

뽕나무 유전자원의 1-deoxynojirimycin 함량 변이

김현복^{1*} · 서상덕² · 구희연³ · 석영식⁴ · 김선림¹ · 성규병¹
¹농촌진흥청, ²충청남도 농업기술원 잠사곤충사업장, ³전라남도 농업기술원 곤충잡업연구소, ⁴강원도 농산물원종장

Quantitative Analysis of 1-deoxynojirimycin in Mulberry Leaves

Hyun-bok Kim^{1*}, Sang -Deok Seo², Hui-Yeon Koo³, Young-Seek Seok⁴, Sun-Lim Kim¹ and Gyoo-Byung Sung¹

¹Rural Development Administration, Suwon 441-707, Korea

²Chungcheongnam-do Sericultural and Entomology Experiment Station, Gongju, 314-681, Korea

³Jeollanam-do Agricultural Research & Extension Services, Naju 520-715, Korea

⁴Gangwon-do Agricultural Product Registered Seed Station, Chuncheon 200-150, Korea

ABSTRACT

Countries of the world are competing for the collection and utilization of genetic resources, which is a resource of value-added industrialization. We are building database of silkworm and mulberry resources with morphological, genetic characteristics data etc. Moreover, recent bioactive compound has been receiving increasing attention. So we analyzed 1-deoxynojirimycin(1-DNJ) content as a this item in addition to the basic information using 363 strains(varieties) of mulberry genetic resources. They were grown under the same environment and conditions. Mulberry leaves were collected and then freeze-dried and powdered for 1-DNJ test. As a result, 1-DNJ mean content of 363 mulberry strains was $0.176 \pm 0.077\%$, and the coefficient of variation (CV) was 43.5%. The variation between the strains was greatly severe. Among the tested strains, 'CID89/29' was showed the highest content of 0.47%, whereas 'Pumbo 24' and 'Turkey E' were showed the lowest content of 0.05% respectively. The content of 1-DNJ of 16 mulberry varieties for silkworm rearing were compared. Average concentration was $0.17 \pm 0.04\%$, and the coefficient of variation (CV) was 22.8%. Variation among cultivars was not significant. Finally we selected 1-DNJ high-containing 11 strains. They are as follows. 'CID89/29', 'Hiihak', 'Jeokasibmunja', 'Gweonchil', 'Botongsibmunja', 'Jeokchuk', 'bulguksang', 'Geunsookgojo', 'Busanggeum', 'Guksang 20' and 'Taekwang' which are more than twice of the overall average content.

Key words : Mulberry leaf, 1-Deoxynojirimycin(1-DNJ), Genetic resource

서 론

뽕나무를 포함한 식물유전자원은 수집, 보존 및 이용 방법에 따라 그 자체로 이용하거나 새로운 품종 및 물질 등을 개발하여 막대한 경제적 이익을 창출할 수 있다는 점에서 그 중요성은 날로 부각되고 있다. 특히 최근에는 생명공학 기술의 발달로 유전자원이 온난화와 가뭄 등 기후변화에 대응하여 우리의 식량문제를 해결하고 더 나아가 고부가가치의 신약, 바이오에너지 등을 제공하는 미래 성장동력의 핵심으로 새롭게 각광받고 있다. 이에 따라 세계 각국과 거대 중자 기업들은 유전자원을 바탕으로 특정 품종과 형질 등을 개발하여 지적재산권을 확충하기 위한 경쟁을 한층 강화하고 있는 실정이다.

현재 우리나라 뽕나무 유전자원은 620 계통(품종)으로서 누에사육용 뽕품종과 오디생산용 뽕품종을 포함한 장려품종과 육성계통 및 수집자원이 포함되어 있다. 이 중 대부분은 수집자원으로 우리나라 전국 각지에서 수집된 것들과 일본, 인도, 이란, 터키, 프랑스 등 해외에서 수집된 자원들이다.

뽕나무의 산물인 뽕잎, 가지, 뿌리, 오디는 식품 또는 약용의 부가가치를 지닌 소재로 탈바꿈함에 따라 여러 가지 기능성에 대한 연구결과들이 보고되고 있다. 특히 뽕잎은 단백질, 아미노산, 비타민, 미네랄 및 다량의 식이섬유소뿐만 아니라 다양한 생리활성물질을 함유하고 있으며, 항당뇨, 항고지혈증 등 여러 가지 생리적·약리적 작용에 관한 연구결과들이 보고됨에 따라 기능성 식품, 화

*Corresponding author. E-mail: hyunbok@korea.kr

장품 및 의약품의 신소재로서 가능성을 제시하고 있다.

뽕잎에 함유되어 있는 여러 가지 생리활성물질 중 특히 뽕잎의 혈당강하 효과에 대한 지표물질로서 1-deoxynojirimycin(1-DNJ), kuwanon G, moran A 등이 잘 알려져 있다. 이 중 1-deoxynojirimycin(1-DNJ)은 전형적인 천연 알칼로이드로서 장내 α -glucosidase와 α -amylase를 억제하는 생리활성을 가지고 있는 것으로 알려져 있는 물질이다. 1976년에 Yagi 등에 의해 자연계에서 최초로 분리되었는데 뽕나무 뿌리 껍질에서 분리되었으며 “moranoline”으로 명명되었다.

