

보리수열매주의 알코올성 지방간 형성 억제 효과

김주연 · 남경숙 · 노상규[†]

창원대학교 식품영양학과

Cherry Silverberry (*Elaeagnus multiflora*) Wine Mitigates the Development of Alcoholic Fatty Liver in Rats

Juyeon Kim, Kyung-Sook Nam, and Sang K. Noh[†]

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

Abstract

Cherry silverberry (*Elaeagnus multiflora*) contains bioactive phenolics. This study was conducted to determine whether feeding cherry silverberry wine (CSW) to rats would alleviate the progress of alcoholic fatty liver. Adult male Sprague-Dawley rats were divided by weight into the following three groups. Two groups of rats were fed 6.7% ethanol or the caloric equivalent Lieber-DeCarli diet containing maltose-dextrin, and the other group an isocaloric Lieber-DeCarli diet containing CSW at the same ethanol level for 6 weeks. CSW's flavonoids, its antioxidant and free radical scavenging activities, serum transaminases, serum and hepatic lipids, and liver histology were examined. Our results showed that CSW exerted significant antioxidant and radical scavenging activities. The serum activities of alanine and aspartate transaminases were markedly decreased by CSW at 6 weeks. Also, CSW feeding resulted in significant reductions in blood cholesterol and triglyceride. The development of alcoholic fatty liver was significantly delayed by lowering fat accumulation. Taken together, these results indicate that CSW may help protect the liver against alcoholic fatty liver by improving serum and hepatic lipid status. This may be associated with the protective effect of CSW on alcoholic fatty liver via bioactive phenolic compounds.

Key words: alcoholic fatty liver, cherry silverberry wine, rats

서 론

만성적인 알코올 남용으로 인한 사망률은 매년 증가하고 있다. 특히 한국인 음주율의 계속적인 증가로 인한 국내 알코올 관련 질환 사망자는 한 해 4,430명으로 인구 10만 명당 8.9명에 달하며 이는 세계적으로 비교적 높은 수준이다(1). 과잉의 알코올에 의한 간조직의 손상은 대사과정에서 생성되는 자유 라디칼 및 acetaldehyde의 형성과 알코올의 산화로 인한 환원상태로의 변화가 간 조직에 지방 형성을 촉진시키기 때문인 것으로 보고되고 있다(2,3). 이러한 알코올의 간조직 손상 작용은 항산화물질에 의해 완화될 수 있으며, 생리적으로 활성을 가지는 비타민이나 플라보노이드와 같은 폴리페놀 물질의 섭취는 간 조직의 항산화능력을 높여 간 손상을 억제시키는 것으로 보고된다(4,5).

보리수(*Elaeagnus multiflora*)는 보리수나무과(*Elaeagnaceae*) 보리수나무속(*Elaeagnus*)에 속하는 식물로서 주로 관상용 또는 과수로 재배되고 있고(6), 성숙한 열매는 붉은 빛깔을 띠며 길이가 약 1.5 cm의 긴 타원형으로 다소 짧은맛과 단맛을 가진다(7). 이 보리수 열매는 수분함량이 약 84%

이며, 포도당과 과당이 유리당의 대부분을 차지하고 다양한 페리 폴리페놀과 비타민 C, 미네랄이 풍부한 것으로 알려져 있다(7,8). 또한, 보리수 열매의 폴리페놀 성분은 항산화 활성의 중요한 요인이며 이는 산화적 스트레스를 효과적으로 방어하는 것으로 알려져 있고, 이 외에도 항염증, 항암성 등 다양한 생리기능 작용을 갖는 것으로 알려져 있다(9-14). 국내에서 보리수 열매의 이용도는 매우 낮은 편으로 관상용이나 한방치료에 일부 사용될 뿐 식품 성분으로써의 이용성은 거의 없는 실정이다. 따라서 본 연구에서는 항산화 물질이 풍부한 식품인 보리수 열매로 발효된 보리수열매주의 6주간 공급이 알코올성 지방간의 각종 생화학적 지표에 미치는 영향을 조사하고자 설계되었다.

재료 및 방법

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

보리수열매주(상품명: 산들바람 보리수)는 (주)맑은내일

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

(Changwon, Korea)에서 생산되어 연구목적으로 공급된 전 통발효주로서 총 페놀성 화합물 분석은 Singleton 등(15)의 방법을 변형한 Dewanto 등(16)의 방법으로 증류수 0.5 mL에 보리수열매주 125.0 μ L를 혼합한 후 Folin-Ciocalteu 시약 125.0 μ L를 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 gallic acid(Sigma Co., St. Louis, MO, USA)와 비교하여 760 nm에서 흡광도를 측정하였다. DPPH 라디칼 소거능 측정은 Blois(17)의 방법으로 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 유사활성은 Marklund과 Marklund(18)의 변형된 방법으로 보리수열매주 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.

