

쑥 추출물의 항돌연변이 활성효과

이 성 · 권동진 · 유진영 · 정동호*
한국식품개발연구원, *중앙대학교 식품공학과

Effect of Mugwort Extract on the *in vitro* Mutagenicity, Desmutagenicity. Sung Lee, Dong-Jin Kwon, Jin-Young Yoo and Dong-Hyo Chung*. Korea Food Research Institute, Seongnam Bundang P.O. Box 2, Kyunggi 463-420, Korea, *Dept. of Food Science and Technology, Chung-Ang University, Ansong, Kyunggi 456-756, Korea - Mugwort has been known as a traditional substitutive foodstuff and as showing a physiologically beneficial function to a human being. Therefore, effect of mugwort extract in terms of mutagenicity and desmutagenicity was investigated to verify its function. Ethanol extract from mugwort did not exhibit any mutagenicity. On the contrary, inhibitory effects of the ethanol extract were observed on mutagenicity induced by aflatoxin B₁(AFB₁), 3-amino-1,4-dimethyl-5H-pyrido[4,3-b]indole(Trp-P-1), 3-amino-1-methyl-5H-pyrido[4,3-b]indole(Trp-P-2) and 2-nitrofluorene(2NF) using *Salmonella typhimurium* reversion assay. On direct-acting mutagen(2NF, 3 µg/plate), ethanol extract showed a slight inhibitory effect of 19.7~22.9%, however on indirect-acting mutagen such as AFB₁(2 µg/plate), Trp-P-1(1 µg/plate) and Trp-P-2 (1 µg/plate), we observed higher inhibitory effect of 47.9~61.2%, 64.1~70.7%, 67.4~78.7%, respectively. Step-wise fractionation of the ethanol extract was done by using hexane, chloroform, ethyl acetate and water to obtain effective fraction. Among them, hexane, chloroform, and ethyl acetate fractions showed high inhibition of 63.0~80.0%, 77.5~82.1%, and 68.5~83.1%, respectively on the mutagenicity of AFB₁ in *Sal. typhimurium* TA98. Consequently, these results indicated that mugwort extract contains some compound(s) which may show desmutagenicity.

급속한 경제발전을 배경으로 식료품이 다양화되고 풍부해짐에 따라 일반 소비자들은 식품에 대하여 여러 복합적 효과를 기대하게 되었다. 이와같은 국민의 식생활의식 변화와 건강 지향적 식생활 추세로 인하여 식품의 생리활성 기능성에 대한 관심이 점차 증가되고 있다(1, 2).

식품 중에는 돌연변이원의 성질을 가진 몇가지 화학물들이 알려져 있다. 향신료, 아미노산의 열분해 물질, 광범위한 농산물에서 성장할 수 있는 *Aspergillus flavus*, *Aspergillus parasiticus*의 대사활성물질인 aflatoxin등이 식품에서 돌연변이 물질로 작용을 하며 고기와 생선을 직접 가열시 생성되는 아미노산의 열분해 물질도 돌연변이원으로 알려져 있다(3).

한편 이들 돌연변이원에 대한 억제작용을 가지는 물질에 관한 많은 연구가 과채류와 식품 등을 대상으로 보고되어 있다. 과채류들은 tryptophan의 열분해 물질인 Trp-p-1과 Trp-p-2 등에 의한 돌연변이 억제 효과가 있음이 알려져 있다(4).

쑥은 우리 나라에 널리 분포하는 다년생 식물로 재래약과 한방에서 필수적인 약재이다. 그리고 구황식품으로 애용되고 있는 쑥은 지혈약으로 쓰이고 소화, 구충, 약취제거 등에 효과가 있으며 또한 위장병, 변비, 신경통, 배아픔, 천식, 부인병 그리고 위암 등에 효험이 있다고 한다(5).

쑥(*Artemisia*)성분에 관한 연구는 주로 화학적인 성분들의 규명으로 이루어져 왔다. *Artemisia*속 성분의 주요 성분은 isocoumarin, coumarin, diterpenelactone, flavonoid 그리고 정유계 등으로 나눌 수 있다(6). Fujita 등(7)과 김(8)은 *Artemisia*속의 향기성분에 관한 연구를 하였고 김(9)과 김(10)은 쑥의 약용효과에 대하여 발표하였다.

그러나 쑥의 돌연변이 억제효과에 대한 연구는 지금까지 거의 찾아 볼 수 없다.

본 연구에서는 한국산 쑥의 추출물을 조제하여 쑥 성분 자체의 돌연변이 물질로서의 가능성을 Ames test를 이용하여 조사하였다. 그리고 다른 변이원에 의한 돌연변이 억제 가능성을 조사하여 쑥의 에탄올 추출물과 그 분획물의 효과를 검증하고 새로운 식품자원으로 활용하기 위한 기초 자료를 얻었기에 보고하는 바이다.

