

양송이 유래 Polyphenoloxidase에 의한 Polyphenol 화합물의 효소적 갈변생성물의 돌연변이 억제효과

오흥석 · 함승시*

강원도보건환경연구원, *강원대학교 식품공학과

Antimutagenic Effects of Enzymatic Browning Reaction Products of polyphenol Compounds by polyphenoloxidase derived from Mushroom(*Agaricus bisporus*)

Heung-Seok Oh and Seung-Si Ham

Institute of Health and Environment Kangweon-Do,

*Department of Food Science and Technology, Kangweon National University

Abstract

The antimutagenic effects of enzymatic browning reaction products (MEBRPs) of polyphenol compounds (catechol, homocatechol, hydroxyhydroquinone, pyrogallol) by enzyme extracted from mushroom (*Agaricus bisporus*) were demonstrated through spore rec-assay using *B. subtilis* H17(rec⁻) and M45 (rec⁻), Ames test using *S. typhimurium* TA98 and TA100 and SOS chromotest using *E. coli* PQ37/plasmid pKM101. In spore rec-assay, the MEBRPs showed antimutagenic effects by decreasing of the inhibition zone induced by MNNG. In Ames test with S-9mix in both TA98 and TA100, all of MEBRPs showed strong antimutagenic effects of about 21 to 99% against mutation by B(α)P and Trp-P-1, as adding 300 μ l of the MEBRPs. In SOS chromotest, MEBRPs showed antimutagenic effects by inhibiting the SOS-inducing function induced by 4NQO and MMC, as increasing in concentration of the MEBRPs. But they did not showed mutagenicity in these bacterial assays.

Key words: antimutagenic, mushroom enzymatic browning, spore rec-assay, Ames test, SOS chromotest

서 론

근래에 들어 각종 화학물질의 이용도가 비약적으로 증대되고 있으며 그 중에는 DNA에 손상을 입히므로서 돌연변이를 일으켜 암을 유발하는 물질도 함유되고 있어서 문제가 제기되고 있다⁽¹⁾. 돌연변이원성과 발암성과는 높은 상관관계가 있으므로⁽²⁾ 발암물질을 찾아내기 위한 예비적 시험으로 돌연변이원성시험이 세계적으로 주목받아 왔으며 최근에는 이 시험법을 항암성분의 검색방법의 하나로서 이용하고 있다.村上⁽³⁾은 식물성분으로서 식물조직 중에 단독 혹은 배당체로 널리 존재하는 polyphenol 화합물이 종양 억제작용이 있다고 하였으며 각종 polyphenol 화합물에 의한 DNA 절단 기작을 밝힌 바 있다. 또한 Kada 등⁽⁴⁾은 차엽의 polyphenol 성분 중 catechin류가 항돌연변이원성 또는 종양의 발생을 억제시킨다고 하였다. 최근 함 등^(5,6)은 과실, 야채류의 효소적

갈변반응물질들이 돌연변이원에 대하여 억제활성이 있는 것으로 보고하는 등 일상적으로 섭취되는 식품중 항돌연변이원성이 있는 것들이 속속 밝혀지고 있다. 본 연구에서는 버섯류 중에서 갈변이 쉽게 일어나는 양송이를 시료로 하여 양송이로부터 polyphenol oxidase를 추출하고 이 효소와 네 종류의 polyphenol 화합물과 반응시켜 갈변물질을 얻고 이들에 대한 Ames test, spore rec-assay와 SOS chromotest 등의 bacterial short-term test를 실시하여 돌연변이원성 여부와 N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine(MNNG), benzo(α)pyrene(B(α)P), 3-amino-1,4-dimethyl-5H-pyrido[4,3-b]indol(Trp-P-1), mitomycin C(MMC), 4-nitroquinoline-1-oxide(4NQO) 등의 발암물질에 대한 돌연변이 억제활성에 대하여 검토하였다.

