

## 흑마늘 추출물을 첨가한 화장품의 기능성 평가: Tyrosinase와 Elastase 저해 활성 및 산화 스트레스에 미치는 영향 중심으로

정은영<sup>1,2</sup> · 홍양희<sup>2</sup> · 김선희<sup>3</sup> · 서형주<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>고려대학교 식품영양학과  
<sup>2</sup>동덕여자대학교 식품영양학과  
<sup>3</sup>수원과학대학 뷰티코디네이션과

### Physiological Effects of Formulations Added with Black Garlic Extract on Skin Care: Oxidative Stress, Tyrosinase and Elastase Activities

Eun Young Jung<sup>1,2</sup>, Yang Hee Hong<sup>2</sup>, Seon Hee Kim<sup>3</sup>, and Hyung Joo Suh<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Dept. of Food and Nutrition, Korea University, Seoul 136-703, Korea

<sup>2</sup>Dept. of Food and Nutrition, Dongduk Women's University, Seoul 136-714, Korea

<sup>3</sup>Dept. of Beauty and Coordination, Suwon Science College, Gyeonggi 445-742, Korea

#### Abstract

We evaluated the physiological effects of formulations added with black garlic extract on skin care. Black garlic was made by spontaneous fermentation for 40 days at 60~70°C and 85~95% RH without any additives. When black garlic extract was added to formulation, the tyrosinase activity was decreased significantly ( $p < 0.05$ ,  $p < 0.01$ ,  $p < 0.001$ ). Base formulation inhibited slightly elastase activity (<5%), while black garlic formulation had about 8-fold higher elastase inhibitory activity ( $p < 0.01$ ). It was observed that formulations, with or without black garlic extract, decreased thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) and hydrogen peroxide which were increased by UVB irradiation, although there were no significant differences of these contents between black garlic formulation and base formulation. In conclusion, black garlic formulation had high inhibitory activities for tyrosinase and elastase, suggesting that black garlic may have beneficial properties as a material for cosmeceuticals.

**Key words:** black garlic, cosmeceutical, tyrosinase, elastase, oxidative stress

#### 서 론

마늘(*Allium sativum* L.)은 백합과(Liliaceae) 파속(*Allium*)에 속하는 식물로서 식품의 맛과 건강을 증진시키는 대표적인 식품 중 하나이다. 마늘은 세계에서 우리나라가 가장 많은 양을 소비하는 우리나라의 대표적인 향신료로 국내 전체 농가의 약 1/3이 마늘을 재배하고 있으며 1년에 약 300,000톤이 재배되는 농가의 주력 상품이다(1). 마늘에는 체내 신진대사를 촉진시키는 scordinine, 항암 및 혈전 생성의 예방 효과가 있는 ajoene 등이 있으며 마늘의 주요 생리활성으로서는 항균, 항암, 항바이러스, 항산화, 면역 증강, 항응고 기능과 관련해서 성인병 예방, 간기능 회복, 피부 미용, 혈당 감소, 고지혈증 및 동맥경화증 개선 등이 보고되고 있다(2-4). 최근 이러한 마늘의 다양한 생리활성이 보고되면서 마늘에 대한 관심이 고조되고 있으며 마늘 소비가 급증하고 있다. 최근에는 마늘의 갈변화 반응을 이용하여 기능성을 갖는

새로운 유형의 가공품 개발이 시도되고 있다. 통마늘을 고온 항온기에 일정 시간 숙성시킬 경우 마늘의 자체 성분과 효소 등에 의해 전환되어 마늘 인편이 내부까지 모두 흑색으로 변화하게 되는데 이를 흑(黑)마늘이라고 한다. 이러한 흑마늘은 마늘의 매운 맛이 감소되고 점도는 높아지며 유용한 생리활성 물질이 증가하게 되어 새로운 기능성 소재로의 활용 가능성이 제시되고 있다(5,6).

한편 자연 지향적이고 환경 친화적인 소비 추세에 따라 다양한 천연 소재를 이용한 미백, 항노화, UVB 차단 기능을 가진 기능성화장품의 개발이 활발히 이루어지고 있다(7). 미용기능식품 소재로서의 최근의 관심 사항은 구체적인 피부 미용, 즉 주름 개선, 보습 증가, 탄력 증가 등에 영향을 미치는 생물학적 타겟에 보다 특이적으로 작용해서 적은 양으로도 높은 효능을 구현하는 생리활성 천연물 중심으로 이루어져 있다(8). 따라서 피부 친화적이고 안정적인 식물 추출물을 대상으로 화장품 기능성을 확인하는 연구의 중요성이 부

\*Corresponding author. E-mail: suh1960@korea.ac.kr  
Phone: 82-2-940-2853, Fax: 82-2-940-2850

