

조리 조건을 달리한 가열조리된 육류(돼지고기)의 변이원성 검색과 제어에 관한 연구

정경숙 · 구성자
경희대학교 식품영양학과

The screening of the mutagenicity and desmutagenicity for cooked pork meats according to cooking conditions

Kyung-Sook Chung, Sung-Ja Koo
Department of Food & Nutrition, Kyunghee University

Abstract

Meat (beef, pork, chicken, duck) were cooked by three kinds of instruments (gas grill, electric grill, microwave oven) and extracted with 80% methanol. These methanol extracts were performed the Ames test, employing *S. typhimurium* tester strain TA100 (in vitro) and micronucleus test (in vivo). The methanol extract of cooked pork showed high mutagenicity in 5.0mg/plate without S9 mix and induced a higher mutagenicity with S9 mix than without S9 mix at 5 mg/plate. In all kinds of cookery methods, pork extracts showed high mutagenicity according to increase of cookery temperature (200°C, 260°C and 320°C). The methanol extract of cooked pork by electric grill (at 260°C, for 5 min) showed high mutagenicity in all kinds of cookery instruments on the Ames test and micronucleus test. In all kinds of meat, the methanol extract of cooked pork showed a higher mutagenicity than the others and chicken showed a lower. The extract after pork soaked in ginger juice showed lower mutagenicity and micronucleus formation than the other vegetable juice.

Key words: Pork meat, mutagenicity, desmutagenicity, micronucleus test, vegetable juice

1. 서 론

사람의 암 발생의 80%가 환경요인에 의해서 발생하고 이중에서 식생활에서 오는 환경적 요인이 35%로서 매우 큰 비중을 차지하는 것으로 알려져 있다¹⁾. 식생활에 기인한 변이원과 발암원종 조리에 의해 생성되는 화합물은 polycyclic aromatic hydrocarbons 과 heterocyclic amine 등이며 노출되는 정도와 발암의 가능성이 가장 높기 때문에 매우 중요하다고 보고하였다^{2,3)}. 어떤 식품의 발암성 유무는 최종적으로 동물을 이용하는 발암 시험에 의해 판정되어야 하는데, 동물 실험에는 오랜 시간, 막대한 비용과 노력이 들고, 동물 실험으로 다양한 종류의 잠재적 발

암물질을 조기에 발견해 낸다는 것은 거의 불가능하다. 그러나 미생물을 이용한 변이원성 실험법은 발암성 물질을 신속, 간편하게 검색할 수 있으며 변이원을 screen 하는데 있어서 in vitro test는 미생물의 유전자 점돌연변이를 이용한 *Salmonella typhimurium* reversion assay (Ames test)²⁾와 SOS chromotest³⁾, spore rec-assay⁴⁾, chromosome aberration test⁵⁾ 등이 수행되어 왔다. In vivo test로는 micronucleus test와 SCE (Sister chromatid exchange) method가 임상에 이용되고 있다. Micronucleus 형성 측정법은 조혈과정에서 유힬의 정염성 적아구 (Metarubricyte)에서 무핵의 다염성 적혈구 (Diffusely basophilic erythrocyte)로 변화하는 과정에 화학물질이 변이원으로 작용하여 소핵 (micronucleus)이 형성되는 것을 측정한다. 또한 SCE 측정법은 혈액과 면역계에서 변이원에 의한 염색체의 손상정도를 판단하는 방법이다.

식품은 맛의 증진 및 소화의 용이성을 위해 가열 조리 후 섭취되지만 가열 조리시 생성되는 발암 가

Corresponding author: Sung-Ja Koo, Kyunghee University, 1, Hoiki-dong, Dongdaemoon-gu, Seoul 130-701, Korea
Tel: 82-2-961-0709
Fax: 82-2-961-0264
E-mail: sjkoo@khu.ac.kr

능성이 높기 때문에 이제까지 일반 가정에서 주로 행해지고 있는 조리법에 대한 검정이 절실히 요구되어진다. 따라서 본 연구에서는 우리나라 사람들이 일상적으로 섭취하는 육류(돼지고기)를 조리조건을 달리했을 때 생성되는 변이원을 *in vitro* test로는 *Salmonella typhimurium* reversion assay, *in vivo* test로는 micronucleus test로 검색하고자 하였으며 이의 제어방법으로 시료에 항암 효과가 있다고 알려진 채소즙과 녹차 추출물⁶⁾로 전처리를 하여 조리하였을 때의 변이원성 억제능을 검토하여 보다 안전한 조리법을 확립하고자 하였다.

