

녹즙분말이 흰쥐의 지질패턴 및 항산화 체계에 미치는 영향*

박정화** · 김수연** · 정은정*** · 윤 선** · 이양자***§

연세대학교 생활과학대학 식품영양과학연구소,** 강남대학교 교양학부***

Effects of Freeze-dried Green Vegetable Extract on Lipid Profiles and Antioxidant Status in the Rat*

Park, Jung Hwa** · Kim, Soo Yeon** · Chung, Eun Jung*** · Yoon, Sun** · Lee-Kim, Yang Cha***§

Research Institute of Food & Nutritional Sciences,** College of Human Ecology, Yonsei University, Seoul 120-749, Korea
General Education,*** Kangnam University, Yongin 449-702, Korea

ABSTRACT

There has been increasing research interests that green vegetables play beneficial roles in human health. This study was performed to investigate the effects of freeze-dried green vegetable extract of *Angelica keiskei* Koidz (A) and *Brassica oleracea acephala* (B) on lipid profiles and antioxidant status in rats. Seven-weeks old male Sprague Dawley rats were divided into 6 groups and fed diets containing 5% A & B and 0.5% cholesterol (chol) for 8 weeks [Control Diet (C) & C+ chol (CC), A & A+ chol (AC), B & B+ chol (BC)]. Lipid profiles and antioxidant status were determined by enzyme assay methods. The serum levels of [LDL + VLDL]-cholesterol of the rats fed vegetable extract diets A and B were significantly lower than that of group C and the ratios of HDL/[LDL + VLDL] were significantly higher in groups A and B. Addition of cholesterol in the diet, however, abolished this effect. The *Brassica oleracea acephala* juice lowered serum TG level even when cholesterol was added to the diet. Serum total antioxidant status (TAS) were significantly higher in groups A and B as compared to the control group and the ratios of [GSH-Px + Catalase]/total-SOD in the liver were also significantly higher in groups A and B indicating that H₂O₂ produced be efficiently removed. In conclusion, freeze-dried green vegetable extract diets (A and B) improved serum lipid profiles by increasing the HDL/[LDL + VLDL] ratio and exerted favorable influences on antioxidant systems by improving total antioxidant status (TAS) in serum and by significantly increasing the ratio of [GSH-Px + Catalase]/total-SOD in the liver. (*Korean J Nutrition* 38(1): 11~19, 2005)

KEY WORDS : freeze-dried green vegetable extract, lipid profiles, antioxidant status.

서 론

식생활 및 생활환경의 급속한 서구화와 경쟁이 심화되는 산업사회의 변화로 인하여 사망원인과 질병발생 추이가 많이 변화되고 있다.¹⁾ 1970년대 경제성장을 거치면서 생활수준이 전반적으로 향상되어 지방, 육류 및 가공 식품의 섭취가 증가하는 반면 곡류, 채소류의 섭취가 감소함²⁾에 따라 고지혈증, 당뇨병, 비만, 심혈관계질환, 암 등의 발병률 및 이들에 의한 사망률이 증가하고 있다.³⁾ 만성질환들은 생체 각 조직에서 과량으로 생성된 과산화 물질이 세포막

의 변화 및 DNA의 손상과도 관련 있음이 밝혀지고 있으며,⁴⁾ 이 과정에서, superoxide dismutase (SOD), catalase, glutathione peroxidase (GSH-Px)와 같은 항산화 효소가 작용함이 알려지면서 체내 항산화 체계에 대한 연구가 생명과학 분야에서 활성화 되고 있다.⁵⁾ 과일과 채소에 다량 함유된 섬유소, 무기질, 비타민과 같은 미량 영양소들의 인체내 유익한 작용이 보고 되면서⁶⁾ 최근에는 이러한 항산화 영양소들과 콜레스테롤 대사 및 심혈관계질환과의 연구가 많이 이루어지고 있으나, 이들의 기전에 대하여는 명확히 알려지지 않았다.

최근에는 신선초, 케일에 존재하는 풍부한 항산화 영양성분이 체내에서 간을 보호하고 지질대사를 바람직하게 변화시키며 산화에 의한 손상으로부터 세포를 보호하는 등의 연구 결과들이 보고 되면서 이들 식품에 대한 관심이 높아지고 있다. 생채소를 마쇄하여 인체가 소화·흡수하기 쉽도록

접수일 : 2004년 8월 27일

채택일 : 2005년 1월 14일

*This study was supported by the Brain Korea 21 Project in 2002.

§To whom correspondence should be addressed.

제조된 녹즙이 각종 성인병 예방에 효과가 있음이 제안되면서 실제로 그 소비량이 계속 증가하고 있는 추세이다.⁷⁾

신선초 (*Angelica keiskei* Koidz)는 명일엽, 신립초, 선삼초라 불리우는 미나리과에 속하는 아열대성 다년생 초본으로서 비타민과 무기질이 풍부하고, 생리활성물질인 각종 flavonoid, coumarin, saponin 등이 함유되어 있어 건강식품으로 주목받고 있는 녹색채소이다. 이들은 예로부터 고혈압, 당뇨, 동맥경화 등 성인병의 민간약으로 사용되어 왔으며, 최근 생즙, 분말 등의 형태로 많이 이용되고 있다.⁸⁾ 신선초 녹즙에 관한 연구는 영양성분에 관한 연구로, 일반영양성분 및 특수 미량성분 분리 등의 실험결과들^{7,9-12)}이 발표되고 있다. 체내 효능에 관한 연구로는 신선초의 methanol 추출물이 콜레스테롤 합성계에서 가장 중요한 율속효소 (rate limiting enzyme)인 HMG-CoA reductase 활성을 저해하였고,⁸⁾ luteolin-7-O-beta-D-glucoside 성분이 고지혈증 쥐에서 혈청 콜레스테롤을 낮추었으며,¹³⁾ 신선초 뿌리의 hexane 추출물이 암세포를 저지시킴을 보고한 것을 포함하여 항종양,^{14,15)} 항 돌연변이 효과¹⁶⁾ 등이 보고되었다.