각되고 있다. 마늘은 강력한 항산화 효과로 인해 혈액 순환을 촉진하고 피부의 탄력성을 부여하는 기능이 있어 기능성 화장품 소재로의 가능성을 보이고 있다(3,9). 따라서 본 연구는 국내에서 생산되는 토종 마늘을 이용하여 개선된 마늘 형태인 흑마늘을 제조하고, 이를 함유한 기능성화장품에 대한 연구를 통해 한국인의 피부에 맞는 고기능성 제품을 개발하는데 있어 기초 자료를 마련하고자 실시되었다. 이에 본 연구에서는 흑마늘의 식품으로서의 기능 이외의 추가적인 기능 부여를 위해 흑마늘이 함유된 화장품 시료의 *in vitro* tyrosinase와 elastase의 저해활성을 측정함으로써 미백과 피부 탄력성에 관련된 기능성을 평가하였으며 피부에 적용하여 *in vivo*에서의 항산화 효능을 통한 노화 억제 기능을 평가하였다.

### 재료 및 방법

#### 연구 재료

마늘은 경상북도 의성 지역에서 생산된 1등급 마늘을 지역농협으로부터 구입하여 사용하였다. 마늘은 구입 즉시 냉장 보관하였으며 박피하여 100 g씩 폴리에틸렌 필름으로 포장한 후 -70°C에서 보관하여 사용하였다. 흑마늘은 첨가물 없이 70°C에서 85~95%의 상대습도를 유지하면서 40일간 자연 숙성시켜 제조하였다. 흑마늘 추출물은 실온에서 흑마늘을 증류수에 24시간 동안 교반하여 추출시킨 후 정제하고 15°brix로 만들어 사용하였다. 흑마늘 추출물 화장품은 에센스와 크림 2가지 타입으로 구현하였는데, 먼저 흑마늘 추출물 화장품 조성에 따른 각 재료를 75°C로 가열 용해시킨 다음 수상(water phase)에 유상(oil phase)을 첨가하면서 homomixer를 이용하여 5,000 rpm으로 10분간 혼합하여 제조하였다. 본 연구에 사용된 흑마늘 추출물 함유 화장품의 조성은 Table 1과 2에 나타내었다.

**Table 1. Composition of essence type formulations added with black garlic extract**

Components	Ratio (%)	
	Base essence	10% black garlic extract essence
Deionized water	81.89	71.89
Ethylenediaminetetra acetic acid, disodium salt	0.01	0.01
Allantoin	0.10	0.10
Glycerin	2.50	2.50
Methylparaben	0.15	0.15
Carbomer-940 (1%)	10.00	10.00
Triethanolamine	0.10	0.10
Imidazolidinyl urea	0.10	0.10
Polysorbate 60	0.05	0.05
Butylene glycol	5.00	5.00
Hydrogenated castor oil	0.10	0.10
Black garlic extract	0.00	10.00
Total	100	100

**Table 2. Composition of cream type formulations added with black garlic extract**

Components	Ratio (%)	
	Base cream	10% black garlic extract cream
Deionized water	63.7	53.7
Ethylenediaminetetra acetic acid, disodium salt	0.02	0.02
Allantoin	0.02	0.02
Dipropylene glycol	5.00	5.00
Glycerin	1.00	1.00
Methylparaben	0.20	0.20
Carbomer-940 (1%)	5.00	5.00
Polyacrylamide, C13-14 isoparaffin, laureth-7	0.80	0.80
Cyclopentasiloxane, cyclohexasiloxane	4.00	4.00
Triethanolamine	0.06	0.06
Imidazolidinyl urea	0.20	0.20
Cetearyl alcohol	2.00	2.00
Propylparaben	0.10	0.10
Glyceryl stearate	1.50	1.50
Beeswax	2.00	2.00
Isopropyl myristate	6.00	6.00
Sorbitan sesquioleate	0.80	0.80
Polysorbate 60	1.60	1.60
Mineral oil	2.00	2.00
Caprylic, capric triglyceride	4.00	4.00
Black garlic extract	0.00	10.00
Total	100	100

#### 피부 투과율

피부 투과율은 Sonavne 등(10)의 방법을 이용하였다. 5주령의 웅성 Sprague-Dawley(SD) 쥐를 이용하여 실험 전날 털을 제거한 후 diethyl ether로 마취하여 희생하고 피부를 절취하였다. 피부는 1.5 cm<sup>2</sup>로 잘라내어 Franz-type diffusion cell에 membrane으로 장착하고 0.1 M sodium phosphate buffer(pH 7.4) 4.9 mL을 receptor medium으로 넣고 donor side에 시료를 100 µL 주입하였다. 실험하는 동안 buffer를 300 rpm으로 교반시키면서 water jacket을 이용해 37°C를 유지하도록 하였다. 8시간 동안 처음 30분 이후 1시간 간격으로 receptor medium에서 각각 시료 0.4 mL를 취하고 시료 채취 후 0.1 M sodium phosphate buffer 0.4 mL을 즉시 receptor medium에 넣었다. 채취된 시료는 254 nm에서 흡광도를 측정하였다.

