

자색옥수수 포엽 및 속대추출물의 Chinese Hamster Lung 세포를 이용한 염색체 이상시험

김희연^{1*}, 이기연², 김태희³, 김재은³, 박종열⁴

¹강원도농업기술원 옥수수연구소 농업연구사, ²강원도농업기술원 농식품연구소 농업연구사, ³강원도농업기술원 농식품연구소 연구원, ⁴강원도농업기술원 작물연구과 농업연구관

Genotoxicity Evaluation of Extracts from the Husks and Cobs of Purple Corn using an *In vitro* Chromosome Aberration Test in Chinese Hamster Lung Cells

Hee Yeon Kim^{1*}, Ki Yeon Lee², Tae Hee Kim³, Eun Jae Kim³, Jong Yeol Park⁴

¹Research Scientist, Maize Research Institute, Gangwon-do Agricultural Research and Extension Services, Hongcheon 25160, Korea

²Research Scientist, Agriproduct Processing Experiment Station, Gangwon-do Agricultural Research and Extension Services, Chuncheon 24203, Korea

³Researcher, Agriproduct Processing Experiment Station, Gangwon-do Agricultural Research and Extension Services, Chuncheon 24203, Korea

⁴Senior Researcher, Crop Research Section, Gangwon-do Agricultural Research and Extension Services, Chuncheon 24203, Korea

*Corresponding author: Heeyeon Kim (E-mail: heeya80@korea.kr)

ABSTRACT

Received: 8 November 2021

Revised: 15 November 2021

Accepted: 16 November 2021

This study evaluated the toxicity of extracts from the husks and cobs of purple corn (HCPC) using an *in vitro* chromosomal aberration test in Chinese hamster lung (CHL) cells. Experimental groups were treated with -S9 mix (6 h), +S9 mix (6h), or -S9 mix (24 h). A dose range finding study was conducted by setting the concentrations of HCPC extracts to 156, 313, 625, 1,250, 2,500 and 5,000 µg/mL. Consequently, the -S9 mix (6h) RICC⁵⁵ value was 1677.76 µg/mL, no cytotoxicity was determined at +S9 mix (6h), and -S9 mix (24h) RICC⁵⁵ value was 582.91 µg/mL. Based on the results, concentration of experimental groups was determined by setting 1,000, 1,250, 1,500, and 1,750 µg/mL in -S9 mix (6 h); 1,250, 2,500, and 5,000 µg/mL in +S9 mix; and 100, 200, 400, 600, and 800 µg/mL in -S9 mix (24 h). The frequency of appearance of chromosomal dysplasia cells and numerical dysplasia cells was less than 5% each. In the positive controls, the frequency of appearance of structural dysplasia cells was more than 10%. Under the conditions of this study, extracts from the husks and cobs did not cause chromosome abnormalities in CHL cells.

Keywords: Chromosome aberration test, Cobs, Husk, Purple corn



서론

옥수수 알곡은 흰색, 노란색, 적색, 자색, 흑색 등으로 구분되는데, 이 중 자색계열은 주로 안토시아닌 색소 집적에 관여하는 유전자에 의한 것으로 알려져 있다(Li, 2008; Coe et al., 1988). 안토시아닌은 여러 기능성 중 항산화 작용(Nam et al., 2006)이 대표적으로 알려져 있고, 항염(Tsuda et al., 2002), 항암(Hyun and Chung, 2004), 항비만 및 혈당강하(Tsuda et al., 2003) 등 다양한 연구가 진행되고 있다.