재료 및 방법

재료 및 시약

쑥은 서울시내 시장에서 구입한 산 약쑥(경기, 강화군)을 사용하였다. 쑥에 10배(w/v)의 96% ethanol을 가하여 실온 암실에서 48시간 추출하여 35°C에서 감압농축한 후 dimethyl sulfoxide(DMSO)를 10% 되게 가하여 4°C에서 보관하였다. 직접 돌연변이원(direct mutagen)으로는 2-nitrofluorene(2-NF, Sigma Chemical Co., U.S.A.)을 사용하였고 간접 돌연변이원(indirect mutagen)으로는

*Corresponding author.

Key words: Mugwort, ethanol extract, mutagenicity, desmutagenicity, *Salmonella typhimurium* reversion assay

aflatoxin B₁(AFB₁, Sigma Chem. Co., U.S.A.), 3-amino-1,4-dimethyl-5H-pyrido[4,3-b]indole(Trp-P-1, Wako Chemical Inc., Japan)과 3-amino-1-methyl-5H-pyrido[4,3-b]indole(Trp-P-2, Wako Chemical Inc., Japan)을 각각 사용하였다. 또한 모든 시약은 특급품 이상을 사용하였다. 간접 변이원의 효소적 활성을 위하여 S-9(Aroclor 1254-induced, Organon Teknika Corp., U.S.A)을 구입하여 -70°C에 보관하면서 사용하였다.

시험 균주

Ames assay용 시험 균주는 구조이동형(frameshift) 변이균주인 *Salmonella typhimurium* TA 98로서 한국식품개발연구원 생물공학연구부에서 분양받아 사용하였다. Maron과 Ames의 방법(11)에 따라 histidine 요구성, *uvrB* mutation 유지여부, R-factor 유지여부, *rfa* mutation 유지여부, 자발적 복귀돌연변이 수 등의 유전형질이 확인된 균주는 nutrient broth(Difco, Co., U.S.A)에 접종, 배양하여 배양액 1 ml당 DMSO를 0.09 ml 가하여 냉동보관용 용기에 채워 -70°C에서 보관하였다. 냉동 균주를 해동한 후 0.4 ml 취하여 100 ml의 nutrient broth에 접종하여 37°C에서 120 rpm으로 진탕배양하였으며 3차 계대배양하여 14시간 배양한 다음 시험에 사용하였다.

썩 추출물의 용매 분획

썩 ethanol 추출물 20 g을 증류수 800 ml에 현탁시키고 *n*-hexane 800 ml씩 2회 추출하여 *n*-hexane 분획을 얻었다. 같은 방법으로 남아있는 물층을 chloroform으로 추출한 후 계속해서 ethyl acetate로 추출하여 chloroform 분획, ethyl acetate 분획과 물 분획을 얻었다. 이중 물층은 동결건조기(Leybold-Heraeus, Germany)를 이용하여 진공감압하여 물을 제거하였으며 *n*-hexane층, chloroform층, ethylacetate층은 회전진공농축기(Rotavapor, Buchi, Switzerland)로 농축하였다(12). 각각의 획분을 DMSO에 용해시킨 후 사용하였다.

돌연변이원 첨가농도 결정 시험

돌연변이원 농도는 사용한 균주에 대하여 독성을 나타내어 변이원성이 저하되거나 변이원성과 항변이원성의 비교시 신뢰도가 저하되지 않는 농도로서 용량 반응관계(dose response curve)를 실험에 의해 선정하거나 전 등(13)의 실험법을 참고하였다. 즉 직접 변이원인 2-nitrofluorene은 0.5, 1, 2, 3, 5, 8 µg 함량으로 간접 변이원인 aflatoxin B₁은 0.5, 1, 1.5, 2, 3, 5, 8 µg 함량으로 하여 이중 시험균에 독성을 나타내지 않는 최적 돌연변이원 농도를 결정하였다.

돌연변이원성 시험

Maron과 Ames(11)의 방법에 준한 preincubation test를 이용하여 썩 추출물의 돌연변이 효과를 조사하

였다. DMSO에 녹인 10% 썩 추출물을 사용하였으며 이를 단계 희석하여 각 농도의 원액을 조제하였다. 음성 대조물질과 양성 대조물질인 AFB₁, Trp-P-1 그리고 Trp-P-2는 썩 추출물의 희석에 사용한 DMSO에 용해하여 사용하였다.

