



연구노트

Antioxidative and antimutagenic effects of *Panicum miliaceum* L.

Jeong Seob Park^{1†}, Jong Soon Lee^{2†}, Jeong Ho Lee^{3*}

¹The Food Industry Promotional Agency of Korea, Iksan 54576, Korea

²Department of Beauty Coordination, Chungnam State University, Cheongyang 33303, Korea

³Sunchang Research Institute of Health and Longevity, Sunchang 56015, Korea

기장의 항산화 활성 및 항돌연변이 효능

박정섭^{1†} · 이종순^{2†} · 이정호^{3*}

¹한국식품산업클러스터진흥원, ²충남도립대학교 뷰티코디네이션학과, ³(재)순창건강장수연구소

Abstract

The antioxidative and antimutagenic effects of a 80% methanol extract of *Panicum miliaceum* were examined using the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging assay, determination of the total polyphenol content, and the Ames test using *Salmonella typhimurium*. The DPPH radical scavenging activity (EC₅₀) and total polyphenol content of the 80% methanol extract of *P. miliaceum* were 67.43±4.28 µg/mL and 16.26±1.02 mg/g, respectively. The 80% methanol extract was sequentially fractionated using chloroform, *n*-butanol, and water, and the chloroform fraction was found to exhibit strong antioxidative effects. The antimutagenic effects of *P. miliaceum* against aflatoxin B1, 3-amino-1,4-dimethyl-5H-pyrido[4,3-b]indole, and 2-aminofluorene were then studied by the Ames test using *S. typhimurium* TA98 and TA100. The results obtained using the 80% methanol extract (600 µg/plate) and *S. typhimurium* TA98 and TA100 showed 95.2±2.3 and 89.8±4.5% inhibition of mutations caused by AFB₁, respectively. Similarly, the chloroform fraction (200 µg/plate) exhibited a >90% inhibition for both strains. These results therefore indicate that *P. miliaceum* exhibits both mutagenic and antioxidant activities, thereby rendering it suitable for use in a variety of food materials.

Key words : *Panicum miliaceum*, antioxidative, antimutagenicity, *S. typhimurium* TA98, *S. typhimurium* TA100

서 론

현대인들의 건강에 대한 관심이 고조되면서 건강한 식생활을 위하여 기장 등 잡곡의 섭취가 증가하고 있다(Rimm 등, 1996; Kwak 등, 2004). 기장(*Panicum miliaceum* L.)은 인류가 가장 오래 재배한 작물로 외떡잎식물 벼목 화본과의 한해살이 초본으로 척박한 환경에서도 적응성이 높고, 재배 기간이 짧아 온대에서 아열대에 이르기까지 광범위한 지역에서 재배한다(Kim 등, 2016; Kim 등, 2017;

Kang 등, 2019; Yun 등, 2019). 주성분은 당질, 단백질, 지방질, 식이섬유, 비타민 A, 무기성분 등의 영양성분이 함유되어 인체 건강증진에 유익한 농작물이다(Ha와 Lee, 2001; Kim 등, 2017). 식물계에 널리 분포되어 있는 페놀성 화합물은 다양한 화학구조와 분자량을 가지며, phenolic hydroxyl기가 단백질 등 거대분자와 결합하여 항산화, 항암, 항균 등 생리활성을 가진다. 곡류에 함유되어 있는 polyphenolic 화합물은 우수한 항산화 활성을 가지고 있다(Middleton과 Kandaswami, 1994; Rice-Evans 등, 1997). Ames 세균시험계

*Corresponding author. E-mail : woju1119@naver.com, Phone : +82-63-653-8708, Fax : +82-63-653-8710

†These authors contributed equally to this work.

Received 25 February 2020; Revised 26 March 2020; Accepted 07 April 2020.

Copyright © The Korean Society of Food Preservation.

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

는 *Salmonella*를 이용해 돌연변이 유발물질이나 산화물질 억제 등에 대한 시험법으로 항돌연변이 효능을 측정한다. 사용되는 균주는 구조돌연변이원(frame shift mutation)인 *S. typhimurium* TA98과 염기쌍치환돌연변이원(base-substitute mutation)인 *S. typhimurium* TA100이 이용된다(Maron와 Ames, 1983). 이러한 방법으로 검색된 활성 물질은 동물세포에서도 80% 이상 효능을 발휘하여 천연물질을 검색하는데 널리 이용되고 있다(Zeiger, 1987). Aflatoxin B₁(AFB₁)의 암 유발 원인은 생체내 간의 microsomal enzyme system 가운데 mixed function oxidase에 의해 대사 활성화되어 친전자성인 핵산이나 단백질과 함께 첨가 생성물을 형성하여 불활성 또는 돌연변이를 일으킨다(Singer와 Grunberger, 1983). 아플라톡신은 인체에 노출되면 발암원으로 작용하여 간암 발생을 약 60배 증가시킨다(Eaton과 Gallagher, 1994). 3-Amino-1,4-dimethyl-5H-pyrido[4,3-b]indole(Trp-P-1)은 단백질과 지방을 함유하고 있는 식품을 굽거나 튀길 때 많이 발생한다. 특히 생선이나 패스트푸드에 함유되어 돌연변이원으로 섭취하는 물질이다(Weng 등, 2007). Trp-P-1은 심장의 모세관이나 관상동맥과 결합하고, 신장에서 사구체의 모세혈관 소동맥과 결합한다. 이는 P450_{1A}의 BNF-inducible enzyme에 의해 활성화됨과 동시에 헤테로 고리형 아민으로 변형되어 돌연변이원으로 작용한다(Yamaizumi 등, 1980). 2-Aminofluorene(2-AF)은 디젤엔진이나 화석연료의 불완전 산화에 의해 발생하는 nitro-화합물로서 DNA adduct를 형성하여 암을 유발시키는 것으로 알려져 있다(Xue와 Warshawsky, 2005).

