J. Fd Hyg. Safety 14(4), 386-396 (1999)

식품의 조리 · 가공중 생성되는 발암성 이환방향족아민의 안전성

전향숙† · **김주연**
한국식품개발연구원 생물공학연구본부

The Safety of Carcinogenic Heterocyclic Aromatic Amines from the Cooked Foods

Hyang-Sook Chun† **and Joo-Youn, Kim**
Food Chemistry and Biotechnology Division, Korea Food Research Institute, Seongnam 463-420, Korea

ABSTRACT – Commonly eaten fish, meat and other protein-containing foods show some level of mutagenic activity following normal cooking such as broiling, frying, grilling, roasting etc. The main food mutagens found in cooked products are "heterocyclic aromatic amines". Several of them have been shown to be carcinogenic in rodent and suggested to be relevant for human cancer etiology. This review summarizes the chemistry, formation, occurrence and toxicity of food-borne heterocyclic aromatic amines. Factors that influence the formation of them are also discussed with special emphasis on dietary factors. From a health safety point of view, it is desirable to estimate the intake of heterocyclic amines via foods, and reduce or prevent the formation of food mutagens.

Key words □ Heterocyclic aromatic amines, Cooking, Carcinogenic, Food mutagens

식품의 기호성 및 안전성을 향상시키고자 인류는 예로부터 불을 이용하여 식품을 조리 · 가공하여 왔다. 그러나 식품의 가열처리는 식품의 기호성 및 일부 안전성에 기여한 반면, 사람에게 유해 성분들을 생성시켜 식품의 안전성 분야에서 새로운 관심사로 대두되고 있다.

일반적으로 섭취하고 있는 쇠고기, 돼지고기, 양고기, 닭고기 등의 육류제품들은 조리 · 가공처리에 따라 변이원성(mutagenic activity)을 나타낸다. 식품의 제조 방법들이 변이원성의 생성에 뚜렷한 영향을 미치는 것으로 알려져 있으며, 가열조리된(fried/broiled) 식품에서 변이원성을 검색하는데 많은 연구들이 집중되어 왔다. 건강 안전성의 관점에서 보면 그것을 감소시키거나 식품 변이원의 생성을 막는 것이 바람직하므로 일반 가정에서 조리하는 동안 변이원이 생성되는 반응조건 및 전구체들에 대한 깊은 이해가 매우 중요할 것이다.

1970년대 Ames 등이 개발한 단기간의 변이원성 검정방법을 활용하여 Sugimura 등은 직화나 숯불 위에서 구운 쇠고기와 생선의 까맣게 탄 표면에서 변이원성의 존재를 증명하였다.[1,2] 이후 Commoner 등[3]이 일반 가정의 조리 방법으로 조리한 육류와 끓인 쇠고기 추출물에서도 변이원이 생성된다고 밝혔다. 그 이후 아미노산이나 단백질의 열분해산물들로부터 또는 조리된 고단백 식품으로부터 변이원성을 나타내는 물질들이 분리 · 동정되었고, 이들은 이환방향족아민(heterocyclic aromatic amines)으로 알려졌다.[4-9] 이 중 몇 가지는 합성되었고 장기 동물 시험에서 발암성을 나타내는 것으로 밝혀졌다.[10] 발암성 시험에서 여러 종류의 발암성 이환방향족아민을 동시에 투여하면 각각을 투여한 경우보다 1/5~1/20 정도의 양에서도 암이 발생되었다.[11] 사람에의 노출정도를 조사한 연구에서도 혈액이나 뇨중에서 이들 물질이 계속적으로 검출되는 것으로 보아 일상생활에서도 이들 물질에의 노출정도가 심각하다고 볼 수 있다.[12] 이에 외국에서는 미국의 Lawrence Livermore National Laboratory(LLNL)와 국립암연구소(NCI), 일본의 국립암센터연구소(NCCRI) 및 스웨덴의 Karolinska연구소 등에서 활발한 연구를 수행하여 발암성 이환방향족아민의 분리 · 동정, 데이터베이스의 구축 및 노출량 및 위해도 평가작업을 수행하고 이를 조리 · 가공방법의 개선을 위한 자료로 활용하고 있다. 그러나 우리 나라에서는 이에 대한 작업이 거의 이루어져 있지 않아 국민보건향상 측면에서 관련 연구가 시급하다고 본다.

†Author to whom correspondence should be addressed.

따라서 본고에서는 식품의 조리 · 가공중 생성되는 유해성분의 하나인 이환방향족아민의 연구 활성화, 안전성 확보책 마련 및 관리방안 설정시 기초자료로 이용되게 하고자, 이들 물질들의 생성경로, 종류 및 분류, 대사 및 독성, 식품에서의 발생량, 생성에 미치는 인자들과 위해도 평가에 관하여 고찰해 보았다.

이환방향족아민의 생성경로

육류에서 자연적으로 존재하는 세 가지 물질들, 즉 creatine, 유리 아미노산, hexoses 등이 imidazoquinoline이나 imidazoquinoxaline계 변이원의 전구체라고 제안되고 있다.[13] 일반적으로 닭고기와 쇠고기는 비슷한 비율의 같은 계열의 변이원을 함유하며, 갈아서 가열조리된 생선도 비록 함량은 낮으나 동일한 변이원을 포함하는 것으로 보고[9]되고 있어서 조리된 근육질 식품으로부터 유래된 변이원은 모두 비슷한 전구체로부터 생성된다고 알려져 있다.

Jagerstad 등[14]은 Maillard 반응에 의한 IQ 화합물의 잠정적인 생성경로를 Fig. 1과 같이 제안하였다. Creatine으로부터 cyclization(고리화 반응)과 수분 제거반응에 의해 amino-imidazo 부분이 생성되고, IQ 화합물의 잔류 부분은 hexose와 아미노산간의 Maillard 반응에서 생성된 pyridines이나 pyrazines과 같은 Strecker 분해 산물에서 유래되는 것으로 추측되고 있다. Aldol 축합반응에 의해 Strecker aldehyde(또는 관련 Schiff base)를 경유한 두 부분이 연결된다고 여겨지고 있다. 이 가설은 creatine 또는 creatinine(이하 creatin(in)e으로 표기함), glycine 또는 alanine, glucose를 14% 수분 함유 diethylene glycol(DEG)에 용해한 것을 130℃에서 2시간 동안 환류하에 가열한 모델시스템을 사용함에 의해 증명되었다. 이 혼합물들은 높은 변이원성을 나타내었으나, 반응인자들을 2개씩 가열할 경우 약한 변이원성이 나타났다. 이 반응 혼합액에 합성 pyridine이나 pyrazines을 첨가하면 약 50% 정도 변이원성이 증가되었다.[13]

스웨덴과 일본의 국제 공동 연구에서 MeIQx와 7, 8-DiMeIQx의 두 가지 변이원성 물질이 creatine, glycine 그리고 glucose 혼합물을 130℃에서 2시간 동안 환류가열시킨 후 확인되었다.[15] 이 경우 glycine 대신에 threonine을 사용하였을 때 MeIQx와 4,8-DiMeIQx이 생성되었고, alanine을 사용하였을 때는 미량의 4,8-DiMeIQx와 MeIQ가 생성되었다. 그 후 Nyhammar[16]에 의해 정립된 가설은 creatinine이 pyridine이나 pyrazine과 반응하기 전에 먼저 aldehyde와 축합반응을 한다는 것으로 이는 Jones과 Weisburger[17]의 제안과도 일치하였다.