재료 및 방법

시료 및 시약

양송이(mushroom : *Agaricus bisporus*)는 백색종으로서 시장에서 구입하여 1~4°C의 냉장고에 저장하면서

Corresponding author: Heung-Seok Oh, Institute of Health and Environment Kangweon-Do, 17-3, Hyoja-dong, Chuncheon, Kangweon-do 200-093, Korea

실험에 사용하였다. 갈변물질의 조제를 위한 기질은 catechol(Ca), homocatechol(HCa), hydroxyhydroquinone(HHQ), pyrogallol(Py)이며, 돌연변이원물질은 N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine(MNNG), benzo(α)pyrene(B(α)P), 1,4-dimethyl-5H-pyrido[4,3-b]indole(Trp-P-1), mitomycin C(MMC), 4-nitroquinoline-1-oxide(4NQO)를 이용하였다.

시험균주

Spore rec-assay에서는 *Bacillus subtilis*의 wild type인 H17(rec⁺)과 recombinationless mutant type인 M45(rec⁻)를, Ames test에서는 *Salmonella typhimurium*의 frameshift type 변이주인 TA98과 base substitution type 변이주 TA100을 사용하였고, SOS chromotest에서는 *Escherichia coli* PQ37/plasmid pKM101을 사용하였으며 모든 균주는 일본 구주대학 식량화학고실 및 일본국립 위생연구소로부터 분양받아 실험에 사용하였다.

갈변반응생성물의 조제

효소표품과 효소액의 조제는 大村 등의 방법⁽⁷⁾에 따라서 조제하였으며 기질용액은 50 mM, 반응은 기질용액 100 ml/당 효소용액 5 ml의 비율로 혼합한 후 pH 6.1, 30 °C에서 4일간 충분히 진탕하면서 반응시켜 양송이효소 갈변반응생성물(Mushroom enzymatic browning reaction product: MEBRPs)를 얻은 후 투석막에 넣고 흐르는 물에 48시간 투석하여 미반응 물질들을 제거한 후 gum arabic로 약 50% 탈수농축시킨 다음 0.45 μ m millipore filter로 여과하여 여액을 시료로 사용하였다.

Spore rec-assay

Spore rec-assay의 모든 절차는 Kada 등의 방법⁽⁸⁾에 따랐으며 돌연변이원물질로는 MNNG(μ g/ μ l) 이용하였다. *B. subtilis* H17 및 M45의 포자 한천 plate상의 4개의 paper disc(직경 8 mm, 두께 1.2 mm)에 돌연변이원 실험에서는 시료와 MNNG를 각각 10~50 μ l씩 농도를 증가시켜 순서대로 주입하였으며 항돌연변이원 실험에서는 갈변물질과 MNNG(μ g/ μ l) 10 μ l를 혼합하여 37°C, 30 분간 반응시킨 후 미리 조제해 둔 포자 한천 plate상의 paper disc에 차례로 주입한 다음 4°C에서 8시간, 37°C에서 16시간 배양시켜 paper disc 주변에 생성된 생육 저지대의 직경을 측정하여 항돌연변이원성 유무를 조사하였다. 또한 금속이온의 영향을 조사하기 위하여 Al³⁺, Cu²⁺, Fe²⁺, Mn²⁺, Ni²⁺, Pb²⁺, Zn²⁺을 2.5 mM 용액으로 조제하여 시료용액 50 μ l와 금속이온 용액 10 μ l를 같은 방법으로 주입하여 배양한 후 관찰하였다.

Ames test

S-9 mix는 Matsushima 등의 방법⁽⁹⁾에 따라 Sprague-Dawley Rat를 이용하여 조제하였으며, 갈변물질들은 각각 50, 100, 200, 300 μ g씩 가하였으며, 항돌연변이 원성

시험에서는 Trp-P-1(2 μ g/plate)과 B[α]P(20 μ g/plate)를 돌연변이원물질로 10 μ l씩 첨가한 후 *S. typhimurium*의 변이주인 TA98과 TA100을 이용한 preincubation법⁽¹⁰⁾을 적용시켰다. 또한 갈변물질의 균에 대한 cytotoxicity의 여부를 알아보기 위하여 B-2 agar plate를 이용하여 생존균수를 측정하였다.

SOS chromotest

시험균주(*E. coli* PQ37/plasmid pKM101)는 Ames 등의 방법⁽¹¹⁾으로 정상균주임을 확인하였으며, SOS·chromotest에 대한 모든 절차는 Quillardet⁽¹²⁾ 및 기존의 방법⁽¹³⁾에 따랐으며, 돌연변이원 실험에서 돌연변이원 물질의 induction factor가 가장 높고 돌연변이원 물질의 독성으로 인한 균의 growth inhibition에도 영향이 없는 농도인 4NQO(20 ng), MMC(40 ng)에서 항돌연변이원 실험을 행하였다. 96-well plate를 이용하여 Behring ELISA process 2로 O.D.₄₀₅값을 측정하여 비색정량하였으며 enzyme unit 및 IF 값은 Miller⁽¹⁴⁾의 공식에 따라 구하였다.

