

감마선 조사 육류, 가금류에서 저장전과 후의 조사선량에 따른 DNA fragmentation의 변화

이혜진 · 김상미 · 박유경 · 양재승* · 강명희

한남대학교 식품영양학과, 한국원자력연구소 식품검지실*

(2003년 10월 27일 접수)

Changes of DNA fragmentation by Irradiation Doses and Storage in Gamma-irradiated Meats and Poultry

Hye Jin Lee, Sang-Mi Kim, Yoo Kyoung Park, Jae-Seung Yang*, and Myung-Hee Kang

Department of food and Nutrition, Hannam University, Daejeon 306-791, Korea

Laboratory for Detection of Irradiated Foods, Korea Atomic Energy Research Institute, Daejeon 305-353, Korea*

(Received October 27, 2003)

Abstract

The changes in DNA damage were investigated during storage after irradiation. Beef, pork and chicken were irradiated at 1.0, 3.0 and 5.0 kGy and stored for 6 months at -20°C. The comet assay was applied to the sample muscles at the beginning of irradiation and at the end of storage. Muscles were isolated, sliced, and the suspended cells were embedded in an agarose layer. After lysis of the cells, they were electrophoresed for 2 min. and then stained. DNA fragmentation in tissues caused by irradiation was quantified as tail length and tail moment (tail length \times % DNA in tail) by comet image analyzing system. Right after irradiation, the differences in tail length between unirradiated and irradiated muscles were significant ($p < 0.05$) in beef, pork and chicken. With increasing the irradiation doses, statistically significant longer extension of the DNA from the nucleus toward anode was observed. Similarly even 6 months after irradiation, all the irradiated muscles significantly showed longer tail length than the unirradiated controls. The results represented as tail moment showed similar tendency to those of tail length, but the latter parameter was more sensitive than the former. These results indicate that the comet assay could be one of the simple methods of detecting irradiated muscles. Moreover, this method suggest that using comet assay, we were able to detect DNA damage differences even after 6 months after irradiation.

Key Words : beef, pork, chicken, irradiation detection, storage, comet assay

I. 서론

최근 식품의 방사선 조사 기술은 식품이나 농산물의 살균, 살충, 저장기간 연장, 과채류의 숙성 지

연 등으로 각 국 정부와 식품산업계로부터 관심이 높아지고 있다^{1,2)}. 식품의 방사선 조사는 WHO, FAO, IAEA와 같은 국제기구에서 인정받았으며³⁾ 현재 40여 개국에서 허가되어 국제 교역에서 조사식

품의 유통이 점차 증가하는 추세이다⁴⁾. 우리나라에서는 1987년에 최초로 감자, 양파, 마늘 등에 방사선 조사를 허용하였으며 이어 1995년에는 가공식품의 제조원료용 건조 채소류, 향신료, 건강식품에 사용되는 분말류 등에 대한 방사선 조사가 허용되기 시작했다. 미국에서는 1985년에 돼지고기의 방사선 조사를 허용하였으며, 1992년에는 가금류, 1997년에는 쇠고기에 방사선 조사를 허용하기 시작하였다. 현재까지 우리나라에서는 방사선 조사식품 허가품목에 육류가 포함되어 있지 않으나, 미국을 비롯한 각 국에서는 육류에도 방사선 조사 관련 규정을 정하여 조사하고 있으므로 육류를 수입하는 우리나라에서도 방사선 조사된 육류가 유통될 가능성이 있다⁵⁾.

방사선 조사식품의 상품화를 위해서는 국제수준에서의 공동노력이 요구되는데, 첫째, 감마선 조사식품의 안전성에 대한 연구, 둘째, 감마선 조사식품을 다루고 제조하기 위한 공정, 셋째, 감마선 조사식품의 검지방법의 개발 등이다⁶⁾. 식품의 방사선 조사는 식품의 저장기간을 높이는 장점이 있으나, 방사선이 처리된 식품은 방사선 에너지를 흡수하여 free radical을 다량 생성하게 되고⁷⁾, 이는 식품의 불포화 지방산과 반응하여 지질과산화를 일으키므로 식품의 관능적인 품질을 저하시키고 식품의 항산화 영양소 함량에도 영향을 주게 된다⁸⁾. 나아가 식품의 방사선 조사는 생체막의 지질과산화 생성에 의한 세포파괴를 초래하여 악성종양을 유발시킬 수도 있으므로⁹⁾ 방사선 조사식품들에 대한 안전성 검토는 매우 중요하다고 볼 수 있다. 1983년 FAO에서는 방사선 조사식품들에 대한 Codex 표준 규격 채택시 안전성에 대한 많은 자료들을 검토한 후 평균 조사량 10 kGy까지는 독성학적으로 안전하다고 하였다⁸⁾. 그러나 최근 과학기술의 발전에 따라 유전독성학 및 영양학적 안전성 시험방법도 많이 발전하였으므로 과거의 안전성에 대한 검토결과는 재고할 필요가 있다⁸⁾.

현재 우리나라에는 중국, 미국 등으로부터 농산물 시장 개방에 따라 수입품목과 수입량이 증가하고 있는 추세이므로, 감마선 조사식품의 안전성에 대한 연구와 더불어 수입관리를 위한 방사선 조사 검지 방법의 설정과 정확한 정보의 제공을 위한 검지 기술의 확립은 필수적이다. 그러나 방사선 조사 식품의 검지는 기술적으로 한계가 있어 국내에서는 많이 이루어지지 못하고 있는 실정이다.

