

## 숯불구이시 육류의 지방질 및 소금 함량이 돌연변이 유발능에 미치는 영향

박미은 · 이서래

이화여자대학교 식품영양학과

### Effect of Lipid and Salt Contents on the Mutagenicity of Charcoal-Broiled Meats and Fishes

Mi-Eun Park and Su-Rae Lee

Department of Food & Nutrition, Ewha Woman's University, Seoul

#### Abstract

The effect of lipid content and saline seasoning on the mutagenicity during the charcoal-broiling process of beef, pork and fish samples was examined by Ames test using *Salmonella typhimurium* TA98 and TA100 strains. Chloroform:methanol (1:1) extract of broiled samples showed a higher sensitive response toward TA98 strain than TA100 strain, indicating a frameshift mutation. The three samples of low lipid content demonstrated a slightly higher mutagenic activity, and the beef and pork samples treated with 20% saline solution showed a remarkable reduction in mutagenicity than the untreated samples.

Key words: mutagenicity, broiled meats & fishes, lipid & salt contents

#### 서 론

암의 발생은 80-85%가 환경적 요인에서 비롯되며 환경적 요인의 40-60%는 식이와 관계된다<sup>(1)</sup>. 식품에 존재하는 발암성 또는 돌연변이 유발성 물질에 관한 연구는 많은 과학자들에 의하여 수행되어 왔다. 그 중 육류식품이 가열조리 과정에서 돌연변이 유발성 물질을 형성한다는 것은 오래전부터 보고된 바 있다. 최근에는 한결음 더 나아가 조리온도, 조리방법, 조리기구 등의 인자가 돌연변이 유발능에 미치는 영향이라든지 돌연변이 유발능의 증가 또는 감소 요인들에 관한 연구가 많이 진행되고 있다<sup>(2)</sup>.

돼지고기와 쇠고기의 숯불구이는 그 독특한 향미로 인해 많은 사람들의 애호를 받고 있으며 이를 고기를 양념에 재우는 것은 우리나라 고유의 요리법이다. 숯불에 구운 육류가 돌연변이 유발성 물질을 함유한다는 것은 오래전부터 알려진 사실이지만<sup>(3)</sup> 우리나라에서 조리한 육류식품에 대하여 돌연변이 유발능을 측정한 연구로는 육류식품 열분해산물의 돌연변이 유발능에 관한

이 등<sup>(4)</sup>의 보고가 있을 뿐이다. Spingarn 등<sup>(5)</sup>은 lean ground beef의 돌연변이 유발능은 지방함량에 의해 영향을 받으며 10% 지방을 첨가했을 때 돌연변이 유발능이 최대치에 도달한다고 하였다. 그러나 Bjeldanes 등<sup>(6)</sup>은 지방을 제거한 ground beef에서 지방의 첨가량이 증가함에 따라 돌연변이 유발능은 약간 감소한다고 보고하였다.

따라서 본 연구는 Ames 시험법으로 국내에서 널리 소비되고 있는 숯불구이한 돼지고기, 쇠고기와 생선에서 지방질 함량이 돌연변이 유발능에 미치는 영향과 아울러 돼지고기와 쇠고기의 양념시 주원료가 되는 간장의 소금농도에서 고기를 재웠을 때 돌연변이 유발능이 어떻게 영향을 받는지 알아보고자 실험을 수행하였다.

#### 재료 및 방법

##### 육류의 종류와 부위

돼지고기는 비교적 지방질이 많은 어깨살(shoulder)과 지방질이 적은 뒷다리살(ham)을, 쇠고기는 지방질이 많은 부위로 목살(chuck), 적은 부위로 엉덩이살(round)을 사용하였다. 생선은 지방질 함량이 낮은 가자미(flounder)와 지방질 함량이 높은 민물 장어

Corresponding author : Su-Rae Lee, Department of Food & Nutrition, Ewha Woman's University, Seodaemun-gu, Seoul 120-750

(freshwater eel)를 선택하였고 가식부위인 몸통부위를 실험재료로 이용하였다.

### 지방질 함량의 측정법

육류의 지방질 함량은 Bligh 등의 방법을 이용하여 측정하였다<sup>17)</sup>. 즉 시료 100g을 취하여 10ml의 중류수를 넣고 200ml methanol과 100ml chloroform의 혼합 용액을 첨가한 후 만능분쇄기에서 2분간 마쇄하였다. 여기에 100ml의 chloroform을 더 첨가하고 30초간 균질화한 다음 이 혼합액에 100ml의 중류수를 더하고 다시 30초간 균질화 하였다. 이때의 chloroform : methanol : water의 비율은 2 : 2 : 1.8이 된다. 균질액은 Toyo No. 2 여과지를 사용하여 Büchner 깔대기로 여과하였다. 여과액을 분액깔대기에서 몇분간 정치시켜 두 층으로 분리되면 chloroform 층만을 취하여 감압농축기로 용매를 증발시킨 후 항량을 측정하여 이 무게로부터 시료의 지방질 함량을 계산하였다.

