KOREAN J. FOOD SCI. TECHNOL.
Vol. 32, No. 3, pp. 531~537(2000)

DNA Comet Assay를 이용한 과일의 방사선 조사 확인

오경남 · 박준영 · 김경은 · 양재승
한국원자력연구소 식품 검지실

Detection of Irradiated Fruits Using the DNA Comet Assay

Kyong-Nam Oh, Jun-Young Park, Kyeung-Eun Kim and Jae-Seung Yang
Detection laboratory Irradiated Foods, Korea Atomic Energy Research Institute

Abstract

The simple microgel electrophoresis of single cells, a 'comet assay', on fruit seeds enabled the rapid identification of irradiated fruits by comparing the intact non-irradiated cells and the damaged cells of irradiated fruits. Grapes and plums were irradiated with 0.1, 0.5, 0.7, 1.0 kGy and strawberries, peaches, apples, and nectarines were irradiated with only 1.0 kGy. Seeds were isolated, crushed, and the suspended cells were embedded in an agarose layer. After lysis of the cells, they were subjected to microgel electrophoresis for 2 minutes, and then stained. The DNA radiation-induced fragmentation of all the fruits stretched and migrated out of the cells forming a tail toward the anode giving the appearance of a comet, while the undamaged cells appeared as intact nuclei without tails. Grape and plum seeds irradiated at 0.5 kGy and higher showed significant increases in tail length. With increasing the irradiation doses, longer extention of the DNA from the nucleus toward the anode was observed. Strawberry, peach, apple, and nectarine seeds irradiated with 1.0 kGy also showed the longer tails than non-irradiated ones. DNA comet assay as a rapid and inexpensive screening technique could be an officially validated method for the detection of irradiated fruits.

Key words : comet assay, radiation, disinfestation, DNA migration, detection

서 론

식품의 방사선 조사는 식품의 위생 안전성, 저장기간 연장 등의 목적으로 여러국가에서 사용하고 있다[1]. 식품의 방사선 조사는 WHO, FAO, IAEA와 같은 국제기구에서 인정받았으며[2] 현재 40여 개국에서 허가되어 국제 교역에서 조사식품의 유통이 점차 증가하고 있고 이들의 생산도 점차 증가하고 있다. 그러나 이들 식품 중에는 조사가 금지된 품목도 있어서 국내로 유통될 경우 이를 통제해야 하고, 소비자들이 방사선 조사 식품에 대한 자유로운 선택을 할 수 있게 해줄 필요가 있다. 그러기 위해서는 식품의 방사선 조사가 허용된 산업시설의 행정관리와 처리식품에 대한 의무적인 확인절차가 있어야 하며 식품의 방사선 처리 여부를 직접 검지할 수 있어야 한다. 즉, 방사선 조사 식품에 대한 당국의 규제 강화, 그리고 표시 규정의 준수는 신뢰성 있고 정확한 검지방법의 활용으로 가능해질 것이다.

방사선 조사 식품에 대한 검지 방법이 여러방면으로 연구되고 있고[3-5] 이 중 몇가지 방법은 European standard로 확립되어 있다. 과일의 방사선 조사는 살충의 목적으로 1.0 kGy 이하로 조사하고 있는데 이의 검지 방법은 지방을 함유한 과일의 씨에서 hydrocarbon[6] 또는 2-alkylcyclobutanone와 같은 지방-유도 방사선 물질을 검사하는 GC분석[7,8], 그리고 과일의 표면에 있는 광물질을 이용하는 thermoluminescence(TL)[9,10]의 방법 등이 있다. 이러한 방법들은 정교하지만 비교적 비싼 장비가 요구되며 시료의 준비와 분석에 시간이 소요되는 단점이 있다. Half-embryo test[11]는 저선량으로 조사된 과일의 방사선 조사 검지방법으로서 비교적 시료준비가 간단하고 가격이 저렴하지만 분석시간이 적어도 4일 정도가 소요되는 단점이 있다. 생화학적 방법인 DNA comet 분석은 소형 전기영동 겔 방법으로

Corresponding author : Jae-Seung Yang, 150 Duckjin-dong Yusong-ku Taejon Korea 305-353. Detection Laboratory Irradiated Foods, Korea Atomic Energy Research Institute
Tel : 82-42-868-8064
Fax : 82-42-868-8064
E-mail : jsyang@kaeri.re.kr

