

브로콜리의 조리가공에 따른 sulforaphane 함량

김미리* · 이근중 · 김혜영
충남대학교 식품영양학과

Effect of Processing on the Content of Sulforaphane of Broccoli

Mee Ree Kim*, Kun Jong Lee and Hey-Young Kim
Department of Food and Nutrition, Chungnam National University

Abstract

Fresh broccoli is known to have the highest content of sulforaphane (S-methylsulfinylbutyl isothiocyanate) among all vegetables. Since isothiocyanates are formed from myrosinase-catalyzed hydrolysis of glucosinolates during tissue destruction of broccoli, the formation of sulforaphane in the extract of broccoli was examined under various processing conditions. The amount of sulforaphane in processed broccoli was measured using GC/MS analysis. Among fresh, dried, and boiled broccoli, fresh broccoli exhibited the highest content of sulforaphane. Sulforaphane was maximally produced from the homogenate in 0.1 M phosphate buffer containing 1 mM Vitamin C stored at room temperature for 1 hr. In boiled broccoli, the amount of sulforaphane decreased as the boiling time increased, and reached to 10% of control after 30 min boiling. The amount of sulforaphane was decreased remarkably in dried broccoli in which freeze-dried and heat-dried broccoli had about 50% and 30% of fresh ones, respectively.

Key words: broccoli, Sulforaphane, processing, GC/MS

I. 서 론

선택적으로 phase II 효소들(glutathione transferase 와 quinone reductase 등)을 유도함으로써 발암(carcinogenesis)에 대해서 방어작용(chemoprotection)을 나타낸다고 보고된 sulforaphane¹⁾은 십자화과 채소 중에 함유되어 있다²⁾. 김 등³⁾이 국내에서 생산되어 소비되는 20여가지의 십자화과 채소중에서 브로콜리에 sulforaphane이 가장 많다고 보고하였다. Sulforaphane, S-methylsulfinylbutyl isothiocyanate은 isothiocyanates의 일종으로 십자화과 채소의 마쇄 과정 중에서 myrosinase 효소 작용에 의해 생성되는 것으로⁴⁾, 십자화과 채소의 조리 가공 조건에 따라 달라질 것으로 기대되나, 이에 대한 구체적인 연구보고는 없는 실정이다. 특히, 브로콜리는 생으로 섭취하기도 하지만, 대부분 익혀서 섭취하고 있다. 따라서, 우리나라에서 생산되어 소비되는 브로콜리의 조리가공 방법에 따른 sulforaphane 함량을 gas chromatography-mass spectrometry(GC/MS)로 분석하여 chemoprotection에 가장 효과적인 조리 방법을 모색하고자 하였다. 또한, 예비실험 결과, 브로콜리의 조

리가공 방법중 sulforaphane이 가장 많이 함유된 방법은 생즙(juice)이었으므로, 생즙(juice)제조시 sulforaphane의 최대 생성 조건을 알아보고자 하였다.

II. 재료 및 방법

1. 재료

브로콜리는 홍농종묘에서 분양받은 품종을 사용하였고, sulforaphane 표준품은 LKT Labs, Inc.(St. Paul, MN, U.S.A.)에서 구입하여 분석에 사용하였다. Dichloromethane은 Merck(독일)사 제품을 사용하였고, 그의 시약들은 특급을 사용하였다.

2. 휘발성 성분 추출

시료 100 g에 200 mL의 증류수를 넣고 Waring blender(Fisher Scientific Co., U.S.A.)에서 2분간 마쇄한 후 가아제로 짠 여액을 Chin 등⁵⁾의 방법에 따라 50 mL의 dichloromethane으로 3회 추출하여 모은 추출물을 무수황산 나트륨으로 건조시킨 후 30°C에서 감압 농축시켰다.

3. GC/MS에 의한 sulforaphane 정량

브로콜리 용매 추출물을 100 µL로 농축한 시료 1 µL를 Gas chromatograph(Hewlett Packard 5890 II+)/mass-selective detector(Hewlett packard MSD5972) GC/MSD에 주입하여 scan mode로 총이온 크로마토그램(total ion chromatogram)을 얻은 후 분리된 sulforaphane의 피크를 MSD를 이용하여 성분을 확인하고, 선택이온 측정법(Selected ion monitoring)으로 얻은 sulforaphane 피크 면적을 외부 정량곡선에 의하여 측정하였다. GC/MSD의 조건은 Table 1과 같다. 브로콜리중의 sulforaphane은 질량분석 스펙트럼에서 나타난 특징적인 주 토막이온(m/z 72, 160, 55, 64, 114, 177)을 선택하여 SIM에 의해 정량하였다.