II. 재료 및 방법

1. 실험재료 및 시약

시료는 쇠고기(beef)의 등심부위, 돼지고기(pork)의 삼겹살, 닭고기(chicken)와 오리고기(duck)는 다리 부위로 설정하였으며 이들 재료는 축협에서 구입하여 사용하였다. Ames test를 위한 S9 co-factor와 D-biotin은 Sigma사로부터 구입하였고, L-histidine monohydrochloride는 Katayama Chemical Co.(Japan), nutrient broth와 agar는 Difco사로부터, Arochlor 1254는 Chem. service사로부터 구입·사용하였다. 직접 변이원으로는 4-NQO(4-nitroquinoline oxide)를, 간접 변이원으로는 benzo(a)pyrene를 Wako Chemical Inc.로부터 구입하여 사용하였다. Micronucleus test를 위한 FBS(Fetal Bovine Serum)와 PBS(Phosphate Buffer Saline)는 Gibco BRL사로부터, cyclophosphamide는 Sigma사로부터, Giemsa solution (Kiesel gel 60 F254)는 Merck 제품을, 기타는 특급 시약을 사용하였다.

2. 시험 균주

Ames test에 사용되는 균주로는 *Salmonella typhimurium* 변이균주 중 염기치환형(base-pair substituent) 변이균주인 TA100을 유전공학 센터의 유전자은행에서 분양 받아 Maron과 Ames의 방법⁷⁾에 따라 histidine 요구성, crystal violet 감수성, UV 감수성, ampicillin 내성, 자연발생복귀 돌연변이균수 등의 유전적 특성을 확인한 후 실험에 사용하였다.

3. 실험동물

Micronucleus test를 위해 ICR 웅성 mouse(4주령)는 삼육 실험동물 연구소에서 구입하여 고품사료(삼양 유지 주식회사, 소형동물용)와 물을 충분히 공급하면서 실험환경에 2주간 적응기간을 두고 23±1°C,

55±5% 습도의 조건 하에 사육하였다.

4. 시료 조제

시료 육류를 일정한 크기(5×10×1cm)로 자른 후, 온도가 측정되는 센서(유유기기상사, 한국)가 부착된 전기그릴(Electric grill : EG)과 가스그릴(Gas grill : GG)에 각각 200°C, 260°C, 320°C의 온도에서 5분간 직화로 조리하였으며, 전자렌지(Microwave: MW, 삼성전자, 한국)로 3분, 6분간 가열 조리하였다. 동량의 물로 조제된 채소즙(양배추, 무, 양파, 생강)과 레몬즙에 20분간 침지한 시료와 열수 200ml에 녹차 2g을 3분간 추출한 녹차에 20분간 침지한 시료를 가스그릴과 전기그릴에서 각각 260°C의 온도에서 5분간 직화 가열 조리하였다. 각 조리방법에 의해 얻은 시료를 시료무게의 5배에 해당하는 80% MeOH에서 mixer로 2분간 균질화 하고, plate상에서 stirrer를 이용하여 하룻밤 동안 추출한 후, 10,000rpm에서 40분간 원심분리하여 상층액을 취하였다. 이 과정을 3회 반복하여 얻은 상층액을 감압농축하여 -70°C Deep freezer에서 보관하면서 실험에 사용하였다.

5. 양성 돌연변이 물질(positive control)의 조제

Benzo[*a*]pyrene는 dimethyl sulfoxide(DMSO)에 1ml 당 0.1mg으로 혼합한 후, 여과 멸균하여 0.5mL씩 E.P. tube에 담아 알루미늄 호일로 싸서 -80°C의 deep freezer에 보관하고, 실험시에 10배로 희석해서 plate당 1 μ g/0.1ml 농도로 사용하였다. 4-NQO는 DMSO 1ml당 0.025mg의 농도가 되게 만든 후, 여과 멸균하여 0.5ml씩 E.P.tube에 담아 알루미늄 호일로 싸서 -80°C의 deep freezer에 보관하고, 실험시에 10배로 희석해서 plate당 0.025 μ g/0.1ml 농도로 사용하였다.

6. Mutagenicity Test (in vitro test)

Ames test를 개량한 preincubation법²⁾을 이용하였고, 균주는 *Salmonella typhimurium* tester strains TA100을 사용하였다. Original weight 0.5mg, 2.5mg, 5.0mg, 10mg에 해당하는 농도의 methanol 추출물을 취한 후, plate당 0.1ml의 농도가 되도록 DMSO를 넣어 잘 녹인 후 멸균하여 실험시는 plate당 0.1ml을 사용하였다. 멸균증류수 0.5mL 또는 4%의 S9를 함유한 S9 mix. 0.5ml와 test compounds 0.1ml, 미리 배양한 균주 0.1ml(1~2×10⁹cell/mL)를 잘 섞어 37°C에서 20분간 예비배양 한 후, 10%의 histidine/biotin solution을 넣은 top agar와 함께 잘 섞어 미리 만들어 놓은 minimal glucose agar plate에 도말하여, 37°C

에서 48시간 배양하여 생긴 his⁺ revertant colony를 계측하여 돌연변이원성의 유무를 판정하였다. 모든 실험은 한 농도 당 3개의 plate를 사용하였다.

