

병 포장 갓김치의 항암성에 대한 연구

김복남

한림성심대학 관광외식조리과

Anticancer Effect of Bottled Mustard Leaf Kimchi during Fermentation

Bog-Nam Kim

Dept. of Tourism Food Service Cuisine, Hallym College, Gangwon 200-711, Korea

Abstract

Mustard Leaf Kimchi (MLK) is a traditional fermented Korean vegetable food. This study investigated the anticancer effect of partial vacuum treatment of MLK packed in glass bottles during fermentation. Prepared vacuum treated mustard leaf kimchi (VM) and non-vacuum treated mustard leaf kimchi (CM) were fermented at 5°C for 8 weeks. The initial pH and total acidity were approximately 5.7 and, 0.36%, respectively. During fermentation, pH decreased and total acidity increased. Initial contents of reducing sugar and salt were 2.1% and were 2.7 mg/g, respectively. Reducing sugar gradually decreased during fermentation. Growth of cells from mouse cancer cell lines (L1210 and P338D1) and human cancer cell lines (HepG2 and WiDr) were all decreased by MLK. VM and CM did not affect growth. More potent growth inhibition effects were exhibited by water versus hexane extracts of MLK, and by MLK fermented for 3 weeks versus 6 weeks. However, when applied to control NIH/3T3 cells at the same concentrations, MLK exhibited no cytotoxicity, and cell growth was unimpeded.

Key words : Mustard leaf kimchi, fermentation, anticancer.

서론

갓(mustard leaf, *Brassica juncea*)은 십자화과에 속하는 경엽채소류 중의 하나로 겨자의 잎을 말하는데, 염장 발효시켜 김치로 식용하며 그 씨(겨자, mustard)는 신미성 향신료로서 사용되고 있다. 갓에는 sinigrin이라는 allyl isothiocyanate의 glucosinolate를 함유하고 있으며(Cho *et al* 1994), 숙성 중 갓의 myrosinase의 작용으로 여러 가지 함황 성분과 그 관련 물질이 생성되게 되는데(Park *et al* 1993), 이들 성분 중 일부가 갓김치의 젖산균 등의 미생물군에 항균 작용을 갖게 되어 김치 발효를 지연시키기도 하나(Park *et al* 1995, Park *et al* 1995, Chun *et al* 1995), 김치의 조기 산패를 방지하여 저장성을 향상시켜 준다(Park & Han 1994). 특히 항산화성이 있는 것으로 알려진 chlorophylls, β -carotenoids, ascorbic acid 등을 다량 함유하고 있다(Cho *et al* 1993). 또한, 갓김치는 특유의 조직감을 나타내 주고 있어 장기간 저장 중에도 쉽게 연화되지 않는 성질을 갖고 있으며, 다른 경엽채소류에 비하여 재료 자체의 색채가 양호하게 유지되며, 색소 안정성이 우수하며 칼슘, 칼륨 등의 함량이 높아 무기질 공급원으로도

중요하다(Cho *et al* 1993). 갓김치에 대한 연구로는 갓김치의 구성 성분 변화 및 미생물에 대한 연구(Kang *et al* 1995, Kang SK 1995a, 1995b), 갓김치 자체의 항산화성 및 주요색소 성분인 chlorophylls와 carotenoids의 항산화성에 대한 연구(Song *et al* 1997, Choi *et al* 2000), 갓김치의 녹차 및 늙은 호박 분말 첨가에 따른 발효 특성(Park *et al* 2001), 적갓김치 anthocyanins의 항산화 특성에 관한 연구(Hwang *et al* 2000, Cheig HS 2003), 돌산갓김치의 저온 저장 중 품질 특성 변화(Kim *et al* 2006) 등이 있다. 김치 포장과 관련하여 주요하게 고려되어야 할 사항은 김치의 발효 숙성시 관여하는 이상젖산균인 *Leconostoc mesenteroides*, *Lactobacillus brevis* 등이 생산하는 이산화탄소에 기인하는 포장 용기의 팽창, 변형, 파열 등이다(Kim *et al* 1994, Hong *et al* 1995, Shin *et al* 1996). 그러나 소포장 상품 김치의 품질 향상과 포장 방법 개선을 위하여 내압 조절 김치류는 상품화에 있어서 포장, 저장, 유통과정에 많은 어려움을 주고 있어 냉장 유통을 원칙으로 한 포장법을 사용하고 있다. 본 연구에서는 갓김치의 품질 향상 및 포장 방법 개선을 위하여 갓김치를 상압 및 진공(감압) 상태로 유리병 포장하여 발효 저장하면서 갓김치의 품질 및 기능성을 살펴보고자 하였다. 즉, 기존 담금 방법에 의하여 담금한 갓김치 180 g을 내부 압력이 조정되도록 특수 설계된

† Corresponding author : Bog-Nam Kim, Tel : +82-33-240-9116, Fax : +82-33-240-9119, E-mail : bnkim1024@hanmail.net

유리병(250 mL 용량)에 주입하여 상압 및 진공(533 mmHg)으로 밀봉하면서, 이를 5°C 저온에서 8주간 저장하면서 갓김치의 발효 양상 및 항암성 등을 살펴보았다.

재료 및 방법

1. 실험 재료

본 실험에 사용한 갓은 전라남도 여천군 돌산면에서 2월에 파종하여 4월에 수확한 돌산 청갓(*mustard leaf, Brassia juncea*)인 만생편경대엽(晩生片梗大葉) 품종으로 길이 25~30 cm, 무게 2 kg 내외의 것을 사용하고, 조단백질 2.6%, 조지질 0.1%, 조회분 1.2%, 수분 함량은 91.6%였다. 파는 김해에서 재배된 구주 품종을 구입하였고, 고춧가루는 경북 영양에서 재배된 굵담 품종을, 생강과 마늘은 남해에서 재배된 것, 소금은 정제염(한주소금), 설탕은 정제당((주)제일제당)을 사용하였다. 젓갈 및 기타 부재료는 발효 양상에 큰 영향을 미치므로 본 실험에서 김치를 담금할 때 제외하였다. 본 실험의 모델 김치는 내부 압력이 걸리는 경우 자연 유출되게 고안된 250 mL용량의 유리병과 뚜껑(Great Northern Nekoosa Co., USA)에 포장하였다.

