

천연과즙을 이용한 *Aloe vera* L.의 callus 배양과 이들 추출물의 항산화 및 항균활성 효과 검정

이인순, 배동넉, 권오민, 한구태, 김대환, 오명원, 이지홍, 문혜연*

The Effect of Antioxidant and Antimicrobial Activity on the Extracted Its Material and *Aloe vera* L. Callus Culture by the Natural Fruit Juice

In-Soon Lee, Dong Nyeok Bae, Oh Min Kwon, Gu Tai Han, Dae Hwan Kim, Myeong Won Oh, Ji Hong Lee, and Hae-Yeon Moon*

접수: 2013년 8월 21일 / 게재승인: 2013년 11월 12일
© 2013 The Korean Society for Biotechnology and Bioengineering

Abstract: In order to obtain functional materials from aloe callus, we cultured *Aloe vera* L. leaf on MS medium added 0.2 mg/L IAA, 0.3 mg/L kinetin and 100 mg/L grape or/apple juice for 30 days. While a callus differentiation during callus culture did not show, the cultured leaves were uniquely released extracellular material into the agar plate. After cultivation for 18 days, the cultured leaf and agar were harvested for extraction a functional material. The materials extracted were measured on the amount of total phenols, flavonoids and polysaccharides and determined on the antioxidant and antimicrobial activity. In result, callus extracts of additive free (CT) and added apple juice (2T) had more amount of phenol compound (659 µg/mL, 533 µg/mL) and flavonoid (580 µg/mL, 501 µg/mL) than natural leaf (p: 525 µg/mL, f: 301 µg/mL). However, the extract of natural leaf had the better effect of lipid peroxidation and polysaccharide content than the culture extract. All samples extracted had same effect on the nitrite scavenging activity. On the other hand, only 2T extract showed excellent 72% nitric oxide scavenging activity. The agar extract was also confirmed to contain polyphenol compound and polysaccharide content that had antioxidant and antimicrobial activity partly.

Keywords: *Aloe vera* L., Antioxidant activity, Antimicrobial activity, Polysaccharide, Polyphenol

1. 서론

알로에 (*Aloe vera* L, syn: *Aloe barbadensis* Miller)는 백합과에 속하는 다년생 다육식물로 약재명은 노회(蘆薈)라 하며 BC 1,500년부터 의약품으로 사용되었다는 기록이 전해지고 있다. 지구상에는 총 400여종이 존재하지만 이중 식약용으로 사용 가능한 알로에는 겨우 67종에 불과하며 현재는 원산지인 중동과 남아프리카 지역보다 멕시코, 베네수엘라, 자메이카 등에서 농작물로 재배하여 생산되고 있다. 우리나라는 제주도 와 거제도 등지에서 2~3종이 재배되고 있으며 주로 식약용과 관상을 목적으로 생산하고 있다. 알로에는 삼목과 포기나누기 등으로 번식을 하며 건조한 기후에 대해 내성은 강한 반면 냉대기후에는 민감한 성질을 가지고 있어 열대기후나 아열대 기후지역에만 재배산지들이 주로 분포되어 있다 [1,2].

알로에 잎은 바깥의 녹색부분인 껍질과 안쪽의 과육부분인 겔로 나눌 수 있으며 성분은 수분이 90% 이상, 화합물은 200여종을 포함하고 있는 식물로 겔은 다당체와 페놀화합물, 지방, 단백질, 비타민, 미네랄 등의 물질을 함유하고 있다 [3, 4]. 다당체는 주로 glucose와 mannose을 단위체로 하여 구성된 물질이며 acetylated glucomannans, sulfated polysaccharides,

β (1→3) glucans, glycoprotein의 형태로 존재하며 anti-diabetic effect와 anti-cancer, anti-inflammatory, immunomodulatory, gastroprotective 등 다양한 효능이 있는 것으로 알려지고 있다 [5-7]. 또한, 겔은 많은 효소들을 포함하고 있어 인체의 생리 작용을 활성화하는 특징이 있는 것으로 밝혀지고 있으며 특히, magnesium lactate는 histamine의 생성과 histidine decarboxylase을 억제하는 효과가 있어 anti-allergic effect를 유도하는 것으로 보고되고 있다 [8].

유럽국가들에서는 선조 때부터 알로에를 이용하여 피부상처를 치료하거나 미용에 활용한 기록들이 전해지고 있으며 현대에서도 자외선으로 인한 피부손상, 화상, 감염, 여드름 및 광범위한 피부질환의 치료에 이용하고 있다. 이는 알로에 잎과 겔에 포함된 일부 성분들이 피부재생과 anti-microbial effect를 가지고 있기 때문에 대표적인 약리성 물질은 aloe-nin이 밝혀져 있으며 이외도 간 기능을 보호하고 세포 내 독성물질 제거, 체질개선 등에도 효능이 있는 것으로 알려지고 있다 [9-12]. 최근에는 방사선 치료를 받고 있는 암환자에서 유발되는 구강염 증상을 완화하고 치료하는데 효과가 있는 것으로 보고되고 있을 뿐만 아니라 anti-oxidant 활성을 가진 물질들도 포함하고 있어 anti-aging effect에 대한 연구결과들도 꾸준히 발표되고 있다 [13,14].