케일 (*Brassica oleracea acephala*)은 십자화가 채소의 하나로 다량의 엽록소와 양질의 단백질을 함유하고 특히 비타민 C, 베타 카로틴 및 무기질 함량이 높아 영양적 가치

가 있는 식품소재로 알려져 있으며¹⁷⁾ 이것은 sulforaphane 이 함유되어 흡연에 의한 폐암 발병률을 감소시키고¹⁸⁾ 돌연변이 유발을 억제하는 효과¹⁹⁾ 등이 확인되었다. 고지혈증 성인을 대상으로 한 연구는 케일 녹즙을 3개월간 공급했을 때, 항산화능이 전반적으로 향상되었고, HDL-cholesterol/ LDL-cholesterol의 비율이 유의하게 증가하였다고 보고하였으며,²⁰⁾ 상치분말을 이용한 동물실험에서 식이의 섬유소와 항산화물질의 복합 (synergistic) 작용으로 동맥경화에 대한 예방효과가 있음을 보고하였다.²¹⁾

본 연구는 신선초와 케일 녹즙분말을 첨가한 식이 및 콜레스테롤 첨가 여부가 실험동물의 지질대사에 미치는 영향을 알아보기 위하여 간과 혈청의 지방농도를 측정하였고, 이와 관련하여 총항산화능 및 항산화 효소활성의 결과를 비교·분석하여 항산화 체계의 변화를 살펴보았다.

재료 및 방법

1. 실험동물 및 실험식이 조성

생후 7주령 (200~250 g) Sprague Dawley 수컷 흰쥐를 실험환경에 적응시킨 뒤 쥐들을 체중에 따라 난괴법 (randomized complete block design)에 의해 10마리씩 6군으로 분류하여 실험식으로 8주간 사육하였다. 실험식

Table 1. Composition of experimental diets (Wt %)

Ingredient	Experimental groups					
	C (n = 10)	CC (n = 10)	A (n = 10)	AC (n = 10)	B (n = 10)	BC (n = 10)
Carbohydrate ¹⁾	65	64.5	60	59.5	60	59.5
Protein	(18)	(18)	(18)	(18)	(18)	(18)
Casein	17.9	17.9	17.9	17.9	17.9	17.9
DL-Met	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
Fat	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)
Soy-oil	5	5	5	5	5	5
Beef-tallow	5	5	5	5	5	5
Mineral mixture ²⁾	4	4	4	4	4	4
Vitamin mixture ³⁾	1	1	1	1	1	1
CMC ⁴⁾	2	2	2	2	2	2
Green vegetable extract	—	—	(5)	(5)	(5)	(5)
<i>Angelica keiskei</i> Koidz	—	—	5	5	—	—
<i>Brassica oleracea acephal</i>	—	—	—	—	5	5
Cholesterol	—	0.5	—	0.5	—	0.5

1) Starch : Sucrose = 80 : 20

2) AIN-76 mineral mixture (g/kg of mix) : CaHPO₄, 500; NaCl, 74; K₂H₂O₇·H₂O, 220; K₂SO₄, 52; MgO, 24; MnCO₃, 3.5; FeC₂H₅O₇, 6; CuCO₃, 0.3; Na₂SeO₃ · 5H₂O, 0.01; KIO₃, 0.01; CrK (SO₄)₂ · 12H₂O, 0.55; sucrose, finely powdered, 118.03.

3) 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 (250 IU/g) 5, Cholecalciferol (400,000 IU/g) 0.25, Menaquinone 0.05, Sucrose 990.

4) CMC: Carboxymethyl cellulose sodium salt

C: Control, CC: C + chol

A: *Angelica keiskei* Koidz, AC: A + chol

B: *Brassica oleracea acephal*, BC: B + chol

이는 Table 1과 같이 탄수화물 : 단백질 : 지방의 비율은 중량을 기준으로 하여 65 : 18 : 10으로 구성하였다. 선별한 원재료를 세척, 침지, 분쇄, 착즙 과정을 거쳐 녹즙이 제조되는데, 이 녹즙은 착즙기 자체에서 100 mesh로 일차 여과하고 다시 60 mesh로 여과시켰다[(주) 풀무원]. 제조과정에서 상당량의 불용성 식이섬유소가 제거된 신선초 녹즙 (*Angelica keiskei* Koidz (A))과 케일 녹즙 (*Brassica oleracea acephal* (B))을 동결 건조시켜 분말형태로 만든 후 실험동물의 식이군에 첨가하고 (5%, 당질 대치)^{22,23)} 콜레스테롤을 식이 무게의 0.5% 수준으로 첨가하여 공급하였다. 식이에 첨가한 신선초 녹즙과 케일 녹즙의 영양성분 자료는 Table 2에 제시하였다. 실험식이군은 대조군 (C), 신선초 녹즙군 (A) 및 케일 녹즙군 (B)에 콜레스테롤을 첨가한 CC, AC, BC으로 총 6군으로 나누었다.

실험동물은 실험기간이 종료된 8주후에 12시간 절식시킨 후 diethyl ether로 마취시켜 혈액과 간조직을 준비하였다.

2. 지방량 측정

총콜레스테롤, 중성지방, 인지질, 유리 지방산, 유리 콜레스테롤 및 HDL-cholesterol은 enzymatic colorimetry method를 이용한 kit ((주)영연화학, 일본)로 분석하였고, [LDL + VLDL] - cholesterol은 Friedwald의 계산식에 의해 산출하였다.²⁴⁾

3. 간조직의 항산화효소 활성 측정

1) Superoxide dismutase (SOD) 활성 측정

Marklund²⁵⁾와 Sheri²⁶⁾의 방법을 수정하여 pyrogallol의

자동산화 억제정도를 측정하였다. 간조직 0.2 g에 10배의 homogenization buffer (pH 7.4)로 균질화 시킨 후 20,000 × g, 4℃에서 20분간 원심 분리하였다. 상층액 20 μL Tris-buffer 3 mL와 pyrogallol 60 μL를 순서대로 가하여 잘 섞은 후, 파장 420 nm에서 5분 동안 흡광도가 증가되는 정도를 측정하였다. SOD효소 1 unit는 1분 동안 pyrogallol의 자동산화를 50% 방해하는데 필요한 효소의 양으로 산출하였고, specific activity는 1 mg protein에 해당하는 enzyme unit로 환산하였다.

