

GABA 생성능 우수 김치 젖산균 *Lactobacillus* sp. OPK2-59의 간 기능 개선 효과

배미옥^{1,2} · 김혜진² · 차연수¹ · 이명기³ · 오석흥^{2*}

¹전북대학교 식품영양학과
²우석대학교 식품생명공학과
³한국식품연구원

Effects of Kimchi Lactic Acid Bacteria *Lactobacillus* sp. OPK2-59 with High GABA Producing Capacity on Liver Function Improvement

Mi-Ok Bae^{1,2}, Hye-Jin Kim², Youn-Soo Cha¹, Myung-Ki Lee³, and Suk-Heung Oh^{2*}

¹Dept. of Food Science and Human Nutrition, Chonbuk National University, Jeonbuk 561-756, Korea

²Dept. of Food and Biotechnology, Woosuk University, Jeonbuk 565-701, Korea

³Korea Food Research Institute, Gyeonggi 463-746, Korea

Abstract

This study investigated the effect of improved liver function in rats administered with ethanol by kimchi lactic acid bacteria with high GABA producing capacity. Sprague-Dawley male rats were divided into four groups; normal diet control (NC), ethanol control (EC), ethanol+*Lactobacillus* sp. OPK2-59 normal powder (EL1), ethanol+*Lactobacillus* sp. OPK2-59 GABA powder (EL2) and fed for 6 weeks. Analysis showed that there were no significant differences in body weight and feed consumption among the groups during the experimental period. Also, there were no significant differences in organ weight among the groups. The test results showed total cholesterol and triglyceride in the blood concentration that were increased by ethanol administration were significantly lowered in EL2 group. Liver triglyceride was also significantly lowered in the EL2 group compared with the EC group. Serum GOT and GPT, and liver GOT levels were significantly lower in the EL2 group compared with the EC group. Serum ethanol concentration was lower in the EL1 and EL2 groups compared with the EC group. SOD activities in liver were significantly increased in the EL1 and EL2 groups compared with the EC group. These results suggest that *Lactobacillus* sp. OPK2-59 GABA powder improves lipid and enzyme profiles of rats administered with ethanol.

Key words: kimchi lactic acid bacteria, GABA, rats, liver, ethanol

서 론

최근 사회가 복잡해지고 다양화되면서 스트레스 해소를 위한 만성적인 알코올 섭취로 알코올성 간 질환 환자가 서구 선진국뿐만 아니라 우리나라에서도 매년 늘어나고 있다. 또한 총 알코올 소비량이 해마다 증가추세에 있어 사회적, 경제적 및 공중위생적인 문제로 대두되어 그 양상이 날로 심각해지고 있다. 알코올은 적당량을 섭취할 경우에는 체내 혈액 순환을 증진시키고 기분을 좋게 하지만, 과량이나 만성적으로 섭취할 경우에는 체내 영양소의 흡수를 저해하여 영양결핍을 초래하게 된다(1,2). 또한 알코올은 대부분이 간에서 대사되기 때문에 알코올을 처리하는 간의 능력에는 한계가 있으므로 이 한계를 넘어서게 되면 여러 가지 대사 장애를 초래하게 된다(1,3).

γ -Aminobutyric acid(GABA)는 자연계에 널리 분포하

는 비단백체 아미노산으로 동물의 경우 중추신경계의 주된 억제성 신경전달물질로 알려져 있다. 중추신경계 전체 신경전달물질 중 약 30%를 차지하며 다른 신경전달물질에 비하여 약 200~1,000배의 고농도로 존재한다. 동물의 경우 뇌·신장·심장·폐 등에서 발견되며 식물의 경우 발아현미를 비롯한 발아곡류, 녹차, 배추 뿌리 등에서 많이 검출되고 있다(4). GABA는 혈압상승억제, 혈중 콜레스테롤 및 중성지방 증가 억제, 뇌의 혈류 개선, 비만 방지, 시력증진, 항 불안, 항 경련 등 인체의 많은 생리적인 메커니즘의 조절에 관여하는 것으로 알려져 있고, 성장호르몬의 분비 조절에도 관여하며, 통증완화에도 효과가 있는 것으로 알려져 있어 약리적으로 매우 주목 받는 물질이다(5).

알코올중독자들의 혈중 GABA농도는 정상인과 비교 시 유의적으로 낮은 값을 보이는 것으로 보고된 바 있고, 특히 알코올성 간 질환은 뇌 중 GABA대사의 항상성이 깨져서

*Corresponding author. E-mail: shoh@woosuk.ac.kr
Phone: 82-63-290-1433, Fax: 82-63-290-1429

간 장성 뇌 병증 및 저혈압을 일으킨다고 한다. 선행 연구 중 GABA 함유 배추잎과 뿌리의 첨가식이 만성적 알코올 투여 흰쥐의 지방대사 및 간 기능을 개선시키는 작용이 있으며, 이는 GABA의 대사와 관련이 있음을 시사한 논문이 발표된 바 있다(2).

