

감과 가공식품의 알콜대사촉진물질

김석기 · 이영철* · 서광기** · 최혜선†

울산대학교 생명과학부

*한국식품개발연구원

**단감시험장

Acetaldehyde Dehydrogenase Activator from Persimmon and Its Processed Foods

Suk-Gi Kim, Young-Chul Lee*, Kwang-Gi Suh** and Hye-Seon Choi†

Dept. of Biological Sciences and Immunomodulation Research Center, University of Ulsan, Ulsan 680-749, Korea

*Korea Food Research Institute, Songnam 463-746, Korea

**Sweet Persimmon Research Center, Jinyoung 616-113, Korea

Abstract

Persimmon has been consumed for long times in Korea and used as a drug for a long time in Korea. It was known to help alcohol intoxication. Ingested alcohol is metabolized by alcohol dehydrogenase and acetaldehyde dehydrogenase in liver. Alcohol dehydrogenase activator and acetaldehyde dehydrogenase activator (ALDHA) was detected in persimmon. The concentration of ALDHA was determined and compared in different harvesting time, species, and available processed foods. The level of ALDHA was highest in persimmon (Fuyu) harvested in November. Lower ALDHA activities were found in its processed foods. Persimmon and its processed foods are expected to be effective in decreasing the concentration of alcohol and acetaldehyde after alcohol intake.

Key words: persimmon, alcohol, alcohol dehydrogenase, acetaldehyde dehydrogenase

서 론

우리나라에서는 감을 과일뿐만 아니라 민간약으로 옛날부터 사용해 왔다. 종기, 염증질환, 부스럼, 화상을 치료하고 고혈압을 예방하고 동맥경화에 효과가 있을 뿐만 아니라 숙취 해소에 효능이 있다고 알려져 있다. 감은 과일 중에 오랜 역사를 가지고 있지만 가공이용면에서는 뒤떨어졌고 생리적 효용성에 대해서는 거의 연구가 이루어지지 않았다. 단감의 생리적 유효성분이 구체적으로 어떠한 약리적 기능을 발휘하는가를 밝혀냄으로써 감의 소비 확대의 전기를 마련할 수 있고 감을 일반기호식품에서 건강식품으로, 또 가능하다면 의약품의 원료 물질로 이용하여 부가가치를 높일 수 있다.

현재 단감은 1975년 총 과실 생산량의 1%에서 1985년 경제 성장과 함께 급격히 증가하여 1995년 생산량은 약 26배의 증가를 보이고 있다. 단감이 경제 과일로서 각광을 받으며 재배면적 및 생산량이 증가되었는데 87년을 기준으로 95년 전국 재배 면적은 220% 증가하였고 생산량도 237% 증가하였다. 재배 후 성숙이 되는 10~15년 후 물량이 한꺼번에 출하

되어 생과일의 소비량이 제한되어 있는 것을 고려시 가격의 폭락이 예상되어진다. 단감 품종별 재배 면적 비율은 부유가 82%로 품종이 집중되어 같은 시간에 홍수출하로 인한 가격 하락의 원인이 되고 있으므로 적당한 가공품의 개발은 가격의 폭락을 막아줄 수 있다. 따라서 단감의 이용도를 높이기 위해서는 단감의 유용 물질의 탐색 및 추출, 가공에 의한 부가가치 증대방안이 절실히 요구되고 있다.

현대생활에서 알콜은 많은 사회적 의미를 지니고 있지만 과도한 섭취는 두통과 숙취현상을 동반하고 있다(1-4). 이런 현상은 알콜 대사물질인 acetaldehyde, acetate, ketone body의 효과라고 볼 수 있다(5). 숙취제거를 도와줄 수 있는 가능성 있는 물질에 대한 연구가 생약초, 아미노산, 식품원료 등에서 다양하게 이루어져 왔다(6-13).

본 연구에서는 단감에서 숙취 해소에 관여할 수 있는 알콜 대사 촉진물질을 검출하여 그중 알콜 섭취후 불쾌감 및 두통에 영향을 주는 acetaldehyde를 빨리 제거해 줄 수 있는 acetaldehyde dehydrogenase 촉진물질(ALDHA)을 감의 제철별, 품종별, 감가공 식품에서 농도를 측정하였다.