#### Tyrosinase 저해활성

Tyrosinase 저해활성은 Mason와 Peterson(11)의 방법을 이용하여 측정하였다. 0.1 M potassium phosphate buffer(pH 6.8) 70 µL에 일정 농도의 시료 용액 20 µL와 mushroom tyrosinase(167 units/mL, Sigma Co., St. Louis, MO, USA) 용액 30 µL을 가하고 30°C에서 5분간 반응시켰다. 반응 후 100 µL dimethyl sulfoxide(DMSO) 용액 100 µL을 가하고 492 nm에서 20분 동안 2분 간격으로 흡광도를 측정하였으며

tyrosinase 활성 억제능은 다음과 같이 계산하였다.

Tyrosinase inhibition (%) =  $\frac{[(A-B)-(C-D)]}{(A-B)} \times 100$   
 A, with tyrosinase but without sample; B, without sample and tyrosinase; C, with sample and tyrosinase; D, with sample but without tyrosinase

#### Elastase 저해활성

Elastase 저해활성은 James 등(12)의 방법을 이용하여 측정하였다. 0.2 M Tris-HCl buffer(pH 8.0)와 10 µg/mL porcine pancreatic elastase type IV(PPE, Sigma Co.)을 각각 0.5 mL을 가하여 혼합한 후 25°C에서 20분간 반응시켰다. 반응 후 0.8 mM N-succinyl-Ala-Ala-Ala-p-nitroanilide(Bachem Feinchemikalien AG, Bubendorf, Switzerland)를 1.0 mL 가하여 37°C에서 반응시킨 후 214 nm에서 흡광도를 측정하였으며 elastase 활성 억제능은 다음과 같이 계산하였다.

Elastase inhibition (%) =  $\frac{(A-B)}{A} \times 100$   
 A, with elastase but without sample; B, with sample and elastase

#### 광산화 억제 효능

**실험동물:** 실험동물은 나라바이오텍(Seoul, Korea)에서 공급받은 6주령의 웅성 HRS/J hairless 마우스를 이용하였다. 실험동물은 사육케이지(42×28 cm)를 이용해 실험실 온도 22~24°C, 상대습도 60±5%가 유지되며 밤낮 주기(12시간 light/12시간 dark)가 자동 조절 장치에 의해 조절되는 고려대학교 동물실에서 1주간 예비 사육으로 적응 후 본 실험에 이용하였다. 연구 그룹은 무작위 추출법에 의해 군당 5마리씩 4개군으로 분류하였다; 크림을 도포하지 않고 UVB를 차단한 군(No cream+tape), 크림을 도포하고 UVB를 조사한 군(No cream), 흑마늘 추출물을 함유하지 않은 화장품을 도포하고 UVB를 조사한 군(Base cream), 흑마늘 추출물 함유한 화장품을 도포하고 UVB를 조사한 군(10% black garlic extract cream).

**광산화 유도:** 광산화를 위한 UVB 조사는 Marquete-Oliveira 등(13)의 방법을 이용하였다. UVB 조사 장치의 광원은 313 nm의 UVB를 방출하는 sunlamp를 이용하였으며 마우스를 UVB 조사용 케이지에 넣은 후 등 부위에 균등하게 188 mJ/cm<sup>2</sup>의 광량(0.26 mW/cm<sup>2</sup>로 12분간 조사)을 하루에 1회씩 5일간 조사하였다. No cream+tape군은 등에 UVB를 차단할 수 있는 불투명 검정색 테이프를 등에 부착시킨 후 UVB를 조사하였다. UVB 화장품 시료는 UVB 조사 3일 전부터 UVB 조사기간 동안 총 7일간 1일 3회에 걸쳐 크림 형태의 화장품 200 mg을 등 부위에 균일하게 도포하였다. 실험 종료 시점에서 12시간 절식시킨 실험동물을 diethyl ether로 마취시켜 희생시킨 후 피부를 절취하였다. 절취한 피부 조직은 0.15 M NaCl로 세척하고 여과지로 불순물을 제거한 후 3 g을 취해 50 mM potassium phosphate buffer(pH

7.0) 3 mL에 넣고 균질기로 분쇄하였다. 분쇄된 현탁액은 4°C, 13,000 rpm에서 4분간 원심분리 한 후 상정액을 취해 측정에 사용하였다.

**환원형 글루타티온 측정:** 환원형 글루타티온 함량 측정은 Tietz(14)의 방법에 따라 실시하였다. 피부 조직액에 동량의 5% sulfosalicylic acid를 첨가하고 4°C, 2,000 rpm에서 10분간 원심분리를 하였다. 상정액 100 µL에 0.3 mM Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 800 µL와 0.1% sodium citrate에 0.04%가 되도록 5,5'-dithiobis 2-nitrobenzoic acid(DTNB)를 섞은 용액 100 µL을 첨가하고 5분 후 412 nm에서 흡광도를 측정하였으며 환원형 글루타티온을 표준물질로 하여 정량하였다.

