

## 들깨의 식이 섬유소 함량분석과 들깨 추출물의 항돌연변이 효과

박동숙 · 이경임\* · 박건영†

부산대학교 식품영양학과 및 김치연구소

\*양산대학 호텔조리과

### Quantitative Analysis of Dietary Fibers from *Perilla frutescens* Seeds and Antimutagenic Effect of Its Extracts

Dong-Sook Park, Kyeoung-Im Lee\* and Kun-Young Park†

Dept. of Food Science and Nutrition, and Kimchi Research Institute, Pusan National University,  
Busan 609-735, Korea

\*Dept. of Hotel Culinary Arts, Yangsan College, Yangsan 626-800, Korea

#### Abstract

In this study, the levels of insoluble dietary fiber (IDF) and soluble dietary fiber (SDF) in *Perilla frutescens* seeds were quantified and antimutagenic effects of perilla seeds extracts (methanol extract, hexane extract, methanol soluble fraction and dietary fiber) was carried out. IDF and SDF values of perilla seeds were 16.1% and 1.1%, respectively, with 17.2% of total fiber content. Among the solvent extracts of perilla seeds, methanol extract and methanol soluble fraction (MSF) effectively inhibited the mutagenicity induced by aflatoxin B<sub>1</sub> (AFB<sub>1</sub>) in *Salmonella typhimurium* TA100. Methanol extract of perilla seeds showed 91% inhibition against AFB<sub>1</sub> mutagen under the 2.5 mg/assay concentration, and MSF inhibited the mutagenicity of 87% by adding 1.25 mg/assay. However, perilla seed extracts showed low inhibition rate on the mutagenicity induced by N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine (MNNG). And also, SDF and hexane extracts from perilla seeds did not show the antimutagenic effects against AFB<sub>1</sub> and MNNG. On the other hand, IDF extracted from perilla seeds inhibited 21% of the mutagenicity induced by Trp-P-2 due to the carcinogen binding effect.

Key words: perilla seed extracts, soluble dietary fiber, insoluble dietary fiber, antimutagenic effect

#### 서 론

들깨(*Perilla frutescens* britton)의 원산지는 동북아시아의 고원지대와 동남아시아로 알려져 있으며 한국도 그 원산지의 하나로 인정되고 있다(1). 우리나라 재래종 들깨의 품종은 100여종 정도이며, 본 실험에 사용한 엽실 들깨는 조생종으로 잎과 종실의 수화량이 많고 다른 들깨에 비해 지질의 함량이 높은 품종이다. 들깨의 지질에는 중성지질이 80% 이상 차지하며, 구성 지방산으로  $\alpha$ -linolenic acid가 50~58% 정도 함유되어 있다(2).  $\omega$ -3계 지방산인  $\alpha$ -linolenic acid가 결핍되면 성장저해, 불임, 피부병변을 나타내지만 들깨를 섭취하면 혈압저하 및 혈전증 개선 효과(3,4), 암세포 증식 억제 효과(5,6) 및 학습 능력의 향상(7)을 가져온다고 한다. 특히 들깨유를 투여한 쥐에서 유방암과 대장암이 억제되었다는 여러 연구가 있으며 이러한 효과는 들깨에 함유된  $\alpha$ -linolenic acid의 작용인 것으로 보고되고 있다(8,9).

인체내의 소화효소로 가수분해되지 않는 식이 섬유소는 (10) 용해성에 따라 수용성 식이 섬유소와 불용성 식이 섬유

소로 구분된다. 수용화되면서 점도가 증가되거나 3차원의 겔을 형성하는 수용성 식이 섬유소에는 해미셀룰로오스, pectin, gums, mucilage가 있으며, 불용성 식이 섬유소에는 cellulose, lignin, insoluble non cellulose polysaccharide가 있다(11). 식이 섬유소는 배설물의 보수성을 향상시켜 정장작용을 도와주고 혈청 cholesterol을 감소시키며 당뇨병, 비만 등의 성인병 예방과 치료에 효과가 있다고 보고되고 있다(12,13). 또한 식이 섬유소의 구성 성분인 pentose fraction, cellulose, non starch polysaccharide, uronic acid 등에 의해 결장암이 방지된다고 보고되고 있어(14) 식이성 물질의 항균 및 항암 효과는 구성 성분과 분자의 크기에 따라 크게 차이가 나는 것을 알 수 있다(15,16).

지금까지 들깨의 생리활성 효과는 대부분  $\alpha$ -linolenic acid와 관련된 것이었다. 본 연구에서는 들깨의 지질 이외의 성분 중에서 생리활성효과를 살펴보려고 하였으며 특히 들깨에 함유된 식이 섬유소의 생리활성 효과를 관찰하여 들깨의 영양적 우수성을 밝히고자 하였다. 이에 들깨의 수용성 및 불용성 식이 섬유소의 함량과 이들의 항돌연변이 효과를 조사하-

\*Corresponding author. E-mail: kunypark@hyowon.pusan.ac.kr  
Phone: 82-51-510-2839. Fax: 82-51-514-3138

였으며 들깨의 methanol 추출물, hexane 추출물 및 methanol soluble fraction을 분리하여 항돌연변이 효과를 검토하였으므로 이를 보고하고자 한다.

