

가열산화 홍화유의 돌연변이원성에 관한 연구

이진영 · 안명수[†]

성신여자대학교 식품영양학과

A Study on the Mutagenicity of Thermally Oxidized Safflower Oil

Jin-Young Lee and Myung-Soo Ahn[†]

Dept. of Food Science and Nutrition, Sungshin Women's University, Seoul 136-742, Korea

Abstract

Deep-fat frying is a common cooking practice. There has been considerable concern regarding the mutagenic and carcinogenic potential of thermally oxidized oils. Studies on deep-fried foods so far have revealed not much on the mutagenicity of the oils in the foods. Therefore, in the present study, it was attempted to investigate the mutagenicity of the thermally oxidized safflower oil. Oil was heated in a home-fryer at a temperature of $180 \pm 3^\circ\text{C}$ for 48 hours. Oil samples were taken at 0, 8, 16, 24, 32, 40, and 48 hours of heating, respectively. Each sample was used to study the changes in peroxide value (POV), acid value (AV), iodine value (IV), conjugated dienoic acid (CDA) content, %, and fatty acid composition. Another series of samples were fractionated into non-polar and polar fractions by column chromatography. The mutagenicity of the samples taken from the thermally oxidized oils, as well as the non-polar and polar fractions of the thermally oxidized oils, was investigated with the Ames test. The Ames test was carried out with and without metabolic activation. Bacterial tester strains used in the present study were the histidine auxotrophic strains of *Salmonella typhimurium* TA100, TA1535 and TA102 were used for the detection of base pair mutations, and TA98 and TA1537 for frame shift mutations. Each series of samples was dissolved in tetrahydrofuran (inhibitor-free) and tested at doses ranging from 0.05 to 5 mg/plate. None of the oil samples taken during the 48 hour oxidation period showed any mutagenic activity. This was the case, even after the activation with S9 mix. Also, none of the polar and non-polar fractions showed any mutagenic activity on all the strains tested.

Key words: safflower oil, non-polar and polar fraction, mutagenicity, Ames test

서 론

암은 아직도 우리 인간이 극복하지 못한 질병 중의 하나로 1936년 국립암연구소가 설립된 이래 오늘날까지 지난 60여 년간 암의 발생과 전이, 암세포의 생리 및 이에 대한 생체반응, 암의 진단과 치료법에 대해 많은 연구가 있어 왔다 그리고 최근에는 발암기전에 관한 분자생물학적 연구, 종양세포에 대한 분자수준에서의 생체 반응 및 새로운 암 치료제의 개발이 진행되고 있다

암 발생의 80~90%는 환경적 요소에 기인하며(1,2) 특히 암 발생과 식이와의 관련성은 매우 커서 Doll과 Peto(3)는 식이에 의한 암발병률이 전체 암 발생의 35% 정도라고 지적하였다. 식품에 존재하는 발암물질 및 돌연변이 유발성 물질에는 3가지 유형이 있다(4) 첫째는 고사리화 같이(5) 천연식품 자체에 존재하는 물질, 둘째는 식품의 저장, 가공 및 조리에서 의하여 생성되는 물질, 마지막 유형은 살충

제, 농약 또는 식품첨가물 등의 화학물질에 의한 것이다.

특히 최근에는 가공식품의 급속한 보급과 외식산업의 발달과 더불어 튀김유의 사용량이 증가하고 있으며 이에 따른 안전성 문제가 제기되고 있다. 튀김조작과 비슷한 조건에서 가열한 유지나 그 분획을 실험동물에 섭취시켰을 경우 성장지연, 식욕부진, 설사, 신장 및 간의 비대, 그 밖의 여러 조직에서의 조직학적 변화가 있었음이 보고되었다(6-8). 한편 가열한 유지의 발암성 여부는 아직 논쟁이 되고 있으나 cocarcinogen 혹은 tumor promoter로서 작용할 수 있는 것으로 생각된다. 이는 지방산 자체가 세포막의 구성성분이기 때문에 식이 지방의 지방산 조성에 따라 세포막의 지방산 조성이 달라지고 이에 의해 정상 세포뿐 아니라 암세포의 세포내 지질과산화 반응에 차이를 나타내어 항산화 효소계에 미치는 영향이 달라지며(9,10) 또한 막의 유동성이 변화하여 PKC(protein kinase C) 같은 막 부착 효소의 활성과 이동, 기능적 변화가 초래

[†]To whom all correspondence should be addressed

되어 암 발생에 영향을 줄 수 있다고 본다(11) 이에 여러 연구에서 튀김유 및 튀김식품에 대해 Ames test를 통하여 돌연변이원성을 조사한 결과 튀김식품에는 돌연변이원이 생성되나 튀김유 자체는 돌연변이원성이 미약한 것으로 보고되고 있다(12,13) 이는 튀김유 자체의 돌연변이원성이 미약할 수도 있으나 튀김유가 Ames test와 잘 반응하기 못하기 때문일 수도 있을 것으로 사료된다

이에 본 연구에서는 불포화지방산인 linoleic acid가 70% 이상 함유되어 산화에 민감한 홍화유를 가열산화시키면서 가열산화된 홍화유와 여기서 분획된 극성 및 비극성 물질을 기존에 많이 사용하는 용매인 dimethyl sulfoxide (DMSO) 대신 시료유지가 Ames test에 더 잘 반응하도록 tetrahydrofuran(THF, inhibitor-free)(14)에 녹여 Ames test (*Salmonella typhimurium* reversion assay)를 실시하였다.

재료 및 방법

재료 및 시약

홍화유는 항산화제가 첨가되지 않은 것을 Sigma Chemical Co. (USA)에서 구입하여 사용하였으며, 유지의 산패도를 측정하기 위해 사용된 시약은 모두 Junsei사(Japan)의 특급시약을 사용하였다.

