

청도 한재미나리의 건강증진효능과 가공식품 개발방향

김 태 완

안동대학교 식품생명공학과

I. 서 론

미나리의 재배 및 식용기원

미나리의 어원은 그리스어의 「oinos」(‘술’이라는 뜻)와 「anthos」(‘꽃’이라는 뜻)에서 유래된 것으로 꽃의 향기에 연유한다. 영어로는 물이 많은 습지에서 자라는 식물이라는 뜻으로 「water dropwort」 또는 「water celery」로 부른다.

쌍떡잎식물의 산형화목 미나리과의 여러해살이 풀인 미나리는 독특한 풍미가 있는 알칼리성 식품으로 물기가 있는 습한 땅에 자생하며, 흔히 논에서 재배가 이루어진다. 한국, 일본, 중국, 대만, 인도 등지에 분포하며 한국의 농가에서는 특용채소작물로 재배되고 있다.

미나리는 우리나라 사람들이 가장 좋아하는 대표적인 향채 중의 하나로 옛날부터 봄을 상징하는 채소로 즐겨 사용했는데 미나리의 재배에 대해서는 <고려사> 열전반역 임연조에 근전(芹田: 미나리밭)이라는 말이 나오는 것으로 보아 고려시대부터 식용되고 있었음을 추측해 볼 수 있다. 일본에서도 봄철 일곱 가지 채소의 하나로 알려져 있다. 그 역사는 오래되어 [만엽집]에 미나리 뜯는 노래가 실려

있고, 또 헤이안시대의 [연희식]에 재배방법이 기재되어 있는 것으로 보아 천년 이상 이전부터 재배가 시작되었음을 알 수 있다. 중국에서는 기원전 2183~771년의 하나라, 은나라, 주나라 때부터 양자강 유역을 중심으로 논 미나리, 밭 미나리가 성했다고 알려지고 있으며 여씨춘추(B.C. 480)에도 미나리에 관한 기록이 있는 것으로 보면 미나리의 재배 역사가 오래되고 기술도 발달된 것으로 추적된다.

제철은 초봄부터 초여름으로 곧게 자라 있고 잎의 녹색이 진하며 싱싱한 것이 신선한 것이다. 줄기가 굵은 것은 단단하므로 주의. 보관은 뿌리 밑을 물에 젖은 신문지 등으로 싸고 랩으로 밀봉하여 냉장고 채소실에 세워 둔다.

미나리는 독특한 향기와 씹는 맛, 선명한 색을 즐기는 채소로 씹은맛이 강하므로 살짝 데쳐서 사용한다. 국이나 감칠맛 나는 양념으로 버무린 무침, 전골 등에 이용하기도 하며 미나리 전이나 부침개에 활용하기도 한다. 음식이외에도 생 미나리를 흐르는 물에 잘 씻어 생즙을 내서 마시거나 차로 끓여서 물을 마시듯이 자주 먹기도 한다. 엽경은 한방요법으로 수근이라는 약재로 사용 하고 있다.

한재미나리는 청도읍 한재골의 지역 명칭을 따서

붙여진 이름으로, 청도읍의 특산물이다. 다른 미나리와는 달리 고인물이 아닌 해발 933 m의 화악산에서 흘러내리는 맑은 자연수와 깨끗한 암반 지하수를 이용하여 재배되는 것이 특징이고, 줄기 하단 부분에 붉은 색을 띠며, 뿌리가 굵은 것이 다른 미나리와 비교할 때의 차이점이다. 한재미나리는 특히 향이 좋으며 맛이 특출하여 도시민의 건강채소로 각광 받고 있다(Kim, 2007; Park, 2007a).

한재미나리는 다른 미나리들과는 달리 재질이 연하고 맛과 향이 특출하다. 그리하여 미나리를 생체로 먹기도 하고 당근이나 샐러리와 섞어서 녹즙을 짜 먹기도 한다. 또 데쳐서 제육이나 편육에 감아 초고추장에 찍어 먹는 미나리강회, 상추나 썩갠에 곁들여 씹으로 먹는 미나리쌈도 있으며(Rhee et al., 1995a; Rhee et al., 1995b), 청포묵·돼지고기·김과 함께 초간장에 무쳐 탕평채를 만들어 먹기도 한다. 독특한 향기가 있어 김치를 담그는 데도 널리 이용된다.

미나리의 일반 및 영양성분

미나리에는 수분이 93%, 단백질 1.5g, 지질 0.1g, 당질 4.3g이며, 비타민 A, B1, 비타민 C, 카로틴, 식물성 섬유소가 다량 함유되어 있고 단백질, 철분, 칼슘, 인 등 무기질이 풍부한 알칼리성 건강식품으로 확인된 아미노산은 16종이며 그중 필수 아미노산은 37.3%나 함유되어 있다. 특히 미나리를 비타민이 풍부한 알칼리성 식품으로 쌀을 주식으로 하는 한국인에게는 혈액의 산성화를 막아주는 아주 중요한 역할을 한다. 전초는 정유를 0.066% 함유하고 있으며 그중에는 α -pinene, β -pinene, myrcene, terpinolene, benzylalcohol 등이 함유되어 있다.

미나리의 건강증진기능

연구결과에 의하면 미나리는 유방암, 대장암 등 각종 암에 항암효과가 있는 것으로 밝혀져 있으며, ‘동의보감’을 보면 미나리는 갈증을 풀어주고 머리

를 맑게 하며 술을 마시고 난 뒤 주독을 제거할 뿐만 아니라 대장과 소장을 원활하게 해주는 등 신진대사를 촉진시킨다고 적혀 있다. ‘본초습유’에 따르면 미나리 생즙은 어린아이들의 고열을 내려주고 두풍열, 즉 머리가 항상 아프거나 부스럼이 나는 병을 치료한다고 기록되어 있으며, ‘약용식물사전’에는 미나리잎을 매일 섭취하면 류머티즘에 유효하고 여러 가지 병의 증세에 효과적이라고 기록되어 있다. 이밖에 식욕을 돋우고 혈압을 낮추며 변비를 해소하고 독을 제거하는 작용도 하며, 복어탕을 끓일 때 반드시 미나리를 넣는 것도 복어의 독성을 약하게 만들기 때문이다. 근래에는 혈압을 내리는 효능이 인정되어 미나리는 고혈압 환자들이 즐겨 찾는 식품으로 인기를 끌고 있다.

미나리의 독특한 향과 맛을 내는 정유성분은 입맛을 돋우어 줄 뿐 아니라 정신을 맑게 하고 혈액을 정화하는 힘을 지니고 있으며, 해독작용도 뛰어나 체내의 각종 독소들을 해독하는 특효약이다. 그렇게 때문에 잦은 술자리의 해독에는 미나리 생즙이나 미나리를 넣은 해장국을 먹는 것이 좋다.

또 미나리는 간장 질환이나 생즙 요법에 필수적인 식품으로 황달이나 복수가 차는 증상, 기타 급·만성 간염 및 간경변증에 많이 쓰인다. 지혈 효과가 있어 여성의 하혈이나 월경과다증에 유용하며 대하증에도 소양체질의 경우 미나리즙이 좋다. 급하게 체해서 토하고 설사할 때 지사작용이 설사를 멈추게 하고, 정신을 깨끗하게 하므로 신경쇠약증이나 스트레스 해소에 도움이 되며 류마티즘, 신경통, 갱년기 장애, 정력 감퇴 등에 좋고 중금속 해독 및 수질정화기능이 좋아서 매연에 노출된 사람이 자주 먹으면 좋다.

미나리에는 간기능 개선에 도움을 주는 콜린산과 강력한 항산화 작용을 하는 실리마린 성분이 있고 숙취의 원인물질인 아세트알데하이드를 제거하는 아스파라긴산이 다량 함유되어 있다. 동의보감에서도 미나리가 맛이 달고 독성이 없고 서늘한 채소로

기술되어 있고 입이 말리는 구갈증에 좋고 정기를 보강해주며 대소변이 잘 나오게 해 술을 먹고 난 다음 열독을 식혀주는 해독제 역할을 한다고 나와 있다. 또한 비타민 C가 풍부해 숙취로 불편한 속을 달래기 좋은 식품이다.

연구배경 및 필요성

한재지역에서 생산되는 미나리는 우수한 제품의 품질을 유지하기 위하여 초벌생산 미나리만 식용으로 사용하고 재벌, 삼벌 생산 된 미나리는 활용되지 않고 폐기되는 실정이므로, 이들 비상품성 미나리 원료를 활용하여 기능성소재로 활용할 경우 우수한 가격경쟁력을 가질 뿐 아니라 미나리 재배농민의 수익증대에도 크게 기여할 것으로 판단 된다. 따라서 본 연구과제에서는 미나리 추출물 및 정제물이 알콜대사에 미치는 영향을 평가하여 숙취개선 기능성식품의 소재로 활용하고 이를 활용한 다양한 가공식품 개발 방향에 대하여 고찰하고자 한다.

