

김치 유산균 Starter를 이용한 김치의 발효 특성 및 기능성 증진 효과

봉연주 · 정지강 · 박건영[†]

부산대학교 식품영양학과

Fermentation Properties and Increased Health Functionality of Kimchi by Kimchi Lactic Acid Bacteria Starters

Yeon-Ju Bong, Ji-Kang Jeong, and Kun-Young Park[†]

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

ABSTRACT Fermentation characteristics and health functionalities of kimchi by inoculating kimchi lactic acid bacteria (LAB) starters were studied. We manufactured single LAB starter kimchi (*Lactobacillus plantarum* pnuK, *Lactobacillus plantarum* 3099K, *Leuconostoc mesenteroides* pnuK), mixed LAB starter kimchi (*Lb. plantarum* pnu/*Leu. mesenteroides* pnuK, *Lb. plantarum* 3099/*Leu. mesenteroides* pnuK) with inoculum size of 10^6 CFU/g, as well as naturally fermented kimchi (NK), and fermented them for 6 days at 15°C. The pH and acidity of the early phase of fermentation were not different, but kimchi with the starters showed rapid changes in the pH and acidity from 2 days of fermentation. As the fermentation progressed, the level of total aerobic bacteria and *Lactobacillus* sp. increased similarly with or without *Lb. plantarum* (LP) inoculation. However, the level of *Leuconostoc* sp. was high in kimchi inoculated with *Leuconostoc* sp. starter. In the sensory evaluation test, kimchi with starters received higher overall acceptability scores than those of NK; mixed starter added kimchi earned the highest score. In DPPH and hydroxyl radical scavenging activity, kimchi with the starters exhibited higher activity than that of NK. In the MTT assay of HCT-116 and HT-29 human colon cancer cells, NK showed inhibition rates of 63.4 and 51.9%, but LPpnuK achieved 77.1 and 68.8%, respectively. This study showed that inoculating starters in kimchi increased *in vitro* antioxidant and anticancer activities, and single starter (LP) added kimchi revealed higher functionality than the kimchi with mixed starter. Kimchis with the starters effectively up-regulated the gene expressions of the pro-apoptotic gene of Bax, but down-regulated Bcl-2. They promoted expressions of p53 and p21, and suppressed expressions of inflammation-related genes, iNOS and COX-2, compared with NK. Taken together, it is expected that using starters may help manufacture kimchi with improved sensory quality and health functionality.

Key words: kimchi, lactic acid bacteria starter, *Lactobacillus plantarum*, antioxidation, anticancer

서 론

김치는 한국의 전통 발효식품으로 *Leuconostoc* 속, *Lactobacillus* 속, *Streptococcus* 속, *Pediococcus* 속, *Weissella* 속 등의 유산균을 비롯한 여러 미생물들에 의해 발효가 이루어지며, 이 과정을 통해 특유의 맛과 향미를 갖게 된다(1). 김치 발효 과정의 초기에 나타나는 유산균은 *Leuconostoc mesenteroides*가 우세균종으로 김치 내용물을 산성화하여 혐기 상태로 유지하며 호기성 세균의 성장을 억제하나 그 이후에는 *Lactobacillus plantarum* 균종이 나타나는 것으로 알려져 있다(2). 이들 유산균은 발효과정에 관여할 뿐 아니라, 혈장 지질 저하 효과 및 간 기능 보호 작용(3), 정장작용(4), 면역기능 강화(5,6), 항돌연변이 효과

(6), 항산화활성(7), 항암작용(6,8,9) 등의 다양한 건강기능성을 가지고 있는 것으로도 보고되어 있다.

유산균 starter는 김치의 발효를 일으키기 위하여 산업적으로 이용되고 있으며, 발효식품에서의 유산균 starter의 이용은 부족한 유산균을 보완해 줄 수 있을 뿐만 아니라 기능성이 우수한 starter를 이용할 경우 김치의 기능성 증진을 기대할 수 있다(6). 또한 미생물의 인위적인 조절을 통해 일정한 품질을 가지는 김치의 생산이 가능하고 발효로 인하여 김치의 유통과 저장성을 증진시킬 수 있다. 김치에서 starter를 사용한 연구로는 bacteriocin 생산 균주를 starter로 이용한 김치의 품질 및 저장성 증진 연구(10), 저온살균 절임 배추에 starter 첨가로 인한 김치의 품질 및 기능성 증진(11), 김치 미생물 조성을 바탕으로 한 김치 starter의 선정 및 효과(12) 등이 있다. 이들은 대부분 한 종류의 유산균종만을 이용하였으며, 혼합 균종의 starter를 이용한 연구는 거의 없었다. 또한 이들 연구는 starter 첨가에 따른 관능특성, 품질특성에 국한된 경우가 대부분으로 건강 기능성과

Received 8 July 2013; Accepted 4 September 2013

[†]Corresponding author.

E-mail: kunypark@pusan.ac.kr, Phone: 82-51-510-2839

관련된 연구 역시 거의 이루어져 있지 않다.

이에 본 연구에서는 우수한 유산균종을 김치 starter로 선별하여 품질 및 건강기능성이 향상된 김치의 개발을 목표로 하였다. 이를 위해 김치 유래 유산균으로 기능적 우수성이 알려진 *Lactobacillus plantarum*(KCTC 3099)과 본 연구실에서 분리 동정한 *Lactobacillus plantarum*(KCCM 11352P), *Leuconostoc mesenteroides*(KCCM 11353P) 총 3종을 선별하였다. 이를 단일 혹은 혼합으로 김치 제조 시 starter로 접종하여 제조한 김치를 15°C에서 발효시키며 발효 기간에 따른 발효특성과 항산화 효과 및 인체 대장암 세포에서의 *in vitro* 항암기능성 등을 비교, 연구하였다.

재료 및 방법

재료

김치 제조에 사용된 친환경배추는 강원도 평창에서 재배한 충광으로 (주)광주김치 감칠배기(Gwangju, Korea)에서 제공받아 사용하였다. 갖은 여수 돌산갓을 구입하였으며 겨우살이 추출물은 (주)아이에스푸드(Busan, Korea)에서 구입하였다. 이 외에 고춧가루((주)영양 F&S, Yeongyang, Korea), 멸치액젓((주)대상, Cheonan, Korea), 설탕(CJ 제일제당, Incheon, Korea), 산초가루(전원식품, Gimpo, Korea), 마늘, 생강, 무, 배, 버섯, 다시마 등은 부산 금정구 구서동의 E마트에서 구입하여 사용하였다.

김치 유산균 starter 준비

Starter로 이용할 유산균은 *Lactobacillus plantarum* PNU(KCCM 11352P, 이하 약칭 LPpnu)와 *Leuconostoc mesenteroides* PNU(KCCM 11353P, 이하 약칭 LMpnu)로 각각 전라북도 전주지역 김치 제조 전문인에 의해 제조된 김치와 부산대학교 김치연구소의 항암김치 레시피로 조제된 김치에서 분리·동정하였다. 본 실험에서 대조군으로 사용한 *Lactobacillus plantarum*(KCTC 3099, 이하 약칭 LP3099)은 대표적인 김치 유래 유산균으로 다양한 생리 활성 및 기능적 우수성이 선행연구를 통해서 알려진 바 있으며(11,13,14), 이는 한국생명공학연구원 생물자원센터(KCTC, Korean Collection for Type Cultures, Daejeon, Korea)에서 구입하여 사용하였다.

분리 및 동정한 유산균을 각각 MRS(de Man, Rogosa and Sharpe, Difco Laboratories Inc., Detroit, MI, USA) 고체 평판배지에 도말하여 37°C 배양기에서 48시간 배양하며 단일 콜로니로 계대배양하며 실험에 사용하였다. 각 균주는 MRS(Difco Laboratories Inc.) 액체배지에 37°C 조건에서 24시간 동안 배양하여 활성화시킨 후, 3,000 rpm에서 10분간 원심분리 하여 배지를 제거하고, 생성된 pellet은 생리식염수로 2회 세척하여 김치 제조 시 양념소에 starter로 첨가하였다.