이러한 이유로 알로에는 주목 받는 기능성 소재 중 하나이며 [15] 우리나라에서도 2005년 이후 식품산업까지 그 활용분야가 확대되어 다양한 형태의 제품들이 개발되어 소비되고 있다. 사계절이 뚜렷한 우리나라의 경우 번식과 재배에 어려움이 많으며 균질한 품질의 알로에를 공급할 수 없어 대부분의 소비물량을 해외에서 재배하여 1차 가공 후 수입해야 하는 어려움을 가지고 있다. 또한, 알로에는 제조과정에서 식용이 가능한 겔 부분만을 가공에 주로 이용하며 잎 껍질은 제한적인 제품에서만 활용되고 있는 실정이다. 하지만 최근에는 알로에 잎 조직을 이용한 callus 조직분화가 성공하여 기내 배양이 가능해졌으며 가까운 시일에 대량 번식법으로 알로에가 양산될 것이다 [16,17]. 또한, 국내의 한 연구진은 알로에 callus 조직을 이용하여 기능성 물질을 대량 생산할 수 있는 실험을 진행하여 1차적인 결과를 확보한 상태이다 [18].

따라서, 본 연구에서는 겔의 함량이 가장 많은 중간부위의 알로에 잎 부위만을 선택하여 알로에가 함유하고 있는 기능성 물질인 다당체와 페놀화합물의 대량생산 가능성을 확인하기 위해, 천연 과즙을 첨가한 callus분화용 조건배지를 제조한 다음 callus조직분화를 유도하고 확보된 callus조직으로부터 생리활성 물질을 대량생산할 수 있는지에 대한 가능성을 타진하였다.

2. 재료 및 방법

2.1. 실험재료 및 조직살균

알로에 (*Aloe vera* L.)는 신세계 e-마트 (서울, 대한민국)에서 판매되는 국내산 식용을 구입한 다음 겔 부분이 가장 두꺼운

중간부위를 선택한 후 안쪽 겔을 제거하고 바깥쪽 잎만을 70% 에탄올에서 1분간 1차 살균 후, 1% NaOCl에서 20분 간 2차 살균한 다음 조직배양에 사용하였다 [19].

2.2. 균주 및 시약

실험에 사용한 균주는 유전자 은행 (대전, 대한민국)으로부터 분양 받았으며 배양배지는 blood agar (pH 7.3) 배지를 사용하였다. 시약은 Sigma회사 (St. Louis, USA)의 제품을 배지는 Difco사 (Lawrence, USA)의 제품을 구입하여 사용하였다.

2.3. Callus 배양

살균된 잎 조직을 callus배양하기 위해 조건배지는 Table 1과 같이 phytohormone과 천연과즙의 종류 및 농도를 결정하였으며 배지는 MS (Murashige & Skoog, 1968)배지를 탄소원으로는 3% sucrose을 제공하였다. 무균조건에서 살균된 잎 조직을 1 cm² 크기로 자른 다음 조건배지로 옮긴 후 28°C, 암에서 callus분화를 유도하였다.

2.4. 기능성 물질추출

18일 동안 배양된 잎 조직과 배지의 agar를 회수한 다음 기능성 물질을 추출하였다. 추출조건으로 용매는 물을 사용하였으며 식물재료와 용매의 비율은 1:10 (w/v)으로 하여 분쇄기 (Switzerland)로 분쇄한 다음 7°C에서 3일간 추출하였다. 추출된 추출물은 찌꺼기를 버리고 용액만을 회수하여 감압 농축 (Switzerland)한 후 동결 건조기 (Kansas, USA)를 이용 건조분말을 만들어 실험에 사용하였다. 추출된 시료는 Table 2와 같이 구분하여 실험에 적용하였다.

2.5. 총 페놀화합물과 플라보노이드 정량

Table 1. The condition medium for callus culture of *Aloe vera* L.

Kinds of medium	kinds of nutrition			
	phytohormone (mg/L)		natural juice (mg/L)	
	IAA	kinetin	Grape	Apple
MC	0.2	0.3	- [†]	-
M1	0.2	0.3	100	-
M2	0.2	0.3	-	100
M3	0.2	0.3	100	100

[†]No added grape or apple juice.

Table 2. The classification of samples according to culture condition

sample	culture condition
N	natural aloe leaf without gel part
G	natural aloe gel without leaf part
CT	aloe leaf tissue cultured on MC medium
IT	aloe leaf tissue cultured on M1 medium
2T	aloe leaf tissue cultured on M2 medium
3T	aloe leaf tissue cultured on M3 medium
CA	agar of MC medium cultured with aloe leaf
1A	agar of M1 medium cultured with aloe leaf
2A	agar of M2 medium cultured with aloe leaf
3A	agar of M3medium cultured with aloe leaf

0.1% 추출시료에 포함된 총 페놀화합물의 함량은 Folin-Ciocalteu 비색법 [20]에 준하여 측정하였으며 tannic acid (1 µg/mL)를 표준시료로 사용하여 농도를 산출하였다. 플라보노이드는 Lee [21] 방법에 따라 실험하였으며 quercetin (1 µg/mL)을 표준시료로 농도계산하였다. 각 실험은 3번 반복실험하여 정량 값을 산출하였다.

