

한국산 마늘로 부터 분리한 Alliin과 에탄올 추출물의 In Vitro계 생리 활성

임승우 · 김태효*

고려대학교 식품공학과, *한국과학기술연구원 생명공학연구소

Physiological Activity of Alliin and Ethanol Extract from Korean Garlic (*Allium Sativum*, L.)

Seung-Woo Lim and Tae-Hyeo Kim*

Department of Food Technology, Korea University

*Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology

Abstract

This study was designed to evaluate the effects of garlic extracts of various concentrations on the growth of various pathogens and human colon cancer cell lines *in vitro*. For antibacterial effects against microorganisms, minimal inhibition concentrations (MIC) of alliin were from 5,000 to 20,000 ppm. MIC of ethanol extract were from 1,250 to 10,000 ppm. For cytotoxic effect of alliin and ethanol extract against human colon cancer cell lines (HCT-15), the growth rates of the cancer cells in medium containing alliin and ethanol extract were inhibited gradually to a significant degree in proportion to the increase of these concentration. Morphology of HCT-15 cells in medium containing alliin and ethanol extract were seen to be shrunked and fragmented. The results show that the causes of the antibacterial and cytotoxic effect against a wide range are thermostable substances isolated by the ethanol.

Key words: antibacterial, cytotoxic, alliin, garlic extract

서 론

인류는 고래로부터 천연자원에 대한 그 응용성을 추구하며 이용하여 왔다. 그 중에서도 마늘은 오래 전부터 향신료나 의약품으로 널리 사용되어 왔으며, 특히 우리나라에서는 중요한 양념의 하나로 각종 음식에 사용되고 있을 뿐 아니라 그 자체로서도 하나의 식품으로 애용되고 있다. 마늘에는 alliin 이 존재하여 주요한 약리작용을 나타내고 있으며, 세포가 파괴될 때 alliinase라는 효소의 작용을 받고 분해과정을 거쳐 allicin, pyruvic acid 및 ammonia가 생성된다. 이때 allicin은 향취가 있고 살균력을 가지고 있으나 매우 불안정하고 증기에 의해서도 분해된다. Stoll과 Seebeck은 일찌기 마늘의 methanol추출물로부터 alliin을 분리하고 alliinase의 존재도 확인한 바 있다^(1,2). 마늘에는 다량의 alliin이 존재하나 조리시 세포를 파괴하므로

실제로 alliin이 체내에 들어가는 양은 극히 적으므로 세포를 파괴하더라도 alliin이 분해하지 않는 방법을 도입하여 마늘이 갖는 강장효과, 약리작용 등의 효능을 고양하는 것이 바람직하다 할 수 있다^(7,8).

식물성 항균성분의 항균작용에 대하여서는 오래전부터 보존료 탐색이라는 측면에서 연구가 수행되어 왔으며, 특히 최근에는 천연식품을 섭취함으로써 식중독과 관련된 항균효과를 기대하려는 노력이 시도되고 있다. 국내에서도 최근 식품오염에 관계있는 여러 미생물에 대한 식물 추출물의 항균효과를 검색하고 있는데 식물중의 페놀물질이 항균작용에 관련된다고 한다⁽⁹⁾. 페놀성 물질은 동물체내에서 변이원성과 발암성과 같은 심한 독성을 발휘하는 위험성도 제시되고 있다⁽¹⁰⁾. 그러나 박 등⁽¹¹⁾은 마늘을 첨가한 김치에 의한 니트로소아민의 생성저해효과로 항돌연변이효과 또는 항암의 효과도 기대할 수 있는 것으로 보고하고 있으며, 이때 유산균등이 나타내는 효과에 대하여도 언급하고 있다⁽¹¹⁾. 항균성 화학요법제는 화학적합성 유기

Corresponding author: Seung-Woo Lim, Department of Food Technology, Korea University, Seoul 136-071, Korea

항균제와 미생물유래항생물질로 구분되며, 화학요법에 의하여 미생물의 발육이 저해된 상태를 정미생(microbiostasis)이라고 하며, 세균에 대한 경우에는 정균(bacteriostasis)이라고 한다⁽¹²⁻¹⁶⁾. 여기서의 천연 항균제로서 마늘 성분의 항균작용물질로 감염증의 발생을 예방할 수도 있을 것으로 사료되어져 예방적 목적으로서의 가치를 얻고자 하였다. 또한 주지하는 바와 같이 암은 현대의학의 가장 큰 당면과제로서 세계 각 연구기관에서는 막대한 연구비를 투자하여 부작용이 적으면서 유효한 항암제를 개발하기 위해 천연물을 대상으로 항암성물질의 검색이 시도되고 있다⁽¹⁷⁻¹⁹⁾. 따라서 본보에서는 마늘 성분 중 비교적 안정하며 암세포 성장억제물질에 대한 유용성을 검색하고자 하였다.

