

기능성 배추 김치의 발효 특성과 암세포 증식저해능

유광원 · 이성현 · 신은혜 · †황종현

한국교통대학교 식품영양학과

Fermentative Characteristics and Anti-Proliferative Activity against Mouse Carcinoma Cell Line of *Kimchi* prepared with Functional Cabbage

Kwang-Won Yu, Seong-Hyun Lee, Eun-Hae Shin and †Jong-Hyun Hwang

Dept. of Food and Nutrition, Korea National University of Transportation, Jeungpyeong 27909, Korea

Abstract

To compare functional Chinese cabbage ('Amtak' baechu; F₁ hybrid cultivar between *Brassica rapa* and *B. perkinensis*, AB) with general Chinese cabbage ('Chunkwang' baechu; general spring cultivar, CB), two kinds of *kimchi*(ABK and CBK) prepared with AB and CB cultivar were fermented at 10°C for 10 days. Their fermentative characteristics and anti-proliferative activities against mouse carcinoma cell lines were investigated. General *kimchi*(CBK) showed mature pH on the 6th day of fermentation, whereas functional *kimchi*(ABK) reached pH on the 9th day. CBK also exhibited acidity of mature stage on the 6th day, but ABK reached mature acidity on the 9th day. Although ABK and CBK were salted in the same condition, ABK had lower salinity than CBK, throughout the fermentation time. The highest total bacterial and lactic bacterial counts of CBK showed on the 8th day of fermentation, but ABK showed the highest total bacterial and lactic bacterial counts on the 10th day. The texture of ABK was harder than CBK for fermentation time. This seems to be correlated with the slower fermentation rate of ABK. ABK showed significantly higher anti-proliferative activity (54.6% cell viability of control) in B16BL6 at 1,000 µg/mL. ABK was also higher in anti-proliferative activity than CBK throughout the fermentation time. However, there was no significant difference in the anti-proliferative activity of ABK between the fermentation times. In conclusion, fermentation of ABK showed a better texture, due to the slow fermentation rate and more anti-proliferative activity against mouse carcinoma cell line than those of CBK.

Key words: Amtak baechu, functional *kimchi*, fermentative characteristics, anti-proliferative activity

서론

김치는 한국의 대표적인 전통음식으로 채소류와 각종 해산물 및 젓갈을 사용하는 복합 발효식품이며, 영양학적으로 비타민, 무기질함량이 높고, 식이섬유질 함량 역시 높아 2001년 7월 국제식품규격(Codex standard)에 'Kimchi'로 채택되었으며, 세계 5대 건강식품으로 'Health'지에 선정될 만큼 영양학적으로나 기능학적으로 중요한 건강식품으로 인식되고 있다. 김치가 건강식품으로 주목을 받으면서 김치의 건강기능성에 대한 연구는 다양하게 이루어지고 있으며, 이에 관한 연

구로는 배추와 갯류의 flavonol, sinapine, anthocyanins, chlorophylls, carotenoids, 마늘의 allicin, garlic acid, scordinin, 생강의 gingerol, gingeron, shogaol 등 원료의 성분에 의한 항산화 효과(Song 등 2001; Jung & Kim 2008; Lee 등 2014), 발효 김치 추출물의 피부독성에 대한 완화 및 갯김치와 배추김치균의 피부노화 예방효과(Ryu 등 1997; Ryu 등 2004), 김치의 지방질 배설능 증가와 콜레스테롤 농도를 저하시키는 효과(Hwang 등 2000; Lee & Jeong 1999), 김치추출물의 면역증강 효과, 김치유산균에 의한 항균 및 정장 작용(Ryu 등 2012; Lee 등 2016)과 항암활성 등 다양한 기능성이 보고되고 있다. 이

† Corresponding author: Jong-Hyun Hwang, Department of Food and Nutrition, Korea National University of Transportation, Jeungpyeong 27909, Korea. Tel: +82-43-820-5332, Fax: +82-43-820-5850, E-mail: jhhwang@ut.ac.kr

중 항암활성에 대한 연구를 살펴보면 배추김치의 추출물을 용매별로 분획한 희 분에서 위암세포와 골육암세포에 대해 항암활성(Cho 등 1999)을 비롯해서 김치유산균의 돌연변이 유발 억제효과(Park 등 1998)와 김치 주 발효균의 하나인 *Lactobacillus plantarum* 스타터 첨가가 암세포 성장을 저해하는 효과(Bong 등 2013) 등의 김치 유산균에 의한 항암효과 및 간수를 제한 천일염과 구운 소금으로 절인 배추김치에서의 항암활성(Han 등 2009)과 고추, 마늘, 초피 등의 향신료가 항암효과를 높인 연구(Park 등 1998), 양파김치의 암세포 증식억제에 관한 연구(Park 등 2004)로 주로 김치제조 과정상 사용되는 부원료에서 유래하는 김치의 항암연구 등이 대부분이다. 그러나 소비가 가장 많은 배추김치의 주원료인 배추의 종류에 따른 연구는 배추 재배 방식에 따라 터널식 배추가 노지 배추에 비하여 결장암에 대한 항암효과가 높다는 보고(Chun 등 2008) 외에 별다른 연구가 행해지고 있지 않다.

