

UV-C 조사가 땅콩새싹 유래 trans-resveratrol의 함량과 항산화능에 미치는 영향

박찬빈*, 노현정*, 이승현*, 이율하*, 김은서*, 이우일*

*건양대학교 의료신소재학과

e-mail: lee0519@konyang.ac.kr

Effect of UV-C irradiation on the content and antioxidant activity of trans-resveratrol derived from *Arachis hypogaea* L. sprout

Chan-Bin Park*, Hyeon-Jeong Noh*, Seung-hyeon Lee*, Yul-Ha Lee*, Eun-Seo Kim*,
Woo-Yiel Lee*

*Dept. of Biomedical Materials, Konyang University

요 약

trans-Resveratrol(t-RES)은 식물에서 생성되는 파이토케미칼의 폴리페놀계 방어적 물질로서, 질병에 대한 예방과 억제에 돕는 기능성 건강 성분이다. 그러나 t-RES는 원료에 비해 추출되는 성분의 양이 현저히 적은 단점이 존재한다. 단점을 보완하기 위해 파이토케미칼의 생물·비생물적 스트레스에 반응하는 특성을 이용하여 땅콩새싹의 줄기와 뿌리에 비해 많은 양의 t-RES를 함유하는 자엽에 최대 60분, 15분 간격으로 UV-C를 조사하였다. High-performance liquid chromatography (HPLC)와 DPPH assay를 통해 분석한 결과, UV-C를 조사하지 않은 시험군보다 15분동안 UV-C를 조사한 땅콩새싹 자엽 내 t-RES의 함량과 항산화능이 각각 2.8배, 1.8배 증가함을 확인하였다. 본 연구를 통해 15분 UV-C 조사를 통해 땅콩새싹 자엽 내 t-RES의 생성량이 증가하며, 이를 이용해 식의약품으로서의 활용을 기대할 수 있다.

1. 서론

최근 고령화 인구의 증가 추세 및 현대인의 건강에 관한 관심이 증가하였다. 이에 따라 질병 치료에 영향을 미치는 폴리페놀과 같은 천연물 유래 기능성 성분을 이용한 건강 기능 식품 및 건강 보조제에 대한 관심이 증가하고 있다. 특히 현대인의 여러 질병에 있어서 식물 종자에서 싹이 트지 3~9일 정도 되어 1~3개의 잎을 지닌 어린 떡잎 상태의 발아식물의 효과가 탁월하다는 연구가 보고되었다[1].

땅콩새싹은 땅콩 종자에서 싹이 나와 잎이 1~3개 되는 싹이 발아한지 1주일 남짓 된 어린 채소를 말하는데, 크기는 일반 채소에 비해 작지만, 다 자란 채소보다 많은 영양소를 함유하고 있다고 보고되고 있다. 또한 싹이 발아할 때 곰팡이, 박테리아 등 외부의 적으로부터 자신을 방어할 무기로서, 생리활성 물질인 t-RES를 생산한다고 알려져있다[1]. 현재 식물과 같은 천연물에서의 t-RES 추출은 화학합성 방법보다 인체에 무해하지만, 천연물 원료의 양에 비해 추출되는 t-RES의 양이 현저히 적다는 단점이 있다. 관련 연구에 의하면 땅콩에서의 t-RES 추출은 품종에 따라 다르지만, 보통 11~200 ug/ml 가 추출되는 것으로 보고되었다. 그러나 추출물에 UV, 온도, 압력 등의 외부 조사를 통해서 기능성 성분의

함량을 높일 수 있는 연구가 활발히 진행되고 있다[2].

본 연구에서는 땅콩새싹의 잎, 줄기, 뿌리 중 가장 많은 t-RES를 함유하고 있는 부위를 평가하고, 해당 부위에 UV-C를 조사함으로써, 함량과 항산화능이 증가된 땅콩새싹 유래 t-RES 추출 방법을 제공하고자 한다.

2. 실험 방법

2.1 실험 재료 및 시약

본 연구에서 사용한 땅콩새싹은 전라북도 익산에서 고창 땅콩 종자를 사용하여 재배된 땅콩새싹을 사용하였다. 재배된 땅콩새싹은 즉시 위생팩에 담아 -20 °C에서 냉동보관하여 추후 실험에 사용하였다. 이외에 연구에 사용된 DPPH 시약은 Sigma-Aldrich사(USA)에서 구매하였고, 에탄올(ethanol), HPLC급 시약 Water와 아세토나이트릴(Acetonitrile), L(+)-ascorbic acid는 SAMCHUN에서 구매하였다.

