

어류의 가열조리 및 보존에 의해 생성되는 변이원성 물질의 정량적 해석과 제어법

홍이진 · 이준경 · 구성자
경희대학교 식품영양학과

Screening and prevention of the mutagenicity for fishes accordind to cookery and storage

I-Jin Hong, Jun-kyung Lee and Sung-Ja Koo
Dept. of Food & Nutrition, Kyunghee university

Abstract

This study was performed to measure the mutagenicity of fish by cooking and storage. Mutagenicity of the fish extract was measured by Ames test(*Salmonella typhimurium* reversion assay with TA 100) *in vitro* and by micronucleus test *in vivo*. The fish samples screened in this study were white fish(Trichiurus, Croaker, Salted Croaker) and red fish(Saury pike, Mackerel, Yellowtail, Salmon). The number of revertants of red fish were significantly higher than that of white fish. And the mutagenicity of mackerel was higher than other red fish, so followed experiment was made by using the extract of mackerel. Mutagenicity of the samples cooked on microwave oven was the lowest, whereas there was no significant difference between the samples cooked on gas grill and the ones on electric grill. In the presence of S9 mixture, the methanol extract of mackerel showed 2~4 times high values of mutagenicity in comparison with the extract without S9. The extract of mackerel cooked with various vegetable juices showed inhibitory effects on the mutagenicity in the order of green tea, ginger, and radish. Also, the number of revertants was increased in the stored samples. Mutagenicity of the samples stored in the refrigerator was higher than that of the freezer. In micronucleus test, the methanol extract treated with vegetable juice inhibited micronucleus formation in bone marrow by cyclophosphamide in the order of ginger, green tea, and radish. In TBA test, there was a tendency that TBA values were increased as the storage time increased. Also, the rancidity of sample were stored in the refrigerator was higher value than sample stored in the freezer. Samples cooked on microwave oven showed the highest value in rancidity. When the antioxidant effect of vegetable juice was measured by electron donating ability(EDA) of mackerel cooked with vegetable juice to DPPH, the samples treated with onion showed the highest value of EDA(%), and the samples treated with green tea, ginger and cabbage also showed the antioxidant effect.

Key words: fishes, cookery, storage, mutagenicity, vegetable juice

1. 서 론

사람에 있어서 암 발생 과정을 개시시킬 수 있는 외부적 요인 중 유전이나 병원체에 의한 요인보다 식생활에서 오는 환경적 요인이 35%로서 매우 큰 비중을 차지하고 있다¹⁾. Initiation, promotion, progression의 암 발생 과정 3단계 중 주로 식품중의 발암물질은 암 발생의 initiation 단계와 promotion 단계에 관여하는 것으로 알려져 있다²⁾ 그 중에서도 잠재적 종양세포의 전이나 전파의 축진을 억제하는 의약품과 달리 식품은 지속적인 섭취를 함으로써 접촉되는 것이기 때문에 initiation 단계

부터 영향을 준다고 볼 수 있다^{3,4)}. 특히, 음식중에 존재하는 발암원들 중 식품의 가공, 조리 및 저장 과정중에 발생하는 발암성 물질이 노출가능성과 발암가능성이 가장 높기 때문에 일반 가정에서 주로 행해지고 있는 조리법에 대한 검정이 절실히 요구된다. 또한, 근래 냉동식품, 완전 또는 반 조리 식품과 같은 ready prepared food가 다량 개발되고 있으나⁵⁾ 소비자들은 식재료의 안전성과 진위여부, 식품첨가물의 사용여부 등에 대해 불안을 느끼고 있는 것으로 보고되어 있다⁶⁾. 이에 대한 대안으로 음식을 미리 조리하여 저장한 후 재가열하여 섭취하는 방법이 이용되고 있는데, microwave로 재가열을 했을 때에

는 유지의 산화 촉진과 그로 인한 변패취(wormed over flavor)로 품질이 저하되고, thiamine 등의 영양소가 손실되며 식품의 향미, 색소 변화 등이 일어난다는 사실이 여러 연구를 통해 이미 증명되고 있다^{7,9)}.

한편, 우리나라는 해산물이 풍부하고 생산량도 많아서 동물성 단백질의 58%를 어패류로 섭취하고 있다. 참치, 정어리, 고등어 등의 등 푸른 생선에 고도불포화지방산인 EPA와 DHA가 많이 함유되어 있어 혈액중의 콜레스테롤과 중성지방을 현저하게 줄이는 효과가 있다는 것이 밝혀졌으나, 불포화지방산이 많기 때문에 가열 등에 의한 가공, 조리 및 저장시 산화되어 생체에 유해한 과산화물을 생성한다. 특히, 지질 과산화물의 생성과 암 발생과의 직접적인 관련성이 밝혀지면서 더욱 중요시되고 있는데, 최근의 역학조사와 연구에 의해 지질 섭취량이 암 발생에 크게 관여하고 있음이 밝혀지기도 하였다¹⁰⁾.

따라서 본 연구는 우리나라 사람들이 일상적으로 섭취 빈도가 높은 어류중 붉은 살 생선과 흰 살 생선을 시료로 하여, 가스그릴, 전기그릴과 microwave oven으로 가열조리한 후 일정기간 동안 냉장 및 냉동 보존한 시료와 보존한 시료를 microwave로 재가열하였을 때 변이원성을 in vitro test로 Ames/Salmonella assay를, in vivo test로 Micronucleus test를 실시하여 검색하고, 그 제어방법으로 항암성분을 많이 함유하고 있는 녹황색 채소즙으로 전처리하여 돌연변이 억제능을 검토하고자 한다. 또한, 지질의 과산화도를 측정하여 변이원 생성과 과산화 지질간의 상관성을 검토하여 보다 안전한 조리법을 확립하고 이를 실생활에 적용함에 목적을 둔다.

II. 재료 및 방법

1. 실험재료 및 시약

붉은 살 생선인 고등어(Mackerel), 삼치(Saury pike), 방어(Yellowtail), 연어(Salmon)와 흰 살 생선인 조기와 염장조기(Croaker, Salted Croaker), 및 갈치(Trichiurus)는 1998년 2-3월에 서울 가락동 수산물시장에서 구입하여 가식부위만을 시료로 이용하였다. 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. Micronucleus test를 위한 FBS(Fetal Bovine Serum)와 PBS(Phosphate Buffer Saline)는 Gibco BRL사로부터, Giemsa solution (Kiesel gel 60 F254)는 Merck 제품을 이용하였다. 그 외는 특급 또는 일급시약을 이용하였다. Ames test를 위한 직접변이원(direct mutagen)으로는 4-NQO(4-nitroquinoline

oxide)를, 간접변이원(indirect mutagen)으로 benzo(a)pyrene를 Wako Chemical Inc.로부터 구입하여 사용하였으며, Micronucleus test를 위한 cyclophosphamide는 Sigma사로부터 구입하였다.

2. 시험 균주

Ames test에 사용되는 균주로는 *Salmonella typhimurium* 변이균주 중 염기치환형(base-pair substituent) 변이균주인 TA100를 유전자 센터의 유전자 은행에서 분양받아 Maron과 Ames의 방법¹¹⁾에 따라 histidine 요구성, crystal violet 감수성, UV 감수성, ampicillin 내성, 자연발생복귀 돌연변이균수 등의 유전적 특성을 확인한 후 실험에 사용하였다.