### 소금처리 방법

돼지고기, 쇠고기는 여러가지 양념과 함께 간장에 재워 하루정도 둔 다음 숯불구이하는 방법이 널리 이용되고 있다. 그러나 본 실험에서는 간장의 염분 농도만을 고려하여 20% NaCl 용액에 고기를 하룻밤 재운 후 숯불구이를 하였다. 생선의 경우는 2%에 해당하는 NaCl을 생선의 앞뒤 표면에 골고루 뿌려주고 하룻밤 방치한 다음 숯불에 구웠다.

### 숯불구이

시판되는 바베큐숯(barbecue charcoal, 한국열탄 주식회사제품)을 사용하여 불을 피우고 약 20분 후 숯 표면에 하얀 재가 생기면 석쇠를 달구어 시료를 구웠다. 이때 시료 표면의 80% 정도가 탈때까지 굽기를 계속하였으며 일상적으로 먹기에 적절한 수준보다 약간 지나친 정도로 구웠다.

### 시료의 추출방법

돼지고기, 쇠고기는 숯불구이한 전체를 시료로 사용하였고 생선은 구운 후 표면만을 취하여 시료로 사용하였다.

Ames 시험용 시료의 추출은 Övervik 등의 방법을 약간 변형하여 사용하였다<sup>18)</sup>. 즉 구운 시료 1g 당 5ml의  $\text{CHCl}_3 : \text{CH}_3\text{OH}$  (1 : 1, v/v)을 넣고 계속 훈들어 주면서 하룻밤 추출한 후 glass filter를 사용하여 흡

인여과하였다. 이 추출과정을 두번 반복하고 여기에서 얻은 여과액을 모아 4°C 냉장고에 하룻밤 방치한 다음 생기는 침전물을 제거하기 위하여 다시 여과하였다. 여과액은 육류의 갈색화 정도를 비교하기 위하여 spectronic 21 spectrophotometer를 사용하여 430nm에서 흡광도를 측정한 다음 감압 농축시켰다. 용매가 완전히 제거된 농축물은 dimethyl sulfoxide에 녹여 Ames 시험에 이용하였다.

### 돌연변이 유발능 시험법

Ames 등의 방법에 따라 *Salmonella typhimurium* TA 98 및 TA 100을 이용하여 시험하였다<sup>19)</sup>. 숯불구이한 육류는 S<sub>9</sub> mix를 첨가하지 않고서는 돌연변이 유발성이 나타나지 않았으므로 모든 시험에서 S<sub>9</sub> fraction이 10% 수준으로 함유된 S<sub>9</sub> mix를 사용하였다.

## 결과 및 고찰

### 육류 시료의 지방질 함량

본 실험에 사용한 여러가지 육류 시료의 지방질 함량을 정량한 결과는 Table 1과 같다. 이들 시료는 돼지고기, 쇠고기 및 생선에서 각각 지방질 함량이 낮은 것과 높은 것을 선택한 것이다.

### 시료 추출물의 착색도

숯불구이한 시료의 갈색화 정도를 비교하기 위하여 Spectronic 21 spectrophotometer를 사용해 430nm에서 흡광도를 측정한 결과는 Table 2와 같다.

숯불의 화력을 조절하는 것은 어려운 일이어서 모든 시료를 동일한 정도로 굽지는 못하였다. 그러나 굽는 과정에 의하여 추출액의 흡광도는 20-30의 범위에 있었으며 굽기전 시료의 평균 흡광도 0.07에 비하여 수백

Table 1. Content of lipids in meat samples tested

Meat sample	Lipid content <sup>a)</sup>
Pork-Ham (뒷다리살)	2.5
Pork-Shoulder (어깨살)	27.9
Beef-Round (엉덩이살)	5.8
Beef-Chuck (목살)	22.2
Flounder (가자미)	2.5
Freshwater eel (민물장어)	14.6

a) % on as-is basis for edible portion

Table 2. Degree of browning of meat samples in broiling<sup>a)</sup>

Meat sample	Raw	Broiled	Brining-broiled
Pork-Ham	0.02	27	30
Pork-Shoulder	0.07	24	24
Beef-Round	0.06	24	24
Beef-Chuck	0.07	30	27
Flounder	0.13	23	—
Freshwater eel	0.04	19	—
Average	0.07	25	26

a) Values are absorbance at 430 nm for chloroform: methanol (1:1) extract at the ratio of meat: solvent = 1:5 (w/v).

