

여러가지 조리방법으로 조리된 조기와 돼지고기의 돌연변이원성의 검색

이은경·이임선·신남희·정승희·구성자
경희대학교 가정대학

Screening of Mutagenic Activity of Extracts from Croaker and Pork Cooked by Various Cooking Methods

Eun-Kyung Lee, Im-Sun Lee, Nam-Hee Shin, Seung-Hee Joung and Soung-Ja Koo

College of Home Economics, Kyung Hee University

Abstract

Croaker and pork were cooked by four kinds of methods(boiled, broiled, deep fried, pan fried) and their extracts were extracted with 50% methanol. The Ames test were performed on these methanol extracts, employing *Salmonella typhimurium* tester strain TA98 and TA100, with and without S9 mix, and after nitrite treatment. The methanol extracts of cooked croaker and pork showed mutagenicity between original weight 0.0125 g/plate and 0.1 g/plate in all strains and induced a higher mutagenicity in all strains with S9 mix than without S9 mix. In all kinds of cooking methods, pork extracts showed higher mutagenicities than croaker extracts and especially the extract of pan fried croaker and pork showed high mutagenicities with S9 mix. The extract after nitrite treatment showed higher mutagenicities than that after non treatment and after treatment with nitrite, the mutagenicities of extracts were higher on TA98 than TA100.

I. 서 론

사람에게 암이 발생하는 원인으로는 유전이나 병원체에 의한 요인보다는 인간의 환경적 조건이 더 큰 비중을 차지하며 그 중에서도 날마다 섭취하는 음식은 암을 발생하게 하는 가장 중요한 요소이다¹⁾. Sugimura 등²⁾에 의하면 음식중에 존재하는 발암원은 크게 세가지로 분류되는데, 첫번째가 mycotoxins에 의한 것, 두번째가 음식의 저장, 가공, 조리 중에 발생하는 생산물, 세번째가 인공첨가물에 의한 유도물질에 의한 것으로, 이 중에서도 식품의 가공조리시 발생하는 발암성 물질은 노출되는 정도와 발암의 가능성이 가장 높기 때문에 매우 중요하다고 보고하였다.

식품을 조리할 때 발생하는 발암성 aromatic compounds로는 broiled steaks에서 처음으로 발견된 polycyclic aromatic hydrocarbons과 grilled chicken에서 검출된 N-nitroso compounds와 hetero cyclic amines 등이 있다^{3,4)}.

Kato 등⁵⁾에 따르면 이런 화합물들은 변이원성을 나타내기 위해서는 S9 mix에 의해 대사적으로 활성화되어야 한다고 보고하였다.

그 외에 식품 중의 발암원으로 생각되는 것으로는 N-nitroso compounds가 있는데, 이것은 위장에서와 같은 산성조건하에서 식품에서 유도된 amines와 amides같은 nitrosable precursors와 nitrite로부터 형성되어 실험동물에서 종양을 유도하고 위암을 유발했다는 보고도 있다⁶⁻⁹⁾.

본 연구에서는 우리나라 가정에서 주로 섭취되는 돼지고기(pork)와 조기(croaker)에 대해서 물을 첨가하여 끓이기(boiled), 석쇠를 이용한 직접굽기(broiled), frying pan을 이용하여 소량의 기름을 첨가하는 간접굽기(pan fried), 많은 양의 기름을 사용하는 튀기기(deep fried) 등, 실제로 우리나라 가정에서 주로 이용되는 조리법을 사용하였을 때 형성되는 돌연변이원성과, 조기와 돼지고기의 각 조리법에 의한 추출물에 대한 nitrite의 첨가가 돌연변이원성에 미치는 영향을 알아보기 위해 *Salmonella typhimurium*의 변이균주 중 구조 이동형(frame shift) 변이균주인 TA98과 염기 치환형(base-pair substituent) 변이균주인 TA100을 이용하는 Ames test를 실시하여 과학적인 조리법의 기초자료로 활용하고자 한다.

II. 실험재료 및 방법

1. 실험재료

본 실험에 사용된 돼지고기(pork)와 조기(croaker)는 각 조리법 당 2 Kg씩을 경동시장에서 일괄 구입하여 사용하였다. 콩기름은(해표 식용유) 슈퍼에서 구입하여 사용하였다. 양성대조물질로 사용된 Sodium azide는 Junsei사에서, 2-amino fluorene(2-AF), 4-nitroquinoline oxide(4-NQO), benzo[a]pyrene(B(a)P)은 Sigma사에서, Nutrient broth와 agar는 Difco사로 부터 구입하여 사용하였다. 기타 다른 시약도 특급시약을 사용하였다.

