

현미의 항돌연변이 활성물질의 구성성분

김인호^{1*} · 전향숙¹ · 문태화²

¹한국식품개발연구원 쌀이용연구센터, ²서울대학교 식품공학과

초록 : 한국산 쌀(일반계 일품벼)로부터 돌연변이 억제물질의 구성성분을 확인할 목적으로 methanol 추출물을 용매분획 및 column chromatography하여 활성 spot을 분리하고 정성 분석과 기기분석을 수행하였다. Ether, ethylacetate, butanol 및 수용성 용매 획분 가운데 ether 획분의 억제활성이 가장 높았으며 silica gel column chromatography를 시행하여 성분을 분리하였을 경우 methanol 추출물의 억제활성이 80% 이상으로 나타났던 결과와 비교하여 분리가 진행됨에 따라 억제활성은 0~30%로 감소하였다. 활성 물질을 정성분석한 결과 ferric chloride, 2,7-dichlorofluorescein, antimony pentachloride, phosphomolybdic acid, bromothymol blue, rhodamin 6G 등의 시약에서는 양성을, ninhydrin, Bial's orcinol 시약에서는 음성을 나타내어 억제활성 물질은 페놀성 화합물과 지질성분인 것으로 조사되었다. 분리된 활성획분을 GC/Mass로 확인한 결과 o-hydroxy benzyl alcohol (saligenin), octanoic acid(caprylic acid), 9,12-cis-octadecadienoic acid(linoleic acid), 11-cis-octadecenoic acid(oleic acid), hexadecanoic acid(palmitic acid), 1H-indole-2-carboxylic acid, 및 1,2-benzenedicarboxylic acid(phthalate)가 주요 구성성분인 것으로 분석되었으며 이들 성분들의 억제활성은 표준시약을 사용한 항변이원성 시험에서 재확인되었다(1995년 9월 15일 접수, 1995년 10월 25일 수리).

서 론

사회와 생활방식의 변화는 식품 소비개념에도 영향을 미쳐 종래의 영양이나 맛과 관련된 식품의 1, 2차 기능에 대한 관심보다는 생체조절의 3차 기능이 강조되고 있다.¹⁾ 따라서 생체조절 인자를 천연물에서 탐색하여 식품 기능을 해석하고 목적 성분을 분리, 농축하여 생리적 활성을 갖는 식품을 개발하려는 연구가 진행되고 있다.

일본²⁾과 미국³⁾의 경우 식품의 기능성 구명 및 활성 성분을 식품에 응용할 목적으로 세부 전문분야 별로 체계적이고 장기적인 시도를 하고 있다. 이러한 건강 식품의 개발은 자국민의 성인병 유발 경향을 중심으로 이루어지는데 우리나라의 경우 환경오염 및 가공식품의 영향으로 악성 신생물인 암에 의한 사망빈도가 가장 높아서⁴⁾ 항암관련 돌연변이 억제 인자를 식품으로부터 검색하고 응용하는 연구가 요구되고 있다. 과채류와 차의 경우 polyphenol류 및 식이섬유가 돌연변이원의 대사적 산화를 억제하거나 변이원 자체를 불활성화 시켜 항변이 활성을 나타내는 것으로 보고⁵⁾되고 있으며, 해조류, 버섯류 등 다양한 식품군 및 첨가물에서 효소,⁶⁾ 지방산,⁷⁾ 비타민,⁸⁾ 항산화제⁹⁾ 등이 항산화 작용, 변이원과 화합물 형성 및 불활성화 등의 역할로 세포내 및 세포외 억제활성을 보이는 것으로 조사되었다. 그러나 주식인 쌀에 관하여는 현미와 미강의 항암 효과¹⁰⁾가 미국 NCI(National Cancer Institute)의 designer food program³⁾에서 확인되었을 뿐 항변이원성 인자 등에 대한 보다 구체적인 연구는 미약하다.