이환방향족아민의 종류 및 발생량

가열조리된 식품에서 확인된 변이원들은 이환방향족아민계 물질들이다. 식품 변이원들은 화학적 구조에 따라 5 군

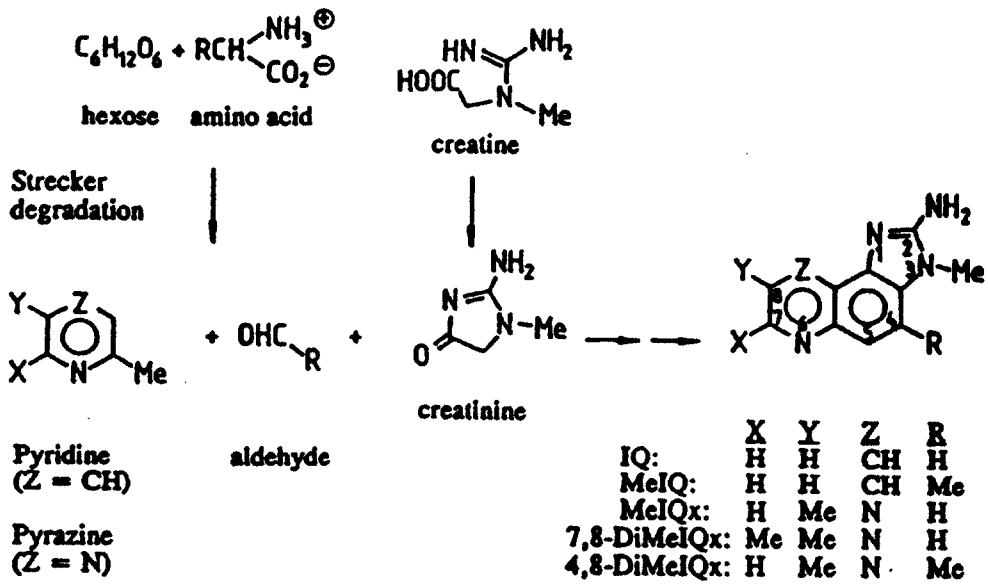

Fig. 1. Suggested pathway for the formation of imidazoquinolines and quinoxalines.[13] IQ=2-amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinoline; MeIQ=2-amino-3,4-dimethylimidazo-[4,5-f]-quinoline; MeIQx=2-amino-3,8-dimethylimidazo[4,5-f]quinoxaline; 7,8-DiMeIQx=2-amino-3,7,8-trimethyl-imidazo[4,5-f]quinoxaline; 4,8-DiMeIQx=2-amino-3,4,8-trimethylimidazo[4,5-f]quinoxaline

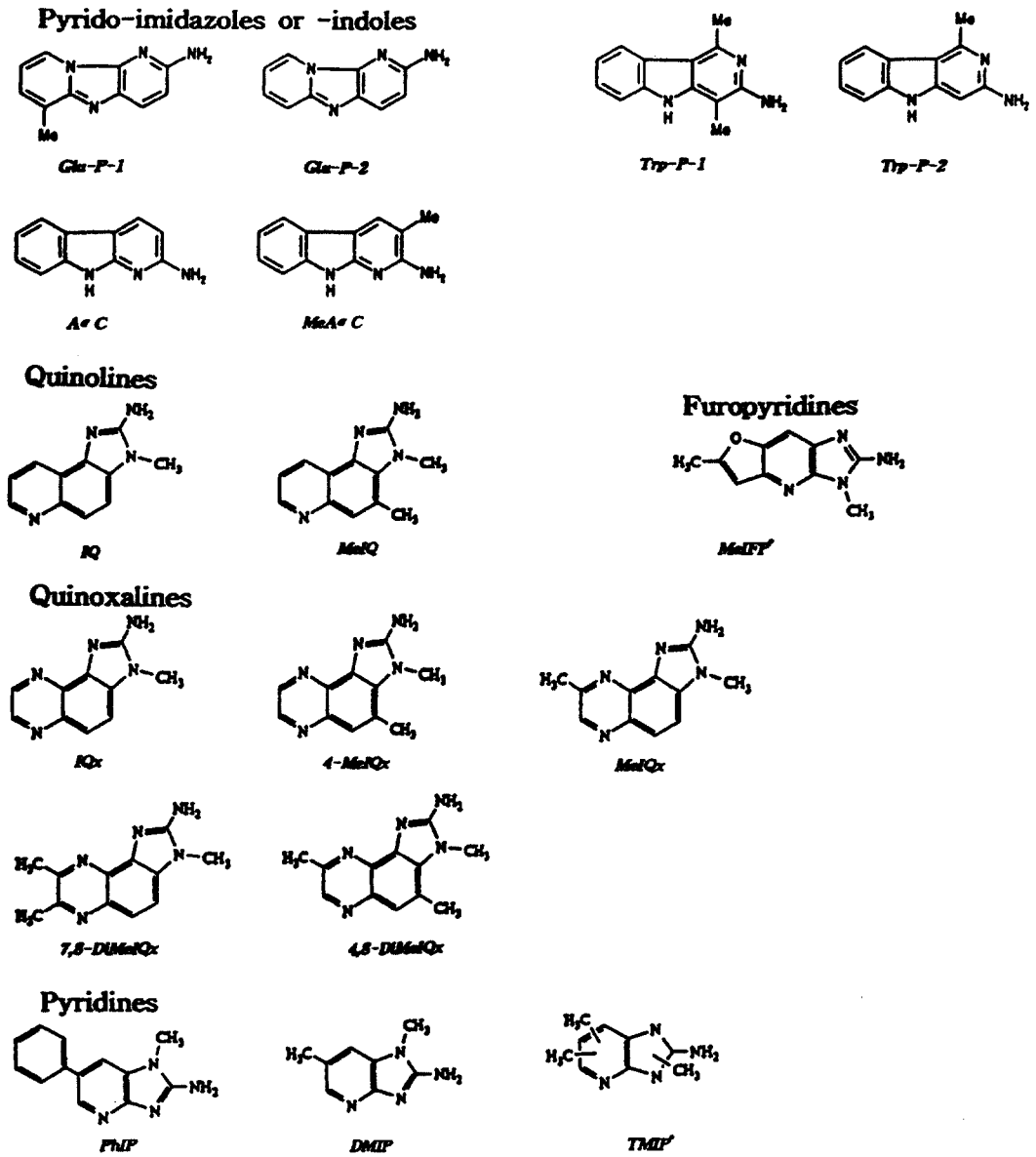

Fig. 2. Chemical structures and common names for heterocyclic aromatic amines found in cooked foods or model systems; I, Pyrido-imidazoles or indoles-(Glu-P-1=2-amino-6-methyldipyrido[1,2-a:3',2'-d]imidazole; Glu-P-2=2-aminodipyrido[1,2-a:3',2'-d]imidazole; Trp-P-1=3-amino-1,4-dimethyl-5H-pyrido[4,3-b]indole; Trp-P-2=3-amino-1-methyl-5H-pyrido[4,3-b] indole; AαC=2-amino-9H-pyrido[2,3-b]indole; MeAαC=2-amino-3-methyl-9H-pyrido[2,3-b]indole); II, Quinolines(IQ=2-amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinoline; MeIQ=2-amino-3,4-dimethylimidazo[4,5-f]-quinoline); III, Furopyridines (MeIFP=methylimidazofuropyridine); IV, Quinoxalines(IQx=2-amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinoxaline; 4-MeIQx=2-amino-3,4-dimethylimidazo[4,5-f]quinoxaline; MeIQx=2-amino-3,8-dimethylimidazo[4,5-f]-quinoxaline; 7,8-DiMeIQx=2-amino-3,7,8-trimethyl-imidazo[4,5-f]quinoxaline; 4,8-DiMeIQx=2-amino-3,4,8-trimethylimidazo[4,5-f]-quinoxaline); V, Pyridines(PhIP=2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine; DMIP=2-amino-1,6-dimethylimidazo-pyridine; TMIP=2-amino-n,n,n-trimethylimidazopyridine). *Suggested structure.

