

## 감마선처리 냉동 우육, 분쇄우육 및 떡갈비의 판별을 위한 Comet assay의 적용성 평가

박종흠<sup>1</sup>, 김재경<sup>1</sup>, 송범석<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup>한국원자력연구원 첨단방사선연구소 방사선바이오연구부

## Evaluation on the Applicability of Comet Assay for the Identification of Gamma-irradiated Frozen Beef Cut, Ground Beef and *Tteokgalbi*

Jong-Heum Park<sup>1</sup>, Jae-Kyung Kim<sup>1</sup> and Beom-Seok Song<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup>Radiation Biotechnology Research Division, Advanced Radiation Technology Institute, Korea Atomic Energy Research Institute, Jeongseup 56212, Republic of Korea

**Abstract** This study was conducted to evaluate the applicability of the Comet assay, which is widely used for the identification of irradiated meats, to detect irradiated beef cut, ground beef, and *Tteokgalbi* during freezing storage. Gamma-irradiation significantly increased the DNA damage in frozen beef cut and ground beef samples. Among those, DNA nuclei of samples irradiated with absorbed doses of 1 kGy or more showed typical comet-shaped damage, convincing that the samples were irradiated. Meanwhile, DNA nuclei in non-irradiated beef cut and ground beef samples were also damaged according to storage time. In particular, since the damage of DNA nuclei in the non-irradiated samples frozen for three months was similar to that of samples irradiated with a dose of 0.5 kGy, it was considered difficult to detect whether these samples were irradiated by Comet assay analysis. Likewise, gamma-irradiation of *Tteokgalbi* increased DNA damage. However, significant damage to DNA nuclei was observed even in the non-irradiated samples. Therefore, the application of the analysis method to determine whether the *Tteokgalbi* sample was irradiated was not appropriate. In conclusion, these results suggest that Comet assay could be limitedly applied only to fresh meat with a short storage period and minimal processing.

**Key words:** Beef cut, Ground beef, *Tteokgalbi*, Gamma-irradiation, Comet assay

### 1. 서론

식품의 살·멸균처리는 병원성 기생충 또는 미생물로부터 안전한 식품의 생산과 식품 유래 질병 예방을 위한 가장 기본적인 중요한 먹거리 위생화 기술이다. 식품의약품안전처는 2020년 국내에서 발생한 감염성 식중독 환자들 약 20%가 주로 신선 육류 및 채소류 등에 오염된 병원성 미생물에 의한 것임을 제시하고 있다[1]. 또한, 2017년

유명 프랜차이즈 햄버거 섭취 가족, 2020년 안산 유치원 원아 및 2023년 온라인 배달 육회 집단 식중독 사고의 경우에도 장출혈성 대장균에 오염된 식육 또는 그 분쇄가공육인 햄버거 패티의 불완전한 가공처리와 관련이 있다. 이들 식육 관련 제품들 특히 육회 및 분쇄가공육은 비위생적인 환경하에서 제조 시 병원성 식중독균의 오염이 쉽고, 상업적 위생처리가 쉽지 않은 고위험성 식품군이다. 따라서 식중독 미생물에 의한 감염성 질환 예방을 위해서는 철저

<http://www.ksri.kr/>

Copyright © 2023 by  
Korean Society of Radiation Industry

\*Corresponding author. Beom-Seok Song

Tel. +82-63-570-3211 Fax. +82-63-570-3218 E-mail. sbs0110@kaeri.re.kr

Received 28 July 2023 Revised 9 August 2023 Accepted 6 September 2023

한 위생 과정이 요구되나, 실제 현장에서는 제대로 이루어지지 않는 경우가 많아 이를 사전에 방지할 수 있는 대안적인 위생화 기술이 필요할 실정이다.

방사선 식품조사처리 기술은 기존 방식 대비 매우 효과적인 위생화 기술이다. 이에 따라 국제원자력기구 및 유엔 식량농업기구는 해당 기술의 활용을 각국에 권장하고 있으며, 식품에 조사처리를 허용하는 전 세계 50여 개 국가들 중 미국과 캐나다를 포함하는 19개 국가들의 경우 식육류에 대해서도 조사처리를 채택하고 있다[2]. 이들 식육에 적용되는 조사선량은 일반적으로 조사처리 목적에 따라 병원성 기생충 제어에 0.3~1kGy 그리고 유해 미생물의 제어를 통한 위생화 및 저장기간 연장에 1~8kGy를 적용하고 있다. 그러나, 국내의 경우 육포와 같은 건조육을 제외한 식육의 조사처리는 허가되고 있지 않다[3].

한편, 조사처리식품에 대한 소비자들의 정당한 알권리 충족과 선택의 자율성 보장을 위하여 제품에 조사처리가 되었음을 나타내는 라벨링 표시는 반드시 해야 한다. 그러나 이러한 규정을 위반하려는 경우에 대비하기 위하여, 식육류의 경우 유럽연합(EU)은 GC/MS를 이용한 화학적 확인 시험법인 hydrocarbon 분석법[4]과 2-alkylcyclobutanone 분석법[5] 2종을, 국내에서는 hydrocarbon 분석법[6] 1종을 조사처리 유무 판별을 위해 고시하고 있다. 또한, 생물학적 확인 시험법인 Comet assay 분석법도 EU와 국내 모두 사용이 가능하나, EU의 경우 저장조건과는 별도로 식육류, 어패류, 곡류 및 과일류 등과 같은 다양한 식품에 적용될 수 있는 반면, 국내에서는 오직 냉장 및 냉동 식육과 그 분쇄육에만 제한적으로 이용이 가능하다[7].