세포 배양을 위해 RPMI 1640 medium, fetal bovine serum (FBS), 0.05% trypsin - 0.02% EDTA 그리고 1,000 units/mL penicillin streptomycin을 GIBCO사(USA)사로 부터 구입하여 사용하였다. 세포 배양은 CO₂ incubator(Forma Scientific, Inc, USA)를 사용하였으며, 암세포 형태의 조직적 관찰은 Nikon사의 현미경(Nikon DIAPHOT 300, Japan)을 이용하였다.

실험에 사용된 세포주는 Mouse의 백혈병 종양세포 L1210 (Lymphocytic leukemia, mouse), P338Di(Lymphoid neoplasm, mouse), 사람의 간암 세포 HepG2(Hepatocellular carcinoma, human), 사람의 대장암 세포 WiDr(Colon adenocarcinoma, human)와 정상 세포 NIH/3T3은 한국세포주 은행(서울대학교)으로부터 분양받았다.

동물세포는 100 units/mL의 penicillin-streptomycin과 10%의 FBS(Fetal bovine serum)가 함유된 RPMI 1640 medium을 사용하여 37°C, 5% CO₂ incubator에서 배양하였다. 부착형 세포인 WiDr, HepG2는 일주일에 2~3회 refeeding하고 6~7일 만에 PBS(Phosphate buffer saline)로 세척한 후 0.05% trypsin-0.02% EDTA로 부착된 세포를 분리하여 원심분리한 후 모아진 세포를 배지에 넣고 피펫으로 세포가 골고루 분산되도록 잘 혼합한 후 75 mL cell cultrue flask에 일정한 수를 분양하여 계대 배양하면서 사용하였다.

2. 김치 담금 및 포장

잎 30, 줄기 70의 비율로 200 g을 취하였다. 갓을 흐르는

물에 깨끗이 씻은 후 2×3 cm로 세절하여 재료의 손실을 없애기 위하여 망사에 담았다. 절인 갓의 염도가 2.0±1%가 되도록 15% 소금물 용액에 망사에 담은 갓을 2시간 절인 다음(1시간 초과 후 아래위의 위치 바꿈) 물로 2회 씻어서 30분간 물기를 뺐다. 이후 polyethylene bag에 소금에 절여 물기를 뺐 갓을 양파 8 g, 마늘 4 g, 고춧가루 4 g, 생강 2 g, 설탕 2 g의 양념을 넣고 비닐 장갑을 낀 손으로 잘 혼합시켜 갓김치를 담근 뒤 250 mL 부피의 유리병에 넣어 진공병 포장 갓김치는 진공 발효의 진행에 따라 감압(533 mmHg) 배기가 되도록 설계된 밀봉기로 포장하였고, 상압병 포장 갓김치는 상압 조건에서 포장하여 모두 갓김치 전용 저장고인 5±1°C 저온 저장고에서 0주부터 8주간 발효시키면서 주단위로 각 Sample을 0(Initial mustard leaf Kimchi, 0주), VM-3(Vacuum treated mustard leaf Kimch, 3주 발효), VM-6(Vacuum treated mustard leaf Kimch, 6주 발효), CM-3(Non-vacuum treated mustard leaf Kimchi, 3주 발효), CM-6(Non-vacuum treated mustard leaf Kimchi, 6주 발효)로 준비하였다. 단발효 숙성이 필요 없는 담금 당일의 갓김치는 -20°C를 유지하는 냉동고에 보관하면서 사용하였고, 실험 방법상 필요한 건조 시료의 제조는 각 발효시기에 동결 건조기(Freeze Dryer-5, IL Shin CO, Korea)를 이용하여 동결 건조시킨 후 마쇄하여 병에 넣어 질소 gas로 충전한 뒤 -20°C 냉동고에 넣어 보관하면서 사용하였다. 이와 같이 제조한 갓김치는 단백질 2.5%, 조지질 0.5%, 조회분 1.9%, 수분 함량은 86.4%였다.

3. 갓김치 추출물의 항암 반응물의 조제

물 추출물의 조제는 냉동 건조시료 5 g에 100 mL의 증류수를 넣고 80°C의 water bath에서 2시간 동안 진탕하여 추출한 뒤 3,000 rpm에서 10분간 원심분리 한 다음 Whatman filter paper No.42로 여과하여 물 추출물로 이용하였다. Hexane의 추출물의 조제는 냉동 건조 시료 5 g을 15 mL hexane으로 3회 추출하고 잔사물을 2배의 메탄올로 95°C에서 환류 냉각기를 사용하여 3회 추출한 뒤, 회전식 진공 농축기(Buchi oil & 461, Switzerland)를 이용하여 농축한 뒤, 1% dimethyl sulfoxide(DMSO)를 이용하여 0.5%, 2%, 5%의 Hexane 추출물을 조제하여 암세포 증식 억제 실험을 하였다.

4. 병 포장 갓김치의 주요 성분 분석

1) 진공도 측정

갓김치 발효 저장 중 김치 포장병의 진공도는 병 포장된 김치 병뚜껑에 vacuum gauge(USG, USA)를 직접 삽입하여 측정하였다.

2) pH 및 총산도

pH는 pH meter(Suntex, sp-701, Japan)로 측정하였다. 총산도는 AOAC(1985) 방법에 따라 측정하였다. 즉, pH 측정시 준비한 갓김치 용액 2 mL에 증류수 48 mL를 가하여 50 mL로 한 뒤 1% phenol-phthalein을 지시약으로 하여 0.1 N NaOH 용액으로 적정하여 0.1 N NaOH의 소비 mL를 다음 식에 따라 lactic acid로 환산하여 총 산도로 표시하였다.

$$\text{Lactic acid(\%)} = \frac{\text{소비된 alkali의 mL 수} \times \text{사용한 alkali의 농도} \times 9}{\text{사용한 시료의 중량(g)}}$$

3) 환원당 및 염도

환원당은 신희선(1983)의 방법으로 측정하였다. 즉, 갓김치 원액을 증류수로 50배 희석한 후 Whatman filter paper No. 1으로 여과한 여과액 25 mL, CuSO₄ · H₂O 10 mL, Rhocheil 염 용액 10 mL, 증류수 5 mL를 250 mL 삼각플라스크에 넣고 끓기 시작해서 3분 가열한 후 수돗물에서 급히 냉각하고 실온으로 식혀 30%KCl 10 mL, 25% H₂SO₄ 10 mL를 동시에 넣은 후 잘 혼합해서 0.1N Na₂S₂O₃로 적정하여 색깔이 옅은 황색이 되면 녹말 지시약 3~4방울을 가하고 남보라색이 없어지면서 황색으로 변하기 직전의 시점을 종말점으로 측정하였다. 염도는 염도계(Sinar, Salt meter, model NS-3p, Japan)를 사용하여 측정하였다.