본 연구에서는 한 종묘회사에서 순무와 배추를 중간 교잡하여 개발한 배추 품종(‘암탁배추’)이 기능성 배추로 시중에 유통되고 있으며, 이 배추를 원료로 제조한 김치는 일반배추의 특성과 함께 순무가 지니는 특성을 나타낼 것으로 기대된다. 특히 순무의 성분에는 항암활성, 항산화 활성, 소염작용 등의 기능성이 보고되고 있고(Kim 등 2004) 순무김치가 오랫동안 시어지지 않고 숙성이 지속되는 특성이 있어, 본 연구에서는 이러한 배추품종을 이용한 김치의 발효 특성과 암세포 저해 활성을 검토함으로써 향후 저장성과 항암성을 높일 수 있는 기능성 김치를 개발하기 위한 기초자료로 활용하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 재료

본 실험에 사용한 김치원료로써 배추는 중평의 J종묘회사로부터 ‘암탁배추’를 구입하였고, 대조균인 일반배추인 ‘춘광배추’는 충북 충주의 K사로부터 구입하여 사용하였으며, 김치의 부재료는 H마트(중평, 충북)에서 구입하여 사용하였다. 절임에 사용한 소금은 천일염(신안산, 영진그린식품)을 사용하였다. 분석에 사용될 일반시약은 Sigma-Aldrich(St. Louis MO, USA) 제품을 사용하였고, 미생물 분석을 위해 사용된 배지는 Difco사(Difco Lab., Detroit, MI, USA)의 제품을 사용하였다. 항암활성을 측정하기 위하여 사용한 fetal bovine serum (FBS), Dulbecco's modified eagle's medium(DMEM), 100 units/mL의 penicillin-streptomycin, trypsin/EDTA(1 mM), phosphate buffered saline(PBS)은 Gibco BRL사(Grand Island, NY, USA)로부터 구입하여 사용하였다.

2. 김치 제조

배추는 푸른 겉잎을 제거하고, 정선한 2.5~3.0 kg의 배추를 2등분하여 13%의 염수에 담가 20시간 절인 다음, 흐르는 물에 3회 세척하고, 배추중량과 동일한 양의 0.5% 염수에 1시간 담가 배추염도를 평형화 한 후 건져서 2시간 탈수하여 절임배추를 제공하였다. 김치는 절임배추 75.9%, 무채 12.0%, 고춧가루 2.8%, 마늘 2.7%, 생강 0.4%, 대파 1.2%, 양파 1.4%, 새우젓 2.2%, 설탕 1.2%, 소금 0.2%의 배합비율에 따라 제조하였다. 제조된 김치(암탁배추 김치; ABK, 일반배추 김치; CBK)는 10°C에서 10일간 발효시키면서 24시간마다 샘플링하여 분석에 이용하였다.

3. pH 및 산도 측정

pH와 산도는 김치 고형물을 잘게 자른 다음, mixer(한일전기, 서울, 국산)에 넣어 마쇄한 후 깔때기에 두 겹으로 거즈를 받쳐 거른 여액을 pH meter(Thermo Fischer Scientific, Waltham, MA, USA)로 측정하였으며, 산도의 측정은 김치 여액 10 mL를 취하여 0.1 N NaOH 용액으로 pH 8.3이 될 때까지 적정한 다음, 이 때 소비된 값을 아래의 계산식에 의하여 lactic acid으로 환산하여 표시하였다(Hwang JH 2015).

적정산도(lactic acid %) =

$$\frac{\text{적정에 사용한 NaOH 양(mL)} \times F \times 0.009}{\text{시료 채취량(g)}} \times 100$$

F: Factor of 0.1 N NaOH

4. 유산균수 및 총균수 측정

김치 25 g을 멸균 핀셋을 이용하여 Stomacher 전용의 무균 pouch에 취한 다음 멸균 생리식염수 225 mL를 붓고, Stomacher (Promedia SH-II M, Tokyo, Japan)를 이용하여 2분간 균질화한 후 단계적으로 10배씩 희석액을 조제하였다. 총균수는 plate count agar(Difco Lab.) 배지에 pour plating하고, 37°C에서 24~48시간 배양하여 나타난 콜로니 수가 30~300이 되는 배지를 선택 계수하여 총균수(CFU/g)로 하였다. 유산균수는 MRS agar (Difco Lab) 배지에서 동일 방법으로 계수하였다(Hwang JH 2015).

5. 경도 측정

본 연구에서는 평면 배열된 여러 개의 유관속 부위를 동시에 자르는 절단시험을 통해 경도를 측정하였으며, 배추의 위치별로 측정하는 방법(Lee 1995)에 따라 Texture Analyzer (Stable Micro Systems Ltd., Haslemre, UK)를 사용하여 경도(hardness)를 측정하였다. 즉, 시료의 겉잎으로부터 안쪽 3번째 잎을 취하여 아래로부터 3 cm 위쪽 부분과 배추길이의 1/2위

치 부분의 백색부분을 각각 3 cm×3 cm 크기로 잘라 중심부를 측정하였다. 분석 조건으로 probe는 stainless steel rod(diameter 50 mm), target mode는 distance 10 mm, pre-test speed 2.0 mm/sec, test speed 1.0 mm/sec로 조절하였다. 모든 시료는 총 3회 반복 측정하여 평균값을 분석하였다(Park 등 2013).

6. 추출물 제조

김치의 열수추출물은 시료 100 g을 칭량하여 20배의 증류수를 첨가한 뒤 homogenizer(KG-IKA Labortechnik, Staufen, Germany)로 5,000 rpm에서 5분간 분쇄한 1/2 volume이 되도록 decoction한 다음, 여과지(Whatman No. 2)를 이용하여 잔사와 추출여액을 분리하였다. 추출여과액은 원심분리(7,000×g, 30분)에 의해 불용성 침전물을 제거한 후, 진공농축기(EYELA N-1000, Tokyo, Japan) 및 동결 건조하여 시료로 사용하였다. 시료는 saline에 적당 농도로 용해하고, Syringe filter(0.2 μm)로 여과하여 사용하였다.