결과 및 고찰

Spore rec-assay

4가지 갈변물질을 첨가하여 *B. subtilis* H17과 M45, 두 균주를 배양한 후 생육저지대의 차이를 관찰한 결과 돌연변이원물질인 MNNG(10 μ g/disc)는 두 균주에서 생육저지대의 차이가 20 mm로 나타나는데 비하여, 갈변물질의 경우 그 종류, 첨가량에 관계없이 생육저지대가 나타나지 않아 4가지 시료 모두 자체로서는 돌연변이원성이 없는 것으로 판단된다.

금속이온의 영향을 알아보기 위하여 시료와 7종의 금속이온을 혼합하여 Spore rec-assay를 실시한 결과 시료에 따라서는 금속이온에 의한 영향으로 세포내의 DNA에 손상을 촉진시키는 경우가 있다는 보고⁽⁶⁾가 있었으나, 본 실험에서는 Zn²⁺이 공존할 경우 HHQ-MEBRP와 Py-MEBRP가 두 균주에서 생육저지대의 차이가 2 mm 정도로 나타났을 뿐 그 밖의 시료들은 전혀 영향이 없었다.

돌연변이원물질인 MNNG(10 μ g/disc)에 대한 4가지 갈변물질들의 항돌연변이원성을 실험한 결과는 Table 1과 같다. 4가지 갈변물질들의 MNNG에 대한 억제활성은 *B. subtilis* M45(rec⁻)의 생육저지대가 MNNG만을 첨가하였을 경우 45 mm인 것을 여기에 시료들을 첨가함에 따라서 30~38 mm로 감소되므로서 결국 두 균주에서 inhibition zone의 차이가 시료에 따라 7~14 mm로 나타나는 것으로 알 수 있었다. 백 등⁽¹⁵⁾은 사과효소(AEBRP) 갈변물질들에 대한 spore rec-assay 결과 MNNG에 대하여 HHQ-AEBRP는 억제활성이 거의 없다고 하였으나, 본 실험에서는 HHQ-MEBRP가 가장 강한 항돌연변이원성을 나타냈다.

Table 1. Antimutagenic effects of mushroom enzymatic browning reaction products(MEBRPs) on MNNG by the spore rec-assay

Test Compound	MNNG (10 µg/Disc)			
	Dose (µl/disc)	Inhibition zone(MM)		Difference
		H17(rec ⁺)	M45(rec ⁻)	
Catechol MEBRP (0.92 µg/µl)	10	25	35	10
	20	25	35	10
	30	25	34	9
	50	25	34	9
Homocatechol MEBRP (0.80 µg/µl)	10	24	38	14
	20	23	35	12
	30	24	36	12
	50	23	35	12
Hydroxyhydroquinone MEBRP(1.22 µg/µl)	10	24	32	8
	20	24	32	8
	30	23	30	7
	50	23	30	7
Pyrogallol MEBRP (0.76 µg/µl)	10	24	38	14
	20	23	37	14
	30	23	36	13
	50	23	35	12
MNNG control	10	25	45	20

Ames test

4가지 갈변물질 50~300 µl와 항돌연변이원성 실험에 이용된 돌연변이원물질인 B(α)P 20 µg, Trp-P-1 2 µg에 대한 *S. typhimurium* TA98 및 TA100의 치사독성을 실험한 결과 균 control에서 나타난 생존균수, 즉 TA98의 8.80×10^8 및 TA100의 9.50×10^8 과 비교하여 볼 때 10% 이내의 증감에 그쳤으며, 최종적으로 colony수를 측정할 때 plate를 50배로 관찰하면 균 control과 같이 background colony가 무수히 많은 것이 확인되었으므로 갈변물질들과 돌연변이원물질들이 실험농도에서는 시험균주에 대하여 cytotoxicity가 없는 것으로 사료된다⁽¹⁶⁾.

