

김치 주·부재료의 활성산소에 대한 피부 세포독성 완화효과

류승희 · 전영수* · 문정원** · 이영순*** · 문갑순†

인제대학교 식품영양학과

*부산대학교 식품영양학과 및 김치연구소

**부산여자전문대학 식품영양과

***경희대학교 식품영양학과

Effect of Kimchi Ingredients to Reactive Oxygen Species in Skin Cell Cytotoxicity

Seung-Hee Ryu, Young-Soo Jeon*, Jung-Won Moon**, Young-Soon Lee***
and Gap-Soon Moon†

Dept. of Food Science and Nutrition, Inje University, Kimhae 621-749 Korea

*Dept. of Food Science and Nutrition, Pusan National University and Kimchi Research
Institute at Pusan National University, Pusan 609-735, Korea

**Dept. of Food and Nutrition, Pusan Women's Junior College, Pusan 614-734, Korea

***Dept. of Food Science and Nutrition, Kyunghee University, Seoul 130-734, Korea

Abstract

Kimchi showed protective effect from oxidative damage generated by hydrogen peroxide and paraquat. To investigate the major components of kimchi which reduce the cytotoxicity against reactive oxygen species, keratinocyte(A431, epidermoid carcinoma, human) and fibroblast(CCD-986SK, normal control, human) were cultured under oxidative stress condition provoked by paraquat, a superoxide anion generator, and hydrogen peroxide in the absence or presence of kimchi ingredients. Most keratinocyte and fibroblast cells were killed by hydrogen peroxide and paraquat over 1mM concentration, but kimchi ingredients showed protective effects from oxidative damage generated by hydrogen peroxide and paraquat. In keratinocyte cell, the cytotoxicity of hydrogen peroxide was suppressed by leek, garlic, and onion, among those, garlic showed the most remarkable preventive effect. Most of kimchi ingredients showed protective effect against paraquat, especially leek notably increased cell survival. For fibroblast cells, ginger had the preventive effect from cell killing by high dose of hydrogen peroxide, but most ingredients were not effective against paraquat.

Key words: kimchi ingredients, keratinocyte, fibroblast, oxidative stress, cytotoxicity

서 론

김치는 배추에 고추가루와 마늘을 포함한 여러 부재료를 첨가하여 발효시켜 만든 우리나라의 대표적인 음식이다. 김치의 제조에는 주재료인 배추, 무 뿐만 아니라 마늘, 고추가루, 젓갈 등의 양념과 부추, 미나리, 당근, 파 등의 녹황색 채소류들이 다양하게 사용되고 있다. 배추와 같은 심자화과 채소에는 플라보노이드, 페놀물질, 함황화합물 등이 풍부하게 함유되어 있고(1), 식물 속의 이들 성분들에 관한 항산화효과가 알려져 있

다(2,3). 녹황색 채소류 속의 β-카로텐, 비타민 C(4), 클로로필(5) 등도 항산화효과를 나타낸다고 알려져 있을 뿐만 아니라 양념으로 사용되는 마늘(6-10), 생강(11-15), 고추가루(16)에서도 강력한 항산화물질의 존재가 밝혀지고 있다. 따라서 이러한 구성물질을 가지고 있는 김치는 항산화효과를 나타낼 것으로 여겨지고 있으며, 실제 이와 최(17)는 우육-김치 모델계에서 김치의 항산화효과를 확인한 바 있다. 김치의 항산화효과와 관련있을 것으로 여겨지는 플라보노이드(3), 페놀물질(18), β-카로텐(19,20), 클로로필(5) 등은 유해 활성산소

* To whom all correspondence should be addressed

를 소거하는 역할을 가진 것으로 밝혀지고 있어 이들의 활성산소 소거특성이 김치의 항산화효과에 중요한 역할을 할 것으로 추정된다. 전보(21)에서 피부세포인 keratinocyte와 fibroblast에 산화적 스트레스를 준 후 김치의 세포독성 완화효과를 살펴본 결과 김치의 세포독성 완화효과가 큰 것으로 확인된 바 있었고, 이는 김치 속의 여러 성분들이 활성산소를 소거하여 세포독성을 완화하였기 때문으로 여겨진다. 본 연구에서는 김치에 사용되는 여러 재료 중 활성산소에 의한 독성 완화효과에 가장 큰 영향을 미치는 주요 성분을 찾기 위하여 김치 주·부재료들을 사용하여 전보(21)와 동일한 protocol로 실험을 행하였다.

즉 피부세포인 keratinocyte와 fibroblast를 이용하여 먼저 김치재료인 배추, 무, 부추, 마늘, 생강, 파, 양파들의 독성검사를 수행하여 독성을 나타내지 않는 범위 내에서 세포에 투여하고 여기에 산화적 스트레스를 유발시키는 과산화수소와 paraquat(1,1'-dimethyl-4,4'-bipyridinium dichloride; PQ)을 농도별로 투여하여 시료들의 활성산소에 대한 해독작용을 연구하였다.

