

## 알코올성 지방간을 유발시킨 마우스에서 유산균 발효 마늘추출물의 간 보호 효과

최지휘<sup>1</sup> · 김민석<sup>1</sup> · 유희종<sup>1</sup> · 김기호<sup>1</sup> · 이희섭<sup>2</sup> · 조흥연<sup>2</sup> · 이승현<sup>1</sup>

<sup>1</sup>(주)바이오랜드 생명공학연구소

<sup>2</sup>고려대학교 식품생명공학과

### Hepatoprotective Effects of Lactic Acid-Fermented Garlic Extracts on Fatty Liver-Induced Mouse by Alcohol

Ji-Hwi Choi<sup>1</sup>, Min-Seok Kim<sup>1</sup>, Heui-Jong Yu<sup>1</sup>, Ki-Ho Kim<sup>1</sup>, Hee-Seop Lee<sup>2</sup>,  
Hong-Yon Cho<sup>2</sup>, and Seung-Hyun Lee<sup>1</sup>

<sup>1</sup>R&D Center, Bioland

<sup>2</sup>Department of Food and Biotechnology, Korea University

**ABSTRACT** In this study, we investigated the hepatoprotective effects of garlic extracts fermented with *Lactobacillus plantarum* on alcohol-induced fatty liver damage in C57BL/6J mice. The weight of liver tissue of the lactic acid-fermented garlic extract (LAFGE) diet groups decreased in a dose-dependent manner compared to that of the normal diet group. The activities of typical serum enzymes such as ALT, AST, and ALP were low in the LAFGE 200 mg/kg administered group. The LAFGE 200 mg/kg administered group significantly decreased values of TBIL and DBIL, which are an important index of liver damage. LAFGE also ameliorated alcohol-induced hepatic lipid accumulation in histological analysis dose-dependently. In addition, total GSH and reduced GSH levels in LAFGE-treated groups were gradually recovered up to normal levels. The present study revealed that LAFGE improved unique tastes and odors of raw garlic through lactic acid fermentation technology and thus could be a commercially potential material for hepatoprotective functional foods against alcoholic fatty liver.

**Key words:** garlic, lactic acid bacteria, fermentation, hepatoprotective, alcohol

## 서 론

간은 외부에서 유입되는 독성물질을 무독화하여 체외로 배출시키는 역할을 담당한다. 간 내에서의 알코올 대사는 크게 알코올 탈수소효소계(alcohol dehydrogenase: ADH pathway), 마이크로솜의 알코올 산화계(microsomal ethanol oxidizing system: MEOS) 및 카탈레이즈계(catalase pathway) 등 3종류의 효소계가 있으며, 이 중 임상적으로 중요한 경로는 ADH계와 MEOS계로 양자 모두 alcohol이 acetaldehyde를 거쳐 산화된다. ADH계는 조직의 알코올 농도가 높을 때, MEOS계는 낮을 때 알코올 대사에 관여하게 되며 각각을 급성(acute)과 만성(chronic) 알코올 대사로 부르기도 한다. 만성적 알코올 섭취는 간세포에서 항산화 시스템의 균형을 파괴시켜 산화적 스트레스를 유발하고, MEOS계인 cytochrome P450 2E1(CYP2E1)에 의해 활성 산소를 생성한다. 그 결과로 DNA 파괴, 단백질 기능상실, 지질과산화, 간세포 재생 지연, 미토콘드리아 기능저하 등

다양한 간 기능 장애와 질환을 일으킨다(1,2).

마늘은 S-allyl cysteine(SAC), allyl sulfide 등 다양한 황 함유 유기화합물을 포함하고 있고, 이들 황 함유 유기화합물들은 활성산소 소거능이 높을 뿐만 아니라 항산화 효소들을 활성화시킨다(3). 마늘추출물은 acetaminophen에 의해 유발된 간 독성 실험동물 모델에서 glutathione(GSH)이 고갈되는 것을 억제함으로써 간 독성을 완화하였고(4), 마늘의 주요 성분인 SAC는 소의 폐동맥 내피세포에서 과산화수소에 의한 세포 독성에 보호효과가 확인되었다(5). 신경세포주인 PC12 cell line에서 산화형 glutathione(GSSG)을 감소시키고 환원형인 GSH를 증가시킴으로써 과산화수소에 의해 유도된 산화적 스트레스에서 세포보호 활성이 보고되었다(6). 한편 흑마늘인 숙성마늘의 추출물은 glutathione reductase(GR)와 superoxide dismutase(SOD)를 활성화시켜 GSH 함량을 증가시키고, 활성산소로부터 간세포를 보호하는 것으로 보고된 바 있다(7).

