



# Physicochemical characteristics and antioxidant activity of kimchi during fermentation

Ji Myung Choi<sup>1</sup> · Eun Ju Cho<sup>2</sup> · Hyun Young Kim<sup>3</sup> · Ah Young Lee<sup>3</sup> · Jine Shang Choi<sup>4</sup>

## 발효 단계별 김치의 이화학적 특성 및 항산화 활성

최지명<sup>1</sup> · 조은주<sup>2</sup> · 김현영<sup>3</sup> · 이아영<sup>3</sup> · 최진상<sup>4</sup>

Received: 25 October 2022 / Accepted: 1 November 2022 / Published Online: 31 December 2022  
© The Korean Society for Applied Biological Chemistry 2022

**Abstract** In the present study, we investigated the physicochemical characteristics and antioxidant activity of kimchi during the fermentation process. Kimchi was fermented at 18.5 °C, then after one day, the storage temperature was changed to 5 °C without fresh kimchi (Fresh; pH 5.6, total acidity 0.3%), which obtained optimum-ripened kimchi (OptR; pH 4.3, total acidity 0.64%), and over-ripened kimchi (OvR; pH 3.8, total acidity 1.24%). As a result, the glucosinolates content of the kimchi was increased during the fermentation process. Among the glucosinolates, glucoraphanin possesses the highest amounts in kimchi. In addition, the contents of sulforaphane and total polyphenol, which are common antioxidant compounds, were increased during the

fermentation process. To evaluate the antioxidant activities of Fresh, OptR, and OvR, we measured 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) and hydroxyl ( $\cdot$ OH) radicals radical scavenging activity *in vitro*. Fresh, OptR, and OvR exerted DPPH and  $\cdot$ OH radical scavenging activities dose-dependently. In particular, the  $\cdot$ OH radical scavenging activities of OptR and OvR were higher than that of Fresh. Therefore, we suggest that kimchi at the ripe and over-ripe stage is considered to have high antioxidant activity by increasing glucosinolate, sulforaphane, and total polyphenols, compared with fresh kimchi.

**Keywords** Antioxidants · Free radicals · Glucosinolates · Kimchi · Sulforaphane

Ah Young Lee (✉)  
E-mail: aylee@gnu.ac.kr

Jine Shang Choi (✉)  
E-mail: choijs@gnu.ac.kr

<sup>1</sup>Department of Food and Nutrition, Kyungsoo University, Busan 48434, Republic of Korea

<sup>2</sup>Department of Food Science and Nutrition, Pusan National University, Busan 46241, Republic of Korea

<sup>3</sup>Department of Food Science and Nutrition, Gyeongsang National University, Jinju 52725, Republic of Korea

<sup>4</sup>Department of Food Science and Technology, Gyeongsang National University, Jinju 52725, Republic of Korea

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

## 서론

김치는 우리나라의 대표적인 고유 발효식품으로써, 소금에 절인 배추와 무, 파, 마늘, 생강, 고춧가루 등 다양한 부재료를 첨가하여 발효과정을 통해 완성된다[1]. 김치의 주재료인 배추는 십자화과 채소의 일종으로, 카로틴, 토코페롤, 비타민C 뿐 아니라 glucosinolate, sulforaphane과 같은 항산화 물질을 포함하고 있다[2,3]. 김치는 발효과정에서 여러 효소와 미생물의 번식으로 인해 주요 성분이 분해되고 재합성되면서 김치 특유의 신맛을 나타냄에 따라 pH와 산도는 김치의 품질특성에 영향을 미치는 중요한 지표이다[4]. 또한 발효과정에서 생성되는 유기산, 유리 아미노산 등의 저분자 화합물은 *Lactobacillus plantarum*, *L. brevis*, *Leuconostoc mesenteroids* 등의 유산균 생육에 영향을 미치는 것으로 알려져 있다[5]. 김치에는 유기산, 식이섬유소, 비

타민, 무기질 이 외에도  $\beta$ -sitosterol, capsaicin, allyl 등의 화합물을 함유하는 것으로 보고되었다[6,7]. 이처럼 김치의 다양한 생리활성성분들이 보고됨에 따라 국내외에서는 김치의 항암효과, 장 건강, 면역조절 효과, 대사증후군 개선 효과, 인지능 개선 효과 등의 건강 기능성 연구도 활발히 이루어지고 있다[8-10].

Free radical은 한 개 또는 그 이상의 비공유전자를 가진 불안정한 분자로 체내 정상적인 세포대사를 통해 생성되며, 과도한 free radical 생성은 산화적 스트레스를 유도한다[11]. 산화적 스트레스는 체내 지질, 단백질, 핵산 등 생체분자를 공격하여 세포사멸을 초래하며, 이는 암, 당뇨병, 치매 등 만성질환의 원인으로 보고되어 있다[12,13]. 과일과 채소에 많이 함유되어 있는 폴리페놀 화합물, 플라보노이드, 비타민류는 이러한 free radical 생성을 억제하여 산화적 스트레스를 예방 및 개선하는 대표적인 항산화 물질로 알려져 있다[14]. 따라서 최근에는 산화적 스트레스를 억제하고 질병을 예방할 수 있는 천연물 소재 및 그 유효성분에 관한 연구가 활발히 진행되고 있다[15,16].

