pISSN 1229-1153 / eISSN 2465-9223 *J. Food Hyg. Saf.*
Vol. 38, No. 3, pp. 184~191 (2023)
https://doi.org/10.13103/JFHS.2023.38.3.184

Journal of Food Hygiene and Safety
Available online at http://www.foodhygiene.or.kr

경기도 내 유통 중 견과종실류 등의 멜라토닌 함량 조사

송유나* · 홍해근 · 권연옥 · 하진옥 · 김현지 · 손명진 · 박정화 · 권보연
경기도 보건환경연구원 북부지원 식품분석팀

Monitoring of Melatonin Contents in Nuts, Seeds, and Beans in Gyeonggi-Do

Yu Na Song*, Hae Geun Hong, Yeon Ok Kwon, Jin Ok Ha, Hyeon Ji Kim, Myeong Jin Son, Jeong Hwa Park, Bo Yeon Kweon
Food Analysis Team in North Branch, Gyeonggi-do Institute of Health & Environment, Uijeongbu, Korea

(Received May 4, 2023/Revised June 1, 2023/Accepted June 1, 2023)

ABSTRACT - Nuts are essential components of a healthy diet as they provide nutritional value and bioactive components. Melatonin, is a hormone secreted from the pineal gland of the brain that prevents oxidative damage in various tissues, and also found in plants. This study presents a validation method for extracting and quantitatively analyzing melatonin in nuts, seeds, and beans in Gyeonggi-do; the method utilized chromatographic techniques and optimized extraction procedures, considering the high oil content of nuts. The average content of melatonin in nuts, seeds, and beans was 1200.83 (409.76–2223.56), 934.83 (454.10–1736.60), and 616.46 (494.70–825.12) pg/g, respectively. Melatonin content was higher in the kernel with pellicle than that in the kernel alone in walnuts and chestnuts. Furthermore, the presence of melatonin was lower in newly harvested walnuts, chestnuts, and peanuts than in those stored after being harvested the previous year.

Key words: Melatonin, Nuts, Seeds, Beans, HPLC, Analytical method

견과류는 일반적으로 냄새가 없고 껍질이 매우 견고하며, 씨앗이 있는 말린 열매를 말한다[1]. 식품공전[2]의 식품원료 분류에 따르면 견과류는 견과종실류에 속하며, 땅콩 또는 견과류, 유지종실류, 음료 및 감미종실류로 분류할 수 있다. 땅콩 또는 견과류는 땅콩, 개암, 도토리, 밤, 브라질넛, 아몬드, 은행, 잣, 캐슈너트, 피스타치오, 피칸, 호두 등이 있고, 유지 종실류로는 들깨, 참깨, 해바라기씨, 호박씨, 홍화씨 등이 있으며, 음료 및 감미 종실류로는 커피원두, 카카오원두 등이 있으며, 두류는 강낭콩, 녹두, 대두, 렌즈콩, 완두, 팥 등이 있다(Table 1).

견과류는 주로 비타민 A, 비타민 C와 비타민 E, 식이섬유, 마그네슘 및 셀레늄 등이 풍부하고[3], 카로티노이드, 페놀산 및 폴리페놀 등도 포함되어 있다[4]. 또한 견과류에는 비타민 E, 셀레늄과 같은 항산화제가 풍부하여 심혈관계 질환, 대사증후군, 당뇨병과 같은 여러 질병을 예방하는 효과가 있어 미국 FDA는 매일 28.35 g (1 oz)의 견과류를 먹을 것을 제안하였다[5-8].

멜라토닌(melatonin, *N*-acetyl-5-methoxytrptamine)은 척추동물의 송과선에서 분비되어 동물의 일주기와 계절주기 조절, 수면 조절, 생식능력, 항암, 항염증 활성 등 작용을 하는 호르몬으로[9], 다양한 활성산소를 직접적으로 소거할 수 있을 뿐 아니라 간접적으로 생체 내의 항산화 효소 활성을 조절하여 생체산화를 억제시킬 수 있는 강력한 항산화제이다[10]. 이처럼 멜라토닌은 강한 항산화력을 지니는 물질로 알려져 있으나, 노화에 따라 생체 내 분비가 점차 감소한다[11,12]. 그러므로 부족해지는 멜라토닌을 보충하고 수면에 도움을 주기 위한 목적으로 미국 등에서는 건강보조식품이 판매되고 있으나, 이들은 대부분 화학 합성제품이며 최근에는 천연소재 유래 멜라토닌에 대한 관심이 증가하고 있다[13].