4가지 갈변물질에 대한 *S. typhimurium* TA98 및 TA100에서의 돌연변이원성을 실험한 결과 균 control의 his⁺ revertant colony수와 비교하였을 때 갈변물질의 농도와 관계없이 spontaneous revertant colony 수준으로 일정한 수치를 나타내 갈변물질 그 자체로서는 돌연변이원성이 없는 것으로 판단된다. Spore rec-assay에서와 마찬가지로 효소적 갈변물질들이 Ames test에서도 돌연변이원성이 없다는 지금까지의 보고^(5,6)와 일치하였다.

Fig. 1은 *S. typhimurium* TA98 및 TA100에서 4가지 갈변물질을 각각 plate당 300 µl 첨가시 B(α)P에 대한 항돌연변이원성을 실험한 결과를 나타낸 것이다. Ca-MEBRP와 HCa-MEBRP는 두 균주 모두에서 90% 이상의 강한 억제활성을 나타냈으며, Py-MEBRP의 경우는 다른 시료에 비하여 다소 약한 66%와 58%의 억제활성을 나타냈다. 이는 재래종 황색자두 및 적색자두, 곰취, 나물취, 참취와 같은 산채류의 효소갈변물질들이 B(α)P에 대하여 2 mg 첨가시 42~91%의 억제활성이 있다고 한

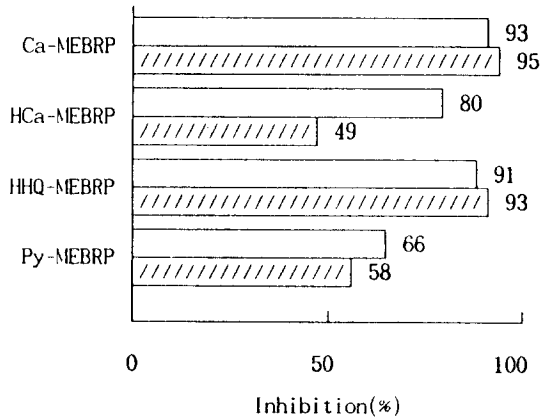


Fig. 1. Antimutagenic effects of the mushroom enzymatic browning reaction products on B(a)P in *Salmonella typhimurium* TA98 and TA100 with S-9mix.

The addition level of the MEBRPs were 300 µl per plate
□; TA98, ▨; TA100

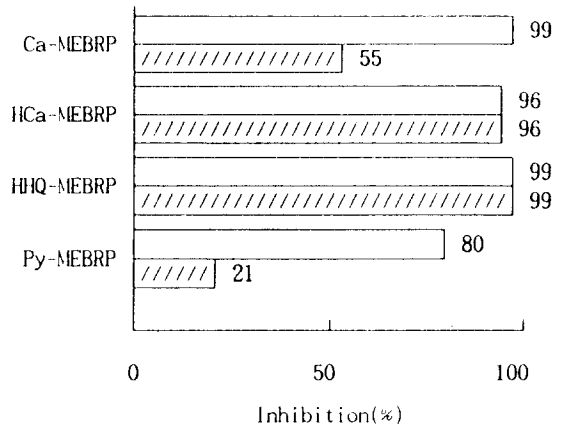


Fig. 2. Antimutagenic effects of the mushroom enzymatic browning reaction products on Trp-P-1 in *Salmonella typhimurium* TA98 and TA100 with S-9mix.

The addition level of the MEBRPs were 300 µl per plate
□; TA98, ▨; TA100

함 등^(5,6)의 연구결과와 대체적으로 일치하였다.

Fig. 2는 *S. typhimurium* TA98 및 TA100에서 4가지 갈변물질들의 Trp-P-1에 대한 항돌연변이원성을 실험한 결과를 나타낸 것으로서 HCa-MEBRP와 HHQ-MEBRP는 300 µl 첨가시 두 균주 모두에서 각각 96%와 99%의 강한 억제활성을 나타냈으며 Ca-MEBRP는 TA98에서 99%, TA100에서는 55%, Py-MEBRP는 TA98에서 80%, TA100에서 21%의 억제활성을 나타내어 시료들 모두 TA98에서 강한 억제활성을 나타내므로서 Trp-P-1의 frame shift type의 mutation에 대하여 특히 효과가 있는 것으로

