

김치 종류를 달리한 식이가 Hairless Mice의 간과 피부에서 산화억제 및 광산화에 미치는 영향

류복미¹ · 류승희² · 이유순³ · 전영수¹ · 문갑순^{2*}

¹부산대학교 식품영양학과 및 김치연구소

²인제대학교 바이오헬스 소재 연구센터, 식품과학연구소 및 식품생명과학부

³경북과학기술대학 향장공업과

Effect of Different *Kimchi* Diets on Oxidation and Photooxidation in Liver and Skin of Hairless Mice

Bog-Mi Ryu¹, Seung-Hee Ryu², Yu-Soon Lee³, Young-Soo Jeon¹ and Gap-Soon Moon^{2*}

¹Dept. of Food Science and Nutrition and Kimchi Research Institute, Pusan National University, Busan 609-735, Korea

²Biohealth Products Research Center, Food Science Institute, and School of Food and Life Science,

Inje University, Kimhae 621-749, Korea

³Dept. of Cosmetic Engineering, Kyongbuk College of Science, Chilgok 718-850, Korea

Abstract

Kimchi contains various antioxidative components, therefore it is expected that *kimchi* have the inhibitory activity on aging. Among the many factor related to aging, UV radiation is the easiest way to induce skin aging. This experiment was designed to demonstrate the antioxidative activity of dietary *kimchi* with and without UV radiation in tissues. Lyophilized Korean cabbage *kimchi*, mustard leaf *kimchi* and *buchu kimchi* were used for measurement of the contents of antioxidative components. Chlorophyll contents in *buchu* and mustard leaf *kimchi* were higher than cabbage *kimchi*, and the contents of carotene and ascorbic acid were higher in the mustard leaf *kimchi*. To clarify the antioxidative activity of various *kimchi* diets *in vivo* system, hairless mice were fed the diet containing 10% lyophilized *kimchi* for 20 weeks. Contents of superoxide anion and hydroxyl radical in liver were not shown significant differences, however hydrogen peroxide were significantly decreased in mustard leaf and *buchu kimchi* diet groups. Supplementation of all kinds of *kimchi* diets attenuated the hepatic MDA accumulation, especially in mustard leaf and leek *kimchi* group. In the skin, the contents of MDA were decreased in *kimchi* groups compared to control group, especially the *buchu kimchi* diet significantly inhibited the lipid peroxidation. To elucidate the effect of *kimchi* diets on photooxidation, the extent of oxidative damage in liver and skin was measured after UVB radiation treatment. The contents of lipid peroxides was decreased in mustard leaf *kimchi* group and cabbage *kimchi* group compared to control, while lipid peroxidation was increased in *buchu kimchi* diet group. It suggests that chlorophylls and other antioxidative nutrients in the various *kimchi* diets are related to antioxidation or photooxidation and it might be needed further study to certify the exact mechanisms.

Key words: *kimchi*, antioxidative, photooxidation, hairless mouse, ROS

서 론

우리나라 전통 식품인 김치는 제조시 여러 가지 원료들을 사용하여 발효시키므로 다양한 생리활성 기능성을 나타내고 있고(1), 사용하는 원료와 제조방법, 계절 및 지역적인 특성에 따라 종류가 매우 다양하다(2). 세계적으로 김치 열풍이 확산되고 있는 현재, 김치에 관한 다양한 연구들이 수행되고 있는데 김치의 발효 가공과정 뿐만 아니라 김치의 건강기능성 관련 연구도 활발히 이루어지고 있다(3). 김치의 기능성에 관해서는 항암, 항돌연변이, 항동맥경화 효과 등의 생리활성

과 함께 항산화 효과에 관한 연구들이 활발히 이루어지고 있다(4-9). 김치 속에는 김치의 재료에서 유래한 항산화작용 물질인 클로로필, 페놀화합물, 비타민 C 그리고 β-카로텐 등이 함유되어 있을 뿐만 아니라(1), 발효초기나 과숙한 김치보다는 알맞게 숙성된 김치의 항산화 활성이 높다고 보고된 바 있어(7-9) 숙성과정 중 생성되는 물질들 또한 김치의 항산화 작용에 중요한 역할을 하는 것으로 여겨진다.

*In vitro*에서 수행되어진 다양한 김치의 항산화효과 관련 실험과 더불어 Ryu 등(10)은 농도를 달리한 김치식을 6주간 SD rat에게 섭취시켰을 때 지질 및 단백질 산화가 감소하

*Corresponding author. E-mail: fdsnmoon@inje.ac.kr
Phone: 82-55-320-3234, Fax: 82-55-321-0691

는 경향을 보고하였고 특히 superoxide dismutase(SOD)와 glutathione peroxidase(GSH-px) 활성이 유의적으로 증가한다고 보고하여 김치식이 생체내 항산화활성을 촉진함을 보고한 바 있다. 또한 Kim 등(11,12)은 노화촉진 쥐(SAM)의 간과 뇌의 유리기 생성과 항산화효소계의 활성을 조사하여 1년간의 김치 섭취가 연령에 따른 유리기 생성을 유의적으로 억제시키면서 항산화 효소계의 활성을 증가시켜 궁극적으로는 항노화활성을 나타내었다고 보고하였다. 특히 피부 세포인 keratinocyte와 fibroblast에 산화적 스트레스를 유발시킨 후 김치 및 김치 주·부재료 추출물들을 첨가하였을 때 활성산소에 의한 독성을 완화시키는 효과가 있었다(9,13). 또한 항산화효과가 큰 부추 식이를 마우스에 장기간 급여하였을 때 마우스의 간과 피부조직 노화가 현저히 억제되었고, 자외선 B 조사에 의해 유발된 광산화를 억제하는 효과를 나타내었다(14,15). 부추와 더불어 십자화과 경엽채소류인 갓(leaf mustard, *Brassica juncea*)의 항산화효과와 항산화물질에 관한 연구로 갓 및 갓김치 발효과정 중 클로로필 및 카로테노이드의 함량 변화와 이들의 항산화성이 보고된 바 있고(16-18), 적갓의 항산화활성에 대한 연구도 보고된 바 있다(19).

