

## 신선한 브로콜리와 조리된 브로콜리 섭취 후 소변으로 배설되는 Glucosinolates 대사물질의 함량 변화

황은선  
전주대학교 가정교육과

### Changes in Glucosinolate Component Content in Urine After Ingestion of Fresh and Cooked Broccoli

Eun-Sun Hwang

Department of Home Education, Jeonju University

#### Abstract

Sulforaphane (SF) is a family of biologically active compound that is distributed widely in broccoli. Although studies in rodents have shown that these compounds are effective and versatile inhibitors of tumorigenesis, the role of dietary SF in protection against human cancers remains to be established. The objective of this study was to explore the quantitative relationship between the dietary intake of cruciferous vegetables and urinary excretion of SF. The effects of dietary broccoli on the body's ability to detoxify were studied in six male subjects between the ages of 22~30 years. Study included administering a glucosinolate-free diet for 8 days (control period). The broccoli diet was further subdivided into two periods; 250 g broccoli was fed per day during the first three days and 500 g broccoli was fed per day during the latter three days. After an 8-day washout period, a second experiment was conducted. The same protocol was used with the exception that uncooked broccoli was consumed. Urinary SF mercapturate was measured to determine the bioavailability of broccoli. The linear trend for mercapturate excretion was dose-dependent, resulting in 3.8- and 1.9-fold increase by the third and six days, respectively, compared to the control. Lower amount of SF-NAC conjugate was detected in cooked broccoli compared to fresh broccoli suggesting cooking may have caused a significant loss in glucosinolates in cruciferous vegetables. Therefore, SF can be used as a biomarker for intake of cruciferous vegetables.

**Key words:** broccoli, glucoraphanine, sulforaphane, N-acetylcysteine, mercapturic acid, urine

## 1. 서론

브로콜리(*Brassicaoleracea*)는 콜리플라워, 양배추, 방울다다기양배추(Brussels sprouts), 케일 등과 함께 십자화과(Cruciferae) 채소로 분류된다. 십자화과 채소는  $\beta$ -카로틴, 루틴과 같은 카로티노이드와 섬유소, 각종 비타민류, 특히 비타민 C와 비타민 E를 풍부하게 함유하고 있다(Kurilich AC 등 1999). 또한, 이들 채소는 약 30여종의 glucosinolates라는 독특한 생리활성 물질을 함유하고 있다(Fenwick GR 등 1983). Glucosinolates는 식물체의 2차 대사산물로 아미노산의 유도체인 S-glucose와 N-sulfate를 포함하고 있

다(Fenwick GR 등 1983). 손상되지 않은 채소에서 glucosinolate는 비활성인 상태로 존재하나 식물체의 세포가 외부로부터 흠집을 입거나 조리과정 중에 채소를 다지거나 으깬 경우, 채소 자체에 함유된 효소인 myrosinase(thioglycoside glucohydrolase, EC 3.2.3.1)에 의해 가수분해되어 isothiocyanate(ITC)를 형성한다. 이들 ITC는 체내에서 일련의 반응을 거쳐 glutathione conjugation에 의해 mercapturic acids를 형성한 후 소변을 통해 체외로 배설되는 것이 확인되었다(Brusewitz G 등 1977, Chung F-L 등 1992, Mennicke WH 등 1988)(Fig. 1). 현재까지 알려진 십자화과 채소의 항암효능은 glucosinolates의 가수분해 산물인 ITC에 의한 것으로 ITC는 십자화과 채소의 독특한 향기를 내는데 기여할 뿐만 아니라, 생체 내에서 암을 예방하고 돌연변이를 억제하는 등의 다양한 생리활성 효과가 보고되고 있다(Verhoeven DTH 등 1996, van Poppel G 등 1999).

\*Corresponding author: Eun-Sun Hwang, Department of Home Education, Jeonju University  
Tel: 063-220-2202  
Fax: 063-220-2053  
E-mail: ehwang@jj.ac.kr

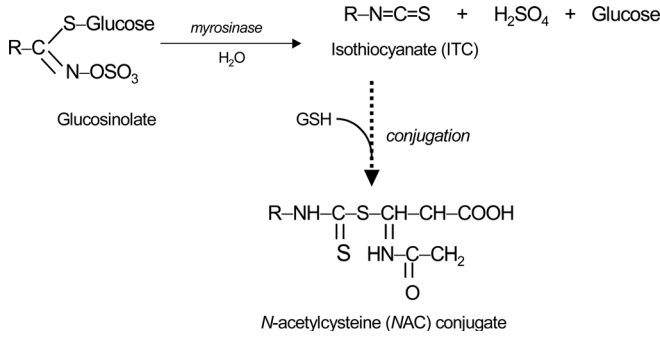


Fig. 1. Metabolism of Glucosinolate in the body.

