

알코올 대사 효소 alcohol dehydrogenase (ADH) 및 acetaldehyde dehydrogenase (ALDH) 활성에 미치는 아미노산의 영향

차재영 · 정해정 · 정재준 · 양현주 · 김용택 · 이용수*

대선주조(주) 기술연구소

Received September 2, 2009 / Accepted September 8, 2009

Effects of Amino Acids on the Activities of Alcohol Metabolizing Enzyme Alcohol Dehydrogenase (ADH) and Acetaldehyde Dehydrogenase (ALDH). Jae-Young Cha, Hae-Jung Jung, Jae-Jun Jeong, Hyun-Ju Yang, Yong-Taek Kim and Yong-Soo Lee*. Technical Research Institute, Daesun Distilling Co., Ltd. - The present study examined the comparative effects of various amino acids on the alcohol dehydrogenase (ADH) and acetaldehyde dehydrogenase (ALDH) activities of yeast *Saccharomyces cerevisiae* and rat liver homogenate *in vitro*. Methionine showed the highest activity in yeast ADH among the amino acids used in this study, but this was not higher than that of the hangover product, Condition-Power (CP) used as positive control. Methionine was also found to be the best amino acid in terms of the ALDH activity in rat liver homogenate among the treatment amino acids, which was comparatively higher than that of positive control CP. It was chosen for further experiments and yeast ADH activity increased in parallel with increased methionine concentration, but not rat liver ALDH activity, and it was comparatively higher than those of the positive control. Arginine showed the highest values in yeast ALDH and rat liver ADH activities among amino acids, and it was chosen for further experiments. Yeast ALDH activity increased in parallel with increased arginine concentration, which was higher than that of positive control CP, and rat liver ADH activity was also comparatively higher in all treatment concentrations of arginine than that of positive control CP. The native electrophoresis of ADH and ALDH from cell-free extracts of yeast *Saccharomyces cerevisiae* cultured in the growth medium containing various arginine concentrations by 0~0.1% showed two active bands upon zymogram staining analysis, and the straining intensity of ADH and ALDH active bands in arginine treatment yeast was stronger than that of non-yeast or low treatment yeast. These results indicate that alcohol metabolizing enzyme activities can be enhanced by arginine and methionine, suggesting that arginine and methionine have potent ethanol-metabolizing activities.

Key words : Alcohol dehydrogenase (ADH), acetaldehyde dehydrogenase (ALDH), amino acid, arginine, methionine

서 론

최근 사회가 복잡해지고 과중한 업무에서 오는 스트레스를 해소하기 위한 하나님의 방편으로 음주의 기회가 점차 늘어나는 추세에 있다. 우리가 가끔 섭취하고 있는 알코올은 다른 식품과는 달리 체내에 축적되지 못하는 xenobiotics의 한 종류로 acetaldehyde와 같은 분해산물로 인해 산화스트레스에 의한 세포손상과 숙취증상의 주요 원인으로 알려져 있다[22]. 알코올은 섭취량에 따라 간 대사에 여러 가지 영향을 미치게 되는데 알코올 그 자체보다는 산화분해 과정에서 생성된 nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (NADP) 및 acetaldehyde가 생체 내 활성 아민류와 축합 반응을 거쳐 간 손상의 주요 매개체로 작용하는 동시에 뇌로 전해진 acetaldehyde는 많은 유해 화합물로 변화되어 안면홍조, 맥박증가, 오심,

구토 등의 숙취 증상이 나타나는 것으로 알려져 있다[7].

체내에 들어온 알코올의 80~90%는 간 세포에 존재하는 alcohol dehydrogenase (ADH)에 의해 먼저 acetaldehyde로 분해되고, 다시 aldehyde dehydrogenase (ALDH) 효소에 의해 대사되어 acetic acid를 형성한 후 이산화탄소와 물로 가수분해되어 완전히 분해과정을 거치게 된다[22]. 현대인의 알코올 섭취는 과음, 폭음, 잦은 음주 형태의 양상을 보이고 있는데, 이는 음주 후 숙취 해소를 위한 숙취 음료나 약물의 섭취로 이어져 이에 대한 관심 증가와 함께 관련 연구도 많이 수행되었으나 그 효과가 두드러지게 나타나는 경우는 그다지 많지 않았다. 더욱이 우리나라에서 대부분의 음주자들은 갑작스런 폭음에 따른 숙취 해소를 위해 과채류[11], 꿀[6], 복어[12], 한약재[25] 등을 이용하는 민간요법에 대부분 의존하고 있으며, 일부 이들의 혼합 추출물이나 생리활성물질을 침가하여 제조한 제품들이 개발되어 시판되고 있는 실정이다[20].

