

방사선 조사된 고불포화지방산 식이를 섭취한 Mouse의 산화적 스트레스*

서대영¹⁾ · 박선영¹⁾ · 강명희²⁾ · 서광선³⁾ · 이선영^{1)§}

충남대학교 생활과학대학 식품영양학과,¹⁾ 한남대학교 식품영양학과,²⁾ 충남대학교 의과대학 병리학교실³⁾

Oxidative Stress of Mouse Fed Irradiated Diet Containing High Unsaturated Fatty Acid*

Seo, Dae Young¹⁾ · Park, Sun Young¹⁾ · Kang, Myoung Hee²⁾ · Suh, Kwang Sun³⁾ · Ly, Sun Yung^{1)§}

Department of Food and Nutrition,¹⁾ Chungnam National University, Daejeon 305-764, Korea

Department of Food and Nutrition,²⁾ Hannam University, Daejeon 306-791, Korea

Department of Pathology,³⁾ Chungnam National University School of Medicine, Daejeon 301-721, Korea

ABSTRACT

In this study, we investigated the in vivo effect by intake of the irradiated foods such as mackerel and sesame seed which are high in unsaturated fatty acid through TBARS (thiobarbituric acid reactive substance) and the tissue pathological and genotoxicological test. Thirty two ICR mice are divided into four groups, one non-irradiated (control) group and three irradiated (5, 10, 20 kGy, respectively) groups. Sesame seed and pulverized mackerel in modified AIN93M diet were mixed together then divided into four identical parts. Three parts of them were irradiated by doses of 5, 10, and 20 kGy. These experimental diet were fed to each group for 4, 8 and 16 weeks. The results of the study were as follows: No significant differences in weight gain were found in each group. Peroxide value of the irradiated diet was higher than that of the non-irradiated one and also increased according to the storage period. TBA values in plasma, liver, kidney and Peyer's patch were not significantly different among 4 groups. DNA% in tail, tail length (TL) and tail moment (TM) values of the blood lymphocyte in 4, 8 and 16 week groups and the liver in 16 week group were much measured over the control. DNA% in tail of kidney of 8 week group was significantly larger than the control and TL and TM of 8 week and TM of 16 week groups showed a tendency of higher values. By Peyer's patch, DNA% in tail of 8 week group, DNA% in tail and TM of 16 week groups increased significantly over the control. Ultrastructural examination shows myeline figures and swollen mitochondria in parietal cells and intestinal epithelial cells of 8 and 16 weeks groups. After this study, we need further investigations on the safety of highly consumed foods which contain high contents of unsaturated fatty acid, largely imported and which are possible to be irradiated. (*Korean J Nutrition* 39(7) : 599~609, 2006)

KEY WORDS : irradiation food, alkaline comet assay, TBA, myeline figure.

서 론

방사선 조사를 식품에 적용함으로써 얻어지는 다양한 유익과 이에 대한 국가적 또는 국제적 장려에 힘입어 식품의 방사선 조사는 증가 추세에 있다.¹⁻³⁾ 식품의 감마선 조사에

대해서는 목적별로 발아억제 식품에서부터 육가공 제품의 살균, 위생화에 이르기까지 다양한 농수산물에 대한 산업화 기반연구가 수행되었으며 최근에는 방사선 조사를 이용한 ready-to-eat 식품의 위생화, 발효식품의 저장 및 저염화, 특수식품의 제조, 기능성 소재의 개발, 화학독성물질의 저감화 분야의 연구가 광범위하게 진행되고 있다.⁴⁾ 식품의 방사선 조사는 국제기구 (FAO, IAEA, WHO 등)와 Codex 식품규격위원회에서 많은 연구 결과를 토대로 검증하여 안전한 조사 범위를 정하고 있다. 그러나 방사선 조사 처리는 장기간 열악한 환경에서의 유통 과정 중 화학 방부제나 농약을 사용하지 않고서도 식품의 보존성을 우수하게 유지시킨다는 점과 상당량의 조사선량까지도 방사선 조사 여부의 육

접수일 : 2006년 9월 7일

채택일 : 2006년 10월 13일

^{*}This work was supported by the Korea Research Foundation Grant funded by the Korean Government (MOEHRD) (R04-2003-000-10042-0).

[§]To whom correspondence should be addressed.

E-mail : sunly@cnu.ac.kr

안이나 관능 평가적 판별이 어렵다는 점 때문에 이를 악용할 우려가 크다.⁵⁾ 특히 근래와 같이 농수축산물의 국제적 교류가 많아지고 있는 시점에서 식품 수출국에서 방사선 조사 처리 여부를 밝히지 않는 한 모든 수입식품의 방사선 조사 처리 규제는 사실상 불가능하다. 따라서 식품의 위생화 측면에서 방사선 조사 기술은 발전되어야 하나 방사선 조사로 인하여 변질되거나 파괴되기 쉬운 영양소를 다량 함유하고 있는 식품의 조사 후 영양학적 안전성에 대한 검토가 지속적으로 필요하다. 최근 들어서 기존 식품방사선 조사의 기준보다 10배 이상 높여 조사선량 허용기준을 상향 조정하려는 움직임이 있음을 볼 때 영양학적, 유전독성학적 검토는 먼저 이루어져야 할 것이다.

방사선 조사 식품의 영양학적 검토에서 국외에서는 1970년대 이후로 주로 고선량 조사식품에 대한 연구들이 수행되어져 왔고 대상 식품 역시 서양에서 주로 소비되는 식품들이 주류를 이루었다. 이러한 연구결과 중 방사선 조사식품이 생체에 미치는 영향으로는 단순한 체중 감소⁶⁾나 효소 활성의 변화⁷⁾ 등 가벼운 것에서부터 과다출혈로 인한 사망⁸⁾에 이르기까지 매우 다양하게 나타나고 있다. 반면 유전독성학적 연구는 in vitro 환경에서 주로 이루어져 왔으며 in vivo 연구 결과로는 설탕 용액을 방사선 조사한 후 사람에게 투여하였을 때 임파구 염색체 파손을 유발하였다는 보고⁹⁻¹¹⁾가 있었으나, 영양화학적 손상이 많은 단일 식품의 방사선 조사에 대한 in vivo 연구 결과에 대한 보고는 많지 않다.

방사선 처리된 식품은 방사선 에너지를 흡수하여 free radical을 생성하게 되고, 이는 식품의 불포화지방산과 반응하여 자동산화과정에 의하여 지질과산화물을 일으키므로 관능적인 품질을 저하시키고 식품의 항산화영양소 함량에도 영향을 주게 된다.¹²⁾ Free radical의 생성원으로는 mitochondria, micosome, peroxisome 등의 세포과립과 cytosol 및 대식구 등이 있으며 이들 장소에서 free radical은 정상적으로 생성되거나 항생제, 항암제, 독성화합물, 기타 전이금속 등의 작용으로 다양한 기전을 통해 생성된다고 알려져 있다. 이러한 free radical에 의해 일어나는 생체 반응으로는 생체막 지질의 과산화에 의한 microsome, mitochondria 등의 손상, 효소 단백질 중 아미노산 잔기의 산화를 통한 비가역적 불활성화, 핵염기의 변형 및 산화적 분해 절단을 통한 손상, macrophage의 방어과정에서 생겨나는 주위조직의 손상, 그리고 DNA손상에 의한 세포의 암화 (carcinogenesis) 등이 있다.¹²⁾ 지금까지 생체 조직의 병리적 측면에 대한 결과들이 많지 않았으므로 free radical이 다량으로 발생하는 방사선 조사 식품이 생체에 심각한 영향을 미치지 않는 것으로 보고되어 있으나 이는 산화적 스트레스로 인한 세포 및 조직

손상의 초기 단계를 감지할 수 있는 biomarker가 없었기 때문으로 볼 수 있다. 특히 Adamiker가 방사선조사 사료는 부분적인 수용성 vitamin류의 파괴를 수반하며 지질의 변성을 일으키고, 방사선 조사에 의한 vitamin류의 파괴와 지질성상의 변화는 생체막의 lipid peroxide의 생성에 의한 세포과립을 초래하여 악성종양을 유발시킬 수도 있다고 보고한 바¹³⁾에 의하면 방사선 조사로 인하여 식품 내 항산화 영양소가 감소되어 올 수 있는 문제 역시 간과할 수 없다.

