

糖 분해생성물의 돌연변이원성 억제작용

김선봉 · 김인수 · 염동민 · 박영호
부산수산대학 식품공학과

Desmutagenic Action of Sugar Degradation Products

Seon-Bong Kim, In-Soo Kim, Dong-Min Yeum and Yeung-Ho Park
Department of Food Science and Technology, National Fisheries University of Pusan, Pusan

Abstract

The desmutagenic effects of α -hydroxycarbonyl compounds, such as glyceraldehyde, glycolaldehyde, dihydroxyacetone, furfural, 5-hydroxymethylfurfural, maltol, acetol and acetoin and α -dicarbonyls, such as diacetyl, glyoxal, methyl glyoxal and 2, 3-pentanedione were investigated against the mutagenic heterocyclic amines, such as Trp-P-1, Trp-P-2, Glu-P-1, Glu-P-2 and IQ. Most of the carbonyl compounds suppressed the mutagenicity of heterocyclic amines for *S. typhimurium* TA98, α -dicarbonyl compounds showing a higher desmutagenic effect than α -hydroxycarbonyl compounds. Among the α -hydroxycarbonyl compounds, glyceraldehyde, glycolaldehyde and dihydroxyacetone showed more effective desmutagenicity, and diacetyl among the α -dicarbonyl compounds had the highest desmutagenic effect. These carbonyl compounds alone also showed mutagenicity to *S. typhimurium* TA100 without S-9 mix. The reaction of carbonyl compounds with mutagenic heterocyclic amines also eliminated the mutagenicity of the former for *S. typhimurium* TA100.

서 론

식품중에는 인체에 장기독성 내지는 만성독성을 유발하는 돌연변이원성물질들을 비롯하여 이들 돌연변이원성을 억제하는 물질 또한 존재한다. 특히, Sugimura 등⁽¹⁾은 어육 또는 축육을 가열조리할 때 접게 탄 부분에 강력한 돌연변이원성물질이 존재한다고 밝혀서 크게 주목을 끌었는데, 그 후 여러 연구자들⁽²⁻⁵⁾에 의하여 이는 육중에 존재하는 아미노산 및 단백질의 가열분해로 생성되는 Trp-P-1, Trp-P-2, Glu-P-1, Glu-P-2 및 IQ* 등이 주요원인 물질이라고 밝혀졌다. 이들 중 Trp-P-1, Trp-P-2 등은 200°C 이상의 가혹한 가열조건에서 생성되지만, IQ 등은 130°C 정도의 비교적 온화한 가열·조리 조건하에서도 Maillard 반응에 의하여 용이하게 생성된

다⁽⁴⁾. 이들 물질의 발암성은 Matsukura 등⁽⁶⁾과 Okamoto 등⁽⁷⁾에 의하여 입증되었다.

이와같이 어육 및 육류를 가열·조리할 때 강력한 돌연변이원성물질이 생성되고 또한 돌연변이원성과 발암성 품종에 존재하는 돌연변이원성물질을 효과적으로 분해 또는 억제시키는 돌연변이원성 억제인자를 검색하는 것이야말로 식품의 안전성 측면으로 보아 중요하다고 하겠다. 그 일환으로 Kada 등⁽⁸⁾은 야채추출물에, Arimoto 등⁽¹⁰⁾은 포르피린 화합물에 각각 돌연변이원성 억제효과가 있다고 보고하고 있으나 효과적인 억제기구는 제시되지 못하고 있다.

저자들⁽¹¹⁻¹³⁾은 식품의 가열·조리중 Maillard 반응에

*Trp-P-1; 3-amino-1,4-dimethyl-5H-pyrido(4,3-b)indole, Trp-P-2; 3-amino-1-methyl-5H-pyrido(4,3-b)indole, Glu-P-1; 2-amino-6-methyldipyrido(1,2-a:3',2',-d)imidazole, Glu-P-2; 2-aminodipyrido-(1,2-a:3',2',-d)imidazole, IQ; 2-amino-3-methylimidazo(4,5-f)quinoline

의하여 용이하게 생성되는 고분자 갈색색소인 melanoidin 의 돌연변이원성 억제기구를 밝히고, 여기에는 melanoidin 분종의 카르보닐기가 크게 관여한다는 것이 입증되었다.