Comet assay 분석법은 실험절차가 간편하여 시료로부터 DNA 핵체 추출부터 전기영동 그리고 분석 프로그램을 통한 결과의 해석까지 수 시간 이내면 완료되기 때문에[8], 식품의 조사처리 유무 판별을 위한 신속 분석법으로서 그 역할을 하고 있다[7,9]. 이에 따라 Comet assay 분석법은 여러 축종의 조사처리 유무 판별에 폭넓게 활용되어 왔다. 이용된 해당 육류의 종류로는 소뿐만 아니라 돼지, 가금류, 말, 양 및 토끼, 꿩, 비둘기, 노루, 자갈, 카피바라와 같은 기타 축종들, 그리고 돼지의 경우에는 멧돼지를, 가금류의 경우에는 닭, 칠면조, 메추라기, 오리 및 타조도 포함하였으며, 이 중 소, 돼지 및 닭 3종은 가장 많이 소비되는 식육이기에 최근까지도 여러 연구자들에 의해 평가의 대상 시료로 이용된 바 있다[10]. 그러나 관찰된 연구들의 거의 모

두가 신선 냉장 또는 냉동 식육과 그 분쇄육의 조사처리에 따른 DNA 핵체 손상 평가에 치중되어 있는 반면, 냉동기간에 따라 발생하는 식육의 DNA 핵체 손상 변화를 관찰한 문헌들은 일부에 한정된다[11-14]. 따라서 본 연구에서는 조사처리 유무 판별을 위해 감마선조사된 포장우육과 그 분쇄육의 냉동저장에 따른 DNA 핵체 손상 변화 그리고 분쇄가공육인 시판 냉동 떡갈비의 감마선조사에 따른 DNA 핵체 손상 평가에 Comet assay 분석법의 적용이 가능한지를 살펴보고자 하였다.

## 2. 재료 및 방법

### 2.1. 시료 준비

본 실험의 대상 시료인 신선 우육 및 그 분쇄우육은 도축한지 7시간 이내의 한우 우둔살 부위 근육(*M. semimembranosus*)으로 감마선조사 전날 정음에 위치한 순정축협으로부터 구입하여 100 g 단위로 합기포장하고  $-20^{\circ}\text{C}$ 에서 하룻밤 냉동보관하였다. 떡갈비는 국내 시판 중인 냉동 제품을 구입하여 똑같이 100 g 단위로 합기포장하여 사용하였으며, 구성 성분들로 한우 갈비살(30%), 목심(14%), 양지(14%), 앞다리살(12%) 및 설도(11%)에 간장, 양파, 설탕, 마늘, 대파, 배, L-글루탐산나트륨, 생강, 참기름, 물엿 및 후추와 같은 첨가물들을 함유하였다. 이들 시료들은 감마선조사 직후 즉시 상온( $20^{\circ}\text{C}$  내외)에서 해동한 후 실험에 사용하였으며(0일), 우육 및 분쇄우육 시료들의 경우에는  $-20^{\circ}\text{C}$ 에서 추가적으로 1개월 및 3개월까지 보관하며 평가에 이용하였다.

### 2.2. 감마선조사

우육, 분쇄우육 및 떡갈비 시료들의 감마선조사는 정음에 위치한 한국원자력연구원 첨단방사선연구소 내  $^{60}\text{Co}$  감마선조사장치(선원 11.1 PBq capacity, point source AECL, IR-79; MDS Nordion International Co. Ltd, Ottawa, Canada)를 이용하였다. 우육과 분쇄우육은 0.5, 1, 3, 5, 7kGy 그리고 떡갈비는 2.5, 5, 7kGy의 흡수선량을 목표로 선량을  $10\text{ kGy h}^{-1}$ 로 조사처리하였다. 또한, 흡수선량 측정을 위하여 시료별 포장된 비닐팩의 위쪽과 아래쪽에 붙인 알라닌 선량계(5 mm, Bruker Instrument, Rheinstein Germany)를 사용하였으며, 측정된 실질 흡수선량의 오차는 목표로 하였

던 선량의 5% 이내였다. 한편, 감마선처리 시 시료의 해동을 최소화하기 위하여 냉동 아이스팩 위에 해당 시료를 놓고 그 위에 다시 아이스팩을 덮은 후 조사하였다.

### 2.3. DNA Comet assay

냉동 우유, 분쇄우유 및 떡갈비로부터 DNA 핵체의 추출, 아가로스 혼입 및 전기영동 절차는 이전에 서술하였던 방법[15]을 수정하여 다음과 같이 수행하였다. 해동된 각각의 시료 안쪽 부위를 수술용 가위로 잘게 세절한 후 2.5g을 채취하여 8 mL의 냉각된 phosphate buffered saline (PBS) 용액과 함께 비커에 담아 stirring plate에서 200 rpm의 속도로 5분간 교반하여 근육조직으로부터 DNA 핵체를 용출시켰다. 얻어진 DNA 핵체 용출물은 나일론 여과포 (pore size 125 μm)로 걸러 과다한 근육파편들을 제거하고 15 mL 플라스틱 튜브에 담아 아이스상에서 보관하였다. 여과된 DNA 핵체 추출물 50 μL는 37°C로 유지된 1.1% 저용점 아가로스 (Low melting point agarose) 용액 100 μL와 즉시 섞고, 이 중 100 μL를 실험 하루 전날 준비한 0.5% 일반 아가로스 (Normal melting point agarose) 용액이 코팅된 슬라이드 글라스 (24 × 76 mm, Fisher Scientific, USA)로 옮기고 커버 글라스 (24 × 55 mm, No. 1, Fisher Scientific, USA)로 덮은 후 아이스가 담긴 철제 박스 위에 놓아 굳혔다.

