

뽕나무 유전자원의 rutin 함량 변이(II)

김현복^{1*} · 김선림² · 이선호¹ · 성규병¹ · 석영식³ · 김용순¹
주완택¹ · 김성국¹ · 정다은¹ · 조유영¹ · 권해용¹ · 이광길¹
¹국립농업과학원, ²국립식량과학원, ³강원도 농산물원종장

Quantitative analysis of rutin with mulberry leaves (II)

Hyun-bok Kim^{1*}, Sun-Lim Kim², Sun-Ho Lee¹, Gyoo Byung Sung¹, Young-Seek Seok³, Yong Soon Kim¹,
Wan-Taek Ju¹, Sung-Kuk Kim¹, Da Eun Chung¹, You-Young Jo¹, HaeYong Kweon¹ and Kwang-Gill Lee¹

¹National Academy of Agricultural Science, RDA, Wanju 565-851, Korea

²National Institute of Crop Science, RDA, Suwon 441-857, Korea

³Gangwon-do Agricultural Product Registered Seed Station, Chuncheon 200-150, Korea

(Received October 01, 2014, Accepted October 20, 2014)

ABSTRACT

We analyzed rutin content using mulberry genetic resources. They were grown under the same environment and conditions. Mulberry leaves were collected and then freeze-dried and powdered for rutin test. As a result, mean content of mulberry strains was $0.38 \pm 0.17\%$, and the coefficient of variation (CV) was 45.7%. The variation was greatly severe. Among the tested strains, 'Jangloe' was showed the highest content of 0.97%, whereas 'Sungsu 3' was showed the lowest content of 0.01% respectively. Finally we selected rutin high-containing 6 strains. They are as follows. 'Jangloe', 'Pumbo 6', 'Youjin', 'Kaeryangjeonjeon', 'Baekhak', and 'Pumbo 32' which are more than twice of the overall average content.

Key words : Mulberry, Rutin, Genetic resource

서 론

현재 우리나라 뽕나무 유전자원은 620 계통(품종)인 것으로 보고되고 있으며, 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.

국립농업과학원에서는 이러한 뽕나무 유전자원의 데이터베이스 정보 구축을 위해 기초적인 형태 및 재배학적 특성 조사는 물론 유전적 특성도 분석, 평가하고 있다. 그러나 국가차원에서 관리되는 유전자원에 대한 일반인의 접촉기회가 제한됨에 따라 관심이 부족하고 활용도 또한 저조한 실정이다. 따라서 이를 해결하기 위해 뽕나무 유전자원의 기능성물질 함량에 대한 정보를 추가, 제공하여 유전자원에 대한 가치와 활용도를 높이고자 하였다.

뽕잎의 대표적인 생리활성물질로 rutin, GABA, 1-DNJ 등이 있는데, 이 중 rutin($C_{27}H_{20}O_{16}$)은 식물계에 널리 분포되어 있는 flavonoid의 한 화합물로서, 비타민 P 복합체인 동시에 quercetin의 배당체(quercetin-3-O-rutinoside)로서 기본적으로 수용성이나 alcohol, acetone, alkaline 용액에 잘 녹고, chloroform, ether 등에는 용해되지 않는 특징이 있다(Kim et al. 1998, Park 2003).

또한 rutin은 모세혈관 강화작용과 모세혈관 수축작용을 나타내어 순환계질환 치료제, 고혈압 치료제 등의 주성분으로 사용됨(Markham 1989, Maeng et al. 1990, Choi et al. 1994)에 따라 민간에서는 이 성분을 포함하고 있는 천연물 및 기능성식품에 대한 관심이 높아지고 있다(Kim et al. 1994).

Rutin의 정확한 화합물명은 2-(phenyl)-3,5,7,3',4'-pentahydroxy benzopyrone이며, 메틸에서 최초로 분리되었다. 메틸은 일반인에게 가장 잘 알려진 rutin 함유 대표식물로

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

서 다양한 음식재료 및 생활용품으로 이용되고 있으며, 이외에 회화나무, 태산목, 팬지, 마로니에 꽃, 담배, 플라타너스 잎, 대황, 차나무 잎, 감나무 잎, 강낭콩 잎 등에도 많이 함유되어 있는 것으로 보고되고 있다.