2.2 UV-C 조사

UV-C lamp(8 W, 253.7 nm, SANKYO DENKI, Japan)을 이용하여 최대 60분, 15분 간격으로 시료에 10 cm 높이에서 직접조사 하였다. 조사는 아크릴판으로 제작된 사면체

내부에서 진행되었고, 외부는 암막 커튼을 이용하여 UV-C 이외의 모든 빛을 차단하였다.

2.3 추출물 제조

본 연구에서 사용된 추출물은 UV-C가 조사된 땅콩새싹을 -52°C , 15 Pa의 조건에서 24시간 동안 동결건조한 후, 건조된 시료를 70 % 에탄올에 1:10(w/v) 비율로 혼합하여 하루동안 냉장보관하였다. 땅콩새싹 에탄올 추출물을 회전진공 농축기(N-1110N, EYELA, Tokyo, Japan)를 사용하여 60°C , 60분간 농축하였다. 이후 0.45 μm 친수성 PTFE syringe filter unit(ADVANTEC, Japan)을 사용하여 필터링 한 용액을 차광한 채 10°C 냉장보관하였고, 이를 추후 분석에 사용하였다.

2.4 땅콩새싹 내 t-RES 함량 측정(HPLC)

땅콩새싹의 자엽, 줄기, 뿌리에 함유된 t-RES 함량 측정과 UV-C 조사에 의한 함량 변화를 측정하기 위해 1220 Infinity LC(G4288C, Agilent Technologies)를 사용하였다. HPLC 분석에 사용된 조건은 Column C18(Eclipse AAA C18, $4.5 \times 150 \text{ nm}$, ZORBAX)을 사용하여 320 nm에서 확인하였고, 시료 20 μL 를 주입하였다. 유속 1.0 mL/min으로 10분 동안 분석하였고, 이동상 용매로 (A) Water, (B) Acetonitrile을 사용하여 (A)60 %, (B)40 % 비율로 분석하였다. 표준품으로 사용된 trans-resveratrol은 TCI사에서 구입하였다. 표준품에 대한 표준곡선은 $R^2=0.9955$, $y=42163x+493.19$ 의 데이터를 사용하였고, 이에 따른 수치는 유의성이 있다고 판단하였다.

2.5 DPPH radical scavenging 활성 평가

땅콩새싹 추출물의 DPPH radical scavenging 활성평가는 Blois(1958)의 방법을 응용하여 측정하였다[3]. 각 시료의 추출물 500 μL 에 0.2 mM DPPH 에탄올 용액 500 μL , 즉 추출물과 DPPH 용액이 1:1 비율이 되도록 혼합하였다. 이후 실온의 암소에서 30분 동안 반응시켰다. 이 반응액을 분광광도계(UV-1700, Shimadzu, Japan)를 이용하여 분광광도계상의 ABS 값을 아래의 식을 이용하여 계산함으로써 DPPH radical scavenging 활성을 평가하였다.

$$\text{DPPH radical scavenging activity}(\%) = \left(1 - \frac{\text{ABS}_{\text{sample+DPPH}} - \text{ABS}_{\text{sample}}}{\text{ABS}_{\text{control}}}\right) \times 100$$

2.6 통계 처리

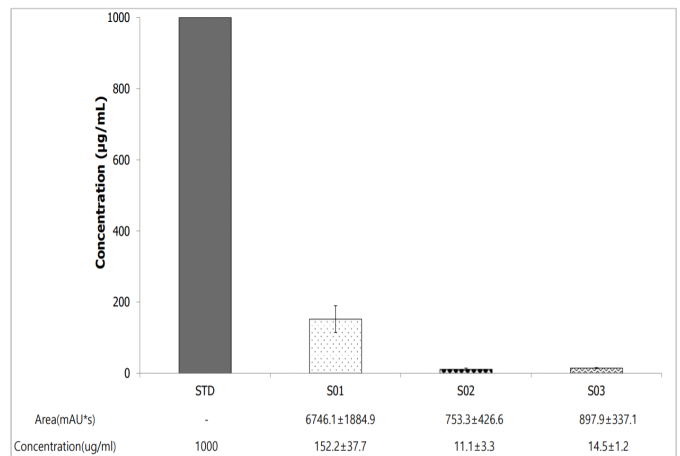
결괏값으로 제시된 수치는 같은 실험을 총 3회 반복을 통해

평균±표준편차(means±SD)로 표시하였다.

