

김치의 용매획분이 고콜레스테롤 식이를 섭취한 토끼의 혈중지질 농도 변화에 미치는 영향

황지원 · 송영옥[†]

부산대학교 식품영양학과

The Effects of Solvent Fractions of *Kimchi* on Plasma Lipid Concentration of Rabbit Fed High Cholesterol Diet

Ji-Won Hwang and Yeong-Ok Song[†]

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

Abstract

The antioxidative effects of solvent fractions of *kimchi* on LDL oxidation *in vitro* as well as hypolipidemic effects of these fractions in rabbit fed atherogenic diet were studied. Methanol extract of defatted *kimchi* was fractionated sequentially with dichloromethane, ethylacetate, butanol and water. All solvent fractions of *kimchi* inhibited Cu²⁺-induced LDL oxidation. Among these fractions, the dichloromethane fraction at the concentration of 25 µg/mL showed the highest antioxidant effects against LDL oxidation in the aspect of inhibiting TBARS production by 28.03% or prolonged lag phase duration 2-fold compared to those of control. Based on the results from *in vitro* study, New Zealand White Rabbits grouped six each were fed for 8 weeks either basal diet containing 1% cholesterol or experimental diet containing dichloromethane, ethylacetate or water fraction added to the basal diet. The amount of solvent fraction of *kimchi* added to the experimental diet was equivalent to 5% of freeze-dried *kimchi*. The hypolipidemic effects was observed from all experimental groups, especially from dichloromethane fraction added group. The plasma and LDL cholesterol levels of this group were decreased by 49% and 47%, respectively while that of HDL increased by 91% compared to those of control. The calculated atherogenic index for the dichloromethane group was the lowest among groups. However, TG lowering effect of experimental group was not observed since solvent fraction of *kimchi* was used instead of freeze-dried *kimchi*. The TBARS concentration of LDL isolated from rabbit fed dichloromethane fraction was decreased 21% than that of control. These results indicate that active principles responsible for inhibiting LDL oxidation and lowering plasma cholesterol may present abundantly in dichloromethane fraction of *kimchi*.

Key words: *kimchi*, dichloromethane fraction, LDL oxidation, cholesterol, atherogenic index

서 론

김치는 한국인이 가장 즐겨 찾는 부식으로 계절에 관계없이 1년 내내 섭취되는 식품으로, 성인 1일 김치섭취량은 여름에는 50~100 g 정도이고 겨울에는 150~200 g 정도이다(1). 김치는 식이섬유의 급원이고 또한 김치발효 중 생성된 젖산균은 정장작용과 변비예방으로 대장암 예방 효과를 가질 것으로 생각되며 당과 콜레스테롤 흡수를 저하시켜 당뇨병 및 혈관질환과 관련된 성인병 예방에도 중요한 역할을 할 것으로 기대된다. Fujiwara(2)는 동물 실험에서 배추에 상당량 존재하는 β-sitosterol과 S-methyl cystein sulfoxide가 콜레스테롤 농도를 저하시킨다고 보

고하였다. 고추(*Capsicum annuum* L.)의 캡사이신은 그 유도체인 dihydrocapsaicin과 함께 고추 매운맛의 주성분으로 위액분비 촉진기능, 살균작용, 면역세포 활성화 증가작용 및 혈관확장 작용 등이 보고되고 있으며 또한 지질대사를 증진시키는 작용이 있어 혈중 중성지방, 콜레스테롤 및 인지질 등을 낮추는 효과가 있다고 보고하였다(3-9). 마늘의 주성분인 allicin은 coenzyme A의 -SH기와 결합하여 지방산, 중성지방, 인지질, 콜레스테롤의 합성에 필요한 SH group을 차단함으로써 acetyl기의 전이를 방해하며(10), 혈중 HDL 농도를 상승시켜 말초조직으로부터 간으로의 콜레스테롤 수송을 자극하고 콜레스테롤의 담즙산으로 배설을 증진시킨다고 보고하였다(11).

[†]To whom all correspondence should be addressed

생강(*Zingiber officinale* Rosc.)의 gingerol은 혈액응고를 억제하는 활성이 있는 것으로 알려져 있으며 휘발성분인 allylsulfide, allyldisulfide, zingerone 및 shogaol 등은 항산화성이 있는 생리활성 물질로 보고되고 있다(12). 한편 식이 구성 요소는 혈청 콜레스테롤 농도를 변화시키는 중요한 인자로 인식되고 있어 이와 관련하여 최근에는 지질대사 개선기능을 갖는 식물성분에 대한 연구들이 많이 보고되고 있으며(13,14) 우리나라에서는 항상 식탁에서 접할 수 있는 김치의 동맥경화 예방성에 대해 관심을 갖게 되었다. Kwon(15)과 Kim(16)은 쥐, 토끼를 이용한 동물실험에서 배추김치가 혈중지질 농도를 저하시키는 효과가 있을 뿐만 아니라 김치 담금 때 첨가하는 부재료인 배추, 마늘, 고추 등을 첨가한 식이로 8주간 사육한 토끼의 동맥궁에 지질이 침착하는 정도가 현저하게 차이가 있음을 보고하여 김치에 동맥경화 예방효과가 있다고 보고하였다.

