

한국산 메밀, 수수, 기장, 울무의 항산화효과 및 돌연변이억제효과

곽충실¹ · 임수진² · 김성애² · 박상철³ · 이미숙^{2*}

¹서울대학교 체력과학노화연구소

²한남대학교 식품영양학과

³서울대학교 노화 및 세포사멸연구센터

Antioxidative and Antimutagenic Effects of Korean Buckwheat, Sorghum, Millet and Job's Tears

Chung Shil Kwak¹, Soo Jin Lim², Sung Ae Kim², Sang Chul Park³ and Mee Sook Lee^{2*}

¹Aging and Physical Culture Research Institute, Seoul National University, Seoul 110-510, Korea

²Dept. of Food and Nutrition, Hannam University, Daejeon 306-791, Korea

³The Aging and Apoptosis Research Center, Seoul National University, Seoul 110-510, Korea

Abstract

Dietary intake of whole grains, vegetable and fruit is known to reduce the degenerative chronic diseases, such as cancer and cardiovascular diseases. Antioxidative and antimutagenic effects of the ethanol extract of Korean Millet, Buckwheat, Sorghum and Job's tears were examined by inhibition against iron-induced linoleate peroxidation, DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) radical generation and MDA-BSA (malondialdehyde-bovine serum albumin) conjugation, and Ames test using *Salmonella*. Buckwheat showed the strongest antioxidative effect in three different systems among these four grains, but it showed the lowest antimutagenic effect. Sorghum was the second to Buckwheat in iron-induced linoleate peroxidation inhibition activity and DPPH radical scavenging activity, and showed very good direct-antimutagenic effect in 2-Nitrofluorene treated *Salmonella Typhimurium* TA98 and indirect-antimutagenic effect in 2-Anthramine treated *Salmonella Typhimurium* TA98 and TA100 with hepatic S9 mixture. Millet showed the strongest antimutagenic effect in *Salmonella Typhimurium* TA98 and TA100 with or without S9. Buckwheat contained the highest total flavonoids and polyphenols, 1.14 mg/g and 3.71 mg/g, respectively. Total flavonoid content in these four grains was negatively correlated with IC₅₀ for DPPH radical scavenging antioxidative effect significantly ($r=-0.9924$, $p=0.0076$), but not with antimutagenic effect.

Key words: Korean cereals, antioxidative, antimutagenic, Ames test, flavonoid, polyphenol

서 론

최근 노화와 관련된 질병들의 예방 및 치료를 위한 식생활 관리에 무엇보다도 많은 관심이 집중됨에 따라 천연물 및 약용식물들에서 생리활성물질을 찾는 연구가 매우 활발히 진행되고 있다(1-4). 그러나, 건강을 위하여 기본적으로 가장 중요하게 관심을 두어야 할 부분은 식사를 통하여 일상적으로 다량으로 섭취하는 평범한 식품들이다.

많은 역학조사 결과 과일과 채소 및 곡류를 많이 섭취할수록 암, 심혈관질환 등 여러 만성질환들의 발병율이 낮았다고 보고되었다. 이들 식품들이 만성 퇴행성 질환을 줄일 수 있는 주된 요인은 식이섬유소, 미량 무기질, 항산화 비타민은 물론 다양한 phytochemical을 함유하고 있어 항산화, 항종양, 항균 등의 생리활성효과를 갖기 때문이다(5-7). 그러나,

일반적으로 곡류의 중요성에 대한 인식이나 관심은 상대적으로 낮은 편이다. 곡류에는 tocotrienol, Se, Cu, Zn, Mg이 외피부분에 많으며, anthocyanidine, quinone, flavonol, chalcone, flavone, flavanone, amino phenol 화합물 등의 다양한 페놀 화합물을 비롯하여(8,9), ferulic acid, diferulic acid, lignan 등이 여러 가지 유익한 생리활성 작용을 하는 것으로 알려져 있다(10). 또한 caffeic acid와 ferulic acid 등은 발암물질이 세포내 중요한 분자와 반응하는 것을 차단하기도 하고, 체내 해독시스템의 2단계인 conjugation 반응을 원활하게 하여 발암물질을 신속히 제거함으로써 항암효과를 나타낸다고 보고된 바 있다(11). 우리나라는 전통적으로 과거에는 쌀과 함께 보리, 수수, 기장, 메밀, 옥수수, 귀리, 콩, 팥 등을 주식으로 많이 섭취하였으나, 한동안 잡곡류의 섭취량이 크게 줄어 명맥만 유지하다가 요즘 건강에 대한 관심과 영양지

*Corresponding author. E-mail: meesook@mail.hannam.ac.kr
Phone: 82-42-629-7494, Fax: 82-42-629-7490

식이 증대되면서 일부 잡곡들은 점차 소비가 다시 증가되고 있다. 따라서, 국내산 곡류에 대한 기능성 생리활성에 대한 과학적이고 지속적인 연구를 통하여 정확한 자료와 정보를 제공함으로써 국민의 건강한 식생활관리에 도움을 줄 수 있으며 산업적으로도 곡류를 이용한 기능성 식품 및 건강보조 식품의 개발을 촉진할 필요가 있다. 그러나, 국내에서는 주로 현미, 울무, 메밀 등 몇 가지에 관한 생리활성 연구가 약간 있을 뿐 그 밖의 곡류에 대한 생리활성 기능에 대한 연구 보고는 그다지 많지 않다.

건강식품으로 각광을 받고 있는 메밀은 혈관의 투과성을 감소시킴으로써 고혈압 및 동맥경화를 억제하는 효과가 있다고 널리 알려져 있는데(12), flavonoid의 일종인 rutin과 quercetin을 많이 함유하고 있으며(13), 다른 곡류에 비하여 수용성 섬유소의 비율이 높은 것으로 보고되었다(14). Kang 등(15)은 곡류 중에서 메밀은 항변이원성 활성이 매우 높은 편이라고 하였고, Choe 등(16)은 흰쥐에게 메밀을 섭취시켰을 때 혈압이 유의하게 감소하였으며, Lee 등(17,18)은 streptozotocin으로 유도한 당뇨병 쥐와 제 2형 당뇨병 환자에서 혈당 및 당화혈색소가 감소하였고, 혈중 콜레스테롤 및 LDL-콜레스테롤 농도가 감소하였다고 하였다. 울무는 항종양(19) 및 염증완화작용(20), 혈당감소(21)와 혈압강하효과(22) 등의 생리활성이 있는 것으로 알려져 있는데, 국내 보고로는 혈액 및 간조직의 콜레스테롤 감소효과(23,24), 체중증가 억제효과(25), 간과 뇌에서의 항산화효과(24,25), 면역활성 기능(24), 항변이원성 효과(15) 등이 있다. 기장에 대한 생리활성 연구보고로는 Chung 등(26)이 흰쥐에게 기장분말과 메탄올 추출물을 먹었을 때 간의 중성지방이 감소하는 효과와 glucose-6-phosphatase의 활성을 저해하는 효과를 보였다고 하였다.

이에 본 연구에서는 곡류 중에서 메밀(*Buckwheat, Fagopyrum esculentum Moench*), 수수(*Sorghum, Sorghum bicolor Moench*), 기장(*Foxtail millet, Setaria italica Beauvios*), 울무(*Job's tears, Coix Iachryma-jobi var. mayuen stapf*)의 항돌연변이효과와 항산화효과를 *in vitro* 실험을 통하여 평가하고, 총 플라보노이드와 폴리페놀의 함량을 측정하여 이들 효능들과의 관련성을 알아보고자 하였다.

