

Safety of SEIGEN

세이겐의 안전성

1) BALB/c mice에 대한 발효된 두유 추출물의 급성 독성

서론

유산균과 효모를 혼합하여 얻어진 발효된 유제품에 다양한 기능이 있다는 사실은 이미 잘 알려져 있다. 그러나, 유산균과 효모들의 다른 조합으로 얻어진 발효 두유의 기능에 대한 논문은 드물다. 특히 발효 두유 추출물에 대한 식품으로서의 안전성에 대한 논문은 찾아 볼 수 없다.

이 실험은 유산과 효모로 발효된 두유 추출물 (이하 SG)의 일일 복용량에 대한 급성 독성을 알아보기 위하여 실행되었다.

재료와 방법

SG의 준비

SG는 여러 종류의 유산균 (12 종의 *Lactobacillus*)과 효모 (4 종의 *Saccharomyces*)의 조합으로 생성된 발효 두유에서 획득되었다. 배양 후에 살균하기 위하여 배양물에 열을 가하였으며 추출을 위해 알코올을 첨가하였다. 그 후, 배양물을 여과하고 표층액은 냉동 건조시켰다.

동물

7주된 수컷과 암컷 BALB/c 쥐는 Charles River Japan Inc. 에서 구하였으며 한 우리에 6마리씩 분배하였다. 동물들에게 음식과 물은 원하는 만큼 제공되었다. 약물 투여 혹은 희생 시에는 4 시간 전부터 공복 상태를 유지하였다.

SG 치료와 검사

동물들은 7일 동안 시설에 적응할 시간이 주어졌으며 6마리씩 3 그룹으로 나뉘어졌다. 두 그룹에게는 SG 용액을 경구로 각각 1과 2.5 g/체중의 kg 투여하였다. SG는 물로 용해하였다 (0.05 ml). SG 용액의 유동성으로 인하여 최고 농도는 2.5 g/kg으로 정하였다. 나머지 그룹은 대조군으로 생리 식염수만을 투여하였다. 7일째 되는 날, 모든 동물은 CO₂ 흡입으로 희생되었고 조심히 부검되었다.

혈액 분석

“DRI-CHEM” colorimetric analyzer (Fuji medical systems Co., Ltd., Tokyo, Japan)을 이용하여 혈액 샘플에서 총 단백질 (TP), Glutamic-Oxaloacetic Transaminase (GOT), 혈중 요소 질소 (BUN), 당, 크레아티닌 (creatinine) 등의 수치를 측정하였다.

통계 분석

통계학적인 유의성은 Kruskal-Wallis test를 이용하여 판별하였다.

결과와 고찰

사망 행동

기술적인 사고로 인한 2.5g/kg 그룹의 수컷 쥐만 예외로 하고, SG 1g/kg 과 2.5g/kg 그룹의 모든 동물들은 생존하였다. 또한 SG 투여 직후에 특별한 변화는 나타나지 않았다. SG 치료의 LD₅₀은 2.5g/체중의 kg 보다 높은 것으로 나타났다.

체중과 기관의 무게

부검에서 특별한 변화는 나타나지 않았다. 표 1에 SG의 투여가 체중에 미치는 영향이 보여진다. SG는 모든 농도에서 쥐의 체중에 유의한 영향을 미치지 않았다. SG 투여군과 대조군 간 기관 체중에는 유의한 차이가 나타나지 않았다 (표 1).

혈액 분석

쥐의 혈장에서 TP 수치는 영양 지표, GOT는 간독성 지표, 포도당은 당대사 지표, BUN과 크레아티닌의 비율 (BUN/Cr)은 신장 기능 지표로서 측정되었다 (표 2). SG 투여군과 대조군 간의 혈장 지표에는 유의한 차이가 나타나지 않았다.

결론적으로, 본 실험에서 SG 치료의 LD₅₀은 2.5g/체중의 kg 보다 높은 것으로 나타났다. 이는 SG를 투여한 쥐에서 어떠한 병원체 소견도 발견되지 않았기 때문에 발효된 두유 제품이 안전하다는 사실을 보여준다.