지금까지 개발된 숙취해소 제품의 대부분은 ADH 효소 활성을 촉진시키는 것에 초점이 맞추어져 있으나, 음주 후 실제

*Corresponding author

Tel : +82-51-730-9201, Fax : +82-51-730-9188

E-mail : e996390@yahoo.co.kr

적으로 느끼는 숙취증상은 acetaldehyde에 의한 것으로 알려져 있어 ALDH 효소 활성을 촉진시키는 것에 초점이 맞추어져야 한다. 따라서 인체에서 가장 바람직한 숙취 해소는 ADH 효소 활성 촉진뿐만 아니라 ALDH 효소 활성도 동시에 촉진시키는 것이라 할 수 있다.

지금까지 아미노산류 중에서 주로 aspartic acid, asparagine, glycine 및 glutamic acid에 국한하여 간 보호 효과 및 알코올 대사에 관련이 있는 것으로 보고 되었으며[9,10,21,28], 이들 중 arginine, aspartic acid 및 glutamic acid는 예로부터 숙취해소 식품으로 잘 알려진 콩나물, 복어 및 영지버섯 추출물의 대부분을 차지하는 주요 아미노산으로 에탄올 간 독성에 대해 보호효과가 있는 것으로 보고된 바 있으나[16], 이처럼 극히 일부 아미노산에 국한하여 알코올 대사에 미치는 영향이 검토되어 있을 뿐이다. 따라서, 본 연구에서는 대체로 물에 잘 녹는 성질을 가지는 아미노산을 이용하여 알코올 대사에 관련된 ADH 및 ALDH 효소 활성에 미치는 영향을 *in vitro* 실험계에서 검토하였으며, 동시에 효소 활성의 비교를 위하여 시판중인 숙취해소 음료를 구입하여 사용하였다.

재료 및 방법

실험 재료

알코올 대사에 관련된 효소인 yeast *Saccharomyces cerevisiae* 유래 ADH 및 ALDH는 Sigma사(Sigma Chemical Co., Saint Louis, Mo., USA)에서, 동결건조 된 S9 rat liver homogenate는 MolTox Co. (North Carolina, USA)에서 구입하였으며, 본 실험에 사용한 아미노산 10종은 Ajinomoto사(Tokyo, Japan) 제품을 구입하여 사용하였다. 숙취해소 음료인 컨디션파워는 CJ제일제당(주)에서 구입 한 후 효소 활성의 양성대조구로 사용하였다.

ADH 효소 활성 측정

효모 유래 및 간 조직 유래의 ADH 활성 측정은 Bergmeyer's의 방법[1]을 약간 변형하여 흡광도 340 nm에서 NADH의 생성 양을 측정하여 대조군에 대한 상대적 활성으로 비교하였다. 즉, 반응액 조성은 증류수 1.4 ml, 1.0 M Tris-HCl buffer (pH 8.8) 0.75 ml, 20 mM NAD⁺ 0.3 ml, ethanol 0.3 ml, 시료 0.1 ml, 효소원 0.15 ml를 cuvette에 넣고 총 3 ml이 되도록 조절하여 30°C에서 5분간 preincubation 시킨 후 5분 동안 340 nm에서 흡광도의 변화를 측정하였다. 이때 시료를 첨가하지 않은 것을 대조구로 하여 상대 활성(%)을 나타내었으며, 양성대조구는 시판중인 숙취해소 음료인 Condition-Power를 사용하였다.

ALDH 효소 활성 측정

효모 유래 및 간 조직 유래의 ALDH 활성 측정은 Koivula 및 Koivusalo의 방법[14]을 약간 변형하여 acetaldehyde에서

acetate를 생성하는 효소로 NAD로부터 NADH를 생성하는 원리를 이용하였다. 즉 반응액의 조성은 증류수 2.1 ml, 1.0 M Tris-HCl buffer (pH 8.0) 0.3 ml, 20 mM NAD⁺ 0.1 ml, 0.1 M acetaldehyde 0.1 ml, 3.0 M KCl 0.1 ml, 0.33 M 2-mercaptoethanol 0.1 ml, 시료 0.1 ml의 혼합액과 효소원 0.1 ml를 총 3 ml이 되도록 조절하여 cuvette에 넣고 30°C에서 5분간 preincubation 한 후, 5분 동안 340 nm에서 흡광도의 변화를 측정하였다. 이때 시료를 첨가하지 않은 것을 대조구로 하여 상대 활성(%)으로 나타내었으며, 양성 대조구는 시판되고 있는 숙취해소 음료인 Condition-Power를 사용하였다.

