

김치 및 김치재료의 항산화 기능성

최홍식* · 황정희
부산대학교 식품영양학과 및 김치연구소

요 약

우리 민족 전래의 발효식품인 김치는 많은 생리활성물질들이 존재하는 다양한 재료를 사용하여 만들어지며 여러 효소와 미생물들이 관여하는 복잡한 발효과정을 거치면서 또 다른 생리활성물질들을 생성한다. 이를 물질은 복합적으로 작용하여 항산화활성을 나타내며 실험 방법들에 따라 조금씩 다른 양상을 보이지만 김치 재료물질들의 종류 및 함량, 발효정도 등은 김치의 항산화성에 중요한 영향을 미치는 인자들이라고 추측할 수 있다. 본 총설은 김치의 항산화성을 *in vitro* 및 *in vivo*수준에서의 연구결과들을 중심으로 살펴보았다.

서 론

김치의 모든 재료들은 각각 다양한 기능성 성분들을 함유하고 있고 김치발효 중에도 젖산균에 의해 또 다른 활성물질들이 생성되어 이들은 혈중지질감소, 혈전용해능, 면역증강작용, 암예방효과 등의 복합적인 기능성을 나타낸다^(1,3,13). 김치의 생명물질 중에는 지방질의 과산화방지, 활성산소종이나 유리라디칼의 소거능을 갖는 항산화물질들이 존재하여 암, 동맥경화, 노화 등의 직·간접적인 원인이 되는 과산화물질, 활성산소, 기타 유리라디칼을 효과적으로 제거하거나 활성을 소거시키는 역할을 하게 된다.

지금까지 알려진 김치의 항산화물질들에는 클로로필류, 카로티노이드류, 플라보노이드와 안토시아닌을 포함하는 폴리페놀류, 아스크르보산 및 토코페롤 등 많은 성분들이 있다⁽³⁻⁵⁾.

김치의 항산화 항노화에 관한 연구는 김치 재료와 발효가 진행된 김치에서 *in vitro* 수준 까지 상당히 이루어져 있으며 생체에서도 부분적으로 이루어진 바 있다. 앞으로 이 분야의 연구가 더욱 활발히 이루어져야 할 것으로 생각되며 본 논문에서는 지금까지 얻어진 결과를 정리해 보고자 한다.

*In vitro*에서 살펴본 항산화성

배추김치를 첨가한 모델 시스템에서 김치는 지방질의 높은 항산화성을 나타내었다⁽³⁾. 또한 김치를 용매추출물로 추출하여 linoleic acid mixture에 첨가하여 37°C에서 산화반응을 시키면서 지방산의 산화반응에 대한 항산화효과를 비교 검토한 결과⁽²¹⁾, 반응시간이 경과함에 따라 김치의 물추출물과 메탄올추출물 첨가구에서는 대조구에 비해 과산화물의 생성에 대한 저해효과가 현저하게 나타났으며, ether 추출물에서도 상당한 항산화 효과를 나타내었다. 따라서 김치에 존재하는 수용성 물질 또는 지용성 물질이 그 정도의 차이는 있지만 지방질의 산화반응으로 인한 과산화물의 생성을 저해했음을 알 수 있었다. 또한 가열우육 모델 시스템에 김치를 첨가하여 우육의 산화에 미치는 영향을 살펴보았을 때 김치첨가 수준이 높을 수록 항산화효과도 높은 것으로 나타났다⁽²⁰⁾.

이러한 효과를 나타내는 항산화물질은 김치재료에 포함되어 있을 뿐 아니라 발효중에도 생성된다고 생각된다. 이 등⁽¹⁷⁾은 서로 다른 발효단계에 있는 김치의 항산화 활성을 비교하여 보았는데, 발효초기의 김치보다 15°C에서 7일간 숙성시킨 김치의 항산화능이 더 높았다.