2.6. 다당체 중량 측정

동결건조된 시료 1 g을 물에 완전히 녹인 후 4°C에서 보관한 100% EtOH을 1:4 (w/v)비율로 첨가하여 실온에서 24시간 방치한 다음 침전물을 회수하여 동결건조한 후 중량을 측정하였다. 본 실험은 3번 반복 실험하여 산출하였다 [22].

2.7. 라디칼 소거활성 측정

추출물의 라디칼 소거활성을 알아보기 위해 1,1-Diphenyl-2-picryl hydrazyl (DPPH)을 이용하여 측정하였다 [23]. 시료농도는 각각 1%와 0.05%를 사용하였으며 라디칼 소거활성은 전자공여능 (electron donating ability, EDA %)으로 산출하였다. 대조군은 인공 항산화제 butylated hydroxytoluene (BHT)를 1%, 0.05%를 각각 사용하였으며 DPPH 농도가 1/2로 감소함에 대한 활성은 IC₅₀으로 산출하였다.

$$\text{EDA}\% = (\text{Control absorbance} - \text{Sample absorbance} / \text{Control absorbance}) \times 100$$

2.8. 지질산화 저해율 측정

알로에 추출물의 지질산화 저해율은 linoleic acid를 기질로 이용하여 측정하였다 [24]. 기질용액 2.5 mL에 0.1 M phosphate buffer (pH 7.0) 2.4 mL을 첨가하고 0.1% 추출물 0.1 mL을 첨가하여 반응액을 제조하였다. 35% TCA (trichloroacetic acid) 1 mL과 0.75% TBA (thiobarbituric acid) 2 mL을 혼합하여 95°C에서 40분간 반응한 다음 실온에서 충분히 식힌 후 acetic acid 1 mL과 chloroform 2 mL을 각각 첨가하여 2,000 rpm에서 5분간 원심분리하였다. 원심분리 후 상등액만을 회수하여 532 nm에서 흡광도를 측정하고, 아래의 공식을 이용해 지질산화 저해율을 계산하였으며 대조군으로는 0.1% BHT를 사용하였다. 본 실험은 3번 반복 실험하여 값을 산출하였다.

$$\text{지질산화 저해율}(\%) = (\text{대조군 ABS} - \text{Sample ABS} / \text{대조군 ABS-Blank}) \times 100$$

2.9. 아질산염 소거활성 측정

아질산염 소거능은 Kim 등 [25]의 방법에 따라 1 mM NaNO₂ 용액 1 mL에 0.1% 추출시료 1 mL을 가하고 0.1 N HCl과 0.2 M citric acid buffer (pH 2.5)를 가하여 총 부피가 10 mL이 되게 한 다음 37°C에서 1시간 동안 반응시켰다. 반응액 1 mL을 취하여 2% acetic acid 3 mL과 Griess reagent (1% sulfanilic acid 1% naphthylamine = 1:1, v/v) 0.4 mL을 차례로 가한 후

진탕혼합하여 실온에서 15분간 정치 후 520 nm에서 흡광도를 측정하였다. 아질산염 소거활성은 3번 반복하여 실행하였으며 아래의 공식에 준하여 산출하였다.

$$N(\%) = [1 - (A - C / B)] \times 100$$

N : Nitrite scavenging ability

A : Absorbance of 1 mM NaNO₂ added sample after standing for 1 hour

B : Absorbance of 1 mM NaNO₂

C : Absorbance of control

2.10. Nitric oxide 소거활성 측정

알로에의 nitric oxide 소거활성은 0.1% 추출시료 0.5 mL에 10 mM Na-nitroprusside 용액 0.5 mL를 가하여 상온에서 15분간 반응시킨 다음 1 mL의 Griess reagent를 가한 후 542 nm에서 흡광도를 측정하였다. Griess reagent는 2% sulfanilamide를 함유하는 4% 인산용액과 0.2% naphthyl-enediamide 용액을 사용직전에 1:1 (v/v)로 혼합하여 사용하였다. Nitric oxide 소거활성은 3번 반복하여 실행하였으며 아래의 공식에 준하여 산출하였다 [26].

$$\text{NO}(\%) = [1 - (A / B)] \times 100$$

NO : Nitric oxide radical scavenging ability %

A : Absorbance of reaction mixture with added sample

B : Absorbance of reaction mixture with no added sample

2.11. 항균활성

피부염의 원인 균인 *Staphylococcus aureus* KCTC 1928와 *Streptococcus pyogenes* KCTC 3097에 대한 알로에 추출물의 항균효과를 알아보기 위해 paper disc method를 실시하였다 [27]. 각 균주 1 백금이를 취하여 10 mL의 Nutrient broth에 접종하고 37°C에서 18시간 동안 배양한 후 활성화된 균주 100 µL를 Nutrient agar 배지에 도말하였다. 각각의 추출시료를 멸균된 paper disc (8.0 mm diameter × 1.5 mm thickness, Advantec, Tokyo, Japan)에 5, 10, 20 mg/disc을 흡수시킨 다음 도말된 배지표면 위에 놓고 37°C, 24시간 동안 배양한 후 disc 주위의 clear zone의 직경을 측정하여 다음의 공식에 적용하여 산출하였다. 본 실험은 3회 반복하여 시행하였으며 대조군은 tetracycline을 사용하였다.

