(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2023-0050880
(43) 공개일자 2023년04월17일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A23L 33/10 (2022.01) *A23L 2/38* (2021.01)
A23L 2/52 (2006.01) *A23L 21/25* (2016.01)
A23L 33/105 (2016.01)
(52) CPC특허분류
A23L 33/10 (2022.01)
A23L 2/38 (2021.01)
(21) 출원번호 10-2021-0134192
(22) 출원일자 2021년10월08일
심사청구일자 2021년10월08일

(71) 출원인
동아대학교 산학협력단
부산광역시 사하구 낙동대로550번길 37, 동아대학교 내 (하단동)
(72) 발명자
서권일
부산광역시 사하구 낙동대로 388 경성리치W 아파트, 302호
박울림
부산광역시 사하구 낙동대로550번길 5, 402호(하단동, SH타워)
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
김지형

전체 청구항 수 : 총 4 항

(54) 발명의 명칭 **숙취해소와 간 기능 개선 효능을 갖는 다슬기 추출물 제조방법 및 이를 이용한 다슬기 추출 음료**

(57) 요 약

본 발명은 숙취해소 및 간 기능 개선 효능을 갖는 다슬기 추출 음료의 제조방법에 관한 것으로 간염, 지방간, 간경화 등의 간질환 개선에 효과가 있는 다슬기를 이용하여 골다공증 예방, 숙취해소 및 신경통을 완화시키는 음료를 제공하는 것이다.

본 발명의 다슬기 추출 음료의 제조방법은 먼저 깐 다슬기육 100중량부에 생강 30~50중량부, 지치 30~50중량부, 울금 10~30중량부, 인진호 50~70중량부, 맨드라미꽃 40~60중량부 및 벌나무 90~110중량부를 혼합한 다음 상기 혼합물에 중량대비 5~10배의 물을 넣고 가열하여 열수추출하여 다슬기 농축액을 제조한다. 그런 다음 정제수 100중량부에 상기 다슬기 농축액 1~2중량부, 헛개농축액 1~2중량부, 밀크씨슬 0.01~0.1중량부, 벌꿀 0.5~2중량부를 혼합하여 숙취해소 및 간 기능 개선 효능을 갖는 다슬기 추출 음료를 제조한다.

(52) CPC특허분류
A23L 2/52 (2013.01)
A23L 21/25 (2016.08)
A23L 33/105 (2016.08)
A23V 2002/00 (2013.01)
A23V 2200/32 (2013.01)
A23V 2200/334 (2013.01)
A23V 2300/14 (2013.01)
A23V 2300/24 (2013.01)
A23V 2300/50 (2013.01)

(72) 발명자
민혜지
부산광역시 사하구 낙동대로516번길 25, 705호(하단동, JK캐슬)
허지안
부산광역시 사하구 하신번영로 365 가락타운1단지, 111동 1102호
김휘곤
경상남도 창원시 마산합포구 진전면 미천4길 4-21

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	20210344
과제번호	2021-E-G049-010108
부처명	한국연구재단(교육부)
과제관리(전문)기관명	한국연구재단(교육부)
연구사업명	사회맞춤형 산학협력선도대학 (LINC+) 육성사업
연구과제명	다슬기를 이용한 간 보호 효능 함유 환 제품 개발
기 여 율	1/1
과제수행기관명	동아대학교 산학협력단
연구기간	2021.04.19 ~ 2021.10.15

명 세 서

청구범위

청구항 1

숙취해소 및 간 기능 개선 효능을 갖는 다슬기 추출물 제조방법에 있어서,

상기 다슬기 추출물 제조방법은 깐 다슬기육 100중량부에 생강 30~50중량부, 지치 30~50중량부, 울금 10~30중량부, 인진호 50~70중량부, 맨드라미꽃 40~60중량부 및 벌나무 90~110중량부를 혼합한 다음 상기 혼합물에 중량대비 5~10배의 물을 넣고 가열하여 열수추출하여 농축하는 것을 특징으로 하는 숙취해소 및 간 기능 개선 효능을 갖는 다슬기 추출물 제조방법

청구항 2

제 1항에 있어서,

상기 열수추출할 때 물을 넣은 혼합물을 90~120℃의 온도에서 2~5시간 동안 가열하여 열수추출하여 농축하는 것을 특징으로 하는 숙취해소 및 간 기능 개선 효능을 갖는 다슬기 추출물 제조방법

청구항 3

숙취해소 및 간 기능 개선 효능을 갖는 다슬기 추출 음료의 제조방법에 있어서,

상기 다슬기 추출 음료의 제조방법은 깐 다슬기육 100중량부에 생강 30~50중량부, 지치 30~50중량부, 울금 10~30중량부, 인진호 50~70중량부, 맨드라미꽃 40~60중량부 및 벌나무 90~110중량부를 혼합한 다음 상기 혼합물에 중량대비 5~10배의 물을 넣고 가열하여 열수추출하여 다슬기 농축액을 제조한 다음,

정제수 100중량부에 상기 다슬기 농축액 1~2중량부, 헛개농축액 1~2중량부, 밀크씨슬 0.01~0.1중량부, 벌꿀 0.5~2중량부를 혼합하는 것을 특징으로 하는 숙취해소 및 간 기능 개선 효능을 갖는 다슬기 추출 음료의 제조방법

청구항 4

제3항의 방법으로 제조된 숙취해소 및 간 기능 개선 효능을 갖는 다슬기 추출물을 이용한 다슬기 추출 음료

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 숙취해소와 간 기능 개선 효능을 갖는 다슬기 추출물 제조방법 및 이를 이용한 다슬기 추출 음료에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0003] 다슬기는 다슬기과에 속한 패류로서, 물이 깊고 물살이 센 1~2급수의 깨끗한 하천과 호수 등지 바위틈에 무리지어 서식한다.

[0004] 바위나 돌에 붙어 있는 이끼를 먹고사는 다슬기는 시력 보호, 간 기능 회복, 숙취 해소 등에 효과가 있으며 철분 함유량이 많아 빈혈에도 도움이 되는 것으로 알려져 있다.

[0005] 이러한 다슬기를 건강식품으로 섭취하기 위해 다양한 요리의 형태로 섭취하고 있으며, 다슬기를 이용한 추출액,

농축액, 진액을 섭취하기도 한다.

[0006] 이러한 다슬기의 장점과 특징을 이용한 대한민국 등록특허공보 제0558649호에는 다슬기에 물을 투입한 후, 100~120℃에서 24시간 동안 가열하여 다슬기 엑기스를 추출하는 단계와 상기 추출된 엑기스를 다시 가열솥에 투입시켜 100℃의 조건으로 3~5시간 동안 재탕과정과 함께 여과과정을 거쳐 농축된 하나의 액상물로 형성시키는 단계를 거쳐 상기 엑기스가 추출된 다슬기를 분쇄하여 다슬기의 껍질과 육질을 분리시킴과 함께 추출된 육질을 세척, 여과, 탈수, 살균시켜 수분을 제거한 후, -2℃의 조건으로 5시간 동안 냉동보관 시켜 다슬기 고유의 비린냄새를 제거하여 순수한 다슬기 육질로 형성시키는 단계를 포함한 다슬기의 액상물과 육질을 갖는 식품 조성물의 제조방법이고, 대한민국 공개특허공보 제2004-0091418호에는 다슬기 농축액을 제조하는 방법이 있다.

[0007] 지방간은 간조직에 지방이 과도하게 축적되어 간 무게의 5% 이상을 차지하는 것으로 알코올성 지방간과 비알코올성 지방간으로 나눌 수 있는데, 비알코올성 지방간은 과식에 의한 비만, 2형 당뇨같은 대사 이상 등에 의해서 발병이고 알코올성 지방간은 주로 알코올의 과도한 섭취에 의해 발병하게 된다.

[0008] 알코올은 사교나 스트레스 해소 등의 목적으로 음용되어 온 기호품으로써 소량 섭취 시 혈액순환 및 기분전환에 도움을 주어 오랫동안 애용되어 왔다.