## 재료 및 방법

### 시료

본 실험에 사용된 들깨 종자는 밀양 농업 시험소에서 재배 수확된 것으로 품종은 엽실들깨(*Yeupsil Perilla frutescens*) 였다.

### 식이 섬유소의 정량분석

식이 섬유소의 정량분석을 위한 시료는 들깨를 분쇄하여 petroleum ether로 탈지시켜 조제하였다. 불용성 식이 섬유소와 수용성 식이 섬유소의 양은 Proskey 등(17)의 방법에 따라서 정량하였다.

**불용성 식이 섬유소 :** 시료 0.5 g에 phosphate buffer 25 mL(pH 6)를 넣어 pH 6±0.2로 조정하고 termamyl 용액(Novo Industry A/S Copenhagen/Denmark) 50 μL를 넣었다. Water bath(95~100°C)에서 15분 동안 반응하여 실온으로 냉각한 후 0.275 N NaOH 용액으로 pH 7.5±0.2로 조정하였다. 그리고 protease 용액(Sigma Chemical Co., USA)을 첨가한 후, shaking water bath(60°C, 30분)에서 반응시켜 냉각하여 0.325 M HCl 용액을 넣어서 pH 4~4.6까지 조정하고 amyloglucosidase(Sigma Chemical Co., USA) 150 μL를 첨가해 shaking water bath(60°C, 30분)에서 반응시켰다. Cellite를 함유한 1G3 여과용 유리도가니에 물 10 mL, 95% ethanol 10 mL, acetone 10 mL를 차례로 부어 residue를 씻은 후 105°C에서 overnight로 residue를 포함한 crucible을 전조시켰다. 2개의 시료 중 1개는 Automatic nitrogen analyzer(Buch 322/342 Kjeldahl system)를 사용해서 단백질 함량을 측정하였고 또 다른 1개의 시료는 525°C에서 5시간 동안 회화시켜 회분량을 측정하였다.

**수용성 식이 섬유소 :** 여과액과 residue를 씻은 물 10 mL를 불용성 식이 섬유소 측정과정으로부터 얻어서 물로 50 g까지 조정하고, 60°C의 95% ethanol 200 mL를 첨가해서 실온에서 침전물이 형성되도록 60분 동안 방치시켰다. 이러한 enzymic digest를 새로운 cellite를 함유한 1G3 여과용 유리도가니에 부은 후 78% ethanol 30 mL, 95% ethanol 10 mL, acetone 10 mL 순으로 residue를 씻고 105°C에서 overnight로 유리도가니를 전조시켰다. 2개의 시료 중 1개는 단백질 함량을 측정하였고 또 다른 1개의 시료는 회분량을 측정하였다.

SDF 또는 IDF 양은 다음과 같이 계산하였다.

$$\text{SDF or IDF (\%)} = [(R - P - A - B) / W] \times 100$$

R: residue의 무게(mg), P: 단백질 함량, A: 회분의 무게  
B: blank 무게, W: 시료의 무게

### 식이 섬유소의 추출

**수용성 식이 섬유소 :** 분쇄한 시료 5 g에 phosphate buffer

250 mL(pH 6)를 첨가해서 pH 6±0.2로 조정하고, termamyl 용액 0.5 mL를 넣었다. Water bath(95~100°C) 안에서 30분 동안 반응시키고 실온에서 냉각하여 0.275 N NaOH 용액을 넣어서 pH 7.5±0.2로 조정하고, protease 용액 0.5 mL(50 mg/mL phosphate buffer)를 첨가한 후, shaking water bath(60°C, 30분)에서 반응시켰다. 다시 용액을 냉각시킨 후 0.325 M HCl 용액을 넣어서 pH 4~4.6으로 조정하고 amyloglucosidase 1.5 mL를 첨가해 shaking water bath(60°C, 30분)에서 반응시켰다. 이 enzyme digestion 용액을 5,000 rpm에서 15분 동안 원심분리한 후 상등액에 4배의 ethanol을 첨가해서 60분간 방치한 후 5,000 rpm에서 10분간 원심분리한 다음 침전물을 105°C에서 전조시켜 수용성 식이 섬유소를 추출하였다.

**불용성 식이 섬유소 :** Enzyme digestion을 원심분리하여 얻은 침전물을 물로 씻은 후 5,000 rpm에서 10분간 원심분리하고 다시 침전물을 95% ethanol로 씻어 원심분리한 후 70°C에서 전조시켰다(17,18).

