

쇠고기, 돼지고기, 닭고기로부터 방사선 조사에 의해 유도된 Hydrocarbon류의 정량적 비교 분석

김경수 · 김은아 · 이해정 · 양재승* · 변명우*

조선대학교 식품영양학과, *한국원자력연구소 방사선식품공학연구원

Quantitative Comparison of Radiation-induced Hydrocarbons from Irradiated Beef, Pork and Chicken

Kyong-Su Kim, Eun-Ah Kim, Hae-Jung Lee, Jae-Seung Yang* and Myung-Woo Byun*

Department of Food and Nutrition, Chosun University

*Department of Food Irradiation, Korea Atomic Energy Research Institute

Abstract

When fats are irradiated, hydrocarbons contained one or two fewer carbon atoms are formed from the parent fatty acids. A method to detect radiation-induced hydrocarbons consists of the extraction of fat from beef, pork and chicken, separation of hydrocarbons with a florisil column and identification of GC/MS methods. When beef, pork and chicken were irradiated, pentadecane, 1-tetradecene, heptadecane, 1-hexadecene, 8-heptadecene, 1,7-hexadecadiene, 6,9-heptadecadiene and 1,7,10-hexadecatriene were formed from palmitic, stearic, oleic and linoleic acids. Concentrations of the produced hydrocarbons tended to increase linearly with the dose levels of irradiation. Concentrations of hydrocarbons produced by γ -irradiation depended upon the composition of fatty acids in beef, pork and chicken. The major hydrocarbons in irradiated beef, pork and chicken were 1,7-hexadecadiene and 8-heptadecene originating from oleic acid. 1,7-Hexadecadiene was the highest amount in irradiated beef, pork and chicken.

Key words: beef, pork, chicken, radiation-induced hydrocarbons, florisil column, GC/MS

서 론

식품의 방사선 조사는 발이나 속도를 억제시키며 부패를 감소시켜 저장기간을 늘리고 병원성 미생물의 감소와 살균으로 미생물학적 안전성을 증가시키는 등 그 효과가 매우 크다⁽¹⁻³⁾. 식품 저장과 가공에 방사선 이용이 날로 급증하고 있으며, 이에 따라 방사선 조사 식품에 대한 국제간의 교역이 증가되고 있으나 이를 감시할 수 있는 기술적인 검지방법이 부족한 실정이다. 방사선 조사식품을 검지방하기 위한 수많은 연구들이 여러 국제기구 즉, FAO, IAEA, WHO 등에 의해 공동으로 광범위하게 시도되어왔다. 지금까지 연구된 방사선 조사식품에 대한 검지방법으로는 지방을 함유하고 있는 식품의 hydrocarbon류나 cyclobutanone류를 GC 및 GC/MS 분석기기를 이용한 화학적 방법⁽⁴⁻¹⁰⁾, 뼈를 함유하거나 섬유소를 포함하고 있는 식품에 함유된

radical 분석을 위한 electron spin resonance (ESR)⁽¹¹⁻¹⁴⁾, 향신료, 건조야채류 등에 함유된 무기질을 이용한 thermoluminescence (TL) 분석기⁽¹⁵⁻¹⁷⁾에 의한 물리적인 방법 그리고 DNA, limulus amoebocytes lysate (LAL), direct epifluorescent filter technique/aerobic plate count (DEFT/APC)⁽¹⁸⁻²⁰⁾에 의한 생물학적 방법 등이 있다.

지방이 함유된 육류의 경우, 방사선 조사에 의해 생성되는 hydrocarbon류, cyclobutanone류, o-tyrosine의 분석이 방사선 조사여부를 판별하는 가장 유망한 화학적 방법으로 제시되고 있으며, Nawar 등^(21,22)에 의해 hydrocarbon류가 지방 함유 식품의 방사선 조사에 의해 생성된다고 보고된 이후 이에 대한 연구들이 계속 진행되고 있으나, 아직까지 각 시료마다 적용할 수 있는 체계화된 분석 data는 부족한 실정이다. 국내에서는 현재 육류에 대한 방사선 조사가 허가되어 있지 않으나 외국의 경우 3~10 kGy까지 방사선 조사를 허용하고 있으므로⁽²³⁾ 이를 효율적으로 규제하기 위한 검지방법이 필요하다.