재료 및 방법

실험재료

실험에 사용한 fetal bovine serum(FBS), Dulbecco's modified eagle medium(D-MEM)은 Gibco BRL(NY, USA)의 것을, paraquat(1,1'-dimethyl-4,4'-bipyridinium dichloride), 과산화수소(H_2O_2) 등의 일반시약은 Sigma사(ST. Louis, MO, USA)의 제품을 사용하였다.

사용세포주 및 배양방법

Keratinocyte(A431 cell line, epidermoid carcinoma, human)와 fibroblast(CCD-986SK, skin, normal control, human)를 한국암세포주은행에서 분양받아 사용하였고, 10% fetal bovine serum(FBS)를 함유하는 D-MEM배지를 사용하여 전보(21)와 동일한 방법으로 37°C, 5% CO_2 조건에서 배양하였다.

김치 주·부재료의 준비

김치의 주·부재료인 배추, 무, 부추, 마늘, 생강, 양파, 파 등을 전보(21)에서 배추김치 담금시 사용하였던 동일한 재료를 사용하였는데, 이들을 분쇄하여 줌을 원심분리한 후 상등액을 취해 0.22 μm filter로 여과하여 사용하였다.

김치 주·부재료들의 세포에 대한 TD₅₀ 측정

본 실험에 사용할 적정 시료의 농도를 결정하기 위하여 세포들에 대한 시료들의 세포독성(cytotoxicity)을 Mosman의 방법(22)에 따라 전보(21)와 동일한 방법으로 측정하였다.

김치 재료의 과산화수소와 paraquat에 대한 세포사멸 억제효과의 측정

김치 재료들의 세포사멸 억제효과를 장기간 시료에 노출하였을 때와 단기간 시료에 노출하였을 때로 나누어 전보(21)와 동일한 방법으로 측정하였고 이를 요약하여 나타내면 다음과 같다.

<장기간 노출>

24hr	24hr	4days
세포분주 →	김치 재료 투여 →	H_2O_2 투여 → assay

<단기간 노출>

4days	24hr
세포분주 →	김치 재료 투여 → PQ, H_2O_2 투여
	24hr
	→ assay

결과 및 고찰

김치 주·부재료들의 세포에 대한 TD₅₀

Keratinocyte에 대한 김치재료들의 세포독성 실험 결과는 Table 1과 같았다. 김치의 주재료인 배추의 경우 keratinocyte에 대해 가장 낮은 독성을 나타내어 10%정도 첨가하여도 세포생존율에 거의 영향을 미치지 않았고 양파도 세포 독성이 약했으나 실험에 사용한 나머지 부재료들은 상당한 독성을 나타내었다. 파는 1.25%에서, 무와 생강이 0.62~1.25%, 부추는 0.15~0.3%. 마늘은 독성이 가장 강하여 0.05%에서도 세포생존율에 영향을 미쳤다. 암세포인 keratinocyte에 대해 가장 강한 세포 성장 억제효과를 나타낸 것은 마늘이었고 부추의 효과도 상당히 높음을 알 수 있었다. Park(23)은 김치의 주재료인 배추를 비롯하여 부재료인 마늘, 고추가루, 생강 및 파 등이 항암 및 암예방 효과를 나타낸을 보고하고 있어 A431 세포에 대한 본 실험결과와 일치함을 알 수 있었다. A431에 대해 가장 큰 세포독성을 나타낸 마늘의 항암효과에 관해서는 많은 연구결과들이 보고되어 있고(23,24) 무, 부추, 배추도 MNNG(N-methyl-N-nitro-N-nitrosoguanidine)에 대해 상당히 큰 저해효과를 나타내었음이 보고되어 있다(23).

Table 1. Cell survival rate of keratinocyte in kimchi ingredient extracts

	Concentration of kimchi ingredient extracts(%)							
	20	10	5	2.5	1.25	0.62	0.3	0.15
Chinese cabbage	29.4	93.6	96.3	134.9	99.1	94.0	118.8	116.1
Radish root	6.8	6.5	33.9	56.5	91.6	105.8	120.0	126.0
Leek	17.4	13.3	10.1	7.8	7.3	58.7	95.0	103.7
Green onion	11.5	14.2	11.0	80.7	104.1	87.6	140.0	164.7
Onion	8.7	32.1	103.2	109.2	137.2	117.4	138.1	159.2
Ginger		5.6	58.7	92.3	93.8	113.7	197.5	113.3

	Concentration of kimchi ingredient extracts(%)						
	3.3	1.6	0.83	0.42	0.2	0.1	0.05
Garlic	11.0	10.0	14.3	10.2	11.6	62.2	76.3

Table 2. Cell survival rate of fibroblast in kimchi ingredient extracts

	Concentration of kimchi ingredient extracts(%)							
	20	10	5	2.5	1.25	0.62	0.3	0.15
Chinese cabbage	79.9	85.5	93.1	99.4	95.3	91.3	88.4	86.3
Radish root	42.4	69.6	97.2	95.2	95.2	93.8	88.1	98.6
Leek	15.3	15.5	13.1	54.3	83.4	93.8	103.2	98.2
Green onion	11.0	59.1	76.3	90.7	107.2	101.0	96.6	99.9
Onion	23.2	64.7	77.9	86.8	97.7	100.3	97.4	95.0
Ginger	24.8	91.3	87.2	93.5	93.3	89.4	86.9	

