

## 부재료 조절에 의한 김치의 암예방 효과

부산대학교 식품영양학과 및 김치연구소, <sup>1</sup>경남정보대학 식품과학계열

길정하 · 최선미 · 문숙희<sup>1</sup> · 이숙희 · 박건영

### Increased Chemopreventive Effects of Kimchi by Manipulation of Sub-ingredients

Jeung-Ha Kil, Sun-Mi Choi, Sook-Hee Moon<sup>1</sup>, Sook-Hee Rhee and Kun-Young Park

*Department of Food Science and Nutrition, and Kimchi Research Institute, Pusan National University, Busan 609-735, Korea, <sup>1</sup>Subdivision of Food Science, Kyungnam College of Information and Technology, Busan 616-701, Korea*

Kimchi has already been demonstrated to exhibit antimutagenic and cancer preventive activity. To develop baechu kimchi for cancer patients, we prepared the kimchis which are controled amount of sub-ingredients (garlic, red pepper powder, mustard leaf and leek). Kimchis were fermented at 5°C for 4 weeks. During the fermentation, pH, acidity and sensory evaluation were determined. Antimutagenic activity (Ames test) and anticancer activity (MTT assay) of methanol extracts from optimally ripened kimchi (3-weeks fermented) were investigated. The fermentation pattern of all the kimchis did not show significant difference with the different sub-ingredients added. The kimchi adding leek got higher score than adding mustard leaf in sensory evaluation. The kimchi consisted of higher contents of garlic, red pepper powder and mustard leaf exhibited increased inhibitory activities against the mutagenicities induced by aflatoxin B<sub>1</sub> (AFB<sub>1</sub>) and N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine (MNNG) in *Salmonella typhimurium* TA100 than other kimchis. And *in vitro* antitumor activity was determined by MTT assay, the treatment of the kimchi in high contents of red pepper powder, garlic and mustard leaf was decreased viable AGS human gastric cancer cells and HT-29 human colon cancer cells. Increasing levels of red pepper powder, garlic and mustard leaf to the kimchi enhanced chemopreventive effects. These results seem to be basic investigation for developing baechu kimchi for cancer patients.

**Key Words:** Baechu kimchi, Cancer patients, Ames test, MTT assay

## 서 론

최근 암 발병률은 빠르게 증가하고 있는데, 우리나라의 경우 생활과 음식이 서구화되면서 점점 높아지고 있다.<sup>1,2)</sup> 우리의 식단에서 큰 비중을 차지했던 김치는 서구식단의 영향으로 그 섭취의 비중이 줄어들었지만 최근에 세계적인 건강식으로 많은 관심을 불러일으키고 있다.<sup>3)</sup> 김치는 우리나라 대표적 발효식품으로 주재료가 되는 십자화과 채소인 배추와 여러 녹황색 채소류, 발효과정에서 생기는 유산균 등에 의하여 항산화, 항돌연변이, 항암, 항노화 등의 기능성을 가진다.<sup>4-8)</sup>

배추김치는 암예방 가능성이 알려져 있는데, 김치 추출물은 *in vitro*에서 위암세포, 결장암세포, 골육암세포의 증식을 억제하고, 암세포 내 DNA 합성을 감소시키며, 세포의 형태학적인 변화를 일으켰으며,<sup>9)</sup> C3H/10T1/2 cell에서 MCA와 DMBA에 대한 cytotoxicity를 억제하였으며, transformation foci의 형성 저해효과를 보였다.<sup>10)</sup> 그리고 *in vivo*에서 김치 추출물의 항돌연변이성을 *Drosophila melanogaster*를 이용한 wing hair spot 검출계로 살펴본 결과 AFB<sub>1</sub>에 의한 체세포 염색체 돌연변이 유발을 억제한다는 연구보고도 있다.<sup>10)</sup> 김치 추출물의 항암실험으로 초파리 실험계에서 돌연변이 유발을 크게 억제하였으며, sarcoma-180 암세포를 Balb/c 마우스에 이식하였을 때 김치 추출물의 처리로 종양의 무게가 감소되었다.<sup>10)</sup> 이러한 김치의 항암효과는 고춧가루, 마늘, 생강 등의 부재료와 유산균에 의한 것이다. 김치 재료 중 고추 (*Capsicum annum* L.)는 조미료로서 뿐만 아니라 맛과 색상에 영향을 끼치며 고추의 매운맛 성분인 capsaicin은 최근 암을 예방하거나 다이어트 효과가 있다고 알려져 있으며 고추속의 많은 양의 비타민 C와 carotenoids 등도 주요 기능성 물질로 알려져 있다.<sup>11-13)</sup> 그리고 부재료 중 마늘의 항돌연변이 및 항암효과도 널리 알려져 있는데 마늘을 2% 첨가한 김치에서 nitrosoamine과 AFB<sub>1</sub> 및 MNNG에 의한 돌연변이 유발성이 저해되었다고 보고된 바 있으며, 특히 마늘은 여러 암세포 배양과 sarcoma-180을 이용한 실험에서 마늘의 에테르 및 알콜 추출물이 항암효과가 있다고 알려져 있

다.<sup>14)</sup> 그리고 갓(mustard leaf, *Brassica juncea*, Casson)은 갓김치를 담그거나 김치의 부재료로 사용되고 있는데, 갓의 chloroform 추출물에서 AFB<sub>1</sub>의 돌연변이 유발을 억제시키는 원인물질은 4-decanol로 확인한 바 있으며, 갓의 부위별 즙액 역시 항암성과 항산화성 및 ACE 저해 활성을 나타냈었다.<sup>15)</sup> 뿐만 아니라 그람 양성균과 그람 음성균에서 모두 항균력을 나타내었는데, 항균력을 지닌 물질로는 isorhamnethin-3-O- $\beta$ -glucopyranoside가 동정되었다.<sup>16)</sup> 또한 부추(*Leek*, *Allium tuberosum*)는 마늘과 같은 강장효과<sup>17)</sup>와 함께 독특한 향미성분인 유황화합물<sup>18)</sup>이 함유되어 있어 생선이나 육류의 냄새를 제거하는 효과를 지니고 있다. 최근에는 김치의 천연보존제로서 부추의 향미생물 활성물질에 대한 연구<sup>19,20)</sup>가 활발히 진행되고 있다.