Ames test시 시료유지를 희석하는 데 사용한 THF(No. 27, 038-5)는 Sigma Chemical Co. (USA)에서, 균주 및 양성돌연변이물질을 용해 및 희석하는데 사용되는 DMSO는 Merck Chemical Co. (Germany)에서, Vogel-Bonner 최소 glucose 한천 평판배지, top agar 및 nutrient broth를 만드는 데 사용되는 시약으로 agar는 Junsei사, bacto agar는 Difco Lab. (USA)에서, Oxoid nutrient No. 2는 Unipath사(England)에서, petri dish는 Falcon사(No.1029, 100×15 mm, sterile by γ -radiation, USA)에서 구입하여 사용하였다.

S-9 mix 제조에 사용되는 S-9 fraction (Lyophilized Aroclor 1254-induced male SD rat liver)은 Oriental yeast 사(Lot No 98082805, Japan)에서 그외의 다른 시약은 Simga Chemical Co. (USA) 및 Junsei사(Japan)에서 구입하였다.

시험 균주

Ames test에 사용되는 균주로는 *Salmonella typhimurium* 변이균주 중 구조이동형(frame shift) 변이균주인 TA98 및 TA1537과 염기치환형(base-pair substituent) 변이균주인 TA100, TA1535 및 102를 국립독성연구소에서 분양 받아 Maron과 Ames의 방법(15)에 따라 histidine 요구성, crystal violet 감수성, UV 감수성, ampicilline 또는 tetracycline 내성, 자연발생복귀돌연변이수 등의 유

전적 특성을 확인한 후 실험에 사용하였다.

유지의 가열산화 및 산패도 측정

홍화유를 각각 50 g씩 담아 180±3°C의 튀김기에서 48 시간 동안 가열산화시키면서 매 8시간마다 취하여 과산화물가(peroxide value, POV), 산가(acid value, AV), 요오드가(iodine value, IV), 공액이중산함량(conjugated dienoic acid content, %) , 지방산 조성의 변화로 산패도를 측정하였다. 이때 과산화물가는 AOCS 방법(16)으로, 산가와 요오드가는 기준유지분석시험법(17,18)으로, 공액이중산 함량은 AOCS 방법(19)에 의해 측정하였다. 지방산 조성은 Lepage와 Roy(20)의 방법에 따라 지방산을 methyl ester화한 후 GC로 분리 정량하였다.

극성 및 비극성 물질의 분리

Waltking과 Wessels(21)의 방법에 따라 극성 및 비극성 물질을 분리한 후(Fig 1) TLC로 분리를 확인하였으며 그 조건은 다음 Table 1과 같았다.

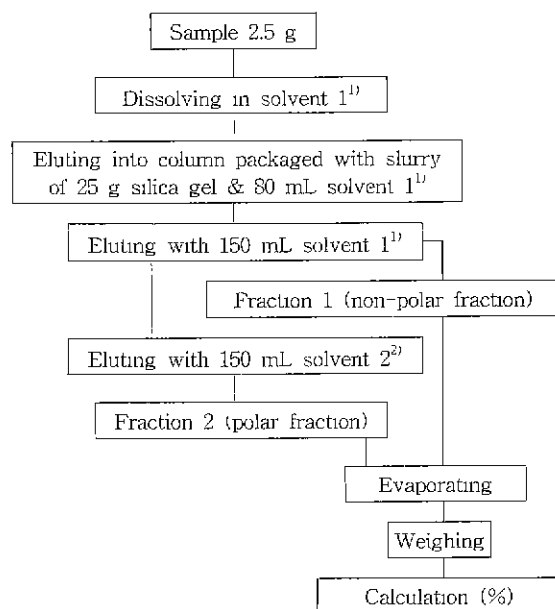


Fig. 1. Scheme for separation of the polar and non-polar fractions in thermally oxidized oils.

¹⁾Solvent 1 : petroleum benzene : diethyl ether (87 : 13, v/v)
²⁾Solvent 2 : diethyl ether.

Table 1. Operating conditions of thin-layer chromatography

Silica gel plate	0.25 mm thick
Develop solvent	Petroleum ether : diethyl ether : acetic acid (70 : 30 : 2, v/v)
Spray reagent	10% molybdato-phosphoric acid in alcohol
Heating temp	120~130°C

시료의 조제

가열 0, 8, 16, 24, 32, 40, 48시간에 취한 홍화유와 이를 다시 극성 및 비극성 물질로 분리한 시료는 THF에 녹여 희석하였으며 5.0 mg/plate를 최고농도로 하는 5단계의 농도(5.0, 1.0, 0.5, 0.1, 0.05 mg/plate)로 실험에 사용하였다.

양성 돌연변이 물질(positive control)의 조제

Ames test 자체의 신뢰성을 검증하기 위해 각 군주에 사용된 직접돌연변이원(direct mutagens) 및 간접돌연변이원(indirect mutagens)의 종류 및 농도는 다음 Table 2와 같았다

S-9 mix.의 조제

In vivo 대사활성화를 위하여 간균질액(S-9 fraction)이 4% 수준으로 함유된 S-9 mix.를 제조하여 실험에 사용하였다

돌연변이 유발성 시험

Maron과 Ames의 방법(15)에 준한 preincubation test 를 이용하여 직접법 [-S9] 및 대사활성화법 [+S9]으로 실시하였다. 즉, 멸균된 시험관에 0.2M phosphate buffer saline(pH 7.4) 0.5 mL(대사활성화법에서는 S-9 mix 0.5 mL), 각 시료의 용량 단계별 용액 25 µL, 각 군주의 10시간 배양액 0.1 mL를 넣어 가볍게 혼합한 후 37°C의 rotary water bath에서 20분간 예비배양한 후 10%의 histidine/biotin solution을 넣은 top agar 2 mL과 잘 섞어 미리 만들어 둔 minimal glucose agar plate에 도말하여, 37°C에서 48시간 배양 후 His⁺ 복귀변이 수를 계수하였다.