S9 mix은 화학 연구소(대전 대덕연구단지 소재)에서 제공받았고, cofactor는 Waco사에서 구입하여 사용하였다.

2. 시험균주

Ames test에 사용되는 균주로는 *Salmonella typhimurium*의 변이주로서 histidine auxotroph인 TA98 및 TA100을 유전공학연구소(대전 대덕연구단지 소재)에서 분양받아 사용하였고 균주들은 유전형질을 확인한 후 시험에 사용하였다.

3. 시료의 조제방법

본 실험에 사용한 조기와 돼지고기를 일정한 크기(5 cm × 10 cm × 1 cm)로 자른 후 아래의 4가지 조리방법으로 조리하였다.

(1) 끓이기(Boil)

시료에 동량 무게의 중류수를 넣고 100°C에서 1시간 가열하였다.

(2) 직접굽기(Broil)

시료를 석쇠위에 놓고 gas 중불로 한면당 5분간 직화하였다.

(3) 간접굽기(Pan-fry)

Frying pan을 210°C로 미리 가열한 후 10ml의 콩기름을 두른 후 시료를 한면당 5분간 가열하였다.

(4) 튀기기(Deep-fry)

180~200°C 온도 범위에서, 튀김기름을 40시간까지 가열시 20시간에서 가장 높은 변이원성을 보인 Hageman¹⁰ 등의 연구에 따라 20시간 동안 가열한 콩기름 1.5 liter에 200 g의 시료를 200°C의 온도에서 5분간 frying하여 식힌 후, 180°C의 온도에서 한번 더 5분간 frying하였다.

각 조리방법에 의해 얻은 시료를 시료무게의 4배에 해당하는 50%의 methyl alcohol에 넣어서 mixer로 2분간 균질화하고, plate상에서 stirrer를 이용하여 하룻밤 동안 추출한 후, 10,000 rpm에서 40분간 원심분리하여 상층액을 취하였다. 이 조작을 3회 반복하여 얻은 상층액을 감압 농축하여 고형물을 얻어 -80°C에서 보관하여 실험에 사용하였다.

4. Ames Test

(1) 양성대조물질의 조제

Sodium azide는 멸균한 중류수로 1 µg/0.1 ml의 농도로 희석하고 B(a)P도 Dimethyl sulfoxide(DMSO)와 섞어 10 µg/0.1 ml 농도로 사용하였다. 2-AF은 plate당 20 µg/0.1 ml 농도로 사용하였고 4-NQO(4-nitroquinoline n-Oxide)는 plate당 0.25 µg/0.1 ml 농도로 사용하였다.

(2) S9 mix의 조제

S9 mix는 Waco사에서 구입한 cofactor에 중류수 10 ml을 섞어 여과 멸균한 후 Aroclor-1254로 유도된 rat liver S9 mix를 4% 농도가 되도록 잘 혼합하여 plate 당 0.5 ml를 중류수 대신 사용하였다.

(3) Nitrite의 처리

돼지고기와 조기의 조리방법에 따른 methanol 추출물을 1 ml의 중류수에 녹이고, 여기에 80 mM의 citrate-phosphate buffer(pH 3.0) 0.6 ml와 50 mM의 sodium nitrite 0.2 ml을 섞고, 6M hydrochloric acid로 pH 3.0으로 맞춘 후, 37°C에서 1시간 동안 incubation하였다. 여분의 nitrite는 같은 양의 ammonium sulfamate를 첨가하여 분해시켜서 반응을 종결시키고 마지막 혼합물을 여과 멸균하여 실험시에는 plate당 0.1 ml를 사용하였다.

(4) Mutagenicity Test

Ames test를 개량한 preincubation법^{11,12}을 적용시켰고, *Salmonella typhimurium* tester strains TA98과 TA100을 사용하였다. TA100에 S9 mix를 사용하지 않았을 경우는 Sodium azide를, TA100에 S9 mix를 사용했을 경우는 B(a)P을 positive control로 사용하였다. TA98에 S9 mix를 사용하지 않았을 경우는 4-NQO를, TA98에 S9 mix를 사용했을 경우는 2-AF을 각각 positive control로 사용하였다. Original weight 0.0125, 0.025, 0.0375, 0.05, 0.1 g에 해당하는 농도의 methanol 추출물을 시료로 하여 4가지 유전형질 test를 통과한 *Salmonella typhimurium* 변이균주중 구조이동형인 TA98과 염기치환형인 TA100으로 Ames test를 하였다.

