

발아 메밀 추출물의 항산화 · 항균활성 및 세포독성

황은주* · 이숙영**† · 권수정** · 박민희** · 부희옥**

*(주)식물보호기술, **동신대학교 산업융가속기이용생물연구센터

Antioxidative, Antimicrobial and Cytotoxic activities of *Fagopyrum esculentum* Möench Extract in Germinated Seeds

Eun Ju Hwang*, Sook Young Lee**†, Su Jung Kwon**, Min Hee Park**, and Hee Ock Boo**

*Phyto Care Tech Co. Ltd., Naju Jeonnam 520-811, Korea.

**Biology Research Center for Industrial Accelerators, Dongshin University, Naju Jeonnam 520-714, Korea.

ABSTRACT : This research was conducted to investigate the possibilities of usage of germinated-buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Möench) by examining antioxidative, antimicrobial and cytotoxic effects of extracts from different germinated root length of buckwheat. Antioxidant activity (RC₅₀) was shown higher in extracts of non-germinated seed (50.41 µg/mL) and root length 10 mm (80.57 µg/mL), 2 mm (93.77 µg/mL), 5 mm (107.09 µg/mL) than BHT (163.96 µg/mL) as a synthetic antioxidant. In antimicrobial activity, non-germinated and germinated seeds were formed inhibitory zone against *S. aureus* (4~10 mm), *P. aeruginosa* (2~9 mm) at the concentrations of 10~40 mg/mL but *B. subtilis*, *E. coli* and *S. typhimurium* were not apparent antimicrobial activity. Extracts of germinated seed also decreased their antimicrobial activity compared to non-germinated seed extract. In addition, the growth of Calu-6 was inhibited of both 5 mm root length germinated and non-germinated seeds (800 µg/mL) as 95.12% and 87.15%, respectively, but these did not show any influence on cytotoxic effect against MCF-7 and Caco-2 cell lines. Extracts of 2 mm and 5 mm germinated seeds were also inhibited against Calu-6 and SNU-601 cell lines.

Key words : *Fagopyrum esculentum* Möench, free radical scavenging activity, 1,1-Diphenyl-2-Picryl-Hydrazyl(DPPH), cytotoxicity effect, antimicrobial activity

서 언

메밀 (*Fagopyrum esculentum* Möench)은 쌍자엽식물의 마디풀과에 속하는 일년생 초본으로 종자는 삼각뿔 모양의 검은 갈색 혹은 회색을 띠고 낱알의 조성이 곡류와 비슷하여 일반적으로 잡곡으로 취급된다 (Marshall and Promeranz, 1982). 메밀은 우리 선조들이 오방지영물 (五方之靈物)이라 하여 매우 중요시 했던 작물로 식품의 재료로 널리 사용되어 왔다. 특히 메밀국수와 메밀묵, 메밀죽, 메밀전 그리고 메밀산자 등의 음식으로 식용되어 왔다. 또한 메밀은 약성 (藥性)이 강하여 전통적인 치료방법에 많이 이용되어져 왔는데, 즉 내과적 치료용으로 홍역, 궤양성 위장병, 여성혈대하증, 폐각혈, 흉통, 조산방지, 산후출혈, 장출혈 및 혈변간염, 황달, 백일해 등에 쓰이고 외과적으로는 타박상 약성종기, 심한 하복부 부기치료에 쓰였다 (Kim *et al.*, 1994). 이외에도 위를 강하게 하고 기운을 돋우며, 정신을 맑게하고 오장내의 노폐물을 제거하는 생

리적 작용이 있는 것으로 알려져 있다 (홍, 1990).

이러한 약리작용 외에 메밀의 일반성분은 단백질이 10~15%, 지방질 2~3%, 회분 2~5%, 탄수화물 65~70% 정도 함유되어 있으며, 수용성 단백질이 풍부하고 아미노산 조성이 우수하며, 특히 lysine의 함량이 많아 밀이나 보리 등의 다른 곡류에 비해 생물가가 높은 식품이다 (Macrae *et al.*, 1993; 맹 등, 1990; Marshall *et al.*, 1982). 또한 메밀에는 불포화 지방산의 함량이 많고 Ca, Fe, K, Na, Mg, Mn 등과 같은 미네랄 성분도 함유되어 있으며 비타민 B₁, B₂의 좋은 급원이 되어 영양적 가치가 높은 식품이다 (Marshall *et al.*, 1982; Dorrel, 1971; 최 등, 1991).

메밀의 특수성분으로는 모세혈관의 투과성을 향상시키는 rutin과 당뇨병의 안구압에 관여하는 quercetin과 같은 플라보노이드 계통의 성분 (Havsteen, 1983)이 함유되어 있어 동맥경화 예방이나 혈압강하 및 당뇨병 치료식품으로 인정 (Marshall *et al.*, 1982; Lee *et al.*, 1992) 되고 있어 건강식

†Corresponding author: (Phone) +82-61-336-1875 (E-mail) sylee@dsu.ac.kr
Received August 15, 2005 / Accepted January 20, 2006

품으로 개발할 가치가 높다고 하겠다.

