

## 사과 Polyphenol Oxidase에 의한 효소갈변반응 생성물의 항돌연변이 효과

백창원 · 함승시  
강원대학교 식품공학과

### Antimutagenic Effects of Browning Products Reacted with Polyphenol Oxidase Extracted from Apple

Chang-Weon Baik and Seung-Shi Ham

Department of Food Science and Technology, Kangweon National University

#### Abstract

This study was carried out to investigate the antimutagenic effects of five kinds of apple enzymatic browning reaction products(AEBRP) on mitomycin C (MMC), N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine (MNNG), 4-nitroquinoline-1-oxide(4NQO), benzo( $\alpha$ )pyrene(B( $\alpha$ )P) and 3-amino-1,4-dimethyl-5H-pyrido[4,3-b]indol(Trp-P-1). In spore rec-assay using *B. subtilis* H17(rec<sup>+</sup>) and M45(rec<sup>-</sup>), homocatechol-AEBRP and hydroquinone-AEBRP showed strong antimutagenic effects on MMC and MNNG as the concentration of AEBRP increased. In the Ames test using *S. typhimurium* TA98 and TA100, hydroxyhydroquinone-AEBRP and pyrogallol-AEBRP showed strong antimutagenic effects on Trp-p-1 and B( $\alpha$ )p in TA98 and TA100 in the presence of S-9 mix. Most of AEBRPs suppressed about 50% to 80% the mutagenesis in *S. typhimurium* TA98 induced by MNNG, however, AEBRPs except hydroxyhydroquinone-AEBRP showed antimutagenic effects of about 94% in TA100. Antimutagenic effects of the five kinds of AEBRPs on 4-NQO were more or less weak, in particular homocatechol-AEBRP exhibited the inhibitory effect of about 48% in TA98, and homocatechol-AEBRP and hydroquinone-AEBRP showed inhibitory effects of about 46% to 58% in TA 100.

Key words : antimutagenic effect, apple enzymatic browning reaction product, spore rec-assay, Ames test

#### 서 론

여러 가지 환경오염 물질이나 식품 첨가물 또는 식품을 조리 가공하는 과정에서 생성되는 물질들 중에는 인간의 유전성에 작용해서 돌연변이를 일으키는 물질이 있다고 보고됨에 따라 발암성과 관련해서 이에 대한 많은 관심을 갖게 되었다<sup>(1-3)</sup>. 암의 원인은 virus와 같은 생물인자라든가 자외선, X선 등의 물리적 인자에 의해서도 발생되지만 그 대부분은 외계의 화학물질에 의해 유발된다고 하며 그 중에서도 특히 음식물과 함께 섭취되는 발암 물질은 대단히 중요시 되고 있다<sup>(4)</sup>. 따라서 현재 전세계적으로 암을 치료 또는 예방할 수 있는 물질을 개발하기 위한 연구가 활발히 진행되고 있다. 村上<sup>(5)</sup>은 식품성분으로서 식물조직 중에 단독 혹은 배당체로 널리

함유되어 있는 polyphenol 화합물이 종양의 억제작용이 있음을 밝혔고, Kada<sup>(6,7)</sup> 등은 차엽의 polyphenol 성분 중 catechin류가 항돌연변이 작용 또는 종양의 발생을 억제시킨다고 하였다. 최근 비효소적 갈변반응 생성물인 melanoidine은 3-amino-1,4-dimethyl-5H-pyrido[4,3-b]indole(Trp-P-1), 3-amino-1-methyl-5H-pyrido[4,3-b]indole(Trp-p-2), 2-amino-6-methyldipyrido-[1,2-a : 3,2-b]imidazole(Glu-p-1), 2-amino-6-methyldipyrido-[1,2-a : 3,2-d]imidazole(Glu-p-2) 및 2-amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinoline(IQ) 등의 변이원물질에 대한 항돌연변이원성 효과가 있다고 보고하였으며<sup>(8)</sup>, 자두로부터 추출한 polyphenol oxidase에 의한 효소적 갈변반응 생성물의 항돌연변이원성 효과가 보고<sup>(9)</sup> 됨에 따라 각종 과채류로부터 추출한 polyphenol oxidase에 의한 효소적 갈변반응 생성물의 생리작용에 관한 연구가 실시되고 있다.

