

감마선 조사된 녹즙의 *In vitro* 유전독성학적 안전성 평가

이현자 · 강근옥 · 육홍선*†

국립한경대학교 가정학과

*한국원자력연구소 방사선 식품·생명공학기술개발팀

In vitro Genotoxicological Safety of Fresh Vegetable-Extract Juice by Gamma Irradiation

Hyun-Ja Lee, Kun-Ok Kang and Hong-Sun Yook*†

Dept. of Home Economics, Hankyong National University, Anseong 450-749, Korea

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

Abstract

Genotoxicological safety on 10 kGy-gamma irradiated vegetable juices such as *Oenanthe stolonifera* DC., *Daucus carota* L., *Brassica oleracea* var. *acephala* and *Angelica keiskei* was determined by the *Salmonella typhimurium* reversion assay, the SOS Chromotest using in *Escherichia coli* PQ37 and chromosome aberration test in cultured Chinese hamster lung (CHL) fibroblast cells. Vegetable juices exposed to 10 kGy-gamma ray revealed negative results in these three *in vitro* mutagenetic tests.

Key words: gamma irradiation, *Salmonella typhimurium*, SOS Chromotest, chromosome aberration

서 론

녹즙은 과일이나 채소류를 비가열 천연으로 착즙하여 가공한 식품이며 소비가 늘어나고 있으나 짧은 유통기간 때문에 대량생산에 많은 제한을 받고 있다. 녹즙은 대표적인 비가열 식품으로 열처리는 불가능하며 이를 보완하기 위하여 현재 전기장, 자기장, 초단파, 초고압(1,2) 및 오존 등의 이용이 검토되고 있으나 효과적인 위생화방법은 지금까지 거의 없는 실정이다.

한편, 식품의 새로운 위생화 방법인 감마선 조사법은 비가열 식품살균방법의 하나로 강력한 투과력에 의해 제품의 어떠한 완포장 형태라도 연속처리가 가능하여 살균처리 후 이차오염의 가능성이 없다. 또한 제품의 품질을 상습시키지 않는 냉온 살균법으로 성분의 파괴를 최소화하고 가열처리가 불가능한 제품의 살균 및 화학혼중제 처리와는 달리 유해성분의 잔류 및 독성이 없으며, 오염유기체의 살균, 살충이 확실하여 살균공정관리가 편리하고 정확하다는 것 등 많은 장점이 있다(3,4). 또한, 방사선을 조사한 식품의 안전성은 이미 세계보건기구(WHO), 국제식량농업기구(FAO), 미국식품의약품국(FDA) 등의 국제 기관과 국제학술단체에서 공인된 바 있으며 이를 기초로 그 적용범위도 급격히 확산되고 있는 추세이다(5-9).

따라서 녹즙의 위생화에 방사선 조사기술을 적용할 경우 상당한 효과가 기대되며, 이미 녹즙의 위생화를 위해 3~5 kGy의 감마선을 조사했을 경우 4°C에서 12일까지 생균수를 10⁵ cfu/mL 이하로 유지시킬 수 있었고 녹즙의 total ascorbic acid와 탄닌의 함량이 증가되었으며, chlorophyll, carotenoid의 함량 및 전자공여능, peroxidase의 활성은 감마선 조사에 의해 영향을 받지 않았다(10)는 긍정적 효과가 보고된 바 있으나 아직까지 안전성 평가에 대한 결과는 제시되지 못하고 있다.

이에 본 실험에서는 방사선 조사기술을 녹즙에 과량의 선량인 10 kGy로 적용시켰을 때 *in vitro*에서 유전독성학적 안전성 평가의 일환으로 *Salmonella typhimurium* 균주를 이용한 복귀돌연변이 실험과 *Escherichia coli* PQ37 균주를 이용한 SOS chromotest 및 CHL(Chinese hamster lung fibroblast) 세포를 이용한 염색체 이상실험을 수행하였다.

재료 및 방법

시험물질 조제 및 농도

감마선 조사를 위한 녹즙은 돌미나리(*Oenanthe stolonifera* DC.), 당근(*Daucus carota* L.), 케일(*Brassica oleracea* var. *acephala*) 및 신선초(*Angelica keiskei*)를 이용하여 A사에서

†Corresponding author. E-mail: yhsuny@kaeri.re.kr
Phone: 82-42-868-8065, Fax: 82-42-868-8043

방법으로 가공하였다. 감마선 조사는 가공 직후 한국원자력 연구소내 선원 10만 Ci, Co-60 감마선 조사시설을 이용하여 실온에서 분당 70 Gy의 선량율로 각각 1, 20 kGy의 총 흡수 선량을 얻도록 하였으며, 흡수선량 확인은 ceric cerous dosimeter(USA)를 사용하였고 총 흡수선량의 오차는 ± 0.2 kGy였다. 감마선을 조사한 시료는 동결건조(SFDSF 12, Samwon freezing engineering co., Korea)하여 분말화 시킨 후 실험에 사용하였다.

Salmonella typhimurium을 이용한 유전자 복귀 돌연변이 시험

시험에 사용된 균주는 *Salmonella typhimurium* LT2를 친주로 하는 *S. typhimurium* TA98, TA100, TA1535, TA1537로, 이들 균주는 사용에 앞서 Maron & Ames 원저(11)에 제시된 방법에 따라 유전적 특성을 확인하였다.

본 시험에 사용된 균주는 Molecular Toxicology Inc. (Boone, NC, USA)에서 구입하여 형질을 확인한 후 한국화학연구소 안전성센터에서 계대 배양 중인 것을 시험에 사용하였다. 유전형질이 확인된 균주들을 nutrient broth(Oxoid Ltd., Hampshire, England)에 접종, 배양하여 현탁액 1 mL당 DMSO(dimethylsulfoxide)를 90 μ L 가하여 약 -80°C 냉동고에 보관하면서 사용하였다. Master plate에 배양한 균주를 25 mL의 2.5% nutrient broth에 접종하여 37°C , 200 rpm으로 약 10시간 진탕 배양(Vision Scientific Co., Korea) 한 후 시험에 사용하였다.

간 균질액(S9 fraction)은 Maron과 Ames의 방법(11)에 따라 조제한 것(단백질함량 22.5 mg/mL 함유, Oriental Yeast Co., Tokyo, Japan)을 사용하였다. S9 mix는 상기 S9 fraction과 시판 cofactor(Wako Co., Tokyo, Japan)로 조제하였다. S9 mix 1 mL중의 조성은 8 μ mol $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 33 μ mol KCl, 5 μ mol G-6-P, 4 μ mol NADPH, 4 μ mol NADH, 100 μ mol sodium phosphate buffer(pH7.4) 및 45 μ L S9 fraction으로 하여 단백질 함량을 1.6 mg/mL 되게 조제하였다. 처리 농도는 0.5 mL/plate로 하였으며, S9 mix의 활성은 2-AA의 돌연변이 유발로 확인하였다.

양성 대조물질로 sodium azide(SA, Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Inc., Steinheim, Germany)는 증류수에 용해하였으며, 4-nitroquinoline-1-oxide(4NQO, Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Inc., Steinheim, Germany), 9-aminoacridine(9-AA, Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Inc., Steinheim, Germany) 및 2-aminoanthracene(2-AA, Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Inc., Steinheim, Germany)는 DMSO(Aldrich Chemical Co., Inc., Milwaukee, USA)에 용해하여 각 시험균주의 특성에 맞추어 사용하였다.

