

케일녹즙 분말식이가 흰쥐의 혈중 지질, 엽산 및 호모시스테인 수준에 미치는 효과

정은정¹ · 김수연² · 남영주² · 박정화² · 황혜진³ · 이양자^{2*}

¹강남대학교 교양학부

²연세대학교 생활과학대학 식품영양과학연구소

³동의대학교 식품영양학과

Effects of Kale Juice Powder on Serum Lipids, Folate and Plasma Homocysteine Levels in Growing Rats

Eun-Jung Chung¹, Soo-Yeon Kim², Young-Ju Nam², Jung-Hwa Park²,
Hye-Jin Hwang³ and Yang-Cha Lee-Kim^{2*}

¹General Education, Kangnam University, Gyeonggi 449-702, Korea

²Res. Institute of Food and Nutritional Sciences, Yonsei University, Seoul 120-749, Korea

³Dept. of Food and Nutrition, Donggeui University, Busan 614-714, Korea

Abstract

The purpose of this study was to investigate the effects of green vegetable (kale) juice powder supplementation on lipid profiles, plasma homocysteine, folate and vitamin B₁₂ in rats fed cholesterol (Chol.) or Chol. free diet. 7-week old male Sprague Dawley rats (n=40) were divided into 4 groups, and experimental diets containing control diet group (CO), control diet plus 0.5 wt% Chol. (CC), control diet added with 5 wt% kale (KO), control diet added with 5 wt% kale plus 0.5 wt% Chol. (KC) were fed for 8 wks. Plasma homocysteine level was examined by amino acid analyzer and serum folate and vitamin B₁₂ level were measured by competitive radioimmunoassay methods. In various serum lipid profiles, TG level was lower in kale juice powder groups (KO, KC) compared to the corresponding groups (CO, CC) (p<0.001). In Chol. supplemented groups (CC, KC), HDL-Chol. level was lower (p<0.001) and LDL-Chol. level was higher (p<0.05) than Chol. free diet. HDL-Chol. level was higher (p<0.05) in kale juice powder groups. HDL/LDL ratio was lower in Chol. supplemented groups (CC, KC) and tended to be higher in kale juice powder groups (KO, KC). Serum folate and vitamin B₁₂ levels were not affected by dietary Chol. and kale juice powder supplementation. Plasma homocysteine level was not affected by dietary Chol. and kale juice powder supplementation, too. Serum folate level was positively correlated with serum vitamin B₁₂ level (r=0.5632, p<0.001), but plasma homocysteine level was not significantly correlated with any serum folate, vitamin B₁₂ and Chol. levels, respectively. In summary, kale juice powder supplementation have improved serum lipid profiles by increasing the HDL level and decreasing the TG level and have not altered homocysteine level under the sufficient supply of folate and vitamin B complex relating with the homocysteine metabolism.

Key words: kale juice powder, cholesterol, homocysteine, rat

서론

2002년도 한국인의 사망원인을 보면 심혈관계질환에 의한 사망원인은 여전히 수위를 차지하고 있으며(1), 심혈관계 질환 발병의 여러 가지 위험요인 중에서 불건강한 생활습관 및 식사패턴이 주요한 요인으로 작용하고 있다(2).

과일이나 채소의 섭취량이 많을수록 심혈관계 질환의 위험률이 감소된다는 많은 역학연구에서 입증된 바 있다(3-5). 과일이나 채소의 심혈관계 질환에 대한 예방효과는 carotenoids, 비타민 C, 비타민 E 등의 항산화 관련 물질의 섭취증

가로 인한 체내 항산화 체계의 강화 이외에도 이들 식품 중에 풍부한 엽산이 호모시스테인(homocysteine) 대사에 미치는 효과와도 관련이 깊을 것으로 생각되고 있다(6,7). 따라서 심혈관계 질환을 예방하기 위해서는 단일 영양소보다는 이들 영양소가 풍부한 채소와 과일의 섭취량을 증가시킬 것을 권장하고 있다(8).

1960년대 초 심혈관계 질환과 혈중 호모시스테인 농도사이의 양의 상관성이 처음 밝혀진 후(9), 호모시스테인 농도를 상승시키는 요인에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다. 호모시스테인은 methyl tetra-hydrofolate와 비타민 B₁₂가 요

*Corresponding author. E-mail: ycleekim@yonsei.ac.kr

Phone: 82-2-2123-3118, Fax: 82-2-2213-3118

구되는 methylation 과정을 통해 메티오닌으로 전환되거나, 비타민 B₆가 조효소로 작용하는 황(S)전이반응을 통해 시스테인을 형성하므로, 호모시스테인은 염산, 비타민 B₁₂, 비타민 B₆의 비타민 B군과 대사적으로 밀접한 관련을 갖고 있다(9,10). 따라서 고호모시스테인혈증은 호모시스테인 대사에 관여하는 이들 비타민 B군이 부족하거나(10), 또는 호모시스테인 대사에 관여하는 효소가 부족할 때 나타나게 된다(11).

Park 등(12)에 의하면 흰쥐에서 신선초를 공급한 결과, 총 콜레스테롤과 LDL-콜레스테롤 수준이 모두 감소하여 혈중 지질패턴이 개선됨을 보고한 바 있다. 또한 본 연구팀의 선행연구에서도 고지혈증 성인(13)이나 흰쥐(14)를 대상으로 케일 녹즙을 공급하여 준 결과, 혈청지질뿐 아니라 항산화 능력이 향상되었음이 보고되었다. 케일(*Brassica oleracea acephala*)은 양질의 단백질과 비타민 C, β-카로틴 및 무기질 함량이 높아 영양적 가치가 높은 십자화과 채소(15)이며, sulforaphane이 함유되어 있어 흡연으로 인한 폐암 발병률을 감소시키고(16), 돌연변이 유발 억제효과가 있는 것으로 보고되고 있다(17). 이와 같이 최근에 이르러 자연에서 얻어지는 식품을 통한 심혈관계질환 등의 만성질환에 대한 예방효과에 대한 관심은 급속히 증가하고 있으나, 손쉽게 채소의 섭취량을 증가시킬 수 있는 다양한 종류의 녹즙의 유용성 등에 대한 과학적인 검증은 아직까지 부족한 실정이다.

