지방산 유래 고유 방사선 분해산물 2-alkylcyclobutanones의 안전성

Safety of 2-alkylcyclobutanones, unique radiolytic products from fatty acids

송범석[1,2,*], 김재훈[1], 김재경[1], 박종흠[1], 변의백[1], 유상렬[2], 이주운[1]

Beom-Seok Song[1,2,*], Jae-Hun Kim[1], Jae-Kyung Kim[1], Jong-Heum Park[1], Eui-Baek Byun[1], Ryu Sang Ryeol[2], and Ju-Woon Lee[1]

[1]한국원자력연구원 첨단방사선연구소, [2]서울대학교 농생명공학부

[1]Advanced Radiation Technology Institute, Korea Atomic Energy Research Institute, Jeongeup 580-185, Republic of Korea
[2]Division of Agriculture and Biotechnology, Seoul National University, Seoul 151-921, Republic of Korea

1. 서론

1980년대 이후부터 방사선 기술(Radiation Technology)이 식품 및 공중보건제품의 위생화에 효과적이라는 과학적 사실이 알려지면서 국제적으로 활발히 연구되고 있고 산업적 활용이 증가하고 있다(Kunstadt *et al.*, 1993).

식품의 방사선 처리 또는 조사(Food Irradiation)는 농·축·수산물과 그 가공품의 저장성을 연장하고 O157 대장균과 같은 식중독균을 효과적으로 제거하는 식품 위생화 기술로 개발되었다(Farkas, 2006). 최근에는 수출입 농·수·축산물의 효율적인 검역 관리와 방부제, 보존제와 같은 화학약품 처리 등 첨가제의 이용 없이 자연환경에 영향을 주지 않고 안전하게 식품자원을 관리할 수 있는 기술로 발전하고 있다(Kwon, 1998).

조사식품의 안전성 평가를 위해 1961년 "FAO/IAEA/WHO 공동 식품조사 건전성 평가 전문위원회 (Joint Expert Committee on the Wholesomeness of Irradiated Food, JECFI)"가 설립되어 1964년, 1969년 그리고 1976년 세 차례의 국제회의를 소집하였으며, 1970년부터 1980년도 이전까지 수행한 안전성 평가 연구들에 대한 검토를 통해 "어떠한 식품이든 10 kGy 이하의 선량으로 조사 처리된 식품은 독성학적, 영양학적 및 미생물학적 관점에서 어떠한 위험도 야기 시키지 않는다는"는 결론을 내린 바 있다(WHO, 1981). 더 나아가 1992년에 JECFI는 1980년 이후에 발표된 자료와 문헌들을 평가하여 이전의 결과를 재확인하였으며, 1997년에 고선량(10-70 kGy) 조사식품의 안전성에 관한 전문가연구회의에서 "기존 허용기준 보다 10배 이상 높은 선량에서도 건강상의 위험이 없으며, 특히 식품 조리 시 불이 너무 지나치면 타서 먹지 못하게 되는 것처럼 이온화 에너지도 과량 조사하면 유해물질이 생성되기 이전에 맛과 품질이 변하므로 최대선량을 제한할 필요가 없다"고 발표하여 조사식품의 안전성과 건전성을 다시 한 번 확인하였다(WHO, 1997).

* Correspondence to: Song, Beom-Seok
Senior Researcher, Division of Radiation Practical Application Technology, Advanced Radiation Technology Institute of Korea Atomic Energy Resaerch Institute 1266 Sinjeon-dong, Jeongeup-si, Jeollabuk-do, 580-185, Korea
Tel: +82-63-570-3211 Fax: +82-63-570-3207 E-mail: sbs0110@kaeri.re.kr

