

감마선 조사 당귀(*Angelica gigas* Nakai)의 유효성분 안정성 및 유전독성학적 안전성 연구

유영범 · 조성기[†]

한국원자력연구소 방사선식품 · 생명공학기술개발과제팀

Evaluation on the Safety of γ -Irradiated *Angelica gigas* Nakai: Stability of Active Components and Safety in Genotoxicity Test

Young-Beob Yu and Sung-Kee Jo[†]

Team for Radiation Food Science and Biotechnology, Korea Atomic Energy Research Institute, Taejon 305-353, Korea

Abstract

In the present studies, we assessed the stability of active components and toxicological safety of irradiated *Angelica gigas* Nakai (Danggui). In order to confirm the stability of active components in the γ -irradiated roots of Danggui, the quantitative analysis of decursin and decursinol angelate of γ -irradiated sample was carried out by high performance liquid chromatographic (HPLC) methods using reverse phase columns and normal phase columns. From the root of Danggui, decursin and decursinol angelate were isolated by a silica gel column chromatography (toluene : ether (1 : 1), Hexane : EtOAc (15 : 1)). And then the structures were confirmed in the ¹H and ¹³C-NMR analysis. The HPLC chromatograms of decursin and decursinol angelate in γ -irradiated Danggui were similar with those of non-irradiated sample. In the examination of *in vitro* genotoxicity of the water extract from γ -irradiated Danggui using Salmonella reversion assay (Ames test) and micronucleus test in Chinese hamster ovary (CHO) cells, mutagenicity was not exhibited in the two assays with or without metabolic activation. These results suggest that active components in the γ -irradiated Danggui should be stable and that the safety of γ -irradiated Danggui could be revealed in further tests *in vivo*.

Key words: γ irradiated *Angelica gigas* Nakai, decursin, decursinol angelate, HPLC, Ames test, micronucleus test

서 론

한약의 수요급증으로 인한 생약재의 수입량과 국내의 생산, 유통량이 급증함에 따라 생약재의 가공, 저장, 유통을 위한 안전한 위생화 기술이 요구되고 있다. 지금까지 생약재의 위생화 기술에 이용되어 온 화학약품처리, ethylene oxide (EO) 훈증법 등은 살균효과의 불충분, 품질 열화, 2차 오염 가능성, 환경공해 등의 불건전성으로 인해 그 사용이 제한됨에 따라 새로운 위생화 기술의 개발이 요구되고 있다(1-4). 이에 생약재의 색과 맛, 형태적 특성을 보전할 수 있고, 해충, 기생충, 병원성세균, 곰팡이 및 효모를 효과적으로 제거할 수 있어 저장기간의 연장 등 유용성이 인정된 방사선 조사기법이 관심의 초점이 되고 있다(5-9). 방사선 조사 식품의 상용화에도 불구하고 소비자들의 불안은 불식되지 않고 있어, 조사기술의 적용 확대를 위해서는 조사식품의 안전성에 관한 정확한 인식

이 해결되어야 할 문제이다.

방사선 식품 조사 기술은 도입단계부터 방사선 조사에 따른 유해물질 생성 가능성, 잔류 방사선, 독성학적 안전성 등에 대한 논란을 일으켰으며, 이와 관련된 많은 연구가 수행되었다. 먼저 방사선 조사에 의한 화학적 변화로는 수용액상에서 옥수수 전분은 당, 알데하يد, 케톤, 알콜, 산 및 퍼록사이드 등을 생성한다고 보고되었으며(10), 탄소-질소 결합의 분해나 S-S 결합의 분해 등에 의한 단백질 분해물이 생성 가능하나 50 kGy 이하의 선량에서는 아미노산 조성의 변화가 관측되지 않는다고 보고되었다(11). 조사된 지방의 화학반응은 불용성이므로 물이 주요 역할을 하는 탄수화물, 단백질과 상대적으로 비교된다. 즉 조사후 지질에서 생성된 양이온 래디칼($\cdot R^+$)과 여기된 상태의 분자(RH^+)들의 dimer 형성과, 탈 카르복실화 등이 지방의 변화에 중요한 역할을 수행한다고 알려져 있다(12). 또한 비타민은 건조물보다 수용액상태에서 조사

[†]To whom all correspondence should be addressed

에 의한 손실이 많은 것으로 알려졌다(13). 이상의 연구 결과들을 보면 수용액 상태의 식품을 고선량의 방사선으로 조사한 경우 변화가 일어남을 알 수 있다. 독성학적 안전성 연구는 수용액 상태 혹은 건조되지 않은 식품의 방사선 조사시에 생성된 분해산물들의 아급성 독성, 생식, 기형독성, 만성독성, 유전독성 등 다양한 측면에서 광범위하게 수행되었다(14-16). 이러한 결과를 토대로 1980년 FAO/IAEA/WHO 합동전문가위원회(JECFI, Joint Expert Committee of the Food Irradiation)에서는 “평균 10 kGy 이하로 조사된 모든 식품은 독성학적으로 안전하며, 영양학적으로도 문제가 되지 않는다”고 결론지었다(17). 또 한편, 1992년 5월 WHO에서는 국제소비자 연맹 (IOCU)의 대표단과 식품조사를 반대하는 식품과학 및 식품화학 전공교수들의 참석 하에 회의를 개최한 결과, 조사 식품의 안전성 및 영양학적 적합성을 재확인하면서 식품을 제조관리수칙에 따라 방사선을 조사할 경우 인간의 건강을 해롭게 하는 어떠한 성분변화나 이물질이 생성되지 않으며, 소비자들에게 미생물학적 위험성을 증가시키지 않는다고 발표하였다(18).

