

Effects of Fermented *Sargassum thunbergii* on Platelet Aggregation and Serum Lipid Levels in Obese Rat induced by High Fat Diet

Jihyeon Cheon¹, Juyeong Lee¹, Jihye Kim¹, Mi-Hwa Park¹, Sang-Hyeon Lee², Changsuk Kong¹, Yuck Yong Kim³, Ki Hwan Yu³ and Mihyang Kim^{1*}

¹Department of Food and Nutrition, Silla University, Busan 617-736, Korea

²Department of Pharmaceutical Engineering, Silla University, Busan 617-736, Korea

³ISFOOD Co. LTD., 7, Hoenggye-gil, Ilgwang-myeon, Gijang-gun, Busan 619-912, Korea

Received March 9, 2015 / Revised April 15, 2015 / Accepted April 16, 2015

We investigated the effects of fermented *Sargassum thunbergii* (FST) on platelet aggregation and serum lipid levels in rats made obese by a high fat diet. Six-week-old male SD-rats were randomly assigned to four groups as CON, HF-CON induced by high fat diet (HF), ST supplemented with HF (HF-ST100), and the fermented ST supplemented with HF group (HF-FST100). After 6 weeks, the results showed that the final weight and weight gain had decreased in the HF- FST100 group compared to the HF-CON group. Also, the food efficiency ratio was significantly reduced in the HF-FST100 group compared to HF-CON. The organ weights other than heart and spleen were significantly lower in the HF-FST100 group than in the HF-CON group. The levels of serum GOT and GPT significantly decreased in the HF-FST100 group over the HF-CON group. In addition, the total cholesterol, triglyceride and LDL-cholesterol levels were lower in the HF-FST100 group than in HF-CON, while the HDL-cholesterol level was higher in the HF-FST100. The ability of platelet aggregation of groups supplemented with FST was lower than the HF-CON group. These results suggest that FST may be beneficial in improving lipid profile and platelet aggregation in obesity.

Key words : Fermentation, obese rats, platelet aggregation, *Sargassum thunbergii*, serum lipids

서 론

오늘날 한국인의 식습관은 과거에 비해 고칼로리, 고지방 섭취에 따른 과체중과 각종 만성질환으로 인한 어려움을 겪고 있다[10]. 국민건강영양조사에 따르면 우리나라 비만 유병률은 2001년 전체 평균 29.2%였던 것에 비해, 2012년 32.8%로 점점 증가하는 추세를 나타내고 있다. 또한 보건복지부는 우리나라 인구의 38%가 권장섭취 기준 이상의 칼로리를 섭취하고 있으며, 이로 인한 심혈관 질환의 위험 또한 증가하고 있다고 보고하였다. 이러한 식습관의 변화로 인해 신체는 여러 위협요소에 노출되고 있으며, 특히 포화지방산이 다량 함유된 식품은 혈중 지질 농도를 증가시켜 고콜레스테롤혈증을 유발하며, 나아가 고지혈증, 심근경색 등 순환기 계통의 질환 발병률을 증가시킨다[1, 12].

비만은 신체 에너지 섭취와 소비의 불균형으로 인한 질환으로, 체중 감량 방법으로는 약물투여, 수술, 운동, 식이요법 등

이 있으나 그 중 식이요법이 비만의 근본적인 예방 및 치료 방법으로 중시되고 있다[19, 20, 25]. 식이 조절은 혈중 지질 농도에 직접적인 영향을 미치므로, 올바른 식이 섭취는 약물 치료 보다 더 중요한 치료법으로 보고되고 있다[9].

해조류는 탄수화물 함량이 적고 난소화성 다당류를 함유하고 있어 체내에서 소화율은 떨어지지만, 혈중 콜레스테롤 침착을 저해하며 순환기계통 질환 예방에 효과적이다[32]. 현재 우리나라에 자생하는 해조류는 750여종이며, 그 중 식용 가능한 해조류는 60여종에 이른다[6, 11, 16]. 해조류는 칼슘, 요오드, 철 등 무기질 함량이 높고, 난소화성 다당류에 의한 뛰어난 정장작용 등 기능성 생리활성 물질을 함유하고 있는 소재로써 그 연구가 활발히 진행되고 있다[13]. 특히, 갈조류는 다른 해조류에 비해 생리활성이 높은 것으로 알려져 있으며, 녹조류 및 홍조류보다 혈중 지질 개선에 긍정적인 효과를 나타낸다고 보고되고 있다[4, 14, 28]. 갈조류에는 alginic acid, laminarin, fucoidan 등의 다양한 생리활성 성분이 함유되어 있으며, Kim [14] 등은 갈조류인 톱이 고지방식으로 유도된 쥐의 혈중 콜레스테롤 감소 효과를 나타내었다고 보고하였다. 갈조류의 모자반과에 속하는 지충이는 우리나라 전 해안의 조간대 하부에 걸쳐 군락을 이루어 자생하고 있는 해조류로 항염증, 항균, 항산화 및 항종양 등의 생리활성에 대한 연구가 보고되고 있다[10]. 한편, 일반적인 해조류의 유용성분 추출법은 열수, 에탄올 추출 및 유기용매, 알칼리, 산 또는 효소에 의한 추출

*Corresponding author

Tel : +82-51-999-5620, Fax : +82-51-999-5457

E-mail : mihkim@silla.ac.kr

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

가공 방법이 대부분이다[13]. 그러나 이러한 추출공정만으로는 해조류에 포함된 성분들을 효과적으로 추출해내지 못하는 단점을 가지고 있다[31]. 그에 비해 발효는 식품 속 유용성분을 효과적으로 추출시킬 수 있는 기술로서 기능성 식품 제조에 매우 효과적인 가공 방법이다. 현재 발효 해조류 관련 연구로는 발효 시 발생하는 부산물을 이용한 바이오 에너지 관련 연구가 대부분이며, 생리활성 검증에 관한 연구는 미비한 실정이다.