뽕나무의 경우 뽕잎(Yun and Lee 1995)과 오디(Lee et al. 1998, Kim and Kim 2004)에 다량의 rutin이 함유되어 있음이 보고되었으나, 극히 제한적인 계통을 대상으로 분석한 결과이다. 따라서 국립농업과학원에서는 보유 유전자원 전체에 대해 rutin 함량을 분석하고자 하였다. 이에 우선 우리나라 뽕나무 유전자원 중 재배환경 및 재배법이 동일한 338 계통(품종)을 대상으로 rutin 함량 분석을 실시하였다. 그 중 219계통(품종)에 대한 rutin 함량분석 결과를 한국잡사근중학회지(제 52권 제 1호)에 보고하였으며, 이번에 나머지 119계통에 대한 rutin의 함량을 분석하였기에 그 결과를 보고하는 바이다.

재료 및 방법

1. 공시계통

본 시험에 공시한 계통은 국내외에서 수집하여 보존 중인 119 계통으로서 재배환경 및 재배법이 동일하다. 즉 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, rutin 분석을 위해 동결건조(-85°C , 48hr, Ilshin Lab Co., Ltd)하여 분말로 제조하였다.

2. 시료 전처리

냉동건조한 뽕잎 분말 시료 각 1 g에 MeOH 20 mL을 가하여 80°C 에서 1시간 동안 환류추출하였다. 이 추출액을 4°C 에서 냉각시킨 후 1차 여과하였다. 여기에 MeOH을 가하여 50 mL이 되도록 정용하였다. 상등액을 취하여 $0.45\ \mu\text{m}$ Millipore filter 및 Sep-Pak Plus C_{18} 으로 여과하였다.

3. Rutin 정량 분석

뽕잎의 rutin 함량 분석은 Waters Nova-Pak C_{18} column ($300 \times 3.9\ \text{mm}$)을 사용하여 HPLC로 분석하였다. 검출기는 Waters 486 Tunable Absorbance Detector를 사용하였으며, 파장은 355 nm에서 실시하였다. 이동상으로는 2.5% acetic acid : methanol : acetonitrile = 70 : 10 : 20(V : V : V)의 혼합용매를 사용하였으며, flow rate는 0.6 mL/min이 되도록 하

Table 1. Instrument and analysis conditions for rutin in mulberry fruit

Classification	Instrument and analysis conditions
Instruments	Waters 486 Tunable Absorbance Detector
Wave length	355 nm
Column	Waters Nova-Pak C_{18} ($300 \times 3.9\ \text{mm}$)
Mobile phase	2.5% acetic acid : methanol : acetonitrile = 70 : 10 : 20(V : V : V)
Flow rate	0.6 mL/min

였다. HPLC 분석용 시료의 주입량은 20 μL 이 되도록 하였으며, 표준품은 Sigma 社の 것을 사용하였다(표 1).

결과 및 고찰

1. 뽕나무 유전자원의 계통별 뽕잎의 rutin 함량

국내외에서 수집하여 국립농업과학원 유전자원포(수원시 소재)에서 보존 중인 뽕나무 119 계통에 대한 뽕잎의 rutin 평균 함량은 전보(Kim et al. 2014)의 rutin 평균함량 ($0.52 \pm 0.25\%$)보다 낮은 $0.38 \pm 0.17\%$ 이었으며, 변이계수(CV)는 45.7%로 계통간 변이가 매우 심하게 나타났다. 그러나 Yun and Lee(1995)의 0.29% 보다는 높았다.

뽕나무 유전자원 119 계통 중 ‘장뢰’가 0.97%로 rutin 함량이 가장 높았으며, ‘성수3’이 0.01%로 가장 낮았다(그림 1, 표 2). 전체적으로 해외에서 수집한 자원과 품보 계통들은 전반적으로 rutin의 함량이 낮았으며, 최근 오디 생산용으로 육성중인 ‘무자대십’도 0.18%의 낮은 값을 나타냈다.

Yun and Lee(1995)는 뽕잎의 rutin 함량이 다른 식용식물에 비하여 많은 편이라고 하였다. 또한 flavonol 함량은 생육초기의 잎일수록 많았으며, 특히 rutin의 경우 이와 같은 경향이 뚜렷하여 은행잎과 같은 양상을 보인 반면, 생육이 진전될수록 rutin 함량이 증가한 메밀의 결과와는 반대된다고 하였다.