시험물질의 처리는 각 농도군당 3개 plate를 사용하여 direct plate incorporation 법으로 하였다. 복귀돌연변이 시험은 *S. typhimurium* 균주를 nutrient broth에 하룻밤 동안 배양하여 대수기(2×10^9 cells/mL)상태에 이르도록 한 배양액

0.1 mL에 시험물질의 멸균증류수 현탁액 0.1 mL, S-9 mixture(또는 0.2 M Na-Phosphate buffer) 0.5 mL를 histidine/biotin을 함유한 top agar 2.0 mL와 혼합하여 minimal glucose agar배지에 부어 고화시킨 다음 37°C 에서 48시간 동안 배양한 후 복귀돌연변이 집락수를 계수하였다. 음성 대조군은 각 증류수 100 μ L, 그리고 양성 대조군은 대사활성계 적용시 SA, 4-NQO 및 9-AA를, 대사활성계 적용시 2-AA를 각각 100 μ L씩 가하여 같은 방법으로 실시하였다. 시험결과는 각 농도군당 3 plate로부터 얻은 colony수의 평균과 표준편차로 나타내었고 복귀돌연변이 colony수가 농도의존성을 보이면서 용매대조군의 2배 이상인 경우를 양성으로 하였다. 또한 실험에 사용된 시료와 돌연변이 유발물질의 농도는 예비실험을 통해 결정하였다.

SOS Chromotest

SOS Chromotest는 Quillardet와 Hofnung의 방법(12)에 준하여 수행되었다. 즉, L medium에 5×10^8 CFU/mL 농도로 배양된 증배양액을 2%(v/v)가 되도록 접종하여 37°C 에서 약 2시간 진탕배양(5×10^4 CFU/mL) 하였다. 직접변이원의 경우 L medium으로 10배(v/v) 희석된 균 부유액을, 간접변이원의 경우 S-9 mix (B(a)P; 3%)에 10배(v/v) 희석된 균 부유액에 10배(v/v) 희석된 0.6 mL의 균 배양액을 분주하고 여기에 100 μ /assay의 시료를 혼합한 다음, 37°C 에서 210 rpm으로 2시간 배양하였다. 이 때 첨가된 양성대조물질(돌연변이원)의 사용량은 dose response test를 실시하여 최적의 농도를 설정한 후 사용하였다.

시료 색소로 인한 흡수 spectrum의 영향을 차단하기 위하여 배양액을 4°C 에서 7,000 rpm으로 15분간 원심분리하여 상층액을 제거한 후 잔사에 0.6 mL의 L medium을 현탁시켰다. 이 현탁액 0.2 mL를 취하여 Quillardet와 Hofnung의 방법(12)과 동일하게 각각의 효소 활성을 측정하였다. 활성단위는 흡광도 \times 1,000/반응시간(min)으로 나타냈으며, R(ratio)값은 β -galactosidase unit/alkaline phosphatase unit로 계산하였고, R(0)값을 1로 정하였다. 유도지수(induction factor, IF)는 SOS 유전자의 유도정도를 나타내며, R(C)/R(0)로 계산하였고, R(C)값은 변이원 및 변이원과 시료를 첨가한 시험구의 ratio값이다. R(0)값은 변이원을 첨가하지 않은 농도의 ratio값이며, 음성 대조구 IF값은 1로 정하였다.

CHL 세포를 이용한 염색체이상 시험

시험물질은 세포배양액에 대한 최고용해농도인 0.1 g/mL로 용해하여 여과(공경 0.2 μ m)한 것을 최고농도는 배지 용량의 10%로 하고 공비 2로 배양액에 희석하여 사용하였다. 활성대사효소계인 S9 mix는 S9 fraction(단백질함량 22.5 mg/mL 함유, Oriental Yeast Co., Tokyo, Japan)과 시판 cofactor(Wako Co., Tokyo, Japan)로 조제하였다. S9 mix 1 mL중의 조성은 8 μ mol $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 33 μ mol KCl, 5 μ mol G-6-P, 4 μ mol NADPH, 4 μ mol NADH, 100 μ mol sodium

phosphate buffer(pH 7.4) 및 0.3 mL S9 fraction으로 조제하였고 처리 농도는 0.5 mL/flask로 하였다. 음성대조군으로는 용매만을 처리하였으며 양성 대조군으로는 활성대사효소계 부재시 EMS(Ethylmethanesulfonate)를, 활성대사효소계 존재시 CPA(Cyclophosphamide·H₂O)를 사용하였다. 시험에 사용한 Chinese hamster lung fibroblast(CHL) 세포는 염색체의 수가 25개이며, 1회 세포주기는 15시간으로서 염색체이상시험에 적합한 조건을 갖춘 세포로서 한국화학연구소로부터 기증받아 사용하였고 실험은 Ishidate 등(13) 및 Dean과 Danford(14)의 방법을 참고해 이에 준하여 실시하였다. 먼저 세포농도는 2×10⁴ cells/5 mL로 조절하여 약 3일간 배양하였다. 활성대사효소계 미적용 처리의 경우 두 개의 그룹으로 나누어, 배양액을 모두 제거한 후 신선한 배양액 4.5 mL를 각 플라스크에 분주하여 1시간 이상 배양한 후 시험물질 용액(500 µL)를 분주하여 합계 5 mL이 되도록 하여 각각 6시간 및 24시간 처리하였다. 활성대사효소계 적용 6시간 처리군의 경우 기존 배양액을 제거하고 신선한 배양액 2.2 mL를 분주하여 1시간 이상 경과한 후 시험물질 용액(300 µL) 및 S9 mix(500 µL)를 분주, 합계 3 mL가 되도록 하여 처리하였다. 활성대사효소계 적용 및 미적용 6시간 처리군의 경우 처리종료 시각에 처리액을 제거하고 5 mL의 Ca⁺⁺과 Mg⁺⁺ free Dulbecco's phosphate buffered saline(CMF D-PBS)로 세포층을 1회 세척한 후 신선한 배양액 5 mL를 분주하여 다시 배양을 시작하였다. 모든 플라스크에 대해 시험물질 처리 개시로부터 약 22시간 경과 후에 콜히친(최종농도 1 µM)을 각 플라스크에 처리하여 2시간 경과 후 진탕법으로 중기세포를 수거, 공기건조법으로 염색체표본을 제작하고 5% Giemsa액으로 염색하여 염색체이상을 계수하였으며 표본은 각 플라스크당 2매씩 제작하였다.