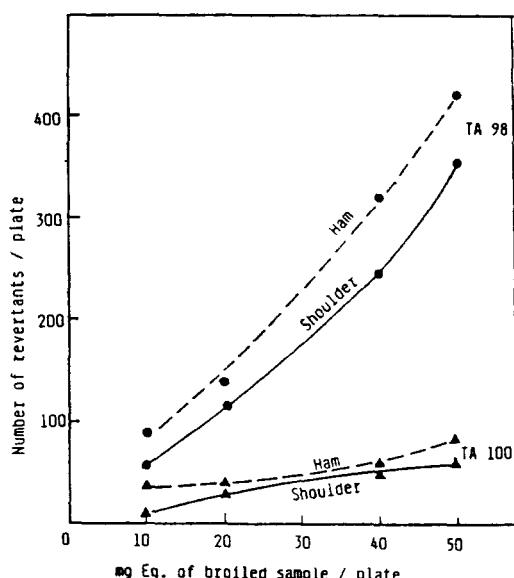


Fig. 1. Mutagenicity of charcoal-broiled pork samples on *Salmonella typhimurium* TA 98 and TA 100 strains with a high S<sub>9</sub> mix level.

배로 증가되었다. 시료 표면이 타기 시작하여 먹기에 적절한 수준으로 구운 시료는 흡광도가 1-10의 범위에 있었으며 430 nm에서의 흡광도는 굽는 정도를 객관적으로 표현할 수 있는 척도로 이용될 수 있었다.

#### 지방질 함량에 따른 돌연변이 유발능

돼지고기, 쇠고기 및 생선의 숯불구이시 지방질 함량의 높고 낮음에 따른 돌연변이 유발능을 Ames test로 비교한 결과는 Fig. 1 및 Table 3과 같다.

숯불구이한 돼지고기의 추출물은 base-pair substi-

Table 3. Effect of lipid content on the mutagenicity of broiled meat and fish samples on *Salmonella typhimurium* TA 98 strains with a high S<sub>9</sub> mix level

Meat sample	Lipid content	No. of revertants <sup>a)</sup> /plate/50 mg eq. of broiled sample
Pork-Ham	Low	426
Pork-Shoulder	High	347
Beef-Round	Low	467
Beef-Chuck	High	438
Fish-Flounder	Low	370
Fish-Freshwater eel	High	326
Average	Low fat	421 (100%)
	High fat	370 (88%)

a) Mean of duplicate runs in which spontaneous revertants were subtracted. Fresh raw samples showed a negligible count near the spontaneous revertants.

tution을 일으키는 돌연변이원을 검출하는 TA 100보다는 frameshift의 유발을 검출하는 TA 98에서 더 많은 역돌연변이수를 나타내었다. 뒷다리살과 어깨살 모두 TA 98에 대한 dose-response를 보이고 있으며, 각 실험농도에서 지방질 함량이 낮은 뒷다리살이 지방질 함량이 높은 어깨살보다 많은 역돌연변이수를 보였다. 이러한 현상은 쇠고기와 생선에 있어서도 비슷하게 나타났다.

Table 3은 50 mg sample/plate의 수준에서 TA 98 균주에 대한 육류 시료의 돌연변이능을 비교한 것이다. 위에서 보여지는 것처럼 같은 육류에서는 지방질의 함량이 많은 시료가 적은 시료에 비하여 돌연변이능이 약간 적게 나타났다. 그러나 지방질의 함량과 돌연변이 유발능 사이의 상관관계는 높지 않았다. 위의 결과는 지방함량이 증가함에 따라 돌연변이 유발능이 조금씩 감소한다는 Bjeldances 등<sup>(6)</sup>의 보고와 상통되는 결과라 할 수 있다.

#### 소금처리에 따른 돌연변이 유발능

돼지고기와 쇠고기의 숯불구이시 소금용액의 처리에 따른 돌연변이 유발능의 변화를 Ames test로 살펴 본 결과는 Table 4와 같다.

