J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.
31(1), 109~116(2002)

김치가 노화촉진쥐 간의 유리기 생성 및 항산화효소 활성에 미치는 영향

김종현* · 권명자** · 이소영*** · 류재두**** · 문갑순***** · 최홍식 · 송영옥†

부산대학교 식품영양학과 및 김치연구소, *마산대학 식품영양과,
한국화학연구소 스크리닝안전성연구센타, *(주)정식품 중앙연구소
****마산대학 임상병리과, *****인제대학교 식품과학부

The Effect of *Kimchi* Intake on Production of Free Radicals and Anti-oxidative Enzyme Actitivies in the Liver of SAM

Jong-Hyen Kim*, Myung-Ja Kwon, So-Young Lee***, Jae-Du Ryu****, Gap-Soon Moon*****, Hong-Sik Cheigh and Yeong-Ok Song†**

Dept. of Food Science and Nutrition, and Kimchi Research Institute, Pusan National University, Busan 609-735, Korea
**Dept. of Food and Nutrition, Masan College, Masan 630-729, Korea*
***Screening & Toxicology Research Center, Korea Research Institute of Chemical Technology, Taejon 305-600, Korea*
****Central Research Institute, Dr. Chung's Food Co., LTD., Chungjoo 361-719, Korea*
*****Dept. of Clinical Pathology, Masan College, Masan 630-729, Korea*
******School of Food Science, Inje University, Kimhae 621-749, Korea*

Abstract

This study was performed to investigate the effect of *kimchi* intake on antiaging characteristics in liver of senescence-accelerated mouse (SAM) in terms of free radical production and anti-oxidative enzyme activities. Two hundred twenty SAM were divided into four groups and fed kimchi diet for 12 months. Experimental groups were *kimchi* free AIN-76 diet (control) group, Korean cabbage *kimchi* diet (KCK) group, mustard leaf added (30%) Korean cabbage *kimchi* diet (MKCK) group, and mustard leaf *kimchi* diet (MLK) group. Amount of freeze-dried *kimchi* added to the diet was 5% that is equivalent to 50 g of fresh *kimchi*. Concentrations of total free radical, OH radical, H_2O_2 in the liver significantly increased as aged ($p<0.05$). But those free radical concentrations from *kimchi* diet groups were lower than those of control ($p<0.05$). Among *kimchi* groups, MKCK and MLK groups showed greater inhibiting effect than KCK. Antioxidant enzyme activities of Cu,Zn-SOD, Mn-SOD, GSH-px, catalase and GSH/GSSG in *kimchi* groups were significantly increased ($p<0.05$) compared to the control. In conclusion, *kimchi* seems to reduce free radical production and increase anti-oxidative enzyme activities. It can be interpreted that these results could be a partial contributor for retarding aging. Among *kimchi* variety tested in this experiment, MKCK and MLK seem to have greater effect than KCK. Further study is needed to find out the mechanism of *kimchi* on retarding aging.

Key words: *kimchi*, SAM, liver, free radical, anti-oxidative enzyme

서 론

노화에 대한 연구는 Takeda 등(1)이 노화촉진쥐(senescence-accelerated mouse: SAM)를 개발하므로써 촉진되었다. 이 동물모델은 평균수명이 정상쥐의 70% 정도로, 가령에 따라 체중 증가율의 감소, 활동성 및 자극에 대한 회피반응 저하, 탈모, 털의 윤기저하, 피부노화 및 궤양, 눈주위의 병변 등 광범위한 노화현상이 생쥐의 전 생애를 통해 빨리 진행되는 특징이 있어 노화연구에 많은 도움이 되고 있다. 노화를 설명하는 여러 가설 중 free radical theory는 가장 과학적으로 주목받고 있다. 유리기란 분자 혹은 원자 최외각 전자궤도에 부대전자를 가진 불안정한 화합물로서, 이들은 반응성이 매우 강하여 생체내에서 효소의 활성을 잃게 하거나 가교결합의 촉진, DNA, RNA, 효소 및 세포막 등에 손상을 일으켜 생체기능을 손상시킨다고 알려져 있다. 생체내에는 이들에 대항하는 항산화계가 존재하지만 자연적인 노화과정 중에 지속적으로 발생되는 유리기에 완벽하게 대응하지 못하므로 결국 세포기능이 저하되어 노화과정이 유발되는 것으로 여겨지고 있다(1-4).

체내 유리기에 대항하는 항산화효소계로 superoxide dis-

†Corresponding author. E-mail: yosong@pusan.ac.kr
Phone: 82-51-510-2847, Fax: 82-51-583-3648

mutase(SOD), catalase, glutathione peroxidase(GSH-px) 등이 있는데 SOD는 산소대사과정에서 가장 먼저 생성되는 산소라디칼인 superoxide radical을 과산화수소로 전환시킴으로서 산소대사과정 중 가장 먼저 생성되는 superoxide를 제거하는 점에서 의의가 크다. Catalase는 생성된 과산화수소를 물로 변환시켜 무독화시키고(5,6), GSH-px는 세포질, 미토콘드리아에서 지질과산화물과 H_2O_2의 분해를 촉매하는 효소이다(7). SOD에 대한 GSH-px와 catalase의 비율에 불균형이 생기면 과산화수소가 축적되고, 그 결과 hydroxyl radical을 생성하게 되는데 생체는 hydroxy radical를 원천적으로 제거할 수 있는 효소가 없어 한번 hydroxy radical이 생성되면 그 피해가 막대하다. 따라서 SOD에 대한 GSH-px와 catalase의 비율은 세포노화를 결정하는 중요한 요인으로 작용한다고 보고되고 있다(8).

김치는 주재료인 배추, 갓뿐만 아니라 첨가되는 마늘, 고춧가루 등의 재료에 함유되어 있는 플라보노이드, 베타카로틴, 페놀 물질 등에 의해 항산화 효과를 가진다고 보고되어 있으며(9,10), 김치를 동물에게 섭취시켰을 때 혈중 지질 농도 저하(9,11,12) 및 간의 항산화효소 활성을 증가시키고(9,11), 갓김치를 섭취한 누드마우스의 피부에서 유리기 생성을 억제시켰다고 보고되고(13) 있어 김치가 노화를 억제할 수 있을 것으로 예상하지만 김치의 노화억제에 관한 연구는 아직까지 보고된 바가 없다.