현재까지 메밀에 관한 연구는 메밀을 많이 섭취하는 일본과 대량생산하고 있는 캐나다 등에서 주로 이루어져 왔으며, 메밀의 지방산 조성 (Mazza, 1988; Dorrel, 1971)과 메밀단백질 (Soda *et al.*, 1981), 트립신 저해제와 메밀 단백질의 품질에 대한 영향 (Ikeda and Kusano, 1983; Ikeda *et al.*, 1984), 혈당과 혈압에 미치는 영향 (최 등, 1991), 메밀의 rutin의 분해 (Ohara *et al.*, 1988; Ohara *et al.*, 1989) 등에 관한 연구들이 보고되고 있다.

일반적으로 식물종자는 발아가 진행됨에 따라 생리적 활성이 증대되고 성분의 변화가 일어나기 때문에 생리활성 측면에서는 발아에 의하여 처리 전에는 측정되지 않는 생리활성이 나타날 가능성이 있다고 하겠다. 따라서 발아에 의한 영양소 및 생리활성 물질의 유효도를 극대화하기 위한 연구들이 곡류 및 두류를 중심으로 활발하게 진행되어 왔다. 그러나 메밀에 관한 대부분의 연구보고가 단백질과 아미노산, 지방산, 탄수화물, 무기질, 비타민, 식이섬유에 관한 연구 (조 등, 1985; Hsu *et al.*, 1980; Colmenarse and Bressani, 1990; 고와 박, 1983; Lee *et al.*, 1994; Lee *et al.*, 1994) 등이 대부분이고, 발아메밀에 관한 연구로서는 본태성 고혈압쥐의 혈압, 혈당 및 혈중 지질수준에 미치는 영향 (Lee *et al.*, 2000) 그리고 rutin과 지방산 (Kwon, 1994) 및 트립신 저해제에 관한 연구 (Ikeda *et al.*, 1984) 등 일부가 있을 뿐이다.

따라서 본 연구에서는 발아 길이별 메밀씨의 생리활성 변화를 확인하기 위해서 발아 길이별 메탄올 추출물에 대한 항산화 효과와 항미생물 활성 그리고 세포독성의 효과를 검정하였다. 이러한 생리활성을 구명함으로써 건강기능성 식품 제조용 신소재나 천연물질 생산원료 및 의약품 신소재 개발의 기초자료를 제공함으로써 발아메밀의 이용성을 높이는데 기여하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 재료 및 시료의 제조

본 실험에 사용된 메밀은 2004년도에 전남 나주시 노안면에서 재배한 것으로서 풍건, 석발, 정선과정을 거쳐서 종실이 충실한 것을 선별하여 물에 12시간 침지 후 30°C, 상대습도 90%에서 24시간마다 물을 살포하면서 발아시켰다. 메밀종자가 발아하기 시작하면 발아 길이별로 각각 2 mm, 5 mm, 10 mm로 분리한 시료를 추출에 적합하도록 분말화하여 시료중량 10 배의 메탄올을 첨가하고 40°C에서 5~6시간 추출한 후, 여과하여 감압농축기를 사용하여 추출용매를 제거한 후 동결 건조시킨 다음 실험에 사용하였다.

2. 항산화 활성의 측정

항산화 활성은 DPPH법 (Brand-Williams *et al.*, 1995)에 의하여 시료의 free radical 소거능을 측정했다. 즉, 에탄올에

용해시킨 100 µM DPPH 용액을 180 µL 씩 96 well plate에 분주하고, 여기에 1, 10, 50, 100, 200 µg/mL의 농도로 제조한 시료를 20 µL씩 첨가하여 최종 반응용액이 200 µL가 되도록 하였다. 30분 동안 반응시킨 후 ELISA reader (Bio-Tek, USA)를 사용하여 517 nm에서 흡광도를 측정하여 DPPH의 환원에 의한 흡광도 감소를 조사하였고, 무발아구와 발아 길이별구의 값을 비교하여 free radical 소거활성을 검정하였다. Free radical 소거활성은 DPPH의 50%를 환원시키는데 필요한 시료의 양 (µg)을 RC₅₀으로 나타냈으며, 기존의 항산화제로 많이 이용되고 있는 Vit. C, butylated hydroxytoluene (BHT)와 발아 길이별 메밀의 항산화 활성을 비교하였다.

3. 항미생물 활성 측정

메밀의 발아 길이별 추출물의 항균활성 검사는 disc 한천배지 확산법으로 측정하였다 (Bauer *et al.*, 1996). 즉, 10, 20, 30, 40 mg/mL 농도의 메탄올추출물을 0.45 µm membrane filter (Millipore Co., USA)로 여과하여 제조한 다음 멸균된 filter paper disc (Toyo roshi kaisha, 8 mm)에 50 µL씩 흡수시킨 후, 추출용매를 무균적으로 풍건하여 완전히 제거한 다음 각각의 균 생육적온에서 24~48시간 동안 배양 후 paper disc 주변의 투명저지대의 직경 (mm)을 측정하여 항균활성을 비교하였다. 이때 각 시료를 녹이기 위해 사용한 용매 및 계면활성제에 대한 공실험을 실시하였다.

