

배추김치 용매획분이 고 콜레스테롤 식이를 섭취한 토끼의 항산화 효소계 및 인지질 지방산 조성에 미치는 영향

김현주 · 권명자* · 송영옥†

부산대학교 식품영양학과 및 김치연구소

*생명공학연구소

Effects of Solvent Fractions of Korean Cabbage *Kimchi* on Antioxidative Enzyme Activities and Fatty Acid Composition of Phospholipid of Rabbit Fed 1% Cholesterol Diet

Hyun-Ju Kim, Myung-Ja Kwon* and Yeong-Ok Song†

Dept. of Food Science and Nutrition and Kimchi Research Institute,
Pusan National University, Pusan 609-735, Korea

*Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology, Taejeon 305-333, Korea

Abstract

The antioxidant effects of dichloromethane, ethylacetate or water fraction of *kimchi* added to the 1% cholesterol diet were studied. Six New Zealand white rabbits in each group were fed either control diet (basal diet containing 1% cholesterol) or experimental diet containing dichloromethane (CH_2Cl_2), ethylacetate (EtOAc) or water (H_2O) fraction of *kimchi* in the control diet for 16 weeks. The amount of each solvent fraction of *kimchi* added to the experimental diet was equivalent to 5% of freeze-dried *kimchi*. Levels of hepatic lipid oxidation expressed as TBARS or peroxide value for the experimental groups were lower than that of control ($p < 0.05$). Liver homogenates of the experimental group containing dichloromethane fraction of *kimchi* inhibited LDL oxidation in the presence of Cu^{II} by 46% ($p < 0.05$). The activities of catalase, Glutathione peroxidase (GSH-Px), Cu,Zn-superoxide (Cu,Zn-SOD) and Mn-superoxide (Mn-SOD) of experimental groups were lower than those of control group. Low enzyme activities observed from the *kimchi* solvent fraction groups might be due to the level of lipid oxidation progressed less in these groups. The most significant antioxidant effects were observed from dichloromethane fraction of *kimchi* among the experimental groups. The major fatty acids of hepatic phospholipid of rabbit were C18:2 and C18:0. But the major fatty acid profile was changed into C16:0, C18:0, C18:1, and C18:2 when rabbit was fed 1% cholesterol diet for 16 weeks, and this profile was almost the same as in rabbit fed diet containing *kimchi* solvent fraction. The ratio for unsaturated fatty acid to saturated fatty acid decreased by cholesterol induced diet and it was not corrected by *kimchi* solvent fractions.

Key words: *kimchi*, cholesterol, LDL, antioxidant enzyme, fatty acid composition

서 론

생체내 조직의 손상은 세포막의 구성성분인 다가 불포화지방산의 과산화가 하나의 원인으로 알려져 있는데, 지질의 과산화는 생체외적인 요인뿐만 아니라 생체내 활성 산소종에 의해서도 일어난다. 생체는 유리기에 의한 손상으로부터 자신을 보호할 수 있는 여러 가지 방어체계 즉 superoxide dismutase(SOD), catalase 및 peroxidase 등과 같은 항산화효소계와 glutathione, ascorbic acid, sulfhydryl groups, uric acid, vitamin A, vitamin E 및 bilirubin 등과 같은 비효소계 항산화 물질 등이 있다(1). 식이 지방의 섭취 패턴은 혈중 지질 농도 뿐 아니라 세포막의

인지지방질 지방산 조성에도 유의적인 변화를 초래하는 것으로 보고 되었다(2-4). 세포막의 인지질 구성 성분중 불포화 지방산의 비율이 높아지면 유동성과 투과성이 증가되며, 반대로 포화지방산의 비율이 높아지면 유동성과 투과성을 감소시키는 것으로 보고되고 있다(5). 생체막에 존재하는 여러 단백질들, 효소, receptor, 운반체 등의 활성은 막의 물리적 특성에 의해 밀접한 영향을 받으므로(6), 콜레스테롤 함량(7), 인지지방질 조성 및 인지질 지방산 조성 등의 변화로 간 세포막의 물리적 특성에 변화가 초래되면, 결과적으로 세포막에 위치한 지질대사 효소들의 활성에 영향을 미치게 될 것이다(8). 김치 및 김치 재료의 기능성에 관한 연구로는 동맥경화 예방효과(9-11), 면역증진효과(12),

† To whom all correspondence should be addressed

항암(13), 항돌연변이 효과(14-16), 항산화성(17,18), 피부 세포독성 완화 효과(19), 항혈전효과(20) 등 다양한 연구가 보고되고 있다. 본 연구는 김치중 지질 저하 효과가 있는 활성 물질을 분리동정하기 위한 기초 연구중의 일환으로 전보에서 보고한(21) 김치의 용매획분중 *in vitro*에서 LDL 산화억제 활성이 강했고 *in vivo*에서 지질저하 효과가 있었던 디클로로메탄 획분, 에틸아세테이트 획분, 수용성 획분이 고콜레스테롤 식이를 섭취한 토끼에 있어서 간의 지질 산화정도와 항산화효소계의 활성 및 인지지방질의 지방산 조성에 미치는 영향을 살펴보고자 하였다

재료 및 방법

재료

배추(Korean cabbage: *Brassica pekiinensis*)는 김해 산지에서 출하된 포기 당 중량이 2.0~2.5 kg인 것을 사용하였고, 고춧가루는 경북 안동 일직농협조합에서 가공한 안동 청결 고춧가루, 마늘은 남해에서 재배된 것을 사용하였다. 김치 담금용 부산대학교 김치연구소에서 개발한 부재료의 양이 비교적 적게 첨가된 담금법(절인배추 1 kg, 고춧가루 18 g, 마늘 7.5 g, 생강 1.9 g, 젓갈 45 g, 찹쌀풀 12.8 g)으로 포기김치를 담아 냉장 온도에서 15일간 숙성시켰다. 숙성된 김치의 염도는 2.24%, pH는 4.13, 산도는 0.75, 환원당 함량은 1.26%이고 젖산균은 9.07 logCFU/mL이었다. 김치를 동결건조 시켜(해농, 경북포항) 용매획분용 시료로 하였다

시약

항산화 효소계 분석용 효소는 Sigma Chemical Co. (USA) 제품을, 콜레스테롤은 대중기에서 구입하여 사용하였으며 김치의 용매별 획분에 사용된 용매는 Junsei Chemical Co.(Japan)의 특급시약을 사용하였다. 마취제는 한림제약의 Entobar를 사용하였다.