본 실험에서는 현재 변이원 검출실험에만 사용되고 있는 *B. subtilis* spore rec-assay를 응용한 항돌연변이

Corresponding author : Seung-Shi Ham, Department of Food Science and Technology, Kangweon National University, 192-1, Hyoja-dong, Chuncheon-shi 200-701, Kangweon-do

원성 실험방법과 종래의 Ames test를 이용한 항돌연변이원성 실험방법을 통해 사과로부터 추출한 polyphenol oxidase와 기존의 polyphenol 화합물 중에서 catechol, homocatechol, hydroxyhydroquinone, hydroquinone 및 pyrogallol 등 5가지 polyphenol 화합물과 반응시켜 얻어진 사과효소 갈변반응 생성물의 항돌연변이원성을 규명하였다.

## 재료 및 방법

### 재료

본 실험에 사용한 사과는 미국원산인 Jona gold라고 하는 중생종 사과로서 강원도 춘성군 거두리에서 재배한 것을 시장에서 구입하여 4°C에서 저장하였다가 실험에 사용하였다. 실험에 사용한 polyphenol 화합물들은 Sigma사 제품을 사용하였다.

### 효소표품, 효소액, 갈변물질의 조제

효소표품은 大村 등<sup>(10)</sup> 및 기존의 방법<sup>(9)</sup>에 따라서 조제한 후 -20°C 냉동실에 보존하면서 실험에 사용하였다.

효소액의 조제는 앞의 냉동 보존된 acetone powder 1g을 McIlvaine buffer(pH 6.1) 100 ml로 마쇄하여 흡입여과 후 여액을 4°C, 10,000 rpm에서 30분간 원심분리하고 그 상등액을 취해 (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>를 첨가하여 효소 침전을 얻었으며, 이 침전을 다시 phosphate buffer(pH 6.1)로 용해시킨 다음 동일한 완충용액으로 4°C에서 48시간 투석하여 효소액으로 사용하였다.

갈변물질을 조제하기 위하여 사용된 기질로서는 polyphenol 화합물 중 catechol(Ca), homocatechol(HCa), hydroxyhydroquinone(HHQ), hydroquinone(HQ), pyrogallol(Py) 등이며 기질용액의 농도는 HHQ는 25 mM 농도로 조제하였고 나머지 기질은 모두 50 mM 농도로 조제하였으며, 반응은 기질용액 100 ml당 효소용액 5 ml의 비율로 하여 혼합한 후 pH 5.0으로 조절하여 30°C에서 4일간 충분히 진탕하면서 반응시킨 후 -80°C deep freezer에서 동결시킨 다음 동결건조기에 넣고 48시간 건조시켜 일정량 취하여 증류수에 용해하여 실험에 사용하였다.

### Spore rec-assay

Kada<sup>(11)</sup>의 방법에 따라 *B. subtilis* H17(rec<sup>+</sup>)와 M45(rec<sup>-</sup>)의 포자를 조제하였으며, 1,000 ml의 nutrient broth 한천배지를 조제하여 50°C로 냉각시켜 H17 및 M45 포자 현탁액을 배지에 각각 10 ml당 포자현탁액 1 ml의 비율로 혼합한 후 petridish내에 10 ml씩 각각 분

주하여 평판고화시킨 다음 이것을 돌연변이원성 및 항돌연변이원성 실험에 사용하였다.

### Mutagenicity test

이미 강력한 돌연변이 물질로 알려진 2가지 양성변이원 물질의 변이원성을 조사하기 위하여 N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine(MNNG)(10 µg/10 µl)과 mitomycin C(MMC)(2 ng/10 µl)를 H17 및 M45 포자한천 plate상의 4개의 paper disc에 각각 10, 20, 30, 40 µl씩 농도를 증가시켜 순서대로 주입하였으며 5가지 갈변물질의 변이원성 유무도 같은 방법으로 실시하여, 이것을 4°C에서 8시간 cold incubation한 다음 37°C에서 16시간 배양하여 paper disc 주변에 형성된 생육저지대의 직경을 측정하여 변이원성 유무를 판정하였다.