십자화과 채소의 종류에 따라 함유된 glucosinolates의 종류와 함량이 달라진다. 대부분의 십자화과 채소는 allyl-isothiocyanate의 전구물질인 sinigrin 함량이 높으나 브로콜리에는 sinigrin 함량이 낮은 반면에 glucoraphanin 함량은 매우 높다(Kushad MM 등 1999). Glucoraphanin은 myrosinase에 의해 가수분해 되어 sulforaphane(SF)으로 분해된다. SF은 체내에서 일련의 반응을 거쳐 glutathione conjugation에 의해 SF mercapturic acid를 형성한 후 소변을 통해 체외로 배설된다(Fig. 2). SF은 황을 함유하고 있는 물질 중 하나로 십자화과 채소의 특 쓰는 매운 맛(pungency)과 깊은 관련이 있다. 최근 다양한 세포실험과 동물실험을 통해 SF은 제2상 무독화효소인 glutathione S-transferase와 quinone reductase의 활성을 유도하고 발암물질의 대사를 조절하여 암을 예방하는 것으로 보고되고 있다(Zhang Y 등 1992, Kong AN 등 2000, Singletary K와 MacDonald C 2000, Matusheski NV와 Jeffery EH 2001, Hwang ES와

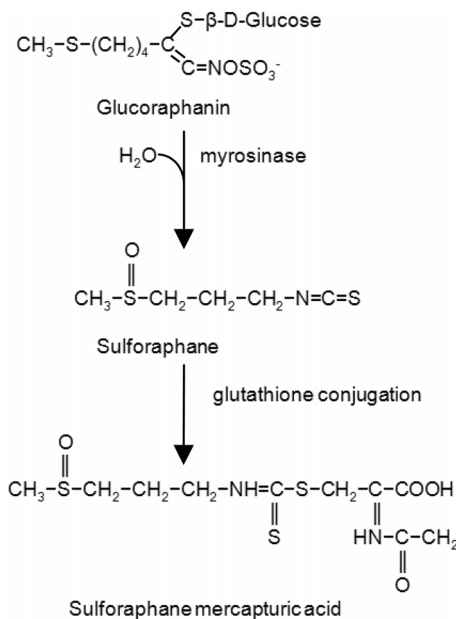


Fig. 2. Conversion of glucoraphanin to sulforaphane and subsequent conjugation with glutathione, which is further modified to yield the mercapturic acid of sulforaphane.

Jeffery EH 2003). 또한, SF은 세포예정사(apoptosis process)를 통한 암세포의 사멸을 유도하는 것이 밝혀졌다 (Gamet-Payrastra L 등 2000, Kong AN 2000).

실제의 식이섭취량(food intake)과 생체 이용도(bioavailability)는 다른 것으로 우리가 섭취하는 식품 전체가 모두 체내에서 이용되는 것은 아니다. 식이섭취량은 식품의 형태로 실제 섭취하는 양이고 생체 이용도는 섭취한 음식 중 실제 대사과정을 거쳐 생체에서의 이용이 가능한 비율을 의미한다. 따라서 기능성을 지닌 식품을 섭취하여 질병을 효과적으로 예방하기 위해서는 유용한 생리활성 물질의 체내이용도를 고려하고 가급적이면 체내 이용률을 높이는 가공, 저장 및 조리방법 등을 찾아내어 적용하는 것이 매우 중요하다.

기능성 물질의 체내 이용도를 측정하기 위한 지표로 소변으로 배설되는 대사물질의 양을 측정하는 것은 매우 유용하다. 그 이유는 혈액이나 조직세포에 비해 소변의 수집은 비교적 편리하고 비파괴적인(noninvasive) 방법이며, 각종 분석기기를 통해 소변 대사물질을 쉽게 측정할 수 있다. 또한, 둘째로 소변 배설은 간(hepatic)과 간 외 조직(extra hepatic tissues)의 대사과정을 측정할 수 있다는 장점이 있다. 간은 생체전환(biotransformation)의 주요한 장기라고 일반적으로 알려져 있으나, 간 외 조직 역시 외부물질(xenobiotics)의 대사에 동일하게 관여한다(Nijhoff WA 등 1995). 따라서 개개인의 전반적인 기능성물질이나 약물 대사에서 소변 대사물질의 측정을 널리 활용할 수 있다. 십자화과 채소의 생리활성 물질인 ITC와 이들의 대사산물을 소변에서 측정할 수 있는 방법이 개발되었다(Shapiro TA 등 1998, Zhang Y 등 1996, Seow A 등 1998). 소변으로 배설되는 mercapturic acids는 십자화과 채소 중에 함유된 glucosinolates의 섭취량을 반영하므로 십자화과 채소 섭취에 대한 생체마커(biomarker)로 활용할 수 있다(Chung F-L 1992, Duncan AJ 등 1997, Jiao D 등 1994).

현재까지 사람이 신선한 십자화과 채소와 조리된 채소를 섭취한 후의 glucosinolates의 대사 물질의 비교에 대한 연구가 거의 이루어져 있지 않은 실정이다. 십자화과 채소에 함유된 glucosinolates가 조리하기 이전과 조리 이후에 건강 기능성이 입증된 ITC로 전환되는지, 전환된다면 얼마만큼의 양이 전환되는지를 측정하는 것은 십자화과 채소의 건강 기능성 측면에서 매우 중요하다. 조리된 십자화과 채소에서의 myrosinase 활성은 신선한 채소에 비해 적을 것으로 생각된다. 본 연구는 건강한 남성들을 대상으로 신선한 브로콜리와 조리된 브로콜리를 섭취시킨 후, glucosinolates의 가수분해물질인 ITCs가 mercapturic acid pathway를 거쳐 소변을 통해 배설되는 N-acetylcysteine conjugate의 양을 측정하고자 하였다.