7. 암세포배양

본 실험에 사용한 암세포는 Colon26-M3.1와 B16BL6 이었으며, 한국세포주은행(Korean Cell Line Bank, Seoul, Korea)으로부터 분양받아 사용하였다. 각 세포주는 10%의 FBS(fetal bovine serum)와 1%의 penicillin-streptomycin이 첨가된 RPMI-1640 medium(Gibco Co, NY, USA)을 사용하여 T-75 flask에 이식한 후 37°C, 5% CO₂ incubator에서 배양하였다. 배양된 암세포는 trypsin/EDTA 용액을 첨가하여 T-flask 바닥으로부터 cell을 완전히 분리하여 배양매지에 재용해하고, 세포수가 1.0×10⁵/mL가 되도록 cell 용액의 농도를 조정하였다. 조정된 세포를 실험에 사용하기 위하여 96 well cell culture plate(SPL Life Science, Gyeonggi, Korea)에 200 μL씩 분주한 뒤, 24시간 동안 전배양하여 monolayer를 형성시켰으며, 안정화시켰다. 한편, 암세포 성장억제 효과는 세포생존율을 측정하는 시약인 EZ-cytox(Dozen, Gyeonggi, Korea)를 이용한 water-soluble tetrazolium salt(WST)법 (Ishiyama 등 1996)에 따라 측정하였다. 즉, 96 well plate상에서 24시간동안 배양 및 안정화된 세포의 배양 상정액을 제거하고, 새로운 배지 180 μL와 적당한 농도로 희석된 김치추출물 시료 20 μL를 첨가하여 37°C, 5% CO₂ 배양기에서 48시간 동안 재배양하였다. 배양 완료 후, 배양 상정액을 모두 제거한 뒤 PBS에 적당한 농도로 희석시킨 Ez-cytox 시약 100 μL를 첨가하여 생존한 세포가 발생시키는 chromogen을 450 nm의 파장에서 측정하였으며, 추출물 시료가 첨가되지 않은 무첨가 대조군(saline control)에 대비한 생존율(cell viability, %)로 암세포 생존율을 측정하였다.

8. 통계분석

실험결과에 대한 통계분석은 SPSS 통계프로그램(Statistical

Package for the Social Science, Ver. 12.0, SPSS Inc., Chicago, IL, USA)을 이용하여 실험결과의 평균과 표준편차를 산출하고, 평균치±S.D.로 나타내었으며, 분산분석(ANOVA)을 실시한 후, 각 측정값간의 유의성을 Duncan's multiple range test로 검증하였다.

결과 및 고찰

1. 발효 중 pH, 산도 및 염도 변화

대조구 배추는 일반배추인 춘광배추(CB)를, 기능성 배추로는 암탁배추(AB)를 이용하여 포기김치를 제조한 후에 10°C에서 10일간 발효하면서 발효 경과 중 pH, 산도 및 염도를 분석하였다(Fig. 1). 먼저, pH 변화는 일반배추 김치(CBK)의 경우에는 초기 pH 5.91에서 발효 2일차에 pH 5.65로 낮아지기 시작하여 6일차에 pH 4.28로 적숙기의 pH에 도달하였으나, 암탁배추 김치(ABK)의 경우에는 초기 pH 5.90으로 시작하여 숙성 4일차에 pH 5.79로 낮아졌고, 8일차에 이르러 적숙기인 pH 4.33에 도달함으로써 ABK가 CBK에 비하여 2일 정도 pH 저하가 늦어짐을 알 수 있었다(Fig. 1). 산도의 경우에서도 pH 변화와 유사하게 CBK에서는 초기 산도는 0.26%에서 시작하여 점차 상승하다가 발효 2일차에 0.35%에 도달한 후 급격히 증가하여 6일차에 적숙기 산도 0.77%에 이르렀으며, 발효 9일차에 1.00%에 이르러 완숙기에 도달하였다(Fig. 1). 한편, ABK는 초기 0.25%에서 시작한 후, 발효 5일차까지 완만하게 상승하여 0.33%에 이르렀다가, CBK가 완숙기에 이르는 발효 9일차에도 0.72%의 산도를 나타내어 ABK는 10°C 발효에서 발효숙성 기간이 CBK보다 4일 정도 지연되는 결과를 보여주었다(Fig. 1). 이와 같은 결과는 CB에 비하여 AB로

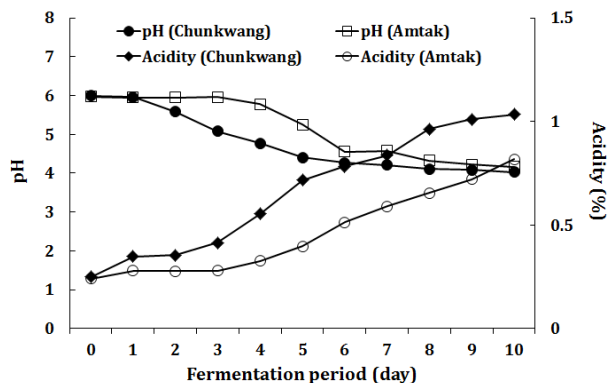


Fig. 1. Changes in pH and acidity of kimchi prepared with two kinds of Chinese cabbage cultivars during fermentation at 10°C. Sample explanations are the same as in Table 1.

제조한 김치가 발효 속성이 늦어지는 결과를 보여주는 것으로, 겨울배추 품종과 고랭지 여름배추 품종으로 만든 김치의 발효 중 적숙기의 pH와 산도에 도달하는 속도가 서로 달라 배추의 품종에 따라 절임과 발효 속도에 차이가 있음을 보여준 결과(Jeon 등 1999) 및 봄배추의 주요 품종별 김치를 제조하여 발효경과를 비교한 논문(Kim & Kim 2000)에서 품종별로 발효 중 절임속도에 차이가 있을 뿐만 아니라, pH와 산도의 변화추이가 달라짐으로써 품종의 차이가 김치 발효에 영향을 미쳤다는 결과와도 유사한 경향을 나타내었다. 따라서 본 연구에 사용한 CB와 AB는 동일시기에 재배된 것이라도 품종에 따라 조직의 차이가 발생하여 김치 발효 시 pH와 산도의 변화에 영향을 미치는 것으로 사료된다.