4. 암세포 생육억제 효과 분석

종양세포 배양 : 실험에 사용된 암세포주는 모두 인체기원의 암세포주들로서, 폐암세포주인 Calu-6, 유방암세포주인 MCF-7 및 위암세포주인 SNU-601, 그리고 대장암세포주인 Caco-2를 사용하였다. Calu-6, MCF-7 및 SNU-601은 RPMI 1640 배지를 이용하였고, Caco-2는 DMEM 배지를 이용하였으며 56°C에서 30분간 열처리된 FBS 10%와 항생제(antibiotic-antimycotic)를 함유한 각각의 복합배지를 사용하여 37°C, 5% CO₂의 습윤화된 배양기내에서 적응시켜 배양하였으며, 이 때 배지는 2~3일에 한번씩 교환하였다.

MTT 분석에 의한 세포 생존율 측정 : 발아 메밀의 길이별 추출물에 의한 농도 의존적 세포생육의 저해효과는 MTT 방법 (Dnizot and Rita, 1986)을 약간 변형하여 분석하였다. 종양세포를 2~4×10⁴ cells/mL의 농도가 되도록 조절한 후 96 well microplate에 90 µL/well씩 분주하고 37°C, 5% CO₂ 세포배양기에서 12시간 배양하여 세포를 부착시킨 다음 50, 100, 200, 400, 800 µg/mL 농도의 시료를 10 µL씩 첨가하였다. 이와같이 시료가 첨가된 well plate를 72시간 동안 배양시킨 후, MTT 용액을 각 well당 10 µL씩 넣고 세포 배양기에서 4시간 동안 반응시킨 후, MTT 용액을 제거하고 DMSO 150 µL를 첨가하여 각 세포를 용해시켜 microplate reader (Bio-Rad, USA)를 이용하여 540 nm에서 흡광도를 측정하였다.

각 세포의 시료 무침가균을 100%로 하여 상대적인 세포 성장율을 측정하였다.

결과 및 고찰

1. 항산화 활성

수소 공여능 측정에 사용된 DPPH는 안정한 자유라디칼로서 그것의 비공유전자로 인해 517 nm 부근에서 최대 흡수치를 나타내는데 전자 또는 수소를 받으면 517 nm 부근에서의 흡광도가 감소하며 다시 산화되기 어렵다. 따라서 메밀의 발아 길이별 추출물이 이러한 라디칼을 환원시키거나 상쇄시키는 능력이 크다면 높은 항산화 활성 및 활성 산소를 비롯한 다른 라디칼에 대한 높은 소거활성을 기대할 수 있다.

발아가 유도된 메밀종자의 생리활성 중 1~200 µg/mL 농도의 추출물을 100 µM DPPH 용액에 첨가하여 항산화 활성을 측정된 결과를 Table 1 및 Fig. 1에 나타내었다. 그 결과 농도 의존적으로 항산화 효과가 증가함을 알 수 있었다. 각 추출물의 최고농도인 200 µg/mL에서 무발아 시료는 87.52%의 항산화 활성을 보였고 발아가 유도된 종자의 경우, 동일농도에서 발아기간별로 살펴보면 발아길이 2 mm는 85.87%, 5 mm는 82.53%, 10 mm는 89.30%의 항산화 활성을 보여 동일 농도에서 합성항산화제인 BHT 보다는 높게 나타났으나 천연항산화제인 Vit. C 보다는 낮은 free radical 소거능을 보였다. Kwak 등 (2004)은 한국산 메밀, 수수, 기장, 울무의 에탄올 추출물을 최고농도인 500 µg/mL 처리했을 때 메밀이 57.9%, 기장 49.2%, 수수 44.2%, 울무 39.9% 순으로 항산화 활성이 나타났다고 하였으며, 이들의 RC₅₀에 해당하는 에탄올 추출시료의 농도는 메밀 0.264 mg/mL, 기장 2.90 mg/mL, 수수 2.13 mg/mL, 울무 4.67 mg/mL이라고 보고하였는데, 본 실험에서는 최대농도 200 µg/mL의 농도에서 발아 메밀의 free radical 소거능이 80% 이상으로 높은 항산화 활성을 보였다.

2. 항미생물 활성 검증

최근 천연물로부터 미생물의 증식억제 및 살균을 목적으로 천연 항미생물 효과가 있는 물질에 대한 탐색이 많이 이루어지고 있으며, 식품의 원료나 부재료 등에 항미생물이 존재하고 있음이 밝혀지고 있어서 이를 식품에 응용하고자 하는 연구가 계속 진행되고 있다 (Kim, 2005; Han, 2005; Wee et al., 2004; Park, 2001). 메밀의 경우 플라보노이드 계통인 rutin 성분의 항균활성에 관한 연구 (Rym et al., 1996)가 일부 이루어진 바 있으나, 그 외에 수행된 연구는 거의 없는 실정이므로 본 실험에서는 메밀의 발아단계별 항미생물 활성 테스트를 실시하였다.

