

알코올 투여한 쥐에서 발효유의 섭취가 간조직 내 항산화 체계에 미치는 영향

안영태* · 배진성 · 김용희 · 임광세 · 허철성
(주)한국야쿠르트 중앙연구소

Effects of Fermented Milk Intake on Hepatic Antioxidative Systems in Alcohol treated Rats

Young-Tae Ahn*, Jin-Seong Bae, Yong-Hee Kim, Kwang-Sei Lim, and Chul-Sung Huh
Research and Development Center, Korea Yakult Co., LTD.

Effects of fermented milk, Kupffer's[®], intake on hepatic antioxidative systems were investigated in rats fed ethanol (3 g/kg B.W.) for 2 weeks. Serum AST and ALT were 88.7 ± 6.5 and 41.2 ± 4.1 IU/L in control group, 114.6 ± 7.1 and 64.7 ± 3.8 IU/L in alcohol group, and 94.0 ± 5.5 and 44.7 ± 5.3 IU/L in fermented milk (FM) group, respectively. Fermented milk intake decreased hepatic glutathione peroxidase and superoxide dismutase activities of FM group to level of control group ($p < 0.05$). Glutathione S-transferase activity of fermented milk group increased by 122% compared to control group. These results suggest antioxidative activities of lactic acid bacteria and ingredients in Kupffer's[®] improve antioxidative system in alcohol-treated rats.

Key words: alcohol, antioxidative enzymes, fermented milk, Kupffer's[®], liver

서 론

활성산소는 고반응성 산소종(reactive oxygen species, ROS)으로 superoxide($O_2^{\cdot-}$), H_2O_2 , HO^{\cdot} , 알킬 과산화물, 할로겐 산화물 등이 있으며, 이들은 세포의 구성성분인 DNA, 단백질, 지질 등을 산화시켜 동맥경화, 악성 종양, 관절염 등과 노화의 원인이 된다(1).

에탄올에 의한 독성 발생의 기전들 중의 하나로 체내 대사 과정에서 생성되는 반응성이 강한 free radical에 의한 지질과산화 반응이 유도되기 때문이라는 연구결과들이 보고되었다(2). 일반적으로 만성적인 에탄올 투여는 microsomal ethanol oxidizing system (MEOS)에 의한 에탄올 산화를 증가시켜 superoxide, hydroxyl radical, H_2O_2 와 같은 oxygen radicals를 생성하여 지질과산화물을 만들고, 결국은 간세포의 손상이 생기게 된다(3). 사람과 동물에는 이러한 산화적 손상을 예방하거나 복구하는 체계를 갖고 있는데, superoxide dismutase(SOD), reduced glutathione(GSH), glutathione peroxidase(GSH-Px), glutathione S-transferase(GST), catalase 등이 여기에 속한다(4). 그러나 이러한 항산화 체계는 체내에서 발생하는 산화적 손상을 완전히 예방 또는 복구하는데 충분하지 않기 때문에(5), 식품에 존재하거나 식품을 통해

섭취되는 항산화 물질들은 체내 산화적 손상을 낮추어 주는 데 도움이 되는 것으로 알려져 있다(6,7).

최근에 발효유 및 유산균에서 활성산소 및 지질과산화에 대한 항산화 효과들이 보고되었다. Nishino 등(8)은 *L. casei* Shirota로 발효한 탈지유에서 diphenylpicrylhydrazyl(DPPH) 소거능을 확인하였으며, 이를 급여한 실험동물의 분과 맹장의 내용물에서 잠재적인 radical 소거능이 존재함을 확인하였다. 또한 철을 과량 급여하여 장내 산화적 손상을 유발시키면서, 마우스에 *Str. thermophilus* YIT 2001이 함유된 사료를 2주간 섭취시킨 결과, 결장 점막에서 과산화지질의 생성이 유의적으로 감소하는 것으로 보고되었다(7). 이러한 유산균의 항산화 효과는 주로 금속 이온 chelating, 활성산소종의 소거, 그리고 환원작용 등이 복합적으로 관여하여 나타나는 것으로 알려져 있다(9). 한편, 발효유 제조과정중의 열처리에 의해 생성되는 다양한 Maillard 반응 산물들, 즉 melanoidins, glycated proteins, 및 glucose-glycine 반응 산물들이 radicals 소거와 금속 이온 chelating 등과 같은 항산화 효과를 갖고 있는 것으로 보고되었다(10-13). 이러한 항산화 효과를 갖는 유산균들을 이용하여 발효된 염소우유(14)와 Kefir(15)가 각각 사람과 실험동물에서 항산화 효과를 나타내는 것으로 보고되었다.

