

메밀 가수분해물의 항고혈압, 항균 및 항곰팡이 활성

도정룡* · 허인숙 · 백수연 · 윤혜숙 · 조진호 · 김영명 · 김기주¹ · 김상교²

한국식품연구원, ¹전라북도생물산업진흥원, ²(주)비락

Antihypertensive, Antimicrobial and Antifungal Activities of Buckwheat Hydrolysate

Jeong-Ryong Do*, In-Sook Heo, Su-Yeon Back, Hye-Sook Yoon, Jin-Ho Jo,
 Young-Myoung Kim, Ki-Ju Kim¹, and Sang-Kyo Kim²

Korea Food Research Institute

¹Jeonbuk Bioindustry Development Institute

²Vilac ComPany LTD.

Abstract Antibacterial, antifungal, and Angiotensin-I-converting enzyme (ACE) inhibitory activities of buckwheat (*Fagopyrum esculentum* and *F. tataricum*) hydrolyzed by Viscozyme L and Alcalase 2.4 L were investigated. The Alcalase 2.4L-hydrolyzed buckwheat showed highest yield of 22.10-24.65%. *F. esculentum* hydrolysate treated with Viscozyme L from *Salmonella typhimurium* (clear zone: 3-4.7 mm) and *Listeria monocytogenes* (clear zone: 4-7.2 mm) showed highest antimicrobial activity among enzymes used. *F. esculentum* hydrolysate treated with *Trichoderma reesei* showed strongest antifungal activity among enzymes used (clear zone: 3.7-12 mm). Alcalase 2.4L-hydrolyzed *F. esculentum* and *F. tataricum* showed strong ACE inhibitory activities (61.19% and 94.48%, respectively).

Key words: buckwheat, antibacterial, antifungal, angiotensin-I-converting enzyme (ACE) inhibitory activity

서 론

메밀(*Fagopyrum esculentum*, *F. tataricum*)에 관한 연구는 메밀을 많이 섭취하는 일본과 대량생산하는 캐나다에서 주로 이루어지고 있으며 지방산조성, 메밀단백질, 메밀의 갈색화와 색도의 평가와 메밀단백질의 품질, rutin함량의 분석, 메밀전분의 이화학적 성질 등 식품 화학적 측면의 연구들과 기축사료로서의 이용성, 혈당과 혈압에 미치는 영향 등과 관련된 영양학적 측면에서의 연구들이 행해져 왔다(1-8). 메밀에 의한 체내 지질대사의 개선 및 메밀이 건강식품으로써 유효한 효과를 나타내는 성분들을 함유하고 있다는 보고와 함께 최근에는 한정된 메밀의 이용 범위를 더욱 확충시키기 위해 메밀을 발아시켜 메밀에 함유되어 있는 유용 성분인 rutin, 수용성 식이섬유, 고도불포화 지방산 함량을 증가시켜 곡류로써 뿐만 아니라 메밀채소로써 이용하고자 하는 연구들도 행해지고 있다. 그 중 rutin은 모세혈관의 투과성을 향상시키며 항돌연변이 효과와 혈압강하, 혈당저하, 콜레스테롤 저하, 당뇨병 예방또는 치료효과 등이 있음이 보고되어 있다(9-12).

생리활성 성분들 중 flavonoids와 catechin 등은 polyphenol류에 속하는 물질로서 항균작용은 물론 항고혈압 등의 생리활성을 나타내는데, 이는 한 분자 내에 2개 이상의 phenolic hydroxyl기를

가진 방향족 화합물로서 식품계에 다양으로 존재하며 높은 극성과 열, pH에 대해 민감하게 작용한다고 하였다(13-16). Suzuki(17) 등은 생약제 117종의 ACE 저해활성을 연구한 결과 대두식품과 메밀 등이 ACE 저해활성에 좋은 것으로 확인하였고 이들 ACE 저해제들은 대부분이 열에 안정하며 체내에 흡수가 용이한 비교적 저분자 물질로 그 저해능력은 혈압 강하제와 비교하였을 때 비교적 낮은 활성을 나타내지만 대량으로 식생활에서 쉽게 접하는 식품 중에 존재한다는 점에서 그 유용성이 기대된다고 하였다. 따라서 본 연구에서는 보다 안전하고 근원적으로 고혈압을 예방할 수 있는 기능성 식품의 개발 가능성과 항균 및 항곰팡이 활성효과를 나타내는 물질을 탐색하고자 메밀을 소재로 항고혈압, 항균, 항곰팡이 활성을 검색하였다.