재료 및 방법

재료 및 시료의 추출

메밀, 수수, 기장, 울무는 대전 중앙시장에서 한국산으로 구입하여 세척 후 동결건조기(Vacuum freeze dryer, Biotron, Korea) 건조시켜 곱게 분쇄한 후 밀봉하여 -20°C 에서 냉동보관하면서 시료로 사용하였다. 시료의 에탄올 추출물을 얻기 위하여 건조시료 일정량에 20배의 95% 에탄올(Duck-san, Korea)을 가하여 실온에서 stirring하면서 24시간 동안 2회 반복 추출하여 Whatman 여과지 No. 6로 여과한 후 여

과액을 rotary vacuum evaporator(EYELA, Japan)로 감압 농축하여 냉동보관하였다가 DMSO(dimethyl sulfoxide)에 녹여 지질과산화억제활성, DPPH 라디칼 소거활성 및 Ames test를 위한 시료로 사용하였으며, MDA-BSA conjugation 억제활성 실험을 위하여는 건조시료를 80% 에탄올로 추출한 다음 여과하여 농축시켰다.

시약

Ames test를 위하여 *S. Typhimurium* TA98, TA100은 University of California의 Bruce N. Ames로부터 받아 사용하였으며, 2-Anthramine(Sigma Chemical Co., USA), 2-Nitrofluorene(Aldrich Chemical Co., USA), sodium azide phosphate(Sigma Chemical Co., USA), S9 mix(11-01L Rat liver LS-9, Molttox, USA), nutrition broth(Difco, USA), histidine(Junsei, Japan), biotin(Sigma Chemical Co., USA), dimethyl sulphoxide(Sigma Chemical Co., USA) 등을 사용하였다. MDA-BSA 결합억제실험을 위하여 사용한 Dowex 50WX8-200 resin은 Supelco(USA), Centricon(YM-10)은 Amicon(USA)에서 구입하여 사용하였다. 또한, linoleic acid, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, DPPH(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl), bovine serum albumin, Folin-ciocaltheau reagent, rutin, tannic acid 등 그 밖의 시약들은 Sigma Chemical Co.(USA)로부터 구입하였다.

총 flavonoid와 polyphenol 함량 측정

Flavonoid와 polyphenol 함량을 측정하기 위하여 Lee 등의 방법(27)에 따라 동결건조한 건조시료 1g에 50 mL의 75% 에탄올을 가하고 18시간 동안 교반하여 추출한 후 Whatman paper로 여과하고, 75% 에탄올로 50 mL까지 맞춘 후 즉시 측정하였다. 총 flavonoid 함량 측정은 Davis법을 변형한 방법(28)에 따라 에탄올 추출점액 400 μL 에 90% diethylene glycol 4 mL을 첨가하고, 다시 1 N NaOH를 40 μL 을 넣고 37°C water bath에서 1시간 동안 incubation한 후 spectrophotometer로 420 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준시약으로는 rutin(Sigma Chemical Co., USA)을 사용하였다. 총 polyphenol 함량은 Singleton 등의 방법(29)에 따라 75% 에탄올 추출 점액 400 μL 에 50 μL 의 Folin-ciocaltheau, 100 μL 의 sodium carbonate(Na_2CO_3) 포화용액을 넣고 실온에 1시간 방치한 후 spectrophotometer(Ultrospec 2100, Amersham, UK)로 725 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준시약으로는 tannic acid(Sigma Chemical Co., USA)를 사용하였다.

돌연변이 억제효과 측정

돌연변이 억제 효과를 측정하기 위하여 Maron과 Ames(30), Matsushima 등(31)의 방법에 따라 Ames test를 실시하였다. 균주는 *S. Typhimurium* TA98(frame shift 형)과 TA100(염기쌍 치환형)을 이용하였다. 직접돌연변이원으로 TA98에는 2-NF(2-nitrofluorene, Aldrich), TA100에는 sodium azide phosphate(Sigma Chemical Co., USA)를 사용

하였으며, 간접돌연변이원으로는 2-AA(Anthramine, Sigma Chemical Co., USA)를 사용하였다. 멸균된 12×75 mm의 뚜껑 있는 시험관에 50 mg/mL DMSO의 농도로 녹인 에탄올 추출시료 90 µL, 돌연변이원 10 µL, 배양한 균주 0.1 mL(1×10⁸ cells)을 섞고, 직접돌연변이를 넣은 시험관에는 0.5 mL의 0.1 M sodium phosphate buffer(pH 7.4)를, 간접돌연변이를 넣은 시험관에는 0.5 mL의 S9 mixture(rat liver LS-9, Moltox)를 각각 넣은 후 37°C에서 30분간 예비 배양하였다. 그 다음 45°C의 0.5 mM histidine/biotin 용액이 10% 포함된 top agar 2 mL을 각 tube에 넣고 천천히 섞은 후 minimal glucose agar plate에 도말하였다. Top agar가 굳으면 다시 37°C에서 48시간 배양한 후 revertant colony 수를 세어 대조군에 대한 실험군의 revertant colony 수를 비교함으로써 시료의 돌연변이 억제율을 계산하였다.

지질과산화 억제효과 측정

Antonella 등(32) 및 Gotteried와 Dunkley(33)의 방법에 따라 Fe²⁺에 의해 유도된 linoleate의 과산화에 대한 억제활성을 TBA(Thiobarbituric acid)로 발색시켜 측정하였다. DMSO에 녹인 에탄올추출시료를 농도별로 희석하여 20 µL와 10 mL의 10 mM linoleic acid 용액을 섞은 후 37°C에서 1시간 동안 교반기(KMC-S489S, Vision Scientific, Korea)에서 반응시켰다. 여기에 0.05 M FeSO₄·7H₂O 20 µL를 넣고 37°C에서 2시간 동안 교반하여 과산화를 유발시킨 후 800 µL를 취하여 4°C에서 10분간 tempering시키고 400 µL의 TBA reagent를 첨가한 다음 boiling water bath에서 15분간 가열한 후 냉각시켰다. 생성된 지질과산화물을 n-butanol로 추출하여 535 nm에서 흡광도를 측정한 후 시료에 의한 과산화지질 생성억제율을 계산하였으며, 시료농도와 억제율간의 관계를 나타내는 방정식을 구한 후 50% 억제율을 나타내는 시료의 농도(IC₅₀)를 계산하였다.

$$\text{억제율(\%)} = \frac{(\text{대조군의 흡광도} - \text{시료 처리군의 흡광도})}{\text{대조군의 흡광도}} \times 100$$

DPPH 라디칼 소거 효과 측정

시료의 DPPH 라디칼 소거효과는 DPPH에 대한 환원력으로 측정하였다(34). 에탄올추출시료를 DMSO에 녹여 농도별로 희석하여 시료 10 µL와 에탄올에 녹인 200 µM DPPH(1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl) 190 µL를 섞은 후, 37°C에서 30분 동안 반응시킨 다음 ELISA reader(SpectraMAX 340pc, Molecular devices, USA)를 이용하여 517 nm에서 흡광도를 측정한 후, 대조군에 비하여 감소된 흡광도로부터 라디칼 소거율을 계산하였고, IC₅₀의 시료 농도를 계산하였다.