따라서 본 연구는 대표적인 육류로서 쇠고기, 돼지고기, 닭고기를 방사선 조사시켜 생성되는 hydrocarbon류를 동정하고, 각 시료마다 그 양을 비교·분석하여 방사선 조사 검지를 위한 기초자료로 활용하고자 하였다.

재료 및 방법

재료

본 실험에 사용한 시료로서 쇠고기는 등심, 돼지고기는 삼겹살, 닭고기는 날개부위를 구입하여 한국원자력연구소 내 ^{60}Co 조사시설을 이용하여 각각 0.1, 0.5, 1, 3, 5, 10 kGy의 선량을 조사하여 이를 비조사한 대조시료와 함께 냉동저장하면서 실험에 사용하였다.

시약

본 연구에 사용한 모든 시약은 특급시약으로 미국 Sigma사에서, 지방분해산물인 hydrocarbon류의 standard는 독일 TeLA사로부터 구입하였으며, 지방추출 및 chromatography에 사용한 n-pentane, n-hexane, isopropanol 등 유기용매는 HPLC grade용으로 구입하여, 이를 다시 wire spiral packed double distilling 장치로 재증류한 것을 사용하였다. Florisil (60~100 mesh)은 Fisher Scientific 제품을 구입하여 550°C 회화로에서 하룻저녁 태운 뒤 저장하였다가 사용전 5시간 이상 130°C에서 탈수하여 상온에서 식힌 후 3% 물을 가하여 균질화하고 12시간 이상 방치후 불활성화시켜 충전제로 사용하였다.

방사선 조사시료의 지방추출

지방추출 및 hydrocarbon류의 분리는 Schreiber 등⁽²⁴⁾의 방법에 준하였다. 비교적 지방함량이 적은 쇠고기와 닭고기를 30 g씩 재어 이를 작게 자른 후 비이커에 담아 재증류된 n-pentane과 isopropanol 혼합용매 (3:2, v/v) 30 mL를 첨가하고 Ultra Turrax (Janke & Kunkel, Germany)로 여러번 균질화하였다. 균질화된 시료는 1500×g로 20분간 원심분리시켜 투명한 상등액을 분리한 후 잔존물에 처음 사용한 혼합 유기용매량의 1/3을 다시 첨가하여 재추출하고 이를 원심분리하여 상등액을 첫 번째 상등액과 합한 후 rotary vacuum evaporator를 사용하여 유기용매를 제거하고 질소를 사용하여 잔존유기용매를 휘발시킨 뒤 지방만을 취하여 냉동저장하여 시료로 사용하였다. 다량의 지방을 함유하고 있는 돼지고기 삼겹살 부위를 30 g씩 잘라

Waring blender로 분쇄하였다. 이를 50°C water bath에 30분 정도 방치한 후 지방을 용해하여 1500×g로 20분간 원심분리하였다. 용해된 지방을 vial에 담아 질소 충전 후 냉동저장하여 시료로 사용하였다.

Hydrocarbon의 분리

불활성화시킨 florisil 25 g을 200×20 mm chromatography column에 충전한 후, 추출한 지방 1 g에 정량분석을 위해 internal standard로서 1 mL eicosane (4 µg/mL hexane)을 첨가하여 column에 가한 뒤 60 mL n-hexane을 용리용매로하여 hydrocarbon류를 분리하였다. 이 용리용매는 rotary vacuum evaporator를 이용하여 2 mL까지 농축한 후 1 mL까지 질소로 농축하여 GC-FID 및 GC/MS 분석기기를 이용하여 분석하였다.

