

복귀돌연변이시험을 이용한 감마선조사 생약재의 안전성에 관한 유전독성학적 평가

조성기[†] · 육홍선 · 변명우

한국원자력연구소 방사선식품공학연구팀

Genotoxicological Safety of the Gamma Irradiated Medicinal Herbs in the *Salmonella typhimurium* Reversion Assay

Sung-Kee Jo[†], Hong-Sun Yook and Myung-Woo Byun

Dept. of Food Irradiation, Korea Atomic Energy Research Institute, Taejon 305-353, Korea

Abstract

The three medicinal herbs—*Curcuma longa* Linne, *Paeonia japonica* Miyabe, *Scutellaria baicalensis* George—irradiated with gamma rays have been tested for their possible genotoxicity. The methanol-soluble and water-soluble fractions of the 10kGy gamma-irradiated herbs were examined in the *Salmonella typhimurium* histidine reversion assay(Ames test) using *S. typhimurium* TA98, TA100 and TA102 as tester strains. No mutagenicity was detected in this assay with or without metabolic activation. The safety of the herbs irradiated with gamma rays at practical doses needs to be evaluated in further tests of genotoxicity *in vivo* and chronic and reproductive toxicity.

Key words: irradiated medicinal herb, Ames test

서 론

식품 및 보건관련 산업의 고도화와 국제화 시대를 맞아 고부가가치의 가공제품을 생산하기 위해서는 원료의 안정공급, 위생적 제품생산, 효율적 제조공정, 안전한 저장 유통기술 등이 확보되어야 한다. 제품의 가공, 저장, 위생화에 있어서 지금까지 이용되어온 온열처리, 냉장/냉동, 화학약품처리(보존제, 훈증제 등) 등은 처리효과, 처리비용, 건전성, 환경공해 등 많은 문제점이 지적되면서 세계적으로 사용이 점차 제한을 받고 있다. 특히 식품 및 보건산물의 안전성에 대한 국민 관심이 높아짐에 따라서, 식품에서 기인되는 질병의 예방과 위생적인 식품의 생산기반 확립을 위해 이러한 문제점을 해결하거나 개선할 수 있는 대체기술 개발의 필요성이 보건당국 및 산업계로부터 시급히 요구되고 있다. 이와같은 문제점을 해결하기 위한 일환으로, 국제기구와 주요 선진국에서는 방사선 조사기법의 효과와 잠재력을 인정하여 식품위생화를 위한 대체방안으로서 이 기술의 실용화 확대를 적극 추진하고 있으며, 현재 37개

국에서 식품의 방사선 조사를 허가하였고 이중 25개국에서 상업적으로 실용화되고 있다(1). 국내에서도 상업적 방사선 조사 시설 1기가 1987년 6월부터 가동되고 있으며, 현재까지 13개 식품 품목군에 대한 방사선 조사가 보건복지부로부터 허가되었다.

방사선 조사식품의 전전성에 관해서는 1980년 국제기구인 조사식품공동전문위원회가 종합평가로서 “평균 10kGy 이하로 조사된 모든 식품은 독성학적으로 안전하며, 영양학적으로도 문제가 되지 않는다”고 결론을 지었다(2). 그러나 한편으로는 조사식품의 안전성에 대한 논란이 계속되어, 1992년 5월 WHO에서는 국제소비자연맹(IOC)의 대표단과 식품조사를 반대하는 식품과학 및 식품화학 전공 교수들의 참석하에 회의를 개최한 결과, 조사식품의 안전성 및 영양적 적합성을 재확인하면서 식품을 제조관리수칙에 따라 방사선을 조사할 경우 인간의 건강을 해롭게 하는 어떠한 성분변화나 이물질이 생성되지 않으며, 소비자들에게 미생물학적 위험성을 증가시키지 않는다고 발표하였다(3). 그럼에도 불구하고 방사선 조사식품에 대한 소비자들의 불안

[†]To whom all correspondence should be addressed

Table 1. Revertant colonies in the *S. typhimurium* reversion assay with methanol-soluble fraction of γ -irradiated *Curcuma longa* Linne

