

콩의 발아에 따른 카르니틴 함량변화

차연수[†] · 김형연 · 소주련* · 오석흥*

전북대학교 식품영양학과 및 유전공학연구소

*우석대학교 생명공학과

Changes of Carnitine Levels during the Germination of Soybean Seeds

Youn-Soo Cha[†], Hyung-Youn Kim, Ju-Ryouon Soh* and Suk-Heung Oh*

Dept. of Food Science and Human Nutrition, and Institute for Molecular Biology and Genetics,
Chonbuk National University, Chonju 561-756, Korea

*Dept. of Biotechnology, Woosuk University, Chonju 565-701, Korea

Abstract

The changes of carnitine levels including nonesterified-carnitine (NEC), acid-soluble acylcarnitine (ASAC) and total carnitine (TC) were investigated in developing soybean sprouts. The concentrations of carnitines were determined in ungerminated and germinated soybean seeds, and in dissected axis segments and cotyledone of the germinated sprouts. Soybean seeds contain 136 nmol of TC per gram dry weight. The contents of NEC, ASAC, and TC were increased during the germination of soybean seeds. The concentrations of NEC and ASAC were highest in cotyledone and in meristematic tissues, respectively. These data indicate that developmental differences of carnitine levels do exist in plants, and that in developing soybean sprouts the levels of NEC and ASAC are highest in the cotyledone and in the youngest meristem, respectively.

Key words: soybean sprout, carnitine, germination

서 론

콩에는 양질의 단백질과 지방산이 함유되어 있어 영양원으로써 매우 중요할 뿐 아니라 다양한 생리활성을 갖는 기능성 물질들을 함유하고 있어 약리적으로도 매우 유익한 건강식품이다(1). 콩이 함유하고 있는 기능성 물질에는 레시틴(lecithine), 사포닌(saponins), 피토스테롤(phytosterols), 피틴산(phytate), 트립신 저해제(trypsin inhibitor), 섬유질 등이 알려져 있으며(1), 빈혈치료에 효과적인 헤리틴(ferritin)도 많이 함유되어 있는 것으로 보고되었다(2). 또한 콩 중에는 다량의 글루탐산이 함유되어 있는데 콩나물 재배시 콩나물의 끝 뿌리 부위에는 다량의 GABA(γ -aminobutyric acid)가 글루탐산 탈탄산 효소의 작용으로 인해 축적되는 것으로 조사되었다(3). 쌀 배아로부터 얻은 GABA 농축액이 혈압강하 작용, 신장기능의 활성화, 간기능개선 작용, 비만방지 작용, 알콜 대사촉진 작용(4) 등의 생리활성 기능을 나타냈었는데 콩 GABA도 동일한 생리기능을 나타낼 것으로 사료된다. 이외에도 콩에는 칼슘과 비타민 B군을 비롯한 각종 비타민, 각종 미네랄의 함량이 다른 식품에 비하여 높은

것으로 알려져 있다.

한편, 카르니틴(β -hydroxy- γ -trimethylammonium butyrate)은 아미노산정도의 분자량을 가진 영양소로서 에너지원으로 쓰일 지방산을 다른 장기 또는 미토콘드리아 내막으로 이동시켜 지방산의 β -산화를 촉진시키는데 필수물질이다(5). 카르니틴은 유전적으로 카르니틴 합성능력이 없는 신생아, 신장 및 간장병 환자, 또는 운동선수과 같은 고에너지로 필요로 하는 사람에 있어서는 조건적 필수영양소(conditionally essential nutrient)이어서 음식물로 섭취되어야 한다고 주장되어 심근경색과 혈중의 중성지방 제거를 위한 의약품, 운동선수들을 위한 기능향상, 피로회복 촉진물질로 그 사용량이 날로 증가되고 있다(6). 생체내에서의 카르니틴은 필수아미노산인 라이신과 메치오닌로부터 비타민 C, 비타민 B₆ 및 철분을 조효소로 사용하여 합성되어진다. 카르니틴은 그 원인이 육식동물(carnivore)로부터 유래되었듯이 처음 발견 당시 고기중의 성분으로 알려졌을 만큼 동물성 식품에 많이 함유되어 있고 반면 식물성 식품에는 아주 적은 양이 함유되어 있는 것으로 알려져 있다(7,8). 따라서 동물 체내에서의 카르니틴 대사 및 각 조직중의 카르니틴