GC에 의한 분석

분리한 hydrocarbon류의 GC분석은 FID가 부착된 Hewlett-Packard 5890 II Plus 분석기기를 사용하였으며, column은 DB-5 (J&W Scientific, 30 m×0.32 mm i.d., 0.25 µm film thickness, Folsom, CA)를 이용하였다. 온도 program은 60°C에서 170°C까지 25°C/min 속도로, 205°C까지 2°C/min 속도로 승온시키고 다시 10°C/min 속도로 270°C까지 승온시켰다. Injector와 detector 온도는 각각 250°C, 300°C이며, carrier gas는 helium을 사용하였으며, 유속은 1.0 mL/min 로 하였다. 시료는 1 µL를 주입하였고 split ratio는 1:20로 하여 처음 2분동안 splitless 시켰다.

GC/MS에 의한 확인

질량분석에 사용한 GC/MS 분석기기는 Shimadzu GC/MS QP-5000을 사용하였으며 시료의 이온화는 electron impact ionization (EI) 방법으로 행하였다. GC/MS 분석조건은 ionization voltage를 70 eV로 하였고 ion source temperature는 230°C로 하였다. 또한 분석할 분자량의 범위(m/z)는 30~350으로 설정하였다. Capillary column 및 분석온도 등 다른 분석조건들은 GC의 분석조건과 동일하게 분석하였다. Total ionization chromatogram (TIC)에 분리된 각 peak의 성분분석은 mass spectrum library와 mass spectral data book^(25,26)의 spectrum과의 일치 및 GC-FID 분석에 의한 retention index와 표준물질의 분석 data를 비교하여 확인하였다.

결과 및 고찰

보통 육류의 지방에는 palmitic acid, stearic acid,

oleic acid, linoleic acid 등이 많이 함유되어있으며, oleic acid가 모든 시료에 다량 함유되어 있었다(Table 1). 이러한 지방산을 방사선 조사시키면, 중성지방의 carbonyl group의 α 탄소와 β 탄소위치에서 결합이 끊어져 원래의 지방산보다 탄소수가 1개(C_{n-1})적거나, 2개(C_{n-2})적으면서 첫 번째 탄소위치에 새로운 이중결합을 가진 hydrocarbon류가 생성되는데⁽²¹⁾, palmitic acid로부터 pentadecane ($C_{15.0}$)과 1-tetradecene ($C_{14.1}$), stearic acid로부터 heptadecane ($C_{17.0}$)과 1-hexadecene ($C_{16.1}$), oleic acid로부터 8-heptadecene ($C_{17.1}$)과 1,7-hexadecadiene ($C_{16.2}$), linoleic acid로부터 6,9-heptadecadiene ($C_{17.2}$)과 1,7,10-hexadecatriene ($C_{16.3}$)이 생성됨이 확인되었으며, 이렇게 생성된 hydrocarbon류의 양을 비교하기 위해 각 시료마다 0~10 kGy까지 방사선을 조사시켜 그 양을 살펴보았다.

Fig. 1에서 보여지는 바와 같이 동일한 선량으로 조사된 육류의 지방마다 생성된 hydrocarbon류의 함량이 각각 다르게 동정되었으며, 이는 육류의 지방산 조성 차이에 기인하리라 여겨진다. Palmitic acid로부터 유도된 hydrocarbon류 중 pentadecane의 함량은 쇠고기, 돼지고기, 닭고기의 순으로 많은 함량을 나타내었고, 1-tetradecene의 경우에 있어서는 쇠고기가 가장 많은 함량을 보였으며 1 kGy까지는 닭고기에 비해 돼지고기 함량이 높았으나 3 kGy이상 조사한 시료에서는 닭고기가 더 높게 나타났다. Stearic acid로부터 유도된 heptadecane과 1-hexadecene은 쇠고기에서 가장 많이 생성되었고, 닭고기에서는 적은 양이 검출되었는데 이는 닭고기에 stearic acid의 함량이 낮기 때문이라 생각할 수 있다. Oleic acid로부터 생성된 8-heptadecene에 있어서는 돼지고기가 가장 많은 함량을 보였고 그 뒤 쇠고기, 닭고기 순으로 나타났으며, 1,7-hexadecadiene의 경우에는 돼지고기와 쇠고기는 비슷한 함량을 보였으나 닭고기는 비교적 낮게 정량되었다. Linoleic acid로부터 유도된 6,9-heptadecadiene과 1,7,10-hexadecatriene의 경우는 닭고기와 돼지고기에서는 많이 검출된 반면, 쇠고기에서는 적은 양을 보였다. 특히 1,7,10-hexadecatriene에 있어서는 쇠고기의 함량이 돼