표 1 SG 투여된 쥐의 기관 무게 ¹⁾

기관의 절대적인 무게

SG 치료 (g/kg)	최종 체중 (g)	심장 무게 (g)	비장 무게 (g)	간 무게 (g)	신장 무게 (g)
수컷					
0	27.6±1.5	0.15±0.02	0.09±0.01	1.14±0.11	0.41±0.04
1	26.8±1.8	0.15±0.01	0.10±0.01	1.43±0.11	0.40±0.04
2.5	27.1±1.4	0.15±0.02	0.09±0.01	1.39±0.08	0.42±0.04
암컷					
0	21.9±1.2	0.11±0.01	0.09±0.01	1.07±0.04	0.26±0.02
1	20.2±1.4	0.10±0.01	0.08±0.01	1.00±0.05	0.24±0.02
2.5 ²⁾	21.2±1.4	0.10±0.01	0.08±0.02	0.97±0.19	0.26±0.04

기관의 상대적인 무게

SG 치료 (g/kg)	심장 (% body wt)	비장 (% body wt)	간 (% body wt)	신장 (% body wt)
수컷				
0	0.5±0.1	0.3±0.0	5.3±0.4	1.5±0.01
1	0.6±0.0	0.3±0.0	5.3±0.3	1.5±0.1
2.5	0.5±0.1	0.3±0.0	5.1±0.1	1.6±0.1
암컷				
0	0.5±0.0	0.4±0.0	5.0±0.2	1.2±0.0
1	0.5±0.0	0.4±0.1	4.9±0.2	1.2±0.1
2.5	0.5±0.1	0.4±0.1	4.8±0.1	1.3±0.1

SG; 유산균과 효모로 발효된 두유 추출물

¹⁾ 수치는 모두 평균±SD (n=6) ²⁾ n=5

표 2. SG 투여된 쥐의 혈장 분석¹⁾

SG 치료 (g/kg)	TP (g/dl)	GOT (U/l)	포도당 (mg/dl)	BUN/Cr
수컷				
0	5.6±0.3	87±33	254±45	0.20±0.03 ²⁾
1	5.3±0.4	64±16	303±68	0.17±0.02 ²⁾
2.5	5.5±0.7	70±18	235±76	0.18±0.03 ²⁾
암컷				
0	4.1±0.2	95±17	291±49	0.11±0.02 ²⁾
1	4.8±0.2	90±34	345±56	0.22±0.09 ²⁾
2.5	5.1±0.8 ²⁾	103±53 ²⁾	280±59 ²⁾	0.17±0.06 ²⁾

¹⁾ 수치는 모두 평균±SD (n=6)

²⁾ n=3, 세 개의 샘플은 혈액 샘플 부족에 의하여 분석을 거치지 않았다
TP; 총 단백질 (total protein), GOT; 글루타민옥살초산전이효소 (glutamic oxalacetic transaminase), BUN/Cr; 혈중 요소 질소와 크레아티닌의 비율

2) BDF₁ mice에 대한 발효된 두유 추출물의 만성 독성

서론

유산균과 효모를 혼합하여 얻어진 발효된 유제품에 다양한 기능이 있다는 사실은 이미 잘 알려져 있다. 그러나, 유산균과 효모들의 다른 조합으로 얻어진 발효 두유의 기능에 대한 논문은 드물다.

이 실험은 수컷과 암컷 BDF₁ mice의 수명 동안 유산균과 효모로 발효된 두유 추출물 (SG)의 일일 복용량에 대한 만성 독성을 알아보기 위하여 실행되었다.

재료와 방법

SG 식이

SG는 여러 종류의 유산균 (6 종의 *Lactobacillus*)과 효모 (2 종의 *Saccharomyces*)의 조합으로 생성된 발효 두유에서 획득되었다. 배양 후에 살균하기 위하여 배양물에 열을 가하였으며 추출을 위해 알코올을 첨가하였다. 그 후, 배양물을 여과하고 표층액은 냉동 건조시켰다. SG 식이는 표 1에서 보여지듯이 SG를 기초 식이와 혼합하여 준비되었다 (CMF, Oriental Yeast Co, Ltd., Tokyo, Japan). 저농도 식이를 SG와 추가적으로 투여하였으며 (0.015~0.3%, SG-L), 고농도 식이도 SG와 추가적으로 투여하였다 (0.3~5% SG-H) (표 2).