각 플라스크당 제작된 표본 중 염색 상태가 양호한 1매씩을 선정하여, 1,000배의 배율로 관찰, 계수하였다. 염색체이상의 형태 판별 및 계수는 일본환경변이원학회(JEMS) 포유동물시험분과회(MMS)판 '염색체이상 아틀라스'(15)에 따랐다. 이상은 염색체형 절단 및 교환과 염색분체형 절단 및 교환으로 대별해 계수하였으며, 이상을 가진 중기상(이상중기상)의 빈도 및 염색체이상의 수는 gap을 포함한 경우와 제외한 경우를 병기하였다. 구조적 이상의 계수는 각 표본당 염색체가 잘 퍼진 100개의 분열중기상(23~27 동원체)에 대하여 염색체 수 및 염색체이상의 유무를 관찰하고, 염색체이상이 관찰되면 이상의 종류와 수 및 슬라이드 상의 위치를 기록하였다. 숫적 이상의 계수는 염색체이상의 유무에 관계없이 염색체 수에 따라 diploid(DP, 23-36 동원체), polyploid(PP, 37≤ 동원체) 및 핵내배화(ER, endoreduplication)로 분류, 100 중기상당 관찰되는 빈도를 기록하였다. 계수한 중기상은 이상이 없는 정상중기상과 1개 이상의 이상을 가진 이상중기상으로 대별하고, 각 플라스크에 대해 100개의 중기상당 관찰되는 이상중기상의 수 및 이상의 개수를 표시하였다. 결과의

판정은 시험물질 처리군에 있어서 이상중기상의 빈도가 음성대조군에 비해 확실히 증가하고 그 작용에 재현성이 있으며 용량의존성을 나타낼 경우 양성으로 판정하였다. 이상중기상의 빈도에 대한 통계처리는 gap을 제외한 숫자만을 대상으로 실시하였으며, 각 중기상을 염색체 이상이 없는 것(normal metaphase, 정상중기상)과 1개 이상의 이상을 포함한 것(aberrant metaphase, 이상중기상)으로 나누고, 이상중기상의 빈도에 대해 다음과 같이 통계처리를 실시하였다. 숫적 이상에 대해서는 중기상을 DP, PP 및 ER로 분류하여 DP+ER의 빈도에 대해 같은 방법으로 실시하였다. 통계처리는 SAS program을 이용하였으며, P value가 0.05 이하일 때 유의성이 있는 것으로 판정하였다. 또, 시험물질 처리군에 있어서 염색체이상을 가진 중기상의 빈도가 음성대조군에 비해 확실히 증가하고 그 작용에 재현성이 있으며 용량의존성을 나타낼 경우 양성으로 판정하였다.

결과 및 고찰

Ames test에 의한 방사선 조사된 녹즙의 돌연변이 유발능 감마선 조사 및 비조사된 돌미나리, 당근, 케일 및 신선초 녹즙의 현탁액을 첨가하였을 때 *Salmonella typhimurium* TA98, 100, 1535 및 1537에 대한 복귀변이 집락수를 조사한 결과는 Table 1~4와 같다. 감마선 조사 및 비조사된 돌미나리, 당근, 케일 및 신선초 녹즙의 예비시험결과에 따라 모든 시료는 10,000 µg/plate를 최고 농도로 설정하여 실험을 수행하였고, 시험에 사용한 4개 균주의 생균수는 흡광도에 의한 측정 결과 1.0~1.8×10⁹ cells/mL로 적정 수준이었다. 각 시험에서 음성대조군의 복귀 돌연변이 집락수는 문헌치(11)의 범위 이내였으며 양성대조 화합물에 의해 복귀돌연변이 집락수가 현저히 증가하여 본 실험이 적합하게 행하여졌음을 알 수 있었다.

대사활성 부재시의 경우, 감마선 조사된 돌미나리, 당근, 케일 및 신선초 녹즙은 모든 시험균주에서 시험적용 농도인 10,000 µg/plate까지의 농도에서 복귀변이 집락수의 농도 의존적인 증가 혹은 감소를 보이지 않았으며 용매대조구와 비교해서도 차이를 보이지 않았다. 또, 이들 시험물질에 대해 대사활성제를 도입한 즉 S-9 mixture를 첨가한 상태에서 *S. typhimurium*을 이용한 복귀돌연변이 시험을 수행한 결과에서도 각각의 시험적용 농도에서 복귀변이 집락수의 증가를 보이지 않았다.

Salmonella 복귀돌연변이 시험(11)은 시험용 균주의 염색체상에 염기쌍 치환이나 frame shift 변이를 일으키는 화학물질에 의해 유발되는 His⁻로부터 His⁺로의 복귀변이를 검출하는 미생물 검정계로서, 1971년 Ames에 의해 제창되어 그 후 급속한 발전을 거듭하였다. 재현성이 있으며 조작이 간단하고 단기간에 많은 화학물질을 취급할 수 있는 장점이 있다. 일반적으로 돌연변이원성의 판정은 음성대조구 복귀변

Table 1. Revertant colonies in *S. typhimurium* reversion of *Oenanthe stolonifera* DC. extract juice

Test material	Dose. ($\mu\text{g}/\text{plate}$)	S-9	Gamma Irradiation ¹⁾	No. of revertant colonies (His ⁺) per plate			
				TA98	TA100	TA1535	TA1537
DW		-	-	20 \pm 0	141 \pm 5	26 \pm 1	9 \pm 2
0 kGy ²⁾	10,000	-	-	23 \pm 4	156 \pm 1	29 \pm 3	8 \pm 2
	5,000	-	-	24 \pm 8	140 \pm 9	18 \pm 4	7 \pm 3
10 kGy	10,000	-	+	24 \pm 7	170 \pm 10	26 \pm 2	9 \pm 1
	5,000	-	+	21 \pm 6	117 \pm 8	23 \pm 3	12 \pm 3
DW		+	-	20 \pm 3	136 \pm 2	24 \pm 1	10 \pm 1
0 kGy	10,000	+	-	26 \pm 2	169 \pm 5	22 \pm 2	14 \pm 2
	5,000	+	-	28 \pm 1	166 \pm 7	23 \pm 3	13 \pm 2
10 kGy	10,000	+	+	25 \pm 6	146 \pm 8	23 \pm 3	10 \pm 3
	5,000	+	+	33 \pm 4	137 \pm 11	29 \pm 5	11 \pm 1
4-NQO ³⁾	0.5	-	-	340 \pm 52			
SA	0.5	-	-		316 \pm 51	208 \pm 41	
9-AA	50	-	-				532 \pm 48
2-AA	2	+	-	456 \pm 89	1200 \pm 96		
2-AA	4	+	-			382 \pm 32	462 \pm 55

¹⁾Irradiation (10 kGy of Co-60 gamma-ray) was treated to the test material.

Each value represents the mean \pm SD of three plates and expresses revertant colonies per plate.

²⁾0 kGy and 10 kGy test materials were extract juices.

³⁾Sodium azide (SA), 4-nitroquinoline-1-oxide (4-NQO), 9-aminoacridine (9-AA) and 2-aminoanthracene (2-AA) were used as positive controls for the corresponding strains.

Table 2. Revertant colonies in *S. typhimurium* reversion of *Daucus carota* L. extract juice

Test material	Dose. ($\mu\text{g}/\text{plate}$)	S-9	Gamma Irradiation ¹⁾	No. of revertant colonies (His ⁺) per plate			
				TA98	TA100	TA1535	TA1537
DW		-	-	20 \pm 0	141 \pm 5	26 \pm 1	9 \pm 2
0 kGy ²⁾	10,000	-	-	29 \pm 8	153 \pm 9	14 \pm 3	16 \pm 3
	5,000	-	-	26 \pm 8	134 \pm 8	18 \pm 3	12 \pm 2
10 kGy	10,000	-	+	25 \pm 6	129 \pm 4	16 \pm 4	14 \pm 2
	5,000	-	+	24 \pm 2	152 \pm 2	20 \pm 2	15 \pm 3
DW		+	-	20 \pm 3	136 \pm 2	24 \pm 1	10 \pm 1
0 kGy	10,000	+	-	26 \pm 1	160 \pm 10	21 \pm 2	14 \pm 2
	5,000	+	-	27 \pm 5	149 \pm 8	18 \pm 3	13 \pm 1
10 kGy	10,000	+	+	36 \pm 2	139 \pm 10	19 \pm 5	15 \pm 1
	5,000	+	+	32 \pm 4	156 \pm 5	23 \pm 4	17 \pm 4
4-NQO ³⁾	0.5	-	-	340 \pm 52			
SA	0.5	-	-		316 \pm 51	208 \pm 41	
9-AA	50	-	-				532 \pm 48
2-AA	2	+	-	456 \pm 89	1200 \pm 96		462 \pm 55
2-AA	4	+	-			382 \pm 32	

¹⁾Irradiation (10 kGy of Co-60 gamma-ray) was treated to the test material.

