

## 홍삼 · 복분자 혼합 발효물을 첨가한 치즈의 항비만 효과

이다영 · 김남석 · 김하림 · 김민선 · 이창현<sup>\*\*</sup> · 오미진<sup>\*\*\*</sup> · 오찬호 · 김종석<sup>\*\*\*\*</sup> · 김명순<sup>\*\*\*\*\*</sup> · 권진<sup>†</sup>  
우석대학교 식품생명공학과, <sup>\*</sup>한국복지대학 의료보장구과, <sup>\*\*</sup>우석대학교 한의예과,  
<sup>\*\*\*</sup>한국식품연구원, <sup>\*\*\*\*</sup>우석대학교 재활학과, <sup>\*\*\*\*\*</sup>우석대학교 대체의학과

### Anti-Obesity Effects of Mixture of Cheese, Fermented Red Ginseng and *Rubus coreanus* Miquel

Da young Lee, Nam Seok Kim, Ha Rim Kim, Min Sun Kim, Chang Hyun Lee<sup>\*\*</sup>, Mi Jin Oh<sup>\*\*\*</sup>,  
Chan Ho Oh, Jong Suk Kim<sup>\*\*\*\*</sup>, Myung Soon Kim<sup>\*\*\*\*\*</sup> and <sup>†</sup>Jin Kwon<sup>\*</sup>

*Dept. of Food & Biotechnology, Woosuk University, Wanju 55338, Korea*

*\*Dept. of Prosthetics and Orthotics, Korea National College of Welfare, Pyeongtaek 17738, Korea*

*\*\*Dept. of Korean Medicine, Woosuk University, Wanju 55338, Korea*

*\*\*\*Korea Food Research Institute, Wanju 55365, Korea*

*\*\*\*\*Dept. of Rehabilitation Studies, Woosuk University, Wanju 55338, Korea*

*\*\*\*\*\*Dept. of Alternative Medicine, Woosuk University, Wanju 55338, Korea*

### Abstract

This study was investigating the anti-obesity effects of diets with a mixture of cheese, red ginseng and fermented mature fruit of *Rubus coreanus* Miquel. We fed the experimental diets (SC5, SC10) supplemented with 5% or 10% cheese containing of fermented mixture, then orally administered the extract of fermented mixture (RB100, RB300) at a concentration of 100 or 300 mg/kg body weight to SD rats with high fat diet (HFD). The results were as follows: Sample cheese groups decreased visceral fat mass and adipocyte size of stomach compared to that of HFD group. Additionally, lipid droplets of liver in sample cheese groups were smaller than that in HFD group. The serum triglyceride (TG), total cholesterol (tChol), glucose, leptin, and insulin levels in sample cheese group were lower than that in HFD group. But, the serum adiponectin and HDL-cholesterol (cHDL) levels were higher than that in HFD group. These results suggest that fermentation of red ginseng and *Rubus coreanus* mixed with cheese might be helpful in preventing obesity in high fat diet-fed rats.

Key words: anti obesity, red ginseng, *Rubus coreanus* Miquel, *Lactobacillus plantarum* A, high fat diet

### 서론

전 세계적으로 증가하고 있는 비만 인구는 식생활 패턴 변화로 인한 고열량 섭취와 신체 활동량 감소로 에너지의 섭취량이 소비량에 비해 많아 에너지 잉여와 축적으로 체지방 함량이 항진되어 발생한다(Albert & Thomas 1996). 단순한 체중 증가만이 비만을 의미하는 것은 아니며, 비만은 에너지 대사 불균형의 발생으로 내분비계의 혼란 및 면역이상과 염증 발생, 당뇨, 고혈압, 심혈관질환, 고지혈증 및 동맥경화증 등 대

사성 질환을 많이 발생시키므로 근원적인 치료만이 수반되는 여러 합병증을 치료하고 예방할 수 있다(Despress & Lemieux 2006; Hotamisligik 2006; Kotronen 등 2007). 특히 지방간 및 복강 내 축적되는 지방조직의 증가가 건강의 위협요인이 될 수 있다고 알려져 있다(BJÖRNTORP P 1998). 세계보건기구(WHO)는 비만을 건강에 위협이 되는 단순한 인자가 아닌 치료해야 할 질병으로 정의하였다(World Health Organization 1997). 비만 치료 중 약물요법의 경우, 부작용이 많고 지금까지 안정성이 확보된 물질이 드물고 효과나 기대치가 낮기 때

<sup>†</sup> Corresponding author: Jin Kwon, Dept. of Prosthetics and Orthotics, Korea National College of Welfare, Pyeongtaek 17738, Korea. Tel: +82-31-610-4817, Fax: +82-31-610-4819, E-mail: jink2266@knuw.ac.kr

문에 최적화된 치료제의 개발 요구가 필요한 실정이다. 따라서 많은 연구자들이 대사증후군을 포함한 비만의 치료보다 예방이 필요한 질병으로 여겨 천연물을 활용한 기능성 식품 개발과 생리활성이 있는 물질에 대한 연구를 활발히 진행하고 있고, 또한 소비자들도 건강에 대한 관심이 높아져 수요가 꾸준히 증가하고 있다(Hseu 등 2012).

복분자(*Rubus coreanus* Miquel)는 *Rubus* 속 나무 딸기류의 일종으로 라즈베리의 특산종(한국)으로 수리딸기, 명석딸기 등이 있으나, 복분자만 약용으로 분류되어 있고, 유리당, 인 및 칼륨이 포함되어 있다(Lee 등 2015a). 복분자에는 특히 비타민 C가 많이 함유되어 있는데, 비타민 C의 보충은 혈액 내 중성지질과 VLDL-콜레스테롤 농도를 감소시키며(Lim 등 2006), 항산화(Lee 등 2015b), 항암 및 항염효과(Seeram 등 2006; Yang 등 2011) 등 다양한 생리활성이 밝혀졌다. 최근 복분자 미숙과 추출물은 LDL(low density lipoprotein) 산화 활성 억제능이 있으며, 동물시험에서 LDL을 억제함으로써 고지혈증과 지질대사에 효능이 있음을 보고한 바 있으며(Kwon 등 2011), 고지방식이를 섭취한 생쥐의 혈청 내 지질 균형과 항동맥경화 효능이 있다는 보고가 있다(Kim 등 2013).

