

## 방울양배추 조리방법에 따른 생리활성 물질의 함량 및 항산화 활성

황 은 선

한경대학교 영양조리학과

### Effect of Cooking Methods on Bioactive Compound Contents and Antioxidant Activities of Brussels Sprouts

Eun-Sun Hwang

Department of Nutrition and Culinary Science, Hankyong National University

**ABSTRACT** The effects of common cooking methods (fresh, boiling, and steaming) on the total polyphenols, total flavonoids, and glucosinolates as well as the antioxidant activities in both water and 80% ethanol extracts of Brussels sprouts were determined. In the water extract of fresh Brussels sprouts, the total polyphenols were 31.11 mg/g, which were not significantly different from those of the steamed extract (31.02 mg/g). On the other hand, the boiling of Brussels sprouts showed 17.89 mg total polyphenols, which was 42.49% lower than those of the fresh sample. In the 80% ethanol extracts, the total flavonoid content decreased to 3.96% and 6.39%, respectively, compared to the fresh samples. Nine glucosinolates, including progoitrin, glucoraphanin, sinigrin, gluconapin, glucoiberberin, glucoerucin, glucobrassicin, gluconasturtin, and 4-methoxyglucobrassicin were identified by HPLC in Brussels sprouts. Regardless of the cooking method, the total polyphenol and total flavonoid contents were higher in the 80% ethanol extract than in the water extract. The antioxidative activities of the 80% ethanol extracts were higher than those of the water extracts. Therefore, to minimize the loss of bioactive substances in Brussels sprouts, it is desirable to use steaming or consuming them fresh instead of using boiling water.

**Key words:** Brussels sprouts, antioxidant, glucosinolate, cooking

## 서 론

방울양배추(*Brassica oleracea* L. var. *gemmifera*)는 벨기에 브뤼셀 지방에서 재배가 시작됐다는 유래 때문에 ‘Brussels sprouts’라는 이름이 붙여졌으며, 생김새가 양배추와 비슷하지만 일반 양배추와 달리 50 cm로 길게 자란 줄기에 10~40 g 정도 되는 ‘미니’ 양배추가 방울 모양으로 달리기 때문에 ‘방울다다기양배추’ 또는 ‘미니양배추’ 등으로 부른다(Combs과 Ernst, 2019). 방울양배추는 주로 유럽과 미국에서 널리 재배되었으며 국내에서는 1990년대부터 제주도에 소개되어 소량 재배되기 시작하였다. 최근에는 먹기 편한 미니 채소를 선호하는 현상으로 소비가 늘어나면서 국내에서도 재배면적이 늘어나고 있다. 방울양배추는 크기가 방울토마토보다 작지만 칼슘과 철 등 무기질이 풍부할 뿐만 아니라 비타민 A와 C는 일반 양배추보다 2배 이상 많은 것으로 알려져 있다(Kurilich 등, 1999).

방울양배추를 포함하여 브로콜리, 콜리플라워, 양배추, 겨자와 같은 십자화과 채소에는 휘발성이 강하고 맵고 독특한 향기를 부여하는 황(sulfur)화합물인 glucosinolates라는 성분이 들어있다(Fenwick과 Heaney, 1983; van Poppel 등, 1999). 현재까지 약 100여종의 glucosinolates가 알려져 있으며 이들 중에서 30여종이 생리활성을 나타내는 것으로 보고되고 있다(Fahey 등, 2001). 손상되지 않은 채소에서 glucosinolate는 비활성인 상태로 존재하다가 채소를 자르고 다지고 으개는 과정에서 채소 자체에 함유된 효소인 myrosinase(thioglycoside glucohydrolase, EC 3.2.3.1)에 의해 glucosinolates가 가수분해 되어 thiohydroxamate-O-sulfonate와 같은 불완전한 aglycone 중간체를 형성한다(Barba 등, 2016; Franco 등, 2016). 이들 중간체들은 즉시 isothiocyanates, thiocyanates, nitriles와 cyanoe-pithioalkanes와 같은 안정한 물질로 전환되고, 실제 생리활성을 나타내는 것은 glucosinolates가 아니라 이들의 분해 산물들이다(Fenwick 등, 1983; Rosa 등, 1996; Franco 등, 2016; Barba 등, 2016). 십자화과 채소를 꾸준히 섭취하면 위암, 간암, 소화기계암, 폐암 등의 발생이 감소하는 것으로 보고되어 있는데, 이는 십자화과 채소에 함유된 glucosinolates의 분해산물 중 하나인 isothiocyanates에 의한 것으로 알려져 있다(Becker와 Juvik, 2016; Gründemann과

Received 5 August 2019; Accepted 21 August 2019

Corresponding author: Eun-Sun Hwang, Department of Nutrition and Culinary Science, Hankyong National University, Anseong, Gyeonggi 17579, Korea

E-mail: ehwang@hknu.ac.kr, Phone: +82-31-670-5182

Author information: Eun-Sun Hwang (Professor)

Huber, 2018). Isothiocyanates는 체내에서 무독화효소 활성의 증가, 세포예정사(apoptosis), cell cycle arrest 등의 기전을 통하여 암을 예방하는 것으로 알려져 있다(Arumugam과 Abdull Razis, 2018; Pan 등, 2018). 따라서 십자화과 채소의 조리 중에 생성되는 glucosinolates의 다양한 가수분해 물질들의 종류와 패턴을 알아보고 가능하면 우리 몸에 유익한 물질들이 많이 생성되는 조리방법을 선택하는 것이 중요하다. 십자화과 채소에 함유된 glucosinolate 함량은 채소의 품종, 재배조건, 수확시기, 기후 등과 같은 다양한 요인들에 의해 영향을 받는다(Rosa 등, 1996; Kushad 등, 1999). 또한 저장 및 가공 조건에 의해서도 가수효소인 myrosinase의 활성이 달라지며 형성되는 glucosinolates 대사물질의 양이 달라진다(Verkerk 등, 2001). 십자화과 채소에 존재하는 myrosinase와 공존하는 ascorbic acid, epithiospecifier protein,  $Fe^{+2}$ 와 같은 내부적인 요인들과 pH, 온도와 같은 외부적인 요인들은 glucosinolates의 가수분해에 직·간접적으로 영향을 준다(Fenwick 등, 1983; Ludikhuyze 등, 1999).

십자화과 채소는 생으로 섭취하기보다는 익혀서 섭취하는 경우가 많으며, boiling, steaming 등의 조리과정을 거치면서 생리활성 물질들의 변화가 일어날 수 있다. 또한 조리된 십자화과 채소를 섭취하게 되면 체내의 위장관에서 장내 미생물에 의해 glucosinolates의 가수분해가 한 번 더 일어난다(Rabot 등, 1993; Michaelsen 등, 1994). 설취루나 인 체에서 glucosinolates의 소화와 흡수패턴은 섭취된 다른 음식물에 의해 형성되는 myrosinase의 산도와 씹는 정도, 십자화과 채소와 함께 섭취하는 식품의 종류, 장내 미생물의 조성 및 유전자형의 다양성과 관련이 있는 것으로 보고되고 있다(Shapiro 등, 2001; Rouzaud 등, 2003; Seow 등, 2005).

본 연구에서는 십자화과 채소 중에서 glucosinolate 함량이 풍부한 것으로 알려진 방울양배추를 대상으로 조리(열처리)방법에 따른 총 폴리페놀, 총 플라보노이드 함량, 주요 glucosinolates 함량을 분석하고, *in vitro* 방법으로 항산화 활성을 측정하였다. 이를 통해 방울양배추 섭취 시 생리활성 성분과 항산화력을 극대화할 수 있는 기초 자료를 제공하고 자 하였다.