ADH 및 ALDH 활성 염색

ADH 및 ALDH 활성 염색을 위하여 *Saccharomyces cerevisiae* KCCM 11350 효모 균주를 YPD 배지(yeast extract 2%, polypeptone 1% 및 dextrose 2%)에서 전 배양 시켜 활성화시킨 후 YPD 배지에 arginine을 0~0.1% 농도로 첨가시켜 25°C에서 18시간 본 배양 시켰다. 배양된 효모 균체를 회수한 후 멸균수로 3회 세척한 후 균체만을 회수하여 sonicator에서 세포 파쇄 한 다음 5,000 rpm에서 20분간 원심분리 하여 상등액을 회수 하였다. 세포 파쇄액의 단백질 농도는 bovine serum albumin을 표준물질로 하여 정량하였다[18]. Native polyacrylamide gel electrophoresis는 Gennady의 방법[5]에 따라 효모 유래의 ADH 및 ALDH 단백질을 각각 비변성 7.5% slab-type polyacrylamide gel을 사용하여 Tris-glycine 완충액(25 mM Tris, 192 mM glycine) 하에서 1.5 mA/gel (cm)의 정전류를 통하여 행하고, 4°C에서 전기영동을 하였다. ADH 활성 염색은 0.5 M ethanol, 7 mg/ml NAD⁺, 25 ug/ml phenazine methosulfate (PMS), 2 mg/ml nitro blue tetrazolium chloride (NBTC) 및 60 mM Tris-HCl (pH 8.6)을 함유한 zymogram staining solution으로 25°C에서 1시간 반응시켰으며, 이때 활성 band는 blue band로 나타나는 것을 사진촬영 하였다. 이 때 ALDH 활성 염색은 ethanol 대신에 기질로서 0.5 M acetaldehyde를 사용하고, 나머지 반응은 ADH 활성 염색과 동일하게 하였다.

통계처리

실험으로부터 얻어진 결과는 one-way ANOVA 검정에 의한 평균치와 표준오차($mean \pm S.E.$)로 표시하였다[4].

결과 및 고찰

ADH 활성에 미치는 아미노산의 영향

체내로 흡수된 알코올의 대부분은 위장과 소장에서 흡수되어 간으로 이동된 후 대사과정을 거쳐 분해 되는데, 만성적인 알코올 섭취는 영양소의 흡수장애와 간 기능 손상을 초래할 수 있다[22]. 간에서 대사되는 알코올 분해는 먼저 ADH와 cy-

tochrom P-450에 의해 알코올이 acetaldehyde로 전환되는데, 이때 생성된 acetaldehyde의 독성 작용으로는 맥박 상승, 두통, 구토, 메스꺼움, 안면홍조 등의 일반적인 숙취 증상이 나타날 뿐만 아니라 미토콘드리아 기능 저해로 인한 간 경변, 심장 및 뇌 기능 저해가 보고 되어 있다[7]. 간 조직에서 알코올 대사는 먼저 ADH 활성에 영향을 주는 요인들에 의해 조절될 수 있는데[2,8,24], 지금까지 인삼, 홍삼, 헛개나무, 오리나무, 구기자, 갈근 등의 한방 생약재 추출물에 알코올 해독 작용이 있는 것으로 알려져 왔다[15,17,26]. 또한 콩나물, 미나리, 무, 배추 등의 식물성 식품소재에서도 효모 유래 ADH 활성을 촉진시키는 결과가 보고된 바 있다[11].

숙취해소 음료의 주요 소재로 사용되고 있는 헛개나무 열매 추출물의 경우 실험동물에서 ADH 활성보다 ALDH 활성을 더 촉진시킴으로써 빠르게 acetaldehyde를 분해시켜 숙취해소에 상당히 효과가 있는 것으로 보여 진다[13]. 또한 매실즙과 헛개나무와 유사하게 ADH 및 ALDH 두 효소 모두 활성을 촉진시키는 작용이 있었으며, ADH 활성 촉진 정도는 숙취해소 성분으로 널리 사용되고 있는 쌀배아 추출물인 구루메 5% 첨가농도와 유사한 것으로 보고 되었다[9]. 한편, 매실즙과 매실의 주요 아미노산인 aspartic acid를 첨가하여 ADH 활성을 측정한 결과 매실즙 단독 사용 시 137.9%에 비해 매실즙에 aspartic acid 1% 첨가에 의해 144.3%로 활성이 약간 증가하였고, ALDH 활성은 1% aspartic acid 첨가에 의해 168.4%로 증가하여[9], 매실의 주요 구성 아미노산인 aspartic acid에 의해 서도 숙취해소에 좋은 효과를 얻을 수 있었다고 하였다.

ADH 활성은 Ca^{2+} , Zn^{2+} , Co^{2+} 등과 같은 미네랄 성분에 의해 크게 촉진되거나 재활성화 되는 것으로 알려져 있다[19]. ADH 활성을 촉진시키는데 있어 아미노산 성분들도 매우 중요한 인자로 작용하는데, aspartic acid와 alanine은 NAD^+ 의 재생 촉진에 의한 NAD^+/NADH 비율 증가로 인해 ADH 활성을 높여서 알코올의 분해를 촉진시키고[3,21], asparagine은 acetaldehyde와 반응하여 부가물을 생성하면서 그의 농도를 낮추어 독성을 약화시키는 것으로 보고 되었다[21]. 지금까지 아미노산류 중에서 주로 aspartic acid, asparagine, glycine 및 glutamic acid에 국한되어 간 보호 효과 및 알코올 대사에 관련이 있는 것으로 보고 되었다[10,16,28]. 예로부터 숙취해소 식품으로 잘 알려진 콩나물, 볶어 추출물의 주요 아미노산인 arginine, aspartic acid 및 glutamic acid는 에탄올에 의한 간 보호 효과가 있다고 하였다[11]. 이처럼 많은 종류의 아미노산 중에서 극히 일부 아미노산에 국한하여 알코올 대사에 미치는 영향이 검토되어 있을 뿐이다. ADH 효소의 상대적 활성도는 각 생물 종에 따라 다르게 나타나는데[23], 본 실험에서는 ADH 효소 활성도가 비교적 높은 yeast 및 rat liver 유래의 효소를 사용하여 아미노산 종류별 활성도에 미치는 영향을 검토하였다. Rat liver 유래의 ADH 활성은 아미노산 중에서 arginine 처리구에서 가장 높았으며(Fig. 1), arginine 첨가 농