따라서 본 연구는 김치가 노화 억제에 미치는 영향을 살펴보기 위하여 여러 종류의 김치식이를 노화촉진쥐인 SAMP8에게 1년간 섭취시키면서 노화관련 특성 중 유리기 생성 및 항산화효소계의 활성 변화를 생체 중 가장 중요한 장기인 간에서 살펴보았다. 간은 대사활성이 높은 장기로서 유리기의 생성이 높고, 특히 항산화 효소의 활성이 다른 장기에 비해 가장 높은 것으로 알려져 있다. 본 연구에 사용된 김치의 종류는 배추김치, 항노화성이 강조된 배추갓김치 그리고 항산화성이 높은 갓김치를 사용하였다.

재료 및 방법

김치담금 및 식이제조

배추(Korean cabaage, *Brassica pekiinesis*)는 부산 농산물시장에서 중량이 3 kg 내외인 것을 구입하였고, 갓(mustard leaf, *Brassica juncea*)은 부산 돌산갓 직판장에서 구입하였다. 고춧가루는 박달재 태양초 고춧가루(봉양농산, 충북 제천)를, 그 외에 필요한 부재료는 인근 재래시장에서 구입하여 김치 담금에 사용하였다. 실험에 사용된 시료김치는 배추김치, 갓김치 및 배추갓김치의 세종류로서 배추김치는 Cho (14)의 방법으로, 갓김치는 Hyun(15)의 방법으로 제조하였으며, 배추갓김치는 Song과 Moon(16)의 명품 배추김치 담금법을 골격으로 하여 항노화성을 증가시키기 위하여 주재료인 배추에 갓잎을 30% 첨가하여 기능성을 강조한 항노화김치로 제조하였다(Table 1). 김치는 담근 다음 24시간동안 둔 후 5°C에서 저장하였으며, pH 4.0±0.1 사이에 도달하였을 때 동결건조시켜 대조군 식이에 각 5%씩 첨가하였다. 첨가된 김치의 양은 생김치 약 50 g(배추김치 수분 90%)에 해당되는 양이다. 실험식이 제조시 동결건조 김치의 일반성분 및 식이섬유질의 함량을 분석하여 각 군간의 에너지 수준 및 섬유질 수준이 동일하도록 식이를 조제하였다(Table 2).

실험동물

Specific pathogen-free SAMP8 수컷 220마리를 대전화학연구소에서 분양 받아 처음 4주간 고형사료로 적응시킨 후

Table 1. Recipes for the experimental *kimchi* preparation g (%)

Ingredients	Korean cabbage *kimchi*[1)]	Mustard leaf added Korean cabbage *kimchi*[2)]	Mustard leaf *kimchi*[3)]
Brined Chinese cabbage	100.0 (81.6)	70.0 (59.4)	0.0 (0.0)
Brined mustard leaf	0.0 (0.0)	30.0 (25.4)	100.0 (74.6)
Red pepper powder	2.5 (2.0)	4.0 (3.4)	8.0 (6.0)
Garlic	1.4 (1.1)	3.7 (3.1)	2.5 (1.9)
Ginger	0.6 (0.5)	0.2 (0.2)	0.7 (0.5)
Fermented shrimp juice	0.0 (0.0)	2.3 (1.9)	0.0 (0.0)
Fermented anchovy sauce	2.0 (1.6)	0.0 (0.0)	11.0 (8.4)
Fish pickled juice	0.0 (0.0)	2.3 (1.9)	0.0 (0.0)
Glutinous rice paste	0.0 (0.0)	1.3 (1.1)	8.0 (6.0)
Sugar	1.0 (0.8)	1.0 (0.8)	0.6 (0.4)
Radish	13.0 (9.8)	0.0 (0.0)	0.0 (0.0)
Green onion	2.0 (1.6)	0.0 (0.0)	3.0 (2.2)
Shrimp stock	0.0 (0.0)	4.3 (3.6)	0.0 (0.0)

[1)]Recipe is quantitatively standardized based on recipes from cooking books and publications by Cho (14) at *Kimchi* Research Institute at Pusan National University.

[2)]Recipe is modified Korean cabbage *kimchi* formulated by Song & Moon (16) to increase antiatherogenic property by adding 30% mustard leaf. Korean cabbage *kimchi* recipe was developed for the "noted *kimchi*" mainly focusing on the taste at *Kimchi* Research Institute at Pusan National University.

[3)]Recipe is developed for the "noted mustard leaf *kimchi*" focusing on low-salty taste by Hyun (15) at *Kimchi* Research Institute at Pusan National University.

Table 2. Compositions of experimental diets[1] for the animal study

Ingredients (%)	Groups			
	Control[2]	KCK[3]	MKCK[4]	MLK[5]
Casein	20.00	19.70	19.47	19.53
Corn starch	15.00	11.80	12.15	12.52
Corn oil	5.00	4.87	4.81	4.75
Lard	10.00	10.00	10.00	10.00
Cellulose	5.00	3.65	3.60	3.23
Sucrose	40.00	40.00	40.00	40.00
Choline bitartrate	0.20	0.20	0.20	0.20
Vitamin mix.	1.00	1.00	1.00	1.00
Mineral mix.	3.50	3.50	3.50	3.50
D,L-Methionine	0.30	0.30	0.30	0.30
NaCl	2.53	-	-	-
BK powder		5.00	-	-
MB powder	-	-	5.00	-
MK powder	-	-	-	5.00

[1]In order to meet the equal calory and fiber level among diets, carbohydrate, protein, lipid and fiber contents of freeze-dried *kimchi* were analyzed and calculated.
[2]Control diet was prepared following AIN-76 guidelines for mouse experiment.
[3]KCK: Korean cabbage *kimchi* group was fed control diet containing 5% of freeze-dried Korean cabbage *kimchi*.
[4]MKCK: Mustard leaf added Korean cabbage *kimchi* group was fed control diet containing 5% of freeze-dried mustard leaf (30%) added Korean cabbage *kimchi*.
[5]MLK: Mustard leaf *kimchi* group was fed control diet containing 5% of freeze-dried mustard leaf *kimchi*.