따라서 본 연구에서는 에탄올을 투여한 쥐에게 항산화 효과가 있는 유산균들과 소재들이 함유된 발효유를 섭취시킴으로써 간조직내 항산화 관련 효소들의 활성 변화와 간조직내 지질 과산화를 시험함으로써 실험동물에서 발효유의 항산화 효과를 검증하고자 시행하였다.

*Corresponding author: Young-Tae Ahn, Research and Development Center, Korea Yakult Co., LTD., 418-12 Komae-ri, Kiheung-eup, Yongin-si, Kyunggi-do, 449-901, Korea
Tel: 82-31-899-7745
Fax: 82-31-899-7730
E-mail: ytahn@re.yakult.co.kr

재료 및 방법

시험 동물의 처치

5주된 Sprague-Dawley계 웅성 쥐(대한바이오링크(주), Korea)를 실온 25±1°C, 습도 50±5%, 명암 12시간 주기의 일정한 조건에서 고휘사료(CJ(주), Korea)로 1주간 예비 사육한 다음 시험용으로 하였다. 쥐는 대조군(control group), 알코올군(alcohol group), 그리고 발효유군[fermented milk(FM) group]으로 분류하였으며, 각 군은 6마리로 하였다. 시험 기간은 14일로 하고 사료 및 음용수는 자유롭게 섭취시켰다. 시험 기간중에 대조군에는 증류수를, 알코올군에는 22% 에탄올 용액으로 에탄올(3.0 g/kg B.W.)를 강제 경구투여하고 동시에 증류수 1 mL를 강제 경구투여하였다. 그리고 발효유군에는 알코올군과 동일한 방법으로 에탄올을 강제 경구투여하고 동시에 시판 발효유 쿠퍼스® 1 mL를 1일 1회씩 2주간 강제 경구투여하였다.

효소 시료의 제조

시험 14일째에 마지막 투여 후 모든 군의 실험동물을 24시간 절식시키고 에테르 마취 하에서 복부정중선을 따라 개복한 다음 복부대동맥으로부터 채혈하여 실험사시켰다. 실험사시킨 모든 군의 실험동물의 간을 4°C 생리식염수로 관류시켜 간조직 내에서 남아있는 혈액을 제거한 다음 적출하였다. 적출한 간조직의 일정한 양에 4배의 0.25 M sucrose 용액(0.5 mM EDTA 함유)을 가하여 얼음 수조에서 PH91 Process homogenizer(SMT Co., Japan)로 간 균질액을 만들었다. 이 균질액을 600×g에서 10분간 원심분리하여 핵 및 미미쇄 부분을 제거하고 상정액을 10,000×g에서 20분간 원심분리한 다음, 다시 mitochondria 분획을 제거하고 상정액을 105,000×g에서 1시간 동안 초원심분리하여 최종 상정액(cytosol 분획)을 얻었다. 간 균질액은 과산화 지질 함량(malondialdehyde) 측정, 그리고 cytosol 분획은 glutathione peroxidase(GSH-Px), superoxide dismutase(SOD), glutathione S-transferase(GST), alcohol dehydrogenase(ADH), 및 aldehyde dehydrogenase(ALDH) 활성 측정에 사용하였다.

효소 활성 측정

채혈한 혈액은 혈액 분석기(Prime, BioSED, Italy)를 이용하여 aspartate aminotransferase(AST)와 alanine aminotransferase(ALT)를 측정하였다.

GSH-Px 활성은 0.1 M potassium phosphate buffer(pH 7.0, 1 mM EDTA 함유) 1.72 mL에 cytosol 분획 0.05 mL와 0.2 mM NADPH 0.3 mL, glutathione reductase 100 unit, 1 mM sodium azide 0.3 mL 및 1 mM reduced glutathione(GSH) 용액 0.3 mL를 넣고 0.25 mM H₂O₂ 용액 0.3 mL를 가하여 반응시키고 340 nm에서 UV/VIS Spectrometer(Lambda 25, Perkin Elmer Instruments, USA)를 이용하여 흡광도를 측정하였다. 효소활성의 1 unit를 1분간 1 μmol의 oxidized NADPH를 생성하는 효소의 양으로 나타내었다(16).