김치의 재료 및 종류 역시 김치의 항산화성에 영향을 미친다고 생각된다. 적숙기의 배추김치, 갓김치, 무김치의 항산화성을 비교하였을 때 모든 김치군에서 항산화효과가 나타났으며 갓김치의 항산화효과가 특히 우수하였는데 항산화관련물질 즉, 아스코르브산, phenol 물질, 클로로필류, β -카로틴 등이 배추나 무보다갓에 더 많이 함유되어 있기 때문이라고 여겨진다⁽¹⁰⁾. 또한 갓김치 클로로필(C) a와 b, β -카로틴이 지방질의 자동산화에 각각 어떤 양상으로 영향을 미치는 가를 알아보기 위해서 암소에서 30°C로 유지된 항온기에 저장하면서 4일 간격으로 과산화물가를 측정하였을 때 클로로필 a는 BHA와 과산화 생성저해능이 비슷하였으며 클로로필 b, pheophytin a, pheophytin b, β -카로틴 순으로 항산화력이 높았다.

또한 일반 김치 및 갓김치의 제조에 거의 필수적으로 첨가되는 주요 부재료인 파, 마늘, 고춧가루, 생강 등이 돌산갓 김치의 항산화성 증진 효과에 미치는 영향을 살펴본 결과, 대조구에 비하여 돌산갓 김치군과 적갓 김치군 모두에서 높은 항산화성을 나타내었으며, 적갓 김치 군에서의 항산화성이 돌산갓 김치 군에서 보다 높은 경향을 나타내었다. 주요 부재료 별로는 고춧가루 첨가군 > 생강 첨가군 > 마늘 첨가군 > 파 첨가 군의 순으로 높게 나타났으며 이는 돌산갓 김치와 적갓 김치 모두 유사한 경향을 나타내었다(Fig.1)⁽²¹⁾. 흔히 사용하는 부재료뿐만 아니라 더덕이나 청각처럼 항산화능이 있다고 알려진 식품을 첨가한 경우 일반적인 김치보다 항산화능이 증가하였다⁽²¹⁾.

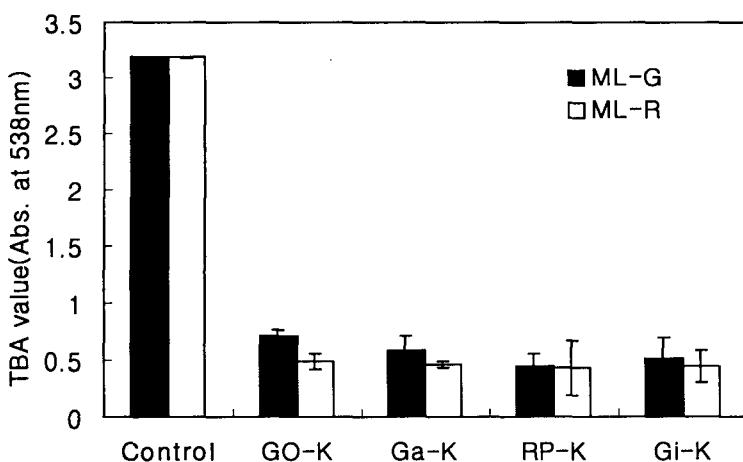


Fig. 1. Changes of TBA values of model systems of the different spices added mustard leaf during the reaction at 4°C for 4weeks.

ML-G: green mustard leaf, ML-R: red mustard leaf, GO-K: green onion added mustard leaf, Ga-K: garlic added mustard leaf, RP-K: red pepper powder added mustard leaf, Gi-K:ginger added mustard leaf

이와 같이 김치는 비교적 강한 항산화 활성을 갖고 있으며 이는 김치의 주재료 및 부재료, 재료별 첨가 수준 및 섭취수준, 발효기간 등에 의해 영향을 받음을 알 수 있다.

