 kGy electron beam using Duncan's multiple range test. Asterisk (*) indicates a significant difference between non-treated and PMA/sarkosyl treated samples by t -test.

2005; Kim et al., 2008b), 따라서 본 연구에서는 감염력을 가지는 바이러스만을 검출하기 위해 PMA와 sarkosyl을 사용하였다. Propidium monoazide (PMA)는 염료의 한 종류로써 UV 등의 가시광선에 노출되면 손상된 DNA 및 RNA에 공유결합하는 것으로 알려져 있다(Jeon et al., 2020). 따라서 이러한 특성을 이용해 광처리 하에서 PMA가 사균의 세포 내로 침투해 DNA와 결합함으로써 생균과 사균의 구별이 가능하게 하였다. 또한 sarkosyl 은 음이온성 계면활성제로써 PMA가 손상된 세포에 침투할 때 도움을 주는 것으로 알려져 있으며(Lee et al., 2018), 노로바이러스와 간염 바이러스의 경우 PMA가 세포의 외막을 통해 침투할 때 sarkosyl이 도움이 된다고 보고한 바 있다(Moreno et al., 2015; Fuster et al., 2016; Lee et al., 2018).

PMA/sarkosyl 처리 전과 후의 전자선 조사에 의한 신선굴 중 휴먼노로바이러스의 저감화에 대한 결과를 Fig. 1에 나타냈다. 전자선 조사를 하지 않은 대조군의 경우 3.01 log copy/μL였으며, 1, 5, 7 및 10 kGy 조사에서 2.74, 2.37, 2.06 및 1.55 log copy/μL의 결과를 보여 전자선의 조사선량이 커질수록 바이러스가 유의적으로 감소됨이 확인되었다($P<0.05$). 특히, 10 kGy에서는 1.46 log reduction 되어 96.53%의 저감효과를 보였다. 또한 동일한 전자선 조사선량임에도 PMA/sarkosyl 처리 전과 후의 결과값에 차이가 있음이 확인 되었는데, 전자선 무처리군의 경우에는 PMA/sarkosyl 처리로 인한 차이가 없었으며(3.01 log copy/μL) 1, 5, 7 및 9 kGy의 조사시 2.85, 2.55, 2.30 및 1.82 log copy/μL의 결과를 보였다. 이는 동일한 조사선량 결과와 비교시, PMA/sarkosyl 처리 후 각각 0.11, 0.18, 0.24 및 0.27 log copy/μL가 추가로 감소되었음을 확인할 수 있다. 이로써 PMA/sarkosyl 처리가 감염력 있는 살아있는 바이러스의 검출에 효과가 있는 것으로 판단되었다. 특히 10 kGy에서는 t -test 결과 유

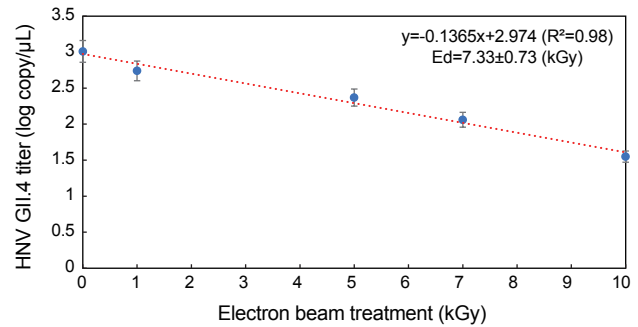


Fig 2. Fitted survival curves of HNv GII. 4 in the oyster *Crassostrea gigas* treated by electron beam using the first-order kinetic model (three samples/treatment). HNv, human norovirus.