시험결과의 판정

각 군주에 있어서 산화된 유지 시료들을 첨가하여 형성된 His⁺ 복귀변이수가 음성대조군에 대해 2배 이상 증가된 것을 돌연변이원성이 있는 것으로 판정하였다(22, 23). 또한 각 시료첨가군의 His⁺복귀변이 수 증가에 대한 통계적 유의성 검정은 SAS package를 사용하여 LSD (least significance difference) 방법에 의해 분석하였으

Table 2. Profiles of the concentrations of positive control in each strain (µg/plate)

Strains	-S9	Concentration	+S9	Concentration
TA 98	2-AF	0.1	2-AA	0.5
TA 100	2-AF	0.01	2-AA	1.0
TA 1535	SA	0.5	2-AA	2.0
TA 1537	9-AA	80.0	2-AA	2.0
TA 102	MMC	20.0	2-AA	10.0

2-AF: 2-Aminofluorene, SA. Sodium azide, 9-AA: 9-Aminoacridine, 2-AA: 2-Aminoanthracene, MMC: Mitomycin C.

며 모든 통계처리의 유의성은 p<0.05 범위에서 판정하였다.

결과 및 고찰

유지의 가열산화시의 산패도

홍화유를 180±3°C에서 48시간 동안 가열산화시키면서 과산화물가, 산가, 요오드가 및 공액이중산 함량의 변화를 측정된 결과는 다음 Table 3과 같았다. 과산화물가의 경우 가열산화 전 기간 동안 변화가 크지 않았다. 이는 가열산화시에도 hydroperoxide가 중간생성체로 형성되나 이들의 생성속도보다 분해속도가 크기 때문인 것으로 사료된다. 그 예로 Lomanno와 Nawar(24)는 linoleic acid 를 250°C에서 가열산화시키면서 형성된 hydroperoxide 양을 조사했을 때 가열 후 30분만에 과산화물가가 0이 되었다는 것에서도 잘 나타나고 있다. 산가는 가열산화 전에 0.21이였으나 가열 48시간 후에는 0.71로 증가하였다. 가열 전 초기 요오드가는 146.2로 홍화유의 불포화도가 매우 높음을 알 수 있었으며 가열시간이 증가함에 따라 요오드가는 감소하여 가열 48시간 후에는 113.2로 나타났다. 이는 홍화유의 경우 불포화지방산이 가열시 열중합에 의하여 고분자물을 형성하기 때문인 것으로 생각되었다.

공액이중산함량(%)은 0.93이던 것이 가열 24시간 및 32시간 후에는 각각 3.43 및 3.94로, 가열 48시간 후에는 4.09로 증가하였다 특히 가열산화 초기에는 공액이중산함량(%)이 급속히 증가하나 가열시간이 경과함에 따라 거의 증감되지 않았는데 이는 conjugated diene의 형성속도와 conjugated diene이 Diels-Alder reaction에 의해 polymer를 형성하는 속도가 거의 같아지기 때문(25)으로 생각되었다.

한편 홍화유의 가열산화시 중요 조성지방산의 변화는 다음 Table 4와 같았으며 이를 C_{18:2}/C_{18:0}값으로 비교시 신선한 홍화유가 11.1이던 것이 48시간 동안 가열산화된 후에는 5.70으로 감소하여 불포화지방산 함량은 감소하고 포화지방산 함량이 증가됨을 알 수 있었다.

Table 3. Physico-chemical changes of safflower oil thermally oxidized at 180±3°C for 48 hours

Heating time (hrs)	POV ¹⁾	AV ²⁾	IV ³⁾	CDA content ⁴⁾
0	281±0.2	0.21±0.05	146.2±4.2	0.93±0.03
8	227±0.5	0.23±0.03	142.6±3.1	2.05±0.01
16	24.9±0.3	0.36±0.02	137.3±1.6	2.76±0.04
24	17.4±0.7	0.46±0.01	132.1±1.3	3.43±0.01
32	18.2±0.3	0.54±0.00	124.2±4.9	3.94±0.02
40	22.9±0.4	0.65±0.02	117.0±3.2	4.03±0.01
48	19.4±0.1	0.71±0.03	113.2±3.7	4.09±0.01

¹⁾POV Peroxide value (meq./kg.oil).

²⁾AV. Acid value.

³⁾IV. Iodine value

⁴⁾CDA content: Conjugated dienoic acid content (%).

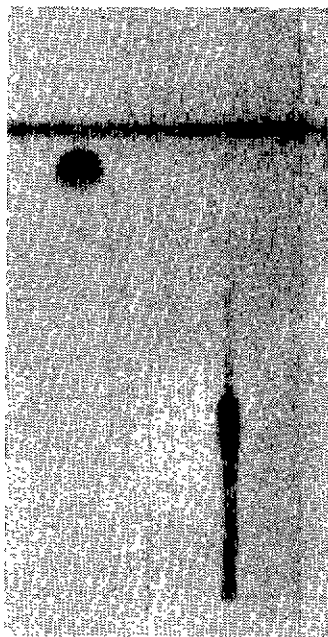
Table 4. Changes of fatty acid composition of safflower oil thermally oxidized at 180±3°C for 48 hours

Heating time (hrs)	Fatty acids					
	C _{16:0}	C _{18:0}	C _{18:1}	C _{18:2}	C _{18:3}	C _{18:2} /C _{16:0}
0	6.93	2.68	13.81	76.58	- ¹⁾	11.05
8	7.44	2.89	14.49	75.19	-	10.11
16	7.88	3.06	15.28	73.78	-	9.36
24	8.54	3.30	16.17	71.99	-	8.43
32	9.34	3.59	17.13	69.94	-	7.49
40	10.31	3.85	18.21	67.63	-	6.56
48	11.32	4.36	19.54	64.78	-	5.70

¹⁾Not detected

극성 및 비극성 물질의 분리 확인 및 함량 변화

홍화유를 180+3°C에서 48시간 동안 가열산화시키면서 극성 및 비극성 물질을 분리, 확인한 결과는 다음 Fig. 2 및 Table 5와 같았다. 신선한 홍화유의 극성물질은 64% 정도이던 것이 가열 시간이 경과함에 따라 급속히 증가하여 가열 48시간 후에는 66.1%로 튀김유로써 적당하지 않은 것으로 생각되었다.