저자들은 이전 연구에서 *Lactobacillus plantarum*과 *Pediococcus pentosaceus* 등의 유산균을 이용하여 발효 시 마늘의 주요 기능 성분인 SAC, SEC, SMC의 함량이 증가함을 확인하였고, 그에 따라 항산화력이 상승되었음을 보고하였다. 또한 CYP2E1 transfected HepG2 cell을 이용하여

Received 24 July 2014; Accepted 16 September 2014

Corresponding author: Seung-Hyun Lee, R&D Center, Bioland, Ansan, Gyeonggi 425-839, Korea  
E-mail: jordam@hanmail.net, Phone: +82-31-8085-7577

유산균 발효 마늘추출물의 알코올성 세포독성에 대한 보호 효과를 확인하였다(8). 본 연구는 알코올성 지방간을 유발시킨 동물모델에서 유산균 발효 마늘추출물의 간 보호 효능을 평가하고자 하였다. 장기간 알코올을 섭취시켜 유도한 만성 알코올성 지방간 흰쥐 모델에서 유산균 발효 마늘추출물을 알코올과 함께 투여했을 때, 간 손상의 지표들인 alanine aminotransferase(ALT), aspartate aminotransferase (AST), alkaline phosphatase(ALP),  $\gamma$ -glutamyl phosphatase( $\gamma$ -GT), total-bilirubin(TBIL), direct-bilirubin (DBIL) 등의 변화를 조사하였다. 동시에 간 조직 내 GSH와 GSSG의 함량 분석과 조직학적 관찰을 통하여 유산균 발효 마늘추출물의 알코올성 지방간에 대한 예방 및 개선 효능을 확인하고자 하였다.

### 재료 및 방법

#### 유산균 발효 마늘추출물의 조제

본 실험에서 사용한 유산균 발효 마늘추출물(LIVER-TECT™)은 경남 가월영농조합에서 생산한 창녕산 마늘을 구입하여 다음과 같이 조제하였다. 마늘 5 kg과 증류수 10 kg을 발효조(MJS U3, Marubishi, Tokyo, Japan)에서 혼합, 교반하면서 121°C에서 1시간 동안 멸균하였다. 37°C로 냉각한 후 *Lactobacillus plantarum* BL2 종균배양액 200 mL를 접종, 2일간 배양하였다. 배양 종료 후 95°C에서 열처리, 여과, 농축하여 유산균 발효 마늘추출물로 사용하였다. 유산균을 접종하지 않은 마늘추출물(Non-fermented garlic extract, NFGEx)을 폴리페놀 화합물 함량 비교를 위한 대조군으로 사용하였다.

#### 총 폴리페놀 화합물 함량

총 폴리페놀 화합물 함량은 Folin-Denis법(9)에 따라 측정하였다. 마늘추출물과 유산균 발효 마늘추출물 0.2 mL, 증류수 1.8 mL, Folin-Ciocalteu's phenol reagent 0.2 mL를 혼합하고 실온에서 3분간 반응시켰다. 반응액에 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 포화용액 0.4 mL와 증류수 1.4 mL를 첨가하고 실온에서 1시간 반응시킨 다음 UV/VIS spectrophotometer(V-550, Jasco, Tokyo, Japan)를 이용하여 750 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 총 폴리페놀 화합물은 gallic acid를 이용하여 작성한 표준곡선으로부터 산출하여 gallic acid equivalent(GAE)로 표기하였다.

#### 실험동물

실험에 사용된 동물은 7주령(20~22 g) 수컷 C57BL/6J 마우스를 (주)대한바이오텍(Eumsung, Korea)에서 구입하였다. 실험동물은 온도 22±3°C, 상대습도 50±10%, 조도 200~300 lux, 12시간 간격의 명암 주기 환경에서 1주일간 적응시킨 후 실험에 사용하였다. 적응기간 동안 일반식을 공급하였으며 식수로 멸균수를 자유롭게 섭취하도록 하

였고, 적응기간 후 난피법에 의해 정상식이군 5마리, 나머지는 10마리씩 7군으로 분류하였다. 본 시험은 고려대학교 동물실험윤리규정을 준수하여 실시하였다.

