

당 분해 효소를 이용한 헛개나무 열매 추출물이 알코올 분해에 미치는 영향

이경석¹ · 김애정¹ · 이기영^{2*}

¹경기대학교 대체의학대학원, ²호서대학교 식품생물공학과

Increased Alcohol Decomposition Efficacy of *Hoveina dulcis* Extract by Carbohydrate-Hydrolyzing Enzymes

Kyung-Seok Lee¹, Ae-Jung Kim¹ and Ki-Young Lee^{2*}

¹The Graduate School of Alternative Medicine of Kyonggi University, Seoul 120-702, Korea

²Dept. of Food & Biotechnology, Hoseo University, Asan 336-795, Korea

Abstract

In this study, increased alcohol decomposition efficacy (ADH) of *Hoveina dulcis* extract by Carbohydrate-Hydrolyzing Enzymes was investigated. Carbohydrate decomposition enzymes such as Maxinvert (Invertase), Optidex L-400 (Glucoamylase) and Rohament CL (Cellulase & Pectinase) were added to *Hoveina dulcis* extract at different concentrations (0.01, 0.05, 0.1, 0.5 and 1%) for 48 hrs, after which samples were taken every 6 hrs for determination of ADH activity. As the enzyme concentration became higher, ADH activity also increased. Especially, the addition of 1% Rohament CL increased enzyme activity to 76% at 30 hrs incubation, after which the increase in activity stopped. In the rat and human body experiment, enzymatic decomposition of *Hovenia dulcis* extract by addition of 1% Rohament CL was also effective in decreasing serum alcohol concentration and respiration. Especially, in the early stage after alcohol consumption, the efficacy of enzyme treatment of *Hovenia dulcis* extract was more effective. These results show that if the glycoside forms of active compounds such as flavonols in *Hovenia dulcis* extract are converted into aglycone forms, alcohol decomposition capability can be enhanced.

Key words : *Hoveina dulcis*, enzyme, alcohol, hangover.

서 론

헛개나무(*Hovenia dulcis*)는 갈매나무과의 낙엽활엽교목으로 높이가 10~20 m, 직경 40~80 cm 내외로 자라는 나무로 헛개나무, 호깨나무, 호리깨나무라고 불리며, 열매는 10~11 월경에 갈색으로 열리고, 과경 끝에 8 mm 정도로 3개의 방에 윤채가 있는 종자가 각각 1개씩 들어 있다. 헛개나무에 관한 연구로는 민간요법으로 헛개나무 잎, 줄기 및 열매로 만든 차가 주독 제거 및 과음 시 부작용으로 나타나는 황달, 지방간, 간경화증, 위장병 등의 간 기능 보호에 효능이 뛰어난 것으로 전해지고 있다(Hong *et al* 2000). 또한 헛개나무 열매에서 분리한 dihydromyricetin은 알코올 분해 및 간기능 회복에 효과가 있다는 보고가 있으며(Mssayuki *et al* 1996), 헛개나무 열매 추출물에서 분리한 hovenodulinol을 이용한 동물 실험 결과, 알코올 분해에 효과가 있는 것으로 알려져 있다(Hong *et al* 2000). Hase *et al*(1997)은 쥐에 간염을 유발한 후에 헛개나무 추출물을 첨가하였을 경우, 간염 치료 효과를

보고하였고, Sakai *et al*(1987)은 헛개나무 추출물이 알코올 투여한 쥐의 혈중 알코올 농도를 저하시키는 효과가 있음을 보고하였다. 이처럼 헛개 열매 추출물은 알코올 분해 및 간 기능 회복에 뛰어난 효과가 있는 것으로 나타났다. 예부터 사람들은 숙취를 해소하는 데 많은 관심을 갖게 되었고, 한국에서는 전통적으로 콩나물, 미나리, 무, 부추 등 식탁을 통해 숙취 해소에 이용되어 왔다. 이런 민간요법적인 방법들은 최근 들어 과학적, 의학적으로 접근하여 산업화한 경우도 있다. Choi *et al*(1995)이 오미자 추출물이 알코올 효소 활성화에 미치는 영향 등을 조사하였으며, 알코올 대사에 영향을 미치는 성분으로 몇몇 합성의약품의 효과가 보고되어 있기도 하다(Detrinch *et al* 1972, Rubin *et al* 1963, Gabuzda 1953). 대부분의 flavonoid 화합물은 배당체 형태로써 전체 flavonoid의 50~80%를 차지하며 배당체를 구성하는 당으로는 glucose, arabinose, galactose, rhamnose, xylose 등이 있으며, 대부분 활성물질과 α -1,4 나 β -1,4 결합을 하고 있다. 최근 들어 이러한 배당체(glycoside) 형태의 물질을 무배당체(aglycone) 형태로 전환시키는 연구가 이루어지고 있으며, Choi *et al*(1999)은 대두 요구르트제조에서 이소플라본 배당체의 가수분해를 연구하였

