

콩나물 성장과 비타민C의 생합성에 대한 성장조절제의 영향

김 상 옥

영남공업전문대학 식품영양과

Effect of Growth Regulators on the Growth and Vitamin C Biosynthesis During Germination of Soybean

Sang-Ock Kim

Dept. of Food and Nutrition, Young Nam Technical Junior College, Taegu, 705-037, Korea.

Abstract

This study was carried out to realize the effect of gibberlic acid(GA₃), 1-naphthaleneacetic acid(NAA) and indole-3-acetic acid(IAA) on the biosynthesis of vitamin C. The relation between carbohydrate metabolism and vitamin C production in soybean sprouts was also investigated. Growth, vitamin C content, protein, galactonolactone dehydrogenase(GLD), ribulose diphosphate carboxylase(RuDpCO) and RNA level in the plastid and cytoplasm were determined. The effects of protein and respiratory inhibitors on the growth and vitamin C production were also examined. The most favourable growth of soybean sprouts was observed at the level of NAA 10⁻⁸M, IAA 10⁻⁶M and GA₃ 10⁻⁵M in the single treatment, respectively, and also favourable at levels of GA₃ 10⁻⁵M+NAA 10⁻⁹M and GA₃ 10⁻⁵M+IAA 10⁻⁹M in the case of mixed treatment. The excellent growth was observed at the level IAA 10⁻⁶M among all the single and mixed treatments. When the soybean sprouts were treated with NAA 10⁻⁸M, IAA 10⁻⁶M, GA₃ 10⁻⁵M, GA₃ 10⁻⁸M+IAA 10⁻⁶M, and GA₃ 10⁻⁵M+IAA 10⁻⁹M, the maximum growth rate was observed at the level of IAA 10⁻⁶M and the content of vitamin C was 24.26mg% which was 1.6 times higher than that of the control. RuDpCO was inhibited by the chloramphenicol at the concentration that did not inhibit the growth but the activities of NADP-GDH, GLD and vitamin C content were not affected. These results showed that the biosynthesis of vitamin C had nothing to do with the activity of chloroplastic RNA but with cytoplasm. The highest vitamin C content was found at the level of IAA 10⁻⁶M, where the GLD activity increased up 1.8 times of the control. The concentration of IAA 10⁻⁶M promoted the biosynthesis of RNA and protein both in chloroplast and cytoplasm, especially in the cytoplasm. Thus it suggested that IAA affected vitamin C biosynthesis by regulating RNA level in the cytoplasm. 2,4-Dinitrophenol as an uncoupler of oxidative phosphorylation did not inhibit the vitamin C biosynthesis, however, all of the respiratory inhibitors severely inhibited the growth and vitamin C biosynthesis.

서론

우리나라에서 옛날부터 비타민C를 비교적 많이 함유하는 신선식품으로서 널리 식용하여 온 콩나물

은 계절에 관계없이 일반가정에서 쉽게 길러왔다. 그러나 근래에 와서 콩나물의 수요가 많아짐에 따라 공장규모의 다량생산이 이루어지게 되어 과학적으로 생산하게 되는 연구가 많아졌다. 특히 주목할 사실은 콩이 발아 성장할때 콩속에 없었던 비타민

C가 생성된다는 사실이다. 그러므로 콩나물의 식품 영양학적 의의는 비타민C의 급원에 있으며, 특히 콩나물중의 비타민C의 함량은 약 15mg%¹²⁾로 채소의 공급이 적은 겨울철에 유용한 비타민C의 급원으로 중요하다. 따라서 콩나물이 성장할때 생성되는 비타민C를 다량생성시키는 것은 중요한 과제라 할 수 있다.

식품으로서 콩나물에 관한 연구는 주로 우리나라에서 비교적 많이 이루어졌다. 즉, 콩나물이 성장할때 ascorbic acid, riboflavin, thiamin등 비타민의 생성 및 변화³⁻⁷⁾ 단백질 및 유리 아미노산의 변화⁸⁻⁹⁾, 지방질의 변화¹⁰⁾ 구성당류¹¹⁻¹⁴⁾ 및 nucleotide당의 변화¹⁵⁾ 등에 대한 연구가 있다. 또 X-선 조사가 콩나물 성장시 산화적 인화적 및 조직흡수에 미치는 영향¹⁶⁾, flavin화합물의 변화¹⁷⁾, glyoxylic 회로에 미치는 영향¹⁸⁾ 및 핵산대사에 미치는 영향¹⁹⁾에 대한 보고가 있다. 그리고 콩나물중의 비타민C의 생합성은 광선²⁰⁻²¹⁾ 영양물질¹⁾, gibberellic acid(GA₃), 2,4-dichlorophenoxyacetic acid(2,4-D), 1-naphthleneacetic acid(NAA)등 식물 성장호르몬^{1,22-24)}에 의하여 조절된다는 것이 보고되고 있다. 이 중에서 성장호르몬에 의한 식물체 성분의 생합성 조절이 호르몬의 종류와 그 농도 및 식물체의 종류에 따라서 잘 이루어질 수 있을뿐 만 아니라 성장과 성분을 함께 조절할 수 있다는 점에서 가장 실용적인 것으로 보고^{1,22)}되고 있다.

이상과 같은 발표논문들은 대부분이 콩나물 성장시 각종 화학성분의 변화에 대한 단편적인 논문들이고 비타민C의 생합성과 관련된 생화학적 경로와 관련된 연구는 매우 드물다. 비타민C의 생합성은 생물체에서 glucose로 부터 전환된 L-gulonolactone과 L-galactono- γ -lactone이 각각 L-gulonolactone oxidase와 L-galactonolactone dehydrogenase의 작용에 의한 두경로에²⁵⁾의하여 생합성된다. 또 비타민C는 cytoplasm의 microsome에서 발견되나 flavin 단백질인 L-galactonolactone dehydrogenase는 mitochondria에 존재하여²⁶⁾ 생물체중 비타민C 존재장소와 비타민C 생합성효소의 합성장소가 상이하어 이에 대한 의문점이 제기된다. 엽록소의 함량이 높을수록 비타민C의 함량이 높으므로 엽록체와 비타민C의 관련성이 있다는 주장이 있는 반면 이와 서로

다른 보고도²¹⁻²⁷⁾ 있다. 한편 식물 성장 호르몬은 생장과 2차 대사산물의 생합성을 조절할 수²⁸⁻³¹⁾ 있을뿐 만 아니라 물질합성에 관여하는 RNA의 생합성을 촉진하는 것으로 알려져 있다³²⁻³⁵⁾. 그러나 단백질 및 효소의 생합성에 관여하는 RNA는 세포내 plastid와 cytoplasm 양쪽에 각각 존재하여³⁶⁾ 어느 한쪽에 치우쳐 작용할 가능성도 있는 것이다.