김치의 활성 성분의 용매별 분획

김치에 들어있는 유가성분을 극성을 달리한 용매를 이용하여 순차적으로 분획하였다. 동결건조 김치시료를 분말로 만들어 hexan으로 3회 반복 추출하고 잔사물을 5

배의 메탄올로 12시간 교반하여 3회 반복 추출하였다. 메탄올 추출물을 회전식 진공농축기를 이용하여 농축한 후, 이를 다시 디클로로메탄, 에틸아세테이트, 부탄올로 용매 분획하여 용매를 제거하고 실험에 사용하였다(22).

실험동물 및 사육

토끼(New Zealand white rabbit)를 대한실험동물센터(대구)에서 분양 받아 각군당 6마리씩 총 4군으로 하여 실험을 행하였다. 정상대조군용으로 3마리를 같이 사육하여 비교군으로 사용하였다. 식이에 첨가할 김치 용매 획분은 *in vitro* 실험에서 LDL 산화 억제효과 및 *in vivo*에서 지질저하 효과가 컸던(21) 디클로로메탄(CH₂Cl₂) 획분, 에틸아세테이트(EtOAc) 획분과 항산화 효과는 다른 두군에 비해 다소 떨어지나 식품첨가 시에 적용성이 큰 물 획분을 실험용 시료로 선정하였다(21). 식이는 기본식이 (basal diet, Purina사 제품)에 1% 콜레스테롤을 첨가하여 대조군 식이로 하였으며, 대조군 식이에 CH₂Cl₂획분 8.3 mg, EtOAc획분 56 mg 그리고 H₂O획분 221.9 mg/100 g을 첨가하여 실험용 식이로 조제하여 (Table 1) 16주 동안 사육하였다. 실험용 식이에 첨가한 김치용매획분의 양은 동결건조 김치로 환산하면 식이의 5%에 해당되는 양이다. 사료는 자유식으로, 식수는 제한 없이 섭취하도록 하였다. 동물사육실의 온도는 20°C, 상대 습도는 55%를 유지하였으며 명암의 주기는 12시간 간격으로 조절하였다.

실험동물의 처리 및 시료수집

토끼는 희생전 24시간 절식시킨 후, Entobar(100 mg)와 헤파린 1:1 혼합액을 후이개 정맥에 주사하여 마취시킨 후 개복하였다. 헤파린으로 처리한 멸균주사기를 이용하여 심장에서 약 30 mL정도의 혈액을 채취하였다. 그리고 간과 심장, 대동맥 등의 조직을 적출하여 0.9% 생리식염수로 씻은 다음 여과지로 수분을 완전히 제거하고 중량을 측정한다. 다음 -70°C 냉동고에 보관하면서 시료로 사용하였다.

산화생성물 함량 측정

간의 지질 산화생성물의 함량을 thiobarbituric acid re-

Table 1. Composition of experimental diet

Group	Diet
C	Basal diet ¹⁾ (98%) + 1% cholesterol + 1% olive oil
BC	Basal diet (93%) + 1% cholesterol + 1% olive oil + CH ₂ Cl ₂ fr. in 5% freeze dried kimchi ²⁾
BE	Basal diet (93%) + 1% cholesterol + 1% olive oil + EtOAc fr. in 5% freeze dried kimchi ³⁾
BW	Basal diet (93%) + 1% cholesterol + 1% olive oil + H ₂ O fr. in 5% freeze dried kimchi ⁴⁾

¹⁾Chow pellet for rabbit was powdered to prepare the control diet.
²⁾CH₂Cl₂ fraction (83 mg) was added to prepare 1 kg experimental diet.
³⁾EtOAc fraction (56 mg) was added to prepare 1 kg experimental diet
⁴⁾H₂O fraction (2219 mg) was added to prepare 1 kg experimental diet

active substance(TBARS) 농도(23)와 peroxide value (POV)(23)로 나타내었다.

LDL 산화억제능 측정

12시간 절식한 건강한 사람으로부터 채취한 혈액을 10°C에서 3,000 rpm으로 10분간 원심분리하여 혈장을 얻은 다음 전보에서 보고한 방법(9)으로 혈장을 초고속원심분리에 의해 LDL을 분리하였다. 간 균질액(homogenate)을 LDL용액(100 µg LDL prot/mL)에 첨가하고 Cu^{2+} 의 최종농도가 2 µM이 되도록 첨가하여 2시간 동안 40°C에서 산화시킨 후 생성된 TBARS의 농도는 Buege와 Aust(23)의 방법으로 측정하였다.