방사선 식품 조사 기술은 세계적으로 적용범위가 확대되고 있으며, 국내에서도 현재까지 13개 식품 품목군에 대한 방사선 조사가 보건복지부로부터 허가되었다(19). 최근, 생약재의 안정적 유통·공급을 위한 저장 기간 연장, 품질개선을 위해 방사선 조사 방법이 고려되고 있으며, Yook 등(20)은 방사선 조사를 이용한 생약재의 오염유기체 구제를 위한 실험을 행한 바 있다. 이는 조사 생약재의 유효성분 안정성과 독성학적 안전성을 담보해야 한다.

본 연구에서는 생약재 중 유통량이 많고 사용빈도가 높은 당귀를 대상으로 감마선 조사후에 유효성분의 안정성 및 유전독성학적 안전성을 검토하고자 하였다. 당귀는 주로 부인과 질환에 이용되며 보혈 등의 작용이 알려져 있고 coumarin 계열의 decursin 등이 그 유효 성분으로 밝혀져 있다. 본 실험에서 방사선 조사 당귀의 유효성분 안정성을 HPLC로 확인하였고, 조사 당귀의 유전독성학적 안전성을 Ames test와 CHO(Chinese hamster ovary) 세포를 이용한 소핵실험을 통하여 검증하였다.

Table 1. Analytical condition of decursinol angelate (1) and decursin (2)

	A	B	C
Instrument	Waters HPLC	Waters HPLC	Shimadzu HPLC
System	2690 separation module	2690 separation module	CBM-10A
Pump	2690 pump	2690 pump	LC-10AD
Detector	996 photodiode array detector	996 photodiode array detector	SPD 10A
Column	Nova Pak Silica	Nova Pak C18	Shim-Pack CLC-ODS(M)25
Mobile Phase	Hexane : EtOAc (9 : 1)	Acetonitrile : H ₂ O (6 : 4)	Acetonitrile : H ₂ O (6 : 4)
Detection	320 nm	320 nm	254 nm
Flow rate (mL/min)	2	1	1
Column Temp. (°C)	room	room	30°C
Retention time (min)			
Decursin (I)	8.057	3.869	13.717
Decursinol angelate (II)	7.422	4.046	14.333

재료 및 방법

재료

실험에 사용한 생약재인 당귀는 1997년 10월 서울 경동시장에서 구입한 국산 당귀를 순천대학교 한약자원학과에서 동정한 후 실험에 사용하였다.

방사선 조사

방사선조사는 Co-60 선원을 이용하여 실온에서 시간당 2 kGy의 선량으로 10 kGy의 총 흡수선량을 얻도록 하였다. 흡수선량을 확인하기 위하여 free radical dosimeter와 ceric cerous dosimeter를 이용하였다.

HPLC에 의한 유효성분 안정성 시험

기기

¹H-NMR 및 ¹³C-NMR은 Bruker DRX 300 NMR spectrometer (300 Mhz, 75.5 Mhz)를 각각 이용하였다. HPLC 분석조건은 Table 1과 같이 하였다.

추출 및 분리

그늘에서 말린 참당귀 뿌리 500 g을 Fig. 1과 같이 70

The root of *Angelica gigas* Nakai (500 g)

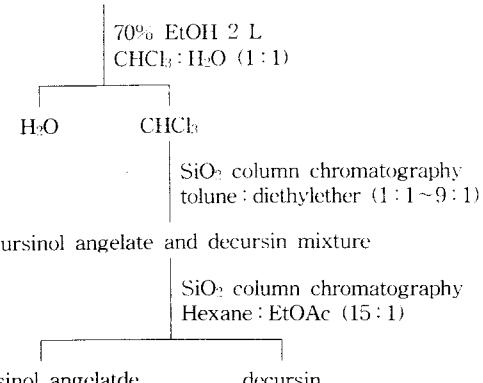


Fig. 1. Isolation of decursinol angelate and decursin from the root of *Angelica gigas* Nakai.

% EtOH 2 L로 추출한 후 CHCl₃로 분획하여 tolune : diethylether (1:1, 9:1)로 silica gel column chromatography를 실시하여 coumarin 계열의 mixture를 얻었고 이를 Hexane : EtOAc (15:1)로 rechromatography를 실시하여 decursin과 decursinol angelate를 각각 얻어 표준품으로 이용하였다.

