사업구분 : 기본연구	Code 구분 : LS0508	농촌자원개발(전반기)

연구과제 및 세부과제명	연구기간	연구책임자 및 참여연구원(☎)
배추과작물에 대한 기능성물질 개발 연구	**'02～'04**	**경기도원 작물연구과 이용선(229-5783)**
배추과작물에 대한 기능성물질 탐색	'02～'04	경기도원 작물연구과 이용선(229-5783)

색 인 용 어	배추과작물, glucosinolate

ABSTRACT

Quantitative determination of glucosinolate and identification of sulforaphane, S-methylsulfinylbutyl isothiocyanate in *Brassica* crops of Korean origin was performed. The contents of glucosinolate in Brassicas were evaluated by using UV-visible Spectrophotometer after passing through anion exchanges column. The identification of sulforaphane was subjected to GC/MS analysis, which was based on Scan mode at m/z 72, 160 and 55. The content of glucosinolate was found to be the highest in the extract of Wasabia koreana(653.6 μmol/100g), but on the other hand there was not significantly difference in the rest of the crops(520.1～535.9 μmol/100g). The extract of broccoli was corresponded with the standard of sulforaphane in retention time and main fragmentation ion by GC/MS analysis.

Key words : Brassica crops, glucosinolate, sulforaphane

1. 연구목표

배추, 브로콜리, 케일, 겨자 등의 배추과 작물에 많이 함유되어 있는 glucosinolate와 그 분해산물은 함유황 화합물로서 고대부터 통풍, 설사, 두통에 치료적 목적으로 사용되어왔다. Glucosinolate는 현재까지 120여종이 알려져 있으며, thioglucoside-N-hydroxysulfate로 식물체가 상처를 받으면 glucosinolate가 효소인 myrosinase의 작용을 받아 isothiocyanate, glucose와 산성황산염으로 분해되며(그림 1), isothiocyanate는 강한 항암, 항균, 살충작용과 같은 생체방어반응을 하는 것으로 알려져 있다.

배추과 작물에 함유된 함유황 화합물중 S-methylsulfinylbutyl isothiocyanate (sulforaphane)는 이물질(xenobiotics)의 대사에 관여하는 효소들을 선택적으로 유도하여 발암에 대해서 보호작용(chemoprotection)을 나타낸다고 보고되어 sulforaphane을 많이 함유하는 배추과 작물에 관심이 더욱 집중되고 있다.

Glucosinolate에 관한 연구는 국외에서는 broccoli등 서양 채소에 관한 연구가 대부분이며 (Fahey. J.W 등. 1997, Shapiro 등. 2001), 국내에서는 갓 성분 분석이나 배추과작물에 대한

가공과정 중 변화에 관한 것이 있다(심기환 등. 1992, 전순실 등. 1995).

따라서 본 연구는 국내에서 많이 소비되고 있는 배추과작물내 glucosinolate와 구성성분 중 항암 효과가 높은 sulforaphane 함량을 검토하여 기능성성분이 많이 함유된 작물의 브랜드화 및 기능성제품 개발을 위한 기초 자료로 활용코자 수행하였다.

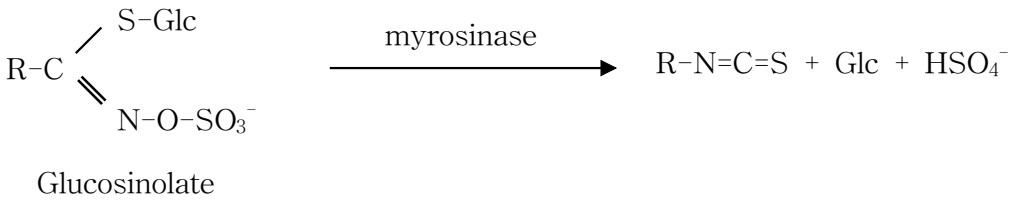


그림 1. Glucosinolate의 구조 및 효소분해

2. 재료 및 방법

가. 시험재료

본 시험은 배추, 무, 브로콜리, 쌈채소인 고추냉이, 곱슬겨자채, 곱슬케일 등 배추과 작물 10종과 새싹채소인 배추, 유채, 브로콜리, 무순, 적양배추 등 새싹채소 5종을 구입하여 분석에 사용하였다. 분석에 사용된 myrosinase, anion-exchange resin, sulforaphane은 Sigma사(USA) 제품을 사용하였고, ethanol, dichloromethane은 Merck(독일)사 제품을 사용하였다.