## II. 재료 및 방법

## 1. 재료 및 시약

신선한 브로콜리를 로컬 마켓에서 구입하여 본 실험에 사용하였다. 실험에 사용된 시약들과 용매들은 Sigma-Aldrich(St. Louis, MO)로부터 구입하였다. 시료추출에 사용된 유기용매는 HPLC 등급을 사용하였다.

## 2. 실험자 모집

실험자들은 설문지를 통한 스크리닝 방법으로 약물을 복용하지 않고 질병이 없는 총 6명의 건강한 성인 남자(22~30세)를 모집하였다. 실험에 들어가기 전에 모든 실험자들에게 실험 목적 및 내용을 충분히 설명하였다. 실험일정은 Scheme 1에 나타난 바와 같다. 브로콜리를 섭취시키기 전에 8일 동안 실험자들은 평상시대로 식이를 섭취하되 glucosinolates가 함유되지 않은 식품을 섭취하도록 하였다. 십자화과 채소(mustard, broccoli, cabbage, horseradish, turnips, Brussels sprouts, kale, greens, rutabaga 및 watercress)를 섭취하지 않도록 하였고, 카페인을 소변 분석의 방해요인으로 작용할 수 있어 카페인이 함유된 커피나 초콜릿, 탄산음료, 케익, 쿠키 등의 섭취를 금하도록 하였다. 이 기간 동안 각 실험자들의 소변 중의 SF 대사물질의 양을 측정하고 이때 얻어진 수치를 baseline으로 사용하였다.

## 3. 브로콜리 식이

신선한 브로콜리를 세척한 후, 한입 크기로 절단하여 하루 밤 동안 냉장고에 보관하였다. 조리된 브로콜리는 전자레인지에서 250 g은 3분간, 500 g은 6분간 가열하였다. 브로콜리는 처음 3일간은 250 g씩, 이후 3일 간은 500 g씩 제공하였다. 실험자들은 정해진 아침식사 시간에 정해진 실험 장소에서 브로콜리를 모두 섭취하였다. 개인의 기호에 따라 마요네즈나 샐러드 드레싱과 함께 섭취할 수 있도록 하였다. 총 6일간의 브로콜리 섭취 후에 8일간의 세척기간(washout period)을 거친 후 다음 실험을 진행하였다. 이번에는 조리되지 않은 신선한 브로콜리를 250 g씩 3일간, 500 g씩 3일간 제공하였다. 실험자 개인의 차이를 줄이기 위해 각 실험자들은 각자의 control을 이용하였다.

## 4. Glucosinolate 분석

냉동 건조된 브로콜리의 glucosinolate 함량은 Kushad

**Scheme 1.** Experimental Protocol (n=6, male, age 22~30)

Glucosinolate free diet	Fresh broccoli	Fresh broccoli	Washout period	Cooked broccoli	Cooked broccoli
	250 g	500 g		250 g	500 g
8 days	3 days	3 days	8 days	3 days	3 days

MM 등(1999)의 방법에 의해 역상 HPLC로 분석하고 229 nm에서 UV detection으로 확인하였다.

## 5. 소변 수집과 분석

실험자들은 전 실험기간 동안 24시간 소변을 수집하였다. 24시간 소변이란 브로콜리를 섭취한 후로부터 다음 날 브로콜리를 섭취하기 전까지의 24시간 동안 소변을 수집하는 것을 의미한다. 소변은 입구가 넓은 polyethylene 용기에 수집하였고, 수집한 총량을 매일 측정하였다. 각 실험자들의 수집된 소변은 분석 전까지 -20°C에 저장하였다. 소변으로부터 ITC의 mercapturic acid 유도체(N-acetyl-S-(N-alkylthiocarbamoyl)-L-cysteines)를 Mennicke 등(1987)의 HPLC 방법으로 분석하였다. 소변 시료는 다음과 같은 방법으로 준비하였다. 소변 1 mL과 을 50 mL n-butylamine(Sigma, St. Louis, MO)을 thick-walled, screw-top vial에 혼합하였다. Vials의 뚜껑을 닫고 60°C에서 30분간 가열하였다. 가열된 시료를 식힌 후에 300 mL의 aqueous sulfuric acid(250 mL/L)를 가하여 여분의 amine을 제거하였다. Amine이 제거된 시료를 5 mL diethyl ether로 추출하였다. Ether 추출물은 1 mL의 1 M sodium hydroxide로 세척한 후 1 mL의 증류수로 2번 세척한 후 실온에서 rotary evaporator로 농축하였다. 농축된 시료를 적당량의 aqueous acetonitrile(450 mL/L)에 용해시킨 후 HPLC로 분석하였다. HPLC 칼럼은 hypersil reverse phase C<sub>18</sub> (Phenomenex, Torrance, CA, 4.6 × 250 mm)을 사용하였고, aqueous acetonitrile(450 mL/L)를 이동상으로 하여 1 mL/min의 유속으로 분석하였다. 최종 물질은 UV 흡광도 254 nm에서 분석하였고, Gold system software(Beckman Instruments, Inc. SanRamon, CA)로 소변에 함유된 mercapturic acid의 양을 계산하였다.

