

메밀 Flavonoids의 항돌연변이원성 및 지질대사 조절기능에 관한 연구 -메밀 잎 에탄올 추출물의 항돌연변이원성 연구-

함승시[†] · 최근표 · 최용순* · 이상영

강원대학교 식품공학과

*강원대학교 생물응용공학과

Studies on Antimutagenic and Lipotropic Action of Flavonoids of Buckwheats -Desmutagenic Activity of Buckwheat Leaf Extracts-

Seung-Shi Ham[†], Koun-Pyo Choi, Young-Soon Choi* and Sang-Young Lee

Dept of Food Science and Technology, Kangwon National University, Chunchon 200-701, Korea

*Dept. of Applied Biology and Technology, Kangwon National University, Chunchon 200-701, Korea

Abstract

In spore rec-assay using *B. subtilis* H17 (*rec⁺*) and M45 (*rec⁻*), the ethanol extract of buckwheat leaves showed antimutagenicity in condition of low concentrations, but its did comutagenicity in condition of high concentrations. In Ames test, the ethanol extract of buckwheat leaves reduced the mutagenicity of N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine (MNNG), benzo (a)pyrene (B(a)P), 2-amino-fluorene (2AF), and 3-amino-1,4-dimethyl-5-H-pyrido (4,3-b) indol (Trp-P-1) in *Salmonella typhimurium* TA98 and TA100. The ethanol extract was fractionated by hexane, ethylacetate, butanol and water. Among them, hexane fraction showed the highest inhibition rate on the mutagenicity of B(a)P, and so did chloroform fraction on the mutagenicity of MNNG in *S. typhimurium* TA98 and TA100. To elucidate the antimutagenic mechanism of the ethanol extract, it was mixed and co-incubated with various mutagens, S9 mix, and the bacteria with different experimental orders and different reaction times. The ethanol extract did not affect reversion rate of pre-mutated *S. typhimurium*. However, when the ethanol extract was added to the mutagens before their interaction with *S. typhimurium*, it reduced the mutation rate to 152 ± 12 ~ 273 ± 18 colonies/plates in case of MNNG, and 135 ± 13 ~ 195 ± 10 colonies/plates in case of B(a)P, showing strong desmutagenic activity.

Key words : buckwheat leaf extract, Ames test, desmutagenic activity

서 론

메밀은 이미 5세기 중엽 이전부터 재배하여 왔으며 그 원산지는 중국의 운남성이라는 것이 역사적으로 고찰되고 있다¹. 이와같은 오랜 재배역사를 가진 메밀은 옛부터 구형식품으로서 중요하게 여겨왔다. 그러나 최근 들어 메밀이 건강식품, 기능성식품, 기호식품 그리고 관광식품으로서 각광을 받고있다. 메밀에 관한 연구는 Shibata 등²이 메밀의 신지에 따른 품질의 차이를 연구하였으며 재배시기가 메밀 성분함량에 영향을 미친다고 하였다. Ohara 등³은 메밀의 rutin 함량을 측정하였고

최 등⁴은 메밀을 함유하는 식이를 백서에 급여한 결과 혈압을 강하한다는 결과를 밝혔다. Vitamin P라고 칭하는 rutin은 모세혈관을 강화시키고 혈압을 낮추며 뇌혈 혈, 폐출혈, 망막출혈의 예방으로 옛 부터 성인병 예방 물질로 알려져 있다⁵. 암에 대한 메밀의 효과는 아직 확인된 바 없으나 부분적으로 첨가되는 메밀껍질중의 식이섬유나 특수성분에 의한 항암효과를 생각해 볼 수도 있다고 사료된다⁶. 최근에 와서 많은 화학물질이 돌연변이 혹은 밀암물질로 확인되었고 반면에 식품을 비롯한 각종 천연물 가운데 cinnamaldehyde(Ohta 등)⁷, coumarin(Otha 등)⁸, gingerol(Nakamura와 Yamamoto)⁹,