김치는 우리나라의 대표적인 전통 채소발효식품이다. 김치는 여러 재료 성분과 발효생성물인 식이성분, 비타민, 카로틴, 고추 및 마늘의 특수성분, 젖산, 젖산균, 아세틸콜린, dextran, acetate 등이 풍부하여 인체 내에서 면역증강, 항산화, 항균, 항 콜레스테롤 식품, 발암 및 변이 물질의 생성을 방지하는 기능을 갖는 기능성식품으로 밝혀지고 있다(6,7). 또한 김치의 섭취는 혈청 콜레스테롤의 양을 감소시키고 fibrin을 분해하는 활성을 가져 동맥경화를 예방하는 효과를 갖는다는 보고도 있다(8,9). 김치 젖산균은 probiotic으로 우리 인체에 유리하게 작용하며 김치 젖산균 자체가 정장작용, 항 돌연변이 및 항암작용 등에 관여한다고 알려져 있다.

최근 김치에 함유되어 있는 GABA 생성능이 우수한 김치 젖산균에 관한 연구(10-12), GABA 함량이 증진된 김치제조에 관한 연구(12)가 일부에서 진행된 바 있지만, 김치의 종류가 다양하고, 미생물의 종류도 다양하여 김치 미생물의 생리 기능성 물질 생산과 그 효능에 관한 연구는 앞으로 더 많은 시간과 비용을 투자해야 할 분야이다.

따라서 본 연구는 우리 김치에서 분리한 GABA 생성 젖산균의 효능에 관한 연구의 일환으로 수행되었다. 이를 위해 GABA 생성능이 우수한 젖산균 *Lactobacillus* sp. OPK2-59를 이용하여 GABA 함유량이 높은 김치 젖산균 GABA 파우더를 조제하였고, 이를 이용하여 만성적인 알코올 투여 흰쥐의 간 기능 개선 효과를 조사하였다.

재료 및 방법

실험동물

본 연구를 위해 제조된 젖산균 배양액의 간 기능 개선 효과를 알아보기 위해 실험동물을 이용한 효능평가를 실시하였다. 사용된 실험동물은 생후 4주된 수컷 Sprague-Dawley (SD)계 흰쥐를 (주)오리엔트(Seoul, Korea)에서 구입하였다. 1주일 동안 식이 및 동물실의 적응기간을 거쳤다. 실험동물은 6주 동안 stainless steel cage에 2마리씩 분리 사육하였다. 동물실의 온도는 23~25°C, 습도는 50%로 유지하였으며, 명암은 12시간(8:00~20:00) 주기로 조절하였다. 선정된 실험동물은 실험기간 동안 AIN-93 diet(Orient, Seoul, Korea)와 충분한 물을 공급하였다. 동물 사육은 전북대학교 동물실험윤리위원회의 승인을 받아 진행하였다(승인번호 07045).

젖산균 배양액 제조 및 알코올 투여

동물실험에 사용한 젖산균은 김치에서 분리하여 동정하였다(12). 분리한 김치 젖산균 중 GABA 생성능이 우수한

젖산균 *Lactobacillus* sp. OPK2-59(KCCM11392)를 De Man, Rogosa, and Sharpe(MRS)(Difco™, Detroit, MI, USA) broth에 접종하고 30°C에서 48시간 동안 배양하여 배양된 배지를 4°C에서 5000×g로 20분간 원심분리 하여 cell만 수집해서 동결건조한 후 powder 상태로 -70°C에 보관한 후 실험에 스타터로 사용하였다. 젖산균 *Lactobacillus* sp. OPK2-59를 배양하여 GABA 함량이 적은 OPK2-59 normal 파우더와 GABA 함량이 높은 OPK2-59 GABA 파우더를 제조하였다. GABA 함량이 높은 파우더는 OPK2-59 배양 배지에 1% monosodium glutamate(MSG)를 넣어서 제조하였으며, GABA 함량이 적은 normal 파우더는 별도의 MSG를 첨가하지 않았다. 제조한 스타터 파우더 중의 MSG 함량에는 유의적 차이가 없었으며, GABA 함량은 Table 1과 같고 이를 경구투여 시료로 사용하였다. 알코올 투여는 100% 에탄올을 20% 희석해서 4 g/kg을 수준으로 경구투여하였다. 에탄올은 휘발성이 강하므로 동물사육기간 중 경구투여 직전에 만들어 사용하였으며, 경구투여 전 시료를 실온과 가까운 온도로 유지하였다.

체중 및 식이섭취량 측정

실험동물은 randomized block design에 의해 Table 2와 같이 그룹 당 6마리씩, 모두 4군으로 나누었으며, 시료의 투여는 에탄올에 각각의 파우더를 녹여서 사용하였다. 실험동물들의 각각의 체중은 1주일에 한번 측정하였고, 식이섭취량은 격일로 식이잔량을 측정하여 1일 섭취량으로 환산하였다.