따라서 본 연구에서는 고지방 식이로 고지혈증을 유도한 흰쥐에 갈조류의 모자반과에 속하는 지층이를 발효 후 상등액을 투여하여 혈중 지질농도, 혈소판 응집에 미치는 영향에 대하여 검토하였다.

재료 및 방법

발효 지층이 상등액 제조

본 실험에서 사용한 지층이(*Sargassum thunbergii*)는 2013년 (주) 파라제주에서 구입하여 실험에 사용하였다. 발효 방법은 발효를 위해 재래식 물김치 상등액을 멸균수로 희석 후 MRS 고체 배지(Difco, USA)에 도말하여 배양기에서 2일간 배양하여 순수 콜로니를 얻었다. 얻어진 콜로니의 모양, 색깔 등을 육안판정으로 발효 유산균(*Lactobacillus* sp. SH-1)을 선별하였으며, MRS액체 배지(Difco, USA)에 계대배양하여 발효 균주를 확보하였다. 본 발효를 위하여 지층이 50 g, 미생물의 생육을 위해 yeast extract 30 g, 탄소원인 glucose를 1%의 농도로 첨가하고, 멸균수 1L를 첨가하였다. 준비한 시료를 혼합한 뒤 121℃의 가압 조건에서 1시간 멸균하여 잠균 및 곰팡이 등으로 인한 오염을 방지하였다. 유산균을 첨가하지 않은 균을 FH-ST균으로, 앞서 수집한 순수한 유산균(*Lactobacillus* sp. SH-1) 1%를 접종한 균을 FH-FST균으로 분류한 후, 30℃ 배양기에서 48시간 배양하였다. 발효 후 3,000 rpm, 4℃, 10 min 조건하에 원심 분리하였으며, 각각의 상등액을 동결건조장치(FD8518, Ilshin BioBase, Korea)로 동결 건조하여 일반 지층이 상등액 시료 및 발효 지층이 상등액 건조시료를 얻었다.

실험동물 및 식이

체중이 180~190 g인 6주령의 Sprague-Dawley계 수컷 흰쥐를 (주)오리엔트 바이오에서 분양 받은 후 7일간 적응시킨 뒤 실험을 진행하였다. 동물실험실 사육조건은 온도 24±2℃, 습도 50~55%를 유지하였으며, 광주기 및 암주기를 12시간 간격으로 조절하였다. 1주일 후, 실험 동물은 난괴법(randomized complete block design)에 따라 일반식이 대조군(CON), 고지방식이 대조군(HF-CON), 고지방식이 및 일반 지층이 상등액 100 mg/kg 투여군(HF-ST100), 고지방식이 및 발효 지층이 상등액 100 mg/kg 투여군(HF-FST100)으로 각 6마리씩, 4군으로 나누어 매일 1 ml 씩 6주간 상등액을 투여하였다. 실험

기간 동안 식이 섭취량과 체중은 매일 일정한 시간에 측정하였으며, 체중은 일주일에 한 번씩 측정하였고, 물과 사료는 제한하지 않고 섭취시켰다. 실험 시료는 증류수에 용해하였으며, 대조군은(CON, HF-CON)은 동일 용량의 증류수를 투여하였다. 시료는 4℃ 냉장고에 보관하며 실험에 사용하였다. 실험군은 고지방식이와 시료를 동시에 투여하여 6주간 비만을 유도하였고, 실험에 사용된 식이는 중앙동물(Central Lab. Animal Inc. Korea)에서 고지방사료 pellet (Rodent Diet with 45%Kcal Fat)과 일반사료를 구입하여 사용하였으며, 동물실험은 신라대학교 동물실험윤리 위원회의 승인(SUACUC-2014-007)하의 관리지침에 따라 수행하였다(Table 1).

혈액 및 장기 채취

실험동물의 혈액은 해부 전 24시간 절식시킨 후 ethyl ether를 이용하여 마취한 후 개복하여 복대 정맥에서 채취하였다. 심장, 신장, 부신, 비장, 폐, 간, 부고환을 적출한 후 생리식염수로 세척한 다음 수분을 제거한 후 무게를 측정하였다.

혈청 지질 분석

실험동물에서 채취한 혈액은 실온에서 30분 방치 후 4℃, 3,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 혈청을 분리하였다. 중성지방(triglyceride), 총 콜레스테롤(total cholesterol), 고밀도 지단백질(HDL-cholesterol) 분석은 자동 측정용 slide kit (FUJI FILM, japan)를 이용하여 Dry Chemistry Analyzer 3500i (FUJI, japan)를 사용하여 측정하였다.

혈청 중 GPT 및 GOT 분석

혈청 중 효소 활성 측정을 위해 glutamic pyruvic transaminase (GPT)와 glutamic oxaloacetic transaminase (GOT) 측정용 kit (FUJI DRI-CHEM SLIDE, Japan)를 이용하여 자동 생화학분석기 DRY CHEM 3500i (FUJI, Japan)를 사용하여 분석하였다.