	Concentration of kimchi ingredient extracts(%)						
	3.3	1.6	0.83	0.42	0.2	0.1	0.05
Garlic	22.4	65.7	89.8	96.8	98.2	95.2	99.2

이러한 김치의 항암효과는 김치재료에 풍부한 비타민 C, β-카로텐, 식이섬유소, 플라보노이드, 엽록소 등과 밤효과(25) 중 유산균의 생성으로 인한 암예방효과가 있다고 추측된다. 특히 김치에 첨가되는 파, 부추, 고추가루 등의 녹황색채소류들은 암을 예방하는 대표적인 식품으로 인정받고 있는데 녹황색채소류들의 항암작용기전은 superoxide anion(O_2^-)과 hydroxy radical($\cdot OH$)과 같은 산소종의 형성을 소거하거나 억제하므로서 작용되어진다고 볼 수 있는데(25), 특히 β-카로텐의 일중항산소에 대한 소광작용은 잘 알려져 있다(19,20).

Keratinocyte에 대한 김치 주·부재료들의 TD₅₀은 배추가 10~20%였고 양파가 5~10%범위였으며 생강이 5%, 파가 2.5~5%, 무가 2.5%, 부추가 0.62%였으며 마늘이 0.1~0.2%였으므로 부추와 생강은 0.62%, 마늘은 0.1%, 나머지 재료는 1.25%의 농도로 세포에 투여하였다.

Fibroblast에 대한 김치 주·부재료들의 독성실험 결과는 Table 2와 같았다. 정상세포인 fibroblast에 대해서도 세포독성의 경향이 keratinocyte와 유사하여서 TD₅₀은 배추가 20%이상이었고 무, 양파가 10~20%, 파 10%, 생강이 5~10%, 부추가 2.5%였으며 마늘이 1.6~

3.3%였으나 세포독성에 영향을 미치는 시료의 농도가 keratinocyte보다 높은 것으로 나타났다. 이것은 세포에 따라 외부물질에 반응하는 기작이 조금씩 차이가 있기 때문으로 여겨진다. 따라서, 세포에 투여하는 시료의 농도를 부추와 생강은 1.25%, 마늘은 0.83%, 나머지 재료는 2.5%의 농도로 결정하였다.

김치 주·부재료들의 keratinocyte에 대한 세포사멸 억제효과

표피세포인 keratinocyte에 과산화수소와 paraquat을 농도별로 투여하여 산화적 스트레스를 유발시켜 김치 주·부재료들의 활성산소에 대한 독성완화작용을 살펴보았다. Fig 1은 장기간 과산화수소에 노출하였을 때의 김치 재료들의 세포독성 완화효과를 나타낸 것이다. 과산화수소에 의한 세포독성은 전보(21)와 동일한 경향을 나타내어서 1mM농도에서 대부분의 세포가 사멸하였다. 대부분의 김치 주·부재료들은 세포독성 완화효과를 나타내었는데 과산화수소 0.5mM농도에서 양파, 배추, 무, 마늘의 세포독성 완화효과가 큰 것으로 나타났고 부추, 생강의 경우 세포독성 보호효과가 약간 낮은 것으로 나타났다. 과산화수소 1mM농도에서

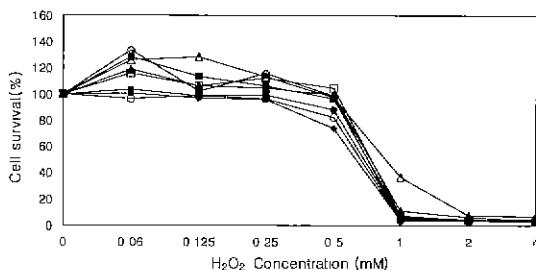


Fig. 1. Effect of kimchi ingredient extracts on cytotoxicity of H₂O₂ on keratinocyte during 4-day exposure.

Keratinocyte cells were plated at the concentration of 10⁴ cells/well and incubated for 24hr. Then 1.25% kimchi ingredients other than leek, ginger and garlic extracts were added and incubated for another 24hr, followed by exposure of cells to different concentrations of H₂O₂ for 4 days. The concentration of leek and ginger extracts used 0.6% and that of garlic extract 0.1%.

- ◆- Control, -■- Chinese cabbage, -▲- Radish root,
- Leek, -◇- Green onion, -□- Onion, -△- Garlic,
- Ginger

는 마늘의 세포독성 완화효과가 현저하였다.