Table 2. Inhibitory effects of mushroom enzymatic browning reaction products(MEBRPs) on the induction of SOS function by 4NQO(20 ng/assay)

Sample	Dose ($\mu\text{g}/\text{assay}$)	β -galactosidase		Alkaline phosphatase		Ratio	Induction factor
		O.D 405	Unit	O.D 405	Unit		
4NQO control		0.962	32.067	0.260	8.125	3.947	7.296
Catechol MEBRP	1.2	0.954	31.800	0.258	8.063	3.944	7.290
	2.3	0.869	28.967	0.258	8.063	3.593	6.641
	4.6	0.797	26.567	0.259	8.094	3.282	6.067
	9.2	0.703	23.433	0.266	8.313	2.819	5.211
Homocatechol MEBRP	1.0	0.905	30.167	0.266	8.313	3.629	6.708
	2.0	0.836	27.867	0.263	8.219	3.391	6.268
	4.0	0.713	23.767	0.260	8.125	2.925	5.407
	8.0	0.588	19.600	0.258	8.063	2.431	4.494
Hydroxy hydroquinone MEBRP	1.6	0.936	31.200	0.265	8.281	3.768	6.965
	3.1	0.883	29.433	0.263	8.219	3.581	6.619
	6.1	0.850	28.333	0.263	8.219	3.447	6.372
	12.2	0.811	27.033	0.265	8.281	3.264	6.033
Pyrogallol MEBRP	1.0	0.905	30.167	0.267	8.344	3.615	6.682
	1.9	0.842	28.033	0.260	8.125	3.450	6.377
	3.8	0.772	25.733	0.262	8.188	3.143	5.810
	7.6	0.660	22.000	0.258	8.063	2.729	5.044
Negative control		0.134	4.467	0.264	8.250	0.541	1.000

Table 3. Inhibitory effects of mushroom enzymatic browning reaction products(MEBRPs) on the induction of SOS function by MMC(40 ng/assay)

Sample	Dose ($\mu\text{g}/\text{assay}$)	β -galactosidase		Alkaline phosphatase		Ratio	Induction factor
		O.D 405	Unit	O.D 405	Unit		
MMC control		0.865	28.833	0.265	8.281	3.482	6.436
Catechol MEBRP	1.2	0.824	27.467	0.262	8.188	3.355	6.201
	2.3	0.790	26.333	0.269	8.406	3.133	5.791
	4.6	0.713	23.767	0.272	8.500	2.796	5.168
	9.2	0.602	20.067	0.267	8.344	2.405	4.445
Homocatechol MEBRP	1.0	0.815	27.167	0.261	8.156	3.331	6.157
	2.0	0.736	24.533	0.262	8.188	2.996	5.538
	4.0	0.566	18.867	0.263	8.219	2.296	4.244
	8.0	0.408	13.600	0.259	8.094	1.680	3.105
Hydroxy hydroquinone MEBRP	1.5	0.850	28.333	0.270	8.438	3.356	6.203
	3.1	0.831	27.700	0.263	8.344	3.320	6.137
	6.2	0.798	26.600	0.263	8.344	3.188	5.893
	12.4	0.752	25.067	0.263	8.219	3.050	5.638
Pyrogallol MEBRP	1.0	0.811	27.033	0.264	8.250	3.277	6.057
	1.9	0.665	21.167	0.264	8.250	2.566	4.643
	3.8	0.425	14.167	0.261	8.156	1.737	3.211
	7.6	0.289	9.633	0.260	8.125	1.186	2.192
Negative control		0.136	4.533	0.268	8.375	0.541	1.000

보여지며 HCa-MEBRP와 HHQ-MEBRP는 TA100에서도 억제효과가 크게 나타나 base pair substitution mutation에 대하여서도 효과가 있는 것으로 판단된다. 합 등은 취나물류의 효소적 갈변반응생성물 중 Py-EBRP와 Ca-EBRP의 경우 1 mg 첨가시 Trp-P-1에 대하여 TA98과 TA100 두 균주 모두에서 90% 이상의 억제활성을 나타

낸다고 하였고⁽⁶⁾, 사과효소 갈변반응생성물의 경우 200 μg 첨가시 HHQ-AEBRP와 PY-AEBRP는 TA98에서는 95% 이상, TA100에서는 81% 이상의 억제활성을 나타냈으며 HCa-AEBRP는 두 균주 모두에서 2~3%의 미약한 억제활성만 나타낸다고 하여⁽¹⁰⁾, 동일한 기질을 기원으로 하여 조제된 갈변물질이라도 이용된 효소의 출

처에 따라 서로 다른 항돌연변이원성을 나타냈다.