[†]To whom all correspondence should be addressed

함량, 그 생리적 기능에 관한 연구는 그동안 매우 활발히 진행되어 왔다(9-11). 하지만 식물체내 카르니틴에 관한 연구는 매우 미미해서 지금까지 몇몇 식물에서 카르니틴의 존재가 확인된 것(7,8) 외에는 연구가 거의 이루어지지 않았고 식물의 성장 및 발달과 관련하여 카르니틴의 변화를 조사한 연구는 없다 따라서 본 연구에서는 지방 성분을 많이 함유하고 있는 대두의 발아에 따른 카르니틴 농도의 변화를 조사하여 영양학적인 측면과 식물생리학적 측면에서 고찰하였다.

재료 및 방법

재료

본 실험에 사용한 콩(*glycine max*)은 1998년산 국내산으로 전북 완주군 삼례읍 재래시장에서 구입하였으며, 비교적 크기와 모양이 양호한 콩을 육안으로 선별하여 4°C 냉장고에 보관하면서 발아를 위한 재료로 사용하였다.

시약 및 기기

카르니틴 분석시약은 Sigma사(St. Louis, USA) 제품을 사용하였고, UV/Vis spectrophotometer는 Shimadzu사 제품(UV-1601PC, Japan)을, 동결건조기는 Ilshin사 제품(FD5508, Korea)을 이용하였다. ^{14}C -isotope의 분석을 위해 Backman사의 LS 3801 liquid scintillation counter (USA)를 사용하였다. 그 외 시약은 특급제품을 사용하였으며, microcentrifuge 등은 Vision사 제품(VS-15000CF, Korea)을 사용하였다.

콩의 발아 및 시료 채취

콩의 발아를 위해 먼저 콩을 5% 락스용액에 5분간 담가 표면 살균을 한 후 물로 락스성분을 완전히 세척하였다 이어 콩을 6시간 동안 물에 침지하여 자동 콩나물 재배기(12)에서 발아시켰다. 발아는 23~26°C의 암실에서 2시간 간격으로 물이 공급되도록 조절하여 실시하였다. 콩의 부위별 시료를 채취하기 위하여 약 60시간 경과 후 50 cm 자란 콩나물을 선별하여 10 cm 간격으로 자른 후 자엽 부위와 각 뿌리 부위로 나누어 액체질소로 동결하였고 유발로 갈아서 -80°C에 보관하였다. 콩의 길이별 시료 채취를 위해 콩나물을 크기별로(1.0, 2.0, 4.0, 6.0, 8.0, 10.0 cm) 각 단계마다 선별한 후 액체질소와 유발로 마쇄하여 -80°C에 보관하면서 분석에 사용하였다.

카르니틴의 정량

카르니틴의 정량을 위해 콩나물의 부위별 그리고 크기별로 시료를 선별하여 동결건조하였다. 건조시료 일정한량(1 g)을 0.6 M perchloric acid(PCA) 6 mL로 추출시킨