$$\text{Inhibition rate}(\%) = (\text{control diameter} - \text{test diameter} / \text{control diameter}) \times 100$$

2.12. 통계처리

분석결과와 통계처리는 SAS package (Statistical Analysis Program version 12.0)를 이용하여 실험군 당 평균치와 표준편차를 계산하였고 *p*-value가 최소0.05 이하인 경우 유의한 차이로

판정하여 검증하였다. 실험치의 표현은 mean±S.E.로 하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. Callus culture

알로에 잎 조직을 이용하여 callus 분화를 유도한 결과 배양 10일이 경과한 이후부터 절단된 조직 주변으로 extracellular 물질이 분비되는 것을 모든 배지에서 관찰할 수 있었으며 포도즙이 첨가된 M1배지에서 가장 두드러지게 나타난 반면 사과즙이 첨가된 M2의 경우는 비교적 분비량이 적음을 색소침착 정도로 관찰할 수 있었다. 배양 16일이 경과한 이후에는 조직절편의 갈변화와 세포사멸이 진행되는 것이 관찰되었는데 특히, M1조건배지가 M2배지보다 더 심한 것으로 확인되었다. 이는 Vanisree의 보고 [28]와 일치하는 것으로 알로에 절단면에서 분비된 페놀 화합물이 손상된 조직절편의 갈변화와 세포사멸을 유도하는 원인이며 사과즙보다 포도즙이 첨가된 배지에서 심한 갈변화가 일어나는 것으로 보아 포도즙에 포함된 성분이 stress인자로 작용하여 hypersensitivity을 유발 extracellular물질을 더 많이 분비하는 것으로 판단된다. 그러나 페놀화합물의 함량 (Table 3)은 M2와 MC배지에서 가장 높게 검출되어 천연과즙으로 인해 나타나는 tolerance현상과 페놀화합물의 분비에 대한 인과관계는 보다 자세한 연구가 필요할 것으로 생각된다. 배양 30일 동안 callus분화는 전혀 관찰되지 않았는데 이는 Kim [29]의 실험결과와 일치하는 것으로 callus조직을 얻기 위해서는 겔이 풍부한 중간부분의 알로에 잎 조직보다 핵이 존재하고 재 분화가 용이한 말단조직을 사용해야 한다는 것이다. 이는 다육식물의 anatomy적 특징인 엽육세포의 구조적 변이와 관계가 있는 것으로 추론된다 [30].

3.2. 알로에 추출물의 다당체 함량

추출시료 속에 포함된 알로에 다당체 함량을 측정된 결과 배양된 알로에 조직의 경우 대조군 보다 사과즙이 첨가된 M2

Table 3. The amount of polysaccharide, phenol compound and flavonoid extracted from natural aloe tissue, cultured aloe tissues and agar

Sample	Total phenol (µg/mL)	flavonoid (µg/mL)	polysaccharide (mg/g Dry weight)
N	525±2.63	301±1.99	111±0.08
G	315±1.62	168±2.27	76±0.89
CT	659±1.38	580±3.09	42±0.64
IT	344±2.38	282±2.73	58±0.11
2T	533±3.13	501±1.91	64±0.28
3T	371±1.88	369±3.19	41±1.02
CA	118±0.85	68±2.28	12±0.89
1A	83±1.93	55±1.55	10±1.56
2A	85±3.65	85±3.00	13±1.74
3A	59±1.37	55±2.01	5±0.96

Each value is the mean±S.D. of 3 times ($p < 0.05$).

Reference to Table 2 regarding sample classification.

배지에서 50% 이상 함량이 증가하는 것으로 나타났으며 agar추출시료에도 평균 9 mg/g이 포함되어 있음을 확인하였다 (Table 3). 이는 조직절편을 배양하는 동안 다당체 합성대사가 진행되었으며 합성된 수용성 다당체 일부가 세포 밖인 agar로 분비된 것으로 추측된다 [31].

3.3. 라디칼 소거활성

각 추출시료가 가지는 라디칼 소거활성을 알아보기 위해 DPPH를 이용하여 검정한 결과 생 알로에 잎추출물인 N과 M1배지의 조직추출물인 IT에서 가장 우수한 라디칼 소거활성을 보였으며 agar에서 추출된 시료 또한 활성을 가지는 것으로 확인되었다 (Table 4). 실험에 사용된 시료의 농도를 0.05%로 낮추어 처리한 결과 조직추출물보다 agar추출물이 더 높은 활성을 보였으며 IC₅₀에서는 생 알로에 추출물인 N의 활성이 23%에서 4%로 급격하게 떨어진 반면 agar추출물의 활성은 약 1/3만 감소하는 것으로 나타났다. 이미 보고된 활성 [32]과는 차별적인 결과로 agar로 분비된 물질의 종류와 기능성을 보다 세부적으로 분석하는 실험이 필요할 것으로 사료된다.

