

흰쥐에 있어서 유산균 *Lactobacillus plantarum*이 체지방 조성 변화에 미치는 효과

박미연¹ · 정희은¹ · 조진국² · 하철규³ · 이치호¹

¹전국대학교 동물생명과학부 축산식품생물공학과, ²한경대학교 낙농과학과

³한양대학교 생화학 및 분자생물학과

서 론

자연식품 중 완전식품이라고 일컬어지는 우유와 유제품에 대하여 콜레스테롤 저하 등의 효과가 처음으로 보고된 것은 Mann과 Spoerry에 의해서였다. 특히 발효유에 대해서는 소장 내에서 생존이 가능한 *Lactobacillus* 속으로 제조한 발효유의 섭취가 건강에 유익하다고 강조한 Metchnikoff의 주장에서부터 시작하여 여러 연구 자료들에 의하여 그 건강효과가 논의되고 있다(최홍식, 1999). 발효유제품이 혈중 콜레스테롤 수치의 감소에 대한 효과가 있다는 연구가 많은 전문가에 의하여 동물과 인간에게서 시도되었다.

- 본 연구에서는 콜레스테롤 식이 Sprague-Dawley계(SD) rat을 이용하여 유산균이 체지방 조성에 미치는 영향과 동맥경화증에 미치는 영향을 연구하고자 하였다. 따라서 소장에 상주하며 소장의 장내 환경을 개선, 소장의 기능에 도움이 되는 *Lactobacillus*균인 *Lactobacillus plantarum*을 SD rats에 투여함으로써 유산균에 따른 체지방 조성의 변화와 Atherogenic Index를 측정하였다.

재료 및 방법

1. 시료조제 및 사육조건

본 실험에서 *Lactobacillus plantarum* 유산균 제제를 한경대학교 낙농과학과 유가공학 실험실(안성, Korea)로부터 제공 받아 이용하였다. 유산균 배양액은 그 희석배수에 따라 1배량의 *Lactobacillus plantarum* 유산균 제제, 5배량의 *Lactobacillus plantarum* 유산균 제제 두 가지로 구분하였다(Table 1).

실험 동물은 건강한 Sprague-Dawley strain 수컷 흰쥐 4주령(60~80g) 32마리를 오리엔트사(성남, Korea)로부터 공급 받아 사용하였다. 실험기간 중 식이는 Table 2와 같이 제조하고 식수는 자유로이 섭취하도록 하도록 하였다.

2. 장기 적출 및 채혈

12주 동안의 실험이 종료된 실험 군은 24시간 절식시켜 diethyl ether로 가볍게 마취시킨 상

Table 1. The treatment of control group and experimental group in rats fed cholesterol diet

Groups	Treatments
Group 1	None cholesterol and none <i>Lactobacillus</i>
Group 2	Cholesterol and none <i>Lactobacillus</i>
Group 3	Cholesterol and 1x <i>Lactobacillus</i>
Group 4	Cholesterol and 5x <i>Lactobacillus</i>

* Number represents the multiplied concentration of *Lactobacillus plantarum*.

Table 2. Basic composition of the diet

Nutrients (%)	Protein	Fat	Crude Fiber	Fatty Acid	Ash	Cholesterol	Calcium	Phosphorus
23.4	4.5	5.3	5.5	6.4	0.5	0.95	0.67	

Unit = g/100g diet.

태에서 복부를 절개하여 복부 대정맥에서 채혈한 뒤 심장, 폐, 간장, 신장, 비장, Peripheral Adipose Tissue(P.A.T)와 Epididymis Adipose Tissue(E.A.T)를 적출하여 생리 식염수에 헹구고 여과자로 수분을 제거하여 무게를 청량하고 냉동보관하였다.

3. 검체의 전처리

간장 200mg을 취하여 0.25M Sucrose액을 첨가하여 Overhead Stirrer로 2분간 균질시킨 후 결합조직 등을 제거한 후 3,000rpm으로 10분간 원심분리시킨다.

4. 분석 방법

혈청 중의 총 콜레스테롤(total cholesterol, TC)과 중성지방(triglyceride, TG)은 효소법에 의해 kit(영동제약, 서울)를 사용하였고, HDL-cholesterol은 효소법에 의해 kit(소망제약, 경기)를 사용하였다. 또한 혈장의 VLDL-cholesterol 농도는 영동화학 kit를 이용하여 TG를 측정한 뒤 Fridewald 식(4)을 이용하여 VLDL-cholesterol = Triglyceride/5 에 의하여 계산한다. LDL-cholesterol의 측정 혈장의 LDL-cholesterol농도는 Fridewald 공식(4)을 이용하여 total cholesterol에서 VLDL-cholesterol과 HDL-cholesterol을 더한 값을 제외한 값으로 하였다. 인지질은 직접 정량이 불가능하기 때문에 인지질을 추출하여 무기인화 하여 측정하였다. 또한 Atherogenic Index (AI, 동맥경화지수)는 (Total cholesterol - HDL-cholesterol) / HDL-cholesterol 식으로 계산하였다.

