

매실즙이 알코올대사 효소활성에 미치는 영향

황자영* · 함재웅 · 남성희

웅진식품 중앙연구소

Effect of Maesil (*Prunus mume*) Juice on the Alcohol Metabolizing Enzyme Activities

Ja-Young Hwang*, Jae-Woong Ham, and Sung-Hee Nam

Woongjin Food Research and Development Center

Changes in activities of alcohol dehydrogenase (ADH) and acetaldehyde dehydrogenase (ALDH) in vitro were examined by measuring maximum absorbances of ADH and ALDH at 340 nm to determine influence of Maesil (*Prunus mume*) on alcohol metabolism. Facilitating rates of ADH activity were 137.92, 131.58, 152.96, 218.70, 111.76, and 144.27% in Maesil juice, 5, 10, and 15% GMT, and 0.5 and 1.0% aspartic acid, respectively. ALDH activity increased in the order of Maesil juice > ALDH > GMT > aspartic acid, and facilitating rate of ALDH activity in Maesil juice was the highest at 976.44%. These results indicate alcohol metabolizing activity can be enhanced by Maesil juice.

Key words: Maesil (*Prunus mume*), Maesil juice, GMT, aspartic acid, ADH, ALDH

서 론

매화나무(*Prunus mume* Sieb. et Zucc)는 장미과에 속하는 식물로 원산지는 중국의 동남부지방이며 한국, 중국 및 일본의 온난한 지역에 분포하는 동양 고유종이다. 매화나무의 열매인 매실은 강력한 알칼리성 식품으로 매실김치, 매실주, 매실쨈 등의 각종 식품으로 개발되어 왔으며(1) 특히 말린 매실은 오매라 하여 한방에서 해독 및 구충 등의 약제로 이용되고 있기도 하다(2).

또한 본초강목, 신농본초경, 명의별록 등의 각종 한의서에는 매실이 만성기침, 하열에 의한 가슴의 열기나 목마름, 오랜 된학질, 만성설사, 치질, 혈변, 혈뇨, 부인의 혈崩, 회충에 의한 급성복통이나 구토, 갈고리촌충 구제, 소비증을 치료한다고 기록되어 있다.

현재까지 매실의 효능을 과학적으로 검증한 연구는 Han 등(3)과 Shirasaka 등(4)이 항산화 활성을 보고하였으며 항균력(5-6), 항암효과(7), 항혈전 효과(8), 피로회복 작용(9), 당뇨병에 미치는 영향(10) 등에 대해 보고된 바 있으나 매실의 알코올 대사 효소계에 미치는 영향에 대한 연구는 거의 보고된 바가 없다.

체내의 알코올은 alcohol dehydrogenase(ADH)에 의해 아세트알데히드가 되고 다시 aldehyde dehydrogenase(ALDH)에 의해

산화되어 acetic acid로 되고 일부는 뇌나 CO_2 로 배설된다(11). 알코올은 섭취량에 따라 간 대사에 여러 가지 영향을 미치는 것으로 알려져 있는데 알코올 그 자체보다도 산화과정에서 생성된 아세트알데히드와 NADH가 간세포에 손상을 가져오게 된다. 체내에 과량의 알코올이 섭취된 경우 알코올의 분해산물로 생성된 아세트알데히드는 뇌로 전해져 많은 유해화합물로 바뀌어 맥박의 증가나 발한, 흥조, 오심, 구토 등의 증상을 초래 할 수 있다(12-13). 간에서 알코올의 대사율은 ADH와 ALDH의 활성에 영향을 주는 요인들에 의해 조절된다(14). 따라서 본 연구에서는 매실의 알코올 대사에 미치는 영향을 알아보기 위하여 알코올 대사 효소인 ADH 및 ALDH에 매실즙을 첨가하여 상승효과에 대해 *in vitro*실험을 통하여 분석하였으며 이들의 비교를 위하여 숙취해소 효과가 있는 것으로 알려진 아스파르트산과 쌀배아추출물인 구루메(GMT)를 이용하였다.