도를 달리하여 ADH 효소 활성을 측정한 결과에서는 10 mg/ml 농도에서 120.6%로 30 및 50 mg/ml 농도에서 각각 119% 및 118%와 양성대조구의 90.6% 보다 약간 높은 것으로 나타났다(Fig. 2). 한편, ADH 활성은 aspartic acid 0.5% 처리구에서 114.3%인 반면 1%로 처리 농도를 높인 경우에는 107.1%로 고농도에서 오히려 효소 반응 속도가 낮아졌으며, 매실즙에 aspartic acid를 0.5%, 1% 및 1.5%를 첨가 하였을 때 ADH 활성 촉진 효과는 각각 119.8%, 126.3% 및 114.9%로 일정 농도까지는 증가하지만 오히려 고 농도에서는 활성이 낮아지는 경향을 보여 본 실험에서 arginine 첨가도 이와 유사한 작용으로 인해 10 mg/ml 이상의 농도에서는 ADH 활성이 더 이상 촉진되지 않는 것으로 사료되어 진다[9]. Yeast 유래의 ADH 활성 측정에서는 처리된 아미노산 중에서 methionine 처리구에서 156.1%로 가장 높은 활성을 보였으나, 양성대조구의 165.8% 보다는 모두 약간 낮은 활성을 나타내었다(Fig. 3). 따라서 yeast 유래의 ADH 활성 측정에서 methionine의 처리 농도를 달리한 결과, 10, 30 및 50 mg/ml 농도에서 각각

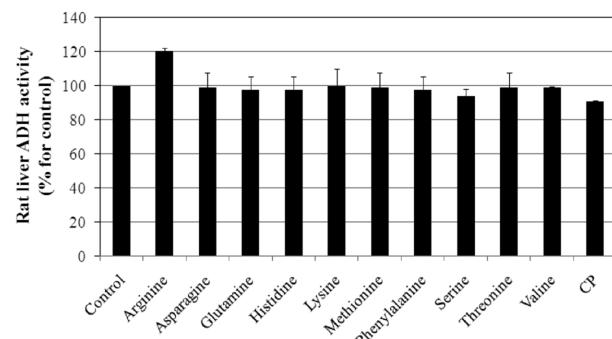


Fig. 1. Effects of water-soluble amino acids and hangover product Condition Power (CP) on the alcohol dehydrogenase (ADH) activity from rat liver homogenate. Values are mean \pm standard deviation ($n=3$).

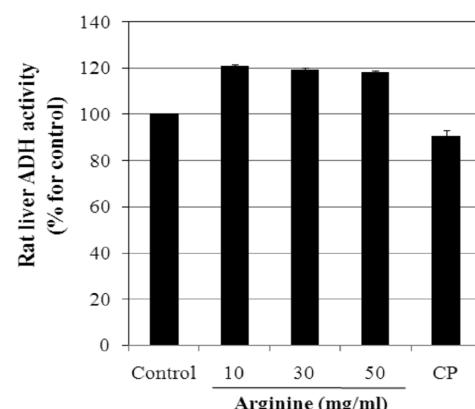


Fig. 2. Effects of various arginine concentrations and hangover product Condition Power (CP) on the alcohol dehydrogenase (ADH) activity from rat liver homogenate. Values are mean \pm standard deviation ($n=3$).

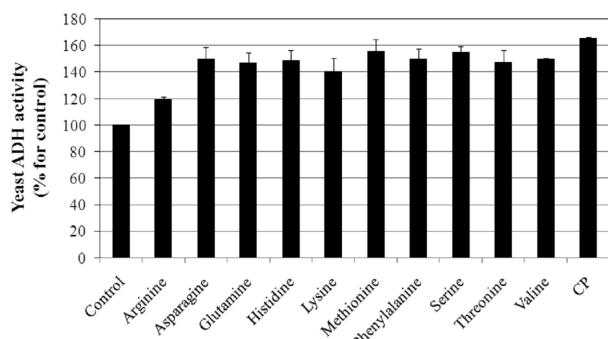


Fig. 3. Effects of water-soluble amino acids and hangover product Condition Power (CP) on the alcohol dehydrogenase (ADH) activity from yeast *Saccharomyces cerevisiae*. Values are mean \pm standard deviation ($n=3$).