방사선 조사에 의해 가장 민감하게 손상되는 DNA를 지표로서 검지하는 것이다[12]. 분자량이 큰 DNA가 방사선 조사에 의해 사슬이 절단되어 분자 크기가 작아지고 유동성이 커져서 전기영동에 의해 미끄러져 나가면 혜성 모양을 띠게 되는데 이렇게 형성된 comet의 tail length를 측정하여 방사선 조사 여부를 판단한다. Comet 분석은 단일세포에서 DNA 손상정도를 직접 측정할 수 있어 특정 처리 방법에 대한 종양반응을 예견할 수 있으며 다양한 실험 조건하에서 DNA 손상과 회복을 조사하는 데에도 이용될 수 있다. Comet 분석의 장점은 분석에 필요한 시료의 양이 적으며 세포간 DNA 손상정도와 회복의 차이점을 알 수 있고 분석결과는 하루안에 얻을 수 있다는 데 있다[13-16].

지금까지 comet assay의 식품에의 적용은 동물세포에서는 육류조직과 식물세포에서는 콩류, 깨류, 그리고 견과류의 식물조직을 중심으로 이루어져 왔으나 과일에 대한 연구는 아직 미흡한 실정이다. 따라서 본 연구에서는 과일류를 선택하여 과일류의 방사선 조사여부를 comet assay를 이용하여 정확하고 신속하게 확인하고 이의 검지 방법을 확립하고자 하였다.

재료 및 방법

시료 및 시약

본 실험에 사용된 과일은 포도, 자두, 딸기, 복숭아, 사과, 천도복숭아로, 시중 대형 마켓에서 구입하였다. 모든 과일은 1.0 kGy 이하의 선량으로 방사선 조사하고 과육을 제거한 후 씨를 추출하여 comet 분석을 하였다.

시약 가운데 sodium chloride, potassium chloride, sodium phosphate, potassium phosphate는 Sigma Chemical(St. Louis, MO., USA)제품이었고, normal melting point agarose(Sea Kem GTG)와 low melting point agarose(Sea Plaque GTG)는 FMC Bio Products (Rockland, USA) 제품, ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA, disodium salt), Tris-base, boric acid 및 sodium dodecylsulfate(SDS)는 Pharmacia Biotech (Uppsala, Sweden) 제품을 사용하였다.

시료의 방사선 조사

시료의 방사선 조사는 한국원자력 연구소의 ^{60}Co 감마선 조사 시설을 이용하여 시간당 일정한 선량률로 조사하였다. 포도와 자두는0.1, 0.5, 0.7, 1.0 kGy를 조사하였고 딸기, 복숭아, 사과, 및 천도복숭아는 1.0 kGy만을 조사하였으며 총 흡수선량은 ceric cerous dosimeter로 확인하였다.

Precoated agarose 슬라이드 준비

Precoated 슬라이드는 슬라이드의 시료와의 부착성을 주기 위해서 normal melting point agarose로 슬라이드의 한 면을 precoating하는 것이다. 슬라이드(76×26 mm, Marienfeld, Superior, Germany)는 methanol에 하룻밤 담근 후 먼지가 없이 깨끗하게 닦고 45℃로 유지되어 있는 0.5% normal melting point agarose 50 μl를 고르게 펴 실온에서 건조시켰다.

세포 현탁액 제조

과일의 씨를 추출하여 막자 사발로 세포에 손상을 주지 않을 정도로 부드럽게 마쇄하고 시료를 취하여 (0.1 g~0.25 g) ice bath상에 있는 삼각플라스크에 넣었다. PBS(phosphate buffered saline, pH 7.4) 시약 5~8 mL을 넣고 magnetic stirrer(Corning PC-410, USA)로 300 rpm에서 10분 동안 균질화시켰다. 이 현탁액을 200 μm nylon sieve cloth로 여과시키고 냉장온도에서 각 시료마다 최적시간을 정해 0~60분 동안 방치시켜 침전시킨 후 상층액을 취하여 100 μm nylon sieve cloth로 재 여과시키고 다시 ice-cold상에서 5분 동안 방치시킨 후 상층액을 취하여 comet 분석용으로 사용하였다. 이때 취한 세포 현탁액에는 세포의 수가 적어도 104/100 μl가 되도록 하였다.