김치의 발효시간과 항산화 활성에 관한 이전 연구에 따르면 김치는 발효 시간이 지남에 따라 폴리페놀 및 유산균 수가 증가하여 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical 소거능이 증가하였으며, 발효과정에서 배추의 효소 작용에 의해 대표적인 항산화 물질인 총 비타민 C 함량이 증가하는 것으로 보고되었다[17,18]. 그러나 발효단계별(생김치, 적숙기 및 과숙기) 김치 시료의 glucosinolate, sulforaphane과 같은 항산화 물질 함량 변화 및 항산화 활성 비교 연구는 미흡한 실정이다. 따라서 본 연구에서는 발효단계별 김치 시료를 얻기 위해 pH, 산도, 유산균 수를 측정을 통한 이화학적 분석을 실시하였고, 생김치, 적숙기 및 과숙기 3가지 발효단계별 김치 ethanol (EtOH) 추출물을 이용하여 glucosinolate, sulforaphane, 폴리페놀 함량을 분석하였으며 *in vitro* radical 소거능 측정을 통한 항산화 활성을 알아보았다.

## 재료 및 방법

### 실험재료 및 시약

Sucrose는 BioPure Reagent (Seoul, Korea)에서, phenylethyl alcohol, acetic acid, sodium acetate,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 는 Junsei Chemical (Chuoku, Japan)에서 구입하여 실험에 사용하였다. Agar, trypticase, peptone은 Becton, Dickison and Company (Sparks, MD, USA)에서, yeast extract는 LPS solution (Daejeon, Korea)에서 구입하였다. Sodium acetate, ammonium citrate,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 는 Duksan Pure Chemical (Gyeongju, Korea)에서 구입하였다. DPPH는 Sigma Chemical Co. (St Louis, MO, USA) 제품을 구입하여 사용하였고, trichloroacetic acid (TCA)는 Acros organics (Fairlawn, NJ, USA), thiobarbituric acid (TBA)는 Kanto Chemical Co. (Tokyo, Japan)에서 구입하여 사용하였다.

### 김치 시료 제조

본 연구에 사용한 김치는 배추 김치 표준화 레시피[19]에 따라 제조하였다. 통배추를 2등분하여 10% 염수에 넣고 10시간 동

안 절임 후, 흐르는 물에 3회 세척한 후 상온에서 3시간 동안 자연 탈수시켰다. 절임 배추 중량 100 g을 기준으로 무 13 g, 쪽파 2 g, 고춧가루 3.5 g, 마늘 1.4 g, 생강 0.6 g, 멸치액젓 2.2 g, 설탕 1 g을 배추와 함께 버무린 뒤, 최종 염도는 천일염을 사용하여  $2.5 \pm 1.0\%$ 로 보정하였다. 김치는 공기를 제거한 뒤 진공 항아리에 담아  $18.5^\circ\text{C}$ 에서 하루 익힘을 거친 뒤  $5^\circ\text{C}$ 에 저장하였다. 저장기간에 따라 pH 및 산도를 측정하여 생김치는 pH 5.6, 적숙기 김치는 pH 4.3, 과숙기 김치는 pH 3.8, 산도는 1.0% 이상의 기준에 따라 발효단계별 시료를 채취하였다. 채취한 시료는 동결건조 후 분말화 하여 EtOH를 이용하여 24시간 동안 3회 반복 추출한 뒤, 감압 농축하여 실험에 사용하였다.

### pH 및 총 산도 측정

균질화 한 시료액을 취하여 pH meter (M220, Corning, MA, USA) 기기를 사용하여 pH를 측정하였다. 총 산도는 균질화 한 시료액을 20배 희석하여 pH 8.4까지 중화시키는데 소요된 0.1 N NaOH의 소비 mL 수를 구하고 다음에 따라 계산하였다.

$$\text{Total acidity (\%)} = \left[ \frac{\text{mL of 0.1 N NaOH} \times \text{normality of NaOH}}{\text{weight of sample (g)}} \right] \times 100$$

### 유산균 수 측정

균질화 한 시료액을 멸균수로 단계별 희석하여 평판계수법을 이용하여 유산균 수를 측정하였다. *Leuconostoc* sp.는 phenylethyl alcohol과 sucrose를 첨가한 phenylethyl alcohol sucrose agar medium (PES medium)을 사용하여  $20^\circ\text{C}$ 에서 5일간 incubator에서 혐기적으로 배양하였다. *Lactobacillus* sp.는 Lactobacillus selection medium (LBS medium)에 *Pediococcus*의 생육을 억제하기 위하여 acetic acid와 sodium acetate를 첨가한 modified LBS agar medium (m-LBS medium)을 사용하여  $37^\circ\text{C}$ 에서 3일간 배양하여 나타난 colony수를 측정하였다.

### Glucosinolate 분석

각 시료 농축물 전량을 70% methanol (MeOH) 1 mL에 녹이고 진동혼합하여 glucosinolate 조 추출물을 얻은 후, pasteur pipette을 이용하여 0.5 M sodium acetate로 DEAE-Sephadex column (A-25, Sigma-Aldrich)에 통과시켰다. 추출물이 모두 통과되면, 결합되지 않은 화합물을 제거하기 위해, 115 mg/5 mL acryl sulfatase solution 75  $\mu\text{L}$ 를 column에 통과시켰다. 탈황을 위해 밀봉하여 실온의 암실에서 16시간 동안 정치 후, 2.0 mL e-tube에 증류수 0.5 mL로 desulfoglucosinolates를 세 번 용출하였다. 수집된 추출물은 0.45  $\mu\text{m}$  hydrophilic PTFE millipore filter (직경 13 mm)로 여과하여 HPLC 법으로 분석하였다(Table 1).

