

## 매실즙이 알코올대사 효소활성에 미치는 영향

황 자 영 · 함 재 응 · 남 성 희  
응진식품 중앙연구소

### 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, 매실잼 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, 오래 된 학질, 만성설사, 치질, 혈변, 혈뇨, 회충에 의한 급성복통이나 구토, 갈고리촌충 구제를 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 뇨나 CO<sub>2</sub>로 배설된다(11). 알코올은 섭취량에 따라 간 대사에 여러 가지 영향을 미치는 것으로 알려져 있는데 과량 섭취된 알코올의 독성은 그 대사물인 아세트알데히드의 여러 가지 생물분자들과의 다양한 반응성과 알코올의 분해대사시 증가되는 자유기(free radical) 발생에 주된 문제가 있다(11-12). 자유기의 발생은 연속적인 산화반응으로 인해 세포손상이 유도되는 것은 이미 많은 연구에 의해 밝혀져 있으며 알코올의 분해는 주로 간에서 이루어지므로 간세포에 손상과 더불어 질환을 유발하게 된다. 따라서 본 연구에서는 매실의 알코올 대사에 미치는 영향을 알아보기 위하여 알코올 대사 효소인 ADH 및 ALDH에 매실즙을 첨가하여 효소 활성의 변화를 *in vitro* 실험을 실시하였고 숙취해소 효과가 있는 것으로 알려진 aspartic acid와 쌀배아추출물인 구루메(GMT)를 이용하여 효과를 비교하였다. 또한 유리기의 생성으로 발생하는 산화반응에 대한 매실의 영향을 알아보기 위하여 TBA가 및 전자공여능을 기존의 항산화제로 이용되는 BHT 및 ascorbic acid와 비교하여 분석하였다.

## 실험 방법

### 1. 알코올 대사 효소에 미치는 영향

#### 시료의 조제

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

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

#### 매실즙의 ADH 활성 영향 측정

ADH(Alcohol dehydrogenase) 활성도는 Choi 등(15)과 Racker(16)의 방법을 변용 하여 diode array spectrophotometer(Shiadzu, UV-160A)를 이용하여 340nm에서 형성되는 NADH의 흡광도를 측정함으로써 나타내었다. 시험관에 alcohol 0.1ml, NAD 수용액(2mg/ml) 0.5ml, 매실즙, GMT(5, 10, 15%), aspartic acid(0.5, 1%)를 각각 0.1ml를 첨가한후 0.01M glycine-NaOH buffer(pH 8.8)를 총부피가 1.8ml가 되게 첨가한 후 25°C waterbath에서 10분간 반응시키고 ADH(18 units/ml) 0.25ml를 가하여 340nm에서 흡광도의 변화를 측정하였다. 이 때 대조구는 ADH대신 0.01M glycine-NaOH buffer 0.25ml를 넣은 것으로 하였다. ADH의 활성은 반응 종료시의 최대 흡광도와 활성이 직선을 나타내는 반응시간인 120초까지의 기울기의 변화를 통해 측정하였다.

#### 매실즙과 GMT 및 aspartic acid와 혼합이 ADH 활성에 대한 상승효과 측정

매실즙과 GMT 및 aspartic acid를 혼합하여 ADH에 대한 상승효과를 분석하였다. 앞에서의 실험과 동일하게 시험관에 alcohol 0.1ml, NAD 수용액

(2mg/ml) 0.5ml, 매실즙과 GMT 및 aspartic acid의 혼합액을 0.1ml 첨가한 후 0.01M glycine-NaOH buffer(pH 8.8)를 총부피가 1.8ml가 되게 넣고 25°C waterbath에서 10분간 반응시킨 후 ADH(18 units/ml) 0.25ml를 가하여 340nm에서 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 340nm에서 측정하였다. ALDH의 활성도 측정을 위해 50mM sodium pyrophosphate buffer (pH 8.8), 0.5mM NAD, 0.1mM pyrazole, 5mM acetaldehyde인 반응액 2.25ml에 0.1ml ALDH(1 unit/ml)와 매실즙, 10% GMT, 1% aspartic acid를 각각 0.1ml씩 첨가한 후 37°C water bath에서 10분간 방치하고 340nm에서 흡광도를 측정하였다.

