

## 고구마효소 갈변반응생성물의 항돌연변이효과

박귀근\* · 함승시

강원대학교 식품공학과

## Antimutagenic Effects of Sweet Potato Enzymatic Browning Reaction Products

Park, Gwi-Gun\* and Seung-Shi Ham

Department of Food Science and Technology,  
Kangweon National University, Chuncheon 200-701, Korea

**Abstract** — In order to investigate the antimutagenicity of the sweet potato enzymatic browning reaction products (SPEBRP) were studied the DNA breaking action, spore rec assay and Ames test. In the DNA breaking action of reaction mixture of SPEBRP and polyphenol compounds with an agarose horizontal electrophoresis, catechol (CAT)-SPEBRP and hydroxyhydroquinone (HHQ)-SPEBRP inhibited DNA breaking effect in the presence of  $\text{Fe}^{2+}$ . In the spore rec assay using *Bacillus subtilis* H17(rec $^+$ ) and M45(rec $^-$ ), 3,4-dihydroxytoluene (DHT)-SPEBRP showed strong antimutagenic effects on MNNG. In the Ames test using *Salmonella typhimurium* TA 98 and TA 100, pyrogallol(PYR)-, 3,4-dihydroxytoluene (DHT)- and hydroxyhydroquinone (HHQ)-SPEBRPs suppressed about 67%, 71% and 63% in the mutagenesis induced by Benzo(a)Pyrene(B(a)P).

최근 식품성분들의 상호작용에 의해 생성되는 반응생성물에 대한 돌연변이원성 및 항돌연변이원성에 관한 연구가 활발히 진행되고 있다(1-4). 특히 당과 아미노산의 반응에 의해 생성되는 amino-carbonyl 반응생성물인 비효소적 갈변반응생성물의 생리작용에 관한 연구에서 항돌연변이효과가 있다는 연구결과(5)에 따라 식품 중에 널리 함유되어 있는 polyphenol 화합물과의 반응에 의해 생성되는 효소적 갈변반응 생성물들의 생리작용에 관한 연구가 중요시되고 있다. 현재까지의 연구결과 과일, 채소류의 효소에 의해 일어나는 효소적 갈변반응 생성물들이 B(a)P, Trp-P-1, 2-AF, MNNG, 4NQO 등과 같은 강력한 발암물질의 활성을 억제시킨다는 보고(6-9)에 따라 일상식품의 조리, 가공중에 널리 생성되는 미지의 효소적 갈변반응 생성물에 대해 구체적인 변이원성 또는 발암물질의 억제효과를 규명하는 것은 대단히 중요하다.

**Key words:** Sweet potato, antimutagenic effect, Ames test

\*Corresponding author

따라서 본 연구에서는 여러가지 식품 가운데에서 고구마의 조리가공중에 생성되는 효소적 갈변반응생성물들이 생체내에서 어떤 생리작용을 나타내는지에 대한 연구가 필요하다고 사료되어 이를 규명하기 위하여 1차적으로 미생물을 이용한 *in vitro* 실험을 실시하여 발암물질의 활성억제효과를 규명하고자 한다.

## 재료 및 방법

### 재료

강원도내에서 생산되고 있는 고구마류중에서 천미 품종을 선정하여 천미로부터 효소를 추출한 다음 pyrogallol, 3,4-dihydroxytoluene, catechol, hydroxyhydroquinone 4종류의 poly phenol류와 반응시켜 얻어지는 효소적 갈변반응생성물에 대하여 돌연변이원성 유무를 확인한 다음 몇가지 발암물질을 이용한 항돌연변이원성 실험을 동시에 실시하여 이들 갈변물질들의 발암물질 활성억제효과를 밝혔다.

### 효소표품, 효소액, 갈변반응 생성물의 조제

효소표품과 효소액의 조제는 오모무라(10) 등의 방법에 따라서 조제하였으며, 고구마를 잘 씻은 다음 소편으로 세절하여 미리 냉장해둔 acetone 용액에 침지하고 waring blender로 마쇄하여 여과장치로 흡입여과하였다. 잔사를 다시 acetone으로 처리하는 조작을 5회 반복하여 얻어진 백색의 분말을 desiccator내에서 감압건조한 후  $-20^{\circ}\text{C}$  냉동실에 보존하면서 실험에 사용하였다.

효소액의 조제는 냉동 보존된 acetone powder 1g을 McIlvaine buffer(pH 6.0) 80 ml로 마쇄하여 흡입여과한 후 여액을  $4^{\circ}\text{C}$ , 10,000 rpm에서 30분간 원심분리하고 그 상등액을 취해  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 를 첨가하여 80%로 포화시킨 후 다시 원심분리하여 효소침전을 얻었으며 이 침전을 다시 phosphate buffer(pH 6.2)로 용해시킨 다음 동일한 완충용액으로  $4^{\circ}\text{C}$ 에서 48시간 투석하여 효소액으로 사용하였다.

갈변물질을 조제하기 위해서 사용된 기질로서는 catechol, pyrogallol, 3,4-dihydroxytoluene, hydroxyhydroquinone의  $10^{-2}\text{ M}$  용액을 조제하여 반응은 기질용액 100 ml당 효소액 5 ml의 비율로 혼합한 후  $30^{\circ}\text{C}$ 에서 7일간 충분히 진탕하면서 반응시킨 후, 갈변반응액을 dialysis tube를 사용하여 중류수중에 투석시킨 후 gum arabic 분말을 가해 탈수 후 동결건조하여 실험에 사용하였다. 또한 갈변반응 생성물의 농도는 10 mg/ml되게 DMSO에 용해하여 사용하였다.