Non-polar fraction Polar fraction

Fig 2. Thin layer chromatogram of polar and non-polar fraction of the safflower oil thermally oxidized at 180±3°C for 48 hours.

Table 5. Changes of percent weight of non-polar and polar compounds of safflower seed oils thermally oxidized at 180±3°C for 48 hours (% by weight)

Fractions	Heating time (hrs)						
	0	8	16	24	32	40	48
Non-polar	93.59	87.10	74.85	68.10	54.24	42.50	33.91
Polar	6.41	12.90	25.15	31.90	45.76	57.50	66.09

가열산화된 홍화유의 돌연변이 활성

홍화유를 180±3°C에서 48시간 동안 가열산화시키면서 8시간 간격으로 취하여 직접법 [-S9]과 대사활성화법 [+S9]으로 돌연변이원성을 측정된 결과는 다음 Table 6과 같이 모든 균주에서 돌연변이 활성이 나타나지 않았다(p<0.05) 이 결과는 이전의 여러 연구와도 일치하며(22, 26-28). 특히 Gastel 등(26)은 6종의 식용유를 180°C에서 24시간 동안 가열산화시킨 후 DMSO에 녹여 돌연변이원성을 조사한 결과, 특히 홍화유와 같이 불포화도가 매우 높은 경우에도 돌연변이 활성이 전혀 검출되지 않았다고 보고한 바 있다. 이에 본 연구에서는 가열산화된 홍화유를 Amcs test와의 반응성을 높이기 위해 THF에 녹여 돌연변이원성을 조사하였으나 돌연변이원성은 검출되지 않았다. 한편 Fong 등(28)은 가열 산화된 peanut oil에서 돌연변이 활성이 나타났으나 이는 기름이 aflatoxin에 의해 오염된 결과이지 산화유 자체에 의한 것이 아니었다고 보고하였다 즉 적절한 튀김온도에서 장시간 가열한 유지에서는 돌연변이 활성이 나타나지 않았다.

본 연구에서 홍화유의 돌연변이 활성이 미약한 이유는 48시간 동안 가열산화한 후에도 불포화지방산, 특히 항돌연변이 효과(29)가 있는 linoleic acid의 함량이 높았으며 돌연변이원으로 작용하는 과산화물(30)이 가열초기에 파괴되어 그 함량이 적었기 때문인 것으로 생각된다

극성 및 비극성 물질의 돌연변이 활성

가열산화된 홍화유를 극성 및 비극성 물질로 분리한 후 직접법 [-S9]과 대사활성화법 [+S9]으로 돌연변이원성을 측정된 결과는 다음 Table 7과 8에서 보는 바와 같이 모든 균주에서 돌연변이 활성이 검출되지 않았다.

Hageman 등(14)은 40시간 동안 반복 사용된 튀김유를 극성 및 비극성 부분으로 분획하여 TA97, TA100, TA104로 돌연변이원성을 측정된 결과 극성 부분에서 돌연변이원성이 나타났으며, TA97 균주의 경우 직접법 [-S9]에서 가장 예민하게 나타났다고 보고하였다.

본 실험에서 홍화유를 장시간 가열산화하는 동안 극성 물질의 함량이 급격히 증가하여 가열 48시간 후에는 66.09%에 이르러 산화된 지방산의 함량이 매우 높았으나 돌연변이 활성은 나타나지 않았다.

요 약

가열산화된 유지의 산패도와 돌연변이원성과의 관련성을 알아보고자 홍화유를 180±3°C에서 48시간 동안 가열산화시키면서 0, 8, 16, 24, 32, 40, 48시간 후의 유지시료와 여기서 분획한 극성 및 비극성 물질을 대상으로 *Salmonella typhimurium* 변이균주 중 구조이동형(frame shift) 변이균주인 TA98, TA1537과 염기치환형(base-

Table 6. The mutagenic effects of various concentrations of thermally oxidized ($180 \pm 3^\circ\text{C}$) safflower oil by Ames test with and without S9 mix.