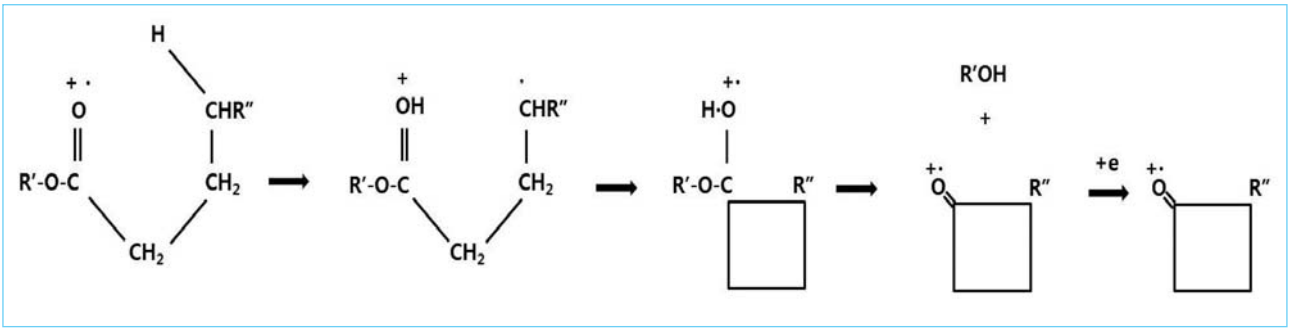
그러나 1998년 이후 독일의 연구자들이(Delincee and Pool-Zobel, 1998) 방사선 조사 시 지방으로부터 생성되는 2-alkylcylobutanones (2-ACBs)의 하나인 2-dodecylcyclobutanone (2-dDCB)이 유전독성을 유발할 가능성이 있다는 연구결과와 2-tetradecylcyclobutanone (2-tDCB)이 결장암(colon cancer) 유발을 촉진 시킨다는 연구결과(Raul *et al.*, 2002)를 발표한 이후 학계 및 소비자 단체 간의 논쟁이 이루어져 왔다.

따라서 본고에서는 현재 논쟁거리가 되고 있는 고유한 방사선 분해산물 2-ACBs의 안전성 연구 결과들을 고찰하고 앞으로의 연구 방향을 제시하고자 함으로써 조사 식품의 안전성에 대한 독자들의 올바른 판단을 돕고자 한다.

2. 2-ACBs의 특성

이온화에너지는 피조사 식품에서 활성이 높은 자유라디칼의 생성과 몇 가지 화학적 변화를 유도한다. 2-ACBs는 식품이 방사선 조사될 때, 식품에 존재하는 지방(트리글리세라이드)으로 부터 지방산이 분해되어 형성되는 4개의 탄소링으로 이루어진 환상형 (4-membered ring) 화합물이다(그림 1). 이 물질은 전구 지방산과 같은 탄소수를 가지고 있으며, 이온화 에너지에 의해서 지방산이나 트리글리세라이드의 카보닐 그룹(carbonyl group) 내 산소분자의 전자손실과 연이은 재배열에 의해서 형성된 환상 탄소링의 2번째 탄소에 n-4 alkyl group side chain이 연결되어 있다(Letellie and Nawar, 1972). 즉, 식품 내 존재하는 주요 지방산인 palmitic, stearic, oleic 및 linoleic acid는 방사선 조사에 의해 각각 2-dDCB, 2-tDCB, 2-tetradecenylcyclobutanone (2-tDeCB) 및 2-tetradeca-5',8'-dienylcyclobutanone (2-tDdeCB)으로 전환된다(Horvatovich *et al.*, 2005). 이들 생성물들은 식품으로부터 추출한 후 기체 크로마토그래피(Gas chromatography)와 질량분석기(mass spectrometer)를 이용하여 검출할 수 있다.

근래까지 가열(150℃, 30분), 마이크로웨이브(750W, 2,450 MHz, 20분), UV 조사(λ= 240~280 nm, 1시간), 고압처리(6,000 bar, 1시간), 초음파(455W, 20 kHz) 등의 비조사 처리 식품에서 2-ACBs가 발견된 바는 없어(Ndiaye *et al.*, 1999; Crone *et al.*, 1992, 1993) 2-ACBs는 고유한 방사선 분해산물(unique radiolytic products)로 알려져 있으며 지방을 포함하는 식품의 방사선 조사 여부를 판별하기 위한 마커로 이용하고 있다(CEN, 2003). 그러나 최근 들어 이러한 정설에 반하여 2-ACBs가 자연적으로도 식품에 존재하다는 보고가 있었다. Variyar 등(2008)은 비조사된 캐슈넛과 넛맥에서 2-ACBs가 검출되었으며, 농도는 2-tDCB가 1 μg/g, 2-dDCB가 2.7 μg/g, 2-tDeCB가 0.52 μg/g 이였다고 보고한바 있다. 그럼에도 불구하고 이 보고를 제외하고 이후에 비조사구에서 2-ACBs가 검출되었다는 추가적인 보고가 없어 본 결과는 객관적인 사실로 받아들여지지 않고 있다(Crews *et al.*, 2012)