실험동물 처리 및 시료수집

모든 실험동물은 실험종료 후 12시간 동안 절식 후 희생시켰다. 혈액 샘플은 ether로 마취시켜 심장 채혈법에 의해 혈액을 채취하여 약 1시간 동안 ice에 방치한 후 1,100×g, 4°C에서 15분간 원심분리 하여 혈청을 분리하였다. 간은 채혈 후 즉시 적출하여 생리 식염수로 씻은 다음 여과지로 물기를 제거하고 무게를 측정하였다. 분리된 혈청과 간은 -80°C에서 분석 때까지 보관하였다.

Table 1. Comparison of GABA contents between OPK2-59 cultures

	OPK2-59 Normal powder	OPK2-59 GABA powder
GABA (μg/g)	20	390

¹⁾OPK2-59 normal powder: OPK2-59 culture without MSG. OPK2-59 GABA powder: OPK2-59 culture with 1% MSG.

Table 2. Experimental design and sample treatment

Treatment	Groups			
	NC ¹⁾	EC	EL1	EL2
Ethanol (g/kg BW)	-	4	4	4
OPK2-59 normal powder (g/kg)	-	-	2	-
OPK2-59 GABA powder (g/kg)	-	-	-	2

¹⁾NC, normal diet; EC, ethanol; EL1, ethanol+OPK2-59 normal powder; EL2, ethanol+OPK2-59 GABA powder.

혈청 및 간의 지질 분석

혈청 및 간 조직의 지질을 분석하기 위해 Folch 등(13)의 방법에 따라 전처리를 실시하였다. Total cholesterol(TC), triglycerides(TG) 및 HDL-cholesterol(HDL-C)는 효소법으로 시판되는 kit(Asan Pharm. Co., LTD., Seoul, Korea)를 사용하여 측정하였다.

혈청 및 간의 효소활성 분석

혈청 및 간 조직의 효소활성을 분석하기 위해 Folch 등(13)의 방법에 따라 전처리를 실시하였다. 간 조직의 전처리 과정은 혈청 및 간의 지질분석방법과 동일하다. 혈청 및 간 조직의 GOT, GPT 효소활성은 시판되는 kit(Asan Pharm. Co., LTD.)를 사용하여 측정하였다.

혈중 ethanol clearance

Whole blood 수집은 rats를 12시간 절식시켜 20% ethyl alcohol을 경구투여한 후 꼬리정맥에서 0 min, 30 min, 60 min, 120 min, 240 min, 360 min에 각각 EDTA가 처리된 capillary tube를 사용하여 매 시간마다 20 μ L를 채취하여 식염수 980 μ L와 함께 총 볼륨 1 mL을 만들어 사용하였다. 수집한 혈액의 에탄올 농도는 Bernt와 Gutmann(14)의 방법에 따라 실시하였다.

SOD 활성 조사

간 조직의 SOD(superoxide dismutase) 활성을 분석하기 위해 Ayako와 Irwin(15)의 방법에 의해 전처리를 실시하였으며, 시판되는 kit(assays designs Stressgen Ann Arbor, MI, USA)를 사용하였다.

통계

모든 실험결과는 SPSS 프로그램을 이용하여 평균(mean)

\pm 표준편차(SD)로 나타내었다. 그룹(NC, EC, EL1, EL2) 간의 차이는 one-way ANOVA로 분석하였으며, 집단 간에 유의한 차이가 있을 경우 Duncan's multiple range test를 실시하였으며, 유의차는 $p < 0.05$ 수준에서 검증하였다.

결과 및 고찰

체중 및 식이섭취량

실험기간 동안의 체중 및 식이섭취량과 각 그룹의 기관의 무게는 Table 3, 4와 같다. 실험 종료 후 실험동물의 체중 및 식이섭취량과 그룹간의 기관의 무게는 유의적인 차이를 보이지 않았으나 정상식이 섭취 군에 비해 알코올 투여 군에서 체중과 식이섭취량이 다소 감소하는 경향을 보였다. GABA 함량이 높은 배추첨가 식이 알코올 투여 흰쥐의 지질대사 및 간 기능 효과를 측정된 Cha와 Oh(16)의 연구에서는 정상식이 섭취군 및 GABA 함량이 높은 배추첨가 식이 섭취 군에 비해 알코올 투여 군에서 체중이 유의적으로 감소하였다는 결과를 보여주었다. 알코올 투여로 인한 체중의 변화는 필수영양소와 열량이 결여되고, 식이섭취에 대해 영양불량, 소화, 흡수불량 등의 위장 내 복합적인 문제 발생으로 인해 체중이 감소된다는 Mezey(17)와 Scheig(18)의 연구에서도 보고된 바 있다. 실험동물을 통한 다른 연구에서도 알코올 섭취는 동물의 성장을 저해한다고 보고된 바 있고(1,18), 이는 섭취된 알코올의 칼로리로 인하여 식이섭취량이 감소되고 체지방이 손실되고 에너지 소비도 증가되기 때문이라고 하였다(1,19,20).