재료 및 방법

사용 균주 및 암세포

사용한 균주는 고려대학교병원과 한국식품위생연구원으로 부터 분양 받아 사용하였고, *E. coli*의 10종의 유해세균들을 대상으로 항균활성을 검색하였으며, Table 1과 같다. 암세포는 한국과학기술연구원 생명공학연구소에서 방사면역화학적 방법을 사용하여 항암제 screening에 응용하고 있는 세포들 중 본 연구의 내용에 적합한 인체 장암세포유래의 HCT-15를 RPMI 1640 (Grand Island Biological Co., USA)배지에 fetal bovine serum (Grand Island Biological Co., USA)를 5% 되게 첨가하여 사용하였다.

시약 및 분석 기기

실험에 사용된 시약 중 protamine sulfate, ammonium sulfate, sodium pyruvate, PMSF (phenylmethyl-sulfonyl-fluoride), pyridoxal 5'-phosphate, 2-mercaptoethanol, isopropanol, Sephadex G-200 등은 Sigma Chemical Co.

(St. Louis, USA)의 특급 시약을, 2,4-dinitrophenylhydrazine, TCA (trichloroacetic acid) 등은 순정화학제품(일본)을 사용하였으며, 추출 및 정제를 위한 ethanol, methanol, ether 및 acetone 등은 국산 1급이상의 시약을 사용하였다. 또한 미생물 실험에 필요한 배지용으로는 Difco 제품을 사용하였고, 기기로는 rotary vacuum evaporator (동경이화학기계, 일본), DU-64 U.V. spectrophotometer (Beckman Co., Germany)를 사용하였다.

HCT-15 암세포의 배양에 사용된 배양액은 RPMI 으로서 fetal bovine serum, trypsin-EDTA 와 함께 Grand Island Biological Co.제품을 사용하였으며, 항암성 실험에 사용한 세포수 측정기는 hemacytometer (American optica, Buffalo, NY, USA)를 사용하였다. 세포모양관찰은 Zeiss (Germany) 제품의 inverted microscope 였으며, HCT-15 암세포 배양은 CO₂ 항온기 (Vision Scientific Co. Ltd., Korea)를 사용하였다. Millipore filter disc 및 그 부속품들은 Millipore제품, 세포 배양 용기로는 T-75 flask 와 35 mm petridish는 Nunc (A/S Nunc, Denmark) 제품을 사용하였다. 그리고 shaker는 Korea Manhattan Co.제품을 사용하였다.

시료의 조제

본 실험에 사용한 마늘은 한지형의 충남 서산종으로 산지에서 구입 정선하여 시료로 사용하였다. 시료를 진공동결건조하기 위하여 deep-freezer에서 -75°C로 2시간 이상 예비동결시킨 후 freeze dryer를 사용하여 0.005~0.05 torr 및 -50°C 이하에서 완전하게 건조시켰다. 마늘 중 alliin의 추출은 Stoll 등의 방법을 개량하여 사용하였으며^(20,21), 각 정제 단계별로 alliin의 추출에 따른 작용기에 대한 정성분석을 실시하였다. 또한 미생물 및 효소작용에 의한 alliin의 분해를 막기 위하여 냉동보관의 방법을 사용하였다. 분말시료에 70~80%의 농도가 되도록 4°C의 ethanol 및 methanol을 가한 다음 3시간씩 3회 150 rpm으로 진탕 추출하고 여과하여 저온에서 감압농축 시켰다. 우선 지질 성분과 불순물을 분리하기 위하여 ether를 사용하여 분획하고, 잔존하는 당류를 제거하기 위하여 ethanol에 의한 침전방법을 사용하였다. 상침액을 원심분리한 후 감압농축하고 미리 냉각시킨 ethanol 및 methanol을 가하여 백색의 침전을 얻었으며, 황산데시케이터 내에서 감압건조하고 탈이온수를 사용하여 녹인 후, acetone을 사용하여 3회 이상 재결정 하였다. 이때 저온조건하에서 12시간 정치한 후 여과 및 건조를 하였으며, alliin의 확인과 순도를 결정하기 위하여 thin layer chromatography를 실시하였으며, sodium nitroprus-

