

대장균 변이주를 이용한 Chloropropanol 변이원성 기구의 해석

송근섭 · 한상배* · 최동성**

이리농공전대학 식품공업과, *식품의약품안전청 서울지방청,

**우석대학교 환경생명공학부

Mutagenic Mechanism of Chloropropanols in *Escherichia coli*

Geun-Seoup Song, Sang-Bae Han* and Dong-Seong Choi**

Department of Food Engineering, Iri National College of Agriculture and Technology,

*Seoul FDA, **Division of Biotechnology and Environmental Engineering, Woosuk University

Abstract

This study was designed to evaluate the mutagenicity and the primary mutagenic mechanism of chloropropanols by using various genotypes of *E. coli* WP2, *E. coli* TK and *E. coli* GW series strains. Chloropropanols showed the low mutagenic activities in *E. coli* WP2s and WP2 establishing the following order; 2,3-DCP > 3-MCPD > 1,3-DCP. As compared with *E. coli* WP2s, the decrease of mutagenic activity and the increase of survival rate in *E. coli* WP2 (WP2s *uvrA*⁻) suggest that DNA lesions produced by chloropropanols could be easily removed by excision-repair system. From the diminution of mutagenic activity and survival rate in *E. coli* CM611 (WP2s *lexA*), it was confirmed that the mutagenesis by chloropropanols was dependent on the SOS-repair system. This fact could be also confirmed from the result that both the mutagenic activity and survival rate in *E. coli* TK610 (*umuC*) were much lower than those in *E. coli* TK603 (*umuC*). In the experiment to examine the possibility that chloropropanols might have effects on the LexA of SOS response negative regulator, there was no variation in β -galactosidase activities of *E. coli* GW1105 [*lexA3* (Ind⁻)] and GW1107 [*lexA51* (Def)] by addition of the compounds, indicating that chloropropanols do not have any effects on the LexA, itself.

Key words: chloropropanols, mutagenic mechanism, SOS repair system, excision-repair

서 론

Chloropropanol (glycerol chlorohydrin)은 글리세롤의 수산기가 염소 이온으로 대체된 물질로서, 식품 중에서는 주로 단백질을 염산용액으로 분해하는 단백질 수분해물 제조공정에서 글리세롤 및 그 지방산 에스테르와 염산과의 반응에 의하여 형성되는데, 주성분은 3-monochloro-1,2-propanediol (3-MCPD)과 1,3-dichloro-2-propanol (1,3-DCP)이며 소량의 2-monochloro-1,3-propanediol (2-MCPD)과 2,3-dichloro-1-propanol (2,3-DCP)도 생성되는 것으로 알려져 있다⁽¹⁾. 단백질수분해물은 일부 가공식품, 특히 간장, 수프 양념류 및 인스턴트 수프에서 광범위하게 사용되고 있기 때문에^(2,4), 이들 물질의 위해성 여부는 매우 중요하게 여겨지고 있다. Ames test를 이용한 일부 연구에서 3-MCPD가

변이원성이 있는 것으로 보고되었고, 또한 저자들⁽⁵⁾이 수행한 두가지 세균 실험계 즉, *Escherichia coli* PQ35, 37, 243, 244를 이용한 SOS chromotest 및 *Salmonella typhimurium* TA98, 100, 1535, 97a를 이용한 Ames test에서도 이들 chloropropanol이 유전독성 및 돌연변이원성을 나타내는 것으로 확인하였다. 3-MCPD와 2,3-DCP는 절제수복에 의하여 쉽게 제거될 수 있는 SOS 수복 의존성 돌연변이와 절제수복에 의해 제거될 수 없으나 SOS 반응을 유도하는 3-methyladenine 또는 이와 유사한 손상에 의한 돌연변이를 일으키며, 또한 1,3-DCP의 경우 SOS 수복 의존성 돌연변이를 일으키기 보다는 직접적인 염기치환을 일으켜 돌연변이를 일으키는 것으로 추정하였다. 그러나 전보⁽⁶⁾에서는 SOS 수복과 직접적으로 관련된 균주를 이용하지 않았고, 또한 Ames test에서는 절제수복에 관련된 검토가 이루어지지 않았기 때문에 chloropropanol의 작용기구를 해석하기에는 미흡하였다. Chloropropanol의 변이원성을 명확하게 판단하기 위해서는 변이원성 발현뿐만 아