재료 및 방법

실험재료

메밀은 총 4종으로 (주)한국아쿠르트 중앙연구소(경기도)에서 제공한 쓴메밀(*Fagopyrum tataricum*)과 동아제분(서울)에서 구입한 단메밀(*Fagopyrum esculentum*)을 사용하였다. 가수분해에 사용한 효소는 단백질 분해효소 Alcalase 2.4L와 전분분해효소 Viscozyme L을 사용하였으며 그 특징은 Table 1과 같다.

메밀 가수분해

메밀은 분쇄기로 분쇄하여 50 mesh sieve로 통과한 분말을 사용하였다. 각각의 시료 20 g에 중류수 100 mL을 취한 후 Viscozyme L, Alcalase 2.4 L 효소 2%(v/w)를 첨가하였으며 대조구는 효소 대신 중류수 2%를 첨가하여 50°C에서 4시간 동안 가수분

*Corresponding author: Jeong-Ryong Do, Korea Food Research Institute, San 46-1 Baekhyun-dong, Bundang-gu, Songnam-si, Kyonggi-do 463-746, Korea

Tel: 82-31-780-9240

Fax: 82-31-709-9876

E-mail: jrdo@kfri.re.kr

Received November 1, 2005; accepted November 30, 2005

Table 1. Optimum condition of enzymes used for buckwheat hydrolysis

Enzyme	Optimum pH	Optimum temp. (°C)	Manufacturer
Alcalase 2.4 L	6.5-8.5	55-70	Novo
Viscozyme L	3.3-5.5	25-55	Novo

해 하였다. 가수 분해물은 원심분리기를 이용하여 5,000 rpm에서 20분 동안 원심 분리하였으며 상등액을 동결 건조하였다. 동결 건조하여 -4°C 냉동고에 보관하면서 실험에 사용하였다.

일반성분

메밀의 일반성분 분석은 메밀을 분쇄하여 실험에 사용하였다. 일반성분 분석은 AOAC방법(18)에 따라 수분은 105°C 상압가열 건조법으로, 조단백질 함량은 semi-micro Kjeldahl법으로, 회분은 550°C 건식회화법으로 실시하였으며, 지방은 Soxthlet으로 추출하여 측정하였다. 탄수화물은 100-(수분 + 조단백질 + 조지방 + 회분)으로 계산하였다.

사용균주 및 배지

항균활성 실험에 사용한 세균은 *Escherichia coli* KCTC 1682, *Bacillus subtilis* ATCC 14593, *Staphylococcus aureus* ATCC 12692, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15522, *Salmonella typhimurium* ATCC 14028, *Listeria monocytogenes* ATCC 14917을 사용하였고, 항곰팡이활성 실험에 사용한 균주는 *Aspergillus niger* ATCC 62751, *Aspergillus oryzae* ATCC 16507, *Trichoderma reesei* ATCC 26921, *Penicillium rugulosum* IFO 4683, *Mucor miehei* KFRI 01011로서 KFRI(한국식품연구원, Seongnam)에서 분양받아 사용하였다. 각각의 균주들은 BHI, tryptic soy, malt extract 및 potato dextrose(Difco, Maryland, USA)의 각 배지에 배양하여 실험에 사용하였다.