### Antimutagenicity test

돌연변이원성 실험에서 변이원 물질로서의 활성이 큰 MNNG와 MMC를 양성변이원 물질로 사용하였으며, 이들은 대사활성물질(S-9 mix)을 필요로 하지 않기 때문에 첨가하지 않고 실험하였다. 실험에 사용한 효소 갈변반응 물질은 Ca-AEBRP(10 µg/µl), HCa-AEBRP(4 µg/µl), HHQ-AEBRP(10 µg/µl), HQ-AEBRP(1 µg/µl), Py-AEBRP(4 µg/µl)로서 변이원물질의 농도는 돌연변이원 실험에서의 농도를 사용하되 독성이 적고 돌연변이원 활성이 가장 큰 농도의 것을 각 assay에 사용하였다. 항돌연변이원성 실험에서는 갈변물질과 양성변이원 물질의 비율이 각각 10 µl : 10 µl, 20 µl : 10 µl, 30 µl : 10 µl, 40 µl : 10 µl의 비율로 96-well plate에 주입한 다음 micropipette로 20, 30, 40, 50 µl를 충분히 취할 수 있도록 조작하였으며, 이것을 37°C에서 30분간 반응시킨 후 미리 조제한 H17 및 M45 spore 한천 plate상의 paper disc에 차례로 주입한 다음 4°C에서 8시간 cold incubation시키고 다시 37°C에서 16시간 incubation시켜 paper disc 주변에 생성된 생육저지대의 직경을 측정하여 항돌연변이원성 유무를 판정하였다.

### Ames test

#### Mutagenicity test

Ames test를 개량한 preincubation법<sup>(13, 15)</sup>을 적용시켰으며, 대사활성물질이 필요한 경우에는 S-9 mix를 첨가하였다. 갈변물질의 농도는 HCa-AEBRP와 HHQ-AEBRP는 1 µg/µl의 농도로, Ca-AEBRP와 Py-AEBRP의 경우는 1.66 µg/µl의 농도로 조제하였으며 이들 갈변물질을 미리 건열멸균시킨 glass cap tube에 각각 50, 100, 150, 200 µl씩 가하고 여기에 미리 TA culture 배지에서 하루 배양시킨 균 배양액 100 µl와 S-9 mix 250 µl를 가한

다음 0.2 M sodium phosphate buffer(pH 7.4)로 총 700  $\mu$ g가 되도록 하였다. 이것을 37°C에서 20분간 진탕배양한 다음 histidine/biotin이 첨가된 top agar(45°C)를 2 ml씩 가하여 잘 혼합한 후에 미리 조제해 놓은 minimal glucose agar plate 상에 흘려 넣고 평판 고화시켜 37°C에서 48시간 배양하여 생긴 his<sup>+</sup> revertant colony를 계측하여 돌연변이원성 유무를 판정하였다.

#### Antimutagenicity test

갈변물질의 농도는 상기와 같고 변이원물질의 농도는 Trp-P-1의 경우 TA98에서는 0.02  $\mu$ g/plate, TA100에서는 1.0  $\mu$ g/plate를 사용하였다. B( $\alpha$ )P의 경우 모두 20  $\mu$ g/plate, MNNG의 경우 TA98에서는 10  $\mu$ g/plate, TA100에서는 1  $\mu$ g/plate를 사용하였으며, 4NQO 경우는 0.4  $\mu$ g/plate를 사용하였다. 실험절차는 우선 건열멸균시킨 glass cap tube에 갈변물질을 각각 50, 100, 150, 200  $\mu$ 씩 첨가하고 변이원물질을 20  $\mu$ 씩 첨가한 다음 대사활성 물질이 필요한 경우에는 S-9 mix를 250  $\mu$ 씩 각각 첨가 하였다. 여기에 하룻밤 배양시킨 TA98과 TA100을 100  $\mu$ 씩 주입한 후에 0.2 M sodium phosphate buffer를 가하여 최종 부피가 700  $\mu$ g가 되도록 하였다. 이것을 37°C에서 20분간 진탕배양한 다음 상기의 돌연변이원성

실험과 같은 방법으로 실험하여 생성된 colony를 계측하여 항돌연변이원성 유무를 검토하였다.