본 연구에서는 방사선 조사한 고불포화지방산 함유 사료에서 생성된 free radical과 이로 인해 유도될 수 있는 분해 산물이 생체에 유입되었을 때 소화기관과 각 장기에 미칠 수 있는 산화적 스트레스에 대해 알아보고자 TBARS, 조직병리 및 DNA fragmentation 검사를 통하여 이들의 상관성 평가하고 보다 정확한 안전성 평가 방법에 대한 검토와 동시에 comet assay의 적용 범위를 조직까지 확대하여 그 유용성을 검토하고자 하였다. 또한 방사선 조사 식품의 섭취 기간에 따라 생체에 미치는 유해성이 가중되는지도 검토하고자 하였다.

연구 방법

1. 실험 재료

1) 실험동물

체중이 27~29 g인 6주령 ICR mouse 32마리를 대한실험동물센터로부터 구입하여 $23 \pm 2^\circ\text{C}$, 습도 $50 \pm 5\%$ 를 유지한 사육실에서 1주간 분말사료에 적응시켰다. 네 군의 평균 체중이 비슷하게 임의로 8마리씩 나누어 폴리카보네이트 케이지에 넣고 물과 사료는 자유 급식하였다. 방사선 조사 사료 섭취 기간을 4주, 8주, 16주로 하여 3회의 실험을 진행하였다.

2) 실험식이

AIN93M diet를 기본으로 한 실험식이의 배합비는 Table 1

Table 1. Composition of the experimental diet¹⁾ (% of diet)

Ingredient	%
Cornstarch	47.94
Casein	6.13
Sucrose	10.00
Sesame seed powder	6.00
Mackerel powder	20.00
Fiber (α -cellulose)	5.00
Mineral MIX (AIN-93M-MX)	3.50
Vitamin MIX (AIN-93M-VX)	1.00
L-cystine	0.18
Choline-bitartrate	0.25
TBHQ ³⁾ (antioxidant)	0.00

¹⁾ C : F : P ratio = 58.03 : 21.92 : 20.05

과 같다. 실험식이의 방사선 조사는 완성된 사료에 대하여 실시하는 것이 옳으나 조사시설의 1회 조사량에 제한이 있어 완성된 사료를 조사하지 못하고 식이 성분 중 탄수화물과 fiber, casein을 제외한 참깨분, 고등어분, 비타민 및 미네랄과 기타 미량 성분을 정량대로 먼저 혼합하여 조사하였다. 혼합물의 1/4은 대조군 식이재료로 쓰기 위하여 방사선 조사하지 않았으며 나머지를 동량으로 3등분하여, 각각을 합기 포장하여 한국원자력연구소의 Co-60 감마선 조사시설 (AECL IR-79, Canada)에서 각각 5, 10, 20 kGy의 총 흡수선량이 되도록 조사하였다. 조사한 사료 성분에 나머지 성분을 혼합하여 분말 사료를 완성하였다. 고등어분은 제주도에서 수확된 생물을 내장과 뼈를 제거한 후 껍질을 벗기고 토막을 내어 5일간 동결건조하고 이를 분말화하여 사용하였으며, 참깨는 경상북도 영주의 농가에서 생산된 것을 구입하여 동결건조한 후 블렌더를 이용하여 가볍게 갈아 분말화하여 사용하였다. 탄수화물 급원으로는 (주)덕산화학의 sucrose와 (주)삼양제넥스의 starch를 사용하였고 단백질 급원으로는 (주)덕산화학의 casein을 사용하였다. 식이내 열량영양소의 비율, 즉, 탄수화물 : 단백질 : 지방의 열량비는 58 : 20 : 22이었으며 어분과 참깨분을 함유한 사료는 어분과 참깨 내 단백질 및 지방량을 고려하여 AIN93M diet의 단백질과 지방함량비와 유사하도록 조정하여 첨가하였다. 완성한 실험 식이는 급여시까지 진공밀봉 포장하여 냉동실에 보관하였다.

2. 실험 방법

1) 사육 조건

Mouse에 각각 5, 10, 20 kGy로 방사선 조사한 사료와 물은 자유 급식하였다. 12시간 명암주기를 유지하였으며 4주, 8주, 16주 동안 실험기간을 구분하여 사육하였다.

2) 희생, 시료 채취 및 전처리

16시간 공복상태를 유지시킨 mouse를 에틸에테르로 가볍게 마취한 후 헤파린 처리한 주사기를 이용하여 심장에서 전혈을 취하여 일부는 comet assay에 이용하고 나머지 혈액은 4℃에서 30분방치 후 2500 rpm에서 10분간 원심 분리하여 혈장을 취하였다. 혈장은 분석 전까지 -70℃에 보관하였다. 심장 채혈 후 바로 회복하여 간을 취해 0℃ 생리 식염수에 담가 표면의 혈액을 제거하고 흡습지로 수분을 흡수시킨 후 전체 무게를 측정하였다. 우엽 최외단에서 100 mg을 취하여 식염수로 세척하고 잘게 잘라 homogenize buffer (0.075 M NaCl, 0.024 M Na₂EDTA, 10% DMSO; pH 7.5)에 넣어 균질화하여 comet assay에 사용하였다. 별도로 우엽 일부 300 mg을 취하여 식염수로 혈액을 제거한 후

질소 가스를 충전하여 분석시까지 -70℃에 보관하였다. 양쪽 신장을 적출하여 4℃ 식염수에서 표면의 혈액을 제거하고 perirenal fat과 fibrous capsule을 제거한 후 각각의 무게를 측정하였다. 신장 세포내 DNA fragmentation을 보기 위하여 (comet assay) 좌측 신장 중 100 mg을 취하여 간에서와 동일한 방법으로 처리하였다. 좌측 신장의 나머지는 TBA가 측정을 위하여 질소 가스를 -70℃에 보관하였다. 소장은 장막 외부의 지방을 제거하고 4℃ 생리 식염수로 세척한 후 회장 말단으로부터 Peyer's patch 3개를 취하여 comet assay에 사용하였고, 위체부와 회장의 말단을 취하여 Electron Microscope (EM) solution에 넣어 냉장 보관하였다. 나머지 소장은 모두 취하여 점막을 긁어 TBA가 측정을 위해 질소 가스를 충전하여 분석 전까지 -70℃에 보관하였다.

3) 사료의 과산화물가 (Peroxide value, POV) 측정

비조사 사료와 방사선 조사한 사료의 저장기간별 과산화 정도는 Lea의 방법¹⁴⁾을 이용하여 POV를 측정하였다. 전술한 바와 같이 사료성분의 일부를 혼합하여 방사선 조사한 후 AIN93M 식이 조성을 토대로 사료를 제조하여 조사 직후 사료와 비조사 사료의 POV값을 측정하였고, 저장기간별 사료의 POV값은 실험사료를 합기포장하여 냉장보관하면서 조사 4주, 12주, 20주 후에 각각 측정하였다. POV측정은 실제 동물들이 사료를 섭취하는 조건과 동일하게 하기 위해 사육실 조건에서 24시간동안 방치한 후 측정하였다.

4) TBA법에 의한 혈청과 조직에서의 과산화지질 측정

혈청 TBA가는 Yagi¹⁵⁾의 방법을 수정 보완한 Lee의 방법¹⁶⁾을 참고하여 측정하였다. 이 방법은 혐기적인 조건하에서 FeCl₂를 촉매제로 사용하여 TBA반응을 일으키는 원리를 이용하며 이 경우 일반 TBA법보다 감도가 40여배 증대되어 저 농도의 미량시료 (10~20 μl)로도 TBA 반응 생성물의 비색측정이 가능하다.

기타 조직에서의 TBA가는 Ohkawa¹⁷⁾와 Lee¹⁸⁾의 방법을 참고하여 측정하였으며 자세한 방법은 전보¹⁸⁾에 기술하였다. 간과 신장은 조직 무게의 10배 양이 되도록 10 mM sodium phosphate buffer를 넣고 얼음위에서 homogenizer (600 rpm)로 분쇄한 후 4000 rpm에서 10분간 원심 분리하여 상층액을 취해 조직액으로 사용하였다. 간과 신장 조직의 TBA가는 조직 단백질 단위중량에 대한 비율로 산출하였다. 장 점막세포는 본연의 지질과산화가 잘 일어나지 않아 TBA가가 매우 낮으므로 2 ml 10 mM sodium phosphate buffer를 넣고 얼음위에서 homogenizer (600 rpm)로 분쇄한 후 미리 1시간 동안 37℃에서 배양하여 산화를 유도한 후에 4000 rpm에서 10분간 원심분리하여 상층액을 취해 조직액으로 사

용하였다. 배양이 끝난 소장점막 균질액 200 μ l를 사용하여 간과 신장조직에서와 같은 방법으로 TBA가를 측정하였다.