Platelet 분리

실험동물에서 채취한 혈액은 3.2% sodium citrate 용액과 1:9의 비율로 혼합한 뒤 1,100 rpm에서 10분간 원심 분리하여 상층의 PRP (platelet rich plasma)를 얻은 후, PRP를 3,000

Table 1. Experimental design of animals

| Group (No) ¹⁾ | Treatment |
|--------------------------|---|
| CON (6) | Normal diet |
| HF-CON(6) | High fat diet |
| HF-ST100(6) | High fat diet supplemented with <i>Sargassum thunbergii</i> supernatant 100 mg/kg |
| HF-FST100(6) | High fat diet supplemented with fermented <i>Sargassum thunbergii</i> supernatant 100 mg/kg |

¹⁾No: number of rats.

rpm에서 10분간 더 원심 분리하여 상층의 혈장을 제거하였다. EDTA를 포함하는 washing buffer (138 mM NaCl, 2.7 mM KCl, 12 mM NaHCO₃, 0.36 mM NaH₂PO₄, 5.5 mM glucose, 1 mM EDTA, pH 6.5)를 가하여 혈소판을 재현탁시켰다. 이 혈소판을 3,000 rpm에서 10분간 원심 분리한 후 다시 suspending buffer (138 mM NaCl, 2.7 mM KCl, 12 mM NaHCO₃, 0.36 mM NaH₂PO₄, 5.5 mM glucose, 0.49 mM MgCl₂, 0.25% gelatin, pH 7.4)로 현탁시켜 washed platelet을 조제하였다. Washed platelet은 suspending buffer로 희석하여 혈소판 수가 5×10⁸/ml이 되도록 하였다.

혈소판 응집 실험

발효 지층이의 항 혈소판 응집효과는 Whole blood lumi-aggregometer (Chrono-log, USA)를 사용하여 37℃에서 optical 방법으로 혈소판 응집을 측정하였다. 응집 유도제로 콜라겐을 사용하였으며, micro-magnetic bar를 넣은 cuvette에는 미리 37℃에서 incubation시킨 PRP 50 µl와 suspending buffer, 10 mM CaCl₂를 넣고 다시 incubation한 후 콜라겐 2.5 µl를 가하여 5분간 반응시켰다. 교반 속도는 1,100 rpm으로 유지하였고, PRP를 얻은 후 2시간 안에 모든 실험을 진행시켰다.

혈소판 응집에 작용하는 시료의 효과는 응집 저해율과 slope, lag time, amplitude로 나타낼 수 있다. Slope은 반응이 일어나기 시작할 때의 속도를 나타내며, lag time은 반응하는 시간, amplitude는 최대 응집력을 나타낸다. 응집력은 반응이 최종적으로 끝났을 때의 광학밀도로 나타낸다.

통계처리

본 실험에 대한 모든 실험의 결과는 mean±SD로 표시하였고, 통계적 유의성 검정은 SAS 9.1 version 프로그램을 이용하여 실시하였다. 집단간의 차이를 알아보기 위해 일원변량분석 (one-way ANOVA)을 이용하여 분석하였고, 사후검증은 Duncan's multiple range test에 의해 p<0.05 수준에서 각 실험군간의 유의성을 검증하였다.

결과 및 고찰

실험동물의 체중변화, 장기중량 및 식이효율 측정

고지방식이 및 발효 지층이 상등액의 6주간 투여에 따른 흰쥐의 체중변화와 식이 섭취량 및 식이 효율은 Table 2와 같다. 고지방식이 대조군인 HF-CON군과 일반 지층이 상등액을 투여한 HF-ST100군의 최종 체중 증가량을 비교하였을 때 유의적인 차이는 없었으나, 발효 지층이 상등액을 투여한 HF-FST100군은 HF-CON군에 비해 유의적으로 체중이 감소하였다. 일일 체중 증가량은 고지방식이군(HF-CON)에서 정상식이군(CON)에 비해 유의적으로 증가하였으나, 고지방식이와 발효 지층이 상등액을 함께 투여한 군(HF-FST100)이 고지방식이와 일반 지층이 상등액을 투여한(HF-ST100)군보다 유의적으로 감소하는 결과를 나타내었다. 식이 섭취량 측정 결과, 고지방식을 한 HF-CON군이 일반식을 한 CON 군보다 적은 양을 섭취하였으며, 이는 고지방식이의 에너지 밀도가 높아 체내에서 위 내용 배출 시간을 지연시켜서 일반사료 대비 섭취량이 낮아졌다는 연구결과[26, 29]와 유사한 경향을 나타내었다. 그러나 고지방식이 군에서 HF-CON 군, 발효 지층이 상등액을 투여한 HF-FST100군, 일반 지층이 상등액을 투여한 HF-ST100군 사이의 유의적 차이는 나타나지 않았다. 식이효율(FER)에서는 고지방사료 투여군(HF-CON)이 일반사료 투여군(CON) 보다 높은 식이효율을 나타내었다.