재료 및 방법

재료 및 시약

본 실험에 사용한 매실(*Prunus mume* Sieb. et Zucc)은 전라남도 해남군에 소재하고 있는 (주)보해매원에서 채취한 남고(Namko)품종을 구입하여 사용하였다. 효소로 사용한 ADH와 NAD는 sigma에서 구입하여 사용하였으며 기타 시약은 일급시약을 사용하였다. 구루메(GMT)는 향림산업에서 아스파르트산은 Ajinomoto사에서 구입하여 사용하였다.

시료의 조제

매실은 세척한 후 과도를 이용하여 씨를 제거하고 과육만을

*Corresponding author : Ja-Young Hwang, Woongjin Building, 112-2, Ineui-dong, Chongno-gu, Seoul 110-785, Korea

Tel: 82-2-3668-9198

Fax: 82-2-3672-8437

E-mail: jyhwang_2000@yahoo.co.kr

분쇄기를 이용하여 분쇄한 뒤 여과지를 이용하여 감압 여과하여 매실즙으로 이용하였다. ADH 활성 영향에 대한 분석을 위한 매실즙은 1 N NaOH를 이용하여 pH를 8.8로 조절한 후 사용하였다.

GMT와 아스파르트산 또한 pH를 8.8로 조절하여 ADH 활성 분석을 위한 시료로 이용하였다.

일반성분 분석

매실과 육과 매실즙의 일반성분은 AOAC방법에 따라 분석하였다. 즉, 수분함량은 105°C 상압 가열 건조법, 조지방은 Soxhlet법, 조회분은 건식화학법으로 측정하였으며 조단백질은 Kjeldahl법으로 분석하였다.

매실즙의 ADH 활성 영향 측정

ADH(Alcohol dehydrogenase) 활성도는 Choi 등(15)과 Racker(16)의 방법을 변용하여 diode array spectrophotometer(Shiatsu, UV-160A)를 이용하여 340 nm에서 형성되는 NADH의 흡광도를 측정함으로써 나타내었다. 시험관에 alcohol 0.1 mL, NAD 수용액(2 mg/mL) 0.5 mL, 매실즙, GMT(5, 10, 15%), 아스파르트산(0.5, 1%)를 각각 0.1 mL를 첨가하고 0.01 M glycine-NaOH 완충용액(pH 8.8)를 총부피가 1.8 mL가 되게 첨가한 후 25°C 항온수조에서 10분간 반응시키고 ADH(18 units/mL) 0.25 mL를 가하여 340 nm에서 흡광도의 변화를 측정하였다. 이 때 대조구는 ADH대신 0.01 M glycine-NaOH 완충용액 0.25 mL를 넣은 것으로 하였다. ADH의 활성은 반응 종료시의 최대 흡광도를 대조구의 최대 흡광도에 대한 비율로 나타내었으며 다음과 같은 식으로 계산하였다.

$$\text{ADH activity} = (B/A) \times 100$$

A: 대조구의 최대 흡광도

B: 실험구의 최대 흡광도

또한 최대 흡광도에 다다를 때까지의 속도를 비교하기 위하여 초기반응속도가 직선을 나타내는 구간인 반응 시작부터 120초까지의 기울기를 측정하였다.

매실즙과 GMT 및 아스파르트산과 혼합이 ADH 활성에 대한 상승효과 측정

매실즙과 GMT 및 아스파르트산을 혼합하여 ADH에 대한 상승효과를 분석하였다. 앞에서의 실험과 동일하게 시험관에 alcohol 0.1 mL, NAD 수용액(2 mg/mL) 0.5 mL, 매실즙과 GMT 및 아스파르트산의 혼합액을 0.1 mL 첨가한 후 0.01 M glycine-NaOH 완충용액(pH 8.8)를 총부피가 1.8 mL가 되게 넣고 25°C 항온수조에서 10분간 반응시킨 후 ADH(18 units/mL) 0.25 mL를 가하여 340 nm에서 흡광도의 변화를 측정하였다. ADH의 활성은 반응 종료시의 최대 흡광도로 측정하였다.