항균 및 항곰팡이 활성

항균 활성 검색에 사용한 세균은 slant 배지에 배양한 균주 1 백금이를 각각 취하여 각각의 10 mL의 broth 배지에 접종하고, 37°C에서 18-24시간 증균배양하여 사용하였다. 항균 활성 시험 평판배지의 조제는 각각의 생육배지를 멸균하여 기층용 배지(agar 1.5%)를 petridish에 분주하여 응고시키고, 각각의 균주를 1% 접종하여 잘 혼합한 중층용 배지(agar 0.75%)를 이에 분주하여 제조하였다. 곰팡이는 30°C에서 72-84시간 증균 배양한 후, 2%의 균주를 중층용 배지(agar 0.75%)에 접종하고 기층용 배지(agar 1.5%)에 부어 항 곰팡이 활성 시험 평판배지를 제조하였다. 위와 같이 제조된 각각의 평판배지에 올려 밀착 시킨 paper disc(Φ 8 mm, Advantec, Toyo Roshi Kaisha, Ltd., Tokyo, Japan)에 메밀 가수분해물 30 μL을 주입한 후, 세균은 37°C incubator에 36-48시간 동안 배양하고, 곰팡이는 30°C incubator에 72-84시간 배양하여 clear zone 직경(mm)으로 항균, 항곰팡이 활성을 비교하였다.

ACE 저해작용

ACE 저해활성 측정은 Cushman 등(19)의 방법에 따라 측정하였다. 즉, ACE 저해활성은 0.3 M NaCl을 함유한 0.1 M sodium borate buffer(pH 8.3)에 rabbit lung acetone powder(Sigma, USA)를 1 g/10 mL(w/v)의 농도로 4°C에서 24시간 동안 추출한 후, 4°C, 4,000 rpm에서 40분간 원심 분리하여 ACE 조효소액을 얻었다.

Table 2. Proximate composition of buckwheat (Unit: %)

Sample	Ash	Lipid	Protein	Moisture	Carbohydrate
<i>Fagopyrum esculentum</i>	1.70	2.18	9.88	6.89	79.35
<i>Fagopyrum tataricum</i>	1.66	2.26	9.53	7.24	79.31

ACE저해 활성은 1%(w/v)농도의 시료 50 μL에 0.1 M sodium borate buffer(pH 8.3) 100 μL와 ACE 조효소액 50 μL를 가한 다음 37°C에서 5분간 예비반응 시킨 후, 0.3 M NaCl이 함유된 0.1 M sodium borate buffer(pH 8.3) 5 mL에 HHL(hippuryl-histidyl-leucine) 25 mg을 첨가하여 만든 기질 50 μL를 첨가하여 37°C에서 30분간 반응시켰다. 이에 1 N HCl 250 μL를 가하여 반응을 정지시킨 후, ethyl acetate 1.5 mL을 가해 15 sec 교반한 후 원심 분리(3,000 rpm/5 min, 4°C)하여 상등액 1 mL을 얻었다. 이 상등액을 120°C에서 30분간 완전히 건조시켜 종류수 3 mL을 넣은 후에 228 nm에서 흡광도를 측정하여 ACE 저해활성을 측정하였다. 대조구로서는 추출물 대신 추출용액 50 μL를 가해 실험하였으며, ACE저해활성효과는 다음 계산식을 이용하여 계산하였다.

$$\text{ACE inhibition (\%)} = 1 - \left\{ \frac{S. - S.B.}{C. - C.B.} \right\} \times 100$$

S.: sample absorbance

S.B.: absorbance of sample blank

C.: control absorbance

C.B.: absorbance of control blank

결과 및 고찰

일반성분

메밀을 AOAC방법에 따라 일반성분을 분석한 결과, 단메밀은 수분 6.89%, 회분 1.70%, 지질 2.18%, 단백질 9.88%와 탄수화물 79.35%로 나타났으며, 쓴메밀은 수분 7.24%, 회분 1.66%, 지질 2.26%, 단백질 9.53%와 탄수화물 79.31%로 나타났다(Table 2). 위와 같은 일반성분 결과는 단백질, 지방, 탄수화물은 각각 11.6%, 2.9%, 64.5%의 함량으로 보고한 Wang 등(20)의 연구보고서와 유사한 결과를 나타내었으며 메밀의 화학적 조성은 품종, 종자와 신선도, 생육지역 등에 따라 다르다고 보고한 바 있다.