Incubating time (hrs)	Concentration (mg/plate)	TA98		TA100		TA1535		TA1537		TA102	
		-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9
0	5	24±4.24	46±5.66	124±12.02	140±7.78	15±2.83	21±2.12	7±2.83	15±1.41*	251±11.31	303±9.90
	1	26±3.54	41±2.83	117±6.36	135±4.95	13±2.12	19±2.83	10±2.12	13±1.41*	251±4.24	286±10.61
	0.5	24±3.54	42±1.41	116±7.78	132±3.54	10±2.83	18±1.41	8±1.41	10±1.41	268±13.44	268±4.95
	0.1	25±2.12	45±1.41	112±5.66	124±4.95	13±2.83	20±2.83	8±2.12	11±0.71	258±9.19	275±4.95
	0.05	23±2.83	44±2.83	114±6.36	130±6.36	12±2.12	17±0.71	9±2.83	10±0.00	253±5.66	262±4.95
8	5	28±4.24	41±3.54	119±11.31	137±7.78	14±2.83	23±2.83*	11±0.71	14±2.12	267±12.02	287±8.49
	1	25±1.41	42±2.83	115±7.78	132±5.66	16±0.71	21±0.71	9±1.41	12±2.83	262±9.90	291±6.36
	0.5	26±0.71	45±3.54	114±9.19	135±4.95	17±2.12	20±0.71	10±2.12	13±3.54	258±12.73	275±4.95
	0.1	24±0.00	41±2.12	117±6.36	130±4.24	15±1.41	20±1.41	8±2.83	8±0.71	254±9.19	264±6.36
	0.05	27±2.83	40±2.83	110±5.66	134±6.36	15±1.41	17±0.71	7±0.71	11±1.41	260±12.02	268±6.36
16	5	26±2.83	50±2.12*	120±3.54	136±8.49	16±2.12	19±0.71	6±0.71	11±1.41	257±12.02	335±9.90
	1	24±2.83	42±2.12	117±7.78	129±10.61	14±0.71	18±2.83	10±1.41	13±2.12	252±12.73	315±15.56
	0.5	23±2.83	43±2.12	115±6.36	132±3.54	15±2.83	20±1.41	7±2.83	10±1.41	259±12.73	277±5.66
	0.1	26±3.54	39±2.12	118±4.95	130±4.24	9±1.41	17±2.83	8±0.00	8±0.71	262±6.36	267±8.49
	0.05	25±2.12	41±3.54	114±4.24	131±7.78	13±2.12	17±3.54	7±0.71	12±2.12	263±6.36	254±7.78
24	5	30±2.12	44±2.83	116±6.36	128±5.66	15±2.83	20±1.41	12±2.12	10±0.71	269±15.56	302±11.31
	1	24±2.83	46±3.54	117±4.95	132±6.36	16±2.12	17±1.41	10±1.41	12±1.41	267±4.95	303±2.83
	0.5	25±2.83	42±4.24	111±9.19	132±9.90	13±1.41	18±0.71	7±2.83	8±1.41	251±2.83	275±8.49
	0.1	23±2.12	40±4.24	113±5.66	130±5.66	17±0.71	14±0.71	8±2.83	9±2.12	265±6.36	266±9.19
	0.05	24±4.24	43±2.83	114±7.78	128±12.02	15±2.12	16±2.83	8±1.41	11±0.71	254±3.54	276±5.66
32	5	26±4.24	40±3.54	122±5.66	128±8.49	16±1.41	18±0.00	13±0.71*	15±0.00*	285±12.73	323±9.19
	1	25±4.24	41±3.54	123±11.31	129±5.66	14±2.83	20±2.12	8±2.12	12±2.12	274±7.78	305±10.61
	0.5	23±3.54	43±2.83	114±5.66	130±5.66	14±2.12	17±2.12	9±2.12	13±2.12	260±5.66	286±7.78
	0.1	25±0.71	38±0.71	113±7.78	128±11.31	14±2.12	18±0.71	7±2.12	9±0.71	261±3.54	272±4.95
	0.05	24±2.83	42±3.54	113±9.90	129±4.95	12±1.41	17±1.41	9±1.41	9±2.12	254±7.78	270±6.36
40	5	29±2.12	45±3.54	120±2.12	132±4.95	15±2.12	15±2.12	11±2.12	12±0.71	274±8.49	284±12.73
	1	25±2.12	42±2.83	116±4.95	130±5.66	12±0.71	21±2.12	10±0.71	14±2.12	260±12.02	277±8.49
	0.5	27±0.71	43±4.24	115±1.41	128±4.24	13±2.83	18±2.83	8±0.71	11±2.12	265±6.36	266±9.90
	0.1	26±2.83	41±4.24	113±3.54	132±4.95	14±3.54	16±2.12	9±1.41	13±1.41*	255±12.02	273±7.07
	0.05	23±2.83	43±1.41	106±4.24	133±4.95	11±1.41	17±0.00	8±0.71	10±0.71	257±7.78	255±12.02
48	5	28±2.83	39±2.83	115±4.95	132±9.90	15±2.83	22±1.41	8±1.41	9±2.12	284±12.73	316±10.61
	1	29±2.12	42±1.41	116±9.90	132±7.78	15±1.41	17±2.12	8±2.12	9±1.41	273±12.02	285±12.73
	0.5	24±2.83	40±2.12	112±9.19	128±5.66	12±0.71	18±2.83	9±2.83	10±1.41	264±10.61	265±9.19
	0.1	25±3.54	41±2.83	107±4.95	130±8.49	13±1.41	18±0.71	10±2.12	10±0.00	259±7.78	279±6.36
	0.05	24±2.83	40±1.41	114±9.19	127±9.90	10±0.71	17±2.12	7±0.71	11±1.41	260±2.83	275±6.36
Negative control		23±2.83	42±2.12	112±5.66	131±4.95	14±3.54	17±2.83	8±1.41	9±2.12	257±12.02	275±6.36
Positive control ¹⁾		192±12.73	216±13.44	416±17.68	393±8.49	170±10.61	176±5.66	265±13.44	265±9.19	2835±11.72	1915±54.45

*Significantly different from negative control values, $p < 0.05$ ¹⁾In case of without S9 mix: TA98, 2 AF(0.1 µg/plate); TA100, 2 AF(0.01 µg/plate); TA1535, SA(0.5 µg/plate); TA1537, 9-AA(80 µg/plate), TA102, MMC(20.0 µg/plate). In case of with S9 mix: TA98, 2-AA(0.5 µg/plate), TA100, 2-AA(1.0 µg/plate), TA1535, 2-AA(2.0 µg/plate), TA1537, 2-AA(2.0 µg/plate); TA102, 2-AA(10.0 µg/plate).

Table 7. The mutagenic effects of non-polar fractions of thermally oxidized (180±3°C) safflower oil by Ames test with and without S9 mix