Corresponding author: Dong-Seong Choi, Division of Biotechnology and Environmental Engineering, Woosuk University, Wanju, Chonbuk 565-701, Korea

나라 그 작용기구에 대한 이해가 그 물질의 변이원성에 의한 위해 정도나 해결방안을 고찰하는데 있어서 매우 중요하기 때문에, 본 연구에서는 chloropropanol의 돌연변이 작용기구를 명확하게 해석하고자 *E. coli* WP2 series, *E. coli* TK series 및 *E. coli* GW series의 다양한 유전형질을 갖고 있는 변이주를 이용하여 chloropropanol의 변이원성 및 균 생존율에 미치는 영향을 검토하였다.

재료 및 방법

시약 및 기기

시험물질인 3-MCPD, 1,3-DCP, 2,3-DCP는 CHEM SERVICE Inc. (U.S.A.) 제품을, 4-nitroquinoline-1-oxide (4-NQO), N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine (MNNG)은 Sigma Chemical Co. (U.S.A.) 제품을 사용하였고, β-nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (NADP), D-glucose-6-phosphate (G-6-P), o-nitrophenyl-β-D-galactopyranoside (ONPG), dimethyl sulfoxide (DMSO), sodiumdodecyl sulfate(SDS), 히스티딘, 비오틴, 트립토판은 Sigma Chemical Co. (U.S.A) 제품을, nutrient broth No.2는 Oxoid Co. (USA) 제품을, γ-선 살균 petri dish는 Nunc Co. (Denmark) 제품을 사용하였다. 기타 시약은 특급을 사용하였고 H₂O는 3차 증류수(ddH₂O)를 사용하였다. 흡광도는 Spectronic 21 (BAUSCH & LOMB Co.), 균의 생육도는 Klett-Summersion colorimeter (Klett-Summersion Co.)로 측정하였고, 균수는 colony counter (Model 560, SUNTEX Co.)를 이용하여 계수하였다.

균 주

E. coli WP2 series는 일본의 Ohta 및 Akanuma 박사

로부터, *E. coli* TK series는 일본의 Akanuma 박사로부터, *E. coli* GW series는 미국의 Opperman 박사로부터 분양받았다. 이들 균주의 트립토판 요구성, 히스티딘 요구성, *uvrA* mutation, *uvrA::lacZ*, *umuC::lacZ* fusion의 유도성 등의 유전 형질을 확인하였으며⁽⁶⁾(Table 1), 돌연변이의 기구가 잘 알려진 4-NQO와 MNNG를 이용하여 각각의 균주에 대한 유전특성 발현을 확인하였다. 한편 *lexA3* (Ind)와 *lexA51* (Def) 유전특성은 41°C와 30°C에서 1시간 배양한 다음, β-galactosidase 정색반응을 통하여 확인하였다.

E. coli WP2 series를 이용한 변이원성 실험

Zhang 등의 방법⁽⁶⁾에 준하여 실시하였다. 즉, 하룻밤 전배양한 *E. coli* WP2 series 배양액을 nutrient broth No.2로 1:10 (V/V)으로 희석하고 37°C에서 약 4시간 진탕 배양한 다음 원심분리(1,200×g, 30 min)하여 배지를 제거하였다. 침전된 균체에 5 mL의 P buffer (M/15 phosphate buffer, pH 7.2)를 첨가하여 재현탁 시키고 시험물질 200 μL를 첨가한 후, 37°C에서 1시간 진탕배양하여 돌연변이를 유도시켰다. 다시 원심분리하여 5 mL의 P buffer로 재현탁시킨 다음, 현탁액 200 μL와 L-트립토판(1 μg/mL)이 첨가된 top agar 2 mL를 혼합하여 VBM plate [agar 15 g, ddH₂O 970 mL, 50×VB salts 20 mL, 40% glucose 10 mL]에 평판 고화시키고 37°C에서 48시간 배양하여 생성된 *trp*⁺ revertant를 계수하였다.

