

선택이온 측정법에 의한 십자화과 채소중의 Sulforaphane 함량

김미리 · 이근종 · 김진희 · 석대은*

충남대학교 식품영양학과, 충남대학교 약학대학*

Determination of sulforaphane in cruciferous vegetables by SIM

Mee Ree Kim, Kun Jong Lee, Jin Hee Kim and Dai-Eun Sok*

Department of Food and Nutrition, Chungnam National University

*College of Pharmacy, Chungnam National University

Absract

Quantitative determination of sulforaphane, S-methylsulfinylbutyl isothiocyanate in 20 cruciferous vegetables of Korean origin was performed. Homogenate of vegetable was extracted with dichloromethane, and the extract, after drying, was subjected to GC/MS analysis, which was based on single ion monitoring (SIM) at m/z 72, 160, 55, 114 and 177. The content of sulforaphane was found to be the highest in the extract of broccoli (80.2~617.7 ppm) followed by turnip (15.4~23.1 ppm), red cabbage (9.9~32.1 ppm), radish (5.5~8.8 ppm) and kale (8 ppm). Among various cultivars of broccoli, broccoli '1243' and broccoli 'Pilgrim' showed higher content of sulforaphane than others. Especially, in the stem of broccoli '1243' and the floret of broccoli 'Pilgrim' the amount of sulforaphane was the highest (>700 ppm). Thus, the content of sulforaphane differed according to the cultivars and the portion of the vegetables.

Key words: Sulforaphane, GC/MS, cruciferous vegetables

서 론

십자화과 채소중에 함유된 일부 화학물질들(함유황 화합물)은 phase I 효소(cytochrome P-450)와 phase II 효소들(glutathione transferase와 quinone reductase 등)을 유도함으로써 항발암 작용을 나타낸다고 알려져 있다^(1,4). 그러나, phase I 효소중의 일부는 발암원의 활성화에도 관여하는 것으로 알려져 있다^(2,4). 특히, 함유황 화합물 중 S-methylsulfinylbutyl isothiocyanate (sulforaphane)는 이물질(xenobiotics)의 대사에 관여하는 phase II 효소들을 선택적으로 유도하여 발암(carcinogenesis)에 대해서 보호작용(chemoprotection)을 나타낸다고 보고되어 sulforaphane을 많이 함유하는 십자화과 채소에 관심이 증대되고 있다^(5,7).

Zhang 등⁽⁸⁾은 브로콜리 추출물에서 phase II 효소의 유도효과가 큰것을 관찰하였고, 강한 활성을 나타내는 물질은 sulfo:aphane, (-)-1-isothiocyanate-(4R)-(methylsulfinyl) butane [$\text{CH}_3\text{-SO-(CH}_2\text{)}_4\text{-NCS}$]이라고 보

고하였다. 또한 Zhang 등⁽⁸⁾은 sulforaphane을 브로콜리 추출물중에서 분리정제하였으나 sulforaphane 함량은 분석하지 않았으며, 현재까지 브로콜리를 비롯한 십자화과 채소중의 sulforaphane 함량에 대한 보고는 없는 실정이다.

따라서, 우리나라에서 많이 소비되는 여러 종류의 십자화과 채소를 중심으로 항발암 효소 유도효과가 크다고 알려진 sulforaphane의 양이 많은 채소를 선별하고자 GC/MS로 분석하였다.

재료 및 방법

재료 및 시약

브로콜리(제주산), 순무(강화산), 무, 부일, 흰색 양배추, 자색 양배추, 케일, 콜리플라워, 배추, 청경채, 갓, 돌산갓(여천산), 무순, 배추뿌리를 비롯한 십자화과 채소와 마늘, 파, 양파, 부추, 달래를 비롯한 백합과 채소를 시중에서 구입하여 분석에 사용하였다. 또한, 브로콜리, 양배추(흰색)는 품종별로 흥농종묘에서 분양받아 분석에 사용하였다. Sulforaphane 표준품은 LKT Labs, Inc. (St. Paul, MN, USA)에서 구입하여 분

Corresponding author: Mee Ree Kim, Ph.D., Department of Food and Nutrition, Chungnam National University, 220 Gung-dong, Yuseong-gu, Taejon 305-764, Korea

석에 사용하였고, dichloromethane은 Merck (독일)사 제품을 사용하였다.

