

김치 발효 및 저장조건에 따른 배추김치의 위암세포 성장 억제 효과

박기범^{***} · 김수곤^{*} · 오찬호^{*} · 전종인^{**} · 오석흥[†]

^{*}우석대학교 식품생명공학과, ^{**}위니아만도(주) 연구소

Gastric Cancer Cell Growth Inhibitory Effects of Cabbage *Kimchi* by Fermentation and Storage Conditions

Ki-Bum Park^{***}, Su-Gon Kim^{*}, Chan-Ho Oh^{*}, Jong-In Jeon^{**} and [†]Suk-Heung Oh^{*}

^{*}Dept. of Food and Biotechnology, Woosuk University, Jeonju 565-701, Korea

^{**}R&D Center, WinniaMando Inc., Asan 336-843, Korea

Abstract

In this study, we investigated cancer cell growth inhibitory effects of *kimchi* extracts obtained from cabbage *kimchi*. *Kimchi* extracts (S46h, S47h, S48h) were obtained from the samples fermented at 15°C for 46 h, 47 h, and 48 h during the first 10 days, which were subsequently stored at -1.4°C in *kimchi* refrigerator (hereinafter DV *kimchi* extracts). The samples showed a higher anti-proliferative effect against AGS (human, gastric adenocarcinoma) cell lines compared to control *kimchi* extract (S0h) obtained from sample stored at -1.4°C without fermentation. The DV *kimchi* contained higher levels of γ -aminobutyric acid (GABA) and ornithine compared to the control *kimchi* extract. Among the DV *kimchi* extracts, the S46h sample showed a higher anti-proliferative effect against the cancer cell growth and contained higher amount of GABA than the other *kimchi* samples. These results suggest that the consumption of DV *kimchi* can be more beneficial, as it is rich in GABA and ornithine. Therefore, it could be helpful in retarding the proliferation of cancer cells compared to the control *kimchi*.

Key words: *kimchi*, cancer cell, growth inhibition, GABA, ornithine

서 론

김치는 우리 고유의 발효식품으로서 다양한 재료 유래 성분과 유산균 및 그 발효 성분으로 인해서 성인병 예방 효과, 항암 효과, 소화 및 강장 효과, 항비만 및 항당뇨 효과 등의 우수한 기능성을 가지고 있음이 알려지고 있다(Moon 등 2012; Park 등 2012; Choi 등 2013). 김치에서 발견되는 유산균은 *Lactobacillus* 속, *Weissella* 속, *Leuconostoc* 속 균이 주를 이루는 것으로 알려져 있으며, 이들 속의 분포는 김치의 재료와 숙성 시간 및 온도 그리고 저장조건에 따라서 크게 달라지는 것으로 알려져 있다(Cho 등 2006; Oh 등 2008; Lee 등 2008; Jung 등 2011; Kim 등 2012; Park 등 2013). 예를 들면, *Weissella*

속 균의 경우, 15°C에서 48시간 발효시킨 후 김치냉장고(-1°C)에 보관한 김치에서 전체 유산균 속의 50%를 차지하고 있었고, 익힘 시간이 줄어들면 *Weissella* 유산균 속의 분포도 줄어드는 것으로 나타났다(Park 등 2013).

김치의 유산균 분포는 김치의 기능성 물질과도 밀접한 관련이 있다. 예를 들면 김치 유산균 *Weissella koreensis*는 오르니틴을 잘 생성하는 것으로 알려져 있고(Yu 등 2009; Moon 등 2012), 김치 중의 오르니틴 함량은 *Weissella* 속 유산균의 분포도와 관련이 있는 것으로 나타났다(Park 등 2012, 2013). 또한 *Weissella* 속 분포도가 높은 김치에서 오르니틴 함량이 많았고(Park 등 2013), *Weissella koreensis* OK1-6 균주를 스타터로 첨가한 김치는 오르니틴 함량이 유의적으로 증진되는

[†] Corresponding author: Suk-Heung Oh, Dept. of Food and Biotechnology, Woosuk University, Jeonju 565-701, Korea. Tel: +82-63-290-1433, Fax: +82-63-290-1429, E-mail: shoh@woosuk.ac.kr

것으로 조사되었다(Park 등 2012). 오르니틴은 비단백태의 의약품 아미노산으로 항비만, 간 보호, TNF- α 생산 촉진과 NK 세포의 활성화 등 기능이 알려져 있다(Bucci 등 1990; 1992; Elam 등 1989; Robinson 등 1999; Moinard 등 2000; Moon 등 2012). 또한 발효식품미생물 유래의 오르니틴 생성 효소인 arginine deiminase(ADI) 및 arginase는 항암 효과가 있는 단백질로 알려져 있다(Kim 등 2009; Hsueh 등 2012).