* Corresponding author : Ki-Young Lee, Tel : +82-41-540-5641, Fax : +82-41-532-5640, E-mail: kylee@hoseo.edu

고, Kang *et al*(2005)은 산 분해를 이용하여 헛개나무 열매 추출물의 생리활성을 증가시켰다. 본 연구에서는 알코올 분해 효과가 있는 것으로 알려져 있는 헛개나무 열매 추출물을 당 분해 효소를 이용하여 효소처리 함으로써 기존 헛개나무 열매 추출물에 비해 당 분해 효소 처리한 헛개나무 열매 추출물의 알코올 분해 효과가 증대되는지는 알아보려고 하였다.

재료 및 방법

1. 실험 재료

헛개나무 열매는 2007년 10월 경북 안동에서 채취하여 건조한 것을 사용하였으며, 당분해 효소는 (주)비전바이오켐(Seongnam, Korea)의 Maxinvert(invertase), Optidex L-400(glucoamylase), Rohament CL(cellulase & pectinase)를 사용하였다.

2. 시료 추출

건조 시료 100 g당 증류수 10배를 첨가하여 환류 냉각관을 부착한 100℃의 Heating mantle(MS-DM605, Mtops Co., Korea)에서 5시간 추출한 후 여과(Whatman No. 2)하여 얻은 액을 1차 추출액으로 하고, 상기 방법에 따라 2,3차 추출액을 얻어 모두 혼합한 후 rotatory vacuum evaporator(R-210, Buchi Co., Swiss)로 농축하여 최종 Brix 6°로 하였다.

3. 추출물의 효소처리

헛개나무 열매 추출물에 효소 Maxinvert, OptidexL-400, Rohament CL을 각각 농도별(0.01, 0.05, 0.1, 0.5, 1%)로 첨가하여 각 효소의 최적 온도(Table 1)에서 48시간 효소처리 하였다.

6시간 간격으로 샘플을 채취하여 Autoclave(DH. WACS 1060, Daihan Scientific Co., Korea)에서 100℃, 1시간 처리하여 효소를 불활성화 시킨 후 *in vitro* 실험에 사용하였다.

4. ADH (Alcohol Dehydrogenase) 효소 활성 측정

Alcohol dehydrogenase activity assay 방법(Lebsack *et al* 1976)을 이용하여 측정하였다. 50 mM sodium pyrophosphate 완충액(pH 8.8) 1.3 mL에 15 mM β -NAD 1.5 mL씩 혼합한 후 95% ethanol 0.1 mL와 시료 0.1 mL 첨가해 25℃로 예열된 항

온수조(BS-21, Jeitech Co., Korea)에 넣어 온도를 유지시켜 주었다. 이 반응액에 0.1% bovine serum albumin(pH 7.5)에 녹인 alcohol dehydrogenase 용액(ADH, 0.75 unit/mL) 0.1mL를 신속하게 혼합한 다음 5분후 340 nm에서 흡광도(UV/VIS spectrophotometer, UVmini 1240, Shimadzu, Japan)를 측정하였다. 대조군에는 ADH대신 0.1% bovine serum albumin을 첨가하여 흡광도를 측정하였다.

5. 당 함량 측정

HPLC(Waters 410, USA)를 이용하여 효소처리 전후의 당 성분 변화를 확인하였으며, 조건은 Table 2와 같은 조건으로 분석하였다.

6. 실험동물 사육

실험동물은 5주령의 수컷 흰쥐(Spargue-Dawley rat, male)를 대한실험동물센터(Seoul, Korea)에서 분양받아 1주일간 적응시킨 후 실험에 사용하였다. 적응기간 중 사료는 실험동물용 사료를 음수는 정제수를 자유로이 섭취하도록 하였다.