동물사육, Liber-DeCarli 액체식이 조성 및 공급 방법

실험동물은 8주령의 수컷 Sprague-Dawley rat(Harlan Sprague Dawley, Inc, (주)중앙실험동물, Seoul, Korea)으로 국립장원대학교 식품영양학과 동물사육실에서 항온항습(실내온도 $22 \pm 2^\circ\text{C}$, 상대습도 $55 \pm 5\%$)과 12시간 간격의 명암주기 환경에서 개인별 케이지로 자유롭게 공급된 증류수와 AIN-93G 표준식으로 실험식이 공급 시까지 사육되었다. 3주간의 적응기간을 가진 후, 난괴법으로 6마리씩 3군으로 나누어, Liber-DeCarli 액체기본식을 공급받는 동물군을 대조군(control), 대조군 액체기본식의 탄수화물 대신에 에탄올에 의한 열량 보충으로 대조군과 동일한 열량의 액체식을 공급받는 동물군을 에탄올군(ethanol), 16.5% 알코올을 함유하는 보리수열매주가 혼합된 액체식을 공급받는 동물군을 보리수열매주군(cherry silverberry wine, CSW)으로 정하였다.

동물사육에 사용된 Lieber-DeCarli 액체식이(Diet Inc., Bethlehem, PA, USA)는 Table 1에 나타난 것처럼 지방간을 효과적으로 유도하기 위해서 corn oil을 첨가하여 지방의 함량이 상향 조정된 식이다(19). 대조군의 식이는 열량의 41.4%를 지방, 18.1%를 단백질, 39.3%를 탄수화물에서 공급받도록 조정되었고 에탄올군의 식이는 지방과 단백질은 대조군의 것과 같으나 대신 탄수화물을 3.43%로 줄이고 에탄올에서 35.8%의 열량원으로 하였다(Table 1 참조). 보리수열매주군의 식이에 첨가된 보리수열매주(알코올 함량 16.5%)의 첨가량(mL)은 사람과 실험동물의 열량대사 비율을 적용하여 계산하였다(20). 즉, 사람이 하루에 약 8,360 kJ 열량을 소비하고 흰쥐가 하루에 334 kJ를 소비하는 것으로 이 실험에서 조사되었고, 이 수치로 산출된 대사비율(8,360 kJ/334 kJ=25)을 적용하여 실험동물에 공급된 보리수열매주가 포함된 보리수열매주군의 80.0 mL 액체식의 알코올 함량은 약 5.36 mL로 계산되었다. 동물의 체중 변화량을 측정하기

Table 1. Liber-DeCarli liquid diets¹⁾

Ingredient	Amount (g/L)		
	Control	Ethanol	CSW
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	—
Cherry silverberry wine	—	—	385.8

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

위해서 매주 각 동물의 체중을 측정하였다.

혈청과 간의 지질 및 지방간 지표성분 분석

동물 혈액의 지질 농도 및 지방간 주요 표지자의 변화를 6주 동안 살펴보기 위하여, 안구혈액채취법으로 3주마다 13시간 공복 혈액을 채취하였다. 채취된 혈액은 혈액응고를 유도한 후 혈청을 분리($2,000 \times g$ for 10 min at 3°C)하였다. 혈청 총콜레스테롤, HDL-콜레스테롤, 그리고 중성지방 농도는 효소적 방법((주)아산제약, Seoul, Korea)으로 측정하였다. 혈청의 alanine transaminase(ALT)와 aspartate transaminase(AST)의 활성 측정은 Reitman-Frankel법을 이용하여 측정하였고, γ -glutamyl transpeptidase(γ GTP)와 alkaline phosphatase(ALP)의 활성은 kit((주)아산제약)을 이용하여 측정하였다. 혈청의 총단백질 양은 BCA 방법을 이용한 kit(Thermo Fisher Scientific Inc., Rockford, IL, USA)을 이용하여 측정하였다.

간 지질은 chloroform : methanol(v/v, BHT 151.3 μ mol/L 함유) 혼합 유기용매 방법으로 추출하였으며(21), 유기용매 제거 후(N-EVAPTM 111, Organomation Associates Inc., Berlin, MA, USA) 총지방량을 측정하였다. 간지질 추출물의 주요 지방은 분획칼럼(aminopropyl solid phase column: Bond Elut NH₂, Varian Sample Preparation Products, Harbor City, CA, USA)과 추출장치(VAC ELUT SPS 24, Varian, Harbor City, CA, USA)를 이용하여 분획하였다(22,23). 17:0을 포함하는 콜레스테롤, 중성지방, 유리지방산, 인지질을 표준물질로 하여 간 지질 추출물 시료에 혼합한 후, 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)의 용매를 이용, 콜레스테롤, 중성지방, 유리지방산, 인지질을 순서대로 분획하였다. 분획된 각 지방의 지방산 분석은 GC를 이용하여 Folch 등(21) 및 Slover와 Lanze(24)의 방법에 준하여 측정

하였다. 메틸화된 지방산의 분리 및 계산은 같은 분석조건의 표준 지방산(Nu-Chek Prep Inc., Elysian, MN, USA)과 비교하여 DB-23[(50%-cyanopropyl)-methyl polysiloxane; 0.15 μ m, 0.2 mm; 60 m, Agilent J&W, Inc., Santa Clara, CA, USA]으로 장착된 GC(Model GC 7890A, Agilent Technologies, Inc., Wilmington, DE, USA)를 이용하여 측정하였다. α -Tocopherol은 HPLC 방법으로 분석하였다(21,25,26). Tocol(Matreya, Pleasant Gap, PA, USA)을 내부 표준물질(internal standard)로 간지질 추출물 시료에 첨가한 후 chloroform : methanol(v/v, BHT 151.3 μ mol/L 포함) Beckman System Gold software(Beckman Instruments, Inc., Fullerton, CA, USA)를 겸비한 HPLC 장치에 연결된 column(Alltima C18, 5 μ m, 4.6 \times 150 mm, Alltech Associates, Inc., Deerfield, IL, USA)의 이동상은 100% methanol(2 mL/min)이었고 UV 295 nm에서 측정하였다(26). 간지질 추출물의 총인지질은 화학적 방법을 이용하였다(27).

