

쌀 추출물의 돌연변이 억제효과

전향숙 · 김인호 · 김영진 · 김길환
한국식품개발연구원 쌀이용연구센터

Inhibitory Effect of Rice Extract on the Chemically Induced Mutagenesis

Hyang-Sook Chun, In-Ho Kim, Young-Jin Kim and Kil-Hwan Kim

Rice Utilization Research Center, Korea Food Research Institute

Abstract

The inhibitory effects of rice extract on mutagenicity induced by 3-amino-1,4-dimethyl-5H-pyrido [4,3-b]indole(Trp-P-1), 3-amino-1-methyl-5H-pyrido [4,3-b]indole(Trp-P-2), sodium azide(SA), 2-nitrofluorene(2NF), mitomycin C(MMC), aflatoxin B₁(AFB₁) and 4-nitroquinoline oxide(4-NQO) were investigated using *Salmonella typhimurium* reversion assay, SOS chromotest and spore rec-assay. In *Salmonella typhimurium* reversion assay, methanol extract from brown rice (Ilpumbyeo, Japonica variety) showed the highest inhibitory effect among other extracting solvent including hexane, chloroform and water. Methanol extract showed stronger inhibitory effect, above 85%, on indirect-acting mutagens(Trp-P-1, Trp-P-2 and AFB₁) than those on direct-acting mutagens(4-NQO, 2NF). In SOS chromotest, methanol extracts showed 77.6~88.9% effects on SOS function induced by Trp-P-1, Trp-P-2, AFB₁ and 4-NQO. In spore *rec*-assay, methanol extracts inhibited the mutagenicity induced by AFB₁ and MMC. As the concentration of methanol extract increased, inhibitory effect on mutagenicity increased but reached at steady state as inhibition rate of 90% when the concentration was above 5 mg/plate. In inhibitory effects of methanol extracts by various rice varieties, all of 11 varieties turned out to have inhibitory effect on mutagenicity. There was no significant difference ($p>0.05$) in inhibitory effect of methanol extracts between brown and white rice against Trp-P-1, but showed difference ($p<0.05$) against 4-NQO.

Key words: rice, methanol extract, inhibitory effect on mutagenicity, *Salmonella typhimurium* reversion assay, SOS chromotest, spore *rec*-assay

서 론

우리나라는 70년대부터 주로 쌀의 다수확 및 식미 제고의 품종개발과 쌀의 가공적 측면에 관한 연구가 진행되어 왔을 뿐^(1,2), 쌀의 생리적 기능에 관한 연구는 거의 없는 실정이다. 또한 최근에는 식품도 영양 및 맛의 기능 뿐만 아니라 생체조절 기능이 중요시 되고 있는 실정에 비추어 볼 때 쌀의 생리적 기능을 밝히는 것은 그 의의가 매우 크다고 하겠다.

쌀은 일반적으로 탄수화물 급원으로만 인식되어 왔으나, 최근 angiotensin I-converting enzyme(ACE) 저해⁽³⁾, *Bifidobacterium* 증식촉진⁽⁴⁾ 및 대식세포 자극기능⁽⁵⁾ 등 여러 생리적 기능들이 알려지고 있다.

1990년 우리나라 사망원인중 암에 의한 사망률이 높아져⁽⁶⁾ 암의 예방 및 치료를 위한 연구가 활발하게 진행되고 있다. 식품성분 중에서도 종양이나 돌연변이원에

대해 억제효과를 나타내는 물질이 많이 보고되고 있으나⁽⁷⁻¹⁰⁾, 쌀의 돌연변이 억제효과에 대한 연구는 거의 없다.

현재까지 알려진 발암성 물질의 85% 이상은 돌연변이원이며 비발암성으로 알려진 물질의 10% 이하가 돌연변이원으로 작용하고 있어 발암과 돌연변이 간에는 높은 상관관계가 있다⁽¹¹⁾. 이를 바탕으로 발암원을 검출하기 위하여 여러가지 돌연변이성 시험법들이 개발되어 사용되고 있다^(12,14).

따라서 본 연구에서는 돌연변이원의 검출에 널리 이용되는 *Salmonella typhimurium* reversion assay(Ames test), SOS chromotest 및 spore *rec*-assay로 쌀 추출물의 돌연변이 억제효과를 살펴보고자 하였다.