한편 과일이나 채소를 많이 섭취하는 사람들은 대부분 포화지방산이나 콜레스테롤 등이 풍부한 동물성식품의 섭취량이 상대적으로 적으므로, 여러 역학연구에서 밝혀진 과일이나 채소의 섭취량과 심혈관계질환 사이의 역의 상관관계를 직접적으로 설명하는데 있어 약간의 제한점이 있다. 반면에 여러 가지 식이조건을 조절할 수 있는 동물실험을 통해 과일이나 채소가 심혈관계질환에 미치는 효과에 대해서는 많은 연구가 이루어지지 않은 상태이다.

따라서, 본 연구에서는 흰쥐에게 콜레스테롤과 케일녹즙 분말을 공급한 후 혈중 지질패턴과 염산 및 호모시스테인 농도를 측정하여, 케일녹즙 보충이 심혈관계질환에 미치는 효과를 관찰하였다.

재료 및 방법

실험식이 및 실험동물

생후 7주령의 Sprague Dawley 수컷 흰쥐를 기본사료로 예비 사육하여 환경에 적응시킨 후, 체중에 따라 난괴법(randomized complete block design)에 의해 10마리씩 4군으로 분류하여 각기 대조식이(control diet, CO), 고콜레스테롤식이(CO+cholesterol(CC), 케일(kale: *Brassica oleracea acephala*: KO) 및 고콜레스테롤-케일(KO+cholesterol: KC)의 실험식으로 8주간 사육하였다.

실험식은 Table 1과 같이 탄수화물: 단백질: 지방의 비율은 중량을 기준으로 하여 65:18:10으로 구성하였다. 녹

Table 1. Composition of experimental diet (g/100 g diet)

| Ingredients | Experimental groups ¹⁾ | | | |
|----------------------------|-----------------------------------|------|------|------|
| | CO | CC | KO | KC |
| Carbohydrate ²⁾ | 65 | 65 | 60 | 60 |
| Starch | 52 | 52 | 48 | 48 |
| Sucrose | 13 | 13 | 12 | 12 |
| Protein | 18 | 18 | 18 | 18 |
| Casein | 17.9 | 17.9 | 17.9 | 17.9 |
| DL-Met. | 0.1 | 0.1 | 0.1 | 0.1 |
| Fat | 10 | 10 | 10 | 10 |
| Soy-oil | 5 | 5 | 5 | 5 |
| Beef-tallow | 5 | 5 | 5 | 5 |
| Mineral Mix. ³⁾ | 4 | 4 | 4 | 4 |
| Vitamin Mix. ⁴⁾ | 1 | 1 | 1 | 1 |
| CMC ⁵⁾ | 2 | 2 | 2 | 2 |
| Kale juice powder | - | - | 5 | 5 |
| Cholesterol | - | 0.5 | - | 0.5 |

¹⁾CO: Control diet, CC: CO+cholesterol, KO: Kale, KC: KO+cholesterol.

²⁾Starch : Sucrose=80 : 20.

³⁾AIN-76 mineral mixture (g/kg of mix): CaHPO₄, 500; NaCl, 74; K₂H₆O₇H₂O, 220; K₂SO₄, 52; MgO, 24; MnCO₃, 3.5; FeC₆H₅O₇, 6; CuCO₃, 0.3; Na₂SeO₃ · 5H₂O, 0.01; KIO₃, 0.01; CrK(SO₄)₂ · 12H₂O, 0.55; sucrose, finely powdered, 118.03.

⁴⁾AIN-76 vitamin mixture (g/kg of mix): thiamin HCl 0.6, riboflavin 0.6, pyridoxine HCl 0.7, nicotinic acid 3, D-Ca pantothenate 1.6, folic acid 0.2, D-biotin premix (1%) 2, cyanocobalamin (0.1%) 1, retinyl palmitate premix (250,000 IU/mg) 1, DL-α-tocopherol acetate 100, cholecalciferol (400,000 IU/g) 0.25, menaquinone 0.05, sucrose 990.

⁵⁾Carboxymethyl cellulose sodium salt.

즙은 선별한 원재료를 세척, 칩지, 분쇄, 착즙과정을 거쳐 제조되었는데, 이 녹즙은 착즙기 자체에서 100 mesh로 일차 여과하고 다시 60 mesh로 여과시켰다(주: 풀무원). 제조과정에서 상당량의 불용성 식이섬유소가 제거된 케일 녹즙을 동결 건조시켜 분말형태로 만들었으며, 녹즙에서 얻은 건조 분말의 수율은 약 5%였다. 제조된 녹즙분말은 식이 무게의 5%(당질 대치)(12,18)를 첨가하였으며, 콜레스테롤군의 경우 식이 무게의 0.5% 수준(19)으로 첨가하여 실험식이를 제조하였다. 케일 녹즙의 영양성분 자료는 Table 2에 제시하였다.

식이 섭취량은 매일 일정한 시각에 측정하였고, 체중은 1주일에 1회 같은 시각에 측정하였으며, 식이와 물은 자유롭게 먹도록 하였다. 사육기간 동안의 평균 식이 섭취량과 체중 증가량을 계산하여 각 실험군들의 식이효율(food efficiency ratio, FER)을 계산하였다. 사육실의 온도는 22°C, 습도 18%, 조명주기는 12시간으로 조절하였다.

