

## 토판염 및 4년 숙성 천일염으로 제조한 김치의 암세포 성장 억제 효과

윤해훈 · 장해춘<sup>†</sup>

조선대학교 식품영양학과, 김치연구센터

### Growth Inhibitory Effect of Kimchi Prepared with Four Year-Old Solar Salt and Topan Solar Salt on Cancer Cells

Hae Hoon Yoon and Hae Choon Chang<sup>†</sup>

Dept. of Food and Nutrition, Kimchi Research Center, Chosun University, Gwangju 501-759, Korea

#### Abstract

The growth inhibitory effects of kimchi prepared with solar salt were investigated. Chinese cabbages were brined with purified salt, four year-old solar salt, and Topan solar salt, and then mixed with other ingredients. The final salt concentration was adjusted to 2.2~2.4% (w/v) for each salt, and the kimchi was fermented at 7°C. When the acidity reached around 0.5~0.6%, the kimchi was used as a sample for further experimentation. MTT assay was used to measure the growth inhibitory effect of kimchi extracts (water, methanol) on BJ human foreskin normal cells, AGS human gastric adenocarcinoma cells, and HT-29 human colon carcinoma cells. Water extracts of all the kimchi samples showed growth inhibitory effects on cancer cells; however, there was no significant difference among the used salts. Methanol extracts of all the kimchi samples showed higher growth inhibitory effects compared to the water extracts. The methanol extracts of four year-old solar salt kimchi (AGS: 73%, HT-29: 48%) and Topan solar salt kimchi (AGS: 62%, HT-29: 46%) showed higher growth inhibitory effects than that of purified salt kimchi (AGS: 52%, HT-29: 39%). In addition, morphological changes of cancer cells (AGS, HT-29) and decreased cell numbers were observed when methanol extract of four year-old solar salt kimchi was treated to AGS and HT-29 cells. However, none of the kimchi extracts showed any growth inhibitory effect on BJ normal cells.

**Key words:** four year-old solar salt, Topan solar salt, growth inhibitory effect, cancer cell, kimchi

#### 서 론

식품공전에 따르면 식염의 유형은 천일염, 정제소금, 재제소금, 태움·용융소금, 기타소금, 가공소금으로 분류하고 있다(1). 정제소금이란 해수를 이온교환막 등의 방법으로 정제한 농축함수 또는 원료소금(100%)을 용해한 물을 진공 증발관 등에 넣어 제조한 소금을 말하고, 천일염은 염전에서 해수를 자연 증발시켜 얻은 염화나트륨이 주성분인 결정체와 이를 분쇄, 세척, 탈수과정을 거친 염을 말한다(1). 천일염은 생산방식에 따라 장판염과 토판염으로 구별되며, 갯벌 바다에 PVC 장판을 깔고 그 위에서 생산되는 천일염을 장판염이라 하고, 갯벌 흙판에서 전통 방식으로 생산하는 것을 토판염이라 한다(2).

광물로 분류되던 천일염이 2008년부터 국내에서는 식품으로 분류되면서 천일염의 식품산업으로 발전이 지속적으로 이루어지고 있다. 그러나 우리나라 민간에서는 수백년 전부터 식품에서 천일염을 사용해 왔으며 천일염의 종류도 다양하게 존재하고 있다(3). 또한 우리나라 민간에서는 전통

적으로 김치나 장류 담금 시 3년 이상 숙성된 천일염을 사용해야 한다는 속설이 있다(4). 즉 과학적으로 증명된 바는 없으나 3년 이상 숙성된 소금이 전통 발효식품인 김치나 장류의 품질을 우수하게 할 수 있는 중요한 인자라고 믿는 전통 민간방식이 있었고, 이에 시판되는 천일염 중 숙성 천일염은 숙성되지 않은 천일염보다 고가의 가격으로 판매되고 있다(5). 소금은 체내에서 체액의 삼투압 조절, 산·알칼리 균형, 신경전달과 근육의 자극반응 조절 등의 생리적 기능을 지닌 물질로서(6) 그 자체의 항암 활성화와 관한 연구로 암세포 성장 억제 및 면역 활성화 증가 또는 고농도 소금 섭취의 위암 및 고혈압 유발효과 등이 보고된 바 있다(7-9). 또한 사용 소금에 따른 발효식품의 기능성에 관한 연구로는 된장에서는 소금의 종류를 달리하여 제조한 된장의 항돌연변이 및 염색체 상해 방지효과(10), 천일염 함유 청국장 항산화 효과(11), 천일염 된장의 암세포 성장 억제 효과(3) 등이 보고된 바 있으며, 김치에서는 제간수 천일염 및 구운 소금으로 절인 배추김치의 *in vitro* 항암기능성 증진 효과(12) 등이 보고되었다.

<sup>†</sup>Corresponding author. E-mail: hcchang@chosun.ac.kr  
Phone: 82-62-230-7345, Fax: 82-62-222-8086

김치의 항암효과는 김치의 원부재료가 되는 배추, 고춧가루, 마늘, 생강 등에 존재하는 비타민 C, 베타카로틴, 식이섬유소, 페놀성 화합물과 발효과정 중 생성되는 김치 유산균의 작용에 의한 것으로(13) 잘 숙성된 김치가 생김치나 과숙한 김치에 비해 항돌연변이 및 항암활성이 크다고 알려져 있다(14,15).