## 재료 및 방법

### 실험재료

본 연구에 사용한 방울양배추는 2017년 3월 제주도에서 재배된 것을 경기도 안성의 마트에서 구입하여 사용하였다. Glucosinolates 분석을 위한 표준품인 glucoraphanin, sinigrin, gluconapin, glucobrassicin과 gluconasturtiin은 Extrasynthese(Impasse Jacquard, Genay, France)에서 구입하였다. 생리활성 물질 분석과 항산화 활성 측정을 위한 시약 및 HPLC와 LC/MS 분석을 위한 용매는 Fisher Scientific(Fairlawn, NJ, USA), Sigma-Aldrich Co.(St. Louis,

MO, USA)와 Junsei Chemical Co., Ltd.(Tokyo, Japan)에서 구입하여 사용하였다.

### 방울양배추 조리 및 동결건조 시료 제조

방울양배추는 흐르는 물로 깨끗이 씻어 표면에 묻은 이물질을 제거하고 자연건조로 물기를 제거하였다. 방울양배추는 가식부위를 적당한 크기로 잘라 골고루 잘 섞은 후 2가지 방법(boiling, steaming)으로 열처리하였고, 열처리하지 않은 신선한 상태의 방울양배추를 대조군으로 사용하였다. 끓이는 방법(boiling)은 방울양배추 무게(300 g)의 5배에 해당하는 물을 냄비에 붓고 물이 끓기 시작하면 방울양배추를 넣어 5분간 데친 후에 방울양배추를 체에 건져 두어 물기를 제거하였다. 스팀(steaming)에 의한 가공은 스팀 찜기(Tefal, Seoul, Korea)에 물을 붓고 끓이다가 스팀이 올라오면 방울양배추 300 g을 단층으로 넣고 5분 동안 찜 한 후 체에 건져 물기를 제거하였다. 열처리가 끝난 후에는 방울양배추의 열기를 식혀 알루미늄 도시락에 담아  $-75^{\circ}\text{C}$ 의 초저온냉동고(DF-810, Ilshin Lab Co., Seoul, Korea)에서 급속냉동시켰다. 시료가 완전히 냉동된 후에 동결건조기(IlShin Bio-base, Dongducheon, Korea)에서 건조시킨 후 분쇄기(Hanil, Seoul, Korea)를 이용하여 마쇄하고 30 메시(mesh)와 100 메시(mesh) 체에 2회 내려 분말형태의 미세한 가루로 제조하였다. 제조된 시료는 플라스틱 tube에 넣어  $-20^{\circ}\text{C}$ 에 보관하면서 이후의 분석 실험에 사용하였다.

### 방울양배추 추출물 제조

동결건조 후 제조한 방울양배추 분말은 물 추출과 80% 에탄올 추출을 통해 추출물을 제조하였다. 즉 방울양배추 분말 10 g에 증류수 또는 80% 에탄올 300 mL를 넣고 각각  $80^{\circ}\text{C}$ 와  $65^{\circ}\text{C}$  항온수조에서 2시간 동안 추출하였다. 추출 후 물층과 에탄올 분획층을 회전감압농축기(EYELA, Rikakiki Co., Tokyo, Japan)로 농축한 후, 동결건조 하여 미세한 분말로 제조하였다. 제조된 시료는 플라스틱 tube에 넣어  $-20^{\circ}\text{C}$ 에 보관하면서 생리활성 물질 분석과 항산화 활성 측정에 적합하도록 농도별로 희석하여 사용하였다.

### HPLC를 이용한 glucosinolates 함량 분석

방울양배추에 함유된 glucosinolates는 국제표준화기구의 공인된 방법으로 분석하였다(ISO, 1992). 동결건조 한 방울양배추 분말 50 mg을 70%의 boiling 메탄올 2 mL와 섞어  $70^{\circ}\text{C}$  water bath에서 5분간 반응시킨 후  $4^{\circ}\text{C}$ 에서 10분간  $20,000\times\text{g}$ 에서 원심분리 하여 상등액을 취하였다. Mini bio-spin chromatography 컬럼(Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA, USA)에 dextran gel(type G-25)을 충전한 후에 20 mM sodium acetate buffer(pH 5.5)를 넣어 활성화시켰다. 활성화된 컬럼에 원심분리에서 얻은 상등액 1 mL와 75  $\mu\text{L}$ 의 aryl sulfatase(EC 3.1.6.1, type H-1 from *Helix pomatia*) 용액을 loading 하여 실온에서 18시간 동안 방치

하면서 시료에 함유된 glucosinolates로부터 sulfur를 분리하였다. 18시간이 경과한 후에 미니 컬럼에 증류수 1.5 mL를 넣어 sulfur가 분리된 glucosinolates를 따로 모아 0.22 µm syringe filter에 여과하여 HPLC(Agilent Technologies, Memphis, TN, USA)로 분석하였다. Desulfo glucosinolates는 Waters symmetry 300 C<sub>18</sub> column(75 mm×4.6 mm i.d. with 3.5 µm particle diameter, Waters, Franklin, MA, USA)을 사용하였고, column oven 온도는 40°C, 이동상은 분당 1 mL로 흘러주면서 229 nm에서 분석하였다. 이동상은 deionized water(solvent A)와 20% acetonitrile(solvent B)을 이용하여 linear gradient로 1~99% solvent B를 18분 동안, 99% solvent B를 11분간, 99~1% solvent B를 3분 동안 주입하면서 분석하였다. 표준품이 있는 glucosinolates는 외부표준곡선으로 정량화하였고, 표준품이 없는 glucosinolates는 ISO 9167-1(1992)에 보고된 바와 같이 sinigrin에 의한 상대값으로 정량하였다. HPLC 분석을 통해 얻은 주요 peak에 대한 mass spectrum을 LC-MS-QTOF(Waters, Milford, MA, USA)로 분석하여 분자량을 확인하여 glucosinolates임을 확인하였다.

### 총 폴리페놀 함량 분석

물 추출물 또는 80% 에탄올 추출물 1 mL에 0.2 N Folin 용액 1 mL를 혼합하여 실온에서 3분간 반응시킨 후 2% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 1 mL를 첨가하여 암소에서 2시간 동안 반응시킨 다음, 760 nm에서 microplate reader(Infinite M200 Pro, Tecan Group Ltd., San Jose, CA, USA)를 이용하여 흡광도를 측정하였다. 시료 중에 함유된 총 폴리페놀 함량은 gallic acid(6.25~100 µg/mL)의 표준곡선을 통하여 시료 g당 gallic acid equivalent(GAE)로 나타내었다.

### 총 플라보노이드 함량 분석

물 추출물 또는 80% 에탄올 추출물 1 mL에 2% aluminium chloride methanolic solution 1 mL를 첨가하여 15분간 실온에서 반응시킨 후 430 nm에서 microplate reader로 흡광도를 측정하였다. 시료 중에 함유된 총 플라보노이드 함량은 catechin(6.25~100 µg/mL)의 표준곡선을 통하여 시료 g당 catechin equivalent(CE)로 계산하여 나타냈다.