Table 1. List of strains and media used for antimicrobial experiment

| No. | Strain | Media |
|-----|--|-------------------|
| 1 | <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 | Modified EG media |
| 2 | <i>Staphylococcus aureus</i> KFCC 11764 | |
| 3 | <i>Eubacterium limosum</i> ATCC 10825 | |
| 4 | <i>Bacteroides fragilis</i> KCTC 5013 | |
| 5 | <i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028 | |
| 6 | <i>Salmonella typhi</i> | Nutrient broth |
| 7 | <i>Shigella sonnei</i> ATCC 25931 | |
| 8 | <i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 13883 | |
| 9 | <i>Enterobacter cloacae</i> ATCC 23355 | |
| 10 | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853 | |
| 11 | <i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633 | |

side와 ninhydrin 시약을 이용하여 발색과 Rf 값을 비교하였다⁽²²⁾. 그리고 분취한 alliin의 효소적반응에 의해 생성된 pyruvic acid의 정량을 통하여 이중검정을 실시하였다^(23,27).

균에 대한 최소발육저지농도의 측정

세균을 배양하기 위하여 Nutrient 배지를 사용하였으며, 균점종은 냉동 건조된 균들을 10 mL의 nutrient broth 및 modified EG 배지에 넣어 37°C에서 24시간 배양한 후 0.1 mL를 취해 멸균한 생리식염수(0.85% NaCl) 10 mL에 희석하고 nutrient agar 배지에 0.1 mL 되게 조정하여 배지에 균등하게 되도록 접종하여 48시간 키운 후 1 colony를 다시 10 mL의 각 broth에 접종하여 37°C에서 48시간 배양하였으며, 12시간마다 각 broth에서 2회 이상 계대 배양한 후, 배수회석법으로 실시한 시료가 제 1 시험관으로 부터 40,000 ppm 되게 1 mL를 가한 후 2배수 계대회석하여 고압증기멸균한 시료 용액을 첨가하여 균주를 1%되게 조절하여 배지에 균등하게 되도록 접종한 후 37°C에서 배양하고, agar plate 배양에서는 각 시험관의 균 발육여부를 확인하기 위하여 nutrient agar plate에 획선도말하여 37°C 배양기 내에서 24시간 배양하여 균 배양성적을 판정하여 최소발육저지농도(MIC; minimal inhibition concentration)를 측정하였다. 경시적으로 620 nm에서의 흡광도 측정은 broth system에 적용하여 매 3시간 간격의 측정으로 부터 확인하였으며, agar system에서의 미생물의 생육 정도는 24시간 배양 후 종합적인 검토를 하여 함께 비교하였다.

암세포에 대한 증식억제농도의 측정 및 형태의 관찰

인체 장암세포인 HCT-15는 5% fetal bovine serum과 antibiotics (penicillin, streptomycin)를 첨가한 RPMI를 배양액으로 T-75 flask에 담아 5% CO₂가 유지되는 37°C incubator에서 monolayer로 배양하였다⁽²⁸⁾. 매주 2회씩 배지를 갈아주면서 암세포가 증식하여 confluency가 되는 시점에서 계대배양 하였다. 즉, 25 cm² tissue culture flask에 이식한 HCT-15 암세포가 90% 포화상태로 증식하면 배양액을 버리고 flask바닥에 mono-layer를 형성하는 세포를 phosphate buffered saline (PBS)으로 2회 씻어낸 후 0.05% trypsin-EDTA 용액 1 mL를 넣고 10분간 37°C에 보관하여 flask에서 cell을 떨어뜨렸다. 그 후 새로운 RPMI 10 mL를 넣어 희석하고 원심분리하여 pellet를 얻었다. 그 pellet를 배양액에 현탁시킨 후 새로운 flask에 이식하고 CO₂ incubator에서 배양하였다. 이때 이식시키는 세포수는 실