지질과산화물과 단백질의 결합 억제효과

Park(35)의 방법에 따라 bovine serum albumin(BSA, Sigma)과 malondialdehyde(MDA)와의 상호결합을 시료들

이 억제하는 효과를 비교하였다. BSA(2 mg/mL) 100 µL, MDA(20 mM) 100 µL에 0.1 M PBS와 추출시료를 여러 농도로 혼합한 후 37°C에서 24시간 반응시킨 다음, 혼합액 500 µL를 Centricon(Centricon YM-10, Amicon)에 넣고, 1,400 ×g에서 2시간 동안 원심분리하여 MDA-BSA 결합물을 분리한 후, 여분의 염을 제거하기 위하여 증류수 700 µL를 넣고 다시 1,400×g에서 2시간 동안 원심분리하였다. 증류수로 3회 반복 세척한 후 시료를 0.1 M PBS에 녹여 Bradford 방법(36)으로 단백질 정량하고 12% acrylamide gel에서 전기영동(SDS-PAGE)한 후 Coomassie 염색을 시행하여 MDA-BSA 결합물의 band를 densitometer(BIO-1D Image Analysis, Vilber Lourmat, Germany)로 정량함으로써 지질과산화물과 단백질의 결합억제율을 계산하였다. MDA는 Gomez-Sanchez 등(37)의 방법에 따라 실험실에서 직접 제조하여 사용하였다.

통계처리

모든 분석치는 3~4회 측정된 값으로부터 평균값±SE로 나타내었으며, 식품내 총 flavonoid 및 polyphenol 함량은 SAS를 이용하여 ANOVA test를 수행한 결과 유의하게 식품간에 차이가 있는 경우 Duncan's test 로 grouping을 하였다. 또한 항산화효과 실험 결과 얻은 IC₅₀ 값과 flavonoid 및 polyphenol 함량과의 상관관계는 Pearson's correlation test 로 분석하여 상관계수를 구하였다.

결 과

항산화효과

지질과산화 억제효과 : Fe²⁺에 의해 linoleate의 과산화를 유도하는 과정에서 기장, 메밀, 수수, 울무로부터 얻은 에탄올추출물에 의한 지질과산화 억제효과를 검색한 결과는 Fig. 1과 같다. 각 식품으로부터 얻은 에탄올추출 시료를 10, 30, 100, 300, 1000 µg/assay 농도로 처리하였을 때 대부분의 농도에서 메밀과 수수의 지질과산화 억제효과가 특히 높았다 (p<0.001). 최고 농도인 1000 µg/assay에서 수수 73.6%, 메밀 70.3%, 울무 56.1%, 기장 20.2%의 억제율을 보였으며, 100 µg/assay에서는 메밀 40.2%, 수수 29.4%, 울무 12.0%, 기장 6.2%의 억제율을 보였다. Fe²⁺에 의해 유도된 지질과산화를 50% 억제하는 IC₅₀ 값을 에탄올 추출시료의 농도와 건조시료의 무게로 구한 결과는 Table 1과 같다. 에탄올 추출시료의 IC₅₀ 값은 기장 2.873 mg/assay, 메밀 0.174 mg/assay, 수수 0.241 mg/assay, 울무 1.891 mg/assay로 이를 건조시료의 무게로 환산하면 기장 84.75 mg, 메밀 4.51 mg, 수수 5.85 mg, 울무 31.32 mg이었다. 따라서, 에탄올 추출시료의 IC₅₀ 값을 근거로 지질과산화 억제효과를 비교하면 메밀, 수수, 울무, 기장의 순이었다.

DPPH 라디칼 소거 기능 : 기장, 수수, 메밀, 울무로부터 얻은 에탄올 추출물에 의한 DPPH 라디칼 제거효과를 2, 6,

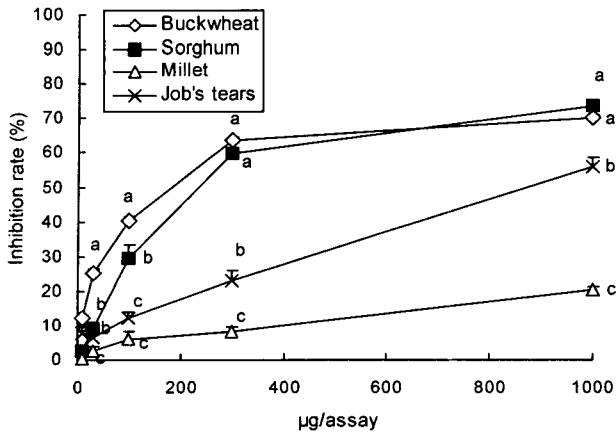


Fig. 1. Inhibition rate of 95% ethanol extracts on Fe²⁺-induced linoleate peroxidation.
a, b, c: means with different letter within same concentrate are significantly different from each other at p<0.001 by ANOVA, Duncan's multiple range test.

20, 60, 200, 500 µg/assay 농도에서 측정된 결과는 Fig. 2과 같으며, IC₅₀에 해당하는 에탄올추출 시료의 농도 및 건조시료의 무게는 Table 1과 같다. 시료를 2~500 µg/assay 범위로 처리하였을 때 메밀의 효과가 다른 3가지 곡류보다 유의하게 높았으며(p<0.05), 수수, 기장, 울무는 비슷한 억제율을 보였다. 60 µg/assay 농도에서 DPPH에 의한 라디칼 제거율

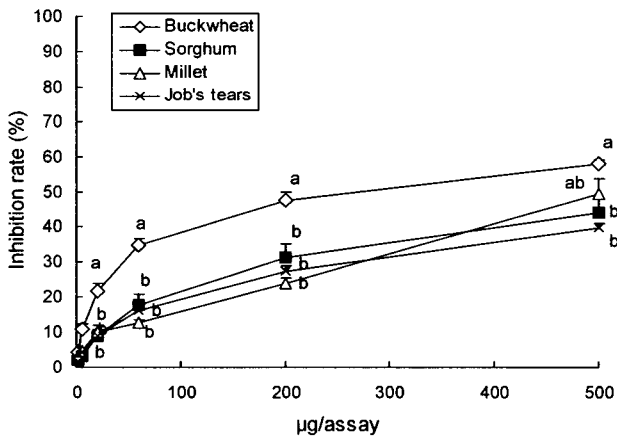


Fig. 2. DPPH radical scavenging activity of 95% ethanol extracts.
a, b, ab: means with different letter within same concentrate are significantly different from each other at p<0.05 by ANOVA, Duncan's multiple range test.

을 보면 메밀 34.7%, 울무 16.2%, 수수 17.8%, 기장 12.7%의 순이었으며, 최고농도인 500 µg/assay 처리시에도 메밀이 57.9%, 기장 49.2%, 수수 44.2%, 울무 39.9% 순이었다. 이들 결과로부터 환산된 IC₅₀에 해당하는 에탄올 추출시료의 농도는 기장 2.902 mg/assay, 메밀 0.264 mg/assay, 수수 2.135 mg/assay, 울무 4.667 mg/assay로 이를 건조시료 무게로 환산하면 기장 84.87 mg, 메밀 6.80 mg, 수수 55.03 mg, 울무 77.28 mg이었으며, 에탄올 추출시료의 IC₅₀값을 근거로 DPPH 라디칼 제거효과를 비교하면 메밀, 수수, 기장, 울무 순이었다.