7. 혈액 채취

흰쥐를 난괴법으로 5마리씩 3개 군으로 나누었다. 먼저 증류수 섭취군(control)과 헛개나무 열매 추출물 섭취군(HE), 효소 처리한 헛개나무 열매 추출물 섭취군(EHE)으로 나누어 실험 시작 30분전 각각의 시료를 체중 kg 당 8 mL 수준으로 1회 경구투여 하였다. 시료 투여 30분 후 40% 술을 kg 당 8 mL 수준으로 1회 경구투여한 뒤 90분 간격으로 3회에 걸쳐 꼬리정맥에서 1 mL의 혈액을 채취하였다. 마지막 채혈 후 즉시 간을 적출하였으며, 표면에 묻은 이물질을 제거한 뒤 -70℃의 초저온 냉동고에 급속 동결시켜 알코올 대사효소 활성 측

Table 2. Operating condition of HPLC analysis for sugar concentration

| Items | Conditions |
|-------------------------|--|
| Instrument | Waters 410 |
| Column | Bio-rad Aminex HPX 87-C 300×7.8 mm 9 μ m |
| Eluent | 100% DW |
| Flow rate | 0.8 mL/min |
| Detector | RI detector (50℃) |
| Sample injection volume | 20 μ L |
| Standard solution | Glucose, galactose, sucrose, fructose, maltose, mannose |

Table 1. Optimum temperature of Carbohydrate-Hydrolysing Enzyme

| Enzyme | Optimum temperature |
|---------------|---------------------|
| Maxinvert | 65℃ |
| Optidex L-400 | 60℃ |
| Rohament CL | 50℃ |

정을 위해 보관하였다.

8. 혈중 알코올 농도 측정

채취한 혈액을 EDTA tube에 넣어 보관한 후 알코올 자동 분석기(Younglin, Korea)를 이용하여 측정하였다.

9. 간 조직중 ADH 활성 측정

간 조직 중 cytosolic alcohol dehydrogenase(ADH) 활성도는 Bermeyer의 방법(1974)으로 측정하였다. 적출한 간은 그 중 일정량에 4배의 0.25 M sucrose 용액에 넣고 homogenizer를 이용하여 20%(w/v) 마쇄 균질액을 만들었다. 이 균질액을 600×g에서 10분간 원심 분리하여 핵 및 미마쇄 부분을 제거한 상등액을 얻고, 다시 10,000×g에서 20분간 원심 분리하여 mitochondria 분획을 얻었다. 다시 상등액을 105,000×g에서 1시간 동안 초원심분리(WX-100, Sorvall, USA)하여 cytosol 분획을 얻었다. 상기 방법으로 적출된 간 homogenate 0.1 mL를 0.2 mL ethanol과 0.5 M semicarbazide 0.02 mL, 0.1 M NAD가 함유된 preincubation 된 반응액 2.0 mL에 혼합해 37°C에서 5분간 반응하여 생성되는 NADH의 흡광도를 측정하여 cytosol내 존재하는 ADH 효소 활성을 측정하였다.

활성도 단위는 단백질 1 mg이 1분간 생성한 NADH의 양을 nmole로 표시하였다. 단백질 함량은 Lowry *et al*(1951)의 방법에 따라 측정하였으며, bovine albumin을 표준품으로 사용하였다.

10. 임상 실험

Park *et al*(1998)이 실시한 실험 방법을 응용하여 총 3회에 걸쳐 임상실험을 실시하였다. 1회 때는 음주 30분 전 물을 섭취하였고, 2회 때는 헛개나무 열매 추출물, 3회 때는 당 분해 효소 처리한 헛개나무 열매 추출물을 각각 200 mL씩 음용하게 하였다. 각각의 시료 음용 30분 후 알코올(19.5%) 360 mL를 일정한 속도로 나누어 마시도록 하였으며, 소량의 안주(오징어채와 과자)를 제공하였다. 모든 피실험자는 실험이 진행되는 동안 담배를 피우지 못하게 하였고, 물도 마실 수 없었으며, 화장실은 자유로이 출입할 수 있도록 하였다.

11. 호흡 중 알코올 농도 측정

인간을 대상으로 하는 실험에서는 동일인을 시간별로 혈액 채취가 어려워 시판되는 호흡용 알코올 측정기(DA5000, Datech Co., Korea)를 사용하여 호흡 중 알코올 농도를 측정하였다.

12. 숙취에 관한 설문조사

숙취에 대한 주관적 느낌에 대해 평가하기 위하여 매 실험 종료 후 피실험자에게 숙취에 관한 설문조사를 실시하였

다. 실험대상자는 신체 건강한 20대 남자 20명을 10명씩 나누어 실험하였으며, 조사 항목은 술을 마신 후 나타나는 대표적인 증상 4가지에 대해 7점 척도법(7점: 매우 그렇다, 1점: 매우 안 그렇다)을 이용하였다.

13. 통계처리

본 연구의 결과는 평균으로 나타내었고, 각 실험 군 간의 비교분석은 SPSS를 이용하여 분석한 후 $\alpha < 0.05$ 에서 Duncan's multiple range test를 사용하여 유의성을 검증하였다.