세포의 슬라이드 겔 형성, 단백용해 및 전기영동

세포의 겔 형성, 단백용해(lysis) 및 전기영동은 Cerda 등[14]의 방법을 약간 수정하여 실시하였다. 제조된 세포 현탁액의 상층액을 취하여 따로 45℃로 유지된 0.72 % low-melting point agarose(PBS 용해)와 1 : 2의 비율로 혼합하였다. 혼합 용액 150 μl를 취하여 앞서 준비한 precoated 슬라이드 위에 놓고 공기방울이 생기지 않도록 빠른 속도로 커버 글라스 슬라이드(24×50 mm)로 고르게 펴주었다. 이 슬라이드를 ice-bath상에 놓아 세포 겔이 형성되도록 하여 시료마다 3개의 슬라이드를 준비하였다.

추출된 세포의 겔을 형성한 후 lysis buffer(2.5% SDS in 45 mM Tris-borate, 1 mM EDTA, pH 8.4)에 침지시켜 세포의 핵막과 단백질을 용해시켰다. 각 시료의 단백용해 시간은 딸기와 천도복숭아는 10분, 복숭아는 20분, 사과는 15분, 포도는 10분과 60분, 그리고 자두는 30분으로 하였다.

단백용해 용액에 용해된 슬라이드는 SDS가 들어있지 않은 TBE buffer(Tris-borate electrophoresis buffer,

pH 8.4)에 5분 동안 담근 후 물기를 제거하고 슬라이드의 agarose end가 전기영동 수조(Horizontal Electrophoresis Apparatus, Model BIA, Owl Scientific Inc., USA)의 anode쪽으로 향하도록 나란히 놓은 후 TBE buffer를 채웠다. 전기영동은 상온에서 2분 동안 복숭아를 제외하고 모두 2 V/cm의 조건으로 실시하였고 복숭아는 다른 시료에 비하여 비교적 쉽게 이동하여 전압을 낮춰 1 V/cm으로 실시하였다. 전기영동 후 슬라이드를 증류수로 5분 동안 흘려 세척하고 상온에서 1시간 동안 건조시킨 후 fixing solution으로 고정시킨 다음 다시 건조시키고 silver staining으로 염색하여 현미경으로 DNA comet을 관찰하였다.

DNA comet의 현미경 관찰

Silver staining으로 염색된 슬라이드상의 핵성 DNA comet을 표준 투과 현미경(Model SL8-1, Seoul Optical Co., Korea)으로 관찰하였다. 40배의 배율로 전체적인 comet의 양상을 살피고 CCD video camera (Model SDC-413 NAD, Samsung Electronics Co., Korea)로 화상을 관찰한 후 200배의 배율로 tail length를 측정하였다. Tail length의 측정은 각 시료마다 준비된 3개의 슬라이드에서 100개의 세포를 무작위로 추출하여 comet의 머리 중심에서부터 tail 끝까지의 길이를 측정하였다.

통계처리

무작위로 선택되어 측정된 100개의 comet의 tail length는 PC-SPSS(version 9.0 for windows)를 사용하여 통계분석 하였다. 통계분석은 ANOVA 프로그램의 Tukey's Honestly Significant Difference(HSD) test와 T-test를 이용하여 비조사된 시료와 조사된 시료의 tail length의 유의성을 검정하였고 포도와 자두의 경우는 조사선량간의 tail length의 유의성도 검정하였다. 또한 Pearson product moment correlation coefficient를 사용하여 조사선량과 tail length간의 상관관계도 알아보았다.