GST 활성은 cytosol 분획 10 μL와 0.1 M potassium phosphate buffer(pH 6.5) 2.935 mL, 0.1 M glutathione 30 μL, 0.12 M 2-4CND(1-chloro-2,4-dinitrobenzene) 25 μL를 혼합하여 25°C에서 20초 간격으로 3분간의 반응을 340 nm에서 측정하였다. 효소의 활성은 1분간 효소 단백질(mg)이 생성한 2,4-dinitrobenzene-glutathione의 분자흡광도계수(E mM/340 nm = 9.6 mM⁻¹ cm⁻¹)를 이용하여 나타냈다(17).

SOD 활성은 50 mM Tris HCl buffer(10 mM EDTA 함유, pH

8.6) 2.8 mL와 15 mM의 pyrogallol 0.1 mL를 혼합하여 5°C에서 5분간 전배양 시킨 후 cytosol 분획 0.1 mL를 가하여 최종 반응액이 3.0 mL가 되도록 하고 이 반응액을 25°C에서 10분간 반응시킨 다음 1 N HCl 0.1 mL를 가하여 반응을 종료시키고 440 nm에서 흡광도의 변화를 측정하였다. 효소활성의 unit는 효소액을 넣지 않고 반응시킨 15 mM pyrogallol 용액의 자동산화율 50% 억제하는 단백질의 양(U/mg protein)으로 정하였다(18).

ADH 활성은 2.5 mM의 NAD⁺가 함유된 0.1 M glycine buffer(pH 9.6)에 최종 농도가 25 mM이 되도록 에탄올을 첨가한 후 100 μL의 cytosol 분획을 첨가하여 25°C 항온수조에서 반응시켰다. 반응이 완료된 후 NADH의 양을 25°C, 340 nm에서 흡광도를 이용하여 측정하였다. 그리고 ALDH 활성은 1 mM의 NAD⁺가 함유된 60 mM sodium pyrophosphate buffer(pH 8.8)에 최종 농도가 100 μM이 되도록 acetaldehyde와 0.1 mM의 4-methylpyrazole을 첨가한 후 100 μL의 cytosol 분획을 첨가하여 25°C 항온수조에서 반응시켰다. 반응이 완료된 후 NADH의 양을 25°C, 340 nm에서 흡광도를 이용하여 측정하였다. ADH와 ALDH 활성은 cytosol 분획의 단백질(mg) 그리고 반응시간 당 생성되는 NADH의 양으로 계산하였다(19).

간조직내 과산화지질 측정

간조직내 과산화지질의 함량은 Okhwa 등(20)의 방법에 따라 실시하였다. 간 균질액 0.1 mL에 8.1% SDS 0.2 mL, 20% acetic acid buffer(pH 3.5) 1.5 mL, 0.8% TBA 용액 1.5 mL를 넣고 증류수를 넣어 반응용액을 4 mL로 조절한 뒤 95°C에서 1시간 동안 반응시켰다. 반응이 완료된 후 실온으로 식힌 후 증류수 1 mL와 buthanol : pyridine(15 : 1) 혼합용액 5 mL를 첨가하여 혼합한 다음 4,000 rpm에서 10분간 원심분리한 후 532 nm에서 흡광도를 측정하였다. 1,1,3,3-tetraethoxypropane을 표준물질로 사용하여 표준곡선을 작성하고 이것으로부터 malondialdehyde(MDA)의 농도로 환산하였다.

단백질 함량 측정

Cytosol 분획내 단백질 함량은 단백질 측정키트(Protein assay kit, Bio-rad)를 이용하여 측정하였다.

통계분석

실험결과는 SAS(statistical analysis system) program을 이용하여 분석하였으며, 평균치와 표준편차로 나타냈다. 각 실험군간의 유의성 검정은 ANOVA test를 한 후 LSD로 확인하였다.