이처럼 녹색채소류 중에 풍부히 함유되어 있는 클로로필은 광산화가 차단된 상태에서는 유리기 소거제로 작용하여 지질의 자동산화를 방지할 뿐 아니라 항돌연변이성 및 항암성을 가지게 된다(20-22). 그러나 클로로필 및 그 유도체들은 빛의 존재시 감광체로 작용하여 과산화물을 생성시켜 광산화를 촉진시키므로(23) 자외선 조사시 김치류에 함유된 클로로필의 항산화능 변화에 관한 연구가 필요하다고 여겨진다. 우리나라 사람들이 먹는 김치 종류는 50여종에 이르고 그중 배추김치가 가장 선호되고 있지만 갓김치나 부추김치도 별미김치의 하나로 애용되고 있다(24).

따라서 본 연구에서는 한국인이 보편적으로 많이 섭취하고 있는 배추김치, 갓김치 그리고 부추김치 세 종류를 선정하여 hairless mouse에서 10% 농도로 20주간 섭취시킨 후 간에서 활성산소 생성정도를 측정하고 간과 피부에서 지질 및 단백질 산화 정도를 비교하였다. 또한 종류를 달리한 김치식이를 섭취시킨 hairless mouse의 간과 피부 균질액에 자외선 조사에 의한 광산화를 유도한 뒤 이들 김치의 산화 억제효과를 조사하였다.

재료 및 방법

시료김치의 제조

시료김치로 배추김치, 갓김치, 부추김치를 선정하고 김치에 사용된 배추(가락신 1호), 갓(돌산갓), 부추(경남 대동), 고춧가루(태양초), 멸치액젓(청정원), 소금(천일염), 설탕(정제당), 참쌀풀, 마늘, 무, 파 등은 부전시장에서 구입하였다. 배추김치는 부산대학교 김치연구소에서 표준화한 김치(25),

갓김치는 Park 등(26)이 제조한 김치, 부추김치는 인제대학교 식품과학연구소에서 표준화한 김치(27)의 재료배합비를 사용하여 Table 1과 같이 제조하였다. 본 실험에 사용된 시료 김치는 맛이 가장 좋은 시기의 pH와 산도에 일치하는 적숙기의 김치였으며, 제조한 김치는 동결건조하여 시료로 사용하였고, 동결건조된 김치시료 중의 클로로필, β -카로텐, ascorbic acid 및 총 페놀 함량은 전보에 준하여 측정하였다(28).

실험식이의 제조 및 실험동물의 사육

동결건조된 김치 시료의 일반 성분 및 식이섬유 함량을 분석한 뒤 실험식이에 배추김치, 갓김치, 부추김치를 10% 농도로 첨가하고 이들의 일반성분을 고려하여 에너지 수준이 동일하게 식이를 조제하였다(Table 2). 제조한 식이는 고품으로 만들어 60°C 열풍건조기(Vision Scientific, KMC-1202D4N)로 건조시킨 후 냉동보관하면서 동물에게 공급하였다.

실험동물은 20 g 내외의 수컷 SKH-1 hairless mouse를 Charles River Co.(USA)로부터 분주 받아 일정한 조건(온도: 20±2°C, 습도: 50%, 명암: 12시간 light/dark cycle)에서 기본 식이로 4주간 적응시킨 후 무작위로 6마리씩 4군으로 나누어 각각 대조군, 배추김치군, 갓김치군, 부추김치군으로 하였다. 실험기간 중 물과 식이는 자유로이 섭취하도록 하였고 체중은 1주일마다 측정하였다. 실험 식이를 20주간 섭취시킨 후 드라이아이스로 마취시켜 간과 피부를 적출하여 0.9% 생리식염수로 씻은 다음 여과지로 물기를 제거하고 -70°C에서 냉동 보관하면서 실험에 사용하였다.

활성산소 측정

간조직은 10배량의 1.15% KCl-10 mM 인산완충액(pH 7.4)에 5 mM EDTA를 첨가한 용액로 균질화한 후 3,000 rpm에서 10분동안 원심분리시켜 상층액을 다시 10,000 rpm에서 15분간 원심분리하여 mitochondria 분획을 취하였다. 분리된 상층액을 40,000 rpm에서 60분간 원심분리하여 cytosol 분획과 microsome 분획을 얻었으며 전보와 같이 간 분

Table 1. Recipe for experimental kimchi preparation

Ingredients	(unit : g)		
	Korean cabbage kimchi	Mustard leaf kimchi	Buchu kimchi
Brined Korean cabbage	100.0	-	-
Brined mustard leaf	-	100.0	-
Brined buchu	-	-	100.0
Red pepper powder	3.5	14.3	17.2
Garlic	1.4	4.2	4.9
Ginger	0.6	2.8	3.2
Fermented anchovy sauce	2.2	14.3	16.5
Glutinous rice paste	-	10.7	13.0
Sugar	1.0	-	2.0
Radish	13.0	-	-
Green onion	2.0	-	-

Table 2. Composition of experimental diets for the animal study

(%)

Ingredients	Control ¹⁾	Korean cabbage kimchi	Mustard leaf kimchi	Buchu kimchi
Casein ²⁾	20.00	17.46	17.24	17.31
Corn starch ³⁾	65.00	60.22	60.41	61.68
Corn oil ⁴⁾	5.00	4.58	4.54	4.33
Cellulose ⁵⁾	5.00	2.74	2.81	1.68
Choline bitartrate ²⁾	0.20	0.20	0.20	0.20
Vitamin mixture ⁵⁾	1.00	1.00	1.00	1.00
Mineral mixture ⁵⁾	3.50	3.50	3.50	3.50
D,L-Methionine ²⁾	0.30	0.30	0.30	0.30
Korean cabbage kimchi powder	-	10.00	-	-
Mustard leaf kimchi powder	-	-	10.00	-
Buchu kimchi powder	-	-	-	10.00

¹⁾Control diet was prepared following AIN-76 guidelines for mouse experiment.²⁾⁻⁵⁾Ingredients were prepared from following. ²⁾Sigma Chemical Co. (USA), ³⁾Daesang Co. (Korea), ⁴⁾CJ Co. (Korea), ⁵⁾ICN Biochemical Co. (USA).