†Corresponding author. E-mail: hschoi@mail.ulsan.ac.kr
Phone: 82-52-259-2357. Fax: 82-52-259-1694

재료 및 방법

시약 및 재료

본 실험에 사용한 단감, 구연산, 당, 감식초, 꽃감, 양대, 한천은 시중의 슈퍼마켓에서 구입하여 사용하였다. 소의 간은 울산 도축장에서 구입하였으며 ethyl acetate, methanol은 HPLC grade로, glycine, NAD, acetaldehyde, glycine, yeast alcohol dehydrogenase는 Sigma-Aldrich(St. Louis, MI)에서 구입하였다.

Alcohol 대사 촉진물질(aldehyde dehydrogenase activator)의 분획

단감의 해당부위(감과육, 감껍질, 감씨, 감속, 감잎)를 잘게 잘라 최소한의 증류수를 넣고 ice-chilled bead beater(Bio-Spec) (Bertville, OKLA, USA)를 이용하여 5분간 pulse를 주고 균질화시켰다. 유기용매에 녹는 분획을 추출하기 위해서는 위에서 얻어진 상등액을 ethylacetate와 섞은 후 partition flask에 방치하여 ethylacetate에 용해도가 있는 분획을 evaporator로 농축시켜 methanol에 녹이고 HPLC에서 C_{18} column을 이용한 reversed phase에서 물로 씻어주고 100% methanol로 용출하여 정제하였다.

소의 간에서 alcohol dehydrogenase(ADH)와 acetaldehyde dehydrogenase(ALDH)의 정제

시판되는 효소는 yeast에서 얻어진 효소이므로 포유동물에서 ADH, ALDH를 얻기 위해 소의 간을 사용하여 정제하였다. 소의 간은 울산 도축장에서 준비하고 피, 응고혈액 등을 제거하기 위해 흐르는 물에서 장시간 씻어준 후 1 kg 단위로 -20°C 에 보관하였다. 300 g의 조직에 10 mM Tris-HCl (pH 7.5)를 500 mL 넣고 homogenizer로 2분간 파쇄한 후 cytosol을 얻기 위해 $10,000\times g$ 에서 40분간 원심분리시켰다. 상등액에 40~70% ammonium sulfate fractionation을 시킨 후 얻어진 침전물을 여러 차례 10 mM Tris-HCl(pH 7.5)를 갈아주면서 10 mM Tris-HCl(pH 7.5)에 대해 투석하였다. 투석후 얻어진 물질을 $10,000\times g$, 10분간 원심분리시켜 얻은 상등액을 DEAE-Sephadex A-50에 실어준다. ADH, ALDH는 0.2~0.5 M KCl, 0.5M KCl 농도에서 각각 용출시켜 YM10을 이용하여 농축시킨 후 분획을 -20°C 에 보관하였다.

ADH와 ALDH assay

ADH의 활성은 Kim 등의 방법 (14)을 사용했고 ALDH의 활성 측정은 Blackwell 등의 방법(15)의 방법을 변형하여 사용하였다. ALDH assay 혼합물에는 50 mM glycine, pH 9.5, 1 mM NAD, 1 μg yeast alcohol dehydrogenase나 소간의 ADH, 20 mM ethanol을 포함한다. ALDH assay혼합물에는 50 mM Tris-HCl(pH 8.0), 200 mM KCl, 6 mM 2-mercaptoethanol, 10 mM acetaldehyde, 200 μM NAD과 acetaldehyde dehydrogenase, 적당량의 감추출액을 넣어 ALDH의 활성을

측정하였다. ADH, ALDH 활성은 기질의존적인 NAD의 환원을 340 nm에서 측정하였다.

단감을 이용한 가공식품의 개발

감을 이용한 드링크 제품 개발: 단감 음료로 사용할 base를 만들기 위해 단감을 초파로 파쇄(die 직경 0.4 cm)하여 단감 증량에 3배의 물을 넣은 후 3시간 가열하여 추출하였다. 카트리형 필터를 사용하여 1차 여과하고 첨가된 당농도는 12.5%였고, 산으로 사용한 구연산은 0.15%, 드링크 맛을 개선하기 위해서는 만다린 농축액 0.5%를 사용하였고 제품의 pH는 3.7이었다. 부재료를 용해 및 혼합 후 2차 여과하고 용기에 담아 80°C 에서 30분간 살균, 냉각하여 보관하였다.

