

## 두류 에탄올 추출물의 항산화 활성, 항변이원성 및 변이원성 검증

장수민 · 남석현<sup>1</sup> · 강미영\*

경북대학교 식품영양학과, <sup>1</sup>아주대학교 자연과학부

### Screening of the Antioxidative Activity, Antimutagenicity and Mutagenicity of the Ethanolic Extracts from Legumes

Su Min Chang, Seok Hyun Nam<sup>1</sup> and Mi Young Kang\*

Department of Food Science and Nutrition, Kyungpook National University

<sup>1</sup>Department of Natural Science, Ajou University

To evaluate the physiological properties of 22 varieties of legumes, antioxidative activity, antimutagenicity against Mitomycin C, genotoxicity, and mutagenicity were tested. Ethanolic extracts of legumes had significant antioxidative activities in the tests of electron-donating ability to DPPH radical, hydroxy radical-scavenging activity, and inhibitory effect on lipid auto-oxidation model system. Soy sprout bean (green), mung bean, and small black bean (green) had excitatory effects on the growth of *E. coli* PQ 37 cell. Black bean and green soy bean had inhibitory effects on the mutagenicities of the cells. Rice bean, pea, mung bean, and bonavista bean showed antimutagenic activities against chemical mutagen, Mitomycin C. Thus, rice bean and mung bean were found to be appropriate auxiliary ingredients of rice cake and rice processing food for the promotion of health and augmentation of rice and legume consumptions.

**Key words:** legumes, antioxidative activity, antimutagenicity, mutagenicity

### 서 론

두류(legumes)는 콩과(*leguminosae*)에 속하며 꼬투리를 형성하면서 그 안에 종자를 맺는 식물로 단백질과 지방원으로 이용되는 대두류와 땅콩류, 탄수화물원으로 이용되며 지방 함량이 낮은 녹두, 완두, 팥류와 채소적인 성질을 겸비하고 있는 강낭콩 등이 있으며 우리 식단에서 취반시 잡곡의 형태로 쌀과 혼용하거나 부식 소재로 이용되는 친숙한 식물성 식품이다.

최근에 과채류, 두류, 곡류가 가지고 있는 phytochemical의 생체조절 기능에 대한 관심이 높아지면서 이에 대한 연구가 활발히 진행되어 식물성 식품에 함유되어 있는 phenolic compound, alkaloids, terpenes, steroids, carotene 등 광범위한 화합물들이 인체 신진대사 조절 능력을 가지고 있으며 암과 순환기 계통 질환에 대해서 예방 및 치료 효과를 나타낸다는 사실이 밝혀지고 있다<sup>(1,2)</sup>.

두류 중 대두(*Glycine max*)에 대해서는 phytic acid, triter-

pene, flavonoid, lignan 등 14종류 이상의 phytochemical이 암 예방에 관여하는 것으로 밝혀졌으며<sup>(3)</sup>, 구성 성분 중 protease inhibitors, oligosaccharide 및 식이섬유 등의 인체에 대한 생리활성 효과<sup>(4-6)</sup>와 연관지어 이들 성분들의 지속적인 섭취와 생활 습관병인 성인병 예방과의 밀접한 관련성이 알려져 있다. 이렇게 단백질의 함량이 많은 두류 품종인 대두에 대한 생리활성효과는 다양하게 검토되어진데 비해 우리 나라에서 전통적으로 잡곡밥을 지을 때나 떡고물 제조용으로 이용되는 기타 두류 품종들의 생리활성 효과에 대해서는 팔 이외에는 연구가 미흡하며 팔의 경우에도 팔에 함유되어 있는 사포닌의 생리활성 효과에 기인하는 연구들이 대부분을 차지하고 있는 실정이다.

쌀의 과잉생산에 따른 문제점 때문에 쌀가공 식품의 개발에 대한 관심이 높아지고 있는 현 시점에서, 그 동안 다양한 종류의 쌀가공 식품 개발에 관한 연구<sup>(7-12)</sup>를 시도하였던 저자 등의 견해로는 쌀의 소비를 유도하면서 우리 정서에 친숙한 쌀 가공 식품 품목으로 떡의 형태가 가장 바람직하리라고 생각하는데 떡 제조시에는 부재료로서 전통적으로 두류가 다양 사용되고 있다. 떡 제조시 주재료인 쌀 성분이 나타내는 조리 과학적 특성은 주로 떡의 조직감에 기여하는데 비해서 부재료인 두류의 성분들은 맛, 색상 등 기호에 기여한다. 그러므로 떡의 부재료로 사용할 두류의 생리활성 효과를 검색하여 생리활성 효과가 뛰어난 품종의 두류를 적극적으로

\*Corresponding author: Mi Young Kang, Department of Food Science and Nutrition, College of Human Ecology, Kyungpook National University, 1370 Sankyuk-dong, Puk-ku, Taegu 702-701, Korea  
Tel: 82-53-950-6235  
Fax: 82-53-952-8263  
E-mail: mykang@bh.knu.ac.kr