본 연구팀은 자연발효식품이라 알려진 김치에 특정 김치 유산균(*Leuconostoc citreum* GJ7)을 적용하여 종균발효가 가능한 기술을 개발하여 보고한 바 있다(16). 본 연구에서는 김치의 항암효과를 나타낼 수 있는 모든 요인(원·부재료, 김치유산균, 발효정도)을 동일하게 적용시키고 사용소금만을 다르게 하여 김치발효에서 사용소금에 따른 김치의 기능적 특성을 조사하고자 하였다. 즉 김치에 종균발효 기술을 도입하여 김치의 모든 제조 조건(원료, 제조방법, 발효 미생물, 발효조건 등)을 동일하게 하여주고, 이에 사용하는 소금만(정제염, 4년 숙성 천일염, 1년 숙성 토판염)을 달리하여 발효된 김치가 인간 정상세포(BJ)에 미치는 세포독성 및 인체 위암세포(AGS) 및 대장암세포(HT-29)의 성장 억제효과를 조사함으로써 소금이 김치의 암세포 증식 억제효과(*in vitro*)에 미치는 영향을 규명하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 소금의 성분 분석

소금에 존재하는 무기질을 분석하기 위하여 김치제조에 사용된 천일염 2종(1년 숙성 토판염, 4년 숙성 장판염)과 정제염을 증류수에 0.1%(w/v) 되도록 녹인 다음 0.45  $\mu\text{m}$  syringe filter(Advantec, Tokyo, Japan)로 여과한 후 분석시료로 사용하였다. 음이온 분석은 이온크로마토그래피(Compact IC 790, Metrohm, Herisau, Switzerland)를 이용하였고, 무기질 분석은 유도결합 플라즈마 원자방출 분광계(Agilent 7500 Series, Agilent, Palo Alto, CA, USA)로 분석하였다. 이 중 Ca, K, Mg, Na는 원자 흡광광도계(Hitachi Z-2300, Hitachi, Tokyo, Japan)를 이용하였다. 소금의 수분은 105°C 상압건조법으로 분석하였다.

### 배추절임 및 김치제조

김치제조 시 배추절임에 사용된 소금은 정제염(purified salt; H사, Ulsan, Korea)과 천일염으로는 4년 숙성하여 간수를 제거한 4년 숙성 장판염(four year-old solar salt; C사, Shinan, Korea)과 1년 숙성된 토판염(Topan solar salt; S사, Haenam, Korea)을 사용하였으며, 이후 본 실험에 사용된 2종의 천일염은 4년 숙성 천일염과 토판염으로 표기하도록 한다. 배추는 4등분하여 16.6%(w/v)의 천일염 용액과 10%(w/v) 정제염 용액에 각각 5~6시간 절이고, 흐르는 물에 3회 세척한 후 4°C에서 5시간 탈수하였다. 김치 양념은 고춧가루, 무, 파, 마늘, 생강, 젓갈, 참쌀풀(2.7 g:1.22 g:1.33 g:1.33 g:0.5 g:4.06 g:6.1 g) 등의 부재료를 혼합하여 제조하였으며,

절임배추 100 g당 21 g의 김치 양념을 혼합하여 김치를 제조하였다. 제조된 김치의 염도는 절임에 사용된 각각의 소금을 사용하여 최종 염도 2.2~2.4%(w/v)가 되도록 하였다. 김치 종균의 배양 및 김치에 사용은 Chang 등(16)의 방법에 따라 수행하였다. 김치 유산균 *Leu. citreum* GJ7 배양액은 원심 분리(9,950 $\times$ g, 15 min, 4°C) 후 멸균수로 2회 세척하여 김치 양념에 혼합하였으며, 종균 접종량은 김치 1 g당 약  $10^7$  CFU가 되도록 첨가하였다. 김치는 7°C에서 발효시켜 김치의 산도가 0.5~0.6%에 이르면 이를 -1°C에서 보관하여(Dimchae DD-1827DFB, Winiamando, Asan, Korea) 시료로 사용하였다. 사용 소금별 김치 제조는 3회 반복 수행하였다.

### pH, 산도, 염도 측정

김치는 hand blender(HHM-620, Hanil, Seoul, Korea)로 2분간 마쇄하고, 3점의 멸균거즈를 사용하여 여과한 김치액을 실험에 사용하였다. 김치액의 pH는 pH meter(545 pH meter, Denver Instrument, Arvada, CO, USA)를 사용하여 실온에서 측정하였고, 산도는 AOAC법에 의해 김치액 10 mL를 0.1 N NaOH 용액으로 pH 8.3까지 중화시키는데 소비된 0.1 N NaOH의 소비량으로 정의하였으며 lactic acid(% w/w)로 표시하였다.

### 미생물 균총 분석

김치 내 미생물을 분석하기 위해 사용한 배지로 총균수는 PCA(Plate Count Agar: Merck, Darmstadt, Germany)배지, 젖산균수는 MRS(de Man, Rogosa and Sharpe; Difco, Sparks, MD, USA) 고체배지와 CaCO<sub>3</sub>가 2% 함유된 MRS 고체배지를 사용하였다. 김치는 마쇄하여 멸균거즈로 거른 김치여액을 0.1% peptone water로 10배씩 희석하고, 각각의 평판배지에 50~80개의 집락이 형성되도록 도말하여 30°C와 37°C에서 2~3일간 배양하여 계수하였다.

### 시료의 추출물 제조

시료로 사용된 김치는 동결건조(SFDSM12, Samwon, Busan, Korea) 후 마쇄하고 시료의 20배(w/v) 물과 메탄올을 각각 첨가하여 12시간 동안 교반하고 이를 2회 반복한 후 여과(Whatman Paper No. 2)한 후 rotary vacuum evaporator(N-1000SW, Eyela, Tokyo, Japan)로 감압 농축하여 각각의 물 추출물, 메탄올 추출물을 얻었다. 준비된 각각의 물과 메탄올 추출물은 최종 농도가 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0 mg/mL가 되도록 각각 첨가하여 세포 실험에 사용하였다.

