

항암, 골다공증 억제성분이 증가된 무침가제 콩나물 재배기술개발

성명 : 함경식
소속 : 목포대학교 식품공학과

2004년 농림과학기술대전에서 농림부장관 표창을 수상하였던 '항암, 항골다공증 억제성분이 증가된 무침가제 콩나물 재배기술개발' 관련 원고를 정리하였다. 원 논문제목은 '건강유용물질, 저장성이 증가된 친환경 고품질농산물생산에 있어 식물면역활성물질의 이용'이다.

한국-칠레간 자유무역 협정 발효, 세계무역기구(WTO)의 새로운 무역협상 출범, 중국의 WTO 가입 등으로 한국의 농업은 매우 어려운 상태에 놓여 있다. 이러한 어려움을 타개하기 위한 방편으로 한국에서 농업에 종사하는 사람 대부분은 우리나라 농업은 고품질 농산물 생산을 통한 외국농산물과의 차별화 전략으로 가야 한다고 생각한다.

그러나 막상 고품질 농산물 생산을 하려고 해도 외국을 포함한 다른 지역 농산물과 우리 농산물을 특별히 다르게 하는 개발된 기술이 많지 않은 실정이다. 이러한 상황에서 우리 농산물이 고려하여야 할 것 중의 하나가 기능성 물질이 아닐까 생각한다.

농산물에는 항암물질, 혈압강하 물질, 골다공증 억제물질, 노화억제물질 등 성인병에 효과가 있는 다양한 기능성 물질이 존재하고 있으며 이들 물질들이 인체 내에 들어가 어떤 기작에 의해 효과가 나타나는지 빠르게 발전하는 생명과학에 의해 하나하나 밝혀지고 있다. 그러므로 이들 기능성 물질의 중요성은 늘어나는 노인 인구와 성인병 증가에 의해 앞으로 그 중요성은 더욱 더 커질 것이다.

그러나 아직 많은 농산물에 있어서 품질을 이

야기할 때 기능성 물질에 대한 고려가 많이 안되고 있는 실정이다. 앞으로 농산물에서 기능성 물질은 농산물 차별화에 중요한 요소가 될 것이며 이에 대한 관심은 전 세계적으로 점점 더 높아지고 있다.

현재 세계 여러 연구그룹에서 농산물의 기능성 물질을 증가시키려는 시도가 되고 있으며 일부는 성공하기도 하였다. 기능성 물질의 증가를 위해 육종을 이용하는 방법, 유전자 조작방법 등이 이용되고 있는데 육종방법은 품종개발 때까지 시간이 오래 걸리는 문제가 있고 유전자조작방법은 소비자의 선호도가 떨어져 우리나라와 같이 고품질 농산물 생산을 통해 고가의 제품을 판매하려는 경우에는 어려움이 있다고 생각된다.

많은 기능성 물질은 이차대사산물로서 자극 등 환경변화에 민감하게 생합성 과정이 변한다. 그래서 본 연구팀은 식물세포에 자극을 주어 식물 이차대사산물의 생합성 과정에 영향을 주어 기능성 물질 함량을 변화시킬 수 있지 않을까 생각하게 되었다. 그 목적으로 세포자극물질 중 하나인 식물면역활성물질(elicitor)을 이용하여 우선 콩나물에 적용하였다. 콩나물은 이런 연구를 위해서는

여러 가지 장점을 갖고 있다.

콩나물은 4~5일의 짧은 기간에 재배가 가능하고 실험실 안의 좁은 면적에서 많은 시료를 쉽게 획득할 수 있는 장점이 있다. 그리고 무엇보다 대두는 세계의 주요 작물로서, 유전자, 단백질 등의 정보가 풍부하여 연구에 많은 장점이 있다. 그러므로 콩나물은 산업적 가치 이외에 model system으로도 매우 유용하다.