[†]To whom all correspondence should be addressed

enmein (Kainuma 등)¹⁰, vanilin (Otha 등)¹¹과 같은 돌연변이 활성을 억제 또는 경감시키는 돌연변이 억제물질이 존재함이 밝혀지게 되었다. Sakai 등¹²은 작약 (peaony) 뿌리 추출물에서 benzo(a)pyrene (B(a)P)에 대한 항돌연변이 물질로써 gallic acid, petagalloyl glucose 같은 탄닌그룹의 활성성분을 분리 보고한 바 있으며 이러한 돌연변이 억제물질의 검색이나 작용기구에 관한 연구가 최근 전세계적으로 활발히 이루어지고 있다. 본 연구에서는 메밀잎으로부터 에탄올 추출물과 그 분획물의 항돌연변이원성을 검토하였기에 그 결과를 보고하고자 한다.

재료 및 방법

메밀시료 및 메밀재배

메밀종자는 강원도 평창군 봉평농협에서 구입하여 강원대학교 온실농장에서 수경재배하였다. 즉 메밀을 2일간 물에 침적하여 수분을 흡수시킨 후 polyurethane으로 bed를 만들어 메밀을 1cm 두께로 깔은 후 적당한 률을 가하여 초장의 길이가 15cm 되었을 때 채취하여 지상부 부분을 동결건조하여 본 실험의 시료로 사용하였다.

시료의 추출 및 분획

메밀 잎 분밀에 시료량의 20배 가량의 에탄올을 첨가하여 3회에 걸쳐 16시간 환류 냉각기를 부착하여 가열 추출하였다. 이 추출액을 감압 농축하여 액기스를 얻은 후 hexane, chloroform, ethylacetate, butanol, 물총으로 분획하여 실험에 사용하였다.

S-9의 조제

돌연변이 유발물질인 benzo(a)pyrene (B(a)P), 2-aminofluorene (2AF), and 3-amino-1,4-dimethyl-5-H-pyrido(4,3-b)indol (Trp-P-1)를 활성형으로 만들기 위해 체중이 200g되는 Sprague-Dawley rat (male)를 이용하여 S9 fraction을 조제하였다. S9 fraction은 Maron과 Ames 등¹³의 방법을 개량하여¹⁴ 조제하였다. 모든 실험조작은 이전에 발표된 것처럼¹⁵ 0~4°C의 냉동실에서 무균적으로 행하였고 유도물질로는 phenobarbital (PB)과 5,6-benzoflavone (BF)을 사용하였다.

S9 mixture는 S9 fraction 10%, MgCl₂-KCl salt 2%, 1M glucose-6-phosphate (G6P) 0.5%, 1M nicotin adenine dinucleotide (NADP) 4%, 0.2M phosphate buffer (pH 7.4) 및 멸균수를 혼합 조제하였다.

Spore rec-assay에 의한 항돌연변이원성 실험

Rec-assay에 사용되는 포자는 Kada 등¹⁶의 방법에 따라 *B. subtilis* H17 (Rec⁺)와 M45 (Rec⁻)의 포자를 조제하여 포자함유 한천 plate를 조제하였다. 양성 변이원 물질의 변이원성을 조사하기 위하여 N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine (MNNG) ($\mu\text{g}/\text{ul}$)를 H17 및 M45 포자한천 plate 상에 올려놓은 네개의 paper disc (직경 8 mm, 두께 1.2mm)에 각각 10, 20, 30, 40 μl 씩 주입하였으며 메밀잎 추출물의 변이원성 유무도 같은 방법으로 실시하여 4°C에서 8시간 cold incubation한 다음 37°C에서 18시간 배양하여 paper disc 주변에 형성된 생육저지대의 직경을 측정하여 변이원성 유무를 판정하였다. 항돌연변이성 실험은 직접돌연변이원 물질인 MN NG ($\mu\text{g}/\text{ul}$)를 각 disc 당 20 μl 와 시료용액 30 μl 주입하여 실험에 사용하였다. 간접돌연변이원의 사용시에는 S-9 mix의 첨가가 필요하므로 agar plate 제조시 0.1%의 S-9 fraction을 첨가하여 제조하였으며 cofactor-용액 (40mg G6P와 80mg NADP/ml)은 10 μl 를 첨가하였다. 간접 돌연변이원으로서 B(a)P (20 $\mu\text{g}/\text{ul}$), Trp-P-1 ($\mu\text{g}/\text{ul}$) 그리고 2AF (10 $\mu\text{g}/\text{ul}$)를 paper disc당 각각 20 μg 을 주입하였고, 시료용액은 각각 30, 60, 120, 240, 480, 920 $\mu\text{g}/\text{plate}$ 씩 가하였다. 이것을 4°C에서 8시간 cold incubation시키고 다시 37°C에서 18시간 incubation시켜 paper disc 주변에 생성된 생육저지대의 직경을 측정하여 항돌연변이성 유무를 판정하였다.