각 군별 실험동물 장기 중량을 나타낸 표는 Table 3과 같다. 고지방 사료 투여로 인해 각 장기 중량은 대조군(CON)에 비해 증가하였다. 또한 심장과 부신을 제외한 모든 장기에서 발효 지층이 상등액을 투여한 군(HF-FST100)이 고지방식이만 투여한 군(HF-CON)보다 유의적으로 낮은 결과를 나타내었다. Soloff [33] 등의 연구에 따르면 고지방 식이의 급여는 내장 지방 축적을 유도하며 체내 간장 무게를 증가시켰으며, 이는 본 연구결과와도 일치하였다. 부고환 중량은 체내 내장지방을 대표하는 지표로, Lee 등[21]의 연구에 따르면, 고지방식을 급여한 쥐의 체내 부고환 지방 중량은 증가하는 것으로 나타났다. 부고환 중량 측정 결과, 체내 내장지방은 고지방식을 급여한 군(HF-CON, HF-FST100, HF-ST100)이 일반식을 급여한 CON 대비 약2-3배 증가하는 경향을 나타내었다. 그러나, 발효 지층이 상등액 투여군(HF-FST100)은 고지방식이만 투여한 군(HF-CON)보다 유의적으로 부고환 중량이 감소하였다. Kim 등[17]의 연구에서 고지방식이 급여는 쥐의 부고환 지방 중량을 증가시켰으나, 대항 유래 Laminaran투여에 의해

Table 2. Final body weight, body weight gain, food intake and food efficiency ratio of rats supplemented with fermented *Sargassum thunbergii* for 6 weeks

| Group ¹⁾ | CON | HF-CON | HF-ST100 | HF-FST100 |
|---|-------------------------------|---------------------------|----------------------------|---------------------------|
| Final body weight (g) | 336.73±20.48 ^{2)c4)} | 437.52±22.74 ^a | 418.13±32.38 ^{ab} | 400.52±28.40 ^b |
| Body weight gain (g/day) | 2.76±0.15 ^c | 4.62±0.31 ^a | 4.08±0.63 ^{ab} | 3.89±0.43 ^b |
| Food intake (g/day) | 28.88±5.28 ^a | 25.39±6.21 ^b | 24.05±6.01 ^b | 24.39±6.33 ^b |
| Food efficiency ratio (FER) ³⁾ | 0.10±0.02 ^c | 0.22±0.02 ^a | 0.20±0.01 ^b | 0.16±0.00 ^b |

¹⁾Refer the legend to Table 1. ²⁾All values are mean±SD. (n=6). ³⁾FER: Body weight gain / Food intake.

^{4)a-c}The means in the same row that do not share a common superscript are significantly different between the groups (p<0.05).

Table 3. Organ weight of rats supplemented with fermented *Sargassum thunbergii* for 6 weeks

| Group ¹⁾ | Liver | Heart | Lung | Spleen | Adrenal | Kidney | epididymis |
|---------------------|---------------------------|---------------------------|-------------------------|------------------------|-------------------------|-------------------------|------------------------|
| CON | 12.57±0.25 ^{2)b} | 1.23±0.06 ^{NS3)} | 1.90±0.36 ^b | 0.73±0.06 ^b | 0.17±0.06 ^{NS} | 3.18±0.17 ^c | 3.77±0.58 ^c |
| HF-CON | 14.83±0.40 ^a | 1.43±0.25 ^{NS} | 2.77±0.60 ^a | 1.03±0.15 ^a | 0.17±0.06 ^{NS} | 3.85±0.52 ^a | 8.98±0.19 ^a |
| HF-ST100 | 12.63±1.93 ^b | 1.30±0.30 ^{NS} | 2.33±0.12 ^{ab} | 0.67±0.12 ^b | 0.17±0.06 ^{NS} | 3.82±0.26 ^{ab} | 9.45±0.13 ^a |
| HF-FST100 | 11.47±0.35 ^b | 1.33±0.12 ^{NS} | 2.10±0.20 ^b | 0.70±0.10 ^b | 0.13±0.06 ^{NS} | 3.30±0.16 ^{bc} | 7.78±0.19 ^b |

¹⁾Refer the legend to Table 1. ²⁾All values are mean±SD. (n=6). ³⁾NS: Not significantly

^{4)a-c}The means in the same row that do not share a common superscript are significantly different between the groups (p<0.05).

부고환 지방의 중량이 감소하였으며, 이는 본 연구결과와 유사한 결과로서 발효 지층이 상등액은 내장지방 억제 효과가 있는 것으로 사료된다.

혈청 중 GPT 및 GOT 분석

혈액 내의 아미노기전이효소인 glutamic pyruvic transaminase (GPT)는 ALT 혹은 SGPT라고 하며 간세포가 손상되었을 때 빠르게 증가하며, 간이나 담관 질환의 표지인자로 알려져 있다. 또한, glutamic oxaloacetic transaminase (GOT)는 간과 심장에 고농도로 존재하며, 세포장에 정도와 비교적 상관성이 좋을 뿐만 아니라 다른 혈중 유출 효소에 비하여 민감하게 변화하고, GOT 지수가 높으면 급성 심근경색, 간염, 간 경변, 근 위축증이 나타난다[18]. 이 두 가지 효소는 고지방 식이나 독성물질의 장기간 복용으로 간세포가 손상되면 혈중으로 유출되어 농도가 증가하게 된다[2, 3]. 혈청 GOT 및 GPT 활성 측정 결과는 Table 4와 같다. 고지방 식이를 투여한 HF-CON 군이 일반사료를 투여한 CON군에 비해 GOT 및 GPT의 활성이 유의적으로 증가하였다. GOT활성은 발효 지층이 상등액 100 mg/kg을 투여한 HF-FST100군이 고지방 식이를 투여한 HF-CON 군에 비해 유의적으로 감소하였다. 그러나 일반 지

