

Article

전리방사선 및 자외선의 미생물 돌연변이와 DNA 손상에 대한 영향

남지현 · 신지혜 · 이정윤 · 이동훈*

충북대학교 자연과학대학 미생물학과

Effects of ionizing and ultraviolet radiation on microbial mutation and DNA damage

Ji-Hyun Nam, Ji-Hye Shin, Jung-Yun Lee, and Dong-Hun Lee*

Department of Microbiology, Chungbuk National University, Cheongju 28644, Republic of Korea

(Received February 14, 2017; Revised March 15, 2017; Accepted March 21, 2017)

Physical sterilization methods using ultraviolet radiation and ionizing radiation such as gamma ray and electron beam are applied in various industry fields due to disinfection effects and economic efficiency but may also cause microbial mutation. In this research, *Salmonella enterica* and *Escherichia coli* strains were treated with ionizing and ultraviolet radiation and their survival rate, mutation rate, and DNA damage were studied to evaluate the genetic safety. The survival rate of the strains decreased drastically as the irradiation dose of ultraviolet ray, gamma ray, and electron beam increased, and over 90% of the strain was exterminated at a dosage of 0.40~25.06 mJ/cm², 0.11~0.22 kGy, 0.14~0.53 kGy respectively. In SOS / *umu*-test, genotoxicity causing DNA damage was identified in all samples. In Ames test, back-mutation rate increased to 3.82×10^{-4} and 9.84×10^{-6} respectively when exposed to ultraviolet ray and gamma ray. At exposure to ultraviolet ray, gamma ray, and electron beam with dosage of over 99.99% extinction rate of *S. enterica* TA100, back-mutation rate increased 347 times, 220 times, 0.6 times respectively to the spontaneous back-mutation rate. Rifampicin resistance mutation rate of *E. coli* CSH100 exposed to ultraviolet ray, gamma ray, and electron beam was 2.46×10^{-6} , 1.66×10^{-6} , 4.12×10^{-7} respectively. Therefore, gamma radiation is effective in microorganism control from the perspective of disinfection and electron beam has the advantage of sterilizing with little DNA damage and bacterial mutation.

Keywords: DNA damage, electron beam, gamma radiation, microbial mutation, ultraviolet radiation

최근 도시의 인구집중화와 의식주의 생활변화로 편의제품 중심의 수요가 급증함에 따라 대량 및 고속 생산체제 산업이 급증하게 되었다. 이러한 산업의 발달은 미생물을 비롯한 유해 유기체의 오염기회를 가중시켰고, 안전한 위생처리 기술이 필요하게 되었다. 식품, 농학, 의료 및 제약, 화장품, 공중보건 및 환경 등 다양한 산업분야에서 살균 및 멸균, 감염방지, 오염원 제거 등의 목적으로 주로 사용되는 처리방식에는 스팀, 열탕 및 열풍 등 가열 처리법과 훈연 및 훈증 등 화학약품 처리방법, 감마선, 전자빔, 자외선 등 전자기 복사선을 이용하는 물리적 처리방법이 있다(Byun and Yook, 2003; Trampuz *et al.*, 2006).

가장 보편적으로 사용되는 가열처리의 경우 위해 미생물에 대한 살균력은 우수하지만 에너지 소모가 많으며 열처리에 의한 훼손이 발생할 수 있다. 화학적 처리법의 경우 독성물질인 methyl bromide 또는 ethylene oxide를 사용함으로써 잔류성분에 의한 2차 오염 및 환경파괴 등의 문제가 발생할 수 있으며, 잠재적 독성으로 인한 안전성 문제가 대두되면서 국제적으로 사용이 제한되고 있는 추세이다(UNEP, 1995; Lee *et al.*, 2015a). 이에 반해 전자기 복사선은 살균 및 멸균 효과가 매우 탁월하고 안전성과 경제성, 제품의 품질유지 및 보존성 등에서 기술적 타당성이 인정되어 국제기구(FAO/IAEA/WHO),

*For correspondence. E-mail: donghun@chungbuk.ac.kr;
Tel.: +82-43-261-3261; Fax: +82-43-264-9600

보건기관(US FDA) 및 국제식품규격위원회(CODEX) 등에서도 살균 및 멸균에 이용할 것을 권장하고 있다(Byun and Yook, 2003; Kim *et al.*, 2013; Lee *et al.*, 2015a).

감마선(gamma ray)은 다양한 산업분야에서 살균 및 멸균, 감염방지, 오염물질 제거 등의 목적으로 사용되고 있으며, 식품 및 공중보건관련 산업분야에서의 사용비율은 80% 이상이다(Byun and Yook, 2003; Kim *et al.*, 2013). 전자빔(electron beam)과 자외선(UV)의 경우 표면의 오염물질 제거 및 살균, 수질 및 공기의 살균, 살충 등의 목적으로 사용되고 있으며, 전자빔의 사용 비율은 식품 및 공중보건관련 산업에서 20% 이하이다(Byun and Yook, 2003; Tahri *et al.*, 2010; Yoo *et al.*, 2012; Kim *et al.*, 2013; Lee *et al.*, 2015a; Xiang *et al.*, 2016). 또한, 하 폐수의 유기 오염물 및 미생물 제거 목적으로 UV 및 감마선, 전자빔을 도입함으로써 발암성 부산물 생성 문제가 있는 기존의 염소처리법을 대체하고 있다(Rahman *et al.*, 2010; Lee *et al.*, 2015b; Ahmed *et al.*, 2016). 이외에도 감마선이나 전자빔은 토양, 퇴비 및 활성슬러지 개량, 물성 개선 등 다양한 산업분야에서 이용되고 있다(Byun and Yook, 2003; McNamara *et al.*, 2007; Yun *et al.*, 2007; Xiang *et al.*, 2016).

감마선은 투과성이 높고 이온화율이 낮아 다양한 제품의 처리가 가능하며, 공정관리가 편리하고 인체 유해성이 적은데도 불구하고 방사선 조사에 대한 소비자의 부정적 시각이 높다(Blank and Corrigan, 1995; Byun and Yook, 2003; Al-Ani and Al-Khalidy, 2006; Farkas, 2006; Sadecka, 2007; Kim *et al.*, 2013; Ham *et al.*, 2017). 전자빔의 경우 감마선보다 투과력이 낮지만 공정제어, 정확성, 에너지 효율성, 소비자 수용성 등의 측면에서 장점을 가지고 있다(Blank and Corrigan, 1995; Byun and Yook, 2003; Kim *et al.*, 2013). 투과성이 감마선과 전자빔에 비해 현저히 낮은 자외선(230~300 nm)의 경우도 DNA의 변형과 파괴를 일으킬 만큼 충분한 에너지를 가지고 있고 자외선 조사에 의한 품질변화가 거의 없기 때문에 광범위하게 이용되고 있다(Yoo *et al.*, 2012).

