

넙치 및 마우스에서 방사선 조사 및 Butylated Hydroxyanisole을 첨가한 사료투여의 안전성

김세라 · 김성호¹

전남대학교 수의과대학, 생물공학연구소

The Safety of Food Treated with Gamma Radiation and Butylated Hydroxyanisole in the Feed of Flounder (*Paralichthys olivaceus*) and Mouse

Se-ra Kim and Sung-ho Kim¹

College of Veterinary Medicine, Biotechnology Research Institute, Chonnam National University

Abstract : We evaluated the wholesomeness of fish feeds treated with high-dose radiation. This study examined the safety of fish fed treated with high-dose irradiation (5 kGy) and butylated hydroxyanisole (BHA, 200 ppm). 100 flounder (*Paralichthys olivaceus*) were grouped into 4 and then the fishes fed the following feeds for 28 days: (1)standard feed; (2)standard feed, treated with BHA; (3)standard feed, irradiated to 5 kGy; (4)standard feed, treated with BHA and irradiated to 5 kGy. Four groups each 10 mice were fed the fish feeds same as (1)-(4) for 14 days. There were no observable differences between fishes fed the irradiated feed and those fed the standard feed with respect to growth, feed consumption, haematology and organ histopathology parameters. There were no deviations in feed consumption, haematology and organ histopathology parameters in the experiment of mice. We concluded that there were no irradiation-related effects.

Key words : gamma-radiation, fish feed, safety

서 론

양식어류의 사료는 어종에 따라 양식생산 단가의 30-60%를 차지하고 있으며 따라서 저가의 사료개발이 주요 관심사이다. 최근 양어용 배합사료의 개발이 추진되고 있으나 어류의 섭식습관, 영양소 요구량, 대체 단백질원 등이 포유류와 상이하여 많은 어려움이 있다. 양어용 사료는 고등어, 까나리, 새우, 전어, 전갱이 및 기타 잡어를 그대로 사용하는 생어사료, 생어사료에 배합사료를 일정비율로 혼합하는 습사료가 주로 사용된다²⁰.

방사선 조사 식품에 대한 연구는 대부분 사람의 식품을 대상으로 한 연구이며 동물사료에 대한 방사선의 조사는 주로 소형 무균실험동물의 사육을 위하여 실시되었고 일부 닭 및 돼지의 사료를 대상으로 실험적으로 적용되고 있는 실정이며 양어사료에 대한 실제적용 예는 전무하다^{3,6,7,10,17}. 따라서 방사선 조사의 산업적 적용의 다양화와 동물사료의 위생화라는 관점에서 다양한 동물사료를 대상으로 한 연구가 요구된다.

산업적으로 가장 많이 이용되고 있는 감마선은 투과력이 강하여 제품을 완포장된 상태로 연속처리 할 수 있어 살균처리 후 재포장에 따른 2차 오염의 방지와 에너지의 효율을 높일 수 있고, 제품의 품온상승(국제적으로 건전성이 허가된 10 kGy 조사시 물과 같은 열용량을 가진 산물에서 약 2.4°C 상승)에 따른 성분의 파괴를 최소화하고 외관의 변화를 막을

수 있는 냉온살균살충방법이며, 화학훈증제나 보존제와는 달리 유해성분의 생성이나 잔류성분이 없다는 장점과 처리시 환경조건의 영향을 거의 받지 않는 특징이 있다. 또한 방사선 조사기술은 기존의 방법에 비하여 에너지 소요가 월등히 적어 경제적 측면과 제품의 품질유지면에서도 장점으로 고려되어지고 있다².

과거 감마선 조사기술의 이용은 주로 발아, 발근억제 및 숙도 지연 등과 같은 저장성 향상을 목적으로 사용되어 왔으나, 최근에 이르러서는 병원성 미생물 살균기술이나 저장해충 구제의 목적으로 주로 이용되고 있다¹⁴. 감마선 조사식품의 안전성(safety) 평가는 발암성 등의 만성적 건강장해를 포함한 독성학적 안전성(toxicological safety)과 생명유지 및 건강증진에 필요한 식품 본래의 영양학적 적합성(nutritional adequacy), 미생물학적 안전성(microbiological safety)등 주요한 범주에 대한 안전성이 지난 50여년간 국제적인 프로젝트로 종합적인 검토와 함께 지속적으로 연구되어 왔다^{1,2,4,5,13,15,16}.