멜라토닌은 동물뿐 아니라 거의 모든 생물계에서 확인되고 있으며, 식물체의 경우 생장, 발생, 개화와 같은 식물생리 현상에 관여하며 외부의 산화적 스트레스에 대한 보호물질로서의 기능이 보고된다[14,15]. 식용식물에서 멜라

*Correspondence to: Yuna Song, Food Analysis Team in North Branch, Gyeonggi-do Institute of Health & Environment, Gyeonggi-do, Uijeongbu 11780, Korea
Tel: +82-31-8008-9754, Fax: +82-31-569-0212
E-mail: syn0878@gg.go.kr

Copyright © The Korean Society of Food Hygiene and Safety. All rights reserved. The Journal of Food Hygiene and Safety is an Open-Access journal distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License(http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0) which permits unrestricted non-commercial use, distribution,and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Table 1. Classification of nuts groups by Food Code

Main category	Sub category	Commodity
Nuts and Seeds	Tree nuts	Peanut, Hazelnut, Acorn, Macadamia, Chestnut, Brazil nut, Almond, Pine nut, Cashew nut, Pistachio, Pecan, Walnut, etc.
	Oilseeds	Hempseed, Ben Moringa seed, Perilla seed, Cotton seed, Sesame, Palm, Sunflower seed, Pumpkin seed, Safflower seed, etc.
	Seed for beverage and sweets	Senna seed, Guarana, Cacao bean, Coffee bean, Cola nut, etc.
Pulses	-	Kidney bean, Mung bean, Soybean, Cowpea, Lentils, Lima bean, Pea, Cheakpeak, Sword bean, Fava bean, Hyacinth bean, Red bean, Pigeon pea, etc.

토닌은 모든 부위에 존재하며, 특히 종자, 뿌리, 잎, 꽃 및 열매에 가장 높은 함량을 보인다[16,17]. 멜라토닌은 아몬드, 피스타치오 및 호두 등 많은 견과류에서 발견되며 다른 식물과 마찬가지로 같은 종이더라도 일부 견과류에서 검출되는 멜라토닌 함량은 연구방법에 따라 다르게 나타난다. 이는 품종, 지역, 수확시기 및 성숙도와 같은 요인 뿐만 아니라 조직이 복합적으로 구성되어 있어 분석에 어려움이 존재하기 때문이다[18].

따라서 본 연구에서는 견과종실류 및 두류에 최적화된 멜라토닌 추출방법을 마련하고 액체크로마토그래피를 이용하여 경기도에서 유통되는 견과종실류 및 두류의 멜라토닌을 확인하고 정량화하였다.

Materials and Methods

재료

본 연구에서는 2022년 6월부터 11월까지 경기도 내 대형마트 및 백화점에서 판매되는 견과종실류 86건 및 두류 15건, 총 101건을 구입하였다. 구입한 모든 시료는 분쇄기(OT-504, DAESUNG TECH, Kimpo, Korea)로 균질화 한 후 밀봉하여 냉동보관하면서 실험에 사용하였다.

표준물질 및 시약

표준품인 멜라토닌은 Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA)의 제품을 이용하였다. HPLC 분석 및 추출에 사용된 유기용매는 모두 HPLC grade로 methanol, chloroform은 Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA) 제품을 acetonitrile 및 hexane은 Merck (Darmstadt, Germany) 제품을 이용하였고, 그 외에는 모두 특급 시약을 사용하였다.

시료의 추출 및 정제방법의 최적화

멜라토닌 함량은 Bligh-Dyer과 Kate 등의 방법 및 Luzia-Jorge의 방법[19-21]을 변형하여 Fig. 1과 같이 추출 및 정제하여 측정하였다. 균질화한 시료 약 1 g을 취하여 hexane: methanol:water (3:3:1 v/v) 7 mL를 가한 후 빛을 차단한 상태로 혼합시키고, 10분간 균질화한 후 4°C, 4000×g에서 10분 동안 원심분리(Mega 17R, Hanil Science Industry, Incheon, Korea)하였다. 지질을 포함하는 상층액(hexane층)은 제거하고, hydroalcoholic층 1 mL을 취하여 30°C에서 질소 건고하였다. 잔류물은 0.1% formic acid를 포함하는 5% acetonitrile 0.3 mL로 재용해시킨 후 1.2 mL chloroform을 첨가하여 2분간 vortexing하여 혼합시키고 4000×g에서 10분 동안 원심분리하여 상등액을 얻었다. 수용액층은 제거하고 유기용매층은 0.2 N NaOH 0.5 mL으로 1회 세척한 후 다시 원심분리하였다. 이 후 상부 수용액층을 제거하고 유기용매층은 30°C에서 질소 건고하였다. 최종 잔류물은 0.1% formic acid를 포함하는 5% acetonitrile 0.2 mL로 재용해시킨 후 0.45 μm syringe filter (Whatman, International Ltd., Maidstone, UK)로 여과하여 시험용액으로 사용하였다.

추출방법의 효율성은 멜라토닌이 검출되지 않은 시료에 최종농도를 150-1000 pg/mL의 범위로 첨가하여 회수율과 상대표준편차로 측정하였고, 일내(intra-day) 및 일간(inter-day) 정밀성 및 정확성을 확인하기 위해 각각 하루 3회 및 3일간 반복하여 분석하였다. 또한, 온도가 미치는 영향을 확인하기 위해 저온(2-4°C), 상온(20-25°C) 및 고온(40-45°C) 조건에서 시료를 추출하였다.