Fig. 2는 keratinocyte를 단기간 과산화수소에 노출시켰을 때의 김치 주·부재료들의 세포독성 완화효과를 본 것이다. 세포가 받는 과산화수소에 의한 독성은 장기간 과산화수소에 노출시켰을 때와 거의 유사한 경향을 나타내어 1mM 이상의 농도에서 keratinocyte 대부분이 사멸하는 것으로 나타났다. 김치재료들의 경우 장기간 과산화수소에 노출시켰을 때와 마찬가지로 과

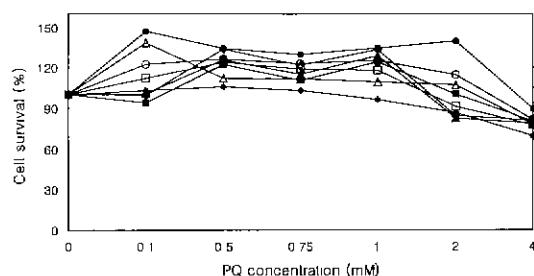


Fig. 3. Effect of kimchi ingredient extracts on cytotoxicity of PQ on keratinocyte during 24hr exposure.

Keratinocyte cells were plated at the concentration of 10⁴ cells/well and incubated for 4 days. Then 1.25% kimchi ingredient extracts other than leek, ginger and garlic extracts were added and incubated for another 24hr, followed by exposure of cells to different concentrations of PQ for 24hr. The concentration of leek and ginger extracts used 0.6% and that of garlic extract 0.1%.

- ◆- Control, -■- Chinese cabbage, -▲- Radish root,
- Leek, -◇- Green onion, -□- Onion, -△- Garlic,
- Ginger

산화수소에 대한 세포독성 완화효과가 나타났는데 생강의 효과가 현저하였고 파, 부추 등의 함황화합물을 가지고 있는 식품들이 산화적 스트레스에 대한 확실한 억제효과를 나타내었다. 마늘의 효과는 단기간 처리했을 때는 장기간 처리시보다 확실하지 않아 처리 시간에 따라 약간의 다른 결과가 나타났다.

Fig. 3은 paraquat을 keratinocyte에 첨가하고 단기간의 김치 주·부재료들의 세포독성 완화효과를 본 것이다. Keratinocyte에 첨가하는 paraquat의 농도가 증가할수록 세포생존율은 감소하였고, 감소폭은 전보(21)와 같았다. Paraquat의 농도가 증가할수록 김치재료들의 세포독성 완화효과가 커졌는데 특히 2mM의 농도에서 세포독성 완화효과가 현저하였으나 4mM 농도에서는 김치재료들을 첨가한 세포독성 억제효과가 크지 않고 오히려 대조군에 가까워지는 경향을 나타내었다. Paraquat 2mM농도에서 부추의 세포독성 완화효과가 월등하였고 생강, 마늘, 배추의 순으로 효과가 높았으며 파, 무의 효과는 높지 않거나 대조군보다 낮았다.

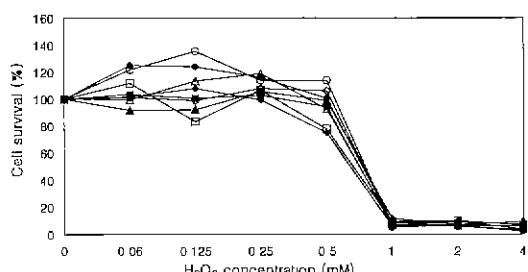


Fig. 2. Effect of kimchi ingredient extracts on cytotoxicity of H₂O₂ on keratinocyte during 24hr exposure.

Keratinocyte cells were plated at the concentration of 10⁴ cells/well and incubated for 4 days. Then 1.25% kimchi ingredients other than leek, ginger and garlic extracts were added and incubated for another 24hr, followed by exposure of cells to different concentrations of H₂O₂ for 24hr. The concentration of leek and ginger extracts used 0.6% and that of garlic extract 0.1%.

- ◆- Control, -■- Chinese cabbage, -▲- Radish root,
- Leek, -◇- Green onion, -□- Onion, -△- Garlic,
- Ginger

김치 주·부재료들의 fibroblast에 대한 세포사멸 억제효과

피부의 진피세포인 fibroblast에 과산화수소 및 paraquat을 가해 산화적 스트레스를 가한 후 김치주·부재료들의 세포독성 완화효과를 살펴보았다. Fig. 4는 과산화수소 및 시료들을 장기간 투여하여 김치 주·부재료들의 세포독성 완화효과를 본 것이다. Fibroblast

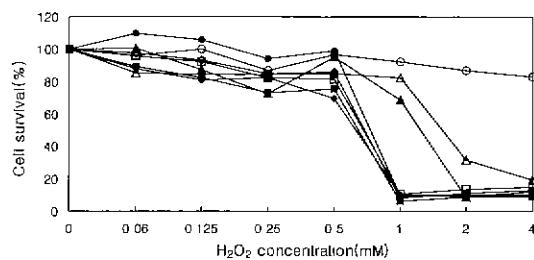


Fig. 4. Effect of kimchi ingredient extracts on cytotoxicity of H_2O_2 on fibroblast during 4-day exposure.

Fibroblast cells were plated at the concentration of 5×10^3 cells/well and incubated for 24 hr. Then 2.5% kimchi ingredients other than leek, ginger and garlic extracts were added and incubated for another 24 hr, followed by exposure of cells to different concentrations of H_2O_2 for 4 days. The concentration of leek and ginger extracts used 1.25% and that of garlic extract 0.83%.

