

젖산균 발효유섭취가 흰쥐의 장기내 알루미늄축적 억제효과

박성수 · 김중만* · 백승화**

송원대학 식품영양과, *원광대학교, **도립 충북과학대학 식품생명과학과

Effects of Fermented Milk Feeding on Aluminum Accumulation in Rat

Seong-Soo Park, Joong-Man Kim* and Seung-Hwa Baek**

Department of Food Nutrition, Song Won College,

*Department of Agricultural Chemistry,

College of Life Science and Natural Resources, Wonkwang University

**Department of Food Science and Biotechnology,

Chungbuk Provincial University of Science and Technology

Abstract

This study was to investigate effects of the supplementation of the different lactic acid bacteria[*Streptococcus thermophilus* KCTC 2185 culture group(ST), autoclaved *Streptococcus thermophilus* KCTC 2185 culture(STS), *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356 culture group(LA) and autoclaved *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356(LAS)] on suppression of aluminum accumulation in organs of rats fed with the diet containing 250 µg/g aluminum sulfate for 4 weeks. Amount of aluminum accumulation in the control rat was in order of bone>lung>heart>large intestine>kidney>liver>brain>small intestine. Effects of reduction of aluminum accumulation by feeding of the four difference fermented milk were in order of LA group>LAS group>ST group>STS group. ST and LA both were more effective than STS and LAS. Ultimately fermented milk was useful in reduction of toxication by accumulating of aluminum *in vivo*.

Key words : aluminum sulfate, aluminum accumulation, lactic acid bacteria

서 론

일상생활에서 알루미늄 섭취는 의외로 많아 섭취된 알루미늄이 인체내에서 정상적으로 배설되지 못하면⁽¹⁾ 조직에 축적되어 알츠하이머병(Alzheimer's disease)^(2,3), Guam의 파킨슨씨 치매(Parkinson dementia)⁽⁴⁾, 노인성 치매(senile dementia)⁽²⁾, 알콜성 치매(alcoholic dementia)⁽²⁾, 및 골연화증(osteomalacia)⁽⁵⁾ 등이 유발된다⁽⁶⁾. 알루미늄 체내 축적에 의한 독성작용을 최소화하기 위한 방법으로는 먼저 섭취량을 줄여야하고 일단 섭취된 알루미늄은 흡수되지 않도록 하는 것이 필요하다.

한편 젖산균의 기능으로는 혈중 콜레스테롤의 감소, 유당의 소화흡수 촉진, 유해세균의 생육억제⁽⁷⁾, 그

리고 대장암 발생률의 저하 등이 밝혀져 있으나 유해 금속과의 관계에 대한 연구는 비교적 드물다. 중금속 이온은 세균의 세포벽에 있는 음이온 물질과 결합하여 세포내로 흡수 될 수 있으며^(8,9), 젖산균 발효유가 흰쥐의 카드뮴 축적에 미치는 영향⁽¹⁰⁾에 대해 보고된 바 있다. 그러나 노인성 치매의 한가지 원인으로 알려진 알루미늄이 섭취되었을 때 *in vivo*에서 끼치는 영향에 대한 연구는 저자 들⁽¹¹⁾의 신장내 알루미늄 축적 억제와 신장기능에 미치는 영향이 있을 뿐 그외의 연구가 이루어진 바 없다.

따라서 본 실험에서는 알루미늄과 젖산균 발효유 보충 식이를 흰쥐에게 급여하였을 때 젖산균 발효유의 섭취가 흰쥐 장기 및 조직에 있어 알루미늄의 축적 억제되는지를 조사하였기에 보고하는 바 이다.

재료 및 방법

실험동물

실험동물은 Sprague-Dawley계 수컷 흰쥐 50마리를

Corresponding author : Joong-Man Kim, College of Life Science and Natural Resources, Wonkwang University, Iksan, Jeonbug, 570-749, Korea
Tel : 82-63-850-6677
Fax : 82-63-850-6677
E-mail : jmki@wonkwang.ac.kr

삼육실험동물센터(중복 음성)로 부터 공급받아, metabolic cage에 1마리씩 넣어 1 주일 동안 환경에 적응시킨 후 체중 125±5 g인 것을 4주간 실험 사육하였다.

