

Salmonella 실험계에서 케일즙액의 항돌연변이 효과와 활성획분

이선미 · 박건영 · 이숙희[†]
부산대학교 식품영양학과

Antimutagenic Effect and Active Compound Analysis of Kale Juice in Salmonella Assay System

Seon-Mi Lee, Kun-Young Park and Sook-Hee Rhee[†]

Dept. of Food Science and Nutrition, Pusan National University, Pusan 609-735. Korea

Abstract

Antimutagenic effects of kale juice on the mutagenicity induced by aflatoxin B₁(AFB₁) and N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine(MNNG) in *Salmonella* assay system were studied. The freeze dried kale juice significantly reduced the mutagenicity induced by AFB₁ in *Salmonella typhimurium* TA100 and TA98. However, the kale juice exhibited less inhibitory effect on the mutagenicity induced by MNNG as the concentrations of the juice sample increased. Also, kale juice after dialysis (>12,000, Mw) appeared to have 42.3~89.5% of inhibitory effects against AFB₁, however, the dialyzate did not show any inhibitory effect against MNNG. After heating, the kale juice exerted no antimutagenic activities on the mutagenicity of AFB₁ and MNNG. To separate and identify the antimutagenic compounds from the kale juice, the dialyzates were further fractionated by using Sepharose CL-6B-200 gel filtration. Fraction number 13 showed the strong antimutagenic activity against AFB₁, and the fraction exhibited positive results of a characterized colour reactions of protein, carbohydrate and phenolic compound. Therefore, one of the possible active compounds from the kale juice was supposed to a glycoprotein(Mw. 270,000) which seemed unstable with heating.

Key words: kale juice, *Salmonella* assay, antimutagenicity, gel filtration

서론

케일(*Brassica oleracea* var. *acephala*)은 십자화과 채소들 중의 하나로서 소아시아로부터 유래되었고, 양배추의 고대 야생형과 매우 가깝게 관련된 것으로 간주된다(1). 케일은 비타민과 무기질이 풍부한 채소로써, 특히 비타민 C(146mg/100g), 비타민 U(54mg/100g), β-카로틴(70.3μg/g), 칼슘(181mg/100g) 등이 많이 함유되어 있고(2,3), 또한 총식이섬유소(total dietary fiber, 35.5%), 클로로필(187mg/100g), 플라보노이드인 quercetin(110mg/kg)과 kaempferol(211mg/kg) 등도 많이 함유되어 있는 것으로 보고되어 있다(4-6). 최근 우리나라에서 녹즙의 재료 및搾음으로 많이 이용되는 케일은 동아프리카와 케냐 등에서 많이 식용되고 있는 잎채소로써 특히 케냐의 전통음식인 [우갈리]의 재료로써 사용될 뿐만 아니라(7) 싱가포르의 중국인과 브라질 등에서도

많이 섭취 이용되고 있다(8).

케일과 항돌연변이(발암)성의 상관관계를 살펴보면, 케일에서 발견된 benzyl isothiocyanate와 phenethyl isothiocyanate란 물질이 female Sprague-Dawley rat에서 유암을 일으키는 7,12-dimethyl-benz[*a*]anthracene(DMBA)의 돌연변이성을 저해하는 것으로 밝혀졌고, 또한 케일에 항암적 활성이 있는 플라보노이드로 알려진 quercetin과 kaempferol의 함량이 각각 110 mg/kg과 211mg/kg으로 다른 채소들보다 다량 포함되어 있다고 보고되어 있다(6,9,10). Lee 등(11,12)은 Ames 실험계에서 케일의 수용성 및 불용성 식이섬유소가 aflatoxin B₁(AFB₁), 3,2'-dimethyl-4-amino-biphenyl (DMAB), 2-amino-3,4-dimethyl-imidazo[4,5-f]quinoline(Me-IQ), 3-amino-1-methyl-5H-pyrido[4,3-b]indole(Trp-p-2)의 돌연변이 유발성을 억제하였다고 보고하였고, 최 등(13)은 *in vivo*상의 초파리 실험계에서 케일즙액

[†]To whom all correspondence should be addressed

이 AFB₁에 의해 유발되는 돌연변이성을 억제한다고 하였으며, 김 등(14)은 케일즙액이 *in vivo*상에서 고콜레스테롤혈증 흰쥐의 인지질과 콜레스테롤 농도를 저하시켰으며 혈청 및 간장의 과산화지질 농도도 낮추었다고 발표하였다.