한편, 현탁액을 10³까지 희석한 다음, 각 희석액 100 μL와 top agar 2 mL를 혼합하여 VBNM plate [VBM plate supplemented with 5% (V/V) liquid nutrient broth NO.2]에 평판 고화시키고, 37°C에서 24시간 배양하여 생성된 콜로니를 계수하여 균 생존율을 측정하였다.

Table 1. Genotypes of *E. coli* WP2, *E. coli* TK and *E. coli* GW series strains

Tested strains	Genotypes
<i>E. coli</i> B/r	
WP2	<i>trpE65(Oc) malB15 lon-11 sulA1</i>
WP2s	as WP2, also <i>uvrA155</i>
WP67	as WP2, also <i>uvrA155 polA1</i>
CM611	as WP2, also <i>uvrA155 lexA102 malB'</i>
<i>E. coli</i> K-12	
AB1157	<i>his-4 (Oc) thr-1 leu-6 proA2 argE3 thi-1 galk2 lacY1 ara-14 xyl-5 mtl-1 tsx-33 rpsL31 supE44</i>
TK603	as AB1157, also <i>uvrA6 ilv-325 argE'</i>
TK610	as AB1157, also <i>uvrA6 umuC36 ilv-325 argE'</i>
<i>E. coli</i> B/r	
GW1103	<i>umuC::Mud (Ap lac) cts lacΔU169 recA441(tif-1) sfiA11 his-4 uvrA6 strA31 (rpsL) thr leu thi arg ilv' galk</i>
GW1105	as GW1103, also <i>uvrA' lexA3 (Ind') malE::Tn5</i>
GW1107	as GW1103, also <i>uvrA' lexA51 (Def)</i>

E. coli TK series를 이용한 변이원성 실험

Ohta 등의 방법⁹⁾에 준하여 실시하였다. 즉, 허룻밤 전배양시킨 *E. coli* TK series 배양액을 WP2 series와 같은 방법으로 처리하여 돌연변이를 유도시켰다. 이 배양액을 다시 원심분리하고 5 mL의 P buffer로 재현탁시킨 다음 이 현탁액 200 μ L와 L-히스티딘(1 μ g/mL)이 첨가된 top agar 2 mL를 혼합하여 HCA plate [agar 15 g, Tris 12.1 g, NH₄Cl 1 g, KH₂PO₄ 22 mg, KCl 1.49 g, NaCl 4.68 g, Na₂SO₄ 220 mg, MgCl₂·6H₂O 2.03 g, CaCl₂·2H₂O 147 mg, FeCl₃·6H₂O 8.1 mg, thiamine 200 μ g, glucose 2 g, threonine 100 mg, leucine 100 mg, valine 100 mg, isoleucine 100 mg, arginine 200 mg, proline 200 mg, casamino acids (Difco) 40 mg per liter (pH 7.2)]에 평판 고화시키고 37°C에서 48시간 배양하여 생성된 his⁺ revertant를 계수하였다.

또한 균 생존율에 미치는 영향을 측정하기 위하여 돌연변이가 유도된 현탁액을 10⁸까지 희석한 다음, 각 희석액 100 μ L와 top agar 2 mL를 혼합하여 HCAO plate [HCA plate supplemented with 5% (V/V) liquid nutrient broth NO.2]에 평판 고화시켰으며, 37°C에서 24시간 배양하여 생성된 콜로니를 계수하였다.

E. coli GW series를 이용한 변이원성 실험

β -Galactosidase의 측정은 Miller의 방법¹⁰⁾을 약간 수정하여 실시하였다. 즉, 30°C에서 허룻밤 전배양한 배양액을 L배지를 이용하여 1:10 (V/V)으로 희석하고 30°C에서 약 3시간 진탕 배양한 다음, 시험물질을 처리하여 2시간 배양하였다. 이 배양액의 탁도를 660 nm에서 측정하고, 0.2 mL를 취하여 β -galactosidase 활성을 측정하였다. 즉, 배양액 0.2 mL에 Z buffer [Na₂HPO₄·12H₂O 21.5 g, NaH₂PO₄·2H₂O 6.25 g, KCl 0.75 g, MgSO₄·7H₂O 0.25 g, β -mercaptoethanol 2.7 mL per liter (pH 7)] 1.8 mL, 0.2% SDS 용액 50 μ L와 chloroform 20 μ L를 첨가하고 37°C에서 10분간 방치시켰다. ONPG (4 mg/mL) 0.4 mL를 첨가하여 정색반응을 진행시키고 1 M Na₂CO₃ 1 mL를 첨가하여 반응을 정지시켜 415 nm와 550 nm에서 흡광도를 측정하였다. 효소활성은 아래식에 의하여 산출하였다.