<그림 1> 방사선 조사에 의하여 지방산으로부터 생성되는 2-alkylcyclobutanones의 생성 기작

3. 2-ACBs의 안전성 연구 현황

3-1. In vitro 독성 연구

1998년부터 2013년도 까지 수행된 in vitro 독성 연구들을 표 1에 나타내었다. Delincee와 Pool-Zobel (1998)은 2-dDCB가 랫트와 인체 결장 세포에 미치는 영향을 연구하였다. 그 결과 comet assay를 통해 0.3~1.25 mg/mL 수준의 2-dDCB는 DNA 가닥의 절단을 야기하였으며, 인체 결장 세포에 대하여 최대 농도(1.25 mg/mL)에서 80% 정도의 세포 독성을 나타내는 것으로 보고하였다. 이 후 Delincee 등 (2002)은 2-tDCB (6~100 μg/mL)에 대하여 인체 결장암세포(HT29 및 HT29 clone 19A)를 대상으로 30분간의 반응 후 comet assay를 통해 유전독성과 세포독성을 평가한 결과 독성을 나타내지 않았으나, 1~2일 동안 반응시킨 후 12 μg/mL 이상의 농도에서는 세포독성만을 나타내었으며 유전독성은 유의차가 없었다. 이들 연구에 대해서 WHO는 화학적으로 합성되어 실험에 사용된 2-dDCB와 2-tDCB가 실험 과정에서 분해되어 다른 물질로 전환될 수 있으나 이들 단일 화합물에 대한 검증이 결여되었다는 의문점을 제시하였고 comet assay 단일 실험만으로 유전독성을 확인하기에는 결과가 부족하다는 성명을 발표하였다(WHO, 2003).

이에 따라 Ames test를 통한 2-dDCB의 in vitro 유전독성 연구가 많은 연구자들에 의해 수행되었다. Sommers (2003)는 *Escherichia coli* tryptophan reverse mutation assay를 통해 0.05~1 mg 농도의 2-dDCB 처리는 복귀돌연변이원성이 없는 것으로 보고하였으며, Gadgil and Smith (2004) 역시 유사한 결과를 보고하였다. 또한 *Saccharomyces cerevisiae* RS112 균주의 재조합과 관련한 yeast DEL assay (Sommers and Schiestl, 2004) 및 DNA-손상유도 유전자 발현과 5-fluorouracil-resistant 돌연변이주의 수를 증가시키는 *E. coli* lacZ SF1에 대한 실험(Sommers and Mackay, 2005)에서도 음성으로 나타났다.

표 1. 2-ACBs에 대한 in vitro 독성 연구 요약

No.	Tested material	Subjects	Tested dose range	Result	Author
1	2-dDCB	Rat and human colon cells	0.30-1.25 mg/mL	DNA strand breaks and cytotoxic at 1.25 mg/mL	Delincee and Pool-Zobel, 1998
2	2-tDCB	Human colon cells	6-100 μg/mL	Cytotoxic > 12 μg/mL after incubation for 1-2 days	Delincee *et al.*, 2002
3	2-dDCB	*Esherichia coli*	0.05-1.00 mg/well	Negative	Sommers, 2003
4	2-dDCB	*Sallmonella* Typhimurium	0.25-1.0 mg/plate	Negative	Gadgil and Smith, 2004
5	2-dDCB	*Saccharomyces cerevisiae*	0.63-5.0 mg/mL	Negative	Sommers and Schiestl, 2004
6	2-dDCB	*Esherichia coli*	125-1,000 μg/mL	Negative	Sommers and Mackay, 2005
7	2-dDCB	Human TK lymphoblasts	3.3-12 μg/mL	Clastogenic effect at 12 μg/mL (formation of micronuclei)	Sommers, 2006
8	2-dDCB	HT 29 clone 19A cells, LT 97 adenoma cells, primary human epithelial cells	8-500 μg/mL	DNA strand breaks and chromosomal aberrations in preneoplastic cell line	Knoll *et al.*, 2006
9	2-DCB, 2-dDCB, 2-tDCB, 2-tDeCB	HT 29 stem and HT 29 clone 19A cells, Human HeLa cells	1-100 μg/mL	DNA strand breaks	Hartwig *et al.*, 2007
10	2-dDCB	Human lymphoma U 937 cells	1-100 μg/mL	Apoptosis was induced by 2-DCB and palmitic acid	Yu *et al.*, 2012

Abbreviations: 2-DCB, 2-decylcyclobutanone; 2-dDCB, 2-dodecylcyclobutanone; 2-tDCB, 2-tetradecylcyclobutanone; 2-tDeCB, tetradecenylcyclobutanone.