획에서 superoxide anion, hydrogen peroxide, hydroxyl radical의 함량을 측정하였다(15).

지질과산화물의 측정

간과 피부조직에서 지질과산화물 함량은 Ohkawa 등(29)의 방법을 이용하여 thiobarbituric acid(TBA)와 반응하는 malondialdehyde(MDA)의 함량으로 측정하였다. 이때 표준 용액으로는 1,1,3,3-tetramethoxypropane(TMP)를 사용하였으며 측정된 값을 표준곡선에 대입시켜 malondialdehyde(MDA)의 양으로 환산하였다.

단백질 산화 생성물의 측정

간과 피부조직에서 단백질 산화 생성물인 carbonyl 함량은 DNPH(2,4-dinitrophenyl hydrazine)를 이용한 Oliver 등(30)의 방법에 준하여 측정하였다. 변형된 Lowry법(31)을 이용하여 단백질 함량을 측정한다 다음 그 양이 1 mg이 되게 2개의 원추형 원심분리관에 넣고 trichloroacetic acid(TCA)를 가하여 단백질을 침전시켰다. 침전된 단백질에 2,4-DNPH시약을 가해 반응시킨 후 에탄올과 에틸아세테이트 혼합액으로 세척하고 6 M guanidine-HCl용액을 가해 용해시켜 370 nm에서 흡광도의 차를 측정하고 흡광계수(22,000 M⁻¹cm⁻¹)를 이용하여 환산하였다.

자외선 조사에 의한 광산화 유발

간 균질액은 간 조직에 10배 부피의 1.15% KCl 용액으로 마쇄하여 제조하였고, 피부 균질액은 Kim 등(32)의 방법에 따라 제조하였다. 즉, 일정량의 피부조직을 10배 부피의 1.15% KCl 용액에 담근 상태에서 iris scissors로 세절하여 거의 젤 상태가 되도록 한 뒤 이 피부조직을 다시 glass homogenizer로 마쇄하여 균질액으로 만든 다음 800×g에서 10분간 원심 분리하여 그 상등액을 피부조직 균질액으로 하였다. 자외선 조사에 의한 광산화 유발을 위해 간과 피부 균질액 2 mL를 직경 3 cm인 petri dish에 부어 약 2 mm 정도의 두께가 되게 균등하게 담고 자외선 B light(FSX24T12)가 장착되어 있는 자외선 조사기(National Biological Corporation, Ohio, USA)

를 이용하여 조사하였다. 10 μW의 조사량으로 30분 동안 조사하였으며 이때 자외선 등과 petri dish 사이의 거리는 약 15 cm가 되도록 유지하였고 온도상승을 방지하기 위해 주위에 얼음주머니를 두고 조사시켰다.

통계처리

실험결과와 통계처리는 SPSS program을 이용하여 분석하여 mean±SD로 표시하였으며, 각 군간 평균치의 통계적 유의성은 one-way ANOVA로 검증한 다음 α=0.05 수준에서 Duncan's multiple range test에 의해 사후 검정하였다.

결과 및 고찰

동결건조 김치 중의 항산화물질의 함량

시료로 사용한 동결건조된 배추김치, 갓김치, 부추김치 중의 클로로필, β-카로텐, ascorbic acid와 총 페놀 함량을 Table 3에 나타내었다. 배추김치의 총 클로로필 함량은 6.0±0.1 mg%인 반면 갓김치와 부추김치의 총 클로로필 함량은 130.7±0.1와 376.4±4.5 mg%로 배추김치에 비해 월등히 높았으며 β-카로텐 함량은 배추김치가 27.0±2.2 mg%였고, 갓김치 86.0±0.7, 부추김치는 54.3±1.0 mg%로 나타났다. Ascorbic acid 함량은 각각 885.0±1.3, 1285.0±0.6, 900.0±1.2 mg%로 갓김치에서 다소 높았고 배추김치와 부추김치에서는 유사한 것으로 나타났다. 페놀물질 함량은 배추김치

Table 3. Contents of chlorophyll, β-carotene, ascorbic acid and total phenol in lyophilized kimchi (unit: mg%)

Samples Ingredients	Korean cabbage kimchi	Mustard leaf kimchi	Buchu kimchi
Total chlorophyll	6.0±0.1 ¹⁾	130.7±0.1	376.4±4.5
Chlorophyll a	2.3±0.1	91.4±0.2	264.0±4.3
Chlorophyll b	3.7±0.1	39.3±0.1	111.9±3.2
β-Carotene	27.0±2.2	86.0±0.7	54.3±1.0
Ascorbic acid	885.0±1.3	1285±0.6	900.0±1.2
Total phenol	17.8±0.4	22.2±0.8	25.7±1.4

¹⁾Data are expressed as means±SD (n=3).

17.8±0.4 mg%, 갓김치 22.2±0.8 mg%, 부추김치 25.7±1.4 mg%로 부추김치에서 가장 높았다. 부추김치의 경우 클로로필의 함량이 특이적으로 높고 갓김치는 클로로필 함량도 높은 반면 β-카로틴과 ascorbic acid 함량이 가장 높은 것으로 나타나 차이가 있음을 알 수 있었다.