저자 등은 양어용 사료로 이용되는 생어사료와 배합사료에 방사선을 조사하여 어류에서 주요 병원성세균의 방사선 민감도를 파악하였고¹⁸, 방사선 조사가 사료의 조성분 변화에 미치는 영향, 방사선조사 또는 자연산화에 의한 사료의 산패 정도 및 BHA에 의한 산화지연 효과를 관찰한 바 있다¹⁹. 따라서 본 연구에서는 넙치 및 마우스를 대상으로 방사선 조사 사료 또는 BHA 혼합 사료 투여에 대한 생체 안전성의 관점에서 일반 증상, 혈액학적 및 병리조직학적 관찰을 수행하였다.

¹Corresponding author.
E-mail : shokim@chonnam.ac.kr

재료 및 방법

사료에 대한 방사선 조사

감마선 조사는 한국원자력연구소에 소재하는 감마선 조사 시설(선원: ^{60}Co , 10만 Ci)을 이용하여 분당 25 Gy의 선량으로 사료에 5 kGy의 최종흡수선량을 받도록 하였다. 흡수선량의 확인은 ceric cerous dosimeter (USA)를 사용하였고 흡수선량의 오차는 ± 2 Gy였다.

공시어 및 어류 시험군의 설정

가두리 양식장에서 사육하던 넙치를 구입하였고 체중은 평균 34 g, 평균체장은 16.7 cm였다. 공시어는 연구실의 사육 수조에서 4일간 안정시켜 적응시킨 후 무작위로 시험군 별로 분류 사용하였다. 각 공시어는 순환여과장치가 설치된 수조($23 \pm 1^\circ\text{C}$)에서 사육하였으며 사료는 1일 2회 투여하였고 28일간 사육하였다. 무처리 기본사료는 생사료용 냉동 고등어 70%에 배합사료 (아쿠아퍼펙트 2호, 우성사료주식회사) 30%를 혼합한 습사료를 적용하였다.

시험군은 넙치에 대한 방사선 조사 사료 및 BHA 혼합사료의 안전성 확인을 위하여 무처리 사료투여군, BHA혼합(200 ppm)사료투여군, 방사선 조사 (5 kGy)사료투여군 및 BHA혼합후 방사선조사 사료투여군으로 분류하였다. 사료효율과 폐사량의 관찰을 위하여 시험군은 각 25 마리씩으로 하였으며 시험사료투여전에 평균 체중을 측정하고 시험종료시 생존개체에 대한 평균체중을 산출하였으며 누적폐사량을 파악하였다.

넙치시험에서의 혈청 생화학치 검사

실험종료시 생존어는 혈액을 채취하여 혈청 생화학 검사를 실시하였다. 공시어를 lidocain(제일제약주식회사) 350 ppm으로 침지 마취하고 미부에서 채혈하였으며 응고 후 원심분리하여 얻은 혈청에 대하여 총 단백질(total protein, TP), 당(glucose, GLU), aspartate transaminase(AST), alanine transaminase(ALT), creatinine(CRTN), blood urea nitrogen (BUN), 총 빌리루빈(total bilirubin, TBIL), 총 콜레스테롤(total cholesterol, TCHO), alaine phosphatase(ALP) 및 lactate dehydrogenase(LDH)를 자동혈청생화학분석기(Vitros

DTII, Johnson & Johnson Clinical Diagnostics, USA)를 이용하여 측정하였다.

마우스 시험군의 설정

미국 NIH에서 분양받아 본 연구실에서 사육번식한 7주령 자성 ICR마우스를 시험군 당 10마리씩 사용하였으며 방사선 조사 또는 BHA 혼합 양어용 사료의 안전성을 파악하기 위하여 마우스에 동일사료를 투여하였다. 시험군은 무처리 사료투여군, BHA혼합 사료투여군, 방사선 조사 사료투여군 및 BHA혼합후 방사선 조사 사료투여군으로 분류하였으며 2주간 자유롭게 급여하였다.