Test material	Irradiation ¹⁾	S9 mix	Dose ($\mu\text{g}/\text{plate}$)	Number of revertant colonies(His ⁺) per plate		
				TA98	TA100	TA102
DMSO	-	-		24±4	170±6	297±58
Test material	-	-	40.0	34±2	166±12	302±20
	-	-	13.3	28±7	156±11	335±16
	-	-	4.4	32±4	159±1	339±8
	-	-	1.3	28±1	154±11	310±13
	-	-	0.4	24±2	167±11	307±2
	+	-	40.0	26±6	158±9	308±7
	+	-	13.3	25±1	154±11	322±30
	+	-	4.4	24±1	141±1	304±9
	+	-	1.3	23±1	143±20	299±4
	+	-	0.4	24±3	154±13	313±13
NPD	-	-	20	2049±40		
Na-Azide	-	-	1.5		1243±38	
MMC	-	-	0.5			5110±139
DMSO	-	-		31±6	202±23	295±11
DMSO	-	+		34±5	225±16	329±15
Test material	-	+	40.0	25±4	217±7	353±24
	-	+	13.3	30±8	217±2	328±25
	-	+	4.4	33±7	206±4	313±17
	-	+	1.3	35±2	202±11	328±18
	-	+	0.4	35±7	223±2	325±18
	+	-	40.0	30±10	215±13	304±10
	+	-	13.3	31±3	212±2	320±8
	+	-	4.4	25±8	208±7	313±14
	+	-	1.3	34±3	212±6	281±28
	+	-	0.4	29±4	218±13	278±2
2-AF	-	+	10	1247±57	711±30	488±47

¹⁾Irradiation(10kGy of Co-60 gamma-ray) was treated to the medicinal herb before extraction

NPD(4-nitro-o-phenylenediamine), Na-Azide(sodium azide), MMC(mitomycin C) and 2-AF(2-aminofluorene) were used as positive controls for the corresponding strains

Values represent mean±S.D. of revertant colonies per plate in duplicate experiments except for negative control groups (triplicate)

은 불식되지 않고 있다.

현대 의학의 눈부신 발전에도 불구하고 성인병에 대하여 뚜렷한 치료제가 나오지 못하고 있는 실정이기 때문에 성인병을 예방 또는 치료하고자 하는 사람들은 이를 질병에 효과가 있을 것으로 믿어지는 소위 "건강식품"/제약의 가공원료로 수요가 급증하고 있는 생약재의 위생화, 원료의 안전공급, 효율적 제조공정 등에 이용되어온 기존 위생화 방법인 화학약품(Honzu제 포함) 처리방법의 많은 문제점이 제기되고 있다. 이에 이 문제점을 해결할 수 있는 감마선 조사기술을 이용한 새로운 위생화 방법 개발이 요구되고 있다(4,5).

따라서, 저자 등은 천연생약재의 위생화를 위한 감마선 조사기술의 이용 가능성을 검토하기 위해 이미 미생물학적, 이화학적 안전성을 확인하였고, 본 연구는 오염유기체 완전 구제 선량인 10kGy의 감마선으로 조사

된 생약재의 유전독성학적 안전성을 평가하고자, 1차적으로 *Salmonella typhimurium*을 이용한 복귀돌연변이 시험을 실시하였다.

재료 및 방법

시료조제

시험대상 생약재는 율금(*Curcuma longa* Linne), 작약(*Paeonia japonica* Miyabe), 황금(*Scutellaria baicalensis* George)이었으며, 경동시장에서 한국산으로 구입하였다.

생약재의 방사선 조사는 한국원자력연구소에 소재하는 감마선 조사시설(선원: Co-60, 10만 Ci)을 이용하여 실온에서 시간당 1kGy의 선량으로 10kGy의 총 흡수선량을 얻도록 하였다. 이 때 흡수선량을 확인하기 위

Table 2. Revertant colonies in the *S. typhimurium* reversion assay with water-soluble fraction of γ -irradiated *Curcumae longae* Linne

