

부재료 첨가 배추김치의 항돌연변이 및 항암성 증진효과

박건영[†] · 조은주 · 이숙희

부산대학교 식품영양학과 및 김치연구소

Increased Antimutagenic and Anticancer Activities of Chinese Cabbage Kimchi by Changing Kinds and Levels of Sub-Ingredient

Kun-Young Park[†], Eun-Ju Cho and Sook-Hee Rhee

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

Abstract

To enhance the antimutagenic and anticancer activities of chinese cabbage kimchi, 13 kinds of kimchi, which were different kinds and levels of sub-ingredient added kimchi, were prepared and fermented at 15°C for 1 day and then at 5°C up to pH 4.3. The antimutagenic effects of the methanol extracts of the kimchi were studied by using Ames mutagenicity test in *Salmonella typhimurium* TA100 and SOS chromotest in *E. coli* PQ37. Among the kimchi samples, high ratio of red pepper powder(7%) and garlic(2.8% or 5.2%) added kimchi, 1% chinese pepper powder added kimchi and organic cultivated chinese cabbage kimchi significantly reduced($p < 0.05$) the mutagenicity induced by aflatoxin B₁(AFB₁) in Ames test and SOS response against N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine (MNNG) in SOS chromotest, and also the kimchi inhibited more effectively($p < 0.05$) the survival and growth of AGS human gastric adenocarcinoma cells than the standardized kimchi on the SRB assay, MTT assay and growth inhibition test. These results suggest that the antimutagenic and anticancer activities of kimchi can be increased by the sub-ingredients such as organic cultivated chinese cabbage, red pepper powder, garlic and chinese pepper powder.

Key words: Chinese cabbage kimchi, antimutagenicity, anticancer activity, AFB₁, MNNG, AGS human gastric adenocarcinoma cells

서 론

최근 통계청의 발표에 의하면 우리나라는 암으로 인한 사망이 가장 많으며, 그 중 위암으로 인한 사인이 제 1위로 나타났다(1). 이것은 우리가 일상적으로 먹는 음식중 짜고 매운 음식이 그 원인으로 여겨져, 김치의 저장성과 젖산균 발효를 위한 소금의 첨가와 이의 과잉 섭취가 고혈압 및 위암 발생과 관련해 여러가지 의심을 받아 왔으나 다량의 소금을 첨가한 고염 김치를 섭취하지 않는 한 김치의 주재료가 거의 녹색 채소라는 점과 발효과정 중 생성되는 젖산균 및 여러 기능성 물질로 인해 오히려 암을 예방하는 효과와 항암효과를 가지는 것으로 보고되고 있다(2). 즉 김치는 발효과정 중 유산균의 생성과 항암영양소로 알려진 비타민 C, β-카로

틴, 후라보노이드류, 클로로필 등이 풍부하여 항돌연변이, 항암, 면역증강 효과 뿐만 아니라 풍부한 식이섬유에 의한 대장암 예방효과가 있다고 여겨지고 있다(3-6). 또한 김치의 재료가 되는 배추 등의 십자화과 채소는 역학조사에 의하면 위암을 예방하는 것으로 알려져 있고, 고춧가루는 항암활성이 높은 carotenoid와 비타민 C를 많이 함유하며, 면역세포의 활성을 증진시키고 항암활성을 가지는 것으로 여겨지고 있으며(2,7,8), 마늘은 allicin과 함유물질이 간의 microsomal 효소계의 활성화에 관여하여 glutathione-S-transferase 활성 및 SH 함유화합물들을 증가시켜 최종 돌연변이원을 비독성물질로 전환시키며, *in vivo* 실험에서 종양의 크기를 감소시키는 것으로 보고되어 있다(9).

이러한 김치의 항암활성은 김치내의 항암영양소와

[†]To whom all correspondence should be addressed

발효 산물 뿐만 아니라 김치의 재료가 되는 종류와 그 양에 의해서도 영향을 받는 것으로 여겨진다. 따라서 본 연구에서는 배추김치의 암예방 활성 증진을 위한 연구의 하나로서 첨가되는 부재료의 양과 종류를 달리하여 배추김치를 담그고 이들을 발효, 숙성시킨 후 항돌연변이 및 인체 위암세포를 이용하여 *in vitro* 항암활성을 검토하였다.

재료 및 방법

재료

배추는 가락신1호, 고춧가루는 영양 태양초, 짓갈은 청정멸치액젓((주)미원), 소금은 천일염((주)우일염업)을 사용하였고, 이외 무, 파, 마늘, 생강, 갓(leaf mustard), 청각(*codium fragile*)은 부산 부전시장에서, 유기배추(organic cultivated Chinese cabbage)는 강림자연농원(경남, 밀양)에서 구입하였다. 초피(Chinese pepper powder)는 경남, 김해지역에서 9월경에 수집한 것으로 파피부분을 마쇄하여 분말화하였다. 또 계피가루(cinnamon powder)는 오뚜기(주)로부터 구입한 것을 사용하였고, 인삼가루(ginseng powder)는 6년근 고려인삼을 분말화한 것이며, 항암효과, 면역증진작용으로 주목받고 있는 수용성 타입의 키토산 올리고당(chitosan oligosaccharide), 미역에서 추출한 알긴산 나트륨(sodium alginate)을 수용성 타입으로 전환시킨 가용성 알긴산 나트륨 및 다류의 원료로서 항균작용이 알려져 있는 첨차분말(sweet tea extract)은 명성화학공업(주)로부터 구입하여 실험에 사용하였다.