2) Glutathione peroxidase (GSH-Px) 활성 측정

Paglia²⁷⁾와 Deagen²⁸⁾의 방법을 수정하여 과산화수소를 기질로 이용한 coupled enzyme procedure로 측정하였다. 간조직 0.1 g에 0.25 M sucrose를 함유한 0.1 M ice-cold phosphate buffer (pH 7.0)를 가하여 균질화 시키고, 23,700 × g에서 균질액 (20%)을 1시간 동안 원심 분리하였다. 상층액 0.1 mL에 0.8 mL 반응 혼합물 (4.5 mM EDTA, 4.7 mM sodium azide를 포함한 0.125 M phosphate buffer, pH 7.0, 2.8 nM NADPH, 49.9 nM reduced glutathione, 0.67 units glutathione reductase)과, 0.1 mL의 0.25 mM H₂O₂을 가하여 반응을 일으킨 즉시, spectrophotometer를 이용하여 파장 340nm에서 산화형 glutathione (GSSG)의 형성에 따른 NADPH의 흡광도가 감소되는 속도를 3분 동안 측정하였다.

효소 1 unit은 혈청 1 mL당 1분동안 산화된 NADPH의 nmole수로 나타내었고, specific activity는 1 mg 단백질에 해당하는 효소 unit으로 환산하였다.

3) Catalase 활성 측정

간조직을 균질화시켜 희석한 후 (20%) 원심분리를 통해 분획을 실시하였다. 먼저 600 × g에서 10분간 원심 분리하여 얻은 상층액을 다시 10,000 × g에서 20분간 다시 원심분리 하였다. 상층액 200 μL를 정량하여 hydrogen peroxide와 sodium-potassium phosphate buffer (pH 7.4)를 기질로 하여 37℃로 온도보정한 water bath에 1분간 침지하였다. 그 후, ammonium molybdate를 첨가하여 파장 405 nm에서 hydrogen peroxide와 molybdate의 황색 화합물의 흡광도를 측정하였다.²⁹⁾

4. 혈청의 총 항산화능 측정

혈청내 총 항산화능 (total antioxidant status)은 commercial kit (Randox Antioxidant Status, Cat No. NX2332)를 이용하여 분석하였다.³⁰⁾ 분석원리는 ABTS[®] (2,2'-Azino-di-[3-ethylbinzthiazoline sulphonate])를

Table 2. Nutrient content of *Angelica keiskei* Koidz (A) and *Brassica oleracea acephal* (B) juice (per 100 g juice)

Nutrients	A	B
Moisture (g)	95.76	95.73
Protein (g)	0.72	0.77
Fat (g)	0.08	0.2
Carbohydrates (g)	2.83	2.24
Total fiber(g)*	0.8	0.5
Ash (g)	0.63	1.06
Ca (mg)	139	67.3
Fe (mg)	0.32	0.21
Na (mg)	44.2	49.7
Retinol (IU)	1202	735
Vitamin B ₁ (mg)	0.05	0.2
Vitamin B ₂ (mg)	0.06	0.1
Vitamin C (mg)	21.8	115
Vitamin B ₁₂ (μg)	62.9	349.1

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

*: Analyzed by Korea Health Industry Development Institute.

peroxidase 및 H₂O₂와 배양시키면 ABTS[®] 양이온기를 생성하는데 이는 매우 안정한 청록색 분자로 600 nm에서 흡광도를 측정하였고 이는 검체 중에 존재하는 항산화 물질에 의해 발색이 억제되고 그 정도는 항산화 물질 농도에 비례하였다.

5. 통계처리

모든 통계적 분석은 SAS package를 사용하였고 통계 처리의 오류 허용범위는 5%로 하였다. 실험군 세 집단간의 차이검정을 위해 one way ANOVA를 실시하였고, 그 결과의 사후검정을 위해 Duncan's multiple test를 사용하였다. 실험군 두 집단간의 차이검정을 위해서는 independent two sample t-test를 실시하였고, 분석요인들간의 상관관계 분석을 위해 Pearson correlation analysis를 수행하였다.

결과 및 고찰

1. 실험동물의 성장에 미치는 영향

실험기간동안의 체중 증가량과 식이 효율은 실험군 간에 차이가 없었다 (Table 3). 김 등²²⁾의 연구에서는, 깻잎, 쑥, 참취가 흰쥐의 지방대사와 항산화능에 미치는 영향을 알아 보기 위하여 이들의 건분과 에탄올 추출물을 첨가한 식이를 4주간 급여하였는데 실험동물의 식이 효율은 각 군간에 유의적인 차이를 보이지 않았고, 흰쥐에 신선초 (5%)를 6주간 공급한 결과, 외관상으로 아무 악영향을 미치지 않았으며, 식이 섭취량은 약간 감소하였지만 성장률에는 영향을 미치지 않아 식이 효율을 증가시켰다고 하였다.²³⁾

실험동물의 간무게를 비교했을 때 콜레스테롤을 첨가한 군 (CC, AC, BC)이 첨가하지 않은 군 (C, A, B)보다 높은 경향을 보였다. 박 등의 연구²³⁾에서도, 체중당 간 중량 비율은 콜레스테롤을 섭취한 군에서 큰 값을 나타냈으며,

신선초의 공급은 간무게에 아무런 영향을 미치지 않게 나타났다.

2. 실험동물의 지질대사에 미치는 영향

혈청 지질농도와 패턴에 있어서 총 콜레스테롤 농도에는 실험군 간에 차이를 보이지 않았으며, 이는 흰쥐가 식이 변화에 비교적 반응이 낮은 (low-response) 실험동물이기 때문에 0.5%의 콜레스테롤 첨가에도 불구하고 총 콜레스테롤 농도가 유사하게 나타난 것으로 생각된다. 콜레스테롤을 운반하는 지단백의 패턴에 있어서 신선초와 케일 녹즙군 (A,B)의 [LDL + VLDL]-cholesterol 농도가 대조군보다 유의하게 낮았고, 동맥경화 예방인자로 알려진 HDL-cholesterol/[LDL + VLDL]-cholesterol의 비율은 높아 유의한 차이를 보여주었다. 케일 녹즙군 (B)에서 혈청 HDL-cholesterol 농도가 유의하게 높고 중성지방 농도는 낮은 경향을 보였는데, 혈청 중성지방 (TG) 농도와 HDL-cholesterol 농도 사이에는 역관계가 성립됨이 알려져 있다. 이 실험결과들은 녹즙 성분이 혈청 콜레스테롤의 대사와 분포를 바람직한 방향으로 조절한 결과로 추측할 수 있으며, 이 효과는 케일 녹즙군에서 신선초 녹즙군보다 더 큰 경향으로 나타났다. 한편, 녹즙분말 첨가식이가 혈청 인지질과 유리지방산 농도에는 영향을 미치지 않았다.