휘발성 성분 추출

시료 100 g에 200 mL의 증류수를 넣고 Waring blender에서 2분간 마쇄한 후 가아제로 짠 여액을 Chin 등⁽⁴⁾의 방법에 따라 50 mL의 dichloromethane으로 3회 추출하여 모은 추출물을 무수황산 나트륨으로 건조시킨 후 30°C에서 감압 농축시켰다.

GC/MS에 의한 sulforaphane 정량

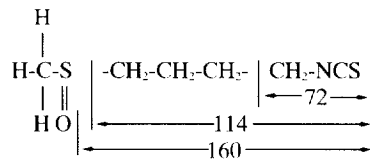
용매로 추출하여 100 µL로 농축한 시료 1 µL를 capillary direct column (0.27 mm × 30 m: Hewlett Packard HP 5MS)을 장착한 GC (Hewlett Packard HP 5890 II)와 mass selective detector (Hewlett Packard MSD: 5972) 시스템에 주입하였다. 분석 오븐 온도는 60°C에서 1분 유지한후 15°C/min 로 280°C까지 가열하였으며, 주입구 및 검출구 온도는 250°C를 사용하였고, 70 eV의 에너지로 전자 이온화(electron impact ionization, EI) 방법을 사용하였다. 시료 주입은 splitless법을 사용하였으며, carrier 가스는 helium 으로 유속은 0.8 mL/min (5.6 psi)이었다. GC/MS에 시료를 주입하여 scan mode로 총이온 크로마토그램(total ion chromatogram)을 얻은 후 분리된 sulforaphane의 피크를 MS를 이용하여 성분을 확인하고, 선택이온 측정법(GC/MS/SIM)으로 얻은 sulforaphane 피크 면적을 외부 정량곡선에 의하여 측정하였다. 내부 표준 물질로는 methyl stearate를 사용하였다⁽¹⁰⁾. 정량곡선을 작성하기 위하여 sulforaphane 표준품 일정량을 용매에 녹여 GC/MS에 주입하여 질량분석 스펙트럼을 얻은 후 주 토막 이온(main fragmentation ion)인 m/z 72, 160, 55, 64, 114 및 177을 프로그램(D 3362A)에 입력하여 선택이온 측정법에서 선택한 이온들을 적용시킨 후 얻은 피크를 통해 정량곡선을 작성하여 컴퓨터(HP D 3362A)에 입력하고 십자화과 채소 중의 sulforaphane 함량을 구하였다.

결과 및 고찰

표준 sulforaphane의 질량분석 스펙트럼

브로콜리 추출물의 sulforaphane 피크의 질량분석 스펙트럼을 표준 sulforaphane 피크의 질량분석 스펙트럼과 비교한 결과를 Fig. 1에 나타내었다. Fig. 1에서와 같이, 분자이온 (M⁺), m/z 177, ·CH₂-NCS, m/z 72, ·CH₂-CH₂-CH₂-CH₂-NCS, m/z 114, ·CH₂-S-CH₂-CH₂-