SF의 mercapturic acid 표준물질은 Mennicke WH 등(1983)의 방법으로 합성하였고, LC-MS를 이용하여 확인하였다. 표준물질의 합성을 위해 25 mL의 증류수에 5.63 mL의 N-acetylcysteine을 넣어 pH를 7로 맞추었다. 이 용액에 3.38 mL의 pyridine을 가하고 40°C까지 가열하면서 0.9 g의 SF를 포함한 2.25 mL pyridine을 넣어주면서 계속 저어주었다. 실온에서 30분 동안 반응시킨 후 50 mL의 benzene으로 5회 추출한 후 추출액을 제거하였다. 수용액은 0.1 M HCl을 사용하여 pH를 6까지 조정하였고, 50 mL ethyl acetate로 2회 추출하였다. 추출액은 제거하고 수용액을 0.1 M HCl로 pH를 3까지 조정한 후, 50 mL ethyl acetate로 3회 추출하였다. Ethyl acetate 추출물을 모아서 anhydrous Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 칼럼을 통과시켜 건조시킨 후, 진공상태에서 농축하였다. 추출물은 light petroleum(b.p. 60~80°C)으로 반복하여 세척한 후, 실온에서 건조시켰다. LC-MS 분석을 통하여 SF의 mercapturic acid임을 확인하였다. 합성된 SF mercapturic acid을 소변에 용해시킨 후 표준용액

으로 하여 실제 각 실험자들로부터 얻은 소변에 함유된 mercapturic acid의 농도를 계산하였다. 소변 중에 함유된 mercapturic acid의 농도는 매일 소변으로 배설되는 creatinine의 양으로 보정하였다.

### 6. 통계분석

실험결과에 대한 통계처리는 Statistical Analysis System (SAS Institute, Inc., Cary, NC)을 이용하였고, 각 처리군 간의 유의성은 one-way analysis of variance( $p < 0.05$ )를 이용하여 분석하였다.

## III. 결과 및 고찰

### 1. Glucosinolate 분석

본 실험에 사용한 브로콜리 중에 함유된 glucosinolate 함량(mmol/g dry weight)은 HPLC 방법으로 분석하였다 (Table 1). 총 13종류의 건조 중량 g당 19.26 mmol의 glucosinolates가 확인되었다. 가장 많은 양을 차지하는 glucosinolate는 SF의 모체가 되는 glucoraphanin으로 7.03 mmol/g dry weight이 검출되었고, 이는 브로콜리에 함유된 총 glucosinolate 함량의 35% 이상을 차지하는 양이다. 그 외에도 progoitrin, sinigrin, glucobrassicin 및 glucobrassicinapin이 검출되었으며, 검출된 양은 건조 중량 g당 각각 4.12, 2.15, 1.24 and 1.20 mmol로 확인되었다.

### 2. NAC-SF conjugate의 합성

소변으로 배설되는 SF의 mercapturic acid는 실험방법에서 기술한 대로 합성하였다. 합성된 화합물을 LC-MS로 분석하여 얻은 fast atom bombardment(FAB) mass spec-

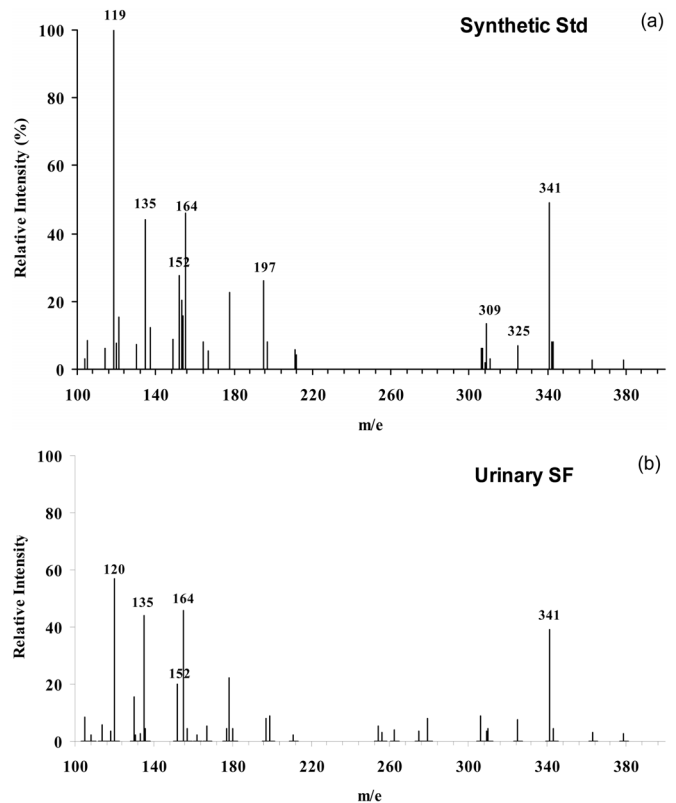
**Table 1.** Glucosinolate content (mmol/g dry weight) of broccoli