따라서 본 연구에서는 동맥경화 예방성이 있는 김치의 활성물질을 찾기 위한 기초 연구로 잘 숙성된 배추김치를 용매 분획하여 동맥경화를 유발하는 원인중의 하나인 LDL 산화를 억제하는 정도를 *in vitro*에서 측정하고 여기서 얻어진 결과를 바탕으로 동맥경화식이(1% 콜레스테롤 식이)에 활성이 큰 김치의 용매획분을 첨가하여 토끼를 8주 동안 사육하면서 지질저하 효과 및 LDL 산화정도를 측정함으로써 김치 용매 획분의 동맥경화 예방성을 *in vitro*와 *in vivo*에서 검토하였다.

재료 및 방법

재료

배추는 김해 산지에서 출하된 포기당 중량이 2.0~2.5 kg 인 것을 사용하였고, 고춧가루는 경북 안동 일직농협조합에서 가공한 안동청결 고춧가루, 마늘은 남해에서 재배된 것을 사용하였다. 그 이외에 필요한 부재료는 인근 재래시장에서 구입하여 사용하였다.

김치 담금, 발효 및 동결건조

통배추를 4등분하여 10% 소금물 용액(수온 10°C)에 11시간 담급 절인 후 물로 3회 씻어서 2시간 동안 물기를 뺀 후 부산대학교 김치연구소에서 개발한 김치 recipe 중의 하나인 부재료의 양이 비교적 적게 첨가된 담금법(Table 1)으로 포기김치를 담았다. 김치는 재래식 독에 담아 상온에서 하루 방치한 후 냉장 온도에서 15일간 숙성시켰다. 숙성된 포기김치를 적당한 크기로 잘라 동결시킨 후 동결건조하여(해농, 경북포항) 실험용 시료로 사용하였다.

김치의 활성 성분의 용매별 분획

김치에 들어있는 유기성분을 극성을 달리한 용매를 이

Table 1. Kimchi recipe used for this experiment

Ingredients	Weight (g)
Brined Korean cabbage (<i>Brassica pekinensis</i>)	1,000
Red pepper powder (<i>Capsium annuum</i>)	18
Garlic (<i>Allium sativum</i>)	7.5
Ginger (<i>Zingiber officinale</i>)	1.9
Fermented shrimp sauce	22.5
Fermented sandlance sauce	22.5
Glutinous rice paste	12.8

용하여 순차적으로 분획하였다. 동결건조 김치시료를 분말로 만들어 헥산으로 3회 반복 추출하고 잔사물을 5배의 메탄올로 12시간 교반하여 3회 반복 추출하였다. 메탄올 추출물을 회전식 진공농축기를 이용하여 농축한 후, 다시 디클로로메탄, 에틸아세테이트, 부탄올로 용매 분획하여 용매를 제거하고 실험에 사용하였다.

LDL 분리

12시간 절식한 건강한 사람으로부터 채취한 혈액을 10°C에서 3,000 rpm으로 10분간 원심분리하여 혈장을 얻은 다음 그 혈장에서부터 fixed angle rotor를 사용하여 초원심분리에 의해 LDL을 분리시켰다(17). 분리된 LDL은 phosphate buffered saline에 24시간 투석한 후 0.45 µm syringe-mountable filter을 통과시켜 살균하였다. LDL의 단백질 농도는 Lowry 법으로 측정하였으며 한번 분리한 LDL은 3일 이상 사용하지 않았다.

Conjugated diene 측정 및 LDL 유도기 계산

LDL 단백질 농도가 0.1 mg/mL가 되게 LDL을 취하여 여기에 대조군은 알코올(최종 농도 0.5%)을 첨가하고 실험군은 알코올 또는 phosphate buffered saline에 녹인 김치의 용매획분을 최종농도 25 µg/mL되게 첨가하였다. 실험 시작 직전에 Cu²⁺을 최종농도 2 µM이 되게 첨가하여 잘 섞은 다음 LDL 자동산화를 유도하였다. 이들 반응액을 cuvette에 기포가 생기지 않게 넣은 다음 실온에 두면 LDL 자동산화가 진행되고 LDL 산화 과정에서 생성되는 conjugated diene 농도를 10분 간격으로 자동적으로 측정하게 프로그램 된 diod array spectrophotometer (model 8452A, Hewlett Packard, Rockville, MD, USA)을 이용하여 234 nm에서 측정하였다(18,19). 측정된 conjugated diene 농도를 시간에 대해 plotting하면 LDL 산화곡선을 얻을 수 있다. LDL 산화가 시작되는 점을 연장한 직선과 전파기의 곡선의 정점에서 직선을 그은 점이 만나는 지점을 구하여 이를 유도기로 하고, 유도기의 시간을 계산하였다.

TBARS 측정

농도별 김치 용매 획분과 0.1 mg/mL의 LDL 단백질이

함유된 반응액에 LDL 산화를 유도하기 위해 Cu^{2+} 의 최종 농도가 $2 \mu\text{M}$ 가 되도록 첨가하여 2시간 동안 40°C 에서 산화시킨 후 이 반응액 0.5 mL에 0.4% TBA, 15% TCA, 2.5% HCl이 함유된 TBARS solution을 1 mL 섞은 다음 반응 혼합액을 $95\sim 100^\circ\text{C}$ 수욕상에서 20분간 반응시켰다. 뜨거운 시료를 voltex해서 기포를 제거하고 잔물에서 식힌 후 2000rpm에서 10분간 원심분리한 다음 상등액을 532 nm 에서 흡광도를 측정하였다(20). 시료중의 TBARS의 농도는 malonaldehyde (MDA)로 만들어진 MDA의 표준곡선으로부터 MDA의 nmole로서 나타내었다.