3.4. 지질과산화 저해율

지질과산화에 미치는 알로에 추출물의 기능성을 알아본 결과 생 알로에 잎추출물인 N이 87%로 가장 높은 활성을 보였다. MC와 M3배지의 agar로부터 얻은 CA와 3A시료는 각각 65%, 67%로 나타났으며 대조군인 BHT의 64%보다 다소 높은 활성을 가지는 것으로 확인되었다 (Table 5). 또한, 조직추출물보다 agar추출물이 10%이상 우수한 저해율을 보였다. 지질과산화를 억제하고 LDL-cholesterol을 낮추며 HDL-cholesterol을 높이기 위해서는 생 알로에 잎 추출물을 섭취하는 것이 더 효과적인 것으로 판단된다 [33].

Table 4. DPPH radical scavenging activity of water extracts from the natural aloe tissue, cultured aloe tissue and agar

Sample	DPPH radical scavenging activity (% of the control)		
	Concentration of treatment		
	1%	0.05%	IC ₅₀ [‡]
BHT [†]	92±2.16	90±1.14	87±1.83
N	73±0.59	23±0.54	4±0.17
G	39±0.20	36±0.12	9±0.56
CT	53±1.64	36±0.20	12±0.73
IT	64±1.36	30±0.89	9±0.49
2T	30±0.13	29±0.11	5±0.33
3T	66±0.85	34±0.94	9±0.95
CA	25±0.88	44±0.81	34±0.72
1A	34±0.77	47±1.34	30±0.09
2A	32±0.08	44±0.30	32±0.64
3A	41±0.24	45±1.57	34±0.95

[†]BHT : control, [‡]IC₅₀ : % of the 0.05%.

Each value is the mean±S.D. of 3 times ($p < 0.05$).

Reference to Table 2 regarding sample classification.

Table 5. Inhibition of lipid peroxidation of water extracts from the natural aloe tissue, cultured aloe tissue and agar

Inhibition of lipid peroxidation (% of the control)										
kinds of sample (mg/mL)										
BHT [†]	N	G	CT	IT	2T	3T	CA	1A	2A	3A
64±0.10	87±1.78	54±0.57	47±0.78	28±0.70	40±0.93	43±0.43	65±1.74	41±0.06	48±0.15	67±1.03

[†]BHT: control, Each value is the mean±S.D. of 3 times ($p<0.05$). Reference to Table 2 regarding sample classification.

3.5. 아질산염 소거활성

알로에 추출물이 발암물질 제거에 미치는 효과를 확인하기 위해 아질산염 소거활성을 분석한 결과 모든 추출물에서 40% 정도의 활성을 보였다 (Fig. 1). 이는 알로에가 포함하고 있는 기능성 물질들이 발암성 물질을 제거하는데 효과가 있음을 보여줌과 동시에 알로에가 항암작용을 하는 물질을 함유하고 있음을 시사하는 결과이다 [34].

3.6. NO 소거활성

Nitric oxide (NO)와 같이 세포독성이 강한 자유 라디칼 소거활성에 대한 알로에 추출물의 효과를 검증한 결과 대조군인 ascorbic acid와 생 알로에 추출물인 N은 각각 24%, 20%였으며 M2배지의 조직추출물인 2T가 72%로 대조군 보다 3배 이상 높은 활성을 보였다 (Fig. 1). 또한, 생 알로에 추출물보다 배양된 조직에서 추출된 시료가 전반적으로 더 높은 활성을 가지는 것으로 나타난 반면 agar추출물은 비교적 낮은 활성을 가지는 것으로 측정되었다. 이 결과로 볼 때 조직배양조건이 세포 내에 hypersensitivity를 유발하는 원인으로 작용하여 방어물질의 합성을 촉진하게 되고 이 과정에서 생산된 다당체와 페놀화합물들이 NO 소거능을 활성화하는 것으로 판단된다. 그 이유는 알로에의 페놀화합물과 다당체는 항암작용과 다양한 생리활성을 촉진하는 기능성 물질들로 알려져 있기 때문이다 [35].

3.7. 항균활성

피부상처나 여드름 부위에 주로 감염되어 염증을 유발하는

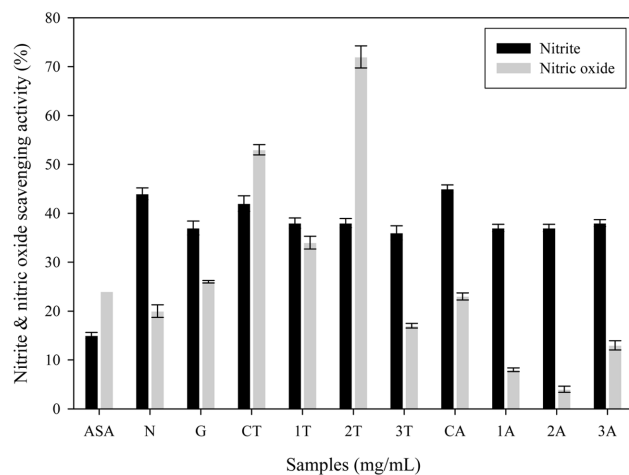


Fig. 1. Nitrite & Nitric oxide scavenging activity of extracted materials from cultured aloe tissue and agar. Reference to Table 2 regarding sample classification.

