

보리(*Hordeum vulgare*) 추출물의 항변이원성

이은주 · 구성자
경희대학교 식품영양학과

Studies on the Antimutagenicity of extract from Barley (*Hordeum vulgare*)

Eun Joo Lee and Sung Ja Koo
Department of Food and Nutrition, Kyung-hee University

Abstract

This study was performed to determine the effects of antimutagenicity from Barley (*Hordeum vulgare*). In *Salmonella typhimurium* reversion assay (In vitro test), the extract of Barley (*Hordeum vulgare*) inhibited mutagenic activity of 4-NQO and Trp-p-1 with S9 mix. in *Salmonella typhimurium* TA98 and TA100. In Micronucleus test (In vivo test), the methanol extract of Barley (*Hordeum vulgare*) inhibited micronucleus formation in bone marrow by cyclophosphamide. The β -glucan of Barley (*Hordeum vulgare*) showed inhibitory effects of 59~77% in mutagenic activity of 4-NQO by *Salmonella typhimurium* TA100. The mutagenicity of Trp-p-1 with S9 mix. by *Salmonella typhimurium* TA98 showed inhibitory effects of 24~56%. The methanol extract (M) was fractionated with ether (M1), ethylacetate (M2), buthanol (M3) and water (M4). The Antimutagenicity of Trp-p-1 with S9 mix. by *Salmonella typhimurium* TA98 in Barley fraction showed the following: methanol extract (99.58%)>ether fraction (98.05%)>buthanol fraction (56.90%)>water fraction (56.72%)>ethyl acetate fraction (28.72%). Among them, ether fraction in TA 98 showed strong antimutagenicity effects (85.56%, 98.05%) against mutation induced by 4-NQO and Trp-p-1. As concentration of the methanol extract increased (1.25~5 g/kg/10 cc), micronucleus formation in bone marrow by chemical mutagen (CP) showed inhibitory effects of 50% ($p < 0.05$).

Key words: Barley extracts, Barley β -glucan, Antimutagenicity, Micronucleus test

1. 서 론

우리나라를 비롯한 동양권에서 곡류는 식생활에서 주식이 되는 중요한 비중을 차지하는데, 그 중 보리(*Hordeum vulgare*)는 쌀 다음으로 소비가 높은 곡류로서 최근들어 그 소비가 점차 감소하는 추세이나, 보리의 기능성 부분이 부각되면서 식품으로서의 가치가 재조명받고 있다.

Kerby 등¹⁾은 보리의 β -glucan이 암세포 성장 억제 작용과 소화 흡수 지연으로 인한 당뇨와 비만 환자에게 바람직한 기대 효과와 pectin, gum, mixed linked (1-3),(1-4)- β -D-glucan 등에 의한 혈장내 콜레스테롤 저하 작용을 가지며, 보리의 Vit B₂, Vit B₆ 등은 체내 입과 조직을 강화하여 암세포의 증식 억제작용을 갖는다고 하였다. 보리에 관한 국내의 연구로는, 김과 차 등^{2,3)}의 보리 β -glucan의 구조적 특성으로 인한 물성과 열적 특성, 오 등⁴⁾의 당뇨와 고지혈 측면에서 당과 지

질의 흡수를 지연하는 생리적 효과를 갖는 β -glucan의 기능, 김 등⁵⁾의 항보체 활성 및 면역 증강 효과를 갖는 생리활성 연구를 비롯하여, 신 등의⁶⁾의 보리와 맥아의 지방조성에 관한 연구가 있지만, 실제 이용적 측면에서는 보리의 조리 및 가공과정에 따른 영양성분의 소화 흡수 및 함량 변화, 조 등^{7,8)}의 보리 함량에 따른 고섬유식이 빵의 제조 등이 수행되었고, 김 등¹⁰⁾의 화학적 돌연변이 처리제에 의해 유도된 변이 개체의 주요 특성 및 반응 고찰을 통한 품종 육성과 정 등¹¹⁾의 보리 차용 보리의 갈색도에 따른 변이원성 검색 등의 보리의 변이원성 검색에 관한 연구가 일부 이루어졌으나, 보리성분 자체에 의한 변이원성 및 항변이원성에 관한 연구는 미흡한 실정이다.