각각의 살균된 cap tube에 0.5 ml의 4% S-9 mix(대사활성화가 필요없는 경우, 0.2M phosphate buffer, pH 7.4), 0.1 ml 썩 추출물과 0.1 ml(1~2×10⁹ cells/ml) nutrient broth에서 3차 계대배양된 후 하룻밤 배양한 균주를 넣고 가볍게 혼합한 후 37°C에서 20분간 전배양하였다. 배양 후 45°C의 top agar 2 ml씩을 첨가하고 3초간 혼합한 후 미리 준비된 minimal glucose agar plate 위에 균일하게 도말하여 37°C에서 48시간 배양 후 revertant의 수를 측정하였다. 이 때 첨가된 양성 대조 물질(돌연변이원)은 사용한 균주에 대하여 독성을 나타내지 않는 농도인 2 µg/plate AFB₁, 1 µg/plate Trp-P-1, 1 µg/plate Trp-P-2를 사용하였다. 각 실험마다 3개의 replica plate를 사용하였다(11).

돌연변이 억제 시험

Maron과 Ames(11)의 방법에 준한 preincubation test를 이용하여 썩 추출물의 돌연변이 억제효과를 조사하였다. 이때 썩 추출물은 250 µg/plate와 125 µg/plate의 농도로 사용하였으며 돌연변이원 농도는 돌연변이원성 실험과 동일한 농도(2 µg/plate AFB₁, 1 µg/plate Trp-P-1, 1 µg/plate Trp-P-2, 3 µg/plate 2NF)를 사용하였다. 살균된 cap tube(13×100 mm)에 0.5 ml 4% S-9 mix(대사활성화가 필요 없는 경우, 0.2M phosphate buffer, pH 7.4.)와 0.05 ml 썩 추출물, 0.05 ml 돌연변이원, 0.1 ml(1~2×10⁹ cells)의 균주를 넣고 돌연변이성 실험과 동일하게 썩 추출물을 처리하였다.

이때 썩 추출물의 돌연변이 억제효과(inhibition rate)는 $[(a-b)/(a-c)] \times 100$ 으로 나타내었는데 여기서 a는 돌연변이원만 있을 때 revertant 콜로니 수, b는 썩 추출물과 돌연변이원을 동시에 첨가하였을 때 revertant 콜로니 수, c는 돌연변이원과 썩 추출물이 모두 없는 경우의 revertant 콜로니 수이다(11, 13, 14).

통계분석

썩 추출물의 용매분획별 처리에 따른 돌연변이 억제 효과의 결과는 SAS 통계처리 프로그램(Version 6.04, SAS user's guide : SAS Institute, Cary, NC 23511)을 사용하여 유의성을 검증하였다. 평균치들의 유의차는 LS mean separation 방법에 의해 분석되었다. 모든 통계처리의 유의성은 p<0.05 범위에서 실행하였다.

결과 및 고찰

썩 추출물의 조제

약축에 96% ethanol을 쑥 중량의 10배(w/v)로 넣고 실온에서 48시간 추출, 여과 후 회전진공농축기로 감압 농축하여 쑥 ethanol 추출물을 얻은 다음 용매 분획을 위하여 쑥 ethanol 추출물 20 g으로부터 *n*-hexane, chloroform, ethyl acetate, water로서 분획 추출, 농축하여 *n*-hexane 획분 2.64 g, chloroform 획분 5.38 g, ethyl acetate 획분 6.11 g, 물 획분 5.87 g을 얻었으며 이를 이용하여 돌연변이원성과 돌연변이 억제시험에 사용하였다.

돌연변이원 농도가 돌연변이에 미치는 영향

Fig. 1은 plate당 첨가된 aflatoxin B₁의 양과 revertant의 수를 나타낸 것이다. Aflatoxin B₁으로 유도된 돌연변이 revertant의 수는 S-9 mix 존재 하에서 변이원의 농도에 비례하였으며 저농도에서는 급격히 증가하여 2 µg/plate 처리에서 약 800개의 revertant를 나타내었다. 이 농도범위 밖에서는 revertant 수가 너무 많아 콜로니 수를 헤아리기 어려워서 2 µg으로 결정하였다.

Fig. 2는 plate당 첨가된 2-NF의 양과 revertant의 수를 나타낸 것이다. 변이원의 농도에 따라 비례하였으며 3 µg/plate 이상 투여시 revertant의 수가 너무 많거나 유의성이 없어 3 µg으로 결정하였다. 또한 아미노산 열분해 물질의 돌연변이원인 Trp-P-1, Trp-P-2는 전 등(13)의 결과를 참조하여 농도를 각각 1 µg으로 결정하였다.

쑥 ethanol 추출물의 돌연변이원성 및 돌연변이 억제 효과

쑥 ethanol 추출물이 돌연변이에 미치는 영향을 시험한 결과는 Fig. 3와 같다.