7. Micronucleus test(in vivo test)

ICR 용성 마우스(25g 전후)를 군별 5마리로 하여 대조군, EG에서 200°C, 260°C 및 320°C, 채소즙 처리군(무즙, 생강) 및 녹차 추출물 전처리군의 모두 7군을 5g methanol extract/kg body weight/0.5% sodium CMC 10cc의 6군씩을 설정하였다. 실험 동물은 2주간의 환경 적응기간을 거친 후 각 군은 2일간 조제 시료를 용량별로 경구 투여를 하고, 3일째는 각 군에 시료를 경구투여 후 2시간 경과하였을 때 cychlophosphamide(CP)를 80mg/kg body weight /saline 5ml 용량으로 복강투여하고 재차 시료를 용량별로 경구투여하였다. CP 투여 24시간 경과 시 마우스를 경추 탈골하여 대퇴골에서 일회용 주사기(5ml)로 골수를 취하여 3ml FBS에 모아 잘 현탁시켜 1,000rpm에서 5분간 원심하였다. 상정액을 제거한 뒤 침전물을 고르게 현탁시켜 slide glass에 도말하고 상온에서 12시간 건조시켰다. Methanol에 5분간 고정시켜 0.1N PBS와 증류수로 세척하고, 5% Giemsa solution에 40분간 염색 후 다시 증류수와 PBS로 세척하여 건조시킨다. 광학현미경으로 1,000배에서 관찰하여 오렌지색 또는 분홍색의 성숙 적혈구(RBC) 및 푸른색으로 염색된 비성숙 적혈구인 다염성 적혈구(PCE)의 수와 PCE 세포질 내에 소핵을 갖는 다염성 적혈구(MnPCE)를 확인하고, PCE 및 MnPCE수의 합 1,000개중 MnPCE의 수를 계산하여 그 수치의 비율을 구하였다.

8. 통계분석

모든 실험결과와 통계처리는 SAS 통계 프로그램(SAS institute, 1987)을 이용하여 분석하였으며, 그 결과는 표준오차와 함께 평균값으로 표시하였다. 대조군과 각 시료로부터 얻은 실험 자료간의 유의성은 general linear model(GLM)의 Duncan's multiple range test를 이용하여 p<0.05에서 검증하였다.

III. 결과 및 고찰

1. 변이원성의 시료 농도 의존성

변이원성의 유효농도를 설정하기 위해 가스그릴(GG), 전기그릴(EG) 및 전자렌지(MW)로 조리한 예비실험에서 변이원성이 가장 높게 나타난 육류중에서 돼지고기를 선정하여 80% methanol로 감압 농축하여 얻은 추출물을 농도에 따라 S9 mix 없이 S. typhimurium TA100으로 Ames test한 결과는 Table 1에 나타난 바와 같다. S. typhimurium TA100에서의 자연 복귀 돌연변이 균수는 34±4.0이었고 양성대조물질로 사용한 직접변이원인 4-NQO(0.25µg/plate)의 복귀 돌연변이 균수는 406.00±2.12이었으며, 시료의 모든 농도에서 복귀 돌연변이 균수는 자연 복귀 돌연 변이균수보다 높았다. 시료농도를 0.5, 2.5, 5.0 및 10.0mg/plate로 하여 GG에서 200°C로 5분간 조리했을 때 복귀돌연변이의 수는 각각 161.67±8.74, 182.67±4.16, 213.33±5.86, 242.67±5.51이었다. GG와 EG로 200°C, 260°C, 320°C로 5분간 조리한 것의 복귀돌연변이원성은 온도가 증가할수록 높게 나타났으며 시료농도 5mg/plate에서 복귀돌연변이성이 가장 높게 나타났다. 시료농도 10mg/ml에서는 오히려 감소하는 경향은 아마도 높은 농도로 인해 일부

Table 1. Mutagenicity of the methanol extract of cooked pork on gas grill, electric grill and microwave oven on S. typhimurium TA100 (-S9 mix.)

Cooking Condition		No. of revertants			
		Conc. (mg/plate)			
		0.5	2.5	5.0	10
Gas Grill	200°C	161.67±8.74 ^a	182.67±4.16 ^a	213.33±5.86 ^a	242.67±5.51 ^a
	260°C	158.50±2.12 ^c	183.00±8.19 ^b	252.00±12.49 ^a	247.50±9.19 ^a
	320°C	168.67±6.66 ^d	234.00±8.19 ^c	300.67±9.07 ^a	262.33±31.97 ^b
Electric Grill	200°C	92.33±9.50 ^c	139.67±7.51 ^b	178.00±13.89 ^a	106.33±10.02 ^c
	260°C	113.00±4.24 ^c	141.00±2.83 ^b	188.50±6.36 ^a	134.50±3.54 ^b
	320°C	133.00±4.24 ^c	155.00±16.97 ^b	202.00±4.24 ^a	157.50±4.95 ^b
Microwave Oven	3 min	20.00±14.14 ^c	116.00±8.49 ^b	137.50±9.19 ^a	132.50±0.71 ^a
	6 min	100.00±2.83 ^b	119.00±14.14 ^b	159.50±7.78 ^b	119.50±19.09 ^a