의적인 차이를 보였으며 약 46%의 추가적인 감소효과를 보였다($P<0.05$). First-order kinetic model을 사용해 측정된 R^2 값은 0.98, E_d 값은 7.33 kGy로 나타났다(Fig. 2). 1 log를 감소시킬 수 있는 예측된 전자선량인 7.33 kGy (E_d)는 본 연구의 실험값인 7 kGy 적용시 0.97 log의 감소값과 거의 상응하는 패턴을 보였다. 또한, R^2 값 역시 매우 우수하게 나타났다. 일반적으로 R^2 는 결과데이터와 모델링(first-order kinetic model)된 그래프의 유사도(similarity)를 뜻하며, R^2 값이 높을수록($0<R^2<1$) 데이터가 모델에 적합함을 의미한다(Park and Ha, 2014). Kim et al. (2008b)은 PMA와 real-time PCR을 이용해 살아있는 *Enterococcus faecalis*의 검출연구를 진행했으며, 균이 10배씩 단계희석 될수록 Ct value가 유의적으로 증가하여 10^5 배 희석된 샘플의 Ct value가 가장 높았다. 즉, 균이 희석되어 살아있는 균수가 적어질수록 PMA 처리 후 검출되는 균 또한 감소됨을 의미하며 살아있는 *E. faecalis*만 선택적으로 검출할 수 있는 방법임을 시사하였다. PMA와 RT-qPCR을 사용하여 열처리에 의한 시금치 중 휴먼노로바이러스의 저감화를 확인한 연구에서도 휴먼노로바이러스의 검출에 효과가 있는 것으로 보고되었다(Jeong et al., 2017). 또한 Lee et al. (2019)의 연구에서는 Sarkosyl를 계면활성제로 사용시 PMA의 휴먼노로바이러스의 침투효과를 상승시켜 포도씨추출액과 자몽씨추출액중의 휴먼노로바이러스의 감염력을 구분하는 우수한 방법임을 입증하였다.

한편, 식품에 사용가능한 방사선 조사선원의 형태는 감마선, 엑스선 및 전자선이 있으며 그 중 전자선은 빠른 속도로 방출되는 전자 에너지를 활용한다. 본 연구에서 사용한 전자선 조사 살균은 전자 에너지로 인해 세포 내의 항상성에 불균형이 발생하여 DNA에 손상이 가해짐으로써 미생물이 사멸되는 것으로 보고되었다(Fielding et al., 1997). 또한 전자선 조사는 전원에 의한 조절이 가능하여 살균공정에서의 효율성, 정확성 및 에너지 효율성 측면에서 다른 방사선 조사에 비해 뛰어난 장점을 가지고 있다(Kim et al., 2016). 따라서 최근 전자선 조사 기술은 식품산업에 다양하게 이용되고 있으며 관련 연구들도 활발하게 진행되고 있다. Kim et al. (2016)의 연구에서는 마른