일반적으로 1-DNJ는 분자내에 발색단이 부족하고 극성이 높기 때문에 분석하기 어렵다. 따라서 많은 연구자들은 FMO-CI로 시료를 유도체화 하여 시료를 전처리하거나(Kim et al., 2003) ELSD-MS 같은 분석기기 개발(Kimura et al., 2004; Nuengchamng et al., 2007) 및 효소 고정화한 자기구슬을 이용하여 신속하게 검색하거나(Tao et al., 2012) 경구투여한 뽕잎의 쥐 혈장내 DNJ 함량을 분석하는 방법(Nakagawa et al., 2007) 등을 개발하여 이러한 문제점을 해결하고자 하였다. 이와 같은 분석방법의 개발에 힘입어 정량분석 결과들이 보고되고 있으나 대부분 보유 유전자원의 수에 비해 극히 제한적인 계통을 대상으로 분석하였다.

따라서 본 연구에서는 우리나라 보유 뽕나무 유전자원에 대해 광범위하게 뽕잎의 1-DNJ 함량을 비교 분석함으로써 정확한 뽕잎의 계통별 1-DNJ 함량정보를 제시함은 물론 1-DNJ 고함유 계통을 선발하였기에 보고하는 바이다.

재료 및 방법

1. 공시계통

본 시험에 공시한 계통은 뽕나무 유전자원 중 재배환경 및 재배법이 동일한 363계통으로서, 국립농업과학원 농업생물부 유전자원 시험포장(수원시 권선구 서둔동 소재)에서 누에사육용 뽕나무 재배방법에 근거하여 매년 낮추베기 하벌하는 방식으로 보존하고 있는 뽕나무이다. 즉 전년도 하벌 후 새로 자란 가지로 겨울을 나고 이듬해 새로 눈이 터서 자란 춘기 5개엽기의 뽕잎을 채취하였다.

채취한 뽕잎은 즉시 -70°C 냉동고에 보관하였으며, 1-DNJ 분석을 위해 동결건조(-85°C, 48 hr, Ilshin Lab Co., Ltd)하여 분말로 제조하였다.

2. 시료 전처리

냉동건조한 뽕잎 분말 시료 각 0.1 g에 H₂O 10 ml을 가하여 30분간 shaking 시킨 후 1시간 동안 초음파 추출하여 30초 동안 vortex mixing 하였다. 다시 60°C에서 1시

간 동안 추출한 후 4,000 rpm에서 20분간 원심분리하여 얻은 상등액을 모았다. 이와 같은 방법을 2회 반복 추출하여 얻어진 상등액을 모두 합한 후 물로 100 ml가 되도록 희석하였다. 1.5 ml tube에 0.4 M borate 10 μ l, FMO-CI(9-fluorenylmethyl chloroformate) 100 μ l 첨가 후 40°C 항온수조에서 1시간 반응시켰다. 0.1 M glycine 10 μ l를 첨가한 후 0.1% acetic acid로 1 ml가 되도록 정용한 후 분석에 사용하였다.

3. 1-DNJ 정량 분석

공시재료의 1-DNJ 정량 분석을 위해 사용한 기기는 HPLC(SHISEIDO SP3023)로서, fluorescence detector(Em 254, EX 322)와 C₁₈(100 × 4.6 mm, ID 3 μ m) column을 사용하였으며, flow rate는 1 ml/min가 되도록 하였다. 형광검출기는 여기파장 254 nm 및 방사파장 322 nm를 사용하였다. 표준물질은 1-Deoxynojirimycin hydrochloride (SIGMA, 10 mg)를 구입하여 사용하였다(Fig. 1). 각 시료의 1-DNJ 함량은 면적계산법을 이용하였다.

결과 및 고찰

1. 뽕나무 유전자원의 계통(품종)별 뽕잎의 1-DNJ 함량

영양성분이 풍부한 뽕잎은 누에의 유일한 먹이인 동시에 기능성 식품의 소재로서도 각광을 받고 있다. 지금까지 밝혀진 뽕잎의 생리활성은 중금속 흡착 및 해독효과, 항산화효과, 혈중지질 억제효과 및 혈당강하 효과를 들 수 있는데, 1-Deoxynojirimycin은 뽕잎뿐만 아니라 누에의 대표적인 혈당강하 성분으로 알려져 있다.

현재 잠상 유전자원에 대한 가치와 활용도를 높이기 위해 형태적, 유전적 특성을 분석평가하여 데이터베이스를 구축 중에 있으며, 기능성 성분이나 효능에 대한 소비자들의 관심이 높아짐에 따라 기초정보 외에 이들의 항목에 대한 정보를 추가할 필요성이 제기되었다.

따라서 춘기 5개엽기 뽕잎을 채취한 후 동결건조 및 분말로 제조하여 뽕나무 유전자원의 계통별 1-DNJ 함량을 분석하고자 하였다. 그 결과, 뽕나무 유전자원 363계통의 1-DNJ 평균 함량은 0.176 ± 0.077%이었으며, 변이계수(CV)는 43.5%로서 계통간 변이가 매우 심하게 나타났다. 이 중 ‘CID89/29’은 0.466%로서 가장 높았으며, ‘폼보 24’, ‘터키 E’은 각각 0.046%로 가장 낮은 함량을 나타냈다(Table. 1).