156.3%, 190.6% 및 215.6%로 농도 의존적으로 증가하는 경향을 보였으며, 30 및 50 mg/ml 처리 농도에서는 양성대조구의 165.8% 보다 높은 활성을 나타내었다(Fig. 4).

ALDH 활성에 미치는 아미노산의 영향

체내에 들어온 알코올의 대부분은 간 세포의 ADH 효소에 의해 acetaldehyde로 신속히 분해된 다음 ALDH 효소에 의해 산화분해 되는 과정을 거치게 된다[22]. 음주 후 실제적으로 느끼는 숙취 증상은 acetaldehyde의 독성 작용에 의한 것으로 가장 바람직한 숙취 해소는 ALDH 효소 활성을 좀더 촉진시키는데 초점이 맞추어져야 한다. 따라서 acetaldehyde의 분해에 직접적인 영향을 미치는 ALDH 효소 활성에 미치는 각 아미노산의 영향을 검토하였다. Rat liver 유래의 ALDH 활성에 대한 각 아미노산의 영향을 검토한 결과(Fig. 5), 10종의 아미노산류 중에서는 methionine 처리구에서 가장 높은 활성을 보였다. Methionine의 첨가 농도별 측정에서는 10 mg/ml에서 30 및 50 mg/ml 첨가 농도에서 보다 높은 활성을 보였으

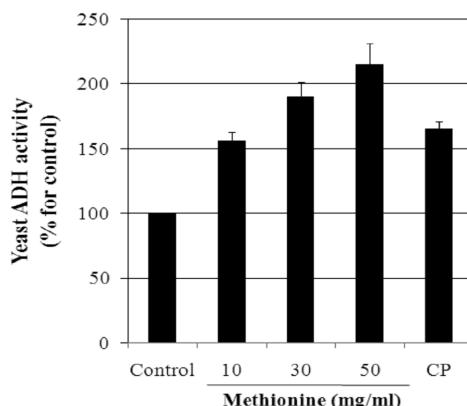


Fig. 4. Effects of various methionine concentrations and hangover product Condition Power (CP) on the alcohol dehydrogenase (ADH) activity from yeast *Saccharomyces cerevisiae*. Values are mean \pm standard deviation ($n=3$).

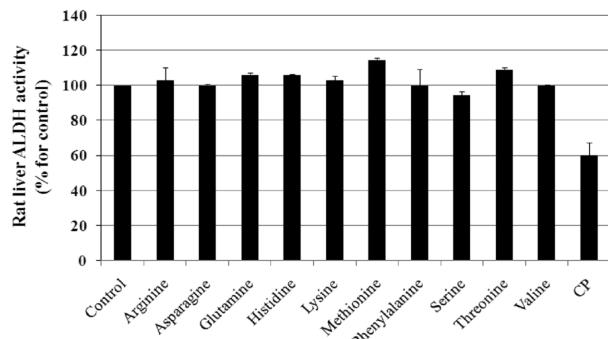


Fig. 5. Effects of water-soluble amino acids and hangover product Condition Power (CP) on the acetaldehyde dehydrogenase (ALDH) activity from rat liver homogenate. Values are mean \pm standard deviation ($n=3$).

나, 이들 모든 처리 농도에서 ALDH 활성은 양성대조구 보다 상당히 높은 활성을 보였다(Fig. 6). 한편 yeast 유래의 ALDH 활성 측정에서는 각 아미노산별 큰 차이는 없었으나, arginine에서 높은 활성을 보였다(Fig. 7). Arginine의 첨가 농도별 측정에서는 처리 농도 의존적으로 yeast 유래의 ALDH 활성이 약간씩 증가하는 경향을 보였으며, 양성대조구 보다 높은 활성을 나타내었다(Fig. 8). 이처럼 본 연구에 사용한 아미노산 중에서는 arginine과 methionine 처리에 의해서 ADH 또는 ALDH 활성을 촉진시키는 것으로 나타났는데, 본 연구자들의 선행 연구에서 arginine을 70% 이상 차지하고 있는 홍삼을 알코올 급여 훈취에 투여한 결과에서도 간 조직 중의 ALDH 활성을 촉진시킨 것은 물론, *in vitro* 실험계에서도 홍삼 추출물에서 yeast 유래의 ALDH 활성을 촉진시키는 결과를 얻은 바 있어 본 실험 결과와 일치하였다(data not shown).

Arginine 처리에 따른 효모 ADH 및 ALDH 활성 염색

아미노산 중에서 arginine이 효모 유래의 ALDH 효소와 rat

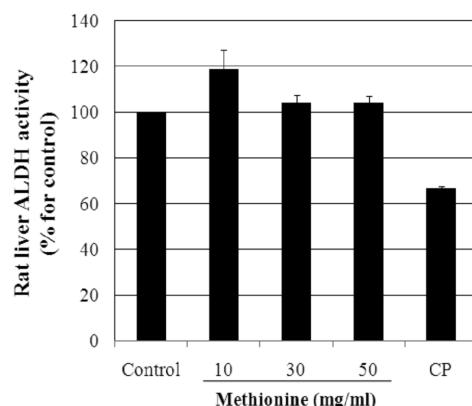


Fig. 6. Effects of various methionine concentrations and hangover product Condition Power (CP) on the acetaldehyde dehydrogenase (ALDH) activity from rat liver homogenate. Values are mean \pm standard deviation ($n=3$).