가수분해 수율

메밀을 분쇄하여 Viscozyme L, Alcalase 2.4 L 효소 2%(v/v)를 첨가한 후 50°C에서 4시간 동안 가수분해한 결과, Alcalase 2.4 L 효소를 첨가한 가수분해물의 경우 단메밀은 18.70%, 쓴메밀은 19.45%의 수율을 나타내었으며, Viscozyme L 효소를 첨가한 가수분해물의 경우 단메밀은 24.65%, 쓴메밀은 22.10%의 수율을 나타내었다. 효소를 첨가하지 않은 가수분해물의 경우 단메밀은 7.90%, 쓴메밀은 3.17%의 수율로 효소를 첨가한 가수분해물에 비해 현저히 낮은 추출수율은 나타내었다(Table 3). 본 실험의 결과에서 가수분해 수율은 전분 분해효소인 Viscozyme L을 첨가하였을 때 가장 높은 수율을 나타내었다. 위와 같은 가수분해 수율 결과는 100°C에서 15 min 호화시킨 후 0.05 M phosphate buffer(pH 6.9)에 α-amylase를 첨가하여 37°C에서 2 hr 가수분해한 메밀의 가수분해율(48.38 ± 0.76%)을 보고한 Lee 등(21)의 연구결과보다 낮은 수율을 보였다.

Table 3. Hydrolysis rate of buckwheat

Sample	Hydrolysis rate (%)	
	<i>Fagopyrum esculentum</i>	<i>Fagopyrum tataricum</i>
No enzyme	7.92 ± 0.08	3.17 ± 0.03
Viscozyme L	24.65 ± 0.25	22.10 ± 0.22
Alcalase 2.4L FG	18.70 ± 0.19	19.45 ± 0.19

항균활성

E. coli, *B. subtilis*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *S. typhimurium*, *L. monocytogenes* 균주에 대해 단메밀과 쓴메밀을 Viscozyme L, Alcalase 2.4 L 효소 2%(v/v)로 기수분해하여 항균 활성을 확인하였다. 그 결과 효소를 첨가하지 않은 단메밀과 쓴메밀의 가수분해물에서 항균 활성을 거의 나타내지 않았다. 그에 반해 Viscozyme L을 첨가한 가수분해물에서는 gram 양성 균인 *L. monocytogenes* 와 gram 음성 균인 *S. typhimurium*에서 항균 활성을 나타내었다. 농도별 단메밀 가수분해물의 항균 활성은 *L. monocytogenes* 균주에 대해 3 mg(7.2 mm), 1.5 mg(6.7 mm), 0.75 mg(4.5 mm), 0.375 mg(4.0 mm)의 clear zone 수치를 나타내었으며, *S. typhimurium*에 대해 3 mg(4.7 mm), 1.5 mg(3.5 mm), 0.75 mg(3.3 mm), 0.375 mg(3.0 mm)의 clear zone 수치를 나타내었다. 또한 *S. typhimurium*에 대해 쓴메밀 가수분해물의 항균 활성은 3 mg에서 5.7 mm의 clear zone 수치로 낮은 항균력을 나타내었다(Table 4). *A. niger*, *A. oryzae*, *P. rugulosum*, *M. miehei* 균주는 단메밀과 쓴메밀의 가수분해물에 대해 항곰팡이 활성을 나타내지 않았다. 그에 반해 Viscozyme L을 첨가한 가수분해물의 농도별 항곰팡이 활성은 3 mg(12.0 mm), 1.5 mg(7.8 mm), 0.75 mg(6.3 mm), 0.375 mg(3.7 mm)의 clear zone 수치를 나타내었다(Table 5). 이는 한 가지 생약재의 추출물도 일정 항균효과를 보이는 것이 아니라 미생물의 균종에 따라 그 항균활성도가 달라진다고 보고한 Frazier 등(22)의 연구 결과와 유사하게 나타났다.