### 2. 항산화 효과

#### 시료의 조제

매실과육은 씨를 제거한 후 분쇄기로 갈아 시료로 이용하였고 매실즙은 분쇄한 과육을 여과지를 이용하여 감압여과한 것을 매실즙으로 하였다. 매실과육과 매실즙은 다시 동결건조하여 건조시료로 하였고 각 건조시료를 일정량 취하여 증류수를 첨가한 후 80°C 수욕상에서 1시간 동안 3회 반복하여 진탕 추출한 후 60°C에서 감압 농축한 것을 각각 매실과육추출물(Extract of Dehydrated Maesil Flesh : EDMF)과 매실즙추출물(Extract of Dehydrated Maesil Juice : EDMJ) 시료로 이용하였다.

#### TBA가 측정

기질 용액은 0.1 M phosphate buffer(pH 7.0)와 ethanol을 4:1로 혼합한 용매에 linoleic acid를 0.03

M이 되도록 첨가하였다. 이 기질 용액 2.5mL에 0.1 M phosphate buffer(pH 7.0) 2.4mL, 0.05%의 매실과 육 및 매실즙 추출물을 0.1mL 첨가하여 반응액을 조성한 후 반응액 2.0mL에 35% trichloroacetic acid 1.0mL와 0.75% TBA시약 2.0mL를 가한 다음 vortex mixer로 진탕하여 95°C 수욕 상에서 40분 동안 반응시켰다. 이 반응액을 실온까지 냉각시켜 acetic acid 1.0mL, chloroform 2.0mL를 가하여 진탕시킨 후 3,000rpm에서 5분 동안 원심분리하고 상등액의 흡광도를 532nm에서 측정하였다. TBA값은 시료 첨가군의 흡광도와 증류수를 대조군으로 한 흡광도로부터 다음과 같이 계산하였다(14).

$$TBA(\%) = (A-B)/A \times 100$$

A: 물 첨가군의 흡광도(대조구)

B: 시료첨가군의 흡광도

전자공여능(Electron donating ability)

전자공여능 측정은 Blois(15)의 방법을 변형하여 이용하였다. 60µm DPPH 2mL에 매실과육 및 매실즙 추출물과 비교구인 BHT, ascorbic acid 각각 0.01, 0.02%(w/v)농도의 용액 2mL를 가하여 5분간 섞고 30분간 방치 후 517nm에서의 흡광도를 측정하였다. 전자공여능은 100-[(시료첨가구의 흡광도)/무첨가구의 흡광도]×100]으로 나타내었다.

결과 및 고찰

매실즙이 ADH 활성에 미치는 효과

매실즙 및 GMT, aspartic acid의 ADH의 활성에 미치는 효과는 반응 후의 최대 흡광도와 효소의 반응 속도를 통하여 분석하였으며 그 결과는 Fig. 1 Fig. 2에 나타낸 바와 같다. 최대 흡광도는 모든 실험구에서 유의적인 차이를 나타냈으며 대조구의 흡광도

의 값을 100으로 하였을 때 15% GMT를 첨가한 경우 153.0으로 그 상승정도가 가장 높게 나타났으며 10% GMT와 1% aspartic acid를 첨가한 경우가 각각 153.0, 144.27로 그 다음으로 높은 값을 나타냈으며 매실즙과 5% GMT 첨가군은 각각 137.9, 131.6이었으며 0.5% aspartic acid를 첨가한 경우 111.76으로 상승정도가 높지 않았다. 이상의 결과로 볼 때 매실즙의 ADH 활성 촉진 정도는 쌀배아 추출물인 GMT의 경우 5% 농도로 첨가한 경우와 유사하였으며 aspartic acid는 1.0% 첨가 시와 유사한 효과를 나타내는 것으로 분석되었다.