## 결과 및 고찰

#### Spore *rec*-assay

두 가지 양성변이원 물질의 변이원성 실험결과 H17과 M45의 생육저지대 차이가 MNNG는 10  $\mu$  첨가시 20 mm 이상, MMC는 10  $\mu$  첨가시 15 mm 이상의 강력한 돌연변이원 활성이 있는 것으로 나타났다. 한편, 다섯 가지 갈변반응 생성물의 변이원성 실험결과는 Table 1과 같이 H17과 M45의 생육저지대의 차이가 양성변이원 물질인 MMC(+++)에 비해 대단히 약했으므로 갈변 물질 그 자체로서의 변이원성은 없는 것으로 판정되었다. 이와 같은 결과는 대부분의 효소적 갈변반응 생성물이 돌연변이원성이 없다고 하는 지금까지의 연구결과와 일치하였다<sup>(9)</sup>.

두 가지 양성변이원 물질에 대한 갈변물질의 항돌연 변이원성 실험결과 Table 2는 MNNG에 대한 다섯 가지 갈변반응 생성물의 돌연변이 억제효과로서 양성대조구인 MNNG(10  $\mu$ g/disc)에 의한 저지대의 차이 23 mm에 대하여 HCa-AEBRP(160  $\mu$ g/disc)의 경우는 약 11 mm로

**Table 1.** Mutagenic effects of apple enzymatic browning reaction products(AEBRP) by the spore *rec*-assay

Test Compound	Dose ( $\mu$ /disc)	Inhibition zone(mm)		Difference	Conclusion <sup>b)</sup>
		H17(Rec <sup>-</sup> )	M45(Rec <sup>-</sup> )		
Catechol AEBRP	75	0	0	0	-
	150	1	1	0	-
	300	5	5	0	-
	450	7	7	0	-
Homocatechol AEBRP	40	2	2	0	-
	80	4	7	3	±
	160	7	9	2	±
	240	9	11	2	±
Hydroxyhydro- quinone AEBRP	80	0	0	0	-
	160	0	1	1	±
	320	2	3	1	±
	480	4	4	0	-
Hydroquinone AEBRP	40	16	16	0	-
	80	19	19	0	-
	120	21	21	0	-
	160	23	23	0	-
Pyrogallol AEBRP	40	0	0	0	-
	80	4	5	1	±
	160	11	12	1	±
	240	15	18	3	±
MMC <sup>a)</sup> control	0.002	3	21	18	+++

a)MMC : Mitomycin C(0.2  $\mu$ g/ $\mu$ )

b)(-) : No inhibition zone, (±) : Length of inhibition zone is less than 5 mm, (+) : 5~10 mm of inhibition zone, (++) : 10~15 mm of inhibition zone, (+++) : 15~20 mm of inhibition zone

**Table 2.** Antimutagenic effects of apple enzymatic browning reaction products(AEBRP) on N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine(MNNG) by spore *rec*-assay

Test Compound	Dose ( $\mu$ /disc)	MMNG(10 $\mu$ /disc)		Difference
		Inhibition zone(mm)		
		H17(Rec <sup>-</sup> )	M45(Rec <sup>-</sup> )	
Catechol	0	0	23	23
AEBRP	10	0	23	23
(100 $\mu$ /10 $\mu$ )	20	1	23	22
	30	2	21	19
	40	3	20	17
Homocatechol	0	0	23	23
AEBRP	10	1	21	20
(4 $\mu$ /10 $\mu$ )	20	10	22	12
	30	11	22	11
	40	11	22	11
Hydroxyhydro- quinone AEBRP	0	0	23	23
(100 $\mu$ /10 $\mu$ )	10	0	23	23
	20	0	23	23
	30	0	22	22
	40	0	23	23
Hydroquinone	0	0	23	23
AEBRP	10	11	22	11
(10 $\mu$ /10 $\mu$ )	20	15	21	6
	30	16	19	3
	40	16	19	3
Pyrogallol	0	0	23	23
AEBRP	10	0	22	22
(40 $\mu$ /10 $\mu$ )	20	3	23	20
	30	7	22	15
	40	8	22	14