따라서 보리에 존재하는 β -glucan과 펙틴 및 지질 화합물이 항변이원성 물질로 작용할 것으로 기대되어 지므로, 본 연구에서는 보리를 메탄올로 추출하여 용매별 분획 및 β -glucan 추출로 시료를 조제하여

Salmonella typhimurium reversion assay (in vitro test) 와 micronucleus test (in vivo test)로 항변이원성을 검색하고 보리의 항변이원성 성분을 확인하여 보리의 이용성을 보다 확대시키는 데에 그 목적을 두었다.

II. 실험재료 및 방법

1. 실험 재료

보리(*Hordeum vulgare*) 시료는 1996년 8월 농협 보리쌀(원산지: 경북 예천)을 구입하여 사용하였으며, 동물실험에 사용되어진 실험동물은 대한실험 동물협회에서 구입한 평균체중 28~29 g인 웅성 mouse를 이용하였다.

2. 시료의 조제

(1) 보리 β -glucan의 추출과 정제⁹⁾

분쇄기로 균질화하여 200 mesh의 체에 통과시킨 보리를 1 N NaOH를 이용하여 pH 10으로 맞추고 실온에서 20시간 연화시킨 후, 1 M H_3PO_4 용액을 이용하여 pH 6으로 재조정하여 thermostable α -amylase로 95°C에서 2시간 효소처리를 하였다. 실온에서 냉각하고 다시 pH 5로 조정후 amyloglucosidase로 60°C에서 2시간 동안 수욕 중에서 효소처리를 하였다. 효소를 불활성화 하기위하여 1 M H_3PO_4 액을 이용해 pH 4.5로 재조정후 다음 95°C에서 30분간 수욕상에서 교반한 후 냉각시켜 무수에탄올로 침전시켰다. 침전물을 물로 수세한 후 수용액 상태로 만든 시료를 pH 4.5로 조정하고 amyloglucosidase로 58°C에서 2시간 동안 재차 효소처리를 하였다. 95°C에서 30분간 효소를 불활성화시키고 무수에탄올로 재침전시켜 crude β -glucan을 얻었다. Crude한 β -glucan의 정제는 thermostable α -amylase, amyloglucosidase 및 protease로 처리하여 starch, pentosan, protein을 제거하고 투석하여 무수에탄올로 침전, 여과, 물에 녹이는 과정을 3회 반복한 후 10,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 불용성 물질을 제거하고 여액을 동결건조하여 순수한 β -glucan을 얻었다.

(2) 보리의 메탄올 추출물과 용매별 분획

보리를 분쇄기로 6분간 균질화시킨 후 시료 중량 1 kg에 10 l 비율의 메탄올을 가해 24시간 교반하고 8,000 rpm에서 30분간 원심분리후 60~70°C에서 rotary evaporator로 감압농축시켜, 보리 메탄올 추출물 중량의 4배의 증류수를 가하여 stirrer를 이용하여 충분히 녹인후 분액여두에 옮기고 증류수와 동량의 ether를 가해 흔들어준 후, 상층부의 ether층을 분획하

였다. 그리고 남은 물층에 다시 ether를 가하여 재분획하고 1, 2차 분획을 혼합해 ether분(M1)을 얻었다. 동일한 방법으로 ethyl acetate, buthanol을 차례로 처리하여 ethyl acetate분(M2), buthanol분(M3), 물분(M4)을 얻어 농축(M1-M3)과 동결건조(M4)시켰다. 분획은 TLC로 chloroform과 methanol비율이 20:1인 전개용매에 전개시킨 후 H_2SO_4 으로 발색시켜 물질의 분리를 확인하였다.

3. 실험 방법

(3) *Salmonella typhimurium* reversion assay¹²⁾

1) 균주배양 및 균주활성실험

Salmonella typhimurium TA98과 TA100을 유전공학 센터의 유전자 은행에서 분양받아, 균밀도를 일정하게 배양하여($1-2 \times 10^8$) 균주 test를 거쳐 frozen 상태로 deep freezer에 보관하면서 실험에 이용하였다.