[0009] 알코올이 체내에 들어오면 간세포 내 alcohol dehydrogenase에 의해 아세트알데히드와 NADH로 분해되고 아세트알데히드는 다시 acetaldehyde dehydrogenase에 의해 물과 아세트산으로 분해되어 땀이나 소변으로 또는 폐에서 호흡을 통해 배출된다.

[0010] 알코올의 분해과정 중 활성산소가 생성되는데, 과도한 음주는 과도한 활성산소를 발생시키고, 간세포를 파괴할 뿐만아니라 지방산 대사를 저해시켜 지방간을 유발하고, 숙취 및 다양한 질병을 야기시킨다.

[0011] 호수나 하천에 서식하는 다슬기는 다슬기과에 속하는 연체동물로 본초강목 및 동의보감에서 간염, 지방간, 간경화 등의 간질환 개선 및 치료에 이용되어 왔으며, 골다공증 예방, 숙취해소 및 신경통 완화에 이용되어 왔다고 알려져 있다.

[0012] 다슬기 추출물의 생리활성으로는 항산화, 사염화탄소에 의해 유발된 간 손상에 대한 보호 효과, 일정기간 섭취 시 간세포 보호 및 숙취해소 효과, 혈압상승 억제 등 다양한 효능이 보고되어 있다.

[0013] 다슬기를 이용한 간세포 독성 및 숙취해소 효과 등 관련 연구는 부족한 편이고, 다슬기의 간 보호 효과에 대해 밝혀진 연구는 거의 없는 실정이다.

[0014] 따라서 본 연구진은 다슬기의 최적 추출물 조건을 확립하고, 이를 이용한 숙취해소 및 간 장애 개선 효능을 함유한 식품 및 기능성 소재를 개발하고자 한다.

[0015] 그동안 종래기술에서와 같이 다슬기를 이용하여 다슬기의 유효성분을 추출하고 이를 다양한 기능식품에 사용하고자 하는 노력이 있어왔으나 숙취해소 및 간 기능 개선에 효능이 있는 제품 개발에는 소홀한 문제점이 있었다.

선행기술문헌

특허문헌

[0017] (특허문헌 0001) 국내공개특허 제2018-0001151호(2018. 01. 04.)

발명의 내용

해결하려는 과제

[0018] 본 발명은 상기와 같은 문제점을 해결하기 위한 것으로, 간염, 지방간, 간경화 등의 간질환 개선에 효과가 있는 다슬기 추출 농축액을 제조하기 위한 것이다.

[0019] 또한 본 발명은 상기 다슬기 추출 농축액을 이용하여 사염화탄소 등의 영향으로 발생되는 간 손상를 보호하고, 혈압상승을 억제하는 다슬기 추출 음료를 제공하기 위한 것이다.

[0020]

과제의 해결 수단

[0021] 본 발명에 따른 숙취해소 및 간 기능 개선 효능을 갖는 다슬기 추출물 제조방법은 깐 다슬기육 100중량부에 생강 30~50중량부, 지치 30~50중량부, 울금 10~30중량부, 인진호 50~70중량부, 맨드라미꽃 40~60중량부 및 벌나무 90~110중량부를 혼합한 다음 상기 혼합물에 중량대비 5~10배의 물을 넣고 가열하여 열수추출하고 상기 추출물을 이용하여 다슬기 농축액을 제조한다.

[0022] 상기 열수추출할 때 깐 다슬기,육, 생강, 지치, 울금, 인진호, 맨드라미 및 벌나무 혼합물에 물을 넣고 90~120℃의 온도에서 2~5시간 동안 가열하여 열수추출하다.

[0023] 숙취해소 및 간 기능 개선 효능을 갖는 다슬기 추출 음료의 제조방법은 깐 다슬기육 100중량부에 생강 30~50중량부, 지치 30~50중량부, 울금 10~30중량부, 인진호 50~70중량부, 맨드라미꽃 40~60중량부 및 벌나무 90~110중량부를 혼합한 다음 상기 혼합물에 중량대비 5~10배의 물을 넣고 가열하여 열수추출하고 농축하여 다슬기 농축액을 제조하고, 정제수 100중량부에 상기 다슬기 농축액 1~2중량부, 헛개농축액 1~2중량부, 밀크씨슬 0.01~0.1중량부, 벌꿀 0.5~2중량부를 혼합하여 숙취해소 및 간 기능 개선 효능을 갖는 다슬기 추출 음료를 제조한다.

발명의 효과

[0025] 본 발명은 간염, 지방간, 간경화 등의 간질환 개선에 효과가 있는 다슬기를 이용하여 골다공증 예방, 숙취해소 및 신경통 완화에 효과를 제공하기 위함이다.

[0026] 또한 본 발명은 다슬기 추출물을 헛개농축액, 밀크시쓸 및 벌꿀과 혼합하여 다슬기 추출 음료를 제조하고, 상기 음료는 항산화 효과, 사염화탄소에 의해 유발된 간 손상에 대한 보호 효과, 간세포 보호 및 숙취해소 효과, 혈압상승 억제 등에 탁월한 효과를 제공한다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0028] 본 발명에 대한 해결하고자 하는 과제, 과제의 해결 수단, 발명의 효과를 포함한 구체적인 사항들

[0029] 은 다음에 기재할 발명의 상세한 설명에 의해 명확해질 것이다.

[0030] 본 발명의 숙취해소와 간 기능 개선 효능을 갖는 다슬기 추출물 제조방법 및 이를 이용한 다슬기 추출 음료의 제조방법에 대해 상세히 설명한다.

[0031] 본 발명에서 숙취해소 및 간 기능 개선 효능을 갖는 다슬기 추출물 제조방법은 깐 다슬기육 100중량부에 생강 30~50중량부, 지치 30~50중량부, 울금 10~30중량부, 인진호 50~70중량부, 맨드라미 40~60중량부 및 벌나무 90~110중량부를 혼합한 다음 상기 혼합물에 중량대비 5~10배의 물을 넣고 가열하여 열수추출하고 상기 열수 추출한 추출물을 이용하여 다슬기 농축액을 제조한다.

[0032] 상기 열수추출할 때 깐 다슬기육, 생강, 지치, 울금, 인진호, 맨드라미 및 벌나무 혼합물에 물을 넣고 90~120℃의 온도에서 2~5시간 동안 가열하여 열수추출하다.

[0033] 상기 다슬기육은 다슬기를 증숙하여 패각을 제거한 다슬기육를 사용한다. 상기 다슬기를 증숙할 때 찌거나 삶아서 다슬기육을 채취하돼 증숙 온도는 100~150℃의 온도에서 10~20분 증숙한다.

[0034] 상기 생강은 수확한 생강을 세척하여 껍질을 벗긴 후 잘게 썰거나 다져서 혼합하여 준다.

[0035] 생강은 높이 30~50㎝의 다년생 초본으로 비대한 괴경을 식용 또는 약용으로 사용한다. 약용으로 사용되는 생강의 뿌리줄기는 구토, 지사, 항염증, 진통 및 항균 효과가 있다. 생강의 성분으로는 zingiberene, phellandrene, camphene, shogaol 등이 들어있다

[0036] 지치는 지칫과의 여러해살이 풀로 30~70cm 정도 자라며, 우리나라 전역에 분포되어 있다. 약효과 있는 부위는 뿌리와 싹이며, 생약명은 자초(紫草)이다. 지치의 효능은 주로 피부과·순환계·소화기 질환을 다스린다.

[0037] 울금(鬱金)은 온울금(溫鬱金) Curcuma wenyujin(생강과), 강황 Curcuma longa(생강과), 광서아출(廣西莪朮) Curcuma kwangsiensis(생강과) 또는 봉아출(蓬莪朮) Curcuma phaeocaulis(생강과)의 덩이뿌리로서 그대로 또는 주피를 제거하고 쪄서 말린 것이다. 우리나라『식품공전』에서 울금은 식품에 제한적으로 사용할 수 있는 원료

로 규정되어 있으므로 뿌리줄기는 식용이 가능하다.

