

김치에서 분리한 유산균의 항고혈압 활성

유미희^{1,2} · 임효권^{1,3} · 임남경^{1,2} · 황은영^{1,2} · 최준혁^{1,2} · 이은주⁴ · 김종부⁴ · 이인선^{1,2} · 서화정^{1,5*}

¹계명대학교 식품가공학 전공, ²계명대학교 전통미생물자원개발 및 산업화연구(TMR)센터,
³대구테크노파크 바이오산업지원센터, ⁴(주) 엔유씨전자 바이오 연구소, ⁵대구경북과학기술연구원

Anti-hypertensive Activities of *Lactobacillus* Isolated from Kimchi

Mi-Hee Yu^{1,2}, Hyo-Gwon Im^{1,3}, Nam-Kyung Im^{1,2}, Eun-Young Hwang^{1,2}, Jun-Hyeok Choi^{1,2},
Eun-Ju Lee⁴, Jong-Boo Kim⁴, In-Seon Lee^{1,2}, and Hwa-Jeong Seo^{1,5*}

¹Department of Food Science and Technology, Keimyung University

²The Center for Traditional Microorganism Resources, Keimyung University

³Daegu Technopark Bio Industry Center, ⁴Bio Research Institute, NUC Electronics Co. Ltd.

⁵Daegu Gyeongbuk Institute of Science & Technology

Abstract This study was conducted to evaluate the anti-hypertensive effect of *Lactobacillus* sp. isolated from Kimchi by examining its effects on renal angiotensin-converting enzyme (ACE) inhibitory activity, lipid components and blood pressure using the spontaneously hypertensive rat (SHR) system. Most *Lactobacillus* sp. extracts (lysozyme, sonication and ethyl acetate extracts) showed higher capacities for the inhibition of ACE activity than those of cultured media. Particularly, LG 7, 8 and 42 of *Lactobacillus* sp. showed the strongest inhibitory activity among the *Lactobacillus* sp. extracts. The concentrations of total cholesterol and triglycerides in the serum were lower in the *Lactobacillus* sp. administration groups than in the control group, but these differences were not significant. The HDL-cholesterol concentrations of the LG 42 administration groups (IX, X) were significantly higher than that of the control group. At 4 weeks, the systolic blood pressure (SBP) in the LG 42 *Lactobacillus* sp. (1×10^9 cfu/mL) group (XI) was about 27% lower than that of the control group (V). No adverse effects were observed on the liver and there was no difference in the aspartate aminotransferase (AST) and alanine aminotransferase (ALT) values among groups. The results of this study suggest that long term consumption of LG 42 *Lactobacillus* sp. may be beneficial to the prevention of high blood pressure.

Key words: *Lactobacillus*, Kimchi, ACE inhibitory activity, blood pressure, hypertension

서 론

고혈압은 모든 순환기계 질환 중 발생빈도가 가장 높은 질환으로 비교적 증상이 없는 편이지만 뇌졸중, 심부전, 관상동맥질환 등과 치명적인 합병증으로 나타날 경우에는 치사율이 매우 높은 만성 퇴행성 질환으로, 발생기작은 확실하게 밝혀져 있지 않지만 유전적 요인과 음주, 흡연, 스트레스, 과다한 식염 섭취, 비만, 나이 등의 환경적 요인이 원인으로 알려져 있다(1,2).

특히, 원인불명으로 알려져 있는 본태성 고혈압이 전체 고혈압의 80%에 해당하고 고혈압 치료에는 꾸준한 약물치료가 요구되기 때문에 의료비 부담뿐만 아니라 약물부작용을 줄이고자 항고혈압 효과가 있는 천연물에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다.

고혈압을 개선하기 위한 목적으로 enalapril, captopril, ramipril, risinopril 등의 ACE 저해제가 개발되어 상용되고 있으나 이러한 약제의 사용으로 인한 부작용으로 미각 이상, 백혈구 감소, 혈관

부종, 간기능 이상 등이 보고되었다(3). 따라서 천연물질로부터 항고혈압 효과를 가지는 물질 탐색에 대한 요구가 계속 되었으며, 대두 및 어유 단백질의 가수 분해물(4), 배에서 추출한 펩틴(5), 발아현미 추출물(6), 메밀 추출물(7), 천마 추출물(8), 제주 자생 녹조류와 갈조류의 항 고혈압 효과(9), 우유 단백질 peptide의 혈압조절효과(10)의 예가 있다.

최근 각국의 전통 발효식품에는 다양한 기능성이 있다는 학계의 결과가 발표되면서 국내외적으로 많은 관심을 불러일으키고 있으며, 세계적인 건강기능식품시장에 내세울만한 우리나라의 전통식품으로는 김치, 된장, 고추장, 청국장 등이 있다(11). 특히 우리 고유의 발효식품은 풍부한 유산균을 내포하고 있어 생활 습관병(고혈압, 비만, 당뇨 등의 예방, 항암 효과, 소화, 강장 효과 및 뇌기능 활성화 등의 과학적 우수성이 지속적으로 밝혀지고 있다(12). 유산균의 건강증진효과에 대해서는 장운동 조절, 유산균에 의한 장내 균총의 균형유지에 의한 소화기 건강(13), 병원성 세균의 억제, 소화 흡수의 촉진, 변비, 설사 등의 효과 이외에 영양생리적인 건강 증진작용 혹은 항암기능(14) 등과 같은 질병 억제작용에 대한 과학적인 연구에 기초를 두고 있다. 최근에는 혈중의 콜레스테롤을 저하효과(15)에 관해서도 연구결과가 보고되고 있다.