### 용매추출에 의한 시료조제

시료 중량의 20배의 메탄올로 3회 추출하여 메탄올 추출물을 얻은 다음 농축한 후 DMSO에 녹여서 실험에 사용하였다. 또한 들깨 분말시료 50 g에 1 L의 헥산을 첨가하여 8시간씩 3회 교반하고 여과, 농축하여 헥산 추출물(hexane extract)을 얻었으며, 이렇게 탈지된 들깨 분말 50 g당 메탄올 1 L를 첨가하여 2분간 고속으로 균질화하고 90분간 가열한 후 여과하고 농축하여 메탄올용해추출물(methanol soluble fraction, MSF)을 얻어서 DMSO에 녹여 실험에 사용하였다(19,20).

### 항돌연변이 실험

사용한 균주는 *Salmonella typhimurium* TA100으로 미국 캘리포니아 대학의 B.N. Ames 박사로부터 제공받아 실험에 사용하였으며 실험 전 histidine 요구성, deep rough(*rfa*) 돌연변이, *uvrB* 돌연변이, R factor 등의 유전형질을 확인하였다. 돌연변이 유발물질로 사용한 aflatoxin B<sub>1</sub>(AFB<sub>1</sub>)은 미국 Sigma 회사에서 구입하여 DMSO에 녹여 실험에 사용하였고, N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine(MNNG)은 미국 Aldrich 회사로부터 구입하여 증류수에 녹여 사용하였다.

Maron과 Ames(21)의 방법에 따라 Sprague-Dawley rat의 간을 적출하여 S9을 만들었으며 이 S9 fraction(10%)을 MgCl-KCl salts(2%), 1 M glucose-6-phosphate (0.5%), 1 M NADP(4%), 0.2 M phosphate buffer(pH 7.4) 및 멸균수와 혼합하여 S9 mixture를 조제하였다. S9 mix 0.5 mL(간접돌연변이인 경우) 혹은 인산 와중액 0.5 mL(직접돌연변이인 경우), 하루밤 배양된 균주( $1\sim2\times10^9$  cells/mL) 0.1 mL, 회석된 시료(50 μL)와 돌연변이 유발물질(50 μL)을 ice bath에 담긴 cap tube에 넣고 가볍게 vortex한 후 37°C에서 30분간 예비 배양하였다. 45°C의 top agar 2 mL 씩을 각 tube에 붓고 3초간 vortex하여 minimal glucose agar plate에 도말하고 37°C에서 48시간 배양한 후 복귀돌연변이 숫자를 계수하였다(22).

불용성 식이 섬유와 carcinogen과의 결합능 측정  
사용된 발암물질은 간접 발암물질인 3-amino-1-methyl-5H-pyrido[4,3-b] indole(Trp-P-2)이었다.

들깨의 불용성 식이 섬유소와 발암물질과의 결합능은 Morotomi와 Mutai(23)의 방법에 따라 측정하였다. 즉 0.3 mL의 Trp-P-2와 들깨에서 추출한 불용성 식이 섬유소 0.3 mL를 tube에 넣어 가볍게 vortex하여 37°C에서 30분 동안 배양한 후 여기에 0.5 mL의 S9 mixture를 첨가하여 3초간 vortex하여 다시 37°C에서 20분간 배양하였다. 배양액을 2,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 상층액 0.1 mL를 취해 phosphate buffer(0.5 mL), 하룻밤 배양된 균주( $1\sim2\times10^9$  cell/mL) 0.1 mL를 섞어 가볍게 vortex하여 37°C에서 20분간 예비 배양하였다. 45°C의 top agar 2 mL씩을 각 tube에 놓고, 3초간 vortex하여 minimal glucose agar plate에 spread하고 37°C에서 48시간 배양한 후 revertant 숫자를 계수하였다.

### 결과 및 고찰

#### 식이 섬유소 및 용매추출물의 함량

들깨의 불용성 및 수용성 식이 섬유소와 총 식이 섬유소의 함량을 정량 분석한 결과는 Table 1과 같다. 본 실험에 사용한 들깨의 수분함량은 5.42%였다. 들깨의 불용성 및 수용성 식이 섬유소의 양은 신선물의 경우 각각 16.1%와 1.1%였으며 건조 중량으로는 17.0%와 1.2%를 나타내었다. 또한 불용성과 수용성 식이 섬유소를 합하여 전체적으로 식이 섬유소의 양은 17.2%이며 들깨의 건조 중량으로는 18.2%를 나타내었다.

들깨는 품종에 따라 다소 성분 차이가 있으나 지방 40%, 단백질 16%, 섬유질 17.5%, 수분 5%, 회분 3.1% 정도 함유되어 있는 것으로 알려져 있으므로(24) 본 연구에서도 수용성과 불용성 식이 섬유소를 합한 총 식이 섬유소의 양이 17.2%로 비슷한 수치를 나타내었다. 한편 들깨의 식이 섬유소의 함량은 대두의 24.7%에 비하여 적게 함유되어 있으나(25) 야채나 채소에 비하여 3~9배 많은 양이 함유되어 있어 식이 섬유소의 좋은 급원으로 사료된다.