표준액의 조제

Decursin 표준품 10 mg을 메탄올에 녹여 10 mL로 정용하였다. 이 액을 다시 500 μL를 정취하여 메탄올로 2.5 mL가 되게 하였다.

검액의 조제

감마선 조사 당귀 및 비조사 당귀 각각 20 g을 물로 세척한 후 그늘에 말려 분말로 한 후 3 g을 정밀히 달아 ether 150 mL를 가하여 45~50°C 수욕상에서 4시간 속시햇 추출하고 냉각 후 여과하였다. 여액을 감압건고 후 잔류물을 메탄올로 녹이고 정밀히 100 mL로 하여 여과하였다. 다시 이 액 10 mL를 정취하여 메탄올로 정확히 50 mL가 되게 하여 Millipore로 여과하여 10 μL량을 HPLC 자동주입기로 injection하였다.

정량조건의 검토

정량조건은 Table 1과 같으며 A법과 B법은 Ryu 등의 방법(21)을 변형하여 실험하였으며, C법은 Shim-Pack CLC-ODS(M) 25 column을 사용하여 HPLC를 이용한 정량방법으로 본 연구에서 처음 시도하였다.

*Salmonella typhimurium*을 이용한 복귀돌연변이 시험에 사용한 배지, 시약 및 S9 mix의 조제와 시험방법은 Marton & Ames의 방법(22,23)에 따라 행하였으며 *Salmonella typhimurium* TA98 및 TA100은 Ames 교수로부터 직접 분양받아 histidine 요구성, deep rough(rfa) 특성, UV에 대한 민감도(uvrB 돌연변이), R-factor에 의한 ampicilline 내성 등의 유전형질을 확인한 후 시험에 사용하였다. S9은 Microbiological Associates(Bethesda, Maryland, USA)에서 구입하였다(24,25). 시험은 대사활성화시키지 않은 경우(standard plate incorporation)와 대사활성화시키는 경우(preincubation test)로 나누어 시행하였다. 시험판에 인산완충액 0.5 mL(대사활성화시키는 경우에는 S9 mix 0.5 mL), 시료용액 0.1 mL을 넣어 가볍게 vortex하였다. 대사활성화시키는 경우에는 30분간 37°C에서 예비 배양한 다음(대사활성화시키지 않는 경우에는 바로) histidine/biotin이 첨가된 top agar(45 °C)를 2 mL 가하고 3초간 vortex하여 minimal glucose agar plate 상에 부어 평판고화시켰다. 37°C에서 48시간 배양한 후 revertant colony를 계수하였다. 돌연변이 유발성의 판정은 원저의 제시에 따라 복귀변이 접락수가 용매 대조군의 2배 이상이면서 용량의 존성을 갖는 경우를 양성으로 하였다.

포유류 배양세포를 이용한 소핵시험

시험에 사용된 Chinese hamster ovary(CHO)세포는 서울대학교 보건대학원 정해원 교수로부터 분양받았다. 배지는 10% fetal bovin serum, 100 U/mL penicillin, 100 μg/mL streptomycin, 5 × 10⁻⁵ M 2-mercaptoethanol 및 20 mM HEPES buffer를 첨가시킨 McCoy's 5A 배지를 사용하였으며, 모두 GIBCO BRL, Inc.(USA)에서 구입하였다. 배양은 포화 상대습도 조건하에서 5% CO₂를 공급하는 37°C의 CO₂ Incubator에서 수행하였다. 시험방법은 CHO 세포 8 × 10⁴개를 Flaskette(19.8 × 51.8 mm, Nunc)에 파종하여 2일간 배양한 후, 시험물질을 첨가하고 24시간 후에 세포 표본을 만들었다. Fenech and Morley의 cytokinesis-block(CB) method(26)에 따라 cytochalasin B(Cyt-B; 3 μg/mL, Aldrich)를 시험물질과 함께 첨가하였다. 배양액을 suction out시킨 다음, 고정액(methanol: acetic acid, 3:1)으로 3회 고정시킨 후 공기건조법으로 세포표본을 만들었다. 3% Giemsa 염색액(pH 6.5)으로 15분간 염색하여 광학현미경으로 400배에서 관찰하였다. Cyt-B는 DMSO에 2 mg/mL로 녹여 -70°C에 보관하고, 사용하기 직전에 녹여 Hank's balanced salt solution으로 희석하여 사용하였다. 대사활성 존재하의 시험은 같은 방법으로 세포를 배양한 후, 시험물질과 S9 mix(배지의 20%비율)를 첨가하여 6시간 동안 배양한 다음, 신선한 배지로 교환하고 Cyt-B를 첨가하여 18시간 더 배양한 후 세포표본을 만들었다. 시험물질은 시료용대로 희석하였으며, 시료의 첨가량은 배양용량의 1/10을 넘지 않게 하였다. 음성대조군으로는 희석액인 시료용매를, 양성대조군으로는 직접법에서는 중류수에 녹인 mytomycin C (Sigma)를 0.1 μg/mL로 대사활성화법에서는 DMSO에 녹인 benzo(α)pyrene(Sigma)을 0.02 mg/mL로 첨가하였다. Micronuclei(MN)의 판독은 Almassy 등(27)의 기준에 따랐다. 1,000개의 binucleated CB세포들 중 MN을 갖는 세포를 계수하였다.