그러나 높은 에너지의 자외선, 감마선, 전자빔 조사에 의해 분해산물이 발생할 수 있고, 반응성이 높은 자유 라디칼이 생성되어 DNA 구조 및 염기서열을 변화시키는 돌연변이원으로

로 작용하며, 노출된 미생물의 생물학적 변화를 유발할 수 있다(Min *et al.*, 2003; Taghipour, 2004). 빠른 증식 속도와 수평적 유전자 전이를 특징으로 갖는 미생물은 돌연변이의 발생에 의한 파급효과가 고등생물에 비해 크며, 항생제 내성 미생물의 확산 등과 같이 돌연변이 균주의 발생에 따른 위험성에 관심이 증대되고 있다(Levanduski and Jaczynski, 2008; James *et al.*, 2010).

자외선, 감마선, 전자빔 조사에 대한 기존의 연구는 특정 시료에 처리하였을 경우 병원균을 포함한 미생물의 사멸율과 유효 선량(D₁₀ value) 혹은 오염물질 제거효율(TOC, COD 등)에 관한 연구가 보편적이며, 미생물 돌연변이와 DNA 손상에 미치는 영향에 관한 연구는 미비한 실정이다. 따라서 본 연구에서는 자외선과 감마선 및 전자빔을 조사한 후에 세균의 생존율과 돌연변이율, DNA 손상에 따른 유전독성 효과를 측정함으로써 다양한 산업분야에서 광범위하게 사용되고 있는 전자기 복사선의 유전학적 안전성을 평가하고자 하였다.

재료 및 방법

시험 균주

Salmonella enterica TA100 (KCTC 2054)은 TSB/amp(+) (Difco™ Tryptic Soy Broth, ampicillin 12 µg/ml) 배지에서, 리팜피신 민감성 균주인 *Escherichia coli* CSH100은 LB (trypton 10 g/L, yeast extract 5 g/L, NaCl 5 g/L) 배지에서, *S. enterica* TA1535/pSK1002 (DSM 9274)는 TGA (trypton 10 g/L, NaCl 5 g/L, D-glucose 2 g/L, ampicillin 50 µg/ml) 배지에서 정체가 까지 배양하고 원심분리(7,000 rpm, 15 min)하여 균체를 수확하였으며, 10⁹ cells/ml이 되도록 생리식염수에 현탁하였다.

자외선 조사

생리식염수에 현탁한 세균을 유리 페트리접시(90 X 150 mm, without lid)에 위치시키고 70 rpm으로 교반하며 UVC-램프(TUV4W G4T5; 길이, 150.1 mm; 파장, 253.7 nm; Philips)를 이용하여 자외선을 조사하였다(Table 1). 페트리접시와 램

Table 1. Irradiation dose for bacteria

Strain	Radiation	UV (mJ/cm ³)	Gamma ray (kGy)	E-beam (kGy)
<i>S. enterica</i> TA100		2.5, 5.0, 7.5		
<i>S. enterica</i> TA1535/pSK1002		0.5, 1.0, 2.0	0.1, 0.2, 0.5	0.2, 0.5, 1.0
<i>E. coli</i> CSH100		10, 20, 30		

프 사이의 거리는 36 cm, 세균 현탁액의 깊이는 5 mm로 하였으며, 자외선 선량은 VLX-3W radiometer (Vilber Lourmat)를 이용하여 측정하였다.

감마선 조사

생리식염수에 현탁한 세균을 50 ml conical tube에 위까지 빈틈없이 채워 넣고 고준위 ^{60}Co source (Nordion Inc.)를 사용하여 한국원자력연구원에서 0.1, 0.2, 0.5 kGy의 감마선을 각각 조사하였다(Table 1). 방사선원의 방사능은 1.47×10^{17} Bq (= 397,949 Ci)까지 측정될 수 있고 방사선량은 방사선원에서의 거리에 따라 6.3~14.3 kGy/h의 범위를 갖는다.

전자빔 조사

생리식염수에 현탁한 세균을 유리 페트리접시(90 × 150 mm, without lid)에 위치시키고, EB-TECH의 전자가속기를 이용하여 0.2, 0.5, 1.0 kGy의 전자빔을 각각 조사하였다(Table 1). 전자선량 산정은 Han 등(2005)의 방법을 이용하였다.

생존율 및 D_{10} value 산정

자외선, 감마선 또는 전자빔을 조사한 *S. enterica* TA100, *S. enterica* TA1535/pSK1002, *E. coli* CSH100은 단계적으로 희석하여 각각 TSA/amp(+), TGA, LB 한천배지 주입평판법으로 37°C에서 48시간 동안 배양 후 콜로니를 계수하여 조사선량에 따른 세균 생존율을 측정하였다. 또한, 조사선량에 따른 log 생존수 값의 추세선 그래프와 회귀식의 기울기를 이용하여 D_{10} value [$D_{10} = -1/\text{slope}(a)$, linear regression curve; $y = ax + b$]를 계산하였다. D_{10} value는 초기 미생물의 90% 사멸시키거나 개체수를 1/10로 감소시키는데 필요한 선량을 말한다.

복귀 돌연변이(ames test) 시험

복귀 돌연변이 시험은 Mortelmans와 Zeiger (2000)가 제시한 방법으로 수행하였다. 자외선, 감마선, 전자빔 조사 유무에 따라 glucose 최소 배지에서 배양된 Histidine 영양 요구성 균주 *S. enterica* TA100의 콜로니를 계수하여 대조군의 자연적인 His⁺ 복귀돌연변이율과 처리에 의한 His⁺ 복귀돌연변이율을 계산하였다.