3. 실험동물

ICR 웅성 마우스(4주령)는 삼육실험동물 연구소로부터 구입하여 고휘사료(삼양유지 주식회사, 소형동물용)와 물을 충분히 공급하면서 실험환경에 2주간 적응시킨 후 실험에 사용하였다.

4. 시료조제

시료를 일정 크기(5 cm×10 cm×1 cm)로 자른 후 온도 조절 및 유지가 가능하도록 특수 주문 제조한 전기그릴과 가스그릴(유유기기상사)에서 온도센서를 시료 중앙부에 침투시켜 센서의 온도가 각각 200°C, 260°C, 320°C의 온도로 5분간 직화로 가열조리하고, microwave oven(MW)로 3분, 6분간 가열조리하였다. 조리한 각 시료는 냉장온도(4°C)에서 0일, 3일, 7일, 14일 동안, 냉동온도(-18°C)에서 7일, 30일, 90일 동안을 저장하면서 실험하였다. 냉장 저장된 시료중 재가열 처리군은 MW로 1분간 재가열 하였고, 냉동된 시료중 재가열 처리군은 상온에서 30분 동안 해동한 후 MW로 1분간 재가열 하였다. 채소즙 처리군의 경우는 시료를 동량의 채소즙(양배추, 무, 양파, 레몬, 생강)과 녹차추출물(Tea bag을 200 ml 더운 물로 2분간 추출물)에 전처리한 시료(20분간 침지)를 전기그릴과 가스그릴에서 각각 260°C의 온도에서 5분간 직화로 가열조리하였다. 각 조리방법에 의해 얻은 시료를 시료무게의 5배에 해당하는 80% methanol에서 mixer로 2분간 균질화하고, plate상에서 stirrer를 이용하여 하룻밤 동안 추출한 후, 10,000rpm에서 40분간 원심분리하여 상정액을 취하였다. 이 과정을 3회 반복하여 얻은 상정액을 감압농축하여 고휘물을 얻어 -70°C에서 보관하면서 실험에 이용하였다.

5. 양성 돌연변이 물질(Positive control)의 조제

Benzo(a)pyrene은 dimethyl sulfoxide(DMSO) 1 ml 당

0.1 mg으로 혼합한 후, microfilter(0.22 μ m)로 여과 멸균 하여 실험시에 10배로 희석해서 plate당 1 μ g/0.1 ml의 농도로 사용하였고, 4-NQO는 DMSO 1 ml당 0.025 mg의 농도로 조제한 후, 사용시에 10배로 희석해서 plate당 0.025 μ g/0.1 ml의 농도로 사용하였다.

6. Mutagenicity Test

Ames test를 개량한 preincubation법¹¹⁾을 이용하였고, 균주는 *Salmonella typhimurium* tester strains TA100을 사용하였다. Original weight 0.5 mg, 2.5 mg, 5.0 mg, 10 mg에 해당하는 농도의 methanol 추출물을 취한 후, plate당 0.1 ml의 농도가 되도록 DMSO를 넣어 잘 녹인 후 멸균하여 실험시는 plate당 0.1 ml를 사용하였다. 멸균증류수 0.5 ml 또는 4%의 S9를 함유한 S9 mix. 0.5 ml와 test compounds 0.1 ml, 미리 배양한 균주 0.1 ml($1 \sim 2 \times 10^9$ 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 plate를 사용하였다.

7. Micronucleus test

ICR 웅성 마우스(25 g 전후)를 군별 5마리로 하여 대조군, 전기그릴 200°C, 260°C 및 320°C, 채소즙 처리군(무즙, 생강) 및 녹차 추출물 전처리군의 모두 7군을 5 g methanol extract/kg body weight/0.5% sodium CMC 10cc의 6군씩을 설정하였다. 실험 동물은 2주간의 환경 적응기간을 거친 후 각 군은 2일간 조제시료를 용량별로 경구 투여를 하고, 3일째는 각 군에 시료를 경구투여 후 2시간 경과하였을 때 cychlophosphamide(CP)를 80 mg/kg body weight /saline 5 ml 용량으로 복강투여하고 제차 시료를 용량별로 경구투여하였다. CP 투여 24시간 경과시 마우스를 경추 탈골하여 대퇴골에서 일회용 주사기(5 ml)로 골수를 취하여 3 ml 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 세포질내에 소핵을 갖는 다염성 적혈구(MnPCE)를 확인

하고, PCE 및 MnPCE수의 합 1,000개중 MnPCE의 수를 계산하여 그 수치의 비율을 구하였다.

8. TBA가 실험

저장기간별로 고등어를 Turner 등¹²⁾의 방법으로 TBA가를 측정하였다. 곱게 분쇄된 시료 5 g에 20% TCA solution/2M H₃PO₄ 5 ml와 0.01M 2-thiobarbituric acid solution 10 ml를 첨가한 후 끓는 수조에서 종종 저어주면서 30분간 가열하였다. 가열한 후 얼음에 10분동안 방치하여 지질층을 제거하여 isoamyl alcohol-pyridine mixture(2:1) 15 ml를 첨가하여 2분간 shaking 하였다. 이를 원심하여(2,400rpm, 15 min) 상층액을 538 nm에서 흡광도(O.D)를 측정하였다.

9. DPPH(α, α -diphenyl- β -picrylhydrazyl)에 대한 전자공여능

전자공여작용시험은 각 시료 DPPH radical에 대한 전자공여능(electron donating ability(EDA))을 측정하였다^{13,14)}. 채소즙에 처리한 고등어와 무처리 군을 전기그릴에서 260°C로 가열 조리한 후 methanol 추출하여 이용하였고, 시료 10%용액 250 μ l에 4×10^{-4} M DPPH 용액 1.0 ml와 0.1M phosphate buffer(pH:6.0) 2.0 ml를 넣고, 99.5% ethanol 1.0 ml를 첨가하였다. Vortex mixer에서 10초 동안 혼합하여 525 nm에서 흡광도(O.D)의 변화를 10분 동안 측정하였다. 이 때의 전자공여능(%EDA)은 대조군에 대한 흡광도의 차로써 표시하였다.

10. 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 $p < 0.05$ 에서 검증하였다.

