

병포장 갓김치의 항산화 효과에 대한 연구

김복남

한림성심대학 관광외식조리과

Antioxidation Activities of Bottled Mustard Leaf *Kimchi* during Fermentation

Bog-Nam Kim

Dept. of Tourism Food Service Cuisine, Hallym College

Abstract

Mustard Leaf *Kimchi* (MLK) is a traditional fermented Korean vegetable food. This study was conducted to investigate the effects of part vacuum treatment on MLK packed in a glass bottle during fermentation. There have been a few previous studies that examined the chemical and microbial changes during MLK fermentation. However, the major object of this study was to investigate the antioxidative activities of vacuum treated MLK. In this study, the antioxidative activity of vacuum treated mustard leaf *Kimchi* (VM) and control mustard leaf *Kimchi* (CM) were examined. VM and CM were fermented at 5°C for 8 weeks. A model system was designed to evaluate the antioxidative activity of crude chlorophylls and carotenoids (CCC) extracts from Mustard leaf *Kimchi*. The oxidative reaction of the linoleic acid mixture system at 30°C in the dark was quantified determining the peroxide value and conjugated dienoic acid content. The effect of the CCC extracts on lipid peroxidation in a rat liver homogenate was examined. Formation of lipid peroxides was estimated by the TBA value, and the CCC extracts were found to inhibit the TBA value. Chlorophyll a and b, and carotenoids, which are the major components in the CCC extracts of *Kimchi* were isolated on a DEAE-sepharose CL-6B and Sepharose CL-6B column and TLC. The effects of chlorophyll a and b, carotenes on linoleic acid autoxidation were measured by determining the peroxide value. In addition, their effects on free radical scavenging were investigated by DPPH. In this assay, chlorophyll a showed the greatest antioxidative activity followed by chlorophyll b, and carotenoids. MLK contains a sufficient content of chlorophyll a and b, and carotenoid which have strong antioxidative activities.

Key words : Mustard leaf *Kimchi*, fermentation, antioxidation.

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 항산화 성분(Cho *et al* 1993a, 1993b), 항균 성분(Kang *et al* 1995, Kang 1995a, 1995b, Park *et al* 1995) 등이 함유되어 있다. 이들 성분 중 일부는 갓김치의 젖산균 등의 미생물군에 항균 작용을 발휘하므로 김치 발효를 지연시키며(Park *et al* 1995, Chun *et al* 1995), 김치의 조기 산패를 방지하여 저장성을 향상시켜 준다(Park & Han 1994). 특히 항산화 작용이 있는 것으로 알려진 chlorophylls, β -carotenoids, ascorbic acid 등을 다량 함유하고 있다. 또한 다른 경엽 채소류에 비하여 재료 자체의 색채 및 색소 안정성이 우수하며, 칼슘, 칼륨 등의 함량이 높아 무기질 급원으로도 중

요하다(Cho *et al* 1993). 갓김치에 대한 연구로는 갓김치 자체의 항산화 작용 및 주요 색소 성분인 chlorophylls와 carotenoids의 항산화성에 대한 연구(Song *et al* 1997, Choi *et al* 2000, Hwang *et al* 2000, Cheig HS 2003)뿐만 아니라 갓김치의 기능성 및 품질을 향상시키기 위한 연구로 갓김치의 녹차 및 늙은 호박 분말 첨가에 따른 발효 특성(Park *et al* 2001), 돌산갓김치의 저온 저장 중 품질 특성 변화(Kim *et al* 2006) 등이 있다. 김치 포장과 관련하여 주요하게 고려되어야 할 사항은 김치의 발효 숙성 시 관여하는 이상 젖산균인 *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). 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, 기준 담금 방법에 의하여 담금 한 갓김치 180 g을 내부 압력이 조정되는 유리병(250 mL 용량)에 주입하여 상압 및 진공(533 mm

* Corresponding author : Bog-Nam Kim, Tel : +82-10-4323-2146, E-mail : bnkim1024@hanmail.net

Hg)으로 밀봉하면서, 이를 5°C 저온에서 8주간 저장하면서 갓김치의 발효 양상 및 항산화성 등을 살펴보았다.