혈중 및 간의 지질 농도

각 그룹간의 혈중 지질의 농도는 Table 5와 같다. 알코올 섭취로 인해 높아진 총 콜레스테롤(TC) 및 중성지질(TG)은

Table 3. Body weight and feed consumption between groups

Parameters	Groups			
	NC ¹⁾	EC	EL1	EL2
Initial weight (g)	154.46 \pm 17.27 ^{2)ns3)}	149.7 \pm 3.98	145.38 \pm 6.03	148.67 \pm 3.42
Final weight (g)	405.34 \pm 19.72	367.00 \pm 11.27	372.18 \pm 20.99	366.34 \pm 45.17
Weight gain	260.34 \pm 18.92	262.24 \pm 12.21	248.05 \pm 21.48	249.60 \pm 42.11
Feed consumption (g/day)	26.71 \pm 3.61	22.62 \pm 1.77	24.18 \pm 0.82	20.96 \pm 2.98

¹⁾NC, normal diet; EC, ethanol; EL1, ethanol+OPK2-59 normal powder; EL2, ethanol+OPK2-59 GABA powder.

²⁾Mean \pm SD.

³⁾NS, values within rows are not different significantly by ANOVA with Duncan's multiple range test at $p < 0.05$.

Table 4. Organ weight between groups

(g)

Parameters	Groups			
	NC ¹⁾	EC	EL1	EL2
Liver	12.24 \pm 1.36 ^{2)ns3)}	13.00 \pm 1.82	12.48 \pm 1.87	11.88 \pm 2.65
Kidney	2.82 \pm 0.35	2.78 \pm 0.18	2.75 \pm 0.19	2.84 \pm 0.18
Heart	1.36 \pm 0.11	1.20 \pm 0.07	1.28 \pm 0.05	1.18 \pm 0.13
Epididymal fat	6.02 \pm 1.06	5.52 \pm 1.05	5.13 \pm 1.30	5.50 \pm 2.22

¹⁾NC, normal diet; EC, ethanol; EL1, ethanol+OPK2-59 normal powder; EL2, ethanol+OPK2-59 GABA powder.

²⁾Mean \pm SD.

³⁾NS, values within rows are not different significantly by ANOVA with Duncan's multiple range test at $p < 0.05$.

Table 5. Lipid concentration in serum

(mg/dL)

Parameters	Groups			
	NC ¹⁾	EC	EL1	EL2
Total cholesterol	60.17±27.99 ^{2)bc3)}	112.25±9.02 ^a	82.04±16.83 ^{ab}	74.33±26.23 ^b
Triglyceride	84.56±23.01 ^{ab}	94.55±4.34 ^a	67.83±5.42 ^{ab}	56.83±11.27 ^b
HDL-cholesterol	56.93±3.11 ^{ns4)}	54.42±1.88 ^{ns}	56.93±18.57 ^{ns}	64.42±25.88 ^{ns}

¹⁾NC, normal diet; EC, ethanol; EL1, ethanol+OPK2-59 normal powder; EL2, ethanol+OPK2-59 GABA powder.

²⁾Mean±SD.

³⁾Values with different superscripts within rows are different significantly by ANOVA with Duncan's multiple range test at p<0.05.

⁴⁾NS, values within a row are not different significantly by ANOVA with Duncan's multiple range test at p<0.05.

OPK2-59 GABA 파우더 투여로 인해 현저한 차이를 보이며 정상식이(NC)군과 비슷한 수준으로 낮아졌다. HDL-cholesterol은 군 간의 차이를 보이지는 않았으나, 알코올 투여(EC)군에 비해 OPK2-59 normal 파우더 투여(EL1)군, OPK2-59 GABA 파우더 투여(EL2)군에서 높아지는 경향을 보였다.

Fig. 1에서와 같이 각 그룹간의 간의 총콜레스테롤 농도는 군 간의 유의적인 차이는 없었으나, OPK2-59 GABA 파우더 투여로 인해 낮아지는 경향을 보였다. 간 중성지질 농도는 실험군 간의 현저한 차이를 보이며, 알코올 투여(EC)군에 비해 OPK2-59 normal 파우더 투여(EL1), OPK2-59 GABA 파우더 투여(EL2)군이 정상식이섭취(NC)군과 비슷한 수준으로 낮아졌다.

이는 GABA 함량이 높은 배추첨가 식이가 알코올투여 흰

쥐의 지질대사 및 간 기능 효과를 측정한 Cha와 Oh(16)의 연구와 GABA 보강으로 만성 알코올 투여 흰쥐의 지질대사를 측정한 Soh 등(21)의 연구, GABA 함량이 증진된 발아현미를 이용한 알코올 대사 효과를 측정한 Oh 등(22)의 연구에서와 같은 경향이였다.