발효식품에 관여하는 유산균은 고부가가치를 창출할 수 있는 자원으로써 새롭게 인식되고 있으며 인간의 웰빙 및 건강과 밀

*Corresponding author: Hwa-Jeong Seo, Daegu Gyeongbuk Institute of Science & Technology, Daegu 700-070, Korea
Tel: 82-53-430-8617
Fax: 82-53-431-8605
E-mail: shj@dgist.ac.kr
Received April 16, 2009; revised May 15, 2009;
accepted June 4, 2009

접한 관계를 가지고 있다. 하지만 우리나라의 경우 해방이전에 다소 연구되었던 것이 6.25전쟁 전후에는 부진하다가 근래와 와서 다소 활기를 찾고 있지만 이웃나라인 일본이나 여러 선진국들에 비하여 상당히 늦은 편이며, 일본에서 기술제휴로 1971년에 제품이 처음 판매됨으로써 유산균에 대한 중요성이 국민에게 인식되기 시작하였다(11). 그러나 대부분의 유산균에 대한 연구는 외국에서 유래한 유제품 기원의 유산균에서 시작되었고, 우리의 전통 발효식품 유산균인 김치, 청국장, 된장 등에 함유된 토착 유산균에 대한 연구는 그렇게 깊이 연구되지 않았다. 하지만 3세기경 중국의 삼국지 '위지동이전' 고구려편에 '고구려인은 술빚기와 장담그기, 젓갈 등의 발효 식품을 매우 잘한다.'라는 구절이 있는 것으로 보아 일찍부터 우수한 발효기술을 인정받았던 것으로 보인다. 이러한 우수성을 바탕으로 다양한 기능성 제품들이 시판되고 있으나, 아직까지 많은 발효식품들이 전통적인 방법으로 제조되고 있고 그 품질관리도 전통적인 방법에 의존하고 있으며, 효능에 대한 과학적인 정보 또한 미흡한 실정이다(16). 이에 (주)엔유씨 전자의 축적된 발효기술의 노하우인 요구르트 등 발효식품 및 발효시스템 제조기 개발을 바탕으로 유산균 균주의 스크리닝을 통해 혈압에 대한 효능검증을 위한 연구를 실시하였다. 본 연구에서는 사람의 본태성 고혈압 모델로 활용되는 spontaneously hypertension rat(SHR)을 이용하여 유전적으로 혈압이 상승하는 기간을 포함하는 생후 6주부터 12주까지 유산균 투여에 의한 혈압 저하효과, 간독성 여부 등을 알아보았다.

재료 및 방법

유산균의 제조-사용균주 및 배양

본 연구에 사용한 유산균은 우석대 오석홍 교수로부터 제공 받았으며, 사용된 균주는 Table 1에 나타내었다. *Lactobacillus* sp.인 LG 7, LG 8, LG 9, LG 42, LM 14 그리고 LM 18 등은 우석대에서 분리한 균으로 임의로 균주명을 적용한 것이다. 배양은 MRS(Gibco, Rockville, MD, USA) 배지를 사용하여 37°C에서 24시간 동안 정치 배양하여 사용하였으며, 모든 유산균은 3회 계대 배양한 후 실험에 사용하였다.

분리된 유산균으로부터 기능성 물질 추출

기능성 물질의 추출법은 유산균체와 유산균 배양물에서 분리하였고, 초음파 분쇄법, lysozyme 처리법, 용매(ethyl acetate)추출법 등을 이용하였다.

초음파 파쇄법

MRS broth에서 24시간 동안 배양한 유산균을 20 mM phosphate buffer(pH 7.2)로 2회 세척한 후 4°C에서 1분간 sonication(U200S control, Ika, Staufen, Germany)한 다음 이를 급속 동결 후 동결건조하여 사용하였다.

Table 1. Characteristics of *Lactobacillus* sp.

Strain	Source	Medium
<i>Lactobacillus plantarum</i>	KCTC ¹⁾	MRS broth
LG 7	Kimchi	MRS broth
LG 8	Kimchi	MRS broth
LG 9	Kimchi	MRS broth
LG 42	Kimchi	MRS broth
LM 14	Kimchi	MRS broth
LM 18	Kimchi	MRS broth

¹⁾Korean collection for type cultures

조하여 -20°C에 보관하면서 필요에 따라 소량의 50 mM sodium borate buffer에 녹여 1차 screening을 위한 실험재료로 사용하였다.

Lysozyme 처리법

MRS broth에서 24시간 동안 배양한 유산균을 20 mM phosphate buffer(pH 7.2)로 2회 세척한 후 lysozyme(0.1 mg/mL)이 포함된 20 mM phosphate buffer(pH 7.2)를 첨가하여 37°C에서 24시간 반응시킨 후 이를 동결건조하여 -20°C에 보관하면서 필요에 따라 소량의 50 mM sodium borate buffer에 녹여 실험재료로 사용하였다.

용매(ethyl acetate)추출법

MRS broth에서 24시간 동안 배양한 유산균의 배양물에 동량의 ethyl acetate를 첨가하여 24시간 동안 진탕하여 그 유용성분을 추출하고 ethyl acetate 층을 분획하여 진공농축기로 건조시켜 -20°C에 보관하면서 필요에 따라 소량의 50 mM sodium borate buffer에 녹여 실험재료로 사용하였다.

항고혈압 실험을 위한 효소액 및 기질의 제조

효소액은 ACE(Sigma, St. Louis, MO, USA, 2 Unit)를 50 mM sodium borate buffer(pH 8.3)로 현탁하여 사용하였으며, 그 활성은 60 mU/mL로 하여 사용하였다. 기질은 300 mM NaCl을 함유한 50 mM sodium borate buffer를 이용하여 12.5 mM hippuryl-histidyl-leucine(Sigma) 용액을 제조하여 사용하였다.

ACE 저해활성

Angiotensin-converting enzyme(ACE) 저해활성은 Cushman과 Cheung(17)의 방법을 변형하여 다음의 방법으로 측정하였다. 각 농도별 시료 50 µL에 ACE 효소액(60 mU/mL) 100 µL 및 기질 hippuryl-histidyl-leucine(12.5 mM) 100 µL를 가하여 37°C에서 30분간 반응시킨 후 1 N HCl 250 µL를 가하여 반응을 정지시켰다. 공시험(con.)은 시료 대신 증류수를 50 µL를 가하였으며, 대조구(blank)는 1N HCl 250 µL를 가하여 반응을 정지시킨 다음 증류수 50 µL를 가하였다. 여기에 ethyl acetate 1 mL를 가하여 30분간 교반한 후, 3,000 rpm에서 10분간 원심분리시켜 상층액 1 mL를 취하였다. 이 상층액을 90°C에서 2시간 완전히 건조시킨 다음 증류수 2 mL를 가하여 30분간 교반하여 용해시키고 228 nm에서 흡광도를 측정한 후 다음식에 의해서 ACE 활성 저해율을 나타내었다.