새만금은 우리나라 최대 간척지로 개발이 완료되면 농업용지 중 약 52%인 4,469 ha가 곡물생산을 위한 친환경적 단농산업단지로 조성되는 것으로 계획되어 있다. 간척지에 재배 가능한 농작물 연구는 대부분 벼농사 위주이었으나, 최근에는 밭작물에 대한 연구가 증가하고 있다(Jung 등, 2014; Kang 등, 2019). 간척지에 재배할 수 있는 기능성 농작물의 발굴은 우리나라 미래 농업발전에 크게 이바지할 수 있다(Kang 등, 2019). 이에 따라 간척지에 재배 적합한 작물을 발굴하고, 부가가치를 상승시키기 위한 품질 향상 및 기능성 연구가 필요하다. 간척지에 재배하는 작물은 품질과 기능면에서 다른 환경에서 재배한 작물보다 우수한 기능성을 갖추어야 한다. 농촌진흥청에서 새만금 간척지 토양의 염 농도를 측정된 후, 재배 가능한 작물을 연구한 결과, 기장은 토양 염 농도 0.3%에서도 생육할 수 있으며, 개간지, 척박지, 가뭄 등 척박한 환경에서도 잘 자라고, 생육기간이 70일에서 110일 정도이며, 물이 적어도 잘 재배된다(Ha와 Lee, 2001; Jung 등, 2014; Yoon 등, 2015; Choi 등, 2016; Kim 등, 2016; Kang 등, 2019). 기장은 현대인의 건강에 유익하여 전북에서 재배면적이 증가하고 있어 전북지역에서 재배된 기장에 대한 항산화 활성과

항돌연변이원성을 측정하여 보고하는 바이다.

재료 및 방법

시료 제조

본 연구에 사용된 기장은 2017년 전북 완주에서 재배한 기장(*Panicum miliaceum* L. cv. Ibaekchal)을 빗갈, 모양, 크기 등 외부형태를 육종학 전문가에게 감수 확인한 후 동결건조기(IIShinBioBase LP20, Dongducheon, Korea)를 이용하여 건조하였다. 건조된 기장을 50 mesh로 분쇄한 후 5배의 80% 메탄올을 가하여 45°C에서 6시간 동안 3회 진탕추출한 후 0.4 µm 필터로 여과시킨 후 감압농축기(Eyela N-1000, Tokyo, Japan)로 45°C에서 메탄올을 제거한 후 동결 건조하였다. 용매 분획은 기장 80% 메탄올 추출물을 초순수로 현탁한 후 클로로포름과 수포화 *n*-부탄올 순으로 분획한 후 농축시켜 -20°C에 보관하면서 실험에 사용하였다.

재료 및 시약

항산화 활성 측정은 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl(DPPH)와 Folin-Ciocalteu's phenol reagent는 Sigma-Aldrich(St. Louis, MO, USA)사 제품을 사용하였다. 항돌연변이원성 측정을 위해 aflatoxin B₁, 3-amino-1,4-dimethyl-5H-pyrido[4,3-b] indole, 2-aminofluorene 등은 Sigma-Aldrich(St. Louis, MO, USA)사 제품, monooxygenase(cytochrome P450) 활성을 위해 rat에 투여한 β-naphthoflavone과 phenobarbital, S9 mix를 제조하기 위한 NADP(β-nicotinamide adenine dinucleotide phosphate), D-glucose-6-phosphate, dimethyl sulfoxide(DMSO)는 Sigma-Aldrich(St. Louis, MO, USA)사 제품을 사용하였으며, 기타 시약은 1급 이상을 사용하였다. *Salmonella typhimurium* TA98(hisD3052)과 TA100(hisG46)은 한국생명공학연구원 유전자은행에서 분양받아 사용하였다.

DPPH 라디칼 소거활성 측정

DPPH 라디칼 소거활성은 Okawa 등(2001)의 방법에 준하여 실시하였다. 0.15 mM DPPH 용액 1 mL에 시료용액을 농도별로 0.1 mL를 혼합하여 37°C에서 30분 동안 반응시킨 후, 분광광도계(UV-1601, Shimadzu, Japan)를 이용하여 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 각 시료의 농도에 따른 DPPH 라디칼을 소거한 후 잔존하는 DPPH 라디칼을 50% 줄일 수 있는 농도(EC₅₀)로 계산하였다.

총폴리페놀 함량 측정

총폴리페놀 함량은 Slinkard와 Singleton(1977)의 방법을 일부 변형하여 측정하였다. 추출물 0.5 µg/10 mL (DMSO)

농도로 용해시킨 시료추출액 200 μ L와 증류수 1.8 mL, Folin-Ciocalteu's phenol reagent 200 μ L를 혼합하여 5분간 반응시킨 후, 7% Na_2CO_3 2 mL와 증류수 0.8 mL를 혼합한 다음 실온에서 90분 동안 반응시킨 후 750 nm에서 흡광도를 측정하였으며, gallic acid(Sigma Aldrich Co., MO, USA)의 검량선에 의하여 함량을 측정하였다.

S9 분획 제조

S9 분획 조제는 Ong 등(1980)의 방법에 따라 조제하였으며, 실험용 동물은 200 ± 10 g의 7주령된 rat(male, Sprague Dawley, 대전실험동물), 유도물질로는 phenobarbital, β -naphthoflavone을 사용하였다. 조제된 S9 분획은 0.5 mL씩 분주하여 -70°C 에 보관하면서 사용하였고, S9 mix는 Maron and Ames(1983)의 방법에 따라 조제하였다.

항돌연변이원성 시험

항돌연변이원성 측정은 Ames와 Maron(1983)의 Ames test를 개량한 preincubation 방법으로 실시하였다. 멸균시킨 시험관에 변이원 50 μ L, 0.1 M sodium phosphate buffer 0.5 mL(0.5% S9 mix 0.5 mL), 기장 추출물 50 μ L와 Oxoid Nutrient Broth No. 2(Oxoid Co. Ltd., Hampshire, England)에 12시간 배양시킨 균 배양액($1 - 2 \times 10^9$ CFU/mL, OD 0.4) 100 mL를 혼합하고, 37°C 에서 210 rpm으로 20분간 진탕 배양하였다. 배양액에 0.5 mM histidine과 biotin을 함유한 top agar 2 mL를 혼합한 후 minimal glucose agar plate(agar 15 g, 멸균수 930 mL, $50 \times \text{VB}$ salt 20 mL, 40% glucose 50 mL)를 평판 배지 상에 도포하여 37°C 에서 48시간 배양하여 발생한 복귀 돌연변이주(*his*⁺ revertant colony)의 수를 계수하여 돌연변이 억제 효능을 평가하였다. 돌연변이 억제 효능은 아래와 같이 계산하였으며, 각각의 실험은 2 plate씩 3반복 실시하였다.

$$\text{돌연변이 억제(\%)} = \frac{[(M - S_0) - S_1]}{(M - S_0)} \times 100$$

M: The number of revertants only in presence of mutagen

S_0 : The number of spontaneous revertants

S_1 : The number of revertants in presence of mutagen and sample

통계 분석

통계분석은 SPSS 통계 프로그램(Statistical Package for the Social Science, Ver. 12.0, SPSS Inc., Chicago, IL, USA)을 이용하여 각 측정군의 평균과 표준편차를 산출하고 처리간의 차이 유무를 one-way ANOVA(analysis of variation)

로 분석한 후 Duncan's multiple range test를 이용하여 $p < 0.05$ 수준에서 유의성을 검정하였다.