결과 및 고찰

포도와 자두

조사선량과 단백용해 시간을 달리하여 분석한 포도

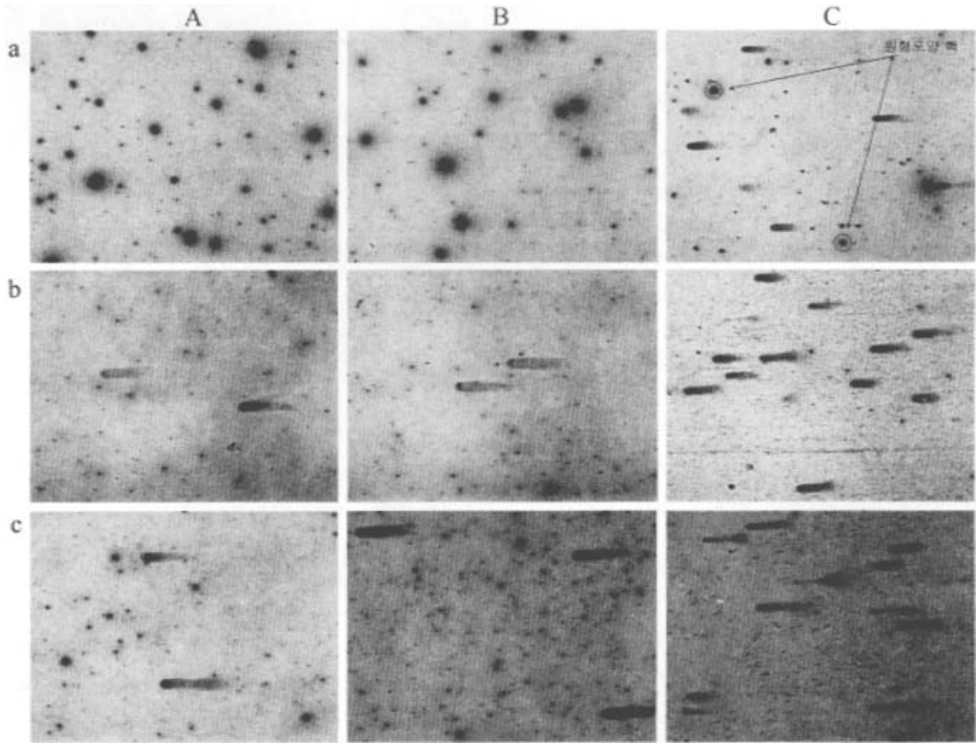

Fig. 1. DNA comets from grape seeds and plum seeds. Silver staining (Microscope objective×10). a: unirradiated, b: irradiated with 0.5 kGy, c: irradiated with 1.0 kGy (row). A: grape seeds (lysis 10 min), B: grape seeds (lysis 60 min) C: plum seeds (column).

씨의 comet tail 양상을 현미경으로 관찰한 결과(Fig. 1. A, B), 단백용해 10분과60분 모두 조사선량이 증가할수록 tail length가 길어짐을 확인할 수 있었고 비조사 시료(Fig. 1. a)와 조사 시료(Fig. 1. b, c)의 구분이 가능하였다. 단백용해 10분에서는 0.5 kGy와 1.0 kGy조사시료간에 육안구분이 가능하였고 단백용해 60분에서는 tail length가 서로 유사하여 육안 구분이 어려웠으나 염색의 차이가 있는 것으로 보아 이미지 분석기와 같은 정밀한 시스템으로 분석하면 정확한 확인이 가능하리라 생각된다. 자두씨에서도 선량이 증가할수록 tail이 길어지거나 끊어진 것이 관찰되었으며 비조사 시료에서는 사진에서 나타난 바와 같이(Fig. 1. C. a) comet 모양의 핵도 관찰되었지만 여전히 원형 모양의 핵이 관찰되고(좌측 위, 우측아래; 20 intact cells/100 cells) 조사시료(Fig. 1. C. b, c)에서는 comet 모양의 핵만 관찰되어 조사 시료와 비조사 시료의 comet 양상을 구분할 수 있었다. 모든 비조사 시료에서 comet 모양의 핵도 관찰되었지만 손상되지 않은 원형모양의 핵이 많이 관찰되었고(60~90 intact cells/100 cells) 반대로 조사시료에서는 원형모양의 핵이 거의 관찰되지 않아서 조사시료와 비조사시료의 구분이 가능하였다. 이의 결과는 비조사 시료에서 comet 모양의 핵이 관찰되기는 하였지만 항상 원형모양의 핵이 관찰되고 조사시료에서 comet 모양의 핵만 관찰되었다는 Delincee[17]의 연구결과와 같았다.