$$\text{저해율(\%)} = \frac{(C - C_b) - (S - S_b)}{C - C_b} \times 100$$

C: 시료 대신 증류수를 첨가한 반응액의 흡광도

S: 시료 첨가한 반응액의 흡광도

C_b: 반응초기에 1 M HCl을 첨가하여 반응 정지시킨 C 반응액의 흡광도

S_b: 반응초기에 1 M HCl을 첨가하여 반응 정지시킨 S 반응액의 흡광도

In vivo 상에서의 항고혈압 실험

실험동물은 본태성 고혈압 쥐(SHR)로 실험 개시일 기준으로 생후 6-7주령, 평균체중 200 g에 달하는 수컷 42마리를 중앙실험동물(Seoul, Korea)에서 공급받았으며, 약 10일간의 예비 사육기간을 거친 뒤 실험군당 6마리씩 배치하여 4주간 사육하였다. 사육실의 환경은 온도 23±2°C, 습도 55±3%, 명암 주기 12시간으로 유지하였으며, 음용수와 고형 쥐 사료를 자유로이 공급하였다. 체중은 1

Table 2. Experimental design of animals

Groups	Animals & Diet
I	¹⁾ WKY+saline
II	WKY+LG 7 <i>Lactobacillus</i> (1×10^9 cfu/mL)
III	WKY+LG 8 <i>Lactobacillus</i> (1×10^9 cfu/mL)
IV	WKY+LG 42 <i>Lactobacillus</i> (1×10^9 cfu/mL)
V	²⁾ SHR+saline
VI	SHR+LG 7 <i>Lactobacillus</i> (1×10^7 cfu/mL)
VII	SHR+LG 7 <i>Lactobacillus</i> (1×10^9 cfu/mL)
VIII	SHR+LG 8 <i>Lactobacillus</i> (1×10^7 cfu/mL)
IX	SHR+LG 8 <i>Lactobacillus</i> (1×10^9 cfu/mL)
X	SHR+LG 42 <i>Lactobacillus</i> (1×10^7 cfu/mL)
XI	SHR+LG 42 <i>Lactobacillus</i> (1×10^9 cfu/mL)

¹⁾WKY: Wistar Kyoto rats²⁾SHR: Spontaneously hypertensive rats

주에 한 번 측정하였으며, 군별 유산균 시료의 투여는 매일 같은 시간에 경구 투여하였다. 실험군은 실험동물 6마리씩을 한 군으로 실험군을 분류하여 난괴법(randomized complete block design)으로 배치하였으며, 수축기 혈압이 150 mmHg 이상인 개체를 고혈압 모델동물로 구분하고 정상대조군은 SHR의 원계통인 Wistar Kyoto (WKY) 랫드를 사용하여 Table 2와 같이 분류하였다.

혈압 측정의 오차범위를 줄이기 위해 실험쥐를 혈압측정기의 플라스틱 고정 장치에 매일 30분씩 적응시켰으며, 혈압 측정 시 충분한 혈관 확장을 위해 test chamber를 약 30°C 정도로 데워서 사용하였다. 혈압 측정은 실험동물의 꼬리 동맥에서 II TC NIBP Sensors를 이용하여 간접적으로 혈압수치를 데이터화하고 수축기, 이완기 혈압을 혈압측정기(Indirect Blood Pressure Analyzer, 3R229 12 channel rat system, Life Science, St. Hopkinton, MA, USA)로 일주일에 한 번 측정하였다.

혈액은 4주간의 실험식이 급여 후 12시간 절식시키고 ether로 마취시킨 후 채취하였다. Heparin 처리가 된 주사기로 복부 대동맥에서 혈액을 채취한 후 실온에서 30분간 방치하고 4°C, 3,000 rpm에서 20분간 원심분리하여 혈장을 분리한 후 각 성분분석에 사용하였다. 채혈 후 간, 신장 및 비장을 적출하고, 즉시 생리식염수로 혈액을 제거한 다음 각각의 무게를 측정하고, 체중 100 g당 장기무게로 환산하였다.

Table 3. Recovery yields of various extracts from *Lactobacillus* sp.

Extract method	Strain (mg/mL)						
	LP ¹⁾	LG 7	LG 8	LG 9	LG 42	LM 14	LM 18
Cultured medium	117	137	124	108	150	111	120
Sonication extract	42	56	48	44	38	40	41
Lysozyme extract	43	54	46	41	34	38	34
Solvent extract	22	27	29	24	21	23	22

¹⁾*Lactobacillus plantarum*

분리한 혈청은 자동생화학분석기(KONELAB 20XT, Vantaa, Finland)를 이용하여 ALT(alanine aminotransferase), AST(aspartate aminotransferase), 총 콜레스테롤(total cholesterol), HDL-cholesterol, 중성지방(triglyceride)을 측정하였다.

모든 실험결과는 mean±SD로 표시하고, SAS program을 이용하여 분산 분석한 후 유의차가 있는 항목에 대해서는 Duncan's multiple range test로 $p < 0.05$ 의 수준에서 통계학적 유의성을 검정하였다.

결과 및 고찰

유산균에서 추출한 기능성 물질의 수율

분리한 유산균을 각각의 추출법을 이용하여 기능성 물질을 추출한 결과 그 수율은 Table 3과 같으며, 배양물을 제외한 추출물 중 가장 수율이 좋은 것은 sonication법으로 나타났으며, 용매 추출한 것이 가장 낮은 수율을 가졌다.

유산균에서 추출한 기능성 물질의 ACE 억제효과

혈압 상승의 중요한 기전인 renin-angiotensin system(RAS)에 있어 중요한 효소인 angiotensin-converting enzyme(ACE)은 angiotensin I을 angiotensin II로 전환하는 효소로서, 전환된 angiotensin II가 angiotensin II-type 1 receptor에 작용하여 혈관을 수축시키고 알도스테론의 분비를 증가시켜 혈압을 상승시킨다고 알려져 있다(18).

