

감마선 조사된 과메기의 유전독성학적 안전성 평가

육홍선¹ · 정영진¹ · 송현파² · 이주운² · 변명우^{2*}

¹충남대학교 식품영양학과

²한국원자력연구소 방사선식품·생명공학연구팀

Genotoxicological Safety of Gamma-Irradiated *Kwamegi* (semi-dried *Colobabis seira*)

Hong-Sun Yook¹, Young-Jin Chung¹, Hyun-Pa Song², Ju-Woon Lee² and Myung-Woo Byun^{2*}

¹Dept. of Food and Nutrition, Chungnam National University, Daejeon 305-764, Korea

²Team for Radiation Food Science and Biotechnology, Korea Atomic Energy Research Institute, Daejeon 305-600, Korea

Abstract

Gamma irradiation at 5 and 10 kGy was applied to *Kwamegi* (semi-dried *Colobabis seira*) for their possible hygiene quality and carried out genotoxicological safety. *In vitro* genotoxicological safety of each 5 and 10 kGy-irradiated *Kwamegi* was evaluated by *Salmonella typhimurium* (TA98, TA100, TA1535 and TA1537) and *E. coli* WP2 uvrA reversion assay, SOS chromotest (*Escherichia coli* PQ37) and chromosome aberration test (Chinese hamster lung fibroblast cells) in the absence and presence of an exogenous metabolizing system (S9 mix). Gamma-irradiated samples were not different from nonirradiated-control to respective *in vitro* tests. And *in vivo* micronucleus test using ICR mice (male) micronucleus was not observed. *Kwamegi* exposed to 10 kGy-gamma ray revealed negative results in these three *in vitro* mutagenetic tests and *in vivo* micronucleus test up to 10,000 µg/plate, respectively. The results indicated that 5 and 10 kGy gamma-irradiated *Kwamegi* (semi-dried *Colobabis seira*) did not have mutagenicity.

Key words: *Kwamegi* (semi-dried *Colobabis seira*), gamma irradiation, Ames test, SOS chromotest, chromosome aberration test, micronucleus test

서 론

최근 식품의 과잉섭취에 따른 비만, 고혈압, 동맥경화 등의 각종 성인병의 발생빈도가 높아져 사회적 문제로 대두되고 있으며, 최근에는 국민들의 건강에 대한 관심이 높아짐과 더불어 이러한 각종 성인병의 예방에 효과가 있는 것으로 알려진 고도불포화지방산이 많이 함유되어 있는 해산어류에 대한 관심과 소비가 점차 증가하고 있다(1,2).

해산어류들 중에서 꾀치는 고등어, 방어, 정어리, 전갱어, 다랑어 등과 같이 흔히 등푸른 생선이라 불리며 특히 고도불포화지방산의 함량이 높은 것으로 알려져 있는데, 포항을 중심으로 한 경북 동해안 일대에서 예부터 꾀치나 청어같은 등푸른 생선을 동절기에 자연건조하여 과메기(*kwamegi*)라는 전통·향토식품의 하나로 시판하고 있으며, 독특한 풍미와 영양적 가치로 인하여 소비가 급격히 증가되고 있다. 동해안 일대의 전통·향토식품인 꾀치과메기는 꾀치(*Colobabis seira*)를 그늘진 곳에 걸어두고 통풍이 잘 되도록 하여 15일

이상 건조시킨 전통식품 중 하나이며, 수분함량은 약 40% 정도인 반건조 식품에 속한다. 또 과거 꾀치과메기의 소비는 포항지역을 중심으로 이루어졌으나, 최근 그 시장이 전국적으로 확대되고 있는 실정이다. 그러나, 꾀치과메기는 겨울철(12월~익년 2월)에만 생산되어 판매되므로 대량 생산 및 소비에 한계가 있으며, 더욱이 과메기의 생산방식이 재래식 방법으로 생산되기 때문에 병원성 미생물의 오염으로 인한 식중독 유발 가능성이 높아 꾀치과메기의 위생적 안전성을 위한 가공기술이 요구되고 있으나 현재까지 국내에서 꾀치과메기의 위생화와 관련된 연구는 전무한 실정으로 저장성 향상을 위한 연구가 시급히 필요한 시점이다.

한편, 식품에 대한 방사선 살균법은 감마선의 특징인 강력한 투과력에 의해 제품의 어떠한 완포장 형태라도 처리가 가능하여 살균처리 후 이차오염의 가능성이 없다. 또한 제품의 품질을 상승시키지 않는 냉온 살균법으로 가열처리가 불가능한 제품의 살균과 화학훈증제 처리와는 달리 유해성분의 잔류 및 독성이 없으며, 오염유기체의 살균, 살충이 확실

*Corresponding author. E-mail: mwbyun@kaeri.re.kr
Phone: 82-42-868-8060, Fax: 82-42-868-8043

하여 살균공정관리가 편리하고 정확하다는 것 등 많은 장점이 있다(3,4). 또 방사선을 조사한 식품의 건전성 혹은 안전성 문제는 이미 세계보건기구(WHO), 국제식량농업기구(FAO), 국제원자력기구(IAEA), 미국식품의약품국(FDA) 등 국제기관과 국제학술단체에서 식품의 보존·위생화 수단으로 그 건전성을 공인한 바 있다(5-9).

한편, 방사선 조사기술을 이용한 미생물학적, 이화학적 연구결과(10,11) 7~10 kGy가 가장 적절하고 효과적이라는 긍정적 보고가 있으나 지금까지 안전성 평가에 대한 결과는 아직 미비한 것으로 사료되어지고 있다. 이에 따라 본 실험에서는 *Salmonella typhimurium* 균주를 이용한 복귀돌연변이시험과 이 시험을 보완하기 위해 SOS chromotest를 실시하였다. SOS chromotest는 비록 식품내 일부 당 함량에 의해 영향을 받을 수도 있지만, 흡광도를 측정하여 판정하므로 객관성이 유지되며, DNA 손상을 주는 유전독성물질의 검색에 편리하게 이용될 뿐만 아니라 아미노산 등 외적요인의 방해를 받지 않으며 활성물질 검색시 대상물질이 소량 사용되는 잇점이 있으며 Ames test와 90% 이상의 높은 상관성을 나타내므로 최근 이용이 증가되고 있다(12). 따라서, 방사선 조사기술을 콩치과메기에 고선량으로 적용시켰을 때 안전성 평가의 일환으로 *in vitro* *Salmonella typhimurium* 균주를 이용한 복귀돌연변이시험과 *Escherichia coli* PQ37 균주를 이용한 SOS chromotest 및 CHL(Chinese hamster lung fibroblast) 세포를 이용한 염색체 이상시험과 *in vivo* 소핵세포실험을 수행한 결과를 보고한다.