항산화효소계 측정

간조직 중량에 대해 10배의 냉 50 mM 인산완충용액(pH 7.4)을 첨가하여 glass teflon homogenizer로 균질화한 후 균질액을 3,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 얻은 세포질 분획은 catalase와 GSH-Px 측정용 시료로 사용하였다. 세포질 분획을 13,000 rpm에서 20분간 원심분리하여 postmitochondria 분획을 얻었다. 그 상층액은 Cu, Zn-SOD를, 침전물은 Mn-SOD 측정용 시료로 사용하였다. Catalase는 Aebi의 방법(24)으로 GSH-Px 활성은 Flohe 등(25)의 방법에 의해 기질로 과산화수소를 이용하여 측정하였다. Cu, Zn-SOD, Mn-SOD 활성은 Oyanagui의 방법(26)으로 측정하였다. 간 균질액을 13,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 얻은 상층액을 농도별로 희석하여 시료로 사용하였다. SOD 1 NU(nitrate unit)는 측정계에서 생성되는 superoxide에 의한 반응이 검체 중의 SOD에 의해 50% 저해될 경우의 반응액 중의 검체량(ID₅₀)을 나타낸다.

인지질 지방산 조성 분석

Folch와 Stanley의 방법(27)에 준하여 2 g의 간조직에 50배의 chloroform-methanol(2:1, v/v)을 가하여 지질을 추출한 후 용매를 휘발시켜 TLC용 시료로 사용하였다. Silica gel 60G(Merck)를 사용한 TLC plate에 spot 한 다음 전개용매(petroleum ether : ethyl ether : acetic acid, 82 : 18 : 1, v/v/v)로 전개시켜 TLC plate를 충분히 건조시킨 후 UV lamp를 쬐어 형광색으로 발색된 인지질 획분을 시험관에 옮겨모았다. 이것을 chloroform-methanol(2:1, v/v)용액으로 추출한 후, 여과하고 질소 가스로 농축하였다. Lepage와 Roy의 방법(28)에 의해 농축된 인지질 분획을 methylation시키기 위해 BF_3 -methanol(14%) 용액 2.5 mL과 혼합하여 100°C에서 60분간 가열하였다. 이것을 찬물에서 식힌 다음 6% K_2CO_3 5 mL을 천천히 첨가하고 여기에 hexane 1 mL을 가하여 혼합하고 10분간 3000 rpm에서 원심분리하여 상층액을 얻었다. 시료를 질소 가스

로 농축한 후, 냉동고에 보관하면서 실험직전 hexane 1 mL을 혼합하여 지질을 녹인 다음 1 µL를 취하여 가스 크로마토그래피(GC)로 분석하였다. GC의 분석조건은 다음과 같다. FID와 HP-Inowax fused-silica bonded cap column (30 m×0.25 mm, i.d., 0.25 µm)이 장착된 Hewlett Packard 6890A를 사용하였다. Oven 온도는 180°C부터 200°C까지 분당 5°C로 승온시켰고 carrier gas는 헬륨(1 mL/min)을 사용하였다.

통계분석

실험결과는 평균 ± 표준편차로 나타내었고 각 군간의 유의성은 one-way ANOVA로 검증한 후 유의성이 발견되면 $p < 0.05$ 수준에서 Duncan's multiple range test를 실시하였다.

결과 및 고찰

체중 증가량 및 간 무게

토끼의 체중 증가량 및 간무게는 Table 2에 나타내었다. 사육초기의 각 군의 토끼의 평균 체중은 2,100±210 g 정도였고, 사육 16주 후에는 대조군이 2,560±484 g, CH_2Cl_2 획분 첨가군 2,543±714 g, EtOAc획분 첨가군 2,973±201 g, 그리고 H_2O 획분 첨가군 2,673±511 g으로 체중이 증가하였다. 이들의 주당 체중증가율은 각각 1.37, 1.32, 2.59 그리고 1.70%으로 각 군간에 유의적인 차이는 없었다. 간무게는 대조군이 95.23 g, CH_2Cl_2 획분 첨가군 66.90 g, EtOAc획분 첨가군 92.90 g 그리고 H_2O 획분 첨가군은 86.44 g으로 대조군에 비해 김치 획분 첨가군의 간 무게가 유의적으로 가벼웠으며, 특히 CH_2Cl_2 획분 첨가군의 간은 대조군에 비해 30% 정도 가벼웠다.

Table 2. Gained body weight and liver weight of rabbit fed 1% cholesterol diet containing solvent fraction of kimchi¹⁾ for 16 weeks.

	Gained body weight (%) ²⁾	Liver weight (g)
C	1.37±0.21	95.23±17.18 ^c
BC	1.32±0.43	66.90±30.86 ^c
BE	2.59±0.79	92.90±35.58 ^{ab}
BW	1.70±0.14	86.44±37.34 ^{bc}

Values are means±SD (n=6)

¹⁾C. basal diet(powdered chow pellet) group+1% cholesterol +1% olive oil

BC. basal diet+1% cholesterol+1% olive oil+ CH_2Cl_2 fr.

BE. basal diet+1% cholesterol+1% olive oil+EtOAc fr.

BW. basal diet+1% cholesterol+1% olive oil+Water fr.

²⁾ $\frac{Wt(\text{final}-\text{initial})}{\text{initial wt}} \div 16(\text{weeks}) \times 100$

^{abc}Data were significantly different analyzed by one-way ANOVA followed Duncan's multiple range test at the 0.05 level of significance.