Values are mean±SD of 3 plates in each group. Different alphabet means different value significantly at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

spontaneous revertants of S. typhimurium TA100 : 34±4

Positive control : 4-NQO(0.25µg/plate) = 406.00±2.12

toxic하였던 것으로 사료된다. MW로 3분과 6분 가열 조리한 시료에서도 같은 경향이었지만 MW로 조리한 시료가 복귀돌연변이원 수가 낮게 나타난 이유는 조리할 때 타지 않았기 때문으로 생각된다. 따라서 이후의 모든 실험에서는 시료 농도를 5.0mg/plate로 고정하였다.

2. 변이원성의 조리온도 의존성

돼지고기를 GG로 조리한 시료농도 5mg/plate로 하였을 경우 대조군의 복귀돌연변이 원수는 138.33 ± 5.69였고 200°C, 260°C, 320°C로 조리한 시료의 복귀돌연변이 원수는 각각 146.33 ± 5.86, 175.00 ± 12.49, 223.67 ± 9.07로 대조군과 200°C로 조리한 시료한 시료간의 유의적인 차이는 없었지만 260°C와 320°C로 조리한 시료는 유의적으로 높게 나타났다(p<0.05). EG로 200°C, 260°C, 320°C로 조리하였을 경우의 복귀돌연변이 원수는 각각 178.00 ± 13.89, 188.50 ± 6.36, 202.00 ± 4.24로 대조군(138.33 ± 5.69)과 비교하였을 때 돌연변이원성이 유의적으로(P<0.05) 높음을 알 수 있었고(Fig. 1) GG와 EG 모두 320°C 일 때 가장 높은 복귀돌연변이 원수를 나타내었다. 그러나 320°C로 조리하였을 경우 지나치게 타서 발암성이 발현될 가능성이 높을 뿐만 아니라 일반적으로 가식하지 않지만 260°C에서 조리한 경우 좀 지나치게 조리된 상태이므로 가식할 경우가 종종 있기 때문에 본 연구에서는 260°C의 온도를 기준으로 실험하였다. MW로 조리하였을 경우 역시 조리

하지 않았을 때와 비교해서 유의적으로 높은 돌연변이원성을 보였고, 3분으로 조리하였을 때(137.50 ± 9.19)보다 6분으로 조리하였을 때(159.50 ± 7.78) 유의적으로 더 높은 변이원성을 나타내었다(P<0.05). 조리한 시료를 5.0mg/plate의 농도를 기준으로 Ames test했을 때 조리방법에 상관없이 조리하지 않은 대조군에 비해 모두 유의적으로 높은 돌연변이원성을 보였다. EG에서 260°C로 가열조리 했을 때의 변이원성은 생시료의 경우보다 변이원 활성이 약 1.5배 정도 증가하는 경향을 보였다. 그러나 Koba 등⁸⁾의 연구에 따르면 양식 방어를 EG에서 260°C로 가열조리했을 때 변이원 활성이 생시료의 경우보다 10배 가량 높았다고 보고하여 본 실험과 차이를 나타냈지만 고등어를 260°C로 가열조리한 시료가 생시료의 약 2배 정도의 변이원 활성을 나타내었다는 홍등⁹⁾의 보고와는 유사한 경향이였다. 그러나 시료가 생선과 돼지고기인 경우 다소 차이가 있을 것이다.

3. 대사활성물질 첨가에 따른 돌연변이원성

대사활성물질을 첨가하지 않았을 때 가장 높은 복귀돌연변이원성을 보였던 유효농도 5.0mg/plate를 Aroclor-1254로 유도된 대사 활성 물질을 첨가한 후 Ames test한 결과 생시료를 control로 하여 비교한 결과는 Fig. 2와 같다. S9 mix.를 첨가하지 않았을 때의 positive control인 4-NQO(0.25µg/plate)의 S. typhimurium TA100에 대한 자연 복귀 돌연변이 원

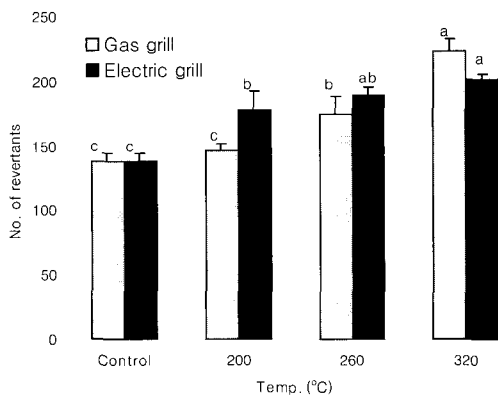


Fig. 1. Mutagenicity of the methanol extract of pork cooked on gas and electric grill in the Ames test on S. typhimurium TA100 without S9 mix.