ACE 억제 실험은 4가지 방법으로 추출한 시료를 이용하여 실험하였으며, 그 결과는 Fig. 1과 같다. 전체적으로 4가지 방법

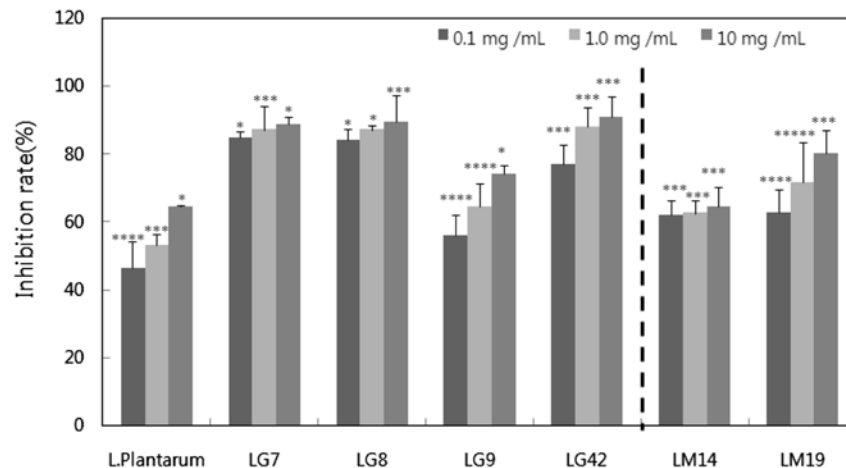


Fig. 1. Inhibitory effect of *Lactobacillus* metabolite (lysozyme extract) on the ACE. Data are expressed as mean±SD (n=3). *: $p < 0.0005$, **: $p < 0.001$, ***: $p < 0.005$, ****: $p < 0.01$, *****: $p < 0.05$ (t-test).

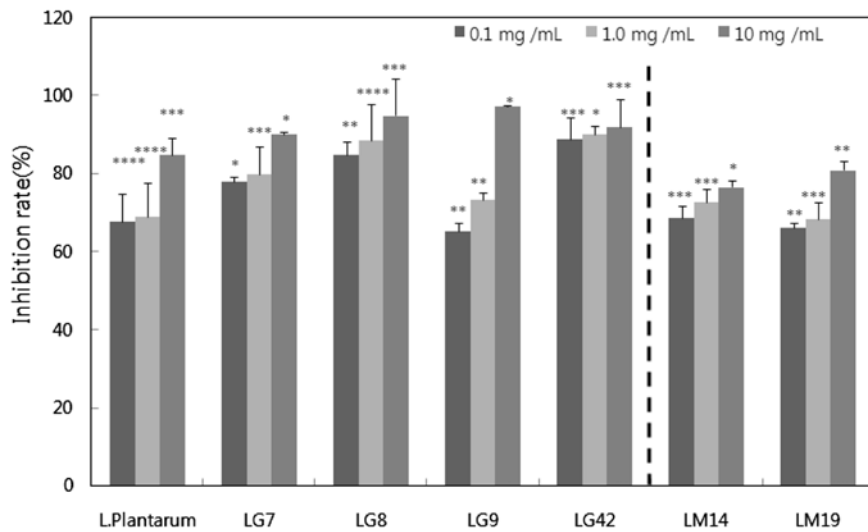


Fig. 2. Inhibitory effect of *Lactobacillus* metabolite (sonication extract) on the ACE. Data are expressed as mean±SD (n=3). *: $p < 0.0005$, **: $p < 0.001$, ***: $p < 0.005$, ****: $p < 0.01$, *****: $p < 0.05$ (t-test).

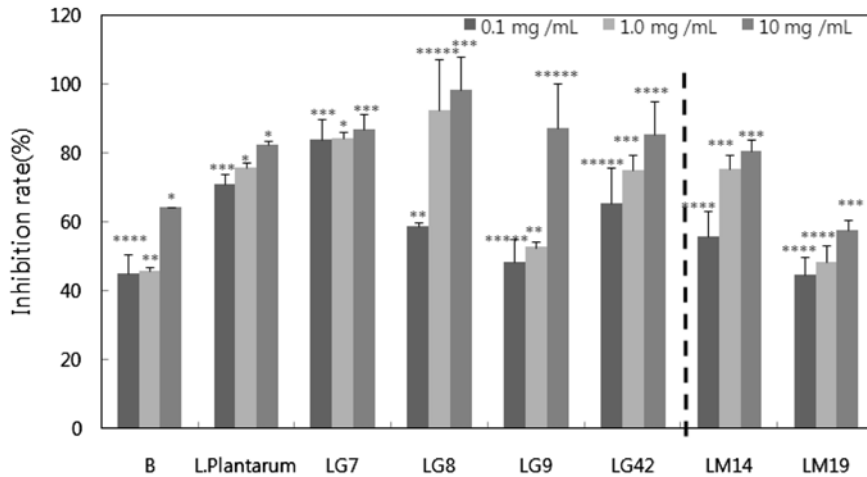


Fig. 3. Inhibitory effect of *Lactobacillus* metabolite (ethyl acetate extract) on the ACE. Data are expressed as mean±SD (n=3). *: $p < 0.0005$, **: $p < 0.001$, ***: $p < 0.005$, ****: $p < 0.01$, *****: $p < 0.05$ (t-test).

이 모두 효과를 보였지만, 균체를 이용하여 추출한 추출물에서 공시균주에 비해 ACE 억제효과가 높은 것으로 확인되었다. 이는 ACE를 저해하는 기능성 물질이 대사과정을 통해 배양물로 분비되는 것 보다는 균체 내에서 존재하는 것으로 생각된다.

Lysozyme 분해방법으로 제조된 시료들은 10 mg/mL 농도에서 대부분 60% 이상의 효과를 보였으며, 그 중에서 LG 7, 8, 42의 경우는 약 90%의 매우 높은 ACE 억제효과를 나타내었다. Sonication 방법으로 제조된 시료들은 10 mg/mL 농도에서 75% 이상의 효과를 보여 4가지 추출물 중 가장 높은 효과를 보였으며, 특히 LG 8은 95%의 가장 높은 ACE 억제효과를 보였다. 배양물에서 추출한 시료들은 40% 이상의 효과는 보였으나, 공시균주에 비해 ACE 억제효과는 낮게 측정되었다. 균체 추출시료 중 LG 7, 8, 42가 전반적으로 높은 ACE 억제효과를 나타내어 이들의 균체를 사용하여 동물실험을 실시하였다.

