J. Fd Hyg. Safety
Vol. 26, No. 2, pp. 166~170 (2011)

Journal of Food Hygiene and Safety
Available online at http://www.foodhygiene.or.kr

내독소인 LPS로 처치된 흰쥐에 대한 막걸리의 항산화 활성효과

권륜희 · 채가연 · 하배진*
신라대학교 생명공학과

The Effects of the Makgeolri on the Antioxidative Activity in the Endotoxin LPS-treated Rats

Ryun Hee Kwon, Ga Yeon Chae, and Bae Jin Ha*
Department of Pharmaceutical Engineering, College of Medical Life Science, Silla University, SAN 1-1, Gwaebub-Dong, Sasang-Gu, Busan 614-735, Korea
(Received March 8, 2011/Revised April 23, 2011/Accepted June 8, 2011)

ABSTRACT - Modern people have begun to have the nationwide interest in the rice wine called Makgeolri which is one of the traditional Korean alcoholic liquors. This study was performed to investigate the effects of Sansung Makgeolri extract (SM) on antioxidation together with the determination of pH and dissolved oxygen (DO) in the progress of fermentation in the lipopolysaccharide(LPS)-treated rats. We examined the levels of SOD (superoxide dismutase), CAT (catalase), GPx (glutathione peroxidase) in liver homogenates and the histopathological observations in liver tissue. LPS-treated group markedly decreased the levels of SOD, CAT and GPx. But SM + LPS-treated group significantly increased the levels of them. Furthermore, the antioxidative effects of SM were supported by the histopathological observations in liver tissue which showed severe inflammation and necrosis in LPS-treated group, compared to the attenuated inflammation and necrosis in SM + LPS-treated group. This results suggested that SM could be a candidate of antioxidative material in spite of alcoholic liquors.

Key words: Sansung Makgeolri, endotoxin, lipopolysaccharide, oxidative stress, antioxidative enzyme.

술은 세계적으로 널리 음용되고 있는 음료이지만 계속적인 음주는 여러 가지 사회적 문제를 야기할 뿐만 아니라 간염 간경화 및 간암 등 알코올성 간질환을 유발할 수 있다[1]. 인체의 알코올대사는 alcohol dehydrogenase (ADH), microsomal ethanol oxidation system (MEOS) 및 catalase의 3가지 효소계가 관여하며 그 과정은 알코올에 의해 유도되어지는 산화적 스트레스와도 상관성이 있으며, 이들 대사경로는 자유라디칼을 생성함으로써 항산화시스템에도 영향을 미친다[2,3,4]. 간에서의 알코올 대사율은 ADH와 aldehyde dehydrogenase (ALDH) 활성에 영향을 주는 요인들에 의해 조절되며, 만성적인 에탄올 투여는 MEOS에 의한 에탄올 산화를 증가시켜 superoxide, hydroxyl radical, 과산화수소와 같은 활성산소를 생성하여 지질과산화물을 만들며, 결국은 간세포의 손상 및 DNA 변성, 발암, 노화, 동맥경화, 염증, 급만성, 알코올독성을 일으킨다[5,6,7]. 알코올을 장기간 섭취하면 간의 SOD, catalase 및 GPx 등 항산화 효소 활성도가 감소되고 글루타치온이나 비타민 C 및 비타민 E 등 항산화물질이 감소되는데 항산화력이 감소된 세포는 유리기에 의한 산화적 자극에 쉽게 손상될 수 있다[8].