### DPPH 라디칼에 대한 전자공여능 측정

적절한 농도로 희석한 시료 추출물 100 µL와 0.2 mM DPPH(2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) 용액 100 µL를 첨가한 후 37°C에서 30분간 반응시킨 다음, microplate reader를 사용하여 515 nm에서 흡광도를 측정하였다. 시료의 DPPH 라디칼에 대한 전자공여능은 아래 식에 측정된 흡광도 값을 대입하여 산출하였다.

$$\text{DPPH에 대한 전자공여능(\%)} = \left(1 - \frac{\text{시료첨가구의 흡광도}}{\text{시료 무 첨가구의 흡광도}}\right) \times 100$$

### ABTS 라디칼에 대한 전자공여능 측정

적절한 농도로 희석한 시료 추출물 100 µL와 0.2 mM ABTS(2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)) 용액 100 µL를 첨가한 후 37°C에서 30분간 반응시켰다. Microplate reader를 사용하여 732 nm에서 흡광도를 측정하였다. 시료의 ABTS 라디칼에 대한 전자공여능은 아래 식에 측정된 흡광도 값을 대입하여 산출하였다.

$$\text{ABTS에 대한 전자공여능(\%)} = \left(1 - \frac{\text{시료첨가구의 흡광도}}{\text{시료 무 첨가구의 흡광도}}\right) \times 100$$

### 환원력 측정

적절한 농도로 희석한 시료 추출물 1 mL에 인산 완충액(200 mM, pH 6.6)과 1%의 potassium ferricyanide 1 mL를 차례로 가한 후 50°C의 수욕상에서 20분간 반응시켰다. 여기에 10% TCA 용액을 1 mL 가하여 13,500×g에서 15분간 원심분리 한 후 얻은 상등액 1 mL에 증류수와 ferric chloride를 각각 1 mL씩 가하여 혼합한 다음 720 nm에서 흡광도를 측정하였다.

### 통계처리

모든 결과는 3회 반복실험에 대한 평균(mean)±표준편차(standard deviation)로 나타내었다. 실험 결과에 대한 통계 처리는 SPSS software package(Version 17.0, SPSS Inc., Chicago, IL, USA)를 이용하여 평균과 표준편차로 나타내었고, 각 처리군 간의 유의성에 대한 검증은 ANOVA를 이용하여 유의성을 확인한 후  $P < 0.05$  수준에서 Duncan's multiple range test를 이용하여 분석하였다.

## 결과 및 고찰

### 총 폴리페놀 및 총 플라보노이드 함량 분석

방울양배추의 조리방법과 추출용매에 따른 총 폴리페놀 함량은 Table 1과 같다. 열처리를 하지 않은 방울양배추의 증류수 추출물에서의 총 폴리페놀은 건조 중량 1 g당 31.11 mg으로 나타났으며, steaming의 경우도 fresh한 증류수 추출물과 거의 유사한 31.02 mg의 총 폴리페놀 함량을 나타내

**Table 1.** Total polyphenol contents (GAE<sup>1)</sup> mg/g) of Brussels sprouts extracted with different extraction solvent

Cooking method	Extraction solvent	
	DW	80% EtOH
Fresh	31.11±0.32 <sup>aB2)-4)</sup>	43.58±0.42 <sup>aA</sup>
Steaming	31.02±0.46 <sup>aB</sup>	34.99±0.19 <sup>bA</sup>
Boiling	17.89±0.21 <sup>bB</sup>	30.17±0.16 <sup>cA</sup>

<sup>1)</sup>GAE: gallic acid equivalent.

<sup>2)</sup>Each value is expressed as mean±SD of 3 separate experiments.

<sup>3)</sup>Means with different small letters (a-c) within a column are significantly different at  $P < 0.05$ .

<sup>4)</sup>Means with different capital letters (A,B) within a row are significantly different at  $P < 0.05$ .

어 fresh한 방울양배추 추출물과 통계적으로 유의성 있는 차이를 나타내지 않았다. 반면에 방울양배추를 끓는 물에서 3분 동안 boiling한 경우는 17.89 mg으로 fresh한 시료에 비해 42.49%의 유의적인 감소를 했다. 80% 에탄올 추출물에서는 중량 1 g당 열처리하지 않은 방울양배추에서 43.58 mg으로 가장 높았고, steaming에서는 34.99 mg, boiling에서는 30.17 mg으로 fresh한 시료에 비해 각각 19.71%, 30.77%까지 총 폴리페놀 함량이 감소하였다. 조리방법에 상관없이 증류수 추출물에 비해 80% 에탄올 추출물에서 총 폴리페놀 함량이 높게 나타났다.

방울양배추의 조리방법과 추출용매에 따른 총 플라보노이드 함량을 catechin을 기준으로 분석한 결과는 Table 2와 같다. 증류수 추출물에서는 중량 1 g당 열처리하지 않은 방울양배추 추출물에서는 2.72 mg으로 가장 높았고, steaming과 boiling 처리군에서 각각 2.00 mg과 1.74 mg으로 fresh한 방울양배추에 비해 총 플라보노이드 함량이 감소하였다. 80% 에탄올 추출물에서는 중량 1 g당 열처리하지 않은 방울양배추에서 7.82 mg으로 가장 높았고, steaming에서는 7.51 mg, boiling에서는 7.32 mg으로 fresh한 시료에 비해 각각 3.96%, 6.39%까지 총 플라보노이드 함량이 감소하였다. 총 폴리페놀 함량과 유사하게 총 플라보노이드 함량은 조리방법에 상관없이 증류수 추출물에 비해 80% 에탄올 추출물에서 높게 나타났다.

용매의 물리화학적 성질은 추출에 중요한 역할을 하며, 적절한 추출용매의 선택은 식품 매트릭스로부터 유용한 물질을 추출하는 데 비용과 효율을 증대시킬 수 있다. 다른 용매들에 비해 물은 극성이 높아서 추출에 효과적인 용매이다(Pin 등, 2009). 추출 공정의 효율은 식품원료에 존재하는 페놀 화합물의 성질에 의존한다. Gallic acid는 4개의 수산기와 하나의 카르복시기를 갖고 있기 때문에 물과 같은 극성이 강한 용매에 잘 용해되며(Pin 등, 2009), 물은 높은 극성으로 인해 에탄올보다 많은 페놀 화합물을 식품 매트릭스로부터 용리시킨다(Awang 등, 2014).

에탄올은 chlorogenic acid와 플라보노이드를 용출시키는 데 더 효과적이다(Wijngaard와 Brunton, 2010). 따라서 물과 에탄올을 단독으로 사용하는 것보다 이들을 적절한 비

율로 혼합하여 사용하면 폴리페놀 및 플라보노이드 화합물 추출에 효과적이다(Zuorro 등, 2019).

일반적으로 열처리 과정을 거치면서 식품의 세포벽이 부드러워지고 생리활성 물질의 추출이 용이하게 된다(Kim 등, 2013). 그러나 열처리 중에 식품에 존재하는 탄닌과 같은 복합 폴리페놀 화합물의 분해가 일어날 수도 있다(Watchel-Galor 등, 2008). 본 연구 결과와 유사하게 타 연구자들의 선행연구에서도 브로콜리, 콜리플라워, 양배추 등의 십자화과 채소에 물을 넣고 끓이는 조리법은 폴리페놀 화합물 함량을 감소시키는 것으로 나타났다(Watchel-Galor 등, 2008; Francisco 등, 2010). 이는 끓이는 경우 조리 시 물과 접촉하는 조직의 표면적이 증가하고 높은 조리온도와 조리시간이 길어질수록 세포벽이 파괴되어 페놀화합물이 분해되기 쉽기 때문이다(Francisco 등, 2010). Zhang과 Hamauzu(2004)는 브로콜리를 5분간 끓일 경우 페놀화합물이 71.9% 가량 손실되는 것으로 보고하였다. 반면에 Turkman 등(2005)은 십자화과 채소를 끓이는 조리법은 총 폴리페놀 함량에 영향을 미치지 않았으며 찌는 조리법에 의해 브로콜리의 총 폴리페놀 함량이 증가한다고 보고하여 이러한 결과는 시료의 조리과정, 열처리 온도, 시간, 추출법의 차이에 의한 것으로 사료된다.