결과 및 고찰

항산화 활성

기장 80% 메탄올 추출물 및 분획물의 DPPH 라디칼 소거활성과 총폴리페놀함량을 측정하였다(Table 1). 기장 80% 메탄올 추출물의 DPPH 라디칼 소거활성(EC_{50})은 67.43 ± 4.28 $\mu\text{g/mL}$ 이며, 클로로포름 분획물은 5.27 ± 1.08 $\mu\text{g/mL}$, *n*-부탄올 분획물은 13.82 ± 2.42 $\mu\text{g/mL}$, 물층은 53.92 ± 5.76 $\mu\text{g/mL}$ 이었다. 총폴리페놀함량은 80% 메탄올 추출물에서 16.26 ± 1.02 mg/g이었으며, 클로로포름 분획물은 9.07 ± 0.38 mg/g, *n*-부탄올 분획물은 4.42 ± 0.38 mg/g, 물층은 0.43 ± 0.04 mg/g이었다. 기장 80% 메탄올 추출물에서 DPPH 라디칼 소거활성 및 총폴리페놀함량이 높았으나, 분획물에서 항산화 활성이 저하된 것은 용매분획에 의하여 항산화 활성 성분이 클로로포름 분획물과 *n*-부탄올 분획물로 분배된 것으로 판단된다.

곡류에는 약 500 $\mu\text{g/g}$ 정도의 페놀화합물을 함유되어 있다(Senter 등, 1983). 일반적으로 총폴리페놀함량이 높을수록 DPPH 라디칼 소거활성도 높다고 보고한 연구결과와 유사한 경향으로 나타났다. 보리와 메밀에 함유된 cathchin과 proanthocyanidin은 항산화 활성을 갖고 있으며, lignan은 항산화 활성 및 항암활성을 나타내는 성분이다. 쌀에 함유된 isovitexin, phytate 성분은 항산화 활성을 갖는 것으로 보고되었다(Ramarathanam 등, 1988; Watanabe, 1998). Ko 등(2011)에 따르면 붉은기장과 노란찰기장의 DPPH 라디칼 소거활성은 19.81 TE/g과 21.11 mg TE/g, 총폴리페놀함량은 각 45.47 mg/g과 45.50 mg/g이라 보고하였으며, Kwak 등(2004)은 기장 메탄올 추출물에서 DPPH 라디칼

Table 1. DPPH radical scavenging activity and total polyphenol contents of the methanol extract and its solvent-fractionated fractions of *P. miliaceum*

| Sample | DPPH radical scavenging activity ($\mu\text{g/mL}$, EC_{50}) | Total polyphenol ¹⁾ contents (mg/g) |
|----------------------------|--|--|
| 80% methanol extract | $67.43 \pm 4.28^{2)3)}$ | 16.26 ± 1.02^a |
| Chloroform fraction | 5.27 ± 1.08^b | 9.07 ± 0.38^b |
| <i>n</i> -Butanol fraction | 13.82 ± 2.42^c | 4.42 ± 0.38^c |
| Aqueous fraction | 53.92 ± 5.76^d | 0.43 ± 0.04^d |

¹⁾Each μg gallic acid equivalents (GAE)/g sample.

²⁾Each value expressed as the mean \pm SD (n=4).

³⁾Means in the same column with the different are significantly different ($p < 0.05$) by Duncan's multiple range test.

소거활성(EC_{50})이 2.902 mg/assay이었다고 보고하였다. 본 연구에서는 기장 80% 메탄올 추출물에서 $67.43 \pm 4.28 \mu\text{g/mL}$ 이었으며, 총폴리페놀함량은 $16.26 \pm 1.02 \text{ mg/g}$ 으로 분석된 연구결과와 유사하였다. Seo 등(2011)에 따르면 기장 메탄올 추출물에서 phenolic compound 18종을 분석한 결과, 핀밀 분쇄 시료에서는 $47.75 \mu\text{g/g}$ ER이었고, 저온초미 분쇄 시료에서는 $72.49 \mu\text{g/g}$ ER이었다고 보고하였다. Kim 등(2016)에 따르면 기장에 대한 DPPH 라디칼 소거활성 연구결과 에탄올 추출물에서 농도 의존적으로 항산화 활성이 증가하였다고 보고한 연구결과와 유사하게 나타났다. Yen 등(1992)의 연구에 따르면 식물 중의 polyphenol은 항산화 활성, 항돌연변이원성, 식이섬유, 갈변 물질과 관련이 있다고 보고하였다.

80% 메탄올 추출물의 항돌연변이 활성

기장 80% 메탄올 추출물의 항돌연변이 활성을 측정하기 위하여 200 $\mu\text{g/plate}$, 400 $\mu\text{g/plate}$, 600 $\mu\text{g/plate}$ 의 농도로 *S. typhimurium* TA98에서 AFB₁, Trp-P-1, 2-AF 돌연변이원에 대한 돌연변이 억제 효능을 측정하였다(Fig. 1). AFB₁을 측정된 결과, 200 $\mu\text{g/plate}$ $89.5 \pm 3.6\%$, 400 $\mu\text{g/plate}$ $93.3 \pm 1.8\%$, 600 $\mu\text{g/plate}$ $95.2 \pm 2.3\%$ 으로 측정되었으며, 600 $\mu\text{g/plate}$ 농도에서는 200 $\mu\text{g/plate}$ 농도보다 약 5.7% 돌연변이 억제 효능이 증가하였다. Trp-P-1에서는 200 $\mu\text{g/plate}$ $83.2 \pm 4.5\%$, 400 $\mu\text{g/plate}$ $89.5 \pm 4.2\%$, 600 $\mu\text{g/plate}$ $89.5 \pm 1.8\%$ 로 측정되었으며, 600 $\mu\text{g/plate}$ 농도에서는 200 $\mu\text{g/plate}$ 농도보다 약 6.6% 돌연변이 억제 효능이 증가하였다. 2-AF는 200 $\mu\text{g/plate}$ $94.6 \pm 2.4\%$, 400 $\mu\text{g/plate}$ $96.2 \pm 2.3\%$, 600 $\mu\text{g/plate}$ $97.1 \pm 3.6\%$ 로 돌연변이 억제 효능이 측정되었다. 기장 80% 메탄올