5. 정상 세포의 성장 억제 효과 측정

정상 세포에 배지를 가하고 여러 번 잘 교반한 후 24 well plate에 2~6×10⁴/mL 정도로 분할하여 seeding하고 하룻밤 배양하였다. 정상 세포가 plate에 부착되었을 때 10%의 FBS가 함유된 RPMI 1640 medium에 시료를 첨가하여 배양액을 교체하였다. 배지는 2일에 한 번 교체하였고 6일후 떼어내어 hemocytometer로 계수하였다.

6. MTT Assay에 의한 저해 효과 측정

암세포에 대한 발암 억제 효과는 MTT assay로 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide로 실시하였다(Scudiero *et al* 1988, Alley *et al* 1988). 즉, 암세포를 96 well plate에 well 당 1×10³ cells/mL가 되도록 seeding하고 시료 추출물을 첨가한 후 37°C, 5% CO₂ incubator에서 배양하였다. 여기에 인산 생리 식염수에 5 mg/mL의 농도로 제조한 MTT 용액을 20 μL 첨가하고 4시간 더 배양하였다. 이를 2,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 상정액을 제거하고 각 well에 DMSO를 150 μL를 가하여 30분간 교반한 후 ELISA reader(Molecular device Co., U.S.A.)로 550 nm에서 흡광도를 측정하였으며(Fig. 1), cytotoxicity는 다음과 같다.

$$\text{Cytotoxicity(\%)} = \frac{\text{대조구의 흡광도} - \text{시료 처리구의 흡광도}}{\text{대조구의 흡광도}} \times 100$$

7. 통계 처리

대조군과 각 시료로부터 얻은 실험 자료로부터 ANOVA (Analysis of Variance)를 구한 후 Duncan's multiple range test (Tukey's studentized range test)를 이용하여 통계 분석하였다(채서일 1989).

결과 및 고찰

1. 병 포장 처리 조건에 따른 갓김치의 발효 양상

1) 병 포장 용기내의 진공도 변화

병 포장 갓김치를 227 mmHg 진공에서 밀봉한 진공 포장 갓김치 및 상압 포장 갓김치를 5±1°C 저온 냉장고에서 8주 동안 발효시키면서 포장 용기내의 진공도 변화를 측정된 결과는 Fig. 2와 같다. 진공 포장 갓김치의 초기 진공도는 227 mmHg였으며, 발효 초기(0~1주)에는 진공도가 별 차이가 없었으며, 발효 2주부터는 다소 큰 폭으로 감소하기 시작하여 발효 3주, 4주째가 되면 초기 진공도의 50% 수준인 481 mmHg가 되었고, 5주부터는 다소 완만하게 감소하여 8주에는 608

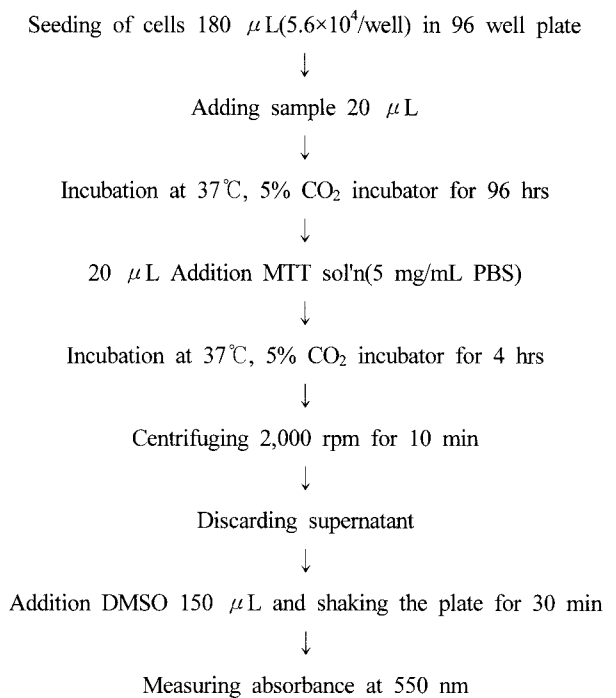


Fig. 1. A schematic diagram for the test of 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide(MTT) assay in cancer cells.

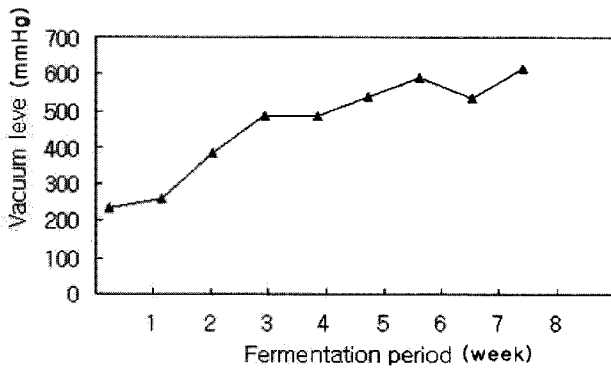


Fig. 2. Changes of vacuum levels in bottled mustard leaf Kimchi during fermentation at 5°C.

mmHg가 되었다. 전반적으로 발효가 진행될수록 진공도는 점차 감소하는 경향을 나타내었다. 본 실험에 사용한 진공병 포장은 포장 용기의 뚜껑이 특수 제작되어 발효가 진행됨에 따라 뚜껑의 가장자리를 통한 자연 배기가 이루어졌기 때문에 발효 시간이 길어질수록 진공도는 감소하였고, 발효 말기에도 진공도가 완전히 소멸되지는 않았다.