(group)으로 나눌 수 있다. 크게 300℃이하에서 생성되는 변이원들은 열(thermic) 변이원으로, 300℃ 이상의 높은 온도에서 생성되는 변이원들은 열분해성(pyrolytic) 변이원으로 분류되고 있다.[18] 열분해성 변이원(group I)은 아미노기가 pyridine 고리에 붙은 것이고, 열 변이원은 아미노기가 imidazole 고리에 붙은 것이다. 열분해성 변이원은 산성 조

Table 1. Content of heterocyclic amines in cooked foods[20]

Cooked food	Heterocyclic amine (ng/g=ppb)								
	IQ	MeIQ	MeIQ	4,8-DiMeIQ	PhIP	Trp-P-1	Trp-P-2	AαC	MeAαC
Broiled beef	0.19		2.11		15.7	0.21	0.25	1.20	
Fried ground beef			0.64	0.12	0.56	0.19	0.21		
Broiled chicken			2.33	0.81	38.1	0.12	0.18	0.21	
Broiled mutton			1.01	0.67	42.5		0.15	2.50	0.19
Food-grade beef extract			3.10		3.62				
Fried cod fish	0.16	0.03	6.44	0.10	69.2				

건에서 아질산염으로 처리할 경우 탈아미노 반응이 일어나 더 이상 변이원성을 보이지 않은데 반해, 열 변이원들은 산성 조건에서 아질산염 처리에 의해 영향을 받지 않는다.[19] 조리된 식품이나 모델시스템에서 확인된 열분해성 변이원 및 열 변이원의 화학적 구조는 Fig. 2와 같다.

Table 1은 조리한 육류와 생선, food-grade 쇠고기 추출물 등의 이환방향족아민 함량을 요약한 것이다.[20] 추정된 변이원의 함량은 조리 전후의 중량, 식품 조성과 조리 조건에 따라 크게 달라질 수 있다. 변이원 IQ, MeIQ, MeIQx, 4, 8-DiMeIQx 및 PhIP는 모두 조리한 육류와 생선에서 주로 발견되는데, 각각의 IQ계 화합물의 함량은 튀긴 육류와 생선에서 20 ng/g 이하로 추정된다. PhIP는 가열조리된 쇠고기와 생선에 가장 많이 존재하는 것으로, 갈아서 가열조리한 쇠고기에 48.5 ng/g, 바베큐 한 연어에 73 ng/g 정도 검출되고 있다. 식용 쇠고기육수에서 확인된 변이원들은 IQ(70 ng/g), MeIQx, 4,8-DiMeIQx 및 PhIP(3.6 ng/g 정도)이다. 이들을 화학구조별로 살펴보면 다음과 같다.

Pyrido-imidazoles 또는 -indoles – 이 군의 변이원들은 일반 가정에서의 조리 온도보다 훨씬 높은 300°C이상의 온도에서 생성되며 서양식 식이에서는 일상적으로 발견되지 않는다. 다수의 이환방향족아민계 변이원이 tryptophan, glutamic acid, phenylalanine, lysine 또는 ornithine과 같은 단일 아미노산의 열 분해에 의해 확인되었다.[21] Sugimura 등[22]은 3-amino-1,4-dimethyl-5H-pyrido[4,3-b]indole(Trp-P-1)과 3-amino-1-methyl-5H-pyrido[4,3-b]indole(Trp-P-2)을 tryptophan의 연기 응축물로부터 분리하였고, 후에 Yamamoto 등[4]은 2-amino-6-methyldipyrido[1,2-a:3',2'-d]imidazole(Glu-P-1)과 2-aminodipyrido[1,2-a:3',2'-d]imidazole(Glu-P-2)을 glutamic acid 연기 응축물에서 분리하였다. Trp-P-1, Trp-P-2 및 2-amino-5-phenylpyridine (Phe-P-1)은 구운(broiled) 정어리에서 확인되었고, Glu-P-2는 구운 오징어에서 확인되었다. 뿐만 아니라 Trp-P-1은 가열조리된 쇠고기에서도 분리되었고, Trp-P-2는 쇠고기 추출물에서 분리되었다. Yoshida 등은 2개의 α-carbolines, 즉 2-amino-9H-pyrido[2,3-b]indole(AαC)과 2-amino-3-methyl-9H-pyrido[2,3-b]indole(MeAαC)을 대두 글로블린 열 분해산물로부터 분리하였고, 이들 물질들은 석쇠에 구운 쇠고기, 닭고기, 버섯과 석쇠에 구운 생선에서도 발견되고 있다.

Quinolines – 2, 3군의 변이원은 imidazoquinolines 또는 imidazoquinoxalines의 유도체들이고 일반명으로 IQ 화합물이라고 한다. Kasai 등[23-24]은 구운 정어리의 껍질로부터 2-amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinoline(IQ)과 2-amino-3,4-dimethylimidazo[4,5-f]-quinoline(MeIQ)을 분리하였다. IQ는 갈아서 가열조리한 쇠고기와 돼지고기, 구운 생선, 쇠고기 추출물에서 발견되었고, 325°C에서 가열조리한 달걀 패티에서도 분리되었다. IQ는 creatin(in)e과 proline, phenylalanine, serine 중 어느 한가지 아미노산이나 creatinine, glycine과 fructose 또는 creatin(in)e, phenylalanine과 glucose를 조합한 모델시스템에서 확인되었다. MeIQ는 갈아서 가열조리한 쇠고기와 돼지고기 및 구운 생선에서 확인되었고, creatine, fructose와 alanine을 사용한 모델시스템에서도 생성되었다.

Quinoxalines – Kasai 등[25]은 튀긴 간 쇠고기의 껍질에서 2-amino-3,8-dimethylimidazo[4,5-f]-quinoxaline(MeIQx) 을 확인하였다. 이후 MeIQx는 모델시스템에서 분리되었으며, 갈아서 가열조리한 쇠고기 및 돼지고기, 구운 닭고기와 양고기, 가열조리하여 훈제한 생선과 food-grade 쇠고기 추출물에서도 분리 · 동정되었다.

MeIQx의 이성질체인 2-amino-3,4-dimethylimidazo[4,5-f]quinoxaline(4-MeIQx)은 가열조리한 돼지고기에 존재하는 것으로 보고되었다. 2-amino-3,4,8-trimethylimidazo[4,5-f]-quinoxaline(4,8-DiMeIQx)의 경우는 갈아서 가열조리한 쇠고기와 돼지고기, 구운 닭고기와 양고기, 가열조리하여 훈제한 생선, food-grade 쇠고기 추출물에서 분리 · 동정되어 왔다. 또한 4,8-DiMeIQx는 모델시스템에서도 분리되었다.

2-Amino-3,7,8-trimethylimidazo[4,5-f]quinoxaline(7,8-DiMeIQx)는 creatinine, glycine 및 glucose를 환류가열함에 의해 분리하였고, 후에 가열조리된 쇠고기에서도 분리·

동정되었다. 이 물질은 모델시스템에서 먼저 발견된 후에 조리된 식품에서 확인된 변이원으로써 모델시스템이 변이원 생성 연구에서 유용한 수단임이 입증된 예이다. 수년 전 다른 변이원성 quinoxaline계 화합물인 2-amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinoxaline(IQx)은 creatine을 강화한 가열조리된 육류 에멀젼으로부터 분리되었고, creatine 및 serine을 건식가열한 혼합물에서 확인되었다.

최근 trimethylated IQ 화합물[2-amino-3,4,7,8-tetramethylimidazo[4,5-f]quinoxaline(4,7,8-TriMeIQx)]이 threonine, alanine, creatinine 및 glucose의 가열된 혼합물에서부터 분리되었다.