혈액의 준비

실험동물은 8주간의 실험기간이 종료된 후, 12시간 절식 시키고 diethyl ether로 마취시켜 복부 대동맥에서 혈액을 채취하였다. 채취한 혈액의 일부는 응고를 방지하기 위해 EDTA(ethylene diamine tetra acetate)처리된 원심분리관에 담았으며, 일부 혈액은 실온에 30분간 방치한 후 2,000 ×g, 4°C에서 30분간 원심분리하여 각각 혈장과 혈청을 얻

Table 2. Compositions of kale juice
(per 100 g edible portion)

| Nutrients | Composition |
|-------------------------------|-------------|
| Caloire (kcal) | 14.00 |
| Water (g) | 95.73 |
| Ash (g) | 1.06 |
| Crude fat (g) | 0.20 |
| Crude protein (g) | 0.77 |
| Carbohydrates (g) | 2.24 |
| Total fiber (g) ¹⁾ | 0.5 |
| Na (mg) | 49.7 |
| K (mg) | 221.80 |
| Ca (mg) | 67.30 |
| Fe (mg) | 0.21 |
| β-Carotene (mg) | 14.00 |
| Vitamin C (mg) | 19.40 |
| Folic acid (μg) | 349.10 |

<Source: R & D Center, Pulmuone. Co. Ltd.>

¹⁾Analyzed by Korea Health Industry Development Institute.

었으며, 분석이 이루어질 때까지 -70°C에서 보관하였다.

혈청 지질성분 분석

혈청의 총 콜레스테롤(total cholesterol), 중성지방(triglyceride: TG) 및 HDL-cholesterol은 enzymatic colorimetry method를 이용한 kit로((주)영연화학, 일본) 분석하였고, LDL + VLDL-cholesterol은 Friedwald의 계산식(20)에 의해 산출하였다.

혈청 엽산 및 비타민 B₁₂ 농도

혈청 엽산 및 비타민 B₁₂ 농도는 방사성 동위원소의 Radioassay kit(SimulTRAC-SNB Radioassay Kit Vitamin B₁₂(⁵⁷Co)/ Folate(¹²⁵I), ICN Pharmaceutical Inc.)를 이용하여 γ-counter(COBRA 5010 II, Packard USA)로 분석하였다.

혈장 호모시스테인 농도

혈장 350 μL에 borate buffer(pH 9.0)와 dithiothreitol을 사영하여 호모시스테인을 환원시켰다. 이 환원형의 호모시스테인에 internal standard로 L-nor-leucine(Sigma Chemical Co., Louis, Mo, USA)과 20% sulfosalicylic acid를 첨가한 후, 4°C에서 3,300 rpm으로 15분간 원심분리하였다. 상층액 100 μL을 아미노산 분석기(Bio 20 autoloader amino acid

analyzer, Pharmacia Biotech, Cambridge, England)에 주입하여 호모시스테인을 분석하였다(21). 이 때 완충액과 넉히드린 용액의 유속은 각각 20 μL/hr와 25 μL/hr이었으며, 호모시스테인의 표준물질로는 D,L-homocysteine(Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA)을 사용하였다.

통계분석

모든 수치의 통계분석은 SAS(STAT Version 6, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA)를 이용하여 실시하였으며, 모든 분석결과는 mean ± SEM으로 표시하였다. 식이 콜레스테롤과 케일녹즙 분말 보충이 혈중 지질, 호모시스테인 및 엽산 농도에 미치는 효과는 two-way ANOVA에 의해 유의수준 α < 0.05, α < 0.01 및 α < 0.001 수준에서 검증하였다. 분석요인들간의 상관관계 분석은 Pearson correlation test로 수행하였다.

결과 및 고찰

실험동물의 체중 및 식이 효율

실험동물의 체중 및 식이 효율은 Table 3에 제시된 바와 같다. 8주간의 실험기간동안 체중 증가량과 식이 효율(FER)은 케일 녹즙분말(5 wt%, 이하 녹즙분말)과 콜레스테롤 첨가에 의해 유의한 영향을 받지 않는 것으로 나타났다. 또한 에너지 섭취량(kcal/d)으로 환산한 경우에도 실험기간에 유의한 차이를 보이지 않았다. Park 등의 연구(12)에서도, 흰쥐에게 신선초(5% diet wt.)를 6주간 공급한 결과, 식이 섭취량은 약간 감소하였지만 성장률은 유의한 차이를 보이지 않아 본 연구결과와 유사하였다.

혈중 지질농도

녹즙분말과 식이 콜레스테롤 첨가가 실험동물의 혈중 지질수준에 미치는 영향은 Table 4에 제시하였다. 혈중 중성지방(TG) 농도는 녹즙분말 보충에 의해 유의하게 감소하였는데(p < 0.001), 특히 무콜레스테롤군(27.2% 감소)보다 콜레스테롤첨가군(44.3% 감소)에서 더 크게 감소하였으나, 총 콜레스테롤 농도는 녹즙분말이나 콜레스테롤 보충에 의해 유의한 영향을 받지 않았다. HDL-콜레스테롤과 LDL-콜레스

Table 3. Body weight gain, food intake and food efficiency ratio of rat fed experimental diets for 8 weeks¹⁾

| | Experimental groups ²⁾ | | | | 2-way ANOVA | | |
|----------------------------|-----------------------------------|--------------|--------------|--------------|---------------------|--------------------|-------------------|
| | CO (n=10) | CC (n=10) | KO (n=10) | KC (n=10) | Chol. ⁴⁾ | Kale ⁴⁾ | C×K ⁴⁾ |
| Total body weight gain (g) | 175.4 ± 4.94 ³⁾ | 177.1 ± 3.30 | 167.8 ± 4.32 | 179.5 ± 7.87 | - ⁵⁾ | - | - |
| Food intake (g/day) | 18.7 ± 0.43 | 18.3 ± 0.14 | 18.8 ± 0.28 | 19.5 ± 0.34 | - | - | - |
| FER ⁶⁾ | 0.17 ± 0.01 | 0.17 ± 0.01 | 0.16 ± 0.02 | 0.17 ± 0.01 | - | - | - |
| Energy intake (kcal/day) | 78.9 ± 1.82 | 77.2 ± 0.59 | 78.2 ± 1.16 | 81.1 ± 1.41 | - | - | - |

¹⁾These values were parts of our previous study (14) and analyzed by 2-way ANOVA test.

