

## 혈압, 혈당 및 콜레스테롤농도 조절에 영향을 주는 식이 메밀인자의 *in vitro* 검정

최용순\* · 김복란\* · 김려화 · 이병훈 · 심태흠 · 이상영

강원대학교 식품생명공학부

\*강원대학교 가정교육과

### *In vitro* Screening of Dietary Factors on Buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) Influencing the Regulation of Blood Pressure, Glucose and Cholesterol Level

Yong-Soon Choi<sup>†</sup>, Bok-Ran Kim\*, Li Hua Jin, Byung-Hun Lee,  
Tae-Heum Shim and Sang-Young Lee

Division of Food Science and Biotechnology, Kangwon National University, Chunchon 200-701, Korea

\*Dept. of Home Economics Education, Kangwon National University, Chunchon 200-701, Korea

#### Abstract

Generally, buckwheat has been regarded as a crop of secondary importance in many countries. *In vitro* functionalities of buckweats as a food were evaluated in this study. Five of buckwheat cultivars were extracted with methanol, and the extractant were dried and lyophilized, separately. Or water soluble buckwheat components were digested with the commercial enzymes and the obtained protein hydrolysate was again fractionated by acid precipitation. The antioxidant capacity of the methanol extracts determined using  $Fe^{2+}$ -ascorbic acid system was dependent on the cultivars: The extract of Suwon 4 showed 3.3 times stronger activity than ascorbic acid in terms of  $IC_{50}$ . Also, the extracts of buckweats inhibited efficiently the activities of  $\alpha$ -amylase and lens aldose reductase. Buckwheat soluble protein or rutin suppressed the *in vitro* activities of angiotensin-converting enzyme, and the inhibitory degree depended largely on the cultivars. Buckwheat proteins exerted higher hydrophobicity being related to the sterol binding capacity than casein. The results suggested that buckwheat seeds may be desirable and functional food resources in human living in current society.

**Key words:** buckweats, aldose reductase, antioxidant, angiotensin converting enzyme,  $\alpha$ -amylase, hydrophobicity, bile acid binding capacity

#### 서 론

대부분의 식량자원인 곡물이 화본과(*Gramineae* family)에 속하는데 대하여, 메밀(*Fagopyrum esculentum* Moench)은 삼과(*Polygonaceae* family)인 작물로, 메밀은 여러 나라에서 이차적인 식량곡물로 중요성을 갖고 있다. 한국에서 메밀은 구황작물의 하나로 재배되어 왔으며, 막국수, 묵, 부침개 등의 원료로 이용된다. 근래, 국내에서 생산된 메밀은 6,000 ton에 이르며, 수입은 약 3,000 ton이었다(1-3).

메밀은 주식으로 이용되는 곡물에 비해, 우수한 단백질을 갖고 있을 뿐 아니라, flavonoid화합물인 rutin을 함유하는 특징이 있다. Shim 등(4)은 이미 한국에서 생산되

는 메밀품종간 구성성분의 차이를 보고한 바 있다. 메밀 중 lysine 및 tryptophan 함량은 쌀에 비하여 약 2 배이상 높다. 한편, 메밀종실중 rutin 함량은 평균 22 mg/100 g이었으며, rutin을 비롯한 flavonoids의 생리활성효과에 관련한 연구가 보고되고 있다(4-12).

그러나, 식량자원으로서 flavonoids를 함유하는 메밀의 기능성에 관해서는 단편적으로 보고되어 있다. Choi 등(8)은 30% 메밀혼합곡수를 4주간 흰쥐에 투여시 혈청 중성지질농도의 개선효과를 보고하고 있으며, Lee 등(9)은 당뇨를 유발한 흰쥐에 메밀투여시 혈당감소와 혈중지질농도의 감소를 관찰한 바 있다. 한편, Kayashita 등(10)은 흰쥐에서 메밀단백질 투여에 의한 혈장콜레스테롤농도의 감소를 보고하고 있다. He 등(11)은 메밀 및 귀리섭

<sup>†</sup>To whom all correspondence should be addressed

취가 높은 중국 이족의 농촌사람은 상대적으로 섭취량이 낮은 도회지사람보다 낮은 혈중 콜레스테롤농도와 낮은 혈압을 관찰하고, 메밀은 순환기계질환을 예방할 수 있는 식량자원임을 확인한 바 있다. Lee 등(12)은 한국인의 NI-DDM 당뇨병자에게 메밀(쌀:메밀, 1:1)을 투여시 쌀(100%)에 비해 혈중 콜레스테롤농도의 감소와 혈당의 완만한 감소효과를 관찰하고 있으나, 메밀의 여러 가지 식이효과에 대한 작용기전은 충분히 알려져 있지 않다.

본 연구에서는 메밀섭취에 의한 혈당, 지질 및 혈압조절기능에 관련한 가능한 메커니즘을 *in vitro* 시험을 통하여 규명하고, 기능성 높은 메밀품종 선발에 기초적 자료로 하고자 시도하였다.

## 재료 및 방법

### 재료

1998년 생산된 수원 1호, 수원 4호, 수원 10호, 수원 15호 및 수원 17호 메밀을 농촌진흥청으로부터 500 g씩 분양받았다. 메밀은 mortar로 분쇄하여 40 mesh sieve를 통과한 분말을 실험재료로 하였다.