세균인 *S. aureus* KCTC 1928와 *S. pyogenes* KCTC 3097들을 이용하여 항균실험을 한 결과 여드름으로 인한 피부염의 원인 균인 *S. aureus*에 대한 항균력이 우수한 것으로 관찰되었다 (Table 6). 특히, M2배지의 2A추출물을 20 mg/mL처리한 경우 대조군인 tetracycline과 생 알로에 추출물보다 우수한 61%의 높은 항균활성을 보였다. 이는 세포 외로 분비된 다당체와 페놀화합물이 항균효과를 가지는 기능성 물질로 추정되며 알로에가 화상, 상처로 인한 초기 피부염과 여드름으로 인해 유발되는 염증에 우수한 효능이 있다는 사실을 확인하였다 [36].

4. 결론

알로에 callus조직을 얻기 위하여 겔이 가장 두꺼운 중간 부위의 잎 조직을 선택한 다음 겔을 제거하고 절편으로 자른 후 사과와 포도즙이 각각 또는 함께 포함된 조건배지에서 30일 동안 배양한 결과 callus분화는 일어나지 않았지만 배양 10일이 경과한 이후부터 배지로 extracellular물질이 분비되는 현상과 갈변화 및 세포사멸 현상을 관찰할 수 있었다. 배양 18일째에 조직절편과 배양배지의 agar를 회수하여 조직추출물과 agar추출물로 나누어 기능성 물질을 추출한 다음 총 페놀화합물과 플라보노이드 함량, 다당체 양, 항산화 및 항균활성 등을 알아보았다.

총 페놀화합물 함량은 MC배지의 CT추출물이 1 mL당 659 μg 으로 가장 높았으며 agar추출물은 평균 1 mL당 85 μg 을 가지는 것으로 검증되었다. 플라보노이드 역시 CT추출물이 1 mL당 580 μg 으로 가장 높았으며 agar추출물 또한 1 mL당 평균 65 μg 을 가지는 것으로 확인되었다. 다당체 함량은 N이 건조분말 g당 111 mg을 가지고 있었으며 조직배양 시료 중에는 M2배지의 2T추출물이 64 mg으로 가장 많았고 agar추출물도 약 10 mg을 포함하고 있는 것으로 측정되었다. DPPH에 대한 라디칼 소거활성은 추출물의 농도를 1%와 0.05%로 나누어 실험한 결과 1%에서는 N과 IT, 3T시료가 60% 이상의 소거활성을 보였으며 0.05%에서는 agar추출물이 40%대로 다소 활성이 증가한 반면 조직추출물과 생 알로에추출물은 모두 활성이 감소하였다. IC₅₀에서도 agar추출물은 1/3 가량 활성이 떨어진 반면 조직추출물과 생 알로에추출물은 절반 이상 급격하게 감소하였다. 지질과산화 저해율은 N과 CA, 3A시료에서 대조군인 BHT의 64%보다 높은 87%, 65%, 67%로 나타났으며 아질산염 소거활성은 40% 정도의 활성을 모든 추출물이 가지는 것으로 검증되었다. NO 소거활성은 2T가 72%로 가장 높은 활성을 보였으며 항균활성은 20 mg/mL

Table 6. Antimicrobial activity on the extracts of cultured aloe and natural aloe : paper disk method

Kinds of sample	Antimicrobial activity by paper disk method (%)					
	Strain of microorganisms					
	<i>Staphylococcus aureus</i> KCTC 1928			<i>Streptococcus pyogenes</i> KCTC 3097		
	The concentration of treated sample (mg/mL)					
	5	10	20	5	10	20
C†	1±0.68	9±0.23	33±0.33	1±0.34	2±0.56	5±0.13
N	0	0	16±0.67	0	2±0.78	5±0.56
G	0	30±0.56	30±0.56	0	0	1±0.36
CT	0	2±0.78	8±0.33	0	0	0±0.98
1T	1±0.67	3±0.33	3±0.33	0	0	1±0.02
2T	0	1±0.67	11±0.11	0	0	1±0.11
3T	1±0.67	2±0.78	7±0.22	5±0.56	5±0.56	25±0.00
CA	0	0	12±0.78	0	5±0.56	11±0.11
1A	0	0	44±0.44	0	0	1±0.31
2A	1±0.67	9±0.44	61±0.11	0	1±0.51	2±0.17
3A	5±0.56	22±0.22	25±0.00	0	0	1±0.92

†C: control - tetracycline. Each value is the mean±S.D. of 3 times ($p<0.05$). Reference to Table 2 regarding sample classification.

을 처리한 1A와 2A추출물이 *S. aureus* KCTC 1928에 대하여 각각 44%, 61%의 억제효과를 가지고 있었다.

조직 배양된 알로에 잎 조직과 extracellular 물질을 가진 agar로부터 추출된 시료의 기능성을 평가한 결과 조직추출물인 CT는 NO 소거활성과 라디칼 소거활성이, IT는 라디칼 소거활성이 우수하였다. 2T는 NO 소거활성이, 3T는 라디칼 소거활성과 *S. pyogenes* KCTC 3097에 대한 항균효과가 우수한 것으로 확인되었다. Agar추출물인 CA는 아질산염 소거활성과 지질과산화 저해율이, 1A는 라디칼 소거활성과 *S. aureus* KCTC 1928에 대한 항균활성이 높게 나타났다. 2A는 *S. aureus* KCTC 1928에 대한 항균활성이, 3A는 지질과산화 저해율과 라디칼 소거활성이 우수한 것으로 확인되었다. 생 알로에 추출물인 N과 G는 모든 기능성 평가에서 조직배양 추출물보다 평균이상의 효과를 가진 것으로 나타났지만 라디칼 소거활성은 시료농도가 1%에서 0.05%로 감소할 경우 agar추출물보다 활성이 낮았으며 NO 소거활성과 항균활성 또한 2T, 2A보다 절반이상 떨어지는 것으로 검증되었다.