한편, 들깨의 용매 추출물의 함량을 Table 2에 나타내었다. Methanol 추출물은 들깨 건조물의 8.0%이었으며 hexane 추출물은 60.0%, MSF는 4.5% 함유되어 있어 hexane 추출물의 수율이 가장 높게 나타났다. 이것은 들깨에 40% 이상 함유된

Table 1. Dietary fiber (DF) contents in the seeds of *Perilla frutescens*

| Water | Insoluble DF                                   | Soluble DF                                 | Total DF                                     |
|-------|--|--|--|
| 5.42  | $16.1 \pm 0.5^{1,2)}$<br>( $17.0 \pm 0.5^{3)}$ | $1.1 \pm 0.1^{2)}$<br>( $1.2 \pm 0.1^{3)}$ | $17.2 \pm 0.6^{2)}$<br>( $18.2 \pm 0.7^{3)}$ |

<sup>1)</sup>Values are mean  $\pm$  SD.

<sup>2)</sup>Percentage in fresh matter edible portion.

<sup>3)</sup>Values in parenthesis are % in dry matter edible portion.

Table 2. Yields of solvent extracts of *Perilla frutescens* seeds

| Extracts          | Yields (%) |
|-------------------|------------|
| Methanol extract  | 8.0        |
| Hexane extract    | 60.0       |
| MSF <sup>1)</sup> | 4.5        |

<sup>1)</sup>Methanol soluble fraction.

지방 성분이 hexane에 의해 추출되었기 때문으로 생각된다.

#### 항돌연변이 효과

먼저 들깨 추출물에서 *Salmonella typhimurium* TA100에 대한 독성 실험을 행하여 시료에 의해 독성이 나타나지 않는 범위의 양으로 항돌연변이 실험을 행하였다.

본 연구에서는 AFB<sub>1</sub>에 의한 돌연변이 유발을 억제하는 들깨의 효과를 조사하였다(Table 3). Aflatoxin B<sub>1</sub>(AFB<sub>1</sub>)은 *Aspergillus flavus*와 *A. parasiticus*에 의해 생성되는 2차 대사물로서 잠재적인 hepatotoxin이다. 이러한 AFB<sub>1</sub>는 돌연변이 유발원일 뿐만 아니라 강력한 발암원으로 알려져 있다(26). 들깨의 methanol 추출물을 0.625 mg/assay 첨가하였을 때 대조군에 비하여 38%의 돌연변이 억제효과를 나타내었고 1.25 mg/assay 첨가군은 75%, 2.5 mg/assay 첨가군은 91%의 돌연변이 억제효과를 나타내었다. 그러나 들깨의 수용성 식이 섬유소를 같은 농도로 첨가하였을 때는 methanol 추출물과는 달리 항돌연변이 효과를 나타내지 않았다.

수용성 식이 섬유소에 대한 AFB<sub>1</sub>과 같은 간접 돌연변이원에 의한 돌연변이 유발억제 효과는 식품에 따라 차이를 나타낸다. Lee 등(27)은 케일이나 대두의 수용성 식이 섬유소는 낮은 농도로(케일은 0.05 mg/plate 첨가로 90% 저해, 대두는 1 mg/plate로 89.6% 저해) 돌연변이 억제작용을 나타내나 시금치, 브로콜리, 콩나물, 된장의 수용성 식이 섬유소는 거의 효과가 없으며 DMAB, Trp-P-2 및 MelQ와 같은 돌연변이원에 대해서도 AFB<sub>1</sub>와 동일한 효과를 나타낸다고 하였다. 또한 수용성 식이 섬유소인 polydextrose, pectine, guar gum

Table 3. The effects of methanol extract and soluble dietary fiber (SDF) from *Perilla frutescens* seeds on the mutagenicity induced by aflatoxin B<sub>1</sub> in *Salmonella typhimurium* TA100

| Treatment (mg/assay)        | Revertants/plate | Inhibition rate (%) |
|-----------------------------|------------------|---------------------|
| Spontaneous                 | $90 \pm 12^{1)}$ |                     |
| Control (AFB <sub>1</sub> ) | $1054 \pm 22$    |                     |
| Methanol ext.               |                  |                     |
| 0.625                       | $685 \pm 67$     | 38                  |
| 1.25                        | $330 \pm 17$     | 75                  |
| 2.5                         | $174 \pm 6$      | 91                  |
| Spontaneous                 | $94 \pm 5$       |                     |
| Control                     | $952 \pm 25$     |                     |
| SDF <sup>2)</sup>           |                  |                     |
| 0.625                       | $998 \pm 6$      | —                   |
| 1.25                        | $974 \pm 47$     | —                   |
| 2.5                         | $960 \pm 38$     | —                   |

<sup>1)</sup>Values are mean  $\pm$  SD.