돼지고기에서 어깨살이나 뒷다리살의 경우 TA 98 균주에 대하여 소금용액에 하룻밤 재운 후 숯불구이한 시료에서 더 낮은 역돌연변이수를 나타냈다. 쇠고기에서도 목살과 엉덩이살은 같은 경향을 보여 TA 98 균주에서 소금처리를 한 시료는 소금처리를 하지 않은 시료에

Table 4. Effect of saline seasoning on the mutagenicity of broiled meat samples on *Salmonella typhimurium* TA 98 strain with a high S<sub>9</sub> mix level

Meat sample	Saline	No. of revertants <sup>a)</sup> /plate/ 50 mg eq. of broiled sample
Pork-Ham	Not treated	426
	Treated	142
Pork-Shoulder	Not treated	347
	Treated	270
Beef-Round	Not treated	467
	treated	300
Beef-Chuck	Not treated	438
	Treated	247
Average	Not treated	420 (100%)
	Treated	240 ( 57%)

a) Mean of duplicate runs in which spontaneous revertants were subtracted.

비해 현저한 역돌연변이수의 감소를 보였다. 어느 경우에나 TA 100 균주에 대해서는 매우 낮은 역돌연변이수를 나타냈다.

Miller<sup>(2)</sup>는 육류식품은 가열조리에 의하여 돌연변이 유발성 물질을 형성하며 육류 중 돌연변이 유발성 물질의 전구체는 아미노산을 포함한 수용성 물질이라고 하였다. 20% 소금용액에 하룻밤 재운 다음 숯불구이한 돼지고기와 쇠고기 시료가 역돌연변이수를 감소시킨 것은 돌연변이 유발성 물질의 전구체가 재우는 기간 중에 용액으로 녹아 나왔기 때문이 아닌가 생각된다.

육류의 돌연변이 유발능은 여러가지 인자에 의해 영향을 받는다. 본 실험에서는 육류의 숯불구이시 지방질 함량과 소금용액의 처리에 따른 돌연변이 유발능을 살펴보았지만 실질적으로 육류식품이 조리될 때에는 복합적인 요인들이 작용하게 되며 함께 섭취하는 다른 식품 또한 영향을 미치게 된다. 그러므로 육류의 조리과정 중 돌연변이 유발능의 생성과정을 종합적으로 이해하려면 육류의 구성성분 뿐만 아니라 열원, 조리기구, 첨가물질 등의 외적 요인에 관한 연구가 뒤따라야 할 것이다.

## 요 약

돼지고기, 쇠고기, 생선의 숯불구이시 지방질 함량과 양념 중의 소금농도가 돌연변이 유발능에 미치는 영향

을 알아보기자 *Salmonella typhimurium* TA 98과 TA 100 균주를 사용하여 Ames test를 수행하였다.

숯불구이한 육류의 클로로포름:메탄올(1:1) 추출액은 TA 100 균주보다는 frameshift 돌연변이가 유발되는 TA 98 균주에서 더 예민한 반응을 나타내었다. 돼지고기, 쇠고기 및 생선에서 지방질 함량이 낮을 때 돌연변이 유발능이 약간 크게 나타났다. 돼지고기와 쇠고기에서 숯불구이전 20% 소금용액으로 처리한 시료는 처리하지 않은 시료보다 돌연변이 유발능이 현저히 감소하였다.

## 문 헌

- Doll, R. and Peto, R.: The causes of cancer; Quantitative estimate of avoidable risks of cancer in the United States today. *J. Natl Cancer Inst.*, **66**, 1191 (1981)
- Miller, A.J.: Processing-induced mutagens in muscle foods. *Food Technol.*, **39**(2), 75 (1985)
- Sugimura, T. and Nagao, M.: Mutagenic factors in cooked foods. *CRC Crit. Rev. Toxicol.*, **8**, 189 (1979)
- Lee, M.S., Mo, S.M. and Park, S.C.: Mutagenicity of pyrolytic products of Korean animal protein foods by *Salmonella*/mammalian microsome test 1. Mutagenicity of Korean-style beef "Bulgogi". *Environ. Mutagens Carcinogens*, **7**, 85 (1987)
- Spingarn, N. E., Garive-Gould, C., Vuolo, L. L. and Weisburger, T.H.: Formation of mutagens in cooked foods III. *Cancer Letters*, **12**, 93 (1981)
- Bjeldanes, L. F., Morris, M. M., Timourian, H. and Hatch, F. T.: Effects of meat composition and cooking conditions on mutagen formation in fried ground beef. *J. Agr. Food Chem.*, **31**, 18 (1983)
- Bligh, E. G. and Dyer, W.J.: A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can. J. Biochem. Physiol.*, **37**, 911 (1959)
- Overik, E., Nilsson, L., Fredhol, L., Levin, O., Nord, C. E. and Gustafsson: High mutagenic activity formed in pan-broiled pork. *Mut. Res.*, **135**, 149 (1984)
- Maron, D.M. and Ames, B.N.: Revised methods for the *Salmonella* mutagenicity test. *Mut. Res.*, **113**, 173 (1983)