결과 및 고찰

1. 효소농도별 ADH 효소 활성

당 분해 효소를 농도별(0.01, 0.05, 0.1, 0.5, 1)로 첨가한 뒤 48시간 효소처리하면서 6시간 간격으로 ADH 효소 활성을 측정된 결과는 Fig. 1~3과 같다.

모든 군에서 ADH 효소 활성이 높아지는 것을 볼 수 있었으며, 효소농도가 높아질수록 시간이 지날수록 활성이 증가하는 추세를 보였다. Maxinvert 처리군은 최대 10% 정도 상승하여 다른 효소에 비하여 가장 적은 상승률을 나타냈으며, Rohament CL 1% 처리군에서 약 67% 상승하여 가장 높은 상승률을 나타냈다. Rohament CL 1% 처리 시 시간이 지남에 따라 활성이 증가하다가 30시간 때부터 활성 증가 폭이 적어졌으며, 이로 보아 36시간 때까지 효소 처리시간이 가장 효율적일 것으로 사료된다. 이는 Ahn *et al*(2005)이 cellulase 효소를 이용하였을 때 가장 높은 flavonoid 무배당체 함량을 나타내었다는 연구 결과와 일치하였다.

2. 당함량 변화

Rohament CL 효소를 이용하여 효소 처리한 헛개나무 열매 추출물의 당 함량 변화를 HPLC를 이용하여 측정된 결과

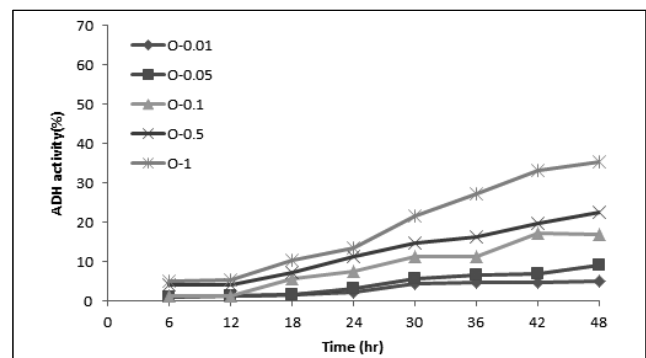


Fig. 1. Change of alcohol dehydrogenase activity by the addition of carbohydrate hydrolysing enzyme Optidex L-400 in *Hoveina dulcis* extract in different concentration (0.01, 0.05, 0.1, 0.5, 1%) at 60°C for 48 hrs.

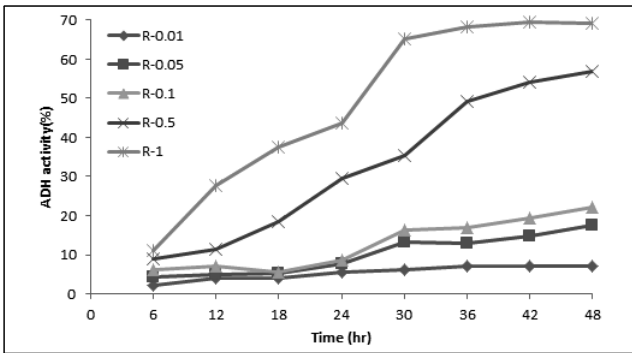


Fig. 2. Change of alcohol dehydrogenase activity by the addition of carbohydrate hydrolysing enzyme Rohament CL in *Hoveina dulcis* extract in different concentration (0.01, 0.05, 0.1, 0.5, 1%) at 50°C for 48 hrs.

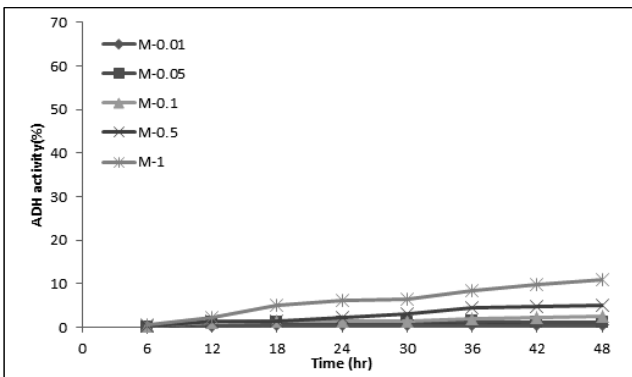


Fig. 3. Change of alcohol dehydrogenase activity by the addition of carbohydrate hydrolysing enzyme Maxinvert in *Hoveina dulcis* extract in different concentration (0.01, 0.05, 0.1, 0.5, 1%) at 65°C for 48 hrs.