Different alphabet means different value significantly at p<0.05 by Duncan's multiple range test.
 Concentration of original weight : 5.0mg/plate
 positive control : 4-NQO(0.25µg/plate) = 406.00 ± 2.12

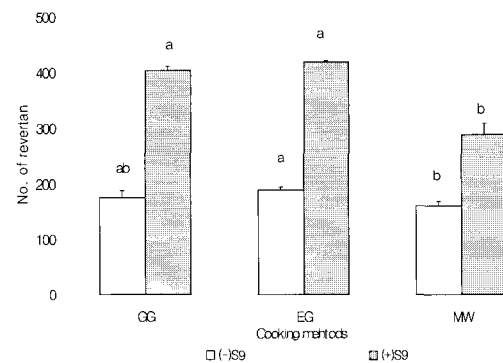


Fig. 2. Mutagenicity of the methanol extract of pork cooked with different methods on S. typhimurium TA100 (±S9 mix.)

GG means pork cooked by gas grill at 260°C for 5min.
 EG means pork cooked by electric grill at 260°C for 5min.
 MW means pork cooked by microwave oven for 6min.
 Different alphabet means different value significantly at p<0.05 by Duncan's multiple range test.
 Concentration of original weight : 5.0mg/plate
 Positive control : 4-NQO(0.25µg/plate) = 406.00 ± 2.12
 Positive control : B(a)P(1µg/plate) = 1071.00 ± 1.50

수는 406.00 ± 2.12 이었고, S9 mix.를 첨가하고 양성 대조물질로 benzo[α]pyrene($1\mu\text{g}/\text{plate}$)를 사용했을 때는 1071.00 ± 1.50 의 복귀 돌연변이 균수를 보였다. 돼지고기를 GG로 조리했을 때 복귀 돌연변이 균수를 비교한 경우 대조군은 214.00 ± 4.00 이었고 200°C , 260°C , 320°C 온도에서 조리했을 경우 각각 296.00 ± 4.00 , 404.33 ± 6.66 , 418.67 ± 8.50 로서 대조군과 200°C 로 조리한 시료간에는 유의적인 차이가 없었지만 260°C 와 320°C 로 조리한 시료는 대조군보다 유의적으로 높은 돌연변이원성을 나타내었다($p < 0.05$). EG로 조리하였을 경우 대조군(214.00 ± 4.00)에 비해 200°C , 260°C , 320°C 온도에서 조리했을 경우 각각 313.00 ± 7.55 , 418.67 ± 3.06 , 420.00 ± 7.81 로 복귀돌연변이 균수가 유의적으로 증가한 사실을 알 수 있었고, MW로 조리한 경우 역시 3분으로 조리했을 때 (328.67 ± 6.51)보다 6분으로 조리하였을 때(288.67 ± 21.83) 유의적으로 더 높은 변이원성을 나타내었다($p < 0.05$). 전반적으로 조리방법에 관계없이 조리할 균은 조리를 하지 않은 균에 비해 유의적으로 돌연변이원성이 증가하였고, 조리방법에 의해서는 MW에 의한 조리가 유의적으로 더 낮은 돌연변이원성을 보였다. S9 mix.를 첨가하지 않았을 때와 마찬가지로 GG와 EG에서의 돌연변이원성은 320°C 로 조리하였을 때 가장 높은 돌연변이원성을 나타내었다. 또한 S9 mix.를 첨가하지 않았을 경우와 비교하면, S9 mix.를 첨가할 때 돌연변이원성이 약 2-4배정도 증가하는 경향을 보였다 그러나 김 등¹⁰⁾의 연구에 따르면 삼치의 fried법과 broiled법의 methanol추출물에 대해 S9 mix.의 첨가 시 복귀돌연변이원수가 약 5-10배정도 증가하였다고 보고하였는데, 이는 시료 채취 시 표면의 탄 부분만 모아 추출하였기 때문에 본 연구보다 높은 돌연변이원성을 나타냈다고 사료된다. 이상의 결과로 돼지고기를 가열 조리했을 때 직접 돌연변이원보다는 간접 돌연변이원이 더 많이 포함되어 있는 것을 알 수 있었다.

