

건조 마늘, 홍삼 및 이들 혼합물의 생리활성

신정혜¹ · 강민정¹ · 이수정² · 양승미² · 류지현² · 성낙주^{1,2*}

¹(재)남해마늘연구소
²경상대학교 식품영양학과

Biological Activities of Dried Garlic, Red Ginseng and Their Mixture

Jung-Hye Shin¹, Kang-Min Jung¹, Soo-Jung Lee², Seung-Mi Yang²,
Gi-Hyun Rue², and Nak-Ju Sung^{1,2*}

¹Namhae Garlic Research Institute, Gyeongnam 668-812, Korea

²Dept. of Food Science and Nutrition, Gyeongsang National University, Gyeongnam 660-701, Korea

Abstract

Water extracts were extracted on water bath for 3 hrs at 90°C after 5 times water was added to hot-air dried garlic (DG) and red ginseng (RG), respectively. Its extracts were dried on rotary evaporator, and then the mixture samples were prepared from RG extracts added to DG extracts at 5, 10, and 15%. To test biological activities such as DPPH, nitrite scavenging, tyrosinase, α -glucosidase, human gastric (AGS), and human colon cancer cell (HT-29) growth, dryness of DG, RG, and mixture samples were diluted 500~10,000 μ g/mL adding deionized water, respectively. DPPH scavenging activities of mixture sample were slightly higher than DG and RG sample alone. Nitrite scavenging activity was the highest in DG, and the other samples were below 45%. Inhibition activity of tyrosinase was below 35.0% in tested all samples. Inhibition activity of α -glucosidase was lower in DG or RG alone, while its activity of mixture sample was increased in proportion to concentration of RG extracts. Inhibition of AGS cell growth was more effective in mixture samples than DG and RG alone, while inhibition of HT-29 cell growth was more effective in DG or RG alone than mixture samples.

Key words: hot air dried garlic, antioxidant activity, tyrosinase, α -glucosidase, MTT assay

서 론

생활수준의 향상과 식생활의 서구화로 인하여 영양의 과잉 섭취, 운동부족, 환경오염 및 과도한 스트레스는 개인의 건강을 위협하는 주요 인자로 지적되고 있으며, 이로 인하여 암, 동맥경화, 고지혈증, 고혈압, 당뇨, 간질환 등 각종 만성 퇴행성 질환들을 유발함으로써 개인의 삶의 질을 저하시킴과 동시에 사회적 의료비용의 증대를 유발하고 있다. 이들 질병은 잠복기간이 길고 발병하면 치료가 어려우므로 예방이 더 중요시 되는데 질병의 개선 및 건강유지는 매일 섭취하는 식품의 선택이 매우 중요한 인자로 작용한다(1). 식재와 약재는 영양성분 외에도 인체 내 여러 기능을 조절하는 인자를 함유하고 있으며 이들은 미량으로도 생리활성을 발현하기 때문에 기능성 물질로 인정되고 있고(2), 과거로부터 식용하여 온 경험을 통하여 무독성이 인정되어 건강기능식품 소재로 활용이 제안되고 있다. 식품이 가지는 기능성도 다양하지만 인체에서 요구하는 건강 기능성은 더 다양하여 이를 유지·증진시키기 위한 식품의 기능성 규명에 관한 연구

도 점차 그 범위가 확대되고 있다.

마늘은 과거로부터 그 기능성이 인정되어 인류가 즐겨 섭취하여 온 식품으로 최초 올림픽에서는 운동선수들을 위한 자극제로 섭취된 바 있고, 인도에서는 수세기 동안 위해 곤충 방지용 로션으로 이용되었고, 중국에서는 열병, 두통, 콜레라 및 이질의 방지를 위하여 마늘 차를 음용하여 왔으며 현재도 다양한 질병의 민간약으로 이용이 되고 있다(3). 마늘이 가지는 여러 생리활성을 발현하는 주요물질은 alliin, γ -glutamylcysteine과 같은 S-alk(en)yl-L-cysteine sulf-oxide류, allicin, diallyl sulfide, diallyl disulfide와 같은 지용성 황화합물(4)로, allicin과 유기 셀레늄 화합물은 콜레스테롤 저하 및 항암작용을 가지며 유기황화합물이 가지는 생리활성의 상승제로 작용한다고 보고되어 있다(5).

마늘 중의 황화합물은 주요 생리활성 발현에 관여함과 동시에 강한 향과 매운 맛을 유발하는 주요 물질이기도 하므로 식용하는데 거부감을 줄 수 있어 생마늘이 지니는 심혈관계 질환, 암, 당뇨와 같은 질병에 대한 효능을 유지하면서 향과 맛을 감소시키기 위한 다양한 가공방안들이 제안되고 있는

*Corresponding author. E-mail: snakju@gnu.ac.kr
Phone: 82-55-751-5975, Fax: 82-55-751-5971

데, 100°C에서 20분 정도의 가열에서는 마늘의 생리활성물질들이 크게 영향을 받지 않는다고 알려져 있다(6).

본 연구에서는 마늘의 가공 편의를 높이고, 생리활성을 증대시킬 수 있는 부재료가 첨가된 가공품 개발을 위한 기초 자료를 확보하고자 하였다. 즉, 열풍 건조를 통하여 단순 가공한 마늘 추출물에 자양강장, 면역증진, 원기회복 및 갈변 물질에 의한 항산화활성, 면역기능증진 등의 효능이 있음이 알려져 있는 홍삼(7) 추출물을 적정 비율로 혼합한 조성물의 항산화활성, tyrosinase와 glucosidase 저해활성 및 항암활성을 실험하였다.