본 연구에서는 콩나물의 성장과 비타민C의 함량을 효율적으로 조절하기 위하여 몇가지 식물 성장 호르몬을 처리하여 콩나물의 생장과 비타민C의 함량 변화를 살펴 보았고, 또한 이들 호르몬 처리가 콩나물 성장시 비타민C 생합성과 관계되는 몇가지 효소들의 활성을 측정하여 비타민C 생합성에 대한 생화학적 메카니즘의 일부를 규명하고자 하였다. 즉, 식물 성장호르몬인 GA₃, NAA, indole-3-acetic acid(IA)를 단독 및 혼합액으로 처리하였을때 콩나물의 성장량과 비타민C의 함량을 측정하여 사용한 호르몬의 효과를 비교함과 동시에 콩나물 성장 및 비타민C의 생합성에 대한 호르몬의 최적농도를 확인하여 보았다. 또한 비타민C의 생합성 장소를 확인하기 위하여 비타민C 생합성과 관련이 있는 몇가지 효소들의 활성을 측정하였으며, 또 당대사가 비타민C 생합성에 미치는 영향을 검토하기 위하여 해당 및 TCA 회로에 대한 몇가지 저해제를 각각 처리하였을때 콩나물의 성장과 비타민C의 함량 변화를 측정하였다. 이상과 같은 본 연구에서 얻은 몇가지 결과를 이에 발표하고자 한다.

재료 및 방법

재 료

본 실험에 사용한 재료는 대구산의 콩나물 콩인 유대(*Glycine max* L. Merr.)를 사용하되 상해를 받은 것과 외관에 이상이 있는 것은 제거하고 낱알의 무게가 약 120~130mg의 것을 선별하여 사용하였다.

콩나물 제조

선별한 재료 10g씩을 물로 씻은 후 0.1% HgCl₂ 용액에 3분간 담구어 살균하고 상법에 따라 25℃에서 8시간 물에 담구 뒤 플라스틱상자(200cm²×10cm)에 넣어 거어즈로 덮고 25℃의 실온에 하루 4번씩

물을 주면서 어두운 곳에서 길렀다.

식물 성장조절제 및 저해제의 처리

GA₂, NAA 및 IAA는 각각 10⁻³M 용액을 만들어 냉장고에 보관하면서 이것을 희석하여 10⁻³~10⁻⁵M로 조절한 후 콩을 8시간 이들 용액에 담구어 전술한 콩나물 제조법과 같은 방법으로 길렀다.

또 혼합 홀몬의 효과를 여러가지로 검토하기 위하여 Homes^{38,39)}의 systematic variation법에 따라서 GA₃와 NAA, GA₃와 IAA를 각각 10⁻⁹~10⁻⁶M 범위로 서로 혼합하여 위와같은 방법으로 콩나물을 길렀다. 또 chloramphenicol(CAP)의 처리는 Schmeder와 Beisenherz⁴⁰⁾의 방법에 따라 1.24×10⁻⁴~25.00⁻⁴mg/ml의 농도로 만들어 위와같은 방법으로 콩나물을 길렀고, 또한 2,4-dinitrophenol(DNP), monoiodoacetate(MIA), NaF, NaN₃ 및 KCN은 宇佐美와 高巢⁴¹⁾의 방법에 따라 10⁻⁵M로 만들어 역시 위와같은 방법으로 콩나물을 길렀다.

성장량의 측정

콩나물을 6일동안 길러 뿌리를 제거한 것 50개를 무작위 선발하여 그 무게를 측정하였다.

비타민C의 함량

비타민C의 함량은 2,4-dinitrophenyl hydrazine(DNP) 비색법⁴²⁾에 따라 측정하였다. 즉, 콩나물 5g을 2% m-HPO₃ 용액으로 마쇄하고 그 추출액 2ml에 indophenol 2~5 방울과 thiourea와 m-HPO₃ 혼합액 2ml를 가하여 잘 혼합한 후 DNP용액 1ml를 가하여 50°C에서 1.5시간 반응시켰으며, 즉시 방냉한 후 85% H₂SO₄ 5ml를 기벽을 통해 서서히 가하여 상온에서 30분간 방치하였다. 다음에 540nm에서 흡광도를 측정하고 표준곡선에 의하여 총 비타민C의 함량을 구하였다.

엽록소의 분리

엽록체의 분리는 Lyttleton의 방법⁴³⁾에 따라서 시료 일정량을 0.5M sucrose를 함유하는 0.025M 인산염 완충용액(pH 7.5)으로 균질화시킨후 4겹의 거어로 여과하고 150×g에서 10분간 원심분리하였다. 여기서 얻은 침전물을 다시 인산염 완충용액이 함

유되지 않은 0.5M sucrose용액으로 재현탁시킨 다음 원심분리(150×g, 10분간)하여 엽록체의 침전물을 얻었다. 이 엽록체 침전물을 시료로 하여 측정된 단백질 및 RNA를 chloroplastic 단백질 및 RNA라 하였고, 총 RNA와 단백질의 값에서 위의 값을 뺀 값을 cytoplasmic RNA 및 단백질이라 하였다.

단백질의 추출 및 정량

위의 시료를 균질화하여 동결건조(Labcono, Freezing dryer-8)시킨후 Soxhlet 장치에서 탈지하여 얻은 시료를 0.2M 인산염 완충용액(pH 7.6)으로 단백질을 추출한 후 Lowry의 phenol시약⁴⁴⁾으로 발색시켜 760nm에서 흡광도를 측정하였고, serum albumin(Sigma 제)를 사용한 표준 곡선에 의하여 그 함량을 계산하였다.

RNA의 추출 및 정량

RNA는 Schmidt-Thannhauser-Schnider의 법⁴⁵⁾에 따라 추출 및 분획하였으며, 그 분획부의 흡광도를 260nm에서 측정하여 $\mu g = OD_{260} \times 34.79$ 의 식에 의하여 그 함량을 계산하였다.