III. 결과 및 고찰

1. 돌연변이원성의 시료 농도 의존성

예비실험에서 생선류 중에서 고등어가 다른 생선에 비해 높은 변이원성을 나타내었으므로 고등어를 시료로 하여 조리기기별, 및 온도별로 조리한 시료의 농도 의존성을 검색하였다. 각 시료를 0.5~10.0 mg/plate의 농도로 S9 mix.를 첨가하지 않고 *S. typhimurium* TA100으로 Ames test한 결과는 Table 1과 같다. *S. typhimurium* TA100에서의 자연복귀돌연변이균수는 34 ± 4 이었고 양성

Table 1. Mutagenicity of the methanol extract of mackerel cooked on gas grill, electric grill and MW in the Ames test on *S. typhimurium* TA100 without S9 mix

Cooking Instrument	Cooking Condition	No. of revertants			
		Concentration of original weight(mg/plate)			
		0.5	2.5	5.0	10
Gas Grill	200	93.33±6.66 ^c	109.33±5.69 ^b	143.33±4.04 ^a	143.00±1.00 ^a
	260	106.67±9.29 ^c	125.33±3.79 ^b	171.00±2.65 ^a	128.00±2.00 ^b
	320	117.00±5.29 ^c	137.33±14.9 ^b	178.00±8.19 ^a	87.00±2.00 ^d
Electric Grill	200	85.00±8.19 ^b	148.00±4.36 ^a	143.67±7.51 ^a	143.67±1.53 ^a
	260	84.33±5.51 ^c	137.67±2.52 ^b	171.67±0.04 ^a	131.67±3.79 ^b
	320	95.33±13.43 ^b	172.33±9.45 ^a	183.33±9.50 ^a	105.33±10.79 ^b
Microwave oven	3 min	65.67±4.16 ^c	87.00±2.65 ^b	107.00±3.61 ^a	91.33±5.86 ^b
	6 min	67.00±4.58 ^d	93.67±3.06 ^c	116.67±6.03 ^a	102.33±3.06 ^b

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* TA 100 : 34 ± 4

Positive control : 4-NQO(0.25 µg/plate) : 406 ± 2

Control(raw mackerel) : 81.00 ± 2.00(5.0 mg/plate)

대조물질로 사용한 4-NQO(0.25 µg/plate)의 복귀돌연변이균수는 406±2이었으며, 시료의 모든 농도에서 복귀돌연변이균수는 자연복귀 돌연변이균수보다 높았다. Table 1에서와 같이 전기그릴과 가스그릴에서 조리한 모든 시료의 경우 5.0 mg/plate의 농도까지는 농도 의존적으로 변이원성이 증가함을 알 수 있으나, 10 mg/plate의 농도에서는 오히려 감소되는 경향을 보여 5 mg/plate의 농도에서 변이원성이 가장 크게 나타남을 알 수 있었다. 따라서 본 실험의 시료의 유효농도를 5 mg/plate로 하였다. 이는 전자렌지로 조리하였을 경우도 같은 결과를 보였다. 또한 전기그릴 및 가스그릴 조리온도 모두 조리온도가 증가함에 따라 복귀돌연변이균 수가 증가하여 320°C에서

가장 높은 돌연변이균수가 나타났으나, 육안으로 보아도 지나치게 탄 것으로 보여 식용이 불가능하였다. 전자렌지 조리군의 경우에는 3분 조리시 보다 6분 조리 시에 더 많은 변이원균수를 나타내 조리시간이 길어짐에 따라 복귀 돌연변이균수가 증가하는 결과를 보였으며 6분간 조리된 시료의 상태는 매우 양호한 것으로 보였다.

2. 돌연변이원성의 조리 온도 의존성

Fig. 1과 2에 나타난 바와 같이 생시료(대조군)의 경우 복귀돌연변이균수가 81.00±2.00이었던 것에 비해 가스그릴에서 200°C로 조리한 시료의 경우 복귀돌연변이균수가 143.33±4.04, 260°C에서는 171.67±2.65, 320°C 시료에서는 178.00±8.19로 조리온도가 높을수록 돌연변이

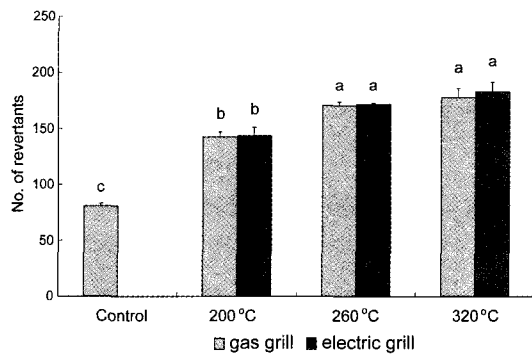


Fig. 1. Mutagenicity of the methanol extract of mackerel cooked on gas grill and electric grill in the Ames test on *S. typhimurium* TA100 without S9 mix.

p<0.05

Spontaneous revertants of *S. typhimurium* TA 100 : 34 ± 4

positive control : 4-NQO(0.25 µg/plate) : 406 ± 2.12

Concentration of sample : 0.5 mg/plate

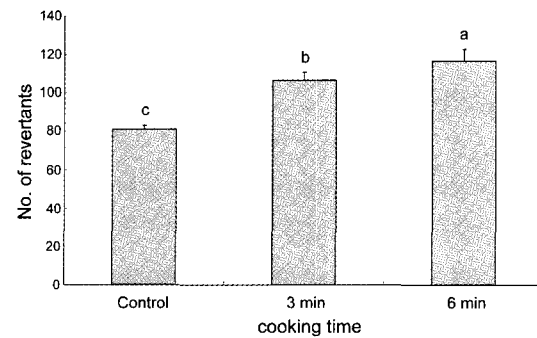


Fig. 2. Mutagenicity of the methanol extract of mackerel cooked microwave oven in the Ames test on *S. typhimurium* TA100 without S9 mix.

p<0.05

Spontaneous revertants of *S. typhimurium* TA 100 : 34 ± 4

positive control : 4-NQO(0.25 µg/plate) : 406 ± 2.12

Concentration of sample : 0.5 mg/plate

이원성이 유의적으로 높게 나타났다($p < 0.05$). 전기그릴의 경우 200°C, 260°C 및 320°C에서는 각각 복귀돌연변이균수가 145.67 ± 7.51 , 170.67 ± 0.04 및 179.23 ± 7.15 로 260°C 이상의 온도에서 유의적으로 높은 변이원성을 나타내었다. Hisayokoba 등¹⁵⁾은 양식 방어를 전기그릴에서 가열 조리했을 때 생시료보다 변이원 활성이 10배 가량 높았다고 보고하였지만, 본 연구에서는 고등어를 전기그릴에서 260°C로 가열조리한 시료가 생시료의 2배 정도의 변이원 활성을 나타내었다. 이는 시료 및 가열 조리의 조건이 다르기 때문이라고 생각된다. 가스그릴과 전기그릴 모두 320°C일 때 가장 높은 돌연변이원성을 나타내었으나 가식부로 이용되기 힘들만큼 탄 상태였으므로 본 연구에서는 260°C의 시료를 선정하였다. 전자렌지로 조리하였을 경우 대조군(81.00 ± 2.00)에 비해 3분(107.00 ± 3.61)과 6분(116.67 ± 6.03)조리한 시료가 유의적으로 높은 돌연변이원성을 보였다($p < 0.05$).