CH₂-CH₂-NCS, m/z 160의 토막이온들이 모두 관찰되었으며, 보고된 sulforaphane 의 질량분석 스펙트럼과 일치하였다⁽⁶⁾. 또한, 표준 sulforaphane 피크의 질량분석 스펙트럼에 나타난 각 토막이온의 상대 세기(relative intensity)는 m/z 72를 100으로 보았을 때, m/z 160은 56%, m/z 55는 38%, m/z 114는 8%, m/z 177은 1%이었는데 브로콜리중의 sulforaphane 피크의 질량분석 스펙트럼에 나타난 각 토막이온의 상대 세기도 표준 sulforaphane 과 유사하였다. 따라서, 정량분석을 위하여 선택성이 높은 분자이온인 m/z 177와 isothiocyanate 화합물의 특징 이온이면서 감도가 높은 m/z 72와 그 다음으로 감도가 높게 나타난 ·CH₂-S-CH₂-CH₂-CH₂-CH₂-NCS 이온인 m/z 160과 CH₂-CH₂-CH₂-CH₂-NCS 이온인 m/z 114를 선택하였으며, 또한, 십자화과 채소에는 여러종류의 isothiocyanates가 존재하였으므로 감도가 낮지만 sulforaphane의 분자이온인 m/z 177도 선택하여 선택이온 모드(SIM mode)에서 sulforaphane을 정량하였다.



십자화과 채소중 Sulforaphane 함량

표준품의 sulforaphane을 몇가지 농도로 제조하여 GC/MS 에 주입한후 선택이온측정법에 의하여 얻은 면적을 농도에 대하여 정량곡선을 작성한 후, 브로콜리를 비롯한 십자화과 채소중의 sulforaphane 함량은 표준품의 질량 스펙트럼과 동일하게 나타나는 피크만을 적분하여 얻은 면적에 의해 계산되어졌다. 시료에 따라서 특히, 십자화과 채소중에서는 갓이나 백합과 채소의 용매추출물을 GC/MS에 주입하여 scan mode 로 얻은 총이온 크로마토그램상에는 표준품 sulforaphane과 유사한 머무름 시간(retention time)을 나타내는 성분이 존재하였으므로, sulforaphane 만 선택적으로 분석하기 위하여 표준품 sulforaphane 의 특징적인 이온과 상대세기를 지닌 질량분석 스펙트럼을 토대로 SIM에 의해 정량하였다.

시중에서 구입한 여러 가지 십자화과 채소 중의 sulforaphane 함량을 Table 1에 나타내었다. Table 1에서와 같이, 브로콜리에 가장 많이 함유되어 있었으며, 그 양은 80.2~631.4 ppm으로 시료의 구입 장소에 따라 달랐다. 그 다음으로 많이 함유된 채소는 순무 15.4~23.1 ppm, 무청 14.6 ppm, 자색 양배추 9.9~32.1 ppm,