### 세포 배양

실험에 사용되어진 암세포주는 AGS(human gastric adenocarcinoma cell) CRL-1739, HT-29(human colon cancer cell) HTB-38과 정상세포주 BJ(human foreskin normal cell) CRL-2522를 사용하였다. 인체 위암세포(AGS)와 인체 결장암세포(HT-29)는 Roswell Park Memorial Institute medium(RPMI 1640; Gibco BRL, Rockville, MD, USA)으

로 배양하고, 대조군으로 사용한 인체 포낭 정상세포주(BJ)는 Dulbecco/Vogt Modified Eagle's Minimal Essential Medium(DMEM; Gibco BRL)으로 배양하였다. 각각의 배지에는 10% fetal bovine serum(FBS; Gibco BRL)과 100 µg/mL penicillin(Gibco BRL) 그리고 100 µg/mL streptomycin(Gibco BRL)을 첨가하였다. 배양된 각각의 세포는 일주일에 2~3회 신선한 새 배지로 갈아주고 6~7일 만에 phosphate buffered saline(PBS)로 세척한 후 0.05% trypsin-0.02% EDTA로 부착된 세포를 분리하여 원심분리한 후 집적된 세포에 배지를 넣고 피펫으로 세포가 골고루 분산되도록 잘 혼합한 다음 6~7일마다 계대 배양하면서 실험에 사용하였다. 계대 배양 시 각각의 passage number를 기록하였고 passage number가 10회 이상일 때는 새로운 세포를 액체질소 탱크로부터 꺼내어 다시 배양하여 실험하였다.

MTT assay

세포 증식 정도를 MTT assay법(17)에 따라 측정하였다. 배양된 각각의 세포주는 96 well plate에 well당  $1 \times 10^4$  cells/mL이 되도록 180 µL씩 seeding 하고 37°C, 5% CO<sub>2</sub> 배양기(Astec sci 165D, Astec, Tokyo, Japan)에서 24시간 동안 세포를 부착시킨 후 시료를 농도별로 20 µL씩 첨가하여 48시간 배양하였다. 여기에 인산생리식염수에 5 mg/mL의 농도로 제조한 MTT{3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide}용액 20 µL를 첨가하고 4시간 더 배양한 후 생성된 formazan 결정을 dimethyl sulfoxide (DMSO)에 녹여 plate reader(UV scanning ELISA reader, BioTek, Winooski, VT, USA)를 이용하여 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. MTT assay는 준비된 김치 시료별로 3회씩 반복 시행하였다.

세포의 형태적 변화 관찰

배양된 각각의 세포를 culture dish(100×20 mm, Falcon Co., Franklin Lakes, NJ, USA)에  $1 \times 10^5$  cells/mL이 되도록 seeding하고 24시간 동안 37°C, 5% CO<sub>2</sub> 배양기에서 세포를 부착시킨 후 시료를 첨가(5 mg/mL)하여 48시간 배양하였

다. 배양 후 세포의 형태적 변화는 현미경(ECLIPSE TS100, Nikon, Tokyo, Japan)으로 관찰하였다.

통계처리

자료 분석은 SPSS 18.0.1(statistical package for the social science, Chicago, IL, USA) P/C package를 이용하여 평균과 표준편차를 구하였다. 결과는 평균(mean)±표준편차(standard deviation)로 나타냈으며, 각 변수에 대해 일원배치분산분석(one-way ANOVA)을 실시하였다. 사후검정으로는 Duncan's multiple range test를 적용하였으며 통계적 유의성은 p<0.05를 기준으로 하였다.

결과 및 고찰

소금의 성분 분석

소금의 NaCl 함량과 수분함량 분석 결과 정제염은 98.60%와 0.01%, 4년 숙성 천일염은 85.79%와 10.76%, 토판염은 84.53%와 11.34%로 나타났다(Table 1). 정제염은 해수를 이온교환막을 통해 NaCl을 추출하여 95% 이상의 NaCl 함량을 지니며(1), 천일염은 해수의 수분을 증발시켜 염의 결정을 얻은 것으로 NaCl이 주성분이나 Ca, Mg, K 등의 많은 무기질이 함유되어 있다는 보고(18)와 같이 Table 1의 결과에서도 천일염에서는 정제염에 비해 높은 Ca, Mg, K 등의 양이온이 검출됨을 알 수 있었다. 그러나 1년 숙성된 천일염(장판염)의 NaCl 함량은 82.29% 그리고 수분함량은 12.51%를 나타낸다는 보고(4)와 비교하였을 때, 본 실험에 사용된 토판염이 1년 숙성된 것임을 고려할 때 1년 숙성 토판염의 NaCl 및 수분함량이 4년 숙성된 천일염(장판염)의 조성에 오히려 더 근접함을 알 수 있었다.