이들 결과를 종합해 보면, 조직배양으로 얻어진 물질보다 생 알로에 조직에서 추출된 물질이 좀더 우수한 기능성을 가지는 것으로 확인되었다. 하지만, callus분화과정에서 얻어진 2T와 CT, agar 추출물의 효능은 매우 흥미로운 것으로 특히, agar 추출물은 알로에 잎 조직절편이 세포 외로 기능성 물질을 분비한다는 사실을 알려주는 중요한 결과로 생각된다. 또한, 조직배양 배지에 첨가해 준 과즙이 callus 분화에 미치는 뚜렷한 영향은 확인하지 못했지만 사과즙이 포함된 2T와 2A에서 페놀화합물과 다당체 함량이 대조군보다 높게 검출되는 것으로 보아 사과즙 성분이 이들 물질의 합성을 촉진하는 것으로 추론된다.

때문에 조직배양과정에서 합성되는 물질들의 종류와 특성을 분석하는 추가실험이 꼭 필요하며 이 실험들이 완료된다면 알로에 잎 조직을 이용한 기능성 물질의 대량생산 가능성을 정립할 수 있을 것으로 판단된다.

감사

이 논문은 2012학년도 대구대학교 학술연구비 지원에 의해 수행된 논문으로 이에 감사드립니다.

REFERENCE

- Park, J. H. and S. W. Kwon (2006) Chemical components of Aloe and its analysis. *New Perspectives on Aloe* 19-45.
- Raghavendra Haniadka, Pratibha S. Kamble, Ayesha Azmidha, Prajwal Prabhudev Mane, Nikku Mathew Geevarughese, Princy Louis Palatty, and Manjeshwar Shrinath Baliga (2013) Review on the Use of *Aloe vera* (Aloe) in Dermatology. *Nutrition and Health* 25-133.
- Reynolds, T. and A. C. Dweck (1999) Aloe vera leaf gel: A review update. *J. Ethnopharmacol.* 15: 3-37.
- Hamman, J. H. (2008) Composition and application of Aloe vera leaf gel. *Molecules* 13: 1599-1616.
- Berit Smestad Paulsen (2002) Biologically active polysaccharides as possible lead compounds. *Phytochemistry Reviews* 1: 379-387.
- Im, S. A., Y. R. Lee, Y. H. Lee, M. K. Lee, Y. I. Park, S. W. Lee, K. J. Kim and C. K. Lee (2010) *In Vivo* Evidence of the Immunomodulatory Activity of Orally Administered *Aloe vera* Gel. *Arch Pharm Res.* 33: 451-456.
- Alper Okyer, Ayse Can, Nuriye Akev, Gul Baktir, and Nurhayat Sutlupinar (2001) Effect of Aloe vera Leaves on Blood Glucose Level in Type I and Type II Diabetic Rat Models. *Phytother. Res.* 15: 157-161.
- Kulveer Singh Ahlawat and Bhupender Singh Khatkar (2011) Processing, food application and safety of *Aloe vera* products: A review. *J. Food Sci. Technol.* 48: 525-533.
- Monica K. Bedi and Philip D. Shenefelt (2002) Herbal Therapy in Dermatology. *Arch. Dermatol.* 138: 232-242.
- Anthony D. Dat, Flora Poon, Kim, BT Pham, and Jenny Doust