현미경으로 comet의 양상을 관찰한 후 각 선량에서 무작위로 100개의 세포를 선택하여 tail length를 측정하고 이의 평균값을 그래프로 나타내 본 결과(Fig. 2), 포도씨와 자두씨 모두 선량이 증가할수록 tail length가 증가하는 경향으로 나타났다. 포도씨의 경우는 0.5 kGy에서부터 급격한 상승을 보였으나 이후의 선량에서는 뚜렷한 증가를 나타내지 않았다. 자두씨에서는 0.1 kGy에서부터 0.5 kGy까지는 tail length가 상당히 증가하다가 이후부터 완만한 증가곡선을 나타내었다. Cerda 등[14]은 과일의 씨가 동물성 세포에 비해 외부요인(온도, 화학적·물리적 충격)에 비교적 쉽게 영향을 받고 세포가 손상되어 1.0 kGy 이하의 저선량에서는 비조사 시료와 조사 시료간의 차이를 뚜렷하게 확인하기 어렵다고 하였으나 본 연구에서는 0.1 kGy의 선량을 제외하고 0.5 kGy이상의 선량에서는tail length가 많이 증가되어 비조사 시료와 조사시료의 차이를 확인할 수 있었다.

비조사 시료와 각 선량에서 조사된 시료의 tail length 간에 유의성을 검정한 결과(Table 1), 포도씨를 10분간 단백용해한 경우는 비조사 시료와 0.1 kGy조사시료, 그리고 0.7 kGy와 1.0 kGy 조사시료간에는 유의적인 차이가 없었으나($p>0.05$) 비조사 시료에 대한 조사 시료의tail length는 유의적으로 증가하였다. 단백용해 시간을 60분으로 한 경우는 0.5 kGy까지는 선량이 증가할수록 tail length가 유의적으로 증가하였고($p<0.05$), 0.5 kGy와 1.0 kGy사이에서는 유의적인 증가를 보이지 않았다($p>0.05$). 또, 각 선량에서 10분과 60분의 결과를 비교해 보면, 0.5 kGy와 1.0 kGy에서는 단백용해 60분한 tail length가 단백용해10분한 tail length보다 유의적으로 더 높았으나($p<0.05$) 이외의 선량에서는 유의적인 차이를 나타내지 않았다($p>0.05$). 특히 비조사 시료의 경우 단백용해 10분한 경우의 tail length가 더 길게 측정되었는데 이는 단백용해 조건외에 외부적 충격때문으로 생각된다. Olive 등[18]에 의하면 몇가지 기술적 및 생물적 요인이 DNA 이동에 영향을 미친다고 하였는데 특히 세포의 단백분해 정도는 단백용해 시간에 좌우되고 단백용해 시간은 DNA 손상을 검지하

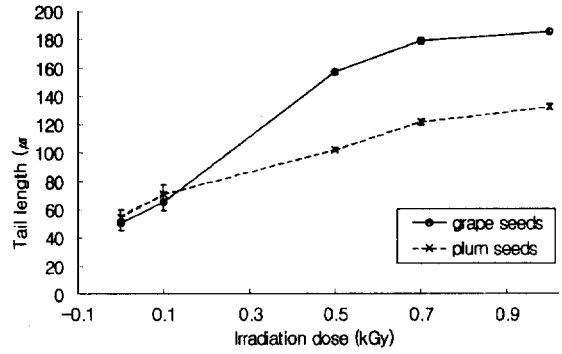

Fig. 2. Fig. 2. Plots of comet tail length of grape seeds and plum seeds vs. irradiation dose.
Values are mean of tail length and standard error (bar) from 100 comets.

Table 1. The comet tail length* of grape seeds and plum seeds by irradiation dose and lysis time. (unit: μm)

Samples	Grape seeds		Plum seeds
Irradiation dose (kGy)	Lysis 10min	Lysis 60min	
unirradiated	^{A}59.00±5.15^{a}	^{A}42.40±5.57^{b}	^{A}55.06±5.16
0.1	^{A}65.59±6.38^{a}	^{B}66.73±6.59^{a}	^{B}71.37±5.93
0.5	^{B}157.05±1.75^{a}	^{C}198.31±2.84^{b}	^{C}102.16±1.56
0.7	^{C}178.92±2.39^{a}	^{E}176.49±2.07^{a}	^{D}121.60±1.83
1.0	^{C}185.68±1.56^{a}	^{C}197.00±1.49^{b}	^{D}132.58±1.86

*Mean and standard error of tail length from 100 comets.
$^{A-C}$Means with different superscripts in the same column differ significantly ($p<0.05$).
^{a,b}Means with different superscripts in the same row differ significantly(grape seeds, $p<0.05$).