2) 변이원유발 및 억제활성실험

물질의 변이원 및 항변이원성 검색 과정은 Fig. 2와 같으며, 시험목적에 따라 멸균 tube에 음성대조군에는 DMSO 0.2 ml, 양성대조군에는 DMSO 및 변이원 각 0.1 ml씩, 돌연변이 억제실험에는 보리 추출물과 변이원을 각 0.1 ml씩, 돌연변이 유발실험에서는 보리추출물과DMSO 각 0.1 ml씩을 넣은 후, 0.02 N PBS(직접 변이원으로 돌연변이를 유도한 경우)나 4%의 S9 mixture(간접변이원으로 돌연변이를 유도한 경우)를 0.5 ml을 넣고, nutrient broth에서 배양시킨 균주 0.1을

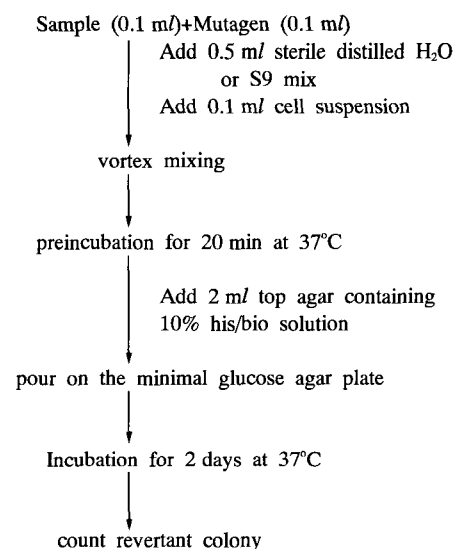


Fig. 1. Procedure of antimutagenic test by *S. typhimurium* TA98 and TA100²⁴⁾.

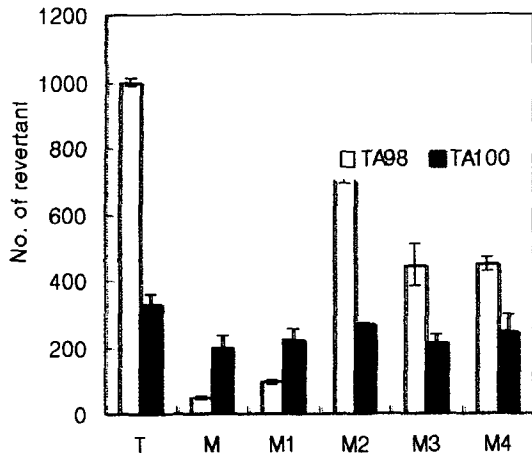


Fig. 2. Antimutagenicity of barley extract on Trp-p-1 with S9 mix. in *S. typhimurium* TA98 and TA100. T: Trp-p-1 (2 ug/plate), M: A+Methanol extract, M1: A-lether fraction M2: A-lethylacetate fraction, M3: A-lbuthanol fraction, M4: A-lwater fraction.

넣어 실험에 사용하였다.

(1) 변이원이 균주에 독성을 나타내지 않고 돌연변이를 가장 많이 유도시키며 균주의 활성이 높은 mutagen 양과 돌연변이의 활성을 억제 혹은 유발시키는 시료 추출물의 농도를 설정하여 dose response curve로 확인하였다.

(2) 돌연변이원 4-NQO 및 S9 mixture를 첨가한 Trp-p-1에 대한 메탄올 추출물, M1-M4의 용매 분획물, β -glucan의 복귀돌연변이수를 이용하여 아래와 같이 돌연변이 유발성과 항돌연변이원성을 구하였다.

- 가) 돌연변이 유발성=복귀돌연변이수(revertants)-자연발생적 돌연변이수(spontaneous revertants)
 나) 항돌연변이원성(%)=100×(a-b)/(a-c)
 a: 변이원에 의해 유도된 복귀변이원의 수
 b: 시료와 변이원 처리한 복귀변이원의 수
 c: 변이원과 시료 처리가 되지않은 복귀변이원의 수

(2) Micronucleus test¹³⁾

Micronucleus test에 사용되어진 실험동물은 대한실험동물 협회에서 구입해 1주간의 적응기간을 거친 평균체중 28~29 g의 웅성 mouse로 선별하여, 23±1°C, 55±5% 습도의 사육조건에서 군별 5마리로 하여 0, 1.25, 2.5, 5.0 g Barley methanol extract/kg body weight/0.5% sodium CMC 10 cc의 4군을 control, A1, A2, A3로 하였다. 각 군은 2일간 조제 시료를 용량별로 경구 투여를 하고, 3일째는 각군에 시료를 경구 투여후 2시간 경과하였을때 cyclophosphamide(CP)를 80 mg/kg