재료 및 방법

재료 및 시약

쌀은 농촌진흥청 작물시험장에서 재배된 1991년도산 장려품종으로서 일반계의 일품벼를 주로 사용하였고, 통일계로서는 태백벼, 용주벼, 용문벼, 수원 382호, 수원

Corresponding author: Hyang-Sook Chun, Korea Food Research Institute, San 46-1, Baekhyun-Dong, Bundang-Ku, Songnam-Si, Kyonggi-Do 463-420, Korea

393호, 일반계로서는 진미벼, 진부벼, 장안벼, 수원 383호, 안중벼의 총 11종을 사용하였다. 돌연변이원으로서 sodium azide(SA), 2-nitrofluorene(2NF), mitomycin C (MMC), aflatoxin B₁(AFB₁) 및 4-nitroquinoline oxide(4-NQO)는 Sigma Chemical Co.(U.S.A.)로부터, 3-amino-1,4-dimethyl-5H-pyrido [4,3-b]indole(Trp-P-1)와 3-amino-1-methyl-5H-pyrido [4,3-b]indole(Trp-P-2)은 Wako Chemical Ins.(Japan)로부터 구입하였으며 모든 시약은 특급품 이상을 사용하였다. Rat liver S-9(Aroclor 1254-induced)은 Organon Teknika Corp.(U.S.A.)에서 구입하여 사용하였다.

시험균주

Salmonella typhimurium reversion assay에 사용한 시험균주는 *Salmonella typhimurium* TA 98과 TA 100으로서 유전공학센터의 유전자은행에서 분양받아 사용하였다. SOS chromotest에 사용한 *Escherichia coli* PQ37은 도핑 콘트롤 센터의 류 재천 박사로 부터, spore rec-assay에 사용한 *Bacillus subtilis* H17(rec⁻)와 M45(rec⁻) 균주는 강원대학교의 함승시 교수로부터 분양받았으며, 균주들은 유전형질¹⁵⁻¹⁸⁾을 확인한 후 시험에 사용하였다.

현미 및 백미 추출물의 조제

벼를 제현기(Satake rice machine, Japan)를 이용하여 왕겨를 분리시켜 현미를 만들고, 현미를 도정기(Satake grain testing mill, Japan)로 도정을 92%로 도정하였다. 현미 및 백미를 분쇄기(cyclotec 1903 sample mill, Sweden)를 이용하여 60메쉬로 분쇄한 후 물, 메탄올, 클로로포름, hex산을 각각 현미 및 백미 중량의 10배(w/v)로 넣고 rotary shaker를 이용하여 25°C에서 회전속도 200 rpm으로 하룻밤 추출하였다. 이 추출물을 여과지(Toyo No.4)로 여과한 후 감압농축한 다음 물로 추출한 경우는 물로, 기타 용매로 추출한 경우는 dimethyl sulfoxide (DMSO)로 고형물이 10%(w/v)가 되도록 희석하여 4°C에 보관하면서 돌연변이 억제시험에 사용하였다.

돌연변이 억제효과

추출물의 돌연변이 억제효과는 *Salmonella typhimurium* reversion assay를 주로 사용하였으며 돌연변이 억제효과가 인정된 추출물은 SOS chromotest 및 spore rec-assay법을 이용하여 효과를 확인하고 비교하였다.

Salmonella typhimurium reversion assay

Maron과 Ames의 방법¹⁵⁾에 준한 preincubation test를 이용하여 쌀추출물의 돌연변이 억제효과를 조사하였다. 즉 멸균된 cap tube에 4% S-9 mix 0.5 ml(대사활성화가 필요없는 경우, 0.2 M phosphate buffer, pH 7.4, 0.5 ml)와 쌀추출물 0.1 ml, 돌연변이원 0.1 ml, nutrient broth에서 하룻밤 배양된 균주 0.1 ml(1-2×10⁹ cells/ml)를 넣고 가볍게 vortex 한 후 37°C에서 20분간 예비배양

하였다. 다음 45°C의 top agar 2 ml/씩을 첨가하고 3초간 vortex한 후 미리 제조된 최소 글루코스 한천 평판배지(minimal glucose agar plate) 위에 골고루 도말하여 37°C에서 48시간 배양후 복귀콜로니(revertant)의 수를 측정하였다. 이 때 첨가된 돌연변이원의 농도는 사용한 균주에 대하여 독성을 나타내지 않는 농도로써 4-NQO가 0.25 µg/plate, SA이 1 µg/plate, 2NF가 4 µg/plate, Trp-P-1의 경우는 1 µg/plate, Trp-P-2는 0.4 µg/plate, AFB₁의 경우는 1 µg/plate로 하였다. 각 실험마다 3개의 평판을 사용하였고, 본 실험에 사용한 농도의 쌀 추출물은 돌연변이를 유발하지 않았다. 이 때 쌀 추출물의 돌연변이 억제효과(inhibition rate)는 [(a-b)/(a-c)]×100으로 나타내었는데 여기서 a는 돌연변이원만 있을 때 복귀콜로니의 수, b는 쌀 추출물과 돌연변이원을 동시에 첨가하였을 때 복귀콜로니의 수, c는 돌연변이원 및 쌀 추출물 모두 없는 경우의 복귀콜로니의 수이다.