4. 조리가공에 따른 시료 제조

생즙: 시료에 2배 가량의 증류수를 넣고 Waring blender(Fisher Scientific Co., U.S.A.)에서 2분간 마쇄한 후 가제로 짠 여액을 사용하였다.

가열: 끓는 물(100°C)속에서 5, 10 또는 30분 가열후에 상기와 같이 처리한 후 그 여액을 사용하였다.

동결건조: 생즙을 동결 건조시킨후 dichloromethane을 넣고 Shaker에서 24시간 추출후 농축액을 사용하였다.

열풍건조: 브로콜리를 chopper로 다진후 60°C 오븐(Forced convection oven, Shin Saeng Instrument Co.)에서 열풍건조시킨 후 dichloromethane을 넣고 Shaker에서 24시간 추출후 농축액을 사용하였다.

5. 브로콜리 생즙(juice) 제조시 sulforaphane 최대 생성조건 설정

pH: 시료에 2 배의 완충액(buffer)를 넣어 pH 4(0.1

M, acetate buffer), pH 7(0.1 M phosphate buffer) 또는 pH 9(0.1 M borate buffer)로 맞추후 각각의 pH에서 마쇄 후 분석에 사용하였다.

방치시간: 시료를 마쇄한 후 실온에서 경시별(0, 30 및 60분)로 방치후 상기와 같은 방법으로 추출하여 분석에 사용하였다.

Vitamin C 첨가: 여러가지 농도(0.1, 0.5, 1, 10 및 20 mM)의 Vitamin C를 첨가후 마쇄하여 분석에 사용하였다.

III. 결과 및 고찰

1. 가열시간

브로콜리의 sulforaphane 함량은 전보의 보고⁴⁾에서와 같이 80.2~617.7 ppm으로 시료의 품종에 따라 차이가 컸으며, 본 실험에 브로콜리 생시료중의 sulforaphane 함량은 80.2 ppm 이었다.

브로콜리를 끓는 물(100°C)에서 5, 10 또는 30분 가열하였을 때, Fig. 1에서와 같이 가열시간이 경과됨에 따라 sulforaphane량은 감소하여 5분 가열시에 48%, 30분 가열시에는 약 12% 정도로 존재하였다. 가열시간이 경과됨에 따라 브로콜리 중의 sulforaphane량이 감소되는 것은 sulforaphane 즉, 4-methylsulfinylbutyl isothiocyanate는 myrosinase에 의해 glucosinolate가 가수분해되어 생성되므로^{5,7,8)}, 가열에 의한 myrosinase의 불활성화에 기인된 것으로 사료된다. 브로콜리의 경우, 끓는 물속에서 5분 가열하였을 때, 질감과 색이 좋아 먹기에 좋았으며, 그 이상 가열시에는 조직이 물러져 질감이 좋지 않았다. 따라서, 가능하면 단시간 가열

Table 1. GC/MSD condition for sulforaphane analysis

Gas chromatography condition	
Gas chromatograph:	HP 5890II*
Mass selective detector:	GC MSD 5972
Column:	HP 5MS capillary direct column (0.27 mm × 30 m)
Temperature: Column:	60~230°C (10°C/min)
Detector:	250°C
Injector:	250°C
Carrier gas:	Helium (0.8 ml/min, 5.6 psi)
Mass selective detector condition	
Mass selective detector:	HP MSD 5972
Ion source temp:	250°C
Ionization voltage:	70 eV
EM voltage:	2,100 V
Mass scan range:	50~550 a.m.u

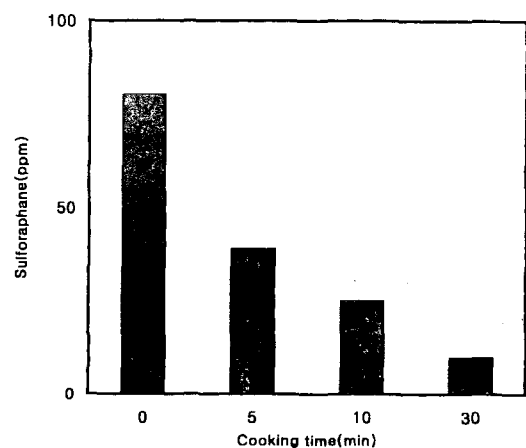


Fig. 1. Sulforaphane content of fresh and cooked broccoli.