### DNA 절단작용 실험

DNA 용액은 Ham(8, 11, 12) 등의 방법에 따라 calf-thymus DNA를 25 mM  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ -12.5 mM  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  buffer solution(pH 6.6)에 mg/ml의 농도로 용해하여 사용하였다. 4종류의 갈변반응 생성물 자체의 DNA 절단실험은 시료 20  $\mu\text{l}$ 와 DNA 용액 20  $\mu\text{l}$ 로 혼합액을 만들었으며 금속이온들이 DNA 절단에 미치는 영향을 알아보기 위하여  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ 의 금속이온용액을 각 농도별 20  $\mu\text{l}$ 을 혼합하였고 대조로서 중류수를 사용하였다. 각 혼합물들은  $37^{\circ}\text{C}$ 의 항온기에서 3시간 반응시켰으며 반응종료 후 즉시 10 mM EDTA 10  $\mu\text{l}$ 씩을 각 반응액에 첨가하여 반응을 중지시킨 후 0.7% agarose를 2.5 mM EDTA, 18 mM NaCl 및 0.5  $\mu\text{g}/\text{ml}$  ethidium bromide를 함유하는 40 mM Tris-acetate buffer solution(pH 8.6)에 용해하여 agarose gel plate를 조제하였다. Gel이 고화된 후 반응혼합물 50  $\mu\text{l}$ 과 DNA fragment의 이동성 marker인 0.05%

bromophenol blue 용액(BPB) 10  $\mu\text{l}$ 를 평면 gel상에 loading하여 DNA의 유동성을 전기영동분석하였다. 전기영동에서 전류는 10 mA, 40 V로 조정하여 9시간 전개시켰으며 반응중에 생성한 DNA-ethidium bromide complex를 장파장의 UV lamp 조사하에 확인하고 red filter를 이용하여 photographing하였다.

### Spore rec assay에 의한 항변이원성 실험

Kada의 방법(13-16)에 따라 *Bacillus subtilis* H17 ( $\text{rec}^+$ )과 M45( $\text{rec}^-$ )의 포자를 조제하였으며, 조제 방법의 내용은 보고한 전보(17)와 같다. 실험에 사용한 갈변물질의 농도는 CAT-SPEBRP, PYR-SPEBRP, DHT-SPEBRP, HHQ-SPEBRP 모두 10  $\mu\text{g}/\text{ml}$  가 되도록 조제하였으며 변이원물질의 농도는 돌연변이원성 실험에 사용한 MNNG( $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ ) 10  $\mu\text{l}$ 과 MMC(0.2 ng/ $\mu\text{l}$ ) 10  $\mu\text{l}$ 를 실험에 사용하였다.

### Ames test에 의한 돌연변이원성 및 항돌연변이원성

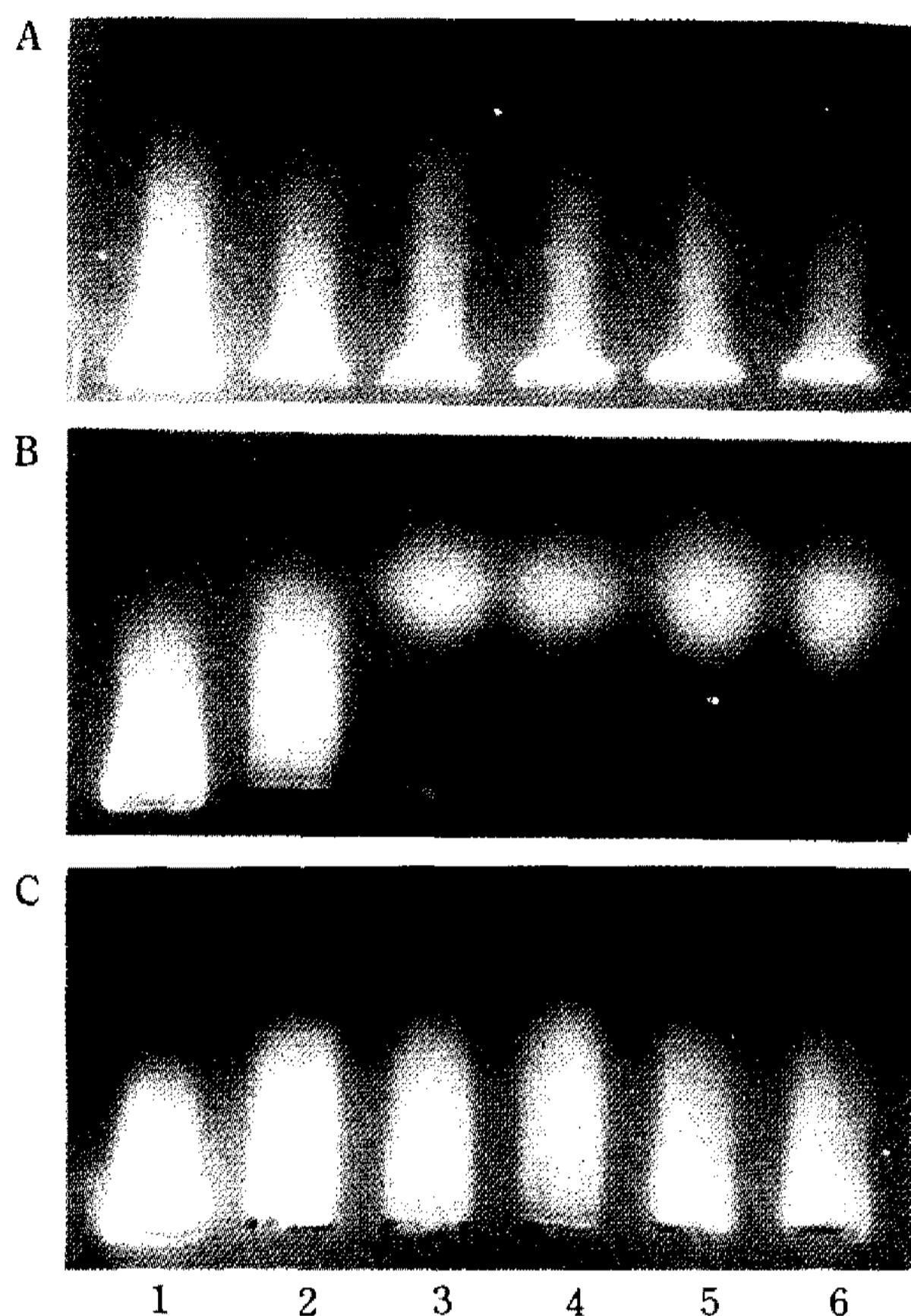
Ames test를 개량한 preincubation법을 이용하였으며, 그 방법은 보고한 전보(17)와 같다. 실험에 사용한 갈변물질의 농도는 상기와 같으며 변이원물질의 농도는 benzo( $\alpha$ )pyrene(B( $\alpha$ )P)의 경우 20  $\mu\text{g}/\text{plate}$ , N-methyl-N'-nitroso-guanidine(MNNG)의 경우 10  $\mu\text{g}/\text{plate}$ , acetylaminofluorene(2-AF)의 경우 10  $\mu\text{g}/\text{plate}$ 를 사용하였다.

