

양파 재배 중 식이유황 methylsulfonylmethane 처리가 양파의 품질 특성에 미치는 영향

권은진 · 류다연 · 서정희*
강원대학교 식품영양학과

Quality Characteristics of Onions Applied with Methylsulfonylmethane (MSM) during Cultivation

Eunjin Kwon, Dayeon Ryu, and Jeonghee Surh*

Department of Food and Nutrition, Kangwon National University

Abstract Two types of onions cultivated with different methods of sulfur application (designated as S-1 and S-2) were examined for their physicochemical and sensory properties, and then compared with onions without sulfur application as a control. During cultivation, dietary sulfur methylsulfonylmethane (MSM) was sprayed on the leaves twice starting at 2 months before harvest, with one month intervals for S-1. For S-2, the MSM was applied once onto surface soils before sowing, and then once again on the leaves at 2 months before harvest. Thiosulfinate, a major sulfur-containing compound in onions, increased in the order of control, S-1, and S-2, without noticeable differences in the strength of spicy hot taste and flavor. The S-2 onions demonstrated a total reducing capacity three times higher than control and S-1 did. It indicates that the application of sulfur would positively affect the quality of onions under the condition where sufficient time is given for soil mineralization.

Keywords: onion, sulfur, methylsulfonylmethane, thiosulfinate, sensory property

서 론

최근 우리나라는 생활패턴의 서구화로 영양섭취의 과잉 혹은 불균형, 동물성 지방 섭취의 증가 등 식생활 문제가 보고되고 있으며, 이로 인한 체중 증가 및 비만 인구 증가로 만성질환이 증가되고 있는 실정이다(1,2). 세계보건기구(World Health Organization) 전문가 회의회는 만성질환의 주요 위해 인자(risk factors)로 고혈압, 높은 혈중 콜레스테롤, 과체류 섭취 부족, 과체중과 비만, 신체활동 부진, 흡연을 지적하였고, 이 중 4개의 위해 인자가 식이(diet)와 밀접하게 관련되어 있다(3). 이에 따라 만성질환 위해 요소를 조절할 수 있는 항산화, 항고혈압, 항당뇨 등의 생리활성을 지닌 식품들이 관심의 대상이 되고 있다. 이러한 기능성으로 주목 받는 식품들은 대부분 곡류, 두류, 채소류, 과일류이며, 자연친화적 식품 사용이 웰빙 식생활로 인식됨에 따라 이 식품군들은 웰빙 식생활에서 필수적으로 언급되는 식품소재가 되고 있다(4,5).

특히 채소류 중, 황을 함유하고 있는 마늘, 양파, 파 등의 알립 속(*Allium* sp.) 식물들은 황의 독특한 해독작용으로 인해 탁월

한 생리활성을 지닌 것으로 보고 되고 있다. 본 연구의 대상 식물인 양파(*Allium cepa* L.)는, 플라보노이드(querceetin, kaempferol, rutin) 및 그 배당체 물질들과 유기 황 화합물(thiosulfonates, allyl disulfide, diallyl sulfide) 등 생물학적 활성 분자들의 함량이 높아, 항산화, 항고혈압, 항동맥경화, 항균작용 등의 생리활성들이 지속적으로 보고되고 있다(6-10). 이러한 양파의 기능성으로, 양파는 만성질환 예방을 위한 바이오 식품 소재로도 관심을 받고 있는 실정이다. 한편, 양파는 독특한 향과 맛으로 조리 중 빈번히 사용되는 향신 채소로 인식되고 있으며, 예로부터 우리 식단에서 중요한 부식으로 소비되어 왔다. 양파의 독특한 향미성분들은 S-(1-propenyl)-L-cystein sulfoxide의 효소적 분해로 형성된 황 화합물 물질들이 주를 이루고 있다(11). 이와 같이, 양파의 기능성과 관련성의 상당 부분이 황(sulfur)으로 부터 유래됨을 알 수 있다.

그러나, 현재 우리나라 밭의 66.5%가 토양층 황 함량이 적정 수준(100 ppm) 이하로 조사되었으며, 식물체의 무기질 조성은 식물체가 생육하는 토양층의 무기질 조성 및 그 함량과 상관되어 있음이 선행연구를 통해 입증되었다(12,13). 따라서, 양파 재배 시 토양에 황을 처리할 경우 양파의 기능성 및 관능성이 개선될 가능성이 시사되었다. 실제로, Kim 등(14)은 토양에 식이유황을 처리하여 재배한 열무에서 유황화합물인 isothiocyanate 유사물질이 농도의존적으로 증가하였음을 관찰하였고, 간 세포를 이용한 실험에서는 간의 phase II enzyme인 quinone reductase를 유도할 수 있는 성분이 현저하게 증가되었음을 보고하였다. 그러나, 현재 양파 관련 연구는 대부분이 양파의 저장성 향상, 항산화 능력을 포함한 양파의 기능성 연구, 양파를 활용한 제품개발 부분에 주력되어 있는 실정이다(6-9).

*Corresponding author: Jeonghee Surh, Department of Food and Nutrition, College of Health Science, Kangwon National University, Samcheok, Gangwon 245-907, Korea

Tel: 82-33-540-3314

Fax: 82-33-540-3319

E-mail: jsurh@kangwon.ac.kr

Received November 2, 2012; revised November 29, 2012;

accepted November 30, 2012

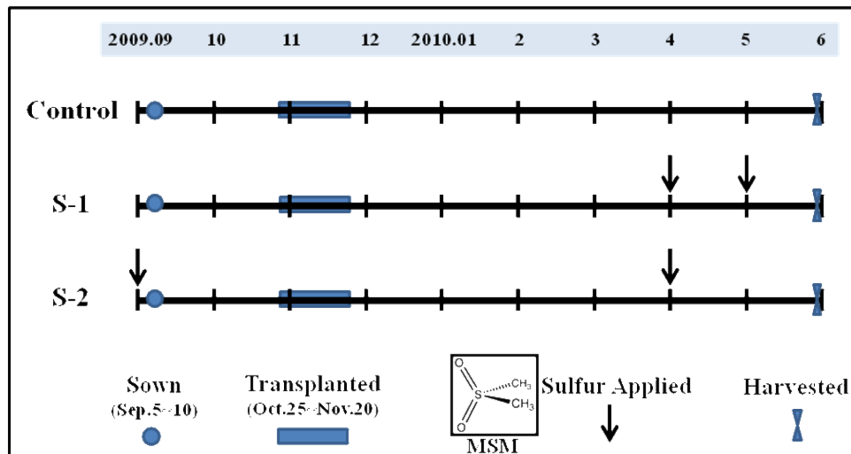


Fig. 1. Onions growing condition depending on the different timing of MSM sulfur application.

