

흰쥐에서 단감발효주가 알코올성 지방간 형성에 미치는 영향

남경숙¹ · 김주연¹ · 노상규^{1*} · 박중협² · 성언기³

¹창원대학교 식품영양학과

²(주)맑은내일

³영남대학교 의과대학 해부학교실

Effect of Sweet Persimmon Wine on Alcoholic Fatty Livers in Rats

Kyung-Sook Nam¹, Juyoun Kim¹, Sang K. Noh^{1*}, Joong-Hyeop Park², and Eon-Gi Sung³

¹Dept. of Food and Nutrition, Changwon National University, Gyeongnam 641-773, Korea

²MalGeun Naeil Co., Gyeongnam 627-803, Korea

³Dept. of Anatomy, Youngnam University Medical School, Daegu 705-717, Korea

Abstract

Persimmons are shown to contain high levels of phenolics. The present study was designed to investigate if a sweet persimmon wine (SPW) would affect the development of alcoholic fatty liver in rats. Initially, male Sprague-Dawley rats were housed singly in stainless steel wire-bottomed cages in a room of controlled temperature and lighting. The rats had free access to a nutritionally adequate AIN-93G diet and deionized water. After the acclimatization period, rats were weight-matched and assigned to the following three groups: two groups were fed 6.7% ethanol or the caloric equivalent of maltose-dextrin in a Lieber-DeCarli diet and the other group was fed the isocaloric Lieber-DeCarli diet containing SPW at the same ethanol level. All three groups were fed their respective diets for 6 weeks. Serum transaminase, cholesterol, and triglyceride levels were measured. Liver lipids and histology were assessed at 6 weeks. The total phenolic content and the antioxidant and free radical scavenging activities of SPW were determined. SPW significantly increased antioxidant and free radical scavenging activities. As markers of liver injury, serum alanine and aspartate transaminases were markedly lowered by SPW at 6 weeks. SPW significantly reduced the serum levels of serum cholesterol and triglyceride compared to ethanol treatment. SPW delayed the development of an alcoholic fatty liver by reversing fat accumulation in the liver, as evidenced in histological observations. Taken together, SPW seems to protect the liver from becoming fatty by alleviating fatty liver symptoms and lowering hepatic and serum lipid levels. Such a protective effect of SPW appears to be in part due to its phenolics.

Key words: sweet persimmon wine, alcoholic fatty liver, rats

서 론

음주는 인류의 역사와 함께 고유한 식문화로 발전되어 왔다. 그러나 현대사회에서 만성적인 음주로 인한 알코올 환자의 증가는 서구 선진국뿐 아니라 전 세계적으로 커다란 사회 문제로 대두되고 있다(1). 우리나라도 음주문화가 만연하여 음주로 인한 환자 및 의료비 부담이 증가하는 추세에 있으며 (2), 음주 관련 질환을 예방하거나 억제하는 알코올음료 개발 연구가 어느 때보다 주목받고 있다.

감나무는 아열대에서 온대에 이르기까지 넓은 지역에 분포하며 우리나라에서도 전역에 걸쳐 재배되고 있다. 감은 수분 함량이 적고 포도당과 과당이 약 14%를 차지하며 다양한 비타민이나 무기질 함량이 높은 영양가치가 우수한 알칼리 식품이다(3,4). 뿐만 아니라 등황색 색소 성분인 lycopene,

carotenes, zeaxanthin 함량이 비교적 높고 강한 항산화 성질을 갖는 탄닌 계열 성분도 풍부하다는 연구도 있다(4). 이러한 관계로 감을 소재로 한 항산화, 항동맥경화, 항암, 항혈액응고 및 알코올 대사촉진 등에 관한 연구도 다수 보고되어 있다(5-9). 이러한 생리활성을 응용한 감발효주도 최근에 시중에 유통되고 있다. 그러나 감의 유용성분에 의한 생리활성이 발효 및 감발효주 제조 후에도 지속되는지에 대한 연구가 아직 미비하다. 특히, 단감발효주가 알코올성 지방간 생성에 어떤 영향을 미치는지에 대한 연구는 전혀 보고된바 없다. 단감을 주재료로 발효, 숙성한 관계로 생리적으로 활성을 띠는 각종 색소 성분이나 항산화성이 우수한 페놀성 화합물이 풍부하게 함유된 것으로 기대된다.

따라서 본 연구는 지방간과 관련하여 단감발효주의 기능성 연구가 전혀 보고되지 않아 흰쥐에 단감발효주를 6주간

*Corresponding author. E-mail: sknolog@changwon.ac.kr
Phone: 82-55-213-3516, Fax: 82-55-281-7480

지속적으로 공급했을 때 알코올성 지방간의 각종 생화학적 지표에 어떤 영향을 미치는지를 조사하기 위하여 설계되었다.

재료 및 방법

단감발효주의 총 페놀성화합물 측정

동물실험에 6주간 공급된 단감발효주(상품명: 단감과인시월애)는 (주)맑은내일(Changwon, Korea)에서 제조, 공급되었다. 이 발효주는 동물실험 6주 기간 동안 냉동보관하면서 실험동물에 공급되었다. 총 페놀성화합물 분석은 Singleton 등(10)의 방법을 변형한 Dewanto 등(11)의 방법을 따랐다. 증류수 0.5 mL에 단감발효주 125.0 µL를 혼합한 후 Folin-Ciocalteu 시약 125.0 µL를 첨가하여 6분간 방치하였다. 이 혼합물에 7% sodium carbonate 1.25 mL를 넣고 최종 부피가 3.0 mL가 되도록 증류수로 조절한 후에 90분간 실온에서 방치한 후 760 nm에서 흡광도를 측정하였다.

단감발효주의 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH) 라디칼 소거능 및 superoxide dismutase(SOD) 유사활성 측정

DPPH 라디칼 소거능 측정은 Blois의 방법을 따랐다(12). 시료 0.2 mL에 0.2 mM DPPH 0.8 mL와 에탄올 2.9 mL를 혼합한 후 실온에서 10분간 방치하여 525 nm에서 흡광도를 측정하였다. SOD의 유사활성 측정은 변형된 Marklund와 Marklund(13)의 방법을 따랐다. 단감발효주 0.2 mL에 Tris-HCl 완충액 3.0 mL, 7.2 mM pyrogallol 0.2 mL 첨가한 다음 25°C에서 10분간 반응시킨 후 1 N HCl를 첨가하여 반응을 정지시킨 다음 420 nm에서 흡광도를 측정하였다.