또 다른 김치 유래의 기능성 물질은 γ -aminobutyric acid (GABA)이다. 김치 유래의 *Lactobacillus sake*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus buchneri* 등의 균주가 GABA 생성능을 보유하고 있는 것으로 보고되어 있고(Cho 등 2007; Seok 등 2008), 이들 균주를 첨가하여 김치를 제조하면 김치 중 GABA의 함량이 유의적으로 증진되는 것으로 보고되어 있다(Seok 등 2008; Kim 2010). GABA 역시 비단백태 의약품 아미노산으로 혈압 상승 억제, 항 불안, 항 경련, 항암, 항비만 등 인체의 많은 생리적인 메커니즘 조절에 관여하여 기능성 식의약 소재로 관심이 높은 물질이다(Yu & Oh 2011). 특히 GABA는 대장암 세포, 위암 세포, 간암 세포, 담관암 세포의 증식을 저해하는 효과가 있는 것으로 보고되어 있다(Joseph 등 2002; Tatsuta 등 1992; Sun 등 2003; Fava 등 2005).

따라서 본 연구에서는 김치 제조 후 15°C 조건에서 숙성시간을 달리하여 숙성한 김치를 김치 냉장고 저장을 한 경우와 숙성시간 없이 김치 냉장고에 저장한 김치의 일반특성, GABA 및 오르니틴 함량을 분석하고, 이들 김치 추출물의 인간 위암 세포에 대한 증식 억제 효과를 분석하였다. 이를 통해 소비자들에게는 최적 숙성 김치의 기능성 물질 및 암세포 증식 억제 효과에 대한 정보와 기능성 김치를 제공할 수 있도록 하고자 하여 수행하였다.

재료 및 방법

1. 김치 제조, 숙성 및 저장

본 실험에 사용한 배추김치 시료는 김치 제조 후 15°C 인큐베이터에서의 익힘 시간에 따라 46시간, 47시간, 48시간 숙성하여 김치 냉장고(-1.4°C)에 보관한 것을 S46h, S47h, S48h라 하였고, 익힘 과정 없이 김치 냉장고에 바로 보관한 것을 S0h라 명명하였다. 김치 제조에 사용한 원/부재료의 % 비율은 Park 등(2013)에서 기술된 바와 같다. 김치는 제조 후 각 시간 별로 익힘 과정을 거친 후 내부온도 -1.4°C, 김치냉장고(DOK224DCS, 위니아만도(주), Korea)에 60일간 보관하면서 채취하여 시료 조제에 사용하였다.

2. 김치 시료 조제

김치는 제조 직후, 그리고 익힘과 저장 시작 후 10일 간격

으로 채취하였고, 채취 후 브랜더(HR-1861, Philip)로 마쇄하여 일반 분석 시료로 사용하였다.

3. pH 변화 측정

각 배추김치 시료의 pH 변화는 50 mL tube에 시료 25 mL 담아 pH meter(FE20-FiveEasy™, Mettler Toledo)를 이용하여 측정하였다.

4. 유산균 수 변화 측정

각 배추김치 시료를 펩톤 수 희석 방식을 통하여 BCP(Sigma, USA, bromocresol purple)가 첨가된 MRS agar 고체 배지에 100 μ L를 도말하여 25°C 배양기에 48시간 배양하여 생성된 노란색 콜로니를 계수하여 시료 mL당 colony forming unit (CFU)로 나타내었다.

5. 유산균 속 변화 측정

배추김치 유산균 속의 변화는 유산균 수 변화 측정 시에 사용된 plate에서 각 시료 군마다 콜로니를 10개씩 채취하여 MRS 액체 배지에 접종한 후 25°C 배양기에서 현탁배양을 하였다. 시료 1 mL를 채취하여 원심분리를 통해 세포를 수집한 뒤, genomic DNA 추출 키트(Bioneer Korea, Bacteria Genomic DNA kit)를 이용하여 gDNA를 추출하였다. 추출된 gDNA 농도를 측정한 뒤, Primer(27F:AGAGTTTGATCMTGGCTCAG, 1392R:ACGGGCGGTGTGTGTC), Dr. Taq DNA Polymerase(Doctor Potein, Korea)를 이용하여 얻어진 PCR 산물을 (주)마크로젠(Korea)에 sequence를 의뢰하여 획득한 16S rDNA 결과를 토대로 분석하였다(Kim & Chun 2005; Kim 등 2012; Park 등 2013).

6. 가바 및 오르니틴 함량 분석

시료 중의 가바 및 오르니틴 함량은 Park 등(2013)의 방법에 따라 HPLC(Waters, USA, ACCQ·Tag™ Amino Acid Analysis System)를 이용하여 측정하였다. 분석을 위해 사용한 Column은 "For Hydrolysate Amino Acid Analysis"(Waters, USA)이었으며, 가바 및 오르니틴 함량은 표준 가바와 오르니틴의 분석 결과와 비교하여 산출하였다(Park & Oh 2006; Yu & Oh 2010; Park 등 2013).