마우스 시험군의 병리학적 검사

실험종료 시 ether마취 후 복대동맥에서 채혈을 실시하였고 혈액수치의 변화를 혈구자동분석기(Hemavet 850, CDC Technologies, Inc., USA)를 사용하여 적혈구수, 혈색소, 전혈중 평균 적혈구 체적(mean corpuscular volume, MCV), 적혈구에서 혈색소의 평균 질량(mean corpuscular hemoglobin, MCH), 적혈구의 체적에서 혈색소의 평균 질량(mean corpuscular hemoglobin concentration, MCHC), 적혈구 용적(hematocrit), 혈소판수, 총 백혈구수, 중성호성백혈구수, 림프구수, 단핵구수, 산성호성백혈구수 및 염기호성백혈구수를 측정하였다. 혈청을 분리하여 어류 시험군에서와 같은 방법으로 혈청 생화학 검사를 실시하였다. 체중을 측정하고 부검 후 장기중량 (간장, 비장, 심장, 신장, 폐), 육안 및 병리조직학적 검사를 실시하였다.

결 과

넙치시험에서의 사료효율 및 누적폐사량

Table 1 및 Fig 1에서와 같이 무처리 사료투여군의 평균 체중은 42.8 g, 사료효율은 28.3%, 누적폐사율은 32%, BHA 혼합 사료투여군의 평균체중은 45.9 g, 사료효율은 31.8%, 누적폐사율은 4%, 방사선 조사 사료투여군의 평균체중은 43.9g, 사료효율은 34.2%, 누적폐사율은 16%, BHA 혼합 후 방사선 조사 사료투여군의 평균체중은 42.2 g, 사료효율은 23.5%, 누적폐사율은 24%를 보였으며 따라서 사료에 대한

Table 1. Summary of feed efficiency and cumulative mortality after administration with feed irradiated to 5 kGy and/or treated with BHA at 200 ppm in fish

Groups	Mean BW before experiment (g)	Mean BW after experiment (g)	Feed efficiency (%)	Cumulative mortality (No. of fish)
NC	33.3	42.8	28.3	8/25
BHA	35.2	45.9	31.8	1/25
RC	32.4	43.9	34.2	4/25
BHA + R	34.3	42.2	23.5	6/25

NC : Normal feed, BHA : Feed treated with BHA at 200 ppm

RC : 5 kGy-irradiated feed, BHA + R : Feed treated with BHA and irradiation.

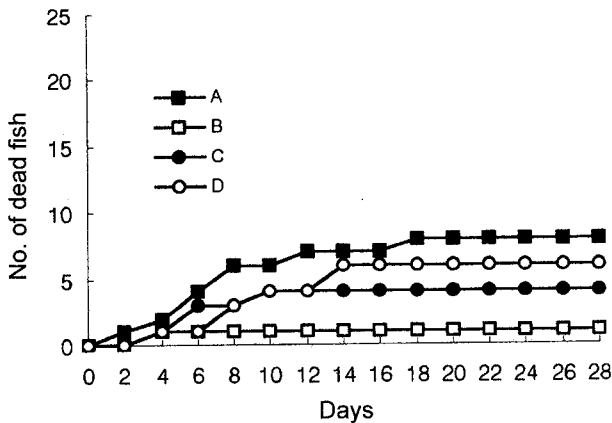


Fig 1. Cumulative mortality after administration with feed irradiated to 5 kGy and/or treated with BHA at 200 ppm for 28 days in fish. A: Normal feed, B: Feed treated with BHA at 200ppm, C: 5 kGy-irradiated feed, D: Feed treated with BHA and irradiation.

방사선 조사 또는 BHA 혼합에 의한 급격한 사료효율의 감소 또는 누적폐사량의 증가는 없었다.

넙치시험에서의 혈청 생화학치

Table 2에서와 같이 평균수치에서 총 단백질, 당, creatinine, 총 빌리루빈치에서 시험군간 현저한 변화는 없었으며 검사항목에 따라서 심한 개체차이를 보였으나 대부분 어류에서 알려진 정상치 범위내의 수치였다.