방사선 조사 식품 중 육류는 다음 네 가지 이유로 감마선을 조사한다. 첫째는 식품 병원균의 억제, 둘째는 신선, 냉동육류의 저장기간 증대, 셋째는 면역결핍환자를 위한 살균된 제품의 공급, 넷째로 장기간 상온에서 저장이 적합한 육류의 생산 등이다¹⁰⁾. 적색 육류 및 양계제품의 감마선 조사는 소비자들에게 병원성 미생물의 감염확률을 크게 감소시키거나 완전한 제거가 가능하기 때문에 더욱 절실히 요구되고 있는 실정이나, 현재로써는 감마선 조사된 육류 및 양계 제품의 양에 관한 공식, 비공식적인 추정이나 방사선 조사선량에 대한 검지 방법이 많지 않으며, 육류의 방사선 조사 육류의 검지방법을 다양하게 모색하는 중이다.

방사선 조사 식품 검지와 관련하여 국내에 진행된 연구로, 현재까지 주로 물리적 방법이나 화학적 방법들이 연구되어 왔으나^{11,12)}, 최근 생물학적인 방법의 하나로 사용되기 시작한 comet assay는 DNA의 손상과 염기의 변화를 측정하는 방법으로서 방사선 조사로 인한 DNA 손상을 빠른 시간 내에 효과적으로 검지하는 것으로 알려져 있다¹²⁻¹⁶⁾. 현재까지 comet assay방법이 방사선 조사식품 검지에 도입된 이후로 국내외에서 방사선 조사된 곡류, 육류, 땅콩, 과일류, 콩류를 대상으로 조사선량을 확인하는 연구가 활발히 이루어지고 있다¹⁸⁻²³⁾. 위 연구들의 결과들을 살펴보면, 대부분의 시료에서 방사선 조사 여부를 판별할 수 있었으며, 조사선량의 증가에 따라 DNA 손상이 증가하는 경향을 보였다. 그중 방사선 조사 육류에 대한 검지 확인 연구로는 닭고기와 돼지고기, 생선을 각각 2.5 kGy, 5.0 kGy까지 방사선 조사하여 DNA 손상을 나타내는 tail length를 측정하여 비 조사 시료와 비교한 연구가 보고된 바 있으며^{13,18)}, 국내에서는 Jeong 등²³⁾과 Park 등⁵⁾이 쇠고기와 돼지고기를 대상으로 comet assay를 이용해 방사선 조사 여부를 확인한 연구가 있다. 그러나 이 연구들은 수입 혹은 수출 농산물이 소비자의 구매단계까지 가는데 소요되는 저장기간 동안의 방사선 조사선량을 확인한 연구가 아니라 방사선 조사 직후 comet assay를 실시하여 DNA 손상정도를 측정한 연구이다. 즉, 방사선 조사한 육류를 일정기간 저장한 후 DNA 손상정도의 변화가 가능한지를 측정한 연구는 그 필요성만 제안되었을 뿐¹⁰⁾ 국내외를 통틀어 아직까지 보고된 바 없다.

따라서 본 연구는 쇠고기, 돼지고기, 닭고기를 선정하여 10 kGy 이하의 방사선을 조사한 후, 6개월 간 냉동 저장한 후에도 방사선 조사량에 따른 검지가 가능한지를 DNA 손상변화로 검지 해 보고자 하는 목적으로 시도되었다. 즉, 육류에 방사선 조사 후 comet assay를 이용하여 방사선 조사여부를 확인하고, 그 조사선량에 따른 육류의 DNA 파손정도를 비교하고자 하였으며 방사선 조사 직후 6개월 간 냉동저장 후에도 DNA 손상 정도를 comet assay로 검지 할 수 있는지, 조사선량에 따른 DNA 파손 정도의 차이를 확인할 수 있는지 검토하고자 하였다.

II. 재료 및 방법

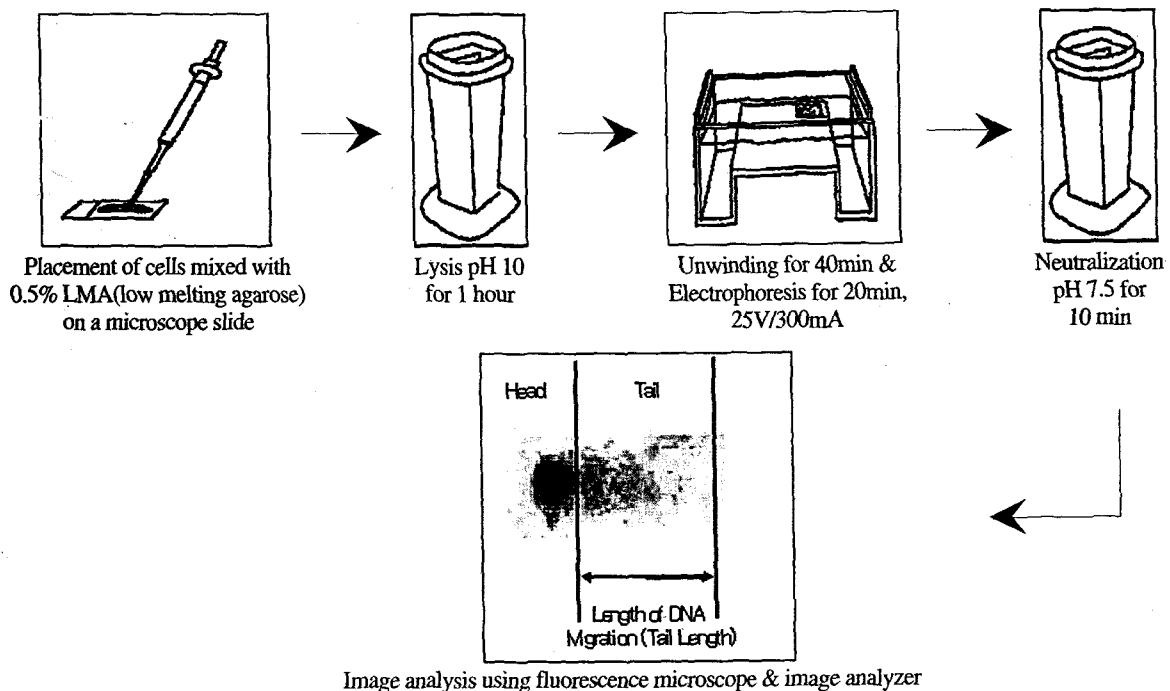
1. 시료 및 시약

본 실험에 사용된 시료는 쇠고기, 돼지고기, 닭고기로 대전 광역시 농수산시장에서 도축 후 한번도 냉동된 적이 없는 국내산으로 구입하였다. 육질 부분만을 취하여 결 방향으로 메스를 이용하여 분리한 후 magnetic stirrer를 이용하여 300rpm에서 5분 동안 균질화 하였다. 방사선 조사를 한 후, 즉시