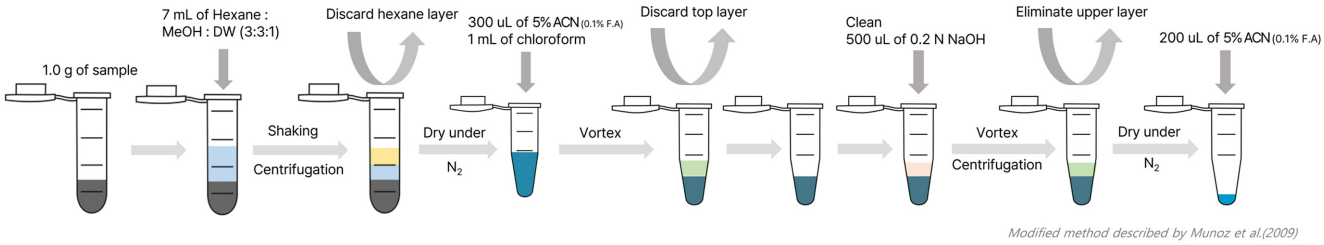

Fig. 1. Extraction process of HPLC method for melatonin analysis.

Table 2. HPLC conditions for analysis of melatonin

Parameter	Conditions	
Column	Kinetex C-18 column (2.6 μm particles, 150 mm × 4.6 mm, Phenomenex, USA)	
Mobile phase	A: 60 % Acetonitrile (0.1 % Formic acid)	
	B: Water (0.1 % Formic acid)	
Gradient	Time (min)	0 15 20 25
	Solvent A (%)	15 60 90 15
Flow rate	1.0 mL/min	
Injection volume	20 μL	
Column Temp.	25°C	
Detector	FLD (fluorescence detector)	
	Excitation 285 nm, Emission 345 nm	

Table 3. LC-MS conditions for confirmation of melatonin

Parameter	Conditions	
Column	Poreshell 120 EC-C18 (2.7 μm particles, 100 mm × 4.6 mm, Agilent, Santa Clara, CA, USA)	
Mobile phase	A: Acetonitrile (0.1 % Formic acid)	
	B: Water (0.1 % Formic acid)	
Gradient	Time (min)	0 15 20 25
	Solvent A (%)	15 60 90 15
Flow rate	0.4 mL/min	
Injection volume	5 μL	
Column Temp.	25°C	
Polarity	ESI +	
Drying gas	7.0 L/min at 300°C	
Nebulizer pressure	50 psi	
Capillary	4.0 kV	
Fragmentor	30 V	
Acquisition mode	SIM (single ion monitoring)	
Mass	233.1 for $[M+H]^+$, 255.1 for $[M+Na]^+$, and 174.1 and 159.1 *m/z*	

기기분석 및 조건

시료의 멜라토닌의 정량 분석은 HPLC 1260 infinity (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA)를 사용하였고, 용매 및 분석조건은 Table 2과 같다. 또한, HPLC-FLD 분석법으로 멜라토닌이 확인된 시료는 Agilent LC 1260 infinityⅡ가 부착된 Agilent 6100 Series Single Quad LC/MS System (Agilent Technologies)를 이용하였으며 확인시험에 사용된 용매 및 기기조건은 Table 3와 같다.

통계분석

모든 결과는 3회 반복하고 평균±표준편차(mean±SD)로 나타내었다. SPSS 통계 분석 소프트웨어(Verision 22.0, SPSS Inc., Chicago, IL, USA)를 이용하여 분산분석(ANOVA)과 다중범위검정(Duncan's Multiple Range Test)을 실시하여 시료간 유의차를 $P<0.05$ 수준에서 검정하였다.

Results and Discussion

시료 전처리 및 분석법 확립

멜라토닌은 다양한 채소, 과일, 종자 및 약용식물에 존재하며[2], 이를 정량 분석하기 위해 효소면역분석법(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA), 액체 및 기체 크로마토그래피와 같은 방법이 이용되어 왔다. 특히 전기화학검출기(electrochemical detector, ECD) 또는 형광검출기(fluorimetric detector, FLD)와 결합된 HPLC 분석법은 감도와 정확성이 높아 광범위한 생물학적 매트릭스에 적용하기에 적합하여 많은 식물체의 멜라토닌 분석연구에 이용되었다[23,24].

견과종실류 등에 존재하는 멜라토닌을 정량하기 위해 본 연구는 HPLC-FLD를 이용하였다. 추출 및 분석방법의 효율성 및 재현성은 멜라토닌이 검출되지 않는 시료 5개 품목에 최종농도가 150-1000 pg/mL의 범위로 첨가하여 확인하였다(Table 4). 멜라토닌의 회수율은 spiking 농도에 따라 85-93% 범위를 보였다. 일내 및 일간 계수는 농도에 따라 1.35-7.65% 및 2.46-3.45% 범위를 보였다. 검출한계 및 정량한계는 각각 33.85 pg/mL 및 129.93 pg/mL로 나타

Table 4. Performance and reproducibility of the extraction method

Melatnonin added (pg/mL)	Mean values (pg/mL)	Recovery (%)	Repetitivity (% RSD, intra assay)	Reproducibility (% RSD, inter assay)	Linearity	LOD (pg/mL)	LOQ (pg/mL)
150	135.7	90.49	5.74	3.45	y = 0.6223x + 0.2108 r^2=0.9988	33.85	129.93
250	219.9	87.97	7.65	3.26			
500	428.9	85.78	3.46	2.46			
1000	932	93.20	1.35	2.98			

Different concentrations of melatonin were added at the beginning of the processing of the walnut samples. The yield values express the percentage of the amount of melatonin measured in the sample with respect to that added. Variability (% RSD) is calculated as the percentage of the standard deviation in relation to the mean.