지고기와 닭고기에 비해 현저하게 낮았는데 이 역시 쇠고기는 linoleic acid가 적게 함유되었기 때문이라 생각할 수 있다. Schreiber 등⁽²⁴⁾은 쇠고기, 돼지고기, 닭고기로부터 생성된 hydrocarbon류 중 1-tetradecene, pentadecane, 1,7-hexadecadiene, 8-heptadecene을 서로 비교하였는데, 이는 지방산 함량에 따라 생성된 hydrocarbon류를 정량하여 서로 비교하였기에 본 실험과 다소 차이를 보였다.

각 시료별로 조사선량에 따라 생성된 hydrocarbon류를 살펴보면(Table 2), 조사선량이 증가함에 따라 뚜렷하게 증가하였으며, 모든 비조사 시료에서 위에 언급된 hydrocarbon류가 확인되지 않았다. 쇠고기의 경우 8-heptadecene, 6,9-heptadecadiene, 1,7,10-hexadecatriene은 1 kGy이상 조사시킨 시료에서 검출되었고, 1,7-hexadecadiene은 0.5 kGy이상 조사시킨 시료에서도 검출되었다. 1 kGy이상 조사된 경우에는 시료에서 생성되는 hydrocarbon류를 모두 검출할 수 있었으며, 43%, 23.5% 함유되어 있는 oleic acid, palmitic acid로부터 생성된 1,7-hexadecadiene, pentadecane, 1-tetradecene, 8-heptadecene가 많이 검출되었다. 돼지고기에 있어서는 1-tetradecene, 1-hexadecene, 8-heptadecene, 6,9-heptadecadiene, 1,7,10-hexadecatriene은 0.5 kGy이상 조사되면 검출할 수 있었고 pentadecane, heptadecane, 1,7-hexadecadiene은 0.1 kGy이상 조사된 시료에서도 검출 가능하였으며, 8-heptadecene, 1,7-hexadecadiene이 가장 많이 검출되었다. 닭고기에서도 8-heptadecene, 1,7-hexadecadiene이 충분히 검출되었으며, 1,7-hexadecadiene을 제외한 다른 hydrocarbon류가 0.1 kGy이상 조사한 시료에서 모두 검출되어 쇠고기와 돼지고기에 비해 낮은 조사량에서도 hydrocarbon류를 검출할 수 있었으나 전체적으로 생성된 hydrocarbon류의 양은 적었다(Fig. 2).

지금까지의 결과를 종합하여 보면, 쇠고기, 돼지고기, 닭고기에서 방사선 조사로 유도된 hydrocarbon류는 조사선량의 차이에 따라 비례적으로 증가하였고, 시료를 1 kGy이상 조사시키면 생성된 hydrocarbon류를 모두 검출할 수 있었으며, 이들이 방사선 조사 검지

Table 1. Composition of major fatty acids in beef, pork and chicken

Sample	Palmitic acid $C_{15.0}$ (%)	Stearic acid $C_{18.0}$ (%)	Oleic acid $C_{18.1}$ (%)	Linoleic acid $C_{18.2}$ (%)
Beef	23.5±2.0 ¹⁾	9.5±2.0	43.0±4.6	1.5±0.9
Pork	25.4±1.3	10.9±1.5	34.7±2.0	10.4±1.3
Chicken	20.8±1.2	6.0±0.7	32.0±1.3	25.4±3.2

¹⁾Mean±standard deviation.