억제시켰고 HQ-AEBRP(30  $\mu$ /disc)는 약 3 mm, Ca-AEBRP(400  $\mu$ /disc)는 약 17 mm로 억제시켰으며 HHQ-AEBRP는 거의 억제작용을 나타내지 못하였다. 이와 같은 억제효과는 AEBRP가 MNNG에 의한 고초균 DNA 손상을 억제하는 것으로 판단된다. Table 3은 MMC에 대한 항돌연변이원성 결과로서 HHQ-AEBRP는 MNNG의 억제작용은 없었으나 400  $\mu$ /disc에서 MMC(2 ng/disc)에 의한 생육저지대의 차이 18 mm에 대하여 약 8 mm로 억제시켰고, HQ-AEBRP는 약 40  $\mu$ /disc의 적은 양으로도 1 mm까지 강하게 억제시키는 결과를 나타내었다. 이와 같이 AEBRP는 MMC의 고초균 DNA에 대한 손상을 강하게 억제하는 작용이 있는 것으로 판단된다.

#### Ames test

다섯 가지 갈변물질의 *S. typhimurium* TA98 및 TA 100에서의 돌연변이원성 실험결과는 Table 4와 같고 균 control의 his<sup>+</sup> revertant colony 수와 비교하였을 때 갈변물질의 농도가 매우 높을 때에도 his<sup>-</sup> revertant co-

**Table 3.** Antimutagenic effects of apple enzymatic browning reaction products(AEBRP) on mitomycin C (MMC) by spore *rec*-assay

Test compound	Dose ( $\mu$ /disc)	MMC(2 ng/Disc)		Difference
		Inhibition zone(mm)		
		H17(Rec <sup>+</sup> )	M45(Rec <sup>-</sup> )	
Catechol	0	3	21	18
AEBRP	10	1	20	19
(100 $\mu$ /10 $\mu$ )	20	1	20	19
	30	1	18	17
	40	3	18	15
Homocatechol	0	3	21	18
AEBRP	10	5	21	16
(40 $\mu$ /10 $\mu$ )	20	6	20	14
	30	10	21	11
	40	11	21	10
Hydroxyhydro- quinone AEBRP	0	3	21	18
(100 $\mu$ /10 $\mu$ )	10	0	12	12
	20	0	11	11
	30	0	9	9
	40	0	8	8
Hydroquinone	0	3	21	18
AEBRP	10	12	20	8
(10 $\mu$ /10 $\mu$ )	20	16	20	4
	30	19	20	1
	40	20	21	1
Pyrogallol	0	3	21	18
AEBRP	10	2	19	17
(40 $\mu$ /10 $\mu$ )	20	6	19	13
	30	7	19	12
	40	9	19	10

**Table 4.** Mutagenic effects of apple enzymatic browning reaction products(AEBRP) in *Salmonella typhimurium* TA98 and TA100

Test compound	Dose ( $\mu$ /plate)	TA98	TA100
		Number of his <sup>+</sup> revertant colonies	Number of his <sup>+</sup> revertant colonies
Hydroquinone	50	26	128
AEBRP	100	25	130
(0.1 $\mu$ / $\mu$ )	150	22	125
	200	20	127
Hydroxyhydro- quinone AEBRP	50	21	128
(1 $\mu$ / $\mu$ )	100	22	126
	150	21	130
	200	20	129
Homocatechol	50	23	134
AEBRP	100	20	131
(1 $\mu$ / $\mu$ )	150	19	130
	200	17	132
Catechol	50	23	128
AEBRP	100	20	118
(1.66 $\mu$ / $\mu$ )	150	23	115
	200	24	128
Pyrogallol	50	27	145
AEBRP	100	27	141
(1.66 $\mu$ /10 $\mu$ )	150	23	138
	200	22	140
Test strain control		24	130

**Table 5.** Antimutagenic effects of apple enzymatic browning reaction products(AEBRP) on 3-amino-1,4-dimethyl-5H-prido[4,3-b]-indol(Trp-P-1) in *Salmonella typhimurium* TA98 and TA100 with S-9 mix<sup>a)</sup>