$$\beta - \text{Galactosidase activity} = 1000 \times \frac{OD_{415} - 1.75 \times OD_{550}}{t \times v \times 2 \times OD_{660}}$$

t: incubation time in presence of the substrate (min)
v: the volume of the solution taken from incubated broth

결과 및 고찰

E. coli WP2 series에서의 chloropropanol 변이원성

E. coli WP2 series 변이주들에 대한 3-MCPD, 2,3-DCP 및 1,3-DCP의 돌연변이 활성과 균 생존율에 미치는 영향을 비교한 결과는 Fig. 1~3과 같다. 세 종류 chloropropanol 모두 유사한 경향을 나타내어 *E. coli* WP2s 및 WP67에서는 돌연변이활성이 나타났으나 *E. coli* WP2 및 CM611에서는 변이원성이 거의 나타나지 않았다. 균 생존율에서는 *E. coli* WP2가 생존율이 가장 높았으며 그 다음으로 WP2s, CM611, WP67 순이었다.

E. coli WP2 (WP2s *uvrA**)에서는 돌연변이가 거의 발생하지 않았고 균 생존율은 상대적으로 가장 높게 나타났으나 절제회복과 *polA*가 결여된 *E. coli* WP67 (WP2s *polA*)에서는 돌연변이율은 가장 높은 반면에 균 생존율이 가장 낮게 나타났다. 이들 결과와 함께 이온화 방사선과 MMS 등을 제외하고는 SOS 수복의

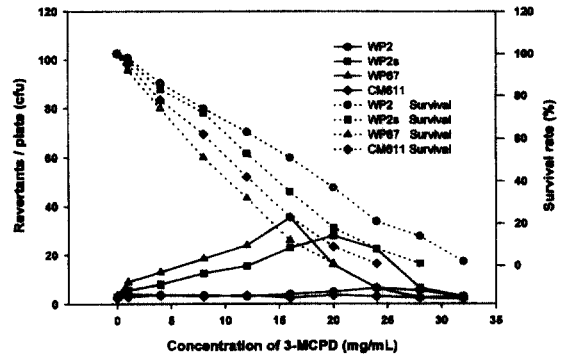


Fig. 1. Mutagenicity and influence on the cell viability of 3-MCPD in *E. coli* WP2 strains.

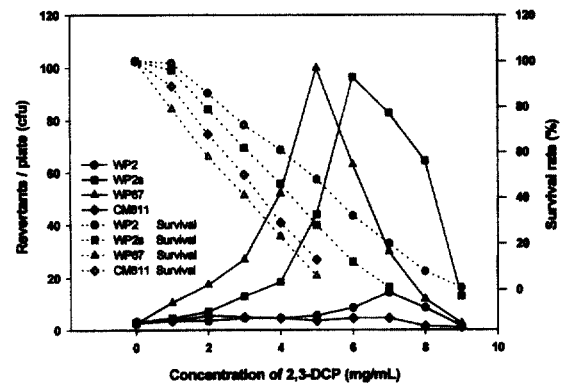


Fig. 2. Mutagenicity and influence on the cell viability of 2,3-DCP in *E. coli* WP2 strains.

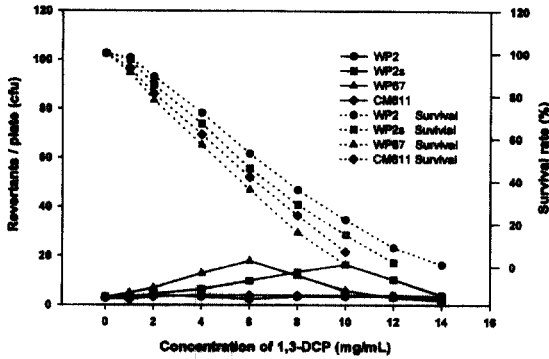


Fig. 3. Mutagenicity and influence on the cell viability of 1,3-DCP in *E. coli* WP2 strains.