결과 및 고찰

유효성분 안정성 검증

빙사선 조사 생약재의 유효성분 안정성을 검증하기 위해 당귀의 유효성분인 decursin과 decursinol angelate를 분리, 정제하여 HPLC로 97%의 순도를 확인하였고 ¹H-NMR, ¹³C-NMR 측정결과 Table 2, 3에서와 같이 표준품 data와 일치하였다(21,28). Table 1의 A법(Fig. 2)과 같은 조건으로 HPLC 분석을 행하였을 때 검출기는 320 nm에서 최대흡광도를 나타냈으며 표준품인 decursin은 200 μg-1000 μg/mL 농도에서 회귀방정식이 직선성을 나타내었다. Fig. 3에 나타낸 바와 같이 B법에서는 decursinol angelate와 decursin의 peak가 중첩 검출되어 Ryu 등(21)이 제기한 바와 같이 decursin 이성체의 정량분석에 역상

Table 2. $^1\text{H-NMR}$ spectral data of decursinol angelate and decursin (in CDCl_3)

Proton	Decursinol angelate	Decursin
3	6.24,d (9.5)	6.23,d (9.5)
4	7.59,d (9.5)	7.59,d (9.5)
5	6.80,s	6.80,s
8	7.16,s	7.16,s
3'	5.13t (4.8)	5.09,t (4.8)
4'	2.90,dd (17.6,4.8)	2.87,dd (17.6,4.8)
	3.23,dd (17.6,4.8)	3.20,dd (17.6,4.8)
Gem(CH_3) ₂	1.38,s 1.40,s	1.36,s 1.39,s
2''	-	5.76,m
3''	6.11,qq (7.2,1.4)	-
2''- CH_3	1.84,d (1.4)	-
3''- CH_3	-	2.15,d (1.2)
4''	1.89,d (7.2)	1.88,d (1.2)

Table 3. $^{13}\text{C-NMR}$ spectral data of decursinol angelate and decursin (in CDCl_3)

Carbon	Decursinol angelate	Decursin
2	161.2	161.3
3	113.3	113.2
4	143.1	143.2
5	128.6	128.7
6	115.4	115.9
7	156.4	156.4
8	104.6	104.6
9	154.2	164.1
10	112.8	112.8
2'	27.9	27.6
3'	77.1	76.6
4'	70.0	69.0
Gem(CH_3) ₂	23.2 25.1	23.2 25.0
1''	167.1	165.7
2''	127.3	115.6
3''	139.5	158.5
4''	15.8	27.5
2''- CH_3	20.5	
3''- CH_3		20.3

column을 사용하였을 때 분리 효율이 좋지 않음을 확인할 수 있었다. 그러나 Fig. 3의 C법(Shim-pack CLC-ODS (M))에서는 역상 column에서도 좋은 분리능을 보이므로써 column 선택에 따라 decursin 이성체 정량이 가능하며 C법에 사용한 column의 크기가 $\phi 4.6 \times 25 \text{ cm}$ 이며 B법에 사용한 column의 크기($\phi 3.9 \times 15 \text{ cm}$)를 감안할 때 column의 길이와 직경이 분리능에 영향을 미침을 확인할 수 있었다. Normal phase column에서는 Hexane : EtOAc 용매계에서 적절한 분리능을 보여 주었으며, decursinol angelate와 decursin[7.4분과 8.0분에서 각각 양호한 분리능을 보여주었다(Fig. 2).

감마선 조사(10 kGy) 당귀와 비조사 당귀(0 kGy)의 유효성분 정량결과(Fig. 2, Table 4), 조사 당귀에서 decursin의 함량이 0.27%정도 증가하였으나 유의성은 관찰되지 않았으며, decursinol angelate는 함량변화가 인정되지 않고 chromatogram의 pattern에서도 별다른 변화가 관