2) 갓김치의 발효 양상

(1) pH 및 산도

병 포장 갓김치를 5°C±1에서 발효 숙성시켰을 때 pH 및 산도의 변화는 Fig. 3과 같다. 병 포장 갓김치의 초기 pH는 5.7, 초기의 산도는 0.36%이었으며, 진공병 포장 갓김치 및 상압병 포장 갓김치의 pH는 발효 1주에 각각 5.69(산도, 0.39%), 5.54(산도, 0.45%), 발효 3주에는 pH가 각각 4.61(산도, 0.54%), 4.47(산도, 0.6%)로 급격히 변화하였으며, 이후에는 큰 변화가 없었으며, 발효 6주에는 pH가 각각 4.5(산도 0.68%), 4.50(산도 0.85%), 발효 8주에는 pH가 각각 4.47(산도 0.8%), pH 4.43(산도 0.93%)을 나타내었다. Rhie & Chun(1982)에 의하면 김치의 pH 및 최적 산도는 김치의 종류 및 제조 방법, 숙성 온도에 따라 차이가 크다고 하였다. 일반적으로 김치의 pH는 4.0~4.5, 산도는 0.4~0.8%로 보고되어 있다(Ku *et al* 1988, Kim SD 1985).

(2) 환원당 및 염도

병 포장 갓김치의 발효 숙성중 환원당 및 염도의 변화는 Table 1과 같다. 갓김치의 초기 환원당은 2.7 g/mg이었으며, 염도는 2.1 g/mg이었다. 환원당은 발효 1주에 진공구와 상압포장구가 각각 2.5 g/mg, 2.4 g/mg, 발효 3주에는 각각 2.3 g/mg, 2.1 g/mg, 발효 6주에는 각각 0.6 g/mg, 0.5 g/mg으로 큰 차이가 없이 두 그룹 모두 완만하게 감소하여 환원당이 서서히 감소하면서 산도가 완만하게 상승하는 일반적인 김

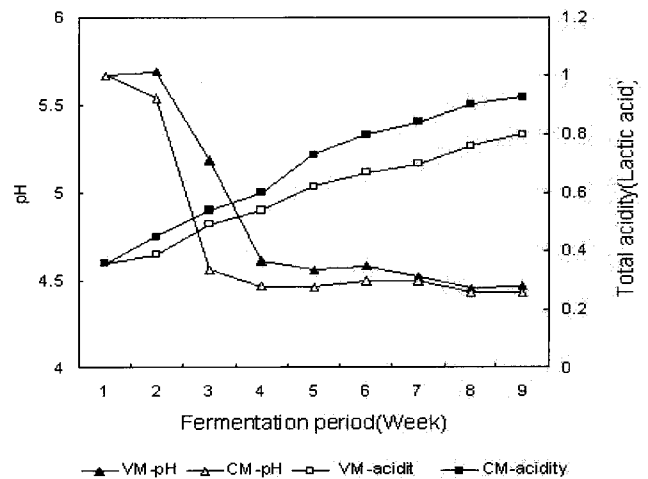


Fig. 3. Changes of pH and total acidity in bottled mustard leaf Kimchi during fermentation at 5°C.

VM : vacuum treated mustard leaf Kimchi.

CM : non-vacuum treated mustard leaf Kimchi.

Table 1. Changes of reducing sugar and salt contents in bottled mustard leaf Kimchi during fermentation at 5°C

Fermentation period (week)	Salt(%)	Reducing sugar(%)	
		Vacuum treated	Non-vacuum treated
0	2.1±0.03 ¹⁾	2.7±0.02 ^{a*}	2.7±0.02 ^a
1	2.1±0.04	2.5±0.03 ^a	2.4±0.03 ^b
2	2.0±0.03	2.3±0.01 ^b	2.1±0.02 ^b
3	1.9±0.04	2.0±0.02 ^b	1.6±0.01 ^b
4	1.9±0.02	1.6±0.02 ^b	1.3±0.01 ^c
5	2.0±0.03	1.2±0.02 ^c	1.0±0.02 ^c
6	2.0±0.03	0.6±0.04 ^c	0.5±0.01 ^c
7	2.0±0.02	0.3±0.02 ^d	0.2±0.03 ^d
8	2.0±0.02	0.2±0.01 ^d	0.1±0.01 ^d

*a~d Means with the different letters in a column are significantly different at the 0.05 by Duncan's multiple range test.

¹⁾ Mean±SD.

치의 발효 양상을 보였다(Park *et al* 1995, Cho *et al* 1993, Cheigh & Park 1994).

2. 병 포장 갓김치의 항(발)암성

1) MTT Assay에 의한 암세포 성장 저해 효과

병 포장 갓김치의 MTT assay에 의한 암세포 성장 저해 효

과를 살펴본 결과는 Table 2~5와 같다.

Table 2. Inhibitory effect of the water extract of mustard leaf Kimchi(MLK) on the growth of mouse cancer cells in MTT assay

Sample ¹⁾	L1210		P338DI	
	Absorbance at 550nm (Mean±SD)	Inhibition rate (%)	Absorbance at 550nm (Mean±SD)	Inhibition rate (%)
MLK-0wk	0.940±0.03 ^a	22	0.886±0.02 ^{a*}	24
CM-3wk	0.580±0.02 ^c	52	0.508±0.01 ^c	56
CM-6wk	0.882±0.03 ^b	27	0.826±0.02 ^a	29
VM-3wk	0.605±0.007 ^c	50	0.528±0.01 ^c	55
VM-6wk	0.913±0.01 ^a	25	0.986±0.01 ^b	23

^{a-c} Means with the different letters in a column are significantly different at the 0.05 by Duncan's multiple range test.
¹⁾ Fermented MLK for 0, 3, 6 week(s) respectively.