지금까지 배추김치의 암예방 효과는 많이 알려져 있지만 암환자를 위한 배추 김치 레시피 개발에 관한 연구는 미흡한 실정이다. 따라서 본 연구에서는 배추김치의 부재료 중 마늘과 고춧가루의 양을 조절하여 배추김치를 제조하였다. 그리고 본 배추김치 레시피에 포함된 갓은 수급이 어려운 시기가 있으므로 갓을 대체할 부재료로 부추를 첨가하여 배추김치를 제조하여 발효 특성과 관능성을 알아보았다. 이의 암예방 가능성을 Ames test에 의한 항돌연변이효과와 MTT assay를 통해 AGS 인체 위암세포와 HT-29 인체 결장암세포에 대한 항암성을 측정하여 부재료 조절에 의한 배추김치의 암예방 증진효과를 연구하여 암환자를 위한 김치를 개발하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 1) 재료

(1) 배추김치 재료: 배추는 가락 신1호, 젓갈은 청정멸치액젓((주)대상), 고춧가루는 영양농협청결고춧가루 가공공장에서 구입하여 사용하였다. 무, 파, 마늘, 생강, 갓, 부추는 부산시 부전시장에서 구입하였다. 소금은 구운 소금((주)고센, 경북포항)을 사용하였다.

(2) 김치제조 및 시료의 추출: 배추김치는 10% 소금물을 만들어 이등분한 배추를 10시간 염절입

한 후 씻어서 김치를 제조하였다. 배추김치(BK)는 선행 연구에서 암환자를 대상으로 한 설문조사를 참고로 하여 제조된 암환자를 위한 배추김치 레시피로, 절인 배추 100에 대하여 고춧가루 2.5, 마늘 2.8, 생강 0.6, 무 11.0, 설탕 1.0, 파 2.0, 갓 7.5, 산초 0.1, 배 2.8, 버섯·다시마물 5.0을 첨가하여 제조하였고,<sup>21)</sup> 마늘을 증가시킨 배추김치(BK-G)는 배추김치(BK)에 마늘을 두 배(5.6)로 증가시켰고, 마늘과 고춧가루를 증가시킨 배추김치(BK-GR)는 마늘을 두 배(5.6), 그리고 고춧가루를 3.5로 증가시켜서 제조하였다. 또한 부추 첨가 배추김치(BK(L)-GR)는 BK-GR김치에 7.5분량의 갓 대신에 10분량의 부추를 첨가하여 배추김치를 제조하였다. 모든 김치는 모두 5°C에서 발효시킨 후 적숙기(pH 4.2~4.3)까지 발효하였다. 적숙기 김치 시료들은 동결건조한 후 마쇄하여 분말로 조제하고, 분말시료에 200배(w/v)의 메탄올을 첨가하여 12시간 교반을 2회 반복하여 여과한 후 회전식 진공 농축기로 농축하여 메탄올 추출물(methanol extract)을 얻었다. 이들 추출물들은 dimethyl sulfoxide (DMSO)에 희석하여 실험에 사용하였다.

**(3) 김치발효 중 pH 및 산도 변화측정:** 김치의 pH는 pH meter (Corning 220, USA)로 실온에서 측정하였다. 산도는 시료 20 ml를 20배 희석하여 여기에서 10 ml를 취하여 AOAC방법<sup>22)</sup>으로 측정하였다. 0.1% phenolphthalein을 지시약으로 1 ml 첨가하고 0.1N NaOH로 적정하여 분홍색을 띄는 점을 종말점으로 하였다. 적정값은 lactic acid로 환산하고 함량 %로 나타내었다.

**(4) 반복화된 randomized block design에 의한 관능검사:** 반복화된 랜덤화 완전 블록 계획(replicated randomized complete block design)<sup>23)</sup>에 따라서 훈련된 8명의 관능요원이 1회에 3가지 시료를 평가하게 하고 이를 4회 반복 실시하였다. 묘사항목은 주관적인 평가로 종합적인 외관(apperance), 냄새(overall smell), 향미(overall flavor), 질감(overall chewness)으로 평가하고, 1에서 9까지로 분류한 등급을 사용하여 평가하였으며, 1에 가까울수록 극도로 싫고, 9에 가까울수록 극도로 좋은 것으로 나타내었다. 또 객관적인 평가로는 후각적 지각인 신내(sour smell), 균덕내(moldy smell), 쓴내(bitter smell)와 미각적 지각인 신맛(sour flavor),

균덕맛(moldy flavor), 쓴맛(bitter flavor) 그리고 질감으로 경도(hardness)을 평가하였으며, 그 정도는 1에 가까울수록 감지 불가능하고, 9에 가까울수록 극도로 강하게 감지하는 것으로 나타내었다. 후각적 지각을 코로 감지되는 것으로 평가하였고, 미각적 지각은 여러 차례 어금니로 씹은 후 입과 코로 감지되는 것으로 평가하였으며, 경도는 앞니를 사용하여 섬유질과 동일한 방향으로 2~3회 씹는데 드는 힘의 정도로 평가하였다. 이때 신내와 신맛은 산에 의해 나타나는 감각, 쓴내와 쓴맛은 초록색풀에서 나는 쓴맛이나 수렴성을 연상케 하는 정도, 균덕내와 균덕맛은 오래된 김치에서 나는 불쾌한 정도로 정의하였다.<sup>23)</sup>