3. 대사활성물질 첨가에 따른 변이원성

고등어를 시료(5.0 g/plate)로 하여 Aroclor-1254로 유도된 대사 활성물질인 S9 mix. 첨가시의 복귀돌연변이균수 결과는 Table 2와 같다. S9 mix.를 첨가하는 *S. typhimurium* TA100에서 자연복귀 돌연변이원수가 78 ± 5 이었고 양성대조물질로 benzo(a)pyrene(1 µg/plate)를 사용하였을 때 1071 ± 1.50 의 자연복귀돌연변이균수를 나타내어 S9 mix.를 첨가하지 않고 양성대조물질로 4-NQO(0.25 µg/plate)를 사용했을 경우의 자연복귀 돌연변이균수인 406 ± 2.12 보다 약 2.5배의 돌연변이원성을 나타내었다. 대조군(생시료)에 비해 가열조리군의 경우 모두 유의

Table 2. Mutagenicity of the extract of mackerel cooked with different cooking ents in the Ames test on *S. typhimurium* TA100 with S9 mix

Cooking Instrument	Cooking Condition	No. of revertants
Control		224.33 ± 5.13^d
Gas grill	200	293.00 ± 17.77^b
	260	313.00 ± 12.12^b
	320	413.66 ± 11.06^a
Electric grill	200	295.00 ± 9.84^b
	260	314.33 ± 8.08^b
	320	415.66 ± 16.62^a
Microwave oven	3 min	254.66 ± 4.73^c
	6 min	295.00 ± 11.53^b

Values are mean \pm 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* TA 100 : 78 ± 5

Positive control : B(a)P(1 µg/plate) : 1071 ± 1.5

Control : raw mackerel

Concentration of sample : 5.0 mg/plate

적으로 높은 변이원성을 나타내었는데($p > 0.05$), 이는 대사 활성물질 무첨가시와 같은 결과로 가열조리에 의해 변이원성이 유의적으로 생성됨을 알 수 있다. 조리방법에 의해서는 전자렌지에 의한 조리가 다른 조리방법에 비해 유의적으로 더 낮은 돌연변이원성을 보였다. S9 mix.를 첨가하지 않았을 때와 마찬가지로 가스그릴과 전기그릴에서의 돌연변이원성은 320°C로 조리하였을 때 가장 높은 돌연변이원성을 나타내었다.

S9 mix. 첨가에 의해 돌연변이원성이 약 2-4배 정도 증가하는 경향을 보였는데, 김 등¹⁶⁾의 연구에 의하면 삼치의 fried법과 broiled법의 methanol추출물에 S9 mix.의 첨가시 복귀 돌연변이원수가 약 5-10배 정도 증가한다고 한 결과와 같은 경향이었으나 본 연구보다 높은 돌연변이원성을 나타낸 것은 시료 채취시 표면의 탄 부분만 모아 추출하였기 때문에 본 연구보다 높은 돌연변이원성을 나타냈다고 사료된다. 따라서 가열 조리된 고등어 추출물에 소량의 직접 돌연변이원보다는 간접 돌연변이원(indirect-acting mutagen)이 더 많이 포함되어 있을 것으로 예상된다.

4. 조리기기별 돌연변이원성

고등어 시료 5.0 mg/plate를 유효농도로 하여 조리온도 260°C로 5분간 가스그릴, 전기그릴에서 가열조리한 것과 microwave에서 6분간 조리시 시료의 돌연변이원성을 Fig. 3에 나타내었다. 전기그릴에서 260°C로 조리한 것이 가스그릴에서 260°C로 조리한 것과 비교해서 유의적인 차이는 없었으나 약간 낮은 돌연변이원성을 보였고, 전자렌지로 6분간 조리한 시료는 가스그릴이나 전기그릴에

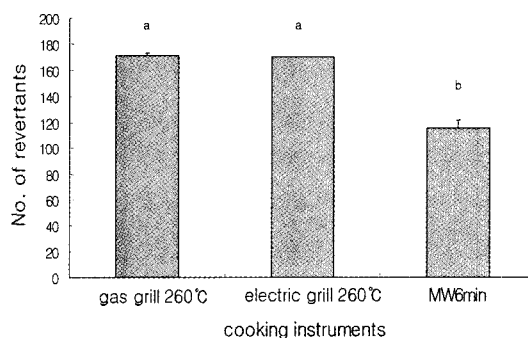


Fig. 3. Mutagenicity of the methanol extract of mackerel cooked with different cooking instruments in the Ames test on *S. typhimurium* TA100 without S9 mix.

$p < 0.05$

Spontaneous revertants of *S. typhimurium* TA 100 : 34 ± 4 (-S9), 78 ± 5 (+S9)

positive control : 4-NQO(0.25 µg/plate) : 406 ± 2.12

Concentration of sample : 0.5 mg/plate

비해 유의적으로 낮은 돌연변이원성을 보였으며 대사활성 물질 첨가에 의해 돌연변이원성이 더 높게 나타났다. 따라서 MW에서 조리했을 경우 기호와 관련하여 맛의 차이는 있을 수 있겠지만, 타지 않고 조리되므로 변이원성 형성에 대하여 가장 안전한 조리법임을 알 수 있다. 본 연구에서는 수분을 이용하지 않는 조리 방법을 적용함으로써 수분이 돌연변이원의 전구체의 이동을 돕지 않는다는 점에서 기타 수분을 이용한 조리법 등 더 많은 조리법과의 비교 연구가 필요할 것으로 생각된다. 또한, 전기그릴과 가스그릴에 의한 유의차는 없었지만 전기그릴에 의해 조리한 시료가 더 일관성을 유지하였으므로 전기그릴에서 260°C로 5분간 가열조리한 모든 조리법을 모든 실험에 적용하였다.

5. 생선 종류에 따른 변이원성

붉은 살 생선인 고등어(Mackerel), 연어(Salmon), 방어(Yellowtail), 삼치(Saury pike) 4종과 흰 살 생선인 갈치(Trichiurus), 조기(Croaker), 염장조기(Salted Croaker)의 3종을 전기그릴에서 260°C로 5분간 가열 조리하여 유효농도 5.0 mg/plate로 Ames test한 결과는 Fig. 4와 같다. 붉은 살 생선이 145.67±3.06~160.33±22.05으로 흰살 생선의 북극돌연변이균수인 45.50±3.54~65.33±16.80보다 돌연변이원성이 2배 이상 유의적으로 높게 나타났다(p<0.05). 이는 붉은 살 생선의 지방함량이 흰 살 생선보다 많고 또한 다가 불포화 지방산으로부터 더 많은 free radical이 생성되어 DNA나 RNA 및 단백질의 변형에 영향을 주었을 것으로 사료된다. 붉은 살 생선인 고등어(160.33±22.05), 삼치(145.67±3.06), 방어(150.67±

18.34), 연어(149.00±19.80)중 유의적인 차이는 없었으나 고등어가 약간 높은 돌연변이원성을 보였고, 흰살 생선인 갈치(65.33±16.80)와 조기(62.00±15.87), 염장조기(45.50±3.54)간에 유의적인 차이는 없었으나 염장조기가 가장 낮은 돌연변이원성을 보였다. 염장조기의 변이원성이 가장 낮게 측정된 것은 돼지고기와 쇠고기를 구이하기 전 소금용액으로 처리한 시료에서 돌연변이 유발능이 현저히 감소했다는 박 등¹⁷⁾의 보고와 유사한 결과로 돌연변이원의 전구체가 소금으로 재우는 과정 중에 용액과 함께 빠져나왔기 때문이라고 생각된다.