Test의 순서는 우선 각 농도의 methanol 추출물을 취한 후, plate당 0.1 ml의 농도가 되도록 DMSO를 넣어 잘 녹인 후 멸균하여 실험에는 plate당 0.1 ml를 사용하였다. Nitrite로 처리할 때는 위의 (3)의 방법에 따라서 얻은 물질을 plate당 0.1 ml씩 사용하였다. 멸균한 중류수 0.5 ml또는 4%의 S9을 함유한 S9 mix 0.5 ml와 위에서 만든 test compounds 0.1 ml, 미리 배양한 균주 0.1 ml(1.2 × 10⁹ cell/ml)를 잘 섞어 37°C에서 20분간 예비배양한 후, 10%의 histidine/ biotin solution을 넣은 top agar와 함께 잘 섞어 미리 만들어 놓은 minimal glucose agar plate에 도말하여, 37°C에서 48시간 배양하여 생긴 his⁺ revertant colony를 계측하여 돌연변이원성의 유무를 판정하였다. 모든 실험은 한 농도 당 3개의 평판 고형배지를 사용하였다.

III. 결과 및 고찰

1. 시료의 농도에 따른 돌연변이원성 비교

Boiled, broiled, deep fried, pan fried 등의 방법으로 조리한 1 g의 조기와 돼지고기를 50% methanol로 추출하고 감압 농축하여, 조기의 경우 각각 49 mg, 32 mg, 101 mg, 75 mg을 얻었으며 돼지고기의 경우는 각각 48 mg, 21 mg, 32 mg, 34 mg을 얻었다.

4가지 조리법에 의한 조기과 돼지고기 methanol 추출물을 S9 mix 없이 TA98로 Ames test한 결과는 Table 1에 나타난 바와 같다. S9 mix를 사용하지 않았을 때 TA98에서는 자연복귀돌연변이균수는 48±10이었고 양성대조물질로 사용한 4-NQO(0.25 µg/plate)의 복귀돌연

Table 1. Mutagenicity of the extract of cooked croaker and pork by the Ames test on TA98 without S9 mix

Cooking method	Concentration of original weight(g/plate)	0.0125	0.025	0.0375	0.05	0.1
croaker						
boiled	81±17 ^a	239±9	241±24	340±49	462±35	
broiled	159±13	237±13	293±27	451±24	546±30	
deep fried	185±19	227±39	246±18	288±9	245±35	
pan fried	246±45	343±32	373±13	457±2	499±8	
pork						
boiled	139±14	289±18	492±27	522±32	877±57	
broiled	227±56	413±28	229±43	103±8	91±16	
deep fried	164±15	288±10	600±26	599±23	240±38	
pan fried	180±13	385±29	487±15	589±25	253±42	

^aMean Values± SE of number of revertant colonies per plate, subtracted of the number of spontaneous reversion. Spontaneous revertants of TA98 without S9 mix: 48±10 Positive control: 4-NQO(0.25 µg/plate): 196±17

Table 2. Mutagenicity of the extract of cooked croaker and pork by the Ames test on TA100 without S9 mix

Cooking method	Concentration of original weight(g/plate)	0.0125	0.025	0.0375	0.05	0.1
croaker						
boiled	52±28 ^a	40±26	78±13	84±22	164±31	
broiled	12±14	34±21	53±13	36±8	83±14	
deep fried	46±8	107±41	120±13	124±20	117±42	
pan fried	20±12	40±10	67±23	109±37	62±7	
pork						
boiled	154±40	254±35	235±61	336±17	347±82	
broiled	111±13	173±60	194±17	237±21	443±43	
deep fried	115±24	365±51	376±50	384±37	336±17	
pan fried	73±17	114±23	320±28	476±75	526±35	

^aMean Values± SE of number of revertant colonies per plate, subtracted of the number of spontaneous reversion. Spontaneous revertants of TA100 without S9 mix: 156±28 Positive control: Sodium azide(1 µg/plate): 4027±48

변이균수는 196±17이었으며, 시료의 모든 농도에서 복귀돌연변이균수는 자연복귀돌연변이균수보다 높았다. 조기의 boiled, broiled, pan fried법과 돼지고기의 boiled법에서 0.0125 g에서 0.1 g으로 농도가 증가함에 따라서 복귀돌연변이원수가 점차 증가하였으나, 돼지고기의 broiled, deep fried, pan fried법에서는 0.025 g에서 0.05 g 농도구간에서 더 높은 복귀돌연변이원수를 보였다.