In vivo 수준에서 살펴본 항산화성

콜레스테롤 유발 식이로 토끼를 사육하면서 김치의 주된 재료인 배추 및 고춧가루와 마늘을 식이에 첨가하여 이들의 항산화 효과를 살펴보았을 때⁽¹⁴⁾ 김치재료 첨가군중 고춧가루 첨가군과 마늘 첨가군, 특히 마늘 첨가군의 0주후 LDL 산화 정도가 현저하게 낮은 것으로 나타났다. 이런 결과는 고추가루와 마늘 중의 항산화 물질이 LDL 산화를 억제했기 때문이라고 하였다. 또한 12주 후의 혈중 TBARS 역시 대조군에 비해 배추군은 23% 높았고, 고춧가루군은 37%, 마늘군은 52% 높았으며 간의 TBARS는 대조군에 비해 배추군이 38%, 고춧가루군 40%, 마늘군이 51% 높은 것으로 나타나 김치재료를 섭취한 군의 항산화성이 높음을 알 수 있었다. 또한 체내에서 중요한 항산화 영양소인 혈장 비타민 E 농도는 사육초에는 대조군과 김치재료군 사이에 차이가 없었으나 사육 12주째에는 대조군 0.86 ± 0.08 , 배추군 1.22 ± 0.27 , 고춧가루군 1.50 ± 0.48 , 마늘군 $1.51 \pm 0.37 \mu\text{g}/\text{ml}$ plasma로 대조군에 비해 배추군은 30%, 고춧가루군은 75%, 마늘군은 76%나 증가하였다. 그리고 이는 김치재료인 배추나 고춧가루, 마늘 등에 항산화성 물질이 함유되어 있어 이를 물질이 혈장지질산화를 억제함으로써 혈장 비타민 E 소모를 억제하는 절약작용이 있어서라고 하였다.

또한 김치재료를 첨가한 식이는 항산화 효소계중 Cu-SOD, Zn-SOD에는 크게 영향을 미치지 못하였으나 고춧가루군과 마늘군의 catalase 활성은 증가하여 김치 재료섭취는 *in vivo*에서 항산화 효과가 있음을 알 수 있었다.

황 등^(6,23)은 고춧가루, 마늘, 생강, 새우젓, 찹쌀풀 등의 부재료를 이용하여 담근 배추김치를 동결건조한 후 극성이 다른 용매로 분획추출해서 물, CH_2Cl_2 , EtOAc, hexane, BuOH 등 의 획분을 얻었으며 이 용매 추출물들이 고콜레스테롤 식이를 섭취한 토끼의 체내지질에 미치는 영향을 살펴보았다. 토끼의 혈장에서 LDL을 분리하여 추출물의 항산화 효과를 살펴보았을 때 모든 김치 획분에서 대조군에 비해 산화생성물의 함량이 낮았으며 특히 CH_2Cl_2 획분의 효과가 현저하였다(Fig. 2).

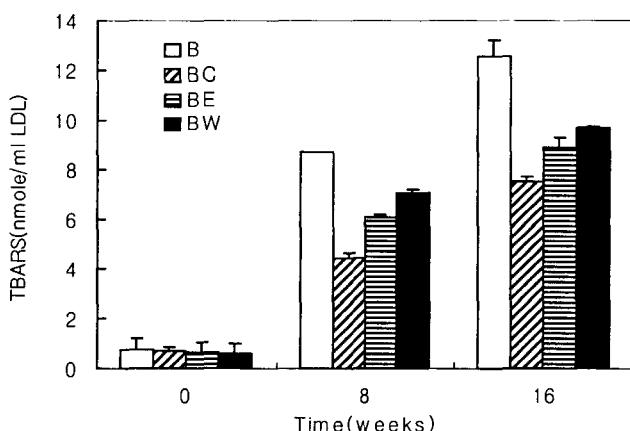


Fig. 2. TBARS of oxidized LDL of rabbit fed atherogenic diet containing solvent fraction of *kimchi* for 16 weeks.

B : basal diet, BC: basal diet+1% cholesterol+1% olive oil+ CH_2Cl_2 fr.,

BE : basal diet+1% cholesterol+1% olive oil+ EtOAc fr.

BW : basal diet+1% cholesterol+1% olive oil+water fr.

김치용매획분의 항산화효과는 사육기간이 길어짐에 따라 현저히 증가하는 경향을 보였으며 혈중 콜레스테롤 상승도 억제하였다. 이들 추출물의 human LDL에 대한 항산화 기전을 살펴보았을 때도 LDL 산화억제효과를 나타내었으며 특히 CH_2Cl_2 획분은 산화유도기를 2배 이상 연장하는 효과가 있었으며 이는 동일농도의 BHT와 거의 유사하다고 하였다(Table 1). CH_2Cl_2 획분을 다시 계통 분리하여 활성성분을 분리, 정제한 후 동정하였을 때 aromatic carboxylic acid계인 것으로 밝혀졌으며 이 물질은 LDL에 대한 산화억제효과가 동일 농도의 BHT에 비해 4배 이상 높고, free radical 소거능은 ascorbic acid에 비해 3.4배 높은 것으로 나타났다⁽⁸⁾.