따라서, 본 연구에서는 식품의 가공, 저장 및 조리중에 식품성분간의 상호작용에 의하여 당의 분해로 생성되는 각종 카르보닐화합물을 직접 사용하여 Trp-P-1, Trp-P-2, Glu-P-1, Glu-P-2 및 IQ 등의 돌연변이원성물질에 대한 돌연변이원성 억제작용을 연구·검토하였다.

재료 및 방법

실험재료

Diacetyl, methyl glyoxal(40% 수용액), 2, 3-pentanedione, glyceraldehyde, dihydroxyacetone 및 5-hydroxymethylfurfural(HMF)는 Nakarai chem. (Tokyo)에서 glycolaldehyde는 Sigma chem. (U.S.A.)에서 furfural, acetol, acetoin 및 maltol은 Tokyo Kasei (Tokyo)에서 각각 구입하여 공시하였다. 또한, Trp-P-1, Trp-P-2, Glu-P-1, Glu-P-2 및 IQ는 Wako pure chem. (Tokyo)에서 S-9, NADP, NADPH, ATP, glucose-6-phosphate 및 glucose-6-phosphate dehydrogenase는 Oriental Yeast Co. (Tokyo)에서 각각 구입하여 공시하였다.

돌연변이원성시험

돌연변이원성시험은 Ames 등⁽¹⁴⁾의 방법을 개량한 Yahagi 등⁽¹⁵⁾의 preincubation법에 따라 S-9 20 μ l를 함유하는 S-9 mix 존재하에서 *Salmonella typhimurium* TA98을 사용하여 행하였다. Preincubation에 앞서서, 0.37 nmol Trp-P-1, 0.39 nmol Trp-P-2, 0.40 nmol Glu-P-1, 4.53 nmol Glu-P-2 및 0.02 nmol IQ를 함유하는 각 수용액 150 μ l을 4.44 μ mol α -hydroxycarbonyl 화합물 및 1.05 μ mol α -dicarbonyl 화합물과 각각 121°C 및 37°C에서 20분간 반응시켰다. 그 후 반응용액을 100 μ l 취하여 돌연변이원성시험에 공시하였다. 반응전의 용액의 pH는 7.0이었다.

돌연변이원성 억제효과는 카르보닐화합물 첨가 전후의 돌연변이원성물질이 나타내는 돌연변이원성의 백분율로써 나타내었다. 돌연변이원성 표준물질로서 benzo(a)pyrene 과 AF-2¹(2-(2-furyl)-3-(5-nitrofuryl)

-acrylamide)를 사용하였다.

결 과

열균조건하에서의 돌연변이원성 억제효과

레토르트내에서의 식품의 가열살균조건 (121°C, 15분)으로 Trp-P-1, Trp-P-2, Glu-P-1, Glu-P-2 및 IQ를 카르보닐화합물과 각각 작용시킨 결과를 Table 1 및 2에 나타내었다.

그 결과, α -hydroxycarbonyl 화합물중에서는 glyceraldehyde, glycolaldehyde 및 dihydroxyacetone이 다른 카르보닐화합물 보다 돌연변이원성 억제효과가 우수한 것으로 나타났다 (Table 1). 그 반면에 acetol, acetoin, furfural, HMF 및 maltol 등은 다소 그 효과가 저조한 것으로 나타났다.

한편, α -dicarbonyl 화합물중에서는 diacetyl, 2, 3-pentanedione, methyl glyoxal 및 glyoxal 순으로 그 억제효과가 큰 것으로 나타나서, 전반적으로 diacetyl 등의 α -dicarbonyl 화합물이 glyceraldehyde 등의 α -hydroxycarbonyl 화합물보다 돌연변이원성 억제효과가 월등히 큰 것으로 나타났다.

생리조건하에서의 돌연변이원성 억제효과

전향의 고온 가열살균조건하에서 α -hydroxycarbonyl 화합물중에서는 glyceraldehyde가, α -dicarbonyl 화합물중에서는 diacetyl이 돌연변이원성 억제효과가 가장 좋은 것으로 나타나서, 이들 diacetyl과 glyceraldehyde를 각각 사용하여 Trp-P-1, Trp-P-2, Glu-P-1, Glu-P-2 및 IQ와 37°C에서 작용시킨 결과를 Fig. 1 및 2에 나타내었다.

그 결과, glyceraldehyde의 경우는, Trp-P-1에서 22%, Trp-P-2에서 52%, Glu-P-1에서 635%, Glu-P-2에서 4%, IQ에서 18%의 억제효과를 나타내었다 (Fig. 1).