층이 상등액 100 mg/kg을 투여한 HF-ST100군은 CON군과 비교하였을 때 유의적인 차이는 나타나지 않았다. HF-FST100군과 HF-ST100군 사이의 GOT 활성은 발효 지층이 상등액을 투여한 HF-FST100군의 활성이 낮아지는 경향을 보였으나, 유의적인 차이는 없었다. GPT 활성 측정 결과 고지방 식이에 의해 활성이 증가하였으며, HF-FST100군에서 유의적으로 활성이 감소하는 결과가 나타났다. 따라서 발효 지층이 상등액은 일반 지층이 상등액 보다 GOT 및 GPT 활성 감소에 긍정적인 영향을 미칠 것이라 사료된다.

혈청 중 총 콜레스테롤 및 중성지질 함량

혈청 중 총 콜레스테롤, HDL-콜레스테롤, LDL-콜레스테롤 및 중성지질 함량 측정 결과는 Table 5와 같다. 총 콜레스테롤은 혈청 중으로 유리된 콜레스테롤이며 체내 지질대사 지표로서 내분비 질환, 고지혈증, 비만 등의 원인으로 인해 증가한다[15]. 실험 동물의 혈중 총 콜레스테롤 함량은 고지방 식이를 투여한 HF-CON군이 대조군(CON)에 비해 증가하는 경향을 나타내었다. 발효 지층이 상등액을 투여한 군의 총 콜레스테롤은 고지방 식이를 투여한 군에 비해 감소하였으나, 유의적인 차이는 없었다. 혈청 중 중성지질 함량은 CON 대비 고지방 식

Table 4. Effects of fermented *Sargassum thunbergii* on serum GOT and GPT induced by high fat diet

| Group ¹⁾ | CON | HF-CON | HF-ST100 | HF-FST100 |
|---------------------|-----------------------------|-------------------------|--------------------------|--------------------------|
| GOT (unit/ml) | 54.33±7.37 ^{2)c3)} | 65.33±7.37 ^a | 64.33±1.53 ^{ab} | 57.33±1.53 ^{bc} |
| GPT (unit/ml) | 12.67±0.58 ^b | 23.00±2.31 ^a | 21.00±1.73 ^a | 16.00±2.00 ^b |

¹⁾Refer the legend to Table 1. ²⁾All values are mean±SD. (n=6).

^{3)a-c}The means in the same row that do not share a common superscript are significantly different between the groups (p<0.05).

Table 5. Contents of total cholesterol, triglyceride and HDL-cholesterol, LDL-cholesterol in serum of rats supplemented with fermented *Sargassum thunbergii*

| Group ¹⁾ | T-CHO (mg/dl) | TG (mg/dl) | HDL-C (mg/dl) | LDL-C (mg/dl) ²⁾ |
|---------------------|------------------------------|---------------------------|---------------------------|-----------------------------|
| CON | 57.00±9.17 ^{3)NS4)} | 31.67±6.51 ^{b5)} | 59.67±17.79 ^a | 24.47±6.58 ^b |
| HF-CON | 64.33±1.15 ^{NS} | 51.33±9.02 ^a | 32.33±3.79 ^b | 42.40±15.01 ^a |
| HF-ST100 | 63.33±15.31 ^{NS} | 38.67±1.53 ^{ab} | 50.00±16.70 ^{ab} | 27.53±1.27 ^{ab} |
| HF-FST100 | 59.33±7.77 ^{NS} | 37.00±12.77 ^{ab} | 57.33±2.52 ^a | 25.07±4.01 ^b |

¹⁾Refer the legend to Table 1. ²⁾LDL cholesterol={total cholesterol - (HDL-cholesterol - triglyceride/5)}.

³⁾All values are mean±SD. (n=6). ⁴⁾NS: Not significantly

^{5)a-b}The means in the same row that do not share a common superscript are significantly different between the groups (p<0.05).

이를 급여한 군(HF-CON)에서 유의적으로 증가하였으나, 발효 지층이 상등액 투여에 의해 감소하는 경향을 나타내었다. Clarkson[7]은 고지방식이 급여가 흰쥐의 혈중 중성지방, 총 콜레스테롤 함량을 증가시킨다고 보고하였으며, 이는 본 연구 결과와 일치하였다. 혈중 HDL-콜레스테롤 농도의 증가는 혈관 내피세포의 기능장애를 방지하며, 세포내의 접착물질(adhesion molecule)로 인한 세포 증식을 감소시킨다고 보고되어 있다[7, 35]. HDL-콜레스테롤 함량의 경우, 고지방식을 급여한 HF-CON군에서 일반사료를 급여한 정상 CON 군에 비해 유의적으로 감소하는 결과를 나타내었다. 한편 발효 지층이 상등액을 투여한 군(HF-FST100)은 고지방식을 급여한(HF-CON)군에 비해 유의적으로 혈중 HDL-콜레스테롤 농도가 증가하였으며, 그 함량이 일반사료를 급여한 CON 군에 근접한 수치를 보였다. 이는 Park 등[27]의 연구에서 4주간 갈조류인 갈래곰보 추출물을 투여한 군에서 정상 식이군 대비 혈중 HDL-콜레스테롤이 유의적으로 증가한 패턴과 유사한 경향을 나타내었다. LDL-콜레스테롤 농도의 증가는 심혈관계통 질환을 발생시키는 주요 위험 인자로 알려져 있으며, 총 콜레스테롤 수치보다 더 중요한 생화학적 지표 역할을 한다고 보고되고 있다[34, 22]. 혈중 LDL-콜레스테롤 함량은 고지방식을 급여한(HF-CON)군이 일반식을 급여한 CON군에 비해 유의적으로 증가하였다. 발효 지층이 상등액을 투여한 군(HF-FST100)의 경우 고지방식을 급여한 군(HF-CON) 보다 혈중 LDL-콜레스테롤 농도가 유의적으로 감소하는 경향을 나타내었으며, 일반사료를 급여한 정상군인 CON군에 근접한 수치를 나타내었다.