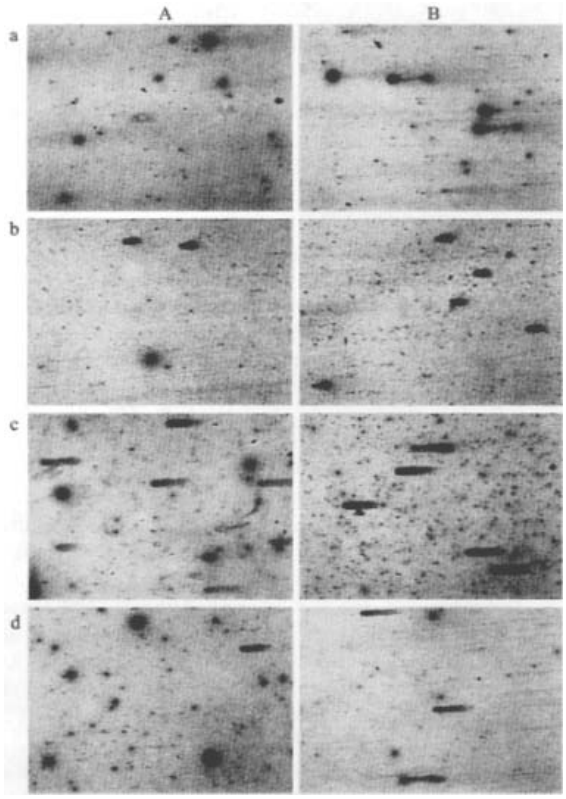

Fig. 3. DNA comets from fruit seeds. Silver staining (Microscope objective×10).
a: unirradiated, b: irradiated with 1.0 kGy (column). A: strawberry seeds, B: peach seeds, C: apple seeds, D: nectarine seeds (row).

는 능력에 많은 영향을 미친다고 하였다. 본 연구에서는 단백용해 60분한 tail length가 단백용해 10분한 tail length보다 더 긴 경향이었으나 0.5 kGy와 1.0 kGy를 제외하고는 유의적인 차이를 나타내지 않았으므로 단백용해 시간에 따른 영향을 더 많이 살펴볼 필요가 있는 것으로 생각되었다. 자두씨의 경우, 조사 선량이 증가할수록 유의적으로 tail length가 증가하였고($p<0.05$) 0.5 kGy부터는 급격히 증가하였으나 0.7 kGy와 1.0 kGy 간에는 유의적인 차이를 나타내지 않았다($p>0.05$). 한편, 자두씨와 포도씨 모두 비조사 시료와 0.1 kGy의 낮은 선량에서 평균값에 대한 standard error(Table 1)의 크기가 크게 나타났는데 이는 비손상된 세포의 원형모양의 핵과 손상된 세포의 comet 모양의 핵이 모두 관찰되었고 무작위로 100개의 세포를 선택하여 tail length를 측정한 결과로써 standard error의 값이 크게 되었다. 그러나 0.5 kGy이상의 선량에서는 손상된 세포의 comet 모양의 핵이 전반적으로 균일하게 나타나

Table 2. The comet tail length* of strawberry, peach, apple, and nectarine. (unit: μm)

Irradiation dose / Sample	Unirradiated	1.0kGy
Strawberry seeds	64.49±6.00[a]	150.17±4.78[b]
Peach seeds	39.56±1.55[a]	56.52±0.57[b]
Apple seeds	118.72±3.01[a]	152.51±1.29[b]
Nectarine seeds	87.70±3.37[a]	161.08±1.52[b]

*Mean and standard error of tail length from 100 comets.
[a-d]Means with different superscripts in the same row differ significantly ($p<0.05$).

평균값에 대한 standard error의 값은 낮았다. 또, 포도씨와 자두씨에서 조사선량과 tail length간의 상관관계를 살펴본 결과, 상관계수(r : correlation coefficient)가 각각 0.705($p<0.01$), 0.608($p<0.01$)로 매우 높아서 조사선량이 tail length에 상당한 영향을 미치는 것을 알 수 있었다.