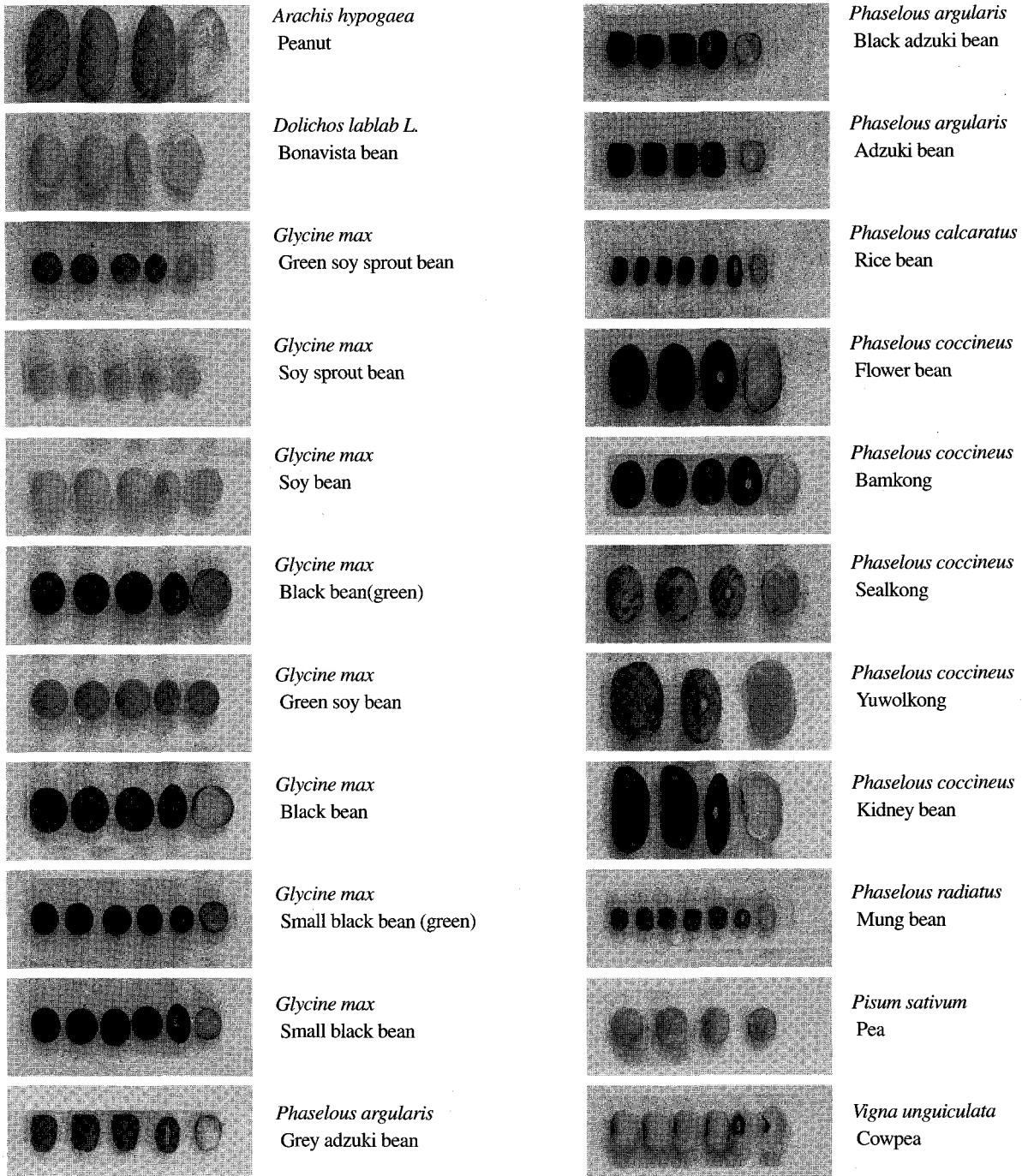


Fig. 1. The shapes, colors and names of the legumes

으로 이용한다면 기능성 쌀가공 식품이라는 의미에서의 소비 유도 및 기능성 전통식품의 개발이라는 양 측면에서의 의미가 있으리라고 생각한다. 뿐만 아니라 취반시 혼용하여 다양한 종류의 기능성 밥을 개발함은 의미 있는 일이라고 생각된다. 이에 우선 본 논문에서는 시중에 유통되고 있는 22 종류의 두류를 수집하여 이들 시료의 70% 에탄올 추출물을 제조하여 이들의 항산화 활성, 세포독성, 변이원성 및 화학적 변이원 mitomycin C에 대한 항변이원성 등을 포함하는 생리활성 효과를 각각 검정 비교하여 기능성 밥 및 떡 제조를 위한 기초자료를 마련하고자 한다.

## 재료 및 방법

### 시료 및 시약

두류 22품종(Fig. 1)을 재래시장에서 구입하였고 분쇄한 후 10배량의 70% EtOH로 40°C에서 14시간 동안 교반 추출하였으며, 추출물은 7000 rpm에서 5분간 원심분리(Sorvall RC28S, Dupont, USA)한 후 여과(Whatman No. 1, England)하여 감압 건조하였고 DMSO에 용해시켜 200 mg/mL의 농도로 만들어 -20°C에서 냉동 보관하면서 사용하였다. 실험에 사용한 시약 중 DPPH(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl), 2-deox-

**Table 1. Effects of 70% ethanol extracts from legumes on electron donating ability**

	Dose (2.5 mg/tube)		Dose (0.25 mg/tube)	
	Absorbance at 517 nm	%	Absorbance at 517 nm	%
Control	1.0404±0.033	0.0		
Ascorbic acid	0.0919±0.009	91.2		
α-tocopherol	0.0989±0.008	90.5		
BHT	0.1587±0.017	84.8		
<i>Arachis hypogaea</i> Peanut	0.1937±0.010	81.4	0.9241±0.009	11.2
<i>Dolichos lablab</i> L. Bonavista bean	0.7093±0.024	31.8	1.0223±0.008	1.8
<i>Glycine max</i> Green soy sprout bean	0.6988±0.030	32.8	1.0062±0.010	3.3
<i>Glycine max</i> Soy sprout bean	0.6801±0.033	34.6	0.9983±0.021	4.0
<i>Glycine max</i> Soy bean	0.6460±0.055	37.9	0.9995±0.008	3.9
<i>Glycine max</i> Black bean(green)	0.2409±0.019	76.8	0.9441±0.010	9.3
<i>Glycine max</i> Green soy bean	0.6366±0.042	38.8	1.0033±0.005	3.6
<i>Glycine max</i> Black bean	0.2530±0.015	75.7	0.9371±0.007	9.9
<i>Glycine max</i> Small black bean(green)	0.1857±0.020	82.2	0.9155±0.011	12.0
<i>Glycine max</i> Small black bean	0.2644±0.037	74.6	0.9444±0.007	9.2
<i>Phaseolus argularis</i> Grey adzuki bean	0.1565±0.011	85.0	0.9353±0.015	10.1
<i>Phaseolus argularis</i> Black adzuki bean	0.1298±0.007	87.5	0.7703±0.014	26.0
<i>Phaseolus argularis</i> Adzuki bean	0.1471±0.012	85.9	0.8484±0.008	18.5
<i>Phaseolus calcaratus</i> Rice bean	0.1291±0.004	87.6	0.7849±0.009	24.6
<i>Phaseolus coccineus</i> Flower bean	0.1782±0.017	82.9	0.9691±0.006	6.9
<i>Phaseolus coccineus</i> Bamkong	0.1891±0.020	81.8	0.9358±0.005	10.1
<i>Phaseolus coccineus</i> Sealkong	0.1545±0.007	85.2	0.8902±0.010	14.4
<i>Phaseolus coccineus</i> Yuwolkong	0.1162±0.004	88.8	0.8022±0.010	22.9
<i>Phaseolus coccineus</i> Kidney bean	0.1270±0.005	87.8	1.0075±0.009	3.2
<i>Phaseolus radiatus</i> Mung bean	0.3260±0.042	68.7	0.9754±0.008	6.3
<i>Pisum sativum</i> Pea	0.6830±0.048	34.4	1.0087±0.014	3.1
<i>Vigna unguiculata</i> Cowpea	0.6559±0.023	36.6	0.9983±0.003	4.1