SOS chromotest

사용한 시험균주(*E. coli* PQ37/plasmid pkM101)에 대한 *rfa* mutation, *uvrA* mutation, PHO^c, *sfiA::lacZ* gene의 성질을 검사한 결과 *rfa* mutation test에서 nutrient agar plate상의 disc 주변에 clear inhibition zone이 15 mm 정도 생성되는 것이 확인되었으며, *uvrA* mutation test에서도 UV에 대한 sensitivity가 확인되었다. 또한 PHO^c에 대한 실험에서도 PNPP에 대하여 La medium plate상의 colony가 황색을 나타냈으며, *sfiA::lacZ* fusion에 관한 실험결과 청색의 induction zone이 형성되어 시험균주가 정상인이 확인되었다.

4가지 갈변물질 자체만의 돌연변이원성을 실험하기 위하여 SOS spot test 및 SOS chromotest를 실시한 결과 시료 모두 induction zone을 전혀 형성하지 않아 돌연변이원성은 없는 것으로 나타났다.

돌연변이원물질인 4NQO와 MMC는 2 ng와 40 ng의 농도에서 IF가 7.572와 6.424로 가장 높게 나타났으며, 이에 따라 항돌연변이원성실험은 그와 같은 농도에서 실시하였다.

Table 2는 4NQO에 대한 4가지 갈변물질들의 돌연변이 억제활성을 실험한 결과로서 돌연변이원물질인 4NQO의 IF값이 7.296인 것을 갈변물질들을 첨가하였을 때 모두 감소되었으므로 항돌연변이원성이 있는 것으로 나타났다. MMC에 대한 억제활성을 실험한 결과도 Table 3에서 보는 바와 같이 4가지 갈변물질 모두 MMC에 의한 IF값, 6.436을 감소시키는 효과를 보임으로서, 사과효소 갈변반응생성물들이 SOS chromotest에서도 돌연변이원에 대하여 억제활성이 있다고 한 백 등⁽¹⁷⁾의 보고와 일치하였다. 또한 Potenberg 등⁽¹⁸⁾은 어떤 시료는 농도에 따라서는 SOS inducing function의 상승 및 억제작용을 나타내는 경우가 있다고 하였으나 본 실험에서는 상승작용은 관찰되지 않았다.

그런데 Ames test에서는 Py-MEBRP가 B(α)P나 Trp-P-1에 대해서 다른 시료들 보다 낮은 억제활성을 보인 것과는 달리 SOS chromotest에서는 MMC에 대하여 가장 강한 억제활성을 나타내는 등 시험방법 또는 이용된 돌연변이원물질에 따라 차이가 나타나기도 하였으나, 3가지 시험방법 모두에서 양송이 효소 갈변반응생성물들은 항돌연변이원성이 있는 것으로 나타났다.

요 약

양송이(mushroom; *Agaricus bisporus*)로부터 polyphenol oxidase를 추출하여 4종류의 polyphenol 화합물과 반응시켜 양송이 효소 갈변반응생성물을 얻고, 이들 갈변물질들에 대하여 *B. subtilis* H17(rec⁻)과 M45(rec⁻)를 이용한 spore rec-assay, *S. typhimurium* TA98과 TA100을 이용한 Ames test 그리고 *E. coli* PQ37을