따라서 저자 등이 전보¹¹⁾에서 확인한 현미 methanol

추출물의 돌연변이 억제활성을 바탕으로 활성 성분을 용매 분획하여 Salmonella typhimurium reversion assay로 시험하고 SOS chromotest로 확인하여 선별하였다. 선별된 용매 분획물은 column chromatography를 시행하여 분리하고 소량의 시료로 신속한 항변이 활성검정이 가능한 SOS chromotest로 재선발을 반복한 다음 최종 선별된 활성 물질의 성질 및 구성성분을 조사하였다.

재료 및 방법

재료 및 시약

쌀, 시험균주, 변이원 및 S-9 등은 전보¹¹⁾와 동일하게 사용하였으며 물질 분리시 사용한 TLC(thin layer chromatography) plate(Kieselgel 60, 0.2 mm, Art No.5554)는 Merck사 제품을, silica gel(Wakogel C-300, particle size 45~75 μm)은 Wako사(Japan) 제품을 사용하였으며 o-hydroxy benzyl alcohol(saligenin), octanoic acid(caprylic acid), 9,12-cis-octadecadienoic acid(linoleic acid) 11-cis-octadecenoic acid(oleic acid), hexadecanoic acid(palmitic acid), 1H-indole-2-carboxylic acid, 및 1,2-benzenedicarboxylic acid(phthalate) 등의 표준물질은 sigma사 제품을 사용하였고 기타 모든 시약은 특급품 이상을 사용하였다.

현미 추출물의 준비

벼 상태로 4°C 냉장고에 보관한 벼의 왕겨를 제현기(Satake rice machine, Japan)로 분리하여 현미 시료를 준비하였으며 일반성분은 건물기준으로 수분 12.0%, 조

찾는말 : 쌀, 돌연변이 억제물질, 페놀성 화합물과 지질

*연락처

지방 2.7%, 조단백질 8.0%, 탄수화물 87.9% 및 조회분 1.4%로 조사되었다.

min, 2.5°C/min)로 분석하였다.

결과 및 고찰

돌연변이 억제활성 시험

분획물의 돌연변이 억제효과는 전보¹¹⁾에서 활용한 *S. typhimurium* reversion assay¹²⁾와 SOS chromotest¹³⁾로 활성을 확인, 비교 하였다.

용매분획 및 column chromatography

현미를 methanol 추출후 고형분을 부탄올 분획법으로 분획하였다. 즉 methanol 추출물 57 g에 증류수 200 ml를 가하여 20분간 sonication한 다음 분액여두에 옮긴후 ether를 부어 300 rpm에서 20분간 분액여두 진탕기로 진탕하여 ether층을 분획하는 과정을 2회 반복하였다. 남은 물층에 ether 200 ml를 다시 부어 같은 방법으로 재차 분획하였으며 이들 1차 및 2차 분획을 혼합하여 ether 획분으로 하였다. 동일한 방법으로 ethyl acetate, butanol을 각각 차례로 처리하여 ethylacetate획분, butanol획분 및 수용성획분을 얻었다. 이들 분획물을 억제 활성 시험에 사용하기 위하여 DMSO로 고형물이 10% (w/v)가 되도록 희석하고 sonication하여 용해시킨 다음 4°C에 보관하면서 시험에 사용하였으며, 시험전 0.2 µm 살균필터 또는 UV로 2-3분 조사하는 방법으로 멸균하였다.

활성이 인정된 용매분획물은 성분을 분리할 목적으로 silica gel column chromatography를 행하였으며 분획물은 TLC로 동일한 Rf값을 나타내는 분획물을 모아 감압건조등의 처리를 한 다음 활성물질의 선발시험에 사용하였다.