간조직의 조직학적 분석(hepatic histology)

지방간 증상의 정도를 조직학적으로 분석하기 위하여 실험 6주째 각 동물군을 대상으로 간을 채취하여 현미경하에서 사진 촬영하였다. 간을 적출하여 일부 조직을 급속동결 시킨 후 동결절편기(Leica CM 1850, Heidelberg, Germany)를 이용하여 5 μ m 두께로 잘라 hematoxylin(Invitrogen Corporation, Camarillo, UK), eosin(Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA) 그리고 oil red O(Sigma Chemical Co.)로 염색하여 관찰(Leica DM6000B)하였다.

통계처리

실험의 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 비교분석을 실시하였다.

결과 및 고찰

보리수열매주의 총 페놀함량과 항산화 활성

보리수열매주에 포함된 총 폴리페놀의 함량을 측정된 결과는 37.24 mg/100 mL로 나타났다. 보리수열매의 떫은맛에 영향을 주며 항산화 활성의 주된 물질인 페놀 성분은 보리수열매에 다량 함유되어 있으며(7), 페놀 화합물 분자 내 phenolic hydroxyl기는 효소단백질 및 거대 분자와 결합하여 생리활성을 나타내는 것으로 알려져 있다(28). 이는 과실주으로써 가장 대중적으로 음용되는 포도주의 총 폴리페놀의 함량이 25~230 mg/100 mL인 것과 비교하여 볼 때 보리수열매주는 포도주와 비교되는 수준의 폴리페놀 함량을 가지는 것으로 판단된다(29). 보리수열매주의 SOD 유사활성을 측정한 결과는 Fig. 1A에 나타내었다. Gallic acid에 비교된 보리수열매주의 유사활성은 26.3%로 측정되어, 표준물질인

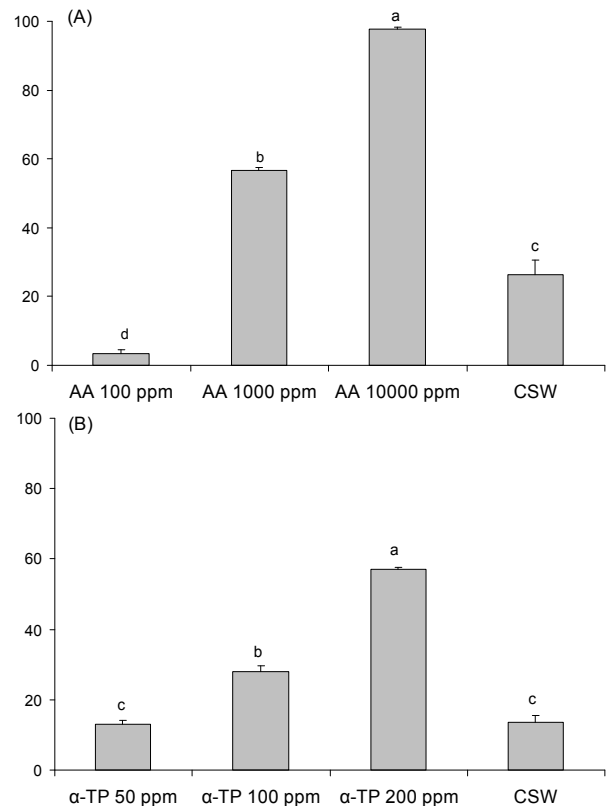


Fig. 1. Superoxide dismutase (SOD)-like activity (A) and 1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl (DPPH) radical scavenging activity (B) of cherry silverberry wine (CSW). All values are expressed as means \pm SD (n=3). Different letters (a-d) within a column indicate significant difference ($p < 0.05$). Abbreviations used: AA, L-ascorbic acid; α -TP, α -tocopherol.

0.1%, 1% L-ascorbic acid의 활성(각각 56.6%와 97.6%)보다는 낮았지만 0.01% L-ascorbic acid보다는 높게 나타나 표준물질에 비교될 만한 SOD 유사활성을 가지는 것으로 보인다. 알코올 섭취 시 체내 SOD 활성이 높아지게 되는데 항산화물질이 존재하는 경우에는 SOD 활성이 낮아진다는 보고(30)를 와 연관지어볼 때 보리수열매주에 함유된 여러 항산화 물질에 의해 실험동물의 SOD 활성에 긍정적인 영향을 미칠 수 있을 것이라 사료된다. 보리수열매주의 DPPH 라디칼 소거능을 측정한 결과는 Fig. 1B에 나타내었다. 보리수열매주의 DPPH 라디칼 소거 활성 정도를 α -tocopherol을 표준물질로 사용했을 때, 보리수열매주의 전자공여능은 13.7%로 나타났다. DPPH 라디칼 특유의 청남색이 보리수주 내 항산화제 작용에 의해 수소 혹은 전자를 받음으로써 안정한 형태의 화합물로 전환되어 라디칼용액이 노란색으로 변하는 것을 원리로 측정하였다. 이상의 결과로 볼 때 보리수열매주는 α -tocopherol 0.005%와 유사한 라디칼 소거 활성을 보여 이 농도와 비교될 만한 소거 활성을 가진 우수한 과실주로 판단이 된다.