yribose, linoleic acid, TBA(thiobarbituric acid), FeSO<sub>4</sub>, ascorbic acid, α-tocopherol, BHT(butylated hydroxytoluene), ONPG(*o*-nitrophenyl-β-D-galactosidase), PNPP(*p*-nitrophenyl phosphate), mitomycin C 및 기타 화학시약은 Sigma 사(St. louis, USA)의 제품을 사용하였고, TCA(trichloroacetic acid), H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>는 Junsei사로부터 각각 구입하여 사용하였다. Ampicilline은 영진약품의 주사용 penbrex를 멸균수로 희석하여 사용하였으며 peptone, yeast extract 등 세균 배양을 위한 배지용 시약은 Difco사(Detroit, USA)의 제품을 사용하였다. SOS chromotest의 지시균주인 *Escherichia coli* PQ 37(plasmid pKM 101, *sfi*::Mud(AP *lac*cts, *lac*ΔU169, *mat*<sup>+</sup>, *urvA*, *galE*, *galY*, *Pho*<sup>c</sup>, *rfa*F<sup>-</sup>, *thr*, *leu*, *his*, *pyrD*, *thi*, *trp*::Muc<sup>+</sup>, sr1300::Tn10)은 서울대학교 생약연구소에서 분양받았고 LB broth(peptone 1%, yeast extract 0.5%, NaCl 1%, ampicillin+)에서 배양하여 사용하였다. 지시 균주의 유전형질을 확인하기 위해서 nutrient agar에 균주를 streaking하여 UV lamp 를 조사한 뒤 균 colony의 형성유무를 확인하는 *uvr* mutation test와 균주 배양액과 top agar를 혼합하여 고화한 뒤 crystal violet이 분주된 paper disk를 얹고 배양하여 disk 주변 생육 저지대 생성유무를 관찰하는 *rfa* mutation test를 실시하였다.

**DPPH 자유라디칼에 대한 전자공여능 측정**

에탄올 1 mL, 시료 10 μL, 100 mM 초산 완충액(pH 5.5)

990 μL를 분주한 시험관에 0.5 mM DPPH soln.(Abs. EtOH soln.) 0.5 mL를 첨가하여 교반, 30분간 반응을 유도한 후 잔존 radical 농도를 517 nm에서 측정하였다. 전자공여능(%)은 [(1-As/Ac)×100]으로 산출하였고, As와 Ac는 각각 실험군과 대조군의 흡광도(absorbance)를 나타내었다<sup>(13)</sup>.

**Hydroxy radical(·OH) 소거능 측정**

10 mM FeSO<sub>4</sub>·EDTA 200 μL, 10 mM 2-deoxyribose 200 μL, 0.1M 인산완충액 1.39 mL에 시료 10 μL를 넣고 200 μL의 10 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 용액으로 radical 생성을 유도하여 37°C에서 4시간 동안 반응시켰다. 2.8% trichloroacetic acid(TCA)로 반응을 정지하고 0.8% thiobarbituric acid(TBA) 용액을 첨가하여 10분간 끓여 발색한 뒤, 반응액을 냉각하여 532 nm에서 흡광도를 측정하였다. 두류 추출물의 hydroxy radical 소거능(%)은 [(1-(As-Ao))/(Ac-Ao))×100]의 식에 의거하여 계산하였고, As는 실험군, Ac는 대조군에서의 흡광도를 나타내며, Ao는 37°C에서 4시간 동안의 radical 생성 반응이 생략된 대조군의 흡광도를 나타내었다<sup>(14)</sup>.

**지질과산화 억제효과 측정**

Linoleic acid auto-oxidation model system을 이용한 지질과산화 억제효과는 0.13% linoleic acid 에탄올 용액 5 mL, 탈이온수 2.4 mL, 50 mM 인산완충액(pH 7.0) 5 mL, 시료 100

Table 2. Effects of 70% ethanol extracts from legumes on hydroxy radical scavenging ability

	Dose (0.25 mg/tube)	
	Absorbance at 532 nm	%
Treated Control	0.2242±0.054	100.0
Untreated Control	0.0636±0.020	0.0
Ascorbic acid	0.0468±0.005	110.0
α- tocopherol	0.1652±0.011	36.7
BHT	0.1446±0.018	49.5
<i>Arachis hypogaea</i> Peanut	0.0995±0.008	77.6
<i>Dolichos lablab</i> L. Bonavista bean	0.1125±0.002	69.6
<i>Glycine max</i> Green soy sprout bean	0.0927±0.011	81.8
<i>Glycine max</i> Soy sprout bean	0.1307±0.004	58.2
<i>Glycine max</i> Soy bean	0.0915±0.016	82.6
<i>Glycine max</i> Black bean(green)	0.0969±0.010	79.2
<i>Glycine max</i> Green soy bean	0.0878±0.013	84.9
<i>Glycine max</i> Black bean	0.0878±0.017	84.9
<i>Glycine max</i> Small black bean(green)	0.0958±0.009	79.9
<i>Glycine max</i> Small black bean	0.0994±0.007	77.7
<i>Phaseolous argularis</i> Grey adzuki bean	0.0925±0.007	82.0
<i>Phaseolous argularis</i> Black adzuki bean	0.0961±0.005	79.8
<i>Phaseolous argularis</i> Adzuki bean	0.0923±0.007	82.1
<i>Phaseolous calcaratus</i> Rice bean	0.1090±0.010	71.7
<i>Phaseolous coccineus</i> Flower bean	0.1386±0.008	53.3
<i>Phaseolous coccineus</i> Bamkong	0.0914±0.014	82.7
<i>Phaseolous coccineus</i> Sealkong	0.1430±0.013	50.5
<i>Phaseolous coccineus</i> Yuwolkong	0.1088±0.013	71.8
<i>Phaseolous coccineus</i> Kidney bean	0.0991±0.012	77.9
<i>Phaseolous radiatus</i> Mung bean	0.0944±0.012	80.8
<i>Pisum sativum</i> Pea	0.0980±0.013	78.6
<i>Vigna unguiculata</i> Cowpea	0.0924±0.008	82.0