존성 변이원에 의한 손상은 대부분 절제회복에 의해 쉽게 제거될 수 있고, 3-methyladenine 손상은 SOS 반응도 유도하지만 single strand break도 강하게 유도할 수 있음⁽¹¹⁾을 고려할 때, chloropropanol은 SOS 수복의 존성 돌연변이뿐만 아니라 절제회복에 의해 제거되지 않으면서 SOS 반응을 유도하는 3-methyladenine 또는 이와 유사한 손상에 의한 돌연변이도 유발시킬 수 있다는 전보⁽⁶⁾에서의 실험결과와 일치하였다. 한편 *E. coli* WP2 (WP2s *uvrA*)의 돌연변이율과 생존율이 *E. coli* WP2s와 많은 차이가 나타난 결과로부터 chloropropanol의 변이원성은 주로 절제수복에 의해 쉽게 제거될 수 있는 SOS수복 의존성 손상에 의한 것이며, 3-methyladenine 또는 이와 유사한 DNA 손상은 그 생성 정도가 매우 미약하여 그 영향이 표면적으로 나타나지 못하는 것으로 생각된다.

또한 *E. coli* CM611 (WP2s *lexA102*)에서는 돌연변이활성은 나타나지 않고 생존율이 *E. coli* WP2s에 비하여 약간 낮게 나타난 결과는 SOS 반응의 repressor로서 작용하는 LexA가 활성화된 RecA에 의하여 분해되지 않기 때문에 SOS 반응이 유도되지 않아 SOS 수복 의존성 변이원인 chloropropanol에 의하여 돌연변이가 유발되지 않았으며, 또한 돌연변이를 일으키는 수복계기는 하지만 균의 생존력을 증가시킬 수 있는 SOS 수복계가 작용할 수 없었기 때문에 생존율이 낮아진 것으로 생각되었다.

Chloropropanol의 종류에 따른 활성을 비교할 때 2,3-DCP가 3-MCPD에 비하여 변이원성이 약간 높게 나타난 것과 생존율이 농도 증가에 따라 급격하게 감소된 것으로부터 2,3-DCP에 의해 유도된 DNA손상이 3-MCPD보다 큰 것으로 생각되었다. 1,3-DCP의 경우 3-MCPD와 2,3-DCP에 비하여 극히 변이원성이 미약하고 생존율이 농도 증가에 따라 완만하게 감소된 결

과로부터 1,3-DCP에 의해 유도되는 DNA 손상은 3-MCPD 및 2,3-DCP에 비하여 매우 적기 때문에 SOS Chromotest에서는 1,3-DCP의 돌연변이 활성이 나타나지 않는 것으로 생각되었다⁽⁶⁾. 이와같은 3-MCPD와 1,3-DCP에 대한 실험결과는 Silhankova 등⁽¹²⁾의 3-MCPD와 1,3-DCP가 *E. coli* WP2, TM930 (WP2 *polA*)과 TM1080 (WP2 *polA lexA*)에서 큰 차이를 보이지 않았다는 보고와 차이를 나타내었는데, 이것은 아마도 그들의 연구에서는 3균주 모두 절제수복이 결여되지 않은 균주를 사용하여 유도된 손상이 완벽하게 수복되었기 때문에 균에 따른 차이가 나타나지 않았던 것으로 생각된다.

E. coli TK series 균주에서의 chloropropanol 변이원성

지금까지의 결과로부터 3-MCPD, 1,3-DCP, 2,3-DCP가 SOS 수복 의존성 돌연변이를 일으킨다는 결론은 매우 높은 설득력을 가지지만, SOS 수복 의존성 돌연변이 유발에 있어서 *umuC*, *D*의 역할과 중요성을 고려할 때 직접적인 SOS 수복이 아닌 SOS 반응이 결여된 균주(*E. coli* CM611)를 이용하였다는 점에서 미흡하다고 할 수 있다. 따라서 SOS 수복 의존성 돌연변이에 있어서 결정적인 역할을 하는 *umuC*가 결여된 *E. coli* TK series 균주를 이용하여 확인하고자 하였다.