#### 조리방법에 따른 glucosinolates 함량 분석

방울양배추의 조리 방법(fresh, steaming, boiling)에 따른 glucosinolates 함량을 HPLC로 분석한 chromatogram은 Fig. 1과 같다. 방울양배추 추출물에서 progoitrin, glucoraphanin, sinigrin, gluconapin, glucoiberberin, glucoerucin, glucobrassicin, gluconasturtin, 4-methoxyglucobrassicin의 총 9종의 glucosinolates를 확인하였다.

Table 3은 방울양배추의 조리방법을 달리하였을 때 방울양배추에 함유된 glucosinolate 함량을 HPLC로 측정하고 정량하여 나타낸 결과이다. 가열처리를 하지 않은 fresh한 방울양배추에서는 glucoiberberin> sinigrin> gluconapin> glucoerucin> gluconasturtin> glucoraphanin> glucobrassicin> 4-methoxyglucobrassicin> progoitrin의 순으로 나타났다. Fresh한 방울양배추에서는 건조 중량 g당 glucoiberberin과 sinigrin이 각각 226.90과 215.42 pmol/g으로 가장 많은 양이 검출되었으며, gluconapin, glucoerucin, gluconasturtin이 각각 90.61, 78.21, 58.55 pmol/g 순으로 나타났다. 찌는 조리법의 경우 glucoiberberin, sinigrin, gluconapin의 함량은 231.30, 267.24, 121.97 pmol/g으로 fresh한 방울양배추에 비해 각각 2.0, 24.05, 34.61%까지 증가하였다. 반면에 glucoerucin, gluconasturtin, glucoraphanin, glucobrassicin, 4-methoxyglucobrassicin의 함량은 fresh한 방울양배추에 비해 4.08~12.04%까지 감소하였다. 물을 넣고 끓이는 조리법의 경우 모든 glucosinolates 함량이 fresh한 방울양배추에 비해 12.49~58.36%까지 감소하였고 찌는 조리법에 비해 그 감소폭도 증가하였다.

**Table 2.** Total flavonoid contents (CE<sup>1)</sup> mg/g) of Brussels sprouts extracted with different extraction solvent

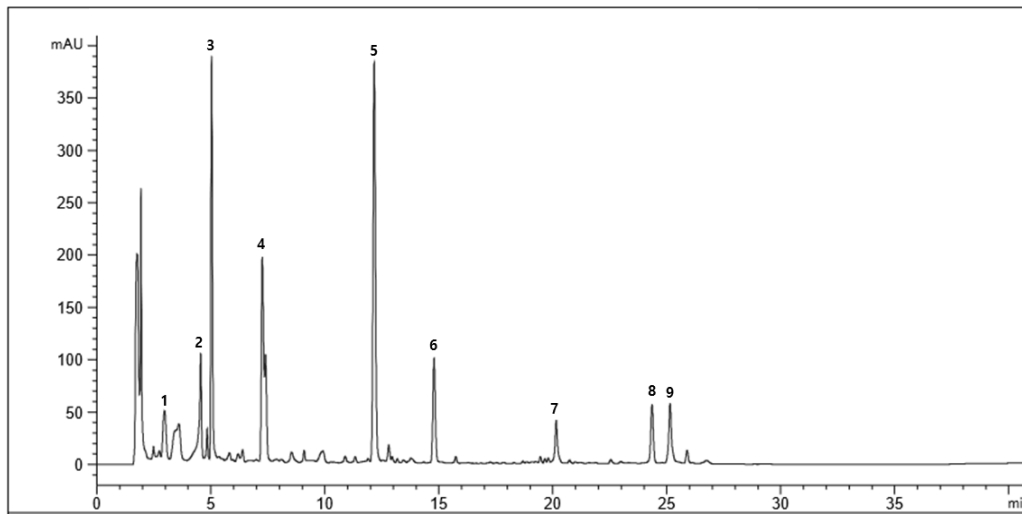
Cooking method	Extraction solvent	
	DW	80% EtOH
Fresh	2.72±0.18 <sup>aB2-4)</sup>	7.82±0.18 <sup>aA</sup>
Steaming	2.00±0.35 <sup>bb</sup>	7.51±0.20 <sup>aA</sup>
Boiling	1.74±0.07 <sup>bb</sup>	7.32±0.21 <sup>abA</sup>

<sup>1)</sup>CE: catechin equivalent.

<sup>2)</sup>Each value is expressed as mean±SD of 3 separate experiments.

<sup>3)</sup>Means with different small letters (a,b) within a column are significantly different at  $P<0.05$ .

<sup>4)</sup>Means with different capital letters (A,B) within a row are significantly different at  $P<0.05$ .



**Fig. 1.** Representative HPLC chromatogram of glucosinolates isolated from fresh Brussels sprouts. 1, progoitrin; 2, glucoraphanin; 3, sinigrin; 4, gluconapin; 5, glucoiberberin; 6, glucoerucin; 7, glucobrassicin; 8, gluconasturtin; 9, 4-methoxyglucobrassicin.

**Table 3.** Glucosinolate concentration in Brussels sprouts determined by HPLC

Glucosinolates (pmol/g dry weight)	Cooking method		
	Fresh	Steamed	Boiled
Progoitrin <sup>1)</sup>	33.61±2.86 <sup>fA3)-5)</sup>	36.54±2.24 <sup>fA</sup>	23.83±1.99 <sup>eB</sup>
Glucoraphanin (Std) <sup>2)</sup>	51.18±2.90 <sup>dA</sup>	46.74±2.88 <sup>deB</sup>	21.31±4.95 <sup>eC</sup>
Sinigrin (Std) <sup>2)</sup>	215.42±23.87 <sup>aA</sup>	267.24±30.08 <sup>aA</sup>	158.94±23.85 <sup>abB</sup>
Gluconapin (Std) <sup>2)</sup>	90.61±12.47 <sup>bB</sup>	121.97±19.23 <sup>bA</sup>	77.94±9.36 <sup>bC</sup>
Glucoiberberin <sup>1)</sup>	226.90±24.89 <sup>aA</sup>	231.30±23.77 <sup>aA</sup>	198.56±18.37 <sup>aB</sup>
Glucoerucin <sup>1)</sup>	78.21±5.73 <sup>bcA</sup>	74.24±5.50 <sup>cA</sup>	64.18±6.20 <sup>cB</sup>
Glucobrassicin (Std) <sup>2)</sup>	47.74±5.90 <sup>dA</sup>	45.79±4.78 <sup>deB</sup>	41.67±6.98 <sup>dC</sup>
Gluconasturtin (Std) <sup>2)</sup>	58.55±3.17 <sup>cA</sup>	51.50±5.05 <sup>dB</sup>	37.82±4.08 <sup>deC</sup>
4-Methoxyglucobrassicin <sup>1)</sup>	43.18±4.08 <sup>eA</sup>	39.20±4.91 <sup>eA</sup>	24.91±3.97 <sup>eB</sup>
Total glucosinolates	845.40±53.67 <sup>B</sup>	914.52±62.32 <sup>A</sup>	649.16±49.41 <sup>C</sup>

<sup>1)</sup>The compounds were relatively quantified against sinigrin.