Lieber-DeCarli 액체식이 조성

동물실험에 사용된 식이는 미국영양학회(American Institute of Nutrition, AIN)가 추천하는 Lieber-DeCarli 식이(Bethlehem, PA, USA)였고 지방간을 효과적으로 유도하기 위해서 corn oil를 첨가하여 지방의 함량을 조정했다(14). 대조군과 에탄올군의 액체식은 기본적으로 1 kcal/mL 열량을 함유하며, 대조군의 식이는 열량을 기준으로 지방에서 41.4%, 단백질에서 18.1%, 탄수화물에서 39.3%가 공급되었으며 그리고 에탄올군 식이의 경우, 지방과 단백질은 대조군의 것과 같으며 탄수화물을 3.43%로 줄이고 대신에 에탄올에서 35.8%가 공급되도록 조성되었다(Table 1). 단감발효주군의 식이에 첨가된 단감발효주(알코올 함량 14.0%)의 양(mL) 계산은 이전 논문에서 상세하게 기술한 것처럼 사람과 흰쥐의 열량소비 비율을 적용하여 계산하였다(15). 이 비율은 사람이 하루에 약 8,360 kJ(2,000 kcal) 열량을 소비하고 흰쥐가 하루에 334 kJ(동물 구입 후, 3주간 하루 평균 약 ~20 g 분말식을 소비하는 것으로 조사됨)의 열량을 소비하는 것을 바탕으로 구했다. 그래서 이 비율(8,360 kJ/334 kJ=25)

Table 1. Lieber-DeCarli diet composition¹⁾

Ingredient	Amount (g/L)		
	Control	Ethanol	SPW
Casein	41.4	41.4	41.4
L-Cystine	0.5	0.5	0.5
DL-Methionine	0.3	0.3	0.3
Corn oil	15.7	15.7	15.7
Olive oil	28.4	28.4	28.4
Safflower oil	2.7	2.7	2.7
Maltose dextrin	99.2	8.7	8.7
Cellulose	10.0	10.0	10.0
Mineral mix	8.8	8.8	8.8
Vitamin mix	2.5	2.5	2.5
Choline bitartrate	0.5	0.5	0.5
Xanthan gum	3.0	3.0	3.0
Ethanol (mL)	—	67.0	—
Sweet persimmon wine	—	—	454.6

¹⁾Basal diet was formulated and supplied from Dyets, Bethlehem, PA, according to the recommendations of the AIN.

을 적용해서 실험동물이 먹는 80.0 mL 단감발효주 액체식의 알코올 함량은 약 5.09 mL로 계산되었다. 이 양은 사람에게 적용했을 때 현재 시판중인 단감발효주(750 mL/병) 약 1.2병에 해당하는 알코올 함량과 같아서 실험동물에 공급된 단감발효주가 포함된 80 mL Lieber-DeCarli 액체식은 사람이 매일 마시는 단감발효주 약 1.2병에 해당하는 알코올 영향과 비교될 수 있다.

동물사육 및 Lieber-DeCarli 액체식이 공급 방법

실험에 사용된 동물은 8주령(240.2±7.3 g) 수컷 Sprague-Dawley 흰쥐(Harlan Sprague Dawley, Inc., (주)중앙실험동물, Seoul, Korea)를 구입하여 3주간 창원대학교 동물사육실에서 항온항습장치를 이용하여 상대온도 22±2°C, 상대습도 55±5%로 유지하였고, 자동점등장치를 이용하여 12시간 간격의 명암주기 환경에서 개인별 케이지로 자유롭게 공급된 증류수와 무제한 분말형 AIN-93G 식이공급 조건하에서 3주간 사육하였다. 그리고 난피법으로 7마리씩 3군으로 나누는 후, 10일 동안 Lieber-DeCarli 액체 표준식이에 적응시켰다. Lieber-DeCarli 액체 표준식이만 공급받는 동물군을 대조군, 대조군 표준식이의 탄수화물(maltose dextrin) 대신에 에탄올에 의한 열량 보충으로 대조군과 열량적으로 같은 액체식을 공급받는 동물군을 에탄올군, 14.0% 알코올을 함유하는 단감발효주가 혼합된 액체식을 공급받는 동물군을 단감발효주군으로 정하였다. 에탄올군과 단감발효주군에 공급된 식이의 알코올 함량은 모두 같으며, 알코올 함량에 의한 영향을 모두 같게 설계하였다. 이러한 조건 하에서 Lieber-DeCarli 액체식을 매일 80 mL씩 6주 동안 정해진 시간에 실험이 끝날 때까지 공급하였다. 동물의 체중 변화량을 측정하기 위해서 매주 각 동물의 체중을 정해진 시간에 6주에 걸쳐 측정하였다.

혈청의 각종 지방간 지표 성분 분석

혈액 채취는 혈액의 각종 지방간 관련 지표(biomarkers)

의 변화를 측정하기 위해서 안구혈액채취법(retroorbital sinus bleeding)을 이용, Lieber-DeCarli 액체식이 공급하기 직전(0주), 3주째, 그리고 6주째 시점에서 12시간 절식 후 모든 동물에서 채취하였다. 혈청 콜레스테롤 농도는 효소비색법을 이용한 kit((주)아산제약, Seoul, Korea)을 이용하여 측정하였다. 혈청 HDL-콜레스테롤 함량은 먼저 HDL를 분획한 후, 효소비색법을 이용, 상기한 방법으로 측정하였다. Non-HDL-콜레스테롤의 계산은 총 콜레스테롤에서 HDL-콜레스테롤을 뺀 값으로 하였다. 혈청 중성지방(triglyceride) 농도는 효소비색법을 이용, 측정하였다((주)아산제약).

혈청의 serum alanine transaminase(ALT)와 aspartate transaminase(AST) 농도 측정은 Reitman-Frankel법을 이용해서 측정하였고 γ -glutamyl transpeptase(γ GTP)와 alkaline phosphatase(ALP) 농도는 상업적 kit((주)아산제약)을 이용해서 측정하였다. 총 단백질농도는 BCA 방법을 이용한 kit(Thermo Fisher Scientific Inc., Rockford, IL, USA)을 이용해서 측정하였다.

간조직 조직학적 분석(hepatic histology)

지방간 증상 정도를 육안으로 살펴보기 위해서 6주째 각 동물군에서 평균 체중에 가장 근접한 한 동물의 간을 현미경 하에서 사진촬영 하였다. 간의 일부 조직을 급 동결시킨 후 동결절편기(Leica CM 1850, Heidelberg, Germany)를 이용, 5 μ m 두께로 잘라 hematoxylin(Invitrogen Corporation, Camarillo, UK)과 eosin(Sigma Chemical, St. Louis, MO, USA)으로 염색하여 관찰하였다. 간조직의 지방 축적 정도를 확인하기 위하여 oil red O(Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA)로 염색한 후 광학-형광현미경(Leica DM6000B, Heidelberg, Germany)으로 관찰하였다.