body weight/saline 5 ml 용량으로 복강투여하고 재차 시료를 용량별로 경구투여하였다. CP 투여 24시간 경과 시 mouse를 경추 탈골시켜 대퇴골에서 골수를 취하여 3 ml Fetal Bovine Serum에 모아 잘 현탁시켜 1,000 rpm에서 5분간 원심분리시켰다. 상층액을 제거한 뒤 침전물을 고르게 현탁시켜 slide glass에 도말하고 상온에서 12시간 건조시켰다. 건조된 slide는 메탄올에 5분간 고정시켜 0.1 N PBS와 증류수로 세척하고 5% Giemsa solution에 40분간 염색시키고 다시 증류수와 PBS로 세척하여 건조시켰다. 건조가 완전하게 이루어졌을 때 광학현미경으로 400배에서 혈구의 존재를 확인한 후, 1,000배에서 관찰하여 오렌지색 또는 분홍색의 성숙적혈구(RBC) 및 푸른색으로 염색된 비성숙적혈구인 다염성적혈구(PCE)의 수와 PCE 세포질 내에 소핵을 갖는 다염성 적혈구(MnPCE)를 확인하고, PCE 및 MnPCE 수의 합 1,000개 중 MnPCE의 수를 계수하여 그 수치의 비율을 구하였다. 통계처리는 Student's t-test를 이용하여 유의성을 검증하였다(P<0.05).

III. 실험결과 및 고찰

1. 실험 결과

(1) 보리 β -glucan과 보리 추출물의 수율

본 실험에서 보리의 β -glucan은 3회에 걸친 정제과정을 거쳤기 때문에 오 등¹⁴⁾이 보고한 3~6.9%의 수율보다 낮은 2~3%의 수율을 얻었다. 보리 1 kg으로부터 메탄올 추출물은 8~11 g(0.8~1.1%)을 얻었으며, 이를 다시 ether(M1), ethylacetate(M2), buthanol(M3), water(M4) fraction으로 분획한 결과 M4(45%)>M1(32%)>M2(10%)>M3(8%)의 순으로 분획물을 얻었다.

(2) *Salmonella typhimurium* reversion assay에 의한 보리의 항변이원성

1) 변이원의 농도 의존성

본 실험에 사용되어진 변이원 Trp-p-1과 4-NQO는 dose response를 통해 균주의 활성을 떨어뜨리지 않고 균주의 복귀 돌연변이수의 표준편차가 크지않고 유의성을 보이는 농도로, S9 mix.를 처리하여 간접변이원의 활성화를 높인 Trp-p-1은 2 μ g/plate로, 직접변이원 4-NQO는 0.1 μ g/plate로 정하였다.

2) 보리 β -glucan의 항변이원성

세포 외부에서 항변이원성을 갖는 보리 β -glucan은 TA98에서 Trp-p-1(2 μ g/plate)에 대해 보리 β -glucan의 농도 증가에 따라(0.5~5 mg/plate) 24.21%에서 56.18%까지 변이원성 억제효과를 보였으나 4-NQO(0.1 μ g/plate)에 대한 변이원성 억제효과는 보리 추출물의

Table 1. Antimutagenicity of barley β -glucan on mutagenesis in *S. typhimurium* TA98

Conc. (mg/plate)	No. of revertants				
	β -glucan	β -glucan +Trp-p-1 +S9 mix.	(%)	β -glucan +4-NQO	(%)
0	25 \pm 2	1000 \pm 15		115 \pm 10	
0.5	20 \pm 5	764 \pm 39	(24.21)	99 \pm 15	(17.78)
1	21 \pm 3	700 \pm 100	(30.76)	96 \pm 8	(21.11)
2.5	20 \pm 9	523 \pm 125	(48.92)	91 \pm 16	(26.67)
5	19 \pm 2	423 \pm 120	(56.18)	91 \pm 2	(26.67)

No. of revertants:triple mean \pm S.D.
 spontaneous revertants of TA98: 24 \pm 2.
 Conc. of Trp-p-1: 2 μ g/plate, Conc. of 4-NQO: 0.1 μ g/plate.
 (%): antimutagenicity.

17.78~26.67%로 Trp-p-1 보다 낮은 항변이원성을 나타냈다(Table 1).

TA100의 경우 Table 2에서 보는 바와 같이 Trp-p-1에 대해서는 β -glucan이 변이원 억제효과가 없었으나, 4-NQO에 대해서는 β -glucan이 68.86~77.34%의 항변이원성을 나타냈다. 이상의 결과는 보리 β -glucan이 TA98에서는 간접변이원인 Trp-p-1에 대해 억제효과를 갖지않으나 TA100에서는 직접변이원인 4-NQO에 대해서는 0.5 mg/plate의 저농도에서도 변이원 억제효과가 크게 나타남을 알수 있었다.