재료 및 시료 제조

본 실험에서 사용된 미나리 농축분말과 정제분말은 (주)M.S.C에서 제공받아 사용하였다. 미나리 농축분말은 95℃에서 1시간 동안 추출한 후 동결건조하여 분말화 하였고, 정제분말은 효소분해와 수지통과를 통해 당 및 불순물을 제거시킨 후 분말화하여 사용하였다.

총 폴리페놀 함량 측정

총폴리페놀 함량은 Folin-Denis법(15)에 준하여 정량하였다. 시료 100 μL에 Folin-ciocalteu phenol reagent 100 μL를 가하고 0.75 M Na₂CO₃ 100 μL를 가하여 혼합한 후 1시간 실온에서 방치하고 750 nm에서 흡광도를 측정 한 후 표준물질인 tannic acid로 미리 작성한 표준곡선의 흡광도 값과 비교하여 폴리페놀 함량을 산출하였다.

II. 재료 및 방법

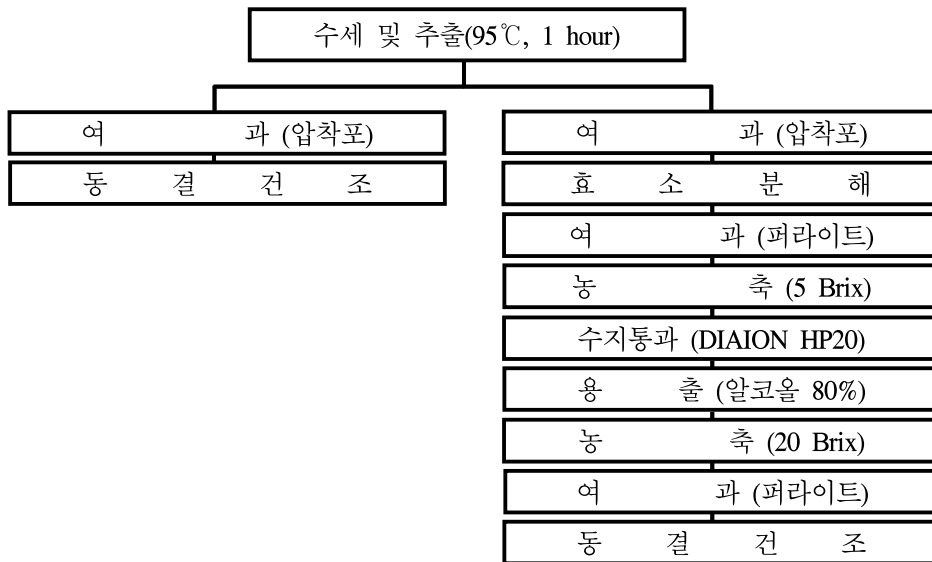


Fig. 1 The procedure for extraction from water dropwort

DPPH radical 소거능 측정

전자공여능(EDA: electron donating ability)은 Blois의 방법(16)을 변형하여 측정하였다. 희석된 시료용액 100 μ L에 0.2 mM 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH) 50 μ L를 가하여 10분간 방치한 다음 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 전자공여능은 시료용액의 첨가군과 무첨가군의 흡광도 감소율로 나타내었다.

$$\text{전자공여능(\%)} = \left(1 - \frac{\text{시료첨가군의 흡광도}}{\text{무첨가군의 흡광도}} \right) \times 100$$

ABTS radical 소거능 측정

ABTS radical을 이용한 항산화력 측정은 ABTS · + cation decolourisation assay(17)에 의하여 시행하였다. 7 mM 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzthiazolin-e-6-sulfonic acid) (ABTS, Wako Chemical Co., Japan) 와 2.45 mM potassium persulfate를 최종농도로 혼합하여 실온인 암소에서 24시간 동안 방치하여 ABTS · +을 형성시킨 후 734 nm에서 흡광도 값이 0.70 (± 0.02) 이 되게 99% ethanol로 희석하였다. 희석된 ABTS용액 100 μ L에 시료 50 μ L를 가하여 5분 동안 방치한 후 흡광도를 측정하였다. ABTS radical 소거활성은 시료를 첨가하지 않은 대조구의 흡광도를 1/2로 환원시키는데 필요한 시료의 농도인 RC50값으로 나타내었다.

$$\text{ABTS radical 소거능(\%)} = \left(1 - \frac{\text{시료첨가군의 흡광도}}{\text{무첨가군의 흡광도}} \right) \times 100$$

총당, 환원당 측정

총당 측정은 phenol-sulfuric acid법으로 정량하였다. 희석된 시료 0.5 mL을 test tube에 넣고 5% phenol 용액을 0.5 mL 넣었다. 여기에 95% 황산 2.5 mL을 가하여 강하게 혼합시키고 95°C에서 10분간 반응시키고 15분간 냉각 한 후 490 nm에서 흡광도

를 측정하였으며, 0-100 μ g/mL 농도의 sucrose standard curve로부터 환산하여 총당 함량(mg/g)을 구하였다.

환원당 함량 측정은 dinitrosalicylic acid (DNS)법에 의하여 측정하였다. 희석된 시료 1 mL을 test tube에 넣고 DNS reagent 3 mL을 가한 다음 95°C에서 5분간 반응 시켰다. 반응이 끝나면 충분히 냉각한 후 576 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 0-500 μ g/mL 농도의 glucose standard curve로부터 환산하여 환원당 함량(mg/g)을 구하였다.

시료 제공 및 실험동물

실험에 사용한 동물은 (주)오리엔트사 (Bio Orient Co. Seoul, Korea)에서 5주령 Sprague-Dawley종 흰쥐 수컷을 구입하여 식이와 물을 충분히 공급하여 일주일 간 적응시킨 후, 실험에 사용하였다.

미나리 추출물의 숙취해소 평가를 시험하기 위해 실험동물군은 대조군(Control), 알코올 투여군(Negative control), 알코올 +양성대조군(Positive control - Silymarin, Condition), 알코올 +미나리 농축물(50, 200 μ g/mL), 알코올 +미나리 정제물(50, 200 μ g/mL) 총 8군으로 나누었다. 사료 섭취로 인해 에탄올의 흡수 방해 현상을 배제하기 위하여 에탄올 투여 전 18시간 동안 절식 시킨 뒤, 흰 쥐 체중 100 g당 1.5 mL의 시료 투여 30분 후 40% ethanol을 체중 100 g 당 1.0 mL 용량으로 경구 투여하였다. 시간 경과에 따른 혈중 에탄올 농도와 아세트알데히드 농도 변화를 측정하기 위해 에탄올 투여 1시간, 3시간은 꼬리정맥에서 혈액을 채취하여 헤파린이 처리된 micro tube에 수집하였고, 5시간은 꼬리정맥에서 혈액을 1차 채취한 뒤 2차 복부 하대정맥에서 혈액을 채취하여 헤파린이 처리된 tube에 수집하였다.

Table 1. Experimental design.

Groups	Treatments
Control	Water + Water
Negative control	Water + Ethanol
Positive control	Ethanol + Silymarin, Ethanol + Condition
WDE ¹⁾	Ethanol + WDE 50 µg/mL, Ethanol + WDE 200 µg/mL
WDP ²⁾	Ethanol + WDP 50 µg/mL, Ethanol + WDP 200 µg/mL

¹⁾WDE : Water drowort extract

²⁾WDP : Water drowort purification

실험동물의 처치

실험에 사용 한 동물들은 에테르 흡입을 통해 1차 마취하고, 럼폰을 근육 주사하여 2차 마취시켰다. 복부 하대정맥으로부터 혈액을 채취하여 시험관에 수집하고 3,000 rpm에서 15분간 원심분리 후 혈장과 혈구를 분리 하였으며, 분리된 혈장과 혈구는 시료 분석 시 까지 -70℃에서 보관하였다. 실험동물의 장기조직인 간, 심장, 신장 또한 적출하여 PBS (phosphate buffered saline) 용액으로 세척하고 간의 경우 칭량 후 enzyme, lipid, RNA용으로 각각 분리하여 적출 즉시 액체 질소에 급냉시켜 보관하였다. 간 조직의 일부는 현미경 분석을 위해 10% formaldehyde 용액에 고정시켜 보관하였다.