3. 결과

3.1 땅콩새싹의 각 부위별 t-RES 정량 분석

파이토알렉신 중 폴리페놀류, 스티베노이드 물질에 속하는 resveratrol은 trans-형과 cis-형으로 나뉘게 된다. trans-형은 cis-형에 비해 구조적으로 안정하여 체내에서 항산화 및 항염증 등과 같은 생리효과를 나타내는 것으로 보고되었다[2]. 본 연구에서는 땅콩새싹을 자엽, 줄기, 뿌리 총 세부위로 나누어 부위별 t-RES 함량을 측정하였고, 이를 [그림 1]에 나타내었다. 각각의 부위에 따라 $152.2 \pm 37.7 \text{ ug/mL}$, $11.1 \pm 3.3 \text{ ug/mL}$, $14.5 \pm 1.2 \text{ ug/mL}$ 의 t-RES이 추출됨에 따라 자엽, 뿌리, 줄기 순으로 높은 t-RES를 함유하는 것으로 확인되었다. 자엽의 t-RES 함량은 줄기에 비해 약 13.7배, 뿌리에 비해 약 10.5배 많은 것으로 확인되었다. 이는 땅콩새싹의 자엽이 천연 레스베라트롤의 유용한 공급원으로서 적합함을 보여준다.



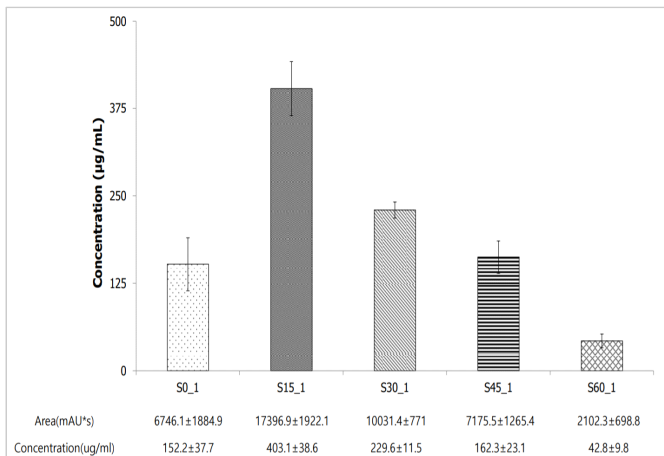
[그림 1] 표준시료와 비교한 땅콩새싹의 각 부위별 trans-resveratrol 함량.

3.2 UV-C 조사에 의한 땅콩새싹 자엽 내 t-RES의 함량 변화

t-RES는 외부 자극으로부터 자신을 보호하기 위해 생성되는 방어적 물질로, 자극은 균이나 해충과 같은 생물학적 자극, 자외선, 온도, 압력 등과 같은 비생물적 자극으로 나뉘게 된다. 관련 논문인 Kim 등(2020)에 따르면 블루베리 식물에 UV를 조사했을 때, t-RES와 trans-pterostilbene이 UV-A와 UV-C에 의해 각각의 함량이 3.1배, 1.5배 증가했다고 보고되었다[4]. 본 연구에서는 에너지가 가장 큰 UV-C를 땅콩새싹의 자엽에 조사함으로써, HPLC를 통해 함량의 변화에 대한 분석을 실시하였다.

UV-C 조사 시간별로 시료를 SO_1, S15_1, S30_1, S45_

1, S60_1로 나누었을 때 각각의 시료에 대한 t-RES의 함량은 [그림 2]와 같다. 가장 많은 차이를 보여주는 S0_1과 S15_1의 t-RES 함량차이는 1.91~3.85배로 평균 2.88배의 함량증가를 보여주었다. 이외에도 S0_1과 S30_1은 1.15~2.1배로 평균 1.62배의 함량증가를 보여주었다. 결과적으로 본 실험을 통해 땅콩새싹의 자엽에 적정시간동안의 UV-C 조사는 외부스트레스에 의한 생합성과 함량 증가를 유도하는 것을 확인할 수 있었다.