감건조 제품 개발: 단감을 잘라 당에 침지시킨 후 동결 건조하였고 Kim등의 방법(14)의 방법을 따랐다.

휴대용(반유동성) 젤형 제품 개발: 단감을 세척하고 이물질을 제거한후 껍질을 벗기고 chopper로 분쇄하였다. 원재료와 부재료인 감 60%, dextrin 30%, cinnamon cortex extract 10%, gellan gum 0.1%, vitamin C 0.1%, citric acid 0.15%로 섞어 homogenizer로 균질화하고 삼면포장 후 끓는 물에서 10분간 살균하였다.

감 양갱 제조: 단감을 껍질, 씨 등을 제거하고 전단하여 온도 $70\sim 75^{\circ}\text{C}$ 에서 건조한 후 곱게 갈아서 100 mesh 체로 쳐서 분말을 만들었고, 양대 분말은 양대의 껍질을 제거한 후 믹서기로 갈고 100 mesh 체로 쳐서 분말을 만들었다. 한천과 물을 넣고 가열하면서 불에 불린 단감과 양대 분말(백앙금)을 7:3으로 하여 분말을 30%, 설탕 68%, 펙틴 2%, 한천 2%를 일정시간 가열하고 성형한 뒤 상온에서 식혔다.

결과 및 고찰

Alcohol 대사 활성화 분획의 존재

감이 숙취제거에 효과가 있다는 사실에 기인하여 감의 성분 중 alcohol 대사에 관여하는 alcohol dehydrogenase나 acetaldehyde dehydrogenase의 activator가 존재하는지 아니면 생성된 acetaldehyde의 효율적 배출 및 제거에 관여하는 성분이 있는 지를 조사하였다. 단감을 감꼭지, 감과육, 감속, 감껍질, 감씨의 부위별로 나누어 alcohol dehydrogenase(ADH), acetaldehyde dehydrogenase(ALDH)의 활성화 여부를 측정하였다. 감의 부위를 물로 추출하고 이를 건조시킨 후 불에 다시 녹여 준비 후, 효모의 ADH의 경우는 감과육은 2배, 감속은 1.7배, 감껍질은 1.4배의 효소활성 촉진 효과가 있음을 확인하였다(Fig. 1A). 단감에는 소의 간에서 얻어진 ADH에 대한 activator가 존재함을 확인하고 단감을 분획을 나누기 위해 감과육을 hexane으로, 감속을 methylene chloride로 추출하고 여기에 물을 첨가하여 분배시킨 후 물층을 효소에 첨가한 결과 촉진효과는 Fig. 1B에서와 같이 농도에 의존적이고, 조사된 최대의 속도에서 감과육은 7.4배, 감속은 15.4배의 높은 효소 활성 촉진 효과가 있음을 확인하였다. 또 alcohol 대사에