하는 것이 바람직하였다.

2. 건조 방법

브로콜리를 동결건조시킨 시료는 Fig. 2에서와 같이, 생시료의 약 50%, 열풍건조(60°C)시킨 시료는 약 30% 존재하였다. 동결건조 시료는 생시료에 2배의 증류수를 넣고 마쇄한후 여과한 여액을 동결한 후 건조시켰으며, 열풍건조시료는 생시료를 chopper로 다진 후 60°C의 송풍오븐에서 건조시켰다. 시료제조 방법상의 차이에도 기인되지만 생시료에 비해 열풍건조는 sulforaphane의 손실정도가 매우 크게 나타났다.

3. 생즙

(1) pH 변화

브로콜리에 pH 4(0.1 M acetate buffer), pH 7(0.1 M phosphate buffer) 또는 pH 9(0.1 M borate buffer)의 완충액을 넣고 마쇄한 후에 분석한 sulforaphane 함량은 Fig. 3과 같다. 본실험에 사용된 브로콜리의 sulforaphane 함량은 pH 7에서 499.3 ppm으로 가장 많았으며, Waring blender에서 마쇄후 여액의 추출물을 분석하였을때, pH 변화에 따른 sulforaphane 함량을 Fig. 3에 나타내었다. 브로콜리즙의 pH가 7일때, sulforaphane 함량은 499.3 ppm으로 가장 많았으며, 따라서 이양을 기준으로 100으로 하였을 때, pH 4에서는 약 10%, pH 9에서는 60% 정도 존재하였다. 따라서, sulforaphane의 최대 생성 pH는 7이었으며, 이는 십자화과 채소중의 myrosinase의 최적 pH와 일치하였으며 산성이나 알칼리성의 pH에서는 myrosinase의 활성이 감소된다는 보고^{7,8)}와 일치하였다.

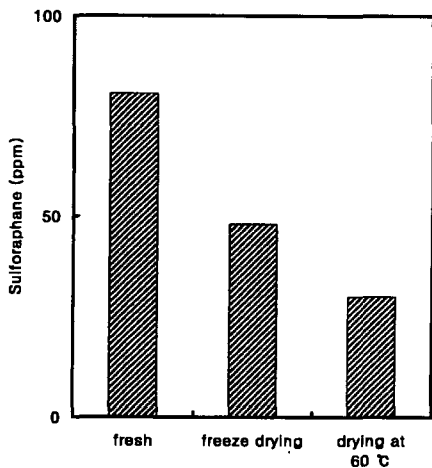


Fig. 2. Sulforaphane content of dried broccoli.

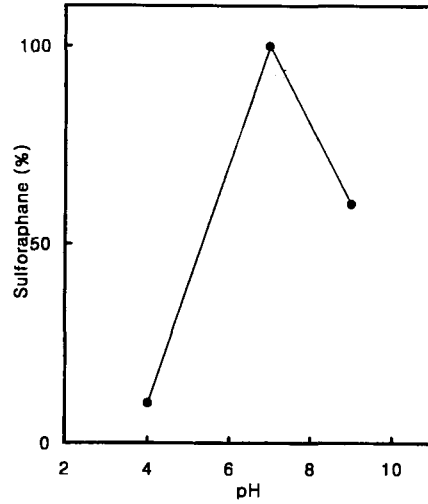


Fig. 3. Sulforaphane content of broccoli juice at different pHs.