강원도농업기술원 옥수수연구소에서는 가공용 자색옥수수를 2008년 개발을 시작하여 2011년에 색소 1호를 품종 출원하였으며, 2014년에 등록 완료하였다(제4967호). 이어서 자색알곡 및 속대용 색소 2호의 품종등록(제6731호) 및 자색 포엽 및 속대용 색소 5호를 품종 출원(제2021-185호)하였고, 등록을 추진 중이다. 색소 1호는 알곡은 노란색이며, 포엽과 속대가 자색을 띠는 품종으로 품종 개발된 강원도농업기술원에서 안토시아닌 지표성분 분석 확립 및 다양한 생리활성 및 효능을 검정하였다. 색소 1호의 총안토시아닌 함량은 $8.61 \pm 0.11\%$ 이었고, HPLC를 통하여 분석한 지표성분인 Cyanidin 3-glucoside의 함량은 $1.46 \pm 0.01\%$ 색소 1호 포엽 및 속대 혼합 추출물이 리파아제 저해활성 및 지방전구세포인 3T3-L1의 분화를 억제시키는 것으로 보고되었다(Lee et al., 2018). 알곡과 포엽 및 속대 모두 자색이 발현되는 품종인 ‘색소 2호’ 알곡의 일반성분, 유리당, 지방산 조성 및 안토시아닌 함량에 관한 연구와 색소 2호 알곡 및 속대 추출물의 고지방-고콜레스테롤 식이로 비만이 유도된 쥐의 체내 항산화 체계 향상에 관한 연구가 보고되었다(Lee et al., 2016a, 2016b).

옥수수의 포엽과 속대부분은 식품원재료로 사용이 불가하며, 속대부분은 침출차의 원료로만 사용이 가능하다. 자색옥수수의 포엽과 속대 추출물의 한시적 식품원료 사용 승인을 위해서는 유전독성, 단회투여, 반복투여 독성 등의 안전성을 위한 비임상 시험이 필요하여, 유전독성시험 중 포유류 배양세포를 이용한 염색체이상시험을 수행하였다(Ishidate et al., 1981; Ishidate, 1987; OECD Guidelines, 2014).

재료 및 방법

시험물질

자색옥수수 포엽 및 속대추출물은 2016년 강원도농업기술원 옥수수연구소에서 표준재배법에 준하여 재배하였고, 수확 후 이삭의 알곡을 제거한 후, 포엽과 속대를 분리하여 냉풍제습기(TJHP-1003, Joogang Precision, Daegu, Korea)에서 30°C로 건조하여 사용하였다. 포엽 건조시료 50 g과 속대 건조시료 50 g을 섞은 시료에 0.1% citric acid 가 함유된 30% 주정 1.5 L를 넣고 12 시간동안 상온교반하여 2 회 추출하였다. 추출액은 부형제로 30% dextrin을 첨가한 다음 분무건조하여 시료로 사용하였다. 대조물질 중 음성대조물질은 멸균증류수를 사용하였으며 양성대조물질은 염색체이상시험에서 사용되는 mitomycin C(MMC, Sigma-Aldrich Co., St. Louis, Missouri, USA)와 cyclophosphamide monohydrate(CPA, Sigma-Aldrich Co., St. Louis, Missouri, USA)를 사용하였다.

세포주 및 배지

시험세포는 Chinese hamster lung(CHL) 유래의 배양세포를 이용하여 사용하였고(American type culture collection, ATCC CRL-1935™), 최종 10%(v/v)의 비율로 DMSO를 첨가한 배지에 세포를 부유시켜, 약 1 mL씩 분주하고, 동결

한 후에 액체질소 보존용기로 옮겨 보존하였다. 시험 진행시 동결 세포를 사전 또는 시험 기간 중에 해동 및 배양하고 다른 시험과 공통으로 사용하였다. 배양조건은 37°C, CO₂ 농도는 5%였으며 포화습도조건하에서 수행하였다. 사용 배지는 Minimum Essential Medium(MEM, Life Technologies Corp., Carlsbad, California, USA)에 heat-inactivated fetal bovine serum(Life Technologies Corp., Carlsbad, California, USA) 10%(v/v), Penicillin Streptomycin(Life Technologies Corp., Carlsbad, California, USA) 1% 비율로 첨가하였다.