담금방법과 발효

김치의 담금방법과 재료배합비는 본 연구실에서 표준화한 방법을 따랐다(10,11). 배추는 10% 소금물에서 10시간 절이고, 절인 배추는 수도물로 3회 씻고 3시간 동안 물기를 뺀다. 무와 파는 채 썰고 무체에 고춧가루를 넣어 버무린 다음 멸치액젓을 넣고, 파, 마늘, 생강을 고루 섞은 후 염도는 소금으로 조절하였다. 표준 김치의 재료배합비는 절인배추 100에 대해 무 13.0, 파 2.0, 고춧가루 3.5, 마늘 1.4, 생강 0.6, 멸치액젓 2.2, 설탕 1.0이었으며, 최종염도는 2.5%로 조절하였다. 표준 배추김치를 바탕으로 고춧가루를 3배(10.5%), 마늘을 3배(5.2%), 고춧가루와 마늘을 각각 2배씩(7%, 2.8%) 첨가한 김치와 갓 5%, 청각 5%, 초피, 계피가루, 인삼가루, 키토산 올리고당, 알긴산 나트륨, 첨차분말을 각각 1% 첨가한 김치와 유기배추김치를 담그어 15°C에서 1

일간 저장하고 5°C에서 pH 4.3이 될 때까지 발효시킨 후 동결건조한 다음 메탄올로 추출하여 회전식 진공농축기로 농축하여 시료로 하였다.

Ames 돌연변이 유발실험

실험균주 및 돌연변이 유발물질

Salmonella typhimurium TA100은 *Salmonella typhimurium* LT-2의 histidine auxotroph로서 미국 California대학의 B.N. Ames 박사로부터 제공받아 정기적으로 histidine 요구성, deep rough(*rfa*) 돌연변이, *uvrB* 돌연변이, R factor 등의 유전형질을 확인하면서 실험에 사용하였다. 돌연변이 유발물질인 aflatoxin B₁(AFB₁)은 Sigma Chemical Co.(St. Louis, MO, USA)에서 구입하여 사용하였으며, dimethylsulfoxide(DMSO)에 녹여 실험에 사용하였다.

시료의 독성실험 및 돌연변이 유발물질의 농도 결정 시료의 균주에 대한 독성유무를 살펴보기 위해서 실험에 사용하기 전에 독성실험을 행하여 독성이 나타나지 않는 범위에서 시료의 농도를 결정하였다.

항돌연변이 효과실험

Indirect mutagen(AFB₁)을 활성화 시키기 위하여 Maron과 Ames의 방법(12,13)에 따라 S9 mixture를 첨가하였다. S9 mixture는 쥐의 간으로부터 얻은 S9 fraction 10%에 MgCl-KCl salts(2%), 1M glucose-6-phosphate(0.5%), 1M NADP(4%), 0.2M phosphate buffer(pH 7.4) 및 멸균수를 혼합하여 S9 mixture를 조제하였다.

항돌연변이 실험은 preincubation mutagenicity test (14,15)를 이용하였다. 미리 건열 멸균시킨 glass cap tube에 S9 mix 0.5ml, 하룻밤 배양된 균주 0.1ml($1 \sim 2 \times 10^9$ cells/ml)와 돌연변이 유발물질(50 μ l)을 가한 후 시료를 2.5mg/plate 가하여 37°C에서 20분간 예비배양한 다음 histidine/biotin이 첨가된 top agar(45°C) 2ml씩을 가하고 vortex하여 minimal glucose agar plate에 도말하고 37°C에서 48시간 배양한 후 revertant 숫자를 계수하였다.

돌연변이 억제효과의 정도(inhibition rate)는 아래 식에 의해 계산하였다.

$$\text{Inhibition rate}(\%) = 100 \times [(a-b)/(a-c)]$$

여기서 a는 돌연변이원에 의해 유도된 복귀돌연변이원수, b는 시료를 처리하였을 때의 복귀돌연변이원의 수이며, c는 돌연변이원과 시료가 없을 경우의 자연복귀돌연변이원의 수이다.

SOS chromotest

실험균주 및 돌연변이 유발물질

실험에 사용한 균주인 *Escherichia coli* (*E. coli*) PQ37/plasmid PKM 101(PQ37)는 *E. coli* GC4436에서 유래되어 *lac Z* gene에 *sfi A* gene에 삽입되고 *uvrB* mutation과 *rfa* mutation을 가진 균주이며, 돌연변이 유발물질로는 직접돌연변이 물질인 N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine(MNNG)는 미국의 Aldrich 회사로부터 구입하여 증류수에 녹여 실험에 사용하였다.