## 결과 및 고찰

### DNA breaking test

4종류의 polyphenol 화합물과 고구마로부터 추출한 효소액을 반응시켜 얻어진 갈변반응 생성물을 calf-thymus DNA 용액과 각각 혼합하여 반응액으로서 사용하였으며 전기영동분석으로 절단능력을 관찰하였다.

금속이온이 DNA 절단작용에 미치는 영향을 검토하기 위해 5, 10, 15, 20, 25 mM 금속이온을 사용하여 DNA 용액 20  $\mu\text{l}$ , 금속이온용액 20  $\mu\text{l}$ , 중류수 20  $\mu\text{l}$ 을 반응시켜 금속이온에 의한 DNA 절단작용을 실험하였다. Fig. 1은 금속이온의 DNA 절단작용을 나타낸 사진으로 25 mM까지의  $\text{Cu}^{2+}$ 와  $\text{Mg}^{2+}$ 의 금속이온은 DNA가 절단되지 않은 반면  $\text{Fe}^{2+}$ 은 10 mM에서 DNA가 절단되었다. Fig. 2은 갈변반응생성물 자체의 DNA 절단작용의 검토 및 10 mM  $\text{Fe}^{2+}$ 과 고구마효소



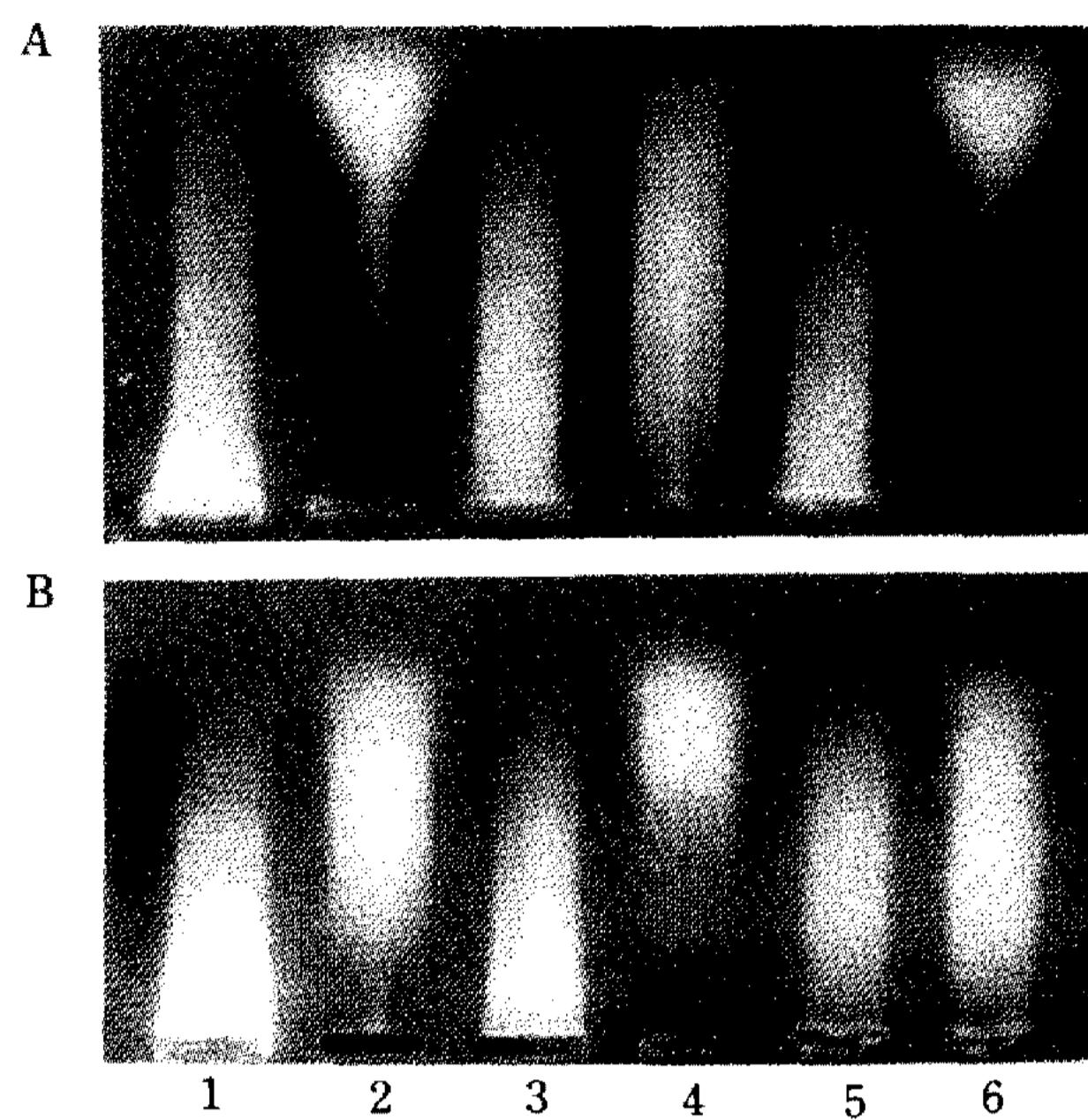
**Fig. 1. Effects of concentration of  $\text{CuSO}_4$ ,  $\text{FeSO}_4$  and  $\text{MgSO}_4$  on the DNA breaking action.**