우리나라의 전통주인 막걸리는 최근 웰빙 열풍이 시작되면서 소비자들에게 각광을 받고 있다[9]. 막걸리는 쌀과 누룩을 원료로 담금 하여 만든 술로 누룩 미생물 중 곰팡이의 amylase에 의한 쌀 전분의 당화 공정과 발효성 당의 알코올 발효 기능을 가진 효모에 의한 에탄올 전환과정 등 두 가지 공정을 여러 미생물의 제 효소 반응의 조화에 의해 병행 복발효시켜 만든 순수한 양조주이다[10]. 막걸리의 알코올 농도는 발효 조건에 따라 달라지며 막걸리의 제법은 원료의 증자 냉각 입국제조 주모와 1차 및 2차 담금 그리고 제성 단계에 의해 제도되고[11], 알코올 농도는 12~15%이며, 이를 거를 때 물을 첨가하여 6~8%의 알코올 농도를 유지하고 있다. 막걸리는 곡류와 누룩을 이용하여 양조한 후 증류하지 않고 발효된 술이며 일반 주류와는 달리 상당량의 단백질 당질 비타민 B군을 함유하고 있고 누룩의 protease에 의한 분해산물인 valine, leucine, serine, proline,

*Correspondence to: Bae Jin Ha, Department of Pharmaceutical Engineering, College of Medical Life Science, Silla University, SAN 1-1, Gwaebub-Dong, Sasang-Gu, Busan 614-735, Korea
E-mail: bjha@silla.ac.kr

glycine 등의 아미노산들도 많이 함유하고 있다. 이 뿐만 아니라 생 효모가 함유되어 있어 다른 주류와 차별화된 영양학적 특징을 가지고 있다[12]. 막걸리는 알코올 도수가 상대적으로 낮아 간뿐만 아니라 위에도 부담을 주지 않아 막걸리 열풍에 따라 소비가 급증하는 추세이다.

현재까지 막걸리의 건강기능성과 관련한 연구는 막걸리 속 유산균 동정[13] 누룩 추출물의 항염증작용의 가능성을 제시한 연구[14] 및 막걸리 농축물의 항암효과에 관한 연구[15] 등이 있다. 산화적 스트레스는 노화의 일반적인 과정뿐 아니라 여러 질병을 야기하는 1차적인 요인으로 활성 산소종과 염증성 cytokine 생성과 관련이 있다고 알려져 왔으며 lipopolysaccharide (LPS)와 같은 내독소 자극을 포함한 다양한 질병의 병리학적 측면에서 매개체로써 중요한 역할을 한다. 내독소 자극은 대식세포와 반응하여 내독소를 제거하는데 기여 하나 대식세포가 과도하게 자극되면 염증성 cytokine인 tumor necrosis factor-α (TNF-α)와 같은 내독소의 매개체와 단백분해효소 및 활성산소종 생성을 통해 염증반응과 산화적 스트레스를 증가시키게 된다.

본 연구에서는 우리나라 전통 막걸리인 기능성 산성막걸리 개발을 목적으로 산성막걸리의 추출물의 발효 중 pH와 DO를 측정하여 발효 상황을 확인하고 LPS로 간 염증이 유도되어진 흰쥐에서 산성막걸리의 항산화 효소의 활성에 미치는 영향을 관찰하였다.

재료 및 방법

산성막걸리 제조

산성막걸리의 재료는 부산산성양조(부산)에서 재료를 공급받았으며 쌀을 세미하여 물의 온도 20°C내에서 10시간동안 침미하여 수절 한 후 증자하여 증미 하여 사용하였다. 입국의 제조는 증미에 종국을 더해 교반 하여 자동 제국기에서 출국하여 사용하였다. 주모는 *Aspergillus kawachii*와 입국, 종효모를 사용하였다. 산성막걸리의 제조방법은 5 L 발효기에서 1차 담금에서 물, 입국, 주모를 넣어 72시간동안 28°C에서 호기성으로 교반 하였으며 2차 담금에서 증미와 곡자를 넣어 33°C 이하에서 48시간 동안 발효하였다. 숙성단계에서는 상온에서 96시간 숙성하였다. 막걸 리가 발효 되는 동안 DO와 pH를 2시간 간격으로 측정하였으며 막걸리 원액을 60°C에서 농축기로 알코올을 모두 날려 보낸 후 알코올을 제거한 산성막걸리를 시료로 사용하였다.