### 시약

메밀단백질의 가수분해물 조제를 위해 Protease-NP (태평양북합효소제 2,000, 태평양화학공업주)를 사용하였으며,  $\alpha$ -amylase 40,000,  $\beta$ -amylase 2,000, protease 25,000 unit/g의 효소활성을 갖는다. 기타의 시약은 Sigma Chemical Co. (Sigma Chemical Co., St Louis, USA) 제품을 사용하였다. Aldose reductase 효소원은 춘천시에 소재하는 도축장으로부터, 도살 즉시 구입한 소의 안구렌즈로부터 조제되었다.

### 시료의 조제

#### 단백질의 추출

메밀가루(수원4호) 150 g을 증류수 1 L를 넣고 4°C에서 24시간 진탕한 후, 5,000×g에서 20분간 원심분리하여 상등액을 분리하여 일부는 동결농축하여 분말을 얻었다(수용성단백질, BSP). 이 상등액에 대하여 회사에서 제공한 방법에 따라 복합효소제(태평양화학)를 첨가 후 50°C에서 2시간 동안 가수분해하여 상등액(SL)을 얻었다. 이 상등액(SL)의 일부를 pH 4.0으로 조정하여 원심분리(5,000×g, 20 min)하여 얻어진 상등액을 동결건조하였다(단백질가수분해물, BHP). 또한 나머지 상등액(SL)은 pH에 따라 단백질을 분획하였다(13). 즉, 상등액(SL)을 pH 8.0으로 조정한 후 원심분리(5,000×g)하여 침전분획물(pH 8 분획)을 얻은 후, 상등액의 pH를 6.0으로 하여 원심분리후 분획물(pH 6 분획)을 얻었다. 이어서 상등액의 pH

를 4.0으로 조정하여 동일한 방법으로 분획물(pH 4 분획)을 얻었다.

#### 메탄올추출물의 조제

메밀가루의 10배에 해당하는 메탄올을 넣은 후 3일간 침적하면서 가끔씩 교반한 후 여과하였다. 동일한 방법으로 2회 반복 추출하여 얻은 추출액을 농축한 후 동결건조하였다.

#### 항산화측정

메탄올추출물의 항산화 검정은 Wong 등(14)의 Fe<sup>2+</sup>-ascorbic acid계를 이용하여 흰쥐간장 microsome을 기질로 하여 fenton 반응에 의해 생성되는 과산화물(TBARS)을 측정하였다(15). 6주령의 수컷 SD 흰쥐의 간장을 취하여, 10배에 해당하는 완충액(140 mM KCl, 20 mM HEPES, pH 7.4)을 넣어 균질화하였다. 이 균질액을 40,000×g에서 10분간 원심분리하여 얻어진 postmitochondrial 분획을 105,000×g에서 60분간 원심분리하여 microsome을 얻었다.

#### Aldose reductase 활성측정

Hayman과 Kinoshita(16)의 방법에 따라 측정하였다. 즉, 100 mM phosphate buffer (pH 6.0), 0.04 mM NADPH, 0.5 mM DL-glyceraldehyde를 포함하는 반응용액에 효소원(단백질로서 4.05 mg) 및 메밀추출물을 넣어 3.0 mL로 한 후 37°C에서 340 nm에서 흡광도의 변화를 측정하여, 1분간 감소하는 NADPH량으로 반응속도를 나타내었다. 별도로 추출물이 없을 때 반응속도를 100% 활성으로, 기질이 없는 상태의 활성도를 0%로 하였다.

#### ACE 활성저해도측정

Angiotensin-converting enzyme의 활성은 합성기질(Hip-His-Leu)을 이용하는 Cushman과 Cheung(17)의 방법에 준하여 측정하였다. 토끼 폐의 아세톤분말(Sigma Chemical Co., St Louis, USA)을 50 mM borate buffer (0.4 M NaCl 포함, pH 8.3)를 넣어 추출한 후 40,000 g에서 40분간 원심분리 후 상등액을 ACE효소원으로 하였다. 효소원의 단백질농도(18)는 13.0 mg/mL이었다. 12.5 mM HHL 100  $\mu$ L, 효소원 150  $\mu$ L 및 가수분해물을 넣어 37°C에서 30분간 반응시킨 후 1 N HCl 250  $\mu$ L를 넣어 반응을 정지시켰다. 1.5 mL의 ethyl acetate를 넣은 후 4,000×g에서 10분간 원심분리하였다. 이어서 ethyl acetate층 1.0 mL를 취해 건조시킨 후, 증류수 1.0 mL를 넣어 228 nm에서 흡광도를 측정하였다. 저해율은 시료액에서의 흡광도를 S, 시료액 대신 완충액을 넣었을 때를 C, 미리 반응정지액을 넣고 반응했을 때의 값을 B로 하여 저해율(%) = (C/S/C-B)×100으로 하였다. 시료간 ACE저해활성의

비교는 저해율이 50%를 나타낼 때의 시료의 농도(IC<sub>50</sub>)로 나타냈다.

#### 표면소수도측정

Kella 등(19)의 방법에 따라 1-anilino-8 naphthalene sulfonate (ANS)법으로 효소분해물에 대하여 검토하였다. 즉 0.001% 시료액(증류수) 1.0 mL에 8 mM ANS용액 5.0 mL를 넣어 형광광도계를 이용하여 형광도를 측정하였다. 최대여기파장은 380 nm, 방출파장은 465 nm이었다. 표면소수도는 표준액으로 serum bovine albumin을 동일한 방법으로 처리하여 상대치로 나타내었다.

#### 담즙산결합능력측정

Fukushima와 Nakano(20) 방법에 따라 측정하였다. 즉, 60 mg의 메밀단백질을 0.5 mM sodium taurocholate를 포함하는 200 mM phosphate buffer (pH 6.0) 2 mL에 용해한 후 18시간 37°C에서 반응시켰다. 12,000×g에서 30분간 원심분리한 후, 상등액을 bile acid 측정 kit(Sigma Diagnostics, Sigma Chem. Co., USA)를 이용하여 시료에 결합되지 않은 유리형의 taurocholic acid를 측정하였다.