본 실험에서 사용된 박테리아의 변이주를 이용한 Ames실험계는 간편성, 경제성 및 신뢰성때문에 널리 이용되는 *in vitro* 돌연변이 유발(발암)실험계로써 동물발암실험들과 정의 깊은 상관관계(85%)를 가지고 있다. 사용된 histidine 요구성 균주인 *Salmonella typhimurium* TA100과 TA98은 돌연변이원/발암원을 탐지하기 위한 균주로써, *S. typhimurium* TA100은 base-pair substitution을 일으키는 돌연변이원율, *S. typhimurium* TA98은 frame shift 돌연변이원율을 검출하는데 이용된다(15).

본 연구에서는 여러 십자화와 채소들을 screening하는 과정 중에 특히 항돌연변이 및 항암효과가 크다고 밝혀진 케일을 시료로 선택하여 항돌연변이 활성의 차이를 연구하였다. *Salmonella* 실험계를 이용하여 케일의 즙액추출물이 AFB₁과 N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine(MNNG)의 돌연변이성을 억제하였는지를 검토하였고, 가열 또는 투석한 후의 영향도 살펴보았다. 또한 케일즙액의 투석물을 gel filtration하여 얻은획분들의 항돌연변이효과 및 총 phenol함량의 변화를 측정하였고, 그것들 중 가장 활성이 큰 획분의 분자량 측정 및 정성실험도 행하였다.

재료 및 방법

시료

케일(*Brassica oleracea var. acephala*, Tree kale)은 부산시의 일반시장에서 구입하였으며, 녹즙기(엔젤라이프(주))를 이용하여 시료의 즙액부분을 모은 뒤 4°C, 9,000rpm에서 30분간 원심분리하여 상등액을 채취한 후, milipore filter(0.45µm)로 여과 멸균하여 즙액시료로 실험에 사용하거나, 또는 이 즙액을 동결건조시킨 후 분말을 얻어서 멸균증류수에 적당한 농도로 녹여 milipore filter(0.45µm)로 여과 멸균하여 즙액시료로 이용하였다(16).

시료의 투석 및 열처리

신선한 케일즙액을 4°C, 9,000rpm에서 30분간 원심분리한 후 얻은 상등액을 4°C에서 투석(Mw 12,000, cellulose tubing, Sigma사)하였고, 투석 후 얻어진 투석

막 내의 물질을 동결건조시켜 멸균증류수에 용해하여 투석물로써 사용하였다(17,18). 또한 케일즙액의 열처리하는 즙액을 4°C, 9,000rpm에서 30분간 원심분리하여 상등액을 채취한 후, 동결건조시켜 나온 분말을 각각 100°C의 항온조에서 20분간 가열한 후 실험에 사용하였다(19).

돌연변이유발물질/발암물질

Aflatoxin B₁(AFB₁, Sigma사)은 dimethyl sulfoxide(DMSO)에 녹여서 실험에 사용하였고, N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine(MNNG, Aldrich사)는 증류수에 녹여 실험에 이용하였다.

Ames 항돌연변이유발 실험

S. typhimurium TA100과 TA98을 이용한 항돌연변이효과 실험은 다음과 같은 방법으로 행하였다(15,20-22). S9 mix.는 Maron과 Ames의 방법(15)에 따라 약 200g의 Sprague-Dawley rat (male)를 Aroclor 1254로 복강주사하여 induction시킨 5일 후, 적출하여 얻은 간의 microsomal enzyme fraction으로부터 조제하였다. S9 mix. 0.5ml(간접돌연변이인 경우) 혹은 phosphate buffer 0.5ml(직접돌연변이인 경우), 12시간 배양된 균주($1 \sim 2 \times 10^8$ cells/ml) 0.1ml, 돌연변이원 희석액(50µl), 케일의 즙액추출물을 ice bath에 담긴 cap tube에 차례로 넣고, 가볍게 vortex한 후 37°C에서 30분간 예비배양하였다. 45°C의 top agar 2ml씩을 각 tube에 붓고 3초간 vortex하여 minimal glucose agar plate에 도말하고 37°C에서 48시간 배양한 후 복귀돌연변이(revertant) 숫자를 계수하였다. 한편 실험에 사용된 돌연변이원들의 농도는 예비실험(dose response)을 통하여 결정하였고, 본 실험에 사용된 시료의 농도들은 독성실험에서 독성을 나타내지 않았다.

Gel chromatography에 의한 시료의 분획

즙액투석물을 더욱 세분하여 분획하고 최종적으로 그 성분들을 분리하기 위해 Sepharose gel chromatography를 행하였다(17,23-25). Sepharose gel(CL-6B-200, Sigma사)을 전개용매(증류수)에 충분히 현탁시킨 다음에 고정된 column(50cm×1.5cm, i.d.)에 조심스럽게 가하였다. 시료(0.5g)를 증류수에 현탁하여 9,000rpm에서 10분간 원심분리한 후, 7.5ml volumn으로 고정된 column에 가하였다. 증류수를 용출액으로 가하여 용출(용출속도: 30ml/hr)을 시작하여 5ml씩 분취하여 30개의 분획물을 얻었다.