Test material	Irradiation ¹⁾	S9 mix	Dose ($\mu\text{g}/\text{plate}$)	Number of revertant colonies(His ⁺) per plate		
				TA98	TA100	TA102
H ₂ O	-	-		26±5	241±19	310±33
Test material	-	-	7,500	32±4	275±3	391±8
	-	-	2,500	27±1	252±23	371±23
	-	-	833	27±1	237±12	359±10
	-	-	278	24±3	238±4	306±39
	-	-	93	22±4	240±13	297±25
	+	-	7,500	22±1	256±17	384±14
	+	-	2,500	28±1	219±4	351±1
	+	-	833	25±4	225±4	312±8
	+	-	278	25±5	232±22	276±10
	+	-	93	25±3	241±18	280±20
NPD	-	-	20	2164±55		
Na-Azide	-	-	1.5		1136±54	
MMC	-	-	0.5			5205±138
H ₂ O	-	-		23±3	214±9	294±6
H ₂ O	-	+		36±8	255±19	324±15
Test material	-	+	7,500	33±8	228±13	344±12
	-	+	2,500	35±10	256±3	336±16
	-	+	833	34±4	239±7	315±74
	-	+	278	35±8	250±18	342±33
	-	+	93	37±1	227±6	308±52
	+	+	7,500	34±4	243±20	354±11
	+	+	2,500	34±6	261±27	346±11
	+	+	833	33±4	245±38	320±41
	+	+	278	30±6	222±3	312±13
	+	+	93	38±2	254±35	324±34
2-AF	-	+	10	1186±25	762±59	589±81

¹⁾Irradiation(10kGy of Co-60 gamma-ray) was treated to the medicinal herb before extraction

NPD(4-nitro-o-phenylenediamine), Na-Azide(sodium azide), MMC(mitomycin C) and 2-AF(2-aminofluorene) were used as positive controls for the corresponding strains

Values represent mean±S.D. of revertant colonies per plate in duplicate experiments except for negative control groups (triplicate)

하여 free radical dosimeter와 ceric cerous dosimeter를 이용하였다.

감마선 조사 및 비조사 생약제 40g에 10배량의 50% methanol 수용액을 가하여 60°C water bath에서 8시간 씩 2회 추출하고 여지(Whatman No.5)로 여과한 후 감압농축하여 85° Brix의 생약추출물을 제조하였다. Methanol에 녹는 분획과 물에 녹는 분획으로 나누어 수집한 후 methanol 가용분은 감압농축하여 DMSO에 녹이고 물 가용분은 동결건조하여 물에 녹였다.

*Salmonella typhimurium*을 이용한 복귀돌연변이 시험

시험을 위한 배지, 시약 및 S9 mix의 조제와 시험방법은 Marton등의 방법(6,7)에 따랐다. S9 분획(8,9)은 Pheno-barbital과 5,6-benzoflavone으로 유도한 Spr-

ague-Dawley rat(CRJ; 7 week-old, male)의 간으로부터 분리한 것으로 일본 Oriental Yeast Co., LTD.에서 구입(protein content : 23.6mg/ml S9)하였으며, 4% S9 mix를 제조하여 사용하였다.

시험에 사용한 *Salmonella typhimurium* TA98, TA100, TA102는 한국국립보건안전연구원으로부터 분양받았다. 각 균주는 histidine 요구성, deep rough(rfa) 특성, UV에 대한 민감도(uvrB 돌연변이), R-factor에 의한 ampicillin 또는 tetracycline 내성 등의 유전형질을 확인한 후 시험에 사용하였다.

대사활성화시키지 않는 경우의 시험은 standard plate incorporation test로, 대사활성화시키는 경우에는 pouring하기 전에 30분간 예비배양하는 preincubation test로 시행하였다. 시험판에 인산완충용액 0.5ml(대사활성화시키는 경우에는 S9 mix 0.5ml), 시료용액 0.1ml과 Oxoid nutrient broth에서 12시간 배양시킨 균배양액 0.1

Table 3. Revertant colonies in the *S. typhimurium* reversion assay with methanol-soluble fraction of γ -irradiated *Paeonia japonica* Miyabe