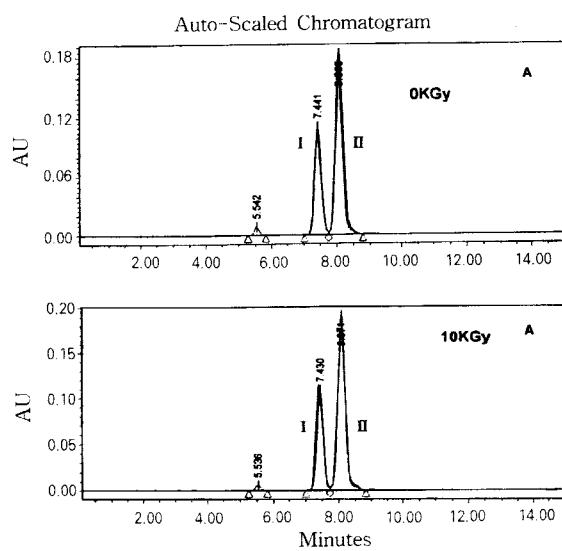
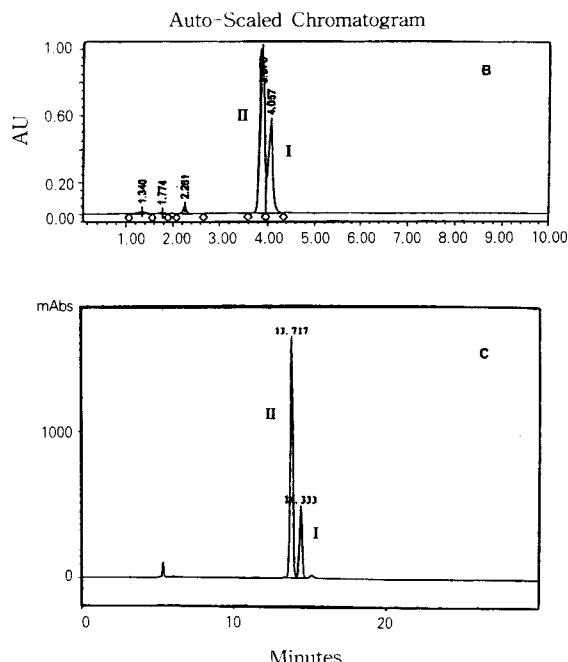
Fig. 2. HPLC profiles of decursinol angelate (I) and decursin (II) isolated from γ -irradiated *Angelica gigas* Nakai.

Fig. 3. HPLC profiles of decursinol angelate (I) and decursin (II) applied with Table 2 conditions.

찰되지 않았다. 조사 당귀에서 경미한 정도의 증가량을 나타내는 것은 추출과정이나, 채취된 시료의 식물조직부위에 따라 달라질 수 있는 실험오차 범위 이내라고 사료된다. 이상의 결과로 보아 당귀의 유효성분인 decursin과 decursinol angelate가 감마선 조사 후에도 그 안정성이 확보됨을 알 수 있었으며, 이 같은 결과는 방사선 조사인 삼의 사포닌 성분의 변화를 관찰한 진 등(29)의 결과와 유사하였다. 감마선 조사 시료 내의 탄수화물, 단백질 등의

Table 4. The content of active components of *Angelica gigas* Nakai

	Radiation	Sample (mg)	Content (mg)	Decursin (%) (n=2)	S.D.	C.V (%)
Decursin	0 kGy	3002	129.71	4.32	0.008	0.09
	10 kGy	3012	138.12	4.59	0.025	0.27
Decursinol angelate	0 kGy	3018	80.1	2.65	0.0007	0.01
	10 kGy	3019	80.25	2.66	0.005	0.09

분해는 물분자로부터 생성된 C_{aq} , H^{\cdot} , OH^{\cdot} , H_2 , H_2O_2 에 의해 주로 일어나는 것으로 알려져 있다(10-13). 그러나 진조 시료에서는 라디칼 생성이 억제되므로서 시료내의 성분변화가 억제되는 것으로 사료된다. 이는 방사선 조사 진조 생약재의 유효성분의 안전성을 확보하는데 중요한 결과로 생각된다.

돌연변이원성 검증

감마선 조사(10 kGy) 당귀 열수 추출물의 변이원성은 *Salmonella* 복귀돌연변이 시험에서 검증하였다. 실험은 50% 균주생장억제를 나타내는 농도를 최고농도로 하여 50 µg/plate로 부터 3배수로 5 mg/plate까지 5가지 농도에서 행하였다. 각 균주의 복귀돌연변이 집락수를 조사한 결과, 음성대조군의 복귀변이 집락수는 문현치(22,23,30)의 범위 이내였으며, 양성대조 화합물에 의한 복귀변이

집락수가 현저히 증가하여 본 실험이 적합하게 행하여 졌음을 알 수 있었다. 대사활성화시키지 않은 경우와 시킨 경우 모두에서 감마선 조사 당귀추출물에 의한 각 균주의 복귀돌연변이 집락수의 증가를 인정할 수 없었다. 또한 각 용량 단계에서 감마선 조사군과 비조사군의 집락수도 차이가 없었다(Table 5). 이 결과로 보아 감마선 조사 당귀 추출물이 직접변이원이나 간접변이원으로 작용하지 않음을 알 수 있었으며 Ha 등(30), Jo(31)의 실험결과와 일치하고 있다.