혈청 GOT, GPT 및 ALP 측정을 통한 간 특성 측정

분리한 혈청은 간 기능 지수를 나타내는 glutamate oxaloacetate transaminase (GOT), glutamate pyruvate transaminase (GPT), alkaline phosphatase (ALP)를 측정하는데 사용하였다. GOT, GPT 측정은 Reitman-Frankel의 방법(18)을 이용하여 제조한 측정용 kit (AM 101, Asan, Korea)를 사용하여 측정하였다. 기질액 50 µL를 37℃에서 5분 동안 전 반응 시키고 혈장 10 µL를 첨가하여 37℃에서 GOT는 1시간, GPT

는 30분 동안 반응 한 다음 정색 시약 (2,4-dinitro phenylhydrazine) 50 µL을 첨가하여 실온에서 20분간 방치한 후 0.4 N NaOH 0.5 mL을 첨가하여 반응을 중지한 다음 505 nm에서 증류수를 대조로 흡광도를 측정하였다. GOT, GPT 활성치는 표준용액의 검량선에 기준하여 산출하였고 혈장 1 mL당 Karmen unit로 표시 하였다.

혈장 내 ALP 활성도는 Kind-King의 방법(19)을 이용하여 제조한 측정용 kit (AM 105S, Asan, Korea)를 사용하여 측정하였다. 기질원충액 0.4 mL을 37℃에서 5분 동안 전 반응 시키고 혈청 0.01 mL을 첨가하여 37℃에서 정확히 15분 동안 방치한 후 정색시액 0.4 mL을 첨가하여 상온에서 10분 간 방치시킨 다음 500 nm에서 증류수를 대조로 흡광도를 측정하였다. ALP 활성도는 37℃에서 30분 동안 1 nmol의 p-nitrophenol을 생성시키는 능력을 1 unit (King Armstrong unit, K-A)로 표시하였다.

혈장 γ-GTP 분석

γ-glutamyltranspeptidase(γ-GTP)는 5-aminosalicylic acid법을 이용하여 제조한 측정용 kit (AM 158, Asan, Korea)를 사용하여 측정하였다. 기질액 0.25 mL을 37℃에서 5분 동안 전 반응 시키고 혈청 0.005 mL을 넣어 잘 혼합하여 37℃에서 정확히 20분 동안 방치한 후 정색시액 0.75 mL을 넣어 실온에서 10분 동안 방치 시킨 다음 635 nm에서 흡광도를 측정하였다.

혈액 중 알코올 및 아세트 알데히드 농도

혈장 알코올 농도는 Bucher의 방법을 이용하여 제조한 에탄올 측정용 kit (R-Biopham, Germany)로 분석하였다. Potassium diphosphate buffer (pH 9.0) 3 mL에 NAD를 녹여 이 혼합액에 0.1 mL의 혈장을 가하여 3분간 반응시킨 후 340 nm에서 흡광도를 측정 한 뒤, 다시 50 µL의 ADH를 가하여 5분간 반응시킨 후 340 nm에서 흡광도 측정하여 알코올 알데히

드 농도를 구하였다.

혈장 아세트알데히드 농도는 Lundquist의 방법을 이용하여 제조한 아세트알데히드 측정용 (R-Biopharm, Germany)로 분석하였다. Potassium diphosphate buffer (pH 9.0) 3 mL에 NAD를 녹여 이 혼합액에 0.2 mL의 혈장을 가하여 3분간 반응시킨 후 340 nm에서 흡광도 측정하고, 다시 50 μ L의 ALDH를 가하여 5분간 반응시킨 후 340 nm에서 흡광도 측정하여 아세트알데히드 농도를 구하였다.

간 조직 중 ADH 및 ALDH 활성도 측정

간 조직 내 ADH (alcohol dehydrogenase) 활성도는 Bergmeyer의 방법(20)에 의하여 측정하였다. 0.2 M NaOH/glycine buffer (pH 9.6)에 0.67 mM NAD 용액과 효소액 50 μ L를 첨가하여 37°C에서 5분간 전 반응시켰다. 여기에 100 mM 에탄올을 첨가하여 혼합한 후 즉시 340 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이 용액을 다시 37°C에서 5분간 반응시켜 반응종료 후 340 nm에서의 흡광도로 NADH의 생성량을 측정하고 표준 검량선을 이용하여 그 활성도를 산출하였다.

ALDH (aldehyde dehydrogenase) 활성도는 Koivula와 Koivusalo 방법(21)을 이용하여 측정하였다. 0.1 M tetrasodium pyrophosphate decahydrate buffer에 13.3 mM NAD용액, 16.7 mM pyrazole 용액 그리고 효소액 50 μ L를 첨가하여 37°C에서 5분간 전 반응시켰다. 여기에 60 mM propionaldehyde 용액을 첨가·혼합한 후 즉시 340 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이 용액을 다시 37°C에서 5분간 반응시켜 반응종료 후 340 nm에서의 흡광도로 NADH의 생성량을 측정하고 표준 검량선을 이용하여 그 활성도를 산출하였다. 효소의 활성도는 1분간 1 mg의 단백질이 생성한 NADH의 양을 nmol로 표기하였다.

Western blot을 통한 ADH 및 ALDH 단백질 발현 양상

간 조직 0.25 g에 protease inhibitors cocktail, phosphatase inhibitors cocktail, PMSF를 첨가한 LIPA buffer 1.0 mL을 넣고 얼음 위에서 glass homogenizer를 이용하여 파쇄하였다. 파쇄한 간 조직은 얼음 위에서 30분간 방치 한 후 4°C, 12000 rpm에서 20분간 원심분리하고 상층액만 모아 새튜브로 옮긴 뒤 4°C, 12000 rpm에서 10분간 한 번 더 원심분리 한 후 상층액만 사용하였다. 상층액은 buffer A로 희석하여 사용하기 직전 bradford법을 사용하여 단백질 양을 정량하였다.

전기영동은 12% polyacrylamide를 함유한 SDS-PAGE로 분리하고 PVDF membrane으로 90 V에서 1시간 45분 동안 실시하였다. 이어 PVDF membrane을 5% skim milk에 3시간 blocking 후 primary antibody를 상온에서 3시간 부착시킨다. TBST로 3번 세척 후 secondary antibody를 상온에서 2시간 부착시킨 뒤 TBST로 세척하고 ECL kit와 반응시켜 X-ray film에 노출시켰다. 현상된 밴드는 Bio-Red geldoc을 이용하여 정량화 하였다.

III. 결과 및 고찰

망산화 효능 측정

전자공여능 측정에 사용된 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH)는 자체가 매우 안정한 free radical로서 517 nm에서 특징적인 광흡수를 나타내는 보라색 화합물이다(22).

미나리 농축물과 정제물의 전자공여능은 Table 2와 같이 나타내었다. 전자공여능 측정결과 미나리 정제물이 농축물에 비해 효과가 더 좋게 나타났으며, 미나리 농축물과 정제물의 RC₅₀은 각각 175 μ g/mL, 32 μ g/mL로 나타났다.

ABTS radical 소거활성은 Table 2에 나타내었다. ABTS radical 소거활성은 총 페놀함량과 페놀의 종류에 연관이 있다(23)고 알려져있다. 미나리 농축물과 정제물의 ABTS radical 소거활성 측정결과 농축물에 비해 정제물이 더 높게 나타났으며, 농축물과 정제물의 RC50은 각각 87 µg/mL, 31 µg/mL로 나타났다. 자유라디칼을 소거하는 DPPH와는 다르게 ABTS는 양이온 라디칼을 소거하는 방법으로 두 반응이 기질과 반응물에 대한 결합정도가 다르게 나타남으로서 약간의 활성차이가 있는 것으로 보고되고 있다(24).

Table 2. Effect of antioxidant activity from WDE and WDP

Extracts ¹⁾	DPPH radical scavenging activity	ABTS radical scavenging activity
	RC50 ²⁾ (µg/mL)	
WDE	174.71±4.58 ³⁾	86.63±0.42
WDP	32.48±1.61	30.90±1.27

¹⁾water dropwort extract : WDE, water dropwort purification : WDP

²⁾RC₅₀ : The concentration that induces a 50% of recersion.

³⁾All values are mean ± S.D. (n=3)

총 폴리페놀 함량

페놀성 화합물은 식품계에 널리 분포되어 있는 2차 대사산물의 하나로서 항산화, 항균생물 활성효과 등의 생리활성 기능을 가지는 것으로 알려져 있다(25). 특히 항산화 작용과 관련하여 최근 생체 내에서의 산소 free radical 반응이 생체조직의 노화나 질병과 관련이 있으며 페놀성물질의 hydroxyl group은 유지의 유리기 수용체로서 유지 산패의 초기 단계에 생성된 유리기들이 안정된 화합물을 형성하도록 하여 산화억제 작용을 한다(26).

본 실험에서는 미나리 농축물과 정제물에 존재하는 폴리페놀 함량을 tannic acid를 기준물질로 하여 측정한 결과 Table 3과 같이 나타내었다. 미나리 농

축물의 폴리페놀 함량이 68 mg/g, 정제물의 폴리페놀 함량이 426 mg/g으로 농축물에 비해 정제물의 폴리페놀 함량이 더 높은 것을 알 수 있었다. 미나리 농축물과 정제물의 항산화능 평가를 보면 폴리페놀 함량이 높아짐에 따라 DPPH radical 소거능과 ABTS radical 소거능과는 상관관계가 있다(27)는 보고와 일치함을 알 수 있다.