인삼(ginseng)은 두릅나무과(Araliaceae)에 속하는 다년생초이다(Wang & Yuan 2008). 인삼을 고온에 쪄서 건조한 것이 홍삼(red ginseng)이고, 제조되는 과정 중 화학구조가 변하여 새로운 saponin 성분의 생성과 일부 생리활성 물질이 증가하기도 한다. 홍삼성분의 ginsenoside-Rg2, Rg3, Rh1, Rh2 등은 항암, 신경세포 보호, 혈압강하, 항혈전, 항산화 작용 등이 있다(Lee 등 2008a). 최근 연구에서 홍삼의 ginsenoside는 세포 내에서의 콜레스테롤 농도를 낮추어 LDL 수용체 생합성의 억제작용을 완화하며, 소장에서의 담즙산의 재흡수를 억제함으로써 고 콜레스테롤혈증을 개선하는 효과가 있다고 보고하였다(Yoon & Joo 1993).

유산균(*Lactobacillus plantarum*)은 자연계에 널리 존재하는 유용한 미생물로서 탄수화물을 혐기적으로 이용하여 유기산을 생성하는 균으로 알려져 있다(Park SS 2013). 유산균의 정장작용, 항암 및 항돌연변이 효과, 면역, 간경화 개선, 혈청 콜레스테롤 감소, 비만 억제효과 등 프로바이오틱스 기능이 밝혀짐에 따라 산업적으로 이용가치가 확대되고 있고(Cani & Delzenne 2009), 유산균을 섭취하면 항비만 효과가 있다는 보고도 있다(Kwon 등 2004).

치즈는 단백질, 칼슘, 인 등 여러 영양성분과 비타민 A, B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>6</sub>, 폴린 등과 무기질을 함유하는 발효 유제품이며, 치즈는 제조원산지, 원료의 종류, 제조방법, 외관형태, 숙성방법, 화학적 조성 및 미생물학적 조성에 따라서 영양성분에 큰 차이가 나타난다(Chun HN 2005). 치즈를 포함하는 유제품의 섭취가 혈중 tChol, cHDL 및 cLDL의 농도에 영향을 끼쳐 유제

품을 섭취하는 그룹이 섭취하지 않는 그룹보다 효과가 있다고 보고되었으며(Chi 등 2004), 다른 연구에서는 Domiati 치즈군에서는 혈청과 간의 콜레스테롤 농도가 증가하였으나, 이집트에서 생산되는 Domiati 치즈를 만드는 우유 일부에 30% buttermilk를 첨가하여 제조한 치즈에서는 간과 혈청에서 콜레스테롤의 농도가 감소하였으나, 50%의 buttermilk를 첨가한 군에서는 콜레스테롤의 저하 효과는 없었다(Abou-Zeid NA 1992).

이와 같이 홍삼, 복분자, 유산균, 치즈에 대한 각각의 연구는 보고되어 있으나, 복합 기능성 검증과 제품 개발 연구가 미비한 실정이다. 따라서 본 연구는 홍삼과 복분자 혼합물에 미생물 균주인 *Lactobacillus plantarum* A를 넣어 발효 · 첨가한 유제품이 항비만 천연소재의 가능성을 검증해 보기 위해 *in vivo*계에서 지질대사 영향에 대한 연구를 진행하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 실험동물 사육환경

실험동물은 생후 7주령의 SD(Sprague Dawley)계 흰쥐(♂)를 다물사이언스에서 분양받아서 1주일간 적응시킨 후 사용하였으며, 난괴법으로 7마리씩 7군으로 배정하여 4주간 실험을 진행하였다. 실험동물은 온도 22±2°C, 습도 55±10%, light/dark 12시간의 조건에서 사육하였으며, 동물실험(승인번호; WS 2015-001)과정은 우석대학교 동물실험윤리위원회(WSIACUC: Woosuk University Institutional Animal Care and Use Committees) 지침에 따라 수행하였다.

### 2. 검액 조제

홍삼 분말은 건보(주)(진안), 복분자 분말은 베리 & 바이오 식품연구소(고창), 균주인 *Lactobacillus plantarum* A(KFCC-11611P)는 한국미생물보존센터(KCCCM, Seoul)에서 공급받아 추출물을 발효하는데 사용하였다. *L. plantarum* A는 사용 전 발효를 위해 30°C, 24시간 DeMan-Rogosa-Sharpe(MRS, BD, Sparks, MD, USA) 증식배지로 미리 배양하였다. 홍삼 추출물 분말은 에탄올로 추출(3회), 감압농축(40~60°C)하여 농축액을 회수한 후 60~80°C에서 숙성(3일간), 살균(85°C, 2시간), 동결건조하여 사용하였다. 복분자 추출물 분말은 고창에서 수확한 성숙 복분자 중량의 10배의 물을 첨가하여 2시간 농축추출기(Cosmo 660, Kyungseo machine, Incheon, Korea)를 이용해 100°C에서 2회 가열 추출하였고, 추출물은 여과 · 농축 후 동결건조(PVTFD10R, Ilsin-biobase, Dongducheon, Korea)하여 사용하였다. 홍삼 추출물 분말과 복분자 추출물 혼합 발효는 각각의 분말을 0.125 g/mL 농도로 증류수 1 L에 미리 혼합, 멸균하였고, 멸균된 홍삼 · 복분자 혼합물에 1.0×10<sup>8</sup>

CFU/mL로 활성화시킨 *L. plantarum* A를 미리 배양한 배양액 100 mL를 접종 후 35°C, 5일간 배양한 후 동결건조하였다. 이를 동물실험 시료로 사용하였다.

### 3. 실험동물 식이투여 및 체중 측정

본 동물실험에서의 실험군의 분류는 Table 1과 같으며, 실험에 사용한 모든 치즈분말은 임실치즈과학연구소에서 제공받아 사용하였고, Table 2의 사료배합 조성비와 Table 3의 치즈 성분조성비에 따라 동물사료 제조 회사인 피드랩(경기 구리)에 의뢰하여 실험식이를 제조하였다(N, C, NC, SC5, SC10). RB100, RB300군은 4주간 1일 1회 홍삼과 복분자 혼합 발효물을 각각 100 mg/kg, 300 mg/kg을 경구투여하였다. 체중은 실험개시와 실험 종료 후 측정하여 체중 증가량을 산출하였다.