소핵유발성 검증

감마선 조사(10 kGy) 당귀추출물이 동물세포에서 유전적으로 돌성을 나타내는지를 평가하기 위하여 CHO세포에서의 소핵유발성을 조사하였다. Cytokinesis-block method에 따라 생성시킨 binucleated cells 중에 형성된

Table 5. Revertant colonies in the *Salmonella typhimurium* reversion assay with nonirradiated and gamma-irradiated *Angelica gigas* Nakai

Material	Conc. (mg/plate)	Irradiation ¹⁾	S9 mix.	Number of revertant colonies (his ^r) per plate				
				TA98	TA100			
H_2O	0	—	—	29	25	(27)	183	207
<i>Angelica gigas</i>	0.05	—	—	24	32	(28)	206	219
	0.015	—	—	31	20	(26)	224	238
	0.5	—	—	29	27	(28)	241	225
	1.5	—	—	29	34	(32)	237	251
	5	—	..	38	34	(36)	265	279
	0.05	+	—	28	25	(27)	201	209
	0.015	+	—	23	28	(26)	219	224
	0.5	+	—	27	26	(27)	206	218
	1.5	+	—	32	35	(34)	224	237
	5	+	—	36	32	(34)	251	272
NPD	20 µg/plate	—	—	1276	1200	(1238)		
Na-Azide	1.5 µg/plate	—	—				1093	915
H_2O	0	—	+	28	27	(28)	221	209
<i>Angelica gigas</i>	0.05	—	+	30	23	(27)	225	231
	0.015	—	+	24	28	(26)	209	219
	0.5	—	+	30	29	(30)	227	239
	1.5	—	+	29	38	(34)	214	245
	5	—	+	34	31	(33)	274	288
	0.05	+	+	20	27	(24)	203	198
	0.015	+	+	21	30	(26)	217	235
	0.5	+	+	20	31	(26)	226	207
	1.5	+	+	34	30	(32)	244	263
	5	+	+	39	32	(36)	278	286
2-AF	10 µg/plate	—	+	873	1022	(948)	705	827

¹⁾Irradiation (10 kGy of Co-60 gamma-ray) was treated to the *Angelica gigas* Nakai before extraction.

NPD (4-nitro-o-phenylenediamine), Na-Azide (sodium azide), MMC (mitomycin C) and 2-AF (2-aminofluorene) were used as positive controls for the corresponding strains.

Table 6. Frequency of micronuclei (MN) in cytokinesis-blocked CHO cells following treatment with water extract of gamma-irradiated *Angelica gigas* Nakai

Material	IR ¹⁾	S9	Conc. (mg/mL)	Cells w/o MN	Frequency of the cells with MN				No. of MN	MN/1000 cells ²⁾ (Mean ± S.D.)
					1	2	3	4		
<i>Angelica gigas</i>	-	-		2937	60	3	0	0	66	22.0 ± 5.7
	-	-	0.1	2942	54	5	0	0	64	21.3 ± 3.8
	-	-	0.3	2949	48	3	0	0	54	18.0 ± 3.6
	-	-	1.0	2919	74	6	1	0	89	29.7 ± 3.1
	+	-	0.1	2946	50	4	0	0	58	19.3 ± 3.1
	+	-	0.3	2917	78	4	1	0	89	29.7 ± 2.3
	+	-	1.0	2930	65	5	2	0	81	27.0 ± 11.5
	MMC	-	0.001	2704	256	32	6	2	346	115.3 ± 19.6
<i>Angelica gigas</i>	-	+		2944	53	2	1	0	60	20.0 ± 4.6
	-	+	0.1	2945	52	3	0	0	58	19.3 ± 5.5
	-	+	0.3	2938	58	5	0	0	68	22.7 ± 2.5
	-	+	1.0	2929	58	11	2	0	87	29.0 ± 9.2
	+	+	0.1	2949	47	4	0	0	55	18.3 ± 3.1
	+	+	0.3	2921	69	10	0	0	89	29.6 ± 2.1
	+	+	1.0	2919	72	9	0	0	90	30.0 ± 5.0
	B(α)P	-	0.02	2648	311	35	5	1	400	133.3 ± 21.4

¹⁾Irradiation (10 kGy of Co-60 gamma-ray) was treated to the *Angelica gigas* Nakai before extraction.

²⁾Number of MN/1000 binucleated cells in the triplicate experiments in which 1,000 cells were scored.

MMC (mitomycin C) and B(α)P (benzo(α)pyrene) were used as positive controls.

소핵을 조사한 결과를 Table 6에 나타내었다. 음성대조군의 경우 1,000개의 binucleated cells 중에 형성된 소핵은 22.0 ± 5.7개로 문헌치의 수준(32)이었고, 양성대조화합물에 의해 소핵 수가 현저히 증가하여 본 실험이 적합하게 행하여졌음을 알 수 있었다. 대사활성화시키지 않은 경우와 시킨 경우 모두에서 감마선 조사 당귀추출물에 의한 소핵수의 증가를 인정할 수 없었으며 각 용량 단계에서 모두 3% 이하의 소핵빈도를 보여 음성으로 판정되었다(Table 6). 이 결과에서 감마선 조사 당귀 추출물이 세포핵분열 중에 이상을 유발하지 않음으로 보아 직접변이원이나 간접변이원으로 작용하지 않음을 알 수 있었으며, 이 결과는 Ha 등(30), Jo(31)의 실험결과와 일치하고 있다.