재료 및 방법

1. 재료 및 포장 용기

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

2. 김치 담금 및 포장

잎 30, 줄기 70의 비율로 200 g을 취하였다. 갓을 흐르는 물에 깨끗이 씻은 후 2×3 cm로 세절하여 망사에 담았다. 절인 갓의 염도가 2.0±1%가 되도록 15% 소금물 용액에 망사에 담은 갓을 2시간 절인 다음(1시간 후 아래위의 위치 바꿈) 물로 2회 씻어서 30분간 물기를 뺀 후 polyethylene bag에 넣어 양파 8 g, 마늘 4 g, 고춧가루 4 g, 생강 2 g, 설탕 2 g의 양념을 넣고 비닐장갑을 낀 손으로 잘 혼합하였다. 이러한 방법으로 담근 김치 180 g을 취하여 250 mL 부피의 유리병에 넣어 감압(533 mmHg) 배기가 되도록 설계된 밀봉기로 포장하여 진공 병포장 갓김치를 준비하였고, 상압 병포장 갓김치는 상압 조건에서 포장하여 갓김치 전용 저장고인 5±1°C 저온 저장고에서 0주부터 8주간 발효시키면서 주 단위로 각 sample을 0(Initial mustard leaf Kimchi, 0주), VM-1(Vacuum treated mustard leaf Kimch, 1주 발효), VM-2, VM-3, VM-4, VM-5, VM-6, VM-7, VM-8, CM-1(non-vacuum treated mustard leaf Kimchi, 1주 발효), CM-2, CM-3, CM-4, CM-5, CM-6, CM-7, CM-8로 준비하였다. 단발효 숙성이 필요 없는 담금 당일의 갓김치는 -20°C를 유지하는 냉동고에 보관하면서 사용하였고, 실험 방법상 필요한 건조시료의 제조는 각 발효시기에 동결 건조기(Freeze Dryer-5, Il Shin CO., Korea) 이용하여 동결 건조시킨 후 마쇄하여 병에 넣어 질소 gas로 충전한 뒤 -20°C 냉동고에 넣어 보관하면서 사용하였다. 이와 같이 제조한 갓김치는 단백질 2.5%, 조지방 0.5%, 조회분

1.9%, 수분 함량은 86.4%였다.

3. 갓김치의 항산화 반응물 조제

1) 우육 반응물의 조제

갓김치의 우육 지방질에 대한 항산화성을 살펴보기 위해 한우 우둔육을 chopper에 갈아 전자레인지로 1분간 가열하여 가열 우육(cooked ground meat)을 조제하였다. 시료 우육의 수분 함량은 74.6%, 조지방은 2.0%, 조단백질은 21.5%였다. 각 조건별로 포장하여 발효 숙성시킨 갓김치를 Homogenizer(AM, Nihonseki Kaisha, Japan)로 2분간 마쇄한 뒤 사용하였다. 즉 petri dish(10 cm diameter)에 cooked ground meat(CGM) 10 g 과 갓김치와 동일한 염농도인 2.0±1%의 소금물 10 mL를 섞은 균(CGM-B), CGM 10g에 진공 포장하여 0, 2, 4일 발효 숙성시킨 뒤 마쇄한 갓김치 10 g을 섞은 균(CGM-VM-0, CGM-VM-2, CGM-VM-4), CGM 10 g에 상압 포장하여 2일 발효 숙성시킨 뒤 마쇄한 갓김치 10 g을 섞은 균(CGM-CM-2)등 5개의 sample을 조제하여 model system으로 사용하였다. 조제된 각 시료의 함유 지방질에 대한 산화 양상은 각 시료를 4°C에서 5주간 반응시키면서 TBA가로 분석하여 살펴보았다.

2) 갓김치 추출물의 조제

물 추출물은 春日郭子 *et al*(1998) 방법에 따라 조제하였다. 즉, 건조 시료 10 g에 150 mL의 증류수를 넣고 30분간 100°C의 water bath에서 3회 반복추출한 후 Whatman filter paper No.42로 여과한 뒤 추출물을 1,000 mL로 하여 peroxide value를 측정하였으며, 핵산 추출은 春日郭子 *et al*(1998)과 Pratt *et al*(1982) 등의 방법에 따라 건조 시료 5 g에 15 mL의 핵산을 넣고, Soxhlet 추출기로 3회 반복 추출한 후 추출물 에탄올에 녹여 항산화능을 peroxide value로 측정하였다.

3) 갓김치의 Crude Chlorophylls-Carotenoids(CCC)분획물에 대한 항산화반응물의 조제

각 조건별로 포장하여 발효 숙성시킨 뒤 냉동 건조 분말한 갓김치를 AOAC법(1985)에 따라 acetone-diethyl ether로 추출하여 crude chlorophylls와 carotenoids(CCC) 분획을 얻었다. 갓김치 CCC 분획의 지방질에 대한 항산화력을 BHA와 비교하여 살펴보았으며, 지방질은 linoleic acid를 사용하였다. 즉, linoleic acid에 CCC 분획, BHA를 각각 0.02% 농도가 되도록 하고 각 시료를 광선을 차단하기 위해서 알루미늄박으로 싸여진 20 mL screw cap vial에 10 mL씩 넣어 30°C로 유지된 항온기에 저장하면서 총 16일간 반응시켰으며, 4일마다 과산화물가, conjugated dienoic acid 함량, chlorophylls 및 carotenoids의 함량을 측정하였다.