항돌연변이 실험

Quillardet와 Hofnung(16)의 방법을 기본으로 하여 alkaline phosphatase test와 β -galactosidase test를 병행하였으며 돌연변이원의 농도는 alkaline phosphatase의 활성을 저해하지 않는 가장 높은 농도로 사용하였다. 냉동보관하였던 균주(*E. coli* PQ37/plasmid PKM 101) 50 μ l를 5ml의 L medium에 접종하여 37°C에서 12~18시간 진탕 배양하였다. 이를 다시 5ml의 L medium에 접종하고 37°C에서 2시간 동안 진탕 배양시킨 것을 (2×10^8 cells/ml) L medium 1/10로 희석하여, 돌연변이원과 반응시킨 시료 20 μ l씩을 미리 분주한 96 well plate의 각 well에 100 μ l씩 분주하고 90분간 37°C에서 진탕하여 SOS반응을 유도하였다. 한쪽에는 β -galactosidase의 활성 측정을 위해 ONPG 100 μ l, 다른쪽에는 alkaline phosphatase의 활성 측정을 위해서 PNPP 100 μ l를 첨가하였다. 발색 시간은 30분으로 하였고, 발색 정지를 위해서 각각 1.5M Na₂CO₃ 100 μ l, 1M HCl 50 μ l를 첨가하여 5분간 방치시킨 후 spectrophotometer로 420nm에서 흡광도를 측정하였다. Enzyme unit(Eu)값은 OD₄₂₀값을 이용하여 Miller(17)의 공식[Eu=(1000 × A₄₂₀)/t(min)]에 따라 구하였다. SOS chromotest에 있어서 alkaline phosphatase의 Eu는 대개 일정하게 유지되고, SOS 반응에 영향을 주는 것은 β -galactosidase Eu이므로 이 값에 대한 통계적 유의성을 검정하였다.

AGS 인체 위암세포의 생존 저해효과

세포배양

AGS 인체 위암세포는 한국 세포주 은행(KCLB, Seoul, Korea)으로부터 분양받아 100units/ml의 penicillin-streptomycin과 10%의 fetal bovine serum(FBS)이 함유된 RPMI 1640을 사용하여 37°C, 5% CO₂ incubator에서 배양하였다. 배양된 암세포는 일주일에 2~3회 re-feeding하고 6~7일 만에 원심분리한 후 계대배양하면서 실험에 사용하였다.

SRB assay(18) 및 MTT assay(19)

배양된 암세포는 96 well plate에 2×10^4 cells/ml이 되도록 seeding하고 24시간 배양 후 시료를 0.05mg/ml과 0.1mg/ml의 농도로 첨가하였으며, 대조군에는 phosphate buffered saline(PBS)를 첨가하고 37°C, 5% CO₂ incubator에서 48시간 배양하였다. SRB assay를 위해서 50% trichloroacetic acid(TCA)를 첨가하여 4°C에서 냉장 방치하였으며 1시간 후 TCA를 제거하고 증류수로 5번 씻은 후 실온에서 건조시키고 0.4% sulforhodamine B(SRB) 100 μ l를 첨가해서 30분 동안 염색시켰다. 1% acetic acid로 5번 씻은 후 다시 실온에서 건조시키고 0.01M tris base 150 μ l를 첨가한 후 510nm에서 흡광도를 측정하였다. 한편 MTT assay에서는 3-(4,5-dimethylthiazol)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) 20 μ l를 첨가하고 4시간 동안 더 배양한 후 생성된 formazan 결정을 DMSO에 녹여 540nm에서 흡광도를 측정하였다.

Growth inhibition test: 암세포를 24 well plate에 2×10^4 cells/ml의 농도로 seeding하여 24시간 배양한 후, 10% FBS가 있는 배지에 시료를 0.1mg/ml 농도로 첨가하여 2일마다 배지를 교체해서 배양 6일 후에 증식된 암세포를 0.05% trypsin-0.02% EDTA로 분리하고 hemocytometer로 계수하여 암세포 성장 저해효과를 관찰하였다.

통계분석

대조군과 각 시료로부터 얻은 실험자료로부터 ANOVA를 구한 후 Duncan's multiple range test를 이용하여 통계분석하였다.

결과 및 고찰

부재료 첨가 배추김치의 항돌연변이성 증진효과

Ames 실험에 의한 항돌연변이 효과

부재료의 양을 달리하거나 항암 기능성이 있는 재료를 첨가하여 담근 13종류의 배추김치를 15°C에서 1일간 저장하고 5°C에서 pH 4.3이 될 때까지 발효시켰을 경우, 발효일수는 김치의 종류에 따라 다소 차이가 있었다. 배추김치는 pH 4.2~4.3, 산도 0.6~0.8%일 때 가장 잘 숙성되어 관능적으로 우수할 뿐만 아니라, 본 실험실에서의 연구에 의하면 항돌연변이 및 항암활성이 생김치와 과숙한 김치에 비해 뛰어났으므로 본 실험에 사용되어진 김치들은 pH 4.3이 될 때까지 발효시켰다. 고춧가루와 마늘을 고농도로 첨가하거나, 초피, 키토산 울

리고당, 첨차분말을 첨가한 김치 및 유기배추김치는 표준배추김치에 비해 발효가 서서히 진행되었다. 이들 김치의 메탄올 추출물을 이용하여 *Salmonella typhimurium* TA100 균주의 AFB₁에 대한 항돌연변이 효과를 살펴본 결과는 Table 1과 같다. 표준 배추김치의 경우, AFB₁에 대한 돌연변이 유발성을 66% 억제하였으며, 이에 비해 마늘을 고농도(5.2%)로 첨가한 김치, 고춧가루와 마늘을 각각 7%, 2.8% 첨가한 김치, 갓을 5% 첨가한 김치와 인삼가루를 1% 첨가한 김치가 돌연변이 유발을 더 크게 억제하였으며, 특히 갓 첨가김치의 경우 86%의 높은 저해효과를 보였다($p < 0.05$). 또한 유기 배추김치도 표준 배추김치에 비해 더 높은 항돌연변이 효과를 보여 AFB₁에 대한 돌연변이 유발을 80% 억제하였다. 따라서 마늘을 고농도로 첨가한 김치, 갓과 인삼가루를 첨가한 김치와 유기배추김치가 표준 배추김치에 비해 항돌연변이 효과가 증진되었음을 알 수 있었다.