실험동물 및 식이

Table 1과 같이 실험동물은 체중 170~180 g 내외의 생후 7주 암컷 흰쥐(Sprague-Dawley)를 효창 사이언스(대구)로부터 제공받았고 7일 동안 적응시켰다. 실험 흰쥐는 난괴 법에 따라 총 28마리를 7마리씩 4군으로 나누었고 군별로 cage에 분리시켜 고형사료와 물을 자유롭게 섭취하도록 하였으며, 22 ± 1°C의 온도와 60 ± 5% 상대습도로 유지시켰다. 정상군(NOR: normal group)은 20일 동안 물을 1.5 mL/kg의 용량으로 구강투여하고 대조군(CON: LPS-treated group)은 20일 동안 물을 1.5 mL/kg의 용량으로 구강투여한 뒤 21일째 되는 날 해부 4시간 전에 LPS를 5 mg/kg의 농도로 만들어 1.5 mL/kg의 용량으로 복강투여 하여 간 염증을 유발 시킨 뒤 해부하였다. 실험군(SM + LPS-treated group)은 산성막걸리 추출물을 매일 100 mg/kg의 용량을 물 1.5 mL/kg의 용량으로 희석하여 구강투여 한 뒤 21일째 되는 날 대조군과 같이 LPS를 처리하였다. 실험군(SM-treated group)은 산성막걸리 추출물을 20일 동안 매일 100 mg/kg의 용량을 물 1.5 mL/kg의 용량으로 희석하여 구강투여한 뒤 21일째 되는 날 에테르로 마취한 후 해부하여 혈액을 채취하고 간을 적출하여 실험하였다.

Table 1. Experimental design of rats

Experimental group	day 1~20	day 21
	Dose of sample	Dose of sample
NOR (7)	1 mL/kg of 0.9% saline, i.p.	1 mL/kg of 0.9% saline, i.p.
SM(7)	1 mL/kg of SM (100 mg/kg), i.p.	
CON (7)	1 mL/kg of 0.9% saline, i.p	1 mL/kg of LPS (5 mg/kg), i.p.
SM+LPS(7)	1 mL/kg of SM (100 mg/kg), i.p.	

NOR : normal group
SM : Sansung Makgeolry extract-treated group
CON : LPS-treated group
SM + LPS : SM + LPS-treated group
LPS : lipopolysaccharide
(7) : number of rats
i.p. : intraperitoneally

혈액 채취 및 간 적출

시료투여기간 종료 후 실험동물을 에테르 마취 후 심장에서 채혈하여 실온에서 30분간 방치한 후 3,000rpm, 4°C에서 10분간 원심 분리하여 혈청을 분리하고 실험에 사용할 용량을 각각 분주하여 −70°C 냉동고에 보관하여 실험하였다. 간은 4엽을 전부 적출하여 0.9% 생리식염수로 세척 여지로 흡착한 후 −70°C 냉동고에 보관하여 실험에 사용하였다. 간 무게의 5배에 해당하는 PBS (Phosphate Buffer Solution 0.05M pH 7.4 mannitol, in dissolved 0.1N HCl)을 넣고 간을 균질기로 균질화하여 간 균질액으로 사용하였다.

간 조직의 단백질 정량

단백질의 정량은 Lowry[16] 등의 방법에 의해서 750 nm에서 흡광도(Microtiter plate reader, Molecular Devices Co., Sunnyvale, CA., USA)를 측정하고 표준 단백 시료는 bovine serum albumin (BSA)을 사용하여 정량하였다.

간 조직 내 mitochondria 분획의 superoxide dismutase (SOD) 효소활성 측정

Beauchamp와 Fridovich[17]의 방법에 따라 0.2 M K-phosphate buffer, pH 7.4 (potassium phosphate buffer containing 200 mM KCl, 10 mM EDTA)를 672 μL, 1 mM xanthine 100 μL, 1% sodium deoxychlorate 30 μL, 1.5 mM KCN 30 μL, 0.2 mM cytochrome C 150 μL를 넣은 혼합에 sample 8 μL를 넣고, xanthine oxidase원액을 10 μL를 넣어 mixing한 후 550 nm에서의 흡광도(Microtiter plate reader, Molecular Devices Co., Sunnyvale, CA., USA) 변화를 2분간 측정하였다. 효소의 활성도는 표준액으로 superoxide dismutase standard (Sigma Co., USA)를 사용하여 측정하였다.