μL를 cap tube에 넣고 40°C incubator에 10일간 보관하면서 반응액 100 μL에 75% 에탄올 4.7 mL, 30% NH<sub>4</sub>SCN soln. 100 μL를 넣고 20 mM FeCl<sub>2</sub> 용액으로 발색시켜 3분 후 500 nm에서 흡광도를 측정하는 thiocyanate법<sup>(15)</sup>에 의해서 측정하였다. 지질과산화에 대한 항산화활성(%)은 [(1-As/Ac)×100]으로 산출하였고 As는 실험군, Ac는 대조군에서의 흡광도를 나타낸다.

#### 변이원성 측정

시료가 나타내는 변이원성은 Quilladet 등이 개발한 SOS chromotest 법에 의하여 측정하였다<sup>(16)</sup>. 배지로 37°C에서 하룻밤 진탕 배양한 *E. coli* PQ 37 배양액을 신선배지로 10배 희석하여 2시간 배양한 후 4배 희석하여 0.4 mL를 취하고 5 mg의 두류 추출물과 함께 2시간 배양하다가 신선배지를 첨가하여 총 용량을 4 mL로 조정하고 1.5시간 진탕 배양하였다. 최종배양액 0.2 mL에 1.8 mL의 buffer B(120 mM Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 40 mM NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 10 mM KCl, 1 mM MgSO<sub>4</sub>, 50 mM β-mercaptoethanol, 1% SDS, pH 7.0)와 1.6 mg의 ONPG를 첨가하여 37°C에서 30분간 반응하다가 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>로 반응을 정지시킨 후, 시료의 첨가로 유도된 β-galactosidase 활성을 420 nm의 흡광도에서 측정하였다. 배양액 중에 존재하

는 세균수는 *E. coli*에서 세포 손상에 관계없이 발현하는 효소인 alkaline phosphatase의 활성을 측정하여 평가하였는데 최종 배양액 0.2 mL에 1.8 mL의 buffer P(1 M Tris, 1% SDS)와 1.6 mg의 PNPP를 첨가하여 37°C에서 30분간 반응한 후, 2.5 N HCl 0.8 mL를 첨가하여 5분간 정치하였다가 0.8 mL의 2 M Tris 용액을 넣은 다음 420 nm에서 흡광도를 측정하였다. 효소활성 unit는 [1,000×A<sub>420</sub>/t, t:반응시간(분)]으로 나타내었고, alkaline phosphatase 활성에 대한 β-galactosidase 활성의 비율(R Factor)을 구했고, SOS 반응의 정도를 나타내는 유도지수(IF; Induction Factor)는 R<sub>E</sub>/R<sub>C</sub>로 표현하였는데, RE와 RC는 각각 실험군과 대조군에서 계산된 R factor를 대입하였다.

#### 항변이원성 측정

SOS chromotest를 응용한 Chang 등<sup>(17)</sup>이 개발한 항변이원성 측정법으로 측정하였다. 실험과정은 전술한 변이원성 측정법에 기술한 방법과 동일하며 두류 추출물 이외에 화학적 변이원인 mitomycin C 0.3 μg을 첨가하여 alkaline phosphatase 및 β-galactosidase의 활성을 측정하였다. 효소활성지수, R값, 유도지수(I값)도 변이원성 측정의 경우와 동일한 방법으로 산정하였다.

**Table 3. Antioxidative activities of 70% ethanol extracts from legumes in the linoleic acid auto-oxidation model system**

	2 days		10 days	
	Absorbance at 500 nm	%	Absorbance at 500 nm	%
Control	0.1031±0.025	0.0	0.4905±0.134	0.0
BHT	0.0552±0.004	46.5	0.0879±0.002	82.1
<i>Arachis hypogaea</i> Peanut	0.0739±0.008	28.3	0.0966±0.034	80.4
<i>Dolichos lablab</i> L. Bonavista bean	0.0730±0.008	29.3	0.1238±0.041	74.8
<i>Glycine max</i> Green soy sprout bean	0.0780±0.011	24.4	0.1233±0.036	74.9
<i>Glycine max</i> Soy sprout bean	0.0786±0.010	23.8	0.1199±0.033	75.6
<i>Glycine max</i> Soy bean	0.0710±0.004	31.1	0.1313±0.060	73.3
<i>Glycine max</i> Black bean(green)	0.0710±0.006	31.2	0.0888±0.027	81.9
<i>Glycine max</i> Green soy bean	0.0717±0.005	30.5	0.1024±0.026	79.2
<i>Glycine max</i> Black bean	0.0716±0.008	30.5	0.0835±0.025	83.0
<i>Glycine max</i> Small black bean(green)	0.0742±0.008	28.1	0.0889±0.026	81.9
<i>Glycine max</i> Small black bean	0.0664±0.006	35.6	0.0868±0.025	82.4
<i>Phaselous argularis</i> Grey adzuki bean	0.0737±0.009	28.5	0.0927±0.029	81.2
<i>Phaselous argularis</i> Black adzuki bean	0.0768±0.015	25.6	0.0839±0.023	83.0
<i>Phaselous argularis</i> Adzuki bean	0.0797±0.005	22.7	0.0820±0.018	83.3
<i>Phaselous calcaratus</i> Rice bean	0.0727±0.010	29.5	0.0850±0.022	82.7
<i>Phaselous coccineus</i> Flower bean	0.0707±0.008	31.4	0.0857±0.026	82.6
<i>Phaselous coccineus</i> Bamkong	0.0741±0.009	28.1	0.0872±0.025	82.3
<i>Phaselous coccineus</i> Sealkong	0.0707±0.009	31.5	0.0804±0.025	83.7
<i>Phaselous coccineus</i> Yuwolkong	0.0720±0.008	30.2	0.0869±0.026	82.3
<i>Phaselous coccineus</i> Kidney bean	0.0776±0.011	24.8	0.0856±0.028	82.6
<i>Phaselous radiatus</i> Mung bean	0.0697±0.004	32.4	0.0896±0.025	81.8
<i>Pisum sativum</i> Pea	0.0850±0.009	17.6	0.1840±0.081	49.4
<i>Vigna unguiculata</i> Cowpea	0.0694±0.005	32.7	0.0901±0.027	81.7