Nicotinamide adenin dinucleotide phosphate(-NADP)-Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GDH)의 활성

효소액의 조제 : 균질화하여 동결건조시킨 시료를 탈지하여 0.05M collidin buffer(pH 7.2)용액으로 3시간 동안 추출한 다음 4°C, 1,300×g에서 30분간 원심분리하였다. 그 상정액에 포화 황산암모늄 용액을 가하여 90%가 되도록 한 다음 5시간 방치하여 3,500×g에서 30분간 원심분리하여 침전물을 얻었다. 침전물은 다시 collidin buffer에 용해시킨 후 cellulose 투석막을 사용하여 24시간 투석시켜 효소액으로 하였다.

효소활성의 측정 : Ziegler의 방법⁴⁶⁾에 따라 0.5M의 collidin buffer(pH 7.2) 1.5ml, 2 μ mol의 MgSO₄ 0.1ml, 1 μ mol의 cysteine 0.1ml의 환원 glutathion 0.1ml, 2.7 μ mol의 ATP 0.1ml, 22 μ mol의 3-phosphoglycerate 0.1ml의 혼합용액에 ml당 0.5~1.0mg의 단백질이 함유되도록 효소액을 제조하였다. 이액 0.1ml을 실온에서 20분간 방치한 다음 다음 0.4 μ mol의

NADPH 0.1ml를 가하여 5분간 반응시킨 후 340nm에서 흡광도 측정하였다. 측정값은 대조구에 대하여 고유활성도(specific activity)로 표시하였다.

Ribulose diphosphate carboxylase(RuDpCO)의 활성

효소액의 조제: 앞의 (6)에서와 같이 탈지한 시료를 tris buffer(pH 7.6)로서 추출한 후 포화 황산암모늄용액으로 분획하였으며, 이를 사용하기 전에 0.1 mM의 EDTA와 10 mM의 2-mercaptoethanol을 함유하는 tris buffer(pH 7.6)로서 4°C에서 하룻밤 투석하여 효소액으로 하였다.

효소활성의 측정: Racker의 방법⁴⁷⁾에 따랐다. 즉 0.025M D-ribulose-1,5-diphosphate 0.02ml, 0.1M glutathion 0.05ml, 0.5M KHCO₃ 0.15ml, 0.2M ATP 0.06ml, 0.5M MgCl₂ 0.02ml, 0.006M NADH 0.02ml, tris buffer(pH 7.8) 1M 0.05ml, 0.5% glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase 0.05ml, 0.025% 3-phosphoglycerate kinase 0.02ml, 0.05% α-glycerophosphate dehydrogenase-triogenase-triose-phosphate isomerase 0.05ml, 조제효소액 0.06ml와 증류수 0.45 ml를 혼합하여 최후부피가 1.0ml가 되게 microquartz cell에 넣고 30°C에서 5분간 반응시킨 다음 340nm에서 흡광도를 측정하였다. 효소활성은 대조구에 대한 고유활성도로 표시하였다.

Galactonolactone dehydrogenase(GLD)의 활성: 앞의 (6)에서 탈지한 시료를 40μmol의 인산염 완충용액(pH 7.6)으로 추출하여 포화 황산암모늄용액으로 분획하여 얻은 것을 증류수로 투석한 다음 다시 인산염 완충용액으로 추출하여 효소액을 하였다. 기질 L-galactono-γ-lactone 2μmol을 함유하는 용액 2ml에 효소액 0.1ml를 가하여 30°C에서 1시간동안 반응

시킨 후 생성된 비타민C의 함량을 DNP비색법⁴²⁾에 따라서 측정하였다. 효소활성은 대조구에 대한 고유활성도로 표시하였다.

통계 처리

실험결과는 3반복할 실험의 평균값으로 나타내었으며, Duncan의 다범위검정법⁴⁸⁾에 따라서 5% 수준에서 유의성을 조사하고 유의성의 범위를 알파벳의 文字로서 표시하였다.

결과 및 고찰

콩나물의 생장에 미치는 생장 조절제의 영향

콩나물을 기를 때 GA₃, IAA 및 NAA가 콩나물 생장에 미치는 효과를 알아보기 위하여 이들을 10⁻⁸~10⁻⁵M 범위로 처리하여 6일후의 콩나물의 생장량을 측정할 결과는 Table 1과 같다.

즉, GA₃는 처리 농도가 증가함에 따라 생장이 양호해지는 경향이 있으며 10⁻⁵M에서 콩나물 50개체당 생체량이 52.1g으로 가장 높았으며, NAA는 비교적 묽은 농도인 10⁻⁸M에서 50개체당 생체량이 51.9g, 그리고 IAA는 10⁻⁶M에서 50개체당 생체량이 54.0g으로 각각 가장 높았다. 그리고 사용한 식물 생장조절제중 LAA 10⁻⁶M에서 생장이 가장 양호하였다.

GA₃, 2,4-D, NAA 등 식물 생장조절제가 콩나물의 생장에 효과가 있음은 이미 여러 연구자들에^{12,24)} 의하여 보고되었으나 이들의 연구에서는 처리 홀몬의 농도가 좁아서 콩나물 생장에 적합한 홀몬의 농도를 결정하지는 못하였다. 그러나 본 연구에서는 사용한 홀몬을 10⁻⁸~10⁻⁵M의 넓은 농도의 것을 각각 사용하여 홀몬의 농도별로 콩나물의 생장량을

Table 1. Effect of growth regulators on the growth of soybean sprouts

(g / 50 fresh seedlings)

Plant regulators*	Control	Concentration(M)			
		10 ⁻⁸	10 ⁻⁷	10 ⁻⁶	10 ⁻⁵
GA ₃	46.0 ^{az}	46.4 ^a	46.5 ^a	48.3 ^b	52.1 ^c
NAA		51.9 ^c	50.0 ^c	45.2 ^a	45.0 ^a
IAA		46.2 ^a	47.3 ^b	54.0 ^d	47.2 ^b

* GA₃, gibberellic acid(2,4-d, 7-trihydroxy-1-methyl-8-methylenegibb-3-ene-1, 10-dicarboxylic acid 1, 4-a-lactone); NAA, 1-naphthaleneacetic acid; IAA, indole-3-acetic acid.