7. MTT assay

암세포 증식 억제효능 조사를 위해 김치 추출물을 여과한 후 액상시료 10 mL를 3,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 상등액을 채취하였다. 채취한 상등액을 동결건조한 다음, 2 mL의 멸균수로 녹여 0.2 μ m PVDF 막을 통해 여과 후 시료로 사용하였다. 배양 암세포에 대한 김치 추출물의 암세포 증식 억제 효과는 MTT 등의 방법(Mosmann 1983)과 ELISA reader

등의 기기를 이용하여 분석하였다. 인체 위암세포(AGS)는 한국세포주은행(Seoul, Korea)으로부터 구입하였으며, 계대 배양한 AGS 세포를 96 well plate에 5×10^4 cells/well이 되도록 세포수를 조정된 다음, 여러 가지 농도의 시료를 첨가하여 24 시간 동안 37°C의 5% CO₂ 배양기 내에서 배양하였다. 배양종료 4시간 전에 5 mg/mL 농도로 PBS(pH 7.4)에 희석된 MTT 용액 20 μ L를 각 well에 처리하고, 0.1 N HCl에 녹인 10% SDS 100 μ L로 용해시켜 18시간 동안 은박지로 빛을 차단한다. 발색된 각 well의 흡광도를 ELISA reader를 이용해서 570 nm에서 측정하고, 대조군의 흡광도와 비교하여 세포생존율을 백분율로 환산하였다.

8. RNA 분리 및 유전자 증폭(RT-PCR)

AGS 세포(3×10^6 cells/well)에 10배 희석된 시료를 100 μ g/mL 되도록 첨가한 후, 24시간 동안 배양하고 RNA를 분리하였다. Total RNA 분리는 TRIzol reagent(Life Technologies, USA)를 이용하였으며, 제조회사의 방법에 준하였다. cDNA는 Prime Script II 1st strand cDNA Synthesis kit와 oligo dT primer를 이용하여 합성하였고, EmeraldAmp GT PCR Master Mix(Takara Bio, Japan)를 이용하여 PCR 기기(Takara Bio, Japan)에서 30 cycles 동안 증폭하였다. 각각의 사이클은 94°C에서 10초간 변성시킨 후, 58°C에서 30초간 결합시키고, 72°C에서 30초간 신장시켰다. PCR product는 1% agarose gel에서 전기영동하고, LoadingSTAR(DYNE Bio Co., Korea)로 염색하여 UV transilluminator(OPTIMA, Japan)로 관찰하였다. PCR에 사용된 primer는 다음과 같다. : p53 sense(5'-CGC TGC TCA GAT AGC GAT GG-3'), p53 antisense(5'-TGG GGA GAG GAG CTG GTG TT-3')(Birch 등 1996).

결과 및 고찰

김치를 제조한 후 숙성 시간(46, 47, 48시간)을 달리하여 익힌 후 김치 냉장고에 저장한 시료(S46h, S47h, S48h)의 60일간 저장에 따른 pH, 유산균 수, 유산균 속, 가바 및 오르니틴 함량, 항암효능 변화에 대하여 조사하였다. 숙성시간을 주지 않고 바로 김치 냉장고에 저장한 시료(S0h)를 대조군으로 삼았다. 숙성시간을 46, 47, 48시간으로 선정한 이유는 선행 연구의 결과 GABA 및 오르니틴의 함량, 유산균 속 분포 등에 미치는 숙성 시간을 고려한 것으로(Oh 등 2008; Park 등 2013), 본 연구에서는 이들 인자들과 관련하여 암세포 증식 억제 효과의 최적 숙성 조건을 찾고자 하였다.

pH 변화는 초기 10일까지의 변화가 비교적 큰 것으로 조사되었다(Fig. 1). S48h구는 S46h, S47h구에 비하여 pH 감소가 좀 더 큰 것으로 나타났으며, 보관 시간이 지남에 따라 pH

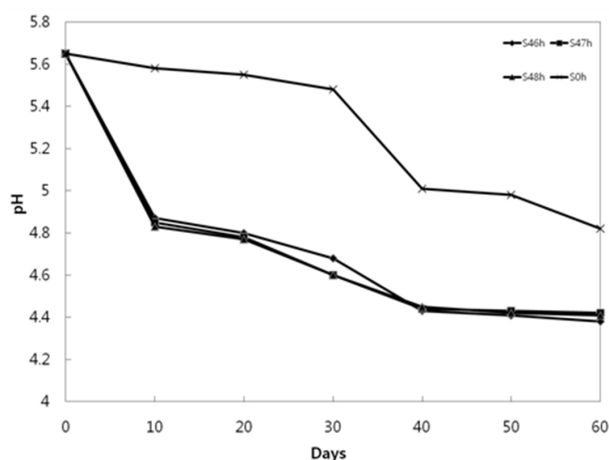


Fig. 1. Changes in the pH of kimchi samples. After making kimchi (0 day samples), the S46h, S47h, S48h samples were fermented at 15°C for 46 h, 47 h, 48 h of the first 10 days and subsequently stored at -1.4°C up to 60 days. The S0h sample was stored at -1.4°C without fermentation.