뽕잎의 1-DNJ 평균 함량에 있어서는 다른 연구자들의 결과와 큰 차이가 없었다. Chae et al. (2003)은 우리나라 재배 품종인 ‘수성뽕’, ‘청일뽕’, ‘용천뽕’ 및 ‘개량뽕’의 뽕잎 중 1-DNJ 함량은 각각 192.8 ± 0.30, 169.9 ± 0.15,

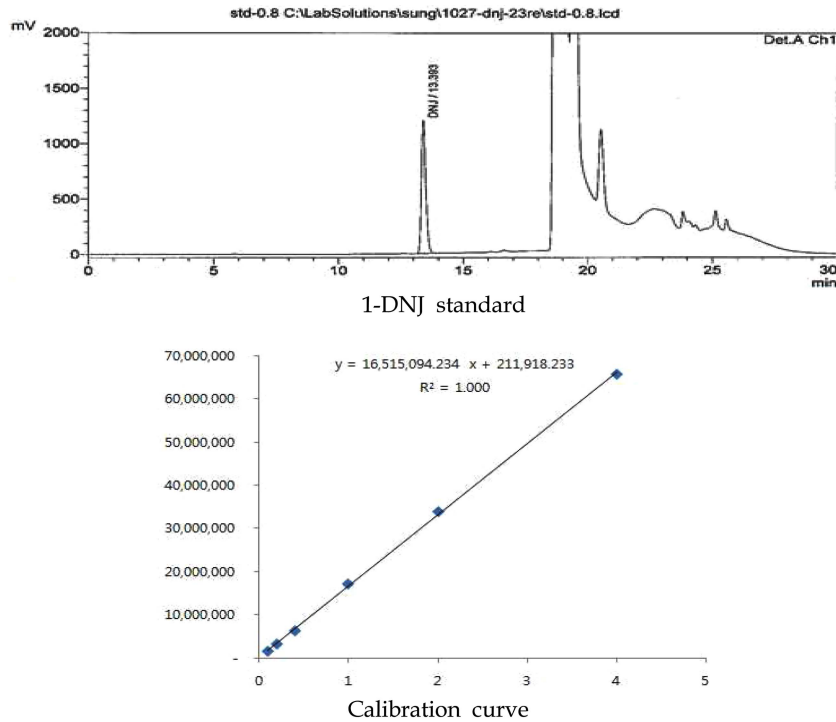


Fig. 1. Chromatogram of 1-DNJ standard and calibration curve for 1-DNJ analysis of mulberry leaf.

188.1 ± 0.24, 143.9 ± 0.15 mg%이었으며, ‘수성빵’을 대상으로 한 지역별, 채취부위별, 생육시기별 1-DNJ 함량을 분석한 결과에서 차이가 있음을 보고하였다. Kimura et al. (2004)은 재배 품종인 ‘Kinuyutaka’, ‘Kairyonezumikaeshi’, ‘Shinkenmochi’의 빵잎 중 1-DNJ 함량은 각각 0.14, 0.13, 0.10%이었으며, 시장에 판매되고 있는 빵잎차, 분말, 정제 (tablet) 제품의 1-DNJ 함량은 각각 0.13 ~ 0.23, 0.20, 0.28 ~ 0.48%임을 보고하였고 계속하여 2007년에는 1.5%의 DNJ 강화 빵잎 분말을 제조함으로써 사람을 대상으로 한 실험에서 식후 혈당 상승과 인슐린 분비 억제 효과가 있음을 보고하였다. Nuengchamnonng et al. (2007)은 어린 잎(0.62 ~ 1.16 mg/g)이나 성숙잎(0.17 ~ 0.96 mg/g)보다 새순(2.24 ~ 3.08 mg/g)의 1-DNJ 함량이 더 높다고 하였다.

2. 누에사육용 뽕품종의 1-DNJ 함량 비교

뽕나무 유전자원 중 누에사육용 16품종의 1-DNJ 함량을 비교하였다(Table. 2). ‘개량빵’, ‘청일빵’, ‘신일빵’, ‘수성빵’, ‘수계빵’, ‘수원빵’, ‘용천빵’, ‘검설빵’, ‘수봉빵’, ‘신광빵’, ‘청운빵’, ‘밀성빵’, ‘상일빵’, ‘대륙빵’, ‘청울빵’ 및 ‘홍울빵’으로서 평균 함량은 0.17 ± 0.04%이었으며, 변이계수(CV)는 22.8%로서 품종간 변이가 크지 않았다. 공시품종 중 ‘수계빵’의 함량은 0.24%로 가장 높았으며, ‘청울빵’은 0.11%로 가장 낮았다. 우리나라 상주와 영천에서

채취한 ‘수성빵’, ‘청일빵’, ‘용천빵’ 및 ‘개량빵’의 빵잎을 대상으로 열풍건조하여 1-DNJ 함량을 비교한 Chae et al. (2003)의 연구결과와는 다소 차이가 있었다. 이는 채취 지역, 재배 방법 및 빵잎 건조방법 등의 차이에 따른 결과로 해석된다. Chae et al. (2003)는 ‘수성빵’을 대상으로 한 1-DNJ 함량을 비교한 결과, 상주 지역의 빵잎보다 영천 지역의 빵잎이 1-DNJ 함량이 높다고 하였다.