### 4. 실험동물 혈액 및 조직 적출

실험동물에 각각의 해당 식이를 4주간 급여한 후, 12시간 동안 절식시킨 다음 ether 마취하에 심장에서 혈액을 채취하였다. 채취한 혈액은 응고시킨 후 원심분리(3,000 rpm, 4°C, 10분)혈청을 분리하였고, 부고환과 신장 주위의 지방조직을 절제하여 지방 무게를 측정하였다. 일부 실험동물은 하대 정맥을 절단 후 좌심방에 생리식염수를 주입하여 5분간 방혈시키고, Bouin's solution을 주입하여 고정하였다. 고정된 실험동물에서 위장관의 조직을 절취하여 paraffin 절편을 제작하는데 이용하였고, 간조직은 Bouin's solution(+20% sucrose)에

**Table 1. The classification of group**

Group	Diet	Administration (p.o.)
Normal (N)	AIN 93G	-
Control (C)	HFD <sup>1)</sup>	-
NC	HFD +5% normal cheese	-
SC5	HFD +5% sample cheese <sup>2)</sup>	-
SC10	HFD +10% sample cheese	-
RB100	HFD	Fermented red ginseng and <i>Rubus coreanus</i> mixture 100 mg/kg
RB300	HFD	Fermented red ginseng and <i>Rubus coreanus</i> mixture 300 mg/kg

<sup>1)</sup> HFD: High fat diet 45 kcal% fat.

<sup>2)</sup> Sample cheese: Normal cheese + fermented red ginseng and *Rubus coreanus* mixture.

over night 한 후 냉동절편을 제작하였다.

### 5. 혈청 지질과 glucose 함량 측정

혈청 지질(TG, tChol, cHDL)과 glucose 함량의 측정은 아산제

**Table 2. Composition of basal and experimental diets**

(Unit: mg%)

Ingredients	AIN 93G	HFD 45 kcal%	HFD + normal cheese 5%	HFD + sample cheese 5%	HFD + sample cheese 10%
Casein	200	233.07	220.28	219.64	233.07
Sucrose	100	201.38	201.38	201.38	201.38
Dextrose	132.00	116.54	116.54	116.54	116.54
Corn starch	397.5	84.84	84.74	86.54	84.84
Cellulose	50	58.27	58.27	58.27	58.27
Soybean oil	70	29.13	29.13	29.13	29.13
Lard	0	206.85	169.72	168.6	130.35
Normal cheese		0	50		
Sample cheese <sup>1)</sup>				50	100
Mineral mix <sup>2)</sup>	35	52.44	52.44	52.44	52.44
Vitamin mix <sup>3)</sup>	10	11.65	11.65	11.65	11.65
L-Cystine	3	3.50	3.50	3.50	3.50
Choline bitartrate	2.5	2.33	2.33	2.33	2.33

<sup>1)</sup> Sample cheese: Normal cheese + fermented red ginseng and *Rubus coreanus* mixture.

<sup>2)</sup> Mineral mix: Mineral mixture based on AIN-76A.

<sup>3)</sup> Vitamin mix: Vitamin mixture based on AIN-76A.

**Table 3. Composition of normal cheese (NC) and sample cheese (SC)**

	Normal cheese (%)	Sample cheese (%) <sup>1)</sup>
Protein	16.92	16.95
Fat	49.11	48.26
Moisture	33.89	36.92
Salt	0.60	0.76
Total solid	66.11	63.08

<sup>1)</sup> Sample cheese: Normal cheese + fermented red ginseng and *Rubus coreanus* mixture.

약 enzymatic kit(Asan Pharmaceutical Co, Korea)를 사용하여 측정하였다(Young, 1995). TG의 측정방법은 효소시액을 300  $\mu$ L를 분주하고 혈청시료 20  $\mu$ L를 분주하여 37°C에서 10분간 반응시킨 후 microplate reader(Molecular Device, VersaMax, USA)로 측정하였으며, 550 nm 파장에서 흡광도를 측정하여 함량을 계산하였다. tChol, glucose의 측정은 위에 기술한 방법과 동일하게 수행하였다. cHDL의 측정방법은 혈청과 분리시액을 200  $\mu$ L씩 혼합하여 실온에서 10분간 방치한 후, 원심분리(3,000 rpm, 10분)한 다음 상청액 100  $\mu$ L와 효소시액 300  $\mu$ L를 혼합하여 37°C에서 5분간 반응시킨 다음 500 nm 파장에서 흡광도를 측정하여 함량을 계산하였다.

## 6. 혈청 비만관련 호르몬 측정

혈청 내 비만관련 호르몬 함량 측정은 adiponectin kit(mouse/rat adiponectin ELISA kit, Shibayagi, Japan), leptin kit(mouse leptin ELISA kit, KOMA biotech, Korea) 및 insulin kit(mouse insulin ELISA kit, Shibayagi, Japan)를 사용하여 sandwich ELISA method를 이용하였다(Engvall and Perlmann, 1972). 혈청 중 adiponectin 농도의 측정은 anti-mouse adiponectin antibody가 코팅된 microplate의 well을 wash buffer(300  $\mu$ L/well)로 3회 세척한 후, biotin conjugated anti adiponectin antibody(100  $\mu$ L/well)를 첨가하여 30분간 반응하였다. 혈청을 well 당 10  $\mu$ L 넣은 후 실온에서 2시간 반응하여 wash buffer로 세척( $\times$ 3회)하였다. HRP conjugated streptavidin solution(100  $\mu$ L/well)을 첨가하여 30분 동안 실온에서 반응시킨 다음 세척(3회)하고, 기질용액을 100  $\mu$ L/well 가하여 실온(차광)에서 30분간 발색 후, stop solution(100  $\mu$ L/well)을 가하여 반응을 정지시킨 다음 microplate reader(Molecular Device, VersaMax, USA)로 450 nm에서 측정하였다. 혈청 내 leptin과 insulin 농도의 측정은 adiponectin과 같은 방법으로 측정하였다.

## 7. 내장 지방증가량과 위체부 지방세포 크기 관찰

절제한 부고환과 신장 주위지방 무게를 측정하여 총 지방

무게를 측정하였다(Chen 등 2017). 또한, 절취된 위장관 조직 중 위체부를 paraffin 절편 제작한 후 DAB 염색으로 위체부 주위 조직의 지방세포 크기변화를 현미경으로 관찰하였다.

## 8. 간조직 내 지질 변화

간 조직 내 지방질 축적을 관찰하기 위해 실험 종료 후 적출된 간 조직 일부를 Bouin's solution(+20% sucrose)에 overnight 시켜 고정된 다음, PBS에 세척 후 물기를 제거하여 Optical cutting temperature (O.C.T) compound (SAKURA, USA) 동결조직을 포매시켜 동결조직 block을 만들어 -70°C에 보관하였다. 간조직을 20  $\mu$ m 두께로 microtome을 사용하여 절단한 후 free floating method를 이용하여 Oil red O 염색을 시행하였다(Bancroft 등 1996).