4. 병포장 갯김치의 주요 성분 분석

1) 진공도, pH 및 총산도, 환원당 및 염도

진공도, pH 및 총산도, 환원당 및 염도는 전보와 같은 방법으로 실험 분석하였다.

2) Thiobarbituric Acid(TBA) Value 측정

TBA는 Tarladgis *et al*(1960)의 방법으로 측정하였다. 즉, 조제한 갯김치의 model system 시료를 모두 blender에 취하고 물 50 mL를 섞어 2분간 파쇄한 후 500 mL round flask에 옮겨, 물 47.5 mL와 4N 염산 2.5 mL를 가하고 silicon oil을 flask 입구에 발라준 후 증류 장치에 연결하여 증류액 50 mL를 취한 후 TBA시액 5 mL를 가해 boiling water bath상에서 35분간 가열한 후 흐르는 물에서 식혔다. Spectrophotometer (Shimadzu, UV-2100, Japan) 538 nm에서 흡광도를 측정하고 이 값에 7.8을 곱하여 TBA가로 하였으며, 3회 반복하여 평균치를 구하였다.

3) Peroxide Value 측정

과산화물 측정은 Ferric-thiocyanate 방법(Mitsuda *et al* 1966, Inatani *et al* 1983)으로 하였다. 즉, 일정 농도의 시험액(에탄올에 용해) 2 mL와 2.5% linoleic acid(에탄올에 용해) 2 mL를 vial에 넣고 여기에 0.01M phosphate buffer(pH 7.0) 4 mL 그리고 증류수 2 mL를 넣어서 혼합하여 빛이 차단된 상태에서 37°C의 항온조내에서 4일간 경과 한 후 생성된 혼합액 0.1 mL를 취하여 75% 에탄올 4.7 mL와 30% ammonium thiocyanate 0.1 mL를 첨가하였다. 이 반응 혼합물에 0.02M ferrous chloride(3.5% 염산 용액에 용해) 0.1 mL를 넣고 정확히 3분 후 반복하여 500 nm에서 흡광도를 측정하여 과산화물의 생성을 측정하였으며, 3회 반복 실험하여 평균치를 구하였다.

4) Conjugated Dienoic Acid 함량 측정

Conjugated dienoic acid는 AOCS법(1980)으로 측정하였다. 즉, 0.2 g의 시료 유지에 isooctane 100 mL를 가하여 녹이고 충분히 흔들어 준 뒤 233 nm에서 흡광도를 측정하여 아래 식에 의하여 산출하였다.

$$\text{Conjugated dienoic acid \%} = 0.84(\text{As}/\text{bc}-\text{K})$$

$$\text{K : Absorpting by acid or ester groups} = 0.07 \text{ for esters} \\ = 0.03 \text{ for acids}$$

$$\text{As : Observed absorbaney at 233 nm}$$

$$\text{b : Cell length in centimeters}$$

$$\text{c : Concentration of sample in grams per liter of the final} \\ \text{dilution used for the absorption measurement}$$

5) Chlorophyll a, Chlorophyll b 및 Carotenoids의 항산화 작용 특성 실험

냉동 건조시킨 갯김치 10 g을 200 mL acetone, 0.5 g Na₂HPO₄로 추출하여 흡인 여과한 후 30 mL의 dioxane을 acetone 추출액에 첨가한다. 여기에 증류수 약 30 mL를 녹색 침전물이 보일 때까지 조금씩 떨어뜨린 후 -20°C에서 1시간 방치하여 원심 분리에 의해서 녹색 침전물을 모아서 ethanol에 녹여 불순물을 제거하고 감압 농축시켜 crude chlorophyll 분획을 얻었다(Iriyama *et al* 1974). Crude chlorophyll을 DEAE-Sephrose CL-6B와 Sepharose CL-6B column chromatography에 의해서 pheophytins와 carotenoids를 제거하고 chlorophyll a, chlorophyll b를 전개 용매를 달리하여 차례대로 분리하였다(Omata & Murata 1983). 한편, 냉동 건조시킨 갯김치 20 g을 100 mL acetone으로 추출하여 흡인 여과 한 다음 60% KOH로 24시간 검화하여 얻은 carotenoids(AOAC 1990)는 petroleum ether에 녹여서 TLC plate(Silicagel G, Merck Co)에 line spotting 하여 acetone : PE = 3:7의 전개 용매로 분리하였다.