재료 및 방법

재료

실험에 사용된 열풍건조 마늘 및 홍삼은 새남해농협(남해군)으로부터 제공받은 것을 사용하였다. 열풍건조 마늘은 깎 마늘을 80°C에서 30시간 열풍 건조한 것을 시료로 하였으며, 홍삼은 세척한 수삼을 증삼기에서 65°C에서 1시간 증삼한 후 85°C에서 3시간 2차 증삼한 다음 65°C 건조기에서 최소 8시간 건조시켜 제조한 것을 사용하였다. 이 때 열풍건조 마늘과 홍삼의 건조 수율은 각각 45%와 18%였다. 시료는 모두 블랜드(Magic gold 520, Daesung, Bucheon, Korea)를 이용하여 분쇄한 다음 -20°C에 보관하면서 실험에 사용하였다.

열수추출물 제조 및 수율 측정

열수추출물은 마쇄한 시료 100 g에 5배의 증류수를 가하여 90°C 수욕 상에서 3시간 동안 환류냉각하면서 2회 반복 추출하였다. 추출물은 여과 후 회전식진공건조기를 이용하여 완전건조 시켰으며, 건조물의 무게를 측정한 다음 -20°C 동결고에 보관해 두고 실험에 사용하였다. 추출수율은 추출 전후 시료에 대한 추출물의 완전건조 후 무게백분율로 계산하였다.

마늘 열수추출물에 홍삼 추출물을 무게비로 각각 5%, 10% 및 15% 첨가한 혼합물을 시료로 하여 탈이온수를 가해 500, 1,000, 2,500, 5,000 및 10,000 µg/mL로 농도 조정된 다음 생리활성 실험용 시료로 사용하였다.

각 항목별 실험 결과의 비교를 위한 positive control로 비타민 C(Sigma Co., St. Louis, MO, USA)를 시료와 동일한 농도로 탈이온수에 용해시켜 사용하였다.

DPPH에 대한 전자공여능의 측정

전자공여 작용은 Blois(8)의 방법을 변형하여 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH)에 대한 전자공여 효과로 그 활성을 측정하였다. 즉 일정농도의 시료 추출물에 DPPH 용액을 가하여 혼합한 다음 실온에서 20분간 반응시킨 후 525 nm에서 흡광도를 측정하였다. 전자공여능은 시료첨가구와 무첨가구의 흡광도 비로 나타내었다.

Nitrite 소거능 측정

Nitrite 소거능은 Kato 등(9)과 Kim 등(10)의 방법에 따라 1 mM NaNO₂ 용액 1 mL에 농도별 시료액 1 mL를 가하고 0.1 N HCl과 0.2 M 구연산 완충액(pH 2.5)을 가하여 총 부피를 10 mL로 하였다. 이 용액을 37°C에서 1시간 반응시킨 후 각 반응액 1 mL를 취하여 2% 초산용액 3 mL와 30% 초산용액에 용해한 Griess 시약(1% sulfanilic acid:1% naphthylamine=1:1) 0.4 mL를 차례로 가한 후 진탕 혼합하여 실온에서 15분간 방치한 다음 520 nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조구는 Griess 시약 대신 증류수를 가하여 측정하였으며, nitrite 소거능은 $100 - [(시료\ 첨가구의\ 흡광도 / 무첨가구의\ 흡광도) \times 100]$ 으로 나타내었다.

Tyrosinase 활성 저해능 측정

Tyrosinase 활성 저해능 측정은 tyrosinase의 작용 결과 생성되는 DOPA chrome을 비색법에 의해 측정하는 Yagi 등(11)과 Jeon 등(12)의 방법에 따라 측정하였다. 즉, pH 6.5의 0.2 M potassium phosphate buffer 2.3 mL에 2 mM L-tyrosine 용액 0.4 mL, 시료액 0.2 mL 및 tyrosinase(220 unit/mL, Sigma Co.) 0.1 mL를 차례로 가한 다음 37°C에서 30분간 반응시킨 후 470 nm에서 흡광도(S_{OD})를 측정하였다. 효소액 대신에 증류수를 넣고 측정한 흡광도(B_{OD}) 및 시료액 대신에 증류수를 첨가하여 측정한 흡광도(C_{OD})를 이용하여 다음의 식에 따라 tyrosinase 저해능을 측정하였다.

$$\text{Inhibition effect (\%)} = \left(1 - \frac{S_{OD} - B_{OD}}{C_{OD}} \right) \times 100$$

Glucosidase 저해능 측정

α-Glucosidase 활성 억제 측정은 Choe 등(13)의 방법을 참고하여 *in vitro*에서 기질과의 반응역학분석 방법으로 억제율을 측정하였다. 즉, 반응기질인 2.5 mM p-nitrophenyl α-D-glucopyranoside를 0.1 M potassium phosphate buffer(pH 6.8)에 첨가한 후 α-glucosidase와 시료 추출물을 넣고 그 혼합액에 효소용액을 첨가한 후 37°C에서 20분간 반응시키고 0.1 M NaOH 100 µL를 가하여 반응을 정지시키고 기질인 p-nitrophenyl α-D-glucopyranoside로부터 유리되어 나오는 반응 생성물인 p-nitrophenol을 405 nm에서 측정하여 α-glucosidase 활성의 억제정도를 측정하였다.

MTT assay

인체 위암 세포주인 AGS와 인체 결장암 세포주인 HT-29은 한국 세포주 은행으로부터 분양 받았으며, 각각의 암세포는 5000 unit/mL의 penicillin-streptomycin과 10%의 FBS가 함유된 RPMI 1640을 사용하여 37°C, 5% CO₂ incubator에서 배양하였다. 배양된 세포는 48시간 간격으로 계대 배양하면서 실험에 사용하였다.