Test material	Irradiation ¹⁾	S9 mix	Dose ($\mu\text{g}/\text{plate}$)	Number of revertant colonies(His^+) per plate		
				TA98	TA100	TA102
DMSO	-	-		24±10	246±18	299±24
Test material	-	-	GI(50%)	25±3	227±1	297±44
	-	-	GI(50%)/3	20±1	209±17	308±16
	-	-	GI(50%)/9	22±1	214±22	298±2
	-	-	GI(50%)/27	27±8	244±4	326±43
	-	-	GI(50%)/81	23±2	232±30	307±11
	+	-	GI(50%)	27±1	213±8	332±9
	+	-	GI(50%)/3	24±2	222±10	297±23
	+	-	GI(50%)/9	29±2	254±7	341±7
	+	-	GI(50%)/27	28±5	238±4	330±34
	+	-	GI(50%)/81	18±5	218±9	310±33
NPD	-	-	20	1897±40		
Na-Azide	-	-	1.5		994±138	
MMC	-	-	0.5			5840±161
DMSO						
DMSO	-	-		25±4	224±19	337±9
	-	+		31±4	245±10	351±18
Test material	-	+	GI(50%)	28±1	236±17	337±37
	-	+	GI(50%)/3	31±6	214±1	350±13
	-	+	GI(50%)/9	29±5	224±4	338±1
	-	+	GI(50%)/27	20±1	226±1	382±21
	-	+	GI(50%)/81	27±8	206±12	349±11
	+	+	GI(50%)	22±4	259±28	334±23
	+	+	GI(50%)/3	26±2	213±8	368±9
	+	+	GI(50%)/9	32±9	223±1	383±28
	-	+	GI(50%)/27	28±9	231±9	328±6
	-	+	GI(50%)/81	27±4	214±21	342±8
	-	+	10	1090±95	772±74	553±63

2-AF

¹⁾Irradiation(10kGy of Co-60 gamma-ray) was treated to the medicinal herb before extractionGI(50%)=concentration of 50% growth inhibition, 50 $\mu\text{g}/\text{plate}$ for TA98, 400 $\mu\text{g}/\text{plate}$ for TA100, 2,000 $\mu\text{g}/\text{plate}$ for TA102
NPD(4-nitro-*o*-phenylenediamine), Na-Azide(sodium azide), MMC(mitomycin C) and 2-AF(2-aminofluorene) were used
as positive controls for the corresponding strainsValues represent mean±S.D. of revertant colonies per plate in duplicate experiments except for negative control groups
(triplicate)

ml을 넣어 가볍게 vortex하였다. 대사활성화시키지 않는 경우에는 바로(대사활성화시키는 경우에는 30분간 37°C에서 예비배양한 다음) histidine/biotin이 첨가된 top agar(45°C)를 2ml 가하고 3초간 vortex하여 minimal glucose agar plate 상에 부어 평판고화시켰다. 37°C에서 48시간 배양한 후 revertant colony를 세수하였다. 돌연변이 유발성의 판정은 원저의 제시에 따라 복귀변이 접락수가 용매대조군의 2배 이상이면서 용량의 증성을 갖는 경우를 양성으로 하였다.

결과 및 고찰

시험대상은 오염유기체 완전 구제 선량인 10kGy의
감마선으로 조사된 은금, 황금, 작약 추출물의 methanol

가용분과 물 가용분이었다.

대상물질이 천연생약재임을 고려하여 50%의 균주 생장억제를 나타내는 농도를 최고 농도로 하여, *Salmonella typhimurium* TA98, TA100 및 TA102의 복귀돌연변이 접락수를 조사한 결과를 Table 1~6에 나타내었다. 각 시험에서 음성대조군의 복귀변이 접락수는 문헌치(6,7,10-12)의 범위 이내이었고, 양성대조 화합물에 의해 복귀변이 접락수가 현저히 증가하여 본 실험이 적합하게 행하여졌음을 알 수 있었다.

대사활성화를 시키지 않은 경우와 시킨 경우 모두에서 감마선조사 생약추출물에 의한 각 균주의 복귀돌연변이 접락수의 증가를 인정할 수 없었다. 다만, 작약 물가용분의 경우 첨가량의 증가에 따라 접락수가 다소 증가하는 경향은 작약 물 가용분에 포함된 histidine에 의

Table 4. Revertant colonies in the *S. typhimurium* reversion assay with water-soluble fraction of γ -irradiated *Paeonia japonica* Miyabe