E. coli 돌연변이 시험

E. coli 돌연변이 시험은 Miller (1992)와 Lee 등(2003)의 방법을 이용하였다. LB 배지에 배양하여 수확한 리팜피신 감수성 균주 *E. coli* CSH100을 10^9 cells/ml이 되도록 0.1 M MgSO₄

에 현탁하고 10분간 얼음에 방치한 후 자외선, 감마선, 전자빔을 조사하였다. 각각 조사된 균주와 처리가 없는 대조군 균주를 LB broth에 접종하고, 37°C, 24시간 동안 교반 배양(150 rpm)한 후 LB/rif(+) (Rifampicin 100 µg/ml) 배지 주입평판법으로 37°C에서 48시간 동안 배양하였다. 리팜피신 내성균주의 콜로니를 계수하여 대조군의 자연돌연변이율과 처리에 의한 리팜피신 내성 돌연변이율을 측정하였다.

유전독성 시험(SOS/umu-test)

Umu 유전자 발현실험은 *S. enterica* TA1535/pSK1002를 이용하여 Oda 등(2004)의 방법에 따라 실험하였다. 자외선, 감마선 또는 전자빔 조사에 의한 유전독성 대조군으로는 조사되지 않은 10^8 cells/ml의 세균을 사용하였으며, 양성 및 음성 대조물질로는 각각 1.0 µg/ml의 4-nitroquinoline-1-oxide와 증류수를 사용하였다. 흡광광도계를 이용하여 595 nm에서 생장을 측정하고, 570 nm에서 β-galactosidase activity 측정하여 RGA (relative β-galactosidase activity; $\text{RGA} = A_{570}/A_{595}$)를 계산하였으며, 2배 이상의 RGA 값을 유전독성으로 판정하였다.

결 과

자외선, 감마선 및 전자빔 조사에 따른 생존율 비교

자외선, 감마선 및 전자빔 조사 후에 *Salmonella enterica* TA100, *S. enterica* TA1535/pSK1002, *Escherichia coli* CSH100의 콜로니를 계수하고 조사선량에 따른 생존율을 계산하였다(Fig. 1). 자외선, 감마선, 전자빔의 조사선량이 증가함에 따라 시험 균주의 생존율이 모두 급격히 감소하였다.

S. enterica TA100에 2.5 mJ/cm³의 자외선을 조사하였을 때 세균수가 2 log 감소(99% 사멸)하였으며, 직선형인 감소 추세를 보여 2.5 mJ/cm³ 증가할 때마다 세균수가 약 2 log 씩 더 감소하였다. *S. enterica* TA1535/pSK 1002의 경우 0.5 mJ/cm³의 자외선량에서 세균수가 3 log 감소(99.87% 사멸)하였으며, 1.0 mJ/cm³의 자외선량에서 99.99% 사멸하였다. *E. coli* CSH100은 10, 20, 30 mJ/cm³의 자외선량에서 각각 21.1%, 51.5%, 94.3% 사멸하였다.

감마선 조사의 경우, *S. enterica* TA100은 0.1, 0.2, 0.5 kGy의 조사선량에서 세균수가 각각 1 log (96.42%), 2 log (99.10%), 3 log (99.96%) 이상 감소하였다. *S. enterica* TA1535/pSK1002도 *S. enterica* TA100과 유사하게 0.1, 0.2, 0.5 kGy의 조사선량에서 각각 97.49%, 99.68%, 99.99% 사멸하였다. *E. coli* CSH100은 0.1, 0.2, 0.5 kGy의 조사선량에서 각각 52.4%, 81.6%, 98.5%

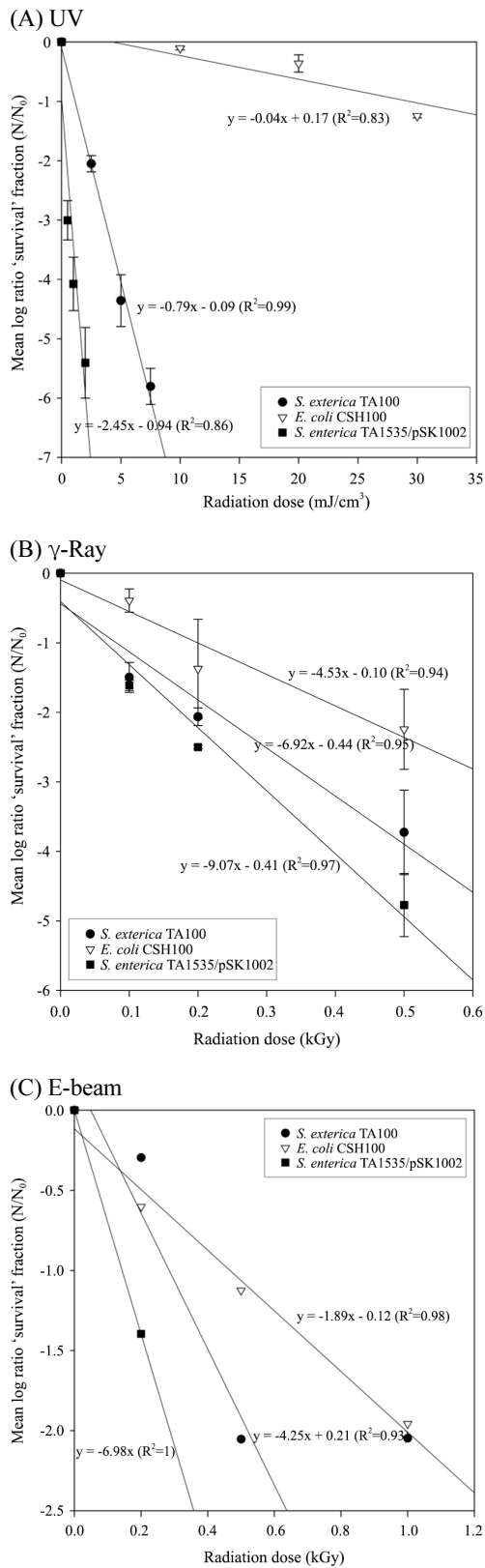


Fig. 1. The death rate of bacteria treated with UV (A), γ -ray (B), and E-beam (C). Error bar represents the standard errors of three replicates.

사멸하였다.