김에 전자선을 선량별로 처리하였으며, 대조구의 초기 총균수 (1.5×10^6 CFU/g)와 비교시, 전자선 4 및 7 kGy 조사 후 각각 5.4×10^4 및 1.1×10^4 CFU/g로 총균수가 유의적으로 감소되어 전자선 조사가 미생물 저감에 효과가 있음을 확인하였다. Park et al. (2008)의 연구에 의하면 감마선을 조사한 생굴의 총균수 실험 결과, 초기균수(4.14 log CFU/g)에 비해 5 kGy 감마선을 조사했을 때 1 log CFU/g로 감소되었다. 해당 연구와 본 연구의 감소수준이 차이가 나는 이유는 근본적으로 세균과 바이러스의 화학적 및 물리적 구조차이로 인한 것이며, 다수의 미생물 살균 연구에서 항바이러스보다 항세균 효과가 더 크다고 보고하고 있다(Kim et al., 2017). 또한 같은 방사선 조사임에도 감마선의 투과력이 크기 때문에 전자선의 살균효과가 상대적으로 떨어지기 때문인 것으로 생각된다(Jung et al., 2009). 전자선에 의한 전복 중 murine norovirus-1의 저감화 연구에서는 바이러스의 초기 titer (7.63 log PFU/mL)와 비교했을 때, 전자선의 선량(1-10 kGy)이 높아짐에 따라 titer가 유의적으로 감소되었으며 10 kGy 조사에서는 1.56 log reduction의 결과를 보였다(Kim et al., 2017). 전자선 조사에 의한 murine norovirus-1 (MNV-1)의 불활성화 연구(Predmore et al., 2015)에서도 전자선량이 증가함에 따라(4.8-32.7 kGy) MNV-1가 유의적으로 감소됨(7.2-ND log PFU/mL)을 확인하였으며, 4.8 및 32.7 kGy에서 초기 titer에 비해 1.6 log PFU/mL 감소 및 불검출의 결과를 보여 전자선 조사가 바이러스의 불활성화에 영향을 끼치는 것으로 확인되었다. 그러나 해당 연구는 식품이 아닌 suspension (PBS) 상태로 진행되었으며, 따라서 본 연구결과와는 상대적으로 차이가 나타났다. 대체바이러스 연구들은 본 연구의 10 kGy 조사 시(1.46 log reduction)보다 감소수준이 다소 높은 결과를 보였으나, 본 연구에서는 대체 바이러스가 아닌 휴먼노로바이러스를 사용하였으며 항바이러스력에 있어 휴먼노로바이러스의 환경 내성 및 물리화학적 제어법에 대한 저항성이 대체바이러스보다 높기 때문일 것으로 생각된다. 굴 중 murine norovirus, feline calicivirus 등 대체 노로바이러스의 저감화 연구는 다수 진행되고 있으나(Praveen et al., 2013; Park and Ha, 2014; Park and Ha, 2019) 휴먼노로바이러스의 저감화 연구는 매우 미비하며, 특히 전자선 조사에 대한 연구는 전무한 실정이

다. 매년 생굴 섭취로 인한 노로바이러스의 식중독 감염이 보고되고 있으며(MFDS, 2020), 이와 직접적으로 관련된 휴먼노로바이러스의 살균 및 저감화를 위한 구체적인 방안이 필요할 것으로 생각된다.

전자선 조사에 의한 신선굴의 pH 측정 및 관능평가

전자선 조사에 의한 신선굴 중 pH 및 관능평가 결과를 Table 2에 나타냈다. pH 결과는 전자선 무처리군이 6.2였으며 1, 3, 5, 7 및 10 kGy에서 모두 6.1로 측정되어 유의적인 차이를 보이지 않았다($P > 0.05$). 전자선 조사에 의한 오징어 젓갈의 pH 측정에서는 0-5 kGy의 조사에 의한 결과가 모두 5.76으로 유의적 차이가 없었으며($P > 0.05$) (Kim et al., 2008), 전자선 조사된 전복의 pH 결과에서도 전자선량에 따른 유의적인 차이를 보이지 않았다(Kim et al., 2017). 일반적으로 생굴의 pH는 품질상태를 의미하는 하나의 지표로써 사용된다. 굴 등의 패류는 glycogen 함량이 높고, 총질소의 함량이 낮은 등 어류의 화학적 조성과는 차이가 있다. 따라서 굴의 부패는 상대적으로 높은 함량의 glycogen에 기인하며 유기산의 축적으로 인하여 점차 pH의 감소로 나타난다. 생굴의 pH는 6.2-5.9가 'good', 5.8 및 5.7-5.5는 'off' 및 'musty', 5.2 이하는 sour 또는 putrid로 규정하고 있다(Jay, 1996). 따라서 본 연구의 전자선 처리한 신선굴의 pH 측정 결과로 보아 품질에 문제가 없는 신선한 상태로 판단되며, 전자선 조사는 신선굴의 pH에 영향을 끼치지 않는 것으로 확인되었다.