김치식이 간조직의 활성산소종 생성에 미치는 영향

동결건조한 배추김치, 갓김치, 부추김치 분말을 각각 10% 씩 식이에 첨가하여 20주간 hairless mouse에 섭취시킨 후 간 분획물에서 활성산소종인 superoxide anion, hydrogen peroxide, hydroxyl radical의 생성량을 측정된 결과를 Fig. 1에 나타내었다. 간 세포질에서 superoxide anion 함량은 대조군의 경우 4.98±0.20 nmole/mg protein이었고, 김치섭취군의 경우 모두 감소되는 경향을 나타내어 배추김치군의 경우 4.19±0.48, 갓김치군 3.97±0.57, 부추김치군 4.30±0.29 nmole/mg protein으로 각각 16%, 20.3%, 13.7% 감소하였다. 간의 microsome에서 hydrogen peroxide 함량은 대조군에서 20.96±0.60, 배추김치군에서 19.02±1.22, 갓김치군에서 16.27±1.64, 그리고 부추김치군에서 16.33±2.40 nmole/mg protein으로 나타났고, 갓김치와 부추김치군에서 hydrogen peroxide 함량이 대조군에 비해 유의적으로 감소되어 뚜렷한 항산화효과를 나타내었다. 미토콘드리아 중의 hydroxyl radical 함량은 대조군에서 2.38±0.37 nmole/mg protein이었고, 배추김치군은 2.34±0.23, 갓김치군 1.95±0.22, 부추김치군 2.28±0.17 nmole/mg protein으로 측정되었다. 갓김치군의 hydroxyl radical 함량은 대조군에 비해 약간 억제되었으나 유의적인 차이는 없는 것으로 나타났다.

활성산소종은 핵산, 지질, 단백질 그리고 탄수화물 등과 반응하여 조직에 직접적인 상해를 유발하고 peroxy radical이나 과산화물들을 반응산물로 생성하여 이차적인 연쇄 반응을 일으키게 된다(33). 생체내에는 유리기들에 의한 과산화적 손상으로부터 생체를 보호하는 비효소적, 효소적 항산화 방어계가 존재하며, ascorbic acid, 토코페롤, 페놀화합물, 카로테노이드, 셀레늄 등 여러 가지 물질들이 관여한다(34). 본 실험에서 사용되었던 동결건조 김치 중에는 클로로필, β-카

로틴, ascorbic acid의 함량이 높을 뿐 아니라 항산화물질인 총페놀 함량도 높아 김치의 섭취는 활성산소를 소거하는데 효과가 있었던 것으로 사료된다. 흰쥐에 3%, 5%, 10% 수준으로 김치를 섭취시켜 간에서 항산화효소의 활성을 측정된 결과 김치섭취량이 높을수록 SOD와 GSH-px의 활성이 높게 나타났다는 것에 미루어 항산화물질이 풍부한 김치의 섭취는 항산화효소계의 활성을 증가시켜 활성산소종의 생성을 억제시킨 것으로 보여진다(10).

김치식이의 간 균질액에 대한 조직 산화억제 효과 및 광산화에 미치는 영향

김치 식이를 20주간 섭취한 hairless mouse의 간 균질액에서의 지질산화 정도를 측정된 결과 대조군의 MDA 함량은 88.41±11.48 nmole/100 mg protein인 것에 비해 배추김치, 갓김치 및 부추김치섭취군의 MDA 함량은 각각 63.11±13.60, 55.15±21.00, 50.10±8.00 nmole/100 mg protein으로 김치 섭취에 의해 간의 지질과산화물의 함량이 유의적으로 낮게 나타났다(Fig. 2). 특히 갓김치군과 부추김치군의 지질

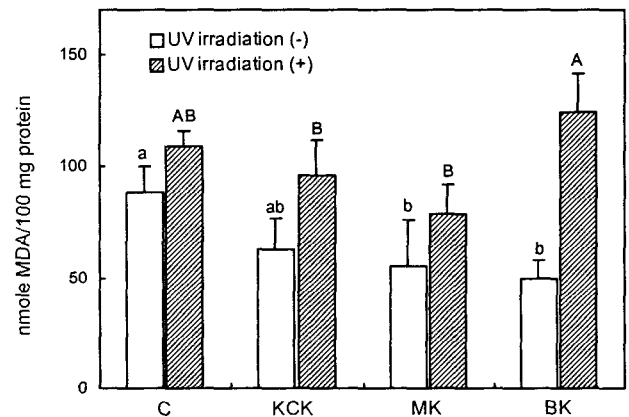


Fig. 2. Photosensitivity on lipid oxidation¹⁾ of liver homogenate of hairless mouse fed various kinds of kimchi diet for 20 weeks.

¹⁾Data are expressed as means±SD (n=6).
a,b,AB Means with the different letters are significantly different by Duncan's multiple range test (p<0.05).

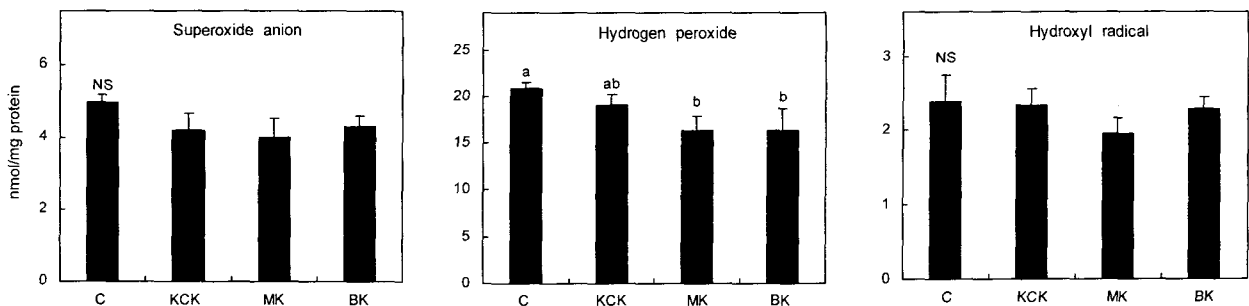


Fig. 1. Contents¹⁾ of reactive oxygen species in liver of hairless mouse fed various kinds of kimchi diet for 20 weeks.