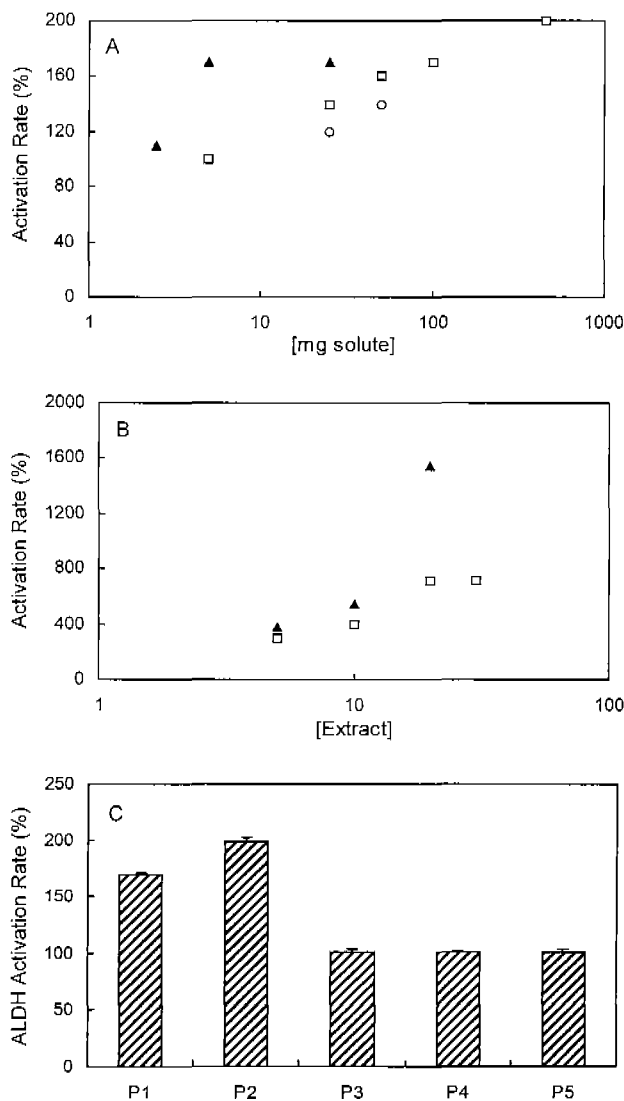


Fig. 1. A. Effect of sweet persimmon extracts on yeast alcohol dehydrogenase (ADH).

Each parts of the persimmon was extracted with water. The 100% of activity was determined with used amount of water and enzyme. Symbols: ▲, persimmon core; □, persimmon pulp; ○, persimmon peel.

B. Effect of sweet persimmon extracts on bovine liver ADH.

The pulp of the sweet persimmon was extracted with hexane, and the core was extracted with methylene chloride. The aqueous part was separated from each solvent part and the aqueous one was used for the assay. The 100 % of activity was determined with used amount of water and enzyme. Symbols: ▲, persimmon core; □, persimmon pulp [mg solute].

C. Effect of sweet persimmon extracts on bovine liver ALDH.

The pulp, peel, stem, seed, and core of sweet persimmon were extracted with ethylacetate. The extracts were dried and dissolved with methanol. They were reacted with enzyme. The 100 % of activity was determined with used amount of methanol and enzyme. P1, persimmon pulp; P2, persimmon core; P3, persimmon peel; P4, persimmon stem; P5, persimmon seed.

서 ADH 다음에 작용하여 생성된 acetaldehyde를 제거하는 ALDH에 대한 효과를 보기 위해 소의 간에서 얻어진 aldehyde dehydrogenase(ALDH)에 대한 활성을 측정했다. 감과육과

감속, 감꼭지, 감껍질, 감씨를 ethylacetate로 추출하고 건조시킨 후 methanol에 녹여 효소에 첨가한 결과 Fig. 1C에서 보이는 바와 같이 감과육은 1.4배, 감속은 2배의 촉진효과가 있었다. 감꼭지, 감껍질, 감씨는 ALDH 활성에 거의 영향을 주지 않았다. 위의 결과는 단감을 숙취제거용으로 이용할 수 있음을 시사하고 있다.

감가공식품에서 acetaldehyde dehydrogenase activator의 존재

술을 마신 후의 후유증과 불편함은 대사되지 못한 acetaldehyde의 영향이 크므로 감에서 ALDH 활성화인자를 초점으로 하여 조사하였다. 현재 시판되고 있는 감의 가공식품인 꽃감과 감식초에서 단감에서 발견된 ALDHA가 존재하는지, 한다면 양의 차이가 있는지를 알아보기 위해 꽃감과 감식초를 단감을 정제하는 것과 같이 ethyl acetate extraction 후에 HPLC를 거쳐 ALDH 활성화 분획을 가른 후 전체의 양을 비교하였다. HPLC분리시 단감의 ALDHA는 retention time 26분에 나타났다(Fig. 2). Silica gel을 거친 후 더 깨끗한 분획이 얻어지나 소실양이 많아 정량하는데는 적합하지 않아 이 단계를 생략했다. Fig. 3에서 꽃감은 ALDHA의 활성이 크게 저하되지 않았다. 단감자체가 수확시기에 따라 활성에 차이가 있고 꽃감의 경우 시장에서 구입을 했기 때문에 수확시기를 알 수 없지만 11월 단감을 기준으로 활성을 계산했다. 또 HPLC분리시 단감의 ALDHA는 retention time 26분에 나타나는데 꽃감의 ALDHA도 같은 분획에서 나타나 같은 물질로 추정되고 있다. 그러나 감식초의 경우 11월 수확한 단감과 비교시 4% 정도만의 활성이 보유했었고 HPLC분리 후에 retention time 16분에 활성이 있는 분획이 나타나 단감의 ALDHA와는 구조나 성분이 다른 물질이 같은 활성을 나타내는 것으로 보인다. 감식초의 경우 발효과정 중에 구성분의