Each value represents the mean \pm SD of three plates and expresses revertant colonies per plate.

²⁾0 kGy and 10 kGy test materials were extract juices.

³⁾Sodium azide (SA), 4-nitroquinoline-1-oxide (4-NQO), 9-aminoacridine (9-AA) and 2-aminoanthracene (2-AA) were used as positive controls for the corresponding strains.

이 집락수의 2배 이상인 경우를 양성으로 하므로 본 실험의 감마선 조사한 시료 및 조사하지 않은 시료에 대하여 전 시험적용농도에서 복구변이를 유발하지 않는 것으로 보아 감마선 조사에 의한 돌연변이원성은 없는 것으로 판단되었다. 따라서 고선량으로 감마선 조사된 녹즙이 직접변이원이나 간접변이원으로 작용하지 않음을 알 수 있었다. 이와 같은 결과는 유전독성학적 변이원성시험에서 최고가의 감마선 조사가 돌연변이를 유발하지 않았다는 Kang 등(16)의 결과와 감마선 조사된 생약재가 유전독성학적으로 안전하였다는 Jo 등(17)

의 보고 및 최근 감마선 조사된 장류의 물추출 분획에 대한 Ames test 결과 유전독성학적으로 안전하였다는 연구결과(18)와도 잘 일치하였다.

SOS Chromotest에 의한 방사선 조사된 녹즙의 돌연변이 유발능

Ames test의 단점을 보완하기 위해 최근 이용이 급증하고 있는 SOS Chromotest는 *E. coli* PQ37을 자외선이나 유전독성 물질에 노출시키면 DNA 복제가 저해되어 유도되는 SOS response 중 생성되는 효소의 기질분해반응을 이용한 방법

Table 3. Revertant colonies in *S. typhimurium* reversion of *Brassica oleracea* var. *acephala* extract juice

Test material	Dose. ($\mu\text{g}/\text{plate}$)	S-9	Gamma Irradiation ¹⁾	No. of revertant colonies (His ⁺) per plate			
				TA98	TA100	TA1535	TA1537
DW		-	-	20 \pm 0	141 \pm 5	26 \pm 1	9 \pm 2
0 kGy ²⁾	10,000	-	-	37 \pm 6	130 \pm 10	23 \pm 3	9 \pm 1
	5,000	-	-	30 \pm 5	150 \pm 11	24 \pm 3	10 \pm 1
10 kGy	10,000	-	+	32 \pm 2	151 \pm 5	22 \pm 3	11 \pm 2
	5,000	-	+	31 \pm 2	154 \pm 3	21 \pm 2	9 \pm 2
DW		+	-	20 \pm 3	136 \pm 2	24 \pm 1	10 \pm 2
0 kGy	10,000	+	-	41 \pm 3	127 \pm 5	27 \pm 3	12 \pm 3
	5,000	+	-	22 \pm 2	156 \pm 6	23 \pm 4	10 \pm 2
10 kGy	10,000	+	+	32 \pm 5	179 \pm 9	19 \pm 4	13 \pm 3
	5,000	+	+	27 \pm 4	165 \pm 12	23 \pm 2	8 \pm 2
4-NQO ³⁾	0.5	-	-	340 \pm 52			
SA	0.5	-	-		316 \pm 51	208 \pm 41	
9-AA	50	-	-				532 \pm 48
2-AA	2	+	-	456 \pm 89	1200 \pm 96		
2-AA	4	+	-			382 \pm 32	462 \pm 55

¹⁾Irradiation (10 kGy of Co-60 gamma-ray) was treated to the test material.

Each value represents the mean \pm SD of three plates and expresses revertant colonies per plate.

²⁾0 kGy and 10 kGy test materials were extract juices.

³⁾Sodium azide (SA), 4-nitroquinoline-1-oxide (4-NQO), 9-aminoacridine (9-AA) and 2-aminoanthracene (2-AA) were used as positive controls for the corresponding strains.

Table 4. Revertant colonies in *S. typhimurium* reversion of *Angelica keiskei* extract juice

Test material	Dose. ($\mu\text{g}/\text{plate}$)	S-9	Gamma Irradiation ¹⁾	No. of revertant colonies (His ⁺) per plate			
				TA98	TA100	TA1535	TA1537
DW		-	-	20 \pm 0	141 \pm 5	26 \pm 1	9 \pm 2
0 kGy ²⁾	10,000	-	-	20 \pm 3	140 \pm 6	21 \pm 3	10 \pm 2
	5,000	-	-	23 \pm 3	138 \pm 8	23 \pm 2	8 \pm 3
10 kGy	10,000	-	+	22 \pm 4	154 \pm 6	14 \pm 4	4 \pm 3
	5,000	-	+	19 \pm 5	143 \pm 5	22 \pm 3	9 \pm 2
DW		+	-	20 \pm 3	136 \pm 2	24 \pm 1	10 \pm 2
0 kGy	10,000	+	-	26 \pm 6	137 \pm 4	25 \pm 2	12 \pm 1
	5,000	+	-	29 \pm 5	147 \pm 7	19 \pm 3	11 \pm 2
10 kGy	10,000	+	+	26 \pm 4	141 \pm 9	19 \pm 3	14 \pm 2
	5,000	+	+	19 \pm 4	133 \pm 11	16 \pm 4	14 \pm 2
4-NQO ³⁾	0.5	-	-	340 \pm 52			
SA	0.5	-	-		316 \pm 51	208 \pm 41	
9-AA	50	-	-				532 \pm 48
2-AA	2	+	-	456 \pm 89	1200 \pm 96		
2-AA	4	+	-			382 \pm 32	462 \pm 55

¹⁾Irradiation (10 kGy of Co-60 gamma-ray) was treated to the test material.

Each value represents the mean \pm SD of three plates and expresses revertant colonies per plate.

²⁾0 kGy and 10 kGy test materials were extract juices.

³⁾Sodium azide (SA), 4-nitroquinoline-1-oxide (4-NQO), 9-aminoacridine (9-AA) and 2-aminoanthracene (2-AA) were used as positive controls for the corresponding strains.

으로 흡광도를 측정하여 판정하므로 콜로니 계수시 주관적 편차가 배제되어 객관성이 유지되며, DNA 손상을 주는 유전 독성물질의 검색에 편리하게 이용될 뿐만 아니라 아미노산 등 외적요인의 방해받지 않으며 활성물질 검색시 대상물질이 소량 사용되는 것임이 있으며 Ames test와 90% 이상의 높은 상관성을 나타내므로 최근 이용이 증가되고 있다(12).

감마선 조사 및 비조사된 돌미나리, 당근, 케일 및 신선초 녹즙의 현탁액을 첨가하였을 때 *E. coli* PQ37에 대한 돌연변이 유발능을 조사한 결과는 Table 5~8과 같다. 각 시험에서

음성대조군의 IF값은 1.5이하였으며 양성대조 화합물에 의해 IF값이 현저히 증가하여 본 실험이 적합하게 행하여졌음을 알 수 있었다.