Ames test에 의한 항돌변이원성 실험

Ames test를 개량한 preincubation법을¹⁵ 이용하였으며 *Salmonella typhimurium* TA98과 TA100 균주를 사용에 앞서 원서¹⁵에서 제시된 방법에 따라 유전형질을 확인하였다. 메밀잎 추출물 및 분획물의 항돌연변이원성을 확인하기 위해 추출물의 농도는 32mg/ml의 농도로 조제하여 2배 회석법으로 회석하여 사용하였으며, 변이원 물질의 농도는 Trp-P-1은 TA98에서는 0.05 $\mu\text{g}/\text{plate}$, TA100에서는 5 $\mu\text{g}/\text{plate}$, B(a)P의 경우는 10 $\mu\text{g}/\text{plate}$, 2AF의 경우는 10 $\mu\text{g}/\text{plate}$, MNNG의 경우 0.5 $\mu\text{g}/\text{plate}$ 를 사용하였다. 항돌연변이 실험은 ice bath에 담긴 glass cap tube에 메밀잎 추출물 시료 50 μl , 돌연변이 유발물질 50 μl , 대사활성물질이 필요한 경우는 S9 mix 0.25ml씩 각각 첨가하고 여기에 하룻밤 배양균주 (1~2 × 10⁶ cell/ml) 0.1ml씩 주입한 후 0.2M phosphate buffer (pH 7.4)로 최종부피 0.7ml가 되도록 하였다. 이것을 가볍게 vortex하여 잘 혼합한 후 37°C에서 48시간 배양한 후 revertant 숫자를 계측하여 항돌연변

이성 유무를 판정하였다.

추출 시료와 변이원 물질의 농도는 예비실험을 통하여 결정하였으며 활성은 변이원 물질의 활성에 대한 시료의 억제율 (inhibition %)로 나타내었으며 다음 식으로 산출하였다.

$$\text{Inhibition (\%)} = \frac{M - S_1}{M - S_0} \times 100$$

M : 돌연변이 물질만 존재한 경우의 복귀 돌연변이수

S₀ : 자연 복귀돌연변이수

S₁ : 시료를 첨가하였을 때의 복귀 돌연변이수

결과 및 고찰

Spore Rec-assay에 의한 돌연변이원성 및 항돌연변이원성

메밀잎 에탄올 추출물의 돌연변이원성 실험 결과는 추출물의 농도를 1900μg/disc 까지 증가시켜도 *B. subtilis* H17 (Rec⁺)와 M45 (Rec⁻)의 생육 저지대의 차이가 없으므로 시료 자체의 변이원성은 없는 것으로 나타났다 (Data not shown). 한편 시료의 항돌연변이원성 실험은 Fig. 1에 나타내었다. Direct mutagen인 MNNG (20μg/disk)에 대해서는 시료의 농도를 상승시켜도 항돌연변이 효과는 없었으며 농도 상승으로 인한 보돌연변이 효과가 있었다. Indirect mutagen인 Trp-P-1에 대해서는 0.1%의 S9 fraction과 cofactor solution 10μl 첨가시 120μg/disc 첨가군에서 성장억제가 거의 100% 가깝게