한편 Park(2003)은 식물의 건조방법 및 저장방법이 식물체의 rutin 함량에 영향을 미친다고 지적하였다. 즉 비교적 저온에서 장시간 건조할 때 rutin의 손실이 크며, 반대로 비교적 고온에서 단시간 건조하면 손실이 적어 완전히 건조된 식물체는 6개월 이상 저장하여도 rutin 함량에는 변화가 없다고 하였다. 또한 $2 \sim 8^{\circ}\text{C}$ 에서 저장하면 rutin 함량에 변화가 없으나 -36°C 에서는 1주일 저장하여도 rutin 함량이 감소된다고 하였다. 이와 관련하여 본 시험의 공시계통들은 냉동건조 하기 전 채취한 뽕잎을 -70°C 보관하였으므로 rutin의 함량에 영향을 미쳤을 가능성이 있다. 따라서 추후 수확 후 보관방법에 따른 rutin 함량

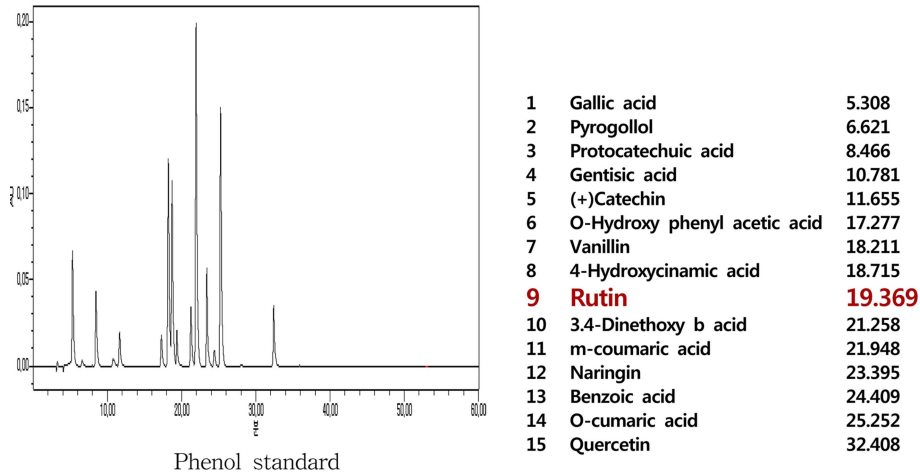


Fig. 1. Rutin analysis by HPLC in mulberry leaves.

Table 2. Rutin content of mulberry leaf according to strain

No.	Strain	Content (%)	No.	Strain	Content (%)
1	Sangjusipyung	0.34	51	Sangjeongab	0.62
2	Cheongmoksipyung	0.33	52	Daeyeopgomok	0.35
3	Jeokmoksipyung	0.32	53	Jangjam B	0.37
4	Bupyung	0.60	54	Jwoggapchan	0.32
5	Damageum	0.58	55	Samdeuk	0.40
6	Cheongsiplang	0.35	56	Dahojosaeng	0.38
7	Nopal	0.37	57	Buknong 10	0.25
8	Daedosang	0.31	58	Baekkwang 6	0.49
9	Geumja	0.48	59	Baekwun 3	0.51
10	Chujeon	0.36	60	Haenammasan	0.64
11	Baeksi	0.14	61	Jeobsang	0.51
12	Punglanga	0.44	62	Buksang	0.29
13	Gwoisang(Yeonsuwon)	0.26	63	Sujungsang	0.38
14	Gogeunok	0.08	64	Siyou	0.34
15	Nakjeong	0.04	65	Gillim	0.40
16	Gumunyoung	0.30	66	Amsubomburi	0.63
17	Sangeum	0.22	67	Mujaadaesip	0.18
18	Sungsu 3	0.01	68	Ipummok	0.43
19	Yeupgubun	0.39	69	Daeyaoksang	0.42
20	Daebojo	0.22	70	Cheongagokyo	0.47
21	Gukwha	0.69	71	Jeokdaho	0.55
22	Budo(Chungbuk)	0.35	72	Sochangsang	0.49
23	Geunsookgojo	0.52	73	Buru	0.15
24	Chukho	0.57	74	Morecchi	0.14
25	Geumhaeseoban	0.25	75	Benggal	0.20
26	Hwangyeopsi	0.54	76	Maiseru	0.32
27	Hwangeum	0.36	77	Miyourieshowbachiyong	0.27
28	Heukchunsim	0.61	78	Miyourieros	0.44
29	Heukmok(Chungbuk)	0.02	79	Miyouriemorecchi	0.43