체중 변화

보리수열매주를 액체식이와 함께 급여한 결과로 인한 체

Table 2. Time-course changes in the body weights of rats fed a diet containing ethanol (ethanol) or either ethanol plus cherry silverberry wine (CSW)^{1,2)}

Week	Control	Ethanol	CSW
0	355.8±13.0	356.3±14.2	356.4±12.6
1	349.8±7.8 ^a	319.9±6.4 ^b	318.7±7.6 ^b
2	364.7±9.4 ^a	333.3±10.6 ^b	324.9±6.2 ^b
3	386.3±9.2 ^a	337.7±10.4 ^b	328.8±6.7 ^b
4	402.3±9.9 ^a	339.9±11.0 ^b	334.4±7.3 ^b
5	405.4±9.8 ^a	344.5±11.5 ^b	338.7±8.1 ^b
6	415.8±9.6 ^a	358.0±14.7 ^b	344.9±11.4 ^b

¹⁾Values are means±SD, n=6.

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

중 변화는 Table 2와 같다. 대조군과 실험군 모두 실험 1주째에 체중이 감소되는 경향이 있었으나 2주째부터 실험 종료까지는 지속적인 체중증가율을 보였다. 그리고 알코올을 공급받은 에탄올군과 보리수열매주군의 체중은 알코올을 공급받지 않은 대조군과 비교하여 실험 1주째부터 6주째까지 유의적으로 체중이 낮은 것으로 나타났으나 에탄올군과 보리수열매주군 차이가 없었다. 이는 식이섭취량 감소에 따른 영양 결핍 효과를 배제시킨 상태(매일 같은 양과 같은 열량 공급)에서 알코올을 쥐에게 투여하는 경우에도 알코올군에서 체중감소 현상을 나타났다고 보고한 Lieber와 Decarli(31)의 연구에서처럼 본 연구에서도 6주간 같은 열량의 식이공급이 이루어졌지만 알코올을 섭취한 에탄올군과 보리수열매주군의 체중증가가 대조군에 비해 감소된 것으로 보아 알코올 섭취 시 알코올 자체의 독성 영향으로 인한 소화율 저하와 여러 영양소의 불충분한 흡수 때문인 것으로 판단된다.

혈청과 간의 지질 및 지방간 지표 성분 변화

보리수열매주의 공급이 실험동물 혈액의 중성지방과 콜레스테롤 농도에 미치는 영향은 Table 3과 같다. 6주째 혈중 중성지방 농도는 대조군과 비교하여 보리수열매주군이 알코올에 의한 영향으로 감소된 경향을 보였지만 서로 간에는 유의적인 차이는 없었다. 혈중 총콜레스테롤 농도는 대조군에 비해 에탄올군과 보리수열매주군의 농도가 유의적으로 증가하였으나 에탄올군과 보리수열매주군 사이에서는 유의적인 차이가 없는 것으로 나타났다. 혈중 non-HDL 콜레스테롤 농도도 대조군에 비해서 에탄올군의 농도가 증가하는 경향을 보였으나 유의적인 차이는 없었다. 여러 연구자들이 다양한 실험조건에서 식품 중 생리기능성 성분의 고지혈증 개선 작용을 보고하였다. 흰쥐에게 포도를 장기간 공급 시 포도에 함유된 베타케로틴, 비타민 C, 비타민 E 및 폴리페놀 성분이 LDL-콜레스테롤을 감소시키며 특히, 포도에 다량 함유된 식이섬유가 소장 소화 시 담즙산, 콜레스테롤과 결합하여 소장강 마이셀의 형성을 방해해서 소장 내 지질 흡수를 저해함으로써 혈중 지질 농도를 낮추어주는 것으로 보고하였다(32). Sirtori와 Lavati(33)에 의하면 이소플라본을 LDL 수용체가 결합된 쥐에게 섭취시키면 LDL-콜레스테롤 분해가 증가되고 LDL 수용체의 활성이 증가한다고 보고하여, 식품 중 생리활성 물질의 중성지방과 콜레스테롤 농도 감소 효과 기전을 추측해 볼 수 있겠다. 위의 연구에서 볼 수 있듯이 보리수열매주의 혈중 지질 저하 효과는 보리수 열매에 다량 함유되어 있는 폴리페놀 성분을 포함하는 생리활성 물질에 기인하는 것으로 생각해 볼 수 있다.

간 조직 손상과 관련한 지방간 표지자의 혈중 농도 중 6주째 나타난 혈중 ALT 농도는 대조군에 비해 에탄올군에서 유의적으로 증가하였으나 보리수열매주의 공급으로 인해

Table 3. Serum and hepatic levels of alcoholic fatty liver markers of rats fed a diet containing either ethanol (ethanol) or ethanol plus cherry silverberry wine (CSW)¹⁾⁻³⁾