²⁾CO: Control diet, CC: CO+cholesterol, KO: Kale, KC: KO+cholesterol.

³⁾Mean ± SEM.

⁴⁾Chol.: Cholesterol effect, Kale: Kale effect, C×K: Cholesterol and kale interaction.

⁵⁾Not significant.

⁶⁾Food efficiency ratio.

Table 4. Concentrations of serum lipids of rats fed experimental diets for 8 weeks¹⁾

| | Experimental groups ²⁾ | | | | 2-way ANOVA | | |
|---------------------------------|-----------------------------------|------------|------------|------------|---------------------|--------------------|-------------------|
| | CO (n=10) | CC (n=10) | KO (n=10) | KC (n=10) | Chol. ⁴⁾ | Kale ⁴⁾ | C×K ⁴⁾ |
| TG (mg/dL) | 49.6±7.03 ³⁾ | 53.7±6.08 | 36.1±2.25 | 29.9±2.66 | ⁵⁾ | *** | - |
| Total-Cholesterol (mg/dL) | 118.7±13.8 | 103.7±7.80 | 110.0±5.79 | 114.0±8.86 | - | - | - |
| HDL-Cholesterol (mg/dL) | 71.6±7.23 | 53.4±5.06 | 91.2±4.42 | 61.6±6.29 | *** | * | - |
| LDL-Cholesterol (mg/dL) | 33.9±14.8 | 50.6±7.37 | 11.6±14.1 | 46.4±8.49 | * | - | * |
| HDL-Cholesterol/LDL-Cholesterol | 2.11±0.13 | 0.99±0.20 | 6.84±0.12 | 1.18±0.19 | *** | - | - |

¹⁾These values were parts of our previous study (14) and analyzed by 2-way ANOVA test.

²⁾CO: Control diet, CC: CO+cholesterol, KO: Kale, KC: KO+cholesterol.

³⁾Mean±SEM.

⁴⁾Chol.: Cholesterol effect, Kale: Kale effect, C×K: Cholesterol and kale interaction.

⁵⁾Not significant.

*p<0.05, ***p<0.001.

테롤 수준의 경우, 식이 콜레스테롤의 영향이 나타나, HDL-콜레스테롤은 콜레스테롤첨가군(CC, KC)에 비해 무콜레스테롤군(CO, KO)에서 유의하게 높았으며(p<0.001), 반대로 LDL-콜레스테롤은 콜레스테롤첨가군(CC, KC)에서 유의하게 높았다(p<0.05). 녹즙분말의 보충효과는 HDL-콜레스테롤 수준에서만 유의한 영향이 나타났는데(p<0.05), 콜레스테롤첨가군(15.4% 증가)보다는 무콜레스테롤군(27.4% 증가)에서 더 많이 증가하였다. LDL-콜레스테롤 농도는 콜레스테롤과 녹즙분말의 상호효과가 나타나 무콜레스테롤군에서만 녹즙분말 보충에 의해 감소되는 효과를 보였다. HDL/LDL 비율은 콜레스테롤첨가군에서 유의하게 낮았으며(p<0.001), 녹즙 보충에 의해서는 특히 무콜레스테롤군(KO군)에서 증가하였으나 큰 표준오차 값으로 인해 통계적으로 유의한 결과를 나타내지 못하였다. 식이 콜레스테롤을 보충(CC군)하면, HDL-콜레스테롤 수준은 감소하였으나, 이때 녹즙을 보충하여주면(KC군) TG 수준은 감소하고 HDL-콜레스테롤 수준은 증가하여, 녹즙보충이 양호한 혈중 지질패턴을 유지하는데 도움을 주는 것을 알 수 있었다.

본 연구팀의 선행연구에서도 케일녹즙(13)이나 콩 단백질(22)이, 혈중 지질수준에 미치는 효과는 총 콜레스테롤이나 TG에는 유의한 영향을 미치지 못하였으나, HDL, LDL+VLDL 및 atherogenic index에는 영향을 미쳐, 혈중 지질패턴을 유의하게 개선시키는 것으로 나타나 본 연구결과와 유사하였다.

Nicolle 등(23)의 연구에서는 흰쥐에게 동결 건조시킨 상추를 보충 공급한(20% diet wt.) 결과, 혈중 총 콜레스테롤 수준이 대조군보다 유의하게 감소하여 본 연구결과와 약간의 차이를 보였다. 이와 같은 결과는 부분적으로는 실험식이 조성의 차이로 인한 것으로 설명된다. 그러나 본 연구에서는 Nicolle 등의 연구(23)에서 사용된 채소 분말의 양보다 적은 양의 녹즙분말(5% diet wt.)의 보충으로도, HDL-콜레스테롤 수준은 증가하고 TG 수준은 감소하면서 혈중 지질패턴이 개선되는 유익한 효과가 확인할 수 있었다. 식물성 식품에 풍부한 식이섬유는 체내 콜레스테롤의 흡수를 억제하고 이화 및 배설을 촉진시키는 성분으로 잘 알려져 있는데(23,