[0038] 울금은 혈(血)의 운행을 활발히 하여 통증을 없애고 행기(行氣)하여 울체(鬱滯)된 것을 풀어주는 효능이 있다. 그리고 열기를 식히고 혈열을 식히는 효능도 있다. 그러므로 생리통, 생리불순과 옆구리가 아픈 것, 토혈, 소변출혈을 억제하는 작용이 있다. 담즙분비를 촉진하고 건위작용이 있어 소화를 돕는다.

[0039] 인진호는 다년생 초본으로 30-100cm 높이로 자라며, 잎은 꽃이 피지 않으면 총생이고, 꽃이 피면 호생이다. 꽃은 8~9월 녹황색으로 핀다. 어린 순은 식용으로 사용하며, 어린싹은 해열, 이뇨, 항균 작용을 한다.

[0040] 맨드라미는 비름과의 한해살이풀로 90cm 정도 자라며 9월에 꽃이 핀다. 약효가 있는 부위는 씨이고 주로 피부과·비뇨기 질환을 다스린다.

[0041] 벌나무는 단풍나무과에 속하는 식물로 나뭇가지가 벌집 모양을 하고 있어 벌나무라고 불리며, 여름이 되면 다른 나무보다 벌들이 많이 모여든다고 해서 봉목이라고도 하고, 산청목, 봉목, 산겨릅나무라고도 부fms다벌나무는 해발고도 600m 이상 고지대, 습기가 많은 계곡 근처에서 자라며 높이는 10~15m까지 자라기도 한다. 벌나무는 독성이 없어 잎, 가지, 줄기, 껍질, 뿌리 등을 약재로 사용하고, 벌나무에 함유된 항산화 성분인 폴리페놀과 플라보노이드 성분이 간 기능 향상에 도움 주며, 또한 음주로 인한 간 건강 및 간염, 간암, 간경변증 등 증세를 완화하는데 효과가 있다.

[0043] 상기 다슬기 농축액을 이용하여 숙취해소 및 간 기능 개선 효능을 갖는 다슬기 추출 음료를 제조한다.

[0044] 상기 다슬기 추출 음료의 제조방법은 정제수 100중량부에 상기 다슬기 농축액 1~2중량부, 헛개농축액 1~2중량부, 밀크씨슬 0.01~0.1중량부, 벌꿀 0.5~2중량부를 혼합하여 숙취해소 및 간 기능 개선 효능을 갖는 다슬기 추출 음료를 제조한다.

[0045] 상기 다슬기 농축액은 깐 다슬기육 100중량부에 생강 30~50중량부, 지치 30~50중량부, 울금 10~30중량부, 인진호 50~70중량부, 맨드라미꽃 40~60중량부 및 벌나무 90~110중량부를 혼합한 다음 상기 혼합물에 중량대비 5~10배의 물을 넣고 가열하여 열수추출하고 농축하여 제조한다.

[0046] 상기 헛개농축액은 헛개나무의 줄기 또는 잎과 열매를 중탕기에 넣고 중탕하여 추출한 후 농축하여 제조한다. 상기 중탕 공정에서 헌개나무의 줄기 또는 잎과 열매를 중탕기에 넣고 중탕할 때 헛개나무의 줄기 또는 잎과 열매 100중량부에 물을 3~5배 넣은 후 100 ~ 120℃의 온도로 5~10시간 동안 가열 중탕한다.

[0047] 상기 중탕이 끝나면 잔유물은 버리고 추출액을 여과하여 찌꺼기를 제거한 다음 살균한 후 실온으로 식혀준다. 상온 상태의 추출액은 감압 농축법, 여과 농축법, 무건조법 등의 방법으로 농축시켜 헛개농축액을 제조한다.

[0048] 밀크시슬(milk thistle)은 국화과에 속하는 다년생초로서 남서유럽과 북아프리카, 아시아에서 자생하며, 분홍색이나 자주색을 띠는 작은 꽃은 두상꽃차례로 핀다. 식재료로 사용할 때에는 식이보충제로 가공되어 판매되며, 간 기능 개선 등의 효능이 있다. 본 발명에서는 밀크시슬의 열매를 분쇄하여 혼합하되 100~300메시의 크기로 분쇄하여 사용하는 것이 바람직하다.

[0050] 본 발명의 구체적인 실시예는 다음과 같다.

[0051] **(다슬기 추출물의 제조)**

[0052]

표 1

[0053] 1) 다슬기 추출물의 제조

시 료	배합 (g)
깐 다슬기	100
생강	40
지치	40
울금	20
인진호	60
맨드라미꽃	50

벌나무	100

[0054] 위의 시료를 혼합 후 8배수 정수를 넣어 100℃, 3시간 혼합 추출 및 농축하고 이 농축액을 1.5%로 희석 (100ml 기준)하여 헛개농축액 1.5% (v/v), 밀크씨슬 0.05% (v/v), 벌꿀 1g (v/v)으로 혼합하여 제조하였다.

[0056] **(동물 실험)**

[0057] 1) 재료 및 방법

[0058] 가. 급성 알코올 쥐 모델에서의 Alcohol 및 acetaldehyde 농도 측정

[0059] 급성 알코올 투여 실험동물은 효창 사이언스 (Daegu, Korea)로부터 Sprague-Dawley 수컷 흰쥐 8주령을 분양 받았다. 실험동물의 사육은 12시간의 명암주기와 일정한 온도 (22±2℃) 및 습도 (50±5%)를 유지하면서 사육하였고 물과 식이는 자유급여 하였다. 일주일간 적응 기간을 거친 후 체중이 비슷하도록 무작위로 분류하는 난괴법에 따라 나누어 배정하였으며, 알코올을 단독 투여한 대조군 (C), 다슬기 시료 저농도군(SL10), 다슬기 시료 고농도군(SL20), 다슬기와 밀크씨슬 혼합 저농도군 (SLM10), 다슬기와 밀크씨슬 혼합 고농도군 (SLM20), 시판중인 숙취해소 제품 (PC)과 같이 총 6군으로 나누었다. 실험 당일 15시간 절식시킨 쥐에 대조군은 생리식염수를 PC군은 숙취해소 제품 시료를 10 ml/kg, SL10, SL20, SLM10, SLM20군은 각 시료들을 10 또는 20 ml/kg 투여 한 후 1시간 뒤, 50%로 제조한 알코올을 6 ml/kg 경구 투여하고 알코올의 농도를 측정하기 위해 3, 5 시간 후 혈액을 채취하였으며, 아세트알데히드의 농도를 측정하기 위해 5, 7 시간 후 혈액을 채취하였다. 채취한 혈액은 2시간 동안 실온에 방치해준 뒤 3000 x g으로 15분간 원심 분리하여 상층액만 취하여 실험에 사용하였다.

[0061] 나. 만성 알코올 쥐 모델 동물실험

[0063] 만성 알코올 투여 실험동물은 효창 사이언스 (Daegu, Korea)로부터 Sprague-Dawley 수컷 흰쥐 4주령을 분양 받았다. 난괴법에 따라 나누어 배정하였다. 총 5군으로 정상군 (N), 알코올 단독 투여 대조군 (C), 간 기능 개선제로 알려진 실리마린을 투여한 양성 대조군 (SM), 다슬기와 밀크씨슬 혼합물 저농도군 (SLM10), 다슬기와 밀크씨슬 혼합물 고농도군 (SLM20)과 같이 나누어주었다. 알코올은 2주 동안 50% 알코올 8 ml/kg으로 경구투여를 진행하다가 다시 2주 동안 12 ml/kg으로 투여하였다. 동시에 각 시료들을 4주동안 투여하였다. N, C군은 생리식염수 10 ml/kg, SM군은 50 mg/kg을 투여하였으며, 나머지 군은 10, 20 ml/kg으로 투여하였다. 실험 당일 15시간 절식시킨 후 희생시켰으며, 혈액 및 간 조직과 같은 장기들을 채취하였다. 혈액은 2시간동안 실온에서 방치한 후 3000 x g, 15분 동안 원심분리 하였으며, 상층액을 취하여 생화학적 분석에 제공하였다. 간 조직은 및 그 외 장기들은 0.9% NaCl을 이용하여 세척한 후, 물기를 제거하여 무게를 측정하였고, -80℃에서 보관하였다.