보리의 β -glucan은 TA98에서 Trp-p-1에 대해 5 mg/plate농도에서 56.18%의 높은 억제효과를 나타냈으며, TA100에서 4-NQO에 대해 0.5 mg/plate에서 77.37%의 높은 항변이원성을 나타냈으므로 보리 β -glucan의 항변이원성이 더 높음을 알수 있었다.

3) 보리 추출물의 농도의존성과 대사활성계에 의한 영향

보리의 메탄올 추출물의 농도의존성은 Table 3과 같이 보리 추출물의 농도가 20 mg/plate일 때 복귀돌연

Table 2. Antimutagenicity of β -glucan on mutagenesis in *S. typhimurium* TA100

Conc. (mg/plate)	No. of revertants				
	β -glucan	β -glucan +Trp-p-1 +S9 mix.	(%)	β -glucan +4NQO	(%)
0	183 \pm 6	328 \pm 37		700 \pm 20	
0.5	140 \pm 46	361 \pm 39	(-)	300 \pm 10	(77.37)
1	71 \pm 4	350 \pm 50	(-)	317 \pm 10	(74.08)
2.5	74 \pm 11	341 \pm 109	(-)	347 \pm 27	(68.86)
5	83 \pm 10	345 \pm 51	(-)	300 \pm 21	(77.34)

No. of revertants:triple mean \pm S.D.
 spontaneous revertants of TA100 189 \pm 1.
 Con. of Trp-p-1: 2 μ g/plate, Conc. of 4NQO: 0.1 μ g/plate.
 (%): antimutagenicity.

Table 3. Dose response of barley methanol extract in *S. typhimurium* TA98 and TA100

Conc. (mg/plate)	No. of revertants	
	TA98	TA100
1	19 \pm 2	184 \pm 20
5	20 \pm 2	171 \pm 13
10	17 \pm 3	165 \pm 22
20	16 \pm 5	161 \pm 25
40	20 \pm 16	160 \pm 10

No. of revertants: triple mean \pm S.D.
 spontaneous revertants of TA98: 24 \pm 2.
 spontaneous revertants of TA100: 189 \pm 1.

변이의 수가 가장 안정하였으므로 이를 Ames test에 사용되어지는 시료의 최적 농도로 정하였다.

Trp-p-1은 생체 내에서 대사를 받아 암을 유발하는 발암성 전구물질로, 생체내에 투여되면 여러 장기의 화학물질 대사효소군에 의해 일반적 화학물질과 같이 대사를 받는데 대사과정에서 이들은 화학반응이 큰 대사물로 변환된 후 발암물질로 변환되어 DNA에 alky화 한다. 따라서, S9 mix처리에 의한 변이원이 보리추출물에 의해 갖게되는 변이원성 및 항변이원성은 간접변이원이 생체 내에 투여될 때 간 효소추출물과 결합하거나 항변이원물질에 의해 변이원 자체가 불활성화되어 최종 돌연변이원이 세포내 DNA와 반응하기전에 그 기전을 차단하여 항변이원성을 나타내므로, 본 실험에서는 보리 메탄올 추출물의 S9 mix. 처리 유무에 따른 농도별 비교 고찰을 한 결과, Table 4에서와 같이 TA98 균주에서 S9 mix. 처리는 Trp-p-1에 대한 복귀돌연변이 수를 증가시켰으므로 변이원에 대한 보리 추출물의 억제효과가 크게 나타났다.

4) 보리추출물의 항변이원성

보리 추출물이 S9 mix.를 처리한 Trp-p-1에 대해 작용하는 변이원 억제 효과는 메탄올 추출물(M)을 에테르 획분(M1), 에틸아세테이트 획분(M2), 부탄올 획분(M3) 및 물 획분(M4)으로 분획하여 항변이원성을 살펴보였다. 그 결과 보리추출물 분획의 항변이원성은

Table 4. Mutagenicity of Barley methanol extract on Trp-p-1 with or without S9 mix. in *S. typhimurium* TA98

Conc. (mg/plate)	No. of revertants.	
	With S9 mix.	Without S9 mix.
Trp-p-1 (2 μ g/plate)	1675 \pm 35	74 \pm 7
1	400 \pm 50	46 \pm 8
5	250 \pm 14	36 \pm 3
10	138 \pm 18	26 \pm 5
20	115 \pm 7	27 \pm 4

spontaneous revertants TA98: 23 \pm 3.
 revertants TA98 with S9 mix.: 42 \pm 5.