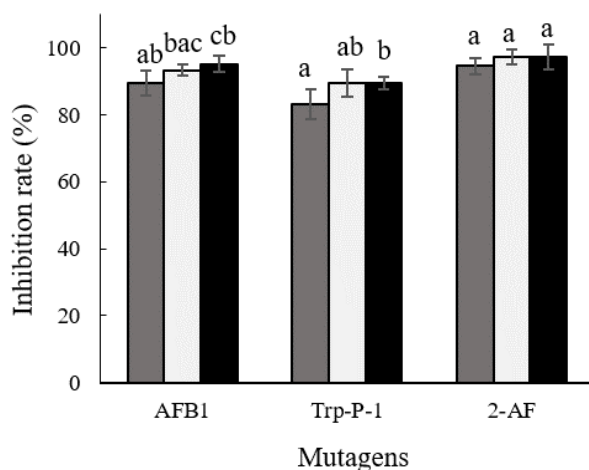


Fig. 1. Antimutagenic effects of 80% methanol extracts of *P. miliaceum* in *S. typhimurium* TA98.

■, 200 $\mu\text{g/plate}$; □, 400 $\mu\text{g/plate}$; ▨, 600 $\mu\text{g/plate}$. Data values were expressed as mean \pm SD (n=3).

추출물은 모든 처리군에서 80% 이상 돌연변이 억제 효능이 나타났으며, Trp-P-1에서 활성이 가장 높았다. *S. typhimurium* TA100에서 AFB₁, 2-AF에 대한 돌연변이 억제 효능은 Fig. 2와 같다. AFB₁을 측정된 결과, 200 $\mu\text{g/plate}$ 에서 $87.1 \pm 3.6\%$, 400 $\mu\text{g/plate}$ $88.5 \pm 3.2\%$, 600 $\mu\text{g/plate}$ $89.8 \pm 4.5\%$ 로 돌연변이 억제 효능이 측정되었다. 2-AF에서는 200 $\mu\text{g/plate}$ $45.1 \pm 4.1\%$, 400 $\mu\text{g/plate}$ $49.2 \pm 2.8\%$, 600 $\mu\text{g/plate}$ $71.8 \pm 3.9\%$ 로 돌연변이 억제 효능이 측정되었다. AFB₁에서는 높은 돌연변이 억제 효능이 나타낸 반면, 2-AF에서는 *S. typhimurium* TA98에서와 달리 돌연변이 억제 효능이 낮게 나타났다.

용매 분획물의 항돌연변이 활성

S. typhimurium TA98에서 AFB₁, Trp-P-1, 2-AF와 *S. typhimurium* TA100에서 AFB₁, 2-AF를 돌연변이원으로 하였을 때 기장 80% 메탄올 추출물에서 돌연변이 억제 효능이 측정되어 기장 80% 메탄올 추출물을 클로로포름과 *n*-부탄올을 이용하여 용매 분획한 분획물을 50 $\mu\text{g/plate}$ 의 농도로 처리한 후 돌연변이 억제 효능을 측정하였다. *S. typhimurium* TA98에서 AFB₁, Trp-P-1, 2-AF를 돌연변이원으로 하였을 때 돌연변이 억제 효능은 Fig. 3과 같다. 클로로포름 분획물에서 AFB₁은 $86.4 \pm 4.3\%$, Trp-P-1 $75.3 \pm 3.5\%$, 2-AF에서 $18.6 \pm 3.4\%$ 로 AFB₁에서 돌연변이 억제 효능이 높게 나타났다. *n*-부탄올 분획물에서 AFB₁은 $73.8 \pm 2.8\%$, Trp-P-1 $30.5 \pm 3.6\%$, 2-AF $13.4 \pm 3.4\%$ 으로 측정되었다. Trp-P-1과 2-AF에서 돌연변이 억제 효능이 낮게 나타났지만, AFB₁에서 돌연변이 억제 효능이 높게 나타났다. 물층에서는 AFB₁ $18.6 \pm 2.4\%$, Trp-P-1 $20.7 \pm 3.1\%$, 2-AF $4.2 \pm 1.5\%$ 로

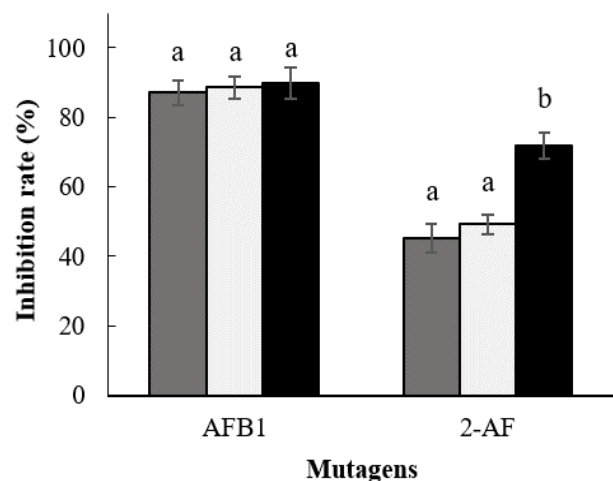


Fig. 2. Antimutagenic effects of 80% methanol extracts of *P. miliaceum* in *S. typhimurium* TA100.

■, 200 $\mu\text{g/plate}$; □, 400 $\mu\text{g/plate}$; ▨, 600 $\mu\text{g/plate}$. Data values were expressed as mean \pm SD (n=3).

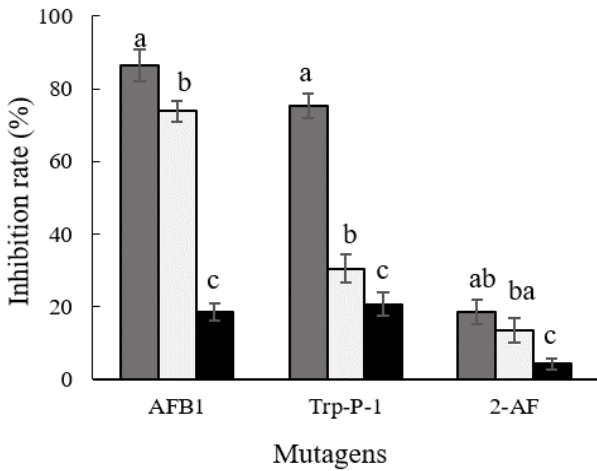


Fig. 3. Antimutagenic effects of solvent-fractionated fractions of *P. miliaceum* in *S. typhimurium* TA98.