한편, diacetyl의 경우, Trp-P-1에서 70%, Trp-P-2에서 73%, Glu-P-1에서 93%, Glu-P-2에서 37%, IQ에서 83%의 억제효과를 나타내어 glyceraldehyde의 경우에서 보다 그 억제효과가 좋은 것으로 나타났다 (Fig. 2). 또한, diacetyl의 경우는 IQ와 Glu-P-1에 특히 높은 억제효과를 나타내었다.

카르보닐화합물 및 그 반응생성물의 돌연변이원성

돌연변이원성 억제효과가 있는 카르보닐화합물 단독의

Table 1. Inhibition of the mutagenicity* of Trp-P-1, Trp-P-2, Glu-P-1, Glu-P-2 and IQ by α -hydroxycarbonyls derived from sugar degradation

Carbonyl compounds	Loss of mutagenicity, %				
	Trp-P-1	Trp-P-2	Glu-P-1	Glu-P-2	IQ
Glyceraldehyde	50.2	78.9	88.3	85.9	90.0
Glycolaldehyde	42.7	73.5	76.3	67.3	88.0
Dihydroxyacetone	67.5	70.6	68.7	89.2	90.8
Furfural	50.6	62.8	27.5	52.4	-**
H M F***	43.4	36.8	37.3	82.5	-
Maltol	37.6	26.3	49.1	82.0	-
Acetol	1.1	10.6	21.0	69.9	-
Acetoin	0.9	5.2	35.4	65.7	-

* Each heterocyclic amine autoclaved with carbonyl compounds at 121°C for 20 min was used for mutagenicity tests as described in Materials and Methods.

** Not assayed.

*** HMF, 5-hydroxymethylfurfural.

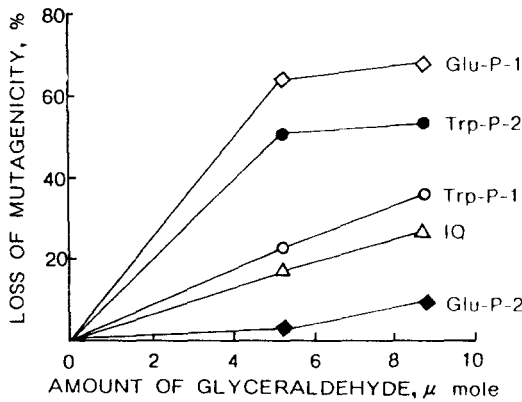


Fig 1. Inhibition of the mutagenicity of mutagenic heterocyclic amines by glyceraldehyde. Prior to preincubation, 50 μ l of each aqueous solution containing 0.18 nmole Trp-P-1, 0.08 nmole Trp-P-2, 0.20 nmole Glu-P-1, 2.26 nmole Glu-P-2 and 0.02 nmole IQ were incubated with and without 50 μ l of glyceraldehyde of the given concentration at 37°C for 20 min. After incubation, 100 μ l of reaction mixtures were used for the mutagenicity test to *S. typhimurium* TA98 with S-9 mix.

돌연변이원성을 조사하여 Table 3에 나타내었다.

그 결과, 돌연변이원성 억제효과를 나타내는 농도에서 methyl glyoxal, glycolaldehyde 및 dihydroxyacetone에 돌연변이성이 나타났는데, 그 중에서도 methyl glyoxal에서 특히 강하게 나타났다.

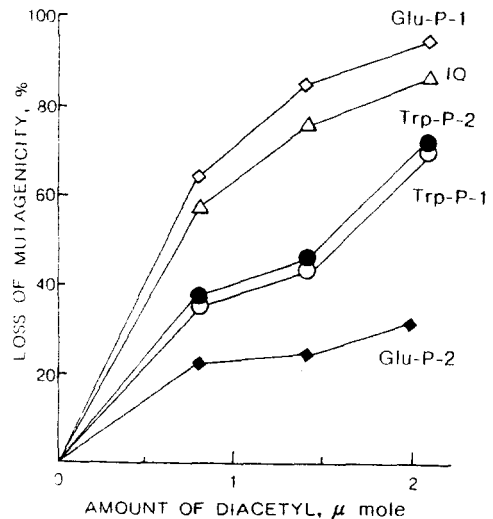


Fig 2. Inhibition of the mutagenicity of mutagenic heterocyclic amines by diacetyl. Prior to preincubation, 50 μ l of each aqueous solution containing 0.18 nmole Trp-P-1, 0.08 nmole Trp-P-2, 0.20 nmole Glu-P-1, 2.26 nmole Glu-P-2 and 0.02 nmole IQ were incubated with and without 50 μ l of diacetyl of the given concentration at 37°C for 20 min. After incubation, 100 μ l of the reaction mixtures were used for the mutagenicity test to *S. typhimurium* TA98 with S-9 mix.