가 4.3~4.4까지 낮아지는 것을 알 수 있었다. 반면, S0h구는 다른 구에 비하여 pH 감소 속도가 매우 완만함을 알 수 있었다(Fig. 1). 이와 같은 결과는 김치냉장고 보관 전 숙성 시간을 달리하여 초기 pH 변화 속도를 달리할 수 있음을 보여준 것이며, 숙성 시간에 따른 pH 변화 패턴은 김치 숙성 및 김치 냉장고 저장 과정 중 일어나는 pH 변화 패턴과 유사한 것이다(Oh 등 2008; Jung 등 2011).

배추김치의 유산균 수는 김치 제조 직후인 0 day 시료에서 2.8×10^4 ~ 3.6×10^4 cfu/mL 범위에 있었으며, 숙성 및 저장 시간에 따른 유산균 수 변화는 20일까지가 가장 많았고, 20일째에는 2.78×10^7 ~ 4.4×10^7 cfu/mL로 급격히 증가하였으며, 20일 이후부터는 완만한 증가 경향이였다. 김치냉장고 보관 모드로 전환하기 전 15°C에서의 숙성시간을 준 구에서 유산균 수 증가는 뚜렷하게 나타났지만 숙성구 간 차이는 거의 없었으며, 대조구는 상대적으로 매우 완만한 증가 경향을 보였다(Fig. 2). 이러한 유산균 수의 변화 경향은 다른 보고(Rhee 등 2011)에서와 유사한 것으로 판단된다. 일반적으로 발효 초기에는 *Leuconostoc citreum*, *Leuconostoc mesenteroides* 등이 주를 이루고, pH가 낮아지면서(pH 4.0~4.3) *Weissella koreensis* 등이 주를 이루는 것으로 알려져 있다(Kim & Chun 2005; Cho 등 2006). 이러한 유산균 종의 변화 경향은 김치 제조에 사용하는 레시피에 따라서, 숙성 시간과 온도에 따라서, 그리고 저장 조건 등에 따라서 크게 달라질 수 있음을 알 수 있다(Yu & Oh 2010; Kim 등 2012; Park 등 2013).

김치냉장고에 30일간 저장한 배추김치의 유산균 속 분포를 분석한 결과, 익힘시간을 준 후 저장한 S46h, S47h, S48h

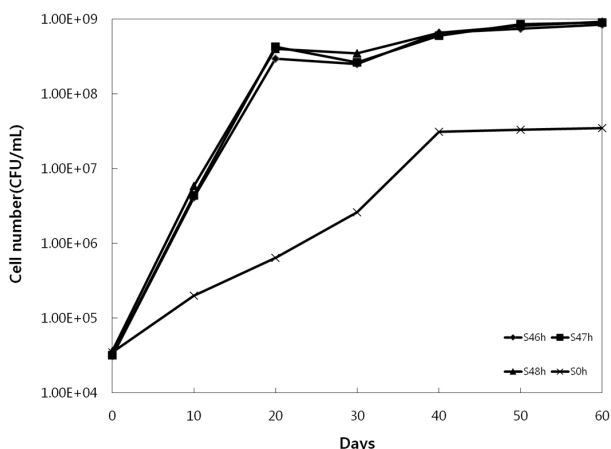


Fig. 2. Changes in the number of lactic acid bacteria of kimchi samples. After making kimchi (0 day samples), the S46h, S47h, S48h samples were fermented at 15°C for 46 h, 47 h, 48 h of the first 10 days and subsequently stored at -1.4°C up to 60 days. The S0h sample was stored at -1.4°C without fermentation.

시료의 경우, *Leuconostoc* 속 균과 *Weissella* 속 균이 전체 유산균 속의 70% 이상을 차지하고 있었고, 익힘 시간을 주지 않은 S0h 시료는 *Leuconostoc* 속 균과 *Weissella* 속 균이 40% 이하를 차지하였다(Fig. 3). S46h, S47h, S48h 시료 중에서 S46h는 *Leuconostoc* 속 균이 우세하였고, S48h 시료는 *Weissella* 속

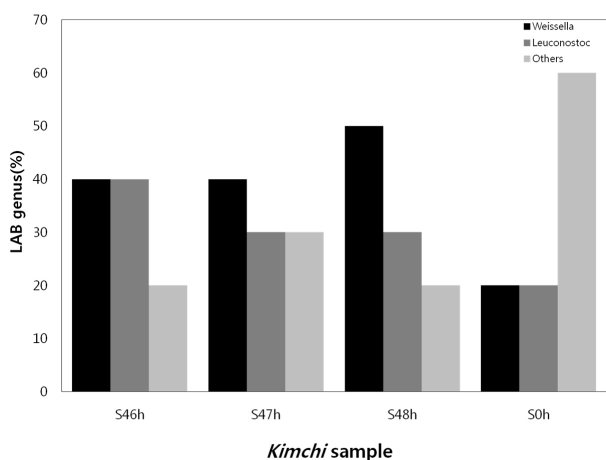


Fig. 3. Changes in the genus of lactic acid bacteria of kimchi samples. After making kimchi (0 day samples), the S46h, S47h, S48h samples were fermented at 15°C for 46 h, 47 h, 48 h of the first 10 days and subsequently stored at -1.4°C up to 60 days. The S0h sample was stored at -1.4°C without fermentation. The kimchi samples were harvested at 30th day of storage.