간 조직 중 catalase (CAT)의 활성 측정

Aebi의 방법[18]을 이용하여 phosphate buffer (Phosphate Buffer Solution 0.05M pH 7.4 mannitol, in dissolved 0.1N HCl) 1.9 mL에 sample (homogenate와 mitochondrial fraction을 800 × g 에서 20분간 원심분리한 상등액 100 μL를 buffer로 10, 20, 40, 80배 희석) 0.1 mL와 과산화수소 용액 1 mL를 혼합하여 240 nm에서 90초 동안 흡광도 감소를 측정 (Microtiter plate reader, Molecular Devices Co., Sunnyvale, CA., USA)하였다.

간 조직 중 glutathione peroxidase (GPx)의 활성 측정

Lawrence등[19]의 방법에 준하여 0.1 M PBS (K-Phosphate Buffer Solution, pH 7.0) 400 μl, 0.01 M NaN_3 70 μL, 0.01 M GSH 70 μL, 1.5 mM NADPH 70 μL, H_2O 360 μL, GSSG-reductase (1.8 U/mL) 20 μL, sample 10 μL를 혼합하여 상온에서 1분간 방치한 후 5 mM H_2O_2 100 μL를 가해 잘 섞은 후 340 nm에서 90초 동안 흡광도 감소 측정(Microtiter plate reader, Molecular Devices Co., Sunnyvale, CA., USA) 하였다.

광학현미경 관찰

흰쥐의 간 조직을 적출하여 10%의 포르말린을 사용하여 24시간 동안 고정시킨 다음 에탄올 농도 순으로 탈수하여 paraffin으로 포매 하였다. 포매 된 조직은 microtome을 사용하여 5 μm 두께로 절편 하였다. 절편한 조직을 slide glass 위에 부착시킨 다음 이를 xylene으로 paraffin을 제거한 다음 100%, 90%, 80% 에탄올과 같이 농도가 낮아지는 순으로 5분씩 담구어 함수과정을 거치게 하였다.

Hematoxylin과 eosin으로 이중염색을 한 다음 탈수를 하였다. Canada balsam으로 봉합한 후 카메라 부착 광학현미경 (Nikon E4500, Japan)으로 관찰한 후 사진을 촬영하였다.

통계적 분석

실험결과의 통계적 분석은 one-way ANOVA로 검정하였고 유의성은 $p < 0.05$ 로 하였다. 통계적 계산은 SPSS (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) 통계프로그램을 이용하였다.

결과 및 고찰

막걸리의 제조과정 중 pH와 DO의 변화

산도 pH와 용존산소 DO(dissolved oxygen)의 변화는 발효 진행상황을 파악하는데 중요한 요인이다. 일반적으로 효모의 알코올 발효는 술덧(mash)가 산성 또는 미산성인 경우에 알코올 생성 능력이 좋은 것으로 알려져 있다. 그러나 술덧(mash)의 액성이 염기성으로 갈수록 알코올 함량의 생성은 감소하는 대신 초산과 글리세롤의 생성이 일어나게 되고 또한 잡균의 오염이 생긴다[20]. 따라서 알코올 발효만을 유지하기 위해서는 술덧(mash)의 액성 조절이 중요하다. 본 연구에서는 Fig. 1 과 같이 산성막걸리의 1차 담금 시 pH는 3.20에서 시작하여 발효가 진행됨에 따라 4.22로 증가하였다. 보통 1차 담금 후 2시간이 경과하였을 때 pH는 3.2정도가 되면 정상발효를 하는 것으로 알려져 있다[21]. 72시간 후 2차 담금 시에는 pH가 3.88에서 3.67사이로 확인하였다. 일반 막걸리의 발효 pH는 4.0~4.6범위인데 본 연구에서는 다소 낮은 pH를 나타내었다. 또 숙성단계에서는 3.72에서 4.11로 증가하여 산성의 pH를 유지하는 것을 확인하였다. DO의 경우 1차 담금 시 발효 시작단계인 10에서 시작하여 알코올 발효로 되어 0.8정도로 감소하다가 2차 담금과 숙성 시에는 4.0을 유지로 인하여 보존성을 높이고 풍미를 높혔다.