다음, DNA 핵체를 둘러싸고 있는 핵막을 제거하기 위하여 해당 슬라이드 글라스는 커버 글라스를 제거하고 차가운 중성 세포용해 완충용액 (0.2% SDS, 45 mM Tris-borate, 1 mM EDTA, pH 8.0)에 30 분간 담가 놓았다. 침지가 끝난 슬라이드 글라스는 차가운 중성 전기영동 완충용액 (45 mM Tris-borate, 1 mM EDTA, pH. 8.4)이 담긴 전기영동 트레이에 5분간 담가 정치시키고 이후 2분간 전기영동하였다 (2V cm<sup>-1</sup>). 전기영동이 끝난 슬라이드 글라스는 3차 증류수에 5분간 2번 담가 충분히 세척하였다.

### 2.4. 슬라이드 염색 및 DNA 핵체 분석

세척이 끝난 슬라이드 글라스는 여분의 물기를 완전히 제거하고 증류수로 10<sup>-3</sup>배 희석한 Gelgreen 형광염색 시약 (Biotium Inc., Fremont, USA) 100 μL와 커버 글라스를 이용하여 DNA 핵체가 혼입된 아가로스 층에 골고루 도포되도록 하였고 남아있는 여분의 형광염색 용액이 완전히 건조되게 상온에서 30분간 암실에 놓아두었다. 염색이 끝난 슬라이드 글라스는 blue excitation filter가 장착된 형광 현

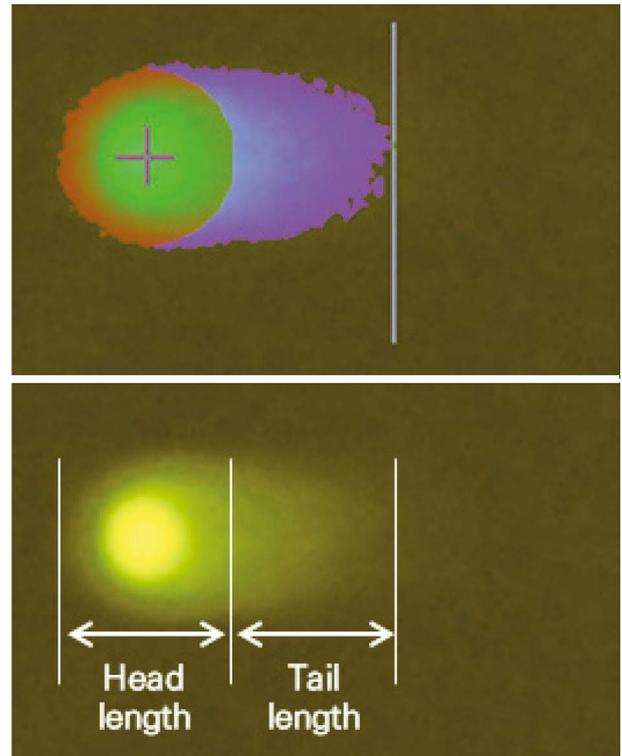


Fig. 1. Analysis of DNA nucleus captured by Casplab software.

미경 (Model U-LH100HG; Olympus Corporation, Tokyo, Japan)하에서 ×100의 배율로 관찰하였다. 이를 통해 확보된 이미지들로부터 시료당 최소 50개 이상의 DNA 핵체를 Casplab\_1.2.3b2 프리 소프트웨어로 분석하였으며[16], DNA 손상 평가를 위해서 측정 시마다 자동적으로 계산되어 산출되는 Comet head length (Head length)와 Comet tail length (Tail length) 값을 이용하였다 (Fig. 1).

### 2.5. DNA 핵체 손상 평가

DNA 핵체 손상은 국내 식품공전에 명기된 방사선조사 식품 확인 시험법인 유전자코메트 분석법의 평가지표를 준용하였다[7]. 즉, 측정된 하나의 DNA 핵체에 대한 상대적 DNA 손상 수치 (A relative DNA damage per a DNA nucleus)는 다음의 공식에 의해서 환산되었으며, 그 값은 한 개의 DNA 핵체로부터 tail length가 길어지면 증가하며 이는 해당 DNA 핵체 손상이 심해짐을 나타낸다.

$$\begin{aligned} &\text{A relative DNA damage (per a DNA nucleus)} \\ &= \text{Tail length/Head length} \end{aligned}$$

또한, 아래에 제시된 바와 같이 평균 DNA 손상 수치

(Mean of relative DNA damage)는 측정된 개별 DNA 핵체의 손상 수치의 합을 측정한 모든 DNA 핵체 수로 나눈 값을 대표하며, 마찬가지로 해당 값의 증가는 대상 시료에 존재하는 DNA 핵체들이 어느 정도 혹은 상당한 손상을 가지는 것을 의미한다. 따라서, 본 연구에서 제시된 연구 결과는 이 계산식에 의해 산출된 수치로 표시하였다.

$$\begin{aligned} &\text{Mean of relative DNA damage} \\ &= \text{Sum of a relative DNA damage} \\ &\quad / \text{No. of counted DNA nuclei} \end{aligned}$$

### 2.6. 통계분석

동일 실험을 3회 반복해서 얻은 결과의 통계 분석은 Microsoft 社의 Excel 프로그램을 이용한 Student's two-tailed T-test에 의해 평가되었으며, 통계적으로 유의적인 결과(비조사 시료 대비 조사처리 시료)는 \* ( $p < 0.05$ ), \*\* ( $p < 0.01$ ) 및 \*\*\* ( $p < 0.005$ )로 나타내었다.