Pyridines – 이환방향족아민계 변이원의 새로운 종류인 imidazopyridines은 불과 몇년 전에 확인되었다. 2-Amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine(PhIP)은 Felton등[5]에 의해 처음으로 갈아서 가열조리된 쇠고기의 껍질로부터 분리되었고, 이후 가열조리된 돼지고기, 구운 닭고기, 양고기, 조리된 생선(Table 1) 및 creatine을 첨가한 가열조리된 육류 제품에서 분리되었다. 최근 2-amino-1-methyl-6-(4-hydroxyphenyl)imidazo[4,5-b]pyridine(4-OH-PhIP)도 구운 쇠고기로부터 분리·동정되었다. 두 가지 다른 변이원성 화합물인 pyridines(2-amino-n,n,n-trimethylimidazopyridine(TMIP)과 2-amino-1,6-dimethylimidazopyridine(DMIP)은 가열조리된 육류 제품에서 확인되었으나 TMIP의 정확한 구조는 아직 밝혀지지 않았다.[6]

Furopyridines – 최근에 산소를 함유하는 methylimidazofuropyrine (MeIFP, MW 202)은 우유와 creatinine을 첨가하여 갈아서 가열조리한 쇠고기에서 분리되었으며,[7] 이 군에 속할 것으로 추정되는 새로운 이환방향족화합물계 변이원들이 계속 발견되고 있다.

이환방향족아민의 대사 및 독성

이환방향족아민들은 먼저 생체내에서 cytochrome P450에 의해 아미노기가 N-hydroxylation된 다음 아세틸화반응에 의해 아세틸화됨으로써 전자친화성 발암인자로 활성화된다. 이러한 전자친화성 중간대사산물이 유전자의 핵산에 비가역적으로 결합함으로써 암을 형성하는 것으로 알려져 있다.(Fig. 3)[26]

식품 변이원의 발암성 유무에 관한 대부분의 연구들은 일본에서 이루어졌는데, 이환방향족아민은 장기간 경구 투여

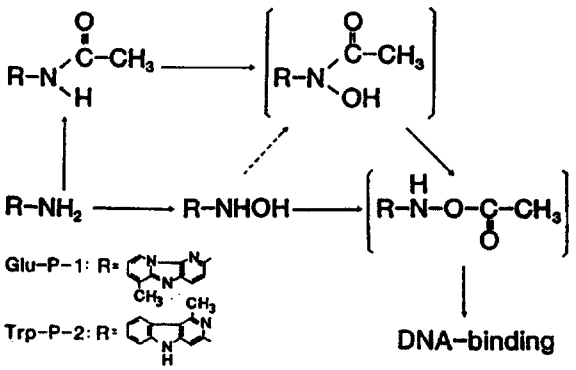

Fig. 3. Proposed pathway for metabolic activation of heterocyclic aromatic amines from protein pyrolysates in mammalian cell.[26]

Table 2. Carcinogenicity and target organs of heterocyclic amines in rats and mice

Substance	Species	Concn(%)	Target organs	TD_{50} (mg/kg/day)
IQ	Rats	0.03	Liver, small and large intestine, Zymbal gland, clitoral gland, skin	0.7
	Mice	0.03	Liver, forestomach, lung	14.7
MeIQ	Rats	0.03	Large intestine, Zymbal gland, skin, oral cavity, mammary gland	0.1
	Mice	0.04, 0.01	Liver, forestomach	8.4
MeIQx	Rats	0.04	Liver, Zymbal gland, clitoral gland, skin	0.7
	Mice	0.06	Liver, lung, hematopoietic system	11.0
PhIP	Rats	0.04	Large intestine, mammary gland	
	Mice	0.04	Lymphoid tissue	31.3
Trp-P-1	Rats	0.015	Liver	0.1
	Mice	0.02	Liver	8.8
Trp-P-2	Mice	0.02	Liver	2.7
Glu-P-1	Rats	0.05	Liver, small and large intestine, Zymbal gland, clitoral gland	0.8
	Mice	0.05	Liver, blood vessels	2.7
Glu-P-2	Rats	0.05	Liver, small and large intestine, Zymbal gland, clitoral gland	5.7
	Mice	0.05	Liver, blood vessels	4.9
AαC	Mice	0.08	Liver, bood vessels	15.8
MeAαC	Mice	0.08	Liver, blood vessels	5.8

시 생쥐(mouse), 쥐(rat), 원숭이의 여러 기관에서 암을 유발하는 것으로 알려졌다(Table 2).[10,20] Trp-P-1, Trp-P-2, Glu-P-1, Glu-P-2, MeAαC, AαC와 같은 아미노산 열 분해산물들은 1차적으로 생쥐의 간과 혈관에서 종양을 유발시키고 쥐의 창자에서도 종양이 유발되는 것으로 보인다. 열 변이원 IQ, MeIQ 또는 MeIQx를 식이로 주었을 때 생쥐들은 주로 간 뿐만 아니라 폐, 전위(forestomach)와 다른 기관들에서도 종양이 발생되었고, 쥐의 경우는 창자, 피부, 간과 다른 기관에서도 발생하였다. 최근에 IQ가 원숭이에서 간 종양을 유발시키는 것으로 입증되었다. PhIP는 생쥐에서 림프종, 쥐의 창자에서 종양을 생성시켰으며 쥐의 결장과 유선에서도 종양을 생성시켰다. PhIP는 가열조리된 육류 속에 가장 많은 식품 변이원이므로 PhIP의 발암성에 관심이 집중되고 있다.

동물실험으로부터 사람에 대한 이환방향족아민의 위해를 평가하기는 어렵다. 이는 1회 투여하는 분량이 사람의 식이에 포함된 함량보다 적어도 1,000배정도 더 높기 때문인데, 최근에는 IQ, PhIP 및 MeIQx를 신생 생쥐에게 주었을 때 다른 bioassay에서 사용했던 양보다 약 5~10,000배 적은 용량에서도 간 종양을 유발한다고 보고되었다.[27]

이환방향족아민생성에 미치는 영향 인자

조리 시간과 온도의 영향 – 조리 온도가 증가할수록 조리된 식품의 변이원성도 증가하는 것으로 보인다. 즉, 약 200°C까지는 쇠고기를 포함한 육류의 조리온도가 증가함에 따라 변이원성도 증가하며, 200~250°C의 온도 범위에서는 변이원성의 증가가 거의 없다가 온도가 300°C이상이 될 경우 변이원성이 급격하게 상승하는 것으로 나타났다.[28] Vahl 등[29]은 팬 온도를 200°C에서 250°C, 250°C에서 300°C로 각각 50°C씩 증가시키면서 돼지고기의 변이원성을 조사한 결과 두배씩 증가함을 관찰하였으며, Laser Reutersward 등[30]은 130°C에서 비프 스테이크(beef steak)의 양면을 각각 6분씩 가열조리한 후에도 변이원성이 검출되었다고 보고하였다. 조리온도와 관련된 여러 결과들을 종합해 볼 때, 변이원성은 낮은 온도에서 가열조리하면 감소되지만 변이원이 형성되지 않는 팬 온도는 분명하지 않다. 모델시스템에서 변이원성은 150~200°C의 온도와 관련이 있는 것으로 보이는데, glycine, creatine 및 glucose의 혼합물을 140°C로 15분간 가열했을 때 유의적인 변이원성이 검출되지 않았으나 160°C와 180°C에서는 변이원성이 관찰되었다.

큰 조각의 쇠고기를 115~245°C의 오븐 속에서 구웠을 때, 180°C까지는 변이원성이 검출되지 않았으며, 245°C에서 구운 고기의 껍질부분에서 약간의 변이원성이 나타났다. 그러나 팬 속에 남아있는 잔유물의 변이원성은 조리 온도가 증가함에 따라 증가했으며, 팬 속의 잔유물이 완전하게 식었을 때 매우 높은 값을 나타내었다.[31] 햄버거를 팬에서 가열조리한 후 총 변이원성의 23%가 팬 속에 남은 기름에서 발견되었으며, 잘게 썬 돼지고기를 200°C에서 5~25분간 튀겼을 때 팬 잔유물에 변이원성의 대부분이 함유되어 있었다.[32] 또한 220°C에서 쇠고기와 닭고기 다짐육의 양면을 각각 10분씩 가열조리하였을 때 팬 잔유물 속에 함유되어 있는 변이원성은 전체의 20~40%에 이르는 것으로 조사되었다. 이러한 결과들은 식품 변이원의 섭취량을 줄이기 위한 방법의 하나로 팬 잔유물을 버리는 것이 좋다는 것을 나타내어 준다.