나. 분석시료 조제 및 total glucosinolate 함량 측정

수집된 시료는 세절하여 동결건조 후 분쇄기로 갈아 -20℃ 냉동보관하였다. 보관된 시료는 분석직전에 꺼내어 0.5g을 평량한 후 뜨거운 80% 에탄올 100mL로 2회 추출 후 40℃이하의 온도에서 25mL가 될 때까지 감압농축하여 3000rpm으로 4~5℃에서 15분간 원심분리하여 상등액을 취하였다. 상등액은 anion-exchange resin(Dowex 1×2-100) 3.5g을 충진한 column(¢12×70mm)을 통과시킨 후 Molish reagent를 이용하여 glucose가 검출되지 않을 때까지 증류수로 세척하였다. Column의 충진물에 4mL CH_2Cl_2, 0.1M sodium phosphate buffer 5mL, crude myrosinase powder 50mg, 10mM ascorbic acid 1mL를 첨가하여 18시간 동안 shaking하면서 반응시켰다. 반응이 끝난 시료는 여과지를 통과시킨 후 1% Thymol 1mL와 77% H_2SO_4 7mL를 넣고 잘 혼합시킨 후 35분간 끓여 UV/visible spectrophotometer(UVIKON, Kontron instrument, Italy)를 이용하여 505nm에서 total glucosinolate 함량을 측정하였다. 이때 standard는 glucose를 사용하였다.

다. 휘발성 성분 추출 및 GC/MS에 의한 sulforaphane 분석

시료 100g에 200mL의 증류수를 넣고 2분간 마쇄한 후 가아제로 짠 여액을 Chin 등(1986)의 방법에 따라 50mL의 dichloromethane으로 3회 추출하여 모은 추출물을 무수황산나트륨으로 탈수시킨 후 30℃에서 감압농축시켰다. 100μL로 농축한 시료 1μL를 capillary

column(0.25mm × 30m : lett Packard HP 5MS)을 장착한 GC/MS(Hewlett Packard HP 5890, MSD 5972))시스템에 주입하였다. 분석 오븐 온도는 60℃에서 1분 유지한 후 15℃/min로 280℃까지 승온하였으며, 주입구 및 검출구 온도는 250℃이었다. 시료 주입은 splitless법을 사용하였으며, carrier 가스는 helium, 유속은 0.8mL/min이었고, 총이온 크로마토그램(total ion chromatogram)을 scan mode로 얻은 후 분리된 sulforaphane 성분을 확인하였다.

3. 결과 및 고찰

가. 배추과작물의 Glucosinolate 함량 비교

배추과작물 중 국내에서 많이 소비되고 있는 배추, 무, 브로콜리와 고추냉이, 곱슬케일 등 쌈채소에서의 total glucosinolate 함량을 분석한 결과 그림 1과 같다. Total glucosinolate 함량 분석결과 고추냉이가 653.6 μmol/100g으로 가장 높았으며 그 다음으로 무 551.2 컬리플라워 544.0 케일 543.0 곱슬겨자채 535.9 브로콜리 532.2 곱슬케일 531.5 토스카노 524.6 콜라드 520.1 배추 520.0 μmol/100g로 나타나 고추냉이를 제외한 다른 작물간에는 glucosinolate 함량 차이가 크지 않았다.

Hill과 Williams(1987)은 glucosinolate 함량을 mustard green에서 391 μmol/100g, Chinese kale 또는 broccoli에서 230 μmol/100g으로 보고하였으며, Hongju 등(2003)은 중국의 배추인 pak choi group에서 85~284 μmol/100g, mustard group에서 344~618 μmol/100g, kale 429.4 μmol/100g, 콜라드 730.6 μmol/100g으로 보고하였다. 본 시험에서 분석된 배추과작물의 glucosinolate 함량은 Hongju의 분석결과보다 배추는 높고, 콜라드는 낮으며, 고추냉이는 비슷한 경향이었다. Hill과 Williams의 분석결과와 상이한 것은 그들은 HPLC에 의해 분석된 피크 값의 합을 구한 결과이며, Hongju와 본 실험은 효소에 의해 가수분해된 glucosinolate 총함량을 조사했기 때문에 다른 값을 나타낸 것으로 생각된다.