Markers	Control	Ethanol	CSW
Blood			
Triglyceride, mg/dL	56.23±9.78	48.94±7.31	52.29±14.31
Total cholesterol, mg/dL	76.726±9.03 ^b	108.71±5.76 ^a	104.46±8.62 ^a
HDL-cholesterol, mg/dL	45.11±10.47	55.35±8.93	56.67±5.30
Non-HDL cholesterol, mg/dL	31.62±8.36 ^b	53.35±13.42 ^a	47.79±5.82 ^a
ALT, U/L	84.67±20.86 ^c	544.67±87.26 ^a	185.67±14.22 ^b
AST, U/L	19.93±6.08 ^b	208.33±112.72 ^a	33.60±3.91 ^b
ALP, U/dL	29.05±8.28	30.24±13.48	29.34±7.14
γ GTP, K-A	1.08±0.36 ^b	1.98±0.32 ^a	1.46±0.09 ^b
Protein, g/L	59.45±0.83 ^a	55.77±1.03 ^b	56.60±1.26 ^b
Liver			
Weight, g	11.80±0.40 ^a	11.77±0.60 ^a	9.34±0.58 ^b
α-Tocopherol, nmol/g	98.28±13.41 ^b	184.62±28.88 ^a	122.75±14.97 ^b
Phospholipid, μmol/g	39.11±0.79	42.13±2.94	41.00±2.24
Total cholesterol, μmol/g	7.58±0.70 ^c	27.25±3.91 ^a	13.69±2.11 ^b
Total lipid, mg/g	87.38±5.92 ^b	194.59±29.98 ^a	104.70±8.09 ^b

¹⁾Values are means±SD, n=5.

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.

유의적으로 감소하는 것으로 나타났다(Table 3). 혈중 AST 농도 역시 알코올을 섭취한 두 그룹간의 비교에서 에탄올군보다 보리수열매주군의 농도가 유의적으로 낮은 것으로 나타났으며, 이는 대조군 수준까지 감소하는 것으로 나타났다. 혈중 ALP 농도는 그룹 간에 유의적인 차이가 없는 것으로 나타났고, 혈중 γ -GTP 활성은 대조군에 비해 에탄올군에서는 증가하였으나 에탄올군과 비교해 보리수열매주군에서는 유의적으로 감소한 것으로 나타났다. 혈중 protein 농도는 대조군에 비해 에탄올군과 보리수열매주군의 농도가 낮은 것으로 나타났다. Shin과 Rho(34)의 연구에서 10% 알코올을 음료 형태로 7주간 섭취시킨 쥐에서 알코올 투여군의 ALT와 AST의 농도가 유의적으로 증가하였다는 보고와 간세포가 손상된 사람에게 알코올을 섭취시키면 혈청 γ -GTP 활성이 유의하게 증가하였다는 보고(35)에서와 같이 본 연구에서도 에탄올군의 ALT와 AST 농도는 동일한 경향을 나타냈다. 하지만 6주 동안 보리수열매주의 형태로 알코올을 공급받은 보리수열매주군에서 ALT, AST, γ -GTP의 농도가 에탄올군에 비해 유의적으로 감소된 경향을 나타낸 것과 관련하여 보리수열매주의 페놀화합물 같은 성분이 지방간 흰쥐의 혈청 및 간에서 지질대사를 개선시킴으로써 지방간으로 인한 간세포의 손상을 지연시켰을 것으로 판단된다. 이는 에탄올로 유도한 지방간 동물실험에서 양파추출물의 공급이 ALT, AST의 농도를 감소시켰다고 보고한 Shin 등(36)의 연구와 알코올만 단독으로 공급받은 에탄올군보다 자두와인으로 알코올을 공급받은 군에서 ALT, AST 농도가 유의적으로 감소하였다는 Yoon(37)의 보고와도 일치하는 결과이다.

간의 조직학적 분석 및 주요 지방의 지방산 함량

Fig. 2는 각 실험군별로 염색한 간조직의 사진을 나타내는 것으로 대조군에서는 간세포에 축적된 지방구가 작고 고른 형태로 분포하고 있으나, 6주 동안 알코올을 섭취한 에탄올군에서는 간 조직에 지방구가 큰 형태로 축적되어 크기가 커진 것을 확인할 수 있었다. 이에 비해 보리수열매주군의 간세포에 축적된 지방구는 상대적으로 크기가 작고 적게 축적된 수준으로 관찰되었다. 이와 유사하게 간조직의 총 지방함량(mg/g liver)도 대조군에서 87.38 ± 5.92 , 에탄올군에서

194.59 ± 29.98 , 보리수열매주군에서 104.70 ± 8.09 로 나타나 에탄올군에 비하여 보리수열매주군에서 유의적으로 낮아 보리수열매주에 의해서 간의 지방 축적 현상이 대조군 수준으로 감소됨을 알 수 있었다(Table 3). Feillet-Coudray 등(38)에 의하면 고지방과 고설탕식을 급여한 실험동물과 비교해 적포도주에서 추출한 폴리페놀인 0.2% provinol을 함께 급여한 군에서의 지방축적이 감소되어 지방간 증상이 완화되었다고 보고하였고, Zhang 등(39)에 의하면 고지방식이와 포도박을 함께 급여한 동물군에서 지방 축적억제와 간 손상이 완화되었다고 보고하였다. 본 연구에서 사용된 보리수열매주에 함유된 다양한 폴리페놀, 플라보노이드, 비타민 성분이 알코올성 지방간에 의한 간조직의 형태적 변화에 긍정적인 효과를 보인 것으로 사료되며, 이는 에탄올에 비해 상대적으로 간 조직중의 지방축적을 억제하고 간 손상을 완화하는데 도움이 될 것으로 생각된다.