재료 및 방법

시료 조제

콩치과메기는 2003년 1월에 음지에서 자연건조된 포항지역의 과메기 건조덕장으로부터 구입하였다. 껍질, 머리, 내장, 뼈, 꼬리 부위를 제거한 시료는 감마선 조사를 위하여 10마리씩 진공포장하여 감마선을 조사하였다. 시료의 방사선 조사는 한국원자력연구소내 감마선 조사시설(선원: Co-60, 10만 Ci)을 이용하여 실온에서 시간당 1 kGy의 선량율로 각각 20 kGy, 10 kGy의 총 흡수선량을 얻도록 하였다. 이 때 흡수선량을 확인하기 위하여 free radical dosimeter와 ceric cerous dosimeter를 이용하였으며 조사 후 흡수선량 오차는 ± 1.2 kGy 범위였다.

감마선 조사 및 비조사된 과메기를 시료무게의 3배에 해당하는 증류수 혹은 50% 메탄올을 넣어 mixer로 3분간 균질화하고, shaking incubator에서 4°C, 20 rpm으로 하룻밤 동안 추출한 후 10,000 rpm에서 30분간 원심분리하여 상층액을 취하였다. 이 조작을 3회 반복하여 얻은 상층액을 동결건조 혹은 감압농축한 후 실험에 사용하였다.

복귀 돌연변이 시험 및 균주

복귀 돌연변이 시험은 Maron과 Ames의 방법(13)에 준하

여 실시하였다. 사용에 앞서 필요시 *Salmonella typhimurium* LT2를 친주로 하는 *S. typhimurium* TA98, TA100, TA1535, TA1537 균주에 있어서는 균주의 유전자형 확인을 위해 histidine 요구성 여부, *uvr* B mutation 유지여부, R-factor 유지여부, *rfa* 돌연변이의 유지 여부, spontaneous revertant의 수 등을 확인하는 시험을 실시하였고 *Escherichia coli* WP2 *uvrA* 균주에 있어서는 tryptophan 요구성 여부, *uvrA* mutation 유지 여부, spontaneous revertant의 수 등을 확인하는 시험을 실시하였다.

본 시험에 사용된 *S. typhimurium* 균주는 Molecular Toxicology Inc.(USA)에서 구입하였고, *Escherichia coli* WP2 *uvrA* 균주는 Dr. M.H.L. Green(UK)으로부터 분양받았으며 형질을 확인한 후 한국화학연구소 안전성센터에서 계대 배양 중인 것을 시험에 사용하였다. 유전형질이 확인된 균주들을 nutrient broth에 접종, 배양하여 현탁액 1 mL당 DMSO(dimethylsulfoxide)를 90 μ L 가하여 냉동 보관용 시험관에 채워 드라이 아이스에서 동결시킨 후 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.)한 후 시험에 사용하였다.

대사활성계(S9 mix)와 양성대조물질의 조제

간 균질액(S9 fraction)은 Maron과 Ames의 방법(12)에 따라 조제한 것(단백질함량 22.5 mg/mL 함유, Oriental Yeast Co., Japan)을 사용하였다. S9 mix는 상기 S9 fraction과 시판 cofactor(Wako Co., Japan)로 조제하였다. S9 mix 1 mL 중의 조성은 MgCl₂·6H₂O 8 μ mol, KCl 33 μ mol, G-6-P 5 μ mol, NADPH 4 μ mol, NADH 4 μ mol, sodium phosphate buffer(pH 7.4) 100 μ mol 및 S9 fraction 45 μ L로 하여 단백질 함량을 1.6 mg/mL되게 조제하였다. 처리 농도는 0.5 mL/plate로 하였으며, S9 mix의 활성은 2-AA의 돌연변이 유발로 확인하였다.

양성 대조물질로 sodium azide(SA)는 증류수에 용해하였으며, 4-nitroquinoline-1-oxide(4-NQO), 9-aminoacridine(9-AA) 및 2-aminoanthracene(2-AA)는 DMSO에 용해하여 각 시험균주의 특성에 맞추어 사용하였다.

Plate의 제작, 배양 및 colony수 계수

시험물질의 처리는 각 농도군 당 3개 plate를 사용하여 direct plate incorporation 방법(12)으로 하였다. 시험균주들은 nutrient broth에 하룻밤 동안 배양하여 대수기(2×10^9 cells/mL)상태에 이르도록 전배양하였다. 최소배지(minimal glucose agar)는 agar와 Vogel-Bonner medium E 및 glucose를 함유한 것을 petri dish에 분주하여 사용하였으며, *E. coli*를 이용한 시험에는 위와 동일한 최소배지에 0.1% tryptophan액을 첨가한 후 사용하였다. Top agar는 agar와 NaCl을 넣어 조제하였으며, *S. typhimurium* 4개 균주용 top agar

에만 histidine-biotin을 첨가하였다. Top agar 2.0 mL에 시험물질 0.1 mL, 균주 배양액 0.1 mL 및 S-9 mixture(또는 증류수) 0.5 mL를 가하여 혼합한 후 최소배지에 부어 고화시킨 다음 37°C에서 48시간 동안 배양한 후 복귀돌연변이 집락수를 계수하였다. 음성 대조군은 각 증류수 100 µL, 그리고 양성 대조군은 대사활성계 미적용시 SA, 4-NQO 및 9-AA를, 대사활성계 적용시 2-AA를 각각 0.1 mL씩 가하여 같은 방법으로 실시하였다. 시험결과는 각 농도군 당 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.

돌연변이원성 시험

SOS chromotest는 Quillardet와 Hofnung의 방법(12)에 준하여 수행되었다. 즉 L medium에 5×10^8 CFU/mL농도로 배양된 종배양액을 2%(v/v)가 되도록 집중하여 37°C에서 약 2시간 진탕배양(5×10^1 CFU/mL)하였다. 직접변이원의 경우 L medium으로 10배(v/v) 희석된 균 부유액을, 간접변이원의 경우 S9 mix (B(a)P; 3%)에 10배(v/v) 희석된 균 부유액에 10배(v/v) 희석된 0.6 mL의 균 배양액을 분주하고 여기에 100 µg/assay의 시료를 혼합한 다음, 37°C에서 210 rpm으로 2시간 배양하였다. 이 때 첨가된 양성대조물질(돌연변이원)의 사용량은 dose response test를 실시하여 최적의 농도를 설정한 후 사용하였다.

시료 색소로 인한 흡수 spectrum 영향을 차단하기 위하여 배양액을 4°C에서 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(분)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 µm)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 µmol MgCl₂ · 6H₂O, 33 µmol KCl, 5 µmol G-6-P, 4 µmol NADPH, 4 µmol NADH, 100 µmol 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(14) 및 Dean과 Danford(15)의 방법을 참고해 이에 준하여 실시하였다. 먼저 세포농도는 2×10^4 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)을 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)관 '염색체이상 아틀라스(1988)'(16)에 따랐다. 이상은 염색체형 절단 및 교환과 염색분체형 절단 및 교환으로 대별해 계수하였으며, 이상을 가진 중기상(이상 중기상)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, 염색체 이상이 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 표시하였

다. 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 염색체이상인 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.