comet 분석을 하여 DNA 손상 정도를 측정하였고, 나머지는 저장기간별 방사선 조사 검지여부를 측정하기 위해 -20°C 냉동고에서 6개월 동안 저장한 뒤 comet assay를 실시하였다. 주요시약 가운데 sodium chloride, potassium chloride, tris-base ethylenediamine tetra-acetic acid(EDTA), low melting point agarose, normal melting point agarose, disodium hydrogen phosphate, phosphate dihydrogen phosphate, ethidium bromide는 Sigma Chemical(St. Louis, MO., USA) 제품을 사용하였으며, boric acid, sodium dodecyl sulphate(SDS)는 Applichem(Darmstadt, Germany) 제품을 사용하였다.

2. 시료의 방사선 조사

육류 시료의 방사선 조사는 한국원자력연구소의 ⁶⁰Co 감마선 조사 시설(AECL, Canada)을 이용하였으며, 1.0, 3.0, 5.0 kGy의 선량으로 시간당 일정한 선량률이 되도록 조사하였다. 본 실험에서 사용한 각 시료의 방사선 조사선량 범위는 현재 미국 FDA에서 허용하고 있는 조사선량인 육류(쇠고기, 돼지고기) 4.5 kGy, 가금류 3 kGy를 참고로 하여 선정하였다.



<Fig. 1> Schemes of comet assay and image analysis from meat muscles after ethidium bromide staining (Microscope objective X 200)

3. Comet assay

Comet assay는 Cerda 등¹³⁾의 방법을 기초로 약간의 수정을 거쳐 실시하였으며 comet assay를 간략하게 도식화하여 (Fig. 1)에 제시하였다.

실험 재료로 사용된 시료는 육질 부분만을 취하여 결 방향으로 메스를 이용하여 분리한 후 세포에 손상을 주지 않을 정도로 부드럽게 마쇄하고 2 g의 시료를 취하여 ice bath상에 있는 작은 시약병에 넣었다. PBS(phosphate buffered saline, pH 7.4) 완충액을 10mL을 넣고 magnetic stirrer로 500 rpm에서 쇠고기와 돼지고기는 5분, 닭고기는 10분 동안 혼합하였다. 이 현탁액을 200 μ m nylon sieve cloth로 여과시키고 냉장온도에서 10분 동안 방치하여 침전시킨 후 상층액을 취하여 100 μ m nylon sieve cloth로 재여과시키고 다시 냉장온도에서 30분 동안 방치시킨 후 상층액을 취하여 comet 분석용으로 사용하였다. 슬라이드(76 \times 26 mm, Marienfeld, Superior, Germany)는 ethanol에 하룻밤 담근 후 깨끗하게 닦고 45 $^{\circ}$ C로 유지되어 있는 0.5% normal melting point agarose 50 μ L를 균일하게 도포 한 후 실온에서 30분간 건조시켰다. 이렇게 완성된 precoated agarose slide는 slide 상자에 보관하면서 실험에 사용하였다. 제조된 세포 현탁액의 상층액 100 μ L를 취하여 0.8% low melting point agarose 1 mL와 혼합하였다. 혼합 용액 100 μ L를 취하여 앞서 준비한 precoated 슬라이드 위에 도포하고 공기방울이 생기지 않도록 빠른 속도로 cover glass slide(24 \times 50 mm)를 덮어주었다. 이 슬라이드를 ice-bath상에 놓아 세포 겔이 형성되도록 하였으며 이를 lysis buffer(2.5% SDS in 45 mM Tris-borate, 1 mM EDTA, pH 8.4)에 침지 시켜 세포의 핵막과 단백질을 용해시켰다. 각 시료의 단백질 용해 시간은 시료에 따라 쇠고기와 돼지고기는 5분, 닭고기는 10분으로 하였다. 단백질 용해 용액에 용해된 슬라이드는 SDS가 배제된 TBE buffer(45 mM Tris-borate, 1 mM EDTA, pH 8.4)에 5분 동안 담근 후 꺼내서 물기를 제거하고 슬라이드의 agarose end가 전기영동 tray 위에 (+)극 쪽으로 향하도록 나란히 올려놓고, 냉장 보관된 TBE buffer를 슬라이드 위로 약 2~4 mm 정도 올라오도록 채워 넣은 후 2 V/cm로 2분 동안 전기영동을 실시하였다. 전기영동 후 슬라이드를 증류수로 5분 동안 흘려 세척하고

상온에서 1시간 동안 건조시킨 후 ethidium bromide(20 μ g/ml) 75 μ L로 염색하여 현미경으로 DNA comet을 관찰하였다.