조리시간과 관련해서 변이원성은 조리 시간이 10분 이상일 때 증가하는 것으로 보고되고 있으며, 온도 및 시간 변수간 비교에서는 온도가 변이원 형성에 더 중요한 요인인 것으로 보인다. 또한 가열조리시 유지를 사용할 경우, 열전도가 효과적으로 이루어져 돼지고기의 조리 시간을 15분에서 8분(같은 중심온도에 이르는 시간)으로 줄일 수 있어 껍질의 변이원성을 감소시킬 수 있다.[33]

조리 방법에 관한 연구들에서 contact frying, deep-fat frying 및 broiling은 roasting, stewing 및 전자레인지 요리와 같은 다른 조리 방법들보다 더 높은 변이원성 함량을 나타낸다.[28] 일반적으로 가정에서의 frying과 broiling은 150~200°C에서 5~15분, 오븐에서 굽는(roasting) 것은 125~200°C에서 30~60분, 약한 불로 끓이기(stewing)와 전자레인지 요리는 100~150°C의 온도에서 이루어진다. 그러나 문헌에서 인용한 대부분의 frying과 broiling 실험은 200°C 또는 그 이상의 온도에서 이루어졌다.

Creatine – Bjeldanes 등[34]은 변이원성이 쇠고기, 돼지고기, 양고기, 닭고기, 생선을 일반적인 조리 온도로 조리했을 때 생성되었으나 치즈, 두부, 콩, 새우 등 단백질이 풍부한 식품과 내기관 조직의 경우에는 그 변이원성은 미약한 것으로 보고하였다. 후자에 속하는 식품의 특징은 근육이 없는 식품이라는 것이고, creatine이 거의 없다는 점이다. 쇠고기를 팬에서 가열조리하기 전 표면 위에 creatine 용액을 바르면 변이원성이 증가하였으며, 새우도 가열하기 전 creatine을 첨가했을 때 변이원성이 검출되었다.[35]

Creatine은 조리하는 동안 creatinine으로 전환되는데, 가열조리시 껍질부분과 팬 잔유물 속의 creatinine은 온도가 증가할수록 증가하는 것으로 나타났다. Glucose나 lactose같은 당을 패티에 첨가하면 creatinine의 형성량 및 변이원성이 감소되었고, 모델시스템에서 creatine과 glycine 몰함량보다 glucose를 더 첨가하거나 creatine과 같은 몰 함량으로 hydroxymethylfurfural(HMF)과 같은 Maillard 반응 부산물을 첨가할 경우, creatine 및 creatinine의 회수율과 변이원

성은 확연하게 감소하는 것으로 조사되었다.[36] 이러한 결과들은 변이원성의 형성에 있어서 creatine의 중요성을 나타내어 주며, 최근 방사선 동위 원소를 표지한 creatine을 사용한 실험에서 creatine이 PhIP 분자의 한 부분을 형성한다는 것이 증명되었다.[37]

아미노산과 dipeptides – 변이원성은 단백질이 풍부한 식품에서 먼저 보고되었으나 아미노산 대신 단백질을 모델시스템에서 환류시켰을 때는 변이원성이 검출되지 않은 반면, 쇠고기 추출물을 끓이기 전 효소에 의해 단백질을 가수분해시켰을 때 변이원성이 증가하였다.[38] 이들 결과는 변이원 형성에 아미노산이 관여하고 단백질은 관여하지 않는다는 것을 나타내어 주므로 육류 속의 단백질 함량과 유리 아미노산 함량을 구별하는 것이 중요하다고 볼 수 있다.

변이원성의 강도는 아미노산의 종류에 따라 달라지는데, Jagerstad 등은 threonine은 아미노산 중 가장 높은 변이원성을 나타내며 다음이 glycine과 lysine이라 하였으며, Overvik 등은 threonine과 serine이 비교적 높은 변이원성을 나타낸다고 하였다. 모델반응에서 단일 아미노산으로부터 몇 가지 식품 변이원들이 생성될 수 있으며, MeIQx와 4,8-DiMeIQx와 같은 많은 식품 변이원들은 수종 아미노산으로부터 생성될 수 있다. 한 예로 13C-labelled phenylalanine 사용에 의해 phenylalanine이 PhIP의 전구체라는 것이 증명되었다.[37]

육류에는 dipeptide carnosine(β-alanine+histidine)이 풍부한데, creatinine, glucose와 carnosine 또는 β-alanine을 환류시키면(128℃, 2시간) 다른 많은 아미노산과 비슷한 변이원성이 생성된다. 따라서 아미노산 뿐만 아니라 dipeptide도 변이원성을 나타내게 하는데 기여하는 것으로 보인다.[39]

식품 변이원의 형성은 tryptophane을 육류 소스에 첨가하거나 가열조리하기 전에 육류의 표면에 묻혔을 때 감소되는 것으로 나타났다. 모델시스템에서도 tryptophan과 proline은 억제 효과를 나타내었는데, 이는 tryptophan이 변이원을 형성하는 반응성 중간물에 대해 creatinine과 경쟁하기 때문인 것으로 추측되고 있다.[40] 그러나 tryptophan을 가열하기 전에 쇠고기 스프에 첨가하거나 proline을 가열조리하는 동안 쇠고기 다짐육에 첨가하면 변이원 형성에 대해 상승 효과를 나타낸다는 상반된 결과도 보고되고 있다.[41]

당 – 변이원의 형성에서 당 및 Maillard 반응의 역할은 현재까지 분명하지 않다. 전구체인 creatin(in)e, 아미노산 및 여러 가지 당을 사용한 모델시스템에서는 당이 변이원 형성에 영향을 미치는 것으로 나타났다.[36] 변이원성은 여러 가지 아미노산, creatine 및 glucose를 함유하는 액상의 모델시스템에서 130℃로 가열하는 경우가 동 아미노산과 creatine을 200℃에서 건식 가열한 것 보다 더 높았다. 비록 많은 변이원이 당이 없는 건식 가열 반응에서 동정되었지만, glucose를 첨가하게 되면 변이원 형성에 확실한 영향을 주어 생성되는 변이원의 상대적인 양이 변하고 수율이 높아지는 것으로 나타났다. 일례로 phenylalanine과 creatine을 180℃에서 10분 동안 가열했을 때 PhIP가 유일한 변이원으로서 검출되었으나, glucose와 같이 가열했을 때는 PhIP의 함량이 3배 증가했으며 MeIQx와 4,8-DiMeIQx 같은 다른 변이원성 화합물들이 형성되었다. 또한 glucose는 phenylalanine과 creatine을 건식 가열한 후 생성되는 IQ와 PhIP의 상대적인 함량을 변화시키는 것으로 나타났다.[33]

모델시스템이 아닌 육 시스템에서도 glucose는 변이원성 형성에 필요하다는 것이 증명되었다.[14] 즉, glucose가 적은 쇠고기 패티를 가열조리하면 매우 낮은 변이원성이 껍질에서 검출되며, Maillard 반응의 결과로서 형성되는 갈색의 형성이나 육류 향도 적은 것으로 관찰되었다. 그러나 가열조리하기 전에 적은 양의 glucose를 첨가하면 변이원성이 2배 또는 3배로 증가하였다. Glucose를 비롯한 여러 당들의 함량 변화에 따른 영향을 creatin(in)e 및 glycine으로 이루어진 모델실험에서 연구한 결과에서도 당이 없는 경우 변이원성은 검출되지 않았다. 단당류 또는 이당류가 creatine이나 아미노산 함량의 반정도에 달하는 몰농도로 존재할 때가 변이원성이 검출되는 최적조건인 것으로 조사되었다. 흥미로운 사실은 변이원 생성을 위한 최적 몰비는 쇠고기 속의 creatine, 단당류 및 아미노산의 본래의 비율과 비슷하다는 점이다.