는 Fig. 4와 같다. 단당류(glucose, fructose)의 함량이 크게 증가한 것을 볼 수 있는데, 이는 효소에 의해 다당류 형태의 당이 단당류 형태로 분해가 일어났기 때문이다. Kang *et al*(2005)의 연구 결과에서 보면 산 가수 분해를 통해 생리활성 물질을 배당체 형태에서 무배당체 형태로 전환하는 과정에서도 단당류(glucose, fructose)의 함량이 증가하였다. 이는 생리활성 물질이 당과 결합되어 있는 배당체(Glycoside) 형태에서 당과 떨어진 상태인 무배당체(aglycone) 형태로 변화하는 과정에서 생겨난 현상이다. 이로 미루어 Rohament CL 당 분해 효소에 의해 헛개나무 열매 추출물에 존재하는 flavonol 등의 알코올 분해 증진 물질이 배당체 형태에서 무배당체 형태로 전환되었을 것으로 사료되어진다.

3. 혈중 알코올 농도 변화

각 실험군의 혈중 알코올 농도를 측정된 결과, Table 3과 같았다. Control에 비해 HE 섭취군과 EHE 섭취군의 혈중 알

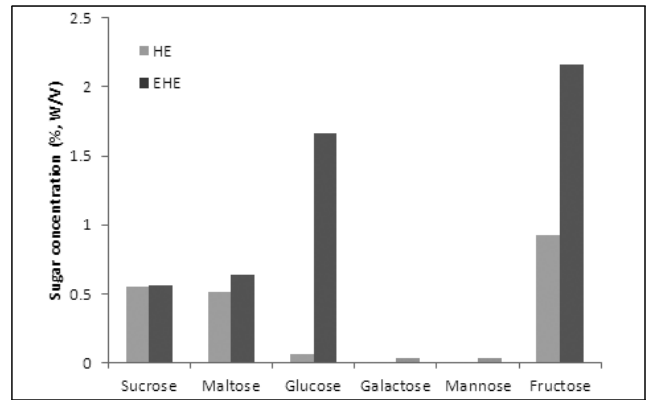


Fig. 4. Effect of enzymatical decomposition of *Hoveina dulcis* extract on sugar concentration.

- 1) EH : *Hoveina dulcis* extract.
- 2) EHE : Enzymatically decomposed extract.

Table 3. Effect of enzymatically decomposed *Hoveina dulcis* extract on the serum ethanol concentration in rats

| | Serum ethanol concentration (%) | | |
|-----------------------|---------------------------------|-------------------------|-------------------------|
| | 90 min | 180 min | 270 min |
| Control ¹⁾ | 0.344±0.06 ^{4) b5)} | 0.254±0.07 ^b | 0.048±0.06 ^a |
| HE ²⁾ | 0.280±0.10 ^b | 0.122±0.11 ^a | 0.034±0.02 ^a |
| EHE ³⁾ | 0.122±0.05 ^a | 0.074±0.05 ^a | 0.024±0.01 ^a |

- 1) Control : Drinking group of water.
- 2) EH : Drinking group of *Hoveina dulcis* extract.
- 3) EHE: Drinking group of enzymatically decomposed extract.
- 4) Values are Mean±S.D.
- 5) Means with the same letter in a column are not significantly different by Duncan's multiple range test ($p < 0.05$)

코올 농도가 감소한 것으로 나타났다. HE 섭취군의 경우, 처음 90분까지는 control군에 비해 그 수치는 적게 나타났으나 유의적 차이는 보이지 않았으며, 180분대에는 control군과 유의적인 차이를 나타내 알코올 감소 효과가 있는 것으로 나타났다. EHE 섭취군의 경우는 HE군과는 달리 90분대에도 control군에 비해 유의적 차이를 보이며, 혈중 알코올 농도가 낮은 것으로 나타났으며, 180분대에서도 유의적인 차이를 보이는 낮은 수치를 나타냈다. 270분대의 경우 EHE, HE, control 순으로 낮게 나왔으나 각 군간의 유의적인 차이는 보이지 않았다. 이는 시간이 지남에 따라 체내 알코올이 분해가 대부분 이루어져 270분대에는 각 군의 동물 체내 알코올 농도가 거의 남아 있지 않았기 때문으로 사료되어진다.