4. DNA comet의 현미경 관찰

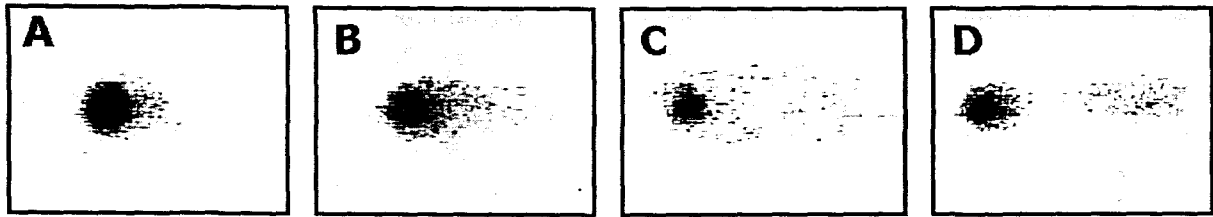
Ethidium bromide로 염색된 슬라이드상의 DNA comet을 형광 현미경(DMLB, Leica, Germany)상에서 배율 200배로 관찰하였으며, CCD video camera(KP-M, Hitachi, Japan)를 통해 보내진 각각의 세포핵 이미지는 Comet image analyzing system(Komet 4.0, Kinetic Imaging Ltd, UK)이 설치된 컴퓨터 상에서 분석하였다. 본 실험에서는 각 시료마다 준비된 2개의 슬라이드에서 각각 50개씩 총 100개의 핵체를 무작위로 선택하여 관찰하였으며, 각 조사선량마다 2회 이상 반복 실험하였다. DNA의 손상정도는 핵으로부터 이동한 DNA 파편의 거리인 tail length와 tail length에 tail % DNA를 곱한 값인 tail moment로 나타내었다.

5. 통계처리

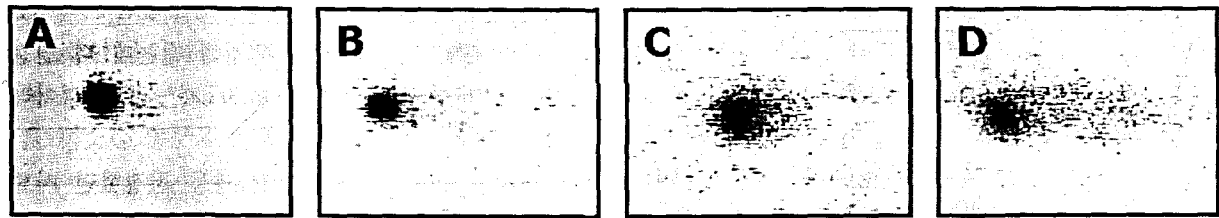
본 연구의 모든 실험결과는 윈도우용 SPSS (version 10.0)를 사용하여 각 시료별 및 조사선량별로 평균치와 표준오차를 구하였으며, 조사선량간 tail length, % DNA in tail 및 tail moment의 차이에 대한 유의성은 일원배치 분산분석(one-way ANOVA)을 한 후 LSD test를 이용하여 검증하였다. Pearson's correlation coefficient를 사용하여 조사선량과 DNA 손상지표들간의 상관관계를 알아보았다.

III. 결과 및 고찰

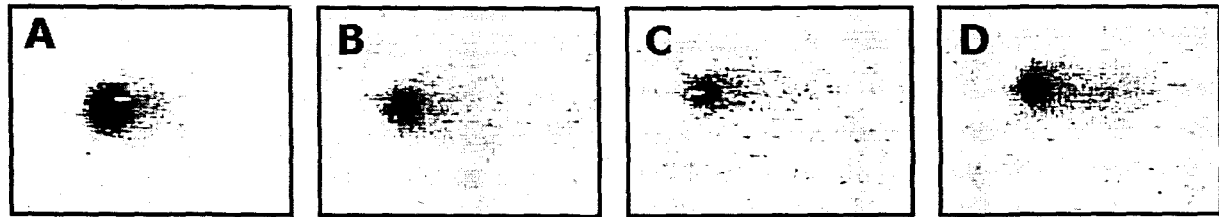
쇠고기, 돼지고기, 닭고기를 감마선 조사 한 후, 선량에 따른 조사육의 DNA 손상정도의 차이를 확인할 수 있는지, 그리고 일정기간 저장한 후에도 비조사시료와 조사시료 간에 선량에 따른 차이가 있는지 등을 검토해 보기 위해 시도된 본 연구에서는 DNA 손상정도를 살펴보는 방법으로 comet assay를 적용하였다. 각 시료에 대해서는 1.0, 3.0, 5.0 kGy의 선량으로 방사선을 조사한 직후 실시한 comet assay



<Fig. 2> Representative DNA comets image from beef muscles after ethidium bromide staining (Microscope objective X 200)
A: unirradiated, B: irradiated with 1 kGy, C: irradiated with 3 kGy, D: irradiated with 5 kGy



<Fig. 3> Representative DNA comets image from pork muscles after ethidium bromide staining (Microscope objective X 200)
A: unirradiated, B: irradiated with 1 kGy, C: irradiated with 3 kGy, D: irradiated with 5 kGy



<Fig. 4> Representative DNA comets image from chicken muscles after ethidium bromide staining (Microscope objective X 200)
A: unirradiated, B: irradiated with 1 kGy, C: irradiated with 3 kGy, D: irradiated with 5 kGy

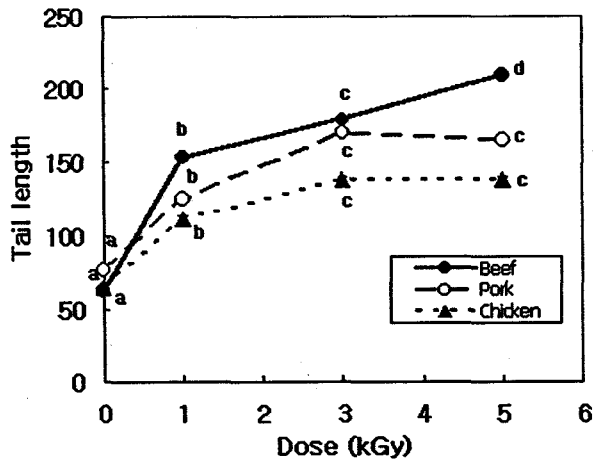
의 결과를 살펴보면, 쇠고기, 돼지고기 및 닭고기 모두 비 조사 시료의 경우 원형 모양의 핵이 많이 관찰되었고 조사 시료는 대부분 핵이 손상된 것으로 나타나 비 조사 시료와 조사 시료간 DNA 손상 정도의 차이는 뚜렷하게 구분되었다(Fig. 2-4).