3. 1-DNJ 고함유 뽕나무 계통 선발

한편 뽕나무 유전자원 중 1-DNJ 고함유 계통을 선발하였다(Table. 3). ‘CID89/29’(0.47%), ‘희학’(0.43%), ‘적아십문자’(0.43%), ‘권철’(0.42%), ‘보통십문자’(0.39%), ‘적축’(0.38%), ‘불국상’(0.38%), ‘근소옥고조’(0.38%), ‘부상금’(0.38%), ‘국상20호’(0.35%) 및 ‘태광’(0.35%) 11 계통으로서 전체 평균 함량의 2배 이상 되는 계통들이다.

Kim et al.(1999)은 질소가스를 이용하여 혐기처리한 빵잎을 사료에 혼합하여 투여한 혈당강하 실험에서 혐기처리 빵잎의 효과가 유의적으로 증강되었으며, 빵잎의 혈당강하 성분으로 알려진 1-DNJ 함량은 혐기처리에 의해 5% 증가하였다고 하였다.

혐기처리 방법은 일본 식품종합연구소에서 녹차 잎의 대사를 연구하던 중 GABA(γ -aminobutyric acid) 함량이 대량 증가한다고 보고(Tsushida et al. 1987)된 이래 기능

Analysis of 1-deoxynojirimycin in Mulberry Leaves

Table 1. 1-DNJ content of mulberry leaf according to strain(variety)

No.	Strain(variety)	Content(%)	No.	Strain(variety)	Content(%)
1	Kaeryangppong	0.191	51	Cheongmoknosang	0.101
2	Guksang 10	0.208	52	Josaenghongpinosang	0.206
3	Guksang 14	0.217	53	Hwanyouppjosaengnosang	0.199
4	Guksang 15	0.247	54	Jajosaeng	0.175
5	Guksang 16	0.216	55	Daeroukppong	0.148
6	Guksang 20	0.355	56	Yangmeunjosaeng	0.233
7	Cheongilppong	0.142	57	Daejosaeng	0.134
8	Guksang 21	0.226	58	Gwijosaeng	0.166
9	Suwonsang 2	0.179	59	Youngchijosaeng	0.259
10	Suwonsang 3	0.192	60	Jeolgokjosaeng	0.173
11	Dokjo	0.115	61	Suwonppong	0.116
12	Josunsang	0.141	62	Orangchijosaeng	0.218
13	Sinilppong	0.201	63	Hwansipjosaeng	0.154
14	Cheonseol	0.302	64	Seongsu 5	0.178
15	Seolbuji	0.265	65	Josaenghongpisang	0.218
16	Sangbuji	0.156	66	Youngsngpalseukjosaeng	0.175
17	Sibdo	0.349	67	Yongcheonppong	0.145
18	Fowijinsibdo	0.327	68	Daeyeopjosaeng	0.171
19	Suseongppong	0.180	69	Josaengsipmunja(Jeonbuk)	0.250
20	Wonjugojo	0.243	70	Hyungsang	0.104
21	Bullanseol	0.211	71	Hongpihyungsang	0.295
22	Hiihak	0.429	72	Baekpihyungsang	0.155
23	Bitansang	0.258	73	Yongcheonppong	0.139
24	Bitansang(Jeonnam)	0.265	74	Bugwigeum	0.188
25	Sugeppong	0.243	75	Busanggeum	0.375
26	Amloedaejeop	0.251	76	Bugwisang	0.229
27	Jangyadaejeop	0.149	77	Busanghwan	0.312
28	Beukhaedaeyeop	0.164	78	Buyongsang	0.138
29	Cheongeundaeyeop	0.278	79	Jeongyasang	0.206
30	Gocheondaeyeop	0.108	80	Jeongsasang(Jeonbuk)	0.191
31	Shingwangppong	0.214	81	Nosi	0.102
32	Botongsipmunja	0.394	82	Bulguksang	0.382
33	Jeokasipmunja	0.425	83	Cheongha	0.234
34	Baekasipmunja	0.249	84	Daesuhwak	0.198
35	Cheongeunsipmunja	0.251	85	Sugwang	0.203
36	Mujeonsipmunja	0.280	86	Keomseolppong	0.139
37	Cheongunppong	0.217	87	Idaljeokmok	0.264
38	Kaeryangnosang	0.334	88	Dancheonjeokmok	0.332
39	Daejeongnosang	0.225	89	Gunmajeokmok	0.308
40	Simdeuknosang	0.200	90	Yeulbon	0.171
41	Jungcheonnosang	0.210	91	Gweonchil	0.421
42	Nosangsilsaeng	0.208	92	Subongppong	0.186
43	Milseongppong	0.142	93	Dangsang 1	0.140
44	Cheongunosang	0.145	94	Dangsang 2	0.167
45	Baekanosang	0.231	95	Dangsang 3	0.194