만성적인 알코올섭취는 세포내 NADH/NAD⁺ 비율을 증가시켜 체내 영양소 대사의 장애를 초래하게 되며, 특히 지방산의 산화가 억제되고 합성이 증가되어 혈청 및 간의 지질 합성이 증가된 것으로 보인다(2,23). 또한 젖산균 OPK2-59 GABA 파우더 투여(EL2)군에서 알코올투여(EC)군에 비해 현저하게 혈청 및 간의 지질농도가 감소된 것으로 보아 지질 대사에 젖산균 GABA가 작용한 것으로 사료된다. 이는 GABA 함량이 높은 쌀 배아 추출물을 흰쥐에 투여한 결과 혈청 및 간의 중성지방의 양을 현저하게 저하시켰다는 보고(2,24)와 일치하였다. 동물에 있어 GABA는 뇌의 혈류를 활발하게 하고 산소 공급량을 증가시키며 뇌세포의 대사 기능을 향진시키는 것으로 알려져 있으며, 임상에서는 뇌졸중, 후유증 및 뇌동맥 경화증 등의 개선 약으로 사용되고 있다(14,25). 따라서 본 실험에서의 효과도 시료 중의 GABA에 의한 영향일 것으로 추정된다.

혈중 및 간의 효소 활성

각 그룹간의 혈중 및 간의 효소 활성은 Table 6과 같다. 혈중 효소 활성 측정결과는 GOT, GPT 수치 모두 알코올 투여(EC)군에 비해 알코올과 젖산균 OPK2-59 GABA 파우더 투여(EL2)군에서 유의적인 차이를 보이며 낮아진 것을 확인할 수 있었다. 또한 간의 효소활성 측정결과 알코올 투여(EC)군에 비해 알코올과 젖산균 OPK2-59 GABA 파우더 투여(EL2)군에서 GOT는 유의적으로 낮아졌고, GPT는 유의적이지는 않지만 감소하는 경향을 보여주었다. 이는 Shon 등(2), Soh 등(21) 및 Oh 등(22)의 연구에서와 비슷한 경향이였다. 만성적 알코올 투여는 MEOS(microsomal ethanol oxidizing system)에 의한 알코올 산화를 증가시킴으로써 O₂·, OH· 및 H₂O₂와 같은 oxygen radical이 생성되어 지질과 산화물을 만들어 결국 간세포의 손상이 생기게 된다(16,26). 간세포에 이상이 생기면 GOT, GPT, γ-GTP가 높아졌으며, 이로 인해 간 손상 정도를 추정할 수 있었다. 따라서 젖산균 OPK2-59 GABA 파우더 투여(EL2)군에서 GOT

Fig. 1. Lipid concentration in liver. Values are mean±SD. Bars with different superscripts are different significantly by ANOVA with Duncan's multiple range test at p<0.05. Bars with ns are not different significantly by ANOVA with Duncan's multiple range test at p<0.05. NC, normal diet; EC, ethanol; EL1, ethanol+OPK2-59 normal powder; EL2, ethanol+OPK2-59 GABA powder.

Table 6. Enzyme activities in serum and liver

Parameters		Groups			
		NC ¹⁾	EC	EL1	EL2
Serum (karmen/mL)	GOT	121.52±3.03 ^{2)a3)}	116.62±5.07 ^{ab}	102.00±3.93 ^{bc}	96.55±11.78 ^c
	GPT	39.02±9.13 ^b	61.55±1.34 ^a	45.65±2.61 ^{ab}	39.65±9.69 ^b
Liver (karmen/g)	GOT	115.24±24.83 ^b	159.62±16.67 ^a	116.59±17.53 ^b	97.00±2.66 ^b
	GPT	84.06±31.13 ^{ns4)}	143.15±49.09 ^{ns}	102.38±19.24 ^{ns}	113.82±32.48 ^{ns}

¹⁾NC, normal diet; EC, ethanol; EL1, ethanol+OPK2-59 normal powder; EL2, ethanol+OPK2-59 GABA powder.

²⁾Mean±SD.

³⁾Values with different superscripts within a row are different significantly by ANOVA with Duncan's multiple range test at p<0.05.

⁴⁾NS, values within a row are not different significantly by ANOVA with Duncan's multiple range test at p<0.05.

Fig. 2. Ethanol concentration in serum. Values are mean±SD. NC, normal diet; EC, ethanol; EL1, ethanol+OPK2-59 normal powder; EL2, ethanol+OPK2-59 GABA powder.

와 GPT가 유의적으로 낮아진 것으로 보아 시료중의 젖산균 OPK2-59 GABA 파우더가 알코올 섭취로 인한 간 손상에 대하여 부분적인 개선 효과를 나타낸 것으로 생각된다.

혈중 ethanol clearance

혈중 에탄올 농도는 알코올을 경구 투여 후 0분, 30분, 60분, 120분, 240분, 360분의 시간별로 농도를 측정된 것으로 각 그룹 간에 유의적인 차이를 보이지는 않았지만 Fig. 2와 같이 젖산균 OPK2-59 normal 파우더 투여군(EL1) 및 젖산균 OPK2-59 GABA 파우더 투여군(EL2)에서 알코올 대사를 촉진하는 경향을 보였다. 이는 김치 젖산균과 GABA가 알코올대사를 촉진하는 효소작용에 크게 기여한 것으로 보인다.