간의 총지방량과 주요 지방 종류별 지방산 조성 측정

간의 총 지방은 Folch 등(16)의 방법에 따라 추출되었다. 간조직의 주요 지방별 총지방산을 측정하기 위하여 먼저 주요 지방을 분획하였다. 주요 지방 분획은 solid phase 분획 방법에 준하여 약간 변형된 방법을 사용하였다(17,18). 간지방 추출물의 주요 지방은 분획칼럼(aminopropyl solid phase column: Bond Elut NH₂, Varian Sample Preparation Products, Harbor City, CA, USA)과 진공추출장치(VAC ELUT SPS 24, Varian, Brazil)를 이용하여 분획하였다. 가벼운 진공 하에서 17:0을 포함하는 cholesteryl ester, triglycerides, free fatty acids, phosphatidylcholine을 간지방 추출물에 표준물질로 혼합한 후, 분획용 칼럼에 넣었다. 그리고 hexane, hexane : chloroform : ethyl-acetate(100:5:5, v/v/v), chloroform : methanol : acetic-acid(100:2:2, v/v/v), methanol : chloroform : water(10:5:4, v/v/v) 등의 용매 5 mL를 순서대로 각각 분획칼럼에 주입하여 cholesteryl ester, triglycerides, free fatty acids, phospholipid 분획물을 획득하였다.

주요 지방별 총지방산은 변형된 Folch 등(16) 및 Slover와

Lanze(19)의 방법에 준하여 측정하였다. 먼저, 분획된 각 지방에 0.5 N의 methanolic NaOH와 14% BF₃를 2 mL씩 넣고 메칠화하였으며 유도화된 지방산의 분리는 GC(model GC 7890A, Agilent Technologies, Inc., Wilmington, DE, USA)를 이용하였으며, 사용된 column은 (50%-Cyanopropyl)-methyl polysiloxane 소재로 만들어진 DB-23 GC column (60 m×I.D 0.25 mm×0.15 μ m, Agilent J&W Scientific Inc., Santa Clara, CA, USA)이며, 같은 분석조건의 표준 지방산(Nu-Chek Prep Inc., Elysian, MN, USA)과 비교해서 각 지방산의 양을 계산하였다.

통계처리

결과들은 평균치와 표준편차(means \pm SD)로 나타내었고, SPSS package program software를 이용하여 ANOVA로 검증한 후, p<0.05 수준에서 Duncan's multiple range test로 비교, 분석하였다.

결과 및 고찰

단감발효주의 총 페놀함량과 항산화성

단감발효주에 함유된 총 페놀함량은 24.59 mg/100 mL의 값을 나타내었다. 단감에는 탄닌, catechin류 등과 같은 기능성 페놀 성분이 다량 함유되어 있으며(20), 이러한 페놀성 화합물은 식물의 2차 대사산물로서, 수산기를 가지는 방향족 화합물로 총칭하며, 페놀성 화합물의 수산기가 단백질 및 거대 분자와 결합하여 항산화 및 항암 등의 다양한 생리활성을 나타낸다(21). Seo 등(22)은 부유 품종의 단감을 이용한 단감주의 총 페놀함량은 31.59 mg/100 mL로 본 단감과 인과 비슷한 결과를 나타내었으며 국내에 시판되는 국내외 포도주 17종의 폴리페놀 함량을 조사한 결과 25.0~230.0 mg GAE/100 mL가 검출되어 본 연구와 비교해 볼 수 있겠다(23).

SOD 유사활성은 항산화제의 superoxide 산화 억제 작용을 알아보기 위한 실험으로 SOD는 산패로 인하여 형성된 세포에 해로운 환원산소종을 과산화수소로 전환시키는 반응($2O_2^- + 2H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2$)을 촉매하고 catalase는 SOD에 의해 생성된 H₂O₂를 무해한 물분자와 산소분자로 전환시키는 역할을 하는 효소이다. 본 연구에서는 생체내의 항산화 방어 기구 중 효소적 방어체계의 하나로서 superoxide 라디칼을 환원시켜서 산소독으로부터 생체를 보호하는 superoxide 라디칼 소거활성을 pyrogallol 자동산화로 생성되는 superoxide anion 라디칼 소거여부로 확인하였다(24). 본 동물시험에 사용된 단감발효주의 SOD 유사활성은 Table 2에서 보듯이 20.86%로 나타났다. 단감주의 SOD 유사활성은 표준물질인 0.1%, 1% L-ascorbic acid의 활성(56.60%, 97.62%)보다 낮았지만 0.01% L-ascorbic acid보다 높게 측정되어 어느 정도의 유사활성을 가지는 것으로 보인다. DPPH는 항산화물질로부터 전자나 수소를 받아 불가역적으로 안정한 분자들

Table 2. *In-vitro* superoxide dismutase-like activity of sweet persimmon wine (SPW)¹⁾

Samples	Superoxide dismutase-like activity (%)
SPW	20.86±1.26 ^c
Reference	
Ascorbic acid (100 ppm)	3.35±1.22 ^d
Ascorbic acid (1000 ppm)	56.60±1.04 ^b
Ascorbic acid (10000 ppm)	97.62±0.68 ^a

¹⁾Values are means±SD, n=3. Different letters (a-d) within a column indicate significant difference (p<0.05).

Table 3. *In-vitro* 1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl (DPPH) radical scavenging activity of sweet persimmon wine (SPW)¹⁾

Samples	DPPH radical scavenging activity (%)
SPW	27.07±0.42 ^b
Reference	
α-Tocopherol (50 ppm)	12.90±1.35 ^c
α-Tocopherol (100 ppm)	27.97±1.61 ^b
α-Tocopherol (200 ppm)	57.07±0.62 ^a

¹⁾Values are means±SD, n=3. Different letters (a-c) within a column indicate significant difference (p<0.05).