5) 위장 및 소장 점막의 광학 및 전자현미경 소견 조직검사

Mouse 희생 직후 절취한 위장 및 소장조직을 1 mm³ 크기로 세절한 후 2.5% glutaraldehyde (in 0.1 M phosphate buffer, pH 7.4) 용액과 1% osmic tetroxide (OsO₄) 용액에 각각 고정시킨 후 고정된 소장조직은 50~100% ethyl alcohol의 농도 순으로 탈수하고 propylene oxide로 치환한 뒤 propylene oxide와 epon혼합액에 침투시켰다. Epon 혼합액으로 포매 (embedding)한 후 35°C, 45°C, 60°C의 항온조에서 각각 24시간 방치하여 중합을 완료하였다. 포매된 소장조직은 초박절편기 (ultramicrotome, RMC-MT-XL)를 이용하여 1 μ m의 준초박절편 (semi-thin section)을 만들어 1% toluidine blue로 염색하여 광학현미경으로 검경 부위를 결정된 후 다시 50~60 nm 두께로 초박절편을 만들어 Uranyl acetate와 lead citrate로 이중 전자 염색한 후 전자현미경 (Hitachi H-600)으로 관찰하였다.

6) DNA 손상정도 측정

DNA 손상정도를 측정하기 위하여 Singh의 방법¹⁹⁾과 Sasaki,²⁰⁾ Tice²¹⁾을 기초로 하여 alkaline comet assay를 혈액 림프구와 간, 신장, Peyer's patch의 세포에서 실시하였다. 100 mg씩 취해진 간과 신장은 가위로 2~3번 세절하여 4 ml의 homogenize buffer (0.075 M NaCl, 0.024 M Na₂EDTA, 10% DMSO; pH 7.5)를 넣고 500~800 rpm의 homogenizer를 이용하여 균질화한 후 1680 rpm에서 10분간 원심분리하여 얻은 침전물에 3 ml의 homogenize buffer를 넣고 균질화한 조직액을 시료로 사용하였다. Heparin 처리한 전혈은 lysis과정을 통해 적혈구를 제거하고 림프구를

취하여 comet assay를 실시하였다. 회장 말단으로부터 3개의 Peyer's patch를 떼어 2 ml의 homogenize buffer 70 μ m nylon mesh를 통과시킨 cell suspension은 comet assay의 시료로 사용하였다. 시료를 취하는 전 과정은 효소 작용을 막기 위해 얼음위에서 실시하였다. Slide 제작은 전보¹⁸⁾에 기술한 방법에 따라 실시하였으며 제작된 slide를 공기 중에서 건조시킨 후 75 μ l의 ethidium bromide (20 μ g/ml)로 염색하였다. CCD camera (Nikon, Japan)를 통해 보내진 각각의 세포핵 image는 Komet 4.0 comet image analyzing system (Kinetic imaging, UK)이 설치된 컴퓨터상에서 분석하였다. DNA 손상정도는 절단된 DNA가닥이 이동하여 형성된 tail의 길이인 tail length (TL; μ m) 또는 tail내 DNA 파편 (fragment)의 양을 수치화시킨 tail moment (TM)로 나타내었으며, TL 및 TM 값이 증가할수록 DNA가 손상도가 높음을 의미한다. 각 시료마다 준비된 2개의 slide에서 각각 50개씩 100개의 세포를 무작위로 선택하여 측정하였다.

3. 통계처리

실험 자료는 SPSS/Windows 11.0을 이용하여 처리하였고 결과는 평균 \pm 표준편차로 나타내었다. 실험군 간의 평균치의 차이는 일원배치 분산분석 (one-way ANOVA)과 Duncan's multiple range test를 이용하여 유의수준 5%내에서 검증하였다.

결과 및 고찰

1. 체중 증가 및 장기 무게

실험 기간 동안 각 주령에 해당하는 대조군과 실험군간 체중 증가량과 희생 시 장기무게 (mg/g BW)는 Table 2와 같

Table 2. Body and organ weights of the mouse fed gamma irradiated diet at different doses

Age	Group (kGy ¹⁾)	Body weight (g)		Liver (mg/g BW)	Kidney (mg/g BW)	Spleen (mg/g BW)
		Initial	Final			
4 wks	0	33.80 \pm 2.5 ²⁾	39.60 \pm 2.4	39.53 \pm 3.05	13.36 \pm 1.35	2.54 \pm 0.58
	5	33.50 \pm 2.1	39.30 \pm 1.7	40.95 \pm 2.93	13.90 \pm 1.25	2.93 \pm 0.73
	10	32.80 \pm 2.6	38.70 \pm 2.9	39.42 \pm 5.17	13.14 \pm 1.91	2.55 \pm 0.47
	20	33.00 \pm 1.8	38.60 \pm 2.5	41.07 \pm 3.48	13.68 \pm 1.38	2.51 \pm 0.26
8 wks	0	30.80 \pm 2.5	41.30 \pm 3.0	35.60 \pm 2.74 ³⁾	11.62 \pm 0.84 ^{a)}	2.49 \pm 0.64
	5	30.90 \pm 2.5	41.20 \pm 1.8	38.52 \pm 2.72 ^{ab)}	12.72 \pm 1.39 ^{ab)}	2.57 \pm 0.44
	10	30.90 \pm 1.8	40.60 \pm 3.4	37.87 \pm 5.16 ^{ab)}	13.61 \pm 1.56 ^{b)}	2.55 \pm 0.53
	20	30.20 \pm 2.7	40.00 \pm 3.3	39.63 \pm 3.36 ^{b)}	13.63 \pm 1.65 ^{b)}	2.63 \pm 0.49
16 wks	0	31.80 \pm 1.2	45.65 \pm 6.6	36.48 \pm 6.84	12.56 \pm 1.65 ^{a)}	2.50 \pm 0.58 ^{ab)}
	5	32.30 \pm 2.1	48.33 \pm 3.6	37.07 \pm 5.10	12.25 \pm 1.28 ^{a)}	2.23 \pm 0.37 ^{a)}
	10	31.20 \pm 1.8	45.40 \pm 3.3	40.73 \pm 5.20	14.45 \pm 1.13 ^{b)}	2.87 \pm 0.59 ^{b)}
	20	32.30 \pm 1.3	47.77 \pm 3.6	39.58 \pm 3.15	13.00 \pm 1.02 ^{a)}	2.51 \pm 0.32 ^{ab)}

¹⁾ Irradiation dose

²⁾ Mean \pm S.D of eight mice

³⁾ Different superscripts indicate significant difference between groups by Duncan's multiple range test

다. 체중 증가량은 주령에 따라 증가하였으나 같은 실험에서 방사선 조사사료 섭취 여부에 따라서는 영향을 받지 않았다. 희생 시 장기무게는 4주 조사사료 섭취 군에서는 간, 신장, 비장 모두 유의적인 차이를 보이지 않았으나 8주 조사사료 섭취군의 간과 신장조직, 16주 조사사료 섭취군의 신장과 비장 무게는 비조사 사료군에 비해 5 kGy 조사시에는 낮아졌으나 10 kGy 조사시에는 높아졌고 20 kGy 조사시에는 낮아졌으나 비조사시보다는 높았고 그룹 간에 유의적인 차이가 나타났다. 그러나 장기 무게가 증가하는 정도는 조사선량에 따라 일관성 있게 나타나지는 않았다. 동물사료 연구에 의하면 방사선 조사처리된 처리 식품들에 있어서 탄수화물, 지방, 단백질 대사에너지에 큰 영향을 미치지 않는 것으로 나타났다.²²⁾ Underdal²³⁾의 쥐의 성장분석 실험에서 감마선 조사한 고등어의 영양학적 가치 평가 분석결과 45 kGy까지의 선량으로 조사 처리된 고등어의 단백질 (NPU: Net Protein Utilization)은 방사선 조사처리에 의해 큰 영향을 받지 않았으며 고등어 단백질의 아미노산 조성을 측정된 결과 역시 방사선 조사처리에 의한 효과는 발견하지 못하였다고 보고하였다. 또한 Eggum²⁴⁾은 다양한 동물 종들에게 방사선 조사 처리된 사료를 먹인 후, 성장률을 관찰하여 양호한 결과를 얻음으로써, 단백질의 소화율과 생물가가 70 kGy이상의 범위로 방사선 조사되어도 변함이 없다는 결론을 얻었다.