후 원심분리하여, 상등액 중 카르니틴 3 분획물, 즉 non-esterified carnitine(NEC), acid-soluble acylcarnitine(ASAC) 및 acid-insoluble acylcarnitine(AIAC)은 동위 원소를 이용한 Cederblad와 Lindstedt의 카르니틴 분석 방법(13)을 변형시킨 Sachan 등의 방법(14)을 이용하여 분석하였다. 즉, 100~200 μL 정도의 시료를 200 μL 의 0.6 M PCA에 포화시켜 1,500 \times g로 10분간 원심분리하여 상등액과 침전물을 분리한 후, 상등액은 NEC와 ASAC를 측정하는데 사용하였으며, 침전물은 AIAC를 측정하는데 사용하였다. NEC 분석은 상등액중 150 μL 를 취해, 1 M KHCO_3 로 35 μL 로 중화시킨 다음 원심분리하여 상등액 100 μL 에 [1- ^{14}C]acetyl coenzyme A가 0.02 mM (0.025 μCi) 함유된 반응액을 400 μL 를 가하고 1 unit의 carnitine acyltransferase를 가한 뒤, 37°C에서 30분간 반응시켰다. 반응액 200 μL 를 anion exchange resin(Dowex 1 \times 8-400)이 충전된 column을 통과시켜 [1- ^{14}C] acetyl carnitine을 회수한 후 liquid scintillation counter로 cpm을 측정하여 표준 카르니틴의 cpm값으로 작성한 표준곡선으로부터 NEC양을 산출하였다. ASAC 분석은 상등액 100 μL 를 0.5 N KOH 75 μL 로 가수분해하고, PCA/MOPS-II 용액(0.12 M PCA, 1 M MOPS) 30 μL 로 중화한 다음 원심분리하여 상등액을 분리한 후 동일한 방법으로 측정하였다. AIAC 분석은 침전물을 0.6 M PCA로 3회 세척하여 잔존하는 NEC 및 ASAC를 완전히 제거한 후 0.5 N KOH 200 μL 로 60°C에서 60분간 열탕분해하고, PCA/MOPS-I 용액(0.3 M PCA, 1 M MOPS) 100 μL 로 중화한 다음 원심분리하여 상등액을 분리한 후 동일한 방법으로 측정하였다. 총 카르니틴은 NEC, ASAC 및 AIAC 분획들의 합으로 산출하였다.

통계처리

모든 실험결과는 평균(mean) \pm 표준편차(SD)로 표시하였으며, 각 군간의 통계적 유의성 검정은 GraphPad InStat Software(San Diego, California, USA)를 이용하여 $p < 0.05$ 수준에서 Tukey test를 통하여 검증하였다.

결과 및 고찰

콩에는 영양성분 이외에 여러 가지 기능성 성분들이 함유되어 있음이 계속 밝혀지고 있다. 콩 유용성분 탐색에 관한 연구의 일환으로 본 연구에서는 지방산 대사에 있어 필수적인 성분인 카르니틴의 함량을 콩과 콩나물의 부위별 및 크기별로 조사하였다. 실험재료로 선택한 콩나물 콩 중의 총 카르니틴 함량은 건조시료 g당 약 136 nmol이 함유되어 있는 것으로 조사되었다(Table 1). 이는 지금까지 조사된 다른 식물에 있어서의 카르니틴 함량 즉, asparagus의 12.1 nmol/g(7), broccoli의 0.23 nmole/g 및 potato의 0.8 nmole/

Table 1. Changes of carnitine levels during the growth of soybean sprouts¹⁾

Carnitine	Axis length (cm)						
	C	1	2	4	6	8	10
NEC	62.7±2.8 ^{2)bc}	60.6±2.3 ^{2)cd}	70.8±2.5 ^d	82.5±1.2 ^e	91.7±2.1 ^b	95.8±3.2 ^a	97.1±2.5 ^a
ASAC	73.2±3.0 ^d	69.7±3.5 ^e	80.2±2.2 ^e	83.7±2.7 ^{bc}	86.8±4.7 ^b	89.4±3.5 ^b	95.7±3.3 ^a
TC	135.9±5.8 ^e	130.3±5.8 ^f	151.0±4.7 ^d	166.2±3.9 ^f	178.5±6.8 ^b	185.2±6.7 ^{ab}	192.8±5.8 ^a

¹⁾Soybean sprouts grown to 1.0, 2.0, 4.0, 6.0, 8.0, 10.0 cm were harvested at different time intervals and analyzed as described in the Materials and Methods.

²⁾The values represent nmol carnitine per gram dry weight with standard deviation of the mean of three determinations.