## 9. 통계처리

모든 데이터는 Mean $\pm$ S.D.로 나타내었으며, 통계처리는 SPSS(Statistical Package for the Social Science, ver. 12.0) software를 이용하여, One-way ANOVA(one-way analysis of variance)를 실시한 후, 유의성은  $p<0.05$  수준에서 Duncan's multiple range test 처리하였다.

## 결과 및 고찰

### 1. 체중 증가량 변화

4주 동안 홍삼과 복분자 혼합 발효물을 첨가한 치즈를 혼합한 고지방식이(HFD) 흰쥐에서 체중 증가량의 변화를 관찰하였다(Fig. 1). 4주 후 체중증가는 기본 사료를 섭취한 정상군(N)보다 HFD를 섭취한 대조군(C)에서 57.3%만큼 유의성 있게 증가하였고( $p<0.05$ ), 치즈 급여군에서는 치즈대조군(NC)에 비해 SC5, SC10군에서 각각 유의적으로 감소하였다( $p<0.05$ ). 또한, 홍삼과 복분자 혼합 발효물만 경구투여한 RB100군, RB300군에서는 각각 C군에 비해 유의성 있게 감소하였다( $p<0.05$ ).

### 2. 내장지방(부고환, 신장 주위지방) 증가량

마우스 희생 후 부고환과 신장 주위지방 무게를 합한 총 내장지방 무게는 기본 사료를 섭취한 N군에서는 4.6 $\pm$ 0.8 g이었으나, HFD를 섭취한 C군은 N군에 비해 3배 이상 유의성 있게 증가하여( $p<0.05$ ) HFD로 비만이 유도됨을 확인하였다. 각 군의 내장지방 증가량은 전체적으로 C군에 비해 감소하였고, 치즈급여군에서는 SC5군만 NC군에 비해 유의성 있게 감소하였다( $p<0.05$ ). 홍삼과 복분자 혼합 발효물을 경구투여한 RB100군과 RB300군에서는 C군에 비해 유의성 있게 감소하였다( $p<0.05$ )(Fig. 2). 이상의 실험 결과, 홍삼 복분자 혼

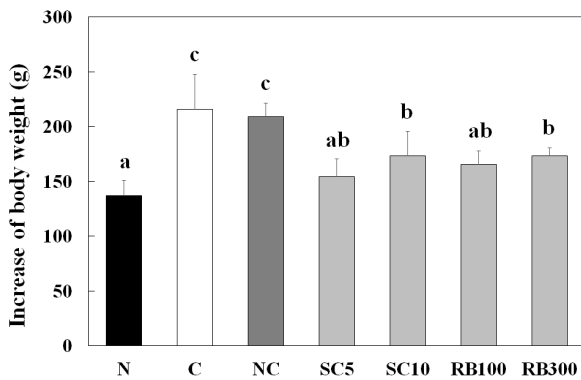


Fig. 1. The effect of sample cheese with fermented red ginseng and *Rubus coreanus* mixture on change of total body weight after high fat diets fed rats for 4 weeks. N: normal group, C: control group, NC: normal cheese group, SC5 or SC10: 5% or 10% sample cheese group, RB100 or RB300: 100 mg/kg or 300 mg/kg of fermented red ginseng and *Rubus coreanus* mixture. Data are presented as the mean±S.D. a~c: Different letters are significantly different from each other among all the group at  $p<0.05$  by Duncan's multiple range test.

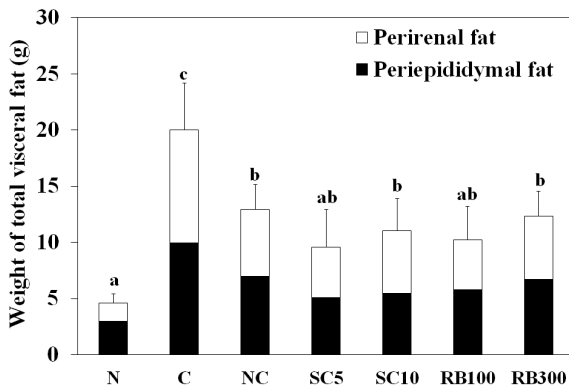


Fig. 2. The effect of sample cheese with fermented red ginseng and *Rubus coreanus* mixture on weight of each periepididymal and perirenal fat in high fat diets fed rats for 4 weeks. N: normal group, C: control group, NC: normal cheese group, SC5 or SC10: 5% or 10% sample cheese group, RB100 or RB300: 100 mg/kg or 300 mg/kg of fermented red ginseng and *Rubus coreanus* mixture. Data are presented as the mean±S.D. a~c: Different letters are significantly different from each other among all the group at  $p<0.05$  by Duncan's multiple range test.

합발효물을 첨가한 치즈를 사료에 혼합하여 급여하거나(SC군), 경구 투여시(RB군) 체중증가량과 내장지방이 감소하는 것을 확인하였다. Choi 등(2014)은 복분자 추출물은 내장지방

의 지방세포의 크기를 감소시킨다고 하였고, Hwang 등(2009)은 홍삼의 사포닌 성분 중 Rg3가 지방세포의 분화를 억제한다고 하였다. 인삼추출물을 이용한 비만동물 모델에서는 체중이 감소하고, 지방조직의 무게가 감소하며, 지방조직 내 지방 분화 관련 전사인자의 발현이 억제된다고 하였다(Lee 등 2010). 이는 홍삼과 복분자 혼합 발효물을 경구 투여한 군에서 홍삼과 복분자 발효물은 체중 증가량과 내장지방(부고환, 신장 주위지방)을 감소시킬 수 있다(Moon 등 2015)는 가능성을 확인하였다.

### 3. 혈청 지질과 glucose 함량 변화

혈중 TG(중성지방)은 외인성(식사성)과 내인성(체내합성)에 의해 형성되는데, 고지방식이, 고칼로리식이, 지방간 등에 의해 증가되기 때문에 TG, tChol, glucose 농도의 측정은 지질 대사 이상을 판단할 수 있다(Parks 등 2001)는 보고에 따라 혈청 중 TG, tChol, cHDL의 농도를 측정하였다(Table 4). TG 함량은 C군이 N군에 비교하여 유의성 있게 증가하였고( $p<0.05$ ), 치즈급여군에서는 NC군에 비해 SC5군에서 유의성 있게 감소하였다( $p<0.05$ ). 홍삼과 복분자 혼합발효물을 투여한 RB100과 RB300군은 각각 C군에 비해 유의성 있게 감소하였다( $p<0.05$ ).