알코올의 경우는 물에 잘 녹아 음주 후에는 위장관에서 흡수되어 혈류를 통해 뇌와 간을 포함한 신체 각 조직에 분포된다. 혈류를 통해 간에 운반된 알코올은 이곳에서 알코올 탈수소효소(ADH)라는 효소에 의해 산화되어 아세트알데히드가 되고, 또 알데히드 탈수소효소(ALDH)에 의해 다시 산화되어 아세트산으로 변한다. 간에서 대사되지 않은 알코올은 혈중에 남아 있다가 숨, 피부 또는 뇨로 배출된다(27).

SOD 활성 조사

간 조직 중 SOD 활성은 Fig. 3과 같이 알코올 투여(EC)군

Fig. 3. SOD activities in liver. Values are mean±SD. Bars with different superscripts are different significantly by ANOVA with Duncan's multiple range test at p<0.05. NC, normal diet; EC, ethanol; EL1, ethanol+OPK2-59 normal powder; EL2, ethanol+OPK2-59 GABA powder.

에 비해 젖산균 OPK2-59 normal 파우더 투여군(EL1) 및 OPK2-59 GABA 파우더 투여군(EL2)에서 유의적으로 높은 SOD 수준을 나타내었다.

활성산소물질(reactive oxygen species: ROS)은 산소의 체내 대사 과정 또는 흡연, 환경오염 등의 외부인자로부터 생성되며 세포내 방어기전은 ROS제거 항산화 효소인 superoxide dismutase(SOD) 등에 의해 수행된다. ROS는 세포가 나이를 먹거나 흡연, 자외선, 환경오염 등에 장기 노출 또는 부적절한 운동 등의 원인에 의해 생성속도가 높아진다고 알려져 있다(28-32). 항산화작용은 여러 가지 생리학적 기능성, 특히 항 노화성, 항 돌연변이성, 항암성, 항 동맥경화성 등과 직접 또는 간접적인 관계를 갖고 있다. 즉 항산화 물질은 항산화 작용을 통해 노화·발암·동맥경화 등의 원인이 되는 과산화물질·유리라디칼을 효과적으로 제거하거나 활성을 소거시키는 역할을 하게 된다. 우리 몸은 만성적인 알코올 섭취 시 유발되는 cytochrome P450 2E1(CYP2E1)의 효소에 의하여 불안정한 산소분자들과 반응성이 강한 유리기가 많이 생성되어, 결국 세포에 유독한 과산화지질을 많이 형성시켜 세포사멸을 초래한다. 반면에 필수 영양분들의 흡수를 억제하여 생체 내 항산화제의 농도가 낮아져, 생체 내 산화와 환원 간에 평형이 깨지게 된다(2).

본 실험결과를 통해 GABA가 알코올섭취로 인해 손상된 간의 체내 유해산소에 의한 산화기전을 억제하는데 도움을

줄 수 있을 것으로 추정되어진다. 또한 Fig. 3에서와 같이 알코올 투여(EC)군에 비해 젓산균 OPK2-59 normal 파우더 투여(EL1)군도 유의적인 차이로 SOD 수준을 증가시켰다. 이는 잘 알려진 것처럼 김치젓산균의 항산화 작용의 기능성을 보여준 것이라 생각된다. 김치는 천연발효식품으로 많은 종류의 미생물들이 이에 관여한다. 특히 젓산균의 종류와 그 작용이 중요하다. 가장 중요한 젓산균은 *Lactobacillus*속과 *Leuconostoc*속 등이며 이들의 증식과 발효 작용 및 대사에 의하여 여러 가지 물질들이 생산된다. 기능성 유기산으로는 lactic acid, citric acid 등이 있으며, 발효기원에 의해 acetylcholine, dextran, bacteriocin, γ -aminobutyric acid 등의 기능성 물질들이 생산되어지고 재료기원의 carotenoids 및 ascorbic acid, phenolics 등의 기능성 물질들도 중요한 작용을 한다(33).

본 연구에서는 김치에서 분리된 GABA 생성능이 우수한 젓산균 *Lactobacillus* sp. OPK2-59를 배양하여 만든 GABA 함유 젓산균 스타터의 알코올 투여 흰 쥐의 간 기능 대사에 미치는 영향을 조사하였다. GABA 함유 김치 젓산균 파우더는 순수 GABA 및 GABA 함유 식물성 소재의 경우에서와 같이 알코올성 간 질환 개선에 있어 상당한 효능이 있는 것으로 조사되었다.

이는 김치 유래의 젓산균 중 GABA 생산능력이 있는 젓산균 GABA 파우더가 알코올성 간 질환 개선 효과가 있음을 보여주는 최초의 연구결과로 향후 다른 효능검증 및 각종 효능에 대한 기초연구를 위한 소재 및 토대를 제공할 것으로 판단된다. 또한 본 실험에서는 김치 젓산균 스타터를 활용한 실험으로, 김치 유래의 젓산균을 이용한 기능성 소재 개발 및 그를 활용한 성인병 예방용 기능성식품 개발 분야에 스타터를 활용, 적용될 수 있는 연구방안 마련에도 도움을 줄 수 있을 것으로 기대되며, 앞으로 스타터 효능검증 및 활용에 대한 더 많은 연구가 이루어져야 할 것으로 생각된다.