지질과산화물과 단백질의 결합 억제효과: 본 연구에서는 *in vitro* 상태에서 기장, 메밀, 수수, 울무가 체내에서 생성된 지질과산화물이 단백질과 결합하는 반응을 억제할 수 있는지 알아보고자 0.2 µmole의 MDA와 0.2 mg의 BSA에 기장, 메밀, 수수, 울무의 에탄올 추출시료를 2.5, 5, 10, 20, 40, 80, 100 µg/assay 농도로 첨가하여 전기영동한 후 이를 대조군의 결합정도에 대한 저해율로 표시한 결과는 Fig. 3과 같다. 4가지 시료 모두 처리 농도가 높아질수록 MDA와 BSA의 결합으로 인해 생성된 band가 감소함을 볼 수 있어, 지질과산화물인 MDA가 단백질인 BSA와 결합하는 것을 억제시키는 성분이 있음을 알 수 있었다. 특히, 메밀은 모든 농도에서 가장 우수한 효과를 보였으며, 10 µg/assay 수준 이상에서는 메밀, 울무, 기장, 수수의 순으로 유의한 억제율의 차이를 나타내었다(p<0.0001). 지질과산화물이 단백질과 결합하는 것을 50% 억제하는 에탄올 추출 시료농도(IC₅₀)는 기장 120.59 mg/assay, 메밀 3.73 mg/assay, 수수 449.43 mg/assay, 울무 51.82 mg/assay로 이를 건조시료무게로 환산하면 기장 1.670 g, 메밀 0.714 g, 수수 1.083 g, 울무 1.248 g이었다. 에탄올 추출시료의 IC₅₀ 값을 근거로 지질과산화물과 단백질의 결합을 억제하는 효과를 비교하면 메밀, 수수, 울무, 기장의 순이었다(Table 1).

돌연변이억제효과

기장, 메밀, 수수, 울무로부터 얻은 에탄올 추출 시료를 0.28~4.5 mg/plate 범위에서 직접 및 간접작용 돌연변이억제능을 *S. Typhimurium* TA98과 *S. Typhimurium* TA100으로 측정된 결과는 Fig. 4와 같다.

직접적인 돌연변이 억제능을 살펴보면 *S. Typhimurium* TA98에 에탄올 추출시료 4.5 mg/plate 투여농도에서 2-Nitrofluorene 4 µg에 의한 돌연변이(TA98-)를 직접적으로

Table 1. IC₅₀ values of ethanol extracts and dry samples for antioxidative effects

	Lipid peroxidation inhibition		DPPH radical scavenging effect		MDA-BSA conjugation inhibition	
	95% EtOH ext. (mg/assay)	dry wt. (mg)	95% EtOH ext. (mg/assay)	dry wt. (mg)	80% EtOH ext. (mg/assay)	dry wt. (mg)
Millet	2.873 ¹⁾	84.75	2.902	84.87	120.59	1670
Buckwheat	0.174	4.51	0.264	6.80	3.73	714
Sorghum	0.241	5.85	2.135	55.03	449.43	1083
Job's tears	1.891	31.32	4.667	77.28	51.82	1248

¹⁾Values are the averages of triplicate.

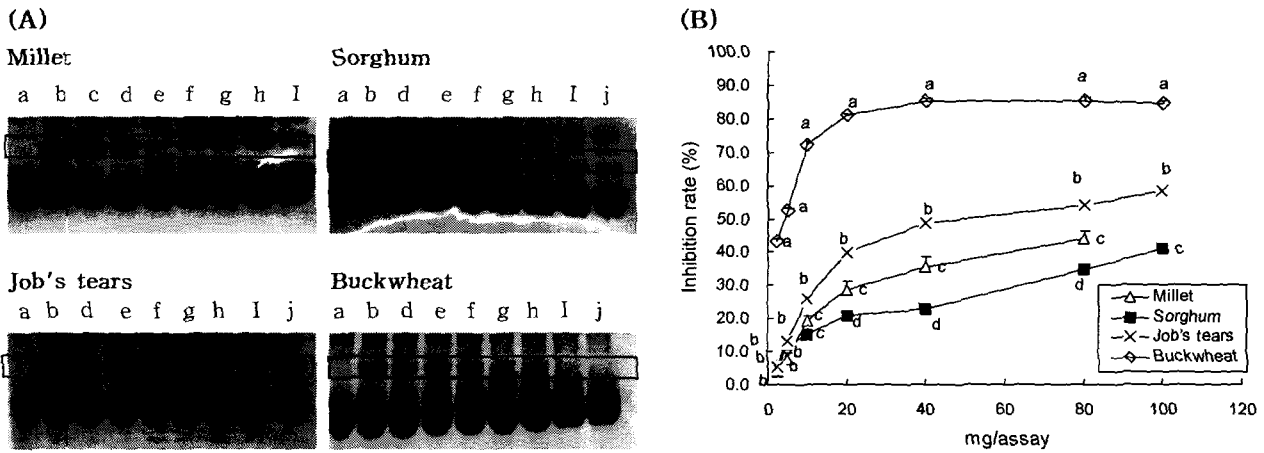


Fig. 3. Inhibitory effect of 80% ethanol extracts on conjugation of malondialdehyde with protein.
 (A) SDS-PAGE of extracts with MDA and BSA on 12% acrylamide gel. BSA and MDA were loaded 0.2 mg/lane and 2 μmole/lane, respectively. a: BSA, b: BSA+MDA, c: BSA+MDA+extract 1.25 mg, d: BSA+MDA+extract 2.5 mg, e: BSA+MDA+extract 5 mg, f: BSA+MDA+extract 10 mg, g: BSA+MDA+extract 20 mg, h: BSA+MDA+extract 40 mg, I: BSA+MDA+extract 80 mg, j: BSA+MDA+extract 100 mg.
 (B) Inhibition rates calculated by densitometry. a,b,c,d: means with different letter within same concentrate are significantly different from each other at p<0.001 by ANOVA, Duncan's multiple range test.