따라서, 본 연구에서는 양파의 재배 과정 중 토양 혹은 잎에 식이유황 methylsulfonylmethane (MSM)을 처리함으로써, 황 시비 (sulfur application)가 양파 내부의 유기 황 화합물 및 이로 인한 양파의 주요 기능성분 및 관능성에 미치는 영향을 탐색하고자 하였다. 본 실험에서 양파 재배 시 처리된 유황은, MSM ((CH₃)₂SO₂)으로, 과일, 야채, 곡식과 음료 등 다양한 식품에 포함되어 있는 유기 유황의 자연형태이며(15), 식물에서 추출해낸 무독성 천연 물질이다. MSM 식이유황은 농작물 재배, 돼지·오리 등 가축의 사료로 주로 사용되고 있으며, 최근에는 안전성 및 효능 자료 확보를 통해 건강기능식품의 원료로도 일부 사용되고 있다(16-18).

재료 및 방법

실험재료 및 시약

본 실험에 사용된 양파는 강원도 삼척 양파작목영농조합법인으로부터 공급받았다. 이 양파는 2009-2010년에 걸쳐 강원도 삼척시 미로면 25,000 m²의 농지에 식이유황 MSM 처리시기를 Fig. 1과 같이 달리하여 재배되었다. 양파의 품종은 증만생종, 파종 시기는 2009년 9월 5일-10일, 정식 시기는 2010년 10월 25일-11월 20일, 수확은 2010년 6월 중순에 실시하였다. 양파 재배 기간에 걸쳐 총 2회 MSM이 처리되었으며, 수확 2달 전 1달 간격으로 2회 MSM을 처리한 군(S-1)과, 파종 시 토양에 직접 MSM을 1회 처리하고, 이후 수확 2달 전에 1회 추가 처리한 군(S-2)으로 처리시기를 달리하였다. 총 2회의 MSM 처리 중, S-1 양파군은 2회 모두 잎에 처리한 엽면시비 형태로 MSM을 공급하였으며, S-2 양파군은 1회의 토양처리와 1회의 엽면시비로 MSM 처리 방법을 달리 구성하여 공급하였다. 한편, MSM을 처리하지 않고 재배한 양파를 본 실험의 대조군(control)으로 사용하였다. MSM (Y&J Farm, Yeosu, Korea)의 처리량은 해당 제품에 기재되어 있는 ‘단위 면적 당 사용량(토양에 처리하는 기비의 경우는 3 kg/200-250 평, 엽면시비 3 kg/400-500 평)’을 준수하였고, 그 외 재배기간 중 양파에 시비(fertilizer application)된 조건들은 세 군 모두 동일하였다. 수확이 완료된 2010년 6월 하순에 양파를 공급받아 분석에 사용하였다.

실험에 사용된 diethyl ether, sulfuric acid, sodium hydroxide, boric acid, nitric acid, potassium carbonate은 Showa Chemical Industry Co (Tokyo, Japan)의 특급시약을 사용하였다. Folin-Ciocalteu's phenol reagent, quercetin, N-(2-hydroxyethyl)peperazine-N-

2-ethane sulfonic acid (HEPES), 5,5-dithiobis (2-nitrobenzoic acid) (DTNB)는 Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA)로부터 구입하였으며, 무기질 정량을 위한 표준시약은 AccuStandard (New Haven, CT, USA)로부터 구입하여 사용하였다. 시약 조제에는 탈염·탈이온수가 사용되었다.

일반성분

일반성분 분석은 AOAC 방법에 준하여 수분은 105°C 건조기 (OF-12, Jeio Tech, Daejeon, Korea)를 이용한 상압가열건조법으로, 조회분은 백색의 회분이 얻어질 때까지 550°C 회화로(MF31G, Jeio Tech)에서 시료를 총 22시간 동안 완전 회화시킨 직접회화법으로 분석하였다(19). 조단백질은 킬달 분해 장치(Digestion unit K-424, Buchi, Flawil, Switzerland), 증류 장치(Kjelflex K-360, Buchi), 적정 장치(702 SMTitrino Metrohm, Buchi)를 연속적으로 사용하여 micro-Kjeldahl법으로 분석한 후, 질소계수 6.25를 곱하여 시료의 조단백질 함량을 산출하였다. 조지방 함량은 diethyl ether를 용매로 하여 Soxhlet 장치(E-816, Buchi)를 사용하여 추출하였다. 탄수화물은 100-(수분+조회분+조단백질+조지방)의 식으로 계산하여 그 값을 표시하였다.

무기질

일정량(0.2 g)의 시료를 취하여 H₂O₂ 7 mL, HNO₃ 2 mL를 가한 후 마이크로파 시료용해장치(Microwave Digestion System, Ethos Touch Control, Milestone Inc., Shelton, CT, USA)를 사용하여 시료를 다음의 온도 조건으로 분해 추출하였다. 먼저 시료의 온도를 3분 동안 85°C까지 상승시키고, 이후 9분 동안 145°C까지 상승시킨 후, 다시 4분 동안 180°C까지 올려 15분간 유지시켰다. 이렇게 분해된 시료를 증류수로 20배 희석한 후 ICP-AES (Inductively Coupled Plasma-Atomic Emission Spectrometer, Vista-Pro, Varian, Australia)에 주입하여 reflected power는 1.2 kW, flow gas는 argon, plasma flow는 15 L/min, auxiliary gas flow rate은 1.5 L/min, nebulizer gas flow rate은 0.7 L/min의 조건으로, multi-channel detector (Simultaneous polychromators, Echelle polychromator)를 거쳐 3종의 다량 무기질과 3종의 미량 무기질을 분석하였다. 각 원소 별 측정 파장은, Ca (396.847 nm, 393.366 nm), P (213.618 nm, 177.434 nm), Mg (279.553 nm, 280.270 nm), Fe (238.204 nm, 259.940 nm), Zn (213.857 nm, 202.548 nm), Cu (327.395 nm, 324.754 nm)이었다. 원소의 농도는, 표준물질의 농도

범위를 0-10 ppm으로 각 원소 별 standard 3점을 이용하여 표준 곡선을 작성한 후 회귀직선 방정식을 이용하여 계산하였다.

수용성 고형분 함량

세절한 양파시료 5 g을 증류수 15 mL에 분산시키고 homogenizer (Wise Mix HG-15, Daihan Sci., Seoul, Korea)로 약 30 s 정도 균질화 시켰다. 이 후 원심분리기(5810R, Eppendorf, Hamburg, Germany)로 3900 rpm에서 15 min동안 원심분리하고 상층액을 취해 굴절률(refractometer, PR201, Atago, Tokyo, Japan)을 측정하였다. 증류수에 의한 희석배수는 측정된 값에 별도로 반영하지 않았다.

총 환원물질(Total reducing capacity)

양파의 총 환원력은, 시료 내부의 페놀성(phenol) 및 비페놀성(non-phenolic) 환원 물질(reducing substances)이 염기적 조건에서 Folin-Ciocalteu's reagent (phosphomolybdic phosphotungstic acid complex)에 전자를 전달하여 발색물질(chromogen)을 형성하는 원리를 바탕으로 하는 Folin-Ciocalteu's reagent 법으로 분석하였다(20).