먹이는 시판사료(삼양사료: 경기도 화성)를 사용하였으며, 물은 대조군의 경우 증류수를 실험군의 경우 생균배양액은 10% 탈지분유용액에 젖산균(*Streptococcus thermophilus* KCTC 2185(이후 ST로 표기), *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356(이후 LA로 표기))을 접종하여 생균수가 1×10¹⁰/mL 수준이 된 발효유를 사용하였으며 발효 후 멸균시킨 액(이하 발효멸균유 라 함)STS와 LAS는 발효유를 120°C에서 10분간 멸균된 액으로 자유롭게 섭취하도록 하였다. 실험기간 중의 사육실 환경은 실온 23±2°C, 상대습도 55-60% 조건으로 일정하게 유지시켜 주었으며 시판사료의 성분은 Table 1과 같다. 각 실험군은 Table 2와 같이 난괴법에 의해 10마리씩 5개 군으로 나누어 사육하였다.

식이, 물, 젖산균발효유의 섭취 및 체중변화

흰쥐가 4주간 Table 2와 같은 조성으로 증류수, 사료 및 젖산균 발효유의 섭취량과 체중변화는 전보와 같다⁽¹¹⁾.

조직의 적출 및 알루미늄 농도

신장조직을 적출하기 위하여 12시간 절식시킨 후 scaffold로 단두한 뒤 개복 후 각 장기를 적출하여 액체 질소에 급속 동결시켜 -70°C 이하 냉동고에 보관하면서 분석에 이용하였다.

알루미늄 농도를 위하여 Ganje의 혼산분해법⁽¹²⁾에 준

하여 시료 1g을 정확히 취해 HNO₃:HClO₄(2:1, v/v)의 혼산용액 10mL를 가하여 hot plate에서 분해액이 담황색 또는 미색으로 변할 때까지 분해하여 방냉한 액을 50 mL로 정용후 여과한액(Advantec, Toyo, No. 5B)을 원자흡광분광광도계(Varian; Model Spectra AA-30)를 이용하여 lamp current: 3.5 mA, wave length: 228.8 nm, spectral band pass: 0.5 nm, optimum working range: 0.5-2.0 µg/mL, fuel: acetylene, support: air, flame stoichiometry: oxidizing의 조건으로 분석하였다.

통계 처리

발효유 섭취기간 알루미늄의 축적량 차이를 밝히고자 SAS series package의 Duncan's multiple range test로 유의성을 검정을 하였다⁽¹³⁾.

결과 및 고찰

장기의 알루미늄 함량비교

알루미늄화합물([Al₂(SO₄)₃]과 *Streptococcus thermophilus* 발효유(ST), *Streptococcus thermophilus* 발효멸균유(STS), *Lactobacillus acidophilus* 발효유(LA), *Lactobacillus acidophilus* 발효멸균유(LAS) 보충 식이로 사육한 흰쥐의 심장, 뇌, 뼈, 신장, 간, 폐, 소장 및 대장에 축적된 알루미늄 함량 변화에 미치는 영향은 Table 3과 같다.

신장 중의 알루미늄 축적량은 대조군(52.04 µg/g)에 비하여 ST와 STS는 각각 35.78 µg/g(31.25%)과 41.86 µg/g(19.56%)으로 감소하였고 LA와 LAS는 각각 30.00 µg/g(42.35%)와 36.00 µg/g(30.82%)의 감소율을 나타냈다.

심장조직 중에 알루미늄 축적량은 대조군(80.20 µg/g)에 비하여 ST와 STS는 각각 34.92 µg/g(56.46%)와 39.52 µg/g(50.72%)의 감소율을 나타냈으며 LA와 LAS는 각각 10.72 µg/g(86.63%)와 21.98 µg/g(72.59%)의 감소율을 나타냈다.

Table 1. Composition of experimental diet* (%)

Protein	22.1
Lipid	4.0
Carbohydrate	65.9
Ash	8.0

Source: corn, wheat flour, fish meal, beef tallow soybean milk, soybean meal

*Manufactured by Samyang Co.

Table 2. Classification of experimental groups

Group ¹⁾	Drinking Water
Control	Distilled Water
ST	Culture of <i>Streptococcus thermophilus</i> KCTC 21852)
STS	Autoclaved culture of <i>Streptococcus thermophilus</i> KCTC 21853)
LA	Culture of <i>Lactobacillus acidophilus</i> ATCC 43562)
LAS	Autoclaved culture of <i>Lactobacillus acidophilus</i> ATCC 43563)

¹⁾All rats were fed with aluminum containing diet (250 µg/g in Al₂(SO₄)₃).

²⁾Cultures of ST and LA were cultured in 10% skim milk solution for 24 hours.

³⁾Cultures of STS and LAS were autoclaved after culture in 10% skim milk solution for 24 hours.