Paper disc 방법으로 발아 길이 2 mm, 5 mm, 10 mm의 메밀과 발아시키지 않은 메밀을 대조군으로 하여 메탄올로 추출한 다음 각종 식품부패 및 식중독에 관련된 그람양성균 2종과 그람

Table 1. DPPH radical scavenging activity of methanol extracts from buckwheat non-germinated and germinated seeds.

Sample	Free radical scavenging activity [†] (% Inhibition at 200 µg/mL)	RC ₅₀ [‡] (µg/mL)
Non-germinated seed	87.52 ± 0.17	50.41 ± 0.84
Germinated seed :		
Root length 2 mm	85.87 ± 0.09	93.77 ± 1.95
Root length 5 mm	82.53 ± 0.33	107.09 ± 1.45
Root length 10 mm	89.30 ± 0.26	80.57 ± 1.30
BHT	58.54 ± 0.89	163.96 ± 3.11
Vit. C	98.22 ± 0.10	5.98 ± 0.10

[†]Free radical scavenging activity of each sample was determined relative to DMS-treated control groups. Each value was expressed as mean ± standard deviation (n = 3). [‡]Amount required for 50% reduction of DPPH after 30 min.

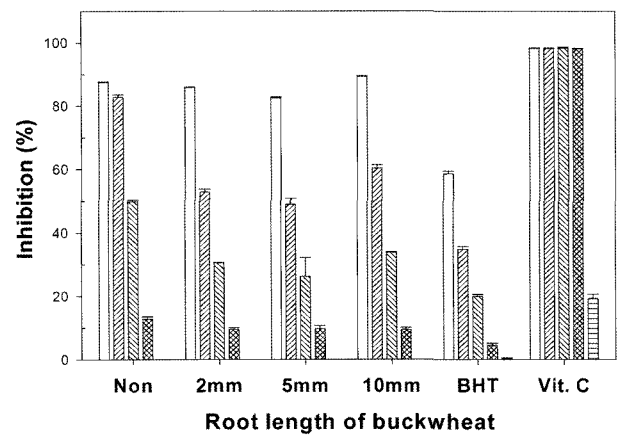


Fig. 1. DPPH radical scavenging activity followed by different concentrations of methanol extracts from different germinated of buckwheat seeds. Free radical scavenging activity of each sample was determined relative to DMS-treated control groups. Each value was expressed as mean ± standard deviation (n = 3). □ 200 µg/mL, ▨ 100 µg/mL, ▩ 50 µg/mL, ▤ 10 µg/mL, ▥ 1 µg/mL.

음성균 3종에 대한 항균력을 테스트 하였다. 그 결과 Table 2에 나타낸 바와 같이 발아 길이 중 각 추출물의 최고농도 40 mg/mL에서 5종의 균주에 대한 항균활성은 그람양성균인 *S. aureus*은 4~10 mm, 그람음성균인 *P. aeruginosa*는 2~9 mm였으며, 그 외의 다른 균주에서는 활성을 나타내지 않았다. 그리고 그람음성균보다 그람양성균에 대한 항균효과가 더 높게 나타났다. 이는 Nakamura 등 (1991)도 보고한 바와 같이 그람양성균의 세포벽은 peptidoglycan이 표면에 노출되어 항균활성 물질의 공격을 받기 쉽지만 그람음성균은 lipopolysaccharide를 주성분으로 하는 외막이 peptidoglycan을 보호하는 작용을 하기 때문이라고 사료된다. *S. aureus* 균주에 20 mg/mL 농도로

Table 2. Antimicrobial activities of methanol extracts in different germinated root length of buckwheat seeds.

Microorganisms tested	Conc. (mg/mL)	Non-germinated seed	Root length of germinated seed(mm)			
			2	5	10	
Clear zone on plate (φ, mm)						
Gram positive bacteria	<i>B. subtilis</i>	40	- [†]	-	-	-
		30	-	-	-	-
		20	-	-	-	-
		10	-	-	-	-
	<i>S. aureus</i>	40	10	8	8	4
		30	8	7	8	4
		20	5	4	3	-
		10	-	-	-	-
Gram negative bacteria	<i>E. coli</i>	40	-	-	-	-
		30	-	-	-	-
		20	-	-	-	-
		10	-	-	-	-
	<i>P. aeruginosa</i>	40	9	4	6	2
		30	8	3	3	-
		20	4	-	-	-
		10	2	-	-	-
<i>S. typhimurium</i>	40	-	-	-	-	
	30	-	-	-	-	
	20	-	-	-	-	
	10	-	-	-	-	

[†]No inhibitory zone was formed.