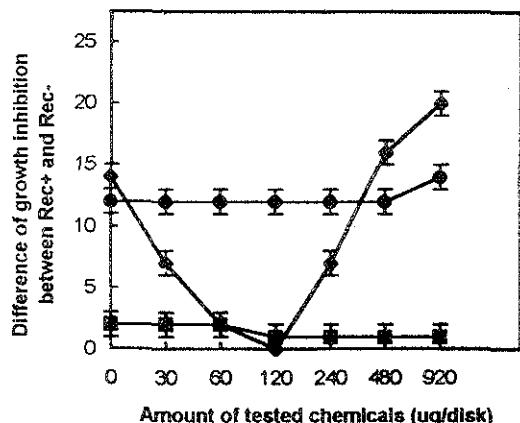


Fig. 1. Inhibitory effect of ethanol extract from buckwheat leaves on the mutagenicities by B(a)P, 2AF, Trp-P-1 and MNNG in spore rec-assay.

● : MNNG (20μg/disc), □ : B(a)P (400μg/disc),
◆ : Trp-P-1 (20μg/disc), ▲ : 2AF (30μg/disc)

억제되었다. 그러나 농도를 증가시켰을 경우는 MNNG 와 마찬가지로 보돌연변이 효과가 있었다. B(a)P 및 2AF에 대해서는 다소 낮은 억제효과를 나타내었다. 이것은 B(a)P, 2AF가 agar plate에서 확산 속도가 늦어져 대조구의 생육저지대가 작아서 판별하기 어려웠다.

Ames test에 의한 돌연변이 및 항돌연변이 효과

메밀잎 추출물의 돌연변이원성 실험 결과는 Table 1에 나타내었다. 추출물은 DMSO에 녹여 사용하였으며 각각의 농도에서 S9 mix를 첨가하였을 때나 하지 않았을 때 모두 변이원성은 나타나지 않았다. 그러므로 메밀잎 추출물에는 돌연변이원성을 나타내는 변이원물질이 없음을 나타내었다. 그리고 메밀잎 추출물 200~1600μg 사이의 어떤 농도에서도 생존균수에는 영향이 없었다.

한편 메밀잎 추출물을 DMSO에 녹인 후 항돌연변이 원성을 관찰하였다. 양성 변이원물질로는 direct mutagen으로 MNNG를 사용하였으며, S9 mix에 의해 최종 돌연변이원으로 활성화되는 indirect mutagen으로는 B(a)P, Trp-P-1, 2AF를 사용하였으며 그 결과를 Fig. 2 및 3에 나타내었다. 직접돌연변이원인 MNNG를 변이원으로 하였을 때 메밀잎 추출물은 *S. typhimurium* TA100에서 강한 항돌연변이 효과를 나타내었다. 200μg 첨가시 92%, 400μg 첨가시 93%, 800μg 첨가시 98%의 돌연발이 유발억제 효과를 나타내었다. 한편 B(a)P에 대한 돌연변이 유발억제 효과는 TA100에서 추출물을 200μg 첨가시는 48%의 낮은 억제효과를 나타내었으나 800, 1600μg 첨가시 저해율이 58%, 72%로 농도가 증가됨에 따라 항돌연변이 효과가 커짐을 알 수 있었다. TA98에서도 농도 의존적으로 억제효과를 나타내었다. Trp-P-1에서의 항돌연변이 작용은 TA100에서 200μg의 낮은 농도에서는 87%의 강한 억제효과를 나타내었으나 농도 증가시 보돌연변이에 의한 억제율 감소 현상을

Table 1. Mutagenicity of ethanol extract from buckwheat leaves in *Salmonella typhimurium* TA98 and TA100

Dose (μg/plate)	without S9 mix		with S9 mix	
	TA98	TA100	TA98	TA100
0	32±3 ^a	142±9	35±3	145±9
200	38±4	131±8	33±2	143±10
400	34±2	139±10	37±5	149±13
800	38±4	143±7	41±4	144±12
1600	39±6	145±11	43±6	152±117