[0065] 다. 만성 알코올 쥐 모델에서의 Alcohol 및 acetaldehyde 농도 측정

[0067] 혈청 내 alcohol 농도는 시판용 ethanol 분석 kit (K-ETOHLQR, Megazyme, Ireland)를 사용하여 측정하였으며, 혈청 내 acetaldehyde의 농도는 acetaldehyde 분석 kit인 (K-ACHYD, Megazyme, Ireland)를 사용하여 측정하였다.

[0069] 라. 만성 알코올 쥐 모델에서의 ADH 및 ALDH 효소 활성 측정

[0071] 100mg의 간 조직과 500 μl의 1 x PBS를 혼합하여 균질화하고, 10000 rpm, 4℃에서 5분간 원심분리 하였으며 상층액을 취하여 실험에 사용해주었다. ADH 활성은 ADH 분석 키트 (DADH-100, BioAssay Systems, San Francisco Bay)를 이용하여 측정되었고, ALDH 활성은 ALDH 분석 kit (K731-100, BioVision, California)를 이용하여 측정되었다.

[0073] 마. 만성 알코올 쥐 모델에서의 지질농도 및 생화학 지표분석

[0075] 혈청 내 HDL-cholesterol, LDL-cholesterol 및 triglyceride의 함량과 AST, ALT, 및 GGT의 전문 분석 기관인 Southeast Medi-Chem Institute (Busan, Korea)에서 분석을 진행하였다. 혈중 Total cholesterol의 함량은 kit (E-BC-K097-S, Elabscience, United States)로 측정하였으며, 간 조직의 triglyceride 함량 측정 또한 kit (E-BC-K238, Elabscience, United States)로 진행되었다.

[0077] 바. 만성 알코올 쥐 모델에서의 과산화지질 함량 측정

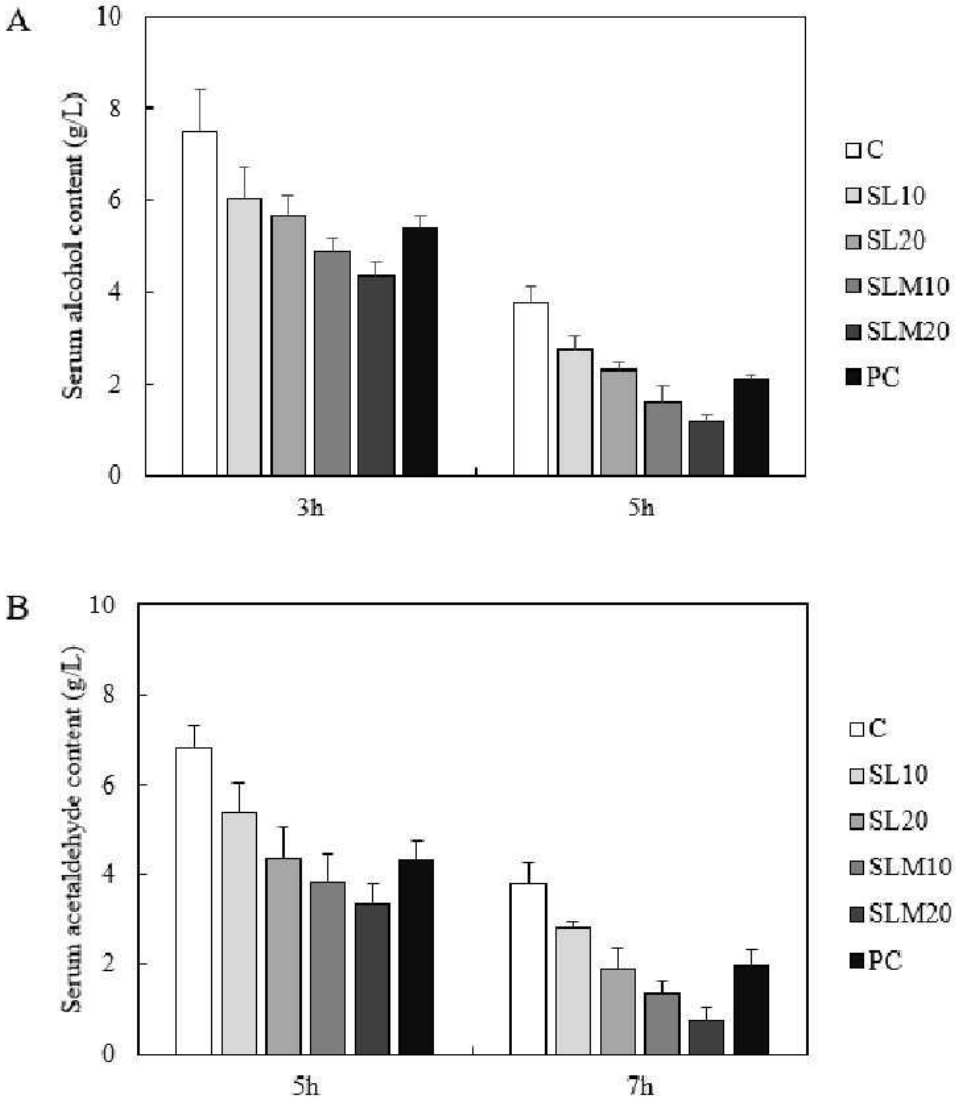
[0079] 과산화지질을 측정하기 위해 Ohkawa 등 (1993)의 방법(Morimoto R. I. 1993.)에 따라 Thiobarbituric aicd reactive substance (TBARS)의 함량을 측정하였다. 균질화 된 간 조직을 함유한 용액 1 ml에 TBA (2-thiobarbituric acid, Sigma-aldrich) 시약 2 ml을 첨가하여 교반해준 뒤 끓는 물에서 30분간 반응시켰다. 이후 얼음물에서 반응을 정지시킨 후 3000 rpm에서 10분 동안 원심분리 하였으며, 상층액을 채취하여 535 nm로 흡광도를 측정하였다.

[0080]

[0081] 2)결과 및 고찰

[0083] 가. 급성 알코올 쥐 모델에서의 Alcohol 및 acetaldehyde 농도 측정

[0085] 급성 알코올 모델에서 혈중 알코올 및 아세트알데히드 농도를 측정한 결과는 다음과 같다. 혈중 알코올 농도의 경우 C군에서 3, 5시간 모두 가장 높은 수치를 나타냈고, SLM20군에서 각각 4.37 g/L, 1.19 g/L로 가장 낮은 농도를 보였다. 특히 3, 5시간에서 모두 SL20군 (5.67 g/L, 2.32 g/L)과 PC군 (5.41 g/L, 2.11 g/L)보다 혈중 알코올 농도는 더 감소된 것으로 확인되었다. 혈중 아세트알데히드의 결과 또한 알코올의 농도와 비슷한 경향을 보이면서, SLM은 급성 알코올 분해능이 뛰어난 것으로 보인다.



[0087]

[0088] Fig. 급성 알코올 투여 흰 쥐의 혈청 내 (A) alcohol 및 (B) acetaldehyde 농도에 대한 SLM의 영향. C: Alcohol, SL10: *Semisulcospira libertine* 10mg/kg, SL20: *Semisulcospira libertine* 20mg/kg, SLM10: *Semisulcospira libertine* + milk thistle 10mg/kg, SLM20: *Semisulcospira libertine* + milk thistle 20mg/kg.