먼저 대사활성 부재시의 경우, 감마선 조사된 돌미나리, 당근, 케일 및 신선초 녹즙의 SOS Chromotest 결과, 시험적용 농도인 10,000 $\mu\text{g}/\text{assay}$ 까지의 농도에서 대조구와 유사한 범위의 IF값을 나타내었다. 또 대사활성제를 도입한 즉 S-9 mixture를 첨가한 상태에서도 각각의 시험적용 농도에서 대조구와 방사선 조사구 모두 1.5이하의 유사한 IF값을 보였다.

Table 5. SOS induction in *E. coli* PQ37 by *Oenanthe stol-onifera* DC. extract juice in the absence and presence of an exogenous metabolizing system

Test material	µg/ assay	S-9	Gamma irradiation	β-gal (unit)	ap (unit)	Ratio	IF
D.W		-	-	3.24	11.95	0.27	1.00
0 kGy	10,000	-	-	3.54	11.80	0.30	1.11
	5,000	-	-	3.19	11.62	0.27	1.01
10 kGy	10,000	-	+	3.75	12.86	0.29	1.08
	5,000	-	+	3.10	11.49	0.27	1.00
4-NQO	0.03	-	-	21.9	11.90	1.84	6.80
D.W		+	-	2.44	8.54	0.29	1.00
0 kGy	10,000	+	-	2.66	10.32	0.31	1.09
	5,000	+	-	2.95	10.02	0.29	1.03
10 kGy	10,000	+	+	2.15	9.06	0.24	0.83
	5,000	+	+	2.31	8.73	0.27	0.93
B(a)P	2.5	+	-	11.90	7.08	1.68	5.88

0 kGy and 10 kGy test materials were extract juices. β-gal, β-galactosidase; ap, alkaline phosphatase; IF, induction factor.

4-NQO, 4-nitroquinoline-N-oxide; B(a)P, benzo(a)pyrene.

Table 6. SOS induction in *E. coli* PQ37 by *Daucus carota* L. extract juice in the absence and presence of an exogenous metabolizing system

Test material	µg/ assay	S-9	Gamma irradiation	β-gal (unit)	ap (unit)	Ratio	IF
D.W		-	-	3.24	11.95	0.27	1.00
0 kGy	10,000	-	-	3.55	12.60	0.28	1.04
	5,000	-	-	3.13	12.15	0.26	0.95
10 kGy	10,000	-	+	3.09	11.65	0.26	0.98
	5,000	-	+	2.97	10.13	0.29	1.08
4-NQO	0.03	-	-	21.9	11.90	1.84	6.80
D.W		+	-	2.44	8.54	0.29	1.00
0 kGy	10,000	+	-	2.26	7.32	0.31	1.08
	5,000	+	-	2.70	7.53	0.36	1.26
10 kGy	10,000	+	+	2.89	7.17	0.39	1.37
	5,000	+	+	2.30	7.44	0.31	1.08
B(a)P	2.5	+	-	11.90	7.08	1.68	5.88

0 kGy and 10 kGy test materials were extract juices. β-gal, β-galactosidase; ap, alkaline phosphatase; IF, induction factor.

4-NQO, 4-nitroquinoline-N-oxide; B(a)P, benzo(a)pyrene.

전체적으로 IF값은 농도 의존적인 증가 혹은 감소를 보이지 않았으며 방사선 조사구의 경우 비조사 대조군과 비교해서도 차이를 보이지 않았다. 따라서 감마선 조사된 녹즙의 SOS Chromotest 실험결과 감마선 조사한 시료 및 비조사 시료에 대하여 전 시험적용농도에서 돌연변이를 유발하지 않는 것으로 보아 감마선 조사에 의한 돌연변이원성은 없는 것으로 판단되었고, 감마선 조사된 녹즙이 직접변이원이나 간접변이원으로 작용하지 않음을 알 수 있었다. 이와 같은 결과는 감마선 조사된 장류의 SOS chromotest 실시 결과 유전독성학적으로 안전하다는 보고(19)와도 잘 일치하였다.

CHL 세포를 이용한 방사선 조사된 녹즙의 염색체이상시험 감마선 조사 및 비조사된 녹즙의 현탁액을 첨가하였을 때

Table 7. SOS induction in *E. coli* PQ37 by *Brassica oleracea* var. *acephala* extract juice in the absence and presence of an exogenous metabolizing system

Test material	µg/ assay	S-9	Gamma irradiation	β-gal (unit)	ap (unit)	Ratio	IF
D.W		-	-	3.24	11.95	0.27	1.00
0 kGy	10,000	-	-	2.93	12.19	0.29	1.08
	5,000	-	-	3.02	11.30	0.27	0.99
10 kGy	10,000	-	+	3.23	10.49	0.31	1.14
	5,000	-	+	2.76	10.07	0.27	1.01
4-NQO	0.03	-	-	21.9	11.90	1.84	6.80
D.W		+	-	2.44	8.54	0.29	1.00
0 kGy	10,000	+	-	2.00	7.44	0.31	1.08
	5,000	+	-	2.95	7.65	0.34	1.19
10 kGy	10,000	+	+	2.60	6.78	0.28	0.98
	5,000	+	+	1.89	6.57	0.27	0.96
B(a)P	2.5	+	-	11.90	7.08	1.68	5.88

0 kGy and 10 kGy test materials were extract juices. β-gal, β-galactosidase; ap, alkaline phosphatase; IF, induction factor.

4-NQO, 4-nitroquinoline-N-oxide; B(a)P, benzo(a)pyrene.

Table 8. SOS induction in *E. coli* PQ37 by *Angelica keiskei* extract juice in the absence and presence of an exogenous metabolizing system

Test material	µg/ assay	S-9	Gamma irradiation	β-gal (unit)	ap (unit)	Ratio	IF
D.W		-	-	3.24	11.95	0.27	1.00
0 kGy	10,000	-	-	2.55	9.89	0.26	0.95
	5,000	-	-	3.19	10.90	0.29	1.08
10 kGy	10,000	-	+	3.05	10.25	0.30	1.10
	5,000	-	+	3.20	10.78	0.30	1.09
4-NQO	0.03	-	-	21.9	11.90	1.84	6.80
D.W		+	-	2.44	8.54	0.29	1.00
0 kGy	10,000	+	-	1.80	6.51	0.34	1.19
	5,000	+	-	1.99	7.26	0.27	0.96
10 kGy	10,000	+	+	2.52	8.79	0.29	1.00
	5,000	+	+	2.51	7.53	0.33	1.17
B(a)P	2.5	+	-	11.90	7.08	1.68	5.88

0 kGy and 10 kGy test materials were extract juices. β-gal, β-galactosidase; ap, alkaline phosphatase; IF, induction factor.

4-NQO, 4-nitroquinoline-N-oxide; B(a)P, benzo(a)pyrene.