³⁾Different alphabetical superscripts in the same row indicate significant differences ($p < 0.05$) among groups by Tukey test. NEC, nonesterified carnitine; ASAC, acid-soluble acylcarnitine; TC, total carnitine; C, ungerminated soybean seed

g(8)이나 본 연구진이 조사한 쌀 중의 카르니틴 함량(25 nmol/g dry basis, 미발표자료)에 비하여 훨씬 많은 양이다. 이와 같은 결과로 미루어 볼 때 콩이 카르니틴을 많이 함유하고 있는 식물성 식품 중의 하나인 것으로 판단되며 앞으로 다른 식품재료들에 대한 연구가 더 이루어져야 할 것으로 생각된다.

발아단계별 콩 카르니틴의 함량을 측정된 결과, 발아가 진행되면서 유리카르니틴(NEC), 단쇄 및 중쇄 카르니틴(ASAC), 총 카르니틴(TC)의 함량이 점진적으로 증가되는 양상을 보였고, 장쇄 카르니틴(AIAC)은 본 실험에서는 검출되지 않아 그 함량이 매우 적은 것으로 판단된다. 발아 이전에 비하여 10 cm 발아된 콩 건조 무게당 총 카르니틴 함량은 약 1.5배 증가한 것으로 조사되어 (Table 1) 콩의 발아에 따라 전체적인 무게가 증가하는 것을 감안하면 유의성이 매우 큰 것으로 나타났다. 이는 콩 종자가 흡수를 개시하여 발아가 진행됨에 따라 성장과 발달에 필요한 에너지(ATP)의 일부를 지방산의 β 산화물 통해 생성해 내기 위하여 카르니틴의 필요성이 증대되는 현상으로 해석된다. 실제로 다른 연구에서 식물 종자의 발아에 따라 ATP의 함량도 많아지는 것으로 보고된 바 있으며, 이 ATP 생성은 미토콘드리아에 의한 산화적 인산화의 결과인 것으로 확인되었다(15-17). 이는 영양학적인 측면에서 볼 때 매우 바람직한 것으로 사료되며, 콩은 발아에 의해 비타민 C, aspartic acid, asparagine 등의 함량도 증진되는 것으로 알려져 있어 (18-20) 콩나물은 콩의 영양적 가치를 더욱 향상시키는

것으로 판단된다.

발아된 콩의 부위별 카르니틴의 함량을 측정된 결과, NEC의 함량은 자엽(cotyledon) 부위에 가장 많고 뿌리의 여러 다른 부위에는 상대적으로 적은 양이 함유되어 있는 것으로 조사되었다(Table 2). 자엽 부위는 성장과 발달에 필요한 모든 영양원의 공급 장소이기 때문에(21) NEC를 많이 함유하고 있다는 것은 콩나물 중 성장이 가장 왕성한 부위인 분열조직(meristem)에 카르니틴을 지방산과 결합 형태인 아실-카르니틴 형태로 공급하여 지방산의 β 산화에 의한 에너지 생산에 기여하고 있는 것으로 판단된다. ASAC 함량이 뿌리의 분열조직 부위에 가장 많은 것으로 조사된 결과(Table 2)는 자엽에 있던 유리카르니틴의 일부가 아실-카르니틴 형태로 분열조직에서 지방산의 β 산화가 진행되고 있는 결과로 판단된다. 동물조직내의 실험에서도 생리적으로 지방산의 메타산화가 활발히 진행될 때 체내 ASAC 함량이 현저히 증가된다고 보고되었다(9,22). 따라서 본 실험에서도 ASAC가 에너지 생성 대사가 매우 활발하게 일어나고 있는 부위일수록 많이 분포하고 있었기 때문에 분열조직의 지방산 산화를 통한 에너지 획득의 과정이 일어나고 있음을 예측할 수 있었다. 분열조직은 성장과 발달이 가장 왕성하게 일어나고 있는 부위로서 에너지를 많이 필요로 하는 기관이다(21). 또한 분열조직 부위는 성장에 필요한 각종 단백질의 합성이 일어나는 곳이며, 단백질을 합성하기 위해서는 에너지 공급이 필요하다(23,24). 본 연구진에 의한 다른 연구에서 콩 중에 다량 함유되어