6. 채소즙 및 녹차 추출물에 의한 돌연변이 억제효과

고등어를 레몬, 무, 양파, 생강, 양배추즙과 녹차 추출물 등의 동량에 각각 20분간 침지한 후 전기그릴에서 260°C로 5분간 조리하여 80% methanol로 추출한 시료를 유효농도 5.0 mg/plate로 선정하여 Ames test한 결과는 Table 3과 같다. 여러즙처리에 의해 돌연변이 유발능이 유의적으로 감소했음을 알 수 있는데, S9 mix를 사용하지 않고 전기그릴에서 조리했을 경우 녹차(65.5±6.36) > 생강(90.67±10.50) > 무(103.00±15.00)의 순으로 녹차의 돌연변이 억제 효과가 가장 크게 나타났다. S9 mix를 첨가했을때도 대조군에 비해 유의적으로 억제효과가 녹차, 생강, 무 순서대로 나타났는데, 이는 무, 양배추, 생강에 의해 태운 삼치 추출물의 돌연변이원성이 억제되었다는 김 등¹⁶⁾의 연구와 유사한 결과이다. 레몬, 양파, 양배추는 돌연변이 억제효과에 있어 가스그릴과 전기

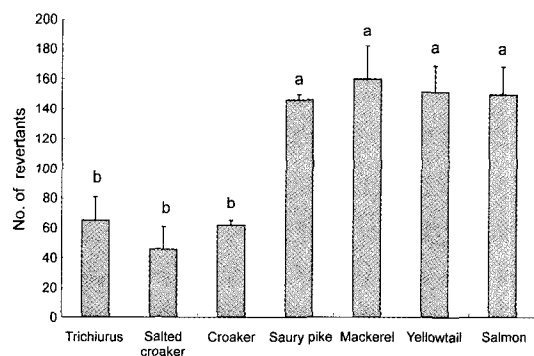


Fig. 4. Mutagenicity of the methanol extract of fishes cooked on electric grill(260°C, 5min) in the Ames test on *S.typhimurium* TA100 without S9 mix.
 p<0.05
 Spontaneous revertants of *S. typhimurium* TA 100 : 34 ± 4
 Positive control : 4-NQO(0.25 µg/plate) : 406 ± 2
 Concentration of sample : 5.0 mg/plate

Table 3. Prevention of mutagenicity of the methanol extract of mackerel cooked with vegetable juice in the Ames test on *S. typhimurium* TA100

Sample	No. of revertants	
	- S9	+ S9
Control	133.00±11.36 ^a	306.00±14.42 ^a
Lemon	120.33±16.77 ^{ab}	231.00±11.00 ^b
Radish	103.00±15.00 ^{bc}	233.00±9.54 ^b
Onion	111.67±20.43 ^{abc}	241.50±0.71 ^b
Ginger	90.67±10.50 ^{cd}	230.00±8.49 ^b
Cabbage	120.67±15.95 ^{ab}	244.33±11.68 ^b
Green tea	65.5±6.36 ^d	226.00±8.49 ^b

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* TA 100 : 344(-S9), 785(+S9)
 Positive control without S9 mix. : 4-NQO = 513 ± 6.54
 Positive control with S9 mix. : B(a)P = 746 ± 12.12
 Concentration of sample : 5.0 mg/plate
 Cooking condition : electric grill, 260°C for 5 min.

그릴사이의 약간의 차이는 보였으나, 군간의 유의적 차이는 보이지 않았다. 주목할만한 결과는 녹차가 가장 돌연변이 억제능이 크게 나타났다는 점이다. 최근 지용성 항산화제는 지질과산화 반응을 억제할 뿐이었으나, eragic acid, epicatechin gallate, epigallocatechin gallate 등의 수용성 항산화제는 항산화성 뿐만 아니라 지질과산화 생성물이 갖는 변이원성에 대해서도 강한 억제작용을 갖고 있음이 보고되고 있고¹⁷⁾ 녹차의 돌연변이 억제 효과도 이와 같은 측면에서 이해될 수 있다고 생각된다. 따라서 수용성 항산화제의 변이원성 억제효과의 확실한 기전 및 이에 대해 앞으로 더 깊은 연구가 요구된다. 또한, 생강과 무가 항돌연변이원성이 높게 나타난 것은 생강의 zingerol 성분과 무의 isothiocyanate 성분으로 인한 변이원 억제 효과와 SH 화합물에 의해 C-nitro기가 이탈됨으로써 변이원성이 억제되었을 것으로 추론된다.

7. 냉장·냉동 저장에 따른 변이원성

전기그릴에서 조리한 고등어의 냉장저장(0, 3, 7, 14일)과 냉동저장(0, 7, 30, 90일) 기간에 따른 돌연변이 유발능은 냉장·냉동 저장에 상관없이 저장하지 않은 시료에 비해 유의적으로 돌연변이균수가 증가되었다. S9 mix를 첨가하지 않고 고등어를 전기그릴에서 260°C로 조리시, 3일 저장시 181.33±18.23, 7일 저장시 199.67±10.50, 및 14일 냉장저장시에는 205.67±7.64로 냉장 7일 시료부터 유의적으로 변이원성이 증가하였고 14일째에 최대치를 나타내었다. 그러나, 냉장 저장 시료를 재가열했을

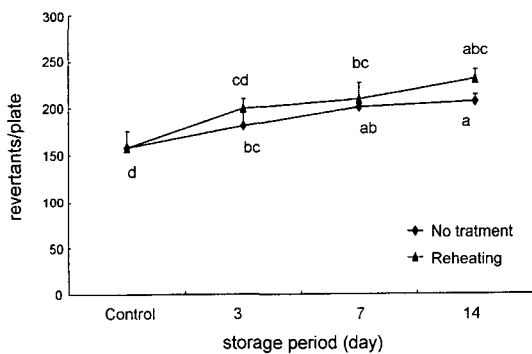


Fig. 5. Mutagenicity of methanol extract of mackerel according to refrigerated storage and reheating by MW in the Ames test on *S. typhimurium* TA100.

P < 0.05
 Spontaneous revertants of *S. typhimurium* TA 100 without S9 mix. : 34 ± 4
 Positive control without S9 mix. : 4-NQO (0.25 µg/plate) = 548 ± 5.4
 Cooking condition : electric grill, 260°C for 5 min.
 Concentration of sample : 5.0 mg/plate

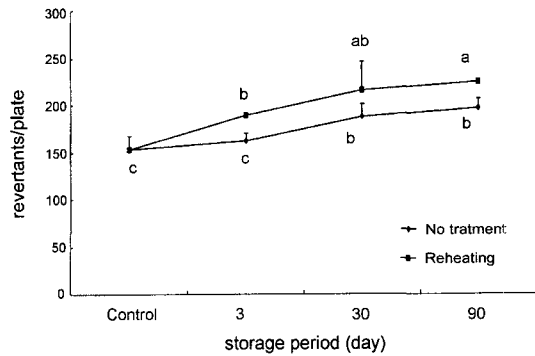


Fig. 6. Mutagenicity of methanol extract of mackerel according to frozen storage and reheating by MW in the Ames test on *S. typhimurium* TA100.