혈중 콜레스테롤의 농도는 간 및 장관에서 생성과 흡수에 관여하는 인자에 의해 좌우되기 때문에 총 콜레스테롤 함량이 증가할수록 비만지수가 높아지는 것으로 밝혀져 있어 혈청 중 tChol의 함량은 비만연구에 있어 중요한 의미(Shon 등 2003)가 있다. tChol의 함량의 변화는 치즈급여군에서는 NC군에 비해 tChol의 함량이 유의성 있게 감소하였다( $p<0.05$ ). 홍삼과 복분자 혼합발효물을 투여한 RB100과 RB300군은 각각 C군에 비해 유의성 있게 감소하였다( $p<0.05$ ). Park 등(2007)은 고콜레스테롤 식이를 섭취한 흰쥐에게 *L. acidophilus*를 섭취시켰을 때, 혈중 총콜레스테롤 농도를 유의적으로 감소시켰으며, 체내 콜레스테롤을 배출하는데 관여하는 cHDL을 약간 증가시킨다고 하였다. 혈청 중 cHDL 함량은 치즈급여군에서는 NC군에 비해 SC5군과 SC10군은 유의성 있게 증가하였다( $p<0.05$ ). 홍삼과 복분자 혼합발효물을 경구투여한 군에서는 RB100군에서만 유의적으로 증가하였다( $p<0.05$ ). 이상의 실험 결과로 고지방식이에 의해 비만이 유도된 흰쥐의 TG, tChol은 감소하였으나, cHDL의 함량이 증가한 것으로 보아 지질대사 개선 효과가 있음(Lee 등 2015a)을 확인하였다.

혈중 glucose의 농도는 합성과 분해, 흡수, 재생, 이용, 배설을 통하여 조절된다. Glucose는 운동이나 스트레스, 식사 여부에 따라서 변화가 생기고, 혈당이 높아지는 것은 비만, 만성간질환, 심근경색, 내분비질환에서 나타난다. Glucose의 함

**Table 4. The effects of cheese with fermented red ginseng and *Rubus coreanus* mixture on TG, tChol, cHDL, glucose in serum of high fat diets fed rats for 4 weeks**

	TG (mg/dL)	tChol (mg/dL)	cHDL (mg/dL)	Glucose (mg/dL)
N	121.7±1.9 <sup>b</sup>	105.7±1.1 <sup>d</sup>	57.7±0.1 <sup>bc</sup>	86.2±0.2 <sup>a</sup>
C	164.8±0.7 <sup>e</sup>	109.0±0.4 <sup>e</sup>	57.0±0.2 <sup>b</sup>	173.5±1.3 <sup>g</sup>
NC	138.8±1.2 <sup>d</sup>	108.8±0.5 <sup>e</sup>	54.4±0.1 <sup>a</sup>	150.7±1.1 <sup>f</sup>
SC5	115.4±2.4 <sup>a</sup>	102.0±0.0 <sup>c</sup>	61.3±0.9 <sup>d</sup>	113.0±0.8 <sup>b</sup>
SC10	131.3±2.7 <sup>c</sup>	99.6±0.2 <sup>b</sup>	60.2±2.6 <sup>cd</sup>	127.9±1.1 <sup>c</sup>
RB100	120.7±0.9 <sup>b</sup>	94.7±0.6 <sup>a</sup>	61.4±1.6 <sup>d</sup>	143.1±4.2 <sup>e</sup>
RB300	130.7±1.3 <sup>c</sup>	95.5±0.4 <sup>a</sup>	58.3±0.6 <sup>bc</sup>	134.6±0.8 <sup>d</sup>

N: normal group, C: control group, NC: normal cheese group, SC5 or SC10: 5% or 10% sample cheese group, RB100 or RB300: 100 mg/kg or 300 mg/kg of fermented red ginseng and *Rubus coreanus* mixture.

Data are presented as the mean±S.D.

<sup>a-g</sup> Different letters are significantly different from each other among all the group at  $p<0.05$  by Duncan's multiple range test.

량은 치즈급여군에서는 NC군에 비해 SC5 및 SC10군에서는 각각 유의적으로 감소하였다( $p<0.05$ ). 홍삼과 복분자 혼합발효물을 투여한 RB100과 RB300군은 각각 C군에 비해 유의적으로 감소하였다( $p<0.05$ ). 이상의 실험결과는 홍삼 복분자 발효물이 혈당을 낮출 수 있다는 보고(Kim 등 2010)와 유사하였고, 홍삼 복분자 혼합발효물을 첨가한 치즈를 혼합한 고지방식이군과 경구투여군(RB군) 혈청에서도 TG, tChol, glucose의 농도는 감소, cHDL의 농도는 증가시켜 지질대사의 개선 효과가 있음을 확인하였다.

#### 4. 혈청 비만관련 호르몬 변화

본 실험에서 혈청 중 adiponectin, leptin, insulin의 함량 측정된 결과(Table 5), adiponectin 농도는 치즈급여군에서는 NC군에 비해 SC5군과 SC10군에서 모두 유의적 증가를 나타냈으며, 특히 SC5군에서 adiponectin의 농도가 높게 증가하였다

( $p<0.05$ ). 홍삼 복분자 혼합발효물을 투여한 RB100과 RB300군은 C군에 비해 모두 유의적으로 증가하였다( $p<0.05$ ). Adiponectin은 지방세포에서 분비되며, 항동맥경화와 항염증성을 가지는 adipokine으로서(Faber 등 2009) 지방산 대사를 조절하는 호르몬으로 알려졌으며, 간에서 AMPK를 활성화시키며, acetyl-CoA carboxylase를 억제시킴으로써 지방산 산화를 촉진하여 지방 축적을 감소시키고(Weyer 등 2001), 간과 근육에 직접 작용하여 인슐린 저항성을 개선한다(Matsuzawa 등 2004)고 보고하였다.