한편, 염도의 경우에는 CBK는 1.82~2.03% 범위에서, ABK가 1.70~1.99%의 범위에서 시료간의 배추크기에 기인하는 약간의 차이를 보여주고 있으나, 대체적으로 김치의 적정 염도 범위인 1.8~2.0% 수준을 유지하고 있으며(Table 1), 전체적으로 ABK의 염도가 약간 낮은 수준으로 나타난 것은 2품종의 배추를 동일 절임조건과 동일 레시피로 제조하였음에도 불구하고, AB가 CB에 비해 크기가 크고 조직이 단단하여 절임 염도가 낮았기 때문인 것으로 보인다.

2. 미생물수 변화

두 실험구의 김치를 10°C에서 10일간 발효하면서 발효경과 중 총균수와 유산균수의 변화를 경시적으로 측정하였다. 총균수에서는 일반배추 김치인 CBK가 초기균수 7.30×10⁵ CFU/g에서 숙성 5일차까지 점차 증가하여 4.28×10⁷ CFU/g에 이르렀다가 서서히 증가하여 8일차에 최고 1.09×10⁹ CFU/g에 이르렀으나, ABK에서는 초기균수 6.03×10⁵ CFU/g에서 숙성 4일차까지 완만하게 생육하여 4.40×10⁶ CFU/g에 이르렀다가 마찬가지로 4일차 이후 서서히 증가하였으며, 숙성 10일차에는 최고 4.69×10⁸ CFU/g에 이르러 초기의 균수증가 속도가 늦어지면서 최대균수에 도달하는 시점이 2일 정도 늦게 진행되었다(Fig. 2). 유산균수는 CBK의 경우, 초기균수 3.60×10⁶ CFU/g에서 서서히 증가하여 마찬가지로 8일차에 최고 1.14×10⁹ CFU/g에 이르렀으며, ABK는 초기균수 5.22×10⁵ CFU/g에

서 숙성 5일차까지 완만하게 생육하여 6.08×10⁶ CFU/g 수준에 머무르다가, 10일차시점에 최고 1.97×10⁸ CFU/g에 이르렀으며(Fig. 3), 총균수와 마찬가지로 유산균수가 최대에 이르는 시점이 3일 정도 지연되었다. 이와 같은 결과는 pH와 산도의 분석 결과에서 서술한 바와 같이 ABK는 CBK에 비하여 유산균의 생육 활성이 저하되면서 상대적으로 숙성이 지연되는 것으로 생각되었다. 이와 같은 결과는 배추 품종을 달리한 연구에서 겨울배추 품종의 김치가 여름배추 품종으로 제조한 김치에 비해 유산균의 생육이 낮은 이유가 김치의 주재료인 배추에 기인한다는 결과(Jeon 등 1999) 및 배추의 품종별 발효과정에서 발효 2일차에 유산균이 최대에 이르렀으나, 발효 경과 중 유산균수는 배추품종별로 차이가 나타나고 있음을 보여준 결과(Kim 등 1998)와도 유사한 경향을 나타내었다.

3. 경도변화

배추김치의 조직감은 김치의 품질을 좌우하는 중요한 인

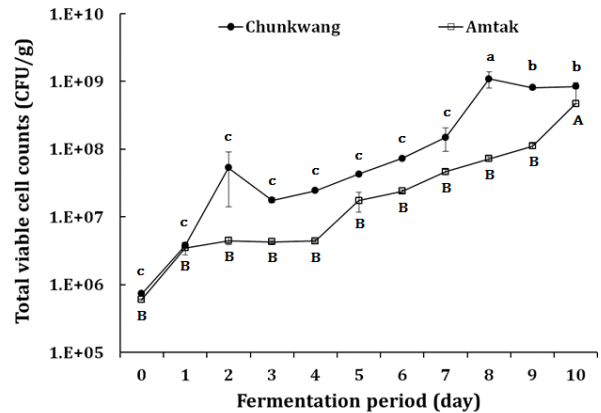


Fig. 2. Changes in total viable cell counts of kimchi prepared with two kinds of Chinese cabbage cultivars during fermentation at 10°C. Sample explanations are the same as in Table 1. The difference between lower and upper case letters on the bar means that there is a significant difference (p<0.05) among all tested samples of Chunkwang and Amtak, respectively, by Duncan's multiple range test.

Table 1. Changes in salinity of kimchi prepared with two kinds of Chinese cabbage cultivars during fermentation at 10°C (Unit: %)

Kimchi ¹⁾	Fermentation time (days)									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
ABK	1.93±0.03 ^{2)ab}	1.79±0.01 ^{cde}	1.73±0.07 ^{de}	1.77±0.02 ^{de}	1.82±0.02 ^{bcd}	1.87±0.04 ^{bc}	1.74±0.07 ^{dc}	1.91±0.05 ^a	1.99±0.02 ^a	1.70±0.05 ^c
CBK	1.91±0.01 ^b	1.83±0.03 ^c	1.82±0.04 ^c	1.95±0.03 ^b	1.95±0.03 ^b	1.94±0.01 ^b	2.02±0.03 ^a	2.03±0.02 ^a	1.95±0.04 ^b	1.82±0.05 ^c

¹⁾ ABK; Kimchi prepared with Amtak baechu cabbage cultivars, CBK; Kimchi prepared with Chunkwang baechu cabbage cultivars.
²⁾ The different letters in the row of each fermentation period mean significantly different (p<0.05) by Duncan's multiple range test.