전자빔을 조사한 *S. enterica* TA100은 0.2 kGy의 조사선량에서 세균수가 49.3% 감소하였고, 0.5 kGy로 조사선량을 증가함에 따라 99.1%까지 세균수가 급격히 감소하였으나, 1 kGy의 조사선량에서는 0.5 kGy와 비슷한 결과가 관찰되었다. *S. enterica* TA1535/pSK1002의 경우 0.2 kGy에서 95.99%가 사멸하였으며, *E. coli* CSH100은 0.2, 0.5, 1.0 kGy의 조사선량에서 각각 74.92%, 92.49%, 98.90%의 세균이 사멸하는 것이 관찰되었다. 따라서 0.5 kGy 수준의 감마선 또는 전자빔을 조사해야 세균의 90% (1 log) 이상을 제거할 수 있음을 알 수 있었다.

자외선, 감마선 및 전자빔의 D_{10} value 비교

S. enterica TA100, *S. enterica* TA1535/pSK1002, *E. coli* CSH100의 90%를 사멸시키는데 필요한 유효선량(D_{10} value)을 계산하여 자외선, 감마선, 전자빔의 처리 효율을 비교하였다(Table 2). 자외선을 조사하였을 경우 *S. enterica* TA100, *S. enterica* TA1535/pSK1002, *E. coli* CSH100의 D_{10} value는 각각 1.27 mJ/cm^2 , 0.40 mJ/cm^2 , 25.06 mJ/cm^2 로 *E. coli* 보다 *S. enterica*에 대한 처리에 효과적이었다. 감마선의 경우 *S. enterica* TA100, *S. enterica* TA1535/pSK1002, *E. coli* CSH100의 D_{10} value는 각각 0.14 kGy, 0.11 kGy, 0.22 kGy였으며, 전자빔의 경우 *S. enterica* TA100, *S. enterica* TA1535/pSK1002, *E. coli* CSH100의 D_{10} value는 각각 0.24 kGy, 0.14 kGy, 0.53 kGy 이었다.

전자기 복사선에 대한 감수성은 *S. enterica* TA1535/pSK1002 > *S. enterica* TA100 > *E. coli* CSH100의 순으로 관찰되어, *S. enterica*가 *E. coli* 보다 전자기 복사선에 대한 감수성이 높았으며, 시험균주 모두에서 감마선이 전자빔 보다 더 효과적인 처리방법임을 알 수 있었다.

자외선, 감마선 및 전자빔 조사에 따른 돌연변이율 비교

자외선, 감마선, 전자빔을 조사한 세균의 복귀 돌연변이율, 항생제 내성 돌연변이율 및 유전독성능(DNA 손상)을 조사하고, 처리가 없는 대조군의 자연돌연변이율(spontaneous mutation

Table 2. D_{10} values of *Salmonella enterica* and *E. coli* by UV, gamma ray, and electron beam

Strain	UV (mJ/cm^2)	Gamma ray (kGy)	E-beam (kGy)
<i>S. enterica</i> TA100	1.27	0.14	0.24
<i>S. enterica</i> TA1535/pSK1002	0.40	0.11	0.14
<i>E. coli</i> CSH100	25.06	0.22	0.53

rate)과 비교하였다. *S. enterica* TA100의 경우 자연적인 복귀 돌연변이율은 평균 3.78×10^{-7} (3.40×10^{-8} ~ 9.85×10^{-6}) 이었으나, 0.1, 0.2, 0.5 kGy의 감마선에 노출된 후에 각각 4.33×10^{-7} , 2.52×10^{-6} , 9.84×10^{-6} 으로 조사선량이 증가함에 따라 돌연변이율이 높아졌다(Fig. 2). 전자빔의 경우는 감마선과 반대로 0.2, 0.5, 1 kGy로 선량이 증가함에 따라 복귀 돌연변이율이

감소하였다(3.68×10^{-7} ~ 1.94×10^{-7}). 자외선의 경우 2.5 mJ/cm³에서 1.21×10^{-5} 으로 복귀 돌연변이가 관찰되고, 5 mJ/cm³에서 3.82×10^{-4} 으로 돌연변이율이 급격히 증가하였으나 7.5 mJ/cm³에서는 2.64×10^{-5} 으로 감소하였다.

자외선, 감마선, 전자빔에 노출된 *E. coli* CSH100의 리팜피신 내성 돌연변이율을 Fig. 3에 나타내었다. 리팜피신 배지에

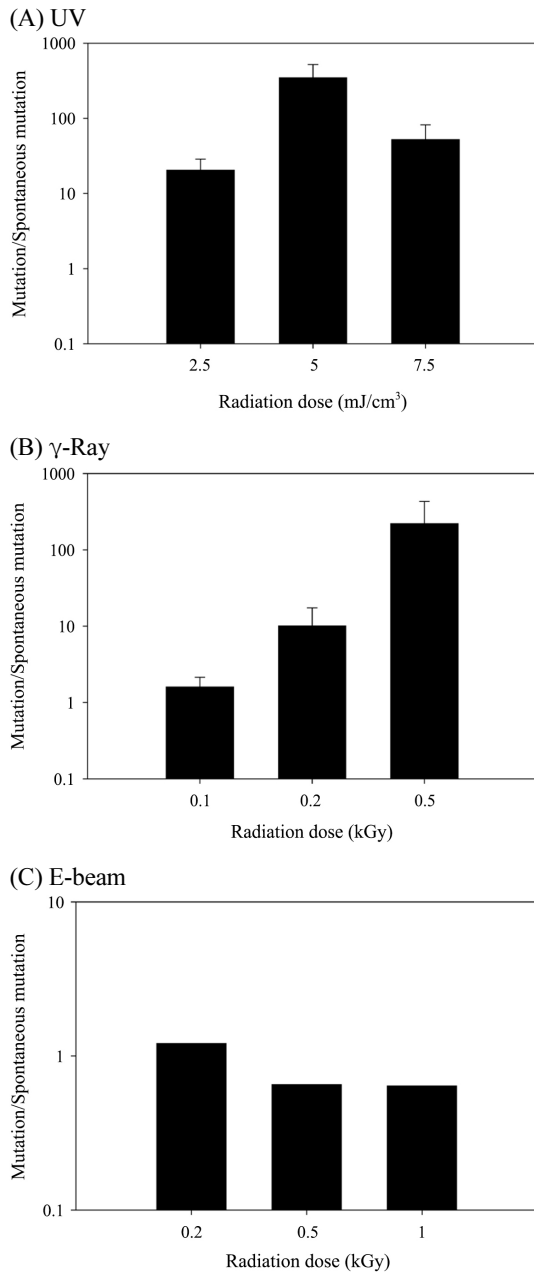


Fig. 2. His + back mutation rate of *Salmonella enterica* TA100 treated with UV (A), γ-ray (B), and E-beam (C). Mutation rate of irradiated strains was divided by spontaneous mutation rate. Error bar represents the standard errors of three replicates.