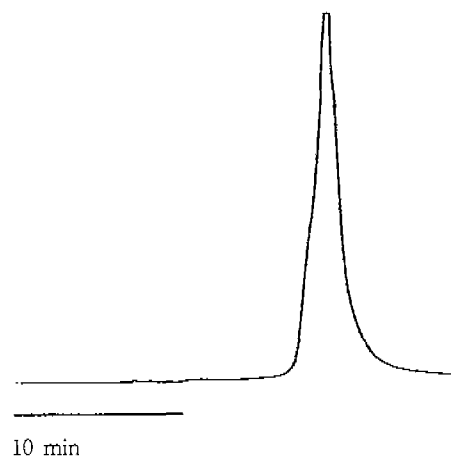


Fig. 2. HPLC profile of ALDH activator from Persimmon pulp. Ethyl acetate-extracted fraction was dissolved in methanol and loaded in C18 column. The ALDHA was eluted after gradient elution of 0~100% methanol for 15 min and following isocratic elution of 100% methanol for 20 min.

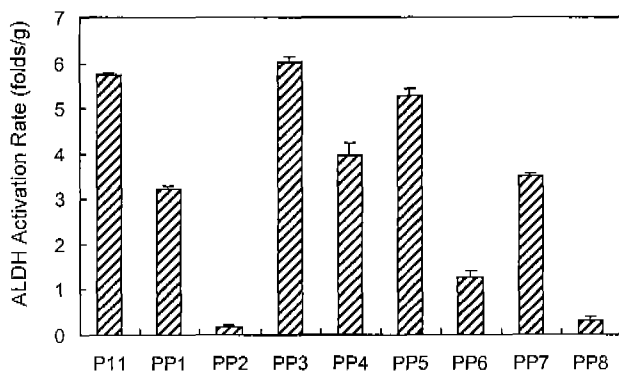


Fig. 3. Level of ALDHA in processed foods of persimmon. P11, persimmon harvested at November; PP1, dried persimmon (Gokgam); PP2, persimmon vinegar; PP3, dried persimmon snack1; PP4, dried persimmon snack2; PP5, dried persimmon snack3; PP6, sweetened persimmon stick using persimmon powder; PP7, sterilized persimmon gel pack; PP8, persimmon drink.

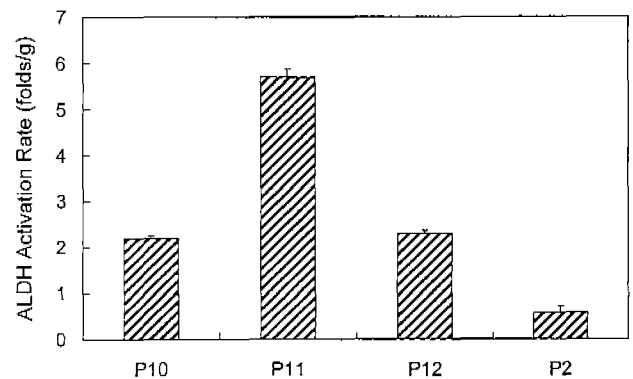


Fig. 4. Level of ALDHA in persimmon harvested in different periods. P10, persimmon harvested at October; P11, persimmon harvested at November; P12, persimmon harvested at December; P2, persimmon harvested at November and stored until February.

변화로 인한 ALDHA의 화학적 전환이 일어난 것으로 추정된다.