6) 유리기 소거능

수소공여성에 의한 유리기 소거능은 Endo *et al*(1985a, 1985b)의 방법에 의하는데, free radical인 α, α' -diphenyl- β -picrylhydrazyl(DPPH)을 이용하여 chlorophyll a, chlorophyll b, carotenoids의 수소공여성을 측정하여 항산화력을 측정하였다. 즉, DPPH 16 mg을 100 mL ethanol에 용해한 후 여기에 증류수 100 mL를 혼합하여 Whatman filter paper No.2로 여과하고, 이 여액 5 mL에 chlorophyll a, chlorophyll b, carotenoids 및 BHA, 1 mL를 각각 혼합한 후 528 nm에서 흡광도의 감소를 측정하여 수소공여성을 측정하였다.

5. 통계처리

대조군과 각 시료로부터 얻은 실험 자료로 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. 병포장 발효 갯김치의 항산화성

1) 병포장 발효 갯김치의 항산화성

병포장 갯김치의 항산화성에 대한 효과를 보기 위해 가열 우육에 갯김치를 첨가하여 4°C에서 5주간 저장하면서 538 nm에서 TBA가를 측정하여 항산화 효과를 살펴보았다. Table 1에서 보는 바와 같이 진공 병포장 갯김치와 상압 병포장 갯김치 모두 가열 우육에 대한 TBA가가 1.3~3.8로 낮았으며, 두 그룹간의 큰 차이는 없었다. 가열 우육에 0, 2, 4주간

Table 1. Changes of TBA values of model systems of cooked ground meat and bottled mustard leaf *Kimchi* of different fermentation time for lipid oxidation stored 4°C for 5 weeks.

Reactron time 4°C (week)	TBA values			
	CGM ³⁾ -B ²⁾	CGM ³⁾ -VM-0 ³⁾	CGM-VM-2 ³⁾	CGM-VM-4 ³⁾
0	0.3	0.3	0.3 ^b	0.3
1	7.4	1.8 ^d	1.5 ^d	1.3
2	8.5	2.0 ^d	1.7 ^d	1.5 ^d
3	9.3	2.5 ^{bcd}	2.3 ^d	1.8 ^d
4	12.9	2.9 ^{bd}	2.5 ^{cd}	2.3 ^d
5	13.7	3.8 ^a	3.3 ^{bc}	3.0 ^{bc}

^{a-f} Means with different letters are significantly different at the 0.05 level.

¹⁾ Brine solution (2.1%).

²⁾ Fermented for 0, 2, 4 weeks.

³⁾ CGM : Cooked ground meat.

⁴⁾ VM : Vacuum treated mustard leaf *Kimchi*.

발효시킨 CGM-VM-0, CGM-VM-2, CGM-VM-4 진공 병포장 갓김치를 첨가하여 발효 기간에 따른 항산화성을 살펴본 결과 우육 반응물에 대한 각 반응 시간별 TBA는 각각 발효 기간이 길수록 낮았으며 유의적인 차이가 인정되었다($p < 0.05$). 이는 phenol 화합물은 lipoxigenase와 peroxidase 활성을 억제한다는 보고가 있으며(Takahama 1985, Yasumoto *et al* 1970), 절여진 채소가 저장 기간이 길어질수록 phenolic compound가 증가하였다는 결과가 보고되었다(Uda *et al* 1988, Hemada & Klein 1990). 또한 Lee & Choi(1995)는 갓김치의 발효 기간이 길어질수록 phenolic compound가 증가한다고 하였다. 이와 같은 점으로 미루어 본 실험에서도 산화 안정성과 관련이 있는 phenolic compounds가 갓김치의 발효 숙성 기간이 길어질수록 증가되어 쇠고기의 지방질 산화를 억제하였다고 생각되어진다. 또한 Table 2는 가열 우육에 2주간 발효시킨 진공 병포장 갓김치의 농도를 3%, 5%, 10% 첨가하였을 때의 항산화성을 살펴보았는데, 이는 Lee & Choi(1995)와 Song *et al*(1997)의 결과와 같은 양상을 보였다. 갓김치의 첨가량이 많을수록 TBA가 낮아 항산화성 효과가 좋을 수 있었다. 이에 따라 갓의 첨가 농도가 높을수록 항산화 작용이 증가함을 알 수 있었고 비교적 많은 양을 섭취할 수 있는 갓김치는 기능성 식품으로서의 의의를 갖게 된다.