SOS chromotest

SOS chromotest는 Quillardet^{16,17)} 등의 방법에 따라 실시하였다. 즉 *E. coli* PQ 37의 하룻밤 배양액을 La배지로 1:50(v/v) 희석하고 이를 37°C에서 약 2시간 진탕배양한 다음(약 2×10⁸ cells/ml), 동 배양액을 다시 La배지에 1:10으로 희석하였다. 이 배양액 0.6 ml, 돌연변이원 20 µl, 쌀 추출물 20 µl를 시험관에 넣어 SOS 반응을 유도한 다음 37°C에서 약 2시간 진탕배양한 후 β-galactosidase와 alkaline phosphatase 활성을 측정하였다. β-Galactosidase 측정은 2.7 ml의 B 완충액을 넣어 37°C에서 5~10분간 두어 온도를 균일화 한 후 o-nitrophenyl-β-galactoside(ONPG)용액을 0.6 ml 첨가하여 정색반응을 약 30분간 진행시킨 후 2 ml의 1 M Na₂CO₃ 용액을 넣어 반응을 정지시킨 다음 420 nm에서의 흡광도를 측정하였다. Alkaline phosphatase의 측정은 B완충액 대신에 P완충액을, ONPG용액 대신에 p-nitrophenyl phosphate(PNPP)용액을 사용한 것 외에는 β-galactosidase 측정과 동일하며 반응의 정지를 위해서는 0.25 M HCl 1 ml를 넣고 5분 후 2 M tris(hydroxymethyl)aminomethane 1 ml를 첨가하였다. 효소활성은 [1000×A₄₂₀/t]으로 나타내었는데 여기서 t는 반응시간(분)이다. β-galactosidase unit의 alkaline phosphatase unit에 대한 비율을 R(ratio)값으로 나타내어 검색 대상 물질이 단백질 합성 저해작용을 나타내는 경우에도 sfi A 유전자의 발현을 표현하였다. SOS 유전자의 유도(induction) 정도를 나타내는 IF(induction factor)는 R(C)/R(0)로 나타내었는데 R(C)는 변이원이나 시험물질이 있을 때의 ratio 값이며, R(0)는 돌연변이원이나 시험물질이 없을 때의 ratio 값이다.

Spore rec-assay

Spore rec-assay는 Kada¹⁸⁾의 방법에 준하여 실시하였으며 양성변이원 물질로는 대사활성화가 필요한 aflato-

xin B₁(1 µg/plate)과 대사활성화가 필요하지 않는 mitomycin C(10 ng/plate)를 사용하였다. 즉 쌀 추출물 10 µl와 돌연변이원 물질 10 µl를 96-well plate에 넣어 37 °C에서 30분간 반응시킨 후 미리 만들어 놓은 H17 및 M45 spore agar plate상의 paper disc에 주입한 다음 4°C에서 24시간 저온배양하고 다시 37°C에서 하룻밤 배양하여 paper disc 주변에 형성된 생육 저지대의 직경을 측정하여 돌연변이 억제효과를 판정하였다.

통계분석

메탄올 추출물의 돌연변이 억제효과에 있어서 품종에 따른 차이는 SAS⁽¹⁹⁾를 이용하여 분산분석을 실시한 후 α=0.05 수준에서 Duncan의 다중비교법으로 분석하였고, 백미와 현미간의 비교는 t-test로 분석하였다.

결과 및 고찰

Salmonella typhimurium reversion assay

현미(일품벼)를 분쇄하여 물, 메탄올, 클로로포름, 헥산으로 각각 추출하여 *Salmonella typhimurium* rever-

sion assay에 의해 돌연변이원에 대한 억제효과를 조사하였다. 구조이동형(frame shift) 변이주인 TA 98로서 돌연변이 억제효과를 살펴본 결과 Table 1과 같이 사용한 돌연변이원 모두에 대해 물, 클로로포름 및 헥산 추출물 보다 메탄올 추출물의 억제효과가 크게 나타났다. 특히 트립토판의 열분해(pyrolysis)를 통해 생성되는 물질로서 hepatic S₉ system에 의해 활성화되어 돌연변이를 나타내는 Trp-P-1 및 Trp-P-2에 의해 유발된 변이에 대한 메탄올 추출물의 억제효과가 95.4%, 89.9%로서 매우 크게 나타났다. TA 98 균주에 있어서 직접변이원인 4-NQO로 변이를 유발한 경우는, 메탄올 추출물의 첨가시에 63.8%의 저해효과를 나타내었고, 2-NF에 의한 변이에 대해서는 49.7%의 저해효과를 나타내었다. 염기치환형(base substitution) 변이주인 TA 100으로서 돌연변이 억제효과를 살펴본 결과, Table 2와 같이 hepatic S₉ system에 의해 활성화되어 돌연변이를 나타내는 Trp-P-1이나 AFB₁에 대해서 메탄올 추출물의 돌연변이 억제효과가 각각 85.1%, 88.1%로서 크게 나타났다. Hepatic S₉ system을 필요로 하지 않는 직접변이원인 4-NQO로 변이를 유발한 경우는 메탄올 추출물(23.7%) 보다 헥산(60.