또한, 카르보닐화합물과 돌연변이원성물질을 121°C에서 20분간 반응시킨 반응생성물의 *S. typhimurium*

Table 2. Inhibition of the mutagenicity* of Trp-P-1, Trp-P-2, Glu-P-1, Glu-P-2 and IQ by α -dicarbonyls derived from sugar degradation

Carbonyl compounds	Loss of mutagenicity, %				
	Trp-P-1	Trp-P-2	Glu-P-1	Glu-P-2	IQ
Diacetyl	93.1	98.9	99.0	95.5	93.3
2,3-Pentanedione	72.0	88.7	87.6	87.6	91.9
Methyl glyoxal	67.8	94.8	85.7	78.8	95.1
Glyoxal	49.0	92.8	45.7	1.1	87.8

* Each heterocyclic amine autoclaved with carbonyl compounds at 121°C for 20 min was used for mutagenicity tests as described in Materials and Methods.

Table 3. Mutagenicity* of carbonyl compounds derived from sugar degradation

Carbonyl compounds	Amounts of carbonyl compounds (μ moles/plate)	Revertants per plate	
		Before autoclaving	After autoclaving
Diacetyl	1.05	46	39
Glyoxal	1.05	125	100
Methyl glyoxal	1.05	1089	910
2,3-Pentanedione	1.05	76	55
Glyceraldehyde	4.44	219	180
Glycolaldehyde	4.44	561	516
Dihydroxyacetone	4.44	691	620
Maltol	4.44	102	100
Acetol	4.44	92	85
Acetoin	4.44	89	72
Furfural	4.44	53	45
H M F**	4.44	92	80

* Mutagenicity was assayed with preincubation method using *S. typhimurium* TA100 in the absence of S-9 mix. Revertants induced from AF-2(0.02 μ g/plate) used as positive control were 2065 (subtracted spontaneous revertants 165)

** HMF, 5-hydroxymethylfurfural

TA100에 대한 돌연변이원성을 검토한 결과 (Table 4), 이들 화합물의 반응에 의하여 카르보닐화합물의 돌연변이원성 및 돌연변이원성물질의 변이원활성이 모두 현저하게 억제되었다.

고 찰

단백질 및 아미노산의 가열분해로 생성되는 강력한 돌연변이원성물질인 Trp-P-1, Trp-P-2, Glu-P-1, Glu-P-2 및 IQ 등은 분자내에 유리상태의 아미노기를 가지고 있는데, 이들 아미노기가 돌연변이원 활성의 발

현에 중요한 역할을 한다. Trp-P-1 및 IQ 등의 돌연변이원성물질의 아미노기는 먼저 *microsome* 내의 cytochrome P-448 및 P-450의 산화효소군에 의하여 활성화되어 수산화유도체를 형성하고⁽¹⁶⁻¹⁷⁾, 이것이 *cytosol*에서 더욱 대사가 진행되어, 최종적으로는 핵내의 DNA의 구아닌잔기에 결합하여 인접염기쌍에 삽입되어 DNA복제시에 구조이동 돌연변이를 유발한다고 알려지고 있다⁽¹⁸⁻¹⁹⁾.

따라서, 이들 돌연변이원성물질의 아미노기를 분쇄 내지는 수식할 수 있다면 이들 돌연변이원성 물질의 강력한 돌연변이원 활성을 쉽게 억제할 수 있다고 생각된다. 저자는 식품성분간의 상호반응중에서 대표적인 반응의

하나로 알려지고 있는 아미노-카르보닐반응을 이용하여 이들 아미노기의 봉쇄 또는 수식을 시도한 바, 카르보닐 화합물의 사용에 의하여 이들 돌연변이원성물질의 돌연변이원활성이 현저하게 감소되는 것이 밝혀졌다. 사용한 카르보닐화합물 중에서는 반응성이 강한 α -dicarbonyl 화합물이 α -hydroxycarbonyl 화합물보다 돌연변이원성 억제효과가 나타났다.