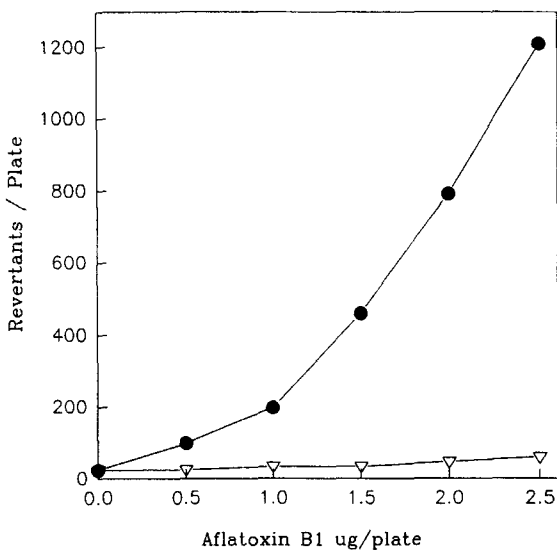


Fig. 1. Effect of aflatoxin B₁ on mutagenicity of *Sal. typhimurium* TA 98
 -●-: S-9-mix, -▽-: Phosphate buffer (pH 7.4)

예비실험에서는 *Sal. typhimurium* TA 98을 사용하여 16, 80, 400, 2000, 10000 µg/plate의 농도범위로 시험하였는데 시료 중의 histidine으로 인한 lawn 현상이 2000 µg/plate부터 나타나지 않아 돌연변이성 측정이 가능하였으며 그 이하의 농도에서도 콜로니 수의 증가는 없었다.

따라서 본 시험에서는 최고 농도를 500 µg/plate로 결정한 다음 공비를 2로 하여 31.2, 62.5, 125, 250, 500 µg/plate의 5개 농도를 설정하여 시험하였다(12).

500~32.5 µg 농도별로 하여 S-9 mix를 첨가한 것과

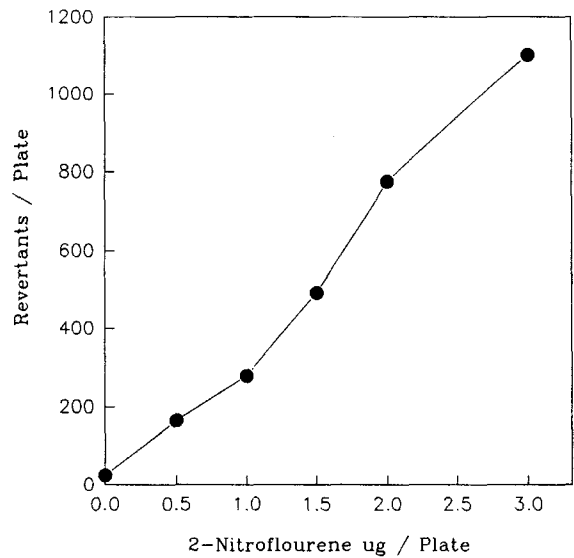


Fig. 2. Effect of 2-nitrofluorene on mutagenicity of *Sal. typhimurium* TA 98

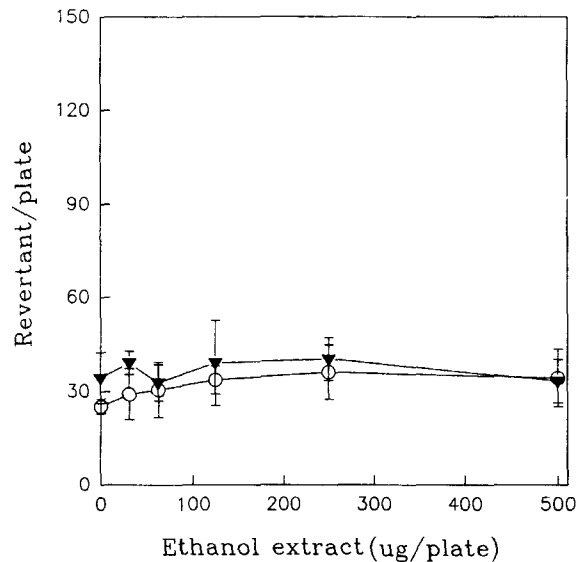


Fig. 3. Effect of mugwort ethanol extract on mutagenicity of *Sal. typhimurium* TA 98
 -●-: Ethanol extract without S-9 mix, -▼-: Ethanol extract with S-9 mix

Table 1. Inhibitory effects of the ethanol extract of mugwort on the mutagenicities induced by 2-NF, AFB₁, Trp-P-1, Trp-P-2 in *Sal. typhimurium* reversion assay

Mutagen	250 µg	125 µg
2-NF ¹⁾	22.9± 4.1 ^{c,x,3)}	19.7± 4.1 ^{c,y}
AFB ₁ ²⁾	61.3± 4.1 ^{b,x}	47.9± 4.1 ^{b,y}
Trp-P-1 ²⁾	70.7± 4.1 ^{a,x}	64.1± 4.1 ^{a,y}
Trp-P-2 ²⁾	78.7± 4.1 ^{a,x}	67.4± 4.1 ^{a,y}