Glucosinolates	(mmol/g dry wt.)
glucoraphanin	7.03
progoitrin	4.12
sinigrin	2.15
glucobrassicin	1.24
glucobrassicinapin	1.20
4-OH glucobrassicin	0.84
neoglucobrassicin	0.75
gluconasturtiin	0.74
gluconapin	0.70
epiprogoitrin	0.32
glucalsyin	0.12
4-CH <sub>3</sub> O glucobrassicin	0.03
napoleiferin	0.02
Total	19.26

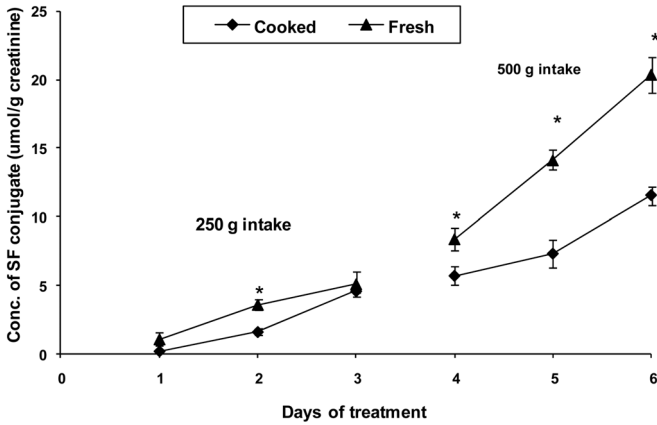
trum에서 강력한 M<sup>+</sup>peak와 특징적인 fragmentation이 관찰되었다(Fig. 3(a)). 본 화합물의 주요 peak는 M<sup>+</sup> 341로 이는 SF의 mercapturic acid 분자량과 동일한 것으로 확인되었다. 브로콜리 식이를 섭취시킨 실험자들로부터 수집한 소변을 분석한 결과 합성된 화합물과 동일한 단일의 주요 피크가 확인되었다(Fig. 3(b)). HPLC와 mass spectrum으로 분석하고 표준물질과 비교한 결과, 이 피크는 SF의 mercapturic acid로 확인되었다.

### 3. 브로콜리 섭취가 소변 대사물질에 미치는 영향

실험기간 동안 브로콜리를 섭취한 실험자들로부터 어떠한 부작용도 나타나지 않았다. Fig. 4는 실험기간 중 소변으로 배설된 평균적인 mercapturic acid의 함량을 나타낸 것이다.

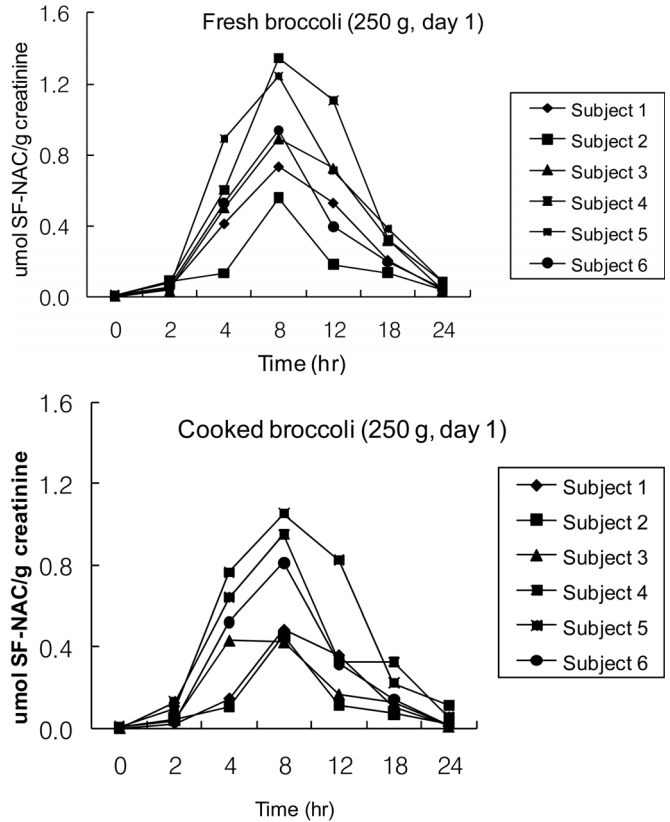


**Fig. 3.** Comparison of the synthetic standard of *N*-acetylcysteine (NAC) conjugate(mercapturic acid) of sulforaphane (a) and the metabolite isolated from rat urine samples after ingestion of broccoli (b). The NAC conjugate of sulforaphane was synthesized using published methods (Menicke 등 1983) and confirmed by MS. A strong M<sup>+</sup> and characteristic fragment ion was observed in the fast atom bombardment(FAB) mass spectrum of the synthetic NAC conjugate of sulforaphane. The major peak was M<sup>+</sup> 341 which corresponds to the calculated molecular weight of NAC conjugate of sulforaphane.