Table 5. Melatonin levels in walnut samples extracted with different solvents

Extraction solvent	Means (pg/g)	Concentrations (pg/g)
Methanol 100%	823.47	798-1003
Ethanol 100%	73.32	82-120
Hexane:Methanol:Water (3:3:1)	2913.10	910-3139

Data are the mean values and the range of concentrations resulting from the independent analysis of five samples for each solvent assessed.

Table 6. Effect temperature on the melatonin extraction yielding in walnuts

	Temperature		
	Low (2-4°C)	Standared (20-25°C)	High (40-45°C)
Melatonin (pg/g FW)	253.93±12.56[a]	1125.01±212.43[b]	2151.03±561.35[c]

Results are means±SEM of five walnuts per group. Different letters indicate statistical (P<0.05) differences.

났다. 즉, 우수한 재현성 뿐만 아니라 멜라토닌 농도에 대해 높은 직선성을 보여 분석에 적합하였다.

지질함량이 높은 호두는 시료 전처리 및 양친매적 특성을 가진 멜라토닌 추출 자체에 어려움을 주었기 때문에 본 연구에서 호두를 시료의 대표로 선정한 것은 적합하다고 여겨진다. 결과를 제시하지는 않았지만 멜라토닌 분석을 위해 SPE 등 다양한 추출법을 비교한 결과, 회수율이 낮았고 추출 물질을 제대로 정제하지 못하여 적합하지 않았다. Ethanol 및 methanol 등 유기용매가 미치는 영향을 확인하였다(Table 5). 그 중 methanol을 사용 시 ethanol 보다 호두에서 높은 회수율을 보였으나, 단독 사용 시 시료 내 지질성분이 용해되어 이후 정제과정을 어렵게하여 적합하지 않았다. 또한, methanol과 같은 극성용매와 잘 혼합되는 비극성 용매인 hexane을 사용 시 지질 성분을 제거하기에 효과적이었으나, 휘발성이 높은 특성으로 인해 단독 사용은 적당하지 않았다. 따라서 지질추출방법을 기반으로 물을 추가한 hexane:methanol:water (3:3:1, v/v) 용액이 가장 적합하였는데, 이 혼합용액으로 추출 시 지질성분을 용출한 hexane층과 멜라토닌이 용해된 hydroalcoholic 층의 두 개의 잘 분리된 층을 얻을 수 있었다. 이후 chloroform:water 혼합용액은 최종 분석 전 멜라토닌의 농도를 높일 수 있었다.

또한, 본 연구에서는 온도가 추출 효율에 미치는 영향을 확인하였다(Table 6). 고온(40-45°C)에서 추출 시 상온(20-25°C)보다 회수율이 2배 이상 높았으며, 저온(2-4°C)의 경우 매우 낮은 회수율을 나타내었다. Pranil 등[25]은 멜라토닌 수용액과 과일 주스를 보관할 때 저온 조건(4°C)과 어둡고 산성의 용매 조건에서는 멜라토닌의 저장성이 향상된 반면, 60-90°C의 높은 온도는 멜라토닌의 안정성을 저하시켜 온도는 멜라토닌의 저장에 중요한 요인임을 보고하였다. 본 연구에서는 40-45°C 조건에서 멜라토닌 추출 수율이 가장 높았는데 이는 고온에서 유기용매의 점도가 감소하여 시료 조직에 쉽게 침투할 수 있기 때문으로 여겨진다. 또한 일반적으로 저온 환경에서는 분자를 보존하고자 하기때문에 용매의 추출 수율이 낮아진다.

견과종실류 등의 멜라토닌 함량 조사

견과종실류 및 두류 총 101건에 대하여 HPLC-FLD를 이용하여 멜라토닌을 분석하였고, 그 결과 검출된 시료는 LC-MS로 확인시험을 하였다. 시료의 멜라토닌 확인을 위해 *m/z* 159.1, 174.1, 233.1 및 255.1을 사용하였다. 분석결과 멜라토닌과 동일한 분자분획 프로파일을 보이는 피크가 발견되었다(Fig. 2). Kocada gil 등의 연구[26]에 따르면 호두에서 멜라토닌 외에 멜라토닌의 이성질체가 존재한다고 보고하여, 몇 가지 멜라토닌 이성질체를 선별하여 분석한 결과 트립토판 에틸 에스테르로 확인되었다. 그러나 정확한 이성질체의 확인을 위해서는 tandom mass spectrometry (MS/MS) 분석한 연구가 필요할 것으로 여겨진다. 유형별 평균 멜라토닌 함량은 견과종실류 중 땅콩 또는 견과류에서 1200.83 pg/g으 가장 높았고 유지종실류 934.83 pg/g 그리고 두류 616.46 pg/g 순으로 나타났다(Table 7). 각 품목별 멜라토닌 함량은 호두에서 2223.56 pg/g으로 가장 높게 나타났고 밤, 참깨 및 잣에서 평균 1667.88 pg/g 이상, 피스타치오, 쿠민씨, 피칸, 들깨, 검은참깨 및 헤이즐넛에서 평균 1236.87 pg/g 이상의 멜라토닌이 검출되었다. 본 연구에서 호두의 멜라토닌 함량은 다른 호두 품종에서 보고된 멜라토닌 함량과 비슷한 범위였다[21]. 호두에는 산화되기 쉬운 다중 불포화 지방산이 풍부한데 지방산이 높은 경우 특히 멜라토닌 함량이 높다고 보고된 바 있다[27]. 이는 멜라토닌이 항산화 활성이 높은 페놀과 같은 생리활성 역할을 하여 외부의 산화적 스트레스로부터 세포 구성 요소를 보호하는데 기여한다고 여겨진다[28].