Table 5. Antimutagenicity of barley extract on Trp-p-1 with S9 mix in *S. typhimurium* TA98 and TA100

	No. of revertants	
	TA98 (%)	TA100 (%)
Trp-p-1 (T)	1000±10	328±37
T+M	47±5 (99.58)	200±32 (88.27)
T+M1	93±8 (98.05)	200±35 (74.48)
T+M2	720±26 (58.03)	267±2 (42.07)
T+M3	445±64 (58.03)	212±24 (59.31)
T+M4	447±20 (56.72)	245±51 (57.24)

No. of revertants: triple mean ± S.D.

spontaneous revertants TA100: 183±6, spontaneous revertants TA98: 25±2.

Conc. of 4NQO: 0.1 µg/plate, Conc. of barley: 20 mg/plate.

(%): Antimutagenicity.

M: Barley methanol extract, M1: ether fraction, M2: ethylacetate fraction, M3: butanol fraction, M4: water fraction.

Table 5에 나타낸것과 같이, TA98에서 M(99.58%)>M1(98.05%)>M3(56.92%)>M4(56.72%)>M2(28.72%)의 순으로 억제효과가 나타났으며 그 중 보리의 메탄올 추출물과 에테르 획분은 100%에 가까운 변이원 억제효과를 나타냈다. TA100의 경우는 TA98의 변이원 억제효과 보다는 낮으나 M(88.27%)>M1(74.48%)>M3(59.31%)>M4(57.24%)>M2(42.07%)의 순으로 억제효과를 나타냈으며, 그 중 메탄올 추출물의 항변이원성이 가장 컸고 비극성 획분인 에테르 획분 또한 항변이원성이 크게 나타났다. 따라서, Trp-p-1에 대한 분획별 추출물의 항변이원성은 TA98에서 그 억제 효과가 더 컸으며, 에테르 획분은 TA98과 TA100 균주 모두에 대해 변이원 억제효과가 크게 나타났다.

4-NQO에 있어서도 Table 6과 같이 보리추출물의 에테르 획분은 TA98의 경우 63.06%를 변이원 억제효

Table 6. Antimutagenicity of barley extract on 4-NQO in *S. typhimurium* TA98 and TA100

	No. of revertants	
	TA98 (%)	TA100 (%)
4-NQO (N)	700±15	115±10
N+M	366±31 (64.60)	36±19 (87.78)
N+M1	374±23 (63.06)	38±8 (85.56)
N+M2	400±70 (58.03)	55±5 (66.67)
N+M3	400±28 (58.03)	66±8 (54.44)
N+M4	487±45 (41.20)	41±1 (82.22)

No. of revertants: triple mean ± S.D.

spontaneous revertants TA100: 183±6, spontaneous revertants TA98: 25±2.

Conc. of 4NQO: 0.1 µg/plate, Conc. of barley: 20 mg/plate.

(%): Antimutagenicity.

M: Barley methanol extract, M1: ether fraction, M2: ethylacetate fraction, M3: butanol fraction, M4: water fraction.

Table 7. Antimutagenicity of ether fraction from barley on the Trp-p-1 with or without S9 mix. in *S. typhimurium* TA98

Conc. (mg/plate)	No. of revertants	
	with S9 mix.	without S9 mix.
Trp-p-1	1675±35	74±7
1	620±28 (63.86)	50±3 (47.06)
5	540±28 (68.70)	46±11 (54.90)
10	350±35 (80.21)	31±2 (84.31)
20	240±10 (89.93)	30±1 (86.27)

spontaneous revertants TA98: 23±3.

(%) Antimutagenicity.

과를 나타냈으며, TA100의 경우 85.56% 이상의 높은 억제 효과를 나타냈으므로 보리 추출물은 4-NQO에서도 에테르 획분에 존재하는 비극성 물질의 항변이원성이 높음을 알 수 있었다.

또한, 보리추출물의 분획물 중 에테르 획분은, TA98의 경우 S9 mix.처리에 의해 활성화된 Trp-p-1의 변이원성 억제효과가 컸으므로 S9 mix. 처리유무에 따른 농도별 에테르 획분의 복귀돌연변이 균수는 Table 7과 같이 Trp-p-1은 S9 mix. 처리에 의해 변이원의 활성화가 일어났으나 보리의 에테르 획분의 농도를 증가시키면 따라 복귀돌연변이수의 감소를 나타내었다.