Spontaneous revertants TA98 30±4 TA100 136±10

^aEach value represents the mean±SD of three plates

볼 수 있었다. 2AF에서는 TA98, TA100 모두 다소 낮은 억제효과를 나타내었다. 그러므로 메밀잎 추출물속에

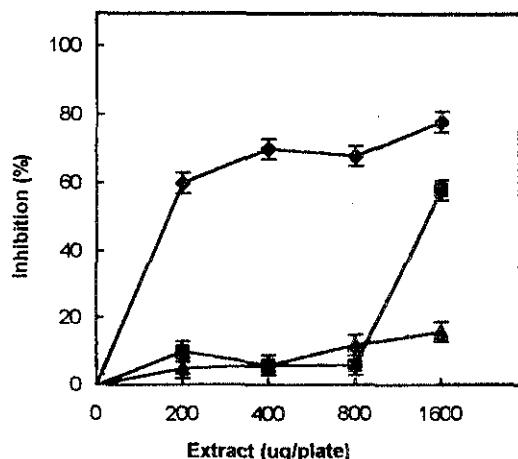


Fig. 2. Effect of ethanol extract from buckwheat leaves on the mutagenicities of B(a)P, 2AF and Trp-P-1 in *S. typhimurium* TA98.

◆ : B(a)P, ■ : 2AF, ▲ : Trp-P-1

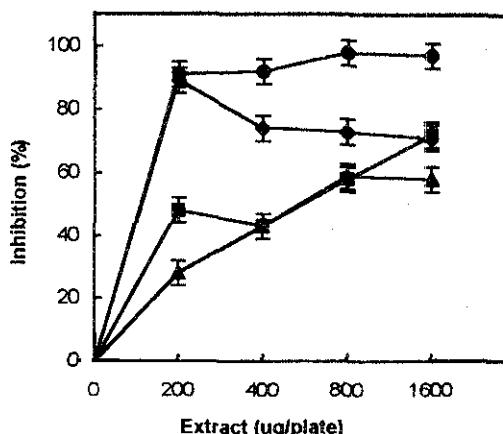


Fig. 3. Effect of ethanol extract from buckwheat leaves on the mutagenicities of B(a)P, 2AF, Trp-P-1 and MNNG in *S. typhimurium* TA100.

● : MNNG, ◆ : Trp-P-1, ■ : B(a)P, ▲ : 2AF

Table 2. Effects of solvent fractions from ethanol extract of buckwheat leaves on MNNG (0.5µg/plate) in *Salmonella typhimurium* TA100

Dose (µg/plate)	Hexane	CHCl ₃	EtOAc	Butanol	H ₂ O
0	1235±50 ^a	1210±48	1251±56	1201±40	1245±59
200	398±12 (74.9) ^a	199±11 (92.5)	1854±80 (163)	728±20 (45.5)	1660±76 (147)
400	499±15 (65.8)	124±12 (99.4)	716±56 (47.2)	557±17 (59.4)	978±45 (23.6)
800	316±11 (82.2)	144±18 (97.6)	336±21 (80.7)	594±14 (56.6)	484±20 (67.5)
1600	247±12 (88.4)	168±21 (95.4)	288±12 (84.9)	561±19 (59.0)	375±19 (77.1)

Spontaneous revertants 118±10

^aEach value represents the mean±SD of three plates ^bThe values in parentheses are the inhibition rate (%)

는 변이원성을 억제하는 성분이 존재함을 확인할 수 있었다.

메밀잎 에탄올 추출물을 다시 헥산, 클로로포름, 에틸아세테이트, 부탄올, 물을 용매로 하여 차례로 분획한 다음 분리된 분획물로 항돌연변이원성 실험을 하였다. Table 2에서 보는바와 같이 TA100에서 MNNG에 대한 각 분획물의 돌연변이 억제효과는 에틸아세테이트, 부탄올, 물획분에서는 낮은 억제 효과를 나타내었으며 헥산, 클로로포름획분에서 강한 억제효과를 나타내었다. 클로로포름층에서 400µg 첨가시 거의 자연복귀 수준으로 99% 억제되었다. 헥산층은 이보다 낮았으나 농도에 의존적으로 억제율이 증가되는 현상을 볼 수 있었다. 메밀잎 추출물의 용매분획물은 nitrite와 amine으로 부터 N-nitroso compounds의 생성을 방지¹⁷⁾할 뿐만 아니라 N-nitroso 화합물인 MNNG의 돌연변이 생성율을 감소시켰다.