균이 우세함을 알 수 있었다(Fig. 3). 배추김치 발효단계별 유산균 속 분포는 일반적으로 발효 초기에는 *Leuconostoc* 속이, 발효 중기에는 *Weissella* 속이 우점하는 것으로 알려져 있어 (Cho 등 2006), 상기의 결과는 발효시간 조건에 따른 차이가 나타난 결과라 판단되며, 선행 연구에서도 발효시간 조건에 따라 유사한 경향을 보였다(Park 등 2013). 또 다른 연구결과에 의하면 적숙기에 *Leuconostoc* 속, *Lactobacillus* 속, *Weissella* 속이 거의 대등하게 분포함을 알 수 있는데(Jung 등 2011), 이러한 차이도 김치 재료 및 부재료의 종류와 숙성 및 저장조건 차이에 기인한 것으로 판단된다.

숙성시간 조건에 따른 배추김치의 인간 위암세포 증식 억제효능을 분석한 결과는 Fig. 4와 같다. 시료로 사용한 배추김치 추출물은 기본적으로 위암세포 성장을 억제하는 효능을 보유하고 있음을 알 수 있었다. 암세포 성장 억제 효능은 저장 30일째에서 시료에서 가장 높게 관찰되었으며, 저장기간이 더 길어지면 효능이 감소하는 경향을 보였다. 또한 익힘 시간 없이 바로 저장한 대조군 김치의 암세포 억제 효능은 상대적으로 낮은 편이었다. 익힘 시간을 준 시료 중에서는 46시간 시료인 S46h에서 저장 30일째 가장 높은 위암세포 성장 억제 효과를 보였으나, S46h, S47h, S48h 시료 간의 유의적인 차이는 없는 것으로 분석되었다. 또한 저장 30일째 시료의 항암 단백질(p53) mRNA 발현에 대한 효과를 조사하였다. Fig. 5에서와 같이 S46h, S47h 시료에서의 p53 단백질의 mRNA 발현이 상대적으로 높게 나타났고, S48h와 S0h 시료에서는 상대적으로 낮았다. 이러한 결과들로 비추어 볼 때 김치 항암효과는 p53 단백질뿐 아니라, 김치가 보유하고 있는 다양한 대사산물, 유산균 수 및 유산균 구성비율 차이, 그리고 발효과

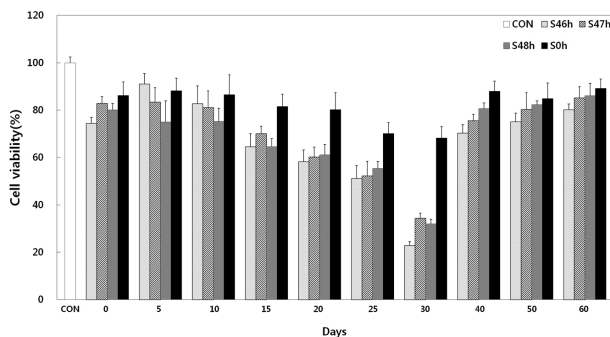


Fig. 4. Inhibition of AGS cell growth by kimchi samples. After making kimchi (0 day samples), the S46h, S47h, S48h samples were fermented at 15°C for 46 h, 47 h, 48 h of the first 10 days and subsequently stored at -1.4°C up to 60 days. The S0h sample was stored at -1.4°C without fermentation. Con, AGS cells treated with PBS instead of kimchi sample.