Test material	Irradiation ¹⁾	S9 mix	Dose ($\mu\text{g}/\text{plate}$)	Number of revertant colonies(His^+) per plate		
				TA98	TA100	TA102
H ₂ O	-	-		23± 9	170± 6	297± 58
Test material	-	-	15,000	33± 4	166± 12	302± 20
	-	-	5,000	23± 1	156± 11	335± 16
	-	-	1,667	27± 4	159± 1	339± 8
	-	-	556	19± 7	154± 11	310± 13
	-	-	185	24± 2	167± 11	307± 2
	+	-	15,000	31± 11	158± 9	308± 7
	+	-	5,000	30± 2	154± 11	322± 30
	+	-	1,667	18± 1	141± 1	304± 9
	+	-	556	18± 6	143± 20	299± 4
	+	-	185	20± 2	154± 13	313± 13
NPD	-	-	20	2340± 92		
Na-Azide	-	-	1.5		1229± 103	
MMC	-	-	0.5			5189± 306
H ₂ O	-	-		24± 4	227± 7	309± 14
H ₂ O	-	+		31± 3	257± 6	342± 16
Test material	-	+	15,000	31± 3	315± 25	394± 3
	-	+	5,000	25± 8	254± 11	382± 18
	-	+	1,667	25± 3	258± 6	367± 12
	-	+	556	32± 12	246± 10	351± 25
	-	+	185	20± 1	235± 14	321± 16
	+	+	15,000	29± 3	301± 6	411± 6
	+	+	5,000	24± 1	226± 6	378± 8
	+	+	1,667	26± 10	229± 1	350± 35
	+	+	556	25± 11	247± 11	329± 13
	+	+	185	25± 1	223± 25	319± 11
2-AF	-	+	10	1641± 158	909± 78	531± 57

¹⁾Irradiation(10kGy of Co-60 gamma-ray) was treated to the medicinal herb before extraction

NPD(4-nitro- α -phenylenediamine), Na-Azide(sodium azide), MMC(mitomycin C) and 2-AF(2-aminofluorene) were used as positive controls for the corresponding strains

Values represent mean±S.D. of revertant colonies per plate in duplicate experiments except for negative control groups (triplicate)

한 중식작용에 기인한 것으로 사료된다. 그러나 각 용량단계에서 비조사군과 감마선조사군의 접락수는 거의 동일하였다.

따라서, 감마선조사 생약추출물이 직접변이원이나 간접변이원으로 작용하지 않음을 알 수 있었다. 이 결과는 하 등(13)이 방사선 조사 백삼분말을 시험한 결과와 일치하였다.

시료의 유전독성을 판정하기 위한 시험은 세균의 유전자 돌연변이 시험, 포유류 세포의 염색체 이상 시험 등의 시험판내 시험법과 설치류에서의 소핵 시험 및 우성치사 시험, 초파리에서의 반성열성치사 시험, 포유류 골수세포의 유전학적 시험 등의 생체 시험법이 있다(14, 15). 저자 등은 1차적으로 세균의 유전자 돌연변이 시험들 중 대표적인 *Salmonella typhimurium*를 이용한 복귀돌연변이 시험을 시행하여, 감마선 조사 생약의 추출물이 직접변이원이나 간접변이원으로 작용하지 않음

을 알 수 있었다. 유전독성의 평가는 지표가 다른 여러 가지 시험계에서 얻은 결과로부터 종합적으로 판정되어야 한다고 사료되므로, 생체내 시험이 추가로 시행되어야 할 것으로 생각된다. 나아가서 만성독성 시험 및 생식독성 시험 등이 추가된다면 감마선조사 생약제의 안전성을 명확히 밝힐 수 있을 것으로 사료된다.

요 약

감마선 조사된 생약재의 유전독성학적 안전성을 평가하기 위하여 *Salmonella typhimurium* TA98, TA100, TA102 균주를 이용한 유전자 복귀돌연변이 시험(Ames test)을 시행하였다. 시험대상은 오염유기체 완전 구제 선량인 10kGy의 감마선으로 조사된 물금, 황금, 작약 추출물의 폐탄을 가용분과 물 가용분이었으며, 시험농도는 대상물질이 생약재임을 고려하여 50%

Table 5. Revertant colonies in the *S. typhimurium* reversion assay with methanol-soluble fraction of γ -irradiated *Scutellaria baicalensis* George