동물

수컷과 암컷 BDF₁ 생쥐 (생후 5주)는 Charles River Co.에서 구입하였다. 동물들은 알루미늄 우리에 나무 조각을 깔 상태의 전통적인 환경 내에 생활하였다. 동물실은 24±1 °C와 55±5%의 습도로 일일 12 시간의 빛/어둠 주기로 조절되었다. 표 3에서 보여지듯이, 생후 6주의 쥐들은 세 개의 그룹으로 나뉘어졌다. 한 그룹의 쥐 25 마리에게는 SG-L 식이를 투여하였고, 다른 그룹의 쥐 25 마리에게는 SG-H 식이를 투여하였다. 24 마리의 대조군 그룹에게는 실험 기간 동안 기본 식이를 투여하였다. 음식 섭취로 인한 SG의 평균 농도 (mg/kg 체중/일)의 계산은 표 3에 나타나있다.

실험 기간 동안 쥐의 체중은 매 주 측정되었다. 매일 동물들을 관찰하였고 빈사 상태이거나 죽었을 경우에는 부검이 이루어졌다.

결과와 고찰

체중

각 그룹의 평균 체중은 그림 1-A와 그림 1-B에 도식되어 있다. 수컷 BDF₁ 쥐의 체중은 생후 80주에 55g에 도달하여 그 후로 서서히 감소하였다. 대조군과 SG 투여군 간 수컷 쥐의 체중에는 차이가 없었다. 암컷 쥐의 체중도 수컷 쥐의 체중과 유사한 양상을 보였다. 대조군과 SG 투여군 간 수컷 쥐의 체중에는 차이가 없었다.

병리 소견

병리 소견은 표 5와 6에 기록되어 있다. 비록 빈도는 낮았지만 초년기에 간 이상과 폐렴의 발병이 관찰되었다 (수컷 쥐의 경우 생후 6~116주, 암컷 쥐의 경우 6~106주). 또한 비록 빈도는 낮았지만 말년기에는 종양과 림프종의 발병이 관찰되었다 (수컷 쥐의 경우 생후 117~196주, 암컷 쥐의 경우 107~176주). 이러한 소견은 사망 요인은 노화에 의한 전형적인 병리 병변에 의한 것임을 제시한다. 수컷과 암컷 쥐의 병리 소견에 대조군과 SG 복용군 간 유의한 차이가 없었다.

생존 곡선

수컷과 암컷 쥐의 생존 곡선은 그림 2-A와 그림 2-B에 나타나있다. SG 식이를 투여한 수컷과 암컷 쥐의 수명이 연장되는 경향을 보였다. 특히 암컷 쥐 생존 곡선이 대조군에 비해 SG 복용군에서 더욱 높은 경향을 보였다 (그림 2-B).

본 실험은 발효된 두유 추출물의 만성 복용 또한 안전하다는 결과를 제시한다.

이와 같은 실험들은 이화학연구소 동물 시설에서 이루어졌다. 이화학연구소 (Wako-shi, Saitama, 351-0169, Japan)은 일본의 교육부와 과학부 소관의 공식적인 연구 기관이다.

책임자: Takeo Mizutani, Ph.D.

대표

동물 연구소 실험실, 이화학연구소

표 1) 기본 식이의 영양 성분 (CMF)

성분과 에너지	함량 (%)
수분	7.6
단백질	29.8
지방	8.7
회(ash)	6.4
섬유질	3.7
비질소 가용성 물질	43.8
에너지(Kcal)	373