실험동물의 사육

김치용매획분의 동맥경화 예방효과를 *in vivo*에서 살펴보기 위하여 동맥경화를 쉽게 유발하는 토끼(New Zealand white rabbit)를 대한실험동물센터에서 분양 받아 각군당 6마리씩 총 4군으로 하여 실험을 행하였다(Table 2). 김치 용매획분중 *in vitro* 실험에서 LDL 산화 억제 효과가 가장 컸던 dichloromethane(CH_2Cl_2) 획분, 그리고 이와 유사한 항산화 효과를 보였던 ethylacetate(EtOAc) 획분을 선택하였고, 물획분은 항산화 효과는 다른 두군에 비해 다소 떨어지나 식품첨가 시에 적용하기에 편리한 점을 고려하여 세가지획분을 선택하여 동물실험을 실시하였다.

식은 고형사료(Purina rabbit chow pellet)를 분말로 만든 뒤, 동맥경화를 유발하기 위해 1% 콜레스테롤(w/w)을 혼합하여 사용하였으며(대조군) 이 식이에 5% 동결건조 김치에 해당되는 CH_2Cl_2 , EtOAc 획분과 물획분을 Table 2와 같이 첨가하여 8주간 사육하였다(21). 이때 지용성 획분은 olive oil에 녹여 식이에 혼합하였다. 사료는 자유식으로, 식수는 제한없이 섭취하도록 했으며 모든 사료는 4°C 냉장보관하에 신선하게 공급하고, 실험기간 동안 사육실의 온도는 20°C , 상대습도는 55%를 유지하였으며 명암주기는 12시간 간격으로 조절하였다.

사육기간중 체중은 매주 측정하였고, 2주 간격으로 토끼의 후개 정맥에서 채혈하여, 혈중 콜레스테롤 및 중성지방, 지단백 분획에서 콜레스테롤 및 중성지방농도 변화를 관찰하였다.

혈장 및 지단백질의 콜레스테롤 및 중성지방 농도의 측정

혈액을 10°C 에서 3,000 rpm으로 10분간 원심 분리하여 혈장만을 취하여, -20°C 에서 냉동 보관하면서 분석용으로 사용하였다. 혈장으로부터 지단백 획분의 분리는 fixed angle rotor를 사용하여 초원심분리에 의한 sequential flotation method(22)로 혈장으로부터 밀도가 다른 VLDL, LDL 그리고 HDL의 세 획분을 얻었다. 혈장 HDL, LDL의 총콜레스테롤 함량은 효소법(23)에 의한 정량용 kit시약(cholesterol E kit BC 108-E, 영동제약)으로 측정하였으며, 혈장, VLDL의 중성지방 함량은 효소법(24)에 의한 정량용 kit시약(triglyceride kit BC 118, 영동제약)으로 측정하였다. 또한 분리된 LDL을 이용하여 TBARS를 측정하였다.

결과 및 고찰

김치 시료의 일반 특성

본 실험에 사용된 15일간 숙성한 김치의 염도는 2.24%로 적당하였으며 pH는 4.13이고 산도는 0.75로 발효숙성이 잘 된 맛이 좋은 상태이었다. 이때 환원당의 함량은 1.26%이고 젖산균은 $9.07 \log\text{CFU/mL}$ 이었다. 동결건조 시료의 일반성분은 수분 16.28, 조회분 0.03, 조단백 5.94, 조지방 1.28 그리고 식이섬유소는 18.55%이다.

김치 용매획분의 수율

동결건조한 김치 3 kg을 헥산으로 탈지한 다음 메탄올로 추출하였다. 이 메탄올 추출물을 극성이 다른 CH_2Cl_2 , EtOAc, 그리고 BuOH 순으로 분획하였으며, 남은 층을 물층으로 하였다. 이들 용매획분의 수득율은 Table 3에 나타내었다.

In vitro 에서 김치 용매획분의 LDL산화 억제효과

김치의 용매별 분획물의 항동맥경화성을 살펴보기 위하여 LDL의 산화양상을 conjugated diene 생성량으로부터

Table 2. Composition of experimental diet

Group	Diet
B	Basal diet (98%) ¹⁾ + 1% cholesterol+1% olive oil
BC	Basal diet (93%)+1% cholesterol+1% olive oil+ CH_2Cl_2 fr. in 5% of freeze dried kimchi ²⁾
BE	Basal diet (93%)+1% cholesterol+1% olive oil+EtOAc fr. in 5% of freeze dried kimchi ³⁾
BW	Basal diet (93%)+1% cholesterol+1% olive oil+H ₂ O fr. in 5% of freeze dried kimchi ⁴⁾

¹⁾Chow pellet for rabbit was powdered to prepare the experimental diet.

²⁾83 mg CH_2Cl_2 fr. was added to prepare 1 kg experimental diet.

³⁾56 mg EtOAc fr. was added to prepare 1 kg experimental diet.

⁴⁾2219 mg H₂O fr. was added to prepare 1 kg experimental diet.