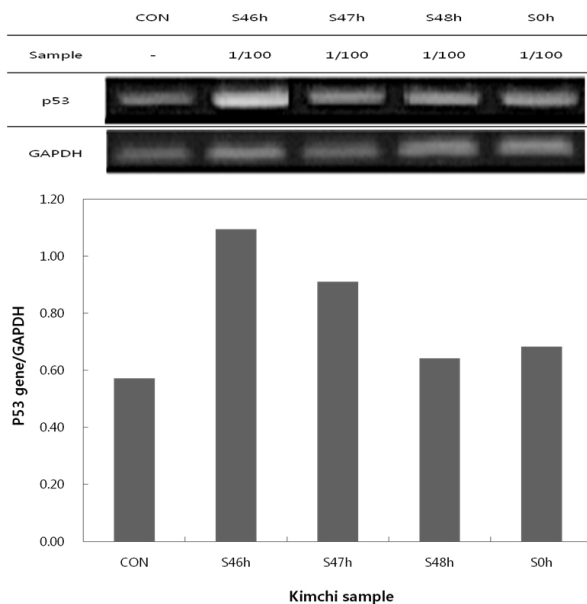


Fig. 5. Expression of p53 mRNA in AGS cells treated with kimchi samples. After making kimchi (0 day samples), the S46h, S47h, S48h samples were fermented at 15°C for 46 h, 47 h, 48 h of the first 10 days and subsequently stored at -1.4°C up to 60 days. The S0h sample was stored at -1.4°C without fermentation. The kimchi samples were harvested at 30th day of storage and the extracts were prepared as described in Materials and Method.

정에 따른 이들의 변화 등 복합적인 요인에 따른 효능이라 생각된다. 발효산물 중 향암 효능을 보유하고 있는 것으로 알려진 것 중에는 acetate, propionate, butyrate, GABA, ornithine 및 오르니틴 생성효소 등이 있으며, 유산균체 및 그 구성분도 향암 효능이 있는 것으로 알려져 있다(Tang 등, 2011; Robinson 등, 1999; Joseph 등, 2002; Tatsuta 등, 1992; Sun 등, 2003; Fava 등, 2005). 본 연구에서도 S46h, S47h, S48h, S0h 시료들 간 GABA와 오르니틴의 함량, 유산균 수 및 유산균 속 분포 등이 차이를 알 수 있었고(Fig. 2, Fig. 3, Fig. 6), 이들 간의 차이도 암세포 증식 억제 효과에 기여했을 것으로 판단된다. 향후 김치의 위암세포 증식 억제 효과의 핵심인자를 찾아내기 위한 연구가 진행될 예정이다. 또한 김치 추출물의 정상세포에 대한 다른 선행 연구 결과에 의하면 배추김치 추출물이 정상세포에 대해 세포독성은 없었고, 오히려 정상세포 성장에 도움을 주는 것으로 나타난 바 있어(Yoon and Chang 2011), 본 김치 시료의 정상세포 성장에 미치는 영향을 조사할 예정이다.

본 실험에 사용한 김치 중 저장 30일째 시료의 가바와 오르니틴 함량을 조사한 결과는 Fig. 6과 같다. 그림에서와 같이 익힘 후 저장한 김치의 GABA와 오르니틴 함량은 대조군

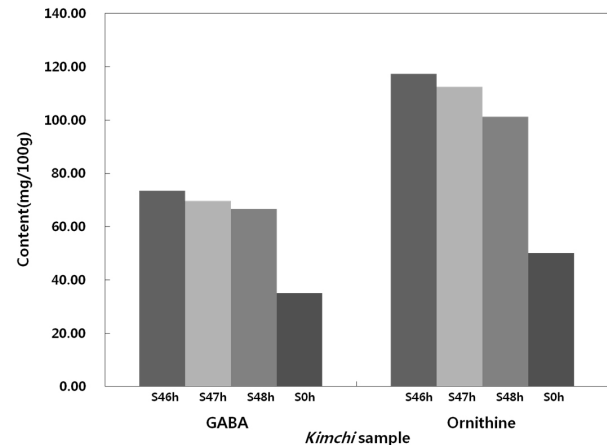


Fig. 6. Changes in the levels of GABA and ornithine of kimchi samples. After making kimchi (0 day samples), the S46h, S47h, S48h samples were fermented at 15°C for 46 h, 47 h, 48 h of the first 10 days and subsequently stored at -1.4°C up to 60 days. The S0h sample was stored at -1.4°C without fermentation. The kimchi samples were harvested at 30th day of storage.

김치에 비하여 월등하게 높은 것으로 나타났고, S46h 시료에서 가장 높게 나타났다. GABA는 대장암 세포, 위암 세포, 간암 세포, 담관암 세포의 증식을 저해하는 효과가 있는 것으로 보고된 바 있다(Joseph 등, 2002; Tatsuta 등, 1992; Sun 등, 2003; Fava 등, 2005). 오르니틴과 그 생성 효소 arginine deiminase도 항암 효과에 관련되어 있는 것으로 알려지고 있다(Kim 등 2009; Hsueh 등 2012). 따라서 본 연구와 다른 연구결과를 통해 김치에 존재하는 GABA, 오르니틴, 오르니틴 생성 효소, 그리고 또 다른 대사 산물인 butyrate, acetate 등이 김치의 향암 효과를 부여하는 주요 인자가 될 수 있음을 제안해 줄 수 있다(Joseph 등, 2002; Kim 등 2009; Hsueh 등 2012). 또한 본 연구결과는 배추김치 발효 및 저장조건에 따른 김치 추출물의 위 암세포 증식 억제 효과와 기능성 물질인 가바 및 오르니틴 함량과 상호 연관 가능성을 제공해 주는 것으로, 향후 구체적인 항암 지표성분 규명 및 표준화 연구에 필요한 기초 자료를 제공해 주는 것이다.