배추과작물의 새싹단계에서 total glucosinolate 함량을 조사한 결과는 그림 2와 같다. 새싹단계의 glucosinolate 함량은 브로콜리 565.9~569.7 μmol/100g와 적양배추 566.7 μmol/100g으로 다른 채소보다 많았으나 큰 차이는 없었다. 배추와 브로콜리의 새싹단계에서 glucosinolate 함량은 각각 527.6 μmol/100g와 브로콜리 565.9 μmol/100g로 성숙단계에서의 배추 520.0 μmol/100g, 브로콜리 532.2 μmol/100g에 비해 다소 높게 나타났으나 Fahey 등(1997)의 3일된 broccoli sprout에는 성숙되거나 조리된 broccoli보다 20~50배 더 많은 glucosinolate가 있다고 보고된 것과는 다소 차이가 있었다.

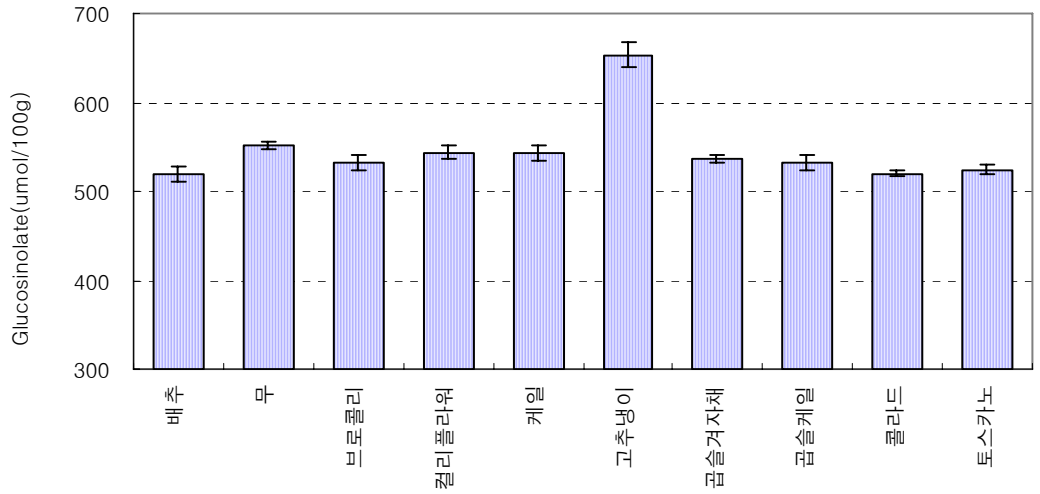


그림 1. 배추과작물의 Total glucosinolate 함량 비교(μmol $100g^{-1}$ FW)

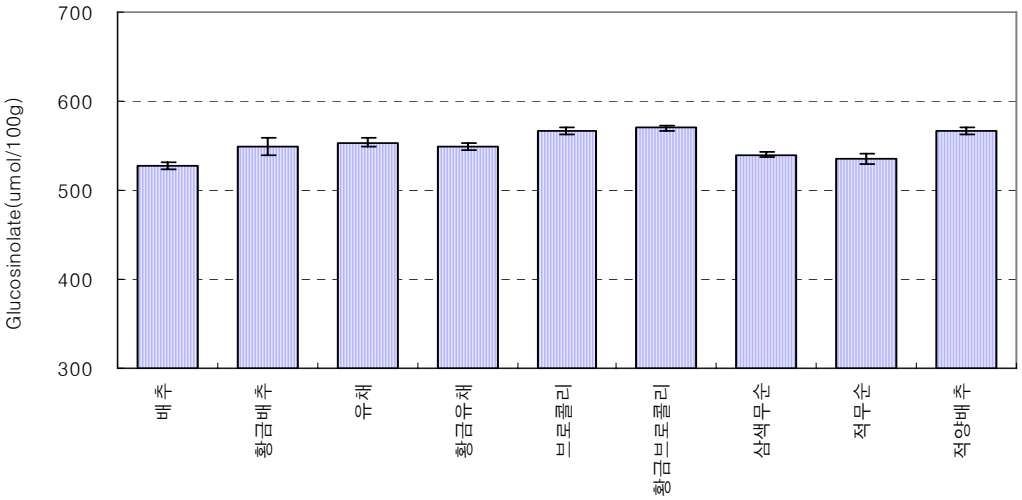
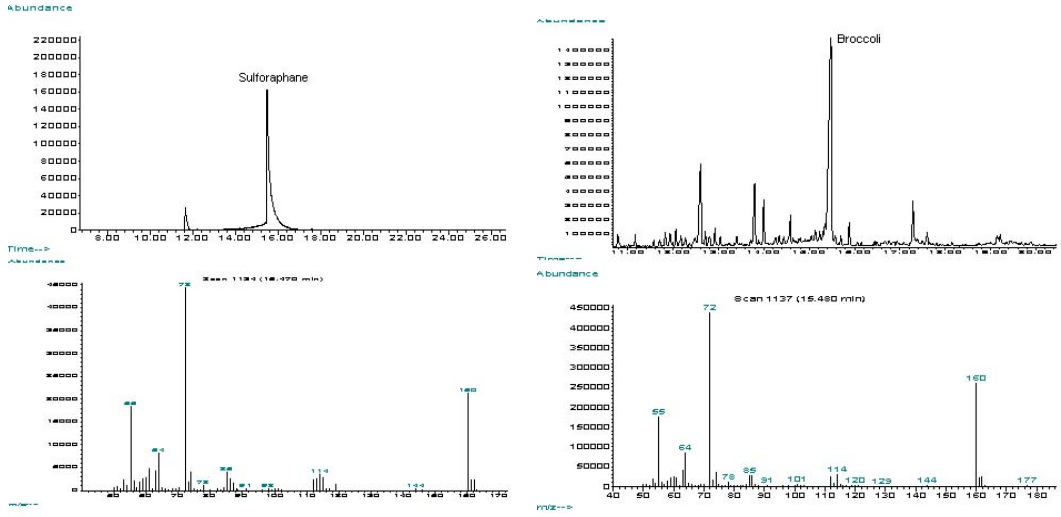