◆ Control, ■ Chinese cabbage, ▲ Radish root,
● Leek, ◆ Green onion, □ Onion, △ Garlic,
○ Ginger

의 경우도 keratinocyte와 유사한 경향을 나타내어 과산화수소 1mM 농도에서 세포독성이 크게 증가하여 대부분의 세포가 사멸하였다. 그런데 김치재료들을 첨가하였을 때 keratinocyte에서 보다 세포독성을 현저히 감소시켰고, 그 효과도 분명한 것으로 나타났다. 특히 생강의 경우는 4mM 농도에서도 세포사멸을 현저히 억제시켰고, 마늘, 무의 경우 1mM 농도에서 세포생존율을 현저히 증진시켰다. 부추의 경우 과산화수소의 낮은 농도에서는 가장 세포생존율을 높이는 작용을 하였으나 1mM 이상의 농도에서는 그 효과가 현저히 감소하였다.

Fig. 5는 fibroblast에 김치 주·부재료들과 과산화수소를 단기간 투여한 후 fibroblast에 미치는 김치재료들의 세포독성 완화효과를 본 것이다. 단기간 투여하였을 때도 장기간 투여하였을 때와 거의 유사한 경향을 나타내어 생강의 효과가 특이하게 높았고 마늘의 경우에도 장기간보다 단기간에서 더 효과가 높아서 4 mM 농도에서도 상당한 독성완화효과를 나타내었다. 과산화수소 0.5 mM에서는 모든 김치재료들의 세포독성 완화효과가 대조군에 비해 현저하였고 저농도에서는 무의 효과가 높은 것으로 나타났다.

Fig. 6은 fibroblast에 paraquat과 김치 주·부재료들을 첨가하고 세포독성 완화효과를 본 결과이다. 전보(21)의 결과와 마찬가지로 fibroblast에 있어서는 paraquat에 대한 김치재료들의 세포독성 완화효과는 현저하지 않은 것으로 나타났다. 이러한 결과는 keratinocyte에 paraquat을 부가하였을 때와 유사하여서 paraquat의 농도가 증가할수록 세포생존율은 감소했으나 과

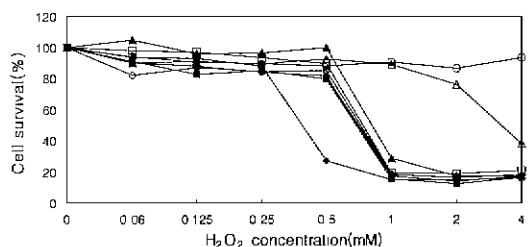


Fig. 5. Effect of kimchi ingredient extracts on cytotoxicity of H_2O_2 on fibroblast during 24hr exposure. Fibroblast cells were plated at the concentration of 5×10^3 cells/well and incubated for 4 days. Then 2.5% kimchi ingredients other than leek, ginger and garlic extracts were added and incubated for another 24 hr, followed by exposure of cells to different concentrations of H_2O_2 for 24 hr. The concentration of leek and ginger extracts used 1.25% and that of garlic extract 0.83%.

◆ Control, ■ Chinese cabbage, ▲ Radish root,
● Leek, ◆ Green onion, □ Onion, △ Garlic,
○ Ginger

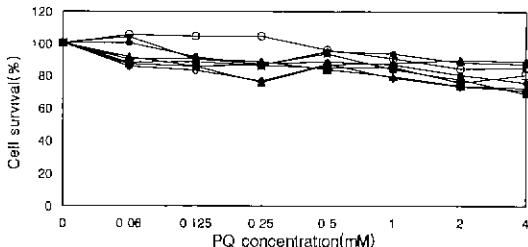


Fig. 6. Effect of kimchi ingredient extracts on cytotoxicity of PQ on fibroblast during 24hr exposure. Fibroblast cells were plated at the concentration of 5×10^3 cells/well and incubated for 4 days. Then 2.5% kimchi ingredient extracts other than leek, ginger and garlic extracts were added and incubated for another 24 hr, followed by exposure of cells to different concentrations of PQ for 24 hr. The concentration of leek and ginger extracts used 1.25% and that of garlic extract 0.83%.

◆ Control, ■ Chinese cabbage, ▲ Radish root,
● Leek, ◆ Green onion, □ Onion, △ Garlic,
○ Ginger

산화수소 첨가시처럼 현저하지 않았고 김치재료들의 세포독성 완화효과도 낮은 것으로 나타났다. 2mM 농도에서는 마늘, 부추, 생강이 대조군보다 세포생존율에 약간 유리하게 작용하였으나 4mM에서는 효과가 낮아지는 것으로 나타났다.

김치의 피부건강에 미치는 영향을 규명하기 위하여 피부의 주요 표피세포인 keratinocyte와 진피세포인 fibroblast를 이용하여 김치 주·부재료들의 활성산소에 의한 독성제거효과를 살펴본 결과 keratinocyte에 대해서는 과산화수소로 산화적 스트레스를 가하였을 경우 마늘, 양파, 생강에서 세포독성 완화효과가 크게 나

타났으며 특히 마늘의 경우 과산화수소의 높은 농도에서도 효과가 있었다. Paraquat로 산화적 스트레스를 가했을 경우에도 부추, 생강, 마늘의 효과가 높은 것으로 나타났다. Fibroblast에 대해서는 과산화수소로 산화적 스트레스를 가했을 때, 과산화수소의 농도가 낮을 때에는 부추, 생강의 세포독성 완화효과가 현저하였으나 농도가 높아지면 생강, 마늘의 효과가 월등한 것으로 나타났다. Paraquat에 대해서는 paraquat의 농도가 낮을 때에는 생강의 효과가 월등하였으나 농도가 높아지면 부추, 마늘의 효과가 높은 것으로 나타났다.