본 연구에서 간과 신장, 비장의 체중 대비 무게 비가 증가한 결과 역시 식품의 방사선 조사가 사료 단백질의 생물가에 부정적인 영향은 주지 않음을 시사한다.

2. 사료의 peroxide value (POV)

Fig. 1은 방사선 비조사 사료와 조사 사료의 조사 직후와 조사 후 저장기간에 따른 POV값을 나타낸 것이다.

실험사료의 POV값은 조사전 20.9 meq/kg diet에서 각

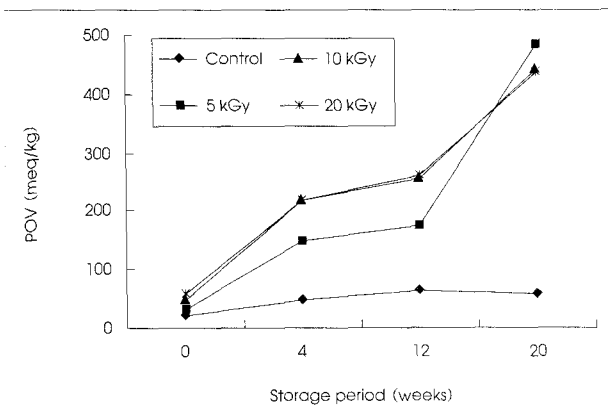


Fig. 1. Changes in peroxide values of the control and irradiated diets according to their storage period.¹⁾

¹⁾ Each value is the average of triplicate determinations.

선량에서의 조사 직후 34.5 meq/kg diet, 45.5 meq/kg diet, 56.2 meq/kg diet로 165.1%, 217.7%, 268.9%로 선량 의존적으로 증가하였다. 대조군 사료의 POV값은 저장 4주 후 49.2 meq/kg diet로 조사전보다 235.4% 증가하여 Jang의 연구¹⁸⁾에서 보인 대조군 사료 POV값의 증가 (172.8%)보다 약간 높았지만 유사한 경향을 보였다. 12주 후 66.4 meq/kg diet로 꾸준한 증가를 보이다가 저장 20주 후 58.9 meq/kg diet로 소폭 감소하였다. 그러나 각각 5, 10, 20 kGy로 방사선 조사하여 제조된 실험사료의 POV값은 대조군 사료의 POV값보다 큰 폭으로 증가하여 12주까지 선량 의존적으로 증가하였고 저장 20주째에는 모든 사료의 POV값이 급격히 증가하여 유사한 수치를 보이고 있었다. 위와 같은 결과로 볼 때 방사선 비조사 사료의 과산화물가에 비해 방사선 조사 사료의 과산화물가가 선량 의존적으로 높아졌고 저장기간에 따라 꾸준히 증가하는 것으로 나타나 방사선 조사가 사료의 지질과산화물 형성을 크게 증가시킨다는 것을 확인할 수 있었다.

이러한 결과는 Yook 등²⁵⁾의 한우육의 감마선 조사와 포장 방법 및 저장온도와 기간에 따른 과산화물가의 변화에서 비조사군에 비해 감마선 조사군이 조사선량의 증가와 더불어 선량 의존적으로 과산화물가의 증가를 나타내었다는 보고와 Lee 등²⁶⁾의 보고와 같이 감마선 조사에 의한 우지의 초기산화에서 조사선량에 의존적으로 과산화물가의 증가했다는 결과와 일치한다. 식품내 지질과산화물의 형성은 방사선 조사 후 빠르게 증가하며 이러한 결과는 조사선량 및 조사 후 저장조건과 기간에 따라 다르게 나타날 수 있다.

3. 혈장과 조직에서의 과산화지질 측정

방사선 조사된 사료가 쥐의 체내에서 지질과산화를 일으키는 정도를 섭취기간에 따라 비교하기 위해 4주, 8주, 16주 사육 후 혈장, 간, 신장 및 소장점막에서 각각 TBA값을 측정하였다. 4주 조사사료 섭취군의 혈장에서 대조군의 TBA가보다 조사군 중 5 kGy에서의 TBA가 높아지는 경향을 보였지만 조사선량에 따른 유의적인 변화는 볼 수 없었다. 간, 신장 및 소장점막에서의 TBA는 군 간의 차이가 없었다 (Table 3). 10 kGy로 방사선 조사된 사료를 2주와 4주간 섭취시킨 흰쥐의 혈청 및 간과 소장점막에서 TBA가를 살펴 본 Jang의 연구¹⁸⁾에서도 혈장에서는 조사군이 대조군에 비해 증가하는 경향을 보였지만 간이나 소장점막에서는 유의적인 차이를 보이지 않았다. 8주 조사사료 섭취군 중 5 kGy 군의 혈장에서의 TBA기는 증가하는 경향을 보여주었으나 그 이상의 선량으로 조사된 식이를 섭취한 실험군은 대조군과 차이를 나타내지 않았다. 4주 조사사료 섭취군에서도

Table 3. Mean TBA values in plasma, liver, kidney and intestinal mucosa of mouse fed differently irradiated diets for 4 weeks

Tissue	TBA values (nmole/mg protein)				p-value
	Control (n = 8)	Irradiation (kGy ¹⁾)			
		5 (n = 8)	10 (n = 8)	20 (n = 8)	
Plasma (nmole/ml)	85.58 ± 39.06 ²⁾	100.15 ± 22.32	66.85 ± 26.11	81.09 ± 26.02	0.174
Liver	10.92 ± 1.44	10.65 ± 0.69	10.38 ± 1.10	10.11 ± 2.73	0.792
Kidney	6.29 ± 1.24	6.69 ± 1.71	6.78 ± 2.76	6.22 ± 2.01	0.925
Intestinal mucosa	1.28 ± 0.57	1.84 ± 1.79	1.52 ± 0.99	1.76 ± 1.98	0.864

¹⁾ Irradiation dose²⁾ Mean ± S.D of eight mice**Table 4.** Mean TBA values in plasma, liver, kidney and intestinal mucosa of mouse fed differently irradiated diets for 8 weeks

Tissue	TBA values (nmole/mg protein)				p-value
	Control (n = 8)	Irradiation (kGy ¹⁾)			
		5 (n = 8)	10 (n = 8)	20 (n = 8)	
Plasma (nmole/ml)	79.55 ± 17.02 ²⁾	91.08 ± 35.02	71.47 ± 29.45	61.48 ± 13.53	0.142
Liver	8.88 ± 1.17	9.13 ± 1.86	8.72 ± 1.38	8.65 ± 0.90	0.900
Kidney	5.91 ± 1.28 ^{a3)}	5.29 ± 0.95 ^{ab}	4.75 ± 0.56 ^b	4.67 ± 0.50 ^b	0.032
Intestinal mucosa	1.28 ± 0.47	1.20 ± 0.75	0.72 ± 0.41	1.38 ± 1.18	0.335

¹⁾ Irradiation dose²⁾ Mean ± S.D of eight mice³⁾ Different letters indicate significant difference between groups by Duncan's multiple range test**Table 5.** Mean TBA values in plasma, liver, kidney and intestinal mucosa of mouse fed differently irradiated diets for 16 weeks

Tissue	TBA values (nmole/mg protein)				p-value
	Control (n = 8)	Irradiation (kGy ¹⁾)			
		5 (n = 8)	10 (n = 8)	20 (n = 8)	
Plasma (nmole/ml)	99.28 ± 44.05 ²⁾	87.07 ± 52.69	93.26 ± 35.57	90.80 ± 47.54	0.958
Liver	6.63 ± 0.85	7.02 ± 0.81	6.38 ± 1.30	7.27 ± 0.82	0.279
Kidney	4.13 ± 0.75	3.88 ± 0.81	3.77 ± 0.69	3.81 ± 0.73	0.774
Intestinal mucosa	0.94 ± 0.49	0.72 ± 0.33	0.81 ± 0.31	0.71 ± 0.25	0.548