Table 1. Inhibitory effects of solvent extracts from brown rice(Ilpumbyeo) on the mutagenicities of Trp-P-1(1 µg/plate), Trp-P-2(0.4 µg/plate), 4-nitroquinoline oxide(4-NQO, 0.25 µg/plate) and 2-nitrofluorene(2-NF, 4 µg/plate) in *Salmonella typhimurium* TA 98

Solvent extracts	Trp-P-1 ¹⁾	Trp-P-2 ¹⁾	4-NQO ²⁾	2NF ²⁾
	No. of revertants ³⁾			
Positive control	3486 ± 226.4	2819 ± 234.2	200 ± 9.6	738 ± 73.7
Spontaneous	37 ± 3.0	37 ± 3.0	25 ± 5.2	32 ± 3.8
Hexane	656 ± 30.7(82.1) ⁴⁾	1980 ± 280.5(30.2)	118 ± 19.7(46.6)	470 ± 88.0(38.0)
Chloroform	852 ± 478.6(76.4)	1094 ± 159.7(62.0)	1394 ± 346.4(0.0)	721 ± 36.8(2.4)
Methanol	196 ± 39.2(95.4)	320 ± 17.3(89.9)	88 ± 17.0(63.8)	387 ± 178.3(49.7)
Water	2173 ± 185.0(38.1)	1963 ± 277.8(30.8)	365 ± 45.0(0.0)	804 ± 150.1(0.0)

¹⁾With metabolic activation

²⁾Without metabolic activation

³⁾Values are means ± standard deviation.

⁴⁾Values in parenthesis indicate inhibition rate(%).

Table 2. Inhibitory effects of solvent extracts from brown rice(Ilpumbyeo) on the mutagenicities of aflatoxin B₁(AFB₁, 1 µg/plate), Trp-P-1(1 µg/plate), 4-nitroquinoline oxide(4-NQO, 0.25 µg/plate) and sodium azide(SA, 1 µg/plate) in *Salmonella typhimurium* TA 100

Solvent extracts	Trp-P-1 ¹⁾	AFB ₁ ¹⁾	4-NQO ²⁾	SA ²⁾
	No. of revertants ³⁾			
Positive control	261 ± 27.1	277 ± 33.2	990 ± 50.9	1024 ± 98.0
Spontaneous	67 ± 18.0	101 ± 12.2	63 ± 15.3	98 ± 17.3
Hexane	236 ± 15.3(12.9) ⁴⁾	149 ± 23.5(72.7)	432 ± 60.6(60.2)	873 ± 82.9(16.3)
Chloroform	385 ± 20.6(0.0)	121 ± 2.8(88.6)	414 ± 206.8(62.1)	926 ± 65.3(10.6)
Methanol	96 ± 9.2(85.1)	122 ± 10.2(88.1)	770 ± 165.0(23.7)	805 ± 118.8(23.7)
Water	837 ± 203.8(0.0)	247 ± 19.9(17.0)	1068 ± 35.4(0.0)	1068 ± 73.6(0.0)

¹⁾With metabolic activation

²⁾Without metabolic activation

³⁾Values are means ± standard deviation.

⁴⁾Values in parenthesis indicate inhibition rate(%).

2%)이나 클로로포름 추출물(62.1%)의 억제효과가 더 크게 나타났다. 직접변이원인 SA에 의한 변이에 대해서는 다른 용매 추출물 보다는 메탄올 추출물의 저해율이 큰 것으로 나타났으나 그 억제효과는 23.7%로서 미약하였다.

이와 같은 결과를 살펴볼 때 클로로포름 및 hexan과 같은 비극성 용매 추출물이나 물과 같은 극성이 강한 용매 추출물 보다 메탄올 추출물의 억제효과가 높은 것은 현미에 존재하는 돌연변이 억제물질이 비극성 또는 극성이 강한 물질은 아닌 것으로 사료된다. 또한 TA 100 및 TA 98에 의한 측정에서 hepatic S₉ system에 의해 활성화되어 돌연변이를 나타내는 간접변이원(AFB₁, Trp-P-1 및 Trp-P-2)에 대한 저해효과가 직접변이원(4-NQO, 2NF) 보다 더 큰 것으로 나타났으며, 염기치환형 변이주인 TA 100 보다는 구조이동형 변이주인 TA 98에서 저해효과가 더 높은 경향이였다.