¹⁾ Direct mutagen

²⁾ Indirect mutagen

³⁾ Values (means of 3 samples) are the inhibition rate (%)

^{a-c} Values in the same column with different superscripts differ significantly at p<0.05 level

^{x-y} Values in the same row with different superscripts differ significantly at p<0.05 level

첨가하지 않는 것으로 비교 실험한 결과 모두 변이원성의 작용이 나타나지 않았다. 그러므로 썩 추출물에는 돌연 변이원성을 나타내는 변이원 물질이 없음을 알 수 있었다. 또한 썩 ethanol 추출물을 2000 µg/plate 이상 첨가 하면 썩 추출물에 들어있는 histidine의 영향으로 인하여 histidine lawn 현상이 일어나기 때문에 농도 설정을 2000 µg 이하로 하였다. 500 µg 이하에서 썩 ethanol 추출물을 31.2, 62.5, 125, 250, 500 µg의 농도별로 돌연변이원성을 실험해 본 결과 spontaneous revertant colony 수가 일정한 수치를 나타내 농도와는 상관없는 것으로 나타났다. 그리고 썩 추출물 16.5~2000 µg 사이의 어떤 농도에서도 생존균 수에는 영향이 없음을 확인하였다.

한편 썩 ethanol 추출물의 돌연변이 억제효과를 관찰한 결과는 Table 1과 같다.

양성변이원 물질로는 직접 변이원으로 2-NF를 사용하였으며 S-9 mix에 의하여 최종돌연변이원으로 활성화 되는 간접변이원으로는 AFB₁, Trp-P-1과 Trp-P-2를 사용하였다. 직접 돌연변이원인 2-NF를 변이원으로 사용하였을 때 썩 ethanol 추출물은 250 µg/plate 첨가시 22.9 ± 4.1%, 125 µg/plate 첨가시 19.7± 4.1%의 돌연변이 유발억제 효과를 나타내었다. 한편 간접 돌연변이원으로 사용하였을 때 썩 ethanol 추출물 250 µg, 125 µg 첨가시 AFB₁은 61.3± 4.1%, 47.9± 4.1%, Trp-P-1은 70.7± 4.1%, 64.1± 4.1%, Trp-P-2는 78.7± 4.1%, 67.4± 4.1%의 돌연 변이 유발억제 효과를 나타내었다.

한편 과채류는 tryptophan의 열분해 물질인 Trp-P-1, Trp-P-2 등의 돌연변이원에 대해 억제효과(16)가 있음이 알려져 있으며 김 등(14)은 국내에서 생산되는 과채류 중 무즙에서 돌연변이 억제 효과가 매우 높게 나타났음을 보고하였다. 또한 전 등(13)은 Trp-P-1, Trp-P-2와 AFB₁에 의해 유발된 돌연변이에 대한 쌀 methanol 추출물의 억제 효과가 80~90%로 매우 크게 나타났음을 보고하였다.

이러한 결과를 볼 때 썩 ethanol 추출물은 아미노산의

Table 2. Mutagenicity test of mugwort extract on *Sal. typhimurium* TA 98

Fraction	Mugwort 500 µg	
	S-9 mix	Phosphate buffer (pH 7.4)
Spontaneous	34.2± 3.8*	27.0± 9.2
Ethanol	28.7± 2.3	35.9± 5.6
Hexane	20.0± 4.6	38.3± 3.3
Chloroform	40.0± 17.6	36.2± 12.1
Ethyl acetate	32.0± 6.2	33.4± 4.5
Water	43.0± 6.1	40.5± 3.1

*CFU/plate

열분해 물질과 AFB₁에 의한 돌연변이시 70~80%의 강한 억제효과를 보인 반면 2-NF에서는 20~30%의 억제 효과를 보였다. 즉 직접 변이원보다는 간접 변이원의 돌연변이원을 강하게 억제하는 것을 알 수 있었다. 그러므로 한국산 썩 ethanol 추출물 속에는 변이원성을 억제하는 성분이 존재함을 확인할 수 있었다.

썩 용매 추출물의 돌연변이원성 및 돌연변이 억제효과

썩 ethanol 추출물을 용매별로 분획하여 돌연변이원성과 돌연변이 억제효과를 직접 변이원인 2-NF와 간접 변이원인 AFB₁을 이용하여 시험하였고 그 결과는 Table 2와 같다.