발효 김치의 특성

김치를 처음 제조 시 염도는 2.2~2.4%가 되도록 하였고 7°C에서 발효시켜 산도가 0.5~0.6%에 도달하면 김치 발효를 종료하여 -1°C에서 김치를 보관하였다. 정제염 김치, 4년 숙성 천일염 김치, 토판염 김치가 산도 0.5~0.6%에 도달하

Table 1. Composition of the used salts

Element	Purified salt		Four year-old solar salt		Topan solar salt		
	Content (mg/kg)	Ratio (%)	Content (mg/kg)	Ratio (%)	Content (mg/kg)	Ratio (%)	
Anion	Cl	566,720.00±6,561.95	59.32	575,171.00±1,794.63	56.96	485,966.00±312.54	52.52
	Br	145.00±0.00	0.02	421.50±7.78	0.04	541.00±22.63	0.06
	SO <sub>4</sub>	0.00±0.00	0.00	13,814.50±218.50	1.37	18,672.50±118.09	2.02
Cation	Na	388,050.00±10,394.47	40.62	413,190.00±16,772.57	40.91	407,895.00±2877.92	44.08
	Mg	17.60±0.15	0.00	3,895.55±141.35	0.39	9,560.75±51.97	1.03
	K	386.50±13.15	0.04	1,511.45±91.57	0.15	2,491.45±18.31	0.27
	Ca	26.47±11.47	0.00	1,724.65±240.48	0.17	168.45±7.00	0.02
	Others	14.38±0.90	0.00	62.49±11.34	0.01	13.11±2.61	0.00
Total	955,359.95±16,982.09	100.00	1,009,791.14±19,278.22	100.00	925,308.26±3,414.07	100.00	
NaCl (%)	98.6±0.17		85.79±0.25		84.53±0.36		
Moisture (%)	0.01±0.00		10.76±0.36		11.34±0.18		

Values are means±SD from duplicate determinations.

**Table 2. pH, acidity and microbial populations properties of kimchi during fermentation at 10°C**

Characteristics	Purified salt kimchi	Four year-old solar salt	Topan solar salt kimchi
pH	4.69±0.12 <sup>a</sup>	4.75±0.13 <sup>a</sup>	4.68±0.08 <sup>a</sup>
Acidity (%)	0.57±0.07 <sup>a</sup>	0.55±0.05 <sup>a</sup>	0.58±0.04 <sup>a</sup>
Salinity	2.36±0.16 <sup>a</sup>	2.35±0.10 <sup>a</sup>	2.32±0.04 <sup>a</sup>
Total viable cells (log CFU/mL)	8.9±0.14 <sup>b</sup>	9.4±0.12 <sup>a</sup>	9.2±0.08 <sup>a</sup>
Lactic acid bacteria (log CFU/mL)	7.9±0.09 <sup>b</sup>	9.0±0.14 <sup>a</sup>	8.9±0.17 <sup>a</sup>

Values are means±SD from more than triple determinations. <sup>a,b</sup>Means with the different letters in the same row (different salts) are significantly different (p<0.05) by Duncan's multiple range test.

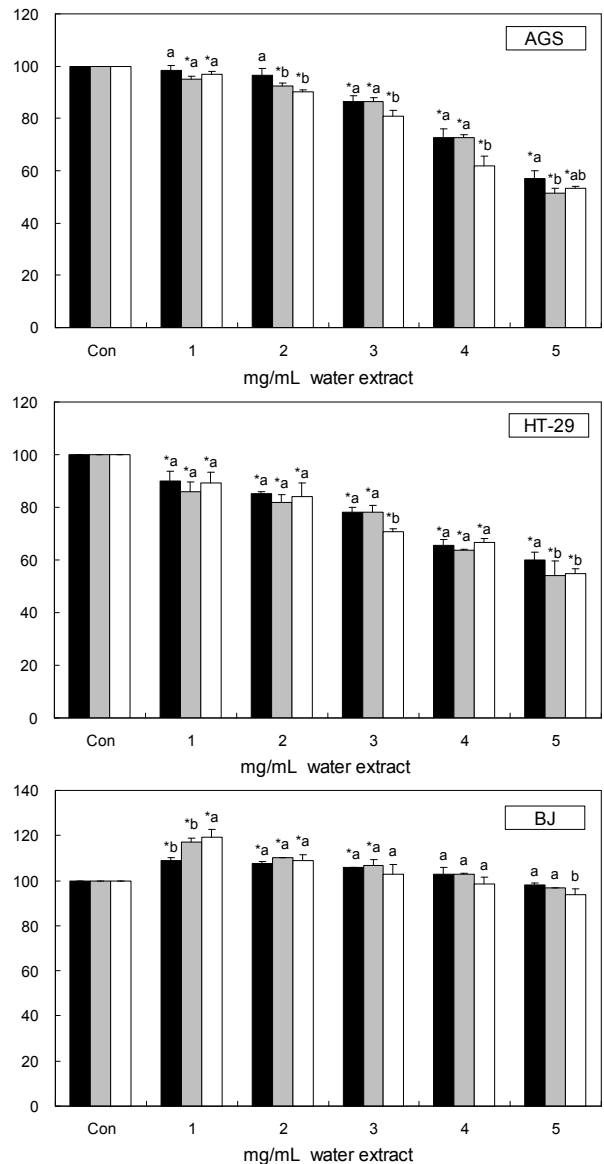
는데 각각 19일, 12일, 15일이 소요되어, 정제염 김치가 천일염 김치보다 알맞게 익은 발효정도(산도 0.5~0.6%)에 도달하는데 더 오래 걸림을 알 수 있었다. Table 2에서 보이는 바와 같이 모든 김치 시료의 염도는 처음 김치 제조 시 맞추어진 염도 2.2~2.4% 범위 이내로 발효에 따른 염도 변화는 관찰되지 않았다. 김치 내 총균수와 유산균수는 4년 숙성 천일염 김치가 가장 높고 그 다음 토판염 김치, 정제염 김치 순으로 비슷한 산도에 이르더라도 유산균수를 포함한 총균수는 차이가 나타남을 알 수 있다. 또한 총균수에서 유산균수를 빼준 숫자를 비교 시 2종의 천일염 김치는 총균수와 유산균수가 비슷하지만 정제염 김치에서는 그 차이가 1.0±0.05 log CFU/mL로 김치 내 유산균 점유율이 천일염 김치보다 정제염 김치가 떨어짐을 알 수 있다. 김치 내 총균수 및 유산균수, 발효에 걸리는 시간 등에서 천일염 김치와 정제염 김치에서 위와 같은 차이를 나타내는 것은 천일염이 정제염에 비해 NaCl 외 Mg, K 등 다른 무기성분의 함량이 높으므로 미생물의 증식을 보다 더 촉진시킨 결과로 사료된다. 특히 이와 같은 현상은 유산균과 같이 무기 이온을 생육 영양원으로 반드시 필요로 하는 경우에 더욱 뚜렷하며, 이와 같은 결과는 다른 연구(4,12,19)에서도 보고된 바 있다. 특히 Chang 등(4)은 천일염 김치에서보다 정제염 김치에서 발효 초기에는 김치의 산도 저하가 천천히 일어나지만 일단 산도 0.5~0.6% 부근에 도달하면 이후 정제염 김치에서 더 빨리 김치 시어짐 현상이 일어나며 이와 같은 현상은 김치 내 유산균의 우점율과 상관있다고 보고한 바 있다.