B(a)P을 돌연변이물질로 사용했을 때 각 분획물의 억제효과는 Table 3에 나타내었다. 에틸아세테이트, 부탄올, 물층에서는 거의 억제효과가 없었으며 헥산층과 클로로포름층에서 강한 억제효과를 나타내었다. 헥산층에서 200µg 첨가시 64%, 400µg 첨가시 81%, 800µg 첨가시 거의 자연복귀 수준으로 99% 억제되었다. 클로로포름층에서도 200µg 첨가시 67%, 400µg 첨가시 77%, 800µg 첨가시 85%, 1600µg 첨가시 84%로 헥산층 보다는 낮았으나 분획물의 농도 증가에 따라 강한 변이원 억제효과를 나타내었다. 이것은 메밀잎 추출물과 분획물에 S9 mix중의 microsomal enzyme에 작용하여 B(a)P의 대사활성화 보다 hydration 등의 해독화에 관여하는 효소들의 활성을 증가시켰을 가능성이 있다고 사료된다.

돌연변이원물질과 균 및 메밀잎 에탄올 추출물의 첨가순서와 반응시간에 따른 변이원 억제효과의 차이를 알아보기 위하여 변이원물질로 MNNG 및 B(a)P을 사용하였다. 먼저 복귀변이가 일어난 균체에 대하여 메

Table 3. Effects of solvent fractions from ethanol extract of buckwheat leaves on B(a)P (10 μ g/plate) in *Salmonella typhimurium* TA100

Dose (μ g/plate)	Hexane	CHCl ₃	EtOAc	Butanol	H ₂ O
0	487±10 ¹¹	507±21	475±23	510±21	485±25
200	245±12 (64.5)	241±17 (67.3)	310±19 (45.1)	398±20 (8.1)	470±25 (1)
400	183±11 (81.0)	200±16 (77.7)	353±22 (33.6)	368±17 (35.6)	460±17 (1)
800	115±12 (99) ¹²	173±17 (84.5)	309±21 (45.7)	342±14 (42.2)	377±20 (28.3)
1600	141±12 (92)	177±12 (83.5)	249±12 (62.2)	314±29 (49.2)	293±19 (51.0)

Spontaneous revertants 112±10

¹¹Each value represents the mean±SD of three plates ¹²The values in parentheses are the inhibition rate (%)

Table 4. The antimutagenicity on addition of sample after mutagen, bacteria, or S9 mix with reaction time on the microbial mutagenicity in *S. typhimurium* TA 100

Reaction time (min)	MNNG (0.5 μ g/plate)		B(a)P (10 μ g/plate)	
	Crude ext.*	Hexane Fr.**	Crude ext.	Hexane Fr.
0	885±35 ¹¹	889±42	397±32	376±9
10	882±42	888±48	338±21	377±10
25	870±22	859±50	347±35	376±13
35	866±42	853±34	356±18	388±24
45	855±36	847±141	375±40	373±17

Spontaneous revertants 129±10

¹¹Each value represents the mean±SD of three plates.

* ext. : extracts **Fr. : Fraction

밀잎 추출물의 영향을 알아보기 위하여 균체에 MNNG 그리고 균체에 B(a)P과 S9 mix를 첨가하고 37°C에서 30분간 반응시킨 후 여기에 추출물과 분획물을 가하고 37°C의 전탕혼합 배양기내에서 0, 10, 25, 35, 45분간 반응시킨 다음 반응액의 복귀돌연변이수를 측정한 결과는 Table 4와 같다. 복귀변이가 일어난 균체에 대해서는 MNNG, B(a)P 모두 반응시간을 달리하여도 MNNG 847±41~889±42/plates, B(a)P 338±21~388±24/plates로 거의 일정한 수준이었다. 이와 같은 결과로 보아 돌연변이를 일으킨 균체는 메밀잎 추출물 및 그 분획물을 첨가하여도 유전자 수복계 (gene repair system) 가 가동된다든가 혹은 여기에 관여하는 효소활성의 증가 등은 나타나지 않았다.