#### Liber-DeCarli 액체식이 조성 및 투여방법

동물실험에 사용된 식이는 Table 1과 같은 조성으로 구성된 Liber-DeCarli 액체기본식이(Bethlehem, PA, USA)를 사용하였다. 총 시험군은 Table 2와 같이 일반식을 공급받는 일반식이군(normal diet, AIN-93G), 에탄올식에 함유된 에탄올과 동일한 열량을 말토덱스트린으로 대체한 대조군(control diet), 총 열량의 36%를 에탄올로 대체한 에탄올식이 대조군(ethanol diet)으로 분류하였다. 유산균 발효 마늘추출물은 50, 100, 200 mg/kg, 양성대조군인 silymarin은 200 mg/kg을 각각 매일 1회 경구 투여하였으며 일반식이 대조군과 에탄올식이 대조군은 증류수를 매일 1회 경구 투여하였다. 유도식이들은 매일 투여 직전에 제조하였고, 에탄올식이의 급여는 Rhodes 등(10)과 Yin과 Lee(11)의 방법을 응용하여 에탄올식에 대한 거부감을 해소하기 위해 최초 0.5%부터 2일 단위로 0.5%씩 증량하여 최종적으로 5% 농도까지 상승시키는 적응기간을 두었다. 식이는 매일 잔량을 체크한 후 교체하였고, 총 8주 동안 사육하였다.

#### 체중 측정 및 혈액 생화학적 분석

모든 동물에 대하여 1일 1회 증상을 관찰하고 체중은 동물용 체중계를 이용하여 매일 일정한 시간에 측정하였다.

**Table 1.** Composition of standard Lieber-DeCarli diet

Ingredient	Control diet	Ethanol diet
Casein (100 mesh)	41.4	41.4
L-Cystine	0.5	0.5
DL-Methionine	0.3	0.3
Corn oil	8.5	8.5
Olive oil	28.4	28.4
Safflower oil	2.7	2.7
Dextrin maltose	115.2	25.6
Cellulose	10	10
Choline bitartrate	0.53	0.53
Xanthan gum	3	3
Salt mix <sup>1)</sup>	8.75	8.75
Vitamin mix <sup>2)</sup>	2.5	2.5
Ethanol	0	48

<sup>1)</sup>Salt mix (g/kg mix): calcium phosphate, dibasic, 500; sodium chloride, 74; potassium citrate, monohydrate, 220; potassium sulfate, 52; magnesium oxide, 24; manganous sulfate H<sub>2</sub>O, 4.6; ferrous sulfate 7H<sub>2</sub>O, 4.95; zinc carbonate, 1.6; cupric carbonate, 0.3; potassium iodate, 0.01; sodium selenite, 0.01; chromium potassium sulfate, 0.55; sodium fluoride, 0.06; sucrose, finely powdered, 117.92.

<sup>2)</sup>Vitamin mix (g/kg mix): thiamin HCl, 0.6; riboflavin, 0.6; pyridoxine HCl, 0.7; niacin, 3.0; calcium pantothenate, 1.6; folic acid, 0.2; biotin, 0.02; vitamin B12 (0.1%), 10; vitamin A acetate (500,000 IU/g), 4.8; vitamin D3 (400,000 IU/g), 24; menadione sodium bisulfite, 0.08; p-aminobenzoic acid, 5; inositol, 10; dextrose, 939.

**Table 2.** Dose and configuration of test group

Group	Number	Inducer	Compound	Treatment
A (Normal diet)	1~5	Normal diet	Vehicle	p.o. 1 times/day
B (Control diet)	6~15	Control diet	Vehicle	p.o. 1 times/day
C (Ethanol diet)	16~25	Ethanol diet	Vehicle	p.o. 1 times/day
D (LAFGE)	26~35	Ethanol diet	50 mg/kg	p.o. 1 times/day
E (LAFGE)	36~45	Ethanol diet	100 mg/kg	p.o. 1 times/day
F (LAFGE)	46~55	Ethanol diet	200 mg/kg	p.o. 1 times/day
G (Silymarin)	56~65	Ethanol diet	200 mg/kg	p.o. 1 times/day

시험이 종료된 후 시험동물은 ethyl ether(Junsei, Tokyo, Japan)로 마취하여 복부대동맥으로부터 채혈하였다. 혈액의 생화학적 분석은 Nyblom 등(12)과 Yang 등(13)의 방법을 응용하여 혈액은 3,000 rpm에서 15분 원심분리 한 후 혈청을 회수한 다음, 혈청자동분석기(Dri-chem 2000, Fujifilm, Tokyo, Japan)를 이용하여 ALT, AST, ALP,  $\gamma$ -GT, TBIL, DBIL 등을 정량하였다.