총 phenol량의 분석

앞의 Sepharose gel chromatography(CL-6B-200)을 행하여 얻은 30개의 분획물에서, 분획액 0.2ml와 2% NaCO₃ 2ml을 섞고 2분 후 50% Folin-Ciocalteau reagent 0.1ml를 가하여 실온에서 30분간 incubation시킨 다음 750nm에서 흡광도를 측정하여 총 phenol량을 분석하였으며, 표준물질로는 catechin을 사용하였다(19).

활성획분의 분자량 측정

Andrew의 gel filtration 방법에 준하여 분자량을 측정했다(23,25-27). 각종 표준단백질을 증류수에 용해한 다음 Sepharose CL-200 column(1.5×50cm)에 넣어 아래와 같은 조건에서 용출시켜 5ml씩 분취하였다. 표준단백질로 Sigma사에서 구입한 albumin bovine serum (Mw. 66,000), β-amylase(Mw. 200,000), apoferrin horse spleen(Mw. 443,000)을 사용하였고 void volume를 구하기 위해 blue dextran(Mw. 2,000,000)을 표준물질로 이용하고, Ve/Vo를 구하였다.

활성획분의 정성실험

앞에서 Sepharose gel chromatography에 의해 추출 분리된 활성획분 13의 특성을 규명하기 위해 단백질정색반응으로 Millon 반응, Ninhydrin 반응, 당질의 공통정색반응으로 Molisch 반응, Anthrone 반응 그리고 페놀성 화합물의 확인으로 Folin-ciocalteau시약에 대한 반응과 페놀화합물들의 특징인 알카리 또는 AlCl₃에 대한 반응성을 측정하였다(28,29).

통계분석

대조군 및 각 시료들의 돌연변이 억제효과에 대한 통계적 유의성을 측정하기 위해, 실험자료로부터 ANOVA를 구한 후 Duncan's multiple range test 또는 Student t-test를 이용하여 통계분석하였다.

결과 및 고찰

케일로부터 추출한 즙액의 동결건조물을 농도별로 희석하여 AFB₁의 돌연변이성에 어떤 영향을 미치는지를 *S. typhimurium* TA100과 TA98균주를 이용하여 검토하였다(Fig. 1). *S. typhimurium* TA100균주에서 5% 농도의 케일시료를 첨가한 후 AFB₁에 의해 유발된 돌연변이성은 72.1%가 저해되는 것으로 나타났고, 10%의 케일 시료농도인 경우는 93.4%의 돌연변이유발 억

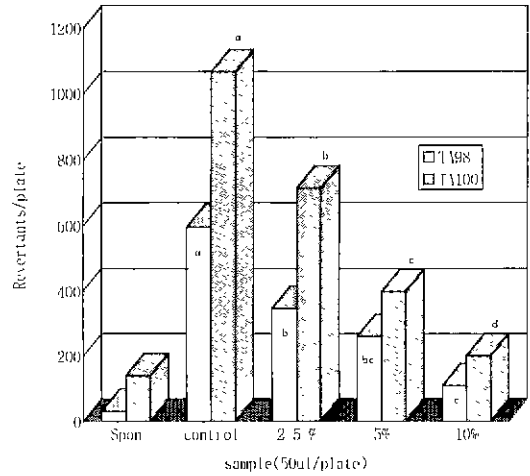


Fig. 1. Effect of freeze dried juice of kale on the mutagenicity induced by AFB₁(0.28µg/plate) in *Salmonella typhimurium* TA100 and TA98.

^{a-d}Means with the different letters surmounted on the bars are significantly different at the 0.05 level of significance as determined by Duncan's multiple range test

제효과를 가져서(p<0.01), 신선한 케일즙액이 동결건조과정을 거친 후에도 생리 활성물질이 거의 파괴되지 않음을 알 수 있었다. 또한 *S. typhimurium* TA98균주에서도 5%, 10%농도의 케일시료를 첨가한 후 AFB₁에 의해 유발된 돌연변이성을 각각 59.5%, 86.2%를 저해하는 것으로 밝혀져(p<0.05), *S. typhimurium* TA100과 TA98균주 사이에서는 균주에 따른 활성의 별다른 차이점이 관찰되지 않았다. AFB₁은 간접돌연변이원으로써 microsomal 활성(S9 mix.)이 필요하므로, AFB₁에 대해 저해효과를 나타낸 케일즙액은 간의 microsomal 효소계의 활성화에 관여하여 돌연변이 전구물질을 최종돌연변이물질로의 전환을 방지하였거나 활성화된 돌연변이물질에 직접 반응하여 제거하였을 가능성이 있는 것으로 사려된다(30).