결과 및 고찰

간조직내 AST 및 ALT 함량

쥐에게 2주간 에탄올을 투여한 후 혈청 내 AST와 ALT의 수치를 측정하고, 대조군과 비교하여 에탄올만을 단독 투여한 군에서 혈청 내 AST와 ALT가 증가하는 것으로 확인되었다(Fig. 1). 이것은 만성적인 에탄올 투여에 의해 간손상 유발물질의 생성이 촉진되어 혈청의 AST와 ALT 수치가 증가된 것으로 판단된다. 대조군, 알코올군, 그리고 발효유군의 AST는 각각 88.7±6.5, 114.6±7.1, 그리고 94.0±5.5 IU/L로 나타났으며, ALT는 41.2±4.1, 64.7±3.8, 그리고 44.7±5.3 IU/L로 나타났다. 따라서 2주간 에탄올 투여에 의해 증가되었던 AST와 ALT가 발효유를 섭취함으로써 대조군 수준으로 감소되는 것으로 확인되었다(p < 0.05). 이러한 혈청 내 AST 및 ALT 감소는

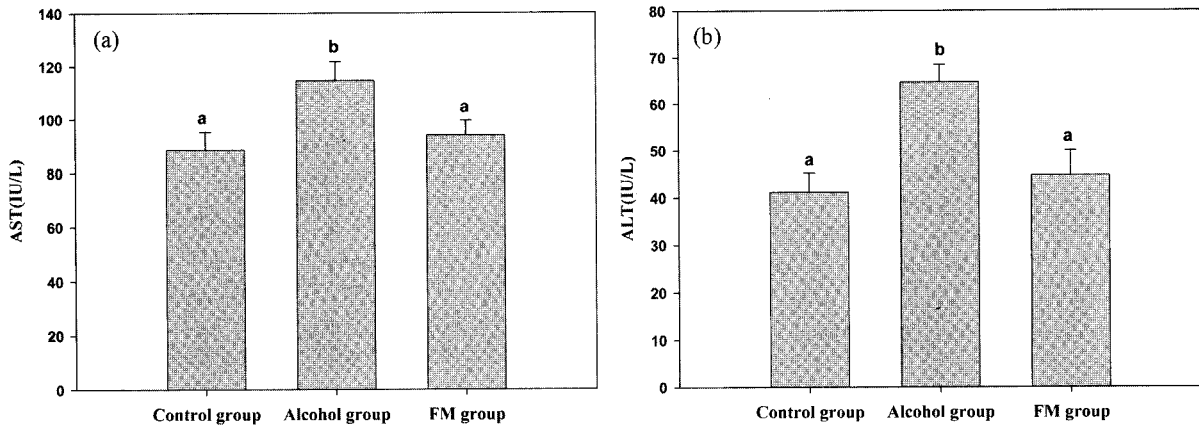


Fig. 1. The effect of fermented milk intake on aspartate aminotransferase (a), and alanine aminotransferase activities (b) in liver of alcohol treated rats.

Error bars indicate standard deviation. Values with different letters are significantly different at $p < 0.05$. Control group fed distilled water a day for two weeks. Alcohol group fed ethanol (3 g/kg B.W.) and distilled water a day for two weeks. FM group fed ethanol (3 g/kg B.W.) and Kupffer's® a day for two weeks.

발효유에 함유되어 있는 기능성 유산균과 소재에 의한 것으로 판단되는데, 최근에 Back 등(21)은 에탄올에 의해 간손상을 유도시킨 쥐에게 발효유 쿠퍼스®에 함유되어 있는 Y-Mix를 섭취시킨 결과, 간의 병리조직학적 병변과 혈청 ALT, AST 및 total bilirubin이 개선되었다고 하였다. 또한 Han 등(22)도 CCl₄에 의해 생쥐의 간손상을 유도하면서 발효유 쿠퍼스®에 함유되어 있는 *Lactobacillus brevis* HY7401, *Lactobacillus acidophilus* CSG 그리고 *Bifidobacterium longum* HY8001을 각각 섭취시킨 결과, CCl₄에 의한 간손상으로 증가된 혈청 내 ALT와 AST 수치가 대조군 수준으로 감소되었다고 하였다.

간조직내 효소 활성

쥐에게 2주간 에탄올을 투여한 후 쥐의 간조직 내 효소 활성을 측정하였다. 간조직내 GSH-Px의 활성은 대조군과 비교하여 알코올만을 투여한 군에서 증가하는 경향을 나타냈으며, 에탄올과 발효유를 함께 섭취한 발효유군에서는 GSH-Px의 활성이 대조군의 수준으로 감소하는 경향을 나타냈다($p < 0.05$)(Table 1). 일반적으로 만성 에탄올 투여시에 GSH-Px 활성이 증가하는데(23), 이것은 GSH-Px가 체내 물질 대사중 발생하는 과산화물의 환원하는 항산화 효소로서(24), 에탄올의 산화작용으로 인해 증가되는 산화물들을 환원하기 위한 것으로 보고되었다(25). 따라서 발효유 섭취에 의해 만성 에탄올 투여에 의해 증가되는 간조직내 과산화물 생성이 감소되는 것으로 확인되었

다. 최근에 Liu 등(26)은 멸균 10% 환원탈지유와 이를 Kefir grain으로 발효시킨 Kefir내 GSH-Px 활성을 측정된 결과, 환원탈지유와 Kefir에서 GSH-Px 활성이 존재함을 확인하였으며, Kefir가 체내 산화적 손상을 예방하는 항산화 효과를 갖는 것으로 보고하였다.