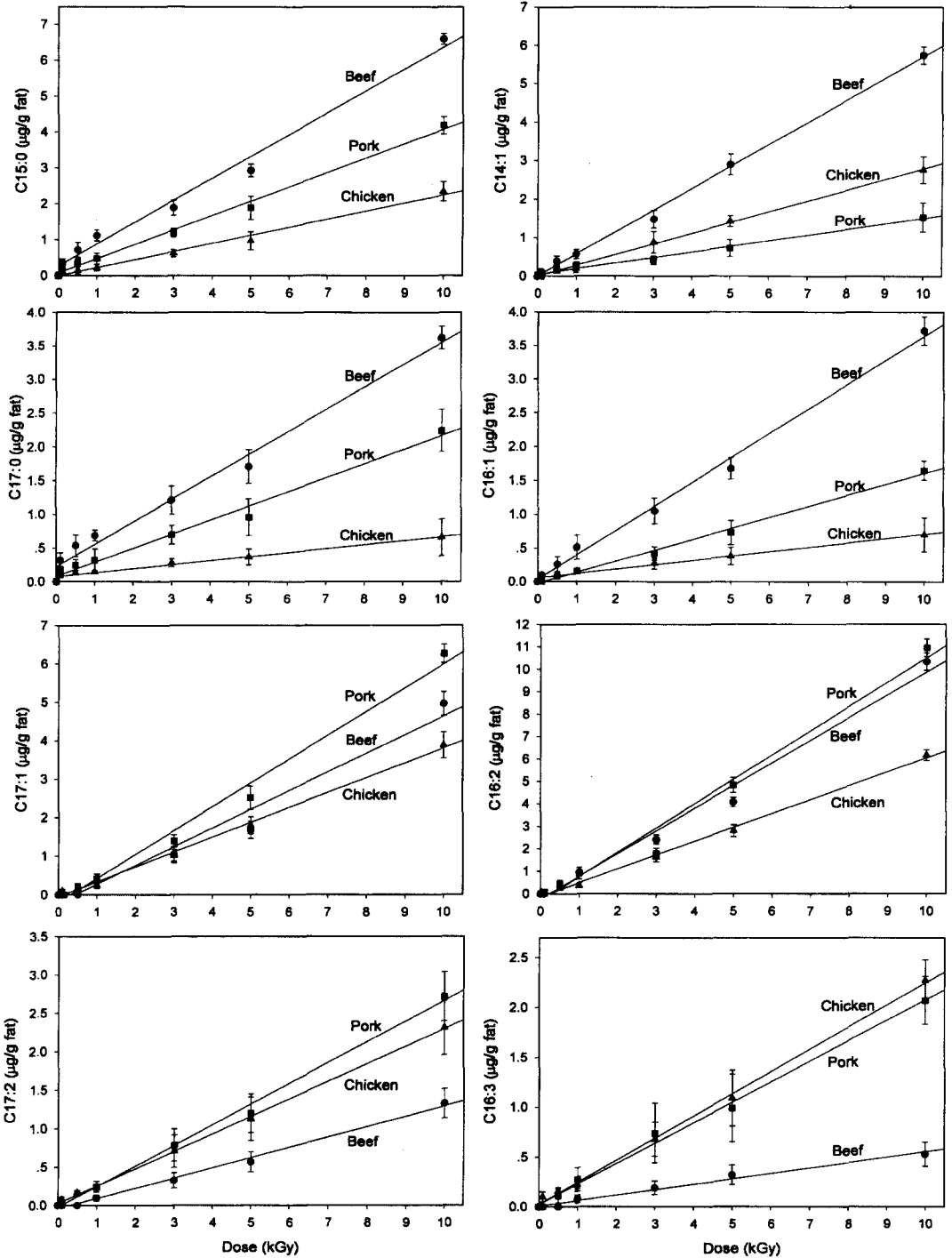


Fig. 1. Effects of irradiation doses on radiation-induced hydrocarbons in beef, pork and chicken.