수컷 마우스(ICR) 골수세포를 이용한 복강투여 소핵시험 체중측정은 군분리시, 시험물질 투여시 및 부검시에 실시하고, 일반증상의 관찰은 부검 당일에 부검 전 외관 관찰을 실시하며 동물의 생존 여부를 확인하였다. 골수검체 제작은 Schmid(15)의 방법에 따랐다. 즉, 각 동물로부터 적출한 우측 대퇴골로부터 23개까지 주사침을 사용, 3 mL 우태아혈청(FBS, GibcoBRL)으로 골수를 씻어내려 현탁시킨 다음 1,000 rpm으로 5분간 원심분리하였다. 상등액을 제거한 후 침전된 골수 세포를 슬라이드글라스에 도말, 실온에서 충분히 건조시켜 메틸알콜에 5분간 담궈 고정하였다. 고정 및 건조가 끝난 검체는 may-grunwald 염색액 원액에서 3분, may-grunwald 염색액 : 희석액(1 : 1)에서 2분 또, giemsa 염색액 : 희석액(1 : 6)에서 10분간 순서대로 염색하여 1,000배의 배율로 검경하였다. 검체는 각 동물당 2매씩 제작하며, 염색 상태가 양호한 1매의 검체로부터 소핵을 계수하였다.

소핵의 빈도를 산출하기 위해 동물당 2,000개의 PCE(polychromatic erythrocyte, 다염성적혈구) 중 나타나는 MNPCE (micronucleated polychromatic erythrocyte, 소핵을 가진 다염성적혈구)의 수를 계수하였다. 계수시 세포 직경의 1/5~1/20의 크기로 주변 유허세포의 핵과 동일한 염색상을 나타내는 원형 내지 타원형 소체를 소핵으로 계수하였다. 소핵 출현 빈도는 개체당 2,000개의 PCE에서 관찰되는 MNPCE 수의 평균±표준편차로 나타내었다(17-19).

소핵의 유무에 상관없이 합계 200개의 PCE 및 NCE(normochromatic erythrocyte, 정염성적혈구)를 계수하여 PCE/(PCE+NCE) 비율 즉 총 적혈구 중 다염성적혈구의 비율을 산출해 세포독성의 지표로 하며, PCE의 수를 200으로 나눈 값으로 나타내었다.

생존한 동물의 총 적혈구 중 다염성적혈구의 비율이 모두 0.1 이상일 때 시험은 유효한 것으로 하며 각 동물로부터 얻은 기초자료에 대해 통계처리를 실시하여 투여군과 음성대조군의 차이를 검사하였다. 투여군에서의 MNPCE의 빈도가

통계학적으로 유의하며 용량의존적으로 증가하거나 하나 이상의 용량에서 재현성 있는 양성반응을 나타낼 경우 양성으로 판정하였다.

다음 방법으로 통계처리를 실시하고, 그 결과 $p < 0.05$ 인 경우에 통계학적 유의성이 있는 것으로 판정하였다. 소핵 유발 빈도에 있어서 음성대조군-시험물질 투여군들과의 비교에는 Kruskal-Wallis' H-test를 실시한 후 유의한 경우 Dunnett's test를 실시하였고, 여기서 유의한 경우에는 용량 상관성을 확인하기 위하여 SAS program을 이용한 Cochran-Armitage trend test를 실시하였다. 음성대조군-양성대조군의 비교에는 Mann-Whitney's U-test를 적용하였다. PCE/(PCE+NCE) 비율에 있어서 음성대조군-시험물질 투여군의 비교에 있어서는 각 개체로부터 얻은 비율의 root arcsin값을 취해 변수변환한 다음 ANOVA test를 실시, 유의한 경우 다중 비교법인 Dunnett's test를 실시하였다. 음성대조군-양성대조군의 비교에는 Student's t-test를 이용하였다(20). 모든 동물에 있어서 PCE/(PCE+NCE) 비율이 0.1 이상인 경우 시험이 타당한 것으로 하고 (21), MNPCE의 빈도가 통계학적으로 유의하며 용량의존적으로 증가하거나 하나 이상의 용량에서 재현성 있는 양성반응을 나타낼 경우 양성으로 판정하였다. 체중에 있어서는 부검시 각 개체의 체중에 대하여 ANOVA test를 실시하여 유의할 경우 Dunnett's test를 실시, 부검시 군간 차이를 조사하였다(22,23).

결과 및 고찰

과메기의 수득율

감마선 조사 및 비조사된 과메기의 수율은 Table 1과 같다. 비조사된 과메기는 물 또는 50% 메탄올 추출물의 경우 각각 13.91, 13.83%(w/w)였으나 감마선 조사된 시료는 5 kGy와 10 kGy가 각각 19.32, 15.07 및 21.80, 15.89%(w/w)인 것으로 보아 감마선 조사에 의해 물 및 메탄올 추출물 모두에서 수득율이 다소 증가되었고, 조사선량이 증가됨에 따라 물 추출물이 메탄올 추출물보다 다소 수득율이 높음을 알 수 있었다.

Ames test에 의한 감마선 조사된 과메기의 돌연변이 유발성

감마선 조사 및 비조사된 과메기의 현탁액을 첨가하였을 때 *Salmonella typhimurium* TA98, 100, 1535 및 1537과

Table 1. Yields of water soluble fraction and 50%-methanol soluble fraction extracted from irradiated and nonirradiated Kwamegi

Sample	Water soluble fraction (g/100 g)	50%-methanol soluble fraction (g/100 g)
0 kG	13.91	13.83
5 kG	19.32	15.07
10 kG	21.80	15.89

Escherichia coli WP2 uvrA 균주에 대한 복귀변이 집락수를 조사한 결과는 Table 2~4와 같다. 감마선 조사 및 비조사된 과메기의 예비시험결과에 따라 모든 시료는 최대 포화농도인 10,000 µg/plate를 최고 농도로 설정하여 실험을 수행하였고, 시험에 사용한 5개 균주의 생균수는 흡광도에 의한 측정 결과 $1.0 \sim 1.8 \times 10^9$ /mL로 적정 수준이었다. 각 시험에서 음성대조군의 복귀 돌연변이 집락수는 문헌치(13)의 범위 이내였으며 양성대조 화합물에 의해 복귀돌연변이 집락수가 현저히 증가하여 본 실험이 적합하게 행하여졌음을 알 수 있었다. 현재 판정기준은 식품의약품안전청 기준으로 대사활성계 유, 무에 관계없이 최소 1개 균주에서 평판당 복귀된 집락수에 있어서 1개 이상의 농도에서 재현성 있는 증가를 나타낼 때 양성으로 판정한다. 본 실험을 보면 먼저 대사활성 부재시의 경우, 감마선 조사한 과메기는 모든 시험균주에서 시험 적용 농도인 10,000 µg/plate 까지의 농도에서 복귀변이 집락수의 농도 의존적인 증가 혹은 감소를 보이지 않았으며 용매 대조구와 비교해서도 차이를 보이지 않았다.