간의 해독작용에 있어 중요한 효소인 GST 활성이 2주간 알코올 투여에 의해 대조군의 약 113% 정도 증가하였다. 또한 발효유군에서도 GST의 활성이 증가하여 약 122% 수준을 나타냈다(Table 1). GSH-Px 활성과 마찬가지로 만성적으로 에탄올을 섭취한 실험동물에서 간세포의 GST 활성이 증가하는 것으로 보고되었는데(27,28), 이것은 간조직내 GST 합성이 유도되거나 촉매효율이 증가되기 때문인 것으로 보고되었다(29).

간조직내 SOD 활성도 GSH-Px와 GST 활성과 유사하게 2주간 에탄올을 투여함으로써 증가하였으며, 발효유 섭취에 의해 활성이 감소하는 것으로 나타났다($p < 0.05$)(Table 1). 에탄올만을 투여했을 때 SOD 활성은 3.60 ± 0.27 에서 5.12 ± 0.71 U/mg protein으로 증가하였으며, 발효유를 섭취한 군에서는 3.88 ± 0.62 U/mg protein 수준을 나타냈다. 일반적으로 에탄올 투여시 체내 SOD는 구성성분인 구리, 망간 및 아연 등 미량원소의 고갈에 의해 활성이 감소된다는 연구결과도 있지만(31), 보통 이 시험의 결과에서 보듯이 에탄올의 급성 또는 만성투여 후 mitochondria내 superoxide의 증가로 인하여 활성이 증가하는 것으로 보고되었다(23,31).

Table 1. The effect of fermented milk intake on glutathione peroxidase, glutathione S-transferase, superoxide dismutase, alcohol dehydrogenase, and aldehyde dehydrogenase activities in liver of alcohol treated rats

Enzymes	Control group ¹⁾	Alcohol group ²⁾	FM group ³⁾
GSH-Px (U/mg protein)	7.33 ± 0.24^a	7.90 ± 0.32^b	7.28 ± 0.40^a
GST (Activity, %) ⁴⁾	-	113.85 ± 5.70^a	122.68 ± 9.73^a
SOD (U/mg protein)	3.60 ± 0.27^a	5.12 ± 0.71^b	3.88 ± 0.62^a
ADH (nmoles NADH/mg protein)	17.69 ± 0.69^a	18.18 ± 0.13^a	20.03 ± 0.50^b
ALDH (nmoles NADH/mg protein)	3.20 ± 0.03^a	3.23 ± 0.29^a	3.72 ± 0.16^b

Each value represents mean \pm S.D. Values with different superscripts within the same row are significantly different at $p < 0.05$.

¹⁾Control groups fed distilled water a day for two weeks.

²⁾Alcohol group fed ethanol (3 g/kg B.W.) and distilled water a day for two weeks.

³⁾FM group fed ethanol (3 g/kg B.W.) and Kupffer's® a day for two weeks.

⁴⁾Activity (%) = (Specific activity_{treatment} / Specific activity_{control}) \times 100.

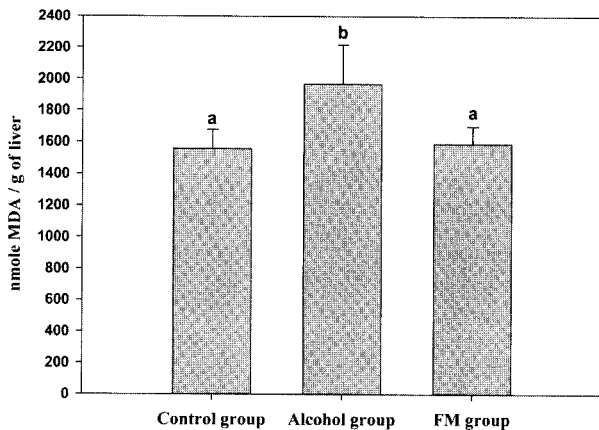


Fig. 2. The effect of fermented milk intake on reduction of malondialdehyde in liver of alcohol treated rats.