김치 제조

실험에 사용된 김치는 부산대학교 김치연구소의 항암김치 레시피(15)를 이용하여 제조하였다. 항암김치는 절인 배추 100에 대해 고춧가루 2.5, 마늘 2.8, 생강 0.6, 무 11, 설탕 1, 파 2, 갓 7.5, 산초 0.1, 배 2.8, 버섯·다시마물 32.8, 겨우살이 추출물 0.05의 비율로 혼합하여 양념소를 만들었다. 유산균 starter는 10⁶ CFU/g의 농도로 조절하여 양념소에 첨가하였으며 이를 배추에 버무려 김치를 제조하였다. 이에 따라 총 6종의 김치, 즉 단일 starter를 첨가한 김치(LPpnuK, LP3099K, LMpnuK), 두가지 starter를 1:1의 비율로 혼합하여 첨가한 김치(LPpnu/LMpnuK, LP3099/LMpnuK), 자연발효 김치(NK)가 제조되었다. 제조한 각 김치를 15°C에서 6일간 보관하며 일정기간마다 시료를 채취하여 실험에 사용하였다.

pH 및 산도 측정

제조된 각각의 김치들을 대상으로 김치의 pH 및 산도를 측정하였다. pH는 실온에서 pH meter(M220, Corning, Tewksbury, MA, USA)로 측정하였고, 산도는 AOAC 표준 시험법(16)에 따라 김치 즙을 20배 희석하여 이 시료에 0.1 N NaOH를 가하여 pH 8.4가 될 때까지 소비된 0.1 N NaOH mL 수를 측정하였다. 적정한 값은 유산(lactic acid)의 함량 %로 환산하여 나타내었으며, 그 수식은 $\text{acidity}(\%) = \frac{(\text{mL of } 0.1 \text{ N NaOH} \times \text{normality of NaOH} \times 0.09)}{\text{weight of sample(g)}} \times 100$ 으로 산출하였다.

총호기성 세균 및 유산균 수 측정

총호기성 세균수의 측정은 평판계수법(plate count technique)을 이용하여 측정하였다. 각 김치를 착즙하여 얻은 김치액을 멸균한 증류수로 단계별로 희석하여 미리 가열 용해하여 냉각한 PCA(plate count agar, Difco Laboratories Inc.)에 0.1 mL씩 분주하여 도말하였다. 37°C에서 1~2일간 배양기에서 호기 배양하고, 배양된 균의 colony 수를 계수하여 생성 콜로니 개수(colony forming units per gram, CFU/g)로 총균수를 측정하였다(17).

유산균수의 측정은 총균수 측정과 동일한 방법으로 *Leuconostoc* sp.는 *Leuconostoc* 선택배지로 phenylethyl alcohol과 sucrose를 첨가한 PES medium(phenylethyl alcohol sucrose agar medium)을 사용하여 20°C에서 3~4일간 평판 배양하였다. *Lactobacillus* sp.는 *Lactobacillus* 선택 배지(LBS medium)에 *Pediococcus*의 생육을 억제하기 위하여 acetic acid와 sodium acetate를 첨가한 modified LBS agar medium(m-LBS medium)을 사용하여 37°C에서 3~4일간 평판 배양하여 나타난 colony 수를 계수하였다(17).

조직감 측정

각 김치 조직의 탄력성 정도는 rheometer(CR-100, Sun

Scientific Co., Tokyo, Japan)를 이용하여 김치 밀동으로부터 5 cm 아래의 두께가 0.5 cm가 되는 부분을 3×4 cm의 크기로 채취하여 사용하였고, 각 시료마다 5회 반복 측정하여 이 값의 평균값을 구하였다. Rheometer의 조건은 Mode1, Max 10 kg, R/H R Real 3 kg, P/T Press 600 mm/m, REP1 3 sec으로 설정하였다(18).

관능검사

김치의 관능검사는 반복된 랜덤화 완전 블록 계획(repeated randomized complete block design)(19)에 따라서 훈련된 15명의 관능요원이 평가하였다. 평가 내용은 정량적 묘사분석 방법(quantitative descriptive analysis)을 사용하여 주관적 항목으로 종합적 외관(overall appearance), 종합적 평가(overall acceptability), 냄새(smell), 조직감(texture)을 평가하고, 객관적 항목으로 미각적 지각인 짠맛(salty flavor), 쓴맛(bitter flavor), 신맛(sour flavor), 균덕맛(mold flavor), 탄산맛(refresh flavor)을 평가하였다. 그 정도는 1에 가까울수록 감지 불가능한 것으로 평가하였고, 9에 가까울수록 극도로 강하게 감지하는 것으로 나타내었다.

김치 추출물의 제조

항산화효과 및 항암효과 측정을 위해 김치의 메탄올 추출물을 제조하였다. 즉 숙성 4일차에 김치를 채취하여 동결건조 시킨 후 마쇄하여 분말상태로 준비하고, 20배(w/v)의 메탄올로 2회 추출하였다. 이를 회전식 진공농축기(Buchi 461, BUCHI, Flawil, Switzerland)를 이용하여 완전히 농축하여 메탄올 추출물을 얻었다. 이들 추출물은 dime-thylsulfoxide(DMSO)에 희석하여 사용하였다(20).

1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH) 소거활성 측정

각 김치 시료의 free radical 소거활성은 Blois 방법(21)에 따라 free radical인 DPPH에 대한 환원력을 측정하였다. 메탄올에 희석한 김치 추출물 시료 100 μ L와 1.5×10^{-4} M DPPH solution 100 μ L를 96-well plate에 혼합하여 빛이 차단된 상태에서 30분간 방치한 후 분광광도계(UV/VIS spectrophotometer, Jasco, Tokyo, Japan)로 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 시료를 첨가하지 않은 대조군과 비교하여 흡광도 차이를 백분율(%)로 나타내었다. DPPH radical scavenging effect(%)=[1-(Sample absorbance/Control absorbance)]×100에 의하여 활성을 산출하였다.

Hydroxyl radical 소거활성 측정

Hydroxyl radical 소거활성의 측정은 Halliwell 등의 방법(22)에 따라 희석한 시료 50 μ L에 2.5 mM 2-deoxy-D-ribose를 함유한 10 mM PBS(phosphate buffered saline) 용액 345 μ L를 혼합하였다. 그리고 1 mM FeCl₃과 1.04 mM EDTA 용액 50 μ L, 1 mM ascorbate 50 μ L 및 0.1 M H₂O₂ 5 μ L를 각각 첨가하고 37°C에서 10분간 반응

시킨 후, 2.8% trichloroacetic acid 500 μ L와 1% 2-thio-barbituric acid 250 μ L를 첨가하고 95°C에서 8분간 가열하였다. 반응물을 냉각한 후 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. Hydroxyl radical scavenging effect(%)=[1-(Sample absorbance/Control absorbance)]×100에 의하여 산출하였다.

암세포 배양

HCT-116 및 HT-29 인체 대장암세포(human colon carcinoma cells)는 한국세포주은행(Seoul, Korea)으로부터 분양 받아 실험에 사용하였다. 세포배양을 위하여 RPMI 1640, fetal bovine serum(FBS), 0.05% trypsin-0.02% EDTA 및 100 units/mL penicillin-streptomycin은 GIBCO BRL(GIBCO, Grand Island, NY, USA)로부터 구입하였으며 세포배양은 CO₂ incubator(model 311 S/N29035, Forma, Marietta, OH, USA)를 사용하였다. 100 units/mL penicillin-streptomycin과 10%의 FBS가 함유된 RPMI 1640을 사용하여 37°C, 5% CO₂ incubator에서 배양하였다. 배양된 각각의 암세포는 일주일에 2~3회 refeeding하고 6~7일만에 PBS로 세척한 후 0.05% trypsin-0.02% EDTA로 부착된 세포를 분리하였다. 분리한 세포는 원심분리한 후 집적된 암세포에 배지를 넣고 암세포가 골고루 분산되도록 잘 혼합하여 6~7일마다 계대배양하면서 실험에 사용하였다(20).