¹⁾ Irradiation dose²⁾ Mean ± S.D of eight mice

마찬가지로 간과 소장점막에서의 TBA는 군 간의 유의적 차이가 없었다. 또한 10 kGy와 20 kGy 군의 신장조직의 TBA가 오히려 유의적으로 감소되었다 (Table 4). 16주간 조사 사료를 섭취하게 한 실험에서 혈장과 간, 신장, 소장점막에서의 TBA는 군 간의 유의적인 차이가 없었다 (Table 5). 즉, 방사선 조사 식품의 섭취로 인한 TBA의 변화는 유의적인 결과를 나타내지 못하였으며 이로서 TBA는 본 연구의 실험 조건과 같은 미세한 변화에서 비롯되는 생체에 대한 영향을 감지하기에는 부적합한 biomarker로 사료된다. 특히 혈장에서의 TBA 농도는 미약하여 측정 시 FeCl₃를 촉매제로 사용하여 TBA 반응을 일으켜 감도를 증가시키는 방법을 사용하여야 하는데 이러한 과정에서 실험 오차의 발생 가능성이 크다. Marcuse과 Johansson²⁷⁾에 의하면 포화 알데하이드류 (alakanals), 불포화 알데하이드류 (alkenals)는 모두 TBA와 정색반응을 일으키나 이들 반응

생성물들은 450 nm에서 최고 흡광대 (maximum absorption band)를 갖는다고 한다. 그러나 2,4-알카다이에날류 (2,4-alkadienals)와 같은 공액 불포화알데하이드류 (conjugated alkadienals)의 경우에는 말론알데하이드의 경우와 동일한 530 nm에서 최대 흡광도를 갖는다고 보고하고 있다. 따라서 말론알데하이드, 2,4-알카다이에날류와 함께 포화 및 불포화알데하이드류가 공존하여 TBA 반응을 일으킬 때 530 nm의 단일 파장에서 흡광도를 측정한다면 결과에 오차를 줄 수 있을 것으로 사료된다. 실제 TBA 측정법에서는 어떤 방법이든 간에 유지시료의 증탕 과정에서 산화나 산패가 계속 진행되어 오차의 주요원인의 하나가 되는 사실이 지적되어 왔다.²⁸⁾

4. 위장 및 소장 조직검사

방사선 조사 사료를 4주 동안 먹인 후 투과전자 현미경을 이용하여 위장 및 소장 점막을 관찰했을 때 대조군과 조사군

간에 별다른 병리적 차이를 볼 수 없었다. 8주와 16주 동안 사료를 섭취한 군에서는 투과전자 현미경을 이용하여 위의 parietal cell과 소장의 epithelial cell의 cytoplasm을 관찰

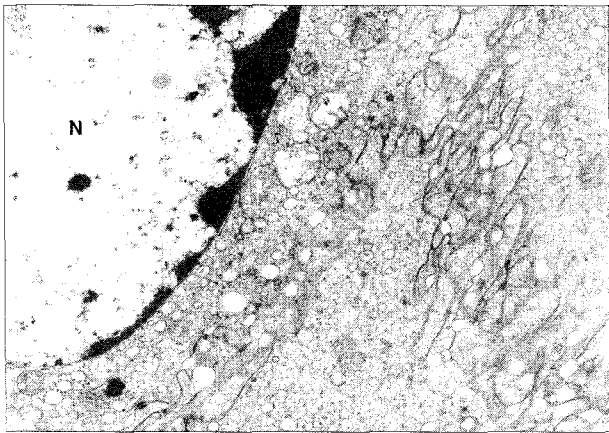


Fig. 2. Transmission electron microscopic image of intestinal mucosa in control group (8 weeks, × 8000).

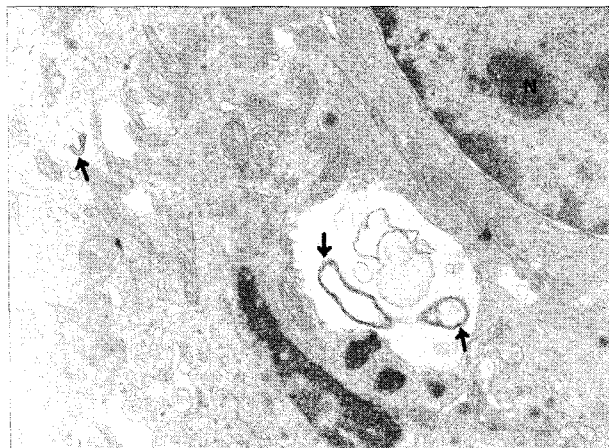


Fig. 3. Ultrastructural examination shows myelin figures in the cytoplasm of enterocytes of the small intestine in 20 kGy (8 weeks, × 8000).

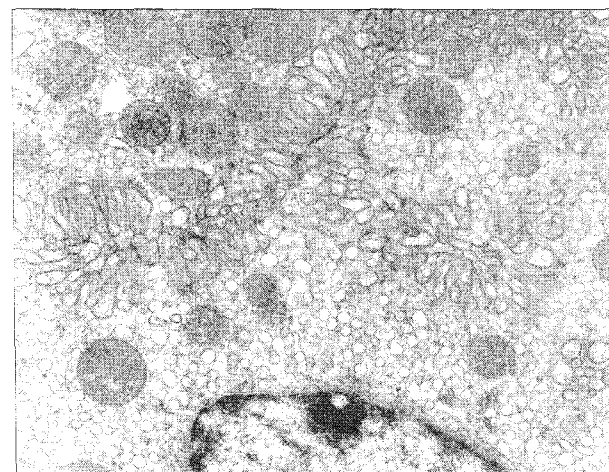


Fig. 4. Transmission electron microscopic image of parietal cells of the stomach in control group (8 weeks, × 8000).

한 결과 모두에서 세포 손상 초기 단계에서 가역적인 변화로 볼 수 있는 myelin figure가 관찰되었다. 8주 동안 조사된 사료를 섭취한 실험군에서는 위장과 소장 모두 대조군에 비해 5 kGy 군에서는 큰 차이를 볼 수 없었으나, 20 kGy 군에서는 myelin figure가 선명하게 관찰되었다 (Fig. 3, 5). 사료의 섭취기간이 길어진 16주 실험군에서의 소장점막은 8주에서와 비슷한 경향을 보였다 (Fig. 6). 특히 위장조직 전자현미경 관찰 (Fig. 5, 6)에서는 8주 동안 섭취시켰을 때의 손상보다 더 두드러지게 myelin figure의 수가 증가된 것을 볼 수 있었다. Myelin figure는 세포막이나 세포내 소기관의 막으로부터 유래된 지질층 사이에 불충을 함유하는 박막층으로서 두께는 거의 6 nm 정도이고 모양이 신경 myelin sheath와 비슷하여 myelin figure라 불린다. 세포질에 myelin figure가 보이는 시기에는 swollen mitochondria가 관찰되며 이는 세포막의 수분과 이온 투과성이 증가함으로서 오게 되는 현상으로 역시 세포와 endoplasmic reticulum의

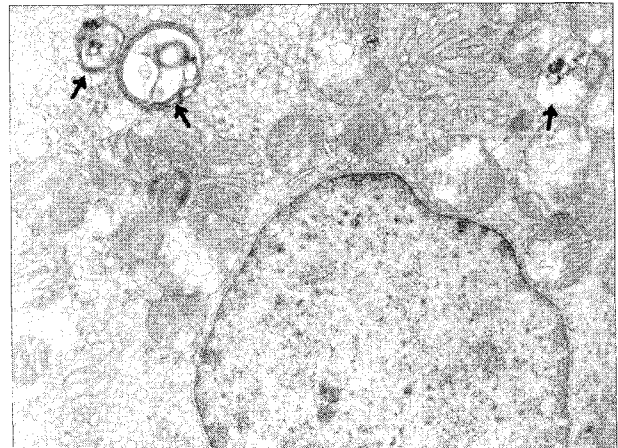


Fig. 5. Ultrastructural examination shows myelin figures in the cytoplasm of parietal cells of the stomach in 20 kGy (8 weeks, × 8000).