6주 동안 보리수주의 공급이 간의 주요 지방 농도변화에 미치는 영향은 Table 3과 같다. 간조직의 총콜레스테롤 수준은 대조군에 비하여 에탄올군에서 유의적으로 증가하였으나 보리수열매주군에서는 유의적으로 감소하는 것으로 나타났다. 간조직의 총지방 함량 또한 대조군에 비하여 에탄올군에서 유의적으로 증가되었고, 보리수열매주군이 에탄올군에 비해 유의적으로 감소한 것으로 나타났으며, 이는 대조군과 유사한 수준으로 나타났다. 대표적인 항산화 지용성 비타민인 α -tocopherol 농도는 에탄올군에 비해 보리수열매주군에서 대조군 수준으로 유의적으로 감소한 것으로 나타났다.

6주 동안 보리수열매주의 공급이 간 조직의 주요 지방 종류별(콜레스테롤, 중성지방, 유리지방산, 인지질) 총지방산 조성에 미치는 영향은 Table 4와 같다. 지방산 중 대부분이 중성지방으로 나타났으며 그중 팔미트산(16:0), 올레산(18:1), 리놀렌산(18:2)이 간의 주요 지방산으로 존재하였다. 특히, 콜레스테롤과 중성지방에서는 모든 지방산 함량이 대조군에 비해 에탄올군에서 유의적으로 증가하였으나, 보리수열매주군에서는 에탄올군에 비해 유의적으로 감소하여 대조군과 유사한 수준으로 나타났다. 유리지방산과 인지질 지방산에서도 에탄올군에 비해 보리수열매주군이 감소하는 경

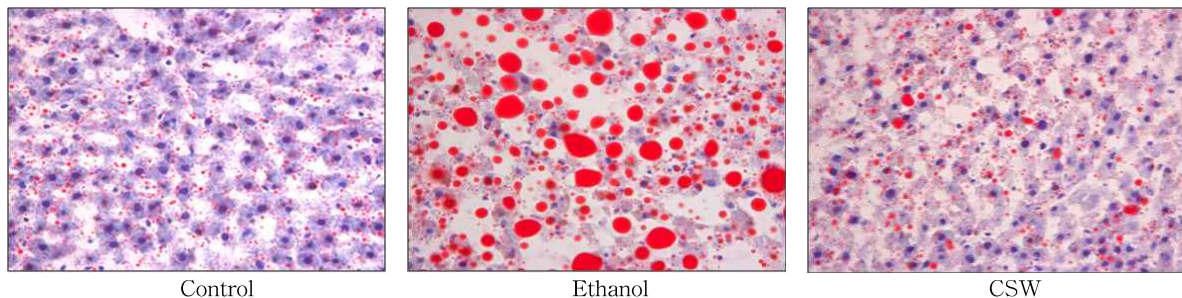


Fig. 2. Liver histology of rats fed a diet containing either ethanol (ethanol) or ethanol plus cherry silverberry wine (CSW), compared with pair-fed controls (Hematoxylin & Eosin stain, $\times 400$).

Table 4. The liver concentrations of fatty acids in cholesteryl ester, triglyceride, free fatty acid, and phospholipid classes at 6 weeks of cherry silverberry wine (CSW) treatment^{1,2)}

Lipid	Control (μmol/g liver)	Ethanol (μmol/g liver)	CSW (μmol/g liver)
Cholesteryl ester			
16:0	1.94±0.27 ^b	20.50±8.47 ^a	1.90±0.16 ^b
18:0	0.36±0.04 ^b	1.97±0.76 ^a	0.51±0.04 ^b
18:1	3.03±0.43 ^b	50.95±14.69 ^a	11.15±3.68 ^b
18:2	1.13±0.22 ^b	19.43±8.42 ^a	2.92±0.95 ^b
20:4	0.79±0.20 ^b	2.92±1.05 ^a	1.18±0.30 ^b
Triglyceride			
16:0	12.08±4.31 ^b	78.21±17.09 ^a	19.35±5.02 ^b
18:0	0.71±0.20 ^b	6.32±1.86 ^a	1.41±0.21 ^b
18:1	21.41±7.25 ^b	156.31±24.46 ^a	39.14±7.16 ^b
18:2	13.57±4.44 ^b	125.36±38.36 ^a	26.37±4.70 ^b
20:4	1.47±0.43 ^b	23.06±5.63 ^a	3.96±0.73 ^b
22:6	0.09±0.03 ^b	4.72±2.63 ^a	0.69±0.16 ^b
Free fatty acid			
16:0	4.63±0.85	4.88±0.22	4.82±0.37
18:0	3.00±0.45	3.45±0.21	3.08±0.26
18:1	5.08±1.12 ^b	6.57±0.57 ^a	6.44±0.63 ^a
18:2	4.08±1.02 ^b	5.02±0.30 ^{ab}	5.30±0.67 ^b
18:3	0.05±0.01 ^b	0.07±0.01 ^a	0.06±0.01 ^{ab}
20:4	3.24±0.54	3.52±0.27	2.91±0.64
22:6	0.35±0.07 ^b	0.53±0.06 ^a	0.42±0.11 ^{ab}
Phospholipid			
16:0	7.11±0.57	6.56±0.43	6.50±0.18
18:0	9.32±1.00 ^b	12.33±0.56 ^a	12.12±0.56 ^a
18:1	2.27±0.23	2.32±0.34	2.23±0.17
18:2	3.28±0.39	3.25±0.30	3.53±0.28
20:4	12.74±1.47	12.76±0.73	12.53±0.33
22:6	1.89±0.35 ^b	2.65±0.28 ^a	2.48±0.22 ^a

¹⁾Values are means±SD, n=5.²⁾Values in a row not sharing a superscript differ significantly (p<0.05).