매실즙의 ALDH 활성 영향 측정

ALDH의 활성도는 Tottmar 등(17)의 방법을 변형하여 NADH 생성에 따른 흡광도의 변화를 340 nm에서 측정하였다. ALDH의 활성도 측정을 위해 50 mM sodium pyrophosphate 완충용액(pH 8.8), 0.5 mM NAD, 0.1 mM pyrazole, 5 mM acetaldehyde인 반응액 2.25 mL에 0.1 mL ALDH(1 unit/mL)와 매실즙, 10% GMT, 1% 아스파르트산을 각각 0.1 mL씩 첨가한 후 37°C water bath에서 10분간 방치하고 340 nm에서 흡광도를 측정하였다.

통계분석

측정값은 SAS(Statistical Analysis System)를 이용하여 평균, 분산분석, Duncan의 다중범위시험법(Duncan's multiple range test)으로 유의성을 검증하였다.

결과 및 고찰

매실즙이 ADH 활성에 미치는 효과

매실즙 및 GMT, 아스파르트산의 ADH의 활성에 미치는 효과는 반응 후의 최대 흡광도와 효소의 반응 속도를 통하여 분석하였으며 그 결과는 Fig. 1-2에 나타낸 바와 같다. 최대 흡광도는 모든 실험구에서 유의적인 차이를 나타냈으며 대조구의 흡광도의 값을 100으로 하였을 때 15% GMT를 첨가한 경우 218.7로 그 상승정도가 가장 높게 나타났으며 10% GMT와 1% 아스파르트산을 첨가한 경우가 각각 153.0, 144.3으로 그 다음으로 높은 값을 나타냈으며 매실즙과 5% GMT첨가군은 각각 137.9, 131.6이었으며 0.5% 아스파르트산을 첨가한 경우 111.8로 상승정도가 높지 않았다. 이상의 결과로 볼 때 매실즙의 ADH 활성 측정 정도는 쌀배아 추출물인 GMT의 경우 5% 농도로 첨가한 경우와 유사하였으며 아스파르트산은 1.0% 첨가시와 유사한 효과를 나타내는 것으로 분석되었다.

효소의 반응 속도를 비교하기 위하여 직선구간에서의 기울기의 변화를 살펴보았으며 모든 실험구에서 유의적인 차이가 있는 것으로 분석되었다. 기울기 값 또한 대조구의 기울기의 값을 100으로 하여 상승정도를 비교하였다. 최대 흡광도의 경우와 유사하게 GMT첨가군의 기울기 값이 매실즙과 아스파르트산첨가군 보다 높게 나타났으며 5%와 10%에서는 기울기 값이 동일하게 나타났고 15%로 농도를 높였을 경우 기울기 값이 크게 증가하여 GMT는 고농도에서 ADH의 최대 활성 및

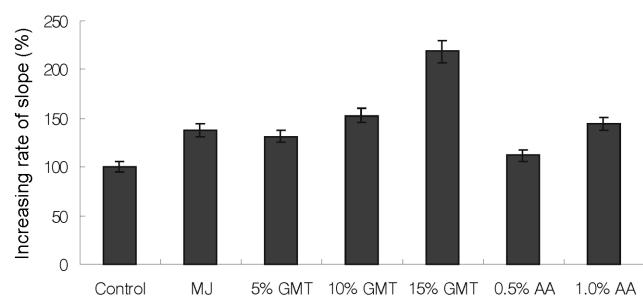


Fig. 1. Effect of MJ¹⁾, GMT²⁾, and AA³⁾ on maximum absorbance value.

¹⁾MJ: Maesil juice. ²⁾GMT: extract of rice germ. ³⁾AA: aspartic acid.

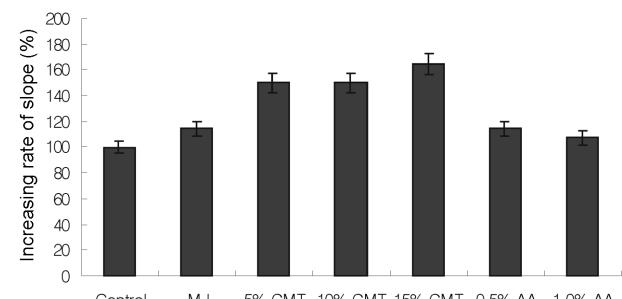


Fig. 2. Effect of MJ¹⁾, GMT²⁾, and AA³⁾ on ADH⁴⁾ reaction rate.

