

Lactobacillus spp.의 항산화 효과 및 Ferrous Ion 흡착능

정석근 · 김현수 · 함준상 · 채현석 · 안종남 · 이종문

농촌진흥청 축산연구소

서 론

Free radical은 신진대사 과정에서 발생하며 노화를 비롯한 각종 질병의 원인으로 알려져 있다. 다행히 인체 내에 존재하는 항산화물이나 식품으로 섭취된 여러 가지 항산화물이 free radical에 대하여 체내 균형을 이루어 건강상태를 유지한다. 그러나 이들 항산화물이 부족한 경우 활성산소 축적에 의한 산화적 스트레스(oxidative stress)가 야기되어 생체 조직에 손상을 초래하므로 이를 방지하기 위해서는 항산화물이 체내에 충분히 존재해야 한다⁽¹⁾.

유산균은 활성산소의 피해로부터 스스로를 보호하기 위한 항산화 메커니즘을 가지고 있으며⁽²⁾, 유산균의 *in vivo* 및 *in vitro*에서 항산화 효과가 보고되었다^(4, 5). 항산화성 효과를 갖는 유산균의 섭취는 체내 산화적 스트레스에 대하여 몸에 좋은 효과를 줄 것으로 기대된다. 본 연구에서는 *Lactobacillus*의 항산화 효과와 금속이온 흡착능을 측정 하였다.

재료 및 방법

균주는 MRS broth(Difco)에 37°C에서 48시간 혐기적으로 배양 후 원심분리(4,000×g, 10분) 하여 cell을 회수하고 20mM sodium phosphate buffer(SPB, pH 7.4)로 세척 후 다시 SPB에 현탁하여 intact cell은 10⁹CFU/ml로 맞추어 사용하였고, cell lysate는 현탁한 cell을 초음파 처리로 파쇄하고 원심분리(7,000×g, 10분)한 후 상등액의 단백질 함량을 1mg/ml로 조정하여 사용하였다. 항산화 효과는 Lin과 Chang⁽⁶⁾의 방법으로 Linoleic acid emulsion은 0.1ml linoleic acid(Sigma, 99%), 0.2ml tween 20 그리고 19.7ml의 증류수를 혼합하여 제조하였다. 시료 0.4ml, 20mM SPB 0.5ml을 1ml의 linoleic acid emulsion과 혼합 후 0.01%의 FeSO₄ 0.2ml을 첨가하였다. 여기에 0.56mM H₂O₂ 0.2ml을 첨가하고 37°C 암실에서 배양하였다. 6시간 배양 후 0.4% BHT 0.2ml과 4% TCA 0.2ml 및 0.8% TBA 2ml을 첨가하고 100°C에서 20분간 가열하였다. n-butanol(Sigma) 2ml을 가하여 추출하고 원심분리하여 상등액을 취하여 532nm에서 흡광도를 측정하여 linoleic acid peroxidation 억제 정도(%)를 나타내었다. Ferrous iron의 흡착능은 Yen과 Wu⁽⁷⁾의 방법으로 2mM ferrous chloride(Sigma) 0.1ml과 5mM ferrozine(Sigma) 0.2ml 그리고 증류수 4.6ml에 시료 0.1ml을 첨가하고 10분간 실온에서 반응 후 562nm에서 흡광도를 측정하였다. Ferrous iron 흡착능은 다음의 식에 의하여 구하였다. Ferrous iron 흡착능(%)=(1-시료의 흡광도/대조구의 흡광도)×100

결과 및 고찰

항산화 효과

활성산소는 세포막의 불포화지방산을 공격하여 지질과산화물을 개시할 뿐만 아니라 DNA 같은 생체분자를 손상시키므로 활성산소에 의한 지질과산화 억제는 중요하다. 본 실험에서는 일반적으로 사용되고 있는 linoleic acid peroxidation system을 사용하여 *Lactobacillus*의 intact cell과 cell lysate의 항산화 효과를 측정하였다. 그 결과 Table 1에 나타낸 바와 같이 cell lysate의 경우 7.06~81.3%, intact cell은 0~59.53%의 항산화 효과를 나타내었다. cell lysate에서는 *L. bulgaricus* LB207의 항산화 효과가 81.3%로서 가장 높은 항산화 효과를 나타내었고, intact cell에서는 *L. acidophilus* LA5와 *L. bulgaricus* LB207이 각각 59.53%, 56.94%로서 높았다. *L. bulgaricus* LB 207은 cell lysate와 intact cell 모두에서 높은 항산화 효과를 나타내어 이 균주는 섭취 후 장내에서 높은 항산화 효과를 나타낼 것으로 기대되며 앞으로 *in vivo* 실험을 통한 더욱 많은 연구가 필요할 것으로 생각된다.