(2) 마쇄후 방치 시간

시료에 2배의 증류수를 넣고 Waring blender에서 2분간 마쇄한 후, 일정 시간(즉시, 실온에서 30분 또는 1시간)별로 방치한 후에 가아제로 잔후 각각의 여액을 상기와 같은 방법으로 농축하여 sulforaphane 함량을 측정정한 결과는 Fig. 4에 나타내었다. Fig. 4에서와 같이 마쇄 즉시보다는 마쇄후 방치하였을때 30분까지는 sulforaphane량의 증가 정도가 컸으나 방치 30분 이후 부터는 매우 완만하게 증가하여 방치 1시간경과시에

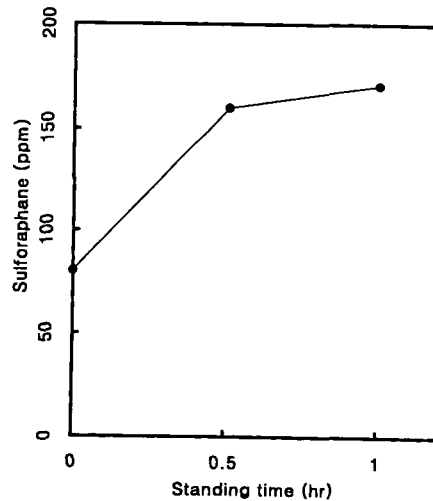


Fig. 4. Sulforaphane content of fresh broccoli juice during standing at 20°C.

sulforaphane량이 가장 많았다.

Sulforaphane은 myrosinase의 작용에 의해 생성되므로^{9,10}, 마쇄한 브로콜리 시료를 실온에 일정시간 방치하여 myrosinase가 glucosinolate에 충분히 작용하여 sulforaphane이 최대한 생성되도록 하면서도 분해가 일어나지 않도록 하는 것이 바람직한데, Kawakishi 등¹¹에 의하면 isothiocyanates는 실온에 방치시에 서서히 분해되며, 분해속도는 알킬기의 종류에 따라 다르나 물이 isothiocyanates 분해의 주 역할을 한다고 보고하였다. 본실험에서는 마쇄한 채소즙을 1시간 이상은 방치하지 않았지만 30분 이후부터 1시간까지의 증가 정도는 적게 나타났고 그 이상 방치시에는 sulforaphane의 분해가 우려되므로, 브로콜리즙의 방치 시간은 1시간 이내로 하는것이 바람직하였다.

(3) Vitamin C 첨가량

브로콜리를 마쇄할 때 여러가지 농도(0.1, 0.5, 1, 10 및 20 mM)의 Vitamin C를 첨가 한후에 분석한 sulforaphane 함량은 Fig. 5에 나타내었다. Fig. 5에서와 같이 브로콜리즙중의 sulforaphane량은 Vitamin C 첨가량 0~1 mM 사이의 농도에서는 큰 차이를 나타내지 않았다. 그러나, 1 mM 일때가 가장 높았으며, Vitamin C 무첨가시의 약 10% 증가하였다. Vitamin C는 myrosinase의 활성화제(activator)로 작용하며 활성화 농도는 1 mM로 보고되었다⁹. 식품분석표¹²상에 나타난 브로콜리즙의 Vitamin C 함량은 98 mg%로 약 0.6 mM이므로, myrosinase를 활성화하기에는 불충분한 농도로 사료된다. 따라서, 0.1에서 1 mM 사이의 Vitamin C 첨가로 브로콜리즙중의 sulforaphane량이 증가되는 것은 myrosinase의 활성화에 기인된 것으로 사료되었

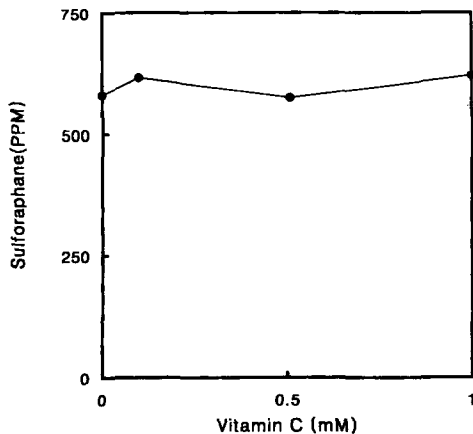


Fig. 5. Sulforaphane content of fresh broccoli juice containing several concentrations of Vitamin C.