Table 3. Content of aluminum accumulated in heart, brain, kidney, liver, lung, small intestine, large intestine and bone of rat after feeding of the diets** for 4 weeks (unit: $\mu\text{g/g}$)

	Heart	Brain	Bone	Kidney	Liver	Lung	Small Intestine	Large Intestine
*Control	80.20 \pm 3.49 ^a	46.80 \pm 2.07 ^a	101.10 \pm 7.44 ^a	52.04 \pm 1.20 ^a	49.84 \pm 2.52 ^a	92.34 \pm 3.27 ^a	36.24 \pm 3.56 ^a	56.98 \pm 3.18 ^a
**ST	34.92 \pm 2.70 ^b (56.46)	28.86 \pm 1.34 ^c (38.33)	49.51 \pm 1.13 ^b (51.03)	35.78 \pm 1.07 ^c (31.25)	26.20 \pm 1.76 ^c (47.43)	65.38 \pm 6.64 ^b (29.20)	31.12 \pm 3.64 ^a (14.13)	36.50 \pm 2.74 ^b (35.94)
***STS	39.52 \pm 4.79 ^b (50.72)	36.59 \pm 1.75 ^b (21.82)	53.88 \pm 2.26 ^b (46.71)	41.86 \pm 1.47 ^b (19.56)	39.43 \pm 3.28 ^b (20.89)	74.76 \pm 4.20 ^b (19.04)	34.80 \pm 2.24 ^a (3.97)	39.92 \pm 3.07 ^b (29.94)
****LA	10.72 \pm 1.80 ^d (86.63)	8.82 \pm 2.29 ^e (81.15)	21.00 \pm 2.27 ^d (79.23)	30.00 \pm 1.87 ^e (42.35)	8.92 \pm 1.98 ^e (82.10)	21.26 \pm 2.29 ^e (76.98)	13.62 \pm 3.37 ^b (62.42)	10.82 \pm 2.76 ^d (81.01)
*****LAS	21.98 \pm 1.29 ^c (72.59)	16.92 \pm 0.42 ^d (63.85)	33.80 \pm 2.79 ^c (66.57)	36.00 \pm 2.78 ^d (30.82)	19.74 \pm 0.50 ^d (60.39)	29.80 \pm 0.82 ^c (67.73)	14.34 \pm 3.61 ^b (60.43)	26.32 \pm 2.57 ^c (53.81)

() : reduction %

*Control; aluminum+distilled water

**ST; aluminum+culture of *Streptococcus thermophilus*

***STS; aluminum+autoclaved culture of *Streptococcus thermophilus*

****LA; aluminum+culture of *Lactobacillus acidophilus*

*****LAS; aluminum+autoclaved culture of *Lactobacillus acidophilus*

#Mean \pm SD of 10 experiments and the same lettered superscripts within a column are not significantly different at the 5% level by Duncan's multiple range test.

뇌조직 중에 알루미늄 축적량은 대조군(46.80 $\mu\text{g/g}$)에 비하여 ST와 STS는 각각 28.86 $\mu\text{g/g}$ (38.33%)와 36.59 $\mu\text{g/g}$ (21.82%)의 감소율을 나타냈고 LA와 LAS는 각각 8.82 $\mu\text{g/g}$ (81.15%)와 16.92 $\mu\text{g/g}$ (63.85%)의 감소율을 나타냈다.

뼈 조직중에 알루미늄의 축적량은 대조군(101.10 $\mu\text{g/g}$)에 비하여 ST와 STS는 각각 49.51 $\mu\text{g/g}$ (51.03%)와 53.88 $\mu\text{g/g}$ (46.71%)의 감소율을 나타냈으며 LA와 LAS는 각각 21.00 $\mu\text{g/g}$ (79.23%)와 33.80 $\mu\text{g/g}$ (66.57%)의 감소율을 나타냈다.

간 조직중에 알루미늄 축적량은 대조군(49.84 $\mu\text{g/g}$)에 비하여 ST와 STS는 각각 26.20 $\mu\text{g/g}$ (47.43%)와 39.43 $\mu\text{g/g}$ (20.89%)의 감소율을, LA와 LAS는 각각 8.92 $\mu\text{g/g}$ (82.10%)와 19.74 $\mu\text{g/g}$ (60.39%)의 감소율을 나타냈다.