### Sulforaphane 함량 측정

각 시료 5 g을 진탕하여 완전히 균질화 하고 실온에서 60분 방치 후, dichloromethane 250 mL로 두 번 추출하였다. 추출물을 sodium sulfate 2.5 g을 첨가하여 탈수시킨 후  $30^\circ\text{C}$ 에서 감압농축하였다. 이를 acetonitrile에 용해하고, 0.22  $\mu\text{m}$ 의 membrane filter로 여과하여 추출물을 만든 후, HPLC 분석용 시료로 사용하였다(Table 2).

**Table 1** HPLC condition for glucosinolate analysis

HPLC	Agilent Technologies 1200 series			
Column	Inertsil ODS-3 column (150 × 3.0 mm i.d., particle size 3 μm)			
Wavelength	227 nm			
Flow rate	0.2 mL/min			
Mobile phase	Solvent A (Water), Solvent B (ACN)			
	Time (min)	Flow rate (mL/min)	A %	B %
Gradient conditions	0	0.2	93	7
	18	0.2	76	24
	32	0.2	93	7

**Table 2** HPLC condition for sulforaphane analysis

HPLC	Waters 1525 Binary HPLC Pump (Miami, FL, USA) Water 2489 UV/VIS detector (Miami, USA)			
Column	Discovery <sup>®</sup> C18 (4.6 × 250 mm i.d., particle size 5 μm)			
Wavelength	254 nm			
Flow rate	1 mL/min			
Mobile phase	Solvent A (Water), Solvent B (ACN)			
	Time (min)	Flow rate (mL/min)	A %	B %
Gradient conditions	0	1	80	20
	20	1	65	35
	25	1	0	100
	35	1	80	20

### 총 폴리페놀 함량 측정

각각의 추출물 200 μL에 증류수 1 mL를 가한 뒤, Folin-ciocalteu (Sigma Chemical Co.) 0.5 mL을 혼합하여 실온에 6 분간 정치했다. 이 반응액에 7% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 용액을 혼합 후 실온에 1시간 30분간 방치하였다. 반응액은 UV-1200 UV-vis spectrophotometer (Shimadzu, Kyoto, Japan)을 이용하여 420 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준물질로 gallic acid (Sigma Chemical Co.)를 사용하였으며, 작성한 gallic acid 검량선을 이용하여 시료의 g당 gallic acid equivalent (GAE) mg으로 산출하였다[20].

### 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical 소거 활성 측정

DPPH radical 소거능 측정 방법은 Hatano 등[21]의 방법에 따라 실험하였다. 각 농도별 시료와 EtOH에 녹인 60 μM DPPH 용액을 각각 100 μL씩 동량으로 혼합하였다. 이 후 실온에서 30 분간 반응시킨 뒤, microplate reader 680 (Bio-Rad, Hercules, USA)를 이용하여 540 nm에서 흡광도를 측정하였다.

### Hydroxyl (·OH) radical 소거 활성 측정

시험관에 0.1 mM FeSO<sub>4</sub>·EDTA 용액 0.2 mL와 0.1 M phosphate buffer (pH 7.4) 1.2 mL, 10 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 0.2 mL를 가하고 37 °C water bath에서 4시간 반응시켰다. 그 후 2.8% TCA 용액 1 mL를 가하여 반응을 중지시키고, 1.0% TBA 용액 1 mL를 가하여 95 °C에서 10분간 가열시킨 후 급속히 냉각하고 microplate reader 680 (Bio-Rad)를 이용하여 520 nm에서 흡광도를 측정하였다[22].

### 통계분석

본 실험에서 측정 한 결과는 평균(mean) ± 표준편차(standard deviation, SD)로 나타내었다. 결과 분석은 통계프로그램인 SAS software (version 9.4, SAS Institute, Cary, NC, USA)를 이용하여 일원배치분산분석(repeated one-way ANOVA)을 구한 뒤, 사후검정(post-hoc test)으로 Duncan's multiple range test를 사용하여 통계적 유의수준 0.05에서 유의성을 검증하였다.

### 결과 및 고찰

김치는 발효 과정 중에 증식하는 젖산균의 작용에 의해 김치 특유의 상큼한 신맛과 감칠맛을 나타내며, 이는 배추 등 재료에 함유된 탄수화물 등이 분해되면서 생성되는 유기산이 증가함에 따라 pH가 감소하고, 총 산도는 증가하게 된다[4]. 이와 같은 변화는 김치의 맛 또는 품질에 중요한 영향을 미친다[23]. 일반적으로 김치를 먹기에 가장 적당한 적숙기 상태의 pH는 4.2-4.4, 산도는 0.6% 정도로 알려져 있다[24]. 김치 발효 과정에 따라 pH 및 산도를 측정 한 결과, 김치 담금 후 얻은 생김치의 경우 pH와 산도가 각각 5.6, 0.3%로 나타났다(Fig. 1). 반면 김치를 18.5 °C에서 하루 익힘을 거쳐 5 °C에서 30일간 저장하였을 때, pH와 산도가 각각 4.3과 0.64%로 측정되어 적숙기 김치를 얻을 수 있었다. 이 후 약 5개월가량 pH가 4.3-4.0 사이에서 일정하게 유지되었으며, 김치 담금 후 178일째 pH 3.8, 산도는 1.24%의 과숙기 김치를 얻을 수 있었다. 이러한 결과는 김치의 pH는 발효 초기에 거의 일정하다가 완만해지는 형