요 약

배추김치 제조 후 익힘 시간 및 김치 냉장고 저장 기간에 따른 김치의 위 암세포 증식 억제 효능 변화를 측정해 본 결과, 저장 30일 김치 시료 기준으로 익힘 과정을 거치지 않은 S0h 시료에 비하여 46시간의 익힘 과정을 거친 S46h 시료의 효능이 가장 우수하였고, 이어서 S47h, S48h 시료의 효능이 우수하였다. 그리고 S0h 경우는 상대적으로 암세포 증식 억

제 효능이 가장 약하였다. 이는 적정 발효에 따른 발효 대사 산물, 그리고 유산균 속 및 종 변화에 기인한 결과로 판단되며, 항암 효능 보유물질로 알려진 GABA의 농도와도 연관이 있을 수 있음을 제안해 주고 있다. 김치는 다양한 재료 유래의 기능성 물질, 대사산물 및 유산균을 보유하고 있는 발효식품이다. 따라서 본 연구는 김치제조 후 최적의 숙성 시간과 저장 기간을 선택하면 항암 기능성이 증진된 김치를 섭취할 수 있는 것을 제안해 주고 있다.

감사의 글

본 연구는 위니아만도(주) 연구비 지원으로 수행되었으며, 연구비 지원에 감사드립니다.

References

- Birch DE, Kolmodin L, Laird WJ, McKinney N, Wong J, Young KKY, Zangenberg GA, Zoccoli MA. 1996. Simplified hot-start PCR. *Nature* 381:445-446
- Bucci L, Hickson JF, Pivarnik JM, Wolinsky I, McMahon JC, Turner SD. 1990. Ornithine ingestion and growth hormone release in body-builders. *Nutr Res* 10:239-245
- Bucci LR, Hickson JF Jr, Wolinsky I, Pivarnik JM. 1992. Ornithine supplementation and insulin release in bodybuilders. *Int J Sport Nutr* 2:287-291
- Cho JH, Lee DY, Yang CN, Jeon JI, Kim JH, Han HU. 2006. Microbial population dynamics of *kimchi*, a fermented cabbage product. *FEMS Microbiol Lett* 257:262-267
- Cho YR, Chang JY, Chang HC. 2007. Production of γ -aminobutyric acid (GABA) by *Lactobacillus buchneri* isolated from *kimchi* and its neuroprotective effect on neuronal cells. *J Microbiol Biotechnol* 17:104-109
- Choi IH, Noh JS, Han JS, Kim HJ, Han ES, Song YO. 2013. *Kimchi*, a fermented vegetable, improves serum lipid profiles in healthy young adults: Randomized clinical trial. *J Med Food* 16:223-229
- Elam RP, Hardin DH, Sutton RA, Hagen L. 1989. Effects of arginine and ornithine on strength, lean body mass and urinary hydroxyproline in adult males. *J Sports Med Phys Fitness* 29:52-56
- Fava G, Marucci L, Glaser S, Francis H, Morrow SD, Benedetti A, Alvaro D, Venter J, Meininger C, Patel T, Taffetani S, Marzoni M, Summers R, Reichenbach R, Alpini G. 2005. γ -Aminobutyric acid inhibits cholangiocarcinoma growth by cyclic AMP-dependent regulation of the protein kinase A/extracellular signal-regulated kinase1/2 pathway. *Cancer Research* 65:11437-11446
- Hsueh EC, Knebel SM, Lo WH, Leung YC, Cheng PNM, Hsueh CT. 2012. Deprivation of arginine by recombinant human arginase in prostate cancer cells. *J Hematol Oncol* 5:17 doi:10.1186/1756-8722-5-17
- Joseph J, Niggemann B, Zaenker KS, Entschladen F. 2002. The neurotransmitter γ -aminobutyric acid is an inhibitory regulator for the migration of SW 480 colon carcinoma cells. *Cancer Research* 62:6467-6469
- Jung JY, Lee SH, Kim JM, Park MS, Bae JW, Hahn YS, Madsen EL, Jeon JO. 2011. Metagenomic analysis of *kimchi*, a traditional Korean fermented food. *Appl Environ Microbiol* 77:2264-2274
- Kim B, Seo WT, Kim MG, Yun HD, Cho KM. 2012. Metagenomic lactic acid bacterial diversity during *Mulkimchi* fermentation based on 16S rRNA sequence. *J Korean Soc Appl Biol Chem* 55:787-792
- Kim M, Chun J. 2005. Bacterial community structure in *kimchi*, a Korean fermented vegetable food, as revealed by 16S rRNA gene analysis. *Int J Food Microbiol* 103:91-96
- Kim MJ. 2010. Preparation and characterization of *kimchi* using lactic acid bacteria having GABA and ornithine producing capacity and its some functional properties. MS Thesis, Chonbuk National Univ. Jeonju. Korea
- Kim, JE, Kim SY, Lee KW, Lee HJ. 2009. Arginine deiminase originating from *Lactococcus lactis* spp. *lactis* American Type Culture Collection (ATCC) 7962 induces G1-phase cell-cycle arrest and apoptosis in SNU-1 stomach adenocarcinoma cells. *Bri J Nutri* 102:1469-1476
- Lee D, Kim S, Cho J, Kim J. 2008. Microbial population dynamics and temperature changes during fermentation of *kimjang kimchi*. *J Microbiol* 46:590-593
- Moinard E, Caldefie E, Walrand S, Felgines C, Vasson MP, Cynober L. 2000. Involvement of glutamine, arginine, and polyamines in the action of ornithine α -ketoglutarate on macrophage functions in stressed rats. *Journal of Leukocyte Biology* 67:834-840
- Moon YJ, Soh JR, Yu JJ, Sohn HS, Cha YS, Oh SH. 2012. Intracellular lipid accumulation inhibitory effect of *Weissella koreensis* OK1-6 isolated from *Kimchi* on differentiating adipocyte. *J Applied Microbiology* 113:652-658
- Mosmann T. 1983. Rapid colorimetric assay for cellular growth