이후 Sommers (2006)는 12 μg/mL 농도의 2-dDCB가 인체 TK6 lymphoblast에 대하여 소핵을 형성하는 등 잠재적인 유전독성을 나타내는 것으로 보고 한 바 있다. 또 다른 연구에서 preneoplastic 세포주(LT97 adenoma cell)와 인체 결장암 세포주(HT29 clone 2A)를 40, 75, 150, 250, 500 μg/mL의 농도의 2-dDCB에 노출하여 comet assay를 수행한 결과 2-dDCB가 정상 preneoplastic 세포주에서 DNA 손상을 유도하였으나 암세포주에서는 나타나지 않았다(Knoll *et al.*, 2006). 더욱이 preneoplastic 세포주에 대하여 8, 20, 35 μg/mL의 농도에서 염색체이상이 발견되었다. Hartwig 등(2007)은 다양한 2-ACBs의 인체 세포주에 대한 세포독성 및 유전독성에 관한 논문을 발표하였다. alkaline unwinding procedure에 의해 HeLa 및 HT29 세포주의 DNA 가닥 손상을 관찰하였다고 보고하였고, 2-tDCB와 2-tDeCB의 경우 각각 70 μg/mL과 50 μg/mL의 농도에서 DNA 손상이 나타났으나 이러한 농도는 매우 높은 세포독성을 나타내므로 상당수의 세포군들이 더 이상 생육하기 힘든 조건이었다. 그러나 2-dDCB와 2-DCB의 경우는 비세포독성 농도에서도 DNA 손상이 발생하였으며, 이러한 결과를 통해 세포독성 및 유전독성의 정도는 탄소 사슬이 짧고 불포화도가 높을수록 보다 높은 독성을 나타내는 것으로 보고하였다.

이러한 2-ACBs의 세포 사멸 기작으로 Yu 등(2012)은 인체 림프종 U937 세포주에 대하여 2-dDCB가 세포 밖에서 활성산소종(reactive oxygen species)의 생성을 유의적으로 증가시켜 미토콘드리아 막전위를 혼란시키고 Fas, caspase-8, caspase-3의 활성을 저하시키며 세포내 Ca^{2+} 이온의 농도를 증가시킴으로써 세포를 사멸을 유도하는 것으로 보고하였다.

이상의 2-ACBs에 대한 in vitro 독성 연구들을 고찰한 결과 Ames test를 비롯한 미생물의 복귀돌연변이원성은 없으나 최근의 몇몇 연구들(Sommer, 2006; Knoll *et al.*, 2006; Hartwig *et al.*, 2007)은 in vitro 상에서 명백하게 세포독성과 유전독성을 나타내는 것으로 판단된다. 그러나 대부분의 연구 결과에서 나타난 유전독성 유발 농도는 세포독성이 매우 높아 세포막 손상 또는 산화적 DNA 손상과 같은 간접적인 작용에 의한 효과로 볼 수 있으며, 흥미롭게도 2-dDCB의 전구체인 palmitic acid 또한 in vitro에서 산화적 DNA 손상을 일으키며 DNA 가닥 손상 및 세포막 손상을 일으켜 세포 사멸을 일으킬 수 있다(Beeharry *et al.*, 2003; de Sousa *et al.*, 2005; Esteves *et al.*, 2002). 즉, 우리가 많이 섭취하는 지방산 중 하나인 palmitic acid도 2-dDCB와 같은 농도 범위에서 상기 연구들의 유전독성을 나타내는 주요 실험 방법으로 사용된 comet 및 flow cytometric assay를 통해 양성으로 나타날 수 있다는 것이다. 또한 세포독성이 나타난 2-ACBs의 농도는 인체가 소비하여 개개의 세포에 영향을 미칠 수 있는 양보다 극히 높기 때문에 상기의 in vitro 세포독성 실험 결과 자체만으로 인체에 해가 되는가 아닌가를 판단하기에는 무리가 있어 추가적인 in vivo 실험 및 생체 내 대사와 관련한 보다 과학적인 자료들이 필요한 실정이다.