5. 통계처리 및 분석

각 그룹에서 얻은 실험 결과는 SAS program을 이용하여 평균표준편차로 표시하였으며, 각 군 간 유의성은 one-way ANOVA로 사전 검증한 후 Duncan's multiple range test에 의해 사후 검정(5)하였다.

결과 및 고찰

1. P.A.T. 와 E.A.T. 의 변화

각 실험군별 실험 기간 중의 P.A.T.와 E.A.T.의 변화는 Fig. 1에 나타내었다. 대조 군의 P.A.T. 증량은 0.74g으로 Group 3, Group 4와 유의적인 차이가 있었다($p<0.05$). E.A.T. 증량(g/100g of body weight of rat)은 0.49g에서 0.76g의 범위로 나타났으며 대조 군의 P.A.T. 증량은 0.74g으로 Group 3, Group 4와 유의적인 차이가 있었다($p<0.05$).

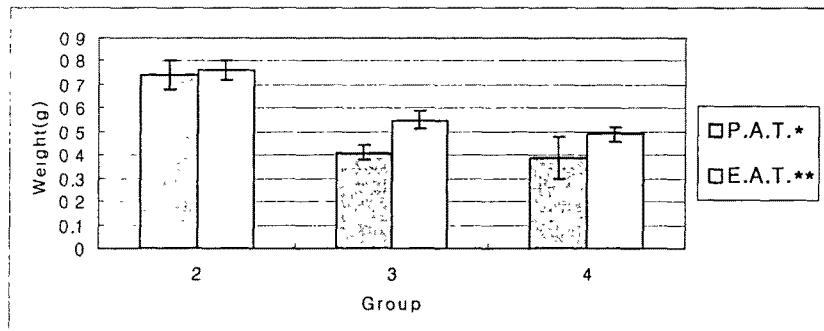


Fig. 1. Effect of *Lactobacillus plantarum* treatments on the relative organs weight in the cholesterol diet fed Rats.

Each point represent mean SD ($n=8$).

Values followed by different superscript letters are significantly different ($p<0.05$).

Body weight is compared by ANOVA.N.S.

*Perirenal Adipose Tissue.

**Epididymal Adipose Tissue.

2. 각 그룹별 체중의 변화

6주 간의 실험기간 중의 실험군별 실험 기간 중의 체중 변화량은 Fig. 2에 나타내었다. 초기 평균 체중은 104.1 ± 6.6 에서 107.9 ± 2.9 의 범위에 있었으며 최종 평균 체중은 297.3 ± 31.2 에서 325.5 ± 23.3 이었으나 각 군별로 유의한 차이는 없었다. 콜레스테롤만을 식이 급여한 그룹이 최종 몸무게 증가가 가장 높았으며 유산균을 1배 투여군, 5배 투여군 순서대로 체중이 낮아졌다.

3. 각 그룹별 중성지질의 수치

6주 간의 실험기간 중의 실험군별 실험 기간 중의 각 군별 중성지질과 총 지질의 함량 변화 결과는 Fig. 3에 나타내었다. 유산균을 식이 급여 시 총 지질과 중성지질의 함량 변화는 감소하는 경향을 나타내었으나 유의적 차이는 보이지 않았다.

4. 각 그룹별 콜레스테롤 수치 비교

각 군별 콜레스테롤 수치 비교는 Fig. 4에 나타내었다. Total lipid는 Group 2가 가장 높았으며

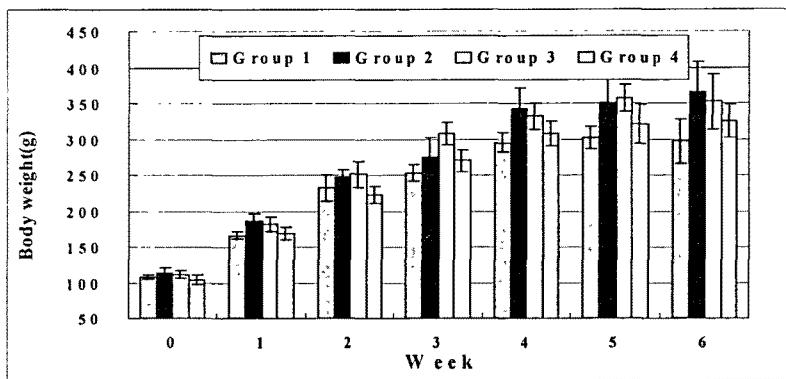


Fig. 2. The change of body weight for 6 weeks.