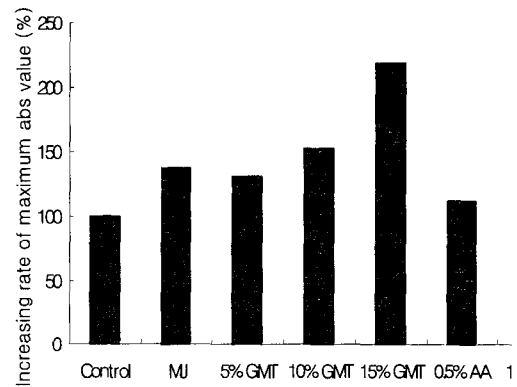


Fig. 1. Effect of Maesil juice(MJ), GMT, and aspartic acid on maximum abs value

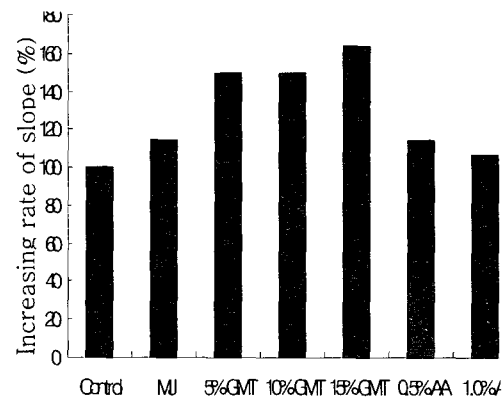


Fig. 2. Effect of Maesil juice(MJ), GMT, and Aspartic acid on ADH reaction rate

효소의 반응 속도를 비교하기 위하여 직선구간에 서의 기울기의 변화를 살펴보았으며 모든 실험구에서 유의적인 차이가 있는 것으로 분석되었다. 기울기 값 또한 대조구의 기울기의 값을 100으로 하여 상승정도를 비교하였다. 최대 흡광도의 경우와 유사하게 GMT 첨가군의 기울기 값이 매실즙과 aspartic acid 첨가군 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 초기 반응 속도에 대한 영향이 높게 나타났다. aspartic acid의 경우 기울기의 증가율이 0.5%농도로 반응한 경우는 114.29인 반면 1.0%로 농도를 높인 경우는 107.14로 aspartic acid는 고농도에서 오히려 효소의 반응 속도는 낮은 것으로 나타났다. 매실즙은 114.29로 0.5% aspartic acid 첨가군과 동일한 정도의 활성을 나타냈다.

**매실즙과 GMT 및 aspartic acid와 혼합이 ADH 활성에 대한 상승효과**

매실즙을 GMT 및 aspartic acid와 혼합할 경우 ADH 활성에 대해 synergy효과가 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 aspartic acid(0.5, 1.0 1.5%)를 1:1로 혼합한 경우 그리고 매실즙과 10%GMT와 1%aspartic acid의 1:1:1 혼합한 경우의 7중으로 나누어 실험을 실시하였다. 그 결과 모든 실험구에서 유의적인 차이를 나타냈으며 매실즙과 10%GMT를 혼합한 경우에 최대 흡광도가 가장 높게 나타났다. 효소만을 측정할 경우를 100%로 보았을 때 매실즙과 GMT(5, 10, 15%) 혼합한 실험구의 경우 각각 137.53, 178.85, 158.44%로 증가하는 양상을 나타내었다. 매실즙만을 0.1 ml 반응한 경우 최대 흡광도의 변화율은 137.92%이고

GMT의 경우 단독으로 반응시 5, 10, 15% 각각의 값이 131.58, 152.96, 218.70%였다. 따라서 매실즙과 5% GMT를 혼합한 경우는 단독 첨가 시와 거의 유사한 값을 나타내었고 10% GMT와 혼합 시에는 그 상승효과가 크게 나타났다. 그러나 15% GMT와 혼합 시에는 GMT 단독으로 반응한 경우에 비해 그 변화정도가 낮아 GMT와 매실즙의 혼합 조건은 10% GMT와 매실즙을 혼합하는 것이 가장 이상적으로 분석되었다.

매실즙과 aspartic acid(0.5%, 1.0%, 1.5%)를 혼합한 경우 각 농도에서의 변화율이 119.82, 126.30, 114.87%로 매실즙과 aspartic acid를 단독으로 반응하는 경우보다도 활성증가율이 낮아 매실즙과 aspartic acid는 혼합하지 않는 것이 ADH 활성을 증가시키는데 더 효과적이었다.

매실즙과 1.0% aspartic acid, 10% GMT를 혼합하여 반응한 경우 최대 흡광도 증가율이 137.52%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 1. Synergy effect of Maesil juice on ADH activity**

Reaction composition	Maximum abs value	Increasing rate of Maximum abs value(%)
MJ + 5% GMT	0.42c	137.53
MJ + 10% GMT	0.53a	175.85
MJ + 15% GMT	0.48b	158.44
MJ + 0.5% Asp	0.36d	119.82
MJ + 1.0% Asp	0.38cd	126.30
MJ + 1.5% Asp	0.35d	114.87
MJ + 10% GMT + 1.0% Asp	0.42c	137.53
F-value	32.14***	