배양된 각각의 암세포는 PBS로 세척한 후 0.05% trypsin-EDTA로 부착된 세포를 분리한 다음 세포를 모두 모아

원심분리 하여 집적된 암세포를 배지에 다시 분산시킨 다음 20 μL 를 취해 trypanblue 20 μL 와 잘 혼합하여 세포수를 확인하였다. 각 암세포는 4×10^4 cells/mL로 농도를 조절하여 각각 100 μL 씩을 96 well plate에 접종하였다. 37°C, 5% CO₂ incubator에서 24시간 배양한 후 배지를 제거한 다음 50, 100, 200, 500 및 1,000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 로 농도를 조정된 free RPMI 배지를 각 100 μL 씩 가하여 동일한 조건에서 다시 24시간 배양하였다. 이때 대조군으로는 시료를 함유하지 않은 free RPMI 배지를 첨가하였다. 배양 후 PBS에 5 mg/mL의 농도로 제조한 MTT(3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyl tetrazolium bromide) 용액을 각 well에 10 μL 씩 가한 후 3시간 동안 37°C incubator에서 배양하였다. 이 때 생존하는 세포와 MTT와의 반응으로 생성된 formazan 결정을 배지를 제거한 후 DMSO 100 μL 에 녹여 plate shake (MX2, FINEPCR, Seoul, Korea)에서 30분간 반응시킨 후 ELISA reader를 이용하여 540 nm에서 흡광도를 측정하여 암세포의 성장 억제율을 산출하였다.

통계처리

반복 실험하여 얻은 결과는 SPSS 12.0 package를 사용하여 분산분석 하였으며, 결과는 평균 \pm 표준편차로 나타내었다. 각 실험군에 대한 유의성 검정은 분산분석을 한 후 $p < 0.05$ 수준에서 Duncan's multiple test를 실시하였다.

결과 및 고찰

DPPH에 대한 전자공여능의 측정

열풍건조 마늘 및 홍삼 추출물 혼합액의 전자공여능을 평가한 결과는 Table 1과 같다. 시료 추출물의 전자공여능은 마늘과 홍삼 추출물 모두 500과 1,000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 농도에서는 15% 미만의 활성을 보였으나 그 이상의 시료 농도에서는 시료의 첨가 농도가 증가함에 따라 그 활성도 유의적으로 증가하여 10,000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 농도에서 전자공여능은 각각 45.76%와 43.14%였다. 시료의 전자공여능은 열풍건조 마늘 추출액에 홍삼 추출액을 5~15% 비율로 첨가하였을 때 각각의 시

료 추출물의 활성에 비하여 월등히 증가하여 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 농도에서도 38% 이상의 높은 활성을 나타내었으며, 1,000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 농도에서는 50%정도로 그 활성이 증가하였다.

열풍건조 마늘과 홍삼 중의 항산화 효능은 갈변물질에 의한 것으로 추정되는데 Lee와 Do(14)는 갈변물질의 항산화 효과는 갈변물질 분자 중에 비교적 안정한 유리기가 존재하며, 항산화능은 이들 유리기에 의하여 발휘되는데, 백삼 물 추출물을 열처리할 경우 온도가 높고 처리시간이 길수록 수 소공여능이 증가하였으며 이는 갈색도의 증가와 비례한다고 보고한 바 있다.

Shin 등(15)은 생마늘, 찢마늘 및 흑마늘의 열수 추출물과 에탄올 추출물의 전자공여능을 평가한 결과 이들 마늘 시료 중 흑마늘의 활성이 가장 높았으며 에탄올 추출물에 비하여 열수 추출물에서 전자공여효과가 더 우수하여 열수 추출물은 10 mg/mL 농도에서 69.40%의 활성을 나타내었다고 보고한 바 있다. 또, 흑마늘의 항산화 활성이 찢마늘이나 생마늘에 비하여 더 높아진 것은 갈변반응 동안 새로이 생성된 물질에 기인하는 바가 클 것으로 추정하였다.

Kim 등(16)도 백삼과 홍삼 70% 에탄올 추출물의 전자공여능을 비교할 때 홍삼 추출물의 수 소공여능이 월등히 높아 BHT와 유사하다고 보고한 바 있고, 130°C에서 2시간 동안 열처리한 마늘 향기성분의 전자공여능도 무처리 마늘에 비하여 증가하며, 이는 열처리로 인하여 새로이 생성된 향기성분과 allyl methyl sulfide 및 allyl alcohol 등 열처리로 인하여 함량이 증가된 성분들의 영향일 것으로 추정된 Jeong 등(17)의 보고도 있다. 본 실험에 사용된 열풍건조 마늘과 홍삼 역시 건조와 증삼과정 중에 일어난 갈변 반응물질이 전자공여 활성을 증가시킨 것으로 판단되며, 마늘과 홍삼 추출물을 혼합할 경우 전자공여능이 큰 폭으로 증가한 것은 두 추출물이 혼합됨으로써 각각에 함유되어 있던 유효 갈변물질의 상대적인 양이 증가되었기 때문으로 판단된다.