총당, 환원당 측정

미나리 농축물과 정제물의 총당 및 환원당 분석 결과는 Table 3과 같다. 미나리 농축물은 정제물에 비해 총당 함량이 높았으며, 각각 586 mg/g, 230 mg/g으로 나타났다. 정제물이 농축물에 비해 약 2.5배 당 함량이 낮았으며 이는 정제과정에서 제거되었음을 확인 할 수 있다.

환원당이란 반응성이 있는 알데히드와 케톤기를 갖고 금속염 알칼리용액을 환원시키는 단당류와 이당류의 총칭이다(28).

미나리 농축물과 정제물의 환원당 함량 농축물이 294 mg/g, 정제물이 156 mg/g으로 농축물이 정제물에 비해 약 2배정도 환원당 함량이 높은 것으로 확인되었다.

Table 3. Total polyphenol, total sugar and reducing sugar content from WDE and WDP

Extracts ¹⁾	Total phenolic content (mg/g Tannic acid equiv)	Total sugar (mg/g Sucrose equiv)	Reducing sugar (mg/g Dextrose equiv)
	WDE	68.49±0.65 ²⁾	585.98±1.66
WDP	426.41±0.63	230.58±3.15	156.43±1.41

¹⁾water dropwort extract : WDE, water dropwort purification : WDP

²⁾All values are mean ± S.D. (n=3)

GOT, GPT 측정

에탄올은 간세포를 손상시켜 간세포의 생화학적 대사과정에 여러 변화를 초래하게 되므로 혈액성분의 변화도 초래한다. GOT와 GPT는 간에 있는 효소

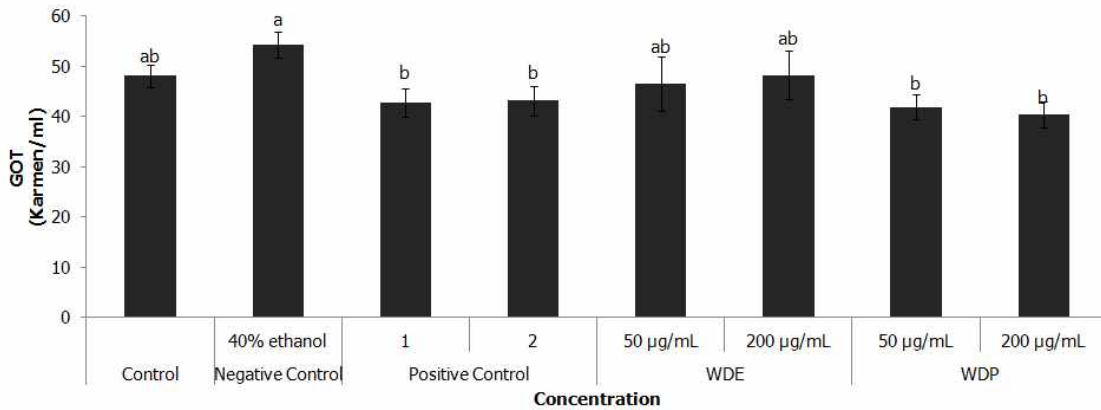


Fig. 2 Effects of GOT activity on plasma from WDE and WDP in ethanol administrated rats.

Mean \pm S.E. (n=6). Different letters above the bar indicate significantly different by Duncan's multiple range test ($p < 0.05$). Control : only water, Negative control : 40% ethanol, Positive control 1 : positive control 1 rats administered with both ethanol and commercial hanover drink1, Positive control 2 : positive control 2 rats administered with both ethanol and commercial hanover drink2, WDE : water dropwort extract, WEP : water dropwort purification. Experimental samples were orally administered (15 mL/kg body weight). After 30 minutes of administration, ethanol was orally administered by using an oral feeding tube. Rats administered with ethanol consumed a 40% ethanol solution to give a total intake of 10 mL/kg body weight.

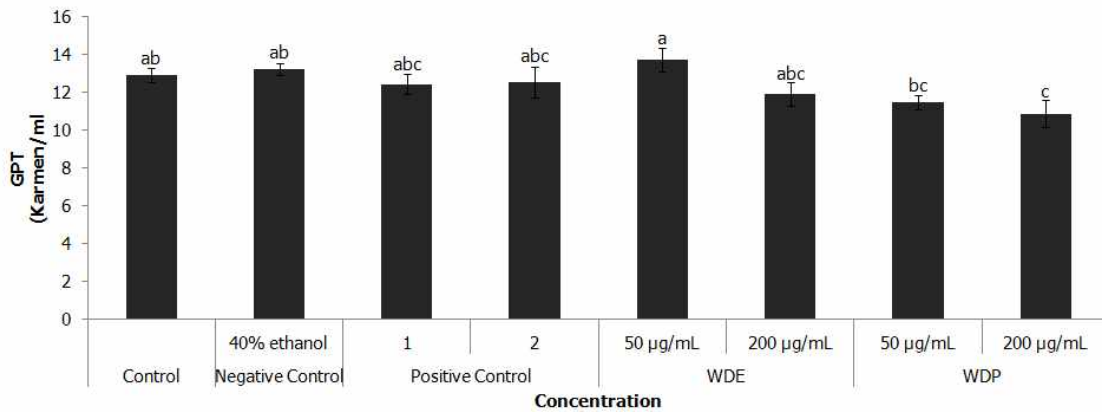


Fig. 3 Effects of GPT activity on plasma from WDE and WDP in ethanol administrated rats.

Mean \pm S.E. (n=6). Different letters above the bar indicate significantly different by Duncan's multiple range test ($p < 0.05$). Control : only water, Negative control : 40% ethanol, Positive control 1 : positive control 1 rats administered with both ethanol and commercial hanover drink1, Positive control 2 : positive control 2 rats administered with both ethanol and commercial hanover drink2, WDE : water dropwort extract, WEP : water dropwort purification.

로 그 활성치가 증가하면 간기능이 저하되었음을 알려주므로 간질환의 판정효소로 알려져 있다(29)

혈청 내 GOT, GPT 활성치는 Fig 2와 Fig 3과 같이 나타내었다. GOT 활성측정 결과 알코올 비투여군과 알코올 투여군은 유의적으로 차이가 나타나지는 않았다. 또한 미나리 농축물군과 알코올 비투여군과도 유의적인 차이를 보이지 않았으나 미나리 정제물군에서 GOT 효소활성도가 투여군에 비해 낮아지는 경향을 보이며 유의적인 차이를 나타내었다.

GPT도 GOT와 마찬가지로 알코올 비투여군과 투여군 간의 유의적인 차이를 나타내지 않았으며, 미나리 정제물군에서는 알코올 투여군에 비해 낮아지는 경향을 보여 유의적인 차이를 나타내었다. 비투여군과 투여군 간의 유의적인 차이를 나타내지 않는 것은 알코올 단독투여로는 간 손상의 생화학적 지표가 변화하지 않는다는 것을 의미하며, 시료 또한 간 기능에 영향을 미치지 않는 것으로 사료된다.

ALP 활성치 측정

ALP는 간 이외에도 뼈, 소장, 신장, 태반 등에서도 발견되며, ALP의 증가는 모든 범주의 간질환 및 담도 세포의 폐쇄 및 담즙 정체성 등의 간질환을 예상할 수 있는 지표로 알려져 있다(30).

ALP 활성치 측정 결과는 Fig 4와 같이 나타내었다. ALP 활성치는 알코올 투여군이 44.36 K-A, 비투여군이 40.23 K-A로 투여군이 비투여군에 비해 높은 활성치를 나타내었으나 유의적인 차이를 나타내지 않았다. 미나리 농축물 또한 비투여군과 같거나 낮은 경향을 보였으나 유의적인 수준에서는 차이가 나타나지 않았으며, 미나리 농축물 200 µg/mL에서 38.06 K-A로 알코올 투여군과 유의적인 차이를 나타내었다. 반면, 미나리 정제물은 알코올 투여군에 비해 낮은 농도를 나타내었으며 유의적인 차이를 나타내었다.