Table 2. Developmental changes of carnitine levels in developing soybean sprouts

Carnitine	Dissected groups ¹⁾					
	I	II	III	IV	V	VI
NEC	64.7±5.5 ^{2)ab}	40.8±4.1 ^{2)bc}	29.5±3.5 ^c	25.4±4.5 ^c	23.6±2.2 ^d	15.2±2.1 ^e
ASAC	62.0±5.1 ^e	66.2±5.5 ^d	72.3±6.1 ^t	75.5±7.5 ^e	89.3±5.7 ^b	109.4±8.8 ^d
TC	126.7±10.6 ^a	107.0±9.6 ^b	101.8±9.6 ^b	100.9±12.0 ^b	112.9±7.9 ^b	124.6±10.9 ^a

¹⁾Between 200 and 300 etiolated soybean sprouts (60 hr grown) were dissected into cotyledone and axis segments. The axes were dissected further into 1.0 cm segments. I, cotyledone; II, cotyledone node to 1.0 cm; III, 1.0 to 2.0 cm; IV, 2.0 to 3.0 cm; V, 3.0 to 4.0 cm; VI, 4.0 cm to tip

²⁾The values represent nmol carnitine per gram dry weight with standard deviation of the mean of three determinations

³⁾Different alphabetical superscripts in the same row indicate significant differences ($p < 0.05$) among groups by Tukey test. NEC, nonesterified carnitine; ASAC, acid-soluble acylcarnitine; TC, total carnitine.

있는 글루탐산이 콩나물 재배시 콩나물의 분열조직 부위에서는 GABA로 전환되어 다량 발견되고 글루탐산의 양은 현저히 감소되어 카르니틴의 패턴과 유사한 것으로 조사된 바 있다(3). 앞으로 콩의 발아에 따른 카르니틴이나 GABA의 생성과 관련된 효소의 발현 패턴 등에 대하여 조사하게 된다면 이들 성분의 생성체계와 관련한 보다 근본적인 정보를 얻을 수 있을 것이다. 또한 콩의 발아와 더불어 카르니틴이나 GABA 등의 함량을 더욱 극대화시킬 수 있는 방안에 대한 연구를 통하여 기능성과 영양면 우수한 콩나물을 얻을 수 있는 방안을 제시할 수 있을 것으로 사료된다.

요 약

콩나물 콩의 발아에 따른 크기별, 부위별 유리카르니틴, 단쇄 및 중쇄카르니틴, 총 카르니틴의 함량변화를 측정하였다. 콩나물 콩은 건조시료 그램당 약 136 nmol의 총 카르니틴을 함유하고 있었고, 발아가 진행됨에 따라 유리카르니틴, 단쇄 및 중쇄카르니틴, 총 카르니틴이 모두 증가하였다. 부위별 카르니틴 함량은 콩나물의 머리에 해당하는 자엽 부위에는 유리카르니틴 함량이 많고 뿌리의 분열조직 부위에 단쇄 및 중쇄카르니틴이 많았다. 이와같은 결과를 종합하여 볼 때 카르니틴 함량은 콩의 발아정도와 발아부위에 따라 상이함을 알 수 있었다.

감사의 글

이 논문은 1998년도 전북대학교 연구기반조성연구비에 의하여 연구되었으며 연구비 지원에 감사드립니다.

문 헌

- 김성란 : 콩 및 콩제품 중의 isoflavone 특성. *식품기술*, **12**, 3-19 (1999)
- Oh, S.H and Seo, K.W. . Investagation of useful components in soybean seeds : Purification and characterization of soybean ferritin. *Agric. Chem. Biotechnol.*, **41**, 522-526 (1998)
- Oh, S.H and Cha, Y.S . Changes in gamma-aminobutyric acid synthesis system in developing soybean sprouts. *FASEB J.*, **14**, A241 (2000)
- Nakagawa, K and Onota, A . Accumulation of γ -aminobutyric acid in the rice germ. *Food Processing*, **31**, 43-46 (1996)
- Haecker, R, Kaiser, E, Oellerich, M and Siliprachi, N. : Carnitine: metabolism, function and clinical application. *J. Clin. Chem. Clin. Biochem.*, **28**, 291-295 (1990)
- Borum, P.R. and Bennett, S.G : Carnitine and lipid metabolism. *J. Am. Coll Nutr.*, **5**, 177-182 (1986)
- Rebouche, C.J. and Engel, A.G. : Kinetic compartmental

analysis of carnitine metabolism in the human carnitine deficiency syndromes: Evidence for alterations in tissue carnitine transport. *J. Clin. Invest.*, **73**, 857-867 (1984)