Nitrite 소거능 측정

농도별 마늘과 홍삼 열수추출물의 아질산염 소거능을 평가한 결과는 Table 2와 같다. 2,500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 이상의 농도에서

Table 1. Electron donating ability of hot water extracts from hot air dried garlic and red ginseng (%)

Sample code ¹⁾	Sample concentration ($\mu\text{g}/\text{mL}$)				
	500	1,000	2,500	5,000	10,000
A	10.00 \pm 1.29 ^{aA}	13.28 \pm 0.12 ^{bA}	14.60 \pm 1.86 ^{bA}	29.18 \pm 1.27 ^{cA}	45.76 \pm 2.56 ^{dA}
B	14.51 \pm 0.67 ^{aB}	14.90 \pm 0.34 ^{aB}	15.29 \pm 0.58 ^{bAB}	26.79 \pm 0.62 ^{cA}	43.14 \pm 1.07 ^{aB}
C	38.24 \pm 1.58 ^{aC}	49.87 \pm 1.41 ^{bC}	50.07 \pm 1.66 ^{bB}	51.08 \pm 0.68 ^{bCB}	53.24 \pm 0.72 ^{cB}
D	38.41 \pm 1.65 ^{aC}	49.73 \pm 0.60 ^{bC}	50.88 \pm 0.00 ^{bB}	51.28 \pm 0.48 ^{bB}	54.67 \pm 0.30 ^{cB}
E	39.73 \pm 0.42 ^{aC}	50.13 \pm 0.22 ^{bC}	50.94 \pm 0.46 ^{bCB}	51.67 \pm 0.30 ^{cB}	55.14 \pm 1.58 ^{aB}
Vit. C	54.59 \pm 0.23 ^{aD}	55.06 \pm 0.46 ^{abD}	56.24 \pm 0.13 ^{bC}	70.60 \pm 1.11 ^{cC}	97.81 \pm 1.44 ^{dC}
F-value	1318.007	1237.448	1118.402	1286.114	487.23

¹⁾A: hot water extract from hot air dried garlic, B: hot water extract from red ginseng, C: 5% red ginseng extracts were added to hot air dried garlic extract (V/V), D: 10% red ginseng extracts were added to hot air dried garlic extract (V/V), E: 15% red ginseng extracts were added to hot air dried garlic extract (V/V).

^{a-d}Means with different superscripts in the same row are significantly different at $p < 0.05$.

^{A-D}Means with different superscripts in the same column are significantly different at $p < 0.05$.

Table 2. Nitrite scavenging activity of hot water extracts from hot air dried garlic and red ginseng (%)

Sample code ¹⁾	Sample concentration ($\mu\text{g/mL}$)				
	500	1,000	2,500	5,000	10,000
A	7.54 \pm 0.50 ^{aC}	10.71 \pm 0.96 ^{aB}	21.07 \pm 3.06 ^{bC}	37.65 \pm 2.85 ^{cC}	60.74 \pm 1.68 ^{dE}
B	2.42 \pm 0.17 ^{aA}	5.18 \pm 1.04 ^{aA}	12.84 \pm 0.70 ^{aB}	15.54 \pm 3.30 ^{aA}	30.22 \pm 4.94 ^{bA}
C	4.95 \pm 1.60 ^{aB}	5.87 \pm 1.73 ^{abA}	7.94 \pm 0.17 ^{ba}	15.26 \pm 1.23 ^{cA}	37.88 \pm 1.40 ^{dB}
D	8.0 \pm 0.56 ^{aC}	9.61 \pm 0.56 ^{aB}	13.01 \pm 0.87 ^{bb}	17.04 \pm 0.61 ^{cA}	41.34 \pm 3.89 ^{dB}
E	11.05 \pm 1.21 ^{aD}	11.23 \pm 1.05 ^{aB}	14.51 \pm 2.16 ^{aB}	23.66 \pm 2.87 ^{bb}	44.16 \pm 2.43 ^{cC}
Vit. C	11.51 \pm 1.30 ^{aD}	20.50 \pm 2.34 ^{bc}	32.41 \pm 2.36 ^{cD}	47.61 \pm 2.08 ^{dD}	50.26 \pm 1.90 ^{dD}
F-value	34.973	45.774	64.961	103.524	37.076

¹⁾Refer to the comment in Table 1.

^{a-d}Means with different superscripts in the same row are significantly different at $p < 0.05$.

^{A-D}Means with different superscripts in the same column are significantly different at $p < 0.05$.

아질산염 소거능은 열풍건조 마늘 추출물에서 가장 높고 다음으로 홍삼 추출물 15% 첨가군, 10% 첨가군, 홍삼추출물 및 5% 첨가군의 순이었다. 10,000 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서 열풍건조 마늘 추출물의 아질산염 소거활성은 60.74%로 대표적인 항산화물질인 비타민 C(50.26%)보다 더 활성이 우수하였다.

Shin 등(18)은 산지별 마늘의 아질산염 소거능을 평가한 결과 반응 용액의 pH가 낮을수록 효과적이었으며, 시료의 농도가 0.1% 이상일 때 아질산염 소거능은 97% 이상인데, 이는 마늘에 존재하는 아스코르브산, 페놀성 화합물, allyl 화합물, 유기산 등에 의한 결과로 추정하였다. 또, Kim 등(19)은 증삼 및 건조 조건을 달리한 인삼 에탄올 추출물의 아질산염 소거능은 pH 3.0에서 53.43~65.90%의 범위로 가장 높았으며 활성은 건조방법의 영향을 받지 않는다고 보고한 바 있다. 상기의 결과들과 본 실험의 결과를 비교하여 볼 때 열풍건조 마늘과 홍삼 열수 추출물의 아질산염 소거 활성에는 마늘과 홍삼에 함유된 페놀성 화합물 및 유기산이 주된 역할을 하였을 것으로 추정된다.

Tyrosinase 활성 저해능 측정

열풍건조 마늘, 홍삼 및 이들 복합물의 tyrosinase 억제 활성을 측정된 결과는 Table 3과 같다. 홍삼 및 마늘 첨가군은 5,000 $\mu\text{g/mL}$ 이상의 농도에서 유의성 있는 차이를 보였으며, 마늘에 비해 홍삼 첨가군에서 유의적으로 활성이 높았다. 마늘추출물에 홍삼 추출물을 5, 10 및 15% 첨가하여 복합물을 제조하였을 때, 홍삼 추출물의 첨가 농도가 높아질수록

tyrosinase 활성 억제효과도 상승되었다. 10,000 $\mu\text{g/mL}$ 첨가 시 5% 첨가군은 9.61%였으나, 10%와 15% 첨가군에서는 각각 11.98%와 12.80%로 5% 첨가군에 비해 유의적으로 약간 높은 활성을 보였다.