**물 추출물의 세포 성장 억제효과**

정제염과 천일염(4년 숙성 천일염, 토판염)을 사용하여 제조한 김치의 세포 성장 억제효과를 알아보기 위하여 MTT assay를 실시하였다. 대조구는 정상세포 BJ를 DMEM 배지에서 배양하고 위암세포 AGS와 대장암세포 HT-29는 RPMI 1640 배지에서 48시간 동안 생육시킨 후 이때의 생존율을 100%로 표시하였다. 실험구는 정제염 김치, 4년 숙성 천일염 김치, 토판염 김치를 물로 추출한 시료를 48시간 동안 농도별로 처리한 후 배양세포의 생존율을 대조구에 대한 상대적

생존율(%)로 표시하였다.

소금 종류별 김치의 물 추출물을 1~5 mg/mL의 농도로 처리하였을 때 AGS에 대한 성장 억제 효과는 정제염 김치는 2~43%, 4년 숙성 천일염은 김치 5~49%, 토판염 김치는 3~47%의 억제율을 나타내었으며 HT-29에 대한 성장 억제 효과는 정제염 김치 10~40%, 4년 숙성 천일염 김치 14~46%, 토판염 김치는 11~45%의 억제율을 나타냄을 보였다 (Fig. 1). 이상의 결과로부터 김치 물 추출물이 암세포(AGS, HT-29) 성장 억제효과는 있지만, 소금에 따른 확연한 세포



**Fig. 1. Effects of water extracts from kimchi prepared with various salts on cell viability.** ■ purified salt kimchi, ■ four year-old solar salt kimchi, □ topan solar salt kimchi. Cells were exposed to different concentrations of extracts for 48 hr and then cell viability was assessed by MTT assay. \*Significant differences were compared with controls (0 mg/mL concentration of the extract). <sup>a,b</sup>Means with different letters on bars of different salts are significantly different (p<0.05) by Duncan's multiple range test.

성장 억제효과 차이는 관찰되지 않음을 알 수 있었다. 그러나 정상세포 BJ에 대한 소금 종류별 김치의 물 추출물의 경우 1 mg/mL 첨가 농도에서 정제염, 4년 숙성 천일염, 토판염 김치는 각각 109%, 117%, 119%의 생존율을 나타내었고, 5 mg/mL 농도 처리 시에도 약 100%의 생존율을 나타내어 정상세포 BJ에 대해서는 세포독성이 없고 오히려 세포 성장 효과를 나타냄을 알 수 있었다.

메탄올 추출물의 세포 성장 억제효과

정제염 김치, 4년 숙성 천일염 김치, 토판염 김치를 메탄올로 추출한 시료를 정상세포 BJ에 대한 세포독성과 AGS, HT-29의 암세포주에 대한 증식 억제효과를 관찰하였다 (Fig. 2). 메탄올 추출물의 AGS에 대한 성장 억제효과는 4년 숙성 천일염 김치에서 가장 높게 나타났다. 1~4 mg/mL 농도 처리 시 18~56%를 보였으며, 가장 높은 농도인 5 mg/mL에서 73%의 높은 암세포 성장 억제효과를 보였다. 정제염과 토판염 김치의 경우에는 1~5 mg/mL 농도 처리 시 각각 14~52%, 13~62%의 억제율을 보여 농도 의존적으로 억제효과가 증가함을 나타내었다(Fig. 1). AGS에 대한 세포 성장 억제효과는 물 추출물보다 메탄올 추출물에서 더 우수하며 메탄올 추출물 처리 시 4년 숙성 천일염으로 제조한 김치가 가장 높고 그 다음 토판염 김치, 정제염 김치 순으로 암세포 성장 억제효과가 뛰어남을 관찰하였다.