Table 2. Continued

No.	Strain	Content (%)	No.	Strain	Content (%)
30	Heukmokbeon	0.41	80	Miyourieru	0.35
31	Heukchunsi	0.63	81	Pumbo 2	0.26
32	Heungguksng	0.50	82	Pumbo 1	0.23
33	Youjin	0.83	83	Ajuguk 45	0.21
34	Jangsa	0.36	84	Rima	0.35
35	Samdocheong	0.45	85	Je531geung	0.38
36	Kaeryangganeon	0.42	86	Pakistan yasang	0.30
37	Kaeryangjeonjeon	0.80	87	Turkey yasang	0.28
38	Kaeryangchujeon	0.48	88	Eugukyasang	0.24
39	Kaeryangdaehwa	0.31	89	Pumbo 13	0.43
40	Kaeryangsabangso	0.33	90	Pumbo 12	0.27
41	Sasang	0.19	91	Pumbo 10	0.36
42	Sabang	0.37	92	Pumbo 8	0.37
43	Dahochuk	0.52	93	Pumbo 7	0.52
44	Baekhak	0.75	94	Pumbo 6	0.95
45	Jwadogeum	0.38	95	Pumbo 5	0.33
46	Taekwang	0.02	96	Pumbo 4	0.44
47	Jangloe	0.97	97	Pumbo 22	0.22
48	Palbang	0.35	98	Pumbo 21	0.15
49	Daeyeopseoban	0.42	99	Pumbo 19	0.41
50	Mansaengbaekpisang	0.44	100	Pumbo 20	0.34

Table 2. Continued

No.	Strain	Content (%)	No.	Strain	Content (%)
101	Pumbo 17	0.30	111	Pumbo 24	0.47
102	Pumbo 16	0.16	112	Pumbo 23	0.31
103	Pumbo 14	0.42	113	Turkey D	0.29
104	Pumbo 15	0.55	114	Turkey C	0.23
105	Pumbo 30	0.23	115	Turkey A	0.37
106	Pumbo 29	0.31	116	Jeonbokbaesandeung	0.32
107	Pumbo 28	0.29	117	Pumbo 34	0.41
108	Pumbo 27	0.55	118	Pumbo 33	0.12
109	Pumbo 26	0.26	119	Pumbo 32	0.70
110	Pumbo 25	0.55	Mean ± STD		0.38 ± 0.17

변이에 대해서도 검토해야 할 것이다.

최근 콜레스테롤 저하, 항당뇨, 고혈압 억제, 동맥경화 억제, 중풍예방 등 뽕잎의 다양한 효능이 보고됨에 따라 뽕잎을 소재로 하는 가공식품 개발 및 어류나 가축사료로의 적용을 위한 농업적 이용 방법 등이 연구되고 있는데, 기능성물질 함량에 대한 잠상유전자원의 데이터베이스 정보를 활용한다면 연구 효율과 성과를 동시에 높일 수 있을 것으로 기대한다.

2. Rutin 고함유 뽕나무 계통 선발

반면, 공시계통 중 ‘품보6’, ‘유진’, ‘개량전전’은 각각 0.95%, 0.83%, 0.80%로서 전체 평균 함량의 2배 이상 되는 함량을 나타냈으며, ‘백학’과 ‘품보32’ 계통은 각각 0.75%, 0.70%로 누에사육용 뽕 품종 중 가장 높은 함량을 나타낸 ‘청을뽕’(0.69%)보다 높았다(표 3). 따라서 ‘장뢰’를 포함한 이들 6계통은 뽕 육종이나 식의약용 소재로 개발코자 할 경우 우선 고려할 만한 대상으로 판단

Table 3. Selected strains for high rutin content of mulberry leaf

No.	Strain	Content (%)	No.	Strain	Content (%)
1	Jangloe	0.97	4	Kaeryangjeonjeon	0.80
2	Pumbo 6	0.95	5	Baekhak	0.75
3	Youjin	0.83	6	Pumbo 32	0.70

되며, 재배방법 및 전처리 방법 등에 의해 rutin 함량을 증대시킨다면 더욱 그 이용이 기대되는 계통으로 여겨진다.

한편 오디 중의 rutin 함량을 분석한 결과도 있는데, Lee et al. (1998)은 오디 중의 flavonol glycoside 함량을 분석한 결과, rutin 성분이 가장 많이 함유되어 있으며, 특히 ‘국상 20호’ 오디는 3.36 mg/g DW로서 팥잎보다도 높았다고 보고하였으며, Kim and Kim (2004)은 공시한 50 계통의 오디 전체 평균함량은 $0.14 \pm 0.050\%$ DW로 메밀의 평균 함량(0.12% DW)과 비슷한 수준이라고 하였다. 본 시험결과와 종합적으로 비교하면 팥잎에 비해 오디의 rutin 평균 함량이 낮음을 알 수 있다. 그러나 공시계통의 수가 적고, 비교기준인 팥잎 자체의 rutin 함량도 높지 않았기 때문인 것으로 판단되며, 따라서 금후 추가연구를 통해 검토되어야 할 것이다.