<sup>2)</sup>Soluble dietary fiber.

에 대한 실험에서도 항돌연변이 효과가 없는 것으로 보고하였다.

Table 4는 hexane 추출물과 MSF에 대한 항돌연변이 효과를 살펴본 결과이다. Hexane 추출물을 0.625 mg/assay 첨가한 경우에 AFB<sub>1</sub>에 대해 11%의 돌연변이 억제 효과를 나타내었고 1.25 mg/assay에서는 21%, 2.5 mg/assay에서는 20%의 돌연변이 억제 효과를 나타내어 hexane 추출물은 AFB<sub>1</sub>의 돌연변이성에 비교적 약한 억제효과를 보였다. 한편 MSF의 경우 0.625 mg/assay 첨가로 73%의 돌연변이 억제효과를 나타내었으며 1.25 mg/assay 및 2.5 mg/assay 첨가시 87%의 돌연변이 유발이 억제되어 hexane 추출물과는 달리 항돌연변이 효과가 강한 것으로 나타났다. 들깨유가 rat에서 대장암과 유방암을 억제하며(8) 들깨유에서 가장 함량이 높은  $\alpha$ -linolenic acid가 암세포 증식억제 작용을 가진다(5,6)고 보고되었으나 본 연구에서는 지방성분이 주로 추출된 혼합추출물이 메탄올 추출물이나 MSF에 비하여 돌연변이 억제작용이 낮게 나타났다. 이러한 결과는 들깨에 함유된 지방이외의 다른 극성이 높은 성분이 AFB<sub>1</sub>에 대한 항돌연변이 효과를 나타낼 것으로 사료된다.

Table 5와 6에서 들깨의 methanol 추출물, soluble dietary fiber, hexane 추출물 및 MSF가 MNNG의 돌연변이 유발성을 억제시키는지를 조사하였다. MNNG는 *Salmonella typhimurium* TA1535와 TA100에 대한 대표적인 돌연변이 유발물질로 S9 mixture를 필요로 하지 않는 직접 돌연변이원이다(26). 이러한 MNNG를 사용한 결과 AFB<sub>1</sub>에 비해서 항돌연변이 효과가 낮게 나타났다. 즉 methanol 추출물을 0.625~2.5 mg/assay 첨가하였을 때 돌연변이 억제효과가 거의 나타나지 않았다. SDF의 경우에도 1.25 mg/assay에서 17%의 항돌연변이 작용을 나타내었을 뿐 0.625 mg/assay와 2.5 mg/assay의 농도에서 돌연변이 억제효과는 보이지 않았다. 동일 농도에서 hexane 추출물에도 돌연변이 유발에 대한 저해효과가 없었으며 MSF는 0.625 mg/assay에서 13%, 1.25 mg/assay에서 18%, 그리고 2.5 mg/assay에서 27%의 돌연변이 억제효과를 나타내었다. 이상의 결과로써 들깨 추출물

Table 4. The effects of hexane extract and MSF (methanol soluble fraction) from *Perilla frutescens* seeds on the mutagenicity induced by aflatoxin B<sub>1</sub> in *Salmonella typhimurium* TA100

| Treatment (mg/assay)        | Revertants/plate     | Inhibition rate (%) |
|-----------------------------|----------------------|---------------------|
| Spontaneous                 | 90± 12 <sup>1)</sup> | —                   |
| Control (AFB <sub>1</sub> ) | 1054± 22             | —                   |
| Hexane ext.                 |                      |                     |
| 0.625                       | 952± 200             | 11                  |
| 1.25                        | 851± 235             | 21                  |
| 2.5                         | 863± 55              | 20                  |
| MSF <sup>2)</sup>           |                      |                     |
| 0.625                       | 355± 18              | 73                  |
| 1.25                        | 213± 22              | 87                  |
| 2.5                         | 217± 17              | 87                  |

<sup>1)</sup>Values are mean± SD.

<sup>2)</sup>Methanol soluble fraction.

Table 5. The effects of methanol extract and soluble dietary fiber from *Perilla frutescens* seeds on the mutagenicity induced by N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine (MNNG) in *Salmonella typhimurium* TA100

| Treatment (mg/assay) | Revertants/plate    | Inhibition rate (%) |
|----------------------|---------------------|---------------------|
| Spontaneous          | 65± 1 <sup>1)</sup> | —                   |
| Control (MNNG)       | 1238± 65            | —                   |
| Methanol ext.        |                     |                     |
| 0.625                | 1229± 171           | 0                   |
| 1.25                 | 1163± 122           | 6                   |
| 2.5                  | 1184± 124           | 5                   |
| SDF <sup>2)</sup>    |                     |                     |
| 0.625                | 2627± 556           | 1                   |
| 1.25                 | 2225± 70            | 17                  |
| 2.5                  | 2456± 332           | 8                   |

<sup>1)</sup>Values are mean± SD.