(1) Mouse의 종양 세포에 대한 효과

Table 2는 갓김치의 물 추출물로서 이들이 mouse의 종양 세포인 L1210(Lymphocytic leukemia, mouse)과 P338DI(Lymphoid neoplasm, mouse)에 대한 성장 저해 효과를 살펴본 결과이다. 시료로 사용한 갓김치는 발효하지 않은 갓김치(MLK-0), 상압병 포장 갓김치 중 발효 3주(CM-3), 6주(CM-6), 진공병 포장 갓김치 중 발효 3주(VM-3) 및 6주(VM-6)된 갓김치였으며, 갓김치 물 추출물의 L1210에 대한 성장 저해 효과는 각각 22%, 52%, 27%, 50%, 25%이며, P338DI에 대한 성장 저해 효과는 각각 24%, 56%, 29%, 55%, 23%로 포장 방법에 따라서는 큰 차이가 없었으나, 상압병 포장 갓김치가 다소 성장 저해 효과가 더 컸으며, 발효 기간에 따른 효과는 3주, 6주, 0주의 순으로 저해 효과가 컸다. Table 3는 갓김치의 Hexane 추출물의 L1210 및 P338DI에 대한 효과를 갓김치의 포장 방법별, 발효 기간별, 농도별로 살펴본 결과이다. 갓김치 MLK-0, CM-3, CM-6, VM-3, VM-6의 Hexane 추출물(2%)의 L1210에 대한 효과는 20%, 46%, 20%, 40%, 21%이었고,

Table 3. Inhibitory effect of the hexane extract of mustard leaf Kimchi(MLK) on the growth of mouse cancer cells in MTT assay

Sample ¹⁾	L1210		P338DI		
	Absorbance at 550nm (Mean±SD)	Inhibition rate (%)	Absorbance at 550nm (Mean±SD)	Inhibition rate (%)	
MLK-0wk	5%	0.881±0.01 ^{cdef*}	33	0.833±0.02 ^{bde*}	37
	2%	1.050±0.05 ^{abc}	20	0.994±0.01 ^{abc}	25
	0.5%	1.128±0.02 ^{abc}	15	1.135±0.04 ^a	14
CM-3wk	5%	0.522±0.02 ^f	60	0.450±0.03 ^{ef}	66
	2%	0.711±0.01 ^{ef}	46	0.681±0.01 ^{cdf}	48
	0.5%	1.084±0.05 ^{abc}	18	1.012±0.03 ^{abc}	23
CM-6wk	5%	0.815±0.02 ^{abcde}	38	0.792±0.007 ^{bcd}	40
	2%	1.05±0.04 ^{abcd}	20	0.949±0.05 ^{abc}	28
	0.5%	1.114±0.06 ^{abc}	15	1.128±0.02 ^a	15
VM-3wk	5%	0.587±0.01 ^f	55	0.501±0.006 ^f	62
	2%	0.795±0.01 ^{de}	40	0.699±0.004 ^{def}	47
	0.5%	1.147±0.003 ^{ab}	13	1.033±0.05 ^{abc}	22
VM-6wk	5%	0.902±0.008 ^{cdef}	32	0.803±0.01 ^{cdef}	39
	2%	1.046±0.04 ^{abc}	21	1.005±0.01 ^{ab}	24
	0.5%	1.167±0.02 ^a	12	1.153±0.04 ^a	13

^{a-f} Means with the different letters in a column are significantly different at the 0.05 by Duncan's multiple range test.
¹⁾ Fermented MLK for 0, 3, 6 week(s) respectively.

P338DI에 대한 효과는 25%, 48%, 28%, 47%, 24%로 포장 및 발효 기간에 따른 효과는 물 추출물의 결과와 같은 양상이었다. 또한, 물 추출물이 Hexane 추출물보다 성장 저해 효과가 더 컸다. 추출 용매의 종류에 따른 김치의 항산화성의 차이를 비교한 연구를 살펴보면 Lee & Choi(1995)는 메탄올 추출물이 물 추출물보다, Lee *et al*(1993)은 메탄올 추출물이 Hexane 추출물보다 항산화 성분이 우수하다고 하였다. 녹차의 경우는 물 추출물에서 항산화 성분이 검출되었으며 (Rhi & Shin 1993), 채소를 뜨거운 물로 추출한 것은 지방의 산화를 지연시키는 효력이 있다고 보고하였다(Pratt & Watts 1964). 추출물의 용매의 종류, 극성도 및 대상 식물에 따라 항산화 효과가 차이가 있다(Pratt & watts 1964, Lee *et al* 1993)는 보고와 관련하여 항암성에도 같은 양상을 보이는 것으로 추정되어진다.

(2) 사람의 종양세포에 대한 효과

Table 4는 갓김치의 물 추출물이 사람의 종양세포인 HepG2 (Hepatocellular carcinoma, human)과 WiDr(colon adenocarcinoma, human) 세포에 대한 성장 저해 효과를 살펴본 것이다. 시료로 사용한 갓김치는 발효하지 않은 갓김치 (MLK-0), 상압병 포장 갓김치중 발효 3주(CM-3), 발효 6주(CM-6), 진공병 포장 갓김치 중 발효 3주(VM-3), 발효 6주(VM-6)된 것이었으며, 이들 갓김치의 물 추출물(2% 농도)이 HepG2에 대한 저해 효과는 각각 20%, 56%, 26%, 51%, 28%이었으며 WiDr에 대한 저해 효과는 각각 27%, 64%, 35%, 6%, 35%로 포장 방법에 따라서는 큰 차이가 없었으며, 발효 기간은 3주, 6주, 0주의 순으로 저해 효과가 컸다. 또한, Table 5는 갓김치의

Table 4. Inhibitory effect of the water extract of mustard leaf Kimchi(MLK) on the growth of human cancer cells in MTT assay

Sample ¹⁾	HepG2		WiDr	
	Absorbance at 550nm (Mean±SD)	Inhibition rate (%)	Absorbance at 550nm (Mean±SD)	Inhibition rate (%)
MLK-0wk	1.073±0.07 ^{a*}	20	0.978±0.02 ^{a*}	27
CM-3wk	0.59 ±0.05 ^b	56	0.482±0.08 ^c	64
CM-6wk	0.993±0.008 ^a	26	0.867±0.02 ^b	35
VM-3wk	0.658±0.01 ^b	5	0.531±0.07 ^c	60
VM-6wk	0.993±0.01 ^a	2	0.866±0.02 ^b	35

^{a-c} Means with the different letters in a column are significantly different at the 0.05 by Duncan's multiple range test.