Chinese hamster 유래 폐섬유아세포(CHL)를 이용하여 염색 체이상시험을 수행한 결과는 Table 9~12와 같다. 먼저 활성 대사효소계 부재시의 경우, 6시간 처리군에 있어서 이상중 기상 및 염색체이상의 빈도는 음성대조군, 2,500 µg/mL 처리군, 5,000 µg/mL 처리군 및 10,000 µg/mL 처리군 모두 0~3 범위였으며, 시험물질을 처리한 모든 군에서 이상중기상의 빈도는 음성대조군에 비해 통계학적으로 유의한 증가를 나타내지 않았다. 음성대조군의 polyploid의 빈도는 0.0이었으며 핵내배화는 관찰되지 않았고, 시험물질 처리군의 polyploid 및 핵내배화 빈도는 음성대조군에 비해 통계학적으로 유의한 증가를 보이지 않았다. 한편 양성대조군에서는 이상중기상의 빈도에서 통계학적으로 유의하며 확실한 증가가 관찰

Table 9. The chromosome aberrations in cultured CHL cells treated with *Oenanthe stolonifera* DC. extract juice

Test material	Treatment				Abnormalities					Aberrant meta-phases	Total aberrations	Normality
	Concentration (µg/plask)	Times (hours)	S-9 mix	No. of cells scored	CsB	CsE	CtB	CtE	Other PP+ER			
Control	-	6	-	200	1	0	0	0	0	1.0±0.0	1.0±0.0 ^a	99
	-	24	-	200	1	0	0	0	0	0.5±0.7	0.5±0.7 ^a	99
	-	6	+	200	0	0	1	1	0	1.5±0.7	1.5±0.7 ^a	98
0 kGy	10,000	6	-	200	0	0	1	1	0	1.5±0.7	1.5±0.7 ^a	98
	5,000	6	-	200	0	0	0	2	0	1.0±0.7	1.0±0.7 ^a	98
	2,500	6	-	200	0	0	1	0	0	1.0±0.0	1.0±0.0 ^a	99
	10,000	24	-	200	1	0	1	0	0	1.0±1.4	1.0±1.4 ^a	98
	5,000	24	-	200	0	0	1	0	0	1.5±0.7	1.5±0.7 ^a	99
	2,500	24	-	200	0	0	0	0	0	0.0±0.0	0.0±0.0 ^a	100
	10,000	6	+	200	0	0	1	0	0	1.5±0.7	1.5±0.7 ^a	99
	5,000	6	+	200	1	0	1	0	0	1.5±0.7	1.5±0.7 ^a	98
	2,500	6	+	200	0	0	1	0	0	1.5±0.7	1.5±0.7 ^a	99
10 kGy	10,000	6	-	200	0	1	0	1	0	1.5±0.7	1.5±0.7 ^a	98
	5,000	6	-	200	1	0	0	0	0	1.0±0.0	1.0±0.0 ^a	99
	2,500	6	-	200	1	0	0	0	0	1.0±0.0	1.0±0.0 ^a	99
	10,000	24	-	200	0	0	0	1	0	0.5±0.7	0.5±0.7 ^a	99
	5,000	24	-	200	1	0	0	0	0	1.5±0.7	1.5±0.7 ^a	99
	2,500	24	-	200	1	0	1	0	0	1.0±1.4	1.0±1.4 ^a	98
	10,000	6	+	200	1	0	1	0	0	1.5±0.7	1.5±0.7 ^a	98
	5,000	6	+	200	1	0	1	1	0	2.0±1.4	2.0±1.4 ^a	97
	2,500	6	+	200	1	0	0	0	0	2.0±0.0	2.0±0.0 ^a	99
EMS	400	6	-	200	6	8	7	5	0	25.5±3.5	29.4±4.9 ^b	74
	300	24	-	200	16	0	12	4	0	28.0±1.4	30.5±2.0 ^b	68
CPA	50	6	+	200	41	0	39	16	17	48.0±14	66.5±7.8 ^b	39

0 kGy and 10 kGy test materials were extract juices.

Means ± SD.

Mean value followed by different alphabet in same column means significant difference at p<0.05.

CsB: Chromosome breake, CsE: Chromosome exchange, CtB: Chromatid break, CtE: Chromatid exchange, PP: Polyploid, ER: Endoreduplication, EMS: Ethylmethanesulfonate, CPA: Cyclophosphamide · H₂O, EMS: Ethylmethanesulfonate, CPA: Cyclophosphamide · H₂O.

Table 10. The chromosome aberrations in cultured CHL cells treated with *Daucus carota* L. extract juice

Test material	Treatment				Abnormalities					Aberrant meta-phases	Total aberrations	Normality
	Concentration (µg/plask)	Times (hours)	S-9 mix	No. of cells scored	CsB	CsE	CtB	CtE	Other PP+ER			
Control	-	6	-	200	1	0	0	0	0	1.0±0.0	1.0±0.0 ^a	99
	-	24	-	200	1	0	0	0	0	0.5±0.7	0.5±0.7 ^a	99
	-	6	+	200	0	0	1	1	0	1.5±0.7	1.5±0.7 ^a	98
0 kGy	10,000	6	-	200	0	0	1	0	0	1.5±0.7	1.5±0.7 ^a	99
	5,000	6	-	200	0	0	2	0	0	1.5±0.7	1.5±0.7 ^a	98
	2,500	6	-	200	0	0	1	0	0	1.5±0.7	1.5±0.7 ^a	99
	10,000	24	-	200	0	0	1	0	0	1.0±0.0	1.0±0.0 ^a	99
	5,000	24	-	200	2	0	0	0	0	1.5±0.7	1.5±0.7 ^a	98
	2,500	24	-	200	0	0	1	0	0	1.0±0.0	1.0±0.0 ^a	99
	10,000	6	+	200	3	0	0	0	0	1.5±2.1	1.5±2.1 ^a	97
	5,000	6	+	200	0	0	1	0	0	1.5±0.7	1.5±0.7 ^a	99
	2,500	6	+	200	1	0	1	0	0	1.5±0.7	1.5±0.7 ^a	98
10 kGy	10,000	6	-	200	0	0	2	0	0	1.5±0.7	1.5±0.7 ^a	98
	5,000	6	-	200	2	0	0	0	0	1.0±1.4	1.0±1.4 ^a	98
	2,500	6	-	200	0	0	0	0	0	0.5±0.7	0.5±0.7 ^a	100
	10,000	24	-	200	0	0	2	0	0	2.5±0.7	2.5±0.7 ^a	98
	5,000	24	-	200	0	0	0	3	0	2.0±2.4	2.0±2.4 ^a	97
	2,500	24	-	200	1	0	1	0	0	1.5±0.7	1.5±0.7 ^a	98
	10,000	6	+	200	0	0	2	0	1	2.5±2.1	2.5±2.1 ^a	97
	5,000	6	+	200	1	0	0	0	1	2.0±1.4	2.0±1.4 ^a	98
	2,500	6	+	200	0	0	0	0	0	0.5±0.7	0.5±0.7 ^a	100
EMS	400	6	-	200	6	8	7	5	0	25.5±3.5	29.5±4.9 ^b	74
	300	24	-	200	16	0	12	4	0	28.0±1.4	30.5±2.1 ^b	68
CPA	50	6	+	200	41	0	39	16	17	48.0±14	66.5±7.8 ^b	39

0 kGy and 10 kGy test materials were extract juices.

Means ± SD.

Mean value followed by different alphabet in same column means significant difference at p<0.05.

CsB: Chromosome breake, CsE: Chromosome exchange, CtB: Chromatid break, CtE: Chromatid exchange, PP: Polyploid, ER: Endoreduplication, EMS: Ethylmethanesulfonate, CPA: Cyclophosphamide · H₂O, EMS: Ethylmethanesulfonate, CPA: Cyclophosphamide · H₂O.