대사활성계를 도입한 즉 S-9 mixture를 첨가한 상태에서도 역시 이들 시험물질에 대해 *S. typhimurium*을 이용한 복귀 돌연변이 시험을 수행한 결과에서도 각각의 시험적용 농도

에서 복귀변이 집락수의 증가를 보이지 않았다.

일반적으로 돌연변이원성의 판정은 음성대조구 복귀변이 집락수의 2배 이상인 경우를 양성으로 하므로 본 실험의 감마선 조사한 시료 및 조사하지 않은 시료에 대하여 전 시험적용농도에서 복귀변이를 유발하지 않은 것으로 보아 감마선 조사에 의한 돌연변이원성은 없는 것으로 판단되었다. 따라서 고선량으로 감마선 조사된 과메기 추출물이 직접변이원이나 간접변이원으로 작용하지 않음을 알 수 있었다. 이와 같은 결과는 유전독성학적 변이원성시험에서 쇠고기의 감마선 조사가 돌연변이를 유발하지 않았다는 Kang 등(24)의 결과와 감마선 조사한 생약재가 유전독성학적으로 안전하다는 Jo 등(25)의 보고와도 잘 일치하였다.

SOS chromotest에 의한 감마선 조사된 과메기의 돌연변이 유발능

감마선 조사 및 비조사된 과메기의 현탁액을 첨가하였을 때 *E. coli* PQ37에 대한 돌연변이 유발능을 조사한 결과는 Table 5와 같다. 각 시험에서 음성대조군의 IF값은 1.5이하였으며 양성대조 화합물에 의해 IF값이 현저히 증가하여 본 실험이 적합하게 행하여졌음을 알 수 있었다.

Table 2. Revertant colonies in *S. typhimurium* and *E. coli* WP2 uvrA reversion assay for nonirradiated-Kwamegi

Test material	Dose, (µg/plate)	S-9	No. of revertant colonies (His ⁺) per plate				
			TA98	TA100	TA1535	TA1537	<i>E. coli</i> WP2 uvrA
Water-fraction	10000	-	38±2 ¹⁾	207±13	43±6	12±3	17±2
	5000	-	33±8	190±9	45±1	8±4	6±3
	2500	-	24±3	163±3	33±7	7±2	10±2
	1250	-	23±7	170±21	31±10	7±1	9±5
	625	-	23±4	147±10	29±5	4±7	5±1
	10000	+	44±8	271±18	48±5	11±3	10±5
	5000	+	40±7	230±9	40±2	9±2	9±2
	2500	+	31±12	190±15	39±11	7±6	6±2
	1250	+	27±3	180±8	30±7	8±4	5±4
	625	+	20±2	157±19	27±3	6±5	6±1
Methanol-fraction	10000	-	44±7	215±7	34±2	10±3	9±4
	5000	-	36±2	159±2	24±6	9±2	6±1
	2500	-	34±15	190±17	24±9	8±5	7±2
	1250	-	32±6	181±15	17±13	9±1	7±1
	625	-	27±12	187±4	10±4	8±2	6±3
	10000	+	40±8	196±9	42±4	14±3	21±3
	5000	+	48±5	167±11	40±13	9±5	14±2
	2500	+	38±14	180±0	25±9	10±7	9±1
	1250	+	39±1	141±28	32±1	5±6	6±1
	625	+	27±5	161±12	18±0	7±5	8±1
H ₂ O	-	16±5	185±14	34±2	6±2	5±1	
H ₂ O	+	18±3	184±15	36±5	7±3	5±3	
4NQO ²⁾	0.5	-	1184±55			432±118	
SA	0.5	-		494±99	1233±36		
9-AA	50	-				984±134	
2-AA	2	+	1210±92	852±42			
2-AA	4	+			968±47	481±108	318±41

¹⁾Each value represents the mean±SD of three plates and expressed of revertant colonies per plate.

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

Table 3. Revertant colonies in *S. typhimurium* and *E. coli* WP2 uvrA reversion assay for 5 kGy gamma-irradiated *Kwamegi*

Test material	Dose. (µg/plate)	S-9	No. of revertant colonies (His ⁺) per plate				
			TA98	TA100	TA1535	TA1537	<i>E.coli</i> WP2 uvrA
Water-fraction	10000	-	49±5 ¹⁾	220±13	43±8	14±7	19±6
	5000	-	38±2	205±18	44±11	6±1	6±2
	2500	-	34±6	204±3	28±3	8±2	6±1
	1250	-	28±2	181±7	29±6	4±4	4±3
	625	-	20±9	160±5	18±4	7±2	9±1
	10000	+	36±10	209±9	39±4	13±6	18±2
	5000	+	30±7	211±8	46±10	8±6	9±4
	2500	+	32±12	194±10	27±8	7±1	2±5
	1250	+	30±3	170±26	32±14	5±3	4±1
	625	+	21±8	181±17	28±7	4±1	4±2
Methanol-fraction	10000	-	37±13	197±23	30±8	8±1	9±2
	5000	-	34±4	171±9	24±6	6±2	7±3
	2500	-	31±2	164±8	18±5	7±1	5±4
	1250	-	26±4	159±12	20±3	4±4	4±3
	625	-	19±6	146±5	15±1	5±2	7±3
	10000	+	46±3	213±16	43±9	10±6	16±5
	5000	+	40±2	208±10	49±7	7±3	10±1
	2500	+	32±4	201±9	31±4	9±1	6±1
	1250	+	24±5	194±2	24±9	6±8	11±2
	625	+	17±3	172±17	16±4	7±5	9±1
H ₂ O		-	16±5	185±14	34±2	6±2	5±1
H ₂ O		+	18±3	184±15	36±5	7±3	5±3
4NQO ²⁾	0.5	-	1184±55				432±118
SA	0.5	-		494±99	1233±36		
9-AA	50	-				984±134	
2-AA	2	+	1210±92	852±42			
2-AA	4	+			968±47	481±108	318±41

¹⁾Each value represents the mean±SD of three plates and expressed of revertant colonies per plate.