^zThe mean values with different letter are significant at 5% level by Duncan's Multiple Range Test.

Table 2. Effect of GA₃ and NAA combination treatment on the growth of soybean sprouts

Treatment (M)	g / 50 Fresh seedlings
Control	46.0 ^{az}
GA ₃ 10 ⁻⁹ +NAA 10 ⁻⁵	45.0 ^a
GA ₃ 10 ⁻⁸ +NAA 10 ⁻⁶	46.7 ^a
GA ₃ 10 ⁻⁷ +NAA 10 ⁻⁷	51.4 ^c
GA ₃ 10 ⁻⁶ +NAA 10 ⁻⁸	51.8 ^c
GA ₃ 10 ⁻⁵ +NAA 10 ⁻⁹	51.8 ^c

All abbreviations and values with different letter are the same as in Table 1.

Table 3. Effect of GA₃ and IAA combination treatment on the growth of soybean sprouts

Treatment (M)	g/50 fresh seedlings
Control	46.0 ^{bz}
GA ₃ 10 ⁻⁹ +IAA 10 ⁻⁵	47.0 ^b
GA ₃ 10 ⁻⁸ +IAA 10 ⁻⁶	48.9 ^c
GA ₃ 10 ⁻⁷ +IAA 10 ⁻⁷	43.5 ^a
GA ₃ 10 ⁻⁶ +IAA 10 ⁻⁸	42.6 ^a
GA ₃ 10 ⁻⁵ +IAA 10 ⁻⁹	50.6 ^d

All abbreviations and values with different letter are the same as in Table 1.

측정하여 콩나물의 성장에 가장 적합한 식물 생장 조절제의 종류와 농도를 알 수 있었다.

또 De Ropp와 Markey⁴⁹⁾, Thimann과 Lalraya⁵⁰⁾는 IAA와 GA₃에 의한 발아 대두의 배측부 및 뿌리의 신장효과는 IAA 및 GA₃를 처리하는 시기에 따라 다르다고 하였고, Coleman과 Greyson⁵¹⁾, Shi-baoka⁵²⁾, 宇佐美⁵³⁾은 식물 생장조절제의 처리 부위에 따라 콩나물의 생장이 상이함을 보고하였는데, 저자의 연구²⁴⁾에 의하면 홀몬의 처리 시기를 침수시와 주수시(注水時)로 나누어 행하여 본 결과 침수시의 처리가 주수시보다 오히려 콩나물의 생장이 양호하였다.

한편, 콩나물의 성장에 미치는 GA₃와 NAA, GA₃와 IAA의 혼합 처리 효과를 검토하기 위하여 이들은 혼합하되 농도를 각각 달리하여 GA₃와 NAA를 혼합처리 하였을 때 콩나물의 성장량을 측정한 결과는 Table 2와 같고, 또 GA₃와 IAA를 혼합하였을 때 콩나물의 성장량을 측정한 결과는 Table 3과 같다.

Table 4. Effect of growth regulators on the vitamin C content of soybean sprouts

Growth regulators	Vitamin C content (mg%-fresh weight)
Control	15.37 ^{az}
GA ₃ 10 ⁻⁵ M	20.50 ^c
NAA 10 ⁻⁸ M	14.28 ^a
IAA 10 ⁻⁶ M	24.26 ^d
GA ₃ 10 ⁻⁸ M+IAA 10 ⁻⁶ M	21.05 ^c
GA ₃ 10 ⁻⁵ M+IAA 10 ⁻⁹ M	17.80 ^b

All abbreviations and values with different letter are the same as in Table 1.

비타민C의 생성에 미치는 생장 조절제의 영향

본 실험에서 사용한 식물 생장조절제의 단독 및 혼합처리에서 콩나물의 생장이 비교적 양호하였던 홀몬의 종류와 농도에서 콩나물중의 비타민C의 함량을 측정한 결과는 Table 4와 같다.

즉, GA₃와 NAA의 혼합처리에 있어서는 Table 2와 같은 NAA의 농도가 낮고 GA₃의 농도가 높을수록 콩나물의 생장이 양호하였다. 이러한 결과는 GA₃ 단독처리의 경우(Table 1) GA₃의 농도가 증가함에 따라 콩나물의 생장이 양호하였던 결과로 미루어 보아 GA₃와 NAA의 혼합처리시 NAA는 콩나물의 성장에 영향을 미치지 못하는 것으로 볼 수 있었다. 또 GA₃와 IAA 혼합처리의 경우는 IAA의 농도가 높고 GA₃의 농도가 낮거나, IAA의 농도가 낮고 GA₃의 농도가 높을 때 콩나물의 생장이 양호하였으나, GA₃와 IAA의 혼합처리는 콩나물의 성장에 별로 효과가 없는 것으로 나타났다. 따라서 본 실험에 사용한 식물 생장조절제를 농도별로 단독 및 혼합처리 하였을 때 콩나물 성장에 가장 효과적인 것은 IAA 10⁻⁶M의 단독처리가 가장 효과적임을 알 수 있었다.

김²⁴⁾은 콩나물 성장시 kinetin과 auxin을 혼합처리 하였을 때 단독처리 하였을 때 보다 생장이 양호하였다고 보고 하였으나, 본 실험에서는 GA₃와 auxin의 혼합처리에 있어서는 뚜렷한 콩나물의 성장 촉진 효과는 발견되지 않았다. 그리고 宇佐美⁵⁴⁾는 GA₃는 콩나물의 성장을 촉진하고 IAA는 발근을 촉진한다고 보고 하였으나, 본 실험의 결과에서는 IAA는 오히려 콩나물의 배측부의 신장을 촉진시켰다.

즉, 물만으로 기른 콩나물(對照區)의 비타민C 함

량은 15.37mg% 였으나 NAA10⁻⁸ 처리구는 14.28mg로 대조구보다 비타민C의 함량이 낮았고 이것은 다른 처리구에 비하여 그 함량이 가장 낮았다. 그리고 GA₃ 10⁻⁵M 처리구는 비타민C의 함량이 20.50mg%로 비교적 높은 함량을 나타내어 장과 윤¹⁾ 및 김²⁴⁾의 결과와 대체로 일치하였으며, IAA 10⁻⁶ 처리구가 본 실험에 사용한 식물 생장조절제의 단독 및 혼합처리구 중에서 가장 비타민C의 생장량이 많았다. 그리고 GA₃와 IAA의 혼합처리구의 경우도 IAA 단독처리구에 비하여 비타민C의 함량이 낮았다. 따라서 이상과 같은 본 실험의 결과로 보아 IAA 10⁻⁶M 처리가 콩나물의 생장과 비타민C의 생성을 동시에 만족시키는 가장 효과적인 조건임을 알수 있었다.