첨가하였을 때의 항미생물 활성은 무발아 추출물의 경우가 투명저지대의 직경 5 mm로 가장 높게 나타났으며, 발아 길이 2 mm와 5 mm 시료에서는 투명저지대의 직경이 각각 4 mm와 3 mm로 나타났다. 그러나 발아 길이 10 mm에서는 활성을 보이지 않았다. 또한 *P. aeruginosa*에 대한 결과를 보면, 10 mg/mL와 20 mg/mL농도에서는 무발아 추출물만이 각각 2 mm와 4 mm로 나타났고, 30 mg/mL와 40 mg/mL 농도에서는 무발아 추출물이 각각 8 mm, 9 mm로 다른 처리구에 비해 상대적으로 항미생물 효과가 높게 나타났다. 따라서 메밀은 발아가 진행 될수록 항균력이 떨어지는 것을 알 수 있었다. 다른 천연물들의 그람양성균과 그람음성균의 항균효과는 정향 (Lee *et al.*, 2004)의 경우 50 mg/mL의 농도에서 투명저지대를 형성하였고, 최소저해농도 (minimum inhibitory concentration, MIC)는 삼백초의 경우 5~10 mg/mL, 유백피 추출물은 2.5~30 mg/mL라고 보고 (Oh *et al.*, 1999; Koh, 2004)되어 있는 결과들과 비교했을 때, 메밀의 무발아 추출물이 다른 천연물보다도 상대적으로 높은 항균활성을 보임으로써 앞으로 천연항균제로서의 개발 가능성이 높은 것으로 사료된다.

3. 암세포 증식억제 효과

메밀의 발아 길이별 추출물의 *in vitro*에서의 세포독성을 규명하기 위해 대장암 (Caco-2, 腺癌), 폐암 (Calu-6), 유방암

(MCF-7) 및 위암 (SNU-601) 등의 인체 암세포주를 이용하여 세포 생존율을 MTT 방법 (Dnizot and Rita, 1986)으로 조사하였다.

발아메밀의 길이별 추출물을 각각 50, 100, 200, 400, 800 µg/mL의 농도가 되도록 Calu-6, SNU-601, MCF-7 및 Caco-2, 의 암세포주에 첨가하여 72시간 배양한 후에 나타난 암세포의 증식능을 측정하였다. 그 결과 Table 3과 Fig. 2에서 보는 바와 같이 전반적으로 메밀 추출물의 첨가량이 많아질수록 증식억제 효과가 더 뚜렷함을 알 수가 있었다.

각각의 추출물에 의한 폐암세포 Calu-6의 항암효과는 실험 최고 농도인 800 µg/mL에서 발아 길이 5 mm의 경우 95.12%의 높은 사멸효과를 나타내었고, 무발아 추출물과 발아 길이 10 mm 추출물의 경우도 80% 이상의 높은 억제효과를 보였다. 위암세포인 SNU-601에 대한 세포독성 효과는 Calu-6세포주에 대한 결과와 유사한 양상을 보였지만, 메밀의 발아 길이에 따른 암세포 억제 효과는 SNU-601세포에서 보다 Calu-6세포에서 그 효과가 훨씬 크게 나타났다. 반면, 발아 길이 2 mm의 추출물은 다른 발아처리군에 비해서 그 효과가 아주 미약하였으나, 유방암세포 MCF-7에 대한 증식억제 효과는 4-6배의 높은 세포독성을 보였다. 유방암세포인 MCF-7과 대장암세포인 Caco-2의 경우 Calu-6과 SNU-601 세포주에 비해 4가지 추출물의 효과가 모두 낮게 나타났다.

Table 3. Cytotoxicity effects of methanol extract from buckwheat on four kinds of human cancer cell lines.

Sample	Calu-6		SNU-601		MCF-7		Caco-2	
	Inhibition (%) [†]	IC ₅₀ [‡]	Inhibition (%)	IC ₅₀	Inhibition (%)	IC ₅₀	Inhibition (%) [§]	IC ₅₀
Non-germinated seed	87.15 [§]	513.66	71.42	657.79	10.81	> 800	4.95	> 800
Germinated seed : Root length 2 mm	79.68	537.49	69.53	510.20	56.80	714.95	12.09	> 800
Root length 5 mm	95.12	301.06	85.33	625.27	9.63	> 800	0.00	> 800
Root length 10 mm	80.63	306.48	63.88	616.20	14.32	> 800	4.31	> 800

Abbreviations: Calu-6, Human pulmonary carcinoma; SNU-601, Human gastric carcinoma; MCF-7, Human breast cancer; Caco-2, Human colon adenocarcinoma.

[†]% Inhibition at 800 $\mu\text{g}/\text{mL}$

[‡]Extract concentrations which inhibit 50% growth of the cells ($\mu\text{g}/\text{mL}$).

[§]Each value was expressed as mean \pm standard deviation (n = 3).