이와 같은 결과를 토대로 당귀의 유효성분이 10 kGy의 감마선 조사에서는 파괴되지 않고 안전하게 유지되며, 또한 유전독성학적 실험에서 조사 당귀가 직접변이원이나 간접변이원으로서 작용하지 않음을 알 수 있었다. 이는 감마선 조사에 의한 유해물질 생성 가능성을 간접적으로 나마 부인해 볼 수 있는 결과라고 사료된다. 한편, 앞으로 독성학적인 평가는 만성독성실험 및 생식독성실험 등의 지표가 다른 여러 가지 시험계에서 얻은 결과로부터 종합적으로 판정되어야 할 것으로 생각된다.

요 약

전조 생약재 당귀의 감마선 조사 위생화의 가능성을 검토하기 위하여 감마선 조사후 유효성분 안정성 및 유전독성학적 안전성을 평가하고자 하였다. 감마선 조사 당귀의 유효성분 안정성을 검증하기 위해 당귀의 유효성분인

decursin과 decursinol angelate를 분리, 정제하고 이를 표준품으로 하여 HPLC법으로 정량분석을 실시하였다. 구조 이성체인 decursin과 decursinol angelate는 normal phase column에서 좋은 분리능을 보여주었으며, 역상 column에서는 column의 길이와 내경이 분리능에 영향을 미침을 확인할 수 있었다. 감마선 조사(10 kGy) 당귀와 비조사 당귀(0 kGy)의 유효성분 정량결과, 조사 당귀에서 decursin의 함량이 0.27% 정도 증가하였으나 유의성은 관찰되지 않았으며, decursinol angelate는 조사 및 비조사 당귀의 비교 결과 함량변화가 인정되지 않았다. Chromatogram의 pattern에서도 감마선 조사에 따른 변화가 관찰되지 않았다. 이는 방사선 조사 진조 생약재의 유효성분의 안정성을 확보하는데 중요한 결과로 생각된다. 또한 10 kGy 감마선 조사 당귀의 열수 추출물은 *Salmonella typhimurium* 균주를 이용한 복귀돌연변이 실험에서 복귀돌연변이 수를 증가시키지 않았으며, CHO 세포를 이용한 소핵유발성 검증에서도 소핵빈도를 증가시키지 않았다. 이로써 감마선 조사된 당귀의 추출물이 돌연변이원으로 작용하지 않으며, 세포핵분열중에 독성을 나타내지 않음을 알 수 있었다. 이상의 결과로 보아 생약재 당귀를 감마선으로 조사한 후에도 당귀내 유효성분이 그대로 보전되는 것으로 사료되며, 감마선 조사 당귀 추출물의 독성학적 안전성은 앞으로 생체내 유전독성시험, 만성독성 및 생식독성시험 등을 통하여 확인될 수 있을 것으로 사료된다.

감사의 글

본 연구는 과학기술부 원자력 연구개발 사업의 일환으

로 수행되었으며 이에 감사드립니다.