법에 활용될 수 있을 것이라고 생각되며, 특히 쇠고기에서는 1,7-hexadecadiene, pentadecane, 1-tetradecene, 8-heptadecene, 돼지고기와 닭고기에서는 8-heptadecene,

1,7-hexadecadiene이 충분히 활용 가능하리라 본다. 그러나 각 시료마다 생성되는 hydrocarbon류의 함량이 모두 다르므로 쇠고기, 돼지고기, 닭고기뿐만 아니라

Table 2. Concentration of radiation-induced hydrocarbons in beef, pork and chicken (µg/g fat)

Dose	Palmitic acid		Stearic acid		Oleic acid		Linoleic acid	
	C _{15:0}	C _{14:1}	C _{17:0}	C _{16:1}	C _{17:1}	C _{16:2}	C _{17:2}	C _{16:3}
Beef								
0 kGy	-	-	-	-	-	-	-	-
0.1 kGy	0.35 (±0.12) ^b	0.12 (±0.05)	0.32 (±0.11)	0.10 (±0.03)	-	-	-	-
0.5 kGy	0.72 (±0.21)	0.39 (±0.13)	0.54 (±0.16)	0.26 (±0.11)	-	0.37 (±0.18)	-	-
1 kGy	1.12 (±0.10)	0.57 (±0.12)	0.69 (±0.09)	0.51 (±0.18)	0.36 (±0.17)	0.97 (±0.11)	0.10 (±0.04)	0.08 (±0.03)
3 kGy	1.89 (±0.21)	1.48 (±0.23)	1.21 (±0.21)	1.05 (±0.19)	1.04 (±0.21)	2.41 (±0.08)	0.33 (±0.10)	0.19 (±0.06)
5 kGy	2.93 (±0.17)	2.60 (±0.27)	1.71 (±0.25)	1.68 (±0.08)	1.69 (±0.23)	4.08 (±0.15)	0.57 (±0.13)	0.32 (±0.10)
10 kGy	6.59 (±0.10)	5.74 (±0.23)	3.62 (±0.17)	3.72 (±0.35)	4.96 (±0.31)	10.53 (±0.39)	1.33 (±0.19)	0.53 (±0.12)
Pork								
0 kGy	-	-	-	-	-	-	-	-
0.1 kGy	0.25 (±0.07)	-	0.18 (±0.05)	-	-	0.09 (±0.04)	-	-
0.5 kGy	0.37 (±0.10)	0.22 (±0.02)	0.25 (±0.08)	0.08 (±0.04)	0.22 (±0.07)	0.42 (±0.18)	0.16 (±0.03)	0.11 (±0.07)
1 kGy	0.48 (±0.15)	0.29 (±0.05)	0.32 (±0.17)	0.16 (±0.03)	0.41 (±0.13)	0.91 (±0.26)	0.25 (±0.07)	0.28 (±0.12)
3 kGy	1.19 (±0.10)	0.41 (±0.11)	0.70 (±0.14)	0.42 (±0.10)	1.39 (±0.16)	1.78 (±0.25)	0.79 (±0.21)	0.74 (±0.30)
5 kGy	1.89 (±0.32)	0.73 (±0.22)	0.96 (±0.27)	0.73 (±0.20)	2.49 (±0.30)	4.83 (±0.34)	1.18 (±0.28)	0.99 (±0.34)
10 kGy	4.18 (±0.24)	1.53 (±0.38)	2.24 (±0.31)	1.65 (±0.14)	6.26 (±0.24)	10.91 (±0.39)	2.72 (±0.34)	2.07 (±0.24)
Chicken								
0 kGy	-	-	-	-	-	-	-	-
0.1 kGy	0.12 (±0.02)	0.06 (±0.02)	0.10 (±0.04)	0.07 (±0.02)	0.10 (±0.04)	-	0.08 (±0.03)	0.10 (±0.05)
0.5 kGy	0.14 (±0.10)	0.13 (±0.05)	0.13 (±0.02)	0.11 (±0.03)	0.17 (±0.04)	0.27 (±0.10)	0.17 (±0.02)	0.16 (±0.03)
1 kGy	0.22 (±0.09)	0.19 (±0.10)	0.15 (±0.02)	0.14 (±0.03)	0.25 (±0.08)	0.38 (±0.11)	0.23 (±0.05)	0.22 (±0.04)
3 kGy	0.62 (±0.10)	0.88 (±0.28)	0.28 (±0.06)	0.27 (±0.08)	1.02 (±0.15)	1.63 (±0.21)	1.71 (±0.21)	0.69 (±0.17)
5 kGy	0.97 (±0.25)	1.43 (±0.14)	0.37 (±0.12)	0.38 (±0.13)	1.78 (±0.22)	2.80 (±0.27)	1.13 (±0.31)	1.09 (±0.28)
10 kGy	2.34 (±0.27)	2.76 (±0.35)	0.66 (±0.27)	0.70 (±0.37)	3.88 (±0.34)	6.16 (±0.25)	2.31 (±0.38)	2.27 (±0.21)