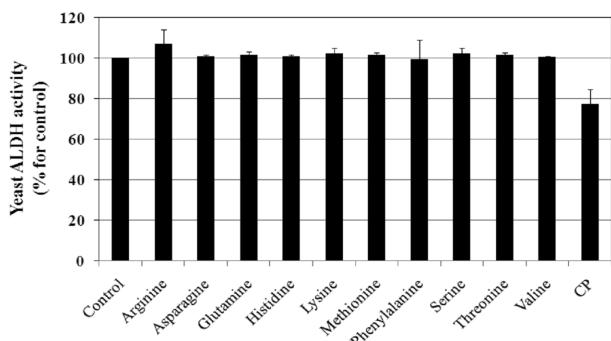


Fig. 7. Effects of water-soluble amino acids and hangover product Condition Power (CP) on the acetaldehyde dehydrogenase (ALDH) activity from yeast *Saccharomyces cerevisiae*. Values are mean \pm standard deviation ($n=3$).

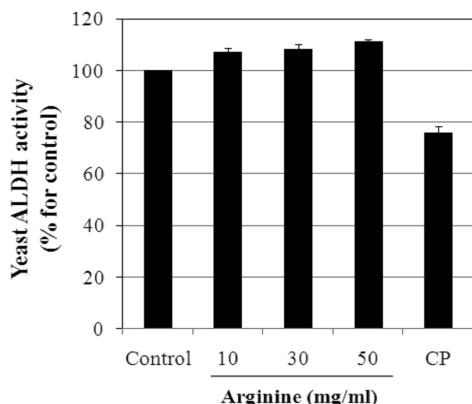


Fig. 8. Effects of various arginine concentrations and hangover product Condition Power (CP) on the acetaldehyde dehydrogenase (ALDH) activity from yeast *Saccharomyces cerevisiae*. Values are mean \pm standard deviation ($n=3$).

liver 유래의 ADH 활성을 촉진시키는 효과가 있었으며, 이러한 효소 활성 차이는 효소의 질적 또는 양적 차이 이거나 isozyme의 차이에 의한 것으로 사료되기 때문에 이러한 가능성 을 알아보기 위하여 zymogram staining 방법으로 확인하였다. YPD 배지에 arginine을 0~0.1% 농도로 첨가시켜 배양한 효모 균체에서 ADH 활성 염색은 두 개의 주요 벤드로 나타났으며, 활성 염색 정도는 arginine 무첨가 또는 저농도(0.005%) 첨가에 비해 0.01% 이상의 첨가 농도에서 진하게 나타나 효소 활성의 증가 결과와 일치하는 결과를 얻을 수 있었다(Fig. 9). ALDH 활성 염색에서도 ADH와 유사한 결과를 얻었다(Fig. 9). 다만 arginine 0.01% 이상의 첨가 농도에서는 ADH 및 ALDH 모두 활성 염색 정도가 약간씩 낮아지는 경향을 보였는데, 이에 대한 정확한 기작과 적정 첨가 농도에 대해서는 추가적인 실험이 뒤따라야 할 것으로 사료되어 진다. 한편, ADH 활성 염색의 경우 고온성 알코올 발효 효모인 *S. cerevisiae* RA-74-2 및 중온성 *S. cerevisiae* D 균주에서는 2개의 주요 벤드가 각각 나타났으며, *S. cerevisiae* D 균주는 30°C 배양

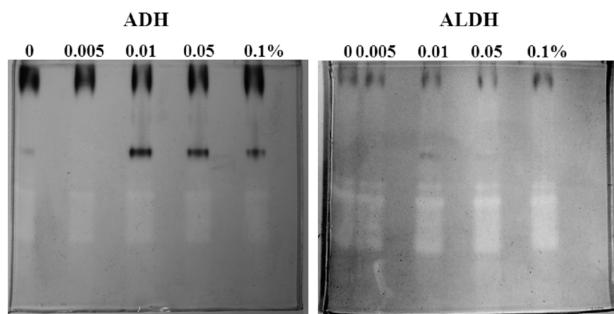


Fig. 9. Alcohol dehydrogenase (ADH; left) and acetaldehyde dehydrogenase (ALDH; right) activities zymogram band patterns from cell-free extracts of yeast *Saccharomyces cerevisiae* cultured in the growth medium containing various arginine concentrations by 0~0.1% (w/v).