본 연구에서 분석된 호두 외에 견과류 및 두류의 멜라토닌 함량도 다른 연구[29]에서 보고된 것과 비슷한 범위로 나타났다. 다만 아몬드에서 HPLC-ECD 방법을 사용하여 측정한 연구결과[30] 보다는 낮은 함량을 보였다. 반대로 LC/MSMS 분석을 사용한 연구결과[31]는 본 연구와 유사한

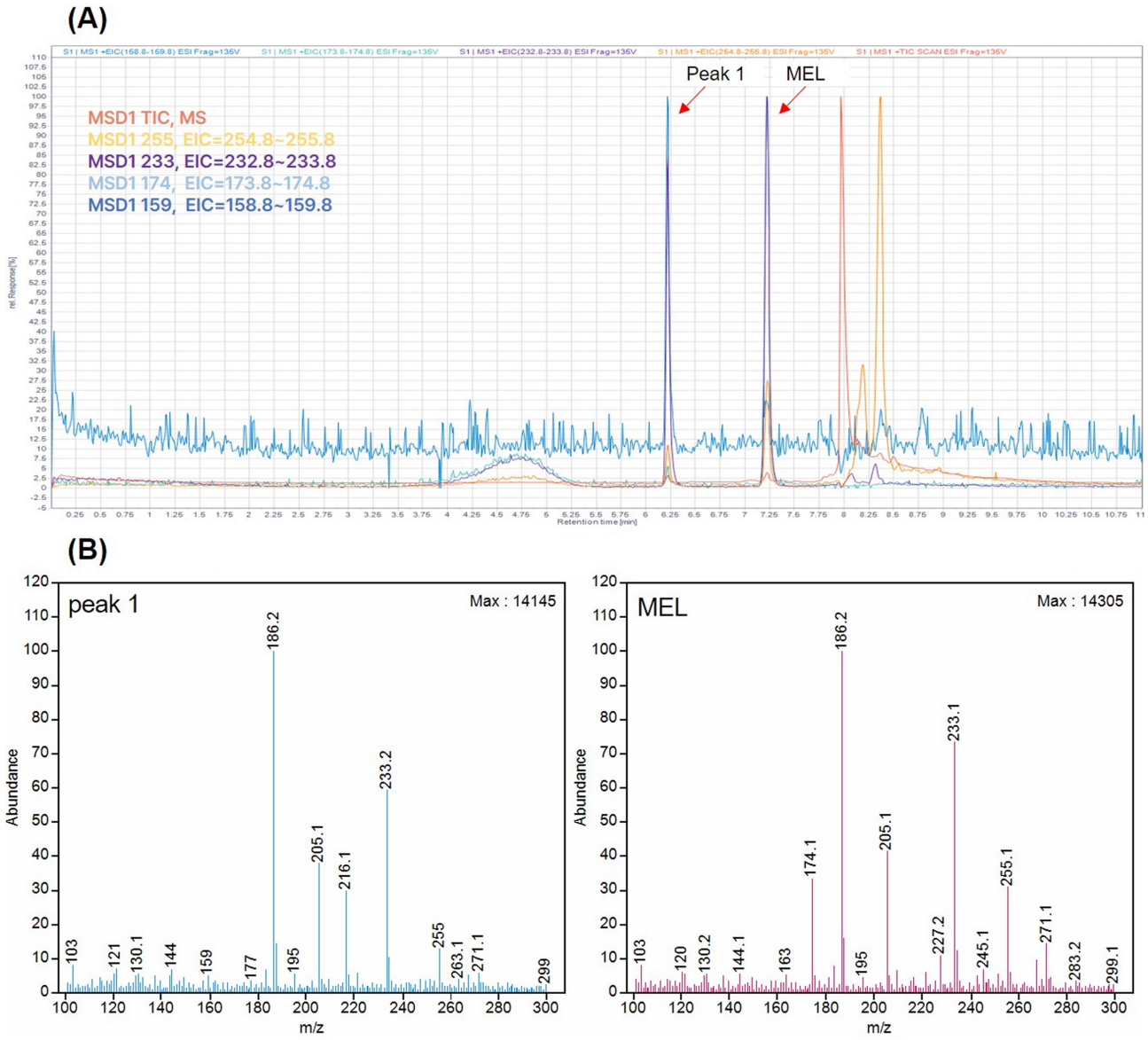

Fig. 2. (A) LC-MS total ion chromatogram obtained for the analysis of a walnut sample. MEL peak corresponds to the retention time of a melatonin standard. Unknown Peak 1 was also run for mass spectrum analysis as explained in the M&M section. (B) SCAN MS data with ion fragment structures for MEL and peak 1 in walnut extract ranged from the 100 to 300 m/z.