4. 간 조직 중 ADH 활성

상기 알코올 분해 속도 측진이 실제 생체 내에서 어떤 기작

에 의해 작용하는지에 대한 생화학적 분석을 위해 체내 알코올의 1차 대사에 관여하는 ADH의 활성 증진 정도를 측정 한 결과는 Table 4와 같았다. control군에 비해 HE의 ADH 활성이 9.2% 정도 증가하였으며, EHE는 15.3% 정도 증가하였다. 이는 헛개나무 추출물의 섭취로 알코올 분해 효소인 ADH의 활성이 상승되었다(An *et al* 1999)는 연구 결과와 유사한 결과이다. 경구를 통해 섭취된 알코올의 혈중 농도는 위장관을 경유한 흡수율이 저해되거나(Kim & Park 1997), 알코올 대사율이 촉진됨으로써(Sakai *et al* 1989) 감소되는 것으로 알려져 있다. 본 연구 결과, HE 및 EHE는 알코올 대사율이 촉진됨에 따라 알코올 농도가 감소하는 것으로 사료되어지나 감소기전을 정확하게 판단하기 위해 추후에 연구 검토해야 할 과제로 사료된다.

5. 호흡 중 알코올 농도의 변화

알코올 측정기를 이용하여 호흡 중 알코올 농도를 측정한다

Table 4. Effect of enzymatically decomposed *Hoveina dulcis* extract on the hepatic ethanol metabolizing enzyme activities in rats

| Enzyme activities (n mole/mg protein/min) | |
|---|------------------------------|
| | ADH |
| Control ¹⁾ | 19.51±2.06 ^{4)ab5)} |
| HE ²⁾ | 21.31±1.43 ^{ab} |
| EHE ³⁾ | 22.49±1.28 ^b |

¹⁾ Control : Drinking group of water.

²⁾ EH : Drinking group of *Hoveina dulcis* extract.

³⁾ EHE : Drinking group of enzymatically decomposed extract.

⁴⁾ Values are Mean±S.D.

⁵⁾ Means with the same letter in a column are not significantly different by Duncan's multiple range test ($p<0.05$).

결과는 Table 5와 같았다. 알코올 섭취 후 60분에서 90분 사이 가장 높은 알코올 농도를 나타낸다고 하였는데(Shumate *et al* 1967), control군의 경우 이와 유사한 결과를 나타내었다. HE 및 EHE의 경우는 시간이 지남에 따라 알코올 농도가 감소하는 것으로 나타났다. 이는 HE 및 EHE가 체내 알코올 분해에 작용하였기 때문으로 사료된다(Hwang *et al* 2004). 동물 실험 결과와 비슷하게 HE와 EHE 모두 알코올 농도 감소에 도움을 주는 것으로 나타났으며, EHE가 HE보다 알코올 농도를 더 많이 감소하는 것으로 나타났다. 특히 EHE의 경우, 알코올 섭취 초기에 더 많은 효과가 있는 것으로 나타났다. 이로 미루어 보아 효소 처리를 함으로써 기존의 추출물에 비해 알코올 분해능이 향상되는 것을 알 수 있으며, 알코올 섭취 초기에 더 많은 효과를 볼 수 있는 것으로 나타났다. 이는 동물 실험 결과와 유사한 결과로 EHE 섭취 시 HE에 비해 알코올 섭취 초기에 더 많은 알코올 분해력을 볼 수 있을 것으로 사료된다.

6. 설문지에 의한 숙취 상태

각 실험 종료 후 피실험자들을 대상으로 음주 후 나타나는 대표적인 증상에 대하여 설문 조사를 실시한 결과는 Table 6과 같다. 술 기운이 남아 있는가에 대한 질문에 대해선 control군에 비하여 HE군, EHE군이 적게 나왔으며, EHE군이 HE군에 비하여 낮은 수치를 보였으나 그 유의적인 차이는 없었다. 메스꺼움을 묻는 질문에서도 유사한 결과를 보였으며, 열기가 느껴지는가에 대한 질문은 HE군이 EHE군에 비해 낮은 수치를 보였으나, 유의적인 차이는 없었다. 어지럼증을 묻는 질문에서는 control군에 비해 HE군과 EHE군이 수치는 적었으나 유의적인 차이는 없는 것으로 나타났다. 이로 미루어보아 HE 및 EHE가 숙취에 효과가 있는 것으로 사료되어진다. 그러나 두 군 간의 유의적 차이는 보이지 않았는데, 이는 각 개인마다 주관적 느낌의 척도가 다르므로 많은 사람들을 대상으로 설문조사를 해봐야 정확할 것으로 사료된다(Song *et al* 2005).

