

배추 종자 및 어린 싹의 성장 시기에 따른 3-butenyl isothiocyanate 및 total glucosinolates 함량 변화

김연경 · 김건희

덕성여자대학교 식품영양학과

Changes in 3-Butenyl Isothiocyanate and Total Glucosinolates of Seeds and Young Seedlings during Growth of Korean Chinese Cabbages

Youn-Kyung Kim and Gun-Hee Kim*

Department of Food and Nutrition, Duksung Women's University, Seoul 132-030, Korea

Abstract

The main objective of this study was to investigate the pattern of glucosinolates, in terms of 3-butenyl isothiocyanate, and total glucosinolates, in different parts of young seedlings and seeds in Korean Chinese cabbages. For determination of glucosinolates, 55 days and Winter pride cultivars of Korean Chinese cabbages seeds and different parts of 1, 3, 5, and 7-day-old seedlings were used for analytical sample preparation provided with an anion exchanges column, and measured by GC and UV-visible Spectrophotometer. The concentration of 3-butenyl ITC was higher in the cotyledon and the hypocotyl parts of 55 days cultivar seedling than those of Winter Pride cultivar. In the cotyledon parts of Winter pride cultivar seedling, 3-butenyl ITC amount was increase to 3-day-old seedling and then reduced. The cotyledon of 55 days cultivar contained the highest concentration of total glucosinolates while those were increased in the hypocotyl and decreased in the root. The level of total glucosinolates was increased to 5-day-old seedling and then decreased in the cotyledon and the hypocotyl parts of seedling in Winter pride cultivar. There was no significant difference of total glucosinolates in the root part. In the seeds, 55 days cultivar concentration was higher than Winter pride cultivar both of 3-butenyl ITC and total glucosinolates. In our study, the levels of 3-butenyl ITC and total glucosinolates depended on cultivars, growth stages, and parts in Korean Chinese cabbage.

Key words : Total glucosinolates, 3-butenyl isothiocyanate, Chinese cabbage, young seedlings, seeds

서 론

Glucosinolates는 Brassica vegetables에 함유되어 있는 배당체로서 최근에 anticarcinogen으로서의 기능성 역할에 대한 연구가 이루어지고 있다. 특히 브로콜리, 케일, 겨자, 양배추 등의 십자화과 채소에 많이 함유되어 있는 glucosinolates와 그 분해산물은 고대부터 알려져 온 물질로서 통풍, 설사, 두통에 치료적 목적으로 사용되기도 했다(1,2). Glucosinolates는 thioglucoside-N-hydroxysulfate이며 가수분해 효소 myrosinase에 의하여 isothiocyanate, nitrile, thiocyanate 와 glucose로 분해되는데 glucosinolates는 유세포 (parenchymal cell)에 함유되어 있고, myrosinase는 이상세포 (idioblast)에 존재하기 때문에 식물체내에서는 두 물질이 독립적으로 존재한다. 그러나 가공 등

에 의해 세포가 상처를 입게 되면 glucosinolates가 myrosinase의 작용을 받아 대부분 isothiocyanate가 생성된다(1,3).

Isothiocyanate는 강한 항균, 항미, 살충작용이 있으므로 생체 방어반응에 관여하며 또한 최근 항암효과에 관한 연구들이 보고되고 있다(4,5). 또한, glucosinolates는 저장 기간 및 성장 시기에 따른 함량 변화에 대한 보고(6-8)가 있으나, 국내에서 생산·소비되는 십자화과 채소에 대한 연구는 거의 없는 실정이다. 기능성 식품 소재로서의 glucosinolates의 성장 시기별 함량 변화를 분석하는 연구는 최적함량 조건에 따른 고부가 식품재료로서의 이용가치를 높이기 위한 기초자료로 활용될 수 있을 것으로 사료된다. 따라서, 본 연구는 우리나라의 대표적 십자화과 채소인 배추 품종별, 성장 시기별 및 부위별 glucosinolates 함량을 조사하여 국내 주요 소비 채소류의 기능성 식품소재로서의 glucosinolates에 대한 기초 연구로 활용하고자 수행되었다.

Corresponding author : Gun-Hee Kim, Department of Food and Nutrition, Duksung Women's University, Seoul 132-030, Korea
E-mail : ghkim@duksung.ac.kr

재료 및 방법

재료

본 실험에서 사용된 배추 종자는 동풍(Winter Pride)과 55일(55 Days) 품종을 (주)세미니스 코리아에서 구입하여 사용하였다.