항고혈압 활성

생약재의 생리활성물질 중 혈압상승에 관여하는 Angiotensin-I-converting enzyme(ACE)을 억제, 고혈압의 발생 기작인 renin-angiotensin system의 생화학적 기전을 조절하여 혈압강하에 중요 한 역할을 하는 물질이 있다는 연구가 근래에 보고되고 있다. 인체 내에서 ACE는 renin에 의하여 생성된 decapeptide인 angiotensin I으로부터 C-말단의 dipeptide(His-Leu)를 가수분해시킴으로써 강력한 혈관수축작용을 나타내는 Angiotensin II를 생성하고 혈압강하 작용을 갖는 bradykinin을 분해하여 불활성화함으로서 고혈압의 원인이 되고 있다. 이러한 ACE의 저해인자로서는 저분자 peptide들과 그 유도체들과 메밀의 rutin같은 polyphenol 성분들이 대표적으로 알려져 있다(23). 이에 본 실험에서는 단메밀과 쓴메밀을 Viscozyme L, Alcalase 2.4 L를 첨가하여 가수분해 후 동결 건조한 시료를 10 mg/mL의 농도에서 ACE 저해작용 측정한 결과, Alcalase 2.4 L 효소를 첨가한 가수분해물의 경우 단메밀은 61.19%, 쓴메밀은 94.48%의 ACE 저해활성을 나타내었으며, Viscozyme L 효소를 첨가한 가수분해물의 경우 단메밀은 39.39%, 쓴메밀은 73.06%의 활성을 나타내었다. 효소를 첨가하지 않은 가수분해물의 경우 단메밀은 45.82%, 쓴메밀은 73.06%의 ACE 저해활성을 나타내었다(Fig. 1). 이처럼 메밀 가수분해물의 ACE저해활성이 효소를 첨가하지 않고 단순 열수 추출한 대조시료보다 높으며 사용된 효소의 종류에 따라 차이가 나는 것은 처리 효소 및 조건에 따른 아미노산 또는 펩타이드 조성의 차이에 기인한 것으로 추정되며, 담수어의 열수 추출물과 효소 가수분해물의 ACE 저해 효과를 비교한 결과 효소 가수분해물의 ACE 저해 효과가 높게 나타났다는 Kim 등(24)의 보고와 유사한 결과로 사료된다.

요약

본 연구에서는 단메밀과 쓴메밀에 Viscozyme L과 Alcalase

Table 4. Antimicrobial effects of buckwheat hydrolysate on various concentration

Enzyme	Concentration (mg)	Microorganism strains											
		F.E. ⁷⁾						F.T. ⁸⁾					
		E.C. ¹⁾	P.A. ²⁾	S.T. ³⁾	L.M. ⁴⁾	B.S. ⁵⁾	S.A. ⁶⁾	E.C.	P.A.	S.T.	L.M.	B.S.	S.A.
¹¹⁾ N.E.	3	- ¹⁰⁾	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	1.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	0.75	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	0.375	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Control	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Viscozyme L3	-	-	4.7 ⁹⁾	7.2	-	-	-	-	5.7	-	-	-	-
	1.5	-	-	3.5	6.7	-	-	-	-	-	-	-	-
	0.75	-	-	3.3	4.5	-	-	-	-	-	-	-	-
	0.375	-	-	3	4	-	-	-	-	-	-	-	-
	Control	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Alcalase 2.4L	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	1.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	0.75	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	0.375	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Control	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

¹⁾E.C.: *Escherichia coli*. ²⁾P.A.: *Pseudomonas aeruginosa*. ³⁾S.T.: *Salmonella typhimurium*. ⁴⁾L.M.: *Listeria monocytogenes* ⁵⁾B.S.: *Bacillus subtilis* ⁶⁾S.A.: *Staphylococcus aureus*. ⁷⁾F.E.: *Fagopyrum esculentum*. ⁸⁾F.T.: *Fagopyrum tataricum* ⁹⁾Inhibition zone diameter (mm). ¹⁰⁾Not detected. ¹¹⁾N.E.: No enzyme.

Table 5. Antifungal effects of buckwheat hydrolysate on various concentration

Enzyme	Concentration (mg)	Microorganism strains									
		F.E. ⁶⁾					F.T. ⁷⁾				
		A.N. ¹⁾	A.O. ²⁾	M.M. ³⁾	P.R. ⁴⁾	T.R. ⁵⁾	A.N.	A.O.	M.N.	P.R.	T.R.
¹⁰⁾ N.E.	3	- ⁹⁾	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	1.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	0.75	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	0.375	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Control	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Viscozyme L	3	-	-	-	-	12 ⁸⁾	-	-	-	-	-
	1.5	-	-	-	-	7.8	-	-	-	-	-
	0.75	-	-	-	-	6.3	-	-	-	-	-
	0.375	-	-	-	-	3.7	-	-	-	-	-
	Control	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Alcalase 2.4L	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	1.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	0.75	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	0.375	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Control	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