쇠고기의 경우 TL로 본 DNA 손상정도는 비 조사시료와 조사시료간의 차이가 3배 가량이었으며 조사시료간에도 그 선량에 따라 DNA 손상의 정도가 선량의 증가에 비례하게 증가하는 것을 볼 수 있었다(Fig. 5).

돼지고기의 경우도 비 조사시료에 비해 조사시료의 DNA 손상이 증가하였을 뿐 아니라 선량의 증가에 따라 손상도가 증가되는 경향을 보였다. 즉, 비 조사 시료와 1 kGy 선량, 그리고 3 kGy 간에는 선량이 증가함에 따라 DNA 손상의 증가가 유의적으로 나타났으나, 3 kGy 선량과 5 kGy 선량 간에는 DNA 손상도에 유의적인 차이가 보이지 않았다

(Fig. 5). 닭고기의 선량에 따른 DNA 손상정도도 돼지고기의 선량에 따른 손상정도와 비슷한 양상을 보였다(Fig. 5). Thayer¹⁰⁾는 냉동시키고 효소를 불활성화시킨 닭고기, 열로 살균시킨 닭고기, 감마선으로 살균하고 효소를 불활성화시킨 닭고기, 전자선으로 멸균하고 효소를 불활성화시킨 닭고기를 사용하여 영양학적, 연구 결과들을 보고하였다. 이때 닭에 사용한 감마선 조사선량은 45-68 kGy이었으며, 이 조사선량에서의 식품의 아미노산 조성은 다른 처리군의 아미노산 조성과 아무런 차이가 없었고, 쥐성장률을 측정하기 위한 닭고기의 단백질효율에도 유의적인 차이가 없어 감마선 조사 닭고기의 안전성이 검증된 바 있다. 이 조사선량은 미국에서 양계제품 처리에 허가된 최대량 3.0 kGy보다는 15배 이상의 선량이므로, 본 연구에서 사용된 3.0-5.0 kGy에서의 조사는 안전하다고 할 수 있겠다.

DNA 손상을 나타내는 다른 지표인 tail moment



<Fig. 5> Radiation effect on DNA damage in beef, pork, chicken muscle induced by gamma radiation at different doses from 0-5 kGy. Values are mean (●) and standard error (bars). Values with different superscript are significantly different at P<0.05

(TM) 값을 보면, 쇠고기, 돼지고기, 닭고기 각 시료에서 비 조사 시료에 비해 조사 시료의 TM 값이 유의적으로 높게 나타나 tail length와 비슷한 양상을 보여주었지만, 전체적으로 방사선 조사량에 따른 DNA 손상정도가 불규칙하게 나타나 DNA 손상을 반영하는 민감도가 tail length(TL) 보다 낮음을 알

<Table 1> DNA damage assessed as tail length, % tail DNA, tail moment from single cells of unirradiated and irradiated beef, pork and chicken analysed by the comet assay

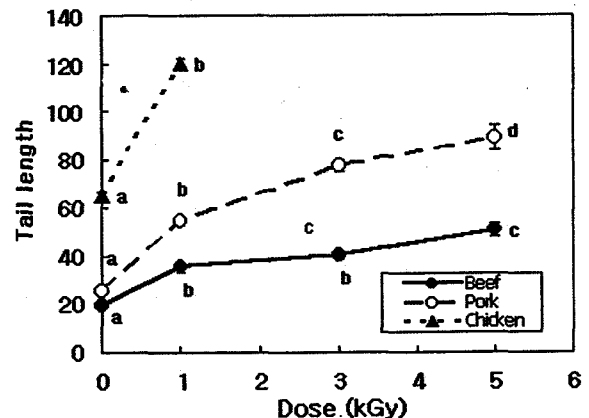
Dose (kGy)	Beef	Pork	Chicken
Tail length (µm)			
0	63.0±0.6 ^a	75.8±1.0 ^a	64.8±1.2 ^a
1	153.7±1.9 ^b	125.1±1.6 ^b	111.8±1.3 ^b
3	178.4±2.0 ^c	170.0±1.5 ^c	137.3±2.0 ^c
5	209.0±1.6 ^d	165.0±1.8 ^c	137.9±1.7 ^c
% tail DNA			
0	9.2±0.5 ^a	13.6±0.6 ^a	27.6±0.8 ^a
1	37.9±1.5 ^b	31.3±0.8 ^b	34.8±1.0 ^b
3	39.8±1.5 ^b	63.3±1.2 ^d	55.6±1.1 ^c
5	46.2±1.5 ^c	52.4±1.4 ^c	55.7±1.0 ^c
Tail moment			
0	5.9±0.3 ^a	10.4±0.5 ^a	18.3±0.7 ^a
1	61.5±2.8 ^b	39.5±1.2 ^b	39.4±1.3 ^b
3	72.8±3.2 ^c	108.3±2.3 ^d	77.5±2.0 ^c
5	98.1±3.4 ^d	87.6±2.7 ^c	77.7±2.0 ^c

1) Mean±standard error. Values with the same superscripts within column are not significantly different at p<0.05. (one-way ANOVA and the least-significant-difference test)

수 있었다(Table 1).