이상의 결과에서, 고지방식을 급여한 HF-CON군 보다 발효 지층이 상등액을 투여한 HF-FST100군의 혈중 총 콜레스테롤, 중성지방 및 LDL-콜레스테롤의 농도가 감소하였으며, 반면 HDL-콜레스테롤 함량은 증가하는 결과를 나타내었다. 이러한 결과는 해조류 추출물이 심혈관 관련 질환 발생의 위험을 감소시킨다는 연구[24]와 유사한 결과이며, 일반 지층이 상등액 투여군보다 발효 지층이 상등액 투여군에서 더 뛰어난 지질개선 효과를 나타내었다. 따라서, 발효 지층이 상등액은 혈중지질 개선을 위한 보조 및 예방 식품 소재로 활용할 수 있을 것으로 사료된다.

혈소판 응집에 미치는 영향

혈관이 손상되었을 때 혈소판은 collagen, thrombin, ADP 등의 각종 agonists의 자극에 반응하여 활성화되어 점착반응(adhesion), 방출반응(secretion) 및 응집반응(aggregation)을 일으키며, 이에 의해 혈관이 손상을 받아 출혈이 일어난 후 혈액이 혈괴 또는 조직 내에서 응고됨으로써 혈전이 생성된다[8, 30]. 혈소판은 혈관손상에 반응하여 혈액손실을 막아 주는 결정적인 역할을 하지만, 급성 죽상 동맥 혈전증을 일으키며, 이는 심혈관 질환 등의 초기 원인이 되기도 한다[23].

Table 6. Effect of fermented *Sargassum thunbergii* against collagen induced platelet aggregation

| Group ¹⁾ | Amplitude (%) | Slope (Ω/min) ³⁾ | Lag time (sec) |
|---------------------|------------------------------|-----------------------------|-------------------------|
| CON | 12.13±4.50 ^{2)ab4)} | 19.00±4.56 ^c | 0:40±0:01 ^{ab} |
| HF-CON | 15.93±0.12 ^a | 41.00±5.15 ^a | 0:22±0:03 ^c |
| HF-ST100 | 13.93±0.12 ^{ab} | 31.00±0.85 ^b | 0:35±0:02 ^b |
| HF-FST100 | 10.73±0.64 ^b | 25.00±1.32 ^{bc} | 0:44±0:05 ^a |

¹⁾Refer the legend to Table 1.
²⁾All values are mean±SD. (n=6).
³⁾Initial slope is ohm change for the first on minute.
^{4)a-c}The means in the same row that do not share a common superscript are significantly different between the groups (p <0.05).

Slope (Ω/min)은 응집 곡선의 기울기를 말하며, 혈소판이 platinum electrodes 에 부착됨으로써 발생하는 전기저항(impedance:Ω)의 크기를 혈소판 응집치로 나타낸다[35]. 혈소판 응집능 측정 결과는 Table 6과 같다. 일반 식이를 급여한 CON군에 비해 고지방식을 급여한 HF-CON 군의 응집곡선 기울기가 증가하였다. 발효 지층이 상등액을 투여한 HF-FST100 군이 고지방식을 급여한 HF-CON 군보다 slope 가 감소하였으며, 일반 지층이 상등액을 투여한 HF-ST100 군 보다 곡선의 기울기가 유의적으로 감소하였다. 따라서 발효 지층이 상등액이 일반 지층이 상등액 보다 혈전(thrombus) 생성을 저해시키며, 혈소판 응집을 억제하는 것으로 사료된다. 응집시간을 나타내는 lag time은 고지방식의 급여로 응집시간이 짧아졌으나, 일반 지층이 상등액을 투여한 군(HF-ST100) 보다 발효 지층이 상등액을 투여한 군(HF-FST100)의 응집시간이 지연되는 경향을 나타내었다. 이상의 결과에서 고지방식의 급여로 혈소판 응집이 촉진되었으나, 발효 지층이 상등액 투여로 인해 혈소판응집이 억제되었다. 따라서 발효 지층이 상등액이 일반 지층이 상등액에 비해 항 혈소판 응집 저해에 긍정적인 효과가 있을 것으로 사료된다.

이러한 결과를 바탕으로 향후 발효 지층이 활성성분들의 규명과 각 성분들의 생리활성 연구가 병행된다면 심혈관 질환의 예방과 관련된 새로운 천연 기능성 소재 및 식품 개발이 가능할 것으로 사료된다.

감사의 글

본 연구는 교육부와 한국연구재단의 지역혁신창의인력양성사업으로 수행된 연구결과임(No. 2013H1B8A2032201).