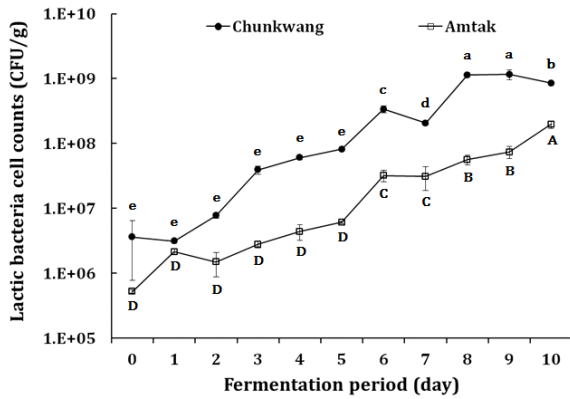


Fig. 3. Changes in lactic acid bacteria of kimchi prepared with two kinds of Chinese cabbage cultivars during fermentation at 10°C. Sample explanations are the same as in Table 1. The difference between lower and upper case letters on the bar means that there is a significant difference ($p < 0.05$) among all tested samples of Chunkwang and Amtak, respectively, by Duncan's multiple range test.

자이나, 배추조직이 불균일하고, 배추 두께, 중량, 크기 및 배추 부위에 따라 다르므로 기계적인 측정이 어렵다. 일반적인 견고성 지표로 알려진 압축강도는 배추에서의 굳은 정도 보다는 뻣뻣한 정도와 관계가 있는 것으로 판단되며, 김치의 절단강도를 3회 반복하여 측정된 값을 비교한 결과, CBK는 배추 잎의 하부는 초기 10.44±0.31 kg/cm²에서 5일차까지 일정 수준을 유지하다가 서서히 감소하여 10일차에 5.51±0.23 kg/cm²로 초기경도의 52.8%로 감소하였고, 중간부위도 초기 7.02±0.27 kg/cm²에서 유사하게 감소하여 10일차에 3.62±0.27 kg/cm²로 초기경도의 51.6% 수준까지 감소하였다(Table 2). 반면에, ABK는 배추 잎의 하부는 발효 초기에 12.81±0.27

kg/cm²에서 발효가 진행되면서 7일차까지 일정 수준을 유지하다가 점차 감소하여 10일차에 9.05±0.22 kg/cm²로 초기경도의 70.6% 수준으로 감소하였으며, 중간부위는 초기에 9.35±0.23 kg/cm²로 하부에 비하여 경도가 낮게 나타나서 부드러운 상태를 보여주었는데, 발효가 진행되면서 마찬가지로 점차 감소하여 10일차에 7.56±0.41 kg/cm²로 초기경도의 80.9%로 감소하여(Table 2) 김치의 아삭한 조직이 오래 유지되었다.

이와 같은 결과는 발효 경과 중 pH와 산도변화에서 나타난 바와 같이 ABK가 CBK에 비하여 발효 속도가 늦어 ABK가 발효 7일차에 산도가 0.84% 수준이었으나, CBK에서는 발효 10일차에 산도 0.81%를 나타내어 김치 발효가 진행됨에 따라 경도가 저하되었으며, 발효기간 중 조직감 변화에서도 ABK는 CBK보다 더 단단한 조직을 보여주었는데, 이는 ABK의 발효속도가 늦은 것과 연관성을 가지고 있는 것으로 사료된다. 이와 같은 특성은 배추김치의 경도가 초기에는 증가하다가 pH와 산도변화가 현저하게 일어나는 숙성 4일째부터 경도저하가 현저히 감소되었다는 결과(Lee C & Kim BM, 1992)와 유사하였고, 배추김치의 숙성과정 중 경도변화는 숙성이 진행됨에 따라 점차 감소한다는 보고(Ku 등 1997; Lee GC 1995) 및 배추품종에 따라 숙성 김치 경도가 다르게 나타났다는 결과(Kim MJ & Kim SD 2000)와 유사한 경향을 나타내어, ABK는 CBK에 비하여 발효 속도가 늦고 경도 저하가 낮아 오랫동안 김치조직이 양호하게 유지되는 것으로 판단된다.

4. 암세포 증식 저해효과

배추김치의 *in vitro* 항암효과를 비교하기 위하여 시판 Ezcytox 시약을 이용한 WST법을 이용하여 조사하였다. Colon26-M3.1 마우스 종양세포를 이용하여 검토한 결과(Fig. 4)에서,

Table 2. Changes in the cutting forces of kimchi with two kinds of Chinese cabbage cultivars during fermentation at 10°C (Unit: Kg/cm²)

Kimchi ¹⁾	Fermentation time (days)										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
ABK	Stem under ²⁾	12.81±0.27 ^{3)a}	11.95±0.18 ^b	13.21±0.31 ^a	11.40±0.29 ^c	12.08±0.22 ^b	10.72±0.27 ^d	11.45±0.18 ^c	9.96±0.031 ^e	8.38±0.29 ^e	9.05±0.22 ^f
	Stem middle	9.35±0.23 ^b	8.99±0.31 ^{bc}	9.04±0.27 ^a	8.12±0.41 ^d	8.78±0.29 ^c	7.30±0.23 ^f	8.05±0.31 ^{dc}	7.38±0.27 ^f	6.71±0.41 ^g	7.56±0.29 ^{ef}
CBK	Stem under	10.44±0.31 ^a	9.72±0.37 ^b	10.38±0.29 ^a	9.48±0.43 ^{bc}	8.99±0.33 ^c	7.58±0.31 ^d	7.26±0.37 ^d	5.62±0.29 ^f	6.29±0.43 ^e	5.51±0.33 ^f
	Stem middle	7.02±0.27 ^a	6.42±0.45 ^{ab}	6.95±0.27 ^a	6.15±0.30 ^b	6.99±0.34 ^a	5.12±0.27 ^{cd}	5.46±0.45 ^c	4.75±0.27 ^d	4.59±0.30 ^d	3.62±0.34 ^e

1) ABK; Kimchi prepared with Amtak baechu cabbage cultivars, CBK; Kimchi prepared with Chunkwang baechu cabbage cultivars.
 2) Stem under; under parts of kimchi stem, Stem middle; middle parts of kimchi stem.
 3) The different letters in the row of each fermentation period mean significantly different ($p < 0.05$) by Duncan's multiple range test.