당이 촉매로 작용하는지 또는 당의 탄소 원자가 변이원성 화합물에 유입되는지를 살펴보기 위해 적은 양(<1%)의 [U-14C]-labelled glucose를 glucose, glycine 및 creatine의 혼합액에 첨가한 결과, 변이원성 및 방사능을 나타내는 한 분획이 검출되었다. 이 화합물은 MeIQx로 동정되었으며, glucose의 탄소 원자가 MeIQx 분자 속에 유입된 것으로 나타났다. 또한 적은 양의 [U-14C]-labelled glucose(<1%)를 threonine, creatine 및 glucose를 함유하는 혼합물에 첨가, 가열한 후 IQx, MeIQx 및 4,8-DiMeIQx 등의 방사능을 보이는 변이원들이 동정되었다.[33] 이와 같이 식품 변이원 분자 속에 glucose가 유입된다는 것은 Maillard 반응 경로가 적어도 IQ계 화합물 형성에 중요한 반응 경로라는 것을 시사해 준다고 볼 수 있겠다.

당과 다른 탄수화물의 억제 효과 – 모델 반응에서 당의 농도를 증가시키면 변이원의 형성은 감소되는 것으로 보인다.[36] 저해효과에 대한 메카니즘은 밝혀지지 않았으나 glucose의 함량이 증가하면 creatine과 creatinine의 회수율은 감소한다. 이러한 감소는 아미노산이 반응물속에 존재할 때만 관찰되는 것으로 보아 몇가지의 Maillard 반응 산물과

의 간섭작용을 하는 것으로 추측되고 있다. 일례로 Maillard 반응 산물 중 하나인 HMF는 creatine 회수율 및 변이원성의 형성을 감소시킨다.

가열조리한 쇠고기 패티 껍질의 변이원성은 첨가한 탄수화물의 양에 의존적인 것으로 나타났는데, glucose, 고순도 lactose 또는 우유 분말로부터 얻어진 lactose를 4%이상 사용할 경우 40~70%로 감소하였다.[42] 또한 변이원성은 glucose나 lactose를 빵가루와 같이 사용할 경우 뚜렷한 억제 효과를 나타내며, 가열조리하기 전에 감자 전분과 glucose를 패티에 섞어주면 감소하였다. 이러한 억제 효과는 변이원 형성 반응과 경쟁하는 Maillard 반응 부산물에 의한 결과라고 할 수 있다.

Fat – 제품에 함유된 지방도 변이원성에 약간의 영향을 미친다. 비록 지방의 물리적 영향과 화학적 영향을 구별하기는 어렵다 할지라도 지방 함유량이 서로 다른 쇠고기 패티를 가열조리하였을 때 8%의 지방을 함유한 패티는 가장 적은 변이원성을, 15%의 지방을 함유한 패티는 가장 높은 변이원성을 보였으나 30%의 지방을 함유한 패티는 변이원성이 조금 감소되었다.[43] 지방 함량이 높은 패티에서 변이원성이 감소되는 것은 육류의 지방에 의해 변이원성 전구체들이 희석되는 결과 때문인 것으로 추측되고 있다. 지방 함량이 다른(2.8~16.6%) 큰 덩어리 고기를 같은 표면 온도에 이르도록 오븐에서 구웠을 때, 지방 함량이 가장 높은 (16.6%) 고기가 가장 낮은 정도의 변이원성을 보였다.[44] 이것은 물과 비교하여 지방이 더 효과적인 열 전도체이기 때문으로 설명할 수 있으며, 조리 시간이 더 짧아지게 하려면 지방의 함량을 증가시켜야 할 것이다.

종류가 다른 튀김유를 사용하여 200°C에서 10.5분 또는 180°C에서 8분 동안 가열조리한 돼지고기에서는 변이원성의 차이가 나타나지 않았으나, 올리브유, 버터 및 마아가린에 가열조리한 양고기에서는 버터에 조리한 경우 가장 높은 변이원성이 검출되었다.[45]

기타 억제제 – 어떤 화합물들은 변이원 형성에 억제 효과를 나타내는데, 항산화제 BHA는 변이원성의 형성을 억제하는 것으로 조사되었다. 항산화제나 농축 대두 단백을 첨가할 경우 잘게 썰어 가열조리한 육류 껍질의 변이원성이 감소하였는데, 농축 대두 단백의 억제 효과는 물과 결합하는 능력 때문이라고 추측되고 있다.[46] 항변이원성을 나타내는 conjugated linoleic acid(CLA)가 가열조리한 쇠고기와 유제품에서 동정되었다.[47] 영국에서 소세지의 방부제로 사용하고 있는 Maillard 반응 억제제인 sulphur dioxide는 가열조리된 소시지에서 변이원성을 감소시킨다고 보고되었다.[48] 최근 연구에 따르면 많은 식용 식물의 이차대사산물인 flavone의 첨가로 glycine, creatine 및 glucose를 함유한 액상의 모델시스템에서 IQ계 화합물의 형성을 억제시킬 수 있다고 한다.[49]

HAA의 규제 및 위해성 평가

이환방향족아민의 일일 섭취량은 일본의 경우 평균 약 0.4~16 μg/일/1인, 독일의 경우 0.8~8.4 μg/일/1인으로 조사되었으며, 열 변이원의 일일 섭취량은 잘 익힌 고기 1인분에 대해 5~10 μg의 범위로 조사된 섭취량은 비교적 적다고 볼 수 있다.[50] 그러나 변이원들을 동시에 소비할 경우 발생될 수 있는 복합효과는 아직 알려지지 않았다. 발암성 시험에서 여러 종류의 발암성 이환방향족아민을 동시에 투여하면 각각을 투여한 경우보다 1/5~1/20 정도의 양에서도 암이 발생되는 것으로 보아[11] 단순한 상승효과보다 더 클 수도 있을 것이다.

1986~1988년에 스웨덴에서 이루어진 case-control 조사에서 직장암의 위험률은 가열한 육류, 그래비(gravy) 소스의 빈번한 섭취와 심하게 갈색화된 육류 표면을 선호하는 것과 관련성이 높은 것으로 나타났다.[51] 또 다른 직장암의 case-control 조사에서 육류의 조리 정도가 중요한 변수로 발견되었는데, 같은 방법으로 조리한 잘 익힌 육류는 덜 익힌 육류보다 10배 이상의 변이원을 함유하며 잘 익힌 육류를 소비하는 것에 대해 3.5의 상대위험율이 제시되었다.[52] 췌장암과 몇몇 식이 인자와의 관계를 조사한 연구에서도 직·간접 가열조리된 육류, 육즙 및 그래비소스를 많이 소비할수록 위험율이 증가하였고, 가열조리된 식품 특히 육류는 뇨상피암(urothelial cancer)과 관련성이 높은 것으로 나타났다.[53]

이상의 결과를 살펴볼 때, 가열조리된 고기의 소비가 대장암을 포함한 다른 암들의 상대적 위험률을 높이며 이는 조리·가공중 생성된 이환방향족아민과 관련성이 있을 것이다. 개인의 식이가 암에 걸릴 위험률에 기여하는 중요한 인자라는 것은 잘 알려져 있는 사실이기 때문에 식습관과 생활 양식을 적절하게 변화시킴에 의해 위험률을 경감시킬 수 있을 것이다. 사람의 건강에 대한 식품 변이원의 위해가 더 알려질 때까지 가능한 식품변이원에 노출되는 정도를 감소시켜야 할 것이다.