## 3. 결 과

### 3.1. 저장기간에 따른 감마선조사처리 신선 냉동 우육과 분쇄우육의 DNA 핵체 손상 변화

도축한 지 7시간 이내의 신선 우육과 분쇄우육을 하룻밤 냉동처리한 후, 다양한 흡수선량으로 감마선조사처리 하고 추출한 DNA 핵체들의 손상에 대한 Comet 분석 이미지를 Fig. 2에 제시하였다. 조사처리되지 않은 냉동 우육과 분쇄우육 시료의 DNA 핵체의 경우, 상당수가 DNA 손상으로 유발되는 꼬리(tail) 절편이 아예 없거나 혹은 있

다고 해도 아주 짧은 것으로 나타났다. 반면, 0.5 kGy 이상의 선량으로 조사된 시료에서는 모든 DNA 핵체의 머리(head)가 선량의 증가에 따라 점진적으로 감소하고 꼬리의 길이가 상대적으로 길어지는 것을 보여주었다. 특히, 1 kGy 이상의 선량에서는 DNA 핵체 모두 방사선조사처리에 의해 발생하는 전형적인 혜성(Comet) 모양의 손상을 나타내고 있어 이미지에 대한 육안검사로도 충분히 대상 시료가 조사처리되었음을 확신하게 하였다. 이러한 경향은 1개월 및 3개월 저장된 조사처리 냉동 우육 및 분쇄우육 시료에서도 동일하게 관찰되었다(이미지 결과 미제시).

이들 DNA 핵체의 손상 정도를 시료별로 수치화하기 위하여, 앞서 언급한 계산식으로 분석한 결과, 0일 우육 시료의 평균 DNA 손상 수치는 0, 0.5 및 1 kGy 선량에서  $0.84 \pm 0.03$ ,  $1.65 \pm 0.12$  및  $3.13 \pm 0.33$ 으로 선형적인 증가를 보이다가 그 이상의 선량인 3, 5 및 7 kGy에서  $3.73 \pm 0.17$ ,  $3.62 \pm 0.23$  및  $4.06 \pm 0.2$ 로 완만한 증가 혹은 그 증가가 다소 정체되는 전체적으로 선형 곡선의 2차 회귀선을 나타내었다(Fig. 3A). 해당 패턴은 1개월 및 3개월 보관된 조사처리 냉동 우육 시료에서도 동일하게 관찰되었다. 마찬가지로 조사처리 냉동 분쇄우육 시료 역시 냉동 우육 시료와 비슷한 형태를 보였다(Fig. 3B). 또한, 이들 0일, 1개월 및 3개월된 조사처리 냉동 우육 및 분쇄우육 시료의 평균 DNA 손상 수치는 감마선 흡수선량에 대하여 각각  $0.8459 \sim 0.9588$  그리고  $0.9298 \sim 0.9702$  범위의 상관계수를 나타내었으나(Fig. 3), 모두 2차 회귀선을 따르기 때문에 흡수선량 예측용 자료로 이용하기에는 적합하지 않았다.

한편, 비조사된 시료들만 별도로 저장기간에 따른 DNA 핵체의 손상 정도를 살펴보았을 때, 이미지를 이용한 육안

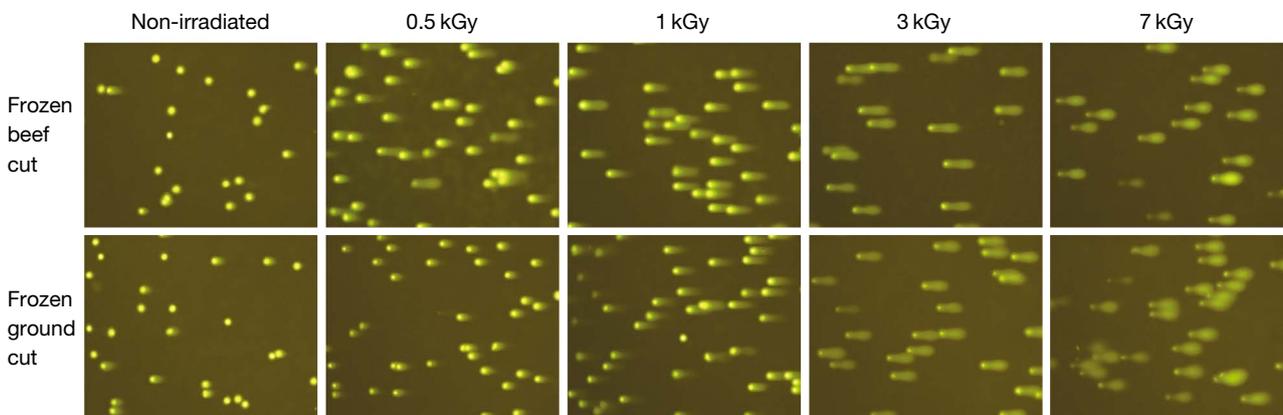


Fig. 2. Typical images of DNA nuclei extracted from frozen beef cut and ground beef irradiated with gamma-rays at different doses.