($p < 0.05$). 해부시 정상대조군의 간이 선홍색 인데 비해 모든 군의 간은 지방침착에 따라 분홍색이었고 비대해져 있었으며 1% 콜레스테롤 식이를 한 대조군에 비해 김치 용매획분 첨가군에서 지방 축적 현상이 덜 하였다. 이러한 현상은 본 연구팀의 연구 결과와 일치하였는데(11) 16주 동안 1% 콜레스테롤과 김치 용매획분을 첨가한 식이를 섭취한 토끼 간의 총지방, 중성지방, 콜레스테롤 및 인지질의 농도는 1% 콜레스테롤만 첨가한 대조군 식이를 섭취한 토끼 간의 지질농도에 비해 현저히 낮았음을 보고하였다. 사람의 경우 정상적인 간의 지질량은 3~5%로 10~12%를 초과하면 조직학적으로 간세포내의 지방구가 확인되고, 동시에 간이 커진다고 보고되고 있으며 이때 간에 축적되는 것은 대부분 중성지방으로 식이성 지방의 과잉섭취로 간에서의 중성지방 합성은 증가하며, 인지질과 VLDL의 합성은 저하하여 지방간이 형성된다(29)고 보고하였다

간의 지질 산화 정도

간의 지질 산화정도를 TBARS 농도로 살펴보았을 때 대조군 21.63 nmol MDA/g tissue, CH₂Cl₂획분 첨가군 7.95 nmol MDA/g tissue, EtOAc획분 첨가군 9.39 nmol MDA/g tissue 그리고 H₂O획분 첨가군이 9.66 nmol MDA/g tissue로 대조군에 비해 CH₂Cl₂획분 첨가군 63%, EtOAc획분 첨가군 56% 그리고 H₂O획분 첨가군 55% 정도 낮았다(Table 3, $p < 0.05$) POV는 대조군 33.82 μ mol/g tissue, CH₂Cl₂획분 첨가군 22.73 μ mol/g tissue, EtOAc획분 첨가군 31.00 μ mol/g tissue 그리고 H₂O획분 첨가군 32.99 μ mol/g tissue으로 대조군에 비해 CH₂Cl₂획분 첨가군이 32% 정도 낮게 나타났다($p < 0.05$). CH₂Cl₂획분 첨가군에 있어서 1% 콜레스테롤이 첨가되었음에도 불구하고 간에서 지질 과산화가 적게 진행된 것은 김치 용매획분 섭취군의 혈장 중성지방 및 콜레스테롤 농도가 낮았고 더불어 VLDL 그리고 LDL-C 등이 낮았던 결과 때문으로 생각된다 Kim의 보고(11)에 의하면 1% 콜레스테롤에 김치 용매획분을 첨가한 식이를 섭취시킨 토끼 간의 콜레스테롤 농도는 대조군에 비해 CH₂Cl₂

획분 첨가군 79%, EtOAc획분 첨가군 48% 그리고 H₂O획분 첨가군 49% 정도 낮았으며($p < 0.05$), 중성지방 농도는 대조군에 비해 CH₂Cl₂획분 첨가군 31%, EtOAc획분 첨가군 27% 그리고 H₂O획분 첨가군에서 15% 정도 낮았다($p < 0.05$)고 보고하였다. 간의 총지방 함량은 대조군에 비해 CH₂Cl₂획분 첨가군 58%, EtOAc획분 첨가군 47% 그리고 H₂O획분 첨가군에서 19% 정도 낮았다($p < 0.05$)고 보고하였다

김치 용매획분 섭취가 LDL 산화억제에 미치는 영향

김치 용매획분 섭취에 따른 LDL 산화 억제 효과를 *in vitro*상에서 살펴보았다(Table 4). 토끼의 간 균질액을 정상인의 LDL과 함께 Cu²⁺ 존재하에서 산화시켜 생성되는 TBARS 농도를 측정하였을 때 대조군 5.73 nmol/g tissue, CH₂Cl₂획분 첨가군 3.09 nmol/g tissue, EtOAc획분 첨가군 4.35 nmol/g tissue 그리고 H₂O획분 첨가군 4.52 nmol/g tissue로 대조군에 비해 CH₂Cl₂획분 첨가군 46%, EtOAc획분 첨가군 24% 그리고 H₂O획분 첨가군이 21% 정도 낮아 LDL 산화가 억제되었음을 알 수 있었다($p < 0.05$). 이러한 결과는 김치 용매획분 첨가 식이를 섭취한 군에 있어서 간의 지질 과산화가 억제되어 그 결과 항산화물질이 대조군에 비해 상당량 존재하여 있었기 때문으로 생각된다. LDL 산화는 동맥경화 발생과 관련이 있음이 널리 보고되고 있어 이를 방지할 수 있는 물질 및 기전에 대해 많은 연구가 진행중이다(30).

항산화 효소계에 미치는 영향

생체 내에는 활성산소의 자유기로부터 세포막과 세포 내의 물질을 보호하는 효소적·비효소적 항산화 시스템이 존재한다 이들 항산화계 효소의 활성에 김치용매획분이 미치는 영향을 살펴보았다. 간의 catalase 활성은 1% 콜레스테롤 식이를 섭취한 대조군의 활성은 38.32 mU/mg protein/min으로 정상대조군의 28.0 mU/mg protein/min(data는 Fig. 1에 제시하지 않았슴)에 비해 활성이 증가하였다 이는 1% 콜레스테롤 섭취에 의한 산화적 스트레스로 생성된 유리가를 제거하기 위해 활성

Table 3. Level of hepatic lipid oxidation of rabbit fed 1% cholesterol diet containing solvent fraction of kimchi¹⁾ for 16 weeks

	TBARS (nmole MDA/g tissue)	POV (μ mole MDA/g tissue)
C	21.63±6.91 ^{a)}	33.82±10.19 ^a
BC	7.95±1.72 ^c	22.73±1.87 ^b
BE	9.39±5.58 ^b	31.00±3.37 ^c
BW	9.66±2.17 ^b	32.99±4.86 ^c

¹⁾See the legend of Table 1

²⁾Data were significantly different analyzed by one-way ANOVA followed Duncan's multiple range test at the 0.05 level of significance

Table 4. Effect of liver homogenate of rabbit fed 1% cholesterol diet containing solvent fraction of kimchi¹⁾ on human LDL oxidation

	TBARS (nmol/g tissue)	% inhibition
C	5.73±0.12 ^{a)}	0
BC	3.09±0.18 ^b	46.07
BE	4.35±0.74 ^b	24.08
BW	4.52±0.27 ^b	21.12