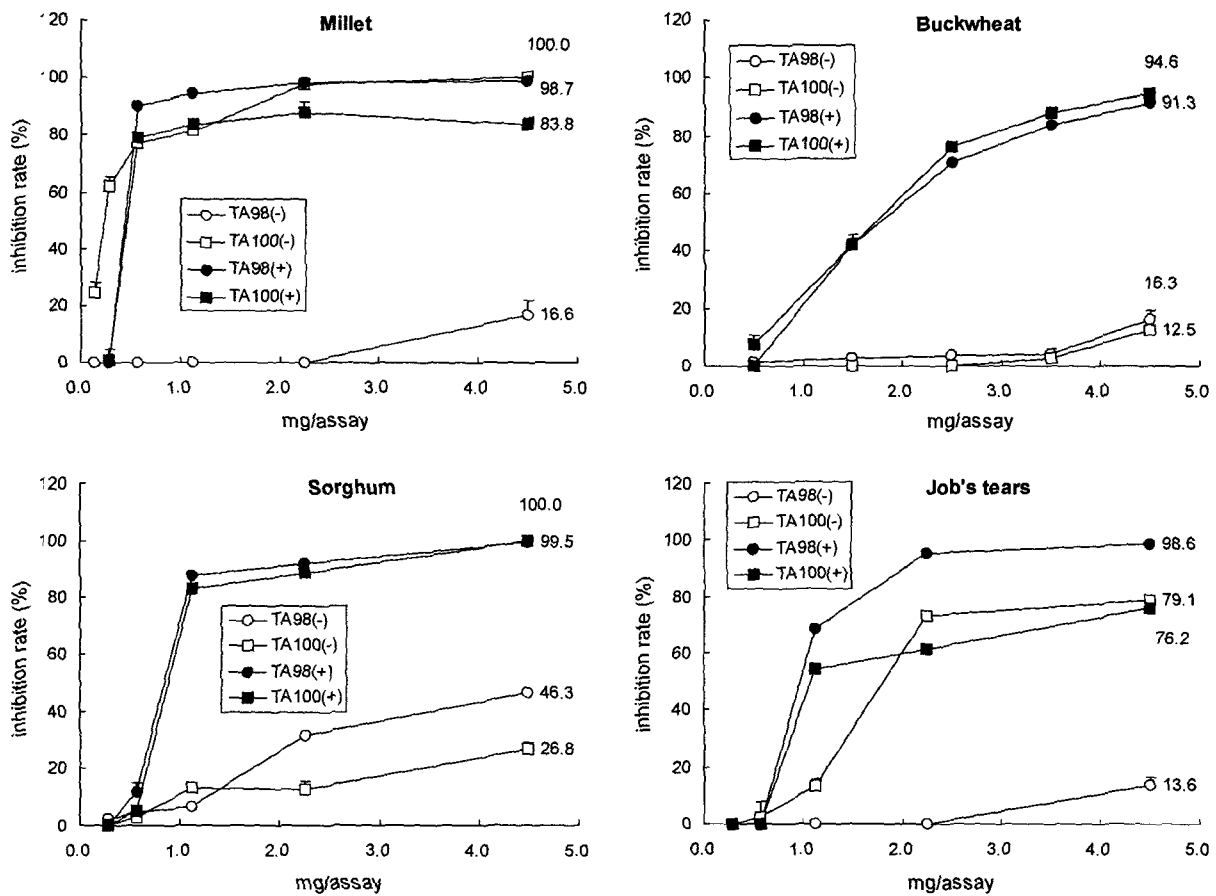


Fig. 4. Antimutagenic effects of 95% ethanol extracts of samples.
 TA98(-): *S. Typhimurium* TA98+2-Nitrofluorene (4 μg/plate)+extracts.
 TA100(-): *S. Typhimurium* TA100+sodium azide (2 μg/plate)+extracts.
 TA98(+): *S. Typhimurium* TA98+S9 mixture+2-Anthramine (2.5 μg/plate)+extracts.
 TA100(+): *S. Typhimurium* TA100+S9 mixture+2-Anthramine (2.5 μg/plate)+extracts.

저해하는 비율은 기장 20.3%, 메밀 18.5%, 수수 50.2%, 울무 17.5%로 수수가 가장 높았고, 기장, 메밀, 울무는 서로 비슷한 효과를 보였다. 또한 *S. Typhimurium* TA100에 에탄올 추출시료 4.5 mg/plate 투여농도에서 sodium azide 4 µg에 의한 돌연변이(TA100-)를 저해하는 비율은 기장 100%, 메밀 10.1%, 수수 23.7%, 울무 78.6%로 기장의 효과가 가장 좋았고, 그 다음이 울무였으며, 수수와 메밀은 효과가 적었다.

한편, 쥐 간 추출물을 함유한 S9 mixture를 넣어 체내에서의 돌연변이 억제효과를 간접적으로 측정한 결과 *S. Typhimurium* TA98에서 에탄올 추출시료를 최고농도인 4.5 mg/plate로 투여시 2-Anthramine 2.5 µg에 의한 돌연변이(TA98+)를 저해하는 비율은 기장 98.9%, 메밀 92.4%, 수수 99.6%, 울무 98.7%로 4가지 모두 매우 뛰어난 억제효과를 보였다. 그러나, 농도별로 살펴보면 기장은 이미 저농도인 0.56 mg/plate에서 91%의 억제효과를 보인 반면, 수수는 12.8%의 억제효과를 보였고, 메밀과 울무는 0%였고, 1.13 mg/plate 농도에서 기장은 95.3%, 메밀은 43%, 수수는 87.6%, 울무는 67.6%의 억제효과를 보였다.

S. Typhimurium TA100에서 2-Anthramine에 의한 간접 돌연변이(TA100+)를 저해하는 비율은 최고 투여 농도인 4.5 mg/plate에서는 기장 81.3%, 메밀 94.6%, 수수 100%, 울무 75.9%로 4가지 시료 모두 높은 억제효과를 보였으나, 0.56 mg/plate의 저농도에서 기장은 80.1%의 높은 저해율은 보였으나, 메밀은 11.4%, 수수와 울무는 0%로 기장의 효과가 월등히 좋았다. 또 1.13 mg/plate 농도에서는 기장은 83.9%, 메밀은 47.9%, 수수는 81.8%, 울무는 54.2%의 억제율을 보였다. 종합적으로, *S. Typhimurium* TA98과 *S. Typhimurium* TA100에서의 간접적인 돌연변이억제효과는 4종의 곡류가 모두 좋았으나 특히 기장과 수수가 매우 우수하였다.

이상의 실험 결과 항돌연변이효과에서는 항암효과가 좋은 것으로 많이 알려진 울무보다 기장의 효과가 훨씬 더 좋았고, 수수도 울무와 비슷한 정도로 좋은 효과를 보였다. 특히 기장은 TA100에 의한 염기쌍 치환 돌연변이에 대한 직접적인 억제효과 및 TA98과 TA100에 의한 frame shift와 염기쌍 치환 돌연변이를 간접적으로 억제하는 효과가 매우 탁월하였으며, 수수는 TA98에 의한 frame shift 돌연변이를 직접적으로 억제하는 효과가 매우 뛰어났고 간접적인 돌연변이 억제효과는 울무와 비슷한 정도였다.

Flavonoid 및 polyphenol 함량과 항산화효과와의 관계
메밀, 수수, 기장, 울무의 총 flavonoid와 polyphenol 함량을 측정한 결과는 Table 2와 같다. 총 flavonoid 함량은 메밀(1.21 mg/g), 수수(1.17 mg/g), 기장(0.96 mg/g), 울무(0.66 mg/g) 순으로 많았는데 이는 DPPH 라디칼 제거효과의 순과 일치하였다. 또한 총 polyphenol 함량은 메밀(3.71 mg/g), 수수(1.76 mg/g), 울무(1.7 mg/g), 기장(1.09 mg/g) 순으로 Fe²⁺로 유도된 지질과산화물을 억제하는 효과의 순과 일치하였다. 따라서, 이들 4가지 곡류의 flavonoid 함량 및 polyphenol

Table 2. Total flavonoid and polyphenol contents in samples

	Total flavonoid content (mg/wt)	Total polyphenol content (mg/wt)
Millet	0.96 ± 0.05 ^{1)c2)}	1.09 ± 0.13 ^c
Buckwheat	1.41 ± 0.02 ^a	3.71 ± 0.21 ^a
Sorghum	1.17 ± 0.04 ^b	1.76 ± 0.18 ^b
Job's tears	0.66 ± 0.04 ^d	1.70 ± 0.12 ^b

¹⁾Values are mean ± SD from three times of measurements.