조효소 제조

아세톤 침전법을 이용하여 원심분리한 침전물을 조효소로 사용하였다. 충분히 냉장된 무의 껍질을 벗긴 후 믹서기로 갈아 여과한 후 여과액의 1.5배에 해당하는 60 %아세톤을 가하여 5분간 0~4 °C에서 방치하였다. 3000 rpm으로 15분간 0~4 °C에서 원심분리 후 침전물을 동결건조 하여 제조하여 냉동보관 후 사용하였다.

Young seedlings 재배 조건

멸균 처리된 시험관에 증류수 2 ml를 가하고 솜을 소량 넣어 솜이 젖도록 한 후 2 품종의 배추 종자를 각각의 시험관에 5~7개씩 넣고 시험관대 전체를 알루미늄 호일로 덮어 빛을 차단하고 25 °C저장고에서 싹을 틔운 후 1, 3, 5, 7일에 시료를 채취하여 실험에 사용하였다.

Young seedlings 시료 제조

시험관에서 암발어진 어린 싹을 조심스럽게 꺼내어 떡잎(cotyledon), 배축(hypocotyl), 뿌리(root)로 구분하여 절단한 후 떡잎은 0.2 g, 배축 2 g, 뿌리 0.2 g 을 취한 후 각각을 10 ml 메탄올로 2회 추출 후 3000 rpm으로 4~5 °C에서 15분간 원심분리하여 상층액을 ion-exchange column (Dowex 1×2-100)에 통과시킨 후 Molish reagent를 이용하여 glucose가 검출되지 않을 때까지 증류수로 세척 후 column의 충전물에 4 ml CH₂Cl₂, 0.1 M sodiumphosphate buffer 4 ml, crude myrosinase powder 25 mg, 10 mM ascorbic acid 1 ml 을 첨가하여 18시간 이상 shaking하면서 반응시켰다. 반응이 끝난 시료를 3000 rpm으로 4~5 °C에서 15분간 원심분리하여 상층액 (buffer layer)은 total UV/visible spectrophotometer를 이용하여 total glucosinolates 분석에 사용하였고 하단액 (CH₂Cl₂ layer)은 GC를 이용한 isothiocyanate 분석에 사용하였다. 단, 1일 시료는 성장 미숙으로 인하여 싹(hypocotyl) 0.2 g 을 시료로 취하여 사용하였다.

종자 시료 제조

품종별 종자를 각각 0.5 g 취한 후 80 % 에탄올 15 ml 를 첨가하여 유리막대로 마쇄하여 3000 rpm으로 4~5 °C에서 15분간 원심분리 하였다. 상층액의 용매를 제거한 후 anion-exchange column (Dowex 1×2-100)에 통과시킨 후

glucosinolate가 검출되지 않을 때까지 증류수를 통과시킨 후 5 ml CH₂Cl₂, 0.1 M sodiumphosphate buffer 5 ml, crude myrosinase powder 50 mg, 10 mM ascorbic acid 1 ml를 첨가하여 18시간 동안 shaking하면서 반응시켰다. 반응이 끝난 시료를 3000 rpm으로 4~5 °C에서 15분간 원심분리하여 상층액 (buffer layer)은 total UV/visible spectrophotometer를 이용하여 total glucosinolates 분석에 사용하였고 하단액 (CH₂Cl₂ layer)은 GC를 이용한 isothiocyanate 분석에 사용하였다.

Glucosinolates 분석

Total glucosinolates의 분석은 Thymol 방법(17)을 이용하여 측정된 후 glucose standard 곡선을 이용하여 정량하였다. 3-Butenyl isothiocyanate 분석은 GC를 이용하여 실험하였으며 GC/MS를 이용하여 물질을 확인하였다. 분석 조건은 Table 1 과 Table 2 에 나타냈다.