Lee(20)는 구릿대 잎 추출물의 tyrosinase 저해활성은 시료의 첨가농도가 증가함에 따라 유의적으로 증가하며, 5,000 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서 물추출물은 23.88~29.33%의 활성을 보인다고 하였다. Jung 등(21)은 식물류로부터 tyrosinase 저해 활성을 측정된 결과 마늘은 59%, 양파는 30%, 생강은 14%의 활성이 있음을 보고한 바 있다. 백삼과 홍삼의 에틸아세테이트 분획물은 200 $\mu\text{g/mL}$ 의 농도에서 각각 13.7%, 10.5%의 저해활성이 있었으나, 이들 시료의 물 추출물에서는 오히려 활성이 없었다고 보고(22)되어 본 실험의 결과와는 다소 차이가 있었는데, 이는 홍삼의 제조조건, 저장기간이나 조건 및 추출조건 등의 상이함에 기인된 결과라 생각된다.

Glucosidase 저해활성

당뇨 증상을 개선하기 위해서는 체내로 흡수된 당을 각 조직의 세포가 잘 이용할 수 있도록 분해속도를 증가시켜야 할 필요가 있는데 이러한 측면에서 α -glucosidase를 저해하는 활성을 가지는 물질의 탐색은 중요한 의미를 가지게 된다. α -glucosidase는 소장 상피세포의 brush-border membrane에 존재하는 효소로서 이당류나 다당류를 탄수화물이 소화 흡수되기 위한 상태인 단당류로 가수분해하는 역할을 한다. α -glucosidase에 대한 저해능은 탄수화물 식이 후 혈

Table 3. Tyrosinase activity of hot water extracts from hot air dried garlic and red ginseng (%)

Sample code ¹⁾	Sample concentration ($\mu\text{g/mL}$)				
	500	1,000	2,500	5,000	10,000
A	20.75 \pm 3.77 ^{aC}	21.38 \pm 3.93 ^{aC}	24.53 \pm 1.89 ^{abD}	26.86 \pm 0.77 ^{bD}	29.56 \pm 1.09 ^{bD}
B	23.27 \pm 2.63 ^{aC}	24.53 \pm 3.77 ^{aC}	25.16 \pm 2.18 ^{aD}	31.34 \pm 2.28 ^{bE}	34.59 \pm 1.23 ^{bE}
C	2.00 \pm 0.30 ^{aA}	3.45 \pm 0.19 ^{aA}	5.25 \pm 1.51 ^{ba}	7.55 \pm 1.07 ^{cA}	9.61 \pm 0.71 ^{dA}
D	2.85 \pm 0.61 ^{aA}	4.66 \pm 0.95 ^{aA}	7.55 \pm 1.89 ^{baB}	9.48 \pm 0.90 ^{baB}	11.98 \pm 1.56 ^{cb}
E	6.91 \pm 0.84 ^{aB}	7.67 \pm 0.57 ^{aB}	9.34 \pm 0.16 ^{bbC}	10.40 \pm 1.06 ^{bb}	12.80 \pm 0.38 ^{cb}
Vit. C	7.82 \pm 0.91 ^{ab}	9.27 \pm 0.56 ^{bb}	11.36 \pm 0.63 ^{cc}	14.78 \pm 0.56 ^{dc}	17.95 \pm 0.63 ^{cc}
F-value	65.157	45.816	86.213	194.973	309.853

¹⁾Refer to the comment in Table 1.

^{a-d}Means with different superscripts in the same row are significantly different at $p < 0.05$.

^{A-D}Means with different superscripts in the same column are significantly different at $p < 0.05$.

당 상승을 억제할 수 있어 항당뇨 활성 측정법으로 이용된다 (23).

Table 4는 마늘 및 홍삼 추출물과 그 혼합물의 α -glucosidase 저해활성을 측정한 결과이다. 홍삼 추출물에 비하여 열풍건조 마늘 추출물의 α -glucosidase 저해활성이 더 높아 10,000 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서 홍삼 추출물의 경우 13.84%, 열풍건조 마늘 추출물은 22.22%였다. 또 10,000 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서 홍삼을 5%와 10% 첨가한 경우는 마늘 추출물에 비하여 활성이 낮았으나 15% 첨가구의 경우 활성은 25.27%로 유의적으로 더 높았다. 열풍건조 마늘 추출물과 홍삼 15% 첨가구에서는 20% 이상의 α -glucosidase 활성을 저해하였으므로 탄수화물의 소화과정에서 α -amylase와 α -glucosidase에 의해 이당류인 maltose의 분해 억제 및 단당류 생성을 저해함으로써 탄수화물의 소화와 흡수를 지연시키고 식사 후 혈당의 급격한 상승을 억제하는 효과를 나타낼 것으로 예상된다.

α -Glucosidase 저해제들은 혈당강하제 중 소화관에서 포도당 흡수를 지연시키는 약물로 당뇨 치료에 주로 사용이 되고 있으며(24,25), 현재 acarbose와 voglibose 등과 같은 α -glucosidase 저해제가 판매되고 있으나 부작용이 많아 천연 소재에서 이들 저해제들을 개발하고자 하는 연구가 활발하게 진행되고 있다.