²⁾Values with different letters within a column are significantly different at p < 0.05 by ANOVA, Duncan's multiple test at p < 0.001.

Table 3. Correlation coefficients between total flavonoid or polyphenol content and IC₅₀ for antioxidative effects

	IC50 for lipid peroxidation	IC50 for DPPH radical	IC50 for MDA-BSA conjugation
Total flavonoid content	r = -0.7183 (p = 0.2817)	r = -0.9924 (p = 0.0076)	r = 0.1260 (p = 0.8740)
Total polyphenol content	r = -0.7288 (p = 0.2712)	r = -0.7626 (p = 0.2374)	r = -0.3895 (p = 0.6105)

함량과 항산화효과의 상관성을 통계적으로 검증하기 위하여 지질과산화 억제효과, DPPH 라디칼 제거 효과, 지질과산화물과 단백질의 결합억제효과에 대한 IC₅₀ 값과의 상관관계를 구한 결과 flavonoid 함량과 DPPH 라디칼 소거 반응에서의 IC₅₀ 값 사이에서만 유의적인 음의 상관관계(r = -0.9924, p = 0.0076)를 보여(Table 3), 메밀, 수수, 기장, 울무의 DPPH 라디칼 제거효과는 주로 flavonoid에 의한 것으로 추정된다.

고 찰

식물에 존재하는 성분으로 생리적인 활성을 나타내는 주된 phytochemical인 페놀산, flavonoid 및 polyphenol 화합물은 그 종류가 매우 다양하며 작용과 효력 또한 매우 광범위한데, 그 중에서도 항산화작용에 대하여 가장 많이 연구 보고되어 있다. 곡류에서는 보리와 메밀의 cathchine과 proanthocyanidine(12), 쌀의 isovitexin(38)를 비롯하여 phytate도 항산화효과를 갖는 것으로 밝혀져 있다. 또한 곡류에 특징적으로 많은 lignan은 항산화 및 항암효과를 나타내는 성분으로 보고되었다(39).

본 연구에서 기장, 메밀, 수수, 울무의 항산화효과 및 항돌연변이 효과가 실제로 어떤 성분에 의한 것인지는 확인하지 못하였으나 에탄올 추출물에 함유되어 있는 phytochemical 성분이 크게 작용했을 것으로 예상되어 총 flavonoid와 polyphenol 함량을 측정하였고, 그 함량과 항산화효과 및 항돌연변이효과의 지표인 IC₅₀ 농도와의 상관관계를 계산하여 보았다. 곡류에는 약 500 µg/g 정도의 페놀화합물을 함유되어 있다는 보고(40)와 비교하면, 본 연구에서 측정한 메밀, 기장, 수수, 울무 4가지 시료의 polyphenol의 함량과 flavonoid 함량은 매우 높은 수준이었다. 그러나, 과일이나 채소의

phytochemical은 대부분 유리형 또는 수용성 포함형인데 반해 곡류의 phytochemical은 주로 불용성의 결합물 형태 (insoluble bound)로 주로 세포막에 존재하기 때문에, 추출하기가 어려워 함량 분석시 오차가 많으며 실제보다 적게 평가되는 경향이 있다고 보고된 바가 있다(10,41).

Zielinski와 Kozłowska(42)는 폴란드산 메밀, 보리, 귀리, 밀 등 곡류가 AAPH(2-2'-azobis(2-amidinorpropane) dihydrochloride)로 유도된 지질과산화물 억제하는 효과와 ABTS 라디칼을 소거하는 효과가 있었는데 특히 메밀의 효과가 좋았으며, 메밀의 물추출물과 80% 메탄올추출물의 총항산화 효과는 polyphenol함량과 각각 0.96, 0.99, 0.80, 0.99의 높은 상관관계를 갖고 있었다고 하였다. Adams와 Liu(43)도 밀, 옥수수, 쌀, 귀리의 polyphenol, flavonoid, ferulic acid 함량이 총항산화활성과 매우 높은 상관성을 보였다고 하였다. 본 연구에서는 기장, 메밀, 수수, 울무에 함유되어 있는 총 flavonoid 함량이 DPPH 라디칼 소거효과의 IC₅₀농도와 통계적으로 유의적인 상관관계($r=-0.9924$, $p=0.0076$)를 보였으며, 4가지 곡류 중 flavonoid와 polyphenol 함량이 가장 높았던 메밀이 3가지 방법으로 측정된 항산화효과에서 모두 가장 뛰어난 결과를 보여 이들 곡류의 항산화효과에 있어서 flavonoid와 polyphenol이 매우 중요한 역할을 하고 있음을 확인할 수 있었다. 그러나, 본 연구에서 총 flavonoid 및 polyphenol함량과 돌연변이억제효과와는 유의한 상관성이 없었다.

식품의 항산화효과를 측정하는 한 방법으로 본 실험에서 새롭게 시도된 것이 MDA-BSA 결합억제효과를 전기영동을 통하여 측정된 것으로 최근에 본 연구진이 개발하여 사용 보고한 바가 있다(44). 대표적인 지질과산화 산물인 malondialdehyde(MDA)는 두 개의 aldehyde기를 갖고 있어 매우 불안정하여 주변의 단백질 내부의 아미노산 잔기들 사이에서 뿐만 아니라 외부 단백질분자의 잔기 사이에서도 교차결합(cross-linking)을 일으킬 수 있다는 것은 이미 잘 알려져 있으며, 체내에서 생성된 지질과산화물이 어떤 효소와 결합한다면 그 효소의 활성을 저하시키거나 변화시킴으로써 질병을 유도할 수 있고, 만일 DNA변이를 교정하는 작용과 같은 보호기능에 관여하는 효소에 손상을 준다면 암을 유발할 수도 있다고 알려져 있다(45). 이에 본 연구에서는 이미 생성된 지질과산화물이 단백질과 반응 결합하는 것을 4종의 에탄올 추출시료가 억제시킬 수 있는지를 in vitro에서 측정하기 위하여 일정량의 MDA와 BSA에 시료를 농도별로 첨가하여 전기영동 후 MDA-BSA 결합물의 생성을 얼마나 감소시키는지 membrane 상의 단백질을 염색시키는 coomassie 염색을 통하여 확인하였다.

한편, 동물실험 연구에 따르면 메밀의 물추출물을 ischemic reperfusion한 흰쥐에게 먹였을 때 대조군에 비하여 혈액과 신장에서 지질과산화물의 농도를 감소시켰고, 신장에서 항산화효소들의 활성을 증가시켜 산화적 스트레스로부터 신장을 보호하는 효과를 보였다고 하였다(46).