향을 나타냈다. 만성적인 에탄올의 섭취는 NADH/NAD⁺의 비를 높여 glycerol phosphate, diacylglycerol 및 acyl-transferase, phosphatidate, phosphohydrolase의 활성도를 증가시켜 지방산의 합성을 촉진시키고 혈중 중성지질 농도를 높여 알코올성 지방간을 유발하는 것으로 알려져 있다 (40). Anila와 Vijayalakshmi(41)에 의하면 플라보노이드류는 NADH의 공급을 감소시켜 NADH/NAD⁺비를 낮춰 간의 지방산 합성을 감소시킨다고 보고하였고, Sirtori와 Lavati(33)는 이소플라본이 LDL 수용체의 결합 능력을 향상시켜 LDL의 분해를 촉진하여 간의 콜레스테롤 수준을 저하하는 것으로 보고하였다. Kim과 Lee(42)는 콩나물의 이소플라본과 aspartate이 에탄올을 투여한 동물 간조직의 지질 함량을 개선한다고 보고했고, Seo 등(43)과 Park 등(44)은 감귤에 많이 함유된 플라보노이드류가 에탄올을 섭취한 동물 간 조직의 지질대사에 효과를 나타냈다고 보고하였다. 이들 연구 결과 모두 식품 중에 함유된 페놀성 화합물들이 간의 지방 수준을 낮추준다고 보고한 것과 관련하여 본 연구에서의 보리수열매주 공급을 통한 지방간 완화 효과는 보리수 열매에 함유된 페놀성 피토케미칼 성분에 기인한다고 판단된다.

요 약

본 연구에서는 보리수 열매를 원료로 하여 만든 보리수열매주의 항산화 활성을 조사하고, 흰쥐에 보리수열매주의 급여가 알코올 지방간 완화에 미치는 영향을 조사하였다. 알코올의 섭취로 지방간을 유도하기 위하여 Lieber-DeCarli 액체 식이를 공급하였으며, 액체 표준식이만 공급받는 동물군을 대조군(control), 대조군과의 열량 차이를 에탄올로 보충한 액체식이를 공급받는 동물군을 에탄올군(ethanol), 에탄올 대신 보리수열매주를 혼합한 액체식이를 공급받는 동물군을 보리수열매주군(cherry silverberry wine, CSW)으로 6마리씩 3그룹으로 나누어 6주간 사육하였다. 실험 시작 전, 3주째, 그리고 6주째에 혈액을 채취하였고 간은 6주 혈액 채취 직후 적출하였다. 보리수주의 총 페놀함량은 37.24 mg/100 mL, SOD 유사활성은 22.26%, DPPH 라디칼 소거능은 13.69%로 나타났다. 혈액의 주요 지방간 표지자들의 농도는 대조군에 비해 에탄올군에서는 유의적으로 증가하였으나 보리수열매주군에서는 유의적으로 감소하였다. 대조군에 비해 에탄올군의 간은 지방구가 축적되어 비대해진 것을 확인할 수 있었으며, 보리수열매주군의 간은 지방구의 크기나 수가 대조군 수준으로 감소한 것으로 나타났다. 이와 유사하게

간조직의 총지방량 농도도 보리수열매주군에서 유의적으로 감소하였다. 본 실험을 통해 보리수열매주가 알코올 섭취로 증가된 혈중 지질 수준과 간기능 지표 수준을 개선시키는 효과를 나타냈으며 간조직에 지방간 형성이 유의적으로 억제하는 것을 간조직 분석을 통해 확인하였다. 이는 보리수열매에 함유되어 있는 다양한 피토케미칼 성분의 항산화 효과로 인해 알코올에 의한 간 손상을 보호하는데 기여할 수 있음을 나타낸 결과로 사료된다.

감사의 글

이 논문은 2009~2010년도 창원대학교 교내연구비 지원에 의하여 수행되었으며 이에 감사드립니다. 또한 보리수열매주를 무상 공급해주신 (주)맑은내일 사장님께 진심으로 감사드립니다.