CBK는 10 및 100 µg/mL 농도에서 뚜렷한 암세포 억제효과 (약 10% 이내 억제)를 나타내지 않았으나, 1,000 µg/mL의 농도에서는 22.1%의 암세포 제해효과를 나타내었다. 반면, ABK는 모든 농도에서 CBK에 비해 우수한 항암활성을 나타내어 10 및 100 µg/mL 농도에서 22.41%, 22.43%의 억제효과를 나타내었으며, 특히 1,000 µg/mL의 농도에서 31.2%의 우수한 암세포 억제효과를 나타내었다. 한편, B16BL6 흑색종 암세포에 대한 항암활성 결과에서는 두 종류의 김치 모두 농도 의존적으로 암세포성장을 저해하였다. 하지만 CBK에 비하여 ABK에서는 암세포 생존율이 크게 억제되었는데, 1,000 µg/mL의 동일농도에서 CBK의 경우, 15.0%의 암세포 증식 억제능을 나타내었으나, ABK에서는 45.4%의 우수한 암세포 증식 억제능을 보였다(Fig. 5).

또한, 김치 발효과정에서의 암세포 증식저해 활성변화를 검토하기 위해서 발효 0일차, 5일차와 10일차에 암세포 증식저해 활성이 높은 1,000 µg/mL 농도로 Colon26-M3.1(Fig. 6)과 B16BL6(Fig. 7)의 활성을 비교한 결과, 발효 기간 중 Colon26-M3.1 암세포에 대해서는 CBK가 22.14, 21.0, 22.13%의 저해율을 나타내었는데 ABK는 35.79, 36.79, 31.24%의 저해율을 나타내었고, B16BL6 암세포에 대해서는 CBK가 14.97, 28.0, 19.66%의 저해율을 보였는데 ABK는 45.41, 44.37, 48.9%의 저해율을 보여줌으로써 Colon26-M3.1 암세포에 비하여 B16BL6 암세포에서의 증식저해 활성이 더 높게 나타났으며, 발효과정 중 경시적인 암세포 증식저해 활성변화에서 CBK보다 ABK가 전반적으로 증진된 활성을 나타내었다.

이러한 결과는 일반적으로 유제품 발효에 관여하는 유산균인 *L. acidophilus*와 *L. casei* 등과 마찬가지로 김치 유산균인 *Leuconostoc mesenteroides*나 *L. plantarum* 등도 sarcoma cell을 접종한 mouse에 경구 투여하였을 때, 유산균 종류에 따라 차이는 있지만, 유산균이 종양 증식을 저해한다는 보고(Kim 등 1991)와 유사한 결과를 나타내었다. 그러나 김치가 최적으로

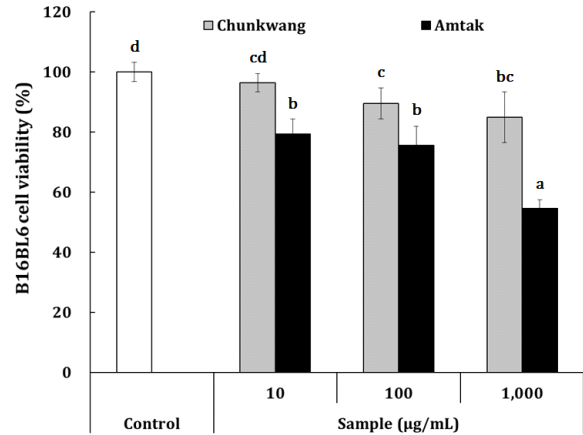


Fig. 5. Anti-proliferative activity of hot-water extract from kimchi with two kinds of Chinese cabbage cultivars after fermentation at 10°C on melanoma B16BL6 mouse carcinoma cells. Sample explanations are the same as in Table 1. The different letters on the bar of each fermentation period mean significantly different ($p < 0.05$) by Duncan's multiple range test.

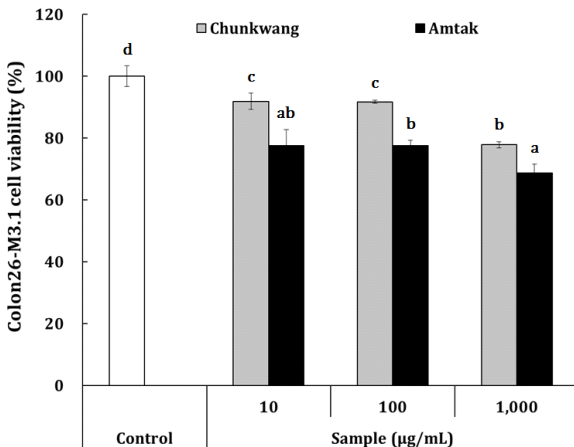


Fig. 4. Anti-proliferative activity of hot-water extract from kimchi with two kinds of Chinese cabbage cultivars after fermentation at 10°C on Colon26-M3.1 mouse carcinoma cells. Sample explanations are the same as in Table 1. The different letters on the bar of each fermentation period mean significantly different ($p < 0.05$) by Duncan's multiple range test.

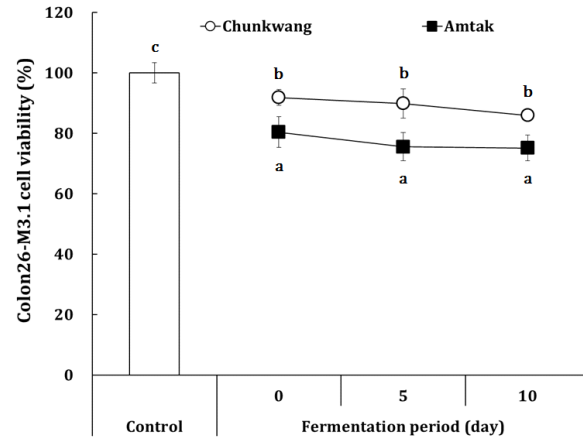


Fig. 6. Changes in anti-proliferative activity of hot-water extract from kimchi with two kinds of Chinese cabbage cultivars during fermentation at 10°C on Colon26-M3.1 mouse carcinoma cells. Sample explanations are the same as in Table 1. The different letters on the symbol of each fermentation period mean significantly different ($p < 0.05$) by Duncan's multiple range test.