<sup>2)</sup>The compounds were identified and quantified by comparing the chromatography with the authentic standards.

<sup>3)</sup>Data were the mean±SD of triplicate experiment.

<sup>4)</sup>Means with different small letters (a-f) within a column are significantly different at  $P<0.05$ .

<sup>5)</sup>Means with different capital letters (A-C) within a row are significantly different at  $P<0.05$ .

이상의 결과를 통해 열처리를 하지 않은 fresh한 상태에 비해 boiling과 steaming과 같은 열처리는 glucosinolates의 종류에 따라 다소 차이를 보이기는 하지만, 전반적으로 glucosinolates 함량이 감소하는 것을 확인하였다.

십자화과 채소의 조리 및 가공은 myrosinase를 변질시키는 경향이 있으며, 조리온도가 높고 조리시간이 길어질수록 또한 물, 스팀, 전자파 등과 같은 조리방법에 따라 myrosinase의 변성 정도가 달라진다고 보고되고 있다(Gethun과 Chung, 1999; Conaway 등, 2000; Rungapamestry 등, 2006; Rouzaud 등, 2004). 십자화과 채소는 조리 전에 자르거나 다져서 사용하는데, 이러한 과정을 통해 각기 다른 glucosinolates는 다양한 변화를 나타내었다. 예를 들면 Verkerk 등(2001)의 연구에서 잘게 다진 흰색 양배추를 48 시간 방치하였을 때는 total indole glucosinolates의 함량이 약 5배 증가하였으나 aliphatic glucosinolates는 변하지

않고 일정하게 유지되었다. 반면에 적색 양배추에서는 glucobrassicin은 3.5배 증가하였으나 다른 glucosinolates 함량은 변하지 않았다. 잘게 다진 브로콜리를 보관할 경우 progoitrin과 glucoraphanin 함량이 감소하는 것으로 알려져 있다. 이는 잘게 썬 표면에서 채소 자체에 함유된 myrosinase에 의한 glucosinolates의 가수분해에 의한 결과에 기인하는 것으로 판단된다.

Plant myrosinase와 그 isoenzyme의 활성은 십자화과 채소의 종류에 따라(Wilkinson 등, 1984), 또한 식물체의 각 부위에 따라 다르다(Pihakaski와 Pihakaski, 1978). Myrosinase의 열에 대한 안정성은 효소의 출처에 따라 다르다(Fenwick과 Heaney, 1983). 브로콜리로부터 myrosinase를 추출하여 분말형태로 정제하여 가열하면 40°C 이상에서 활성이 눈에 띄게 감소하고 pH 6.55에서 60°C에서 3분간 가열하면 활성의 약 90% 정도가 소실된다(Ludikhuyze 등,

1999). 반대로 마쇄한 red cabbage나 white cabbage를 pH 7.0에서 30분간 70°C에서 가열하면 myrosinase 활성의 90% 이상이 감소한다(Yen과 Wei, 1993). 브로콜리에 존재하는 myrosinase의 최적온도는 30°C이며(Ludikhuyze 등, 1999), 양배추나 적색 양배추에 있는 myrosinase의 최적온도는 60°C이다(Yen과 Wei, 1993). 또한 방울양배추에 존재하는 myrosinase의 최적온도는 50°C이다(Springett와 Adams, 1989). 양배추나 방울양배추에 존재하는 myrosinase가 브로콜리에 있는 myrosinase보다 열에 대한 안정도가 높은 것으로 보고되고 있다.

수용성 glucosinolates는 십자화과 채소를 준비하는 과정에서 수세조건에 의해서도 영향을 받는다. 예를 들면 십자화과 채소를 자른 후 뜨거운 물을 사용하여 씻거나 물에 장시간 넣어 두면 glucosinolates의 손실이 높았고(Benner 등, 2003), 끓이는 조리법도 glucosinolates의 함량을 크게 감소시키는 것으로 나타났다(Ciska와 Kozłowska, 2001; Oerlemans 등, 2006; Volden 등, 2008). Glucosinolates는 수용성 물질로 세포 용해과정에 의해 물로 상당량이 용출되기 때문에 일반적인 조리과정 중에 손실될 수 있다(Gliszczyńska-Swigło 등, 2006). 따라서 조리 시 지나치게 많은 양의 물을 가하는 것을 피하는 것이 바람직하다. 또한 고온에서는 glucosinolates의 열분해가 촉진될 수 있다(Oerlemans 등, 2006). Yuan 등(2009)은 브로콜리를 끓일 경우 aliphatic glucosinolates와 indole glucosinolates 함량을 각각 41%와 60%까지 감소시킨다고 보고하였다. 이상의 연구 결과들은 십자화과 채소 중에 함유된 glucosinolates 함량은 가정에서의 일반적인 전처리나 조리과정에 의해서도

감소할 수 있음을 시사하고 있다.

#### 추출용매 및 조리방법에 따른 항산화 활성 측정

방울양배추의 조리 및 추출용매에 따른 DPPH 라디칼 소거 활성은 Table 4에 나타났다. 방울양배추의 물 추출물에서는 추출물의 농도가 증가할수록 DPPH 라디칼 소거 활성도 증가하였으며, 같은 농도에서는 fresh > steaming > boiling의 순으로 DPPH 라디칼 소거 활성이 높게 나타났다. 열처리를 하지 않은 신선한 방울양배추 추출물 500 µg/mL에서는 34.41%의 DPPH 라디칼 소거능을 보였고, steaming과 boiling 방울양배추에서는 각각 24.47%와 19.60%의 DPPH 라디칼 소거능을 나타냈다. 방울양배추의 80% 에탄올 추출물에서도 추출물의 농도가 증가할수록 DPPH 라디칼 소거 활성이 증가하였으며, 같은 농도에서는 fresh한 방울양배추에서 steaming과 boiling 방울양배추에 비해 높은 DPPH 소거 활성을 보였다. 물 추출물에 비해 80% 에탄올 추출물에서 높은 DPPH 라디칼 소거 활성을 보였다. Fresh한 방울양배추의 80% 에탄올 추출물 1,000 µg/mL에서는 71.67%의 DPPH 라디칼 소거능을 보였고, steaming과 boiling 방울양배추에서는 각각 67.37%와 65.57%의 DPPH 라디칼 소거능을 나타냈다.