**(5) Ames test:** 간접돌연변이 유발물질인 aflatoxin B<sub>1</sub> (AFB<sub>1</sub>)과 직접돌연변이 유발물질 N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine (MNNG)은 Sigma-Aldrich Chemical Co. (St. Louis, Mo. USA)에서 구입하여 각각 DMSO와 증류수에 녹여 사용하였다. 사용 균주로는 *Salmonella typhimurium* TA100으로 미국 California대학 B. N. Ames박사로부터 제공받아 실험에 사용하였다. 그리고 이 실험균주는 매 실험 직전 histidine요구성, deep rough (*rfa*) 돌연변이, *uvrB*돌연변이, R factor 등의 유전형질을 확인하여 사용하였다. AFB<sub>1</sub> 돌연변이원을 활성화시키기 위하여 Maron과 Ames의 방법<sup>24)</sup>에 따라 간의 microsomal 효소화합물인 S9 mixture를 조제하였다. Preincubation test는 S9 mix 0.5 ml, 하룻밤 배양된 균주 ( $1-2 \times 10^9$  cell/ml) 0.1 ml, 희석된 시료(50  $\mu$ l)와 돌연변이 유발 물질(50  $\mu$ l)을 ice bath에 담긴 cap tube에 넣고 가볍게 vortex한 후 37°C에서 30분간 배양하였다. 45°C의 top agar 2 ml씩을 각 tube에 붓고 vortex한 후 minimal glucose agar plate에 도말하고 37°C에서 48시간 배양한 후 복귀돌연변이 숫자를 계수하였다. MNNG는 S9 대신에 인산용액 0.5 ml을 이용하여 위와 같은 방법으로 하였다. 한편, 실험에 사용된 시료와 돌연변이 유발물질의 농도는 예비실험(dose response 및 독성실험)을 통하여 결정하였다.<sup>25)</sup>

**(6) MTT assay:** 세포 배양을 위해 RPMI 1640, fetal bovine serum (FBS), 0.05% trypsin- 0.02% EDTA 그리고 100 units/ml penicillin-streptomycin 은 GIBCO사(USA)로부터 구입하여 사용하였다.

세포배양은 CO<sub>2</sub> incubator (Forma, USA)를 사용하였다. HT-29 인체 결장암세포(HT-29 human colon carcinoma cell)와 AGS 인체 위암세포(AGS human gastric adenocarcinoma cell)는 한국세포주은행으로부터 분양받아 배양하면서 실험에 사용하였다. AGS 세포는 100 unit/ml의 penicillin-streptomycin 과 10%의 FBS가 함유된 RPMI 1640을 사용하여 37°C, 5% CO<sub>2</sub> incubator에서 배양하였다. 배양된 암세포를 96 well plate에 well당 1×10<sup>4</sup> cell/ml가 되도록 seeding하고 시료를 농도별로 첨가한 다음, 37°C, 5% CO<sub>2</sub> incubator에서 배양하였다. 72시간 후 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2, 5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) 20 μl를 첨가하고 4시간 동안 더 배양한 후 생성된 formazan 결정을 DMSO에 녹여 540 nm에서 흡광도를 측정하였다.<sup>26,27)</sup>

(7) 통계 분석: 대조군과 각 시료로부터 얻은 실험자료로부터 ANOVA를 구한 후 Duncan's multiple range test를 이용하여 통계 분석하였다.<sup>28)</sup>

## 결 과

### 1) 김치의 발효기간에 따른 pH 및 산도의 변화

레시피를 달리하여 암환자를 위한 배추김치를 제조하여서, 그 이화학적 변화를 살펴보았다 (Table 1). 배추김치(BK)에 비해서 마늘을 2배 증가시킨 김치(BK-G)의 경우에는 발효 초기에는 발효가 천천히 진행되다가 적숙기를 지나게 되면 대조군 배추김치(BK)보다 빨리 진행되었지만 큰 차이는 나타나지 않았다. 또한 BK에 고춧가루를 3.5%로 증가시키고, 마늘을 2배로 증가시킨 BK-GR는 가장 발효가 천천히 진행되었으나, 큰 차이는 나타나지 않았다.

### 2) 관능검사

여러 가지 부재료를 조절하여 담근 배추김치를 5°C에서 3주간 발효시켜 적숙기에 도달했을 때 관능검사를 실시하였다(Table 2). 외관에서는 BK가 4.5인데 반해 BK-G는 4.9, BK-GR은 5.0이었으며, BK(L)-GR은 4.9로 대조군 배추김치보다는 부재료를 조절한 군이 높은 점수를 받았으나, 부재료를 첨가한 군 간에는 큰 차이가 없었다. 신맛이

**Table 1.** Effects of various kinds of baechu kimchi for cancer patient on changes of pH and acidity during fermentation at 5°C

	Fermentation week	BK <sup>1)</sup>	BK-G <sup>2)</sup>	BK-GR <sup>3)</sup>	BK(L)-GR <sup>4)</sup>
pH	0	6.00	5.99	5.91	6.01
	1	5.59	5.63	5.60	5.57
	2	4.90	4.92	4.94	4.92
	3	4.39	4.38	4.41	4.40
	4	4.16	4.18	4.20	4.18
Acidity (%)	0	0.24	0.25	0.26	0.25
	1	0.44	0.46	0.43	0.42
	2	0.56	0.68	0.53	0.58
	3	0.84	0.91	0.83	0.94
	4	1.06	1.10	1.02	1.14

<sup>1)</sup>BK: Baechu kimchi

<sup>2)</sup>BK-G: BK + 5.6% crushed garlic

<sup>3)</sup>BK-GR: BK + 5.6% crushed garlic + 3.5% red pepper powder

<sup>4)</sup>BK(L)-GR: BK-GR + 10% leek (instead of mustard leaf)

나 군덕내는 마늘을 증가시킨 김치 군(BK-G)에서 더 증가되었다. 따라서 전체적인 점수(overall acceptability)를 보면 대조군 배추김치(BK)는 4.0인데 비해서 마늘을 두 배 증가시킨 BK-G군은 4.4로 마늘의 양을 두 배나 증가시켜도 김치의 관능성은 높아지는 것을 관찰할 수 있었다. 또한 마늘을 두 배 증가시키고 고춧가루를 3.5%로 증가시킨 BK-GR군은 4.3으로 고춧가루의 1% 증가는 김치의 관능성에 큰 영향을 미치지 못하였다. 갓 대신 부추를 첨가한 BK(L)-GR군은 4.9로 부추의 첨가로 종합적인 맛이 증진되었다.