TA100에 대한 농도에 따른 돌연변이원성은 Table 2와 같으며, S9 mix를 사용하지 않았을 때 TA100에서 자연복귀돌연변이균수는 156±28이었고 양성대조물질로 사용한 Sodium azide(1 µg/plate)의 복귀돌연변이균수는 4027±48이었으며, 시료의 모든 농도에서 복귀돌연변이

Table 3. Mutagenicity of the extract of cooked croaker and pork by the Ames test on TA98 with S9 mix

Cooking method	Concentration of original weight(g/plate)				
	0.0125	0.025	0.0375	0.05	0.1
croaker					
boiled	131±17 ^a	389±14	474±24	655±27	588±23
broiled	282±17	563±34	657±25	840±42	941±52
deep fried	286±14	399±18	546±18	433±27	394±17
pan fried	426±10	623±13	765±10	641±30	580±25
pork					
boiled	326±20	663±39	1006±19	1265±34	957±30
broiled	402±119	667±94	463±34	283±15	272±21
deep fried	299±11	492±13	713±20	642±15	349±37
pan fried	331±29	876±14	1011±24	865±152	416±17

^aMean Values± SE of number of revertant colonies per plate, subtracted of the number of spontaneous reversion. Spontaneous revertants of TA98 with S9 mix: 39±6 Positive control: 2-AF(20 µg/plate): 5709±101

Table 4. Mutagenicity of the extract of cooked croaker and pork by the Ames test on TA100 with S9 mix

Cooking method	Concentration of original weight(g/plate)				
	0.0125	0.025	0.0375	0.05	0.1
croaker					
boiled	169±29 ^a	255±46	326±32	349±32	238±27
broiled	69±29	162±17	360±12	258±18	166±30
deep fried	162±34	330±20	396±16	549±40	675±64
pan fried	216±21	241±39	359±20	471±25	264±28
pork					
boiled	337±33	548±49	735±30	789±99	471±22
broiled	273±26	436±13	563±43	737±16	492±11
deep fried	291±31	398±34	450±16	505±52	476±16
pan fried	342±16	868±22	769±35	686±30	560±33

^aMean Values± SE of number of revertant colonies per plate, subtracted of the number of spontaneous reversion. Spontaneous revertants of TA100 with S9 mix: 183±20 Positive control: B(a)P(10 µg/plate): 1108±123

균수는 자연복귀돌연변이균수보다 높았다. 조기의 boiled, broiled법과 돼지고기의 boiled, broiled, pan feied법은 0.0125 g에서 0.1 g으로 농도가 증가함에 따라서 복귀돌연변이균수가 증가하였으나, 조기의 deep fried, pan fried법과 돼지고기의 deep fried법은 0.05 g에서 가장 높은 복귀돌연변이원성을 보였다.

2. 대사활성물질 첨가에 따른 돌연변이원성 비교

조기와 돼지고기의 추출물은 Table 1,2에서와 같이 모든 농도에서 직접 돌연변이원성을 나타냈으나 Aroclor-1254로 유도된 대사 활성물질 첨가시의 영향은 Table 3,4와 같았다. S9 mix를 첨가했을 때 TA98에 대한 자연복귀돌연변이균수는 39±6이었고 양성대조물질로 2-AF(20 µg/plate)를 사용했을 때는 5709±101의 복귀돌연변이균수를 보였으며, TA100에 대한 자연복귀돌연변

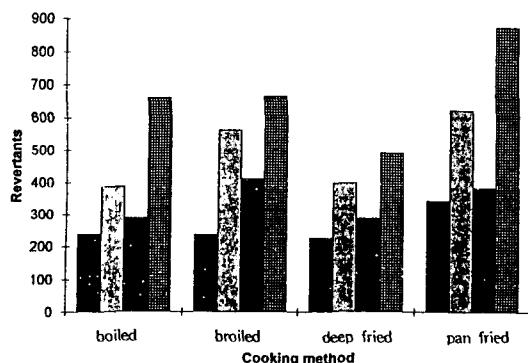


Fig. 1. Effect of cooking methods of croaker and pork extracts on the mutagenicities to TA98.

■ Croaker without S9 ■: Croaker with S9 ■ Pork without S9 ■ Pork with S9

The number of spontaneous revertants was subtracted. Spontaneous revertants of TA98 without S9 mix: 48 ± 10
Positive control: 4-NQO(0.25 µg/plate): 196 ± 17
Spontaneous revertants of TA98 with S9 mix: 39 ± 6
Positive control: 2-AF(20 µg/plate): 5709 ± 101

이균수는 183 ± 20 이었고 양성대조물질로 B(a)P(10 µg/plate)를 사용했을 때는 1108 ± 123 의 복귀돌연변이균수를 나타내었다.