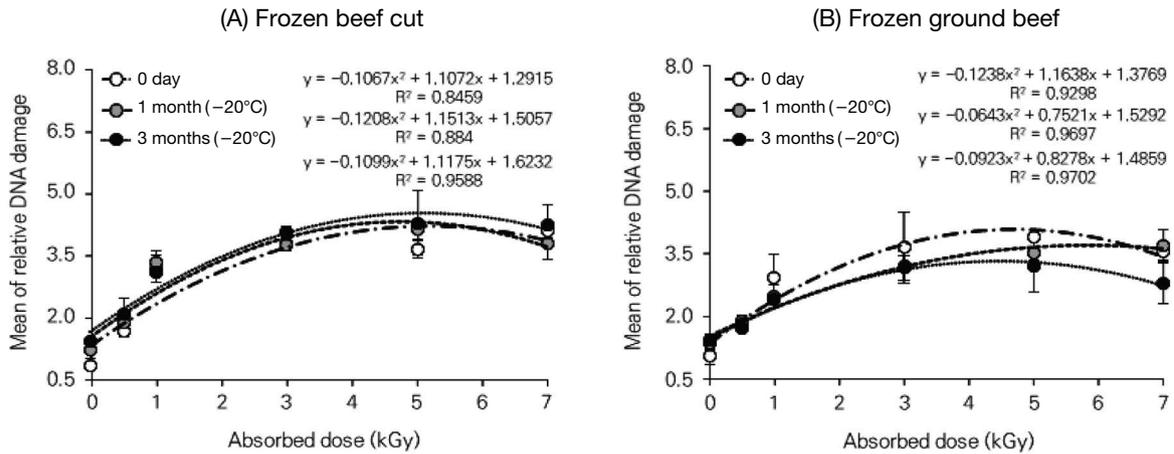


Fig. 3. The changes of mean DNA damage in nuclei extracted from irradiated frozen beef cut and ground beef during freezing period.

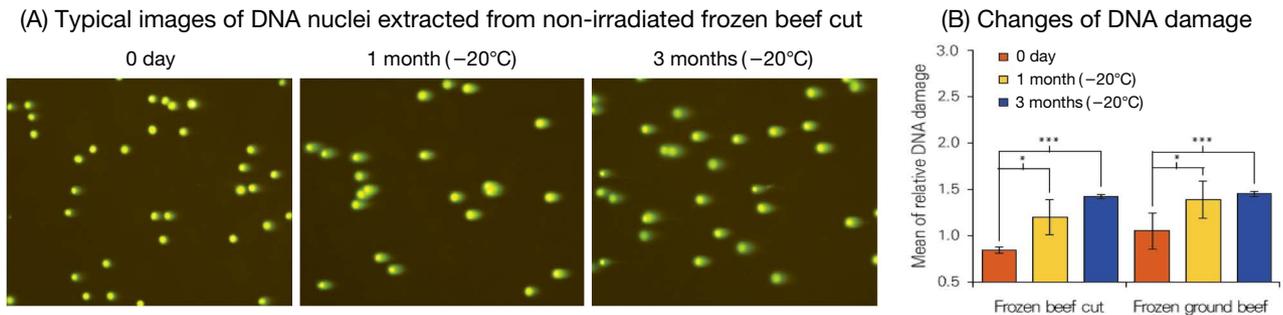


Fig. 4. The changes of DNA damage in nuclei extracted from non-irradiated frozen beef cut and ground beef during freezing period.

검사 시 우육 시료는 냉동기간이 길어짐에 따라 개별의 모든 DNA 핵체에 손상이 점차적으로 증가하는 것으로 관찰되었으며 (Fig. 4A), 이때의 평균 DNA 손상 수치는 0일  $0.84 \pm 0.03$ , 1개월  $1.2 \pm 0.19$  그리고 3개월  $1.42 \pm 0.02$ 로 상승하였다 ( $p < 0.05$ ,  $p < 0.005$ , Fig. 4B). 마찬가지로 분쇄우육 시료의 평균 DNA 손상 수치도 0일  $1.05 \pm 0.19$ , 1개월  $1.39 \pm 0.2$  및 3개월  $1.45 \pm 0.03$ 으로 우육 시료들처럼 유사하게 증가하였다 ( $p < 0.05$ ,  $p < 0.005$ , Fig. 4B). Bevilacqua와 Zaritzky [17]에 따르면, 냉동저장 및 그 온도에 의해 형성되는 얼음 결정의 크기가 단백질 또는 DNA의 구조적 손상을 일으킨다고 보고한 바 있다. 따라서 관찰된 결과 역시 냉동기간 동안 형성된 얼음 결정과 밀접한 관련이 있는 것으로 사료되었다. 또한, 비조사 분쇄우육 시료의 평균 DNA 손상 수치는 같은 비조사 우육 시료의 손상 수치보다 유의적이지 않으나 다소 높은 경향을 나타내었는데, 이는 분쇄육의 제조를 위해 육의 세절 시에 일어나는 근육 내 일부 라이소좀 (lysosome) 파열로 유리된 DNAase를

포함하는 다양한 핵산분해효소들의 작용에 기인된 것으로 추정되었다 [18]. 무엇보다도 비조사 냉동 우육 및 분쇄우육 3개월 시료의 DNA 손상 정도는 Fig. 2 및 3에 제시한 0.5kGy의 선량으로 조사된 냉동 우육 및 분쇄우육 0일 시료의 결과와도 비슷하여 Comet assay 분석법 이용 시 조사처리 유무 판별에 의도하지 않은 오류를 범할 수 있는 것으로 판단되었다.