마우스시험에서의 병리학적 관찰

투여사료의 종류에 따른 시험군 별 마우스에서 임상증상 및 외부소견의 이상은 관찰되지 않았다. 각 실험군의 체중, 장기중량, 혈액학적 소견에서도 투여사료의 종류에 따른 차이는 없었으며(Table 3-Table 5) 병리조직학적 검사에서도 이상소견은 없었다.

고 찰

방사선 식품조사는 다양한 선량의 범위에서 몇몇 식품에서 관찰된 특정 성분의 함유량 감소나 특유한 방사선분해물의 생성 유무로, 조사식품을 일반식품으로 사용하는 것에 대한 찬반의 논란이 끊임없이 이루어져 왔다. 이에 따라 조사식품의 안전성에 대해 과거 40년 이상 수백 건의 안전성시

Table 2. Serum biochemical values in the fish after administration with feed irradiated to 5 kGy and/or treated with BHA at 200 ppm

Parameter	Normal Values	Groups			
		NC	BHA	RC	BHA+R
TP (g/dl)	2.0-6.2	2.0	2.8	2.1	3.1
GLU (mg/dl)	15-256	23.0	21.6	20.0	22.0
AST (IU/L)	4-368	62.0	18.3	4.0	11.5
ALT (IU/L)	4-29	7.0	3.0	3.0	3.0
CRTN (mg/dl)	0-1.0	0.27	0.18	0.20	0.23
BUN (mg/dl)	1-10	4.0	2.6	3.0	1.0
TBIL (mg/dl)	0-2	0.07	0.05	0	0.15
TCHO (mg/dl)	20-209	35	102	35	137
ALP (IU/L)	8-200	37	72	36	66
LDH (IU/L)	27-1000	1150	727	271	1230

NC : Normal feed, BHA : Feed treated with BHA at 200 ppm
 RC : 5 kGy-irradiated feed, BHA + R : Feed treated with BHA and irradiation.

Table 3. Body weight and organ weight after administration with fish feed irradiated to 5 kGy and/or treated with BHA at 200 ppm in mouse

Groups	Body weight (g)	Organ weight mg/g of body weight					
		Liver	Spleen	Heart	Kidney		Lung
					Left	Right	
NC	30.1±1.3	72.0±6.9	5.7±0.3	6.6±0.7	10.4±0.6	10.8±1.0	7.5±0.5
BHA	31.8±1.9	76.5±5.5	6.2±1.3	6.1±1.1	11.1±1.6	11.9±1.6	8.3±1.6
RC	30.8±0.8	76.5±6.1	6.0±0.8	6.0±0.4	9.9±0.7	10.6±0.7	8.4±0.2
BHA + R	29.8±1.3	79.2±4.8	6.1±0.3	6.6±1.0	10.2±1.1	11.4±0.8	8.1±0.9

NC : Normal feed, BHA : Feed treated with BHA at 200 ppm
 RC : 5 kGy-irradiated feed, BHA + R : Feed treated with BHA and irradiation.

Table 4. Hematological values in the mouse after administration with fish feed irradiated to 5 kGy and/or treated with BHA at 200 ppm

Parameter	Groups			
	NC	BHA	RC	BHA+R
Erythrocyte (M/ul)	9.03±0.24	8.72±0.34	9.31±0.41	9.01±0.96
Hemoglobin (g/dl)	14.93±0.85	13.45±0.71	14.10±0.43	12.96±0.81
MCV (fL)	55.35±3.89	53.21±5.42	51.85±6.73	57.65±2.27
MCH (pg)	16.56±0.42	15.71±0.76	14.91±1.53	16.23±0.92
MCHC (g/dl)	27.95±1.06	24.43±1.44	28.55±1.06	26.01±1.22
Hematocrit (%)	49.35±5.30	46.41±1.43	48.25±2.94	49.18±1.47
Thrombocyte (k/ul)	856±228	954±348	880±202	876±171
Leukocyte (k/ul)	9.44±1.41	9.59±1.23	9.01±1.69	9.13±1.13
Neutrophil (k/ul)	2.49±0.56	2.31±0.41	2.41±0.76	2.23±0.71
Lymphocyte (k/ul)	6.43±1.80	6.82±0.94	6.13±1.31	6.46±1.71
Monocyte (k/ul)	0.30±0.18	0.31±0.16	0.30±0.11	0.29±0.18
Eosinophil (k/ul)	0.16±0.05	0.12±0.03	0.13±0.04	0.13±0.02
Basophil (k/ul)	0.04±0.02	0.02±0.01	0.03±0.02	0.02±0.01

NC : Normal feed, BHA : Feed treated with BHA at 200 ppm

RC : 5 kGy-irradiated feed, BHA + R : Feed treated with BHA and irradiation.