Table 3. Yield of solvent fraction from kimchi¹⁾

Fraction	Yield (g)	%
Hexane ext.	57.9	1.93
MeOH ext.	1503.8	50.13
CH ₂ Cl ₂ fr.	49.8	1.66
EtOAc fr.	33.7	1.12
BuOH fr.	89.0	2.97
Water fr.	1331.3	44.38

¹⁾3 kg freeze-dried kimchi was used for the fractionation.

터 LDL 산화 curve을 얻은 다음 이로부터 산화유도기를 계산하였다. 김치용매획분을 첨가한 LDL의 산화는 전형적인 지질산화양상을 나타내었으며 이들 김치용매획분 첨가군의 유도기는 대조군에 비해 길었다. 대조군의 유도기를 100%로 표현하였을 때 물획분 116.42, EtOAc획분 123.21, MeOH획분 137.07, BuOH획분 141.73 그리고 CH₂Cl₂획분이 215.37%로 모든 김치 분획물에서 산화유도기를 연장시키는 효과가 있었으며(Table 4, p<0.05) 특히 CH₂Cl₂층은 산화유도기를 2배가량 연장시키는 강력한 LDL 산화 억제 효과가 있었다.

이러한 김치의 용매획분의 LDL산화 억제효과는 TBARS법으로 측정하였을 때도 동일한 결과를 나타내었다(Fig. 1). 김치용매획분을 첨가한 모든 군의 TBARS 생성량은 첨가한 김치용매획분에 농도의존적으로 감소하였으며(p<0.05), 50 µg/mL 농도의 김치용매획분을 첨가하였을 때 TBARS의 생성량은 대조군에 비해 메탄올 추출물 24.74, CH₂Cl₂획분 40.64, EtOAc획분 34.15, BuOH획분 31.33, 그리고 물획분은 20.98%가 감소하였고, 비교군으로 사용한 동일 농도의 BHT는 TBARS 생성량을 43.56% 감소시켰다. 이상의 실험결과로부터 김치의 CH₂Cl₂획분은 LDL 산화 억제효과가 상당히 높은 것으로 나타나 동일 농도의 BHT와 거의 유사한 항산화 효과를 나타내었다.

김치 용매획분이 토끼의 혈장 및 지단백 콜레스테롤 농도 변화에 미치는 영향

8주 실험기간 동안 토끼의 체중증가율은 대조군 12.2

Table 4. The antioxidant effect of solvent fraction of kimchi on LDL oxidation expressed in lag phase duration

Fraction	Lag phase duration (% of control)
Control	100 ^a
H ₂ O fr.	116.42 ± 10.87 ^{1)ab}
EtOAc fr.	123.21 ± 16.61 ^{ab}
Hexane fr.	137.07 ± 13.01 ^b
BuOH fr.	141.73 ± 11.86 ^b
CH ₂ Cl ₂ fr.	215.37 ± 41.95 ^c

¹⁾Values are means ± SD.

^{a-c}Datas in columns were significantly different analyzed by one-way ANOVA followed Duncan's multiple range test at the 0.05 level of significance.

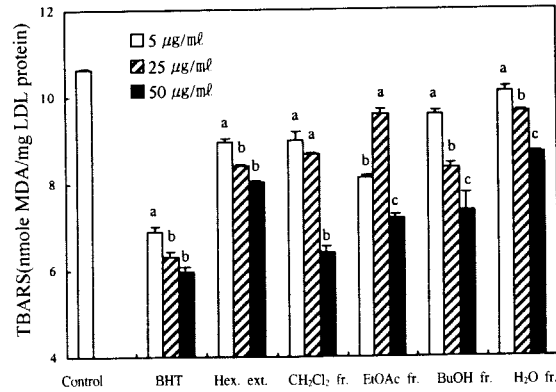


Fig. 1. Antioxidative effect of solvent fraction of kimchi¹⁾ on the susceptibility of LDL to oxidation.

¹⁾See Table 2 for the composition of experimental diet.

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

%, CH₂Cl₂획분 첨가군 12.7%, EtOAc획분 첨가군 12.8%, 물첨가군 11.5%로 군간 체중증가에 차이가 없었다. 콜레스테롤을 1% 첨가한 식이를 섭취한 토끼의 혈장 콜레스테롤 농도는 사육 기간중 모든 군에서 증가하였으나 대조군에 비해 김치의 용매획분 첨가군들에 있어서 그 증가수준이 낮았으며 6주부터 콜레스테롤 농도 변화에 차이가 있었다. 8주간 사육후의 혈장 콜레스테롤 농도는 대조군에 비해 CH₂Cl₂획분 첨가군이 49%, EtOAc획분 첨가군이 20% 그리고 물획분 첨가군이 20% 정도 낮아졌으며 통계적으로 유의하였다(Fig. 2, p<0.05). 본 실험의 결과에서 모든 김치의 용매획분 첨가군에서 혈장 콜레스테롤 상승을 억제하는 효과가 관찰되었고 이러한 효과는 dichloromethane 획분 첨가한 군에서 가장 컸다. 김치의 동맥경화 예방효과에 대한 Kwon(15)의 연구에 의하면 실험식에 1% 콜레스테롤과 배추, 고추 그리고 마늘을 각각 8, 1, 1%(w/w) 첨가한 식이를 토끼에 12주간 섭취한 결과 혈장 콜레스테롤 농도는 대조군에 비해 배추군 23%, 고춧가루군 20% 그리고 마늘군은 19% 낮아져 김치의 부재료에 콜레스테롤을 억제하는 효과가 있었고 이러한 결과는 김치의 모든 용매획분에서 혈장 콜레스테롤 상승을 억제하는 본 실험의 결과를 설명해 주고 있다(15).