**과산화지질 측정:** 과산화지질 수준은 Quintanilha 등(15)의 방법에 따라 실시하였다. 피부 조직액 100 µL에 10% trichloroacetic acid 200 µL을 넣고 15분간 실온에서 방치한 후 4°C, 2,200 rpm에서 15분간 원심분리를 하였다. 상정액 200 µL에 0.67% thiobarbituric acid 200 µL를 첨가한 후 100°C의 항온 수조에서 10분간 반응시키고 냉각하여 532 nm에서 흡광도를 측정하였으며 malondialdehyde(MDA)을 표준물질로 하여 정량하였다.

**과산화수소 측정:** 과산화수소는 Marnett와 Ji(16)의 방법을 이용하여 측정하였다. 피부 조직액 100 µL에 반응액(250 µM ammonium ferrous sulphate, 100 µM xylenol orange, 100 µM sorbitol in 25 mM H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) 0.9 mL을 가하고 30분간 실온에서 반응시킨 후 560 nm에서 흡광도를 측정하였으며 과산화수소를 표준물질로 하여 정량하였다.

**피부주름 정도:** 피부의 주름은 Bisset 등(17)에 의해 고안된 실험동물의 주름 등급표(Table 3)에 의해 훈련된 조사자 5명이 육안으로 hairless 마우스 등 부위의 주름 정도를 점수화하였다.

#### 통계분석

실험 결과는 SPSS ver 10.0(SPSS Inc., IL, USA)을 이용

Table 3. Grading scale of mouse skin wrinkling

Grade	Description of skin
0	Numerous fine striations covering back and flanks of body. Fine striations run length of body (head-to-tail direction) and appear and disappear with motion.
1	All fine striations on back along spine gone. A few shallow coarse wrinkles across back (run perpendicular to head-to-tail direction) which appear and disappear with motion.
2	All fine striations gone. Some coarse wrinkles across back (run perpendicular to head-to-tail direction) which are permanent.
3	All fine striations gone. Several deep coarse wrinkles across back (run perpendicular to head-to-tail direction) which are permanent.
4	Deep-wrinkled, leathery skin with some flesh-coloured lesions.

하여 통계 처리하였으며 모든 측정 항목에 대한 평균(mean)과 평균의 표준편차(standard deviation, SD)를 산출하였다. 산화스트레스 억제 효과 실험에서의 연구그룹 간의 유의성은 ANOVA test 후 구체적인 사후검증은 p<0.05 수준에서 Duncan's multiple range test로 실시하였으며 그 외 실험에서 대조군(base formulation)과 실험군(10% black garlic extract formulation) 간의 유의성은 p<0.05 수준에서 t-test에 의해 검증하였다.

**결과 및 고찰**

**피부투과율**

Franz-type diffusion cell을 이용해 흑마늘 화장품의 피부투과율을 측정된 결과를 Fig. 1에 나타내었다. 흑마늘 추출물을 함유한 경우 피부투과율이 저하되어 1시간 후에 투과액의 흡광도가 흑마늘 화장품(10% black garlic extract formulation)은 1.01이며 대조 화장품(base formulation)은 1.41로 대조 화장품이 유의적으로 높은 것으로 나타났다(p<0.01). 이러한 경향은 이후에도 계속적으로 지속되어 측정하는 8시간 동안 흑마늘 화장품은 대조 화장품에 비해 유의적으로 낮은 피부 투과율을 나타내었다(p<0.05, p<0.01). 마늘은 약 65%는 물로 구성되어 있으며 고형분 중 97%가 수용성이고 지용성 성분은 0.7% 미만을 함유하고 있다(18). 따라서 마늘은 지용성 성분이 적어 피부의 세포막의 지방층에 대한 투과율이 떨어지므로 흑마늘 화장품은 대조 화장품에 비해 피부 투과율이 상대적으로 낮은 것으로 사료된다. 따라서 흑마늘을 화장품에 첨가할 경우 초고압 또는 고온 처리와 같은 피부 투과율을 증가시키기 위한 공정이 필요할 것으로 생각된다.

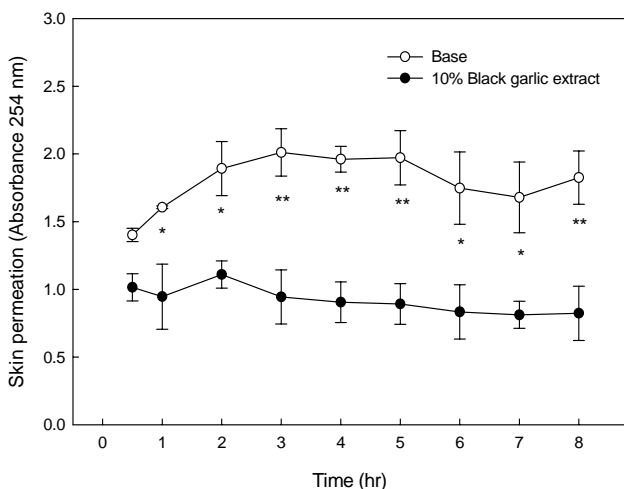


Fig. 1. Skin permeation of essence type formulation added with black garlic extract by Franz-type diffusion cell. Values are mean±SD of triple determinations. \*p<0.05, \*\*p<0.01 by t-test, respectively.

