

## 갓김치 발효 중 Sinigrin 함량 변화

임 현 수\*

여수대학교 생물공학과

### The Study for Contents of Sinigrin in Dolsan Leaf Mustard Kimchi during Fermentation Periods

Hyun Soo Lim\*

Dept. of Biotechnology, Yosu National University, Yeosu 550-749, Korea

#### Abstract

This study was carried out to investigate that physiological activity was relevance to microorganism and contents of sinigrin in Dolsan Leaf Mustard Kimchi (DLMK) during fermentation. DLMK was prepared from Dolsan leaf mustard, green onion, garlic, red pepper powder, ginger and salt. And it was fermented at 20°C for 50days. The number of total microbes were increased until reaching the optimum ripening period and after, that number slowly decreased. And that tendency was agreement with antioxidative activity. And also the contents of sinigrin was increased until the optimally ripened time, then decreased. These results suggests that microorganism was significantly related to the physiological activity, and sinigrin was the one of the physiological active substances by microorganism in DLMK. In particular, 50days fermented DLMK at 20°C was showed the highest contents of crude protein. Coincidentally, 50days fermented DLMK might possibly contain high levels of crude proteins produced by various microorganism.

**Key words** – Dolsan Leaf Mustard Kimchi (DLMK), antioxidative activity, sinigrin, physiological activity, microorganism

#### 서 론

Glucosinolate는 *Brassica* (cabbage, mustard, rapeseed 등)속에서 발견되는 anionic  $\beta$ -D-S-glu cosides이며, 현재 까지 거의 100종류 이상 발견되었고, 그 구조는 Fig. 1에 나타내었다[19].

Glucosinolate는 강렬한 맛을 내는 물질의 원인이 되며, 식물의 방어 메카니즘의 일환으로 생각되고 있다. 주로 해

당 식물의 씨앗에 많으며, 발아 후 성장하면서 그 농도가 줄어드는 것으로 보고되어 있다[16,4]. L-amino acids가 glucosinolate의 직접적인 전구체가 되며, 이들 중에는 alanine, valine, leucine, isoleucine, phenylalanine, tyrosine, tryptophan 등이 알려져 있다. Glucosinolate는 이들 아미노산을 재료로 식물 내의 microsomal system에서 생합성된다고 생각되며, 예를 들어, L-phenylalanine이  $\alpha$ -nitro-carboxylic acid의 존재 하에 cytochrome p-450-dependent monooxygenase의 촉매작용으로 N-hydroxy-L-phenylalaine이 되며, 이는 FMN (flavin mononucleotide)에 의해 산소 분자를 받고, thiol기가 결합하여 thiohydroxamic acid가 된

\*To whom all correspondence should be addressed  
Tel: 82-61-659-3306, Fax: 82-61-659-3306  
E-mail: bplab@yosu.ac.kr

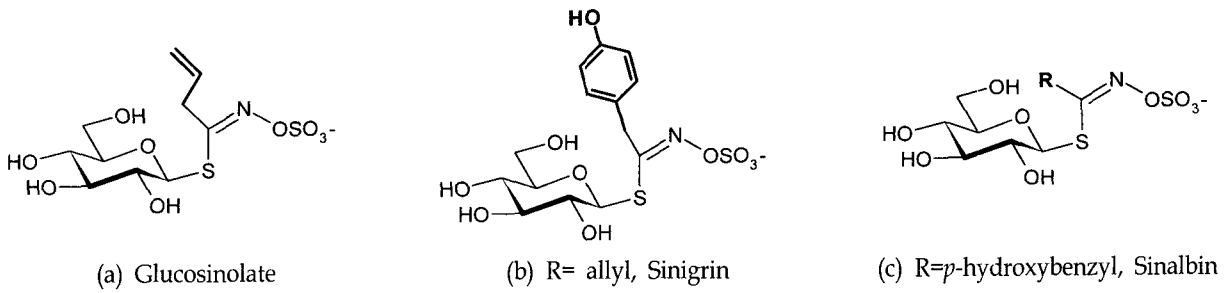


Fig. 1. Structure of glucosinolates[19].

후, UDP-glucose와 관련되어 thiohydroximate glucosyl-transferase에 의해 glycoside를 만들고, 마지막으로 PAPS (3'-phosphoadenosine-5'-phospho-sulfate)의 sulfate를 가져옴으로써 glucotropaeolin이라는 benzylglucosinolate를 만들어 내는 메카니즘이 밝혀졌으며 그 합성 메카니즘을 Fig. 2에 나타내었다[7,9].