2) 추출 용매별 갓김치 추출물의 항산화성

발효 2주된 진공 병포장 갓김치 및 상압 병포장 갓김치를

물과 hexane으로 각각 추출하여 각 추출물의 항산화 효과를 linoleic acid와의 산화반응에 대한 과산화물 생성 저해능으로 살펴본 결과는 Table 3과 같다. 병포장 갓김치의 물추출물은 추출물의 농도가 높아질수록 peroxide 값이 낮았으며 유의적인 차이가 있었다($p < 0.05$). 항산화 효과는 포장법에 따라서는 큰 차이가 없었다. 또한 병포장 갓김치의 hexane 추출물은 물 추출물보다 항산화 효과는 크며, 이는 갓 자체에 상

Table 2. TBA values of model systems with different level of mustard leaf *Kimchi* in cooked ground meat during storage for lipid oxidation at 4°C for 5 weeks.

Model system ¹⁾	TBA value	Relative level(%)
CGM-B ²⁾	14.8 ^a	100.0
CGM-VM ⁴⁾ -2 ³⁾ (3) ⁴⁾	5.9 ^b	39.9
CGM-VM ⁴⁾ -2 ³⁾ (5) ⁴⁾	5.3 ^b	35.8
CGM-VM ⁴⁾ -2 ³⁾ (10) ⁴⁾	2.4 ^c	16.2

^{a-c} Means with different letters are significantly different at the 0.05 level.

¹⁾ B : brine solution.

²⁾ 2 : fermented for 2 weeks.

³⁾ (3), (5), (10) : 3%, 5%, 10% VM.

⁴⁾ VM : Vacuum treated mustard leaf *Kimchi*.

Table 3. Effect of water & hexane extract of bottled mustard leaf *Kimchi* on the peroxide formation during the autoxidation of linoleic acid mixture at 37°C for 4 days

Extract	Addition level(%)	Peroxide formation(Abs. at 500 nm)	
		VM ³⁾ -2 ¹⁾	CM ⁴⁾ -2 ¹⁾
Water	No addition	2.5±0.20 ^a	2.5±0.22 ^a
	0.05	2.1±0.08 ^{ab}	2.0±0.10 ^{ab}
	0.10	1.6±0.12 ^{bc}	1.8±0.21 ^b
	0.50	1.1±0.21 ^c	1.0±0.08 ^c
	1.00	0.7±0.09 ^c	0.9±0.14 ^c
Hexane	No addition	2.6±0.10 ^a	2.6±0.10 ^a
	0.05	0.2±0.01 ^b	0.4±0.03 ^b
	0.10	0.3±0.03 ^b	0.3±0.04 ^b
	0.50	0.4±0.02 ^b	0.4±0.03 ^b
	1.00	0.4±0.01 ^b	0.4±0.02 ^b

^{a-c} Means with different letters are significantly different at the 0.05 level.

¹⁾ 2 : Fermented for 2 weeks.

²⁾ Mean±S.D.

³⁾ VM : Vacuum treated mustard leaf *Kimchi*.

⁴⁾ CM : Control mustard leaf *Kimchi*.

당량 함유되어 있는 chlorophyll과 carotenoids 성분이 지용성으로 hexane 추출물에 더 많이 추출된 영향으로 생각되어진다. 추출물의 농도별 효과는 명확하지 않고 오히려 진공 병포장 갖김치의 경우 농도가 높을수록 항산화 효과가 다소 떨어지는 경향이였다. 이는 핵산의 추출물에 chlorophyll과 carotenoid 이외에 기타 지용성 성분이 유출되고, 이들이 산화에 영향을 받은 것으로 생각되어진다. 용매의 종류 및 극성도에 따라 추출물질이 달라지며 항산화 효과가 차이가 있다(Pratt & Watts 1964, Lee YJ *et al* 1993). 녹차의 경우 물추출물에서 항산화 성분이 검출되기도 했다(Lee & Shin 1993). 채소를 뜨거운 물로 추출한 것은 지방의 산화를 지연시키는데 효력이 있다는 보고가 있다(Patt & Watts 1964).

2. 병포장 갖김치의 Crude Chlorophyll 및 Carotenoids (CCC) 분획의 항산화성

1) 과산화물가와 Conjugated Dienoic Acid 형성의 억제
병포장 갖김치의 chlorophylls와 carotenoids가 지방질의 자동 산화에 대한 영향을 알아보기 위해 병포장 갖김치로 부터 crude chlorophylls carotenoids(CCC) 분획을 조제하여 0.02%의 농도로 linoleic acid에 첨가하여 암소에서 30℃로 유지된 항온기에서 저장하면서 4일 간격으로 16일까지 peroxide values를 측정하였고, 그 결과는 Table 4와 같다. 2주간 발효시킨 진공 병포장 갖김치와 상압 병포장 갖김치의 CCC 분획의 peroxide value를 비교한 결과는 두 그룹 모두 항산화 효과가 있었으며 진공 병포장 갖김치의 CCC 분획이 다소 높았다. 0, 2주, 4주 발효한 진공 병포장 갖김치의 CCC의 발효 기간별