한편, 돌연변이원성 억제작용이 있는 카르보닐화합물 자체도 약하나마 염기치환 돌연변이를 유발한다고 알려져 지고 있다 (20).

본연구에서도 α -dicarbonyl 화합물이 모노카르보닐 화합물보다 돌연변이원활성이 대체적으로 높게 나타났다 (Table 3).

생체의 세포내에서도 이들 카르보닐화합물이 해당경로를 통하여 중간생성물로서 생성되는데, 생성된 이들 카르보닐화합물은 glyoxalase 소계에 의하여 α -hydroxy carboxylic acid로 산화된다. 이러한 반응은 생체 내에서 활성카르보닐화합물이 효소적으로 불활성화 되는 경우로 생각된다.

더우기, 가열처리를 받은 식품의 경우에는 돌연변이원성물질 뿐만아니라 당의 탈수·분해등으로 생성되는 카르보닐화합물도 공존하게 됨으로, 본 실험에서와 같이

카르보닐화합물과 돌연변이원성물질을 반응시킨 결과 (Table 1, 2 및 4), 이들 양화합물의 돌연변이원성이 동시에 소실되는 것이 입증되었다. 저자등(22)은 glucose-glycine 모델을 통하여 휘발성성분으로서 diacetyl의 생성 및 diacetyl 등의 카르보닐화합물의 관여로 amide 화합물의 생성기구를 밝힌 바 있다. 이들 amide의 형성 또한 카르보닐화합물의 돌연변이원성을 저하시키는 하나의 기구로 생각된다.

또한, 저자등(11~13)은 Trp-P-1 및 IQ 등의 돌연변이원성물질에 대한 Maillard 반응 주요 생성물인 melanoidin의 돌연변이원성 억제작용 및 그 기구를 밝혀서, 식품에 있어서 돌연변이원성물질의 불활성화기구로서 melanoidin의 중요한 역할이 무시될 수 없음을 입증하였다.

이와같이, 식품은 가공, 저장 및 조리중에 있어서 주의 환경으로 부터 여러가지 영향을 받아서 돌연변이원성물질이 생성되기도 하나 이와 동시에 돌연변이원성 억제인자도 생성되고, 또한 식품성분간의 상호작용으로 돌연변이원성물질의 돌연변이원 활성이 소실된다는 것은 식품의 안전성 측면으로 보아 중요하다고 하겠다.

Table 4. Mutagenicity* of the reaction mixtures of carbonyl compounds and mutagenic heterocyclic amines

Carbonyl compounds	Revertants per plate (TA100, - S - 9)				
	Trp-P-1	Trp-P-2	Glu-P-1	Glu-P-2	IQ
None	201	222	178	187	198
Diacetyl	22	18	14	30	37
Glyoxal	12	11	9	20	29
Methyl glyoxal	49	36	37	41	56
2,3-Pentanedione	25	31	21	34	45
Glyceraldehyde	17	34	22	37	47
Glycolaldehyde	19	16	16	51	66
Dihydroxyacetone	29	31	25	38	54
Furfural	15	18	20	17	20
H M F **	19	17	25	23	17
Maltol	10	19	24	27	22
Acetol	21	25	23	18	25
Acetoin	19	24	18	20	30

* Reaction mixtures of each heterocyclic amine and carbonyl compounds at 121°C for 20 min were used for mutagenicity test as described in Materials and Methods. Revertants induced from AF-2 (0.02µg/plate) used as positive control were 2065 (subtracted spontaneous revertants 165).

** HMF, 5-hydroxymethylfurfural.

요 약

식품의 안전성 평가를 위한 기초자료를 얻기 위하여, 식품의 가공, 저장 및 조리중에 식품성분간의 상호반응인 Maillard 반응을 이용하여 당의 분해로 생성되는 각종 카르보닐화합물을 강력한 돌연변이원성물질로 알려진 Trp-P-1, Trp-P-2, Glu-P-1, Glu-P-2 및 IQ에 각각 작용시켜서 이들 물질의 돌연변이성 억제효과를 연구·검토하였다. 그 결과, 카르보닐화합물에 의하여 돌연변이원성물질의 돌연변이원 활성이 크게 억제되었다. 사용한 카르보닐화합물중 α -hydroxycarbonyl 화합물의 경우, glyceraldehyde, glycolaldehyde 및 dihydroxyacetone에서 돌연변이원성 억제효과가 크게 나타났다. α -dicarbonyl 화합물의 경우, diacetyl에서 그 억제효과가 우수한 것으로 나타나서, 전반적으로 α -dicarbonyl 화합물이 α -hydroxycarbonyl 화합물보다 돌연변이성 억제효과가 높게 나타났다.