#### α-Amylase활성측정

Frels와 Rupnow(21)의 방법을 변형하여 측정하였다. 즉, 여러 기원의 α-amylase(4-40 unit)를 효소원으로 하여 각 25 mg/mL농도로 희석한 메탄올추출물, rutin, quercetin과 완충액(20 mM phosphate buffer containing 50 mM NaCl (pH 6.9)을 넣어 전체 반응액을 200 μL로 하였다. 37°C에서 15분간 예비 가온한 후 기질용액(2% starch 용액) 300 μL를 넣어 5분간 반응시켰다. 1.0 N NaOH 용액을 넣어 반응을 정지시킨 후 20 μL를 취하여 유리된 당을 효소법(Glucose, Asan set, 아산제약, 한국)으로 측정하여 전분소화억제도를 산출하였다. 사용한 α-amylase는 human saliva, porcine pancreas, *Aspergillus oryzae*, *Bacillus licheniformis* 유래의 효소로 Sigma Chemical Co. (St. Louis, USA) 제품이었다.

#### Flavonoids 함량측정

메탄올추출물의 flavonoids함량은 HPLC를 이용하여 정량하였다(22).

### 결과 및 고찰

사람이나 실험동물에서 메밀섭취에 의한 혈당저하, 혈청콜레스테롤농도의 저하효과 또는 혈압저하 등의 생리효과가 보고되어 왔으나, 그 작용기전에 관해서는 잘 알려져 있지 않다. 본 연구에서는 한국에서 생산되는 수종

의 메밀의 메탄올추출물, 또는 단백질을 이용하여 *in vitro* 상에서 메밀성분의 대사작용기전을 검토하였다.

#### 알콜추출물의 flavonoids함량

Table 1은 추출물중 flavonoids의 함량을 나타낸 것이다. Rutin함량은 107~215 mg/100 g수준으로 품종간 약 2배 이상 차이를 보이나, quercetin함량은 2.25~5.35 mg/100 g수준으로 큰 차이가 없었다. 끊는 메탄올에 대한 rutin의 용해도(0.14 g/mL)는 매우 낮은 편으로, 메탄올추출물중 rutin함량은 수원4호>수원10호>수원17호=수원1호=수원15호 순이었다. 이미 품종간 메밀의 rutin함량 차이는 보고된 바 있으며, 추출물의 rutin함량 차이는 품종간 함량차이를 반영한다(4).

#### 메탄올추출물의 항산화효과

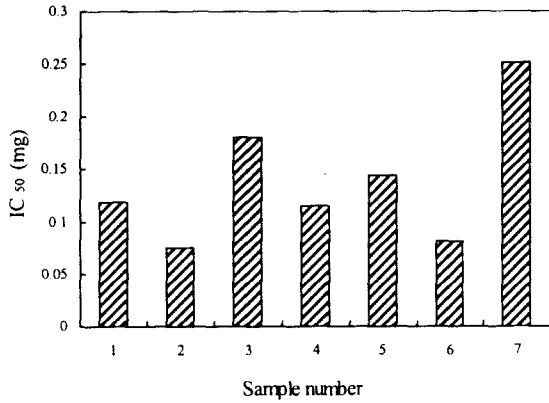
자유radical이 끊임없이 생성되는 세포내에서, 고도로 불포화된 생체막의 안정성유지는 정상적인 세포기능을 위해 매우 중요하다. 근래 과산화물질은 암, 당뇨, 심장질환, 폐질환, 신경계질환을 유발하는 주요한 인자로 지적되어, 체내에서의 산화과정의 억제와 예방을 목적으로 새로운 항산화물질검색이 진행되고 있다(23-26).

Fig. 1은 Fe<sup>2+</sup>-ascorbic acid계에서 메밀의 메탄올추출물의 50% TBA생성 억제농도(50% Inhibition concentration, IC<sub>50</sub>)를 나타낸 것이다. 추출물을 0.125 mg/assay첨가시 수원 4호 추출물은 가장 높은 항산화효과를 보였으나, 추출물을 0.25 mg첨가시 저해효과는 모두 95% 이상을 나타내어, 농도가 높아짐에 따라 품종차이는 약화되었다. 품종별 IC<sub>50</sub>은 수원 1호(0.119 mg/assay), 수원 4호(0.075 mg/assay), 수원 10호(0.181 mg/assay), 수원15호(0.115 mg/assay), 수원 17호(0.144 mg/assay)이었다. 동일한 조건에서 ascorbic acid, rutin, quercetin의 IC<sub>50</sub>은 각각 0.251 mg, 0.081 mg, 2.57 μg/assay으로 나타나, 메밀추출물의 항산화능력은 rutin과 quercetin함량정도에 따라 변화할 것이다.