TA98에서 조기의 boiled, deep fried, pan fried법과 돼지고기의 boiled, pan fried법에서는 S9 mix를 첨가하지 않았을 경우와 비교하여 S9 mix 첨가시 더 낮은 농도에서 가장 높은 돌연변이원성을 보였고, TA100에서 조기의 boiled, broiled법과 돼지고기의 boiled, broiled, pan fried법에서도 S9 mix 첨가시의 돌연변이원성이 첨가하지 않았을 경우와 비교하여 더 낮은 농도에서 가장 높은 돌연변이원성을 보였으나, 변이원의 농도가 증가함에 따라 돌연변이원성이 증가하지 않았는데 이는 변이원의 농도에 대사활성 물질이 비례하지 않은 것으로 추정된다¹³⁾. 한편, 고기의 deep fried법에서는 S9 mix의 첨가와 관계없이 0.05 g에서 가장 높은 돌연변이원성을 보였다.

S9 mix를 첨가하지 않았을 경우와 비교하면, S9 mix를 첨가할 때 돌연변이원성이 약 2~5배 정도 증가하는 경향을 보였다. 그러나 김 등¹⁴⁾의 연구에 따르면 삼치의 fried법과 broiled법의 methanol 추출물에 대해 S9 mix의 첨가시 약 5~10배 정도 복귀돌연변이원수가 증가하였다고 보고하였는데, 이는 시료 채취시 표면의 탄 부분만 모아 추출하였기 때문에 본 연구보다 높은 돌연변이원성을 나타냈다고 사료된다.

S9 mix 첨가시 TA100보다는 TA98에서 돌연변이원성이 더 높았다. 이 결과는 Gocke *et al.*¹⁵⁾과 Lin *et al.*¹⁶⁾이 S9 mix 첨가시 TA98에서 높은 돌연변이원성을 나타냈다는 보고와 유사한 결과이었다.

이상의 결과로 조리된 조기와 돼지고기 추출물에는 소량의 간접 돌연변이원(indirect-acting mutagen)도 포함되는 것으로 보인다.

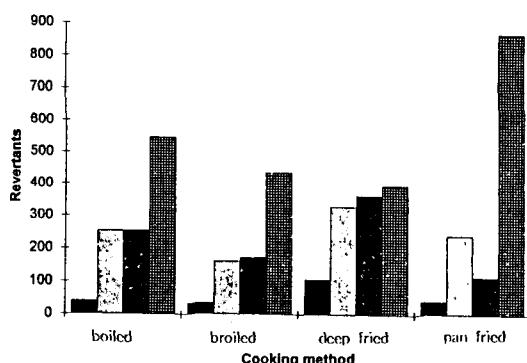


Fig. 2. Effect of cooking methods of croaker and pork extracts on the mutagenicities to TA100. The number of spontaneous revertants was subtracted.

■ Croaker without S9 ■: Croaker with S9 ■ Pork without S9 ■ Pork with S9

Spontaneous revertants of TA100 without S9 mix: 156 ± 28
Positive control: Sodium azide(1 µg/plate): 4027 ± 48
Spontaneous revertants of TA100 with S9 mix: 183 ± 20
Positive control: B(a)P(10 µg/plate): 1108 ± 123

함되어 있을 것으로 생각된다.

3. 조기와 돼지고기의 조리법간의 돌연변이원성 비교

TA98과 TA100에서의 모든 조리법의 돌연변이원성은 Table 1-4에 나타난 바와 같으며 일직선상의 증가구간에 속하는 농도는 0.025 g이었으므로, 이를 유효농도로 하여 조기와 돼지고기의 조리법 간의 돌연변이원성을 Fig. 1, 2에 나타냈다. 균주와 S9 mix의 첨가와는 상관없이 모두 돼지고기가 조기보다 높은 돌연변이원성을 보였는데, 이는 양고기가 생선보다 높은 돌연변이원성을 보인 Taj 등¹⁷⁾의 연구와 유사한 결과였으며 그 이유로는 식품성분 중의 포화지방산이 돌연변이원 형성에 상당한 영향을 미치는 것으로 생각된다. S9 mix가 첨가된 조기와 돼지고기의 TA98에 대한 pan fried법이 다른 조리법 보다 돌연변이원성이 약간 높았다. 이것은 이¹⁸⁾의 쇠갈비를 석쇠에 구운 것이 철판에 구운 것보다 더 높은 돌연변이원성을 나타냈다는 결과나, 김 등¹⁴⁾의 삼치의 broiled 법이 pan fried법 보다 더 높은 돌연변이원성을 나타냈다는 결과와는 일치하지 않았다. 그 이유는 전열가열과 달리 본 실험에서 사용한 pan fried법에서는 소량의 콩기름을 첨가하여 210°C로 가열하였으므로, 고온 가열시 콩기름의 산패도 영향을 미쳤을 것으로 생각된다. 또한 deep fried법의 경우가 pan fried법에서 보다는 돌연변이원성이 낮게 나타났으며, 그 이유는 소량에 비해 다량의 기름의 첨가가 산폐수준을 감소시켜 돌연변이원성이 낮게 나타나는 것으로 사려되는데, 이는 대구와 잉어에 대한 Zhang 등¹⁹⁾의 연구와 일치되는 결과였다.