소금의 종류를 달리하여 제조한 김치와 관련된 연구로 Han 등(12)은 정제염, 일반 천일염, 제간수 천일염, 구운소금을 사용하여 제조한 김치의 메탄올 추출물을 2 mg/mL의 첨가 농도에서 구운 소금, 제간수 천일염, 일반 천일염, 정제염 순서로 각각 66%, 61%, 55%, 49%의 AGS 위암세포 성장 저해율을 나타냈으며 본 실험 결과와 유사하게 정제염 김치보다 제간수 천일염 김치의 항암 기능성이 증가되는 효과가 있음을 보고한 바 있다. 한편 본 논문의 연구 결과에 비교해 Han 등(12)의 보고에서 본 실험의 김치 메탄올 추출물 처리 농도(5 mg/mL)보다 낮은 농도인 2 mg/mL에서도 높은 항암 효과를 보이는 이유는 MTT assay 시행 시 세포를 부착 시키지 않고 바로 시료를 첨가하였으며, 시료 처리 시간이 72시간으로 본 실험의 처리 시간인 48시간보다 길게 실험한 것에 따른 차이로 생각되어진다.

HT-29에 대한 성장 억제효과는 정제염, 토판염, 4년 숙성 천일염 김치 순서대로 1 mg/mL의 농도부터 각각 13%, 17%, 18%의 억제율을 보이고 최고 5 mg/mL 농도에서 각각 39%, 46%, 48%의 억제율을 보여 암세포 성장 억제효과가 증가함을 나타내었다(Fig. 2). HT-29 인체 결장암세포에 대한 성장 저해효과를 살펴 본 결과 AGS 인체 위암세포에 비해서는 다소 낮은 성장 저해 효과를 보였으나, 농도 의존적으로 성장을 저해하였으며 4년 숙성 천일염과 토판염으로 제조한 김치의 메탄올 추출물이 높은 성장 저해효과를 나타내었다.

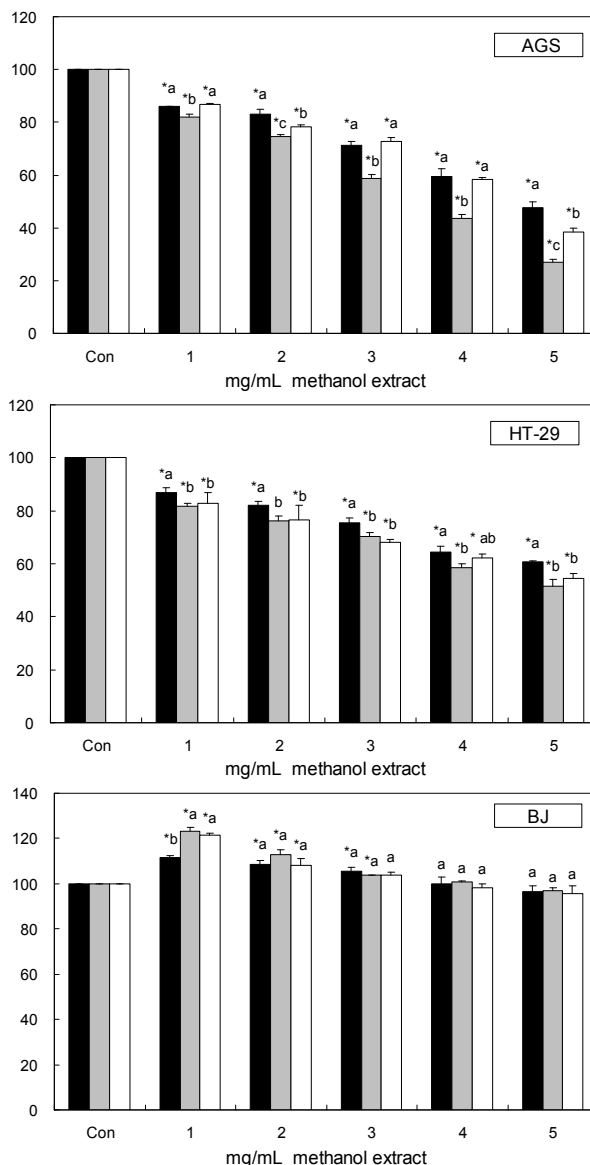


Fig. 2. Effects of methanol extracts from kimchi prepared with various salts on cell viability. ■ purified salt kimchi, ■ four year-old solar salt kimchi, □ topan solar salt kimchi. Cells were exposed to different concentrations of extracts for 48 hr and then cell viability was assessed by MTT assay. \*Significant differences were compared with controls (0 mg/mL concentration of the extract). \*Means with different letters on bars of different salts are significantly different (p<0.05) by Duncan's multiple range test.

본 연구에서 사용 소금을 달리하여 제조한 김치의 항암 효과는 소금에 따라 다소 차이는 있으나 모든 김치 시료의 물 추출물보다 메탄올 추출물이 AGS 또는 HT-29에 대한 생육저해 작용이 더 크게 나타났다. Cho 등(15)의 연구에서도 배추김치의 메탄올 분획물이 AGS 인체 위암세포와 HT-29 인체 결장암 세포의 성장을 크게 억제한다는 결과를 보고한 바 있다. 즉 유기용매이면서 극성용매인 메탄올을 사용하여 추출한 결과 김치에 있는 대부분의 물질이 추출되어 김치의 유효 활성물질들이 복합적으로 작용하여 암세포 성장 억

제효과를 상승시킨다고 추측되어진다고 하였고, 본 결과도 이와 같은 이유로 메탄올 추출물에서보다 더 높은 암세포 성장 억제효과를 나타내는 것으로 생각되어진다.

그러나 김치의 메탄올 추출물은 정상세포 BJ에 대해 세포독성을 거의 나타내지 않았으며 1 mg/mL 첨가 시에 정제염, 4년 숙성 천일염, 토판염 김치 순서대로 각각 112%, 123%, 122%의 높은 생존율을 보였으며 4년 숙성 천일염과 토판염 김치의 메탄올 추출물에서 보다 높은 생존율을 보였다. 또한 메탄올 추출물 처리가 물 추출물 처리보다 다소 높은 세포 성장 효과를 나타냄을 관찰하였다.