3-2. In vivo 독성 연구

2-ACBs에 대한 생체 내 대사 및 in vivo 독성 연구들을 표 2에 나타내었다. 먼저 2-ACBs의 생체 내 대사와 관련하여 Horvatovich 등(2002)은 여섯 마리의 숫컷 Wistar rat에 대하여 0.005%의 2-tDCB 또는 2-tDeCB를 첨가한 음용수를 4개월 동안 투여하였으며 평균적으로 1 mg/rat/day를 섭취시킨 후 지방조직 및 분변에서의 함량을 측정하였다. GC/MS를 이용한 검출 결과 이 두 화합물들은 지방조직 내에 소량 존재하였으며, 섭취된 2-ACBs 양의 1% 이하가 분변에서 검출되는 것으로 보고하였다. Gadgil과 Smith (2006)는 여섯 마리의 암컷 Sprague-Dawley rat에 5 mg/day의 2-dDCB를 투여한 후 분변에서 총 섭취 용량의 3~11% 2-dDCB가 검출되고 지방조직에서 발견된 총량은 0.33% 였으며, 소변 추출물에서는 어떠한 대사체도 발견되지 않았다. 이러한 결과들은 섭취한 2-dDCB의 약 90% 정도가 체내에서 대사 또는 다른 기관들에 축적되는 것으로 만성적인 독성을 일으킬 수 있다는 가능성을 제시하고

표 2. 2-ACBs에 대한 in vivo 대사 및 독성 연구 요약

No.	Tested material	Subjects	Tested dose range	Result	Author
1	2-tDCB, 2-tDeCB	Wistar rats (6 male/group)	120 mg/rat (1 mg/rat/day)	Less than 1% were excreted in the feces and small amounts in the adipose tissue were detected	Harvatovich *et al.*, 2002
2	2-tDCB, 2-tDeCB	Wistar rats (6 male/group)	144-288 mg/rat (1.6 mg/rat/day)	Colon tumour multiplicity increased	Raul *et al.*, 2002
3	2-dDCB	Sprague-Dawley rats (6 female/group)	25 mg/rat (5 mg/rat/day)	3-11% of the total 2-dDCB in feces and less than 0.33% in the adipose tissue were detected	Gadgil and Smith, 2006
4	2-dDCB	Sprague-Dawley rats (6 female/group)	25 mg/rat (5 mg/rat/day)	2-dDCB is metabolized to 2-dodecylcyclobutanol and excreted in the feces	Hijaz *et al.*, 2010

Abbreviations: 2-DCB, 2-decylcyclobutanone; 2-dDCB, 2-dodecylcyclobutanone; 2-tDCB, 2-tetradecylcyclobutanone; 2-tDeCB, tetradecenylcyclobutanone.

있으나 실험에 사용된 물질이 표지되지 않았지 때문에 대사 또는 생체 내 거동에 대해서는 보다 추가적인 자료가 필요하였다. 이에 Hijaz 등(2010)은 섭취된 2-dDCB의 대부분이 간에서 독성이 없는 2-dodecylcyclobutanol로 대사되어 분변으로 배출되므로 조사식품으로부터 기인하는 2-ACBs의 섭취는 인체에 독성을 나타내지 않을 것으로 판단된다고 보고하였다.

다음으로 2-ACBs에 대한 in vivo 독성연구들을 살펴보면, Raul 등(2002)은 0.005%의 농도로 2-ACBs가 첨가된 음용수를 최대 6개월간 마리당 1.6 mg의 일일 섭취량이 되도록 투여한 후 발암물질인 azoxymethane에 의해 유도되는 결장 종양의 수 및 크기를 측정하였다. azoxymethane만을 처리한 대조구의 경우 6마리 중 4마리에서 각각 하나의 종양이 발견되었으며 크기가 모두 6 mm^3 이하로 작았으나 2-tDCB와 2-tDeCB 처리구에서는 각각 평균적으로 2.33 및 2.17개의 종양이 발생하였고 크기 또한 25 mm^3를 넘는 큰 종양들의 발생이 유의적으로 증가하였다. 이를 통해 2-ACBs의 섭취가 결장암의 발암성을 촉진한다고 발표하였다. 그러나 실험 그룹 당 6마리의 적은 랫트의 사용과 azoxymethane을 투여하지 않은 대조구의 결여를 통하여 실험의 계획이 잘못되었다는 지적을 받고 있으며, 또한 Wistar rat은 F344 또는 Sprague-Dawley 랫트 보다 일반적으로 azoxymethane 투여에 매우 민감한 것으로 알려져 있어 있어 실험 대상의 설정 역시 부적절한 것으로 판단되어 이에 대한 추가적인 보완 실험이 필요하다. 이에 대하여 세계보건기구(WHO), 미국 식품의약품안전청(FDA), 유럽식품안전청(EFSA) 등의 국제기구들은 2-ACBs가 결장암 유발을 촉진시킨 다는 정확한 과학적 근거자료가 부족하기 때문에 암 유발 촉진 가능성에 대해서는 인정을 하지 않았다(WHO 2003; FDA 2005; EFSA 2011).