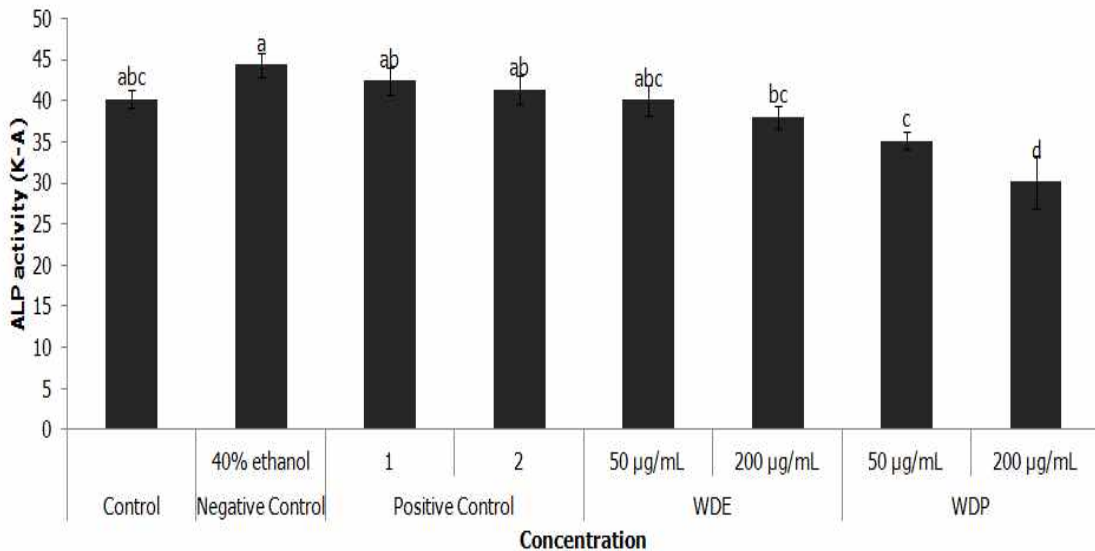


Fig. 4 Effects of ALP activity on plasma from WDE and WDP in ethanol administrated rats.

Mean ± S.E. (n=6). Different letters above the bar indicate significantly different by Duncan's multiple range test (p<0.05). Control : only water, Negative control : 40% ethanol, Positive control 1 : positive control 1 rats administered with both ethanol and commercial hanover drink1, Positive control 2 : positive control 2 rats administered with both ethanol and commercial hanover drink2, WDE : water dropwort extract, WEP : water dropwort purification.

γ-GTP 활성치 측정

γ-GTP 활성치 측정 결과는 Fig 5와 같이 나타내었으며, 이는 신장, 췌장, 간, 담도를 비롯한 여러 장기에 분포하고 특히 담즙을체성 질환, 알코올성이나 약물에 의한 간 장애 등에서 높은 활성치를 보이는 효소이다(31).

γ-GTP 활성치 측정 결과 미나리 농축물과 정제물 모두 알코올 투여군과 유의적인 차이를 나타내지 않았으나, 농축물과 정제물 200 μg/mL에서 다소 감소하는 경향을 보였다. 이는 단회경구투여로 γ-GTP의 활성치의 변화가 뚜렷하게 나타나지 않는 것으로 생각되며, 단회경구투여로는 간기능에 영향을 미치지 않는 것으로 사료된다.

알코올 및 아세트알데히드 농도

미나리 농축물과 정제물을 흰쥐에게 투여하고 알코올을 30분 후에 경구투여 한 후 시간 경과에 따른 혈액 중 알코올 농도를 Fig 6에 나타내었다. 혈액 중 알코올 농도는 1시간 경과 후 미나리 농축물은 알코올 투여군과 크게 차이가 없었으나 미나리 정

제물의 경우 알코올 투여군에 비해 감소한 것을 확인할 수 있었다. 특히 미나리 정제물의 경우 3시간 이후부터 알코올 투여군에 비해 현저하게 감소하는 것을 볼 수 있었다. 5시간 후의 알코올 단독 투여군의 혈중 알코올 농도는 2.28 g/L였으나 미나리 정제물 50 μg/mL, 200 μg/mL의 처리군에서는 혈중알코올 농도가 각각 2.28 g/L, 2.28 g/L로 나타났다.

아세트알데히드는 체내에 들어간 알코올이 분해되면서 생기게 된다. 아세트알데히드는 aldehyde dehydrogenase (ALDH)에 의해 acetate로 대사되며 과잉으로 생성될 시 혈류를 통하여 뇌와 간장으로 이동하여 ALDH의 활성을 약화시키고 숙취의 원인이 되는 것으로 알려져 있다(32). 미나리 농축물과 정제물의 아세트알데히드 농도는 Fig 7에 나타내었다. 아세트알데히드는 대체적으로 3시간이 지나면서 감소하는데 특히 미나리 샘플에서 현저하게 나타났다. 그 중에서도 미나리 정제물 200 μg/mL에서 알코올 섭취 1시간에서부터 낮은 농도를 나타내는 현상을 볼 수 있었다.

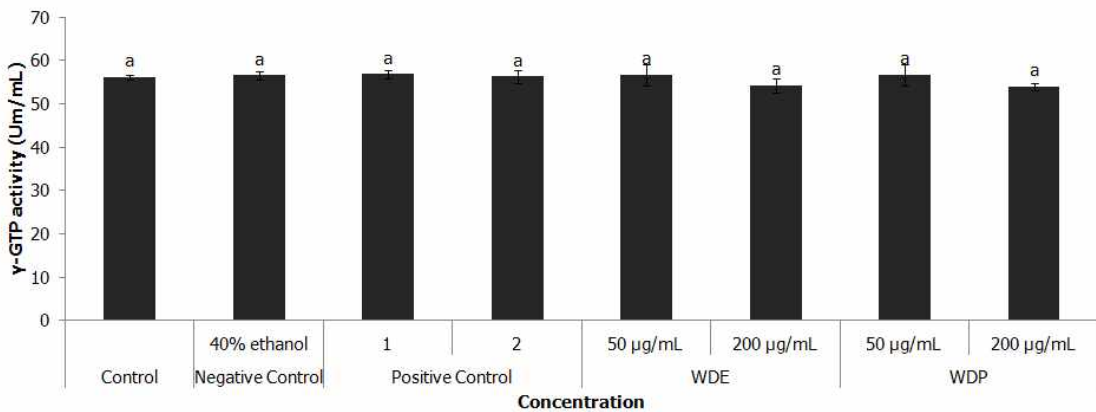


Fig. 5 Effects of γ-GTP activity on plasma from WDE and WDP in ethanol administrated rats.

Mean ± S.E. (n=6). Different letters above the bar indicate significantly different by Duncan's multiple range test (p<0.05). Control : only water, Negative control : 40% ethanol, Positive control 1 : positive control 1 rats administered with both ethanol and commercial hanover drink1, Positive control 2 : positive control 2 rats administered with both ethanol and commercial hanover drink2, WDE : water dropwort extract, WEP : water dropwort purification.

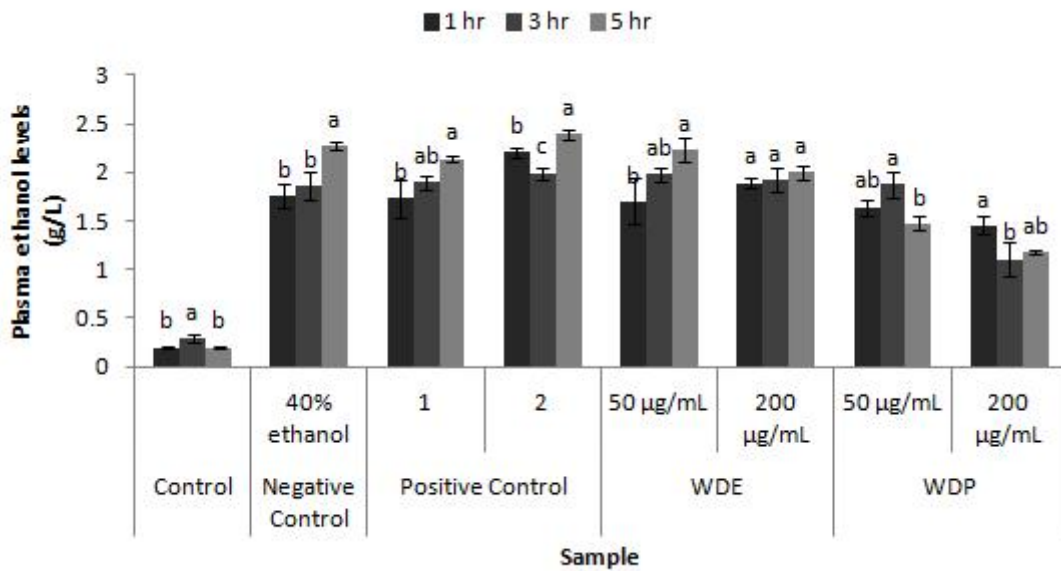


Fig. 6 Effects of ethanol levels on plasma from WDE and WDP in ethanol administrated rats.