본 실험에서 제조한 단감 가공식품인 감전조품, 감음료, 휴대용젤형(감즙), 양갱에 단감에서 발견되는 ALDHA가 존재하는지, 한다면 양의 차이가 있는지를 알아보기 위해 각 가공품을 단감을 정제하는 것과 같이 ethyl acetate extraction을 거쳐 HPLC로 분리 후 ALDH 활성화 분석을 갈라 전체의 양을 비교하였다. 감전조품은 3가지 종류로 당처리하지 않은 것, 설탕처리, 포도당처리로 준비하였는데 10 g의 생과를 동결건조시 2 g으로 무게가 감소하고 설탕이나 포도당처리시 무게가 3.3배 증가하였다. 이것을 고려하여 ALDHA 활성을 측정하여 앞의 계절별 단감의 활성과 비교시 가장 활성이 높은 11월 단감을 기준으로 감전조품의 경우 설탕이나 포도당처리시 활성이 약간 떨어지기는 하나 ALDHA의 활성에 큰 차이가 없었다. 감의 휴대용젤형은 100 g당 감의 함량이 60 g이 들어있는데 ALDHA의 활성은 생과의 67% 활성을 보유하고 있다. 양갱은 감분말이 70%가 함유되어 100 g당 생과일의 양으로 환산시 350 g이 들어갔다. ALDHA의 활성은 가공 중 많이 손실되어 생과의 20%만 보유하고 있었다. 반면 감음료는 100 mL에 감 3.6 g을 포함하는 낮은 농도로 들어가서 ALDHA의 활성이 아주 미미하게 검출되었다. 위의 결과는 감 가공시에도 알코올 대사 촉진물을 보유하고 있고 보유농도는 가공 조건에 따라 달라지는 것으로 생각되어진다. 숙취제거를 위해 생과일뿐만 아니라 감을 이용한 가공식품 중 활성을 잃지 않도록 가공한 감전조품은 술안주용 스낵으로 사용하면 알코올 섭취 후 알코올 농도 감소에 일익을 할 것으로 생각된다.

감의 계절별, 품종별 ALDHA의 농도 변화

수확시기에 따른 단감의 ALDHA에 차이가 있는지, 있다면 양의 차이, 혹은 구성분의 변화가 있는지를 알아보기 위해 수확시기별로 단감을 구입하여 앞에서 언급한 바와 같이 준비하여 비교하였다(Fig. 4). 12월과 2월은 수확시기가 아니고

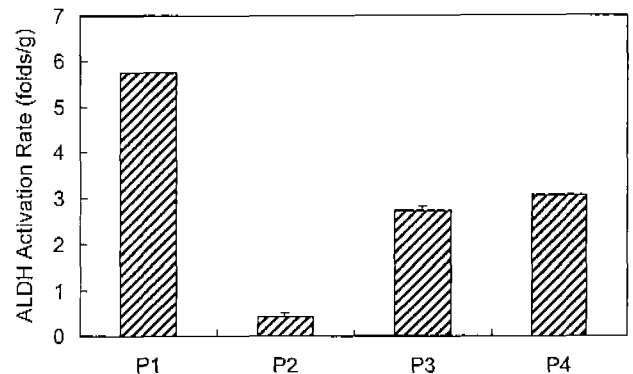


Fig. 5. Level of ALDHA in different species of persimmon. P1, Fuyu; P2, Suhchonchosang; P3, Chungdobansi; P4, Kabjuckbackmook.

11월 말 수확 후 저장창고에서 보관되다가 출하된 시기이고 또 품종에 따른 변화를 보기 위해 9월에 수확된 서촌조생과 11월 수확된 홍시를 구입하여 11월 수확된 단감과 비교하였다(Fig. 5). 홍시는 감주백목과 청도반시를 측정시 11월 수확 단감에 비해 53% 활성이 나타났다. HPLC분리시 단감의 ALDHA는 retention time 26분에 나타나는데 홍시의 경우도 같은 분석에서 나타나 같은 물질로 추정되고 있다.

요 약

감은 중기, 염증질환, 부스럼, 화상을 치료하고 고혈압을 예방하고 동맥경화에 효과가 있고 숙취해소에 효능이 있다고 알려져 있다. 감과육에 알콜 대사에 관여하는 acetaldehyde dehydrogenase(ALDH)의 활성을 촉진하는 물질이 존재하므로 ALDH의 활성을 촉진하는 물질을 감의 계절별, 품종별 측정을 했고 또 감을 이용한 가공식품에서 농도를 측정하였다. ALDH의 활성을 촉진하는 물질은 부유의 경우 11월에 수확한 과일에서 가장 높고 품종별로는 부유가 가장 높았고 감주백목은 부유와 유사하였고 청도반시, 서촌조생의 순이었다.

가공식품은 감전조품, 꽃감, 감즙은 대체로 ALDH의 활성을 촉진하는 물질의 활성이 높게 유지되나 감음료, 감식초와 같은 음료는 ALDH의 활성을 촉진하는 물질의 활성이 낮았다. 감 자체뿐만 아니라 감가공식품에서도 ALDH의 활성을 촉진하는 물질의 활성이 어느 정도 유지되므로 이를 이용한 숙취 해소작용이 기대된다.