한편 시료와 변이원물질간의 화학반응에 의하여 변이원물질이 불활성화 되거나 indirect mutagen인 경우 효소의 불활성화에 의하여 항돌연변이원성을 나타내는 경우도 예측할 수 있다. 따라서 반응 시간을 달리하면서 메밀잎 추출물과 MNNG 그리고 메밀잎 추출물에 B(a)P과 S9 mix를 반응시킨 다음 균체를 첨가하여 변이원성 억제효과를 관찰하였다. 그 결과는 Table 5와 같이 MNNG 152±12~273±18/plates, B(a)P 135±13~195±11/plates로 강력한 억제효과를 나타내었다. 돌연변

Table 5. The antimutagenicity on addition of bacteria after mutagen, sample, or S9 mix with reaction time on the microbial mutagenicity in *S. typhimurium* TA 100

Reaction time (min)	MNNG (0.5 μ g/plate)		B(a)P (10 μ g/plate)	
	Crude ext.*	Hexane Fr.**	Crude ext.	Hexane Fr.
0	186±15 ¹¹	241±12	167±13	163±9
20	152±12	273±18	160±12	162±10
25	167±12	246±10	167±13	135±13
35	208±12	216±14	195±11	158±24
45	214±16	247±11	177±14	154±17

Spontaneous revertants 127±10

¹¹Each value represents the mean±SD of three

* ext. : extracts **Fr. : Fraction

이 생성을 억제 경감시키는 항돌연변이인자는 그 작용 양식에 따라 2개의 유형으로 나누는데 (Kada 등¹³) 변이원물질(desmutagen)과 항돌연변이물질(bioantimutagen)이다. 본실험의 결과로 보아 메밀잎 에탄올 추출물에 존재하는 항돌연변이 물질은 비극성이며 desmutagen이라고 추정된다. 현재 분리 정제과정이 진행중이며 앞에서 언급한 실험결과를 종합해 보면 메밀을 약용식물 또는 건강식품으로 개발할 충분한 가치가 있다고 본다.

요약

Spore rec-assay에서 메밀잎 에탄올 추출물은 낮은 농도에서 항돌연변이원성을 나타내었으나 높은 농도에서는 보돌연변이 효과를 나타내었다. 한편 Ames test에서 메밀잎 에탄올 추출물을 자체 변이원성은 없었으며 *S. typhimurium* TA98과 TA100 균주를 사용하였을 때 B(a)P, 2AF, Trp-P-1 및 MNNG에서 돌연변이 유발을 억제시키는 효과가 있었다. 이를 추출물을 다시 혼산, 클로로포름, 에틸아세테이트, 부탄을 그리고 물층으로 분획하여 항돌연변이 효과를 조사한 결과 이 중 혼산 분획이 B(a)P에 대한 *S. typhimurium* TA100에서 항돌

연변이 효과가 가장 컸으며 MNNG에 대해서는 클로로포름분획에서 가장 효과가 컸다. 돌연변이 기작을 규명하기 위해 변이원물질, S9 mix, 균 및 메밀 잎 추출물의 첨가 순서와 반응시간에 따른 변이원 억제활성을 검토하였다. 그 결과 복귀변이가 일어난 균체에 대해서는 MNNG, B(a)P 모두 반응시간을 달리하여도 MNNG 847±41~849±42/plate, B(a)P 338±21~388±24/plate로 거의 일정한 수준이었다. 그러나 변이원물질과 추출물을 시간별로 먼저 반응시킨 후 균을 첨가하여 검토한 결과 MNNG 152±12~273±18/plates, B(a)P 135±13~195±10/plates로 강력한 억제효과를 나타내었다.

감사의 글

이 논문은 1993년도 교육부지원 한국학술진흥재단의 지방대학 육성과제 학술연구조성비에 의하여 수행되었으며 이에 감사를 드립니다.