한편, 공시한 카르보닐화합물 단독으로는 돌연변이성을 나타내었으나, Trp-P-1등의 돌연변이원성물질과의 상호반응으로 이들 두 물질의 돌연변이성이 동시에 소실되는 것이 입증되었다.

사 의

본 연구는 한국과학재단의 1986년도 신진연구구성비에 의하여 수행되었으며 이 자리를 빌어 감사드립니다.

문 헌

1. Sugimura, T., Kawachi, T., Nagao, M., Yahagi, T., Seino, Y., Okamoto, T., Shudo, K., Kosuge, T., Tsuji, K., Wakabayashi, K., Iitaka, Y. and Itai, A. : *Proc. Jpn. Acad.*, 53, 58 (1977)
2. Yamamoto, T., Tsuji, K., Kosuge, T., Okamoto, K., Takada, K., Iitaka, Y., Yamaguchi, K., Seino, Y., Yahagi, T., Nagao, M. and Sugimura, T. : *Proc. Jpn. Acad.*, 54 B, 248 (1978)
3. Kasai, H., Nishimura, S., Wakabayashi, K., Nagao, M. and Sugimura, T. : *Proc. Jpn.*

- Acad.*, 58B, 382 (1980)
4. Jägerstad, M., Laser-Reutersward, A., Öste, R., Grivas, S., Olsson, K. and Nyhammar, T.: *ACS Symp. Ser.*, 215, 507 (1983)
5. Nagao, M., Sato, S. and Sugimura, T.: *ACS Symp. Ser.*, 215, 521 (1983)
6. Matsukura, N., Kawachi, T., Morino, K., Ohgaki, H., Sugimura, T. and Takayama, S.: *Science*, 213, 346 (1981)
7. Okamoto, T., Shudo, K., Hashimoto, Y., Kosuge, T., Sugimura, T. and Nishimura, S.: *Chem. Pharm. Bull.*, 29, 590 (1984)
8. McCann, J. and Ames, B.N.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 73, 950 (1976)
9. Kada, T., Morita, K. and Inoue, T.: *Mutation Res.*, 53, 351 (1978)
10. Arimoto, S., Ohara, Y., Namba, T., Negishi, T. and Hayatsu, H.: *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 92, 662 (1980)
11. Kim, S.B., Hayase, F. and Kato, H.: *Develop. in Food Sci.*, 13, 383 (1986)
12. Kim, S.B.: *Food Sci.*, 19, 1 (1986)
13. Kato, H., Kim, S.B., Hayase, F. and Chuyen, N.V.: *Agric. Biol. Chem.*, 49, 3093 (1985)
14. Ames, B. N., McCann, J. and Yamasaki, E.: *Mutation Res.*, 31, 347 (1975)
15. Yahagi, T., Nagao, M., Seino, Y., Matsushima, T. and Sugimura, T.: *Mutation Res.*, 48, 121 (1977)
16. Ishii, K., Ando, M., Katamaki, T., Kato, R. and Nagao, M.: *Cancer Lett.*, 9, 271 (1980)
17. Niwa, T., Yamazoe, Y. and Kato, R.: *Mutation Res.*, 95, 159 (1981)
18. Hashimoto, Y., Shudo, K. and Okamoto, T.: *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 92, 971 (1980)
19. Okamoto, T., Shudo, K., Hashimoto, Y., Kosuge, T., Sugimura, T. and Nishimura, S.: *Chem. Pharm. Bull.*, 29, 590 (1981)
20. Bjeldanes, L.F. and Chew, H.: *Mutation Res.*, 67, 367 (1979)
21. Han, L.-P. B., Davison, L.M. and Jagt, D.L.V.: *Biochim. Biophys. Acta*, 445, 486 (1976)
22. Hayase, F., Kim, S.B. and Kato, H.: *Agric. Biol. Chem.*, 49, 2337 (1985)

(1987년 11월 26일 접수)