MTT assay

배양된 암세포를 96-well plate에 각 well당 2.0×10^4 cells/mL가 되도록 분주하고 24시간 동안 배양하였다. 이후 배지를 제거하고, 김치의 메탄올 추출물을 2 mg/mL의 농도로 희석하여 100 μ L씩 첨가한 다음, 37°C, 5% CO₂ 배양기에서 48시간 배양하였다. 48시간 후 시료를 제거한 다음 PBS에 5 mg/mL의 농도로 제조한 3-(4,5-dimethylthiazol)-2,5-diphenyltetrazolium bromide(MTT) 용액과 배지를 혼합하여 100 μ L를 첨가한 후 동일한 배양 조건에서 4시간 동안 배양하였다. 이때 생성된 formazan 결정은 DMSO에 녹여 ELISA reader(model 680, Bio-Rad, Hercules, CA, USA)로 540 nm에서 흡광도를 측정하였다(20). 세포생존율은 정상대조군과 비교하여 백분율(%)로 표시하였다.

RT-PCR을 이용한 apoptosis 및 염증 관련 mRNA 유전자 발현 분석

세포 수준에서 시료에 따른 apoptosis(세포예정사) 및 염증과 관련한 유전자 발현을 관찰하기 위해 동일한 조건에서 배양한 HT-29 세포에 김치의 메탄올 추출물을 2 mg/mL의 농도로 처리한 후 PBS로 1회 세척하여 trizol reagent (Invitrogen Co., Carlsbad, CA, USA)를 이용하여 total RNA를 분리하였다. 분리한 total RNA는 spectrophotometer(UV-2401PC, Shimadzu, Kyoto, Japan)를 이용

하여 정량한 후 oligo dT primer(Invitrogen Co.)와 AMV reverse transcriptase를 이용하여 2 µg의 RNA에서 mRNA에 상보적인 ss cDNA로 역전사 하였다(20). 이 cDNA를 template로 하여 Bax(forward, 5'-AAG CTG AGC GAG TGT CTC CGG CG-3'; reverse, 5'-CAG ATG CCG GTT CAG GTA CTC AGT C-3'), Bcl-2(forward, 5'-CTC GTC GCT ACC GTC GTG ACT TGG-3'; reverse, 5'-CAG ATG CCG GTT CAG GTA CTC AGT C-3'), p53(forward, 5'-AAC GGT ACT CCG CCA CC-3'; reverse, 5'-CGT GTC ACC GTC GTG GA-3'), p21(forward, 5'-TGG AGA CTC TCA GGG TCG AAA-3'; reverse, 5'-GGC GTT TGG AGT GGT AGA AAT C-3'), iNOS(forward, 5'-AGA GAG ATC GGG TTC ACA-3'; reverse, 5'-CAC AGA ACT GAG GGT ACA-3'), COX-2(forward, 5'-TTA AAA TGA GAT TGT CCG AA-3'; reverse, 5'-AGA TCA CCT CTG CCT GAG TA-3') 유전자를 polymerase chain reaction(PCR)의 방법으로 특정 유전자 부위를 BIONEER thermocycler(Mygenie96, BIONEER, Daejeon, Korea)를 이용하여 증폭시켰다. 이때 internal control로 house-keeping 유전자인 glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase(GAPDH, forward: 5'-CGG AGT CAA CGG ATT TGG TC-3', reverse: 5'-AGC CTT CTC CAT GGT CGT GA-3')를 사용하였다. 각 PCR 산물들을 2% agarose gel(Invitrogen Co.)을 이용하여 전기영동하고 ethidium bromide(Sigma Aldrich, St. Louis, MO, USA)를 이용하여 염색한 후 UV 하에서 확인하였다.

통계분석

통계분석은 PASW statistics 18(IBM Co., Armonk, NY, USA) 통계프로그램을 이용하였다. 대조군과 각 시료로부터 얻은 실험 결과들의 유의성 검증을 위해 분산분석(ANOVA)을 행한 후, $P < 0.05$ 수준에서 Duncan's multiple range test를 실시하였다.

결과 및 고찰

pH 및 산도의 변화

김치에서의 starter 첨가에 따른 발효기간 중의 pH 및 산도의 변화는 Fig. 1에 나타난 바와 같다. 발효 초기에는 pH 및 산도가 김치 간 큰 차이를 보이지 않고 발효의 진행속도가 비슷하였다. 반면, 발효 2일부터 starter 첨가 김치와 자연발효 김치 사이에 큰 차이를 보이며 starter 첨가 김치에서 pH의 감소와 산도의 증가속도가 빠른 것으로 나타났다($P < 0.05$). 김치에 첨가된 starter가 김치의 발효를 빠르게 진행시키는 것으로 보아 starter 접종이 김치의 숙성 소요시간을 단축시키는 것으로 나타난 연구결과(10,23)와 일치하였으며, 본 연구에서 첨가된 단일 또는 혼합균주, 또는 starter 종류에 따른 유의적인 차이는 나타나지 않았다.

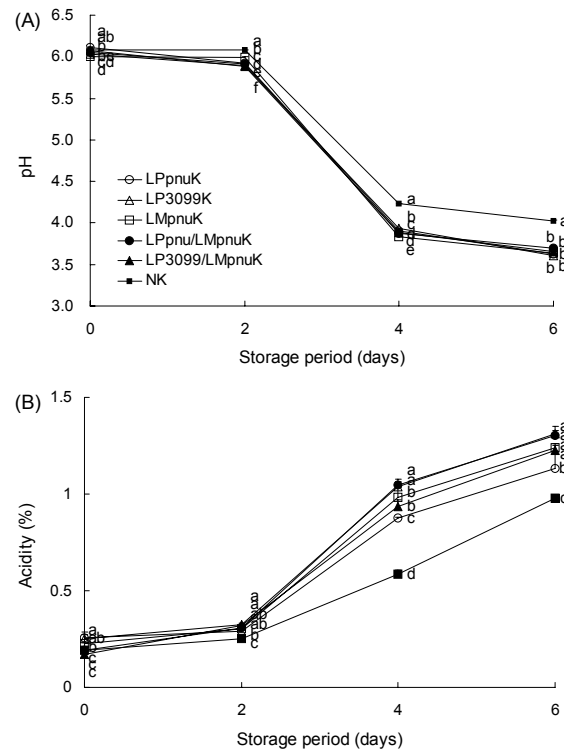


Fig. 1. Effect of starters (10^6 CFU/g) on pH (A) and acidity (B) changes of kimchi during fermentation at 15°C. LPpnuK: Kimchi inoculated with *Lactobacillus plantarum* PNU (KCCM 11352P). LP3099K: Kimchi inoculated with *Lactobacillus plantarum* (KCTC 3099). LMpnuK: Kimchi inoculated with *Leuconostoc mesenteroides* PNU (KCCM 11353P). LPpnu/LMpnuK: Kimchi inoculated with *Lactobacillus plantarum* PNU (KCCM 11352P) and *Leuconostoc mesenteroides* PNU (KCCM 11353P) in the ratio of 1:1 respectively. LP3099/LMpnuK: Kimchi inoculated with *Lactobacillus plantarum* (KCTC 3099) and *Leuconostoc mesenteroides* PNU (KCCM 11353P) at the ratio of 1:1 respectively. NK: Naturally fermented kimchi. ^{a-c}Means with the different letters at the same storage period are significantly different ($P < 0.05$) by Duncan's multiple range tests.

총호기성 세균 및 유산균 수 변화

각 김치의 발효일수 경과에 따른 총호기성 세균 및 유산균 수의 변화를 조사하여 Fig. 2에 나타내었다. 총호기성 세균은 발효초기에 starter를 첨가한 김치에서 자연발효 김치보다 높은 것으로 나타났으나 이후 자연발효 김치에서 빠른 증가율을 보이며 발효 4일째에는 starter 첨가 김치보다 높은 총호기성 균수를 보였다($P < 0.05$). 그러나 발효 6일차에는 모두 10^8 CFU/mL 수준으로 상승하였고, 각 김치 간 유의한 차이를 보이지 않았다. 본 실험의 총균수 변화 경향은 starter 김치의 생균수를 측정하여 Chang과 Chang(10)의 연구와도 일치하며, 발효 초기에 starter를 첨가한 김치에서 높은 균수가 관찰되는 것은 starter 첨가 시 유입된 균에 의한 것으로 보인다.