### 간 적출 및 조직학적 분석

간 조직 내 지방 축적 정도를 조직학적으로 분석하기 위해 실험종료 후 회수된 간 조직을 액체질소로 급속동결 시킨 후 동결절편기(Leica CM 1850, Heidelberg, Germany)를 이용하여 5  $\mu$ m 두께로 절편한 다음 hematoxylin(Invitrogen Corp., Camarillo, UK), eosin(Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA) 염색을 실시하여 광학-형광현미경(Leica DM6000B)으로 관찰하였다.

### Glutathione 함량 측정

Glutathione 함량 측정은 Akerboom과 Sies(14)의 방법을 응용하여 측정하였다. GSH 함량은 간 조직 0.1 g에 50 mM *N*-ethylmaleimide(NEM) solution 1 mL를 첨가하고 마쇄한 후 상등액을 취하여 실험에 사용하였다. 상등액 0.2 mL, 0.1 M potassium phosphate buffer(pH 7.4) 0.7 mL, 100 mM 5,5'-dithio-bis(2-nitrobenzoic acid)(DTNB) 0.1 mL를 혼합하고 37°C에서 5분간 반응시킨 후 분광광도계를 이용하여 412 nm에서 흡광도를 측정하였다. 조직 마쇄 상등액 대신 GSH 표준물질을 농도별로 측정하여 얻은 검량곡선을 이용하여 조직의 GSH 함량을 산출하였으며 간 조직 mg당  $\mu$ g으로 표시하였다.

GSSG 함량은 간 조직 0.1 g에 5% sulfosalicylic acid 1 mL를 첨가하고 마쇄한 후 상등액을 취하여 사용하였다. 조직 마쇄 상등액에 2-vinylpyridine, triethanolamine을 첨가하고 실온에서 1시간 동안 정치하여 유도체화한 다음 0.3 mM NADPH와 6 mM DTNB를 혼합한 후 30°C에서 약 15분간 정치하였다. 혼합액에 1 U/mL glutathione reductase를 첨가하고 412 nm에서 흡광도를 측정하였다. GSSG 표준물질을 이용하여 작성한 검량곡선을 통해 조직의 GSSG 함량을 산출하였다.

### 통계처리

통계처리는 Statistical Analysis System(SAS) program(release 8.2, SAS Institute, Inc., Cary, NC, USA)을 이용하여 one way analysis of variance(ANOVA) test와 Duncan's multiple range test를 실시하여  $P < 0.05$ 에서 통계학적 유의성을 검정하였다.

## 결과 및 고찰

### 총 폴리페놀 화합물 함량

발효 여부에 따른 총 폴리페놀 화합물의 함량을 측정한 결과, 마늘 추출물은 건조중량 1 mg당  $26.66 \pm 2.43$   $\mu$ g GAE, 유산균 발효 마늘추출물은 건조중량 1 mg당  $55.54 \pm 1.12$   $\mu$ g GAE로 발효 후 총 폴리페놀 화합물 함량이 약 2배 이상 증가하였다(Table 3).

### 사망동물 및 일반증상

모든 시험군에서 사망 개체수가 발생하지 않았으며 설사 또는 항문 주변부 오염 등 기타 이상 증상은 관찰되지 않았다. 부검 결과 간 조직 이외의 다른 조직에서의 부작용 또한 관찰되지 않았으므로 경구 투여에 의한 유산균 발효 마늘추출물의 섭취에 따른 장기조직의 변화, 손상 등의 부작용은 유발되지 않음을 알 수 있었다.

### 체중당 간 무게 비율

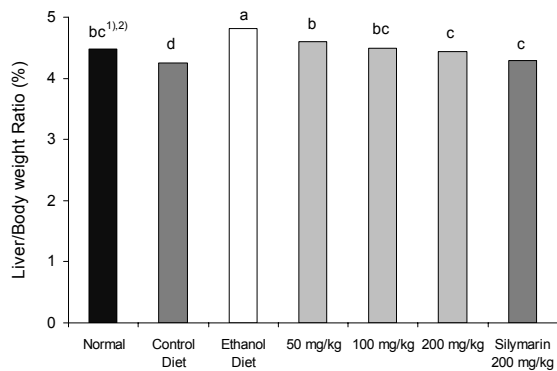
전 시험기간 동안 전체 그룹들의 체중증가율은 유사하였고, 대조식이군과 에탄올식이군 간 체중증가율의 유의차는 나타나지 않았다. 간 무게를 측정된 결과, 에탄올식이군의 간 무게는 대조식이군에 비해 유의적으로 증가되었으며 유산균 발효 마늘추출물 식이군의 경우 용량 의존적으로 간

**Table 3.** Contents of total polyphenol compounds from non-fermented garlic extract and lactic acid fermented garlic extract

Test samples <sup>1)</sup>	Total phenolic compounds ( $\mu$ g GAE/mg dry weight)
NFGE	$26.66 \pm 2.43$ <sup>b2)</sup>
LAFGE	$55.54 \pm 1.12$ <sup>a</sup>

<sup>1)</sup>NFGE: non-fermented garlic extract, LAFGE: lactic acid fermented garlic extract.