¹⁾Data are expressed as means±SD (n=6).
NS Data are not significantly different among experimental groups.
a,b Means with the different letters are significantly different by Duncan's multiple range test (p<0.05).
C: Control group, KCK: Korean cabbage kimchi diet group, MK: Mustard leaf kimchi diet group, BK: Buchu kimchi diet group.

광산화물 생성 억제효과가 우수한 것으로 나타났다. 김치식이의 광산화에 대한 영향을 알기 위하여 간균질액에 자외선 B를 조사하였을 때에는 모든 군에서 TBARS 함량이 증가되었으며 대조군의 경우 109.12 ± 6.96 nmole/100 mg protein으로 조사전에 비해 지질과산화물이 23.4% 증가하였다(Fig. 2). 배추김치군과 갓김치군의 경우 자외선 조사후 96.38 ± 15.72 와 78.93 ± 12.80 nmole/100 mg protein으로 부추김치군에 비해 유의적으로 지질의 산화가 억제되었다. 그러나 부추김치군은 자외선 조사시 MDA 함량이 급증하여 124.29 ± 17.70 nmole/100 mg protein을 나타내어서 148% 증가하였고 대조군보다도 지질산화정도가 높은 것으로 나타났다.

간 균질액에서 단백질의 산화정도를 측정한 결과 대조군의 경우 7.41 ± 2.59 carbonyls nmole/mg protein으로 나타났고, 배추김치군의 경우 7.32 ± 2.23 , 갓김치군은 5.18 ± 2.00 , 부추김치군은 6.09 ± 1.64 carbonyls nmole/mg protein으로 유의적인 차이는 없었지만 대조군에 비해 각각 1.2, 30.1, 17.8% 감소하여 배추김치보다는 갓김치와 부추김치의 효과가 우수함을 알 수 있었다(Fig. 3). 자외선 조사시 모든 군에서 단백질 산화정도는 급격하게 증가하여 대조군의 경우 14.29 ± 2.77 carbonyls nmole/mg protein이었고, 배추김치군은 13.41 ± 2.82 , 갓김치군은 11.23 ± 2.82 , 부추김치군은 13.32 ± 2.77 nmole/mg protein이었다(Fig. 3). 김치섭취군들은 자외선 조사에 의한 광산화에 대해 뚜렷한 보호효과를 나타내지 않았고 부추김치군은 갓김치군에 비해 단백질의 광산화 정도가 높았다.

지질과 단백질은 생체막에 같이 존재하면서 서로 밀접한 관계를 유지하고 있으므로 세포의 산화상태를 알기 위해서는 지질과 단백질 산화를 같이 측정하는 것이 바람직하다. 김치식을 급여시켰을 때 간조직의 지질과산화물은 갓김치와 부추김치에 의해 크게 억제되었으며 이는 갓김치, 부추김치 중에 함유되어 있는 클로로필, β -카로텐, ascorbic acid

등의 항산화 관련물질들의 함량과 관련 있는 것으로 여겨진다. 배추김치의 총 클로로필 함량은 6.0 mg%인 반면 갓김치와 부추김치는 각각 130 mg%와 376.4 mg%로 특히 부추김치에서 월등히 높았으며 β -카로텐과 ascorbic acid는 갓김치에서 가장 높았고 다음이 부추김치, 배추김치의 순이었던 것으로 미루어 빛이 존재하지 않는 조건하에서는 클로로필을 포함한 항산화물질이 풍부한 부추 및 갓을 투여한 마우스 조직에서 효과적으로 지질과산화가 억제되어졌지만 자외선 조사에 의한 지질과산화 측정결과 클로로필 함량이 높은 부추의 지질과산화가 대조군보다 많이 증가되어진 것으로 보여진다. 클로로필은 녹색채소의 주색소로서 광선이 차단된 상태에서는 항산화작용 및 유리 라디칼 소거제로 작용하여 지방질의 산화를 방지하지만 광존재 하에서는 광증감제로 작용하여 지질의 광산화를 촉진시킨다고 잘 알려져 있어(35), 이러한 클로로필이 부추김치 중에 많이 함유되어 있었기 때문에 산화 촉진의 원인이 된 것으로 사료된다. 그러나 β -카로텐과 ascorbic acid는 자외선 B 조사에 대한 보호효과를 가지므로(36,37) 갓김치처럼 클로로필 함량은 다소 높더라도 β -카로텐과 ascorbic acid 함량이 높은 경우 이들이 지질의 광산화를 억제하는데 도움을 주었을 것으로 여겨진다.

김치식이의 피부 균질액에 대한 조직 산화억제 효과 및 광산화에 미치는 영향

김치 식이를 20주간 섭취한 hairless mouse의 피부 균질액에서의 지질산화 정도를 측정한 결과 대조군의 MDA 함량은 72.90 ± 7.50 nmole/100 mg protein인 것에 비해 배추김치, 갓김치 및 부추김치섭취군의 MDA 함량은 각각 58.78 ± 8.90 , 57.08 ± 6.20 , 51.48 ± 7.50 nmole/100 mg protein으로 측정되었다. 김치의 섭취에 의해 간의 지질과산화물의 함량은 대조군에 비해 19.4, 21.7, 29.4% 감소하였고 특히 부추섭취군의 경우 유의적으로 낮은 값을 나타내었다(Fig. 4). 피부 균질

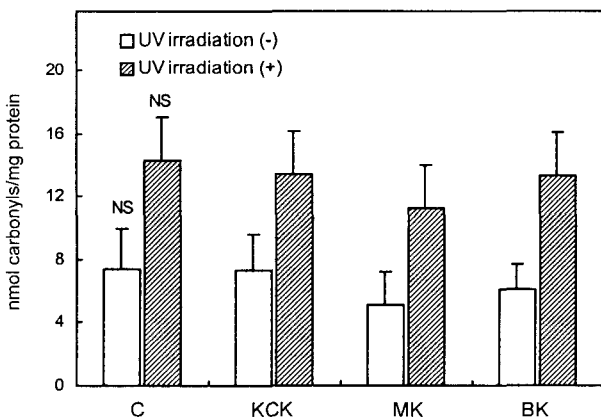


Fig. 3. Photosensitivity on protein oxidation¹⁾ of liver homogenate of hairless mouse fed various kinds of kimchi diet for 20 weeks.