총 *Leuconostoc* sp.의 경우 자연발효 김치는 발효 초기 3.5×10^3 CFU/mL에 비해 LMpnuK 첨가균은 5.0×10^6 CFU/mL로 높은 균수를 관찰할 수 있었고 발효가 진행됨에 따라

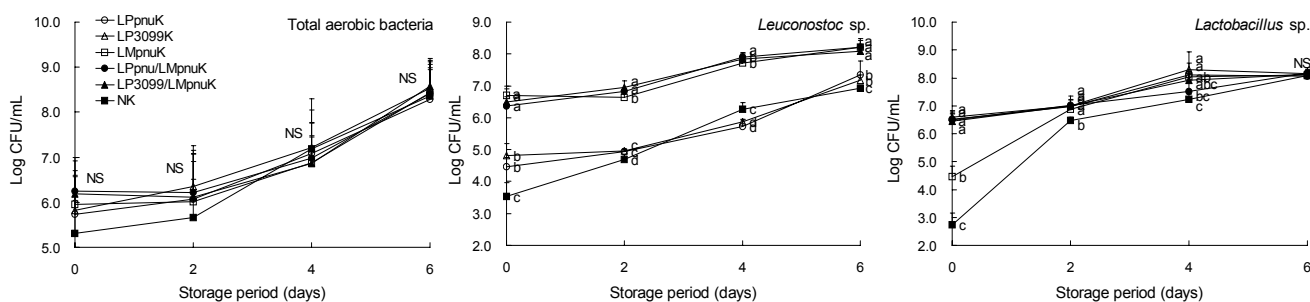


Fig. 2. Effect of starters (10^6 CFU/g) on the changes of bacterial count in kimchis during fermentation at 15°C. Sample explanations are the same as in Fig. 1. ^{a-d}Means with the different letters at the same storage period are significantly different ($P<0.05$) by Duncan's multiple range tests. ^{NS}Not significantly different.

*Leuconostoc*을 첨가한 김치군들(LMpnuK, LPpnu/LMpnuK, LP3099/LMpnuK)은 1.5×10^8 CFU/mL까지 상승하였다. 나머지 김치들에서는 발효 2일차부터 비슷한 변화양상을 보이며 큰 차이는 보이지 않았다. 총 *Lactobacillus* sp.는 제조 직후에는 *Lactobacillus*를 첨가한 김치에서 높은 수를 보였으나($P<0.05$) 발효 2일차부터는 큰 차이를 보이지 않았고, 발효 6일차에 모두 1.3×10^8 CFU/mL로 상승하여 유의적인 차이가 없었다.

Starter 첨가 김치의 경우 발효초기부터 유산균의 수가 높고 완만한 변화를 보이는 반면, 자연발효 김치는 급격한 변화를 나타내었으며, 이는 Han 등의 연구(11)와도 일치한다. 또한 starter 첨가 김치의 경우, 발효초기부터 높은 유산균수로 인해 발효가 빨리 진행되어 빠른 pH의 감소가 나타나는 것으로 생각되어지며, 이는 앞의 pH, 산도 실험 결과와도 일치한다. 따라서 starter 첨가 김치는 첨가된 starter에 의해 김치의 발효가 신속히 진행되며, starter의 사용으로 김치의 숙성 속도를 조절하여 원하는 품질의 김치 제조를 가능케 할 것으로 기대된다.

조직감 변화

김치는 저장 과정에서 산패현상과 함께 연부현상으로 인해 주재료인 배추의 조직감 변화가 발생하는데 이에 의해 김치의 전반적인 맛과 품질의 저하를 초래한다. 이러한 배추 조직의 연부현상은 김치의 발효에 관여하는 미생물 및 원재료에 함유된 펙틴 분해 효소에 의한 펙틴질의 변화에 의한 것으로 볼 수 있다(24). 조직감은 탄력성, 절단강도, 견고성, 압착강도 등으로 확인할 수 있으며 본 연구에서는 탄력성을 측정하였다. Fig. 3에 나타난 바와 같이, 발효기간 중 starter를 첨가한 김치가 자연발효 김치보다 높은 탄력성을 보였다. Kim 등(25)에 의하면 pH가 4.0 이하로 낮아지면 김치의 연부현상이 급격히 일어난다고 하였는데, 발효 4일차와 6일차에 pH 4 이하로 떨어진 starter 첨가 김치가 pH 4 이상을 유지하는 자연발효 김치보다 탄력성 측정에서 높게 나타났다. 따라서 조직의 연부 현상이 유산균 증식에 의한 pH 감소 외에도 잡균의 증식 및 부패 등의 다른 요인과의 관련이 되어 있기 때문인 것으로 생각되어지며, 김치의 조직감에 영향

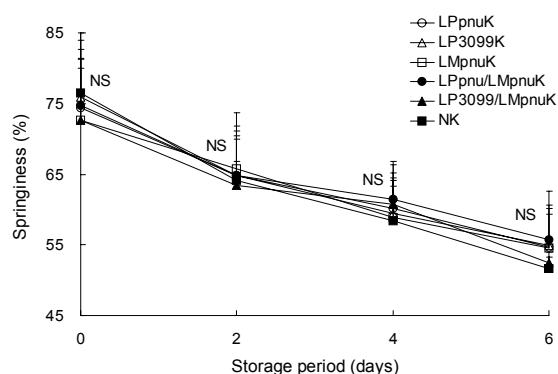


Fig. 3. Changes of springiness of kimchis with different starters (10^6 CFU/g) during fermentation at 15°C. Sample explanations are the same as in Fig. 1. ^{NS}Not significantly different.

을 미치는 다양한 요인 및 유산균과 펙틴 분해 효소, 펙틴질의 관계에 대한 후속 연구가 필요할 것으로 사료된다.

관능검사

각각의 다른 starter를 이용한 김치와 자연발효 김치를 15°C에서 4일간 발효시켜 관능검사를 실시하였다. 그 결과 starter를 첨가한 김치의 종합적 평가와 조직감은 자연발효 김치보다 더 높은 점수로 평가되었다(Fig. 4). NK군의 종합

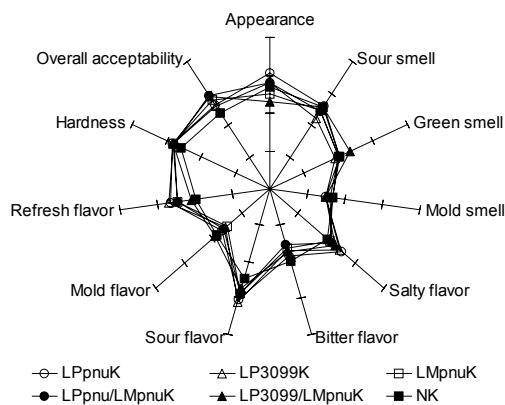


Fig. 4. Sensory evaluation of kimchis with different starters (10^6 CFU/g) on the 4th day of fermentation at 15°C. Sample explanations are the same as in Fig. 1.