¹⁾See the legend of Table 1

²⁾Data were significantly different analyzed by one-way ANOVA followed Duncan's multiple range test at the 0.05 level of significance

이 증가한 것으로 생각된다. 대조군 식이에 CH₂Cl₂획분을 첨가군의 catalase 활성은 30.70 mU/mg protein/min, EtOAc획분 첨가군 32.47 mU/mg protein/min 그리고 H₂O획분 첨가군 32.57 mU/mg protein/min으로 대조군에 비해 CH₂Cl₂획분 첨가군 19%, EtOAc획분 첨가군 15% 그리고 H₂O획분 첨가군에서 15% 감소하여 모든 김치용매획분 첨가군에서 활성이 낮은 경향이나 각 군간의 유의적인 차이는 없었다(Fig. 1). 김치 용매획분을 첨가한 식이군에서는 고콜레스테롤 식이를 섭취하였음에도 불구하고 catalase의 활성이 낮아진 것은 김치용매획분군에서 지질산화가 늦게 진행되었기 때문이다. 이러한 효과는 CH₂Cl₂획분 첨가군에서 가장 현저하였으며 콜레스테롤을 섭취하지 않은 정상군의 활성과 유사하였다. Kwon 등(9)은 식이에 1% 콜레스테롤을 첨가하고 여기에 배추, 고추 그리고 마늘을 각각 8, 1, 1%(w/w) 첨가한 식이를 토끼에게 12주간 섭취시킨 결과 간의 catalase 함량은 대조군에 비해 배추군은 19% 감소하였고, 고춧가루군은 19%, 그리고 마늘군은 106% 증가하였다고 보고하였다

Glutathione peroxidase(GSH-Px) 활성은 대조군 14.26 mU/mg protein/min, CH₂Cl₂획분 첨가군 10.34 mU/mg protein/min, EtOAc획분 첨가군 11.49 mU/mg protein/min 그리고 H₂O획분 첨가군 11.74 mU/mg protein/min으로 정상대조군의 9.60 mU/mg protein/min(data는 Fig. 2에 제시하지 않았습)에 비해 1% 콜레스테롤 첨가군의 활성이 증가하였는데 이는 지질과산화 현상이

빠르게 진행되었기 때문으로 생각된다. 대조군에 비해 GSH-Px 활성은 CH₂Cl₂획분 첨가군 27%, EtOAc획분 첨가군 19% 그리고 H₂O획분 첨가군 18% 감소하였다(Fig 2, p<0.05). Kwon 등(9)은 동일한 논문에서 배추, 마늘, 고추를 1% 콜레스테롤 식이에 첨가하여 토끼를 사육하였을 때 GSH-Px 활성은 식이군간에 유의적인 차이가 없었다고 보고하였다. GSH-Px는 Se를 함유하는 항산화제 효소로서 과산화지질과 H₂O₂의 무독화를 촉매하여 철분, 비타민 E, 필수지방산의 결핍시 GSH-Px의 활성이 감소되고 산화적 스트레스에 의해 활성이 증가하는 것으로 알려져 있다(31).

Superoxide dismutase(SOD)는 대사과정 중 생성되는 활성산소를 환원시켜 H₂O₂로 전환시켜 생성된 H₂O₂와 유기 과산화물은 GSH-Px 또는 catalase의 작용에 의해 H₂O로 배설됨으로써 산소독성으로부터 생체를 보호하는 효소이다(31). Cu,Zn-SOD 활성은 대조군 13.03 NU/mg protein/min, CH₂Cl₂획분 첨가군 9.43 NU/mg protein/min, EtOAc획분 첨가군 7.37 NU/mg protein/min 그리고 H₂O획분 첨가군이 3.23 NU/mg protein/min으로 대조군에 비해 CH₂Cl₂획분 첨가군 27%, EtOAc획분 첨가군 43%, 그리고 H₂O획분 첨가군에서 75% 감소하였다(Fig 3). Cu,Zn-SOD 활성은 catalase나 GSH-Px와는 달리 1% 콜레스테롤 식이군인 대조군의 활성도 정상대조군(18.54 NU/mg protein/min, data는 Fig. 3에 제시하

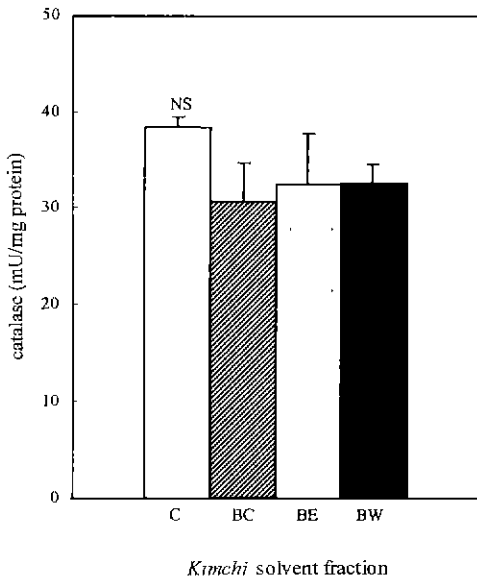


Fig. 1. Catalase activities of liver in rabbit fed 1% cholesterol diet containing solvent fractions of kimchi¹⁾ for 16 weeks.