유산균에서 추출한 기능성 물질의 본태성 고혈압쥐(SHR)에서의 혈압 강화효과

7-8주령의 SHR에 4주간 유산균 시료(LG 7, 8, 42)를 경구 투

여한 결과, 유산균 투여군은 8군을 제외하면 대조군(V)과 비교해서 유의적인 차이를 나타내지 않았다(Table 4). WKY 대조군(I)이 4주간 81 g 정도의 체중 증가를 보인 반면, SHR 대조군(V)은 52 g 정도의 체중 증가를 보여 정상혈압 쥐에 비해 고혈압 쥐의 체중 증가가 낮은 것으로 나타났다. 이는 생체내 Na과 수분량이 증가 되면 교감신경과 ADH-renin-angiotensin계의 활성화로 혈관저항이 높아져 혈압이 상승하고, 이러한 압력부담으로 혈관과 근접조직에 물리적인 변형이 초래되어 에너지소모가 증가하므로 SHR의 경우 WKY와 같은 양의 식이를 섭취하더라도 이러한 현상에 대한 적응력이 떨어져 체중의 증가가 낮은 것으로 알려져 있다(19-21).

실험 종료 후 체중대비 간, 신장, 비장의 무게는 Table 5에 나타난 바와 같이 유산균 투여군(X, XI)은 대조군(V)과 유의적인 차이가 없었다. 따라서 유산균의 장기투여가 고혈압 쥐의 체중 및 장기무게에 유의적인 영향을 주지 않는다는 것을 알 수 있었다.

혈장 내 지질수준

지질대사 장애에 의한 콜레스테롤 및 중성지질의 증가는 고혈

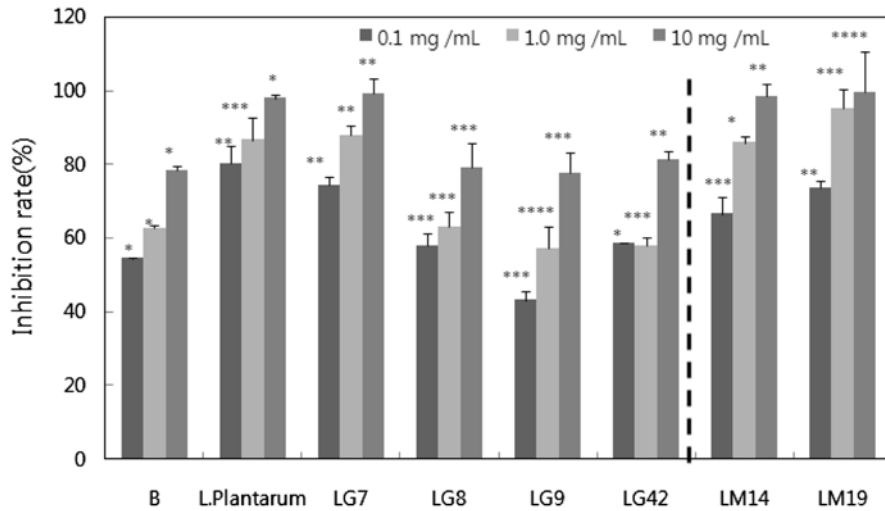


Fig. 4. Inhibitory effect of *Lactobacillus* metabolite (cultured broth) on the ACE. Data are expressed as mean±SD (n=3). *: $p < 0.0005$, **: $p < 0.001$, ***: $p < 0.005$, ****: $p < 0.01$, *****: $p < 0.05$ (t-test).

압을 비롯한 당뇨병 및 열량 과잉섭취, 간 질환, 흡연, 알콜 중독, 운동 부족 등에 의해 발생되고 심장순환기계 질환과 밀접한 관련이 있는 것으로 알려져 있다(8). 혈청 중 총 콜레스테롤 농도와 중성지질 농도는 SHR 대조군(V)에 비해 유산균 투여군(X, XI)에서 약간 감소하는 경향을 보였으나 유의적인 차는 아니었다(Table 6). HDL 콜레스테롤 농도의 경우, SHR 대조군에 비해 유산균 투여군에서 약간씩 증가하는 경향을 보였으며, 특히 저농도의 LG 42를 투여한 실험군(X)에서 HDL 콜레스테롤이 유의적으로 증가하는 것을 알 수 있었다. 따라서 SHR에 LG 42 유산균을 섭취시킴으로서 총 콜레스테롤과 중성지질의 농도는 감소하고, HDL 콜레스테롤의 농도는 증가하는 것으로 나타났다. 이는 김치 내 유산균이 포화지방산이나 콜레스테롤이 많이 함유된 지방을 섭취한 동물의 혈액 내 콜레스테롤 함량을 낮추었다는 보고와도 일치하는 결과이며(22), 유산균을 섭취하면 소장에서 지방 흡수를 돕는 담즙산의 기능이 약화되고, 이로 인해 지방이 덜 흡수돼 결과적으로 비만이 예방된다는 보고와도 관계가 있다(23).

Table 4. Average body weight gain, initial body weight and final body weight of rats fed *Lactobacillus* for 4 weeks

Groups ¹⁾	Body weight gain (g/4 weeks)	Initial body weight (g)	Final body weight (g)
I	81.67±6.12 ^{2)a}	217.17±8.71 ^{bc}	298.83±7.74 ^a
II	79.83±3.25 ^{ab}	214.50±2.85 ^{bcd}	294.33±3.24 ^a
III	71.83±14.33 ^{ab}	224.00±7.98 ^{ab}	295.83±13.36 ^a
IV	67.00±12.43 ^{bcd}	233.00±4.81 ^a	300.00±11.66 ^a
V	52.67±9.43 ^e	225.17±8.92 ^{ab}	277.83±11.10 ^b
VI	54.67±4.98 ^{de}	207.50±12.02 ^{cd}	262.17±12.35 ^c
VII	56.17±6.17 ^{de}	214.83±8.18 ^{bcd}	271.00±12.29 ^{bc}
VIII	69.17±22.96 ^{abc}	199.50±29.24 ^d	268.67±11.22 ^{bc}
IX	52.20±5.40 ^e	212.67±4.03 ^{bcd}	264.40±5.79 ^c
X	57.40±4.43 ^{de}	248.83±6.52 ^{abc}	278.40±5.21 ^b
XI	54.17±5.85 ^{de}	210.17±9.56 ^{bcd}	264.33±9.29 ^c

¹⁾The same as Table 2.