적 평가는 4.8로 나타난 반면, starter 첨가 김치에서는 LPpnuK, 5.3; LP 3099K, 5.2; LMpnuK, 5.6; LPpnu/LMpnuK, 5.9; LP3099/LMpnuK, 5.8로 나타나 starter 첨가 김치가 더 높은 점수를 받았다. 또한 *Lactobacillus*와 *Leuconostoc* 혼합한 starter 첨가 김치에서 단일 starter만 첨가한 김치보다 종합적 평가에서 높은 점수를 받은 것으로 나타났으며 LP3099를 첨가한 김치보다 LPpnu를 단독 또는 혼합으로 첨가한 김치에서 모두 높은 점수를 받았다. 그리고 자연발효 김치는 쓴맛이나 군덕맛 등의 부정적인 척도를 나타내는 항목에서 starter 첨가 김치에 비해 높은 점수를 받았다. Starter 첨가 김치는 군덕맛의 점수가 낮고 탄산맛의 점수가 높은 것으로 평가되었다. 이것으로 starter의 첨가가 김치의 시원한 맛은 높이면서 군덕맛과 쓴맛을 낮추어 관능적인 만족도를 높이는 것으로 나타났다. 조직감 평가에서 가장 높은 점수를 받은 김치는 LPpnuK(5.7)였으며 NK군이 5.1로 가장 낮은 점수를 받았다. 조직감 역시 starter를 첨가한 김치에서 높게 나타나 김치의 조직은 물러지지 않으면서 맛을 증진시키는 것을 확인하였다. Starter를 첨가할 경우 맛이 증진된다는 결과는 이전의 연구결과(11,12)와도 일치하였으며 starter 첨가, 특히 혼합 starter의 이용으로 소비자들의 기호에 부합하는 관능적 품질이 우수한 김치의 제조가 가능할 것으로 사료된다.

DPPH 및 hydroxyl radical 소거능

항산화 활성 측정방법 중 DPPH radical을 이용한 소거능의 측정은 stable free radical인 DPPH를 소거시키는 항산화물질의 활성을 측정하는 방법이다(26). 15°C에서 4일간 숙성한 김치의 추출물의 DPPH radical 소거능 측정 결과를 Fig. 5에 나타내었다. 측정 결과 각 김치의 DPPH radical 소거 효과는 LPpnuK군의 경우 60.6%, LP3099K군은 59.6%, LMpnuK군은 58.1%, LPpnu/LMpnuK군은 54.5%, LP3099/LMpnuK군은 51.3%로 나타났고, NK군은 40.9%의 소거능을 나타내어 유산균 starter 첨가 김치가 유의적으로 높은 DPPH radical 소거능을 나타내었다($P<0.05$). 특히 LPpnuK군이 다른 김치에 비해 가장 높은 DPPH radical 소거능을 나타내었고, 이는 NK군에 비해 약 1.5배 정도 높았다. 2가지 균주를 혼합하여 사용한 김치의 경우 단독 균주 사용 김치에 비해 그 소거능이 다소 감소하긴 하였으나, 이 역시 NK군에 비해 유의적으로 높은 DPPH radical 소거능을 나타내었다($P<0.05$).

Hydroxyl radical은 활성산소 가운데 화학적 반응성이 가장 크고 생체 내 산화의 원인이 되어 세포 내 단백질, 세포막, DNA 등에 손상을 주거나 돌연변이를 유발하는 물질로 알려져 있다(27). DPPH radical 소거능 결과와도 동일하게 NK군에 비해 starter 첨가 김치에서 hydroxyl radical 소거능이 유의적으로 높게 나타났다($P<0.05$). 각 김치의 hydroxyl radical 소거능은 LPpnuK군에서 33.4%, LP3099K군은 30.4%, LMpnuK군은 30.0%, LPpnu/LMpnuK군은

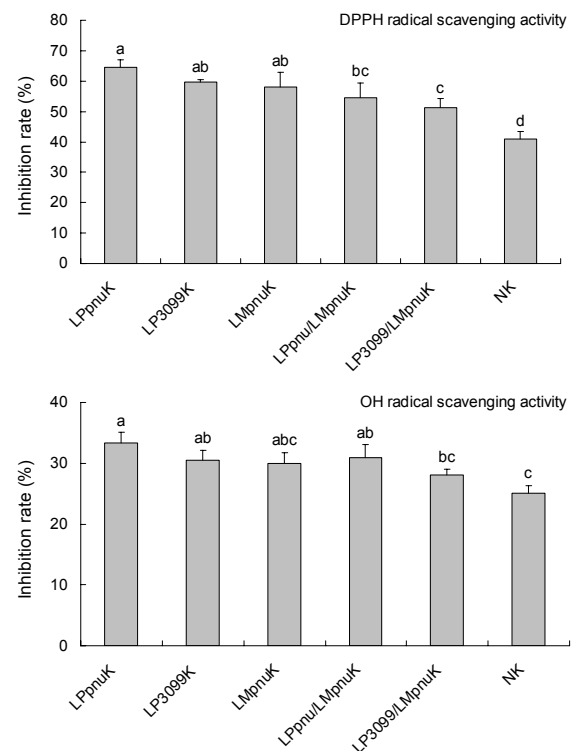


Fig. 5. DPPH radical and hydroxyl radical scavenging effects of the methanol extracts from kimchis with different starters (10^6 CFU/g) fermented for 4 days at 15°C. Sample explanations are the same as in Fig. 1. ^{a-d}Means with the different letters on the bars are significantly different ($P<0.05$) by Duncan's multiple range tests.

30.9%, LP3099/LMpnuK군은 28.0%, NK군은 25.1%로 나타났다. LPpnuK군에서 hydroxyl radical 소거능이 가장 높았고, 단일 starter 김치에서 혼합 starter 김치보다 높은 소거효과를 보였다. Lee 등(13)은 LP3099가 hydroxyl radical에 강한 저항력을 가지고 있음을 입증하였다. 본 실험결과 LP3099를 첨가한 김치보다 LPpnu를 첨가한 김치에서 유의적으로 높은 hydroxyl radical 소거능을 보여 LPpnu starter 김치의 뛰어난 항산화효과를 확인하였다.

김치는 발효 과정에서 재료의 당을 이용하여 유기산 및 발효산물을 생산하여 항산화효과 등의 건강기능성을 나타내는 것으로 알려져 있다(11). Starter 첨가 김치의 높은 항산화효과는 첨가된 유산균 starter로 인한 활발한 발효 과정의 결과로 생성된 phenolic acids, flavonoids 및 기타 phenol성 화합물 등의 항산화 기능성 물질의 증가에 의한 것으로 보인다(11). 또한 유산균 자체가 효소적, 비효소적 메커니즘을 통해 free radical과 활성산소에 방어 및 소거작용으로 강력한 항산화 작용을 가지고 있으므로(7) 우수한 유산균의 첨가로 인해 항산화 효과의 증가가 나타나는 것으로 생각된다.

HCT-116 및 HT-29 인체 대장암 세포에서의 암세포 성장 저해 효과

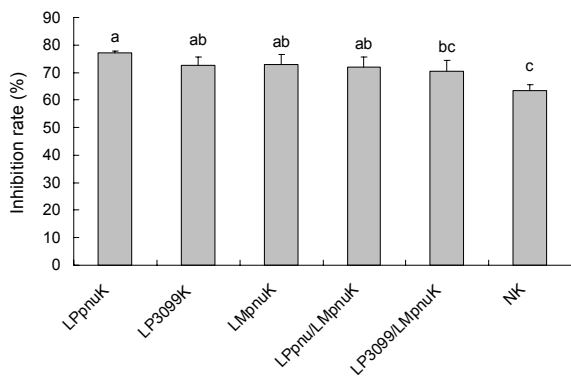


Fig. 6. MTT (3-(4,5-dimethylthiazol)-2,5-diphenyltetrazolium bromide) assay of methanol extract (2 mg/mL) of 4 days fermented kimchis with different starters (10^6 CFU/g) at 15°C in the HCT-116 human colon cancer cells. Sample explanations are the same as in Fig. 1. ^{a-c}Means with the different letters on the bars are significantly different ($P < 0.05$) by Duncan's multiple range tests.