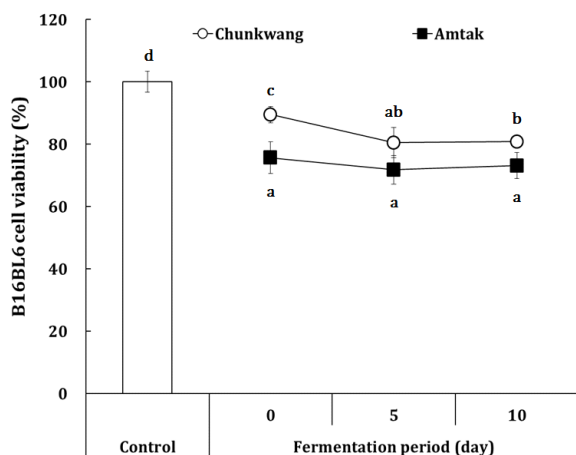


Fig. 7. Changes in anti-proliferative activity of hot-water extract from *kimchi* with two kinds of Chinese cabbage cultivars during fermentation at 10°C on melanoma B16BL6 mouse carcinoma cells. Sample explanations are the same as in Table 1. The different letters on the symbol of each fermentation period mean significantly different ($p < 0.05$) by Duncan's multiple range test.

숙성되었을 때 미숙성 김치나 묵은 김치에 비하여 항암활성이 높았다는 보고(Park KY, 1995)와는 달리 본 연구에서는 2 종류의 김치 모두 발효기간에 따라 암세포 증식저해 활성에 유의적인 차이를 보여주지는 않았다. 그러나 고춧가루와 마늘을 고농도로 첨가하거나 초피 등의 부재를 사용하거나 유기배추 사용에 따라 암세포 저해활성을 높일 수 있었다는 보고(Park KY 등 1998)와 재배방법을 달리한 배추를 이용한 김치에서 암세포 저해활성을 비교한 결과, 김치의 항암활성은 배추 및 부재료의 사용 종류에 따라 다르게 나타났다는 보고(Chun 등 2008)에서와 같이 본 연구에서 사용한 ABK의 경우에도 대조구로 사용한 일반 배추김치인 CBK의 암세포 증식저해 활성이 다른 것으로 보아, 배추김치의 암세포 증식저해 활성은 배추의 원, 부재료의 종류나 김치의 숙성과정에 따라서 다르게 나타날 수 있음을 보여주고 있다. 따라서 이러한 연구결과를 토대로 향후 암세포 증식저해 활성을 증강시키는 배추의 품종 선택, 원·부재료의 최적화 사용, 김치 유산균의 연구에 따라 암세포 증식저해 활성을 크게 증강시키는 기능성 김치의 개발이 가능할 것으로 보여진다.

요약 및 결론

순무(*Brassica rapa*)와 배추(*B. perkinensis*)를 교잡한 기능성 개량품종인 암탁배추(AB)가 일반 춘광배추(CB)보다 우수함을 확인하기 위하여 2종류의 배추로부터 김치를 조제하여(기능성 암탁배추 김치; ABK와 일반 춘광배추 김치; CBK)

10°C에서 10일간 발효하면서 그들의 발효학적 특성과 암세포 증식저해 활성을 비교하였다. CBK는 발효 6일차에 적숙기 pH를 갖는 반면, ABK는 8일차에 이러한 pH에 도달하였다. 산도에 있어서도 CBK는 발효 6일차에 적숙기 산도를 갖고, 9일차에 완숙기 산도를 가졌으나, ABK는 발효 9일차에 적숙기 산도를 가져 CBK보다 발효속도가 4일 정도 지연됨을 나타내었다. 한편, 2종류의 배추를 동일조건에서 절임하고, 발효과정 동안 김치의 염도를 측정된 결과, ABK는 CBK보다 더 낮은 염도를 나타내었는데, 이는 AB가 CB에 비하여 상대적으로 조직이 억세고 단단하여 덜 절여지는 조직감을 가지고 있는 것으로 보인다. ABK의 총균수와 유산균 수는 CBK보다 낮았고, CBK의 최고의 총균수와 유산균수는 발효 8일차에 나타난 반면, ABK는 발효 10일차에 최고 균수가 나타나, 발효속도가 늦게 진행되고 있음을 확인할 수 있었다. ABK와 CBK의 추출물이 Colon-M3.1과 흑색종 B16BL6의 마우스 종양세포에 대한 암세포 증식저해 효과를 10~1,000 µg/mL의 시료농도에서 측정된 결과, ABK는 시료농도 1,000 µg/mL에서 mouse의 흑색종 B16BL6 암세포에 대하여 유의적으로 가장 높은 암세포 증식저해 효과(대조구의 45.41% 증식억제율)를 나타내었다. 또한, ABK는 발효기간을 통해 전반적으로 CBK보다 높은 암세포 증식저해 활성을 보였으나, 발효기간에 따른 ABK의 암세포 증식저해 효과는 시료 간 유의적인 차이는 없었다. 결론적으로 두 종류 김치를 10°C에서 10일간 발효 하면서 분석한 결과, 기능성 배추를 이용한 ABK는 일반배추 김치인 CBK에 비하여 발효 속도를 지연시킴에 따라 양호한 조직감을 오래 유지하였고 마우스 암세포주에 대해 더 높은 증식저해 효과를 보였다.

감사의 글

본 연구는 2017년도 한국교통대학교 교내학술연구비의 지원을 받아 수행한 연구 결과이며, 이에 감사드립니다.