**Fig. 4.** The concentration of sulforaphane conjugate in urine after ingestion of 250 g or 500 g of broccoli diet. \* indicates significant difference between cooked and fresh broccoli. ( $p < 0.05$ , paired *t*-test), Mean  $\pm$  standard deviation ( $n = 6$ ).

브로콜리를 섭취하지 않은 일반 식이에서는 SF mercapturic acid가 거의 검출되지 않았다. 브로콜리 식이를 섭취시킨 후 소변으로부터 배설되는 SF mercapturic acid의 양이 시간에 비례하여 점진적으로 증가하였다. 또한, 배설된 SF mercapturic acid의 양은 섭취한 브로콜리의 총량에 비례함을 확인하였다. 모든 실험자들에게서 브로콜리를 섭취시킨 6일 동안의 SF mercapturic acid 배설량이 linear excretion 경향을 보이는 것을 관찰할 수 있었다. 250 g과 500 g의 브로콜리 식이를 비교할 때, 250 g 식이에서는 평균 소변의 mercapturic acid는 통계적으로 유의성 있는 차이는 보이지 않았다. 그러나 500 g 브로콜리 식이에서는 통계적으로 유의성 있는 차이를 관찰하였다. 이는 브로콜리 섭취가 증가함에 따라 배설되는 mercapturic acid의 양도 증가함을 의미한다. 6일 동안의 브로콜리 식이 기간 동안 지속적인 증가를 관찰하였다. 이는 6일 동안의 지속적인 브로콜리 섭취에 의한 축적효과(cumulative effect)에 의한 증가에 기인하는 것으로 사료된다. 조리된 브로콜리와 신선한 브로콜리 섭취 후의 인체 내에서 glucosinolates가 ITC로 전환되는 정도를 비교하였다. 1 단계에서 조리되지 않은 신선한 브로콜리를 섭취한 6명의 실험자들은 2단계에서는 조리된 브로콜리를 아침식사로 섭취하였다. 조리하지 않은 브로콜리에 비해서 조리된 브로콜리를 섭취했을 때, 더 적은 양의 SF mercapturic acid가 검출되었다. 이러한 결과에 비추어 볼 때, 십자화과 채소를 고온에서 조리하는 것은 myrosinase 활성을 감소시키고 이는 myrosinase에 의해 glucosinolate가 ITC로 전환되는 비율을 낮추어 체내에 흡수되는 ITC의 총량을 낮추는 것으로 사료된다. 500 g의 신선한 브로콜리를 섭취시켰을 때 24시간 소변으로부터 SF mercapturic acid는 creatinine의 양으로 보정하였을 때 2.5~6.3 mg/mg creatinine이



**Fig. 5.** The concentration of urinary NAC-sulforaphane conjugate(sulforaphane mercapturic acid) that collected first one day after ingestion of 250 g of fresh or cooked broccoli by individual subjects for 24 hr.

검출되었다. Fig. 5는 250 g의 브로콜리를 섭취한 이후 첫 번째 날에 수집한 소변으로부터 분석한 SF mercapturic acid의 양을 나타낸다. 2명의 각기 다른 실험자들로부터 브로콜리 식사 후 8시간이 경과한 후에 SF mercapturic acid가 최대치에 도달함을 확인하였다. SF mercapturic acid의 배설은 18시간 까지 검출 되었고 그 이후에는 거의 검출되지 않았다. 조리한 브로콜리에 비해 신선한 브로콜리를 섭취 했을 때 더 많은 양의 SF mercapturic acid가 검출되었다.

본 실험은 브로콜리를 함유한 식이의 양이 증가할수록 소변으로부터 배설되는 mercapturic acid의 양이 증가함을 보여주고 있다. 이들 소변으로 배설되는 mercapturic acid는 인체가 식이성 glucosinolate와 ITC에 노출된 정도를 측정할 수 있는 생체마커로 이용될 수 있는 가능성을 갖고 있다. 선행연구에서 watercress나 mustard를 섭취시킨 인체의 소변을 분석하여 ITC의 mercapturic acid를 확인한 바 있다(Chung F-L 등 1992, Jiao D 1994, Getahun SM과 Chung F-L 1999). Ioannou YM 등(1984)과 Eklind KI 등(1990)은 쥐의 소변으로부터 allyl isothiocyanate와 phenethyl isothiocyanate의 mercapturic acid를 검출하였다. Men-