Sinigrin (2-prophenylglucosinolate)은 allylglucosinolate로서 그 전구체는 homomethionine으로 알려져 있다. Sinigrin의 allyl group은 homomethionine에서 유도된 3-(methylsulfinyl)propyl glucosinolate에서 sulfur 작용기가 떨어져 나가면서 형성된다. Sinigrin을 비롯한 glucosinolates의 분해산물인 indole과 관련된 동물실험에서 종양 형성을 저해한다는 보고가 있었으며, 인간에서도 종양을 감소시키는 효과가 보고된 바 있다[2].

돌산 갓김치는 숙성 동안에 glucosinolate로부터 생산되는 기능성 물질인 sinigrin 이외에도 주재료인 Brassica (cabbage, mustard, rapeseed 등)에는 β-carotene, chlorophylls, phenolic compounds 등의 기능성 물질이 함유되어 있으며[6] 이들에 의한 항산화성, 항돌연변이성, 항암성 등에 대해 보고[13]된 바 있다. 또한 김치 숙성중에 생산되는 다양한 유산균의 생성은 독특한 맛 뿐만 아니라 면역세

포 증식효과, 항암효과 및 항균효과등[10]이 보고된 바 있다. 따라서 갓김치는 주재료 및 부재료 자체에 있는 생리활성물질 뿐만 아니라 발효 과정 중에 생산되는 유용한 물질들에 의한 생리활성이 기대된다. 그러나 아직까지 갓김치 발효 중에 생산되는 다양한 생리기능성을 나타내는 기능성 물질의 본질에 대한 연구는 매우 미비한 실정이다.

따라서 본 연구에서는 갓김치 발효 과정 중에 기능성 효과를 나타내는 물질을 추적하기 위한 일환으로서 발효 중에 항산화 효과를 측정하여 미생물의 성장성과의 관계를 규명하며, 아울러 sinigrin 함량의 변화를 측정하여 발효에 의해 sinigrin과 같은 glucosinolate가 갓김치 즙액 중으로 유출되었을 때 생리기능성 변화를 측정하기 위하여 본 실험이 수행되었다.

## 재료 및 방법

### 실험재료

갓김치는 전남 여수시 돌산에서 수확한 청갓(*Brassica juncea*) 및 마늘, 파, 고추, 생강을 여수시의 재래시장에서 구입하였으며, 갓을 세척한 후 물기를 제거하고 세절하여 10%의 소금물에 3시간 절인 다음 증류수로 세척하고 물기를 제거한 것에 고춧가루, 파, 마늘, 생강, 소금물을 넣고 20°C에서 60일간 발효시키면서 시료로 사용했다. 각 숙성 시간에 해당하는 갓김치는 분쇄기로 분쇄 후 멸균 거즈로 걸러서 10,000 rpm에서 10분간 원심분리하였으며, 그 상정액을 Whatman No.4 여과지로 여과 후 -20°C 냉동고에 넣어 보관하면서 실험에 사용하였다.

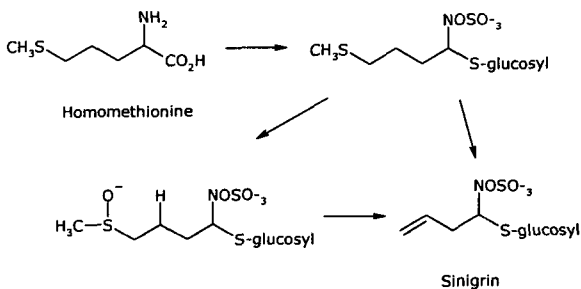


Fig. 2. Biosynthetic steps in the synthesis of sinigrin[7,9].

### Ultrafiltration

갓김치 즙액은 20 mM sodium phosphate buffer, pH

7.0에 1 mg/mL의 농도로 용해하였으며 동일한 buffer에 30배 희석하여 각각 Molecular/Pore Ultrafiltration Membrane (cellulose, MWCO 1kD, Spectrum Co., USA)으로 여과한 후 HPLC에 적용하였다.

High Performance Liquid Chromatography

HPLC는 CLASS-LC10 MODEL (Shimadzu, Japan)에 CLC-ODS (M) column (4.6×250 mm, Shimadzu, Japan)을 사용하였다. Mobile phase는 80%의 0.2 mM TBA, pH 7.0 (Tetrabutylammonium dihydrogen phosphate, Sigma Co., USA)과 20% acetonitrile로 하였고, flow rate은 0.8 mL/min, injection volume은 10 μL, oven temperature는 80°C의 조건으로 하여 SPD-10AV UV/VIS detector (Shimadzu, Japan)를 사용하여 227 nm에서 측정하였다. Standard에 사용된 sinigrin은 Sigma Co.의 제품을 사용하였다.