Table 1. GC condition for analysis of glucosinolates

Instrument	Agilent 5890 GC
Column	Stainless(1m×1/8") 2% OV-7
Detector	FID
Injector temp.	280 °C
Detector temp.	280 °C
Oven temp.	80 °C 1 min. 80 °C~180 °C (8 °C/min) 180 °C~255 °C (30 °C/min)
Carrier gas	He (25 ml/min)

Table 2. GC/MS condition for qualitative analysis of glucosinolates

Instrument	Agilent 6890 GC Agilent 5973 MSD
Column	Ultra II(50 m×0.2 mm i.d.)
Injector temp.	280 °C
Detector temp.	280 °C
Oven temp.	80 °C 1 min. 80 °C~180 °C (8 °C/min) 180 °C~250 °C (30 °C/min)
Ionization voltage	70 eV
Carrier gas	He
Head pressure	33.29 psi split 100 : 1

결과 및 고찰

성장 단계에 따른 3-butenyl isothiocyanates의 분석

동풍 배추(Winter Pride) 및 55일 배추(55 Days)의 종자와 각각의 종자를 싹틔워 떡잎(cotyledon), 배축(hypocotyl), 뿌리(root) 부분에서 각각 glucosinolates를 추출하여 분석한 결과

는 Fig. 1에 나타내었다. 또한 3-butenyl isothiocyanate는 GC/MS로 확인하였으며 그 결과는 Fig. 2와 3에 나타내었다. 배추 종자를 암발아 시켜 1일 후에 배추를 절단하여 3-butenyl isothiocyanate를 분석한 결과 55일 배추에서는 0.41 $\mu\text{mol/g}$, 동풍 배추에서는 0.16 $\mu\text{mol/g}$ 으로 나타났다. 3일 발아된 싹의 떡잎을 분석한 결과 55일 배추와 동풍 배추에서 각각 14.22 $\mu\text{mol/g}$, 0.63 $\mu\text{mol/g}$, 배추 부위에서는 0.54 $\mu\text{mol/g}$, 0.20 $\mu\text{mol/g}$ 으로 나타났으며 뿌리 부분에서는 검출되지 않았다. 발아 후 5일 된 배추의 떡잎에서는 55일 배추 11.10 $\mu\text{mol/g}$, 동풍 배추 1.39 $\mu\text{mol/g}$, 배추에서는 0.33 $\mu\text{mol/g}$, 0.05 $\mu\text{mol/g}$ 으로 나타났으며 7일된 떡잎에서는 55일 배추와 동풍 배추에서 각각 9.94 $\mu\text{mol/g}$, 0.16 $\mu\text{mol/g}$, 배추에서는 55일 배추에서만 0.42 $\mu\text{mol/g}$ 으로 분석되었으며 뿌리 부분에서는 5일 및 7일 시료에서 모두 검출되지 않았다.

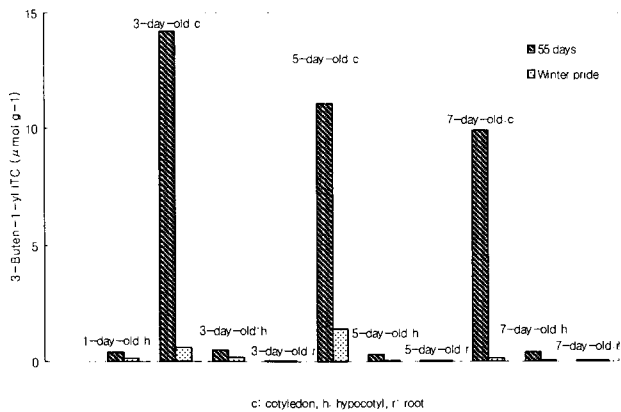


Fig. 1. 3-Butenyl isothiocyanate concentration in young seedlings of Korean Chinese cabbages.

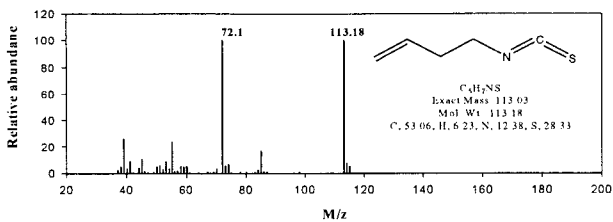


Fig. 2. GC/MS spectrum of standard 3-butenyl ITC.

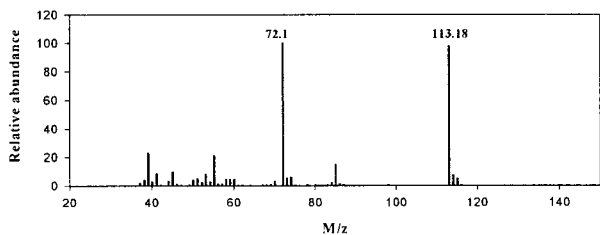


Fig. 3. GC/MS spectrum of 3-butenyl ITC in Korean Chinese cabbages.