대사활성계 S9 mix의 조제

시험군은 대사활성계 적용군(+S mix)과 비적용군(-S mix)로 구분하였으며, -S mix는 자색옥수수 포엽 및 속대추출물을 6 시간 처리 후 18 시간 회복기를 둔 단시간처리법과 24 시간 처리한 연속처리군으로 구분하였다. S9 rat liver(Molecular Toxicology, Inc., North Carolina, USA) 1 vial에 멸균증류수 2.1 mL을 첨가하여 현탁하여 사용하였다. Cofactor-I(Oriental Yeast Co., Ltd., Tokyo, Japan)에 멸균증류수 7 mL를 넣어 용해한 후, pore size 0.45 µm membrane filter(Satorius, Goettingen, Germany)로 여과한 것을 Cofactor mix로 하였다. Cofactor mix 4.9 mL에 조제한 S9 2.1 mL의 비율로 혼합하여 사용하였다.

용량설정

자색옥수수 포엽 및 속대추출물을 5,000 µg/mL로 조제하여 세포증식억제시험에서의 최고처리농도에는 본 용액을 사용했고, 용매로 단계 희석하여 각각의 최종처리농도의 10배 농도의 용액(세포증식억제시험 156, 313, 625, 1,250, 2,500 및 5,000 µg/mL, 염색체이상시험(단시간처리법, -S9mix): 1,000, 1,250, 1,500, 1,750, 2,000, 2,250 및 2,500 µg/mL, 염색체이상시험(단시간처리법, +S9mix): 1,250, 2,500 및 5,000 µg/mL, 염색체이상시험(연속처리법): 100, 200, 400, 600, 800, 1,000 및 1,200 µg/mL)을 조제하여 사용하였다. 염색체이상시험(단시간처리법)은 처리시간은 6 시간이며 회복시간은 18 시간이고, 염색체이상시험(연속처리법)은 처리시간이 24 시간, 회복시간은 0 시간으로 처리하였다.

염색체이상시험 시험물질 처리 및 검체 제작

처리종료 2 시간 전에 colcemid를 최종농도 0.2 µg/mL이 되도록 각 culture flask에 첨가하여 분열중기세포를 축적하였다. 처리 종료 후, 세포 표면을 PBS로 세정하였다. 0.25% Trypsin-EDTA(Life Technologies Corp., Carlsbad, California, USA)를 처리(37°C, 5 분)하여 세포를 박리하였다. 세포부유액을 원심관에 회수해, 원심분리(1,000 rpm, 5 분간, 이하 동일)하여 세포를 모았다. 상등액을 제거 후, 각 원심관에 0.075 M KCL 용액 4 mL을 넣고 저장처리(37°C, 15 분)를 실시하였다. 냉각한 고정액(메탄올 : 빙초산 혼합액 [3 : 1, v/v]) 0.5 mL를 첨가하여 혼합한 후, 원심분리하여 상등액을 제거하였다. 고정액 4 mL를 더해 혼합한 후에, 원심분리하여 상등액을 제거 후 적당량의 고정액으로 세포를 부유시켰다. Slide tray 위에 둔 slide glass에 2-3 개소에 떨어뜨려 건조시키고, Culture flask 당 2 매 이상의 표본을 제작하였다. 5%(v/v)의 gimesa 용액으로 5 분간 염색 후, 수세 건조하였다. 세포 부유액의 일부를 채취하여 생세포계수기(Beckman Coulter, Brea, California, USA)로 세포를 계수하였다. 이때 양성대조군은 계수하지 않고 음성대조군의 측정값(평균)을 100%로 하여 상대세포수 증가(RICC, Relative increase in cell counts) 55 ± 5% 이하의 세포독성을 산출하였다.

검체 관찰

관찰 세포수는 culture flask 당 150개(농도 당 300개)이며 표본 관찰 중 구조이상은 염색분체절단(chromatid break, ctb), 염색분체교환(chromatid exchange, cte), 염색체절단(chromosome break, csb), 염색체교환(chromosome exchange, cse), 단편화(fragmentation, other)이며, Gap(g)은 염색분체로 보여지는 비염색 부분의 폭이 염색분체의 폭보다 좁은 것으로 하였다. 수적이상은 동원체수가 35 이상의 배수성 세포(Polyploids)와 핵내배가 세포(endoreduplication, endo)를 말한다. 판정기준으로 염색체이상세포는 구조이상세포와 수적이상세포를 1개 이상 가지는 세포를 뜻하며, 음성은 시험물질 처리군 중 구조이상세포 및 수적이상세포의 출현 빈도가 5% 미만, 의양성은 시험물질 처리군 중 1개 농도 이상에서 구조이상세포 또는 수적이상세포의 출현빈도가 5% 이상 10% 미만, 양성은 시험물질 처리군 중 1개 농도 이상에서 구조이상세포 또는 수적이상세포의 출현빈도가 10% 이상이며, 농도의존적인 증가 경향이 인정되는 것을 뜻하며 판정에 통계학적 방법은 이용하지 않았다(OECD guidelines, 2014).