**결과 및 고찰**

**두류 추출물의 DPPH radical에 대한 전자공여능 비교**

DPPH(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) radical은 반응계에서 전자를 공여 받으면 고유의 청남색이 없어지는 특성이 있고 이 색차를 비색 정량하여 시료의 전자 공여능력을 측정하는데 이용할 수 있으며 화학적으로 유도된 radical이지만 lipoxygenase에 의한 지방 산화 반응계에서의 항산화 활성 측정 결과와도 잘 부합되는 등 간편하면서도 신뢰성이 높은 항산화 활성 측정 방법이다<sup>(13)</sup>.

품종별 두류의 에탄올 추출물 2.5 mg 및 0.25 mg이 나타내는 전자공여능을 ascorbic acid 10 µg, α-tocopherol 10 µg, BHT 10 µg 등의 항산화제들과 비교하여 Table 1에 나타내었다. 두류 중에서 학명이 Phaselous로 시작되는 이른바 과피의 색이 짙고, 탄수화물 함량이 많은 품종인 팥류 및 제비콩류의 에탄올 추출물은 DPPH radical의 활성을 약 80% 이상 소거하는 효과를 보였으나 팥류 중에서도 색이 옅은 녹두는 68% 정도로 약간 낮은 수치를 나타내고 있었다. 또한 지질 함량이 많은 품종인 땅콩의 에탄올 추출물도 약 80% 정도의 항산화 활성을 보였다. 이에 비해서 백편두, 완두, 동부 등은 약 35% 정도로 전자공여능이 다른 종류의 두류보다 낮은 것을 알 수 있었다. 한편 *Glycine max* 속인 대두류도 품종에 따라 전자공여능이 각각 달라 속피리가 가장 높았으며 속청, 흑태, 쥐눈이콩, 청태, 백태, 노랑나물콩, 녹색나물콩 등의 순이었는데 전자공여능이 가장 높은 속피리도 팥류 보다

는 약간 낮은 경향이 있었으며 나물콩류, 청태, 백태 등의 품종은 완두, 백편두, 동부 등과 비슷한 수준이었다. 또한 시료의 양을 1/10로 하여 전자공여능을 측정한 결과도 대두류보다는 팥류의 금두, 예팔, 적두 및 제비콩류의 유월콩 등의 전자공여 효과가 높았다. 즉, 70% 에탄올 추출물의 생리활성 효과 중 전자공여능에 기인하는 항산화 활성은 여러 종류의 두류 중에서 대두류보다는 제비콩류나 팥류가 우세하다는 것을 알 수 있었다.

**두류 추출물의 hydroxy radical(·OH) 소거활성 비교**

품종별 두류의 에탄올 추출물 0.25 mg에 의한 hydroxy radical 소거효과를 ascorbic acid 10 µg, α-tocopherol 10 µg, BHT 10 µg 등과 비교하여 Table 2에 나타내었다. 본 실험계를 사용하여 측정한 hydroxy radical 소거효과에서 비교군으로 사용한 항산화제 중 ascorbic acid의 경우에는 100% 이상의 효과를 나타내는데 비해서 동량의 α-tocopherol 및 BHT는 각각 37%, 50%의 소거효과를 나타내고 있었다.

두류 중에서는 대두 종류인 청태 및 흑태가 가장 높은 hydroxy radical 소거활성을 나타내고 있었으며, 나물콩, 강낭콩, 새알콩 등이 약 50~60% 정도의 활성을 나타내고 있는데 비해 나머지 대부분의 두류는 약 70% 이상의 항산화 활성을 가지고 있음을 알 수 있다. 일반적으로 두류는 지방질 함량이 높은 땅콩 종류, 단백질 함량이 높은 대두류, 그리고 탄수화물의 함량이 높은 팥 및 제비콩류로 구분하고 있는데 전통적으로 떡의 부재료(고물)로서 이용되는 팥류 및 제비콩

**Table 4. Antimutagenicities of 70% ethanol extracts from legumes with Mitomycin C determined using *E. Coli* PQ 37 as an indicator cell**