허 등⁽⁷⁾의 실험에서 김치의 물추출물, 메탄올 추출물, 헥산 추출물중 3주간 발효시킨 김치의 핵산추출물은 대조군뿐 아니라 Sarcoma-180 cell 이 이식된 쥐의 간에서 malondialdehyde (MDA) 생성 역시 유의적으로 저해하였으며 glutathione S-transferase 활성 역시 증가시켰다.

Table 1. The antioxidant effect of solvent fraction of *kimchi* on LDL oxidation expressed in lag phase duration

Fraction	Lag phase duration(% of control)
Control	100 ^a
H_2O fr.	$116.42 \pm 10.87^{1)ab}$
EtOAc fr.	123.21 ± 16.61^{ab}
Hexane fr.	137.07 ± 13.01^b
BuOH fr.	141.73 ± 11.86^b
CH_2Cl_2 fr.	215.37 ± 41.95^c

¹⁾Valuse are means \pm SD.

^{a~c}Data in columns were significantly different analyzed by one-way ANOVA followed Duncan's multiple range test at the 0.05 level of significance.

전⁽¹⁹⁾은 콜레스테롤 식이를 제공한 토끼에게 김치용매별 획분을 조제하여 투여하였는데, 이 때 토끼의 심장, 신장, 폐 균질액에서 LDL산화가 억제되었다(Table 2).

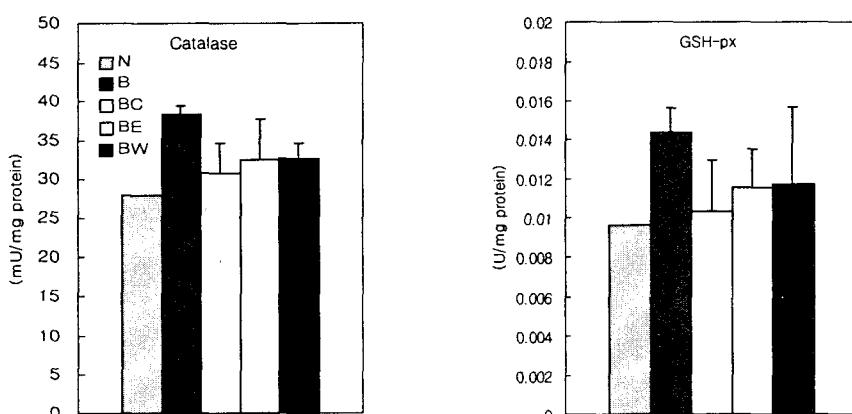


Fig. 3. Catalase and GSH-px activities of liver in rabbit fed atherogenic diet containing solvent fraction of *kimchi* for 16 weeks.

또한 김치용매별 획분은 catalase, glutathione peroxidase, SOD 등 체내 항산화효소계의 활성에도 영향을 주었다. 이 실험에서 장기간의 고콜레스테롤 식이로 인한 생체내 산화적 스트레스로 대조군의 항산화효소계활성을 정상군보다 증가하였으나 김치용매별 획분군에서는 효소활성이 낮은 편이었으며 특히 CH_2Cl_2 , EtOAc 획분 투여군에서는 항산화효소계 활성이 정상식이 첨가군과 유사하거나 오히려 낮아 김치용매획분이 지방질 산화를 억제한다고 하였다 (Fig.3.)

Table 2. Inhibition of LDL oxidation in the presence of organ homogenates of rabbit fed 1% cholesterol diet containing *kimchi* solvent fraction for 16 weeks.

Group ¹⁾	TBARS(nmol MDA/g tissue)		
	Heart	Kidney	Lung
B ¹⁾	18.13±3.11 ^a	18.55±3.12 ^a	6.53±5.03 ^a
BC	15.32±3.51 ^b	17.28±1.61 ^b	4.88±2.02 ^{bc}
BE	18.02±3.18 ^a	17.80±4.19 ^{ab}	5.85±4.83 ^{ab}
BW	16.92±3.27 ^{ab}	17.91±1.22 ^{ab}	5.60±2.12 ^{ab}

^{a~c}Data in column were significantly different analyzed by one-way ANOVA followed Duncan's multiple range test at the 0.05 level of significance.