- and survival application to proliferation and cytotoxic assays. *J Immunol Methods* 65:55-63
- Oh SH, Kim HJ, Kim YH, Yu JJ, Park KB, Jeon JI. 2008. Changes in some physico-chemical properties and γ -aminobutyric acid content of *kimchi* during fermentation and storage. *J Food Sci Nutr* 13:219-224
- Park JA, Tirupathi Pichiah PB, Yu JJ, Oh SH, Daily J.III, Cha YS. 2012. Anti-obesity effect of *kimchi* fermented with *Weissella koreensis* OK1-6 as starter in high-fat diet-induced obese C57BL/6J mice. *J Applied Microbiology* 113:1507-1516
- Park KB, Kim SG, Yu JH, Kim JS, Kim ES, Jeon JI, Oh SH. 2013. Changes in fermentation properties and ornithine levels of *Baechu Kimchi* by storage condition. *Korean J Food & Nutr* 26:945-951
- Park KB, Oh SH. 2006. Isolation and characterization of *Lactobacillus buchneri* strains with high γ -aminobutyric acid producing capacity from naturally aged cheese. *Food Sci Biotechnol* 15:86-90
- Rhee SJ, Lee JE, Lee CH. 2011. Importance of lactic acid bacteria in Asian fermented foods. *Microbial Cell Factories* 10:S5,1-13
- Robinson LE, Bussiere FI, Le Boucher J, Farges Me, Cynober LA, Field C1, Baracos VE. 1999. Amino acid nutrition and immune function in tumour-bearing rats: a comparison of glutamine-, arginine- and ornithine 2 oxoglutarate-supplemented diets. *Clinical Science* 97:657-669
- Seok JH, Park KB, Kim YH, Bae MO, Lee MK, Oh SH. 2008. Production and characterization of *kimchi* with enhanced levels of γ -aminobutyric acid. *Food Sci Biotechnol* 17:940-946
- Shi HP, Fishel RS, Efron DT, Williams JZ, Fishel MH, Barbul A. 2002. Effect of supplemental ornithine on wound healing. *J Surgical Res* 106:299-302
- Sun D, Gong Y, Kojima H. 2003. Increasing cell membrane potential and GABAergic activity inhibits malignant hepatocyte growth. *Am J Physiol* 285:G12-19
- Tang Y, Chen Y, Jiang H, Nie D. 2011. The role of short-chain fatty acids in orchestrating two types of programmed cell death in colon cancer. *Autophagy* 7:235-237
- Tatsuta M, Iishi H, Baba M, Taniguchi H. 1992. Attenuation by the GABA receptor agonist baclofen of experimental carcinogenesis in rat colon by azoxymethane. *Oncology* 49:241-245
- Yoon HH, Chang HC. 2011. Growth inhibitory effect of *Kimchi* prepared with four year-old solar salt and Topan solar salt on cancer cells. *Korean J Food & Nutr* 40:935-941
- Yu JJ, Oh SH. 2010. Isolation and characterization of lactic acid bacteria strains with ornithine producing capacity from natural sea salt. *J Microbiology* 48:467-472
- Yu JJ, Oh SH. 2011. γ -Aminobutyric acid production and glutamate decarboxylase activity of *Lactobacillus sakei* OPK2-59 isolated from *kimchi*. *Kor J Microbiol* 47:316-322
- Yu JJ, Park HJ, Kim SG, Oh SH. 2009. Isolation, identification and characterization of *Weissella* strains with high ornithine producing capacity from *kimchi*. *Kor J Microbiol* 45:339-345

접 수 : 2014년 6월 26일
 최종수정 : 2014년 8월 12일
 채 택 : 2014년 8월 19일