Table 1. 1-DNJ content of mulberry leaf according to strain(variety)

No.	Strain(variety)	Content(%)	No.	Strain(variety)	Content(%)
46	Jeokanosang	0.161	96	Dangsang 5	0.246
47	Baekyeopnosang	0.118	97	Dangsang 6	0.131
48	Ageunnosang	0.232	98	Cheongolppong	0.105
49	Sangilppong	0.194	99	Daedangsang	0.088
50	Wangdeuknosang	0.158	100	Dangsang	0.145

Table 1. (Continued)

No.	Strain(variety)	Content(%)	No.	Strain(variety)	Content(%)
101	Jeonwon 2	0.109	151	4X C	0.173
102	Yangyang 8	0.099	152	4X Guksang 21	0.106
103	Dangsang 8	0.083	153	Milseongppong	0.148
104	Hongolppong	0.138	154	Bokdodaeyeop	0.169
105	Chuncheon 1	0.115	155	Cheongokdaeyeop	0.326
106	Inje 4	0.151	156	Sawonppong 11	0.175
107	Euncheuksang(Jeonnam)	0.114	157	Sawonppong 12	0.226
108	Yangyang 9	0.086	158	Sawonppong 13	0.140
109	Kangwon 3	0.129	159	Sawonppong 14	0.235
110	92-1	0.082	160	A6	0.110
111	Jeongsunsang	0.135	161	A3	0.312
112	Youngbeunchuwoo	0.075	162	A7	0.199
113	Peungbukyeunbeunkyo	0.101	163	A8	0.197
114	Inje 7	0.278	164	T183	0.175
115	Kangwon 3(Chungbuk)	0.291	165	T184	0.087
116	Simbaek	0.322	166	T185	0.258
117	Yangmeunsang	0.133	167	T186	0.169
118	Sajusang	0.212	168	T187	0.302
119	Jeokchuk	0.384	169	T189	0.174
120	Kkorippong	0.193	170	RY6/1	0.179
121	Aja	0.227	171	RY6/2	0.171
122	Jeokso	0.165	172	415	0.163
123	Gugoksang	0.073	173	K4	0.244
124	Jeokjaesang	0.244	174	K8	0.163
125	Gweukwansang	0.120	175	K39	0.146
126	Tatarika	0.094	176	K40	0.193
127	Waesoyeopyasang	0.205	177	K47	0.154
128	Wonju(Hojeo)	0.150	178	C41	0.289
129	Muchuk(Jeonnam)	0.190	179	A46	0.176
130	Mubyung	0.229	180	Cheongunppong	0.128
131	Chukmu	0.280	181	Rk13/2	0.125
132	92/11	0.171	182	CM89/1	0.243
133	92/13	0.179	183	Sawonppong 25	0.126
134	92/14	0.140	184	Sawonppong 23	0.276
135	92/15	0.252	185	Sawonppong 24	0.118
136	92/16	0.193	186	Sawonppong 26	0.057

Analysis of 1-deoxynojirimycin in Mulberry Leaves

Table 1. (Continued)

No.	Strain(variety)	Content(%)	No.	Strain(variety)	Content(%)
137	92/19	0.217	187	452	0.106
138	Jeokmok	0.137	188	Daesungppong	0.091
139	Sinsang 2	0.268	189	88/180	0.135
140	92/2	0.161	190	88/181	0.207
141	92/3	0.067	191	88/182	0.235
142	92/4	0.273	192	88/188	0.212
143	92/5	0.166	193	Sawonppong 21	0.189
144	92/7	0.237	194	Shingwangppong	0.144
145	92/8	0.095	195	4X ppong	0.192
146	92/9	0.136	196	YB90/8	0.098
147	92/10	0.174	197	YO/90/10	0.146
148	Sungsu 9	0.133	198	YO689/1	0.248
149	Sawonppong 20	0.193	199	YS/89/13	0.191
150	Sawonppong 22	0.102	200	C1D89/29	0.466

Table 1. (Continued)

No.	Strain(variety)	Content(%)	No.	Strain(variety)	Content(%)
201	KS89/7	0.075	251	Heungguksng	0.345
202	CLH/1	0.243	252	Youjin	0.174
203	CLE/2	0.226	253	Jangsa	0.246
204	865/7	0.125	254	Samdocheong	0.108
205	Jamsang 111	0.129	255	Kaeryangganeon	0.098
206	Jamsang 112	0.169	256	Kaeryangjeonjeon	0.178
207	Jamsang 113	0.181	257	Kaeryangchujeon	0.164
208	Jamsang 114	0.223	258	Kaeryangdaehwa	0.225
209	Jamsang 115	0.217	259	Kaeryangsabangso	0.170
210	Jamsang 116	0.093	260	Sasang	0.079
211	Jamsang 117	0.217	261	Sabang	0.105
212	885/38	0.095	262	Dahochuk	0.166
213	886/12	0.163	263	Baekhak	0.156
214	871/30	0.269	264	Jwadogeum	0.170
215	872/1	0.127	265	Taekwang	0.353
216	872/6	0.088	266	Jangloe	0.189
217	872/19	0.175	267	Palbang	0.273
218	872/22	0.173	268	Daeyeopseoban	0.292
219	872/29	0.222	269	Mansaengbaekpisang	0.084
220	Sangjusipyung	0.139	270	Sangjeongab	0.120
221	Cheongmoksipyung	0.317	271	Daeyeopgomok	0.125
222	Jeokmoksipyung	0.228	272	Jangjam B	0.164
223	Bupyung	0.203	273	Jwokgapchan	0.117
224	Damageum	0.168	274	Samdeuk	0.158
225	Cheongsiplang	0.110	275	Dahojosaeng	0.276
226	Nopal	0.232	276	Buknong 10	0.135
227	Daedosang	0.071	277	Baekkwang 6	0.243