이렇게 김치 주·부재료들 중 마늘, 생강, 부추의 활성산소에 의한 세포독성 완화효과가 가장 현저한 것으로 드러났다. 마늘의 항산화작용 및 원인물질에 대해서는 전과 이(8-10)에 의해 다각도로 규명되어 있는 바 garlic oil, alliin 및 ethanol fraction에서 현저한 항산화효과를 확인하였으며 마늘의 항산화작용기구로서 garlic oil이 peroxidase와 superoxide dismutase(SOD)의 활성을 증가시킴을 보고하고 있다. 생강의 항산화효과에 대해서도 많은 연구가 이루어져 있는데(11-15), 백 등(11-14)에 의하면 생강추출물이 대두유, 팜유, 돈지 및 어유의 산화안정성에 기여하며 훨씬 간의 마이크로종의 지질과산화를 상당히 억제하였다고 보고하고 있고, 그 주요 성분은 gingerol임을 규명한 바 있다. 공(26)도 생강, 고추, 마늘분말이 라드에 대해 항산화능을 나타낸을 보고하였고 특히 생강의 항산화활성이 높게 나타났다고 하여 이러한 결과를 뒷받침해 주고 있다. 부추의 항산화효과 및 관련 물질에 관한 연구는 아직 다각도로 이루어져 있지 않으나 부추 속에는 항산화효과와 관련이 깊은 β -카로텐, 클로로필, 비타민 C, 향화화합물, 합진소화합물 및 식이섬유가 다량 함유되어 있음이 밝혀지고 있으므로(27) 부추에서 높은 항산화효과가 기대된다. 녹황색 채소류 중에 다량 함유되어 있는 클로로필과 클로로필 분해생성물들은 감광체로서 산화를 촉진하는 물질로 알려져 있지만 광선이 차단된 상태에서는 각종의 유지에 대해 항산화효과를 나타낸이 확인된 바 있다(28,29). 이(30)의 김치의 항산화작용에 관한 연구에서 김치의 중요 항산화물질로서 Zn-클로로필이 동정된 바 있다. 클로로필의 이러한 항산화효과는 클로로필a/b보다 강하여(31), Tamehan과 Wolff(5)는 클로로필과 그 유도체가 일중항산소를 제거함으로써 항산화효과를 나타낸다고 보고하고 있고, 일중항산소와 클로로필화합물 사이의 반응은 페놀화합물과 유사하게 작용한다고 하여(32) 김치의 활성산소 소거능에 클로로필이 중요한 역할을 할 가능성을 뒷받침하고 있다.

β -카로텐의 활성산소 소거능도 잘 알려져 있으며(19,20), 녹황색 채소류 속에 풍부히 함유되어 있는 α -tocopherol, 비타민 C, propyl gallate 등에 의한 활성산소 소거능이 Bissett 등(33)에 의해 규명된 바 있다. 또한 식이 glucosinolate가 실현동물에 있어서 GSH와 quinone reductase와 같은 제 2상 효소계의 활성을 증가시켰다는 보고도 있다(34,35).

따라서 김치재료로 사용되는 양념류와 갖가지 녹황색 채소류들이 김치의 항산화효과와 관련이 있을 것으로 여겨지고, 그 항산화 메카니즘으로서 이들 성분들의 활성산소 소거능이 관련되어 있을 것으로 여겨진다. 그러나 전보(21)에서 산화적 스트레스에 대한 항산화작용이 2주 숙성김치에서 가장 강하였고 김치의 중요 항산화 관련성분들인 비타민 C, 클로로필화합물, 페놀성분 등이 발효기간에 따라 각각 생화학적 변화를 하고 있는 것으로 알려지고 있으므로(23) 이들의 변화가 김치의 항산화성의 차이에 직접 영향을 줄 수 있을 것으로 생각된다. 따라서 김치 숙성과정 중 이들 성분들의 변화와 김치의 활성 유해산소종의 독성 완화작용과의 관련에 관한 규명이 앞으로의 과제로 남아있다.