#### 세포의 형태적 변화 관찰

Fig. 1과 2의 결과로부터 모든 김치 추출물이 암세포 생육 억제 효과가 있음을 알 수 있었고 특히 4년 숙성 천일염 김치의 메탄올 추출물이 AGS 및 HT-29 암세포에 대한 생육 억제효과가 가장 뚜렷함을 알 수 있었다. 이에 김치 추출물의 첨가에 따른 위암세포 AGS, 인체 결장암세포 HT-29와 정상세포주인 BJ의 세포 조직의 형태 변화를 위상차 현미경을 통해 관찰하였다. 4년 숙성 천일염으로 제조한 김치의 메탄올 추출물 처리 시 정상세포 BJ에 대해서는 처리 전후 별다른 차이가 관찰되지 않았으나 AGS 위암세포와 HT-29 결장암 세포에서 모두 세포 밀도의 감소와 함께 일부 세포에

서 세포 수축 현상을 관찰할 수 있었다(Fig. 3).

김치의 원·부재료 및 김치 유산균의 항암 활성 등은 이미 보고된 바 있다(14,15). 그러나 이와 같은 항암 활성을 지닌 요건들을 모두 동일하게 하여 주었을 때도 본 실험 결과와 같이 4년 숙성 천일염 김치에서 암세포 성장 억제효과가 보다 더 크게 나타나는 것은, 김치에 사용된 천일염의 미네랄 함량과 그 조성이 김치 발효를 보다 우월하게 진행시키고 이때 생성된 발효대사 산물이 암세포 생육 억제효과(*in vitro*)에서 보다 우수하게 나타난 것으로 생각되어진다. 장판 천일염에 비해 토판 천일염은 해수가 갯벌에 스며들어 소금 생산량이 5배가량 낮지만 갯벌에 함유된 다양한 유기물과 천연 미네랄이 소금에 스며들어 있어 가격도 10배 정도 비싸지만 맛이 더 좋다고 알려져 있는데(2), 본 실험 결과에서 4년 숙성 천일염 김치의 암세포 증식 억제 효과가 가장 크지만, 1년 숙성 토판염 김치도 4년 숙성 장판 천일염 김치에 근접한 정도의 암세포 생육 저해 효과를 나타냄은 흥미로운 결과이다. 그러나 결론적으로 기능적 측면(암세포 생육 억제능)에서 김치 발효에 가장 좋은 소금은 4년 숙성 천일염이며, 소금의 숙성이 김치 발효에 매우 중요함을 알 수 있다.

#### 요 약

다양한 소금(정제염, 4년 숙성 천일염, 토판염)으로 제조한 김치를 발효시켜 산도 0.5~0.6%에 도달했을 때 이를 물과 메탄올로 추출하여 사용 소금에 따른 김치의 암세포 생육 억제효과를 조사하였다. 소금의 종류를 달리한 김치의 물 추출물과 메탄올 추출물은 위암세포 AGS, 장암세포 HT-29 2종의 암세포에 대해서 모두 농도가 증가할수록 농도 의존적으로 높은 세포 생육 억제율을 나타내었다. 최대 처리 농도인 5 mg/mL에서 AGS의 경우 정제염 김치의 물 추출물은 44%, 메탄올 추출물은 52%의 억제율을 보였고 천일염 김치의 물 추출물은 40%, 메탄올 추출물은 73%의 억제율을 보였으며, 토판염 김치의 물 추출물은 49%, 메탄올 추출물은 62%의 억제율을 나타냄을 보여 천일염 김치의 메탄올 추출물의 AGS 암세포 생육 억제효과가 매우 뛰어난을 확인하였다. 동일 농도에서 HT-29의 경우 정제염 김치의 물 추출물은 43%, 메탄올 추출물은 39%의 억제율을 보였고, 천일염 김치의 물 추출물은 37%, 메탄올 추출물은 48%의 억제율을 보였으며, 토판염 김치의 물 추출물은 42%, 메탄올 추출물은 46%의 억제효과를 나타냄을 보여 AGS에 대한 암세포 성장 억제효과보다는 다소 낮지만 4년 숙성 천일염과 토판염으로 제조한 김치의 메탄올 추출물이 HT-29 암세포의 높은 성장 억제 효과를 보임을 확인하였다. 반면에 소금의 종류를 달리한 김치의 물 추출물과 메탄올 추출물은 모두 정상세포 BJ에 대해 세포독성을 거의 보이지 않으며 오히려 세포 성장효과를 보였다. 더 나아가 최대 암세포 생육 억제현상을 나타낸 4년 숙성 김치의 메탄올 추출물을 AGS, HT-29, BJ 세포