정 등¹⁷⁾의 연구에서 녹즙의 원료로 사용되는 신선초, 케일, 당근, 셀러리, 오이로 각각 녹즙을 제조하여 이들에서 항산화 영양성분인 베타카로틴, 비타민 E, 비타민 C, Se, Ca, Mn, Zn, 및 페놀물질 등이 다량 함유되어 있음을 보고 하였으며, 신선초에 비하여 케일에 항산화 비타민 (비타민 C, 베타카로틴, 알파 토코페롤)과 페놀 물질이 더욱 많이 함유되어 있다고 하였다.¹⁷⁾ 김 등²²⁾의 연구에서는, 플라보노이드 함량이 가장 높았던 쑥 에탄올 추출군의 혈장 총콜레스테롤 농도가 가장 낮았는데 이는 플라보노이드 류가 혈액에서 총콜레스테롤 농도를 저하시키는 효과가 있음을

Table 3. Initial body weight, food intake, body weight gain, food efficiency ratio and liver weight of rats fed experimental diets for 8 weeks

Group	Initial body weight (g)	Food intake (g/day)	Body weight gain (g/8 wks)	FER ¹⁾	Liver weight (g) (%) ²⁾
C	227 ± 8.28	18.7 ± 0.43	175.4 ± 4.94	0.17 ± 0.01	9.20 ± 0.51 (3.00)
A	224 ± 10.2	18.7 ± 0.29	168.1 ± 3.38	0.16 ± 0.01	9.19 ± 0.29 (2.75)
B	226 ± 12.7	18.8 ± 0.28	167.8 ± 4.32	0.16 ± 0.02	8.81 ± 0.25 (2.72)
CC	226 ± 6.58	18.3 ± 0.14	177.1 ± 3.30	0.17 ± 0.01	10.7 ± 0.30 (3.02)
AC	226 ± 7.28	19.0 ± 0.34	185.3 ± 3.69	0.17 ± 0.01	11.6 ± 0.42 (3.14)
BC	228 ± 10.6	19.5 ± 0.34	179.5 ± 7.87	0.17 ± 0.01	11.4 ± 0.58 (3.19)

Values are mean ± SEM.

1) FER: Food efficiency ratio (weight gain/food intake)

2) (%): [liver weight/body weight] × 100

C: Control, A: *Angelica keiskei* Koizd, B: *Brassica oleracea acephal*

CC: C + chol, AC: A + chol, BC: B + chol

보여 주었으며 정확한 기전은 알려져 있지 않지만, 폴리페놀류가 장에서 콜레스테롤의 흡수를 감소시키고 말초조직으로부터 간으로 콜레스테롤의 이동을 증가시키며 담즙산 배설을 증가시키기 때문이라고 추정하였다. CCL₄로 간 손상을 유발시킨 쥐에게 비타민 C가 풍부한 들나물의 추출물을 투여한 결과, HDL-cholesterol 농도의 증가 및 중성지방과 총콜레스테롤 농도의 감소를 보고 하였고³¹⁾ 신선초 잎에서 분리한 cynaroside를 재료로 하여 콜레스테롤 합성의 가장 중요한 율속효소 (rate-limiting enzyme)인 HMG-CoA reductase를 저해하는 활성을 측정할 결과, 30 uM 농도에서 65.5%의 강한 억제 활성을 보였으며,²³⁾ 이 화합물을 고지혈증 흰쥐에게 5 mg/kg을 복강투여 하였을 때 혈청 콜레스테롤을 감소시키는 효과가 관찰되었다.¹³⁾ 그리고, 콩류의 resistant starch가 간조직의 LDL receptor mRNA 수준을 향상시켜 혈청 콜레스테롤 농도를 감소시킨 결과도 보고 되었다.³²⁾ 박 등²³⁾의 연구에서, 신선초를 말린 후 마쇄하여 6주간 식이로 급여하였을 때 흰쥐의 혈장 LDL-cholesterol 농도와 동맥경화지수 그리고 혈장 중성지방 농도가 유의하게 감소하여, 대조군에 비하여 혈장지질 개선효과를 확인할 수 있었고, 김 등³³⁾의 연구에서도 흡연자에게 신선초 녹즙을 6주간 섭취시켰을 때, 혈장 총콜레스테롤과 LDL-cholesterol 수준이 감소함을 보여 주었다.

식이섬유는 체내 콜레스테롤의 흡수를 억제하고 이화 및 배설을 촉진시키는 성분으로 잘 알려져 있는데,³⁴⁻³⁶⁾ Nicolle 등²¹⁾은 상치분말 (5.2 g fiber/100 g diet)을 급여한 쥐의 혈청지질패턴의 개선과 심장조직의 항산화능 개선 효과를 보고하면서, 상치의 섭취가 지방상태 개선과 조직에서의 과산화물 생성의 예방에 도움을 줄 수 있을 것이라고 제안하였다. 본 연구에 사용된 신선초와 케일 녹즙 분말의 총 식이섬유 함량은 100 g 식이에 각각 0.8 g 및 0.5 g으로, Nicolle 등²¹⁾이 사용한 상추분말식의 식이섬유 (5.2%)보

다 현저히 낮은 양이었다. 본 연구에서 녹즙분말 첨가식이 혈청지질패턴을 개선시킨 효과는 녹즙에 풍부하게 함유된 항산화 영양성분들과 식이섬유소 및 다른 여러 성분들의 복합적 효과로 추측된다.