범위를 보였다. 이는 추출방법과 분석 기기 간의 차이로 인하여 멜라토닌 정량값의 차이를 유발한 것으로 보인다. 또한 분석방법 뿐 아니라 식물 자체의 성질, 수확시기 또는 수확 후 경과 시간이나 저장 조건과 같은 다른 요인도 관련된 것으로 여겨진다.

호두와 밤의 경우 속껍질을 포함한 반탈각 상태와 과실만 있는 경우의 멜라토닌 함량을 비교한 결과 반탈각 상태에서 멜라토닌 함량이 유의적으로 높게 나타났다(Table 8). 성장단계에 따른 멜라토닌 함량 변화를 조사한 연구에 따르면 식물체의 종자 및 과실의 과피에서 상당한 멜라토닌이 발견되었다. 이는 속껍질의 경우 외부의 산화적 스트레스로부터 과실을 보호하기 위해서 항산화 역할을 하는 멜라토닌 함량이 풍부한 것으로 여겨진다[32].

저장과정에 따른 멜라토닌 함량변화를 확인하였다(Table 9). 호두, 밤, 땅콩의 경우 2021년 재배 후 저장된 견과가 2022년 재배된 햇 견과보다 유의적으로 멜라토닌 함량이 높게 나타났다. 숙성과정에 따른 멜라토닌 함량 변화를 조사한 연구에 따르면[33], 수확 후 건조된 열매에서 멜라토닌 농도가 극적으로 증가하였는데, 이는 수확 후 감소하는 페놀 항산화제의 손실로부터 조직의 품질 저하를 막기위해 증가한 것으로 여겨진다. 따라서 멜라토닌은 견과류가 익는 동안 관련된 항산화 성분이며, 수확

Table 7. Melatonin content in nuts and beans

Group		Sample	Melatonin (pg/g, fw)
Nuts	Tree nuts		
		Hazelnut	1085.52±88.11
		Peanut	890.34±21.26
		Macadamia	987.06±21.79
		Chestnut	1752.45±88.70
		Brazilian nut	570.71±20.66
		Sacha inchi	409.76±88.33
		Almond	682.72±54.26
		Cashew nut	672.90±97.26
		Pistachio	1489.23±21.23
		Pecan	1185.77±56.36
		Walnut	2223.56±55.69
		Pine nut	1514.59±99.59
		Means	1200.83
	Oilseeds		
		Black sesame	1093.07±16.49
		Perilla	1179.69±24.23
		Hempseed	490.05±21.64
		Faxseed	454.10±21.49
		Sesame	1736.60±77.49
		Cumin seed	1387.92±47.15
		Sunflower seed	612.60±55.69
		Pumpkin seed	524.61±68.23
		Means	934.83
Beans			
		Mung bean	825.12±52.36
		Lentil bean	512.78±55.79
		Black turtle bean	494.70±21.79
		Red bean	499.92±77.69
		Black bean	750.57±120.99
		Means	616.46

Results are means±SEM.

후에는 과실을 유지시키는 역할을 할 수도 있음을 알 수 있었다.

본 연구에서는 견과종실류 중 호두에서 가장 많은 양의 멜라토닌이 존재하며, 멜라토닌의 함량은 견과류의 부위 및 저장에 따라 다름을 확인하였다. 이는 멜라토닌이 저장 중에 항산화과정을 조절하여 수확 후 기간 동안 견과류의 품질저하를 막는 것으로 여겨진다. 더불어 견과류 소비를 증대시키기 위해서는 견과류의 영양학적 가치뿐만 아니라 멜라토닌을 포함한 생체 활성 성분의 함량에 초점을 맞춘 추가적인 연구가 필요할 것으로 생각된다.

Table 8. Melatonin levels in walnuts and chestnut by parts

Sample		Means (pg/g, fw)
Walnut	Kernel with pellicle	2123.56±58.22[a]
	Kernel	1783.37±17.65[b]
Chestnut	Kernel with pellicle	1987.11±87.22[a]
	Kernel	1511.02±14.23[b]

Results are means±SEM. Different letters indicate statistical (P<0.05) differences.

Table 9. Melatonin levels from harvest year

Sample	Means (pg/g, fw)	
	2021	2022
Walnut	2369.87±14.11[a]	1921.15±55.11[b]
Chestnut	1687.12± 15.40[a]	1348.45±77.18[b]
Peanut	987.14±37.72[a]	781.11±17.23[b]
Pine nut	1378.45±63.44[a]	1812.10±13.03[a]

Results are means±SEM. Different letters indicate statistical (P<0.05) differences.