### 3.2. 감마선조사처리 분쇄가공육 냉동 떡갈비의 DNA 핵체 손상 평가

다양한 흡수선량으로 감마선조사처리된 냉동 떡갈비로부터 추출된 DNA 핵체의 손상에 대한 대표적인 이미지들을 Fig. 5A에 나타내었다. 앞서의 냉동 우육 및 분쇄우육 시료처럼 2.5, 5 및 7kGy로 조사된 떡갈비 시료의 DNA 핵체 모두 전형적인 혜성 모양의 손상 형태를 나타내어 대상 시료가 방사선조사가 되었음을 확인할 수 있었다. 이들 시료의 평균 DNA 손상 수치 역시 비조사 시료  $2.46 \pm 0.25$ 에서

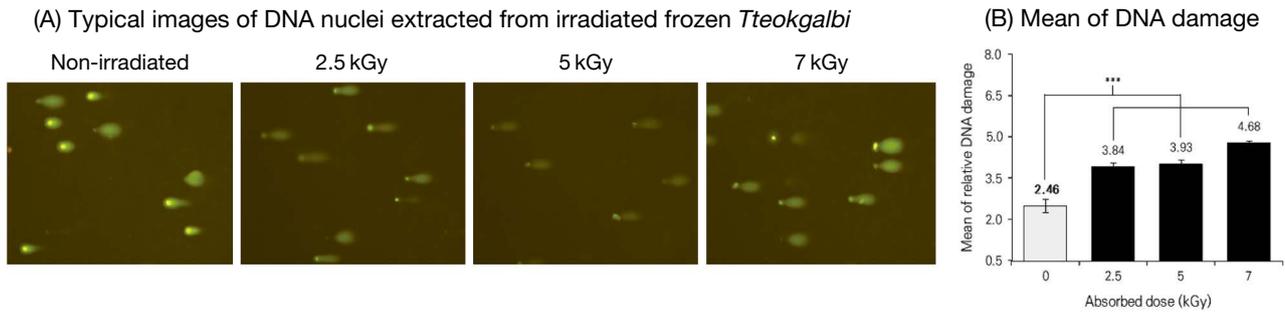


Fig. 5. The changes of DNA damage in nuclei extracted from frozen *Tteokgalbi* irradiated with gamma-rays at different doses.

조사처리 시 2.5 kGy  $3.84 \pm 0.15$ , 5 kGy  $3.93 \pm 0.16$  그리고 7 kGy  $4.68 \pm 0.1$ 로 점차 증가하였다 ( $p < 0.005$ , Fig. 5B). 그러나, 비조사 떡갈비 시료는 조사처리하지 않았음에도 DNA 핵체 모두에 이미 상당한 정도의 손상을 지니고 있음이 관찰되었다. 이러한 원인으로 제품의 제조 시 사용되는 원료 상태, 가공공정 및 제조 후 냉동기간상의 여러 요인들이 복합적으로 관련되어 나타난 결과인 것으로 추정되었다. 즉, 제품의 제조 시 사용되는 원료육의 숙성도 및 원료 내 핵산분해효소의 상태 및 첨가물인 야채류 내 핵산분해효소의 정도, 그리고 가공공정 시 작업 온도 및 제조 후 냉동기간 등이 DNA의 손상에 관여한다 [11,17-19]. 더욱이, 비조사 떡갈비 시료에서 관찰된 개별 DNA 핵체 손상 정도는 Fig. 2에 제시된 0.5~7 kGy로 조사된 냉동 우육 및 분쇄우육 시료들의 개별 DNA 핵체 손상과도 유사하여 비조사 냉동 떡갈비의 조사처리 유무 판별을 위해 Comet assay 분석법을 적용하는 것은 불가능한 것으로 사료되었다.

#### 4. 고찰

Comet assay 분석법은 다양한 식육의 조사처리 유무 판별에 지속적으로 적용되어 왔다. 이들의 공통적인 연구 결과들로 1 kGy 이상으로 방사선조사된 식육의 DNA 핵체들은 특유의 전형적인 혜성 형태의 손상을 보이고 있어 Comet assay 분석법만으로 충분히 조사처리 유무 판별이 가능하다는 것을 제시하였다 [10]. 본 연구에서 제시된 1~7 kGy로 감마선조사된 냉동 우육, 분쇄우육 및 떡갈비 시료들의 결과 (Figs. 2, 3 및 5) 또한 그러한 사실에 부합하고 있어, 냉동기간 여부와 상관없이 최소 1 kGy 이상의 선량으로 조사된 식육의 방사선조사처리 유무 판별에

Comet assay 분석법 이용은 적합한 것으로 사료되었다.