Fig. 2는 케일즙액의 동결건조물이 직접돌연변이원인 MNNG의 돌연변이 유발성에 영향을 미치는 *S. typhimurium* TA100 균주를 이용하여 검토한 결과인데 시료농도가 높아질수록 항돌연변이효과가 오히려 감소되는 효과가 관찰되었다. 2.5%의 케일 시료농도에서 돌연변이유발 저해효과가 80.4%로 AFB₁에 비해 큰 항돌연변이효과를 나타내었지만, 5%, 10%의 시료농도에서는 각각 54.0%, 6.1%의 돌연변이유발 억제효과를 가져서 농도에 따라 활성이 떨어짐을 알 수 있었다. 사용된 MNNG는 강력한 돌연변이유발물질로 MNNG 혹은 그 동족체인 N-ethyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine

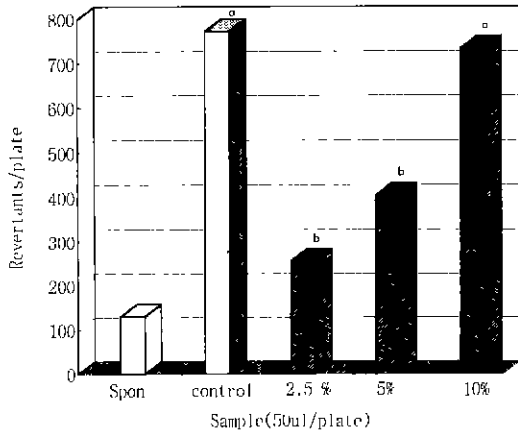


Fig. 2. Effect of freeze dried juice of kale on the mutagenicity induced by MNNG (0.44µg/plate) in *Salmonella typhimurium* TA100.

^{a, b}Means with the different letters surmounted on the bars are significantly different at the 0.05 level of significance as determined by Duncan's multiple range test.

(ENNG)의 투여에 의해 쥐의 선위(forestomach)에서 암을 발생시킬 수 있기 때문에 위암연구에 많이 이용되고 있으며 이것의 발암작용은 DNA 열기배열에 이상을 일으키는 유전적인 작용과 DNA의 특이 유전자의 발현에 이상을 일으키는 것과 같은 기전에 관여된다고 알려져 있다(31). Fig. 1의 결과와 비교해 보면 간접돌연변이원이 직접돌연변이원보다 항돌연변이효과가 크게 나타났으므로 케일즙액은 Ames 실험계에서 간접돌연변이원의 활성저해와 연관성이 높다고 추측되어진다.

신선한 케일즙액을 투석(>12,000)하여 얻어진 투석막 내의 물질을 동결건조시켜 멸균증류수에 용해하여 투석물로서 이용하였는데, 투석물이 돌연변이원인 AFB₁과 MNNG의 돌연변이성을 억제하였는지를 *S. typhimurium* TA100균주를 이용하여 검토한 결과는 Table 1과 같다. AFB₁의 경우에 분자량 12,000이상인 케일 투석물의 농도가 높아짐에 따라 항돌연변이효과가 관찰되었는데, 이것은 Fig. 1의 결과와 비교해보면 거의 비슷한 양상을 보임을 알 수 있었다. 투석 후, 1.0%와 2.5%농도의 케일 투석물은 AFB₁에 대해 각각 42.3%와 43.1%의 돌연변이유발 억제효과를 보여 농도에 따른 차이를 거의 발견할 수 없었고, 5.0%의 케일 투석물은 복귀돌연변이수가 312개로서 68.8%의 저해효과를 보였고, 10.0%의 케일 투석물은 복귀돌연변이수가 185개로서 돌연변이성을 89.5% 저해하였다($p < 0.01$). 투석 전후의 활성 차이가 거의 관찰되지 않았으므로 AFB₁에 대한 케일즙액의 활성물질은 분자량이 12,000이상인

Table 1. Effect of freeze dried juice of kale after dialysis (>12,000, Mw) on the mutagenicity induced by AFB₁(0.25µg/plate) and MNNG(0.44µg/plate) in *Salmonella typhimurium* TA100

Treatment	Revertants/plate	
	AFB ₁	MNNG
Spontaneous	121 ± 7	146 ± 12
Control	733 ± 40	2474 ± 80
Kale juice (dialyate)		
1.0%	474 ± 8(42.3)**	
2.5%	469 ± 6(43.1)**	2910 ± 88(-) ¹⁾
5.0%	312 ± 24(68.8)**	2872 ± 127(-)
10.0%	185 ± 11(89.5)**	2610 ± 156(-)