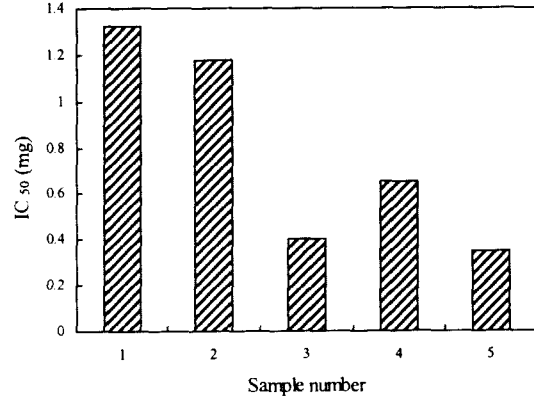
Afanas'ev 등(25,26)은 철을 과량 투여한 흰쥐에서 rutin에 의한 간장의 free radical 생성억제를 관찰하여, rutin의 생체내 산화억제효과를 명확히 밝혔다. 즉, rutin은 반응계에서 Fe<sup>2+</sup>의 산화를 항진시켜 super radical 및 hy-

Table 1. Major flavonoids contents of methanol extracts from buckwheats seeds

	Recovery (%)	Rutin (mg/100 g)	Quercetin (mg/100 g)
Suwon 1	5.4	118.1	2.31
Suwon 4	5.2	215.5	5.35
Suwon 10	2.3	158.2	2.99
Suwon 15	5.3	108.0	3.75
Suwon 17	5.7	125.9	2.25



**Fig. 1.** *In vitro* antioxidant effects of buckwheat extracts in the formation of TBA reactive-substances. Under the same conditions, IC<sub>50</sub> of quercetin was 2.57 µg/assay. 1. Suwon 1, 2. Suwon 4, 3. Suwon 10, 4. Suwon 15, 5. Suwon 17, 6. Rutin, 7. Ascorbic acid



**Fig. 2.** *In vitro* inhibitory effects of buckwheat soluble proteins on ACE activities. Under the same conditions, IC<sub>50</sub> of quercetin was 25.0 µg/assay. 1. BHP, 2. Fr. 1 (pH 8), 3. Fr 2 (pH 6), 4. Fr 3 (pH 4), 5. rutin

droxyl radical 생성에 필요한 Fe<sup>2+</sup>의 농도를 감소시키고, 또한 rutin-iron 복합체를 형성하여 hydroxyl radical의 생성을 억제하여 항산화효과를 발휘하는 것으로 알려져 있다. 그러나, 결과에서 보듯이 메밀추출물의 항산화능력과 rutin량과는 반드시 일치하지 않아, rutin 이외의 성분들에 의해 항산화능력이 증강될 수 있는 가능성을 배제할 수 없다. 최근, Watanabe 등(23)은 메밀껍질로부터 항산화능력이 있는 protocatechuic acid와 3,4-dihydroxybenzoic acid의 존재를 확인한 바 있다.

**메밀단백질의 angiotensin-converting enzyme 활성 저해효과**

Renin-angiotensin(혈압상승과 관련)계와 karikrein kinin(혈압저하와 관련)계는 포유동물에서 혈압을 조절하는 중요한 대사계이다. 조직에서 발견되는 angiotensin converting enzyme (ACE)는 decapeptide angiotensin I을 강력한 혈압상승 peptide인 angiotensin II로 전환하며, 또한 혈압저하 peptide인 bradikinin을 불활성화하여 혈압상승을 유도한다. 따라서 ACE활성의 억제는 혈압상승을 억제하는 효과를 발휘할 것이다(27,28). 이와 관련하여 콩, 고기단백질, 계란, 쌀, 보리유래의 단백질가수분해물의 ACE저해작용이 보고되었으며, 기질과 경쟁적인 저해작용을 나타냄으로서 ACE활성을 억제하는 것으로 생각된다(29-32). 또한 benzyl succinate유도체 등의 여러 가지 ACE저해물질의 약리작용이 밝혀지고 있다(33,34). 따라서 본 연구에서는 메밀의 단백질가수분해물을 중심으로 ACE저해효과를 관찰하였다.

Fig. 2는 *in vitro* angiotensin converting enzyme활성에 대한 메밀단백질 및 flavonoids의 IC<sub>50</sub>을 나타낸 것이다. 각 시료는 메밀(수원 4호) 단백질을 등전점을 이용하여 분획한 것이다. ACE의 저해효과는 pH 6 침전물 > pH

4 > pH 8 > BHP 순으로, pH 6에서 얻은 침전물은 BHP보다 3배 이상 저해효과를 보였다. 동일조건에서 rutin 및 quercetin의 IC<sub>50</sub>은 각각 0.322 mg, 25 µg을 나타내어, quercetin은 강력한 ACE저해물질로 판단되었다. 또한, rutin은 혈관의 평활근세포의 탄력성을 높이며, ACE저해제는 심부전의 치료에 효과적인 것으로 알려져 있어, 메밀은 고혈압 나아가 심부전증상을 개선할 수 있는 식량자원임을 시사한다(33,34). 그러나, 본 연구에서 사용한 메밀단백질과 생체내에서 실제로 생성되는 가수분해물은 그 성분이나 구조에 차이가 있을 것으로 예상되므로, 메밀단백질에 의한 생체내 ACE활성저하 또는 혈압저하효과를 동일하게 생각할 수는 없을 것이다. 한편, quercetin은 rutin보다 강력한 ACE저해작용을 보임으로써, 소화시 rutin은 분해되어, quercetin으로 흡수되기 때문에, 궁극적으로 quercetin의 높은 ACE저해효과를 기대할 수 있을 것이다(35). 본 연구에서 메탄올추출물의 ACE저해효과는 검토하지 않았으나, 추출물에 rutin과 quercetin이 함유되어 있어, 메탄올추출물의 ACE활성억제효과가 기대된다.