식이에 콜레스테롤을 첨가 (0.5%)한 경우에는, 중성지방 농도가 녹즙군 특히 케일 녹즙군 (BC)에서 낮은 반면, 그 밖의 지질패턴에는 영향을 미치지 않았다. 콜레스테롤 첨가군 (AC, BC)에서 HDL-cholesterol/[LDL+VLDL]-cholesterol 비율이 비첨가군 (A, B)에 비하여 유의하게 낮게 나타났으며, 콜레스테롤 첨가군 (CC, AC, BC) 간에는 차이가 없었다 (Fig. 1). 즉, 식이 콜레스테롤의 첨가로 인하여 녹즙의 혈청 콜레스테롤 패턴에 대한 효과가 나타나지 않았다. 식이 콜레스테롤이 간의 콜레스테롤 합성을 저지하므로 혈청 내 총 콜레스테롤 농도에는 차이를 보이지 않은 것으로 생각되며, 식이에 콜레스테롤을 첨가하면 콜레스테롤의 주된 운반체인 LDL-cholesterol 농도가 증가되어 HDL-cholesterol 농도는 상대적으로 낮아졌다고 설명할 수 있겠다. 결과적으로, 식이 콜레스테롤 첨가시,

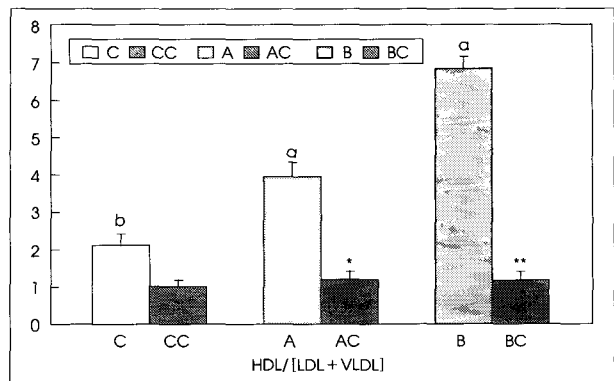


Fig. 1. Serum ratio of HDL/[LDL + VLDL] in rats fed green vegetable extracts with or without cholesterol. Bars with different letters are significantly different from the others at p < 0.05 among C, A & B. *: p < 0.05 compared with group A. **: p < 0.05 compared with group B. C: Control, A: *Angelica keiskei* Koidz, B: *Brassica oleracea acephal*, CC: C + chol, AC: A + chol, BC: B + chol.

Table 4. Serum concentration on lipid profiles in rats fed green vegetable extracts with or without cholesterol

Groups	Total-C (mg/dL)	Free-C (mg/dL)	HDL-C (mg/dL)	[LDL + VLDL]-C (mg/dL)	HDL-C/[LDL + VLDL]-C	TG (mg/dL)	PL (mg/dL)	FFA (mEq/L)
C	118.7 ± 13.8	17.9 ± 1.62	71.6 ± 7.23 ^b	33.9 ± 14.8 ^a	2.11 ± 0.13 ^b	49.6 ± 7.03 ^{ab}	114.0 ± 9.61	648.4 ± 64.7
A	101.6 ± 7.28	17.5 ± 1.73	74.4 ± 4.60 ^b	16.3 ± 6.74 ^b	3.95 ± 0.11 ^a	54.1 ± 4.71 ^a	141.3 ± 16.4	875.5 ± 100.5
B	110.0 ± 5.79	19.0 ± 0.82	91.2 ± 4.42 ^a	11.6 ± 14.1 ^b	6.84 ± 0.12 ^a	36.1 ± 2.25 ^b	123.8 ± 3.13	599.5 ± 137.5
CC	103.7 ± 7.80	15.9 ± 0.97	53.4 ± 5.06	50.6 ± 7.37	0.99 ± 0.20	53.7 ± 6.08 ^a	100.6 ± 17.4	626.9 ± 66.5
AC	113.3 ± 6.05	19.9 ± 1.95	54.1 ± 7.09	49.9 ± 9.16	1.19 ± 0.19	41.6 ± 3.51 ^{ab}	122.2 ± 19.7	818.9 ± 84.7
BC	114.0 ± 8.86	16.7 ± 1.12	61.6 ± 6.29	46.4 ± 8.49	1.18 ± 0.19	29.9 ± 2.66 ^b	110.3 ± 10.6	850.7 ± 113.7

Values are mean ± SEM.

Values with different letters are significantly different from the others at p < 0.05 within the same column (C, A, B and CC, AC, BC).

C: Control, A: *Angelica keiskei* Koidz, B: *Brassica oleracea acephal*

CC: C + chol, AC: A + chol, BC: B + chol

C: Cholesterol, TG: Triglyceride, PL: Phospholipid, FFA: Free fatty acid

HDL-cholesterol/[LDL+VLDL]-cholesterol의 비율이 비침가 군보다 유의적으로 낮게 나타났다 (Table 4). 박 등²³⁾의 실험결과에서도, 콜레스테롤을 첨가 (0.5%) 했을 때 흰쥐의 혈장 LDL-cholesterol 농도가 크게 증가하고, HDL-cholesterol 농도는 유의하게 감소하였다. 같은 연구에서, 콜레스테롤 (0.5%)과 신선초 (5%)를 같이 공급했을 때, 혈장 총콜레스테롤 농도와 LDL-cholesterol 그리고 중성지방 농도가 콜레스테롤만 공급한 군에 비하여 유의하게 감소하였으나 HDL-cholesterol에는 영향을 미치지 않았다. 혈청의 지질 패턴이 유의적인 변화를 보인 것과는 대조적으로, 간조직에서의 지질 농도 (총콜레스테롤, 중성지방, 인지질, 유리 지방산, 유리 콜레스테롤)는 각 실험군 간에 차이를 보이지 않았으며 (미발표 자료), 박 등²³⁾의 연구에서도 신선초의 급여가 간조직의 총콜레스테롤, 유리콜레스테롤, 인지질 및 cholesteryl ester 함량에 영향을 미치지 않은 것으로 보고 되었다.