김치의 항산화와 관련된 항노화활성

(1) *in vitro* 수준에서의 활성

김치의 항노화 활성에 관해서는 피부노화를 중심으로 한 연구가 어느 정도 진전되어 있다. 외부 자극으로부터 인체를 보호하여 주는 피부는 자외선조사나 감염, 중력 등의 외부요인과 흡연, 스트레스 등에 의한 산화적 스트레스로 free radical이 세포막이나 단백질, DNA 등의 손상을 초래하여 노화가 일어난다고 생각되며 노화현상을 연구하기에 적합한 대상중의 하나이다.

류 등⁽¹⁵⁾은 피부의 주요 표피세포인 keratinocyte를 장기간(4 days), 또는 단기간(24 hr) paraquat과 과산화수소에 노출시키고 이에 대해 김치 재료들의 독성완화효과를 살펴보았다. 장기간 노출시켰을 때는 부추, 마늘, 양파에서 억제효과가 우수하였고 단기간 노출시켰을 때는 생강, 파, 부추 등 함황 화합물 함유 식품에서 억제효과가 우수하였다. Fibroblast에서는 장기간 과산화수소에 노출시켰을 때의 세포독성완화효과가 두드러졌으며 특히 생강과 마늘은 고농도의 과산화수소에서도 높은 생존율을 유지하였다. Keratinocyte를 단기간 과산화수소에 노출시켜 인위적으로 산화적인 자극을 주고 여기에 여러 가지 김치추출물을 첨가하였을 때는 숙성기간에 따라 효과가 달라졌다는데, 과산화수소에 대한 독성 완화효과는 2주 숙성김치에서 현저하였다^(11,12). 활성산소를 유발시키는 방법에 따라 김치추출물의 세포독성완화효과에 차이가 있었으나 장기간 과산화수소에 노출시켰을 때 산화적 스트레스에 대한 억제효과도 같은 경향성을 나타내었다. 피부의 진피세포인 fibroblast에 과산화수소를 가해 산화적 스트레스에 대한 김치 추출물들의 세포독성 완화효과를 보았을 때 2주 숙성김치의 효과가 가장 커고 0주, 3주 숙성김치도 현저한 효과를 나타내었으나 keratinocyte에서처럼 분명하지는 않았다. 이 실험에서 나타난 김치의 숙성기간에 따른 효과차이는 숙성기간에 따라

김치성분이 변화하기 때문인 것으로 추측되어 진다. 피부는 노화가 진행되면서 표피의 두께가 감소하고 진피의 collagen이 줄어드는 반면 점액 다당류는 증가하게 되는 데, 김치 첨가군의 콜라겐 함량 변화, fibroblast의 활동 등에서 대조군에 비해 노화 속도가 느렸으며 특히 갓김치군에서는 세포형태학적 변화가 일어나는 것을 관찰할 수 있었다. 또한 김치첨취군은 피부가 각질화되는 속도도 느렸는데, 이런 경향은 배추김치군보다는 갓김치군과 부추김치군에서 보다 현저하다고 하였다⁽¹²⁾.

(2) *in vivo* 수준에서의 활성

생리적인 노화가 진행되면 피부표피의 두께는 얇아지며 피부각질화에 관여하는 cytokeratin은 증가한다⁽¹⁶⁾. 또한 진피층 fibroblast의 rough endoplasmic reticulum(RER) 활성이 감소하여 collagen 생성이 저하된다⁽¹⁴⁾. 그러나 배추김치, 갓김치, 부추 김치 및 이들 김치의 주재료물질의 항피부노화 활성을 조사한 연구에서⁽⁹⁾, 김치 첨취군의 hairless mouse들은 대조군보다 피부표피두께가 두껍고 피부 각질층은 얇았으며, 갓김치와 배추김치군의 경우 진피층 RER의 발달이 현저하여 김치 첨취가 피부 노화에 예방 효과가 있음을 알 수 있었다. 또한 피부 및 간균질액에서 지질산화에 대한 저해 효과가 있었으며 특히 갓김치군은 활성산소 소거능도 있음을 확인하였다(Fig.4). 이 김치들의 용매별 획분들 역시 수소공여능과 광산화에 대한 억제능, 자외선에 대한 보호 효과가 있었으나 김치의 종류나 추출 획분에 따라 그 효과는 조금씩 다르게 나타났다.