이와 반대로, Figs. 4 및 5에 나타난 것처럼 냉동저장된 조사처리되지 않은 우육, 분쇄우육 또는 떡갈비 시료들의 개별 DNA 핵체 손상은 0.5 kGy의 선량으로 조사된 시료의 DNA 핵체 손상과 비슷하거나 또는 그 이상의 선량으로 조사된 시료의 DNA 핵체 손상과 같이 심하였음을 나타내었다. 이러한 유사 사례로 조사처리되지 않은 냉동보관된 돈육, 햄버거 패티 및 계육의 간조직과 골수세포 [12,14,20] 그리고 4°C로 냉장보관된 비조사 신선 우육 및 햄버거 패티 [11,21]에서도 관찰된 바 있어, 적용된 Comet assay 분석법이 방법학적으로 냉동 또는 냉장저장된 시료의 조사처리 유무 판별에는 맞지 않다는 것을 보여주고 있다. 이러한 경우 지질 유래 방사선 분해산물인 hydrocarbons을 검지마커로 이용하는 GC/MS 분석법의 이용은 적절한 대안이 된다.

GC/MS 분석법은 단시간이 소요되는 Comet assay 분석법보다 시료로부터 지질 추출, hydrocarbons 성분 정제 및 GC/MS로 분석을 통한 검증에 이르기까지 시간적으로 최소 1일 이상이 걸리는 단점을 가지고 있지만, 분석 대상 물질인 hydrocarbons이 구조적으로 안정한 분해산물로 가열처리 여부와 상관없이 다양한 식육 및 그 가공제품의 조사처리 유무 판별에 적용이 가능하다. 특히, 이 분석법은 0.1~0.5 kGy의 선량으로 조사된 신선 우육, 돈육 및 계육 [22,23], 그리고 2개월 냉동보관 조사처리된 칠면조 및 돈육 소세지 [24]와 6개월 보관된 조사처리 냉동 계육 [25]도 안정적으로 검지할 수 있었다. 따라서 본 연구의 결과를 종합하여 볼 때, 냉동보관된 식육의 경우에는 Comet assay보다 분석학적 정밀도 및 정확도가 매우 높은 GC/MS 방법을 활용하는 것이 조사처리 유무 판별에 있어서 보다 나은 시험법이 될 것이라 사료된다.

## 5. 결론

본 연구는 식육의 방사선조사처리 유무 판별에 널리 활용되고 있는 Comet assay 분석법이 냉동기간에 따른 감마선조사된 우육, 분쇄우육 및 떡갈비의 조사 여부 판정에 적용이 가능한지를 살펴보고자 수행하였다. 감마선조사는 냉동 우육과 그 분쇄우육의 DNA 핵체 손상을 확연히 증가시켰고, 이 중 1kGy 이상의 선량으로 조사처리된 시료들의 모든 DNA 핵체들이 방사선조사처리에 의해 발생하는 전형적인 혜성 모양의 손상을 나타내어 이들 시료들이 조사처리가 되었음을 명백히 구별가능하였다. 한편, 비조사된 냉동 우육 및 분쇄우육 시료들의 DNA 핵체들도 저장기간에 따라 유의적으로 그 손상이 증가하고 있음을 확인할 수 있었다. 특히, 3개월된 비조사 냉동 시료들의 DNA 핵체 손상은 0.5kGy로 조사된 시료들의 DNA 핵체 손상과 유사함을 나타내어 해당 분석법으로 조사처리 유무 판별은 쉽지 않은 것으로 고려되었다. 마찬가지로 냉동 떡갈비에 대한 감마선조사 또한 DNA 핵체 손상을 증가시켰으나, 비조사 떡갈비 시료의 DNA 핵체 손상 정도가 상당히 조사처리 유무 판별을 위해 Comet assay 분석법의 적용은 부적합하였다. 따라서 본 연구 결과는 냉동 우육 또는 이를 이용한 떡갈비와 같은 가공제품의 조사처리 유무 판정에 따른 오류 가능성을 최소화하기 위해서 Comet assay 분석법 이외의 대안 분석법의 활용이 필요하다는 것을 암시한다.

## 사 사

본 연구는 과학기술정보통신부의 재원으로 한국원자력 연구원의 주요사업(523210-23)에 의해 수행되었으며, 그 지원에 감사드립니다.