3. 실험동물의 항산화 체계에 미치는 영향

1) 혈청에서의 총항산화능 (total antioxidant status, TAS)의 변화

혈청에서, 녹즙 (A, C)의 투여는 총항산화능 (TAS)을 유의하게 높였으며, 식이 콜레스테롤의 첨가 (AC, BC)는 이러한 녹즙효과를 더욱 상승시키는 경향으로 나타났다 (Fig. 2). 이 등³⁷⁾은, 베타카로틴과 비타민 E가 풍부한 것으로 알려진 매실이 에탄올에 의한 지방간과 간세포를 회복시키는 작용이 있음을 보여주었다. 또한, 녹즙의 항산화 영양소 성분들이 in vitro cell culture system에서 암세포의 생존율과 음의 상관관계를 보였으며,³⁸⁾ DNA 손상에 대한 보호효과를 보이는 등³⁹⁾ 효과적인 항산화 작용을 나타낼 수 있음을 시사 하였다. 녹즙분말을 식이로 공급했을 때 나타나는 항산화 체계의 변화는 실험 결과가 다양했던 것에 비추어 볼 때, 일부 항산화계 인자의 감소는 다른 인자의 증가에 의해 보상되어 진다는 학설⁴⁰⁾에 근거하여 실험결과를 종합적으로 검토해 보아야 할 것이다.

2) 간에서의 항산화 효소의 활성 변화

SOD가 superoxide radical을 H₂O₂로 전환시키고 그때 생성된 H₂O₂는 catalase와 GSH-Px에 의해 H₂O로 전환된다. 따라서, 이들 각각의 절대 수치보다는 [GSH-Px + Catalase]/total-SOD 비율을 살펴보는 것이 중요한데,⁴¹⁾ 이 비율이 감소하면 조직의 H₂O₂가 축적됨을 의미할 수 있으며 이는 다시 hydroxyl radical을 형성하여 세포의 손상을 초래할 수 있으므로 이 비율이 조직의 노화 및 산화

적 스트레스에 중요한 indicator로 간주될 수 있다.

간조직에서 catalase의 활성은 대조군 (C)에 비해 녹즙군 (A, B)에서 증가하여, GSH-Px 및 total-SOD 활성과는 다른 결과를 보였으나 (Table 5), [GSH-Px + Catalase]/total-SOD 비율에 있어서는 녹즙군 (A, B)에서 유의하게 높은 값을 보여 바람직한 결과를 나타내었다 (Fig. 3). 이는 신선초와 케일 녹즙에 풍부하게 함유되어 있는 항산화 영양성분들의 복합적인 상호작용으로 사료된다. 한편, 식이 콜레스테롤 첨가 (0.5%)군도 첨가하지 않은 군들과 유사한 패턴을 보였지만 (Fig. 3, Table 5), 비침가군보다 더 높은 활성을 보인 점은 특이하며 이에 대한 지속적인 연구가 요구된다. 고지방 (20%), 고콜레스테롤 (1%) 식이로 6주간 쥐를 사육한 후 간조직의 항산화 효소 활성을 측정한 연구⁴²⁾에서도 유사한 결과를 보였다. 이 실험에서는 지질과산화물의 수준을 나타내는 TBARS (thiobarbituric acid reactive substance) 수준 및 SOD와 cata-

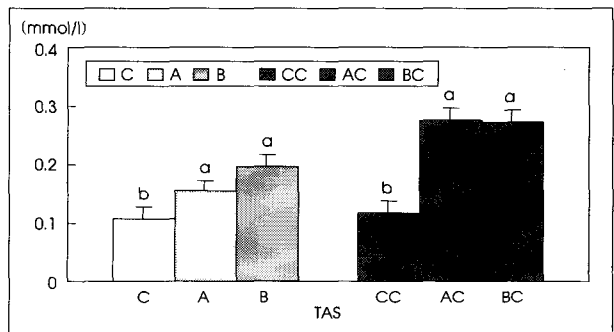


Fig. 2. Serum total antioxidant status (TAS) of rats fed green vegetable extracts with or without cholesterol. Bars with different letters are significantly different from the others at p < 0.05 among C, A & B and CC, AC & BC. C: Control, A: *Angelica keiskei* Koicz, B: *Brassica oleracea acephal*, CC: C + chol, AC: A + chol, BC: B + chol.

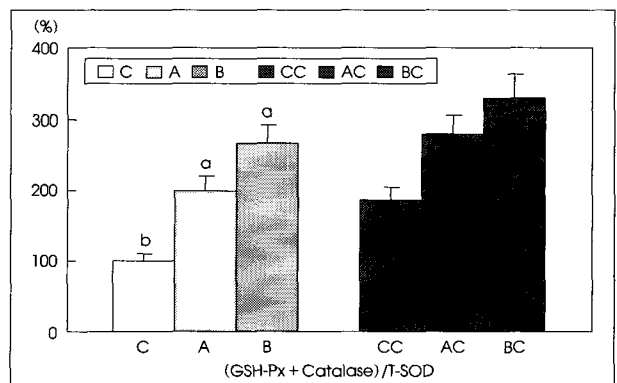


Fig. 3. Ratios of [GSH-Px + Catalase]/total-SOD in the liver of rats fed green vegetable extracts with or without cholesterol. Bars with different letters are significantly different from the others at p < 0.05 among C, A & B. C: Control, A: *Angelica keiskei* Koicz, B: *Brassica oleracea acephal*, CC: C + chol, AC: A + chol, BC: B + chol.

Table 5. Relative status of antioxidant enzymes in the liver of rats fed green vegetable extracts with or without cholesterol

Group	Catalase (%)	GSH-Px (%)	Total-SOD (%)	(GSH-Px + catalase)/Total-SOD (%)
C	100 ^b	100 ^a	100 ^a	100 ^b
A	186.4 ± 42.6 ^a	81.4 ± 19.7 ^{ab}	66.7 ± 7.03 ^b	200.4 ± 11.5 ^a
B	309.8 ± 58.4 ^a	63.8 ± 14.4 ^b	69.6 ± 5.29 ^b	268.1 ± 15.7 ^a
CC	190.5 ± 44.4	104.8 ± 18.1	72.2 ± 6.67	185.9 ± 10.8
AC	280.3 ± 73.9	57.4 ± 15.2	57.3 ± 4.60	280.9 ± 9.68
BC	293.9 ± 44.4	58.7 ± 13.2	53.0 ± 4.11	332.2 ± 6.52

Values are mean ± SEM.

Values with different letters are significantly different from the others at p < 0.05 within the same column (C, A, B and CC, AC, BC).