결과 및 고찰

농도결정시험

농도결정시험은 단시간처리법 S9 mix 미적용(이하, -S9 mix으로 칭함), S9 mix 적용(이하, +S9 mix으로 칭함) 및 연속처리법 24시간처리로 자색옥수수 포엽 및 속대 추출물의 농도를 156, 313, 625, 1,250, 2,500 및 5,000 µg/mL로 설정하며 실시하였다. 그 결과, 상대세포수 증가는 대사활성계 처리군(+S9 mix)을 제외한 시험물질 처리조건에 있어서 농도의존적으로 감소하였다. -S9 mix 단시간처리군에서 RICC⁵⁵ 1677.76 µg/mL, 24 시간처리에서는 582.91 µg/mL, +S9 mix에서는 세포독성이 확인되지 않았다(Table 1).

염색체이상시험(단시간처리법)

농도결정시험의 결과를 기초로 하여, -S9 mix에서는 1,000, 1,250, 1,500, 1,750, µg/mL, +S9 mix에서는 1,250, 2,500 및 5,000 µg/mL를 각각 설정하여 염색체이상시험(단시간처리법)을 실시했다. 표본관찰 결과, -S9 mix의 0, 1,000, 1,250, 1,500 및 1,750 µg/mL 에 있어서의 염색체구조이상세포의 출현빈도는 1,750 µg/mL 처리구에서 0.7%

Table 1. Results of the cell growth inhibition test

Concentration (µg/mL)	Cell growth treatment index (%)		
	Short-term treatment test		Continuous treatment test
	-S9 mix	+S9 mix	24 hours exposure
Negative control	100.0	100.0	100.0
156	98.03 ± 0.00	94.98 ± 5.01	97.74 ± 6.94
313	89.73 ± 1.90	81.53 ± 23.02	82.91 ± 3.75
625	97.41 ± 5.18	102.08 ± 7.44	51.59 ± 1.39
1,250	92.14 ± 2.53	110.52 ± 9.69	22.23 ± 5.69
2,500	20.40 ± 5.18	106.97 ± 0.18	
5,000		96.33 ± 3.11	
RICC ⁵⁵ (µg/mL)	1,677.76		582.91

Table 2. Results of the chromosomal aberration test (Short-term treatment test, -S9 mix)

Concentration (µg/mL)	Number of observed	Number of structural aberrations (Frequencies %)					Total (cells %)	g	Cell growth index (%)	Number of numerical aberrations (Frequencies %)			Total (cells %)
		ctb	cte	csb	cse	other				Number of observed	Polyploids	Endo	
Negative control (SDW)	150	0	0	0	0	0	0	0	100.0	150	0	0	0
	150	0	0	0	0	0	0	0	100.0	150	0	0	0
	300	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0	100.0	300	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)
1,000	150	0	0	0	0	0	0	0	94.2	150	0	0	0
	150	0	0	0	0	0	0	0	82.0	150	0	0	0
	300	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0	88.1	300	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)
1,250	150	0	0	0	0	0	0	0	86.8	150	0	0	0
	150	0	0	0	0	0	0	0	75.1	150	0	0	0
	300	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0	81.0	300	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)
1,500	150	0	0	0	0	0	0	1	64.6	150	0	0	0
	150	0	0	0	0	0	0	0	61.1	150	0	0	0
	300	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	1	62.9	300	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)
1,750	150	0	1	0	0	0	1	0	55.5	150	0	1	0
	150	0	1	0	0	0	1	0	51.3	150	0	1	0
	300	0	2(0.7)	0	0	0	2(0.7)	0	53.4	300	0	2(0.7)	0
Positive control (MMC 0.1)	150	2	34	1	0	0	37	0		150	0	0	0
	150	2	31	2	0	0	35	0		150	0	0	0
	300	4(1.3)	65(21.7)	3(1.0)	0(0.0)	0(0.0)	72(24.0)	0		300	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)

MMC: Mitomycin C, ctb: chromatid type break, cte: chromatid type exchange, csb: chromoso-type break, cse: chromosome type exchange, other: fragmentation etc., g: gap, Endo: endoreduplication.