관능평가의 경우 외관(appearance), 색깔(color), 향(odor) 및 전반적인 선호도(overall acceptability)의 항목으로 평가되었다(Table 2). 모든 관능평가 항목에서 전자선 무처리군의 점수가 제일 높았으며(5.25-6.17), 10 kGy 조사에서 가장 낮았으나(4.67-5.33), 유의적인 차이를 보이지 않았다($P > 0.05$). 또한, 10 kGy 조사에서도 향을 제외한 외관, 색상 및 전반적 선호도 항목에서 5점 이상의 점수를 받아 7점 척도법의 기준으로 평가했을 때 전반적으로 높은 기호성을 보이는 것으로 생각된다. 전자선 조사한 굴의 향 항목에서 상대적으로 낮은 점수(4.67-5.08)가 나타난 이유는 수산물인 굴 특유의 향미로 인한 개인의 기호도 차이 때문일 것으로 생각되며, 이는 전자선 무처리군의 향 항목에서도 다른 평가항목들에 비해 상대적으로 낮은 5.25의 결

Table 2. pH value and sensory evaluation of the oyster *Crassostrea gigas* treated by electron beam irradiation

Electron beam (kGy)	pH value	Sensory evaluation			
		Appearance	Color	Odor	Overall acceptability
0	6.2±0.0 ^{NS}	6.17±0.72 ^{NS}	6.25±0.45 ^{NS}	5.25±0.87 ^{NS}	6.17±0.58 ^{NS}
1	6.1±0.1	6.00±0.74	6.00±0.41	5.08±0.67	6.08±0.29
5	6.1±0.0	5.42±0.67	5.67±0.20	4.92±0.67	5.83±0.39
7	6.1±0.3	5.33±0.78	5.25±0.87	4.83±0.58	5.83±0.39
10	6.1±0.1	5.25±0.72	5.17±0.79	4.67±0.49	5.33±0.49

The 0 kGy is untreated electron beam irradiation. Values are mean±standard deviations of triplicate determination. NS, No significant differences within the same column by Duncan's multiple range test ($P > 0.05$).

과가 나온 부분에서 추측할 수 있다.

본 연구의 종합적 고려 시, 신선굴 중 전자선 조사에 의한 휴먼 노로바이러스의 저감 효과가 검증 되었으며(> 1 log copy/ μ L), 품질평가 중 전자선량에 의한 pH 변화는 없는 것으로 확인되었고, 관능평가에서는 모든 선량의 전반적 선호도 항목에서 5점 이상의 점수로 평가되어 높은 선호도 결과를 보였다. 따라서 신선굴의 휴먼노로바이러스 저감화 방안으로써 이화학적 및 관능적 변화 없는 비가열 전자선 조사의 가능성과, 이를 이용한 상업적인 처리방법의 응용 및 개발을 위해 추가적인 연구가 필요할 것으로 사료된다.

사 사

이 논문은 2018년도 정부(교육부)의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 기초연구사업(NRF-2018R1D1A3B07047673)이며 이에 감사드립니다.