Table 5. Effect of enzymatically decomposed *Hoveina dulcis* extract on the respiration ethanol concentration in human

| | Respiration ethanol concentration (%) | | | | | |
|-----------------------|---------------------------------------|------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
| | 30 min | 60 min | 90 min | 120 min | 150 min | 180 min |
| Control ¹⁾ | 0.36±0.05 ^{4)bs5)} | 0.37±0.05 ^b | 0.37±0.05 ^b | 0.34±0.02 ^b | 0.32±0.07 ^b | 0.28±0.07 ^b |
| HE ²⁾ | 0.36±0.05 ^b | 0.35±0.05 ^b | 0.32±0.06 ^{ab} | 0.31±0.07 ^{ab} | 0.28±0.07 ^{ab} | 0.24±0.06 ^{ab} |
| EHE ³⁾ | 0.29±0.09 ^a | 0.28±0.09 ^a | 0.28±0.09 ^a | 0.26±0.08 ^a | 0.24±0.06 ^a | 0.21±0.07 ^a |

¹⁾ Control : Drinking group of water.

²⁾ EH : Drinking group of *Hoveina dulcis* extract.

³⁾ EHE : Drinking group of enzymatically decomposed extract.

⁴⁾ Values are Mean±S.D.

⁵⁾ Means with the same letter in a column are not significantly different by Duncan's multiple range test ($p<0.05$).

Table 6. Scores of hangover conditions

| | Drunkenness | Giddiness | Queasiness | Feverness |
|-----------------------|---------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|
| Control ¹⁾ | 5.64±1.75 ⁴⁾⁵⁾ | 4.00±1.95 ^a | 4.27±2.41 ^b | 4.91±1.81 ^b |
| HE ²⁾ | 4.09±1.38 ^a | 3.09±1.58 ^a | 2.55±1.29 ^a | 3.09±1.30 ^a |
| EHE ³⁾ | 3.91±1.64 ^a | 2.73±1.62 ^a | 2.45±1.29 ^a | 3.27±1.49 ^a |

¹⁾ Control : Drinking group of water.

²⁾ EH : Drinking group of *Hovenia dulcis* extract.

³⁾ EHE : Drinking group of enzymatically decomposed extract.

⁴⁾ Values are Mean±S.D.

⁵⁾ Means with the same letter in row are not significantly different by Duncan's multiple range test ($p < 0.05$)

요 약

본 연구에서는 헛개나무 열매 추출물을 당 분해효소를 이용하여 효소처리 시 알코올 분해능에 미치는 영향을 알아 보았다. 당분해효소인 Maxinvert(invertase), Optidex L-400(glucoamylase), Rohament CL(cellulase & pectinase)를 각각 농도 별(0.01, 0.05, 0.1, 0.5, 1%)로 첨가하여 48시간 효소처리 하면서 6시간 간격으로 sample을 채취해 ADH 효소 활성을 측정하였다. 효소 농도가 높을수록 효소 활성이 증가하였으며, 시간이 지남에 따라 활성이 높아졌다. Maxinvert 효소 처리 시 기존의 활성보다 약 10% 증가하여 가장 낮은 활성 증가를 보였고, Rohament CL 효소를 1% 첨가하여 효소처리할 경우, 기존의 활성에 비해 효소 활성이 67% 증가한 것으로 가장 많은 효소 활성 증가를 보였다. Rohament CL 효소를 1% 첨가할 경우, 시간이 지남에 따라 활성이 증가하다가 30시간대부터 활성의 증가가 변화가 거의 없었다. 이로 보아 36시간까지 효소 처리하는 것이 가장 효율적인 것이라 사료된다. Rohament CL 효소 1% 첨가하여 36시간 효소 처리한 헛개나무 열매 추출물을 이용하여 동물 실험 및 임상 실험을 실시한 결과, control 군 및 헛개나무 열매 추출물 군에 비해 알코올 농도가 줄어드는 것을 볼 수 있었으며, 특히 알코올 섭취 초기에 그 효과가 가장 뛰어난 것으로 나타났다. 이로 보아 효소 처리한 헛개나무 열매 추출물이 기존의 헛개나무 열매 추출물에 비해 더 많은 체내 알코올 농도 감소를 나타낼 것으로 생각되며, 음주 초기에 더 많은 영향을 줄 것으로 사료되어 진다. 이는 기존의 배당체(glycoside) 형태로 존재하던 생리활성 물질이 당 분해 효소에 의해 당이 분해된 무배당체(aglycone) 형태로 전환되어 그 활성이 높아졌기 때문으로 사료되어 진다.

감사의 글

본 연구는 2011년도 중소기업청 산학협력력 기업부설연

구소 지원사업(2011-0479)의 지원에 의하여 수행되었습니다.