E. coli TK610과 그 대조구인 *E. coli* TK603을 이용한 변이원성 및 생존율에 대한 결과는 Fig. 4~6과 같다. *E. coli* TK603 (*umuC*)에서 3-MCPD와 1,3-DCP는 약한 변이원성을 보였으나 2,3-DCP는 비교적 높은 변이원성을 나타내었고, *E. coli* TK610 (*umuC*)에서는 3-MCPD와 1,3-DCP는 변이원성을 나타내지 못하였고 2,3-DCP 만이 매우 낮은 변이원성을 나타내었다. 또한 *E. coli* TK603에서 3종류 chloropropanol 모두에 있

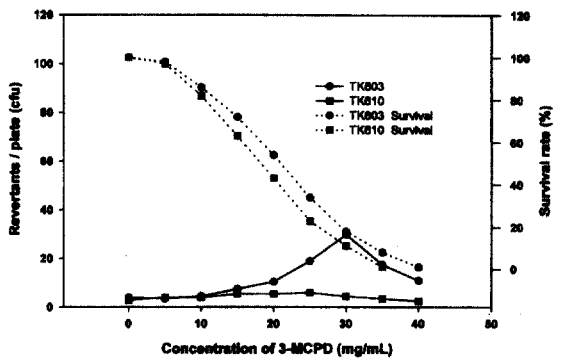


Fig. 4. Mutagenicity and influence on the cell viability of 3-MCPD in *E. coli* TK strains.

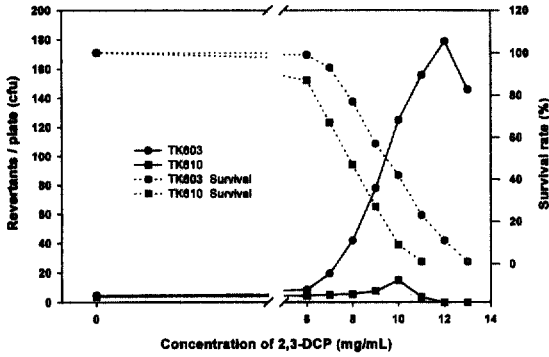


Fig. 5. Mutagenicity and influence on the cellular viability of 2,3-DCP in *E. coli* TK strains.

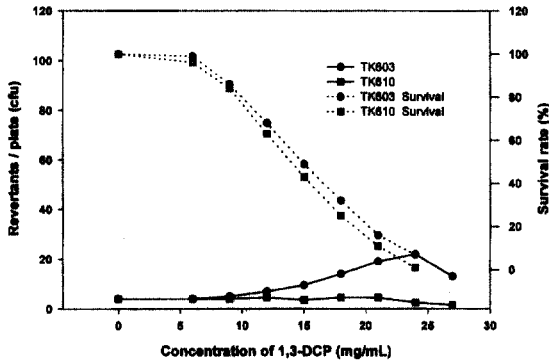


Fig. 6. Mutagenicity and influence on the cell viability of 1,3-DCP in *E. coli* TK strains.

어서 *E. coli* TK610에 비하여 상대적으로 높은 생존율을 나타내었으며, 2,3-DCP의 경우 농도의 증가에 따라 급격한 생존율 감소가 나타난 반면 3-MCPD와 1,3-DCP의 경우에는 완만한 감소를 보여 2,3-DCP>3-MCPD>1,3-DCP 순의 감소율을 나타내었다. 이러한 결과로부터 chloropropanol에 의한 돌연변이 유발은 *umuC*가 관여하는 SOS 수복을 통하여 일어나며 이들 물질에 의한 DNA손상 정도는 2,3-DCP>3-MCPD>1,3-DCP의 순이라는 사실을 확인할 수 있었다.