Table 5. Serum biochemical values in the mouse after administration with fish feed irradiated to 5 kGy and/or treated with BHA at 200 ppm

Parameter	Groups			
	NC	BHA	RC	BHA+R
TP (g/dl)	4.73±0.4	4.96±0.34	4.88±1.02	5.03±0.17
GLU (mg/dl)	129.5±23.6	157.2±9.36	125.8±13.0	134.5±11.3
AST (IU/L)	75.8±10.1	76.6±12.4	69.0±18.5	77.3±16.6
ALT (IU/L)	45.3±6.3	49.0±9.8	46.7±4.0	45.0±15.3
CRTN (mg/dl)	0.23±0.05	0.24±0.05	0.23±0.05	0.20±0.04
BUN (mg/dl)	23.8±1.3	21.2±1.5	22.0±1.4	21.3±1.7
TBIL (mg/dl)	0.33±0.15	0.32±0.09	0.26±0.08	0.29±0.10
TCHO (mg/dl)	102.3±26.8	125.8±17.9	112.5±12.2	94.3±26.3
ALP (IU/L)	111.3±19.8	95.3±10.5	111.3±15.5	108.7±16.5

NC : Normal feed, BHA : Feed treated with BHA at 200 ppm

RC : 5 kGy-irradiated feed, BHA + R : Feed treated with BHA and irradiation.

험이 이루어져왔으며, 모든 독성학적인 영향을 평가하기 위해 다양한 선량을 조사한 많은 종류의 식품이 rat, mouse, hamster, 돼지, 개, 원숭이에 투여되었다¹³. 지금까지의 연구 결과의 분석에서 조사식품의 안전성에 문제가 없다는 결론에 도달하였음에도 불구하고 일부 소비자들은 부정적인 선입견을 가지고 있는 실정이다. 이를 불식시킬 수 있는 방법은 실험상으로 그 안전성을 검증하여 그 결과를 토대로 소비자들을 교육, 홍보하는 것이다. 이를 위해서는 방사선 조사 식품에 대해 유독성 물질의 유발, 영양소의 파괴, 유전변이 물질의 유발, 발암성 물질의 생성, 방사성 물질의 유발, 잔류 내성세균에 의한 유해 등에 대한 다각도의 검토가 필요하다.

조사 식품에 대한 안전성 연구는 아만성독성시험, 만성독성시험, 번식시험, 일련의 변이원성시험 등이 폭넓게 포함되어 있다. 이들 시험의 결과에서 조사 우육을 투여한 rat에서 출혈⁸, 조사 사료를 투여한 rat에서 aspartate aminotransferase의 활성저하⁹, 조사 생선 투여에 의한 고환위축과 발정기의 장기화, 혈중 choline esterase활성의 저하 및 단백질의 결핍¹¹ 등의 일부 문제가 시사되었으나 이러한 결과는 시험의 부적절성 및 방사선 조사 외적인 요인에 의한 결과로 최종 해석되었다¹³. 감마선 조사식품에 대한 이용효과와 기술적 타당성이 국제적인 수준에서 종합적으로 축적됨에 따라 관련 국제기구인 세계보건기구(WHO), 세계식량농업기구(FAO), 국제