SOS Chromotest

SOS Chromotest를 이용하여 *Salmonella typhimurium* reversion assay에서 돌연변이 억제효과가 있는 것으로 나타난 현미(일품벼)의 메탄올 추출물이 AFB₁, Trp-P-1, Trp-P-2, 4-NQO 및 MMC에 의한 SOS유도를 저해하는 활성이 있는지를 살펴보았다. 그 결과 Fig. 1에 나타난 바와 같이 메탄올 추출물은 4가지 양성변이원 물질에 의한 SOS유도를 현저하게 저해하여 *Salmonella typhimurium* reversion assay에서 나타난 결과와 같은 경향을 나타내었다. 메탄올 추출물은 AFB₁(4 µg/plate)에 의해 유도된 IF값 7.10을 0.79까지 저하시켜 88.9%의 강력한 돌연변이 억제효과를 나타내었다. 단백질의 열분해물인

Trp-P-2에 대해서도 유도된 IF값 5.03을 0.92로 낮추어 81.7%의 억제효과를 나타내었으며, Trp-P-1의 경우에는 유도된 IF값이 1.03으로 다른 변이원들에 비해 낮았지만 메탄올 추출물이 첨가될 경우에는 0.22로 낮아져 79.1%의 억제효과를 보였다.

대사활성화를 필요로 하지 않는 직접변이원의 경우, 메탄올 추출물은 4-NQO에 의해 유도된 IF값 5.56을 1.25로 낮추어 77.6%의 억제효과를 보였으며, MMC에 의해 유도된 IF값 3.06을 2.23으로 낮추어 4-NQO보다 낮은 26.9%의 억제효과를 나타내었다. 이와 같은 결과는 같은 직접변이원이라 하더라도 변이원 종류의 차이에 따라 SOS 유도의 저해활성을 측정함에 있어서 상당한 차이를 보일 수 있음을 시사하는 것으로 보인다.

Spore rec-assay

두 가지 양성변이원 물질인 AFB₁ 및 MMC에 대한 현미(일품벼) 메탄올 추출물의 돌연변이 억제효과를 spore rec-assay에 의해 살펴본 결과는 Table 3과 같다. 양성대조구인 AFB₁(1 µg/plate)에 의한 저지대의 차이 15 mm에 대하여 메탄올 추출물(10 µl/plate)이 첨가될 경우는 11 mm로 억제되었고, 다른 양성대조구인 MMC에 의한 저지대의 차이 19 mm에 대해서는 메탄올 추출물이 16 mm로서 억제작용을 나타내었다. 이와 같은 결과는 현미의 메탄올 추출물은 AFB₁ 및 MMC에 의한 *B. subtilis* DNA의 손상을 억제하는 작용이 있는 것으로 판단되며, *Salmonella typhimurium* reversion assay 및 SOS chromotest에서 나타난 메탄올 추출물의 억제효과와도 같은 경향이였다.

메탄올 추출물의 농도-반응 관계

Salmonella typhimurium reversion assay, SOS chromotest 및 spore rec-assay를 사용한 돌연변이 억제효과에 있어서 메탄올 추출물의 활성이 강한 것으로 나타나 메탄올 추출물의 농도-반응 관계를 *Salmonella typhimurium* reversion assay에 의해 알아보았다. 그 결과 Fig. 2와 같이 농도가 증가함에 따라 억제효과가 증가하였으나, 농도가 5 mg/plate(5%, w/v) 이상일 경우에는 억제효과가

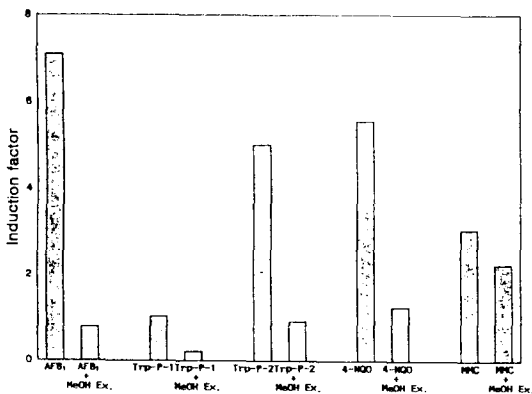


Fig. 1. Inhibitory effects of methanol extract from brown rice(Ilpumbyeo) on the induction of the SOS function by aflatoxin B₁(AFB₁, 4 µg/plate), Trp-P-1(4 µg/plate), Trp-P-2(4 µg/plate), 4-nitroquinoline oxide(4 µg/plate) and mitomycin C (MMC, 0.5 µg/plate) in *E. coli* PQ37

AFB₁, Trp-P-1, Trp-P-2: With S₉ mix
4-NQO, MMC: Without S₉ mix

Table 3. Inhibitory effects of the methanol extract from brown rice(Ilpumbyeo) on the mutagenicities of aflatoxin B₁(AFB₁, 1 µg/plate) and mitomycin C (MMC, 10 ng/plate) by spore rec-assay

Test materials	Inhibition zone(mm)		Difference
	H17	M45	
AFB ₁ ¹⁾	3	18	15
AFB ₁ + Methanol extract	4	15	11
MMC ²⁾	4	23	19
MMC + Methanol extract	5	21	16