형성하므로 전자공여능으로부터 항산화 활성을 추정할 수 있는데 항산화 활성이 있는 물질과 만나면 라디칼이 소거되며 이때의 DPPH 고유의 청남색이 없어지는 특성이 있고 이 색차를 비색 정량하여 전자공여능력을 측정한다(12). Table 3은 단감주의 전자공여능을 나타낸 것으로 α-tocopherol을 표준물질로 하여 활성을 비교한 결과이다. 단감발효주는 27.07%로 α-tocopherol 0.01% 정도의 활성을 보였다. 전자공여 작용은 활성 라디칼에 전자를 공여하여 인체 내 활성 라디칼에 의한 노화를 억제하는 척도로 이용되고 있다(25).

체중 변화

6주 동안 단감발효주를 흰쥐에 공급하였을 때 체중변화에 미치는 영향은 대조군은 지속적으로 증가하였으나 에탄올군과 단감발효주군에서는 지속적인 체중증가를 감소현상을 보였다. 6주째의 최종 평균체중은 대조군은 418.4±11.2 g, 에탄올군은 361.4± 16.1 g, 단감발효주군은 362.1±16.3 g으로 나타나 에탄올군과 단감발효주군 간에는 유의적인 차이는 없었다(Table 4). 식이 섭취량 감소에 따른 영양 결핍 효과를 배제시킨 Lieber와 Decarli(26)의 연구에서 알코올을 열량의 36%를 쥐에게 투여하는 경우에도 알코올 군에서 체중감소와 여러 가지 병리현상을 나타내었다고 하였으며 Pikaar 등(27)은 알코올 섭취로 인해 산소소비와 대사율이 증가됨으로써 마이크로솜(microsome)의 알코올 산화시스템에서 ATP 생성이 저하되어 체중감소를 초래하는 것으로 보고하였다. 본 실험에서도 식이 섭취량 감소에 따른 영향을 제거하기 위하여 같은 양의 식이공급이 6주 동안 지속되었지만 알코올군에서 체중증가율이 감소된 것으로 보아 알코

Table 4. Changes in the mean body weights of rats fed a liquid diet containing either ethanol (ethanol) or ethanol plus sweet persimmon wine (SPW), compared with pair-fed controls for 6 weeks^{1),2)} (g)

Weeks	Control	Ethanol	SPW
0	358.9±14.4	356.4±12.9	360.2±11.9
1	351.8±9.0 ^a	320.8±10.3 ^b	324.6±10.8 ^b
2	366.1±9.3 ^a	335.5±11.4 ^b	336.7±12.9 ^b
3	388.5±10.2 ^a	340.0±11.3 ^b	336.0±15.0 ^b
4	404.9±11.3 ^a	342.3±11.9 ^b	341.0±13.4 ^b
5	408.3±11.9 ^a	347.5±13.2 ^b	344.4±14.9 ^b
6	418.4±11.2 ^a	361.4±16.1 ^b	362.1±16.3 ^b

¹⁾Values are means±SD, n=7.

²⁾Values in a row not sharing a superscript differ significantly (p<0.05).

올 섭취 시 알코올 자체의 독성효과로 인한 소화율 저하와 여러 영양소의 불충분한 흡수 때문으로 생각된다.

혈액의 지방간 주요 표지자 농도 변화

6주 동안 단감발효주 공급이 실험동물 혈액의 중성지방과 콜레스테롤 농도, ALT, AST 농도에 미치는 영향은 Table 5와 같이 나타났다. 6주째에 혈액 중성지방의 농도는 대조군에 비해서 실험군에서 알코올에 의한 영향으로 유의적으로 감소하였으나 에탄올군과 단감발효주를 공급받은 동물군과의 비교에서는 유의적인 차이 없이 감소하는 경향만 보였다. 총콜레스테롤 농도에서도 대조군에 비해 실험군의 총콜레스테롤이 유의적으로 증가하였으나 에탄올군과 단감발효주군 간의 비교에서는 유의적인 차이가 없었으며, non-HDL 콜레스테롤 농도도 대조군에 비해서는 유의적인 증가가 뚜렷하게 나타났으나 에탄올군과 단감발효주군 간에는 유의적인 차이가 없었다.

간은 유입되는 혈중지방산을 이용하여 중성지방, 인지질, 콜레스테롤-에스테르를 합성하며, 중성지방을 혈액으로 방출한다. VLDL(very low density lipoprotein), LDL(low density lipoprotein), LCAT(lecithin cholesterol acyl-transferase)는 모두 간에서 합성되며 간조직의 손상으로 이들 작용이 영향을 받아 간에서의 중성지방의 유출이 억제되어 혈액의 중성지방 수준은 떨어지게 된다(28). 알코올을 섭취한 동물군의 혈액에서 중성지방의 농도가 감소하는 것은 알코올 섭취로 인하여 간이 손상되어 간조직에서는 축적되고 혈액으로의 이동이 감소되었다고 판단된다. 그러나 대조군보다 단감발효주를 공급한 동물군에서 혈액 중성지방의 농도가 유의적으로 감소되는 결과는 Park 등(29)의 연구에서 감잎 추출물 첨가식이 대조군보다 중성지방이 유의적으로 낮게 나타났으며 Gorinstein 등(7)의 연구에서도 감의 급여가 중성지방 증가를 억제시킨다는 보고와 일치하는 결과로 단감에 들어있는 다양한 폴리페놀의 혈액 콜레스테롤 억제 효과는 정확히 알려지지 않았으나 지방의 소장 소화 및 흡수 과정에서 흡수율 억제 가능성(30,31)과 변으로의 지방 배설량을 증가시키고, 간에서의 담즙산 합성 증가와 간에

Table 5. Serum levels of triglyceride, cholesterol, transaminases, and other fatty liver-related biomarkers of rats fed a diet containing either ethanol (ethanol) or ethanol plus sweet persimmon wine (SPW), compared with pair-fed controls¹⁾⁻³⁾

Lipids	Control	Ethanol	SPW
Triglyceride, mg/dL	58.10±9.88 ^a	47.49±7.45 ^{ab}	42.81±5.77 ^b
Total cholesterol, mg/dL	79.06±9.91 ^b	107.52±5.92 ^a	105.90±5.19 ^a
HDL-cholesterol, mg/dL	47.55±11.11	55.79±8.06	52.72±8.28
Non-HDL cholesterol, mg/dL	31.52±7.48 ^b	51.73±12.65 ^a	53.18±7.81 ^a
ALT, U/L	91.94±25.81 ^c	512.78±110.42 ^a	194.17±44.0 ^b
AST, U/L	21.89±7.25 ^b	183.33±117.96 ^a	30.06±1.91 ^b
ALP, U/dL	31.38±9.36	27.93±13.32	26.00±9.75
γ GTP, K-A	1.16±0.37 ^b	1.85±0.42 ^a	1.35±0.34 ^b
Protein, g/L	59.19±0.98 ^a	56.14±1.29 ^b	55.73±1.50 ^b

¹⁾Values are means±SD, n=6.