Table 11. The chromosome aberrations in cultured CHL cells treated with *Brassica oleracea* var. *acephala* extract juice

Test material	Treatment				Abnormalities					Aberrant meta-phases	Total aberrations	Normality
	Concentration (µg/plask)	Times (hours)	S-9 mix	No. of cells scored	CsB	CsE	CtB	CtE	Other PP+ER			
Control	-	6	-	200	1	0	0	0	0	1.0±0.0	1.0±0.0 ^a	99
	-	24	-	200	1	0	0	0	0	0.5±0.7	0.5±0.7 ^a	99
	-	6	+	200	0	0	1	1	0	1.5±0.7	1.5±0.7 ^a	98
0 kGy	10,000	6	-	200	0	0	1	0	0	1.5±0.7	1.5±0.7 ^a	99
	5,000	6	-	200	1	0	0	0	0	1.0±0.0	1.0±0.0 ^a	99
	2,500	6	-	200	0	0	1	0	0	2.0±1.4	2.0±1.4 ^a	99
	10,000	24	-	200	0	0	0	1	0	1.0±0.0	1.0±0.0 ^a	99
	5,000	24	-	200	1	0	0	0	1	1.0±1.4	1.0±1.4 ^a	98
	2,500	24	-	200	1	0	0	0	0	1.5±0.7	1.5±0.7 ^a	99
	10,000	6	+	200	2	0	0	0	0	1.5±0.7	1.5±0.7 ^a	98
	5,000	6	+	200	1	0	1	0	0	1.5±0.7	1.5±0.7 ^a	98
	2,500	6	+	200	1	0	3	0	0	3.0±1.4	3.0±1.4 ^a	96
10 kGy	10,000	6	-	200	1	0	1	0	0	1.5±0.7	1.5±0.7 ^a	98
	5,000	6	-	200	0	0	0	1	0	1.0±0.0	1.0±0.0 ^a	99
	2,500	6	-	200	0	0	1	0	0	1.0±0.0	1.0±0.0 ^a	99
	10,000	24	-	200	1	0	1	0	0	1.0±1.4	1.0±1.4 ^a	98
	5,000	24	-	200	1	0	0	0	1	2.5±0.7	2.5±0.7 ^a	98
	2,500	24	-	200	1	0	2	0	0	2.0±1.4	2.0±1.4 ^a	97
	10,000	6	+	200	2	0	0	0	0	1.5±0.7	1.5±0.7 ^a	98
	5,000	6	+	200	0	0	1	0	0	1.0±0.0	1.0±0.0 ^a	99
	2,500	6	+	200	0	0	1	0	0	1.0±0.0	1.0±0.0 ^a	99
EMS	400	6	-	200	6	8	7	5	0	25.5±3.5	29.5±4.9 ^b	74
	300	24	-	200	16	0	12	4	0	28.0±1.4	30.5±2.1 ^b	68
CPA	50	6	+	200	41	0	39	16	17	48.0±14	66.5±7.8 ^b	39

0 kGy and 10 kGy test materials were extract juices.

Means±SD.

Mean value followed by different alphabet in same column means significant difference at p<0.05.

CsB: Chromosome break, CsE: Chromosome exchange, CtB: Chromatid break, CtE: Chromatid exchange, PP: Polyploid, ER: Endoreduplication, EMS: Ethylmethanesulfonate, CPA: Cyclophosphamide · H₂O, EMS: Ethylmethanesulfonate, CPA: Cyclophosphamide · H₂O.

Table 12. The chromosome aberrations in cultured CHL cells treated with *Angelica keiskei* extract juice

Test material	Treatment				Abnormalities					Aberrant meta-phases	Total aberrations	Normality
	Concentration (µg/plask)	Times (hours)	S-9 mix	No. of cells scored	CsB	CsE	CtB	CtE	Other PP+ER			
Control	-	6	-	200	1	0	0	0	0	1.0±0.0	1.0±0.0 ^a	99
	-	24	-	200	1	0	0	0	0	0.5±0.7	0.5±0.7 ^a	99
	-	6	+	200	0	0	1	1	0	1.5±0.7	1.5±0.7 ^a	98
0 kGy	10,000	6	-	200	0	0	1	0	0	1.5±0.7	1.5±0.7 ^a	99
	5,000	6	-	200	0	0	0	1	0	1.0±0.0	1.0±0.0 ^a	99
	2,500	6	-	200	1	0	1	0	0	1.5±0.7	1.5±0.7 ^a	98
	10,000	24	-	200	1	0	0	0	0	1.0±0.0	1.0±0.0 ^a	99
	5,000	24	-	200	1	0	0	0	1	2.5±0.7	2.5±0.7 ^a	98
	2,500	24	-	200	0	0	1	0	0	1.0±0.0	1.0±0.0 ^a	99
	10,000	6	+	200	1	0	2	0	0	2.0±1.4	2.0±1.4 ^a	97
	5,000	6	+	200	0	0	1	0	0	1.5±0.7	1.5±0.7 ^a	99
	2,500	6	+	200	0	0	1	0	0	0.5±0.7	0.5±0.7 ^a	99
10 kGy	10,000	6	-	200	1	0	1	1	0	2.0±2.4	2.0±2.4 ^a	97
	5,000	6	-	200	0	0	0	0	0	1.0±1.4	1.0±1.4 ^a	100
	2,500	6	-	200	1	0	0	0	0	1.0±0.0	1.0±0.0 ^a	99
	10,000	24	-	200	1	0	1	0	0	2.0±0.0	2.0±0.0 ^a	98
	5,000	24	-	200	0	0	1	1	0	1.0±1.4	1.0±1.4 ^a	98
	2,500	24	-	200	0	0	0	0	0	1.0±1.4	1.0±1.4 ^a	100
	10,000	6	+	200	2	0	0	0	0	2.0±0.0	2.0±0.0 ^a	98
	5,000	6	+	200	0	0	0	1	0	1.0±0.0	1.0±0.0 ^a	99
	2,500	6	+	200	1	0	0	0	0	1.0±0.0	1.0±0.0 ^a	99
EMS	400	6	-	200	6	8	7	5	0	25.5±3.5	29.5±4.9 ^b	74
	300	24	-	200	16	0	12	4	0	28.0±1.4	30.5±2.1 ^b	68
CPA	50	6	+	200	41	0	39	16	17	48.0±14	66.5±7.8 ^b	39

0 kGy and 10 kGy test materials were extract juices.

Means±SD.

Mean value followed by different alphabet in same column means significant difference at p<0.05.

CsB: Chromosome break, CsE: Chromosome exchange, CtB: Chromatid break, CtE: Chromatid exchange, PP: Polyploid, ER: Endoreduplication, EMS: Ethylmethanesulfonate, CPA: Cyclophosphamide · H₂O, EMS: Ethylmethanesulfonate, CPA: Cyclophosphamide · H₂O.

되었다($p < 0.01$).

24시간 처리군에 있어서 이상증기상 및 염색체이상의 빈도는 음성대조군, 2,500 µg/mL 처리군, 5,000 µg/mL 처리군 및 10,000 µg/mL 처리군 모두 0~3 범위였으며, 시험물질을 처리한 모든 군에서 이상증기상의 빈도는 음성대조군에 비해 통계학적으로 유의한 증가를 나타내지 않았다. 음성대조군의 polyploid의 빈도는 0~1 범위였으며 핵내배화는 관찰되지 않았다. 시험물질 처리군의 polyploid 및 핵내배화 빈도는 음성대조군에 비해 통계학적으로 유의한 증가를 보이지 않았다. 한편 양성대조군에서는 이상증기상의 빈도에서 통계학적으로 유의하며 확실한 증가가 관찰되었다($p < 0.01$).