실험시작일(0개월)에 20마리를 희생하였고, 나머지 200마리를 난괴법으로 각 50마리씩 대조군, 배추김치군, 배추갓김치군 그리고 갓김치군의 4군으로 나누어 5마리씩 한 플라스틱 케이지에 넣고 사육하였다. 해당식이와 물은 자유급식법으로 제한 없이 주었으며, 사육실의 온도 및 습도는 20±2℃, 50%를 유지하였고, 명암은 12시간 간격으로 점등 및 소등하였다. 식이 투여 6개월 후 각 군당 20마리씩 그리고 12개월 후에는 생존하는 SAMP8을 모두 희생하였다. SAMP8은 희생 24시간 전부터 절식시킨 후, 한 마리씩 데시케이터 안에 넣어 dry ice로 마취한 후 해부하여 장기를 적출하였다. 적출된 장기들은 지방조직을 제거한 후, 0.9% 생리식염수로 혈액 등 이 물질을 씻고, 여과지로 물기를 제거한 뒤, 각 장기의 중량을 측정하였으며, 이화학적 분석을 위하여 -70℃ deep freezer에 보관하였다.

시료준비

조직 일부를 취하여 10배에 해당하는 냉 50 mM phosphate buffer(pH 7.4)를 첨가하고, 이를 glass teflon homogenizer로 균질화시켰다. 균질화 과정은 냉장온도에서 이루어졌다. 각 장기 균질액을 600×g에서 10분간 원심분리하여 얻어진 상층액은 단백질, catalase, GSH-px의 분석에 사용하였다. 이 상층액을 다시 12,000×g에서 20분간 원심분리하여 미토콘드리아 획분을 얻어 Mn-SOD 측정용 시료로 사용하였고, 이 상층액인 post mitochondria획분은 Cu, Zn-SOD, GSH/GSSG 분석에 사용하였다. 이 상층액을 다시 40,000×g에서 60분간 원심분리하여 microsome과 cytosol획분을 얻었으며 이것은 TBARS, 유리기의 시료로 사용하였다.

유리기 및 TBARS 농도측정

총 유리기 농도측정은 Thomas의 방법(17), H_2O_2 함량측정은 Phillip 등(18)의 방법 그리고 hydroxyl radical은 Barry & John의 방법(19)을 사용하였다. TBARS 분석은 Punchard & Kelly의 방법(20)에 의하여 TBA와 반응하는 시료중의 형광물질을 형광분광계로 측정하였다.

GSH, GSSG 함량 측정

Gaitonide의 방법(21)을 사용하여 fluorescence microplate reader FL500을 사용하여 형광도를 excitation 345 nm, emission 425 nm에서 측정하였다.

항산화 효소계 측정

Cu,Zn-SOD, Mn-SOD활성의 측정은 Oyanagui(22)의 방법을 사용하였으며, Catalase 활성측정은 Aebi(23)의 방법, GSH-px 활성측정은 Lawrence & Burk(24)의 방법으로 측정하였다.

통계처리

모든 실험의 분석결과는 Statistical Analysis System(SAS)으로 통계처리하였으며, 평균과 표준편차를 구하였다. 군별 및 연령별 유의성 검증은 one-way Anova 및 Duncan's multiple range test를 사용하였다.

결과 및 고찰

유리기 농도

간에서 생성된 유리기 농도는 Table 3에 나타내었다. 간의 총유리기 농도는 가령에 따라 증가하여 식이 투여 6개월에는 식이 투여 전에 비해 129% 증가하였고 12개월에는 375% 증가하여 가령에 따라 총유리기의 생성이 현저함을 보였다($p<0.05$). 이는 Kim 등(25)이 가령에 따라 SAM에서 superoxide radical 발생이 유의적으로 증가하였다고 보고한 바와 같은 결과이다. 김치식이가 간의 총유리기 농도에 미치는 영향을 살펴본 결과 총유리기 농도가 현저히 낮았으며, 김치 종류에 의한 영향은 6개월 식이 후 배추김치, 배추갓김치, 그리고 갓김치군의 총유리기 대조군에 비해 34%, 53% 그리고 28% 감소하여($p<0.05$), 배추갓김치군의 총유리기 생성 억제 능력이 배추김치군과 갓김치군보다 높았다($p<0.05$). 12개월 식이 투여 후 배추김치, 배추갓김치, 그리고 갓김치군의 총유리기 농도는 16.83±2.31, 15.97±2.74 그리고 14.04±2.060 fluorescence/mg protein/min으로 대조군에 비해 20%, 24% 그리고 33% 감소하여($p<0.05$), 갓김치군의 총유리기 농도가 가장 낮았다($p<0.05$).

간의 OH radical 농도는 가령에 따라 증가하는 현상을 보

Table 3. Concentrations of total free radical, OH radical and H_2O_2 in liver of SAM fed various *kimchi* diet for 12 months

Feeding period	Group[1)]	Total free radical (fluorescence/mg protein/min)	OH radical (nM/mg protein)	H_2O_2 (uM/mg protein)
0 mon		4.44±0.79[2)]	0.132±0.04	0.121±0.07
6 mon	Control	10.15±3.13[a3)]	0.136±0.05[a]	0.137±0.07[a]
	KCK	6.73±1.50[b]	0.134±0.04[a]	0.126±0.06[b]
	MKCK	4.77±0.97[c]	0.103±0.03[b]	0.134±0.07[b]
	MLK	7.29±2.10[b]	0.131±0.01[a]	0.125±0.07[b]
12 mon	Control	21.07±3.41[a]	0.308±0.05[a]	0.387±0.10[a]
	KCK	16.83±2.31[b]	0.220±0.01[b]	0.254±0.09[d]
	MKCK	15.97±2.74[bc]	0.243±0.01[b]	0.275±0.09[c]
	MLK	14.04±2.06[c]	0.239±0.01[b]	0.286±0.09[b]

[1)]See the legend of Table 2.
[2)]Data are mean±standard deviation.
[3)]Data in column at the same feeding period were significantly different analyzed by one way ANOVA followed Duncan's multiple range test at $p<0.05$.