성분분석

최종 선발한 spot은 preparative TLC하고 각 성분은 정성분석할 수 있는 발색시약¹⁴⁾으로 정성분석 하였다. 활성 spot에 대한 성분분석은 GC/Mass(Hewlett-Packard 5890II GC, Hewlett-Packard 5988 MS)로 수행하였으며, 분석조건으로 column은 Ultra-2(50 m×0.2 mm×0.11 µm)를, carrier gas는 He(0.5 ml/min)을 사용하였으며, electron energy는 70 eV, detector temperature는 300°C, injector temperature는 280°C 및 온도조건은 100°C~280°C(4

용매분획물의 억제활성

활성물질을 용매로 분획하여 분획 효율을 높이고 성분의 기본적인 성질을 파악할 목적으로 methanol 추출물을 용매로 분획하여 고형물의 수득을 및 억제활성을 측정하였다. 즉 현미 1,500 g으로부터 methanol 추출물 57 g(현미 중량에 대하여 3.8%)을 얻었으며 ether, ethylacetate, butanol 및 물의 4가지 용매를 사용하여 차례로 분획한 결과 ether 획분 24.4 g, ethylacetate 획분 2.7 g, butanol 획분 11.1 g 및 수용성 획분 18.8 g(methanol 추출물의 중량에 대하여 각각 42.9%, 4.7%, 19.5% 및 32.9%)을 얻었다. 이들 4가지 획분의 돌연변이 억제활성을 *S. typhimurium* reversion assay와 SOS chromotest로 측정하여 Table 1에 나타내었다.

S. typhimurium reversion assay의 경우 직접변이원 4NQO로 유도된 frameshift type 및 base substitution type 돌연변이에 대하여 ether 획분만이 각각 91%, 63%의 활성을 나타내었으며 다른 획분에서는 미약한 효과를 보였다. 간접변이원 Trp-p-1으로 유도된 돌연변이는 frameshift type 돌연변이의 경우 ether, ethyl acetate 획분에서 각각 99%, 92%의 활성을 나타내었으며, base substitution type 돌연변이의 경우는 ethylacetate, ether, butanol 획분 순으로 각각 100%, 93% 및 82%의 효과가 측정되었다. SOS chromotest에 대하여는 AFB₁의 경우 ether, butanol, ethylacetate, 수용성 획분의 순으로 각각 59%, 53%, 42%, 26%의 SOS 유도능을 저해하는 활성이 측정되었으며 Trp-p-2는 ether, ethylacetate, butanol, 물 획분의 순으로 각각 65%, 60%, 49%, 22%의 활성이 측정되었다. 이상의 결과를 종합하면 ether, ethylacetate, butanol 및 물 획분의 순으로 억제활성이 높은 것으로 조사되었으며, 최고 활성 획분인 ether 획분은 억제활성이 높았던 간접변이원에 대하여 용량-반응 관계를 살펴보았다 (Fig. 1).

S. typhimurium reversion assay의 경우 간접변이원 Trp-p-2 및 AFB₁으로 유도된 돌연변이에 대하여 억제 활성은 ether 분획물의 투여 농도에 비례하여 증가하

Table 1. Inhibitory effects of the solvent fractions of methanol extract of brown rice on the mutagenicities of 4NQO, Trp-p-1, Trp-p-2 and AFB₁ in the *S. typhimurium* reversion assay and the SOS chromotest

Solvent fractions	<i>S. typhimurium</i> reversion assay				SOS chromotest	
	4NQO ¹⁾	4NQO ²⁾	Trp-p-1 ³⁾	AFB ₁ ⁴⁾	Trp-p-2	AFB ₁
Ether	91 ⁵⁾	63	99	93	65	59(78) ⁶⁾
Ethylacetate	0	5	92	100	60	42(50)
Butanol	15	0	24	82	49	53(37)
Aqueous	39	0	0	47	22	26(22)

¹⁾ Mutagen used in frameshift mutation, ²⁾ mutagen used in base substitution mutation, ³⁾ inhibition rate (%), ⁴⁾ values in parentheses indicate average of inhibition rate (%) in the same row.