표 2) SG 식이의 배분

식이	SG의 함량 (%)	
	6~45주 ^{주1)}	46 주~
대조군	-	-
SG-L	0.015	0.3
SG-H	0.3	5

SG-L; 저농도 SG 식이, SG-H; 고농도 SG 식이

^{주1)} 생후 주 수

표 3) 치료 그룹 쥐의 분포

그룹	동물 수	
	수컷	암컷
대조군	25	25
SG-L	25	25
SG-H	25	25

SG-L: 저농도 SG 식이, SG-H: 고농도 SG 식이

표 4) 쥐의 음식 섭취로 인한 SG 평균 농도

그룹	SG의 평균 농도 (mg/kg 체중/일)			
	수컷		암컷	
	6~45주 ^{주1)}	46주~	6~45주	46주~
대조군	-	-	-	-
SG-L	15	231	19	274
SG-H	292	3854	384	4571
평균 체중 (g)	38	48	25	35

SG-L: 저농도 SG 식이, SG-H: 고농도 SG 식이

1) 생후 주 수

표 5) 수컷 BDF₁ 쥐의 병리 소견과 사망률 (%)

병리소견	6~116 (생존 주 수)			117~196 (생존 주 수)		
	대조군	SG-L	SG-H	대조군	SG-L	SG-H
폐렴	-	1(4%)	1(4%)	3(13%)	2(8%)	4(16%)
폐 섬유증	-	-	-	-	1(4%)	-
간 이상	3(13%)	2(8%)	4(16%)	-	1(4%)	1(4%)
종양						
폐	1(4%)	2(8%)	1(4%)	3(13%)	2(8%)	3(12%)
간	1(4%)	-	-	1(4%)	4(16%)	1(4%)
대퇴골, 비장과 복부	-	-	-	1(4%)	1(4%)	2(8%)
림프종						
비장과 종격동 림프절	1(4%)	-	-	2(8%)	2(8%)	1(4%)
위장관 이상	1(4%)	-	-	-		-
신장 이상	1(4%)	-	-	-	1(4%)	2(8%)
요도 이상	2(8%)	1(4%)	-	2(8%)	1(4%)	2(8%)
감염성 질환	-	-		1(4%)	-	1(4%)
원인불명	2(8%)	3(12%)	1(4%)	-	1(4%)	1(4%)
총동물수	12	9	7	12	16	18
(생후 6~196 주)				(24) ¹⁾	(25)	(25)

SG-L; 저농도 SG 식이, SG-H; 고농도 SG 식이

1) 사고로 죽은 한 마리는 총 개수에서 제외되었다.

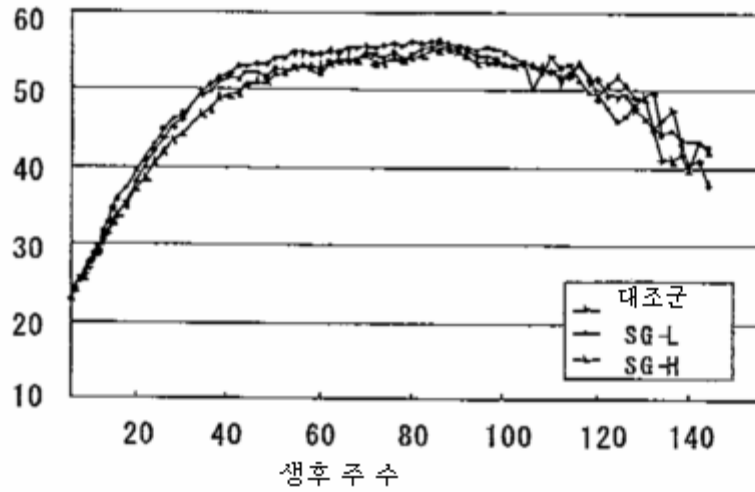
표 6. 암컷 BDF₁ 쥐의 병리 소견과 사망률 (%)