방울양배추의 조리 및 추출용매에 따른 ABTS 라디칼 소거 활성은 Table 5에 나타났다. 방울양배추의 물 추출물에서는 추출물의 농도가 증가할수록 ABTS 라디칼 소거 활성도 증가하였으며, 같은 농도에서는 fresh > steaming ≈ boiling의 순으로 ABTS 라디칼 소거 활성이 높게 나타났다. 신선한 방울양배추 추출물 500 µg/mL에서는 23.62%의 ABTS 라디칼 소거능을 보였고, steaming과 boiling 방울양배추에

**Table 4.** The DPPH radical scavenging activity (%) of Brussels sprouts extracted with distilled water

Conc. (µg/mL)	Cooking method					
	Fresh		Steaming		Boiling	
	DW	80% EtOH	DW	80% EtOH	DW	80% EtOH
125	8.83±1.07 <sup>dB1)-3)</sup>	11.43±0.28 <sup>dA</sup>	6.16±0.41 <sup>dC</sup>	7.23±0.08 <sup>dB</sup>	5.92±1.84 <sup>dC</sup>	8.61±0.84 <sup>dB</sup>
250	18.72±0.40 <sup>cB</sup>	23.09±0.53 <sup>cA</sup>	11.42±0.97 <sup>cC</sup>	17.50±0.30 <sup>cB</sup>	10.32±0.28 <sup>cC</sup>	17.10±0.31 <sup>cB</sup>
500	34.41±0.43 <sup>bB</sup>	46.14±0.72 <sup>bA</sup>	24.47±0.40 <sup>bC</sup>	35.42±0.61 <sup>bB</sup>	19.60±0.63 <sup>bD</sup>	35.85±0.72 <sup>bB</sup>
1,000	61.98±0.30 <sup>aC</sup>	71.67±0.45 <sup>aA</sup>	43.28±0.28 <sup>aD</sup>	67.37±0.18 <sup>aB</sup>	38.38±0.45 <sup>aE</sup>	65.57±0.29 <sup>aB</sup>

<sup>1)</sup>Each value is expressed as mean±SD of 3 separate experiments.

<sup>2)</sup>Means with different small letters (a-d) within a column are significantly different at  $P<0.05$ .

<sup>3)</sup>Means with different capital letters (A-E) within a row are significantly different at  $P<0.05$ .

**Table 5.** The ABTS radical scavenging activity (%) of Brussels sprouts extracted with distilled water

Conc. (µg/mL)	Cooking method					
	Fresh		Steaming		Boiling	
	DW	80% EtOH	DW	80% EtOH	DW	80% EtOH
125	6.21±1.90 <sup>dB1)-3)</sup>	8.03±1.79 <sup>dA</sup>	4.64±0.94 <sup>dD</sup>	5.04±1.45 <sup>dC</sup>	4.73±0.85 <sup>dD</sup>	4.98±1.54 <sup>dC</sup>
250	12.60±1.02 <sup>cB</sup>	17.20±1.12 <sup>cA</sup>	10.08±0.79 <sup>cC</sup>	13.47±0.93 <sup>cB</sup>	9.95±0.18 <sup>cC</sup>	13.78±0.81 <sup>cB</sup>
500	23.62±0.90 <sup>bB</sup>	30.53±0.94 <sup>bA</sup>	19.10±0.40 <sup>bC</sup>	23.37±1.13 <sup>bB</sup>	18.84±0.77 <sup>bC</sup>	24.17±1.12 <sup>bB</sup>
1,000	45.24±2.99 <sup>aB</sup>	54.24±0.17 <sup>aA</sup>	33.57±0.48 <sup>aC</sup>	44.97±0.58 <sup>aB</sup>	32.21±0.57 <sup>aC</sup>	44.15±0.38 <sup>aB</sup>

<sup>1)</sup>Each value is expressed as mean±SD of 3 separate experiments.

<sup>2)</sup>Means with different small letters (a-d) within a column are significantly different at  $P<0.05$ .

<sup>3)</sup>Means with different capital letters (A-D) within a row are significantly different at  $P<0.05$ .

**Table 6.** The reducing power activity (OD at 720 nm) of Brussels sprouts extracted with distilled water

Conc. ( $\mu\text{g/mL}$ )	Cooking method					
	Fresh		Steaming		Boiling	
	DW	80% EtOH	DW	80% EtOH	DW	80% EtOH
125	0.079 $\pm$ 0.001 <sup>dB1)-3)</sup>	0.088 $\pm$ 0.002 <sup>dA</sup>	0.077 $\pm$ 0.002 <sup>dB</sup>	0.086 $\pm$ 0.001 <sup>dA</sup>	0.068 $\pm$ 0.001 <sup>dB</sup>	0.086 $\pm$ 0.001 <sup>dA</sup>
250	0.095 $\pm$ 0.003 <sup>cB</sup>	0.111 $\pm$ 0.002 <sup>cA</sup>	0.094 $\pm$ 0.001 <sup>cB</sup>	0.104 $\pm$ 0.001 <sup>cA</sup>	0.090 $\pm$ 0.001 <sup>cB</sup>	0.102 $\pm$ 0.001 <sup>cA</sup>
500	0.142 $\pm$ 0.001 <sup>bB</sup>	0.153 $\pm$ 0.001 <sup>bA</sup>	0.121 $\pm$ 0.002 <sup>bC</sup>	0.139 $\pm$ 0.002 <sup>bB</sup>	0.117 $\pm$ 0.003 <sup>bC</sup>	0.138 $\pm$ 0.001 <sup>bB</sup>
1,000	0.211 $\pm$ 0.004 <sup>aB</sup>	0.223 $\pm$ 0.003 <sup>aA</sup>	0.172 $\pm$ 0.001 <sup>aC</sup>	0.197 $\pm$ 0.002 <sup>aB</sup>	0.160 $\pm$ 0.001 <sup>aC</sup>	0.196 $\pm$ 0.003 <sup>aB</sup>

<sup>1)</sup>Each value is expressed as mean $\pm$ SD of 3 separate experiments.

<sup>2)</sup>Means with different small letters (a-d) within a column are significantly different at  $P<0.05$ .

<sup>3)</sup>Means with different capital letters (A-C) within a row are significantly different at  $P<0.05$ .

서는 각각 19.10%와 18.84%의 ABTS 라디칼 소거능을 나타냈다. 방울양배추의 80% 에탄올 추출물에서는 추출물의 농도가 증가할수록 ABTS 라디칼 소거 활성도 증가하였으며, 같은 농도에서는 fresh 방울양배추에서 steaming과 boiling 방울양배추에 비해 높은 ABTS 소거 활성을 보였고, steaming과 boiling 방울양배추는 거의 비슷한 수준에서 ABTS 라디칼 소거 활성을 나타냈다. 물 추출물에 비해 80% 에탄올 추출물에서 높은 ABTS 라디칼 소거 활성을 보였다. Fresh한 방울양배추 추출물 1,000  $\mu\text{g/mL}$ 에서는 54.24%의 ABTS 라디칼 소거능을 보였고, steaming과 boiling 방울양배추에서는 각각 44.97%와 44.15%의 ABTS 라디칼 소거능을 확인하였다.

방울양배추의 조리 및 추출용매에 따른 환원력은 Table 6에 나타냈다. 방울양배추의 물 추출물에서는 추출물의 농도가 증가할수록 환원력도 증가하였으며, 같은 농도에서는 fresh> steaming> boiling의 순으로 환원력이 높게 나타났다. Fresh한 방울양배추 추출물 500  $\mu\text{g/mL}$ 의 720 nm에서의 흡광도는 0.142를 나타냈고, steaming과 boiling 방울양배추에서는 각각 0.121와 0.117의 흡광도를 보였다. 방울양배추의 80% 에탄올 추출물에서는 추출물의 농도가 증가할수록 환원력이 증가하였으며, 같은 농도에서는 조리하지 않은 방울양배추가 steaming과 boiling 방울양배추에 비해 높은 환원력을 보였고, 물 추출물에 비해 80% 에탄올 추출물에서 환원력이 높게 나타났다.