원자력기구(IAEA)에서는 1960년부터 조사식품의 안전성(safety)과 건전성(wholesomeness) 연구와 그 결과에 대한 평가를 공동으로 추진하여 왔다¹². 이에 대한 연구결과들이 종합적으로 평가된 결과, 1976년에는 감마선 조사기술을 물리적 처리방법으로 공식 인정되게 되었으며 특히, 1980년에는 총 평균흡수선량 10 kGy 이하로 조사된 모든 식품의 독성학적, 영양학적 및 미생물학적 안전성이 최종적으로 평가됨에 따라 10 kGy 이하로 조사된 어떠한 식품도 독성시험이 더 이상 필요하지 않다는 결론이 WHO/IAEA/FAO의 감마선조사식품 공동전문위원회에서 공표되었다¹⁵. 1977년부터는 그동안 명시하여 오던 선량의 한도 즉 “10 kGy까지 안전하다.”라는 제한을 세계보건기구에서 철폐하여야 한다고 공식적인 WHO press를 통해 주장하였다. 이는 그 동안 한계로 제시된 선량보다 수십배 높게 조사처리하는 식품들이 각 국에서 허용되었고 과거 50년간의 독성학적 결과가 어떤 가공방법보다 안전하다는 것이 재 입증되면서 이러한 조사선량의 철폐가 이루어지게 되었다. 1999년 고선량 조사된(10-70 kGy) 식품의 안전성에 관한 WHO 보고서에서도 10 kGy 이상으로 고선량 조사된 식품의 건전성을 재확인하였다¹³.

과거 사용하여 오던 화학살균제나 증기멸균법 보다 감마선 살균된 식품이 독성학적 및 영양학적 안전성과 건전성이 확실하게 밝혀져, 이미 오래 전부터 면역학적, 유전학적 독성시험에 사용되는 실험용 동물들에게 공급되는 감마선 멸균된 무균사료가 우수실험실관리기준(GLP)에 등재되었다. 현재 조사식품의 독성시험이 필요 없는 것은 조사된 무균사료로 사육된 수실험대 경과된 실험동물이 정밀도를 요하는 독성시험의 표준동물로 이용되고 있으므로 이들 동물에 대한 더 이상의 식이시험이나 임상시험이 필요 없다고 세계보건기구를 비롯한 각종 보건당국에서 결론 내렸다¹³.

동물사료에 대한 방사선의 조사는 주로 소형 무균실험동물의 사육을 위하여 실시되었고 일부 닭 및 돼지의 사료를 대상으로 실험적으로 적용되고 있는 실정이며 양어사료에 대한 실제적용 예은 전무하다^{3,6,7,10,17}. 본 연구에서 넙치와 마우스를 대상으로 사용한 양어용 사료에서도 방사선 조사에 의한 유해 효과는 일반 증상, 혈액학적 및 병리조직학적 검사에서 관찰되지 않았으며, 넙치를 대상으로 한 실험에서 누적폐사율 및 사료효율에서도 BHA 첨가 또는 방사선 조사에 의한 유해성은 관찰되지 않았다. 넙치를 사용한 시험에서 일부 혈청생화학검사의 차이는 어류의 생리적 특성에 따른 어류자체의 차이로 사료되며 각종 어류에서 혈청생화학치가 정상적으로 매우 넓은 것으로 알려져 있고 본 연구 결과의 수치가 검사항목에 따라 차이가 있으나 어류의 정상치 내에 포함되어 투여 사료에 따른 차이로 생각되지는 않는다. 마우스를 대상으로 한 시험에서도 방사선을 조사하거나 BHA를 혼합한 어류사료투여에 의한 이상소견은 관찰되지 않았다.

본 연구의 결과 양어용 생어사료 또는 배합사료에 대한 방사선 조사 및 BHA (200 ppm) 혼합이 생체에 유해한 영향이 없는 것으로 사료된다.

결 론

5 kGy의 방사선을 조사하거나 BHA를 혼합하여 제조한 양어용 사료를 넙치 및 마우스에 직접 적용하여 그 효과를 파악하고자 하였다. 이를 위하여 넙치 및 마우스를 대상으로 방사선 조사 사료 또는 BHA 혼합 사료 투여에 대한 생체 안전성의 관점에서 일반 증상, 혈액학적 및 병리조직학적 관찰을 수행하였다. 넙치와 마우스를 대상으로 사용한 양어용 사료에서도 방사선 조사에 의한 유해 효과는 일반 증상, 혈액학적 및 병리조직학적 검사에서 관찰되지 않았으며, 넙치를 대상으로 한 실험에서 누적폐사율 및 사료효율에서도 BHA 첨가 또는 방사선 조사에 의한 유해성은 관찰되지 않았다. 본 연구의 결과 양어용 생어사료 또는 배합사료에 대한 방사선 조사 및 BHA (200 ppm) 혼합이 어류의 생체에 유해한 영향이 없을 것으로 사료된다.