Unit = g/100g of body weight of rat.

All Values are mean SD (n=8).

Body weight is compared by ANOVA.N.S

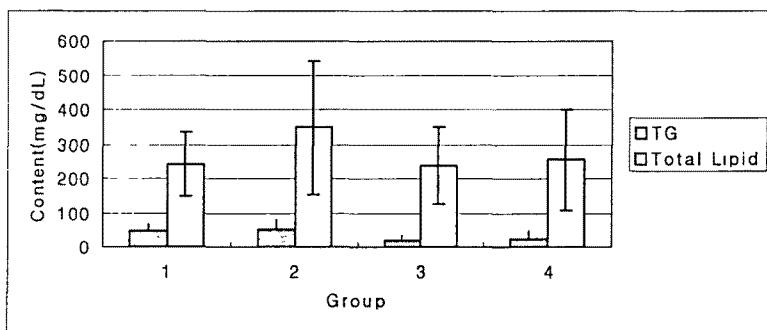


Fig. 3. The change of Triglyceride (TG)and total lipids in the serum.

Unit = g/100g.

Each point represent mean SD (n=8).

Data are compared by ANOVA and post hoc comparison (Tuckey method).

각 군별 유의적 차는 없었다. 콜레스테롤만 섭취한 그룹에 비해 유산균을 섭취한 그룹이 혈중 콜레스테롤 수치가 더 낮았으며, 또한 유산균을 1배 섭취한 그룹보다 5배 섭취한 그룹이 더 낮은 결과를 나타냈다.

HDL-cholesterol은 콜레스테롤을 섭취한 각 군들이 콜레스테롤 섭취로 인하여 Group 1에 비해 증가하기는 하나 유의적인 차이는 없다. 각 군별 LDL-cholesterol과 free cholesterol에서는 유의적인 감소를 보였다.

5. 각 그룹별 동맥경화 지수 비교

각 군별 Atherogenic Index는 Fig. 5에 나타내었다. Atherogenic Index 유의적 차이가 있었고 Group 2가 수치가 가장 높았다.

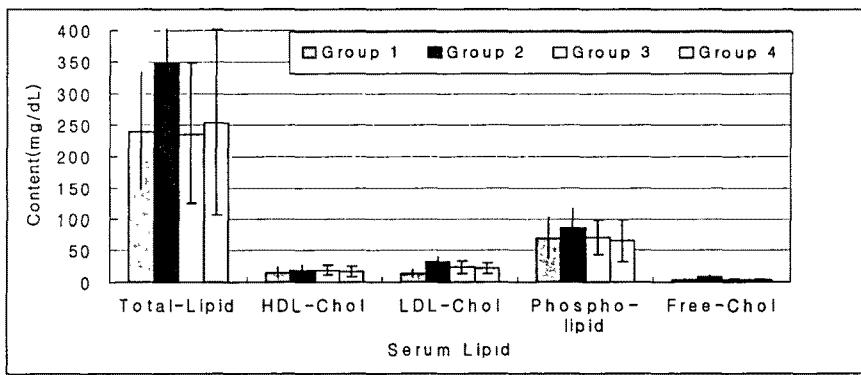


Fig. 4. The change of the total cholesterol, phospho lipid, HDL*, LDL** and free cholesterol in the serum.

Unit= g/100g.

Each point represent mean SD (n=8).

Data are compared by ANOVA and post hoc comparison (Tuckey method).

LDL- cholesterol and free cholesterol are significantly different at $p<0.05$.

* HDL: high density lipoprotein cholesterol.

** LDL: low density lipoprotein cholesterol.

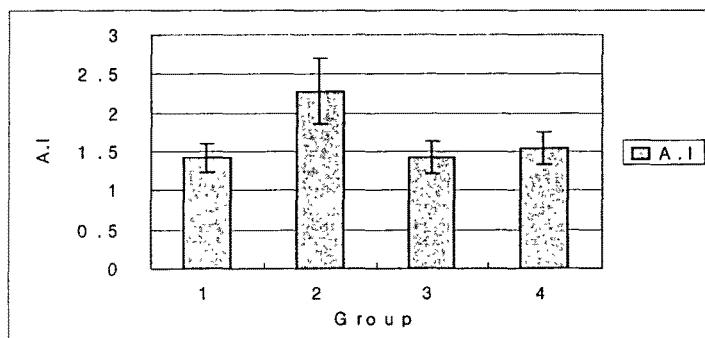


Fig. 5. The change of Atherogenic Index in cholesterol fed rats.