<sup>2)</sup>Soluble dietary fiber.

Table 6. The effects of hexane extract and MSF (methanol soluble fraction) from *Perilla frutescens* on the mutagenicity induced by N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine (MNNG) in *Salmonella typhimurium* TA100

| Treatment (mg/assay) | Revertants/plate    | Inhibition rate (%) |
|----------------------|---------------------|---------------------|
| Spontaneous          | 65± 1 <sup>1)</sup> | —                   |
| Control (MNNG)       | 1238± 65            | —                   |
| Hexane ext.          |                     |                     |
| 0.625                | 1391± 102           | —                   |
| 1.25                 | 1601± 49            | —                   |
| 2.5                  | 1829± 297           | —                   |
| MSF <sup>2)</sup>    |                     |                     |
| 0.625                | 1086± 99            | 13                  |
| 1.25                 | 1023± 193           | 18                  |
| 2.5                  | 922± 80             | 27                  |

<sup>1)</sup>Values are mean± SD.

<sup>2)</sup>Methanol soluble fraction.

은 직접 돌연변이원인 MNNG보다 간접 돌연변이원인 AFB<sub>1</sub>에 의해 유도된 돌연변이를 억제하는 것을 알 수 있었다. 따라서 들깨 추출물은 간에서 microsomal 효소계의 활성화에 관여하여 돌연변이 전구 물질을 최종 돌연변이 물질로의 전환을 억제하였거나 활성화된 돌연변이 물질에 직접 반응하여 제거할 것으로 사료된다. 또한 들깨의 용매 추출물과 수용성 식이 섬유소의 항돌연변이 효과는 MSF에서 가장 강하게 나타나므로 들깨의 항돌연변이 활성 물질이 이 추출물에 많이 존재할 것으로 생각된다.

한편 Lee 등(27,28)은 간접돌연변이원을 이용한 경우와 달리 직접 돌연변이원인 MNNG와 4-NQO에서 캐일 및 대두를 비롯하여 당근, 시금치, 브로콜리, 콩나물, 된장의 수용성 식이 섬유소는 돌연변이 억제효과가 나타나지 않았으며 수용성 식이 섬유소의 성분인 polydextrose, pectin, guar gum, carageenan(0.5 mg/plate)도 항돌연변이 효과를 나타내지 않았다고 보고하여 돌연변이 억제작용이 모든 돌연변이원에 동일하게 나타나지 않는다는 것을 알 수 있다.

#### 불용성 식이 섬유소의 carcinogen binding 효과

불용성 식이 섬유소에는 cellulose, lignin, insoluble non-cellulose polysaccharide가 있으며(11) 이러한 불용성 식이

Table 7. The effects of insoluble dietary fiber (IDF) extracted from *Perilla frutescens* seeds on the mutagenicity induced by Trp-P-2 in *Salmonella typhimurium* TA100

| Treatment (mg/assay) | Revertants/plate    | Inhibition rate (%) |
|----------------------|---------------------|---------------------|
| Spontaneous          | 101±3 <sup>1)</sup> |                     |
| Control (Trp-P-2)    | 475±76              |                     |
| IDF <sup>2)</sup>    |                     |                     |
| 1.875                | 428±29              | 13                  |
| 3.75                 | 427±14              | 13                  |
| 7.5                  | 406±25              | 18                  |
| 15.0                 | 396±33              | 21                  |

<sup>1)</sup>Values are mean±SD.

<sup>2)</sup>Insoluble dietary fiber.

섬유소는 장내 돌연변이 물질 및 발암물질과 결합하여 배설시키므로 결장암을 방지하는 효과를 지니는 것으로 보고되고 있다(14).

불용성 식이 섬유의 carcinogen binding 효과를 알아보기 위한 HPLC와 liquid scintillation counter를 사용한 여러 연구들이 있다(29-32). 본 실험에서는 Morotomi와 Mutai(23)의 방법에 따라 돌연변이 유발억제 효과를 검토하였으며 그 원리는 HPLC와 liquid scintillation counter와 유사하다. Trp-P-2는 300°C 정도로 태운 고기에서 발견되는 강한 돌연변이 원으로(33) 들깨의 불용성 식이 섬유소의 결합능을 살펴보기 위하여 돌연변이 물질로 사용하였다. Table 7은 들깨로부터 추출한 불용성 식이 섬유소가 Trp-P-2와 결합해서 돌연변이 물질제거에 의한 돌연변이 유발억제 효과를 나타낸 것으로 1.875 mg/assay와 3.75 mg/assay에서 13%, 7.5 mg/assay에서는 18% 그리고 15 mg/assay에서 21%의 돌연변이 억제 효과를 나타내었다. 들깨에는 불용성 식이 섬유소가 16.1% 함유되어 있으며 총 식이 섬유소의 94%를 차지한다. 따라서 들깨의 불용성 식이 섬유소가 Trp-P-2라는 돌연변이 유발 물질의 제거효과는 크게 높지 않으나 불용성 식이 섬유소가 들깨에 많은 양 함유되어 있어 들깨에 의한 결장암 예방을 기대할 수 있을 것으로 여겨진다.