딸기, 복숭아, 사과, 및 천도복숭아

딸기, 복숭아, 사과, 및 천도복숭아의 comet 분석결과를 현미경으로 관찰한 결과(Fig. 3) 모든 과일에서 비조사(Fig. 3.a) 시료보다 조사시료(Fig. 3.b)의 tail length가 더 긴 것으로 관찰되었으며, 비조사 시료에서 comet 모양의 핵이 관찰되기도 하였지만 비 손상된 원형모양의 핵이 항상 동반되었고 1.0 kGy조사 시료에서는 원형모양의 핵이 없이 comet모양의 핵만 관찰되어 비조사 시료와 1.0 kGy조사시료의 육안구분이 가능하였다. 사과씨의 경우는(Fig. 3.C) 비조사 시료의 tail length가 비교적 긴 편이었으나 1.0 kGy조사 시료에 비해서 짧았고 염색의 정도도 약한 것으로 나타나 조사시료와 구분이 가능하였다.

각각의 시료에서 100개의 comet을 무작위로 선택하여 tail length를 측정하고 통계분석한 결과(Table 2) 모두 1.0 kGy조사시료의 tail length가 비조사 시료보다 유의적으로 더 긴 것으로 나타났다($p<0.05$). 딸기씨와 천도복숭아씨는 복숭아와 사과씨보다 비교적 standard error값이 컸으며 사과씨의 경우는 tail length가 비조사 시료와 조사시료에서 각각 118.72 μm, 152.51 μm로 다른 시료보다 매우 길게 측정되었다.

1.0 kGy이하에서 과일 세포는 시료마다 comet 양상이 매우 다르게 나타나고 세포의 손상도 동물세포에 비해서 외부 요인에 쉽게 영향을 받아서 방사선 조사에 의한 손상을 뚜렷하게 구분하기가 어려웠다. 따라서 과일을 포함한 식물성 세포의 방사선 조사에 의한 DNA 손상을 정확하게 확인하기 위해서는 조사선량과

함께 세포추출, 단백용해 조건 그리고 전기영동 조건 등 comet 분석의 다양한 방법을 적용시키거나 이미지 분석기를 이용하여 comet 양상을 비교해 볼 필요가 있는 것으로 생각된다. 결론적으로, Cerda[19]의 연구에서처럼 육류조직인 동물성 세포에서는 comet assay에 의해 방사선 조사유무의 확인이 용이하였으나 과일에서는 비교적 확인이 어려웠다. 그러나 측정된 tail length의 통계분석을 통해 충분히 확인할 수 있어서, "comet assay"가 간단하고 비교적 저렴한 장비로 단시간내에 과일의 방사선 조사 여부를 판별할 수 있는 검지방법임을 확인하였다.

요 약

과일의 방사선 조사 여부를 DNA comet assay로 확인하였다. 포도, 자두, 딸기, 복숭아, 사과, 천도복숭아를 구입하여 1.0 kGy이하의 저선량으로 조사하고 비조사 시료와 조사시료간의 DNA 손상정도를 육안 검사 및 측정된 comet tail length로 비교하였다. 모든 시료에서 비조사 시료보다 조사시료의 tail length가 더 길었으며 포도와 자두는 0~0.5 kGy에서 뚜렷한 증가가 관찰되었다. 특히 자두의 비조사 시료는 포도, 딸기, 복숭아, 사과, 그리고 천도복숭아의 비조사 시료에 비해서 손상된 세포의 comet 모양의 핵이 많이 관찰되기는 하였으나 항상 비손상된 세포의 원형모양의 핵이 동반되었으며 조사된 시료에서는 모두 전반적으로 comet 모양의 핵이 관찰되어 비조사 시료와 조사시료간에 comet 양상을 비교할 수 있었다. Comet 분석을 이용한 과일의 방사선 조사 유무의 확인은 비조사 시료와 조사시료의 tail length의 측정 및 육안 검사 그리고 통계분석으로 확인이 가능하였다. 한편, 이미지 분석기와 같은 정밀한 시스템이 동반되면 저선량으로 조사된 시료들간의 comet 양상을 정확하게 확인하는 것이 가능하다고 생각된다. 따라서 식품의 'DNA comet assay'는 시료의 저장상태 및 화학적·물리적 충격에 대한 몇가지 제한점을 가지고 있지만 간단하고 신속하게 검지할 수 있으므로 다양한 식품의 방사선 조사 유무를 확인하는데 유용하게 활용될 수 있을 것으로 기대한다.

감사의 글

본 연구는 1999년도 과학기술부의 원자력 중장기 연구비 지원으로 수행된 연구결과의 일부로서 이에 감사드립니다.