문 헌

1. 이상영, 함승시 : 우리나라 막국수와 일본 소바면의 식문화적 비교 고찰. 강원대학교 농업과학연구, 4, 99 (1992)
2. Shibata, S., Imai, T., Chikubu, N. and Miyahara, T. : The composition of buckwheat flour of cultivated at various periods. *Rep. Nat. Food Res. Inst.*, 34, 1 (1979)
3. Ohara, T., Ohinata, H. and Matsuhashi, T. : Determination of rutin in buckwheat foods by high performance liquid chromatography. *Nippon Shokuhing Kogyo Gakkaishi*, 36, 114 (1989)
4. 최면, 김종대, 박경숙, 오상봉, 이상영 : 메밀보충 금연가 백서의 혈당 및 혈압에 미치는 영향. 한국영양식량학회지, 20, 300 (1991)
5. Ohara, T., Ohinata, H. and Muramatsu, N. : Enzymatic degradation of rutin in processing of buckwheat noodles. *Nippon Shokuhing Kogyo Gakkaishi*, 36, 121 (1989)
6. Hill, M. J. and Aries, V. C. : Fecal steroid composition and its relationship to cancer of the large bowel. *J. Phytoph.*, 104, 129 (1971)
7. Otha, Y., Watanabe, K., Moriya, M., Shirasu, Y. and

- Kada, T. : Antimutagenic effects of cinnamaldehyde on chemical mutagen in *Escherichia coli*. *Mutation Res.*, 107, 219 (1983)
8. Otha, Y., Watanabe, K., Moriya, M., Shirasu, Y. and Kada, T. : Antimutagenic effects of coumarin and umbelliferone on mutagenesis induced by 4-nitroquinoline 1-oxide or UV irradiation in *E. coli*. *Mutation Res.*, 117, 135 (1983)
9. Nakamura, H. and Yamamoto, T. : The active part of the (6)-gingerol molecule in mutagenesis. *Mutation Res.*, 122, 87 (1983)
10. Kakinuma, K., Okada, V., Ikekawa, N., Kada, T. and Nomoto, M. : Antimutagenic diterpenoids from a crude drug Isodonid Herba (Enmei-so). *Agric. Biol. Chem.*, 48, 1647 (1984)
11. Otha, Y., Watanabe, K., Watanabe, K., Shirasu, Y. and Kada, T. : Inhibitory effects of flavourings on mutagenesis induced by chemical in bacteria. *Food Chem. Toxicol.*, 24, 51 (1986)
12. Sakai, Y., Nagase, H., Ose, Y., Kito, H., Sato, T., Kawai, M. and Mizuva, M. : Inhibitory action of paeony root extract on the mutagenicity of benzo(a)pyrene. *Mutation Res.*, 244, 129 (1990)
13. Maron, D. M. and Ames, B. N. : Revised methods for the *S. typhimurium* mutagenicity test. *Mutation Res.*, 113, 173 (1983)
14. Matsusushima, T., Sawamura, M., Hara, K. and Sugimura, T. : A safe substitute for polychlorinated biphenyls as an inducer test. In "In vitro metabolic activation in mutagenesis testing" de Serres, F. J., Fouts J. R., Bend, J. R. and philpot, R. M. (eds.), Elsevier, N. Holland Amsterdam, p.85 (1987)
15. 한규석, 정의호, 함승시 : 2-AF에 의해 유발된 미생물 변이원성에 미치는 들미나리즙의 돌연변이 억제작용. 한국위생학회지, 8, 225 (1993)
16. Kada, T., Tutikawa, K. and Salaie, Y. : *In vivo* and host-mediated rec-assay procedures for screening chemecal mutagens ; and phloxine, a mutagenic red dye detected. *Mutation Res.*, 16, 165 (1972)
17. Yano, K. : Effect of vegetable juices and milk on alkylation activity of N-methyl-N-nitrosourea. *Agric. Food Chem.*, 27, 456 (1979)
18. Wall, M. E., Wani, M. C., Hughes, T. J. and Taylor, M. : Plant antimutagen. In "Antimutagenesis and anticarcinogenesis mechanism" Kurodo, Y., Shankel, D. M. and Water, M. D.(eds.), Plenum Press, Vol. 2, p.61 (1990)

(1994년 5월 14일 접수)