본 연구에서는 식용으로 문제가 되지 않는 탄수화물소재의 식물면역활성물질을 콩나물 재배 시에 처리한 결과 예측한대로 병저항성이 증가되어 무침가제 재배가 가능하였고 또한 이차대사산물의 생합성이 증가되었으며 특히 콩의 주요 건강기능성분인 이소플라보노이드(isoflavonoid; 건강유용성분 중 가장 많이 연구되었음, 항유방암, 항암, 항골다공증 등 여러 유용성이 자세히 연구되었음; 아래에 설명)를 증가시킬 수가 있었다. 또한 기능성 물질을 증가시키고 더불어 병에 대한 저항성을 증가시켜 재배 중 첨가제 사용이 필요 없을 뿐만 아니라 수확 후에도 저장성이 증가되는 부수적인 결과를 얻어 이에 그 결과를 보고한다.

식물면역활성물질(Elicitor)이란?

식물면역활성물질은 1970년대 후반부터 알려지기 시작한 것으로 식물의 여러 가지 방어기작을 증가시키는 모든 분자들로 정의가 내려진다.

식물면역활성물질은 식물이 병원균의 침입을 어떻게 인식하고 방어태세를 갖추는지를 연구하다가 발견된 것이다. 대부분의 식물면역활성물질은 병원균의 구성 성분 또는 병원균에 의해 부서지는 식물의 구성 성분으로 식물은 진화를 거치면서 이런 성분을 병원균으로 인식, 병원균에 대한 방어태세를 갖춘다고 이해되고 있다. 식물

면역활성물질에는 단백질, 탄수화물, 지방산 등이 있는데 본 연구에서 사용한 키토산(chitosan), 베타-글루칸(β -glucan), 올리고갈락투로나이드(oligogalacturonide)는 탄수화물 식물면역활성물질에 속한다.

키토산은 글루코사민(glucosamine)이 β -1,4-linkage로 연결된 다당류로 게, 새우껍질에 다량 존재하는 키틴을 탈아세틸화시켜 얻는 것으로 인체에서 항암효과, 혈중콜레스테롤 저하효과 등 생리활성 이외에 식물에서는 성장을 촉진하기도 하고 외부 병원균에 대한 저항성을 증가시킨다는 것이 보고되고 있다. 식물이 키토산을 인식할 수 있게 된 것은 곰팡이균의 세포벽에 있는 키틴이 효소에 의해 탈아세틸화되어 키토산이 만들어지는데 식물은 오랜 세월 곰팡이와 상호작용하면서 키토산을 인식하는 system을 진화시켜왔을 것이라 믿어진다.

β -glucan은 곰팡이, 효모, 세포벽 등에서 쉽게 얻을 수 있으며 β -1,3, β -1,6-linkage로 이루어진 탄수화물로서 콩 등의 식물에서 식물방어단백질, 일종의 항생물질인 피토알렉신(phytoalexin)을 만들게 하는 신호전달물질로 작용하여 식물이 병원균에 대한 저항성을 증가하게 만든다.

특히 β -glucan 식물면역활성물질의 콩에 있어서 역할은 몇 연구그룹에 의해 β -glucan 수용체 등 매우 깊이 있게 밝혀져 있다.

Oligogalacturonide는 식물의 펙틴이 폴리갈락투로나제(polygalacturonase)란 효소에 의해 분해 될 때 만들어지는 것으로 식물의 방어기작, 발달과정 등 다양한 생리학적 반응에 관여하고 있다. 콩에 있어서는 이소플라보노이드 생합성과 많은 과정을 같이 하는 phytoalexin 증가효과 등이 밝혀졌다.

콩나물, 콩의 건강유용성분

대두는 여러 가지 유용한 생리활성물질을 갖고 있기 때문에 현대인들에게 건강식으로 인기가 높아지고 있다. 이들 유용생리활성물질 중 제니스테인(genistein), 데이드제인(daidzein)과 같은 이소플라보노이드가 많은 관심을 끌어 연구의 대상이 되어오고 있다.