[0090] 나. 만성 알코올 쥐 모델에서의 체중 및 식수 섭취량 변화

[0092] 만성 알코올 쥐 모델에서 무게 증가 및 식수 섭취량에 대한 결과는 아래와 같다. 초기의 몸무게는 모든 군에서 유의한 차이는 확인되지 않았으나, 실험 종료 후 알코올을 섭취하지 않은 N군에서 체중이 가장 많이 증가하였다. 반면, 알코올을 섭취한 C군에서 체중 증가율이 가장 낮은 것으로 확인되었으나, SLM군에서 C군과 SM군보다 높은 몸무게를 보였고, 특히 SLM20군은 N군과 유의적인 차이는 보이지 않았다. 이는 알코올 만성 섭취는 소장에서 식이성분이나 영양소의 흡수를 방해하여 영양 불균형에 의한 체중 증가율의 감소가 발생한다는 보고가 있다.

표 2

[0093]

	N[1]	C[2]	SLM10[3]	SLM20[4]	SM[5]
Body weight (g)					
Initial	251.17±4.20	253.00±3.65	250.08±4.94	251.67±7.44	252.83±3.33
Final	422.25±15.79	350.42±18.69	381.33±11.75	403.00±5.87	373.33±4.04
Weight gain	171.08±12.93	97.42±19.72	131.25±13.71	151.33±6.98	120.50±7.37
Water consumption (ml/day)	57.83±16.40	42.16±11.51	42.30±11.33	42.25±10.62	41.88±11.94

[0094] Table. 만성 알코올을 쥐 모델에서의 무게 증가, 식수 섭취량에 대한 SLM의 영향

[0096] [1)]N: Normal

[0097] [2)]C: Alcohol

[0098] [3)]SLM10: Alcohol + *Semisulcospira libertine* + milk thistle 10mg/kg

[0099] [4)]SLM20: Alcohol + *Semisulcospira libertine* + milk thistle 20mg/kg

[0100] [5)]SM: Alcohol + Silymarin 50mg/kg

[0102] 다. 만성 알코올 쥐 모델에서의 장기 무게 측정

[0104] 만성 알코올 쥐 모델에서의 장기 무게 결과는 아래 나타냈다. 알코올은 투여한 C군에서 간 무게는 SLM군들과 SM군에 비해 높은 수치를 보였다. 반면, SLM10군은 SM군보다 간 무게가 낮았으며, 특히 SLM20군은 SM군보다 더 유의적으로 간 무게가 낮은 것으로 확인되었다. 나머지 신장, 고환 및 심장의 무게는 모든 군별로 유의적인 차이는 보이지 않았다.

표 3

[0105] Table. 만성 알코올 쥐 모델에서의 장기 무게

	N[1]	C[2]	SLM10[3]	SLM20[4]	SM[5]
Liver (g)	11.33±0.47	10.87±0.54	9.20±0.21	8.31±0.35	9.26±0.28
Kidney (g)	2.64±0.11	2.52±0.10	2.53±0.23	2.54±0.05	2.56±0.20
Testis (g)	3.22±0.64	3.08±0.51	3.14±0.73	3.19±0.33	3.13±0.34
Heart (g)	1.30±0.08	1.23±0.10	1.22±0.09	1.24±0.11	1.21±0.08

[0106] [1)]N: Normal

[0107] [2)]C: Alcohol

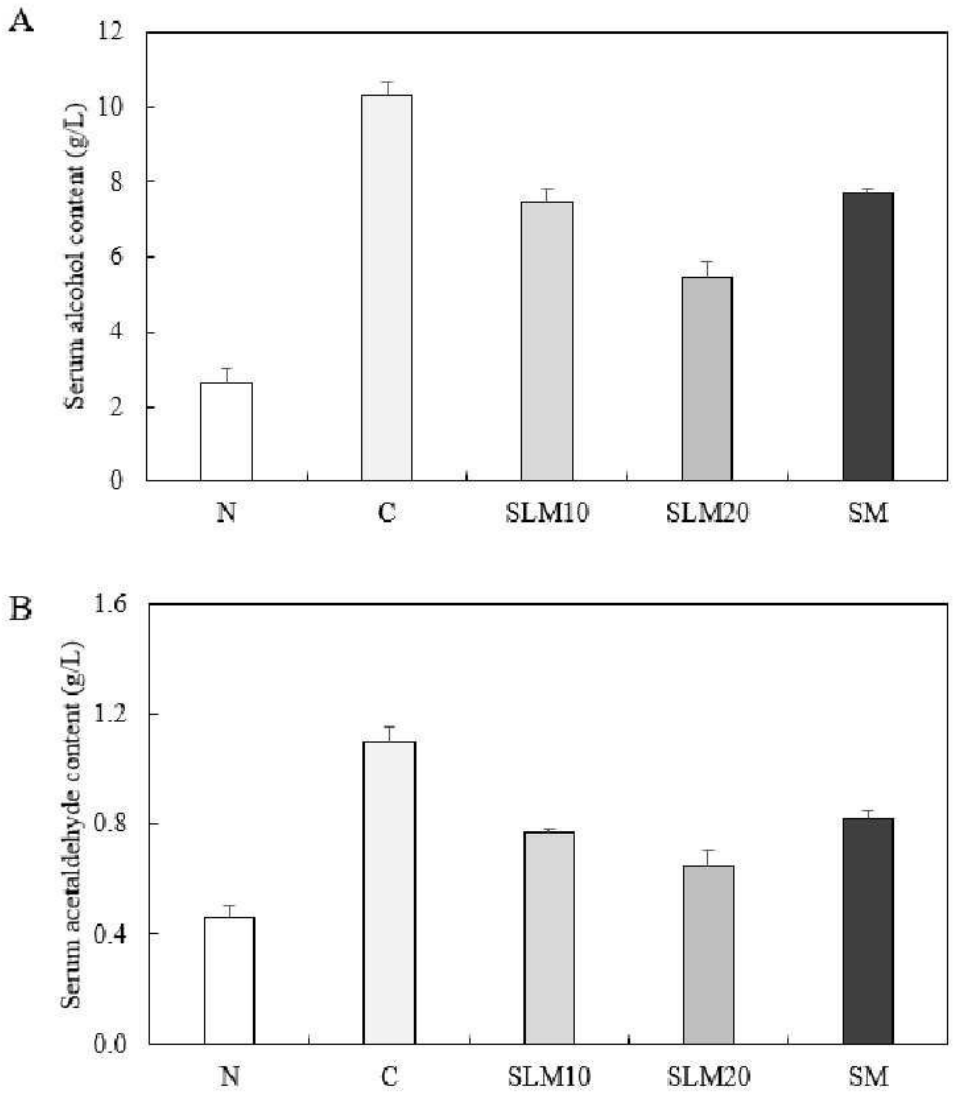
[0108] [3)]SLM10: Alcohol + *Semisulcospira libertine* + milk thistle 10mg/kg

[0109] [4)]SLM20: Alcohol + *Semisulcospira libertine* + milk thistle 20mg/kg

[0110] [5)]SM: Alcohol + Silymarin 50mg/kg

[0112] 라. 만성 알코올 쥐 모델에서의 Alcohol 및 acetaldehyde 농도 측정

[0114] 만성 알코올 쥐 모델에서의 혈중 알코올 및 아세트알데히드 농도는 아래와 같다. 알코올 농도는 C군은 10.29 g/L로 가장 높은 수치를 보였으며, SLM10, SLM20, SM은 각각 7.47 g/L, 5.25 g/L, 7.70 g/L로 확인되었다. SLM20군은 positive control인 SM군보다 혈중 알코올 농도가 줄어든 것으로 나타났다. 아세트알데히드 농도 결과 C군은 1.10 g/L로 가장 높은 함량을 나타냈다. SLM10군 (0.77 g/L)은 SM군 (0.82 g/L)과 비슷한 결과를 나타냈으나, SLM20군은 SM군보다 유의적으로 낮은 0.65 g/L의 농도를 보였다.