보다 37°C 배양에서 전체적인 활성 염색 정도가 감소하였으나, *S. cerevisiae* RA-74-2 균주의 경우는 배양 온도에 의한 차이는 없었다고 하였다[27]. 또한 고온성 알코올 발효 효모인 *Kluyveromyces marxianus* RA-192 균주의 ADH 활성 염색 정도는 *S. cerevisiae*와 다른 양상을 보여 *Kluyveromyces marxianus* 특유의 ADH 효소계를 갖고 있는 것으로 보여 진다. 따라서 효모 유래 ALDH 효소 활성을 촉진시키는 작용을 가진 arginine을 효모 배양에 첨가시킬 경우 세포 내 ALDH 활성 염색 정도가 증가함으로써 arginine은 ALDH 활성을 촉진시키는 효능이 *in vivo* 실험계에서 재확인되는 결과를 얻을 수 있었다.

이상의 실험 결과에서 아미노산류 중 arginine과 methionine이 ADH 및 ALDH 활성을 촉진시키는 작용에 의해 알코올 분해뿐만 아니라 알코올 산화분해 과정에서 생성되는 acetaldehyde의 분해도 촉진시킬 가능성이 높아 숙취 해소 효과는 물론 간 보호 효과도 있을 것으로 시사 되어 진다. 따라서 arginine과 methionine을 주류 제품에 첨가하게 될 경우 숙취 해소 경감과 간 보호 효능을 동시에 가질 수 있을 가능성을 보였다.

요약

본 연구에서는 숙취해소에 좋은 것으로 알려진 식품 소재의 주요 아미노산을 포함하여 효소 활성에 영향을 미치는 것으로 알려진 아미노산을 선택하였고, 효소 활성도가 상대적으로 높은 yeast와 rat liver 유래의 ADH 및 ALDH 효소를 대상으로 알코올 대사에 관련된 효소 활성의 촉진 효과에 대하여 검討하였다. Rat liver 유래의 ADH 활성은 처리한 아미노산 중에서 arginine에서 가장 높았다. Arginine의 첨가 농도를 달리하여 효소 활성을 측정한 결과 10~50 mg/ml 농도에서 118~120.6%로 양성대조구의 90.6% 보다 약간 높은 것으로 나타났다. 또한, yeast 유래의 ADH 활성은 methionine에서 가장 높은 활성을 보였고, methionine의 처리 농도를 달리한 경우에

서는 첨가 농도 의존적으로 높은 활성을 보였다. Rat liver 유래의 ALDH 활성은 methionine이 가장 높은 활성을 보였다. Methionine의 첨가 농도별 측정에서는 10 mg/ml에서 30 및 50 mg/ml 첨가 농도에서 보다 높은 활성을 보였으며, 이들 모든 처리 농도에서 양성대조구 보다 상당히 높은 활성을 보였다. 한편 yeast 유래의 ALDH 활성은 각 아미노산별 큰 차이는 없었으나, arginine에서 높은 활성을 보였다. Arginine의 첨가 농도별 측정에서는 처리 농도 의존적으로 활성이 약간씩 증가하는 경향을 보였으며, 양성대조구 보다 높은 활성을 나타내었다. 효모 유래 ALDH 및 rat liver 유래 ADH 효소 활성을 촉진시키는 작용을 가진 arginine을 효모 배양에 첨가시킬 경우 세포 내 ALDH 및 ADH 활성 염색 정도가 증가함으로써 arginine은 ALDH 및 ADH 활성을 촉진시키는 효능이 *in vivo* 실험계에서도 확인되었다. 이상의 실험 결과에서 아미노산 중에서는 arginine과 methionine이 ADH 및 ALDH 활성을 촉진시키는 작용에 의해 알코올 분해뿐만 아니라 acetaldehyde의 분해도 촉진시킬 가능성이 높아 숙취해소 효과는 물론 간 보호 효과도 동시에 있을 것으로 시사 되어 진다. 따라서 arginine과 methionine과 같은 아미노산을 주류 제품에 첨가하게 될 경우 숙취해소 경감과 간 보호 효능을 어느 정도 나타낼 수 있을 가능성성이 제기되었다.