¹⁾ Fermented MLK for 0, 3, 6 week(s) respectively.

Hexane 추출물의 HepG2 및 WiDr에 대한 효과를 갓김치의 포장 방법별, 발효 기간별, 농도별로 살펴본 결과이다. 갓김치 MLK-0, CM-3, CM-6, VM-3, VM-6의 Hexane 추출물(2% 농도)의 HepG2에 대한 효과는 각각 11%, 30%, 11%, 31%, 10%이었고, WiDr에 대한 효과는 각각 22%, 47%, 25%, 42%, 24%로 포장 및 발효 기간에 따른 효과는 물 추출물의 결과와 같은 양상이었다. 또한, 물 추출물이 Hexane 추출물보다 성장 저해 효과가 더 컸다. 허(1995)는 배추김치의 적숙기의 pH는 4.2, 산도는 0.5~0.6%이라 하였으며, 최(1997)는 우영김치의 적숙기의 pH는 4.1, 산도는 0.7%이었다고 하였고, 이들은 김치의 적숙기에 항암 효과가 가장 높다고 하였다. 본 실험 결과, 발효 3주에 VM, CM의 pH는 각각 4.61, 4.47, 산도는 각각 0.54%, 0.6%이었으며, 발효 6주에 VM, CM의 pH는 각각 4.52, 4.5, 산도는 0.7%, 0.84%로써 pH는 김치의 적숙기에 도달하지 않았으나, 산도는 발효 3주였을 때 일반 김치의 적숙기에 도달한 것과 발효 3주에 항암성이 가장 큰 것과 관련성이 있을 것으로 추정된다.

2) 정상 세포에 대한 효과

갓김치 추출물이 mouse cancer cell과 human cancer cell에 항암 효과가 있는 것으로 결과가 얻어졌으므로 이들 추출물이 암세포에만 선택적으로 효과를 지니는지를 알아보기 위해 정상 세포인 NIH/3T3를 이용하여 세포 특성 효과를 살펴 보았다. Table 6은 이들 갓김치의 물 추출물이 NIH/3T3의 증식에 미치는 영향을 살펴 본 것으로 CM-3 및 CM-6 추출물은 영향을 미치지 않았으며, 발효시키지 않은 갓김치인 MLK-0 및 VM-3 추출물은 각각 4.5%, 6.8%의 증식 효과가 있었으며, 반면 VM-6 추출물은 5%의 성장 억제제를 보였다. Table 7은 갓김치의 Hexane 추출물이 NIH/3T3의 증식에 미치는 영향을 살펴 본 것으로 MLK-0, CM-3, CM-6, VM-3, VM-6 추출물의 5% 농도는 발효시키지 않은 MLK-0 추출물만이 2.8%의 증식 효과를 보였고, 기타 추출물은 영향을 미치지 않았다. 2% 농도에서는 각각 11.1%, 8.3%, 5.6%, 11.1%, 13.9%의 증식 효과를 보였다. 저장 기간에 따른 효과는 상압은 3주가 진공은 6주가 더 증식이 잘 되어 일정한 양상을 나타내지는 않았다. 포장 방법에 따른 효과는 진공병 포장 갓김치 추출물이 더 효과가 있었다. 또한, 0.5% 농도에서는 각각 11.1%, 8.3%, 11.1%, 13%, 11.1%의 증식 효과를 보였다. 농도에 따른 증식 효과는 일정한 양상을 나타내지 않았으며, 저장 기간에 따른 효과는 상압은 6주가 진공은 3주가 더 증식이 잘 되어 일정한 양상을 나타내지는 않았다. 포장 방법에 따른 효과는 3주는 진공 방법에 더 잘 증식되었으나, 6주는 일정한 양상을 나타내지 않았다. 즉, Hexane 추출물은 포장 방법, 발효 기간 및 추출물의 농도에 따른 정상 세포의 증식 효과

Table 5. Inhibitory effect of the hexane extract of mustarard leaf Kimchi(MLK) on the growth of P338D1(Lympoid neoplasm, mouse) cells in MTT assay

Sample ¹⁾	HepG2		WiDr	
	Absorbance at 550nm (Mean±SD)	Inhibition rate (%)	Absorbance at 550nm (Mean±SD)	Inhibition rate (%)
MLK-0wk 5%	1.015±0.08 ^{abc*}	30	0.830±0.03 ^{abcd*}	35
2%	1.285±0.06 ^{ab}	11	1.000±0.004 ^{ab}	22
0.5%	1.378±0.02 ^a	5	1.056±0.05 ^a	17
CM-3wk 5%	0.487±0.04 ^{ac}	66	0.280±0.02 ^c	78
2%	1.018±0.05 ^{abc}	30	0.671±0.03 ^{cde}	47
0.5%	1.326±0.07 ^{ab}	8	0.900±0.01 ^{abc}	29
CM-6wk 5%	0.952±0.04 ^{abc}	34	0.799±0.004 ^{abc}	37
2%	1.286±0.04 ^{ab}	11	0.958±0.01 ^{abc}	25
0.5%	1.346±0.02 ^{ab}	7	0.987±0.03 ^{ab}	23
VM-3wk 5%	0.503±0.04 ^d	65	0.283±0.03 ^{de}	77
2%	1.117±0.03 ^{abc}	31	0.734±0.02 ^{bcde}	42
0.5%	1.365±0.02 ^a	6	0.953±0.03 ^{abc}	25
VM-6wk 5%	0.956±0.02 ^{bc}	34	0.810±0.005 ^{bcd}	36
2%	1.307±0.03 ^{ab}	10	0.971±0.02 ^{ab}	24
0.5%	1.383±0.02 ^a	4	1.044±0.06 ^a	18

*a-f Means with the different letters in a column are significantly different at the 0.05 by Duncan's multiple range test.

¹⁾ Fermented MLK for 0, 3, 6 week(s) respectively.