<sup>2)</sup>Means with the same letter are not significantly different by Duncan's range test ( $P < 0.05$ ).



**Fig. 1.** Changes in liver-body weight ratio. <sup>1)</sup>Values are mean±SD. <sup>2)</sup>Means with the same letter (a-d) above the bars are not significantly different by Duncan's range test ( $P<0.05$ ).

무게가 감소되는 것을 확인하였다. 이 현상은 에탄올식이에 의해 지방간이 유도되면서 간 무게가 증가되었으나, 유산균 발효 마늘추출물 투여에 의해 알코올에 의한 지방간 유도가 완화된 것으로 해석되었다(Fig. 1).

**혈액 생화학적 지표**

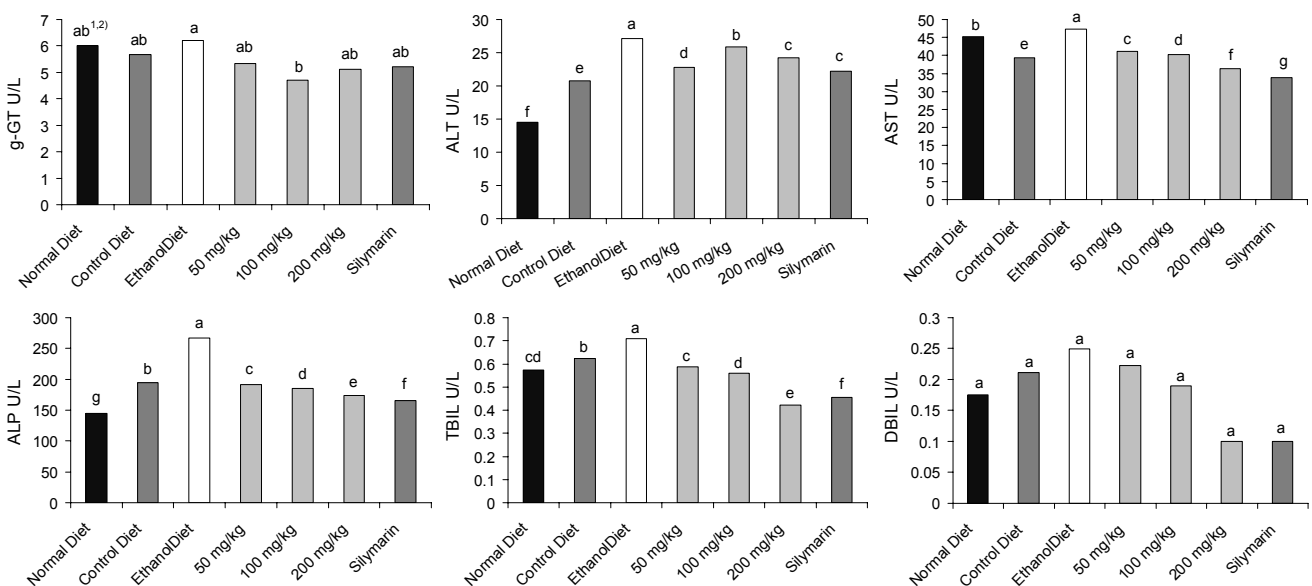
Fig. 2는 만성 알코올성 지방간 동물모델에서 유산균 발효 마늘추출물의 간 기능 개선 효과를 확인하기 위해 혈청 내 간 손상 지표들을 측정된 결과로, AST, ALP, TBIL, DBIL 등은 유산균 발효 마늘추출물 50, 100, 200 mg/kg 투여군에서 농도 의존적으로 간 손상을 개선하는 경향을 보였다. 반면  $\gamma$ -GT와 ALT는 농도 의존적 효과를 나타내지는 않았지만 유산균 발효 마늘추출물 200 mg/kg 투여군에서  $\gamma$ -GT는 에탄올식이군보다 17.6%, ALT는 10.6% 각각 개선되는 효과를 나타내었다. 한편 AST는 에탄올식이군에 비

해 200 mg/kg 투여군에서 23.2%, ALP는 34.6%가 각각 개선됨으로써 유산균 발효 마늘추출물이 장기 알코올 섭취로 인한 간 손상의 예방 및 개선에 효과가 있음을 알 수 있었다. 또한 간세포 손상 시 혈중에 증가하는 적혈구 유래 혈색소들인 TBIL과 DBIL 값도 유산균 발효 마늘추출물 투여에 의해 농도 의존적으로 감소하였을 뿐만 아니라 200 mg/kg 투여군에서 개선 활성이 각각 40.5%와 60.0%로 매우 높은 효과를 보이고 있음을 확인하였다.