P < 0.05
 Spontaneous revertants of *S. typhimurium* TA 100 without S9 mix. : 34 ± 4
 Positive control without S9 mix. : 4-NQO (0.25 µg/plate) = 548 ± 5.4
 Cooking condition : electric grill, 260°C for 5 min.
 Concentraion of sample : 5.0 mg/plate

경우 3일 저장 시료부터 유의적으로 변이원성이 증가하였다. 냉동저장시는 30일 저장 시료부터 유의적으로 돌연변이 유발능이 증가되었으며 재가열군은 7일 저장 시료부터 유의적으로 증가되는 결과가 나타났다. 냉동저장 시료중 90일 냉동저장시료가 최대치를 나타내었으나, 14일동안의 냉장저장보다 낮은 수치였다. 냉장·냉동 저장 시료 모두 전기그릴 조리군과 전자렌지 조리군 사이의 유의적인 차이는 보이지 않았는데 이는 너비아니의 품질 특성에 있어서 조리방법이나 재가열 방법, 저장 방법에 의한 영향보다 저장기간에 따른 영향이 크다고 보고한 김¹⁹⁾의 연구와 유사한 결과이다. 재가열하지 않은 무처리군에 비해 microwave로 1분간 재가열한 시료의 돌연변이 유발능이 증가된 사실은 재가열에 의해 증가된 산패도가 돌연변이 발생에 영향을 미치는 것으로 사료된다.

8. Micronucleus test에 의한 채소즙 처리 시료의 MnPCE 형성 억제 효과

Micronucleus test의 결과, cyclophosphamide만을 처리한 대조군의 MnPCE와 PCE 개수 1,000개 중 존재하는 MnPCE의 수가 0.84±0.03이었다. 전기그릴에서 조리하는 온도가 높아질수록 MnPCE 개수가 증가되었는데, 320°C로 조리하였을 경우에는 이상 염색체수가 0.88±0.01로서 대조군이나 200°C로 조리한 것에 비해 유의성 있는(p<0.05) 높은 수치를 나타냈다. Ames test에서 돌연변이 유발 억제효과가 높았던 시료인 녹차, 무, 생강에 20분간 침지시킨 후 전기그릴에서 260°C로 조리한 고등

어를 이용해 micronucleus test를 한 결과는 Table 4와 같다. 녹차, 무, 생강에 침지시킨 시료는 각각 0.66 ± 0.04 , 0.56 ± 0.04 , 0.52 ± 0.02 순으로 MnPCE의 비율 수치가 점차적으로 감소하였으며, 생강의 억제 효과가 0.52로 가장 크게 나타났다. 이들 시료의 유의성 검정 결과 대조군과 전기그릴에서 온도별로 조리한 시료와 비교해서 유의성있게 낮은 수치를 알 수 있었다. 이러한 사실로 보아 항암제로 사용되는 CP의 부작용으로 인한 골수의 소핵형성에 대해 녹차, 무, 생강즙 처리시료가 소핵의 형성 억제효과를 가짐을 알 수 있다.

9. 조리, 재가열 및 저장 조건에 따른 지질과산화물의 변화

조리된 어육류의 지방이 산화되면 좋지 않은 풍미가 발생하는데, 이러한 산패취는 식품의 품질을 저하시키는 원인이 된다. 냉장저장시와 냉동저장시의 고등어의 산패도를 측정 한 결과는 Fig. 7과 8에 나타내었다. Fig. 7에

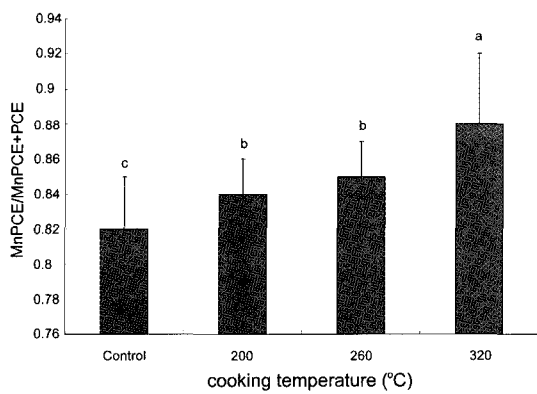


Fig. 7. Micronucleus formation by mackerel cooked on electric grill.
 p<0.05
 Cooking condition : electric grill, 200°C, 260°C and 320°C for 5 min

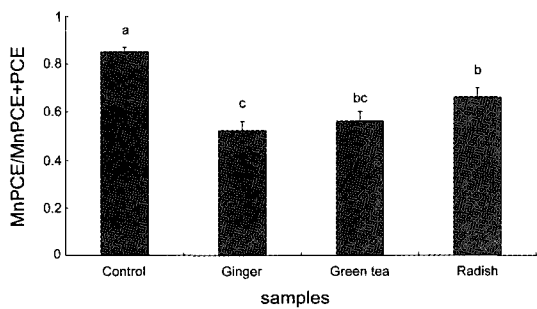


Fig. 8. The inhibition effect of micronucleus formation by mackerel cooked with vegetable juice.
 p<0.05
 Cooking condition : electric grill, 260°C for 5 min

서와 같이 냉장 저장에서는 저장 3일 시료부터 산패도가 유의적으로 증가하였으며(p<0.05), 냉장 14일 저장 시료가 가장 높은 산패도를 보였으며 미생물에 의한 오염이 육안에 의해 관찰될 정도로 산패가 일어났으므로 최대 냉장 7일까지만 저장하는 것이 안전할 것으로 생각된다. 또한, 모든 군에서 재가열에 의해 TBA가 증가됨을 알 수 있는데, 이는 재가열에 의한 변이원성 증가와 마찬가지로 재가열에 의해 산패도가 증가됨을 알 수 있다. Welke 등²⁰⁾은 예비 조리된 beef roast를 11일 냉장 저장했을 때, 갓 신선하게 구운 것에 비해 TBA가 유의적으로 증가하는 경향을 보였다고 보고하였으며 White 등²¹⁾도 beef를 1°C에서 냉장 저장시 기간이 증가함에 따라 TBA값이 증가하는 경향을 보였다고 하였다. 냉동 저장시 모두 7일째부터 유의적으로 산패도가 증가하여 90일 냉동 저장시에는 변이원성이 가장 높았다(Fig. 8). 냉

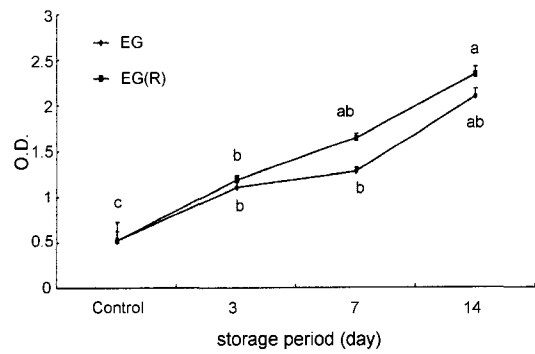


Fig. 9. TBA value of mackerel according to reheating and refrigerate storage by electric grill and MW.
 p<0.05
 EG = mackerel cooked by electric grill at 260°C for 5 min
 EG(R) = EG reheated on microwave oven for 1 min

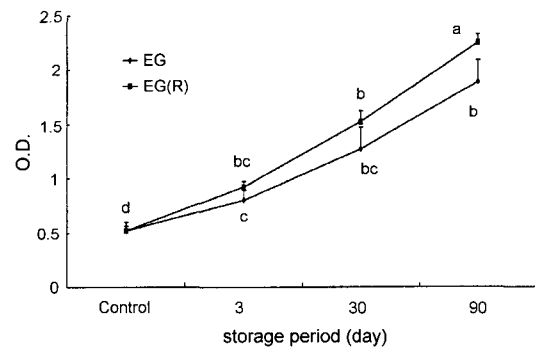


Fig. 10. TBA value of mackerel according to reheating and frozen storage cooked on electric grill and MW.
 p<0.05
 EG = mackerel cooked by electric grill at 260°C for 5min
 EG(R) = EG reheated on microwave oven for 1 min

Table 4. Electron donating ability(EDA) of mackerel cooked with vegetable juice to DPPH

Sample	O.D	EDA(%)
control	0.898	
lemon	0.856	4.67
radish	0.832	7.34
onion	0.807	10.13
ginger	0.815	9.24
cabbage	0.826	8.01
green tea	0.811	9.68

OD value : Decrease in OD₅₂₅ during 10 minutes.