References

- Duizer E, Schwab KJ, Neill FH, Atmar RL, Koopmans MPG and Estes MK. 2004. Laboratory efforts to cultivate noroviruses. *J Gen Virol* 85, 79-87. <https://doi.org/10.1099/vir.0.19478-0>.
- Fielding LM, Cook PE and Grandison AS. 1997. The effect of electron beam irradiation, combined with acetic acid, on the survival and recovery of *Escherichia coli* and *Lactobacillus curvatus*. *Int J Food Microbiol* 35, 259-265. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(97\)01251-8](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(97)01251-8).
- Fuster N, Pinto RM, Fuentes C, Beguiristain N, Bosch A and Guix S. 2016. Propidium monoazide RTqPCR assays for the assessment of hepatitis A inactivation and for a better estimation of the health risk of contaminated waters. *Water Res* 101, 226-232. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2016.05.086>.
- Jay JJ. 1996. *Modern Food Microbiology*. 5th ed. Chapman Hall, New York, NY, U.S.A, 1-277.
- Je GS, Chung DH and Shim WB. 2015. Reducing effect of microorganism on meat and fish products by repeated γ -irradiation at low dose. *J Food Hyg Saf* 30, 92-97. <https://doi.org/10.13103/JFHS.2015.30.1.92>.
- Jeon EB, Choi MS, Kim JY, Ha KS, Kwon JY, Jeong SH, Lee HJ, Jung YJ, Ha JH and Park SY. 2020. Characterizing the effects of thermal treatment on human norovirus GII.4 viability using propidium monoazide combined with RT-qPCR and quality assessments in mussels. *Food Control* 109, 106954. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2019.106954>.
- Jeong MI, Park SY and Ha SD. 2017. Thermal inactivation of human norovirus on spinach using propidium or ethidium monoazide combined with real-time quantitative reverse transcription-polymerase chain reaction. *Food Control* 78, 79-84. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2017.02.026>.
- Jung S, Choe JH, Kim BN, Yun HJ, Kim YJ and Jo C. 2009. Microbiological, physicochemical, and sensory characteristics of *Myungran jeotgal* treated by electron beam irradiation. *Korean J Food Preserv* 16, 198-203.
- Kim BN, Jung S, Choe JH, Liu XD and Jo C. 2008a. Microbiological and sensory characteristics of electron beam irradiated squid *jeotkal* and Its Ingredients. *J Agric Sci* 35, 155-165.
- Kim SY, Lee SJ, Kim ES, Seo DG, Song YJ and Jung IY. 2008b. Selective detection of viable *Enterococcus Faecalis* using propidium monoazide in combination with real-time PCR. *J Korean Acad Conserve Dent* 33, 537-544. <https://doi.org/10.5395/JKACD.2008.33.6.537>.
- Kim MS, Kim KH and Yook HS. 2009. The effects of gamma irradiation on the microbiological, physicochemical and sensory quality of peach (*Prunus persica* L. Batsch cv Dangeumdo). *J Korean Soc Food Sci Nutr* 38, 364-371. <https://doi.org/10.3746/jkfn.2009.38.3.364>.
- Kim HJ, Lee KH, Yong HI and Jo C. 2013. Effect of UV-C and electron beam irradiation of on the quality of rice wine *Makgeolli*. *Korean J Food Preserv* 20, 45-51. <http://dx.doi.org/10.11002/kjfp.2013.20.1.45>.
- Kim YJ, Oh HS, Kim MJ, Kim JH, Goh JB, Choi IY and Park MK. 2016. Identification of electron beam-resistant bacteria in the microbial reduction of dried laver *Porphyra tenera* subjected to electron beam treatment. *Korean J Food Preserv* 23, 139-143. <https://doi.org/10.11002/kjfp.2016.23.1.139>.
- Kim SE, Park SY, Rui ML and Ha SD. 2017. Effects of electron beam irradiation on murine norovirus-1 in abalone *Haliotis discus hannai* meat and viscera. *LWT* 86, 611-618. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.08.058>.
- Lee MH, Seo DJ, Seo JN, Jeon SB, Oh HJ, Lee JS, Joo IS, Lee HJ and Choi CS. 2014. Detection of norovirus using molecular biological method. *Safe Food* 9, 26-32.
- Lee HW, Lee HM, Yoon SR, Kim SH and Ha JH. 2018. Pretreatment with propidium monoazide/sodium lauroyl sarcosinate improves discrimination of infectious waterborne virus by RT-qPCR combined with magnetic separation. *Environ Pollut* 233, 306-314. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.10.081>.
- Lee HW, Yoon SR, Lee HM, Lee JY, Kim SH and Ha JH. 2019. Use of RT-qPCR with combined intercalating dye and sodium lauroyl sarcosinate pretreatment to evaluate the virucidal activity of halophyte extracts against norovirus. *Food Control* 98, 100-106. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2018.11.026>.
- Lees D. 2000. Viruses and bivalve shellfish. *Int J Food Microbiol* 59, 81-116. [https://doi.org/10.1016/s0168-1605\(00\)00248-8](https://doi.org/10.1016/s0168-1605(00)00248-8).
- MFDS (Ministry of Food and Drug Safety). 2020. Statistics of food poisoning. Retrieved from https://www.foodsafetykorea.go.kr/portal/healthyfoodlife/foodPoisoningStat.do?menu_no=3724&menu_grp=MENU_NEW02 on Nov 16, 2020.