간조직에서의 항산화 효소계 활성

SOD는 superoxide anion을 과산화물와 산소로 전환시키고 과산화물은 다시 GPx와 CAT에 의해 H_2O로 전환됨으로써 SOD, CAT 및 GPx는 활성산소의 독으로부터 생체를 보호하는데 매우 중요한 역할을 하는 효소로 알려져 있다[22].

또한 대사과정 중 발생하는 활성산소종의 유리기를 제거할 뿐만 아니라 이들 활성 산소종에 의해 비가역적으로 불활성화 될 수도 있으며 지방산화에 의해 생성된 유리기도 제거 하는 것으로 알려져 있다[23].

Watson 등[24]은 LPS 주사 후 간에서의 SOD 활성 등은 유의적으로 감소하였다고 보고하였다. 본 연구에서는 LPS 투

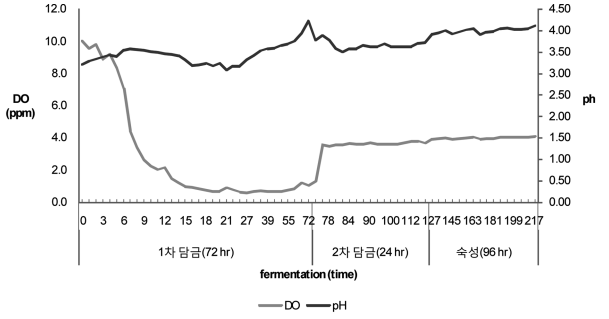

Fig. 1. Changes of pH and DO (dissolved oxygen) in the progress of fermentation.

Table 2. Effects of Sansung Makgeolry on SOD, CAT and GPx levels in liver

Experimental group	SOD	CAT	GPx
NOR(7)	34.47 ± 1.73***	242.45 ± 14.61***	148.04 ± 4.22***
CON(7)	20.95 ± 1.01	179.54 ± 18.94	37.13 ± 3.89
SM + LPS(7)	24.10 ± 0.82**	204.87 ± 3.25***	50.34 ± 2.38***
SM(7)	44.27 ± 1.72***	252.15 ± 11.92***	143.84 ± 4.35***

NOR : normal group
SM : Sansung Makgeolry extract-treated group
CON : LPS-treated group
SM + LPS : Sansung Makgeolry + LPS-treated group
SOD : superoxide dismutase CAT : catalase GPx : glutathione peroxidase
Results are presented as the mean ± S.D.(n = 7).
***and**: significantly different from CON at $p < 0.001$and $p < 0.01$, respectively.

여에 의해 항산화 효소계인 SOD와 CAT, GPx의 활성이 저하됨을 확인하였다. 이는 LPS의 내독소로 유도되는 산화로 생긴 과산화수소를 분해하기 위하여 항산화 효소계가 사용된 것으로 생각된다.

LPS는 질소를 생산하는 내독소로 LPS 투여로 유발된 산화적 스트레스에서 생성된 자유 라디칼인 질소는 superoxide와 반응하여 peroxynitrite를 형성하고 이는 강력한 산화제로 작용하여 세포에 손상을 입히는 것으로 알려져 있다[25]. Table 2와 같이 SOD 활성도는 LPS를 투여한 대조군이 정상군에 비하여 1.64배 감소하였으며 SM + LPS군의 SOD 활성도는 대조군에 비해 23.29% 증가하여 간 염증이 억제되었음을 확인하였다. LPS로 간 염증을 유발하지 않은 SM군에서는 정상군보다 1.28배 SOD 활성이 증가하였다. CAT 활성도에서는 대조군이 정상군에 비해 1.35배 CAT의 활성도를 낮춘 것으로 나타났다. SM + LPS군의 CAT 활성도는 대조군에 비하여 40.26% 증가함을 확인하였다. SM군은 정상군에 비해 1.03배 CAT의 활성이 증가하였다. GPx활성도는 대조군이 정상군에 비하여 3.78배 감소하였으며 SM + LPS군의 GPx활성도는 대조군에 비하여 11.91% 증가함을 확인하였다. SM군은 GPx활성이 정상군에 비해 0.97배 증가하였다. 따라서 본 연구에서는 항산화 효소의 활성이 LPS 투여로 감소되었으나 SM을 투여한 경우에는 항산화 효소의 활성이 증가하였음을 관찰할 수 있었다.