감사의 글

이 논문은 2001년도 원자력기초연구사업 연구비 지원에 의하여 수행되었으며 이에 감사드립니다.

참 고 문 헌

- Ahmed M. Food irradiation, Up-to-date status. Joint FAO/IAEA Division of Nuclear Techniques in Food and Agriculture, IAEA 6626F, Vienna. 1991: 27.
- Brynjofossn A. Food-energy-developing countries-food irradiation. IAEA-SM-250/26. 1981: 421.
- Burdick D, Cox NA, Thomson JE, Bailey JS. Heating by microwave, hot air, and flowing steam to eliminate inoculated Salmonella from poultry feed. *Poult Sci* 1983; 62: 1780-1785.
- Codex Alimentarius Commission. Codex general standard for irradiated foods and recommended international code of practice for the operation of radiation facilities used for the treatment of foods. CAC/VOL. XV, FAO, Rome. 1984.
- Daferstein FK. Food irradiation; The position of the World Health Organization. 36th General Conference of the International Atomic Energy Agency, Scientific session, Vienna. 1992: 23.
- Halls NA, Tallentire A. Effects of processing and gamma irradiation on the microbiological contaminants of a laboratory animal. *Lab Anim* 1978; 12: 5-10.
- Leuchtenberger A, Ruttloff H. Germ reduction in technical enzyme preparations with special regard to gamma irradiation. *Nahrung* 1976; 20: 525-530.
- Malhotra OP, Reber EF, Norton HW. Effect of methionine and vitamin K3 on hemorrhages induced by feeding a ration containing irradiated beef. *Toxicol Appl Pharmacol* 1965; 7: 402-408.
- Metwalli OM. Study on the effect of food irradiation on some blood serum enzymes in rats. *Zeitschrift fur Ernährungswissenschaften* 1977; 16: 18-21.
- Miniats OP, Jol D. Gnotobiotic pigs-derivation and rearing. *Can J Comp Med* 1978; 42: 428-37.

11. Shillinger I, Osipova IN. The effect of fresh fish exposed to gamma radiation on the organism of albino rats. *Voprosy Pitanija* 1970; 29: 45-50.
12. United States Food and Drug Administration. Irradiation in the production, processing, and handling of food; final rule. *Federal register*, 51 FR 13375-13399, 1986.
13. WHO. High-dose irradiation: Wholesomeness of food irradiated with doses above 10 kGy. Report of a joint FAO/IAEA/WHO study group. Technical Report Series 890. 1999.
14. WHO. Safety and nutritional adequacy of irradiated food. Geneva. 1994.
15. WHO. Wholesomeness of irradiated food. Report of a joint FAO/IAEA/WHO expert committee on the wholesomeness of irradiated food. Technical Report Series 651. 1981.
16. Yook HS. Effect of gamma irradiation on the microbiological, biochemical, morphological, nutritional, toxicological and food processing characteristics of beef. Ph.D. Dissertation, Chungnam National University. 1999.
17. Yoshida T, Shinoda S, Urano T, et al. Role of gastrointestinal microflora in nitrogen and mineral balances in young mice fed on autoclaved and irradiated diets. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)* 1981; 27: 341-352.
18. 김세라, 이종환, 조성기, 변명우, 김성호. 어류양식용 사료의 위생화 I. 어류유래 병원성 세균에 대한 방사선 조사의 효과. *대한수의학회지* 2001; 41: 219-225.
19. 김세라, 오현, 이해준, 이종환, 조성기, 변명우, 김성호. 어류양식용 사료의 위생화. II. 어류양식용 사료의 조성분과 지방산화에 대한 방사선조사 및 butylated hydroxyanisole의 효과. *대한수의학회지* 2001; 41: 387-394.
20. 부산대학교 해양산업개발연구소. 양식사료영양. 부산: 부산대학교출판부 1998: 1-38.