Unit= g/100g.

Each point represents meanSD (n=8).

AI (Atherogenic Index) = (Total cholesterol - HDL cholesterol)/ HDL cholesterol.

Values are significantly different at $p<0.01$.

Data are compared by ANOVA and post hoc comparison (Tuckey method).

6. 고찰

위의 결과를 토대로 하여 살펴 볼 때, 각 군별 체중변화에서 유의적인 차이가 없었으나 P.A.T. 중량과 E.A.T. 중량은 각 군간에 유의적인 차이를 나타내었다($P<0.05$). 또한 유산균을 식이 급

여한 군에서는 LDL-cholesterol, free cholesterol에서도 유의적인 차로($p<0.05$) 감소하였으며 Atherogenic Index에서도 유의적인 차이를 나타내었다($P<0.01$).

유산균 및 발효유 제품이 콜레스테롤 함량을 저하시키는 작용 기작으로는 복합 담즙산의 분해에 따른 담즙산의 재흡수 억제, 장내 콜레스테롤의 흡수 억제, 콜레스테롤의 동화, 콜레스테롤의 유산균 세포 벽 흡착, 콜레스테롤의 침전 등을 들 수 있다(황보정혜, 1998).

또한 위의 실험에서 혈중 지질이 높을수록 Atherogenic Index도 올라감을 알 수 있다. 특히 LDL-cholesterol은 지질성분 중 가장 중요한 심혈관 질환과의 연관성이 있음을 알 수 있었다. 이것으로 LDL-cholesterol이 높거나 HDL-cholesterol이 낮은 경우 관상동맥질환의 위험인자가 될 수 있음을 알 수 있다. 그래서 관상동맥질환의 위험인자로서의 낮은 HDL-cholesterol의 농도는 오늘날까지도 지속적으로 강조되고 있다. 이와 같은 유산균의 기능성에 관한 연구는 발효유의 항 콜레스테롤 유산균 개발과 더불어 HDL-cholesterol을 비롯한 지질의 정상 분포로 관상동맥질환에 관한 연구의 필요성이 있다.

적 요

본 실험에서는 *Lactobacillus plantarum*의 유산균의 수준을 달리하여 흰쥐에 투여함으로써 체지방 조성의 변화와 Atherogenic Index를 측정하였다.

각 군별 체중에 있어서 유의적 차이가 나타나지 않았으며, E.A.T., P.A.T. 중량은 각 군별 유의적인 차이가 있었다($p<0.05$). 또한 각 군별 LDL-Cholesterol과 Free Cholesterol에서만 유의적인 차이를 보였고($p<0.05$), Atherogenic Index에서도 유의적인 차이가 있었다($P<0.01$). 이 것으로 LDL-cholesterol과 관상동맥 질환과의 관계가 있음을 알 수 있다.

참 고 문 헌

1. Lee,W.G. (2000). 사람의 장관에서 분리한 유산균의 콜레스테롤 저하 효과 Cholesterol Lowering Effect of Lactic Acid Bacteria Isolated from the Human Intestine, 충북대학교.
2. Choi, H.S. (1999) 식품과 현대인의 식생활－1. 식생활과 식생활문화 13.
3. Oh, M.G. (1999) 콜레스테롤 低下 乳酸菌의 分離 및 理化學的 特性.
4. Friedwald, W.T., Levy, R.I. and Fredrickson, D.S. (1972). Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin. Chem.* 18: 499-502.
5. SAS. (1992). *User's guide: Statistics*. SAS Institute, Inc. Cary, NC, USA.
6. Lee, C.M. (2002). 건강한 한국인 중년 남성에서의 혈청 콜레스테롤의 변화와 식이 및 생활 습관과의 관련성 연구.
7. Seo, J.A. 고콜레스테롤 식이가 토끼의 혈장 콜레스테롤대사와 조직변화에 미치는 영향.
8. Hwangbo, J.H. (1998). 혈중 콜레스테롤의 농도에 미치는 식생활과 영양섭취양상.
9. Park, J.S. (2005). Cholesterol-lowering, antioxidant, and anticarcinogenic effects of *Bacillus polyfermenticus* SCD in rats.
10. Choi, J.H. (2003). 관상동맥질환의 위험인자로서의 High-Density Lipoprotein (HDL) 콜레스테롤과 Non HDL-콜레스테롤을 대비한 혈중지질 농도.
11. Glodstein, J. L. and Brown, M. S. (1997). The low-density lipoprotein pathway and its relation to atherosclerosis, *Annu Rev. Biochem.* 46.897-930.