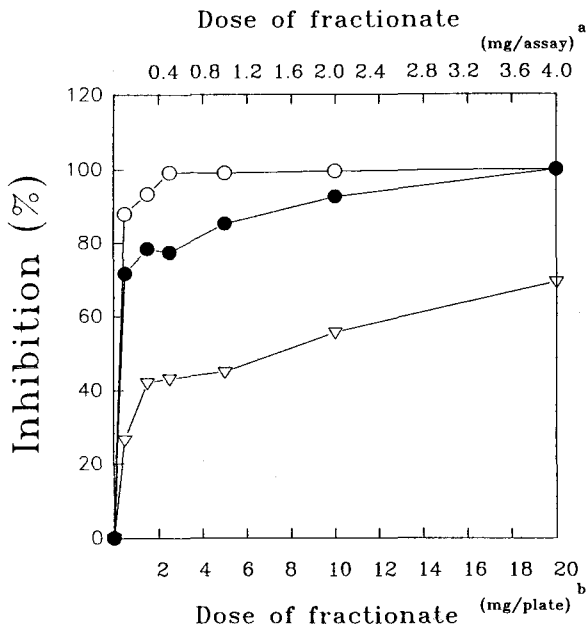


Fig. 1. Dose response of the ether fraction of methanol extract from brown rice in the indirect mutagenesis of Trp-p-2 and AFB₁ tested with *S. typhimurium* reversion assay and SOS chromotest. ○—○, Inhibitory effect against Trp-p-2 in *S. typhimurium* reversion assay; ●—●, inhibitory effect against AFB₁ in *S. typhimurium* reversion assay; ▽—▽, inhibitory effect against AFB₁ in SOS chromotest; a, dose of *S. typhimurium* reversion assay; b, dose of SOS chromotest.

였다. Ether 분획물의 투여농도를 0.6에서 1.3, 2.5, 5.0, 10, 20 mg/plate로 증가시키에 따라, Trp-p-2의 경우 각각 88, 93, 99, 99, 100, 100%의 억제효과를 나타내었으며 AFB₁의 경우는 각각 72, 78, 77, 85, 93, 100%의 억제효과를 보였다. SOS chromotest에서 간접변이원 AFB₁으로 유도된 돌연변이에 대하여는 ether 분획물을 0.1, 0.3, 0.5, 1.0, 2.0, 4.0 mg/assay로 투여농도를 증가시키에 따라 각각 27, 42, 43, 45, 56, 69%의 억제활성을 나타내어 투여농도와 억제활성간의 비례관계가 성립하였다. Methanol 추출물¹¹⁾과 비교하여 용매분획에 따른 억제활성의 변화를 살펴보면, *S. typhimurium* reversion assay의 경우 Trp-p-2로 유도한 돌연변이에 대하여 0.6 mg/plate 농도에서 80%의 활성이 측정되었고 methanol 추출물은 3 mg/plate 농도에서 동일한 억제활성을 나타내어 ether 분획물이 낮은 투여농도로도 동일한 억제활성을 보여 용매분획에 따라 비활성이 높아진 것으로 조사되었다. 그러나 SOS chromotest의 경우는 AFB₁으로 유도한 돌연변이에 대하여 4 mg/assay 농도에서 60%의 억제활성을, methanol 추출물은 0.2 mg/assay에서 같은 억제활성을 나타내어 methanol 추출물이 낮은 투여농도로도 동일한 억제활성을 보여 분획에 따라 비활성이 낮아졌으며 *S. typhimurium* reversion assay와 상반된 결과를 나타내었다. 따라서 용매분획물을 column chromatography로 활성획분을 보다 세분하고 활성의 증감경향 및 구성성분을 살펴보았다.