Test material	Irradi-ation ¹⁾	S9 mix	Dose ($\mu\text{g}/\text{plate}$)	Number of revertant colonies(His ⁻) per plate		
				TA98	TA100	TA102
DMSO	-	-		22± 2	161± 3	270± 6
Test material	-	-	GI(50%)	20± 6	154± 4	268± 39
	-	-	GI(50%)/3	18± 2	162± 7	305± 12
	-	-	GI(50%)/9	21± 6	168± 8	287± 21
	-	-	GI(50%)/27	19± 8	152± 17	294± 18
	-	-	GI(50%)/81	13± 1	153± 4	292± 8
	+	-	GI(50%)	16± 4	169± 1	277± 10
	+	-	GI(50%)/3	16± 3	154± 7	275± 22
	+	-	GI(50%)/9	17± 1	165± 1	289± 16
	+	-	GI(50%)/27	18± 6	151± 19	305± 1
	+	-	GI(50%)/81	19± 5	142± 33	281± 1
NPD	-	-	20	2178± 197		
Na-Azide	-	-	1.5		1227± 173	
MMC	-	-	0.5			5520± 356
DMSO	-	-		24± 2	221± 23	297± 15
DMSO	-	+		35± 3	241± 26	335± 8
Test material	-	+	GI(50%)	26± 5	221± 13	357± 4
	-	+	GI(50%)/3	32± 6	219± 3	367± 1
	-	+	GI(50%)/9	31± 4	224± 8	336± 18
	-	+	GI(50%)/27	32± 6	215± 21	353± 38
	-	+	GI(50%)/81	25± 1	200± 1	305± 3
	+	+	GI(50%)	26± 6	217± 4	363± 11
	+	+	GI(50%)/3	34± 2	216± 4	344± 23
	+	+	GI(50%)/9	29± 4	190± 8	340± 59
	+	+	GI(50%)/27	31± 6	171± 8	336± 4
	+	+	GI(50%)/81	32± 1	194± 2	312± 6
2-AF	-	+	10	1687± 121	871± 19	523± 81

¹⁾Irradiation(10kGy of Co-60 gamma-ray) was treated to the medicinal herb before extraction

GI(50%)=concentration of 50% growth inhibition; 24 $\mu\text{g}/\text{plate}$ for TA98, 84 $\mu\text{g}/\text{plate}$ for TA100, 160 $\mu\text{g}/\text{plate}$ for TA102
NPD(4-nitro-o-phenylenediamine), Na-Azide(sodium azide), MMC(mitomycin C) and 2-AF(2-aminofluorene) were used as positive controls for the corresponding strains

Values represent mean±S.D. of revertant colonies per plate in duplicate experiments except for negative control groups (triplicate)

의 균주 생장억제를 나타내는 농도를 최고 농도로 하였다. 시험은 대사활성화시키지 않은 경우와 S9 mix 첨가로 대사활성화시킨 경우에서 복귀변이 접락을 계수하였다. 그 결과 각 시료에 의한 접락수의 증가를 인정할 수 없었으며, 각 용량단계에서 비조군과 감마선 조사군 간의 차이도 볼 수 없었으므로 음성으로 판정하였다. 따라서 감마선 조사된 각 시료가 직접변이원이나 간접변이원으로 작용하지 않음을 확인할 수 있었다. 이 결과로 보아 생체내 유전독성시험, 반성독성시험 및 생식독성시험 등이 추가된다면 감마선조사 생약제의 안전성을 명확히 밝힐 수 있을 것으로 사료된다.

문 헌

- Ahmed, M. : *Food irradiation, Up-to-date status*. Joint FAO/IAEA Division of Nuclear Techniques in Food and Agriculture, IAEA 6626F, Vienna, 27, Nov.(1991)

- WHO : *Wholesomeness of irradiated food*. Report of a joint FAO/IAEA/WHO expert committee on the wholesomeness of irradiated food. Technical Report Series 659(1981)
- Daferstein, F. K. : *Food irradiation; The position of the World Health Organization*. 36th General Conference of the International Atomic Energy Agency, Scientific session, Vienna, 23, Sept.(1992)
- 변명우 : 식품산업에서 원자력 기술의 이용. 동위원소회보, 9, 32(1993)
- Byun, M. W., Yook, H. S., Jo, S. K. and Chong, Y. J. : Status and prospects of food irradiation technology in Korea. *J. Food Sci. Nutr.*, 1, 262(1996)
- Marton, D. M. and Ames, B. N. : Revised methods for the *Salmonella* mutagenicity test. *Mutation Res.*, 113, 173(1983)
- Ames, B. N., McCann, J. and Yamasaki, E. : Methods for detecting carcinogens and mutagens with the *Salmonella*/mammalian-microsome mutagenicity test. *Mutation Res.*, 31, 347(1975)
- Ashwood-Smith, M. J. : Stability of frozen microsome preparations for use in the Ames *Salmonella* mutage-