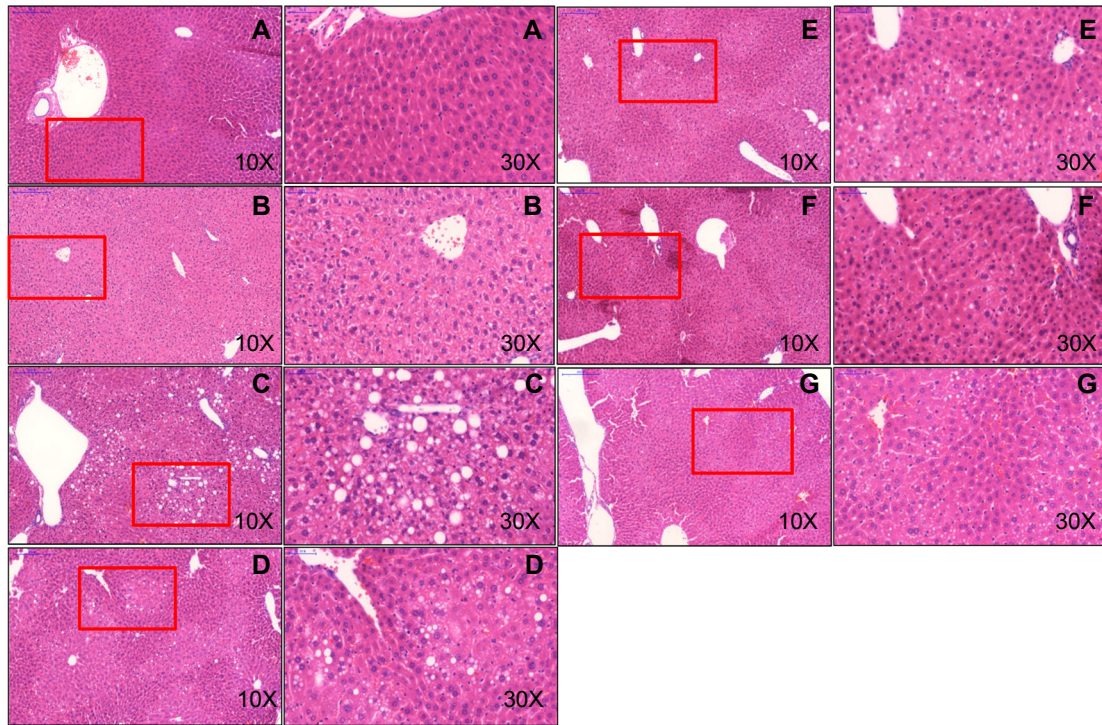
Hsu 등(15)은 acetoaminophen으로 독성을 유발시킨 마우스에서 SAC와 S-propyl cysteine(SPC) 투여에 의해 혈중 ALT와 AST 값이 대조군에 비해 약 50% 이상 감소됨을 보고하였고, 저자들은 이전 연구에서 유산균 발효 마늘추출물의 SAC 함량이 발효 전에 비해 약 4배 증가되는 것을 확인하였다(8). 따라서 유산균 발효 마늘추출물의 알코올성 지방간에 의한 간 손상 개선 효과는 SAC 함량의 증가와 직접적인 관련이 있을 것으로 추측되었다.

**조직학적 개선 효과**

유산균 발효 마늘추출물의 알코올성 지방간 개선 활성을 직접적으로 확인하고자 간 조직을 염색하였다. 그 결과 Fig. 3에서와 같이 대조식이군에 비해 알코올식이군의 간 조직 내에 더 많은 양의 lipid droplet이 축적되어 있는 현상과 지방성 염증의 한 증상으로 보이는 neutrophil이 peripheral 영역에서 관찰되었고, 유산균 발효 마늘추출물을 투여한 군에서 농도 의존적으로 지방 축적이 개선되는 것을 관찰할 수 있었다. 혈중 bilirubin 수치 개선 효과로 미루어 볼 때 cholestasis 등 담관계 질환에도 효능이 있을 것으로 예상되었으나, 조직염색 결과 담관내피 조직의 증식이나 담관 폐쇄 등은 확인할 수 없었다.