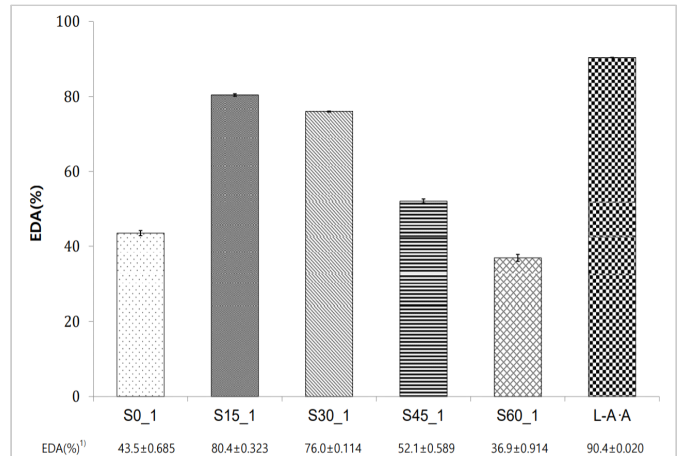


[그림 2] UV-C 조사 시간에 따른 땅콩새싹 자엽 추출물의 함량변화.

3.3 UV-C 조사에 의한 땅콩새싹 자엽 추출물의 DPPH radical scavenging 변화

체내에서 일어나는 산화반응은 노화의 유발과 세포의 변이를 유발하여 암세포를 생성한다. 이에 따라 항산화제는 이런 체내의 부정적인 반응을 억제하기 위한 예방 방편으로 중요한 기능식품으로 간주된다. DPPH radical scavenging은 홀전자를 갖고 있는 free radical과 hydroxy group(-OH)이 붙어서 radical 생성 및 반응을 종결 시켜주며, 식품 중에 hydroxy group을 많이 포함하고 있는 폴리페놀 화합물은 항산화 효과가 뛰어나다고 여겨지고 있다.

UV-C 조사한 땅콩새싹의 자엽의 DPPH radical scavenging 측정 결과는 [그림 3]과 같다. DPPH radical scavenging에서 대조군으로 사용한 L-A·A 1%가 90.4±0.02%의 라디칼 소거능을 가지는 것과 UV-C 조사시간에 따라 분류한 시료를 비교했을 때, 가장 많은 함량 차이를 보여줬던 S0_1과 S15_1 간의 DPPH radical scavenging의 차이는 약 1.85배로 HPLC 분석 결과와 유사하게 나타나는 것으로 확인할 수 있었다. 이로서 항산화능 측면에서 L-A·A와 비교한 S15_1의 항산화능은 우수한 것으로 보인다. 본 실험을 통해 적정시간 UV-C 조사는 땅콩새싹 자엽 내 함량 및 항산화능 증가와 관련성이 있는 것으로 보인다.



[그림 3] UV-C 조사시간에 따른 땅콩새싹 자엽 추출물의 항산화능 변화.

* L-A·A : L(+)-ascorbic acid

4. 결론

본 연구는 파이토알렉신의 폴리페놀계 물질 중 하나인 t-RES의 UV-C를 이용한 함량 및 항산화능 증가에 대하여 연구하였다. 외부 자극과 반응하는 파이토알렉신의 성분 생성 특성을 이용하여 에너지가 가장 큰 UV-C를 조사하였을 때, 땅콩새싹의 부위 중 가장 많은 t-RES를 함유하는 자엽은 적정 시간동안의 UV-C 조사는 식물 내 t-RES의 생합성을 유도하였다. 최대 3.85배 함량을 증가시키고, 함량의 증가에 따른 항산화능 또한 증가하는 것을 확인할 수 있었다. 본 연구를 활용하여 Smart Farm을 통한 친환경 및 고부가 생산의 특성을 이용한 t-RES의 식·의약 뿐 만 아니라 다양한 바이오 산업에서의 기여가 가능할 것으로 기대된다.

참고문헌

- [1] 김덕숙, 이근보. "새싹채소의 생리활성 특성 및 그 가공품의 제조." Korean J.Food Cookery Sci.Vol 26.3 (2010).
- [2] Cho, Yong-Jin, et al. "Enrichment of resveratrol content in harvested grape using modulation of cell metabolism with UV treatment." Journal of the East Asian Society of Dietary Life 21.5 (2011): 739-745.
- [3] Blois, Marsden S. "Antioxidant determinations by the use of a stable free radical." Nature 181.4617 (1958): 1199-1200.
- [4] Kim, Tae-Eun, Jae-Ho Pyee, and Yong-Jin Cho. "Effect of ultraviolet irradiation on the stilbenoid content of blueberry leaves." Journal of Food Process Engineering 43.12 (2020): e13546.