¹⁾See the legend of Table 1.
NS : Not significant

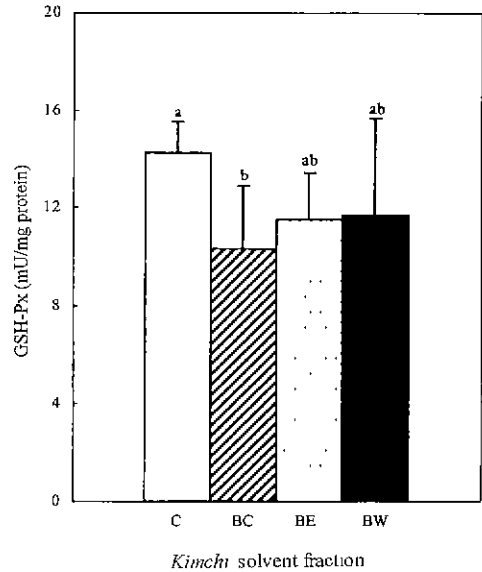


Fig. 2 GSH-Px activities of liver in rabbit fed 1% cholesterol diet containing solvent fraction of kimchi¹⁾ for 16 weeks.

¹⁾See the legend of Table 1.

^{a,b)}Data were significantly different analyzed by one-way ANOVA followed Duncan's multiple range test at the 0.05 level of significance.

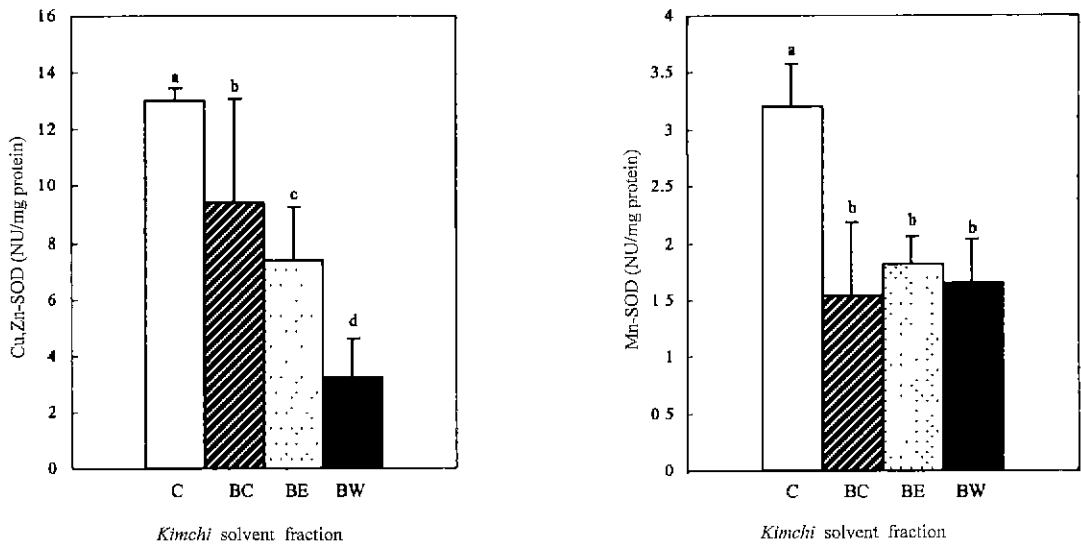


Fig. 3. Cu,Zn-SOD and Mn-SOD activities of liver in rabbit fed 1% cholesterol diet containing solvent fraction of *Kimchi*¹⁾ for 16 weeks.

¹⁾See the legend of Table 1.

^{a-d}Data were significantly different analyzed by one-way ANOVA followed Duncan's multiple range test at the 0.05 level of significance

지 않았음)에 비해 감소하였다. Kwon 등(9)은 같은 보고에서 Cu,Zn-SOD 활성은 대조군에 비해 배추군 25%, 고춧가루군 35% 증가하였고, 그리고 마늘군은 42% 감소하였다고 보고하였다

Mn-SOD 활성은 대조군 3.20 NU/mg protein/min, CH₂Cl₂획분 첨가군 1.54 NU/mg protein/min, EtOAc획분 첨가군 1.81 NU/mg protein/min 그리고 H₂O획분 첨가군이 1.65 NU/mg protein/min으로 대조군에 비해 CH₂Cl₂획분 첨가군 51%, EtOAc획분 첨가군 43%, H₂O획분 첨가군에서 48% 감소하였으며, 대조군의 활성도 Cu,Zn-SOD 처럼 정상대조군(4.46 NU/mg protein/min, data는 Fig 3에 제시하지 않았음)에 비해 낮아졌음이 관찰되었다(Fig 3, p<0.05) Kwon 등(9)은 배추김치 재료를 첨가한 고콜레스테롤 식이군의 항산화 효소계에 관한 연구에서 Mn-SOD 활성은 대조군에 비해 배추군은 별 차이를 보이지 않았으며, 고춧가루군은 29% 증가하였지만, 마늘군은 43% 감소하였다고 보고하였다.

간의 인지질 지방산 조성 분석

김치 용매획분의 섭취가 토끼간의 인지질 지방산 조성을 분석하였다(Table 5). 기본 식이를 섭취한 정상대조군의 주 지방산은 18:2(32.75%)와 18:0(27.79%)으로 나타났으나 1% 콜레스테롤 식이를 16주 동안 섭취시킨 대조군 및 여기에 김치용매획분을 첨가 식이군의 주 지방산은 16:0, 18:0, 18:1 및 18:2 지방산(21~25%)으로 나타나 고콜레스테롤 식이에 의해 지방산의 패턴이 달라졌

음을 관찰하였다 뿐만아니라 고콜레스테롤 식이에 의해 불포화지방산대 포화지방산의 비율이 낮아졌다 Froyland 등(32)은 hamster를 대상으로 2%의 콜레스테롤이 함유된 식이를 섭취시킨 결과 혈장과 간의 총 지질에 함유된 α -LNA(18:3n-3) 및 LA(18:2n-6)의 조성은 증가시킨 반면 이들의 대사산물인 EPA(20:5n-3), DPA(22:5n-3), DHA(22:6n-3), AA(20:4n-6), 22:46 및 22:5n-6의 조성과 $\Sigma n-3/\Sigma n-6$ 비율을 유의적으로 감소시켰음을 보고하여 본 실험에서 1% 콜레스테롤 식이를 섭취시킨 대조군에서 나타난 현상과 동일하였다. 고콜레스테롤 섭취시 김치용매 획분이 불포화지방산과 포화지방산의 비율에 미치는 영향은 EtOAc 획분 첨가시 관찰되었으나 다른 획분첨가군에서는 관찰되지 않았다.