**메탄올추출물의 aldose reductase활성저해효과**

당뇨병의 지속화는 이차적으로 동맥경화, 백내장, neuropathy, retinopathy 또는 신장병을 동반할 가능성이 높다. 특히, 세포내 sorbitol과 같은 polyol농도상승은 이차 합병증의 진전에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다. Polyol합성계의 율속효소는 aldose reductase로서, 렌즈, 망막, 신경, 신장조직 등에 많이 존재한다. Insulin 비 의존성의 glucose 흡수세포나 조직은 고혈당이 지속됨에 따라 세포내 glucose농도가 상승하게 되어, polyol합성경로가 활성화되고 sorbitol 또는 fructose가 증가함으로써 세포내 삼투압을 상승시킨다. Aldose reductase저해제는

특히 당뇨병에 의한 신경성장장애에 효과적인 것으로 알려져 있다(36-39). Table 2는 여러 메밀의 메탄올추출물의 농도에 따른 aldose reductase의 활성저해도를 보여준다. 낮은 추출물농도에서 저해효과는 품종간 차이가 없었으나, 농도가 증가할수록 그 차이는 뚜렷하였다. 즉, 0.5 mg/assay의 추출물 첨가시 저해활성은 수원 10호를 제외하고는 비슷한 90%내외의 저해율을 보였으며, IC<sub>50</sub>은 수원 1호 0.175 mg, 수원 4호 0.195 mg, 수원 10호 0.220 mg, 수원 15호 0.170 mg, 수원 17호 0.185 mg/assay이었다. Wer-muth 등(38)은 rutin 및 quercetin의 강력한 aldose reductase저해작용을 보고한 바 있으며, 적어도 추출물의 aldose reductase저해효과의 일부는 추출물의 flavonoid에 의한 결과로 추측된다. 한편, aldose reductase는 지질산화에 의한 혈관조직의 손상을 방어하는 역할이 지적되어 왔다(40). 그러므로, flavonoid에 의한 aldose reductase활성 저해는 결국, flavonoid화합물의 항산화작용을 통한 혈관 보호기능을 상쇄시킬지도 모른다(40).

#### 메탄올추출물의 $\alpha$ -amylase 활성 저해효과

Fig. 3은 돼지췌장유래의  $\alpha$ -amylase의 활성에 대한 메탄올추출물, rutin 및 quercetin의 저해효과를 나타낸 것으로, 수원 10호와 수원 4호추출물의 저해효과가 높았다. 즉, 추출물을 2.0 mg첨가시 수원 4호 50%, 수원 10호 58%의 저해효과를 보인 반면, 수원 17호는 20%를 나타

Table 2. *In vitro* inhibitory effects of buckwheats extracts on the activities of aldose reductase

Sample	IC <sub>50</sub> (mg/assay)
Suwon 1	0.175
Suwon 4	0.195
Suwon 10	0.220
Suwon 15	0.170
Suwon 17	0.185

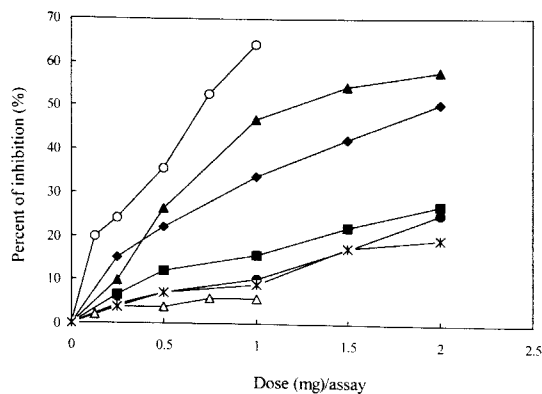


Fig. 3. Inhibitory effects of methanol extracts of buckwheats on activities of porcine pancreatic  $\alpha$ -amylase.

■: Suwon 1, ◆: Suwon 4, ▲: Suwon 10, ●: Suwon 15, \*: Suwon 17, △: Rutin, ○: Quercetin.

내었다. 그러나, 추출물의 *Aspergillus* 유래의 amylase에 대한 저해양상은 Fig. 4에 나타난 바와 같이, 수원 17호를 제외한 추출물의 경우 낮은 농도에서는 quercetin보다 높은 저해효과를 발휘하였으나, 그 농도가 0.5 mg이상에서는 오히려 quercetin의 저해효과가 큰 것으로 나타났다. 그러나 rutin의 amylase저해활성은 낮아, 추출물의 amylase저해효과는 rutin이외의 물질에 의해 발휘되고 있음을 시사한다. 한편, Ikeda 등(41)은 메밀의 생리식염수 추출물의 amylase활성 저해작용을 밝히고, pepsin으로 분해시 저해활성이 감소함으로써 활성저해인자는 단백질성물질로 추정하였다. 메밀 발아시 amylase활성은 급격히 증가하게 되며, amylase 저해물질은 발아 이전 amylase활성을 억제할 것이다(42). 한편, 사람의 침이나 *Bacillus* 유래의 amylase활성은 quercetin에 의한 저해정도가 컸다(data not shown). 결과적으로 메밀 또는 그 성분은 당질분해억제효과를 통해 혈당상승을 제어하며, aldose reductase 활성을 억제하여 이차성 당뇨병의 진전을 완화 또는 예방할 수 있을 것이다.

#### 메밀단백질의 소수도

Pepsin 또는 췌장소화효소처리를 한 식물성단백질은 동일처리의 동물성단백질에 비하여 소수도가 높으며, 소수도와 담즙산의 *in vitro* 결합능력은 정비례한다는 것이 알려져 왔다(43). Table 3은 메밀단백질의 소수도를 나타내고 있다. 소화효소 처리에 의해 메밀단백질의 소수도는 BSA보다 약 80%정도 높았으며, casein보다 6배 이상이었다. 연속적인 단백질의 분리는 소수도를 감소시켜 BSP > BHP > pH 4  $\cong$  pH 6  $\cong$  pH 8 분획물 순이었다. 같은 조건에서 casein은 albumin의 30% 정도의 소수도를 보였다.