항산화 활성 측정

항산화 활성은 각 시료의 DPPH radical에 대한 소거 효과를 측정하였으며 Blois[3]의 방법을 변형하여 측정하였다. α, α'-diphenyl-β-picrylhydrazyl (DPPH) 16 mg을 100 mL 에탄올에 용해한 후 여기에 증류수 100 mL를 혼합하여 Whatman filter paper No. 2로 여과하고 이 여과액 5 mL에 갯김치 시료 용액 1 mL를 가하여 혼합한 후 실온에서 30분간 방치하여 528 nm에서 흡광도의 감소치를 측정하였다. 이 때 항산화 활성은 시료 첨가구와 비첨가구의 흡광도의 차이를 백분율로 하여 표시하였으며, 3회 반복 실험하여 얻은 결과를 평균한 값으로 나타내었다.

총균수 측정

총균수는 마쇄한 갯김치를 멸균 거즈로 여과하여 1 mL을 취하여 0.85% 생리식염수로 단계적으로 희석한 뒤 희석액 100 uL를 취해 TGY (tryptone-glucose- yeast extract) 고체배지[15]에 도말하여 30°C에서 48시간 배양한 후 standard plate count방법으로 균수를 측정하여 CFU/mL로 표시하였다.

갯김치 발효 중 일반성분 변화

일반성분 분석은 A.O.A.C.방법[1]에 따라 수분은 105°C 상압가열건조법, 조지방은 Soxhlet법, 조단백질은 micro-

Kjeldahl법, 회분은 600°C 직접회화법으로 분석하였으며 환원당 측정은 DNS법[8]에 의해 측정하였다.

결과 및 고찰

갯김치 발효 중 항산화 효과와 미생물 변화

Fig. 3은 갯김치 발효중 항산화 효과와 미생물 변화와의 관계를 나타낸 것으로서 발효중에 항산화 효과가 갯김치 즙액내의 총균수의 변화와 유사한 변화를 나타냄으로써 발효중에 미생물이 생산하는 산물이 항산화 효과에 영향을 주었다고 사료된다. 즉, 미생물의 수가 적숙기인 10일째까지 상승하다가 감소하는 경향이었는데 항산화 효과도 비슷한 양상이었으며 최대의 항산화 효과가 10일째에 80%였는데, 미생물의 수도 그 때 최대값을 나타내었으며 후숙기로 갈수록 항산화 효과 및 미생물의 수도 감소하는 것으로 나타났다. 따라서 갯김치 발효중에 미생물의 산물생산이 생리기능성에 큰 영향을 줄 것이라고 사료되며 생산되는 산물중 하나로 추측되는 sinigrin의 변화에 대해 조사하였다.

갯김치 발효중에 sinigrin 함량 변화

Table 1은 20°C에서 발효시킨 갯김치 즙액의 sinigrin 함량을 나타낸 것이다. Sinigrin은 갯김치 중의 glucosinolate로 부터 단백질에 포집되어 있는 상태로 있다가 미생물에

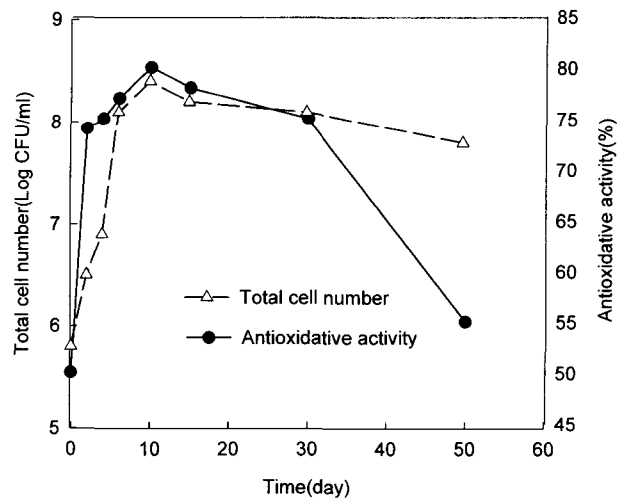


Fig. 3. Changes of total cell number and antioxidative activity (%) in DLMK according to fermentation time.