요 약

1% 콜레스테롤을 첨가한 식이에 *in vitro*에서 LDL 산화 억제 효과가 컸던 디클로로메탄획분, 에틸아세테이트획분 그리고 물(H₂O)획분을 5% 동결건조 김치에 해당되게 수율을 계산하여 식이에 첨가하여 16주간 사육하여 토끼 간조직의 지질 산화 정도, LDL 산화 억제효과, 항산화 효소계, 인지질 지방산조성 등을 살펴보았다. 간조직의 TBARS 및 POV는 대조군에 비해 김치 용매획분 첨가군에서 낮게 나타났으며, 이들 추출물의 LDL 산화억제 효과도 김치 용매획분 첨가군에서 높게 나타났다(p<0.05). 간의 항산화효소계인 catalase와 GSH-Px, Cu,Zn-SOD

Table 5. Fatty acid compositions of phospholipid in the liver of rabbit fed 1% cholesterol diet containing solvent fraction of *kimchi*¹⁾ for 16 weeks (area %)

Fatty acid	N ²⁾	B	BC	BE	BW
14 : 0	0.32	0.37	0.29	0.15	0.18
15 : 0	0.18	0.46	0.43	0.30	0.33
16 : 0	17.43	23.88	22.57	20.94	22.61
16 : 1	1.18	1.93	1.84	1.60	1.55
17 : 0	0.82	1.21	1.49	1.18	1.29
17 : 1	0.33	0.45	0.59	0.47	0.46
18 : 0	27.79	23.77	26.43	24.04	26.87
18 : 1	17.55	21.33	26.02	21.28	22.00
18 : 2	32.75	25.70	18.70	28.26	23.40
18 : 3	0.51	0.52	0.29	0.46	0.35
20 : 4	0.15	0.34	0.32	0.21	0.18
20 : 5	-	-	0.20	-	-
22 : 6	0.36	-	0.31	0.32	0.30
24 : 0	0.64	-	0.52	0.49	0.49
SFA ³⁾	46.54	49.69	51.73	47.10	51.28
MUFA ⁴⁾	19.06	23.76	28.45	23.65	24.01
PUFA ⁵⁾	33.77	26.56	19.82	29.25	24.23
P/M/S	1.77:1:2.44	1.12:1:2.09	0.7:1:1.82	1.24:1:1.99	1.01:1:2.14
PUFA/SFA	1.13	1.01	0.93	1.12	0.94

¹⁾See the legend of Table 1

²⁾N. Normal (basal diet) group

³⁾SFA(S) : Saturated fatty acid, ⁴⁾MUFA(M) : Monounsaturated fatty acid, ⁵⁾PUFA(P) : Polyunsaturated fatty acid

및 Mn-SOD의 활성은 1% 콜레스테롤 식이군인 대조군에 비해 김치 용매획분의 첨가군에서 활성이 낮았으며 이는 김치 용매획분 첨가군의 지질 산화정도가 대조군보다 낮았기 때문에 효소 활성이 증가되지 않은 것으로 생각된다. 이러한 김치용매획분의 항산화 효과는 디클로로메탄획분 첨가군에서 가장 현저하였다. 기본식을 섭취한 토끼 간의 인지질의 주 지방산은 18:2(32.75%)과 18:0(27.79%)이었으나 1% 콜레스테롤 식이를 16주 동안 섭취한 실험군의 주 지방산은 16:0, 18:0, 18:1 및 18:2(각각 21~25%)로 나타나 콜레스테롤 식이에 의한 지방산 조성의 변화가 관찰되었다. 불포화지방산 대 포화지방산의 비율은 1% 콜레스테롤 식이에 의해 감소하였고 김치용매 획분 첨가에 따른 지방산 조성 및 불포화지방산 대 포화지방산의 비율의 변화는 관찰되지 않았다.

감사의 글

본 논문은 농림부에서 시행한 1998년 농림수산 특장 연구사업의 지원에 의한 연구결과에 일부로 연구비 지원에 감사드립니다.