[0115]

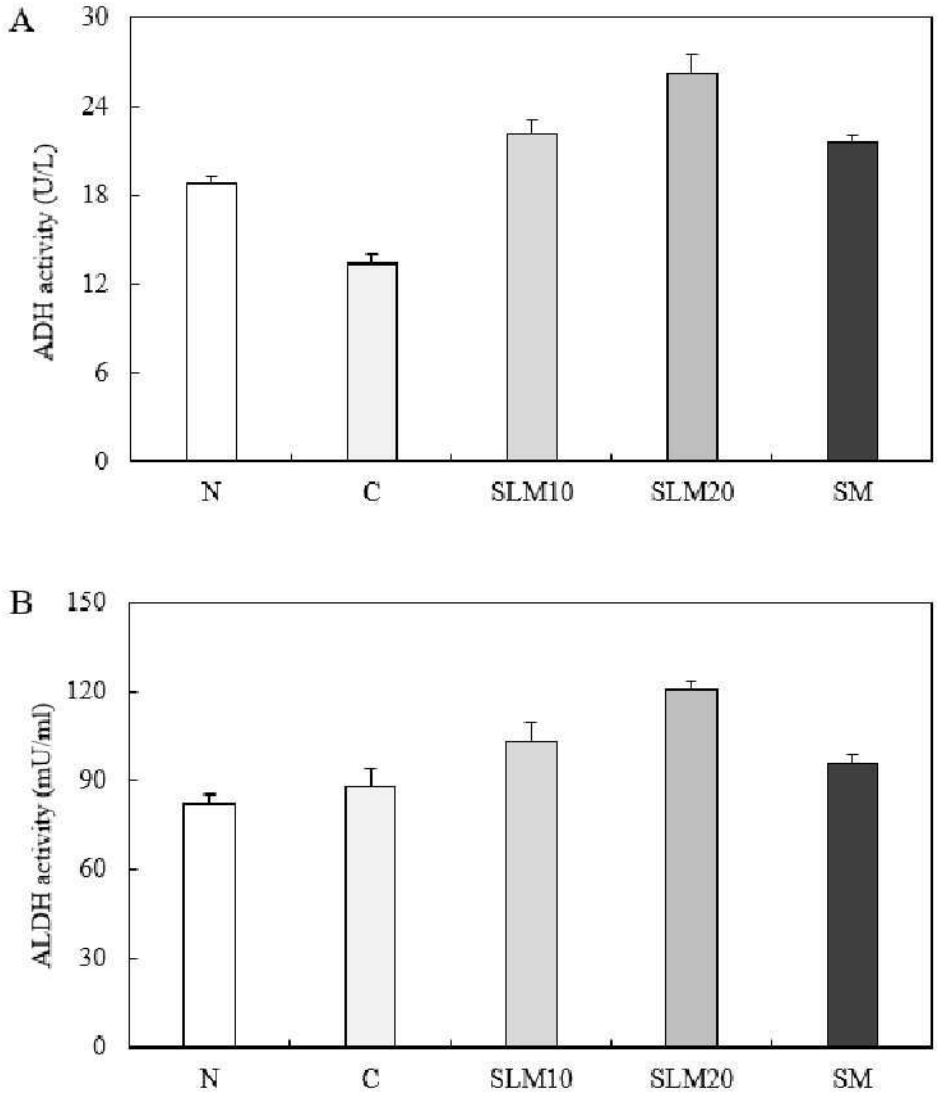
[0116] Fig. 만성 알코올 투여 쥐의 혈중 (A) alcohol 및 (B) acetaldehyde 농도. N: Normal, C: Alcohol,

[0117] SLM10: Alcohol + *Semisulcospira libertine* + milk thistle 10mg/kg, SLM20: Alcohol + *Semisulcospira libertine* + milk thistle 20mg/kg, SM: Alcohol + Silymarin 50mg/kg.

[0119] 마. 만성 알코올 쥐 모델에서의 ADH 및 ALDH 효소 활성 측정

[0120] 만성 알코올 투여 흰쥐의 간 조직에서 알코올 분해효능을 확인하기 위해 alcohol dehydrogenase(ADH) 및 aldehyde dehydrogenase(ALDH)에 대한 활성을 측정한 결과는 아래와 같다. ADH 효소의 활성은 C군에서 13.38

U/L로 오히려 N군보다 낮은 활성을 보였으나 SLM10군은 22.11 U/L로 SM군보다 높은 활성을 나타냈다. SLM20군은 26.17 U/L를 보이면서 유의적으로 가장 높은 ADH 활성을 나타냈다. ALDH 효소 활성의 경우 C군이 N군보다 높은 88.39 mU/mL로 나타났고, SLM10군은 103.43 mU/mL로 SM군 보다 높은 활성을 보였고, 특히 SLM20군은 120.22 mU/mL로 유의적으로 가장 높은 ALDH 효소 활성이 확인되었다.

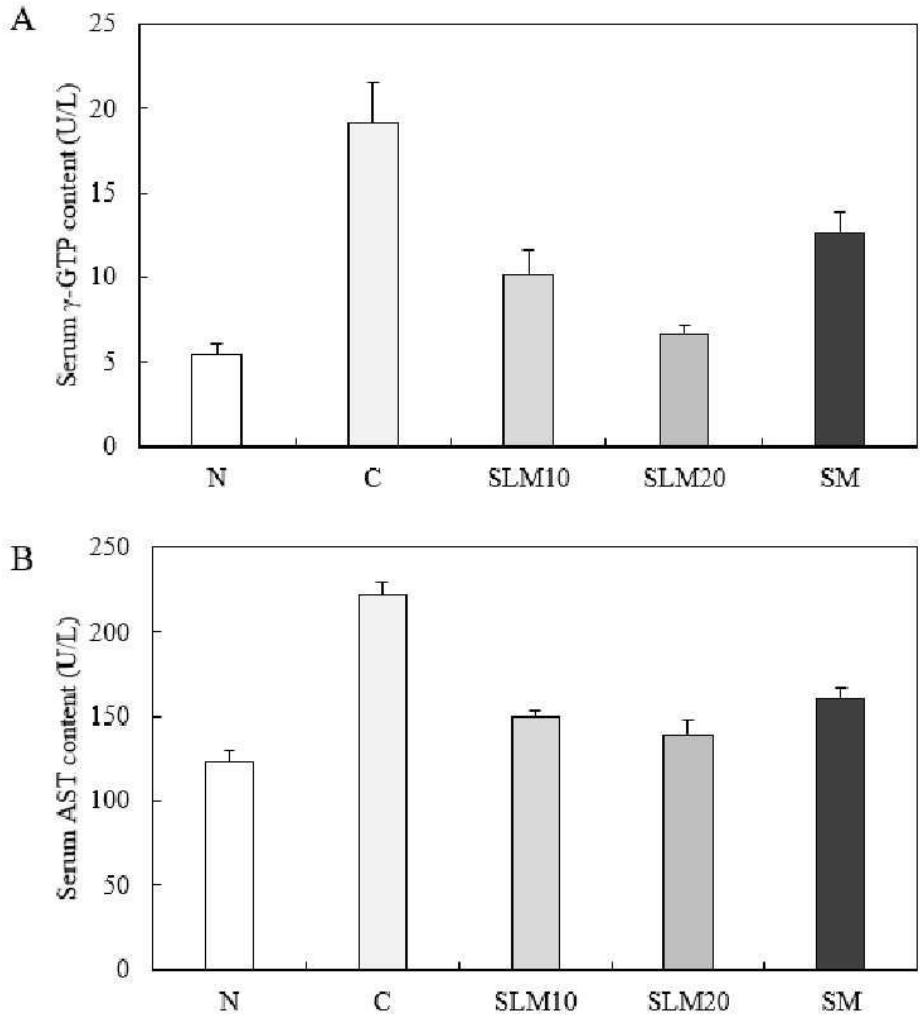


[0121]