1)With metabolic activation

2)Without metabolic activation

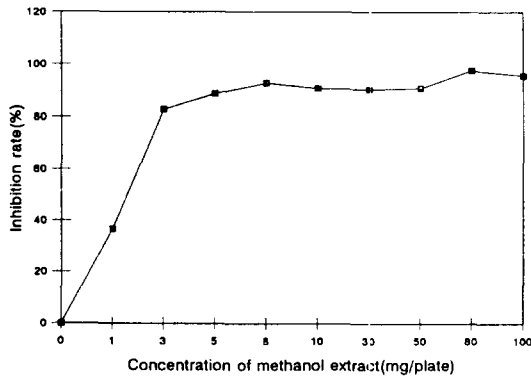


Fig. 2. Dose-response of methanol extract from brown rice (Ilpumbyeo) in inhibitory effect on the mutagenicity of Trp-P-1 (1 µg/plate) by *Salmonella typhimurium* TA 98

약 90%로 일정한 수준을 유지하였다. 이와 같은 결과는 농도가 5 mg/plate 미만일 경우에는 억제활성이 농도에 비례하나 5 mg/plate 이상인 경우에는 농도와 무관함을 시사한다.

Sato 등⁽⁷⁾에 의하면 버들여뀌(*Polygonum hydropiper* L.)의 아세톤 추출물이 *S. typhimurium* TA 100을 이용한 시험에서 3 mg/plate의 농도로 benzo[*a*]pyrene의 돌연변이원성을 40~60% 억제시켰다고 보고했다. 또한 정 등⁽²⁰⁾도 2 mg/plate 농도의 인삼 에탄올 추출물이 *S. typhimurium* TA 98을 이용한 시험에서 7,12-dimethylbenz[*a*]anthracene의 돌연변이원성을 38%까지 억제시켰다고 하였다. 이러한 결과들과 본 연구의 결과를 비교해 볼 때 쌀에 존재하는 돌연변이 억제물질은 3 mg/plate의 농도에서 약 83%, 2 mg/plate의 농도에서는 약 50%로 억제효과가 나타나 비교적 단위 무게당 활성이 높은 물질로 사료된다.

쌀 품종별 메탄올 추출물의 억제 효과

간접변이원 Trp-P-1 및 직접변이원 2-NF에 대한 쌀 품종별 메탄올 추출물의 돌연변이 억제효과를 살펴본 결과는 Table 4와 같다. 그 결과 조사된 11개 쌀 품종의 메탄올 추출물은 간접변이원 Trp-P-1에 대해 모두 거의 100%의 억제효과를 나타내었으며, 통일계에서는 수원 393이 일반계에서는 장안이 비교적 억제활성이 강하였다. 이와 같이 11개 쌀 품종에 있어서 간접변이원에 의한 변이에 대해 메탄올 추출물의 억제효과가 99.5~100.2%로 그 차이가 적은 것으로 보아 돌연변이를 억제하는 물질은 대부분 품종의 쌀에 존재하는 물질일 것으로 추측된다.

직접변이원 2NF에 대한 11개 품종의 메탄올 추출물은 4.1~75.2%의 억제효과를 나타내었으며 통일계에서는 수원 393이, 일반계에서는 진미가 비교적 활성이 강한 것으로 나타났다. 한편 간접 변이원 Trp-P-1 및 직접변

Table 4. The comparison of inhibitory effects among methanol extracts from 11 rice varieties by *S. typhimurium* 98 reversion assay

Rice varieties	Inhibition rate(%)	
	Without S ₉ ¹⁾	With S ₉ ²⁾
Tongil-type ³⁾		
Suwon 382	35.5 ^{abcd)}	99.8 ^{abcd)}
Suwon 393	74.9 ^{bc)}	100.2 ^{d)}
Yongmoonbyeo	4.1 ^{a)}	99.8 ^{abcd)}
Yongjoobyeo	49.9 ^{abc)}	100.0 ^{abcd)}
Taebeckbyeo	26.7 ^{ab)}	100.0 ^{abcd)}
Japonica		
Suwon 383	27.9 ^{ab)}	99.8 ^{abcd)}
Anjungbyeo	54.7 ^{abc)}	99.7 ^{abc)}
Ilpumbyeo	71.8 ^{bc)}	99.6 ^{ab)}
Jangannbyeo	47.9 ^{abc)}	100.2 ^{cd)}
Jinmibyeo	75.2 ^{c)}	99.9 ^{abcd)}
Jinboobyeo	42.2 ^{abc)}	99.5 ^{a)}

¹⁾2-Mitoxfluorene was used as positive control

²⁾Trp-P-1 was used as positive control.

³⁾There was no significant differences between Tongil-type variety and Japonica variety (p>0.05).

⁴⁾Values within the same column with different superscripts are significantly different at p<0.05, α=0.05 by Duncan's multiple range test.

이원 2NF에 의한 변이에 대해 통일계와 일반계에 따른 억제활성의 유의적인 차이는 없었으며(p>0.05), 조사된 모든 품종에 있어서 직접변이원 보다 간접변이원에 대해 더 높은 억제효과를 나타내었다.