4. 조리기기별 변이원성

돼지고기를 조리온도 260°C 로 5분간 GG, EG에서 가열 조리한 것과 MW에서 6분간 조리한 시료를 유효농도 $5\text{mg}/\text{plate}$ 에서 변이원성을 측정할 결과는 Table 1에 제시한 바와 같이 대조군의 복귀 돌연변이수는 138.33 ± 5.69 , GG는 252.00 ± 12.49 , EG는 188.50 ± 6.36 , MW는 159.50 ± 7.78 이었다. EG로 조리한 시료는 GG와 MW로 조리한 시료보다 유의적으로 변이원성이 크게 나타났으며($P < 0.05$) EG보다 1.3

배나 높게 나타났다. 이는 연료 속의 가연성 물질에 의한 영향이 클 것으로 사료된다. 따라서 이후 실험에서는 EG로 설정하였다. 또한 돼지고기는 모든 조리기기에서 대조군보다 유의적으로 높은 돌연변이원성을 보였는데 이는 돼지고기에 함유된 포화지방산이 가열조리에 의해 지질 과산화물이 형성되고 이것이 변이원 형성에 큰 영향을 미칠 것으로 사료된다. 이는 식품성분 중의 수분함량과 포화지방산 함량이 돌연변이원 형성에 상당한 영향을 미친다는 Taylor 등¹¹⁾의 보고와 일치하지만 그 기전에 대해서는 더 연구가 이루어져야 할 것이다.

5. 여러 가지 육류의 변이원성 검색

여러 가지 조리된 육류의 변이원성을 알아보기 위해 육류 중 쇠고기, 돼지고기, 닭고기, 오리고기를 선정하여 EG에서 260°C 로 5분간 가열 조리한 후 유효농도 $5.0\text{mg}/\text{plate}$ 으로 Ames test한 결과는 Fig. 3과 같다. 돼지고기의 복귀돌연변이 수는 199.50 ± 0.71 , 오리고기는 153.67 ± 19.04 , 쇠고기 146.00 ± 4.01 , 닭고기 78.67 ± 4.36 으로 돼지고기가 유의적으로 가장 높은 돌연변이원성을 보였고 닭고기가 가장 낮은 변이원성을 보였으며($p < 0.05$), 이 역시 육류의 지방 함량과 깊은 상관성이 있다고 사료된다. 돼지고기가 가장 높은 변이원성을 나타낸 것은 예비실험에서와 같은 결과로 이는 본 실험의 재현성을 검토한 결과이다.

6. 채소 및 기타즙 처리에 의한 변이원성 억제 효과

돼지고기의 채소 및 기타즙 처리에 의한 변이원

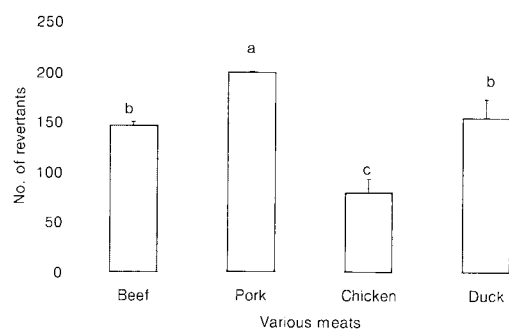


Fig 3. Mutagenicity of the methanol extract of meats cooked on electric grill (260°C , 5min) on *S. typhimurium* TA100 (-S9 mix.)

Different alphabet means different value significantly at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test.

Concentration of original weight : $5.0\text{mg}/\text{plate}$

Positive control : 4-NQO($0.25\mu\text{g}/\text{plate}$) = 406.00 ± 2.12

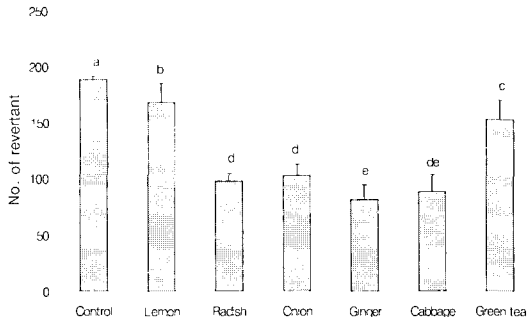


Fig. 4 Desmutagenicity of vegetable juice for cooked pork by electric grill (260°C, 5min) in *S. typhimurium* TA 100 (-S9 mix.)

Different alphabet means different value significantly at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test.
 Concentration of original weight : 5.0 mg/plate
 Positive control without S9 mix. : 4-NQO(0.25 μ g/plate) = 513.00 \pm 6.54

억제효과를 알아보기 위해 레몬, 무, 양파, 생강, 양배추 즙과 녹차추출물에 각각 20분간 침지한 후 GG와 EG에서 260°C로 5분간 조리하여 80% methanol로 추출한 시료를 유효농도 5.0mg/plate로 선정하여 Ames test하여 그 결과를 각각 Fig. 4에 나타내었다. 전기그릴의 경우 S9 mix.를 첨가하지 않았을 때 양성 대조군의 복귀돌연변이 수는 513.00 \pm 6.54이고 자연 복귀 돌연변이의 수는 388.50 \pm 6.36, 생강즙이 81.67 \pm 11.85, 양배추 즙이 88.00 \pm 8.19, 무즙이 97.67 \pm 1.53, 양파즙이 102.33 \pm 2.52, 녹차가 152.67 \pm 7.23, 레몬이 367.67 \pm 11.93으로 역시 생강이 가장 낮은 변이원성을 나타내었다($p < 0.05$). S9 mix.를 첨가하였을 때 양성 대조군의 복귀 돌연변이 수는 746.00 \pm 12.12이고 자연 복귀 돌연변이의 수는 418.67 \pm 3.06, 무즙이 223.67 \pm 7.64, 생강즙이 210.33