¹⁾A.N.: *Aspergillus niger* ²⁾A.O.: *Aspergillus oryzae* ³⁾M.M.: *Mucor miehei* ⁴⁾T.R.: *Trichoderma reesei* ⁵⁾P.R.: *Penicillium rugulosum* ⁶⁾F.E.: *Fagopyrum esculentum* ⁷⁾F.T.: *Fagopyrum tataricum* ⁸⁾Inhibition zone diameter (mm). ⁹⁾Not detected. ¹⁰⁾N.E.: No enzyme

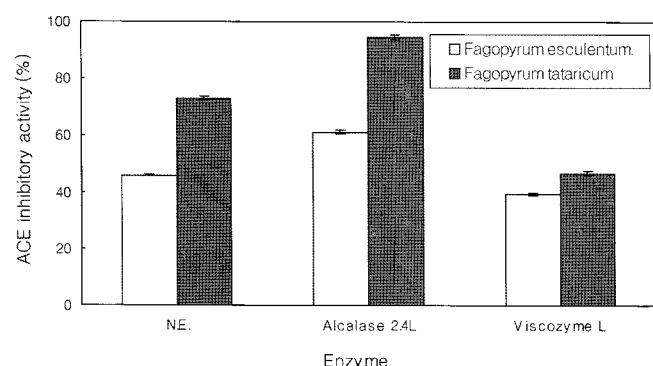


Fig. 1. Angiotensin-I-converting enzyme (ACE) inhibitory activity of buckwheat hydrolysate by enzyme. N.E.: No enzyme, Concentration of buckwheat hydrolysate: 10 mg/mL.

2.4L 효소를 첨가하여 가수분해물을 제조하고, 이들의 항균, 항곰팡이, 항고혈압 활성을 조사하였다. 그 결과 효소를 첨가하지 않은 단메밀과 쓴메밀의 수율은 각각 7.92, 3.17%로 낮은 가수분해율을 보였으며 Viscozyme L을 첨가한 단메밀과 쓴메밀의 경우 18.70, 19.45% 그리고 Alcalase 2.4L을 첨가한 단메밀과 쓴메밀의 경우 24.65, 22.10%로 가장 높은 수율을 보였다. 메밀 가수분해물을 *E. coli*, *S. typhimurium*, *P. aeruginosa*, *B. subtilis*, *S. aureus* 및 *L. monocytogenes* 균주에 대해 항균 활성을 조사한 결과, Viscozyme L을 첨가한 단메밀 가수분해물이 *L. monocytogenes*, *S. typhimurium*에 대해 3-7.2 mm의 clear zone으로 항균 활성을 나타내었으며 쓴메밀 가수분해물이 *S. typhimurium*에 대해 5.7 mm의 clear zone으로 낮은 항균 활성을 나타내었다. *A. niger*, *M. miehei*, *P. rugulosum*, *A. oryzae*, *T. reesei* 균주의 항곰팡이 활성을 Viscozyme L을 첨가한 단메밀 가수분해물이 *T. reesei*에 대해 3.7-12 mm의 clear zone으로 강한 활성을 나타내었다. ACE 저해 활성을 효소를 첨가하지 않은 단메밀은 45.82%, 쓴메밀은 73.06%으로 나타났다. Viscozyme L을 첨가한 가수분해물의 경우

단메밀은 39.39%, 쓴메밀은 46.83%로 효소를 첨가하지 않은 메밀 가수분해물에 비해 낮은 ACE 저해활성을 보였다. 반면 Alcalase 2.4 L을 첨가한 가수분해물의 경우 단메밀 61.19%, 쓴메밀 94.48%로 가장 높은 ACE 저해활성을 나타내었다.