LDL 콜레스테롤 농도 변화는 Fig. 3에 나타난 바와 같이 사육 4주까지 대조군에 비해 모든 김치 용매획분 첨가군에서 낮게 나타났으나 8주 후에는 CH₂Cl₂획분 첨가군의 LDL 콜레스테롤 농도는 대조군에 비해 47% 감소(p<0.05)를 보인 반면 EtOAc 첨가군과 물획분 첨가군에서는 LDL 콜레스테롤 농도가 대조군과 유사하였다.

HDL 콜레스테롤은 사육 4주째부터 김치 용매획분 첨가군이 대조군에 비해 높았으나(Fig. 3) 8주 후에는 대조군과 물획분 첨가군의 HDL 콜레스테롤 농도는 유사하였고, CH₂Cl₂획분 첨가군과 EtOAc획분 첨가군은 대조군에

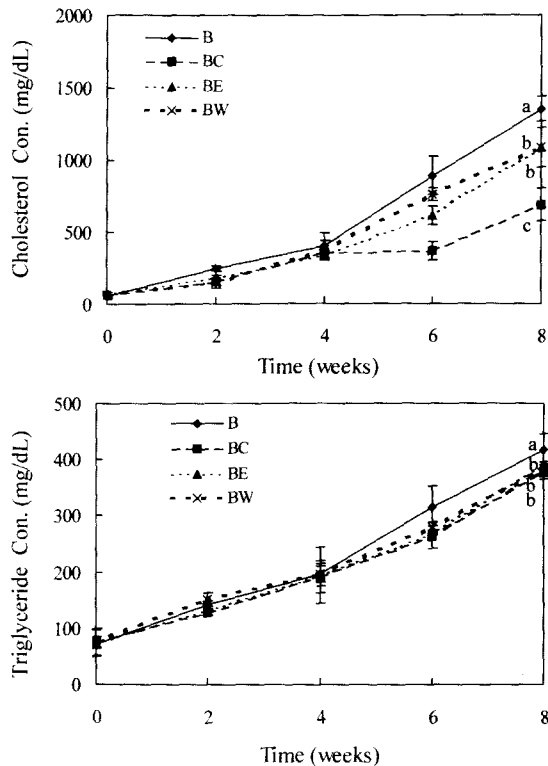


Fig. 2. Changes in plasma cholesterol and triglyceride concentration of rabbit fed atherogenic diet containing solvent fraction of *kimchi*¹⁾ for 8 weeks. ¹⁾See Table 2 for the composition of experimental diet. ^{a-c}Datas were significantly different analyzed by one-way ANOVA followed Duncan's multiple range test at the 0.05 level of significance.

비해 각각 91%, 20%씩 증가하였다($p < 0.05$). 이상의 결과를 종합하면 김치의 CH_2Cl_2 획분은 혈중 콜레스테롤 및 LDL 콜레스테롤은 저하시키고 HDL 콜레스테롤은 증가시키는 효과가 관찰되어, 동맥경화를 예방할 수 있는 활성물질이 이 획분에 많이 들어있는 것으로 생각된다. 특히 김치의 CH_2Cl_2 획분은 HDL 콜레스테롤을 증가시키는 효과가 LDL 콜레스테롤을 감소시키는 효과보다 더 큰 것으로 나타났다.

김치 용매획분이 토끼 혈장과 지단백질의 중성지방 농도 변화에 미치는 영향

사육기간의 경과에 따라 혈장 중성지방 농도는 Fig. 2에 나타난 바와 같이 증가하였고 이러한 콜레스테롤 식이에 의한 중성지방 농도의 상승은 혈장 콜레스테롤 농도의 상승으로 인해 lipogenic enzyme 활성이 증가하였기 때문이라고 보고하였다(25). 사육 4주째까지는 식이군간에 별로 차이가 없었으며 사육 6주째부터 대조군에 비해 김치의 용매획분 첨가군에서 증가수준이 감소하였으나 유의적이지 않았다($p > 0.05$). 사육 8주째의 혈장 중성지방