요 약

피부세포인 keratinocyte(A431: Epidermoid carcinoma, human)와 fibroblast(CCD-986SK, skin, normal control, human)에 산화적 스트레스를 유발하였을 때 김치의 투여는 활성산소종에 의한 세포독성을 현저하게 완화시켰다. 이러한 김치의 활성산소에 의한 세포독성 완화효과의 원인물질을 규명하기 위하여 김치의 주·부재료로 사용되는 시료들을 피부세포에 투여하여 활성산소에 대한 저항효과를 살펴보았다. Keratinocyte에 대한 김치의 주·부재료인 배추, 무, 부추, 실파, 양파, 마늘, 생강 등의 세포독성실험결과 TD₅₀은 배추의 경우는 10%~20%, 양파와 생강은 5~10%, 무와 실파는 2.5~5%, 부추는 0.62%~1.25%였으며 마늘은 독성이 강하여 0.1~0.2%였다. Fibroblast에서는 배추는 20%에서도 독성을 그다지 보이지 않았고 무, 실파, 양파는 10~20%, 생강은 5~10%, 부추는 2.5~5%, 그리고 마늘은 1.6~3.3%였다. 따라서, keratinocyte에는 부추와 생강은 0.62%, 마늘은 0.1%, 나머지 재료는 1.25%의 농도로 투여하고 fibroblast에는 부추와 생강은 1.25%, 마늘은 0.83%, 나머지 재료는 2.5%의 농도로 투여하였다. 그리고, 산화적 스트레스를 유발시키는 과산화수소와 paraquat을 농도별로 투여하여 시료들의 활성산소에 대한 해독작용을 살펴보았다. Keratinocyte에

서 장기간 시료와 과산화수소에 노출시켰을 때 부추, 마늘, 양파에서 세포독성 완화효과가 나타났으며 특히 마늘의 경우 과산화수소 1mM 농도에서도 효과가 있었다 단기간 시료와 과산화수소에 노출시킨 경우 세포 생존율이 대조군에 비해 높게 나타났으며 생강의 경우 0.125mM 과산화수소농도에서 135%까지 생존율이 증가되었으며 부추, 마늘, 실파의 경우에도 세포독성 완화효과가 나타났다. 단기간 paraquat에 노출시킨 경우에도 대조군에 비해 모든 김치재료에서 세포사멸이 억제되었으며 특히 부추에서 높은 생존율을 보였고 양파, 마늘, 생강의 경우에도 세포사멸율을 억제시켰다. Fibroblast에서는 장기간 시료와 과산화수소에 노출시켰을 때 세포독성 완화효과가 두드러졌으며 낮은 농도의 과산화수소에서는 부추가, 높은 과산화수소 농도에서는 생강, 마늘, 무에서 높은 세포독성 완화효과를 보였다. 생강의 경우 과산화수소 4mM 농도에서도 높은 세포독성 억제효과를 나타내었다 단기간 과산화수소에 노출시켰을 때도 장기간 노출시켰을 때의 마찬가지로 김치부재료들의 세포독성 완화효과가 현저하였고 특히 생강과 마늘에서는 고농도에서도 생존율이 높게 유지되었다. Paraquat에 노출시켰을 때의 김치주·부재료들의 세포보호효과는 fibroblast를 사용하였을 때 보다 현저하지는 않았으나 역시 생강, 마늘, 부추에서 높은 활성을 나타내었다.

감사의 글

이 연구는 농림수산부에서 수행하고 있는 농림수산 특성연구사업(1995~2000)의 연구비 지원에 의한 결과의 일부이며 이에 감사드립니다.

문 헌

1. 오영주. 황인주, Claus, L. : 김치의 영양생리학적 평가. 제1회 김치의 과학 심포지엄 발표논문집. 한국식품과학회(1994)
2. Hudson, B. J F : *Food Antioxidants* Elsevier Science Publishing Co Inc., New York, p.102(1990)
3. Bros, W. and Saran, M : Radical scavenging by flavonoid antioxidants. *Free Rad. Res. Comm.*, 2, 289 (1987)
4. Black, S. H. : Potential involvement of free radical reactions in ultraviolet light-mediated cutaneous damage. *Photochemistry and Photobiology*, 46, 213(1987)
5. Tanelian, C. and Wolff, C. : Mechanism of physical quenching of singlet molecular oxygen by chlorophylls and related compounds by biological interest. *Photochem. Photobiology*, 48, 277(1988)
6. Vanderhoek, J. Y., Makheja, A. N. and Bailey, J. M.