비타민C의 생합성에 미치는 IAA의 영향

비타민C와 관련 효소의 생합성 장소:IAA등 auxin은 식물체내의 DNA 및 RNA의 함량을 증가시키고^{34,35,56)} RNA 관련 단백질 및 효소의 생합성과 밀접한 관계를 갖고 있다^{34,55-58)}. 그러나 세포내 단백질 및 효소의 생합성은 cytoplasm과 plastid에 각각 존재하는 RNA에 의하여 각각 달리 지배된다³⁶⁾. 한편 auxin도 그 종류에 따라서 작용하는 장소가 다름이 밝혀져 있어⁵⁹⁾ auxin의 작용 장소 및 비타민C와 관련 효소의 생합성 장소를 밝히는 것은 홀몬의 효과적인 조절을 위하여 중요한 일이다. 따라서 본 연구에서는 단백질 생합성의 저해제의 CAP 처리를 하였다.

CAP는 chloroplastic DNA 관련 70S ribosome을 저해⁴⁰⁾ 하는 것으로 알려져 있다.

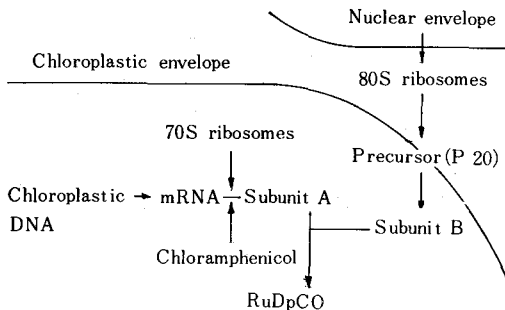


Fig. 1. Inhibition mechanism of chloramphenicol on the RuDpCO biosynthesis.

Table 5. Effect of CAP on the growth and vitamin C content of soybean sprouts (% of control)

	Concentration of CAP(x 10 ⁻⁴ M)			
	1.25	2.50	5.00	25.00
Growth	99.8 ^{a2}	98.2 ^a	96.5 ^a	96.3 ^a
Vitamin C content	105.2 ^a	98.4 ^a	98.5 ^a	96.0 ^a

²Mean values are the same as in Table 1.

Table 6. Effect of CAP on the activity of enzymes RuDpCO, NADP-GDH and GLD of soybean sprouts (% specific activity of control)

	Concentration of CAP(x 10 ⁻⁴ M)			
	1.25	2.50	5.00	25.00
RuDpCo	86.8 ^{a2}	60.5 ^b	40.6 ^c	17.8 ^d
NADP-GDH	94.5 ^a	95.0 ^a	93.8 ^a	93.6 ^a
GLD	97.5 ^a	96.4 ^a	94.2 ^a	90.5 ^b

²Mean values are the same as in Table 1.

RuDpCO, ribulose diphosphate carboxylase; NADP-GDH, nicotinamide adenine dinucleotide phosphate-glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase; GLD, galactonolactone dehydrogenase.

따라서 CAP가 plastid에서 생합성되는 RuDpCO의 생합성을 저해시킨다는 사실을 지표로 삼아서 plastid와 비타민C의 생합성과의 관련성 여부를 검토하기 위하여 CAP가 콩나물의 생장과 비타민C의 함량에 미치는 영향을 측정 한 결과는 Table 5과 같고, 또 CAP가 콩나물의 생장시 비타민C 생성에 관련되는 몇가지 효소들의 활성을 측정 한 결과는 Table 6과 같다.

즉, Table 5에서와 같이 CAP의 농도를 1.25~25.00×10⁻⁴M로 각각 처리하였을때 콩나물의 생장과 비타민C의 함량에는 거의 변화가 없었다. 또 Table 6에서와 같이 콩나물의 생장이 크게 감소되지 않는 CAP 농도에서 chloroplast에서 생합성되는 RuDpCO의 활성에 크게 감소되는 경향을 나타내는 반면에 cytoplasm에 생합성되는 NADP-GDH와 비타민C 및 GLD의 활성은 저해되지 않았다. 이와같은 사실은 비타민C와 그 관련 효소의 생합성이 plastid와 무관함을 암시해 주며, 세포핵유래 RNA에 의하여 지배됨을 추측할 수 있다. 그리고 콩나물중의 비타민C의 생합성은 L-galactonolactone dehydrogenase의 경로에 의하여 합성된다고 이¹¹⁾ 등이 지적하였던

데 본 연구의 결과에서도 GLD의 활성이 비교적 높게 나타난 점으로 보아(Table 6) 이들의 결과와 일치하는 것으로 생각된다.

한편, Takashi²⁰⁾는 종자 발아중 비타민C는 빛의 조사에 의해서 촉진된다고 하였으며, Sugawara²¹⁾와 馬場²⁷⁾은 빛에 의한 촉진 효과는 엽록소 생성 후반에 볼 수 있다고 보고한 반면, 엽록소 생성 전반에 촉진된다는 보고²⁷⁾도 있어 chloroplast의 발달과 비타민C의 생합성과의 관계가 불분명하였으나, 본 실험에서 CAP 처리에 의하여 비타민C의 생성이 저해되지 않는 결과로 미루어 볼때 콩나물의 경우는 chloroplast의 형성과 직접적인 관계가 없다고 볼 수 있으며, 다만 Sugawara의 보고²¹⁾에서와 같이 광합성에 의하여 생성된 당이 비타민C로 전환된다는 사실로 미루어 당대사와 밀접한 관련이 있는 것으로 추측된다. 그러나 생합성 관련 효소인 RuDpCO의 생합성을 CAP처리로서 저해시킴에도^{60,61)} 비타민C의 생성이 감소되지 않는 현상은 콩나물 성장시 비타민C의 생성은 저장 탄수화물의 분해에 크게 의존함을 알 수 있었다.