Lane 1: control DNA; lane 2: 5 mM; lane 3: 10 mM; lane 4: 15 mM; lane 5: 20 mM; lane 6: 25 mM; A:  $\text{CuSO}_4$ ; B:  $\text{FeSO}_4$ ; C:  $\text{MgSO}_4$ .

갈변반응생성물을 DNA에 작용시켜 전기영동한 사진으로서, CAT, PYR, DHT, HHQ 갈변반응생성물 20  $\mu\text{l}$ 과 DNA 용액 20  $\mu\text{l}$  그리고 중류수 20  $\mu\text{l}$ 를 가하여 37°C에서 3시간 반응시킨 결과 4종류의 갈변반응생성물은 DNA 절단능력이 없는 것으로 나타났다. 또한 PYR, DHT 갈변반응생성물은  $\text{Fe}^{2+}$ 의 영향을 전혀 받지 않아 Fig. 1과 같이 나타났다. 반면, CAT, HHQ 갈변반응생성물과 DNA 용액 그리고  $\text{Fe}^{2+}$ 을 반응시킨 경우는 DNA가 절단되지 않았다. 따라서 CAT, HHQ 갈변반응생성물은 DNA 절단을 억제하는 효과가 있는 것으로 나타났다.

#### Spore rec assay

돌연변이원성을 조사하기 위하여 *Bacillus subtilis*를 이용한 spore rec assay를 행한 결과 효소적 갈변반응 생성물에 대한 시료만의 실험결과는 Table 1과 같다. 4종류의 시료 모두 농도증가에 따라 inhibition zone의 차이가 5 mm 이하로서 돌연변이원성은



**Fig. 2. Effects of ferrous metal ion on the DNA breaking action of the enzymatic browning reaction products.**

A. lane 1: control DNA; lane 2:  $\text{Fe} + \text{DNA}$ ; lane 3: catechol + DNA; lane 4:  $\text{Fe} + \text{DNA} + \text{catechol}$ ; lane 5: pyrogallol + DNA; lane 6:  $\text{Fe} + \text{DNA} + \text{pyrogallol}$ .

B. lane 1: control DNA; lane 2:  $\text{Fe} + \text{DNA}$ ; lane 3: 2,3-dihydroxytoluene + DNA; lane 4:  $\text{Fe} + \text{DNA} + 3,4\text{-dihydroxytoluene}$ ; lane 5: hydroxyhydroquinone + DNA; lane 6:  $\text{Fe} + \text{DNA} + \text{hydroxyhydroquinone}$ .

없는 것으로 나타났다. 두가지 양성변이원 물질인 MNNG(10  $\mu\text{l}/\text{disc}$ )와 MMC(2 ng/ $\text{disc}$ )에 대한 4가지 갈변물질의 항돌연변이 효과를 Table 2에 나타냈다. 양성대조구인 MNNG와 MMC의 저지대 차이가 24 mm와 22 mm인 것을 MMC에 대해 DHT-SPEBRP의 경우 16 mm로 저지대 차이를 감소시켰으며, MNNG에 대해서는 DHT-SPEBRP의 경우 13 mm로 저지대 차이를 감소시킨 반면 나머지 시료에 대해서는 다소 약한 차이감소를 보였다.

한편 본 연구실에서 행하고 있는 복숭아(18) 및 사과(19) 효소갈변반응물의 경우 CAT, PYR, HHQ 등 polyphenol 화합물과의 갈변반응물에서 inhibition zone 차이가 5 mm 이하로서 돌연변이원성은 나타나지 않았다. 또한 항돌연변이 실험결과에서 복숭아 효소갈변반응물의 경우 양성대조구인 MNNG와 MMC의 저지대의 차이가 17 mm인 것을 MMC에 대해 PYR의 갈변반응생성물은 5 mm로 저지대 차이를 감소시켰으며, 사과효소 갈변반응생성물의 경우 MNNG에 의한 저지대 차이 23 mm를 HHQ의 갈변반응생성물은 3 mm로 억제작용을 나타내었다.