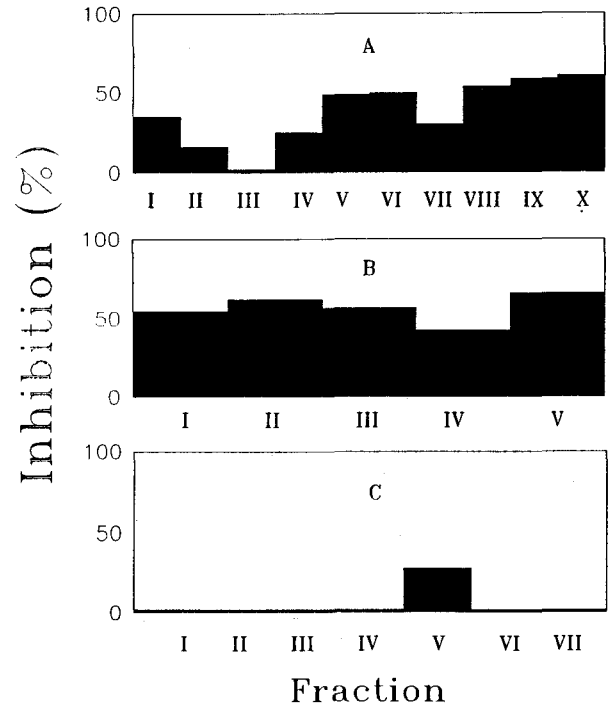


Fig. 2. Inhibitory effects of fractionate obtained from the silica gel chromatography and preparative TLC on the AFB₁, Trp-p-2 and 4NQO induced mutagenesis. A, First silica gel chromatography; B, second silica gel chromatography; C, preparative TLC.

돌연변이 억제활성 획분의 선발

돌연변이 억제활성 획분은 silica gel column chromatography 및 preparative TLC를 반복적으로 수행하면서 *S. typhimurium* reversion assay와 상관성이 높으며($r=0.85$)¹³⁾ 소량의 시료로 신속하게 분석할 수 있는 SOS chromotest를 이용하여 선발하였다(Fig 2). 선발기준은 억제활성이 높은 획분을 우선하여 선발하였으며 기준이 되는 β -galactosidase unit 보다는 단백질의 합성저해 역가를 나타내는 보정계수인 alkaline phosphatase unit의 값이 높아 억제활성이 높은 값으로 나타난 획분은 선발에서 제외하였다. 즉 methanol 추출물의 ether 분획물을 1차 column chromatography하여 932개의 fraction을 얻은 다음 TLC를 시행하여 유사한 Rf치를 기준으로 10개의 fraction으로 grouping 한 후 돌연변이 억제활성 54%로 최대값을 나타낸 fraction VIII을 활성획분으로 선발하였다. Fraction VIII은 다시 2차 column chromatography하여 116개의 fraction을 얻었으며 1차 분획과 같은 방법으로 억제활성 66%의 fraction VIII-5를 선발하였다.

Preparative TLC 및 활성 spot의 정성분석

2차 column chromatography에서 선발된 활성 fraction VIII-5를 대상으로 preparative TLC를 수행하고 돌연변이 억제활성을 검색한 결과 28%의 억제활성을 나타낸 VIII-5-5를 선발하였다(Fig. 2). Methanol 추출물의 억제활성 80~88%¹¹⁾와 비교하여 분리가 진행됨에 따라 억제활성이 감소하였는데, 이는 활성의 본체가 단일 물질보다는

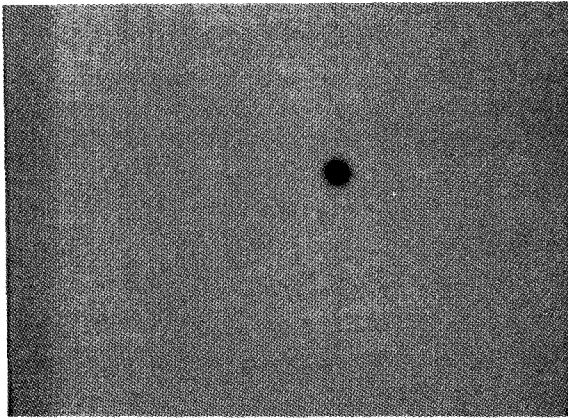


Fig. 3. Two dimensional TLC of the active spot VIII-5-5.

비활성(specific activity)이 높지 않은 여러가지 성분이 각각 활성을 나타내어 종합적으로 높은 활성을 보이거나 또는 그들 성분간의 상승효과일 가능성을 시사하는 결과였다. 활성 Fraction VIII-5-5는 TLC로 2차원 전개하여 단일 spot임을 확인하고(Fig. 3) 물질의 성질에 따라 발색하는 TLC spray reagent로 정성분석하여 Table 2에 나타내었다.