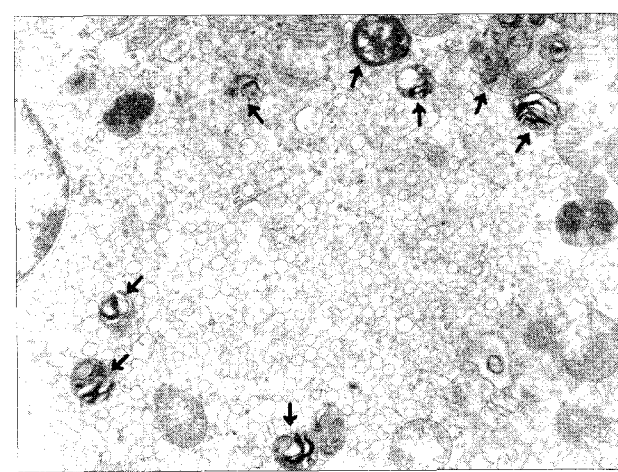


Fig. 6. An increased number of myelin figures and swollen mitochondria are present in 20 kGy (16 weeks, × 8000).

swelling이 동시에 관찰될 수 있다. 이 시기에 더 이상의 유해 자극이 가해지지 않으면 이러한 변화는 소멸되어 세포는 정상상태를 유지할 수 있게 된다. 따라서 myelin figure는 reversible cell injury의 특징적인 지표가 된다고 할 수 있다. 반면 이러한 가역적인 변화가 진행되면 그 손상 범위가 넓어지면서 necrosis나 DNA fragmentation을 거쳐 apoptosis로 진행될 수 있다. 특히 생체의 항산화 기능이 저하되어 있는 경우에는 방사선 조사 식품과 같은 미약한 산화적 자극이라도 오랫동안, 혹은 다량 노출로 인한 산화적 손상이 우려되며 방사선 조사로 인한 식품의 항산화 영양소의 파괴율을 고려한다면 이러한 자극에 대한 지속적인 노출은 바람직하지 못하다.

5. 산화적 스트레스에 의한 DNA 손상정도

혈액 림프구에서는 방사선 조사 사료를 4주간 섭취한 군이 비조사 사료를 섭취한 군보다 tail 내 DNA%와 tail length (TL), 그리고 tail moment (TM)값이 유의적으로 증가하였다. 즉, tail 내 DNA%는 대조군이 19.46 ± 1.64 이고 조사군이 각각 25.74 ± 1.34 (5 kGy), 25.45 ± 0.96 (10 kGy), 26.67 ± 0.62 (20 kGy)로 대조군에 비해 각각 132.3%, 130.8%, 137.1% 증가하였다. TL은 대조군이 $28.89 \pm 2.08 \mu\text{m}$ 이고 조사군이 $41.43 \pm 0.83 \mu\text{m}$ (5 kGy), $40.67 \pm 0.85 \mu\text{m}$ (10 kGy), $40.25 \pm 0.82 \mu\text{m}$ (20 kGy)로 대조군보다 유의적으로 높았고 TM 또한 대조군이 6.28 ± 0.46 이고 조사군이 각각 11.34 ± 0.76 (5 kGy), 10.89 ± 0.51 (10 kGy), 11.37 ± 0.44 (20 kGy)로 대조군에 비해 유의

Table 6. DNA damage between control and irradiation groups for 4 weeks

Tissue	Control	Irradiation (kGy) ¹⁾			p-value	
		5	10	20		
Blood lymphocyte	Tail-DNA (%)	19.46 ± 1.64^{2a}	25.74 ± 1.34^{3b}	25.45 ± 0.96^b	26.67 ± 0.62^b	0.001
	Tail length (μm)	28.89 ± 2.08^a	41.43 ± 0.83^b	40.67 ± 0.85^b	40.25 ± 0.82^b	0.000
	Tail moment	6.28 ± 0.46^a	11.34 ± 0.76^b	10.89 ± 0.51^b	11.37 ± 0.44^b	0.000
Liver	Tail-DNA (%)	19.44 ± 0.90	21.41 ± 1.04	21.67 ± 1.36	20.66 ± 0.89	0.464
	Tail length (μm)	45.96 ± 1.45	53.02 ± 2.08	52.28 ± 3.08	50.32 ± 1.44	0.106
	Tail moment	9.49 ± 0.74	12.03 ± 1.11	11.94 ± 1.50	11.06 ± 0.65	0.312
Kidney	Tail-DNA (%)	25.02 ± 1.88	28.10 ± 1.68	28.08 ± 0.85	27.79 ± 1.02	0.368
	Tail length (μm)	39.97 ± 1.66	41.51 ± 1.09	42.27 ± 0.80	41.04 ± 1.19	0.608
	Tail moment	10.60 ± 1.04	12.34 ± 0.84	12.44 ± 0.38	11.95 ± 0.55	0.296
Peyer's patch	Tail-DNA (%)	24.50 ± 1.83	25.00 ± 1.84	24.55 ± 1.86	24.58 ± 1.96	0.999
	Tail length (μm)	39.78 ± 1.05	38.70 ± 0.89	37.84 ± 1.31	38.44 ± 0.87	0.622
	Tail moment	10.39 ± 0.97	10.37 ± 0.82	9.94 ± 0.98	10.07 ± 0.84	0.980

¹⁾ Irradiation dose

²⁾ Mean \pm S.E of eight mice

³⁾ Different letters indicate significant difference between groups by Duncan's multiple range test

Table 7. DNA damage between control and irradiation groups for 8 weeks

Tissue	Control	Irradiation (kGy) ¹⁾			p-value	
		5	10	20		
Blood lymphocyte	Tail-DNA (%)	29.37 ± 1.41^{2a}	32.84 ± 0.81^{3b}	32.91 ± 1.09^{3b}	33.70 ± 1.36^b	0.069
	Tail length (μm)	37.88 ± 0.53^a	40.10 ± 1.50^{3b}	42.16 ± 0.82^b	41.10 ± 0.98^b	0.045
	Tail moment	11.81 ± 0.60^a	13.87 ± 0.60^b	14.57 ± 0.49^b	14.46 ± 0.59^b	0.007
Liver	Tail-DNA (%)	22.66 ± 0.76	22.28 ± 0.40	24.00 ± 0.73	23.92 ± 1.08	0.311
	Tail length (μm)	49.61 ± 1.43	53.71 ± 1.48	52.39 ± 1.62	53.75 ± 1.09	0.157
	Tail moment	11.77 ± 0.47	12.43 ± 0.48	13.17 ± 0.70	13.52 ± 0.94	0.278
Kidney	Tail-DNA (%)	34.76 ± 0.91^a	36.65 ± 0.44^{3b}	35.04 ± 0.60^c	37.49 ± 0.62^b	0.020
	Tail length (μm)	38.77 ± 1.01	40.94 ± 0.89	39.52 ± 1.12	41.76 ± 0.81	0.144
	Tail moment	14.30 ± 0.62	15.83 ± 0.56	14.93 ± 0.62	16.35 ± 0.50	0.079
Peyer's patch	Tail-DNA (%)	33.85 ± 0.75^a	35.13 ± 0.32^{3b}	36.52 ± 0.51^{3c}	37.26 ± 0.70^c	0.002
	Tail length (μm)	40.45 ± 1.19	40.77 ± 0.98	41.83 ± 1.05	41.93 ± 1.08	0.701
	Tail moment	14.68 ± 0.71	15.23 ± 0.45	16.28 ± 0.43	16.77 ± 0.68	0.067

¹⁾ Irradiation dose

²⁾ Mean \pm S.E of eight mice

³⁾ Different letters indicate significant difference between groups by Duncan's multiple range test

적으로 증가하였다. 그러나 조사선량에 따라 일관성 있는 차이를 보이지는 않았다. 10 kGy로 방사선 조사 사료를 4주간 섭취한 흰쥐의 림프구에서 DNA 손상정도를 측정한 Jang의 연구¹⁸⁾에서도 tail내 DNA%, TL 및 TM 모두 비조사군에 비해 조사군에서 값이 유의적인 증가를 보여 본 실험의 4주 동안 혈액 림프구에서의 결과와 일치하였다. 조사사료를 섭취한 mouse의 간에서는 tail length가 증가하는 경향을 보였으나 유의적인 차이는 아니었다. 신장과 소장의 Peyer's patch에서는 tail 내 DNA%, TL 및 TM 수치 모두에서 유의적인 차이를 볼 수 없었다 (Table 6).