Fig. 2에 나타난 바와 같이 S9 mix 첨가시 TA100에서 돼지고기의 pan fried법이 가장 높은 돌연변이원성을

Table 5. Mutagenicity of the extract of cooked croaker and pork of 0.025 g original weight on TA98 and TA100 after nitrite treatment without S9 mix

Cooking method	TA98	TA100
croaker		
boiled	330±22 ^a	197±19
broiled	363±24	175±11
deep fried	278±13	181±6
pan fried	467±8	168±21
pork		
boiled	543±39	394±53
broiled	571±28	342±26
deep fried	468±39	341±16
pan fried	668±20	374±18

^aMean Values± SE of number of revertant colonies per plate, subtracted of the number of spontaneous reversion. Spontaneous revertants of TA98 without S9 mix: 48±10 Positive control: 4-NQO(0.25 µg/plate): 196±17 Spontaneous revertants of TA100 without S9 mix: 156±28 Positive control: Sodium azide (1 µg/plate): 4027±48

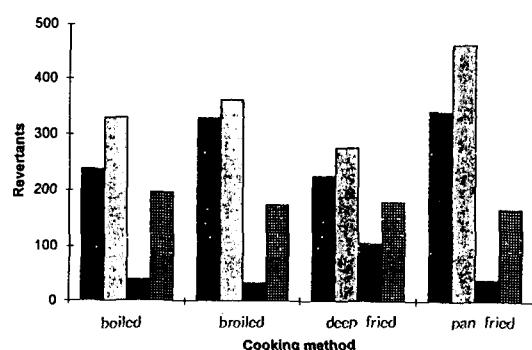


Fig. 3. Effect of cooking methods of croaker after nitrite treatment on the mutagenicities to TA98 and TA100 without S9 mix.

■ Non treatment on TA98 ■ Nitrite treatment on TA98
■ Non treatment TA100 ■ Nitrite treatment on TA100
The number of spontaneous revertants was subtracted.
Spontaneous revertants of TA98 without S9 mix: 48±10
Spontaneous revertants of TA100 without S9 mix: 156±28

보였고, 특이하게 boiled법이 broiled법보다 약간 높은 돌연변이원성을 나타냈다. 돌연변이원성의 형성 전구체로는 당, creatine, 아마노산 등으로 알려져 있으며²⁰⁾, 수분도 돌연변이원 형성에 영향을 미치는 요인으로 볼 수 있다. 그 이유는 수분이 돌연변이원의 전구체 형성반응이 일어나는 뜨거운 육류의 표면으로 전구체의 이동을 돋기 때문에 생략되며, 이것은 육류에 분말우유를 첨가한 경우보다 액체우유를 첨가한 경우에 더 높은 돌연변이원성을 보인 Felton 들²¹⁾의 연구와 일치하였다. 그러므로 boiled법은 고온으로 가열시 돼지고기의 표면에 형성된

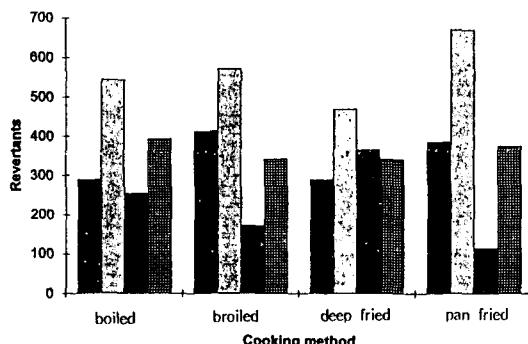


Fig. 4. Effect of cooking methods of pork after nitrite treatment on the mutagenicities to TA98 and TA100 without S9 mix.