¹⁾The values in parentheses are the inhibition rate(%)

**Significantly different from the control at the $p < 0.01$

것으로 추측되어진다. 그러나 AFB₁에 강한 효과가 있었던 케일 투석물이 MNNG의 돌연변이성은 전혀 억제하지 못하는 것으로 나타났는데(Table 1), 이것은 Fig. 2의 결과와는 상이한 결과이다. MNNG의 경우, 투석 전에는 높은 시료농도에서는 돌연변이 억제효과가 거의 없어지지만, 2.5%의 낮은 시료농도에서 케일즙액이 80.4%의 상당한 항돌연변이효과를 가졌는데 투석 후에는 시료농도에 관계없이 활성이 완전히 없어지는 것으로 나타나서 MNNG의 돌연변이성을 억제시키는 물질은 분자량이 12,000이하인 것으로 추측된다. Shinohara 등(19)은 16종의 채소와 과일들의 투석물의 돌연변이성을 저해하는 영향을 조사한 바, 이런 투석물들이 MNNG와 같은 직접돌연변이원보다는 벤조피렌, AFB₁ 등과 같은 간접돌연변이원의 돌연변이성을 더 많이 저해하는 경향을 가졌고 투석물의 polyphenol 양과 항돌연변이효과 사이에도 상관관계가 있었다고 보고하였다.

케일즙액의 동결건조물을 100°C로 20분간 가열한 후 농도별로 희석하여, 시료의 가열처리가 AFB₁과 MNNG의 돌연변이성에 어떤 영향을 미치는지를 관찰하였다(Table 2, 3). AFB₁의 경우 Fig. 1의 결과와 비교해보면, 시료의 항돌연변이활성이 가열 전에는 매우 강하게 나타났으나 가열 후에는 완전히 사라지는 것을 알 수 있었고, MNNG인 경우에는 동결건조하지 않은 신선한 케일즙액을 사용하였는데 Fig. 2의 결과와 비교해보면 가열 후에 시료가 돌연변이 억제작용이 없는 것으로 나타났다. 그래서 케일즙액의 항돌연변이 활성물질은 열에 불안정하다는 것을 추측할 수 있었다. Inoue 등(32)에 의한 연구에서도 양배추의 즙액이 Trp-p-2에 대해 높은 변이원불활성화효과를 나타내었지만, 가열한 양배추의 즙액은 거의 효과를 나타내지 않아서 양배추의 변이원불활성화 인자는 열에 매우 불안정하며

Table 2 Effect of freeze dried juice of kale after heating (100°C, 20min) on the mutagenicity induced by AFB₁ (0.25µg/plate) in *Salmonella typhimurium* TA100

Treatment	Revertants/plate	Inhibition(%)
Spontaneous	121 ± 7	
Control(AFB ₁)	733 ± 40	
Kale juice 2.5%	639 ± 81	15.4
5.0%	721 ± 52	2.0
10.0%	790 ± 93	-

Table 3. Effect of filtered fresh juice of kale after heating (100°C, 20min) on the mutagenicity induced by MNNG (0.44µg/plate) in *Salmonella typhimurium* TA100

Treatment	Revertants/plate	Inhibition(%)
Spontaneous	146 ± 12	
MNNG + Distilled water		
50µl	2474 ± 80	
100µl	1986 ± 88	
200µl	2027 ± 9	
500µl	1895 ± 47	
MNNG + Kale juice		
50µl	2558 ± 150	-
100µl	2709 ± 1	-
200µl	2679 ± 137	-
500µl	1742 ± 42	8.7

NADP-oxidase활성을 가진 peroxidase인 것으로 추정되어졌다. 또한 브로콜리즙액로부터 추출한 변이원 불활성화 인자도 양배추 즙액과 서양고추냉이 즙액에서 동정된 peroxidase와 유사하였고(33), 무우즙액에서 담배연기농축물에 대해 돌연변이 억제효과를 나타내는 물질은 분자량이 50,000 이상으로 100°C의 열처리시 5분 이내로 돌연변이 억제효과가 크게 감소하는 것으로 나타났다(34)

Fig. 3은 케일즙액의 생리활성물질을 분리하기 위해 케일즙액의 투석물(Mw>12,000)을 Sepharose(CL-6B-200)로 충전된 column(1.5×50cm)으로 gel filtration하여, *S. typhimurium* TA100균주를 이용한 항돌연변이 실험 및 총 phenol성분의 함량을 분석한 것이다. 앞의 실험에서 케일즙액이 MNNG보다 AFB₁의 돌연변이성을 더 강하게 억제하는 것으로 나타났고, Mw. 12,000이상의 투석물에서도 AFB₁에 대해서만 강한 항돌연변이효과를 가지는 것으로 관찰되어서, 고분자의 케일즙액의 활성물질을 분리하기 위해 gel filtration방법이 이용되었다. Gel filtration에 의해 얻어진 30개의 획분들 중 획분 12, 13, 14에서 AFB₁에 의해 발생된 돌연변이성을 가장 강하게 억제하는 것으로 나타났으며,