### 3) 항돌연변이효과

간접돌연변이원인 AFB<sub>1</sub>에 대한 항돌연변이 효과는 1.25 mg/plate의 농도로 김치 추출물을 처리했을 때 대조군 배추김치(BK)는 50%의 저해율을 보였으나, 마늘을 증가시킨 군(BK-G)은 56%, 또한 마늘의 양과 고춧가루의 양을 둘 다 증가시킨 군(BK-GR)은 59%, 그리고 갓 대신에 부추를 사용한 군(BK(L)-GR)은 58%의 저해율을 보였다. 2.5 mg/plate의 농도에서도 비슷한 경향을 보였는데,

**Table 2.** Sensory evaluation<sup>1)</sup> of various kinds of baechu kimchi (BK) for cancer patient fermented at 5°C for 3 weeks

	Apper- ance	Sour smell	Moldy smell	Green smell	Sour flavor	Moldy flavor	Green flavor	Hard- ness	Overall acceptability
BK <sup>2)</sup>	4.5	5.3	3.1	3.1	6.0	3.3	2.3	5.9	4.0
BK-G <sup>3)</sup>	4.9	5.5	3.4	2.9	6.2	3.8	2.4	6.3	4.4
BK-GR <sup>4)</sup>	5.0	5.4	2.8	2.5	6.1	3.4	2.4	5.3	4.3
BK(L)-GR <sup>5)</sup>	4.9	5.5	2.9	2.9	6.0	3.4	2.5	5.0	4.9

<sup>1)</sup>Sensory characteristics rated on 9-point scale: 1-extremely bad, 9-extremely good in subjective evaluation (appearance, overall acceptability), and 1-extremely weak, 9-extremely strong in objective evaluation (sour smell, moldy smell, green smell, sour flavor, moldy flavor, green flavor and hardness)

<sup>2)</sup>BK: Baechu kimchi

<sup>3)</sup>BK-G: BK + 5.6% crushed garlic

<sup>4)</sup>BK-GR: BK + 5.6% crushed garlic + 3.5% red pepper powder

<sup>5)</sup>BK(L)-GR: BK-GR + 10% leek (instead of mustard leaf)

**Table 3.** Antimutagenic effect of methanol extracts from various kinds of baechu kimchi (BK) for cancer patient against AFB<sub>1</sub> (2.0 µg/plate) in *Salmonella typhimurium* TA100

	Revertants/plate	
	1.25 mg/plate	2.5 mg/plate
Control (AFB <sub>1</sub> )	1,883 ± 47 <sup>a,1)</sup>	1,883 ± 47 <sup>a</sup>
BK <sup>3)</sup>	986 ± 10 <sup>b</sup> (50) <sup>2)</sup>	882 ± 16 <sup>b</sup> (56)
BK-G <sup>4)</sup>	879 ± 13 <sup>c</sup> (56)	795 ± 11 <sup>c</sup> (61)
BK-GR <sup>5)</sup>	841 ± 33 <sup>c</sup> (59)	735 ± 51 <sup>c</sup> (65)
BK(L)-GR <sup>6)</sup>	855 ± 32 <sup>c</sup> (58)	731 ± 36 <sup>c</sup> (65)

Spontaneous revertants per plate were 986 ± 10.

<sup>1)</sup>Means ± S.D.

<sup>2)</sup>The values in parentheses are the inhibition rates (%).

<sup>3)</sup>BK: Baechu kimchi

<sup>4)</sup>BK-G: BK + 5.6% crushed garlic

<sup>5)</sup>BK-GR: BK + 5.6% crushed garlic + 3.5% red pepper powder

<sup>6)</sup>BK(L)-GR: BK-GR + 10% leek (instead of mustard leaf)

<sup>a-c</sup>Means with the different letters in the same column are significantly different (p < 0.05) by Duncan's multiple test.

대조군 배추김치(BK)가 56%의 저해율을 보인 반면, 마늘을 증가시킨 배추김치군(BK-G)은 61%, 마늘과 고춧가루를 증가시킨 군(BK-GR)은 65%,

**Table 4.** Antimutagenic effect of methanol extracts from various kinds of baechu kimchi (BK) for cancer patient against MNNG (0.43 µg/plate) in *Salmonella typhimurium* TA100

	Revertants/plate	
	1.25 mg/plate	2.5 mg/plate
Control (MNNG)	1,663 ± 91 <sup>a,1)</sup>	1,663 ± 91 <sup>a</sup>
BK <sup>3)</sup>	1,165 ± 53 <sup>b</sup> (32) <sup>2)</sup>	922 ± 45 <sup>b</sup> (48)
BK-G <sup>4)</sup>	952 ± 66 <sup>c</sup> (46)	881 ± 18 <sup>bc</sup> (50)
BK-GR <sup>5)</sup>	859 ± 75 <sup>c</sup> (52)	644 ± 40 <sup>d</sup> (65)
BK(L)-GR <sup>6)</sup>	973 ± 43 <sup>c</sup> (44)	777 ± 90 <sup>c</sup> (57)

Spontaneous revertants per plate were 105 ± 7.