Kayashita 등(10)은 콜레스테롤을 투여한 흰쥐에서 메밀단백질의 혈청콜레스테롤 저하작용은 증가된 중성스테롤배설의 결과이며, 이는 메밀단백질의 높은 소수성에

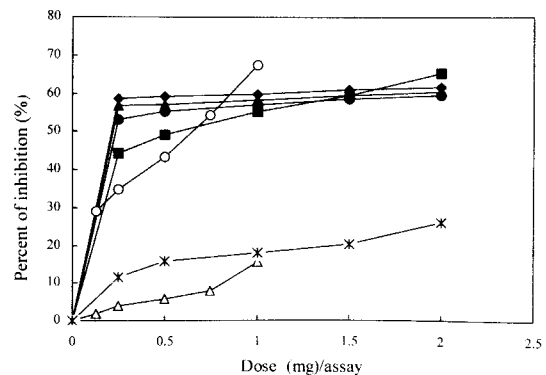


Fig. 4. Inhibitory effects of buckwheats extracts on activities of  $\alpha$ -amylase from *Aspergillus*.

■: Suwon 1, ◆: Suwon 4, ▲: Suwon 10, ●: Suwon 15, \*: Suwon 17, △: Rutin, ○: Quercetin.

**Table 3. Surface hydrophobicity of buckwheat soluble proteins (Suwon 4)**

Sample	Relative hydrophobicity (%)
BSA	100.0
BSP	180.4
BHP	168.0
Fraction 1	146.0
Fraction 2	146.0
Fraction 3	152.3
Casein	29.2

BSA: Bovine serum albumin  
 BSP: Buckwheat soluble protein  
 BHP: Buckwheat hydrolysate protein

기인할 것으로 추측하였다. 반면, Han 등(13)은 소수도가 높은 대두단백질 분획물을 투여한 흰쥐에서 혈청콜레스테롤 저하기전으로 산성스테롤배설의 증가를 확인하고 있다. 따라서 대두와 메밀단백질의 콜레스테롤농도 저하의 이유로서 스테롤배설 증가를 예상할 수 있으나, 배설되는 주요한 스테롤의 종류는 단백질에 따라 변화할 수 있다는 가능성을 제시한다.

**메밀단백질의 스테롤결합능력**

따라서, *in vitro*에서 메밀단백질(BSP)과 담즙산의 결합능력을 측정하였다. 0.1 μmol의 taurocholic acid 농도에서 메밀단백질은 0.0597 μmol을, 같은 조건으로 추출한 대두단백질은 0.0491 μmol의 taurocholic acid와 결합을 하여 메밀이 대두보다 결합능력이 우수함을 확인하였다. 따라서, 메밀단백질의 콜레스테롤저하에 관련한 하나의 메카니즘으로 담즙산결합능력을 예상할 수 있다. 식이인자에 의한 스테롤흡수의 방해는 체내 스테롤 pool을 감소시켜, 궁극적으로 혈청콜레스테롤농도 저하를 유도한다(44). 최근, SHR에서 발아메밀의 혈압저하효과가 보고되었다(45).

결론적으로 본 연구에서 주로 수용성단백질 또는 메탄올추출물을 중심으로 *in vitro*에서 생리작용을 검토하였으나, 이러한 추출성분이 메밀의 기능성을 결정하는 주요인자라고는 단정지을 수 없다. 그러나, 항산화작용을 발휘하는 메밀추출물은 aldose reductase 및 α-amylase활성을 억제하여 혈당상승에 관련한 당뇨병의 예방이나 치료에 효과적일 수 있음을 보여준다. 나아가, 메밀단백질은 ACE활성저해와 높은 소수도를 보여 혈압 및 체내 콜레스테롤 pool을 감소시켜, flavonoid 화합물과 더불어 메밀의 기능성을 발휘하는 주요인자임을 시사한다.

**요 약**

메밀은 이차적인 식량자원으로 중요성을 갖는 곡물이 다. 본 연구에서는 메밀의 영양적 기능성과 관련된 기전을 *in vitro*조건에서 평가하였다. 메밀은 메탄올 또는 물

로 추출하였다. 물추출물은 이어서 효소로 처리한 후 얻어진 단백질가수분해물을 pH에 따라 분리하여, 각 추출물에 대하여 생리활성을 측정하였다. Fe<sup>2+</sup>-ascorbic acid계에서 측정된 메탄올추출물의 항산화능력은 메밀품종에 따라 차이를 보였으며, 수원 4호 추출물의 경우 ascorbic acid의 3.3배(IC<sub>50</sub>)의 높은 항산화효과를 보였다. 또한, 메탄올추출물은 α-amylase와 aldose reductase활성을 저해하였다. 메밀단백질 또는 rutin은 angiotensin-converting enzyme활성을 저해하였으나, 가수분해물에 따라 저해정도는 차이를 보였다. 메밀단백질은 casein보다 높은 소수도를 나타냈으며, *in vitro*에서 산성스테롤과 결합능력을 보였다. 종합적으로 이러한 작용을 나타내는 메밀 성분은 메밀의 혈당 혹은 이와 관련한 질병의 제어, 고혈압의 예방 나아가 혈청콜레스테롤저하를 유도하는 대사계의 주요한 조절인자로 보여진다.

**감사의 글**

본 연구는 1998년도 교육부 과학기술기초중점연구지원(농업과학연구, "산간지 메밀의 생산성증대 및 기능성 특산식품개발")으로 수행된 연구의 일부로서 지원하여 주신 교육부(학술진흥재단)에 감사드립니다.