쌀 추출물의 항변이원성에 관한 김 등¹⁵⁾의 연구에서는 TA98의 경우 4-NQO에 대해 hexane과 methanol 획분에서 47%와 64%의 억제효과를 나타냈으며, Trp-p-1에 대해서는 hexane, chloroform, methanol, water 획분에서 각각 82%, 76%, 95% 및 38%의 억제효과를 나타내었다. 쌀추출물의 항변이원 물질이 지질과 페놀류의 화합물로 추정한다와 같이 본 연구의 결과에서도 TA98의 경우 Trp-p-1에 대해 비극성획분인 hexane 획분에서 높은 항변이원성을 관찰할 수 있었다.

(3) Micronucleus test에 의한 보리 추출물의 MnPCE 형성 억제 효과

Micronucleus test의 결과, 80 mg/Kg 농도의 cyclophosphamide만을 처리한 대조군의 MnPCE와 PCE 계수 1,000개 중 존재하는 MnPCE의 수가 0.810이며, 보리 추출물을 복강투여한 mouse의 경우 Table 8과 Fig. 3, Fig. 4와 같이 농도를 증가시키면 따라 0.670, 0.538, 0.511로 MnPCE의 비율 수치가 점차적으로 감소하였으며, t-test 결과 control군과 보리의 메탄올 추출물의 동물 실험 최대 농도인 A3와 1/2 최대농도에서 A2군에 유의성이 있으나 A1 농도에서는 억제 효과에 유의적이지 않았다. 이는 항암제로 사용되어지는 CP의 부작용으로 인한 골수의 소핵형성에 대해 보리추출물이

Table 8. The Inhibition effect of Micronucleus formation by barley methanol extract

Concentration (g/Kg/10 cc)	Animal No.	body weight (g)	MnPCE/MnPCE+PCE
0	5	29.429±1.34	0.810±0.054
1.25	5	28.857±1.26	0.670±0.034
2.50	5	28.143±1.06	0.538±0.046*
5.00	5	29.729±1.37	0.488±0.040*

*: represent significant different at p<0.05 (student' t-test).

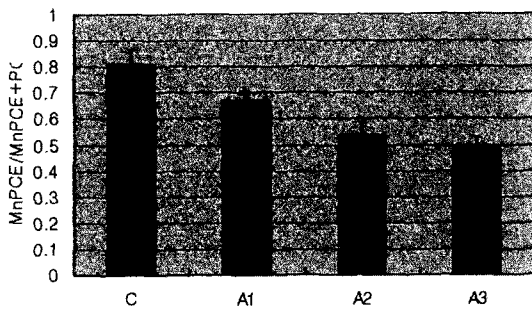
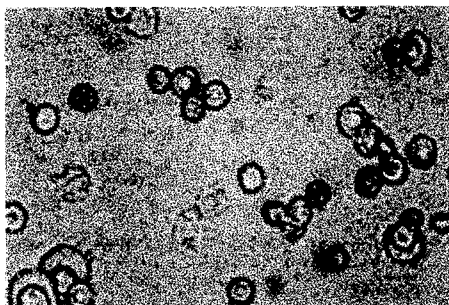


Fig. 3. The Inhibition effect of Micronucleus formation by Barley methanol extract. C: CP 80 (mg/kg/ml), A1: C+Barley extr. 1.25, A2: C+Barley extr. 2.50, A3: C+5.00 (g/kg/10 cc).

소핵의 형성 억제효과를 가짐을 알 수 있다. 이상의 결과로 보리추출물이 소핵 형성 억제효과를 가질 것으로 예상된다.

IV. 결 론

보리로부터 메탄올 추출물, 메탄올 추출물의 용매별 분획물 및 β-glucan 시료를 조제하여 Salmonella typhimurium reversion assay(in vitro test)와 Micronucleus test(in vivo test)로 항변이원성을 검색한 결과는 다음과 같다.



C : 80mg CP/Kg body weight/10cc saline

보리로부터 얻은 메탄올 추출물과 β-glucan의 수율은 각각 0.8~1.1%와 2~3%였으며, 메탄올 추출물의 용매별 분획 수율은 물층이 45%로 가장 높게 나타났고, 에테르층(32%), 에틸아세테이트층(10%), 부탄올층(8%)의 순으로 나타났다.