SOS chromotest에 의한 항돌연변이 효과

Ames test에서 밝혀진 돌연변이 물질의 약 90%가 SOS 유발물질이며, 이 두 방법간에는 정량적인 상관관계가 있다고 보고되어져 있어(20) SOS chromotest를 이용하여 MNNG에 대한 13종류의 배추김치의 SOS 반응 억제효과를 살펴보았다(Table 2). MNNG를 이용한 chromotest에서도 Ames 실험계에서와 유사한 효과를 보였다. 고춧가루를 10.5% 첨가한 배추김치와 마늘을 5.2% 첨가한 배추김치가 표준 배추김치에 비해 높은 SOS 반응 억제효과를 보였고, 또한 초피, 알긴산 나트

륨과 첨차분말 첨가김치도 표준 배추김치에 비해 높은 저해효과를 보였다($p < 0.05$). 특히 유기배추김치는 가장 높은 SOS 반응억제효과를 보여 표준 배추김치 33%의 돌연변이 저해효과에 비해 55%의 높은 저해효과를 관찰할 수 있었다. 갓 첨가김치의 경우는 Ames test에서는 표준 배추김치에 비해 훨씬 높은 항돌연변이 효과를 보였으나, SOS chromotest에서는 표준 배추김치와 별 차이가 없었다. 따라서 고춧가루, 마늘, 초피 첨가김치와 유기배추김치가 Ames test와 SOS chromotest에서 항돌연변이 효과가 높아 유기배추에 고춧가루와 마늘을 중심으로 초피 등의 첨가로 항돌연변이 효과를 올릴 수 있을 것으로 여겨진다.

김치 재료 중 고추는 조미료로서 뿐만 아니라 방부, 색상의 효과가 있는 식품이다(21). 고추와 고추내의 매운 맛 성분인 캡사이신은 위암발생의 원인물질로 여겨져 돌연변이 유발성에 대한 상반된 보고(22,23)도 많았으나, 고추속에는 비타민 C와 carotenoids 등이 함유되어 있어 고춧가루는 오히려 돌연변이 유발을 억제하는 것으로 보고되고 있다(23-25).

또한 마늘의 항돌연변이 효과도 많이 알려져 있는데 마늘을 2% 첨가한 김치에서 nitrosodimethylamine(N-DMA), AFB₁, MNNG에 대한 항돌연변이 효과를 나타낸다고 보고된 바 있다(26). 마늘의 이러한 항돌연변이 기작은 간의 microsomal 효소계의 활성화에 관여하여 glutathione S-transferase활성 및 SH함유 화합물들을 증가시킴으로써 최종 돌연변이원을 비독성 물질로 전환시키는 것으로 알려져 있다(26,27).

Table 1. Effect of the methanol extracts(2.5mg/plate) from various kinds of sub-ingredient added chinese cabbage kimchi on the mutagenicity induced by aflatoxin B₁(AFB₁, 2.0 μ g/plate) in *Salmonella typhimurium* TA100

Treatment	Revertants/plate	Inhibition rate(%)
Spontaneous	118 \pm 14	
AFB ₁ (Control)	1099 \pm 77 ^a	
Standardized kimchi ¹⁾	456 \pm 29 ^{de}	66
10.5% red pepper powder(RPP) added kimchi	449 \pm 38 ^{de}	66
5.2% garlic added kimchi	360 \pm 50 ^{fg}	76
7% RPP+2.8% garlic added kimchi	357 \pm 49 ^{fg}	76
5% leaf mustard added kimchi	261 \pm 5 ^h	86
5% <i>codium fragile</i> added kimchi	438 \pm 16 ^{de}	68
1% chinese pepper powder added kimchi	436 \pm 17 ^{ef}	68
1% cinnamon powder added kimchi	496 \pm 73 ^d	62
1% ginseng powder added kimchi	401 \pm 16 ^{ef}	71
1% chitosan oligosaccharide added kimchi	601 \pm 16 ^c	51
1% sodium alginate added kimchi	672 \pm 60 ^{bc}	41
1% sweet tea extract added kimchi	677 \pm 28 ^b	43
Organic cultivated chinese cabbage kimchi	314 \pm 47 ^{gh}	80

¹⁾The ratios of ingredient in standarized kimchi are 13.0 radish, 2.0 green onion, 3.5 red pepper powder, 1.4 garlic, 0.6 ginger, 2.2 anchovy juice, 1.0 sugar and 2.5 final salt concentration in the proportion of 100 salted chinese cabbage.

^{a-h)}Means with the different letters are significantly different($p < 0.05$) by Duncan's multiple range test.