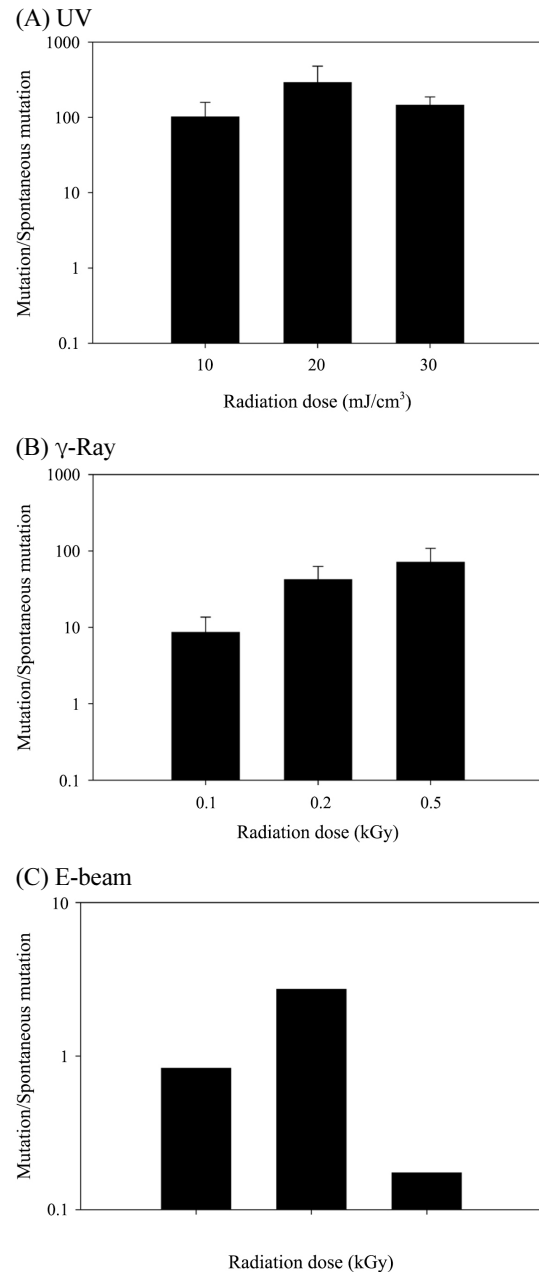


Fig. 3. Mutation (acquiring of resistance to rifampicin) rate of *E. coli* CSH100 treated with UV (A), γ-ray (B), and E-beam (C). Mutation rate of irradiated strains was divided by spontaneous mutation rate. Error bar represents the standard errors of three replicates.

배양할 때 자연적으로 내성을 갖게 되는 자연돌연변이율이 평균 4.40×10^{-8} ($1.69 \times 10^{-9} \sim 6.54 \times 10^{-7}$) 이었으나, 감마선에 노출된 경우 0.1, 0.2, 0.5 kGy의 조사선량에서 각각 1.64×10^{-7} , 1.00×10^{-6} , 1.66×10^{-6} 의 리팜피신 내성 돌연변이율이 관찰되었으며, 선량이 높아짐에 따라 돌연변이율도 증가하였다. 전자빔의 경우 0.5 kGy에서 4.12×10^{-7} 의 가장 높은 리팜피신 내

성 돌연변이율이 확인되었으며, 1 kGy에서는 2.62×10^{-8} 로 감소하였다. 자외선의 경우 10, 20, 30 mJ/cm³ 선량에서 각각 1.45×10^{-6} , 4.21×10^{-6} , 2.46×10^{-6} 수준으로 돌연변이가 일어났다.

자외선, 감마선, 전자빔 조사에 의한 DNA 손상 효과를 *S. enterica* TA1535/pSK1002의 SOS/umu-test를 이용하여 조사하였다(Fig. 4). 자외선, 감마선, 전자빔에 노출된 모든 시료에서 2 이상의 RGA (Relative Galactosidase Activity) 값이 관찰되어 DNA 손상을 유발하는 유전독성이 확인되었다. 자외선의 경우 조사선량이 증가함에 따라 RGA 값이 감소하였으나, 감마선은 조사선량이 높아짐에 따라 RGA 값이 증가하는 경향을 보였다. 전자빔은 0.5 kGy의 선량에서 가장 높은 RGA 값을 나타내었다.

감마선의 경우 조사선량이 높아짐에 따라 돌연변이율과 생존 세균의 DNA 손상이 증가하나 자외선과 전자빔의 경우 특정 조사선량 이상에서는 오히려 감소하였다. 전자빔의 경우 0.5 kGy로 선량으로 조사한 시험 균주들에서 돌연변이율과 DNA 손상이 가장 컸으며, 1.0 kGy 이상의 조사선량에서는 높은 사멸율에 의한 돌연변이율 감소효과가 공통적으로 관찰되었다.

고 찰

조사선의 종류와 미생물의 종류에 따라 생존율은 매우 다르고, 동일 종이라 하더라도 유전적 배경에 따라 생존율에 큰 차이가 있을 수 있다(Jeong and Kim, 2010). 자외선, 감마선, 전자빔을 *Salmonella enterica* TA100, *S. enterica* TA1535/pSK1002, *E. coli* CHS100에 각각 조사한 결과 감마선의 생존율이 가장 낮게 나타났으며, *S. enterica*의 감수성이 *E. coli* 보다 높게 나타났다(Fig. 1). Waje 등(2009)에 의해 *S. enterica*가 *E. coli* 보다 감마선과 전자빔에 대한 감수성이 높다고 보고된 바 있으며, *S. enterica* TA100과 TA1535/pSK1002의 감수성이 *E. coli* 보다 높은 이유는 돌연변이원에 대한 감수성을 높이기 위하여 DNA의 복구(repair) 기능이 결핍(Δ uvrB) 되어 있기 때문이다(DeMarini et al., 2000; Oda et al., 2004).