**기능성 평가**

현재 사용되고 있는 기능성화장품은 노화예방을 위한 기능을 보유한 제품과 노화의 결과에 의해 나타나는 주름, 미백, 탄력 등을 케어해 주는 제품군으로 세분화되어 시장이 급속히 확대되고 있다. 따라서 노화의 가장 큰 원인인 산화방지 효과와 라디칼 생성에 의해 유발되는 주름의 억제 효과를 측정하였다.

Fig. 2는 20분 동안 DOPA를 기질로 하는 tyrosinase의 활성에 미치는 흑마늘 화장품 영향을 나타내고 있다. 흑마늘 화장품은 대조 화장품에 비해 유의적으로 높은 tyrosinase 활성 억제능을 나타내었다(p<0.05, p<0.01, p<0.001). 특히 반응 시작에서 흑마늘 화장품에 의한 tyrosinase 활성 억제능은 50.46%로 대조 화장품 19.81%에 비해 2배 이상의 효능을 나타내었다(p<0.001). Tyrosinase는 polyphenol oxidase의 일종이며 구리를 함유하는 효소로서 색소 세포에서 tyrosine을 DOPA로 전환하고 효소적 산화 반응에 의해 단계적으로 dopamine, dopachrome으로 변환하여 melanin을 생합성한다(19). 이와 같이 tyrosinase는 melanin 중합체를 생성하는 주요 효소로서 세포내 색소 세포에서 활성화되어 melanin을 과잉 생산하게 되면 기미, 주근깨, 점, 검버섯 등의 색소 침착이 일어나 피부 노화 및 손상을 초래하므로 tyrosinase 억제능이 우수한 흑마늘은 미백 관련 기능성화장품의 소재로 높은 가능성을 나타낸다고 생각된다.

Fig. 3은 화장품에 흑마늘 추출물 첨가 여부에 따른 elastase 활성 억제능을 나타내고 있다. 흑마늘 화장품은 대조 화장품에 비해 유의적으로 높은 elastase 활성 억제능을 나타내었다(p<0.01). 따라서 흑마늘 화장품은 피부 각질층의 엘라스틴을 분해하여 피부의 탄력성을 소실시켜 피부의 노

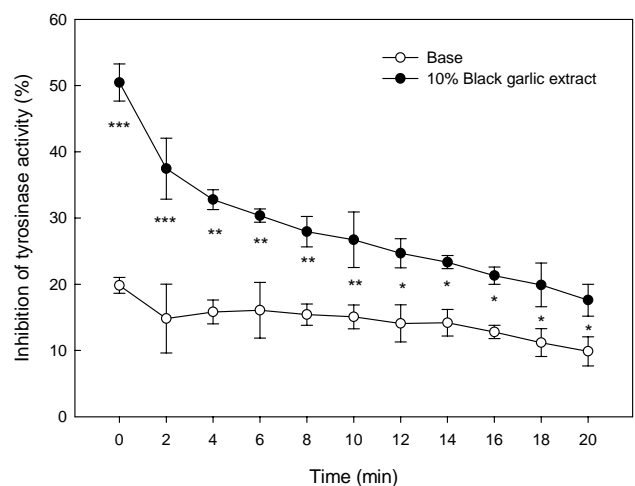
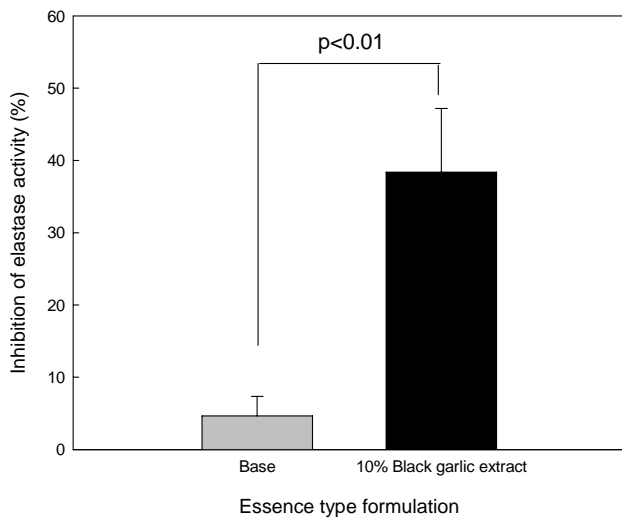


Fig. 2. Tyrosinase inhibitory activities of essence type formulation added with black garlic extract. Tyrosinase inhibition (%)=[{(A-B)-(C-D)}/(A-B)]×100. A, with tyrosinase but without sample; B, without sample and tyrosinase; C, with sample and tyrosinase; D, with sample but without tyrosinase. Values are mean±SD of triple determinations. \*p<0.05, \*\*p<0.01 and \*\*\*p<0.001 by t-test, respectively.