²⁾Values are expressed as mean±SD.

Different superscripts in the same column indicate significant differences between groups at $p < 0.05$ by Duncan's multiple comparison test.

혈장 내 AST 및 ALT 활성

AST와 ALT는 생체 내 아미노산을 형성하는 역할을 하는 효소로서 여러 장기세포에 존재하지만 그 중 간에 가장 많은 양이 존재하며, 약물이나 외부적 스트레스에 의해 간 조직이 손상을 받으면 혈액 중 이들 효소들의 활성이 증가하게 된다. 따라서 혈중 AST와 ALT의 활성 측정은 간 기능을 살펴보는 하나의 지표가 된다(24). 혈장 중 AST, ALT의 활성을 측정한 결과는 Table 7과 같다. AST의 활성은 SHR 대조군과 유의적인 차이가 없었으나, AST의 경우 SHR 대조군에 비해 LG 42 유산균 저농도 투여군(X)에서 약간 높게 나타났다. LG 42 고농도 투여군(XI)의 경우 대조군과 유의적인 차이가 없는 것을 감안한다면 LG 42 저농도 투여군은 시료의 독성으로 인한 AST 활성의 증가가 아닌 혈압 측정에 따른 스트레스 등의 다른 원인에 의한 AST 활성의 증가가 나타난 것으로 생각된다. 따라서 유산균의 장기 투여에 따른 단독성 유발 문제는 그다지 높지 않을 것으로 사료된다.

수축기 혈압(SBP)

SHR은 생후 7주부터 혈압이 상승하여 13주령이 되면 수축기 혈압이 200 mmHg 이상을 유지하는 백서로 혈압 증가의 원인이 불분명하여 사람의 본태성 고혈압의 기전 연구에 많이 활용되어 왔다(25). 이런 특성을 이용하여 생후 8주령 된 SHR에 4주 동안 각각의 유산균을 농도별로 투여하고 생후 약 12주령이 되었을 때 측정된 SHR의 기준 수축기 혈압은 약 175 mmHg이었다(Fig. 5). 유산균 투여 후 1주째의 수축기혈압은 177-191 mmHg로 모든 실험군에서 약간 증가한 것으로 나타났다. 실험 2주째의 수축기혈압은 V, VI, VII, IX군에서는 다소 증가하였지만, LG 8 저농도 투여군(VIII)과 LG 42 투여군(X, XI)에서는 1주째의 수축기혈압과 비교해 볼 때 거의 비슷하거나, 약간 감소한 것으로 나타났다. 실험 3주째에 접어들면서 LG 7 고농도 투여군(VII)을 제외한 모든 군에서 SBP가 감소되었는데 이는 실험동물이 혈압측정과 같은 스트레스 환경에 보다 안정되게 적응하기 시작한 증거라 사료된다. 실험 4주째에는 3주에 측정된 혈압에 비해 LG 7 투여군(VI, VII)을 제외한 유산균 투여군의 경우 10-25 mmHg 정도 혈압이 감소하였다. 유산균 투여 후 4주째의 최종 혈압을 비교한 결과, LG 42를 투여함에 따라 기준혈압에 비해 농도 의존적(1×10^7 , 1×10^9 cfu/mL)으로 각각 12, 27% 감소하였다. 결과적

Table 5. The weight ratio of organ in rats fed *Lactobacillus* for 4 weeks

Groups ¹⁾	Liver		Kidney ³⁾		Spleen	
	Weight (g)	g/100 g (BW)	Weight (g)	g/100 g (BW)	Weight (g)	g/100 g (BW)
I	8.85±0.48 ^{2)NS}	2.96±0.10 ^{bc}	2.29±0.09 ^a	0.76±0.03 ^c	0.46±0.04 ^{ab}	0.15±0.01 ^{bc}
II	8.93±0.79	3.04±0.29 ^{bc}	2.31±0.15 ^a	0.78±0.06 ^{abc}	0.46±0.02 ^{ab}	0.16±0.01 ^{abc}
III	8.96±1.11	3.02±0.23 ^{bc}	2.30±0.23 ^a	0.77±0.04 ^{bc}	0.48±0.06 ^a	0.16±0.02 ^{ab}
IV	8.50±0.82	2.83±0.23 ^c	2.27±0.19 ^a	0.76±0.06 ^c	0.44±0.04 ^{abcd}	0.15±0.01 ^c
V	8.88±0.26	3.19±0.05 ^{ab}	2.25±0.08 ^a	0.81±0.04 ^{abc}	0.42±0.03 ^{bcd}	0.15±0.01 ^{bc}
VI	8.33±0.53	3.18±0.16 ^{ab}	2.05±0.18 ^b	0.78±0.05 ^{bc}	0.41±0.02 ^{cd}	0.15±0.01 ^{abc}
VII	8.70±0.63	3.21±0.22 ^{ab}	2.19±0.13 ^{ab}	0.81±0.04 ^{abc}	0.43±0.04 ^{bcd}	0.16±0.01 ^{abc}
VIII	9.20±1.21	3.42±0.37 ^a	2.25±0.19 ^a	0.84±0.05 ^a	0.42±0.02 ^{bcd}	0.16±0.01 ^{abc}
IX	8.96±0.42	3.39±0.19 ^a	2.22±0.05 ^{ab}	0.84±0.02 ^a	0.45±0.02 ^{abc}	0.17±0.01 ^a
X	8.97±0.67	3.22±0.25 ^{ab}	2.21±0.16 ^{ab}	0.79±0.06 ^{abc}	0.45±0.04 ^{ab}	0.16±0.01 ^{abc}
XI	9.01±0.51	3.41±0.24 ^a	2.19±0.10 ^{ab}	0.83±0.05 ^{ab}	0.40±0.03 ^d	0.15±0.01 ^{bc}

¹⁾The same as Table 2.

²⁾Values are expressed as mean±SD.

³⁾Mean of two kidneys.

Different superscripts in the same column indicate significant differences between groups at $p < 0.05$ by Duncan's multiple comparison test. NS: not significant.