■ Non treatment on TA98 ■ Nitrite treatment on TA98
■ Non treatment TA100 ■ Nitrite treatment on TA100
The number of spontaneous revertants was subtracted.
Spontaneous revertants of TA98 without S9 mix: 48±10
Spontaneous revertants of TA100 without S9 mix: 156±28

돌연변이원이 물 속으로 용출되었을 것으로 보이며, 본 실험에서는 이 용출물도 methanol로 추출하였으므로 예상보다 높은 돌연변이원성을 보인 것으로 생각된다. 위의 결과들은 같은 쇠고기 덩어리 지점에 있어서의 돌연변이성은 지방이나 수분의 함량에 의해 영향을 받는다는 Taylor 들²²⁾의 연구와 일치한다.

실제 가정내에서는 양념이 첨가되어 조리되므로 순수한 조기와 돼지고기만을 조리한 본 실험과는 차이가 있을 수 있으며, 이¹⁸⁾의 연구에 의하면 조리온도에 따라서 돌연변이원성이 민감하게 변화한다고 보고한 바와 같이 다양한 조리법의 조리온도와 시간에 따른 돌연변이원성의 비교도 더 깊게 연구할 필요가 있다.

4. 돌연변이원성에 대한 nitrite 처리 효과

유효농도 0.025 g의 조기와 돼지고기에 대한 50 mM nitrite 처리 후 돌연변이원성의 결과는 Table 5과 같다. 조기와 돼지고기의 모든 조리법에서 nitrite 처리시 돌연변이원성이 증가하였는데, 특히 TA98이 TA100에 비해 돌연변이원성이 더 높게 나타났다. TA98과 TA100에서 조기와 돼지고기의 4가지 조리법 모두 nitrite를 처리하지 않은 경우보다 nitrite를 처리한 경우가 더 높은 돌연변이원성을 보였으므로(Fig. 3, 4), 본 시료는 nitrite에 대해서 직접 돌연변이원성이 있음을 시사한다. 이는 Taj 들¹⁷⁾의 가금일광전조 생선인 Trichurus lepture(리본 생선)와 양고기, Yano 들²³⁾의 닭, 쇠고기, 양고기, 돼지고기와 일광전조시킨 연어에서 nitrite 처리시 높은 돌연변이원성을 보인 결과와 일치하였다.

IV. 요 약

Boiled, broiled, deep fried, pan fried 등의 방법으로

조리된 조기와 돼지고기의 50% methanol 추출물에 S9 mix를 첨가한 군, S9 mix를 첨가하지 않은 군, 그리고 nitrite를 처리한 군을 *Salmonella typhimurium* TA98과 TA100으로 Ames test를 실시하여 돌연변이원 형성을 검토한 결과는 다음과 같다.

- S9 mix를 첨가하지 않은 조기와 돼지고기는 original weight 0.0125 g과 0.1 g 사이의 농도 구간에서 돌연변이 원성을 보였다.

- S9 mix 첨가시 조기와 돼지고기의 돌연변이원성은 모든 농도 구간에서 S9 mix를 첨가하지 않은 경우보다 2~5배 정도 증가하여 간접 돌연변이원이 존재함을 확인하였다.

- TA98과 TA100에 대한 돌연변이원성은 모든 조리법에서 조기보다 돼지고기가 더 높았고, 특히 pan fried법의 경우 S9 mix의 첨가시 돌연변이원성이 매우 높게 나타났다.

- 조기와 돼지고기의 모든 조리법에서 nitrite 처리시 TA98과 TA100 모두 돌연변이원성이 증가하여 직접 돌연변이원임을 나타냈고, 특히 TA100보다 TA98에서 돌연변이원성이 더 높은 것으로 나타났다.

감사의 글

이 논문은 1994년도 경희대학교 학술지원 연구비로 수행한 연구 결과의 일부로 이에 깊은 감사를 드립니다.