**Fig. 3.** Elastase inhibitory activities of essence type formulation added with black garlic extract. Elastase inhibition (%) =  $\frac{(A-B)}{A} \times 100$ . A, with elastase but without sample; B, with sample and elastase. Bars are mean  $\pm$  SD of triple determinations.

화를 야기하는 elastase의 작용을 억제함으로써 이와 관련한 피부 개선 능력을 가질 것으로 생각된다.

#### 광산화 억제 효과

오존층의 파괴에 따른 자외선 노출의 증가, 대기오염 및 공해물질에 피부 및 신체 부위의 노출이 증가되어 이로부터 신체를 방어하고 건강을 유지해야 하는 현대인들의 건강, 의학적 수요가 크게 증대되고 있다. 자외선에 의해 유발되는 광산화는 피부의 노화 등 여러 문제를 일으키고 있다. 따라서 자외선에 의한 광산화 억제 효과는 가장 중요한 기능이다.

Table 4에 나타난 것 같이 환원형 과산화수소는 UVB에 의해 유의하게 감소되며(No cream+tape: 5.43 mM/g vs. No cream: 3.46 mM/g) 화장품 도포에 의해 유의한 증가 경향을 나타내나( $p < 0.05$ ) 흑마늘 추출물 함유 여부에 따른 화장품 간의 유의한 차이는 나타나지 않았다. 지질과산화물은 UVB에 의해 유의하게 증가되는데(No cream+tape: 112.75  $\mu$ M/g vs. No cream: 142.37  $\mu$ M/g,  $p < 0.05$ ) UVB로 증가된 지질 과산화물의 생성에 대해 대조 화장품(135.15  $\mu$ M/g)에 비해 흑마늘 화장품(119.63  $\mu$ M/g)은 더 높은 억제 경향을 나타내었으나 통계적으로 의미 있는 수준은 아니었다. 지질 과산화물과 마찬가지로 과산화수소는 UVB에 의해 유의적

으로 증가되며(No cream+tape: 13.01 mM/g vs. No cream: 19.37 mM/g) 화장품 도포로 유의적으로 생성이 억제되는데( $p < 0.05$ ) 특히 흑마늘 화장품(14.40 mM/g)을 도포한 경우는 UVB를 차단된 경우와 통계적으로 유사한 수준을 나타내어 흑마늘 첨가에 의한 화장품의 과산화수소 생성 억제 작용이 강화됨을 나타내었다.

Sener 등(20)은 쥐의 피부 표면의 30%를 화상을 입힌 다음 마늘 추출물을 화상 부위에 도포한 결과 화상으로 인해 감소된 조직 내의 글루타티온이 마늘 추출물로 인해 회복됨을 보고하였으며 이러한 결과는 마늘이 산화 반응을 억제시키기 때문에 조직이 산화에 의해서 손상되는 것을 방지해 주기 때문이라고 설명하였다. 마늘 성분 중에 S-allyl-cysteine, S-allyl-mercaptocysteine, S-allyl-cysteine sulfoxide, allicin은 자유기를 제거할 수 있는 능력을 가지고 있고 이들은 산화에 의한 손상을 방지하는 역할을 한다(6). 특히 allicin의 대사산물인 diallyldisulfide는 sulfurhydryl기와 disulfide기로 산화 환원되는데 이것은 자유기를 제거한다(21,22). 또한 마늘에는 항산화와 관련된 polyphenol 및 flavonoid의 함량이 매우 높은 것으로 보고되고 있다. 흑마늘 내의 polyphenol은 일반 마늘에 비해 7배 정도 많으며 이러한 항산화 성분의 증가로 인해 흑마늘은 일반 마늘에 비해 과산화수소 제거력은 10배 정도, superoxide dismutase(SOD)의 활성은 13배 정도 증가된다고 한다(23). Kwon 등(24)은 흑마늘내 유용 성분이 증가되는 이유에 대해 흑마늘 제조과정에서 여러 화합물이 polyphenol로 전환되거나 추출이 보다 용이해졌기 때문으로 설명하고 있다.

Fig. 4는 크림 타입의 흑마늘 화장품이 UVB를 조사한 hairless 마우스의 주름 형성에 미치는 영향에 대해 나타내고 있다. UVB 차단 시 주름 등급은 2.01로 미세한 주름이 형성되는 것으로 나타났으나 UVB 조사 시 깊은 주름이 관찰되는 3.08의 주름 등급을 나타내었다. 화장품 도포로 주름 생성이 억제되었으며 특히 흑마늘 화장품은 주름 생성 억제 경향이 큰 것으로 생각되나 육안 관찰에 의한 주름 형성 정도는 통계적으로 의미는 없었다.