¹⁾MJ: Maesil juice. ²⁾GMT: extract of rice germ. ³⁾AA: aspartic acid.

⁴⁾ADH: alcohol dehydrogenase.

Table 1. Synergy effect of Maesil juice on ADH¹⁾ activity

Reaction composition	Increasing rate of maximum absorbance value (%)
MJ ²⁾ + 5% GMT ³⁾	137.5 ± 4.9
MJ + 10% GMT	175.9 ± 2.3
MJ + 15% GMT	158.6 ± 3.3
MJ + 0.5% AA ⁴⁾	119.8 ± 8.6
MJ + 1.0% AA	126.3 ± 10.6
MJ + 1.5% AA	114.9 ± 2.1
MJ + 10% GMT + 1.0% AA	137.5 ± 2.1

¹⁾ADH: alcohol dehydrogenase.²⁾MJ: Maesil juice.³⁾GMT: extract of rice germ.⁴⁾AA: aspartic acid.

초기 반응 속도에 대한 영향이 높게 나타났다. 아스파르트산의 경우 기울기의 증가율이 0.5% 농도로 반응한 경우는 114.3%로 반면 1.0%로 농도를 높인 경우는 107.1로 아스파르트산은 고농도에서 오히려 효소의 반응 속도는 낮은 것으로 나타났다. 매실즙은 114.3으로 0.5% 아스파르트산첨가군과 동일한 정도의 활성을 나타냈다.

매실즙과 GMT 및 아스파르트산과 혼합이 ADH 활성에 대한 상승효과

매실즙을 GMT 및 아스파르트산과 혼합할 경우 ADH 활성에 대해 synergy 효과가 있는지를 알아보기 위하여 최대 흡광도를 분석하였으며 그 결과는 Table 1에 나타내었다.

Table 1에서 보는 바와 같이 실험구는 매실즙과 GMT(5%, 10%, 15%)를 1:1로 혼합한 경우와 매실즙과 아스파르트산(0.5, 1.0, 1.5%)을 1:1로 혼합한 경우 그리고 매실즙과 10% GMT와 1% 아스파르트산의 1:1:1 혼합한 경우의 7종으로 나누어 실험을 실시하였다. 그 결과 모든 실험구에서 유의적인 차이를 나타냈으며 매실즙과 10% GMT를 혼합한 경우에 최대 흡광도가 가장 높게 나타났다. 완충용액만을 측정한 경우를 대조구로 하여 이때의 최대 흡광도를 100%로 보았을 때 매실즙과 GMT(5, 10, 15%)를 1:1로 혼합한 실험구의 경우 각각 137.5, 175.9, 158.6%의 값을 나타내었다. 매실즙과 GMT를 혼합하지 않고 각각을 반응한 경우 최대 흡광도의 변화율은 완충용액만을 반응하였을 때를 100%로 보았을 때 매실즙의 경우 137.9%이고 GMT의 경우 5, 10, 15% 각각의 값이 131.6, 153.0, 218.7%였다. 따라서 매실즙과 10% GMT를 혼합하였을 때 그 상승효과가 크게 나타났다. 그러나 15% GMT와 매실즙 혼합한 경우는 15% GMT만을 반응한 경우에 비해 그 상승정도가 낮아 GMT와 매실즙의 혼합 조건은 10% GMT와 매실즙을 혼합하는 것이 가장 이상적으로 분석되었다.

매실즙과 아스파르트산(0.5, 1.0, 1.5%)을 혼합한 경우 각 농도에서의 변화율이 119.8, 126.3, 114.9%로 매실즙과 아스파르트산을 단독으로 반응하는 경우보다도 활성증가율이 낮아 매실즙과 아스파르트산은 혼합하지 않는 것이 ADH 활성을 증가시키는데 더 효과적이었다.