상기의 in vitro 및 in vivo 실험들을 고찰한 결과 2-ACBs가 세포 사멸을 통한 세포독성은 명백하게 나타내고 있으나, comet assay를 통한 DNA 손상 등의 평가 지표로 유전독성을 나타낸다고 인정하기에는 신중할 필요가 있다. 즉 DNA 손상이 높은 세포독성으로 인한 결과일 수 있으며 세포막 파괴 및 간접적인 산화적 DNA 손상에 의해 발생될 수 있으나 이에 대한 정확한 기작은 아직 밝혀지지 않았다. 2-ACBs의 장기간 투여를 통한 Raul 등(2002)의 유일한 in vivo 독성 실험에서 결장 종양의 생성을 촉진하는 것으로 보고하였으나 여러 가지 실험적인 설계 오류로 인하여 객관적으로 인정되지는 않고 있다. 아울러 2-ACBs의 대사와 관련한 여러 in vivo 실험들을 통하여 2-ACBs의 대부분이 생체 내에서

cyclic alcohols로 대사되어 분변으로 배출되는 것으로 확인되었으므로 이에 대한 안전성 문제는 없는 것으로 판단된다. 더욱이 2-ACBs는 방사선 조사선량(kGy) 당 2 ㎍/g 미만으로 형성되며(Marchioni, 2011), 우리나라에서 식품조사에 허용되어 있는 최대 방사선 조사선량을 10 kGy라 가정할 경우 식품 1g 당 20 ㎍으로 트랜스지방과 비교할 때에도 매우 적은 미량으로 생성될 것으로 예측되므로 실질적으로 조사식품을 통해서 섭취되는 2-ACBs가 인체에 미칠 영향은 거의 없는 것으로 판단된다.

4. 앞으로의 연구 방향

이상의 2-ACBs에 대한 독성 연구들의 고찰을 통해 세포 내에서 생체분자들과의 어떠한 반응이 일어나는지에 대한 보다 구체적인 메커니즘 규명 연구가 필요하며, 2-dDCB 이외에 2-ACBs의 대사물질 규명에 대한 추가적인 연구들이 필요한 것으로 판단된다. 무엇보다 시급한 연구는 본 화합물들에 대한 급성 독성 자료들이 거의 없으므로 LD_{50} 평가 연구가 필요하다. 아울러 2-ACBs의 표지체 개발을 통해 생체 내 거동 확인 및 장기간 투여에 의한 만성독성 평가 등 다양한 안전성 평가 자료 확보를 통해 본 화합물들에 대한 안전성 여부를 종합적으로 판단하는 것이 중요할 것으로 판단된다.

이와는 별개로 2-ACBs가 조사 처리 공정에 의해 식품별로 얼마나 생성되는 지를 평가하여 2-ACBs 생성을 저감화할 수 있는 조건을 규명하는 연구 또한 앞으로 수행되어야할 것이다. 즉, 방사선의 종류(감마선, 전자선, X-선), 선량률, 조사 온도 등 조사 조건과 식품 내 수분활성도, pH 및 구성성분 조성 등 다양한 식품 내부 환경에 따른 2-ACBs 생성 정도를 파악하기 위한 기초기반 연구가 필요하다. 이를 통해 2-ACBs의 독성 여부를 떠나 조사 식품의 섭취로 인한 2-ACBs 섭취량을 최소화할 수 있을 것으로 기대한다.

감사의 글

본 연구는 한국원자력연구원 창의연구사업 및 2013년도 정부(미래창조과학부)의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 국책연구사업임(2012M2A2A6011320).