IAA의 작용과 비타민C의 생합성 : IAA가 세포의 신장⁶⁴⁾ 분화 및 분열⁶⁵⁾을 촉진시키고 生長을 조절한다는 것은 이미 잘 알려진 사실이다. 이와같은 특성은 DNA에 의한 transcription이나 translation에 따라 특정 효소나 단백질의 생합성을 조절하는 까닭으로 설명되거나⁶⁶⁾ 홀몬처리가 cytoplasm과 plastid에 양존하는 단백질 생합성계⁶⁴⁾의 어느 한쪽에 치우쳐 작용하여 대사적 변동을 일으킬 가능성도 있다.

따라서 본 연구에서는 IAA의 작용 장소를 검토하시 위하여 본 실험에서 콩나물의 생장이 가장 양호하였던 IAA 10⁻⁶M 처리에서 콩나물의 cytoplasm과 plastid중 RNA함량과 단백질의 함량을 물론만 기른 대조구 콩나물중의 이들 함량과를 비교 측정 한 결과는 Table 7 및 8과 같다.

즉, Table 8에서와 같이 콩나물 자엽중의 단백질 함량은 대조구는 cytoplasm에서 신선물 8당 26.5mg 인데 비하여 IAA 10⁻⁶M 처리구에서는 1.6배 증가한 42.2mg 였으며, chloroplast에는 대조구가 14.4mg 인데 비하여 IAA 처리구는 16.3mg으로 증가하여 chloroplast에 비하여 cytoplasm에서의 효과가 더욱 높았다. 이와같은 경향은 단백질의 생합성에 관련되

Table 7. Effect of IAA(10⁻⁶M) on the RNA content of soybean sprouts (mg / g fresh weight)

		Control	IAA
Cytoplasm	Cotyledon	2.28 ^{az}	3.68 ^b
	Hypocotyl	0.40 ^c	0.75 ^d
Chloroplast	Cotyledon	0.28 ^e	0.40 ^e
	Hypocotyl	0.09 ^f	0.16 ^f

^aMean values are the same as in Table 1.

Table 8. Effect of IAA(10⁻⁶M) on the protein content of soybean sprouts (mg / g fresh weight)

		Control	IAA
Cytoplasm	Cotyledon	26.5 ^{az}	42.4 ^b
	Hypocotyl	1.4 ^c	2.8 ^d
Chloroplast	Cotyledon	14.4 ^e	16.3 ^f
	Hypocotyl	0.7 ^g	1.2 ^h

^aMean values are the same as in Table 1.

Table 9. Effect of IAA(10⁻⁶M) on the vitamin C content and GLD activity of soybean sprouts

	Control	IAA
Vitamin C content (mg% - fresh weight)	15.37 ^{az}	24.26 ^b
GLD activity (μ mol/fresh 10g)	33.25 ^c	5.85 ^d

^aMean values are same as in Table 1.

Table 10. Effect of various IAA concentrations on the vitamin C content of soybean sprouts

	IAA concentration(M)			
	0	10 ⁻⁷	10 ⁻⁸	10 ⁻⁹
Vitamin C content (mg % - fresh weight)	15.3 ^{az}	18.61 ^b	24.26 ^c	19.58 ^b

^aMean values are the same as in Table 1.

는 RNA 함량에서도 동일한 경향을 나타냈으므로 (Table 7) IAA는 cytoplasm RNA 생합성과 밀접한 관계가 있음을 알 수 있었으며 이가 보고⁶⁷⁾한 바와 같이 엽록체 RNA 증가뿐만 아니라 cytoplasm RNA 증가에 더욱 크게 관여함을 알 수 있었다.

한편, IAA 처리가 콩나물중의 비타민C의 함량과 GLD활성에 미치는 영향을 검토한 결과는 Table 9와 같다.

즉, IAA 처리구는 대조구에 비하여 비타민C의

Table 11. Effect of respiratory inhibitors on the growth and vitamin C content of soybean sprouts (% of control)

Inhibitors*	Germination periods(days)	Growth	Vitamin C content	
			Cotyledon	Hypocotyl
DNP	4	96.3	225.1	100.5
	6	98.5	112.7	126.4
MIA	4	113.6	92.6	26.4
	6	94.6	77.5	60.6
NaF	4	60.5	26.4	10.5
	6	44.0	17.5	16.5
NaN ₃	4	57.9	26.5	12.3
	6	34.5	15.4	10.5
KCN	4	92.0	65.9	25.0
	6	81.3	50.2	36.5

*DNP, 2, 4-dinitrophenol : MIA, monoiodoacetate.

함량은 약 1.5배에 달하였으며 GLD 활성도 1.8배였다. 이와같은 현상은 IAA 처리가 cytoplasm RNA 함량을 크게 증가시키고 이로 인하여 활성화된 GLD가 비타민C의 생합성에 관여하는 것임을 알 수 있었다.

또 IAA의 처리 농도에 따른 콩나물중 비타민C의 함량을 측정한 결과는 Table 10과 같다.

즉, 비타민C의 함량은 콩나물의 생장이 가장 양호하였던 $10^{-6}M$ 에서 가장 높았고 $10^{-7}M$ 및 $10^{-7}M$ 에서는 비타민C의 함량이 대조구와 거의 비슷하였다. 따라서 콩나물을 기를때 비타민C의 생성과 그 성장을 위한 홀몬으로는 IAA $10^{-6}M$ 의 처리가 가장 적당함을 알 수 있었다.

당대사와 비타민C의 생합성 : 전술한 바와 같이 당은 비타민C 생합성의 전구체로서 매우 중요하며 또한 당대사가 비타민C 생합성에 크게 영향을 미친다. 따라서 본 연구에서는 당대사가 비타민C 생합성에 미치는 영향을 검토하기 위하여 산화적 인산화 반응의 짝풀림 물질(uncoupler)인 2,4-dinitrophenol(DNP)^{68,69}과 해당 저해제인 monoiodoacetate(MIA) 및 NaF⁶⁹ 그리고 TCA 회로 저해제인 NaN₃ 및 KCN⁷⁰을 각각 처리하였을때 콩나물의 성장과 비타민C의 함량을 측정한 결과는 Table 11과 같다.