참고문헌

- Hiroko Ohgaki, Shozo Takayama and Takashi Sugimura (1991) Carcinogenicities of heterocyclic amines in cooked food, *Mutation Res.*, **259**: 399-410.
- Takashi Sugimura and Shigeaki Sato (1983) Mutagens-carcinogens in foods, *Cancer Res.(Suppl.)*, **43**: 2415-2421.
- Lijinsky, W. and P. Shubik (1964) Benzo(α)pyrene and other polynuclear hydrocarbons in charcoal-broiled meat, *Science*, **145**: 53-55.
- Ohnishi, Y., T. Kinouchi, H. Tsutsui, M. Uejima and K. Nishifuji (1986) Mutagenic nitropyrenes in food, in: Y. Hayashi, M. Nagao, T. Sugimura, S. Takayama, L. Tomatis, L.W. Wattenberg and G.N. Wogan(Eds.), *Diet, Nutrition and Cancer, Japan Sci. Soc. Press, Tokyo/VNU Sci. Press, Utrecht*, 107-118.
- Kato, R., and Y. Yamazoe (1987) Metabolic activation and covalent binding to nucleic acids of carcinogenic heterocyclic amines from cooked foods and amino acid pyrolysates, *Jpn. J. Cancer Res.*, **78**: 297-311.
- Bartsch, H., and R. Montesano (1984) Relevance of nitrosamines to Human cancer, *Carcinogenesis*, **5**: 13 81-1393.
- Sander, J., and G. Burkle (1969) Induktion maligner Tumoren bei Ratten durch gleichzeitige Verfütterung von Nitrit und sekundären Aminen, *Z. Krebsforsch.*, **73**: 54-66.
- Mirvish, S.S. (1975) Formation of N-nitroso compounds; Chemistry, kinetics and *in vivo* occurrence, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **31**: 325-351.
- Shaheen Taj, B. Nagarajan (1994) Induction of genotoxicity by salted deep-fried fish and mutton, *Mutation Res.*, **322**: 45-54.
- Hageman, G., Kikken, R., Ten wool, F. and Kleinjans, J. (1988) Assesment of mutagenic activity of repeatedly used deep frying fats, *Mutation Res.*, **593**-604.
- Spingarn, N.E., and Weisburger, J.H. (1979) Formation of mutagens in cooked foods, I. Beef, *Canc. Lett.*, **7**: 259.
- Felton, J.S., Healy, S., Stuermer, D., Berry, C., Timourian, H., Hatch, F.T., Morris, M., and Bjeldanes, L.F. (1981) Mutagens from the cooking of food, I. Improved extraction and characterization of mutagenic fractions from cooked-ground beef, *Mutat. Res.*, **88**: 33.
- Dorothy M. Maron and Bruce N. Ames (1982) Revised methods for the *Salmonella* mutagenicity test, *Mutation Res.*, **113**: 173-215.
- 김석중, 진재순, 김동만, 김길환 (1992) 무즙의 돌연변이 억제효과 및 그 특성, *KOREAN J. FOOD SCI. TECHNOLOGY*, **24**(3): 193-198.
- Gocke, E., Eckhardt, K., King, M.T., and Wild, D. (1982) Mutagenicity study of fried sausages in *Salmonella*, *Drosophila* and mammalian cells *in vitro* and *in vivo*, *Mutat. Res.*, **101**: 293.
- Lin, J.Y., Lee, H., and Huang, H.I. (1982) Formation of mutagens in boiled pork extract, *Food Chem. Toxic.*, **20**: 531.
- Shaheen Taj, B. Nagarajan (1994) Induction of genotoxicity by salted deep-fried fish and mutton, *Mutation Res.*, **322**: 45-54.
- 이미숙 (1987) *Salmonella/mammalian-microsome* 실험 법에 의한 육류식품 열분해 산물의 돌연변이 유발능에 관한 연구, 서울대학 박사학위논문.
- Xue-Ming Zhang, Keiji Wakabayashi, Zhi-Chen Liu, Takashi Sugimura (1998) Mutagenic and carcinogenic heterocyclic amines in Chinese cooked foods, *Mutation Res.*, **322**: 45-54.
- Mami Shioya, Keiji Wakabayashi, Shigeaki Sato, Mi-nako Nagao and Takashi Sugimura (1987) Formation of a mutagen, 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine (PhIP) in cooked beef, by heating a mixture containing creatinine, phenylalanine and glucose, *Mutation Res.*, **191**: 133-138.
- James S. Felton and Mark G. Knize (1991) Occurrence, identification, and bacterial mutagenicity of heterocyclic amines in cooked food, *Mutation Res.*, **259**: 205-217.
- Taylor, S.L., Berg, C.M., Shoptaugh, N.H., and Scott, V.N. (1982) Lack of mutagens in deep-fat fried foods obtained at the retail level, *Food Chem. Toxic.*, **20**: 209.
- Motoko Y., K.Wakabayashi, T. Tapiro, N.A., M.N., and T. Sugimura (1988) Presense of nitrosable mutagen precursors in cooked meat and fish: *Mutation Research*, **202**: 119-123.