peroxide value를 비교한 결과로써 발효 기간이 길수록 항산화 효과가 미미하나 약간 높았다. 또한 갖김치의 CCC 분획과 항산화제 BHA와의 항산화성을 비교한 결과로써 BHA에는 미치지 못하지만 갖김치의 CCC 분획은 비교적 높은 항산화성을 보여주었다. 한편, Endo *et al*(1985)은 chlorophyll a, b, pheophytin a, b의 순으로 지방질의 자동산화에 대한 항산화성이 높다고 하였다. Table 5는 같은 지방질의 자동산화시스템에서 2주간 발효시킨 진공 병포장 갖김치 및 상압 병포장 갖김치의 CCC 분획의 conjugated dienoic acid 함량을 측정하였다. 두 그룹 모두 항산화 효과가 있었으며, peroxide value의 결과와 일치하였다. 항산화 효과의 차이는 미미하지만 유의적으로 나타났으며($p<0.05$), 진공 병포장 갖김치가 항산화성이 다소 높은 것으로 나타났다.

2) Rat Liver Homogenate에 대한 항산화성

조제한 rat live homogenate에 산화 촉진제인 FeSO₄ 및 ascorbic acid를 첨가하고, 여기에 갖김치의 CCC 분획을 첨가하여 생체 온도인 37℃에서 반응시켰을 때 TBA가를 측정하여 항산화제인 BHA와 비교하였을 때 그 결과는 Table 6과 같았다. TBA가는 0.12, 0.18, 0.20, 0.27로 항산화제인 BHA는 0.02, 0.05, 0.06, 0.07로 나타나, 갖김치의 CCC 분획은 생체 단위인 rat liver homogenate에서 BHA에는 못 미치지만 TBA가 매우 낮게 나타났다.

3. 병포장 갖김치의 Chlorophyll a, b 및 Carotenoids의 항산화성

갖김치 담금 직후 및 발효 적기 그리고 발효 후기의 주요

Table 4. Changes of peroxide values during the autoxidation of linoleic acid mixture with the addition of crude chlorophylls and carotenoids extract(CCC) of bottled mustrad leaf *Kimchi* at 30℃ for 16 days in dark

Reaction time(days)	Peroxide value (meg/kg)					
	Without CCC ³⁾ ex.		CCC ³⁾ ex. addition ¹⁾			BHA
	CM ⁵⁾ -2 ²⁾	MLK ⁴⁾ -0 ²⁾	CM ⁵⁾ -2 ²⁾	VM ⁶⁾ -2 ²⁾	VM ⁶⁾ -4 ²⁾	
4	4.3±0.06 ^a	3.3±0.15 ^b	2.0±0.10 ^b	2.2±0.12 ^b	2.8±0.10 ^{b8}	0.3±0.06 ^b
8	26.2±0.20 ^a	5.6±0.06 ^b	5.3±0.06 ^b	4.7±0.06 ^b	4.0±0.06 ^b	2.4±0.12 ^b
12	77.8±0.10 ^a	45.1±0.10 ^b	43.8±0.06 ^b	42.4±0.06 ^b	40.3±0.12 ^b	3.6±0.06 ^b
16	204.5±0.20 ^a	86.2±0.06 ^b	84.3±0.06 ^b	83.6±0.30 ^b	79.4±0.17 ^b	5.9±0.06 ^b

^{a-d} Means with different letters in a row are significantly different at the 0.05 level.

¹⁾ Each extract(ex.) of CCC from fermented MLK was added as level of 0.02% respectively.

²⁾ Fermented MLK for 0, 2, 4 weeks.

³⁾ CCC : Crude chlorophylls and carotenoids extract.

⁴⁾ MLK : Mustrad leaf *Kimchi*.

⁵⁾ CM : Control mustard leaf *Kimchi*.

⁶⁾ VM : Vacuum treated mustard leaf *Kimchi*.

Table 5. Changes in the formation of conjugated dienoic acid during the autoxidation of linoleic acid mixture with the addition of crude chlorophylls and carotenoids(CCC) extract of bottled mustrad leaf *Kimchi* at 30°C for 16 days in dark

Reaction time(day)	Without CCC ³⁾ ex.	CCC ³⁾ ex. addition ¹⁾	
	CM ⁴⁾ -2 ²⁾	VM ⁵⁾ -2 ²⁾	CM ⁴⁾ -2 ²⁾
0	0.32±0.02 ^c	0.32±0.02 ^c	0.32±0.01 ^c
4	0.64±0.01 ^b	0.50±0.01 ^b	0.52±0.01 ^b
8	0.75±0.01 ^b	0.57±0.01 ^b	0.60±0.01 ^b
12	1.28±0.01 ^{ab}	0.80±0.01 ^{ab}	0.82±0.01 ^{ab}
16	2.32±0.01 ^a	1.20±0.02 ^a	1.22±0.02 ^a

^{a-c} Means with different letters are significantly different at the 0.05 level.