Heating time (hrs)	Concentration (mg/plate)	TA98		TA100		TA1535		TA1537		TA102	
		-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9
0	5	28±3.54	29±2.12	121±3.54*	125±5.66	7±0.00	13±2.83	9±2.12	13±2.12	233±12.73	251±15.56
	1	30±4.95	27±2.83	107±4.24	122±5.66	7±2.12	7±0.71	11±2.12	10±0.71	219±12.73	249±9.90
	0.5	25±2.83	33±2.12	113±5.66	107±8.49	10±2.83	10±0.71	11±1.41	9±2.12	229±6.36	257±8.49
	0.1	28±2.12	28±1.41	107±7.78	110±4.95*	8±0.71	12±2.12	9±2.83	8±1.41	207±12.73	239±9.19
	0.05	27±2.83	26±2.12	109±1.41	126±3.54	8±1.41	11±1.41	14±2.83	10±2.12	234±13.44	246±11.31
8	5	28±2.12	35±6.36	125±9.90*	128±1.41	10±2.12	12±2.12	12±1.41	10±4.24	232±9.90	243±4.95
	1	31±2.12	41±4.24	126±6.36*	127±4.24	8±0.00	13±3.54	13±2.12	13±0.00	226±11.31	263±6.36*
	0.5	28±4.24	35±0.00	110±5.66	117±10.61	7±0.71	14±0.71	10±0.00	11±3.54	232±6.36	245±3.54
	0.1	27±0.71	34±0.71	118±8.49	125±7.78	9±0.00	12±2.12	9±0.71*	9±0.71	221±7.78	244±5.66
	0.05	26±1.41	33±4.24	123±9.90	122±2.12	6±0.71	11±2.12	11±1.41	11±1.41	209±5.66	242±0.71
16	5	30±2.12	37±2.12	108±5.66	130±0.71	8±0.71	11±2.12	8±0.71*	13±3.54	212±10.61	258±12.73
	1	27±2.83	30±0.00	107±7.78	125±12.73	8±1.41	11±3.54	9±2.12*	12±2.83	209±7.78	255±2.83
	0.5	30±4.95	26±5.66	115±15.56	127±11.31	7±2.83	13±1.41	10±2.12	10±2.83	233±12.02	255±7.78
	0.1	26±2.83	28±5.66	120±12.73	128±8.49	6±0.00	13±0.71	13±1.41	11±2.83	227±9.90	255±5.66
	0.05	27±2.12	27±5.66	107±8.49	121±6.36	9±1.41	13±0.71	12±0.71	8±2.12	218±11.31	238±1.41
24	5	33±0.71*	39±4.24	127±7.78*	125±7.07	10±1.41	14±2.12	10±2.12	13±3.54	243±11.31	263±2.12
	1	29±2.83	38±2.83	116±4.24	124±7.78	11±3.54	12±2.12	12±2.83	12±1.41	234±10.61	265±7.78
	0.5	28±2.12	39±3.54	109±7.78	121±12.02	7±0.00	12±1.41	11±2.12	12±2.12	225±14.85	261±14.85
	0.1	30±0.00*	37±5.66	108±9.90	118±17.68	8±2.12	11±2.12	14±1.41	13±3.54	219±7.78	261±8.49
	0.05	26±0.71	31±4.24	112±8.49	118±1.41	9±0.00	15±2.12	11±2.12	10±2.83	236±8.49	256±7.78
32	5	27±0.71	43±1.41*	125±9.90	128±8.49	7±1.41	12±2.83	19±2.12	12±2.12	243±14.14*	282±3.54*
	1	29±4.24	35±0.71	120±0.71	119±9.19	9±0.71	15±3.54	14±2.12	12±4.24	236±7.07	271±7.07*
	0.5	26±0.71	38±3.54	117±8.49	133±1.41	8±0.71	11±2.12	15±1.41	9±2.83	233±4.24	267±4.24*
	0.1	28±2.12	36±0.00	109±9.90	118±3.54	9±2.12	11±3.54	9±1.41	10±0.71	216±5.6	251±9.19
	0.05	25±1.41	38±4.24	107±12.02	118±7.78	7±1.41	8±0.71	8±0.71*	11±2.12	226±11.31	250±1.41
40	5	28±3.54	38±7.07	105±10.61	139±7.07	8±0.71	10±2.12	12±3.54	11±2.83	210±9.90	292±5.66*
	1	25±2.12	34±0.71	113±9.19	133±4.24	9±2.12	11±2.12	9±1.41	11±0.00	219±6.36	282±3.54*
	0.5	26±2.12	35±2.12	121±15.56	129±15.56	9±1.41	12±2.83	11±2.12	12±2.83	211±6.36	257±5.66
	0.1	26±2.83	35±0.71	125±9.90	118±6.36	8±1.41	8±1.41	10±1.41	13±1.41	225±9.19	274±9.19*
	0.05	27±4.24	33±5.66	106±8.49	118±1.41	7±1.41	9±0.71	9±2.83	9±1.41	216±12.02	257±2.83
48	5	31±0.00*	37±1.41	105±0.71	159±1.41*	9±0.00	14±2.12	19±2.12*	16±0.71	283±19.80*	295±4.95*
	1	30±0.71*	39±1.41*	109±10.61	130±0.71	7±1.41	10±2.83	10±0.71	13±3.54	236±7.78	280±5.66*
	0.5	28±2.12	37±1.41	112±8.49	132±7.07	7±1.41	8±1.41	12±2.83	13±0.71	228±9.90	271±4.24*
	0.1	25±1.41	32±3.54	108±8.49	132±6.36	7±1.41	13±2.12	9±0.71	13±1.41	213±9.90	266±9.90*
	0.05	26±2.12	31±2.83	107±5.66	131±7.78	8±0.71	9±2.12	10±2.12	11±3.54	216±11.31	261±4.95
Negative control		26±0.71	33±0.71	106±2.83	124±7.07	8±0.01	10±1.41	12±0.00	11±2.12	217±13.44	240±11.31
Positive control ¹⁾		214±15.56	298±12.02	577±29.70	461±36.77	154±11.31	202±17.68	209±16.26	185±16.26	4242±255.97	2366±207.89

*Significantly different from negative control values, p<0.05.

¹⁾Refer to Table 6.