매실즙 ALDH 활성에 미치는 효과

숙취의 주 원인물질인 acetaldehyde는 체내에서 흡수된 알코올이 분해 시 생성되는 대사산물로서 매실즙이 단순히 ADH만 활성화 시키면 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, aspartic acid의 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, aspartic acid의 순으로 활성 증가를 나타냈다. 매실즙의 경우 효소만 첨가한 대조구의 흡광도의 값을 100%로 보았을 때 매실즙 첨가군의 값은 976.44%로 나타나 ALDH의 활성이 10배 가까이 증가되는 양상을 나타냈으며 이는 효소의 첨가량을 2배 늘린 경우(446.43%)에 비해서도 그 증가 정도가 높게 나타났다. 10% GMT와 1% aspartic acid도 각각 215.79%, 168.42%로 활성의 증가를 보였으나 매실즙 첨가군에 비해 그 상승정도는 현저히 낮았다.

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

Table 2. Effect of Masil juice on ALDH activity

Group	Increasing rate of maximum abs value (%)
ALDH 0.1ml + Buffer 0.1ml	100.00 <sup>d</sup>
ALDH 0.1ml + ALDH 0.1ml	446.43 <sup>b</sup>
ALDH 0.1ml + Maesil juice 0.1ml	976.44 <sup>a</sup>
ALDH 0.1ml + 10% GMT 0.1ml	215.79 <sup>c</sup>
ALDH 0.1ml + 1% aspartic acid 0.1ml	168.42 <sup>cd</sup>
F-value	105.38 <sup>***</sup>

TBA가

Linoleic acid를 기질로 하여 매실과육 추출물(EDMF), 매실즙 추출물(EDMJ)과 비교구로 BHT, ascorbic acid를 동일한 농도로 첨가하여 대조군으로 한 상대적인 산화억제정도를 측정하였으며 그 결과는 Table 3에 나타낸 바와 같다. TBA가를 통해 항산화력을 측정한 결과 합성산화제인 BHT가 45.35로 가장 높은 값을 나타냈으며 매실과즙 추출물(EDMJ)은 25.0으로 29.65를 나타낸 ascorbic acid와 유사한 수준의 값을 나타내었다. 매실과즙 추출물(EDMJ)과 매실과육 추출물(EDMF)의 TBA가를 비교해보면 과산화물가에서와 마찬가지로 매실과즙 추출물(EDMJ)의 경우가 25%로 15.99%인 매실과육 추출물(EDMF)보다 다소 높은 TBA가를 나타내 항산화 효과가 더 높은 것으로 분석되었으나 이들 시료 사이에 유의적인 차이는 없는 것으로 분석되었다.

Table 3. TBA value (%) of linoleic acid containing Maesil extracts and other antioxidants

Group	TBA value (%)
Ascorbic acid	29.65
BHT	45.35
EDMF	15.99
EDMJ	25.00
F-value	6.18

- EDMJ : Extract of Dehydrated Maesil Juice
- EDMF : Extract of Dehydrated Maesil Flesh

전자공여능 (Electron donating ability)

수소공여능 측정에 사용되는 1,1-diphenyl 2-picrylhydrazyl(DPPH)은 안정한 자유라디칼로서 그것의 흡수 전자에 의해 517nm 부근에서 흡수 극대를 나타내는데 전자 또는 수소를 받으면 517nm 부근에서의 흡광도가 감소하며 다시 산화되기 어렵다. 따라서 이러한 라디칼을 환원시키거나 상쇄시키는 능력이 크다면 높은 항산화활성 및 활성산소를 비롯한

다른 라디칼에 대한 높은 제거활성을 기대할 수 있다(16). 매실과육 및 매실즙 추출물과 비교구로 BHT, ascorbic acid를 DPPH 자유기(free radical) 소거활성을 측정된 결과 모든 시료구에서 유의적인 차이를 나타내었으며 그 결과는 Table 4에 나타내었다. 매실과육과 매실과즙 추출물을 0.01% 농도로 첨가한 경우는 각각의 값이 34.25%, 42.99%를 나타내었고 0.02%로 시료의 양을 증가시켰을 경우에는 매실과육 추출물(EDMF)은 53.21%, 매실과즙 추출물(EDMJ)은 59.19%로 0.01%와 비교하여 각각 64.37%, 72.63%증가하여 항산화력의 상승효과를 나타내었다. 그러나 보다 높은 활성을 나타내는 매실과즙 추출물(EDMJ)의 경우도 BHT나 ascorbic acid와 비교해 보면 각각 76.06%, 61.22% 수준으로 전자공여능에 있어서는 다소 낮은 활성을 나타내었다.