험계획에 따라 조정하였으며, 실험시에는 cell culture 용 지름 35 mm disposable petridish를 사용하였다. 암세포의 세포증식을 측정하기 위해 Jakob의 암세포 배양방법에 따라 각 암세포를 배양하였다⁽²⁹⁾. Isotope로는 [³H]-thymidine를 0.5 μCi/well의 농도로 사용하였으며 20시간에 첨가한 후 마지막 6시간동안 ice bath에 정치시키고 26시간때 측정하였다. Cell harvest 기기를 사용하여 glass fiber filter에 cell을 부착시킨 후 1 mL의 liquid counting cocktail을 첨가하여 β-counter로 CPM을 측정하였다. 즉, 각 추출물을 4 × 10⁴ cells/mL 상태에 첨가한 후 여러군의 96-well plate에 배분하여 37°C에서 배양하면서 추출물 농도별로 각군의 세포수를 β-counter로 측정하여 대조군과 비교하였다. 인체 장암유래의 HCT-15 세포의 경우 T-75 flask에서 배양한 암세포를 trypsin 처리하여 분리한 후 RPMI (5% FBS 함유) 배양액으로 희석하고, 지름 35 mm petri dish에 각 3 mL씩 분배 이식한 뒤 24시간 배양 하였다. 암세포가 각각의 dish에 부착, 증식되어 세포수가 1 × 10⁴ cells/dish되었을 때 dish 내의 배양액을 제거하고, 각각 추출 성분이 농도별로 함유된 배양액으로 교체 시켰다. 그리고 다시 72시간 배양하면서 24시간마다 각 dish에서 증식된 암세포를 trypsin 처리하여 분리하고, 0.9% NaCl로 희석하여 Coulter counter로 각 군의 세포수를 측정하였다. 이때 대조군은 마늘 유효성분 첨가량에 해당되는 양을 무수알콜(0.2% 미만)을 첨가하여 동일 조건하에서 실험하였다. 대조군의 세포수를 기준하여 마늘유효성분첨가량군들의 증식억제효과를 세포증식율 또는 사멸율로 산출하였다. 즉 초기 세포수보다 증식된 경우는 대조군 세포수를 100%로 정하고 상대적인 증식율을 계산하였으며, 초기 세포수 이하로 줄어든 경우는 초기 세포수를 기준으로 계산하여 (-)로 표시하였다. 그리고 암세포 형태의 관찰은 위의 방법과 같이 HCT-15세포배양액에 마늘 유효성분의 분획을 연속 희석법에 의한 첨가를 실시하고, HCT-15 세포를 72시간 배양하면서 실험군과 대조군의 세포모양의 변화를 24시간 마다 inverted microscope (Zeiss, Germany)로 관찰하고, 부착된 camera (Contax, Japan)로 100배 또는 200배의 배율로 검경관찰하여 세포증식 억제현상을 비교확인 하였다.

결과 및 고찰

시료의 조제

Table 2와 같이 alliin의 분리에 있어서는 동결건조 시료에서의 수율이 높았으며, 이는 효소 반응계에 있

어 효소적인 분해를 최소화 하였기 때문으로 보여진다. 또한 ethanol extract의 경우에는 신선한 마늘에 있어서 유기용매에 의한 효소활성 억제 및 ethanol의산화성에 의한 추출물의 용해도증가로 수율증대 효과가 있었던 것으로 사료된다.

균에대한 최소발육저지농도의 측정

Table 3에서 보는 바와 같이 alliin첨가량이 20,000 ppm인 경우에는 1, 2, 3, 4, 5, 7번 균주들에서 80~100%의 억제효과를 보였으며, 6, 9, 10, 11번 균주에 있어서는 50~80%의 억제를, 그리고 8번 균주는 50%미만의 억제효과를 보였다. 1, 2, 11번 균주의 경우 김등⁽³⁰⁾의 보고에서도 0.1%미만의 농도에서 항균활성을 나타내는 것과는 유의성이 있었다⁽³⁰⁾. 또한 이 등⁽²⁸⁾의 에탄올추출물의 농도별 항균효과측정연구의 축에대한 1000 ppm에서 증식이 완전히 억제된 결과와는 낮은 효과로 비교되어지나, 균주에 따라 다양한 항균효과가 있는 것으로 보아 특정 성분을 검색, 분리, 정제할 경우 상당한 효과가 기대된다.

Table 4와 같이 ethanol extract의 10,000 ppm 첨가농도에서는 2, 3, 4, 5, 10번 균주에서 80~100%의 억제와 1, 6, 7, 9, 11번 균주에서는 50~80%의 억제효과가 관찰되었으며, 8번 균주에서는 50%미만으로서 alliin에서와 비슷한 경향을 보였다. 이는 이 등⁽²⁸⁾의 clear zone test에서 1.2 mg/disc의 농도에 대한 *B. subtilis*의 결과와도 유의성이 있는 것으로 나타났다. 이는 마늘에 있어 독특한 향미를 주는 황화합물이 많아 산도의 증가와 관계없이 항균력이 강하여 식품에 있어서 연부현상을 지연시키는 효과가 있다고 하는 보고와도 관련이 있는 것으로 볼 수 있다⁽¹¹⁾.