폐 조직중에 알루미늄 축적량은 대조군(92.34 $\mu\text{g/g}$)에 비하여 ST와 STS는 각각 65.38 $\mu\text{g/g}$ (29.20%)와 74.76 $\mu\text{g/g}$ (19.04%)의 감소율을, LA와 LAS는 각각 21.26 $\mu\text{g/g}$ (76.98%)와 29.80 $\mu\text{g/g}$ (67.73%)의 감소율을 나타냈다.

소장조직 중에 알루미늄 축적량은 대조군(36.24 $\mu\text{g/g}$)에 비하여 ST와 STS는 각각 31.12 $\mu\text{g/g}$ (14.13%)와 34.80 $\mu\text{g/g}$ (3.97%)의 감소율을 그리고 LA와 LAS는 각각 13.62 $\mu\text{g/g}$ (62.42%)와 14.34 $\mu\text{g/g}$ (60.43%)의 감소율을 나타냈다.

대장조직 중에 알루미늄 축적량은 대조군(56.98 $\mu\text{g/g}$)에 비하여 ST와 STS는 각각 36.50 $\mu\text{g/g}$ (35.94%)와

39.92 $\mu\text{g/g}$ (29.94%)의 감소율을 LA와 LAS는 각각 10.82 $\mu\text{g/g}$ (81.01%)와 26.32 $\mu\text{g/g}$ (53.81%)의 감소율을 나타냈다.

이상의 결과에서 섭취된 알루미늄은 흰쥐의 체내에 흡수되어 각 조직에 축적되는 것으로 나타났으며 축적량은 뼈>폐>심장>대장>신장>간>뇌>소장의 순이었다.

ST 및 STS, LA 및 LAS를 섭취한 군으로 구분하여 흰쥐에 발효유를 섭취케 한 결과 대조군에 비하여 조직내에 축적된 알루미늄 함량이 뇌는 1%수준, 그외의 모든조직에서 5% 수준에서 유의적으로 감소하였다. 또한 LA, LAS 섭취군이 ST, STS 섭취군보다 조직중 알루미늄 축적량을 감소시켰으며 LA와 ST 섭취군이 LAS와 STS군 보다 알루미늄의 축적량 억제에 효과가 좋았다.

이러한 축적 억제 효과는 금속이온들이 세포막 부근에서 복합체를 형성하기 때문에 일차적으로 세포막의 형태적, 기능적 변화가 일어난다고 한 Beveridge⁽⁹⁾의 보고로 미루어 섭취된 알루미늄이 체내 흡수된 젖산균의 세포벽에 존재하는 mucopolysaccharides, peptidoglycan이나 glycerol-based teichoic acid와 같은 음이온 물질에 쉽게 결합되거나 세포막의 active transport system에 의해 알루미늄이 균체내로 흡수되고 변과 함께 체외로 배설된다하였고, 또한 다른 중금속의 경우 저급화된 펩티드⁽¹⁴⁾, 아미노산⁽¹⁵⁾, 비타민⁽¹⁶⁾ 등과 결합하여 쉽게 제거 할 수 있다고 한 바 있어 젖산균 발효유에 존재하는 저급화된 단백질 분해산물, 비타민이 알루미늄과 상호작용에 의하여 착화합물을 만

들어 체외로 배설되어질 것으로 생각된다. 또 *L. acidophilus* 섭취군이 *S. thermophilus* 섭취군 보다 알루미늄의 축적량이 낮았던 것은 혐기적인 장관조건에서 *L. acidophilus* 섭취군이 *S. thermophilus* 섭취군보다 생존능력이 우수하여 상대적으로 장내에 생균수가 많아져 세포외막에 존재하는 음이온 물질과 쉽게 결합되어 체외로 배설되어지기 때문인 것으로 생각된다.