국문요약

견과류는 영양가가 우수하고 다양한 기능성 생리활성을 가져 건강한 식단에 중요한 요소이다. 멜라토닌은 뇌의 송과선에서 분비되는 호르몬으로 각종 조직의 산화적 손상을 방지하는 것으로 알려져 있으며, 식물체에서도 중요한 역할을 한다. 본 연구는 견과류의 멜라토닌 추출 및 정량을 위한 분석법을 마련하였고, 견과류의 높은 지방함량을 고려한 최적화된 추출 절차를 이용하여 경기도에서 유통되는 견과종실류 등의 멜라토닌 함량을 조사하였다. 땅콩 또는 견과류, 유지종실류 및 두류의 평균 멜라토닌 함량은 각각 1200.83 (409.76-2223.56), 934.83 (454.10-1736.60), 616.46 (494.70-825.12) pg/g으로 나타났다. 호두와 밤의 경우 속껍질을 포함한 반탈각 상태와 과실만 있는 경우의 멜라토닌 함량을 비교한 결과, 반탈각 상태에서 멜라토닌 함량이 유의적으로 높았다. 또한 호두, 밤 및 땅콩의 경우 2022년 재배된 햇 견과보다 2021년 재배 후 저장된 견과에서 멜라토닌 함량이 유의적으로 높았다. 이러한 결과는 견과종실류 등의 멜라토닌 함량이 높아 우수한 기능성 식품임을 시사하였다.

Conflict of interests

The authors declare no potential conflict of interest.

ORCID

Yu Na Song https://orcid.org/0000-0002-9647-6980

Hae Geun Hong https://orcid.org/0009-0003-9584-2306
Yeon Ok Kwon https://orcid.org/0009-0004-2290-0541
Jin Ok Ha https://orcid.org/0000-0002-7885-5338
Hyeon Ji Kim https://orcid.org/0000-0003-0483-5438
Myeong Jin Son https://orcid.org/0009-0000-7921-1238
Jeong Hwa Park https://orcid.org/0000-0002-1429-7162
Bo Youn Kweon https://orcid.org/0009-0001-4482-930X