Table 5와 같이 alliin과 ethanol extract의 activity를 비교할 때 ethanol extract가 높음을 알 수 있다. 또한

Table 2. Yield data of garlic extract prepared in this study

| Component | Fresh | Freeze-Drying | Drying (%) |
|-----------------|--------------------|---------------|------------|
| Alliin | 0.74 ¹⁾ | 0.82 | 0.69 |
| Ethanol extract | 23.10 | 19.20 | 18.70 |

¹⁾All values are expressed as mean containing standard error (± 0.01)

항균활성 물질의 열 및 pH에 대한 안정성에 관한 연구결과에서도 상대적인 항균활성에는 유의적인 변화가 거의 없었으므로 위의 항균성분들은 열 및 pH에 비교적 안정한 물질인 것으로 생각할 수 있다. 이는 대부분의 항균성 물질이 수용성 보다는 유기용매에 의하여 추출된다는 보고와도 관련이 있다. 그러나 마늘 중에 존재하는 alliin이 항균작용의 주된 기능을 한다는 이전의 보고가 있으나, 열안정성의 측면에서, 전구물질인 alliin의 가치가 더 고양될 것으로 생각된다. 항균작용은 미생물의 종류, 항균제의 종류와 농도, 온도 등 여러 요인에 의해 영향을 받게 되며 Gram양성 또는 음성세균에 미치는 영향은 일관성이 없는 것

Table 3. Growth inhibition concentration of alliin

| Concentration ($\mu\text{g/mL}$) | Strain | | | | | | | | | | |
|------------------------------------|-----------------|---|---|---|---|---|---|---|---|----|----|
| | 1 ¹⁾ | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 |
| 20,000 | - ²⁾ | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| 10,000 | - | - | - | - | - | - | - | + | - | - | - |
| 5,000 | - | - | - | - | - | + | - | + | + | + | + |
| 2,500 | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| 1,250 | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| 625 | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| 313 | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| 156 | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |

¹⁾1. *E. coli*, 2. *S. aureus*, 3. *E. limonsum*, 4. *B. fragilis*, 5. *S. typhimurium*, 6. *S. typhi*, 7. *S. sonnei*, 8. *K. pneumoniae*, 9. *E. cloacae*, 10. *P. aeruginosa*, 11. *B. subtilis*.

²⁾+: growth, -: not growth.

Table 4. Growth inhibition concentration of ethanol extract

| Concentration ($\mu\text{g/mL}$) | Strain | | | | | | | | | | |
|------------------------------------|-----------------|---|---|---|---|---|---|---|---|----|----|
| | 1 ¹⁾ | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 |
| 20,000 | - ²⁾ | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| 10,000 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| 5,000 | - | - | - | - | - | - | - | + | - | - | - |
| 2,500 | + | - | - | - | - | + | + | + | + | - | + |
| 1,250 | + | + | - | + | + | + | + | + | + | + | + |
| 625 | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| 313 | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| 156 | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |

¹⁾1. *E. coli*, 2. *S. aureus*, 3. *E. limonsum*, 4. *B. fragilis*, 5. *S. typhimurium*, 6. *S. typhi*, 7. *S. sonnei*, 8. *K. pneumoniae*, 9. *E. cloacae*, 10. *P. aeruginosa*, 11. *B. subtilis*.

²⁾+: growth, -: not growth.

Table 5. Summary of results of MICs ($\mu\text{g/mL}$)

| Component | Strains-tested | | | | | | | | | | |
|-----------|----------------|-------|-------|-------|-------|--------|-------|--------|--------|--------|--------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 |
| Alliin | 5,000 | 5,000 | 5,000 | 5,000 | 5,000 | 10,000 | 5,000 | 20,000 | 10,000 | 10,000 | 10,000 |
| Ethanol | 5,000 | 2,500 | 1,250 | 2,500 | 2,500 | 5,000 | 5,000 | 10,000 | 5,000 | 2,500 | 5,000 |

으로도 보고되고 있다.

장⁽³²⁾에 의하면 항생제내성 메카니즘의 하나로 내성균주의 peptidoglycan 구조변화가 관찰 되었으나, 구조분석은 그 특이한 구조로 인하여 일반적인 펩티드서열분석법을 적용할 수 없을 뿐만 아니라 다양한 결사슬의 구조 때문에 선택적인 가수분해가 이루어 지지 않아 최근까지 효율적인 연구가 이루어지지 못한 것으로 보고되고 있다⁽³²⁾. Chloramphenicol (Chong Kun Dang Co.)은 특히 *S. typhi*나 *S. sonnei*와 같은 수인성 전염병의 원인균에 대한 항생제로서 본 실험에서는 약제내성을 측정하기 위하여 사용 하였으며, 그 activity는 980 µg/mg 이었다.