양파 추출액 준비를 위해, Park 등(6)의 선행연구를 참조하여 phenol, thiosulfinate 등 양파의 기능성분 함량이 가장 높았던 추출조건을 본 실험에 적용하였다. 즉, 세절한 양파 5 g을 취하고 60% 에탄올을 첨가하여 shaking water bath (BS21, Jeio Tech, Daejeon, Korea)에서 25°C, 100 rpm의 속도로 12시간 동안 추출하였다. 이 후 불용성 물질을 제거하기 위해 원심분리기(5810R, Eppendorf)로 3900 rpm에서 10분 동안 원심분리하였다. 상층액을 분리하여 진공농축기(R215, Buchi)로 60°C, 50 rpm의 속도에서 2 mL까지 농축시켰다. 이 추출액 1 mL에 Folin-Ciocalteu's reagent와 10% Na₂CO₃를 각각 1 mL씩 넣어 vortexing하고 실온에서 1시간 동안 정치시킨 후 spectrophotometer (UV-1650, Shimadzu, Kyoto, Japan)로 700 nm에서 흡광도를 측정하였다. 양파 속 환원 물질의 총량은 대표적 환원물질인 quercetin을 표준물질로 하여 나타내었다.

Thiosulfinate 함량

MSM 식이유황 처리가 양파 속 황 함유 유기물질에 미치는 영향을 관찰하고자 양파의 대표적 황 함유 성분인 thiosulfinate를 정량 분석하였다. Thiosulfinate 1분자와 cysteine 2분자가 반응하여 S-alkenyl 혹은 S-alkylmercaptocysteine을 형성하는 원리를 활용하여, 시료에 충분한 양의 cysteine을 첨가하여 시료 속 thiosulfinate와 반응시킨 후, 남은 cysteine을 DTNB와 반응시켜 발색물을 형성시킴으로써, 감소한 cysteine의 함량을 통해 최종적으로 시료의 thiosulfinate 함량을 역정량하였다(21). 총 환원력 측정 시 준비했던 동일한 추출액 0.1 mL에 2 mM cysteine (in 50 mM HEPES) 용액 0.5 mL를 가하고, 50 mM HEPES용액으로 총 반응용액의 부피를 5 mL로 조정 한 후 shaking water bath로 27°C에서 10분간 반응시켰다. 이 과정에서 얻어진 반응용액을 1 mL 취하여 0.4 mM DTNB (in 50 mM HEPES)를 가하고 vortexing하여 27°C에서 10분간 반응시켰다. 이 후 spectrophotometer (UV-1650, Shimadzu)로 412 nm에서 흡광도를 측정하였다. Cysteine을 농도별로 조제하여 얻은 표준검량곡선으로부터 시료 추출물의 총 thiosulfinate 함량을 역산출하였다.

향미성분 프로파일(Flavor Profile)

그룹별 5-7개의 양파를 겉껍질을 제거하고 시료 용기에 담아 가스포집장치로 휘발성 성분을 포집한 후, DB-5 column (1 m×250 μm×0.25 μm, Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA)이 장

착된 전자코(GC/SAW Electronic Nose System, Fast GC Analyzer Model 7100, Electronic Sensor Technology, CA, USA)에 주입하였다. Inlet temperature는 100°C, 검출기는 surface acoustic wave (SAW) quartz microbalance이며, column 초기온도를 40°C로 하고 70°C까지 온도를 증가시키는 temperature gradient 조건으로 분석하였다.

색도

양파 꼭지를 중심으로 양파를 세로로 잘라 시료를 준비한 후, 그 단면의 명도(L, lightness), 적색도(a, redness), 황색도(b, yellowness)를 색차계(CR400, Konica Minolta Sensing, Osaka, Japan)를 사용하여 측정하였다. 표준 백색판을 이용하여 calibration 한 후, L 값은 0(검정색)에서 100(흰색)까지, a값(적색도)은 -80(녹색)에서 100(적색)까지, b값(황색도)은 -70(청색)에서 70(황색)의 범위에서 시료의 색도를 측정하였다.

Texture

양파의 물성은 texture analyzer (Instron 5542, Instron, USA)를 사용하여 2회 반복 압착실험(two-bite compression test)으로 측정하였다. 각 양파 시료는 양파 꼭지를 위로 향하게 양파를 배치한 후 상하로 압착했을 경우와, 양파꼭지를 좌측으로 향하게 양파를 누여 배치한 후 상하로 압착했을 경우로 구분하여 시간에 따른 압착강도의 변화를 관찰하였다. 직경 11 mm의 원형 probe를 사용하여 test speed 3.3 mm/s로 1 cycle과 2 cycle 모두에서 50 mm 깊이까지 시료를 압착하는 조건으로 측정하였다. 측정 후 얻어진 force-time curve로부터 시료의 경도(hardness), 탄력성(springiness), 복원력(cohesion force resilience), 응집성(cohesiveness), 점착성(gumminess), 저작성(chewiness)이 산출되었다.

양파의 관능적 특성 분석

양파의 관능검사는 강원대학교 식품영양학과 재학생 중 관능검사 경험이 있는 26명을 패널로 선정하여 실험목적과 양파의 품질특성에 대하여 사전 교육을 실시한 후 5점 평점법(5-point scaling)으로 평가하였다. 사전 교육에는 관능검사에 기재된 각 관능적 특성에 해당하는 용어의 정의 설명도 포함하였다. 각 군별로 한 개의 양파를 4등분하여 생수와 함께 제시하였으며, 평가 항목은 양파의 관능적 평가영역과 그 특성에 대한 개인적 기호도 영역으로 구분하여 구성하였다. 품질평가를 위한 관능적 특성들은 삼척양파영농조합법인에 소속된 양파재배 농민들의 설명을 참조하여 선정하였으며, 개별 관능적 특성에 대한 용어 정의는 '국립국어원 표준국어대사전'에 근거하였다(22). 평가된 관능적 특성으로는, 색(color: 매우 희다-등색이다), 매운 향(hot flavor: 전혀 강하지 않다-매우 강하다), 단맛(sweetness: 전혀 달지 않다-매우 달다), 매운맛(spicy hot taste: 전혀 맵지 않다-매우 맵다), 아삭함(hardness: 전혀 아삭하지 않다-매우 아삭하다) 이었으며, '각 특성이 약한 경우'를 1점으로 하고 '그 특성이 강한 경우'를 5점으로 하여 평가하였다. 각 특성에 대한 기호도와 종합적 기호도(overall acceptability)는 '매우 나쁘다'를 1점으로 하고 '매우 좋다'를 5점으로 하여 평가하였다.

자료의 통계처리

유황처리에 따른 양파의 품질 특성은 통계처리 프로그램 SAS (ver. 9.1 for windows, Cary, NC, USA)를 이용하여 평균값과 표준편차로 나타내었으며, ANOVA, Duncan's multiple range test로 각각의 특성에 대해 유의적인 차이가 있는지를 검증하였다.