이에 산성막걸리 추출물이 항산화 효소를 많이 생산하는 항산화 물질임을 확인하였다.

병리조직학적 검사

적출한 간조직의 광학현미경에 의한 관찰 결과는 Fig. 2에 나타내었다. 정상군(A)은 간소엽의 구조가 잘 유지되었으며, 간세포들은 풍부한 호산성 세포질과 둥근 핵을 가지고 잘 배열되어 있었다. LPS만을 투여한 군(C)의 경우 간

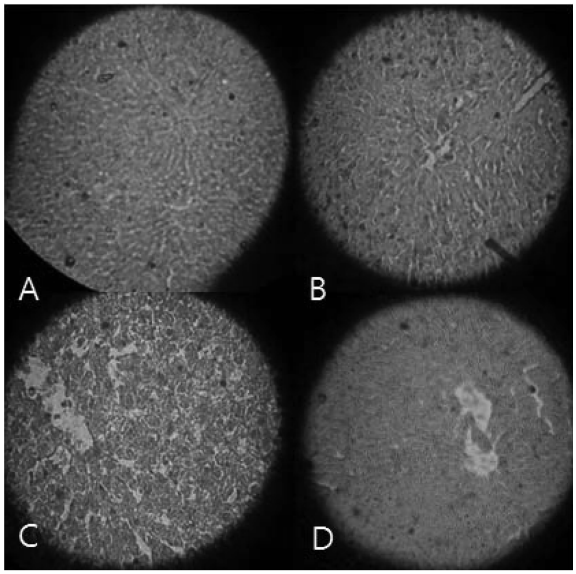

Fig. 2. Histopathological examination of liver tissue (H&E, × 400). A : normal group, B : Sansung Makgeolry extract-treated group, C : LPS-treated group, D : Sansung Makgerly + LPS-treated group.

세포의 괴사 및 염증세포 침윤, 퇴화된 세포가 나타나 LPS에 의한 손상이 관찰되었고 산성막걸리 추출물을 먹인 후 LPS로 급성 간 손상을 유도한 SM + LPS군(D)는 간소엽을 구성하고 있는 간세포에 염증과 괴사가 나타났지만 LPS군에 비하여 그 정도가 적은 것으로 나타났다. 산성막걸리 추출물을 먹인 흰쥐의 간세포에서는 손상이 적게 나타남으로써 LPS에 의한 간세포 손상이 보호된 것으로 생각된다.

산성막걸리만을 먹인 SM군(B)은 비교적 간소엽의 구조가 잘 유지되었다. 이러한 간조직의 형태학적 관찰을 통하여 산성막걸리 추출물은 간손상을 억제시키는데 효과가 있었으며 이들의 억제 효과는 산성막걸리 추출물의 우수한 항산화 효소 활성능에 기인하는 것으로 사료되었다.

요 약

pH와 DO(dissolved oxygen)의 변화는 발효 진행상황을 파악하는데 중요한 요인이다. 일반적으로 효모의 알코올 발효는 술덧(mash)이 산성 또는 미산성인 경우에 알코올 생성능력이 좋은 것으로 알려져 있다. 산성막걸리의 1차 담금 시 pH는 3.20에서 시작하여 발효가 진행됨에 따라 4.22로 증가하였다. 보통 1차 담금 후 2시간이 경과하였을 때 pH는 3.2정도가 되면 정상발효를 하는 것으로 알려져 있다. 72시간 후 2차 담금 시에는 pH가 3.88에서 3.67사이로 확인하였다. 일반 막걸리의 발효 pH는 4.0~4.6범위인데 본 연구에서는 다소 낮은 pH를 나타내었다. 또 숙성단계에서는 3.72에서 4.11로 증가하여 산성의 pH를 유지하는 것을 확인하였다. DO의 경우 1차 담금 시 10에서 시작하여 0.8정도로 감소하다가 2차 담금과 숙성 시에는 4.0을 유지하였다. SOD