Error bars indicate standard deviation. Values with different letters are significantly different at $p < 0.05$. Control group fed distilled water a day for two weeks. Alcohol group fed ethanol (3 g/kg B.W.) and distilled water a day for two weeks. FM group fed ethanol (3 g/kg B.W.) and Kupffer's[®] a day for two weeks.

ADH 활성은 2주간 에탄올을 투여함으로써 대조군과 비교하여 증가하는 경향을 나타냈으며, 특히 발효유 섭취에 의해 ADH 활성이 에탄올 단독 투여시보다 증가하는 것으로 확인되었다 ($p < 0.05$)(Table 1). 한편, ALDH 활성은 대조군과 알코올군에서 차이가 없었지만 발효유군에서는 대조군과 알코올군에 비해 증가하는 것으로 나타났다($p < 0.05$)(Table 1). 따라서 발효유 섭취에 의해 간조직내 에탄올 대사가 촉진되는 것으로 나타났으며, 체내 알코올 대사 과정에서 생성되는 독소인 acetaldehyde의 체내 축적을 억제시키는 것으로 확인되었다.

간조직 내 과산화지질 함량

에탄올을 2주간 투여한 쥐에서 간조직내 MDA의 양을 측정하였다. 대조군과 비교하여 에탄올 투여에 의해 간조직내 MDA의 양이 증가하는 경향을 나타냈으며, 발효유 섭취에 의해 MDA의 양이 대조군과 유사한 수준으로 감소하는 것으로 확인되었다($p < 0.05$)(Fig. 2). 이러한 지질과산화는 체내 산화적 손상으로 인한 free radicals 생성의 증가 및 항산화 방어능력의 감소로 인해 일어난다(32). 특히, 에탄올 섭취시 간 조직내 지질과산화물의 함량이 증가하는 것으로 알려져 있으며, 에탄올에 의한 지질과산화 반응은 대사산물인 acetaldehyde와 다양한 free radicals에 의한 것으로 보고되었다(33). 즉, acetaldehyde가 세포질 내에서 xanthine oxidase와 작용하여 부산물로 superoxide 생성을 증가시키고 증가된 superoxide가 세포막의 불포화지방산과 결합하여 지질과산화물이 증가한다(34). 발효유 섭취에 의한 간조직내 과산화지질 양의 감소는 혈청내 AST와 ALT 감소에 효과와 마찬가지로 발효유에 함유되어 있는 유산균과 비타민 등에 의한 것으로 판단된다. Han 등(35)은 발효유 쿠퍼스[®]에 함유되어 있는 *L. brevis* HY7401, *L. acidophilus* CSG, 그리고 *B. longum* HY8001이 t-BHP 투여에 의해 증가된 생쥐의 간조직내 과산화지질 함량을 크게 낮추어 주는 것으로 보고하였다. 또한 Güven 등(15)도 CCl₄를 마우스에 투여하면서 Kefir를 섭취시킨 결과, CCl₄ 투여에 의해 간조직내 증가된 MDA의 양이 Kefir 섭취에 의해 감소되었으며, 비타민 E를 투여한 군과 비교하여 Kefir 투여가 간조직내 MDA를 감소시키는데 더 효과적이었다고 하였다.

이 연구결과들을 종합해 볼 때 발효유에는 체내 산화적 손상을 감소시키는 항산화능이 있는 것으로 나타났으며, 이는 발효유에 함유되어 있는 유산균, 발효과정중에 생산되는 casein 유래 peptides, 비타민과 같은 항산화 소재 등에 의한 것으로 판단된다. 앞서서도 언급한 바와 같이 식품에 존재하거나 식품을 통해 섭취되는 항산화 물질들은 체내 산화적 손상을 낮추어 주는 데 도움을 줄 수 있으며, 연구결과들에서 보듯이 항산화능이 있는 유산균을 그리고 소재들이 함유되어 있는 발효유도 이러한 체내 산화적 손상을 낮추어 주는 우수한 항산화 식품이 될 수 있을 것으로 판단되며, 앞으로 이를 뒷받침할 수 있는 많은 연구들이 진행되어야 하겠다.