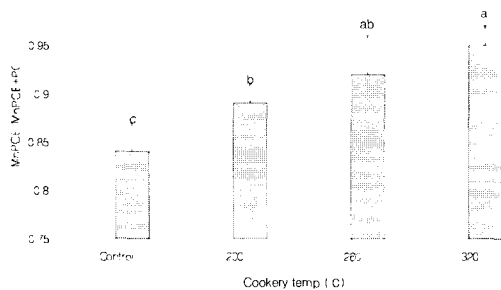


Fig. 5. Micronucleus formation by pork cooked by electric grill (260°C, 5min).

Different alphabet means different value significantly at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test.
 ICR mouse: n=20

\pm 13.58, 양배추즙이 215.67 \pm 15.37, 양파즙이 240.00 \pm 10.44, 녹차가 254.67 \pm 17.79, 레몬즙이 350.00 \pm 17.35로 무즙과, 생강즙, 양배추즙이 대조군 및 다른즙처리 군에 비해 유의적으로 낮은 변이원성을 나타내었다($p < 0.05$). 생강>양배추>무>양파>녹차>레몬의 순으로 채소즙이 변이원성 억제 효과가 있었으며 생강즙에 침지한 시료에서 가장 변이원성이 유의적으로 낮음을 알 수 있었다($p < 0.05$). 이는 생강의 zingerol 성분과 무의 isothiocyanate 성분으로 인한 변이원 억제효과와 SH화합물에 의해 C-nitro기가 이탈됨으로써 변이원성이 억제되었을 것으로 생각된다. 또한, 모든 군마다 S9 mix.의 첨가에 의해 복귀 돌연변이 수가 증가함을 알 수 있었는데 이는 S9 mix.를 첨가하지 않았을 때보다 약 3배 이상의 증가율을 나타내었다. 앞에서 언급한 바와 같이 육류를 가열조리할 때 간접변이원이 더 많이 생성됨을 알 수 있었으며 고등어의 경우는 녹차>생강>무의 순서⁹⁾와는 상이했다.

7. Micronucleus test에 의한 채소즙 처리 시료의 MnPCE 형성 억제효과

시료의 채소즙처리가 골수의 소핵 형성에 어떤 영향을 미치는지 알아보기 위해 Ames test에서 항변이원성 효과가 높았던 시료인 생강, 양배추, 무를 선정하여 이에 20분간 침지, EG에서 260°C로 5분간 조리한 돼지고기를 5g methanol extract/Kg body weight/0.5% sodium CMC 10cc의 농도로 mouse에 경구 투여하여 micronucleus test를 한 결과를 Fig. 5와 Fig. 6에 나타내었다. Cyclophosphamide만을 처리한 대조군의 MnPCE와 PCE 개수 1,000개 중 존재하는 MnPCE의 수가 0.84 \pm 0.03이었고 EG 200 °C로 조리한 경우는 0.89 \pm 0.02, 260°C로 조리한 경우는 0.92

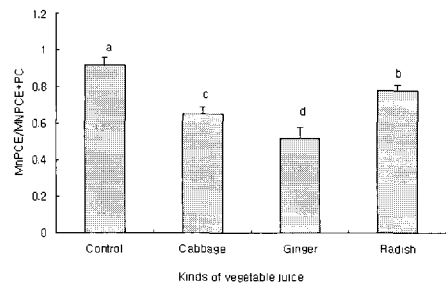


Fig. 6. The inhibition effect of micronucleus formation for cooked pork by electric grill(260°C, 5min) with vegetable juice.

Different alphabet means different value significantly at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test.
 ICR mouse: n=20

± 0.04 , 320°C 로 조리한 경우는 0.95 ± 0.02 로 조리 온도가 상승함에 따라 대조군에 비해 MnPCE가 유의적으로 증가하는 것을 알 수 있었다($P < 0.05$). 또한 생강, 양배추, 무즙에 침지시킨 시료는 각각 0.52 ± 0.06 , 0.65 ± 0.04 , 0.78 ± 0.03 으로 EG에서 260°C 로 조리한 일반시료인 대조군(0.92 ± 0.04)에 비해 전반적으로 낮은 비율을 나타냈으며, 특히 생강이 MnPCE/MnPCE+PCE 비율이 유의적으로 가장 낮아 소핵 형성의 억제효과가 가장 큰 것으로 나타났다. 이는 Ames test와 동일한 결과였다.