문헌

- Mazza G. Lipid content and fatty acid composition of buckwheat seed. Cereal Chem. 65: 122-126 (1988).
- Dorrell D. Fatty acid composition of buckwheat seed. J. Assoc. Oil. Chem. Soc. 48: 693-696 (1971)
- Mazza G. Buckwheat browning and color assessment. Cereal Chem. 63: 361-364 (1986)
- Choe M, Kim JD, Park KS, Oh SY, Lee SY. Effect of buckwheat supplementation on blood glucose levels and blood pressure in rats. J. Korean Soc. Food Nutr. 20: 300-305 (1991)
- Lee MS, Sohn KH. A study on the physicochemical properties of buckwheat starches. Korean J. Soc. Food Sci. 8: 291-296 (1992)
- Ikeda K, Kusano T. Isolation and some properties of a trypsin inhibitor from buckwheat again. Agric. Biol. Chem. 4: 309-314 (1978)
- Ikeda K, Kusano T. Purification and properties of the trypsin inhibitors from buckwheat seed. Agric. Biol. Chem. 47: 481-487 (1983)
- Ikeda K, Arioka K, Fuji S, Kusano T, Oku M. Effect on buckwheat protein quality of seed germination and changes in trypsin inhibitor content. Cereal Chem. 61: 236-238 (1984)
- Maeng YS, Park HK, Kwon TB. Analysis of rutin contents in buckwheat and buckwheat foods. Korean J. Food Sci. Technol. 22: 732-737 (1990)
- Maeng YS, Park HK, Kwon TB. Analysis of rutin contents in buckwheat and buckwheat foods. Korean J. Food Sci. Technol. 22: 732-737 (1990)
- Kwon TB. Changes in rutin and fatty acids of buckwheat during germination. Korean J. Food Nutr. 7: 124-127 (1994)
- Lee MH, Woo SJ, Oh SK, Kwon TB. Changes in contents and composition of dietary fiber during buckwheat germination. Korean J. Food Nutr. 7: 274-283 (1994)
- Choi YS, Sur JH, Kim CH, Kim YM, Ham SS, Lee SY. Effects of dietary buckwheat vegetables on lipid metabolism in rats. J.

- Korean Soc. Food Nutr. 23: 212-218 (1994)
14. Ikeda H, Najae T, Hara Y, Shimamura T. Bactericidal catechins damage the lipid bilayer. *Biochim. Biophys. Acta.* 1147: 132-136 (1993)
15. Huang Y, Zhang A, Lau CW, Chen ZY. Vasorelaxant effects of purified green tea epicatechin derivatives in rat mesenteric artery. *Life Sci.* 63: 257-283 (1998)
16. Do JR, Kim KJ, Jo JH, Kim YM, Kim BS, Kim HK, Lim SD, Lee SW. Antimicrobial, antihypertensive and anticancer activities of medicinal herbs. *Korean J. Food Sci. Technol.* 37: 206-213 (2005)
17. Suzuki T, Ishikawa N, Meguro H. Angiotensin-I-converting enzyme inhibitory activity in foods. *Nippon Nogeigaku Kaishi* 57: 1143-1146 (1983)
18. AOAC. Official Methods of Analysis of AOAC. Int'l. 15th ed. Association of Official Analytical Chemists. Arlington, VA, USA (1990)
19. Cushman DW, Cheung HS. Spectrophotometric assay and properties of the angiotensin-converting enzyme of rabbit lung. *Biochem. Pharmacol.* 20: 1637-1648 (1971)
20. Wang Q, Oura T, Wang L. Research and development of new products from bitter-buckwheat. Current Advances in Buckwheat Research. pp. 873-879 (1995)
21. Lee JS, Shin HK. Correlation between glycemic index and in vitro starch hydrolysis of cereals. *Korean J. Food Sci. Technol.* 30: 1229-1235 (1998)
22. Frazier WA, Bartles JR. Discoidin I-membrane interactions I binds to two types of receptor on fixed *Dictyostelium discoideum* cells. *Biochim. Biophys. Acta.* 687: 121-128 (1982)
23. Maruyama S, Miyoshi S, Tanaka H. Angiotensin-I-converting enzyme inhibitors derived from *ficus carica*. *Agric. Biol. Chem.* 53: 2763-2767 (1989)
24. Kim TJ, Yoon HD, Lee DS, Jang YS, Suh SB, Yeum DM. Angiotensin-I-converting enzyme inhibitory activity of hot-water extract and enzymatic hydrolysate of fresh water fish. *J. Korean Soc. Food Nutr.* 25: 871-877 (1996)