D₁₀ value를 산정하여 감마선과 전자빔의 처리 효율을 비교한 결과, 모든 시험균주에서 감마선이 미생물 제어에 보다 효과적임을 알 수 있었다(Table 2). 감마선과 전자빔에 대한 *E. coli*의 D₁₀ value는 각각 0.22 kGy와 0.53 kGy로 선행 연구에서 보고된 감마선(0.24~0.41 kGy) 및 전자빔(0.24~0.63 kGy)의 수치와 유사하였다(DeMarini et al., 2000; Oda et al., 2004;

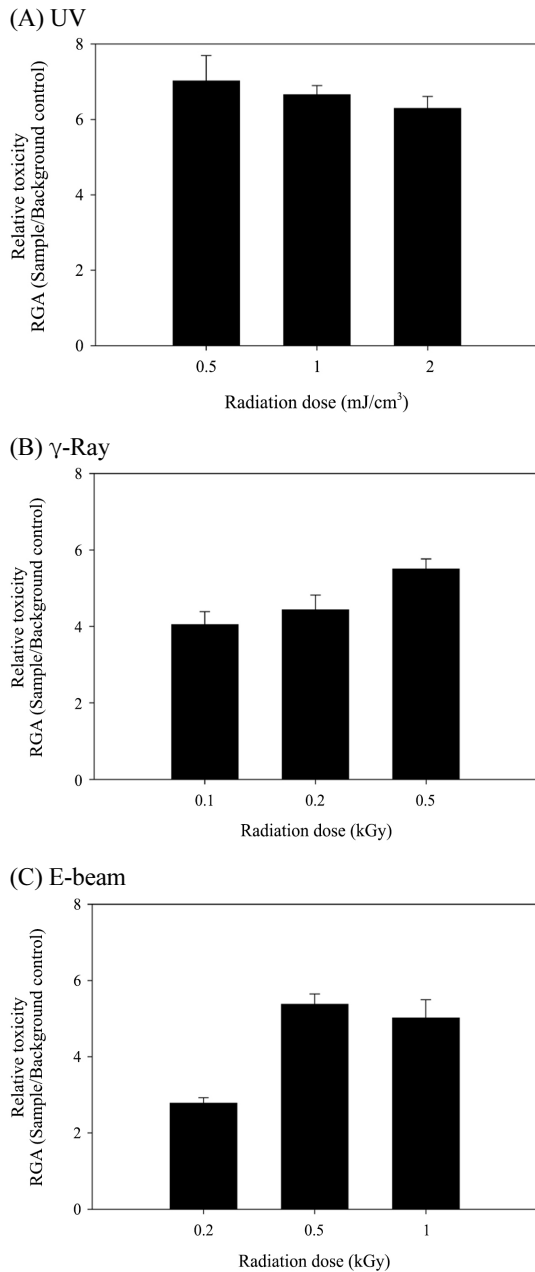


Fig. 4. Genotoxicity of UV (A), γ-ray (B), and E-beam (C) measured by SOS/umu-test. Relative toxicity was calculated from RGA (relative β-galactosidase activity: A₅₇₀/A₅₉₅) values of irradiated samples and background control. Error bar represents the standard errors of three replicates.

Trampuz et al., 2006; Yun et al., 2007; Levanduski and Jaczynski, 2008; Park et al., 2016). *S. enterica*의 경우 감마선에 대한 TA100과 TA1535/pSK1002의 D₁₀ value는 각각 0.14, 0.11 kGy로 균주의 유전적 특징 때문에 기존에 알려진 *Salmonella* 속의 D₁₀ value (0.38~0.80 kGy) 보다 낮았다고 생각된다(Trampuz et al., 2006; Yun et al., 2007; Park et al., 2016). Shehata 등 (2011)은 감마선과 전자빔을 *Staphylococcus aureus*에 조사하고 생존율 및 D₁₀ value (각각 0.32 kGy, 1.73 kGy)를 확인하였으며, 전자빔 보다 감마선이 효과적임을 보고하였다. 또한, Ham 등(2017)은 육가공품에 감마선과 전자빔을 조사하여 저장기간에 따른 총호기성세균수를 측정함으로써 감마선 조사가 보다 효과적 처리방법임을 확인하였다. 그러므로 1 kGy 이하의 감마선과 전자빔 선량에서 *Salmonella enterica*와 *E. coli*가 90% 이상 제거 가능하고, 사멸효과의 관점에서 감마선이 전자빔 조사보다 미생물제어에 효과적이라 할 수 있다.

자외선, 감마선, 전자빔은 DNA와 같은 유기분자에 직접 손상을 주거나(직접 작용), 세포 내의 물을 전리시켜 이로부터 발생한 자유 라디칼에 의한 간접 작용을 통해 생체 내 분자에 영향을 미칠 수 있다(Min et al., 2003; Taghipour, 2004; Shehata et al., 2011; Kim et al., 2013). 감마선과 전자빔의 경우 주로 간접작용에 의해 생체 분자에 작용하고, 자외선과 이온빔의 경우 직접작용의 역할이 대부분을 차지한다(Geoffrey, 2007; Jeong and Kim, 2010; Shehata et al., 2011). 생물학적 영향이란 측면에서 볼 때 직접작용은 전체영향의 약 25%, 간접작용에 의한 영향은 75%로 볼 수 있고, 특히 수산화라디칼(OH·)에 의한 간접작용이 DNA 분자 손상율의 90%를 차지함으로써 미생물의 감수성에 가장 큰 영향을 미치는 것으로 알려져 있다(Shehata et al., 2011; Kim et al., 2013). 그러므로 DNA 손상과 세균 돌연변이를 가장 적게 유발하며 사멸효과를 크게 할 수 있는 처리방법을 확보하는 것이 필요하다.

본 연구에서는 전자빔조사 세균의 돌연변이는 자외선조사 세균의 돌연변이에 비하여 낮은 빈도로 일어나는 것이 확인되었다. *S. enterica* TA100의 사멸율이 99.99%가 되는 5 mJ/cm³의 자외선과 0.5 kGy의 감마선 및 0.5 kGy의 전자빔에서의 복귀 돌연변이율은 각각 자연 돌연변이율 대비 약 347배, 220배, 0.6배 증가한 것으로 나타났다(Fig. 2). *E. coli* CSH100의 사멸율이 90% 이상 되는 구간의 돌연변이율도 1 kGy의 전자빔이 0.5 kGy의 감마선 및 30 mJ/cm³의 자외선보다 낮은 비율로 증가하였다(각각 0.2, 71, 145 배). 그러므로 처리방법별로 비슷한 사멸율을 갖게 되는 조건에서 생물종에 따라 DNA 손상 정도와 돌연변이율이 차이가 있지만, 자외선과 감마선이 전자빔 보다 돌연변이 발생 가능성이 높다고 할 수 있다.