nicke WH 등(1988)과 Chung F-L 등(1992)은 gardencress와 watercress를 섭취시킨 인체의 소변에서 benzyl isothiocyanate와 phenethyl isothiocyanate의 mercapturic acid를 검출했으며 이들 물질이 유일한 소변 대사물질임을 확인하였다. 십자화과 채소를 조리할 때, myrosinase는 부분적으로 혹은 전체적으로 불활성화하여 glucosinolate를 ITC로 전환하는 능력이 감소하는 것으로 사료된다. 이는 myrosinase의 cofactor가 열에 의해 손실을 받게 되고 glucosinolate와 이들의 대사물질인 ITC가 조리수로 용출(침출)되거나, 휘발 및 열에 의한 분해 등에 기인하여 체외로 배설되는 전체적인 양이 감소하는 것으로 판단된다(Volden J 등 2008). 몇몇 동물실험에서는 십자화과 채소 전체나 십자화과 채소에서 glucosinolate만 분리시킨 엑기스를 섭취한 경우 glucosinolate 대사에 관여하는 효소활성이 유도되었고, co-substrates의 함량이 증가하였다(Whitty JP와 Bjeldanes LF 1987, Hwang ES와 Jeffery EH 2003). 아울러, Glutathione conjugation에 관여하는 효소인 quinine reductase, glutathione S-transferase, dehydrogenases와 glutathione 함량도 증가함을 확인하였다. 이는 브로콜리에 존재하는 비영양성 물질들에 의해 mercapturic acid의 배설이 촉진되어 나타나는 것으로도 파악된다. 다시 말하면, 소변의 mercapturic acid의 증가는 브로콜리로부터 흡수된 물질의 대사와 대사성 conjugation의 증가에 기인하며 이들 두 요소의 조합에 의해 소변으로 배설되는 mercapturic acid의 양이 증가하는 것으로 사료된다.

#### IV. 요약

본 연구는 건강한 남성들을 대상으로 신선한 브로콜리와 조리된 브로콜리를 섭취시킨 후, glucosinolates의 가수분해물질인 ITC가 mercapturic acid pathway를 거쳐 소변을 통해 배설되는 양을 측정하였다. 브로콜리를 섭취하기 전 8일간은 glucosinolate가 함유되지 않는 식사(control period)를 섭취하도록 하였다. 그 이후에 조리되지 않은 신선한 브로콜리를 각각 3일간 250 g과 500 g씩 섭취시키면서 실험기간 동안 배설되는 소변을 수집하였다. 1차 실험이 종료된 후에 다시 8일 동안의 세척기간을 거친 후, 전자레인지에 가열한 브로콜리를 250 g과 500 g씩 각각 3일간 섭취시키면서 실험기간 내내 소변을 수집하였다. 수집된 소변으로부터 SF mercapturic acid의 양을 측정하여 HPLC로 분석하였다. 섭취한 브로콜리의 양과 소변으로 배설되는 mercapturic acid의 양은 직선의 상관관계를 보였다. 대조군과 비교할 때, 신선한 브로콜리를 섭취했을 때, 소변으로 배설되는 mercapturic acid의 양이 3일과 6일째 각각 3.8배와 1.9배 증가하였다. 브로콜리를 전자레인지에 익혀서 섭취시켰을 때는 소변으로 배설되는 mercapturic acid의 양이 신선한 경우와 비교하여 감소하였다.

이는 가열조리를 통해 glucosinolate의 양이 감소하였음을 의미한다. 식이로 섭취한 glucosinolate로부터 전환된 ITC가 소변으로 배설되는 생체마커를 측정하고 십자화과 채소를 통해 섭취하는 SF의 양과 소변을 통해 배설되는 양과의 상관관계가 있음을 확인하였다. 본 실험결과는 십자화과 채소 섭취의 양을 예측하는 유용한 생체마커로 활용될 수 있을 것으로 사료된다.

#### V. 감사의 글

본 연구 수행에 도움을 주신 미국 일리노이주립대학교 인체영양학과 Elizabeth Jeffery 교수께 감사드립니다.

#### 참고문헌

Brusewitz G, Cameron BD, Chasseaud LF, GorlerK, Hawkin R, Koch H, Mennicke WH. 1977. The metabolism of benzyl isothiocyanate and its cysteine conjugate. *Biochem J* 162: 99-107

Chung F-L. 1992. Chemoprevention of lung carcinogenesis by aromatic isothiocyanates. In *Cancer Chemoprevention*, L Wattenberg, M Lipkin, CW Boone, and GJ Kelloff (eds). Boca Raton, FL: CRC, pp 227-244

Duncans AJ, Rabot S, Nugon-Baudon L. 1997. Urinary mercapturic acids as markers for the determination of isothiocyanate release from glucosinolates in rats fed a cauliflower diet. *J Sci Food Agric* 73:214-220

Eklind KI, Morse MA, Chung F-L. 1990. Distribution and metabolism of the natural anticarcinogen phenethyl isothiocyanate in A/J mice. *Carcinogenesis(Lond)* 11:2033-2036

Fenwick GR, Heaney RK, Mullin WJ. 1983. Glucosinolates and their breakdown products in food and food plants. *Crit Rev Food Sci Nutr* 18:123-201

Gamet-Payraastre L, Li P, Lumeau S, Cassar G, Dupont MA, Chevolleau S, Gasc N, Tulliez J, Terce F. 2000. Sulforaphane, a naturally occurring isothiocyanate, induce cell cycle arrest and apoptosis in HT29 human colon cancer cells. *Cancer Res* 60:1426-1433

Getahun SM, Chung F-L. 1999. Conversion of glucosinolates to isothiocyanates in humans after ingestion of cooked watercress. *Cancer Epidemiol Biomark Prev* 8:447-451