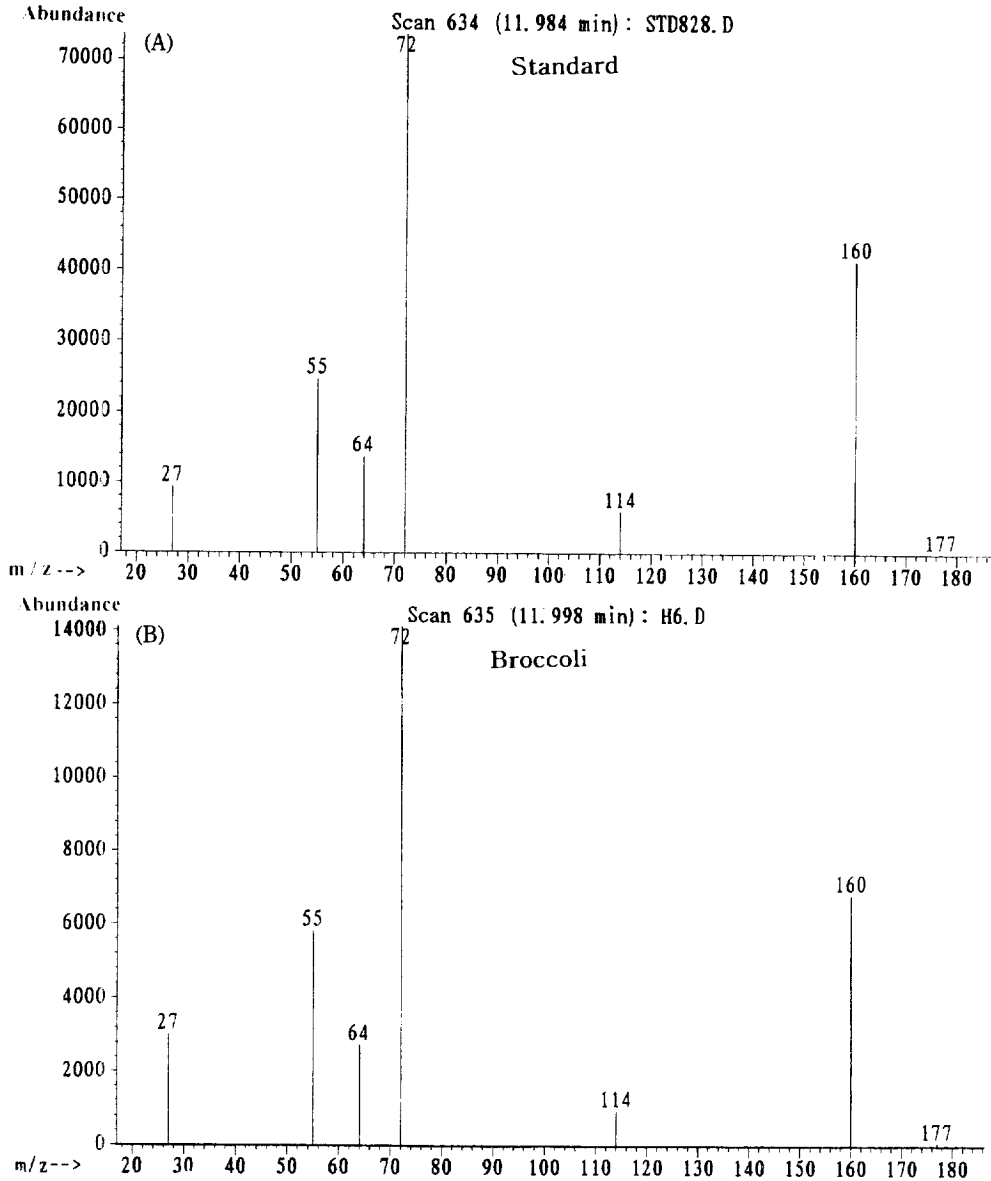


Fig. 1. Mass spectral fragmentation pattern of sulforaphane standard (A) and peak at the same retention time from broccoli extract (B).

무 5.5~8.8 ppm, 케일 8.0 ppm, 흰색 양배추 7.6 ppm, 콜리플라워 5.2 ppm, 배추 2.9 ppm, 청경채 0.2 ppm 이었으며, sulforaphane 함량은 시료에 따라 변화 정도가 컸다. 무순, 갓, 돌산갓 및 배추뿌리에는 sulforaphane 이 존재하지 않았다. Buttery 등⁽¹¹⁾이 보고한 양배추, 브로콜리, 콜리플라워등의 휘발성 화합물에는 sulforaphane이 존재하지 않았으며, Zhang 등⁽⁶⁾도 브로콜리 추출물 중의 phase II 효소 유도효과가 높은 물질이 sulforaphane 이라고 보고하였으나, 그 양은 보고하

지 않아 본 실험 결과와 비교가 불가능하였다. 또한 Kjaer 등⁽¹²⁾이 분석한 일본 및 케냐산 무와 김 등⁽¹³⁾이 분석한 한국산 무 중의 휘발성 화합물중에도 sulforaphane의 존재는 보고하지 않았다. Cole⁽¹⁴⁾ 등이 분석한 콜리플라워, 배추, 무의 향기성분중에도 sulforaphane 은 존재하지 않았다. 따라서, 본 실험 결과, 이들 채소 즉 양배추, 브로콜리, 콜리플라워에는 물론, 순무, 케일, 배추, 무 중에도 sulforaphane의 양이 적지 않게 확인되어 지금까지 십자화과 채소 중의 휘발성 함황화