Mean ± S.E. (n=6). Different letters above the bar indicate significantly different by Duncan's multiple range test (p<0.05). Control : only water, Negative control : 40% ethanol, Positive control 1 : positive control 1 rats administered with both ethanol and commercial hanover drink1, Positive control 2 : positive control 2 rats administered with both ethanol and commercial hanover drink2, WDE : water dropwort extract, WEP : water dropwort purification

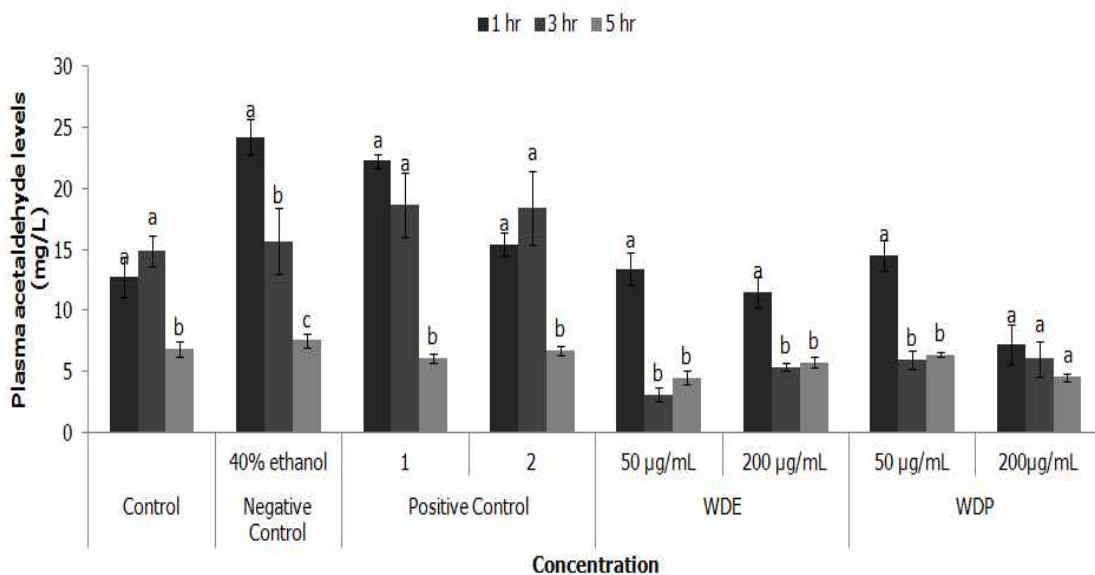


Fig. 7 Effects of acetaldehyde levels on plasma from WDE and WDP in ethanol administrated rats.

Mean ± S.E. (n=6). Different letters above the bar indicate significantly different by Duncan's multiple range test (p<0.05). Control : only water, Negative control : 40% ethanol, Positive control 1 : positive control 1 rats administered with both ethanol and commercial hanover drink1, Positive control 2 : positive control 2 rats administered with both ethanol and commercial hanover drink2, WDE : water dropwort extract, WEP : water dropwort purification.

ADH 및 ALDH 활성 측정

알코올은 체내에서 ADH에 의해 acetaldehyde가 되며, 이는 ALDH에 의해 acetic acid 및 CO₂ 등으로 배설된다(33). 특히 acetaldehyde는 알코올 섭취로 인한 세포상해 및 숙취를 유발하는 물질로(34), 체내

에서 단백질 등과 같은 구성성분과 결합하여 체기능을 약화시켜 미토콘드리아의 기능저해로 인한 간질환, 아세트알데히드 탈수소효소의 활성도 감소 등과 같은 독성을 지닌 것으로 알려져 있다(35,36) 미나리 농축물과 정제물의 ADH 활성 측정 결과

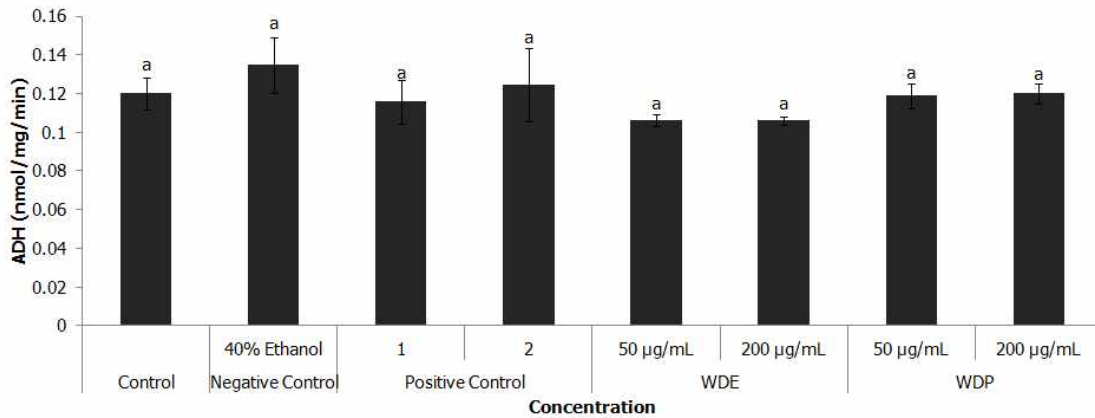


Fig. 8 Effects of ADH activity on hepatic from WDE and WDP in ethanol administrated rats.

Mean ± S.E. (n=6). Different letters above the bar indicate significantly different by Duncan's multiple range test (p<0.05). Control : only water, Negative control : 40% ethanol, Positive control 1 : positive control 1 rats administered with both ethanol and commercial hanover drink1, Positive control 2 : positive control 2 rats administered with both ethanol and commercial hanover drink2, WDE : water dropwort extract, WEP : water dropwort purification.

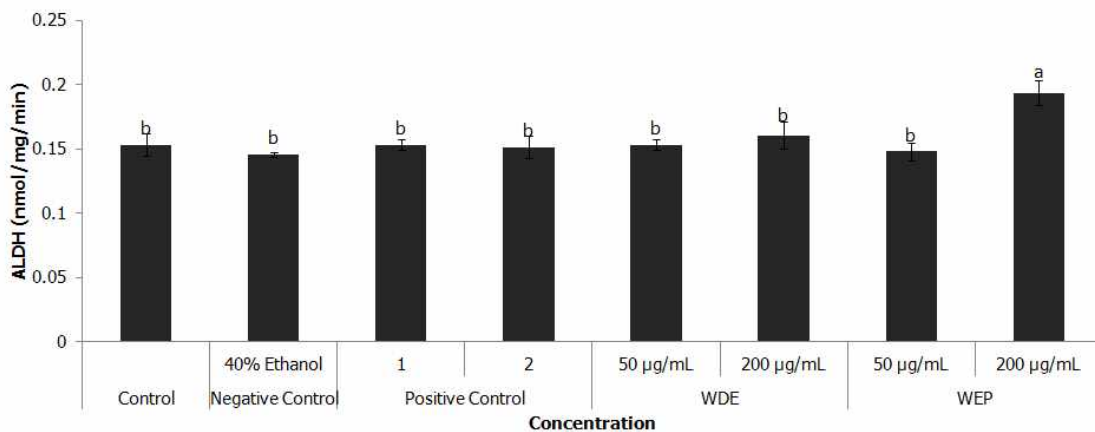


Fig. 9 Effects of ALDH activity on hepatic from WDE and WDP in ethanol administrated rats.

Mean ± S.E. (n=6). Different letters above the bar indicate significantly different by Duncan's multiple range test (p<0.05). Control : only water, Negative control : 40% ethanol, Positive control 1 : positive control 1 rats administered with both ethanol and commercial hanover drink1, Positive control 2 : positive control 2 rats administered with both ethanol and commercial hanover drink2, WDE : water dropwort extract, WEP : water dropwort purification.

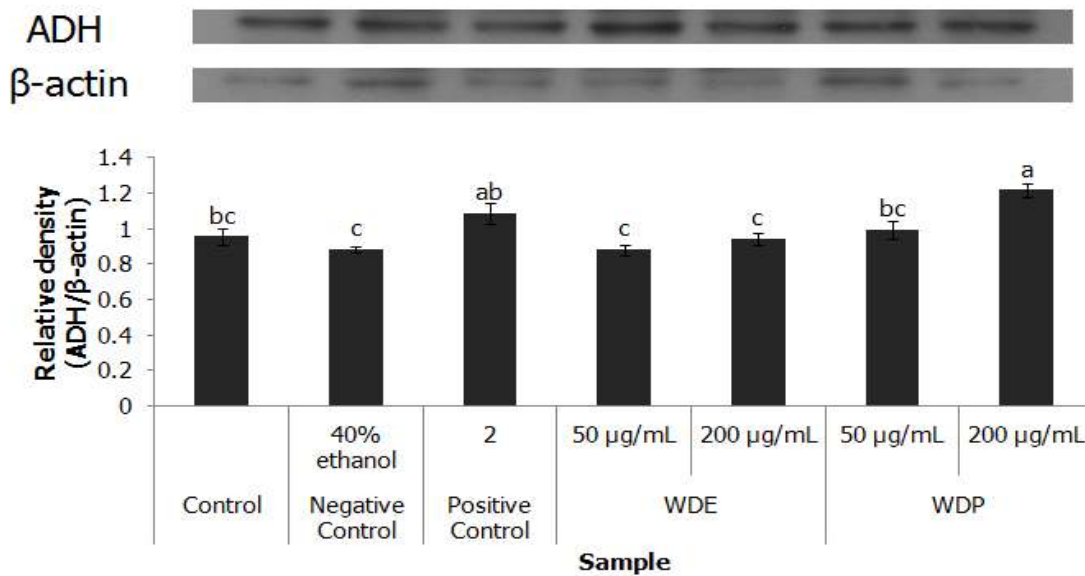


Fig. 10 Effect of WDE and WDP on the expression of ADH in ethanol administrated rats.