본 연구결과 메밀 뿐만 아니라 수수도 flavonoid와 polyphenol 함량이 높았고 지질과산화물억제효과가 매우 뛰어났음에도 불구하고, 현재 메밀과 수수의 이용은 매우 저조한 편이다. 울무는 항종양 및 염증완화작용, 혈당감소와 혈압강화 효과 등의 생리활성이 있는 것으로 잘 알려져 있는데 뿌리에서 추출한 coixol(6-methoxy-benzoxazolone) 성분은 진통작용을 가지며(22), coixenolide 성분이 항종양효과를 보이는 것으로 보고되었다(19). 울무의 메탄올 및 부탄올 추출물이 라디칼 소거 활성이 높았고(47), 현미와 울무 생식을 알코올과 함께 저염양상태의 흰쥐에게 먹었을 때 혈청 및 간조직의 콜레스테롤 농도가 감소하였고, 간조직에서 지질과산화 정도가 감소하였으며, 면역활성도 증가되었다고 보고되었다고 하였다(24).

본 연구에서 Ames test 결과 *S. Typhimurium* TA98과 TA100에서의 직접적인 항돌연변이효과는 수수와 기장이 가장 좋았으며, 간접적인 항돌연변이효과는 기장, 수수, 울무가 우수하였으나, 국내산 기장이나 수수에 대한 항돌연변이효과나 항암효과에 대한 연구 보고가 별로 없어 앞으로 이 부분에 대한 깊이 있는 연구가 절실히 요구된다. 또한, 항산화효과가 가장 좋았던 메밀이 돌연변이억제효과에서는 가장 낮은 결과를 보였으나, Kang 등(15)은 *E. coli*를 이용하여 mitomycin C로 유도한 돌연변이를 억제하는 효과를 SOS chromotest 법에 의하여 70% 에탄올 추출물의 mg당 변이원성 억제활성을 비교한 결과 국내산 메밀, 울무, 현미가 다른 곡류들보다 우수한 항돌연변이 효과를 보였으며, 메밀, 울무, 조, 수수의 순으로 효과적이었다고 보고하였다. 이는 본 실험 결과와 매우 달랐는데, 재료의 산지나 품종, 시료추출방법 및 실험에 사용한 균주나 돌연변이 유도 물질들이 다르기 때문이 아닌가 생각된다. 따라서, 항돌연변이효과에 대한 평가 비교시에는 세심한 주의가 요구된다고 본다. 앞으로 in vitro 실험결과를 토대로 동물이나 사람을 대상으로 하는 in vivo 실험연구와 아울러 보다 세분화된 분획추출물로부터 항산화 및 항돌연변이 효과를 측정하는 연구가 진행되어야 할 것이다.

요 약

한국산 메밀, 수수, 기장, 울무의 돌연변이억제효과와 항산화효과 및 총 flavonoid와 polyphenol 함량을 측정하였다. 이를 위하여 에탄올 추출시료를 얻은 후 Ames test 방법으로 돌연변이 억제효과를 검색하였고, Fe²⁺로 유도된 지질과산화억제물, DPPH 라디칼 소거물 및 MDA-BSA 결합억제율을 측정하는 3가지 방법으로 항산화효과를 측정하고, 총 flavonoid와 polyphenol 함량을 측정된 결과를 요약하면 다음과 같다. 에탄올 추출시료의 IC₅₀에 의한 지질과산화 억제효과를 비교한 결과 메밀(0.174 mg/ assay), 수수(0.241 mg/ assay), 울무(1.891 mg/assay), 기장(2.873 mg/assay) 순이

었으며 에탄올 추출시료의 IC₅₀을 계산하여 DPPH 라디칼 제거능을 비교한 결과 메밀(0.264 mg/assay), 수수(2.135 mg/assay), 기장(2.902 mg/assay), 울무(4.667 mg/assay) 순이었다. 지질과산화물-단백질 결합 억제효과는 에탄올 추출시료의 IC₅₀을 기준으로 비교한 결과 메밀(3.73 mg/assay), 울무(51.82 mg/assay), 기장(120.59 mg/assay), 수수(449.43 mg/assay)의 순이었다. *S. Typhimurium* TA98에서 에탄올 추출물 4.5 mg/assay농도에서 2-Nitrofluorene에 의한 직접돌연변이를 저해하는 비율은 수수(50.2%), 기장(20.3%), 메밀(18.5%), 울무(17.5%)의 순이었으며, *S. Typhimurium* TA100에서 sodium azide에 의한 직접돌연변이를 저해하는 비율은 기장(100%), 울무(78.6%), 수수(23.7%), 메밀(10.1%)의 순이었다. *S. Typhimurium* TA98 또는 TA100에서 에탄올 추출물이 2-Anthramine에 의한 간접돌연변이 억제효과는 기장, 수수, 울무, 메밀 모두 우수하였으며, 특히 기장과 수수의 효과가 매우 좋았다. 총 flavonoid 함량은 메밀(1.41 mg/g), 수수(1.17 mg/g), 기장(0.96 mg/g), 울무(0.66 mg/g) 순이었고, 총 polyphenol 함량은 메밀(3.71 mg/g), 수수(1.76 mg/g), 울무(1.7 mg/g), 기장(1.09 mg/g) 순으로 각각 DPPH 라디칼제거효과 및 지질과산화억제효과의 순과 일치하였다. 총 flavonoid 함량은 DPPH 라디칼 제거효과에 대한 IC₅₀ 값과 높은 상관관계($r=-0.9924$, $p<0.01$)를 나타내었다.

감사의 글

본 연구는 2001년 농림부 농림기술개발연구과제 연구비의 지원으로 수행되었으며 이에 감사를 드립니다.