²⁾Values in a row not sharing a superscript differ significantly (p<0.05).

³⁾Abbreviations used: ALT, alanine transaminase; AST, aspartate transaminase; ALP, alkaline phosphatase; γ GTP, gamma-glutamyl transpeptidase.

서 LDL 수용체의 수를 증가시켜 lipoprotein 대사에 영향을 주는 것으로 Nuria 등(32)은 추정하였다. 또한 감과 감잎에 함유된 탄닌 성분에 관한 연구에서도 탄닌이 혈중 중성지방의 전환(turnover)을 촉진하거나 간의 중성지방 합성을 저해함으로써, 체내 중성지방 수준을 감소하였다고 보고하였다(33,34). 위와 같은 단감주의 혈중 지질 저하 효과는 감에 다량 함유되어 있는 페놀화합물과 탄닌 성분인 때문으로 추정된다.

간조직 손상과 관련된 지방간 표지자의 혈중 농도 중 6주째에 나타난 혈중 ALT 농도는 대조군에 비해서 에탄올군에서 유의적으로 증가되었으나 단감주 공급에 의해서 유의적으로 감소되는 것을 발견할 수 있었다(Table 5). 혈중 AST 농도 또한 ALT 농도 변화와 유사하게, 대조군에 비해서 에탄올군에서 유의적으로 증가되었으나 같은 농도의 알코올을 함유한 단감발효주를 공급하면 AST 농도가 유의적으로 대조군 수준까지 감소되는 것을 발견할 수 있다(Table 5). 그러나 혈중 ALP 농도는 본 실험조건에서 그룹 간에 유의적인 차이가 없었다. 혈중 γ-GTP 활성은 대조군에 비해서 에탄올군은 증가되었으나 단감주군에서는 유의적으로 감소하였다. 혈중 총 단백질 농도는 대조군에 비해서 에탄올군과 단감발효주군의 농도가 유의적으로 감소되는 경향을 보였다. Shin 등(35)의 연구에 따르면 에탄올에 의해 유도된 지방간 동물실험에서 양과추출물 급여에 따라 ALT, AST의 활성도가 감소하였으며 이는 flavonoid 화합물이 에탄올대사 효소 alcohol dehydrogenase 활성도를 증가시키고 CYP 450 2E 1의 발현을 억제시켜 에탄올대사 과정에서 생기는 활성

산소의 독성을 감소시킴으로써 에탄올에 의한 세포손상 저하와 관계가 있다고 보고하였다. 또한 Yoon 등(36)은 자두와 인 급여한 군이 순수한 알코올만 급여한 군보다 ALT, AST 활성이 유의하게 낮았다고 보고하여 본 연구와 일치함을 볼 수 있었다.

Shin과 Rho(37)의 연구에서 10%의 알코올을 음료형태로 7주간 섭취시킨 쥐에서 알코올 투여군의 ALT와 AST의 함량이 유의하게 증가하였고, Harata 등(38)도 총 에너지의 30%를 에탄올로 투여한 쥐에서 ALT 활성이 증가하였다고 보고하였다. 또한 간세포가 손상된 사람에게 알코올을 섭취시키면 혈청 γ-GTP 활성이 유의하게 증가하였다고 보고되었다(39). 이와 같이 본 연구에서도 ALT, AST 활성은 에탄올군이 대조군에 비해 높았으나 단감발효주군은 대조군과 같은 수준이었다. 대조군에 비해 단감발효주를 급여한 군에서 ALT, AST 효소활성이 대조군과 같은 수준으로 낮아지는 것으로 보아 단감발효주의 페놀화합물과 같은 유용성분이 지방간 흰쥐의 혈청 및 간에서 지질대사 및 과산화환경을 개선시킴으로써 지방간으로 인한 간세포의 손상을 지연시켰을 것으로 판단이 된다. 이는 순수한 알코올을 음용하는 것보다 간조직 손상을 줄일 수 있다는 가능성을 보여준다.

간의 조직학적 분석(hepatic histology)

간의 조직학적 분석은 지방간을 육안으로 직접 확인할 수 있는 방법이다. Fig. 1에서와 같이 6주간 단감발효주를 급여한 후 각 실험군의 간 조직을 살펴보면 대조군에서는 간세포에 축적된 지방구가 비교적 작고 고르게 퍼져 있으나 에탄올

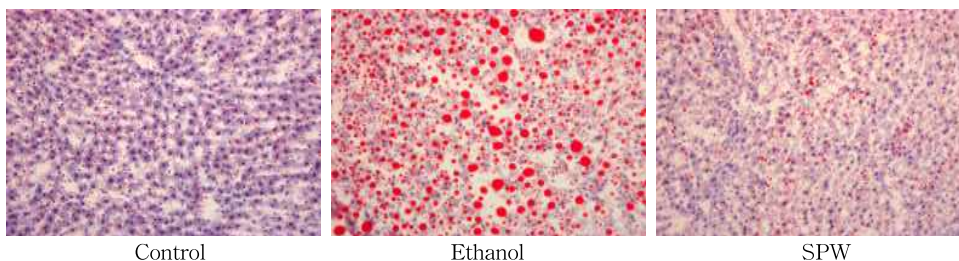


Fig. 1. Liver histology of rats fed a diet containing either ethanol (ethanol) or ethanol plus sweet persimmon wine (SPW), compared with pair-fed controls (Hematoxylin & Eosin stain, ×200).

Table 6. Hepatic levels of α -tocopherol, phospholipid, total cholesterol and total lipid of rats fed a diet containing either ethanol (ethanol) or ethanol plus sweet persimmon wine (SPW), compared with pair-fed controls^{1),2)}

	Control	Ethanol	SPW
α -Tocopherol, nmol/g liver	106.33±23.07 ^b	224.11±100.13 ^a	111.79±22.19 ^b
Phospholipid, μ mol/g liver	39.51±1.23	41.48±3.08	40.19±2.45
Total cholesterol, μ mol/g liver	7.34±1.42 ^c	23.75±3.55 ^a	11.94±1.64 ^b
Liver weight, g	11.83±0.52 ^a	11.61±0.86 ^a	10.33±0.65 ^b
Total lipid, mg/g	85.15±7.08 ^b	183.75±32.21 ^a	107.39±7.82 ^b

¹⁾Values are means±SD, n=6.

²⁾Values in a row not sharing a superscript differ significantly (p<0.05).