즉, DNP처리로서 콩나물의 생장은 대조구보다 다소 저해되었으나 비타민C의 생성은 오히려 증가하였다. DNP는 산화적 인산화반응의 짝풀림 물질로서 에너지 대사에 관계하며 낮은 농도에서 산소의

소비를 촉진시키는 동시에^{68,69} sucrose의 이동을 억제하고⁷¹ 녹말과 sucrose의 산화를 서서히 감소시키는⁷² 것으로 보고되고 있다. 따라서 본 실험의 결과로 보아 glucose로부터 비타민C가 생합성되나 녹말로부터 분해 생성되는 것과는 관계가 없는 것으로 추측되며, 콩중에 남아있는 유리당이 비타민C의 생합성에 관여하는 것으로 생각된다.

한편 해당 저해제인 MIA 및 NaF, TCA 회로의 저해제인 NaN₃ 및 KCN의 처리는 콩나물의 생장이 진행됨에 따라 점차적으로 그 생성도 억제되었으며 비타민C의 생성도 저해되었다. Bonner⁷⁰와 Ruge⁷⁴는 MIA가 몇가지 식물체의 성장을 억제하였다고 보고하였는데 이와같은 현상은 본 실험의 콩나물에서도 같은 결과를 나타냈으며, 또 비타민C의 생성도 크게 억제되었으므로 해당대사가 비타민C의 생합성 뿐만 아니라 콩나물의 성장과도 밀접한 관계가 있음을 암시해 주고 있다. 그리고 TCA 회로 저해제인 NaN₃ 및 KCN의 처리에 의해서도 비타민C의 생성이 저해되었는데 이와같은 현상은 KCN이 콩나물 절지(切枝)의 부정근(不正根) 형성을 촉진하였다. 宇佐美와 高巢⁴¹의 연구로 보아 KCN이 비타민C 생합성에 필요한 기질에 영향을 미친것이 아니라 호흡저해로서 대사적 불균형과 관계가 있는 것으로 추측되며 galactonolactone dehydrogenase가 mitochondria 내에 존재한다는 사실과도 관련이 있는 것으로 생각된다.

요 약

비타민C의 급원식품인 콩나물의 성장과 비타민C의 함량을 식물 성장조절제에 의하여 조절할 목적으로 gibberellic acid(GA_3), indole-3-acetic acid(IAA) 및 1-naphthaleneacetic acid(NAA)의 단독 및 혼합 처리를 하였을 때 가장 적당한 식물 성장조절제의 종류 및 그 농도를 찾고 이 성장조절제가 비타민C의 생합성에 미치는 영향 및 당대사와 비타민C 생성과의 관계를 검토한 결과를 요약하면 다음과 같다.

콩나물의 생장은 NAA는 $10^{-8}M$, IAA 는 $10^{-6}M$, GA_3 는 $10^{-5}M$ 에서 각각 가장 양호하였다. GA_3 와 NAA 혼합처리인 경우는 $GA_3 10^{-5}M + NAA 10^{-9}$ 에서, GA_3 와 IAA 혼합처리인 경우는 $GA_3 10^{-5}M + IAA 10^{-8}M$ 에서 양호하였고, 단독처리가 혼합처리에 비하여 양호하였으며 특히 IAA $10^{-6}M$ 처리에서 가장 좋았다. 생장이 비교적 양호한 NAA $10^{-8}M$, IAA $10^{-6}M$, $GA_3 10^{-5}M$, $GA_3 10^{-5}M + IAA 10^{-6}M$ 및 $GA_3 10^{-5}M + IAA 10^{-8}M$ 의 각 처리구에서 비타민C의 생성 정도를 조사한 결과 콩나물 생장이 가장 양호하였던 IAA $10^{-6}M$ 에서 24.26mg%로서 그 함량이 가장 높았으며 대조구의 1.6배였다. 생장이 저해되지 않는 농도의 chloramphenicol(CAP) 처리에 의하여 ribulose diphosphate carboxylase(RuDP_{CO})는 저해되었으나 nicotineamide adenine dinucleotide phosphate - glyceraldehyde - 3 - phosphate dehydrogenase (NADP - GDH), galactonolactone dehydrogenase (GLD)의 활성 및 비타민C 함량은 저해되지 않았다. 따라서 비타민C의 생합성은 chloroplast RNA의 작용과는 직접적인 관련은 없고 cytoplasm과 밀접한 관련이 있다고 생각되었다. IAA $10^{-6}M$ 처리에 의하여 GLD 활성은 대조구의 1.8배로 촉진되었다. IAA $10^{-6}M$ 은 chloroplast와 cytoplasm RNA와 단백질의 생합성을 크게 촉진하였으며 cytoplasm에서 더욱 활발하였다. 따라서 IAA는 cytoplasm RNA를 조절하므로 여기서 지배되는 GLD의 생합성을 촉진시킨 결과 비타민C의 생합성이 증가된 것으로 생각되었다. 산화적 인산화 반응의 짝फल 물질이 2,4-dinitrophenol 처리로 비타민C의 생합성은 저해되지 않았으나, 해당 저해제인 monoiodoacetate와 NaF

및 TCA 회로 저해제인 NaN_3 와 KCN은 다같이 콩나물의 성장과 비타민C의 생합성을 크게 저해하였다.