대장암 예방효과를 가지는 것으로 알려진 김치(15)에 기능성 starter를 첨가하여 대장암 예방효과가 증진된 김치를 개발하기 위한 연구는 아직까지 이루어진 바 없다. 이에 본 연구에서는 starter 첨가 김치의 HCT-116 인체 대장암 세포에 대한 성장 억제 효과를 알아보기 위해 MTT-assay 방법으로 암세포 저해율을 측정하였다(Fig. 6). 그 결과 자연발효 김치(NK)의 암세포 성장저해율은 63.4%이었으나 starter 첨가 김치의 암세포 성장 저해율은 단일 starter 김치인 LPpnuK군은 77.1%, LP3099K군은 72.6%, LMpnuK군은 72.9%이었으며, 혼합 starter 김치인 LPpnu/LMopnuK군은 72.1%, LP3099/LMopnuK군은 70.6%로 나타났다. 모든 starter 첨가 김치에서 자연발효 김치보다 유의적으로 높은 성장 저해율을 나타냈고($P < 0.05$), starter 첨가 김치 중 가장 높은 저해율을 보인 것은 LPpnuK군이었다.

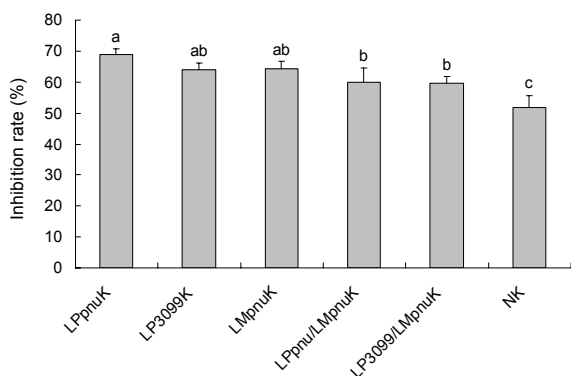


Fig. 7. MTT (3-(4,5-dimethylthiazol)-2,5-diphenyltetrazolium bromide) assay of methanol extract (2 mg/mL) of 4 days fermented kimchis with different starters (10^6 CFU/g) at 15°C in the HT-29 human colon cancer cells. Sample explanations are the same as in Fig. 1. ^{a-c}Means with the different letters on the bars are significantly different ($P < 0.05$) by Duncan's multiple range tests.

각 김치의 추출물을 HT-29 인체 대장암 세포에 처리한 결과(Fig. 7), NK군(51.9%)에 비해 starter 첨가 김치에서 유의적으로 높은 암세포 성장 저해율을 보였으며($P < 0.05$), 그중 가장 높은 효과를 나타낸 것은 LPpnuK군(68.8%)이었다. 단일 starter 김치인 LP3099K군은 64.1%, LMpnuK군은 64.2%이었으며, 혼합 starter 김치인 LPpnu/LMopnuK군은 60.1%, LP3099/LMopnuK군은 59.6%의 암세포 성장 저해율을 나타내어 HCT-116 세포에서와 같이 단일 starter 김치가 혼합 starter 김치보다 높은 암세포 성장 저해 효과를 가지는 것으로 나타났다. AGS 인체 위암세포에서의 starter 첨가 김치의 항암기능성을 조사한 Han 등(11)의 연구에서도 김치에 단일 또는 혼합 starter로 첨가한 경우 자연발효한 대조 김치에 비해 높은 항암효과를 나타내었다($P < 0.05$).

본 연구에서 starter 첨가 김치의 암세포 성장 저해 효과는 김치의 주재료 및 부재료에 함유된 기능성 성분, 첨가된 starter의 생육, 이들의 발효 산물 및 첨가된 starter가 재료와의 복합적인작용을 통해 그 효과가 증가된 것으로 생각된다. 또한 김치 유산균이 항암 및 항돌연변이 효과를 가지기 때문에(6) starter 첨가 김치에서 역시 김치 유산균 자체가 암세포 성장 저해 효과를 증진시켰을 것으로 보인다. Starter의 첨가 유무, 첨가된 starter 종류에 따라 각각 다른 암세포 성장 저해율을 보이는 이유는 starter 군 종류에 따른 차이, 그리고 배추와 양념의 성분이 각각의 유산균 생육에 관계하여 유산균의 성장 및 대사산물 생산에 미치는 영향에 의한 것으로 추측된다. 여러 연구에서 항암 활성능이 우수한 균주로 확인된 바 있는 LP3099(11,13,14)보다 LPpnu를 첨가한 김치에서 유의적으로 높은 항암 효과가 관찰되었다. 새로이 분리 동정된 LPpnu 균주는 높은 항암기능성을 가지는 것으로 김치 starter로써의 이용이 기대되며 이 균주의 probiotic 효과에 대한 연구가 이루어져야 할 것이다.

Apoptosis, p53, p21 및 염증 관련 유전자의 발현에 미치는 효과

세포 사멸에는 여러 가지 요인들이 작용을 하는데 그중에서도 Bcl-2 family가 중요한 역할을 수행한다. Bcl-2 family는 세포 사멸을 억제하는 유전자인 Bcl-2와 세포 사멸을 유도하는 유전자인 Bax로 분류할 수 있다(28,29). 김치 추출물 처리에 따른 HT-29 세포에서의 Bax 및 Bcl-2 유전자의 mRNA의 발현을 관찰한 결과(Fig. 8), Bax mRNA는 모든 김치에서 유전자 발현이 유의하게 증가하였고, Bcl-2는 유의하게 유전자 발현이 감소하였다($P < 0.05$). 가장 높은 효과를 보인 것은 LPpnuK군과 LP3099K군으로 역시 단일 starter 김치에서 효과가 높았으며, LPpnu를 starter로 이용한 김치에서 LP3099를 이용한 김치보다 높은 효과를 보여주었다. NK군에 비해 starter를 첨가한 김치에서의 감소한 anti-apoptotic Bcl-2의 발현과 증가된 pro-apoptotic Bax의 발현은 김치에 첨가된 starter 및 이를 이용한 김치가