- Moreno L, Aznar R and Sanchez G. 2015. Application of viability PCR to discriminate the infectivity of hepatitis A virus in food samples. *Int J Food Microbiol* 201, 1-6. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2015.02.012>.
- Nolan T, Hands RE and Bustin SA. 2006. Quantification of mRNA using real-time RT-PCR. *Nat Protoc* 1, 1559-1582. <https://doi.org/10.1038/nprot.2006.236>.
- Park JS, Park JN, Park JG, Han IJ, Jung PM, Song BS, Choi JI, Kim JH, Han SB, Byun MW and Lee JW. 2008. Microbiological, physicochemical, and sensory characteristics of gamma-irradiated fresh oysters during storage. *J Radiat Ind* 2, 85-91.
- Park SY and Ha SD. 2014. Influence of NaCl on the inactivation of murine norovirus-1 and hepatitis A virus in the Korean traditional salted oyster product “*Eoriguljeot*” during storage. *Food Res Int* 62, 382-387. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.03.039>.
- Park JS, Park DH, Kong CS, Lee YM, Lee JD, Park JH and Kim JG. 2018. Processing and characteristics of canned seasoned boiled oyster *Crassostrea gigas* and canned seasoned roasted oyster *Crassostrea gigas*. *Korean J Fish Aquat Sci* 51, 469-476. <https://doi.org/10.5657/KFAS.2018.0469>.
- Park SY and Ha SD. 2019. Synergistic effects of combined chlorine and vitamin B1 on the reduction of murine norovirus-1 on the oyster *Crassostrea gigas* surface. *Food Environ Virol* 11, 205-213. <https://doi.org/10.1007/s12560-019-09380-6>.
- Praveen C, Dancho BA, Kingsley DH, Calci KR, Meade GK, Mena KD and Pillai SD. 2013. Susceptibility of murine norovirus and hepatitis A virus to electron beam irradiation in oysters and quantifying the reduction in potential infection risks. *Appl Environ Microbiol* 79, 3796-3801. <https://doi.org/10.1128/AEM.00347-13>.
- Predmore A, Sanglay GC, DiCaprio E, Li J, Uribe RM and Lee K. 2015. Electron beam inactivation of Tulane virus on fresh produce, and mechanism of inactivation of human norovirus surrogates by electron beam irradiation. *Int J Food Microbiol* 198, 28-36. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2014.12.024>.
- Rudi K, Moen B, Dromtorp SM and Holck AL. 2005. Use of Ethidium monoazide and PCR in combination for quantification of viable and dead cells in complex samples. *Appl Environ Microbiol* 71, 1018-1024. <https://doi.org/10.1128/AEM.71.2.1018-1024.2005>.
- Shin SB, Oh EG, Lee HJ, Kim YK, Lee TS and Kim JH. 2014. Norovirus Quantification in Oysters *Crassostrea gigas* Collected from Tongyeong, Korea. *Korean J Fish Aquat Sci* 47, 501-507. <https://doi.org/10.5657/KFAS.2014.0501>.
- Son KT, Shim KB, Lim CW, Yoon NY, Seo JH, Jeong SG, Jeong WY and Cho YJ. 2014. Relationship of pH, Glycogen, Soluble Protein, and Turbidity between freshness of raw oyster *Crassostrea gigas*. *Korean J Fish Aquat Sci* 47, 495-500. <https://doi.org/10.5657/KFAS.2014.0495>.
- Song BS, Park JG, Kim WG, Kim JH, Choi JI, Yoon YH, Byun MW, Kim CJ and Lee JW. 2009. Comparison of the quality of gamma ray- or electron beam-irradiated minced pork and pork patties. *Food Sci Anim Resour* 29, 194-202. <https://doi.org/10.5851/kosfa.2009.29.2.194>.