그림 2. 배추과작물의 새싹단계에서 Total glucosinolate 함량 비교(μmol $100g^{-1}$ FW)

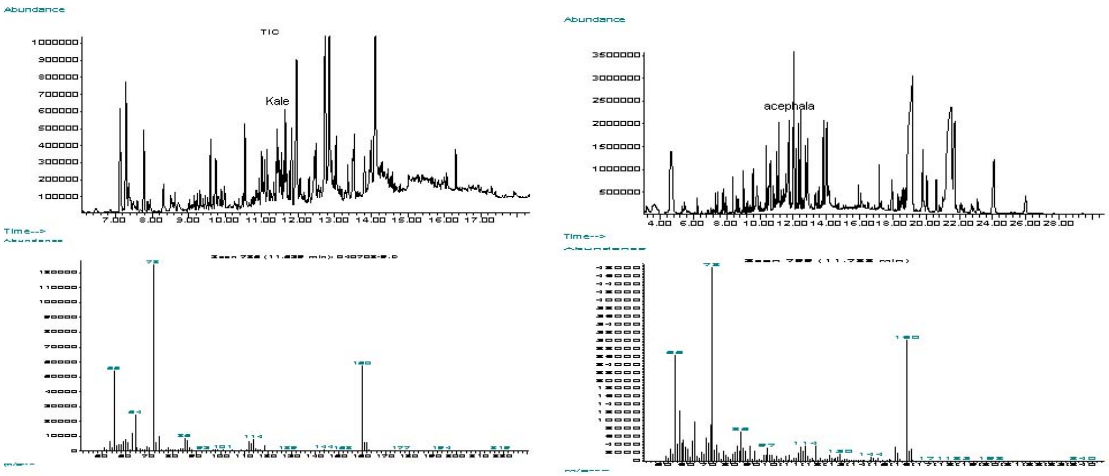
나. 배추과작물의 Sulforaphane 질량분석 스펙트럼

배추과작물 추출물의 sulforaphane 피크의 질량분석 스펙트럼을 표준 sulforaphane 피크의 질량분석 스펙트럼과 비교한 결과를 그림 3과 그림4에 나타내었다. Sulforaphane의 GC/MSD 분석결과 피크 머무름시간은 표준품과 브로콜리가 15.5분이었으며, 질량분석 스펙트럼의 이온성분은 m/z 72, 160, 55로 브로콜리 추출물의 성분과 sulforaphane 표준품의 성분이 일치하였다. 케일과 곱슬케일도 동일 시간대 피크가 sulforaphane 피크의 질량분석 스펙트럼의 이온성분과 일치하였으나 브로콜리에 비해 피크가 미미한 것으로 나타났다. 브로콜리의 sulforaphane 피크는 작물을 이용한 기능성제품 개발 시 좋은 자료로 활용되리라 생각된다.



standard 브로콜리

그림 3. Sulforaphane standard와 브로콜리 추출물의 분석결과 및 질량분석 스펙트럼



케일 곱슬케일

그림 4. 케일과 곱슬케일 추출물의 분석결과 및 질량분석 스펙트럼

4. 적요

배추과작물에서 기능성물질인 glucosinolate 함량을 조사하여 기능성 제품 개발의 기초자료로 활용코자 국내에서 많이 소비되고 있는 배추, 브로콜리 및 쌈채소 등의 작물과 새싹단계에서의 glucosinolate와 sulforaphane 함량을 분석한 결과는 다음과 같다.