Table 2. SOS response of methanol extracts(100µg/assay) from various kinds of sub-ingredient added chinese cabbage kimchi against N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine(MNNG, 40ng/assay) in *E. coli* PQ37

Treatment	β-Galactosidase Unit(β)	Alkaline phosphatase Unit(p)	(β)/(p)	SOS induction factor	Inhibition rate(%)
Spontaneous	22.3	14.6	1.52	1.00	
Control(MNNG)	88.9 ^a	13.9	6.41	4.22	
Standardized kimchi ¹⁾	73.9 ^f	15.4	4.79	3.15	33
10.5% red pepper powder(RPP) added kimchi	65.8 ^h	15.5	4.25	2.80	44
5.2% garlic added kimchi	65.5 ^h	15.6	4.19	2.76	45
7% RPP+2.8% garlic added kimchi	63.3 ⁱ	15.0	4.22	2.78	45
5% leaf mustard added kimchi	72.7 ^g	14.9	4.87	3.20	32
5% <i>codium fragile</i> added kimchi	81.5 ^c	16.3	5.01	3.30	29
1% chinese pepper powder added kimchi	64.7 ^h	15.1	4.28	2.82	44
1% cinnamon powder added kimchi	79.1 ^d	16.0	4.95	3.26	30
1% ginseng powder added kimchi	87.3 ^b	16.9	5.17	3.40	26
1% chitosan oligosaccharide added kimchi	76.8 ^e	16.1	4.76	3.13	34
1% sodium alginate added kimchi	71.6 ^g	16.2	4.42	2.91	41
1% sweet tea extract added kimchi	70.5 ^g	15.9	4.44	2.92	40
Organic cultivated chinese cabbage kimchi	59.5 ^j	15.9	3.74	2.46	55

¹⁾The ratios of ingredient in standardized kimchi are same as shown in footnote of Table 1.

^{a-j}Means with the different letters are significantly different(p<0.05) by Duncan's multiple range test.

부재료 첨가 배추김치의 AGS 인체 위암세포에서의 *in vitro* 항암증진효과

표준 배추김치를 기본으로 부재료의 종류와 양을 달리하여 담근 13종류 김치(pH 4.3)의 메탄올 추출물을 얻어 SRB assay로 AGS 인체 위암세포의 생존 저해효과를 비교하였다(Table 3). 0.05mg/ml의 처리농도에서 고춧가루와 마늘을 각각 7%와 2.8%를 첨가한 김치가

50%이상의 암세포 생존 저해효과를 보였다. 또한 0.1 mg/ml의 처리농도에서는 고춧가루 10.5%, 마늘 5.2%, 고춧가루와 마늘을 각각 7%, 2.8% 첨가한 김치와 초피와 첨차분말을 각각 1% 첨가한 김치 및 유기배추김치가 50%이상 AGS 인체 위암세포의 생존을 저해함을 알 수 있었다(p<0.05).

Table 4는 MTT assay로 13종류의 배추김치 메탄올 추출물의 AGS 인체 위암세포의 생존 저해효과를 나타

Table 3. Sulforhodamine B(SRB) assay of methanol extracts from various kinds of sub-ingredient added chinese cabbage kimchi against AGS human gastric adenocarcinoma cells

Treatment(mg/ml)	OD ₅₁₀	
	0.05	0.1
Control	0.757±0.036 ^a	0.757±0.036 ^a
Standardized kimchi ¹⁾	0.691±0.076 ^{ab} (9) ²⁾	0.472±0.006 ^b (38)
10.5% red pepper powder(RPP) added kimchi	0.667±0.067 ^{ab} (12)	0.328±0.068 ^{cde} (57)
5.2% garlic added kimchi	0.616±0.105 ^{ab} (19)	0.308±0.017 ^{dc} (59)
7% RPP+2.8% garlic added kimchi	0.339±0.047 ^c (55)	0.251±0.013 ^{ce} (67)
5% leaf mustard added kimchi	0.411±0.025 ^c (46)	0.399±0.093 ^{bcd} (47)
5% <i>codium fragile</i> added kimchi	0.653±0.021 ^{ab} (14)	0.389±0.076 ^{bcd} (49)
1% chinese pepper powder added kimchi	0.720±0.050 ^{ab} (5)	0.200±0.005 ^c (74)
1% cinnamon powder added kimchi	0.691±0.049 ^{ab} (9)	0.434±0.012 ^{bc} (43)
1% ginseng powder added kimchi	0.687±0.114 ^{ab} (9)	0.516±0.161 ^b (32)
1% chitosan oligosaccharide added kimchi	0.389±0.109 ^c (49)	0.519±0.075 ^b (31)
1% sodium alginate added kimchi	0.393±0.041 ^c (48)	0.397±0.066 ^{bcd} (48)
1% sweet tea extract added kimchi	0.583±0.008 ^b (23)	0.201±0.027 ^e (73)
Organic cultivated chinese cabbage kimchi	0.663±0.107 ^{ab} (12)	0.294±0.003 ^{de} (61)

¹⁾The ratios of ingredient in standardized kimchi are same as shown in footnote of Table 1.

²⁾Inhibition rate(%)= $\frac{OD_{510} \text{ of control} - OD_{510} \text{ of sample}}{OD_{510} \text{ of control}} \times 100$

^{a-e}Means with the different letters are significantly different(p<0.05) by Duncan's multiple range test.