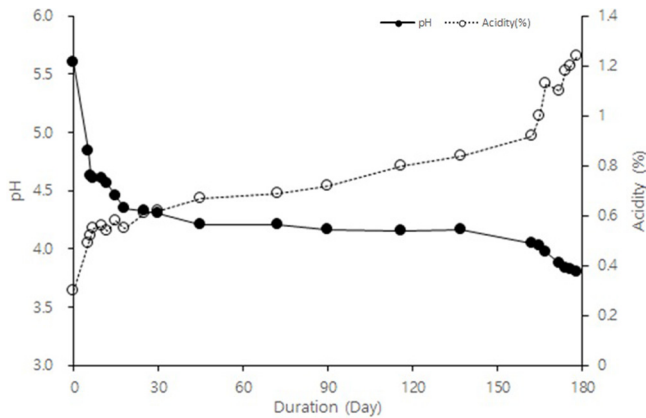


Fig. 1 Changes of pH and acidity of kimchi during fermentation

태를 나타내고 산도는 pH와 반대로 점차 증가하다가 완만해지는 형태를 나타낸다고 보고한 연구와 유사한 결과를 나타내었다[25]. Jeong 등의 연구[26]에서는 김치를 4°C에 저장하였을 때 120일까지 pH가 4.1 정도를 유지하는 양상을 보인다고 보고하였으며, Park 등의 연구[27]에서는 4°C에서 2년간 김치를 발효시켰을 때 pH 3.31, 산도가 1.34%로 나타난다고 보고하여, 본 연구결과와 유사한 결과를 나타냄을 알 수 있었다.

김치의 발효과정 중 발효 초기에 관여하는 주요 유산균인 *Leuconostoc* sp.는 5°C 정도의 저온에서 생육이 활발한 유산균으로 이산화탄소를 생성하여 김치에 탄산미를 부여하고, 유기산을 생성하는 것으로 알려져 있다[28]. 또한 *Lactobacillus* sp.는 15°C 정도에서 생육이 활발한 유산균으로 이는 주로 젖산 생성에 영향을 미치는 것으로 보고되었다[29]. 이처럼 김치는 *Leuconostoc* sp.과 *Lactobacillus* sp.와 같은 주요 유산균이 활발히 작용할 때 맛있는 신맛과 시원한 맛을 내는 김치가 된다. 본 연구에서 발효시간 별 김치의 유산균 수 변화를 측정된 결과 *Lactobacillus* sp.는 생김치 상태에서 4 log CFU/mL, 적숙기 김치의 경우 7.8 log CFU/mL, 과숙기 김치는 8.2 log CFU/mL로 발효가 될수록 유산균 수가 증가하는 것을 확인하였다(Fig. 2). *Leuconostoc* sp.는 생김치에서 3.4 log CFU/mL,

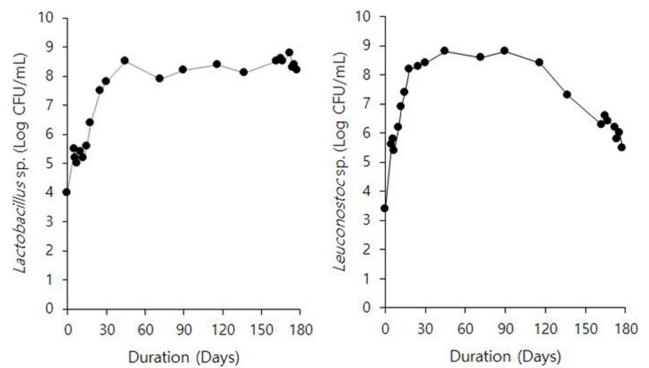


Fig. 2 Change of lactic acid bacteria of kimchi during fermentation

적숙기 김치에서 8.4 log CFU/mL, 과숙기 김치에서 5.5 log CFU/mL로 적숙기 김치까지 수치가 증가하다가 과숙기 김치에서 그 수가 감소하는 것을 알 수 있었다. Lee 등의 연구[30]에서 *Leuconostoc* sp.는 초기부터 급속히 증가하여 pH 4.0-4.5의 적숙기 부근에 도달한 후 급속히 감소하고, *Lactobacillus*는 김치 발효 전 기간에서 높은 분포를 나타내며 pH 3.8 이하로 떨어진 이후 약간 감소한다고 보고된 바 있다. 이는 pH 3.8인 과숙기 김치에서 *Lactobacillus* sp.가 적숙기 김치와 유사하게 높은 균 수를 나타내며, *Leuconostoc* sp.의 경우 pH 4.3의 적숙기 김치까지 증가양상을 보이다 과숙기 김치에서 낮아진 본 연구의 결과와 같은 경향을 보였다.

Glucosinolate는 황(sulfur)를 함유하고 있는 휘발성이 강한 물질로 양배추, 브로콜리 등의 십자화과 채소에서 독특한 매운 향기를 부여하고 있으며 항암, 항산화, 항바이러스 등의 생리활성을 나타낸다고 보고되어 있다[31,32]. Glucosinolate를 함유한 채소를 사람이 섭취하면 채소의 조직이 파괴되면서 조직 속에 존재하는 myrosinase 효소의 작용에 의하여 isothiocyanate, nitrile 및 thiocyanate와 같은 분해산물이 생성되고 이들 분해산물은 자극취와 쓴맛을 낸다고 알려져 있다[33]. 본 연구에서 십자화과 채소인 배추를 주재료로 한 김치의 발효 단계별 glucosinolate를 분석하였다. 총 9가지 종류의 glucosinolate 종류가 확인되었고 (Fig. 3), 그 중 명칭이 확인된 것은 glucoraphanin, glucoallysin,