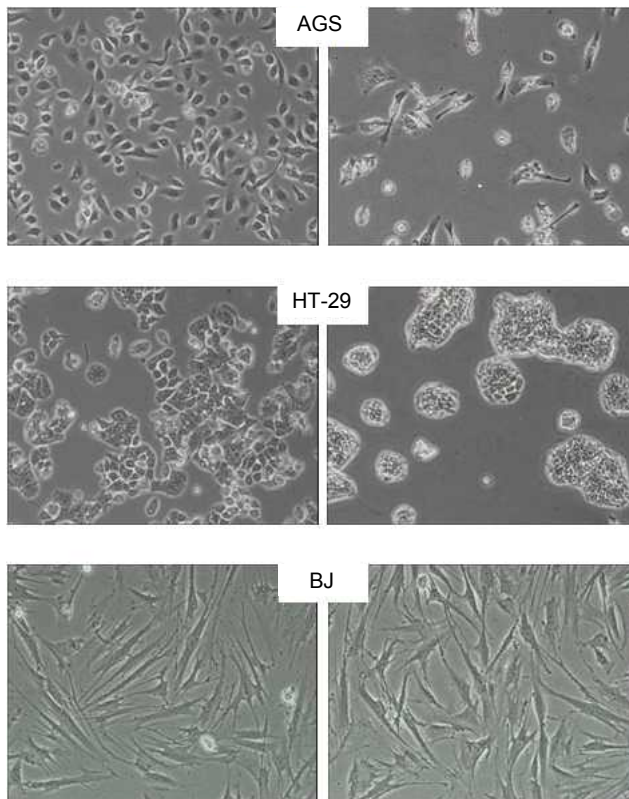


Fig. 3. Photomicrographs ( $\times 100$ ) of AGS, HT-29, and BJ cells treated with methanol extract from four year-old solar salt kimchi. The cells were treated for 48 hr by 5 mg/mL of the methanol extract of four-years aged solar salt kimchi.

에 처리하였을 때 정상세포 BJ에 대해서는 처리 전후 별다른 차이가 관찰되지는 않았으나 AGS 위암세포와 HT-29 장암세포에서는 모두 세포 밀도의 감소와 함께 일부 세포 수축 현상을 관찰할 수 있었다. 이상의 결과로부터 기능적 측면(암세포 생육억제)에서 김치 발효에는 가장 좋은 소금은 4년 숙성 천일염이며, 소금의 숙성이 김치 발효에 매우 중요함을 알 수 있다.

### 감사의 글

본 연구는 지식경제부 지방기술 혁신사업에 의한 연구비로 수행된 것으로 이에 감사드립니다.

### 문헌

1. KFDA. 2010. Food code. Korean Food Drug Administration, Seoul, Korea.
2. Joo MB, Kang JH, Chang HS, Lee HD. 2009. *Strategy study for high-valued food industrialization of solar salt*. Korea Maritime Institute, Seoul, Korea. p 25-27.
3. Lee SM, Chang HC. 2009. Growth-inhibitory effect of the solar salt-doenjang on cancer cells, AGS and HT-29. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 38: 1664-1671.
4. Chang JY, Kim IC, Chang HC. 2011. Effect of solar salt on the fermentation characteristics of kimchi. *Korean J Food Preserv* 18: 256-265.
5. [http://www.sumdleche.com/shop\\_new/shop\\_all.html](http://www.sumdleche.com/shop_new/shop_all.html)
6. Lee JE. 1999. Salt and hypertension. *Korean J Nephrology Suppl* 6: 56-60.
7. Jung KO, Lee KY, Rhee SK, Park KY. 2002. Effect of various kinds of salt on the tumor formation, NK cell activity and lipid peroxidation in sarcoma-180 cell transplanted mice. *J Korean Assoc Cancer Prevention* 7: 134-142.
8. Takahashi M, Kokubo T, Furukawa F, Kurokawa Y, Tate-matsu M, Hayashi Y. 1983. Effect of high salt diet on rat

- gastric carcinogenesis induced by N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine. *Gann* 74: 28-34.
9. Kim SH, Park KY, Suh MJ. 1995. Comutagenic effect of sodium chloride in the *Salmonella*/mammalian microsome assay. *Foods Biotechnol* 4: 264-267.
10. Hwang KM, Jung KO, Song CH, Park KY. 2008. Increased antimutagenic and anticlastogenic effects of doenjang (Korean fermented soybean paste) prepared with bamboo salt. *J Med Food* 11: 717-722.
11. Lee JJ, Kim AR, Chang HC, Lee MY. 2009. Antioxidative effects of chungkukjang preparation by adding solar salt. *Korean J Food Preserv* 16: 238-245.
12. Han GJ, Son AR, Lee SM, Jung JK, Kim SH, Park KY. 2009. Improved quality and increased *in vitro* anticancer effect of kimchi by using natural sea salt without bitter and baked (guwun) salt. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 38: 996-1002.
13. Park KY. 1995. The nutritional evaluation, and antimutagenic and anticancer effects of kimchi. *J Korean Soc Food Nutr* 24: 169-182.
14. Kim YJ. 1999. Physiological properties of kimchi. *Food Industry and Nutrition* 4: 59-65.
15. Cho EJ, Rhee SH, Kang KS, Park KY. 1999. In vitro anti-cancer effect of Chinese cabbage Kimchi fractions. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 28: 1326-1331.
16. Chang JY, Chang HC. 2010. Improvements in the quality and shelf life of kimchi by fermentation with the induced bacteriocin-producing strain, *Leuconostoc citreum* GJ7 as a starter. *J Food Sci* 75: 103-110.
17. Skehan P, Storeng R, Scudiero D, Monks A, McMahon J, Vistica D, Warren JT, Bokesch H, Kenney S, Boyd MR. 1990. New colorimetric cytotoxicity assay for anticancer drug screening. *J Natl Cancer Inst* 82: 1107-1112.
18. Park JW, Kim SJ, Kim SH, Kim BH, Kang SG. 2000. Determination of mineral and heavy metal contents of various salts. *Korean J Food Sci Technol* 32: 1442-1445.
19. Kim SJ, Kim HL, Ham KS. 2005. Characterization of kimchi fermentation prepared with various salts. *Korean J Food Preserv* 12: 395-401.

(2011년 5월 6일 접수; 2011년 6월 11일 채택)