<sup>1)</sup>Means ± S.D.

<sup>2)</sup>The values in parentheses are the inhibition rates (%).

<sup>3)</sup>BK: Baechu kimchi

<sup>4)</sup>BK-G: BK + 5.6% crushed garlic

<sup>5)</sup>BK-GR: BK + 5.6% crushed garlic + 3.5% red pepper powder

<sup>6)</sup>BK(L)-GR: BK-GR + 10% leek (instead of mustard leaf)

<sup>a-c</sup>Means with the different letters in the same column are significantly different (p < 0.05) by Duncan's multiple test.

갓대신 부추를 사용하여 담은 배추김치 군(BK(L)-GR)은 65%의 저해율을 보였다. 따라서 부재료를 조절한 배추김치의 경우 대조군 배추김치군

보다는 유의적으로 항돌연변이성을 높였으나, 부 재료를 조절한 김치군 사이에는 유의적인 차이가 나타나지 않았다(Table 3).

그리고 직접돌연변이원인 MNNG에 대한 항돌 연변이 효과도 간접 돌연변이원(AFB<sub>1</sub>)에 대한 실험결과와 비슷한 경향을 보였다. 대조군 배추 김 치가 2.5 mg/plate에서 48%의 저해율을 보였으나, 마늘을 증가시킨 군(BK-G)에서는 50%의 저해율 을 보였으며, 마늘과 고춧가루를 함께 증가시킨 군(BK-GR)에서는 65%로 가장 높은 저해율을 보 였으나, 갓 대신 부추를 첨가한 군은 57%로 저해 율이 다소 떨어졌다(Table 4).

4) 암세포성장저해효과

인체 위암 세포인 AGS 세포에 대한 *in vitro* 항 암효과를 MTT assay를 통해 관찰하였다. AGS 인 체 위암 세포를 seeding 한 후 각 김치 시료를 200 µg/assay의 농도로 처리하였을 때, 대조 배추김치 (BK)군의 저해율이 46%인 것에 비해서 마늘량을 2배로 증가시킨 BK-G군이 51%의 저해율을 보였

으며, 고춧가루와 마늘을 모두 증가시킨 BK- GR 는 55%로 높은 저해율을 보였다(Table 5). 또한 갓 대신에 부추를 첨가한 김치군인 BK(L)-GR군 은 100 µg/assay로 시료를 처리하였을 때 갓 첨가 군에 비해 낮았지만, 200 µg/assay에서는 갓 첨가 군은 저해율이 55%인데 반해 부추 첨가군은 57% 로 갓 첨가군 보다 높은 저해율을 보였으나, 유의 적인 차이는 나타나지 않았다. 위의 결과를 볼 때 김치 부재료 중 마늘을 증가시키면 항암 기능이 증가되며, 고춧가루와 마늘을 함께 증가시키는 것이 더 높은 항암 기능을 나타냄을 알 수 있 다.

인체 결장암세포인 HT-29세포에 대한 MTT assay 결과도 AGS 인체 위암세포에 대한 결과와 비슷한 경향을 보였다(Table 6). 200 µg/assay의 농 도로 처리하였을 때 대조군 배추김치(BK)군이 25%의 저해율을 보인 것에 비해서 마늘을 첨가한 군(BK-G)이 42%로 항암기능성이 높았고, 이보다 마늘과 고춧가루를 함께 첨가한 군(BK-GR)이 69%로 더 높은 항암효과를 보였다. 그러나 갓 대

Table 5. MTT assay of methanol extract from various kinds of baechu kimchi (BK) for cancer patient against AGS cells

	OD <sub>540</sub> (level of sample, µg/assay)	
	100	200
Control (AGS cell)	0.214 ± 0.010 <sup>a,1)</sup>	0.214 ± 0.010 <sup>a</sup>
BK <sup>3)</sup>	0.191 ± 0.031 <sup>ab</sup> (11) <sup>2)</sup>	0.115 ± 0.009 <sup>b</sup> (46)
BK-G <sup>4)</sup>	0.178 ± 0.018 <sup>abc</sup> (17)	0.106 ± 0.004 <sup>bc</sup> (51)
BK-GR <sup>5)</sup>	0.143 ± 0.004 <sup>c</sup> (33)	0.095 ± 0.006 <sup>c</sup> (55)
BK(L)-GR <sup>6)</sup>	0.151 ± 0.006 <sup>bc</sup> (29)	0.093 ± 0.001 <sup>c</sup> (57)

<sup>1)</sup>Values are means ± S.D.  
<sup>2)</sup>The values in parentheses are the inhibition rates (%).  
<sup>3)</sup>BK: Baechu kimchi  
<sup>4)</sup>BK-G: BK + 5.6% crushed garlic  
<sup>5)</sup>BK-GR: BK + 5.6% crushed garlic + 3.5% red pepper powder  
<sup>6)</sup>BK(L)-GR: BK-GR + 10% leek (instead of mustard leaf)  
<sup>a-c</sup>Means with the different letters in the same column are significantly different (p < 0.05) by Duncan's multiple range test.