결과 및 고찰

일반성분 및 무기질 조성

MSM 식이유허의 처리 유무 및 방법을 달리하여 재배된 양파의 화학적 조성을, 식품소재로서의 평가항목들을 기준으로 하여 비교하였다. 25,000 m² 농지 내부를 세 구역으로 구분하여 재배된 양파는 유허의 처리 유무에 따라 수분함량이 유의적으로 증가하였고($p < 0.001$), 이에 상응한 수준으로 탄수화물의 유의적 감소가 관찰되었다($p < 0.001$) (Table 1). 식품성분표에 따르면, 양파는 수분(90.1%)과 탄수화물(8.4%)이 구성 성분의 대부분을 차지하고 그 외 일반성분인 단백질, 지방은 무시할만한 수준으로 존재하는 것으로 알려져 있다(23). 양파의 관능적 특성 중, 단맛에 기여할 수 있는 당류 등을 포함한 수용성 고형분(soluble solid)의 함량은 1.76-1.86%의 범위로 시료간 통계적 차이가 관찰되었으나, 관능적으로 유의미한 차이는 아닌 것으로 나타났다. 3종 양파의 조회분 함량은 0.20-0.32%의 수준으로, 무기질 총량이 전체 구성성분 중 미미한 수준을 차지하였다. 이에 따라 6종(Ca, Mg, P, Fe, Zn, Cu)의 무기질 조성에 있어서도 동일 양파군 내에서 편차가 크게 관찰되었다(Table 2). 특히 유허처리 양파 S-2의 경우, 평균 Ca함량이 513.4 µg/g으로 식품성분표 상의 함량인 160 µg/g보다 3.2배 가량 높았으나, relative standard deviation (RSD = average/standard deviation × 100)이 50%로 편차가 큼을 확인할 수 있었다. 그럼에도 불구하고, 삼척 지역 양파는 전국 규모의 시료를 대상으로 한 식품성분표 상의 데이터와 비교할 때, 유허의 처리 유무 및 시기와 관계없이 칼슘(Ca)과 철(Fe) 함량이 높은 것을 확인할 수 있었다. 이는 삼척지역 일부 농산물의 무기질 조성을 탐색한 선행연구 결과와 일치하며(12), 일반적으로 식물의 무기질 함량은 식물이 생산되는 토양 속 무기질 조성 및 함량에 의해 영향을 받는 것을 고려할 때, 삼척지역이 석회석 생산지라는

사실과 무관하지 않을 것으로 보인다. 최적의 칼슘 흡수를 위해 Ca:P의 섭취 비율이 1:1로 권장되고 있음에도 불구하고 인의 과잉섭취로, 한국인의 Ca:P 섭취량 비율이 0.5:1이라는 현실을 고려하면(1), 칼슘 함량이 증가된 식품소재의 생산은 주목할만하다. 특히 이 결과는 양파의 무기질 조성에 유허의 일시적 처리 유무보다는 지역 토양 자체의 특성이 더 크게 작용했음을 시사하고 있다. 따라서 토양층 내에 지속적 황 시비를 통해 황 적정 함량을 유지할 경우 양파 내부로 황의 기능성을 부가시킬 수 있는 가능성을 시사해 주었다.

Thiosulfinate와 총 환원물질

MSM 식이유허의 처리 유무 및 방법이 양파의 주요 기능성분에 영향을 줄 수 있는지를 평가하고자 3종 양파로부터 황 함유 성분인 thiosulfinate와, 총 환원물질(reducing substances)을 정량·비교하였다(Table 3). 선행연구들에 따르면, 양파의 항산화, 항콜레스테롤, 항고혈압, 항혈전 등의 효능은 양파 내 특이적으로 존재하는 황 함유성분인 알킬 또는 알케닐 티오설피네이트(S-alkyl 또는 S-alkenyl thiosulfinate)와 quercetin을 포함한 flavonoids로부터 기인한 것으로 보고되고 있다(6,8,9). 양파 생물 중량 당 allicin 함량으로 산출된 thiosulfinate함량은 S-2 > S-1 > control 순으로 유허 첨가 양파군들(1.24-1.38 µmol/g)은 무첨가 양파군(1.16 µmol/g)보다 최대 20% 정도 증가된 thiosulfinate를 함유하고 있었다($p < 0.05$). 이 결과는, 본 연구에서 설정된 유허 시비 조건은 양파 내 유허성분의 주목할 만한 변화까지는 유도할 수 없었으나, 토양 및 엽면시비(성장 중 잎에 추가로 제공하는 비료의 형태)로 공급된 식이유허의 일부가 식물체 내로 흡수되어 양파 내 대표적 유기 황 성분인 thiosulfinate의 함량에 영향을 줄 수 있음을 보여주고 있다. 실제로, 식물체의 무기질 함량 및 조성은 재배지역의 토양 조건에 의해 변화될 수 있음은 잘 알려져 있는 사실

Table 1. Chemical compositions of the onions depending on the different timing of sulfur application¹⁾

Samples	Moisture (%)	Ash (%)	Crude Fat (%)	Crude Protein (%)	Carbohydrate (%)	Soluble Solid ²⁾ (%)
Control	90.16±1.11 ^b	0.32±0.10 ^a	-0.15±0.28 ^a	0.93±0.14 ^a	9.71±1.18 ^a	1.79±0.06 ^b
S-1	93.34±1.03 ^a	0.26±0.04 ^a	-0.21±0.09 ^a	0.89±0.27 ^a	6.55±1.14 ^b	1.86±0.07 ^a
S-2	92.34±0.35 ^a	0.20±0.05 ^a	-0.74±0.05 ^a	0.17±0.01 ^b	7.53±0.45 ^b	1.76±0.02 ^b
<i>p</i> value	<0.001	NS	NS	<0.01	<0.001	<0.05
Onion, raw ³⁾	90.1	0.4	0.1	1.0	8.4	

¹⁾More than 10 onions per each group were pooled together and then chopped. The value was expressed as the average±standard deviation of triplicates analysis. ^{a,b}: Values with different superscripts in the same column are significantly different. NS means not significant.

²⁾Values were not reflected by the dilution with distilled water.

³⁾Values were those provided by 'Food Composition Table', National Rural Resources Development Institute (23).

Table 2. Mineral compositions of the onions depending on the different timing of sulfur application¹⁾

Samples	Quantity Elements (µg/g)			Minor Elements (µg/g)			
	Ca	Mg	P	Ca : P	Fe	Zn	Cu
Control	185.4±28.8 ^a	87.8±7.4 ^a	322.3±13.5 ^b	1 : 1.8	10.4±6.5 ^b	2.9±0.4 ^a	0.6±0.1 ^b
S-1	242.4±46.6 ^a	84.3±9.4 ^a	267.5±45.2 ^c	1 : 1.1	7.7±1.6 ^b	1.8±0.4 ^b	0.6±0.2 ^b
S-2	513.4±254.4 ^a	64.7±6.8 ^b	389.4±24.4 ^a	1 : 0.8	60.9±3.0 ^a	3.0±0.4 ^a	1.9±1.6 ^a
<i>p</i> value	NS	<0.05	<0.001		<0.05	<0.01	NS
Onion, raw ²⁾	160	100	300	1 : 1.9	4	4	0.4

¹⁾More than 10 onions per each group were pooled together and then chopped. The value was expressed as the average±standard deviation of 6 times analysis. ^{a,c}: Values with different superscripts in the same column are significantly different. NS means not significant.