활성 물질은 모두 ninhydrin과 orcinol 시약에서 음성을 나타내어 아미노산이나 단백질 등 질소 함유 물질 또는 수용성 당 및 당지질 관련 물질은 아니며 기타 시약에서는 양성으로 반응하는 것으로 보아 phenol성 화합물이나 지질관련 물질 또는 이들 물질의 결합체로 추정되었다. 따라서 phenol성 화합물과 지질의 항돌연변이 작용방식을 살펴보면, 지질의 항변이활성은 주로 oleic acid, linoleic acid 등이 P450 효소의 작용을 억제함으로써, 변이원성을 유발하는 N-OH-Trp-p-2의 형성을 억제하거나,¹⁵⁾ 지질 과산화물이 N-OH-Trp-p-2와 반응하여 aryl hydroxyamine과 지질의 복합체를 형성하는 작용에 의하여 독성을 감소시키는 것으로 알려져 있다.¹⁶⁾ 또한 녹차 등의 다류와 과채류를 대상으로 항변이원성을 실험한 결과 페놀 화합물이 항산화 작용에 의하여 산화에 의한 변이원의 대사적 활성을 억제하는 것으로 보고^{17,18)}되고 있어 쌀에 존재하는 항변이원성 물질도 이와 같은 역할에 의하여 활성을 나타내는 것으로 추측하였다.

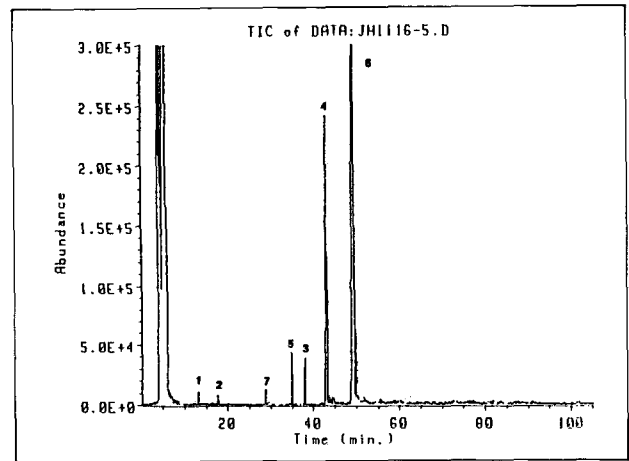


Fig. 4. Total ion chromatogram of the active spot VIII-5-5.

1, octanoic acid(caprylic acid); 2, o-hydroxy benzyl alcohol(saligenin); 3, hexadecanoic acid(palmitic acid); 4, 1H-indole-2-carboxylic acid; 5, 9,12-cis-octadecadienoic acid(linoleic acid); 6, 11-cis-octadecenoic acid(oleic acid); 7, 1,2-benzenedicarboxylic acid(phthalate).

활성 spot의 GC/Mass spectrum

활성 spot VIII-5-5의 구성성분을 확인할 목적으로 GC/Mass로 분석하여 total ion chromatogram을 Fig. 4에 나타내었다.

TLC에서는 단일 spot으로 나타났으나 GC/Mass로 분석한 경우 주된 peak로서 7 peak가 분석되었으며 그 성분은 o-hydroxy benzyl alcohol(saligenin), octanoic acid (caprylic acid), 9,12-cis-octadecadienoic acid(linoleic acid), 11-cis-octadecenoic acid(oleic acid), hexadecanoic acid(palmitic acid), 1H-indole-2-carboxylic acid, 및 1,2-benzenedicarboxylic acid(phthalate) 등으로서 lipid, phenolic compound 계열의 물질이 구성성분인 것으로 분석된 정성 분석의 결과에 부합하였다. 그러나 현미의 돌연변이 억제활성 물질이 TLC에 의해서 단일 spot으로 분리되었으나 GC/Mass에 의하여는 여러성분으로 분석되어 그 구성성분만을 확인하였으므로 단일성분으로 분리하고 동정하기 위하여는 분취 HPLC 등 기타의 분리방법이 시도되어야 할 것이다.