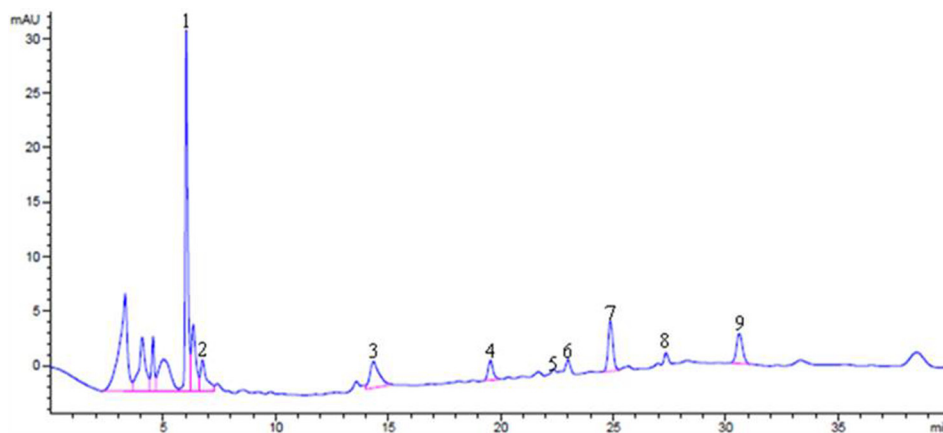


Fig. 3 HPLC chromatogram of glucosinolates in ethanol extract from kimchi

**Table 3** The contents of glucosinolate in ethanol extract from kimchi

No.	Rt (min)	Trivial Name	Content		
			Fresh	OptR	OvR
1	6.02	Glucoraphanin	0.33	1.31	1.49
2	7.41	Glucoalyssin	0.02	0.16	0.10
3	14.34	Unknown	0.08	0.25	0.06
4	19.54	Glucobrassicinapin	0.04	-	-
5	22.35	Unknown	0.01	-	-
6	22.98	Unknown	0.03	0.05	0.03
7	24.87	4-Methoxyglucobrassicin	0.02	-	-
8	27.34	Unknown	0.02	0.04	0.02
9	30.15	Unknown	0.06	0.01	-
Total			0.62	1.81	1.71

Fresh: Fresh kimchi, OptR: Optimum-ripened kimchi, OvR: Over-ripened kimchi

**Table 4** The contents of sulforaphane in ethanol extract from kimchi

Sample	Sulforaphane content (mg/ext g)
Fresh	0.48±0.01 <sup>b</sup>
OptR	0.49±0.01 <sup>b</sup>
OvR	0.52±0.00 <sup>a</sup>

Values are means ± SD of three independent experiments. <sup>a-b</sup>Means with different letters are significantly different by Duncan's multiple range test (*p* < 0.05). Fresh: Fresh kimchi, OptR: Optimum-ripened kimchi, OvR: Over-ripened kimchi

glucobrassicinapin, 4-methoxyglucobrassicin의 4가지였다(Table 3). 그 중에서도 김치에는 glucoraphanin의 함량이 가장 높았으며, 세 가지 발효 단계의 김치에서 glucoraphanin의 양을 살펴 보았을 때 생김치에서 과숙기 김치로 발효 시간이 길어질수록 증가하는 양상을 나타냈다.

Sulforaphane은 isothiocyanate 계열의 대표 물질로써, 배추와 같은 십자화과 채소에 주로 함유되어 있으며 채소의 조직이 파괴되면서 glucoraphanin이 myrosinase 효소 활성화에 의해 분해되어 sulforaphane nitrile과 함께 생성되는 것으로 보고되어 있다 [34,35]. 특히 sulforaphane의 항암, 항산화, 항염증 등의 효능이 보고되면서 sulforaphane이 함유된 천연물 소재의 생리활성 관련 연구가 활발히 이루어지고 있다[36,37]. 본 연구에서 3가지 발효단계별 김치의 sulforaphane 함량을 측정된 결과, 추출물의 g 당 생김치는 0.48 mg, 적숙기 김치는 0.49 mg, 과숙기 김치는 0.52 mg의 sulforaphane을 함유하는 것을 확인하였다(Table 4). 과숙기 김치가 생김치 및 적숙기 김치보다 유의적으로 많은 sulforaphane을 함유하는 것으로 나타나는 것으로 보아 발효에 따라 sulforaphane의 양이 점차 증가하는 것을 알 수 있었다.

김치의 발효 단계에 따른 총 폴리페놀 함량을 측정된 결과 (Table 5), 생김치는 134.6 mg GAE/g, 적숙기 김치는 166.4 mg GAE/g, 과숙기 김치는 189.3 mg GAE/g의 수치를 나타내어 발효가 진행될수록 총 폴리페놀 함량이 유의적으로 높아지는 것을 알 수 있었다. 이는 Park 등의 연구[17]에서 김치를 4 °C에서 7일 이내 단기 발효시킨 김치와 같은 온도에서 2년 동안 발효시킨 김치의 추출물별 총 폴리페놀 함량을 측정하였을 때 단기 발효 김치에 비해 장기간 발효한 김치에서 총 폴리페놀