참고 문헌

1. Beeharry, S., Lowe, J.E., Hernandez, A.R., Chambers, J.A., Fucassi, F., Cragg P.J., Green, M.H.L. and Green, I.C. 2003, Linoleic acid and antioxidants protect against DNA damage and apoptosis induced by palmitic acid. Mutat. Res./Fundam. Mol. Mech. Mutagenesis 530, 27-33.

2. CEN. 2003. European Standard (EN 1785). The Detection of Irradiated Foods Containing Fat - Gas Chromatography/Mass Spectrometric Analysis of 2-alkylcyclobutanone. British Standards Institution, London, pp. 1-20.

3. Crews, C., Driffield, M. and Thomas, C. 2012. Analysis of 2-alkylcyclobutanones for detection of food irradiation: Current status, needs and prospects. J. Food Composi. Anal. 26, 1-11.

4. Crone, A.V.J., Hamilton, J.T.G. and Stevenson, M.H., 1992. Effect of storage and cooking on the dose-response of 2-dodecylcyclobutanone, a potential marker for irradiated chicken. J. Sci. Food Agr. 58, 249-252.

5. Crone, A.V.J., Hand, M.V., Hamilton, J.T.G., Sharma, N.D., Boyd, D.R., Stevenson, M.H., 1993. Synthesis, characterization and use of 2-tetradecylcyclobutanone together with other cyclobutanones as markers for irradiated liquid whole egg. J. Sci. Food Agr. 62, 361-367.

6. Delincée, H. and Pool-Zobel, B.L. 1998. Genotoxic properties of 2-dodecylcyclobutanone, a compound formed on irradiation of food containing fat. Radiat. Phys. Chem. 52, 39-42.

7. Delincée, H., Soika, C., Horvatovich, P., Rechkemmer, G. and Marchioni, E. 2002. Genotoxicity of 2-alkylcyclobutanones, markers for an irradiation treatment in fat-containing food - Part I: Cyto and genotoxic potential of 2-tetradecylcyclobutanone. Radiat. Phys. Chem. 63, 431-435.

8. de Sousa, U.L.J., Koss, M.D., Fillies, M., Gahl, A., Scheeder, M.R.L., Cardoso, M.C., Leonhardt, H., Geary, N., Langhans, W. and Leonhardt, M. 2005. CPT1 alpha over-expression increases long-chain fatty acid oxidation and reduces cell viabillity with incremental palmitic acid concentration in 293T cells. Biochem. and Biophys. Res. Communications 338, 757-761.

9. EFSA, 2011. Scientific opinion on the chemical safety of irradiation of food. EFSA Journal 9, 1930-1986.

10. Esteves, M.P., Raymundo, A., De Sousa, I., Andrade, M.E. and Empis, J. 2002. Rheological behaviour of white pepper gels - A new method for studying the effect of irradiation. Radiat. Phys. Chem. 64, 323-329.

11. Farkas, J. 2006. Irradiation for better foods. Trends Food Sci. Tech. 17, 148-152.

12. FDA, 2005. Toxicology Memorandum.

13. Gadgil, P. and Smith, J.S. 2004. Mutagenicity and acute toxicity evaluation of 2-dodecylcyclobutanone. J. Food Sci. 69, 9, C713-C716.

14. Gadgil, P. and Smith, J.S. 2006. Metabolism by rats of 2-dodecylcyclobutanone, a radiolytic compound present in irradiated beef. J. Agr. Food Chem. 54, 4896-4900.

15. Hartwig, A., Pelzer, A., Burnouf, D., Titéca, H., Delincée, H., Briviba, K., Soika, C., Hodapp, C., Raul, F., Miesch, M., Werner, D., Horvatovich, P. and Marchioni, E. 2007. Toxicological potential of 2-alkylcyclobutanones - specific radiolytic products in irradiated fat-containing food - in bacteria and human cell lines. Food Chem. Toxicology 45, 2581-2591.

16. Hijaz, F., Shrestha, T.B., Bossman S.H., Hussain, F. and Smith, J.S. 2010. In vitro and in vivo metabolism of the radiolytic compound 2-dodecylcyclobutanone. J. Food Sci. 75, T72-T80.

17. Horvatovich, P., Miesch, M., Hasselmann, C., Delincée, H. and Marchioni, E. 2005. Determination of monounsaturated alkyl side chain 2-alkylcyclobutanones in irradiated foods. J. Agric. Food Chem. 53, 5836-5841.