Mean \pm S.E. (n=3). Different letters above the bar indicate significantly different by Duncan's multiple range test ($p < 0.05$). Control : only water, Negative control : 40% ethanol, Positive control 2 : positive control 2 rats administered with both ethanol and commercial hanover drink2, WDE : water dropwort extract, WEP : water dropwort purification.

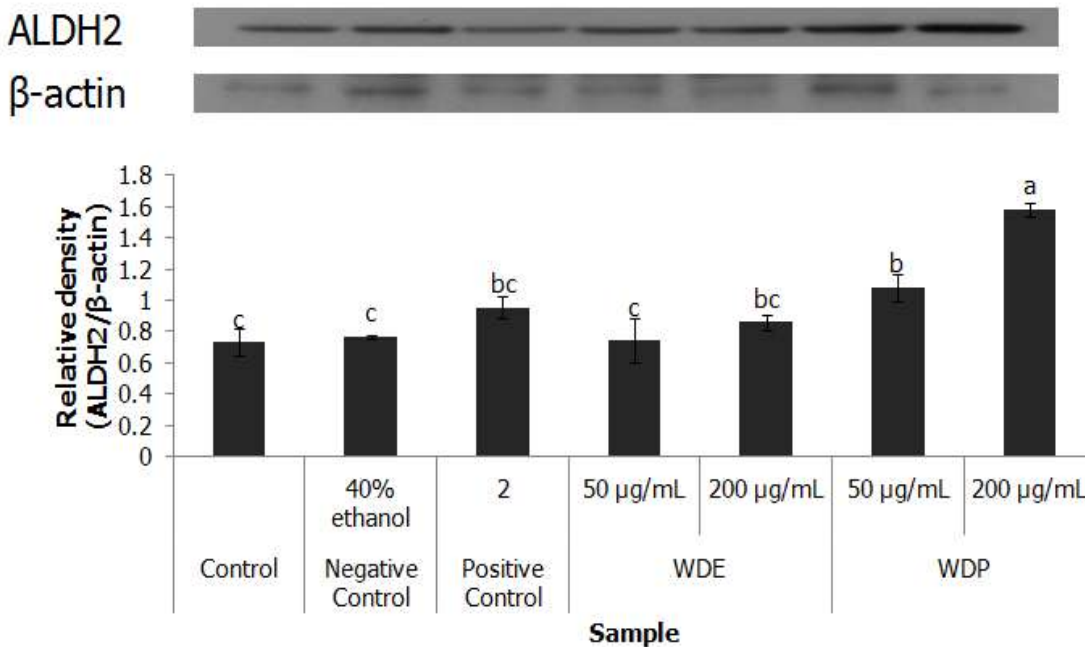


Fig. 11 Effect of WDE and WDP on the expression of ALDH2 in ethanol administrated rats.

Mean \pm S.E. (n=3). Different letters above the bar indicate significantly different by Duncan's multiple range test ($p < 0.05$). Control : only water, Negative control : 40% ethanol, Positive control 2 : positive control 2 rats administered with both ethanol and commercial hanover drink2, WDE : water dropwort extract, WEP : water dropwort purification.

는 Fig 8과 같이 나타났다. ADH 활성은 전반적으로 샘플간에 유의적인 차이를 나타내지 않았으며, 앞서 알코올 농도 측정 결과 미나리 농축물과 정제물이 알코올 함량을 낮추는 거에 비해 ADH 활성은 그리 높지 않은 것으로 나타났다. 생체가 알코올을 급성 혹은 소량 섭취할 경우 ADH 또는 cytochrome P450(CYP450)에 의해서 대사 되는데(37) 미나리 농축물과 정제물의 경우 ADH 활성은 낮으나 혈액 속 알코올 함량을 낮추는 것으로 보아 ADH 외 CYP450에 의해 알코올 함량이 낮아지는 것으로 사료된다.

Fig 9는 ALDH 활성 측정 결과를 나타낸 것으로 대조군과 알코올 투여군이 샘플군과 대체적으로 유의적인 차이를 나타내지 않았다. 다만 그 중에서도 미나리 정제물 200 µg/mL이 다른 샘플과 유의적으로 차이를 보이며 높은 수준의 활성을 나타내었다. 실제로 아세트알데히드 농도 측정 결과 미나리 정제물 200 µg/mL에서 가장 낮은 수준을 나타내었으며, ALDH 활성이 유의적으로 차이가 없는 나머지 그룹은 전체적으로 비슷하게 나타난 것을 확인 할 수 있었다.

Western blot을 통한 ADH 및 ALDH 단백질 발현 양상

알코올은 섭취 후 ADH 효소에 의해 아세트알데히드가 되고 이후 ALDH2 효소에 의해 아세트산으로 산화된다(38). 음주 후 안면과 신체가 홍조, 반점 등을 나타내는 사람은 주로 ALDH2 효소활성의 결함에 따른 아세트알데히드의 축적과 관련이 있다(39). ADH와 ALDH 효소 활성 측정 결과를 바탕으로 ADH 및 ALDH2의 단백질 발현 양상을 측정 하여 Fig 10과 같이 나타내었다. 미나리 농축물의 ADH 발현은 알코올 투여군과 유의적인 차이를 나타내지 않았으나 미나리 정제물의 경우 알코올 투여군과 유의적인 차이를 나타내었으며, 대조군과 농축물에 비해서도 ADH 발현이 많이 되는 것으로

나타났다. ADH 효소 활성 측정시 샘플간에 유의적인 차이를 보이지는 않았으나 ADH 발현 양상의 차이를 보이는 결과가 나타나 추후 보강실험을 해보아야 할 것으로 사료된다.

미나리 샘플의 ALDH2 발현양상은 농축물에 비해 정제물이 높게 나타나는 경향을 보였다. 미나리 농축물은 대조군이나 알코올 투여군과 유의적인 차이를 나타내지 않았으며, 미나리 정제물 중 200 µg/mL에서 발현양상이 높게 나타나는 것을 확인 할 수 있었다. 실제로 ALDH 효소 활성 측정 결과 미나리 정제물에서 효소 활성이 높게 나온 것을 알 수 있었고, 특히 미나리 정제물 200 µg/mL에서 가장 높게 나온 것을 확인 할 수 있었다.

미나리의 가공식품개발방향

현재 미나리는 보편적으로 가공되지 않고 대부분이 생채로 판매 되고 있지만, 일부는 미나리 역기스, 미나리 효소액, 미나리 가루, 미나리청과 말린 미나리의 형태로 판매되고 있다. 이외에도 미나리 추출물을 함유한 샴푸나 주방세제가 일부지역에서 판매되고 있으며, 최근에는 미나리절임, 짬, 막걸리, 고추장 등이 판매되고 있지만 판매실적은 매우 제한적이다.

미나리 가공제품의 개발 및 판매를 성공적으로 수행하기 위해서는 미나리 고유의 풍미와 건강증진 효능을 잘 활용하여 이를 기반으로 한 제품을 개발하고 정확한 소비계층과 틈새시장을 개발할 필요가 있다. 현재까지 알려진 미나리의 건강증진효능은 숙취개선효능을 포함한 간기능개선효과와 혈중지질 및 콜레스테롤 개선효능, 항산화 및 항돌연변이 효능 등이 있다. 미나리의 숙취개선효능은 우리나라 특유의 음주문화와 함께 숙취개선음료시장에서의 틈새시장을 개척할 여지가 충분히 있으므로, 미나리 추출물을 활용한 음료 및 과립제품, 주류첨가제 등의 개발과 효능에 대한 충분한 과학적인 근거를 제시할 경우 향후 우수한 상품성을 가질 것으로 기

대 된다. 또한 미나리를 활용한 스낵제품의 경우 간식용 제품이나 술안주로서의 효용가치가 높을 것으로 판단 된다. 특히 미나리 유당 및 유과 제품의 경우 관능적인 측면에서 소비자 선호도가 우수한 것으로 나타났다. 또한 혈중지질 및 콜레스테롤 개선효능과 간기능개선효능을 기반으로 미나리 분말을 활용한 선식이나 생채즙 제품 등의 개발 가능성도 높은 것으로 판단된다. 또한 미나리 생체 및 추출물의 발효 및 효소처리공정을 활용할 경우 가용성식이섬유강화와 미생물유래성분에 의한 면역증진 효능 및 지질대사개선 효능이 우수한 제품을 개발할 수 있다.