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

먼저 대사활성 부재시의 경우, 감마선 조사한 과메기의 물 혹은 용매분획 추출물은 시험적용 농도인 10,000 µg/ assay 까지의 농도에서 대조구와 유사한 범위의 IF값을 나타내었다. 또 대사활성제를 도입한 즉 S-9 mixture를 첨가한 상태에서 역시 이들 시험물질에 대해 SOS chromotest 결과 각각의 시험적용 농도에서 대조구와 방사선 조사구 모두 1.5이하의 유사한 IF값을 보였다. 전체적으로 IF값은 농도 의존적인 증가 혹은 감소를 보이지 않았으며 방사선 조사구의 경우 비조사 대조구와 비교해서도 차이를 보이지 않았다. 따라서 감마선 조사된 과메기의 SOS chromotest 실험결과 감마선 조사한 시료 및 조사하지 않은 시료에 대하여 전 시험적용농도에서 돌연변이를 유발하지 않는 것으로 보아 감마선 조사에 의한 돌연변이원성은 없는 것으로 판단되었으며, 따라서 고선량으로 감마선 조사된 과메기가 직접변이원이나 간접변이원으로 작용하지 않음을 알 수 있었다. 이와 같은 결과는 같은 유전독성학적 안전성 시험인 Ames test에서 본 실험 뿐만 아니라 방사선 조사된 장류가 돌연변이원성이 없었다는 보고(26)와 같은 결과를 나타내었고, 그 외 국내에서 수행된 방사선 조사된 백삼분말(27), 홍삼분말(28) 등이 유전독성학적 안전성 평가에서 안전성이 입증되었다는 보고와도 잘

일치하였다.

CHL 세포를 이용한 감마선 조사된 과메기의 염색체이상 시험

감마선 조사 및 비조사된 과메기의 현탁액을 첨가하였을 때 chinese hamster 유래 폐섬유아세포(CHL)를 이용하여 염색체이상시험을 수행한 결과는 Table 6, 7과 같다. 먼저 활성대사효소계 부재시의 경우, 6시간 처리군에 있어서 이상중기상 및 염색체이상의 빈도는 음성대조군, 15,000 µg/mL 처리군, 30,000 µg/mL 처리군 및 50,000 µg/mL 처리군 모두 0~5 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 관찰되었다(p<0.01).

24시간 처리군에 있어서 이상중기상 및 염색체이상의 빈도는 음성대조군, 15,000 µg/mL 처리군, 30,000 µg/mL 처리

Table 4. Revertant colonies in *S. typhimurium* and *E. coli* WP2 *uvrA* reversion assay for 10 kGy gamma-irradiated *Kwamegi*

Test material	Dose ($\mu\text{g}/\text{plate}$)	S-9	No. of revertant colonies (His^+) per plate				
			TA98	TA100	TA1535	TA1537	<i>E. coli</i> WP2 <i>uvrA</i>
Water-fraction	10000	-	46 \pm 8 ¹⁾	215 \pm 12	43 \pm 9	11 \pm 2	17 \pm 5
	5000	-	41 \pm 2	194 \pm 24	42 \pm 2	10 \pm 1	8 \pm 2
	2500	-	42 \pm 7	198 \pm 7	38 \pm 7	10 \pm 3	5 \pm 3
	1250	-	34 \pm 3	186 \pm 6	27 \pm 3	8 \pm 1	5 \pm 3
	625	-	26 \pm 4	151 \pm 28	14 \pm 5	7 \pm 2	5 \pm 1
	10000	+	40 \pm 6	215 \pm 15	38 \pm 7	10 \pm 5	11 \pm 1
	5000	+	37 \pm 7	218 \pm 3	27 \pm 9	9 \pm 2	10 \pm 2
	2500	+	29 \pm 4	198 \pm 11	29 \pm 11	8 \pm 1	9 \pm 3
	1250	+	26 \pm 1	176 \pm 21	24 \pm 1	9 \pm 4	7 \pm 0
	625	+	20 \pm 4	180 \pm 7	26 \pm 2	8 \pm 1	6 \pm 2
Methanol-fraction	10000	-	33 \pm 2	199 \pm 6	30 \pm 3	8 \pm 2	9 \pm 0
	5000	-	31 \pm 2	208 \pm 17	24 \pm 2	6 \pm 4	7 \pm 2
	2500	-	27 \pm 4	179 \pm 5	18 \pm 5	7 \pm 3	5 \pm 1
	1250	-	20 \pm 9	180 \pm 18	20 \pm 4	4 \pm 2	4 \pm 3
	625	-	26 \pm 1	166 \pm 10	15 \pm 2	5 \pm 2	7 \pm 0
	10000	+	46 \pm 5	213 \pm 16	43 \pm 10	10 \pm 2	16 \pm 5
	5000	+	40 \pm 3	208 \pm 31	49 \pm 8	7 \pm 1	10 \pm 2
	2500	+	32 \pm 7	201 \pm 14	31 \pm 7	9 \pm 2	6 \pm 3
	1250	+	24 \pm 1	194 \pm 19	24 \pm 12	6 \pm 3	11 \pm 4
	625	+	17 \pm 2	172 \pm 5	19 \pm 3	7 \pm 2	9 \pm 2
H ₂ O		-	16 \pm 5	185 \pm 14	34 \pm 2	6 \pm 2	5 \pm 1
H ₂ O		+	18 \pm 3	184 \pm 15	36 \pm 5	7 \pm 3	5 \pm 3
4NQO ²⁾	0.5	-	1184 \pm 55				432 \pm 118
SA	0.5	-		494 \pm 99	1233 \pm 36		
9-AA	50	-				984 \pm 134	
2-AA	2	+	1210 \pm 92	852 \pm 42			
2-AA	4	+			968 \pm 47	481 \pm 108	318 \pm 41

¹⁾Each value represents the mean \pm SD of three plates and expressed of revertant colonies per plate.

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

균 및 50,000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 처리균 모두 0~3 범위였으며, 시험물질을 처리한 모든 균에서 이상중기상의 빈도는 음성대조군에 비해 통계학적으로 유의한 증가를 나타내지 않았다. 음성대조군의 polyploid의 빈도는 0~1 범위였으며 핵내배화는 관찰되지 않았다. 시험물질 처리균의 polyploid 및 핵내배화 빈도는 음성대조군에 비해 통계학적으로 유의한 증가를 보이지 않았다. 한편 양성대조군에서는 이상중기상의 빈도에서 통계학적으로 유의하며 확실한 증가가 관찰되었다($p < 0.01$).

활성대사효소계 도입시의 경우, 이상중기상 및 염색체 이상의 빈도는 음성대조군, 15,000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 처리균, 30,000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 처리균 및 50,000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 처리균 모두 0~4 범위였으며, 시험물질을 처리한 모든 균에서 이상중기상의 빈도는 음성대조군에 비해 통계학적으로 유의적인 증가를 나타내지 않았다. 또, 음성대조군의 polyploid의 빈도는 0이었고, 시험물질 처리균의 polyploid 및 핵내배화 빈도는 음성대조군에 비해 통계학적으로 유의한 증가를 보이지 않았다. 한편 양성대조군에서는 이상중기상의 빈도에서 통계학적으로 유의하며 확실한 증가가 관찰되었다($p < 0.01$).