¹⁾Data are expressed as means \pm SD (n=6).

^{NS}Data are not significantly different among experimental groups.

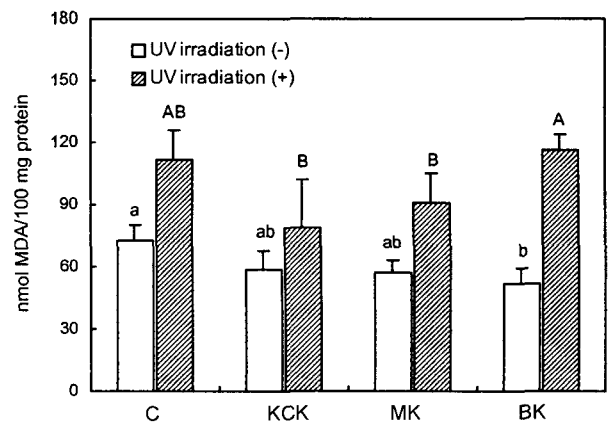


Fig. 4. Photosensitivity on lipid oxidation¹⁾ of skin homogenate of hairless mouse fed various kinds of kimchi diet for 20 weeks.

¹⁾Data are expressed as means \pm SD (n=6).

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

액에 자외선을 조사하였을 때에는 모든 군에서 지질과산화물 함량이 증가하였으며 대조군의 경우 111.5 ± 14.20 nmole/100 mg protein으로 조사전에 비해 지질과산화물이 53%나 증가하였다(Fig. 4). 간에서의 지질산화 결과와 유사하게 배추김치군과 갓김치군의 경우 자외선 조사후 MDA 함량은 78.94 ± 22.80 와 90.72 ± 14.00 nmole/100 mg protein으로 대조군에 비해 유의적으로 지질의 산화가 억제되었다. 그러나 부추김치군의 MDA 함량은 116.16 ± 7.40 nmole/100 mg protein으로 대조군의 지질산화정도와 유사한 것으로 나타났다(Fig. 4).

피부에서의 단백질의 산화는 대조군의 경우 24.18 ± 0.91 carbonyls nmole/mg protein으로 나타났고, 배추김치군의 경우 21.86 ± 1.36 , 갓김치군은 18.32 ± 0.82 , 부추김치군은 18.86 ± 0.82 carbonyls nmole/mg protein으로 유의적인 차이는 없었지만 갓김치와 부추김치는 대조군에 비해 단백질 산화를 감소시키는 효과를 나타내었다(Fig. 5). 자외선 조사시 피부의 단백질 산화정도는 모든 군에서 증가하여 대조군의 경우 30.82 ± 1.18 carbonyls nmole/mg protein이었고, 배추김치군은 26.32 ± 1.31 , 갓김치군은 21.82 ± 0.50 carbonyls nmole/mg protein으로 대조군에 비해 유의적인 차이는 없었으나 약간 감소하였다. 그러나 부추김치군은 자외선 조사시 단백질 산화를 나타내는 carbonyl 함량이 31.77 ± 0.64 nmole/mg protein으로 부추김치의 섭취는 광산화에 대한 보호효과를 나타내지 않았다(Fig. 5).

피부의 지질 및 단백질 산화에 대한 배추김치, 갓김치, 부추김치 섭취의 효과를 살펴본 결과 자외선을 조사하기 전에는 모든 김치군에서 지질과산화가 억제되었고 부추김치의 효과가 가장 우수한 것으로 나타났다. 간에서와 마찬가지로 자외선 조사 후 모든 군의 피부 균질액에서 지질 및 단백질 산화가 증가하였고 배추김치와 갓김치군에서는 대조군에 비해 산화가 억제되었으나 부추김치군에서는 증가하는 경향을

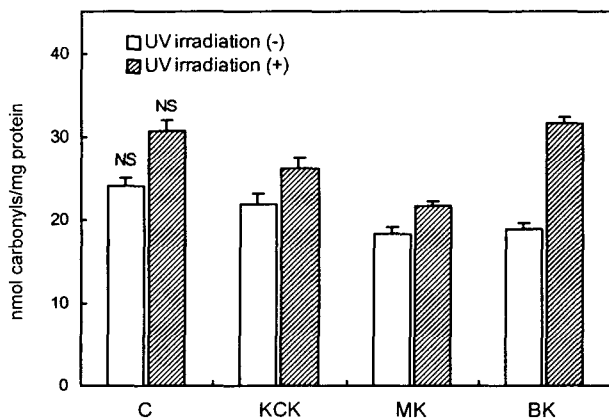


Fig. 5. Photosensitivity on protein oxidation¹⁾ of skin homogenate of hairless mouse fed various kinds of kimchi diet for 20 weeks.

¹⁾Data are expressed as means \pm SD (n=6).

^{NS}Data are not significantly different among experimental groups.