케일, 대두, 당근, 시금치, 브로콜리, 콩나물 및 된장에서 추출한 불용성 식이 섬유소는 돌연변이 원인 MeIQ와 결합해서 제거하며 특히 케일(0.5 mg/plate 첨가로 86% 저해)과 대두의 불용성 식이 섬유소는 강한 carcinogen의 결합능을 가지고 있다고 한다. 이러한 식품들은 Trp-P-2에 대해서는 MeIQ만큼 강하게 trapping하지 않으나 케일과 콩나물의 식이 섬유소는 효과가 높은 것으로 보고되고 있다. 또한 불용성 식이 섬유소인 lignin, cellulose와 불용성 non cellulose polysaccharide 가운데 lignin과 cellulose가 비교적 높은 항돌연변이 효과를 띠다고 하였다(28).

## 요 약

본 연구에서는 들깨의 불용성 및 수용성 식이 섬유소의 함량을 측정하였으며 들깨의 methanol 추출물, hexane 추출물, MSF 및 식이 섬유소를 추출하여 항돌연변이 효과를 관찰하

였다. 들깨의 총 식이 섬유소의 함량은 신선물인 경우 17.2%였고 건조물인 경우 18.2%였으며 이 가운데 94%가 불용성 식이 섬유소였다. 들깨의 용매 추출물 중에서 methanol 추출물과 MSF는 AFB<sub>1</sub>에 의해 유발된 돌연변이를 상당히 억제시켰으며 methanol 추출물과 MSF를 2.5 mg/assay 첨가군에서 각각 91%와 87%의 억제효과를 나타내었다. 그러나 같은 농도에서 SDF의 첨가군은 억제효과가 나타나지 않았고 hexane 추출물은 20%의 억제효과를 나타내었다. 한편 직접 돌연변이 원인 MNNG를 돌연변이 원으로 사용한 경우에 항돌연변이 효과는 크게 나타나지 않았다. 즉 SDF를 1.25 mg/assay 첨가한 군은 17%, MSF 2.5 mg/assay 첨가군은 27%의 저해율을 보였을 뿐 methanol과 hexane 추출물 첨가군은 억제효과를 나타내지 않았다. 따라서 들깨의 용매 추출물은 간접 돌연변이 원에 의한 돌연변이성을 억제시키는 것을 알 수 있었다. 또한 불용성 식이 섬유소의 경우 Trp-P-2에 의해 유발된 돌연변이를 다소(13~18%) 억제하는 것을 알 수 있었다.

## 문 헌

- Lee, J.I., Han, E.D., Lee, S.T. and Park, H.W. : Study on the evaluation of oil quality and the differences of fatty acid composition between varieties in perilla (*Perilla frutescens* Britton var. *Japonica* Hara). *Korean J. Breed*, **18**, 228-233 (1986)
- Lee, K.J. and Han, J.S. : Studies on the lipid composition in the seed of *Perilla frutescens*. *Resource Research Institute*, **1**, 15-20 (1982)
- Bang, H.O., Dyerberg, J. and Sinclair, H.M. : The composition of the Eskimos food in north western Greenland. *Am. J. Clin. Nutr.*, **33**, 2657-2661 (1980)
- Dyerberg, J. : Linolenate-derived polyunsaturated fatty acids and prevention of atherosclerosis. *Nutr. Rev.*, **44**, 125-134 (1986)
- Begin, M.E. and Ells, G. : Effects of C<sub>18</sub> fatty acids on breast carcinoma cells in culture. *Anticancer Res.*, **7**, 215-218 (1987)
- Hori, T., Motiuchi, A., Okuyama, H., Sobajima, T., Tamai-Koizumi, K. and Kojima, K. : Effect of dietary essential fatty acids on pulmonary metastasis of ascites tumor cells in rats. *Chem. Pharm. Bull.*, **35**, 3925-3927 (1987)
- Yamamoto, N., Saitoh, M., Moriuchi, A., Nomura, M. and Okuyama, H. : Effect of dietary α-linolenate/linoleate balance on brain lipid compositions and learning ability of rats. *J. Lipid Res.*, **28**, 144-151 (1987)
- Masao, H., Atsuko, M., Nobuyuki, I., Kana, K. and Harumi, O. : Effect of dietary perilla oil, soybean oil and safflower oil on 7,12-dimethylbenz[a]anthracene (DMBA) and 1,2-dimethylhydrazine (DMH)-induced mammary gland and colon carcinogenesis in female SD rats. *Carcinogenesis*, **11**, 731-735 (1990)
- Park, H.S., Seo, E.S., Song, J.H. and Choi, C.U. : Effect of perilla oil rich in α-linolenic acid on colontumor incidence, plasma thromboxane B<sub>2</sub> level and fatty acid profile of colonic mucosal lipids in chemical carcinogen-treated rats. *Korean J. Nutr.*, **26**, 829-838 (1993)
- Gordon, D.J. : Functional properties vs physiological action of total dietary fiber. *Cereal Foods World*, **34**, 517-525 (1989)