다른 채소들에 비해 십자화과 채소에는 비타민 A, 비타민 B6,  $\beta$ -carotene, lutein, 비타민 K, folate 등이 풍부하고 수용성과 지용성의 항산화 물질이 풍부한 것으로 알려져 있다(Fenwick과 Heaney, 1983; Combs과 Ernst, 2019). 채소의 조리방법에 따라 항산화 활성이 다르게 나타나는데, 이는 채소 자체에 함유된 항산화 물질의 종류 및 구조, 채소의 절단 방법, 조리방법, 조리온도, 채소 내에 공존하는 물질의 구조와 시너지 효과, 항산화 물질의 생체이용도 등에 영향을 받는다(Jiménez-Monreal 등, 2009). 선행연구를 보면 DPPH, ABTS 라디칼 소거능과 총 폴리페놀 화합물 함량은 비례적인 상관관계를 보여 왔다(Zhang과 Hamauzu, 2004; Sikora 등, 2008). 또한 신선한 브로콜리, 방울양배추, 콜리플라워 등을 끓이거나 전자레인지로 가열한 경우

총 폴리페놀 함량이 감소하고 DPPH 라디칼 소거 활성이 34.6~35.0%까지 감소했다고 보고하고 있어(Zhang과 Hamauzu, 2004; Sikora 등, 2008), 본 결과와 유사한 결과를 나타냈다. 채소에 물을 넣고 조리하는 동안 수용성의 항산화 성분들이 물속에 용출되거나 열에 민감한 항산화 성분의 파괴가 일어나 항산화 활성의 감소로 이어진 것으로 사료된다. 반면에 신선한 양배추를 100°C의 끓는 물에 가열하거나 찌는 조리법에 의해 항산화 활성이 증가하였다는 보고도 있어(Pellegrini 등, 2010), 십자화과 채소의 조리가 항산화 활성에 미치는 영향에 대한 결론을 내리기 어려운 상황에 있다. 따라서 방울양배추 섭취를 통해 생리활성 물질의 파괴를 최소화하고 항산화 효과를 극대화할 수 있도록 다양한 조리환경에서의 연구가 필요하다.

## 요 약

방울양배추를 열처리 방법(fresh, boiling, steaming)에 따른 총 폴리페놀, 총 플라보노이드, glucosinolates의 함량 변화와 항산화 활성을 증류수와 80% 에탄올 추출물에서 측정하였다. 총 폴리페놀은 열처리를 하지 않은 방울양배추의 증류수 추출물에서는 건조 중량 1 g당 31.11 mg이었고, steaming에서는 31.02 mg으로 fresh한 방울양배추 추출물과 통계적으로 유의성 있는 차이를 나타내지 않았다. 반면에 방울양배추를 끓는 물에서 5분 동안 boiling한 경우는 17.89 mg으로 fresh한 시료에 비해 42.49%의 유의적인 감소를 보였다. 총 플라보노이드는 80% 에탄올 추출물에서 중량 1 g당 열처리하지 않은 방울양배추에서 7.82 mg으로 가장 높았고, steaming에서는 7.51 mg, boiling에서는 7.32 mg으로 fresh한 시료에 비해 각각 3.96%, 6.39%까지 총 플라보노이드 함량이 감소하였다. Fresh한 방울양배추 추출물에는 progoitrin, glucoraphanin, sinigrin, gluconapin, glucoiberberin, glucoerucin, glucobrassicin, gluconasturtin, 4-methoxyglucobrassicin의 총 9종의 glucosinolates를 HPLC 분석방법으로 확인하였다. 조리방법에 상관없이 증류수 추출물에 비해 80% 에탄올 추출물에서 총 폴리페놀과 총 플라보노이드 함량이 높게 나타났다. DPPH와 ABTS 라디칼 소거 활성과 환원력을 통해 방울 양배추 추출물의 항산

화 활성을 측정한 결과 물 추출물에 비해 80% 에탄올 추출물에서 높은 항산화 활성을 보였으며, fresh한 시료에 비해 찌거나 끓이는 조리법을 사용한 시료에서 항산화 활성이 감소하였다. 따라서 방울양배추를 포함한 십자화과 채소의 생리활성 물질의 손실을 최소화하기 위해서는 물에 넣고 끓이는 조리법보다는 스팀을 이용하여 찌거나 fresh한 상태로 섭취하는 것이 바람직할 것으로 사료된다.

## 감사의 글

본 연구는 한국연구재단 기본연구지원사업(과제번호 2019 R1F1A1058764)의 지원에 의해 이루어진 것이며, 그 지원에 감사드립니다.