²⁾Values were those provided by 'Food Composition Table', National Rural Resources Development Institute (23).

Table 3. Organic sulfur content and total reducing capacity of the onions depending on the different timing of sulfur application ¹⁾

Samples	Thiosulfinate (μmol allicin/g onion)	Total reducing capacity (μg quercetin/g onion)
Control	1.16 \pm 0.07 ^b	658.1 \pm 56.1 ^b
S-1	1.24 \pm 0.03 ^{ab}	652.1 \pm 128.8 ^b
S-2	1.38 \pm 0.10 ^a	1901.1 \pm 76.5 ^a
<i>p</i> value	<0.05	<0.05

¹⁾More than 10 onions per each group were pooled together, chopped, and then extracted with 60% ethanol. The value was expressed as the average \pm standard deviation of triplicates. ^{a-b}: Values with different superscripts in the same column are significantly different.

Table 4. Color characteristics of the onions depending on the different timing of sulfur application ¹⁾

Samples	L (lightness)	a (redness)	b (yellowness)
Control	81.69 \pm 0.99 ^a	-5.72 \pm 0.09 ^a	10.41 \pm 0.60 ^a
S-1	76.67 \pm 2.14 ^b	-6.06 \pm 0.46 ^b	11.32 \pm 1.43 ^a
S-2	75.55 \pm 3.08 ^b	-5.87 \pm 0.32 ^b	10.78 \pm 0.98 ^a
<i>p</i> value	<0.001	NS	NS

¹⁾The value was expressed as the average \pm standard deviation of 6 times analysis. ^{a-b}: Values with different superscripts in the same column are significantly different. NS means not significant.

이다(13). 또한, 대표적 다량 무기질인 황(S)의 경우, 무기 황은 섭취 시 거의 흡수되지 않고, 사람의 소장벽을 통해 흡수되는 황은 전적으로 유기물 상태로 흡수되어 체내에 이용되는 점을 고려할 때, 유황 시비로 인한 양파 내 유기 황 화합물의 증가는 주목할만한 특징이다. 한편, 파종 시 토양에 황을 처리한 S-2 양파는 총 환원물질이 황 무첨가(control) 양파 및 S-1 양파에 비해 2.9배까지 증가한 것으로 관찰되었다(Table 3). 양파 속 대표적 환원물질로는 quercetin, kaempferol을 포함한 flavonoids가 주를 이루며 이들이 양파의 항산화 기능성에 주로 기여하는 것으로 알려져 있다(6,8,9). 그러나, quercetin과 kaempferol이 그 구조 내부에 황을 함유하지 않았으므로, 토양에 유황을 처리하여 재배한 양파군에서 환원력이 현저히 증가한 것은, 유황 처리를 통해 quercetin, kaempferol 이외에, 황을 함유한 다른 항산화 성분이 양파 내부에 직접적으로 증가되었거나, 양파 자체의 성장이 촉진된

결과로 일부 해석할 수 있다. 실제로, 황 결핍 식물은 일반적으로 성장률이 감소하며 이때 뿌리보다는 줄기의 성장이 더 큰 영향을 받는 것으로 알려져 있다(24). 따라서, 줄기식물인 양파의 경우, 토양에 처리된 유황이 재배 기간 동안 양파 성장 촉진에 일부 기여한 것으로 보인다. 또한, 양파 수확 전 엽면시비를 2회 한 S-1 양파에 비해 파종 전부터 토양에 황을 처리한 S-2 양파에서 총 환원물질이 유의적으로 증가한 결과는, 황 성분이 식물체내로 반영되어 기능성을 발휘하기 위해서는 토양 내부로 충분히 mineralization되는 것이 중요함을 시사하고 있다.

향미 프로파일

알룸 속(*Allium* sp.)에 속하는 마늘, 양파, 파 등의 채소는 함황 화합물에 의해 특이한 냄새 성분을 생성하는 것으로 알려져 있다. 특히, 양파 냄새의 전구체인 S-propenyl-L-cystein sulfoxide, 양파의 세포가 파괴되어 생성되는 1-propenesulfenic acid와 hydrogen sulfide (H₂S)는 모두 그 구조 내부에 황을 함유하고 있으므로, 유황 처리 유무와 방법에 의해 양파의 향미 패턴이 변할 수 있는 지를 검토하였다. 시료 별 20초 동안의 screening 결과, 4-6초 구간에서 3종 양파의 향미 프로파일은 차이를 나타내었다(Fig. 2). 전자코에 의한 향미분석은 특정 향미성분의 많고 적음보다는 향미성분들의 다양성에 대한 정보를 주고 향미패턴이 동일한지에 관한 정보를 제공하게 되므로, 유황 처리 양파군들에서 관찰된 4-6초 구간에서의 넓은 peak 분포는 양파에 유황을 첨가함으로써 향미성분이 다양해졌음을 시사하였다.

색도

식품의 색깔은 제품의 품질뿐만 아니라 기호성을 향상시키는 요인이므로, 유황처리 유무 및 방법을 달리한 3종 양파의 색 특성을 측정하였다(Table 4). 그 결과, 적색도(a, redness)와 황색도(b, yellowness)는 3종 양파간에 유의적 차이가 없었으나, 명도(L, lightness)는 유황 무처리 양파는 81.69로 매우 밝았으며, 유황 처리 양파는 75.55-76.67로 상대적으로 덜 밝은 것으로 관찰되었다. 이러한 차이는 관능적으로 인지 가능한 차이였으며, 실제로 기호도에도 영향을 준 것으로 이후 확인되었다.

텍스처(Texture)

3종 양파의 환원 물질 정량 결과는(Table 3), 양파 파종 전 유황을 토양에 직접 처리함으로써 수확 전까지 충분한 시간을 주

Table 5. Textural characteristics of the onions depending on the different timing of sulfur application ¹⁾

Samples	Hardness (N)	Springiness (mm)	Cohesion Force Resilience	Cohesiveness	Gumminess (N)	Chewiness (N·mm)
Top-to-bottom direction						
Control	259.11 \pm 29.98 ^a	56.97 \pm 3.81 ^a	0.30 \pm 0.06 ^b	0.76 \pm 0.24 ^c	193.88 \pm 53.63 ^b	11448.87 \pm 3254.84 ^b
S-1	139.27 \pm 18.61 ^b	46.55 \pm 1.38 ^b	0.47 \pm 0.01 ^a	3.15 \pm 0.31 ^a	441.16 \pm 92.00 ^a	21782.54 \pm 4627.30 ^a
S-2	224.53 \pm 39.92 ^a	52.08 \pm 1.78 ^a	0.38 \pm 0.07 ^{ab}	1.35 \pm 0.21 ^b	297.91 \pm 12.26 ^b	15913.72 \pm 1485.46 ^{ab}
<i>p</i> value	<0.01	<0.01	<0.05	<0.001	<0.01	<0.05
Left-to-right direction						
Control	68.05 \pm 8.85 ^b	57.26 \pm 0.17 ^a	0.79 \pm 0.12 ^a	1.13 \pm 0.75 ^a	76.83 \pm 54.97 ^a	4608.68 \pm 3298.38 ^a
S-1	91.27 \pm 6.98 ^a	41.03 \pm 1.12 ^c	0.75 \pm 0.19 ^a	1.32 \pm 0.57 ^a	122.60 \pm 59.85 ^a	5517.83 \pm 2693.51 ^a
S-2	83.01 \pm 2.20 ^a	47.86 \pm 1.97 ^b	0.75 \pm 0.10 ^a	0.51 \pm 0.34 ^a	41.99 \pm 27.23 ^a	2100.00 \pm 1361.67 ^a
<i>p</i> value	<0.05	<0.001	NS	NS	NS	NS