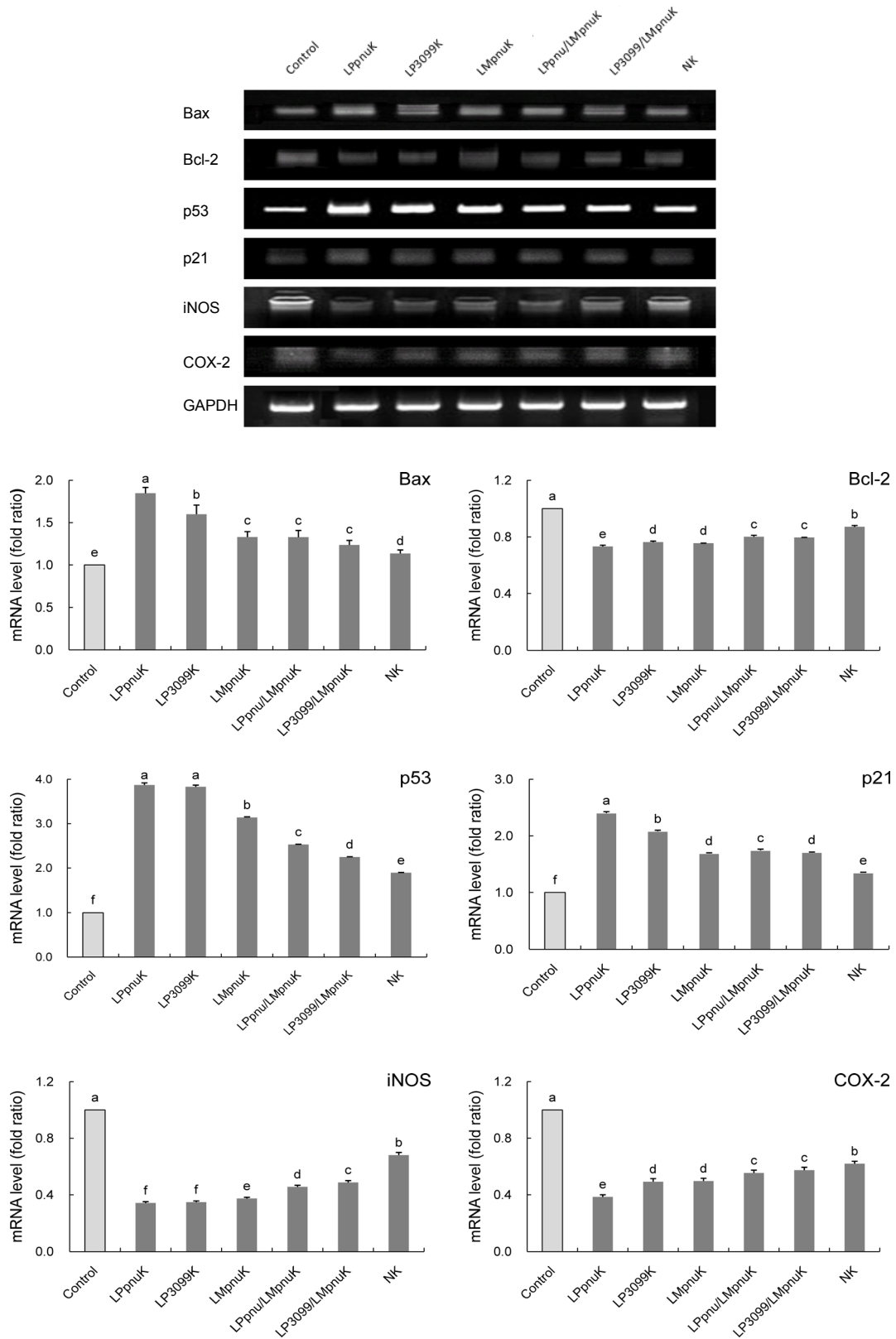


Fig. 8. mRNA expression levels of Bax, Bcl-2, p53, p21, iNOS and COX-2 from the methanol extracts (2 mg/mL) of 4 days fermented kimchis with different starters (10^6 CFU/g) at 15°C in HT-29 human colon cancer cells. The intensity of the band was measured with densitometer and expressed as fold-rate of control. Fold ratio: Gene expression/ GAPDH \times control numerical value (Control fold ratio: 1). Sample explanations are the same as in Fig. 1. ^{a-f}Means with the different letters on the bars are significantly different ($P < 0.05$) by Duncan's multiple range tests.

HT-29 대장암세포의 apoptosis에 관여할 것이라는 가능성을 보여주었다.

p53은 세포 주기의 조절, DNA 수복, 세포 자멸 등에 주요한 역할을 하는 유전자이며, p21은 세포주기를 조절하는 cyclin 의존성 kinase를 억제하는 단백질로 DNA 손상 시 세포주기의 G1/S기 및 G2/M기를 차단함으로써 증식 억제 작용을 하여 종양의 발달을 차단하는 유전자이다(30). 본 연구에서 김치 추출물을 처리한 후 p53, p21의 발현을 관찰한 결과, p53, p21 모두에서 가장 높은 발현을 보인 것은 LPpnuK군이었으며 NK군에 비해 p53은 약 2.0배, p21은 약 1.8배 높은 발현을 보였다. LP3099K군은 NK군에 비해 p53은 약 2.0배, p21은 약 1.5배 높은 발현 효과를 보였다. 이상의 결과로 starter 첨가 김치 추출물이 p53, p21의 발현을 증가시켜 대장암 세포의 세포 증식 억제에 영향을 미치는 것을 관찰하였고 특히 단일 starter를 이용한 김치에서 그 효과가 높은 것으로 나타났다. 또한 우수한 균주로 알려진 LP3099와 비교하여 LPpnu의 높은 암세포 증식 억제 효과를 확인하였다.

Starter 첨가 김치가 가지는 염증 유전자의 발현억제 효과를 조사하기 위해 iNOS와 COX-2 mRNA 발현 변화를 측정하였다. iNOS는 NO를 생성하여 염증반응을 촉진시키고 염증매개체의 생합성을 촉진하며, 생성된 NO는 염증반응을 촉진시킬 뿐만 아니라 유전자 변이 및 암의 발생에 관여한다(31). COX-2는 암세포 성장 및 분화와 연관되어 그 발현이 증가되면 apoptosis에 대한 저항성을 가지며 염증반응을 동반하여 세포의 암화에 깊이 관여하고 있는 것으로 알려져 있다(32). Starter 첨가 김치에서 자연발효 김치보다 iNOS와 COX-2의 유전자 발현이 감소되었고, LPpnuK군이 iNOS와 COX-2의 유전자 발현을 가장 많이 감소시키는 것으로 나타났다.

김치의 주재료인 배추의 항암효과는 glucosinolates의 분해산물인 isothiocyanates의 apoptosis 및 세포주기 억제 기전에 의한 것으로 알려져 있다(33). 또한 배추에는 주요 생리활성 물질인 glucosinolates뿐 아니라 polyphenols, flavonoides 등이 함유되어 있고 이 물질들의 암세포 증식 억제 효능이 밝혀진 바 있다(34). 본 실험 결과, 감소한 Bcl-2와 증가한 Bax 유전자의 발현을 통해 김치의 apoptosis 및 증가한 p53, p21 발현을 통해 세포주기 조절 효과를 확인하였다. 또한 감소한 iNOS, COX-2 유전자 발현을 통해 염증과 암 발생을 감소시키는 것으로 starter 첨가 김치의 암 예방 기전을 확인하였다. 그리고 starter 첨가 김치에서 자연발효 김치보다 더욱 높은 효과를 보이는 것은 첨가된 starter의 영향으로 빠른 발효 진행속도와 이에 따른 생리활성물질이 생성되는 속도 및 생성 물질의 차이에 의한 것으로 보인다. 뿐만 아니라 김치와 같은 식이섬유가 풍부한 음식을 섭취하면 장내 미생물에 의해 항암제 역할을 하는 단쇄지방산인 butyrate가 위장관 내에서 발생된다. 생성된 butyrate가 직접적으로 대장암 세포의 apoptosis를 일으킴으로써 대

장암을 억제하는 효과를 내어 대장암의 예방 및 치료에 직접적으로 영향을 미칠 것으로 기대된다(35).

김치는 여러 유산균들의 복합적인 작용을 통하여 발효가 이루어지는 식품으로 알려져 있다(1). 본 연구에서는 혼합균주를 starter로 이용한 김치에서 맛이 뛰어났으며 단일 균주를 starter로 이용하였을 때 항산화 및 항암기능성 등의 건강 기능성이 높게 나타난 바, 추후 맛과 건강기능성을 모두 증진시키는 김치 유산균 starter에 대한 지속적인 연구가 필요할 것으로 보인다.

요 약

본 연구에서는 김치 유산균 starter의 사용이 김치의 품질 특성과 건강기능성에 미치는 영향을 확인하고자 single starter 김치(*Lb. plantarum* pnuK, *Lb. plantarum* 3099K, *Leu. mesenteroides* pnuK), mixed starter 김치(*Lb. plantarum* pnu/*Leu. mesenteroides* pnuK, *Lb. plantarum* 3099/*Leu. mesenteroides* pnuK), 자연 발효 김치(NK)를 제조하여 15°C에서 6일간 발효하며 실험하였다. pH 및 산도는 발효 초기에는 차이가 없었으나 발효 2일부터 starter 접종 김치에서 빠른 변화를 보였다. 총호기성 세균과 *Lactobacillus* sp.는 발효가 진행될수록 비슷하게 증가하였으나 *Leuconostoc* sp.는 *Leu. mesenteroides*를 starter로 접종한 김치에서 높게 나타났다. 관능검사 결과 starter를 첨가한 김치에서 관능적 만족도가 높게 나타났으며, 혼합 starter 김치에서 만족도가 더 높았다. DPPH 및 hydroxyl radical 소거능 측정 결과, starter를 첨가한 김치에서 높은 항산화 효과를 보였다. MTT assay 결과, HCT-116 및 HT-29 세포에서 NK는 각각 63.4, 51.9%를 나타내었고 *Lb. plantarum* pnuK는 각각 77.1, 68.8%의 암세포 성장 저해율을 보였다. 따라서 starter 첨가 시 항산화 및 항암효과가 증가되며, 단일 starter 김치가 혼합 starter 김치보다 높은 기능성을 가지는 것으로 나타났다. 그중 새로 분리 동정된 *Lb. plantarum* pnu를 이용한 김치에서의 높은 대장암 세포 성장억제 효과를 확인하였다. Apoptosis 유도에 관련된 Bcl-2 및 Bax, 종양 억제에 관련된 p53 및 p21, 염증에 관련된 iNOS 및 COX-2 유전자 발현은 starter 첨가 김치에서 자연발효 김치보다 모두 apoptosis 유도 작용과 염증 및 종양을 억제하는 효과가 높게 나타났다. 가장 높은 효과를 보인 것은 *Lb. plantarum* pnuK이었으며 단일 starter 김치에서 혼합 starter 김치보다 효과가 높았다. 이상의 결과로 starter를 이용해 관능적 품질이 우수하고 기능성이 증진된 김치를 제조할 수 있을 것으로 기대된다.