Table 8. The mutagenic effects of polar fractions of thermally oxidized (180±3°C) safflower oil by Ames test with and without S9 mix

Heating time (hrs)	Concentration (mg/plate)	TA100			TA1536			TA1537			TA102		
		-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9		
0	5	27±2.83	38±3.54	120±14.14	134±8.49	10±0.00	12±0.71	12±0.00	9±2.12	286±13.44*	295±19.09		
	1	26±2.12	36±2.12	114±5.66	131±8.49	12±0.71	10±1.41	10±2.83	9±0.71	273±6.36	289±13.44		
	0.5	24±2.83	34±0.71	107±12.73	126±7.78	10±2.12	7±0.00*	11±1.41	10±2.12	257±8.49	282±11.31		
	0.1	23±0.71	37±2.12	108±9.19	121±5.66	8±0.71	10±2.12	9±1.41	8±2.12	266±17.68	271±8.49		
	0.05	20±2.12	33±2.83	107±7.78	124±6.36	9±2.12	9±1.41*	10±0.71	9±2.12	254±7.78	259±6.36		
8	5	24±2.83	35±2.83	116±11.31	126±6.36	14±2.12	13±2.83	14±2.12	10±2.83	278±11.31*	284±6.36*		
	1	21±2.12	37±3.54	114±7.78	120±5.66	10±2.83	12±2.12	10±2.12	9±0.71	287±8.49*	261±7.07		
	0.5	25±0.00	31±0.71	105±9.90	122±6.36	11±0.71	10±2.83	12±3.54	8±2.83	267±9.19	259±7.78		
	0.1	22±3.54	34±2.12	109±8.49	114±4.24	9±2.12	10±2.83	11±3.54	10±2.12	252±9.90	256±2.83		
	0.05	20±0.00	33±2.12	108±6.36	112±8.49	10±3.54	8±1.41	9±0.71	8±1.41	257±8.49	263±5.66		
16	5	26±1.41	43±3.54*	143±2.12*	140±0.71*	10±0.71	11±2.83	12±0.71	9±1.41	300±7.78*	302±11.31*		
	1	27±1.41	45±3.54*	136±9.19*	145±9.90	11±3.54	8±0.00*	11±3.54	9±0.00	309±4.24*	282±8.49		
	0.5	29±4.95	39±0.71	106±5.66	136±5.66*	9±0.71	8±2.12*	10±2.12	12±1.41*	258±8.49	263±7.07		
	0.1	24±3.54	44±4.95*	121±7.07*	124±4.95	7±2.12	11±0.71	11±2.83	9±1.41	263±9.90	263±5.66		
	0.05	20±0.00	34±2.83	104±9.90	125±7.78	10±1.41	12±0.71	10±3.54	11±2.12	252±5.66	270±7.78*		
24	5	23±4.24	42±3.54*	135±5.66*	136±5.66*	12±2.83	13±3.54	11±2.12	10±0.00	268±7.07	314±13.44*		
	1	21±0.71	41±0.71*	113±0.71*	147±4.95*	11±0.71	12±3.54	10±3.54	13±1.41*	272±11.31	285±15.56		
	0.5	24±3.54	34±0.71	116±0.71*	141±5.66*	10±1.41	12±0.71	11±4.24	9±2.12	273±12.02	277±9.90*		
	0.1	22±2.83	42±4.24*	102±6.36	138±2.12*	8±1.41	12±3.54	10±0.71	9±0.00	253±4.24	267±11.31		
	0.05	20±0.71	35±3.54	102±1.41	127±9.90	9±1.41	10±0.00	13±0.71	9±2.12	252±11.31	262±12.73		
32	5	22±2.83	42±1.41*	139±7.78*	137±12.02	12±2.12	12±2.12	14±1.41	17±1.41*	271±14.85	288±9.90*		
	1	22±3.54	42±3.54*	131±12.73*	142±9.90	11±0.71	12±3.54	13±1.41	14±2.83*	293±7.78*	279±6.36		
	0.5	20±0.71	38±1.41	112±7.78	119±0.71	9±2.12	10±2.83	10±0.71	16±2.12*	262±16.97	280±4.24		
	0.1	22±1.41	37±2.83	100±1.41	124±19.09	7±2.83	8±0.71	9±1.41	13±2.83	250±4.95	272±4.95		
	0.05	20±1.41	34±0.71	103±0.00	114±4.95	8±1.41	8±1.41	10±4.24	11±0.71	249±9.90	263±6.36		
40	5	26±2.83	47±2.12*	141±3.54*	141±1.41*	9±2.12	9±0.71*	13±2.83	11±2.83	275±14.14	318±14.85*		
	1	23±2.83	42±2.83*	114±7.78	130±9.19	11±2.83	7±0.71*	13±1.41	13±2.12	275±8.49	316±5.66*		
	0.5	20±1.41	39±2.12	104±0.71	132±2.12	10±1.41	8±1.41*	9±0.71	15±0.71*	295±4.95*	303±7.78*		
	0.1	20±0.00	35±2.83	110±12.73	120±6.36	9±0.00	11±0.71*	9±2.83	14±2.12*	268±15.56	290±4.95		
	0.05	21±0.71	33±2.83	106±3.54	117±8.49	9±2.12	8±0.00*	11±3.54	12±1.41	245±13.44	257±5.66		
48	5	25±0.71	38±2.83	134±7.78*	123±6.36	9±2.83	10±0.71	11±2.12	10±2.12	288±13.44*	300±5.66*		
	1	26±2.12	36±2.83	115±4.24	108±8.49	7±0.71	9±2.12*	9±2.12	11±2.12	262±3.54	317±6.36*		
	0.5	30±3.54*	40±0.71	112±0.00	113±14.14	7±1.41	10±0.71*	8±1.41	12±0.71	302±4.95*	324±13.44*		
	0.1	27±2.83	38±4.95	120±0.71*	120±7.78	8±2.12	9±0.71	11±1.41	12±2.12	282±7.78*	319±17.68		
	0.05	23±1.41	33±3.54	107±6.36	114±7.78	7±2.12	11±2.12	11±0.71	9±1.41	263±5.66	315±12.02*		
Negative control		21±4.24	34±2.12	103±6.36	116±8.49	9±2.12	13±0.71	12±2.12	8±1.41	254±6.36	312±13.38		
Positive control ¹⁾		257±11.31	242±12.73	507±23.33	519±18.38	165±12.73	186±14.85	190±20.51	205±26.16	4576±310.42	2144±159.10		

*Significantly different from negative control values, p<0.05

¹⁾Refer to Table 6.

pair substituent) 변이균주인 TA100, TA1535 및 102를 사용하여 Ames test를 수행한 결과는 다음과 같았다. 180±3°C에서 48시간 가열산화된 홍화유의 가열시간에 따른 돌연변이 활성을 조사했을 때 직접법 [-S9] 및 대사활성화법 [+S9] 모두에서 돌연변이 활성이 인정되지 않았다. 또한 가열산화된 홍화유를 극성 및 비극성 물질로 분리하여 돌연변이 활성을 조사하여도 직접법 [-S9] 및 대사활성화법 [+S9] 모두에서 돌연변이 활성은 나타나지 않았다.