- (2012) *Aloe vera* for treating acute and chronic wounds. *Cochrance collaboration by John Wiley & Sons, Ltd* 2: 1-8.
11. Sachin L. Badole, Pranita P. Bagul, and Farid Mena (2013) *Aloe vera*: Use for Skin Disease. *Nutrition and Health* 475-479.
 12. Mohamed I. A. Ali, Nagwa M. M. Shalaby, Mohamed H. A. Elgama, and Ahmed S. M. Mousa (1999) Antifungal Effects of Different Plant Extracts and their Major Components of Selected *Aloe* Species. *Phytother. Res.* 13: 401-407.
 13. Amirhossein Ahmadi (2012) Potential prevention: *Aloe vera* Mouthwash may reduce radiation-induced oral mucositis in head and neck cancer patients. *Chin J Integr Med.* 18: 635-640.
 14. Azar Asadi-Shahmirzadi, Shilan Mozaffari, Yara Sanei, Maryam Baeeri, Reza Hajiaghvae, Hamid Reza Monsef-Esfahani, and Mohammad Abdollahi (2012) Benefit of *Aloe vera* and *Matricaria recutita* mixture in rat irritable bowel syndrome: Combination of antioxidant and spasmolytic effects. *Chin J Integr Med.* 18: 324-331.
 15. Iqbal Choudhary (2008) Back to Nature. *Nature* 456: 41-41.
 16. Aggarwal, D. and K. S. Barna (2004) Tissue Culture Propagation of Elite Plant of *Aloe vera* Linn. *J. Plant Biochemistry & Biotechnology* 13: 77-79.
 17. Margarita Velcheva, Zehava Faltin, Aliza Vardi, Uri Hanania, Yuval Eshdat, Oded Dgani, Nachman Sahar, and Avihai Perl (2010) *Aloe vera* transformation: the role of Amberlite XAD-4 resin and antioxidants during selection and refeneration. *In Vitro Cell. Dev. Biol.-Plant* 46: 477-484.
 18. Kim, M. U., Y. J. Cho and S. Y. Lee (2012) Production and Optimization of Extracellular Polysaccharide by Suspension Cultivation of *Aloe vera* L. Callus. *Food Engineering Progress* 16: 233-241.
 19. Lee, I. S. and H. Y. Moon (2001) Induction of Anthocyanin and Betaine by Salinity Stress in Germinating Seeds. *KSBB Journal* 16: 344-350.
 20. Chae, H. J., H. I. Hwang, I. S. Lee and H. Y. Moon (2005) Comparison of on Rat Intestinal Digestive Enzyme Inhibitory Activity and Anti-oxidant Enzyme Activity of Korean and Chinese *Schizandrinensis*. *J. Exp. Biomed. Sci.* 11: 517-523.
 21. Lee, I. S. and H. Y. Moon (2012) Antimicrobial Activity on Respiration Diseases Inducing bacteria and Antioxidant activity of Water Extract from Wild Edible vegetable. *KSBB Journal* 27: 114-120.
 22. Xiaoping Yang, Dayong Guo, Jinming Zhang, and Moucheng Wu (2007) Characterization and anti-tumor activity of pollen polysaccharide. *Inter. Immunopharma.* 7: 401-408.
 23. Lee, H. J., B. J. Lee, D. S. Lee and Y. W. Seo (2003) DPPH radical scavenging effect and in vitro Lipid peroxidation inhibition by *Portulaca oleracea*. *Korean J. Biotechnol. Bioeng.* 18: 165-169.
 24. Hwang, J. Y., J. W. Ham and S. H. Nam (2004) The Antioxidant Activity of Maesil (*Prunus mume*). *Korean J. Food Sci. Technol.* 36: 461-464.
 25. Kim, M. J., S. J. Lee, R. J. Kim, B. Y. Jeong and N. J. Sung (2011) Mineral Content and Antioxidants Activity of *Portulaca oleracea*. *Journal of Life Science* 21: 1393-1400.
 26. Lee, S. J., N. J. Sung, H. G. Jeong, J. H. Shin, Y. C. Chung and J. K. Seo (2008) Antioxidant Activities of Methanol extract from *Prunella vulgaris*. *J Korean Soc Food Sci Nur.* 37: 1535-1541.
 27. Choi, Y. H., S. E. Kim, J. Huh, Y. H. Han and M. J. Lee (2012) Antibacterial and Antioxidative activity of Roasted Coffee and Red Ginseng Mixture extracts. *J. Korean Soc. Food Sci. Nur.* 41: 320-326.
 28. Vanisree, M. and H. S. Tsay (2004) Plant cell cultures-An alternative and efficient source for the production of biologically important secondary metabolites. *Int. J. Appl. Sci. Eng.* 1: 29-48.
 29. Kim, M. U. and S. Y. Lee (2012) Induction and Cultivation of callus from *Aloe vera* L. *Food Engineering Progress* 16: 226-232.
 30. Mangal S. Rathore, J. ChiKara, and N. S. Shekhawat (2011) Plantlet Regeneration from Callus Cultures of Selected Genotype of *Aloe vera* L.- An Ancient Plant for Modern Herbal Industries. *Applied Biochemistry and Biotechnology* 163: 860-868.
 31. Chang, X. L., B. Y. Chen and Y. M. Feng (2011) Water-soluble polysaccharides isolated from skin juice and flower of *Aloe vera* Miller. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers* 42: 197-203.
 32. Maher Kammoun, Sonia Miladi, Yassine Ben Ali, Mohamed Damak, Youssef Gargouri, and Sofiane Bezzine (2011) In Vitro study of the PLA2 inhibition and antioxidant activities of *Aloevera* leaf skin extracts. *Lipids in Health and Diseases* 10: 30-36.
 33. Seol, N. G., E. Y. Jang, J. H. Sung, G. W. Moon and J. H. Lee (2012) Antioxidant capacities of *Aloe vera* (*Aloe vera* Linne) from Jeju Island, Korea. *Korean J. Food Sci. Technol.* 44: 643-647.
 34. Langmead, L., R. J. Makins and D. S. Rampton (2004) Anti-inflammatory effects of *aloe vera gel* in human colorectal mucosa in vitro. *Aliment Pharmacol Ther.* 19: 521-527.
 35. Chen, S. H., K. Y. Lin, C. C. Chang, C. L. Fang and C. P. Lin (2007) *Aloe-emodin*-induced apoptosis in human gastric carcinoma cells. *Food and Chemical Toxicology* 45: 2296-2303.
 36. Ruchi Pandey and Avinash Mishra (2010) Antibacterial Activities of Crude Extract of *Aloe barbadensis* to Clinically isolated Bacterial Pathogens. *Appl Biochem Biotechnol.* 160: 1356-1361.