였다. 특히 6개월에는 0개월에 비해 3% 증가하여 증가된 수준이 미미하였으나 노화가 더 진행된 12개월에는 0개월보다 133% 증가하여 OH radical 발생이 두드러졌다($p<0.05$). 김치섭취가 간의 OH radical 농도에 미치는 영향을 살펴본 결과 김치섭취에 따라 OH radical 농도가 억제되었으며 OH radical 발생이 크게 증가된 12개월에서 김치에 의한 OH radical 생성 억제현상이 현저하였다($p<0.05$). 김치 종류에 따른 OH radical 생성 억제 효과를 살펴본 결과 6개월 식이 후 배추김치, 배추갓김치, 그리고 갓김치군의 OH radical 농도는 1%, 24%, 그리고 4% 감소하였고, 배추갓김치군의 OH radical 생성 억제 능력이 배추김치군과 갓김치군보다 높았다($p<0.05$). 12개월 사육 후 배추김치, 배추갓김치, 그리고 갓김치군의 OH radical 농도는 0.220±0.01, 0.243±0.01 그리고 0.239±0.01 nM/mg protein으로 대조군에 비해 29%, 21%, 그리고 22% 감소하였다($p<0.05$).

간의 H_2O_2 농도는 가령에 따라 증가하여 6개월에는 0개월에 비해 32% 증가하였고 노화가 진행된 12개월에는 증가폭이 220%로 크게 증가하였다($p<0.05$). 김치섭취가 간의 H_2O_2 농도에 미치는 영향을 살펴본 결과 6개월과 12개월 모두에서 김치섭취에 따라 H_2O_2 농도가 유의적으로 감소되었다($p<0.05$) 김치 종류에 따른 간의 H_2O_2 농도 생성 억제 효과를 살펴본 결과 6개월에서 배추김치, 배추갓김치 그리고 갓김치군의 H_2O_2 농도는 대조군에 비해 21%, 17% 그리고 22% 감소하였으며, 김치종류중 갓김치군의 H_2O_2 농도 생성 억제 효과가 가장 컸고 그 다음으로 배추김치, 배추갓김치군의 순이었다. 12개월에서 배추김치, 배추갓김치 그리고 갓김치군의 H_2O_2 농도는 대조군에 비해 34%, 29% 그리고 26% 감소하여, 배추김치군의 H_2O_2 농도 생성 억제 효과가 가장 컸고 그 다음으로 배추갓김치군, 갓김치군의 순이었다.

간에서의 유리기 생성은 총유리기, OH radical 그리고 H_2O_2 모두 가령에 따라 지속적으로 증가하였다. 이러한 현상은 사육 6개월 동안 유리기가 증가한데 비해 노화가 더 진행된 12개월령에서는 유리기 생성이 급속히 증가된 것을 볼 수 있었다. 이것은 비교적 노화가 덜 진행된 6개월령까지는 유리기를 제거하는 항산화 효소계 활성이 활발하였기 때문으로 여겨지며 더 노화가 진행된 이후에는 생체내 항산화계 활성이 저하되었기 때문에 간에서의 유리기 생성량이 급속히 증가한 것으로 여겨진다. 또한 김치섭취가 간의 유리기 생성에 미치는 영향을 살펴본 결과 김치섭취에 따라 총유리기, OH radical 그리고 H_2O_2 농도가 모두 유의적으로 억제되었으며 ($p<0.05$), 김치종류로는 전반적으로 배추갓김치군과 갓김치군의 유리기 생성 억제 효과가 배추김치군에 비해 좋은 것으로 나타났다. Yang(2)은 정상적인 노화양상을 보이는 SAMR1과 노화가 촉진된 양상을 보이는 SAMP1을 비교한 연구에서 SAMR1에 비해 SAMP1의 간에서 superoxide radical 발생량이 높았고, 이는 유리기 반응의 증가로 인해 노화촉진 생쥐의 조기 노화현상에 기인한다고 보고하였다.

GSH, GSSG, GSH/GSSG 비율의 변화

GSH, GSSG, GSH/GSSG 비율은 Table 4에 나타내었다. 간의 GSH의 농도는 가령에 따른 변화가 거의 없었다. 김치종류에 따른 영향을 살펴본 결과, 식이 투여 6개월 후에는 GSH 농도가 배추갓김치와 갓김치군에서만 대조군에 비해 5%와 8%의 감소를 보였다($p<0.05$). 12개월에서는 배추김치, 배추

Table 4. Concentrations of GSH, GSSG and GSH/GSSG ratio in liver of SAM fed various *kimchi* diet for 12 months

Feeding period	Group[1)]	GSH (intensity)	GSSG (intensity)	GSH/GSSG
6 mon	Control	12.12±0.34[2)a3)]	67.47±1.04[a]	0.18±0.01[b]
	KCK	12.07±0.47[a]	34.66±0.55[b]	0.35±0.02[a]
	MKCK	11.46±0.29[b]	33.11±0.72[c]	0.35±0.01[a]
	MLK	11.11±0.42[c]	31.18±0.39[d]	0.36±0.01[a]
12 mon	Control	12.68±2.69[c]	46.02±25.47	0.33±0.10[b]
	KCK	16.17±2.27[a]	36.42±13.05	0.39±0.21[a]
	MKCK	15.24±1.31[a]	36.10± 5.46	0.43±0.03[a]
	MLK	13.80±2.39[b]	32.78± 5.77	0.43±0.07[a]

[1)]See the legend of Table 2.
[2)]Data are mean±standard deviation.
[3)]Data in column at the same feeding period were significantly different analyzed by one way ANOVA followed Duncan's multiple range test at $p<0.05$.

갓김치 그리고 갓김치군의 GSH 농도가 16.17±2.27, 15.24±1.31 그리고 13.80±2.39 fluorescence intensity로 각각 대조군에 비해 27%, 20% 그리고 9% 증가하여 배추김치를 섭취한 군의 GSH 농도가 가장 높았으며 그 다음은 배추갓김치군, 갓김치군의 순이었다($p<0.05$). 12개월에 관찰된 김치식이군에서 GSH 농도의 상승은 6개월과 다른 양상으로 GSH 농도 증가를 위해서 김치를 장기적으로 꾸준히 섭취해야 할 것으로 생각된다.