문 헌

1. 율택구. 암의 원인과 환경 한국환경성돌연변이 발암원학 회지, 1, 39 (1981)
2. Doll, R. The lessons of life. Keynote address to the nutrition and cancer conference *Cancer Res.*, 52, 2024 (1992)
3. Doll, R. and Peto, R. The cause of cancer. Quantitative estimates of avoidable risks of cancer in the United States today. *J. Nat. Cancer Inst.*, 66, 1191-1308 (1981)
4. Sugimura, T. and Sato, S. Mutagens-carcinogens in foods *Cancer Res.*, 43, 2415-2421 (1983)
5. Pamukcu, A.M. and Price, J.M. Induction of intestinal and urinary bladder neoplasms induced by feeding bracken fern (*pteris aquilina*) *J. Nat. Can. Inst.*, 43, 275 (1969)
6. Nolan, G.A., Alexander, J.C. and Artman, N.R. Long-term rat feeding study with used frying fats. *J. Nutr.*, 93, 337-348 (1967)
7. Alexander, J.C. Chemical and biological properties related to toxicity of heated fats. *J. Toxicol. Environ. Health.*, 7, 125-138 (1981)
8. Kaunz, H., Johnson, R.E. and Pegus, L. A long-term nutritional study with fresh and mildly oxidized vegetable and animal fats. *JAOCs.*, 42, 770-774 (1965)
9. Yamaoka, S., Urade, R. and Kito, M. Mitochondrial function in rats is affected by modification of membrane phospholipids with dietary sardine oil *J. Nutr.*, 118, 290-296 (1988)
10. Chirston, R., Fernandez, Y., Cambon-Gros, C., Periquet, A., Deltour, P., Leger, C.L. and Mitjavila, S. The effect of dietary essential fatty acid deficiency on the composition and properties of the liver microsomal membrane of rats. *J. Nutr.*, 118, 1311-1318 (1988)
11. Donnelly, T.E., Birt, D.F., Sittler, R., Anderson, C.L., Choi, M. and Julius, A.D. Dietary fat regulation of the association of protein kinase C activity with epidermal cell membranes. *Carcinogenesis*, 8, 1867-1870 (1987)
12. van Gastel, A., Mathur, R., Roy, V.V. and Rukmini, C. Ames mutagenicity tests of repeated heated edible oils. *Food Chem. Toxic.*, 22, 403-405 (1984)
13. Scheutwinkel-Reich, M., Ingerowski, G. and Stan, H.J. Untersuchungen von frittierfetten auf mögliche mutagenen wirkungen mit hülfe des Ames-tests. *Dt. LebensmittRundsch.*, 76, 231 (1980)
14. Hageman, G., Kikken, F., Hoor T. and Klenjans, J. Assessment of mutagenic activity of repeatedly used deep-frying fats. *Mutation Research*, 204, 593-604 (1988)
15. Maron, D.M. and Ames, B.N. Revised methods for the *Salmonella* mutagenicity test. *Mutat Res.*, 113, 173-215 (1983)
16. AOCS *Official Methods and Recommended Practices* 4rd ed., Cd 8-53. Am. Oil Chem. Soc., Illinois (1990)
17. 基準油脂分析試験法: 日本油化学協會, 2 4 1-83 (1984)
18. 基準油脂分析試験法: 日本油化学協會, 2. 3. 9 (1984)
19. AOCS: *Official Methods and Recommended Practices* 4rd ed., Ti-1a-64. Am. Oil Chem. Soc., Illinois (1990)
20. Lepage, G. and Roy, C.C. Direct transesterification of classes of lipids in a one-step reaction. *J. Lipid Res.*, 27, 114 (1986)
21. Walkung, A.E. and Wessels, H. Chromatographic separation of polar and nonpolar components of frying fats. *JAOC.* 64, 1329-1330 (1981)
22. Scheutwinkel-Reith, M., Ingerowski, G. and Stan, H.J. Microbiological studies investigating mutagenicity of deep frying fat fractions and some of their components. *Lipids*, 15, 849-852 (1980)
23. Taylor, S.L., Berg, C.M., Shoptaugh, N.H. and Scott, V.N. Lack of mutagens in deep-fat fried foods obtained at the retail level. *Food Chem. Toxicol.*, 20, 209-212 (1982)
24. Lomanno, S.S. and Nawar, W.W. Effect of heating temperature and time on the volatile oxidative decomposition of linolenate *J. Food Sci.*, 47, 744 (1982)
25. Pamela, J.W. Methods for measuring changes in deep-fat frying oils. *Food Technol.*, 45, 75 (1991)
26. Gastel, A. Van, Mathur, R., Roy, V.V. and Rukmini, C. Ames mutagenicity tests of repeated heated edible oils *Food Chem. Toxic.*, 22, 403-405 (1984)
27. Taylor, S.L., Berg, C.M., Shoptaugh, N.H. and Traisman, E. Mutagen formation in deep-fat fried foods as a function of frying conditions *JAOCs*, 60, 576-580 (1983)
28. Fong, L.Y.Y., Ton, C.C.T. and Koonanuwachaidet, P. Mutagenicity of peanut oils and effect of repeated cooking. *Food Cosmet. Toxicol.*, 18, 467-470 (1980)
29. 임선영. Linoleic acid의 항돌연변이 및 항암효과. 부산대학교 대학원 식품영양학과 석사학위논문 (1994)
30. Yamaguchi, T. and Yamashita, Y. Mutagenic activity of autoxidized linolenic and linoleic acid. *Agric. Biol. Chem.*, 43, 2225-2226 (1979)