References

1. Ah, H. S. and Gyoung, W. S. 2000. Effects of Korean leek and dietary fat on plasma lipids and platelet aggregation

- in hypercholesterolemic rats. *J. Nutr. Health* **33**, 374-385.
2. Astegiano, M., Sapone, N., Demarchi, B., Rossetti, S., Bonardi, R. and Rizzetto, M. 2004. Laboratory evaluation of the patient with liver disease. *Eur. Rev. Med.* **8**, 3-10.
 3. Bursch, W and Schulte, H. R. 1986. Cytoprotective effect of the prostacyclin derivative iloprost against liver cell death induced by the hepatotoxins carbon tetrachloride and bromobenzene. *Klin. Wochenschr.* **64**, 47-50.
 4. Campos, H., Wilson Peter, W. F., Jimenez, D., Mcnanara, J. R., Ordovas, J. and Schaefer, E. J. 1990. Differences in apolipoproteins and low density lipoprotein subfractions in postmenopausal women on and off estrogen therapy: Results from the Framingham off spring study. *Metabolism* **39**, 1033-1038.
 5. Cha, S. H., Ahn, G. N., Heo, S. J., Kim, K. N., Lee, K. W., Song, B. S., Cho, S. K. and Jeon, Y. J. 2006. Screening of extracts from marine green and brown algae in Jeju for potential marine angiotensin-I converting enzyme (ACE) inhibitory activity. *J. Kor. Soc. Food Sci.* **35**, 307-314.
 6. Choi, S. T., Kim S. Y., Hur, J. M., Shin, J. H., Choi, H. G. and Sung, N. J. 2006. A Study on the Physicochemical Properties of the *Sargassum thunbergii*. *Kor. J. Food Nutr.* **19**, 8-13.
 7. Clarkson, T. B. 2002. Soy, soy phytoestrogens and cardiovascular disease. *J. Nutr.* **132**, 566S-569S.
 8. Furie, B. and Furie, B. C. 1988. The molecular basis of blood coagulation. *Cell* **53**, 505-518.
 9. Grundy, S. M., et al. 1993. Summary of the second report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on detection, evaluation, and treatment of high blood cholesterol in adults (Adult Treatment Panel II). *JAMA* **269**, 3015-3023.
 10. Jang, Y. J. and Jeong, J. M. 2010. Effects of Phyto-Extract Mixture on Adiposity and Serum Lipid Levels in Obese Mice Induced by High Fat Diet. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **39**, 1439-1445.
 11. Jeon, M. J. 2014. Effects of *Ledebouriella seseloides* extracts on lipid and bone formation in ovariectomized rats. MS Thesis. Silla University.
 12. Jeong, W. H. and Sin, M. K. 2000. The Effect on Rats Serum Lipid of treadmill exercise and green tea extracts intake with high fat diet. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **29**, 638-690.
 13. Kim, H. S. and Bae, T. J. 2002. Studies on the hydrolysis of seaweed using microorganisms and its application. *Kor. J. Food Nutr.* **35**, 438-444.
 14. Kim, H. S. and Kim, G. J. 1998. Effects of the feeding *Hijikia fusiforme* (Harvey) Okamura on lipid composition of Serum in dietary hyperlipidemic rats. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **27**, 718-723.
 15. Kim, Y. H. and Han, K. I. 2014. Antihyperlipidemic activities of a chemically engineered sulfated mushroom β -glucan on high fat dietary-induced hyperlipidemia in sprague-dawley rats. *J. Life Sci.* **22**, 1209-1216.
 16. Kim, Y. K., Jeon, M. H., Park, Y. S., Hwang, H. J., Lee, S. H., Kim, S. G., Kim, Y. Y. and Kim, M. H. 2010. The Effect of *Ecklonia stolonifera* extracts on blood flow and serum lipid level in ovariectomized rats. *J. Life Sci.* **20**, 1851-1858.
 17. Kim, Y. M., Han, C. K., Bang, S. J. and Park, J. H. 2006. Effects of laminaran from *Eisenia bicyclis* on serum lipids in rats fed high cholesterol diet. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **35**, 841-846.
 18. Kim, Y. S. and Choi, H. G. 2004. Epiphytic algae growing on *Sargassum thunbergii* in Southern and Western Coasts of Korea. *Kor. J. Ecol.* **27**, 173-177.
 19. King, D. J. and Devaney, N. 1988. Clinical pharmacology of sibutramine hydrochloride (BTS 54524), a new antidepressant, in healthy volunteers. *Br. J. Clin. Pharmacol.* **26**, 607-611.
 20. Kopelman, P. G. 2000. Obesity as medical problem. *Nature* **404**, 635-643.
 21. Lee, H. S., Choi, J. H., Kim, Y. E. and Lee, C. H. 2012. Effect of dietary intake of *Salicornia herbacea* L. hot water extract on anti-obesity in diet-induced obese rats. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **41**, 950-956.
 22. Lee, K. S. and Kim, J. B. 2009. Effects of the *Sarcodon aspratus* on the High Level of Blood Lipid and Obesity Induced by High Fat-diet in Rat. *J. Life Sci.* **19**, 1265-1270.
 23. Lee, S. S. and Park, J. H. 1989. Long-term effect of ovariectomy on body composition. *J. Nutr. Health.* **22**, 102-107.
 24. Lee, Y. S., Jung, S. H., Lee, S. H. and Shin, K. H. 2004. Effects of the Extracts from the Marine Algae *Pelvetia siliquosa* on Hyperlipidemia in Rats. *Kor. J. Pharmacogn.* **35**, 143-146.
 25. Mason, E. E. 1992. Methods for voluntary weight loss and control. *Obes. Surg.* **2**, 275-276.
 26. Park, J. C., Jang, Y. I., Doo, M. S., Kim, S. H. and Choi, J. W. 1996. Effect of methanolic extract of *Pachymeniopsis elliptica* on lipids component of hyperlipidemic rats. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **25**, 958-962.
 27. Park, H. Y., Yoon, D. H. and Oh, E. Y. 2001. Effect of *Meristotheca papulosa* on lipid concentration of serum and liver in rats fed high fat diet. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **30**, 107-111.
 28. Park, J. C., Jang, Y. I., Doo, M. S., Kim, S. H. and Choi, J. W. 1996. Effect of methanolic extract of *Pachymeniopsis elliptica* on lipids component of hyperlipidemic rats. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **25**, 958-962.
 29. Pellizon, M., Busion, A. and Jen, K. L. 2000. Short-term weight cycling in aging female rats increases rate of weight gain but not body fat content. *Int. J. Obes.* **24**, 236-245.
 30. Shimizu, H. and Shimomura, Y. 1992. Colonic temperature was not changed in the development of obesity after ovariectomy. *Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes* **2**, 99-101.
 31. Song, H. S., Eom, S. H., Kang, Y. M., Choi, J. D. and Kim, Y. M. 2011. Enhancement of the antioxidant and anti-inflammatory activity of *Hizikia fusiforme* water extract by lactic acid bacteria fermentation. *Kor. J. Fish Aquat.* **44**, 111-117.
 32. Spiller, G. A., Amen, R. J. and Kritchevsky, D. 1975. Dietary fiber in human nutrition. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **7**, 39-70.
 33. Soloff, L. A., Rutenberg, H. L. and Lacko, A. G. 1973. Serum cholesterol esterification in patients with coronary artery disease. *Am. Heart J.* **85**, 153-161.