Table 4. 3-(4,5-dimethyl-thiazol)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide(MTT) assay of methanol extracts from various kinds of sub-ingredient added chinese cabbage kimchi against AGS human gastric adenocarcinoma cells

Treatment(mg/ml)	OD ₅₄₀	
	0.05	0.1
Control	0.747 ± 0.004 ^a	0.747 ± 0.004 ^a
Standarized kimchi ¹⁾	0.491 ± 0.087 ^{bc} (34) ²⁾	0.328 ± 0.045 ^{bc} (57)
10.5% red pepper powder(RPP) added kimchi	0.393 ± 0.112 ^c (47)	0.152 ± 0.055 ^d (80)
5.2% garlic added kimchi	0.511 ± 0.122 ^{bc} (32)	0.071 ± 0.017 ^{de} (91)
7% RPP+2.8% garlic added kimchi	0.418 ± 0.023 ^c (44)	0.074 ± 0.029 ^{de} (90)
5% leaf mustard added kimchi	0.517 ± 0.041 ^b (31)	0.395 ± 0.069 ^{bc} (47)
5% <i>codium fragile</i> added kimchi	0.513 ± 0.048 ^{bc} (31)	0.380 ± 0.009 ^{bc} (49)
1% chinese pepper powder added kimchi	0.400 ± 0.063 ^c (47)	0.015 ± 0.010 ^e (98)
1% cinnamon powder added kimchi	0.432 ± 0.045 ^{bc} (42)	0.455 ± 0.013 ^b (39)
1% ginseng powder added kimchi	0.453 ± 0.074 ^{bc} (39)	0.331 ± 0.038 ^c (56)
1% chitosan oligosaccharide added kimchi	0.444 ± 0.074 ^{bc} (41)	0.114 ± 0.038 ^{de} (85)
1% sodium alginate added kimchi	0.400 ± 0.011 ^c (47)	0.462 ± 0.025 ^b (38)
1% sweet tea extract added kimchi	0.132 ± 0.006 ^d (82)	0.082 ± 0.026 ^{de} (89)
Organic cultivated chinese cabbage kimchi	0.449 ± 0.046 ^{bc} (40)	0.064 ± 0.021 ^{de} (91)

¹⁾The ratios of ingredient in standarized kimchi are same as shown in footnote of Table 1.

²⁾Inhibition rate(%)= $\frac{OD_{540} \text{ of control} - OD_{540} \text{ of sample}}{OD_{540} \text{ of control}} \times 100$

^{a-e}Means with the different letters are significantly different(p<0.05) by Duncan's multiple range test.

낸 것이다. 생존 암세포의 효소작용을 측정하는 MTT assay는 세포내 단백질량을 측정하는 SRB assay와 함께 항암성 물질의 검색법으로 가장 널리 사용되고 있다. SRB assay의 결과와 유사하게 고춧가루와 마늘을 고농도로 첨가한 김치, 초피, 키토산 올리고당, 첨차분말 첨가김치와 유기배추김치가 AGS 인체 위암세포의 생존을 크게 저해함을 알 수 있었다(p<0.05). 특히 고춧가루와 마늘을 각각 7%와 2.8% 첨가한 김치, 초피 첨가 김치 및 유기배추김치가 90%이상의 높은 암세포 생존 저해효과를 보였다. 또한 첨차분말 첨가김치는 항돌연변이 효과에 있어서는 표준 배추김치와 별 차이가 없었으나, SRB, MTT assay를 이용한 *in vitro* 항암효과에 있어서는 높은 위암세포 생존 저해효과를 보였다.

AGS 인체 위암세포를 이용하여 13종류의 김치 메탄올 추출물을 0.1mg/ml로 처리하면서 6일간 배양한 후 암세포를 계수하여 암세포 증식 억제효과를 살펴본 결과(Fig. 1), SRB, MTT assay에서 처럼 고춧가루, 마늘을 고농도로 첨가한 김치와 초피를 첨가한 김치 및 유기배추김치가 위암세포의 증식을 억제하는 효과가 표준 배추김치에 비해 높음을 알 수 있었다(p<0.05). 특히 1% 초피를 첨가한 김치는 대조군 48 × 10⁴/ml의 세포수에 비해 8 × 10⁴/ml로 관찰되어 증식이 크게 억제(83%)됨을 알 수 있었다.

이상의 결과로부터 공통적으로 고춧가루와 마늘을 고농도로 첨가한 김치, 초피 첨가김치 및 유기배추김치가 표준 배추김치에 비해 AFB₁과 MNNG에 대한 돌연변이 유발과 AGS 인체 위암세포의 생존 및 증식을 크게 저해하는 것으로 나타났다(p<0.05). 이러한 결과와 함

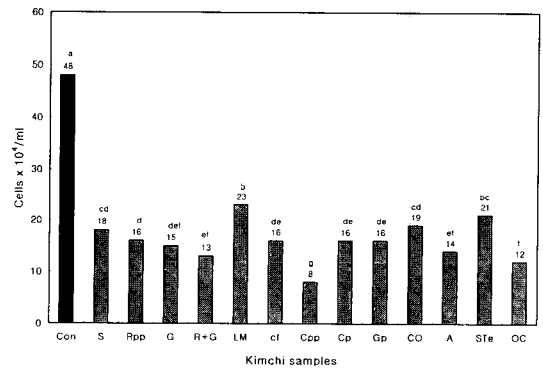


Fig. 1. Growth inhibitory effect of methanol extracts from various kinds of sub-ingredient added Chinese cabbage kimchi¹⁾ against AGS human gastric adenocarcinoma cells after 6 days of incubation at 37°C

¹⁾The ratios of ingredient in standarized kimchi are same as shown in footnote of Table 1.