Test compound	Dose (μg/plate)	TA98	TA100
		Number of his <sup>+</sup> revertant colonies	Number of his <sup>+</sup> revertant colonies
Hydroquinone AEBRP (0.1 μg/μ)	50	4008	1246
	100	3981	1188
	150	3998	1098
	200	3818	1028
Hydroxyhydroquinone AEBRP (1 μg/μ)	50	3658	1100
	100	1646	635
	150	434	351
	200	174	234
Homocatechol AEBRP (1 μg/μ)	50	4122	1263
	100	4098	1250
	150	4046	1244
	200	4058	1239
Catechol AEBRP (1.66 μg/μ)	50	4060	1020
	100	3738	1124
	150	3655	1180
	200	3287	1024
Pyrogallol AEBRP (1.66 μg/μ)	50	3742	1020
	100	604	374
	150	161	256
	200	111	168
Trp-P-1 control		4145	1276
Test strain control		13	122

a)Dose of Trp-P-1 : TA98(0.02 μg/plate), TA100(0.1 μg/plate), S-9 mix : 250 μl

lony 수의 뚜렷한 증가는 없었으므로 갈변물질 그 자체로서의 변이원성은 전혀 없는 것으로 나타났다.

한편, Table 5는 Trp-P-1에 대한 항돌연변이원성 실험결과로서 TA98에서는 HHQ-AEBRP와 Py-AEBRP가 200 μl 첨가되었을 때 약 95% 이상의 변이원 억제효과가 있었으며, 그 밖의 갈변물질은 미약한 것으로 나타났다. TA100에서는 HHQ-AEBRP와 Py-AEBRP가 200 μl 첨가시 약 80%의 항돌연변이원성 효과를 나타내었으나 그 밖의 갈변물질은 미약하였다. Table 6은 B(α)P에 대한 항돌연변이원성 실험결과로서 TA98에서는 HHQ-AEBRP와 Py-AEBRP를 각각 200 μl 첨가시 약 80% 이상의 항돌연변이원성 효과를 나타내었으며 나머지 갈변물질은 거의 없거나 미약하였다. TA100에서는 TA98에서와 같이 HHQ-AEBRP와 Py-AEBRP만이 200 μl에서 약 75%의 항돌연변이원성 효과를 나타내었으며 나머지는 거의 없었다. Table 7은 MNNG에 대한 항돌연변이원성 실험 결과로서 TA98에서는 HHQ-AEBRP를 200 μl 첨가했을 때 약 50%, 나머지는 약 62~80%의 항돌연변이원성 효과를 나타내었다. TA100에서는 HHQ-AEBRP를 제외한 모든 갈변물질이 약 94% 이상의 강한 항돌연변이원성 효과를 나타내었다. Table 8은 4NQO에 대한 항돌연변이원성 실험결과로서 TA98에서는 200 μl에서 HCa-AE-

**Table 6.** Antimutagenic effects of apple enzymatic browning reaction products(AEBRP) on benzo(α) pyrene (B(α)P) in *Salmonella typhimurium* TA98 and TA100 with S-9mix<sup>a)</sup>

Test compound	Dose (μg/plate)	TA98	TA100
		Number of his <sup>+</sup> revertant colonies	Number of his <sup>+</sup> revertant colonies
Hydroquinone AEBRP (0.1 μg/μ)	50	234	1019
	100	240	1020
	150	242	1043
	200	243	1017
Hydroxyhydroquinone AEBRP (1 μg/μ)	50	166	890
	100	106	532
	150	86	325
	200	48	264
Homocatechol AEBRP (1 μg/μ)	50	225	1088
	100	218	1032
	150	207	1036
	200	185	1056
Catechol AEBRP (1.66 μg/μ)	50	243	1112
	100	224	1089
	150	220	1090
	200	221	1062
Pyrogallol AEBRP (1.66 μg/μ)	50	161	584
	100	84	321
	150	67	271
	200	38	267
B(α)P control		244	1061
Test strain control		14	127

a)Dose of B(α)P : 20 μg/plate, S-9 mix : 250 μl

**Table 7.** Antimutagenic effects of apple enzymatic browning reaction products(AEBRP) on N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine(MNNG) in *Salmonella typhimurium* TA98 and TA100<sup>a)</sup>