Table 6. MTT assay of methanol extract from various kinds of baechu kimchi (BK) for patinet against HT-29 cells

	OD <sub>540</sub> (level of sample, µg/assay)	
	100	200
Control (HT-29 cell)	0.365 ± 0.008 <sup>a,1)</sup>	0.365 ± 0.008 <sup>a</sup>
BK <sup>3)</sup>	0.291 ± 0.009 <sup>b</sup> (20) <sup>2)</sup>	0.273 ± 0.012 <sup>b</sup> (25)
BK-G <sup>4)</sup>	0.272 ± 0.008 <sup>b</sup> (26)	0.211 ± 0.010 <sup>c</sup> (42)
BK-GR <sup>5)</sup>	0.233 ± 0.009 <sup>d</sup> (36)	0.114 ± 0.004 <sup>e</sup> (69)
BK(L)-GR <sup>6)</sup>	0.238 ± 0.013 <sup>cd</sup> (35)	0.186 ± 0.003 <sup>d</sup> (49)

<sup>1)</sup>Values are means ± S.D.  
<sup>2)</sup>The values in parentheses are the inhibition rates (%).  
<sup>3)</sup>BK: Baechu kimchi  
<sup>4)</sup>BK-G: BK + 5.6% crushed garlic  
<sup>5)</sup>BK-GR: BK + 5.6% crushed garlic + 3.5% red pepper powder  
<sup>6)</sup>BK(L)-GR: BK-GR 10% leek (instead of mustard leaf)  
<sup>a-d</sup>Means with the different letters in the same column are significantly different (p < 0.05) by Duncan's multiple range test.

신 부추를 첨가한 군(BK(L)-GR)은 49%의 저해율을 보여 갖의 첨가보다는 낮은 항암효과를 나타냈다.

## 고 찰

김치는 한국인의 식생활에서 빠질 수 없는 중요한 식품으로 한국인의 식문화와 건강 유지에 크게 이바지하고 있다. 본 실험실의 선행연구<sup>29)</sup>에서는 암환자를 대상으로 기호도를 조사하여 이 자료에 기초하여 짠맛, 매운맛의 강도를 감소시키고, 항암활성이 높은 부재료를 첨가하여 암환자를 위한 배추김치 레시피를 개발하였다. 암환자를 위한 배추김치 레시피의 항암 기능성을 증진시키기 위하여 본 실험에서는 마늘과 고춧가루의 양을 조절하여 실험하였고, 또한 본 레시피 중 갖은 가격이 비싸고 겨울철에는 수급이 힘들므로 대량화에 어려움이 있어서 갖을 대신할 부재료로 선행연구<sup>29)</sup>에서 암 환자 기호도 조사에서 높은 점수를 받았던 부추를 사용하였다. 이러한 암환자를 위한 김치 레시피로 김치를 제조하고 5°C에서 발효시키면서 발효패턴을 알아본 결과 각 군 간의 큰 차이는 나타나지 않았다.

이러한 부재료 조절 배추김치의 항돌연변이 효과를 보면, AFB<sub>1</sub>에 대한 항돌연변이 효과는 항암 김치에 비해서 마늘의 양과 고춧가루의 양을 증가시킨 군은 모두 저해율이 높아졌으나, 각 군의 차이는 보이지 않았다.

그리고 직접돌연변이 원인 MNNG에 대한 항돌연변이 기능성은 1.25 mg/plate 농도로 시료를 처리했을 때에는 각 군 간의 차이는 나타나지 않았으나, 2.5 mg/plate 농도로 시료를 처리했을 때에는 갖이 함유되고 마늘과 고춧가루를 다 증가시킨 배추김치 군(BK-GR)이 다른 군들에 비해 유의적으로 높은 항돌연변이 효과를 나타내었다. 마늘은 항돌연변이 및 항암효과가 많이 알려져 있는데, 마늘을 2% 첨가한 김치에서 NA의 돌연변이 유발성이 60% 정도 저해되었다고 보고된 바 있으며, AFB<sub>1</sub>과 MNNG에 의한 돌연변이 유발을 억제하는 효과도 알려져 있다.<sup>30,31)</sup> 마늘의 항돌연변이 기작은 간의 microsomal 효소계의 활성화에 관여하여 glutathione S-transferase 활성 및 SH 함유

화합물들을 증가시키므로 최종 돌연변이원을 비독성 물질로 전환하는데 기여한다.<sup>31,32)</sup> 그리고 고추 속에는 비타민 C와  $\beta$ -carotene 등이 함유되어 있어 돌연변이 유발을 억제하는 것으로 보고되고 있다. 고추의 매운 성분인 capsaicin은 Ames 돌연변이 유발 실험계에서 고춧가루 추출물은 S9의 존재 유무와 관계없이 항돌연변이 활성을 나타내었다.<sup>33,34)</sup> 따라서 마늘과 고춧가루 자체의 항돌연변이 효과가 높으므로 이를 증가시킨 김치 레시피에서 항돌연변이 활성이 높게 나타나는 것으로 사료된다.

또한 AGS 세포와 HT-29세포에 대한 MTT assay 결과도 대조군 배추김치(BK)군에 비해서 마늘을 첨가한 군(BK-G)이 항암기능성이 높았고, 이보다 마늘과 고춧가루를 함께 첨가한 군(BK-GR)이 더 높은 항암효과를 보였다. 그러나 갖 대신 부추를 첨가한 군(BK(L)-GR)은 갖의 첨가보다는 다소 낮은 항암효과를 나타냈다. 마늘은 여러 암세포 배양과 sarcoma-180을 이용한 실험에서 마늘의 에테르 및 알콜 추출물이 항암효과가 있다고 많이 알려져 있으며,<sup>31)</sup> 마늘내의 allicin과 함황물질들은 sarcoma-180 투여 쥐에서 종양의 크기를 크게 억제하는 효과가 있다고 보고되어 있다.<sup>35)</sup> 또한 고춧가루와 고춧가루 속에 함유된 비타민 C, carotenoid 및 capsaicin도 항암효과가 알려져 있다.<sup>11~13)</sup> 따라서 배추김치에 이러한 고춧가루와 마늘을 증가시키므로써 그 항암 활성이 증대된 것으로 사료된다. 그리고 갖으로 담은 김치는 높은 항암 기능을 갖는 것으로 나타나 있으므로,<sup>36)</sup> 부추를 첨가한 군보다는 갖이 함유되어 있고, 마늘을 두 배로 증가시키고 고춧가루의 함량을 1% 증가시켜 제조한 배추김치군(BK-GR)이 가장 높은 암예방 기능을 보였다. 그러나 부추 김치도 항돌연변이 및 항암효과가 알려져 있으며,<sup>37)</sup> 본 실험에서도 갖 대신 부추를 첨가한 군에서 갖첨가 군과 유의적인 큰 차이가 나타나지 않았으므로, 갖이 생산되지 않는 기간에는 갖 대신 부추를 첨가하여 배추김치를 담는 것도 암예방 기능을 크게 떨어뜨리지 않으면서 암환자들의 기호도를 증진시킬 수 있을 것으로 사료된다.