¹⁾ Each extract(ex.) of CCC from 2 weeks fermented MLK was added as level of 0.02% respectively.

²⁾ Fermented for 2 weeks.

³⁾ CCC : Crude chlorophylls and carotenoids extract.

⁴⁾ CM : Control mustard leaf *Kimchi*.

⁵⁾ VM : Vacuum treated mustard leaf *Kimchi*.

Table 6. Changes in TBA of crude chlorophylls and carotenoids extract(CCC) of mustrad leaf *Kimchi* on the lipid peroxidation in rat liver homogenates at 37°C for 50 minutes.

Reaction time(min)	TBA values		
	Control	CCC ²⁾ ex. ¹⁾	BHA ¹⁾
0	0.00	0.00	0.00
10	0.33 ^b	0.12 ^b	0.02 ^b
20	0.49 ^b	0.18 ^b	0.05 ^b
30	0.62 ^a	0.20 ^b	0.06 ^b
40	0.74 ^a	0.27 ^b	0.07 ^b

^{a-b} Means with different letters are significantly different at the 0.05 level.

¹⁾ Each treatment was added as level of 0.02% respectively.

²⁾ CCC : Crude chlorophylls and carotenoids extract.

한 성분인 chlorophyll a, b 및 carotenoid를 분리하여 이들의 수소공여성을 DPPH을 이용하여 기존의 항산화제인 BHA를 대조군으로 하여 실험한 결과는 Table 7과 같다. BHA는 수소공여성이 0.25~0.24, chlorophyll a는 0.24~0.23, chlorophyll b는 0.26~0.25의 범위로 수소 공여성의 차이는 크지 않았지만 chlorophyll a > BHA > chlorophyll b > carotenoids의 순이었다. 또한 carotenoids는 수소 공여성이 0.76~0.73으로 chlorophyll에 비해 33%의 효과가 있었다.

Table 7. Changes in the free radical level of chlorophyll a(CHL-a), CHL-b and carotenoids determined by DPPH¹⁾ method

Reaction time(min)	Free radical level			
	BHA ²⁾	CHL-a ²⁾	CHL-b ²⁾	Carotenoids ²⁾
0	1.72±0.01 ^a	1.72±0.03 ^a	1.72±0.02 ^a	1.72±0.02 ^a
5	0.25±0.01 ^c	0.24±0.01 ^c	0.26±0.04 ^c	0.76±0.01 ^b
10	0.24±0.02 ^c	0.23±0.02 ^c	0.25±0.02 ^c	0.74±0.01 ^b
15	0.24±0.02 ^c	0.23±0.02 ^c	0.25±0.02 ^c	0.73±0.02 ^b
20	0.24±0.02 ^c	0.23±0.02 ^c	0.25±0.04 ^c	0.73±0.25 ^b
25	0.24±0.00 ^c	0.23±0.01 ^c	0.25±0.03 ^c	0.73±0.04 ^b
30	0.24±0.02 ^c	0.23±0.02 ^c	0.25±0.02 ^c	0.73±0.01 ^b

^{a-c} Means with different letters are significantly different at the 0.05 level.

¹⁾ DPPH : α, α' -Diphenyl- β -picrylhydrazyl.

²⁾ Each fraction was added 0.01% respectively.

요약 및 결론

암소에서 실시한 우육 지방질의 자동산화 system에서 병포장 갓김치의 TBA가는 진공 및 상압의 포장 방법에 따라서는 두 그룹간의 큰 차이는 없었으며, 갓김치의 발효 숙성기간이 길수록, 갓김치의 첨가량이 많을수록 낮게 나타나 유의성을 보였다($p < 0.05$). 추출 용매에 따른 갓김치 추출물의 peroxide value(PV)는 병포장 갓김치의 물 추출 및 hexane 추출물 모두 매우 낮아 항산화성이 있는 것으로 유의성을 보였다($p < 0.05$). Hexane 추출물의 PV가 더 낮았다. 또한 hexane 추출물은 갓김치의 농도가 낮을수록 물 추출물은 농도가 높을수록 PV가 낮게 나타났다. 갓김치의 CCC 분획은 암소에서 실시한 지방질의 자동산화 system에서 peroxide value가 항산화제인 BHA보다는 다소 높았으나 전반적으로는 PV값이 매우 낮았다. 발효 숙성 기간이 길수록 PV가 더 낮았으며, conjugated dienoic acid의 생성을 억제하는 작용을 하였으며, 진공 병포장 갓김치가 상압 병포장 갓김치보다 항산화 효과가 더 좋았다. 또한 생체 조직인 rat liver homogenate에 대한 지방질 산화에서도 TBA가가 BHA보다는 높았으나, 전반적으로는 TBA가가 낮은 양상을 보여 갓김치의 CCC 분획이 항산화성이 있음을 보여주었다.