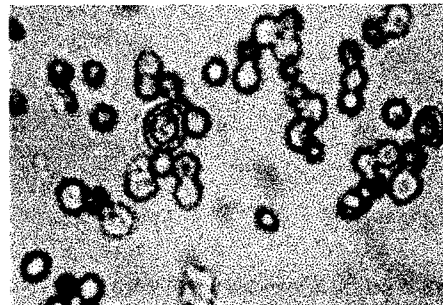
보리 β-glucan의 항변이원성은 0.5~5 mg/plate의 농도에서 TA100에서 직접변이원에 대해 59~77%의 항변이원성을 보였으나, TA98에서는 간접변이원에 대해 24~56%의 항변이원성을 보여 TA100에 있어서 직접변이원에 대한 항변이원성이 더 높았으며, 보리 메탄올 추출물의 항변이원성은 직접변이원보다 간접변이원에서, TA100 보다 TA98에서 더 크게 나타났다. 용매별 분획의 항변이원성은 TA98의 경우 간접변이원에 대해 에테르획분(98.05%)에서 항변이원성이 가장 높았다.

Micronucleus test에 의한 소핵의 형성은 시료의 최대농도인 5 g/10 cc Sodium CMC/Kg body weight에서 골수의 소핵형성은 CP만을 처리한 대조군에 비해 50%의 억제효과(p<0.05)가 있었다.

이상의 결과로, 보리의 β-glucan과 보리 추출물은 in vitro test뿐 아니라 in vivo test에서도 높은 항변이원성을 보여 임상 실험에서도 항변이원성을 가질 것으로 예상되므로 보리의 섭취는 식이중의 발암원을 낮추는데 크게 기여할 것으로 기대된다.

참고문헌

1. Kerby, R.W., Anderson, J.W., Sieling, B., Rees, E.D., Chen, W., Miller, R.E. and Kay, R.M.: Oat-bran intake selectively lowers serum low-density lipoprotein cholesterol concentrations of hypercholesterolemic men. Am. J. Clin. Nutr. 34, pp. 824-828 (1990).
2. 김미옥: Bareley β-glucan[mixed-linked(1→3), (1→4)-B-D-glucan]rheology 특성, 경희대 석사논문, (1989).



A : C+ Barley extract/Kg body weight/10cc saline

Fig. 4. The inhibition effect of Micronucleus formation by barley methanol extract.

3. 차회숙, 김미옥, 구성자: DSC에 의한 Bareley -glucan [mixed-linked (1→3), (1→4)-β-D-glucan]의 열적 특성에 관한 연구, 한국식품과학회지, 25(1), pp. 400-403 (1993).
4. 오희정, 이서래: 보리가루에서 분리한 β-glucan의 생리적 기능성, 한국식품과학회지, 28(4), pp. 689-695 (1996).
5. 김유영: 보리(*Hordeum vulgare*) 추출물의 생리활성에 관한 연구 -항보체 활성, 면역증강 효과-, 경희대 석사논문 (1997).
6. 鄭一姬: 보리의 理化學的 特性과 炊飯性에 關한 研究, 경원대석사 논문 (1994).
7. 尹七石: 보리의 加工과 血液添加 蛋白質의 열처리가 反芻胃內 蛋白質 代謝 및 아미노산 利用에 미치는 影響. 영남대 박사논문 (1986).
8. 이종숙: 보리의 수화속도 및 무기질과 아미노산 함량, 단국대 석사논문 (1982).
9. 조미경, 이원중: 보리가루를 이용한 고섬유 식이 빵의 제조, 한국식품과학회지, 28(4), pp. 702-706 (1996).
10. 김시주: 대맥에 있어서 화학적 돌연변이 유발과 변이체 특성에 관한 연구, 건국대 박사논문 (1989).
11. 정희진, 이서래: 볶은보리 및 참깨의 갈색도와 돌연변이 유발성, 한국식품과학회지, 23(3), pp. 280-285 (1991).
12. Drothy, M. Maron and Bruce, N. Ames: Revised methods for the Salmonella mutagenicity test, Mutation Research, 113, pp. 178-215 (1983).
13. 김충용, 김 균, 심점순, 김용화, 노정구: Formaldehyde가스흡입에 의한 mouse의 급성독성 및 소핵실험에 관한 연구, Korean J. Toxicol. 7(1), pp. 61-71 (1991).
14. 오희정, 이서래: 보리가루에서 분리한 β-glucan의 생리적 기능성, 한국식품과학회지, 28(4), pp. 689-695 (1996).
15. 김인호: 쌀(*Oryza sativa* L.) 추출물의 항돌연변이활성 및 작용특성, 서울대 박사논문 (1995).

(1998년 11월 27일 접수)