문 헌

- Ahn DC, Kim MS, Lee SY, Kang JH, Kim BH, Oh WK, Kim BY, Ahn JS. 2005. Increase of bioactive flavonoid aglycone extractable from Korea citrus peel by carbohydrate hydrolysing enzymes. *Kor J Microbiol Biotechnol* 33: 288-294.
- An SW, Kim YG, Kim MH, Lee BI, Lee SH, Kwon HI, Hwang B, Lee HY (1999) Comparison of hepatic deoxygenation activity and reducing serum alcohol concentration of *Hovenia dulcis* Thunb and *Alnus japonica* Steud. *Korean J Medicinal Crop Sci* 7: 263-268.
- Bergmeyer HU (1974) Methods of enzymatic analysis. 2th ed. Academic Press, New York. pp 457-458.
- Choi JT, Koo HK, Lee SK. 1995. The effect of *Schzandrae fructus* extract on alcohol fermentation and enzyme activities of *Saccharomyces cerevisiae*. *Agri Chem Biotech* 38: 278-282.
- Choi YB, Woo JG, Noh WS. 1999. Hydrolysis of β -glycosidic bonds of isoflavone conjugates in the lactic acid fermentation of soy milk. *Korean J Food Sci Technol* 31: 189-195.
- Detrich RA, Collins AC, Erwin VG. 1972. Genetic influence upon phenobarbital-induced increase in rat liver supernatant aldehyde dehydrogenase activity. *J Biol Chem* 247: 7232-7236.
- Gabuzda GJ. 1953. Fatty liver in man and the role of lipotropic factors. *Am J Clin Nutr* 6: 280-297.
- Hase K, Basnet P. 1997. Effect of *Hovenia dulcis* on lipopolysaccharide-induced liver injury in chronic alcohol-fed rats. *J Trad Med* 14: 28-33.
- Hong YL, Kim MH, Ahn C, Lee HY, Kim JD. 2000. Studies on the biological activities of the extract from *Hovenia dulcis* Thunb inst. *Agr Sci Kangwon Nat'l Univ* 11: 1-11.
- Hwang JY, Ham JW, Nam SS. 2004. Effect of maesil (*Prunus mume*) juice on the alcohol methbolizing enzyme activities. *Korean J Food Sci Technol* 36: 329-332.
- Kang SH, Kim SM, Kim JH. 2005. Method of using acid hydrolysis to increase the efficacy of decreasing alcohol concentration from *Hovenia dulcis* extract. *Kor J Biotechnol Bioeng* 20: 129-132.
- Kim MH, Park CK. 1997. Inhibition of ethanol absorption by *Rhodiala sacbalinensis* in rats. *Arch Pharm Res* 20: 432-437.

- Lebsack ME, Petersen DR, Collus AC. 1976. Preferential inhibition of the low Km aldehyde dehydrogenase activity by pargyline. *Biochem Pharmacol* 26: 1151-1154.
- Lowry OH, Rosebough NJ, Farr AL, Randall RJ. 1951. Protein measurement with folin phenol reagent. *J Biol Chem* 193: 263.
- Mssayuki Y, Murakami T. 1996. Absolute stereostructures of new dihydroflavonols, Hovenitins I, II and III, isolated from hovenia semen seu fructus of *Hovenia dulcis* Thunb. *Chem Pharm Bull* 117: 108-118.
- Park SM, Kang BK, Chung TH. 1998. The effect of mildronate on serum alcohol concentration and hangover syndrome. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 27: 168-174.
- Rubin E, Lieben CS. 1963. Hepatic microsomal enzymes in man and rats: Induction and inhibition by ethanol. *Science* 162: 690-691.
- Sakai K, Saitoh Y, Ikawa C, Nishihata T. 1989. Effect of water extracts of aloe and some herbs in decreasing blood ethanol concentration in rats. *Chem Pharm Bull* 37: 155-159.
- Sakai K, Yamane T, Saitoh Y, Ikawa C, Nishihata T. 1987. Effect of water extracts of crude drugs in decreasing blood alcohol concentrations in rats. *Chem Pharm Bull* 35: 4597-4604.
- Shumate RP, Crowther RF, Zazaafshan HA. 1967. Study of the metabolism rates of alcohol in the human body. *J Forensic Med* 14: 83-88.
- Song I, Choi IS, Yoon HK, Koo SJ. 2005. The effect of *Camellia sinensis* Linne on alcohol concentration and hangover in normal healthy students. *Korean J Food Cookery Sci* 21: 591-598.

접 수: 2012년 4월 18일
최종수정: 2012년 8월 9일
채 택: 2012년 8월 17일