혈청 내 leptin 농도는 치즈급여군에서 NC군에 비해 모두 유의적으로 감소하였다( $p<0.05$ ). 홍삼과 복분자 혼합발효물을 투여한 RB100과 RB300군은 각각 C군에 비해 유의적으로 감소하였다( $p<0.05$ ). Leptin은 비만관련 단백질로 식욕을 억제하고, 지질대사를 조절하여 에너지 소비를 증가시킨다. 렙틴은 고지방 섭취 시 생쥐의 혈중 렙틴 농도를 유의적으로

**Table 5. The effects of cheese with fermented red ginseng and *Rubus coreanus* mixture on adiponectin, leptin, insulin concentration in serum of high fat diets fed rats for 4 weeks**

	Adiponectin ( $\mu$ U/mL)	Leptin (pg/mL)	Insulin ( $\mu$ U/mL)
N	8.1±0.9 <sup>ab</sup>	370.5±3.2 <sup>a</sup>	8.6±0.1 <sup>a</sup>
C	6.9±0.5 <sup>a</sup>	3,628.0±15.1 <sup>e</sup>	26.6±0.2 <sup>e</sup>
NC	7.7±1.1 <sup>ab</sup>	1,541.0±2.9 <sup>d</sup>	12.7±0.6 <sup>c</sup>
SC5	13.1±1.2 <sup>b</sup>	860.6±0.7 <sup>b</sup>	11.1±0.1 <sup>b</sup>
SC10	11.6±1.4 <sup>ab</sup>	1,044.1±0.4 <sup>c</sup>	10.1±0.2 <sup>ab</sup>
RB100	19.5±1.5 <sup>c</sup>	1,576.4±2.0 <sup>d</sup>	12.8±0.5 <sup>c</sup>
RB300	25.8±2.0 <sup>d</sup>	822.6±23.7 <sup>b</sup>	15.6±0.2 <sup>d</sup>

N: normal group, C: control group, NC: normal cheese group, SC5 or SC10: 5% or 10% sample cheese group, RB100 or RB300: 100 mg/kg or 300 mg/kg of fermented red ginseng and *Rubus coreanus* mixture.

Data are presented as the mean±S.D.

<sup>a-c</sup> Different letters are significantly different from each other among all the group at  $p<0.05$  by Duncan's multiple range test.

감소시켜 체지방 크기를 감소시킨다고 하였다(Frederich 등 1995). 혈중에서 leptin은 에너지가 과잉 축적될 때 농도는 증가하고, leptin의 농도가 감소할수록 체중 및 체지방량이 감소하여 지방세포의 저장이 감소된다(Maffei 등 1995)는 보고와 일치함을 확인하였다. 본 실험에서도 고지방식으로 비만이 유도된 흰쥐에 혼합 발효물을 첨가한 치즈를 급여한 결과는 leptin의 농도는 감소하였고, adiponectin의 농도는 증가시켜 혈중 지질대사 호르몬의 농도를 조절시킴을 확인하였다.

본 실험에서 혈청 중 insulin의 농도는 치즈급여군에서는 NC군에 비해 유의적으로 감소하였다( $p < 0.05$ ). 홍삼과 복분자 혼합발효물을 투여한 RB100과 RB300군은 각각 C군에 비해 유의적으로 감소하였다( $p < 0.05$ ). SC5군과 SC10군은 C군에 비교해도 모두 유의적으로 감소한 것을 확인하였다. 혈청 내 인슐린 함량은 체중 및 내장지방의 증가에 따라 증가하며(Lee 등 2008b), C군의 인슐린 농도의 증가는 내장지방의 증가와 관련이 있어 보이며, 전체적으로 모든 실험군에서 C군에 비해 유의적으로 감소하여 항비만 개선에 영향을 주는 것으로 확인하였다. 또한, SC5군과 SC10군의 경우, glucose, insulin 및 내장지방의 함량이 감소하였는데, 이는 내장지방의 함량이 glucose와 insulin의 농도와 밀접한 상관관계가 있다는 Ross 등(1996)의 연구와 일치하여, 혼합발효물을 첨가한 치즈를 혼합한 사료를 급여한 군과 홍삼과 복분자 혼합발효물을 경구투여한 군에서 내장지방의 감소 및 인슐린 감수성을 향상시켜 glucose와 insulin 농도를 감소시킴을 확인하였다.

### 5. 위 체부 주위 지방세포 크기 변화

위 체부 주위 지방세포 크기를 DAB로 발색시켜 관찰한 결과, 지방세포의 크기는 치즈급여군이 C군에 비해 모두 감소하였고, SC5군은 SC10군보다 감소하였다. 경구투여군 중 RB300군은 C군과 유사하였으나, RB100군은 지방세포의 크기가 C군에 비하여 감소하였다(Fig. 3).

### 6. 간조직 내 지질 변화

간조직의 지질 변화를 관찰하기 위해 Oil red O 염색법을 이용하여 간소엽(liver lobule)과 간소엽 사이 주위공간의 지질입자를 관찰하였다(Fig. 4, 5). 간소엽의 지질입자는 치즈급여군에서는 C군과 비교해 지질입자는 전반적으로 균일하게 배열되어 있으며, 크기는 감소하여 N군과 비슷하게 관찰되었다. 경구 투여군에서도 C군에 비해 현저하게 지질입자가 감소하였으나, RB100군이 RB300군에 비해 입자의 분포 및 크기가 감소하였다. 또한, 간소엽 주위공간의 지질입자에서는 SC5군은 NC군과 유사하였으나, SC10군에 비해 지질입자의 분포가 미약하게 관찰되었다. 경구 투여군에서도 C군에 비해 현저하게 지질입자가 감소하였으며, RB100군이 RB300

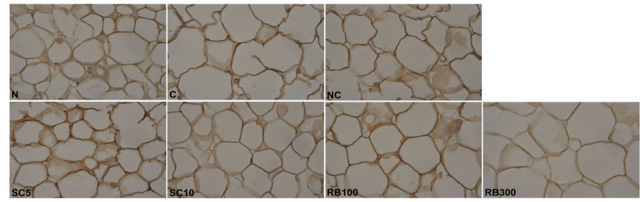


Fig. 3. The effect of basal diet (N), high fat diet (C), 5% (SC5) and 10% sample cheese (SC10), RB100 and RB300 on size of adipocytes in corpus of stomach after basal and high fat diets fed rats for 4 weeks ( $\times 400$ , DAB stain). N: normal group, C: control group, NC: normal cheese group, SC5: 5% sample cheese group, SC10: 10% sample cheese group, RB100: 100 mg/kg of fermented red ginseng and *Rubus coreanus* mixture, RB300: 300 mg/kg of fermented red ginseng and *Rubus coreanus* mixture.

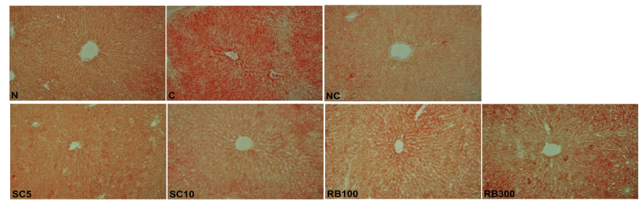


Fig. 4. The effect of basal diet (N) and high fat diet (C), 5% (SC5) 10% sample cheese (SC10), RB100 and RB300 on deposition of lipid droplets in liver lobule after basal and high fat diets fed rats for 4 weeks ( $\times 100$ , Oil Red O stain). N: normal group, C: control group, NC: normal cheese group, SC5: 5% sample cheese group, SC10: 10% sample cheese group, RB100: 100 mg/kg of fermented red ginseng and *Rubus coreanus* mixture, RB300: 300 mg/kg of fermented red ginseng and *Rubus coreanus* mixture.