## REFERENCES

- Arumugam A, Abdull Razis AF. Apoptosis as a mechanism of the cancer chemopreventive activity of glucosinolates: a review. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2018. 19:1439-1448.
- Awang MA, Chuah AL, Pin KY, Ta HP. Effect of solvents on the extraction of Kacip Fatimah (*Labisia pumila*) leaves. *J Chem Pharm Res*. 2014. 6:172-332.
- Barba FJ, Nikmaram N, Roohinejad S, Khelfa A, Zhu Z, Koubaa M. Bioavailability of glucosinolates and their breakdown products: impact of processing. *Front Nutr*. 2016. 3:24. doi: 10.3389/fnut.2016.00024
- Becker TM, Juvik JA. The role of glucosinolate hydrolysis products from *Brassica* vegetable consumption in inducing antioxidant activity and reducing cancer incidence. *Diseases*. 2016. 4:22. doi: 10.3390/diseases4020022
- Benner M, Geerts RFR, Linnemann AR, Jongen WMF, Folstar P, Cnossen HJ. A chain information model for structured knowledge management: towards effective and efficient food product improvement. *Trends Food Sci Technol*. 2003. 14: 469-477.
- Ciska E, Kozłowska H. The effect of cooking on the glucosinolates content in white cabbage. *Eur Food Res Technol*. 2001. 212:582-587.
- Combs MH, Ernst M. Brussels sprouts. University of Kentucky College of Agriculture, Food and Environment. 2019 [cited 2019 Jul 23]. Available from: <http://www.uky.edu/ccd/sites/www.uky.edu/ccd/files/brusselssprouts.pdf>
- Conaway CC, Getahun SM, Liebes LL, Pusateri DJ, Topham DK, Botero-Omary M, et al. Disposition of glucosinolates and sulforaphane in humans after ingestion of steamed and fresh broccoli. *Nutr Cancer*. 2000. 38:168-178.
- Fahey JW, Zalcemann AT, Talalay P. The chemical diversity and distribution of glucosinolates and isothiocyanates among plants. *Phytochemistry*. 2001. 56:5-51.
- Fenwick GR, Heaney PK. Glucosinolates and their breakdown products in cruciferous crops, foods and feeding stuffs. *Food Chem*. 1983. 11:249-271.
- Francisco M, Velasco P, Monero DA, García-Viguera C, Cartea ME. Cooking methods of *Brassica rapa* affect the preservation of glucosinolates, phenolics and vitamin C. *Food Res Int*. 2010. 43:1455-1463.
- Franco P, Spinuzzi S, Pagnotta E, Lazzeri L, Ugolini L, Camborata C, et al. Development of a liquid chromatography-electrospray ionization-tandem mass spectrometry method for the simultaneous analysis of intact glucosinolates and isothiocyanates in Brassicaceae seeds and functional foods. *J Chromatogr A*. 2016. 1428:154-161.
- Getahun SM, Chung FL. Conversion of glucosinolates to isothiocyanates in humans after ingestion of cooked watercress. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 1999. 8:447-451.
- Gliszczynska-Swiglo A, Ciska E, Pawlak-Lemańska K, Chmielewski J, Borkowski T, Tyrakowska B. Changes in the content of health-promoting compounds and antioxidant activity of broccoli after domestic processing. *Food Addit Contam*. 2006. 23:1088-1098.
- Gründemann C, Huber R. Chemoprevention with isothiocyanates – From bench to bedside. *Cancer Lett*. 2018. 414:26-33.
- ISO. International Organization for Standardization, 9167-1(E). 1992 [cited 2018 May 21]. Available from: <http://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:iso:9167:-1:ed-1:v:/ed>
- Jiménez-Monreal AM, García-Diz L, Martínez-Tomé M, Mariscal M, Murcia MA. Influence of cooking methods on antioxidant activity of vegetables. *J Food Sci*. 2009. 74:H97-H103.
- Kim MY, Lee SH, Jang GY, Kim HY, Woo KS, Hwang IG, et al. Effects of heat treatment of antioxidant activity of hydrolyzed mung beans. *Korean J Food Sci Technol*. 2013. 45:34-39.
- Kurilich AC, Tsau GJ, Brown A, Howard L, Klein BP, Jeffery EH, et al. Carotene, tocopherol, and ascorbate contents in subspecies of *Brassica oleracea*. *J Agric Food Chem*. 1999. 47: 1576-1581.
- Kushad MM, Brown AF, Kurilich AC, Juvik JA, Klein BP, Wallig MA, et al. Variation of glucosinolates in vegetable crops of *Brassica oleracea*. *J Agric Food Chem*. 1999. 47: 1541-1548.
- Ludikhuyze L, Ooms V, Weemaes C, Hendrickx M. Kinetic study of the irreversible thermal and pressure inactivation of myrosinase from broccoli (*Brassica oleracea* L. Cv. *italica*). *J Agric Food Chem*. 1999. 47:1794-1800.
- Michaelsen S, Otte J, Simonsen LO, Sorensen H. Absorption and degradation of individual intact glucosinolates in the digestive tract of rodents. *Acta Agric Scand A Anim Sci*. 1994. 44:25-37.
- Oerlemans K, Barrett DM, Suades CB, Verkerk R, Dekker M. Thermal degradation of glucosinolates in red cabbage. *Food Chem*. 2006. 95:19-29.
- Pan JH, Abernathy B, Kim YJ, Lee JH, Kim JH, Shin EC, et al. Cruciferous vegetables and colorectal cancer prevention through microRNA regulation: A review. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2018. 58:2026-2038.
- Pellegrini N, Chiavaro E, Gardana C, Mazzeo T, Contino D, Gallo M, et al. Effect of different cooking methods on color, phytochemical concentration, and antioxidant capacity of raw and frozen brassica vegetables. *J Agric Food Chem*. 2010. 58:4310-4321.
- Pihakaski K, Pihakaski S. Myrosinase in *Brassicaceae* (*Cruciferae*): II. Myrosinase activity in different organs of *Sinapis alba* L.. *J Exp Botany*. 1978. 29:335-345.
- Pin KY, Chuah TG, Rashih A, Law CL, Rasadah MA, Choong TSY. Drying of betel leaves (*Piper betle* L.): quality and drying kinetics. *Drying Technol*. 2009. 27:149-155.
- Rabot S, Nugon-Baudon L, Raibaud P, Szylił O. Rape-seed meal toxicity in gnotobiotic rats: influence of a whole human faecal flora or single human strains of *Escherichia coli* and *Bacteroides vulgatus*. *Br J Nutr*. 1993. 70:323-331.
- Rosa EAS, Heaney RK, Portas CAM, Fenwick GR. Changes in glucosinolate concentrations in Brassica crops (*B. oleracea*



- and *B. napus*) throughout growing seasons. J Sci Food Agric. 1996. 71:237-244.
- Rouzaud G, Rabot S, Ratcliffe B, Duncan AJ. Influence of plant and bacterial myrosinase activity on the metabolic fate of glucosinolates in gnotobiotic rats. Br J Nutr. 2003. 90:395-404.
- Rouzaud G, Young SA, Duncan AJ. Hydrolysis of glucosinolates to isothiocyanates after ingestion of raw or microwaved cabbage by human volunteers. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 2004. 13:125-131.
- Rungapamestry V, Duncan AJ, Fuller Z, Ratcliffe B. Changes in glucosinolate concentrations, myrosinase activity, and production of metabolites of glucosinolates in cabbage (*Brassica oleracea* Var. capitata) cooked for different durations. J Agric Food Chem. 2006. 54:7628-7634.
- Seow A, Vainio H, Yu MC. Effect of glutathione-S-transferase polymorphisms on the cancer preventive potential of isothiocyanates: an epidemiological perspective. Mutat Res. 2005. 592:58-67.
- Shapiro TA, Fahey JW, Wade KL, Stephenson KK, Talalay P. Chemoprotective glucosinolates and isothiocyanates of broccoli sprouts: metabolism and excretion in humans. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 2001. 10:501-508.
- Sikora E, Cieslik E, Leszczyńska T, Filipiak-Florkiewicz A, Pisulewski PM. The antioxidant activity of selected cruciferous vegetables subjected to aquathermal processing. Food Chem. 2008. 107:55-59.
- Springett MB, Adams JB. Properties of Brussels sprouts thioglucosidase. Food Chem. 1989. 33:173-186.
- Turkmen N, Sari F, Velioglu YS. The effect of cooking methods on total phenolics and antioxidant activity of selected green vegetables. Food Chem. 2005. 93:713-718.
- van Poppel G, Verhoeven DT, Verhagen H, Goldbohm RA. Brassica vegetables and cancer prevention. Epidemiology and mechanisms. Adv Exp Med Biol. 1999. 472:159-168.
- Verkerk R, Dekker M, Jongen WMF. Post-harvest increase of indolyl glucosinolates in response to chopping and storage of *Brassica* vegetables J Sci Food Agric. 2001. 81:953-958.
- Volden J, Wicklund T, Verkerk R, Dekker M. Kinetics of changes in glucosinolate concentrations during long-term cooking of white cabbage (*Brassica oleracea* L. ssp. capitata f. alba). J Agric Food Chem. 2008. 56:2068-2073.
- Wachtel-Galor S, Wong KW, Benzie IFF. The effect of cooking on *Brassica* vegetables. Food Chem. 2008. 110:706-710.
- Wijngaard HH, Brunton N. The optimisation of solid-liquid extraction of antioxidants from apple pomace by response surface methodology. J Food Eng. 2010. 96:134-140.
- Wilkinson AP, Rhodes MJC, Fenwick RG. Myrosinase activity of cruciferous vegetables. J Sci Food Agric. 1984. 35:543-552.
- Yen GC, Wei QK. Myrosinase activity and total glucosinolate content of cruciferous vegetables, and some properties of cabbage myrosinase in Taiwan. J Sci Food Agric. 1993. 61:471-475.
- Yuan G, Sun B, Yuan J, Wang Q. Effects of different cooking methods on health-promoting compounds of broccoli. J Zhejiang Univ Sci B. 2009. 10:580-588.
- Zhang DL, Hamazu Y. Phenolics, ascorbic acid, carotenoids and antioxidant activity of broccoli and their changes during conventional and microwave cooking. Food Chem. 2004. 88: 503-509.
- Zuorro A, Iannone A, Lavecchia R. Water-organic solvent extraction of phenolic antioxidants from Brewers' spent grain processes. 2019. 7:126. doi: 10.3390/pr7030126.