Table 1. (Continued)

No.	Strain(variety)	Content(%)	No.	Strain(variety)	Content(%)
228	Geumja	0.326	278	Baekwun 3	0.261
229	Chujeon	0.203	279	Haenammasan	0.170
230	Baeksi	0.161	280	Jeobsang	0.069
231	Punglanga	0.251	281	Buksang	0.093
232	Gwoisang(Yeonsuwon)	0.168	282	Sujungsang	0.177
233	Gogeunok	0.171	283	Siyou	0.184
234	Nakjeong	0.204	284	Gillim	0.102
235	Gumunyoung	0.163	285	Amsubomburi	0.146
236	Sangeum	0.085	286	Mujaadaesip	0.158
237	Sungsu 3	0.146	287	Ilpummok	0.116
238	Yeupgubun	0.183	288	Daeyaoksang	0.073
239	Daebojo	0.232	289	Cheongagokyo	0.175
240	Gukwaha	0.185	290	Jeokdaho	0.220
241	Budo(Chungbuk)	0.241	291	Sochangsang	0.136
242	Geunsookgojo	0.378	292	Buru	0.056
243	Chukho	0.244	293	Morecchi	0.049
244	Geumhaeseoban	0.153	294	Benggal	0.078
245	Hwangyeopsi	0.271	295	Maiseru	0.128
246	Hwangeum	0.221	296	Miyourieshowbachiyong	0.111
247	Heukchunsim	0.324	297	Miyourieros	0.129
248	Heukmok(Chungbuk)	0.180	298	Miyouriemorecchi	0.091
249	Heukmokbeon	0.114	299	Miyourieru	0.142
250	Heukchunsi	0.152	300	Pumbo 2	0.066

Table 1. (Continued)

No.	Strain(variety)	Content(%)	No.	Strain(variety)	Content(%)
301	Pumbo 1	0.093	333	Turkey C	0.092
302	Ajuguk 45	0.209	334	Turkey A	0.122
303	Rima	0.259	335	Jeonbokbaesandeung	0.082
304	Je531geung	0.152	336	Pumbo 34	0.084
305	Pakistan yasang	0.102	337	Pumbo 33	0.070
306	Turkey yasang	0.120	338	Pumbo 32	0.176
307	Eugukyasang	0.081	339	Pumbo 31	0.076
308	Pumbo 13	0.233	340	Iran F	0.112
309	Pumbo 12	0.254	341	Iran E	0.100
310	Pumbo 10	0.147	342	Iran D	0.085
311	Pumbo 8	0.093	343	Iran C	0.103
312	Pumbo 7	0.065	344	Iran B	0.153
313	Pumbo 6	0.153	345	Iran A	0.085
314	Pumbo 5	0.102	346	Turkey F	0.183
315	Pumbo 4	0.077	347	Turkey E	0.046
316	Pumbo 22	0.082	348	Iran Q	0.126
317	Pumbo 21	0.054	349	Iran N	0.053
318	Pumbo 19	0.185	350	Iran M	0.089

Table 1. (Continued)

No.	Strain(variety)	Content(%)	No.	Strain(variety)	Content(%)
319	Pumbo 20	0.107	351	Iran L	0.266
320	Pumbo 17	0.093	352	Iran K	0.090
321	Pumbo 16	0.065	353	Iran I	0.074
322	Pumbo 14	0.099	354	Iran H	0.073
323	Pumbo 15	0.178	355	Iran G	0.075
324	Pumbo 30	0.096	356	Jeongmaewha 4	0.146
325	Pumbo 29	0.097	357	India 6	0.164
326	Pumbo 28	0.080	358	India 5	0.234
327	Pumbo 27	0.193	359	India 4	0.124
328	Pumbo 26	0.086	360	India 2	0.144
329	Pumbo 25	0.068	361	Iran T	0.140
330	Pumbo 24	0.046	362	Iran S	0.195
331	Pumbo 23	0.200	363	Iran R	0.100
332	Turkey D	0.102	Mean ± STD	0.176 ± 0.077	

Table 2. 1-DNJ content of mulberry leaf according to varieties.