Chloropropanol의 LexA에 대한 영향

*E. coli*와 *S. typhimurium*에서는 DNA 손상물질에 대한 SOS 반응이 존재한다는 사실이 이미 알려져 있으며⁽¹¹⁾, 또한 SOS 반응에 속하는 SOS 수복계는 돌연변이를 유도하는 수복계라는 점에서 만일 시험물질 자체가 SOS 반응의 negative 조절인자인 LexA의 분해 물질로 작용한다면 강력한 돌연변이원으로 잘못 해석될 수 있으므로 그에 대한 조사는 필수적이라 하겠다. 따라서 41°C의 생육조건에서 DNA 손상이 없더라도

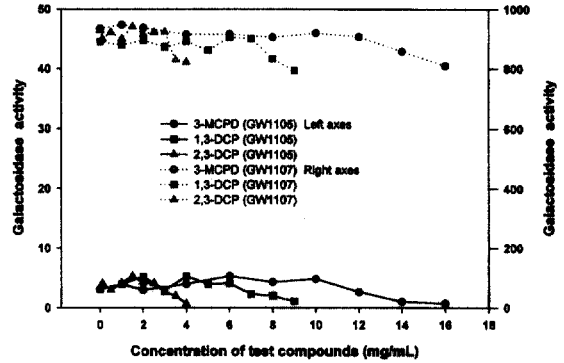


Fig. 7. Influence of chloropropanols on the β -galactosidase activity in *E. coli* GW strains.

RecA가 활성화되어 SOS 반응이 유도되는 *recA441* (*tif-1*) 유전특성⁽¹³⁾을 공통적으로 지니고 있는 *E. coli* GW series 중에서, 활성화된 RecA에 의해 repressor인 LexA가 분해되지 않기 때문에 어떠한 조건하에서도 SOS 반응이 일어나지 않는 *E. coli* GW1105 [*lexA3* (Ind)]와 LexA가 생성되지 않아 SOS 반응이 항상 일어나는 *E. coli* GW1107 [*lexA51* (Def)]를 이용하여 이와 같은 문제점들을 검토하였다. *E. coli* GW1105와 GW1107을 이용한 실험결과는 Fig. 7과 같다. 두 균주 모두에 있어서 β -galactosidase의 활성은 대조구와 큰 차이를 보이지 않아 chloropropanol이 LexA 자체에 대하여 영향을 미치지 않는 것으로 나타났다.

지금까지의 본 연구에서 얻어진 결과를 종합할 때 chloropropanol에 의한 DNA 손상은 가장 기본적인 수복계라 할 수 있는 절제수복에 의하여 제거될 수 있으며, 돌연변이의 발생은 주로 *umuC*가 관여하는 SOS 수복계를 통하여 일어남을 명확하게 확인할 수 있었다.

요 약

다양한 유전형질을 갖고 있는 *E. coli* WP series, *E. coli* TK series 및 *E. coli* GW series 변이주들을 이용하여 chloropropanol의 변이원성 기구를 해석하였다. 3종류의 chloropropanol 모두 *E. coli* WP2s와 WP67에서는 돌연변이활성이 나타났으나 *E. coli* WP2와 CM611에서는 변이원성이 거의 나타나지 않았으며 2,3-DCP>3-MCPD>1,3-DCP 순으로 돌연변이 활성을 나타내었다. *E. coli* WP2s와 비교하여 *E. coli* WP2 (WP2s *uvrA**)에서 돌연변이활성이 크게 감소한 반면 균 생존율이 상당히 증가한 결과로부터 절제수복에 의해 쉽게 제거되는 DNA 손상임을 확인할 수 있었으며, *E. coli* CM611 (WP2s *lexA102*)에서 돌연변이활성 및 균 생존율 모두

상당히 감소된 결과로부터 이들 물질에 의한 주요 DNA 손상이 SOS 수복 의존성임이 시사되었다. 또한 *E. coli* TK610 (*umuC*)에서의 돌연변이율과 균 생존율은 그 대조 균주인 *E. coli* TK603 (*umuC*)에 비하여 상당히 감소하여 chloropropanol에 의한 돌연변이 유발은 *umuC*가 관여하는 SOS 수복을 통하여 일어나는 것으로 확인되었다. *E. coli* GW1105 [*lexA3* (Ind)]와 GW1107 [*lexA51* (Def)] 두 균주에서 β-galactosidase의 활성이 chloropropanol 첨가에 의해 변화하지 않았기 때문에 SOS 반응의 repressor로 작용하는 LexA에 대하여 chloropropanol이 직접적으로 영향을 미치지 않는 것으로 나타났다. 따라서 chloropropanol에 의한 DNA 손상은 가장 기본적인 수복제라 할 수 있는 절제수복에 의하여 제거될 수 있으며, 돌연변이의 발생은 주로 SOS 수복계를 통하여 일어남을 확인할 수 있었다.