활성대사효소계 도입시의 경우, 이상증기상 및 염색체이상의 빈도는 음성대조군, 2,500 µg/mL 처리군, 5,000 µg/mL 처리군 및 10,000 µg/mL 처리군 모두 0~3 범위였으며, 시험물질을 처리한 모든 군에서 이상증기상의 빈도는 음성대조군에 비해 통계학적으로 유의적인 증가를 나타내지 않았다. 또, 음성대조군의 polyploid의 빈도는 0이었고, 시험물질 처리군의 polyploid 및 핵내배화 빈도는 음성대조군에 비해 통계학적으로 유의한 증가를 보이지 않았다. 한편 양성대조군에서는 이상증기상의 빈도에서 통계학적으로 유의하며 확실한 증가가 관찰되었다($p < 0.01$).

포유동물 배양세포계를 이용한 염색체 이상시험에서 염색체 이상의 출현은 화학물질과 세포와의 반응결과 생긴 유전물질의 상해가 클 경우, 완전히 회복되지 않고 남아 세포분열에 지장을 줄 뿐만 아니라 세포에 치명적인 요인이 되기도 한다. 본 시험법은 배양세포에서의 염색체 이상의 검출을 목적으로 하는 시험제로서 통상적으로 시험물질처리 후 최초의 유사분열시에 세포를 분석한다.

결과적으로, 포유류 배양세포를 이용하여 방사선 조사 및 비조사된 녹즙의 염색체 이상시험을 수행한 결과 대사활성계의 부재 및 존재하 모두 음성의 결과를 나타내어 이상의 실험결과로 미루어 보아 녹즙의 위생화를 위해 방사선 조사를 이용하는 방법은 포유동물 배양세포에 대해 직접변이원으로서 뿐만 아니라 간접변이원으로서도 작용하지 않는 안전한 방법이라 사료된다.

따라서 10 kGy의 고선량으로 감마선 조사된 녹즙은 *in vitro*에서 유전독성학적 안전성 평가 결과 돌연변이원성이 없음을 확인할 수 있었다. 이와 같은 결과는 방사선 조사된 인삼의 유전독성학적 연구에서 안전성이 입증되었다는 보고(20)와 방사선 조사된 쇠고기(16,21), 닭고기(22), 생약재(17) 등이 유전독성학적 안전성 평가에서 안전성이 입증되었다는 보고와도 잘 일치하였다.

감사의 글

본 연구는 한경대학교 2000년도 학술연구조성비 지원에 의한 것임.

요 약

녹즙의 위생화와 저장·유통 안정성 확보를 위해 10 kGy 감마선 조사된 녹즙(돌미나리, 당근, 케일 및 신선초)의 유전독성학적 안전성 검증의 일환으로 *Salmonella typhimurium* 균주를 이용한 복귀돌연변이 실험과 *Escherichia coli* PQ37 균주를 이용한 SOS chromotest 및 CHL 세포를 이용한 염색체 이상시험을 수행하였다. 10 kGy로 감마선 조사된 녹즙은 위 세가지 *in vitro* 유전독성시험을 한 결과, 음성을 나타내었다. 결과적으로 10 kGy로 조사된 녹즙은 어떠한 돌연변이도 유발시키지 않았으며 감마선 조사된 녹즙이 *in vitro*에서 유전독성학적으로 안전하였다.

문 헌

1. Martens, B. and Knorr, D.: Developments of non thermal processes for food preservation. *Food Technol.*, **46**, 124-129 (1992)
2. Knorr, D.: Effects of high-hydrostatics pressure processes on food safety and quality. *Food Technol.*, **47**, 156-162 (1993)
3. Byun, M.W.: Application of irradiation techniques to food industry. *Radioisotope News*, **9**, 32-37 (1994)
4. Roberts, T. and Unnevehr, L.: New approaches to regulating food safety. *Food Rev.*, **17**, 2-8 (1994)
5. WHO: Wholesomeness of irradiated food. Report of a Joint FAO/IAEA/WHO Expert Committee. Tech. Rep. 651. World Health Org., Geneva (1981)
6. Codex Alimentarius Commission: Codex general standard for irradiated foods and recommended international code of practice for the operation of radiation facilities used for the treatment of foods. CAC/VOL. XV, FAO, Rome (1984)
7. WHO: Global health situation and projections estimates. World Health Organization, Geneva (1992)
8. WHO: Review of the safety and nutritional adequacy of irradiated food, WHO/HPP/FOS/92.2 (1992)
9. ICGFI: Summary report, Eleventh Meeting of the International Consultative Group on Food Irradiation. 2-4 Nov. 1994, FAO/IAEA/WHO (1994)
10. Kim, M.J., Kim, J.H., Yook, H.S., Lee, K.H. and Byun, M.W.: Sanitizing effect of γ -irradiation on fresh vegetable-extract juices. *J. Korean Soc. Food Nutr.*, **28**, 378-382 (1999)
11. Maron, D.M. and Ames, B.N.: Revised methods for the *Salmonella* mutagenicity test. *Mutat. Res.*, **113**, 173-215 (1983)
12. Quillardet, P. and Hofnung, M.: The SOS Chromotest, a colorimetric bacterial assay for genotoxins: procedures. *Mutat. Res.*, **147**, 65-78 (1985)
13. Ishidate, M. Jr., Sofuni, T. and Yoshikawa, K.: Chromosomal aberration tests *in vitro* as a primary screening tool for environmental mutagens and/or carcinogens. *GANN Monograph on Cancer Res.*, **27**, 95-107 (1981)
14. Dean, B.J. and Danford, N.: Assays for the detection of chemically-induced chromosome damage in cultured mammalian cells. In *Mutagenicity testing—a practical approach*, Venitt, S. and Parry, J.M. (eds.), IRL Limited, Oxford, England, p.187-232 (1984)
15. JEMS-MMS: Atlas of chromosome aberration by chemicals. Japanese environmental mutagen society-mammalian mutagenicity study group, Tokyo, Japan (1988)
16. Kang, I.J., Kwak, H.J., Lee, B.H. and Kim, K.H.: Genotoxicological and acute toxicological safeties of gamma irra-

- diated beef. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **30**, 775-780 (1998)
17. Jo, S.K., Yook, H.S. and Byun, M.W. : Genotoxicological safety of the gamma irradiated medicinal herbs in the *Salmonella typhimurium* reversion assay. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **26**, 958-964 (1997)
 18. Yook, H.S., Lee, E.M., Kim, D.H., Lee, K.H., Lee, H.J., Lee, Y.N. and Byun, M.W. : Genotoxicological safety on water-soluble fraction of gamma irradiated Korean soybean fermentation foods. *J. Food Hyg. Safety*, **15**, 297-303 (2000)
 19. Yook, H.S., Kim, D.H., Lee, J.W., Cha, B.S. and Byun, M.W. : Toxicological safety of gamma-irradiated Korean soybean fermentation foods by SOS Chromotest. *J. Food Hyg. Safety*, **16**, 133-138 (2001)
 20. 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, Y.M., 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)
 21. Mittler, S. : Failure of irradiated beef and ham to induce genetic aberrations in drosophila. *Int. J. Radiation Biology*, **35**, 583-588 (1979)
 22. Kang, I.J., Lee, Y.S., Lee, S.J., Yook, H.S. and Byun, M.W. : Four-week oral toxicity study of gamma irradiated chickens in mice. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **30**, 234-238 (2001)

(2001년 8월 30일 접수)