24), 본 연구에 사용한 케일 녹즙분말의 총 식이섬유 함량은 100 g 식이당 0.5 g으로 Nicolle 등(23)의 연구에서 사용한 식이섬유의 양(5.2 g/100 g diet)보다 매우 낮아 식이섬유에 의한 효과는 매우 적은 것으로 사료된다. 한편 케일에는 항산화 비타민(비타민 C, β-카로틴, α-토코페롤)과 페놀 물질이 많이 함유되어 있으며(15), Kim과 Kim(18)의 연구결과, 속 등의 플라보노이드류가 풍부한 식품은 혈중 총 콜레스테롤 농도 저하효과가 있으며, 그 기전은 확실치는 않지만, 플라보노이드 등의 폴리페놀류가 콜레스테롤의 흡수를 감소시키고 말초조직으로부터 간으로 콜레스테롤의 이동을 증가시켜 담즙산으로의 배설을 증가시키기 때문일 것이라는 가능성을 제시한 바 있다.

이와 같이 그 동안의 채소의 섭취가 혈중 지질패턴을 개선시키는 연구는 비교적 많으나, 채소즙이 혈중 지질패턴에 미치는 효과 및 그 기전에 대한 연구는 매우 부족하다. 최근, 혈중 지질농도가 정상수준인 성인에게 고지방식사를 공급하고 항산화 영양소가 풍부한 여러 가지 채소즙을 농축·분말·정제화하여 만든 알약형태를 4개월간 공급한 결과, 총 콜레스테롤과 LDL-콜레스테롤 수준이 유의하게 감소하여 혈중 지질패턴이 개선되었음이 보고되었다(25). 녹즙분말 보충으로 HDL-콜레스테롤 수준 증가와 TG수준이 감소한 본 연구결과와는 다르지만, 두 실험 결과를 종합하여 보면, 채소즙에 의한 항산화 영양소의 공급이 혈중 지질패턴도 개선시킬 수 있음을 알 수 있었다.

또한 본 연구결과, 케일 섭취로 혈중 총 콜레스테롤 농도는 변화되지 못하였으나, HDL-콜레스테롤 농도를 증가시켜주고, 특히 혈중 TG 농도가 매우 유의하게 감소된 점(p<0.001)이 특이하다. 우리나라는 서양에 비해 혈중 TG 수치가 높은 고지혈증 환자가 많으므로, 본 연구결과를 고콜레스테롤혈증 뿐 아니라 고TG혈증 환자에게도 녹즙의 섭취가 혈중 지질패턴을 크게 개선해줄 수 있음을 밝힌 의미 있는 연구결과라 생각된다.

혈청 엽산 및 비타민 B₁₂ 농도

혈청 엽산농도는 녹즙분말과 식이 콜레스테롤 첨가에 의

Table 5. Concentrations of serum folate, vitamin B₁₂ and plasma homocysteine of rat fed experimental diets for 8 weeks

| | Experimental groups ¹⁾ | | | | 2-way ANOVA | | |
|---------------------------------|-----------------------------------|-------------|-------------|-------------|---------------------|--------------------|-------------------|
| | CO (n=10) | CC (n=10) | KO (n=10) | KC (n=10) | Chol. ³⁾ | Kale ³⁾ | C×K ³⁾ |
| Folate (ng/mL) | 38.17±0.98 | 38.98±0.75 | 38.40±0.95 | 37.06±0.82 | - ⁴⁾ | - | - |
| Vitamin B ₁₂ (pg/mL) | 448.1±18.67 | 522.6±34.32 | 591.5±66.22 | 525.8±18.66 | - | - | - |
| Homocysteine (μmol/L) | 5.02±0.39 | 5.18±0.62 | 5.09±0.47 | 6.46±0.71 | - | - | - |

¹⁾CO: Control diet, CC: CO+cholesterol, KO: Kale, KC: KO+cholesterol.

²⁾Mean±SEM.

³⁾Chol.: Cholesterol effect, Kale: Kale effect, C×K: Cholesterol and kale interaction.

⁴⁾Not significant.

해 유의한 영향을 받지 않았다(Table 5). 케일의 엽산 함량은 145.8 μg/100 g으로(26) 엽산 함량이 비교적 많은 채소이며, 케일 녹즙 100 g에는 349.1 μg의 엽산이 함유되어 있으나(Table 2), 녹즙분말의 보충으로 엽산농도가 유의하게 높지 않은 것은, 녹즙을 통한 엽산 섭취량이 매우 적기 때문인 것으로 사료된다. 즉 혈청 엽산농도를 유의하게 증가시키기 위해서는 일일 엽산 보충량이 체중 1 kg당 5 mg이어야 한다는 동물실험 보고(27)가 있는데, 이에 비해 본 실험동물의 하루 식이 섭취량을 약 20 g으로 하여 계산한 엽산의 하루 섭취량은 체중 1 kg당 약 387.9 μg으로 매우 적은 양이기 때문인 것으로 생각된다. 혈청 비타민 B₁₂ 농도 역시 녹즙분말이나 콜레스테롤 보충에 의해 유의한 영향을 받지 않았다.