^{a-e}Means with the different letters are significantly different(p<0.05) by Duncan's multiple range test. (Con: Control, S: Standarized kimchi, Rpp: 10.5% red pepper powder(RPP) added kimchi, G: 5.2% garlic added kimchi, R+G: 7% RPP+2.8% garlic added kimchi, LM: 5% leaf mustard added kimchi, cf: 5% *codium fragile* added kimchi, Cpp: 1% Chinese pepper powder added kimchi, Cp: 1% cinnamon powder added kimchi, Gp: 1% ginseng powder added kimchi, CO: 1% chitosan oligosaccharide added kimchi, A: 1% sodium alginate added kimchi, STe: 1% sweet tea extract added kimchi, OC: organic cultivated Chinese cabbage kimchi)

께 김치의 맛(관능성)과 저장성에 대한 보다 깊은 연구로 항암기능성을 증진시킬수 있는 김치의 개발이 가능할 것으로 여겨진다.

고추에는 항암성이 알려져 있는 영양소가 많이 함유되어 있어 김치에 첨가되는 고춧가루의 양을 관능성을 고려한 범위에서 고농도로 첨가하였을 때 김치의 항암기능성을 높일 수 있을 것으로 사료된다. 또한 마늘은 항암작용을 하는 물질인 allicin을 비롯한 함황 물질과 linoleic acid에 의해 인체 암세포의 성장을 억제할 뿐만 아니라 sarcoma 180세포를 투여한 Balb/c 마우스 실험계에서 종양의 크기를 감소시키며 생명을 연장하는 효과도 있음이 관찰되었다(26-29). 항균성이 있는 초피는 신미성분으로 지방산 계통인 sanshool과 polyphenol류인 tannin 등이 많이 함유되어 있어 항암효과를 가질 것으로 여겨지며, 초피의 추출물이 인체 골육암 세포인 MG-63의 성장을 억제한다는 연구결과도 있다(30,31). 또한 유기배추김치가 일반 배추김치에 비해 Ames test와 SOS chromotest에서 항돌연변이 효과가 크며, SRB assay 및 MTT assay에서 암세포 생존저해 효과도 높다는 결과도 본 실험실에서 연구된 바 있다(32).

본 연구로부터 기능성 식품으로 알려진 인삼가루, 알긴산 나트륨과 키토산 올리고당은 그 자체의 항암성은 알려져 있으나, 이를 김치에 첨가하였을 경우는 항돌연변이 및 항암기능성을 높이는데 그다지 효과를 보이지 않았고 오히려 전통적으로 사용되어져 오던 재료인 고춧가루, 마늘과 초피를 첨가하거나 유기배추를 사용한 김치가 그 기능성이 더 증진됨을 알 수 있었다. 이러한 연구를 기초로 항암기능성 김치의 개발을 위해서는 첨가되는 부재료의 종류와 양을 결정함에 있어서 관능성과 저장성에 대한 연구가 고려되어야 하며 *in vivo*의 생체실험을 통하여 이들 김치들의 항암성을 확인할 필요가 있다고 여겨지고, 이에 대한 연구는 현재 진행중에 있다.

요 약

배추김치의 항돌연변이 및 항암기능성 증진을 위하여 표준 배추김치에 부재료의 종류와 양을 달리하여 담근 13종류의 김치에 대해 Ames test와 SOS chromotest 및 인체 위암세포를 이용하여 *in vitro* 항암기능성을 비교 검토하였다. Ames test와 SOS chromotest에서 표준 배추김치에 비해 3배의 마늘(5.2%)을 첨가한 김치, 고춧가루와 마늘을 각각 2배씩(7%, 2.8%) 첨가한 김치와 유기배추김치가 더 높은 항돌연변이 효과를 보였다. 또한 위암세포를 이용한 *in vitro* 항암효과에 있어서도 고춧가루와 마늘을 고농도로 첨가하거나, 초피를 첨가한 김치 및 유기배추김치가 높은 AGS 인체 위암세포 생존 저해 효과를 나타내어, 유기배추에 고춧가루와 마늘을 고농도로 첨가하고 초피를 첨가함

으로써 배추김치의 기능성을 증진시킬 수 있을 것으로 기대된다.

감사의 글

이 연구는 농림부에서 시행한 농림수산물특정연구사업 연구 결과 및 부산대학교 기성회연구비 지원에 의한 것으로 연구지원에 감사드립니다.