나타내었다. 피부의 노화를 일으키는 여러 가지 기전 중 가장 유용하게 이용되고 있는 유리기 이론은 반응성이 강한 유리기가 세포를 구성하는 단백질과 반응하여 세포의 기능을 상실시키고 피부의 노화를 가져오게 된다고 설명하고 있다(38). 내인적으로 생성되는 유리기와 더불어 외인적으로도 자외선, 방사능, 오존 등에 의해 유리기가 생성될 수 있으며 특히 피부의 경우 자외선 A나 자외선 B에 의한 광산화에 의해 피부변화가 일어날 수 있다(39). 특히 본 실험에서 산화적 스트레스를 주기 위해 사용한 자외선 B는 290 nm~320 nm의 파장을 가지며 피부화상, 세포사멸, 광과민증, 피부노화, 피부암 등을 유발할 수 있다(39). 따라서 김치 중에 함유되어 있는 항산화관련 물질들은 자외선 B에 대한 피부 보호효과를 나타내었으나, 클로로필 함량이 높은 부추김치의 경우에는 그다지 효과가 뚜렷하지 않았다. Lee 등(14)의 실험에서 마우스에게 2%와 5%의 부추를 12개월간 섭취시킨 후 피부 균질액에 자외선 B를 조사시킨 경우 부추의 섭취가 지질 및 단백질 산화를 유의적으로 억제시켰다. 그러나 본 실험에서는 부추김치 섭취군의 광산화가 오히려 증가되었고 이는 부추김치 첨가량이 전체 식이의 10%로 클로로필의 함량이 Lee 등의 실험보다 높았던 것과 숙성과정 중 생성된 산에 의한 클로로필의 구조변화에 의한 것이라 사료된다. 클로로필에서 피톨기와 마그네슘이 제거된 pheophorbide는 클로로필보다 더 쉽게 광산화를 유발한다고 보고되어 있으며(40) 이로 인해 부추김치 섭취군에서 자외선 조사시 광산화가 더 많이 유발되었을 수도 있었을 것이라 여겨진다. 따라서 클로로필의 구조에 따른 광산화 기작과 이를 보호하기 위한 β -카로틴과 ascorbic acid와 같은 항산화물질의 농도에 관한 연구가 더 진행되어야 할 것으로 보여진다.

요 약

김치에는 여러 가지 항산화 물질들이 많이 함유되어 있으므로 김치의 섭취는 생체조직의 노화 억제 효과가 있을 것으로 기대된다. 본 연구에서 배추김치, 갓김치, 부추김치를 동결건조하여 항산화물질의 함량을 측정하고 갓김치와 부추김치의 클로로필 함량이 가장 높았고 β -카로틴과 ascorbic acid 함량은 갓김치에서 가장 높았다. Hairless mouse에게 10% 동결건조 김치식을 공급하여 20주간 사육한 후 간에서 활성산소종의 생성량을 측정하고 superoxide anion과 hydroxyl radical 함량은 유의적인 차이가 없었고 hydrogen peroxide 함량은 갓김치군과 부추김치군에서 유의적으로 낮게 나타나 이들 김치가 활성산소를 소거하는데 효과가 있는 것으로 나타났다. 간 균질액에서 지질과산화물을 측정하고 대조군에 비해 김치섭취군에서 지질과산화가 낮게 나타났으며, 특히 갓김치와 부추김치군의 효과가 우수하였다. 피부에서 지질과산화물 함량은 김치섭취군들이 대조군보다 낮게 나타났으며, 부추김치가 유의적으로 지질과산화를 억제

하였다. 김치섭취가 광산화에 미치는 영향을 규명하기 위해 간 및 피부조직에 자외선을 조사한 후 조직산화 정도를 측정 한 결과 간과 피부의 지질과산화물 함량은 갓김치군과 배추 김치군에서 대조군보다 낮아졌으나 부추김치군에서는 높게 나타났다. 즉, 자외선 조사 후 갓김치군과 배추김치군은 대 조군보다 광산화가 억제되었으나 부추김치군에서는 산화가 촉진되었다.

감사의 글

본 연구는 농림부에서 시행한 1996~2001년 농림수산 특 정연구 사업지원에 의한 연구결과의 일부로 연구비 지원에 감사드립니다.