References

1. Alasalvar, C., Shahidi, F., 2008. Tree nuts: Composition, phytochemicals, and health effects, 1st ed. CRC Press, Boca Raton, FL, USA, pp. 244-247.
2. Ministry of Food and Drug Safety, (2023, June 1). Food Code, https://various.foodsafetykorea.go.kr/fsd/#/ext/Document/FC?searchNm=%EC%9B%90%EB%A3%8C&itemCode=FC0A002001002A014
3. Phillips, K.M., Ruggio, D.M., Ashraf-Khorassani, M., Phytosterol composition of nuts and seeds commonly consumed in the United States. *J. Agric. Food Chem*., **53**, 9436-9445 (2005).
4. Albert, C.M., Gaziano, J.M., Willett, W.C., Manson, J.E., Nut consumption and decreased risk of sudden cardiac death in the physicians' health study. *Arc. Int. Med.,* **162**, 1382-1387 (2002).
5. Ellsworth, J.L., Kushi, L.H., Folsom, A.R., Frequent nut intake and risk of death from coronary heart disease and all causes in postmenopausal women: The Iowa women's health study. Nutrition, Metabolism, and Cardiovascular Diseases: *NMCD*, **11**, 372-377 (2001).
6. Arab, L., Ang, A., A cross sectional study of the association between walnut consumption and cognitive function among adult us populations represented in NHANES. *J. Nut., Health & Aging*, **19**, 284-290 (2015).
7. O'Neil, C. E., Fulgoni, V. L., and Nicklas, T. A., Tree Nut consumption is associated with better adiposity measures and cardiovascular and metabolic syndrome health risk factors in US Adults: NHANES 2005-2010. *Nutr. J.*, **14**, 1-8 (2005).
8. US Food and Drug Administration, (2023, June 1). Qualified health claims: Letter of enforcement discretion-nuts and coronary heart disease. Retrieved from http://wayback.archive-it.org/7993/20171114183724/https://www.fda.gov/Food/IngredientsPackagingLabeling/LabelingNutrition/ucm072926.htm
9. Brzezinski A., Melatonin in humans. *N. Engl. J. Med.,* **336**, 186-195 (1997).
10. Reiter, R.J., Tan, D.X., Mayo, J.C., Sainz, R.M., Leon, J., Czarnocki, Z., Melatonin as an antioxidant: biochemical mechanisms and pathophysiological implications in humans. *Acta Biochim. Pol.,* **50**, 1129-1146 (2003).
11. Posadzki, P.P., Bajpai, R., Kyaw, B.M., Roberts, N.J., Brzezinski, A., Christopoulos, G.I., Divakar, U., Bajpai, S., Soljak, M., Dunleavy, G., Jarbrink, K., Nang, E.E.K., Soh, C.K., Car, J., Melatonin and health: an umbrella review of health outcomes and biological mechanisms of action. *BMC Med.,* **16**, 18 (2018).
12. Sack, R.L., Lewy, A.J., Erb, D.L., Vollmer, W.M., Singer, C.M., Human melatonin production decreases with age. *J. Pineal Res.,* **3**, 379-388 (1986).
13. Arnao, M.B., Hernandez-Ruiz, J., The potential of phytomelatonin as a nutraceutical. *Molecules.,* **23**, 238 (2018).
14. Fan, J., Xie, Y., Zhang, Z., Chen, L., Melatonin: a multifunctional factor in plants. *Int. J. Mol. Sci.,* **19**, 1528 (2018).
15. Arnao, M.B., Hernandez-Ruiz, J., Functions of melatonin in plants: a review. *J. Pineal Res.,* **59**, 133-150 (2015).
16. Paredes, S.D., Korkmaz, A., Manchester, L.C., Tan, D.X., Reiter, R.J., Phytomelatonin: A review. *J. Exp. Bot*., **60**, 57-69 (2009).
17. Afreen, F., Zobayed, S.M.A., Kozai, T., Melatonin in glycyrrhiza uralensis: Response of plant roots to spectral quality of light and UV-B radiation. *J. Pineal Res.,* **41**, 108-115 (2006).
18. Kocadağlı, T., Yılmaz, C., Gökmen, V., Determination of melatonin and its isomer in foods by liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Food Chem.,* **153**, 151–156 (2014).
19. Bligh, E.G., Dyer, W.J., A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can. J. Biochem. Physiol.,* **37**, 911–917 (1959).
20. Luzia, D.M.M, Jorge, N., Bioactive substance contents and antioxidant capacity of the lipid fraction of *Annona crassiflora* Mart. seeds. *Ind. Crops Prod.,* **42**, 231–235 (2013).
21. Kates, M., 1986, Techniques of lipidology: isolation, analysis and identification of lipids, 3rd revised ed, Newport-Somerville, Ottawa, Canada, pp. 25-28.
22. Reiter, R.J., Tan, D.X., Manchester, L.C., Simopoulos, A.P., Maldonado, M.D., Flores, L.J., Terron, M.P., Melatonin in edible plants (phytomelatonin): identification, concentrations, bioavailability and proposed functions. *World Rev. Nutr. Diet.,* **97**, 211–230 (2007).
23. K´olar, J., Machackova, I., Illnerova, H., Prinsen, E., Van Dongen, W., Van Onckelen, H.A., Melatonin in higher plant determined by radioimmunoassay and liquid chromatography-mass spectrometry. *Biol. Rhythm Res.,* **26**, 406–409 (1995).
24. Nawaz, M.A., Huang, Y., Bie, Z., Ahmed, W., Reiter, R.J., Niu, M., Hameed, S., Melatonin: current status and future perspectives in plant science. *Front. Plant Sci*., **6**, 1230-1242 (2016).
25. Pranil, T., Moongngarm, A., Loypimai, P., Influence of pH, temperature, and light on the stability of melatonin in aqueous solutions and fruit juices. *Heliyon*, **6**, e03648 (2020).
26. Kocadağlı, T., Yılmaz, C., Gökmen, V., Determination of melatonin and its isomer in foods by liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Food Chem.,* **153**, 151–156 (2014).
27. Tapia, M.I., Sánchez-Morgado, J.R., Garcí-Parra, J., Ramíez, R., Hernández, T., González-Gómez, D., Comparative study of the nutritional and bioactive compounds content of four walnut (*Juglans regia* L.) cultivars. *J. Food Compos. Anal.,*

31, 232–237 (2013).
28. Manchester, L.C., Tan, D.X., Reiter, R.J., Park, W., Monis, K., Qi, W., High levels of melatonin in the seeds of edible plants: possible function in germ tissue protection. *Life Sci.,* **67**, 3023–3029 (2000).
29. Meng, X., Li, Y., Li, S., Zhou, Y., Gan, R.Y., Xu, D.P., Li, H.B., Dietary sources and bioactivities of melatonin. *Nutrients.,* **9**, 367 (2017).
30. Oladi, E., Mohamadi, M., Shamspur, T., Mostafavi, A., Spectrofluorimetric determination of melatonin in kernels of four different Pistacia varieties after ultrasound-assisted solid–liquid extraction. Spectrochim. *Acta A. Mol. Biomol. Spectrosc.,* **132**, 326–329 (2014).
31. Paroni, R., Dei Cas, M., Rizzo, J., Ghidoni, R., Montagna, M.T., Rubino, F.M., Iriti, M., Bioactive phytochemicals of tree nuts. Determination of the melatonin and sphingolipid content in almonds and pistachios. *J. Food Compos. Anal*., **82**, 103227 (2019).
32. Balabusta, M., Szafránska, K., Posmyk, M.M., Exogenous melatonin improves antioxidant defense in cucumber seeds (*Cucumis sativus* L.) germinated under chilling stress. *Front. Plant Sci.,* **7**, 575 (2016).
33. Ortiz, C.M., Vicente, A.R., Fields, R.P., Grillo, F., Labavitch, J.M., Donis-Gonzalez, I., Crisosto, C.H., Walnut (*Juglans regia* L.) kernel postharvest deterioration as affected by pellicle integrity, cultivar and oxygen concentration. *Postharvest Biol. Technol*., **156**, 110948 (2019).