방사선 조사된 사료를 8주 동안 섭취한 mouse의 혈액 림프구에서는 4주간 섭취한 mouse에서와 마찬가지로 조사된 사료를 섭취한 군이 비조사 사료를 섭취한 군보다 tail length (TL)와 tail moment (TM) 값이 유의적으로 증가하였다 (Table 7). Tail 내 DNA%는 대조군이 29.37 ± 1.41 이고 조사군이 각각 32.84 ± 0.81 (5 kGy), 32.91 ± 1.09 (10 kGy), 33.70 ± 1.36 (20 kGy)으로 대조군에 비해 각각 111.8%, 112.1%, 114.7% 증가하는 경향을 보였다. 신장 조직의 tail-DNA는 20 kGy군에서 유의적으로 증가하였으며 Peyer's patch에서는 10 kGy와 20 kGy군에서 증가하였다. 후자의 결과는 조사선량에 비례하여 나타났다. 신장과 Peyer's patch의 tail moment는 조사사료 섭취군에서 증가하는 경향을 보여주었으나 tail length는 일관성 있는 변화를 보여주지 않았다. 즉, 4주간 조사사료를 섭취한 경우보다 8주간 섭취하였을 때 세포내 DNA 손상이 광범위하게 나타나고 있음을 확인할 수 있었다. 16주간 실험식을 섭취한 mouse의 혈액 림프구에서의 tail-DNA는 대조군이 $37.55 \pm 0.39\%$ 이고 조사군이 각각 39.60 ± 0.42 (5 kGy), 40.47 ± 0.56 (10 kGy), 41.89 ± 0.53 (20 kGy)으로 조사선량에

비례하여 tail-DNA 함량이 유의적으로 증가하였다. TM은 대조군이 15.09 ± 0.33 이고 조사군이 각각 17.06 ± 0.48 (5 kGy), 17.34 ± 0.72 (10 kGy), 17.26 ± 0.25 (20 kGy)로 대조군에 비해 각각 113.06%, 114.9%, 114.4% 증가하였다. 4주와 8주간 조사사료를 섭취한 mouse의 간에서의 tail-DNA, TL 및 TM 수치에 유의적인 차이를 볼 수 없었다. 그러나 16주 동안 사료를 섭취한 mouse의 간에서는 방사선 조사 사료를 섭취한 군에서 tail-DNA 함량과 TL 그리고 TM 값이 모두 유의적으로 증가하였다. 즉, tail 내 DNA%는 대조군이 26.80 ± 1.34 이고 조사군이 각각 31.99 ± 1.54 (5 kGy), 32.11 ± 1.32 (10 kGy), 34.88 ± 1.10 (20 kGy)으로 조사군이 대조군보다 유의적으로 높은 값을 보였다. TL은 대조군이 $51.53 \pm 1.53 \mu\text{m}$ 이고 조사군이 각각 $53.15 \pm 1.06 \mu\text{m}$ (5 kGy), $56.82 \pm 1.51 \mu\text{m}$ (10 kGy), $56.11 \pm 1.01 \mu\text{m}$ (20 kGy)이었으며, TM 또한 대조군이 14.37 ± 0.61 이고 조사군이 각각 17.74 ± 1.00 (5 kGy), 18.75 ± 0.74 (10 kGy), 20.33 ± 0.74 (20 kGy)고 대조군에 비해 조사군에서의 측정치가 유의적으로 증가함을 보였다. Peyer's patch의 tail 내 DNA%는 대조군이 38.06 ± 0.76 이고 조사군이 각각 44.09 ± 0.31 (5 kGy), 45.26 ± 0.39 (10 kGy), 45.35 ± 0.45 (20 kGy)로 유의적으로 증가하였으며 ($p < 0.01$), TL은 대조군이 $38.29 \pm 1.44 \mu\text{m}$ 이고 조사군이 각각 $42.46 \pm 1.13 \mu\text{m}$ (5 kGy), $41.36 \pm 0.85 \mu\text{m}$ (10 kGy), $41.11 \pm 1.06 \mu\text{m}$ (20 kGy)으로 조사군에서 더 증가하는 경향을 보였다. Tail length에서 유의적인 차이는 없었지만 tail내 DNA%와 tail length를 곱해서 얻은 tail moment는 대조군이 15.40 ± 0.66 이고 조사군이 각각 19.20 ± 0.57 (5 kGy), 19.13 ± 0.48 (10 kGy), 19.24 ± 0.66 (20 kGy)으로 조사군에서 유의적으로 증가하였다. 신

Table 8. DNA damage between control and irradiation groups for 16 weeks

Tissue	Control	Irradiation (kGy) ¹⁾			p-value	
		5	10	20		
Blood lymphocyte	Tail-DNA (%)	$37.55 \pm 0.39^{2,c}$	$39.60 \pm 0.42^{3,b}$	40.47 ± 0.56^a	41.89 ± 0.53^c	0.000
	Tail length (μm)	38.22 ± 0.81	41.08 ± 1.04	40.21 ± 1.07	39.03 ± 0.52	0.133
	Tail moment	15.09 ± 0.33^a	17.06 ± 0.48^b	17.34 ± 0.72^b	17.26 ± 0.25^b	0.007
Liver	Tail-DNA (%)	26.80 ± 1.34^c	31.99 ± 1.54^b	32.11 ± 1.32^b	34.88 ± 1.10^b	0.002
	Tail length (μm)	51.53 ± 1.53^a	53.15 ± 1.06^{ab}	56.82 ± 1.51^b	56.11 ± 1.01^b	0.024
	Tail moment	14.37 ± 0.61^a	17.74 ± 1.00^b	18.75 ± 0.74^{bc}	20.33 ± 0.74^c	0.000
Kidney	Tail-DNA (%)	41.44 ± 0.95	43.59 ± 0.98	42.95 ± 0.84	43.45 ± 0.77	0.321
	Tail length (μm)	40.57 ± 1.01	43.57 ± 1.53	41.84 ± 0.90	43.73 ± 1.21	0.210
	Tail moment	17.59 ± 0.74	19.72 ± 1.13	18.53 ± 0.54	19.89 ± 0.64	0.161
Peyer's patch	Tail-DNA (%)	38.06 ± 0.76^c	44.09 ± 0.31^b	45.26 ± 0.39^b	45.35 ± 0.45^b	0.000
	Tail length (μm)	38.29 ± 1.44	42.46 ± 1.13	41.36 ± 0.85	41.11 ± 1.06	0.088
	Tail moment	15.40 ± 0.66^a	19.20 ± 0.57^b	19.13 ± 0.48^b	19.24 ± 0.66^b	0.000

¹⁾ Irradiation dose

²⁾ Mean \pm S.E of eight mice

³⁾ Different letters indicate significant difference between groups by Duncan's multiple range test

장에서는 사료 섭취기간이 8주인 실험군에서 tail 내 DNA 함량에서 대조군과 조사군 사이의 유의적 차이를 보인 반면 사료 섭취 기간이 16주인 실험군에서는 TM에서 조사군에서의 측정치가 대조군보다 증가되는 경향을 보일 뿐이었다 (Table 8).

이상의 결과로부터 방사선 조사로 인하여 생성된 식품의 free radical은 지금까지 알려진 바와 달리 비교적 free radical에 대한 내성이 강한 것으로 알려져 있는 소화관 상피 조직에 myelin figure와 같은 약한 가역적인 변화를 일으킬 수 있으며 comet assay를 통해서 측정된 바와 같이 혈액 lymphocyte, 간, 신장, 소장의 Peyer's patch에서 DNA fragmentation과 같은 세포 상해를 가져올 수 있음을 확인할 수 있었다. 또한 본 연구에서 측정된 여러 biomarker 중 식품에 의한 산화적 스트레스와 같이 약한 자극에 의한 변화는 오차 범위가 넓은 TBA나 항산화효소 활성 (내부 자료) 등의 측정으로는 감지가 어려우며 보다 초기손상을 감지할 수 있는 민감한 방법이 필요한 것으로 사료된다. 실험결과에 의하면 이러한 자극에 의한 변화를 감지하기 위해서는 적어도 8주 이상의 섭취 기간이 필요함을 알 수 있었으나 이는 사료의 성분과 방사선 조사선량, 저장 환경, 검사 대상 동물의 상태에 따라 다르게 나올 수 있는 요인이다.

요약 및 결론

본 연구는 방사선 조사 식품의 유통이 지속적으로 늘어나고 있는 시점에서 국내에서 대량 소비되고 수입에 다량 의존하며 방사선 조사 허가여부와 무관하게 조사 영향이 큰 식품들의 안전성을 검토하고자 하였다.

고불포화지방산 함량이 높은 식품들의 방사선 조사로 인하여 생성된 free radical과 그로 인해 유도될 수 있는 분해 산물이 생체에 주입되었을 때 소화기관과 각 장기에 미칠 수 있는 산화적 스트레스의 영향을 알아보려 지질의 과산화 정도 (TBARS), 조직병리 및 DNA fragmentation 정도를 측정하는 alkaline comet assay를 통하여 이들 간의 상관성을 평가하고 보다 초기 손상을 측정할 수 있는 방법을 검토하고자 하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1) 체중 증가량은 가령에 따라 증가하였으나 같은 주령에서 방사선 조사 사료 섭취 여부에 따라서는 차이가 없었고, 희생시 장기무게는 4주째에는 간, 신장, 비장 모두 유의적 차이가 없었던 반면 8주째의 간과 신장조직, 16주째의 신장과 비장조직 무게에서 조사된 사료를 섭취한 실험군이 대조군에 비해 5 kGy에서는 낮아졌으나 10 kGy와 20 kGy에서

는 유의적 증가를 보였다.