## 결 론

암환자를 위한 배추김치 개발을 위해서 본 연구에서는 마늘과 고춧가루의 양을 조절하고 또한 갖의 수급이 어려운 때를 위하여 갖 대신 부추를 첨가하여 암환자를 위한 배추김치를 제조하였다. 이 배추김치를 5°C에 보관하면서 발효페틴을 조사한 결과 각 군 간의 큰 차이는 발견되지 않았다. 관능검사에서는 부추를 첨가한 군이 갖을 첨가한 군보다 전체적인 맛의 점수가 높았으며, 마늘양을 증가시킨 군이 높은 점수를 받았다. 또한 Ames test 실험계를 통한 항돌연변이 실험에서는 갖이 첨가되어 있고 마늘과 고춧가루를 함께 증가시킨 군(BK-GR)이 가장 높은 항돌연변이 효과를 보였다. 또한 AGS 인체 위암세포와 HT-29 인체 결장암세포에 대한 *in vitro* 항암효과에서도 갖이 함유되어 있고, 마늘을 두 배로 증가시키고 고춧가루의 함량을 1% 증가시켜 제조한 배추김치 군(BK-GR)이 가장 높은 암예방 기능성을 보였다. 또한 갖 대신 부추를 첨가한 군(BK(L)-GR)은 갖 첨가 군과 유의적인 차이가 나타나지 않았으므로, 갖이 생산되지 않는 기간에는 갖을 대신할 부재료로 부추를 첨가하는 것도 암예방 기능성을 크게 떨어뜨리지 않으면서 암환자들의 기호도를 증진시킬 수 있을 것으로 사료된다.

## 감사의 글

이 연구는 보건복지부의 2002 보건 의료기술진흥사업 중 벤처 및 중소기업 기술개발 지원연구개발사업(02-PJ1-PG11-VN01-SV04-0031)의 지원에 의한 연구결과로 이에 감사드립니다.

## 참 고 문 헌

- 1) Doll R, Peto R. The cause of cancer: quantitative estimates of avoidable risks of cancer in the United States today. *J Natl Cancer Inst* 1981; 66: 1191-1308.
- 2) Lee KY, Lee YC, Park YS, Yoon KH, Kim BS. A study of relation between dietary vitamin a intake

and serum vitamin a levels and cancer risk in Korea. *Korean J Nutr* 1985; 18: 301-312.

- 3) Han JS, Kim MS, Kim YJ, Choi YH, Lee SJ. A survey of Japanese preference for kimchi and kimchi use food. *J Soc Food Sci* 1999; 15: 388-395.
- 4) 김종현, 권명자, 이소영, 류재두, 문갑순, 최홍식, 송영옥. 김치가 노화촉진쥐 간의 유리기 생성 및 항산화효소 활성에 미치는 영향. *한국식품영양과학회지* 2002; 31: 109-116.
- 5) 박건영, 조은주, 이숙희. 부재료 첨가 배추김치의 항돌연변이 및 항암성 증진효과. *한국식품영양과학회지* 1998; 27: 625-632.
- 6) 최선미, 전영수, 이숙희, 박건영. 암환자를 위한 김치의 개발. *대한암예방학회지* 2001; 6: 214-221.
- 7) 김현주, 권명자, 송영옥. 김치의 용매획분이 고콜레스테롤 식이를 섭취한 토끼의 항산화효소계 및 인지질 지방산 조성에 미치는 영향. *한국식품영양과학회지* 2000; 29: 900-907.
- 8) 박건영. 김치의 영양학적 평가와 항돌연변이 및 항암효과. *한국영양식량학회지* 1995; 24: 169-182.
- 9) 최명원. 배추김치 추출물의 *in vitro* 항암효과. 부산대학교 대학원 석사학위논문 1996.
- 10) 허영미. 배추김치의 항돌연변이 및 항암효과. 부산대학교 대학원 석사학위논문 1996.
- 11) 최선미, 전영수, 정근옥, 박건영. 고추의 종류 및 부위에 따른 돌연변이 유발 억제효과. *대한암예방학회지* 2001; 6: 108-115.
- 12) Park JS, Park KY, Yu R. Inhibition of nitrosation by capsaicin and its metabolism. *J Korean Soc Food Nutr* 1998; 27: 1015-1018.
- 13) 최선미, 전영수, 박건영. 한국산 고춧가루의 품질비교. *한국식품과학회지* 2000; 32: 1251-1257.
- 14) Nakata T. Effect of fresh garlic extract on tumor growth. *Jap J Hyg* 1973; 27: 538-543.
- 15) 김정옥, 김무남, 박건영, 문숙희, 하영래, 이숙희. 갖으로부터 분리, 동정된 4-decanol의 항돌연변이 효과. *한국농화학회지* 1993; 36: 424-427.
- 16) 강성구. 갖(*Brassica Juncea* Coss.) 추출물의 항균성과 항균물질의 분리 및 동정. 경상대학교 대학원 박사학위논문 1994.
- 17) Hur J. Dongyubogam. p. 559, Yo Kang Press, Seoul, 1994.
- 18) Park ER, Jo JO, Kim SM, Lee MY, Kim KS. Volatile flavor components of Leek (*Allium tuberosum* Rottler). *J Korean Soc Food Sci Nut* 1998; 27: 563-567.
- 19) Kim SJ, Park KH. Retardation of kimchi fermentation by the extracts of *Allium tuberosum* and growth inhibition of related microorganisms. *J Food*