Calson 등(9)에 의하면 브로컬리의 3-butenyl glucosinolates 함량은 0-1 $\mu\text{mol}/100\text{g}$, brussels sprout 0.5-12.2 $\mu\text{mol}/100\text{g}$ 라고 보고하였으며 강(10)에 의하면 성숙 배추에서 3-butenyl glucosinolates의 각 부위별 함량을 1.02 $\mu\text{mol/g}$ 으로 보고하였다. Fahey 등(11)은 브로컬리에서 glucoraphanin의 함량은 3-day-old sprouts가 성숙한 브로컬리보다 10-100 배 높게 함유하고 있으며 이는 발아를 억제하는데 있어 같은 종의 성숙 채소보다 어린 싹이 효과적이라고 보고했다. 이러한 결과는 성숙 채소에 비해 어린 싹(young seedling)의 glucosinolates 함량이 높음을 시사한다.

배추 종자의 발아와 성장 시기 동안 3-butenyl isothiocyanate의 함량은 평균적으로 55일 배추에서 높게 나타났으며 채소 부위에 따라 그 패턴이 다르게 조사되었다. 55일 배추의 떡잎 부분에서는 3일 발아된 시료에서 가장 높은 함량으로 분석되었으며 동풍배추에서는 발아 5일 후의 단계에서 함량이 증가함을 알 수 있다. 배추 부분은 55일 배추에서 발아 3일 후의 단계에서 가장 높은 함량을 나타낸 후 감소하여 떡잎과 유사한 경향을 보였으며 동풍 배추에서는 발아 3일 까지 함량이 증가하는 경향을 보이다가 감소하여 7일 후에는 검출되지 않았다.

Agerbirk 등(7)은 품종 및 재배 계절에 따라 glucosinolates 함량에 차이가 있음을 보고하였으며 Branca 등(12)은 품종간의 함량 차이에 관하여 보고하였다. 이러한 보고는 배추의 품종에 따라 어린 싹의 3-butenyl isothiocyanate 함량이 다르며 발아 과정과 부위에 따른 차이가 있음과 관련된다.

Total glucosinolates 분석

배추 품종별 성장 시기에 따른 total glucosinolates의 함량과 변화 경향은 Table 3 과 Fig. 4 에 각각 나타내었다. 1-day-old seedlings에서는 55일 배추보다 동풍배추의 total glucosinolates의 함량이 다소 높게 나타났으며 55일 품종에서는 3-day-old seedlings의 떡잎부분에서 가장 높은 함량이 조사되었으며 배추 부분은 7-day-old seedlings까지 점차 증가하였고 뿌리 부분에서는 점차 감소하는 것으로 나타났다. 반면 동풍 배추 품종에서는 5-day-old seedlings의 떡잎과 배추의 total glucosinolates 함량이 가장 높게 나타났다. 전체적으로 배추 부위의 total glucosinolates 함량은 다른 부위에 비해 현저히 낮게 조사되었다. 이는 발아되면서 배추 부위가 다른 부위에 비해 성장이 많이 일어나기 때문에 일정 단위에 함유된 glucosinolates의 함량이 다른 부위보다 낮게 분석된 것으로 사료된다.

Hill 등(13)에 의하면 mustard green에서 391 $\mu\text{mol}/100\text{g}$, Chinese kale 또는 broccoli에서 230 $\mu\text{mol}/100\text{g}$, 배추에서는 43 $\mu\text{mol}/100\text{g}$ 으로 보고하였으며 turnip의 뿌리에서는 166-458 $\mu\text{mol}/100\text{g}$ 이라고 보고하였다. 이는 품종과 부위에 따라 glucosinolates 함량의 차이가 있다는 결과와 유사하였으나

성숙 채소의 함량에 비하여 어린 싹의 total glucosinolates 함량이 높았다.