Table 3. Results of the chromosomal aberration test (Short-term treatment test, +S9 mix)

Concentration (µg/mL)	Number of observed	Number of structural aberrations (Frequencies %)					Total (cells %)	g	Cell growth index (%)	Number of numerical aberrations (Frequencies %)			Total (cells %)
		ctb	cte	csb	cse	other				Number of observed	Polyploids	Endo	
Negative control (SDW)	150	0	0	0	0	0	0	0	100.0	150	0	0	0
	150	0	0	0	0	0	0	1	100.0	150	0	0	0
	300	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	1	100.0	300	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)
1,250	150	0	0	0	0	0	0	0	122.1	150	0	0	0
	150	0	0	0	0	0	0	0	108.2	150	0	0	0
	300	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0	115.1	300	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)
2,500	150	0	0	0	0	0	0	0	105.1	150	0	0	0
	150	0	0	0	0	0	0	1	99.6	150	0	0	0
	300	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	1	102.3	300	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)
5,000	150	0	0	0	0	0	0	0	113.2	150	0	0	0
	150	0	0	0	0	0	0	0	108.5	150	0	0	0
	300	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0	110.9	300	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)
Positive control (CPA 5)	150	2	35	2	1	0	39	0		150	0	0	0
	150	1	33	1	0	0	35	1		150	0	0	0
	300	3(1.0)	68(2.7)	3(1.0)	1(0.3)	0(0.0)	74(24.7)	1		300	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)

CPA: cyclophosphamide, ctb: chromatid type break, cte: chromatid type exchange, csb: chromoso-type break, cse: chromosome type exchange, other: fragmentation etc., g: gap, Endo: endoreduplication.

제의 모두 0.0% 이었고, 수적이상세포의 출현빈도는 모든처리구에서 0.0% 이었다(Table 2). +S9 mix의 0, 1250, 2,500 및 5,000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 에 있어서의 염색체구조이상세포 및 수적이상세포의 출현빈도는 모두 0.0% 이었다. 각 처리조건의 음성대조군 경우 구조이상세포 및 수적이상세포의 출현빈도는 5% 미만이었으며, 양성대조군의 경우 구조이상세포의 출현빈도는 10% 이상이었다(Table 3).

염색체이상시험(연속처리법)

단시간처리법에서 모두 음성이 되었기 때문에 연속처리법(-S9 mix)을 실시하였다. 24시간처리(연속처리법)에 대해서는 100, 200, 400, 600, 800 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 를 설정하였고, 표본관찰 결과, 0, 100, 200, 400, 600 및 800 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 에 있어서의 염색체구조이상세포의 출현빈도는 각각 0.3, 0.0, 0.0, 0.0, 0.3 및 0.3% 이었고 염색체수적이상세포의 출현빈도는 모든 처리구에서 0.0% 이었다. 음성대조군의 경우 구조이상세포 및 수적이상세포의 출현빈도는 5%미만이었으며 양성대조군의 경우 구조이상세포의 출현빈도는 10% 이상이었다(Table 4).