백미 및 현미간의 돌연변이 억제효과 비교

백미 및 현미(일품벼)를 메탄올로 추출한 추출물의 돌연변이 억제효과를 비교한 것은 Table 5와 같다. 그 결과 간접 변이원 Trp-P-1 및 Trp-P-2에 의한 변이에 대해서 현미와 백미의 메탄올 추출물은 약 90% 이상의 억제효과를 보였으며, 돌연변이 억제효과에 있어서 현미와 백미의 메탄올 추출물 간에는 유의적인 차이가 없었다(p>0.05).

반면 직접변이원인 4-NQO에 의한 변이에 대해서는 현미의 메탄올 추출물만이 63.8%의 억제효과를 나타내어, 현미와 백미의 메탄올 추출물 간에 유의적인 차이를 보였다(p<0.05).

이상의 결과에서 쌀의 백미 및 현미의 메탄올 추출물은 Trp-P-1, Trp-P-2, SA, 2NF, MMC, AFB₁ 및 4-NQO에 의해 유발된 돌연변이에 대해 억제효과를 나타내며, 특히 간접변이원에 대해 강한 억제활성이 있음을 알 수 있었다. 이와 같이 우리의 주식인 쌀에 돌연변이를 억제하는 물질의 존재가 확인되었으므로 앞으로 억제작용을 나타내는 물질의 동정 및 억제기작을 비롯하여 조리·가공중 활성의 변화, 다른 식품성분과의 상호작용 등 다각적인 연구가 이루어져야 할 것이다.

Table 5. The comparison of inhibitory effect¹⁾ on chemically induced mutagenesis between brown and white rice(II-pumbyeo) methanol extracts

	Trp-P-1 ²⁾	Trp-P-2 ²⁾	4-NQO ³⁾
	No. of revertants		
Positive control	3486 ± 226.4	2819 ± 234.2	200 ± 9.6
Spontaneous	37 ± 3.0	37 ± 3.0	25 ± 5.2
Brown rice + methanol Ex	196 ± 39.2(95.4) ^{NS4)}	320 ± 17.3(89.9) ^{NS}	88 ± 17.0(63.8) ^{b5)}
White rice + methanol Ex	176 ± 6.4(96.0)	286 ± 33.7(91.0)	217 ± 1.4(0.0) ^a

¹⁾Inhibitory effect was assayed by *S. typhimurium* TA 98.

²⁾Trp-P-1(1 µg/plate) and Trp-P-2(0.4 µg/plate) with metabolic activation was used as positive control.

³⁾4-NQO(0.25 µg/plate) without metabolic activation was used as positive control.

⁴⁾NS: not significant. There was no significant differences between brown and white rice methanol extracts in inhibitory effect on Trp-P-1-, Trp-P-2- induced mutagenicity.

⁵⁾Values within the same column with different superscripts are significantly different at p<0.05, α=0.05 by t-test.

⁶⁾Values in parenthesis indicate inhibition rate(%).

요 약

쌀의 돌연변이 억제효과를 검토하기 위해 여러 돌연변이 유발원(3-amino-1,4-dimethyl-5H-pyrido [4,3-b]indole(Trp-P-1), 3-amino-1-methyl-5H-pyrido [4,3-b]indole(Trp-P-2), sodium azide(SA), 2-nitrofluorene(2NF), mitomycin C(MMC), aflatoxin B₁(AFB₁) 및 4-nitroquinoline oxide(4-NQO))에 대한 쌀 추출물들의 억제효과를 *Salmonella typhimurium* reversion assay, SOS chromotest 및 spore rec-assay로 조사하였다. *S. typhimurium* TA 98 및 TA 100을 이용한 *Salmonella typhimurium* reversion assay에서 현미(일품벼) 메탄올 추출물이 핵산, 클로로포름 및 물 추출물 보다 억제효과가 크게 나타났다. 메탄올 추출물의 경우, 간접변이원(Trp-P-1, Trp-P-2 및 AFB₁)에 대한 억제효과가 약 85% 이상으로써, 직접변이원(4-NQO, 2NF)에 대한 효과 보다 크게 나타났다. 메탄올 추출물은 *E. coli* PQ37을 이용한 SOS chromotest에서도 Trp-P-1, Trp-P-2, AFB₁ 및 4-NQO에 의한 SOS 유도에 대해 77.6~88.9%의 억제작용을 나타내었고, *B. subtilis* H17(rec⁻)과 M45(rec⁻)를 사용한 spore rec-assay에서도 양성대조구인 AFB₁ 및 MMC에 의한 저지대의 차이를 감소시켜 억제작용을 나타내었다. 현미(일품벼)의 메탄올 추출물은 농도가 증가함에 따라 돌연변이 억제효과가 증가하였으나, 농도가 5 mg/plate(5%) 이상에서는 억제효과가 약 90%로 일정하였다. 쌀 품종별 메탄올 추출물의 억제효과는 조사된 11개 품종 모두에게서 나타나, 직접변이원인 2NF에 대해 4.1~75.2%의 억제를, 간접 변이원인 Trp-P-1에 대해 99.5~100.2%의 억제를 나타내었다. 백미와 현미(일품벼)간의 돌연변이 억제효과를 비교해 볼 경우, Trp-P-1 및 Trp-P-2에 의한 변이에 대해서는 차이가 없었으나(p>0.05), 4-NQO에 의한 변이에 대해서는 현미의 효과가 높았다(p<0.05).