간의 GSSG의 농도는 가령에 따라 감소하여 6개월에 비해 12개월에서 32% 감소하였다. 김치가 간의 GSSG 농도에 미치는 영향을 살펴보았을 때 김치섭취시 간의 GSSG 농도가 저하되었으며, 김치종류에 따른 영향을 살펴본 결과, 6개월 식이 투여 후, 갓김치, 배추갓김치 그리고 배추김치의 GSSG 농도가 31.18±0.39, 33.11±0.72 그리고 34.66±0.55 fluorescence intensity로 대조군에 비해 54%, 51% 그리고 49%의 감소를 보였으며 갓김치군의 GSSG 생성 억제 효과가 가장 컸으며 그 다음은 배추갓김치군, 배추김치군의 순이었다($p<0.05$). 12개월에서도 이들 군의 GSSG 농도는 대조군에 비해 29%, 22% 그리고 21% 감소하였다. 간에서 대조군에 비해 모든 김치섭취군의 GSSG 수준이 감소한 것은 발생된 GSSG를 GSH로 환원시켰음을 의미하는 것으로, GSH-red의 활성이 증가되었기 때문으로 생각된다. 또한, 김치섭취군 중에서도 배추김치군 보다는 배추갓김치군과 갓김치군의 GSSG 농도가 유의적($p<0.05$)으로 감소되어 배추갓김치과 갓김치군에 GSH-red의 활성을 증가시키는 물질이 있을 것으로 생각된다.

간의 GSH/GSSG는 가령에 따라 증가하여 6개월에 비해 12개월의 대조군의 농도는 83% 증가하였다. 또한 김치섭취시 GSH/GSSG가 유의적으로 증가하였다($p<0.05$). 김치 종류별로 살펴본 결과 6개월에서 갓김치군은 대조군에 비해 100% 증가하였고, 배추김치군과 배추갓김치군은 대조군에 비해 각각 94%씩 증가하여 갓김치군의 GSH/GSSG가 배추김치군과 배추갓김치군에 비해 높았다($p<0.05$). 식이 투여 12개월 후에서는 배추갓김치군, 그리고 갓김치군은 대조군에 비해 각각 30%씩 증가하였으며 배추김치군은 18% 증가하였다($p<0.05$). Fukuzawa와 Takaishi(26)는 H_2O_2가 세포내로 다량 유입되면 GSH의 산화속도는 환원속도보다 빨라 GSSG가 축적되어 GSH의 고갈을 초래하여 지질과산화가 점차 증가한다고 보고하였다. 본 실험결과 김치섭취군에서 GSH/GSSG의 비율이 유의적으로 증가된 것은 가령에 따라 증가하는 free radical에 대해 방어할 수 있는 항산화계가 증가함을 보여준 것으로써 노화에 의한 조직 손상을 효과적으로 방어할 수 있음을 나타낸 것이다.

Cu,Zn-SOD, Mn-SOD 활성

간의 항산화 효소계에 대하여 Table 5에 나타내었다. 간의 Cu,Zn-SOD 활성을 가령에 따라 살펴본 결과 6개월에는 대조군이 0개월에 비해 3% 감소하였다가 12개월에는 0개월에 비해 9% 증가하였다. 김치가 간의 Cu,Zn-SOD 활성에 미치는 영향을 살펴보았을 때 간의 Cu,Zn-SOD 활성은 김치섭취에 의하여 증가되는 효과를 보였다. 김치 종류별 효소의 활성에 미치는 효과는 6개월에서 현저하게 나타났는데 갓김치, 배추갓김치, 그리고 배추김치군의 Cu,Zn-SOD 활성은 대조군에 비해 74%, 51% 그리고 28% 증가하였으며 그 효과가 현저하였다. 갓김치군의 Cu,Zn-SOD 활성이 가장 높았고 그 다음이 배추갓김치군, 배추김치군의 순이었다($p<0.05$). 식이 투여 12개월 후의 효소 활성은 군간 유의가 없었으나, 배추갓김치, 배추김치 그리고 갓김치군은 대조군의 Cu,Zn-SOD 활성에 비해 28%, 20% 그리고 6% 증가하였다.

간의 Mn-SOD 활성은 가령에 따라 증가하여 식이 투여 6개월 그리고 12개월 후의 대조군의 활성은 0개월에 비해 25% 그리고 47% 증가하였다. 이것은 Irene 등(27)이 노화에 따라 SOD 수준이 증가한다고 보고한 바와 일치하나 Yang (2)이 정상노화 양상을 보이는 SAMR1과 노화촉진 양상을 보이는 SAMP1을 대상으로 비교한 연구에서 SAMP1의 SOD 활성이 SAMR1보다 현저히 낮아, 노화에 의해 SOD활성을

Table 5. Activities of Cu,Zn-SOD, Mn-SOD, GSH-px and catalase in liver of SAM fed various *kimchi* diet for 12 months

Feeding period	Group[1)]	Cu,Zn-SOD	Mn-SOD	GSH-px	Catalase
		NU/mg protein	NU/mg protein	mU/mg protein	mU/mg protein
0 mon		152.85±26.26[2)]	20.94±2.75	31.00±10.00	110.00±100
6 mon	Control	148.77±30.09[c3)]	26.09±5.12	26.74±13.80[a]	30.34± 9.47[b]
	KCK	190.66±18.19[b]	26.45±17.9	27.29± 8.15[a]	42.53± 1.67[ab]
	MKCK	224.66±20.07[ab]	27.86±0.41	22.48±11.34[ab]	49.84±31.35[a]
	MLK	259.47±16.55[a]	31.12±5.02	19.53± 8.83[b]	46.86± 9.44[a]
12 mon	Control	165.80±27.44	30.72±5.57[b]	4.91± 2.56	42.13±15.88[b]
	KCK	199.49±77.22	34.12±7.81[ab]	6.34± 0.81	47.06± 5.76[ab]
	MKCK	211.85±91.19	39.30±2.30[ab]	5.42± 2.19	46.08± 6.86[ab]
	MLK	176.04±23.05	40.31±4.96[a]	7.68± 7.60	54.62±15.52[a]

[1)]See the legend of Table 2.
[2)]Data are mean±standard deviation.
[3)]Data in column at the same feeding period were significantly different analyzed by one way ANOVA followed Duncan's multiple range test at $p<0.05$.