- Broquist, H.P. Carnitine. In *Modern Nutrition in Health and Disease*, Shils, M.E., Olson, J.A and Shike, M (eds.), Lea and Febiger Publisher, Philadelphia, p.459-465 (1994)
- Cha, Y.S, Li, B., Sachan, D.S. and Whelan, J : Dietary docosahexaenoic acid decreases plasma triglycerides with mixed effects on indices of β -oxidation. *Korean J. Nutrition*, **30**, 1067-1072 (1997)
- Cha, Y.S., Sohn, H.S, Daily III, J.W. and Oh, S.H. Effects of exercise training and/or high fat diet on lipid metabolism and carnitine concentration in rats. *Nutrition Research*, **19**, 937-945 (1999)
- Cha, Y.S and Sachan, D.S. : Acetylcarnitine-mediated inhibition of ethanol oxidation in hepatocytes. *Alcohol*, **12**, 289-294 (1995)
- Kim, J.M, Choi, Y.B and Yang, D.K. : Development of soybean sprouter using principle of siphoning. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **29**, 460-463 (1997)
- Cederblad, G and Lindstedt, S.A. : Method for determination of carnitine in picomole range. *Clin. Chim. Acta.*, **37**, 335-343 (1972)
- Sachan, D.S., Rhew, T.H and Ruark, R.A. . Aameliorating effects of carnitine and its precursors on alcohol-induced fatty liver. *Am. J. Clin. Nutr.*, **39**, 738-744 (1984)
- Hourmant, A and Pradet, A . Oxidative phosphorylation in germinating lettuce seeds during the first hours of imbibition. *Plant Physiol.*, **68**, 631-635 (1981)
- Morohashi, Y. and Sugimoto, M : ATP synthesis in cotyledons of cucumber and mung bean seeds during the first hours of imbibition. *Plant Cell Physiol.*, **29**, 893-896 (1988)
- Attucci, S, Carde, J.P., Raymond, P, Saint-Gs, V., Spiteri, A. and Pradet, A. . Oxidative phosphorylation by mitochondria extracted from dry sunflower seeds. *Plant Physiol.*, **95**, 390-398 (1991)
- Ensminger, A.H., Ensminger, M.E, Konlande, J.E. and Robson, J.R.K : *Food and Nutrition Encyclopedia*. Pegasus Press, Clvls, CA., p.2017-2035 (1983)
- Byun, S.M., Huh, N.E. and Lee, C.Y. : Studies on the biosynthesis of asparagine in soybean sprouts. *J Korean Agric. Chem Soc.*, **20**, 33-42 (1977)
- Yang, C.B. : Changes of nitrogen compounds and nutritional evaluation of soybean sprout. Changes of amino acid composition. *J Korean Agric. Chem. Soc.*, **24**, 94-100 (1981)
- Norstog, K and Long, R.W. . *Plant Biology* W.B. Saunders Company, Philadelphia. p.453-494 (1976)
- Osmundsen, H., Bremer, J. and Pedersen, J.I. : Metabolism aspects of peroxisomal β -oxidation. *Biochim. Biophys. Acta.*, **1085**, 141-158 (1991)
- Gillard, D.F. and Walton, D.C. Germination of *Phaseolus vulgaris* IV. Patterns of protein synthesis in excised axes. *Plant Physiol.*, **51**, 1147-1149 (1973)
- Sen, S., Payne, P.I and Osborne, D.J . Early ribonucleic acid synthesis during the germination of rye embryos and the relationship to early protein synthesis. *Biochem J.*, **148**, 381-387 (1975)