는 superoxide anion을 H_2O_2와 O_2로 전환시키고 H_2O_2는 다시 GPx와 catalase(CAT)에 의해 H_2O로 전환됨으로써 SOD, CAT 및 GPx는 활성산소의 독성으로부터 생체를 보호하는데 매우 중요한 역할을 하는 효소이다. SOD 활성도는 LPS를 투여한 대조군이 정상군에 비하여 1.64배 감소하였으며 SM + LPS군의 SOD 활성도는 대조군에 비해 23.29% 증가하여 간 염증이 억제되었음을 확인하였다. LPS로 간 염증을 유발하지 않은 SM군에서는 정상군보다 1.28배 SOD 활성이 증가하였다. CAT 활성도에서는 대조군이 정상군에 비해 1.35배 CAT의 활성도를 낮춘 것으로 나타났다. SM + LPS군의 CAT 활성도는 대조군에 비하여 40.26% 증가함을 확인하였다. SM군은 정상군에 비해 1.03배 CAT의 활성이 증가하였다. GPx활성도는 대조군이 정상군에 비하여 3.78배 감소하였으며 SM + LPS군의 GPx활성도는 대조군에 비하여 11.91% 증가함을 확인하였다. SM군은 GPx활성이 정상군에 비해 0.97배 증가하였다.

따라서 본 연구에서는 항산화 효소의 활성이 LPS 투여로 감소되었으나 SM을 투여한 경우에는 증가하였음을 관찰할 수 있었다. 항산화 효소의 활성의 증가는 간 손상에 관한 간조직의 병리조직학적 관찰을 통하여 입증되었다. 그러므로 산성막걸리 추출물이 항산화 작용에서 효과가 있는 물질로 판단된다.