방사선, 자외선, 독성화학물질들은 생물체에 DNA의 손상을 일으키며, 이러한 DNA의 손상은 생체 내에서 DNA 복구기작에 의해서 복구된다. DNA 손상을 주는 물질 또는 DNA 복제를 방해하는 물질에 노출되어 피해를 볼 때에는 error-prone repair system이 작용하는데, 이들 중 SOS repair system을 이용하는 모니터링 방법이 *umu-test* 이다(ISO 13829, 2000; Oda et al., 2014). *S. enterica* TA1535/pSK1002의 경우 DNA 손상에 의해 *umuDC* 복구유전자 외에 *lacZ* 유전자도 함께 발현되어 β-galactosidase가 생성되고, lactose 유사체를 대사시킴으로써 그 활성을 측정하여 DNA 손상정도를 RGA 값의 변화로 판단하게 된다(ISO 13829, 2000; Oda et al., 2014). SOS/*umu-test*의 결과, 자외선의 경우 0.5 mJ/cm³ 조사선량부터 유전독성이 관찰되었으며, 감마선과 전자빔의 경우 각각 0.1 kGy와 0.2 kGy의 조사선량부터 유전독성이 관찰되었다. 자외선의 경우 *S. enterica* TA1535/pSK1002의 *uvrB* 유전자결핍으로 인하여 유전독성이 강하게 측정된 것이라 생각된다. SOS/*umu-test*가 유전독성의 유무를 판단하기 위한 정성적 시험이지만, 자외선과 전자빔의 경우 높은 선량에서 RGA 값이 다소 감소하였다. 이는 DNA 손상과 함께 세포의 사멸이 증가한 결과라 생각되며, 전자빔 조사의 경우 미생물의 항상성 유지를 위한 에너지 요구도 증가로 인하여 DNA 복구 기작이 억제되며 세포가 불활성화된다는 보고도 있다(Shehata et al., 2011).

살균 및 멸균 효과의 관점에서는 감마선 처리가 미생물 제어에 효과적이라 할 수 있으며, 유전적 안전성의 관점에서는 DNA의 손상과 돌연변이를 적게 유발하는 전자빔의 처리가 적합하다고 할 수 있다. 동일한 사멸효과를 얻기 위해서 전자빔 처리방법이 감마선보다 많은 에너지를 요구할 수 있겠지만, 유전적 안전성 및 소비자의 수용성 측면을 고려할 때 전자빔 처리방법이 유용하다고 생각되며, 다양한 위해 미생물을 대상으로 살균 조건과 돌연변이 유발효과에 대한 후속 연구가 필요할 것이다.

적 요

감마선, 전자빔 등과 같은 전리방사선과 자외선을 이용하는 물리적 멸균방법은 살균 효과와 경제성이 우수하므로 다양한 산업분야에서 사용되고 있으나, 미생물의 돌연변이를 유발하는 요인으로 작용할 수 있다. 본 연구에서는 전리방사선 및 자외선의 유전학적 안전성을 평가하기 위해서 *Salmonella enterica*와 *Escherichia coli* 균주에 자외선, 감마선, 전자빔을 조사한 후에 생존율, 돌연변이율, DNA 손상 효과를 조사하였다. 자외

선, 감마선, 전자빔의 조사선량이 증가함에 따라 시험 균주의 생존율이 모두 급격히 감소하였으며, 90% 이상이 사멸되는 조사선량은 각각 0.40~25.06 mJ/cm³, 0.11~0.22 kGy, 0.14~0.53 kGy 이었다. SOS/umu-test에서는 자외선, 감마선, 전자빔에 노출된 모든 시료에서 DNA 손상을 유발하는 유전독성이 확인되었다. Ames test에서는 자외선과 감마선에 노출된 후에 복귀 돌연변이율이 각각 3.82×10^{-4} , 9.84×10^{-6} 까지 증가하였다. *S. enterica* TA100의 사멸율이 99.99% 이상 되는 선량의 자외선, 감마선, 전자빔에서의 복귀 돌연변이율은 각각 자연돌연변이율 대비 347배, 220배, 0.6배 증가하였다. *E. coli* CSH100 균주를 자외선, 감마선, 전자빔에 노출시킨 뒤에 조사한 리팜피신 내성 돌연변이율은 각각 2.46×10^{-6} , 1.66×10^{-6} , 4.12×10^{-7} 이었다. 따라서 사멸효과의 관점에서는 감마선 처리가 미생물 제어에 효과적이라 할 수 있으며, 전자빔은 DNA 손상과 세균 돌연변이를 적게 유발하며 사멸효과를 얻는 장점이 있다고 생각된다.

감사의 말

이 논문은 2014학년도 충북대학교 학술연구지원사업의 연구비 지원에 의하여 연구되었음.