**문 헌**

- Campbell, C.G. : *Buckwheat*. IPGRI Press, Rome, p.6-14 (1997)
- 신애숙 : 일상생활속에서의 메밀조리. *메밀*, 4, 32-37 (1998)
- 강윤규 : 메밀의 수출입동향과 경제성분석. *메밀*, 3, 47-55 (1998)
- Shim, T.H., Lee, H.H., Lee, S.Y. and Choi, Y.S. : Composition of buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) cultivars from Korea. *Korean J. Food Sci. Technol.*, 30, 1259-1266 (1998)
- Choi, B.H., Kim, S.L. and Kim, S.K. : Rutin and functional ingredients of buckwheat and their variations. *Korean J. Crop Sci.*, 41(Supple), 63-93 (1996)
- Acker, S., Berg, D.J., Tromp, M., Griffioen, D.H., Benekom, W.P., Vijgh, W. and Bast, A. : Structural aspects of antioxidant activity of flavonoids. *Free Radical Biol. Med.*, 20, 331-342 (1996)
- Yoshino, M. and Murakami, K. : Interaction of iron with polyphenolic compounds: application to antioxidant characterization. *Anal. Biochem.*, 257, 40-44 (1998)
- Choi, Y.S., Ahn, A., Shim, H.H., Choe, M., Oh, S.Y. and Lee, S.Y. : Effects of instant buckwheat noodle on digestibility and lipids profiles of liver and serum in rats. *J. Korean Soc. Food Nutr.*, 21, 478-483 (1992)
- Lee, J.S., Son, H.S., Maeng, Y.S., Chang, Y.K. and Ju, J.S. : Effects of buckwheat on organ weight, glucose and lipid metabolism in streptozotocin-induced diabetic rats. *Kor. J. Nutr.*, 27, 819-827 (1994)
- Kayashita, J., Shimaoka, I., Nakajoh, M., Yamazaki, M. and Kato, N. : Consumption of buckwheat protein lowers plasma cholesterol and raises fecal neutral sterols in