11. Lanza, E. and Butrun, R.R. : A critical review of food fiber analysis and data. *J. Am. Diet. Assoc.*, **86**, 732-743 (1986)
12. Trowell, H.C. : Ischemic heart disease and dietary fiber. *Am. J. Clin. Nutr.*, **25**, 926-932 (1972)
13. Mercurio, K.C. and Behrm, P.A. : Effect of fiber type and level on mineral excretion transit time and intestinal histology. *J. Food Sci.*, **46**, 1462-1463 (1981)
14. Jacobs, L.R. : Relationship between dietary fiber and cancer : Metabolic, physiologic, and cellular mechanism. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **183**, 299-310 (1986)
15. 宮崎利夫 : 多糖の構造と生理活性. 朝倉書店, 東京 (1990)
16. 박준태 : Carbohydrates/ polysaccharides의 의학적 이용 및 현재의 개발현황. 생물공학뉴스, **1**, 31-37 (1994)
17. Prosky, L., Asp, N.-G., Schweizer, T.F., Devries, J.W. and Furda, I. : Determination of insoluble, soluble, total dietary fiber in foods and food products : Interlaboratory study. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, **71**, 1017-1023 (1988)
18. Sjodin, P.B., Nyman, M.E., Nilsson, L., Asp, N.-G. and Jagerstad, M.I. : Binding of <sup>14</sup>C-labeled food mutagens (IQ, MeIQ, MeIQx) by dietary fiber *in vitro*. *J. Food Sci.*, **50**, 1680-1684 (1985)
19. Pratt, D.E. and Birac, P.M. : Source of antioxidant activity of soybeans and soy products. *J. Food Sci.*, **44**, 1720-1722 (1979)
20. Hammerschmidt, P.A. and Pratt, D.E. : Phenolic antioxidants of dried soybeans. *J. Food Sci.*, **43**, 556-559 (1979)
21. Maron, D.M. and Ames, B.N. : Revised methods for the *Salmonella* mutagenicity test. *Mutat. Res.*, **113**, 173-215 (1983)
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**, 347-364 (1975)
23. Morotomi, M. and Mutai, M. : *In vitro* binding of potent mutagenic pyrolyzates to intestinal bacterial. *JNCI*, **77**, 195-201 (1986)
24. Seoung, H.S. : Studies on the constituents of Korean native perillas. *J. Korean Soc. Food Nutr.*, **15**, 69-74 (1976)
25. Lee, S.M., Rhee, S.H. and Park, K.Y. : Quantitative analysis of insoluble and soluble dietary fibers in green-yellow vegetables and soybean. *J. College of Home Economics* (Pusan National Univ.), **19**, 53-59 (1993)
26. McCann, J., Choi, E., Yamasaki, E. and Ames, B.N. : Detection of carcinogens as mutagens in the *Salmonella*/microsome test: Assay of 300 chemicals. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, **72**, 5135-5139 (1975)
27. Lee, S.M., Rhee, S.H. and Park, K.Y. : Antimutagenic effect of soluble dietary fibers from kale and soybean. *Environ. Mutagens. Carcinogens*, **13**, 26-35 (1993)
28. Lee, S.M. : Antimutagenic effects of dietary fiber. Doctor's thesis of Pusan National Univ., Busan, Korea (1992)
29. Hosono, A., Wardjojo, R. and Otani, H. : Binding of amino acid pyrolyzates by lactic acid bacteria isolated from 'Dadith'. *Lebensm. Wiss. U. Technol.*, **23**, 149-153 (1990)
30. Redy, B.S., Sharma, C., Mathews, L., Engle, A., Laakso, K., Choi, K., Pusk, P. and Korpella, R. : Metabolic epidemiology of colon cancer : fecal mutagens in healthy subjects from rural Kuopio and urban Helsinki, Finland. *Mutation Res.*, **152**, 97-105 (1985)
31. Barbaro, P.S., Hanson, D. and Reddy, B.S. : Carcinogen binding to various types of dietary fiber. *JNCI*, **67**, 495-497 (1981)
32. Gulliver, W.P., Kutty, K.P., Laher, J.M. and Barrowman, J. A. : *In vitro* interaction of 7,12-dimethylbenz[a]anthracene and its biliary metabolites with dietary fibers. *JNCI*, **71**, 207-210 (1983)
33. Kim, Y.H., Hwangbo, J.S. and Lee, S.L. : Detection of aflatoxins in some Korean foodstuffs. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **9**, 73-80 (1977)

(2001년 5월 7일 접수)