Table 4. Comparison of electron donating ability(%) of DMFE and MJE

Group	Electron donating ability (%)
0.01% Ascorbic acid	96.69 <sup>a</sup>
0.01% BHT	77.82 <sup>b</sup>
0.01% EDMF	34.25 <sup>f</sup>
0.01% EDMJ	42.99 <sup>c</sup>
0.02% EDMF	53.21 <sup>c</sup>
0.02% EDMJ	59.19 <sup>d</sup>
F-value	204.61 <sup>***</sup>

- Mean values within a column followed by same letter are not significantly different at  $\alpha=0.05$ .
- \*\*\* mean significant at  $p=0.001$ .
- DMJ : Dehydrated Maesil Juice
- EDMJ : Extract of Dehydrated Maesil Juice
- DMF : Dehydrated Maesil Flesh
- EDMF : Extract of Dehydrated Maesil Flesh

참고 문헌

- 1 Jung, D. H. and You, J. Y. Fermented foods of vegetables. Gang Il Sa, Seoul, Korea (1997)
- 2 Kim, J. H. and Xiao, P. G. Traditional drugs of the east. Young Lim Sa, Seoul, Korea (1989)
- 3 Han, J. T., Lee, S. Y., Kin, K. N. and Baek, N. I. Rutin, Antioxidant compound isolated from the fruit of Prunus mume. J. Korean Soc. Agric. Chem. Biotechnol. 44(1): 35-37 (2001)
- 4 Shirasaka, N., Kurematsu, A., Kondo, S., Ida, M., Hase, T. and Yoshizumi, H. Isolation and characterization of antioxidative compounds from Ume(Prunus mume). Journal of the Japanese society for food science and technology 46(12), 792 (1999)
- 5 Lim, J. W. Studies on the antibacterial and physiological activities of Prunus mume. Korea Univ. (1999)
- 6 Bae, J. H. and Kim, G. J. 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, J. H., Kim K. J., Kim S. M., Lee W. J. and Lee, S. J. 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, O. K., Kousai, M., Tadahiro, N. and Yuji, K. Mume fural, citric acid derivative improving blood fluidity from fruit-juice concentrate of Japanese apricot(Prunus mume Sieb. et Zucc). J. Agric. Food Chem. 47: 828 (1999)
- 9 Choi, G. W. Effect of Maesil's extract on the recovery after all-out exercise. HanYang Univ. (1992)

10. Sheo, H. J., Ko, E. Y. and Lee, M. Y. Effects of *Prunus mume* extracts on experimentally alloxan induced diabetes in rabbits. *Korean J. Food Sci. Nutr.* 16:41-47 (1987)
11. Glueck, C. J., Hogg, E., Allen, C. and Gartside, P. S. Effects of alcohol ingestion on lipid and lipoprotein in normal man. *Am J. Clin. Nutr.* 33: 2287-2293 (1980)
12. Figueroa, P. B. and Klitz, A. P. Alterations of alcohol dehydrogenase and other enzyme following oral alcohol intoxication. *Am J. Clin. Nutr.* 11: 235-239 (1962)
13. Choi, J. T., Joo, H. K. and Lee, S. K. The effect of *Schizandrae Fructus* extract on alcohol fermentation and enzyme activities of *Saccharomyces cerevisiae*. 38(3):278-282 (1995)
14. Racker, E. Alcohol dehydrogenase from bakers yeast. *Methods in Enzymology.* 500 (1955)
15. Tottmar, S. O., Petterson, H. and Kiessling, K. H. The subcellular distribution and properties of aldehyde dehydrogenase in rat liver. *Biochem. J.* 135:577-581 (1973)
16. Kim, Y. J., Kim, C. K. and Kwon, Y. J. Isolation of antioxidative components of *Perillae semen*. *Korean J. Food Sci. Technol.* 29:38-43 (1997)
17. Blois, M. S. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature* 26:1199-1200 (1958)
18. Kang, M.H., Park, C.G., Cha, M.S., Seong, N.S., Chung, H.K., and Lee, J.B. Component characteristics of each extract prepared by different extract methods from by-products of *Glycyrrhiza uralensis*. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 30: 138-142 (2001)