혈장 호모시스테인 농도

혈장 호모시스테인 농도는 Table 5에 나타난 바와 같이 녹즙분말 또는 식이 콜레스테롤 보충에 의해 유의한 영향을 받지 않은 것으로 나타났다. 28주령의 흰쥐에게 콜레스테롤 보충(2% diet wt.)식이를 15주간 섭취시킨 연구에서는 혈중 콜레스테롤 수준의 증가와 함께 혈중 호모시스테인 농도도 증가되었다(28). 그러나 이 경우 보충된 식이 콜레스테롤 양이 본 연구의 실험식이보다 4배나 많으며, 콜레스테롤 대사는 연령에 따라 서로 다른 결과(22)를 보여 줄 수 있으므로, 7주령의 흰쥐를 대상으로 8주간 사육한 본 연구결과와는 직접적인 비교가 어렵다. 한편, Sasaki 등(27)은 콜레스테롤 보충(2% diet wt.)으로 고콜레스테롤혈증을 일으킨 흰쥐에게 식수와 함께 엽산(0.003 vol. %=5 mg/kg 체중)을 보충 공급한 결과, 혈중 엽산 농도가 유의하게 증가하면서, 호모시스테인 농도가 유의하게 감소하였다고 한다. 따라서 녹즙 보충에 의해 혈장 호모시스테인 농도가 감소하지 않은 이유는, 앞서 서술한 바와 같이 녹즙을 통해 보충 섭취되는 엽산의 양이 적어, 혈중 엽산뿐 아니라 호모시스테인 농도 역시 변화시키지 못한 것으로 생각된다.

최근 Plotnick 등의 연구(25)에 의하면 채소즙 정제 알약을 4개월간 복용시킨 결과, 혈중 호모시스테인 농도는 변화하지 않았으나 혈중 지질패턴이 개선됨을 보고하였다. 즉, 혈중 호모시스테인 농도는 변화하지 않았지만 특히 혈중 NO 수준이 대조군보다 유의하게 증가하여, 채소즙 정제 알약이 간접적으로는 동맥 내피세포의 NO 생산 능력을 향상시킬 수 있음을 보고하였다. 많은 연구에서 고호모시스테인

혈증은 동맥 내피세포를 증식시키고(29), prostacycline의 방출을 억제하며(30), 혈전 형성을 촉진(31,32)하여 동맥혈관의 기능을 악화시키는 것으로 보고되었다. Sasaki 등(27)은 고콜레스테롤혈증을 유발시킨 흰쥐에게 엽산을 보충하면, 혈중 콜레스테롤과 HDL-콜레스테롤 수준은 변화되지 않아 혈중 지질패턴이 개선되지는 못하나, 혈관 기능의 손상 정도는 완화되었다고 보고하였다. 따라서 본 연구에서는 혈관 기능 관련 지표들은 측정하지 않아 확실한 결론을 내리기에 부족한 면이 있으나, 녹즙분말 보충시 나타나는 심혈관계 질환의 예방 및 치료 등의 건강상의 이점은, 혈중 TG 농도의 감소와 HDL 농도의 증가로 인한 지질패턴의 개선에 의한 것이며, 녹즙내의 엽산으로 인한 호모시스테인 대사 변화와는 관련이 적은 것으로 사료된다.

혈중 호모시스테인, 엽산 및 비타민 B₁₂농도의 상관관계

Table 6에는 혈중 호모시스테인, 엽산과 비타민 B₁₂ 농도 사이의 상관관계를 나타내었다. 혈중 엽산과 비타민 B₁₂ 농도 사이에는 유의한 양의 상관성(r=0.5632, p<0.001)이 관찰되었으나, 혈중 호모시스테인 농도는 엽산 및 비타민 B₁₂ 농도 사이에는 모두 유의한 상관성이 관찰되지 않았다. 선행연구에서 혈중 호모시스테인 수준과 호모시스테인 대사에 관련되는 비타민 B군의 수준 사이에 음의 상관성이 제시되었으며(11), 그 중에서도 특히 엽산과 호모시스테인 사이에는 강한 음의 상관성이 있음이 보고되었다(33). 그러나 혈중 엽산, 비타민 B₆ 및 비타민 B₁₂ 수준이 정상인 여대생을 대상으로 한 연구(34)에서는 이들 비타민 농도와 혈중 호모시스테인 농도 사이에 유의한 상관성이 관찰되지 않음을 보고하여 본 연구결과와 유사하였다. 즉 본 연구의 식이조성은 엽산을 비롯한 호모시스테인 대사 관련 비타민(B₁₂와 B₆)가 충분한 수준으로 공급되었기에, 녹즙을 통한 엽산의 보충이 혈중 호모시스테인 농도에 유의한 영향을 주지 않은 것으로 생각

Table 6. Correlation between serum homocysteine, folic acid and vitamin B₁₂ levels

| | tHcy | Folate | Vitamin B ₁₂ |
|-------------------------|---------|-----------|-------------------------|
| tHcy ¹⁾ | 1.0000 | | |
| Folate | -0.0297 | 1.0000 | |
| Vitamin B ₁₂ | 0.2884 | 0.5632*** | 1.0000 |

¹⁾Total homocysteine.

***Significantly correlated at p<0.001.

된다. 고호모시스테인혈증 이외에도 고콜레스테롤혈증 역시 심혈관계질환의 주요 위험요인인데(2), 본 연구에서는 혈중 콜레스테롤 수준과 혈중 호모시스테인 농도 사이에 유의한 상관성이 발견되지 않았다(not shown data). 이는 이미 다른 여러 임상연구에서도 고호모시스테인혈증의 경우에 혈중 콜레스테롤 수준은 정상인 것으로 보고된 바 있어(35,36), 본 연구결과를 간접적으로 뒷받침해주고 있다.

이상의 결과를 종합하면 케일녹즙 분말은 호모시스테인 대사에 유의한 영향을 미치지 못하는 못하였으나, 혈중 지질패턴을 개선하였다. 이외에도 케일 녹즙에는 여러 항산화 관련 비타민과 무기질 및 플라보노이드 성분도 풍부하여(15), 항산화 체계를 향상시킴(13)으로써, 그리고 칼륨 등의 기타 영양성분들(37)에 의해 심혈관계질환을 예방함도 보고된 바 있다. 따라서 케일녹즙이 심혈관계질환에 미치는 예방효과는 매우 다양한 기전이 복합적으로 작용하는 것으로 생각되며, 심혈관계질환을 예방하기 위해서는 채소와 과일의 섭취를 적극적으로 증가시킬 필요가 있음을 알 수 있었다.