포유동물 배양세포계를 이용한 염색체 이상시험에서 염

색체 이상의 출현은 화학물질과 세포와의 반응결과 생긴 유전물질의 상해가 클 경우, 완전히 회복되지 않고 남아 세포 분열에 지장을 줄 뿐만 아니라 세포에 치명적인 요인이 되기도 한다. 본 시험법은 배양세포에서의 염색체 이상의 검출을 목적으로 하는 시험계로서 통상적으로 시험물질처리 후 최초의 유사분열시에 세포를 분석한다.

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

따라서 10 kGy의 고선량으로 감마선 조사된 과메기는 *in vitro* 및 *in vivo*에서 유전독성학적 안전성 평가 결과 돌연변이원성이 없음을 확인할 수 있었다. 이와 같은 결과는 방사선 조사된 인삼의 유전독성학적 연구에서 안전성이 입증되었다는 보고(27)와 방사선 조사된 녹즙이 유전독성학적 안전성 평가에서 안전성이 입증되었다는 보고(29)와도 잘 일치하였다.

Table 5. SOS induction in *E. coli* PQ37 by *Kwamegi* in the absence and presence of an exogenous metabolizing system

Test material	µg/assay	S-9 mix	β-gal ¹⁾ (unit)	ap ²⁾ (unit)	Ratio	IF ³⁾	S-9 mix	β-gal (unit)	ap (unit)	Ratio	IF
H ₂ O		-	3.19	14.34	0.22	1.00	+	4.01	15.43	0.26	1.00
0 kGy	10000	-	3.49	12.07	0.29	1.30	+	5.03	15.52	0.26	1.25
	5000	-	3.57	12.12	0.29	1.32	+	5.16	18.00	0.29	1.10
	1250	-	3.80	13.20	0.29	1.29	+	4.46	14.74	0.30	1.16
	625	-	3.45	12.71	0.27	1.22	+	4.12	15.64	0.26	1.02
	323	-	3.78	13.71	0.28	1.24	+	4.52	15.06	0.30	1.16
5 kGy	10000	-	4.32	15.40	0.28	1.26	+	4.56	14.16	0.32	1.24
	5000	-	4.20	14.20	0.30	1.33	+	4.74	15.74	0.30	1.16
	1250	-	4.06	13.87	0.29	1.32	+	4.40	14.96	0.29	1.13
	625	-	3.77	12.66	0.30	1.34	+	4.44	15.38	0.29	1.11
	323	-	3.65	13.39	0.27	1.22	+	4.65	16.34	0.28	1.10
10 kGy	10000	-	4.35	15.07	0.29	1.30	+	4.84	17.82	0.27	1.05
	5000	-	4.16	18.87	0.22	0.99	+	3.82	15.74	0.24	0.93
	1250	-	4.01	13.98	0.29	1.29	+	4.17	15.34	0.27	1.05
	625	-	3.79	13.28	0.29	1.28	+	4.57	17.34	0.26	1.01
	323	-	3.41	13.47	0.25	1.14	+	4.66	15.80	0.29	1.14
DMSO		-	2.93	11.07	0.27	1.00	+	2.56	12.47	0.21	1.00
0 kGy	10000	-	3.85	10.24	0.37	1.40	+	2.61	13.48	0.21	0.94
	5000	-	3.47	10.49	0.33	1.25	+	4.10	18.96	0.22	1.05
	1250	-	3.53	10.00	0.35	1.33	+	3.38	15.92	0.21	1.03
	625	-	3.87	12.07	0.32	1.21	+	3.15	15.67	0.20	0.98
	323	-	2.92	8.32	0.35	1.32	+	3.37	14.13	0.24	1.16
5 kGy	10000	-	3.47	9.73	0.36	1.35	+	4.52	19.12	0.24	1.15
	5000	-	3.21	9.38	0.34	1.29	+	3.20	13.94	0.23	1.12
	1250	-	3.23	10.19	0.32	1.20	+	3.47	14.13	0.25	1.19
	625	-	3.22	10.33	0.31	1.18	+	3.08	14.20	0.22	1.06
	323	-	3.27	10.60	0.31	1.16	+	3.56	15.46	0.23	1.12
10 kGy	10000	-	5.06	14.40	0.35	1.33	+	5.85	25.24	0.23	1.13
	5000	-	3.84	12.51	0.31	1.16	+	4.61	21.98	0.21	1.02
	1250	-	3.87	12.27	0.32	1.19	+	5.00	20.58	0.24	1.18
	625	-	3.18	9.50	0.33	1.26	+	4.18	17.60	0.24	1.16
	323	-	3.22	9.66	0.33	1.26	+	3.88	16.80	0.23	1.12
4-NQO ⁴⁾		-	10.33	11.64	0.89	6.49	+				
B(α)P ⁵⁾								17.00	11.64	1.46	5.51

¹⁾β-gal: β-galactosidase. ²⁾Ap: Alkaline phosphatase. ³⁾IF: Induction factor.

⁴⁾4-NQO: 4-nitroquinoline-N-oxide. ⁵⁾B(α)P: Benzo(α)pyrene.

수컷마우스(ICR) 골수세포를 이용한 경구투여 소핵시험
 감마선 조사된 과메기의 유전독성학적 안전성을 평가하
 고자 마우스 골수세포를 이용한 소핵시험을 실시하였다. 약
 7주령의 수컷 마우스에 감마선 비조사 혹은 조사된 과메기
 추출물을 10,000 µg/kg의 용량으로 단회 경구투여하고, 투여
 후 약 24시간에 골수세포를 수거하여 소핵 유발과 세포독성
 을 평가하였다.

일반증상을 보면 모든 시험군에서 부검 당일까지 사망 동
 물은 없었다. 체중은 각 군의 부검시 체중을 비교한 결과는
 Table 8과 같다. 즉, 감마선 비조사 혹은 조사된 과메기 추출
 물 투여군 모두 평균 체중 약 33~34 g을 유지하였고 약간의
 증가 혹은 감소의 경향은 있었으나 통계학적인 유의성은 없
 었다.

한편, 소핵 유발빈도 및 세포독성에 관한 결과는 Table
 9와 같다. 개체당 2,000개의 PCE에서 관찰된 소핵을 가진

PCE의 빈도는 음성대조군, 10,000 µg/kg 투여군, 및 양성대
 조군의 순으로 평균 1.00, 1.25 및 25.5였다. 시험물질 투여군
 의 소핵 빈도에 대하여 음성대조군과의 차이를 조사한 결과
 어느 투여군에서도 통계학적으로 유의한 증가는 나타나지
 않았다. 한편 양성대조군에서는 소핵 빈도에서 음성대조군
 에 비해 통계학적으로 유의하며 현저한 증가가 나타났다(p
 <0.01). 세포독성의 지표인 PCE/(PCE+NCE) 비율은 위와
 같은 순서로 평균 0.25, 0.29 및 0.23이었으며, 어느 투여군에
 서도 음성대조군에 비해 통계학적인 차이는 없었다.