즉 n-hexane, chloroform, ethyl acetate 그리고 물 희분을 각각 500 µg/plate으로 하여 돌연변이원성 시험을 하였으며 그 결과 돌연변이원성이 없는 것으로 나타났다. 천연물에는 영양소로서 필요한 천연물 성분도 있지만 오히려 독성을 유발하는 독성성분도 있다는 보고(1)와 함께 돌연변이를 유발하는 물질과 돌연변이원을 억제하는 성분이 혼합되어 있는 경우가 많이 있다. 썩 잎의 휘발성 화합물에는 돌연변이 유발 물질과 돌연변이 억제 성분이 함께 있지만 각각의 화합물들이 혼합되어 돌연 변이 유발물질의 작용을 경감시켜 돌연변이 억제효과가 있다고 보고된 바 있다(17). 따라서 각 희분에는 돌연변이 유발 물질과 억제 성분이 혼재되어 있거나 돌연변이 유발물질이 없을 것으로 생각된다.

한편 변이원성이 없는 것으로 확인된 ethanol 추출물을 n-hexane, chloroform, ethyl acetate 그리고 물 희분별로 돌연변이 억제효과를 살펴보았다(Table 3). 직접 변이원인 2-NF와 간접 변이원인 AFB₁을 사용하여 항돌연변이원성의 실험을 하였으며 이 때 각 추출물의 양은 125 µg, 250 µg/plate 두 처리구로 하였다. 직접 변이원인 2-NF에 대해 n-hexane 희분은 9.4~33.7%, chloroform 희분은 21.6~26.5%, ethyl acetate 희분은 2.4~21.9%의 억제효과를 나타내었다. Ethanol 추출물보다 n-hexane 희분에서 억제효과가 큰 것으로 나타났으나 그 억제효

Table 3. Effect of solvent fractions from ethanol extract of mugwort on 2-NF(3 µg/plate) in *Sal. typhimurium* TA 98

Fraction	Mutagen	2-NF ¹⁾	
	Mugwort	250 (µg)	125 (µg)
Positive control		771*± 75.3 ^b	771± 75.3 ^b
Spontaneous		27.0± 9.2 ^d	27.0± 9.2 ^d
Ethanol		598.3± 39.7 ^c (23.3%) ²⁾	622.0± 55.6 ^c (20.0%)
Hexane		520.7± 113.2 ^{c,y} (33.7%)	701.3± 66.0 ^{bc,x} (9.4%)
Chloroform		574.3± 69.4 ^c (26.5%)	610.3± 24.6 ^c (21.6%)
Ethyl acetate		608.7± 47.6 ^{c,y} (21.9%)	753.3± 137.0 ^{bc,x} (2.42%)
Water		1236.0± 127.5 ^a (+ 62.5%)	1172± 29.1 ^a (+ 53.9%)

¹⁾ Direct mutagen

²⁾ Values (means of 3 samples) are the inhibition rate (%)

^{a-d} Values in the same column with different superscripts differ significantly at p<0.05 level

^{x-y} Values in the same row with different superscripts differ significantly at p<0.05 level

Pooled SEM=42.79

*CFU/plate

Table 4. Effect of solvent fractions from ethanol extract of mugwort on AFB₁ (1 µg/plate) in *Sal. typhimurium* TA 98

Fraction	Mutagen	AFB ₁ ¹⁾	
	Mugwort	250 (µg)	125 (µg)
Positive control		1108*± 110.9 ^a	1108± 110.9 ^a
Spontaneous		40.3± 6.9 ^e	40.3± 6.9 ^e
Ethanol		614.3± 82.6 ^{c,x} (46.3%) ²⁾	381± 84.0 ^{cd,y} (68.1%)
Hexane		253.7± 41.6 ^{d,y} (80.0%)	435± 98.8 ^{c,x} (63.0%)
Chloroform		231± 24.9 ^d (82.1%)	280.3± 35.7 ^d (77.5%)
Ethyl acetate		221.3± 59.9 ^{d,y} (83.1%)	377± 13.1 ^{cd,x} (68.5%)
Water		817.7± 33.1 ^b (23.4%)	832± 45.8 ^b (25.8%)

¹⁾ Indirect mutagen

²⁾ Values (means of 3 samples) are the inhibition rate

^{a-e} Values in the same column with different superscripts differ significantly at p<0.05 level

^{x-y} Values in the same row with different superscripts differ significantly at p<0.05 level

Pooled SEM=45.87

*CFU/plate

과는 33.7%로 미약하였다. 즉 직접 변이원에 대한 돌연변이 억제효과는 크지 않음을 의미한다. 이는 2-NF에 대한 쭈 추출물의 돌연변이 억제효과(13)와 유사한 결