감소할 것이라는 보고나 가령에 따른 SOD활성 변화는 없었다는 연구(28)와는 다르다. 김치가 간의 Mn-SOD 활성에 미치는 영향을 살펴 본 결과 간의 Mn-SOD 활성은 김치섭취에 의하여 증가하는 효과를 보였다. 김치 종류별 효과는 6개월 식이 섭취 후 갓김치 그리고 배추갓김치군의 Mn-SOD 활성은 대조군에 비해 19%, 7% 증가하였으며 배추김치군은 대조군과 비슷한 Mn-SOD 활성을 보였다. 12개월에서는 갓김치군, 배추갓김치군 그리고 배추김치군의 Mn-SOD 활성은 40.31±4.96, 39.30±2.30, 그리고 34.12±7.81 NU/mg protein로 대조군에 비해 31%, 28% 그리고 11% 높았으며 갓김치군의 Mn-SOD 활성이 가장 높았고 그 다음이 배추갓김치군, 배추김치군의 순으로 나타나 간의 Cu,Zn-SOD와 같았다 ($p<0.05$).

GSH-px 활성

간의 GSH-px 활성을 가령에 따라 살펴본 결과 6개월 그리고 12개월에 대조군이 0개월에 비해 14% 그리고 84% 감소하여 노화에 따라 GSH-px 활성이 현저히 저하되었으며 ($p<0.05$), 가령에 따라 catalase와 GSH-px의 수준이 감소된다고 보고한 Laganiere와 Yu(29)의 결과와 일치한다. 김치가 간의 GSH-px 활성에 미치는 영향을 살펴보았을 때 간의 GSH-px 활성은 김치에 의해 영향을 받았으며, 그 영향은 김치종류 및 가령에 따라 차이가 났다. 김치 종류별로는 6개월에 배추김치군의 GSH-px 활성은 대조군에 비해 2% 증가하여 대조군과 비슷한 수준의 GSH-px 활성을 보였으나, 갓김치군 그리고 배추갓김치군의 GSH-px 활성은 대조군에 비하여 27% 그리고 16% 감소하였다. 갓김치군 그리고 배추갓김치군의 GSH-px 활성이 감소된 것은 GSH-px의 기질로 사용되는 GSH 수준이 배추갓김치군과 갓김치군에서 유의적 ($p<0.05$)으로 저하되었기 때문인 것으로 사료되며 한편, 6개월 실험군에서 배추갓김치군과 갓김치군의 GSH/GSSG의 수준이 유의적($p<0.05$)으로 높았던 점으로 보아, 배추갓김치군과 갓김치군은 GSSG를 효과적으로 GSH로 환원시켜 이용하므로 효율적으로 항산화 역할을 하는 것으로 여겨진다. 12개월 실험군의 갓김치, 배추김치, 그리고 배추갓김치군의 GSH-px 활성은 7.68±7.60, 6.34±0.81 그리고 5.42±2.19 mU/mg protien으로 대조군에 비해 56%, 29% 그리고 10% 증가하였다($p<0.05$).

Catalase 활성

간의 catalase 활성을 가령에 따라 살펴본 결과 6개월 그리고 12개월 식이섭취 후 대조군이 식이섭취 전에 비해 73% 그리고 62% 감소하여 노화에 따라 catalase 활성이 현저히 저하되었다. 이것은 SAMR1, SAMP2를 대상으로 연구한 결과 노화가 촉진되는 양상을 띄는 SAMP2에서 정상적으로 노화되는 SAMR1에 비해 catalase 활성이 유의적으로 감소되었다고 보고하여 노화에 따른 catalase 감소를 보고한 Matsuo 등(30)과 흰쥐의 수컷 간을 대상으로 연구한 Carrillo 등(31)의 보고와 같은 결과이다. 그러나 SAMR1과 SAMP8을 대상으로 한 Suh(32)의 연구 및 Sprague-Dawley계 흰쥐의 피부를 대상으로 한 Yang 등(33)의 연구에서는 가령에 따른 catalase 수준의 변화가 없다고 보고된 바 있다. 김치가 간의 catalase 활성에 미치는 영향을 살펴보았을 때 간의 catalase 활성은 김치섭취에 의하여 증가되었다. 김치 종류별로 배추갓김치, 갓김치, 그리고 배추김치군의 catalase 활성은 6개월 실험군이 대조군에 비해 64%, 54% 그리고 40% 증가하여 갓김치군의 catalase 활성이 가장 높았고 그 다음이 배추갓김치군, 배추김치군의 순이었다. 식이섭취 후 12개월에 갓김치, 배추김치, 그리고 배추갓김치군의 catalase 활성은 54.62±15.52, 47.06±5.76 그리고 46.08±6.86 mU/mg protien으로 대조군에 비해 30%, 12% 그리고 9% 증가하였으며 갓김치군의 catalase 활성이 가장 높았다($p<0.05$).

본 실험결과 가령에 따른 항산화계 효소 활성의 변화는 Cu, Zn-SOD, Mn-SOD에 비해 GSH-px, catalase 와 같은 H_2O_2에 대항하는 항산화계 효소의 활성저하가 두드러지게 나타났다. 한편, 김치섭취는 항산화효소계에 영향을 주었으며 Cu, Zn-SOD, Mn-SOD, GSH-px, catalase 활성 모두 대조군에 비해 김치섭취군에서 유의적으로 증가하였다($p<0.05$). 김치 종류로는 전반적으로 배추김치보다는 배추갓김치군과 갓김치군의 효소 활성이 높았다. 간에서 생성된 유리기 농도를 살펴보면 대조군에 비해 김치섭취시 유의적으로 감소되었으나 이 유리기를 제거하기 위해 발생된 SOD계는 오히려 김치섭취군에서 유의적으로 증가되었으며($p<0.05$), catalse와 GSH-px, GSH/GSSG의 비율도 김치섭취군에서 유의적으로 증가하였다. 따라서 김치는 노화에 따른 유리기의 생성량은 줄이면서, 이를 제거하기 위한 항산화 효소계의 활성은 증가시켜 노화를 억제하는 것으로 생각된다. 김치종류 중에서는 배추김치보다 배추갓김치와 갓김치가 유리기 생성을 억제하고, 항산화계 활성을 증진시킨 것으로 보아 배추갓김치와 갓김치군에 첨가된 갓의 항산화물질이 영향을 미친 것으로 생각된다.