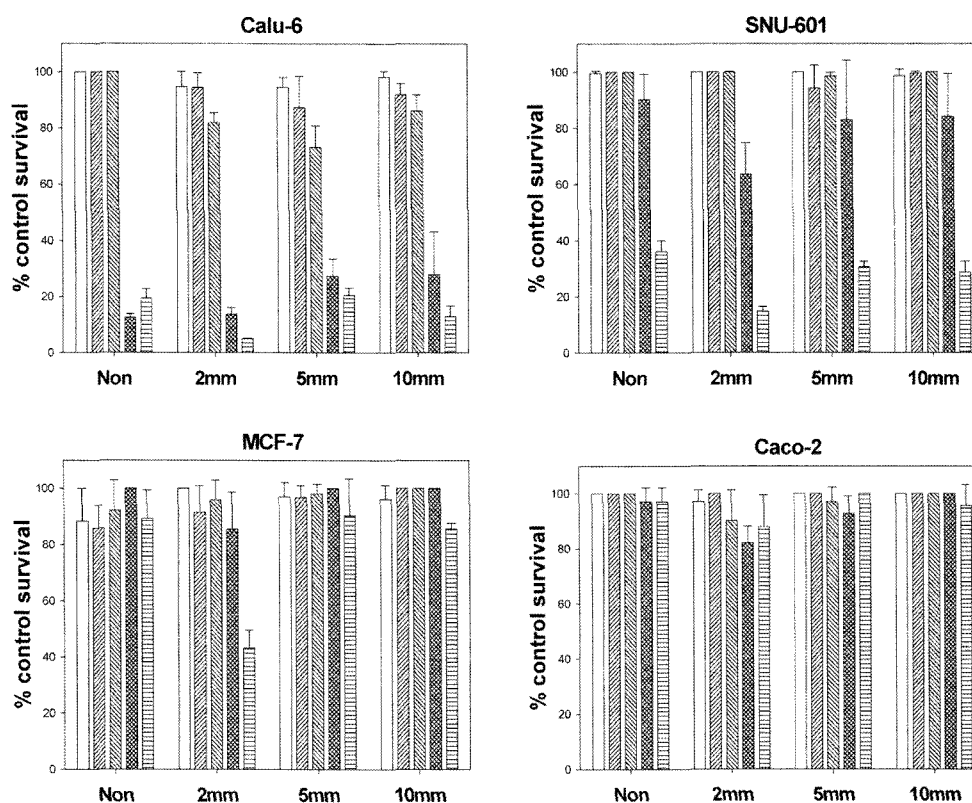


Fig. 2. The viability of cells was measured by MTT assay in different germinated root length of buckwheat extract on four kinds of human cancer cell lines: Calu-6, Human pulmonary carcinoma; SNU-601, Human gastric carcinoma; MCF-7, Human breast cancer ; Caco-2, Human colon adenocarcinoma.

□ : 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$, ▨ : 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$, ▩ : 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$, ▤ : 400 $\mu\text{g}/\text{mL}$, ▥ : 800 $\mu\text{g}/\text{mL}$.

또한, 메밀의 발아 길이에 따른 암세포주 50%를 사멸하는데 필요한 세포 성장 저해농도 (IC₅₀)는, Calu-6에서 발아 5 mm (301.06 $\mu\text{g}/\text{mL}$) > 발아 10 mm (306.48 $\mu\text{g}/\text{mL}$) > 무발아 (513.66 $\mu\text{g}/\text{mL}$) > 발아 2 mm (537.49 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 순으로 나타나 발아길이 5 mm와 10 mm에서 310 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 이하의 낮은 농도에서 세포독성을 보였으며, SNU-601에서는 2 mm 추출물이 510.20~657.79 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 로 다른 추출물에 비해 탁월한 효과를 보였다. 즉,

Calu-6와 SNU-601 세포주에 대한 IC₅₀은 대조군에 비해 발아에 의하여 세포독성 효과가 증가되었지만, MCF-7와 Caco-2의 경우에는 항암효과가 없는 것으로 나타났다. 이와 같이 암세포 종류에 따라 상이한 결과를 보이는 것은 발아과정 중에 효소의 변화에 의해 생성된 2차대사물질이 효과일 것으로 추측되며, 앞으로 이에 대한 보다 심도있는 연구가 필요할 것으로 생각된다.