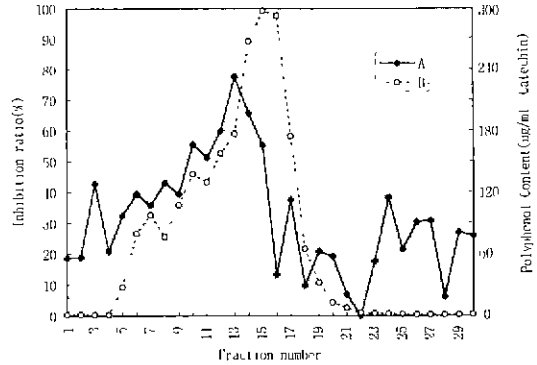


Fig. 3. Antimutagenic effects(A)* and total phenol contents(B) of fractions obtained by gel filtration (Sepharose CL-6B-200) using dialyzate of kale juice.

*Antimutagenic effects on the mutagenicity induced by aflatoxin B₁ (0.45µg/plate) in *Salmonella typhimurium* TA100

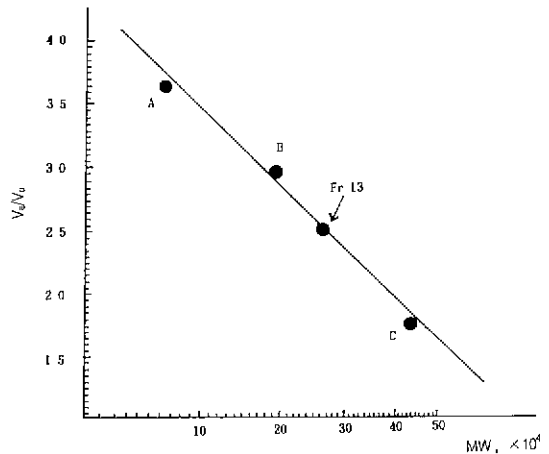


Fig. 4. Estimation of molecular weight of fraction 13 separated from kale juice by gel filtration (Sepharose CL-6B-200).

A: Albumin bovine serum (Mw: 66,000)
B: β-Amylase (Mw: 200,000)
C: Apoferin (Mw: 443,000)

특히 획분 13은 77.8%의 항돌연변이성을 가지는 것으로 관찰되었다. 또한 획득된 30개 획분의 총 phenol함량을 spectrophotometer를 이용하여 검토한 바, 획분 12~17에서 총 phenol함량이 158~298µg/ml로써 가장 컸으며 특히 획분 15에서 298µg/ml의 총 phenol 함량을 가지는 것으로 나타났다. 식물에 존재하는 많은 phenol성 화합물들은 천연적 항산화제이고 돌연변이유발과 발암에 대해 억제효과들을 가지는 것으로 알려져 있는데(35,36), 본 실험의 결과에 의해서도 케일즙액이 상당량의 polyphenol 화합물을 함유하는 것으로 나타났으며, 총 phenol함량과 항돌연변이효과사이에는 일치하

지는 않지만 다소간의 상관관계가 있는 것으로 사려되어진다. Fig. 3에서 가장 활성이 있는 획분 13의 분자량을 측정하기 위해, Andrew(26,27)방법으로 gel filtration을 하였다(Fig. 4). 분자량을 측정하기 위한 표준단백질로써 albumin bovine serum(Mw. 66,000), β -amylase(MW. 200,000), apoferrin(Mw. 443,000)을 사용하여 분석한 결과, 획분 13의 분자량은 이십칠만으로 추정되어졌다. 한편, 획분 13의 활성물질을 정성실험한 결과는 다음과 같았다. 즉, 단백질 정성반응인 Millon 반응과 Ninhydrin 반응에서는 각각 벽돌색, 붉은 자주색으로 색이 변했고, 당질의 정색반응인 Molisch 반응에서는 시료층과 황산층의 경계면에 자홍색의 환이 생성되고, Anthrone 반응에서는 청녹색으로 색이 변하여 각각 양성반응을 나타내었다. 그리고 phenol 화합물의 특성인 알칼리에 대한 반응성으로 인해 진한 황색으로 변색되었고, Folin-ciocalteau reagent에 대해 반응하여 750nm에서 높은 흡광도를 보였다. 그러므로 획분 13의 활성물질은 당질, 단백질, phenol화합물에서 양성의 반응을 보임을 알 수 있었다.