이와 관련하여 Koppen과 Cerda¹³⁾는 TL 값은 손상된 DNA가 핵 체로부터 빠져 나와 이동한 거리만을 재는 값인 반면 TM 값은 TL에 tail내 % DNA를 곱해준 값으로 실험과정 중 생길 수 있는 cell 파편 등이 tail 부분에 존재하면서 tail내 DNA로 오인되어 이미지 분석기 상에서의 TM 계산에 영향을 미쳐 정확한 결과를 내는데 방해할 가능성이 있다고 밝힌 바 있다. 이는 본 실험에서 TM 보다 TL이 육류의 DNA 손상정도를 측정해 내는데 더 민감한 지표로 나타났던 결과에 대한 가능한 해석이라고 생각된다.

방사선 조사 후 6개월 간 냉동 저장했던 시료에 대해서 6개월이 지난 후 방사선에 의한 DNA 손상의 변화를 관찰한 결과, 쇠고기, 돼지고기, 닭고기 모두에서 6개월이 지난 후에도 비 조사 시료와 조사 시료간 TL 값으로 본 DNA 손상 정도는 유의적인 차이를 보여주었다(Fig. 6). 6개월 간 저장 한 쇠고기의 경우, 1.0 kGy 선량과 3.0 kGy 선량 간에만 차이가 없었을 뿐, 비 조사 시료와 1.0 kGy 선량 시료, 그리고 3.0 kGy 선량과 5.0 kGy 선량 시료 간에는 방사선 선량이 증가할수록 DNA 손상이 유의적으로 증가하였다(Fig. 6). 돼지고기의 경우는 6개월 간 저장한 후에도 모든 선량 시료에서 방사선 선량이 증가할수록 TL로 본 DNA 손상도가 유의적으로 증가



<Fig. 6> Effect of 6 month storage on DNA damage in beef, pork, chicken muscle induced by irradiation at different doses from 0-5 kGy. Values are mean (●) and standard error (bars). Values with different superscript are significantly different at P<0.05

하는 결과를 관찰할 수 있었다. 이에 비해 닭고기의 경우엔 조사시료(1.0 kGy)와 비 조사 시료간에 TL 값이 차이를 보였으나, 조사량이 증가함에 따라 시료의 DNA 손상이 심해 1.0 kGy 이상 선량 시료의 DNA 손상을 측정 할 수 없었다. 즉 육류와 가금류를 방사선 조사한 후 냉동 저장한 경우에도 조직의 DNA 손상의 차이로 방사선 조사여부를 확인할 수 있었으며, 닭고기를 제외한 쇠고기, 돼지고기에서는 냉동저장 후 방사선 조사선량이 증가함에 따라 DNA 손상이 증가하는 것을 확인할 수 있었다.

이와 같은 결과는 DNA 손상의 다른 지표인 TM에서도 비슷한 양상을 보였다(Table 2). 또한 본 연

구에서는 comet assay를 진행할 경우에도 ethidium bromide 염색과 형광현미경, 이미지 분석기를 이용하여 이전의 육안에 의존하던 방법보다 좀 더 빠르고 정확하게 결과를 분석할 수 있었다. 본 연구와 유사하게 쇠고기와 돼지고기의 방사선 조사여부를 판별하는데 DNA comet assay를 활용한 선행연구^{5,23)}결과, 저 선량인 0.1-1.0 kGy 사이의 선량에서 조사선량간 유의적인 차이를 확인한 바 있으나, 현재 미국에서 육류의 허용 조사선량은 10 kGy. 닭고기는 3 kGy이므로, 수입 축산물의 방사선 조사여부 및 선량을 검지하기 위해서는 본 연구에서와 같이 좀 더 넓은 범위의 방사선을 조사한 식품을 대상으로 하는 연구가 필요할 것으로 생각된다.

한편, 각 시료별로 저장 전과 저장 후의 TL 값의 변화를 살펴보면 방사선 조사 여부에 관계없이 쇠고기, 돼지고기 그리고 닭고기 모두에서 저장 전에 비해 저장 후에 감소하는 것으로 나타났다(Table 3).

이 현상은, 저장기간 동안 방사선 조사 시료뿐만 아니라 비 조사 시료의 세포 내에서 DNA repair enzyme의 작용으로 손상된 DNA가 회복될 가능성을 생각해 볼 수 있다. Kim 등²²⁾의 선행연구에서도 방사선 조사 과일을 조사 후 3개월 간 4°C에서 저온 저장한 후 DNA 손상의 변화를 살펴보았는데, 키위, 오렌지, 배 모든 과일에서 3개월의 저장기간 후의 DNA 손상이 저장 전에 비해 감소하는 현상을 보였었다. 이러한 현상에 대해, 저장기간에 따른 DNA 손상의 변화 또는 DNA repair enzyme의 활성 변화 등을 살펴보는 연구들이 요구된다.

식품의 저장기간 연장과 살균을 위한 감마선 조사의 역사는 새로운 것이 아니지만 많은 소비자들은 새롭게 느끼고 있으므로 감마선 조사가 식품저

<Table 2> DNA damage assessed as tail length, % tail DNA, tail moment from beef, pork and chicken after 6 month of storage

Dose (kGy)	Beef	Pork	Chicken	
Tail length (μm)	0	65.9±2.7 ^a	62.2±1.6 ^a	65.4±1.5 ^a
	1	89.1±3.3 ^b	122.3±2.1 ^b	120.5±2.3 ^b
	3	92.9±2.3 ^b	136.2±2.2 ^c	N.D.*
	5	106.1±4.1 ^c	160.5±5.1 ^d	N.D.
% tail DNA	0	29.7±1.1 ^a	40.4±1.4 ^a	48.7±1.4
	1	39.0±1.7 ^b	45.2±1.2 ^b	49.0±2.0
	3	42.8±1.4 ^b	56.5±1.4 ^c	N.D.
	5	47.1±1.7 ^c	55.0±2.5 ^c	N.D.
Tail moment	0	19.8±1.2 ^a	25.4±1.2 ^a	31.9±1.2 ^a
	1	35.6±2.2 ^b	55.0±1.7 ^b	59.4±2.8 ^b
	3	40.3±1.7 ^b	77.4±2.4 ^c	N.D.
	5	50.8±2.8 ^c	89.3±5.1 ^d	N.D.