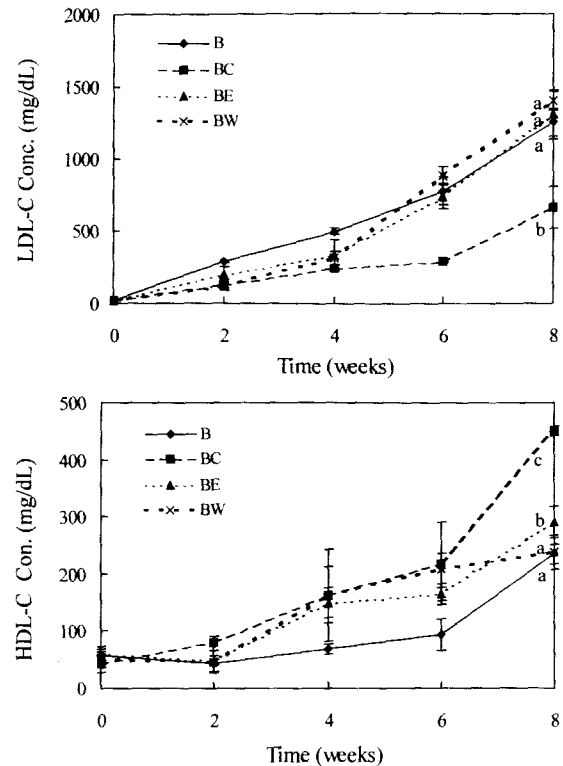


Fig. 3. Changes in LDL and HDL cholesterol concentration of rabbit fed atherogenic diet containing solvent fraction of *kimchi*¹⁾ for 8 weeks. ¹⁾See Table 2 for the composition of experimental diet. ^{a-c}Datas were significantly different analyzed by one-way ANOVA followed Duncan's multiple range test at the 0.05 level of significance.

농도는 대조군이 418.09, CH_2Cl_2 획분 첨가군 378.77, EtOAc 획분 첨가군 390.31 그리고 물획분 첨가군 382.82 mg/dL로 CH_2Cl_2 획분 첨가군은 대조군에 비해 9.4% 감소를 보여 콜레스테롤 억제 효과에 비해 중성지방을 떨어뜨리는 효과는 낮았다.

VLDL 중성지방 농도는 군간에 실험 초기부터 차이를 보였을 뿐만 아니라, 김치용매획분을 첨가에 의해서도 중성지방을 떨어뜨리는 효과가 뚜렷이 관찰되지 않았다 (data not shown). 김치 용매 추출물에 의한 중성지방 감소 효과가 현저하게 나타나지 않는 것은 콜레스테롤을 떨어뜨리는 기전과는 달리 김치중의 식이 섬유소에 의한 흡수 저하 때문이 아닌가 생각된다.

동맥경화지수

실험기간 중 각 군의 동맥경화지수 변화를 Table 5에 나타내었다. 콜레스테롤 첨가식이 섭취로 인해 모든 실험군에서 동맥경화지수가 상승하였으며 특히 대조군에서의 상승이 가장 현저하였다. 4주째의 동맥경화 지수는 대조군이 4.89, CH_2Cl_2 획분 첨가군 1.16, EtOAc획분 첨가군

Table 5. Changes in atherogenic index¹⁾ of rabbit fed atherogenic diet containing solvent fraction of kimchi²⁾ for 8 weeks

	0 Week	4 Week	8 Week
B	0.04±0.01	4.89±1.22 ^a	4.74±0.38 ^a
BC	0.40±0.19	1.16±0.05 ^b	0.52±0.25 ^d
BE	0.17±0.07	1.24±0.21 ^b	2.71±0.94 ^c
BW	0.27±0.16	1.26±0.40 ^b	3.55±0.57 ^b

¹⁾(Total cholesterol - HDL-C)/HDL-C

²⁾See Table 2 for the composition of experimental diet.

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

1.24 그리고 물획분 첨가군 1.26으로 모든 실험군에서 대조군에 비해 매우 낮았다. 8주째에는 대조군의 동맥경화 지수는 4주째와 비슷하였으나 CH₂Cl₂획분 첨가군 0.52, EtOAc획분 첨가군 2.71 그리고 물획분 첨가군 3.55로 대조군에 비해 실험군에서 각각 89%, 43% 그리고 25% 정도 낮아 김치 용매 획분이 동맥경화를 억제시키기를 관찰할 수 있었고 특히 dichloromethane층의 동맥경화 예방 효과는 현저하여 이 획분에 활성 성분이 들어 있음을 확인하였다. Framingham Heart study에서는 동맥경화지수가 3.5이하이면 관상동맥질환의 위험으로부터 안전한 수준이며 적어도 4.5이하를 유지하도록 권장하였다(26-28). 본 실험에서는 대조군에서는 Framingham study에서 나온 수준을 초과하였으나 용매획분의 첨가군에서는 동맥경화지수가 유의적으로 낮아(p<0.05) 김치의 용매분획물에 동맥경화를 억제하는 효과가 있음을 알 수 있었고 특히 dichloromethane층에 동맥경화를 예방하는 활성물질이 많이 함유되어 있는 것으로 생각되어진다.

LDL 산화능 변화

사육 0주, 4주, 8주째 분리한 토끼의 혈장으로부터 분리한 LDL을 CuSO₄로 산화시켜 TBARS값을 측정하였다(Fig. 4). 0주의 TBARS값은 대조군이 28.24, CH₂Cl₂획분 첨가군 26.91, EtOAc획분 첨가군 27.79 그리고 물획분 첨가군이 30.2 nmol MDA였고 4주의 TBARS값은 대조군이 35.57, CH₂Cl₂획분 첨가군이 28.85, EtOAc획분 첨가군이 32.46 그리고 물획분 첨가군이 35.24 nmol MDA였으며 8주에는 대조군이 40.81, CH₂Cl₂획분 첨가군이 32.23, EtOAc획분 첨가군이 34.12 그리고 물획분 첨가군이 34.97 nmol MDA로 사육기간이 길어짐에 따라 대조군의 산화 생성물은 현저히 증가하였는데 이는 1% 콜레스테롤 첨가식이 때문으로 생각된다. 그러나 김치용매획분 첨가군의 산화생성물은 대조군에 비해 낮았고 이러한 효과는 사육기간이 길어질수록 더욱 뚜렷이 관찰되었다. 각 기간별로 김치용매획분 첨가군의 MDA 생성량을 비교해 보면 대조군에 비해 CH₂Cl₂획분 첨가군과 EtOAc획분 첨가군의 MDA 생성은 4주 이후부터 유의적으로 감소했으며