요 약

2주간 에탄올(3 g/kg B.W.)을 투여한 쥐에서 항산화 기능이 있는 유산균과 소재들이 함유된 발효유 쿠퍼스[®] 섭취에 의한 간조직내 항산화 체계에 미치는 영향을 시험하였다. 혈청내 AST와 ALT는 88.7 ± 6.5 와 41.2 ± 4.1 (대조군), 114.6 ± 7.1 과 64.7 ± 3.8 (알코올군), 그리고 94.0 ± 5.5 와 44.7 ± 5.3 IU/L(발효유군)으로 에탄올에 의해 유도되는 간수치의 증가가 발효유 섭취에 의해 유의적으로 감소되는 것으로 나타났다($p < 0.05$). GSH-Px와 SOD 활성은 에탄올 투여에 의해 증가하였으나, 발효유 섭취에 의해 대조군 수준으로 감소하였고($p < 0.05$), GST 활성은 발효유군에서 122%로 증가하였다. ADH 활성은 알코올군과 발효유군 모두에서 증가하는 것으로 나타났으며, 발효유군에서 더 크게 나타났다($p < 0.05$). 지질내 과산화물은 에탄올 투여에 의해 증가하였으며, 역시 발효유 섭취에 의해 대조군 수준으로 감소하였다($p < 0.05$). 이러한 결과들은 발효유 쿠퍼스[®]에 함유되어 있는 항산화 유산균과 다양한 항산화물질에 의한 것으로 판단되며, 이러한 발효유는 체내 항산화 손상을 낮추어 주며, 간기능을 개선하는데 도움을 줄 것으로 판단된다.

문 헌

- Halliwell B, Gutteridge JMC. Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease. *Biochem. J.* 219: 1-4 (1984)
- Seo JS. Alcohol metabolism and nutritional effects. *Food Ind. Nutr.* 4:13-19 (1999)
- Liber CS. Hepatic, metabolic and toxic effects of ethanol. *Alcohol Clin. Exp. Res.* 15: 573-592 (1991)
- Trackshel GM, Maines MD. Characterization of glutathione S-transferase in rat kidney. *Biochem. J.* 252: 127-136 (1988)
- Simic MG. Mechanisms of inhibition of free-radical processed in mutagenesis and carcinogenesis. *Mutat. Res.* 202: 377-386 (1988)
- Lin MY, Yen CL. Inhibition of lipid peroxidation by *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium longum*. *J. Agric. Food Chem.* 47: 3661-3664 (1999)
- Ito M, Ohishi K, Yoshida Y, Yokoi W, Sawada H. Antioxidative effects of lactic acid bacteria on the colonic mucosa of iron-overloaded mice. *J. Agric. Food Chem.* 51: 4456-4460 (2003)
- Nishino T, Shibahara-Sone H, Kikuchi-Hayakawa H, Ishikawa F. Transit of radical scavenging activity of milk products prepared by Maillard reaction and *Lactobacillus casei* strain Shirota fermentation through the hamster intestine. *J. Dairy Sci.* 83: 915-922 (2000)
- Lin MY, Yen CL. Antioxidative ability of lactic acid bacteria. *J. Agric. Food Chem.* 47: 1460-1466 (1999)
- Hayase F, Hirashima, S, Okamoto G, Kato H. Scavenging of active oxygens by melanoidins. *Agric. Biol. Chem.* 53: 3383-3385 (1989)
- Okamoto G, Hayase F, Kato H. Scavenging of active oxygens