TBARS 농도

간의 TBARS 농도를 가령에 따라 살펴본 결과(Table 6) 6개월 그리고 12개월에 대조군이 0개월에 비해 51% 그리고 95% 증가하여 노화에 따라 TBARS 농도가 증가되었다($p<0.05$). 김치가 간의 TBARS 농도에 미치는 영향을 살펴보았을 때 김치섭취는 간의 TBARS 농도를 저하시켰다. 김치 종류별로는 6개월에 갓김치, 배추갓김치, 그리고 배추김치군의 TBARS 농도는 대조군에 비해 20%, 11% 그리고 9% 감소하여 갓김치군의 TBARS 생성 억제 효과가 가장 높았고 그 다음이 배추갓김치군, 배추김치군의 순이었다($p<0.05$). 12개월에 배추김치, 배추갓김치, 그리고 갓김치군의 TBARS 농도는 대조군에 비해 17%, 6% 그리고 2% 감소하였으며, 배추김치군의 TBARS 억제 효과가 가장 높았고 그 다음이 배추갓김치군, 갓김치군 순이었다($p<0.05$). 간에서 가령에 따라

Table 6. Concentration of TBARS production in liver of SAM fed various *kimchi* diet for 12 months

Feeding period	Group[1)]	TBARS (nM/100 mg tissue)
0 mon		79.28±1.22[2)]
6 mon	Control	120.06±1.86[a3)]
	KCK	109.12±2.35[b]
	MKCK	106.42±4.45[c]
	MLK	96.37±4.59[d]
12 mon	Control	154.79±6.58[a]
	KCK	128.92±19.46[c]
	MKCK	145.27±4.33[b]
	MLK	152.37±1.81[ab]

[1)]See the legend of Table 2.
[2)]Data are mean±standard deviation.
[3)]Data in column at the same feeding period were significantly different analyzed by one way ANOVA followed Duncan's multiple range test at $p<0.05$.

TBARS값은 유의적으로($p<0.05$) 상승한 것은 가령에 따라 유리기 농도가 증가하였고, Cu,Zn-SOD, Mn-SOD의 활성은 가령에 따라 증가하였으나 catalase나 GSH-px 같은 효소계는 가령에 따라 유의적으로($p<0.05$) 저하되어 유리기로 인한 손상을 충분히 방지하지 못하기 때문인 것으로 보인다. 따라서 SOD계는 노화에 따라 발생하는 유리기에 의한 손상을 방지하는데 크게 기여하지 못하는 것으로 보이며, 따라서 과산화적 손상을 억제하는 것은 catalase나 GSH-px인 것으로 여겨진다. Lee(34)는 2%와 5% 부추김치를 먹인 ICR mouse의 지질과산화를 측정하였을 때 가령에 따라 간에서의 TBARS 값이 증가하였다고 보고하였다. 그러나 노화촉진마우스(SAMP8)의 가령에 따른 피부조직의 지질과산화를 측정한 결과 나이에 따라 감소했다고 보고한 Kim(35)의 결과와는 달랐다. 본 실험에서 김치섭취 시 TBARS 발생이 억제된 이유는 먼저 김치를 섭취하지 않은 경우보다 유리기 생성량이 적었고, 유리기 생성량은 적은데 반해 김치섭취시 효소적 및 비효소적 항산화계 활성은 더욱 증가되어, 결과적으로 발생된 유리기를 효과적으로 제거할 수 있었기 때문으로 여겨진다.

요 약

본 연구는 김치가 노화 억제에 미치는 영향을 살펴보기 위하여 AIN-76 마우스 식이에 배추, 갓김치, 갓배추김치를 각 동결건조 김치를 5%씩 첨가하여 만든 후 김치식이를 노화촉진쥐인 SAMP8에게 1년간 섭취시키면서 간의 노화관련 특성인 유리기 농도와 항산화효소계의 효소활성 변화를 살펴보았다. 노화촉진쥐 간의 총유리기, OH radical, H_2O_2 그리고 TBARS 모두 가령에 따라 증가되었으며, 간에서 생성된 유리기 농도와 TBARS 농도는 대조군에 비해 김치섭취시 유의적으로 감소되었다($p<0.05$). 그러나 생성된 유리기를 제거하기 위한 SOD 활성은 오히려 김치섭취군에서 유의적으로 증가되었으며($p<0.05$), catalase와 GSH-px, GSH/GSSG의 비율도 김치섭취군에서 유의적으로 증가하였다($p<0.05$). 따라서 김치섭취는 노화에 따라 발생되는 간의 유리기 및 TBARS 생성은 억제시키면서, 이를 제거하는 항산화계 효소는 활성화시켜 노화를 억제한 것으로 생각된다. 김치종류 중에서는 배추김치보다 배추갓김치와 갓김치가 유리기 생성 억제 및 항산화 효소 활성을 더욱 증진시킨 것으로 관찰되어 이는 첨가된 갓의 항산화물질 때문인 것으로 생각된다.

감사의 글

본 연구는 교육부의 향토산업기반 거점 전문대학 육성 연구비 및 1999년 농림수산부의 농림수산 특정 연구사업 연구비 지원의 일부로 수행되었으며, 지원에 감사드립니다.