References

- Ahmed, M.B., Zhou, J.L., Ngo, H.H., and Guo, W.S. 2016. Progress in the biological and chemical treatment technologies for emerging contaminant removal from wastewater: a critical review. *J. Hazard. Mater.* **323**, 274-298.
- Al-Ani, M.Y. and Al-Khalidy, F.R. 2006. Use of ionizing radiation technology for treating municipal waste water. *Int. J. Environ. Res. Public Health* **3**, 360-368.
- Blank, G. and Corrigan, D. 1995. Comparison of resistance of fungal spores to gamma and electron beam radiation. *Int. J. Food Microbiol.* **26**, 269-277.
- Byun, M.Y. and Yook, H.S. 2003. International and external situation of irradiation technology utilization in the food and public health industry. *Korean J. Food Preserv.* **10**, 106-123.
- DeMarini, D.M. 2000. Influence of DNA repair on mutation spectra in *Salmonella*. *Mutat. Res.* **450**, 5-17.
- Farkas, J. 2006. Irradiation for better foods. *Trends Food Sci. Tech.* **17**, 148-152.
- Geoffrey, P.J. 2007. Validation of the radiation sterilization of pharmaceuticals. In James, P.A. and Carleton, F.J. (eds.). *Validation of Pharmaceutical Processes*, 3rd Ed. CRC Press, New York, USA.
- Ham, Y.K., Kim, H.W., Hwang, K.E., Song, D.H., Kim, Y.J., Choi, Y.S., Song, B.S., Park, J.H., and Kim, C.J. 2017. Effects of irradiation source and dose level on quality characteristics of processed meat products. *Radiat. Phys. Chem.* **130**, 259-264.
- Han, B., Kim, J., Kim, Y., Choi, J.S., Makarov, I.E., and Ponomarev, A.V. 2005. Electron beam treatment of textile dyeing wastewater: operation of pilot plant and industrial plant construction. *Water Sci. Technol.* **52**, 317-324.
- International Standard Organisation (ISO). 2000. Water quality determination of the genotoxicity of water and waste water using the umu-test (1st ed). ISO, Geneva, pp. 1-18, ISO 13829.
- James, D.L., Jaczynski, J., and Matak, K.E. 2010. Effect of electron beam irradiation on nalidixic acid-resistant *Salmonella* Montevideo in tomatoes. *J. Food Safety* **30**, 515-525.
- Jeong, H. and Kim, K.R. 2010. Strain improvement based on ion beam-induced mutagenesis. *Kor. J. Microbiol. Biotechnol.* **38**, 235-243.
- Kim, J.K., Song, B.S., Kim, J.H., Park, J.H., Byun, E.B., and Lee, J.W. 2013. Sterilization characteristics of ionizing irradiation and its industrial application. *J. Korean Musculoskelet. Tissue Transplant. Soc.* **13**, 49-57.
- Lee, H.J., Kim, G.R., Park, K.H., Kim, J.S., and Kim, J.H. 2015a. Effect of electron beam irradiation on microbiological and physicochemical properties of dried red pepper powders of different origin. *Korean J. Food Sci. Technol.* **47**, 13-19.
- Lee, O.M., Kim, H.Y., Park, W.S., and Yu, S.H. 2015b. A comparative study of disinfection efficiency and regrowth control of microorganism in secondary wastewater effluent using UV, ozone, and ionizing irradiation process. *J. Hazard. Mater.* **295**, 201-208.
- Lee, K.S., Kong, S.K., and Choi, S.Y. 2003. The protective effect of *Ganoderma lucidum* on the DNA damage and mutagenesis. *J. Appl. Pharmacol.* **11**, 139-144.
- Levanduski, L. and Jaczynski, J. 2008. Increased resistance of *Escherichia coli* O157:H7 to electron beam following repetitive irradiation at sub-lethal doses. *Int. J. Food Microbiol.* **121**, 328-334.
- McNamara, N.P., Griffiths, R.L., Tabouret, A., Beresford, N.A., Bailey, M.J., and Whiteley, A.S. 2007. The sensitivity of a forest soil microbial community to acute gamma-irradiation. *Appl. Soil Ecol.* **37**, 1-9.
- Miller, J.H. 1992. A short course in bacterial genetics: a laboratory manual and handbook for *Escherichia coli* and related bacteria, Cold Spring Harbor Laboratory Press. Cold Spring Harbor, New York, USA.
- Min, J., Lee, C.W., and Gu, M.B. 2003. Gamma-radiation dose-rate effects on DNA damage and toxicity in bacterial cells. *Radiat. Environ. Biophys.* **42**, 189-192.
- Mortelmans, K. and Zeiger, E. 2000. The Ames *Salmonella* / microsome mutagenicity assay. *Mutat. Res.* **455**, 29-60.
- Oda, Y., Kunihiko, F., Masaaki, K., Akihiko, N., and Taro, Y. 2004. Use of a high-throughput umu-microplate test system for rapid

- detection of genotoxicity produced by mutagenic carcinogens and airborne particulate matter. *Environ. Mol. Mutagen.* **43**, 10–19.
- Park, S.Y., Kang, S., and Ha, S.D.** 2016. Inactivation of murine norovirus-1 in the edible seaweeds *Capsosiphon fulvescens* and *Hizikia fusiforme* using gamma radiation. *Food Microbiol.* **56**, 80–86.
- Rahman, B., Driscoll, T., Cowie, C., and Armstrong, B.K.** 2010. Disinfection by-products in drinking water and colorectal cancer: a meta-analysis. *Int. J. Epidemiol.* **39**, 733–745.
- Sadecka, J.** 2007. Irradiation of spices – a review. *Czech J. Food Sci.* **25**, 231–242.
- Shehata, M.M., Gomaa, F.A.M., and Helal, Z.H.** 2011. Effects of gamma and electron beam irradiation on viability and DNA elimination of *Staphylococcus aureus*. *ACMicrob.* **2**, 1–9.
- Taghipour, F.** 2004. Ultraviolet and ionizing radiation for microorganism inactivation. *Water Res.* **38**, 3940–3948.
- Tahri, L., Elgarrouj, D., Zantar, S., Mouhib, M., Azmani, A., and Sayah, F.** 2010. Wastewater treatment using gamma irradiation: tetouan pilot station, Morocco. *Radiat. Phys. Chem.* **79**, 424–428.
- Trampuz, A., Piper, K.E., Steckelberg, J.M., and Patel, R.** 2006. Effect of gamma irradiation on viability and DNA of *Staphylococcus epidermidis* and *Escherichia coli*. *J. Med. Microbiol.* **55**, 1271–1275.
- UNEP.** 1995. Montreal protocol on substances that deplete the ozone layer. Report of the Methyl Bromide Technical Options Committee, **1994**, 304.
- Waje, C.K., Jun, S.Y., Lee, Y.K., Kim, B.N., Han, D.H., Jo, C., and Kwon, J.H.** 2009. Microbial quality assessment and pathogen inactivation by electron beam and gamma irradiation of commercial seed sprouts. *Food Contr.* **20**, 200–204.
- Xiang, Y., Wang, L., and Jiao, Y.** 2016. Disintegration of excess sludge enhanced by a combined treatment of gamma irradiation and modified coal fly ash. *Radiat. Phys. Chem.* **120**, 49–55.
- Yoo, J.H., Kim, B.R., Choi, N.Y., and Lee, S.Y.** 2012. Efficacy of UV light against microorganism on foods. *Safe Food* **7**, 26–34.
- Yun, H.J., Lim, S.Y., Song, H.P., Kim, B.K., Chung, B.Y., and Kim, D.H.** 2007. Reduction of pathogenic bacteria in organic compost using gamma irradiation. *Radiat. Phys. Chem.* **76**, 1843–1846.