문 헌

1. 통계청 : 사망원인 통계 연보(1992)
2. 박건영 : 김치의 영양학적 평가와 항돌연변이 및 항암효과. 한국영양식량학회지, **24**, 169(1995)
3. Kato, I., Kobayashi, S., Yokokura, T. and Mutai, M. : Antitumor activity of *Lactobacillus casei* in mice. *Gann*, **72**, 517(1981)
4. 박건영, 권미향 : 아스콜빈산에 의한 aflatoxin B₁의 파괴에 관한 연구. 한국영양식량학회지, **16**, 1(1987)
5. 이경임, 박건영 : 녹황색채소류의 항(발)암효과. 생명과학회지, **3**, 143(1993)
6. Hertog, M. G. L., Hollman, P. C. H. and Katan, M. B. : Content of potentially anticarcinogenic flavonoids of 28 vegetables and 9 fruits commonly consumed in the Netherlands. *J. Agric. Food Chem.*, **40**, 2379(1992)
7. Park, K. Y., Baek, K. A., Rhee, S. H. and Cheigh, H. S. : Antimutagenic effect of kimchi. *Foods Biotech.*, **4**, 141(1995)
8. 이선미 : 케일의 항돌연변이 및 항암효과와 기작연구. 부산대학교 박사학위논문(1995)
9. Kim, S. H., Park, K. Y., Suh, M. J. and Chung, H. Y. : Effect of garlic(*Allium sativum*) on glutathione S-transferase activity and the level of glutathione in the mouse liver. *J. Korean Soc. Food Nutr.*, **23**, 436(1994)
10. 조은주, 이선미, 이숙희, 박건영 : 배추김치의 표준화 연구. 한국식품과학회지, **30**, 324(1998)
11. 조은주, 박건영, 이숙희 : 배추김치의 재료배합비 표준화. 한국식품과학회지, **29**, 1228(1997)
12. Maron, D. M. and Ames, B. N. : Revised methods for the *Salmonella* mutagenicity test. *Mutat. Res.*, **113**, 173(1983)
13. Ames, B. N., McCann, J. and Yamasaki, E. : Methods for detecting carcinogens and mutagens with the *Salmonella* mammalian-microsome mutagenicity test. *Mutat. Res.*, **31**, 347(1975)
14. Yahagi, T., Nagao, M., Sugimura, T., Fuuya, A. and Matsushima, T. : Mutagenicity of purrolizidine alkaloids in *Salmonella*-microsome test. *Mutat. Res.*, **68**, 211(1979)
15. Matsushima, T., Sugimura, T., Nagao, M., Yahagi, T., Shirai, A. and Sawamura, M. : Factors modulating mutagenicity in microbial test. In "Short terms for detecting carcinogens" Norphth, K. M. and Gamer, R. C.(eds.), Berline, Springer, p.273(1980)
16. Quillardet, P. and Hofnung, M. : The SOS chromotest,

- a colorimetric bacterial assay for genotoxins: Procedures. *Mutat. Res.*, **147**, 65(1985)
17. Miller, J. : Experiments in molecular genetics, cold spring harbor laboratory. Cold Spring Harbor, New York(1972)
 18. Monks, A., Scudiero, D., Skehan, P., Shoemaker, R., Paull, K., Vistica, D., Hose, C., Langley, J., Cronise, P., Vaigro-Wolff, A., Gray-Goodrich, M., Campbell, H., Mayo, J. and Boyd, M. : Feasibility of a high-flux anti-cancer drug screen using a diverse panel of cultured human tumor cell lines. *J. Natl. Cancer Inst.*, **83**, 757 (1991)
 19. Alley, M. C., Scudiero, D. A., Monks, A., Hursey, M. L., Czerwinski, M. J., Fine, D. L., Abbott, B. J., Mago, J. G., Shoemaker, R. H. and Boyd, M. R. : Feasibility of drug screening with panels of human tumor cell lines using a microculture tetrazolium assay. *Cancer Res.*, **48**, 589(1988)
 20. Quillardet, P., Bellecombe, C. D. and Hofnung, M. : The SOS chromotest, a colorimetric bacterial assay for genotoxins: validation study with 83 compounds. *Mutat. Res.*, **147**, 79(1985)
 21. Curl, A. L. : The carotenoids of red bell peppers. *Agric. Food Chem.*, **10**, 504(1962)
 22. Nagabhusan, M. and Bhide, S. V. : Mutagenicity of chili extract and capsaicin in short term test. *Environ. Mutagen.*, **7**, 881(1985)
 23. 김소희, 서명자, 박건영 : *Salmonella* assay system에서 고춧가루에 의한 aflatoxin B₁의 돌연변이 유발 저해효과. 한국영양식량학회지, **20**, 156(1991)
 24. Park, K. Y., Kweon, M. H., Baik, H. S. and Cheigh, H. S. : Effect of L-ascorbic acid on the mutagenicity of aflatoxin B₁ in the *Salmonella* assay system. *Environ. Mutagens Carcinogens*, **8**, 13(1988)
 25. 김소희 : 김치 성분의 보돌연변이 유발 및 항돌연변이 효과. 부산대학교 박사학위논문(1991)
 26. 박건영, 김소희, 서명자, 정해영 : 마늘의 돌연변이 유발 억제 및 HT-29 결장암 세포의 성장저해효과. 한국식품과학회지, **23**, 370(1991)
 27. Shoji, F., Nobuyasu, T., Takaki, H. and Hideki, W. : Cancer prevention by organosulfur compounds from garlic and onion. *J. Cellular Biochem.*, **27**, 100(1997)
 28. Nakata, T. : Effect of fresh garlic extract on tumor growth. *Jap. J. Hyg.*, **27**, 538(1973)
 29. 김은실, 전희정 : 마늘이 햄스터 협낭에서 DMBA 발암성에 미치는 항암효과에 관한 연구. 한국영양식량학회지, **22**, 398(1993)
 30. 윤서식 : 역사와 조리. 한국음식. 수확사, p.59(1980)
 31. 김소희, 박건영 : 초피 추출물의 항돌연변이 및 MG-63 암세포 증식억제효과. 한국산업미생물학회지, **21**, 628(1993)
 32. 최운영 : 유기배추의 특성과 유기배추김치의 항돌연변이성 및 항암기능성. 부산대학교 석사학위논문(1998)

(1998년 4월 11일 접수)