문 헌

1. 장건형, 윤영희 : 육군기술 연구소보고, 1, 28(1962)
2. Kimura, T., Matsuno, H., Uehata, T., Kishida, K. and Kajita, T.: *Shitennoji Women's Coll. Kaseigaku Zasshi*(Osaka, Japan), 31, 55(1980)
3. 박일현, 김연조 : 과연회보, 1, 32(1956)
4. 장건형, 윤영희, 윤장식 : 육군기술 연구소보고, 2, 16(1963)
5. 최춘언, 김정희, 송필순, 이태영 : 과연회보, 4, 181(1959)
6. 김선영 : 군산대 논문집, 1, 317(1980)
7. 이태영, 최기주, 서경하 : 과연회보, 2, 74(1957)
8. 배효원, 유태중 : 한국농화학회지, 8, 81(1967)
9. 이기영, 이춘영, 김승원, 교재호 : 서울대논문집 (생농계), 8, 55(1958)
10. 신효선 : 한국농화학회지, 17, 240(1974)
11. 이기영, 이춘영, 이태영, 권태완 : 서울대논문집 (생농계), 8, 35(1959)
12. 이기영, 이춘영, 이태영, 권태완 : 서울대논문집 (생농계), 9, 12(1959)
13. 이춘영, 권태완 : 과연회보, 4, 225(1959)
14. 노영재 : 부산대 논문집, 4, 217(1963)
15. 김택영, 신현제 : 대한화학회지, 10, 59(1968)
16. 이기영, 김승원, 주영혜 : 원자력논문집, 35(1965)
17. 이춘영, 김희달, 신영서, 주충노, 이기영 : 한국농화학회지, 1, 62 (1960)
18. 김수자, 박인원, 이근배 : 원자력회보, 3, 44(1966)
19. 이근배, 이희성, 이민화 : 원자력회보, 3, 50(1966)
20. Takashi, T.: *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi*, 28, 430(1981)
21. Sugowara, T.: *Jap. J. Bot.*, 10, 171(1939)
22. 김동연 : 한국농화학회지, 4, 29(1963)
23. 김길환 : 한국식품과학회지, 13, 247(1981)
24. 김상옥 : 한국영양식량학회지, 11, 37(1982)
25. Lehninger, A.L.: *Principles of Biochemistry*, Worth Inc., New york, pp. 457~458(1982)
26. Conn, E.E. and Stumpt, P.K.: *Outline of Biochemistry*, John Wily and Sons Inc, pp. 230~231 (1976)
27. 馬場敦子 : 日本 家政學研究, 25, 122(1978)
28. Tanka, H., Machida, Y., Mukai, N. and Misawa, M.: *Agr. Bil. Chem.*, 38, 987(1974)
29. Sugano, N., Iwata, R. and Nishi, A.: *Phytochemistry*, 14, 1205(1975)
30. Sugano, N., Miya, S. and Nishi, A.: *Plant and Cell Physiol.*, 12, 525(1971)

31. Stickland, R. G. and Sunderland, N.: *Ann. Bot.*, **36**, 443(1972)
32. Fox, J. E. and Erion, J. L.: *Biochem. Biophysic. Res. Com.*, **64**, 659(1975)
33. Key, J. L.: *Weed*, **11**, 177(1963)
34. Key, J. L. and Shannon, J. C.: *Plant Physiol.*, **39**, 363(1964)
35. Chai, I. K. and Chung, Y. S.: *Korean J. Bot.*, **20**, 91(1977)
36. Loening, U. E.: *Ann. Rev. Plant Physiol.*, **19**, 91(1968)
37. 양차범, 이성우, 교영수, 윤석권 : 한국영양식량학회지, **8**, 1(1979)
38. Homes, M.V.: *Masson and Cie*(Paris), 1(1969)
39. Homes, M.V.: *Belgique*, **1**, 1(1966)
40. Schneider, H. A. M. and Beisenherz, W. W.: *Biochem. Biophysic. Res. Com.*, **60**, 468(1974)
41. 宇佐美和夫, 高巢正子 : 生活科學(日本福岡女子大學校紀要), **10**, 1(1972)
42. 鮎丙淳也 : ピタツソ定量法, 凡木國夫篇, pp. 12-4~130 (1964)
43. Lyttleton, J. W.: *Exp. Cell Res.*, **26**, 312(1962)
44. Lowry, O. H., Rosebrough, N. J.m, Farr, A. L. and Randall, R. L.: *J. Biol. Chem.*, **193**, 265(1951)
45. 水野重樹 : 核酸の 一般的分離定量法, 東京大學出版部, 東京, pp. 19~78(1962)
46. Zigler, H. and Ziegler, I.: *Planta*(Berl.), **65**, 369(1965)
47. Racker, E.: *Method in Enzymology*, Academic Press, New York, p.266(1962)
48. Duncan, D. B.: *Biometrics*, **11**, 1(1955)
49. De Ropp, R. S. and Markley, E.: *Plant Physiol.*, **3**, 210(1955)
50. Thimann, K. V. and Laloraya, M. M.: *Physiol. Plant*, **13**, 165(1960)
51. Coleman, W. K. and Greyson, R. I.: *J. Expt.*, **27**, 1339(1976)
52. Shilbaoka, H.: *Plant and Cell Physiol.*, **12**, 193(1971)
53. 宇佐美化夫, 高巢正子 : 生活科學(日本福岡女子大學紀要), **9**, 101(1973)
54. 宇佐美化夫 : 生活科學(日本福岡女子大學紀要)**9**, 47(1972)
55. Key, J. L.: *Plant Physiol.*, **39**, 365(1964)
56. Silberger, J. and Skoog, F.: *Science*, **118**, 443(1953)
57. Fan, D. F. and Maclachlan, G. A.: *Can. J. Bot.*, **44**, 1024(1968)
58. Fan, D. F. and Maclachlan, G. A.: *Plant Physiol.*, **42**, 1114(1967)
59. Takegami, T.: *Plant and Cell Physiol.*, **16**, 417(1975)
60. Ellis, R. J.: *Science*, **158**, 477(1969)
61. Ellis, R. J.: *Planta*(Berl.) **91**, 329(1970)
62. Hooper, J. K., Sicekwitz, P. and Palade, G. E.: *J. Biol. Chem.*, **244**, 262(1969)
63. Gawlick, S. R. and Shen-Miller, J.: *Plant Physiol.*, **54**, 217(1974)
64. Lang, A.: *Intercellula Regulation in Plant, Major Problems in Development Biology*, Academic Press, New York, pp. 251~287(1966)
65. Skoog, F. and Miller, C. O.: *Symp. Soc. Expt. Biol.*, **11**, 118(1957)
66. Wareing, P.F. and Phillips, L. D. J.: *The Control of Growth and Differentiation in Plants*, Pergamon Press, New York, pp. 286~293(1970)
67. 李鍾三 : 奎山 金昌煥教授 華甲記念 論文集, pp. 361~372(1980)
68. Curis, B. G. and Torrey, J. G.: *Plant Physiol.*, **43**, 635(1968)
69. Niedergang-Kamien, E. and Leopold, A. C.: *Physiol. Plant*, **10**, 29(1957)
70. Bonner, J.: *Amer. J. Bot.*, **36**, 323(1949)
71. Harel, S. and Reinhold, L.: *Physiol. Plant*, **19**, 634(1966)
72. Poter, H. K. and Runeckles, V. C.: *Biochim. Biophys. Acta.*, **20**, 100(1956)
73. Pagg, G. E.: *Ann. Bot.*, **26**, 219(1962)
74. Ruge, U.: *Z. Pflanzenphysiol.*, **65**, 52(1971)

(Received March 23, 1988)