Table 4. Results of the chromosomal aberration test (Continuous treatment test, -S9 mix)

Concentration ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	Number of observed	Number of structural aberrations (Frequencies %)					Total (cells %)	g	Cell growth index (%)	Number of numerical aberrations (Frequencies %)			Total (cells %)
		ctb	cte	csb	cse	other				Number of observed	Polyploids	Endo	
Negative control (SDW)	150	0	0	0	0	0	0	0	100.0	150	0	0	0
	150	0	1	0	0	0	1	0	100.0	150	0	0	0
	300	0(0.0)	1(0.3)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	1(0.3)	0	100.0	300	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)
100	150	0	0	0	0	0	0	0	112.4	150	0	0	0
	150	0	0	0	0	0	0	0	91.8	150	0	0	0
	300	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0	102.1	300	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)
200	150	0	0	0	0	0	0	0	113.7	150	0	0	0
	150	0	0	0	0	0	0	0	73.3	150	0	0	0
	300	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0	93.5	300	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)
400	150	0	0	0	0	0	0	0	85.5	150	0	0	0
	150	0	0	0	0	0	0	0	84.2	150	0	0	0
	300	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0	84.9	300	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)
600	150	0	0	0	0	0	0	1	80.5	150	0	0	0
	150	0	1	0	0	0	1	0	68.7	150	0	0	0
	300	0(0.0)	1(0.3)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	1(0.3)	1	74.6	300	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)
800	150	0	0	0	0	0	0	1	56.6	150	0	0	0
	150	0	1	0	0	0	1	0	52.8	150	0	0	0
	300	0(0.0)	1(0.3)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	1(0.3)	1	54.7	300	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)
Positive control (MMC 0.05)	150	2	33	1	1	0	37	0		150	0	0	0
	150	2	31	2	0	0	35	0		150	0	0	0
	300	4(1.3)	64(21.3)	3(1.0)	1(0.3)	0(0.0)	72(24.0)	0		300	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)

MMC: Mitomycin C, ctb: chromatid type break, cte: chromatid type exchange, csb: chromoso-type break, cse: chromosome type exchange, other: fragmentation etc., g: gap, Endo: endoreduplication.

자색옥수수의 포엽과 속대 추출물의 주요 안토시아닌 색소는 10종의 안토시아닌 색소가 확인되고, 이에 함유되어 있는 주요 안토시아닌 성분인 cyanidin-3-glucoside(C-3-G), pelargonidin-3-glucoside(Pg-3-G), peonidin-3-glucoside (Pn-3-G)로 Li et al.(2008)이 보고하였으며, 자색옥수수로부터 추출된 색소는 항산화, 항돌연변이, 항암, 항당뇨, 항비만 활성 등이 보고되었는데, 안토시아닌색소의 독성에 대해서는 보고된바 없다(Kim et al., 2012; Lee et al., 2012).

요약

자색 옥수수 포엽과 속대 추출물에 대한 염색체이상 유발여부를 평가하기 위하여 Chinese hamster 유래의 lung cell을 이용하여 직접법 (S9-)과 대사활성법 (S9+)에서의 염색체이상시험을 실시하였다. 농도결정시험은 자색옥수수 포엽 및 속대 추출물의 농도를 156, 313, 625, 1,250, 2,500 및 5,000 µg/mL로 설정하며 실시하였다. 그 결과, -S9 mix RICC⁵⁵ 값은 1677.76 µg/mL, +S9 mix에서는 세포독성이 확인되지 않았으며 24 시간 처리에서 RICC⁵⁵ 값은 582.91 µg/mL이었다. 농도결정시험의 결과를 기초로 하여, -S9 mix에서는 1,000, 1,250, 1,500, 1,750, 2,000, 2,250 및 2,500 µg/mL, +S9 mix에서는 1,250, 2,500 및 5,000 µg/mL를 각각 설정하여 염색체이상시험(단시간처리법)을 실시하였고, 24 시간처리(연속처리법)에 대해서는 100, 200, 400, 600, 800 µg/mL 실시하였다. 표본관찰의 결과 -S9 mix와 +S9 mix, 연속처리법에서의 염색체구조이상세포 및 수적이상세포의 출현빈도는 각각 5% 미만이었으며, 양성 대조군의 경우 구조이상 세포의 출현빈도는 10% 이상이었다. 따라서 시험물질 시험물질은 본 시험조건 하에서 CHL 세포에 대한 염색체이상을 유발하지 않는 것(음성)으로 판단된다.

사사

본 논문은 농촌진흥청 공동연구사업(PJ015140032021)의 지원으로 이루어진 것임.