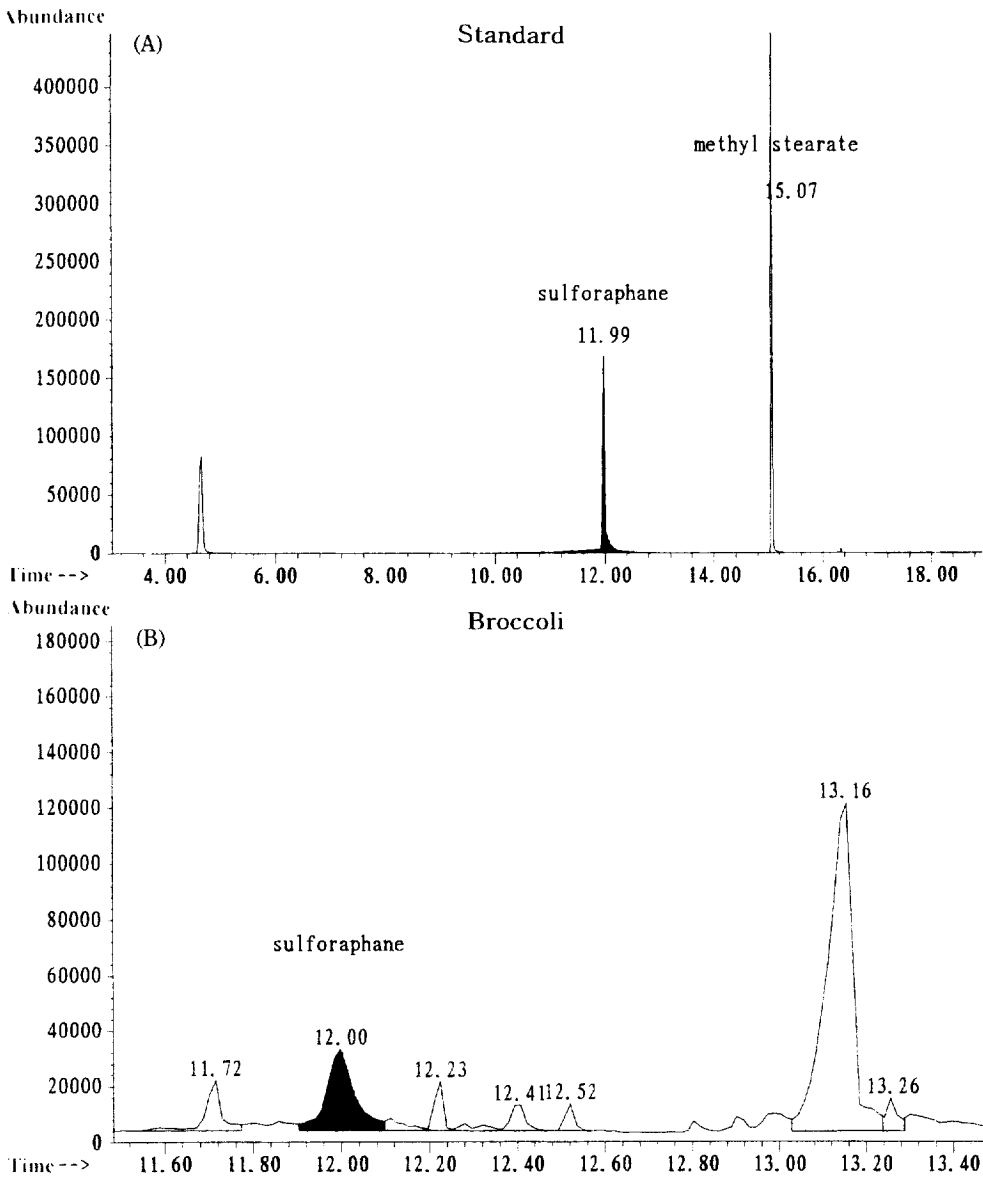


Fig. 2. GC/MS Chromatogram of sulforaphane standard (A) and broccoli extract (B) monitored at m/z 72, 160, 55, 114 and 177.