- Sci Technol* 1995; 27: 813-818.
- 20) Kim SJ, Park KH. Antimicrobial substances in leek (*Allium tuberosum*). *Korean J Food Sci Technol* 1996; 28: 604-608.
  - 21) Choi SM, Park KY. Effects of different kinds of salt on kimchi fermentation and chemopreventive functionality. *J Korean Association Cancer Prevention* 2002; 7: 192-199.
  - 22) AOAC. Official method of analysis, 15th ed. Association of official analytical chemists, Washington DC, USA, 1990.
  - 23) 김광옥, 이영춘. 식품의 관능검사. p. 192, 서울, 학연사, 1989.
  - 24) Maron DM, Ames BN. Revised methods for the *Salmonella* mutagenicity test. *Mutat Res* 1983; 113: 1783-1787.
  - 25) Ames BN, McGann J, Yamasaki E. Method detecting carcinogens and mutagens with the *Salmonella*/mammalian-microsome mutagenicity test. *Mutat Res* 1975; 31: 347-351.
  - 26) Park JG, Kramer BS, Steinber CJ, Collins JM, Minna JD, Gazdar AF. Chemosensitivity testing of human colorectal carcinoma cell lines using a tetrazolium based colorimetric assay. *Cancer Res* 1987; 47: 5875-5879.
  - 27) Skehan P, Storeng R, Monks SA, McMahon J. Vistica colorimetric cytotoxicity assay for anticancer-drug screening. *J Natl Cancer Inst* 1990; 82: 1107-1112.
  - 28) Steel RG, Torrie JH. Principles and procedure of statistics, p96, Tokyo, McGraw-Hill Kogakusha, Ltd, 1980.
  - 29) 김선효. 김치에 대한 암환자의 기호도 조사 및 항암 기능성 김치 개발. 부산대학교 식품영양학과 석사학위 논문 2002.
  - 30) 박건영, 김소희, 서명자, 정해영. 마늘의 돌연변이 유발억제 및 HT-29 결장암세포의 성장저해효과. 한국식품과학회지 1991; 23: 370-374.
  - 31) Nakata T. Effect of fresh garlic extract on tumor growth. *Jap J Hyg* 1973; 27: 538-543.
  - 32) Lee YK, Yeum KJ, Lee KS, Park IS, Song SY, Lee YC. A study on concentration of carotenoids and a-tocopherol in mucosa of cancer patients. *J Kor Cancer Assoc* 1995; 27: 353-359.
  - 33) 김소희, 박건영, 서명자. *Salmonella* assay system에서 고춧가루에 의한 aflatoxin B<sub>1</sub>의 돌연변이 유발 저해효과. 한국영양식품학회지 1991; 20: 151-161.
  - 34) 김소희. 김치 성분의 보돌연변이 유발 및 항돌연변이 효과. 부산대학교 식품영양학과 박사학위논문 1991.
  - 35) Kim SH, Park KY, Suh MJ, Chung HY. Effect of garlic (*Allium sativum*) on glutathione S-transferase activity and the level of glutathione in the mouse liver. *J Kor Soc Food Nutr* 1994; 23: 436-442.
  - 36) 김용택. 암예방 갖김치의 담금 표준화와 항암효과. 부산대학교 식품영양학과 박사학위 논문 2003.
  - 37) 정근옥. 부추김치의 재료 및 발효방법의 표준화 연구. 부산대학교 식품영양학과 석사학위 논문 1997.

## 현미의 섭취가 화학적으로 유도된 쥐의 유방암 발생에 미치는 영향에 관한 연구

풀무원식문화연구원 기능성연구소 <sup>1</sup>숙명여자대학교 식품영양학과

오 영 주 · 성 미 경<sup>1</sup>

### Effect of Brown Rice on 7,12-dimethylbenz-(a)anthracene-induced Rat Mammary Carcinomas

Young-Joo Oh and Mi-Kyung Sung<sup>1</sup>

*R&D Center for Functional Foods, Institute of Food and Culture, Pulmuone Co. Ltd.,  
<sup>1</sup>Department of Food and Nutrition, Sookmyung Women's University, Seoul 140-742, Korea*

Epidemiological studies have indicated that whole-grain intake has a protective effect against cancer. Our previous report showed that brown rice extracts have cytotoxic effects on hormone-dependent and -independent breast cancer cells. The present study was carried out to investigate anticarcinogenic potential of dietary brown rice in experimental rat mammary carcinogenesis. At 52 days of age, female Sprague-Dawley rats were given a single dose of 5mg 7,12-dimethylbenz-(a)anthracene (DMBA) by an intragastric administration. Animals were subdivided into 4 groups with 10 animals each and fed experimental diets for 23 weeks. Diets were composed as follows: AIN-76 control diet (CT), AIN-76 control diet + 50% brown rice (CTBR), AIN-76 control diet with 20% corn oil (HF), AIN-76 control diet with 20% corn oil + 50% brown rice (HFBR). Beginning 8 wks after DMBA administration, all rats were palpated weekly for mammary tumors, and the tumor incidence, location, and size were recorded for fuerhwe 15 wks. Results indicted that brown rice tended to decrease tumor size in rats fed either control diet or high fat diet. Breast tumor incidence, 20% in CTBR, 22% in CT, 33% in HFBR, 44% in HF. HF-fed animals had the shortest latency period and brown rice diet delayed the period, although no statistical significance was found. It is concluded that brown rice-based diet may suppress the formation of mammary tumors and tumor growth, however, further studies are required to elucidate possible mechanisms and responsible compound(s).

**Key Words:** Whole grain, Brown rice, Breast cancer, DMBA