국문요약

일상적으로 먹는 생선류, 육류 가공품들은 전형적인 방법으로 가열 · 조리하면 변이원성(mutagenic activity)이 나타난다. 식품의 제조 방법들은 변이원성의 생성에 뚜렷한 영향을 미치는데, 조리된 육류 제품들에서 발견되는 주요 식품 변이원들은 이환방향족아민(heterocyclic amines)들로 알려져 있다. 이중 몇 가지는 장기간의 동물실험 결과, 설치동물에서 발암성이 관찰되었으며, 사람에 있어서도 여러 암의 발병과 관련성이 높다는 증거들이 제시되고 있다. 모델 실험에서 몇가지 열(thermic) 변이원을 동정한 결과 creatine, creatinine, 아미노산 및 당 등 식품에 존재하는 성분들이 열 변이원 생성의 전구체인 것으로 나타났다. 건강상 관점에서 보면 이를 감소시키거나 식품 변이원의 생성을 막는 것이 바람직하므로 일반 가정에서 조리하는 동안 변이원이 형성되는 반응조건 및 전구체들에 대한 깊은 이해가 필요하다고 하겠다. 육류, 생선을 포함한 고단백 식품을 생산하는 식품업체에서도 가공설비의 최적조건 설정시 품질적인 측면 뿐만 아니라 이환방향족아민의 안전성이 같이 고려되어야 할 것이다. 그러나 우리 나라에서는 이환방향족아민에 대한 인식이 부족하고, 노출량 및 위해도 평가작업이 거의 이루어지고 있지 않아 국민보건향상 측면에서 이에 대한 연구가 시급하다고 본다.

참고문헌

1. Sugimura, T., Kawachi, T., Nagao, M., Yahagi, T., Seino, Y., Okamoto, T., Shudo, K., Kosuge, T., Tsujik, K., Wakabayashi, K., Jitaka, Y. and Itai, A.: Mutagenic principle(s) in tryptophan and phenylalanine pyrolysis products. *Proceedings of the Japan Academy*, **53**, 58-61 (1977).
2. Nagao, M., Honda, M., Seino, Y., Yahagi, T. and Sugimura, T.: Mutagenicities of smoke condensates and the charred surface of fish and meat. *Cancer Lett.*, **2**, 221-226 (1977).
3. Commoner, B., Vithayathil, A.J., Dolara, P., Nair, S., Madyastha, P. and Cuca, G.C.: Formation of mutagens in beef and beef extract during cooking. *Science*, **201**, 913-916 (1978).
4. Yamamoto, T., Tsuji, K., Kosuge, T., Okamoto, T., Shudo, K., Takeda, Y., Iitaka, Y., Yamaguchi, K., Seino, Y., Yahagi, T., Nagao, M. and Sugimura, T.: Isolation and structure determination of mutagenic substances in L-glutamic acid pyrolysate. *Proceedings of the Japan Academy*, **54B**, 248-250 (1978).
5. Felton, J.S., Knize, M.G., Shen, N.H., Lewis, P.R., Andresen, B.D., Happe, J. and Hatch, F.T.: The isolation and identification of a new mutagen from fried ground beef: 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]-pyridine(PhIP). *Carcinogenesis*, **7**, 1081-1086 (1986).
6. Becher, G., Knize, M.G., Nes, I.F. and Felton, J.S.: Isolation and identification of mutagens from a freid Norwegian meat product. *Carcinogenesis*, **9**, 247-253 (1988).
7. Knize, M.G., Roper, M., Shen, N.H. and Felton, J.S.: Proposed structure for an amino-dimethylimidazofuro-pyridine mutagen in cooked meats. *Carcinogenesis*, **11**, 2259-2262 (1990).
8. Knize, M.G., Hopmans, E. and Happe, J.A.: The identification of a new heterocyclic amine mutagen from a heated mixture of creatine, glutamic acid and glucose. *Mutat. Res.*, **260**, 313-319 (1991).
9. Felton, J.S. and Knize, M.G.: Occurrence, identification, and bacterial mutagenicity of heterocyclic amines in cooked foods. *Mutat. Res.*, **259**, 205-217 (1991).
10. Sugimura, T. and Wakabayashi, K.: Mutagens and carcinogens in food. In Mutagens and Carcinogens in the Diet. (Pariza, M.W., Felton, J.S., Aeschbacher, H.U. and Sato, S. eds.) Wiley-Liss, New York, pp. 1-18 (1990).
11. Wakabayashi, K. Ushiyama, H. Takahashi, M. Nukaya, H., Kim, S.B., Hirose, M., Sugimura, T. and Nagao, M.: Exposure to heterocyclic amines. *Environ. Health Perspect.*, **99**, 129-133 (1993).
12. Ushiyama, H., Wakabayashi, K., Hirose, M., Itoh, H., Sugimura, T. and Nagao, M.: Presence of carcinogenic heterocyclic amines in urine of health volunteer eating normal diet, but not of inpatients receiving parenteral alimentation. *Carcinogenesis*, **12**, 1417-1422 (1991).
13. Jagerstad, M., Laser Reutersward, A., Olsson, R., Grivas, S., Nyhammar, T., Olsson, K. and Dahlqvist, A.: Creatin(in)e and Maillard reaction products as precursors of mutagenic compounds: effects of various amino acids. *Food Chem.*, **12**, 255-264 (1983).
14. Jagerstad, M., Laser Reutersward, A., Oste R., Dahlqvist, A., Grivas, S., Olsson, K. and Nyhammar, T.: Creatine and Maillard reaction products as precursors of mutagenic compounds formed in fried beef. In The Maillard Reaction in Foods and Nutrition ACS Symposium

Series 215. (Waller, G.R. and Feather, M.S. eds.) American Chemical Society, Washington, DC. pp. 507-519 (1983).