**Table 1. The result of mutagenicity test of four sweet potato enzymatic browning reaction products in the spore rec assay**

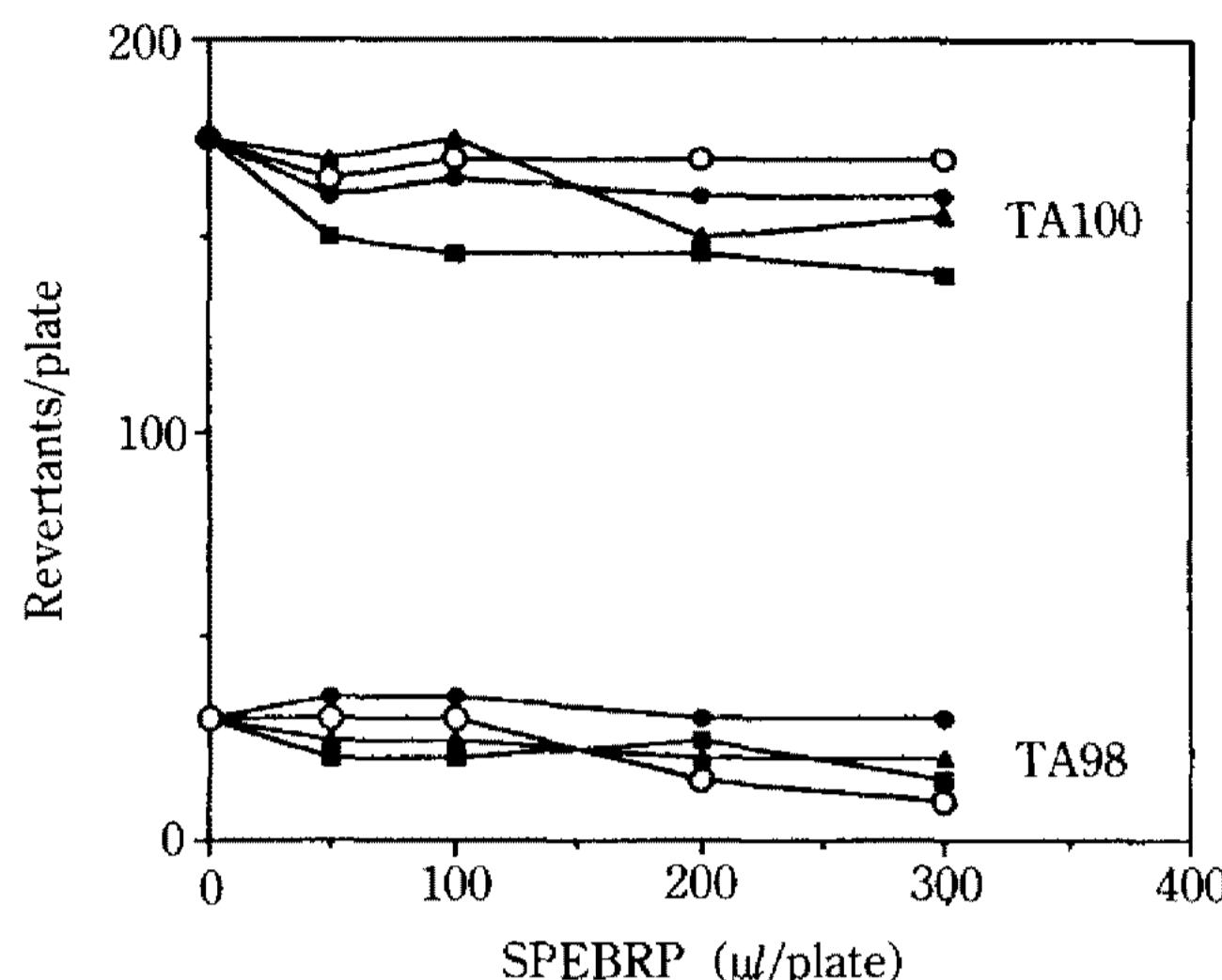
Test compound (10 µg/µl)	Dose (µl/Disc)	Inhibition Zone (mm)		Difference	Conclusion
		H17(Rec <sup>+</sup> )	M45(Rec <sup>-</sup> )		
CAT-SPEBRP	10	8	8	0	—
	20	8	8	0	—
	30	8	8	0	—
	50	8	9	1	±
PYR-SPEBRP	10	8	8	0	—
	20	8	8	0	—
	30	8	8	0	—
	50	8	8	0	—
DHT-SPEBRP	10	8	8	0	—
	20	8	8	0	—
	30	8	9	1	±
	50	8	9	1	±
HHQ-SPEBRP	10	8	8	0	—
	20	8	8	0	—
	30	8	8	0	—
	50	8	8	0	—
MMC		12	34	22	+++

MMC: mitomycin C (0.2 ng/µl); (—): no inhibition zone; (±): length of inhibition zone is less than 5 mm; (+++): 15~20 mm of inhibition zone.

**Table 2. The antimutagenic effects of the sweet potato enzymatic browning reaction products on MNNG and MMC in *Bacillus subtilis* spore rec assay**