감사의 글

본 연구의 일부는 1998년도 우석대학교 교내연구비로 이루어졌으며, 연구비 지원에 감사드립니다. 또한 연구에 사용된 *E. coli* WP2 series와 TK series를 분양하여 주신 Ohta 박사(Tokyo University, Japan)와 Akanuma 박사(Institute of Environmental Toxicology, Japan)에게, *E. coli* GW series를 분양하여 주신 Opperman 박사(Massachusetts Institute of Technology, U.S.A.)에게 감사드립니다.

문헌

1. Collier, P.D., Cromie, D.O. and Davies, A.P.: Mechanism of formation of chloropropanols present in protein hydrolysates. *JAACS*, **68**(10), 785-790 (1991).
2. Davidek, J., Velisek, J., Kubelka, V., Janicek, G. and Simicova, Z.: Glycerol chlorohydrins and their esters as products of the hydrolysis of tripalmitin, tristearin and

- triolein with hydrochloric acid. *Z. Lebensm. Unters.-Forsch.*, **171**, 14-17 (1980).
3. Van Rillaer, W., and Beernaert, H.: Determination of residual 1,3-dichloro-2-propanol protein hydrolysates by capillary gas chromatography. *Z. Lebensm.-Forsch.*, **188**, 343-354 (1989).
4. Velisek, J., Davidek, J., Kubelka, V., Janicek, C., Svoboda, Z. and Simicova, Z.: New chlorine containing organic compounds in protein hydrolysates. *J. Agric. Food Chem.*, **28**, 1142-1144 (1980).
5. Song, G.S., Han, S.B., Uhm, T.B. and Choi, D.S.: Mutagenicity of Chloropropanols in SOS chromotest and Ames Test. (in Korean) *Korean J. Food Sci. Technol.*, **30**, 1464-1469 (1998).
6. Maron, D.M. and Ames, B.N.: Revised methods for Salmonella mutagenicity test. *Mutation Res.*, **113**, 173-215 (1983).
7. Quillardet, P and Hofnung, M.: The SOS Chromotest, a colorimetric bacterial assay for genotoxins: procedures. *Mutation Res.*, **147**, 65-78 (1985).
8. Zhang, Y., Chen, X. and Yu, Y.: Antimutagenic effect of garlic (*Allium sativum* L.) on 4-NQO-induced mutagenesis in *Escherichia coli* WP2. *Mutation Res.*, **227**, 215-219 (1989).
9. Ohta, T., Watanabe, K., Moriya, M., Shirasu, Y. and Kada, T.: Analysis of the Antimutagenic Effect of Cinnamaldehyde on Chemically Induced Mutagenesis in *Escherichia coli*. *Mol. Gen. Genet.*, **192**, 309-315 (1983).
10. Nunoshiba, T., and Nishioka, H.: 'Rec-lac test' for detecting SOS-inducing activity of environmental genotoxic substances. *Mutation Res.*, **254**, 71-77 (1991).
11. Walker, G.C.: Mutagenesis and inducible responses to deoxyribonucleic acid damage in *Escherichia coli*. *Microbiol. Review*, **48**, 60-93 (1984).
12. Silhankova L., Smid, F., Cerna, M., Davidek, J. and Velisek, J.: Mutagenicity of glycerol chlorohydrines and their esters with higher fatty acids present in protein hydrolysates. *Mutation Res.*, **103**, 77-81 (1982).
13. Bagg, A., Kenyon, C.J. and Walker, G.C.: Inducibility of a gene product required for UV and chemical mutagenesis in *Escherichia coli*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, **78**, 5749-5753 (1981).

(1998년 9월 25일 접수)