	Alkaline phosphatase activity (Units)	$\beta$ -galactosidase activity (Units)	R Factor <sup>1)</sup>	I Factor <sup>2)</sup>
Negative Control	47.16 $\pm$ 8.27	6.71 $\pm$ 0.97	0.14	-
Positive Control	14.57 $\pm$ 2.19	18.01 $\pm$ 2.90	1.24	1.00
<i>Arachis hypogaea</i> Peanut	14.10 $\pm$ 1.10	17.73 $\pm$ 1.16	1.26	1.01
<i>Dolichos lablab</i> L. Bonavista bean	14.86 $\pm$ 1.84	17.36 $\pm$ 2.23	1.17	0.94
<i>Glycine max</i> Green soy sprout bean	14.84 $\pm$ 0.37	20.08 $\pm$ 0.55	1.35	1.09
<i>Glycine max</i> Soy sprout bean	15.77 $\pm$ 1.14	20.89 $\pm$ 1.81	1.32	1.07
<i>Glycine max</i> Soy bean	17.40 $\pm$ 0.70	20.84 $\pm$ 0.81	1.20	0.96
<i>Glycine max</i> Black bean(green)	16.36 $\pm$ 2.93	19.19 $\pm$ 4.07	1.17	0.94
<i>Glycine max</i> Green soy bean	16.43 $\pm$ 2.42	20.11 $\pm$ 3.19	1.22	0.98
<i>Glycine max</i> Black bean	16.74 $\pm$ 1.91	21.28 $\pm$ 2.38	1.27	1.02
<i>Glycine max</i> Small black bean(green)	15.30 $\pm$ 0.81	17.93 $\pm$ 1.34	1.17	0.94
<i>Glycine max</i> Small black bean	14.75 $\pm$ 2.45	19.13 $\pm$ 3.52	1.29	1.04
<i>Phaseolous argularis</i> Grey adzuki bean	13.87 $\pm$ 1.58	17.30 $\pm$ 2.01	1.25	1.00
<i>Phaseolous argularis</i> Black adzuki bean	13.36 $\pm$ 1.47	17.41 $\pm$ 1.93	1.31	1.05
<i>Phaseolous argularis</i> Adzuki bean	14.10 $\pm$ 1.41	17.57 $\pm$ 1.65	1.25	1.00
<i>Phaseolous calcaratus</i> Rice bean	16.16 $\pm$ 3.86	18.13 $\pm$ 4.55	1.12	0.90
<i>Phaseolous coccineus</i> Flower bean	17.35 $\pm$ 1.27	20.57 $\pm$ 1.44	1.19	0.95
<i>Phaseolous coccineus</i> Bamkong	15.07 $\pm$ 0.35	19.64 $\pm$ 0.81	1.30	1.05
<i>Phaseolous coccineus</i> Sealkong	15.29 $\pm$ 1.06	20.40 $\pm$ 1.17	1.34	1.07
<i>Phaseolous coccineus</i> Yuwolkong	14.31 $\pm$ 1.51	18.23 $\pm$ 2.29	1.27	1.02
<i>Phaseolous coccineus</i> Kidney bean	17.59 $\pm$ 3.98	21.89 $\pm$ 5.93	1.23	0.99
<i>Phaseolous radiatus</i> Mung bean	17.60 $\pm$ 3.12	20.10 $\pm$ 3.69	1.14	0.92
<i>Pisum sativum</i> Pea	16.52 $\pm$ 1.70	18.61 $\pm$ 2.09	1.13	0.91
<i>Vigna unguiculata</i> Cowpea	19.78 $\pm$ 0.67	23.59 $\pm$ 1.06	1.19	0.96

<sup>1)</sup>R factor=unit of  $\beta$ -galactosidase/unit of alkaline phosphatase

<sup>2)</sup>Induction factor=R factor of experiment group/R factor of positive control group

류는 전분 함량이 높기 때문에 항산화 효과는 별로 높지 않으리라 예상하였으나 앞서 측정하였던 DPPH radical에 대한 전자공여능 및 hydroxy radical 소거활성 결과에서 대두류에 비해서 radical 소거능에 기인하는 항산화 효과가 결코 뒤지지 않는다는 고무적인 결과를 얻었다.

#### 두류 추출물의 지질과산화 억제효과

Linoleic acid 자동산화 반응계를 이용하여 두류 에탄올 추출물 20mg에 의한 지질과산화물의 생성 억제효과를 측정하였고(Table 3), 비교군으로서는 합성 항산화제인 BHT 1mg을 사용하였다. Table 3에서 알 수 있듯이 자동산화가 유발된 지 이틀째에는 BHT 1mg에 의한 억제 효과가 두류 추출물 20mg에 비해서 우수하였으나 자동산화가 유발된 지 10일에서의 과산화물의 생성 억제 효과는 백편두, 나물콩류 및 완두를 제외하고는 거의 대부분의 두류 추출물이 높은 항산화 효과를 나타내고 있었으며, 이러한 효과는 물론 첨가한 양은 1/20에 불과하지만 비교군으로 사용한 BHT와 거의 유사한 정도의 억제 효과를 가지고 있어서 식품 성분 중 지질의 자동 산화에 의한 열화를 방지하는데 바람직한 역할을 하는 소재로서 두류의 이용이 가능하리라고 생각된다.

#### 두류 추출물에 의한 항변이원성

두류 에탄올 추출물들은 품종에 따라 차이를 보이면서 전

자공여능, hydroxy radical 소거능 및 지질의 자동산화에 대한 억제활성 등을 나타내었고 이러한 항산화 효과와 연관지어 두류의 품종에 따른 항변이원성에는 어떠한 차이가 있는가에 대해서 검토하였다.

본 연구에서는 실험의 편이상 직접변이원인 mitomycin C를 사용하여 두류의 항변이원성을 검정하였는데 두류 추출물이 항변이원성을 가지고 있다면 변이원 처리조건에서의 유도지수(I factor)가 1보다 낮게 나타나야 한다. Table 4에서 볼 수 있듯이 예팍, 완두, 녹두, 백편두 등의 유도지수가 0.90~0.93 정도로서 약간은 낮은 항변이원성 효과를 보였다. 이는 본 연구자들이 곡류 및 몇 가지 두류의 항변이원성을 검토했을 때<sup>(19)</sup> 보다 상당히 낮은 약한 항변이원성으로 이것은 시료의 추출 방법에 기인하는 결과가 아닌가 예상하고 있다. 즉, 항변이원성을 측정하기 위한 추출물의 조제 시 70% 에탄올 첨가 후 80°C에서 3시간 동안 reflux하는 경우<sup>(19)</sup> 시료에 함유되어 있는 다양한 종류의 식이섬유 등 고분자 화합물이 용출 되었을 가능성이 높는데 비해 본 논문의 경우와 같이 40°C에서 12시간 shaking하여 추출하였을 경우 상대적으로 온화한 추출조건이므로 이런 가능성이 낮아서 항변이원성에 차이가 나타나는 것이라 추측된다. 항변이원성이란 대체로 발암의 initiation 과정에서 변이원이 표적세포에 도달하는 것을 방지하는 이른바 blocking agent로서의 기능에 의한 것일 가능성이 높고<sup>(20)</sup>, 실제로 식이 섬유 및 gum 등의

**Table 5.  $\beta$ -Galactosidase activities and alkaline phosphatase activities of 70% EtOH extract from legumes using *E. coli* PQ 37 as an indicator cell**