Table 1. Concentration of sinigrin in juice of Leaf Mustard Kimchi during fermenting periods at 20°C

Fermentation periods (day)	Concentration (mg sinigrin/mL Juice)	Relative Ratio (%)
0	5.3 <sup>1)</sup>	100.0
4	7.3	138.2
30	5.5	103.7

<sup>1)</sup>Experiments were performed in triplicate.

의해 분해된 산물들 중 하나로서 여겨지며 발효 초기보다 최적 숙성기의 sinigrin 함량이 가장 높은 것으로 보아 미생물의 활성이 최대인 시기에 가장 많이 단백질로부터 유리되어 나온 것으로 여겨진다. 이러한 현상은 미생물에 의한 산물생산이 적숙기에 최대였으며 이러한 산물은 항산화 효과와 같은 기능성에 큰 영향을 끼쳤으리라 예상되며, 또한 sinigrin도 이러한 산물들 중 하나라고 사료된다. 즉, sinigrin함량은 발효 초와 후숙기의 양은 거의 비슷하며 적숙기에 최대의 함량을 나타내었다. 따라서 발효과정중 생리기능성 변화에 대한 이유로 glucosinolate중 하나인 sinigrin을 축적하므로써 기능성 변화에 영향을 미쳤으리라 생각되지만 좀 더 깊이 있는 연구가 필요하리라 사료된다.

일반적으로 sinigrin은 십자화과 채소의 호분세포나 myrosin 세포에 분포하며 병원체에 의해 조직이 파괴되면서 myrosinase와 함께 분비되는 것으로 알려져 있다. 즉, 발효가 시작되어 조직이 파괴되면서 즙액부분으로 myrosinase와 함께 빠져 나왔으며, 계속되는 myrosinase의 분해로 점차 감소한 것으로 보인다. 또한 이것은 갓김치의 총 glucosinolate의 함량이 숙성 3일까지 증가하다가 그 이후에 감소하는 경향을 보였다는 보고[5]와 일치한다. 또한 무의 myrosinase가 산성 pH에서 활성이 낮다는 보고와[11] 20°C에서 3일 이상 경과 시에 급격히 활성이 떨어진다는 사실로 보았을 때[12], pH의 저하로 myrosinase의 활성이 약해지면서 발효 초기와 후숙에 큰 차이가 없는 경향을 보이는 것으로 사료된다. Sinigrin을 비롯한 glucosinolate 보다는 분해산물인 isothiocyanate가 생리활성이 있다는 보고가 있으며[12], 간종양세포[18], 폐암[17] 등을 저해하는 효과가 뛰어난 것으로 알려지고 있다. 따라서 발효중에 항산화 효과와 같은 생리기능성 변화에도 sinigrin이 발효중에 즙액으로 유출되므로써 영향을 끼쳤으리라 예상된다.

### 갓김치 발효중에 일반성분 변화

20°C에서 발효한 갓김치의 담금 직후, 적숙기 및 후숙기의 일반성분의 차이를 알아보기 위해서 수분, 회분, 환원당, 조지방과 조단백질의 함량을 측정하여 Table 2에 나타내었다. 갓김치는 동결 건조하여 시료로 사용하였으며 일반성분 분석 결과, 조단백질 함량이 후숙기로 갈수록 함량이 높아지는 것으로 나타났으며, 이는 갓김치 발효중에 각종 미생물이 증식하여 조단백질 함량이 증가하였으며 또한, 단백질에 포집되어 있던 sinigrin을 분해하면서 유리단백질 함량도 증가할 것으로 사료된다.

Table 2. Proximate composition of Dolsan Leaf Mustard Kimchi juice (20°C)

Fermentation time (day)	0	6	50
Moisture	9.4 <sup>1)</sup>	8.4	9.1
Ash	42.8	39.2	42.6
Crude fat	2.4	4.3	1.1
Reducing sugar	34.8	22.7	16.8
Crude protein	8.4	13.7	15.0

<sup>1)</sup>Experiments were performed in triplicate.

## 요 약

본 연구에서는 발효에 따른 돌산 갓김치 즙액내의 미생물량의 항산화 효과와의 관계, 발효 중 sinigrin 함량 변화와 일반성분의 변화를 조사하였다. 돌산 갓김치는 돌산 갓, 파, 마늘, 생강 그리고 고추가루를 첨가하여 제조하였으며, 20°C, 50일간 발효하였다. 갓김치 즙액내의 미생물의 수는 적숙기인 10일째까지 상승하다가 감소하는 경향이었는데 항산화 효과도 비슷한 양상이어서 갓김치 발효 중 미생물에 의한 대사산물이 항산화 효과 증가와 같은 생리기능성에 큰 영향을 주었으리라 사료되며, sinigrin 함량도 발효가 진행되면서 적숙기에 최대로 나타나서 기능성 물질중 하나로 사료된다. 또한 일반성분 변화 중 조단백질의 양이 후숙기로 갈수록 증가하는 경향이었는데, 이는 각종 미생물의 증가로 인해 증가한 것으로 사료된다.