이 결과는 가축이나 가금인 *Salmonella*균을 높은 비율로 보균하고 있어서 식육류의 처리과정에서 균에의 해 오염되는 것을 완전하게 방지하는 것은 어려운 일이지만 오염균수가 그렇게 많은 것은 아니어서 증식시키지 않는 한 식중독의 원인으로 되기는 어려우나 이에 대한 예방대책으로서는 가치가 있는 것으로 사료된다⁽³³⁾.

Table 6에서 보는 바와 같이 CM에 감수성이 있는 *S. typhi*나 *Shig. sonnei*는 ethanol extract에서 더 효과적임을 알 수 있었다. 이는 마늘에 있어서의 항균작용은 최루작용을 하는 함황아미노산으로 1944년에 Cavallito 등이 명명하였으며, 그 전구체인 alliin에 대한 고찰은 고려의 대상에서 없었으나 본 연구결과에 나타난 바와 같이 함황아미노산으로서 alliin과 ethanol extract가 항균작용에 관여한다고 볼 수 있겠다. 이상의 결과로 부터 유해세균에 대한 항균작용의 특성은 마늘 추출물이 장내유산균에 대한 증식인자가 된다는 보고와 견주어 볼때 항균성 이상의 가치를 제고할 수 있겠다⁽³⁴⁾. 또한 식품첨가물로서 사용되어질 때 보존료로서 미생물의 발육저지력이 강하고 확실하며, 지속적으로 식품에 대하여 나쁜 영향을 주지 않아야 한다는 목적과도 일치되어 지며, 보다 중요한 것은 인체에 무해하고 장기적으로 사용하여도 해가 없는 점 등을 살펴 보았을 때 그 가치를 고양시킬 수 있겠다. 그리고 이상적인 장내균총을 유지시키기 위해서는 유익

균이 장내우세균이 되도록 해야 하는 바 이를 위해 유익균 자체를 섭취하는 방법과 유해균의 생육을 억제시키는 천연물 소재의 개발과 그 식이가 제안되고 있는 실정이다⁽³⁵⁾.

암세포에 대한 증식억제능도의 측정

Table 7과 같이 암세포에 있어서 그 억제능도는 alliin이 ethanol extract보다 더 낮았고, 50,000 ppm첨가시 97%이상의 저해를 보였다(Table 8).

Table 8과 같이 50,000 ppm 이상의 농도에서는 거의 사멸하는 경향을 보였으며 그 IC₅₀은 ethanol extract가 2,500 ppm으로 보다 더 효과적임을 보였다. Nakata⁽³⁵⁾의 중앙발육에 미치는 생마늘추출액의 영향에서는 alliin의 효과가 생존률이 거의 없는 것으로 나타났으나, 황 등⁽¹⁷⁾의 P388 암세포, 인체장암세포 HCT-48 및 HRT-18에 대한 증식억제효과에서는 4 µg~200 µg 첨가군에서 증식억제효과 뿐만 아니라 사멸효과도 나타낸 것으로 보고하고 있다⁽³⁵⁾.

이상과 같이 항암성을 보이는 에탄올 추출물의 경우 전⁽³⁶⁾은 마늘 성분의 산화방지작용에 관한 연구에서 전자공여능과 superoxide dismutase activity에 있어서도 그 활성이 높은 분획이라고 보고하였으며⁽³⁶⁾, 박 등⁽⁴¹⁾은 마늘의 돌연변이유발억제 및 HT-29 결장암세포의 성장저해효과에서는 매탄올추출물은 2%농도에서 아플라톡신B₁과 MNNG에 대해 항돌연변이적 효과가 있음을 보고하였고, 이 때 항암효과는 chloroform분획에서 나타난 것으로 보고하였다. 이는 DNA 손상 억제 작용을 나타내는 보고^(37,41)와도 상호 관련이 있을 것으로 생각 되어지며, 이에 대한 심층적 연구가 필요하다.

Table 7. Growth inhibition concentration of garlic extract against HCT-15

| Concentration (µg/mL) | Alliin | Ethanol extract |
|-----------------------|-----------------|-----------------|
| 10,000 | - ¹⁾ | - |
| 5,000 | - | - |
| 500 | - | - |
| 50 | - | + |

¹⁾+: growth, -: inhibition (or not growth).