결론적으로 케일즙액은 AFB₁의 돌연변이성을 억제하는 것으로 나타났으며, 투석 후에도 그 활성의 차이가 발견되지 않았지만 열처리된 가한 후에는 항돌연변이 활성이 없어졌다. 케일즙액을 더 잘 분리하기 위해 케일즙액의 투석물을 gel filtration한 결과, 획분 13의 활성 물질이 AFB₁의 돌연변이유발효과를 가장 높게 저해하는 것으로 나타났다. 획분 13의 활성물질은 열에 불안정한 분자량이 27만인 당단백질인 것으로 추정되어진다.

요 약

케일즙액이 AFB₁와 MNNG의 돌연변이성을 억제하는지를 *Salmonella* 실험체를 이용하여 검토하였다. 케일즙액의 동결건조물은 *S. typhimurium* TA100균주 뿐만 아니라 TA98균주에서 AFB₁의 돌연변이성을 상당히 억제하였으며, MNNG의 경우에는 시료농도가 높아질수록 항돌연변이 활성이 감소되었다. 투석(>12,000, Mw)을 한 후, 투석 케일즙액은 AFB₁에 대해 42.3~89.5%의 돌연변이유발 억제효과를 가졌고, MNNG에 대해서는 전혀 돌연변이 저해효과가 없는 것으로 나타났다. 또한 케일즙액을 가열처리한 시료는 AFB₁과 MNNG 모두에서의 돌연변이성을 억제하지 못하는 것으로 나타나, 열처리시 AFB₁에 대한 항돌연변이 활성이 소실된 것을 알 수 있었다. 또한 케일즙액의 활성물질을 분리하기 위해 케일즙액의 투석물을 gel filtration하여 획분

13이 AFB₁에 대해 가장 높은 77.8%의 항돌연변이성을 가지는 것으로 관찰되었고, 획분 12~17에서 총 phenol 함량이 158~298 μ g/ml로써 높은 값을 가지는 것으로 나타났다. 획분 13에서 활성물질로 추정되는 물질은 분자량이 27만이며 열에 불안정한 당단백질일 것이라고 추측되어진다.

감사의 글

본 연구는 한국과학재단 연구비지원(과제번호·951-0602-081-1)에 의한 결과의 일부이며 이를 감사드린다.

문 헌

- Ahluwalia, K. S., Roy, S. K., Chatterjee, S. S. and Swarup, V. : Kale, a nutritionally rich vegetable. *Indian Horticulture*, October-December, 9(1979)
- Balla, F. : Studies on vitamin contents of foods in the hungarian canned foods industry. *Konzerv es paprikaper*, 1, 33(1979)
- 정승용, 김성희, 김한수, 강진순, 정호석, 김군자, 김행자 : 영지, 케일 및 sodium dextrothyroxine이 고콜레스테롤 혈증 흰쥐의 hormone 및 지질대사에 미치는 영향. *한국영양식품학회지*, 19, 381(1990)
- Jeraci, J. L., Lewis, B. A., Van soest, P. T. and Robertson, J. B. : Vitamin and other nutrients. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 72, 677(1989)
- Khachuk, F., Beecher, G. R. and Whittaker, N. F. : Separation, identification and quantification of the major carotenoid and chlorophyll constituents in extracts of several green vegetable by lipid chromatography. *J. Agric. Food Chem.*, 34, 603(1986)
- Wattenberg, L. W. : Inhibition of carcinogenic effects of polycyclic hydrocarbons by benzyliothiocyanate and related compounds. *J. Natl. Cancer Inst.*, 58, 395(1977)
- Mayatepek, E., Atinga, P. E. W., Mrotzek, M. and Bremer, H. J. : Food survey and chemical composition of food and ready-to-eat meals in the Luo area of South Western Kenya. *Ecol. Food. Nutr.*, 20, 259(1991)
- Mercadante, A. Z. and Rodriguez-Amaya, D. B. : Carotenoid composition of a leafy vegetable in relation to some agricultural variables. *J. Agric. Food Chem.*, 39, 1094(1991)
- Hertog, M. G. L., Hollman, P. C. H. and Katan, M. B. : Content of potentially anticarcinogenic flavonoids of 28 vegetables and 9 fruits commonly consumed in the Netherland. *J. Agric. Food Chem.*, 40, 2379(1992)
- Bilyk, A. and Sapers, G. M. : Distribution of quercetin and kaempferol in lettuce, kale, chive, garlic chive, leek, horse radish, red radish and red cabbage tissues. *J. Agric. Food Chem.*, 33, 226(1985)
- Lee, S. M., Rhee, S. H. and Park, K. Y. : Antimutagenic effect of soluble dietary fibers from kale and soybean. *Environ. Mutagen. Carcino.*, 13, 26(1993)