미나리 가공 및 추출을 위한 공정기술로서는 다양한 분쇄건조 등의 기술들이 활용 될 수 있다. 특히 미나리의 효능 및 추출수율을 극대화하기 위하여 추출용매 및 조건의 최적화가 선행되어야 한다. 또한 섬유소 분해효소등의 전처리를 통하여 활성성분의 추출수율을 개선할 뿐 아니라, 추출물의 침전도 방지할 수 있다. 최근 초고압분쇄기술 등을 사용할 경우 비열처리 생채즙 제품도 생산이 가능하며, 이 제품의 경우 미나리 식이섬유의 가용화를 통하여 추출수율의 증대 뿐 아니라 효능개선효과도 부수적으로 거둘 수 있다. 또한 압출성형 및 팽화기술은 미나리를 이용한 스낵 개발에 활용할 수 있는 기술로서 효능성분의 구조변환 및 추출수율 개선에도 효과가 있을 것으로 사료 된다.

참 고 문 헌

1. Choi HB. Alcoholic liver disease. Korean J. Gastroen terol. 53: 275-282 (2009)
2. Forsnder OA, Niels CR. Metabolites produced in the liver during alcohol oxidation. J. Biol. Chem. 235: 34-36 (1969)
3. An SW, Kim YG, Kim MH, Lee BI, Lee SH. Lwon HI, Hwang B, Lee HY. Comparison of hepatic detoxification activity and reducing serum alcohol concentration of *Hovenia dulcis* T_{HUNB} and *Alnus japonica* steud. Korean J. medicinal Crop. Sci. 7: 263-268 (1999)
4. Lieber CS. Alcohol and the liver. Gastroenterology 106: 1085-1105 (1994)
5. Lee EH, Chyun JH. Effects of beta-carotene supplementation on lipid peroxide levels and antioxidative enzyme acivities in alcoholic fatty liver rats. Korean J. Nutr 38: 289-296 (2005)
6. Lieber CS. Alcohol and the liver. 1984 update. Hepatology 4: 1243 (1984)
7. Ronis MJ, Huang J, Crough J, Mercado C, Irby D, Valentine CR, Lumpkin CK, Ingelman-Sundberg M, and Badger TM. Cytochrome P450 CYP 2E1 induction during chronic alcohol exposure occurs by a two-step mechanism assiciated with blood alcohol concentrations in rat. J. Pharmacol Exp. Ther. 264: 944 (1993)
8. Nordmann R, Ribiere C, Rouach II. Implication of free radical mechanisms in ethanol-induced cellular injury. Free Radic. Biol. Med. 12: 219-240 (1992)
9. Lieber CS. Ethanol metabolism, cirrhosis and alcoholism. Clin. Chim. ACTA 397: 9-15 (1997)
10. Park SJ, Lee KS, An HL. Effect of dropwort powder on the quality of castella. J. East Asian Soc. Dietary Life 17: 834-839 (2007)
11. Kim SK. Hangoeul. <http://www.minalee.net> (2007)
12. Park JJ. Hanjaeminari. <http://www.hanjaeminari.co.kr> (2007)
13. Rhee HJ, Koh MS, Choi OJ. A study on the volatile constituents of the water dropwort (*Oenanthe javanica* D.C.). Kor J Soc Food Sci, 4: 386-395 (1995a)

14. Rhee HJ, Jung HS, Kim YD. Changes on the volatile constituents of the water dropwort (*Oenanthe javanica* D.C.) according to seasons. *J Sci Edu*, 4: 175-187 (1995b)
15. Folin O, Denis W. On phosphotungstic-phosphomolybdic compounds as color reagents. *J Biol Chem* 12: 239-249 (1912)
16. Molyneux P. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin J. Sci. Technol.* 26(2): 211-219 (2004)
17. Re RN, Pellegrini A, Pannala M, Yang C, Rice-Evans CA. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biol. Med.* 26: 1231-1237 (1999)
18. Reitman S and Frankel S. A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxaloacetic and glutamic pyruvic transaminase. *Am J Clin Pathol* 28(1): 56-63 (1957)
19. King PRN and King ET. Estimation of plasma phosphatase by determination of hydrolyzed with amino antipyrine. *J Clin Pathol* 7: 332 (1954)
20. Bergmeyer HU. *Methods of enzymatic analysis.* New York, Academic Press: 28, (1974)
21. Koivula T, Koivusalo M. Different from of rat liver aldehyde dehydrogenase and their subcellular distribution. *Biochem Biophys Acta* 397(1): 9-23 (1975)
22. Heo JC, Park JY, An SM, Lee JM, Yun CY, Shin HM, Kwon TK, Lee SH. Antioxidant and antitumor activities of crude extracts by *Gastrodia elata* Blume. *Korean J. Food Preserv.* 13(1): 83-87 (2006)
23. Choi C.S., Kim K. I., Hong H. I., Choi S. Y., Lee Y. C., Kim K. T., Rho J. H., Kim S. S. and Kim Y. C. Phenolic acid composition and antioxidative activity of white ginseng. *J. Ginseng Res.* 30: 22-30 (2006)
24. Jo JE, Kim KH, Yoon MH, Kim NY, Lee C, Yook HS. Quality characteristics and antioxidant activity research of *Halocynthia roretzi* and *Halocynthia aurantium*. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 39: 1481-1486 (2010)
25. Cuvelier ME, Richahard H, Berset C. Antioxidative activity of phenolic composition of pilot plant and commercial extracts of sage and rosemary. *J. Am. Oil. Chem. Soc.* 73: 645-652 (1998)
26. Lee SH, Ro JS, Lee KS, Ahn YJ, Kang SJ, Hwang BY, Park WY, Ahn BT. The phenolic components of *Sapium japonicum*. *Yakhak Hoeji* 40: 183-192 (1996)
27. Kim MJ. Polyphenol and phytat contents and their relationship to antioxidative activity in soybeans. *J. East Asian Soc. Dietary Life.* 19(6): 975~980 (2009)
28. Kim HR, Kim JY, Sung KW, Bae HW, Yi YH. pH, acidity, color, reducing sugar, total sugar, alcohol and organoleptic characteristics of puffed rice powder added Takju during fermentation. *Korean J. Food sci. Technol.* 39: 266-271 (2007)
29. Park GS. Effect of *Ganoderma Lucidum* on the liver function and lipid metabolism in the alcohol consuming rats. major in home economics education. graduate school of education, chungnam national university daejeon, Korea. (1995)
30. Park WD, Hwang JS, Hur JW, Ahn SH, Park SK, Kwak CS. Activities of α -D-mannosidase and β -D-mannosidase in patients with liver diseases. *Korean J. Gastroenterol.* 33: 211-221 (1999)
31. Koh JB and Choi MA. Effect of *Paecilomyces japonica* on lipid metabolism in rat fed high fat diet. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 32(2):

- 238~243 (2003)
32. Noh, KH, Jang JH, Kim JJ, Shin JH, Kim DK, and Song YS. Effect of dandelion juice supplementation on alcohol-induced oxidative stress and hangover in healthy male college students. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 38: 683-693 (2009)
 33. Lieber CS. Liver adaptation and injury in alcoholism. *New Eng J Med.* 288: 356-362 (1973)
 34. French KT. Biochemical basis for alcohol-induced liver injury. *Clin Biochem* 22(1): 41-49 (1989)
 35. Kim CI. Cause and effect of hangover. *Food Indus Nutr* 4(1): 26-30 (1999)
 36. Kim KW, Yang JS, Lee JS, Cho YS, Kang SK, Chung HK. Activity of alcohol dehydrogenase and ethanol, acetaldehyde levels in normal adults blood. *Korean Ind Hyg Assoc J* 4(2): 240-247 (1994)
 37. Sherlock S. *Disease of the liver and biliary system.* Oxford, Blackwell Scientific Publications 8 nd ed (1993)
 38. Kim JS and Kim YJ. Association of ALDH2 polymorphism with sensitivity to acetaldehyde-induced micronuclei and facial flushing after alcohol intake. *Toxicology.* 210(2-3): 169-174 (2005)
 39. Balaska and Nicholas. Drinker's red face may signal cancer risk. *New York Times.* March 23. (2009)