요 약

본 연구는 김치에서 분리한 GABA 생성능이 우수한 젓산균을 이용하여 알코올 투여 흰쥐의 간 기능 개선에 미치는 영향을 조사하였다. 실험동물의 체중 및 식이섭취량, 혈청 및 간 지질농도, 간 질환과 관련된 혈청 및 간 효소 활성, 혈중 에탄올 농도, 항산화 효소 활성을 측정된 결과는 다음과 같다. 체중 및 식이섭취량은 각 그룹간의 유의적인 차이를 나타내지 않았으며 각 기관 무게도 군 간의 유의적인 차이를 나타내지 않았으나 정상식이 섭취 군에 비해 알코올 투여 군에서 체중과 식이섭취량이 약간 감소하는 경향을 보였다. 알코올 섭취로 인해 높아진 혈중 총 콜레스테롤 및 중성지질은 젓산균 GABA 파우더투여 군에서 유의적인 차이를 보이며 정상식이 군과 비슷한 수준으로 낮아졌다. 또한

HDL-cholesterol은 군 간의 차이를 보이지는 않았으나, 알코올투여 군에 비해 높아지는 경향을 보였다. 간의 총콜레스테롤 농도는 군 간의 유의적인 차이는 없었으나, 중성지질 농도는 실험군 간의 현저한 차이를 보이며 알코올 투여 군에 비해 젓산균 GABA 파우더 투여 군에서 정상식이 군과 비슷한 수준으로 낮아졌다. 혈중 효소활성 GOT, GPT는 알코올 투여 군에 비해 젓산균 GABA 파우더투여 군에서 유의적인 차이를 보이며 정상수준으로 낮아졌으며, 간 GOT는 젓산균 GABA 파우더투여로 인해 현저한 차이를 보이며 알코올투여 군에 비해 낮아졌다. GPT는 각 그룹 간 유의적인 차이를 보이지 않았다. 혈중 알코올 농도를 시간별(0분, 30분, 60분, 120분, 240분, 360분)로 측정된 결과 그룹간의 유의적인 차이를 나타내지 않았으나 젓산균 파우더투여 군에서 알코올 대사를 촉진하는 경향을 보였다. 각 그룹간의 간 조직 중 SOD 활성은 알코올투여 군에 비해 젓산균 파우더투여 군과 젓산균 GABA 파우더 투여 군에서 유의적으로 높은 SOD 수준을 나타내었다. 본 실험을 통해 김치에서 분리한 젓산균 OPK2-59 GABA 파우더가 혈중 총 콜레스테롤과 중성지질, 간의 중성지질 농도를 유의적으로 감소시키고, 혈중 GOT, GPT, 간 GOT 효소활성 감소, 알코올대사 촉진, 항산화 효소 활성을 상승시키는 효과를 확인하였다. 이는 김치유래의 젓산균 OPK2-59 GABA 파우더가 알코올투여 흰쥐의 지방대사 및 간 기능을 개선시키는데 기여할 수 있음을 보여주는 것으로, 향후 이러한 효능에 대한 심도 있는 기초연구와 더불어 다른 효능에 대한 연구가 기대된다. 또한 본 젓산균을 김치발효용 스타터로 활용하여 기능성식품을 개발하게 된다면 우수한 전통생물자원을 이용하여 국민건강 증진에 크게 기여할 수 있을 것으로 사료된다.

감사의 글

본 논문은 한국식품연구원 기본연구사업 지원 및 2009학년도 우석대학교 교내학술연구비 지원에 의하여 연구되었으며 지원에 감사드립니다.

문 헌

1. Oh SH, Cha YS, Choi DS. 1999. Effects *Angelica gigas* Nakai diet on lipid metabolism, alcohol metabolism and liver function of rats administered with chronic ethanol. *J Korean Soc Agric Chem Biotechnol* 42: 29-33.
2. Shon HS, Jung BM, Cha YS. 2001. Effects of *Ixeris sonchifolia* H. diet on lipid metabolism and liver function of rats administered with ethanol. *Korean J Nutr* 34: 493-498.
3. French KT. 1989. Biochemical basis for alcohol-induced liver injury. *Clin Biochem* 22: 41-49.
4. Oh SH. 2007. Effects and applications of germinated brown rice with enhanced levels of GABA. *Food Sci Indus* 40: 41-46.
5. Kang TJ, Oh SH. 2007. GABA production and use. *BRIC BioWave* 9: 1-18.