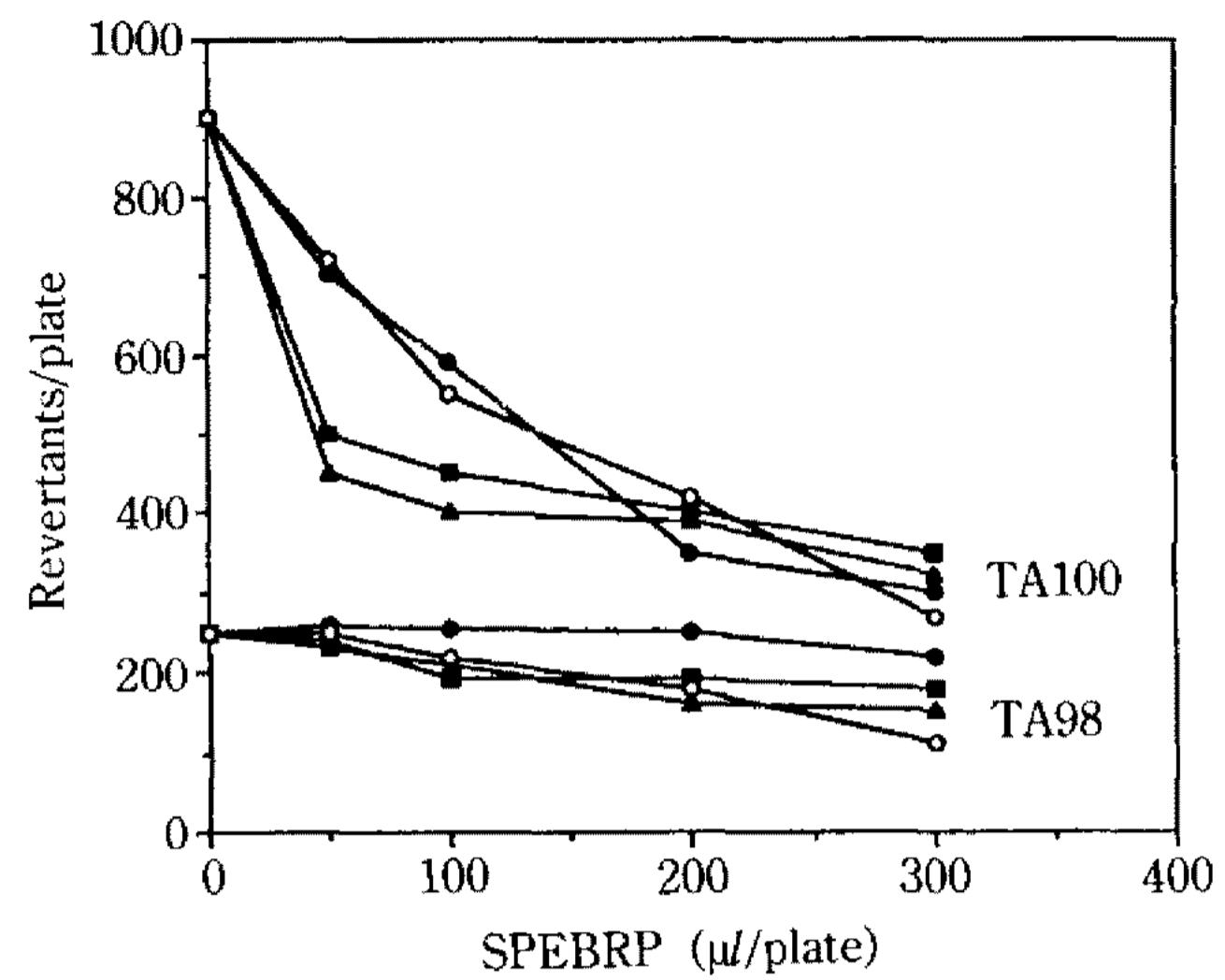
Test compounds (10 µg/µl)	Dose (µl/disc)	Inhibition zone (mm)		Difference
		H17(Rec <sup>+</sup> )	M45(Rec <sup>-</sup> )	
CAT-SPEBRP	10	23(11)	41(33)*	18(22)
	20	20(12)	41(29)	21(17)
	30	20(11)	41(32)	21(21)
	50	19(14)	41(36)	22(22)
PYR-SPEBRP	10	20(11)	41(33)	21(22)
	20	21(12)	41(35)	20(23)
	30	21(11)	42(34)	21(23)
	50	20(14)	41(34)	21(20)
DHT-SPEBRP	10	20(13)	41(32)	20(19)
	20	21(13)	41(37)	20(24)
	30	21(11)	35(30)	13(19)
	50	20(14)	35(30)	13(16)
HHQ-SPEBRP	10	19(11)	41(34)	22(23)
	20	19(11)	40(34)	21(23)
	30	20(12)	41(33)	21(21)
	50	20(12)	42(33)	22(21)
MNNG control		21(12)	45(34)	24(22)

MNNG: N-methyl-N'-nitrosoguanidine (µg/µl); MMC: mitomycin C (0.2 ng/µl); (\*): Data is represented on MMC



**Fig. 3. Mutagenic effects of the SPEBRPs in *Salmonella typhimurium* TA98 and TA100.**

■: catechol SPEBRP; ▲: pyrogallol SPEBRP; ○: 3,4-dihydroxytoluene SPEBRP; ●: hydroxyhydroquinone SPEBRP.