적 요

식물에 존재하는 천연물질은 예로부터 건강증진 및 질병치료를 위하여 다양하게 이용되어 왔고, 실제로 morphine, ephedrine 등과 같이 천연물에서 유래한 의약품이 현재에도 질병치료에 널리 응용되고 있다. 메밀 (*Fagopyrum esculentum* Möench)의 proanthocyanidine, rutin, lignan 등은 항산화, 항균 활성 및 항암효과를 나타내는 성분으로 보고 (Cassidy, 1996; Rym *et al.*, 1996)되었다. 따라서 본 실험에서는 메밀의 기능성 물질의 확보와 가공을 통한 원료 고부가가치 창출을 목표로 국내산 메밀을 발아 길이별로 추출물을 제조하여 식품성 성분의 생리활성 인자를 탐색할 목적으로 각 길이별 추출물로 항산화 활성 및 항미생물 활성을 측정하였다. 먼저, 항산화 활성에서 DPPH의 50%를 환원 시키는데 필요한 시료의 양(RC₅₀)은 무발아에서 50.41 µg/mL, 발아길이 10 mm에서 80.57 µg/mL, 발아길이 2 mm에서 93.77 µg/mL, 발아길이 5 mm에서 107.09 µg/mL 순으로 천연항산화제인 Vit. C 5.98 µg/mL보다는 약하지만, 합성 항산화제인 BHT 163.96 µg/mL보다는 월등히 뛰어난 라디칼 소거능이 확인되었다. 발아 길이별 각 추출물의 항미생물 활성은 최고농도 40 mg/mL에서 그람양성균인 *S. aureus*의 투명저지대의 직경이 4-10 mm 였고, 그람음성균인 *P. aeruginosa*는 2-9 mm의 범위에서 증식이 억제되어 항균활성은 비교적 높은 것으로 판단되었으며, 그 외의 균주에서는 본 실험에서 사용한 첨가농도로는 완전한 증식억제 효과가 나타나지 않았다. 무발아 시료와 비교할 때 발아가 진행되면서 항균력이 떨어졌다. 암세포 증식 억제효과는 최고농도 800 µg/mL에서 Calu-6 세포의 경우 발아 길이 5 mm 시료에서 95.12%, 무발아 추출물은 87.15%의 높은 암세포 생육억제활성을 나타내었다. 동일 농도에서 발아 길이 5 mm 인 시료의 경우 SNU-601에 대하여 85.33%의 억제효과를 보였다. 그러나 유방암세포인 MCF-7과 대장암세포인 Caco-2의 경우 최대농도의 시료를 첨가한 경우에도 세포증식을 억제하지 못하였다. 메밀의 발아 길이별 IC₅₀ 값을 살펴보면, Calu-6에서 발아 길이 5 mm 추출물에서 301.06 µg/mL, SNU-601에서 2 mm 추출물이 510.20 µg/mL로 탁월한 효과를 보였다. 즉, Calu-6와 SNU-601 세포주에 대한 IC₅₀은 대조군에 비해 발아에 의하여 세포독성 효과를 증가되었지만, MCF-7와 Caco-2에 대한 항암효과는 없음을 알 수 있었다.

사 사

본 논문은 2003년도 농림기술개발사업 연구비 지원에 의하여 수행된 연구결과와 일부이며 연구비 지원에 감사드립니다.

LITERATURE CITED

Bauer AW, Kibby MM, Sherris JC, Turck M (1996) Antibiotic

susceptibility testing by standardized single disc method. *AM J. Clin Pathol* 45:493-496.

Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset C (1995) Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Technology*. 28:25-30.

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.

Cho BM, Yoon SK, Kim WJ (1985) Changes in Amino Acids and Fatty Acids Composition during Germination of Rapeseed. *Korean J. Food Sci. Technol* 17(5):371-376.

Choe M, Kim JD, Park KS, Oh SY, Lee SY (1991) Effect of Buckwheat Supplementation on Blood Glucose Levels and Blood Pressure in Rats. *Korean J. Food Science and Nutrition*. 20(4):300-305.

Colmenarse De Ruiz AS, Bressani R (1990) Effect of germination on the chemical composition and nutritive value of amaranth grain. *Cereal Chem*. 67(6):519.

Dnizot FD, Rita L (1986) Rapid colorimetric assay for cell growth and survival: Modifications to the tetrazolium dye procedure giving improved sensitivity and reliability. *J. Immunol Methods* 22:271-277.

Dorrell DG (1971) Fatty acid composition of buckwheat seed. *J.A.O.C.S.* 48, 693.

Han WS (2005) Isolation of Antimicrobial Compounds from *Aralia cordata* Thunb. Extract. *Korean J. Medicinal Crop Sci*. 13(4):182-185.

Havsteen B (1983) Flavonoids a class of natural products of high pharmacological potency. *Biochem. Pharm.* 32:1141.

Hsu K, Leung HK, Finney PL, Morad MM (1980) Effect of germination on nutritive value and baking properties of dry peas, lentils, and faba beans. *J. Food Sci.* 45:87.

Ikeda K, Kusano T (1983) Purification and properties of the trypsin inhibitors from buckwheat seed. *Agric. Biol. Chem.* 47(7):1481.

Ikeda K, Arioka K, Kujii S, Kusano T, Oku M (1984) Effect on buckwheat protein quality of seed germination and changes in trypsin inhibitor content. *Cereal Chem*, 61(3):236.

Kang DZ, Um JB, Lee SK, Lee JH (2003) Content of Rutin and Monacolin K in the Red Buckwheat Fermented with *Monascus ruber*. *Korean J. Food Sci. Technol.* 35(2):242-245.

Kim JS, Park YJ, Yang MH, Shim JW (1994) Variation of rutin content in seed and plant of buckwheat germplasm (*Fagopyrum esculentum* Moench). *Korean J. Breed.* 26(4):384-388.