^bMean ± standard deviation.

그 외에 지방이 함유된 다른 식품에도 이와 같은 연구가 계속적으로 행해져야 할 것이며 아울러 hydro-

carbon류 뿐만 아니라 cyclobutanone류의 분석도 앞으로 수행되어야 하겠다.

14. Stevenson, M.H. and Gray, R.: The effect of irradiation dose, storage time and temperature on the ESR signal in irradiated chicken drumsticks. *J. Sci. Food Agric.*, **48**, 269-274 (1989)
15. Autio, T. and Pinnioja, S.I.: Identification of irradiated foods by the thermo-luminescence of mineral contamination. *Z. Lebensm. unters. Forsch.*, **191**, 177-180 (1990)
16. Heide, L., Guggenberger, R. and Bögl, K.W.: Application of thermoluminescence measurements to detect irradiated strawberries. *J. Agric. Food Chem.*, **38**, 2160-2163 (1990)
17. Pinnioja, S., Autio, T., Niemi, E. and Pensala, O.: Import control of irradiated foods by the thermoluminescence method. *Z. Lebensm. unters. Forsch.*, **196**, 111-115 (1993)
18. Jabir, A.W., Deeble, D.J., Wheatley, P.A., Smitt, C.J. Parsons, B.J., Beaumont, P.C. and Swallow, A.J.: DNA modifications as a means of detecting the irradiation of wheat. *Radiat. Phys. Chem.*, **34**, 935-940 (1989)
19. Scotter, S.L., Bearwood, K. and Wood, R.: Limulus amoebocyte lysate test/gram negative bacteria count method for the detection of irradiated poultry: results of two interlaboratory studies. *J. Sci. Technol. Today*, **8**, 106-107 (1994)
20. Betts, R.D., Farr, L., Bankers, P. and Stringer, M.F.: The detection of irradiated foods using the direct epifluorescent filter technique. *J. Appl. Bacteriol.*, **64**, 329-335 (1988)
21. Nawar, W.W.: Volatiles from food irradiation. *Food Rev. Int.*, **2**, 45-78 (1986)
22. Nawar, W.W.: Analysis of volatiles as a method for the identification of irradiated foods. In Health impact, identification and dosimetry of irradiated foods. Report of a WHO working group, Bericht des Instituts für Strahlhygiene des Bundesgesundheitsamtes, ISH-125, Neuherberg, Germany, p.287-296 (1988)
23. Joint FAO/IAEA Division of Nuclear Techniques in Food and Agriculture, International Atomic Energy Agency, Vienna. *Supplement to Food Irradiation Newsletter*, **14**, 2-14 (1990)
24. Schreiber, G.A. Schulzki, G., Spiegelberg, A., Helle, N. and Bögl, K.W.: Evaluation of a gas chromatographic method to identify irradiated chicken, pork and beef by detection of Volatile hydrocarbons. *JAOCS Int.*, **77**, 1202-1217 (1994)
25. Robert, P.A.: Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectroscopy. Allured Publishing Co., USA (1995)
26. Stehagen, E., Abrahamsson, S. and Malafferty, F.W.: *The Wiley/NBS Registry of Mass Spectral Data*, John Wiley and Sons, N.Y. (1974)

(1998년 11월 23일 접수)