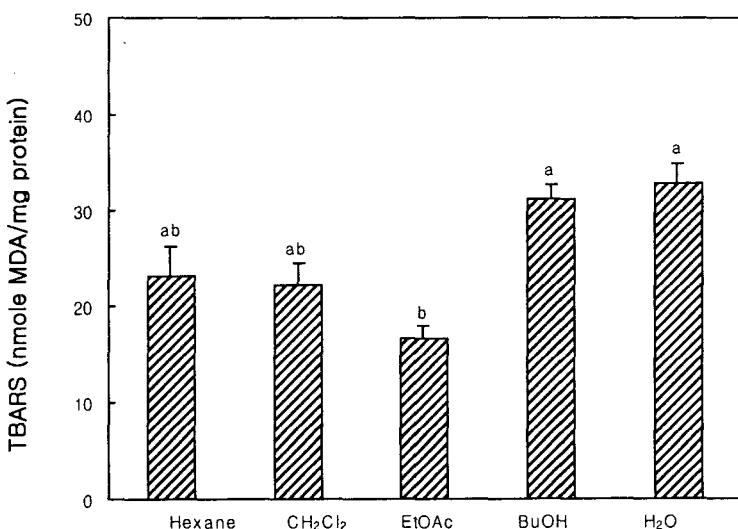


Fig. 4. Antioxidant effect of solvent fraction of Korean cabbage kimchi on UV irradiated mouse skin homogenates

김치들의 용매 획분을 크림에 첨가하여 hairless mouse의 등에 도포후 UV를 조사하였을 때 배추김치의 CH_2Cl_2 , 갓김치 EtOAc층, 부추김치 H_2O 층에서 홍반이 적게 생성되어 이들 획분층에는 자외선조사에 대한 보호물질이 있는 것으로 생각되었다. 이때도 김치의 종류에 따라 보호효과가 틀려 배추김치와 갓김치에 비해 부추김치에서 홍반이 좀더 생성되었으며 특히 부추김치의 hexane층에서 홍반형성 억제 효과가 적은 것으로 나타났다. 이는 배추김치와 갓김치에는 클로로필류와 항산화 및 광보호효과가 있는 카로티노이드가 동시에 존재하였

으나 부추김치에는 클로로필류만 존재하기 때문이라고 추측하였다⁽⁹⁾.

결 론

항산화기능성이 있다고 알려진 김치의 주된 재료물질들은 김치로 담근 후에도 유효한 생리활성을 나타낼 뿐만 아니라 김치속에서 복합적으로 작용하여 상승효과를 나타내며 김치 발효 기간중에도 여러 가지 미생물에 의해 항산화기능성 물질이 생성된다고 생각된다. *In vitro* 및 *in vivo* 실험을 통해 김치의 항산화기능성을 살펴보았을 때, 김치 및 김치용매추출물들은 *in vitro*에서 우수한 항산화능을 가지는 것으로 나타났으며 김치 및 김치추출물 또는 김치 pill을 동물에게 투여하거나 사람이 섭취하는 경우 혈중 중성지질저하, HDL-cholesterol 증가, 혈장 및 조직에서 LDL산화 억제, 항산화계 효소계 활성 변화, 자외선에 의한 산화 저해 등의 항산화효과와 피부의 표피세포 및 진피세포에서의 노화 억제 효과 등을 보였다. 그러므로 김치의 섭취는 인체에 대해 항산화 항노화 효능을 나타낼 것으로 생각되며 앞으로 *in vivo*에서 지속적인 연구와 김치의 활성물질들의 기전 및 동정 등에 대해서 보다 깊이 있는 연구가 기대된다.