합불에 대한 보고 중 브로콜리를 제외한 십자화과 채소 중의 sulforaphane 함량은 본보고가 처음이다. 돌산갓에는 sulforaphane이 검출되지 않았는데 이는 조 등⁽¹⁵⁾이 돌산갓 중의 향기성분을 분석하여 보고한 결과와 일치하였다. 또한, 무순에도 sulforaphane은 검출되지 않았다. 한편, 마늘, 파, 양파, 부추, 달래 등의 백합과 채소에는 sulforaphane이 존재하지 않았다.

한편, 십자화과 채소 중에서 sulforaphane이 가장 많

이 함유된 브로콜리와 일상생활에서 흔히 섭취하는 양배추를 선택하여 몇가지 품종별로 sulforaphane을 정량하여 Table 2에 나타내었다. 브로콜리는 꽃(floret)과 대(stem)를 식용하는데 꽃과 대를 각각 분석한 결과, Table 2에서와 같이 브로콜리는 꽃과 대의 sulforaphane함량이 각각 달랐으며, 여러 가지 품종의 브로콜리중에서 꽃에 sulforaphane이 가장 많이 함유된 품종은 'Pilgrim'으로 749.0 ppm 이었고, 가장 적게 함

Table 1. Sulforaphane content of various cruciferous vegetables by SIM

Vegetables	Sulforaphane (ppm)
Broccoli	80.2~617.7
Turnip	15.4~23.1
Radish leaf	14.6
Red cabbage	9.9~32.1
Radish	5.5~8.8
Kale	8.0
White cabbage	7.6
Cauliflower	5.2
Chinese cabbage	2.9
Chungkyungchae	0.2
Radish sprout	- ¹⁾
Mustard leaf	-
Mustard leaf (Dolsan)	-
Garlic	-
Green onion	-
Wild green onion	-
Leek	-
Chinese cabbage root	-

¹⁾Not detected.**Table 2. Sulforaphane content of broccoli by cultivars**

Cultivars	Portion	Sulforaphane (ppm)	
Broccoli	Greenbelt	floret	52.9
		stem	242.3
	Shasta	floret	217.6
		stem	83.9
	1243	floret	558.8
		stem	704.8
	Abella	floret	193.2
		stem	6.5
	Pilgrim	floret	749.0
		stem	410.4

유된 품종은 'Greenbelt'로 52.9 ppm 이었다. 또한, 브로콜리 대에 sulforaphane의 함량이 가장 많은 품종은 '1243'으로 704.8 ppm 이었고, 대에 sulforaphane 량이 가장 적은 품종은 'Abella'로 6.5 ppm이었다. 브로콜리의 꽃과 대를 합쳐서 sulforaphane이 가장 많이 함유된 품종은 '1243'으로 631.4 ppm 이었고, 그 다음이 'Pilgrim'으로 571.0 ppm 이었다. 또한, 양배추의 품종 별로 sulforaphane을 분석한 결과, 품종 '69', '73', '118', 'BM 119'에는 존재하지 않았으나, 품종 '123'에는 55.6 ppm으로 상당히 많이 함유되어 있었다.

요 약

한국인이 흔히 섭취하는 십자화과 채소와 백합과 채소중의 S-methylsulfinylbutyl isothiocyanate, 즉, sulforaphane 함량을 GC/MS로 분석하여 가장 많이 함유

된 채소를 선별하고, 십자화과 및 백합과 채소에 속하는 20여종의 채소 용매추출물을 GC/MS에 주입하여 sulforaphane 표준품의 질량분석 스펙트럼을 근거로 선별이온 측정법 GC/MS (SIM)에 의해 정량하였다. 그 결과, 브로콜리에 80.2-631.4 ppm으로 가장 많이 함유되어 있었으며, 그 다음으로 순무, 무청, 자색 양배추, 무, 케일, 흰색 양배추, 콜리플라워, 배추, 청경채의 순이었으며, 갓, 돌산갓, 무순 및 부추 그리고 달래, 골파, 양파 및 마늘 등 백합과 채소에는 함유되어 있지 않았다. 브로콜리 품종 중에서 sulforaphane이 가장 많은 품종은 'Pilgrim'과 '1243'이었다. 브로콜리는 식용부위별로 품종 간에 sulforaphane 함량이 달랐는데, 꽃에 가장 많이 함유된 품종은 'Pilgrim' 이었고, 대에 가장 많이 함유된 품종은 '1243'으로 700 ppm 이상의 sulforaphane이 존재하였다.