15. Jagerstad, M., Olsson, K., Grivas, S., Negishi, C., Wakabayashi, K., Tsuda, M., Sato, S. and Sugimura, T.: Formation of 2-amino-3,8-dimethylimidazo[4,5-f]-quinoxaline in a model system by heating creatinine, glycine and glucose. *Mutat. Res.*, **126**, 239-244 (1984).
16. vNyhammar, T.: Studies on the Maillard reaction and its role in the formation of food mutagens. Doctoral Thesis, Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala, Sweden. ISBN 91-576-2658-8.(1986).
17. Jones, R.C. and Weisburger, H.H.: Characterization of aminoalkylimidazol-4-one mutagens from liquid-reflux models. *Mutat. Res.*, **222**, 43-51 (1989).
18. Hatch, F.T., Felton, J.S. and Knize, M.G.: Mutagens formed in foods during cooking. ICI Atlas of Science: Pharmacol., 222-228 (1988).
19. Tsuda, M., Negishi, C., Makino, R., Sato, S., Yamaizumi, Z., Hirayama, T. and Sugimura, T.: Use of nitrite and hypochlorite treatments in the determination of the contributions of IQ-type and non-IQ-type heterocyclic amines to the mutagenicities in crude pyrolyzed materials. *Mutat. Res.*, **147**, 335-341 (1985).
20. Wakabayashi, K., Nagao, M., Esumi, H. and Sugimura, T.: Food-derived mutagens and carcinogens. *Cancer Res.*, **52**(Suppl.), 2092s-2098s (1992).
21. Sugimura, T., Sato, S. and Wakabayashi, K.: Mutagens/carcinogens in pyrolysates of amino acids and proteins and in cooked foods: heterocyclic aromatic amines. In Chemical Induction of Cancer, Structural Basis and Biological Mechanism, (Woo, V.T., Lai, D.V., Arcos, J.C. and Argus, M.F. eds.) Academic Press, New York, pp. 681-710 (1988).
22. Sugimura, T., Nagao, M., Kawachi, T., Honda, M., Yahagi, T., Seino, Y., Matsukura, N., Matsushima, T., Shirai, A., Sawamura, M. and Matsumoto, H.: Mutagen-carcinogens in food, with special reference to highly mutagenic pyrolytic products in broiled foods. In Origins of Human Cancer, (Hiatt, H.H., Watson, J.D. and Winsten, J.A. eds.) Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, pp. 1561-1577 (1977).
23. Kasai, H., Yamaizumi, Z., Wakabayashi, K., Nagao, M., Sugimura, T., Wakabayashi, K., Yokoyama, S., Miyazawa, T., Spingarn, N.E., Weisburger, J.H. and Nishimura, S.: Potent novel mutagens produced by broiling fish under normal conditions. *Proceedings of the Japan Academy* **56**(B), 278-283 (1980).
24. Kasai, H., Yamaizumi, Z., Wakabayashi, K., Nagao, M., Sugimura, T., Yokoyama, S., Miyazawa, T. and Nishimura, S.: Structure and chemical synthesis of MeIQ, a potent mutagen isolated from broiled fish. *Chem. Lett.*, **11**, 1391-1394 (1980).
25. Kasai, H., Yamaizumi, Z., Shiomi, T., Yokoyama, S., Miyazawa, T., Wakabayashi, K., Nagao, M., Sugimura, T. and Nishimura, S.: Structure of a potent mutagen isolated from fried beef. *Chem. Lett.*, **4**, 485-488 (1981).
26. Kato, R.: Metabolic activation of mutagenic heterocyclic aromatic amines from protein pyrolysates. *CRC Critical Reviews in Toxicology.* **16**, 307-348 (1986).
27. Dooley, K.L., Von Tungeln, L.S., Bucci, T., Fu, P.P. and Kadlubar, F.F.: Comparative carcinogenicity of 4-aminobiphenyl and the food pyrolysates, Glu-P-1, IQ, PhIP, and MeIQx in the neonatal B6C3F1 male mice. *Cancer Lett.*, **62**, 205-209 (1992).
28. 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. Agric. Food Chem.*, **31**, 18-21 (1983).
29. Vahl, M., Gry, J. and Nielsen, P.A.: Mutagens in fried pork and the influence of the frying temperature. (Abstract). *Mutat. Res.*, **203**, 239 (1988).
30. Laser Reutersward, A., Agerhem, H., Skog, K., Jagerstad, M., Lidstrom, A. and Sundemar, A.: The relationship between mutagenic activity and flavour development in fried beef steak. *Var Foda*, **42**, suppl. 2, 65-70 (1989).
31. Overvik, E., Nilsson, L., Fredholm, L., Levin, O., Nord, C.E. and Gustavsson, J.Å.: Mutagenicity of pan residues and gravy from fried meat. *Mutat. Res.*, **187**, 47-53 (1987).
32. Berg, I., Overvik, E. and Gustavsson, J.-Å.: Effect of cooking time on mutagen formation in smoke, crust and pan residue from pan-broiled pork. *Fd. Chem. Toxic.*, **28**, 421-426 (1990).
33. Skog, K.: Cooking procedures and food mutagens: A literature review. *Fd Chem. Toxic.* **31**, 655-675 (1993).
34. Bjeldanes, L.F., Morris, M.M., Felton, J.S., Healy, S., Stuermer, D., Berry, P., Timourian, H. and Hatch, F.T.: Mutagens from the cooking of food. II. Survey by Ames/Salmonella test of mutagen formation in the major protein-rich foods of the American diet. *Fd Chem. Toxic.*, **20**, 357-363 (1982).
35. Miller, A.J.: Precursor effects on imidazoquinoline-type mutagen formation in heated model and muscle systems. (Abstract) In Genetic Toxicology of the Diet, (Knudsen. I., Ed.) Alan R. Liss, New York, p. 330 (1985).
36. Skog, K. and Jagerstad, M.: Effects of monosaccharides and disaccharides on the formation of food

mutagens in model systems. *Mutat. Res.*, **25**, 263-272 (1990).
37. Felton, J.S. and Knize, M.G.: Mutagen formation in muscle meats and model heating systems. In Mutagens in Food: Detection and Prevention, (Hayatsu, H., ed.) CRC Press, Boca Raton, FL., pp. 57-66 (1991).
38. Taylor R.F., Shore V. and Fultz E.: Mutagen formation in a model beef boiling system. II. Effects of proteolysis and comparison of soluble fractions from several protein sources. *J. Environ. Sci. Health*, **A19**, 819-845 (1984).
39. Laser Reutersward A., Skog K. and Jagerstad M.: Mutagenicity of pan-fried bovine tissues in relation to their content of creatine, creatinine, monosaccharides and free amino acids. *Fd. Chem. Toxic.*, **25**, 755-762 (1987b).
40. Jones R.C. and Weisburger J.H.: L-Tryptophan inhibits formation of mutagens during cooking of meat and in laboratory models. *Mutat. Res.*, **206**, 343-349 (1988a).
41. Ashoor S., Dietrich R., Chu F. and Pariza M.: Proline enhances mutagen formation in ground beef during frying. *Life Sciences* **26**, 1801-1805 (1980).
42. Skog K. and Jagerstad M. and Laser Reutersward A.: Inhibition effects of carbohydrates on the formation of food mutagens in fried beef patties. *Fd. Chem. Toxic.*, **30**, 681-688 (1992b).
43. Knize M.G., Andresen B.D., Healy S.K., Shen N.H., Lewis P.R., Bjeldanes L.F., Hatch F.T. and Felton J.S.: Effects of temperature, patty thickness and fat content on the production of mutagens in fried ground beef. *Fd. Chem. Toxic.*, **23**, 1035-1040 (1985).
44. Holtz E., Skjoldebrand C., Jagerstad M., Laser Reutersward A. and Isberg P.E.: Effects of recipes on crust formation and mutagenicity in meat products during baking. *J. Food. Tech.*, **20**, 57-66 (1985).
45. Nilsson L, Overvik E., Fredholm L., Levin O., Nord C.E. and Gustavsson J.Å.: Influence of frying fat on mutagenic activity in lean pork meat. *Mutat. Res.*, **171**, 115-122 (1986).
46. Wang Y.Y., Vuolo L.L., Spingarn N.E. and Weisburger J.H.: Formation of mutagens in cooked foods. V. The mutagen reducing effect of soy protein concentrates and antioxidants during frying of beef. *Cancer Lett.*, **16**, 179-189 (1982).
47. Ha Y.L., Grimm N.K. and Pariza M.W.: Anticarcinogens from fried ground beef: heat-altered derivates of linoleic acid. *Carcinogenesis* **8**, 1881-1887 (1987).
48. Abu-Shakra A., Ioannides C. and Walker R.: Comparative mutagenicity studies on fried minced beef, grilled sausage and grilled hamburgers. *J. Sci. Food. Agric.*, **42**, 343-354 (1988).
49. Lee H., Jiaan C.Y. and Tsai S.J.: Flavone inhibits mutagen formation during heating in a glycine/creatine/glucose model system. *Food. Chem.*, **45**, 235-238 (1992).
50. Eisenbrand G. and Tang W.: Food-borne heterocyclic amines. Chemistry, formation, occurrence and biological activities. A literature review. *Toxicol.*, **84,** 1-82 (1993).
51. Gerhardsson de Verdier M., Hagman U., Peters R., Steineck G. and Overvik E.: Meat, cooking methods and colorectal cancer: a case referent study in Stockholm. Inter. *J. Cancer* **49**, 520-525 (1991).
52. Schiffman M.H. and Felton J.S.: Freid foods and the risk of colon cancer. (Letter to the Editor). *Am. J. Epidem.*, **131**, 376-378 (1990).
53. Norell S.E., Ahlbom A., Erwald R., Jacobson G., Lindberg-Navier I., Olin R., Tornberg B. and Wiechel K.L.: Diet and pancreatic cancer: a case-control study. *Am. J. Epidem.*, **131**, 376-378 (1986).