문 헌

1. Loaharanu, P. Food irradiation: current status and future prospects. Blackie Academic & Professional, Glasgow, 90-111 In New Methods of Food Preservation .Gould. G.W. (1995)
2. WHO. Wholesomeness of Irradiated Food. Report of a Joint FAO/IAEA/WHO Expert Committee, Technical Report Series, Geneva, Switzerland (1981)
3. Delincee, H. Introduction to DNA methods for identification of irradiated foods. Royal Society of Chemistry, Cambridge, UK, 345-348 In Detection Methods for Irradiated foods-Current Status. McMurray, C.H., Stewart, E.M., Gray, R. and Pearce, J. (1996)
4. Raffi, J., Delincee, H., Marchioni, E., Hasselmann, C., Sjoberg, A.M., Leonardi, M., Kent, M., Bogl, K.W., Schreiber, G., Stevenson, H., and Meier, W. Concerted action of the Community Bureau of Reference on methods of identification of irradiated food. Final Report, EUR-15261, European Commission, Luxembourg, 1-119 (1994)
5. McMurray, C.H., Stewart, E.M., Gray, R., and Pearce, J. Detection methods for Irradiated Foods-Current Status. Royal Society of Chemistry, Cambridge, UK (1996). Moy, J.H., ed. Radiation Disinfection of Food and Agricultural Products, University of Hawaii at Manoa, Honolulu, USA (1985)
6. Schreiber, G.A., Helle, N., and Bogl, K.W. Detection of irradiated food-method of routine applications. Int. J. Radiat. Biol. 63: 105-107 (1993)
7. Boyd, D.R., Crone, A.V.J., Hamilton, J.T.G., Hand, M.V., Stevenson, M.H., and Stevenson, P.J. Synthesis, characterization, and potential use of 2-dodecylcuclobutanone as a marker for irradiated chicken. J. Agric. Food Chem. 39: 789-793 (1991)
8. Crone, A.V.J., Hamilton, J.T.G., and Stevenson, M.H. Effect of storage and cooking on the dose response of 2-dodecylcyclobutanone, a potential marker for irradiated chicken. J. Sci. Food Agric. 58: 249-257 (1992)
9. Schreiber, G.A., Ziegelmann, B., Quitzsch, G., Helle, N., and Bogl, K.W. Luminescence techniques to identify the treatment of foods by ionizing radiation. Food Structure 12: 385-396 (1993)
10. Schreiber, G.A., Helle, N., and Bogl, K.W. An interlaboratory trial on the identification of irradiated spices, herbs and spice-herb mixtures by thermoleuminescence analysis. J. AOAC Int. 78: 88-93 (1995)
11. Kawamura, Y., Sugita, T., Yamada, T., and Saito, Y. Half-embryo test for identification of irradiated citrus fruit: Collaborative study. Radiat. Phys. Chem. 49: 665-668 (1996)
12. Delincee, H., Marchioni, E., and Hasselmann, C. Changes in DNA for the detection of irradiated food. EUR-15012, Commission of the European Communities, Luxembourg, 1-24 (1993)
13. McKelvey-Martin, V.J., Green, M.H.L., Schmezer, P., Pool-Zobel, B.L., De Meo, M.P. and Collinns, A. The single cell gel electrophoresis assay (comet assay): A European review. Mutation Res. 288: 47-63 (1993)

14. Cerda, H., Delincee, H., Haine, H., and Rupp, H. The DNA "Comet Assay" as a rapid screening technique to control irradiated food. Mutation Res. 375: 167-181 (1997)
15. Fairbairn, D.W., Olive, P.L., and O'Neill, K.L. The comet assay: a comprehensive review. Mutation Res. 339: 37-59 (1995)
16. Ahnstrom, G. Techniques to measure DNA single strand breaks in cells. Int. J. Radiat. Biol. 54: 697-707 (1988)
17. Delincee, H. Detection of irradiated food: DNA fragmentation in grapefruits. Radiat. Phys. Chem. 52(1): 135-139 (1998)
18. Olive, P.L, Wlodek, D., Durand, R.E., and Banath, J.P. Factors influencing DNA migration from individual cells subjected to gel electrophoresis. Exp. Cell Res. 198: 259-267 (1992)
19. Cerda, H. Detection of irradiated frozen food with the DNA 'Comet Assay'. Radiat. Phys. Chem. 52: 141-144 (1977)

(2000년 2월 24일 접수)