34. Zavaroni, I., Bonora, E. and Pagliara, M. 1989. Risk factors for coronary artery disease in healthy persons with hyperinsulinemia and normal glucose tolerance. *N. Engl. J. Med.* **320**, 702-706.

35. Zeiher, A. M., Schachlinger, V. and Hohnloser, S. H.,

Saubier, B. and Just, H. 1994. Coronary atherosclerotic wall thickening and vascular reactivity in humans. Elevated high-density lipoprotein levels ameliorate abnormal vasoconstriction in early atherosclerosis. *Circulation* **89**, 2525-2532.

초록 : 발효 지층이가 고지방식이를 급여한 흰쥐의 혈청 내 지질 함량 및 혈소판 응집에 미치는 영향

천지현¹ · 이주영¹ · 김지혜¹ · 박미화¹ · 이상현² · 공창숙¹ · 김육용³ · 유기환³ · 김미향^{1*}
 (¹신라대학교 식품영양학과, ²신라대학교 제약공학과, ³주아이에스푸드)

본 연구에서는 실험동물인 흰쥐를 고지방식으로 고지혈증을 유도한 후 발효 지층이가 혈중 지질 함량 및 혈소판 응집에 미치는 영향을 검토하였다. 실험 결과, 식이 섭취량은 발효 지층이 상등액을 투여한 군(HF-FST100)과 일반 지층이 상등액을 투여한 군(HF-ST100) 사이에서의 유의적 차이는 나타나지 않았다. 최종 체중 증가량은 발효 지층이 상등액을 투여한 군(HF-FST100)이 고지방식이 투여군(HF-CON)에 비하여 유의적으로 감소하였다. 일일 체중 증가량은 발효 지층이 상등액을 투여한 군(HF-FST100)이 일반 지층이 상등액을 투여한 군(HF-ST100) 보다 유의적으로 감소하였다. 실험동물 장기 중량은 심장과 부신을 제외한 모든 장기에서 발효 지층이 상등액을 투여한 군(HF-FST100)이 고지방식이만 투여한 (HF-CON)군보다 유의적으로 감소하였다. 혈청 중 GOT 및 GPT 측정 결과, 고지방식이를 투여한 군(HF-CON)이 일반사료를 투여한 CON군에 비해 GOT 및 GPT의 활성이 유의적으로 증가하였다. GPT 활성의 경우, 고지방식이를 투여한 군(HF-CON)에 비해 HF-FST100군에서 유의적으로 활성이 감소하는 결과가 나타났다. 혈청 중 중성지방, 총 콜레스테롤 및 LDL-콜레스테롤 함량은 발효 지층이 상등액 투여에 의해 감소하는 경향을 나타내었다. 혈중 HDL-콜레스테롤 함량은 발효 지층이 상등액을 투여한 군(HF-FST100)이 고지방식이를 급여한 군(HF-CON)에 비해 유의적으로 증가하였다. 혈소판 응집 저해능 측정 결과, 발효 지층이 상등액의 투여로 혈소판 응집이 억제되는 것으로 나타났다. 이상의 결과로 발효 지층이 상등액은 고지방식의 급여로 고지혈증이 유도된 흰쥐의 혈중 지질 개선 및 혈소판 응집 저해 효과를 나타내었으며, 이는 고지혈증 및 심혈관질환 예방과 관련된 새로운 천연 기능성 소재 및 식품 개발에 활용될 수 있을 것으로 사료된다.