매실즙과 1.0% 아스파르트산, 10% GMT를 혼합하여 반응한 경우 최대 흡광도 증가율이 137.5%로 각 성분의 단독 반응과 비슷한 정도의 증가 양상을 나타내었다. 이상의 결과로 볼 때 매실즙의 경우 10% GMT와 혼합하여 반응시키는 것이 단독으로 처리하는 경우에 비해 상승효과가 높게 나타났다.

Table 2. Effect of Masil juice on ALDH activity

Group	Increasing rate of maximum absorbance value (%)
ALDH 0.1 mL + Buffer 0.1 mL	100.0
ALDH 0.1 mL + ALDH 0.1 mL	446.4 ± 7.4
ALDH 0.1 mL + MJ ¹⁾ 0.1 mL	976.4 ± 18.6
ALDH 0.1 mL + 10% GMT ²⁾ 0.1 mL	215.8 ± 18.6
ALDH 0.1 mL + 1% AA ³⁾ 0.1 mL	168.4 ± 11.2

¹⁾MJ: Maesil juice.²⁾GMT: extract of rice germ.³⁾AA: aspartic acid.

매실즙 ALDH 활성에 미치는 효과

숙취의 주 원인물질인 acetaldehyde는 체내에서 흡수된 알코올이 분해 시 생성되는 대사산물로서 매실즙이 단순히 ADH만 활성화시키면 혈중 알콜 농도는 빠르게 감소시킬 수 있으나 간이나 혈액에 남아 있는 acetaldehyde는 계속 축적이 되어 심한 숙취를 일으킬 수 있는 가능성이 있다. 따라서, 매실즙의 acetaldehyde의 분해에 직접적인 영향을 미치는 효소인 ALDH의 활성에 미치는 영향을 분석하였다.

매실즙 및 GMT, 아스파르트산의 ALDH의 활성에 미치는 효과는 Table 2에 나타낸 바와 같으며 모든 실험구에서 유의적인 차이를 나타냈다. ALDH 활성도의 증가수준을 비교해보면 매실즙 첨가군이 가장 증가정도가 높았고 그 다음이 ALDH를 첨가한 경우였으며 GMT, 아스파르트산의 순으로 활성 증가를 나타냈다. 매실즙의 경우 효소만 첨가한 대조구의 흡광도의 값을 100%로 보았을 때 매실즙 첨가군의 값은 976.4%로 나타나 ALDH의 활성이 10배 가까이 증가되는 양상을 나타냈으며 이는 효소의 첨가량을 2배 늘린 경우(446.4%)에 비해서도 그 증가 정도가 높게 나타났다. 10% GMT와 1% 아스파르트산도 각각 215.8%, 168.4%로 활성의 증가를 보였으나 매실즙 첨가군에 비해 그 상승정도는 현저히 낮았다.

따라서, 매실즙의 경우 ADH 활성을 증가시켜 알콜분해를 촉진시킬 뿐만 아니라 ALDH의 활성을 현격히 증진시킴으로써 알콜 분해 결과 생성되는 acetaldehyde의 분해 또한 촉진시키는 것으로 생각된다.

요약

매실즙, GMT, 아스파르트산의 ADH 및 ALDH의 활성에 미치는 영향을 *in vitro*에서 조사하였다.

매실즙 및 GMT, 아스파르트산의 ADH의 활성에 미치는 효과는 반응 후의 최대 흡광도와 효소의 반응 속도를 통하여 분석하였다. 최대 흡광도의 경우 모든 실험구에서 유의적인 상승효과를 나타냈으며 대조구의 최대 흡광도를 100으로 하였을 때 매실즙, GMT(5, 10, 15%), 아스파르트산(0.5, 1.0%)의 값은 각각 137.9, 131.6, 153.0, 218.7, 111.8, 144.3으로 나타났다.

매실즙과 GMT 및 아스파르트산을 혼합하여 이들의 ADH 효소 활성에 대한 상승효과를 조사한 결과 모든 실험구에서 유의적인 상승효과를 나타냈으며 이중 매실즙과 10% GMT 혼합 첨가군에서 가장 높은 상승효과를 나타냈다.