문 헌

- Cheigh HS. 1995. Biochemical characteristics of kimchi. *J East Asian Soc Dietary Life* 5: 89-101.
- Moon GS, Song YS, Jeon YS. 1996. A study on famous traditional kimchi in Pusan and near Pusan area. *Korean J Soc Food Sci* 12: 74-81.
- Cheigh HS, Kim JI, Min BT, Jeon JT, Kong YH, Hong JJ, Kim NY. 2002. Classification and review of the literatures on kimchi (III). Research bulletin of kimchi science and technology 8th ed. Kimchi Research Institute at Pusan National University, Korea. p 105-131.
- Park KY. 1995. The nutritional evaluation, and antimuta- genic and anticancer effects of kimchi. *J Korean Soc Food Nutr* 24: 169-182.
- Hwang JW, Song YO. 2000. The effects of solvent fractions of kimchi on plasma lipid concentration of rabbit fed high cholesterol diet. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 29: 204-210.
- Jeon HN, Kwon MJ, Song YO. 2002. Effect of kimchi sol- vent fractions on accumulation of lipids in heart, kidney and lung of rabbit fed high cholesterol diet. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 31: 814-818.
- Lee YO, Cheigh HS. 1995. Antioxidative effect of kimchi on the lipid oxidation of cooked meat. *J Korean Soc Food Nutr* 24: 1005-1009.
- Lee YO, Park KY, Cheigh HS. 1996. Antioxidative effect of kimchi with various fermentation period on the lipid oxi- dation of cooked ground meat. *J Korean Soc Food Nutr* 25: 261-266.
- Ryu SH, Jeon YS, Kwon MJ, Moon JW, Lee YS, Moon GS. 1997. Effect of kimchi extracts to reactive oxygen species in skin cell cytotoxicity. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 26: 814-821.
- Ryu SH, Kwon MJ, Song YO, Song YS, Moon GS. 2003. Effect of kimchi diet on antioxidative system of rat. *Inje J Inje Univ Korea* 18: 475-488.
- Kim JH, Kwon MJ, Lee SY, Ryu JD, Moon GS, Cheigh HS, Song YS. 2002. The effect of kimchi intake on production of free radicals and anti-oxidative enzyme activities in the liver of SAM. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 31: 109-116.
- Kim JH, Ryu JD, Lee HG, Park JH, Moon GS, Cheigh HS, Song YS. 2002. The effect of kimchi intake on production of free radicals and anti-oxidative enzyme activities in the brain of SAM. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 31: 117-123.
- Ryu SH, Jeon YS, Moon JW, Lee YS, Moon GS. 1997. Effect of kimchi ingredients to reactive oxygen species in skin cell cytotoxicity. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 26: 998-1005.
- Lee MJ, Ryu BM, Kim MH, Lee YS, Moon GS. 2002. Pro- tective effect of dietary buchu (Chinese chives) against oxi- dative damage from aging and ultraviolet irradiation in ICR mice skin. *Nutraceuticals & Food* 7: 238-244.
- Moon GS, Lee MJ. 2003. The long term effect of buchu (Chinese chives) diet on ROS formation in the liver and skin tissue of ICR mice. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 32: 444-449.
- Song ES, Jeon YS, Cheigh HS. 1997. Changes in chlo- rophylls and carotenoids of mustard leaf kimchi during fer- mentation and their antioxidative activities on the lipid oxi- dation. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 26: 563-568.
- Choi YS, Hwang JH, Kim JI, Jeon YS, Cheigh HS. 2000. Antioxidative activity of mustard leaf kimchi with optional ingredients. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 29: 1003-1008.
- Song ES, Jeon YS, Cheigh HS. 2001. Isolation of chlorophyll derivatives and β -carotene from mustard leaf and their antioxidative activities on the lipid autoxidation. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 30: 377-381.
- Hwang JH, Song YO, Cheigh HS. 2000. Fermentation char- acteristics and antioxidative effect of red mustard leaf kimchi. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 29: 1009-1015.
- Yu BP. 1996. Aging and oxidative stress: Modulation by dietary restriction. *Free Radical Biology & Medicine* 21: 651-668.
- Endo Y, Usuki R, Kaneda T. 1985. Antioxidant effects of chlorophyll and pheophytin on the autoxidation of oils in the dark. I. Comparison of the inhibitory effects. *JAOCS* 62: 1375-1378.
- Endo Y, Usuki R, Kaneda T. 1985. Antioxidant effects of chlorophyll and pheophytin on the autoxidation of oils in the dark. II. The mechanism of antioxidation action of chlorophyll. *JAOCS* 62: 1387-1390.
- Usuki R, Endo Y, Kaneda T. 1984. Prooxidant activities of chlorophylls and pheophytins on the photooxidation of edible oils. *Agric Biol Chem* 48: 991-994.
- Cheigh HS, Park KY. 1994. Biochemical, microbiological and nutritional aspects of kimchi (Korean fermented veg- etable products). *Criti Rev Food Sci Nutr* 34: 175-203.
- Cho EJ, Park KY, Rhee SH. 1997. Standardization of ingre- dient ratios of chinese cabbage kimchi. *Korean J Food Sci Technol* 29: 1228-1235.
- 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.
- Food Science Institute of Inje Univ. 1998. Development of leek processing technology and the formulation of leek- containing food products. In *Research Report of the Min- istry of Agriculture and Forestry*. Korea. p 126.
- Moon GS, Ryu BM, Lee MJ. 2003. Components and anti- oxidative activities of buchu (Chinese chives) harvested at different times. *Korean J Food Sci Technol* 35: 493-498.
- Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. 1979. Assay for lipid per- oxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem* 95: 351-358.
- Oliver CN, Ahn B, Moerman EJ, Goldstein S, Stadtman ER. 1987. Age-related changes in oxidized proteins. *J Biol Chem* 262: 5483-5492.
- Peterson GL. 1977. A simplification of the protein assay method of Lowry et al. which is more generally applicable. *Anal Biochem* 83: 346-356.
- Kim YP, Lee SC. 1987. Superoxide dismutase activities in the human skin. In *The biological role of reactive oxygen*

- species in skin*. Hayaishi O, Imamura S, Miyachi T, eds. University of Tokyo Press, Tokyo. p 225.
33. Homer SB. 1987. Potential involvement of free radical reactions in ultraviolet light-mediated cutaneous damage. *Photochem Photobiol* 46: 213-221.
 34. Yasuko S, Eric W, Lester P. 1993. Antioxidant defense mechanisms in murine epidermis and dermis and their response to ultraviolet light. *J Invest Dermatol* 100: 260-265.
 35. Endo Y, Usuki R, Kaneda T. 1984. Prooxidant activities of chlorophyll and their decomposition products on the photooxidation of methyl linolate. *J Am Oil Chem Soc* 61: 781-784.
 36. Bohm F, Edge R, Lange L, Truscott TG. 1998. Enhanced protection of human cells against ultraviolet light by antioxidant combinations involving dietary carotenoids. *J Photochem Photobiol B: Biol* 44: 211-215.
 37. Reddy GB, Nayak S, Reddy PY, Bhat KS. 2001. Reduced levels of rat lens antioxidant vitamin upon *in vitro* UVB irradiation. *J Nutr Biochem* 12: 121-124.
 38. Danno K, Horio T, Takigawa M, Imamura S. 1984. Role of oxygen intermediates in UV-induced epidermal cell injury. *J Invest Dermatol* 83: 166-168.
 39. Miyachi Y, Horio T, Imamura S. 1983. Sunburn cell formation is prevented by scavenging oxygen intermediates. *Clinical and Experimental Dermatology* 8: 305-310.
 40. Ravindra KP, Fuu YS, Adam BS, Thomas JD, Kevin MS. 1992. Structure/activity relationships among photosensitizers related to pheophorbides and bacteriopheophorbides. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 2: 491-496.

(2003년 9월 18일 접수; 2003년 12월 20일 채택)