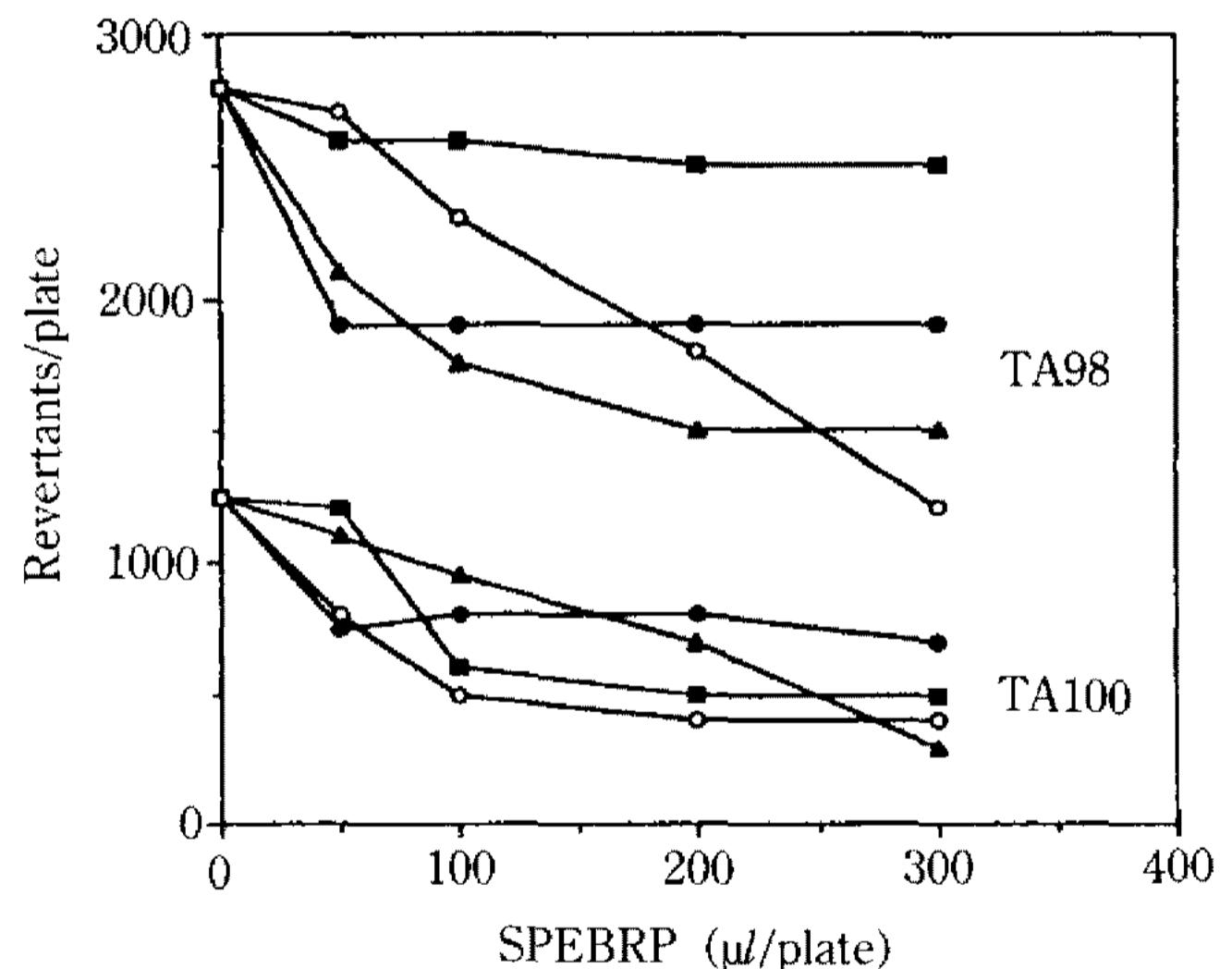
**Fig. 4. Antimutagenic effects of the SPEBRPs on B(α)P in *Salmonella typhimurium* TA98 and TA100 with S-9 mix.**

■: catechol SPEBRP; ▲: pyrogallol SPEBRP; ○: 3,4-dihydroxytoluene SPEBRP; ●: hydroxyhydroquinone SPEBRP.

### Ames Test

고구마효소 갈변반응생성물의 항돌연변이원성을 검토하기 위하여 먼저 변이원성유무를 검토하였다. *Salmonella typhimurium* TA98 및 TA100 두 균주를 이용하여 실험한 결과 Fig. 3에서 나타내는 것과 같이 시료농도증가에 따른 revertant colony수의 증감이 없는 것으로 보아 변이원성은 없는 것으로 검토되었다.

고구마효소 갈변반응생성물에 의한 돌연변이 억제효과를 검토하기 위하여 발암물질인 B(α)P, 2-AF, MNNG을 사용하여 변이원성 억제효과를 검토하였다. Fig. 4은 *Salmonella typhimurium* TA98 및 TA100 두 균주를 이용하여 4종류의 시료에 의한 발암물질인 B(α)P의 활성억제효과를 검토한 결과로서 TA98 균주의 경우 DHT와 PYR의 갈변반응생성물은 0.3 mg 첨가시 각각 59%와 40%의 억제효과를 나타내었으나, CAT와 HHQ의 갈변반응생성물은 시료농도의 증가에 따른 his<sup>+</sup> revertant colony수의 증감이 나타나지 않은 것으로 보아 돌연변이 억제작용이 강하지 않은 것으로 검토되었다. TA100 균주에 대해서는 CAT의 갈변반응생성물의 경우 0.3 mg 첨가시 54%의 활성억제를 나타낸 반면 PYR, DHT, HHQ의 갈변반응생성물은 67, 71, 62%의 강한 활성억제를 나타내었다. Fig. 5은 2-AF의 활성억제를 검토한 결과로서 TA98 균주의 경우 DHT의 갈변반응생성물은 0.1 mg 첨가시 56%의 억제효과를 나타낸 반면, 나머지 시료에 의한



**Fig. 5. Antimutagenic effects of the SPEBRPs on 2-AF in *Salmonella typhimurium* TA98 and TA100 with S-9 mix.**

■: catechol SPEBRP; ▲: pyrogallol SPEBRP; ○: 3,4-dihydroxytoluene SPEBRP; ●: hydroxyhydroquinone SPEBRP.

억제효과는 강하게 나타나지 않았다. TA100 균주에 대한 결과로서 CAT, PYR, DHT, HHQ의 갈변반응생성물은 각각 60, 69, 66, 49%의 돌연변이 억제작용을 나타내었다. 반면 발암물질인 MNNG의 활성억제를 검토한 결과 TA98 및 TA100 두 균주에 대해서 시료 모두 15% 이하의 약한 돌연변이 억제작용을 나타내었다. 한편 복숭아 효소 갈변반응생성물의 경우

CAT, PYR, HHQ 갈변물질 모두 자체 돌연변이원성을 없었으며, 돌연변이 억제활성실험에서 변이원물질로 2-AF, B( $\alpha$ )P 그리고 Trp-P-1을 사용했을 때 CAT의 갈변반응생성물이 80% 이상의 강한 돌연변이 억제활성을 나타내었다(18). 또한 사과효소 갈변반응생성물의 경우 Trp-P-1과 B( $\alpha$ )P에 대한 항돌연변이원성실험에서 TA98 및 TA100 두 균주에서 HHQ, PYR의 효소 갈변반응생성물이 75~95% 이상의 강한 돌연변이 억제효과가 있었다(19).