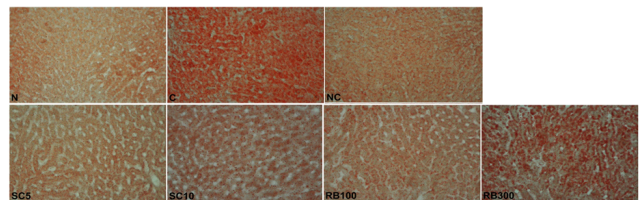


Fig. 5. The effect of basal diet (N) and high fat diet (C), 5% (SC5) 10% sample cheese (SC10), RB100 and RB300 on deposition of lipid droplets in interlobular space of liver after basal and high fat diets fed rats for 4 weeks ( $\times 100$ , Oil Red O stain). N: normal group, C: control group, NC: normal cheese group, SC5: 5% sample cheese group, SC10: 10% sample cheese group, RB100: 100 mg/kg of fermented red ginseng and *Rubus coreanus* mixture, RB300: 300 mg/kg of fermented red ginseng and *Rubus coreanus* mixture.



군에 비해 입자의 분포 및 크기가 현저하게 감소하였다. 특히 SC5와 RB100군의 간조직에서는 C군에 비해 침착된 지질입자가 미약하게 관찰되어 간조직의 지질 축적의 억제 효과가 있는 것으로 사료되었으며, 간소엽 사이 주위공간의 지질입자 염색에서도 간소엽의 결과와 유사였다. 이상의 실험 결과는 Yoo 등(2013)이 비만사료를 급여하면서 *L. plantarum*과 *L. curvatus*를 혼합하여 투여하면 간과 지방조직 내 지질의 축적을 감소시키고, 간과 혈청 내 콜레스테롤을 줄여주어 간의 TG를 감소시킨다고 하였는데, 이는 간에서 여러 가지 지방산 합성 효소의 유전자 발현을 억제하고, 지방산 산화 관련 효소와 관련된 유전자의 발현을 감소시킨다고 함으로써 본 실험에서도 유산균, 홍삼 및 복분자 추출물에 의하여 고지방 사료에 의한 지방축적과 대사변화 등을 야기하여 간 내 지질의 축적을 감소시킨 것으로 사료되었다.

## 요약 및 결론

고지방식이를 섭취한 동물실험에서 홍삼과 복분자 혼합 발효물과 이 혼합발효물을 첨가한 치즈를 먹인 흰쥐의 항비만 실험 결과로는 체중, 총 내장지방 무게, 위체부 지방세포의 크기, 간세포 내 지질 축적, 혈액 내 생화학적 지표인 TG, tChol, glucose의 농도, 혈청 내 지방관련 단백질과 호르몬인 insulin과 leptin의 농도는 감소하고, cHDL, adiponectin의 농도는 증가하여 항비만 개선 효과를 확인하였다. 따라서 홍삼과 복분자 혼합발효물은 항비만 개선 기능성식품 소재로서 시사하는 바가 크며, 추후에는 혼합물 용량에 따른 효과, 항비만 메커니즘 등이 심도 있게 연구되어야 할 것으로 사료된다.

## References

- Abou-Zeid NA. 1992. New type of Domiati cheese of potential benefit to people with high blood cholesterol. *J Dairy Res* 59:89-94
- Albert JS, Thomas AW. 1996. Psychological aspects of sever obesity. *Am J Clin Nout* 55:524-532
- Bancroft JD, Stevens A, Turner DR. 1996. Theory and Practice of Histological Techniques. 4<sup>th</sup> ed. pp.205 Newyork: Churchil Livingstone
- BJÖRNTORP P. 1998. The associations between obesity, adipose tissue distribution and disease. *Acta Med Scand Suppl* 723:121-134
- Cani PD, Delzenne NM. 2009. The role of the gut microbiota in energy metabolism and metabolic disease. *Curr Pharm Des* 15:1546-1558
- Chen LH, Chien YW, Liang CT, Chan CH, Fan MH, Huangd HY. 2017. Green tea extract induces genes related to browning of white adipose tissue and limits weight-gain in high energy diet-fed rat. *Food Nutr Res* 61:1347480
- Chi D, Nakano M, Yamamoto K. 2004. Milk and milk products consumption in relationship to serum lipid levels: A community-based study of middle-aged and older population in Japan. *Cent Eur J Public Health* 12:84-87
- Choi HR, Lee JH, Lee SJ, Lee MJ, Jeong JT, Lee TB. 2014. Effects of unripe black raspberry water extract on lipid metabolism and oxidative stress in mice. *Korean J Food Sci Technol* 46:489-497
- Chun HN. 2005. Development of Korean dairy industry cheese. *J Korean Dairy Technol Sci* 23:161-166
- Despress JP, Lemieux I. 2006. Abdominal obesity and metabolic syndrome. *Nature* 444:881-887
- Engvall E, Perlmann P. 1972. Enzyme-linked immunosorbent assay ELISA. 3. Quantitation of specific antibodies of enzyme labeled anti-immunoglobulin in antigen coated tubes. *J Immunol* 109:129-135
- Faber DR, de Groot Ph G, Visseren FLJ. 2009. Role of adipose tissue in haemostasis, coagulation and fibrinolysis. *Obesity* 10:554-563
- Frederich RC, Hamann A, Anderson S, Löllmann B, Lowell BB, Flier JS. 1995. Leptin levels reflect body lipid content in mice: Evidence for diet-induced resistance to leptin action. *Nat Med* 1:1311-1314
- Hotamisligik GS. 2006. Inflammation and metabolic disorder. *Nature* 444:860-867
- Hseu YC, Chou CW, Senthil Kumar KJ, Fu KT, Wang HM, Hsu LS, Kuo YH, Wu CR, Chen SC, Yang HL. 2012. Ellagic acid protects human keratinocyte (HaCaT) cells against UVA-induced oxidative stress and apoptosis through the up regulation of the HO-1 and Nrf-2 antioxidant genes. *Food Chem Toxicol* 50:1245-1255
- Hwang JT, Lee MS, Kim HJ, Sung MJ, Kim HY, Kim MS, Kwon DY. 2009. Antiobesity effect of ginsenoside Rg3 involves the AMPK and PPAR-gamma signal pathways. *Phytother Res* 23:262-266
- Kim HJ, Chae IG, Lee SG, Jeong HJ, Lee EJ, Lee IS. 2010. Effects of fermented red ginseng extracts on hyperglycemia in streptozotocin-induced diabetic rats. *J Ginseng Res* 34: 104-112
- Kim S, Kim CK, Lee KS, Kim JH, Hwang H, Jeoung D, Choe