¹⁾Texture profile of the onions were analyzed in two ways, i.e, onion sample was placed top-to-bottom direction (top) or left-to-right direction (bottom) on a specimen plate, then was compressed. The value was expressed as the average \pm standard deviation of 6 times analysis. ^{a-c}: Values with different superscripts in the same column are significantly different. NS means not significant.

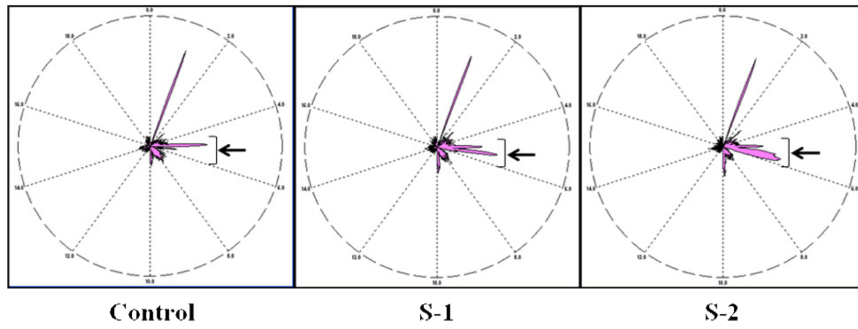


Fig. 2. Flavor profile of the onions measured by electronic nose.

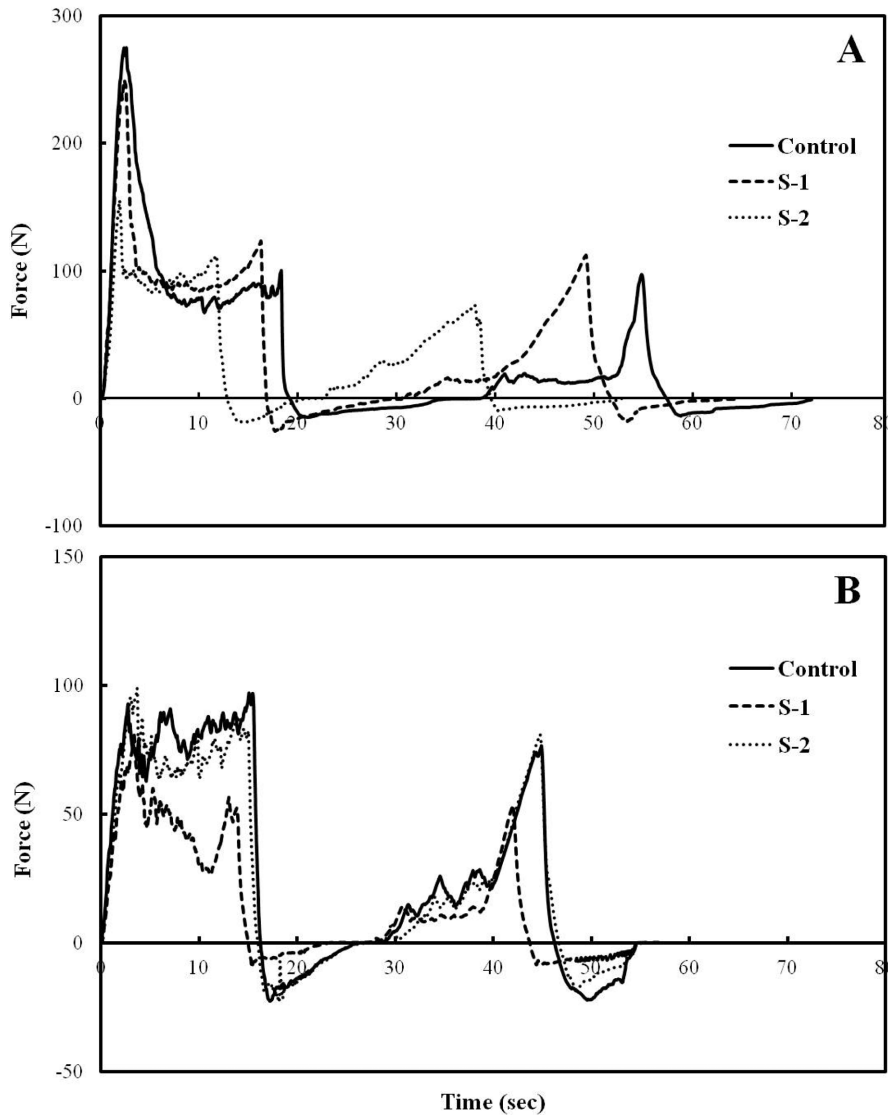


Fig. 3. Texture profile analysis (TPA) of the onions using two bite compression test. Onion sample was placed top-to-bottom direction (A) or left-to-right direction (B) on a specimen plate, then was compressed.

게 되면, 유향이 양파 내부로 mineralization될 가능성이 높아질 수 있음을 시사하였다. 따라서, 본 section에서는 황이 식물 세포벽을 구성하는 리그닌 형성을 촉진시킨다는 사실과(24), 식물체의 세포벽 조성은 해당 식물을 저작할 경우, 관능적으로 인지되는 경도에 관여할 수 있음을 고려하여, 유향 처리 유무 및 그 처리 시기에 따른 양파의 경도(hardness) 및 저작성(chewiness=

hardness×cohesiveness×springiness)을 평가하였다(Table 5, Fig. 3). 즉, 경도와 저작성을 측정함으로써 양파 자체의 단단한 정도, 삼키기 적당한 수준까지 양파를 씹을 때 들어가는 일의 양에 관한 정보를 얻어, 유향 처리에 따른 양파의 아삭거리는 정도에 대한 물리적 지표를 평가하고자 하였다. 그 결과, 3종 양파는 압착 (compression) 방향에 따라 값의 차이가 크게 나타나 일관된 결

Table 6. Sensory characteristics of the of the onions depending on the different timing of sulfur application¹⁾