요 약

젖산균(*Streptococcus thermophilus* KCTC 2185와 *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356) 발효유가 흰쥐 기관의 알루미늄 축적 감소효과를 조사하기 위하여 사료에 알루미늄화합물[Al₂(SO₄)₃]을 혼화하여 먹이면서 음용수로 증류수를 준 대조군, 증류수 대신 *S. thermophilus*로 발효시킨 발효유(ST)와 이를 살균한 발효유(STS), *L. acidophilus*로 발효시킨 발효유(LA)와 이를 살균한 발효유(LAS)를 먹게 한 군으로 나누어 4주 동안 사육한 후 뇌, 뼈, 폐, 심장, 간, 소장, 대장에 축적된 알루미늄 함량을 조사하였다. 대조군의 체 조직에 축적된 알루미늄 양은 뼈>폐>심장>대장>신장>간>뇌>소장의 순이었으며, *S. thermophilus*와 *L. acidophilus*로 발효된 발효유와 그 발효유를 멸균시킨 것을 각각(STS, ST 와 LAS, LA) 섭취한 군은 각각의 대조군(100%)에 비하여 축적량이 뼈의 경우 각각 46.71%, 51.03%와 66.57%, 79.23%, 폐의 경우 각각 19.04%, 29.20%와 67.73%, 76.98%, 심장의 경우 각각 50.72%, 56.46%와 72.59%, 86.63%, 대장의 경우 각각 29.94%, 35.94%와 53.81%, 81.01%, 간의 경우 각각 20.89%, 47.43%와 60.39%, 82.10%, 뇌의 경우 각각 21.82%, 38.33%와 63.85%, 81.15%, 소장의 경우 각각 3.97%, 14.13%와 60.43%, 62.42% 감소되는 효과가 있었다. 알루미늄화합물을 흡수한 흰쥐 체내 알루미늄 축적량 감소는 젖산균 발효유가 멸균시킨 젖산균 발효유보다 효과가 컸다.

감사의 글

본 연구는 원광대학교 2000년도 교내연구비 지원에 의해 수행되었으며, 연구비지원에 감사드립니다.

문 헌

Med. 310: 1113-1115 (1984)

- Crapper, D.R., Krishnan, S.S. and Dalton, A.J. Brain aluminum distribution in Alzheimer's disease and experimental neurofibrillary degeneration. *Science* 180: 511-513 (1983)
- Davies, P. and Maloney, A.F.J. Selective loss of cholinergic neurones in Alzheimer's disease. *Lancet* 2: 1403-1407 (1976)
- Perl, D.P., Gaidusek, D.C., Garruto, R.M., Unagihara, R.T. and Gibbs, C.J. Intraneuronal aluminum accumulation in amyotrophic lateral sclerosis and Parkinsonism dementia of Guam. *Science* N.Y. 217: 1053-1055 (1982)
- Ward, M.K., Feest, T.G., Eills M.A., Parkinson, I.S. and Kerr, D.N.S. Osteomalacia dialysis osteodystrophy: Evidence for a water-bone aetiological agents, probably aluminum. *Lancet* 1: 841-845 (1978)
- Kim, J.M., Han, S.H. and Baek, S.H. Comparison of aluminum leaching from cooking utensils during cooking. *Korean J. Food Sci. Technol.* 29: 613-617 (1997)
- Goldin, B.R., Swenson, L., Dwyer, T., Sexton, M. and Gorbach, S.L. Effect of diet and *Lactobacillus acidophilus* supplements in human fecal bacterial enzyme. *J. National Cancer Institute* 64: 263-268 (1980)
- Kim, Y.B. and Lee, S.R. Isolation of cadmium-tolerant bacteria and accumulation of cadmium into bacterial cell. *Kor. J. Appl. Microbiol. Bioeng.* 4: 111-116 (1976)
- Beveridge, T.J. Role of cellular design in bacterial metal accumulation and mineralization. *Annu. Rev. Microbiol.* 43: 147-171 (1989)
- Cho, Y.C. and Jun, M.H. Effect of *Lactobacillus acidophilus*-fermented milk on accumulation of cadmium in rats. *Kor. J. Vet. Publ. Hlth.* 18: 215-229 (1994)
- Kim, J.M., Park, S.S., Baek, S.H., Chung, D.H., Choi, Y.B., Shin, Y.S., Han, S.H. and Hong, G.H. Effects of fermented milk feeding on function and suppression of aluminum accumulation in kidney of rat. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 28: 233-239 (1999)
- Ganje, T.J. and Page, A.L. Rapid acid dissolution of plant tissue for cadmium determination by atomic absorption spectrophotometry. *At. Absorpt. Newsl.* 13: 131-134 (1976)
- SAS: "SAS Series Package", SAS Institute Inc, Cary NC. (1987)
- Revis, N.W. and Osborne, T.R. Dietary protein effects on cadmium and metallothionein accumulation in the liver and kidney in rats. *Environ. Health Persp.* 54: 83-91 (1984)
- Singhal, R.K., Anderson, M.E. and Meister A. Glutathione, a first line of defense against cadmium toxicity. *FASEB. J.* 1: 220-223 (1987)
- Fox MRS: Effects of vitamin C and Fe, Cd metabolism. *Ann. NY. Acad. Sci.* 355: 249-261 (1980)

(2000년 8월 26일 접수)

1. Alfrey A.C. Aluminum intoxication, ed. N. Engl. J.