**Fig. 2.** Serum indexes related to liver damage in chronic ethanol-induced fatty liver model. <sup>1)</sup>Values are mean±SD. <sup>2)</sup>Means with the same letter (a-g) above the bars are not significantly different by Duncan's range test ( $P<0.05$ ).



**Fig. 3.** Histologic analysis of liver tissue in chronic ethanol-induced fatty liver model. (A) Normal diet, (B) Control diet, (C) Ethanol diet, (D) Ethanol diet, LAFGE 50 mg/kg, (E) Ethanol diet, LAFGE 100 mg/kg, (F) Ethanol diet, LAFGE 200 mg/kg, (G) Ethanol diet, Silymarin 200 mg/kg.

**Table 4.** Analysis of glutathione contents in liver tissue

Groups	Total GSH ( $\mu\text{g}/\text{mg}$ tissue)	Reduced GSH ( $\mu\text{g}/\text{mg}$ tissue)	GSSG/GSH ratio
A (Normal diet)	$4.603 \pm 0.7028^{b1)2)}$	$3.804 \pm 0.5667^b$	$0.1730 \pm 0.0097^b$
B (Control diet)	$5.132 \pm 0.4783^a$	$4.260 \pm 0.4270^a$	$0.1702 \pm 0.0122^b$
C (Ethanol diet)	$4.066 \pm 0.2448^f$	$3.223 \pm 0.2307^e$	$0.2077 \pm 0.0134^a$
D (LAFGE)	$4.381 \pm 0.4086^c$	$3.537 \pm 0.4150^d$	$0.1941 \pm 0.0217^a$
E (LAFGE)	$4.474 \pm 0.3586^d$	$3.648 \pm 0.3372^{bc}$	$0.1851 \pm 0.0128^{ab}$
F (LAFGE)	$4.558 \pm 0.2646^c$	$3.778 \pm 0.2789^{bc}$	$0.1718 \pm 0.0173^b$
G (Silymarin)	$3.947 \pm 0.6563^b$	$3.165 \pm 0.6253^e$	$0.2017 \pm 0.0313^a$

<sup>1)</sup>Values are mean $\pm$ SD.

<sup>2)</sup>Means with the same letter (a-g) in the same column are not significantly different by Duncan's range test ( $P < 0.05$ ).

### Glutathione 함량 변화

유산균 발효 마늘추출물이 대표적 항산화물질인 GSH의 함량과 형태에 미치는 영향을 검토하였다. 그 결과 대조식이군에 비해 알코올식이군의 간 조직 내 total GSH 및 GSSG의 함량이 저하되어 있는 것을 관찰할 수 있었으며, 유산균 발효 마늘추출물을 투여한 군에서 농도 의존적으로 GSH의 함량이 회복되는 것을 관찰할 수 있었다(Table 4). 간 조직 세포 내 redox status를 나타내는 지표(16)인 GSSG/total GSH ratio는 양성대조군인 실리마린과 알코올식이군에서 유의적인 차이가 나타나지 않았으나 유산균 발효 마늘추출물 투여군은 농도 의존적으로 감소하였다. 이로부터 유산균 발효 마늘추출물은 GSSG의 생성을 줄이고, 간세포 내에서 독성물질 또는 활성산소 등의 무독화 반응에 사용되는 GSH의 양을 증가시키는 비교적 강한 항산화능을 갖고 있음을

알 수 있었다. 이 결과는 Abdel-Wahhab 등(17)이 숙성마늘을 100 mg/kg, 200 mg/kg의 농도로 투여한 후  $\text{CCl}_4$ 로 간 독성을 유발시킨 흰쥐에서 GSH의 양이 증가하고 GSSG의 양이 감소함을 보고한 결과와 유사하였다.

### 요 약

본 연구는 *Lactobacillus plantarum*으로 발효시킨 유산균 발효 마늘추출물의 간 손상 보호 효과를 알코올성 지방간을 유발시킨 C57BL/6J 마우스를 사용하여 확인하고자 하였다. 유산균 발효 마늘추출물은 일반식이군에 비해 지방간 유도과 함께 증가한 간 무게를 용량 의존적으로 감소시켰다. 유산균 발효 마늘추출물 200 mg/kg 투여군에서 대표적 간 손상 관련 혈청효소인 ALT, AST 및 ALP의 활성이 낮았으

며, 간 손상의 다른 중요한 지표들인 TBIL, DBIL 값도 현저히 낮았다. 또한 유산균 발효 마늘추출물은 간의 조직학적 관찰에서도 알코올로 유도된 간 지방의 축적을 농도 의존적으로 개선하였다. 간 조직 내 GSH 함량을 측정한 결과, 알코올에 의해 감소된 GSH가 유산균 발효 마늘추출물 투여에 의해 점차 일반식이군 수준으로 회복됨을 알 수 있었다. 이상의 연구 결과는 유산균 발효에 의해 마늘의 냄새와 맛을 개선시킨 유산균 발효 마늘추출물이 알코올성 지방간의 예방 및 개선을 위한 기능성식품용 상업적 소재로서 높은 실용화 가능성을 시사한다.