Table 6. Plasma lipid profile in rats fed *Lactobacillus* for 4 weeks

Groups ¹⁾	Total cholesterol (mg/dL)	Triglyceride (mg/dL)	HDL cholesterol (mg/dL)
I	107.69±3.70 ^{2)a}	130.43±7.22 ^a	39.60±2.70 ^{abc}
II	97.89±7.86 ^b	119.79±11.34 ^b	39.90±4.69 ^{abc}
III	90.60±14.42 ^b	117.87±2.33 ^b	41.32±4.72 ^{abc}
IV	98.24±7.27 ^b	114.42±12.44 ^b	35.82±1.62 ^c
V	61.89±2.91 ^c	74.22±3.63 ^c	36.23±5.56 ^{bc}
VI	56.87±3.56 ^c	67.83±2.58 ^c	38.42±3.831 ^{bc}
VII	55.33±7.23 ^c	62.02±9.85 ^d	44.63±14.29 ^{abc}
VIII	57.54±4.61 ^c	67.85±3.94 ^c	46.52±12.55 ^{abc}
IX	59.51±3.22 ^c	69.23±4.38 ^c	48.76±3.15 ^a
X	58.72±4.96 ^c	70.30±5.27 ^c	49.78±1.44 ^a
XI	58.50±1.95 ^c	67.32±3.37 ^c	47.19±12.41 ^{ab}

¹⁾The same as Table 2.

²⁾Values are expressed as mean±SD.

Different superscripts in the same column indicate significant differences between groups at $p < 0.05$ by Duncan's multiple comparison test.

Table 7. Plasma levels of AST, ALT in rats fed *Lactobacillus* for 4 weeks

Groups ¹⁾	AST (IU/L)	ALT (IU/L)
I	113.55±13.91 ^{2)ab}	43.18±1.86 ^{de}
II	100.13±9.13 ^{bcd}	42.15±2.52 ^{de}
III	105.97±4.70 ^{bcd}	46.61±3.93 ^d
IV	88.76±4.02 ^{cd}	39.63±6.66 ^e
V	108.78±24.68 ^{abc}	56.27±6.86 ^{bc}
VI	116.66±11.44 ^{ab}	62.82±7.07 ^b
VII	91.65±13.56 ^d	61.31±7.17 ^{bc}
VIII	109.27±20.83 ^{abc}	57.11±11.06 ^c
IX	91.95±2.88 ^{cd}	56.91±7.52 ^{bc}
X	94.74±11.58 ^{bcd}	66.50±9.59 ^a
XI	110.06±32.92 ^a	60.73±15.09 ^{bc}

¹⁾The same as Table 2.

²⁾Values are expressed as mean±SD.

Different superscripts in the same column indicate significant differences between groups at $p < 0.05$ by Duncan's multiple comparison test.

으로 김치에서 분리한 유산균 중 ACE 억제효과가 우수하였던 LG 7, 8, 42의 유산균 균체를 본태성 고혈압 쥐에게 투여함에 따라 LG 42 유산균은 혈압감소에 유의한 영향을 미친 것으로 사료된다. 이는 LG 42의 ACE의 억제로 혈관을 수축시키는 전달물질인 노르아드레날린의 분비를 억제시켜 혈관 수축을 막아주고, 또한 알도스테론의 분비를 감소시켜 혈압 상승을 막아준 것으로 생각된다.

요 약

본 연구에서는 김치에서 분리한 유산균이 ACE 억제효과와 본태성 고혈압쥐의 혈압에 미치는 영향을 조사하였다. 김치에서 분리한 유산균의 배양액 및 lysozyme법, sonication법, solvent extract 방법으로 균체를 추출하여 ACE 억제효과를 살펴본 결과, 배양액 보다는 균체를 이용하여 추출한 추출물에서 공시균주에 비해 ACE 억제효과가 높은 것으로 확인되었다. 균체 추출시료 중 LG 7, 8, 42가 전반적으로 높은 ACE 억제효과를 나타내어 이들의 균체를

본태성 고혈압쥐(SHR)에게 4주간 투여한 결과, WKY 대조군(I)이 4주간 81 g 정도의 체중 증가를 보인 반면, SHR 대조군(V)은 52 g 정도의 체중 증가를 보여 정상혈압 쥐에 비해 고혈압 쥐의 체중의 증가가 낮은 것으로 나타났으며, 유산균의 장기투여가 고혈압 쥐의 체중 및 장기무게에 유의적인 영향을 주지 않았다. 혈청 중 총 콜레스테롤 농도와 중성지질 농도는 SHR 대조군(V)에 비해 유산균 투여군(X, XI)에서 약간 감소하는 경향을 보였으나 유의적인 차는 아니었으며, SHR에 LG 42 유산균을 섭취시킴으로서 총 콜레스테롤과 중성지질의 농도는 감소하고, HDL 콜레스테롤의 농도는 증가하는 것으로 나타났다. 유산균 투여 후 4주째의 최종 혈압을 비교한 결과, LG 42를 투여함에 따라 기준혈압에 비해 농도 의존적(1×10^7 , 1×10^9 cfu/mL)으로 각각 12, 27% 감소하였다.

감사의 글

본 연구는 지식경제부에서 시행한 지역산업기술개발사업(과제

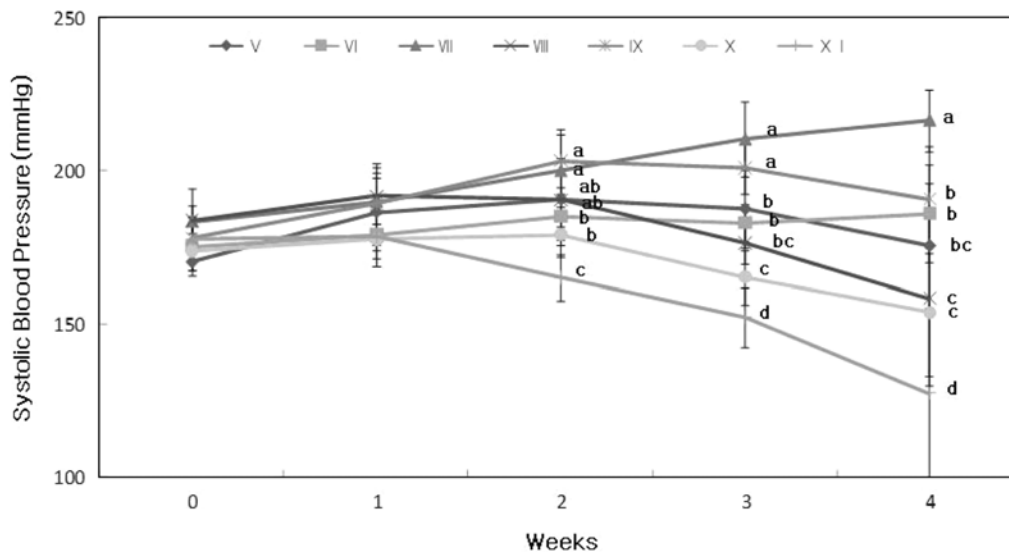


Fig 5. Changes of systolic blood pressure of spontaneously hypertensive rats fed *Lactobacillus* for 4 weeks. Groups are the same as in Table 2. Data are expressed as mean±SD ($n=3$). Different superscripts in the same column indicate significant differences between groups at $p<0.05$ by Duncan's multiple comparison test.