- J, Won MH, Lee H, Ha KS, Kwon YG, Kim YM. 2013. Aqueous extract of unripe *Rubus coreanus* fruit attenuates atherosclerosis by improving blood lipid profile and inhibiting NF- $\kappa$ B activation via phase II gene expression. *J Ethnopharmacol* 146:515-524
- Kotronen A, Westerbacka J, Bergholm R, Pietilainen KH, Yki-Jarvinen H. 2007. Liver fat in the metabolic syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 92:3490-3497
- Kwon JW, Lee HK, Park HJ, Kwon TO, Choi HR, Song JY. 2011. Screening of biological activities to different ethanol extracts of *Rubus coreanus* Miq. *Korean J Medicinal Crop Sci* 19:325-333
- Kwon JY, Cheigh HS, Song YO. 2004. Weight reduction and lipid lowering effects of *kimchi* lactic acid powder in rats fed high fat diets. *Korean J Food Sci Technol* 36:1014-1019
- Lee MJ, Choi HR, Lee JH, Lee SJ, Kwon JW, Choi KM, Cha JD, Hwang SM, Park JH, Lee SC, Park PJ, Lee TB. 2015a. Co-treatment with fermented black raspberry and red ginseng extracts improves lipid metabolism and obesity in rats fed with a high-fat and high-cholesterol diet. *Korean J Food Sci Technol* 41:364-372
- Lee SH, Kang JI, Lee SY. 2008a. Saponin composition and physico-chemical properties of Korean red ginseng extract as affected by extracting conditions. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 37:256-260
- Lee SJ, Song Y, Chung MS, Jang SH, Won CK, Song YM, Cho JH. 2015b. Antioxidant activity and hepatic lipids improvement effects of *Rubus coreanus* in high-fat diet-fed rats. *Korean J Vet Serv* 38:117-125
- Lee SK, So SH, Hwang EI, Koo BS, Han GH, Ko SB, Kim NM. 2008b. Effect of ginseng and herbal plant mixtures on anti-obesity in obese SD rat induced by high fat diet. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 37:437-444
- Lee YS, Cha BY, Yamaguchi K, Choi SS, Yonezawa T, Teruya T, Woo JT. 2010. Effects of Korean white ginseng extracts on obesity in high-fat diet-induced obese mice. *Cytotechnology* 62:367-376
- Maffei M, Halaas J, Ravussin E, Pratley RE, Lee GH, Zhang Y, Fei H, Kim S, Lallone R, Ranganathan S, Kern PA, Friedman JM. 1995. Leptin levels in human and rodent: measurement of plasma leptin and ob RNA in obese and weight-reduced subjects. *Nat Med* 1:1155-1161
- Matsuzawa Y, Funahashi T, Kihara S, Shimomura I. 2004. Adiponectin and metabolic syndrome. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 24:29-33
- Moon HJ, Lee JH, Lee SC, Lee CH, Choi KM, Cha JD, Hwang SM, Ko ES, Lee MJ, Jang JE, Choi HR, Park JH. 2015. The effect of red ginseng and black raspberry fermented by *Lactobacillus acidophilus* C in high fat diet-fed mice. *J Milk Sci Biotechnol* 33:159-166
- Park SS. 2013. Biochemical characterization and biological activity of *Schizandra chinensis* (Turcz.) Baill fermented by *Lactobacillus fermentum* MileV L1106. *Korean University of Dong A. Pusan*
- Park YH, Kim JG, Shin YW, Kim SH, Whang KY. 2007. Effect of dietary inclusion of *Lactobacillus acidophilus* ATCC 43121 on cholesterol metabolism in rats. *J Microbiol Biotechnol* 17:655-662
- Parks EJ, Rutledge JC, Davis PA, Hyson DA, Schneeman BO, Kappagoda CT. 2001. Predictors of plasma triglyceride elevation in participating in a coronary atherosclerosis treatment program. *J Cardiopulm Rehabil* 21:73-79
- Ross R, Fortier L, Hudson R. 1996. Separate associations between visceral and subcutaneous adipose tissue distribution, insulin and glucose levels in obese woman. *Diabetes Care* 19:1404-1411
- Seeram NP, Adams LS, Zhang Y, Lee R, Sand D, Scheuller HS, Heber D. 2006. Blackberry, black raspberry, blueberry, cranberry, red raspberry, and strawberry extracts inhibit growth and stimulate apoptosis of human cancer cells *in vitro*. *J Agric Food Chem* 54:9329-9339
- Shon CM, Nho MR, Lee YH, Lim JH. 2003. The clinical and cost effectiveness of medical nutrition therapy in persons with hypercholesterolemia. *J Korean Diabet Assoc* 9:32-39
- Wang CZ, Yuan CS. 2008. Potential role of ginseng in the treatment of colorectal cancer. *Am J Chin Med* 36:1019-1028
- Weyer C, Funahashi T, Tanaka S, Hotta K, Matsuzawa Y, Pratley RE, Tataranni PA. 2001. Hypoadiponectinemia in obesity and type 2 diabetes: Close association with insulin resistance and hyperinsulinemia. *J Clin Endocrinol Metab* 86:1930-1935
- World Health Organization. 1997. Obesity: Preventing and managing the global epidemic, report of WHO consultation on obesity pp.3-5
- Yang HM, Oh SM, Lim SS, Shin HK, Oh YS, Kim JK. 2011. Antiinflammatory activities of *Rubus coreanus* depend on

the degree of fruit ripening. *Phytother Res* 22:102-107

Yoo SR, Kim YJ, Park DY, Jung UJ, Jeon SM, Ahn YT, Huh CS, McGregor R, Choi MS. 2013. Probiotics *L. plantarum* and *L. curvatus* in combination alter hepatic lipid metabolism and suppress diet induced obesity. *Obesity* 21:2571-2578

Yoon SH, Joo CN. 1993. Study on the preventive effect of ginsenosides against hypercholesterolemia and its mechanism.

*Korean J Ginseng Sci* 17:1-12

Young DS. 1995. Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests. 4<sup>th</sup>. Wasington, DC, USA, AACC Press

---

Received 02 October, 2017

Revised 16 January, 2018

Accepted 06 February, 2018