문헌

- Proctor, P.H. : Free radicals and human disease In *CRC Handbook of Free Radical and Antioxidants in Biomedicine*, Miquel, J., Quintanilha, A.T. and Weber, H (eds.), CRC press, Florida, Vol 1, p.209-222 (1989)
- Prisco, D., Filippini, M., Francalanci, I., Paniccia, R., Gensini, G.F., Abbate, R. and Seneri, G.G.N. : Effect of n-3 polyunsaturated fatty acid intake on phospholipid fatty acid composition in plasma and erythrocytes *Am. J. Clin. Nutr.*, **63**, 925-932 (1996)
- Rebollo, A.J.G., Botejara, E.M., Cansado, A.O., Blanco, P.J.M., Bellido, M.M., Sanchez, A.F., Arias, P.M. and Alvarez, J.E.C. : Effects of consumption of meat product rich in monounsaturated fatty acids (the ham from the iberian pig) on plasma lipids *Nutr. Res.*, **18**, 743-751 (1998)
- Fuhrmann, H. and Sallmann, H.P. : Phospholipid fatty acids of brain and liver are modified by α -tocopherol and dietary fat in growing chicks. *Br. J. Nutr.*, **76**, 109-118 (1996)
- Sardesai, V.M. : The essential fatty acids. *Nutr. Clin. Prac.*, **7**, 179-181 (1992)
- Sandermann, H., Jr. : Regulation of membrane enzymes by lipids *Biochim. Biophys. Acta*, **515**, 209-215 (1978)
- Melchor, D.L., Scavitto, F.J. and Stern, J.M. : Dilatometry of dipalmitoyllecithin-cholesterol bilayers. *Biochemistry*, **19**, 4828-4831 (1980)
- Power, G.W., Yaqoob, P., Harvey, D.J., Newsholme, E.A. and Calder, P.C. : The effect of dietary lipid manipulation on hepatic mitochondrial phospholipid fatty acid composition and carnitine palmitoyltransferase I activity. *Biochem. Mol. Biol. Int.*, **34**, 671-675 (1994)
- Kwon, M.J., Song, Y.S. and Song, Y.O. : Antioxidative effect of *kimchi* ingredients on rabbits fed cholesterol diet. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **27**, 1189-1196 (1998)
- Kwon, M.J., Chun, J.H., Song, Y.S. and Song, Y.O. : Daily *kimchi* consumption and its hypolipidemic effect in middle-aged men. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **28**, 1144-1150 (1999)
- Kim, H.J. : Antiatherogenic effect of solvent fraction of

- cabbage *kimchi* in rabbit. *Master Thesis*, Pusan National University (2000)
12. Choi, M.W., Kim, K.H. and Park, K.Y. : Effects of *kimchi* extracts on the growth of Sarcoma-180 cells and phagocytic activity of mice. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **26**, 254-260 (1997)
 13. Cho, E.J., Rhee, S.H., Kang, K.S. and Park, K.Y. : *In vitro* anticancer effect of Chinese cabbage *kimchi* fractions. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **28**, 1326-1331 (1999)
 14. Park, K.Y. : The nutritional evaluation and antimutagenic and anticancer effect of *kimchi*. *J. Korean Soc. Food Nutr.*, **24**, 169-182 (1995)
 15. Hwang, S.Y., Hur, Y.M., Choi, Y.H., Rhee, S.H., Park, K.Y. and Lee, W.H. : Inhibitory effect of *kimchi* extracts on mutagenesis of Aflatoxin B₁. *Environmental Mutagens & Carcinogens*, **17**, 133-137 (1997)
 16. Park, K.Y., Cho, E.J. and Rhee, S.H. : Increased anti-mutagenic and anticancer activities of Chinese cabbage *kimchi* by changing kinds and levels of sub-ingredient. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **27**, 625-632 (1998)
 17. Lee, Y.O., Park, K.Y. and Cheigh, H.S. : Antioxidative effect of *kimchi* with various fermentation period on the lipid oxidation of cooked ground meat. *J. Korean Soc. Food Nutr.*, **25**, 261-266 (1996)
 18. Lee Y.O. and Cheigh, H.S. : Antioxidant activity of various solvent extracts from freeze dried *kimchi*. *Korean J. Life Science*, **6**, 66-71 (1996)
 19. Ryu, S.H., Jeon, Y.S., Moon, J.W., Lee, Y.S. and Moon, G.S. : Effect of *kimchi* ingredients to reactive oxygen species in skin cell cytotoxicity. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **26**, 998-1005 (1997)
 20. Kim, M.J., Song, Y.S. and Song, Y.O. : The fibrinolytic activity of *kimchi* and its ingredients *in vivo* and *in vitro*. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **27**, 633-638 (1998)
 21. Hwang, J.W. and Song, Y.O. : 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 (2000)
 22. Hwang, J.W. : The effect of solvent fractions of *kimchi* on plasma lipid concentration of rabbit fed cholesterol diet. *Master Thesis*, Pusan National University (1999)
 23. Buege, J.A. and Aust, S.D. : Microsomal lipid peroxidation. *Methods in Enzymol.*, **52**, 302-310 (1978)
 24. Aebi, H. : Catalase *in vitro*. *Methods in Enzymol.*, **105**, 121-126 (1984)
 25. Leopold, F. and Wolfgang, A.G. Assays of glutathione peroxidase. *Methods in Enzymology*, **105**, 114-121 (1984)
 26. Oyanagui, Y. : Reevaluation of assay methods and establishment of kit for superoxide dismutase activity. *Anal. Biochem.*, **4**, 290-291 (1948)
 27. Folch, I.L. and Stanley, G.H. : A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissue. *J. Biochem.*, **223**, 498-499 (1956)
 28. Lepage, G. and Roy, C.C. : Direct transesterification of all classes of lipids in a one-step reaction. *J. Lipid Res.*, **27**, 114-120 (1986)
 29. Stein, Y., Dabach, Y., Hollander, G. and Stein, O. : Cholesteryl ester transfer protein activity in hamster plasma increased by fat and cholesterol rich diets. *Biochim. Biophys. Acta*, **1042**, 138-145 (1990)
 30. 박용복 : 콜레스테롤 대사와 관련 유전자의 발현조절. 한국식품영양과학회, 춘계 산업심포지움, p3-6 (2000)
 31. Mutanen, M.L. and Mykkanen, H.M. : Effect of dietary fat on plasma glutathione peroxidase levels and intestinal absorption of ⁷⁵Se-labeled sodium selenite in chicks. *J. Nutr.*, **114**, 829 (1984)
 32. Froyland, L., Asie, D.K., Vaagenes, H., Garras, A., Lie, O., Totland, G.K. and Berge, R.K. : Tetradecyl-thioacetic acid incorporated into very low density lipoprotein; changes in the fatty acid composition and reduced plasma lipids in cholesterol-fed hamsters. *J. Lipid Res.*, **36**, 2529-2536 (1995)

(2000년 7월 14일 접수)