Choe 등(13)은 한약재의 물추출물 중 산수유, 백복령 및 목단피에서 α -glucosidase 활성 저해 효과를 확인한 바 있으며, Maeng 등(26)은 *in vitro*에서 홍삼 엑기스의 첨가로 당화

헤모글로빈의 합성이 유의하게 억제되었다고 보고하였는데, 이러한 결과로 홍삼은 생체 내 장관에서 포도당의 흡수를 지연시킬 수 있을 가능성을 제시한 바 있다.

위암 및 대장암 세포의 성장 억제능

인체위암 및 대장암 세포주에 대하여 열풍건조 마늘과 홍삼 열수 추출물 및 이들의 비율별 혼합액이 암세포 증식억제에 미치는 영향을 MTT assay를 통하여 조사한 결과는 Table 5 및 6과 같다.

ASG 세포 성장억제능(Table 5)은 시료의 첨가농도가 증가함에 따라 유의적으로 증가하였으며 열풍건조 마늘이나 홍삼 단독 추출액에 비하여 이들의 혼합 시료에서 200 $\mu\text{g/mL}$ 이상의 농도에서 더 활성이 높았다. 50과 100 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서 AGS 세포 성장억제능은 20% 이하로 낮았으나 1000 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서는 홍삼 추출물은 29.11%, 열풍건조 마늘 추출물은 33.22%로 활성이 증가하였으며 홍삼 추출물을 5%~15% 첨가할 경우 활성은 40.96~45.15%로 크게 증가하였다.

대장암 세포(Table 6)의 성장은 시료의 첨가 농도에 의존적으로 억제되었다. 50 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서 열풍건조 마늘 추출물의 암세포 성장 억제능은 31.30%로 여타 시료에 비하여 유의적으로 활성이 높았으며 다음으로 홍삼 추출물이 21.81%, 홍삼 추출물을 5~15% 첨가한 시료의 경우 활성은 15.47~18.09%였다. 500 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서는 열풍건조 마늘과 홍삼 추출물은 시료간의 유의적인 차이 없이 48.6% 정도

Table 4. α -Glucosidase inhibition activity of hot water extracts hot air dried garlic and red ginseng (%)

Sample code ¹⁾	Sample concentration ($\mu\text{g/mL}$)				
	500	1,000	2,500	5,000	10,000
A	3.15±0.95 ^{ab}	4.19±0.68 ^{abA}	7.10±1.37 ^{bA}	18.95±2.93 ^{cB}	22.22±1.29 ^{dC}
B	0.20±0.07 ^{aA}	8.84±1.60 ^{bB}	10.80±2.86 ^{bcB}	12.28±2.12 ^{cA}	13.84±0.43 ^{cA}
C	4.85±0.54 ^{ac}	8.73±1.80 ^{bB}	9.00±1.16 ^{bcAB}	11.46±1.11 ^{cA}	16.43±1.84 ^{dB}
D	6.31±0.06 ^{ad}	9.68±1.00 ^{bB}	11.07±0.21 ^{cB}	12.68±0.94 ^{cA}	20.50±0.50 ^{dC}
E	7.93±1.48 ^{aE}	10.58±0.52 ^{abB}	12.44±0.40 ^{bcB}	14.16±3.19 ^{cA}	25.27±1.08 ^{dD}
Vit. C	0.07±0.02 ^{aA}	3.22±0.38 ^{bA}	9.23±2.90 ^{cAB}	27.17±1.95 ^{dC}	32.98±0.76 ^{eE}
F-value	54.936	21.938	2.942	22.493	114.638

¹⁾Refer to the comment in Table 1.

^{a-d}Means with different superscripts in the same row are significantly different at $p<0.05$.

^{A-D}Means with different superscripts in the same column are significantly different at $p<0.05$.

Table 5. MTT assay of the hot water extracts from hot air dried garlic and red ginseng in AGS gastric carcinoma cells (%)

Sample code ¹⁾	Sample concentration ($\mu\text{g/mL}$)				
	50	100	200	500	1,000
A	12.73±2.20 ^{aA}	15.18±0.29 ^{aA}	24.15±3.39 ^{bAB}	29.47±1.06 ^{cAB}	33.22±1.80 ^{dA}
B	17.38±1.10 ^{ab}	20.62±2.92 ^{abB}	22.55±2.88 ^{bcA}	26.88±2.95 ^{cA}	29.11±1.81 ^{dA}
C	12.87±0.97 ^{aA}	18.63±2.09 ^{abB}	24.69±4.33 ^{bAB}	30.53±3.70 ^{bABC}	40.96±4.19 ^{cB}
D	13.55±1.53 ^{aA}	19.05±3.54 ^{abB}	29.18±1.34 ^{cB}	33.67±1.58 ^{cBC}	44.69±4.62 ^{dB}
E	15.08±0.63 ^{aAB}	19.21±2.47 ^{abB}	29.30±1.35 ^{cB}	34.92±3.55 ^{dC}	45.15±0.77 ^{eB}
F-value	5.827	1.941	3.385	4.073	16.683

¹⁾Refer to the comment in Table 1.

^{a-d}Means with different superscripts in the same row are significantly different at $p<0.05$.

^{A-D}Means with different superscripts in the same column are significantly different at $p<0.05$.