본 시험에 적용한 용량범위 내에서 개체당 2,000개의 PCE
 를 대상으로 소핵을 계수한 결과 시험물질을 투여한 어느
 투여군에서도 음성대조군에 비해 통계학적으로 유의한 증
 가를 나타내지 않았다. 세포독성의 지표인 PCE/(PCE+NCE)
 비율은 시험물질을 투여한 모든 군에서 평균 0.25 이상이었
 고, 시험물질을 투여한 모든 투여군에서 음성대조군에 비해

Table 6. The chromosome aberrations in cultured CHL cells treated with water fraction of *Kwamegi*

Test material	Treatment			Abnormalities ¹⁾					Aberrant metaphases	Total aberrations
	Dose (µg/plask)	Times (hours)	S-9 mix	CsB	CsE	CtB	CtE	Other PP+ER		
Control	-	6	-	1	0	3	0	0	4	4
	-	24	-	0	0	1	0	0	1	1
	-	6	+	0	0	4	0	0	4	3
0 kGy	50,000	6	-	0	0	1	0	0	1	1
	30,000	6	-	0	0	3	0	0	3	3
	15,000	6	-	0	0	1	0	0	1	1
	50,000	24	-	0	0	2	0	0	2	2
	30,000	24	-	1	0	0	0	1	2	2
	15,000	24	-	0	0	0	0	0	0	0
	50,000	6	+	1	0	3	0	1	5	5
	30,000	6	+	0	0	2	0	0	2	2
	15,000	6	+	0	0	1	0	0	1	1
10 kGy	50,000	6	-	0	0	3	0	0	3	3
	30,000	6	-	1	0	0	1	0	2	2
	15,000	6	-	0	0	1	0	0	1	1
	50,000	24	-	1	0	2	0	0	3	3
	30,000	24	-	0	0	2	0	0	2	2
	15,000	24	-	0	0	1	0	0	1	1
	50,000	6	+	1	0	2	0	0	3	3
	30,000	6	+	0	0	0	1	0	1	1
	15,000	6	+	1	0	2	0	0	3	3
EMS	400	6	-	16	0	0	48	1	46	65
	300	24	-	18	0	32	6	2	46	58
CPA	50	6	+	8	0	43	25	5	50	81

¹⁾CsB: Chromosome break, CsE: Chromosome exchange, CtB: Chromatid break, CtE: Chromatid exchange, PP: Polyploid, ER: Endoreduplication.

Table 7. The chromosome aberrations in cultured CHL cells treated with methanol fraction of *Kwamegi*

Test material	Treatment			Abnormalities ¹⁾					Aberrant metaphases	Total aberrations
	Concentration (µg/plask)	Times (hours)	S-9 mix	CsB	CsE	CtB	CtE	Other PP+ER		
Control	-	6	-	1	0	3	0	0	4	4
	-	24	-	0	0	1	0	0	1	1
	-	6	+	0	0	4	0	0	4	3
0 kGy	50,000	6	-	0	0	4	0	0	3	4
	30,000	6	-	0	0	1	0	0	1	1
	15,000	6	-	1	0	1	0	1	3	3
	50,000	24	-	1	0	3	0	0	4	4
	30,000	24	-	1	0	0	0	0	1	1
	15,000	24	-	0	0	1	0	0	1	1
	50,000	6	+	0	0	0	1	1	2	2
	30,000	6	+	1	0	0	0	0	1	1
	15,000	6	+	0	0	2	0	0	2	2
10 kGy	50,000	6	-	0	0	2	1	1	4	4
	30,000	6	-	1	0	1	0	0	2	2
	15,000	6	-	0	0	1	0	0	1	1
	50,000	24	-	0	0	1	0	1	2	2
	30,000	24	-	0	0	1	0	0	1	1
	15,000	24	-	0	0	2	0	0	2	2
	50,000	6	+	0	0	3	0	0	3	3
	30,000	6	+	2	0	0	1	0	3	3
	15,000	6	+	1	0	3	0	0	4	4
EMS	400	6	-	16	0	0	48	1	46	65
	300	24	-	18	0	32	6	2	46	58
CPA	50	6	+	8	0	43	25	5	50	81

¹⁾CsB: Chromosome break, CsE: Chromosome exchange, CtB: Chromatid break, CtE: Chromatid exchange, PP: Polyploid, ER: Endoreduplication.

Table 8. Micronucleus test of irradiated Kwamegi by male ICR mice (p.o)

Test materials	Dose (µg/kg)	No. of animal	MNPCE ^{2)/} 2000 PCE's	PCE ^{3)/} (PCE+NCE) ⁴⁾
H ₂ O	0	6	1.00±0.82 ⁵⁾	0.24±0.03
0 kGy	1000	6	1.00±0.58	0.25±0.09
10 kGy	1000	6	1.25±1.53	0.29±0.08
CPA ¹⁾	30	6	25.5±5.20 ^a	0.23±0.07

¹⁾CPA: Cyclophosphamide·H₂O (Positive control).

²⁾MNPCE: PCE with one or more micronuclei.

³⁾PCE: Polychromatic erythrocyte.

⁴⁾NCE: Normochromatic erythrocyte.

⁵⁾Values are mean±SD.

^{a)}Significantly different from the control at p<0.05.

Table 9. Body weights of male ICR mice (p.o) tested

Test materials	Dose (µg/kg)	Body weights (mean±SD) at the time of	
		Administration (No. of animal)	Sacrifice (No. of animal)
H ₂ O	0	33.25±2.15 (6)	33.28±1.99 (6)
0 kGy	1000	34.13±1.47 (6)	34.37±1.92 (6)
10 kGy	1000	33.28±1.33 (6)	33.28±1.73 (6)
CPA ¹⁾	30	33.78±1.59 (6)	33.51±1.52 (6)

¹⁾CPA: Cyclophosphamide·H₂O (Positive control).

통계학적으로 유의적인 감소를 나타내지 않았다.

이상의 결과는 양성판정기준을 만족시키지 못하였으며, 따라서 감마선 조사된 과메기는 본 시험조건 하에서 마우스 골수 세포에 소핵을 유발하지 않는 것으로 사료된다.

감사의 글

본 연구는 과학기술부의 원자력연구개발사업의 일환으로 수행되었으며, 그 지원에 감사드립니다.