간의 간세포의 지방구는 상당히 큰 형태의 덩어리로 축적되어 있는 것을 현미경 사진을 통해서 확인할 수 있었다. 실제로 Table 6에서 제시된 것처럼, 간의 총 지방 함량(mg/g liver)도 조직 사진과 상응하여 대조군에서 85.15±7.08 에탄올군에서 183.75±32.21, 그리고 단감발효주군에서 107.39±7.82로 에탄올군과 비교해 단감발효주군에서 유의적인 차이로 감소되어 단감발효주에 의해서 간의 지방 축적 현상이 현격히 감소됨을 알 수 있었다. 이는 전형적인 간세포 지방 축적 현상으로 알코올성 지방간 흰쥐 모델에서 주로 발견되는 모습이다. 같은 상황에서 같은 양의 알코올을 함유하는 단감발효주를 6주간 지속적으로 공급하였을 때, 간세포 내에 축적되는 지방구의 크기나 양이 급격하게 감소하는 것을 간조직 사진촬영을 통해서 확인할 수 있었다. Kammerer 등(40)의 연구에 의하면 적포도주에서 추출한 폴리페놀인 provinol을 0.2% 급여한 군에서는 간조직의 지방 축적이 감소되어 지방간 증상이 완화된다고 보고하였는데 이는 본 연구의 결과와 유사하다고 할 수 있겠다. 본 연구에서 사용된 단감발효주는 항산화 성질을 보이는 다양한 폴리페놀을 함유하고 있어 알코올의 독성으로부터 간세포를 보호하고 간조직의 형태적 안정화에 기여하여 지방간의 증상을 완화하는데 긍정적인 효과를 보인 것으로 사료된다.

간조직의 총지방량과 주요 지방의 지방산 함량

6주 동안 단감발효주 공급이 간의 인지질, 총콜레스테롤, 총지질 함량에 미치는 영향은 Table 6과 같다. 간조직의 총콜레스테롤 함량은 대조군에 비하여 에탄올군에서 유의적으로 증가하였으며, 에탄올군에 비하여 단감발효주군에서 유의적으로 낮은 값을 나타내었다. 간조직의 총지방량 역시 대조군에 비해 에탄올군에서 유의적으로 증가되었고, 에탄올군과 같은 양의 알코올을 공급받은 단감발효주군에서는 유의적으로 감소되어 대조군과 비슷한 수준을 나타내었다.

에탄올을 만성적으로 섭취할 경우 NADH/NAD⁺의 비가 높아져 glycerol phosphate, 중성지질 합성효소의 활성도가 증가하여, 지방산 합성이 촉진되므로 혈액 중 지질농도가 높아지며 알코올성 지방간이 발달하는 것으로 알려져 있다(41). Anila와 Vijayalakshmi(42)의 연구에서 flavonoid류는 NADH의 공급을 감소시킴으로써 NADH/NAD⁺비를 낮추어 NADH/NAD⁺비 증가에 의한 glycerol phosphate, diacylglycerol acyltransferase 및 phosphatidate phospho-

drolase의 활성도를 감소시켜 간의 지방산 합성을 감소시켰으며, Seo 등(43)도 항산화물질인 naringin이 에탄올을 투여한 쥐의 지질대사를 감소시키는 효과가 있는 것으로 보고하였다. 또한 고지방 식이를 먹인 흰쥐에서 flavonoid를 0.1% 수준으로 투여한 군에서 혈장과 간의 콜레스테롤과 HMG-CoA reductase 활성이 대조군에 비해 낮았다고 보고하였다. Flavonoids가 첫째로 지방 흡수를 저하시키고 배설을 촉진시켜 간의 지방수준을 낮추고 지방합성에 관여하는 효소(HMG-CoA reductase) 활성을 억제하여 지방 수준을 낮추는 것과 관련이 있다고 보고하였다(44). 이상에서와 같이 단

Table 7. Hepatic fatty acid levels of cholesterol ester, triglyceride, free fatty acid and phospholipid fractions of rats fed a diet containing either ethanol (ethanol) or ethanol plus sweet persimmon wine (SPW), compared with pair-fed controls^{1),2)}

Lipid	Control (μ mol/g liver)	Ethanol (μ mol/g liver)	SPW (μ mol/g liver)
Cholesteryl ester			
16:0	2.06±0.39 ^b	17.68±10.25 ^a	2.78±1.11 ^b
18:0	0.36±0.04 ^b	1.75±0.88 ^a	0.57±0.11 ^b
18:1	3.71±1.71 ^b	46.54±24.12 ^a	10.92±2.82 ^b
18:2	1.39±0.67 ^b	18.93±12.42 ^a	3.27±0.89 ^b
20:4	0.90±0.34 ^b	2.57±1.26 ^a	1.26±0.34 ^b
Triglyceride			
16:0	13.17±4.69 ^b	68.93±29.56 ^a	22.24±8.52 ^b
18:0	0.78±0.24 ^b	5.70±2.51 ^a	1.70±0.50 ^b
18:1	23.68±8.54 ^b	162.45±70.13 ^a	45.50±16.39 ^b
18:2	15.49±6.15 ^b	118.62±61.02 ^a	30.38±11.63 ^b
20:4	1.57±0.46 ^b	22.39±12.42 ^a	4.65±1.52 ^b
22:6	0.10±0.03 ^b	4.61±3.53 ^a	0.77±0.38 ^b
Free fatty acid			
16:0	4.78±0.84	4.79±0.28	4.42±0.68
18:0	3.14±0.54	3.39±0.23	3.14±0.35
18:1	5.27±1.18 ^b	6.38±0.68 ^{ab}	5.81±1.09 ^{ab}
18:2	4.29±1.04 ^b	4.82±0.56 ^{ab}	4.63±0.96 ^b
18:3	0.05±0.01 ^{ab}	0.07±0.01 ^a	0.05±0.02 ^b
20:4	3.38±0.60	3.41±0.36	2.96±0.31
22:6	0.36±0.08 ^b	0.51±0.07 ^a	0.43±0.06 ^{ab}
Phospholipid			
16:0	7.40±0.87 ^b	6.42±0.52 ^a	7.01±0.32 ^{ab}
18:0	9.64±1.19 ^b	12.19±0.61 ^a	12.94±0.60 ^a
18:1	3.54±3.11	2.25±0.35	2.03±0.32
18:2	4.80±3.74	3.16±0.34	3.17±0.38
20:4	14.19±3.80	12.50±0.92	13.52±0.52
22:6	2.02±0.44 ^b	2.59±0.30 ^a	2.91±0.15 ^a

¹⁾Values are means±SD, n=6.