Table 6. MTT assay of the hot water extracts from hot air dried garlic and red ginseng in HT-29 colon carcinoma cells (%)

Sample code ¹⁾	Sample concentration ($\mu\text{g/mL}$)				
	50	100	200	500	1,000
A	31.30 \pm 2.34 ^{aC}	37.36 \pm 1.91 ^{bC}	47.32 \pm 1.12 ^c	48.66 \pm 2.40 ^{cB}	52.33 \pm 1.07 ^{dC}
B	21.81 \pm 1.62 ^{aB}	27.19 \pm 2.19 ^{bB}	44.93 \pm 3.25 ^c	48.61 \pm 0.7 ^{cdB}	53.01 \pm 3.83 ^{dC}
C	15.47 \pm 2.25 ^{aA}	17.47 \pm 0.82 ^{aA}	20.59 \pm 3.13 ^{ab}	24.53 \pm 2.76 ^{bcA}	28.25 \pm 3.84 ^{cA}
D	15.95 \pm 2.09 ^{aA}	17.90 \pm 1.27 ^{abA}	23.60 \pm 4.61 ^{bc}	24.78 \pm 3.22 ^{cA}	35.76 \pm 3.83 ^{dB}
E	18.09 \pm 1.14 ^{aA}	24.52 \pm 2.64 ^{bB}	26.03 \pm 2.07 ^b	27.63 \pm 1.00 ^{bA}	39.62 \pm 2.43 ^{cB}
F-value	32.404	56.139	50.764	95.046	33.912

¹⁾Refer to the comment in Table 1.

^{a-d}Means with different superscripts in the same row are significantly different at $p < 0.05$.

^{A-D}Means with different superscripts in the same column are significantly different at $p < 0.05$.

의 활성을 나타내었으며 홍삼 추출물 혼합액의 경우 15% 첨가군의 활성이 가장 높아 27.63%였다. 시료의 첨가 농도가 증가하여 1,000 $\mu\text{g/mL}$ 일 때 마늘 및 홍삼 추출물의 HT-29 세포 성장 억제능은 각각 52.33%와 53.01%로 증가하였으며 홍삼 추출물 10%와 15% 혼합한 경우 각각 35.76%와 39.62%로 35% 이상의 활성을 나타내었다.

시료의 대장암 세포 성장 억제능은 위암세포인 AGS에 대한 억제활성과 다소 상이한 결과를 나타내었다. AGS 세포의 성장 억제능은 마늘이나 홍삼 단독 처리구에 비하여 이들의 혼합액 처리구에서 더 활성이 높았으나 대장암인 HT-29에 대한 활성은 마늘이나 홍삼 단독 처리구가 더 활성이 높았고 이들의 혼합액은 활성이 유의적으로 낮았다.

마늘의 열수 추출물을 제조하여 여러 가지 암세포의 성장 억제능을 평가한 결과 1% 처리군에서 백혈병 세포인 U937 및 HL60에서 가장 감수성이 높아 50% 이상의 억제효과를 가졌으며 간암세포에서는 약 10%, 직장암 세포에서는 20~40% 정도의 증식 억제효과를 나타낸다는 Choi 등(27)의 보고가 있다.

Lim과 Kim(28)은 마늘에서 분리한 alliin과 마늘 에탄올 추출물의 기능성을 비교 분석한 결과에서 인체 장암세포인 HCT-15에 대한 IC_{50} 은 각각 13,500 $\mu\text{g/mL}$ 와 2,500 $\mu\text{g/mL}$ 로 에탄올 추출물이 더 효과적이라고 보고한 바 있다. Lee 등(29)은 마늘에서 추출한 diallyl disulfide는 췌장, 폐, 피부 암에 대해 항암효과가 있으며 백혈병 세포주에 대해서는 농도와 시간에 비례하여 apoptosis를 유발하는데 이는 세포내 hydrogen peroxide를 발생시키는 기전에 의한다고 보고한 바 있다.

요 약

열풍건조 마늘 및 홍삼 추출물과 혼합물의 생리활성을 평가하고자 마늘 열수추출물에 홍삼 열수추출물을 5~15% (v/v) 첨가한 혼합물을 제조하여 500~10,000 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서 항산화활성, tyrosinase 및 glucosidase 저해활성, 위암 및 대장암 세포에 대한 생육저해 활성을 실험하였다. 열풍건조 마늘과 홍삼 추출물의 전자공여능은 1,000 $\mu\text{g/mL}$ 이하의

농도에서는 15% 미만으로 낮았으나, 이들의 혼합물의 경우 38% 이상의 높은 활성을 나타내었다. 2,500 $\mu\text{g/mL}$ 이상의 농도에서 아질산염 소거능은 열풍건조 마늘 추출물에서 가장 높고 다음으로 홍삼 추출물 15% 첨가군, 10% 첨가군의 순이었다. Tyrosinase 저해활성은 10,000 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서 열풍건조 마늘은 29.56%, 홍삼 추출물은 34.59%이던 것이 이들의 혼합물에서는 그 활성이 급격히 저하하여 15% 미만이었다. α -Glucosidase 저해활성은 열풍건조 마늘 추출물에서 더 높아 10,000 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서 22.22%였고, 동일농도에서 홍삼 추출물의 경우 13.84%, 이들의 15% 혼합물에서 활성은 25.27%로 유의적으로 증가하였다. AGS 세포 성장억제능은 시료의 첨가농도가 증가함에 따라 유의적으로 증가하였으며 열풍건조 마늘이나 홍삼 단독 추출액에 비하여 이들의 혼합 시료에서 더 활성이 높았다. HT-29 세포의 성장도 시료의 첨가 농도에 의존적으로 억제되었는데, 1,000 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서 열풍건조 마늘과 홍삼 추출물의 암세포 성장 억제능은 50% 이상이었으나 이들의 혼합물의 경우 활성이 저하하여 28.25~39.62%에 불과하였다.

감사의 글

본 연구는 농림수산식품부에서 지원 중인 향토산업육성 사업의 일환으로 추진되었습니다.