6. Kim JH, Kwon MJ, Lee SY, Ryu JD, Moon GS, Cheigh HS, Song YO. 2002. The effect of *Kimchi* intake on production of free radicals and anti-oxidative enzyme activities in the liver of sam. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 31: 109-116.
7. Park KY. 2000. Nutrition, function and anticancer effect of *Kimchi*. *Sci Technol Kimchi* 6: 124-131.
8. Choi HS. 2005. Physiological components and health function of *Kimchi*. *Food Preserv Proces Indus* 4: 2-10.
9. Han HL. 1991. The ecology of *Kimchi* lactic acid bacteria. *Korean J Microbiol* 7: 68-75.
10. Cho YR, Chang JY, Chang HC. 2007. Production of γ -aminobutyric acid (GABA) by *Lactobacillus buchneri* isolated from *Kimchi* and its neuroprotective effect on neuronal cells. *J Microbiol Biotechnol* 17: 104-109.
11. Park KB, Oh SH. 2007. Cloning, sequencing and expression of a novel glutamate decarboxylase gene from a newly isolated lactic acid bacterium, *Lactobacillus brevis* OPK-3. *Bioresource Technol* 98: 312-319.
12. Seok JH, Park KB, Kim YH, Bae MO, Lee MK, Oh SH. 2008. Production and characterization of *Kimchi* with enhanced levels of γ -aminobutyric acid. *Food Sci Biotechnol* 17: 940-946.
13. Folch J, Lees M, Sloane Stanley GH. 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J Biol Chem* 226: 497-509.
14. Bernt E, Gutmann I. 1974. Ethanol determination with alcohol dehydrogenase and NAD. In *Methods of enzymatic analysis*. Bergmeyer HV, ed. Chemic Int., Deerfield Beach, FL, USA. Vol 3, p 1499-1502.
15. Ayako OM, Irwin F. 2001. Subcellular distribution of superoxide dismutases (SOD) in rat liver. *J Biol Chem* 276: 38388-38393.
16. Cha YS, Oh SH. 2000. Investigation of γ -aminobutyric acid in Chinese cabbages and effects of the cabbage diets on lipid metabolism and liver function of rats administered with ethanol. *J Korean Soc Food Sci Nut* 29: 500-505.
17. Mezey E. 1980. Alcoholics liver disease: roles of alcohol and malnutrition. *Am J Clin Nutr* 33: 2709-2718.
18. Scheig R. 1970. Effects of ethanol on the liver. *Am J Clin Nut* 23: 467-473.
19. Lieber CS. 1994. Alcohol and the liver. *Gastro* 106: 1085-1180.
20. Pikaar NA, Wdedl M, Vander Beek EJ, Van Dokkum W, Kempen HJ, Kluft C, Ockhuixen T, Hermus RJ. 1987. Effects of moderate alcohol consumption on platelet aggregation fibrinolysis and blood lipids. *Metabolism* 36: 538-548.
21. Soh JR, Yamamoto TT, Cha YS. 2003. The effects of carnitine and/or gamma-aminobutyric acid (GABA) supplementation on the recovery of chronic ethanol administered rats. *J Food Sci Nutr* 8: 119-123.
22. Oh SH, Soh JR, Cha YS. 2003. Germinated brown rice extract shows a nutraceutical effect in the recovery of chronic alcohol-related symptoms. *J Med Food* 6: 115-121.
23. Cha YS. 1993. Cellular and enzymatic basis for carnitine-mediated attenuation of ethanol metabolism. *PhD Dissertation*. The University of Tennessee, Knoxville, USA.
24. Nakamura T, Matsubaysahi T, Kamachi K, Hasegawa T, Ando Y, Omori M. 2000. γ -Aminobutyric (GABA)-rich chlorella depresses the elevation of blood pressure in spontaneously hypertensive rats (SHR). *Nippon Nogeikagaku Kaishiin Japanese* 74: 907-909.
25. Krosggaard-Larsen P. 1989. GABA receptors. In *Receptor pharmacology function*. Williams M, Glennon RA, Timmermans PMWM, eds. Marcel Dekker, Inc., New York, USA. p 349-383.
26. Lieber CS. 1991. Hepatic, metabolic and toxic effects of ethanol. *Alcohol Clin Exp Res* 15: 573-592.
27. Goh KH. 1998. *Alcohol commonsense encyclopedia*. Korea Alcohol Liquor Indus Assoc. p 1-288.
28. Ames BN, Shigeaga MK, Hagen TM. 1993. Oxidants, and the degenerative diseases of aging. *Proc Natl Acad Sci USA* 90: 7915-7922.
29. Bergsten P, Amitai G, Kehrl J, Levine M. 1990. Ascorbic acid content of humal B and T lymphocytes and monocytes. *Ann NYA cad Sci* 587: 275-277.
30. Epe B. 1991. Genotoxicity of singlet oxygen. *Chem Biol Interact* 80: 239-260.
31. Fanton JC, Ward PA. 1982. Role of oxygen-derived free radicals and metabolites in leukocytes-dependent inflammatory reactions. *Nm J Pathol* 107: 397-418.
32. Pryor WA, Stone K. 1993. Oxidants in cigarette smoke: radicals, hydrogen peroxide, peroxyxynitrate, and peroxyxynitrite. *Ann NYA Cad Sci* 686: 12-18.
33. Park KY, Cheigh HS. 2000. Antimutagenic and anticancer effects of lactic acid bacteria isolated from *Kimchi*. *Bioindustry News* 13: 11-17.

(2009년 7월 27일 접수; 2009년 9월 12일 채택)