제니스테인은 생체외(in vitro)실험, 동물실험, 임상실험에서 뛰어난 항암효과를 가지고 있음이 밝혀졌고 유방암과 전립선암의 예방효과가 높다고 알려졌다. 제니스테인의 항암효과는 티로신키나제(tyrosine kinase)(세포내 신호전달에 관여하는 주요한 효소) 저해작용(신호전달에 영향을 줄 경우 암세포가 일반세포보다 상해를 더 받아 암을 억제), 혈관생성(angiogenesis) 억제작용(암세포는 빠르게 분열성장하기 때문에 영양요구가 일반세포에 비해 높아 혈관생성을 억제할 경우 암세포가 일반세포보다 많은 상해를 받음), 토포이소머라제(topoisomerase; DNA 복제 시 관여하는 주요 효소) 저해작용(암세포가 일반세포보다 분열이 왕성하기 때문에 세포분열을 억제할 경우 암세포가 더 상해를 입어 암 억제) 등을 통해 설명되고 있다.

또한 제니스테인은 체내에서 여성호르몬인 에스트로젠(estrogen)과 유사한 작용을 하기 때문에 식물성에스트로젠(phytoestrogen)으로 불리기도 하며 폐경기 여성의 에스트로젠 결핍으로 유발되는 골다공증의 예방과 진행억제에도 효과가 있는 것으로 알려지고 있다. 데이드제인은 뼈에서 혈액으로 칼슘의 재흡수를 억제함으로써 노인과 여성의 골다공증 예방에 효과적이라는 연구가 발표되었다.

또한 최근에는 이들 이소플라보노이드를 유아 시기에 많이 섭취하면 성인이 되어서도 유방암 등

호르몬 의존성 질병 발생률이 훨씬 낮아진다는 보고가 있다. 최근의 다른 발표에 의하면 이소플라보노이드를 함유한 대두단백은 치매 예방효과를 갖기도 한다는 보고가 있다. 이런 유용성과 더불어 이소플라보노이드는 콩이 심혈관 질환을 낮추는데 있어 관여하는 주요 성분이라는 보고도 있다.

이와 같이 콩 이소플라보노이드 성분의 유용성 등이 밝혀지면서 미국 등에서는 대두 가공식품의 판매가 급성장하고 있고, 최근에는 이소플라보노이드 성분만을 추출하여 상품화되고 있다.

그러므로 이전에는 이소플라보노이드 성분이 콩 가공제품의 씹쓸한 뒷맛에 관계하여 함량을 낮추는 연구가 진행되었으나 최근에는 오히려 증가시키는 방향으로 관심이 모아지고 있다. 앞으로 사회적으로 노년층이 증가하여 골다공증, 암 등의 노인성 질병 증가가 예상되기 때문에 이소플라보노이드를 많이 함유한 콩의 수요는 더욱 더 증가할 것이다. 그러므로 기술적, 경제적으로 가능한 이소플라보노이드 증가방법이 있다면 이에 대한 연구지원이 이루어져야할 것이다.

식물면역활성물질을 이용한 콩나물의 고부가가치화

콩나물은 우리나라에서 연간 약 8,000억원 정도의 시장규모를 가진 식품으로 많은 국민의 사랑을 받고 있다. 그러나 습도가 높은 환경에서 재배가 이루어지기 때문에 병 발생이 많아 문제가 되고 있다.

또한 콩나물은 미생물 오염이 많아 수확 후 2~3일 정도의 짧은 유통기간으로 수확된 콩나물의 많은 부분이 버려지는 손실이 있다. 그러므로 콩나물 재배 시 첨가제 사용을 줄일 수 있는 재배 방법 및 수확 후 저장기간을 연장시키는 방법에 대한 연구는 절실하다.

본 연구는 콩나물 재배에서 문제가 되고 있는 첨가제 사용을 줄이기 위함과 더불어 콩나물의 기능성 물질을 증가시키기 위한 시도로 식물면역활성 물질을 사용하였으며 이의 이용이 콩나물에 어떤 영향을 주는 지를 조사하였다.