감사의 글

본 연구는 농림수산식품부 한식세계화용역연구사업의(한식 우수성·기능성 연구) 연구비 지원에 의해 수행되었으며 이

에 감사드립니다.

REFERENCES

- Cheigh HS, Park KY. 1994. Biochemical, microbiological, and nutritional aspects of kimchi (Korean fermented vegetable product). *Crit Rev Food Sci Nutr* 34: 175-203.
- Mheen TI, Kwon TW. 1984. Effect of temperature and salt concentration on *Kimchi* fermentation. *Korean J Food Sci Technol* 16: 443-450.
- Kwon JY, Cheigh HS, Song YO. 2004. Weight reduction and lipid lowering effects of kimchi lactic acid powder in rats fed high fat diets. *Korean J Food Sci Technol* 36: 1014-1019.
- Lee KE, Choi UH, Ji GE. 1996. Effect of *kimchi* intake on the composition of human large intestinal bacteria. *Korean J Food Sci Technol* 28: 981-986.
- Chae OH, Shin KS, Chung HW, Choe TB. 1998. Immunostimulation effects of mice fed with cell lysate of *Lactobacillus plantarum* isolated from kimchi. *Korean J Biotechnol Bioeng* 13: 424-430.
- Park KY, Kim BK. 2012. Lactic acid bacteria in vegetable fermentations. In *Lactic acid bacteria: Microbiological and functional aspects*. Lathinen S, Ouwehand A, Salminen S, Wright A, eds. CRC Press, Boca Raton, FL, USA. p 195-202.
- Kim HS, Ham JS. 2003. Antioxidative ability of lactic acid bacteria. *Korean J Food Sci Ani Resour* 23: 186-192.
- Shin KS, Chae OH, Park IC, Hong SI, Choe TB. 1998. Antitumor effects of mice fed with cell lysate of *Lactobacillus plantarum* isolated from kimchi. *Korean J Biotechnol Bioeng* 13: 357-363.
- Park KY, Kim SH, Son TJ. 1998. Antimutagenic activities of cell wall and cytosol fractions of lactic acid bacteria isolated from *kimchi*. *J Food Sci Nutr* 3: 329-333.
- 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: 103-108.
- Han GJ, Choi HS, Lee SM, Lee EJ, Park SE, Park KY. 2011. Addition of starters in pasteurized brined baechu cabbage increased kimchi quality and health functionality. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 40: 110-115.
- Jin HS, Kim JB, Yun YJ, Lee KJ. 2008. Selection of *kimchi* starters based on the microbial composition of *kimchi* and their effects. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 37: 671-675.
- Lee JM, Hwang KT, Heo MS, Lee JH, Park KY. 2005. Resistance of *Lactobacillus plantarum* KCTC 3099 from kimchi to oxidative stress. *J Med Food* 8: 299-304.
- Kim ER, Jung BM, Kim JY, Kim SY, Jung HK, Lee HJ, Chun HN. 2003. Basic physiological activities of *Bifidobacterium infantis* Maeil-K9 and *Lactobacillus plantarum* KCTC 3099 selected by anticarcinogenic activities. *Korean J Microbiol Biotechnol* 31: 348-354.
- Kil JH. 2004. Studies on development of cancer preventive and anticancer kimchi and its anticancer mechanism. *PhD Dissertation*. Pusan National University, Busan, Korea.
- AOAC. 1990. *Official methods of analysis*. Association of Official Analytical Chemistry, Washington, DC, USA. p 79.
- Lee CW, Ko CY, Ha DM. 1992. Microfloral changes of the lactic acid bacteria during kimchi fermentation and identification of the isolates. *Kor J Appl Microbiol Biotechnol* 20: 102-109.
- Jung JK, Park SE, Lee SM, Choi HS, Kim SH, Park KY. 2011. Quality changes of brined baechu cabbage prepared with low temperature stored baechu cabbages. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 40: 475-479.
- Ha JH. 2002. Analysis of volatile organic compounds in *kimchi* absorbed in SPME by GC-AED and GC-MSD. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 31: 543-545.
- Song JL. 2012. Anticancer effects of fermented sesame sauce. *PhD Dissertation*. Pusan National University, Busan, Korea.
- Blois MS. 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature* 181: 1199-1200.
- Halliwell B, Gutteridge JM, Aruoma OI. 1987. The deoxyribose method: a simple "test-tube" assay for determination of rate constants for reactions of hydroxyl radicals. *Anal Biochem* 165: 215-219.
- So MH, Shin MY, Kim YB. 1996. Effects of psychrotrophic lactic acid bacterial starter on *kimchi* fermentation. *Korean J Food Sci Technol* 28: 806-816.
- Rhee HS, Lee CH, Lee GJ. 1987. Changes in the chemical composition and textural properties of Korean cabbage during salting. *Korean J Soc Food Sci* 3: 64-70.
- Kim YH, Kim HJ, Kim JY, Choi TB, Kang SM. 2005. Strain improvement of *Leuconostoc mesenteroides* as a acid-resistant mutant and effect of *Kimchi* fermentation as a starter. *Kor J Microbiol Biotechnol* 33: 41-50.
- Ancerewicz J, Migliavacca E, Carrupt PA, Testa B, Brée F, Zini R, Tillement JP, Labidalle S, Guyot D, Chauvet-Monges AM, Crevat A, Le Ridant A. 1998. Structure-property relationships of trimetazidine derivatives and model compounds as potential antioxidants. *Free Radic Bio Med* 25: 113-120.
- Emerit J, Beaumont C, Trivin F. 2001. Iron metabolism, free radicals, and oxidative injury. *Biomed Pharmacother* 55: 333-339.
- Reed JC. 1994. Bcl-2 and the regulation of programmed cell death. *J Cell Biol* 124: 1-6.
- Nam MK, Kang KJ. 2013. The effect of red cabbage (*Brassica oleracea* L. var. *capitata* f. *rubra*) extract on the apoptosis in human breast cancer MDA-MB-231 cells. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 42: 8-16.
- Park JK, Kim YC. 2012. Pro-apoptotic effects of *Sanguisorbae Radix* ethanol-extracts on two cholangiocarcinoma cell lines, SNU-1079 and SNU-1196. *Korean J Orient Int Med* 33: 465-475.
- Kim DH, Kwang EY, Son JH. 2013. Anti-inflammatory activity of *Carthamus tinctorious* seed extracts in Raw 264.7 cells. *J Life Sci* 23: 55-62.
- Kim TH, Ko SS, Park C, Park SE, Hong SH, Kim BW, Choi YH. 2010. Anti-inflammatory effects of *Nerium indicum* ethanol extracts through suppression of NF-kappaB activation. *J Life Sci* 20: 1221-1229.
- Zhang Y, Kensler TW, Cho CG, Posner GH, Talalay P. 1994. Anticarcinogenic activities of sulforaphane and structurally related synthetic nortornyl isothiocyanates. *Proc Natl Acad Sci U S A* 91: 3147-3150.
- Hwang ES, Hong EY, Kim GH. 2012. Determination of bioactive compounds and anti-cancer effect from extracts of Korean cabbage and cabbage. *Korean J Food & Nutr* 25: 259-265.
- Jin JY, Cho KK, Choi IS. 2013. Effects of butyrate on colorectal cancer. *J Life Sci* 23: 143-156.