Test compound	Dose (μg/plate)	TA98	TA100
		Number of his <sup>+</sup> revertant colonies	Number of his <sup>+</sup> revertant colonies
Hydroquinone AEBRP (0.1 μg/μ)	50	62	2321
	100	66	237
	150	46	110
	200	42	48
Hydroxyhydroquinone AEBRP (1 μg/μ)	50	75	2115
	100	54	2224
	150	59	2136
	200	55	2592
Homocatechol AEBRP (1 μg/μ)	50	41	(25) <sup>b)</sup> 849
	100	33	(50) 156
	150	27	(75) 106
	200	22	(100) 43
Catechol AEBRP (1.66 μg/μ)	50	59	1456
	100	32	692
	150	24	237
	200	21	112
Pyrogallol AEBRP (1.66 μg/μ)	50	36	664
	100	32	548
	150	37	508
	200	33	181
MNNG control		111	3196
Test strain control		16	110

a)Dose of MNNG : TA98(10 μg/plate), TA100(1 μg/plate)  
b)( ) : μg/plate of homocatechol AEBRP in TA100

**Table 8.** Antimutagenic effects of apple enzymatic browning reaction products(AEBRP) on 4-nitroquinoline-1-oxide(4NQO) in *Salmonella typhimurium* TA98 and TA100<sup>a)</sup>

Test compound	Dose ( $\mu\text{l}/\text{plate}$ )	TA98	TA100
		Number of his <sup>+</sup> revertant colonies	Number of his <sup>+</sup> revertant colonies
Hydroquinone AEBRP (0.1 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ )	50	361	2160
	100	302	1760
	150	278	1584
	200	275	1467
Hydroxyhydroquinone AEBRP (1 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ )	50	314	2596
	100	328	2496
	150	333	2512
	200	310	2517
Homocatechol AEBRP (1 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ )	50	333	2544
	100	305	2208
	150	288	1784
	200	193	1143
Catechol AEBRP (1.66 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ )	50	351	2484
	100	362	2398
	150	284	2212
	200	289	2108
Pyrogallol AEBRP (1.66 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ )	50	389	2152
	100	380	2108
	150	389	2104
	200	395	2082
4NQO control		370	2724
Test strain control		19	204

a) Dose of 4NQO : 0.4  $\mu\text{g}/\text{plate}$

BRP가 48% 정도의 항돌연변이원성 효과가 있었으며 나머지는 거의 없거나 약 16%~26%로 미약하였다. TA 100에서는 200  $\mu\text{l}$ 에서 HCa-AEBRP와 HQ-AEBRP가 약 46%~58%의 억제효과를 나타내었으며 나머지는 약 7%~23%로 미약하였다.

이상의 결과에서 효소갈변반응시 기질의 종류에 의해 생성되는 반응생성물의 종류에 따라 변이원 물질의 억제작용이 다르며, 변이원의 종류에 따라서도 갈변반응 생성물의 억제효과에 차이가 있음을 나타내고 있다. 이와 같은 갈변반응 생성물에 의한 변이원 물질의 억제기작에 대해서는 아직 밝혀져 있지 않다.

## 요 약

사과로부터 추출한 산화효소와 5종의 polyphenol 화합물을 반응시켜 얻어진 사과효소 갈변반응 생성물(AE-BRP)들의 항돌연변이 효과를 검토하기 위해 발암물질로 알려져 있는 N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine (MNNG), mitomycin C(MMC), 4-nitroquinoline-1-oxide(4NQO), benzo( $\alpha$ )pyrene(B( $\alpha$ )P) 그리고 3-