	Alkaline phosphatase activity		$\beta$ -galactosidase activity	
	Units	%	Units	%
Control	47.95±6.41	100.0	6.89±0.91	100.0
<i>Arachis hypogaea</i> Peanut	46.15±3.71	96.3	6.16±0.44	89.7
<i>Dolichos lablab</i> L. Bonavista bean	39.57±5.40	82.5	6.17±0.84	89.8
<i>Glycine max</i> Green soy sprout bean	54.20±3.99	113.0	6.70±0.62	97.4
<i>Glycine max</i> Soy sprout bean	43.54±5.37	90.8	7.03±0.61	102.3
<i>Glycine max</i> Soy bean	51.37±2.81	107.1	6.18±1.18	90.0
<i>Glycine max</i> Black bean(green)	48.49±3.09	101.1	4.75±0.16	69.1
<i>Glycine max</i> Green soy bean	48.40±6.81	100.9	4.95±1.24	72.1
<i>Glycine max</i> Black bean	37.99±2.75	79.2	6.15±0.53	89.5
<i>Glycine max</i> Small black bean (green)	52.12±3.03	109.3	5.85±0.40	85.1
<i>Glycine max</i> Small black bean	44.28±2.81	92.4	5.22±0.50	75.9
<i>Phaseolous argularis</i> Grey adzuki bean	43.23±5.53	90.2	5.62±1.14	81.8
<i>Phaseolous argularis</i> Black adzuki bean	40.13±3.48	83.7	5.48±0.93	79.8
<i>Phaseolous argularis</i> Adzuki bean	50.93±6.01	106.2	5.62±0.18	81.8
<i>Phaseolous calcaratus</i> Rice bean	51.20±4.96	106.7	5.82±0.55	84.7
<i>Phaseolous coccineus</i> Flower bean	47.84±7.24	99.8	7.27±0.59	105.8
<i>Phaseolous coccineus</i> Bamkong	46.52±2.49	97.0	6.56±0.25	95.4
<i>Phaseolous coccineus</i> Sealkong	43.76±5.62	91.3	7.19±0.81	104.7
<i>Phaseolous coccineus</i> Yuwolkong	43.11±2.23	89.9	5.06±1.01	73.6
<i>Phaseolous coccineus</i> Kidney bean	44.81±2.76	93.4	5.92±0.59	86.1
<i>Phaseolous radiatus</i> Mung bean	52.73±6.00	110.0	6.78±1.26	98.6
<i>Pisum sativum</i> Pea	45.83±2.75	95.6	5.49±0.66	79.9
<i>Vigna unguiculata</i> Cowpea	45.87±2.65	95.7	5.55±0.34	80.7

다당류들이 바로 blocking agent로서 작용하면서 항변이원성을 나타내기도 하기 때문이다<sup>(21,22)</sup>. 한편 예팔이나 완두, 녹두의 경우 변이원에 의한 돌연변이 유발을 방지하기보다는 지시 세포의 성장 저해 정도를 완화하여 항변이원성을 나타낸 데 비해 백편두는 변이 유발을 저해하는 경향을 보여서 각기 항변이원성을 발현하는 기작이 다르다는 것을 알 수 있었고 겨두, 금두, 적두 등의 팔류와 땅콩은 변이 유발을 억제하는 활성을 보임에도 불구하고 세포의 성장도 저해하여 항변이원성을 나타내지 않거나 금두의 경우 어느 정도 변이원성을 가지는 것으로 나타났다. 또한 동부는 세포 성장 저해를 차단하는 특성이 우수하였으나 변이원의 돌연변이 유발을 오히려 촉진하여 그 유발 정도가 모든 품종 중에서 가장 높았다.

**두류 추출물의 변이원성 및 지시세포의 성장에 미치는 효과**

앞에서 예팔, 완두, 녹두, 백편두 등의 두류는 비록 유도지수가 0.90~0.93 정도로서 낮은 수준이기는 하지만 항변이원성 효과를 나타내었다. 그런데 여러 가지 한약재 및 기호식품의 항변이원성 실험 결과를 살펴보면 항변이원성이 높게 측정되는 시료들 중에는 지시세포의 성장을 억제하거나 변이원성을 동시에 가지고 있는 경우가 있다<sup>(23,24)</sup>. 예를 들어 모과차로 널리 응용되는 목과는 열수 추출분획 뿐만 아니라 유용매 추출 분획에서도 변이원성을 나타내었고<sup>(25)</sup> 따라서 일반적인 식품을 섭취할 때에도 안전성을 고려하여야 할 필요

성이 있다고 생각되어 두류 추출물 자체의 변이원성 및 지시세포의 성장에 미치는 영향을 검정하였다(Table 5). 본 실험에 사용하는 지시 균주인 *E. coli* PQ 37은 일련의 SOS 유전자 사이에 *sfiA:lacZ*의 융합 유전자를 삽입시킨 균주로서 돌연변이 유발물질의 균체 내 흡수가 용이하고 DNA가 손상 받으면 SOS 반응이 증폭되게 고안되어 있으며 항생제인 ampicilline에 대한 내성을 가지고 있다. 두류 추출물의 변이원성의 정도는 지시세포인 *E. coli* PQ 37 균주와 추출물을 혼합하여 일정시간 배양한 후 변이유발 물질에 의해 세포 DNA가 손상을 받았을 때 손상이 수복되기까지 나타나는 일련의 반응인 SOS 반응의 유발 정도를  $\beta$ -galactosidase 활성 정도로 측정할 수 있으며, 세포 DNA의 손상 유무에 관계없이 발현되는 효소인 alkaline phosphatase의 활성을 측정하여 배양액 내 세포의 성장 정도를 알 수 있고 따라서 추출물의 세포 성장에 미치는 영향을 알 수 있다. Table 5에서 나타난 바와 같이 녹색나물콩, 녹두, 속피리 등은 지시 세포의 성장을 촉진하는데 비해 흑태, 백편두, 금두 등은 성장을 저해하는 효과가 있었는데 녹두나 예팔은 변이원과 함께 처리되었을 때와 마찬가지로 추출물 자체도 어느 정도 세포 성장을 촉진하고 있음을 알 수 있었다. 또한 강낭콩과 새알콩은 추출물 자체가 미약하나마 변이원성을 가지고 있었으며 속청과 청태는 변이원성을 억제하는 특성을 보였는데 백편두는 세포 성장과 돌연변이 유발 모두를 억제하는 것으로 나타나 추출물 자체가 독성을 가질 수도 있을 것으로 생각된다.