작물의 생리활성물질에 대해 계통이나 품종에 따른 정량적 특성 외에 가공기술이나 재배적인 방법에 의해 rutin 함량을 증가시키는 방법에 대한 보고도 있다. 팥잎의 경우 Bae et al. (2011)은 10시간 자연발효한 팥잎이 발효하지 않은 팥잎(차)에 비해 2.5배 함량이 높았다고 하였다. 한편 메밀을 대상으로 온도, 일장, 광질처리와 규산질비료 시비 등 재배적인 방법으로 rutin 함량을 증가시키는 방법들이 보고되고 있으므로 금후 팥나무의 재배에도 적용해 볼 필요가 있을 것이다.

적 요

팥잎의 기능성 성분이나 효능에 대한 소비자들의 관심이 높아짐에 따라 이에 대한 기초정보를 구축할 필요성이 제기되었다. 따라서 우리나라 620 계통(품종)의 팥나무 유전자원 중 재배환경 및 재배법이 동일한 119 계통의 춘기 5개엽기 팥잎을 채취한 후 동결건조 및 분말로 제조하여 팥나무 유전자원의 계통별 rutin 함량을 분석하였다. 그 결과, 119 계통의 팥잎 rutin 평균 함량은 $0.38 \pm 0.17\%$ 이었으며, 변이계수(CV)는 45.7%로 계통간 변이가 매우 심하게 나타났다. 공시계통 중 ‘장뢰’의 rutin 함량이 0.97%로 가장 높았으며, ‘성수3’은 0.01%로 가장

낮았다. 팥나무 유전자원 중 ‘품보6’, ‘유진’, ‘개량전전’은 각각 0.95%, 0.83%, 0.80%로서 전체 평균 함량의 2배 이상 되는 함량을 나타냈으며, ‘백학’과 ‘품보32’ 계통은 각각 0.75%, 0.70%로 누에사육용 팥 품종 중 가장 높은 함량을 나타낸 ‘청을팥’(0.69%)보다 높았다. 따라서 이들 6 계통은 팥 육종이나 식의약용 소재로 개발코자 할 경우 우선 고려할 만한 대상으로 판단되며, 자연발효 등의 기법에 의해 rutin 함량을 증대시킨다면 더욱 그 이용이 기대되는 계통으로 여겨진다.

감사의 글

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

References

- Bae HA, Baek H, Park HI, Lim JD, Yu CY (2011) Rutin and GABA contents of extracts and beverage of fermented leaves in *Morus alba* L. Korean Society of Medicinal Crops for 2011 Spring conference. pp. 254~255.
- Choi YS, Sur JH, Kim CH, Kim YM, Ham SS, Lee SY (1994) Effects of dietary buckwheat vegetables on lipid metabolism in rats. J Korean Soc Food Nutr **23**(2), 212~218.
- Kim HB, Kim SL (2004) Quantification and varietal variation of rutin in mulberry fruits. Korean J Seric Sci **46**(1), 1~5.
- Kim HB, Kim SL, Seok YS, Lee SH, Jo YY, Kweon HY, Lee KG (2014) Quantitative analysis of rutin with mulberry leaves(I). J Seric Entomol Sci **52**(1), 52~58.
- Kim JS, Park YJ, Yang MH, Shim JW (1994) Variation of rutin content in seed and plant of buckwheat germplasms (*Fagopyrum esculentum* Moench). Korean J Breed **26**(4), 384~388.
- Kim SL, Son YK, Hwang JJ, Kim SK, Hur HS (1998) Development of buckwheat sprout as a functional vegetable. RDA J Crop Sci **40**(2), 191~199.
- Lee HW, Shin DH, Lee WC (1998) Morphological and chemical characteristics of mulberry(*Morus*) fruit with varieties. Korean J Seric Sci **40**(1), 1~7.
- Maeng YS, Park HY, Kwon TB (1990) Analysis of rutin contents in buckwheat and buckwheat foods. KOREAN J FOOD SCI TECHNOL **22**(7), 732~737.
- Markham KR (1989) Flavones, flavonols and their glycosides; In methods in plant biochemistry Vol. 1 (Plant phenolics). Harborne J.B. (eds), pp. 197~235, Academic press, London.
- Park CH (2003) This is makguksu with buckwheat. Unveil a secret of the rutin. pp. 24~27, Jinsol press, Seoul.
- Yun SJ, Lee WC (1995) Studies on the utilization of pharmacologically active constituents in mulberry 1. varietal and seasonal variations of flavonol glycoside content in leaves. RDA J Agri Sci **37**, 201~205.