Table 6. Antibiotic susceptibility of test organisms

| Strain | MIC ¹⁾ (µg/mL) of antibiotics | | |
|---------------------|--|--------|-----------------|
| | CM ²⁾ | Alliin | Ethanol extract |
| <i>S. typhi</i> | 32 | 10,000 | 5,000 |
| <i>Shig. sonnei</i> | 64 | 5,000 | 5,000 |

¹⁾MIC; minimal inhibition concentration.

²⁾Chloramphenicol.

Table 8. IC₅₀ and lethal concentration of garlic extract against HCT-15

| Component | Concentration (µg/mL) | |
|-----------------|-----------------------|----------------------|
| | IC ₅₀ | Lethal concentration |
| Alliin | 13,500 | 50,000 ≤ |
| Ethanol extract | 2,500 | 50,000 ≤ |

요 약

본 연구는 여러가지 유해세균과 인체장암세포에 대한 다양한 농도에서의 마늘 추출물의 효과를 고양하고자 계획하였다. 미생물에 대한 항균효과는 그 최소 발육저지농도가 alliin의 경우에는 5,000~20,000 ppm, 그리고 ethanol extract의 경우에는 1,250~10,000 ppm이었으며, 또한 이들 성분의 암세포증식억제는 첨가농도가 증가함에 따라 점차 강하게 억제시킴을 알 수 있었다. 그리고 HCT-15의 형태적 관찰에서도 위축됨을 알 수 있었으며, 위의 결과들로부터 항균과 암세포증식억제에 있어서의 활성물질은 열에 안정하고 에탄올에 의해 추출되는 성분임을 알 수 있었다.

감사의 글

본 연구논문의 일부요지는 제69차 한국농화학회 춘계학술발표회 석상에서 발표하였으며, 저자들은 특히 조언과 격려를 해주신 최상운 교수님과 실험조무에 협조해 주신 서울보건전문대학의 이명환, 삼립G.F의 김진억, KIST의 양영, 한국식품위생연구원의 이정성, 고려대학교병원의 허진 연구원께 심심한 사의를 표합니다.

문 헌

1. Block, E.: The chemistry of garlic and onions. *Scientific American*, **252**, 94 (1985)
2. Bogin, E. and Abrams, M.: The effect of garlic extract on the activity of some enzymes. *Fd. Cosmet. Toxicol.*, **14**, 417 (1976)
3. Cavallito, C.J., and Bailey, J.H.: Allicin, the antibacterial Principle of *Allium sativum*. I, Isolation, Physical Properties, and antibacterial action. *J. Am. Chem. Soc.*, **66**, 1950 (1944)
4. Cavallito, C.J., Buck, J.S., and Suter, C.M.: Allicin, the antibacterial Principle of *Allium Sativum*. II, Determination of the chemical structure. *J. Am. Chem. Soc.*, **66**, 1952 (1944)
5. Ellmore, G.S. and Feldberg, R.S.: Alliin lyase localization in bundle sheaths of the garlic clove. *Am. J. Botany*, **81**, 89 (1994)
6. Block, E.: Flavorants from Garlic, Onion, and Other Alliums and Their Cancer-preventive Properties. *Am. Chem. Soc.*, **546**, 84 (1994)
7. 정희돈 : Maleic hydrazide 처리가 마늘의 alliinase 활성에 미치는 영향. *한국원예학회지*, **14**, 37 (1973)
8. 김주선 : 마늘의 가공처리에 따른 thiosulfinate 함량. 서울여자대학교 석사학위논문 (1989)
9. 최웅, 신동화, 장영상, 신재익 : 식물성 천연 항산화물질의 검색과 그 항산화력 비교. *한국식품과학 회지*, **24**,