**Table 5** The contents of total polyphenols in ethanol extract from kimchi

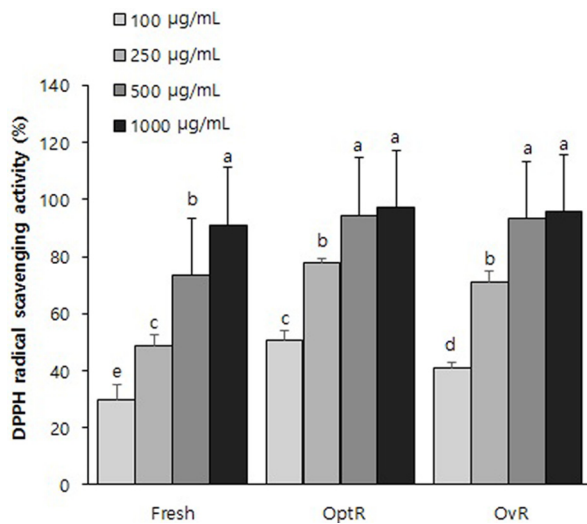
Sample	Garlic acid equivalent (mg/ext g)
Fresh	134.6±6.7 <sup>c</sup>
OptR	166.4±8.3 <sup>b</sup>
OvR	189.3±9.5 <sup>a</sup>

Values are means ± SD of three independent experiments. <sup>a-c</sup>Means with different letters are significantly different by Duncan's multiple range test (*p* < 0.05). Fresh: Fresh kimchi, OptR: Optimum-ripened kimchi, OvR: Over-ripened kimchi

함량이 증가한 것으로 보고된 것과 유사한 경향을 나타내었다.

세 가지 발효 단계별 김치 EtOH 추출물의 DPPH radical 소거능을 비교한 결과, 모든 군에서 추출물의 농도가 높아질수록 DPPH radical 소거 활성이 유의적으로 증가하는 경향을 나타내었다(Fig. 4). 또한, 1000 µg/mL의 생김치 추출물을 비롯하여 500 µg/mL 농도 이상의 적숙기와 과숙기 김치 추출물을 처리한 실험군의 경우 모두 90% 이상의 높은 DPPH radical 소거 효과를 가지는 것으로 나타났다. 생김치, 적숙기 김치, 과숙기 김치 처리군 간 DPPH radical 소거 효과를 비교한 결과, 1000 µg/mL를 처리한 농도에서는 모든 군 간에 radical 소거 활성이 유의적인 차이를 나타내지 않았으나, 250 및 500 µg/mL를 처리한 농도에서는 적숙기와 과숙기 김치가 생김치보다 높은 radical 소거활성을 나타내었다. 특히 100 µg/mL의 생김치, 적숙기 김치, 및 과숙기 김치 처리군에서 각각 29.8, 50.5, 41.0%를 나타내어 적숙기 김치가 가장 우수한 DPPH 소거능을 보였다. 또한 이러한 결과는 발효 단계 별 김치 MeOH 추출물의 DPPH radical 소거능을 측정된 이전 연구에서 적숙기, 과숙기, 생김치 순으로 DPPH radical 소거능이 증가한 결과와 유사한 경향을 나타내었다[38].

·OH radical은 ROS 중에서 화학적으로 가장 반응성이 크며, 지질과산화물을 개시하고 DNA 손상을 주거나 돌연변이를 유발하는 물질로 알려져 있다[39]. 또한 생체의 대사 과정에서 생성되는 지질의 과산화물이나 과산화수소가 Fe<sup>2+</sup>나 Cu<sup>2+</sup> 이온의 존재 하에서 생성되고, 가장 독성이 강한 free radical이다[40]. 발효기간별 김치 추출물을 농도별로 처리하여 ·OH radical 소거 활성을 측정된 결과(Fig. 5), 모든 김치 추출물 처리군에서 농

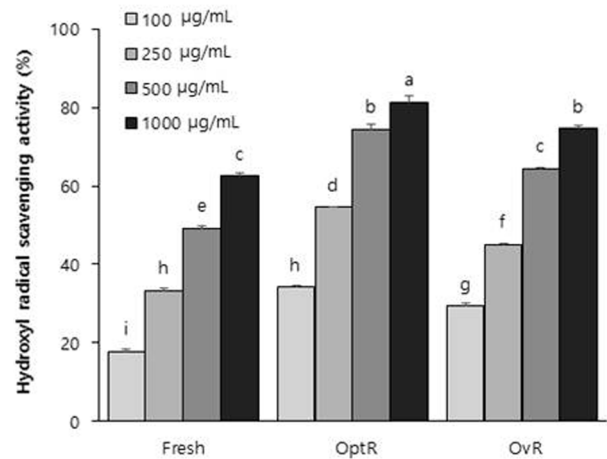


**Fig. 4** DPPH radical scavenging activity of kimchi during fermentation. Values are means  $\pm$  SD of three independent experiments. <sup>a-c</sup>Means with different letters are significantly different by Duncan's multiple range test ( $p < 0.05$ ). Fresh: Fresh kimchi, OptR: Optimum-ripened kimchi, OvR: Over-ripened kimchi

도 의존적으로 소거활성이 증가하는 경향을 보였다. 또한, 앞서 제시한 DPPH radical 소거 활성 결과와 같이 적숙기, 과숙기, 생김치 순으로 높은 소거 효과를 가지는 경향을 나타냈다. 특히 500 µg/mL의 적숙기 김치 추출물(74.4%)은 1000 µg/mL의 생김치 추출물(62.5%) 보다 소거 효과가 높았으며, 1000 µg/mL의 과숙기 김치 추출물(74.6%)과 거의 유사한 ·OH 소거 효과를 나타냈다. 이와 같은 결과는 Kim 등의 연구[38]와 비교하였을 때, 모든 군에서 발효 기간별 표준화 김치의 EtOH 추출물이 MeOH 김치보다 높은 소거능을 보였다. MeOH 추출물의 경우, 적숙기의 1000 µg/mL 처리군이 53.8%로 가장 높은 활성을 나타내었는데, 본 연구에서도 적숙기 김치 EtOH 추출물을 1000 µg/mL을 처리한 군이 가장 높은 소거 활성을 나타내어 유사한 양상을 보였다.