Table 6. Revertant colonies in the *S. typhimurium* reversion assay with water-soluble fraction of γ -irradiated *Scutellaria baicalensis* George

Test material	Irradiation ¹⁾	S9 mix	Dose ($\mu\text{g}/\text{plate}$)	Number of revertant colonies(His ⁺) per plate		
				TA98	TA100	TA102
H ₂ O	-	-		27± 6	203± 18	317± 21
Test material	-	-	1,500	34± 7	202± 11	346± 8
	-	-	500	28± 4	210± 9	320± 13
	-	-	167	30± 8	188± 6	313± 12
	-	-	56	20± 2	203± 15	323± 16
	-	-	19	29± 11	208± 4	308± 1
	+	-	1,500	25± 4	189± 6	360± 1
	+	-	500	28± 1	196± 6	317± 10
	+	-	167	32± 2	177± 6	330± 5
	+	-	56	32± 9	185± 11	313± 4
	+	-	19	31± 4	192± 4	327± 20
NPD	-	-	20	2226± 173		
Na-Azide	-	-	1.5		1362± 126	
MMC	-	-	0.5			5265± 228
H ₂ O	-	-		24± 5	252± 9	323± 28
H ₂ O	-	+		38± 4	270± 14	333± 74
Test material	-	+	1,500	38± 4	273± 5	372± 31
	-	+	500	43± 4	256± 1	355± 4
	-	+	167	30± 1	266± 6	342± 69
	-	+	56	38± 4	258± 6	318± 29
	-	+	19	42± 13	224± 16	297± 13
	+	+	1,500	27± 2	287± 28	353± 43
	+	+	500	38± 2	258± 23	307± 12
	+	+	167	32± 5	223± 9	313± 11
	-	+	56	29± 1	224± 8	327± 11
	+	-	19	28± 1	215± 13	293± 4
2-AF	-	+	10	1648± 350	874± 47	606± 50

¹⁾Irradiation(10kGy of Co-60 gamma-ray) was treated to the medicinal herb before extraction
NPD(4-nitro-*o*-phenylenediamine), Na-Azide(sodium azide), MMC(mitomycin C) and 2-AF(2-aminofluorene) were used as positive controls for the corresponding strains

Values represent mean± S D. of revertant colonies per plate in duplicate experiments except for negative control groups (triplicate)

- nicity assay. *Mutation Res.*, **69**, 199(1980)
9. Hubbard, S. A., Brooks, T. M., Gonzalez, L. P. and Bridges, J. W. : Preparation and characterisation of S9-fractions. In "Comparative genetic toxicology" Parry, J. M. and Arlett, C. F.(eds.), Macmillan, London, p 413(1985)
 10. Ashby, J. and Tennant, R. W. : Chemical structure, *Salmonella* mutagenicity and extent of carcinogenicity as indices of genotoxic carcinogens among 222 chemicals tested in rodents by the US NCI/NTP. *Mutation Res.*, **204**, 17(1988)
 11. Ashby, J., Tennant, R. W., Zeiger, E. and Stasiewicz, S. : Classification according to chemical structure, mutagenicity to *Salmonella* and level of carcinogenicity of a further 42 chemicals tested for carcinogenicity by the US National Toxicology Program. *Mutation Res.*, **223**, 73(1989)
 12. Prival, M. J., Bell, S. J., Mitchell, V. D., Peiperl, M. D. and Vaughn, V. L. . Mutagenicity of benzidine and benzidine-congener dyes and selected monoazo dyes in a modified *Salmonella* assay. *Mutation Res.*, **136**, 33 (1984)
 13. 하광원, 정해관, 오혜영, 허옥순, 손수정, 한의식, 정성철, 최부영, 김영미, 김필선, 문화희·방사선조사 인삼의 유전독성에 관한 연구. *한국식품위생·안전·생화학회지*, **9**, 67 (1994)
 14. Brusick, D. : Genetic toxicology. In "Principles and methods of toxicology" Hayes, A. W.(ed.), 3rd ed., Raven Press, New York, p. 545(1994)
 15. Department of Health : *Guidelines for the testing of chemicals for mutagenicity*. Committee on Mutagenicity of Chemicals in Food, Consumer Products and the Environment. Report on Health and Social Security, HMSO, London, No. 35(1989)