1) Mean ± standard error. Values with the same superscripts within column are not significantly different at p<0.05. (one-way ANOVA and the least-significant-difference test)

* N.D. : non-detectable

<Table 3> Tail length(μm) of the comets from single cells of unirradiated and irradiated beef, pork and chicken analyzed by comet assay.

Dose (kGy)	Beef		Pork		Chicken	
	0	6 months	0	6 months	0	6 months
0	63.0±0.6 ^a	65.9±2.7 ^a	75.8±1.0 ^a	62.2±1.6 ^a	64.8±1.2 ^a	65.4±1.5 ^a
1	153.7±1.9 ^b	89.1±3.3 ^b	125.1±1.6 ^b	122.3±2.1 ^b	111.8±1.3 ^b	120.5±2.3 ^b
3	178.4±2.0 ^c	92.9±2.3 ^b	170.0±1.5 ^c	136.2±2.2 ^c	137.3±2.0 ^c	
5	209.0±1.6 ^d	106.1±4.1 ^c	165.0±1.8 ^c	160.5±5.1 ^d	137.9±1.7 ^c	

1) Mean standard error. Values with the same superscripts within column are not significantly different at p<0.05. (one-way ANOVA and the least-significant-difference test)

장방법으로써의 한 방법임을 소비자에게 인식시키기 위해 방사선 조사 식품의 안전성에 관한 연구가 활발히 수행되고 있다²⁴⁾. 방사선 조사 식품자체의 안전성에 관한 초기 연구의 검토에는 *in vivo* 연구 결과가 많지 않았고, 연구방법 또한 극히 제한되어 있었다. 그러나 1980년대 이후로는 유전독성학적, 영양학적인 시험 방법을 사용하여 방사선 조사 식품의 섭취 시 인체에 미치는 영향을 *in vivo*로 살펴본 연구 결과가 보고되었다. 1987년 중국 의학잡지에 보고된 연구에 의하면 18세에서 23세에 이르는 건강한 젊은이들에게 방사선이 조사된 35종류의 식품을 3개월 간 섭취시켰을 때, 이들에게서 염색체 이상(chromosomal abnormality)을 발견할 수 없었으며 이로써 방사선 조사식품의 안전성을 제시하였다²⁵⁾. 이에 비해 최근 국내에서 Jang 등⁸⁾은 방사선 조사된 사료를 섭취한 mouse의 혈청 과산화지질이 증가하였으며 DNA 손상정도도 증가하였다고 보고하였다. 영양학적인 측면에서 살펴볼 때, 고선량의 방사선을 처리할 경우 방사선의 처리 선량, 온도, 산소의 유무에 따라 영양소의 파괴 정도가 다르긴 하나, 이 정도의 영양소 파괴는 다른 식품 저장과 가공방법을 통해서도 일어나므로, 크게 문제삼을 정도가 아니라는 주장이 있는 반면²⁶⁾, 식품 내 비타민들은 방사선 조사에 대해 매우 민감하게 반응하므로 그 손실이 커진다는 보고도 있으므로²⁷⁾ 앞으로 방사선 조사식품의 생체 안전성에 관한 연구가 식품별로, 선량에 따라 다양하게 이루어져야 할 것이다.

본 실험에서 comet assay를 이용해 DNA 손상정도를 관찰해 본 결과, 쇠고기, 돼지고기, 닭고기 시료의 경우, 방사선 조사이후 DNA 손상정도가 유의적으로 증가되어 방사선 조사여부를 image analyzer 뿐 아니라 현미경상 육안으로도 확인할 수 있었고 선량의 증가에 따라 DNA 손상 정도가 대부분 비례적으로 증가함을 관찰할 수 있었다. 뿐만 아니라 육류, 가금류를 일정 선량으로 방사선 조사 한 후 6개월 냉동 보관할 경우에도 comet assay에 의해 저장 시료의 방사선 조사 여부를 검지 할 수 있었다. 또한, DNA 손상을 측정하기 위한 comet assay 분석지표 중 방사선 조사에 의한 DNA 손상을 측정하기 위해서는 TM 보다는 TL이 더 민감함을 알 수 있었다. 따라서 수입 육류에 대해 살충, 저장기간연장의 목적으로 방사선이 조사되었을 경우 뿐 아니라,

방사선이 조사된 후 상당기간 저장되었을 경우에도 쇠고기, 돼지고기 및 닭고기 각 시료마다 comet assay를 위한 조건을 설정한 후 조건에 따라 comet assay 분석법에 따른 실험을 한다면 대부분의 수입 육류에서의 방사선 조사 유무를 확인할 수 있을 것으로 생각된다.

IV. 요약 및 결론

육류의 방사선 조사 여부 확인과 저장에 따른 변화를 측정하기 위해 쇠고기, 돼지고기, 닭고기를 시료로 하여 감마선 조사로 유도된 DNA 손상을 comet assay로 확인하였다. 쇠고기, 돼지고기, 닭고기를 구입하여 1.0, 3.0, 5.0 kGy의 선량으로 조사하고 비 조사 시료와 조사 시료간의 DNA 손상 정도를 tail length와 tail moment로 측정하였다. 육질의 DNA를 형광 염색하여 이미지 분석기를 이용하여 comet 양상을 관찰한 결과, 모든 시료에서 비 조사 시료보다 조사 시료의 tail length 값이 더 높았으며 조사 선량이 증가할수록 tail length가 유의적으로 증가하였다. DNA 손상 정도를 tail moment로 나타낸 결과도 이와 비슷하였으나 전체적으로 tail length에 비해 그 민감도가 낮았다. 방사선을 조사한 육류를 6개월 동안 냉동 저장한 후에도 저장 전과 마찬가지로 모든 육류와 가금류 시료에서 비 조사 시료보다 조사 시료의 tail length값이 더 높았으며, 조사 선량이 증가할수록 tail length가 증가하는 것으로 나타나, 저장 후에도 comet assay를 이용하여 육류와 가금류 시료의 방사선 조사여부를 검지 할 수 있었다. 본 연구결과 comet assay는 방사선 조사 직후의 육류와 일정기간 저장한 육류의 방사선 조사 여부 판별에 유용하게 사용될 수 있음을 알 수 있었으며, DNA 손상을 측정하기 위한 comet assay 분석지표 중 방사선 조사에 의한 DNA 손상을 측정하기 위해서는 tail moment 보다 tail length가 더 민감함을 알 수 있었다.