No.	Variety	Content (%)	No.	Variety	Content (%)
1	Kaeryangppong	0.19	9	Subongppong	0.19
2	Cheongilppong	0.14	10	Shingwangppong	0.18
3	Sinilppong	0.20	11	Cheongunppong	0.22
4	Suseongppong	0.18	12	Milseongppong	0.14
5	Sugeppong	0.24	13	Sangilppong	0.19
6	Suwonppong	0.12	14	Daeroukppong	0.15
7	Yongcheonppong	0.14	15	Cheongolppong	0.11
8	Keomseolppong	0.14	16	Hongolppong	0.14

Table 3. Selected strains for high 1-DNJ content of mulberry leaf.

No.	Strain (variety)	Content (%)	No.	Strain (variety)	Content (%)
1	C1D89/29	0.47	7	Bulguksang	0.38
2	Hiihak	0.43	8	Geunsookgojo	0.38
3	Jeokasibmunja	0.43	9	Busanggeum	0.38
4	Gweonchil	0.42	10	Guksang 20	0.35
5	Botongsibmunja	0.39	11	Taekwang	0.35
6	Jeokchuk	0.38			

성 녹차개발 연구에 이용하고 있으며(Chang et al. 1992) 이를 뽕잎에도 적용하여 이용하고 있다. GABA는 혈당강하 효과보다는 혈압의 정상화를 유도하고, 혈액 내 콜레스테롤 및 중성지방의 증가를 억제시키며, 뇌의 혈류를 좋게 하여 뇌세포 대사에 관여하여 뇌졸중 후유증 개선에 도움이 되며, 비만 방지, 알코올 대사 촉진, 대장암 억제 작용, 성장호르몬 분비 촉진 등의 효능을 갖는 물질이다. 따라서 GABA 성분이 혈당강하 효과가 있는지를 추

후 검토해 보아야 할 것이다.

또한 1-DNJ 함량을 증가시키거나 대량 생산하는 방법에 대해서도 검토가 이루어져 할 것이다. 한편 DNJ 생합성 관련 효소들을 이용한 DNJ 대량 생산 가능성에 착안하여, DNJ 생합성 관련 효소의 유전자 탐색에 관한 연구들이 이루어지고 있다(Kang et al., 2011). 또한 α -glucosidase의 강력한 효소저해제인 1-deoxynojirimycin(DNJ)을 고효율로 생산하는 균주의 선발 및 동정, 배양최적화 및 균

배양액의 혈당강하효과 등에 관하여 조사한 연구 결과들이 발표되었다(Cho 2004, Kim et al. 2011). Cho et al.(2008)은 토양으로부터 α -glucosidase에 대해 강력한 저해능을 나타내는 9균주를 대상으로 이 중에서 DNJ 생산성이 가장 우수한 한 개 균주를 최종 선발하였고, 이 균주를 16S rDNA 염기서열분석으로 균주동정을 하여 *Bacillus subtilis* S10이라 명명하였다. S10균주 배양액은 누에분말과 같은 수준의 고혈당 억제 및 완화효과가 있음을 확인하였다. Kim(2009)은 각지에서 수집한 뽕잎으로부터 *Bacillus subtilis*에 속하는 균주 *Bacillus subtilis* DC-15를 선발하고 최적배양 조건 구명 및 배양을 통해 α -glucosidase 저해활성을 갖는 청국장을 개발하였으며, 주요활성 성분은 1-deoxynojirimycin라고 하였다.

1-DNJ 함량이 높은 뽕잎을 이용하여 성인병 예방 등의 생리효과를 얻기 위해서는 채취시기 및 부위를 고려하여 뽕잎 채취, 고함유 계통의 뽕잎 이용, 농가 수준에서 응용할 수 있는 보다 손쉬운 1-DNJ 함량 증강 방법의 개발 및 뽕잎차, 음료, 아이스크림, 국수, 비타민제 이외의 다양한 식품 개발을 통해 꾸준히 이용되어야 할 것이다.

적 요

세계 각국은 유전자원의 확보 및 고부가 산업화 자원으로 이용하기 위해 경쟁하고 있다. 현재 잠상 유전자원에 대한 가치와 활용도를 높이기 위해 형태적, 유전적 특성을 분석평가하여 데이터베이스를 구축 중에 있으며, 기능성 성분이나 효능에 대한 소비자들의 관심이 높아짐에 따라 기초정보 외에 이들의 항목에 대한 정보를 추가할 필요성이 제기되었다. 따라서 우리나라 620계통(품종)의 뽕나무 유전자원 중 재배환경 및 재배법이 동일한 363계통의 춘기 5개엽기 뽕잎을 채취한 후 동결건조 및 분말로 제조하여 뽕나무 유전자원의 계통별 1-DNJ 함량을 분석하였다. 그 결과, 뽕나무 유전자원 363계통의 1-DNJ 평균 함량은 $0.176 \pm 0.077\%$ 이었으며, 변이계수(CV)는 43.5%로서 계통간 변이가 매우 심한 것으로 나타났다. 이 중 'C1D89/29'은 0.47%로서 가장 높았으며, '품보24', '터키 E'은 각각 0.05%로 가장 낮은 함량을 나타냈다. 뽕나무 유전자원 중 누에사육용 16품종의 1-DNJ 함량을 비교하였다. 평균 함량은 $0.17 \pm 0.04\%$ 이었으며, 변이계수(CV)는 22.8%로서 계통간 변이가 크지 않았다. 한편 뽕나무 유전자원 중 1-DNJ 고함유 계통을 선발하였다. 'C1D89/29', '희학', '적아십문자', '권칠', '보통십문자', '적축', '불국상', '근소옥고조', '부상금', '국상20호' 및 '태광' 11계통으로서 전체 평균 함량의 2배 이상 되는 계통들이다.