■, Chloroform Fr; □, *n*-Butanol Fr; ■, Aqueous Fr. Date values were expressed as mean±SD (n=3).

돌연변이 억제 효능이 낮게 나타났다. *S. typhimurium* TA98에서 클로로포름 분획물, *n*-부탄올 분획물, 물층의 순으로 돌연변이 억제 효능이 나타났다. *S. typhimurium* TA100에서 AFB₁, 2-AF를 돌연변이원으로 하였을 때 돌연변이 억제 효능은 Fig. 4와 같다. 클로로포름 분획물에서 AFB₁은 32.6±4.3%, 2-AF 33.5±2.5%로 돌연변이 억제 효능이 나타났으며, *n*-부탄올 분획물에서 AFB₁ 8.2±1.6%, 2-AF 2.4±1.3%, 물층 AFB₁은 2.6±0.8%, 2-AF 5.2±1.3%로 돌연변이 억제 효능이 낮게 나타났다. 돌연변이 억제 효능 성분은 대부분 클로로포름 분획물에 용해된 것으로 판단된다.

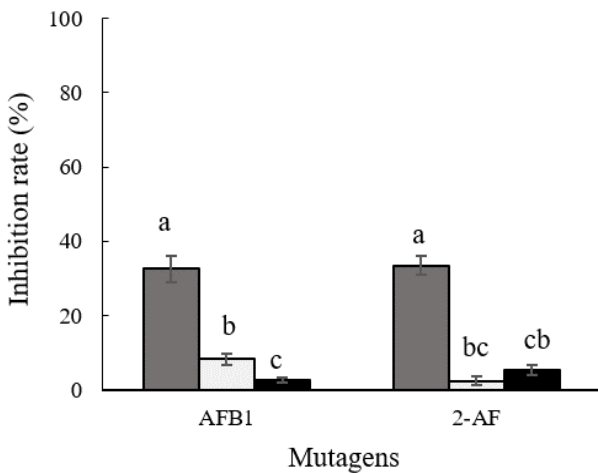


Fig. 4. Antimutagenic effects of solvent-fractionated fractions of *P. miliaceum* in *S. typhimurium* TA100.

■, Chloroform Fr; □, *n*-Butanol Fr; ■, Aqueous Fr. Date values were expressed as mean±SD (n=3).

용매 분획물의 농도에 따른 항돌연변이 활성

S. typhimurium TA98에서 AFB₁, Trp-P-1, 2-AF를 돌연변이원으로 하였을 때 농도별 클로로포름 분획물과 *n*-부탄올 분획물의 돌연변이 억제 효능을 측정하기 위하여 각 분획물을 10 µg/plate, 25 µg/plate, 50 µg/plate, 100 µg/plate, 150 µg/plate, 200 µg/plate의 농도로 처리하였다(Fig. 5). AFB₁에서 클로로포름 분획물에서 80% 이상 돌연변이 억제 효능을 나타낸 농도는 100 µg/plate 87.7±4.2%, 150 µg/plate 89.8±4.4%, 200 µg/plate 94.3±1.8%로 측정되었다. *n*-부탄올 분획물에서는 14.8±5.6% - 78.5±3.8% 돌연변이 억제 효능이 나타났으며, *n*-부탄올 분획물보다 클로로포름 분획물에서 돌연변이 억제 효능이 높게 나타났다. Trp-P-1에서 클로로포름 분획물에서 80% 이상 돌연변이 억제 효능을 나타낸 농도는 100 µg/plate에서 84.3±7.2%, 150 µg/plate 89.8±5.2%, 200 µg/plate 90.63±4.5%로 측정되었다. *n*-부탄올 분획물에서는 2.7±1.4% - 52.7±6.4% 돌연변이 억제 효능이 나타났다. 2-AF에서 클로로포름 분획물 100 µg/plate에서 32.8±5.4%, 150 µg/plate 40.2±6.2%, 200 µg/plate 42.8±2.6%로 측정되었으며, *n*-부탄올 분획물에서는 2.7±1.4% - 52.7±6.4% 돌연변이 억제 효능이 낮게 나타났다. *S. typhimurium* TA98에서 AFB₁, Trp-P-1, 2-AF에 대한 돌연변이 억제 효능은 클로로포름 분획물에서 높게 나타났다.

S. typhimurium TA100에서 돌연변이원 AFB₁, 2-AF에 대한 돌연변이 억제 효능을 측정하였다(Fig. 6). AFB₁에서 80% 이상 돌연변이 억제 효능을 나타낸 클로로포름 분획물은 150 µg/plate에서 84.7±6.4%, 200 µg/plate 86.4±4.2%로 측정되었다. *n*-부탄올 분획물에서는 3.6±1.2% - 52.1±5.2%로 돌연변이 억제 효능이 낮게 나타났다. 2-AF에서 80% 이상 돌연변이 억제 효능이 나타난 클로로포름 분획물은 150 µg/plate에서 84.6±6.4%, 200 µg/plate 86.2±8.6%로 측정되었으며, *n*-부탄올 분획물에서는 3.6±1.4% - 52.1±6.7%로 돌연변이 억제 효능이 낮게 나타났다.

현대인들의 건강에 대한 관심이 고조되면서 다양한 잡곡류 섭취가 증가하고 있다. 기장은 단백질, 지방질, 비타민 A 등이 풍부하여 식재료로 각광 받고 있다(Ha와 Lee, 2001; Yoon 등, 2010). 기장 80% 메탄올 추출물과 80% 메탄올 추출물을 계통 분획한 클로로포름 분획물에서 DPPH 라디칼 소거활성과 총폴리페놀 함량이 가장 높았다. 기장에서 항산화 활성을 갖는 성분은 대부분 클로로포름 분획물에 용해된 것을 알 수 있었으며, DPPH 라디칼 소거활성이 강할수록 총폴리페놀 함량이 높게 나타났다. 염기상치환 변이 균주인 *S. typhimurium* TA98에서 돌연변이원을 AFB₁, Trp-P-1, 2-AF로 하였을 때 클로로포름 분획물과 *n*-부탄올 분획물에서 비교적 높은 돌연변이 억제 효능이 나타났다. 구조돌연변이 균주인 *S. typhimurium* TA100에