이상의 결과에서 효소갈변반응시 기질의 종류에 의해 생성되는 반응생성물의 종류에 따라 변이원물질의 억제작용이 다르며, 변이원의 종류에 따라서도 갈변반응생성물의 억제효과에 차이가 있음을 나타내고 있다. 이와같은 갈변반응생성물에 의한 변이원물질의 억제기작에 대해서는 아직 밝혀져 있지 않아 앞으로의 중요한 과제로 사료된다.

## 요 약

고구마효소 갈변반응생성물(SPEBRP)의 항돌연변이 효과를 검토하기 위하여 DNA breaking test, spore rec assay, Ames test를 행하였다. DNA breaking test에서 catechol- 및 hydroxyhydroquinone-SPEBRPs는  $Fe^{2+}$  존재하에서 DNA breaking effect를 저해하였다. *Bacillus subtilis* H17(rec<sup>-</sup>) 및 M45(rec<sup>-</sup>)를 이용한 spore rec assay에서 3,4-dihydroxytoluene-SPEBRP는 MNNG에 대하여 강한 항돌연변이 효과를 나타내었다. *Salmonella typhimurium* TA98 및 TA100를 이용한 Ames test에서 pyrogallol-, 3,4-dihydroxytoluene-, hydroxyhydroquinone-SPEBRPs들은 발암물질인 Benzo( $\alpha$ )Pyrene에 대하여 67, 71, 63%의 강한 활성억제를 나타내었다.

## 감사의 말

본 연구는 한국과학재단에서 지원한 일반기초연구사업(1990~1991)의 지원에 의해서 이루어진 것으로 한국과학재단에 감사드리는 바입니다.

## 참고문현

- Aeschbacher, H.V. and H.P. Wurzner. 1980. An evaluation of constant and regular coffee in the Ames mutagenicity test. *Toxicology Letters* **5**: 139-145.
- Nagao, M., Y. Takahashi, T. Fujino, Z. Yamazumi and T. Sugimura. 1973. Mutagens in Japanese pickle identified as flavonoids. *Mutation Res.* **68**: 117-123.
- Nagao, M., Y. Takahashi, K. Wakabayashi and T. Sugimura. 1981. Mutagenicity of alcoholic beverages. *Mutation Res.* **88**: 147-154.
- McCann, J., E. Choi, E. Yamasaki and B.N. Ames. 1975. Detection of carcinogens as mutagens in the *Salmonella/microsome* test: assay of 300 chemicals. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **72**(12): 5135-5139.
- Kim, S.B. 1986. Maillard 반응생성물의 화학적 해석과 생물작용. *Food Sci.* **19**: 3-4.
- Ham, S.S. 1987. 재래종 황색자두 효소 갈변반응생성물의 돌연변이 억제작용. *J. Korean Agric. Chem. Soc.* **30**(1): 71-76.
- Ham, S.S. 1987. 산채류 가열즙의 돌연변이 억제작용에 관한 연구. *J. Korean Agric. Chem. Soc.* **31**(1): 38-45.
- Ham, S.S. and D.S. Lee. 1984. Screening of enzymatic browning mixture by the rec-assay system with *Bacillus subtilis* and DNA-breaking test. *Res. Bull. Kangweon Nat. Univ. Korea*, **19**: 43-49.
- Ham, S.S. 1982. Mutagenicity of enzymatic browning mixture on *Salmonella typhimurium*. *Res. Bull. Kangweon Nat. Univ., Korea*, **17**: 56-62.
- Omura, H. 1969. 식품의 변색과 스펙트럼과의 관계. 영양과 식량 **22**: 497-499.
- Kim, J.J., J.H. Lee and S.S. Ham. 1984. Mutagenicity and DNA breaking action of Panax Ginseng extracts on double strand DNA and bacterial system. Fifth Asian symposium on medical plants and species, Seoul.
- Lee, J.H. 1983. DNA-breaking action of guanine analogs modified by triose reductones. *J. Korean Biochem.* **16**(3): 240-245.
- Kada, T., K. Tutikawa & Y. Sadaie. 1972. *In vitro* and host-mediated rec-assay procedures for screening chemical mutagens. *Mutation Res.* **16**: 165-174.
- Kada, T., K. Hirano, T. Hagiwara, Y. Ohta and H. Matsumoto. 1982. Rec-assay with spores of *Bacillus subtilis* with and without metabolic activation. *Mutation Res.* **97**: 339-347.
- Kada, T., K. Hirano and Y. Shirasu. 1980. Screening of environmental chemical mutagens by the rec-assay system with *Bacillus subtilis* chemical mutagens, Vol. 6, N.Y., Plenum Press.
- Kada, T., K. Morita and T. Inoue. 1978. Antimutagenic action of vegetable factors on the mutage-

- nic principle of tryptophan pyrolysate. *Mutation Res.* **53**: 351-353.
17. Ham, S.S., G.G. Park and Y.H. Park. 1992. Antimutagenic effects of the extracts of comfrey. *J. Kor. Soc. Food & Nutr.* in press.
18. Choi, K.K. 1991. Studies of antimutagenic effects of peach enzymatic browning reaction products.
19. Baik, C.W. and S.S. Ham. 1990. Antimutagenic effects of browning products reacted with polyphenol oxidase extracted from apple. *Korean J. Food Sci. Technol.* **22**(6): 625-631.

(Received July 27, 1992)

강원대학교 석사학위논문.