문 헌

- Lee JW, Shin YJ, Cho DJ, Lim HJ, Choi WE, Lee YK. 2004. Antitumor and antimutagenic effect of proteinopolysaccharides from *Polyporus umbellatus*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 33: 475-479.
- Hwang EJ, Cha YU, Park MH, Lee JW, Lee SY. 2004. Cytotoxicity and chemosensitizing effect of *Camelia japonica* tea extract. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 33: 487-493.
- Sa YS, Kim KA, Choi HS. 2003. Purification and characterization of anti-coagulant activity fraction from persimmon stem. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 32: 1323-1327.
- Jeong IY, Lee JS, Oh H, Jung U, Park HR, Jo SK. 2003. Inhibitory effect of hot-water extract of *Paeonia japonica* on oxidative stress and identification of its active components. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 32: 739-744.
- Rimm EB, Ascherio A, Giovannucci E, Spiegelman D, Stampfer MS, Willet WC. 1996. Vegetable, fruit and cereal fiber intake and risk of coronary heart disease among men. *JAMA* 275: 447-457.
- Jacobs DR, Marquart L, Slavin J, Kushi LH. 1998. Whole grain intake and cancer: an expanded review and meta-analysis. *Nutr Cancer* 30: 85-98.
- Pietta PG. 2000. Flavonoids as antioxidants. *J Nat Prod* 63: 1035-1042.
- Maillard MN, Berset C. 1995. Evolution of antioxidant activity during kilning: Role of insoluble bound phenolic acids of barley and malt. *J Agri Food Chem* 43: 1789-1793.
- Lloyd BJ, Siebenmorgen TJ, Beers KW. 2000. Effect of commercial processing on antioxidants in rice bran. *Cereal Chem* 77: 551-555.
- Bunzel M, Ralph J, Martia JM, Hatfield RD, Steinhart H. 2001. Diferulates as structural components in soluble and insoluble cereal dietary fiber. *J Sci Food Agri* 81: 653-660.
- Wattenberg LW. 1985. Chemoprevention of cancer. *Cancer Res* 45: 1-8.
- Watanabe M. 1998. Catechines as antioxidants from buckwheat (*Fagopyrum esculentum Moench*) groats. *J Agric Food Chem* 46: 839-845.
- Havsteen B. 1983. Flavonoids a class of natural products of high pharmacological potency. *Biochem Pharm* 32: 1141-1148.
- Kim EH. 1991. Comparison of dietary fiber content in Korean foods and determining methods. *PhD thesis*. Korea University, Seoul.
- Kang MY, Choi YH, Nam SH. 1996. Screening of anti-mutagenic activities from cereals and beans including rice. *Agri Chem Biotec* 39: 419-423.
- Choe M, Kim JD, Park KS, Oh SY, Lee SY. 1991. Effect of buckwheat supplementation on blood glucose levels and blood pressure in rats. *J Kor Soc Food Nutr* 20: 300-305.
- Lee JS, Son HS, Maeng YS, Chang YK, Ju JS. 1994. Effects of buckwheat on organ weight, glucose and lipid metabolism in streptozotocin-induced diabetic rats. *Kor J Nutr* 27: 819-827.
- Lee JS, Lee MH, Chang YK, Ju JS, Son HS. 1995. Effects of buckwheat diet on serum glucose and lipid metabolism in NIDDM. *Kor J Nutr* 28: 809-817.
- Numata M, Yamamoto A, Moribayash A, Yamada H. 1994. Antitumor components isolated from the Chinese herbal medicine *Coix Lachryam-Jobi*. *Planta Medicine* 60: 356-358.
- Otsuka H, Hirai Y, Nagao T, Yamasaki K. 1988. Anti-inflammatory activity of benzoxanoids from roots of *Coix Lachryam-Jobi* var. *ma-yuen*. *J Natural Products* 51: 74-79.
- Takahashi M, Konno C, Hikino H. 1986. Isolation and hypoglycemic activity of *Coixans* A, B, C, glycans of *Coix lachryma-jobi* L. var. *ma-yuen* seeds. *Planta Medicine* 52: 64-65.
- Gomita Y, Ichimaru, Moriyama M, Fukamachi K, Uchikado A, Araki Y, Fukuda T, Koyama T. 1981. Behavioral and EEG effects of coixol (6-methoxy benzoxazolone), one of the components in *Coix lachryma-jobi* L. var. *ma-yuen* Stapf. *Folia Pharm Japan* 77: 245.
- Park Y, Lee YS, Suzuki H. 1988. Effect of Coix on plasma cholesterol and lipid metabolism in rats. *Kor J Nutr* 21: 88-98.
- Park J, Yang M, Jun HS, Lee JH, Bae HK, Park T. 2003. Effect of raw brown rice and Job's tear supplemented diet on serum and hepatic lipid concentrations, antioxidative system and immune function of rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 32: 197-206.
- Shin DK, Park CH, Lee YJ, Lee YO. 1990. The effect of Job's tear diet on change of body lipid and tissue in rat. *Kor J Oil Chem* 7: 83-90.
- Chung S, Cho S, Lee H, Kim G, Ha T. 1998. Effect of millet powder and methanol extract on lipid synthesis-related enzymes or glucose-6-phosphatase activity in rats. P-2 Poster session in Annual meeting, J Kor Soc Food Sci Nutr.
- Lee YC, Hwang KH, Han DH, Kim SD. 1997. Compositions of *Opuntia fiscus-medica*. *Korean J Food Sci Technol* 29: 847-853.

28. Chae SK, Kang GS, Ma SJ, Bang KW, Oh MW, Oh SH. 2002. *Standard Food Analysis*. Jigu-moonwha Sa, Seoul. p 381-382.
29. Singleton VL, Orthofer R, Lamuela-Raventos RM. 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Meth-ods Enzymol* 299: 152-178.
30. Maron DM, Ames BN. 1983. Revised methods for the *Salmonella* mutagenicity test. *Mutat Res* 113: 173-180.
31. Matsushima T, Sugimura T, Nagao M, Yahagi T, Shirai A, Sawamura M. 1980. Factors modulating mutagenicity in microbial test. In *Short-term test, systems for detecting carcinogens*. Norphth KH, Garner RC, eds. Springer, Berling. p 273-280.
32. Antorella S, Mario S, Maria L, Daniela M, Francesco B, Francesco C. 1995. Flavonoids as antioxidant agents: Importance of their interaction with biomembranes. *Free Rad Bio Med* 19: 481-486.
33. Gotteried H, Dunkley WL. 1969. Ascorbic acid and copper in linoleate oxidation: Measurement of oxidation by ultraviolet spectrophotometry and the thiobarbituric acid test. *J Lipid Res* 10: 555-560.
34. Blois MS. 1958. Antioxidant determination by the use of a stable radical. *Nature* 26: 1199-1200.
35. Park YH. 2000. Effect of polyamine on modification of biomcdics by aldehydes. *PhD thesis*. Seoul National University, Seoul.
36. Bradford MM. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem* 72: 248-254.
37. Gomez-Sanchez A, Hermonsin I, Mayo I. 1990. Cleavage and oligomerization of malondialdehyde under physiological conditions. *Tetrahedron Letters* 28: 4077-4080.
38. Ramarathanam N, Osawa T, Namiki M, Kawakishi S, Ohshima K. 1988. Chemical studies on novel rice hull anti-oxidants. *J Agric Food Chem* 36: 732-737.
39. Cassidy A. 1996. Physiological effects of phytoestrogens in relation to cancer and other human health risks. *Proc Sym On Physiologically Active Substances in Plant Foods*. Cambridge University Press, London.
40. Senter SD, Horvat RJ, Forbus WR. 1983. Comparative GLC-MS analysis of phenolic acids of selected tree nuts. *J Food Sci* 48: 798-803.
41. Sosulski F, Krygier K, Hogge L. 1982. Free, esterified, and insoluble-bound phenolic acids. 3. Composition of phenolic acids in cereal and potato flours. *J Agric Food Chem* 30: 337-340.
42. Zielinski H, Kozłowska H. 2000. Antioxidant activity and total phenolics in selected cereal grains and their different morphological fractions. *J Agric Food Chem* 48: 2008-2016.
43. Adom KK, Liu RH. 2002. Antioxidant activity of grains. *J Agric Food Chem* 50: 6182-6187.
44. Lee MS, Lim SJ, Kim SA, Woo MK, Kwak CS, Park SC. 2003. Antimutagenic and antioxidative effects of ethanol extracts from garlic, ginger, green onion and red pepper. *Kor J Gerontol* 13: 8-16.
45. Otamari T, Sjodahl R. 1989. Increased lipid peroxidation in malignant tissues of patients with colorectal cancer. *Cancer* 64: 422-425.
46. Yokozawa T, Fujii H, Kosuna K, Nonaka G. 2001. Effects of buckwheat in a renal ischemia-reperfusion model. *Biosci Biotechnol Biochem* 65: 396-400.
47. Kim JK, Lee HS. 2000. Tyrosinase-inhibitory and radical scavenging activities from the seeds of *Coix lachryma-jobi* L. *Lor J Food Sci Tech* 32: 1409-1413.

(2004년 2월 27일 접수; 2004년 6월 3일 채택)