Kim SJ (2005) Antimicrobial Activities of Lactic Acid Bacteria Isolated from *Mul-Kimchi*. *Korean J. Food Preserv.* 12(3):263-266.

Koh MS (2004) Antimicrobial activity of *Saururus chinensis* Baill extract. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 33(7):1098-1105.

Ko MS, Park BH (1983) Changes of Sugar Contents of Mung Bean during Germination. *Korean J. Food Science and Nutrition*. 12(3):236-239.

Kwak CS, Lim SJ, Kim SA, Park SC, Lee MS (2004) Antioxidative and antimutagenic effects of Korean buckwheat, sorghum, millet and jpb's tears. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 33(6):921-929.

Kwon TB (1994) Changes in rutin and fatty acids of buckwheat

- during germination. Korean J. Food Science and Nutrition. 7(2):124-127.
- Lee GD, Yoon SR, Kim JO, Hur SS, Seo KI** (2004) Monitoring on the Tea with Steaming and Drying Process of Germinated Buckwheat. Korean J. Food Science and Nutrition. 33(1):212-217.
- Lee JH, Chang YI, Chang KS** (2000) Effect of Gamma Irradiations on Physical Properties of Buckwheat Starch. Food Engineering Progress. 4(2):110-119.
- Lee JS, Maeng YS, Ju JS** (1992) The effect of buckwheat supplement on metabolic status of streptozotocin-induced diabetic rats, Annual Report of Korea Nutr. Hallym Univ. 9, 21.
- Lee JS, Park SJ, Sung KS, Han CK, Lee MH, Jung CW, Kwon TB** (2000) Effects of germinated-buckwheat on blood pressure, plasma glucose and lipid levels of spontaneously hypertensive rats. Korean J. Food Sci. Technol. 32(1):206-211.
- Lee MH, Son HS, Choi OK, Oh SK, Kwon TB** (1994) Changes in physico-chemical properties and mineral contents during buckwheat germination. Korean J. Food Science and Nutrition. 7(4):267-273.
- Lee MH, Woo SJ, Oh SK, Kwon TB** (1994) Changes in contents and composition of dietary fiber during buckwheat germination. Korean J. Food Science and Nutrition. 7(4):274-283.
- Lee OH, Jung SH, Son JY** (2004) Antimicrobial activity of clove extract by extraction solvents. J. Korean Soc Food Sci Nutr. 33(3):494-499.
- Macrae R, Robinson RK, Sadler MJ** (1993) Buckwheat, Encyclopaedia of food science, food technology and mutation. 1:516.
- Maeng YS, Park HK, Kwon TB** (1990) Analysis of Rutin Contents in Buckwheat and Buckwheat Foods. Korean J. Food Sci. Technol 22(7):732-737.
- Marshall HC, Proneranz Y** (1982) Description, breeding, production and utilization. Adv. Cereal Sci. Technol., 5:127.
- Marshall HG, Pomeranz Y, Chapter G** (1982) Buckwheat description, breeding, production and utilization. In Volume V, Advances in cereal and technology, Am. Ass. of Cereal Chem. 157.
- Mazza G** (1988) Lipid content and fatty acid composition of buckwheat seed. Cereal Chem. 65(2):122.
- Nakamura S, Kato A, Kobayashi K** (1991) New antimicrobial characteristics of lysozyme-dextran conjugate. J. Agric Food Chem. 39:647-650.
- Oh DH, Lee MK, Park BK** (1999) Antimicrobial activities of commercially available tea on the harmful foodborne organism. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 28:100-106.
- Ohara J, Ohinata H, Muramatsu N, Oike T, Matsuhashi T** (1989) Enzymatic degradation of rutin in processing of buckwheat noddles, Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi. 36(2):121.
- Ohara T, Ohinata H, Muramatsu N, Matsuhashi T** (1989) Determination of rutin in buckwheat foods by high performance liquid chromatography. Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi. 36(2):114.
- Park CG, Bang KH, Lee SE, Cha MS, Sung JS, Park HW, Seong NS** (2001) Antibacterial activity from medicinal plant extracts on the *Staphylococcus aureus*. Korean J. Medicinal Crop Sci. 9(4):251-258.
- Rym KH, Eo SK, Kim YS, Lee CK, Han SS** (1996) Antimicrobial activity and acute toxicity of natural rutin. Kor. J. Pharmacogn. 27(4):309-315.
- Soda T, Kato J, Kiribuchi S, Aoki H** (1981) Properties of buckwheat protein from the standpoint of food processing. Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi. 28(6):297.
- Wee JH, Moon JH, Park KH** (2004) Isolation and Identification of Pratenion with Antimicrobial Activities from the Peanut Shells. Korean J. Food Sci. Technol. 36(4):643-647.
- 김영순** (2001) 메밀(*Fagopyrum esculentum* Moench) 잎의 성장 단계별 아미노산 함량의 변화. 보건과학논집. 27(1):19-23.
- 홍문화** (1990) 허준의 동의보감, 도서출판. p. 417.