12. 이선미 : 케일의 항돌연변이 및 항암효과와 기작연구. 부산대학교 박사학위논문(1995)
13. 최영현, 박진영, 이선미, 유미애, 이원호 : 케일즙스에 의한 Aflatoxin B₁의 유전독성 억제효과. 한국유전학회지, 17, 183(1995)
14. 김형자, 박재욱, 정승용, 강진순, 박필숙 : 케일즙이 고콜레스테롤식이 흰쥐의 혈청 및 간장의 지질성분에 미치는 영향. 경상대 논문집, 26, 155(1987)
15. Maron, D. M. and Ames, B. N. : Revised methods for the *Salmonella* mutagenicity test. *Mutat. Res.*, 113, 173(1983)
16. Kada, T., Morits, K. and Inoue, T. : Antimutagenic action of vegetable factor(s) on the mutagenic principle of tryptophan pyrolysate. *Mutat. Res.*, 53, 351(1978)
17. 전홍기 : 효소학. 세문사. 서울, p.157(1992)
18. Morita, K., Kunko, S., Miwa, M., Kong, Z. L. and Hiroshi, H. : Antimutagenicity of dialyzates of vegetables and fruits. *Agric. Biol. Chem.*, 52, 1369(1988)
19. Shinohara, K., Kuroki, S., Miwa, M., Kong, Z-L and Hosoda, H. : Antimutagenicity of dialyzates of vegetables and fruits. *Agric. Biol. Chem.*, 52, 1369(1988)
20. Ames, B. N., Lee, F. D. and Durston, W. E. : An improved bacterial test system for the detection and classification of mutagens and carcinogens. *Proc. Natl. Acad. Sci.(U.S.A.)*, 70, 782(1973a)
21. Ames, B. N., Durston, W. E., Yamasaki, E. and Lee, F. D. : Carcinogens are mutagen; A simple test system combining liver homogenates for activation and bacteria for detection. *Proc. Natl. Acad. Sci.(U.S.A.)*, 70, 2281(1973b)
22. Ames, B. N., McCann, J. and Yamasaki, E. : Methods for detecting carcinogens and mutagens with the salmonella mammalian-microsome mutagenicity test. *Mutat. Res.*, 31, 347(1975)
23. Cooper, T. G. : Gel permeation chromatography. In "The tools of biochemistry" John Wiley and Sons(eds.), p.169 (1977)
24. 노경희 : *Aspergillus* sp. SN-871이 생산하는 생전분 당화효소에 관한 연구. 부산대학교 석사학위논문(1988)
25. Yamada, H., Kirohara, H., Cyong, J. C. and Otsuka, Y. : Studies on polysaccharides from *Angelica acutiloba* IV. *Mole. Immunol.*, 22, 295(1985)
26. Andrew, P. : The gel filtration behaviour of proteins related to their molecular weights over a wide range. *Biochem. J.*, 96, 595(1965)
27. Andrew, P. : Estimation of the molecular weights of proteins by Sephadex gel filtration. *Biochem. J.*, 91, 222(1964)
28. 주현규, 조현기, 박충균, 조규성, 채수규, 마상조. 식품 분석법. 유림문화사, 서울, p.181(1992)
29. 황은희, 이신호 : 도해실험 식품영양. 세진사, 서울, p.48 (1989)
30. 이경임 : 녹황색 채소류의 항돌연변이 및 암세포 증식억제효과. 부산대학교 박사학위논문(1992)
31. 장자준 : 발암연구에 있어서의 동물실험 모델. 생화학뉴스, 8, 231(1989)
32. Inoue, T., Morita, K. and Kada, T. : Purification and properties of a plant desmutagenic factor for the mutagenic principle of tryptophan pyrolysate. *Agric. Biol. Chem.*, 45, 345(1981)
33. Morita, K. : Purification and properties of desmutagenic factor from broccoli(*Brassica oleracea* var. *italica* pl-enck) for mutagenic principle of tryptophan pyrolysate. *J. Food Safety*, 4, 139(1982)
34. 김석중, 진재순, 김동만, 김길환 : 무즙의 돌연변이 억제 효과 및 그 특성. 한국식품과학회지, 24, 193(1992)
35. Hagerman, A. E. : Tannin-protein interactions. In "Phenolic compounds in food and their effects on health I" Ho, C-T., Lee, C. Y. and Huang, M-T.(eds.). ACS Symposium series, p.236(1992)
36. Shahidi, F. : Phenolic compounds of Brassica oilseeds. In "Phenolic compounds in food and their effects on health I" Ho, C-T., Lee, C. Y. and Huang, M-T(eds.), ACS Symposium series, p.130(1992)

(1997년 7월 20일 접수)