- 142 (1992)
10. 이정희, 이서래 : 국내산 식물성 식품중 페놀성 물질의 함량분석. *한국식품과학회지*, **26**, 310 (1994)
11. 박건영, 최홍식 : 김치와 니트로소아민. *한국영양식량학회지*, **21**, 109 (1992)
12. Shashikanth, K.N., Basappa, S.C., and Murthy, V.S.: Studies on the antimicrobial and Stimulatory factors of garlic (*Allium sativum L.*). *J. Food Sci. Technol.*, **18**, 44 (1981)
13. 정희영 : 항생제의 길잡이. 수문사, 서울 (1990)
14. 이종훈 : 병원미생물학. 수문사, 서울 (1992)
15. 임춘미, 정규향, 유양자 : Butylated hydroxyanisole (BHA) 및 butylated hydroxytoluene (BHT)의 미생물 생장억제 효과. *한국식품과학회지*, **19**, 54 (1987)
16. 전세열, 이영순 : 향신료의 성분과 조리적 기능. *한양여전 식품영양연구지*, **3**, 61 (1989)
17. 황우익 : 마늘로부터 항암성 성분의 추출 및 그의 항암성활성 측정에 관한 연구. *한국생화학회지*, **13**(4), 191 (1980)
18. 황우익, 이성동, 손홍수, 백나경, 지유환 : 마늘성분에 의한 면역 증강 및 항암효과. *한국영양 식량학회지*, **19**, 494 (1990)
19. 서울대학교 의과대학 : 종양학. 서울대학교 출판부, 서울, p.85 (1986)
20. Stoll, A., and Seebeck, E.: Chemical investigation on alliin, the specific principle of garlic. *Advan. Enzymol.*, **11**, 377 (1951)
21. 전희정 : 마늘성분의 항산화 방지작용에 관한 연구. *대한가정학회지*, **24**, 43 (1986)
22. 김일, 박택규, 박동기 : 실험생화학. 청문각, 서울, p.146 (1995)
23. Friedemann, H.D. and Haugen, G.E.: Determination of α -Keto Acid. *J. Biol. Chem.*, **147**, 415 (1943)
24. Mazelis, M. and Crews, L.: Purification of the alliin lyase of garlic, *Allium Sativum L.* *Biochem. J.*, **108**, 725 (1968)
25. Nock, L.P. and Mazelis, M.: The C-S lyases of higher plants: Preparation and properties of homogeneous Alliin Lyase from garlic (*Allium sativum*). *Arch. Biochem. Biophys.*, **1249**, 27 (1986)
26. Nock, L.P. and Mazelis, M.: The C-S lyases of higher plants 1: Direct comparison of physical properties of homogeneous Alliin Lyase of garlic (*Allium sativum*) and onion (*Allium cepa*). *Plant Physiol.*, **85**, 1079 (1987)
27. 안용근 : 효소단백질정제법. 양서각, 서울, pp.222-289 (1994)
28. 이병완, 신동화 : 식품부패미생물의 증식을 억제하는 천연항균성물질의 검색. *한국식품과학회지*, **23**, 200 (1991)
29. Jacoby, W.B. and Pastan, I.H.: Methods in Enzymology, Vol L VIII. Cell Culture, Academic Press, New York (1979)
30. 김진억, 김진수, 전문진 : 한국산 마늘 추출성분이 미생물생육에 미치는 영향. *고려대학교 자연자원논집*, **35**(1), 21 (1995)
31. 손경희 : 조미향신료의 식품과학적인 측면. *한국식문화학회지*, **5**, 391 (1990)
32. 장윤석 : 항생제에 저항하는 박테리아 세포벽구조. *화학세계*, **34**, 1065 (1994)

33. 양성호, 윤정의, 석근영, 안철우, 조갑연, 현재석 : 식품 위생학. 수학사, 서울 (1992)
34. 신용서 : 장관조건하에서 젖산균의 생존과 그 활성화에 관한 연구. 원광대학교 박사학위논문 (1995)
35. Nakata, T.: Effect of fresh garlic extract on tumor growth. *Jap. J. Hyg.*, **27**, 538 (1973)
36. 전희정 : 마늘성분의 산화방지작용에 관한 연구. 한양대학교 박사학위논문 (1983)
37. 박평심, 이명렬 : copper-phenanthroline 복합체에 의해 유도되는 DNA손상에 대한 양파와 마늘의 억제효과. *한국영양식량학회지*, **21**, 367 (1992)
38. 강진훈, 안방원, 이동호, 변한석, 김선봉, 박영호 : 마늘 및 생강추출물의 DNA손상 억제작용. *한국식품과학회지*, **20**(3), 287 (1988)
39. 신동화 : 천연 항균성물질의 연구현황과 식품가공에의 응용. *식품과학과 산업*, **23**(4), 68 (1990)
40. 전희정 : 마늘의 유효성분 기능과 약리효과. *한양여전 영양관리연구지*, **1**, 67 (1987)
41. 박건영 : 마늘의 돌연변이유발억제 및 HT-29결장암세포의 성장저해효과. *한국식품과학회지*, **23**, 370 (1991)

(1996년 8월 12일 접수)