번호:10027215)의 개발비 지원에 의한 연구결과의 일부로 이에 감사드립니다.

문 헌

- Swales JD. Aetiology of hypertension. *Brit. J. Anaesth.* 56: 677-688 (1984)
- Cambiens F, Chretien JM, Ducimetiere P, Guize L, Richard JL. Is the relationship between blood pressure and cardiovascular risk dependent on body mass index? *Am. J. Epidemiol.* 122: 434-442 (1985)
- Doyle AE. *Handbook of hypertension: Clinical pharmacology of antihypertensive drug.* Vol. 5, pp. 246-271. Elsevier, Amsterdam, Netherlands. (1984)
- Yu R, Park SA, Chung DK, Nam HS, Shin ZI. Effect of soybean hydrolysate on hypertension in spontaneously hypertensive rats. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 25: 1031-1036 (1996)
- Na CS, Yun DH, Choi DH, Kim JS, Cao CH, Eun JB. The effect of pear pectin on blood pressure, plasma renin, ANP and cardiac hypertrophy in hypertensive rat induced by 2K1C. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 32: 700-705 (2003)
- Choi HD, Kim YS, Choi IW, Park YK, Park YD. Hypotensive effect of germinated brown rice on spontaneously hypertensive rats. *Korean J. Food Sci. Technol.* 38: 448-451 (2006)
- Do JR, Heo IS, Back SY, Yoon HS, Jo JH, Kim YM, Kim KJ, Kim SK. Antihypertensive, antimicrobial, and antifungal activities of buckwheat hydrolysate. *Korean J. Food Sci. Technol.* 38: 268-272 (2006)
- Hong HD, Shim EJ, Kim KI, Choi SY, Han CK. Effect of *Gastrodiae elata* Blume components on systolic blood pressure and serum lipid concentrations in spontaneously hypertensive rats fed high fat diet. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 36: 174-179 (2007)
- Cha SH, Ahn GN, Heo SJ, Kim KN, Lee KW, Song CB, Cho SK, Jeon YJ. Screening of extracts from marine green and brown algae in Jeju for potential marine angiotensin-I converting enzyme (ACE) inhibitory activity. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 35: 307-314 (2006)
- Jauhainen T, Korpela R. Milk peptides and blood pressure. *J. Nutr.* 137: 825S-829S (2007)
- Jo JS. Analytical survey on the study of traditional fermented food in Korea. *Korean J. Diet. Culture* 4: 375-382 (1989)
- Park KY. Korean traditional food and their anticancer effects. *J. Korean Soc. Plant. People Environ.* 5: 41-45 (2002)
- Mitsuoka T. Bifidobacteria and their role in human health. *J. Ind. Microbiol.* 6: 263-268 (1990)
- Ayebo AD, Angelo IA, Shahani KM. Effect of ingesting *Lactobacillus* milk upon fecal flora and enzyme activity in humans. *Milchwissenschaft* 35: 730-733 (1980)
- Park SY, Koh YT, Jung HK, Yang JH, Jung HS, Kim YB, Kee GY. Effect of various lactic acid bacteria on the serum cholesterol levels in rats and resistance to acid, bile and antibiotics. *Korean J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* 24: 304-310 (1996)
- Jo JS, You HY, Kim YM. Recent trends and new developments of traditional fermented food industry. *Bioindustry News* 6: 11-15 (1993)
- Cushman DW, Cheung HS. Spectrophotometric assay and properties of the angiotensin-converting enzyme of rabbit lung. *Biochem. Pharmacol.* 20: 1637-1648 (1971)
- McFarlane SI, Kumar A, Sowers JR. Mechanisms by which angiotensin-converting enzyme inhibitors prevent diabetes and cardiovascular disease. *Am J. Cardiol.* 91: 30-37 (2003)
- Shin EN, Bae BS, Lee WJ, Cho SH. Effect of fish oil diet on blood pressure and lipid metabolism in spontaneously hypertensive rat-changes in serum lipid status. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 18: 1-13 (1989)
- Cho SH, Shin EN, Sah MY, Lee WJ. Modulation of lipid metabolism in serum and liver by dietary fat in normotensive and spontaneously hypertensive rat. *Korean J. Lipidol.* 1: 45-56 (1991)
- Hung YS, Mills DE, Ward RP, Horobon DF, Simmons VA. Effect of essential fatty acid depletion on tissue phospholipid fatty acids in spontaneously hypertensive and normotensive rats. *Lipids* 24: 565-571 (1989)
- Kim MR, Lee KJ, Kim HY, Kim JH, Kim YB, Sok DE. Effect of various *kimchi* extracts on the hepatic glutathione *S*-transferase activity of mice. *Food Res. Int.* 31: 389-394 (1999)
- Martin FP, Wang Y, Sprenger N, Yap IK, Lundstedt T, Lek P, Rezzi S, Ramadan Z, van Bladeren P, Fay LB, Kochhar S, Lindon JC, Holmes E, Nicholson JK. Probiotic modulation of symbiotic gut microbial-host metabolic interactions in a humanized microbiome mouse model. *Mol. Syst. Biol.* 4: 157: 1-15 (2008)
- Gole MK, Dasgupta S. Role of plant metabolites in toxic liver injury. *Asia Pac. J. Clin. Nutr.* 11: 48-50 (2002)
- Okamoto K, Aoki K. Development of a strain of spontaneously hypertensive rats. *Jpn. Circ. J.* 27: 282-293 (1963)