문 헌

- http://kostat.go.kr/portal/korea/kor_ko/5/2/index.board?bmode=read&aSeq=179513
- Jaeschke H, Gores GJ, Cederbaum AI, Hinson JA, Pessayre D, Lemasters JJ. 2002. Mechanisms of hepatotoxicity. *Toxicol Sci* 65: 166-176.
- Cha YS, Sachan DS. 1994. Opposite effects of dietary saturated and unsaturated fatty acids on ethanol-pharmacokinetics, triglycerides and carnitines. *J Am Coll Nutr* 13: 338-343.
- Suresh MV, Sreeranjit Kumar CV, Lal JJ, Indira M. 1999. Impact of massive ascorbic acid supplementation on alcohol induced oxidative stress in guinea pigs. *Toxicol Lett* 104: 221-229.
- McDonough KH. 2003. Antioxidant nutrients and alcohol. *Toxicology* 189: 89-97.
- Song JH, Lee HS, Hwang JK, Chung TY, Hong SR, Park KM. 2003. Physiological activities of *Phellinus ribis* extracts. *Korean J Food Sci Technol* 35: 690-695.
- Kim NW, Joo EY, Kim SL. 2003. Analysis on the components of the fruit of *Elaeagnus multiflora* Thunb. *Korean J Food Preserv* 10: 534-539.
- Seeram NP. 2008. Berry fruits: Compositional elements, biochemical activities, and the impact of their intake on human health, performance, and disease. *J Agric Food Chem* 56: 627-629.
- Lee YS, Chang ZQ, Oh BC, Park SC, Shin SR, Kim NW. 2007. Antioxidant activity, anti-inflammatory activity, and whitening effects of extracts of *Elaeagnus multiflora* Thunb. *J Med Food* 10: 126-133.
- Lee MS, Lee YK, Park OJ. 2010. Cherry silver berry (*Elaeagnus multiflora*) extracts exert anti-inflammatory effects by inhibiting COX-2 and Akt signals in HT-29 colon cancer cells. *Food Sci Biotechnol* 19: 1673-1677.
- Hong JY, Nam HS, Lee YS, Kim NW, Shin SR. 2006. Antioxidant activity of ethanol extracts from fruits of *Elaeagnus multiflora* Thunb. during maturation. *Korean J Food Preserv* 13: 643-648.
- Hong JY, Nam HS, Lee YS, Yoon KY, Kim NW, Shin SR. 2006. Study on the antioxidant activity of extracts from the fruit of *Elaeagnus multiflora* Thunb. *Korean Food Preserv* 13: 413-419.
- Chang ZQ, Park SC, Oh BC, Lee YS, Shin SR, Kim NW. 2006. Anti-platelet aggregation and anti-inflammatory activity for extracts of *Elaeagnus multiflora*. *Korean J Med Crops Sci* 14: 516-517.
- Oh SI, Lee MS. 2008. Antioxidative and cytotoxic effects of ethanol extracts from *Elaeagnus multiflora*. *Korean J Food Nutr* 21: 403-409.
- 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.
- 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.
- Noh SK, Koo SI, Jeon IJ. 1999. Estrogen replacement in ovariectomized rats increases the hepatic concentration and biliary secretion of α -tocopherol and polyunsaturated fatty acids. *J Nutr Biochem* 10: 110-117.
- Slover HT, Lanze E. 1979. Quantitative analysis of food fatty acids by capillary gas chromatography. *J Am Oil Chem Soc* 56: 933-943.
- Zaspel BJ, Csallany AS. 1983. Determination of α -tocopherol in tissues and plasma by high-performance liquid chromatography. *Anal Biochem* 130: 146-150.
- Liu JF, Huang CJ. 1995. Tissue α -tocopherol retention in male rats is compromised by feeding diets containing oxidized frying oil. *J Nutr* 125: 3071-3080.
- Raheja RK, Kaur C, Singh A, Bhatia IS. 1973. New colorimetric method for the quantitative estimation of phospholipids without acid digestion. *J Lipid Res* 14: 695-697.
- Husain SR, Gillard J, Cullard P. 1987. Hydroxyl radical scavenging activity of flavonoids. *Phytochemistry* 26: 2489-2491.
- Choi 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.
- Koch O, Farre S, De Leo ME, Palozza P, Palazzotti B, Borrello S, Palombini G, Cravero A, Galeotti T. 2000. Regulation of manganese superoxide dismutase (MnSOD) in chronic experimental alcoholism: effects of vitamin E-supplemented and deficient diets. *Alcohol Alcohol* 35: 159-163.
- Lieber CS, DeCarli LM. 1974. An experimental model of alcohol feeding and liver injury in the baboon. *J Med Prim* 3: 153-163.
- Burton-Freeman B. 2000. Dietary fiber and energy regulation. *J Nutr* 130: 272S-275S.
- Sirtori CR, Lavati MR. 1995. Soy and cholesterol reduction:

- Clinical experience. *J Nutr* 125: 598S-605S.
34. 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.
 35. Dakeishi M, Iwate T, Ishii N, Murata K. 2004. Effects of alcohol consumption on hepatocellular injury in Japanese men. *Tohoku J Exp Med* 202: 31-39.
 36. 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.
 37. 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.
 38. Feillet-Coudray C, Sutra T, Fouret G, Ramos J, Wrutniak-Cabello C, Cabello G, Cristol JP, Coudray C. 2009. Oxidative stress in rats fed a high-fat high-sucrose diet and preventive effect of polyphenol: involvement of mitochondrial and NAD(P)H oxidase systems. *Free Radic Biol Med* 46: 624-632.
 39. Zhang XH, Choi SK, Seo JS. 2010. Effect of dietary grape pomace on lipid metabolism and hepatic morphology in rats fed a high fat diet. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 39: 1595-1603.
 40. Lieber CS. 1994. Alcohol and the liver. *Gastroenterology* 106: 1085-1105.
 41. Anila L, Vijayalakshmi NR. 2002. Flavonoids from *Emblica officinalis* and *Mongifera indica*-effectiveness for dyslipidemia. *J Ethnopharmacol* 79: 81-87.
 42. Kim KO, Lee HS. 2007. Effects of isoflavone-rich bean sprout on the lipid metabolism of the ethanol-treated rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 36: 1544-1552.
 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. Park HY, Park YK, Lee YS, Noh SK, Sung EG, Choi I. 2011. Effect of oral administration of water-soluble extract from citrus peel (*Citrus unshiu*) on suppressing alcohol-induced fatty liver in rats. *Food Chem* 30: 598-604.

(2011년 10월 11일 접수; 2011년 11월 16일 채택)