- species by glycated protein. *Biosci. Biotech. Biochem.* 56: 928-931 (1992)
12. Terasawa N, Murta M, Homma S. Separation of model melanoidin into components with copper chelating Sepharose 6B column chromatography and comparison of chelating activity. *Agric. Biol. Chem.* 55: 1507-1514 (1991)
 13. Yoshimura Y, Iijima T, Watanabe T, Nakazawa H. Antioxidative effect of Maillard reaction products using glucose-glycine model system. *J. Agric. Food Chem.* 45: 4106-4109 (1997)
 14. Kullisaar T, Songisepp E, Mikelsaar M, Zilmer K, Vihalemm T, Zilmer M. Antioxidative probiotic fermented goats' milk decreases oxidative stress-mediated atherogenicity in human subjects. *Br. J. Nutr.* 90: 449-456 (2003)
 15. Güven A, Güven A, Gülmez M. The effect of Kefir on the activities of GSH-Px, GST, CAT, GSH and LPO levels in carbon tetrachloride-induced mice tissues. *J. Vet. Med.* 50: 412-416 (2003)
 16. Lawrence RA, Burk RF. Glutathione peroxidase activity in selenium deficient rat liver. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 71: 952-958 (1976)
 17. Habig WH, Pabst MJ, Jakoby WB. Glutathione-S-transferase: The first enzymatic steps in mercapturic acid formation. *J. Biol. Chem.* 249: 7130-7139 (1985)
 18. Marklund S, Marklund G. Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *Eur. J. Biochem.* 47: 469-474 (1974)
 19. Nosova T, Jousimies-Somer H, Jokelainen K, Heine R, Salaspuro M. Acetaldehyde production and metabolism by human indigenous and probiotic *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* strains. *Alcohol Alcohol.* 35: 561-568 (2000)
 20. Okhwa H, Ohishi N, Yaki K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal. Biochem.* 95: 35-41 (1979)
 21. Baek MW, Park JH, Seok SH, Lee HY, Kim DJ, Huh CS, Park JH. The protective effect of Y-mix against hepatotoxicants *in vivo* (P52). In: the 21th Annual Meeting of the Japanese Society of Toxicologic Pathology. Feb 19-21, Act City Center, Hamamatu, Japan. The Japanese Society of Toxicologic Pathology, Hamamatu, Japan (2005)
 22. Han SY, Huh CS, Ahn YT, Lim KS, Baek YJ, Kim DH. Hepatoprotective effect of lactic acid bacteria, inhibitors of β -glucuronidase production against intestinal microflora. *Arch. Pharmacol. Res.* 28: 325-329 (2005)
 23. Ko MS, Shin KM, Lee MY. Effects of *Hijikia fusiforme* ethanol extract on antioxidative enzymes in ethanol-induced hepatotoxicity of rat liver. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 31: 87-91 (2002)
 24. Flohe L, Gunzler WA, Schock HH. Glutathione-peroxidase: a selenoenzyme. *FEBS Lett.* 32: 132-134 (1973)
 25. Cho SY, Jang JY, Kim MJ. Effects of *Pueraria flos* and *radix* water-extracts on levels of several serum biomarkers in ethanol-treated rats. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 30: 92-96 (2001)
 26. Liu JR, Chen MJ, Lin CW. Antimutagenic and antioxidant properties of milk-kefir and soymilk-kefir. *J. Agric. Food Chem.* 53: 2467-2474 (2005)
 27. David RM, Nerland DE. Induction of mouse liver glutathione S-transferase by ethanol. *Biochem. Pharmacol.* 32: 2809-2811 (1983)
 28. Yoon CG, Jeon TW, Oh MJ, Lee GH, Jeong JH. Effect of the ethanol extract of *Lycium chinese* on the oxygen free radical and alcohol metabolizing enzyme activities in rats. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 29: 268-273 (2000)
 29. Choi OH, Yoon HJ, Kim JH. Effects of chronic alcohol feeding and 2-acetylaminofluorene treatment on microsomal cytochrome P-450 and glutathione dependent enzymes activities in rat liver. *J. Korean Soc. Food Nutr.* 24: 859-866 (1995)
 30. Karkkainen P, Mussalo-Rauhamaa H, Poikolainen K, Lehto J. Alcohol intake correlated with serum trace elements. *Alcohol Alcohol.* 23: 279-282 (1988)
 31. Kim MJ, Park EM, Lee MK, Cho SY. Effect of methionine and selenium levels on alcohol metabolic enzyme system in rats. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 26: 319-326 (1997)
 32. Thruman RG, Bradford B, Iimuro Y, Knecht K, Connor H, Adachi Y, Wall C, Arteel G, Releigh J, Forman D, Mason RP. Role of kupffer cells, endotoxin and free radicals in hepatotoxicity due to prolonged alcohol consumption: Studies in female and male rats. *J. Nutr.* 127: 903-906 (1997)
 33. Nordmann R, Ribiere C, Rouach H. Implication of free radical mechanisms in ethanol-induced cellular injury. *Free Radic. Bio. Med.* 12: 219-248 (1992)
 34. Plaa GL, Witschi H. Chemicals, drugs and lipid peroxidation. *Am. Rev. Toxicol. Pharmacol.* 16: 125-141 (1976)
 35. Han SY, Huh CS, Ahn YT, Lim KS, Baek YJ, Kim DH. Hepatoprotective effect of lactic acid bacteria. *J. Microbiol. Biotechnol.* 15: 887-890 (2005)

(2005년 5월 9일 접수; 2005년 7월 8일 채택)