요 약

녹즙분말과 콜레스테롤 첨가식이로 8주간 사육한 흰쥐의 혈중 지질, 호모시스테인 및 엽산수준에 미치는 효과를 관찰한 결과는 다음과 같다. 흰쥐의 혈중 총 콜레스테롤 농도는 녹즙이나 콜레스테롤 보충에 의해 유의한 영향을 받지 않았으나 중성지질 농도는 녹즙군에서 낮았다($p < 0.001$). HDL-콜레스테롤과 LDL-콜레스테롤의 경우, 식이 콜레스테롤의 영향을 받아, HDL-콜레스테롤은 콜레스테롤군보다 무콜레스테롤군에서 높았으며($p < 0.001$), LDL-콜레스테롤은 콜레스테롤군에서 높았다($p < 0.05$). HDL-콜레스테롤 수준은 녹즙군에서 높았으며($p < 0.05$), LDL-콜레스테롤 농도는 콜레스테롤과 케일의 상호효과가 나타나 무콜레스테롤군에서만 녹즙에 의한 감소효과를 보였다. HDL/LDL 비율은 콜레스테롤 보충군에서 낮았으며($p < 0.05$), 녹즙보충군에서 높았으나 통계적으로 유의한 결과를 나타내지 못하였다. 혈청 엽산, 비타민 B₁₂ 및 혈장 호모시스테인 농도는 녹즙분말이나 콜레스테롤 보충에 의해 영향을 받지 않았다. 혈중 엽산과 비타민 B₁₂ 농도사이에는 유의한 양의 상관성($r = 0.5632$, $p < 0.001$)이 관찰되었으나, 혈중 호모시스테인 농도는 혈중 엽산, 비타민 B₁₂ 및 콜레스테롤 농도 사이에는 모두 유의한 상관성이 관찰되지 않았다. 본 연구결과를 종합하여 보면, 엽산이 충분히 공급되는 경우, 녹즙보충시 나타나게 되는 심혈관계질환 예방효과는, HDL 농도의 증가 및 중성지방 농도의 감소에 의한 것이며, 녹즙내 엽산보충에 의한 호모시스테인 농도 변화와는 관련이 적은 것으로 사료된다.

감사의 글

본 연구를 위해 신선초와 케일 녹즙을 제공해 주신 (주)

풀무원 녹즙에 감사드립니다.

문 헌

1. Korea National Statistical Office. 2002. The cause of death statistics.
2. Lee YC. 1991. Hypercholesterolemia in Korea and nutritional factors. *J Kor Lip* 1: 111-122.
3. Djousse L, Arnett DK, Coon H, Province MA, Moore LL, Ellison RC. 2004. Fruit and vegetable consumption and LDL cholesterol: the National Heart, Lung, and Blood Institute Family Heart Study. *Am J Clin Nutr* 79: 213-217.
4. Hertog MGL, Feskens EJM, Hollman PCH, Katan MB, Kromhout D. 1993. Dietary antioxidant flavonoids and risk of coronary heart disease. The Zutphen Elderly Study. *Lancet* 342: 1007-1011.
5. Singh RB, Rastogi V, Rastogi SS, Niaz MA, Beegom R. 1996. Effect of diet and moderate exercise on central obesity and associated disturbances, myocardial infarction and mortality in patients with and without coronary artery disease. *J Am Coll Nutr* 15: 592-601.
6. Broekmans WM, Klopping-Ketelaars IA, Schuurman CR, Verhagen H, van den Berg H, Kok FJ, van Poppel G. 2000. Fruits and vegetables increase plasma carotenoids and vitamins and decrease homocysteine in humans. *J Nutr* 130: 1578-1583.
7. Brouwer IA, Van Dusseldorp M, West CE, Meyboom S, Thomas CMG, Duran M, Van het Hof KH, Eskes TKAB, Hautvast JGAJ, Steegers-Theunissen RPM. 1999. Dietary folate from vegetables and citrus fruit decreases plasma homocysteine concentrations in humans in a dietary controlled trial. *J Nutr* 129: 1135-1139.
8. John JH, Ziebland S, Yudkin P, Roe LS, Neil HAW. 2002. Effects of fruit and vegetable consumption on plasma antioxidant concentrations and blood pressure: a randomized controlled trial. *Lancet* 359: 1969-1974.
9. Ueland PM, Refsum H. 1989. Plasma homocysteine, a risk factor for vascular disease: Plasma levels in health, disease and drug therapy. *J Lab Clin Med* 114: 473-501.
10. Stabler SP, Marcell PD, Podell ER, Allen RH, Savage DG, Lindenbaum J. 1988. Elevation of total homocysteine in the serum of patients with cobalamin or folate deficiency detected by capillary gas chromatography-mass spectrometry. *J Clin Invest* 81: 466-474.
11. Ubbink JB, Vermaak WJ, Merwe AV, Becker PJ. 1993. Vitamin B₁₂, vitamin B₆, and folate nutritional status in men with hyperhomocysteinemia. *Am J Clin Nutr* 57: 47-53.
12. Park JR, Park SK, Cho YS, Chun SS, Choi SH, Park JC. 1997. Effects of *Angelica keiskei* on lipid metabolism in rats. *J Kor Soc Food Sci Nutr* 26: 308-313.
13. Kwon SM, Yoon S, Kim SY, Park KS, Yeoh IH, Lee-Kim YC. 2000. Study on lipid lowering effect of green vegetable juice. An Meeting, Symposium of Korean Nutrition Society, Oct. Abst, p 84.
14. Park JH, Kim SY, Chung EJ, Yoon S, Lee-Kim YC. 2005. Effects of freeze-dried green vegetable extract on lipids and antioxidants status in the rats. *Korean J Nutr* 38: 1-9.
15. Chung SY, Kim HW, Yoon S. 1999. Analysis of antioxidant nutrients in green yellow vegetable juice. *Korean J Food Sci Technol* 31: 880-886.
16. Forman MR, Shang J, Gunter E, Yao SX, Gross M, Qiao YL, Graubard BI, Taylor PR, Keith S, Maher M. 1999. Season specific correlation between dietary intake of fruits and vegetables and levels of serum biomarkers among Chinese