## 초 록

본 연구는 생김치, 적숙기 및 과숙기 상태의 세 가지 발효단계별 김치의 이화학적 특성과 항산화 활성에 대해 알아보았다. pH 및 산도 측정을 통해 생김치(pH 5.6, 산도 0.3%), 적숙기 김치(pH 4.3, 산도 0.64%), 과숙기 김치(pH 3.7, 산도 1.24%)를 시료로 사용하였다. 발효가 진행될수록 glucosinolate의 함량이 증가하였으며, 특히 생김치, 적숙기 김치, 과숙기 김치의 glucoraphanin 함량이 가장 높았다. 뿐만 아니라, 발효가 진행되면서 항산화 물질로 알려진 glucoraphanin, sulforaphane, 및 총 폴리페놀 함량이 증가하였다. 발효단계별 김치 시료의 항산화 활성을 측정한 결과, 100, 250, 500 µg/mL의 농도에서 생김치에 비해 적숙기와 과숙기 김치의 DPPH radical 소거능이 우수하게 나타났으며, ·OH radical 소거능을 측정하였을 때 모든 농도(100, 250, 500, 1000 µg/mL)에서 적숙기와 과숙기 김치가



**Fig. 5** Hydroxyl radical scavenging activity of kimchi during fermentation. Values are means  $\pm$  SD of three independent experiments. <sup>a-i</sup>Means with different letters are significantly different by Duncan's multiple range test ( $p < 0.05$ ). Fresh: Fresh kimchi, OptR: Optimum-ripened kimchi, OvR: Over-ripened kimchi

생김치에 비해 우수한 소거능을 나타낸 것으로 보아 김치의 발효가 진행될수록 radical 소거능이 증가함을 알 수 있었다. 이는 생김치에 비해 발효과정을 거친 적숙기 및 과숙기 김치가 glucosinolate, sulforaphane, 총 폴리페놀 함량이 증가하여 항산화 활성이 높게 나타난 것으로 사료된다.

**Keywords** 김치 · 자유라디칼 · 항산화 · Glucosinolate · Sulforaphane

## References

- Lee HY, Paik JE, Han YS (2003) Effect of powder-type dried Alaska pollack addition on the quality of Kimchi. Korean J Soc Food Cookery Sci 19: 254–262
- Hwang ES (2010) Changes in myrosinase activity and total glucosinolate levels in Korean Chinese cabbages by salting conditions. Korean J Food Cook Sci 26: 104–109
- Liang H, Yuan QP, Dong HR, Liu YM (2006) Determination of sulforaphane in broccoli and cabbage by high-performance liquid chromatography. J Food Compos Anal 19: 473–476. doi: 10.1016/j.jfca.2005.11.005
- Lee KH, Cho HY, Pyun YR (1991) Kinetic modeling for the prediction of shelf-life of kimchi based on total acidity as a quality index. Korean J Food Sci Technol 23: 306–310
- Kwon EA, Kim M (2009) Isolation of Hafnia species from kimchi. J Microbiol Biotechnol 19: 78–82. doi: 10.4014/jmb.0807.416
- Jung KO, Kil JH, Kim KH, Park KY (2003) Effect of kimchi and its ingredients on the growth of Helicobacter pylori. Prev Nutr Food Sci 8: 149–153. doi: 10.3746/jfn.2003.8.2.149
- Cheigh HS, Park KY (1994) Biochemical, microbiological, and nutritional aspects of kimchi (Korean fermented vegetable products). Crit Rev Food Sci Nutr 34: 175–203. doi: 10.1080/10408399409527656
- Park KY, Jeong JK, Lee YE, Daily JW (2014) Health benefits of kimchi (Korean fermented vegetables) as a probiotic food. J Med Food 17: 6–20. doi: 10.1089/jmf.2013.3083