문 헌

- Ha TY. 2006. Development of functional food materials for healthy life. *Korean J Crop Sci* 51: 26-39.
- Park CS, Yang KM, Kim ML. 2006. Functional properties of medicinal plant extracts. *Korean J Food Cookery Sci* 23: 720-727.
- Ali M, Thomson M, Afzal M. 2000. Garlic and onions: their effect on eicosanoid metabolism and its clinical relevance. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 62: 55-73.
- Lancaster JE, Shaw ML. 1989. G-Glutaryl peptides in the biosynthesis of S-alk(en)yl-L-cysteine sulfoxides (flavor precursors) in allium. *Phytochemistry* 28: 455-460.
- Jastrzebski Z, Leontowicz H, Leontowicz M, Namiesnik J, Zachwieja Z, Barton H. 2007. The bioactivity of processed

- garlic (*Allium sativum* L.) as shown *in vitro* and *in vivo* studies on rats. *Food Chem Toxicol* 45: 1626-1633.
6. Amagase H. 2006. Clarifying the real bioactive constituents of garlic. *J Nutr* 136: 955S-962S.
 7. Lee JW, Do JH. 2006. Current studies on browning reaction products and acidic polysaccharide in Korean red ginseng. *J Ginseng Res* 30: 41-48.
 8. Blois MS. 1958. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature* 181: 1199-1200.
 9. Kato H, Lee IE, Chyen N, Kim SB, Hayase F. 1987. Uninhibitory of nitrosamine formation by nondialyzable melannins. *Agric Biol Chem* 51: 1333-1338.
 10. Kim DS, Ahn BW, Yeum DM, Lee DW, Kim ST, Park YH. 1987. Degradation of carcinogenic nitrosamine formation factor by natural food components. *Bull Korean Fish Soc* 20: 463-468.
 11. Yagi A, Kanbara T, Morinobu N. 1986. The effect of tyrosinase inhibition for aloe. *Planta Med* 3981: 517-519.
 12. Jeon TW, Jo CR, Kim KH, Byun MW. 2002. Inhibitory effect on tyrosinase and xanthine oxidase and nitrite scavenging activities of *Schizandrae Fructus* extract by gamma irradiation. *Korean J Food Preserv* 9: 369-374.
 13. Choe M, Kim DJ, Lee HJ, You JK, Seo DJ, Lee JH, Chung MJ. 2008. A study on the glucose regulating enzymes and antioxidant activities of water extracts from medicinal herbs. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 37: 542-547.
 14. Lee JW, Do JH. 2006. Current studies on browning reaction products and acidic polysaccharide in Korean red ginseng. *J Ginseng Res* 30: 41-48.
 15. Shin JH, Choi DJ, Lee SJ, Cha JY, Sung NJ. 2008. Antioxidant activity of black garlic (*Allium sativum* L.). *J Korean Soc Food Sci Nutr* 37: 965-971.
 16. Kim SD, Do JH, Oh HI. 1981. Antioxidant activity of *Panax ginseng* browning products. *J Korean Agric Chem Soc* 24: 161-166.
 17. Jeong JY, Woo KS, Hwang IG, Yoon HS, Lee YR, Jeong HS. 2007. Effects of heat treatment and antioxidant activity of aroma on garlic harvested in different cultivation areas. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 36: 1637-1642.
 18. Shin JH, Ju JC, Kwon OC, Yang SM, Lee SJ, Sung NJ. 2004. Physicochemical and physiological activities of garlic from different area. *Korean J Food & Nutr* 17: 237-245.
 19. Kim KY, Shin JK, Lee SW, Yoon SR, Chung HS, Jeong YJ, Choi MY, Lee CM, Moon KD, Kwon JH. 2007. Quality and functional properties of red ginseng prepared with different steaming time and drying methods. *Korean J Food Sci Technol* 39: 494-499.
 20. Lee YS. 2007. Antioxidative and physiological activity of extracts of *Angelica dahurica* leaves. *Korean J Food Preserv* 14: 78-86.
 21. Jung SW, Lee NK, Kim SJ, Han DS. 1995. Screening of tyrosinase inhibitor from plants. *Korean J Food Sci Technol* 27: 891-896.
 22. Hwang EY, Kong YH, Lee YC, Kim YC, Yoo KM, Jo YO, Choi SY. 2006. Comparison of phenolic compounds contents between white and red ginseng and their inhibitory effect on melanin biosynthesis. *J Ginseng Res* 30: 82-87.
 23. Gua J, Jin YS, Han W, Shim TH, Sa JH, Wang MH. 2006. Studies for component analysis, antioxidative activity and α -glucosidase inhibitory activity from *Equisetum arvense*. *J Korean Soc Appl Biol Chem* 49: 77-81.
 24. Bailey CJ. 1999. Insulin resistance and antidiabetic drugs. *Biochem Pharmacol* 58: 1511-1520.
 25. Zhang BB, Moller DE. 2000. New approaches in the treatment of type 2 diabetes. *Curr Opin Chem Biol* 4: 461-467.
 26. Maeng SH, Chun KW, Bae JW. 2002. Effects of ginseng on the formation of glycated protein. *J Ginseng Res* 26: 173-177.
 27. Choi WY, Chung KT, Yoon TK, Choi BT, Lee YT, Lee WH, Ryu CH, Choi YH. 2007. Water extract of *Allium sativum* L. induces apoptosis in human leukemia U937 cells through reactive oxygen species generation. *J Life Sci* 12: 1709-1716.
 28. Lim SW, Kim TH. 1997. Physiological activity of alliin and ethanol extract from Korean garlic (*Allium sativum* L.). *Korean J Food Sci Technol* 29: 348-354.
 29. Lee HW, Lee DS, Park BH. 2000. Inhibition of apoptosis by diallyl disulfide in human leukemia HL-60 cells. *Chonbuk University Medical Journal* 24: 93-98.

(2009년 8월 17일 접수; 2009년 10월 1일 채택)