Dwivedi 등(25)은 마늘의 diallyl sulfide와 diallyl disulfide가 마우스의 피부에서 인위적 유도된 유도종의 형성을 억제한다고 보고하였다. 또한 Arora 등(26)의 연구에서도 diallyl sulfide가 쥐의 피부에 7,12-dimethyl-benzanthracene으로 유도된 신생물에서 p21/ras 유전자의 발현을 조절하는 것으

**Table 4.** Effect of cream type formulation added with black garlic extract on lipid peroxidation, glutathione reduced form (GSH) and hydrogen peroxide levels in UVB-irradiated hairless mouse

Parameters	No cream+tape	UVB irradiation		
		No cream	Base cream	10% black garlic extract cream
TBARS ( $\mu$ M/g)	112.75 $\pm$ 64.44 <sup>b</sup>	142.37 $\pm$ 79.09 <sup>a</sup>	135.15 $\pm$ 72.56 <sup>b</sup>	119.63 $\pm$ 69.40 <sup>b</sup>
Hydrogen peroxide (mM/g)	13.01 $\pm$ 7.27 <sup>a</sup>	19.37 $\pm$ 11.53 <sup>c</sup>	15.93 $\pm$ 9.10 <sup>b</sup>	14.40 $\pm$ 8.14 <sup>ab</sup>
GSH (mM/g)	5.43 $\pm$ 3.18 <sup>b</sup>	3.46 $\pm$ 2.04 <sup>a</sup>	5.19 $\pm$ 3.13 <sup>b</sup>	5.60 $\pm$ 3.25 <sup>b</sup>

Thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) content was calculated as the malondialdehyde (MDA) content. Values are mean  $\pm$  SD for 5 hairless mice/group. Different letters indicate significant difference ( $p < 0.05$ ) among samples by Duncan's multiple range test.

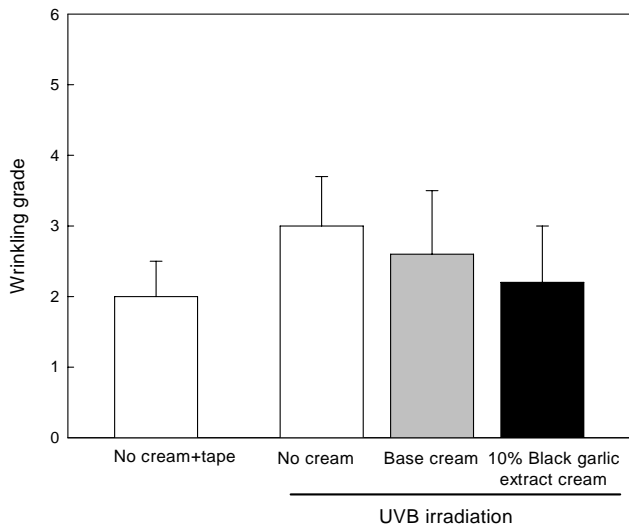


Fig. 4. Effect of cream type formulation added with black garlic extract on wrinkle formation in UVB-irradiated hairless mouse. See Table 3 for references.

로 나타났다. 이들은 마늘이 항산화력 증가로 인해 피부노화 방지와 보호 효능의 가능성을 나타낸 본 연구와 유사한 결과 이었다.

요 약

본 연구는 흑마늘을 함유한 화장품 시료에 대해 *in vitro*에서 tyrosinase 및 elastase 저해 활성과 hairless 마우스를 이용해 *in vivo*에서의 산화스트레스에 대한 항산화 효능을 평가하였다. 그 결과 흑마늘 화장품은 대조 화장품에 비해 유의적으로 낮은 피부 투과율을 나타내었으며(p<0.05, p<0.01) 흑마늘 화장품은 대조 화장품에 비해 유의적으로 높은 tyrosinase(p<0.05, p<0.01, p<0.001)와 elastase(p<0.01) 활성 억제능을 나타내었다. 또한 UVB로 증가된 피부조직 내 지질 과산화물과 과산화수소의 생성에 대해 대조 화장품에 비해 흑마늘 화장품은 더 높은 억제 경향을 나타내었다. 따라서 이러한 본 연구의 결과는 흑마늘이 기능성화장품 소재의 가능성이 큼을 시사한다.

문 헌

1. Khoo YS, Aziz Z. 2009. Garlic supplementation and serum cholesterol: a meta-analysis. *J Clin Pharm Ther* 34: 133-145.
2. Kim KJ, Do JR, Kim HK. 2005. Antimicrobial, antihypertensive and anticancer activities of garlic extracts. *Korean J Food Technol* 37: 228-232.
3. Kwon SK. 2003. Organosulfur compounds from *Allium sativum* and physiological activities. *J Appl Pharmacol* 11: 8-32.
4. Shin SH, Kim MK. 2004. Effect of dried powders or ethanol extracts of garlic flesh and peel on antioxidative capacity in 16-month-old rats. *Korean J Nutr* 37: 633-644.