- cholesterol-fed rats because of its low digestibility. *J. Nutr.*, **127**, 1395-1400 (1997)
11. He, J., Klag, M.J., Whelton, P.K., Mo, J.P., Chen, J.Y., Qian, M.C., Mo, P.S. and He, G.Q. : Oats and buckwheat intakes and cardiovascular disease risk factors in an ethnic minority of China. *Am. J. Clin. Nutr.*, **61**, 366-372 (1995)
  12. Lee, J.S., Lee, M.H., Chang, Y.K., Ju, J.S. and Son, H.S. : Effects of buckwheat diet on serum glucose and lipid metabolism in NIDDM. *Kor. J. Nutr.*, **28**, 809-816 (1995)
  13. Han, E.S., Lee, H.J. and Shon, D.W. : Effects of amino acid composition and average hydrophobicity of soybean peptides on the concentration of serum cholesterol in rats. *Kor. J. Food Sci. Technol.*, **25**, 552-557 (1993)
  14. Wong, S.F., Haliwell, B., Richmond, R. and Skowronek, W.R. : The role of superoxide and hydroxy radicals in the degradation of the hyaluronic acid induced by metal ions and by the ascorbic acid. *J. Inorganic Biochem.*, **14**, 127-134 (1981)
  15. Deng, W., Fang, X. and Wu, J. : Flavonoids function as antioxidants: By scavenging reactive oxygen species or by chelating iron? *Radiat. Phys. Chem.*, **50**, 271-276 (1997)
  16. Hayman, S. and Kinoshita, J.H. : Isolation and properties of lens aldose reductase. *J. Biol. Chem.*, **240**, 877-882 (1965)
  17. Cushman, D.W. and Cheung, H.S. : Spectrometric assay and properties of the angiotensin-converting enzyme of rabbit lung. *Biochemical Pharmacol.*, **20**, 1637-1648 (1971)
  18. Gornall, A.G., Bardawill, C.J. and David, M.M. : Determination of serum proteins by means of the Biuret reaction. *J. Biol. Chem.*, **177**, 751-766 (1949)
  19. Kella, N.K., Robert, D.D., Shafer, J.A. and Goldstein, I.J. : Fluorescence energy transfer studies on lima bean lectin. Distance between the subunit hydrophobic binding site and the thiol group essential for carbohydrate binding. *J. Biol. Chem.*, **259**, 4777-4781 (1984)
  20. Fukushima, M. and Nakano, M. : Effects of a mixture of organism, *Lactobacillus acidophilus* or *Streptococcus faecalis*, on cholesterol metabolism in rats fed on a fat and cholesterol-enriched diet. *Brit. J. Nutr.*, **76**, 857-867 (1996)
  21. Frels, J.M. and Rupnow, J.H. : Purification and partial characterization of two  $\alpha$ -amylase inhibitors from black bean. *J. Food Biochem.*, **8**, 281-301 (1984)
  22. Choi, Y.S., Sur, J.H., Kim, C.H., Kim, Y.M., Ham, S.S. and Lee, S.Y. : Effects of dietary buckwheat vegetables on lipid metabolism in rats. *J. Kor. Soc. Food Nutr.*, **23**, 212-218 (1994)
  23. Watanabe, M., Ohshita, Y. and Tsushida, T. : Antioxidant compounds from buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) Hulls. *J. Agric. Food Chem.*, **45**, 1039-1044 (1997).
  24. Kehrer, J.P. and Smith, C.V. : Free radicals in biology: Sources, reactivities, and roles in the etiology of human diseases. In *Natural antioxidants in human health and disease*. Frei, B. (ed.), Academic Press, San Diego, p.25-62 (1994)
  25. Afanas'ev, I.V., Ostrachovitch, E.A., Abramova, N.E. and Korkina, L.G. : Different antioxidant activities of bioflavonoid rutin in normal and iron overloading rats. *Biochem. Pharmacol.*, **25**, 627-635 (1995)
  26. Afanas'ev, I.B., Ostrachovitch, E.A. and Korkina, L.G. : Effect of rutin and its copper complex on superoxide formation and lipid peroxidation in rat liver microsomes. *FEBS*, **425**, 256-258 (1998)
  27. Cushman, D.W. and Odetti, M.A. : Design of angiotensin converting enzyme inhibitors. *Nature Med.*, **5**, 1110-1112 (1999)
  28. The Heart Outcomes Prevention Evaluation Study Investigators. Effects of an angiotensin converting enzyme inhibitor, Ramipril, on death from cardiovascular causes, myocardial infarction, and stroke in high-risk patients. *New Eng. J. Med.*, **342**, 145-153 (2000)
  29. Sugiyama, K., Takada, K., Egawa, M., Yamamoto, I., Onzuka, H. and Oba, K. : Hypotensive effect of fish protein hydrolysate. *Nippon Nogaikagaku Kaishi*, **65**, 35-43 (1991)
  30. Teranaka, T., Ezawa, M., Matsuyama, J., Ebine, H. and Kiyosawa, I. : Inhibitory effects of extracts from rice-koji miso, barley-koji miso and soybean-koji miso on the activity of angiotensin I converting enzyme. *Nippon Nogaikagaku Kaishi*, **69**, 1163-1169 (1995)
  31. Yoshii, H., Tachi, N., Sakamura, O., Takeyama, H., Ohba, R. and Itani, T. : Antihypertensive effect of oligo-peptide derived from hen's eggs. *Nippon Shokuin Kagaku Kogaku Kaishi*, **46**, 45-50 (1999)
  32. Hong, S.P., Kim, M.H., Oh, S.W., Han, C.K. and Kim, Y.H. : ACE inhibitory and antihypertensive effect of chitosan oligosaccharides in SHR. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **30**, 1476-1479 (1998)
  33. Croog, S.H., Levine, S., Testa, M.A., Brown, B., Bulpitt, C.J., Jenkins, C.D. and Klerman, G.L. : The effects of antihypertensive therapy on the quality of life. *N. Eng. J. Med.*, **314**, 1657-1664 (1986)
  34. Sugaya, T., Minobe, S., Taniguchi, T., Hashimoto, Y., Kubo, M. and Watanabe, T. : Studies on angiotensin I converting enzyme (ACE) inhibitory effect of imidapril (I), Inhibition of various tissue ACEs *in vitro*. *Folia Pharmacol Japan*, **100**, 39-45 (1992)
  35. Holmann, P.C.H., De Vries, J.H.M., Leeuwen, S.D., Menglers, M.J.B. and Katan, M.B. : Absorption of dietary quercetin glycosides and quercetin in healthy ileostomy volunteers. *Am. J. Clin. Nutr.*, **62**, 1276-1282 (1995)
  36. Kador, P.F., Kinoshita, J.H. and Sharpless, N.E. : Aldose reductase inhibitors. A potential new class of agents for the pharmacological control of certain diabetic complications. *J. Med. Chem.*, **28**, 841-849 (1985)
  37. Tomlinson, D.R. : Aldose reductase inhibitors and the complications of diabetic mellitus. *Diabetic Med.*, **10**, 214-230 (1993)
  38. Wermuth, B., Burgisser, H., Bohren, K. and Wartburg, J.P. : Purification and characterization of human brain aldose reductase. *Eur. J. Biochem.*, **127**, 279-284 (1982)
  39. Kim, H.Y. and Oh, J.H. : Screening of Korean forest plants for rat lens aldose reductase inhibition. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **63**, 184-188 (1999)
  40. Rittner, H.L., Hafner, V., Klimiuk, P.A., Szveda, L.I., Goronzy, J.J. and Weyand, C.M. : Aldose reductase functions as a detoxification system for lipid peroxidation products in vasculitis. *J. Clin. Invest.*, **103**, 1007-1013 (1999)
  41. Ikeda, K., Shida, K. and Kishida, M. :  $\alpha$ -Amylase inhibitor in buckwheat seed. *Fagopyrum*, **14**, 3-6 (1994)
  42. Lee, M.H., Son, H.S., Ju, J.S., Oh, S.K. and Kwon, T.B. : Changes in  $\alpha$ -amylase activity and free sugar contents

- of buckwheat during germination. *Korean J. Food & Nutr.*, **8**, 32-36 (1995)
43. Iwami, K., Sakakibara, K. and Ibuki, F.: Involvement of post-digestion 'hydrophobic' peptides in plasma cholesterol-lowering effect of dietary plant proteins. *Agric. Biol. Chem.*, **50**, 1217-1222 (1986)
44. Lee, S.Y. and Choi, Y.S.: *Cholesterol* (in Korean). Shin-Kwang Pub. Ltd., Seoul, p.1-129 (1989)
45. Lee, J.S., Park, S.J., Sung, K.S., Han, C.K., Lee, M.H., Jung, C.W. and Kwon, T.B.: Effects of germinated buckwheat on blood pressure, plasma glucose and lipid levels of spontaneously hypertensive rats. *Kor. J. Food Sci. Technol.*, **32**, 206-211 (2000)

(2000년 1월 18일 접수)