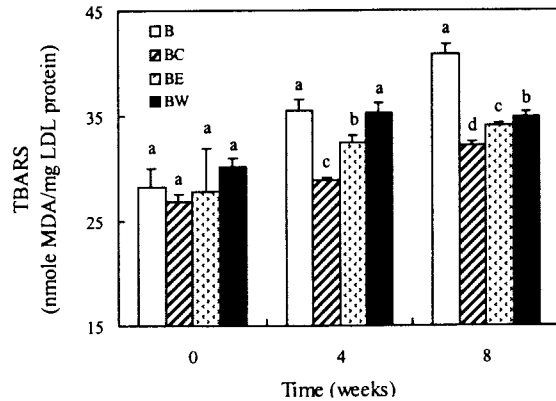


Fig. 4. TBARS concentration of LDL isolated from rabbit fed atherogenic diet containing solvent fraction of kimchi¹⁾ for 8 weeks.

¹⁾See Table 2 for the composition of experimental diet.

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

(p<0.05) 특히 8주째 CH₂Cl₂획분 첨가군의 TBARS 농도는 대조군에 비해 21% 정도 낮았다. 본 실험의 결과에서 김치의 용매획분은 토끼에게 고콜레스테롤 식이를 섭취시켰음에도 불구하고 대조군에 비해 LDL 산화가 유의성 있게 억제되었음을 관찰하였고 이러한 효과는 CH₂Cl₂획분 첨가군에서 가장 현저하여 아마도 동맥경화를 예방하는 활성물질이 CH₂Cl₂획분 속에 가장 많이 들어있는 것으로 생각된다.

요 약

동맥경화를 예방할 수 있는 배추김치의 활성 성분을 분리하기 위하여 동결건조한 김치의 메탄올 추출물을 극성이 다른 용매로 계통분획하여, 각 획분의 LDL 산화 억제 정도를 *in vitro*에서 측정하여 이들 중 현저하게 항산화 효과를 보인 김치 획분의 지질대사 저하효과를 *in vivo*에서 확인하였다. 토끼에게 1% 콜레스테롤을 첨가한 식이에 *in vitro*에서 LDL 산화억제 효과가 컸던 CH₂Cl₂ 및 EtOAc획분과 물획분을 5% 동결건조 김치에 해당되는 양만큼 대조군식이에 첨가하여 8주간 사육하면서 혈장 및 지단백 획분의 콜레스테롤 및 중성지질 변화를 관찰하였다. *In vitro* 실험결과, 김치 용매 획분을 첨가한 LDL의 산화정도를 TBARS 농도로 나타내었을 때 BHT, Hex.추출물, CH₂Cl₂획분, EtOAc획분, BuOH획분, 물획분 첨가군은 대조군에 비해 각각 40.68, 21.10, 28.03, 9.95, 21.23, 그리고 9.30% 정도 LDL 산화가 억제되었다. 이들 김치 용매 획분 첨가군의 LDL 산화유도기는 대조군에 비해 모든 획분에서연장되었으며 특히 CH₂Cl₂획분 첨가군의 산화 유도기는 약 2배 가량 연장되었다. CH₂Cl₂ 및 EtOAc획분과 물획분을 첨가한 사료로 8주동안 사육한 토끼의 혈

장 콜레스테롤 농도 및 중성지질 농도는 김치의 용매획분 첨가군에서 낮게 나타났으며, 이러한 김치용매 획분에 의한 지질저하 효과는 dichloromethane 획분 첨가군에서 가장 높게 나타났다. 대조군에 비해 dichloromethane 획분 첨가군의 혈장 콜레스테롤은 49%, LDL-C은 47% 감소되었고, HDL-C은 91%나 증가하여 동맥경화 지수가 0.52로 대조군의 4.84에 비해 현저히 낮았다. 그러나 중성 지방을 저하하는 효과는 현저하지 않았다. 이들 dichloromethane 획분 첨가 토끼의 TBARS 농도도 대조군에 비해 21% 정도 낮아서 지질산화를 억제하는 효과도 관찰되었다. 이상의 실험 결과들을 바탕으로 보면 동맥경화를 예방할 수 있는 김치의 활성성분은 dichloromethane층에 많이 들어있는 것으로 생각된다.