9. Park KY, Hong GH (2019) Kimchi and its functionality. *J Korean Soc Food Cult* 34: 142–158. doi: 10.7318/KJFC/2019.34.2.142
10. Choi JM, Lee S, Park KY, Kang SA, Cho EJ (2014) Protective effect of kimchi against A $\beta$  25-35-induced impairment of cognition and memory. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 43: 360–366. doi: 10.3746/jkfn.2014.43.3.360
11. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, Telser J (2007) Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol* 39: 44–84. doi: 10.1016/j.biocel.2006.07.001
12. Liguori I, Russo G, Curcio F, Bulli G, Aran L, Della-Morte D, Gargiulo G, Testa G, Cacciatore F, Bonaduce D, Abete P (2018) Oxidative stress, aging, and diseases. *Clin Interv Aging* 13: 757–772. doi: 10.2147/CIA.S158513
13. Jones DP (2008) Radical-free biology of oxidative stress. *Am J Physiol Cell Physiol* 295: 849–868. doi: 10.1152/ajpcell.00283.2008
14. Tian C, Hao L, Yi W, Ding S, Xu F (2020) Polyphenols, oxidative stress, and metabolic syndrome. *Oxid Med Cell Longev* 2020: 7398453
15. Ganesan K, Xu B (2017) Polyphenol-rich lentils and their health promoting effects. *Int J Mol Sci* 18: 2390. doi: 10.3390/ijms18112390
16. Jia Z, Anandh Babu PV, Chen W, Sun X (2018) Natural products targeting on oxidative stress and inflammation: mechanisms, therapies, and safety assessment. *Oxid Med Cell Longev* 2018: 6576093. doi: 10.1155/2018/6576093
17. Park JM, Shin JH, Gu JG, Yoon SJ, Song JC, Jeon WM, Suh HJ, Chang UJ, Yang CY, Kim JM (2011) Effect of antioxidant activity in kimchi during a short-term and over-ripening fermentation period. *J Biosci Bioeng* 112: 356–359. doi: 10.1016/j.jbiosc.2011.06.003
18. Park BH, Cho HS (2006) Physicochemical characteristics of cabbage Kimchi during fermentation. *Korean J Food Cook Sci* 22: 600–608
19. Cho EJ, Lee SM, Rhee SH, Park KY (1998) Studies on the standardization of chinese cabbage kimchi. *Korean J Food Sci Technol* 30: 224–232
20. Singleton VL, Orthofer R, Lamuela Raventos RM (1999) Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu Reagent. *Methods Enzymol* 299: 152–178
21. Hatano T, Edamatsu R, Hiramatsu M, Mori A, Fujita Y, Yasuhara T, Yoshida T, Okuda T (1989) Effects of the interaction of tannins with co-existing substances, Effects of tannins and related polyphenols on superoxide  $\cdot^-$  anion radical, and on 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical. *Chem Pharm Bull* 37: 2016–2021. doi: 10.1248/cpb.37.2016
22. Chung ME, Lee HJ, Woo SJ (1994) Effect of soured shrimp and cooked glutinous rice flour on the changes of low molecular nitrogen compounds content during kimchi fermentation. *Korean J Dietary Culture* 9: 125–130
23. Kim JS, Yang JW, Kang MH, Kim JY (2010) Evaluation of the quality characteristics Chinese cabbage from two geographic origins during fermentation of kimchi. *J East Asian Soc Dietary Life* 20: 720–726
24. Cho JS (1989) Chemical characteristics of kimchi. *Korean J Food Sci Technol* 21: 25–30
25. Mheen TI, Kwon TW (1984) Effect of temperature and salt concentration of Kimchi fermentation. *Korean J Food Sci Technol* 16: 443–450
26. Jeong SH, Lee SH, Jung JY, Choi EJ, Jeon CO (2013) Microbial succession and metabolite changes during long-term storage of kimchi. *J Food Sci* 78: 763–769. doi: 10.1111/1750-3841.12095
27. Park HY, Ahn JA, Seo HJ, Choi HS (2011) Quality characteristics of small package kimchi according to packing material and storage temperature. *Korean J Food Cookery Sci* 27: 63–73. doi: 10.9724/kfcs.2011.27.1.063
28. Kang SM, Yang WS, Kim YC, Joung EY, Han YG (1995) Strain improvement of *Leuconostoc mesenteroides* for kimchi fermentation and effect of starter. *Microbiol Biotechnol Lett* 23: 461–471
29. Kim GE (2011) Characteristics & applications of *Lactobacillus* sp. from kimchi. *KSBB J* 26: 374–380. doi: 10.7841/ksbbj.2011.26.5.374
30. 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
31. Blažević I, Montaut S, Burčul F, Olsen CE, Burow M, Rollin P, Agerbirk N (2020) Glucosinolate structural diversity, identification, chemical synthesis and metabolism in plants. *Phytochemistry* 169: 112100. doi: 10.1016/j.phytochem.2019.112100
32. Becker TM, Juvik JA (2016) The role of glucosinolate hydrolysis products from brassica vegetable consumption in inducing antioxidant activity and reducing cancer incidence. *Diseases* 4: 22. doi: 10.3390/diseases4020022
33. Stoewsand GS (1995) Bioactive organosulfur phytochemicals in Brassica oleracea vegetables—a review. *Food Chem Toxicol* 33: 537–543. doi: 10.1016/0278-6915(95)00017-V
34. Brooks JD, Paton VG, Vidanes G (2001) Potent induction of phase 2 enzymes in human prostate cells by sulforaphane. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 10: 949–954
35. Cole R (1983) Isothiocyanates, nitriles and thiocyanates and products of autolysis of glucosinolates in Cruciferae. *Phytochemistry* 15: 759–762. doi: 10.1016/S0031-9422(00)94437-6
36. Vanduchova A, Anzenbacher P, Anzenbacherova E (2019) Isothiocyanate from broccoli, sulforaphane, and its properties. *J Med Food* 22: 121–126. doi: 10.1089/jmf.2018.0024
37. Russo M, Spagnuolo C, Russo GL, Skalicka-Woźniak K, Daglia M, Sobarzo-Sánchez E, Nabavi SF, Vabavi SM (2018) Nrf2 targeting by sulforaphane: A potential therapy for cancer treatment. *Crit Rev Food Sci Nutr* 58: 1391–1405. doi: 10.1080/10408398.2016.1259983
38. Kim BK, Choi JM, Kang SA, Park KY, Cho EJ (2014) Antioxidative effects of Kimchi under different fermentation stage on radical-induced oxidative stress. *Nutr Res Pract* 8: 638–643. doi: 10.4162/nrp.2014.8.6.638
39. Lipinski B (2011) Hydroxyl radical and its scavengers in health and disease. *Oxid Med Cell Longev* 2011: 809696. doi: 10.1155/2011/809696
40. Jakubczyk K, Dec K, Kalduńska J, Kawczuga D, Kochman J, Janda K (2020) Reactive oxygen species - sources, functions, oxidative damage. *Pol Merkur Lekarski* 48: 124–127