## 요 약

시판되고 있는 두류 22 종류의 70% 에탄올 추출물을 제조하여, 이들의 항산화 활성, 화학적 변이원 mitomycin C에 대한 항변이원성, 세포독성, 변이원성 등을 포함하는 생리활성 효과를 비교·검정하였다. DPPH radical에 대한 전자공여능, hydroxy radical 소거능 및 지질 자동산화 억제효과 등은 모든 두류 품종이 거의 유사한 효과를 나타내었다. 예팔, 완두, 녹두, 백편두 등은 변이원 mitomycin C에 대해 유의할 만한 수준의 항변이원성을 보였으며, 녹색나물콩, 녹두, 속피리 등은 지시 세포의 성장을 촉진하는 효과가 있었고, 속청과 청태는 변이원성을 억제하는 특성이 있었다. 백편두는 세포 성장과 돌연변이 유발 모두를 억제하는 것으로 나타나 추출물 자체가 독성을 가질 수도 있을 것으로 생각되었다. 결과적으로 본 연구의 목적이었던 기능성 밥 및 떡 제조를 위한 부재료로서의 두류 이용을 위해서는 예팔, 녹두 등을 이용하는 것이 바람직하리라고 생각된다.

## 문 헌

- Lin, R.I.S. Phytochemicals and Antioxidants. In Functional Foods, Chapman & Hall, New York, USA (1994)
- Troll, W., Lim, J.S. and Frenkel, K. Prevention of cancer by agents that suppress production of oxidants. In: Food Phytochemicals for Cancer Prevention, Ho, C.T., Osawa, T., Huang, M.T. and Rosen, R.T.(eds), ACS Symp. Series 547, American Chemical Society, Washington DC, USA (1994)
- Caragay, A.B. Cancer-preventive foods and ingredients. Food Technol. 46: 65-78 (1992)
- Messina, M. and Messina, V. Increasing use of soyfoods and their potential role in cancer prevention. J. Am. Diet. Assoc. 91: 836-841 (1991)
- Tomomatsu, H. Health effects of oligosaccharides. Food Technol. 48: 61-67 (1994)
- Walker, A.R.P. Does the dietary fiber hypothesis really "work"? Cereal Foods World 38: 128-135 (1993)
- Kang, M.Y., Choi, Y.H. and Choi, H.C. Comparison of some characteristics relevant to rice bread processing between brown and milled rice. Korean J. Soc. Food Sci. 26: 886-891 (1997)
- Kang, M.Y., Koh, H.J. and Sung, Y.M. Varietal difference in quality characteristics of korean rice cake in glutinous rice. Korean J. Breed. 32: 26-32 (2000)
- Sung, Y.M., Choi, H.C. and Kang, M.Y. Quality characteristics of Yukwa(fried rice cookie) and Injulmi(rice cake) made from nine glutinous rice varieties. Korean J. Breed. 32: 167-172 (2000)
- Choi, Y.H., Kim, K.H. and Kang, M.Y. Varietal difference in processing and sensory characteristics of "Shikhe" in rice. Korean J. Breed. 33: 65-72 (2001)
- Chang, S.M., Kim, K.H. and Kang, M.Y. Varietal difference in processing and sensory characteristics of "Misutkaru" in rice. Korean J. Breed. 33: 73-79 (2001)
- Lee, Y.R., Choi, Y.H., Koh, H.J. and Kang, M.Y. Quality characteristics of brown rice flakes prepared with giant embryonic rice and normal rice cultivars. Korean J. Food Sci. Technol. 33: 540-544 (2001)
- Yen, G.C. and Chen, H.Y. Antioxidant activity of various tea extracts in relation to their antimutagenicity. J. Agric. Food Chem. 43: 27-32 (1995)
- Unno, T., Sakane, I., Kohono, M. and Kakuda, T. Antioxidant activity of water extracts of *Lagerstroemia speciosa* leaves. Biosci. Biotech. Biochem. 61: 1772-1774 (1997)
- Osawa, T. and Namiki, M. A novel type antioxidant isolated from leaf wax of Eucalyptus leaves. Agric. Biol. Chem. 45: 735-740 (1981)
- Quillardet, P., Huisaman, O.D. and Hofnung, M. SOS chromotest, a direct assay of induction of an SOS function in *Escherichia coli* K-12 to measure genotoxicity. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 79: 5971-5980 (1982)
- Chang, I.M., Chang, I.C., Pack, N.W. and Pyun, R.Y. Assay of potential mutagenicity and antimutagenicity of chinese herbal drugs by using SOS chromotest and SOS umu test. Proceedings of the 1st Korean-Japan toxicology symposium safety assesment of chemicals *in vitro*. J. Toxicol. Pub. Health 236-248 (1987)
- Frank, L.M. and Teich, N.M. Introduction to the Cellular and Molecular Biology of Cancer. Oxford University Press (1991)
- Choi, Y.H., Kang, M.Y. and Nam, S.H. Inhibitory effect of various cereal and bean extracts on carcinogenicity *in vitro*. Korean J. Food Sci. Technol. 30: 964-969 (1998)
- Ramel, C., Alekperov, U.K., Ames, B.N., Kada, T. and Watenberg, L.W. Inhibitors of mutagenesis and their relevance to carcinogenesis, reported by ICPEMC expert group on antimutagens and desmutagens. Mutation Res. 168: 47-65 (1986)
- Morita, K., Kada, T. and Namiki, M. A desmutagenic factor isolated from burdock (*Artium lappa linne*). Mutation Res. 129: 25-31 (1984)
- Morita, K., Nishijima, Y. and Kada, T. Chemical nature of a desmutagenic factor from burdock (*Artium lappa linne*). Agric. Biol. Chem. 49: 925-932 (1985)
- Nam, S.H., Jung, J.E. and Kang, M.Y. Screening of the mutagenicity and antimutagenicity of the hot water extracts from medicinal plants. Agric. Chem. Biotechnol. 42: 344-350 (1999)
- Song, G.S., Ahn, B.Y., Lee, L.K., Maeng, I.K. and Choi, D.S. Effect of hot water extracts from medicinal plants on the mutagenicity of indirect mutagens. Korean J. Food Sci. Technol. 29: 1288-1294 (1997)
- Pang, H.A., Lee, Y.W., Suh, N.J. and Chang, I.M. Toxicological study on korean tea materials: Screening of potential mutagenic activities by using SOS chromotest. Korean J. Pharmacol. 21: 83-87 (1990)

(2002년 9월 21일 접수; 2002년 11월 21일 채택)