Samples	Color	Hot flavor	Spicy hot taste	Sweetness	Hardness	Overall acceptability
Sensory characteristics						
Control	2.8±0.9 ^a	3.2±1.1 ^a	3.6±1.3 ^a	3.1±1.1 ^b	3.9±0.8 ^a	
S-1	3.4±0.8 ^a	3.0±0.9 ^a	3.1±1.1 ^a	3.4±0.9 ^a	3.8±0.8 ^a	
S-2	3.4±1.0 ^a	3.1±1.0 ^a	3.4±1.1 ^a	3.4±1.2 ^a	4.0±0.5 ^a	
<i>p</i> value	NS	NS	NS	NS	NS	
Preferences to sensory characteristics						
Control	2.9±1.0 ^b	3.1±0.9 ^a	2.9±1.0 ^a	3.0±1.0 ^b	3.8±1.0 ^a	3.1±0.9 ^a
S-1	3.6±0.9 ^a	3.2±1.0 ^a	3.1±1.0 ^a	3.5±1.0 ^a	3.8±0.8 ^a	3.2±1.0 ^a
S-2	3.5±0.7 ^a	3.4±1.0 ^a	3.2±1.1 ^a	3.6±1.1 ^a	3.7±0.8 ^a	3.5±1.1 ^a
<i>p</i> value	<0.01	NS	NS	<0.05	NS	NS

¹⁾The value was expressed as the average±standard deviation.

^{a,b}Means with different superscripts in the same column are significantly different. NS means not significant. Sensory characteristics of the onions and preferences to them were assessed using the scoring difference test of 5-point numerical scale, i.e., ranging from 1 (when the characteristic was weak) to 5 (when it was strong), and 1 (dislike extremely) to 5 (like extremely). The definitions for the sensory characteristics were referred to 'Standard Korean Language Dictionary' published by 'The National Institute of the Korean Language' (22).

과를 얻을 수 없었다. 그러나, 양파를 상하로 압착한 경우 S-1 양파는 무처리군에 비해 경도(hardness)는 낮았으나 양파 내부의 세포들 간 응집성(cohesiveness)은 유의적으로 높게 나타나 최종적으로 가장 높은 저작성을 나타내었다. 반면 S-2 양파는 무첨가 양파에 비해 경도는 유의적으로 차이를 나타내지 않았으나 응집성은 유의적으로 높게 나타나 최종적으로 저작성 값이 높게 산출되었다. 그러나, 유황 첨가 양파에서 관찰된 높은 저작성 수치는 관능적으로 인지될 정도의 차이는 아닌 것으로 확인되었다.

유황처리 방법이 양파의 관능적 특성에 미친 영향

3종 양파의 화학적 물리적 특성을 분석한 앞의 결과들은(Table 1-5, Fig. 2,3) 유황 처리 유무 및 처리방법에 따라 양파의 관능적 특성이 변화될 수 있음을 시사하였다. 즉, 수용성 고형분 함량은 양파의 단맛, thiosulfinate 함량은 양파의 매운 맛과 매운 향, 색도는 양파의 색, 텍스처 분석은 양파의 아삭함과 관련된 인자들이며, 유황 처리 유무 및 처리 방법에 따라 유의적 차이를 나타내었으므로, 본 section에서는 이들 3종 양파의 관능적 특성과 각 특성에 대한 기호도 및 종합적 기호도를 평가하였다. 5점 척도법으로 평가한 양파의 각 관능 특성의 평점범위는, 색(color) 2.8-3.4, 매운 향(hot flavor) 3.0-3.2, 매운 맛(spicy hot taste) 3.1-3.6, 단맛(sweetness) 3.1-3.4, 아삭함(hardness) 3.8-4.0의 분포를 나타내었다(Table 6). 색의 경우, 유황을 처리하여 재배한 S-1과 S-2 양파가 약간 등색에 가까운 것으로 평가됨으로써 흰색에 가까운 대조군 양파와 차이를 나타내었고, 이는 유황 첨가로 대조군에 비해 낮은 L(명도)값을 나타낸 기계적 평가 결과와 일치하였다(Table 4). 특히, 유황 처리를 통해 얻어진 양파의 이러한 색 특성 변화는 기호도를 유의적으로 증가시킨 것으로 나타났다(*p*<0.01). 양파의 대표적 유기 황 화합물인 thiosulfinate 는 매운 맛과 향의 전구체로, 양파에 유황을 첨가함으로써 그리고 파종 전 토양에 유황을 직접 처리함으로써 그 값이 유의적으로 증가하였다(Table 3). 그러나, 매운 맛과 향의 관능적 특성을 평가한 결과, 3종 양파는 매운 맛과 향 모두에서 서로 유의적 차이가 없는 것으로 평가되었다. 이는, 증가된 thiosulfinate 수준이 관능적으로 유의적 차이를 유발할 수준은 아니었음을 시사하였다. 유황을 첨가한 S-1과 S-2 양파는 무첨가 양파에 비해 단맛이 유의적 수준은 아니나 다소 높은 것으로 평가되었고, 이러한 차이로 이 양파들의 단맛 특성에 대한 기호도가 대조군에 비해 유의적으로 높게 나타

났다(*p*<0.05). 그러나, 단맛의 관능 평가 결과는 화학적 지표로 측정된 수용성 고형분 함량과 관련성이 약한 것으로 나타났다(Table 1). 이는, 본 실험에서 측정된 수용성 고형분 함량은 시료 속 가용성 입자들에 의한 굴절률을 바탕으로 하여 산출되었기 때문으로 해석할 수 있다. 즉, 이 값은 실제로 양파 시료 내부의 당 함량뿐 아니라 가용성 염류를 포함한 다양한 수용성 물질들을 포함하기 때문이다. 한편, 유황 첨가 양파에서 관찰된 상대적으로 높은 저작성은(Table 5) 양파의 아삭함을 평가한 관능검사에서는 그 차이를 확인할 수 없었다. 전반적으로, 유황을 첨가하여 재배한 양파는 무첨가 양파에 비해 색과 단맛 특성에서 그 기호도를 증가시켰고, 그 외의 관능적 특성 및 종합적 기호도에서는 서로간에 유의적 차이를 나타내지 않았다. 이 결과는, 유황의 기능성이 양파의 관능적 특성을 일부 개선시키거나 혹은 부정적 영향 없이 양파에 부가될 수 있음을 시사하였다.

요 약

국내 토양층에 절대적으로 부족한 원소인 황을 양파 재배 중 처리함으로써 유황 처리가 식품 소재로서의 양파의 품질특성에 미친 영향을 평가하고자 하였다. 본 연구에서는 25,000 m² 농지를 세 구역으로 구분하여, 식이유황 MSM을 수확 2달 전 1달 간격으로 2회 처리한 군(S-1), 파종 시 토양에 직접 1회 처리하고 이후 수확 2달 전에 1회로 추가 처리한 군(S-2), MSM 유황을 처리하지 않고 재배한 양파를 대조군으로 하였다. 수확 이후 3종 양파의 품질 특성은 화학적 조성, 물리적 특성, 관능적 특성 분석으로 구분하여 비교·평가하였다.