인용문헌(References)

- Coe, Jr. E. H., Neuffer, M. G., Hoisington, D. A. (1988) The genetics of corn. In: Spague GF and Dudley JW (eds). Corn and corn improvement (3rd ed). p.83-258.
- Hyun, J. W., Chung, H. S. (2004) Cyanidin and malvidin from *Oryza sativa* cv. Heugjinjubyeo mediate cytotoxicity against human monocytic leukemia cells by arrest of G2/M phase and induction of apoptosis. J Agric Food Chem 52:2213-2220.
- Ishidate, M. Jr. (1987) Data book of chromosomal aberration test *in vitro*, revised edition, Life-ScienceInformation Center, p.31-46.
- Ishidate, M. Jr., Sofuni, T., Yohsikawa, K. (1981) Chromosomal aberration tests *in vitro* as a primary screening tool for environmental mutagens and/or carcinogens, GANN Monograph oncancer Res, 27:95-107.
- Kim, J. T., Son, Y. B., Lee, J. S., Baek, S. B., Woo, K. S., Jung, G. H., Kim, M. J., Jeong, K. H., Kwon, Y. U. (2012) Effects of particle size on antioxidant activity and cytotoxicity in purple corn seed powder. Korean J Crop Sci 57: 353-358.
- Lee, J. S., Son, B. M., Kim, J. T., Ku, J. H., Han, O. K., Baek, S. B., Moon, J. K., Hwang, J. J., Kwon, Y. U. (2012) Change of total anthocyanin contents and antioxidant activities of purple waxy corn inbred lines and hybrids during grain filling. Korean J Breed Sci 44:290-300.

- Lee, K. Y., Hong, S. Y., Kim, T. H., Kim, J. E., Park, A. R., Noh, H. S., Kim, S. C., Park, J. Y., Ahn, M. S., Jeong, W. J., Kim, H. Y. (2018) Inhibition of pancreatic lipase activity and adipocyte differentiation in 3T3-L1 cells treated with purple corn husk and cob extracts. *J Food Hyg Saf* 33:1-9.
- Lee, K. Y., Kim, T. H., Lim, S. H., Park, J. Y., Kim, K. H., Ahn, M. S., Kim, H. Y. (2016a) Proximate, free sugar, fatty acids composition and anthocyanins of Saekso 2 corn kernels *J Food Hyg Saf* 31:335-341.
- Lee, K. Y., Kim, J. E., Hong, S. Y., Kim, T. H., Noh, H. S., Kim, S. C., Park, J. Y., Ahn, M. S., Kim, H. Y. (2016b) Effect of Saekso 2 corn kernels and cobs extracts on antioxidant activity in rats fed high fat-cholesterol diet. *J Food Hyg Saf* 31:399-405.
- Li, C. Y. (2008) Antioxidant effect of anthocyanins from purple corn and its application to food. MS thesis, Kangwon National University, Korea.
- Li, C. Y., Kim, H. W., Won, S. R., Min, H. K., Park, K. J., Park, J. Y., Ahn, M. S., Rhee, H. I. (2008) Corn husk as a potential source of anthocyanins. *J Agric Food Chem* 56:11413-11416.
- Nam, S. H., Choi, S. P., Kang, M. Y., Kof, H. J., Kozukue, N., Friedman, M. (2006) Antioxidative activities of barn from twenty one pigmented rice cultivars. *Food Chem* 94:613-620.
- OECD Guidelines for the Testing of Chemicals. No. 473 (2014) '*In Vitro* Mammalian Chromosomal Aberration Test'
- Tsuda, T., Horio, F., Osawa, T. (2002) Cyanidin 3-*O*- β -D-glucoside suppresses nitric oxide production during a zymosan treatment in rats. *J Nutr Sci Vitaminol* 48:305-310.
- Tsuda, T., Horio, F., Uchida, K., Aoki, H., Osawa, T. (2003) Dietary Cyanidin 3-*O*- β -D-glucoside-rich purple corn color prevents obesity and ameliorates hyperglycemia in Mice. *J Nutr* 133:2125-2130.