IV. 요약

조리조건을 달리하여 가열조리된 육류에서 형성된 단백질의 열분해 산물의 발암성을 검색하고 이의 제어방법을 검토하여 보다 안전한 조리법을 확립하고자 육류 중 돼지고기를 가스그릴(GG)과 전기그릴(EG) 및 전자렌지(MW)를 이용하여 온도별로 조리 한 후 이의 80% 계탄을 추출물에 대해 변이원성을 Salmonella typhimurium reversion assay(in vitro), micronucleus test(in vivo)를 실행하여 검색하였다. 또한 가열조리 중 생성되는 변이원성을 제어하고자 향암 성분을 함유하고 있다고 알려진 채소즙과 녹차 추출물을 시료로 침지후 조리하여 이의 변이원성을 검토하였다. 가열 조리한 시료의 농도별(0.5, 2.5, 5.0, 10.0 mg/plate) 변이원성은 농도의존성을 나타내었고, 시료농도 5 mg/ml/plate에서 유의적으로 높은 변이원성을 나타냈다($P < 0.05$). 또한 시료의 조리온도가 상승할수록 변이원성이 증가하여 조리온도 의존성을 알 수 있었고 S-9 mixture 첨가시 변이원성이 2-4배 정도 증가하여 간접 돌연변이원이 더 많이 포함되어 있음을 확인하였다. 육류의 종류별 변이원성은 돼지고기가 유의적으로 가장 높은 변이원성을 보였고 닭고기가 가장 낮은 변이원성을 나타냈다($P < 0.05$). 돼지고기를 채소즙 및 녹차즙에 침지후 GG, EG로 조리하였을 때 생강>양배추>무즙의 순으로 생강즙에 침지한 시료에서 변이원성이 유의성 있게 낮게 나타났다($P < 0.05$). 돌연변이원 생성 억제 효과가 높았던 시료를 이용하여 Micronucleus test를 한 결과 생강즙 처리군이 유의적으로 낮은 소핵형성률을 나타내어 생강이 소핵 형성 억제 효과가 가장 큰 것을 알 수 있었다($P < 0.05$).

실용적인 면에서는 생강즙은 물과 동량인 경우 냄새가 너무 강하여 맛에 영향을 줄 수 있으므로 양

배추나 무즙을 이용한다면 고온 가열 조리시보다 안전성을 확보할 수 있을 것으로 사료된다.

감사의 글

본 연구는 학술진흥재단의 자유공모과제(1999년) 연구비 지원에 의해 수행되었으며 이에 감사드립니다.

참고문헌

1. Curtis, DK, Mary, OA and John, D : Toxicology; McGraw-Hill, 239-240, 1996
2. Sugimura, T, Kawachi, T, Nagano, M, Yahagi, T, Seino, Y, Okamoto, T, Shudo, K, Kosuge, T, Tsuji, K, Wakabayashi, K, Iitaka, Y and Itai, A : Mutagenic principles in tryptophan and phenylalanine pyrolysis products, proc. Japan Acad., 53:58-61, 1977b
3. Quillardet, PC, Bellecomebe, D and Hofung, M : The SOS chromotest, a colorimetric bacterial assay for genotoxins, validation study with 83 compounds. Mutation Res., 113:173-213, 1985
4. Gustafsson, A : Studies on the genetic basis of chlorophyll formation and the mechanism of induced mutation. Hereditas. 24:33-93, 1938
5. White, AD and Hesketh, LC : A method utilizing human lymphocytes with in vitro metabolic activation for assessing chemical mutagenicity by sister-chromatid exchange analysis. Mutation Res., 69:283-291, 1980.
6. Shinohara, K, Kuroki, S, Miwa, M, Kong, ZL and Hosoda, H : antimutagenicity of dialysates of vegetables and fruits. Agric. Biol. Chem. 52:1369, 1988
7. Drothy, M, Maron, Bruce, and Ames, N : Revised methods for the Salmonella mutagenicity test. Mutation Res., 113:178-215, 1983
8. Hisayokoba, Yukio Hasegawa, Asao Matsuoka, Fumiko Nakazata, Atsuko Hidari, Mutsuko Kuginno and Kyokoshiota : 加熱調理にて生じる養殖ぶりの変異原性と生活性. J. of home Economics of Japan. 39(10): 1105-1110, 1998
9. I-Jin Hong, June-Kyung Lee and Sung-ja Koo : Screening and prevention of the mutagenicity for fishes according to cookery and storage, Journal of Korean society of food and cookery science, 16(6):652, 2000
10. Seok-Joong Kim, Jae-Soon Jin, Dong-Man Kim and Kil-Hwan Kim : Inhibitory effort of radish juice on the mutagenicity and its characteristics, Korean J. Food Sci. TECHNOL., 24(3):193-198, 1992
11. Taylor, SL, Berg, CM, Shoptaugh, NH and Scott, VN : Lack of mutagens in deep-fat fried foods obtained at the retail level, Food Chem. Toxic., 20:209, 1982

(2002년 11월 21일 접수, 2002년 12월 24일 채택)