병리소견	6~116 (생존 주 수)			117~196 (생존 주 수)		
	대조군	SG-L	SG-H	대조군	SG-L	SG-H
폐렴	3(12%)	5(20%)	1(4%)	4(16%)	4(16%)	5(21%)
간 이상	4(16%)	2(8%)	1(4%)	1(4%)	4(16%)	4(17%)
중양						
폐	-	-	-	-	1(4%)	1(4%)
소장	1(4%)	-	-	-	-	-
결장	1(4%)	-	-	-	-	-
겨드랑이, 비장, 가슴샘, 상악	1(4%)	-	-	3(12%)	1(4%)	1(4%)
림프종						
창자와 하악림프절	1(4%)	1(4%)	-	3(12%)	2(8%)	3(13%)
위장관 이상	-	-	1(4%)	-	1(4%)	1(4%)
난소낭				-	-	1(4%)
노쇠	-	-	-	-	-	1(4%)
원인불명	3(12%)	2(8%)	3(13%)	-	2(8%)	1(4%)
총 동물 수	14	10	8	11	15	14
(생후 6~176 주)				(25)	(25)	(24) ¹⁾

SG-L; 저농도 SG 식이, SG-H; 고농도 SG 식이

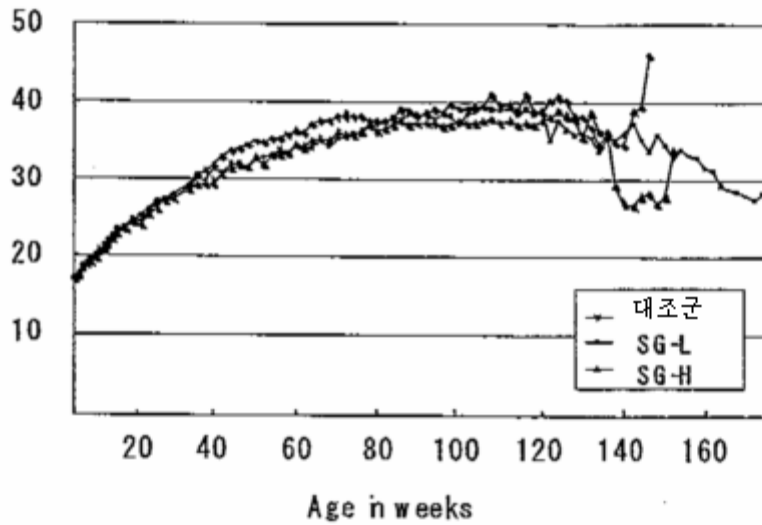
1) 사고로 죽은 한 마리는 총 개수에서 제외되었다.

그림 1-A 수컷 체중 (g)



SG-L: 저농도 SG 식이
 SG-H: 고농도 SG 식이

그림 1-B 암컷 체중 (g)



SG-L: 저농도 SG 식이
 SG-H: 고농도 SG 식이

그림 2-A 수컷 BDF1 쥐의 생존 곡선

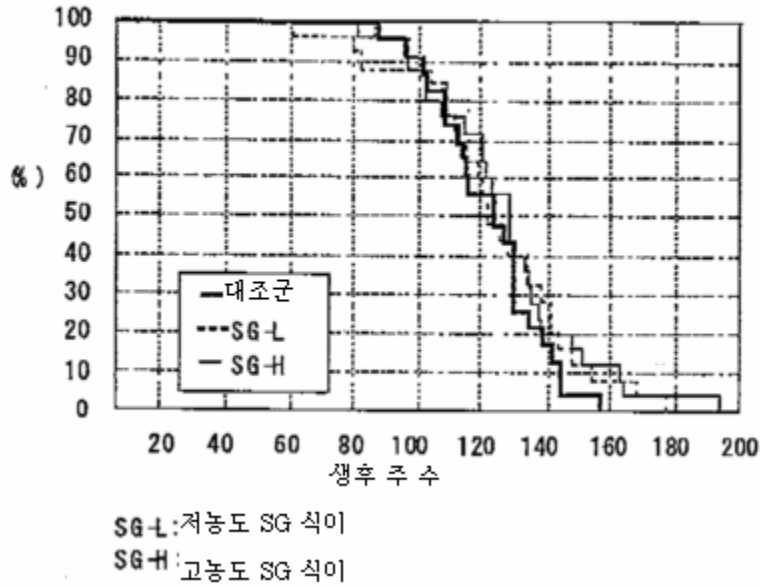


그림 2-B 암컷 BDF1 쥐의 생존 곡선