장 저장 시료보다 산패도가 더 낮게 측정되었는데 이는 Jacobson 등²²⁾의 연구와도 같은 결과로 예비조리한 양고기의 냉동 저장 방법보다 냉장 저장이 TBA가 더 크다고 보고하였다. 또한, Jannith 등²³⁾은 beef patties가 냉동 저장 3개월까지는 냉장저장시보다 지방산의 자동산화 속도가 더 느리기 때문에 TBA가 낮으며, 4개월이상 저장해야 TBA가 증가한다고 하였다.

10. 채소즙 및 녹차추출물 처리에 의한 DPPH radical 소거효과

채소즙 처리를 한 고등어의 DPPH에 대한 전자공여능(%EDA)은 Table 4와 같다.

양파(10.13%), 녹차(9.68%), 생강(9.24%), 양배추(8.01%), 무(7.34%), 레몬(4.67%) 순으로 양파의 전자공여능이 가장 높게 나타났는데, 이는 양파 추출물에 함유되어 있는 sulfide류 중에서 sulfhydryl(-SH)기의 환원력에 의한 효과로 생각된다. 뿐만 아니라 녹차의 항산화력이 높게 나타났는데, 이는 녹차중에 함유되어 있는 epicatechin gallate, epigallocatechin gallate 등의 catechin류에 의한 항산화력에 의한 결과일 것이다. 또한, 여러 연구에 의해 지용성 항산화제는 지질과산화 반응을 억제할 뿐이었으나, 수용성 항산화제는 항산화성 뿐만 아니라 지질과산화 생성물이 갖는 변이원성에 대해서도 강한 억제작용을 갖고 있음이 관찰되었다고 보고하였다¹⁸⁾.

11. 변이원성과 과산화지질 생성간의 상관관계

전기그릴 260°C에서 5분간 가열 조리한 시료의 냉장 저장 및 냉동저장에 따른 변이원성과 과산화지질 생성간의 상관관계를 Fig. 9와 10에 각각 나타내었다. 냉장 저장했을 때의 고등어의 변이원성과 과산화지질 생성간의 상관관계 정도는 0.93으로 높은 상관관계를 나타내었고 MW로 1분간 재가열했을 경우 0.98로 상관관계가 크게 나타났다. 냉동저장 역시 0.92를 나타내어 상당히 높은 상관관계를 나타내었으나 재가열했을 경우에는 0.89로 오

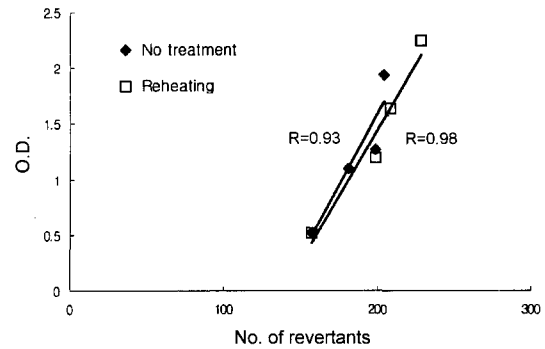


Fig. 11. Correlation of mutagenicity and rancidity for mackerel according to cookery on electric grill(260°C, 5 min.) and refrigerated storage (0-14days).

O.D. : value of rancidity (TBA test)

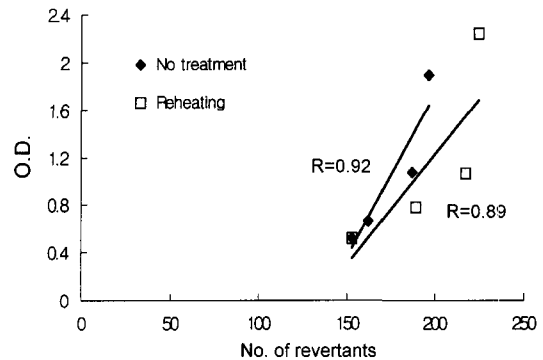


Fig. 12. Correlation of mutagenicity and rancidity for mackerel according to cookery on electric grill(260°C, 5 min.) and frozen storage (0-90days).

O.D. : value of rancidity (TBA test)

히려 낮은 상관관계를 보였다. 이는 냉동저장에 의해 지방산패가 지연되어 오다가 90일 냉동저장 시료에서 산패가 유의적으로 높게 나타났기 때문에 상관관계는 다소 낮게 나타난 것으로 사료된다.

이상에서 지질과산화물이 돌연변이원 형성에 지대한 영향을 미침을 확인할 수 있었다.

IV. 요약

섭취 빈도가 높은 어류중 붉은 살 생선인 고등어(Mackerel), 삼치(Saury pike), 방어(Yellowtail), 연어(Salmon), 흰 살 생선인 조기 및 옆장조기(Croaker, Salted Croaker), 및 갈치(Trichiurus)를 시료로 하여, 가스그릴, 전기그릴과 microwave oven으로 가열조리한 후 일정기간 동안 냉장 및 냉동 보존한 시료와 보존한 시료를 microwave로 재가열하였을 때 변이원성을 in

vitro test로 Ames/Salmonella assay를, in vivo test로 Micronucleous test를 실시하여 검색하고, 그 제어방법으로 항암성분을 많이 함유하고 있는 녹황색 채소즙으로 전처리하여 돌연변이 억제능을 검토하고자 한다. 또한, 지질의 과산화도를 측정하여 변이원 생성과 과산화 지질간의 상관성을 검토한 결과는 다음과 같다.

1. 어류의 가열조리에 의해 대조군(생시료)보다 변이원성이 유의적으로 증가되었는데, 생성된 변이원은 모두 농도 의존성을 나타내었으며, 5 mg/plate인 농도구간에서 돌연변이원성이 유의적으로 높게 나타났다($p < 0.05$).

2. 조리온도가 높아질수록 변이원성이 유의적으로 높아졌으며 대사활성물질을 첨가했을 경우 무첨가시보다 2-4 배 정도 돌연변이원성이 높게 나타났다.

3. 조리기기에 따른 복귀 돌연변이균수는 가스그릴과 전기그릴군 간에는 유의적인 차이가 없었으나 MW에서 조리한 시료의 경우에는 유의적으로 낮게 나타났다($p < 0.05$).