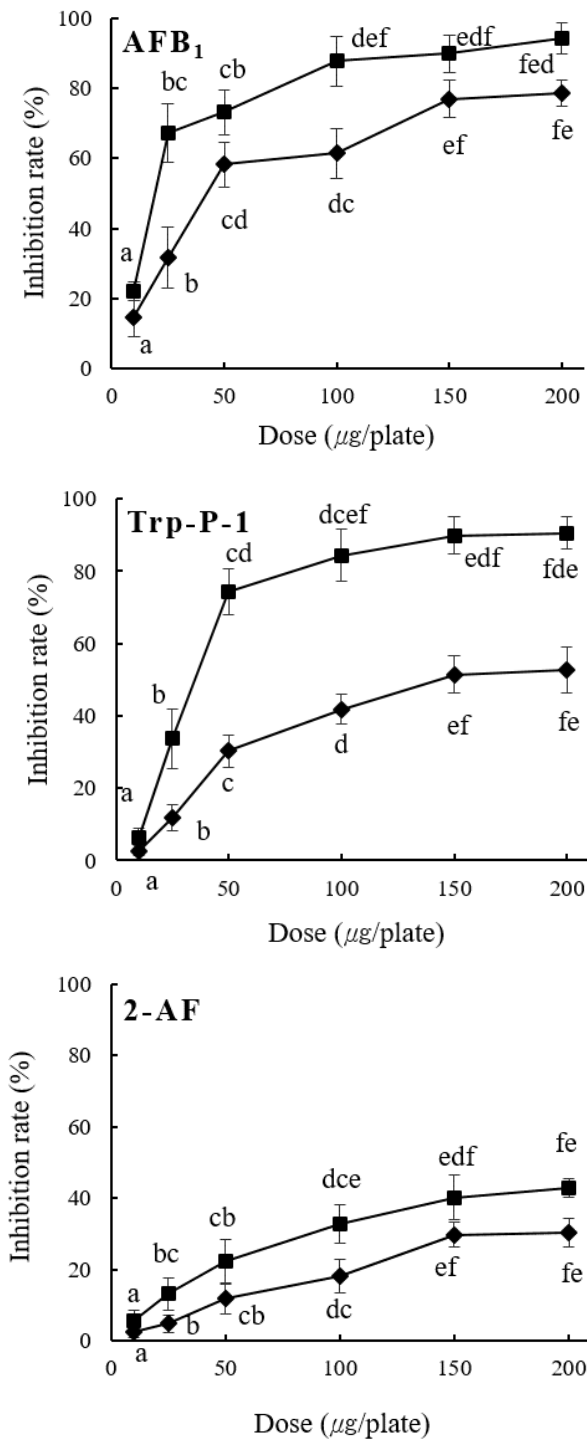


Fig. 5. Antimutagenic effects of solvent-fractionated fractions of *P. miiaceum* methanol extracts in *S. typhimurium* TA98. —■—, Chloroform Fr; —◆—, *n*-Butanol Fr. Data values were expressed as mean±SD (n=3).

서 돌연변이원을 AFB₁, 2-AF로 하였을 경우 클로로포름 분획물에서 높은 돌연변이 억제 효능이 나타났다. Kwak

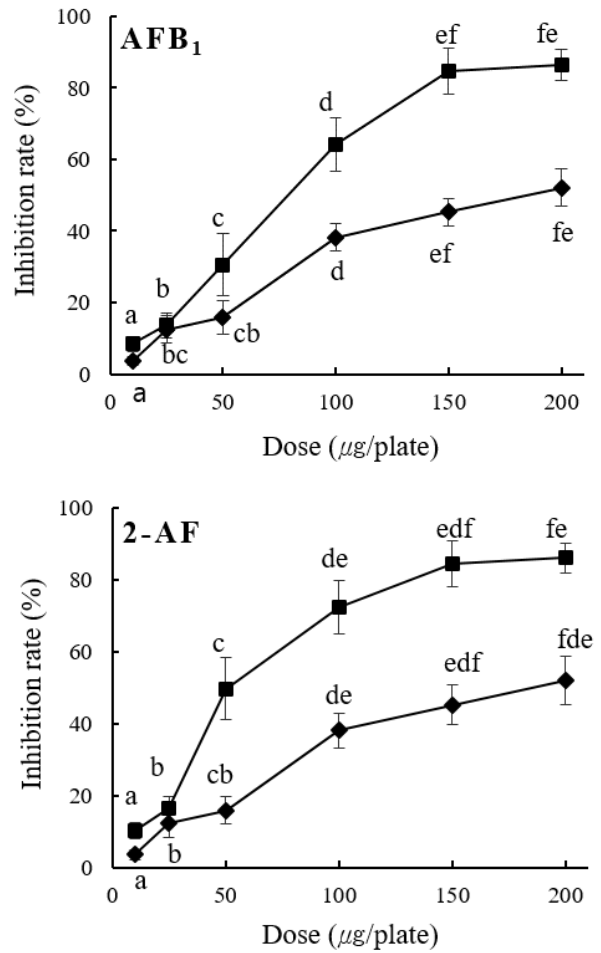


Fig. 6. Antimutagenic effects of solvent-fractionated fractions of *P. miiaceum* methanol extracts in *S. typhimurium* 100. —■—, Chloroform Fr; —◆—, *n*-Butanol Fr. Data values were expressed as mean±SD (n=3).

등(2004)에 따르면 가장 에탄올 추출물이 *S. typhimurium* TA98과 TA100에서 돌연변이를 2-anthramine으로 하였을 경우 98.9%와 83.9%의 항돌연변이원성이 나타났다고 보고한 결과와 유사하였다. 본 연구에서 AFB₁, 2-AF을 돌연변이원으로 하였을 경우 *S. typhimurium* TA98에서는 높은 돌연변이 억제 효능이 나타난 반면, *S. typhimurium* TA100에서 낮은 돌연변이 억제 효능이 나타난 것은 기장의 돌연변이 억제 효능 물질이 구조돌연변이 균주의 repair system에 관여하는 것으로 판단된다. Park 등(2012)의 연구에서 단마와 장마, 영여자 80% 메탄올이 *S. typhimurium* TA98 (hisD3052)에서 1-NP, AFB₁, Trp-P-1에 대한 돌연변이 억제 효능이 나타났고, 클로로포름 분획물에서 돌연변이 억제 활성이 높았다는 연구결과와 유사하였다. Bac 등(2002)에 따르면 비파의 *S. typhimurium* TA100 균주에 대한 돌연변이 억제 연구에서 메탄올 추출물을 계통 분획한 클로로포름