이용한 SOS chromotest를 실시하여 돌연변이원성 및 항돌연변이원성을 검토하였다. Spore rec-assay에서는 4가지 갈변물질 모두 *B. subtilis* H17(rec⁻)과 M45(rec⁻) 두 균주에 대하여 생육저지대의 차이가 없었으므로 갈변물질 자체로서는 돌연변이원성이 없는 것으로 나타났으며, MNNG에 대한 항돌연변이원성 실험에서는 시료 모두 돌연변이에 대하여 억제활성을 나타내었으며 그중 HHQ-MEBRP는 가장 강한 억제활성을 나타내었다. Ames test에서는 4가지 시료 모두 돌연변이원성은 인정되지 않았으며, 항돌연변이원성 실험에서는 시료 300 μl 첨가시 B(α)P(20 μg)에 대하여 *S. typhimurium* TA98 및 TA100 두 균주에서 Ca-MEBRP와 HHQ-MEBRP는 91~95%, HCa-MEBRP와 Py-MEBRP는 50~80%의 억제활성을 나타내었다. Trp-P-1(2 μg)에 대해서도 4가지 시료 모두 억제활성을 나타내었으며, HHQ-MEBRP는 TA98과 TA100 두 균주 모두에서 99%, HCa-MEBRP도 96%의 강한 억제활성을 나타내었다. SOS chromotest에서도 spore rec-assay와 Ames test에서와 같이 시료 자체의 돌연변이원성은 없는 것으로 나타났으며 4NQO와 MMC와 같은 돌연변이원물질에 의한 SOS-inducing function에 대하여 억제효과가 있었으므로 항돌연변이원성이 있음이 확인되었다.

문 헌

- 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. Natl. Acad. Sci. (U.S.A.)*, 72, 5135(1975)
- 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(1973)
- 村上浩紀: レダクトン類による細胞内DNA鎖の切断に關する研究. *日本藥學會誌*, 57, 55(1983)
- Kada, T., Kaneko, K., Matsuzaki, T. and Hara, Y.: Detection and chemical identification of natural bio-anti-mutagens: A case of the green tea factor. *Mutation Res.*, 50, 243(1985)
- 함승시: 재래종 황색자두 효소갈변 반응생성물의 돌연변이억제작용. *한국농화학회지*, 31, 38(1987)
- 함승시, 김성환, 김영명: 효소적 갈변반응 생성물의 돌연변이 억제효과 및 유전자 수복에 관한 연구. *식품과학회지*, 22, 632(1990)
- 大村浩久, 樽田民喜: 食品の變色よスバクトルよの關係(2), *營養よ食糧*, 22, 497(1969)
- Kada, T., Tutikawa, K. and Sadaie, Y.: *In vitro* and hostmediated "rec-assay" procedure for screening chemical mutagens and phloxine, a mutagenic red dye detected. *Mutation Res.*, 16, 165(1972)
- Matsushima, T., Sawamura, M., Hara, K. and Sugimura, T.: *In vitro* metabolic activation in mutagenesis testing, de Serres, F.J., Fouts, J.R., Bend, J.R. and Philpot, R.M.(Eds.). Elsevier, N. Holland, Amster-

- dam, p.85(1987)
10. Matsushima, T., Sugimura, T., Nagao, M., Yahagi, T., Sawamura, M. and Shirai: *Factors modulating mutagenicity in microbial test, short-term test system for detecting carcinogens*. Norpoth, K.H. and Garner, R.C.(Eds.), Springer, Berling, p.273(1980)
 11. 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.*, **70**, 782(1973)
 12. Quillardet, P. and Hofnung, M.: The SOS chromotest, a colorimetric bacterial assay for genotoxins, *Procedures. Mutation Res.*, **147**, 65(1985)
 13. Ohta, T., Nakamura, N., Moriya, M., Shirasu, Y. and Kada, T.: The SOS-function inducing activity of chemical mutagens in *Escherichia coli*. *Mutation Res.*, **173**, 19(1986)
 14. Miller, J.: *Experiments in Molecular Genetics*, Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, N.Y.(1972)
 15. 백창원, 함승시 : 사과 Polyphenol Oxidase에 의한 효소갈변반응 생성물의 항돌연변이효과. *식품과학회지*, **22**, 625(1990)
 16. Yoshimichi Sakai, Hisamitsu Nagase, Youki Ose, Takahiko Sato, Makoto Kaway and Mizuo Mizumo: Effects of medicinal plant extracts from chinese herbal medicines on the mutagenic activity of benzo(α)pyrene. *Mutation Res.*, **206**, 327(1988)
 17. 백창원, 함승시 : SOS chromotest를 이용한 사과효소갈변반응생성물의 항돌연변이효과. **22**, 618(1990)
 18. Potenberg, J., Hude, W.V., Basler, M. and Kahl, R.: Enhancement and inhibition of benzo(α)pyrene induced SOS function in *E. coli* by synthetic antioxidants. *Mutation Res.*, **207**, 7(1988)
-
- (1992년 3월 9일 접수)