Table 5. Free amino acid contents of mugwort extract

Amino acid	Solvent	Content (mg/100 g)				
	Ethanol	Hexane	Chloroform	Ethylacetate	Water	
Aspartic acid	66.1	0.8	1.1	16.4	149.8	
Glutamic acid	132.2	0.6	7.8	19.5	304.2	
Serine	23.2	0.5	0.9	7.7	65.2	
Glycine	21.4	0.6	5.0	10.9	53.5	
Histidine	5.6	ND	ND	4.0	41.7	
Arginine	115.1	1.3	54.4	47.0	273.2	
Threonine	16.7	ND	1.8	3.6	48.4	
Alanine	45.3	0.4	4.6	13.7	240.1	
Proline	470.7	2.6	84.1	115.8	1204.5	
Tyrosine	108.4	ND	ND	ND	249.7	
Valine	109.8	0.7	16.6	29.5	357.1	
Methionine	16.4	ND	ND	ND	ND	
Cysteine	153.4	ND	ND	ND	626.4	
Isoleucine	92.0	0.7	19.1	25.2	346.6	
Leucine	57.7	ND	11.4	18.8	ND	
Phenylalanine	51.1	0.7	19.5	20.7	104.1	
Lysine	116.5	4.0	64.8	78.7	245.3	
Total	1601.6	12.9	291.1	411.5	4309.8	

ND: not detected

과였다.

간접 변이원인 AFB₁에 대한 각 획분의 돌연변이 억제효과는 Table 4와 같다. n-Hexane 획분은 63.0~80.0%, chloroform 획분은 77.5~82.1%, ethyl acetate 획분은 68.5~83.1%의 돌연변이 억제효과를 나타내었다. 그러나 물 획분은 2-NF의 경우 돌연변이를 증가시켰고 AFB₁의 경우 23.4~25.8%의 약간의 억제효과를 나타내었다.

쭈 용매 획분의 돌연변이 억제효과는 Table 3, 4와 같이 n-hexane, chloroform과 ethyl acetate 획분에서 가장 크게 나타났다. 이는 쭈 추출물에 존재하는 항돌연변이원성 물질이 비극성에 가까운 물질일 것으로 생각된다. 또한 물 획분의 실험 결과를 토대로 아미노산 분석(Table 5)을 비교하여 물 추출물에는 histidine이 용매 속에 많이 녹아있어 histidine 요구균주인 TA 98 균주의 성장촉진을 일으킨 것으로 생각된다.

발암물질은 메카니즘에 따라 genotoxic compound와 non-genotoxic compound로 나누어진다. Genotoxic compound는 염색체를 파손시키거나 유전자에 돌연변이를 일으켜서 유전자의 구조나 기능을 파괴시키는 것으로 aflatoxin B₁, 아미노산의 열분해 물질과 같은 유전자 독소는 그 자체로는 발암력이 없고 세포의 효소에 의하여 활성화되어 돌연변이 및 암을 일으키는 것으로 이번 실험결과는 이러한 세포의 효소에 의하여 활성화되는 간접 변이원인 AFB₁에서 높은 억제효과를 나타내 앞으로 쭈의 돌연변이 억제작용이 mutagen에 대한 영향의 결과인지

아니면 쥐간 추출물인 S-9 mix에 있는 효소의 활성화 메카니즘 억제작용인지 밝히는 실험이 있어야 한다.

또한 돌연변이 생성을 경감시키는 항돌연변이 인자는 그 작용양식에 따라 두가지 유형으로 나누는데 변이원 불활물질(desmutagen)과 항돌연변이 물질(bioantimutagen)이다. 이번 실험은 구조이동형 균주인 TA 98에 대한 변이원 불활물질의 실험으로 *in vitro*계 시험을 행함으로써 쑥 추출물 중에 변이원 불활물질(desmutagen)이 존재함을 확인할 수 있었고 앞으로 세포내 억제(bioantimutagen) 시험을 행함으로써 쑥의 항돌연변이 효과를 체계적으로 밝혀내는 것이 필요하다.

한편 쑥 추출물에는 아미노산 성분이 따라서 추출되어 혼재되어 있기 때문에 이에 대처할 수 있는 SOS-chromotest, spore rec-assay 등의 실험을 실시할 필요가 있을 것으로 본다. 이들 결과를 종합하여 볼 때 쑥은 약용식품 또는 건강 보조 기능성 식품으로서 개발할 만한 가치가 있다고 본다.

요 약

한국산 쑥으로부터 얻어진 ethanol 추출물과 각 용매 획분에 대하여 *in vitro*로서 *Salmonella typhimurium* reversion assay 시험을 하여 자체 변이원성 유무와 4가지 양성 변이원 물질(3 µg/plate 2NF, 2 µg/plate AFB₁, 1 µg/plate Trp-P-1 그리고 1 µg/plate Trp-P-2)에 대한 항돌연변이 활성에 대한 쑥의 영향을 고찰하였다.

쑥의 ethanol 추출물은 2-NF, AFB₁, Trp-P-1 그리고 Trp-P-2 등으로 유도한 돌연변이 시험(Ames test)에서 변이원성을 보여주지 않았다. 돌연변이 억제시험에서는 frameshift type인 *Sal. typhimurium* TA 98에 대하여 직접 변이원인 2-NF에서는 19.7~22.9%, 간접 변이원인 AFB₁, Trp-P-1과 Trp-P-2에서는 각각 47.9~61.2%, 64.1~70.7% 그리고 67.4~78.7%의 억제효과를 나타내었다.