문 현

1. Kim, Y.S., An, D.S., Woo, K.L. and Lee, D.S. : Moisture sorption isotherm and quality deterioration of dry Jujube. *Korean J. Post-harvest Sci. Technol.*, **4**, 33-38 (1997)
2. Jung, G.T., Ju, I.O. and Choi, J.S. : Studies on drying and preservation of Omija (*Schizandra chinensis* BAILL.). *Korean J. Post-harvest Sci. Technol.*, **5**, 217-223 (1998)
3. Anon : Food safety. *Food Irradiation Newsletter*, **17**, 4-10 (1993)
4. Naito, S., Okada, Y. and Sakai, T. : Studies on utilization of ozone in food preservation. V. Changes in microflora of ozone-treated cereals, grains, peas, beans and spices during storage. *J. Jpn. Soc. Food Sci. Technol.*, **35**, 69-77 (1988)
5. Kwon, J.H., Byun, M.W. and Lee, S.J. : Comparative effects of gamma irradiation and ethylene oxide fumigation on sorption properties and microbiological quality of white ginseng powder. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **26**, 272-277 (1994)
6. Kwon, J.H., Byun, M.W., Cho, H.O., Kim, J.S. and Lee, G.D. : Organoleptic quality of white ginseng powder as influenced by different conditions of decontamination and storage. *Korean J. Post-harvest Sci. Technol.*, **2**, 163-171 (1995)
7. Kwon, J.H., Belanger, J.M.R., Sigouin, M., Lanthier, J., Willemot, C. and Pare, J.R.J. : chemical constituents of Panax ginseng exposed to γ -irradiation. *J. Agric. Food Chem.*, **38**, 830-833 (1990)
8. Juri, M.L., Ito, H., Watanabe, H. and Tamura, N. : Distribution of microorganism in spices and their decontamination by gamma-irradiation. *Agri. Biol. Chem.*, **50**, 347-350 (1986)
9. Kwon, J.H., Belanger, J.M.R. and Pare, J.R.J. : Effects of ionizing energy treatment on the quality of ginseng products. *Radiat. Phys. Chem.*, **34**, 963-966 (1989)
10. Dauphin, J. and Saint-Lebe, L.R. : Radiation chemistry of carbohydrates. In *Radiation Chemistry of Major Food Components*. Elias, P.S. and Cohen, A.J. (eds.), Elsevier, Amsterdam, p.131 (1977)
11. Radola, B.J. : Identification of irradiated meat by thinlayer gel chromatography and thinlayer isoelectric focussing. In *Identification of irradiated foodstuffs*. Commission of the European Communities, EUR 5126, Luxembourg, p.59 (1974)
12. Vajdi, M. and Merritt, C.Jr. : Identification of adduct radiolysis products from pork fat. *J. Am. Oil. Soc.*, **62**, 1252-1255 (1985)
13. Diehl, J.F. : Thiamin in irradiated foods. 1. Influence of various conditions and of time after irradiation. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.*, **157**, 317-320 (1975)
14. Aiyar, A.S. and Rao, S. : Studies on mutagenicity of irradiated solutions in *Salmonella typhimurium*. *Mutation Res.*, **48**, 17-20 (1978)
15. Zaycev, A.N. : Toxicologic and hygienic investigation of potatoes irradiated with a beam of fast electrons and gamma rays to control sprouting. *Toxicol.*, **4**, 267-274 (1975)
16. Zaitsev, A.P. : Report on the study of toxicity and mutagenicity of irradiated food products used in an experiment. WHO Irradiated Onion Monograph (1980)
17. WHO : Wholesomeness of irradiated food. Report of a joint FAO/IAEA/WHO expert committee on the wholesomeness of irradiated food. Technical Report Series 659 (1981)
18. Daferstein, F.K. : *Food irradiation* ; The Position of the World Health Organization. 36th General Conference of the International Atomic Energy Agency, Scientific session, Vienna (1992)
19. Byun, M.W., Yook, H.S., Jo, S.K. and Chong, Y.J. : Status and prospects of food irradiation technology in Korea. *J. Food Sci. Nutr.*, **1**, 262-268 (1996)
20. Yook, H.S., Cha, B.S., Jo, S.K. and Byun, M.W. : Effects of gamma irradiation on microbial decontamination, extraction yields and physiological effectiveness of Korean medicinal plants. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **30**, 581-589 (1998)
21. Ryu, K.S., Hong, N.D., Kim, N.J. and Kong, Y.Y. : Studies on the coumarin constituents of the root of *Angelica gigas* Nakai. *Kor. J. Pharmacogn.*, **21**, 64-68 (1990)
22. Marton, B.N. and Ames, B.N. : Revised methods for the *Salmonella* mutagenicity test. *Mutation Res.*, **113**, 173-215 (1983)
23. Ames, B.N., McCann, J. and Yamasaki, E. : Methods for detecting carcinogens and mutagens with the *Salmonella*/Mammalian-microsome mutagenicity test. *Mutation Res.*, **31**, 347-364 (1975)
24. Ashwood-Smith, M.J. : Stability of frozen microsome preparations for use in the Ames *Salmonella* mutagenicity assay. *Mutation Res.*, **69**, 199-200 (1980)
25. Hubbard, S.A., Brooks, T.M., Bonzalez, L.P. and Bridges, J.W. : Preparation and characterisation of S9-fractions. In *Comparative Genetic Toxicology*. Parry, J.J. and Alett, C.F. (eds.), Macmillan, London, p.413-438 (1985)
26. Fenech, M. and Morley, A.A. : Measurement of micronuclei in lymphocytes. *Mutation Res.*, **147**, 29-36 (1985)
27. Almassy, Z., Krepinsky, A.B., Bianco, A. and Koteles, B.J. : The present state and perspectives of micronucleus assay in radiation protection. A review. *Appl. Radiat. Isot.*, **34**, 241-249 (1987)
28. Seong, B.W., Woo, W.S. and Yook, C.S. : Studies on the constituents of the root of *Angelica flaccida* Komarov. *Kor. J. Pharmacogn.*, **19**, 233-238 (1988)
29. 진강, 홍연탁, 한병훈, 권중호 : 방사선 조사 인삼의 안전성 및 효능평가에 관한 연구(III). 과학기술처 (1992)
30. Ha, K.W., Jung, H.K., Oh, H.Y., Heo, O.S., Sohn, S.J., Han, E.S., Jung, S.C., Choi, B.Y., Kim, M.Y., Kim, P.S. and Moon, H.H. : Studies on the genotoxicity of the gamma-irradiated panax ginseng radix *in vitro* and *in vivo*. *J. Food Hyg. Safety*, **9**, 67-74 (1994)
31. Jo, S.K. : Genotoxicological safety of the gamma-irradiated medicinal herbs. *J. Food Hyg. Safety*, **12**, 217-227 (1997)
32. Lasne, C., Gu, Z.W., Venegas, W. and Couroulinkov, I. : The *in vitro* micronucleus assay for detection of cytogenetic effects induced by mutagen-carcinogens: comparison with the *in vitro* sister-chromatid exchange assay. *Mutation Res.*, **130**, 273-282 (1984)