분획물이 돌연변이 억제 효능이 있다고 보고하였다. Yoo 등(2007)의 연구에서 살구 에탄올 추출물이 *S. typhimurium* TA100에 대한 항돌연변이 효능이 있다고 보고하였으며, 신나무 껍질 메탄올 추출물에서 *S. typhimurium* TA98과 TA100에서 80% 이상 항돌연변이원성이 나타났다고 보고된 결과와도 유사하였다(Oh 등, 2004). Ham 등(2004)의 *S. typhimurium* TA100 균주에 대한 돌연변이 효능 연구에서 산마늘 에탄올 추출물의 처리 농도 200 µg/plate에서 88.2% 돌연변이를 억제하였으며, 처리농도가 증가함에 따라 억제 활성도 증가하였다는 연구결과와 유사하였다. Dashwood 등(1998)은 chlorophyll 성분의 수용성 유도체인 chlorophyllin은 세균 시험계에 있어서 heterocyclic amines, polycyclic aromatic hydrocarbons, aflatoxin 등의 돌연변이원에 대해 돌연변이 억제 효능이 있다고 보고하였다. Kang 등(2019)은 새만금 간척지에서 적응 가능한 잡곡자원을 선발하기 위하여 조, 기장, 수수 등 3종에 대하여 간척지와 일반지의 생육을 비교한 결과, 수수 다음으로 기장이 높은 염과 유기물 부족, 배수 불량 등의 생육환경과 간척지의 불량한 환경에서도 잘 생육되었다고 보고하였다. 이와 같이 기장은 항산화 활성과 항돌연변이 활성이 우수하여 다양한 식품재료로 개발할 수 있을 것으로 판단된다.

요 약

기장은 현대인의 건강에 유익하여 전북지역에서 재배가 증가하고 있어 전북지역에서 생산한 기장에 대한 항산화 활성과 항돌연변이원성을 측정하였다. 기장 80% 메탄올 추출물에서 DPPH 라디칼 소거활성(EC₅₀)은 67.43±4.28 µg/mL이었으며, 클로로포름 분획물은 5.27±1.08 µg/mL, *n*-부탄올 분획물 13.82±2.42 µg/mL이었다. 총폴리페놀 함량은 80% 메탄올 추출물에서 16.26±1.02 mg/g, 클로로포름 분획물 9.07±0.38 mg/g, *n*-부탄올 분획물 4.42±0.38 mg/g이었다. 기장 80% 메탄올 추출물(600 µg/plate)은 *S. typhimurium* TA98에서 AFB₁ 95.2±2.3%, Trp-P-1 89.5±1.8%, 2-AF 97.2±3.6%이었으며, *S. typhimurium* TA100에서 AFB₁ 89.8±4.5%, 2-AF 71.8±3.92%로 돌연변이 억제 효능이 나타났다. *S. typhimurium* TA98에서 클로로포름 분획물, *n*-부탄올 분획물, 물층의 AFB₁ 효능은 86.4±4.3%, 73.8±3.5%, 18.6±3.4%, Trp-P-1에서 75.3±3.5%, 30.5±3.9%, 20.7±3.1%가 나타났다. *S. typhimurium* TA98에서 각 분획물의 처리농도가 증가함에 따라 돌연변이 활성도 증가하였다. 클로로포름 분획물의 처리농도 200 µg/plate에서 AFB₁ 94.3±1.8%, Trp-P-1 90.6±4.5%으로 측정되었다. 이와 같이 기장은 항산화 활성과 돌연변이 억제 효능을 가지고 있어 다양한 식품소재로 개발이 가능할 것으로 판단된다.

감사의 글

이 논문은 2019년도 정부(미래창조과학부)의 재원으로 “한국연구재단-전통문화융합연구사업(NRF-2016M3C1B5907203)”과 중소벤처기업부와 한국산업기술진흥원의 “지역특화산업육성사업(R&D, R0006163)”으로 수행된 연구결과입니다.

Conflict of interests

The authors declare no potential conflict of interest.

ORCID

Jeong Seob Park <https://orcid.org/0000-0001-6500-2865>

Jong Soon Lee <https://orcid.org/0000-0001-5957-4410>

Jeong Ho Lee <https://orcid.org/0000-0002-1052-1497>

References

- Bae YI, Jeong CH, Shim KH. Nitrite-scavenging and antimutagenic effects of various solvent extract from different parts of loquat (*Eriobotrya japonica* Lindl). *Korean J Food Preserv*, 9, 92-96 (2002)
- Choi KH, Yu YJ, Seo SY, Kang CH, Lee KK, Song YJ, Kim CK, Lee SY, Jung KY. Effects of sowing time on the growth and yield of proso millet (*Panicum miliaceum* L.) in Jeonbuk area. *Korean J Crop Sci*, 61, 208-214 (2016)
- Dashwood R, Negishi T, Hayatsu H, Breinholt V, Hendricks J, Bailey G. Chemopreventive properties of chlorophylls towards aflatoxin B1: A review of the antimutagenicity and anticarcinogenicity data in rainbow trout. *Mutat Res*, 399, 245-253 (1998)
- Eaton DL, Gallagher EP. Mechanism of aflatoxin carcinogenesis. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 34, 135-172 (1994)
- Ha YD, Lee SP. Characteristic of proteins in Italian millet, sorghum and common millet. *Korean J Food Preserv*, 8, 187-192 (2001)
- Ham SS, Cui CB, Choi HT, Lee DS. Antimutagenic and cytotoxic effects of *Allium victorialis* extracts. *Korean J Food Preserv*, 11, 221-226 (2004)
- Jung NJ, Kim JK, Park TS. Selection of the Excellent Barnyard Millet Variety and Technical Development for their Weediness Prevention in Paddy Rice. Final Report