Table 6. Effect of the water extract of mustard leaf Kimchi(MLK) on the growth of NIH/3T3 normal cells

Sample ¹⁾	Cell number($\times 10^4$ /mL)	Inhibition rate(%)
MLK-0wk	46±1.5 ^{ab*}	-4.5
CM-3wk	44±1.2 ^{ab}	0
CM-6wk	44±3.0 ^{ab}	0
VM-3wk	47±2.1 ^a	-6.8
VM-6wk	42±2.0 ^b	5

*a-f Means with the different letters in a column are significantly different at the 0.05 by Duncan's multiple range test.

¹⁾ Fermented MLK for 0, 3, 6 week(s) respectively.

와는 일정한 양상을 나타내지 않았다. 또한, 물추출보다 Hexane 추출물이 증식 효과가 더 컸다. 갓김치 추출물은 정상 세포를 미약하게 증식시키거나 또는 증식 효과를 보이지 않았다. 즉 갓김치 추출물은 정상 세포의 성장을 저해하는 효

과는 나타내지 않았다.

요약 및 결론

본 연구는 갓김치의 유통 및 포장법 개선과 함께 갓김치의 기능성 성분의 변화를 살펴본 실험이라 갓김치 220 g을 내부 압력이 조정되는 특수 설계된 유리병에 주입하여 상압 및 진공으로 밀봉하여 5±1 °C 저온에서 8주간 저장하면서 갓김치의 발효 양상 및 품질 변화, 그리고 *in vitro*에서 항발암성 등을 살펴보았다. 갓김치의 진공도는 진공병 포장 갓김치의 경우, 발효가 진행됨에 따라 점차 감소하였고, 이는 특수 제작된 병 포장 용기의 사용으로 발효가 진행됨에 따라 뚜껑의 가장자리를 통한 자연배기가 이루어졌기 때문이다. 갓김치의 초기 pH는 5.7 이었으며, 발효 3주에는 진공병 포장 갓김치 및 상압병 포장 김치의 pH가 각각 4.61, 4.47로 급격히 변화하였으나, 이후 발효 6주에는 4.51, 4.49로 발효가 진행됨에 따라 매우 느리게 감소하였다. 갓김치의 초기 산도는 0.36%이었으며, 발효 3주에는 진공병 포장 갓김치 및 상압병

Table 7. Effect of the hexane extract of mustard leaf Kimchi(MLK) on the growth of NIH/3T3 normal cells

Sample ¹⁾	Cell number($\times 10^4$ /mL)	Inhibition rate(%)
MLK-0wk 5%	37 \pm 1.2 ^{def*}	-2.8
2%	40 \pm 0.5 ^{ab}	-11.1
0.5%	40 \pm 1.2 ^{ab}	-11.1
CM-3wk 5%	36 \pm 1.5 ^{ef}	0
2%	39 \pm 0.5 ^{a~f}	-8.3
0.5%	39 \pm 0.6 ^{a~e}	-8.3
CM-6wk 5%	37 \pm 0.6 ^{def}	-2.8
2%	38 \pm 0.6 ^{b~f}	-5.6
0.5%	40 \pm 0.5 ^{a~c}	-11.1
VM-3wk 5%	36 \pm 1.5 ^{ef}	0
2%	40 \pm 0.6 ^{abcd}	-11.1
0.5%	41 \pm 1.7 ^a	-13.9
VM-6wk 5%	36 \pm 1.7 ^f	0
2%	41 \pm 0.6 ^{ab}	-13.9
0.5%	40 \pm 0.6 ^{abc}	-11.1

*a~f Means with the different letters in a column are significantly different at the 0.05 by Duncan's multiple range test.

¹⁾ Fermented MLK for 0, 3, 6 week(s) respectively.

포장 갓김치의 산도가 각각 0.54%, 0.6%로, 발효 6주후에는 0.68%, 0.85%로 매우 느리게 상승되었다. 진공병 포장 갓김치가 상압병 포장 갓김치보다 발효가 더 지연되었다. 환원당은 담금 직후는 2.7 mg/g이었으나, 발효가 진행됨에 따라 발효 6주에 진공병 포장 갓김치는 0.6 mg/g으로 상압병 포장 갓김치는 0.5 mg/g으로 비교적 완만하게 감소하였으며, 진공병 포장 갓김치가 다소 덜 감소하였다. 환원당이 서서히 감소하면서 산도가 완만하게 높아지는 경향을 보였다. 초기 염도는 2.1%이었으며, 발효 6주에는 2.0%로 큰 변화가 없었다. 병 포장 갓김치의 MTT assay에 대한 암세포 성장 저해 효과를 mouse의 종양세포인 L1210 및 P338DI, 사람의 간암세포인 HepG2 및 대장암 세포인 WiDr에 대해 살펴본 결과 병 포장 갓김치는 암세포 성장 저해 효과를 나타내었으며, 포장 방법에 따라서는 큰 차이가 없었으며, 발효 6주보다는 3주가 더 저해 효과가 컸다. 또한, Hexane 추출물보다는 물 추출물이 저해 효과가 더 컸으며, 정상 세포인 NIH/3T3에 대한 영향은 전반적으로 세포 증식에 영향을 끼치지 않거나 다소 증식되었다. 물 추출물은 상압 포장의 증식에 영향을 미치지 않았으며, 진공포장은 발효 기간이 0주, 3주인 경우는 증식 효과가 컸으며, 6주에는 다소 성장이 억제되었다. Hexane 추

출물의 경우, 5%, 2%, 0.5%로 낮을수록 정상 세포의 증식 효과를 나타내었고, 물 추출물보다 Hexane추출물이 더 증식 효과가 크게 나타났다. 즉 갓김치 추출물은 정상 세포의 성장을 저해하지 않는 것으로 나타났다.