감사의 글

본 연구는 2000년 과학기술부 원자력연구개발사

업 중장기 연구과제의 위탁과제로 수행된 것으로 연구비 지원에 감사드립니다.

■ 참고문헌

- 1) Yang JS. Detection of irradiated foods. *Food Sciences and Industry*. 30: 121-130, 1997.
- 2) Farkas J. Irradiation as a method for decontaminating food. *Int. J. Food Microbiol.* 44: 189-204, 1998.
- 3) WHO. Wholesomeness of Irradiated Food. Report of a Joint FAO/IAEA/WHO Expert Committee. Technical Report Series. 651. Geneva, Switzerland, 1981.
- 4) Loaharanu P. Food irradiation: current status and future prospects. In *New Methods of Food Preservation*. Gould, G.W. (ed.). Blackie Academic & Professional. Glasgow. pp 90-111, 1995.
- 5) Park JY, Oh KN, Kim KE, Yang JS. Detection of irradiated beef and pork by DNA comet assay. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 29: 1025-1029, 2000.
- 6) Nam HS, Kim KE, Yang JS, Ly SY. Food majoring college students' knowledge and acceptance of irradiated food. *Korean J. Dietary Culture*. 15: 269-277, 2000.
- 7) Lee CH. Acceptance and trading on irradiated foods. Korea university Press, 1998.
- 8) Jang HH, Kang MH, Yang JS, Ly SY. Plasma, tissue thiobarbituric acid reactive substance and lymphocyte oxidative DNA damage in mouse fed gamma irradiated diet. *Korean J Nutr.* 36: 255-261, 2003.
- 9) Tappel AL. Lipid peroxidation damage to cell to cell components. *Fed Proc.* 32:1870-1874, 1972.
- 10) Thayer DW, Christopher JP, Campbell LA. Toxicology studies of irradiation -sterilized chicken. *J. Food Prot* 50: 278-284, 1987.
- 11) Hwang KT, Park JY, Kim CK. Application of hydrocarbons as markers for detecting post-irradiation of imported meats and fish. *J Korean Soc Food Sci. Nutr.* 26: 1109-1151, 1997.
- 12) Lee EY, Jung JY, Jo DJ, Kwon JH. Detection characteristics of TL, ESR and DNA comet for irradiated peanuts by origins. *J Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 30: 1076-1081, 2001.
- 13) Cerda H. Detection of irradiated fresh chicken, pork and fish using the DNA comet assay *Lebensm.-Wiss. u.-Technol.* 31: 89-92, 1998.
- 14) Fairbairn DW, Olive PL, O'Neill KL. The comet assay: a comprehensive review. *Mutat. Res.* 339: 37-59, 1995.
- 15) Cerda H, Delincee H, Haine H, Rupp H. The DNA "Comet assay" as a rapid screening technique to control irradiated food. *Mutat. Res.* 375: 167-181, 1997.
- 16) Delincee H. DNA 'Comet assay' for rapid detection of irradiated food. *Acta. Aliment.* 25: 319-321, 1996.
- 17) Koppen G, Cerda H. Identification of low-dose irradiated seeds using the neutral comet assay. *Lebensm.-Wiss. u.-Technol.* 30: 452-457, 1997.
- 18) Cerda H. Detection of irradiated frozen food with the DNA comet assay: Interlaboratory test. *J. Sci. Food. Agric.* 76: 435-442, 1998.
- 19) Kim CK, Yang JS, Lee HJ. Detection of irradiated grains using the DNA 'Comet assay'. *Korean J. Food Sci. Technol.* 31: 906-911, 1999.
- 20) Oh KN, Park JY, Kim KE, Yang JS. Detection of irradiated fruits using the DNA comet assay. *Korean J. Food Sci. Technol.* 32: 531-537, 2000.
- 21) Oh KN, Kim KE, Yang JS. Detection of irradiated beans using the DNA comet assay. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 29: 843-848, 2000.
- 22) Kim SM, Park EJ, Yang JS, Kang MH. Changes of DNA fragmentation by irradiation doses and storage in gamma-irradiated fruits. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 31:594-598, 2002.
- 23) Jeong SK, Park JH, Ji ST, Park KU, Kim HH, Hyun CK, Shin HK. Discrimination of irradiated beef using comet assay. *Korean J. Food Sci. Technol.* 32: 747-754, 2000.
- 24) Maerker G. Safety and Wholesomeness of Irradiation Foods. *International Symposium on Safety and Commercialization of Irradiated foods.* pp23-29, 1994.
- 25) Safety evaluation of 35 kinds of irradiated human

- foods. Shanghai Institute of Radiation Medicine, School of Public Health, Shanghai Medical University. *Chin Med J.* 100: 715-718, 1987.
- 26) Basson R. Recent advances in radiation chemistry of vitamins. In: Elias P, Cohen A, eds. Recent advances in Food irradiation. Amsterdam, The Netherlands: Elsevier Press, 1983.
- 27) Diel JF. Food irradiation: Is it an alternative to chemical preservatives? *Food Addit. and Contam.* 9:409-416, 1992.