- of RDA, TRKO201400011110 (2014)
- Kang CH, Lee IS, Kwon SJ. Screening for fittest miscellaneous cereals for reclaimed land and functionality improvement of *Sorghum bicolor* cultivated in reclaimed land. Korean J Crop Sci, 64, 109-126 (2019)
- Kim JH, Cho HD, Hong SM, Lee JH, Lee YS, Kim DH, Seo KI. Antioxidant and antiproliferating effects of *Setaria italica*, *Panicum miliaceum* and *Sorghum bicolor* extracts on prostate cancer cell lines. Korean J Food Preserv, 23, 1033-1041 (2016)
- Kim MJ, Lee KH, Ko JY, Kim HJ, Lee SK, Park HY, Sim EY, Cho DH, Oh SK, Woo KS. Effect of cooking methods on cooked and antioxidant characteristics of cooked mixed grain rice with added proso millet. Korean J Food Nutr, 30, 218-225 (2017)
- Kim S, Ryu JH, Kim YJ, Jeong JH, Lee SH, Oh YY, Kim YD, Kim JH. Influence of soil salinity on the growth response and inorganic nutrient content of a millet cultivar. Korean J Crop Sci, 61, 113-118 (2016)
- Ko JY, Song SB, Lee JS, Kang JR, Seo MC, Oh BG, Kwak DY, Nam MH, Jeong HS, Woo KS. Changes in chemical components of foxtail millet, proso millet, and sorghum with germination. J Korean Soc Food Sci Nutr, 40, 1128-1135 (2011)
- Kwak CS, Lim SJ, Kim SA, Park SC, Lee MS. Antioxidative and antimutagenic effects of Korean buckwheat, sorghum, millet and job's tears. J Korean Soc Food Sci Nutr, 33, 921-929 (2004)
- Maron DM, Ames BN. Revised methods for the *Salmonella* mutagenicity test. Mutat Res, 113, 173-215 (1983)
- Middleton E, Kandaswami C. Potential health-promoting properties of citrus flavonoids. Food Technol, 48, 115-119 (1994)
- Oh HS, Cui CB, Choi HT, Kim SH, Jeon MS, Ham SS. Antimutagenic and cytotoxic effects of *Acer ginnala* Max. bark extracts. Korean J Food Preserv, 11, 550-556 (2004)
- Okawa M, Kinjo J, Nohara T, Ono M. DPPH(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) radical scavenging activity of flavonoids obtained from some medicinal plants. Biol Pharm Bull, 24, 1202-1205 (2001)
- Ong TM, Mukhtar M, Wolf CR, Zeiger E. Differential effects of cytochrome P450-inducers on promutagen activation capabilities and enzymatic activities of S-9 from rat liver. J Environ Pathol Toxicol, 4, 55-65 (1980)
- Park JS, Lee JH, Bang KS. Evaluation of antioxidant capacity and antimutagen activity of bulbil extracts of the *Dioscorea japonica* Decaisne and *Dioscorea batatas* Decaisne. Korean J Plant Res, 25, 200-208 (2012)
- Ramarathanam N, Osawa T, Namiki M, Kawakishi S. Chemical studies on novel rice hull antioxidants. 1. Isolation, fractionation, and partial characterization. J Agric Food Chem, 36, 732-737 (1988)
- Rice-Evans CA, Miller NJ, Paganga G. Antioxidant properties of phenolic compounds. Trends Plant Sci, 2, 152-159 (1997)
- Rimm EB, Ascherio A, Giovannucci E, Spiegelman D, Stampfer MS, Willet WC. Vegetable, fruit and cereal fiber intake and risk of coronary heart disease among men. JAMA, 275, 447-451 (1996)
- Senter SD, Horvat RJ, Forbus WR. Comparative GLC-MS analysis of phenolic acids of selected tree nuts. J Food Sci, 48, 798-799 (1983)
- Seo MC, Ko JY, Song SB, Lee JS, Kang JR, Kwak DY, Oh BG, Yoon YN, Nam MH, Jeong HS, Woo KS. Antioxidant compounds and activities of foxtail millet, proso millet and sorghum with different pulverizing methods. J Korean Soc Food Sci Nutr, 40, 790-797 (2011)
- Singer B, Grunberger D. Molecular Biology of Mutagens and Carcinogens. Switzerland, p 181-212 (1983)
- Slinkard K, Singleton VL. Total phenol analysis: Automation and comparison with manual methods. Am J Enol Vitic, 28, 49-55 (1977)
- Watanabe M. Catechines as antioxidants from buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) groats. J Agric Food Chem, 46, 839-845 (1998)
- Weng Y, Fang C, Turesky RJ, Behr M, Kaminsky LS, Ding X. Determination of the role of target tissue metabolism in lung carcinogenesis using conditional cytochrome P450 reductase-null mice. Cancer Res, 67, 7825-7857 (2007)
- Xue W, Warshawsky D. Metabolic activation of polycyclic and heterocyclic aromatic hydrocarbons and DNA damage: A review. Toxicol Appl Pharmacol, 206, 73-93 (2005)
- Yamaizumi Z, Shimoi T, Kasai H, Nishimura S, Takahashi Y, Nagao M, Sugimura T. Detection of potent mutagens, Trp-P-1 and Trp-P-2, in broiled fish. Cancer Lett, 9, 75-83 (1980)
- Yen GC, Tsai LC, Lii JD. Antimutagenic effect of Maillard browning products obtained from amino acids and

- sugars. *Food Chem Toxicol*, 30, 127-132 (1992)
- Yoo SJ, Kim SH, Jun MS, Oh HT, Choi HJ, Ham SS. Antioxidative, antimutagenic and cytotoxic effects of *Prunus armeniaca* extracts. *Korean J Food Preserv*, 14, 220-225 (2007)
- Yoon ST, Jea EK, Kim YJ, Jeong IH, Han TK, Kim TY, Cho YS, Kang HW. Growth and yield characteristics of foxtail millet, proso millet and sorghum according to sowing date in middle area in Korea. *Korean J Crop Sci*, 60, 197-211 (2015)
- Yoon ST, Lee MC, Kim JS, Zhang QU, Xu ZY, Kim YB, Kim TH, Nam JC, Nam MH, Lee YH, Hwang JB, Shim SI, Kim SM. Growth and yield characteristics of foxtail millet, common millet cereal crops on marginal agricultural lands. *Korean J Crop Sci*, 55, 350-356 (2010)
- Yun GS, Lee JW, Hwang SG, Kim IJ, Hong ST, Ko JY, Choi GH, Kim YS, Kim HS. A high-yielding and medium maturing proso millet (*Panicum miliaceum* L.) variety 'Cheongpungchal'. *Korean J Breed Sci*, 51, 55-60 (2019)
- Zeiger E. Carcinogenicity of mutagens: Predictive capability of salmonella mutagenesis assay for rodent carcinogenicity. *Cancer Res*, 47, 1287-1296 (1987)