참 고 문 헌

1. Cheigh, H. S. and Park, K. Y. : Biochemical, Microbiological, and Nutritional aspects of Kimchi(Korean fermented vegetable products). *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 34(2):175-203(1994)
2. Cheigh, H. S., Lee, Y. O., Choi, Y. S. : 김치 및 김치재료의 항산화성-*in vitro* 결과를 중심으로-. *Food industry and Nutrition*. 3(2),47-54(1998)
3. Rina Yu : Effect of dietary hot red pepper powder on humoral immune response in rats. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 24(6), 837-842(1995)
4. Oh, Y. J., Hwang, I. J., Leitzmann, C. : 김치의 섭취가 대장암을 예방하는 가? 김치과학과 산업, 29(1993)
5. Kwon, M. J., Chun, J. H., Song, Y. S. and Song, Y. O. : Daily kimchi consumption and its hypolipidemic effect in middle-aged men. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 28(5), 1144-1150(1999)
6. Hwang, J. W. and Song, Y. O. : The effects of solvent fractions of *Kimchi* on plasma lipid concentration of rabbit fed high cholesterol diet. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 29(2). 204-210(2000)
7. Hur, Y. M., Kim, S. H., Choi, J. W. and Park, K. Y. : Inhibition of tumor formation and changes in hepatic enzyme activities by Kimchi extracts in sarcoma-180 cell transplanted mice. *J. Food Sci. Nutr.* 5(1).48-53(2000)
8. Lee, Y. M. : Identification of active principle responsible for antiartherogenesis in methanol extract of *Baechu Kimchi*. Pusan National Univ. M.S. thesis, Korea (2000)
9. Ryu, B. M. : Effect of *kimchi* on inhibition of skin aging of hairless mouse. Dept. Food science and Nutrition. Pusan National Univ. Ph. D. Korea(2000)
10. Cheigh, H. S., Song, E. S. and Jeon, Y. S. : Changes of chemical and antioxidative

- characteristics of chlorophylls in the model system of mustard leaf Kimchi during fermentation. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 28(3), 520-525(1999)
11. Ryu, S. H., Jeon, Y. S., Kwon, M. J., Moon, J. W., Lee, Y. S. and Moon, G. S. : Effect of Kimchi extracts to reactive oxygen species in skin cell cytotoxicity. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 26(5), 814-821(1997)
 12. 문갑순 : 김치의 피부노화억제효과. 부산대학교 김치연구소 심포지움(1998)
 13. 오영주, 황인주, Caus Leitzmann : 김치의 영양생리학적 평가. 김치의 과학 p.226-245.한국식품과학회(1994)
 14. Kwon, M. J., Song, Y. S. and Song, Y. O. : Antioxidative effects of Kimchi Ingredients on rabbits fed cholesterol diet. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 27(6), 1189-1196(1998)
 15. Ryu, S. H., Jeon, Y. S., Kwon, M. J., Moon, J. W., Lee, Y. S. and Moon, G. S. : Effect of Kimchi kngradients to reactive oxygen species in skin cell cytotoxicity. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 26(6), 998-1105(1997)
 16. Gilchrest, B. A. : Skin and aging processes. CRC Press, Inc. Florida, p5.(1984)
 17. Lee, Y. O., Park, K. Y., Cheigh, H. S. : Antioxidative effect of kimchi with various fermentation period on the lipid oxidation of cooked ground beef. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 25(2).261-266(1996)
 18. Song, E. S., Jeon, Y. S. and Cheigh, H. S. : Antioxadative effect of different kinds of kimchi on the lipid oxidation on cooked meat. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 26(6), 993-997(1997)
 19. Jeon, H. N. : Effect of *kimchi* solvent fraction on lipid profile in organs of rabbit fed cholesterol diet. Dept. Food science and Nutrition. Pusan National Univ. M.S. thesis, Korea(2000)
 20. Song, E. S., Jeon. Y. S., Cheigh, H. S. : Changes in chlorophylls and carotenoids of musatrd leaf kimchi during fermentation and their antioxidative activites on the lipid oxidation. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 26(4)563-568(1997)
 21. Choi, Y. S. : Improvement of antioxidative activity of mustard leaf *kimchi* by the addition of optional ingredients(1999).
 22. Lee, Y. O. and Cheigh, H. S. : Antioxidative activity of various solvent extracts from freeze dried kimchi. *Korean J. Life Science.*, 6(10).66-71(1996)
 23. Hwang, J. W. : The effect of solvent fractions of kimchi on plasma lipid concentration of rabbit fed cholesterol diet. Dept. Food science and Nutrition. Pusan National Univ. M.S. thesis, Korea(1999)