## 참고문헌

1. Ministry of Food and Drug Safety (MFDS). 2020. Food poisoning statistics. Available online: [https://www.foodsafetykorea.go.kr/portal/healthyfoodlife/foodPoisoningStat.do?menu\\_no=4425&menu\\_grp=MENU\\_NEW02](https://www.foodsafetykorea.go.kr/portal/healthyfoodlife/foodPoisoningStat.do?menu_no=4425&menu_grp=MENU_NEW02).
2. Song BS, Park JH and Kim JK. 2022. A state of the art on regulation and resech status for irradiation of meat products. State of the Art Report (AR-1439). pp. 31-37. Korea Atomic Energy Research Institute, Daejeon.
3. Ministry of Food and Drug Safety (MFDS). 2023. Food Code. Chapter 2. Common standards and specifications for general foods. Available online: <https://various.foodsafetykorea.go.kr/fsd/#/ext/Document/FC>.
4. European Standards. 2003. Foodstuffs-detection of irradiated food containing fat-Gas chromatographic analysis of hydrocarbons (EN1784). European standard store, Pilsen, Czech Republic.
5. European Standards. 2003. Foodstuffs-detection of irradiated food containing fat-gas chromatographic/mass spectrometric analysis of 2-alkylcyclobutanone (EN1875). European standard store, Pilsen, Czech Republic.
6. Ministry of Food and Drug Safety (MFDS). 2023. Food Code. Chapter 8. General test method. 10.2 Identification test for irradiated food. 10.2.5 Gas chrmatography/Mass spectrmtry. Available online: <https://various.foodsafetykorea.go.kr/fsd/#/ext/Document/FC>.
7. Ministry of Food and Drug Safety (MFDS). 2023. Food Code. Chapter 8. General test method. 10.2 Identification test for irradiated food. 10.2.1 DNA Comet assay. Available online: <https://various.foodsafetykorea.go.kr/fsd/#/ext/Document/FC>.
8. Song BS, Kim JK, Park JH, Park HY, Lee CK, Yoon YS, Hong HJ, Lee GA, Yoon KN, Song KY and Yoo JH. 2020. Development of identification method with high sensitivity for irradiated food. Research Report (RR-4632). pp. 26. Korea Atomic Energy Research Institute, Daejeon.
9. European Standards. 2002. Foodstuffs-DNA comet assay for the detection of irradiated foodstuffs-screening method (EN13784). European standard store, Pilsen, Czech Republic.
10. Song BS, Park JH and Kim JK. 2022. A state of the art on regulation and resech status for irradiation of meat products. State of the Art Report (AR-1439). pp. 63-65. Korea Atomic Energy Research Institute, Daejeon.
11. Park JH, Hyun CK, Jeong SK, Yi MA, Ji ST and Shin HK. 2000. Use of the single cell gel electrophoresis assay (Comet assay) as a technique for monitoring low-temperature treated and irradiated muscle tissue. *Int. J. Food Sci. Technol.* **35**:555-561. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2000.00418.x>.
12. Delincée H. 2002. Rapid detection of irradiated frozen hamburgers. *Radiat. Phys. Chem.* **63**:443-446. [https://doi.org/10.1016/S0969-806X\(01\)00535-7](https://doi.org/10.1016/S0969-806X(01)00535-7).
13. Marín-Huachaca N, Delincée H, Mancini-Filho J and Villavicencio ALCH. 2005. Use of the DNA comet assay to detect beef meat treated by ionizing radiation. *Meat Sci.* **71**:446-450. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2005.04.019>.
14. Durate RC, Araújo MM, Salum DC, Marchioni E and Villavicencio ALCH. 2009. Effects of the ionizing radiations, freezing and thawing duration on chicken liver cells quality. *Radiat. Phys. Chem.* **78**:631-634. <https://doi.org/10.1016/j.radphyschem.2009.04.005>.
15. Park JH, Kim JK, Park HY, Lee Y, Kim JH, Yeon YH and Song

- BS. 2019. Comet assay for rapid identification of irradiated perilla seeds and soybeans with gamma rays and electron-beams. *J. Radiat. Ind.* **13**(2):199-126. <https://www.ksri.kr/0304/index/field/eNortjK0UjJSSgZcMAkbAco./keyword/eNoBNVwyyv9zOjQ1Olwi6rCQ66eI7ISg6rO8IOyghOyekOyEoCDsobDsgqzssjrpqzrkJwg65Ok6rmoXCI7Sw8gZQ>
16. CaspLab. 2010. Comet Assay Software Project Files. [https://osdn.net/projects/sfnet\\_casp/downloads/casp/1.2.3beta1/casp\\_1.2.3b1.exe.zip](https://osdn.net/projects/sfnet_casp/downloads/casp/1.2.3beta1/casp_1.2.3b1.exe.zip).
17. Bevilacqua A and Zaritzky NE. 1980. Ice morphology in frozen beef. *J. Food Technol.* **15**:589-597. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1980.tb00978.x>.
18. Cooper GM. 1997. Lysosomes. pp. 379-381. In: *The Cell* (Cooper GM eds.), ASM Press, Washington D.C.
19. Cerda H and Koppen G. 1998. DNA degradation in chilled fresh chicken studied with the neutral comet assay. *Z. Lebensm. Unters. Forsch. A* **207**:22-25. <https://doi.org/10.1007/s002170050289>.
20. Cerda H, Delincee H, Haine H and Rupp H. 1997. The DNA 'comet assay' as a rapid screening technique to control irradiated food. *Mutat. Res.* **375**:167-181. [https://doi.org/10.1016/S0027-5107\(97\)00012-2](https://doi.org/10.1016/S0027-5107(97)00012-2).
21. Aylangan A and Vural H. 2013. Effects of storage time and temperature on detection of irradiated hamburgers with DNA Comet and gas chromatography/mass spectrometry analyses. *Academik Gida* **11**(1):13-19. <https://dergipark.org.tr/en/pub/akademik-gida/issue/55794/763798>.
22. Kim KS, Kim EA, Lee HJ, Yang JS and Byun MW. 1999. Quantitative comparison of Radiation-induced hydrocarbons from irradiated beef, pork and chicken. *Korean J. Food Sci. Technol.* **31**(2):301-307. <https://www.dbpia.co.kr/Society/articleDetail/NODE02154469?pubId=11037&selPid=&isView=N>.
23. Kim JS, Lee MJ and Hong CH. 2004. Solid phase extraction (SPE) method for detection of irradiated meats. *LWT - Food Sci. Technol.* **37**:559-563. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2004.01.001>.
24. Nam KC, Lee EJ, Ahn DU and Kwon JH. 2011. Dose-dependent changes of chemical attributes in irradiated sausages. *Meat Sci.* **88**:184-188. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2010.12.023>.
25. Kwon JH, Akram K, Nam KC, Lee EJ and Ahn DU. 2011. Evaluation of radiation-induced compounds in irradiated raw or cooked chicken meat during storage. *Poultry Sci.* **90**:2578-2583. <https://doi.org/10.3382/ps.2010-01237>.