4. 생선 종류별 변이원성을 검색한 결과 흰살 생선이 붉은 살 생선에 비해 유의적으로 낮은 변이원성을 나타내었으며, 붉은 살 생선간에 유의적인 차이는 나타나지 않았으나 고등어가 약간 높은 변이원성을 나타내었고, 흰살 생선중에서도 유의차는 없었으나 염장조리가 가장 낮은 변이원성을 나타내었다.

5. 채소즙 및 녹차 추출물로 처리 후 가열조리를 한 시료의 경우 모두 대조군에 비해 유의적으로 변이원성이 억제되었으며, 녹차>생강>무 순으로 변이원성 억제효과가 나타났다.

6. 저장에 의해 돌연변이원성이 유의적으로 증가하였는데, 냉장 저장시 저장 3일째부터, 냉동저장시에는 저장 7일째부터 변이원성이 유의적으로 증가하였다. 냉동저장보다 냉장저장시 더 높은 변이원성을 나타내었고 MW에 의한 재가열에 의해 변이원성이 증가되었다.

7. Micronucleus test 결과, 조리온도가 증가할수록 골수 소핵 형성이 유의적으로 증가되었고, 채소즙 처리군의 경우 생강>녹차>무 순으로 골수 소핵 형성 억제효과를 보였다.

8. 조리, 재가열 및 저장 조건에 따른 산패도(TBA value)를 측정된 결과 저장기간이 길어질수록 산패도가 증가하였고 냉장 저장시료의 경우 저장 3일째부터 유의적으로 산패도가 증가되었으며 냉동 저장 시료의 경우에는 저장 7일째부터 유의적으로 높은 산패도를 나타내었다. 냉장저장 시료가 냉동저장 시료보다 더 높은 산패도를 나타내었으며, microwave에 의한 재가열에 의해 산패도가 증가되었다.

9. 채소즙 및 녹차 추출물로 처리 한 고등어의 DPPH

에 대한 전자공여능(%EDA) 측정 결과는 양파>녹차>생강>양배추 순으로 양파의 전자공여능이 가장 높게 나타났다.

10. 전기그릴 260°C에서 조리한 시료의 냉장저장 및 냉동저장에 따른 변이원성과 과산화지질 생성간의 상관관계는 냉장 저장했을 때 0.93으로 높은 상관관계를 나타내었고 재가열했을 경우 0.98로 상관관계가 더 높게 나타났다. 냉동저장 역시 0.92를 나타내어 상당히 높은 상관관계를 나타내었으나 재가열했을 경우에는 0.89로 오히려 낮은 상관관계를 보였다.

감사의 글

이 논문은 1998년 한국학술진흥재단 지원 연구비로 수행한 연구결과의 일부로 이에 깊은 감사를 드립니다.

참고문헌

1. 박현서, 이영순, 구성자, 한명주, 조여원 : 식생활과 건강. 효일문화사, 262-265, 1995
2. Hathcock, J. N. : Mutagens in cooked foods, Nutritional toxicology, Vol. II, Academic Press Inc., Orlando, 57-165, 1987
3. Swenson, D. H. and Kadlubar, F. F. : Properties of chemical carcinogens in relation to their mechanism of action, In Microbial Testers. Felkner, I. C. (Ed.), Marcel Dekker, Inc., Orlando, 4-21, 1981
4. Sugimura, T., and Sato, S. : Mutagens-carcinogens in foods, *Canc. Res., (suppl.)* 43:2415, 1983
5. 광동경, 이경애, 류은순 : 조리냉동 및 냉장식품에 대한 도시 주부의 이용 실태 및 인식정도와 식품제조업체의 의식구조 조사에 관한 연구. 한국조리과학회지, 9:230, 1993
6. 안숙자 : 한국주부의 가공식품에 대한 인식 및 이용실태에 관한 연구. 한국조리과학회지, 5(2):75, 1989
7. 송은승, 강명화 : 반조리 냉동 육류제품의 저장 및 재가열 방법에 따른 지방 산화를 측정. 한국조리과학회지, 9: 88, 1993
8. Marcel, S., Liekenjie, F. and Cheung, Y. K. : The use of Microwave oven chemical tranformation of long chain fatty acid esters. *lipids*, 23:367, 1988
9. Chen, B. H. and Chen, Y. Y. : Stability of chlorophyll and carotenoids in sweet potato leaves during microwave cooking. *J. Agric. Food Chem.*, 41:1316, 1993
10. K. K. Carroll, *Cancer Res.*, 35:3374, 1975
11. Drothy M. Maron and Bruce N. Ames : Revised methods for the Salmonella mutagenicity test, *Mutation Research*, 113, 1, 78-215, 1983

12. Turner, E. W., Paynter, W. D., Monitie, E. J., Bessert, M. W., Struck, G. M. and Olson, F. C. : Use of the 2-thiobarbituric acid reagent to measure rancidity in frozen pork. *Food Technol.*, **8**:326, 1954
13. Yamaguchi, N. and Fujimaki, M. : Studies on browning reaction from reduction from reducing Sugars and amino acids. Antioxidative activities of purified melanoidins and their comparison with those of legal actioxidants, *Niippon Shokukin Kogyo Gokkaishi*, **21**(1): 6, 1974
14. Blois, M. S. : Antioxidant determination by the use of a stable free radical, *Nature*, **181**:1199, 1958
15. Hisayokoba, Yukio Hasegwa : Asao Matsuoka, Fumiko Nakazata, Atsuko Hidari, Mutsuko kugino and Kyokoshiota, 加熱調理に於て 生じる養殖ぶりの變異原性と生活性. *J. of home Economics of Japan*. **39**(10): 1105-1110, 1998
16. 김석중, 진재순, 김종만, 김길환 : 무즙의 돌연변이억제효과 및 그 특성. *한국식품과학회지*, **24**(3):193-198, 1992
17. 박미은, 이서래 : 숯불구이시 육류의 지방질 및 소금 함량이 돌연변이 유발능에 미치는 영향. *한국식품과학회지*, **21**(3):375-378, 1989
18. Y. Kuroda, D. M., Shankel and M. D. Watersed., Antimutagenesis and Anticarcinogenesis Mechanism II, Plenum Press, 139, 1990
19. 김정원, 김희섭 : 조리 및 재가열 방법과 저장 조건이 너비아니의 품질 특성에 미치는 영향. *한국조리과학회지*, **11**(5):494-503, 1995
20. Welke, R. A., Williams, J. C., Miler, G. J. and Field, R. A. : Effect of cooking methods on the texture of epimysial tissue and rancidity in food roasts, *J. Food Sci.*, **51**:1057, 1986
21. White, F. D., Resurrecction, A.V.A. and Lillard, D. A. : Effect of Warmed-over flavor on consumer acceptance and purchase of precooked top round steak. *J. Food Sci.*, **53**:1251, 1998
22. Headly, M. E. and jacobson, M. : Electronic and conventional cookery of lamb roasts. *J. Am. Dietet. Assoc.*, **36**:337, 1960
23. Jannith, N. G., Margaret, P. M., Youathan., Anold, S. M. and Kennth, M.W. Mcmillin, W. : Warmed over flaver development in beef patties prepared by three dry heat methods. *J. Food Sci.*, **51**:1152, 1986

(2000년 11월 3일 접수)