요 약

과메기의 위생화를 위한 방사선 조사기술의 이용 가능성을 검토할 목적으로 방사선 조사를 실시한 후 독성학적 안전성 실험인 *in vitro* Ames test, SOS chromotest 및 CHL 세포를 이용한 염색체 이상시험과 ICR 수컷 마우스를 이용한 *in vivo* 소핵세포실험을 실시하였다. 감마선 조사 및 비조사된 과메기의 *Salmonella typhimurium*(TA98, TA100, TA1535, TA1537)과 *Escherichia coli* WP2 uvrA 균주에 대한 복귀변이 집락수 시험, SOS chromotest(*Escherichia coli* PQ37) 시험 및 CHL 세포를 이용한 염색체 이상시험을 수행한 결과, 물추출물과 용매추출물 및 대사활성계 도입 혹은 부재시 모두, 모든 시험균주에서 시험적용 농도인 10,000 µg/plate까지의 농도에서 감마선 조사된 시료는 비조사된 시료와 같이 음성을 나타내었다. 또, 감마선 조사 및 비조사된 과메기의 *in vivo* 소핵세포실험에서도 소핵이 발견되지 않았다. 따라

서, 10 kGy까지 고선량 감마선 조사된 과메기는 위 수행된 *in vitro* 및 *in vivo* 유전독성시험을 실시한 결과 음성을 나타낸 것으로 보아 유전독성학적으로 돌연변이원성이 없음을 확인할 수 있었다.

문 헌

- Huh KB. 1990. The present status of nutrition-related diseases and its countermeasures. *Korean J Nutrition* 23: 197-207.
- Uhei N, Sumiko K, Kunitoshi S. 1990. Effect of Pacific saury (*Cololabis saira*) on serum cholesterol and component fatty acid in humans. *Eiyogaku Zasshi* 48: 233-237.
- Byun MW. 1994. Application of irradiation techniques to food industry. *Radioisotope News* 9: 32-37.
- Roberts T, Unnevehr L. 1994. New approaches to regulating food safety. *Food Rev* 17: 2-8.
- WHO. 1981. Wholesomeness of irradiated food. Report of a Joint FAO/IAEA/WHO Expert Committee. Tech. Rep. 651. WHO, Geneva.
- Codex Alimentarius Commission. 1984. 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.
- World Health Organization. 1992. Global health situation and projections estimates. WHO, Geneva.
- World Health Organization. 1992. Review of the safety and nutritional adequacy of irradiated food, WHO/HPP/FOS/92.2.
- ICGFI. 1994. Summary report, Eleventh Meeting of the International Consultative Group on Food Irradiation. 2-4 Nov. 1994, FAO/IAEA/WHO.
- Cho KH, Lee JW, Kim JH, Ryu GH, Yook HS, Byun MW. 2000. Improvement of the hygienic quality and shelf-life of Kwamegi from *Cololabis seira* by gamma irradiation. *Korean J Food Sci Technol* 32: 1102-1106.
- Kim DJ, Lee JW, Cho KH, Yook HS, Byun MW. 2000. Quality properties of gamma irradiated Kwamegi (semi-dried *Cololabis seira*). *Korean J Food Sci Technol* 32: 1128-1134.
- Quillardet P, Hofnung M. 1985. The SOS Chromotest, a colorimetric bacterial assay for genotoxins: procedures. *Mutation Res* 147: 65-78.
- Maron DM, Ames BN. 1983. Revised methods for the *Salmonella* mutagenicity test. *Mutat Res* 113: 173-215.
- Ishidate MJr, Sofuni T, Yoshikawa K. 1981. Chromosomal aberration tests *in vitro* as a primary screening tool for environmental mutagens and/or carcinogens. *GANN Monograph on Cancer Res* 27: 95-107.
- Dean BJ, Danford N. 1984. Assays for the detection of chemically-induced chromosome damage in cultured mammalian cells. In *Mutagenicity testing—a practical approach*. Venitt S, Parry JM, ed. IRL Limited, Oxford, England. p 187-232.
- JEMS-MMS. 1988. Atlas of chromosome aberration by chemicals, Japanese environmental mutagen society-mammalian mutagenicity study group, Tokyo, Japan.
- 식품의약품안전청. 1998. 고시 제1998-17호 (1998년 4월 16일), 의약품안전성시험관리기준.
- 식품의약품안전청. 1999. 고시 제 1999-61호 (1999년 12월 22일), 의약품 등의 독성시험기준.
- 국립환경연구원. 1998. 고시 제 1998-41호 (1998년 12월 23일), 화학물질 유해성시험연구기관의 지정 등에 관한 규정.

20. Lovell DP, Anderson D, Albanese R, Amphlett GE, Clare G, Ferguson R, Richold M, Papworth DG, Savage JRK. 1989. Statistical analysis on *in vivo* cytogenetic assays. In *Statistical evaluation of mutagenicity test data*. Kirkland DJ, ed. Cambridge University Press, Cambridge, UK. p 184-232.
21. Heddle JA, Stuart E, Salamone MF. 1984. The bone marrow micronucleus test. In *Handbook of mutagenicity test procedures*. 2nd ed. Kilbey BJ, Legator M, Nichols W, Ramel C, eds. Elsevier Science Publishers BV, UK. p 441-457.
22. SAS Institute. 1989. *SAS/STAT User's Guide*. Version 6, 4th ed. Cary, NC., USA. Vol 1.
23. SAS Institute. 1989. *SAS/STAT User's Guide*. Version 6, 4th ed. Cary, NC., USA. Vol 2.
24. Kang IJ, Kwak HJ, Lee BH, Kim KH, Byun MW, Yook HS. 1998. Genotoxicological and acute toxicological safeties of gamma irradiated beef. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 30: 775-780.
25. Jo SK, Yook HS, Byun MW. 1997. Genotoxicological safety of the gamma-irradiated Korean red ginseng *In vitro*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 26: 958-964.
26. Yook HS, Lee EM, Kim DH, Lee KH, Lee HJ, Lee YN, Byun MW. 2000. Genotoxicological safety on water-soluble fraction of gamma irradiated Korean soybean fermentation foods. *J Food Hyg Safety* 15: 297-303.
27. Ha KW, Jung HK, Oh HY, Heo OS, Sohn SJ, Han ES, Jung SC, Choi BY, Kim YM, Kim PS, Moon HH. 1994. Studies on the genotoxicity of the gamma-irradiated *Panax Ginseng Radix in vitro* and *in vivo*. *J Food Hyg Safety* 9: 67-74.
28. Jo SK, Yook HS, Byun MW. 1996. Genotoxicological safety of the gamma-irradiated Korean red ginseng *in vitro*. *J Korean Soc Food Nutr* 25: 491-496.
29. Lee HJ, Kang KW, Yook HS. 2001. *In vitro* genotoxicological safety of fresh vegetable-extract juice by gamma irradiation. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 30: 1227-1236.

(2003년 7월 25일 접수; 2003년 11월 12일 채택)