감사의 글

본 연구의 수행은 1998~2000년 농림부 연구비에 의해 수행되었다.

문헌

1. Tsukamoto, S., Muto, T., Nagoya, T., Shimamura, M., Saito, M. and Tainaka, H. : Determination of ethanol, acetaldehyde and acetate in blood and urine during alcohol oxidation in man. *Alcohol & Alcoholism*, **24**, 101-108 (1989)
2. Tsukamoto, S., Kanegae, T., Uchigasaki, S., Kitazawa, M., Fugioka, T., Fugioka, S., Imamura, Y., Nagoya, T., Shimamura, M. and Mieda, Y. : Changes in free and bound alcohol metabolites in the urine during ethanol oxidation. *Japan. J. Alcohol & Drug Dependence*, **28**, 441-452 (1993)
3. Jerez, S.J. and Coviello, A. : Alcohol drinking and blood pressure among adolescents. *Alcohol*, **16**, 1-5 (1998)
4. Nagaya, T., Yoshida, H., Takahashi, H., Matsuda, Y. and Kawai, M. : Dose-response relationships between drinking and serum tests in Japanese men aged 40~59 years. *Alcohol*, **17**, 133-138 (1999)
5. Otsuka, M., Harada, N., Itabashi, T. and Ohmori, S. : Blood and urinary level of ethanol, acetaldehyde, and C4 compounds such as diacetyl, acetoin, and 2,3-butanediol in normal male students after ethanol ingestion. *Alcohol*, **17**, 119-124 (1999)
6. Tsukamoto, S., Kanegae, T., Nagoya, T., Shimamura, M., Mieda, Y., Nomura, M., Hojo, K. and Okubo, H. : Effects of amino acids on acute alcohol intoxication in mice. *Japan. J. Alcohol & Drug Dependence*, **25**, 429-440 (1990)
7. Akimoto, K., Kitagawa, Y., Akamatsu, T., Hirose, N., Sugano, M., Shimizu, S. and Yamada, H. : Protective effects of sesamin against liver damage caused by alcohol or carbon tetrachloride in rodents. *Ann. Nutr. Metab.*, **37**, 218-224 (1993)
8. Kakuda, T., Sakane, I., Tahihara, T., Tsukamoto, S., Kanagae, T. and Nagoya, T. : Effects of tea chemical compounds on ethanol metabolism in ICR mice. *Biosci. Biotech. Biochem.*, **60**, 1450-1454 (1996)
9. Lin, S.C., Lin, C.C., Lin, Y.H., Supriyatna, S. and Pan, S.L. : The protective effect of *Alstonia scholaris* R. Br. on hepatotoxin-induced acute liver damage. *Am. J. Chin. Med.*, **24**, 153-164 (1996)
10. Park, H.M., Eoo, Y.W., Cha, K.S., Kim, Y.M. and Lee, K.B. : Determination of free aldehyde in total blood for investigating the effect of aspartate on metabolism of alcohol in mice. *J. Chromato. B*, **719**, 217-221 (1998)
11. Obi, F.O., Usenu, I.A. and Osayande, J.O. : Prevention of carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in the rat by *H. rosasinensis* anthocyanin extract administered in ethanol. *Toxicology*, **131**, 93-98 (1998)
12. Tabouy, L., Zamora, A.J., Oliva, L., Monetet, A.M., Beauge, F. and Montet, J.C. : Ursodeoxycholate protects against ethanol-induced liver mitochondrial injury. *Life Sci.*, **63**, 2259-2270 (1998)
13. Ginter, E., Zloch, Z. and Ondreichka, R. : Influence of vitamin C status on ethanol metabolism in guinea-pigs. *Physiol. Res.*, **47**, 137-141 (1998)
14. Kim, S.G., Lee, Y.C. and Choi, H.S. : Effects of dried persimmon snacks on alcohol metabolism in men. *J. Food Sci. Nutr.*, **6**, 62-65 (2001)
15. Blackwell, L.F., Benett, A.F. and Buckley, P.D. : Relationship between the mechanisms of the esterase and dehydrogenase activities of the cytoplasmic aldehyde dehydrogenase from sheep liver. An alternative view. *Biochemistry*, **22**, 3784-3791 (1983)

(2001년 6월 25일 접수)