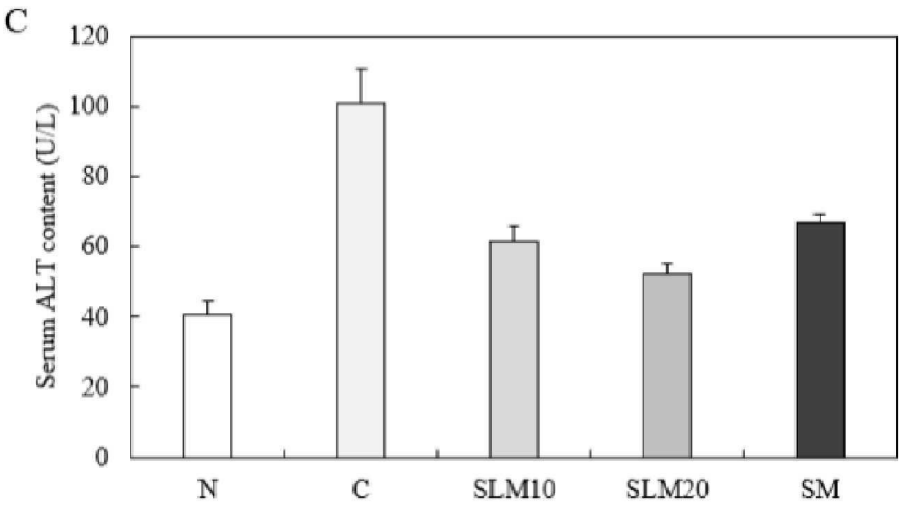
[0122] Fig. 만성 알코올 투여 쥐의 간 조직 내 (A) ADH 및 (B) ALDH 농도. N: Normal, C: Alcohol, SLM10: Alcohol + *Semisulcospira libertine* + milk thistle 10mg/kg, SLM20: Alcohol + *Semisulcospira libertine* + milk thistle 20mg/kg, SM: Alcohol + Silymarin 50mg/kg.

[0124] 바. 만성 알코올 쥐 모델에서의 혈중 생화학적 지표 분석

[0126] 만성 알코올을 투여한 쥐 모델로부터 채취한 혈청을 이용하여 생화학적 지표를 분석한 결과는 아래와 같다. GGT 활성은 C군에서 가장 높은 19.17 U/L를 나타냈고, SLM10군은 SM군과 C군보다 낮은 10.17 U/L를 보였다. SLM20군은 6.67 U/L로 C, SLM10, SM군보다 유의적으로 낮은 활성을 보였다. AST 활성은 C군에서 역시 222.50 U/L로 가장 높은 활성을 보였고, SLM10군이 149.17 U/L로 SM군과 C군보다 낮은 활성을 나타냈다. 특히 SLM20군은 138.33 U/L로 C, SLM10, SM군보다 낮은 활성을 확인하였다. ALT 활성은 C군에서 100.83 U/L로 가장 높은 활성을 보였으며, SLM20군에서 N군을 제외하고 나머지 군에서 유의적으로 ALT 활성이 낮을 것으로 나타났다. GGT, AST 및 ALT는 모두 간 손상시에 혈액으로 방출되는 인자로써 SLM에 의해 알코올로 유도된 간 손상이억제된 것으로 판단된다.



[0127]

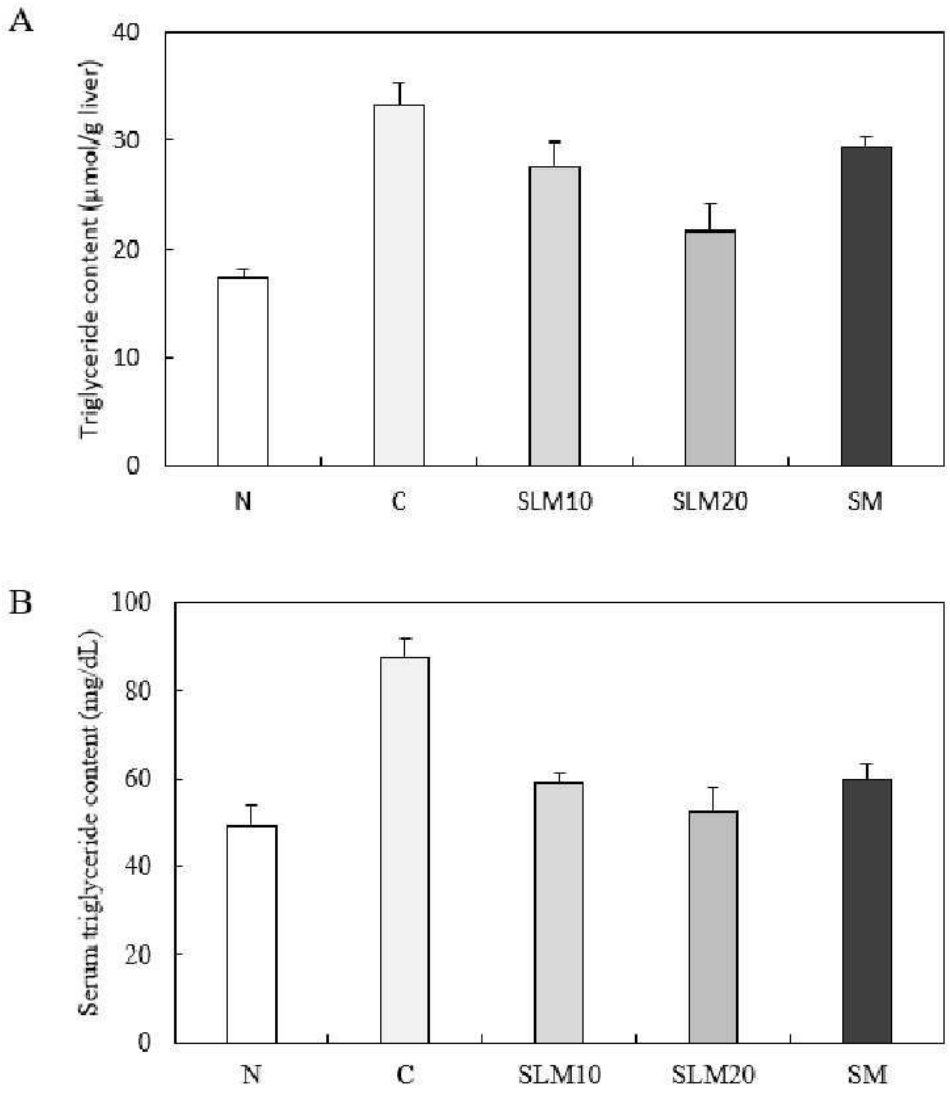


[0128]

[0129] Fig. 만성 알코올 투여 쥐의 혈청 내 (A) GGT, (B) AST 및 (C) ALT 활성. N: Normal, C: Alcohol, SLM10: Alcohol + *Semisulcospira libertine* + milk thistle 10mg/kg, SLM20: Alcohol + *Semisulcospira libertine* + milk thistle 20mg/kg, SM: Alcohol + Silymarin 50mg/kg.

[0131] 사. 만성 알코올 쥐 모델에서의 간 조직 및 혈중 중성지질 농도 변화

[0133] 만성 알코올을 투여한 쥐의 모델에서 간 조직 및 혈중 중성지질의 농도 변화를 관찰한 결과는 아래와 같다. 알코올만 투여한 C군의 간 조직 내 중성지방 함량은 33.12 μmol/g으로 모든 군에 비해 가장 높은 중성지방 함량을 보였고, SLM20군은 21.71 μmol/g으로 N군을 제외한 나머지군에 비해 유의적으로 낮은 중성지방 함량을 나타냈다. 또한 혈중 중성지방 농도는 C군에서 87.50 mg/dL로 가장 높은 함량을 보였고, SLM20군에서 N군을 제외하고 나머지군보다 낮은 함량을 나타냈다. SLM 섭취는 알코올로 인한 지방 축적을 억제한 것으로 사료된다.