감사의 글

본 연구는 농촌진흥청 어젠다사업(주관과제번호: PJ009308)의 지원에 의하여 이루어졌으며, 이에 감사드립니다.

인용문헌

- Chae JY, Lee JY, Hoang IS, Whangbo D, Choi PW, Lee WC, Kim JW, Kim SY, Choi SW, Rhee SJ (2003) Analysis of functional components of leaves of different mulberry cultivars. *J Korean Soc Food Sci Nutr* **32**(1), 15~21.
- Chang JS, Lee BS, Kim YG (1992) Changes in r-aminobutyric acid(GABA) and the main constituents by a treated conditions and of anaprobically treated green tea leaves. *Korean J Food Sci Technol* **24**(4), 315~319.
- Cho YS (2004) Studies on the production and application of 1-deoxynojirimycin from *Bacillus subtilis*. Master's thesis. Graduate school of Suwon University.
- Cho YS, Park YS, Lee JY, Kang KD, Hwang KY, Seong SI (2008) Hypoglycemic effect of culture broth of *Bacillus subtilis* S10 producing 1-deoxynojirimycin. *J Korean Soc Food Sci Nutr* **37**(11), 1401~1407.
- Kang KD, Cho YS, Song JH, Park YS, Lee JY, Hwang KY, Rhee SK, Chung JH, Kwon O, Seong SI (2011) Identification of the genes involved in 1-deoxynojirimycin synthesis in *Bacillus subtilis* MORI 3K-85. *J Microbiol* **49**(3), 431~440.
- Kim HS, Lee JY, Hwang KY, Cho YS, Park YS, Kang KD, Seong SI (2011) Isolation and identification of a *Bacillus* sp. producing α -glucosidase inhibitor 1-deoxynojirimycin. *Korean J Microbiol Biotechnol* **39**(1), 49~55.
- Kim JW (2009) Screening of α -glucosidase inhibitor producing *Bacillus subtilis* and its application. Master's thesis. Graduate school of Kangwon National University.
- Kim JW, Kim SU, Lee HS, Kim I, Ahn MY, Ryu KS (2003) Determination of 1-deoxynojirimycin in *Morus alba* L. leaves by derivatization with 9-fluorenylmethyl chloroformate followed by reserved-phase high-performance liquid chromatography. *J Chromatogr A* **1002**, 93~99.
- Kim SY, Ryu KS, Lee WC, Ku HO, Lee HS, Lee KR (1999) Hypoglycemic effect of mulberry leaves with anaerobic treatment in alloxan - induced diabetic mice. *Kor J Pharmacogn* **30**(2), 123~129.
- Kimura T, Nakagawa K, Kubota H, Kojima Y, Goto Y, Yamagishi K, Oita S, Oikawa S, Miyazawa T (2007) Food-grade mulberry powder enriched with 1-deoxynojirimycin suppresses the elevation of postprandial blood glucose in humans. *J Agric Food Chem* **55**, 5869~5874.
- Kimura T, Nakagawa K, Saito Y, Yamagishi K, Suzuki M, Yamaki K, Shinmoto H, Miyazawa T (2004) Determination of 1-deoxynojirimycin in mulberry leaves using hydrophilic interaction chromatography with evaporative light scattering detection. *J Agric Food Chem* **52**, 1415~1418.
- Nakagawa K, Kubota H, Kimura T, Yamashita S, Tsuzuki T, Oikawa S, Miyazawa T (2007) Occurrence of orally

Analysis of 1-deoxynojirimycin in Mulberry Leaves

- administered mulberry 1-deoxynojirimycin in rat plasma. *J. Agric. Food Chem* **55**(22), 8928–8933.
- Nuengchamnong N, Ingkaninan K, Kaewruang W, Wongareonwanakij S, Hongthongdaeng B (2007) Quantitative determination of 1-deoxynojirimycin in mulberry leaves using liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J Pharma Biomed Anal* **44**, 853–858.
- Tao Y, Zhang Y, Cheng Y, Wang Y (2012) Rapid screening and identification of α -glucosidase inhibitors from mulberry leaves using enzyme-immobilized magnetic beads coupled with HPLC/MS and NMR. *Biomed Chromatogr* **27**, 148–155.
- Tsushida T, Murai T, Omori M, Okamoto J (1987) Production of a new type tea containing a high level of r-aminobutyric acid. *Nippon Nogeikagaku Kaishi* **61**(7), 817–822.
- Yagi M, Kouno T, Aoyagi Y, Maria H (1976) The structure of moranolin, a piperidine alkaloid from *Morus* species. *Nippon Nogeik Kaishi* **50**, 571–572.