또한 쑥의 ethanol 추출물을 *n*-hexane, chloroform, ethyl acetate 그리고 water로 각각 분획하여 직접변이원인 2-NF와 간접변이원인 AFB₁를 사용하여 변이원성과 항돌연변이원성 시험을 하였다. 돌연변이 시험에서 변이원성은 4가지 획분에서 모두 나타나지 않았다.

직접 변이원인 2-NF로 유도된 돌연변이에 대하여 *n*-hexane 획분은 9.4~33.7%, chloroform 획분은 21.6~26.5% 그리고 ethyl acetate 획분은 2.4~21.9%를 나타내었다. 간접 변이원인 AFB₁로 유도된 돌연변이에 대하여 *n*-hexane 획분, chloroform 획분 그리고 ethyl acetate 획분들은 각각 63.0~80.0%, 77.5~82.1%, 68.5~83.1%로 높은 억제 효과를 보여주었다.

참고문헌

1. 장일무. 1990. 신물질 창출을 위한 생물활성 연구법(천연

- 물의 변이원성 및 항변이원성 *in vitro* 검색). 한국생화학회지 115-129.
- Aeschbacher, H.V. and H.P. Wurzner. 1980. An evaluation of constant and regular coffee in the Ames mutagenicity test. *Toxicol Lett.* 5: 139.
 - Nagappa, T. and H. Akiyoshi. 1993. Antimutagenicity of lactic acid bacteria from "Idly" against food-related mutagens. *J. of Prot.* 56: 1061-1066.
 - Shinohara, K., Z.L. Kong, T. Fukuda, and K. Iino. 1991. Desmutagenic actions of partially fractionated dialyzate of spinach on Trp-P-2. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkai-shi* 38: 242-248.
 - 허준. 1978. 한방동의보감. 민정사. 184.
 - 한덕용, 김인혜. 1973. *Artemisia* 정유성분에 관한 연구. 생약학회지 4: 71-76.
 - Fujita, Y., Ueda, T. and Maruyama, S. 1963. *Nippon Kagaku Zasshi* 84: 429.
 - 김지미. 1984. 쑥의 향기성분에 관한 연구. 부산대학교 석사학위 논문.
 - 김기영. 1979. 쑥이 家兎의 易出腸管 운동에 미치는 영향. 한양대학교 석사학위 논문.
 - 김일혁. 1967. *Artemisia*속 정유성분의 항암작용에 관한 연구(I). 중앙대학교 논문집 12: 459.
 - Maron, D.M. and B.N. Ames. 1983. Revised methods for the *Salmonella* mutagenicity test. *Mutation Res.* 113: 173-215.
 - 권민. 1993. 은행나무(*Ginkgo biloba* L.) 잎으로부터 살충성분의 분리 및 동정. 서울대학교 석사학위 논문.
 - 전향숙, 김인호, 김영진, 김길환. 1991. 쌀 추출물의 돌연변이 억제효과. 한국식품과학회지 26: 188-194.
 - 김석중, 진재순, 김동만, 김길환. 1992. 무즙의 돌연변이 억제효과 및 그 특성. 한국식품과학회지 24: 193-198.
 - 함승시, 최근표, 최용순, 이상영. 1994. 메밀 flavonoids의 항돌연변이원성 및 지질대사 조절기능에 관한 연구. 한국영양식량학회지 23: 698-703.
 - Morita, K., Y. Nishijima, and T. Kada. 1985. Chemical nature of a desmutagenic factor from burdock (*Arctium lappa* Linne). *Agric. Biol. Chem.* 49: 925-937.
 - Kim, J.O., Y.S. Kim, J.H. Lee, M.N. Kim, S.H. Rhee, S.H. Moon, and K.Y. Park. 1992. Antimutagenic effect of the major volatile compounds identified from mugwort (*Artemisia asiatica* Nakai) leaves. *J. Korean Soc. Food Nutr.* 21: 308-313.
 - 최지용. 1992. Kale 추출물의 항돌연변이성에 관한 연구. 강원대학교 석사학위 논문.
 - 오홍석, 함승시. 1992. 양송이 유래 polyphenol oxidase에 의한 polyphenol 화합물의 효소적 갈변생성물의 돌연변이 억제효과. 한국식품과학회지 24: 341-345.
 - Ryu, B.H., B.H. Lee, M.S. Kim, D.B. Sin, and K.D. Nam. 1986. Desmutagenic effect of legumes plants crude saponins in *Salmonella typhimurium* TA 98. *Korean J. Food Sci. Technol.* 18: 345-349.
 - 국립보건안전연구원. 1993. 독성시험 표준작업 지침서. 621-639.

(Received 18 August 1995)