분리성분의 항돌연변이원성 확인

분리된 항변이 활성성분의 억제활성을 표준물질로서

Table 2. Qualitative analysis of active fraction, VIII-5-5

TLC spray reagent	Analyzed compounds	Result
Ferric chloride	Phenol & phenolic acid, cholesterol & cholesterol ester	Pink
2,7-Dichlorofluorescein	Saturated & unsaturated lipids	Fluorescent green
Antimony pentachloride	Vit A,D,E, (terpenes) steroid, oil, resins	Fluorescent brown
Ninhydrin	Amino acids, amines and amino sugars	Color undeveloped
Phosphomolybdic acid	Phenolic compound & steroid which are susceptible to reduction (reducing compound)	Blue
Bial's orcinol reagent	Glycolipids, sulfurlipids gangliosides, sugars	Color undeveloped
Bromothymol blue	Lipids	Deep Yellow
Rhodamine 6G	Lipids (including sterol)	Violet

Table 3. Antimutagenicity of constituents of active fractionate isolated from brown rice against the Trp-p-2 induced mutagenesis

Constituents of fractionate	Inhibition (%)		
	0.1 mg/plate	1 mg/plate	10 mg/plate
o-hydroxy benzyl alcohol	—	—	53±2.45
octanoic acid	22±11.95	73±47.14	100±0.00
9,12-cis-octadecadienoic acid	—	100±0.00	96±1.70
11-cis-octadecenoic acid	8±7.59	80±1.41	100±0.00
hexadecanoic acid	10±6.50	—	27±9.18
1H-indole-2-carboxylic acid	0±0.00	—	100±0.00
1,2-benzenedicarboxylic acid	4±10.80	—	100±0.00

S. typhimurium reversion assay를 이용하여 재확인한 결과는 Table 3과 같다.

변이원 Trp-p-2로 유도된 돌연변이에 대하여 억제활성 물질 o-hydroxy benzyl alcohol, octanoic acid, 9,12-cis-octadecadienoic acid, 11-cis-octadecenoic acid, hexadecanoic acid, 1H-indole-2-carboxylic acid, 및 1,2-benzenedicarboxylic acid를 0.1 mg/plate, 1 mg/plate 및 10 mg/plate 농도로 투여하여 억제활성을 확인하였다. 0.1 mg/plate 투여하였을 경우 억제활성은 각각 0%, 22%, 0%, 8%, 10%, 0% 및 4%를 나타내었으며 1 mg/plate 투여하였을 경우는 각각 0%, 73%, 100%, 80%, 0%, 0% 및 0%를, 10 mg/plate 투여의 경우는 각각 53%, 100%, 96%, 100%, 27%, 100% 및 100%로 조사되었다. 투여농도와 억제활성의 비례관계가 다소 성립하지 않는 성분이 있으나 대체로 억제활성은 투여농도에 비례하였으며 구성성분 가운데 9,12-cis-octadecadienoic acid, 11-cis-octadecenoic acid, octanoic acid의 억제활성이 높았다. 10 mg/plate 투여농도를 기준으로 활성의 정도는 차이가 있으나 모든 처리구에서 억제활성을 나타내어 현미의 항돌연변이 활성물질은 이들 물질로 구성되어 있음을 재확인하였다.

참 고 문 헌

1. 千葉英雄, 荒井綜合 (1988) 機能性食品. 化學と生物 **26**(1), 34-40.
2. 露木英男 (1991) 食品の本質と機能を与える. *New Food Industry* **36**(7), 31-36.
3. Haumman, B. F. (1993) Designing manipulating foods to promote health. *Inform.* **4**(4), 344-373.