3종 양파 모두 유황의 처리 유무 및 시기에 관계없이 칼슘(Ca)과 철(Fe) 함량이 높게 나타났고, 이는 양파의 무기질 조성에 유황의 일시적 처리 유무보다는 지역 토양 자체의 특성이 더 크게 작용했음을 시사하였다. 한편, 양파의 대표적 유기 황 화합물인 thiosulfinate와 총 환원력은 파종 전 유황을 토양에 직접 처리한 S-2군에서 대조군에 비해 각각 20%와 2.9배 높은 값을 나타냄으로써 유황 처리 유무 및 처리 방법에 따른 차이를 확인할 수 있었다. 그러나, 3종 양파 모두 매운 맛과 향은 유의적으로 다르지 않아 화학적 조성의 차이가 관능적으로 인지 가능한 수준은 아닌 것으로 해석되었다. S-1, S-2양파는 대조군에 비해 낮은 명도로 그 색이 등색에 가까웠으며, 유황 처리로 양파의 색 특성에

대한 기호도를 향상시켰다. 양파의 아삭거리는 정도에 대한 물리적 지표로 선정·평가된 경도와 저작성은 양파의 압착 방향에 따라 값의 차이가 크게 나타났으나, 전반적으로는 S-1, S-2 양파에서 대조군 보다 높은 저작성 값을 나타내었다. 그러나, 이 수준의 차이는 아삭함의 관능적 특성 및 그 기호도에는 유의적 차이를 유발하지 않았다. S-1, S-2 양파는 대조군과 비교 시 종합적 기호도에서 서로 다르지는 않았으나, 양파의 색과 단맛에 대한 기호도를 상승시켰다. 특히, S-2 양파에서 관찰된 thiosulfinate 증가와 총 환원력 증가 결과는, 토양층이 적정 유향을 함유할 수 있도록 지속적 유향 처리가 이루어진다면 양파의 기능성과 관능성이 개선될 수 있음을 시사하였다.

문 헌

1. The Korean Nutrition Society. Dietary Reference Intakes for Koreans. Seoul, Korea. pp. 199-311 (2005)
2. Choi J, O SY, Lee D, Tak S, Hong M, Park SM, Cho B, Park M. Characteristics of diet patterns in metabolically obese, normal weight adults (Korean National Health and Nutrition Examination Survey III, 2005). *Nutr. Metab. Cardiovas.* 22: 567-574 (2012)
3. World Health Organization. Global strategy on diet, physical activity and health. Fifty-seventh World Health Assembly. Provisional agenda item 12.6 (2004)
4. Boeing H, Bechthold A, Bub A, Ellinger S, Haller D, Kroke A, Leschik-Bonnet E, Muller MJ, Oberritter H, Schulze M, Stehle P, Watzl B. Vegetables and fruit in the prevention of chronic diseases. *Eur. J. Nutr.* 51: 637-663 (2012)
5. Flight I, Clifton P. Cereal grains and legumes in the prevention of coronary heart disease and stroke: a review of the literature. *Eur. J. Clin. Nutr.* 60: 1145-1159 (2006)
6. Park H, Oyzunzul G, Suh SW, Park YS, Jang JK, Chung MS, Choi YJ, Shim KS. Investigation of functional ingredients from onion according to the extraction methods, heat treatment, and storage period. *Food Eng. Prog.* 13: 92-98 (2009)
7. Chung DO, Park YK. The study of softdrinks production and functional food in onions. *Korean J. Soc. Food Cookery Sci.* 15: 158-162 (1999)
8. Ra KS, Suh HJ, Chung SH, Son JY. Antioxidant activity of solvent extract from onion skin. *Korean J. Food Sci. Technol.* 29: 595-600 (1997)
9. Yang YR, Park YK. Black onions manufactured via the browning reaction and antioxidant effects of their water extracts. *Korean J. Food Preserv.* 18: 310-318 (2011)
10. Shim SM, Yi HL, Kim YS. Bioaccessibility of flavonoids and total phenolic content in onions and its relationship with antioxidant activity. *Int. J. Food Sci. Nutr.* 62: 835-838 (2011)
11. Hovius MHY, Goldman IL. Flavor precursor [*S*-alk(en)yl-L-cysteine sulfoxide] concentration and composition in onion plant organs and predictability of field white rot reaction of onions. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 130: 196-202 (2005)
12. Surh J, Kim JO, Kim MH, Lee JC, Lee BY, Kim MY, Yang HW, Yun S, Jeong HR. Nutritional properties, as food resources for menu development, of cubed snailfish, shaggy sea raven, and two kinds of wild vegetables that are staple products in Samcheok. *Korean J. Food Cookery Sci.* 25: 690-702 (2009)
13. Martinez-Ballesta MC, Dominguez-Perles R, Moreno DA, Muries B, Alcaraz-Lopez C, Bastias E, Garcia-Viguera C, Carvajal M. Minerals in plant food: Effect of agricultural practices and role in human health. A review. *Agron. Sustain. Dev.* 30: 295-309 (2010)
14. Kim KA, Rho CW, Choi KR, Hwang HJ, Choi HS. Quinone reductase inducer from radish leaf cultivated in the soil containing sulfur. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 33: 946-950 (2004)
15. Pearson TW, Dawson HJ, Lackey HB. Natural occurring levels of dimethyl sulfoxide in selected fruits, vegetables, grains and beverages. *J. Agr. Food Chem.* 29: 1081-1091 (1981)
16. Magnuson BA, Appleton J, Ames GB. Pharmacokinetics and distribution of [³⁵S] methylsulfonylmethane following oral administration to rats. *J. Agr. Food Chem.* 55: 1033-1038 (2007)
17. Otsuki S, Qian W, Ishihara A, Kabe T. Elucidation of dimethylsulfone metabolism in rat using a ³⁵S radioisotope tracer method. *Nutr. Res.* 22: 313-322 (2002)
18. Lee JI, Min HK, Lee JW, Jeong JD, Ha YJ, Kwack SC, Park JS. Changes in the quality of loin from pigs supplemented with dietary methyl sulfonyl methane during cold storage. *Korean J. Food Sci. Ani. Resour.* 29: 229-237 (2009)
19. AOAC. Official Methods of Analysis of the A OAC. Method 984.13. The Association of Official Analytical Chemists. Washington, DC, USA (1990)
20. Singleton VL, Orthofer R, Lamuela-Raventós RM. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Method Enzymol.* 299: 152-178 (1999)
21. Han J, Lawson L, Han G, Han PA. A spectrophotometric method for quantitative determination of allicin and total garlic thiosulfinate. *Anal. Biochem.* 225: 157-160 (1995)
22. The National Institute of the Korean Language. Standard Korean Language Dictionary. Available from: <http://www.korean.go.kr>. Accessed Jul. 14, 2010.
23. National Rural Resources Development Institute RDA. Food Composition Table, Seventh Revision. Hyoil Books, Seoul, Korea. pp. 100-325 (2007)
24. Gallejones P, Castellon A, del Prado A, Unamunzaga O, Aizpuru A. Nitrogen and sulphur fertilization effect on leaching losses, nutrient balance and plant quality in a wheat-rapeseed rotation under a humid Mediterranean climate. *Nutr. Cycl. Agroecosys.* 93: 337-355 (2012)