²⁾Values in a row not sharing a superscript differ significantly (p<0.05).

감발효주균에서 간조직의 총지방질, 총콜레스테롤의 값이 에탄올균에 비해 낮은 것은 단감발효주균에 급여된 flavonoids와 관련이 있다고 유추할 수 있다. 6주간에 걸친 단감발효주 투여가 간조직의 주요 지방 종류별(콜레스테롤, 중성지방, 유리지방산, 인지질) 총지방산 구성에 미치는 영향은 Table 7과 같다. 대부분의 지방산은 중성지방 분획에 존재하는 것을 발견했으며, 중성지방 분획의 지방산 종류별 비교에서도 알코올균에서 특히 유의적으로 증가함을 보였다. 에탄올균의 모든 지방산은 대조군의 지방산에 비해 유의적으로 증가되었으나 단감발효주균의 중성지방 지방산들은 에탄올균에 비해서 유의적으로 감소되는 현상을 보였다. 이러한 현상은 콜레스테롤이나 유리지방산 분획의 주요 지방산에서도 유사하게 감소하는 경향을 보였다.

요 약

본 연구에서는 흰쥐를 이용, 단감발효주의 항산화성과 알코올성 지방간 증상 완화에 미치는 영향을 조사하였다. Lieber-DeCarli 액체 표준식이만 공급받는 동물균을 대조군, 에탄올에 의한 열량 보충으로 대조군과 동일 열량의 액체식이를 공급받은 에탄올균, 에탄올균과 동일한 양의 알코올을 함유하는 단감발효주가 혼합된 액체식이를 공급받는 단감발효주균으로 하여 7마리씩 3그룹으로 나누어 6주간 사육하였다. 시작 전, 3주째, 그리고 6주째에 혈액을 채취하였고 간은 6주 혈액 채취 직후 적출되었다. 단감발효주의 총페놀함량은 24.59 mg/100 mL이었고 SOD 유사활성은 20.9%이었으며 DPPH 라디칼 소거능은 27%로 나타났다. 6주간의 체중증가율은 대조군과의 비교에서 에탄올균에서는 유의적으로 감소되었으나 에탄올균과 단감발효주간의 비교에서는 차이가 없었다. 혈액의 중성지방 농도는 에탄올균과 단감발효주균에서 유의적으로 감소되었다. 혈액의 ALT, AST 농도는 대조군에 비해서 에탄올균에서 유의적으로 증가되었으나 단감발효주균에서는 유의적으로 감소하였다. 간조직의 사진촬영에서와 유사하게 간조직의 총지방량은 대조군에 비해 에탄올균에서 유의적으로 증가되었고 단감발효주균에서는 유의적으로 감소하였다. 간조직의 주요 지방 종류별 총지방산 비교에서도 중성지방 분획의 지방산들은 에탄올균에서 유의적으로 증가되었으나 단감발효주균에서는 유의적으로 감소되는 경향을 보였다. 본 실험을 통해 단감발효주가 알코올 섭취로 증가된 혈중 지질 수준과 간기능 지표 수준을 개선시키는 효과를 나타냈으며 지방간 형성이 유의적으로 억제되는 것을 간조직 지방분석을 통해 확인하였다. 이는 전통기능성주인 단감발효주에 포함된 다양한 폴리페놀이 알코올에 의한 간 손상을 보호하는데 기여할 수 있음을 증명한 실험결과로 판단된다.

감사의 글

본 연구는 지식경제부에서 시행한 2007년도 지방기술혁신사업비로 수행된 연구 내용으로써 이에 감사드립니다.

문 헌

- Lee YH. 2001. Effect of *Ligularia stenocephala* extract on lipid metabolism and liver function of rat administered with ethanol. *MS Thesis*. Dong-A University, Busan, Korea.
- Rehm J, Mathers C, Popova S, Thavorncharoensap M, Teerawattananon Y, Patra J. 2009. Global burden of disease and injury and economic cost attributable to alcohol use and alcohol-use disorders. *Lancet* 373: 2223-2233.
- Seo JH, Jeong YJ, Shin SR, Kim KS. Effects of tannins from astringent persimmons in alcohol fermentation for persimmon vinegars. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 29: 407-411.
- Lee JB. 2003. A study on the alcohol fermentation of sweet persimmon (*Diospyros kaki*) juice. *MS Thesis*. Chingu University, Gyeongnam, Korea.
- Emile A, Celine M, Gisele HA, Annelise L, Robert A, Alain B, Jean CS, Ramarosan A. 1998. Natural dietary polyphenolic compounds cause endothelium-dependent vasorelaxation in rat thoracic aorta 1. *J Nutr* 12: 2324-2333.
- Kawase M, Motohashi N, Satoh K, Sakagami H, Nakashima H, Tani S, Shirataki Y, Kurihara T, Spengler G, Wolfard K, Molnar J. 2003. Biological activity of persimmon (*Diospyros kaki*) peel extracts. *Phytother Res* 17: 495-500.
- Gorinstein S, Kulasek GW, Bartnikowska E, Leontowicz M, Zemser M, Morawiec M, Trakhtenberg S. 2000. The effects of diets, supplemented with either whole persimmon or phenol-free persimmon, on rats fed cholesterol. *Food Chem* 70: 303-308.
- Hibashmi H, Achiwa Y, Fujikawa T, Komiya T. 1996. Induction of programmed cell death (apoptosis) in human lymphoid leukemia cells by catechin compounds. *Anticancer Res* 16: 1943-1946.
- Kim SG, Lee YC, Suh KG, Choi HS. 2001. Acetaldehyde dehydrogenase activator from persimmon and its processed foods. *Korean J Food Sci Technol* 30: 954-958.
- Singleton VL, Orthofer R, Lamuela-Raventos RM. 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods Enzymol* 299: 152-178.
- Dewanto V, Wu X, Adom KK, Liu RH. 2002. Thermal processing enhance the nutritional value of tomatoes by increasing total antioxidant activity. *J Agric Food Chem* 50: 3010-3014.
- Blois MS. 1958. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature* 181: 1199-1200.
- Marklund S, Marklund G. 1974. Involvement of superoxide anion radical in the oxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *Eur J Biochem* 47: 467-474.
- Lieber CS, DeCarli LM. 1986. The feeding of ethanol in liquid diets. *Alcohol Clin Exp Res* 10: 550-553.
- Löest HB, Noh SK, Koo SI. 2002. Green tea extract inhibits the lymphatic absorption of cholesterol and α -tocopherol in ovariectomized rats. *J Nutr* 132: 1282-1288.
- Folch PJ, Lees M, Sloane-Stanley GM. 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J Biol Chem* 226: 497-509.