5. Lee YM, Gweon OC, Seo YJ, Im J, Kang MJ, Kim MJ, Kim JI. 2009. Antioxidant effect of garlic and aged black garlic in animal model of type 2 diabetes mellitus. *Nutr Res Pract* 3: 156-161.
6. Sato E, Kohno M, Hamano H, Niwano Y. 2006. Increased anti-oxidative potency of garlic by spontaneous short-term fermentation. *Plant Foods Hum Nutr* 61: 157-160.
7. Lee SH, Cho HS. 2007. Trends in functional food ingredients for beauty and its application in skin care. *Food Sci Ind* 40: 31-38.
8. Kim EA. 2007. Phytochemicals and beauty food. *Food Sci Ind* 40: 3-8.
9. Lee GY, Chang BS. 2007. Literature review on the effect of human skin following garlic extraction. *J Beau Tricho* 3: 6-12.
10. Sonavane G, Tomoda K, Sano A, Ohshima H, Terada H, Makino K. 2008. *In vitro* permeation of gold nanoparticles through rat skin and rat intestine: effect of particle size. *Colloids Surf B Biointerfaces* 65: 1-10.
11. Mason HS, Peterson EW. 1965. Melanoproteins I. Reactions between enzyme-generated quinones and amino acids. *Biochim Biophys Acta* 111: 134-146.
12. James AEK, Timothy DW, Gordon L. 1996. Inhibition of human leukocyte and porcine pancreatic elastase by homologues of bovine pancreatic trypsin inhibitor. *Biochemistry* 35: 9090-9096.
13. Marquele-Oliveira F, Fonseca YM, de Freitas O, Fonseca MJ. 2007. Development of topical functionalized formulations added with propolis extract: stability, cutaneous absorption and *in vivo* studies. *Int J Pharm* 342: 40-48.
14. Tietz F. 1969. Enzymic method for quantitative determination of nanogram amount of total and oxidized glutathione: applications to mammalian blood and other tissues. *Anal Biochem* 27: 502-522.
15. Quintanilha AT, Packer L, Davies JM, Racanelli TL, Davies KJ. 1982. Membrane effects of vitamin E deficiency: bioenergetic and surface charge density studies of skeletal muscle and liver mitochondria. *Ann NY Acad Sci* 393: 32-47.
16. Marnett LJ, Ji C. 1994. Modulation of oxidant formation in mouse skin *in vivo* by tumor-promoting phorbol esters. *Cancer Res* 54: 1886S-1889S.
17. Bisset DL, Hannon DP, Orr TV. 1987. An animal model of solaraged skin: histological, physical, and visible changes in UV-irradiated hairless mouse skin. *Photochem Photobiol* 46: 367-378.
18. Rahman K. 2003. Garlic and aging: new insights into an old remedy. *Ageing Res Rev* 2: 39-56.
19. Zhang C, Lu Y, Tao L, Tao X, Su X, Wei D. 2007. Tyrosinase inhibitory effects and inhibition mechanisms of nobiletin and hesperidin from citrus peel crude extracts. *J Enzyme Inhib Med Chem* 22: 91-98.
20. Sener G, Satýrođlu H, Ozer Sehirlí A, Kaçmaz A. 2003. Protective effect of aqueous garlic extract against oxidative organ damage in a rat model of thermal injury. *Life Sci* 23: 81-91.
21. Tepe B, Sokmen M, Akpulat HA, Sokmen A. 2005. *In vitro* antioxidant activities of the methanol extracts of five *Allium* species from Turkey. *Food Chem* 92: 89-92.
22. Schaffer EM, Liu JZ, Green J, Dangler CA, Milner JA. 1996. Garlic and associated allyl sulfur components inhibit N-methyl-N-nitrosourea induced rat mammary carcinogenesis. *Cancer Lett* 102: 199-204.
23. Sato E, Kohno M, Niwano Y. 2006. Increased level of tetrahydro-beta-carboline derivatives in short-term fermented garlic. *Plant Foods Hum Nutr* 61: 175-178.

24. Kwon OC, Woo KS, Kim TM, Kim DJ, Hong JT, Jeong HS. 2006. Physicochemical characteristics of garlic (*Allium sativum* L.) on the high temperature and pressure treatment. *Korean J Food Sci Technol* 38: 331-336.
25. Dwivedi C, Maydew ER, Hora JJ, Ramaeker DM, Guan X. 2005. Chemopreventive effects of various concentrations of alpha-santalol on skin cancer development in CD-1 mice. *Eur J Cancer Prev* 14: 473-476.
26. Arora A, Kalra N, Shukla Y. 2006. Regulation of p21/ras protein expression by diallyl sulfide in DMBA induced neoplastic changes in mouse skin. *Cancer Lett* 8: 28-36.

(2010년 4월 9일 접수; 2010년 4월 18일 채택)