문헌

채서일, 김범중 (1989) SPSS/PC+를 이용한 통계분석. 범문사. pp 66.

- AOAC (1985) *Official Methods of Analysis* 14th ed. Association of official analytical chemists, Washington DC. USA.
- AOAC (1990) *Official Methods of Analysis* 15th ed. Association of official analytical chemists, Washington DC. USA
- AOCS (1980) *Official and Tentative Method* 2nd ed. Method Ti al. Am Oil Chem Soc Chicago. USA.
- Cheig HS (2003) Antioxidative activities of anthocyanins in red mustard leaf *kimchi*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 32: 937-941.
- 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) Analysis 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.
- Endo Y, Usuki R, Kaneda T (1985) Antioxidant effects of chlorophyll and pheophytin on the autoxidation oils in the dark. II. The mechanism of antioxidant action of chlorophyll. *JAOCS* 62: 1387-1390.
- Endo Y, Usuki R, Kaneda T (1985) Antioxidant effects of chlorophyll and pheophytin on the autoxidation oils in the dark. I. Comparison of the inhibitory effects. *JAOCS* 62: 1375-1378.
- Hemeda HM, Klein BP (1990) Effect of naturally occurring antioxidants on peroxidase activity of vegetables extracts. *J Food Sci* 55: 184.
- Hong SI, Park JS, Park NH (1995) Quality changes of commercial *kimchi* products by different packaging 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.
- Inatani R, Nakatani N, Fuwa H (1983) Antioxidative effect the constituent of rosemary and their derivatives. *Agric Biol Chem* 47: 521-526.
- Iriyama K, Ogura N, Takamita A (1974) A simple method for extraction and partial purification of chlorophyll from plant material using dioxane. *J Biochem* 76: 901-905.
- 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*) extract compositions and leakage of cellular 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.
- Lee YJ, Shin DW, Chang YS, Kang WS (1993) Antioxidative effect of *Javanica linne* extract by various solvents. *K J Food Sci Technol* 25: 677-682.
- Lee YO, Choi HS (1995) Antioxidative effect of *kimchi* on the lipid oxidation of cooked meat. *J Food Sci Nutri* 24: 1005-1009.
- Mitsuda H, Yasumoto K, Iwami K (1966) Antioxidative action of indole compounds during the autoxidation of linoleic acid. *Nutrition and Food (Japan)*. 19: 60-66.
- Omata T, Murata N (1983) Preparation of chlorophyll a chlorophyll b and bacteriochlorophyll a by column chromatography with DEDA-sepharose CL-6B and SEpharose CL-6B. *Plant and Cell Physiol* 24(6): 1093-1096.
- 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 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, Pa 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 DE, Pietro CD, Porter WL, Giffie JW (1982) Phenolic antioxidants of soy protein in hydrolyzates. *J Food Sci* 47: 24.
- Pratt DW, Watts BM (1964) The antioxidant activity of vegetable extracts - 1. flavone aglycones- *J Food Sci* 29: 27-30.
- Rhi JW, Shin HS (1993) Antioxidant effect of aqueous extract obtained green tea. *K J Food Sci Technol* 25: 759-763.
- Shin DH, Kim MS, Han JS, Lim DK (1996) Changes of chemical composition and microflora in bottled vacuum parked *kimchi* during storage at different temperature. *Korean J Food Sci Technol* 28: 127-136.
- Song ES, Jeon YS, Cheigh HS (1997) Changes in chlorophylls 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.
- Takahama U (1985) Inhibition of lipooxygenase dependent lipid peroxidation by quercetin : Mechanism of antioxidative function. *Phytochemistry* 24: 1443.
- Tarladgis BG, watts BM, Yunathan MT (1960) Adistillation method for the quantitative determination of malonaldehyde in ranced food. *J Am Oil Chem* 37: 44-49.
- Uda Y, Ozawa Y, Takayama M, Suzuki K, Maeda Y (1988) Free and soluble bound phenolic acids in some cruciferous vegetables. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi* 35: 360.
- Yasumoto K, Yamamoto A, Mitsuda M (1970) Effect of phenolic antioxidants on lipoxvgenase reaction. *Agric Biol Chem* 34: 1162.
- 春日郭子, 青柳康夫, 菅原龍辛 (1988) 食用植物の抗酸化性について. *日本 食品工業學會誌* 35: 828-832.
(2008년 9월 26일 접수, 2009년 12월 9일 채택)