Table 3. The concentration of total glucosinolates in seedlings of Chinese cabbages

	cultivar	55 days ($\mu\text{mol g}^{-1}$)	
		Winter pride ($\mu\text{mol g}^{-1}$)	55 days ($\mu\text{mol g}^{-1}$)
1-day-old seedling	hypocotyl	13.26 \pm 1.1	13.99 \pm 0.37
	cotyledon	146.64 \pm 1.75	136.19 \pm 7.56
3-day-old seedling	hypocotyl	14.84 \pm 0.15	13.77 \pm 0.18
	root	123.00 \pm 3.33	131.36 \pm 4.65
5-day-old seedling	hypocotyl	14.89 \pm 0.2	15.13 \pm 0.24
	root	122.09 \pm 5.55	130.76 \pm 2.17
7-day-old seedling	hypocotyl	15.51 \pm 0.51	11.95 \pm 1.14
	root	113.82 \pm 8.28	131.51 \pm 5.64

^c Each value in the mean of 3 replicates.

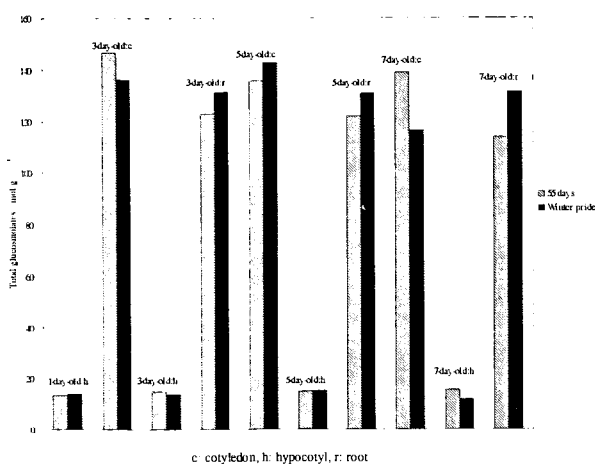


Fig. 4. Total glucosinolates concentration pattern in seedlings of Korean Chinese cabbages.

배추 종자의 glucosinolates 분석

동풍 배추 및 55일 배추 품종의 glucosinolates 함량은 Table 4에 나타내었다. 55일 배추 종자의 3-butenyl isothiocyanate의 함량은 동풍 배추 종자에 비해 다소 높게 조사되었으며 total glucosinolates의 함량 또한 55일 배추에서 동풍 배추의 종자보다 높게 나타났다.

Daxenbichler 등(14)은 배추의 대표적인 glucosinolate는 3-butenyl isothiocyanate라고 보고하였으며 Rangkadilok 등(15,16)은 십자화과 식물의 종자가 성숙하면서 sinigrin의 함량이 증가되며 브로컬리는 발아가 시작되면서부터 성숙될 때까지 glucoraphanin은 감소한 반면 seedling의 glucoraphanin 함량은 종자보다 낮았다고 보고했다. 이러한 결과는 품종

및 부위에 따른 차이에 기인한다고 사료된다.

본 연구를 통하여 배추의 종자와 성장 시기에 따른 glucosinolates의 함량에 있어서 품종간의 변화 경향은 차이가 있었으며 종자의 glucosinolates의 함량은 발아되는 과정을 거치면서 그 함량이 부위별로 증가하거나 혹은 감소하는 경향을 나타내는 것으로 조사되었다.

Table 4. Concentration of glucosinolates in Chinese cabbages seeds

	cultivar	
	55 days ($\mu\text{mol g}^{-1}$)	Winter pride ($\mu\text{mol g}^{-1}$)
3-Butenyl isothiocyanate	2.50	2.42
Total glucosinolates	56.44 \pm 11.64	54.97 \pm 10.32

요 약

배추의 품종별 종자 및 성장 시기에 따른 3-butenyl isothiocyanate 및 total glucosinolates를 분석하기 위하여 동풍 배추(Winter Pride) 및 55일 배추(55 Days) 품종의 종자, 발아 1일, 3일, 5일, 7일 된 어린 배추를 떡잎(cotyledon), 배축(hypocotyl), 뿌리(root) 부분으로 나누고 anion-exchange column(Dowex 1×2-100)을 통과시키고 아세톤 침전법을 사용하여 제조한 crude myrosinase로 반응시켜 함량 변화를 조사하였다. 종자에서는 55일 배추의 3-butenyl isothiocyanate의 함량이 동풍 배추 종자보다 다소 높았다. 55일 배추의 3-butenyl isothiocyanate 함량은 3-day-old seedlings의 떡잎과 배축에서 가장 높았으며 동풍 배추의 떡잎에서는 3-day-old seedlings까지 함량이 증가한 후 감소하였으며 배축은 3-day-old seedlings까지 함량이 증가하였다. Total glucosinolates를 분석한 결과 종자에서는 동풍 배추보다 55일 배추의 함량이 다소 높게 조사되었으며 55일 배추의 떡잎은 3-day-old seedlings에서 가장 높은 함량을 보였다. 배축 부분은 7-day-old seedlings까지 증가하였으며 뿌리 부분의 glucosinolates는 성장 기간동안 점차 감소하는 경향을 나타내었다. 동풍 배추의 떡잎과 배축 부분은 5-day-old seedlings까지 증가하다가 감소하였다.