C: Control, A: *Angelica keiskei* Koidz, B: *Brassica oleracea acephal*
 CC: C + chol, AC: A + chol, BC: B + chol

lase 활성이 감소하였는데, 이는 식이 지방 수준이 높지 않은 경우 콜레스테롤이 지질 과산화를 지연시켜 간조직의 과산화물질 및 항산화 효소 활성이 낮아지는 것으로 추측하였으며, 이는 GSH-Px 활성이 총지방섭취량에 영향을 받는다고 하였다.⁴³⁾ 정 등⁴⁴⁾의 연구에서 사염화탄소 투여로 인한 흰쥐의 간 손상 회복에 신선초 녹즙이 효과가 있음을 밝힌 바 있고, 미나리에서 분리한 persicarin. 성분이 간독성물질의 분해를 촉진시켜 간을 보호하는 작용도 보고되었다.⁴⁵⁾

식이 콜레스테롤을 첨가했을 때 간조직의 [GSH-Px + Catalase]/total-SOD 비율이 높아지는 결과를 보였는데 (Table 5), 이는 콜레스테롤의 첨가로 지질의 과산화 반응에 의한 간조직의 손상을 방어하기 위한 보상효과로 추측되어져 이에 관한 후속 연구가 요구된다.

요약 및 결론

1) 녹즙분말의 투여가 혈청지질패턴을 개선하여 신선초와 케일 녹즙군 (A, B)에서 HDL-cholesterol/[LDL + VLDL]-cholesterol 비율을 유의하게 증가시켰으며 그 증가폭은 케일 녹즙군에서 더 뚜렷하게 나타났다.

2) 식이 콜레스테롤은 혈청 [LDL + VLDL]-cholesterol 농도를 증가시키고 HDL-cholesterol 농도는 감소시키는 경향을 나타내어 혈청 총 콜레스테롤 수준에는 영향을 미치지 않았다. 케일 녹즙군에서는 식이 콜레스테롤 첨가했을 때에도 중성지방 농도를 낮추는 효과를 보였다.

3) 신선초와 케일 녹즙군 (A, B)에서 혈청 총항산화능 (TAS)이 대조군에 비해 유의하게 높게 나타났으며, 간조직의 [GSH-Px + Catalase]/total-SOD의 비율이 대조군 (C)보다 유의하게 높게 나타나 H₂O₂가 효율적으로 처리됨을 추측할 수 있었다.

결론적으로, 신선초와 케일 녹즙은 동맥경화 예방인자인 혈청 HDL-cholesterol/[LDL + VLDL]-cholesterol 비

율을 유의하게 증가시키고, 혈청의 총항산화능과 간조직의 [GSH-Px + Catalase]/total-SOD 비율을 유의하게 개선하므로 체내 지질패턴 및 항산화 체계에 바람직한 영향을 미침을 알 수 있었다.

식이 콜레스테롤 첨가군에서 항산화능이 높게 나타난 결과에 대하여 추후 연구가 요구된다.

■ 감사의 글

본 연구를 위해 신선초와 케일 녹즙을 제공해 주신 (주) 풀무원 녹즙에 감사드립니다.

Literature cited

- 1) Statistical Office. 2001 Yearbook of Death Cause Statistics. Korea, 2001
- 2) The ministry of health and welfare. Report on 2001 national health and nutrition survey. Seoul, Korea, 2001
- 3) Kwon TW, Kang SK. Development of food industry and our eating style. *Korean Dietary Culture Association Autumn Symposium*, 1993
- 4) Kang MH, Lee JH, Lee JS, Kim JH, Chung HK. Effects of acorn supplementation on lipid profiles and antioxidant enzyme activities in high fat diet-induced obese rats. *Korean J Nutr* 37(3): 169-175, 2004
- 5) Kang MJ, Lee EK, Lee SS. Effects of P/S ratio of fatty acids and antioxidants supplement on serum lipids levels and hepatic antioxidant enzyme activities in rats. *Korean J Nutr* 36(3): 245-254, 2003
- 6) Ness AR, Powles JW. Fruit and vegetable, and cardiovascular disease: A review. *Intern J Epidemiol* 26(1): 1-13, 1997
- 7) Park WB, Kim DS. Changes of contents of β-carotene and vitamin C and antioxidative activities of juice of *Angelica keiskei* Koidz stored at different conditions. *Korean J Food Sci Technol* 27(3): 375-379, 1995
- 8) Park JR, Park JC, Choi SH. Screening and characterization of anticholesterogenic substances from edible plant extracts. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 26(2): 236-241, 1997
- 9) Hata K, Kozawa M. Pharmacological studies on umbelliferous plants. VII. Constituents of the roots of *Angelica keiskei*. *Yakug-*