18. Horvatovich, P., Raul, F., Miesch, M., Burnouf, D., Delincée, H., Hartwig, A., Werner, D. and Marchioni, E. 2002. Detection of 2-alkylcyclobutanones, markers for irradiated foods, in adipose tissues of animals fed with these substances. J. Food Prot. 65, 1610-1613.

19. Knoll, N., Weise, A., Claussen, U., Sendt, W., Marian, B., Glei, M. and Pool-Zobel, B.L. 2006. 2-Dodecylcyclobutanone, a radiolytic product of palmitic acid, is genotoxic in primary human colon cells and in cells from preneoplastic lesions. Mutat. Res./Fundam. Mol. Mech. Mutagenesis 594, 10-19.

20. Kunstadt, P., Steeves C. and Beaulieu D. 1993. Economics of food irradiation. Radiat. Phys. Chem. 42, 259-268.

21. Kwon, J.H. 1998. Application of irradiation technology to preserving and improving qualities of agricultural products. J. Food Sci. Nutr. 3, 295-301.

22. Litellier, P.P. and Nawar, W.W. 1972. 2-Alkylcyclobutanones from the radiolysis of triglycerides. Lipids 7, 75-76.

23. Ndiaye, B., Jamet, G., Meish, M., Hasselmann, C. and Marchioni, E., 1999. 2-Alkylcyclobutanones as markers for irradiated foodstuffs II. The CEN (European Committee for Standardization) Method. Radiation Physics and Chemistry 55, 437-445.

24. Marchioni, E. 2011. Should we be worried about food irradiation radiolytic products? 2011 International symposium and annual meeting for korean society of food science and nutrition, Busan. Korea.

25. Marchioni E., Raul F., Burnouf D., Miesch M., Delincee H., Hartwig A., Werner D. 2004. Toxicological study on 2-alkylcyclobutanones-results of a collaborative study. Radiation Physics and Chemistry 71, 145-148.

26. Raul, F., Gosse, F., Delincée, H., Hartwig, A., Marchioni, E., Miesch, M., Werner, D. and Burnouf, D. 2002. Food-borne radiolytic compounds (2-alkylcyclobutanones) may promote experimental colon carcinogenesis. Nutr. Cancer 44, 188-191.

27. Sommers, C.H. 2003. 2-Dodecylcyclobutanone does not induce mutations in the *Escherichia coli* tryptophan reverse mutation assay. J. Agr. Food Chem. 51. 6367-6370.

28. Sommers, C.H., 2006. Induction of micronuclei in human TK6 lymphoblasts by 2-dodecylcyclobutanone, a unique radiolytic product of palmitic acid. J. Food Sci. 71, C281-C284.

29. Sommers, C.H. and Mackay, W.J., 2005. DNA damage-inducible gene expression and formation of 5-fluorouracil-resistant mutants in *Escherichia coli* exposed to 2-dodecylcyclobutanone. J. Food Sci. 70, C254-C257.

30. Sommers, C.H. and Schiestl, R.H. 2004. 2-dodecylcyclobutanone does not induce mutations in the Salmonella mutagenicity test or intrachromosomal recombination in *Saccharomyces cerevisiae.* J. Food Prot. 67, 1293-1298.

31. Variyar, P.S., Chatterjee, S., Sajilata, M.G., Singhal, R.S. and Sharma, A., 2008. Natural Existence of 2-Alkylcyclobutanones. J. Agr. Food Chem. 56, 11817-11823.

32. WHO. 1981. Wholesomeness of irradiated food. Report of a joint FAO/IAEA/WHO expert committee. Technical Report Series-659, p.34.

33. WHO. 1997. High-dose irradiation: Wholesomeness of food irradiated with doses above 10 kGy. Report of a joint FAO/IAEA/WHO study group. WHO Technical Report Series-890, World Health Organization, Geneva, Switzerland.

34. WHO. 2003. WHO statement on 2-dodecylcyclcobutanone and related compounds.

35. WHO, 2003. WHO statement on 2-dodecylcyclcobutanone and related compounds.

36. Yu, D.Y., Zhao, Q.L., Furuta, M., Todoriki, S., Izumi, K., Yamakage, K., Matsumoto, K., Nomura, T. and Kondo, T. 2012. Molecular mechanisms of apoptosis induction by 2-dodecylcyclobutanon, a radiolytic product of palmitic acid, in human lymphoma U937 cells. Apoptosis 17, 636-645.