참고문헌

1. Willner, I.R. and Reuben, A.: Alcohol and the liver. *Curr Opin Gastroenterol.* **21**, 323-330 (2005).
2. Ko, B. S., Jang, J. S., Hong, S. M., Kim, D. W., Sung, S. R., Park, H. R., Lee, J. E., Jeon, W. K. and Park, S.: Effect of new remedies mainly comprised of *Hovenia dulcis* Thunb on alcohol degredation and liver protection in Sprague Dawley male rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr* **35**, 824-834 (2006).
3. Shin, J. H., Lee, S. J., Choi, D. J., Kang, M. J. and Sung, N. J.:Antioxidant and alcohol dehydrogenase activity of water extracts from abalone containing medicinal plants. *Korean J Food Cookery Sci.* **24,** 182-187 (2008).
4. Das, S. K. and Vasudevan, D. M.: Alcohol-induced oxidative stress. *Life Sci.* **81**, 177-187 (2007).
5. Pembeton, P. W., Smith, A. and Wames, T. W. : Non-activasive monitoring of oxidant stress in alcoholic liver disease. *Scand J Gastroenterol.* **40**, 1102-1108 (2005).
6. Albano, E.:Free-radicals and alcohol-induced liver injury. In *Ethanol and liver*. (Sherman, CDIN., Preedy, V. R. and Walsin, P. R. eds.) Taylor and Francis, London, UK. pp. 153-190 (2002).
7. Ahn, Y. T., Bae, J. S., Kim, Y. H., Lim, K. S. and Huh, C. S.: Effects of fermented milk intake on hepatic antioxidative systems in alcohol treated rats. *Korean J Food Sci Technol.* **37**, 631-635 (2005).
8. Nordmann, R. : Alcohol and antioxidant systems. *Alcohol Alcoholism.* **29**, 513-522 (1994).
9. Kim, A. R., Lee, S. Y., Kim, K. B. W. R., Song, E. J., Kim, J. H., Kim, M. J., Ji, K. W., Ahn, I. S. and Ahn, D. H. : Effect of Glycyrrhiza uralensis on shelf-life and quality of Takju. *Korean J. Food Sci. Technol.* **40**, 194-200 (2008).
10. 송형익, 신중엽, 허윤행: 현대 발효 공학. 지구문화사. pp. 13, 1-10 (2009).
11. Chung, D. H. : The history of alcohol tradtion in korea. Shinkwang Publishing Co., Seoul, Korea. pp. 271~298 (2004).
12. Jeong, J. W., Park, K. J. Kim, M. H. and Kim, D. S. : Changes in quality of spray-dried and freeze-dried Takju powder during storage. *Korean J. Food Sci. Technol.* **38**, 513-520 (2006).
13. Jin, J. S. Kim, Y., Q. Jin., Eom, H. J. and Han, N. S. : Diversity analysis of lactic acid bacteria in Takju, Korean rice wine. *J. Microbial. Biotechnol.* **18**, 1678-1682 (2008).
14. Kim, J. E., Jung, S. K., Lee, S. J., Lee, K. W., Kim, G. W. and Lee, H. J. : Nuruk extract inhibits lipopolysaccharideinduced production of nitrite and interleukin-6 in RAW 264.7 cells through blocking activation of p38 mitogen-activated protein kinase. *J. Microbial. Biotechnol.* **18**, 1423-1426 (2008).
15. Shin, M. O., Kang, D. Y., Kim, M. H. and Bae, S. J. : Effect of growth inhibition and quinone reductase activity stimulation of Makgeoly fractions in various cancer cells. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **37**, 288-293 (2008).
16. Lowry, O. H. Rosenbrough, N. J. Farr, A. S. and Randall, R. J. : Protein Measurenment with Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem*. **193**, 256 (1951).
17. Beauchamp, C. and Fridovich, I. : superoxide dismutase ; Improved assays and an assay applicable to acryla mide gels, *Anal Biochem*, **44**, 276-278 (1971).
18. Aebi, H. : Catalase in vitro. *Methods in enzymology.* **105**, 121-126 (1984).
19. Lawrence, R. A. and Burke, R. F. : Glutathione peroxidase activity in selenium -deficient rat liver. *Biochem. Biophys. Res Commun*, **71**, 952-958 (1976).
20. 류근태, 박미연, 배정설, 조남철.: 식품미생물학. 삼광출판사, 서울. pp. 241 (2002).
21. Lee, S. A. and Park, H. D. : Effect of ground rice particle size on the brewing of uncooked rice Takju. *Korean J Post- Harvest Sci Technol Agri Products.* **2,** 269-276 (1995).
22. Fardet, A., Llorach, R., Martin, J. F., Besson, C., Lyan, B., Pujos-Guillot, E. and Scalbert, A. : A liquid chromatography-quadrupole time-of-flight(LC-QTOF)-based metabolomic approach reveals new metabolic effects of catechin in rats fed. *J. ProteomeRes.* 2388-239 (2008).
23. Saiki, R., Okazaki, M., Iwai, S. Kumai, T., Kobayashi S. and Oguchi, K. : Effects of pioglitazone on increases in visceral fat accumulation and oxidative stress in spontaneously hypertensive hyperlipidemic rats fed a high-fat diet and sucrose solution. *J. Pharmacol. Sci.* 57-167 (2007).
24. Watson, A. M., Warren, G., Howard, G., Shedlofsky, S. I. and Blouin, R. A. : Activities of conjugating and antioxidant enzymes following endotoxin exposure. *J Biochem Mol Toxicol.* **13**, 63-69 (1999).
25. Kang, Y. H., Park, Y. K., Ha, T. Y. and Moon, K. D. : Effects of pine needle extracts on enzyme activities of serum and liver and liver morphology in rats fed high diet. *J Korean Soc Food Sci Nutr.* **25**, 374-378 (1996).