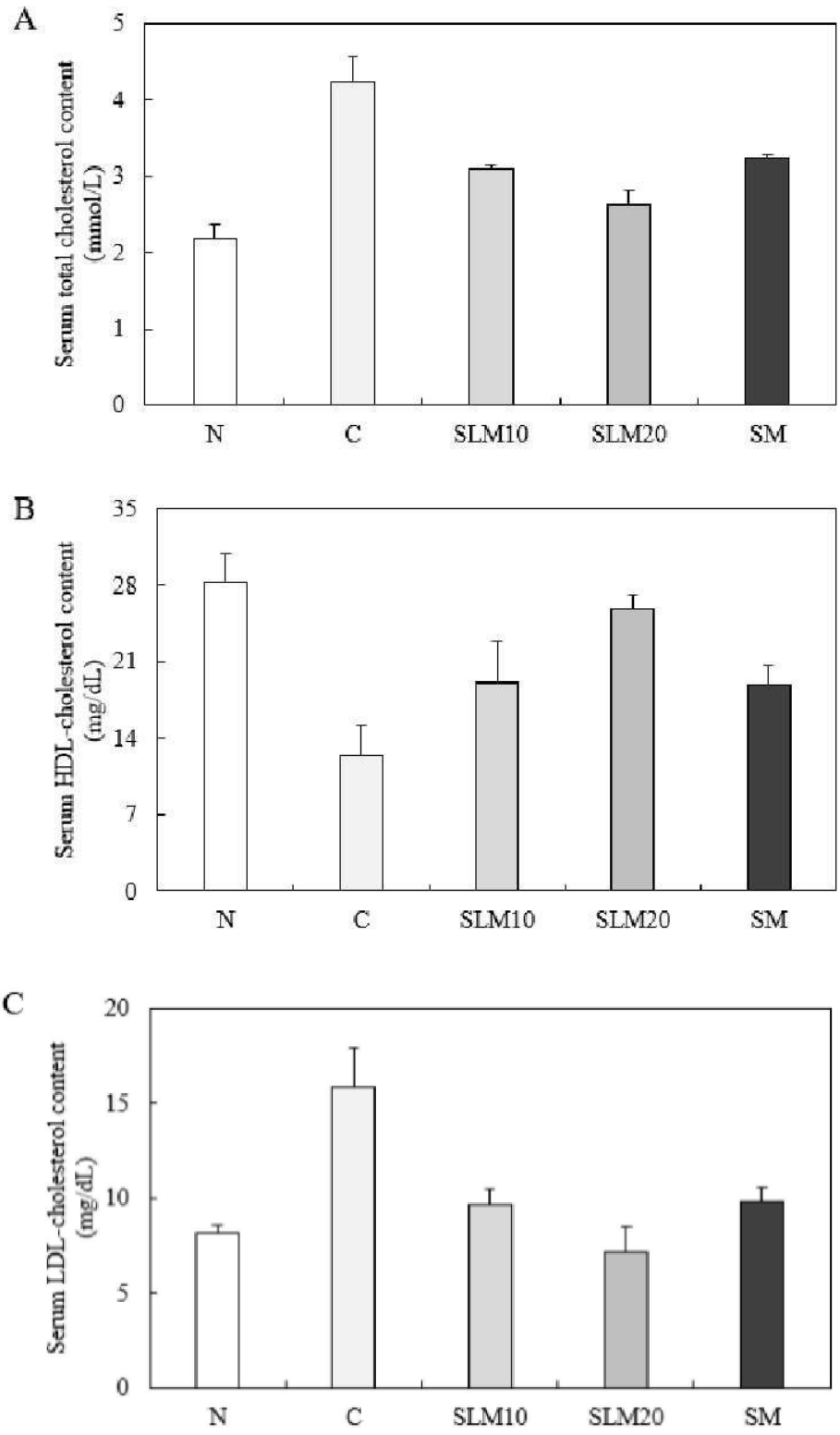


[0134]

[0135] Fig. 만성 알코올 투여 쥐의 (A) 간 조직 및 (B) 혈중 중성지질 함량. N: Normal, C: Alcohol, SLM10: Alcohol + *Semisulcospira libertine* + milk thistle 10mg/kg, SLM20: Alcohol + *Semisulcospira libertine* + milk thistle 20mg/kg, SM: Alcohol + Silymarin 50mg/kg.

[0137] 아. 만성 알코올 쥐 모델에서의 혈중 total-cholesterol, HDL-cholesterol, LDL-cholesterol 농도

[0139] 만성 알코올 쥐 모델에서의 혈중 total cholesterol, HDL cholesterol 및 LDL cholesterol의 농도는 다음과 같다. total cholesterol과 LDL-cholesterol 농도는 알코올만 투여한 C군에서 유의적으로 가장 높은 농도로 확인되었고, SLM20군에서 유의적으로 농도가 감소한 것으로 나타났다. 특히 LDL-cholesterol 농도는 SLM20군과 N군은 유의적인 차이는 확인되지 않았다. 반면, HDL-cholesterol 농도는 C군에서 가장 낮은 12.50 mg/dL로 확인되었고, SLM20군에서 C, SLM10, SM군보다 유의적으로 HDL-cholesterol 농도가 증가하였고, N군과는 유의적인 차이는 보이지 않았다. SLM의 섭취는 만성 알코올 쥐 모델에서 혈중 콜레스테롤을 낮추고 HDL-cholesterol 농도는 증가시키는 것으로 확인되었다.



[0140]

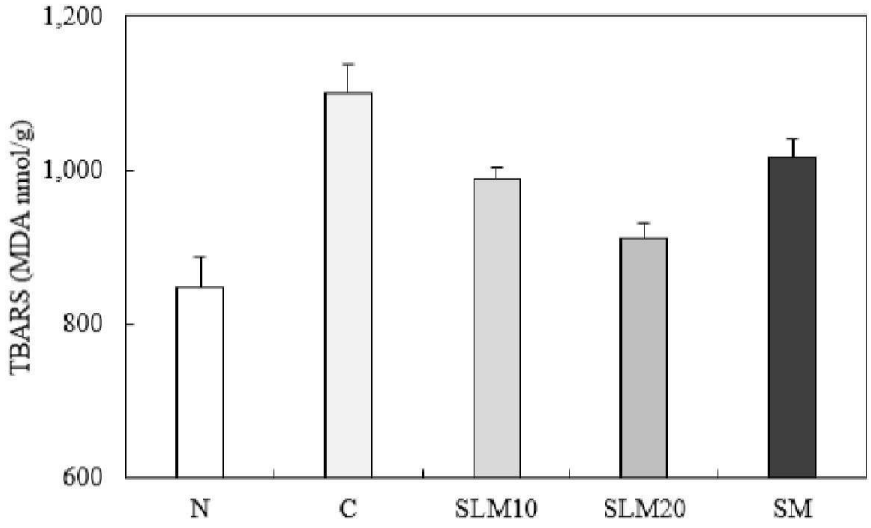
[0141]

[0142] Fig. 만성 알코올 투여 쥐의 혈중 (A) total-cholesterol, (B) HDL-cholesterol, (C)

[0143] LDL-cholesterol 함량. N: Normal, C: Alcohol, SLM10: Alcohol + *Semisulcospira libertine* + milk thistle 10mg/kg, SLM20: Alcohol + *Semisulcospira libertine* + milk thistle 20mg/kg, SM: Alcohol + Silymarin 50mg/kg.

[0145] 자. 만성 알코올 쥐 모델에서의 간 조직 내 과산화지질 농도 변화

[0147] 만성 알코올을 투여한 쥐의 간 조직 내 산화적 손상의 지표로 사용되는 지질과산화물을 TBARS 정량으로 측정한 결과는 아래와 같다. 대체적으로 N군에 비해 에탄올 투여 군들에서 간 조직의 과산화지질 농도가 유의적으로 증가하는 경향을 나타냈으며, 특히 C군에서 1100.03 nmol/g으로 가장 높은 농도를 보였다. 반면에 SLM20군에서 N군을 제외한 나머지 군에서 유의적으로 과산화지질 농도가 감소하는 것으로 확인되었다.



[0148]

[0149] Fig. 만성 알코올 투여 쥐의 간 조직 내 과산화지질 농도. N: Normal, C: Alcohol, SLM10: Alcohol + *Semisulcospira libertine* + milk thistle 10mg/kg, SLM20: Alcohol + *Semisulcospira libertine* + milk thistle 20mg/kg, SM: Alcohol + Silymarin 50mg/kg.