2) 방사선 비조사 사료의 과산화물가에 비해 조사 사료의 과산화물가가 높게 나타났으며 저장기간이 길어짐에 따라 큰 폭으로 증가하였다.

3) 혈장 및 조직에서의 TBA가 측정 결과 4주, 8주, 16주에서 대조군과 조사군 간에 유의적 차이는 8주 신장을 제외하고는 나타나지 않았다.

4) 혈액 림프구 및 조직에서의 DNA 손상정도 측정 결과

(1) 혈액 림프구: 4주, 8주, 16주에서 대조군에 비해 조사군에서의 tail내 DNA%, TL 및 TM 값이 유의적으로 증가하였다.

(2) 간: 16주에서 대조군에 비해 조사군에서의 tail내 DNA%, TL 및 TM 값이 유의적으로 증가하였다.

(3) 신장: 8주에서 tail내 DNA%가 대조군보다 조사군에서 유의적으로 높았으며, 4주, 8주 및 16주에서의 TL 및 TM 값이 조사군에서 높은 경향을 보였으나 유의성은 나타나지 않았다.

(4) Peyer's patch: 8주 tail내 DNA%, 16주 tail내 DNA%와 TM 값이 대조군보다 조사군에서 유의적으로 증가하였다.

5) 위장 및 소장의 조직검사 결과 투과전자현미경상으로 8주와 16주 위장 및 소장 점막에서 세포손상의 초기단계에서 나타나는 swollen mitochondria와 myelin figure가 관찰되었다.

이상의 결과에서 방사선 조사한 사료의 과산화물가가 현저히 증가하였음에도 불구하고 혈장 및 각 조직에서의 TBA는 일관성 있는 결과를 얻을 수 없었다. 그러나 조직병리적 검사인 투과전자현미경 관찰 결과 위의 parietal cell과 소장의 epithelial cell에서 조사 사료 섭취 기간이 8주 이상일 때 가역적 세포손상의 병리적 소견을 보였다. 또한 DNA 손상정도를 측정하는 comet assay에 의하면 혈액 림프구 및 각 조직에서 비조사된 사료를 섭취한 군보다 조사된 사료를 섭취한 군에서 tail내 DNA%, TL 및 TM 수치가 유의적으로 증가하였고, 혈액 림프구에서는 가장 예민하게 DNA 손상이 측정되었으며, 신장과 Peyer's patch에서는 섭취 기간이 8주 이상, 간에서는 섭취 기간이 16주 이상 되어야 손상도가 대조군에 비해 조사군에서 유의적으로 증가하였다. 이상의 결과로 미루어 볼 때 TBA가보다는 comet assay와 전자현미경적 미세구조 분석이 생체 내 산화적 스트레스로 인한 초기손상을 감지하기에 적합한 방법임을 알 수 있다. 이러한 평가 결과를 바탕으로, 향후, 국내에서 수입 의존도가 높고, 소비량이 많은 불포화 지방산 함유 식품이면

서 방사선 조사 가능성을 배제할 수 없는 단일 식품들에 대해 영양학적 및 유전독성학적 안전성 문제를 검토해야 할 것으로 사료된다.

Literature cited

- 1) ICGFI. Facts about food irradiation. International Consultative Group on Food Irradiation, Vienna, Austria, 1991
- 2) WHO. Wholesomeness of Irradiated Food. WHO Technical Report Series, 604, Geneva, Switzerland, 1977
- 3) Olson DG. Irradiation processing, IN: Murano EA, ed. Food Irradiation - A sourcebook, pp.3-27, Iowa State University Press. Ames, 1995
- 4) Byun MW, Lee JW. Application of irradiation technology for food safety and security. *Food Sci Industry* 36(2) : 33-34, 2003
- 5) Hwang KT, Park JY, Kim CK. Application of hydrocarbons as markers for detecting post-irradiation and imported meat and fish. *Korean Soc Food Sci Nutrition* 26: 1109, 1997
- 6) Read MS, Kraybill HF, et al. Successive generation rat-feeding studies with a composite diet of gamma-irradiated foods. *Toxicol Appl Pharm* 3: 153-173, 1962
- 7) Phillips AW, Newcomb HR, Shanklin D. Long-term Rat feeding Studies Irradiated Chicken Stew and Cabbage. US Army Contract DA-49-007-MD- 783
- 8) Malhotra OP, Reber EF, Norton HW. Effect of methionine and vitamin K3 on hemorrhages induced by feeding a ration containing irradiated beef. *Toxicol Appl Pharm* 7: 402-408, 1965
- 9) Bradly MV. Low pH of irradiated sucrose in induction of chromosome aberrations. *Nature* 217: 1182-1183, 1968
- 10) Shaw MW, Hayes E. Effects of irradiated sucrose on the chromosome of human lymphocytes in vitro. *Nature* 211: 1254-1257, 1966
- 11) Lee HI, Park YK, Yang JS, Kang MH. Changes of DNA Fragmentation by Irradiation Doses and Storage in Gamma-irradiated Potato, Garlic and Ginger, *Korean J Food Culture* 19(3) : 251-258, 2004
- 12) Chung CW, Huh RS. The antioxidative effects of α -tocopherol on the lipid peroxidation and protein oxidation by free radicals, *Korean J Vet Res* 34(2) : 249-258, 1994
- 13) Adamiker DA. Composition of various methods for treating feed stuffs for laboratory animals. *Food Irradiation Information* 5: 19-42, 1975
- 14) Ju HK. Food analysis, Hakmoonsa, 1995
- 15) Yagi K, Nishigaki I, Ohama H. Measurement of serum TBA value. *Vitamins (Jpn)* 37: 105-112, 1968
- 16) Lee JW. Development and application of a new 2-thiobarbituric acid assay detection serum lipid peroxide value. Ph. D. Dissertation, Graduate School of Seoul National University, 1985
- 17) Ohkawa H, Ohish N, Yagi K. Assay for lipid peroxidation in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem* 95: 351, 1979
- 18) Jang HH, Kang MH, Yang JS, Ly SU. Plasma, tissue thiobarbituric acid reactive substance and lymphocyte oxidative MNA damage in mouse fed gamma irradiated diet. *Korean J Nutrition* 36(3) : 255-261, 2003
- 19) Sin PN, McCoy MT, Tice RR, Schneider EL. A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells. *Exp Cell Res* 175: 184-191, 1988
- 20) Sasaki YF, Kawaguchi S, Kamaya A, Ohshita M, Kabasawa K, Iwama K, Taniguchi K, Tsuda S. The comet assay with 8 mouse organs: results with 39 currently used food additives. *Mutation Res* 519: 103-119, 2002
- 21) Tice R, Vasques M. Protocol for the application of the pH > 13 alkalines single cell gel (SCG) assay to the detection of DNA damage in mammalian cells. www.cometassay.com
- 22) Read MS, Kraybill HF, Worth WS, Thompson SW, Issac GJ, Witt NF. Successive generation rat-feeding studies with a composite diet of gamma- irradiated foods, *Toxicol Appl Pharm* 3: 153-173, 1961
- 23) Underdal B, Nordal J, Lunde G, Eggum B. The effects of ionizing radiation on the nutritional value of mackerel. *Lebensm Wiss Technol* 9: 72-74, 1973
- 24) Eggum BO. Effect of radiation treatment on protein quality and vitamin content of animal feeds, In Decontamination of Animal Feeds by Irradiation, Proceedings of an FAO/IAEA Advisory Group Meeting, Sofia, 17-21: 55-67, 1979
- 25) Yook HS, Lee KH, Lee SU, Kang KO, Byun MW. Effect of Gamma Irradiation on Lipid Oxidation of Korean Beef. *Korean J Nutrition* 30(5) : 1179-1183, 1998
- 26) Lee KH, Yook HS, Lee SU, Kim S. Kim MJ, Byun MW. Effects of Antioxidants on Oxidation of Tallow by Gamma Irradiation. *Korean J Nutrition* 31(1) : 7-12, 1999
- 27) Marcuse R, Johansson L. Studies on the TBA Test for Rancidity Grading: II. TBA Reactivity of Different Aldehyde Classes, *J Am Oil Chem Soc* 50(10) : 387, 1973
- 28) Kim DH. Rancidity of edible oil. p.432 Korea national university, 1994