amino-1,4-dimethyl-5H-pyrido(4,3-b)indole(Trp-P-1)에 대한 다섯 종류의 사과효소 갈변반응 생성물들의 돌연변이 억제효과를 검토하였다. *Bacillus subtilis* H17과 M 45 두 균주를 이용하는 spore *rec*-assay에서 homocatechol-AEBRP와 hydroquinone-AEBRP는 농도증가에 따라 MMC와 MNNG에 대하여 강한 억제효과를 나타내었으며 *Salmonella typhimurium* TA98과 TA100 두 균주를 이용한 Antimutagenicity test에서는 hydroxyhydroquinone-AEBRP와 pyrogallol-AEBRP는 S-9 mix 첨가시 두 균주에서 Trp-P-1과 B( $\alpha$ )P에 대하여 강한 억제효과를 나타내었다. 그리고 대부분의 AEBRP들은 MNNG로 유도된 TA98주에서 50%~80%의 억제효과를 나타내었으나 hydroxy-hydroquinone-AEBRP를 제외한 네 종류의 AEBRP들은 TA100 균주에서 약 94%의 억제효과를 나타내었다. 한편, 4NQO에 대한 다섯 종류의 AEBRP들의 돌연변이 억제효과는 일반적으로 약한 편이었으며, 특히 homocatechol-AEBRP는 TA98 균주에서 48%의 억제효과를 보였고 TA100 균주에서는 homocatechol-AEBRP와 hydroquinone-AEBRP가 46%에서 58% 정도의 억제효과를 나타내었다.

## 문 헌

1. Aeschbacher, H.V. and Wurzner, H.P. : An evaluation of constant and regular coffee in the Ames mutagenicity test. *Toxicology Letter*, **5**, 139(1980)
2. McCann, J, Choi, E., Yamasaki, E. and Ames, B.N. : Dection of carcinogens as mutagens in the *Salmonella*/microsome test : Assay of 300 chemicals. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, **72**(12), 5135(1975)
3. 長尾美奈子 : 日常食品中の 抗突然變異原物質. 變異原と毒性, **4**(4), 20(1981)
4. Doll, R. and Peto, R. : The causes of cancer : Quantitative estimates of the avoidable risks of cancer in the united states today. *J. Natl. Cancer Inst.*, **66**, 1191 (1981)
5. 村上浩紀 : レタクトン類 による 細胞内 DNA 鎖の切断に関する研究. 日本 農業化學會誌, **57**(1), 55(1983)
6. Kada, T., Kaneko, K., Matsuzaki, T. and Hara, Y. : Detection and chemical identification of natural bio-antimutagens : A case of the green tea factor. *Mutation Res.*, **150**, 127(1985)
7. Oguni I., Tomita, I. and Nakamura, Y. : Some evidence that green tea may play a role in the prevention of tumor developments. *Taiwan Tea Symp.*, **28**(1988)
8. Kim, S.B. : Maillard 反應生成物の 化學的 解釋과 生物作用. *Food Sci.*, **19**, 3(1986)
9. Ham S.S. : 재래종 황색자두 효소갈변반응 생성물의

- 돌연변이 억제작용. 한국 농화학회지, 30(1), 71(1987)
10. 大村浩久, 尊田民喜: 食品の變色 とスペクトルとの關係 (II). 栄養と食糧, 22, 497(1969)
  11. Kada, T., Tutikawa, K. and Sadaie, Y.: *In vitro* and host-mediated "rec-assay" procedures for screening chemical mutagens; and phloxine, a mutagenic red dye detected. *Mutation Res.*, 16, 165(1972)
  12. Ohta, T., Nakamura, N., Moriya, M., Shirasu, Y. and Kada, T.: The SOS function-inducing activity of chemical mutagens in *Escherichia coli*. *Mutation Res.*, 131, 101(1984)
  13. Matsushima, T., Sugimura, T., Nagao M., Yahagi T., Shirai, A. and Sawamura, M.: Factors modulation mutagenicity in microbial test, In *Short-term Test Systems for Detecting Carcinogens*, Norpoth, K.H. and Garner, R. C (ed.), Springer, Berlin, p.273(1980)
  14. Yahagi, T., Nagao, M., Seino, Y., Matsushima, T., Sugimura, T. and Okada, M.: Mutagenicities of N-nitrosamines on *Salmonella*, *Mutation Res.*, 48, 121(1977)
  15. Yahagi, T., Degawa, M., Seino, Y., Matsushima, T., Nagao, M., Sugimura, T. and Hashimoto, Y.: Mutagenicity of carcinogenic azo dyes and their derivatives, *Cancer lett.*, 1, 91(1975)
- 
- (1990년 5월 10일 접수)