References

- Bong YJ, Jeong JK, Park KY. 2013 Fermentation properties and increased health functionality of *kimchi* by *kimchi* lactic acid bacteria starters. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 42:1717-1726
- Cho EJ, Choi JS, Kim SH, Park KY, Rhee SH. 2004. *In vitro* anticancer effect of active compounds from Chinese cabbage. *J Korean Association of Cancer Prevention*. 9:98-103
- Chun HK, Kim BK, Park HJ, Cho SM, Kim SN, Kwak JH, Park KY. 2008. Antimutagenic and anticancer effects of *Baechu* cabbage-enhanced functionality of *Baechu* cultivating by

- tunnel method. *Cancer Prev Res.* 13:122-129
- Chung JY, Kim CS. 2008. Antioxidant activities of domestic garlic (*Allium sativum* L.) stems from different areas. *J Korean Soc Food Sci Nutr.* 37:972-978
- Han GS, Son AR, Lee SM, Jung JK, Kim SH, Park KY. 2009. Improved quality increased *in vitro* anticancer effect of *kimchi* by using natural sea salt without bitter and baked (Kuwun) salt. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 38:996-1002
- Hwang JH. 2015. Fermentative and sensory characteristics of *kimchi* added mustard root (*Brassica juncea*). *Korean J food Nutr.* 28:926-932
- Hwang JW, Song YO. 2000. The effects of solvent fractions of *Kimchi* on plasma lipid concentration of rabbit fed high cholesterol diet. *J Korean Soc Food Sci Nutr.* 29:204-210
- Ishiyama M, Tominaga H, Shiga M, Sasamoto K, Ohkura Y, Ueno K. 1996. A combined assay of cell viability and *in vitro* cytotoxicity with a highly water-soluble tetrazolium salt, neutral red and crystal violet. *Bio Pharm Bull* 19: 1528-1520
- Jeon YS, Kye IS, Cheigh HS. 1999. Changes of vitamin C and fermentation characteristics of *Kimchi* on different cabbage variety and fermentation temperature. *J Korean Soc Food Sci Nutr.* 28:773-779.
- Kim JS, Choi YH, Seo JH, Lee JW, Kim YS, Ryu SY, Kang JS, Kim YK, Kim SH. 2004. Chemical constituents from the root of *Brassica campestris* ssp. *rapa*. *Kor J Phamacogn.* 35:259-263
- Kim HY, Bae HS, Baek YJ. 1991. *In vivo* antitumor effects of lactic acid bacteria on sarcoma 180 and mouse Lewis lung carcinoma. *J Korean Cancer Assoc.* 23:188-196
- Kim MJ, Hong KH, Chung DS, Kim YB. 1998. Quality comparison of *kimchi* made from different cultivars of Chinese cabbage. *J Kor Soc Hort Sci.* 39:528-532
- Kim MJ, Kim SD. 2000. Quality characteristics of *kimchi* prepared with major spring Chinese cabbage cultivars. *Korean J Postharvest Sci Technol.* 7:343-348
- Ku YS, Kim MK, Kim MJ, Kim SD. 1997. Quality of *kimchi* fermented with various salt concentration. *J Food Sci Technol.* 9:65-69
- Lee C, Kim BM. 1992. Changes in textural properties and sugars of *kimchi* during fermentation. *J Food Resources Institute.* 4:85-94
- Lee HR, Lee JH, Park CS, Ral KR, Ha JS, Cha MH, Kim SN, Choi YM, Hwang JB, Lee XM, Lee AL, K MR, Park ES, Park KY. 2016. Probiotic effects of *Lactobacillus plantarum* strains isolated from *Kimchi*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 45:1717-1724
- Lee JJ, Jeong YK. 1999. Cholesterol-lowering effect and anticancer activity of *Kimchi* and *Kimchi* ingredients. *Korean J Life Science* 9:743-752
- Lee GC. 1995. Changes in texture properties of *kimchi* during fermentation. *J East Asian Soc. Dietary Life.* 5:359-370
- Nam JS. 2014. Physicochemical properties and antioxidant capacities of different parts of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) *J Korean Soc Food Sci Nutr.* 43:1369-1379
- Park KY. 1995. The nutritional evaluation, and anticancer effects of *kimchi*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 24:169-182
- Park KY, Cho EJ, Rhee SH. 1998 Increased antimutagenic and anticancer activities of Chinese cabbage *kimchi* by changing kinds and levels of sub-ingredient. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 27:625-632
- Park KU, Kim JY, Cho YS, Yee ST, Jeong CH, Kang KS, Seo KI. 2004. Anticancer and immuno-activity of onion *kimchi* methanol extract. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 33:1439-1444
- 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
- Park SE, Bong YJ, Kim HY, Park KY. 2013. Quality characteristics and functionalities of Korean and Japanese spring *Baechu* cabbages and the *kimchi* prepared with such cabbages. *Korean J Food Preserv* 20:854-862
- Ryu BM, Ryu SH, Yang YC, Lee YS, Jeon YS, Moon GS. 2004. Morphological changes in the skin of hairless mouse fed various *kimchi* diet. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 33: 1469-1475
- Ryu SH, Jeon YS, Kwon MJ, Moon JW, Lee YS, Moon GS. 1997. Effect of *kimchi* extracts to reactive oxygen species in skin cell cytotoxicity. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 26:814-821
- Song ES, Jeon YS, Cheigh HS. 2001. Antioxidative effect of chlorophylls and carotenoids in mustard leaf *kimchi* activity. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 30:421-425
- Yu KW, Suh HJ, Hwang JH. 2012. Fermentative properties and immunomodulating activity of low-sodium *kimchi* supplemented with *Acanthopanax senticosus* and *Glycyrrhizae uralensis* extracts. *Korean J Food & Nutr.* 25:878-887

Received 12 July, 2017
 Revised 16 August, 2017
 Accepted 25 August, 2017