이런 연구를 위해 먼저 식물면역활성물질 중 β -glucan과 oligogalacturonide를 제조하였다. oligogalacturonide는 식물세포벽 성분인 펙틴에서 제조하였는데 이소플라보노이드 증가효과를 보았을 때 별로 효과가 없어 이 다음 실험에는 사용하지 않았다. 키토산은 회사로부터 공급받았으며 β -glucan은 맥주 폐효모를 산 가수분해하여 얻었다. β -glucan은 콩나물에서 키토산 보다 훨씬 낮은 농도인 ng/ml 단위에서 식물면역활성물질 활성을 보이는 것으로 나타났으며 이의 경제적 생산을 위하여 기존에 많이 쓰는 Trifluoroacetic acid(TFA) 대신에 단가가 싸고 식품안전성에 문제가 덜한 HCl을 대체 용매로 사용하여 추출조건을 확립하였다.

β -glucan을 TFA대신 HCl로 가수분해한 결과 TFA를 쓸 때 보다 많은 β -glucan을 얻을 수 있었으며, 추출한 β -glucan의 식물면역활성 기능을 soybean cotyledon bioassay(대두 떡잎을 이용한 생체측정방법; 20년 넘게 여러 연구자들이 이용한 방법으로 신뢰성이 확립되어 있음)를 통해 측정한 결과 TFA를 이용 추출한 β -glucan과 비슷한 활성을 가지고 있었다. HCl 처리에 의해 생성된 β -glucan의 구성성분은 단백질이 26.4%, 총당은 9%이며 조지방과 회분은 극히 미량이었다. 제조한 β -glucan의 분자량은 10,000과 40,000 사이에 존재하였다.

이렇게 생산한 β -glucan과 키토산을 콩나물 재배에 사용하였을 때 콩나물의 발아율은 약 5~10% 정도 증가하였으며 콩나물의 길이는 짧아

지고 굵기는 두꺼워지는 경향이 보였다. 이소플라보노이드 증가효과는 β -glucan, 키토산 둘 다 있었으며 둘의 혼합처리에 의해 더욱 증가하여 2~5 배 증가시키는 것이 가능하였다. 이소플라보노이드의 증가효과는 식물면역활성물질의 분자량, 농도에 따라 영향을 받았다.

다른 기능성분 활성을 조사한 결과 식물면역활성물질 처리에 의해 항산화 활성(노화를 억제시킴)이 증가하는 것을 볼 수 있었고, 식물면역활성물질 처리에 의한 아질산염(아질산은 위의 산성조건에서 니트로소아민이란 발암물질로 바뀜; 아질산 관련물질은 식품에 많이 존재) 소거능은 거의 변화가 없는 것으로 나타났고, 이는 무처리구에도 마찬가지로므로 콩나물 자체에 아질산염 소거능이 거의 없는 것으로 판단된다. 또한 여러 건강기능성이 알려진 사포닌 함량을 조사한 결과 식물면역활성물질 처리한 콩나물이 무처리 콩나물보다 높은 함량을 가졌다.

식물면역활성물질 처리가 콩나물의 병에 대한 저항성을 증가시키는 지를 알아보기 위하여 콩의 병원균으로 알려진 *Phytophthora sojae*와 콩나물에서 분리된 병원균 *Bacillus subtilis*, *Bacillus coagulans*를 인위적으로 감염시켰을 때 무처리 콩나물에 비하여 식물면역활성물질 처리 콩나물이 감염정도가 약하고 식물면역활성물질 처리 콩나물 중에서도 특히 키토산, β -glucan 혼합처리 콩나물이 모든 감염처리에서 강한 저항성을 보였다.