Glucosinolate 함량은 고추냉이가 653.6 μmol/100g으로 가장 많았으며, 다른 작물에서는 520.0~551.2 μmol/100g으로 큰 차이가 없었다. 시중에서 판매되고 있는 배추과작물의 새싹단계에서 glucosinolate 함량은 브로콜리 565.9~569.7 μmol/100g로 다른 새싹채소에 비해서는 높았으나 성숙해서 수확한 작물과 큰 차이는 없었다. Sulforaphane의 GC/MSD 분석결과 피크 머무름 시간은 15.5분이었으며, 표준품 sulforaphane 성분과 브로콜리, 케일, 곱슬케일에 대한 질량분석 스펙트럼의 이온성분이 m/z 72, 160, 55로 일치하였다.

5. 인용문헌

Chin, H.W., Zeng, G. and Lindsay, R., 1986. Occuance and flavour properties of sinigrin hydrolysis products in fresh cabbage. J. Food Sci. 61 : 101

Fahey. J.W., Yuesheng Zhang, Paul Talalay. 1997. Broccoli sprouts : An exceptionally rich source of inducers of enzymes that protect against chemical carcinogens. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 94 : 10367-10372

Hill, C.B. and Williams, P.H. 1987. Variation in glucosinolates in oriental Brassica vegetables. J. Amer. Soc. Hort. Sci., 112 : 309-313

Hongju He, Ling Liu, Shuhui Song, Xiaowei Tang, Yongjian Wang. 2003. Evaluation of Glucosinolate Composition and Contents in Chinese Brassica Vegetables. J. Amer. Soc. Hort. Sci.

심기환, 성낙계, 강갑석, 안철우, 서권일. 십자화과 채소의 가공 및 저장 중 Glucosinolate의 분석과 그 함량 변화. 1992. 한국영양식량학회지. 21(1) : 43-48

이우승. 1994. 한국의 채소. 경북대출판. p 285~304

우원식. 1996. 천연물 화학 연구법. 서울대학교 출판부. p 399~410

전순실, 최옥자, 조영숙, 박석규, 박정로. 돌산 갓 김치 숙성 중 매운맛 성분의 변화. 1995. 한국영양식량학회지. 24(1) : 54-59

김미리, 이혜수. 1985. 한국산 무의 휘발성 함유황 화합물에 관하여. 한국조리과학회지, 1 : 33

Rangkadilok, N., Nicolas, M.E., Bennett, R.N., Premier, R.R., Eagling, D.R. and Taylor, P.W.J. 2002. Developmental changes of sinigrin and glucoraphanin in three Brassica species(Brassica nigra, Brassica juncea and Brassica oleracea var. italica). Scientia Horticulturea, 96 : 11-26

Rangkadilok, N., Nicolas, M.E., Bennett, R.N., Premier, R.R., Eagling, D.R. and Taylor, P.W.J. 2002. Determination of sinigrin and glucoraphanin in Brassica species using a simple extration method combined with ion-pair HPLC analysis. Scientia Horticulturae, 96 : 27-41

Rosa, E.A.S., Heaney, R.K., Fenwick, G.R., and Portas, C.A.M. 1997. Glucosinolates in crop plants. Hort. Rev. 19 : 99-215

Shapiro. T.A., Jed W. Fahey, Kristina L. Wade, Katherine K. Stephenson, and Paul Talalay. 2001. Chemoprotective Glucosinolate and Isothiocyanates of Broccoli Sprout : Metabolism and Excretion in Humans. Cancer Epidemiology, Biomarkers & prevention. 10 : 501-508

Zhang, Y., Talalay, P., Cho, C.G. and Posner, G.H., 1992. A major inducer of anticarcinogenic protective enzymes from broccoli : Isolation and elucidation of structure, Proc. Natl. Acad. Sci., USA 80 : 399