감사의 글

본 연구는 한국과학재단 핵심전문연구(과제 번호 : 961-0604-0275)의 연구비로 수행한 결과의 일부이며 연구지원에 감사드리는 바입니다.

문 헌

1. Watterberg, L.W.: Chemoprevention of cancer. *Cancer Res.*, **45**, 1 (1985)
2. Prochaska, H.J. and Talalay, P.: Regulatory mechanisms of monofunctional and bifunctional anticarcinogenic enzyme inducers in murine liver. *Cancer Res.*, **48**, 4776 (1988)
3. Aspry, K.E. and Bjeldans, L.F.: Effects of dietary broccoli and butylated hydroxyanisole on liver mediated metabolism of benzo[a]pyrene. *Food Chem. Toxicol.*, **21**, 133 (1983)
4. Talalay, P., Fahey, J.W., Holtzclaw, W.D., Pretera, T. and Zhang, Y.: chemoprotection against cancer by phase 2 enzyme induction. *Toxicology Lett.*, **82/83**, 173 (1995)
5. Bradfield, C.A., Chang, Y. and Bjeildanes, L.F.: Effects of commonly consumed vegetables on hepatic xenobiotic-metabolizing enzymes in the mouse. *Food Chem. Toxicol.*, **23**, 899 (1985)
6. Whitty, J.P. and Bjeldanes, L.F.: The effects of dietary broccoli and butylated hydroxyanisole on liver-mediated metabolism. *Food Chem. Toxicol.*, **25**, 581 (1987)
7. Pretera, T., Holtzclaw, D.W., Zhang, Y. and Talalay, P.: Chemical and molecular regulation of enzymes that detoxify carcinogens. *Proc. Natl. Acad. Sci., USA* **90**, 2969 (1993)
8. Zhang, Y., Talalay, P., Cho, C.G. and Posner, G.H., A major inducer of anticarcinogenic protective enzymes from broccoli: Isolation and elucidation of structure,

- Proc. Natl. Acad. Sci., USA* **80**, 399 (1992)
9. Chin, H.W., Zeng, G. and Lindsay, R., Occurance and flavour properties of sinigrin hydrolysis productes in fresh cabbage., *J. Food Sci.*, **61**, 101 (1986)
 10. VanEtten, C.H. and Daxenbichler, M.E.: Natural poison. Glucosinolates and derived products in cruciferous vegetables: Total glucosinolates by retention on anion exchange resine and enzymatic hydrolysis to released glucose., *J. AOAC*, **60**, 46 (1977)
 11. Buttery, R.G., Guadagni D.G., Ling, L.C., Serfert, R.M. and Lipton, W.: Additional volatile components of cabbage, broccoli and cauliflower, *J. Agric. Food Chem.*, **24**, 829 (1976)
 12. Kjaer, A., Madsen, J.O., Maeda, Y., Ozawa, Y. and Uda, Y.: Volatiles in distillates of fresh radish of Japanese and Kenyan origin, *Agric. Biol. Chem.*, **42**, 1715 (1978)
 13. 김미리, 이혜수 : 한국산 무의 휘발성 함유황 화합물에 관하여, *한국조리과학회지*, **1**, 33 (1985)
 14. Cole, R.A.: Volatile components produced during Ontogeny of some cultivated crucifers, *J. Sci. Food Agric.*, **31**, 549 (1980)
 15. 조영숙, 박석규, 전순실, 박정로 : 돌산갓의 isothiocyanates류의 분석, *한국식문화학회지*, **8**, 147 (1993)
-
- (1997년 7월 16일 접수)