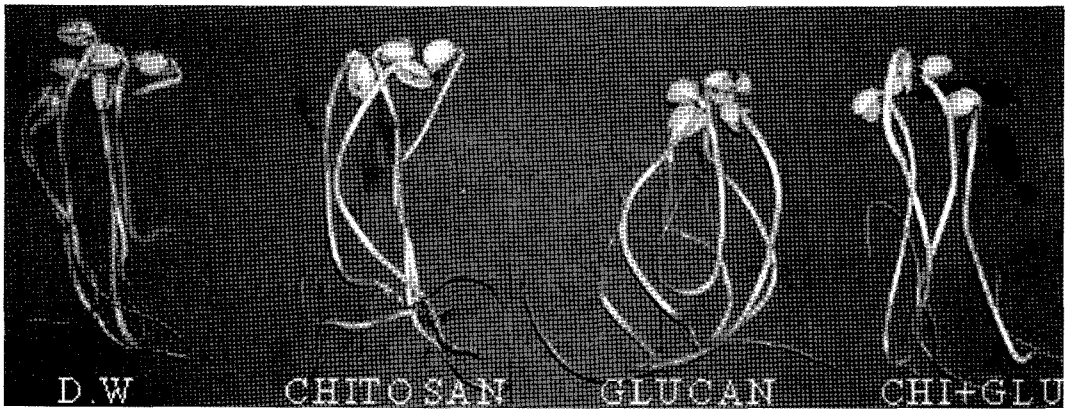
이것은 즉 식물면역활성물질 처리에 의해 콩나물 생체 내에서 방어 기작의 변화가 온 것으로 볼 수 있어서 식물면역활성물질 처리 콩나물에서 일부 방어 단백질의 변화를 분석한 결과 trypsin inhibitor, β -1,3-glucanase, phenylalanine-ammonia lyase activity는 처음에는 상당량이

존재하나 성장하는 과정에서 많이 감소하는 경향을 나타내었지만 식물면역활성물질 처리 콩나물이 무처리 콩나물에 비하여 성장한지 6시간까지의 초기 활성화도 현저하게 많을 뿐만 아니라 72시간 후에도 잔존하는 활성 또한 훨씬 많다는 것을 확인할 수 있었다.

(사진 1)은 물과 여러 종류의 식물면역활성물질 [물(D.W), 키토산, β -glucan, 키토산+ β -glucan(chi+glu)]로 이를 동안 재배한 콩나물을 병원균 일정량으로 똑같이 감염시킨 후 이들이 지

기간 연장이 가능하다는 것을 제시한다. 또한 이 소플라보노이드도 수확 직후의 높은 함량을 그대로 유지하는 것이 관찰되었다.

위와 같은 실험실에서의 재배결과가 공장에서 대규모로 재배하였을 때에도 적용되는지를 알기 위해 공장에서 실증실험을 한 결과, 실험실에서와 비슷한 결과가 나왔다. 즉 발아율과 수율에 있어 식물면역활성물질을 처리하였을 때 높았으며 이 소플라보노이드 함량도 증가하였다. 특히 맛에 어떤 영향을 주었는지를 알아보기 위하여 관능평가



(사진 1) 콩나물 병원균 Bacillus coagulans로 인위적으로 감염시킨 콩나물의 감염 이틀 후 모습

났을 때의 콩나물 모습이다.

키토산, 베타글루칸을 처리하였을 때 훨씬 감염이 덜 되는 것을 알 수 있다. 특히 키토산과 베타-글루칸을 혼합 처리하였을 경우 더욱 저항성이 증가됨을 알 수 있다.

콩나물은 유통기간이 짧은 것이 문제가 되어 식물면역활성물질 처리를 통해 유통기간 연장이 가능한지를 조사하였다. 그 결과 식물면역활성물질 처리한 콩나물이 총균수에 있어 약 80~90% 정도 감소하는 것을 알 수 있었으며 균의 증가속도도 느린 것을 알 수 있었다.

이 결과는 식물면역활성물질 처리를 통해 유통

를 한 결과 기호도가 상승된 것으로 나왔다.

결국 식물면역활성물질혼합(키토산+베타-글루칸) 처리 콩나물의 발아율이 높고 성장이 잘 된 것을 확인할 수 있었다.