### 감사의 글

본 연구는 2012년도 농림수산식품기술평가원에서 시행한 고부가가치식품기술개발사업(과제번호: 112104-03-1-HD020)의 지원에 의하여 수행되었으며 이에 감사드립니다.

### REFERENCES

1. Dey A, Cederbaum AI. 2006. Alcohol and oxidative liver injury. *Hepatology* 43: S63-S74.
2. Leung TM, Nieto N. 2013. CYP2E1 and oxidant stress in alcoholic and non-alcoholic fatty liver disease. *J Hepatol* 58: 395-398.
3. Lciek M, Kwiecien I, Wlodek L. 2009. Biological properties of garlic and garlic-derived organosulfur compounds. *Environ Mol Mutagen* 50: 247-265.
4. Anoush M, Eghbal MA, Fathiazad F, Hamzeiy H, Kouzehkonani NS. 2009. The protective effects of garlic extract against acetaminophen-induced oxidative stress and glutathione depletion. *Pak J Biol Sci* 12: 765-771
5. Geng Z, Rong Y, Lau BHS. 1997. S-allyl cysteine inhibits activation of nuclear factor kappa B in human T cells. *Free Radic Biol Med* 23: 345-350.
6. Chen CM, Yin MC. 2008. S-Allyl cysteine, S-ethyl cysteine and S-propyl cysteine alleviate oxidative stress-induced damage within PC12 cells. *J Sci Food Agric* 88: 2493-2498.
7. Geng Z, Lau BHS. 1997. Aged garlic extract modulate glutathione redox cycle and superoxide dismutase activity in vascular endothelial cells. *Phytoter Res* 11: 54-56.
8. Jung EB, Choi JH, Yu HJ, Kim KH, Lee SK, Hwang YI, Lee SH. 2012. Organosulfur compounds in fermented garlic extracts and the effects of fermented garlic extracts on alcohol induced cytotoxicity in CYP2E1 transfected HepG2 cells. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 42: 342-347.
9. Blois MS. 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable by radical. *Nature* 181: 1199-1200.
10. Rhodes JS, Best K, Belknap JK, Finn DA, Crabbe JC. 2005. Evaluation of a simple model of ethanol drinking to intoxication in C57BL/6J mice. *Physiol Behav* 84: 53-63.
11. Yin HQ, Lee BH. 2008. Temporal change in the hepatic fatty liver in mice receiving standard Lieber-DeCarli diet. *Toxicol Res* 24: 113-117.
12. Nyblom H, Berggren U, Balldin J, Olsson R. 2004. High AST/ALT ratio may indicate advanced alcoholic liver disease rather than heavy drinking. *Alcohol* 39: 336-339.
13. Yang RZ, Park S, Reagan WJ, Goldstein R, Zhong S, Lawton M, Rajamohan F, Qian K, Liu L, Gong DW. 2009. Alanine aminotransferase isoenzymes: molecular cloning and quantitative analysis of tissue expression in rats and serum elevation in liver toxicity. *Hepatology* 49: 598-607.
14. Akerboom TP, Sies H. 1981. Assay of glutathione, glutathione disulfide, and glutathione mixed disulfides in biological samples. *Methods Enzymol* 77: 373-382.
15. Hsu CC, Lin CC, Liao TS, Yin MC. 2006. Protective effect of S-allyl cysteine and S-propyl cysteine on acetaminophen-induced hepatotoxicity in mice. *Food Chem Toxicol* 44: 393-397.
16. Vendemiale G, Altomare E, Grattagliano I, Albano O. 1989. Increased plasma levels of glutathione and malondialdehyde after acute ethanol ingestion in humans. *J Hepatol* 9: 359-365.
17. Abdel-Wahhab KGED, Khadrawy YA, Mannaa FAE. 2012. Aged garlic extract enhances paraoxonase 1 activity and suppress oxidative stress in CCl<sub>4</sub>-intoxicated rats. *Comun Sci* 3: 55-63.