- tin miners at high risk for lung cancer. *Ann N Y Acad Sci* 889: 230-239.
17. Park KY, Lee KI, Rhee SH. 1992. Inhibitory effects of green yellow vegetables on the mutagenicity in *Salmonella* assay system and on the growth of AZ-521 human gastric cancer cells. *J Korean Soc Food Nutr* 21: 149-153.
 18. Kim JH, Kim MK. 1999. Effects of dried leaf powders and ethanol extracts of *Perilla frutescens*, *Artemisia princeps* var. *orientalis* and *Aster scaber* on lipid metabolism and antioxidative capacity in rats. *Korean J Nutr* 32: 540-551.
 19. Lu SC, Lin MH, Huang PC. 1996. A high cholesterol, (n-3) polyunsaturated fatty acid diet induces hypercholesterolemia more than a high cholesterol (n-6) polyunsaturated fatty acid diet in hamsters. *J Nutr* 126: 1759-1765.
 20. Friedwald WT, Levy RI, Fredricson DS. 1972. Estimation of low density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem* 18: 499-502.
 21. Andersson A, Battstrom L, Lsaksson B, Hultberg B. 1989. Determination of homocysteine in plasma by ion-exchange chromatography. *Scand J Clin Lab Invest* 49: 445-449.
 22. Chung EJ, Kim SY, Kim JY, Ahn JY, Park JH, Cha MH, Lee YC. 2003. Effects of soy protein concentrate and age on plasma lipids and phospholipid fatty acid patterns in female rats. *J Kor Soc Food Sci Nutr* 32: 269-277.
 23. Nicolle C, Cardinault N, Gueux E, Jaffrelo L, Rock E, Mazur A, Amouroux P, Remesy C. 2004. Health effect of vegetable-based diet: lettuce consumption improves cholesterol metabolism and antioxidant status in the rat. *Clin Nutr* 23: 605-614.
 24. Kim OK, Kung S, Park WB, Lee MW, Han SS. 1992. The nutritional components of *Angelica keiskei* Koidz. *Korean J Food Sci Technol* 24: 592-596.
 25. Plotnick GD, Corretti MC, Vogel RA, Hesslink R Jr, Wise JA. 2003. Effect of supplemental phytonutrients on impairment of the flow-mediated brachial artery vasoactivity after a single high-fat meal. *J Am Coll Cardiol* 41: 1744-1749.
 26. The Korean Nutrition Society. 2000. *Recommended Dietary Allowances*. 7th revision.
 27. Sasaki K, Duan J, Murohara T, Ikeda H, Shintani S, Shimada T, Akita T, Egami K, Imaizumi T. 2003. Rescue of hypercholesterolemia-related impairment of angiogenesis by oral folate supplementation. *J Am Coll Cardiol* 42: 364-372.
 28. Zulli A, Buxton B, Doolan L, Liu JJ. 1998. Effect of homocysteine and cholesterol in raising plasma homocysteine, cholesterol, and triglyceride levels. *Life Science* 62: 2191-2194.
 29. Tsai JC, Perrella MA, Yoshizumi M, Hsieh CM, Haber E, Schlegel R, Lee ME. 1994. Promotion of vascular smooth muscle cell growth by homocysteine: a link to atherosclerosis. *Proc Natl Acad Sci USA* 91: 6369-6373.
 30. Panganamala RV, Karpen CW, Merola AJ. 1986. Peroxide mediated effects of homocysteine on arterial prostacyclin synthesis. *Prosta Leukot Med* 22: 349-356.
 31. Cattaneo M. 1999. Hyperhomocysteinemia, atherosclerosis and thrombosis. *Thromb Haemost* 81: 165-176.
 32. Vanizor Kural B, Orem A, Cimsit G, Uydu HA, Yandi YE, Alver A. 2003. Plasma homocysteine and its relationships with atherothrombotic markers in psoriatic patients. *Clin Chim Acta* 332: 23-30.
 33. Jutta D, Manfred K, Klaus P. 1998. Folic acid and vitamin B₆ supplementation and plasma homocysteine concentrations in healthy young women. *Int J Vit Nutr Res* 68: 98-103.
 34. Ahn HS, Jeong EY, Kim SY. 2002. Studies on plasma homocysteine concentration and nutritional status of vitamin B₆, B₁₂ and folate in college women. *Korean J Nutr* 35: 37-44.
 35. Perry IJ, Refsum H, Morris RW, Ebrahim SB, Ueland PM, Shaper AG. 1995. Prospective study of serum total homocysteine concentration and risk of stroke in middle-aged British men. *Lancet* 346: 1395-1398.
 36. Tawakol A, Omland T, Gerhard M, Wu JT, Creager MA. 1997. Hyperhomocyst(e)inemia is associated with impaired endothelium-dependent vasodilation in humans. *Circulation* 95: 1119-1121.
 37. Bazzano LA, Serdula MK, Liu S. 2003. Dietary intake of fruits and vegetables and risk of cardiovascular disease. *Curr Atheroscler Rep* 5: 492-499.

(2005년 7월 19일 접수; 2005년 9월 23일 채택)