문헌

- 신효선 (1983) 식품분석 이론과 실험. 신광출판사. p 91.
- 채서일, 김범중 (1989) SPSS/PC+를 이용한 통계분석. 범문사, 서울. p 66.
- Alley MC, Scudier DA, Monk A, Hursey ML, Czerwinski MJ, Fine DL, Abbott BJ, Mago JG, Shemaker RH, Boyd MR (1988). Feasibility of drug screening with panels of human tumor cell lines using a micro-culture tetrazelium assay. *Cancer Res* 48: 589-593.
- AOAC (1985) *Official Methods of Analysis* 14th ed, Association of official analytical chemists, Washington DC. USA.
- Cheig HS (2003) Antioxidative activities of anthocyanins in red mustard leaf kimchi. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 32: 937-941.
- Cheigh HS, Park KY(1994) Biochemical, microbiological and nutritional aspects of kimchi (Korean fermented vegetable products). *Critical Reviews in Food Sci Nutr* 34: 175~203.
- Cheigh MJ (1997) Studies on standardization and functional propertize of *wooung* kimchi. *MS Thesis* Busan National University, Busan. P52-73.
- Cho YS, Park SK, Chun SS, Ha BS (1993) Contents of carotenoids and chlorophylls in *dolsan* leaf mustard (*Brassica juncea*). *Korean J Dietary Culture* 8: 153-157.
- Cho YS, Park SK, Chun SS, Moon JS, Ha BS (1993) Proximate, sugar and amino acid compositions of *dolsan* leaf mustard (*Brassica juncea*). *J K Soc Food Sci Nutr* 22: 48-52.
- Cho YS, Park SK, Chun SS, Park JR (1993) Alalysis of isothiocyanates in *dolsan* leaf mustard (*Brassica juncea*). *Korean J Dietary culture* 8: 147-151.
- Choi YS, Hwang JH, Kim JI, Jeon YS, Choi HS (2000) Antioxidative activity of mustard leaf kimchi with optional ingredients. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 29: 1003-1008.
- Chun SS, Choi OJ, Cho YS, Park SK, Park JR (1995) Changes in pungent components of *dolsan* leaf mustard kimchi during fermentation. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 24: 54-59.
- Hong SI, Park JS, Park NH (1995) Quality changes of commercial kimchi products by different parkaging methods. *Korean J Food Sci Technol* 27: 112-118.

- Hwang JH, Song YO, Cheig HS (2000) Fermentation characteristics and antioxidative effect of red mustard leaf kimchi. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 29: 1009-1015.
- Hyr YM (1995) Antimutagenic and anticancer effect of *baechu* kimchi. *MS Thesis* Busan National University, Busan. P60-82.
- Kang SK (1995) Isolation and antimicrobial activity of antimicrobial substance obtained from leaf mustard (*Brassica juncea*). *J Korean Soc Food Nutr* 24: 695-701.
- Kang SK (1995) Structural analysis of major antimicrobial substance obtained from leaf mustard (*Brassica juncea*). *J Korean Soc Food Nutr* 24: 702-706.
- Kang SK, Kim YD, Park SK (1995) Effect of antimicrobial of leaf mustard (*Brassica juncea*) materials in *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *J Korean Soc Food Nutr* 24: 280-285.
- Kim HR, Cho KJ, Kim JS, Lee IS (2006) Quality changes of mustard leaf (dolsangat) kimchi during low temperature storage. *Korean J Food Sci Technol* 38: 609-614.
- Kim MK, Kim SY, Woo CJ, Kim SD (1994) Effect of air controlled fermentation on kimchi quality. *J Korean Soc Food Nutr* 23: 268-273.
- Kim SD (1985) Effect of pH adjuster on the fermentation of kimchi. *J Korean Soc Food Nutr* 14: 259-264.
- Ku KH, Kang KO, Kim WJ (1988) Some quality changes during fermentation of kimchi. *Korean J Food Sci Technol* 20: 476-482.
- Lee TJ, Shin DW, Chang YS, Kang WS (1993) Antioxidative effect of us javanica linne extract by various solvents. *Korean J Food Sci Technol* 25: 677-682.
- Lee YO, Choi HS (1995) Antioxidative effect of kimchi on the lipid oxidation of cooked meat. *J Korean Soc Food Nutr* 24: 1005-1009.
- Park HJ, Han YS (1994) Effect of mustard leaf on quality and sensory characteristics of kimchi. *J Korean Soc Food Nutr* 23: 618-624.
- Park JR, Park SK, Cho YS, Chun SS (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.
- Park MJ, Jeon YS, Han JS (2001) Fermentation characteristics of mustard leaf kimchi added green tea and pumpkin powder. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 30: 215-221.
- Park SK, Park JR, Lee SW, Seo KI, Kang SK, Shim KH (1995) Antimicrobial activity and heat stability of water-pretreated extract of leaf mustard *dolsan* (*Brassica juncea*). *J Korean Soc Food Nutr* 24: 707-712.
- Park SS, Jang MS, Lee KH (1995) Effect of fermentation temperature on the physicochemical properties of mustard leaf (*Brassica juncea*) kimchi during various storage days. *J Korean Soc Food Nutr* 24: 752-757.
- Pratt DW, Watts BM (1964) The antioxidant activity of vegetable extracts -I flavone aglycones-. *J Food Sci* 29: 27-33.
- Rhi JW, Shin HS (1993) Antioxidant effect of aqueous extract obtained green tea. *Korean J Food Sci Technol* 25: 759-763.
- Rhie SG, Chun SK (1982) The influence of temperature on fermentation of kimchi. *J Korean Soc Food Nutr* 11: 3063-3066.
- Scudiero DA, Shoemaker RH, Paull KD, Monks A, Tierney S, Nofziger TH, Currens MJ, Seniff D, Boyd MR (1998) Evaluation of a soluble tetrazolium formazan assay for cell growth and drug sensitivity in culture using human and other tumor cell lines. *Cancer Res* 48: 4827-4831.
- Shin DH, Kim MS, Han JS, Lim DK (1996) Changes of chemical composition and microflora in bottled vacuum packed kimchi during storage at different temperature. *Korean J Food Sci Technol* 28: 127-136.
- Song ES, Jeon YS, Cheig HS (1997) Changes in chlorophyll and carotenoids of mustard leaf kimchi during fermentation and their antioxidative activities on the lipid oxidation. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 26: 563-568.

(2008년 9월 26일 접수, 2008년 12월 5일 채택)