감사의 말씀

본 연구는 농촌진흥청 농업 특장 연구과제에 의해 수행된 것으로서 깊이 감사드립니다.

문 헌

- 崔海春, 李鍾燮, 池定鉉: 미질개선연구. 1990년도 시험 보고서, 농진청작물시험장(1991)
- 이현유, 한 여, 이상효, 권상오, 김성수, 오상룡, 민병용: 쌀을 이용한 압출형 가공식품 개발 연구. 한국식품개발연구원 보고서 G1007-0198(1992)
- 村元學, 河村幸雄: 米タンパク質と米タンパク由來の抗血壓上昇性(アンジオテンシン變換酵素阻害) ペプチド. 日本食品工業, 18(1991)
- Hosoyama, H., Oosawa, M. and Hamano, M.: *Bifidobacterium* growth promoting substance in rice bran koji extract. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi*, 38, 940 (1991)
- Miwa, M., Kong, Z.L., Shinohara, K. and Watanabe, M.: Macrophage stimulating activity of foods. *Agri. Biol. Chem.*, 54, 1863(1990)
- 보건사회백서. 보건사회부, 86(1992)
- Sato, T., Ose, T., Nagase, H. and Kito, H.: Mechanism of antimutagenicity of aquatic plant extracts against benzo[a]pyrene in the Salmonella assay. *Mutat. Res.*, 241, 283(1990)
- Morita, K., Hara, M. and Kada, T.: Studies on natural desmutagens; Screening for vegetable and fruit factors active in inactivation of mutagenic pyrolysis products from amino acid. *Agric. Biol. Chem.*, 42, 1235 (1978)
- Hayatsu, H., Arimoto, S. and Negishi, T.: Dietary inhibitors of mutagenesis and carcinogenesis. *Mutat. Res.*, 202, 429(1988)
- Ohta, T., Watanabe, M.,Moriya, M., Shirasu, Y. and Kada, T.: Analysis of the antimutagenic effect of cinnamaldehyde on chemically induced mutagenesis in *E. coli*. *Mutat. Res.*, 192, 309(1983)
- Ames, B.N., McCann, J. and Yamasaki, E.: Methods for detecting carcinogens and mutagens with *Salmonella/mammalian-microsome* mutagenicity test. *Mutat. Res.*, 31, 347(1975)

12. Wolff, S.: Sister chromatid exchange. *Ann. Rev. Genet.* 11, 183(1977)
13. Stich, H.F., Lam, P., Lo, L.W., Koropatnick, D.J. and San R.H.C.: The search for relevant short term bioassays for chemical carcinogens. *Canad. J. Genet. Cytol.* 17, 471(1975)
14. Ohta, T., Nakamura, N., Moriya, M., Shirasu, Y. and Kada, T.: The SOS-function-inducing activity of chemical mutagens in *E. coli*. *Mutat. Res.* 131, 101(1984)
15. Maron, D.M. and Ames, B.N.: Revised methods for the *Salmonella* mutagenicity test. *Mutat. Res.* 113, 173(1983)
16. Quillardet, P., Huisman, O., D'Ari, R. and Hofnung, M.: SOS chromotest, a direct assay of induction of an SOS function in *Escherichia coli* K-12 to measure genotoxicity. *Proc. Acad. Sci.(USA)*, 79, 5971(1982)
17. Quillardet, P., Bellecombe, C.D. and Hofnung, M.: The SOS chromotest, a colorimetric bacterial assay for genotoxins : Validation study with 83 compounds. *Mutat. Res.* 147, 79(1985)
18. Kada, T., Tutikawa, K. and Sadaie, Y.: In vitro and host-mediated "rec-assay" procedures for screening chemical mutagens; and phloxine, a mutagenic red dye detected. *Mutat. Res.* 16, 165(1972)
19. SAS: SAS USER'guide; statistics. Ver. 6.03 Ed. SAS Institute Inc. Cary(1988)
20. 정규찬, 강규모, 남경수 : 인삼 Ether추출물과 Selenium이 7,12-dimethylbenz[*a*]anthracene의 돌연 변이 원성에 미치는 영향. *한국생화학회지*, 19, 193(1986)

(1994년 3월 15일 접수)