문 헌

1. 전희정 : 김치의 영양과 효능. 한국 김치의 세계화를 위한 과제와 방향, p.5 (1994)
2. Fujiwara, M. : Antihypercholesterolemic effect of sulfur containing amino acid, S-methyl-L-cysteine sulfoxide isolated from cabbage. *Experientia*, **28**, 254-257 (1972)
3. Jancso, G. and Wollemann, M. : The effect of capsaicin on the adenylate cyclase activity of rat brain. *Brain Res.*, **123**, 323-327 (1977)
4. Lee, H.D., Kim, M.H. and Lee, C.H. : Relationships between the taste components and sensory preference of Korean red peppers. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **24**, 266-271 (1992)
5. Lee, K., Suzuki, T., Kobashi, M., Hasegawa, K. and Iwai, K. : Quantitative microanalysis of capsaicin, dihydrocapsaicin and nordihydrocapsaicin using mass fragmentography. *J. Chromatogr.*, **123**, 119 (1976)
6. 장택수 : 한국에서의 신미종 고추에 대한 연구현황과 그에 대한 고찰. 전북대학교 석사학위논문 (1983)
7. 유리나 : 김치내 고춧가루 매운 성분(캡사이신)의 면역증강 및 항성인병성 효과. 김치의 과학과 기술(부산대학교 김치연구소 제 2회 심포지움), **1**, 143 (1995)
8. Kawada, T., Hagigara, K. and Iwai, K. : Effect of capsaicin on lipid metabolism in rats fed diet. *J. Nutr.*, **116**, 1272-1281 (1986)
9. 유리나, 최윤정, 박수아, 정대균, 남희섭, 신재익 : 식이 capsaicin이 *in vivo*에서 자발성 고혈압 흰쥐의 혈압상태 및 혈중 지질수준에 미치는 영향. 한국식품영양과학회 제 41차 춘계학술대회 초록, p.101 (1997)
10. Warshafsky, S., Kamer, R.S. and Sivak, S.L. : Effect of garlic on total serum cholesterol : A meta-analysis. *Ann. Intern. Med.*, **119**, 599-605 (1993)
11. Kamanna, V.S. and Chandrasekhara, N. : Effect of garlic (*Allium sativum* Linn) on serum lipoproteins and lipoprotein cholesterol levels in albino rats rendered hypercholesteremic by feeding cholesterol. *Lipid*, **17**, 483-488 (1982)
12. Giri, J., Devi, T.K. and Meerernani, S. : Effect of ginger on serum cholesterol levels. *Ind. J. Nutr. Dietet.*, **21**, 433-436 (1984)
13. Lee, Y.H., Shin, Y.M., Lee, J.E., Choi, Y.S. and Lee, S.Y. : *In vitro* screening of 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase inhibitor from plant extracts. *Korean J. Biotechnol. Bioeng.*, **6**, 55-61 (1991)
14. Choi, Y.S., Sur, J.H., Kim, C.H., Kim, Y.M., Ham, S.S. and Lee, S.Y. : Effects of dietary buckwheat vegetables on lipid metabolism in rats. *J. Korean Soc. Food Nutr.*, **23**, 212-218 (1994)
15. Kwon, M.J. : Antiatherogenic effect of Baechu kimchi. *Ph.D. Dissertation*, Pusan National University (1998)
16. Kim, M.J. : The effect of kimchi and its ingredients on fibrinolytic activity and on immune cell growth. *Thesis for master's degree*, Pusan National University (1998)
17. Chung, B.H., Segrest, J.P., Ray, M.J., Brunzell, J.D., Hokanson, J.E., Kraus, R.M., Beaudrie, K. and Cone, J. T. : Single vertical spin density gradient ultracentrifugation. *Methods Enzymol.*, **128**, 181-186 (1986)
18. Esterbauer, H., Striegl, H., Puhl, H. and Rotheneder, M. : Continuous monitoring of *in vitro* oxidation of human low density lipoprotein. *Free Rad. Res. Communication*, **6**, 67-75 (1989)
19. Regnstrom, J. and Nilsson, J. : Susceptibility to low-density lipoprotein oxidation and coronary atherosclerosis in man. *Lancet*, **339**, 1183-1186 (1992)
20. Buege, J.A. and Aust, S.D. : Microsomal lipid peroxidation. *Methods Enzymol.*, **52**, 302-310 (1978)
21. Lim, S.S. and Lee, J.H. : A study on the chemical composition and hypocholesterolemic effect of *Aster scaber* and *Ixeris dentata*. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **26**, 123-129 (1997)
22. Converse, C.A. and Skinner, R.E. : Lipoprotein analysis. A practical approach. Oxford University Press, p.11 (1992)
23. Yao, T., Sato, M., Kobayashi, Y. and Wasa, T. : Amperometric assays of total and free cholesterol in serum by the combined use of immobilized cholesterol esterases and cholesterol oxidant reactors and peroxidase electrode in a flow injection system. *Anal. Biochem.*, **149**, 387-391 (1985)
24. Buccolo, G. and David, H. : Quantitative determination of serum triglycerides by the use of enzymes. *Clin. Chem.*, **19**, 476-477 (1973)
25. Steinberg, D., Parthasarathy, S., Carew, T.E., Khoo, J.C. and Witztum, J.L. : Beyond cholesterol : modifications of low density lipoprotein that increase its atherogenicity. *N. Engl. J. Med.*, **320**, 915-924 (1989)
26. Shils, M.E., Olson, J.A. and Shike, M. : *Modern nutrition in health and disease*. 8th ed., Lea & Febiger, p.252 (1994)
27. Castelli, W.P., Garrison, R.J., Wilson, P.W.F., Abborr, R. D., Kalousdian, S. and Kannel, W.B. : Incidence of coronary heart disease and lipoprotein cholesterol levels. The Framingham study. *JAMA*, **256**, 2835-2845 (1986)
28. The Lipid Research Clinic Program : The lipid research clinics coronary prevention trial results : II. The relationship of reduction in incidence of coronary heart disease to cholesterol lowering. *JAMA*, **251**, 365-371 (1984)

(2000년 2월 28일 접수)