4. 보건사회부 (1992) 보건사회백서, pp.86-92.
5. Morita, K., Nishijima, Y. and Kata, T. (1985) Chemical nature of a desmutagenic factor from Burdock. *Agric. Biol. Chem.* **49**(4), 925-932.
6. Inoue, T., Morita, K. and Kada, T. (1981) Purification and properties of plant desmutagenic factor for the mutagenic principle of tryptophan pyrolysate. *Agric. Biol. Chem.* **45**, 345-353.
7. Ho, T. A., Alldrick, A. J. and Rawland, I. R. (1992) Effect *in vitro* of arachidonic acid, eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid on the hepatic activation of dietary genotoxins by rat post-mitochondrial fractions. *Food Chem. Toxicol.* **30**(10), 853-858.
8. Arroyo, P. L., Hatch-Pigott, V. Mower, H. F. and Cooney, R. V. (1992) Mutagenicity of nitric oxide and its inhibition by antioxidants. *Mut. Res.* **281**, 193-196.
9. Chen, C., Pearson, A. M. and Gray, J. I. (1992) Effects of synthetic antioxidants(BHA, BHT and PG) on the mutagenicity of IQ like compounds. *Food Chem.* **43**(3), 177-183.
10. Duxbury, D. (1993) Fiber, form follows function. *Food Processing* **54**(3), 44-54.
11. 전향숙, 김인호, 김영진, 김길환 (1994) 쌀 추출물의 돌연변이 억제효과. *한국식품과학회지* **26**(2), 188-194.
12. Maron, D. M. and Ames, B. N. (1983) Revised methods for the *Salmonella* mutagenicity test. *Mut. Res.* **113**, 173-213.
13. Quillardet, P. C., Bellecombe D. and Hofung M. (1985) The SOS chromotest, a colorimetric bacterial assay for genotoxins, validation study with 83 compounds. *Mut. Res.* **147**, 65-78.
14. Christie, W. W. (1982) Lipid analysis. 2nd edition, pp.94-121, Pergamon Press, NY, USA.
15. deWaziers, I. and Decloitre, F. (1984) Effect of glutathione and uridine-5'-diphosphoglucuronic acid on the mutagenicity of tryptophan pyrolysis products(Trp-p-1 and Trp-p-2) by rat-liver and intestine S-9 fraction. *Mut. Res.* **139**(1), 15-19.
16. Pariza, M. W., Loretz, L. J., Strokson, J. M. (1983) Workshop conference on nutrition in cancer causation and prevention. *Cancer Res.* **43**(5), 2444-2446.
17. Shinohara, K., Kuroki, S., and Miwa, M.(1988) Antimutagenicity of dialyzates of vegetables and fruits. *Agric. Biol. Chem.* **52**(6), 1369-1375.
18. Kada, T., Kaneko, K., Matsuzaki S., Matsuzaki, T. and Hara, Y. (1985) Detection and chemical identification of natural bio-antimutagens, a case of green tea factor. *Mut. Res.* **150**, 127-132.

Constituents of Antimutagenic Factor from Brown Rice

In-Ho kim^{1*}, Hyang-Sook Chun¹ and Tae-Wha Moon² (¹Rice Utilization Research Center, Korea Food Research Institute; ²Department of Food Science and Technology, Seoul National University)

Abstract : To investigate the constituents of antimutagenic factor from brown rice, methanol extracts were fractionated into ether, ethylacetate, butanol and aqueous fractions. The ether fractions showed distinct antimutagenic effect and active spot were selected by silica gel chromatography. The specific activity of active spot decreased with isolation of the active components from the methanol extract. Qualitative analyses of the active spot by using various spraying reagents revealed that ninhydrin and orcinol did not develop colored reactions. But, ferric chloride, 2,7-dichlorofluorescein, antimony pentachloride, phosphomolybdic acid, bromothymol blue and rhodamine 6G led to colored reactions. These results suggested that the constituents of active material were neither polar nor nitrogen-containing compounds and that they may contain phenolic compounds and fatty acid derivatives. Main compounds of the active spot were analyzed to be o-hydroxy benzyl alcohol(saligenin), octanoic acid(caprylic acid), 9,12-cis-octadecadienoic acid(linoleic acid), 11-cis-octadecenoic acid(oleic acid), hexadecanoic acid(palmitic acid), 1H-indole-2-carboxylic acid and 1,2-benzenedicarboxylic acid(phthalate) in GC/Mass spectrum, and antimutagenicity of these active compounds using standard reagent was reconfirmed in *S. typhimurium* reversion assay.

*Corresponding author