Hwang ES, Jeffery EH. 2003. Evaluation of urinary N-acetylcysteine allyl isothiocyanate as biomarker for intake and bioactivity of Brussels sprouts. *Food Chem Toxicol* 41:1817-1825

Ioannou YM, Burka LT, Matthews HB. 1984. Allyl isothiocyanate: comparative disposition in rats and mice. *Toxicol Appl Pharmacol* 75:173-181

Jiao D, Ho CT, Foiles P, Chung F-L. 1994. Identification and quantification of the N-acetylcysteine conjugate of allyl isothiocyanate in human urine after ingestion of mustard. 3:487-

492

- Kong AN, Yu R, Chen C, Mandlekar S, Primiano T. 2000. Signal transduction events elicited by natural products: role of MAPK and caspase pathways in homeostatic response and induction of apoptosis. *Arch Pharm Res* 23:1-16
- Kurilich AC, Tsau GJ, Brown A, Howard L, Klein BP, Jeffery EH, Kushad M, Wallig MA, Juvik JA. 1999. Carotene, tocopherol, and ascorbate contents in subspecies of Brassica oleracea. *J Agric Food Chem* 47:1576-1581
- Kushad MM, Brown AF, Kurilich AC, Juvik JA, Klein BP, Wallig MA, Jeffery EH. 1999. Variation of glucosinolates in vegetable crops of Brassicaoleracea. *J Agric Food Chem* 47:1541-1548
- Matusheski NV, Jeffery EH. 2001. Comparison of the bioactivity of two glucoraphanin hydrolysis products found in broccoli, sulforaphane and sulforaphane nitrile. *J Agric Food Chem* 49:5743-5749
- Mennicke WH, Gorler K, Krumbiegel G, Lorenz D, Rittmann N. 1988. Studies on the metabolism and excretion of benzyl isothiocyanate in man. *Xenobiotica* 18:441-447
- Mennicke WH, Gorler K, Krumbiegel G. 1983. Metabolism of some naturally occurring isothiocyanates in the rat. *Xenobiotica* 13:203-207
- Mennicke WH, Kral T, Krumbiegel G, Rittman N. 1987. Determination of *N*-acetyl-*S*-(*N*-alkylthiocarbamoyl)-*L*-cysteine, a principal metabolite of alkylisothiocyanates in rat urine. *J Chromatogr* 414:19-24
- Nijhoff WA, Mulder TP, Verhagen H, van Poppel G, Peters WH. 1995. Effects of consumption of Brussels sprouts on plasma and urinary glutathione S-transferase class-a and -p in humans. *Carcinogenesis* 16:955-957
- Seow A, Shi C-Y, Chung F-L, Jiao D, Hankin JH, Lee H-P. 1998. Urinarytotal isothiocyanate (ITC) in a population-based sample of middle-aged and older Chinese in Singapore: relationship with dietary total ITC and glutathione S-transferase M1/T1/P1 genotypes. *Cancer Epidemiol Biomark Prev* 7:775-781
- Shapiro TA, Fahey JW, Wade KL, Stephenson KK, Talalay P. 1998. Human metabolism and excretion of cancer chemoprotective glucosinolates and isothiocyanates of Cruciferous vegetables. *Cancer Epidemiol Biomark Prev* 7:1091-1100
- Singletary K, MacDonald C. 2000. Inhibition of benzo[a]pyrene and 1,6-dinitropyrene-DNA adduct formation in human mammary epithelial cells by dibenzoylmethane and sulforaphane. *Cancer Lett* 155:47-54
- Van Poppel G, Verhoeven DT, Verhagen H, Goldbohm RA. 1999. Brassica vegetables and cancer prevention. *Epidemiology and mechanisms*. *Adv Exp Med Biol* 472:159-168
- Verhoeven DTH, Goldbloom RA, van Poppel G, Verhagen H, van den Brandt PA. 1996. Epidemiological studies on Brassica vegetables and cancer risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 5:733-751
- Volden J, Wicklund T, Verkerk R, Dekker M. 2008. Kinetics of changes in glucosinolate concentrations during long-term cooking of white cabbage (*Brassica oleracea L. ssp. capitata f. alba*). *J Agric Food Chem* 56:2068-2073
- Whitty JP, Bjeldanes LF. 1987. Effects of dietary cabbage on xenobiotic metabolizing enzymes and the binding of aflatoxin B1 to hepatic DNA in rats. *Food Chem Toxicol* 24:405-415
- Zhang Y, Talalay P, Cho CG, Posner GH. 1992. A major inducer of anticarcinogenic protective enzymes from broccoli: isolation and elucidation of structure. *Proc Nat Acad Sci USA* 89:2399-2403
- Zhang Y, Wade KL, Prestera T, Talalay P. 1996. Quantitative determination of isothiocyanates, dithiocarbamates, carbon disulfide, and related thiocarbonyl compounds by cyclocondensation of 1,2-benzenedithiol. *Anal Biochem* 239:160-167

---

2010년 10월 13일 접수; 2010년 11월 11일 심사(수정); 2010년 11월 11일 채택