감사의 글

본 연구는 한국과학재단 목적기초연구 (R04-2001-000-00013-0)의 연구비 지원에 의해 수행된 결과의 일부이며, 이에 감사드립니다.

참고문헌

1. Woo, W.S. (2001) Research method in natural products chemistry, SeoulNationalUniversity press
2. Fenwick, G.R., Heaney, R.K. and Mullin, W.J. (1982) Glucosinolates and their breakdown products in food and food plants. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 18, 123-201
3. Fahey, J.W., Zalcmann, A.T. and Talalay, P. (2001) The chemical diversity and distribution of glucosinolates and isothiocyanates among plants. *Phytochemistry*, 56, 5-51
4. Elizabeth, K.L., Tracy, K.S., Rosemary, G.C. and Ian, T.J.(2001) Cell death in the colorectal cancer cell line HT29 in response to glucosinolate metabolites. *J. Sci. Food Agric.*, 81, 959-961
5. Faulkner, K., Mithen, R. and Williamson, G. (1998) Selective increase of the potential anticarcinogen 4-methylsulphinylbutyl glucosinolate in broccoli. *Carcinogenesis*. 19, 605-609
6. Verkerk, R., Dekker, M. and Jongen, W.M.F. (2001) Post-harvest increase of indolyl glucosinolates in response to chopping and storage of *Brassica* vegetables. *Journal of the science of food and agriculture*. 81, 953-958
7. Agerbirk, N., Olsen, C.E. and Nielsen, J.K. (2001) Seasonal variation in leaf glucosinolates and insect resistance in two types of *Barbarea vulgaris ssp. arcuata*. *Phytochemistry*, 58, 91-100
8. Bhardwaj, H.L. and Hamama, A.A. (2003) Accumulation of glucosinolate, oil, and erucic acid in developing *Brassica* seeds. *Industrial Crops and Products*, 17, 47-51
9. Carlson, D.G., Daxenbichler, M.E., VanEtten, C.H., Kwolek, W.F. and Williams, P.H. (1987) Glucosinolates in crucifer vegetables: broccoli, brussels sprouts, cauliflower, collards, kale, mustard greens, and kohlrabi. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 112, 173-178
10. Kang, K.S. (1992) Degradation products of glucosinolates and enzymatic properties of myrosinase in Chinese cabbage and radish. Gyeongsang National University Ph.D Thesis.
11. Fahey, J.W., Zhang, Y. and Talalay, P (1997) Broccoli sprouts: An exceptionally rich source of inducers of enzymes that protect against chemical carcinogens. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 94, 10367-10372
12. Branca, F., Li, G., Goyal, S. and Quiros, C.F. (2002) Survey of aliphatic glucosinolates in Sicilian wild and cultivated Brassicaceae. *Phytochemistry*, 59, 717-724
13. Hill, C.B. and Williams, P.H. (1987) Variation in glucosinolates in oriental *Brassica* vegetables, *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 112, 309-313
14. Daxenbichler, M.E., VanEtten, C.H. and Williams, P.H. (1979) Glucosinolates and derived products in cruciferous vegetables. *J. Agric. Food Chem.*, 27, 34-37
15. 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 Horticulturae*, 96, 11-26
16. 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 extraction method combined with ion-pair HPLC analysis. *Scientia Horticulturae*, 96, 27-41
17. Brzezinski, W. and Mendelewski, P. (1984) Determination of total glucosinolate content in Rapeseed meal with Thymol reagent. *Z. Pflanzenzuchtg*, 93, 177-183

(접수 2003년 6월 8일, 채택 2003년 8월 20일)