## 감사의 글

본 연구는 농림기술관리센터에서 시행한 2000년 농림기

술개발사업에 의하여 수행된 연구결과의 일부이며 연구비 지원에 감사드립니다.

### 참 고 문 헌

1. A.O.A.C. 1995. Fruits and products acidity (titratable) of fruit products. Official methods of analysis. pp.10, 16th eds., AOAC international. U.S.A.
2. Beier, R. C. and H. N., Nigg. 1992. pp.247-376, Natural toxicant in foods in phytochemical resources for medicine and agriculture. Plenum Press., New York.
3. Blois, M. S. 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical, *Nature*. **181**, 1199-1200.
4. Brudenell, A. J. P. 1999. The phloem mobility of glucosinolates, *J. of Experimental Botany*. **335**, 745-747.
5. Chun, S. S., O. J. Choi, Y.S., Cho, S. K., Park, and J. R. Park. 1995. Changes in pungent components of Dolsan leaf mustard kimchi during fermentation. *Korean Soc. Food Nutr.* **24**, 54-59.
6. Diplock, T. A. 1991. Antioxidants nutrients and disease prevention. *Am. J.Clin.Nutr* **53**, 189-193.
7. Dewick P. M. 1984. The biosynthesis of cyanogenic glucosides and glucosinolates. *Nat. Prod. Rep.* 545-549.
8. Gali, L. M. 1959. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Anal. Chem.* **31**, 426-428.
9. Geissman T. and D. H. G. Crout. 1969. Organic chemistry of secondary plant metabolism. Free man-Cooper, Sanfrancisco.
10. Kim, J. O. M. N. Kim, K.Y. Park, S. H. Moon, Y.L. Ha, and S.H. Rhee. 1993. Antimutagenic effects of 4-decanol identified from mustard leaf. *J. Korean Soc. Food Nutr.* **24**, 168-182.
11. Kim, M. R. and H. S. Rhee. 1989. Purification and characterization of radish myrosinase. *Korean J. Food Sci. Technol* **21**, 136-144.
12. Larsen, P. O. 1981. Glucosinolates in secondary plant products. Vol.7, Academic press, New york.
13. Park, K. Y. 1993. The nutritional evaluation and antimutagenic and anticancer effects of Kimchi (in Korea). *J. Korean Agri. Chem. Soc* **36**, 424-427.
14. Park, J. R. S. K. Park, Y. S. Cho, and S. S. Chun. 1994. Purification and characterization of myrosinase in Dolsan Leaf Mustard (*Brassica juncea*) and changes in myrosinase activity during fermentation of leaf mustard Kimchi. *Korean J. Dietary Culture* **9**, 137-142.
15. Siens, H. 1985. Oxidative stress, pp. 1-15, 1st eds., Academic Press, London.
16. Sixue, C. 2000. Characterization of Glucosinolate Uptake by Leaf Protoplasts of *Brassica napus*. *J. of Biol. Chem* **275**, 22955-22957.
17. Stephen, S., N. Hecht, J. Trushin, S. Rigotty, G. Carmella, A. Borukhova, S. Akerkar, and A. Rivenson. 1996. Complete inhibition of 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butan one-induced rat lung tumorigenesis and favorable modification of biomarkers by phenethyl isothiocyanate, *Cancer Epidemiology Biomarker & Prevention* **5**, 645-652.
18. Tanaka, T., Y. Mori, Y. Morishita, A. Hara, T. Ohno, T. Kojima, H. and Mori. 1990. Inhibitory effect of sinigrin and indole-3-carbiol on diethylnitrosamine-induced hepatocarcinogenesis in mal ACI/N rats. *Carcinogenesis* **11**, 1403-1406.
19. Whilhelm P. B. 2000. High resolution X-ray crystallography shows that ascorbate is a cofactor for myrosinase and substitutes for the function of the catalytic ascorbate. *J. of Biol. Chem* **275**, 39835-39933.

(Received July 4, 2002; Accepted August 23, 2002)