17. Agren JJ, Julkunen A, Penttilä I. 1992. Rapid separation of serum lipids for fatty acid analysis by a single aminopropyl column. *J Lipid Res* 33: 1871-1876.
18. Noh SK, Koo SI, Jeon IJ. 1999. Estrogen replacement in ovariectomized rats increases the hepatic concentration and biliary secretion of alpha-tocopherol and polyunsaturated fatty acids. *J Nutr Biochem* 10: 110-117.
19. Slover HT, Lanze E. 1979. Quantitative analysis of food fatty acids by capillary gas chromatography. *J Am Oil Chem Soc* 56: 933-943.
20. Achiwa Y, Hibasmi H, Katsuzaki H, Iami K, Komiya T. 1997. Inhibitory effects of persimmon (*Diospyros kaki*) extract and related polyphenol compounds on growth of human lymphoid leukemic cells. *Biosci Biotechnol Biochem* 61: 1099-1101.
21. Lee SO, Kim MJ, Kim DG, Choi HJ. 2005. Antioxidative activities of temperature-stepwise water extracts from *Inonotus obliquus*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 34: 139-147.
22. Seo HK, Jang SY, Kim HJ, Park HR. 2010. Antioxidant activity and neuroprotective effect of concentrates from commercial sweet persimmon wine. *Korean J Food Cookery Sci* 26: 13-17.
23. Chol Y, Yu KW, Han NS, Koh JH, Lee JS. 2006. Antioxidant activities and antioxidant compounds of commercial red wines. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 35: 1286-1290.
24. Moon YG, Choi KS, Lee KJ, Kim KY, Heo MS. 2006. Screening of antioxidative and antibacterial activity from hot water extracts of indigenous plants, Jeju-Island. *Korean J Biotechnol Bioeng* 21: 164-169.
25. Choi JH, Oh SK. 1985. Studies on the anti-aging action of Korean ginseng. *J Korean Food Sci Technol* 17: 506-515.
26. Lieber CS, DeCarli LM. 1974. An experimental model of alcohol feeding and liver injury in the baboon. *J Med Prim* 3: 153-163.
27. Pikaar NA, Wedel M, van der Beek EJ, van Dokkum W, Kempen HJ, Kluft C, Ockhuizen T, Hermus RJ. 1987. Effects of moderate alcohol consumption on the platelet aggregation, fibrinolysis, and blood lipids. *Metabolism* 36: 538-543.
28. Zeman FJ. 1991. Liver disease and alcoholism. In *Clinical nutrition and Dietetics*. 2nd ed. Macmillan Publ., New York, NY, USA. p 517-553.
29. Park JY, Park EM, Lee MK, Jang JY, Kim MJ, Cho SY. 2000. Effect of persimmon leaves (*Diospyros kaki folium*) extract on serum and liver lipid concentrations in hypercholesterolemic rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 29: 537-542.
30. Noh SK, Koo SI. 2004. Milk sphingomyelin is more potent inhibitor than egg sphingomyelin of intestinal absorption of cholesterol and α -tocopherol in rats. *J Nutr* 134: 2611-2616.
31. Noh SK, Koo SI. 2003. Egg sphingomyelin lowers the lymphatic absorption of cholesterol in rats. *J Nutr* 133: 3571-3576.
32. Nuria MC, Isabel G, Jose AL, Alejandra GA, Fulgencia SC. 1999. Reduction in serum total and LDL cholesterol concentrations by a dietary fiber and polyphenol-rich grape product in hypercholesterolemic rats. *Nutr Res* 9: 1371-1381.
33. Yugarani T, Tan BK, Das NP. 1993. The effect of tannic acid on serum lipid parameters and tissue lipid peroxides in the spontaneously hypertensive and Wistar Kyoto rats. *Planta Med* 59: 28-31.
34. Yugarani T, Tan BK, Das NP. 1993. The effects of tannic acid on serum and liver lipids of RAIF and Rkco rats fed on high fat diet. *Comp Biochem Physiol Comp Physiol* 104: 339-343.
35. Shin HK, Seo YJ, Kim JY, Kim CS, Noh SK. 2007. Onion favorably affects serum markers of ethanol-induced fatty liver in rats. *Korean J Food Preserv* 14: 662-668.
36. Yoon OH, Kang BT, Lee JW, Kim KO. 2008. Effect of plum wine on the lipid metabolism and lipid peroxidation of rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 37: 422-427.
37. Shin CS, Rho SN. 2006. Effect of powder of small water-dropwort (*Oenanthe javanica* DC) and Brewer's yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) on the liver function and serum lipid metabolism in alcohol-consumed rats. *J East Asian Soc Dietary Life* 16: 281-291.
38. Harata J, Nageta M, Sasaki E, Ishiguro I, Ohta Y, Yamazaki M, Hoshino T. 1982. Changes in activities of various enzyme and GOT isoenzyme in serum and liver of prolonged alcohol administered rats. *Jpn J Alcol & Drug Dependence* 17: 237-244.
39. Dakeishi M, Iwate T, Ishil N, Murata K. 2004. Effects of alcohol consumption on hepatocellular injury in Japanese men. *Tohoku J Exp Med* 202: 31-39.
40. Kammerer D, Claus A, Carle R, Schieber A. 2004. Polyphenol screening of pomace from red and white grape varieties (*Vitis vinifera* L.) by HPLC-DAD-MS/MS. *J Agric Food Chem* 52: 4360-4367.
41. Lieber CS. 1994. Alcohol and the liver. *Gastroenterology* 106: 1085-1105.
42. Anila L, Vijayalakshmi NR. 2002. Flavonoids from *Emblia officinalis* and *Mongifera indica*-effectiveness for dyslipidemia. *J Ethnopharmacol* 79: 81-87.
43. Seo HJ, Jeong KS, Lee MK, Park YB, Jung UJ, Kim HJ, Choi MS. 2003. Role of naringin supplement in regulation of lipid and ethanol metabolism in rats. *Life Sci* 73: 933-946.
44. Lee SH, Bae KH, Lee HJ, Eun JB, Kim MK. 1999. Effect of hesperidin extracted from tangerine peel on Cd and lipid metabolism, and antioxidative capacity in rats. *Korean J Nutr* 32: 137-149.

(2011년 8월 29일 접수; 2011년 9월 29일 채택)