References

- Bergmeyer, H. U. 1974. Methods of Enzymatic Analysis. Academic Press, New York, pp. 28.
- Cha, J. Y., J. S. Heo, and Y. S. Cho. 2008. Effect of zinc-enriched yeast FF-10 strain on the alcoholic hepatotoxicity in alcohol feeding rats. *Food Sci. Biotechnol.* **17**, 1207-1213.
- Crabtree, B. and E. A. Newsholme. 1972. The activities of phosphorylase, hexokinase, phosphofractokinase, lactate dehydrogenase and glycerol-3-phosphate dehydrogenase in muscles from vertebrates and invertebrates. *Biochem. J.* **126**, 49-55.
- Duncan, D. B. 1959. Multiple range and multiple F test. *Biometrics* **1**, 1-42.
- Gennady, P. M. 2002. Handbook of Detection of Enzymes on Electrophoretic Gels. pp. 27-33, 2nd ed. CRC Press, Inc., Boca Raton, FL, USA.
- Han, S. K. and H. S. Lim. 2004. The effect of hangover drink using propolis on ethanol oxidation. *Korean J. Food Sci. Ani. Resour* **24**, 198-201.
- Helander, A. and O. Tottmar. 1988. Effect of acute ethanol administration on human alcohol aldehyde dehydrogenase activity. *Alcohol Clin. Exp. Res.* **12**, 643-646.
- Husenmoen, L. L., M. Fenger, N. Friedrich, J. S. Tolstrup, S. Beenfeldt Fredriksen, and A. Linneberg. 2008. The association of ADH and ALDH gene variants with alcohol drinking habits and cardiovascular disease risk factors. *Alcohol Clin. Exp. Res.* **32**, 1984-1991.
- Hwang, J. Y., J. W. Ham, and S. H. Nam. 2004. Effect of Maesil (*Prunus mume*) juice on the alcohol metabolizing enzyme activities. *Korean J. Food Sci. Technol.* **36**, 329-332.
- Iimuro, Y., B. U. Bradford, D. T. Forman, and R. G. Thurman. 1996. Glycine prevents alcohol-induced liver injury by decreasing alcohol in the rat stomach. *Gastroenterology* **110**, 1536-1542.
- Kang, B. K., S. T. Jung and S. J. Kim. 2002. Effects of vegetable extracts by solvent separation on alcohol dehydrogenase activity from *Saccharomyces cerevisiae*. *Korean J. Food Sci. Technol.* **34**, 244-248.
- Kim, D. H., D. S. Kim, and J. W. Choi. 1994. Effect of puffer fish extract on the hepatic alcohol metabolizing enzyme system in alcohol treated rat. *J. Korean Soc. Food Nutr.* **23**, 181-186.
- Kim, M. H., U. T. Chung, J. H. Lee, Y. S. Park, M. K. Shin, H. S. Kim, D. H. Kim, and H. Y. Lee. 2000. Hepatic detoxification activity and reduction of serum alcohol concentration of *Hovenia dulcis* Thunb from Korea and China. *Korean Medicinal Crop Sci.* **8**, 225-233.
- Koivula, T. and M. Koivusalo. 1975. Different form of rat liver aldehyde dehydrogenase and their subcellular distribution. *Biochim. Biophys. Acta* **397**, 9-23.
- Lee, I. S., S. O. Lee, and H. S. Kim. 2002. Preparation and quality characteristics of yogurt added with *Saururus chinensis* (Lour.) Bail. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **31**, 411-416.
- Lee, J. H., N. K. Kim, D. Y. Lee, and C. H. Lee. 1999. Protective effect of selected amino acids and food extracts on ethanol toxicity determinant in rat liver. *Korean J. Food Sci. Technol.* **31**, 802-808.
- Lieber, C. S. 1985. Alcohol and the liver; metabolism of ethanol, metabolism effects and pathogenesis of injury. *Acta Med. Scand. Suppl.* **703**, 11-55.
- Lowry, O. H., N. J. Rosebrough, A. L. Farr, and R. J. Randall. 1951. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* **193**, 265-275.
- Magonet, E., P. Hayen, D. Delfoge, E. Delaive, and J. Remarque. 1992. Importance of the structural zinc atom for activity of yeast alcohol dehydrogenase. *J. Biochem.* **287**, 361-365.
- Park, E. M., E. J. Ye, S. J. Kim, H. I. Choi, and M. J. Bae. 2006. Eliminatory effect of health drink containing *Hovenia Dulcis* Thunb extract on ethanol induced hangover in rats. *Korean J. Food Culture* **21**, 71-75.
- Park, S. C. 1993. Ethanol oxidation is accelerated by augmentation of malate-aspartate shuttle with aspartate. *Korean J. Biochem.* **25**, 137-143.
- Peters, T. J. 1982. Ethanol metabolism. *Bri. Med. Bull.* **38**, 17-20.
- Sachan, D. S. and Y. S. Cha. 1994. Acetylcarnitine inhibits alcohol dehydrogenase. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **203**, 1496-1501.
- Schisler, N. J. and S. M. Singh. 1989. Effect of ethanol *in vivo* on enzymes which detoxify oxygen free radicals. *Free Radic. Biol. Med.* **7**, 117-123.
- Seo, K. H. and S. H. Kim. 2001. A study on the analysis

- of oriental functional beverage and on the blood alcohol concentration of rat after drinking liquors. *J. Korean Food Nutr.* **14**, 222-227.
26. Swain, T., W. E. Hillis, and M. Ortega. 1959. Phenolic constituents of *Ptunus domesticus*. I. Quantitative analysis of phenolic constituents. *J. Sci. Food Agric.* **10**, 83-88.
27. Yea, S. S., S. K. Lim, H. Y. Sohn, I. N. Jin, I. K. Rhee, Y. H. Kim, J. H. Seu, and W. Park. 1997. Alcohol dehydrogenase of thermotolerant alcohol-producing yeast. *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* **25**, 386-390.
28. Yin, M., K. Ikejima, G. E. Arteel, V. Seabra, B. U. Bradford, H. Kono, I. Rusyn, and R. G. Thurman. 1998. Glycine accelerates recovery from alcohol-induced liver injury. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **286**, 1014-1019.