다. 한편, 그림에는 제시하지 않았으나, Vitamin C를 20 mM까지 첨가하였을때 첨가량의 증가에 따라 브로콜리즙중의 sulforaphane량은 약간 증가하였다. 이는 Vitamin C가 브로콜리즙중에서의 sulforaphane의 안정화에 기인하기 때문인 것으로 사료되었다.

IV. 요약

브로콜리의 조리가공 방법에 따른 sulforaphane(4-methylsulfinylbutyl isothiocyanate) 생성량을 GC/MSD로 분석하여 chemoprotection에 가장 효과적인 조리 방법을 모색하고자 하였다. Sulforaphane량이 가장 많은 브로콜리의 조리 가공방법은 생즙(juice)이었으며, 브로콜리 생즙 제조시 sulforaphane 최대 함유조건은 Vitamin C, 1 mM이 첨가된 pH 7 buffer에서 마쇄후 실온에서 1시간 방치하였을 때이었다.

가열시(100°C 물)에는 시간 경과에 따라 감소하여, 건조시에도 5분 가열시에는 생즙의 40%, 30분 가열시에는 약 10% 존재하여 많이 감소되었으며, 건조시에는 열풍 건조 방법(30%)이 동결 건조 방법(50%)에 비해 더 많이 감소되었다. 브로콜리 생즙제조 조건에 따라 sulforaphane 함량이 달랐는데 마쇄시의 pH는 7일때가 가장 많았고 pH 4 및 pH 9에서는 10% 및 60% 이었고 pH 7에서 마쇄시 실온에 방치되는 시간은 1시간, Vitamin C 첨가량은 1 mM정도 이었을때 생즙중의 sulforaphane량이 최대이었다.

감사의 글

본 연구는 한국과학재단 핵심전문연구(과제 번호: 961-0604-0275)의 연구비로 수행한 결과의 일부이며 연구지원에 감사드리는 바입니다.

참고문헌

1. Zhang, Y., Talalay, P., Cho, C.G. and Posner, G.H.: A major inducer of anticarcinogenic protective enzymes from broccoli: Isolation and elucidation of structure. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **80**: 399 (1992).
2. Talalay, P., Fahey, J.W., Holtzclaw, W.D., Prester, T. and Zhang, Y.: Chemoprotection against cancer by phase 2 enzyme induction. *Toxicology Lett.* **82**: 173 (1995).
3. Whitty, J.P. and Bjeldanes, L.F.: The effects of dietary broccoli and butylated hydroxyanisole on liver-mediated metabolism. *Food Chem. Toxicol.* **25**: 581 (1987).

4. 김미리: 선택이온 측정법에 의한 십자화과 채소중의 sulforaphane 함량. 한국식품과학회지 29 (1997).
 5. Kjaer, A.: Naturally derived isothiocyanates (mustard oils) and their parent glucosides. *Fortschr. Chem. Org. Naturst.* **18**: 122 (1960).
 6. Chin, H.W., Zeng, G. and Lindsay, R.: Occurance and flavour properties of sinigrin hydrolysis productes in fresh cabbage. *J. Food Sci.* **61**: 101 (1986).
 7. 김미리, 이혜수: 무 myrosinase의 정제 및 특성. 한국식품과학회지 **21**: 136 (1989).
 8. Wilkinson, A.P., Rhodes, M.S.C. and Fenwick, R.G.: Myrosinase activity of cruciferous vegetables. *J. Sci. Food Agric.* **35**: 543 (1984).
 9. Kjaer, A.: Glucosinolates in the cruciferae, In: The biology and chemistry of the cruciferae. Vaughan, J. G., Macleod, A.J. and Jones, B.M.G., (Ed.), Academic Press. London. 207 (1976).
 10. Shankaranarayana, M.L. Raghavan, B., Abraham, K.O. and Natarajan, C.P.: Sulfur compounds in flavours. In: Food flavours. Morton I.D. and MacLeod, A.J. (Ed.), Elsevier Scientific Publishing Co., Amsterdam, 190 (1982).
 11. Kawakishi, S. and Namiki, M.: Decomposition of allyl isothiocyanate in aqueous solution. *Agric. Biol. Chem.* **33**: 452 (1969).
 12. 농촌진흥청 농촌생활연구소: 식품성분표, 제 5 개정판. 106 (1996).
-
- (1997년 9월 9일 접수)