- Inhibition of fatty acid oxygenases by onion and garlic oil. *Biochemical Pharmacology*, 29, 3169(1980)
- 7. Block, E., Lyer, R., Grisoni, S., Saha, C., Belman, S. and Lossing, F. P. : Lipoxygenase inhibitors from the essential oil of garlic. Markovnikov addition of the allyldithio radical to olefins. *J. Am. Chem. Soc.*, 110, 7813(1988)
- 8. 전희정, 이성우. 마늘성분의 산화방지작용에 관한 연구 : 제1보 전자공여능 및 과산화지질 생성억제 효과에 미치는 영향. 대한가정학회지, 24, 43(1986)
- 9. 전희정, 이성우. 마늘 성분의 산화방지작용에 관한 연구 : 제2보 과산소분해효소의 활성에 미치는 영향. 대한가정학회지, 24, 53(1986)
- 10. 전희정, 이성우. 마늘성분의 산화방지작용에 관한 연구 : 제3보 가열수용성성분의 과산화지질 생성억제효과에 미치는 영향. 대한가정학회지, 24, 87(1986)
- 11. 배숙은. 생강 추출획분의 대두유 및 흰쥐 간 마이크로좀 지질파산화 억제효과. 한국조리과학회지, 11, 365(1995)
- 12. 배숙은, 우상규. Crude gingerol 의 항산화효과(생강 gingerol의 열인정성 및 대두유에 따른 농도에 따른 항산화효과) 한국조리과학회지, 9, 33(1993)
- 13. 배숙은·대두유, 햄유, 돈지 및 어유의 산화안정성에 미치는 crude gingerol의 영향. 한국조리과학회지, 9, 298 (1993)
- 14. 배숙은: Gingerol의 첨가된 대두유의 산화에 미치는 온도의 영향. 한국조리과학회지, 10, 121(1994)
- 15. 이진영·생강추출물의 열처리에 따른 항산화성 변화. 섭신여대 석사학위논문(1993)
- 16. 이치호, 정구용, 임성천, 최도영, 김천제, 최명규·베이컨 육에 있어서 capsaicin 및 oleoresin의 항산화작용에 관한 연구. 한국식품과학회지, 26, 496(1994)
- 17. 이영숙, 최홍식·김치 용-미추출물의 항산화성. 생명과학회지, 6, 66(1996)
- 18. Hatano, T., Edamatsu, R., Hiramatsu, M., Mon, A., Fujita, Y., Yasuhara, T., Yoshita, T. and Okuda, T. : Effects of the interaction of tannins with co-existing substances. VI. Effects of tannins and related polyphenols on superoxide anion radicals, and on 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical. *Chem Pharm Bull*, 37, 2016(1989)
- 19. Mathews-Roth, M. M and Krinsky, N. I. : Carotenoid dose level and protection against UV-B induced skin tumors. *Photochemistry and Photobiology*, 42, 35(1985)
- 20. Mathews-Roth, M. M : Carotenoids quench evolution of excited species in epidermis exposed to UVB(290~320nm) light. *Photochemistry and Photobiology*, 43, 91(1986)
- 21. 류승희, 전영수, 권명자, 문정원, 이영순, 문갑순 : 김치 추출물의 활성산소에 대한 피부세포 독성 완화효과. 한국식품영양과학회지, 25, 814(1997)
- 22. Mosman, T. : Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival; Application to proliferation and cytotoxicity assays. *J. Immunol. Meth.*, 65, 55(1983)
- 23. Park, K. Y. : Antimutagenic and anticancer funtions of kimchi. Proceeding of IUFoST '96 regional symposium on non-nutritive health factors for future foods, SO-12(1996)
- 24. Kim, E. S. and Chun, H. J : The anticarcinogenic effect of garlic juice against DMBA induced carcinoma

- on the hamster buccal pouch. *J. Korean Soc. Food Nutr.*, **22**, 398(1993)
25. 이경임, 박진영 . 녹황색채소류의 항(발)암효과. *생명과학*, **3**, 143(1993)
 26. 공정희 : 천연항신료의 항산화효과에 관한 연구. 고려대학교 석사학위논문(1989)
 27. 권태완, 문갑준, 송영선, 김정인, 흥정화, 김정상 . '부추의 식품소재화 기술 및 가공제품의 개발'에 관한 1차 연구보고서 농림부 농특 현장애로과제(1997)
 28. Endo, Y., Usuki, R. and Kaneda, T. : Antioxidant effects of chlorophyll and pheophytin on the autoxidation of oils in the dark. I. Comparision of the inhibitory effects. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **62**, 1375(1985)
 29. Endo, Y., Usuki, R. and Kaneda, T. Antioxidant effects of chlorophyll and pheophytin of the autoxidation of oil in the dark. II. The mechanism of antioxidative action of chlorophyll. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **62**, 1387 (1985)
 30. 이영옥 . 김치의 항산화특성과 항산화성 물질에 관한 연구 부산대학교 대학원 박사학위논문(1996)
 31. Gutierrez, R. F., Garrido, F. J., Gallardo, G. L., Gandal, R. B. and Minguez, M. M. I. Actions of chlorophylls on the stability of virgin olive oil. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **69**, 866(1992)
 32. Ho, C. T. In '*Phenolic compounds in food and their effects on health I*', analysis, occurrence & chemistry, Ho, C. T., Lee, C. Y. and Huang, M. T (eds), Am. Chem. Soc., Washington, DC , p 2(1992)
 33. Bissett, D. L., Chatterjee, R. and Hannon, D. P. : Photoprotective effect of superoxide-scavenging antioxidants against ultraviolet radiation-induced chronic skin damage in the hairless mouse. *Photodermatol. Photoimmunol. Photomed.*, **7**, 56(1990)
 34. Sparnins, V. L. and Wattenberg, L. W. : Enhancement of glutathione S transferase activity of the mouse forestomach by inhibitors of benzo[a]pyrene induced neoplasia of the forestomach. *J. Natl. Cancer Inst.*, **66**, 769(1981)
 35. Benson, A. M. ' Induction of DT diaphorase and functionally related enzymes by anti-carcinogenic and antioxidant compounds. *Chem. Scripta*, **27a**, 67(1987)

(1997년 9월 19일 접수)