식물면역활성물질이 우리가 모르는 어떤 독성 물질을 증가시킬 수 있다는 가능성을 고려하여 쥐를 이용하여 독성 실험을 하였다. 암·수 rat 각 40마리를 이용하여 콩나물 건조분말을 최고 10%까지 시료에 혼합, 90일간 투여하면서 투여군에서 체중의 변화, 사료섭취량, 음수량, 행동의 변화, 혈액학, 혈청생화학적 변수, 주요 장기의 조직

학적 측면에 영향이 나타나는가를 시험하였다.

그 결과 어떤 변수에서도 시험시료의 투여와 관련되었다고 판단할 만한 변화가 관찰되지 않았기 때문에 이 콩나물 시료가 인간에 심각한 독성을 미칠 가능성은 거의 없다고 판단되었다.

이 시험에서 사용한 최고 혼합농도인 10%는 콩나물 습증량으로 역산하면 인간(65kg 기준)이 매일 2.1~7.5kg(마켓에서 파는 콩나물 25봉지에 해당)를 섭취하는 경우와 비교할 만한 것이다. 일반적으로 인간이 매일 콩나물을 섭취하는 양이 300g 정도로 가정한다면 rat과 인간의 감도 차이를 고려한다고 하더라도 충분히 안전하다고 볼 수 있다.

앞으로 작용기작 연구에도 지원 필요



(사진 2) 콩나물 공장에서의 실증실험

이상의 결과로부터 콩나물 재배 시 식물면역활성물질을 처리한 경우 발아율이 증가하고 병에 대한 저항성, 수확 후 저장성이 증가 할 뿐만 아니라 유방암 억제작용, 항암작용, 골다공증 억제작용, 폐경기 여성에게 있어서는 식물성 여성호르몬 역할을 하는 이소플라보노이드가 2~5배 증가하는 여러 유익한 효과가 있음을 알 수 있었다.

또한 본문에서는 언급을 안하였지만 비타민C의

함량도 증가하였다. 이런 효과는 숙주나물의 경우에도 해당되었다. 본 논문에서는 지면 관계 상 언급을 못하였지만 식물면역활성물질을 마늘에 처리하였을 때에도 항암물질과 혈압강하물질의 증가와 더불어 저장성의 증가를 관찰할 수 있었으며 이 효과는 시금치, 무 등에도 있었다.

이상과 같은 결과로 볼 때 많은 농산물에 있어 식물면역활성물질 처리에 의해 기능성물질의 증가뿐만 아니라 병에 대한 저항성이 증가되고 발아율이 증가되어 이의 이용은 첨가제 사용을 줄여 환경친화적 농업을 할 수 있게 할 뿐 아니라 고품질 농산물생산에 도움을 줄 수 있을 것이라 기대된다.

그러나 어떻게 해서 이런 효과가 나오는 지 그 기작에 대해서는 우리가 상당부분 이해를 하고 있지만 아직 부족함이 많이 있다.

특히 식물면역활성물질 처리를 식물에 할 때 어떤 조건(양, 시기, 빛수 등)에서 처리할 지를 결정할 때 여태까지는 주로 수량증가나 병에 대한 저항성 등을 조사하여 결정하였는데 이런 방법을 사용하는 데는 많은 시간, 경비가 들고 더욱이 실험결

과의 오차가 크다.

식물면역활성물질 효과의 작용기작을 이해한다면, 식물면역활성물질 처리의 최적화가 훨씬 짧은 시간 안에 적은 경비를 들이고도 훨씬 정확한 결과를 얻는 것이 가능할 것이라 여겨진다. 그러므로 앞으로 식물면역활성물질 효과의 작용기작 연구에도 많은 지원이 있어야 할 것이다. ●

참고문헌 : Glycobiology, Plant-Microbe Interact 외 다수.

주) 현재 식물면역활성물질인 키토산과 베타-글루칸은 목포 소재의 바이오테크(주)(☎ 061-278-0963)에서 판매하고 있다.