ALDH 효소 활성도의 증가수준을 비교해보면 매실즙 첨가군이 가장 증가정도가 높았고 그 다음이 ALDH를 첨가한 경우였으며 GMT, 아스파르트산의 순으로 활성 증가를 나타냈다. 매실즙의 경우 효소만 첨가한 대조구의 흡광도의 값을 100%

로 보았을 때 매실즙 첨가군의 값은 976.4%로 나타나 ALDH의 활성이 10배 가까이 증가되는 양상을 나타내어 매실즙의 숙취해소 식품으로의 개발 가능성을 나타내었다.

문 헌

1. Jung DH, You JY. Fermented Foods of Vegetables. Gang Il Sa, Seoul, Korea (1997)
2. Kim JH, Xiao PG. Traditional Drugs of the East. Young Lim Sa, Seoul, Korea (1989)
3. Han JT, Lee SY, Kin KN, Baek NI. Rutin, Antioxidant compound isolated from the fruit of *Prunus mume*. J. Korean Soc. Agric. Chem. Biotechnol. 44: 35-37 (2001)
4. Shirasaka N, Kurematsu A, Kondo S, Ida M, Hase T, Yoshizumi H. Isolation and characterization of antioxidative compounds from Ume(*Prunus mume*). J. Jpn. Soc. Food Sci. Technol. 46: 792-798 (1999)
5. Lim JW. Studies on the antibacterial and physiological activities of *Prunus mume*. PhD thesis, Korea Univ., Seoul, Korea (1999)
6. Bae JH, Kim GJ. Effect of *Prunus mume* extract containing beverages on the proliferation of food-borne pathogens. J. East Asian Diet. Life 9: 214-222 (1999)
7. Bae JH, Kim KJ, Kim SM, Lee WJ, Lee SJ. Development of the Functional beverage containing the *Prunus mume* extracts. Korean J. Food Sci. Technol. 32: 713-719 (2000)
8. Yoshihiro C, Hiroshi O, Mayumi OK, Kousai M, Tadahiro N, Yuji K. Mume fural, citric acid derivative improving blood fluid-

- ity from fruit-juice concentrate of Japanese apricot (*Prunus mume* Sieb. et Zucc). J. Agric. Food Chem. 47: 828 (1999)
9. Choi GW. Effect of Maesil's extract on the recovery after all-out exercise. PhD thesis, HanYang Univ., Seoul, Korea (1992)
10. Sheo HJ, Ko EY, Lee MY. Effects of *Prunus mume* extracts on experimentally alloxan induced diabetes in rabbits. Korean J. Food Sci. Nutr. 16: 41-47 (1987)
11. Lieber CS. Alcohol and the liver: Update. Gastroenterology 106: 1085-1090 (1994)
12. Paek SC. Ethanol oxidation is accelerated by augmentation of malate-aspartate shuttle with aspartate. Korean J. Biochem. 25: 137-143 (1993)
13. Kim CI. Cause and effect of hangover. Food Ind. Nutr. 4: 26-30 (1999)
14. Jornvall H, Hoog JO, Bahr-Lindstrom H, Johanson J, Kaiser R, Person R. Alcohol dehydrogenase and aldehyde dehydrogenase in biochemistry of alcohol and alcoholism. Biochem. Soc. Trans. 16: 223-227(1987)
15. Choi JT, Joo HK, Lee SK. The effect of *Schizandrae Fructus* extract on alcohol fermentation and enzyme activities of *Saccharomyces cerevisiae*. Agric. Chem. Biotechnol. 38: 278-282 (1995)
16. Racker E. Alcohol dehydrogenase from bakers yeast. Methods Enzymol. 1: 500-506 (1955)
17. Tottmar SO, Pettersson H, Kiessling KH. The subcellular distribution and properties of aldehyde dehydrogenase in rat liver. Biochem. J. 135: 577-581 (1973)

(2003년 12월 30일 접수; 2004년 4월 2일 채택)