Table 1. Antioxidant activity of *Lactobacillus*

Strains	Antioxidant activity (%)	
	Cell lysate	Intact cell
<i>L. casei</i> 01	68.17±1.16	56.49±5.69
<i>L. acidophilus</i> LA100	65.32±0.98	18.66±0.42
<i>L. johnsonii</i> KCTC 3141	7.06±10.14	N.D.
<i>L. acidophilus</i> LA5	38.27±19.41	59.53±4.76
<i>L. acidophilus</i> KCTC 3111	64.03±10.66	49.65±4.76
<i>L. bulgaricus</i> LB207	81.30±3.60	56.94±2.59
<i>L. casei</i> KCTC 3260	79.82±3.54	36.91±5.38
<i>L. casei</i> KCTC 3109	61.70±23.43	5.34±7.55
<i>L. acidophilus</i> KCTC 3151	17.07±6.33	N.D.
<i>L. helveticus</i> KCTC 3545	75.63±1.97	N.D.
<i>L. lactis</i> KCTC 3034	23.56±5.37	N.D.

Ferrous iron 흡착능

금속이온, 특히 ferrous iron은 지질과산화물을 개시하고, 특히 hydroxy radical의 생성을 촉진하기 때문에, 금속 이온 흡착능은 중요한 항산화 메커니즘 중의 하나로 간주되고 있다. 유산균이 나타내는 이온 흡착능은 세포내 추출물에 존재하는 EDTA, penicillamine과 desferixamine 같은 생리적 chelator에 의한 것으로 이들은 금속이온을 포집하여 산화 촉진을 저지한다. Ferrous iron 흡착능을 조사한 결과 Table 2에 나타낸 바와 같이 유산균의 cell lysate에서 46.32~74.25%로서 높았고, intact cell에서는 N.D.~67.38%의 ferrous iron 흡착능을 나타내었다. 항산화 효과와 ferrous iron 흡착능연관성을 설명할 수는 없었

는데 예를 들어 *L. bulgaricus* LB207은 cell lysate와 intact cell 모두에서 항산화 효과가 높게 측정된 반면 ferrous iron 흡착능은 각각 46.32%와 34.53%로서 낮았다. 그러나 항산화 효과가 낮게 측정된 *L. johnsonii* KCTC 3141은 ferrous iron 흡착능이 cell lysate에서 72.11%, intact cell에서 61.95%로 높았다.

Table 2. Ferrous iron chelating activity of *Lactobacillus*

Strains	Ferrous iron chelating activity (%)	
	cell lysate	intact cell
<i>L. casei</i> 01	72.06±3.37	44.33±6.54
<i>L. acidophilus</i> LA100	66.66±2.36	34.13±4.69
<i>L. johnsonii</i> KCTC 3141	72.11±3.73	61.95±0.93
<i>L. acidophilus</i> LA5	60.32±3.69	41.7±7.29
<i>L. acidophilus</i> KCTC 3111	71.33±5.23	40.18±5.37
<i>L. bulgaricus</i> LB207	46.32±6.44	34.53±5.02
<i>L. casei</i> KCTC 3260	68.95±1.93	42.72±7.56
<i>L. casei</i> KCTC 3109	52.17±2.44	67.38±2.14
<i>L. acidophilus</i> KCTC 3151	67.02±3.51	N.D.
<i>L. helveticus</i> KCTC 3545	74.25±1.14	54.19±0.65
<i>L. lactis</i> KCTC 3034	67.0±4.45	34.13±2.63

요 약

Lactobacillus spp.의 항산화 효과를 측정된 결과 *L. bulgaricus* LB 207의 cell lysate와 intact cell 모두에서 항산화 효과가 높게 측정되었다. 또한 이들 균주들은 높은 ferrous iron 흡착능을 나타내었으나 항산화 효과 사이의 연관성을 설명하기는 어려웠다. 유산균의 항산화 메커니즘과 *in vivo* 실험을 통한 더욱 구체적인 항산화 효과에 대한 연구가 필요 하며, 다양한 항산화 메커니즘을 통하여 항산화 유산균 인간의 활성산소 축적의 위험으로부터 보호해 줄 수 있을 것으로 생각된다.

참 고 문 헌

1. Simic, M. G. (1988) *Mutat. Res.* 202, 377-386.
2. Knauf, H. J. et al. (1992) *Appl. Environ. Microbiol.* 58, 832-839.
3. Kullisaar, T. et al. (2002) *Intl. J. Food Microbiol.* 72, 215-224.

4. Korpela, R. et al. (1997) *Milchwissenschaft*. 52,503-505.
5. Kaizu, H. et al. (1993) *Dairy Sci.* 76, 2493-2499.
6. Lin, M. Y. and Chang, F. J. (2000) *Diges. Diseases and Sci.* 45, 1617-1622.
7. Yen, G. C. and Wu, J. (1999) *Food Chem.* 65, 375-379.