문 헌

1. Takeda. T., Hosokawa, M., Takeshita, S., Irino, M., Jiguchi, K., Matsushita, T., Tomita, Y., Yasuhira, K., Hamamoto, H., Shimizu, K., Ishii, M. and Yamamuro, T. : A new murine model of accelcrated senescence. *Mech. Aging Dev.*, **17**, 183-194 (1981)
2. Yang, J.S. : A study on the oxygen free radical related substances in senescence accelerated mouse. *M.D. Thesis*, Seoul National Univ., Seoul, Korea (1989)
3. Harman, D. : The aging process. *Proc. Nat'l. Acad. Sci.*, **78**, 7124-7128 (1981)
4. Harman, D. : Free radical theory of aging - The free radical disease. *Aging*, **7**, 111 131 (1984)
5. Grankvist, K., Marklund, S.L. and Täljedal, I.B. : Cu,Zn-superoxide dismutase, Mn superoxidc dismutase and glu · tathione peroxidasc in parcreatic islets and other tissues in the mouse. *Biochem. J.*, **199**, 393-398 (1981)
6. Geller, B.L. and Winge, D.R. : Subcellular distribution of superoxide dismutases in rat liver. *Methods in Enzymology*, **105**, 105-114 (1978)
7. Jones, G.L. and Master, C.J. : On the nature and characteristics of the multiple forms of catalase in mouse liver. *Arch. Biochem. Biophy.*, **169**, 7-21 (1975)
8. De Haan, J.B., Cristiano, F., Iannello, R.C. and Kola, I. : Cu/Zn superoxide dismutase and glutathione peroxidase during aging. *Biochemistry and Molecular Biology*, **35**, 1281-1297 (1995)
9. Kwon, M.J. : Antiatherogenic effect of *baechu kimchi*. *M.D. Thesis*, Pusan National Univ., Busan, Korea (1998)
10. Hwang, J.H. : Antioxidative activities of anthocyanins from red leaf mustard (*Brassica juncea Coss. var. integrifolia*). *M.D. Thesis*, Pusan National Univ., Busan, Korea (2002)
11. Kim, H.J. : Antiatherogenic effect of solvent fraction of cabbage *kimchi* in rabbit. *M.S. Thesis*, Pusan National Univ., Busan, Korea (2000)
12. Hwang, J.W. : The effect of solvent fraction of *kimchi* on plasma lipid concentration of rabbit fed cholesterol diet. *M.S. Thesis*, Pusan National Univ., Busan, Korea (1999)
13. Ryu, B.M. : Effect of *kimchi* on inhibition of skin aging of hairless mouse. *M.D. Thesis*, Pusan National Univ., Busan, Korea (2000)
14. Cho, E.J. : A study on the standardization of ingredient ra tios of Chinese cabbage *kimchi* and anticarcinogenic effect. *M.S. Thesis*, Pusan National Univ., Busan, Korea (1999)

15. Hyun, Y.A. : Preparation methods and fermentation characteristics of mustard leaf *kimchi*. *M.S. Thesis*, Pusan National Univ., Busan, Korea (2000)
16. Song, Y.O. and Moon, G.S. : Development of *kimchi* with differenciated taste and functional quality. Final Report, Part I, Kimchi Research Institute at Pusan National University, Busan, Korea (2000)
17. Thomas, P., Herberl, D.G. and James, P.K. : Production of reactive oxygen by mitochondria from normoxic and hypoxic rat heart tissue. *Free. Radical. Biol. Med.*, **13**, 289-297 (1992)
18. Phillip, C.C., Benon, H. and Bielski, J. : Enzyme-catalayzed free fadical reactions with nicotineamide adenine necleotides. *J. Biological Chemistry*, **249**, 1317-1319 (1974)
19. Barry, H. and John, M.C. : Formation of a thiobarbituric acid-reactive substance from deoxyribose in the presence of iron salts. *FEBS LETTERS*, **128**, 347-352 (1981)
20. Punchard, N.A. and Kelly, F.J. : *Free Radicals*. IRL press, New York, Tokyo, p.125-128 (2000)
21. Gaitonide, M.K. : A spectrophotometric method for the direct determination of cystein in the presense of other naturally occuring amino acids. *Biochem. J.*, **104**, 627 (1967)
22. Oyanagui, Y. : Reevaluation of assay methods and establishment of kit for superoxide dismutase activity. *Anal. Biochem.*, **4**, 290-291 (1948)
23. Aebi, H. : Catalase *in vitro*. In *Methods in Enzymology*, Academic press, Grlando, Florida, Vol. 105, p.121-126 (1984)
24. Lawrence, R.A. and Burk, F. : Glutathione peroxidase activity in selenium-deficient rat liver. *Biochem Biophys. Res. Comm.*, **71**, 952-958 (1976)
25. Kim, Y.K., Chung, H.Y. and Kim, K.W. : Age-associated alteration in the hepatic superoxide generation and antioxidant activities in the senescence-accelerated mice. *M.S. Thesis*, Pusan National Univ., Busan, Korea (1992)
26. Fukuzawa, K. and Takaishi, Y. : Antioxidants. *J. Act. Oxyg. Free Rad.*, **1**, 55 (1990)
27. Irene, C.P., Trivicr, J.M., Annie, N., Sinet, P.M. and Marc, T. : Age-correlated modifications of copper-zinc superoxide dismutase and glutathione related enzyme activities eryth rocytes. *Clin. Chem.*, **38**, 66-70 (1992)
28. Kellogg III, E.W. and Fridovich, I. : Superoxide dismutase in the rat and mouse as a function of age and longevity. *J. Gerontol.*, **31**, 405-408 (1976)
29. Laganicre, S. and Yu, B.P. : Effect of chronic food restriction in aging rats. II. Liver cytosolic antioxidants and related enzymes. *Mech. Aging Dev.*, **48**, 221-230 (1989)
30. Matsuo, M., Gomi, F. and Dolly, M.M. : Age-related alteration in antioxidants capacity and lipid peroxidation on brain, liver and lung homogenates of normal and vitamin E-deficient rats. *Mech. Ageing Dev.*, **64**, 273-292 (1992)
31. Carrillo, M.C., Kanai, S., Sato, Y. and Kitani, K. : Age-related changes in antioxidant enzyme activities are region on organ, as well as sex, selective in the rat. *Mech. Ageing Dev.*, **65**, 187-198 (1992)
32. Suh, J.W. : Age-related changes of physiological, blood biochemical data and antioxidative ability in senescence accelerated mouse (SAMp8/Ta and SAMR1TA). *M.S. Thesis*, Chungnam National Univ., Taejon, Korea (1995)
33. Yang, S.Y., Choi, K.O., Sohn, S.H., Ahn, B.W., Lee, M.W. and Kim, Y.P. : Changes in oxidative status and antioxidant activity of rat skin homogenates with age. *J. Gerontol.*, **2**, 111-117 (1992)
34. Lee, M.J. : Antioxidative and antiaging effect of *buchu in vitro* and *in vivo*. *M.S. Thesis*, Inje Univ., Kimhae, Korea (1999)
35. Kim, S.R. : Age-related changes in oxidative status and antioxidant activity in the skin of senescence accelerated mice. *M.D. Thesis*, Chonnam National Univ., Gwangju, Korea (1994)

(2001년 11월 17일 접수; 2002년 1월 10일 채택)