- aku Zasshi 81: 1647-1654, 1961
- 10) Kozawa M, Morita N, Baba K, Hata K. Chemical components of the roots of *Angelica keiskei* II. The structure of the chalcone derivatives. *Yakugaku Zasshi* 98: 210-215, 1978
 - 11) Kozawa M, Morita N, Baba K, Hata K. Chemical components of the roots of *Angelica keiskei* III. The structure of a new dihydrofurocoumarin. *Yakugaku Zasshi* 98: 636-641, 1978
 - 12) Kim OK, Kung S, Park WB, Lee MW, Han SS. The nutritional components of *Angelica keiskei* Koidz. *Korean J Food Sci Technol* 24: 592-596, 1992
 - 13) Park JC, Cho YS, Park SK, Park JR, Chun SS, Ok KD, Choi JW. Isolation of flavone-7-O-glycosides from the aerial parts of *Angelica keiskei* and anti hyperlipidemic effect. *Korean J Pharmacogn* 26: 337-343, 1995
 - 14) Okuyama T, Takata M, Nishino H, Nishiono A, Takayasu J, Iwashima A. Studies on antitumor promoting activity of naturally occurring substances. II. Inhibition of tumor promoter enhanced phospholipid metabolism by umbelliferous materials. *Chem Pharm Bull* 38: 1084-1091, 1990
 - 15) Okuyama T, Takata M, Takayasu J, Hasegawa T, Tokuda H, Nishino H, Nishiono A, Iwashima A. Antitumor promotion by principles obtained from *Angelica keiskei*. *Planta Med* 57: 242-246, 1991
 - 16) Park JC, Park JR, Cho YS, Ha JO, Park KY. Antimutagenic activity of the methanol extract and compounds of *Angelica keiskei* in the *Salmonella* assay system. *Planta Med* (in press).
 - 17) Chung SY, Kim HW, Yoon S. Analysis of antioxidant nutrients in green yellow vegetable juice. *Korean J Food Sci Technol* 31 (4): 880-886, 1999
 - 18) Forman MR, Shang J, Gunter E, Yao SX, Gross M, Qiao YL, Graubard BI, Taylor PR, Keith S, Maher M. 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. *Annals of the NY Acad of Sci* 889: 230-239, 1999
 - 19) Park KY, Lee KI, Rhee SH. 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, 1992
 - 20) Kwon SM, Yoon S, Kim SY, Park KS, Yeoh IH, Choi I, Lee-Kim YC. Study on lipid lowering effect of green vegetable juice. *Ann Meeting, Symposium of the Korean Nutrition Society, Oct. Abst*, pp.84, 2000
 - 21) Nicolle C, Cardinaut N, Gueux E, Jaffrelo L, Rock E, Mazur A, Amouroux P, Remesy C. Health effect of vegetable-based diet: lettuce consumption improves cholesterol metabolism and antioxidant status in the rat. *Clin Nutr* 23: 605-614, 2004
 - 22) Kim JH, Kim MK. 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 (5): 540-551, 1999
 - 23) Park JR, Park SK, Cho YS, Chun SS, Choi SH, Park JC. Effects of *Angelica keiskei* on lipid metabolism in rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 26 (2): 308-313, 1997
 - 24) Friedewald WT, Levy RI, Fredricson DS. Estimation of low density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem* 18: 499-502, 1972
 - 25) Marklund S, Marklund G. Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *European J Biochem* 47: 469-474, 1974
 - 26) Zidenberg-Cherr S, Keen CL, Lonnerdal B, Hurley LS. Superoxide dismutase activity and lipid peroxidation in the rat: developmental correlations affected by manganese deficiency. *J Nutr* 113: 2498-2504, 1983
 - 27) Paglia DE, Valentine WN. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidation. *J Lab & Clin Med* 70 (1): 158-169, 1967
 - 28) Deagen JT, Butler JA, Beilstein MA, Whagner PD. Effects of dietary selenite, selenocysteine and selenomethionine o-selenocysteine lyase and glutathione peroxidase activities and on selenium levels in rat tissues. *J Nutr* 117: 91-98, 1987
 - 29) Goth L. A simple method for determination of serum catalase activity and revision of reference range. *Clinica Chimica Acta* 196: 143-152, 1991
 - 30) Prior RL, Cao G. In vivo total antioxidant capacity: Comparison of different analytical methods. *Free Radic Biol Med* 27: 1173-1181, 1999
 - 31) Kim OK. The effects of sedum sarmentosum bunge extract using super critical carbon dioxide on lipid metabolism, lipid peroxidation and antioxidation in carbon tetrachloride induced hepatotoxicity in rats. *J Korean Oil Chemists' Soc* 21 (3): 204-213, 2004
 - 32) Fukushima M, Ohashi T, Kojima M, Ohba K, Shimizu H, Sonoyama K, Nakano M. Low density lipoprotein receptor mRNA in rat liver is affected by resistant starch of beans. *Lipids* 36 (2): 1129-134, 2001
 - 33) Kim JS, Kim HY, Park YK, Kim TS, Kang MH. The effects of green vegetable juice supplementation on plasma lipids and antioxidant status in smokers. *Korean J Nutr* 36 (9): 933-941, 2003
 - 34) Mazur A, Remesy C, Gueux E, Levrat MA, Demigne C. Effects of diets rich in fermentable carbohydrates on plasma lipoprotein levels and on lipoprotein catabolism in rats. *J Nutr* 120 (9): 1037-1045, 1990
 - 35) Sicart R, Sable-Amplis R. Reduction of cholesterol transported in apo B-rich lipoproteins in spontaneously hypercholesterolemic hamsters fed an apple-supplemented diet. *Ann Nutr Metab* 31 (1): 1-8, 1987
 - 36) Nishimura N, Taniguchi Y, Kiriya S. Plasma cholesterol-lowering effect on rats of dietary fiber extracted from immature plants. *Biosci Biotechnol Biochem* 64 (12): 2543-2551, 2000
 - 37) Lee JH, Na MS, Lee MY. Effects of ethanol extract of *prunus mume* on the antioxidative system and lipid peroxidation on ethanol-induced hepatotoxicity in rat liver. *Korean J Food Preservation* 11 (1): 71-78, 2004
 - 38) Hur JM, Lee JH, Choi JW, Hwang GW, Chung SK, Kim MS, Park JC. Effects of methanol extract and kaempferol glycosides from *Armoracia rusticana* on the formation of lipid peroxide in bromobenzene-treated rats in vitro. *Korean J Pharmacol* 29: 231-236, 1998
 - 39) Jeon EJ, Kim JS, Park YK, Kim YS, Kang MH. Protective effect of yellow-green vegetables juices on DNA damage in Chinese hamster lung cell using comet assay. *Korean J Nutr* 36 (1): 24-

- 31, 2003
- 40) Matsuo M. Age-related alterations in antioxidative defense. In *Free Radicals in Aging*, CRC Press, Boca Raton, Florida, pp. 143-181, 1993
- 41) Hann JB, Cristiano F, Lannello RC, Kola I. Cu/Zn superoxide dismutase and glutathione peroxidase during aging. *Biochem Mol Biol Int* 35 (6) : 1281-1297, 1995
- 42) Lu YF, Chiang CF. Effect of dietary cholesterol and fat levels on lipid peroxidation and the activities of antioxidant enzymes in rats. *Int J Vitam Nutr Res* 71 (6) : 339-346, 2001
- 43) Kuratko C, Pence BC. Changes in colonic antioxidant status in rats during long-term feeding of different high fat diets. *J Nutr* 121 (10) : 1562-1569, 1991
- 44) Jung HY, Park PS, Huh NC, Kim SO, Kim KS, Lee MY. Inhibitory effects of *Angelica keiskei* Koidz green juice on the liver damage in CCl₄-treated rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 27 (3) : 531-536, 1998
- 45) Park JC, YU YB, Lee JH, Hattori M, Lee CK. Protective effect of *Oenanthe javanica* on the hepatic lipid peroxidation in bromobenzene-treated rats and its bioactive component. *Planta Medica* 62: 488-490, 1996